

高效液相色谱法测定鸡肉中 5 种磺胺类药物及乙氧酰胺苯甲酯增效剂残留量

李 丹, 沈 昕, 张玉洁, 黄耀凌, 王鹤佳*

(中国兽医药品监察所, 国家兽药残留基准实验室, 北京 100081)

摘 要: 目的 建立高效液相色谱法同时检测鸡肉中磺胺二甲嘧啶(sulfamethylamine, SM₂)、磺胺间甲氧嘧啶(sulfamonomethoxine, SMM)、磺胺甲噁唑(sulfamethoxazole, SMZ)、磺胺二甲氧嘧啶(sulfadimethoxine, SDM)、磺胺喹噁啉(sulfaquinoxaline, SQ)、乙氧酰胺苯甲酯(ethopabate)的分析方法。**方法** 样品加入 10 mL 乙腈提取, 10000 r/min 离心 10 min, 氮气吹干后, 加入 5 mL pH 值为 7.0 的磷酸盐缓冲液溶解, 过 HLB 固相萃取柱净化。色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 2.2% 乙酸水溶液-甲醇乙腈, 等度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 进样量为 20 μL, 检测波长 267 nm。**结果** 5 种磺胺类药物在 0.10~1.5 μg/mL 呈良好的线性关系, r^2 均大于 0.999, 乙氧酰胺苯甲酯在 0.5~10.0 μg/mL 呈良好的线性关系, r^2 均大于 0.999。方法中 5 种磺胺类药物的最低定量限为 50 μg/kg, 乙氧酰胺苯甲酯的最低定量限为 250 μg/kg。5 种磺胺类药物在 50~200 μg/kg 的浓度添加水平上, 其回收率在 60%~100%, 批内、批间的相对标准偏差小于 20%, 乙氧酰胺苯甲酯在 250~1000 μg/kg 的浓度添加水平上, 其回收率在 60%~100%, 批内、批间的相对标准偏差小于 20%。**结论** 该方法具有简便快捷、灵敏度高等特点, 适用于鸡肉中 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯的残留检测。

关键词: 高效液相色谱法; 磺胺二甲嘧啶; 磺胺间甲氧嘧啶; 磺胺甲噁唑; 磺胺二甲氧嘧啶; 磺胺喹噁啉; 乙氧酰胺苯甲酯; 抗球虫药

Determination of 5 kinds of sulfonamides and ethopabate residues in chicken by high performance liquid chromatography

LI Dan, SHEN Xin, ZHANG Yu-Jie, HUANG Yao-Ling, WANG He-Jia*

(Reference Laboratory for the Test of Veterinary Drug Residues, China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of sulfamethylamine (SM₂), sulfamonomethoxine (SMM), sulfamethoxazole (SMZ), sulfadimethoxine (SDM), sulfaquinoxaline (SQ) and ethopabate residues in chicken by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** Five kinds of sulfonamides and ethopabate were extracted with 10 mL acetonitrile, and centrifuged with 10 min under 10000 r/min, then dissolved by 5 mL phosphate buffered saline after evaporation, and the whole of supernatant was purified with HLB column. The chromatography column was Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm). The mobile phase was methanol-acetonitrile-2.2% acetic acid water (15:15:70, V:V:V) with equivalent elution, the flow rate was 1.0 mL/min, injection volume was 20 μL and detection wavelengths was 267 nm. **Results** A good linearity of the

*通讯作者: 王鹤佳, 副研究员, 主要研究方向为兽药及污染物的代谢和残留检测技术。E-mail: wanghejia@ivdc.org.cn

*Corresponding author: WANG He-Jia, Assistant Professor, China Institute of Veterinary Drug Control, No.8, Zhongguancun South Street, Haidian District, Beijing 100081, China. E-mail: wanghejia@ivdc.org.cn

