

ASE-GPC-HPLC 法同时测定水产品中 13 种磺胺类和甲氧苄啶的残留

王 静^{1,2}, 沈吴琪³, 张美琴^{1,2}, 孟 勇^{1,2}, 吴光红^{1,2*}

(1. 江苏省水产质量检测中心, 江苏 南京 210017;

2. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017;

3. 中国药科大学药学院, 江苏 南京 211198)

摘要: 为了开发一种以加速溶剂萃取、全自动凝胶渗透色谱、高效液相色谱联用 (ASE-GPC-HPLC) 来同时测定水产品中 13 种磺胺类和甲氧苄啶残留的方法, 实验采用凡纳滨对虾等水产品通过加速溶剂萃取仪提取, 经全自动凝胶渗透色谱仪净化, 收集液经氮吹浓缩后用 1 mL 流动相定容, HPLC 检测, 外标法定量。结果显示, 13 种磺胺类在 0.01 ~ 1.00 mg/L 范围内、甲氧苄啶在 0.02 ~ 2.00 mg/L 范围内线性关系良好, 相关系数均 > 0.999 9; 添加 100、200、400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3 个浓度水平的平均回收率为 77.9% ~ 98.6%, RSD 为 0.4% ~ 13.4%。研究表明, 运用 ASE 的提取优势和 GPC 的净化效果提高了检测结果的回收率和精密度, 降低基质干扰, 并且开发出一种新的可同时测定水产品中 13 种磺胺类和甲氧苄啶的方法, 方法简便准确, 14 种药物完全分离, 重现性高。

关键词: 磺胺类; 甲氧苄啶; 加速溶剂萃取; 凝胶渗透色谱; 高效液相色谱; 水产品

中图分类号: TS 254.1

文献标志码: A

磺胺类 (Sulfonamides) 是通过人工合成的氨基磺胺衍生物, 甲氧苄啶 (Trimethoprim) 为广谱抗菌药, 抗菌谱与磺胺药类似, 被广泛应用于水产品养殖中, 能抑制许多革兰氏阳性菌及一些革兰氏阴性菌, 甚至对衣原体属和某些原虫都很有效^[1]。陈瑞玲^[2]发现将磺胺类和甲氧苄啶合用, 可使细菌的叶酸代谢受到双重阻断, 抗菌作用可增效数倍至数十倍, 因此二者常配合用于实际生产中, 但其滥用的结果导致大量代谢产物残留于动物的肌肉、脏器组织, 引起严重的食品安全问题和出口贸易问题。国际食品法典委员会 (CAC)、欧盟、欧美及中国无公害水产品等组织均规定食品和饲料中磺胺类药物总量不得超过 0.1 mg/kg, 甲氧苄啶最大残留限量为 0.05 mg/kg^[3-4]。目前磺胺类的检测方法较多, 主要有高效液相色谱法 (HPLC)、气相色谱-质谱法 (GC-MS)、液相

色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 等^[5-12], 但可同时测定甲氧苄啶和 10 种以上常见磺胺类药物的检测方法较少^[13-15]。甲氧苄啶和磺胺类药物种类繁多, 多种药物在传统提取方式下提取效果参差不齐, 而且过度提取溶出的基质加大了净化的难度, 影响检测结果的准确性, 提高了假阳性风险。加速溶剂萃取法 (ASE) 与传统的索氏提取、自动索氏提取、超声萃取、微波萃取等萃取方式相比, 时间短、溶剂少、萃取效率高, 被美国国家环保局批准为 EPA3545 号标准方法^[16]。凝胶渗透色谱 (GPC) 作为一种通用的样品净化技术, 已经成功应用于农药的多残留分析^[17], 但应用于药物的多残留分析报道很少^[18]。目前国内外均未见将 ASE、GPC 联合应用于磺胺类药物和甲氧苄啶的分析报道。实验通过研究将 ASE、GPC 和 HPLC 联合应用于药物多残留分析, 替代传统前处理方

收稿日期: 2012-12-24 修回日期: 2013-03-14

资助项目: 海洋水产品食品加工技术研发与产业化示范项目 (2012BAD28B05)

