

超高效液相色谱法(UPLC)快速测定 水产品中 17 种磺胺类抗生素残留

郭萌萌¹ 李兆新^{1*} 谭志军¹ 翟毓秀¹ 杨守国^{1,2} 姚建华^{1,2}

(¹中国水产科学研究院黄海水产研究所,青岛 266071)

(²上海海洋大学,201306)

摘 要 采用超高效液相色谱(UPLC)—二极管阵列检测器(PDA),建立了水产品中 17 种磺胺类(SAs)抗生素残留的快速同时检测技术。样品经乙酸乙酯提取,HLB 固相萃取柱净化,ACQUITY UPLC™ BEH C₁₈ 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm)分离,以甲醇-0.1%乙酸为流动相,二极管阵列检测器(PDA)检测。17 种磺胺在 8 min 内实现同时分离测定,磺胺类抗生素在 0.01~5 μg/ml(磺胺醋酰、磺胺嘧啶和磺胺二甲异嘧啶为 0.01~2 μg/ml)范围内线性关系良好($r \geq 0.9998$)。方法的检出限(S/N=3)为 2.0~5.0 μg/kg,17 种磺胺在添加水平分别为 10、40 μg/kg 时,平均回收率为 70.4%~91.4%和 73.3%~92.5%,相对标准偏差(RSD)小于 10%。结果表明,该方法快速、灵敏、高效,适用于水产品中多种磺胺类抗生素的同时测定。

关键词 超高效液相色谱 水产品 磺胺 药物残留

中图分类号 O657.72 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2010)05-0097-08

Rapid and simultaneous determination of seventeen sulfonamide residues in aquatic products by ultra performance liquid chromatography

GUO Meng-meng¹ LI Zhao-xin^{1*} TAN Zhi-jun¹ ZHAI Yu-xiu¹
YANG Shou-guo^{1,2} YAO Jian-hua^{1,2}

(¹Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(²Shanghai Ocean University, 201306)

ABSTRACT A method for the determination of 17 sulfonamides(SAs)in aquatic products by ultra performance liquid chromatography(UPLC)with photodiode array(PDA)detector was developed. The SAs in the samples were first extracted with ethyl acetate, then the ethyl acetate extraction was purified and concentrated by HLB cartridges. The analyses were performed on UPLC with an ACQUITY UPLC BEH C₁₈ column(2.1 mm×100 mm,1.7 μm), and the mobile phase was methanol-0.1% acetic acid aqueous solution. SAs were separated by gradient elution and detected by PDA within 8 min. This method showed a good linearity. For sulfacetamide, sulfadiazine and sulfisomidine, the linearity was in the range of 0.01~2 μg/ml, and for the other

国家科技支撑计划项目(2007BAD621305)和中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项基金(2008-ts-01)共同资助

* 通讯作者。E-mail: lizx@ysfri. ac. cn, Tel: (0532)85836348

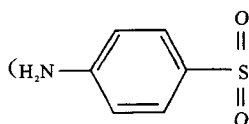
收稿日期:2009-07-28;接受日期:2009-09-21

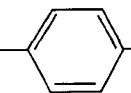
作者简介:郭萌萌(1981-),女,助理研究员,主要从事水产品质量与安全研究。E-mail: guomm@ysfri. ac. cn, Tel: (0532)85836348

SAs, the linearity ranged in 0.01~5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The detection limits of SAs were 2.0~5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($S/N=3$). At the spiked levels of 10 and 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the average recoveries of SAs were 70.4%~91.4% and 73.3%~92.5%, respectively. The relative standard deviations were less than 10%. Routine tests show that the proposed separation and determination method is rapid, sensitive and efficient and indicate that it is practical for the determination of SAs in aquatic products.

KEY WORDS Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)
Aquatic products Sulfonamides Drug residue

磺胺类药物 (Sulfonamides, SAs) 是具有对氨基苯磺酰胺结构的一类抗生素的总称



(H_2N -- $\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}-\text{R}$), 用于预防和治疗细菌感染性疾病, 因其具有疗效好、抗菌谱广、性质稳定、价格低廉等优点而被广泛应用于畜牧和水产养殖业。作为亚治疗剂量药物, SAs 的大量使用可导致细菌在巨大的环境选择压力下产生抗药性 (Hyde *et al.*, 2001), 其残留会通过食物链对人体产生副作用, 具有潜在的致畸、致癌、致突变等危害。因此, 多数国家或组织普遍将 SAs 列为动物饲养过程中限制使用药物, 并提出了严格的限量要求。国际食品法典委员会 (CAC) 和许多国家 (包括中国) 规定, 动物性食品和饲料中 SAs 总量的最高残留限量 (MRL) 为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

