

较差异无显著性, $\chi^2 = 2.50$, $P > 0.05$ 。说明该两种试剂在诊断本病中均起到较好的检测效果。

3.2 在 287 例患者中, 培养法与金标法合计阳性率为 39.02%, 与文献^[1]报导的数值相一致。但低于邓列华等报导^[3]的数值。

3.3 培养法与金标法的阳性率经统计学处理虽然差异无显著性, 但后者还是比前者高出 5.57 个百分点, 可能与患者既往应用抗生素而使培养法阳性率降低有关。

3.4 假如使用单独一种方法检测, 287 例患者中将有 18.46% 和 12.89% 的患者漏检。故应在 NGU 患者诊断中, 宜使用培养法和金标法两种方法同时检

测, 方能优势互补, 提高检出率, 避免造成误诊或漏诊。

4 参考文献

- [1] 叶顺章, 张木有. 现代性传播疾病实验诊断技术[M]. 第 1 版. 广州: 广州科技出版社, 1999. 58.
- [2] 王钊, 吴明江. 性病艾滋病防治培训教材[M]. 第 1 版. 北京: 北京医科大学出版社, 1999. 45.
- [3] 邓列华, 陆涛, 王婕玲, 等. 531 例非淋菌性尿道炎病原体及支原体药敏分析[J]. 临床皮肤科杂志, 30(3): 154-155.

[收稿日期 2005-12-23]

(编校 李守邦)

【技术与方法】

高效液相色谱法测定动物性食品中的磺胺二甲嘧啶残留量

刘思洁 战英 李青 崔勇 顾晓莉

(吉林省卫生监测检验中心, 吉林 长春 130062)

【关键词】液相色谱; 动物性食品; 磺胺二甲

【中图分类号】R155.5+5 【文献标识码】A 【文章编号】1671-4199(2006)01-041-02

近年来, 磺胺类药物被广泛的用作饲料的添加剂, 也用作兽药来治疗肠道感染、乳腺炎、肺炎等疾病, 并可以残留在动物体内。磺胺二甲嘧啶是磺胺残留超标的主要药物, 它能引起人的再生性障碍性贫血、粒细胞缺乏症等疾病。

磺胺二甲嘧啶在动物体内的消除半衰期较长, 大部分以原形由机体排除, 而且在环境中不易被生物降解, 因而导致饲喂药物添加剂的动物体内残留量超标。建立简便、准确的测定动物性食品中的磺胺二甲嘧啶十分必要。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 高效液相色谱仪, 具有紫外检测器; 超声波清洗器; 离心机。

1.1.2 试剂 磺胺二甲嘧啶(Sigma 公司生产, 纯度 $\geq 99\%$) 的标准贮备液: 精确称取标准品 0.010 0 g 于 10 ml 的容量瓶中用少量甲醇溶解、振荡后用甲醇定容至刻度, 此溶液浓度为 1.0 mg/ml, 置于冰箱冷藏保存。磺胺二甲嘧啶的标准中间液: 准确吸取

0.5 ml 标准贮备液于 50 ml 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 此溶液浓度为 10 $\mu\text{g/ml}$ 的系列标准溶液, 置于冰箱冷藏保存。二氯甲烷, 分析纯。无水硫酸钠, 分析纯。正己烷, 分析纯。

1.2 方法

1.2.1 样品预处理 除去畜禽肉中的脂肪组织并将肌肉组织、肝脏和肾脏剁碎, 分装于保鲜袋中; 虾须去壳, 取其肌肉组织剁碎分装于保鲜袋中。所有样品置于冰箱冷藏保存。

1.2.2 样品提取 准确称取 5.0 g 捣碎的试样, 置于 100 ml 三角瓶中, 加入 20 ml 二氯甲烷, 超声波提取 30 min 后用定量滤纸过滤, 剩余残渣再加入 20 ml 二氯甲烷, 超声波提取 15 min 后用定量滤纸过滤, 残渣依上再提取一次。

1.2.3 净化 合并全部滤液, 转入分液漏斗并加入 10 ml 5% 的硫酸钠溶液, 剧烈振摇, 静止分层, 将下层有机相通过无水硫酸钠滤入蒸发皿中, 水相用 15 ml 二氯甲烷提取一次, 同样转入蒸发皿中, 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴上浓缩, 使二氯甲烷全部除去。向蒸发皿中准确加入 1.0 ml 0.05 mol/L 盐酸溶液和 2 ml 正己烷, 混匀后, 将全部溶液转移于 5 ml 试管中, 静止分层, 去掉正己烷层, 再加入 1.0 ml 正己烷, 振荡 1 min, 弃去正己烷。水相过 0.45 μm 滤膜后供 HPLC 测定。

1.2.4 液相色谱参考条件 色谱柱: Symmetry C₁₈ 柱, 3.5 μm , 4.6 mm \times 75 mm; 检测器: 紫外检测器; 流动相: 甲醇: 水 = 20: 80; 流速: 1.0 ml/min; 检测波长: 263 nm; 进样量: 20 μl 。

