

中华人民共和国国家标准

《饲料中磺胺类药物的测定 液相色谱-串
联质谱法》

编制说明

(征求意见稿)

中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所

2024年9月

《饲料中磺胺类药物的测定 液相色谱-串联质谱法》

编制说明

一、工作简况

1.1 任务来源

本标准由 TC76（全国饲料工业标准化技术委员会）提出并归口，主管部门为国家标准化管理委员会，由国标委发【2023】64号 国家标准化管理委员会关于下达2023年国家标准复审修订计划的通知。项目编号：20233114-T-46，标准名称：饲料中磺胺类药物的测定 液相色谱-串联质谱法，修订标准 GB/T 19542-2007,GB/T 8381.10-2005，归口单位：全国饲料工业标准化技术委员会，修订标准单位：中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所[国家饲料质量检验检测中心（北京）]、广州汇标检测技术中心、河南中标检测服务有限公司、山东晟华检测技术有限公司。

1.2 主要修订背景

磺胺类药物（sulfonamides, SAs）是指具有对氨基苯磺酰胺结构的一类药物的总称，是一类用于预防和治疗细菌感染性疾病的抗生素。1935年磺胺类药物正式应用于临床。具有抗菌谱广、性质稳定、体内分布广等优点。磺胺类药物在畜牧业，被广泛用于治疗食源性动物疾病，同时可以添加到饲料中作为预防和促生长使用。化学结构式见图1。但是近年研究表明，该类药物存在较为严重的副作用，过量使用会导致其在动物源性食品中残留，会致使其在人体中蓄积，导致人类对许多细菌产生抗药性，从而对人类的身体健康造成很大的危害。因此，很多国家对磺胺的使用种类和用量有严格的规定。我国农业部规定动物源性食品中的SAs总量及磺胺二甲基嘧啶等单个SAs的含量不得超过0.1 mg/kg。由于抗生素潜在的威胁，美国FDA计划从2014年开始3年禁止在牲畜饲料中使用预防性抗生素；2017年中国农业部公布了《全国遏制动物源细菌耐药性行动计划》，推动促生长用抗菌药物逐步退出饲料；2019年农业农村部发布194号公告，饲料生产企业停止生产含有促生长类药物饲料添加剂（中药类除外）的商品饲料，磺胺和其增效剂正式在饲料中禁用。作为常用的抗生素，饲料中磺胺和磺胺增效剂的测定与监控是必不可少的。

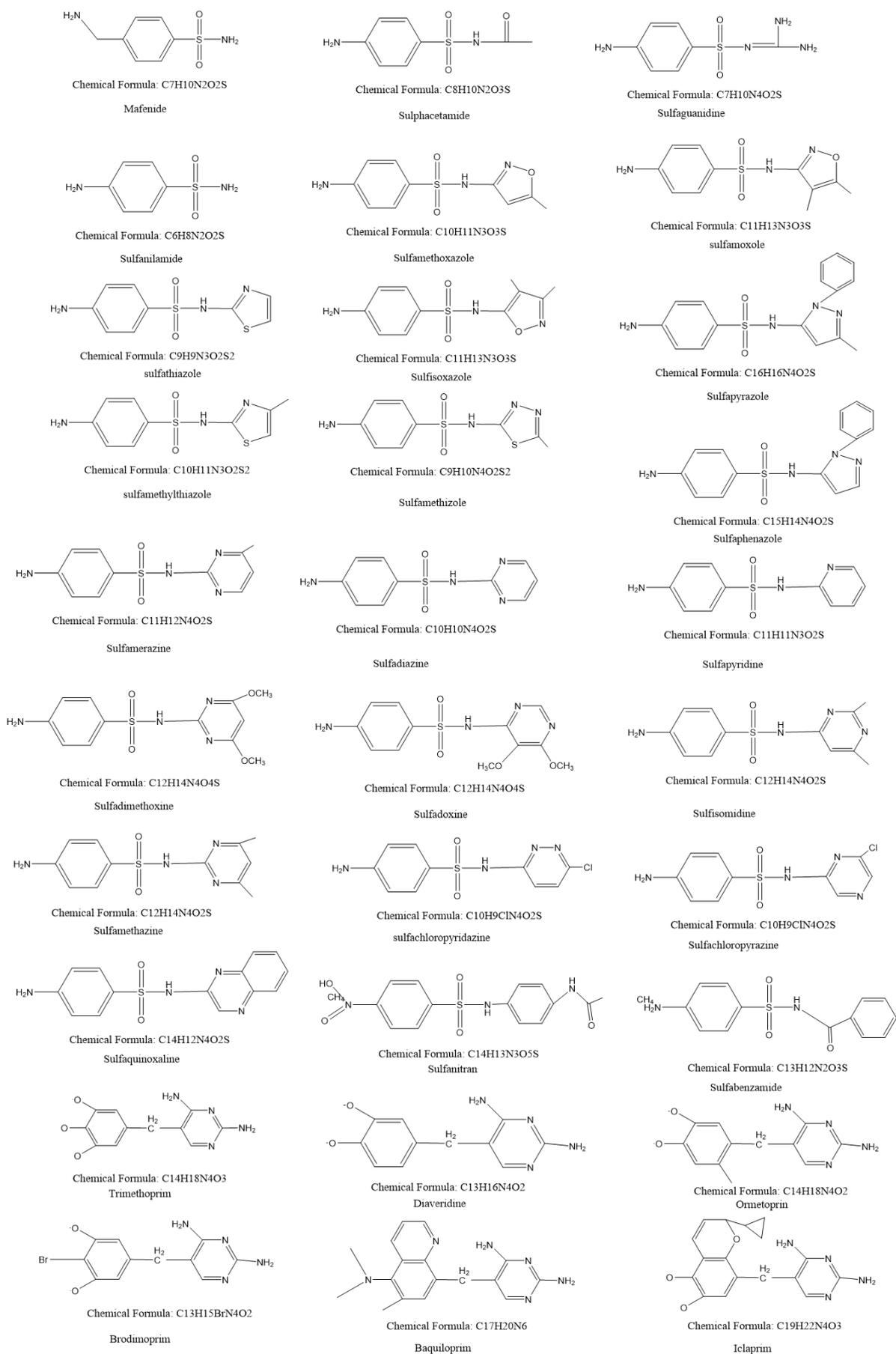


图 1 磺胺类药物的化学结构式

国内外对磺胺类药物的测定报道较多。主要有高效液相色谱法(HPLC)、酶免疫分析法(EIA)、液/质联用法(LC/MS)等。目前文献报道涉及的样品主要为动物组织和环境样品为主，对饲料的检测报道相对较少。目前有关饲料中磺胺类药物检测方法标准主要包括《GB/T19542-2007 饲料中磺胺类药物的测定 高效液相色谱法》和《农业部 1486 号公告-7-2010 饲料中 9 种磺胺类药物的测定 高效液相色谱法》，检测仪器主要集中在高效液相色谱法为主，检测灵敏度低，无法作为确证检测技术，并且检测药物种类较少不能满足现今磺胺类药物的监测要求。LC-MS/MS 灵敏度高，选择性和特异性好，近年来研究磺胺类药物及磺胺增效剂检测的主要方向。但是目前尚缺乏磺胺类药物的同步测定方法。本文在查阅有关文献的基础上，建立了多重机制杂质吸附结合 LC-MS/MS 同时检测和确证饲料中 29 种磺胺类药物的标准。

1.3 主要工作过程

标准第一起草单位中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所根据标准的修订需要，成立了标准工作小组，进行标准的研制及起草工作，具体工作过程如下：

2024 年 1-2 月：标准编制工作小组检索了有关磺胺类药物检测方法的国内外文献，以及饲料中磺胺类药物检测技术现状，确保标准的实用性和普适性。随后制定了饲料中磺胺类药物检测方法试验草案，拟订工作计划。

2024 年 3-8 月：按照拟定的试验草案对饲料中磺胺类药物的提取和净化条件以及液相色谱—质谱联用仪的仪器参数进行研究，对方法的试验条件、主要技术指标等进行进一步优化，最终确定了前处理条件和仪器条件。并进行了线性、检出限和定量限、添加回收率等相关试验以确定方法最终是否具有可操作性和科学性。期间开展了对市场配合饲料、浓缩饲料和预混合饲料以及牛的精料补充料中磺胺类药物的检测。

2023 年 9-10 月：工作小组按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写》以及 GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》等编写规则完成标准草案和编制说明的撰写，并委托 3 家实验室验证复核。

二、标准编制原则和主要技术内容确定的依据

2.1 标准编制原则

本标准的编写制定过程以提高测试方法的选择性、准确度、精密度、检出限和分析效率为总原则，反映科学技术的先进成果和先进经验。

本标准的制定过程中严格遵循国家有关方针、政策、法规和规章，标准的编写及表述按照

GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》、GB/T 5009.1-2003《食品卫生检验方法 理化部分 总则》和GB/T 20001.4-2015《标准编写规则 第4部分：试验方法标准》的要求编写。在标准制定过程中力求做到：技术内容的叙述正确无误；文字表达准确、简明、易懂；标准的构成严谨合理；内容编排、层次划分等符合逻辑与规定。

2.2 主要内容

本文件与原标准相比，除编辑性修改外主要技术差异如下：

——将GB/T 19542-2007中5种磺胺类药物的测定与GB/T 8381.10-2005中磺胺喹恶啉的测定增加至29种磺胺类药物的测定。

——适用范围增加了混合型饲料添加剂。

——将液相色谱法修改为液相色谱-串联质谱法。

——增加多重杂质吸附的净化方法。

本文件规定了饲料中磺胺类药物的测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、添加剂预混合饲料和混合型饲料添加剂中磺胺类药物的测定。

本文件的磺胺类药物检出限均为0.01 mg/kg，定量限均为0.05 mg/kg。

2.3 方法学研究

2.3.1 检测仪器的选择：

目前磺胺类药物检测方法主要两大类，快速筛选技术和仪器确证技术。快速筛选技术有酶联免疫吸附分析（ELISA）法、拉曼光谱技术、和生物传感技术等。ELISA方法灵敏性较高，费用较低，操作方便，是目前主流的筛选方法。但是一些结构类似的药物会对结果产生干扰。常用的试剂盒（卡）假阳性率高，既给日常监管和现场执法带来极大的难度，还可能造成结果误判，给社会传递大量的负面信息。

目前确证技术主要高效液相色谱（HPLC）法、气质联用（GC/MS）法和液质联用（LC/MS和LC/MS/MS）法。并越来越趋向于用先进的气相色谱串联质谱联用仪和液相色谱串联质谱仪进行同类物质的多残留检测。高效液相色谱法定性能力较差，同时我们实验了各种色谱柱和色谱条件，无法将29种磺胺类药物完全分离，见图2-4。同时样品添加回收率差，样品重复性差。因此最终选取了更为灵敏的液相色谱串联质谱法，同时液相色谱串联质谱法也是目前磺胺类药物检测所使用的主要方法。

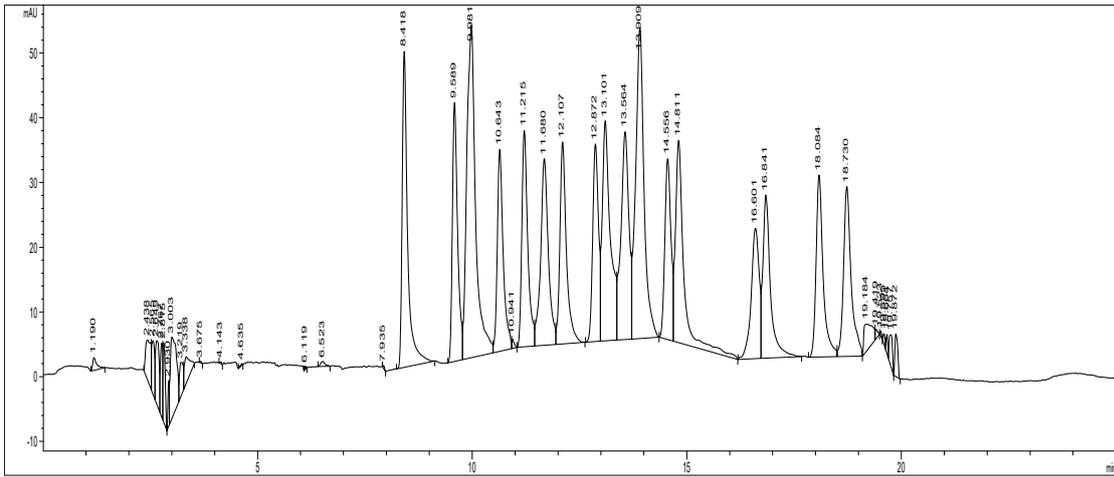


图 2 29 种磺胺类药物液相色谱图

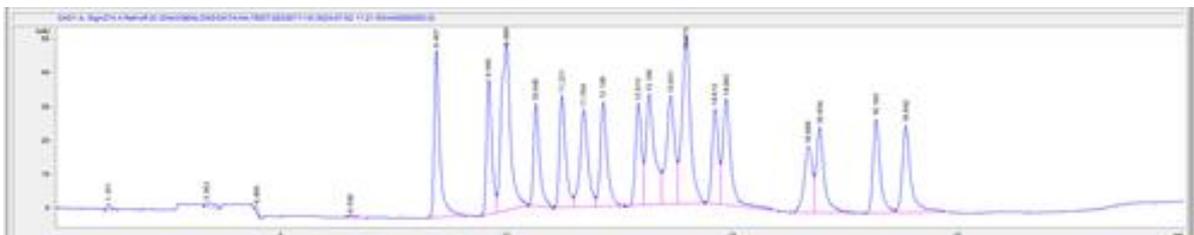


图 3 29 种磺胺类药物液相色谱图

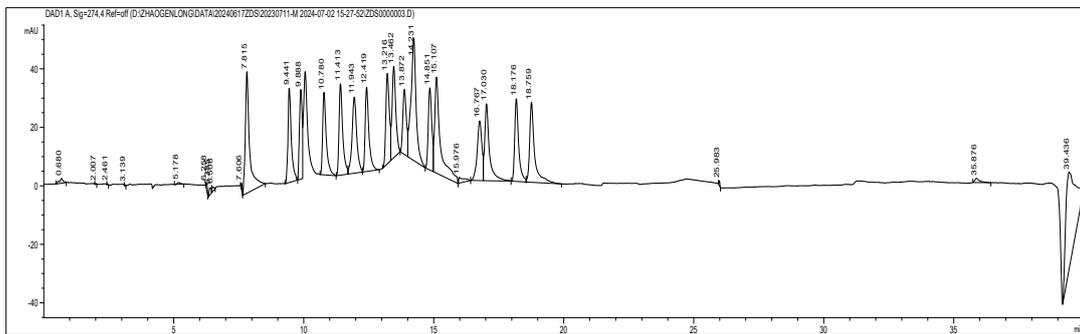


图 4 29 种磺胺类药物液相色谱图

2.3.2 质谱条件优化

配制 100 μg/mL 磺胺类药物标准溶液，采用 ESI+模式，微流量泵直接进质谱，进行质谱条件的优化。通过一级全扫描质谱得到磺胺类药物的母离子[M+H]⁺；通过母离子扫描得到二级质谱，选择质荷比较大、强度较稳定的两个碎片作为子离子，组成定性离子对。典型的扫描质谱图见图 5。在 MRM 模式下，进一步优化了这两对离子对的去簇电压 DP 和碰撞电压 CE。确定的质谱条件如下：

