

# 固相萃取-高效液相色谱法同时测定水产品中 15 种磺胺类药物残留

李倩<sup>1</sup>, 汤凯洁<sup>1</sup>, 冀坤霞<sup>1</sup>, 聂馨梦<sup>1</sup>, 郎济洲<sup>1</sup>, 杜华英<sup>1</sup>, 顾小红<sup>\*2</sup>

(1. 江西农业大学 食品科学与工程学院, 江西 南昌 330045; 2. 食品科学与资源挖掘全国重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 建立固相萃取-高效液相色谱法 (solid phase extraction-high performance liquid chromatography, SPE-HPLC) 同时检测水产品中 15 种磺胺类药物 (sulfonamides, SAs) 残留。样品用乙酸乙酯提取, 正己烷脱脂, PCX (polymer cation exchange) 固相萃取柱净化, 采用高效液相色谱法检测, 色谱条件为: Waters C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5.0 μm) 色谱柱分离, 以甲醇和含体积分数 1.1% 乙酸的 PBS 缓冲液 (0.01 mol/L) 为流动相进行梯度洗脱, 检测波长为 270 nm。15 种 SAs 在 65 min 内达到完全分离, 在 0.5~10.0 μg/mL 时线性关系良好, 相关系数均大于 0.990 0; 方法检出限为 10~20 μg/kg, 定量限为 20~60 μg/kg; 对空白鱼肉样品进行了 3 个质量分数水平 (500、1 000、2 000 μg/kg) 的加标实验, 测定其空白加标回收率为 73.1%~109.6%, 相对标准偏差 (relative standard deviations, RSDs) 在 1.0%~6.7%。实验建立的检测方法重现性和稳定性好、检出限低。对江西 10 个不同品种的水产品中磺胺类药物残留进行了采样检测, 结果均未检出, 表明江西水产品中磺胺类药物残留情况并不严重。

**关键词:** 磺胺类药物; 固相萃取; 高效液相色谱; 多残留; 水产品

中图分类号: TS 207.3 文章编号: 1673-1689(2024)01-0036-12 DOI: 10.12441/spyswjs.20221104004

## Simultaneous Determination of 15 Sulfonamides Residues in Aquatic Products by Solid Phase Extraction-High Performance Liquid Chromatography

LI Qian<sup>1</sup>, TANG Kaijie<sup>1</sup>, JI Kunxia<sup>1</sup>, NIE Xinmeng<sup>1</sup>, LANG Jizhou<sup>1</sup>, DU Huaying<sup>1</sup>, GU Xiaohong<sup>\*2</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Resources, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** A method of simultaneous determination of 15 sulfonamides residues in aquatic products was established by solid phase extraction-high performance liquid chromatography (SPE-HPLC). The samples were extracted with ethyl acetate, degreased with n-hexane, and purified by polymer cation exchange (PCX) solid phase extraction column. The analysis was performed by high performance liquid chromatography with a chromatographic condition of separation on a Waters C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5.0 μm) under gradient elution mode with methanol and PBS solution

收稿日期: 2022-11-04 修回日期: 2022-12-08

基金项目: 江西省自然科学基金重点项目 (20192ACB20007); 江西省大宗淡水鱼产业技术体系项目 (JXARS-3)。

\* 通信作者: 顾小红 (1971—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要从事仪器分析、食品安全检测等研究。E-mail: guxh@jiangnan.edu.cn

containing 1.1% acetic acid (0.01 mol/L) as the mobile phase. The target analytes were detected at the wavelength of 270 nm. The 15 sulfonamides were completely separated within 65 min, showing a good linear relationship within 0.5~10.0  $\mu\text{g/mL}$  with correlation coefficients greater than 0.990 0. The limits of detection were in the range of 10~20  $\mu\text{g/kg}$ , and the limits of quantitation were 20~60  $\mu\text{g/kg}$ . The blank recovery rates of spiked samples at three mass fraction levels (500, 1 000, 2 000  $\mu\text{g/kg}$ ) ranged from 73.1% to 109.6% with the relative standard deviations (RSDs) of 1.0%~6.7%. The established detection method in this study showed good reproducibility, stability, and low detection limit. The residues of SAs in 10 different species of aquatic products from Jiangxi province were sampled and detected, and no residues were detected, indicating that the residues of SAs in aquatic products from Jiangxi province were not severe.

**Keywords:** sulfonamides, solid phase extraction, high performance liquid chromatography, multi-residues, aquatic products

磺胺类药物(SAs)是一类以对氨基苯磺酰胺(sulfanilamide, SN)为基本结构的合成抗菌药的总称,是我国目前使用量居第二的兽用抗菌药。SAs具有抗菌谱广、价格低、使用方便等优点,被广泛用于治疗、预防动物疾病或促进动物生长<sup>[1]</sup>。SAs的超剂量、超范围使用导致其在动物体内蓄积,并通过食物链传给消费者<sup>[2]</sup>,引起人体的过敏反应、急慢性毒性,使细菌产生抗药性,甚至有致癌、致畸、致突变等风险<sup>[3-4]</sup>。为保障消费者安全,多个国家和政府都制定了SAs最大残留限量(maximum residue limit, MRL)标准。如国际食品法典委员会(Codex Alimentarius Commission, CAC)规定动物肌肉、肝脏、肾脏、脂肪等食品中SAs的MRL为100  $\mu\text{g/kg}$ <sup>[5]</sup>;我国农业农村部235号公告规定所有动物源性食品中SAs总的MRL为100  $\mu\text{g/kg}$ ,磺胺二甲基嘧啶在牛奶中的MRL为25  $\mu\text{g/kg}$ <sup>[6]</sup>;欧盟地区、日本等国家也对SAs的MRL做出了相同规定。可见SAs在国内外都有严格的限量标准,为加强监管,建立一种准确度高、灵敏度高的SAs多残留检测方法具有重要意义。根据统计,我国SAs在2013年的年消耗量达到了7 890 t,而其中88.5%是用于养殖业<sup>[7]</sup>。SAs在畜禽类(猪肉、鸡肉、鸭肉)<sup>[8]</sup>、蜂蜜<sup>[9]</sup>、奶牛粪污<sup>[10]</sup>中都有检出。在饮用水<sup>[11]</sup>、虾<sup>[12]</sup>以及泰国进口的鲶鱼<sup>[13]</sup>中都检测出了磺胺嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲恶唑与磺胺甲恶唑。董燕等对昌吉市3种食用鱼(草鱼、鲤鱼、鲢鱼)体内磺胺类药物残留进行分析,在20批次不同季度的鲤鱼体内均检出了SAs<sup>[14]</sup>。

可见水产品中SAs的残留不容乐观,而江西水产中SAs残留目前未见报道。目前,检测SAs残留的主要方法有免疫分析法与仪器分析法。免疫分析法有酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)<sup>[15]</sup>与胶体金法(colloidal gold-based immunochromatographic assay, CGIA)<sup>[16]</sup>,这两种方法都是根据抗原与抗体特异性结合进行检测,具有灵敏度高、检测速度快、特异性强等优点。但目前国内外这种快速检测方法仅用于筛查,筛查到的阳性样品仍然需要采用仪器方法进一步确证。仪器分析法有气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)<sup>[17-18]</sup>、高效液相色谱法<sup>[19-21]</sup>、超/高效液相色谱-串联质谱法(ultra/high liquid chromatography tandem mass spectrometry, UPLC/LC-MS/MS)<sup>[22-26]</sup>等。这些方法操作自动化程度高,定性定量准确, HPLC仪器相比其他两种仪器价格更便宜,是目前国内多数实验室和检测中心都配备的仪器,因此其应用更广。由于杂质峰会干扰检测和堵塞色谱柱,因此使用HPLC检测前需要对样品进行复杂的净化富集预处理。食品样品基质复杂,为了去除样品中杂质的干扰,通常都需要采用固相萃取柱净化和富集处理,如采用MCX固相萃取柱<sup>[27]</sup>、PCX固相萃取柱<sup>[28]</sup>和HLB固相萃取柱<sup>[29]</sup>净化富集鸡肉样品, QuEChERS净化管<sup>[30]</sup>处理鱼肉制品等。这几种净化富集小柱中, PCX固相萃取柱填料为混合型弱阳离子交换聚合物材料,具有离子交换和反相保留双重作用,其比表面积大,适用的pH

