

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.12.4

高效液相色谱法同时测定复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂中磺胺间甲氧嘧啶及甲氧苄啶的含量

陈锡龙, 周泽晓, 王庆红, 谢丽丽, 郭萍, 古海, 焦仁刚, 罗杨

(贵州省兽药饲料检测所, 贵阳 550003)

[收稿日期] 2020-05-20 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 12-0019-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 建立了同时测定兽药复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂中磺胺间甲氧嘧啶及甲氧苄啶含量的高效液相色谱法。以 C18 柱为固定相, 0.1% 磷酸溶液-乙腈(86:14)为流动相, 流速 1.0 mL/min, 柱温 40 ℃, 检测波长为 240 nm, 采用外标法进行定量。磺胺间甲氧嘧啶的线性范围为 5.02 ~ 100.36 μg/mL, 回归方程为 $Area = 0.62 \times Amt - 0.428$ ($n = 5$), $r^2 = 0.9996$; 甲氧苄啶的线性范围为 1.01 ~ 20.28 μg/mL, 回归方程为 $Area = 1.058 \times Amt - 0.075$, $r^2 = 0.9995$ 。取复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂, 按磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶含量的 100% 作添加回收实验, 分别作 8 个平行, 测得磺胺间甲氧嘧啶的回收率为 98.83% ~ 101.95%, RSD 为 0.91%; 甲氧苄啶的回收率为 99.02% ~ 103.09%, RSD 为 1.23%。该方法简单, 准确, 精密度好, 回收率高, 可以用于测量复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂的含量。

[关键词] 高效液相色谱法; 复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂; 磺胺间甲氧嘧啶; 甲氧苄啶; 含量

Simultaneous Determination of Sulfamonomethoxine and Trimethoprim in Compound Sulfamonomethoxine Premix by HPLC

CHEN Xi-long, ZHOU Ze-xiao, WANG Qing-hong, XIE Li-li, GUO Ping,

GU Hai, JIAO Ren-gang, LUO Yang

(Guizhou Provincial Inspecting Institute of Veterinary Drug and Feeds, Guiyang 550003, China)

Abstract: An HPLC method has been developed to determine the content of sulfamonomethoxine and trimethoprim simultaneously in compound sulfamethoxy-diazine premix, using C18 column as stationary phase, with a mobile phase of 0.1% phosphoric solution-acetonitrile (86:14) and wavelength of 240 nm. It was quantified by external standard method and the linear range of sulfamonomethoxine was between 5.02 and 100.36 μg/mL. And the regression equation was $Area = 0.62 \times Amt - 0.428$ with the correlation to be more than 0.9996; the linear range of trimethoprim was between 1.01 and 20.28 μg/mL, the regression equation was $Area = 1.058 \times Amt$

基金项目: 兽药国家标准制修订项目(2018H030)

作者简介: 陈锡龙, 正高级兽医师, 从事兽药质量检验检测及相关研究。E-mail: cxlofyjs@163.com

-0.075 with the correlation to be more than 0.9995. The average recoveries of sulfamonomethoxine from eight spiked premix samples ranged between 98.83% and 101.95%, while relative recoveries of trimethoprim from that ranged between 99.02% and 103.09%. This method was simple and accurate, and had good precision and high recoveries as well, could be used for determination of sulfamonomethoxine and trimethoprim in compound sulfamonomethoxine premix.

Key words: HPLC; compound sulfamonomethoxine premix; sulfamonomethoxine; trimethoprim; content

现行《兽药质量标准》复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂^[1]中磺胺间甲氧嘧啶($C_{11}H_{12}N_4O_3$)与甲氧苄啶的含量测定采用的是永停滴定法。永停滴定法的优点是测量结果准确、可靠,操作简单,易于掌握,所用仪器价格便宜,成本比较低廉,但缺点是耗时,专属性不强。近年来,检测实践中偶有发现某些磺胺类药物中存在添加其他磺胺药物,或者以复方制剂冒充单方制剂的情况,给动物用药带来一定的安全隐患。采用高效液相色谱法测定含量是兽药检测技术发展的未来趋势,也是提高检测效率的必然要求,还有利于及时发现药物中的其他异常成分。近年来虽然检测磺胺类药物残留的文献比较多,例如 Bilandzi cN 等^[2]的“蛋黄和蛋白中磺胺间甲氧嘧啶及甲氧苄啶的分布”,王忠等^[3]的“分散固相萃取结合超高效液相色谱串联质谱法测量猪用废水中的 28 种抗生素残留”,但是测定磺胺类兽药含量的研究却极为少见,同时测定磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶的研究更是有如凤毛麟角。在中国知网仅搜索到郭时金(音)等^[4]的“高效液相色谱法同时测定复方磺胺间甲氧嘧啶钠蜂胶溶液中磺胺间甲氧嘧啶钠及甲氧苄啶的含量”,研究建立了以磷酸溶液和甲醇作为流动相测量磺胺间甲氧嘧啶钠和甲氧苄啶的 HPLC 法。然而,在检测中发现磷酸溶液-甲醇流动相系统容易让色谱柱受到污染从而降低其使用寿命。本试验拟建立以磷酸溶液-乙腈为流动相同时测定复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂中磺胺间甲氧嘧啶及甲氧苄啶含量的高效液相色谱法,并根据兽药质量标准分析方法验证指导原则对新建立方法的准确度、重复性、精密性、专属性、耐用性及线性等进行验证,旨在为复方磺胺