质谱采用电子喷雾离子源，正离子检测方式，多反应监测（HRM）；喷雾电压为 3.5 Kv；毛细管温度为 550℃；脱溶剂气为高纯氮气、碰撞气为高纯氩气，使用前调节各气体流量以使

质谱灵敏度达到检测要求。具体的参数见表 1。

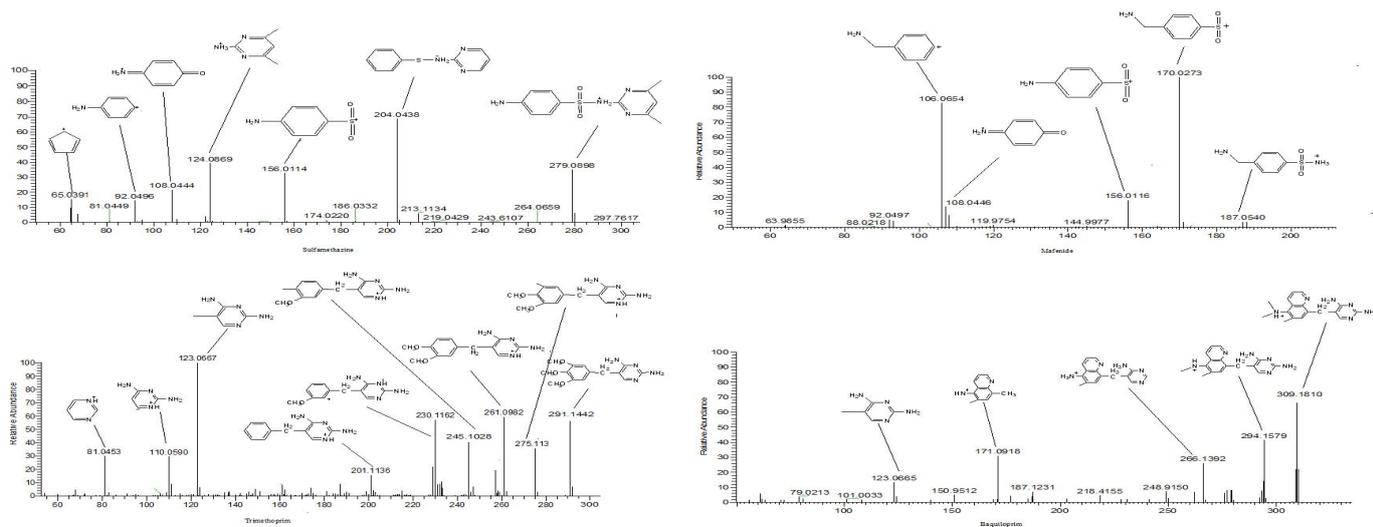


图 5 典型磺胺类药物质谱二级离子扫描图

表 1 磺胺类药物的质谱条件

药物名称 Drug	出峰时间 Time (min)	离子对 ion pairs (m/z)	锥孔电压 cone(V)	碰撞能 CE(eV)
磺胺醋酰 Sulphacetamide	2.85	215.0 > 92.0	12	24
		215.0 > 108.0*		14
磺胺胍 Sulfaguanidine	1.82	215.0 > 92.0	12	24
		215.0 > 108.0*		14
磺胺 sulfanilamide	2.08	173.0 > 92.0	22	24
		173.0 > 156.0*		14
磺胺米隆 Mafenide	1.42	187.0 > 76.6	13	16
		187.0 > 105.8*		12
磺胺吡啶 Sulfapyridine	3.52	250.0 > 92.0	12	24
		250.0 > 156.0*		14
磺胺嘧啶 Sulfadiazine	3.09	251.0 > 92.0	12	24
		251.0 > 155.9*		14
磺胺甲恶唑 sulfamethoxazole	6.35	254.0 > 92.1	22	26
		254.0 > 155.9*		14
磺胺噻唑 sulfathiazole	3.25	256.0 > 92.0	12	24
		256.0 > 155.9*		14
磺胺甲噻啉 sulfamerazine	3.79	265.1 > 92.0	36	26
		265.1 > 156.0*		14
磺胺二甲唑 Sulfafurazole	4.37	268.0 > 92.0	12	24
		268.0 > 155.9*		12
磺胺间二甲氧嘧啶 sulfadimethoxine	8.87	311.0 > 92.0	12	28
		311.0 > 155.9*		18
磺胺邻二甲氧嘧啶 Sulfadoxine	7.10	311.1 > 92.0	20	28
		311.1 > 155.9*		16
磺胺甲噻二唑 Sulfamethizole	4.63	271.1 > 92.0	12	24
		271.1 > 155.9*		12
磺胺苯酰 Sulfabenzamide	8.31	277.0 > 92.0	14	24
		277.0 > 155.9*		10
磺胺二甲异嘧啶 Sulfisomidine	3.05	279.0 > 124.0	12	20
		279.0 > 186.0*		14

药物名称 Drug	出峰时间 Time (min)	离子对 ion pairs (m/z)	锥孔电压 cone(V)	碰撞能 CE(eV)
磺胺二甲基嘧啶 Sulfamethazine	4.81	279.0 > 92.0	12	28
		279.0 > 186.0*		16
磺胺对甲氧嘧啶 Sulfametoxydiazine	4.44	281.0 > 92.0	12	28
		281.0 > 155.9*		16
磺胺甲氧哒嗪 Sulfamethoxyipyridazine	5.20	281.0 > 92.0	13	28
		281.0 > 155.9*		16
磺胺间甲氧嘧啶 sulfamonomethoxine	6.62	281.0 > 92.0	12	28
		281.0 > 155.9*		16
磺胺氯哒嗪 sulfachloropyridazine	5.96	285.0 > 92.0	14	26
		285.0 > 156.0*		12
磺胺氯吡嗪 sulfachloropyrazine	8.76	285.0 > 92.0	14	26
		285.0 > 156.0*		12
磺胺喹恶林 Sulfaquinoxaline	8.97	301.1 > 92.0	12	26
		301.1 > 155.9*		14
磺胺硝苯 Sulfanitran	9.31	336.1 > 156.0*	20	20
		336.1 > 294.0		10
磺胺苯吡唑 Sulfaphenazole	8.67	315.3 > 158.2*	12	15
		315.3 > 160.0		10
磺胺吡唑 sulfapyrazole	8.84	329.0 > 156.2*	11	12
		329.0 > 294.0		10
磺胺二甲异恶唑 Sulfisoxazole	7.49	268.0 > 92.0	12	24
		268.0 > 155.9*		12
三甲氧苄氨嘧啶 Trimethoprim	3.91	291.1 > 261.2*	9	15
		291.1 > 230.2		12
二甲氧苄氨嘧啶 Diaveridine	3.62	261.1 > 123.1*	20	35
		261.1 > 245.2		22
二甲氧甲基苄氨嘧啶 Ormetoprin	5.10	275.1 > 123.2*	19	35
		275.1 > 259.2		22

*为定量离子

2.3.3 色谱柱和流动相的组成的选择

参考文献，本研究选取了 5 款不同选择性的 UPLC 色谱柱 Waters BEH C18 (100*3.0 mm, 1.7 μm)、Waters HSS T3 C18 (100*2.1 mm, 1.7 μm)、Waters CSH C18 (100*3.0 mm, 1.7 μm) 等 5 种色谱柱进行分离比较。其中 HSS T3 C18 分离效果较差；BEH 对磺胺米隆保留无保留，同时饲料中一些杂质对部分磺胺类药物有干扰，部分磺胺类药物峰型拖尾。因此采用 ACQUITY UPLC CSH C18 柱克服了大多数 C18 柱在低离子强度流动相条件下因载量所导致的拖尾问题。提高了有效的提高了磺胺类药物和增效剂分辨率。

大部分液相色谱检测磺胺类药物和其增效剂均采用以甲醇/乙腈+甲酸水 / 醋酸水体系作为基本流动相条件，本实验考察了磺胺类药物和其增效剂在上述流动相梯度条件下的色谱行为。结果表明：乙腈和水溶液作为流动相时，三种同分异构的磺胺类药物（磺胺对甲氧嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺间甲氧嘧）和两种同分异构的磺胺类药物（磺胺胍、磺胺醋酰）无法通过调节梯度达到满意的分离效果，因此选择了甲醇和 0.1 % (v/v) 甲酸水溶液作为流动相。同时通过梯度洗脱，在可以在 10min 内有效的分离 28 种药物，缩短了保留时间，在很大程度上节

省了溶剂消耗，降低了分析成本和废液产生。同时明显提高了分离效应，有效缩短了分析周期，具体色谱图见图 6。同时为了避免干扰，采取分段采集的方式，有效的提高灵敏度和杂质干扰。

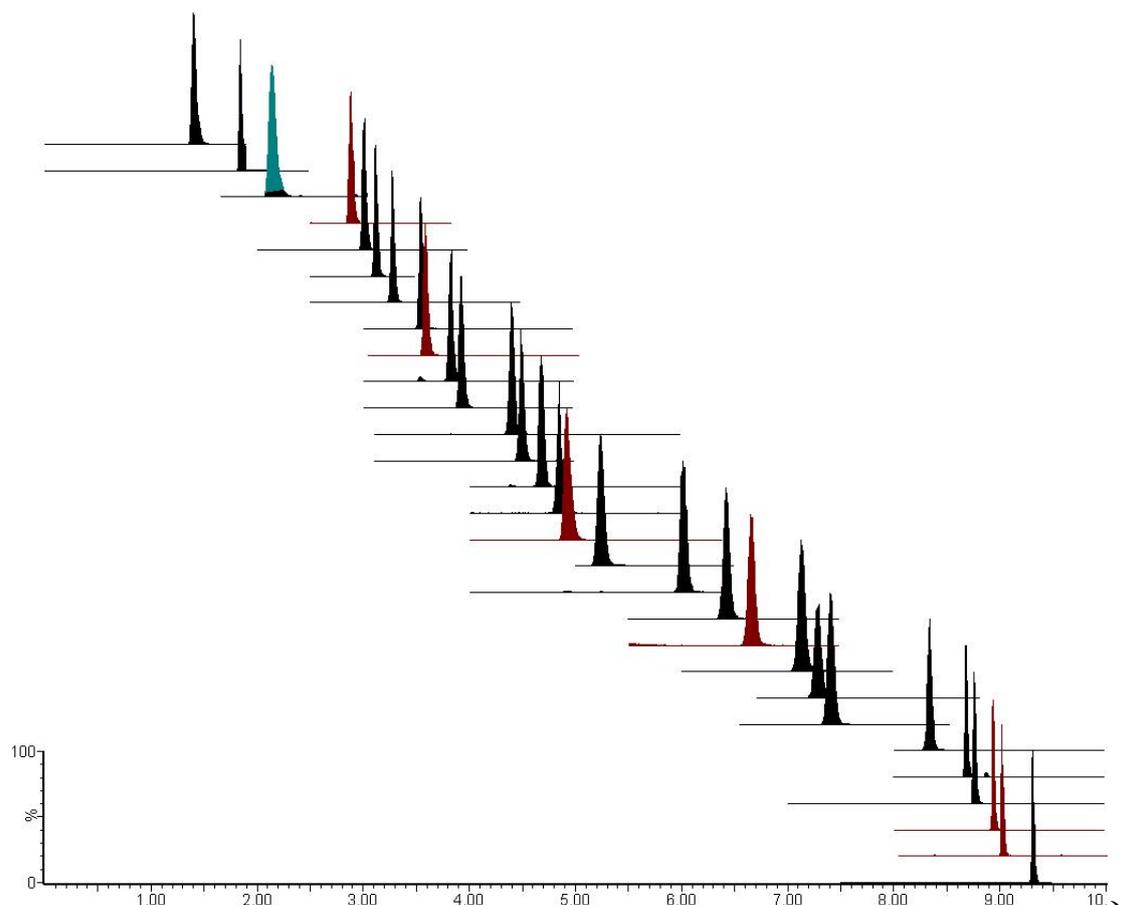


图 6 磺胺类药物的液相色谱串联质谱离子色谱图

注：29 种药物由上向下分别为：1 磺胺米隆 Mafenide, 2 磺胺胍 Sulfaguanidine, 3 磺胺 sulfanilamide, 4 磺胺醋酰 Sulphacetamide, 5 磺胺二甲异噻唑 Sulfisomidine, 6 磺胺嘧啶 Sulfadiazine, 7 磺胺噻唑 sulfathiazole, 8 磺胺吡啶 Sulfapyridine, 9 二甲氧苄氨嘧啶 Diaveridine, 10 磺胺甲噻唑 sulfamerazine, 11 三甲氧苄氨嘧啶 Trimethoprim, 12 磺胺二甲唑 Sulfafurazole, 113 磺胺对甲氧嘧啶 Sulfametoxydiazine, 14 磺胺甲噻二唑 Sulfamethizole, 15 磺胺二甲基噻唑 Sulfamethazine, 16 二甲氧甲基苄胺嘧啶 Ormetoprin, 17 磺胺甲氧吡嗪 Sulfamethoxyypyridazine, 18 磺胺氯吡嗪 sulfachloropyridazine, 19 磺胺甲恶唑 sulfamethoxazole, 20 磺胺间甲氧嘧啶 sulfamonomethoxine, 21 磺胺邻二甲氧嘧啶 Sulfadoxine, 22 磺胺二甲异恶唑 Sulfisoxazole, 23 磺胺苯酰 Sulfabenzamide, 24 磺胺苯吡唑 Sulfaphenazole, 25 磺胺氯吡嗪 sulfachloropyrazine, 26 磺胺吡唑 sulfapyrazole, 27 磺胺间二甲氧嘧啶 sulfadimethoxine, 28 磺胺喹恶林 Sulfaquinoxaline, 29 磺胺硝苯 Sulfanitran