calibration curve of SM₂, SMM, SMZ, SDM, SQ were obtained in the range of 0.1–1.5 µg/mL ($r^2 > 0.999$), and the limit of quantification were 50 µg/kg. A good linearity of the calibration curve of ethopabate was obtained in the range of 0.5–10.0 µg/mL ($r^2 > 0.999$), and the limit of quantification was 250 µg/kg. The average recoveries of SM₂, SMM, SMZ, SDM, SQ from spiked chicken at 3 concentrations of 50, 100, 200 µg/kg ranged from 60%–100% ($n=5$) respectively. The average recoveries of ethopabate from spiked chicken at the three concentrations of 250, 500, 1000 µg/kg ranged from 60%–100% ($n=5$). In day-between days batch variation coefficients were both less than 20%. **Conclusion** This method is simple, rapid, sensitive and accurate, and can be applied for the determination of SM₂, SMM, SMZ, SDM, SQ and ethopabate in chicken.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; sulfamethylamine; sulfamonomethoxine; sulfamethoxazole; sulfadimethoxine; sulfaquinoxaline; ethopabate; coccidiostats

1 引言

磺胺类(sulfonamides)药物是兽医上较常用的一类合成抗感染药物,其药理作用是干扰细菌酶系统对对氨基苯甲酸的利用,影响细胞核蛋白质的合成,从而抑制细菌的繁殖,具有抗菌谱广、抗菌力强、吸收迅速完全和价廉易得等特点,因而广泛用在畜牧业和兽医临床上来预防和治疗畜禽细菌性疾病,兼有抗球虫活性^[1,2]。乙氧酰胺苯甲酯,对鸡巨型、布氏艾美耳球虫以及其他小肠球虫具有较强的作用,为氨丙啉、磺胺类药物等抗球虫药的增效剂,多配成复方制剂,而广泛用于临床,乙氧酰胺苯甲酯抗球虫作用及机制与磺胺类和抗菌增效剂相同。由于磺胺类药物在体内作用和代谢时间较长,通过任何途径摄入的磺胺都有可能蓄积,蓄积浓度超过一定值时对人体有害。短时间内大剂量或长时间小剂量的刺激可分别引起急性或慢性中毒,影响机体的泌尿、免疫系统,破坏肌肉、肾脏和甲状腺等组织,如诱发人的甲状腺癌等。另外,人体中长期存在磺胺会导致许多细菌对磺胺类药物产生耐药性^[3]。乙氧酰胺苯甲酯与磺胺类药物等联用对于多种球虫病均有良好的治疗效果。但由于不规范使用,抗球虫药若长期、连续添加在饲料中,极容易造成药物在肉中出现残留,危害人体健康。因此,我国农业农村部 235 号公告中明确规定鸡肌肉中乙氧酰胺苯甲酯的最高残留量为 500 µg/kg^[4],国际食品法典委员会^[5]和欧盟^[6]以及我国严格规定所有食品动物中磺胺类药物总量的最高残留量范围为 100 µg/kg。

目前,文献中采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)及液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)测定动物性组织中磺胺类药物、乙氧酰胺苯甲酯等单一药物的报道较多^[7-14],但同时检测鸡肌肉组织中磺胺二甲嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉和乙氧酰胺苯甲酯尚未见报道。HPLC 法具有分辨率高、灵敏度、重复性及成本较低等优点,且

结合我国的具体情况,HPLC 方法更易推广,实用性更强。因此,本研究拟建立高效液相色谱法同时检测鸡肉中 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯的,为这些药物的残留监控提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 试剂

乙氧酰胺苯甲酯(纯度≥98.8%,德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司);磺胺二甲嘧啶(纯度≥99.2%,中国兽医药品监察所);磺胺间甲氧嘧啶(纯度≥99.5%,中国兽医药品监察所);磺胺甲噁唑(纯度≥99.8%,中国兽医药品监察所);磺胺二甲氧嘧啶(纯度≥99.4%,中国兽医药品监察所);磺胺喹噁啉(纯度≥99.6%,中国兽医药品监察所)。乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Fisher 公司);磷酸二氢钾(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);甲酸(分析纯,纯度≥98.0%,北京化工厂);HLB 固相萃取柱(60 mg/3 cc,上海 waters 公司)。