范围广,结合容量大,而且价格较 MCX 固相萃取柱与 HLB 固相萃取柱低 50%~70%,适用于富集和提取碱性化合物,如 SAs。但目前未见采用 PCX 固相萃取柱预处理鱼肉样品报道。以对氨基苯磺酰胺为 SAs 母体结构,在酰胺键上异构不同官能团衍生了 30 多种不同的 SAs 抗菌药,不同 SAs 由于其极性和分子大小不同,其高效液相色谱分离条件不同。《食品安全国家标准 动物性食品中 13 种磺胺类药物残留的测定 高效液相色谱法》(GB 29694—2013)<sup>[27]</sup>报道了 13 种 SAs 的检测方法,作者选择了 15 种 SAs 为研究对象,其中有 7 种是国家标准方法中没有包含的。研究 15 种 SAs 的 HPLC 分离条件和价格更低廉的 PCX 固相萃取柱对水产品中 SAs 提取净化条件,建立了同时测定水产品中 15 种 SAs 的 SPE-HPLC 分析方法。该方法与国家标准方法比较,不仅增加了两种 SAs 的检测,且有 7 种 SAs 与国家标准中不同,另外筛选的 PCX 固相萃取柱价格低,重复和重现性好,方法的检出限和灵敏度能满足国家标准中的限量要求,为水产品中 SAs 的残留检测提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与材料

**1.1.1 15 种 SAs 标准品** 磺胺嘧啶(sulfadiazine, SD)、磺胺噻唑(sulfathiazole, ST)、磺胺吡啶(sulfapyridine, SPD)、磺胺甲基嘧啶(sulfamerazine, SM1)、磺胺对甲氧嘧啶(sulfameter, SMD)、磺胺甲噻二唑(sulfamethizole, SMT)、磺胺二甲基嘧啶(sulfamethazine, SM2)、磺胺甲氧哒嗪(sulfamethoxypyridazine, SMP)、磺胺氯哒嗪(sulfachloropyridazine, SCP)、磺胺甲恶唑(sulfamethoxazole, SMZ)、磺胺间甲氧嘧啶(sulfamonomethoxine, SMM)、磺胺多辛(sulfadoxin, SDO)、磺胺异噁唑(sulfisoxazole, SIZ)、磺胺氯吡嗪钠(sulfachloropyrazine sodium, SPZ)、磺胺喹噁啉(sulfachinoxalin, SQ):北京世纪奥科生物技术有限公司。

**1.1.2 其他试剂与材料** 甲醇、乙腈(均为色谱纯);美国 TEDIA 天地试剂公司;冰乙酸、乙酸乙酯、正己烷(均为色谱纯)、无水硫酸钠(分析纯):美国 Macklin 公司;十二水合磷酸氢二钠、氨水(均为分析纯):西陇科学股份有限公司;无水磷酸二氢钠

(分析纯):阿拉丁生化科技股份有限公司;QuEChERS 净化管(15 mL,含有吸附剂 PSA 0.15 g、C<sub>18</sub> 0.15 g、MgSO<sub>4</sub> 0.9 g):逗点生物科技有限公司;PCX 固相萃取柱(60 mg, 3 mL):博纳艾杰尔科技有限公司;HLB 固相萃取柱(60 mg, 3 mL):德国 CNW 公司;实验用水为超纯水。草鱼:购于当地农贸市场。

### 1.2 仪器与设备

Waters E2695 高效液相色谱仪(配有 Waters2998 光电二极管阵列检测器(PDA)和 Empower 色谱工作站)、Waters C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm)色谱柱:美国 Waters 公司;HC-2518R 型高速冷冻离心机:安徽中科中佳科学仪器有限公司;HSE-24B 真空固相萃取装置:上海皓庄仪器有限公司;WD-12 氮吹仪:杭州奥盛仪器有限公司;Milli-Q 纯水仪:德国 Millipore 公司。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 色谱条件** Waters C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm)色谱柱;柱温 35 ℃;进样体积 10 μL;流量 1 mL/min;PDA 波长 270 nm;流动相:溶液 A 为甲醇,溶液 B 为含体积分数 1.1%乙酸的 PBS 缓冲液(0.01 mol/L);梯度洗脱程序:0~30 min, 体积分数 95% 溶液 B;30~50 min, 体积分数 80% 溶液 B;50~55 min, 体积分数 60% 溶液 B;55~60 min, 体积分数 60% 溶液 B;60~65 min, 体积分数 95% 溶液 B。

**1.3.2 标准溶液与流动相的配制** 分别准确称取 15 种 SAs 标准品 15.0 mg 于 50 mL 容量瓶中,用甲醇溶解定容,配制成质量浓度为 300 μg/mL 的单标储备液。再由 300 μg/mL 的单标储备液配制成质量浓度为 10.0 μg/mL 的单标和系列质量浓度混合标准溶液(0、0.5、1.0、5.0、8.0、10.0 μg/mL),于 -18 ℃ 下避光密闭保存。

**1.3.3 流动相的配制** 含体积分数 1.1%乙酸的 PBS 缓冲液(0.01 mol/L):准确称取 3.58 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、1.56 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,用超纯水溶解,加 11 mL 的冰醋酸,超纯水定容至 1 L。

### 1.3.4 样品的前处理

1) 提取 参考国家标准《水产品抽样规范》(GB/T 30891—2014)<sup>[31]</sup>,取肌肉、鱼皮等可食部分搅碎混匀备用,称取匀浆试样 1.00 g(精确至 0.01 g),置于 50 mL 已加有 5.00 g 无水硫酸钠的聚丙烯具塞离心管中,加入 3 mL 的乙酸乙酯提取溶剂,涡旋混匀 2 min,超声提取 30 min,8 000 r/min 离心 5



min,将上清液转移至另一离心管中,残渣再用3 mL的乙酸乙酯重复提取一次,合并两次提取液。

2) 净化与过柱 将乙酸乙酯提取液在45℃氮气下吹干,加入5 mL 0.1 mol/L HCl和10 mL正己烷,涡旋混匀1~2 min,然后以8 000 r/min离心5 min,弃去上层正己烷,下层的盐酸层留待PCX固相萃取柱净化。

PCX固相萃取柱洗脱程序:PCX固相萃取柱依次用3 mL甲醇、3 mL 0.1 mol/L HCl活化,将离心所得的盐酸层样液以5滴/s的速度过PCX固相萃取柱,再用3 mL甲醇、3 mL 0.1 mol/L HCl淋洗,最后用4 mL体积分数5%氯化甲醇洗脱。HLB固相萃取柱洗脱程序:HLB固相萃取柱依次用3 mL甲醇、3 mL超纯水活化,将离心所得的盐酸层样液以5滴/s的速度过HLB固相萃取柱,依次用3 mL水、3 mL体积分数5%甲醇淋洗,最后用4 mL体积分数5%氯化甲醇洗脱。QuEChERS净化管应用程序:将离心所得的盐酸层样液转移到QuEChERS净化管