2.3.4 提取条件选择

磺胺类药物和其增效剂的结构和性质差异不大，根据文献，有机溶剂（乙腈、甲醇）提取各种类型磺胺类药物和其增效剂有较好的回收率，王恒等人研究了 7 种提取液对动物源性食品中磺胺类药物的提取效率，结果基本无明显差异。但杂质提取量有所区别，乙腈类的提取效果

好于乙酸乙酯的提取效果，二氯甲烷是最好的提取溶剂。为了获得尽可能高的回收率，本实验分别选用甲醇、乙腈、水/乙腈、二氯甲烷等作为提取溶剂。检测结果见图 7。

以二氯甲烷作为提取液提取时，饲料中大量酯溶维生素被二氯甲烷提出从而影响了药物回收率。甲醇提取杂质较高，下一步净化效果不明显。综合考虑，选择了乙腈做为提取液。同时，发现在乙腈中加入一定量的甲酸能提高磺胺增效剂的回收率，同时甲酸可使磺胺类药物和其增效剂在酸性条件下更易形成正离子，有利于质谱分析。为此最终选择 20mL 1%甲酸乙腈溶液作为提取溶液。

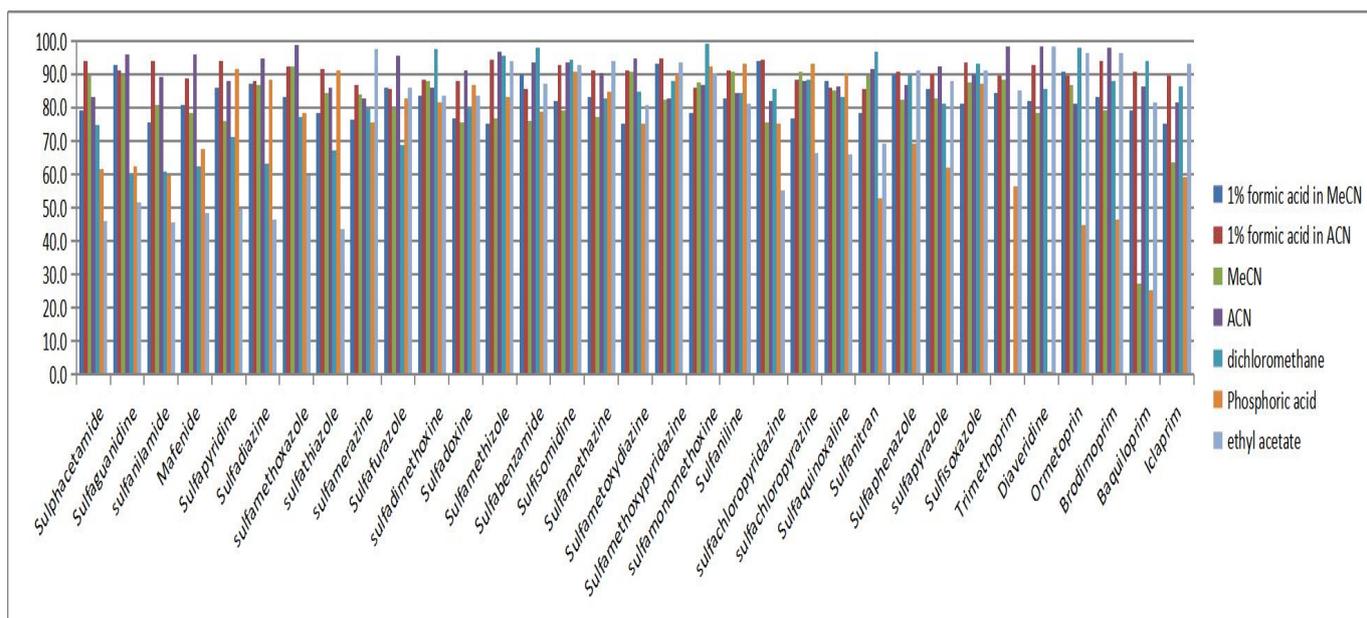


图 7 不同提取溶液提取效果图

2.3.4 净化条件的优化和确定

样品提取液常含有脂类、蛋白质以及其他大分子杂质，对化合物分析的准确性有较大影响，因此需要净化处理。本研究选用不同的如 HLB 固相萃取小柱、s MAX、MCX 等固相萃取柱进行了净化研究，磺胺、使用有机溶剂提取后难以在固相萃取柱有效富集，回收率偏低，直接过滤进样又存在杂质多、基质干扰严重等问题。因此本研究选用一种基于介质分散固相萃取的方法，此方法主要通过多种不同粒径功能化吸附材料，将样品中的主要干扰杂质吸附，有效地去除基体中可能存在的磷脂、脂肪和部分蛋白质等，同时将被测物质留在样品溶液中，而达到净化和富集的目的。

选择磺胺类药物与 10 种吸附材料（具体见表 2）进行了吸附性能研究实验。具体步骤如下：取配合饲料 25g，加入 100 mL 提取液，离心，将上清液转移至试剂瓶中，分别吸 3 mL 提取液，加入 0.3 mL 1 μg/mL 磺胺和其增效剂标准溶液，分别加入 100mg 各种吸附材料，漩涡混合 30s,在摇床上振荡 15min, 10000 r/min 离心 5 min，取上清液过膜，上机检测，同时吸取 3 mL 提取液，不加入吸附材料作为空白参考。用测定值与空白参考值计算回收率。

表 2 吸附材料名称与类型

编号	名称	材料类型
	name	Type
1	C18	硅胶上键合十八烷基，键端处理过
2	SCX	硅胶上键合磷酸钠盐
3	SAX	硅胶上键合卤化季铵盐
4	PSA	硅胶键合 N-丙基乙二胺
5	FL	弗洛里硅土
6	Al-N	中性氧化铝
7	SLE	硅藻土
8	Carb	石墨碳
9	nCarb	碳纳米管
10	HMCN	羟基化多壁碳纳米管

吸附结果见图 8，结果表明 SCX，Carb，HMCN，nCarb 吸附材料对部分磺胺类药物和其增效剂有明显的吸附，其中 SCX 对磺胺类药物和其增效剂吸附效果最好，但是其对磺胺类药物和其增效剂吸附率不能达到 100%，无法作为富集材料使用。硅藻土吸附材料对大部分磺胺类药物没有吸附效果，但是对磺胺增效剂有较强的吸附。部分吸附材料回收率高于空白提取液，可能由于吸附材料吸附一些干扰物质，降低了基质效应。目前多重机制杂质吸附 (multi-function impurity adsorption cleaning, MIA) 是一种最新提出的基于介质分散固相萃取的方法，该方法主要通过选择多种功能化吸附材料，将样品中的主要干扰杂质吸附，有效地去除基质中可能存在的磷脂、色素等物质，同时将被测物质留在样品溶液中，而达到净化和富集的目的，可大大节省样品前处理的时间。从吸附机理上来看，C8 和 C18 是主要靠非极性碳键相互作用，有助于对非极性吸附过程的样品的洗脱反相萃取，主要吸附于磷脂和中等极性的化合物，由于 C8 碳键较 C18 短，所以吸附杂质能力弱于 C18，因此选择了 C18 作为候选材料；氨基 (NH₂) 是硅胶基质上键合极性氨基丙基的极性吸附剂，而且同时具有氢键和阴离子交换两种作用机理，可用于从极性样品当中分离其非极性化合物；SAX 为硅胶上键合卤化季铵盐的吸附剂；

SAX 与 NH₂ 吸附机理相似，相比 NH₂，SAX 吸附杂质效果更好。弗洛里硅土为硅胶键合氧化镁的吸附剂，主要用于去除部分色素和大分子物质。因此选择 C18，弗洛里硅土，SAX 作为多重机制杂质吸附材料，通过混合使用可以有效地去除饲料中各种杂质干扰，达到更好的净化效果。将各种材料按不同比例添加进行净化研究，从基质净化效果来，SAX、弗洛里硅土和 C18 的比例为 2: 2: 3，能有效地吸附杂质，降低基质效应。

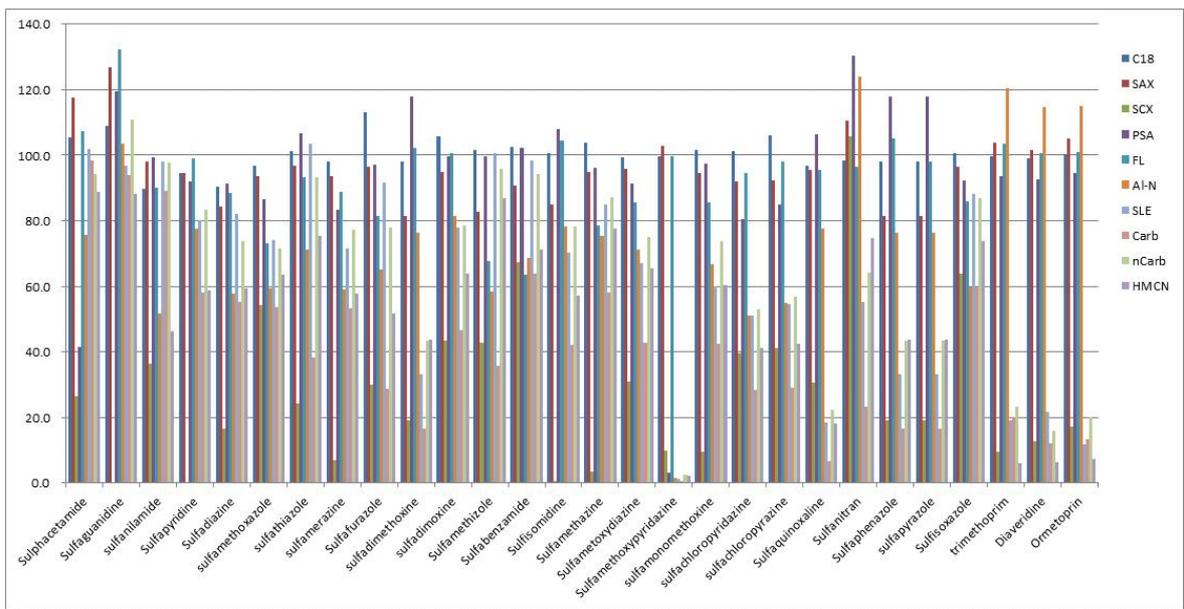


图 8 不同吸附剂对磺胺类药物吸附能力比较

同时考察了吸附材料的使用量，比较了 10、20、50、100、200、500mg 不同固体吸附剂加入量对 3mL 饲料提取液中杂质净化效果的影响（见图 9）。结果表明，当固体吸附材料加入量达 100mg 时，继续加大吸附剂的用量对饲料样品杂质的净化效果和回收率无明显改善。因此将吸附材料加入量设定为 100 mg。当加入吸附剂吸附净化后，可以有效地除去基质中的干扰物对待测物色谱峰的影响，同时减少杂质对仪器和色谱柱的损害。