2.2 仪器与设备

Agilent 1260 高效液相色谱仪(配紫外检测器,美国安捷伦公司);Biofuge Stratos 高速冷冻离心机(德国 Thermo 公司);IKA MS3 涡动混合仪、IKA-WERKE 振荡器(德国 IKA 公司);pH 计(上海梅特勒-托利多有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 溶液配制

(1) 标准储备液配制

分别称取 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯对照品约 10 mg,精密称定,分别置于 10 mL 量瓶中,用甲醇以及 5 mol/L NaOH 溶液 2~3 滴溶解并稀释成浓度为 1 mg/mL 的标准储备液,-20 °C 保存。

(2) 标准工作液配制

准确量取适量标准储备液,分别用甲醇溶解并稀释成浓度为 10 µg/mL 的标准工作液,-20 °C 保存。

(3) 其他溶液配制

磷酸盐缓冲溶液:取磷酸二氢钾 13.6 g,加水使溶解

并稀释至 1000 mL, 用 5.0 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值至 7.0。

5.0 mol/L 氢氧化钠溶液: 取氢氧化钠饱和液 28 mL, 加水稀释至 100 mL。

2.3.2 样品前处理

(1) 样品制备

取适量新鲜或解冻的空白组织, 绞碎并均质, 放入分装容器中, 密封, 于 -20°C 以下冷冻保存。

(2) 样品提取

称取 (5 ± 0.05) g 试料, 置 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈, 涡旋混匀 30 s, 中速振荡 5 min, 10000 r/min 离心 10 min, 吸取上清液置另一 50 mL 尖底离心管中, 于 55°C 水浴下氮气吹干。吹干后, 加入 5 mL 磷酸盐缓冲液(pH 值为 7.0)涡旋混匀 30 s, 备用。

(3) 样品净化

HLB 柱用甲醇 3 mL、水 3 mL 预洗。备用液过柱, 用水 3 mL 淋洗, 挤干, 甲醇 3 mL 洗脱, 于 55°C 水浴下氮气吹干, 流动相 1.0 mL 溶解, 混匀, 过滤膜, 供高效液相色谱法测定。

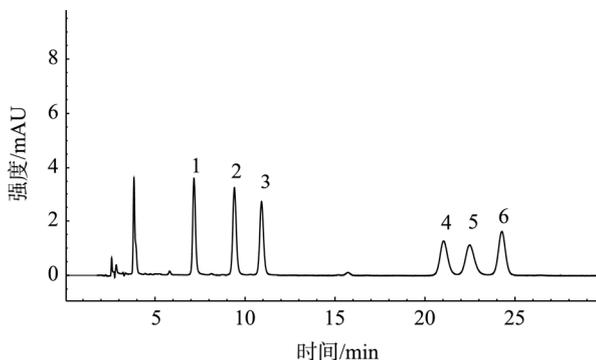
2.3.3 色谱条件

色谱柱: Phenomenex Luna C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: A 相为 2.2% 乙酸水溶液, B 相为甲醇-乙腈 (1:1, $V:V$); 等度洗脱: A:B=70:30($V:V$); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 267 nm; 柱温: 30°C ; 进样量: 20 μL 。

3 结果与分析

3.1 色谱条件的优化

根据本实验室同期开展的鸡蛋中氨丙啉残留检测方法的研究, 因 Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱能够显著提高氨丙啉的专属性且缩短分析时间的同时, 能很好地解决因氨丙啉出峰时间短而受杂质干扰的问题, 因此本研究比较了 Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱和 Phenomenex Luna C_{18} 色谱柱对 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯的分离效果, 实验结果表明, 选用 Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱, 主峰与杂质峰完全混在一起, 根本达不到基线分离的要求。选用 Phenomenex Luna C_{18} 色谱柱, 6 个色谱峰全出, 但是磺胺间甲氧嘧啶和磺胺甲噁唑未达到基线分离, 且磺胺二甲氧嘧啶和磺胺喹噁啉柱效低。在此条件下, 更换流动相种类, 等度洗脱, 并进一步优化流动相比例, 当比例调整为甲醇-乙腈-2.2% 乙酸水溶液 (15:15:70, $V:V:V$) 时, 6 个峰均达到良好基线分离, 且柱效大大提高。在此色谱条件下, 基线平稳, 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯的专属性较强, 选择性和灵敏度均能满足实际检测的需求。因此, 本研究选用 Phenomenex Luna C_{18} 色谱柱, 流动相为甲醇-乙腈-2.2% 乙酸水溶液 (15:15:70, $V:V:V$)。色谱图见图 1~3。