间甲氧嘧啶预混剂的质量控制标准的制定提供技术支持。

1 材料和方法

1.1 仪器设备 Thermo Scientific U3000 高效液相色谱仪(配 DAD 检测器);色谱柱为 Hypersil GOLD C18, (5 μ m, 4.6 $\times$ 250 mm) 色谱柱。Agilent 1260 infinity 高效液相色谱仪(配紫外检测器);BP211D 型电子分析天平(德国塞多利斯公司);超声波清洗器(KQ-300DE, 昆山市超声仪器厂)。

1.2 对照品 磺胺间甲氧嘧啶对照品来源于中国兽医药品监察所,批号:C0031610,含量 99.5%。甲氧苄啶对照品来源于中国兽医药品监察所,批号:H0161210,含量 100.0%。

1.3 原料药 磺胺间甲氧嘧啶:吴江博霖实验有限公司提供,含量:97.38%;甲氧苄啶:寿康富康制药有限公司,批准文号:国药准字 H37020335,批号:A-10111710094,生产日期:20171031,含量:99.3%。

1.4 试验样品 共收集了 5 批 2 个不同生产厂家生产的复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂样品,样品信息见表 1。

1.5 试剂 甲醇、乙腈为色谱纯;水为高纯水;其他试剂均为分析纯。

1.6 方法

1.6.1 色谱条件 色谱柱:Zorbax SB C18 (5 μ m 4.6 $\times$ 250 mm);柱温为 40 $^{\circ}$ C;流动相为 0.1% 磷酸溶液-乙腈(86:14);流速为 1.0 mL/min;检测波长为 240 nm^[5];进样体积为 20 μ L。

1.6.2 对照品溶液的制备 分别精密称取磺胺间甲氧嘧啶对照品 50.43 mg,甲氧苄啶 10.14 mg,置同一 50 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 10 ~

表 1 试验样品信息

Tab 1 Relative information of five Compound SMM Premix samples

样品编号	生产厂家	规格	批号
HBYZ1	河北远征禾木药业有限公司	100 g: 磺胺间甲氧嘧啶 10 g + 甲氧苄啶 2 g	E9L180701
HBYZ2	河北远征禾木药业有限公司	100 g: 磺胺间甲氧嘧啶 10 g + 甲氧苄啶 2 g	E9L180702
HBYZ3	河北远征禾木药业有限公司	100 g: 磺胺间甲氧嘧啶 10 g + 甲氧苄啶 2 g	E9L180702
SHGY1	上海公谊药业有限公司	100 g: 磺胺间甲氧嘧啶 10 g + 甲氧苄啶 2 g	180905
SHGY2	上海公谊药业有限公司	100 g: 磺胺间甲氧嘧啶 10 g + 甲氧苄啶 2 g	180906

20 min,取出,放冷,用甲醇稀释至刻度,混匀,即得磺胺间甲氧嘧啶浓度为 1.0036 mg/mL 和甲氧苄啶浓度为 202.8 μg/mL 的磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶混合对照品贮备液。精密量取上述混合对照品贮备液 5 mL 置于 50 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,即得磺胺间甲氧嘧啶浓度为 100.36 μg/mL 和甲氧苄啶浓度为 20.28 μg/mL 的混合对照品溶液。