近年来, 由于养殖环境的恶化及养殖模式改变, 导致养殖过程中养殖对象疾病频发, 致使磺胺类等抗生素滥用, 造成了多种药物在水产品中同时残留的现状, 对我国水产品质量安全和消费者健康造成严重威胁。因此, 亟待研究一种高效的水产品中磺胺类抗生素多组分残留的同时检测技术。最近几年, 国内外关于水产品中 SAs 残留量的检测方法和检测标准相继出现, 如农业部 958 号公告-12-2007 采用液相色谱紫外检测和液相色谱柱后衍生荧光检测两种方法检测水产品中磺胺类药物残留 (郑斌等 2007), 农业部 1077 号公告-1-2008 用两种氘代试剂作内标, 采用液相色谱-串联质谱法同时测定鳗鱼和虾中磺胺类药物残留等 (冷凯良等 2008)。这些检测技术多采用高效液相色谱 (HPLC)、液相色谱串联质谱 (LC-MS) 等方法, HPLC 分离测定方法用梯度洗脱方式, 运行时间长, 结果重现性较差, 灵敏度偏低 (潘葳等 2004; Kunihiro *et al.*, 2001), 有的方法在分析过程中增加衍生化步骤并用荧光检测器检测以提高灵敏度, 使样品预处理和检测过程繁杂化 (郭柏坤等 2008); LC-MS 具有很好的灵敏度和准确性, 但分析方法相对复杂, 成本高, 不利于广泛普及 (李佐卿等 2007; 张海琪等 2007)。

本研究以 17 种常用的长效、高效 SAs 为分析目标, 采用超高效液相色谱 (Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC) 技术首次建立了水产品中多种磺胺类抗生素残留量的 UPLC 快速分析检测技术, 并将此方法应用于鱼、虾、蟹、海参等大批量样品的分析测定。实验表明, 该方法分析速度快、样品分析通量高、有机溶剂使用少、分析灵敏度和准确性高。同时利用固相萃取技术及二极管阵列检测器的全扫描功能克服了水产品中复杂基质的干扰, 实现了对多种 SAs 理想的定性、定量同步分析, 可满足国内外药物残留的不同检测要求, 适用于大批量样品的快速测定。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 样 品 来 源

本实验所用样品采自沈阳、大连和青岛 3 个城市的主要水产品市场, 包括鳕鱼、大菱鲆、鲤鱼、草鱼、鲈鱼样品各 4 个, 对虾、海参、河蟹样品各 10 个, 共计 50 个。

1.1.2 主要仪器

ACQUITY™超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),带二元高压梯度泵、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器(PDA)及 Waters Empower 数据处理工作站;KQ-300E 型超声波提取仪(昆山市超声仪器有限公司);XW-80A 型旋涡混合器(上海医大仪器厂);LXJ-II B 型离心机(上海安亭科学仪器厂);R-215 型旋转蒸发器(瑞士 BuChi 公司);N-EVAP™112 型氮气吹扫仪(美国 Organomation 公司);Visiperp DL 型固相萃取装置(美国 Supelco 公司);Waters Oasis HLB 固相萃取柱(60 mg/3ml);Milli-Q 型超纯水仪(美国 Millipore 公司)。

1.1.3 试剂与标准品

17 种磺胺类抗生素标准品包括磺胺醋酰(Sulfacetamide, SA)、磺胺嘧啶(Sulfadiazine, SD)、磺胺二甲异嘧啶(Sulfisomidine, SM2')、磺胺噻唑(Sulfathiazole, ST)、磺胺吡啶(Sulfapyridine, SPD)、磺胺甲基嘧啶(Sulfamerazine, SM1)、磺胺-5-甲氧嘧啶(Sulfameter, SMD)、磺胺甲噻二唑(Sulfamethizole, SMTZ)、磺胺二甲基嘧啶(Sulfamethazine, SM2)、磺胺甲氧吡嗪(Sulfamethoxypyridazine, SMP)、磺胺氯吡嗪(Sulfachloropyridazine, SCP)、磺胺甲基异噁唑(Sulfamethoxazole, SMZ)、磺胺-6-甲氧嘧啶(Sulfamonomethoxine, SMM)、磺胺多辛(Sulfadoxine, SDM')、磺胺异噁唑(Sulfafurazole, SFZ)、磺胺二甲氧嘧啶(Sulfadimethoxine, SDM)、磺胺喹噁啉(Sulfaquinoxaline, SQX),均购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司,纯度为 96%~99%;甲醇(色谱纯)、冰乙酸(优级纯)、超纯水(18.2 MΩ·cm)、乙酸乙酯、正己烷、无水硫酸钠(经 650 °C 灼烧 4 h,置于干燥器内备用)均为分析纯。