注: 1. 磺胺二甲嘧啶; 2. 磺胺间甲氧嘧啶; 3. 磺胺甲噁唑; 4. 磺胺二甲氧嘧啶; 5. 磺胺喹噁啉; 6. 乙氧酰胺苯甲酯。1~5 为 500 $\mu\text{g/L}$; 6 为 2500 $\mu\text{g/L}$ 。

图 1 溶液色谱图

Fig.1 Chromatogram of solution

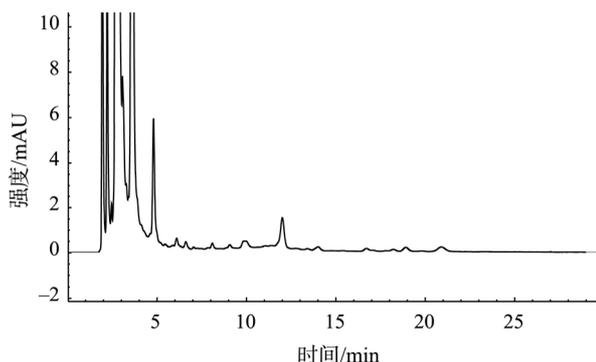
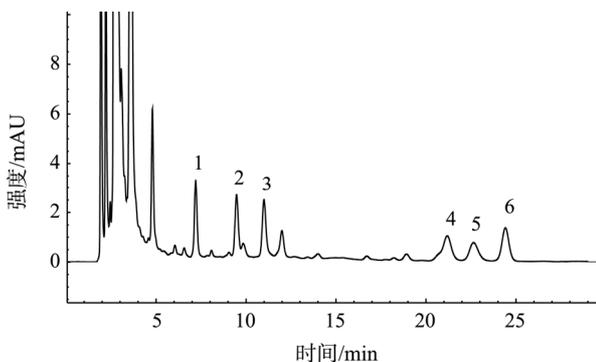


图 2 鸡肌肉空白色谱图

Fig.2 Chromatogram in blank chicken muscle



注: 1. 磺胺二甲嘧啶; 2. 磺胺间甲氧嘧啶; 3. 磺胺甲噁唑; 4. 磺胺二甲氧嘧啶; 5. 磺胺喹噁啉; 6. 乙氧酰胺苯甲酯。1~5 为 100 $\mu\text{g/kg}$; 6 为 500 $\mu\text{g/kg}$ 。

图 3 鸡肌肉中添加的药物色谱图

Fig.3 Chromatogram of drugs added in chicken muscle

3.2 提取溶剂的选择

采用乙腈、磷酸盐缓冲液、三氯乙酸溶液分别进行提取实验, 结果发现鸡肌肉中的 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯经 3 组溶剂提取后, 乙腈的提取回收率明显好于其

他 2 组。在 5、10、15 mL 乙腈提取量的比较实验中发现, 提取时加入 10 mL 乙腈的药物提取回收率最高, 而且提取次数的增加并不会引起明显的提取回收率提高, 因此本方法只用 10 mL 乙腈提取 1 次, 简化前处理方法, 缩短提取时间, 更适合大批量实际样品的检测。同时, 还比较了过柱前磷酸盐缓冲液(pH 7.0)和 95%乙腈水溶液 2 种不同溶解液对提取效果的影响, 结果表明磷酸盐缓冲液(pH 7.0)溶解后的提取回收率明显高于 95%乙腈水溶液溶解后的提取回收率。因此, 本实验在乙腈提取完成, 氮气吹干后, 选用磷酸盐缓冲液(pH 7.0)溶解残余物。