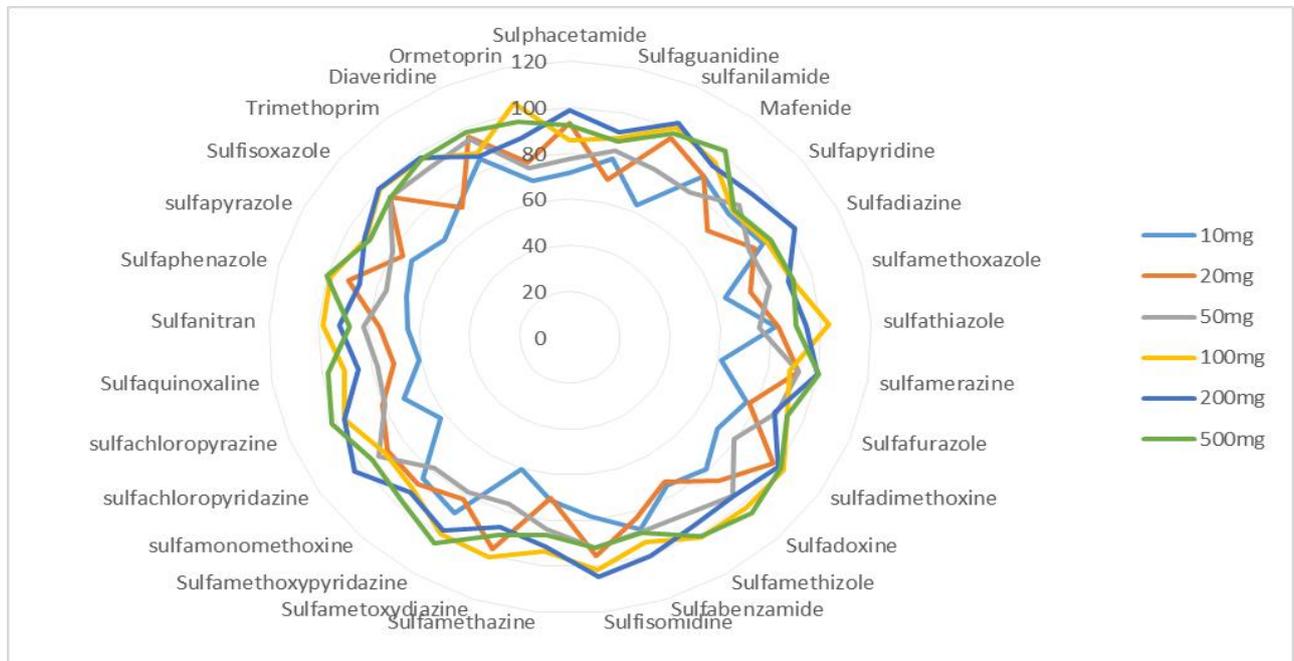


图 9 不同用量吸附剂对磺胺类药物吸附能力比较

2.3.5 试验步骤

称取饲料样品 5g（精确至 0.01g），加入 20 mL 1%甲酸乙腈溶液，超声提取 30 min，以 10000 r/min 离心 5 min。上清液备用。取 3 mL 上清液于 10mL 离心管中，加入 100 mg 多重

吸附前处理吸附材料，漩涡混合 30 秒，于 10000r/min 离心 2 min。将 2mL 上清液转移至 10mL 离心管中，40 °C 氮气吹干，加入 0.5 mL 甲醇+0.1%甲酸溶液 (10+90)，漩涡混合 30 s, 过 0.22 μ m 滤膜，上 LC-MS/MS 测定。若样品中含量超出线性范围，应用样品稀释液稀释至线性范围内上样。

2.3.6 基质效应

液质检测具有高灵敏度和高选择性的同时也存在基质效应，不同饲料样品的组成比较复杂，液质检测药物时基质干扰非常明显。首先考察基质效应，取不同饲料样品进行前处理，以此基质提取液作稀释液配制 1.00、2.00、5.00、10.00、20.00、50.00、100.00 ng/mL 的基质样品，与直接用复溶液配制的标准溶液对比，结果见表 3。大部分磺胺类药物表现基质抑制。为消除基质效应，本试验绘制基质校正标准曲线来进行定量。

表 3 不同基质中磺胺类药物的基质效应

	配合料	浓缩料	预混料	精料补充料	水产配合饲料	宠物饲料	混合型饲料添加剂植物提取物 (杜仲叶提取物)	混合型饲料添加剂植物提取物 (蒲公英提取物)	混合型饲料添加剂微生物生态制剂 (枯草芽孢杆菌)	混合型饲料添加剂微生物生态制剂 (枯草芽孢杆菌 + 地衣芽孢杆菌)
Sulphacetamide	6.3	3.4	15.1	5.6	15.4	4.4	15	11.2	18.2	11.1
Sulfaguanidine	8.4	6.6	2.9	16.6	12.6	12.2	20.7	14.9	14.3	16.1
sulfanilamide	13.9	18.5	16.7	14.7	19.9	9.1	14.1	17.7	12.6	15.3
Mafenide	8.7	15.1	11.1	14.7	6.7	18.6	11	17	20.8	13
Sulfapyridine	4.3	7.4	16.6	2.5	5.4	20.9	10.3	10.7	16.9	16.2
Sulfadiazine	14.8	16.4	18.4	16	8.5	4.8	20.2	15.8	12.9	15.5
sulfamethoxazole	7.5	14.1	12.6	4.7	8.3	15.7	14.3	17.1	14.8	18.9
sulfathiazole	7.4	14.9	13.7	18.8	15.3	14.6	19.2	19.5	14.7	13
sulfamerazine	6.4	9.7	1.7	18.6	14.3	13.6	12.8	8.2	13.4	16.4
Sulfafurazole	10.8	10.2	9.5	10.3	4.4	7.9	20.1	19.1	8.2	17.2
sulfadimethoxine	10.1	13.4	14.3	18.8	14.1	7.5	14.3	12.6	16.1	15.9
Sulfadoxine	11.5	18.8	6.8	17.7	12.7	10.7	13.5	9.5	20.5	13.9
Sulfamethizole	10.8	14	15.4	12	12.1	11	15	9.1	8.4	10.8
Sulfabenzamide	8.6	15.2	11.2	7.9	1.6	14.8	16.3	5.6	13.5	11.9
Sulfisomidine	1.7	13.7	10.2	5.7	5.8	10.4	19.3	9.5	15.7	18.3
Sulfamethazine	14.3	13.1	17.9	12.9	7.2	8.2	11.9	15.9	10.6	7.8
Sulfametoxydiazine	12.4	10	14.6	17.5	7.5	12.5	7.4	12.2	13.2	16
Sulfamethoxy pyridazine	7.3	19.5	19.4	8.8	6.4	17.3	7.5	13.2	12.6	10.2
sulfamonomethoxine	12.3	19.6	9.4	11.4	15.1	16.5	14.1	19.4	19.7	11.9
sulfachloropyridazine	10.3	16.7	17.9	5.5	10.4	13	12.4	14.2	11.4	15
sulfachloropyrazine	10.7	6.8	11.6	9.5	18.7	3.8	6.2	14.6	16.1	7.8
Sulfaquinoxaline	8.7	11.8	9.8	17.7	7.9	10.5	16.2	14.5	14.2	14.3
Sulfanitran	8.2	10.4	15.7	16.5	11.1	19.1	11.4	18.5	11.4	16.9
Sulfaphenazole	5.1	15.4	16.7	9.4	4.5	5.3	14.7	9.3	21.1	10.8
sulfapyrazole	7.7	4.2	6.5	19.3	13.7	12.6	9.8	12.7	13.9	16.9
Sulfisoxazole	2.4	8.3	12	2.4	13.3	3.9	10.1	14.1	11.7	18.3

Trimethoprim	12	8.8	10.4	8.4	19	5.2	16.5	10.1	14.5	13.9
Diaveridine	7	14.3	12	10.8	9.7	5.9	15.7	16.8	10.5	16.1
Ormetoprin	4.1	9.5	7.1	16.1	8.2	12.4	18.1	16.7	9.5	17.4

2.3.7 标准溶液有效期实验

在仪器测定方法优化完成后，参照 NY/T 1896-2010 兽药残留实验室质量控制规范和 GB/T27404-2008、中国兽药典、GB/T 19542-2007 和 GB/T 8381.10-2005 等标准的规定、我们对标准溶液的稳定性进行了规定。确定标准储备液于-20℃下避光保存，有效期 6 个月。混合标准中间液于 2℃~8℃避光保存，有效期 1 个月。

2.4 方法性能

2.4.1 线性方程和线性范围

配置浓度为 5μg/L~500μg/L 磺胺类药物混合标准溶液，以条件进行检测，以定量离子色谱峰面积与标准溶液终浓度作标准曲线。线性实验结果见表 4，可见标准溶液在 5.0~500 μg/L 的范围内线性关系良好（磺胺胍，磺胺醋酰和磺胺为 5.0~500 μg/L）。依据定量离子色谱峰的信噪比(S/N) 大于 3 为检出限(LOD)，S/N 大于 10 为定量限(LOQ)，得出 29 种药物的 LOD 和 LOQ。具体结果见表 4，

表 4 磺胺剂线性方程

药物名称 Drugs	线性方程 Linear equations	相关系数 Correlation coefficient	检出限 LOD	定量限 LOQ
Sulphacetamide	Y= 1061.48X + 3.0069	0.996	5	20
Sulfaguanidine	Y = 2302.98X + 142.53	0.998	5	5
Sulfanilamide*	Y = 2513.05X + 157.49	0.996	5	20
Mafenide	Y = 3434.05X + 1527.43	0.999	3	10
Sulfapyridine	Y=5219.24X+485.026	0.988	3	10
Sulfadiazine	Y=8980.36X+245.334	0.997	3	10
sulfamethoxazole	Y=10089X-1736.587	0.997	3	10
sulfathiazole	Y=23241.7X+1122.97	0.991	3	10
sulfamerazine	Y=19299.3X+2259.19	0.996	2	5
Sulfafurazole	Y=2236.4X+780.51	0.994	3	10
sulfadimethoxine	Y=38328.7X+2068.93	0.997	3	10
sulfadimoxine	Y=35378X-2438.25	0.998	3	10
Sulfamethizole	Y=21218.X-2681.628	0.994	3	10
Sulfabenzamide	Y=6795.69X+1241.554	0.995	3	10

Sulfisomidine	Y=34078.2X+4414.982	0.999	2	5
Sulfamethazine	Y=43445X+364787	0.999	3	10
Sulfametoxydiazine	Y=10747.6X+4928.82	0.998	5	20
Sulfamethoxypyridazine	Y=7435.2X+1150.41	0.997	2	5
sulfamonomethoxine	Y=21220.9X+1105.58	1.000	2	5
sulfachloropyridazine	Y=16002.8X-1567.78	0.994	3	10
sulfachloropyrazine	Y=14294.6X+2166.5	0.995	3	10
Sulfaquinoxaline	Y=7940.72X+1712.91	0.999	3	10
Sulfanitran	Y=15764.1X-1610.06	0.999	5	20
Sulfaphenazole	Y=5219.24X+485.026	0.998	3	10
sulfapyrazole	Y=8980.36X+245.334	0.997	3	10
Sulfisoxazole	Y=10089X-1736.587	0.999	3	10
trimethoprim	Y = 15222X + 12624	0.998	1	5
Diaveridine	Y = 20217X + 19379	0.998	1	5
Ormetoprin	Y = 10219X + 4576.5	0.996	1	5

从表 3 中可以看出：标准溶液在 5.0~500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的范围内线性关系良好，根据 NY/T 1896-2010 兽药残留实验室质量控制规范和 GB/T27404-2008 的要求、我们利用回收率和实际样品的结果，确定方法的检出限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.5 方法的回收率和重现性

精密称取各种饲料样品，添加不同量磺胺类药物标准溶液制成含高、中、低浓度样品，按上述方法进行检测，每个样品 5 个重复，重复 3 次，相关色谱图见图 10-20.测得回收率和变异系数见表 5：由表可知，在添加水平，方法平均回收率为 70.4%~106.2%，相对标准偏差为小于 20%，满足 NY/T 1896-2010 兽药残留实验室质量控制规范和 GB/T27404-2008 的要求。

表 5 添加回收率和精密度实验结果

Drugs	配合饲料 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			浓缩饲料 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	50	200	1000	50	200	1000
Sulphacetamide	81.8±7.7	100.3±8.2	101±10.5	83.7±11	98.7±8.3	99.5±13.1
Sulfaguanidine	83.7±10.5	90.1±10.1	86.3±9.3	103±15.1	94.3±7.8	103.5±7.8
Sulfanilamide*	88±10.9	84.3±11.7	87.4±13.5	89.9±4.7	82.6±4.7	92.7±8.7
Mafenide	94.8±10.4	95.6±7.2	82.3±5.9	95.2±10.6	86.9±6.1	93.5±14.9
Sulfapyridine	88.3±11.4	88.6±15.8	87.6±15	83.7±7.8	102.6±10	84.9±10.3

Sulfadiazine	97.4±13.3	93.7±15.8	101.9±14	89.3±10	98.7±13.7	99.7±10.6
sulfamethoxazole	98.9±3.4	105±12.4	96.2±12.3	103.4±14.9	101±14	102.3±14.5
sulfathiazole	97.5±9.8	104.8±4.3	82.1±6	96.4±12.9	92±10.7	97.4±15.4
sulfamerazine	97.6±5.1	98.5±13.3	85.2±9.6	83.5±5.6	80.2±5.3	86.2±5.4
Sulfafurazole	93.1±14.2	90.3±14.2	89.4±13.2	97.4±14	102.1±13.8	93.2±11.4
sulfadimethoxine	101.2±4.9	99.8±14.7	90.8±13.2	86.1±6.7	80.3±11.6	92.5±6.7
sulfadimoxine	84.7±10.2	92.1±11.5	83.1±10.2	85.6±6.2	94.8±11.2	93.7±9.7
Sulfamethizole	95.8±13.5	95.9±10.9	86.7±4.1	80.3±10.4	86.8±15.2	103.5±6.2
Sulfabenzamide	98.9±12.1	84.5±6	100.8±8	104.2±11.4	91.4±5	85.1±5.6
Sulfisomidine	103.6±4.2	88±8.3	99.6±4.6	89.5±6.7	80.7±11.2	90.6±10.9
Sulfamethazine	98.3±8.4	94.5±6.9	83.3±13.2	96.2±10.2	92.5±11.7	103.8±13.5
Sulfametoxydiazine	101.6±12.9	100.9±13.9	84±7.3	83.6±6.3	83.8±8.4	85.4±5
Sulfamethoxy pyridazine	103.5±7.5	100.6±15	92.5±7.8	102.5±8.9	102.1±9.4	84.2±12.9
sulfamonomethoxine	98.9±11.7	97.4±15.1	100.6±7.6	85.3±4.6	94.8±15.7	103±8.1
sulfachloropyridazine	87±12.2	101.6±13.6	84.1±11.7	102.4±4.6	82.5±9.6	98.2±8.7
sulfachloropyrazine	81.9±14	99.1±11.5	101±13.7	84±11	80.5±15.9	97.8±8.1
Sulfaquinoxaline	81.2±10.1	103.2±6.7	104.5±3.8	102.6±10.2	92.8±6.6	88.5±11.5
Sulfanitran	92.2±6.5	104.5±5.7	91.5±8.3	83.8±12.3	93.1±7.3	104.4±6
Sulfaphenazole	100.2±10.6	92.7±11.7	83.5±5.9	101.8±14.4	104.6±6.8	87.5±6.2
sulfapyrazole	85.9±12.1	96.2±10.6	89.5±5.9	95.7±5.6	84.5±15.3	81.5±8.7
Sulfisoxazole	96.4±4.7	104.7±10.5	81.2±15.5	89.1±12.3	90.3±9.7	90.1±7
trimethoprim	101±5.2	89.9±6.3	94±6.6	104.8±5.3	91±9.3	85.6±14
Diaveridine	102.9±5.2	101.7±4.5	86.1±8.5	82.4±3.4	97.5±9.5	84.2±12.4
Ormetoprin	104.3±8.6	102.6±9.7	104±13	86.6±12.3	96.2±6.9	95.2±4.2