中,涡旋混匀1 min,8 000 r/min离心5 min,取上清液备用。分别收集PCX固相萃取柱、HLB固相萃取柱的洗脱液与QuEChERS净化管中净化后的上清液,于45℃氮气吹干,用1 mL初始比例流动相复溶,复溶液过0.22 μm滤膜,留待高效液相色谱测定。

**1.3.5 数据处理** 所有的实验至少重复进行3次,不同提取溶剂的提取回收率显著性分析采用IBM SPSS Statistics 27处理, $P<0.05$ 表示差异显著;HPLC数据采用Empower色谱工作站采集;使用Origin 2018和Excel 2016进行图表的绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 15种SAs紫外吸收波长的确定

采用高效液相色谱在200~400 nm波长进行扫描,确定了15种SAs的最大吸收波长,结果见表1。由表1可知,所检测的15种SAs在250~285 nm时有较强的吸收,后续实验选择270 nm作为15种SAs的最大吸收波长,即检测波长。

表1 15种SAs的最大吸收波长

Table 1 Maximum absorption wavelengths of 15 kinds of SAs

SAs	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	SAs	$\lambda_{\max}/\text{nm}$	SAs	$\lambda_{\max}/\text{nm}$
磺胺嘧啶	262	磺胺噻唑	285	磺胺吡啶	262
磺胺甲基嘧啶	264	磺胺对甲氧嘧啶	267	磺胺甲噻二唑	277
磺胺二甲嘧啶	263	磺胺甲氧哒嗪	262	磺胺氯哒嗪	266
磺胺甲恶唑	266	磺胺间甲氧嘧啶	270	磺胺多辛	269
磺胺异噻唑	265	磺胺氯吡嗪钠	259	磺胺喹噁啉	250

### 2.2 流动相与梯度洗脱程序优化

为了实现15种SAs完全分离,流动相条件采用梯度洗脱,实验重复3次。实验设计了3种不同的梯度洗脱分离程序,考察不同梯度洗脱对15种SAs(各组分质量浓度均为2 μg/mL)分离效果的影响,梯度洗脱程序1、2、3分别如表1、2、3所示,分离色谱图如图1所示。采用梯度洗脱程序1分离得到的色谱图如图1中A所示,在15~35 min,SD、ST、SPD、SM1四种SAs完全分离,但响应较低;在40~47 min,9种SAs响应较好,但未实现完全分离。采用梯度洗脱程序2分离得到的色谱图如图1中B所示,绝大部分SAs的出峰时间提前,13~37 min色谱峰完全分离,但SAs响应值较低;SDO与SIZ未实现完全分离。采用梯度洗脱程序3分离得到的色谱图如图1中C所示,色谱图SMD(峰5)与SMT

(峰6)两峰之间的分离度为1.2,实现了98%的分离,其余相邻两峰之间分离度均不小于1.5,实现了完全分离,且峰形对称,更尖锐。因此,后续实验选择梯度洗脱程序3进行分析与定量。

表2 流动相梯度洗脱程序1

Table 2 Mobile phase gradient elution procedure 1

时间/min	流动相A 体积分数/%	流动相B 体积分数/%
0	5	95
30	5	95
45	40	60
55	40	60
60	5	95
65	5	95

表 3 流动相梯度洗脱程序 2

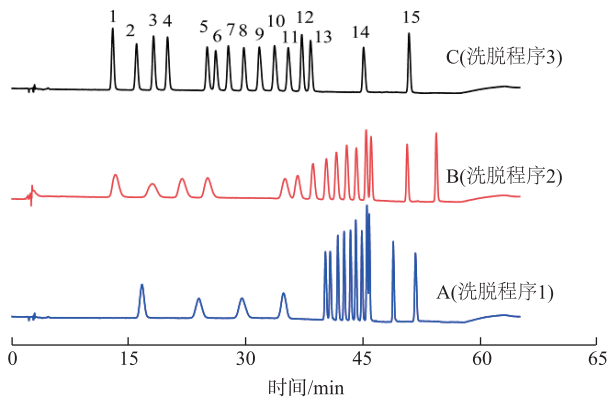
Table 3 Mobile phase gradient elution procedure 2

时间/min	流动相 A 体积分数/%	流动相 B 体积分数/%
0	5	95
30	10	90
50	40	60
55	40	60
60	5	95
65	5	95

表 4 流动相梯度洗脱程序 3

Table 4 Mobile phase gradient elution procedure 3

时间/min	流动相 A 体积分数/%	流动相 B 体积分数/%
0	5	95
30	20	80
50	40	60
55	40	60
60	5	95
65	5	95



1. SD; 2. ST; 3. SPD; 4. SM1; 5. SMD; 6. SMT; 7. SM2; 8. SMP; 9. SCP; 10. SMZ; 11. SMM; 12. SDO; 13. SIZ; 14. SPZ; 15. SQ.

图 1 15 种 SAs 3 种梯度洗脱程序高效液相色谱图

Fig. 1 High performance liquid chromatograms of 15 kinds of SAs under 3 kinds of elution procedures

2.3 SAs 标准曲线的绘制

将 1.3.2 中所配制的系列质量浓度混合标准溶液依次进行高效液相色谱测定,以溶液质量浓度为横坐标( $x$ ),峰面积为纵坐标( $y$ ),绘制 SAs 的标准曲线,15 种 SAs 的标准曲线如图 2 所示。