通信作者: 吴光红, E-mail: ghwu2007@163.com

法提取和净化水产品中磺胺类药物和甲氧苄啉,旨在提高检测结果的准确性,降低基质干扰,进而开发一种更加简便高效且可同时测定多种磺胺类和甲氧苄啉的方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器、试剂和材料

1100 高效液相色谱仪(配紫外检测器,美国 Agilent 公司), ASE 350 加速溶剂萃取仪(DIONEX 公司), GPC-ULTRA 凝胶净化浓缩系统(德国 LC-Tech 公司), Turbopap II 全自动浓缩工作站(美国 Caliper 公司), XW-80A 微型旋涡混合仪(上海沪西分析仪器厂),超纯水系统(美国 Millipore 公司), CP225D 电子天平、PL403 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司)。

磺胺类标准品:磺胺嘧啶(SD)、磺胺噻唑(ST)、磺胺甲基嘧啶(SMR)、磺胺 5-甲氧嘧啶(SMD)、磺胺二甲基嘧啶(SM2)、磺胺甲氧哒嗪(SMP)、磺胺氯哒嗪(SCP)、磺胺 6-甲氧嘧啶(SMM)、磺胺甲基异噁唑(SMZ)、磺胺多辛(SDM)、磺胺异噁唑(SEZ)、磺胺二甲氧哒嗪(SDM)、磺胺喹噁啉(SQX)(纯度均 $\geq 97.5\%$,美国 Dr. Ehrenstorfer 公司);甲氧苄啉(TMP)标准品(纯度 98.5%,美国 Dr. Ehrenstorfer 公司);乙酸乙酯、环己烷、乙酸、乙腈、甲醇(色谱纯,美国 Tedia 司);水由 Millipore 超纯水系统制备。

新鲜凡纳滨对虾、草鱼、大黄鱼均购置于大型连锁超市,去鳞,去皮,取肌肉部分,置于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻保存。

1.2 标准溶液的配制

标准贮备液:分别准确称取各磺胺类标准品和甲氧苄啉标准品 10.0 mg 于 100 mL 棕色容量瓶中,用甲醇溶解定容,配制 100 mg/L 单标贮备液, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光存储,保存期为 3 个月。

标准混合中间液:取上述各单标贮备液于 10 mL 棕色容量瓶,用甲醇稀释定容,配制成含 13 种磺胺类各 10 mg/L、甲氧苄啉 20 mg/L 的混合标准中间液。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光存储,保存期为 1 个月。

1.3 ASE、GPC、HPLC 设定条件

ASE 萃取条件 萃取池体积:10 mL,加热温度: $100\text{ }^{\circ}\text{C}$,加热时间:5 min,提取溶剂:乙酸乙酯,提取时间:5 min,提取模式:OFF,冲洗体积:150%,吹扫时间 80 s,提取次数:2 次。

GPC 凝胶净化浓缩条件 流速:5.0 mL/min,预洗柱时间:30 s,抛弃时间:1 100 s,收集时间:600 s,收尾时间:400 s,进样体积:5 mL,定容体积:5 mL,清洗:3 次,洗针:3 次,收集液体积:4 mL。

HPLC 色谱条件 色谱柱:Agilent Extend-C₁₈, 5 μm , 4.6 mm \times 250 mm;柱温: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$;流动相:乙腈、甲醇、2% 乙酸溶液,梯度参数见表 1;流速:0.600 mL/min;进样量:50 μL ;紫外检测波长:270 nm。

表 1 流动相梯度洗脱程序
Tab.1 Gradient elution program

时间/min time	乙腈/% acetonitrile	甲醇/% methanol	2% 乙酸溶液/% 2% acetic acid solution
0	5	10	85
15	5	10	85
30	20	10	70
45	20	10	70
45.1	5	10	85
55	5	10	85