Drugs	预混料 (µg/kg)			精料补充料(µg/kg)		
	50	200	10000	50	200	5000
Sulphacetamide	79.6±4.6	83.4±15.4	77.1±1.9	86.5±13.5	71.2±16.8	70.4±14.7
Sulfaguanidine	93.5±3.1	75.9±16.8	76.8±9.7	77.8±9.9	82.1±0.6	93.8±18.5
Sulfanilamide*	82.8±16.7	87±19.7	91.9±8.1	91.3±10.4	78.4±5.2	78.2±10.3
Mafenide	96.3±5.9	91.8±17.9	92.4±17.9	101.7±14.8	102.3±14.6	102.9±5.7
Sulfapyridine	102±18.9	88.9±6.6	95.7±14.5	99.8±4.8	100.7±5.2	94.7±0.4

Sulfadiazine	96.9±2.8	97.6±10.9	88.7±10.6	98.1±0.8	102.5±1.7	91±17.4
sulfamethoxazole	104.2±17.6	87.9±2	95.7±9.4	102.8±17.9	95.1±18.1	100.7±5.5
sulfathiazole	92±14.7	97±8.8	92±3.7	100.9±6	90.6±15.6	97.4±4
sulfamerazine	97.6±12.7	92.4±12.6	87.6±1.3	88.6±19.7	87.4±12.2	97.4±12.8
Sulfafurazole	102±18.9	100.8±2.9	100.2±1.8	94.6±0.2	85±8.8	98.8±2.5
sulfadimethoxine	95.6±9.9	94.6±8.4	99.4±17.2	94±14.1	85.3±7.2	97.2±12.2
sulfadimoxine	95.2±11.9	94.8±11	91.7±6.4	96.8±0	90.7±19.2	88.6±13.2
Sulfamethizole	104.7±15.4	86.5±17.2	101.2±0.4	94.4±3.9	88.9±14.8	87.6±11.8
Sulfabenzamide	94.4±3.6	100.3±12.6	95.4±13.7	88.4±7.5	90.4±7.9	103.6±5.6
Sulfisomidine	103±15.3	96.7±11.5	93.7±19.8	95.9±8.2	85.2±16.1	97.2±5
Sulfamethazine	93.5±15.1	98.2±16.3	95.7±17.3	102.3±1.9	103.9±15.6	103.6±18.3
Sulfametoxydiazine	89.2±14	86.7±18.6	100.4±14	90.7±16.8	100.6±5.3	89±4.4
Sulfamethoxy pyridazine	100.3±9.8	96.4±12.8	100±6.7	89.4±12.7	92.5±1.6	98.8±17.6
sulfamonomethoxine	106.2±7	92.9±16.1	103.9±16.7	96.7±18.7	86.4±16.4	97.9±12.1
sulfachloropyridazine	99±9.9	91.8±0.5	96.9±16.5	92.5±16	87±16.1	85.2±6.3
sulfachloropyrazine	87±5.2	87.9±17.9	92.9±17.8	91.6±15.6	87.5±2.6	88.4±15.6
Sulfaquinoxaline	104.8±8.8	96.6±17.5	88.5±14.1	86.6±18.5	101.9±2.3	99.3±13.5
Sulfanitran	99.7±14	95±15.3	97.1±8.9	102.9±17	94.9±7.8	97.8±1.5
Sulfaphenazole	98.9±19	91.2±18.4	102±0.6	96.3±8.1	96.8±9	88.1±6.5
sulfapyrazole	96.7±2.1	101.1±6.6	95.6±18.7	94.7±10.5	96.5±10.8	110.2±4.6
Sulfisoxazole	104.8±10.8	93.4±12.6	100.2±8.6	104.3±1.7	92.2±5.7	93.2±18.2
trimethoprim	99.8±12.5	98.2±8	98.7±11.3	92.6±16.7	85.1±4.2	90.3±9.8
Diaveridine	92.3±3.5	98.7±7.2	97.3±9.3	97.6±6.3	95.1±3.2	88.3±12.9
Ormetoprin	91.6±4.6	98.4±15.4	97.1±1.9	92.5±13.5	93.2±16.8	90.5±14.7

Drugs	水产配合饲料(µg/kg)			宠物饲料(µg/kg)		
	50	200	1000	50	200	1000
Sulphacetamide	103.2±9.6	102±4.8	91.5±4.4	77.7±6.5	87.7±13.8	78.6±15.5
Sulfaguandine	80.6±11	96.5±4.5	101.3±7	83.6±4.3	76.8±4	92.4±12
Sulfanilamide*	93.3±11.2	82.2±10.1	85.7±9.7	85.5±13.1	79.1±11.5	89.2±11
Mafenide	81.9±3.4	95.8±9.7	83.9±11.6	75.7±12	97.6±10.8	93.2±11
Sulfapyridine	86.2±13.4	98.3±13.9	84.4±14.2	78±15.7	93.6±14.2	80.4±12.3

Sulfadiazine	99.4±3	98±6.3	100±11.3	88.5±6.2	87.6±7	89.8±11.6
sulfamethoxazole	85.1±7.3	80.6±9.8	87.3±6.6	89.2±12.4	92.9±7.5	86.1±13.4
sulfathiazole	81.7±15.7	94.2±3.9	91.3±15.9	92.9±5.7	88.1±6.9	93±11.2
sulfamerazine	100±10.5	85.5±5.6	89.7±9	78.7±6.6	91.6±15	96.8±15.1
Sulfafurazole	98.3±13.8	85.4±9.5	103.1±9.9	87.7±8.9	76.6±4.7	76.9±12.5
sulfadimethoxine	101.5±14.8	87.4±3.6	84.8±4.7	79±8.2	91.2±13.6	83.2±14.6
sulfadimoxine	84.5±13.9	100.5±13.6	100.5±6.7	82.3±14.5	87.9±9.6	83.4±7.7
Sulfamethizole	84±12.6	90.9±15.5	104.7±10	88±10.9	75.2±15.7	80.6±3.1
Sulfabenzamide	94±8.6	101.1±15.9	98.8±13.4	76.7±4.3	93.2±3.3	96.7±11.1
Sulfisomidine	90.3±10.9	83.2±8.1	80.8±9.6	79.4±5.9	74±12.3	93.3±7.9
Sulfamethazine	87.7±14.1	80.7±8.3	93.1±8.7	90.4±4.4	77.3±3.7	90.4±14.8
Sulfametoxydiazine	82.5±11.1	81.2±8.1	94.3±11.3	97.3±6.4	84.6±7.7	84.2±15.8
Sulfamethoxypyridazine	90.7±10.2	89.6±9.2	96.9±10.9	74.3±10.6	97.4±11.7	77.1±7.5
sulfamonomethoxine	80.1±8.9	100.7±10.3	104.7±11.2	90.3±9.8	77.2±12.8	93.3±3.7
sulfachloropyridazine	91.7±4.1	87.8±9.4	84.9±8.7	74.9±10	90.9±11.6	76.9±7
sulfachloropyrazine	88.5±3.3	90.6±9.9	91.1±4.3	74.2±5.2	86.9±10.5	95.1±10.3
Sulfaquinoxaline	85.8±15.7	92.8±5.7	93.4±6.5	91.7±12.3	84.9±7.5	77.8±11.6
Sulfanitran	99.3±9.3	102.7±10.8	87.8±3.5	76.3±5.1	88.3±8.5	83.3±15.4
Sulfaphenazole	104.5±5.2	86.8±7.9	80.8±12.9	74.9±9.8	77.4±7.5	80.6±14.6
sulfapyrazole	83.5±13.4	98.8±9.7	80.4±12.1	83.9±6.4	88.8±13.3	86.7±8.8
Sulfisoxazole	93±15	99.4±14.8	104.4±15.7	78.5±10.3	79.7±15.2	80.9±14.5
trimethoprim	95.6±11.5	90.9±13.4	87.2±15.9	81.6±3.8	90.8±3.3	92.3±8.3
Diaveridine	94.4±3.7	86.8±11.1	94.7±15.5	97.9±14.3	97.7±12	89.6±4.8
Ormetoprin	90.5±6.6	93±12.6	85.3±11.8	87.2±14.2	87.3±7.8	89.6±3.3

Drugs	混合型饲料添加剂植物提取物（杜仲叶提取物）(µg/kg)			混合型饲料添加剂植物提取物（蒲公英提取物）(µg/kg)		
	50	200	10000	50	200	10000
Sulphacetamide	97±13.6	74.5±15.7	86.1±8.9	82.5±4.2	73.6±15.8	73.5±18.8
Sulfaguanidine	76.2±4.7	81.2±14	75.4±10	82.4±5.7	82.7±4	97.8±7.8
Sulfanilamide*	76.5±3.8	80.8±18.6	92±10.1	97.8±6.5	92±7	94.7±15.6
Mafenide	97.9±18.3	97.7±8.2	78.7±5.1	90.1±5.9	88.2±3.4	93.9±15

Sulfapyridine	97.9±7.9	92.5±13.2	86.8±11.6	76.4±3.2	76.3±15.8	83.3±10
Sulfadiazine	95±10.6	82.1±15.5	74.7±19.9	81.5±13.7	93.1±12.3	84.2±3
sulfamethoxazole	85.2±16.8	90.7±11.3	75.2±15.7	85.9±9.8	97.5±19.9	95.9±10
sulfathiazole	84.5±13.3	86.4±8	82.9±15.9	75.4±9.9	91.9±18.5	80.8±10.6
sulfamerazine	82.1±9.8	79.6±12.3	73.9±19.6	73.9±12	85.3±3.1	78.7±3.8
Sulfafurazole	89.3±8.8	93.9±13.3	76.1±13.5	79.2±4	80.1±3.4	75.7±7.2
sulfadimethoxine	91.2±13.9	84±6	88±14.3	81.3±11	93.3±17	78.1±13.5
sulfadimoxine	91.3±10	94.7±14.9	73.3±11.7	86.7±14.5	74.3±12.1	92.6±18.4
Sulfamethizole	79.6±18.2	75.2±13.6	97.3±17.5	81.9±5.9	76.4±18.3	92.7±8.4
Sulfabenzamide	92.6±10	81.7±4.3	81.5±9.4	93.9±19	84.7±8.2	95.7±6
Sulfisomidine	92.7±11.5	95.7±5.7	75.9±11.9	93.6±15.8	82.2±17.1	93.1±3.1
Sulfamethazine	79.4±6	83.8±16.3	86.3±13.8	83.9±13.5	77.9±3.4	88.7±16.5
Sulfametoxydiazine	77.9±13.7	86.1±12.4	87.4±5	95.2±18.3	84.6±7	74.3±11.9
Sulfamethoxy pyridazine	89.6±6.3	96.9±15.4	78.4±12.1	78.8±18.8	94.1±13.6	87±17.2
sulfamonomethoxine	93.8±4.9	87.1±5	83.9±4.7	90.4±9.1	95.7±4.9	89.2±7.8
sulfachloropyridazine	92.1±4.7	78.7±9.6	74.6±19.9	87.8±10.8	85.7±4.2	83.7±5.5
sulfachloropyrazine	84.1±13.2	79.3±17	85.7±5.2	77.2±16.6	96.7±10.2	76.3±18.5
Sulfaquinoxaline	74.6±15.1	86.3±15.6	78.8±11.1	94.9±4.2	81.3±7.5	79.8±6.7
Sulfanitran	89.8±14.6	83.5±19.8	93.2±13.9	90.4±6.3	97.7±14.1	90.5±11.9
Sulfaphenazole	75.6±19.9	82.6±16.4	80±10.9	73.4±4.8	91±14.7	76.6±14.8
sulfapyrazole	76.5±18	86.2±3.2	81.3±12	73.6±7.8	88.6±8.4	77.9±3.5
Sulfisoxazole	97.4±19.7	75±17.3	73.2±14.9	85.5±3.3	96±6.5	85.6±8.9
trimethoprim	73.8±9.8	86.8±6.2	97.3±13.2	94.2±3	76.9±15.7	84.2±6.3
Diaveridine	97.2±11.4	75.4±3.1	90.1±10.1	87.1±11.5	75.1±18.5	84.4±16
Ormetoprin	77±16.9	94.9±14.5	85.7±12.3	89.9±7.6	93.4±11.5	81.4±14.1

Drugs	混合型饲料添加剂微生态制剂（枯草芽孢杆菌+地衣芽孢杆菌）（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）					
	混合型饲料添加剂微生态制剂（枯草芽孢杆菌）（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）			混合型饲料添加剂微生态制剂（枯草芽孢杆菌+地衣芽孢杆菌）（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）		
	50	200	10000	50	200	10000
Sulphacetamide	95.4±5.5	90.8±15.6	82.4±16.5	94.4±18.4	88.2±71.4	81.5±15.2
Sulfaguanidine	79.7±8.1	91.1±10.6	81.7±14.6	76±9.7	84.6±70.9	93.8±17.5
Sulfanilamide*	85.3±11.3	74.2±11.4	93.5±18.8	93.3±5.4	73.2±77.5	90.4±4.5