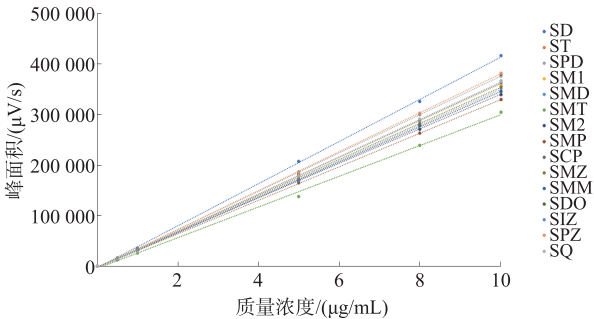


图 2 15 种 SAs 标准曲线

Fig. 2 Standard curves of 15 kinds of SAs

2.4 提取条件的优化

**2.4.1 样品提取溶剂的选择** 15 种 SAs 的衍生基团不同,其极性大小不同。不同的提取溶剂会影响其提取回收率,一般采用极性有机溶剂进行提取以避免提取出过多的脂肪。根据 15 种 SAs 的理化性质和相关文献,对比了体积分数 3% 乙酸乙腈、乙酸乙酯、体积分数 80% 乙醇、乙腈、体积分数 80% 乙腈与二氯甲烷 6 种提取溶剂对 15 种 SAs 提取效果 ( $n=6$ )。在空白鱼肉样品中加入 1 mL 5  $\mu\text{g/g}$  SAs 混合标准溶液,按照 1.3.4 中的提取方法处理,计算不同提取溶剂的提取回收率 ( $n=6$ ),比较结果如图 3 所示,此外,采用新复极差法 (shortest significant ranges, SSR) 比较不同提取溶剂的提取回收率是否具有显著差异,结果如表 5 所示。由图 3 与表 5 可见,采用乙酸乙酯提取时杂峰干扰小,对 15 种 SAs 的提取回收率在 84.1%~102.7%,这与郑斌等运用高效液相色谱测定水产品中的 14 种 SAs (88.9%~98.6%)<sup>[32]</sup> 结果一致且提取回收率略高;乙腈的提取回收率在 64.6%~92.0%,其对极性弱的 SAs 提取效果不佳,尤其对 SIZ 与 SPZ,提取回收率仅为 65.0% 左右,而且在使用正己烷净化过程中会产生乳化贴壁现象,且色谱图上杂峰较多,杂质干扰大;体积分数 3% 乙酸乙腈与二氯甲烷提取回收率在 70.8%~99.0%,其对弱极性 SAs 提取效果较好,而对 ST 与 SPZ 提取回收率较低;体积分数 80% 乙醇和体积分数 80% 乙腈杂质干扰相对较小,对 15 种 SAs 的提取回收率在 68.3%~94.9%。由表 5 可见,因检测的 SAs 和所比较的提取溶剂种类较多,6 种不同的提取溶剂间对每种磺胺类药物提取回收率间差异的显著性均不完全一致,但乙酸乙酯对大部分的 SAs 提取回收率与其他提取溶剂相比存在显著差异 ( $P<0.05$ ),因此,综合考虑,最终选择乙酸乙酯作为提取

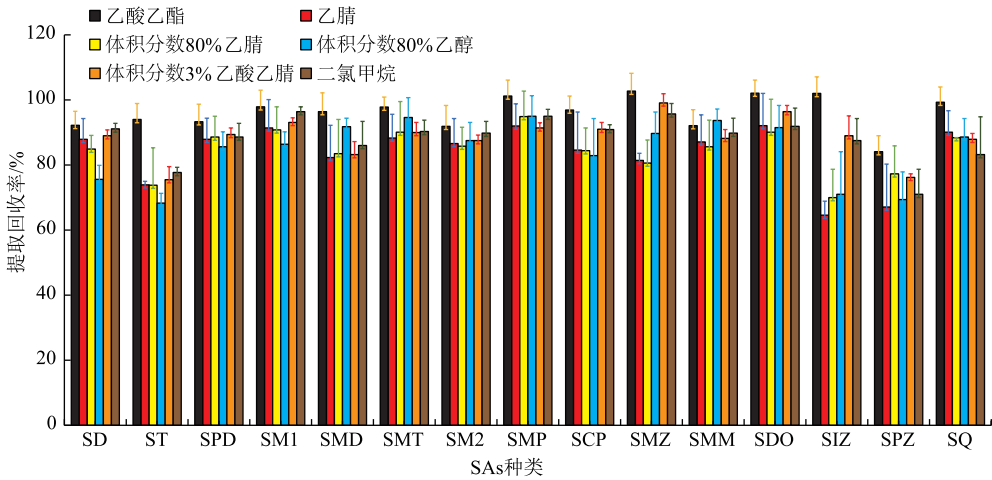


图 3 不同提取溶剂对 15 种 SAs 的提取回收率比较

Fig. 3 Comparison of extraction recoveries of 15 kinds of SAs using different solvents

表 5 6 种不同提取溶剂对 15 种 SAs 提取回收率的差异显著性分析 (SSR<sub>0.05</sub>)

Table 5 Significance analysis of the differences in the extraction recoveries of 15 kinds of SAs with 6 different extraction solvents (SSR<sub>0.05</sub>)

SAs	提取回收率/%					
	乙酸乙酯	乙腈	体积分数 80%乙腈	体积分数 80%乙醇	体积分数 3%乙酸乙酯	二氯甲烷
SD	92.2 <sup>a</sup>	87.9 <sup>ab</sup>	84.8 <sup>b</sup>	75.6 <sup>c</sup>	88.9 <sup>ab</sup>	91.0 <sup>a</sup>
ST	93.9 <sup>a</sup>	73.8 <sup>bc</sup>	73.7 <sup>bc</sup>	68.3 <sup>c</sup>	75.4 <sup>b</sup>	77.7 <sup>b</sup>
SPD	93.2 <sup>a</sup>	87.8 <sup>ab</sup>	88.6 <sup>ab</sup>	85.5 <sup>b</sup>	89.4 <sup>ab</sup>	88.5 <sup>ab</sup>
SM1	97.3 <sup>a</sup>	91.3 <sup>abc</sup>	90.7 <sup>bc</sup>	86.4 <sup>c</sup>	93.0 <sup>abc</sup>	96.4 <sup>ab</sup>
SMD	96.3 <sup>a</sup>	82.2 <sup>c</sup>	83.4 <sup>c</sup>	91.7 <sup>ab</sup>	83.2 <sup>c</sup>	86.0 <sup>bc</sup>
SMT	97.7 <sup>a</sup>	88.3 <sup>a</sup>	90.0 <sup>a</sup>	94.5 <sup>a</sup>	89.9 <sup>a</sup>	90.3 <sup>a</sup>
SM2	91.9 <sup>a</sup>	86.6 <sup>a</sup>	85.8 <sup>a</sup>	87.4 <sup>a</sup>	87.5 <sup>a</sup>	89.7 <sup>a</sup>
SMP	101.2 <sup>a</sup>	91.9 <sup>b</sup>	94.9 <sup>ab</sup>	94.9 <sup>ab</sup>	91.3 <sup>b</sup>	94.9 <sup>ab</sup>
SCP	96.8 <sup>a</sup>	84.6 <sup>b</sup>	84.4 <sup>b</sup>	82.9 <sup>b</sup>	90.7 <sup>ab</sup>	90.9 <sup>ab</sup>
SMZ	102.7 <sup>a</sup>	81.3 <sup>d</sup>	80.5 <sup>d</sup>	89.6 <sup>c</sup>	99.0 <sup>ab</sup>	95.6 <sup>b</sup>
SMM	92.1 <sup>a</sup>	87.0 <sup>a</sup>	85.6 <sup>a</sup>	93.7 <sup>a</sup>	88.3 <sup>a</sup>	89.7 <sup>a</sup>
SDO	102.0 <sup>a</sup>	92.0 <sup>b</sup>	90.3 <sup>b</sup>	91.5 <sup>b</sup>	96.4 <sup>ab</sup>	91.8 <sup>b</sup>
SIZ	102.0 <sup>a</sup>	64.6 <sup>d</sup>	70.0 <sup>cd</sup>	75.1 <sup>c</sup>	88.9 <sup>b</sup>	87.5 <sup>b</sup>
SPZ	84.1 <sup>a</sup>	67.0 <sup>c</sup>	77.3 <sup>ab</sup>	69.4 <sup>bc</sup>	76.1 <sup>b</sup>	70.8 <sup>bc</sup>
SQ	99.3 <sup>a</sup>	90.1 <sup>b</sup>	88.4 <sup>b</sup>	88.5 <sup>b</sup>	87.9 <sup>b</sup>	83.2 <sup>b</sup>

注:不同字母代表差异显著 ( $P<0.05$ )。

溶剂。

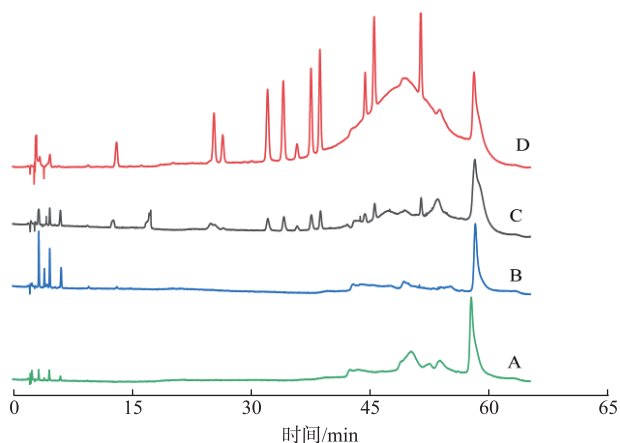
**2.4.2 净化小柱的筛选** 样品按照 1.3.4 中的提取与正己烷脱脂,下层的 HCl 层样液分别过 PCX 固相萃取柱、HLB 固相萃取柱与 QuEChERS 净化管,对 SAs 的加标回收率进行比较。