磺胺类抗生素标准储备液:准确称取 17 种磺胺类抗生素标准品各 10.0 mg,分别置于 10 ml 棕色容量瓶中,用甲醇溶解并定容,混匀,4 °C 避光保存。各磺胺标准储备液浓度为 1.0 mg/ml。

磺胺类抗生素混合标准中间液:分取 17 种磺胺标准储备液各 1 ml 于 100 ml 棕色容量瓶中,用甲醇稀释定容,即得混合标准中间液。该混合标准溶液含各种磺胺 10.0 μg/ml。

1.2 方法

1.2.1 样品制备

鱼:去鳞、去皮,沿背脊取肌肉部分;虾:去头、去壳,取可食肌肉部分;蟹、鳖等其他水产样品取可食部分,切为不大于 0.5 cm×0.5 cm×0.5 cm 的小块,经高速组织捣碎机充分匀浆。

1.2.2 提取

准确称取 5.00 g 匀浆后的样品,置于 50 ml 聚丙烯具塞离心管中,加入 25 ml 乙酸乙酯,超声 5 min,再加入 5 g 无水硫酸钠,涡旋混合 3 min,4 000 r/min 离心 5 min,将上清液小心转移至 100 ml 梨形瓶中,残渣再用 25 ml 乙酸乙酯提取 1 次,合并提取液,于 30 °C 水浴中减压旋转蒸发至近干。

1.2.3 净化

用 3 ml 甲醇-1%乙酸溶液(v/v,1:2)溶解上述残渣,超声 2 min,移入 10 ml 离心管中,加 3 ml 正己烷,涡旋混匀,3 000 r/min 离心 5 min,弃上层正己烷,再加入 3 ml 正己烷重复操作 1 次,下层溶液注入预先分别用 3 ml 甲醇和 6 ml 水活化处理的 Waters Oasis HLB 固相萃取柱中,保持自然流速过柱,依次用 3 ml 水和 2 ml 5%甲醇淋洗固相萃取柱,最后用 5 ml 甲醇洗脱,收集洗脱液。洗脱液于 35 °C 氮气吹干,残渣用 1 ml 甲醇-0.1%乙酸溶液(v/v,1:4)溶解,过 0.2 μm 滤膜至进样瓶中,供 UPLC 测定。

1.2.4 色谱条件

色谱柱:ACQUITY UPLC™ BEH C₁₈ 柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm);柱温:35 °C;流动相:A 为 0.1%冰乙酸,B 为甲醇,梯度洗脱参数见表 1。流速:0.4 ml/min;检测波长:270 nm;进样量:5 μl。

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

时间 Time(min)	A(%)	B(%)	曲线 Curve	时间 Time(min)	A(%)	B(%)	曲线 Curve
0.5	10	90	6	8.0	50	50	6
4.5	25	75	6	10.0	10	90	1
6.5	35	65	6				

1.2.5 标准曲线的绘制

取一定量 17 种磺胺类抗生素的混合标准中间液,用甲醇-0.1%乙酸溶液($v/v, 1:4$)稀释至所需混合标准系列。取 $5 \mu\text{l}$ 进样,据各组分的响应峰面积与相应的质量浓度进行线性回归,绘制标准曲线。

1.2.6 回收率和精密度的测定

准确称取 5.00 g 样品,分别向其中加入一定量的不同浓度的磺胺类抗生素混合标准溶液,涡旋混合 10 s ,放置 30 min ,然后再进行提取、净化及色谱分析。