3.3 样品净化方法的优化

在样品的净化实验过程中, 对 SPE 柱及洗脱液的种类及比例等进行考察。主要比较了碱性氧化铝柱、HLB 2 种固相萃取柱的药物回收率, 实验结果表明采用 HLB (60 mg, 3 cc)柱时, 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯的回收率明显高于碱性氧化铝柱, 尤其是乙氧酰胺苯甲酯的回收率大大提高。因此, 本研究选择 HLB(60 mg, 3 cc)柱进行样品的净化。洗脱液的选择比较了甲醇、70%乙腈等 2 种洗脱溶剂的洗脱效果, 实验结果表明甲醇的洗脱效果最好, 因此洗脱液确定为甲醇。对 3、5 mL 甲醇的洗脱效果进行了比较, 发现 3 mL 甲醇的柱洗脱回收率能达到 95%以上, 与 5 mL 甲醇洗脱效果相差无几, 从节约试剂和环境保护的角度出发, 选用 3 mL 甲醇洗脱。因此本研究最终确定 SPE 柱为 HLB(60 mg, 3 cc)柱, 洗脱液为 3 mL 甲醇溶液, 在此条件下, 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯的药物回收率最高, 专属性也大大提高。

3.4 线性范围

准确量取适量 5 种磺胺类药物标准工作液, 用流动相稀释成浓度分别为 100、250、500、1000、1500 ng/mL 的系列混合标准溶液, 准确量取适量乙氧酰胺苯甲酯 500、1000、2500、5000、10000 ng/mL 的系列标准溶液。以峰面积为纵坐标, 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯相应的

对照溶液浓度为横坐标绘制标准曲线。结果显示药物浓度与其对应的峰面积值呈良好的线性关系。线性回归方程、相关系数见表 1。

表 1 药物回归方程及相关系数
Table 1 Standard curve equation and correlation coefficient

药物	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	回归方程	相关系数 r
磺胺二甲嘧啶	100~1500	$Y=0.0886X-8.1211$	0.9991
磺胺间甲氧嘧啶	100~1500	$Y=0.0909X-2.8649$	0.99999
磺胺甲噁唑	100~1500	$Y=0.0902X-3.3318$	0.99998
磺胺二甲氧嘧啶	100~1500	$Y=0.0924X-11.980$	0.9992
磺胺喹噁啉	100~1500	$Y=0.0916X-9.3154$	0.9996
乙氧酰胺苯甲酯	500~10000	$Y=0.0952X-3.1503$	0.99998

3.5 准确度和精密度

采用标准添加法, 称取匀浆后的空白组织样品 5.00 g, 选择 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯 3 个不同的添加量, 使鸡肉中 5 种磺胺类药物浓度分别为 50、100、200 $\mu\text{g/kg}$, 使鸡肉中乙氧酰胺苯甲酯药物浓度为 250、500、1000 $\mu\text{g/kg}$, 每个添加量 5 个样品, 添加到空白组织样品中, 并重复 3 批次, 按照 2.3.2 的方法处理后, 供高效液相色谱-紫外检测器 (high performance liquid chromatography- ultraviolet detector, HPLC-VWD) 测定, 外标法定量, 计算回收率、批内、批间变异系数, 结果见表 2。5 种磺胺类药物在 50、100、200 $\mu\text{g/kg}$ 3 个添加浓度点的回收率范围为 64.6%~96.2%之间, 批内相对标准偏差 (relative standard deviations, RSDs) 范围为 0.45%~13.7%, 批间 RSDs 范围为 2.93%~16.2%, 乙氧酰胺苯甲酯药物在 250、500、1000 $\mu\text{g/kg}$ 3 个添加浓度点的回收率范围为 63.3%~90.5%, 批内 RSD 范围为 0.74%~13.4%, 批间 RSD 范围为 5.87%~7.67%, 说明该方法准确度和精密度较高, 可以满足实验的要求。