结果发现 PCX 固相萃取柱净化效果好,杂质干扰少,加标回收率在 72.1%~100.2%,略高于其他学者<sup>[33-34]</sup>用 PCX 固相萃取柱对猪肉 (70.2%~89.9%) 与

蜂蜜 (77%~99%) 样品中 SAs 检测的加标回收率;虽然 HLB 固相萃取柱净化后杂质干扰也少,但加标回收率低,仅为 6%~10%,说明 HLB 固相萃取柱对 SAs 吸附能力差;QuEChERS 净化管净化后杂质干扰最大,且加标回收率低,为 9%~17%。因此,选择 PCX 固相萃取柱进行样品净化。

**2.4.3 上样溶剂的筛选** 实验研究发现,不同极性的上样溶剂会影响 PCX 固相萃取柱对 SAs 的保留

效果。为了最大程度地保留 SAs,提高加标回收率,溶解样品的溶液极性必须较弱。实验分别对体积分数 2%乙酸水溶液 (pH 3)、质量分数 0.05% NaOH 溶液 (pH 7)、PBS 缓冲液、0.1 mol/L HCl 4 种上样溶剂的 SAs 吸附效果进行了比较。样品按照 1.3.4 中的方法提取后,分别加入 5 mL 上述的 4 种上样溶剂与 10 mL 正己烷,净化后弃去正己烷层过 PCX 固相萃取柱后供 HPLC 分析,结果如图 4 所示。由图可见,以 0.1 mol/L HCl 为上样溶剂时,检测上样流出液几乎未检测到 15 种 SAs 的色谱峰,说明 15 种 SAs 基本被 PCX 固相萃取柱保留 (见图 4 中 A),加标回收率为 73.1%~109.6%;以 PBS 缓冲液为上样溶剂时,检测上样流出液也几乎未检测到 15 种 SAs,但在 5~7 min 处杂峰干扰较多 (见图 4 中 B),加标回收率为 68.7%~97.5%;而体积分数 2%乙酸水溶液 (pH 3) 和质量分数 0.05% NaOH 溶液 (pH 7) 为上样溶剂时,在上样流出液中检测到多种明显的 SAs 色谱峰,两者对 15 种 SAs 的加标回收率偏低,分别为 56.6%~84.2%与 9.0%~47.6%。尤其是质量分数 0.05% NaOH 溶液 (pH 7) 为上样溶剂时,流出液中有 6 种 SAs 色谱峰很高,说明采用这两种溶剂上样时对绝大部分的 SAs 保留效果较差,可能是 SAs 易溶于稀碱溶液,导致加标回收率降低。



A. 0.1 mol/L HCl; B. PBS 缓冲液; C. 体积分数 2% 乙酸水溶液 (pH 3); D. 质量分数 0.05% NaOH 溶液 (pH 7)。

图 4 不同上样溶液对 15 种 SAs 的保留效果

Fig. 4 Effects of different loading solutions on the retention of 15 kinds of SAs

**2.4.4 淋洗条件的选择** 淋洗是为了洗掉干扰组分,而 SAs 被保留。分别比较了 3 mL 的水、体积分数 2%甲酸水溶液与 0.1 mol/L HCl 淋洗 PCX 固相

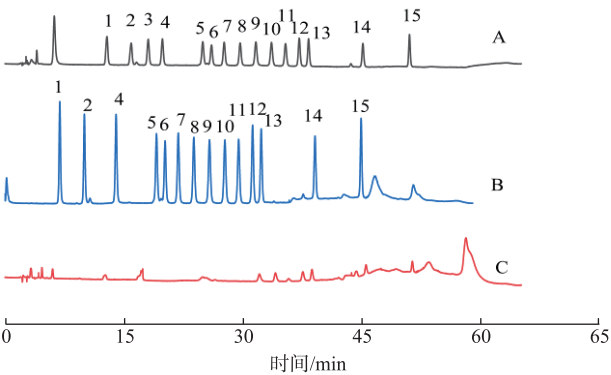
萃取柱,分别收集不同淋洗液后采用高效液相色谱检测分析,发现均未检测到 15 种 SAs,说明三者淋洗液极性强度适中,都可以淋洗杂质。后续实验选择 3 mL 0.1 mol/L HCl 作为淋洗液。

**2.4.5 洗脱条件的选择** 为了完全洗脱 PCX 固相萃取柱吸附的 15 种 SAs,根据相关文献报道,本文中比较了 3 种洗脱液 (甲醇–乙酸乙酯–氨水 (体积比为 49:49:2) 混合液<sup>[35]</sup>、甲醇<sup>[36]</sup>、体积分数 5% 氨化甲醇<sup>[37]</sup>) 对 SAs 的洗脱效果,结果如图 5 所示。当以体积分数 5% 氨化甲醇洗脱时,样品中 15 种 SAs 几乎完全被洗脱,洗脱回收率在 78.7%~89.3% (见图 5 中 A);以甲醇–乙酸乙酯–氨水 (体积比为 49:49:2) 混合液洗脱时,除 SPD 未被洗脱,其余 SAs 均被洗脱,洗脱回收率略低于体积分数 5% 氨化甲醇 (见图 5 中 B);以甲醇洗脱时,只有少部分的目标物能被洗脱,且洗脱回收率仅为 7.0%~26.0% (见图 5 中 C)。因此,强极性的体积分数 5% 氨化甲醇洗脱效果最好。此外,比较了 4 种不同体积分数 (1%、3%、5%、7%) 的氨化甲醇对 15 种 SAs 的洗脱效果。结果显示随着氨化甲醇体积分数的增加,洗脱回收率呈上升趋势。这与王宏宇等采用 SPE–UPLC 同时测定猪肉中 22 种磺胺类药物残留所优化的洗脱条件<sup>[38]</sup>一致。体积分数为 5% 和 7% 的氨化甲醇对 15 种 SAs 的洗脱回收率分别为 78.7%~89.3%、82.5%~103.5%,两者洗脱回收率比较接近。体积分数 1% 氨化甲醇洗脱回收率仅为 21.4%~45.8%,而体积分数 3% 氨化甲醇为 62.1%~82.3%。最终选择以体积分数 5% 氨化甲醇作为 PCX 固相萃取柱的洗脱液。

## 2.5 加标回收率与精密度

准确称取 1.00 g 空白鱼肉样品,进行 3 个质量分数水平 (500、1 000、2 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 的加标回收实验;按照 1.3.4 的前处理方法对样品进行处理后采用高效液相色谱检测。每个水平重复实验 6 次,使用标准曲线校正并测定 SAs 质量分数,计算加标回收率、日内与日间的 RSDs,空白鱼肉样品与加标鱼肉样品色谱图见图 6 中 A 和 B,其结果见表 6。由表 6 可见,除 2 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  SPZ 的加标回收率略低 (73.1%),其他 SAs 在 3 个质量分数下的加标回收率在 78.6%~109.6%,RSDs 在 1.0%~6.7%,日内与日间的 RSDs 分别在 1.3%~6.7% 与 1.0%~6.4%,说明所建立方法准确,重复性与重现性均较好。