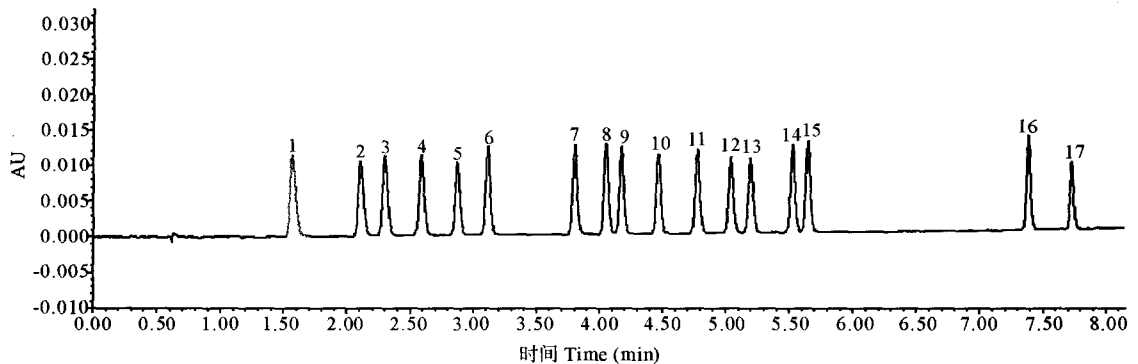
2 结果

2.1 UPLC 色谱图

图 1 为 SAs 混合标准溶液的 UPLC 色谱分离图,17 种 SAs 按 1.4 所述色谱条件,在 8 min 内即可实现快速、有效的分离,保留时间稳定,峰形尖锐、峰对称性佳。

图 2 为鳕鱼样品经化学预处理及 UPLC 分析后所得色谱图,可以看出此鱼肉样品不含磺胺类抗生素。

与之同步处理并测定添加水平为 $30 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的相同鱼肉样品,得到图 3 所示的 UPLC 分离色谱图,可以看出加标样品按实验方法处理、分析后,17 种组分同时得到良好的基线分离,保留时间稳定,基质不对磺胺类抗生素的检出峰存在干扰。



1. SA; 2. SD; 3. SM2'; 4. ST; 5. SPD; 6. SM1; 7. SMD; 8. SMTZ; 9. SM2; 10. SMP; 11. SCP; 12. SMZ; 13. SMM; 14. SDM'; 15. SFZ; 16. SDM; 17. SQX

图 1 17 种磺胺抗生素混合标准色谱

Fig. 1 Chromatogram of 17 SAs standards mixture

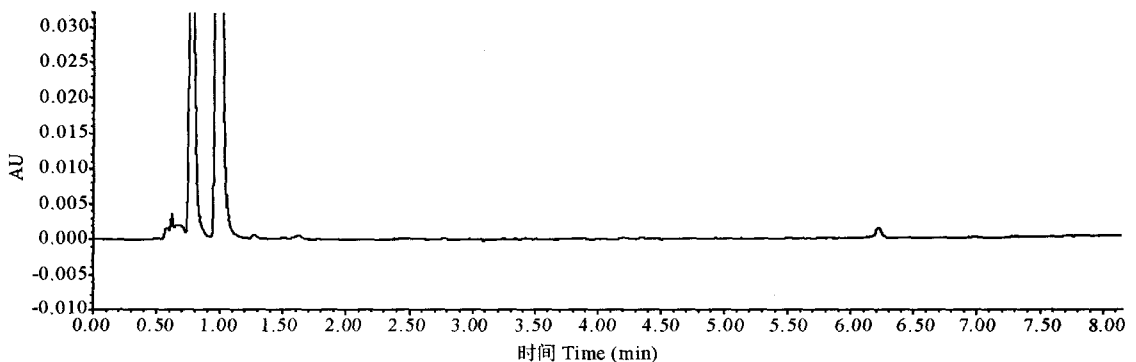
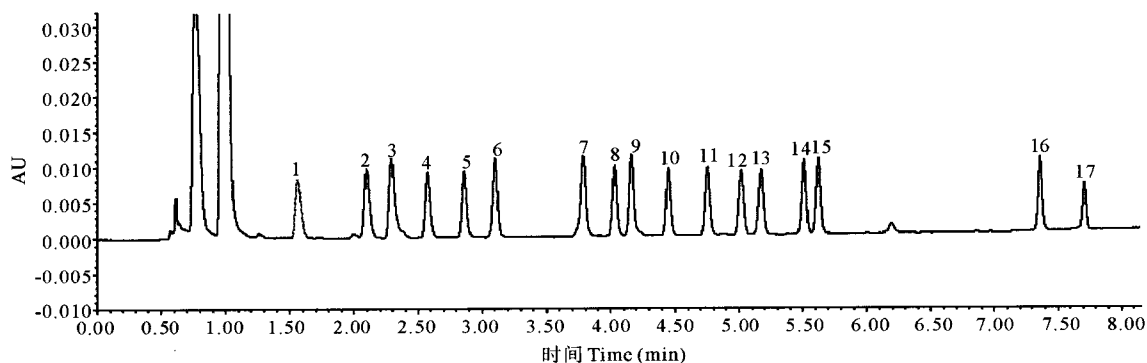