表 2 鸡肉中添加 6 种抗球虫药的回收率测定结果 ($n=5$)

Table 2 Recovery rate and precision of 6 kinds of coccidiostats residues added in chicken ($n=5$)

待测 药物	添加浓度 ($\mu\text{g/kg}$)	测定 批次	回收率/%					平均回收率/%	批内 RSD/%	批间 RSD/%
			1	2	3	4	5			
磺胺二甲 嘧啶	50	I	98.0	92.3	94.0	94.8	92.2	94.3	2.54	
		II	81.3	87.7	97.7	89.7	94.5	90.2	7.02	9.65
		III	80.2	82.1	91.9	65.7	85.0	81.0	11.9	
磺胺间甲氧 嘧啶	50	I	97.1	95.0	93.8	94.4	93.0	94.7	1.57	
		II	97.7	93.0	88.6	92.8	89.4	92.3	3.92	16.0
		III	77.9	92.8	88.1	87.7	85.0	86.3	6.37	
磺胺甲噁唑	50	I	78.2	77.7	84.5	79.2	84.6	80.8	4.18	
		II	88.6	76.3	94.0	78.3	88.2	85.1	8.79	6.34
		III	86.9	79.4	87.0	81.1	88.1	84.5	4.66	

续表 2

待测 药物	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定 批次	回收率/%					平均回收率/%	批内 RSD/%	批间 RSD/%
			1	2	3	4	5			
磺胺二甲氧 嘧啶		I	89.2	92.0	90.6	84.6	89.6	89.2	3.07	4.48
		II	88.7	99.3	98.7	94.7	96.7	95.6	4.51	
		III	90.3	93.6	88.6	88.1	90.9	90.3	2.42	
磺胺喹噁啉		I	78.2	82.7	81.2	86.5	87.4	83.2	2.14	3.85
		II	85.1	83.4	87.5	82.4	82.6	84.2	1.98	
		III	76.2	78.5	84.1	80.6	81.7	80.2	4.55	
乙氧酰胺苯甲酯	250	I	69.8	70.8	71.6	78.5	77.7	73.7	4.05	5.87
		II	78.1	71.2	74.3	75.6	76.2	75.1	2.01	
		III	82.1	84.1	82.7	86.2	79.3	82.9	2.17	
磺胺二甲 嘧啶		I	87.9	79.2	90.2	88.5	96.2	88.4	6.92	5.54
		II	87.2	92.4	80.6	95.0	84.8	88.0	6.62	
		III	85.9	84.1	86.3	91.7	90.6	87.7	3.72	
磺胺间甲氧 嘧啶		I	92.7	87.1	92.5	90.3	97.0	91.9	4.03	6.47
		II	87.3	90.2	79.3	94.9	83.7	87.1	6.62	
		III	87.5	96.6	97.9	99.8	99.0	96.2	5.22	
磺胺甲噁唑	100	I	70.3	70.1	76.2	79.6	85.4	76.3	8.54	16.2
		II	61.6	67.7	62.1	76.5	63.9	66.3	9.29	
		III	71.8	90.8	95.3	94.9	98.0	90.2	11.7	
磺胺二甲氧 嘧啶		I	87.3	80.9	81.3	82.9	88.4	84.2	4.23	10.2
		II	77.0	69.2	72.3	75.8	71.9	73.2	4.27	
		III	67.7	90.2	87.5	92.5	90.1	85.6	11.9	
磺胺喹噁啉		I	99.3	96.5	92.8	79.1	72.0	87.9	13.4	8.44
		II	83.5	83.1	84.5	82.8	78.6	82.5	2.85	
		III	80.0	84.6	79.8	86.5	87.6	83.7	4.33	
乙氧酰胺苯甲酯	500	I	99.5	97.8	94.5	79.9	72.7	88.9	13.4	7.67
		II	89.9	90.5	89.8	91.2	90.3	90.3	0.74	
		III	82.7	92.7	89.5	92.1	95.6	90.5	5.44	
磺胺二甲 嘧啶	200	I	81.9	80.0	71.0	61.9	61.0	71.2	13.7	10.2
		II	68.7	72.9	69.4	69.7	71.1	70.4	0.45	
		III	74.6	85.0	82.6	82.4	80.6	81.1	4.76	
磺胺间甲氧 嘧啶		I	61.2	61.9	62.2	70.7	67.1	64.6	6.32	12.5
		II	81.9	81.3	82.5	81.1	81.2	81.6	0.68	
		III	73.7	87.0	82.5	85.3	88.6	83.4	7.04	