Mafenide	95.8±4.7	88.1±3.2	97.7±4.1	82.8±10.8	97.9±78.6	82.2±13.3
Sulfapyridine	91.1±7.6	85.6±8.3	81.6±7.8	91.8±10.6	78.8±89.5	86.9±18.9
Sulfadiazine	78.1±16.4	80.9±16.6	82.7±14.6	87.1±8.1	84.6±77.2	79.4±14.1
sulfamethoxazole	91.6±16.4	83.4±12.2	84.1±18.8	95.4±17.8	81.4±72.8	76.6±3.1
sulfathiazole	82±3.2	77.9±19.2	73.3±3.4	74.7±14.8	90.7±86.1	97.7±10.4
sulfamerazine	86.9±6.6	86.6±6.7	92.3±6.6	87.6±8.7	80.7±92	80.5±11
Sulfafurazole	89.2±4.1	79.6±7.7	92.4±16.8	92.5±17.3	73.1±78.6	78.6±8
sulfadimethoxine	78±19.8	89.4±14.8	73.8±5.1	78±4.3	74.3±92	74.7±18.5
sulfadimoxine	73.2±6.4	93.1±6.1	77.3±16.8	95±4	76.6±72.6	86±7.4
Sulfamethizole	93.3±19.3	88.6±19.7	97.9±18.2	87.4±16.3	85.6±83.3	89.5±11.2
Sulfabenzamide	84.4±5.5	86.9±9	96.8±8.7	83.8±19.4	85.1±71.4	75.1±3.4
Sulfisomidine	91.2±8.2	88.7±7.6	89±15.2	95.4±19.8	75.2±89.7	82.6±19.4
Sulfamethazine	88.6±11.8	85.5±10.8	87.9±9.1	90.5±12.6	83.5±82.9	79.5±6.1
Sulfametoxydiazine	85.2±8	74.7±15	87.8±16.8	88.6±5.5	94.3±78.3	92.5±7.2
Sulfamethoxy pyridazine	96.9±19.5	93.1±17.1	87.3±5.3	88.1±19	77.3±72.4	74.5±5.5
sulfamonomethoxine	74.6±6	86.3±14.4	81.3±3.4	90.5±4.3	90.4±90.4	73.2±13.7
sulfachloropyridazine	90.6±18.3	97±17.1	94.5±17.4	83.2±16.4	80.5±77	76±8.8
sulfachloropyrazine	92.3±19.1	82.5±18.9	82±11.9	89.7±3.6	97.3±73.7	78.9±19.7
Sulfaquinoxaline	97.9±6.3	73.6±17	82.6±3.6	81.2±14	95.2±75.5	76.4±17.7
Sulfanitran	96.6±10.9	86.5±5.6	76.9±15.3	92.9±4	87.7±76.6	80.2±13.3
Sulfaphenazole	92.1±10.9	82.9±13	78.3±11.5	74.9±15.8	82±90.8	82.7±16.8
sulfapyrazole	93.8±15.1	88.2±7.4	96.2±3.5	84.3±4.2	81.9±90.8	93.7±5
Sulfisoxazole	73.5±3.7	87±17.5	96.6±5.9	89.6±15	92.6±73.3	96.2±15.7
trimethoprim	78±9	77.9±17.9	85.1±18.5	97.9±14.3	91.9±76.5	81.1±4.6
Diaveridine	97.6±4	86.6±16.7	90.2±12.3	77.1±15.6	90.9±82.9	95.3±17.3
Ormetoprin	82.1±11.2	77.1±5.4	94.1±15.8	93.9±8.3	80.1±86.4	78±6.9

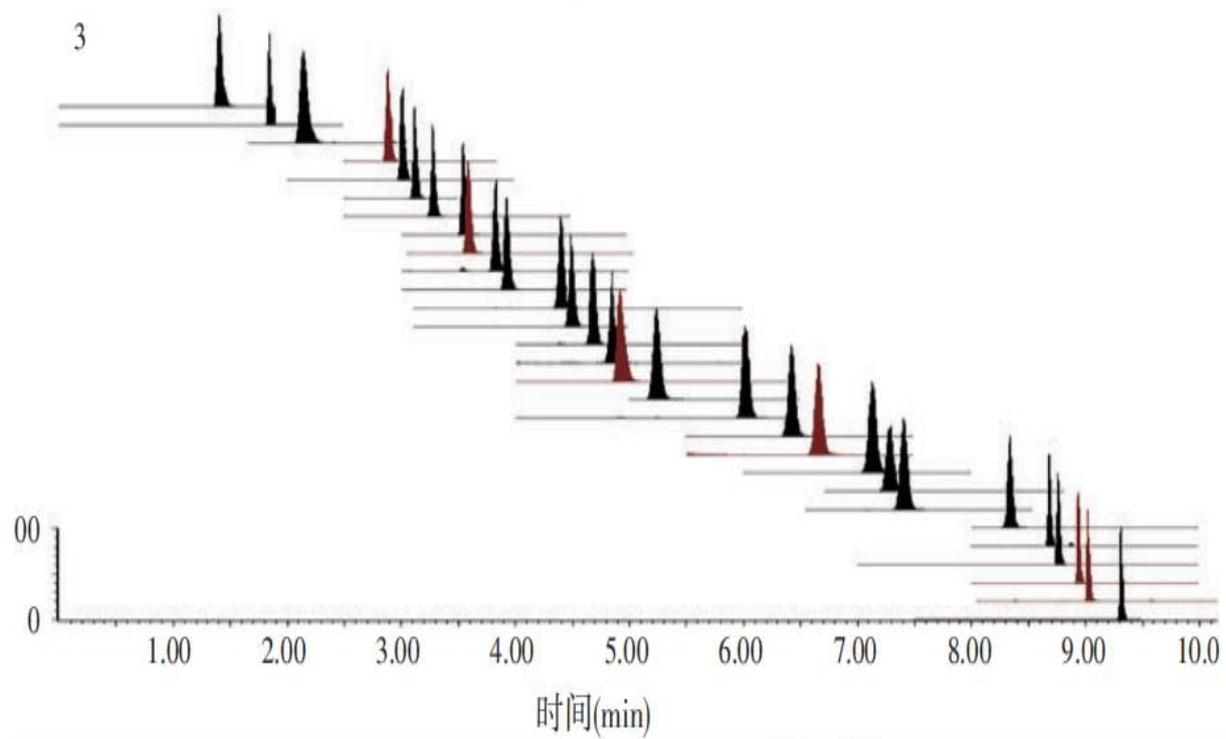
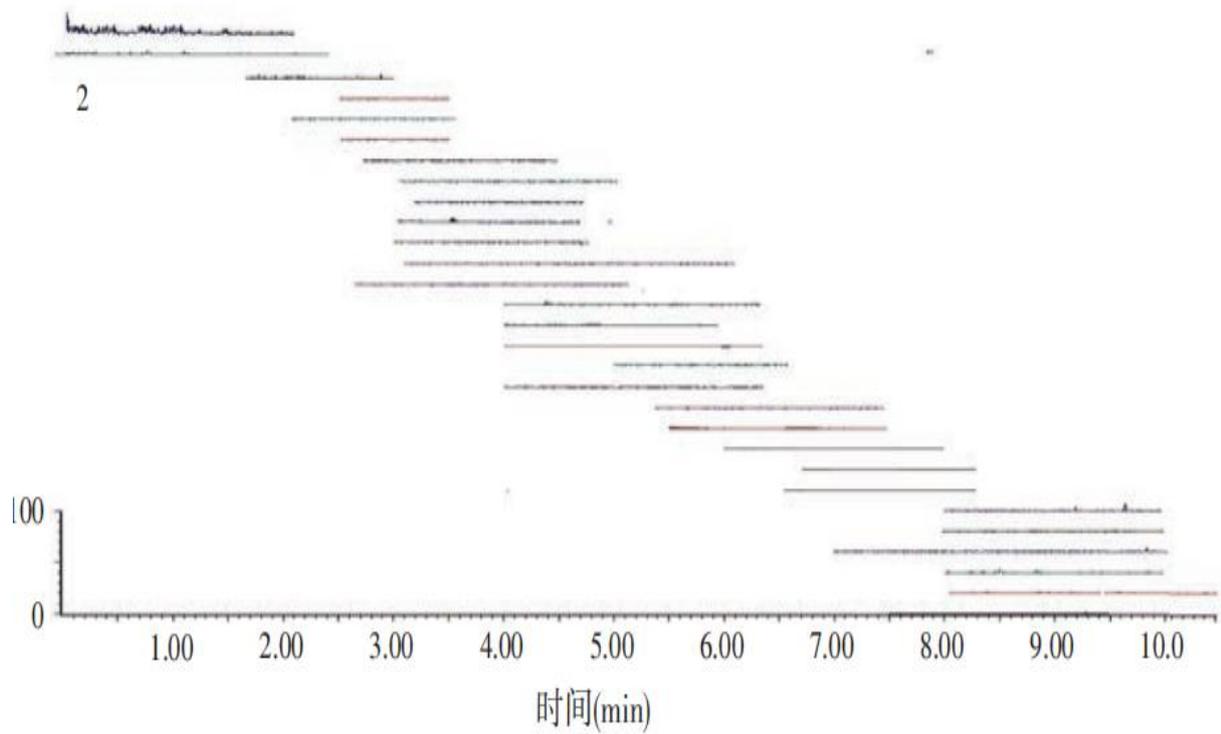


图 10 空白配合饲料和空白配合饲料添加 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的样品质谱色谱图