1.2.5 标准曲线绘制 分别准确量取中间标准溶液 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0 ml, 置于 10 ml 容量瓶中, 用 0.05 mol/L 盐酸溶液定容, 得到 0.2、0.5、1.0、2.0、3.0 $\mu\text{g/ml}$ 的标准溶液系列, 在上述色谱条件下进行 HPLC 测定, 做峰面积 - 磺胺二甲嘧啶浓度的标准曲线。

1.2.6 样品测定 吸取样品溶液 20 μl 进样, 记录磺胺二甲嘧啶的保留时间与峰面积。根据磺胺二甲嘧啶的保留时间定性, 峰面积定量。

1.2.7 计算
$$\rho = \frac{A \times f}{m} \times 100$$

式中: ρ 为样品中磺胺二甲嘧啶的含量 ($\mu\text{g/kg}$); A 为由标准曲线是查得的磺胺二甲嘧啶浓度 ($\mu\text{g/ml}$); f 为试样的最后定容体积 (ml); m 为取样质量 (g)。

2 结果

2.1 试样前处理条件的选择 由于磺胺二甲嘧啶不溶于水, 易溶于稀酸、乙酸乙酯和二氯甲烷, 不溶于正己烷。因此选用乙酸乙酯或二氯甲烷从含水试

样中提取磺胺二甲嘧啶, 同时减少水溶性杂质干扰。用无水硫酸钠脱去提取液中的少量水分, 进一步减少水溶性杂质; 浓缩后加入稀酸溶液能完全溶解磺胺二甲嘧啶; 加入正己烷可以除去脂溶性杂质。

对于肉类试样, 用乙酸乙酯提取时, 提取液在色谱图上干扰峰多, 无法通过调节流动相来解决。而选用二氯甲烷提取后, 色谱图较为干净。而且用水与二氯甲烷提取液液 - 液分配, 可以除去大量极性的杂质。

2.2 色谱条件中流动相的选择 文献报道的测定磺胺二甲嘧啶的反相 HPLC 流动相体系主要有: 乙酸水溶液 + 甲醇/己腈, 乙酸铵水溶液 + 甲醇/己腈, 磷酸水溶液 + 甲醇/己腈等。通过反复试验, 选择流动相体系为: 甲醇 + 水。该体系能使磺胺二甲嘧啶在较短时间内与试样杂质峰分开, 并且配制简单。本方法选择甲醇 + 水 = 20: 80 为流动相, 在此条件下, 能使所有空白试样的杂质峰与磺胺二甲嘧啶峰在色谱图上达到基线分开, 并在 10 min 内完成。

2.3 最佳线性范围的选择 本方法的浓度从 0.20 ~ 3.00 $\mu\text{g/ml}$ 之间呈线性关系, 算得 $r = 0.9996$ 。

2.4 方法的准确度、精密度试验结果

2.4.1 精密度试验 精密度试验结果见表 1。

表 1 精密度试验结果

样品	测定值 ($\mu\text{g/kg}$)						$\bar{x} \pm s$	RSD%
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 4 次	第 5 次	第 6 次		
1	0.435	0.447	0.438	0.441	0.426	0.433	0.437 \pm 0.7	1.6
2	0.965	1.002	0.984	0.966	0.975	0.986	0.980 \pm 1.4	1.4
3	1.946	1.987	2.003	2.005	1.952	1.966	1.976 \pm 2.5	1.3

由表 1 可知, 该方法的精密度很好。

2.4.2 回收率实验 对市场销售的鸡肉进行高中低 3 种浓度加标, 回收率实验, 测得结果见表 2。

表 2 方法的回收率实验

本底值	加标量 (μg)	实测值 (μg)	回收率 (%)
n. d*	0.50	0.459	91.8
n. d	1.00	0.905	90.5
n. d	2.00	1.772	88.6

* n. d 为未检出

2.5 实际样品的测定 用本方法对市场销售的各种肉类样品共 6 种进行了检测, 结果每种测定样品均 $< 2.1 \mu\text{g/kg}$ 。

3 讨论

本方法利用高效液相色谱法测定动物性食品中磺胺二甲嘧啶药物的残留量, 应用了液 - 液分配的经典样品处理方法建立了合适的样品提取、净化、浓缩的前处理方法, 确保高效液相色谱分析测定时无样品基质干扰, 并对高效液相色谱条件进行了优化, 建立了最佳色谱条件。与目前文献报道的方法相比, 该法简便、准确, 回收率和检出限令人满意。

该方法在大量实验的基础上优化了各种条件参数, 并参考了一些文献, 建立了一种“快速”测定动物性食品中磺胺二甲嘧啶的方法。

[收稿日期 2005-09-05]

(编校 李守邦)