1.4 样品的提取和净化

准确称取 2.50 g 样品,置于研钵中,加入足量硅藻土研磨至分散状,将研钵中肉样混合物全部转移至 ASE 不锈钢提取池中,置于 ASE 加速溶剂萃取仪用乙酸乙酯提取,ASE 加速溶剂萃取仪参数设定条件见 ASE 萃取条件。收集提取液于 50 mL 玻璃管中,于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮气吹干。用 8.00 mL 环己烷-乙酸乙酯(1:1, V/V) 溶液溶解残渣,转移溶解液至 GPC 进样瓶,置于 GPC 凝胶净化浓缩仪的自动进样架上, GPC 参数设定见 GPC 凝胶净化浓缩条件,启动相关方法和序列完成净化和浓缩,由 GPC 自动定容至 5.00 mL 后转移 4.00 mL 样液至收集瓶中。收集瓶中的样液于 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中氮吹至干,加 1.00 mL 流动相溶解,0.22 μm 滤膜过滤,供 HPLC 检测。

2 结果

2.1 色谱行为

采取 HPLC 的色谱条件得到 13 种磺胺和甲氧苄啉的标准品谱图(图 1)。此色谱条件下,目标组分得到了很好的分离,峰形尖锐、对称。

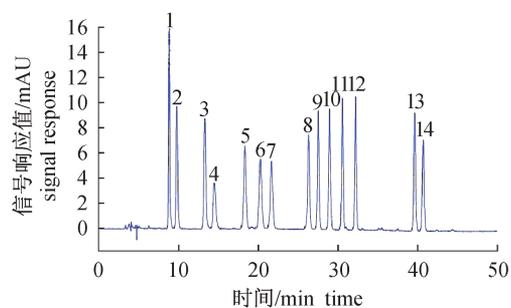


图1 13种磺胺和甲氧苄啶标准品色谱图

1. 磺胺嘧啶; 2. 磺胺噻唑; 3. 磺胺甲基嘧啶; 4. 甲氧苄啶; 5. 磺胺5-甲氧嘧啶; 6. 磺胺二甲基嘧啶; 7. 磺胺甲氧嘧啶; 8. 磺胺氯嘧啶; 9. 磺胺6-甲氧嘧啶; 10. 磺胺甲基异噻唑; 11. 磺胺多辛; 12. 磺胺异噻唑; 13. 磺胺二甲氧嘧啶; 14. 磺胺喹噁啉。

Fig. 1 Chromatograms of 13 kinds of sulfonamides and trimethoprim

1. SD; 2. ST; 3. SMR; 4. TMP; 5. SMD; 6. SM2; 7. SMP; 8. SCP; 9. SMM; 10. SMZ; 11. SDM'; 12. SEZ; 13. SDM; 14. SQX.

2.2 线性关系和检出限、定量限

在选定的实验条件下,对含有13种磺胺(浓度范围为0.01~1 mg/L)和甲氧苄啶(浓度范围为0.02~2 mg/L)的14种药物混合标准溶液进

行分析,考察峰面积值(A)对质量浓度(C)的线性关系和分析物的检出限及定量限(表2)。14种药物的标准曲线线性关系良好;以信噪比大于3时的添加浓度为本方法检出限(LOD),信噪比大于10时的添加浓度为本方法定量限(LOQ)。

2.3 回收率和相对标准偏差

向凡纳滨对虾空白样品中添加浓度为100、200、400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3个浓度水平的13种磺胺和甲氧苄啶混合标准品,每一水平设6个平行实验,得到回收率和相对标准偏差(RSD)结果见表2。13种磺胺和甲氧苄啶在100、200、400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度下平均回收率分别在78.9%~98.6%、79.1%~89.1%、77.9%~81.6%,RSD均小于15%。14种药物在100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 添加水平下的色谱图见图2,空白凡纳滨对虾样品谱图见图3。可以看出,经过ASE提取和GPC净化的凡纳滨对虾样品在进行分离分析过程中受样品基质干扰较小,在添加水平下色谱峰明显,具有较高的灵敏度,符合痕量分析要求。

表2 13种磺胺和甲氧苄啶的回归方程、线性范围、LOD、LOQ及回收率结果($n=6$)

Tab. 2 Regression equation, linear ranges, LOD, LOQ and recoveries of 13 kinds of sulfonamides and trimethoprim