续表 2

待测药物	添加浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	测定 批次	回收率/%					平均回收率/%	批内 RSD/%	批间 RSD/%
			1	2	3	4	5			
磺胺甲噁唑		I	84.5	84.7	81.2	81.1	85.1	83.3	2.37	
		II	76.9	83.0	82.7	79.7	82.8	81.0	3.29	4.33
		III	90.3	89.1	82.0	86.7	88.2	87.3	3.68	
磺胺二甲氧嘧啶		I	90.1	90.2	86.9	90.0	91.8	89.8	1.98	
		II	82.6	88.4	89.8	88.0	89.5	87.7	3.33	2.93
		III	92.1	80.9	75.0	80.0	80.4	79.7	3.44	
磺胺喹噁啉		I	77.9	77.2	74.8	76.3	77.5	76.7	1.60	
		II	74.7	78.9	81.0	79.9	79.5	78.8	3.06	3.09
		III	82.1	80.9	75.0	80.0	80.4	79.7	3.44	
乙氧酰胺苯甲酯	1000	I	77.2	76.8	71.3	71.2	70.5	73.4	4.49	
		II	70.5	72.4	71.4	69.3	73.4	71.4	2.26	7.32
		III	60.6	64.0	62.7	62.4	67.0	63.3	3.73	

3.6 检测限和定量限

应用本研究建立的检测方法, 测得鸡肉中磺胺二甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑的检测限为 $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($S/N \geq 3$), 磺胺间甲氧嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶、磺胺喹噁啉的检测限为 $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($S/N \geq 3$), 5 种磺胺类药物的定量限为 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($S/N \geq 10$), 测得鸡肉中乙氧酰胺苯甲酯的检测限为 $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($S/N \geq 3$)、定量限为 $250 \mu\text{g}/\text{kg}$ ($S/N \geq 10$)。由表 2 可见, 添加浓度为 $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 5 种磺胺类药物在鸡肉中的平均回收率均大于 80.2%, 批内的 RSD 低于 11.9%、批间的 RSD 低于 16.0%, 添加浓度为 $250 \mu\text{g}/\text{kg}$ 时, 乙氧酰胺苯甲酯的平均回收率均大于 73.7%, 批内的 RSD 低于 4.05%、批间的 RSD 低于 5.87%, 这表明该方法在定量限水平的可靠性好^[15], 完全满足 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯在鸡肉中残留检测的需要。

3.7 实际样品检测

采用已建立的方法对北京市售的鸡肉样品 8 份进行检测, 均未检出 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯。

4 结论与讨论

本研究建立了高效液相色谱法同时检测鸡肉中 5 种磺胺类药物及乙氧酰胺苯甲酯增效剂的残留分析方法。本实验条件下, 5 种磺胺类药物在 $50 \sim 200 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的浓度添加水平上, 回收率在 60%~100%, 批内、批间的相对标准偏差小于 20%, 乙氧酰胺苯甲酯在 $250 \sim 1000 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的浓度添加水平上, 回收率在 60%~100%, 批内、批间的相对标准偏差