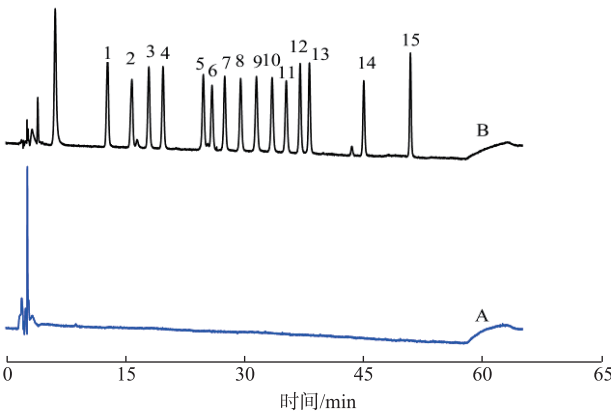




A. 体积分数 5% 氨化甲醇; B. 甲醇-乙酸乙酯-氨水(体积比为 49:49:2)混合液; C. 甲醇; 1. SD; 2. ST; 3. SPD; 4. SM1; 5. SMD; 6. SMT; 7. SM2; 8. SMP; 9. SCP; 10. SMZ; 11. SMM; 12. SDO; 13. SIZ; 14. SPZ; 15. SQ。

图 5 不同洗脱液对 15 种 SAs 的洗脱效果

Fig. 5 Elution effects of different eluents on 15 kinds of SAs



A. 空白鱼肉样品; B. 加标鱼肉样品(各组分质量分数均为 2 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ); 1. SD; 2. ST; 3. SPD; 4. SM1; 5. SMD; 6. SMT; 7. SM2; 8. SMP; 9. SCP; 10. SMZ; 11. SMM; 12. SDO; 13. SIZ; 14. SPZ; 15. SQ。

图 6 空白鱼肉样品及加标样品的高效液相色谱图

Fig. 6 High performance liquid chromatograms of the blank and spiked fish samples

2.6 检出限与定量限

准确取 1.00 g 的空白草鱼样品,并向其中添加不同质量浓度的混合标准溶液,按照 1.3.4 的前处理方法对样品进行处理后上机检测。按照相关文献所报道的关于分析方法验证的指导原则<sup>[39-40]</sup>,用基于响应值的标准偏差和标准曲线的斜率来定义方法的检出限 (limits of detection, LODs) 和定量限 (limits of quantitation, LOQs),结果见表 7。方法的检出限与定量限分别在 10~20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  与 20~60  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,

表 6 15 种 SAs 的加标回收率与精密度

Table 6 Recoveries and precision of 15 kinds of SAs

SAs	添加质量分数/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	加标回收率/%	相对标准偏差/%	
			日内	日间
磺胺嘧啶	500	99.2	2.4	3.6
	1 000	92.2	5.9	5.8
	2 000	86.0	4.3	5.8
磺胺噻唑	500	107.4	1.7	2.2
	1 000	94.0	6.3	5.4
	2 000	78.6	4.9	5.4
磺胺吡啶	500	105.1	3.7	5.9
	1 000	93.3	6.7	1.0
	2 000	87.0	5.4	5.6
磺胺甲基嘧啶	500	105.7	3.5	5.1
	1 000	97.9	4.5	5.6
	2 000	88.8	5.1	5.9
磺胺对甲氧嘧啶	500	108.6	2.7	2.9
	1 000	96.4	4.4	5.2
	2 000	83.5	5.8	5.1
磺胺甲噻二唑	500	104.0	5.2	6.4
	1 000	97.8	3.8	6.0
	2 000	80.4	3.1	3.1
磺胺二甲基嘧啶	500	101.3	4.1	3.7
	1 000	91.9	4.3	2.6
	2 000	85.6	6.4	6.0
磺胺甲氧哒嗪	500	106.5	3.9	5.9
	1 000	101.2	4.7	5.3
	2 000	88.5	4.9	5.3
磺胺氯哒嗪	500	98.7	3.0	4.8
	1 000	96.9	1.3	6.3
	2 000	88.9	4.3	4.1
磺胺甲恶唑	500	107.7	1.5	4.9
	1 000	102.7	4.3	3.4
	2 000	89.8	5.5	3.3
磺胺间甲氧嘧啶	500	106.5	3.3	5.9
	1 000	92.1	4.5	5.6
	2 000	82.1	4.9	5.0
磺胺多辛	500	107.8	4.4	5.7
	1 000	102.1	3.1	2.9
	2 000	89.0	4.0	2.9
磺胺异噁唑	500	109.6	1.5	3.0
	1 000	102.0	2.8	5.6
	2 000	90.9	5.1	5.1
磺胺氯吡嗪钠	500	102.2	4.5	6.1
	1 000	84.1	4.8	5.8
	2 000	73.1	4.9	5.3
磺胺喹噁啉	500	107.7	1.7	4.5
	1 000	99.3	3.2	2.6
	2 000	88.1	4.7	5.3

注:加标回收率为  $n=6$  的平均值。



表 7 该方法的线性范围、线性方程、检出限与定量限

Table 7 Linear range, linear equation, LOD, and LOQ of the method

SAs	线性方程	线性范围/(μg/mL)	相关系数 $R^2$	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
磺胺嘧啶	$y=40\ 958x-2\ 124.7$	0.5~10.0	0.990 6	10	40
磺胺噻唑	$y=41\ 286x-1\ 077.3$	0.5~10.0	0.990 1	10	40
磺胺吡啶	$y=37\ 885x-2\ 856.1$	0.5~10.0	0.999 9	10	40
磺胺甲基嘧啶	$y=36\ 293x-2\ 534.2$	0.5~10.0	0.999 9	10	30
磺胺对甲氧嘧啶	$y=35\ 410x-4\ 218.5$	0.5~10.0	0.990 6	10	50
磺胺甲噻二唑	$y=30\ 351x-3\ 890.7$	0.5~10.0	0.998 0	20	50
磺胺二甲基嘧啶	$y=34\ 166x-1\ 722.3$	0.5~10.0	0.999 9	10	40
磺胺甲氧哒嗪	$y=33\ 168x-2\ 111.4$	0.5~10.0	0.999 9	10	40
磺胺氯哒嗪	$y=36\ 551x-2\ 451.4$	0.5~10.0	0.999 9	20	60
磺胺甲恶唑	$y=35\ 608x-2\ 556.3$	0.5~10.0	0.999 8	10	40
磺胺间甲氧嘧啶	$y=35\ 026x-1\ 766.9$	0.5~10.0	0.999 4	10	30
磺胺多辛	$y=38\ 189x-3\ 945.3$	0.5~10.0	0.999 7	10	20
磺胺异噁唑	$y=36\ 636x-4\ 650.0$	0.5~10.0	0.998 5	20	50
磺胺氯吡嗪钠	$y=38\ 498x-4\ 723.2$	0.5~10.0	0.999 5	10	20
磺胺喹噁啉	$y=36\ 865x-4\ 106.8$	0.5~10.0	0.999 6	20	50