序号 no.	回归方程 regression equation	线性范围/ (mg/L) linear range	线性 关系 r	检出限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOD	定量限/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) LOQ	加标浓度/ (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) spiking concentration		加标浓度/ (200 $\mu\text{g}/\text{kg}$) spiking concentration		加标浓度/ (800 $\mu\text{g}/\text{kg}$) spiking concentration	
						回收率/% rrecovery	RSD/%	回收率/% rrecovery	RSD/%	回收率/% rrecovery	RSD/%
1	$A = 312C - 0.804$	0.01 - 1	0.999 98	9	30	86.4	4.0	84.9	1.0	81.0	0.5
2	$A = 283C - 0.706$	0.01 - 1	0.999 97	12	40	98.6	13.4	89.1	1.7	81.6	0.5
3	$A = 293C - 0.678$	0.01 - 1	0.999 98	14	50	82.2	2.8	82.4	1.0	80.5	0.6
4	$A = 80.6C - 0.127$	0.02 - 2	0.999 95	30	100	83.1	8.8	83.1	2.8	80.4	1.6
5	$A = 282C - 0.346$	0.01 - 1	0.999 99	17	60	92.5	12.9	84.4	2.0	81.1	0.6
6	$A = 262C - 0.635$	0.01 - 1	0.999 98	20	70	81.1	4.1	82.1	1.5	80.9	2.1
7	$A = 250C - 0.198$	0.01 - 1	1.000 00	20	70	81.3	5.0	81.8	1.1	80.9	0.7
8	$A = 276C - 0.730$	0.01 - 1	0.999 98	16	60	82.3	4.8	81.7	1.6	80.3	0.5
9	$A = 300C - 0.994$	0.01 - 1	0.999 96	14	50	83.8	6.8	82.1	1.4	79.9	0.7
10	$A = 310C - 1.01$	0.01 - 1	0.999 97	14	50	84.3	6.0	81.9	1.1	80.5	0.7
11	$A = 303C - 1.22$	0.01 - 1	0.999 95	12	40	81.1	5.5	79.1	1.3	78.6	0.5
12	$A = 304C - 1.54$	0.01 - 1	0.999 92	12	40	83.1	3.6	79.6	0.4	77.9	0.5
13	$A = 298C - 0.665$	0.01 - 1	0.999 99	14	50	80.0	0.9	81.4	1.6	80.2	0.6
14	$A = 241C - 0.280$	0.01 - 1	0.999 99	16	60	78.9	1.6	80.6	1.7	79.7	0.8

注:序号指代的化合物与图1相同。

Notes: the numbers are the same as in Fig. 1.

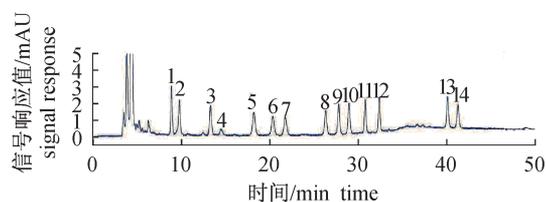


图 2 13 种磺胺和甲氧苄啉在 100 µg/kg 添加水平下凡纳滨对虾样品谱图

序号指代的化合物与图 1 相同。

Fig. 2 Chromatogram of 13 kinds of sulfonamides and trimethoprim in shrimp spiked with 100 µg/kg concentration.

For peak identifications, see Fig. 1.

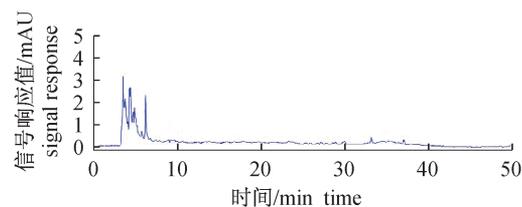


图 3 空白凡纳滨对虾样品谱图

Fig. 3 Chromatogram of blank shrimp sample

2.4 其他样品分析

考虑到水产品中部分品种样品的油脂较高,基质干扰较大,如鳗鲡、大黄鱼、加州鲈等,为了考察此检测方法对水产品中大多数品种的适用性,实验选择草鱼、大黄鱼、对虾 3 种具有代表性的样品进行检测发现:阳性样品中 14 种药物的保留时间在同一批次内均一致,回收率和 RSD 均满足分析要求,不同基质样品的干扰成分绝大部分在磺胺嘧啶之前出峰;阴性样品中对于油脂含量高(如大黄鱼)样品,基质噪音较草鱼和对虾样品稍大一些,但在各目标物出峰时间处无干扰,不影响对目标物的分析。此方法适用于大多数水产品样品的检测。