图 2 空白样品色谱

Fig. 2 Chromatogram of the blank sample

2.2 线性关系

配制系列浓度混合标准工作溶液,按设定色谱条件进行线性分析,以浓度($X, \mu\text{g/ml}$)对峰面积(Y)绘制工作曲线,结果见表 2。除磺胺醋酰、磺胺嘧啶和磺胺二甲异嘧啶 3 种组分的线性范围为 $0.01 \sim 2 \mu\text{g/ml}$ 外,其余组分都在 $0.01 \sim 5 \mu\text{g/ml}$ 浓度范围内,线性关系良好,相关系数 $r \geq 0.999 8$,由此说明本方法适用于多种磺胺类抗生素的定量分析。



1. SA; 2. SD; 3. SM2'; 4. ST; 5. SPD; 6. SM1; 7. SMD; 8. SMTZ; 9. SM2; 10. SMP; 11. SCP; 12. SMZ; 13. SMM; 14. SDM'; 15. SFZ; 16. SDM; 17. SQX

图 3 加标样品色谱

Fig. 3 Chromatogram of the spiked sample

表 2 磺胺类抗生素测定的线性关系

Table 2 Linearities of the sulfonamides

SA _s 磺胺类药物	线性范围 Linear range ($\mu\text{g/ml}$)	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient r
SA	0.01~2	$Y=6.52 \times 10^4 X - 5.21 \times 10^2$	0.999 9
SD	0.01~2	$Y=5.66 \times 10^4 X - 4.34 \times 10^2$	0.999 9
SM2'	0.01~2	$Y=5.80 \times 10^4 X - 5.64 \times 10^2$	0.999 8
ST	0.01~5	$Y=5.82 \times 10^4 X - 5.52 \times 10^2$	0.999 8
SPD	0.01~5	$Y=4.84 \times 10^4 X - 4.42 \times 10^2$	0.999 8
SM1	0.01~5	$Y=5.64 \times 10^4 X - 4.16 \times 10^2$	0.999 9
SMD	0.01~5	$Y=5.71 \times 10^4 X - 4.65 \times 10^2$	0.999 8
SMTZ	0.01~5	$Y=5.56 \times 10^4 X - 3.68 \times 10^2$	0.999 8
SM2	0.01~5	$Y=5.34 \times 10^4 X - 4.31 \times 10^2$	0.999 8
SMP	0.01~5	$Y=4.87 \times 10^4 X - 3.80 \times 10^2$	0.999 8
SCP	0.01~5	$Y=5.52 \times 10^4 X - 4.56 \times 10^2$	0.999 9
SMZ	0.01~5	$Y=5.00 \times 10^4 X - 4.35 \times 10^2$	0.999 9
SMM	0.01~5	$Y=5.07 \times 10^4 X - 3.84 \times 10^2$	0.999 8
SDM'	0.01~5	$Y=5.44 \times 10^4 X - 3.83 \times 10^2$	0.999 8
SFZ	0.01~5	$Y=5.69 \times 10^4 X - 4.89 \times 10^2$	0.999 8
SDM	0.01~5	$Y=5.39 \times 10^4 X - 5.43 \times 10^2$	0.999 8
SQX	0.01~5	$Y=3.43 \times 10^4 X - 4.00 \times 10^2$	0.999 8

2.3 添加回收率、检出限及精密度

采用在空白鱼肉样品中添加 SAs 混合标准溶液,再经提取、净化及色谱分析的方法,对 17 种磺胺两个添加水平(10、40 $\mu\text{g}/\text{kg}$)下进行回收率实验。每个添加水平设 5 个平行样品进行测定,计算平均值,结果见表 3。

以 3 倍信噪比求得 17 种磺胺类抗生素的检出限(LOD)为 2.0~5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,添加水平为 10 和 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,各组分的平均回收率分别为 70.4%~91.4%和 73.3%~92.5%,相对标准偏差(RSD)为 4.0%~9.7%,满足水产品中多种 SAs 组分的分析。

表 3 鱼肉中 SAs 的检出限及平均回收率($n=5$)

Table 3 Determination limits and recoveries in fish for SAs($n=5$)