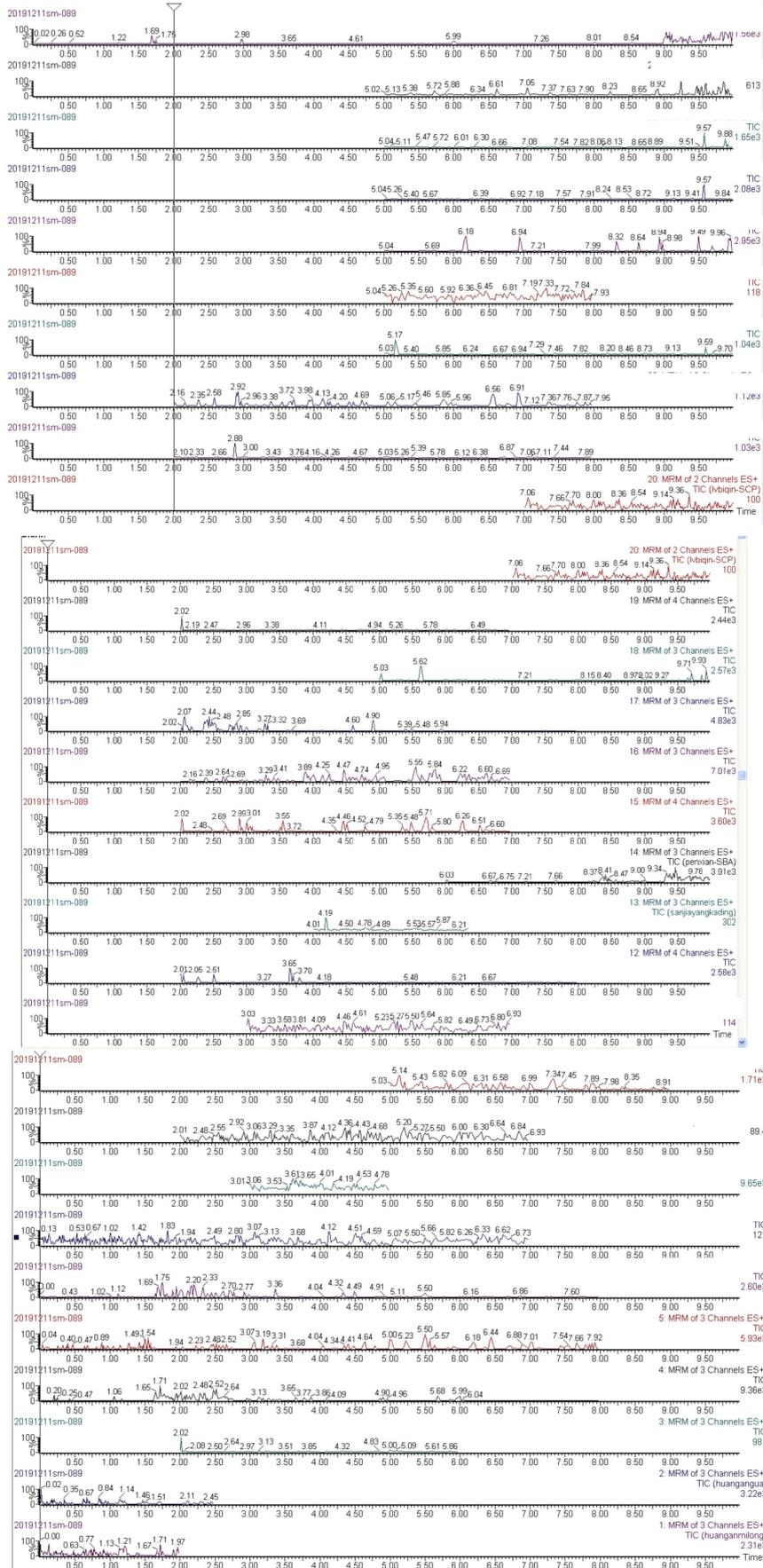


图 11 空白浓缩饲料色谱图

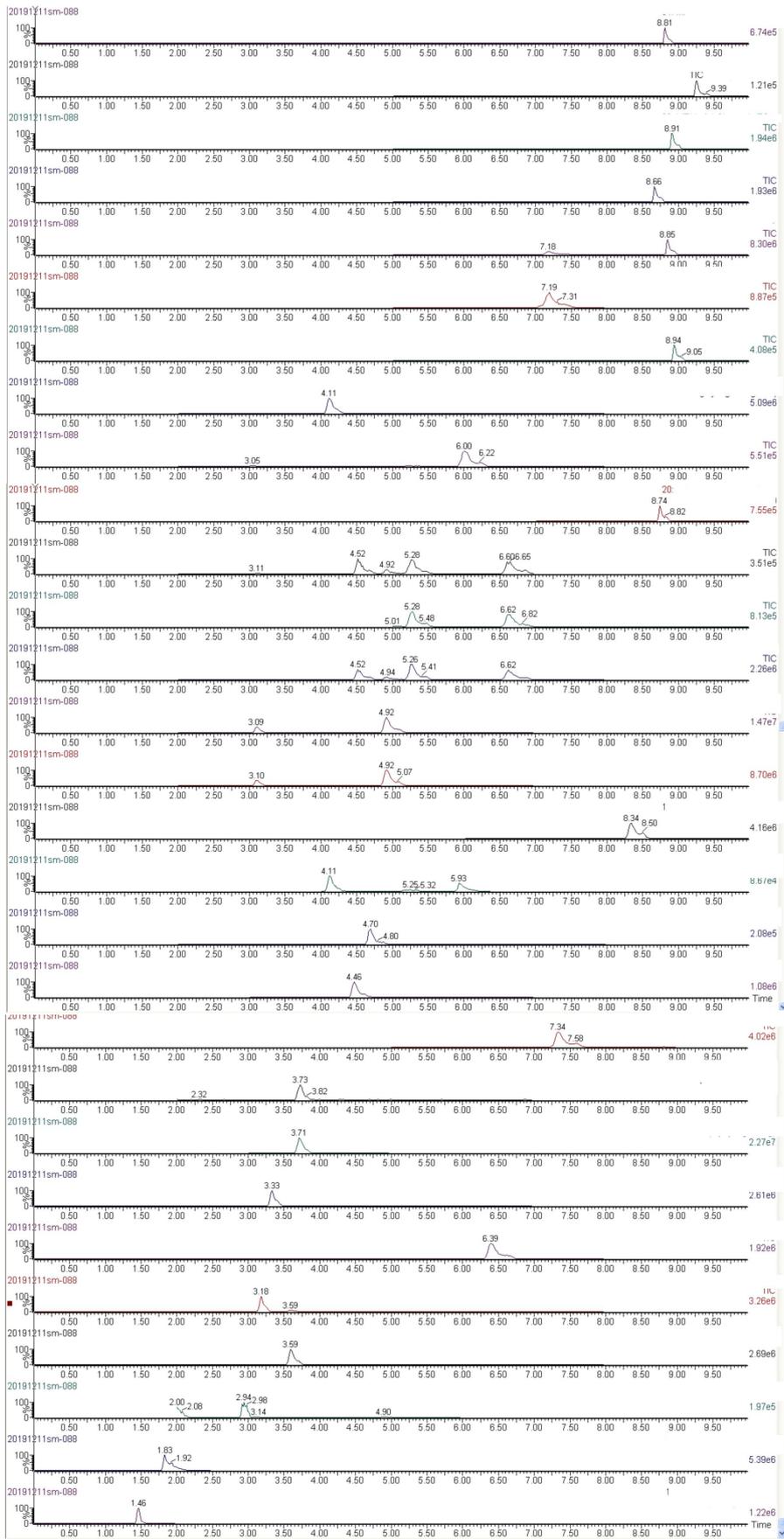


图 12 空白浓缩饲料添加剂添加 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的样品质谱色谱图

y0
20170921sm-029

43: MRM of 2 Channels ES+
TIC (erfushaxing)
5.00e5

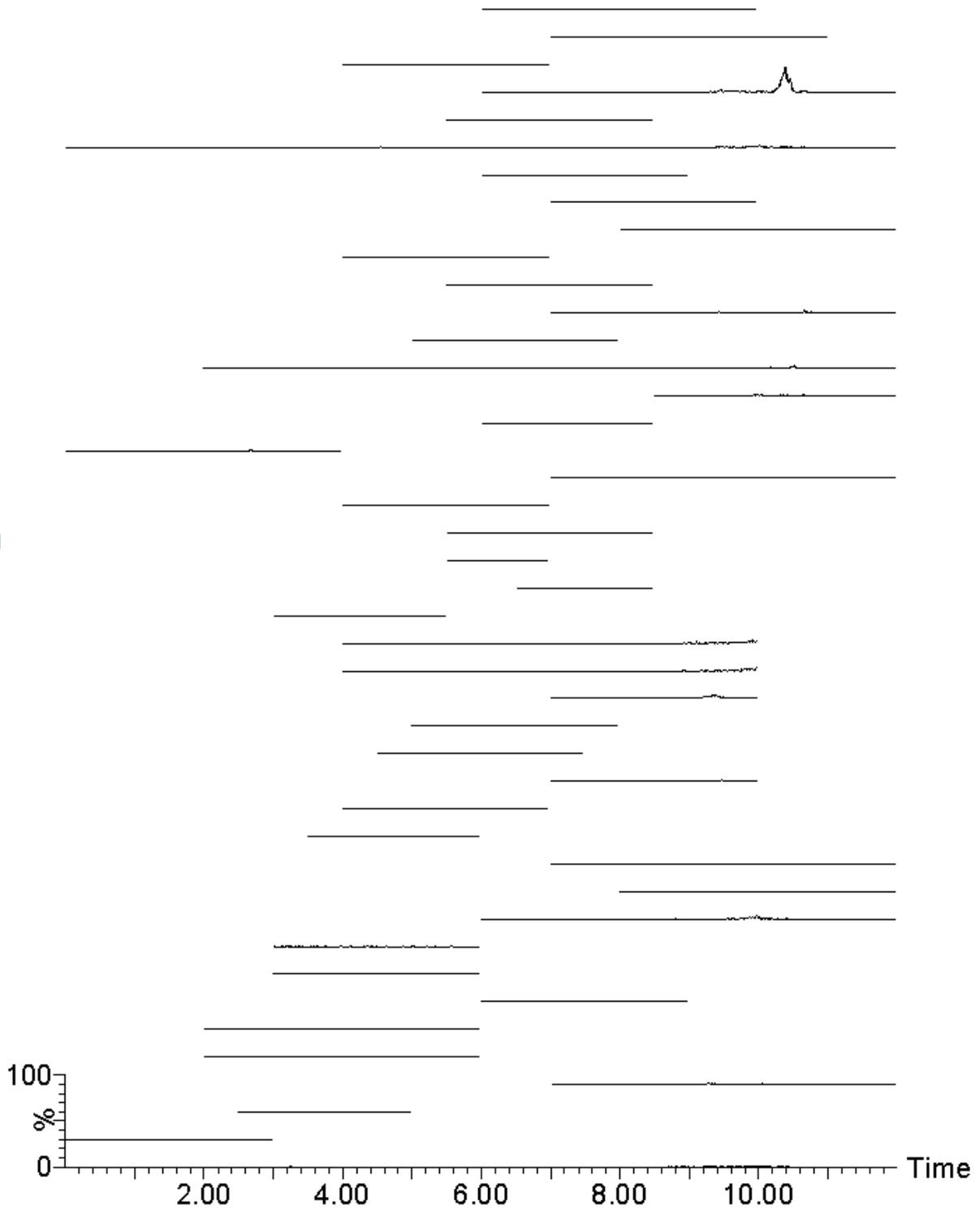


图 13 空白混合型饲料添加剂色谱图

mst

20170921sm-035

3: MRM of 2 Channels ES+
TIC (CUXIAN-SAA)
1.23e4

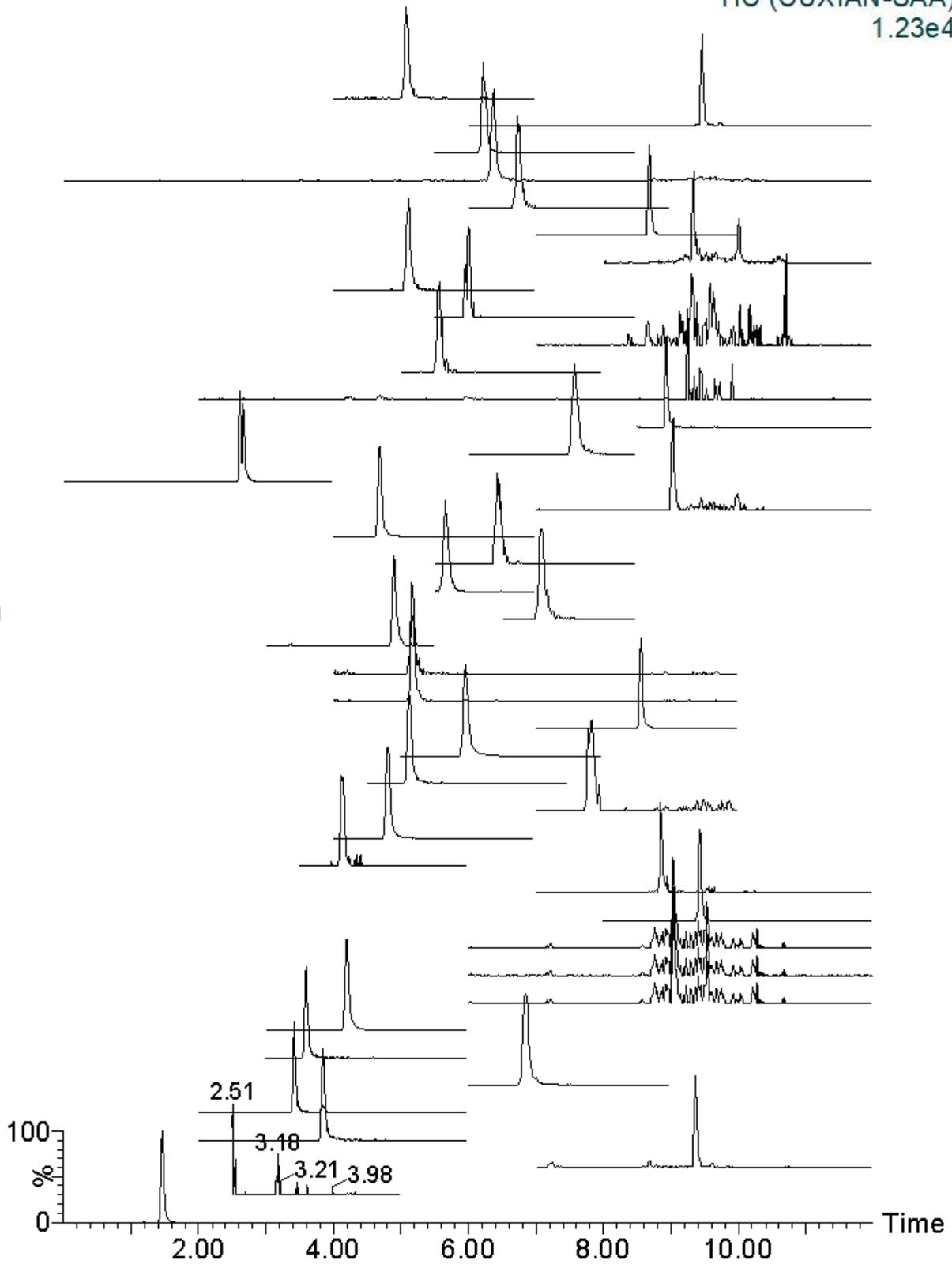


图 14 空白混合型饲料添加剂添加 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的样品质谱色谱图

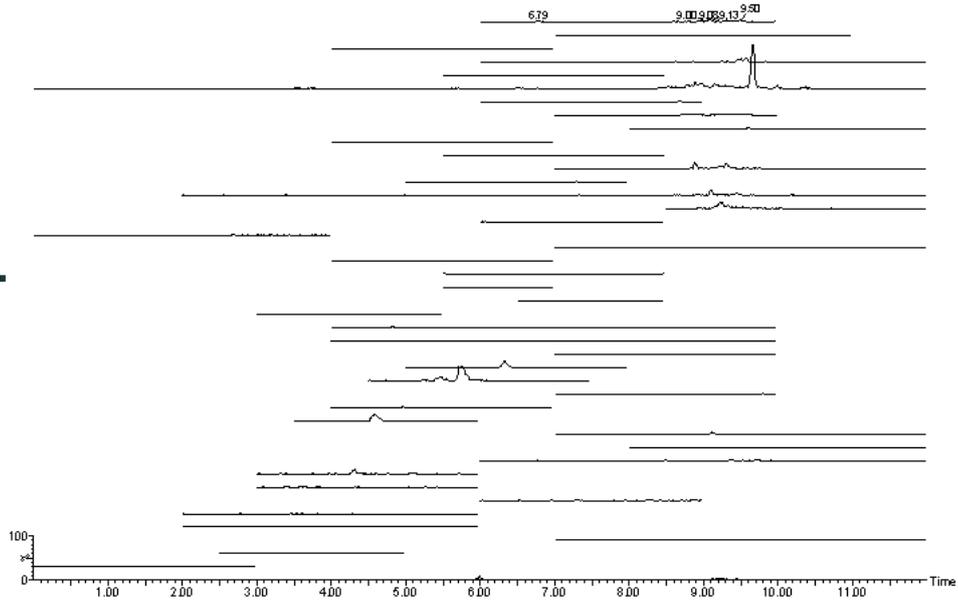


图 15 空白预混合饲料色谱图

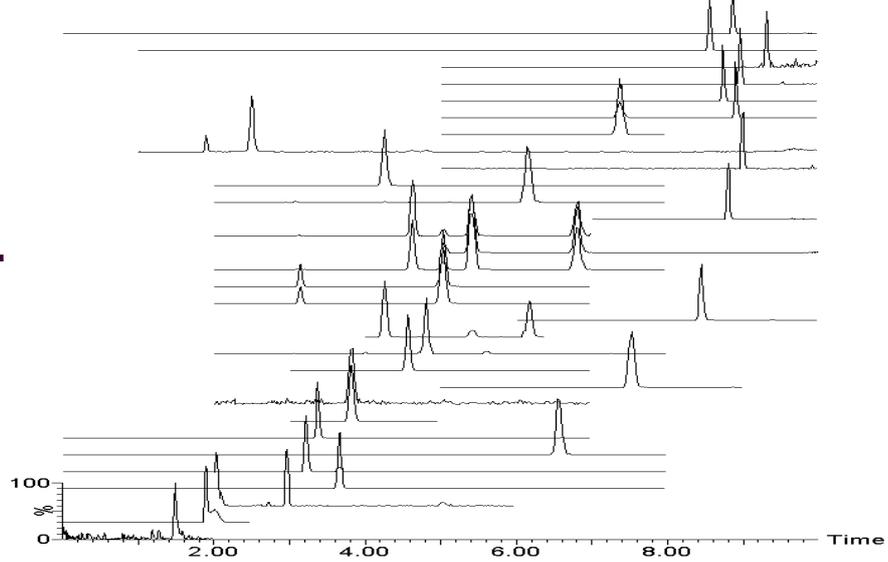


图 16 空白预混合饲料添加 (50 µg/kg) 色谱图

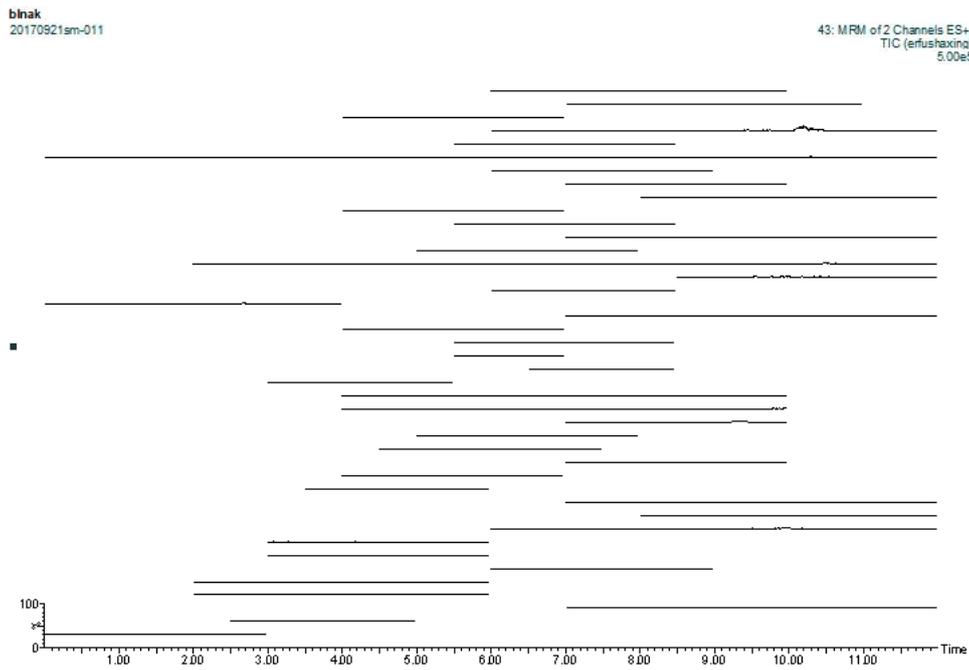


图 17 空白精料补充料色谱图

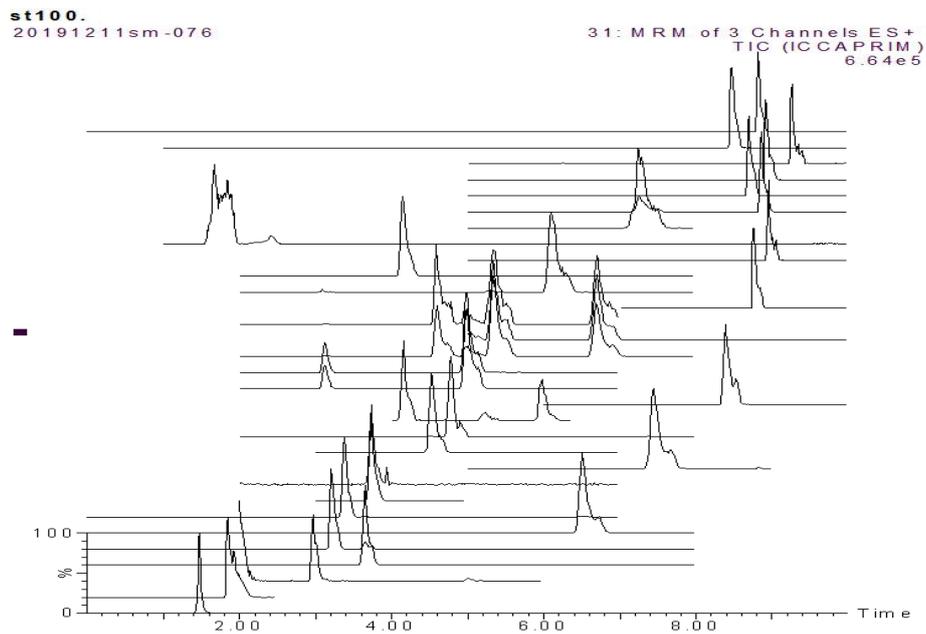


图 18 空白精料补充料添加 (50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 色谱图

2.7 征求意见

2.8 预审会的修改

2024年01月25日，中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所组织专家对中国国家标准《饲料中磺胺类药物的测定 液相色谱-串联质谱法》（预审稿）进行了认真审查。提出如下修改意见，并按照修改意见进行了进一步的修改，具体修改意见和处理结果见表。

表6 预审会修改意见和处理结果

标准章条编号	意见内容	处理结果
验证报告		

2.9 终审会的修改

全国饲料工业标准化技术委员会组织专家对起草的国家标准《饲料中磺胺类药物的测定 液相色谱-串联质谱法》（送审稿）进行了认真审查，提出修改意见。工作小组根据修改意见修改了标准文本和编制说明。形成了终审稿。

表7 终审会修改意见和处理结果

标准章条编号	意见内容	处理结果
1		
9		
编制说明		

三、实验验证的分析

标准编制小组委托广西壮族自治区兽药监察所、浙江省动物疫病预防控制中心和广东农产品质量安全中心完成本标准的复核验证工作。三家检测机构对本标准的复核验证结论为：经试验验证，采用《饲料中磺胺类药物的测定》规定的方法能满足饲料中磺胺类药物的测定要求，标准曲线相关系数均可达0.99，方法检出限、定量限可达标准制修订单位规定的水平，回收率、精密度符合GB/T 27404-2008和GB/T 27417的要求，故该方法通过验证，可作为饲料中磺胺类药物的测定标准方法。详见附件。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

国际、国外无同类标准，未见同时测定饲料中的相关报道。

五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准

无采标情况，无引用或采用国际国外标准情况。

六、与有关法律、法规的关系

本标准的制定过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规章等、严格执行国家强制性标准和行业标准。与相关的各种基础标准相衔接，遵循了政策性和协调同一性的原则。本标准与现行法律、法规、规章和政策以及有关基础和强制性标准不矛盾。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准的制定广泛征求意见，包括高校、科研院所、检验机构、生产企业，根据反馈意见对标准的《征求意见稿》进行修改，无重大分歧意见。

八、涉及专利的有关说明

本标准未明确涉及某一具体专利，但某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

九、贯彻国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议

(1) 首先应在实施前保证文本的充足供应，让每个使用者都能及时得到文本；

(2) 发布后、实施前应将信息在媒体上广为宣传，建议全国饲料工业标准化技术委员会组织标准起草单位通过标准培训、会议宣贯、影音文件等方式，积极开展本标准的宣贯工作；

十、其他应当说明的事项

无

参考文献：

1. Henry RJ. "The Mode of Action of Sulfonamides". Bacteriological Reviews. 1943 7 (4): 175–262.
2. Spielmeyer, A.; Höper, H.; Hamscher, G. Long-term monitoring of sulfonamide leaching from manure amended soil into groundwater. Chemosphere 2017, 177, 232–238.
3. 中华人民共和国兽药典，2015年。
- 29 饲料药物添加剂使用规范，中华人民共和国农业部公告第168号。
- 30 仇文生，李安良.药物化学. 高等教育出版社,1999.539。
- 31 冀贞阳.抗菌增效剂--三甲氧苄嘧啶[J]. 兽药与饲料添加剂, 2005, 10(5):10-11.
- 32 Zou X , Lin Z , Deng Z , et al. The joint effects of sulfonamides and their potentiator on Photobacterium phosphoreum: Differences between the acute and chronic mixture toxicity mechanisms[J]. Chemosphere, 2012, 86(1):30-35.
- 33 M Jesús García-Galán, M. Silvia Díaz-Cruz, Damià Barceló, et al. Combining chemical analysis and ecotoxicity to determine environmental exposure and to assess risk from sulfonamides[J]. Trac Trends in

- Analytical Chemistry, 2009, 28(6):804-819.
- 34 Baran, W., Sochacka, J., Wardas, W., 2006. Toxicity and biodegradability of sulfonamides and products of their photocatalytic degradation in aqueous solutions. *Chemosphere* 65, 1295-1299.
 - 35 动物性食品中兽药最高残留限量, 中华人民共和国农业部公告第235号
 - 36 栗胜兰. 美国关于猪饲料中抗生素使用的新规定[J]. *中国饲料*, 2017 (22):37-41.
 - 37 农医发(2017) 22号 农业部关于印发《全国遏制动物源细菌耐药行动计划(2017—2020年)》的通知
 - 38 GB/T19542-2007 饲料中磺胺类药物的测定 高效液相色谱法
 - 39 农业部1486号公告-7-2010 饲料中9种磺胺类药物的测定 高效液相色谱法