3 讨论

3.1 ASE 条件的优化

温度的选择 在温度设定分别为 80、90、100、110、120 和 130 °C,其余 ASE 设定参数均一致的情况下,考察对应 6 份添加相同浓度和组分混合标准品样品的回收率情况,结果发现:各混合标准品含量在 100 °C 时最高。在 ASE 萃取过程中,随着温度的升高,溶剂的粘度下降,从而加强了溶剂浸润基质和溶解目标分析物的能力,加入的热能同时也有助于破坏样品与基质之间的作用

力,增强目标分析物从基质表面扩散到溶剂中的能力。但是随着温度的升高,目标物的分解和代谢会加剧,造成损失。根据结果,选择 100 °C 为 ASE 的加热设定温度。

提取剂的选择 在分别用乙酸乙酯、乙腈和二氯甲烷作为提取剂,其余 ASE 设定参数均一致的情况下,考察对应 3 份添加相同浓度和组分混合标准品样品的回收率情况。提取率为 87% ~ 98%,从高到低依次为二氯甲烷、乙腈、乙酸乙酯;但考察谱图中基质干扰情况,基质干扰从少到多依次为乙酸乙酯、乙腈、二氯甲烷。乙酸乙酯、乙腈和二氯甲烷均能够提取目标化合物,其中二氯甲烷提取目标化合物能力最强,但对基质中其他物质的提取能力也较强,萃取液中带入了过多杂质而影响目标化合物的分析;乙腈由于其水溶性会部分溶解样品中的水溶性基质,从而引入较多的基质干扰峰;乙酸乙酯极性适中,能够很好的提取目标化合物,而且乙酸乙酯微溶于水,从而减少了水溶性基质对目标化合物的干扰。考虑到萃取溶剂的极性应和目标化合物的极性相匹配,且基质中的其他物质应尽量保留在基质中,故选择乙酸乙酯作为 ASE 的提取剂。

提取次数的选择 分别设定提取次数为 1、2、3 次,其余 ASE 设定参数均一致,考察对应 3 份添加相同浓度和组分混合标准品样品的回收率情况。回收率分别为 67% ~ 74%、87% ~ 92%、89% ~ 95%。可见,提取 2 次和 3 次对目标化合物影响不大,而 1 次提取效果显然不充分,考虑到尽量减少引入过多基质,因此我们选择 2 次提取即可满足实验要求。

3.2 GPC 条件的优化

通过分段收集 GPC 净化后的流出液并检测 13 种磺胺类和甲氧苄啉的总量来考察目标物质的保留时间,进而确定 GPC 适用于 13 种磺胺类和甲氧苄啉的抛弃时间和收集时间。于 0 ~ 600 s 收集第 1 管流出液,601 ~ 2 500 s 内每隔 100 s 分别收集流出液于第 2 ~ 20 管,每 100 s 收集一管。根据混合标准品总量和收集管管号得到图 4。

由图可见,6 号管开始有目标物检出,直至 15 号管目标物未检出。则基质在 0 ~ 1 100 s,目标物在 1 100 ~ 2 000 s 分别流出,其结果与欧阳燕玲等^[19]结果相似,因此初定的抛弃时间为 1 100 s,保留时间为 900 s。参照此设定进行前处理检

测发现仍有基质干扰。因此针对6号管、7号管、12号管、15号管对应的1 100 s、1 200 s、1 700 s、2 000 s 4个点做了进一步的探索。分别选择1 100~1 700 s、1 200~1 700 s、1 100~2 000 s、1 200~2 000 s四个时间段进行收集,比较目标化合物总量和基质干扰发现:4个时间段收集的目标化合物总量为32.5~36 mg/L,其中1 100~2 000 s和1 200~2 000 s时间段的谱图中存在基质干扰,而含量与1 100~1 700 s、1 200~1 700 s没有显著差异。GPC分离基础主要依据溶液中分子体积(流体力学体积)的大小来分离不同分子量的高聚物,不同分子量的高聚物在凝胶填料内扩散的路径不同使得产生不同的保留时间,分子量按照从大到小的次序随着淋洗液的流出而得到分离。笔者推测在1 700~2 000 s还有分子量小于目标物的基质流出,考虑到对基质最大程度的去处和目标物的保留,在略微损失回收率的情况下,选择1 100~1 700 s作为收集时间段,确定抛弃时间为1 100 s,保留时间为600 s。