小于 20%。该方法简单、快速、准确, 适用于鸡肉中 5 种磺胺类药物和乙氧酰胺苯甲酯残留量的测定, 以为食品中这些药物的残留监控提供一定的参考。

参考文献

- [1] 龙洲雄, 万春花. 磺胺类药物残留的色谱分析进展[J]. 现代科学仪器, 2008, (2): 99-104.
Long ZX, Wang CH. Progress in chromatographic analysis of sulfonamide residues [J]. Mod Sci Instrum, 2008, (2): 99-104.
- [2] 罗杨. 猪肝中磺胺类药物残留的监测[J]. 中国兽药杂志, 2003, 37(1): 10.
Luo Y. Monitoring of sulfonamide residues in swine liver [J]. Chin J Veter Drug, 2003, 37(1): 10.
- [3] 吴锁连, 康怀彬, 李冬姣, 等. 动物食品中磺胺类药物残留的分析方法[J]. 农产品加工, 2017, (10): 58-61, 67.
Wu SL, Kang HB, Li DJ, et al. Analysis of sulfonamide residues in animal food [J]. Acad Period Farm Prod Process, 2017, (10): 58-61, 67.
- [4] 中华人民共和国农业部 235 号公告. 动物性食品中兽药最高残留限量[Z].
Announcement No.235 of the ministry of agriculture of the people's republic of China. Maximum residue limit of veterinary drugs in animal derived foods [Z].
- [5] Codex Alimentarius Commission. CAC/MRL 02-2005:21 [Z].
- [6] European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. EMEA/MRL/878/03-FINAL, Metamizole summary report [R]. London: The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 2003.
- [7] 岳振峰, 康海宁, 陈小霞, 等. 液相色谱串联质谱法测定鸡肉中 20 种抗球虫药物多残留[J]. 分析化学, 2012, 40(8): 1262-1266.
Yue ZF, Kang HN, Chen XX, et al. Determination of multi-residues of 20 anticoccidial drugs in muscle by HPLC-MS/MS [J]. Chin J Anal Chem, 2012, 40(8): 1262-1266.
- [8] 仲锋, 徐士新. 乙氧酰胺苯甲酯在鸡组织中残留的检测及消除规律的

- 研究[J]. 中国兽药杂志, 1999, 33(3): 6-11.
Zhong F, Xu SX. Detection and elimination of ethoxyamide benzyl ester residues in chicken tissues [J]. Chin J Veter Drug, 1999, 33(3): 6-11.
- [9] 何红梅. 高效液相色谱法测定动物源食品中磺胺类药物残留量[J]. 理化检验, 2008, 44(5): 433-435.
He HM. Determination of sulfonamide residues in animal food by HPLC [J]. Phys Test Chem Anal, 2008, 44(5): 433-435.
- [10] 赵静. 猪肉中磺胺类药物残留的 HPLC 法测定[J]. 中国食品工业, 2013, (2): 69-70.
Zhao J. Determination of sulfonamide residues in pork by HPLC [J]. China Food Ind, 2013, (2): 69-70.
- [11] Song WL, Huang M, Rumbelha W, *et al.* Determination of amprolium, carbadox, monensin, and tylosin in surface water by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Sp, 2007, 21(12): 1944-1950.
- [12] Gimazabal V, Yndestad M. Determination of amprolium, ethopabate, lasalocid, monensin, narasin and salinomycin in chicken tissues, plasma, and egg using liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Liq Chromatogr Relat Ychnologies, 2000, 23(10): 1585-1598.
- [13] 张腾云, 徐文, 张鸣姗, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测东寨港海水中磺胺类药物残留[J]. 热带生物学报, 2019, 10(2): 197-203.
Zhang TY, Xu W, Zhang MS, *et al.* Analysis of sulfonamides residues in seawater of Dongzhai harbor, Hainan based on ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Trop Biol, 2019, 10(2): 197-203.
- [14] Arroyo MN, Gamiz GL, Garcia C, *et al.* Alternative sample treatments for the determination of sulfonamides in milk by HPLC with fluorescence detection [J]. Food Chem, 2014, 143: 459-464.
- [15] 李俊锁, 邱月明, 王超. 兽药残留分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002.
Li JS, Qiu YM, Wang C. Analysis of veterinary drug residues [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2002.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



李 丹, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为兽药及污染物的代谢和残留检测。
E-mail: yxliidan100@163.com



王鹤佳, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为兽药及污染物的代谢和残留检测。
E-mail: wanghejia@ivdc.org.cn