Sulfonamide 磺胺类药物	不同添加浓度的回收率 Recoveries at different spiking levels				检出限 LOD($\mu\text{g}/\text{kg}$)
	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$		40 $\mu\text{g}/\text{kg}$		
	平均值 Mean(%)	相对标准偏差 RSD(%)	平均值 Mean(%)	相对标准偏差 RSD(%)	
SA	71.4 \pm 5.2	7.3	77.6 \pm 6.8	8.8	5.0
SD	79.6 \pm 6.8	8.5	87.4 \pm 5.9	6.8	3.0
SM2'	81.6 \pm 4.5	5.5	89.0 \pm 6.3	7.1	3.0
ST	76.6 \pm 4.1	5.4	78.7 \pm 6.2	7.8	4.0
SPD'	80.2 \pm 7.0	8.7	82.9 \pm 5.6	6.8	3.0
SM1	84.0 \pm 6.3	7.5	90.5 \pm 8.3	9.2	2.0
SMD	91.4 \pm 4.6	5.0	87.6 \pm 7.9	9.0	3.0
SMTZ	75.4 \pm 5.6	7.4	74.8 \pm 4.7	6.3	4.0
SM2	87.6 \pm 3.5	4.0	83.4 \pm 7.3	8.8	3.0
SMP	77.0 \pm 6.8	8.8	85.3 \pm 8.0	9.4	3.0
SCP	82.2 \pm 6.2	7.5	83.7 \pm 6.8	8.1	3.0
SMZ	80.6 \pm 7.7	9.6	86.1 \pm 7.4	8.6	3.0
SMM	76.2 \pm 5.8	7.6	88.3 \pm 8.6	9.7	3.0
SDM'	82.2 \pm 7.5	9.1	92.5 \pm 7.9	8.5	3.0
SFZ	75.6 \pm 5.2	6.9	87.2 \pm 5.8	6.6	3.0
SDM	80.8 \pm 7.0	8.7	80.4 \pm 6.1	7.6	3.0
SQX	70.4 \pm 3.6	5.1	73.3 \pm 4.5	6.1	5.0

研究显示,在动物组织中磺胺类抗生素残留量的检测方法中,本方法所测的最低检出浓度比文献报道的 HPLC 测定方法(陈振桂等 2007;吴银良等 2005)低 4~10 倍,灵敏度显著提高,线性范围较宽,相对标准偏差均小于 10%,稳定性好。

2.4 实际样品的测定

随机抽查了我国沈阳、大连和青岛地区的鱼、虾、蟹和海参 4 类养殖水产品,按上述方法进行预处理和检测,其中,20 个鱼肉样品中有两个样品分别检出 SM2 和 ST,含量分别为 27 \pm 1.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=3$)和 19 \pm 0.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=3$),10 个虾肉样品中有 1 个检出 SM2,含量为 21 \pm 1.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($n=3$),3 个样品中所含 SAs 总量均未超标。其余蟹和海参的各 10 个样品中未检出 SAs。

3 讨论

3.1 流动相的选择

参考磺胺类抗生素残留分析的文献报道(段振娟等 2007),目前一般采用甲醇/乙腈-乙酸或甲醇-乙腈-乙酸为测定磺胺的流动相。考虑到甲醇的毒性、成本较低及流动相组成的简单、易调性,本研究拟选用甲醇-乙酸为流动相。磺胺类抗生素基本化学结构为对位氨基苯磺酰胺,结构式中含有氨基,具有弱碱性,调节流动相的

pH 可以抑制 SAs 的解离,从而可影响其保留行为。实验中考察了 pH 对 17 种磺胺分离的影响,结果显示乙酸水溶液的浓度低于 0.1% 时,色谱峰形有明显的拖尾现象;乙酸水溶液浓度高于 0.2% 时,难以将 17 种磺胺完全分离。同时,甲醇与乙酸水溶液的比例会影响各组分的出峰顺序及其保留时间。本研究采用甲醇-0.1% 乙酸作为二元流动相体系,并按表 1 中所示的梯度洗脱程序,不仅很好地实现了 17 种磺胺类抗生素的分离,而且能有效地抑制峰形拖尾,各组分色谱峰间的分离度大,峰形尖锐,峰对称性好。

3.2 检测波长的选择

利用 PDA 二极管阵列检测器获得 17 种组分的光谱数据,得出各种组分在 220~360 nm 范围内有最大吸收。为兼顾各种组分的同时测定,选择在 260~280 nm 范围内进行实验,经综合比较,最终选定检测波长为 270 nm。在此波长下,检测 17 种磺胺类抗生素灵敏度高,各组分保留时间的重现性好,利用保留时间可进行定性分析。