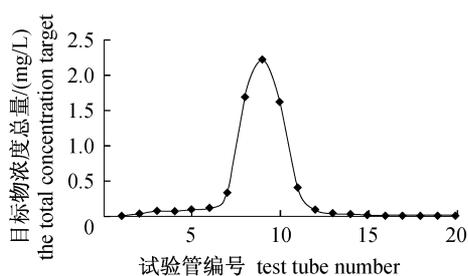


图4 GPC分段淋洗

Fig. 4 Segmented leaching of GPC

3.3 色谱条件的选择

磺胺类药物和甲氧苄啶结构式中含有氨基,具有弱碱性。徐维海等^[6]提出调节流动相中的pH,可以抑制弱碱的离解,从而导致保留时间的改变。结果表明酸度过高,很难将14种药物完全分离,特别是磺胺嘧啶与磺胺噻唑,磺胺二甲基嘧啶与磺胺甲氧达嗪,保留时间几乎完全一致;酸度过低,有明显的拖尾现象。当乙酸溶液浓度在2%时,14种组分在表1的洗脱条件下能够分离且峰形无拖尾,与农业部958号公告-12-2007^[20]的流动相条件一致。在色谱柱的选择上,比较Agilent Extend-C₁₈, 5 μm, 4.6 mm × 250 mm与Agilent SB-C₁₈, 5 μm, 4.6 mm × 250 mm这两种反相色谱柱,发现前者对14种物质的分离非常

好,可以完全分离,后者对磺胺嘧啶与磺胺噻唑,磺胺甲基异噻唑、磺胺多辛与磺胺异噻唑则有不同程度的粘连,因为前者填料是双C₁₈键键合,在耐酸、碱性能上优于后者。

4 结论

本实验建立了ASE-GPC-HPLC同时检测水产品中13种磺胺类和甲氧苄啶的方法,其线性关系、检出限、定量限、回收率和相对标准偏差基本符合相关法规要求。甲氧苄啶的定量限超出其规定的最大残留限量,可采用更换更大体积的萃取池,在前处理过程中增大样品的称样量的方法,降低检出限和定量限,从而满足法规和检测的要求。与目前已存在的磺胺类和甲氧苄啶检测方法比较,本方法实现了多种常用磺胺类药物和甲氧苄啶的同时测定,而且将GPC净化技术成功运用于药物的多残留分析。结合ASE和GPC这2种先进仪器的技术优势替代传统前处理手段,不仅简化了前处理步骤,而且对回收率的提高和降低基质干扰均有显著的改善,从而提高检测结果的准确度和精确度。作为先进的前处理方法,ASE和GPC技术将会越来越多的运用于药残检测中。

参考文献:

- [1] 孙喜模,丁晓明,王玉堂,等. 国家标准渔药及其使用技术[M]. 北京:全国水产技术推广总站,2007.
- [2] 陈瑞玲. 磺胺类药与甲氧苄啶的合理运用[J]. 中国临床医生,2008,36(7):18-20.
- [3] 中华人民共和国水产行业标准 SC/T 1084-2006 磺胺类药物水产养殖食用规范[S]. 2007.
- [4] 中华人民共和国农业行业标准 NY 5070-2002 无公害食品 水产品中渔药残留限量[S]. 2002.
- [5] 陆磊. 高效液相色谱法同时测定禽肉中磺胺类药物残留方法的研究[J]. 甘肃科技,2010,26(13):52-53.
- [6] 徐维海,林黎明,朱校斌,等. 水产品中14种磺胺类药物残留的HPLC法同时测定[J]. 分析测试学报,2004,23(5):122-124.
- [7] 林海丹,谢守新,吴映旋. 高效液相色谱法同时测定鳊鱼及其制品中八种磺胺类药物[J]. 食品科学,2005,26(1):176-179.
- [8] Maudens K E, Zhang G F, Lambert W E, et al. Quantitative analysis of twelve sulfonamides in honey after acidic hydrolysis by high-performance liquid chromatography with post-column derivatization and