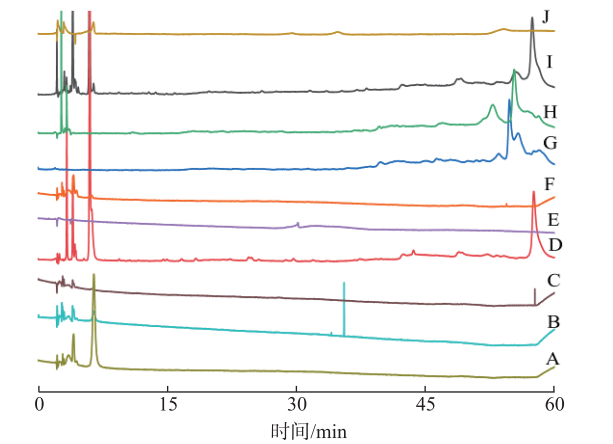
该方法的检出限和定量限能满足标准的需要。

2.7 实际样品的测定

采用实验优化的方法,对从当地市场采购的鲫鱼、鲈鱼、巴沙鱼、黑鱼、虾、草鱼、鲢鱼、鳙鱼与鳊鱼 10 种不同水产品进行了检测,每种样品重复检测 5 次,采用保留时间定性的方式对样品中的 SAs 进行筛查,均未检测出阳性样品,10 种不同水产品 HPLC 色谱图如图 7 所示,可见江西水产品中 SAs 残留情况并不严重。

3 结 语

实验优化了 15 种 SAs 的 HPLC 检测条件,筛选了适用于水产品富集与净化的 PCX 固相萃取柱,采用高效液相色谱法结合 SPE 技术,建立了一种同时测定水产品中 15 种 SAs 残留的方法。样品经乙酸乙酯提取,正己烷脱脂,PCX 固相萃取柱净化后,采用 Waters C<sub>18</sub> 色谱柱分离检测,除 2 000 μg/kg SPZ 的加标回收率略低(73.1%),其他 SAs 在 3 个质量分数水平下的加标回收率在 78.6%~109.6%,



A. 鲈鱼; B. 黑鱼; C. 虾; D. 鲫鱼; E. 鳊鱼; F. 巴沙鱼; G. 鲢鱼; H. 草鱼; I. 鳙鱼; J. 鳊鱼。

图 7 10 种样品高效液相色谱图

Fig. 7 High performance liquid chromatograms of 10 samples

RSDs 在 1.0%~6.7%,方法的检出限与定量限分别在 10~20 μg/kg 与 20~60 μg/kg。采用该方法对江西 10 种水产品中的 15 种 SAs 残留进行了检测,结果均未检出,可见江西水产品 SAs 残留情况并不严重。

参考文献:

[1] 王银. 水产品磺胺类药物残留 HPLC 方法应用的研究[J]. 农业装备技术,2018,44(5):26-27.  
WANG Y. Study on the application of HPLC method for sulfanilamide residues in aquatic products[J]. **Agricultural Equipment & Technology**,2018,44(5):26-27. (in Chinese)

- [2] 宋予震,董青,邢广旭,等. 免疫分析方法在磺胺类药物残留检测中的应用[J]. 河南农业科学,2017,46(10):8-12.  
SONG Y Z,DONG Q,XING G X,et al. Application of immunoassay in the sulfonamides residues detection[J]. **Journal of Henan Agricultural Sciences**,2017,46(10):8-12. (in Chinese)
- [3] CHATZIMITAKOS T,STALIKAS C. Zinc ferrite as a magnetic sorbent for the dispersive micro solid-phase extraction of sulfonamides and their determination by HPLC[J]. **Microchemical Journal**,2020,155:104670.
- [4] SHAHRIMAN M S,MOHAMAD S,MOHAMAD Z N N,et al. Paper-based polymeric ionic liquid for thin film micro extraction of sulfonamides in environmental water samples prior to HPLC-DAD analysis[J]. **Microchemical Journal**,2021,171:106798.
- [5] COMMISSION C A. Maximum residue limits(MRLs) and risk management recommendations(RMRs)for residues of veterinary drugs in foods;CAC/MRL 2—2015[S]. London: FAO/WHO Joint Publications,2015.
- [6] 中华人民共和国农业农村部. 动物性食品中兽药最高残留限量[EB/OL]. (2002-12-24)[2022-7-5]. <http://www.lssyj.com/2018-06-25/830.html>.
- [7] ZHANG Q Q,YING G G,PAN C G,et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China:source analysis,multimedia modeling,and linkage to bacterial resistance[J]. **Environmental Science & Technology**,2015,49(11):6772-6782.
- [8] 向俊,唐万里,刘慧,等. 湖南省各地区畜禽肉中磺胺类药物残留情况分析[J]. 食品与机械,2020,36(9):82-86.  
XIANG J,TANG W L,LIU H,et al. Detection and analysis of sulfonamides residues in meat poultry in Hunan province[J]. **Food & Machinery**,2020,36(9):82-86. (in Chinese)
- [9] KIRKAN E,TAHIR A O,BENGÜ A S,et al. Rapid determination of sulfonamide residues in honey samples using non-targeted liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. **Separation Science Plus**,2020,3(10):451-459.
- [10] 吴利军,何斌,周源,等. 固相萃取-高效液相色谱法同时检测奶牛粪污中5种磺胺类抗生素[J]. 中国兽药杂志,2020,54(10):24-29.  
WU L J,HE B,ZHOU Y,et al. Simultaneous determination of five sulfonamide antibiotics in excrement and sewage of dairy farm using solid phase extraction and high performance liquid chromatography[J]. **Chinese Journal of Veterinary Drug**,2020,54(10):24-29. (in Chinese)
- [11] 薛鸣,杨凡绪,金铨,等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定水样中17种磺胺类抗生素[J]. 中国卫生检验杂志,2020,30(13):1537-1541.  
XUE M,YANG F X,JIN Q,et al. Determination of 17 sulfonamides in water samples by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry after solid phase extraction[J]. **Chinese Journal of Health Laboratory Technology**,2020,30(13):1537-1541. (in Chinese)
- [12] YEN N T P,NHUNG N T,NGUYEN T B,et al. Antimicrobial residues,non-typhoidal *Salmonella*,*Vibrio* spp. and associated microbiological hazards in retail shrimps purchased in Ho Chi Minh city(Vietnam)[J]. **Food Control**,2020,107:106756.
- [13] JANSOMBOON W,BOONTANON S K,BOONTANON N,et al. Monitoring and determination of sulfonamide antibiotics (sulfamethoxydiazine,sulfamethazine,sulfamethoxazole and sulfadiazine) in imported *Pangasius* catfish products in Thailand using liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. **Food Chemistry**,2016,212:635-640.
- [14] 董燕,杨海燕. 昌吉市3种食用鱼体内磺胺类药物残留分析及对策[J]. 农产品加工,2017(1):69-71.  
DONG Y,YANG H Y. Changji consumption of economic fish sulfonamides residues security present situation and countermeasures[J]. **Farm Products Processing**,2017(1):69-71. (in Chinese)
- [15] GALARINI R,DIANA F,MORETTI S,et al. Development and validation of a new qualitative ELISA screening for multiresidue detection of sulfonamides in food and feed[J]. **Food Control**,2014,35(1):300-310.
- [16] WANG C,LI X M,PENG T,et al. Latex bead and colloidal gold applied in a multiplex immunochromatographic assay for high-throughput detection of three classes of antibiotic residues in milk[J]. **Food Control**,2017,77:1-7.
- [17] BACH C,BOITEUX V,HEMARD J,et al. Simultaneous determination of perfluoroalkyl iodides,perfluoroalkane sulfonamides, fluorotelomer alcohols,fluorotelomer iodides and fluorotelomer acrylates and methacrylates in water and sediments using solid-phase microextraction-gas chromatography/mass spectrometry[J]. **Journal of Chromatography A**,2016,1448:98-106.
- [18] AYALA-CABRERA J F,MOYANO E,SANTOS F J. Gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry for the determination of fluorotelomer olefins,fluorotelomer alcohols,perfluoroalkyl sulfonamides and