同时,对于阳性可疑或基质复杂的样品,通过使用 PDA 二极管阵列检测器获得的检出峰与标准峰的 PDA 紫外光谱图相对照来进行检出峰的定性识别。

3.3 提取条件的选择

磺胺类抗生素一般为白色或微黄色结晶性粉末,难溶于水,较易溶于稀酸、稀碱和有机溶剂。分别选用乙腈、乙酸乙酯和二氯甲烷作为样品的提取溶剂,在同一添加水平、相同实验条件下,对样品进行预处理。实验结果表明,使用二氯甲烷提取时,样品组织漂浮在提取溶剂表面,倾倒困难,净化过程中易发生乳化现象;乙腈沸点高,而磺胺类抗生素遇热不稳定,浓缩温度宜低于 40 °C,将乙腈作提取剂,减压蒸发耗时长,易导致药物组分降解;使用乙酸乙酯提取效率最高,每个样品的浓缩时间约比乙腈少 10 min,回收率比乙腈高 10%~15%,比二氯甲烷高 20% 左右,且毒性小,样品基底干扰较少。因此,本方法选用乙酸乙酯作提取剂,提取水产品中磺胺类抗生素。

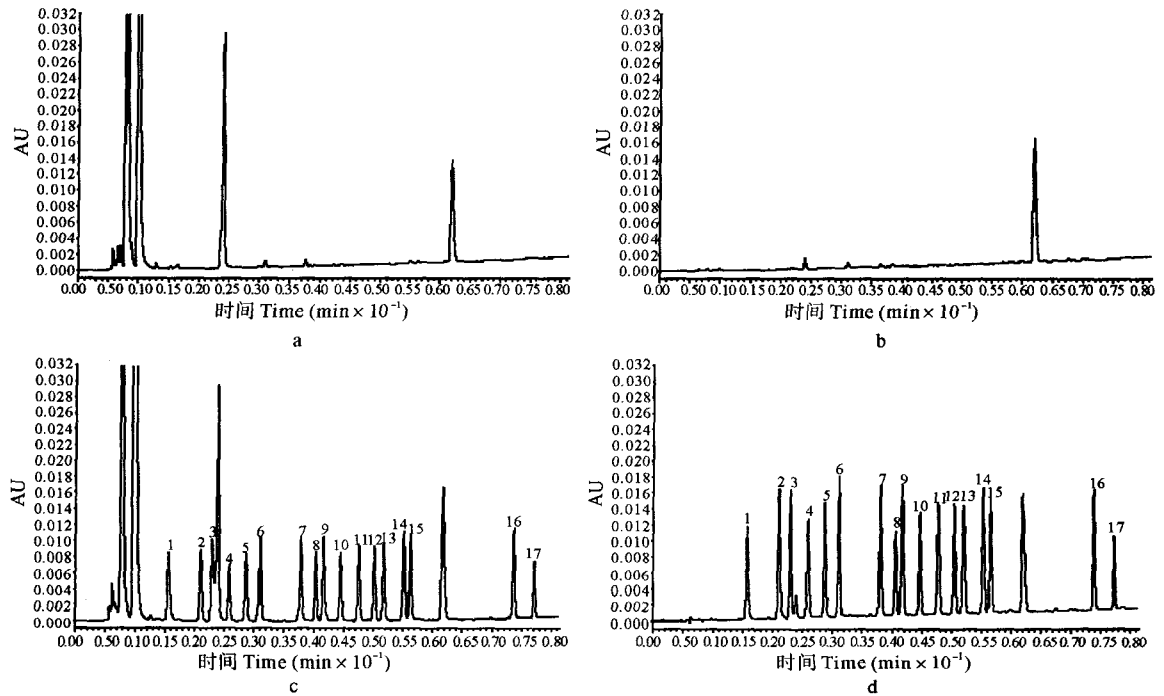
另外,在提取过程中加入无水硫酸钠,可有效防止样品中的水分进入提取液,有利于提高有机溶剂提取效果和降低乳化现象。提取液进一步经正己烷脱脂净化以减少样品中的脂溶性杂质及其对 UPLC 色谱柱的污染。

3.4 净化条件的选择

水产品基质较复杂,仅靠液液分配很难除去干扰物质,尤其是多组分残留分析。固相萃取(SPE)技术能选择性去除干扰杂质,获得高灵敏度(祝伟霞等 2007)。为富集磺胺类抗生素,净化提取液中的杂质,并获得较高的回收率,同时兼顾磺胺类抗生素为弱碱性化合物,本实验分别研究了通用型水可浸润性聚合物 SPE 柱-Oasis HLB 和混合型阳离子交换 SPE 柱-Oasis MCX 的处理效果。图 4 为鲤鱼样品分别经过上述两种 SPE 柱净化后的色谱比较图。图 4-a 中,样品经 MCX 柱处理后,分别在 0.80、1.00、2.40 和 6.20 min 有 4 个强杂质峰,而经 HLB 柱净化后的样品,0.80 和 1.00 min 的杂质峰消失,2.40 min 的杂质峰强度明显降低(图 4-b);在两个平行鲤鱼样品中均添加 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 SAs 混合标准溶液,可以观察到 MCX 柱处理后的样品对磺胺二甲异噻啉存在较强干扰(图 4-c),而加标样品经 HLB 柱处理净化后,谱图杂质峰很少,基本不存在对 17 种检出组分的干扰(图 4-d)。实验结果表明,对于复杂的水产品基质,HLB 柱去除杂质的效果较好,各种组分的平均回收率较高、重现性佳。