- fluorescence detection [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1047(1):85-92.
- [9] Cannavan A, Hewitt S A, Blanchflower W J, *et al.* Gas chromatographic-mass spectrometric determination of sulfamethazine in animal tissues using a methyl trimethylsilyl derivative [J]. Analyst, 1996, 121(10):1475-1461.
- [10] 庞国芳, 曹彦忠, 张进杰, 等. 液相色谱-串联质谱同时测定家禽组织中 16 种磺胺残留 [J]. 分析化学, 2005, 33(9):1252-1256.
- [11] Fuh M R S, Chu S Y. Quantitative determination of sulfonamide in meat by solid-phase extraction and capillary electrophoresis [J]. Analytica Chimica Acta, 2003, 499(1-2):215-221.
- [12] Haasnoot W, Bienenmann-Ploum M, Lamminmäki U, *et al.* Application of a multi-sulfonamide biosensor immunoassay for the detection of sulfadiazine and sulfamethoxazole residues in broiler serum and its use as a predictor of the levels in edible tissue [J]. Analytica Chimica Acta, 2005, 552(1-2):87-95.
- [13] 朱晓华, 翁棋兰, 王静, 等. 高效液相色谱同时检测鱼肉组织中 4 种磺胺与甲氧苄啶的残留量 [J]. 南京农业大学学报, 2009, 32(4):138-142.
- [14] 刘振伟, 姜兆兴, 曹旭, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定动物组织中甲氧苄啶及磺胺类药物残留 [J]. 中国动物检疫, 2010, 27(5):36-38.
- [15] 中华人民共和国国家标准 GB/T 21316-2007 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定液相色谱-质谱/质谱法 [S]. 2007.
- [16] 牟世芬. 加速溶剂萃取的原理及应用 [J]. 环境化学, 2001, 20(3):299-300.
- [17] Pang G F, Cao Y Z, Zhang J J, *et al.* Validation study on 660 pesticide residues in animal tissues by gel permeation chromatography clean2 up/gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography. A, 2006, 1125(1):1-30.
- [18] Roybal J E, Pfenning A P, Turnip seed SB, *et al.* Application of size-exclusion chromatography to the analysis of shrimp for sulfonamide residues [J]. Analytica Chimica Acta, 2003, 483(1-2):147-152.
- [19] 欧阳燕玲, 谢维平, 黄盈煜, 等. 动物源食品磺胺类药物残留 GPC 法测定 [J]. 中国公共卫生, 2009, 25(5):610-611.
- [20] 中华人民共和国国家标准农业部 958 号公告-12-2007 水产品中磺胺类药物残留量的测定液相色谱法 [S]. 2007.

Simultaneous determination of 13 kinds of sulfonamides and trimethoprim residues of aquatic products by ASE-GPC-HPLC method

WANG Jing^{1,2}, SHEN Wuqi³, ZHANG Meiqin^{1,2}, MENG Yong^{1,2}, WU Guanghong^{1,2*}

(1. Fishery Analysis & Testing Center of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China;

2. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China;

3. College of Pharmacy, Pharmaceutical University of China, Nanjing 211198, China)

Abstract: To develop a method for determining 13 kinds of sulfonamides and trimethoprim residues of aquatic products by ASE-GPC-HPLC, the shrimp and other aquatic products are extracted by ASE and cleaned up by GPC, collected the liquid and concentrated by nitrogen, then enriched, by 1 mL mobile phase constant volume, the liquid was determined by HPLC and quantified by external standard. The result shows that the 13 kinds of simultaneous and trimethoprim have good linear relationship in the range of 0.01-1.00 mg/L and 0.02-2.00 mg/L, and the correlation coefficients are all above 0.9999. Shrimp spiked with 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{kg}$ three concentration levels of 13 kinds of sulfonamides and trimethoprim mixed standard solution, the average recovery rates of standard are between 77.9%-98.6%, and RSD is between 0.4%-13.4%. The study showed that the new method was simple and accurate, and 14 drugs were separated completely.

Key words: sulfonamides; trimethoprim; aquatic; ASE; GPC; HPLC

Corresponding author: WU Guanghong. E-mail: ghwu2007@163.com