 - 40 Arroyo-Manzanares N , Lara F J , Airado-Rodríguez, Diego, et al. Determination of sulfonamides in serum by on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography with photoinduced fluorescence detection[J]. *Talanta*, 2015, 138:258-262.
 - 41 苑瑞瑞. 鸡组织中二甲氧苄啶和甲氧苄啶残留量的HPLC检测方法研究[D]. 扬州大学, 2012
 - 42 王恒, 欧阳立群. 动物源食品中磺胺类药物提取方法探讨, *中国卫生检验杂志*2010 ,20 (8):2080-2081.
 - 43 Shelver W L , Shappell N W , Franek M , et al. ELISA for Sulfonamides and Its Application for Screening in Water Contamination[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(15):6609-6615.
 - 44 Chen Y , Guo L , Liu L , et al. An ultrasensitive immune chromatographic strip for fast screening of twenty-seven sulfonamides in honey and pork liver samples based on a monoclonal antibody[J]. *J. Agric. Food Chem.* 2017, 65, 8248–8255.
 - 45 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.
 - 46 A novel hapten and monoclonal-based enzyme-linked immunosorbent assay for sulfonamides in edible animal tissues[J]. *Food Chemistry*, 2014, 154:52-62.
 - 47 裴道国, 万宇平, 杜献明,等. ELISA法检测蜂蜜中的三甲氧苄氨嘧啶残留量[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2011(23):74-76.
 - 48 欣梅, 徐桂菊, 王晓利, 王霞, 王明林, 赵汝松, 林金明. 三聚氰胺/邻苯二甲醛共价有机骨架材料结合固相萃取-液相色谱串联质谱检测环境水样中痕量磺胺类抗生素. *分析化学*, 2018, 46(12): 1990-1996.
 - 49 Tetzner, Natália Fernanda, Maniero M G , Rodrigues-Silva C , et al. On-line solid phase extraction-ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry as a powerful technique for the determination of sulfonamide residues in soils[J]. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1452:89-97.
 - 50 Pfeifer T , Tuerk J , Bester K , et al. Determination of selected sulfonamide antibiotics and trimethoprim in manure by electrospray and atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry[J]. *Rapid*

Communications in Mass Spectrometry, 2002, 16(7):663-669.

- 51 Wu H Z , Qian M R , Wang J M , et al. Simultaneous determination of sulfonamides and metabolites in manure samples by one-step ultrasound/microwave-assisted solid-liquid-solid dispersive extraction and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2015, 407(13):3545-3554.
- 52 Piotr Kowalski, Alina Plenis, Ilona Ołędzka, Lucyna Konieczna, (2011). Optimization and validation of the micellar electrokinetic capillary chromatographic method for simultaneous determination of sulfonamide and amphenicol-type drugs in poultry tissue. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 54,160-167
- 53 刘佳佳, 余永新, 刘洪斌, et al. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中24种磺胺类药物残留[J]. 分析试验室, 2011, 30(2):9-13.
- LIU Jia-jia, SHE Yong-xin, LIU hong-bin, WANG Jing*, L XIAO-ling, WANG Miao, SHI Xiao-mei, XU Siyuan and Xiao Hang Simultaneous determination of 24 sulfonamides residues in animal products by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry Chinese Journal of Analysis Laboratory 2011, 30(2):9-13.
- 54 Zhao X T , Lin Q B , Song H , et al. Development of an Immunoaffinity Chromatography Purification and Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for Determination of 12 Sulfonamides in Beef and Milk[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(18):9800-9805.
- 55 Mitrowska K , Antczak M . Determination of sulfonamides in beeswax by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2015, 1006:179-186
- 56 Hu S , Zhao M , Xi Y , et al. Non-targeted Screening and Determination of Sulfonamides: A Dispersive Micro Solid-phase Extraction Approach to the Analysis of Milk and Honey Samples using Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2017, 65(9):1984.
- 57 高洋洋, 张朝晖, 刘鑫, et al. 超高效液相色谱-串联质谱法测定动物源性食品中的磺胺增效剂[J]. 色谱, 2014(5).