3.5 磺胺类抗生素检测方法的评价

本研究采用超高效液相色谱(UPLC)技术,在保留 HPLC 原有实用性的同时,凭借 UPLC 小颗粒填料、低系统体积等手段建立了水产品中多种磺胺类抗生素残留量的快速分析检测方法。该方法分析速度快、样品分析通量高、有机溶剂使用少、分析灵敏度和准确性高,可满足国内外药物残留的不同检测要求,适用于大批量样品的快速痕量药物残留分析。



注: 1. SA; 2. SD; 3. SM2'; 4. ST; 5. SPD; 6. SMI; 7. SMD; 8. SMTZ; 9. SM2; 10. SMP; 11. SCP; 12. SMZ; 13. SMM; 14. SDM'; 15. SFZ; 16. SDM; 17. SQX

A: Sample after MCX purification; B: The same sample after HLB purification;

C: Spiked sample after MCX purification; D: The same spiked sample after HLB purification

图5 样品和加标样品分别经MCX、HLB柱净化后的色谱

Fig. 5 Chromatograms of sample and spiked sample after MCX and HLB purification

4 结论

本文研究了水产品中多种磺胺类抗生素残留的UPLC测定方法,采用液液萃取(LLE)的经典处理方法结合固相萃取(SPE)建立了有效的样品提取、净化及最佳色谱条件,可以同时检测17种磺胺类抗生素。方法取样量少、操作简易、灵敏度高、线性范围宽、重现性佳,可节约大量的试剂和时间,适用于水产品中磺胺类抗生素残留的日常检测与批量监控。

参 考 文 献

- 李佐卿,倪梅林,俞雪钧,章再婷,谢东华,殷居易,洪嘉. 2007. 液相色谱-串联质谱法检测水产品中磺胺类和喹诺酮类药物残留. 分析测试学报, 26(4): 508~510
- 陈振柱,占春瑞,郭平. 2007. 高效液相色谱法同时测定水产品中13种磺胺类药物残留的研究. 食品科学, 28(10): 448~451
- 吴银良,刘素英,单吉浩,王海. 2005. 固相萃取-高效液相色谱法测定鸡肝中磺胺类药物残留量. 分析化学, 33(12): 1713~1716
- 张海琪,宋刚刚,徐晓林,何中央,张晨辉,侯镜德. 2007. 液相色谱-串联质谱法同时测定大黄鱼中20种磺胺类药物残留. 分析化学, 35(2): 268~272
- 冷凯良,王志杰,孙伟红,翟毓秀. 农业部1077号公告-1-2008. 水产品中17种磺胺类及15种喹诺酮类药物残留量的测定液相色谱-串联质谱法
- 郑斌,蔡友琼,于慧娟,陈伟斌,黄冬梅,陈雪昌,毕士川,钱蓓蕾. 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
- 段振娟,张鸿雁,王硕. 2007. 动物性食品中磺胺类药物残留分析研究进展. 食品研究与开发, 28(6): 149~152
- 祝伟霞,杨冀州,梁炜,张书胜. 2007. 固相萃取技术在兽药残留分析中的应用. 动物医学进展, 28(8): 99~101
- 郭柏坤,林赛君,柯春晖. 2008. 水产品中磺胺类残留量的柱前衍生荧光高效液相法的改进. 中国卫生检验杂志, 18(6): 1201
- 潘葳,饶秋华,苏德森. 2004. 鳊鱼中5种磺胺类药物残留的测定. 色谱, 22(2): 186
- Hyde, J. E., and Sims, P. F. 2001. Sulfa-drug resistance in *Plasmodium falciparum*. Trends Parasitol. 17(6): 265~266
- Kunihiro, K., and Naoto, F. 2001. Matrix solid-phase dispersion extraction and high-performance liquid chromatographic determination of residual sulfonamides in chicken. J. Chromatogr. A, 937(1): 49~55