- sulfonamido-ethanols in water[J]. **Journal of Chromatography A**, 2020, 1609:460463.
- [19] SADEGHI S, OLIEAEI S. Nanostructured polyaniline based pipette tip solid phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography for the selective determination of trace levels of three sulfonamides in honey and milk samples with the aid of experimental design methodology[J]. **Microchemical Journal**, 2019, 146:974-985.
- [20] YU W, LI K, LIU Z L, et al. Novelty aqueous two-phase extraction system based on ionic liquid for determination of sulfonamides in blood coupled with high-performance liquid chromatography[J]. **Microchemical Journal**, 2018, 136:263-269.
- [21] LANG J Y, YANG Y S, WAN N, et al. Preparation of boronate-modified larger mesoporous polymer microspheres with fumed silica nanoparticle and toluene as synergistic porogen for selective separation of sulfonamides[J]. **Microchemical Journal**, 2022, 175:107193.
- [22] FU L, ZHOU H, MIAO E M, et al. Functionalization of amino terminated carbon nanotubes with isocyanates for magnetic solid phase extraction of sulfonamides from milk and their subsequent determination by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. **Food Chemistry**, 2019, 289:701-707.
- [23] ZHANG Y, LI X Q, GUO Z, et al. Assessment of the impact of hydrolysis on bound sulfonamide residue determination in honey using stable isotope dilution ultrahigh performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. **Food Chemistry**, 2021, 361:130094.
- [24] MA J M, FAN S F, SUN L, et al. Rapid analysis of fifteen sulfonamide residues in pork and fish samples by automated on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. **Food Science and Human Wellness**, 2020, 9(4):363-369.
- [25] SHEN R J, HUANG L J, LIU R Q, et al. Determination of sulfonamides in meat by monolithic covalent organic frameworks based solid phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography-mass spectrometric[J]. **Journal of Chromatography A**, 2021, 1655:462518.
- [26] 马俊美, 范素芳, 李强, 等. 超高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱检测猪肉和牛肉中 30 种食源性兴奋剂类药物残留[J]. **食品科学**, 2021, 42(14):276-285.
- MA J M, FAN S F, LI Q, et al. Determination of 30 foodborne stimulant drug residues in pork and beef using ultra-high performance liquid chromatography coupled with quadrupole-time of flight mass spectrometry[J]. **Food Science**, 2021, 42(14):276-285. (in Chinese)
- [27] 中华人民共和国农业农村部, 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 动物性食品中 13 种磺胺类药物多残留的测定 高效液相色谱法:GB 29694—2013[S]. 北京:中国标准出版社, 2014.
- [28] 廖化针, 王燕, 胡强, 等. 乐山地区特种黑鸡鸡肉中十四种磺胺类药物残留量的测定研究[J]. **食品与发酵科技**, 2017, 53(5):98-102.
- LIAO H Z, WANG Y, HU Q, et al. Study on the determination of 14 kinds sulfonamides residues in chicken meat in Leshan[J]. **Food and Fermentation Sciences & Technology**, 2017, 53(5):98-102. (in Chinese)
- [29] DI X, WANG X, LIU Y P, et al. Microwave assisted extraction in combination with solid phase purification and switchable hydrophilicity solvent-based homogeneous liquid-liquid microextraction for the determination of sulfonamides in chicken meat[J]. **Journal of Chromatography B**, 2019, 1118:109-115.
- [30] AMELIN V G, VOLKOVA N M, TIMOFEEV A A, et al. QuEChERS sample preparation in the simultaneous determination of residual amounts of quinolones, sulfanilamides, and amphenicols in food using HPLC with a diode-array detector[J]. **Journal of Analytical Chemistry**, 2015, 70(9):1076-1084.
- [31] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 水产品抽样规范:GB/T 30891—2014[S]. 北京:中国标准出版社, 2014.
- [32] 郑斌, 余海霞, 杨会成, 等. 高效液相色谱-在线柱后衍生荧光检测法同时测定水产品中 14 种磺胺类药物残留[J]. **食品科学**, 2012, 33(4):230-233.
- ZHENG B, YU H X, YANG H C, et al. Simultaneous determination of 14 sulfonamide residues in fishery products by high performance liquid chromatography with online postcolumn derivatization and fluorescence detection[J]. **Food Science**, 2012, 33(4):230-233. (in Chinese)
- [33] FU R J, SUN J L, LI Y Q. Analyze sulfonamide residues in pork with agilent poroshell 120 EC-C<sub>18</sub>, 4 μm columns[EB/OL].

- (2014-11-12)[2024-01-09]. <http://www.agilent.com/chem>.
- [34] 卢坤,童群义. 高效液相色谱法同时检测蜂蜜中的5类抗生素残留[J]. 分析测试学报,2011,30(11):1320-1323.  
LU K,TONG Q Y. Simultaneous determination of 5 classes of antibiotics residues in honey using high performance liquid chromatography[J]. **Journal of Instrumental Analysis**,2011,30(11):1320-1323. (in Chinese)
- [35] 滕爽,吕青昶,沈娟,等. 超高效液相色谱法检测猪肉及其制品中的磺胺类及氟喹诺酮类兽药残留[J]. 食品与发酵工业,2018,44(7):263-268.  
TENG S,LYU Q Q,SHEN J,et al. Detection of sulfonamides and fluoroquinolones in pork and its products using ultra performance liquid chromatography[J]. **Food and Fermentation Industries**,2018,44(7):263-268. (in Chinese)
- [36] 王晓茵,宋翠平,孙晓亮,等. 改良柱前荧光胺衍生化-高效液相色谱法测定猪肉中11种磺胺类药物残留[J]. 肉类研究,2022,36(2):33-38.  
WANG X Y,SONG C P,SUN X L,et al. Determination of 11 sulfonamide residues in pork by modified fluorescamine precolumn derivatization-high performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. **Meat Research**,2022,36(2):33-38. (in Chinese)
- [37] 牛曰华. SPE-HPLC法测定鳗鲡中13种磺胺类药物[J]. 福建水产,2012,34(5):375-381.  
NIU Y H. Determination of 13 sulfonamides in eels with solid phase extraction and high performance liquid chromatographic[J]. **Journal of Fujian Fisheries**,2012,34(5):375-381. (in Chinese)
- [38] 王宏宇,武云龙,赵栋皓,等. 固相萃取-超高效液相色谱法同时测定猪肉中22种磺胺类药物残留[J]. 中国动物检疫,2021,38(7):105-111.  
WANG H Y,WU Y L,ZHAO D H,et al. Simultaneous determination of 22 kinds of sulfonamide residues in pork by SPE-UPLC[J]. **China Animal Health Inspection**,2021,38(7):105-111. (in Chinese)
- [39] 鲁静,付凌燕,王旭. 质量分析方法验证中检出限和定量限测定方法探讨[J]. 中国药品标准,2012,13(1):33-35.  
LU J,FU L Y,WANG X. Discussion on the detecting methods for limit of detection and limit of quantification in validation of analytical method[J]. **Drug Standards of China**,2012,13(1):33-35. (in Chinese)
- [40] GAJRA B,PATEL M,PATEL D A. Validation of analytical procedures:methodology ICH-Q2B[J]. **Federal Register**,2011,1(2):45-50.