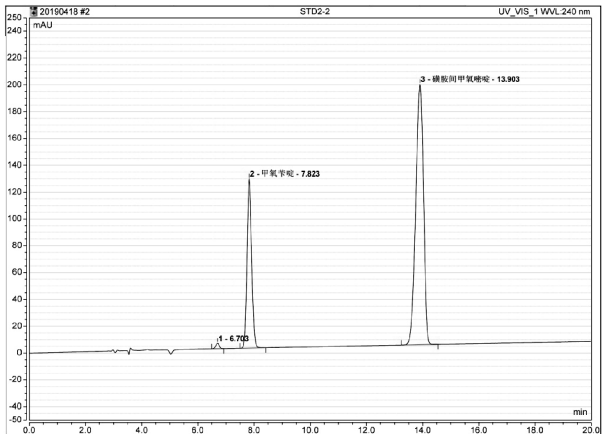
1.6.3 供试品溶液的制备 取本品 0.5 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 10~20 min,取出,放冷,再加甲醇稀释至刻度。另取上述稀释液 5 mL,置于 50 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。

1.6.4 标准曲线的建立 精密量取上述磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶混合对照品贮备液各 0.5、1、2、5、10 mL,分别置于 5 个 100 mL 容量瓶中,补足甲醇量为 10 mL,再加水稀释至刻度,得含磺胺间甲氧嘧啶浓度分别为 5.02、10.04、20.07、50.18、100.36 μg/mL 和甲氧苄啶浓度为 1.01、2.03、4.06、10.14、20.28 μg/mL 系列混合对照品溶液。精密吸取各系列混合对照品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。分别以磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶色谱峰面积(*Area*)为纵坐标,其相应质量浓度(*Amt*, μg/mL)为横坐标,绘制标准曲线,求得各自回归方程和相关系数(*r*)。

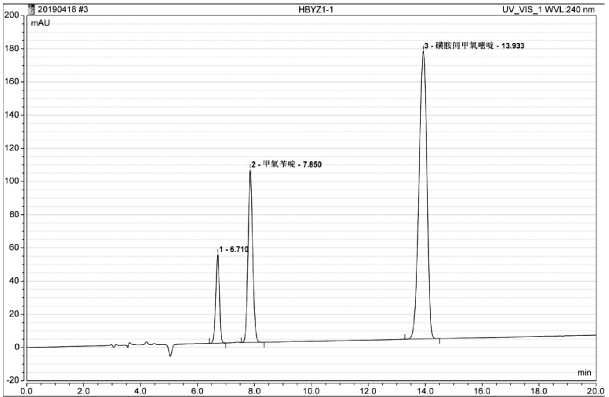
1.6.5 含量测定 精密吸取上述 1.6.2 项中的磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶混合对照品溶液及 1.6.3 项中的供试品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。按外标法定量计算供试品的含量。

2 结果与分析

2.1 色谱图 分别精密吸取磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶混合对照品溶液及供试品溶液各 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图(图 1)。结果表明:供试品溶液色谱图中,在与混合对照品溶液色谱图相应的位置上,有相同保留时间的色谱峰。



a 磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶混合对照品溶液色谱图



b 供试品溶液色谱图

图 1 磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶混合对照品及预混剂供试品溶液高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substances or Compound SMM Premix sample

2.2 线性范围 分别精密吸取上述 1.6.4 项中各系列梯度的磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶混合对照品溶液 20 μL,注入液相色谱仪,记录色谱图。以浓度为横坐标(*Amt*),色谱峰面积为纵坐标(*Area*),进行线性回归,得到磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶的回归方程。结果表明:磺胺间甲氧嘧啶在 5.02 ~ 100.36 μg/mL 和甲氧苄啶在 1.01 ~ 20.28 μg/mL 内线性关系良好,其线性方程及相关系数见表 2。

表 2 线性方程及相关系数

Tab 2 Linear equation and related coefficient

化合物 Compound	线性方程 Linear equation	相关系数 Related coefficient
磺胺间甲氧嘧啶	$Area = 0.62 \times Amt - 0.428$	0.9996
甲氧苄啶	$Area = 1.058 \times Amt - 0.075$	0.9995

2.3 重复性 精密量取含磺胺间甲氧嘧啶浓度为 100.36 μg/mL 和甲氧苄啶浓度为 20.28 μg/mL 的复方磺胺间甲氧嘧啶混合对照品溶液及含量测定项下编号为 SHGY1 的供试品溶液各 20 μL 分别连续进样 6 次,以测定结果峰面积的相对标准偏差表示试验的重复性,磺胺间甲氧嘧啶色谱峰面积的 *RSD* 分别为 0.03% 和 0.13%,甲氧苄啶色谱峰面积的 *RSD* 分别为 0.10%、0.20%,表明方法的重复性良好。结果见表 3。

表 3 重复性试验结果(*n* = 6)

Tab 3 Test data of repeatability

结果 Result	混合对照品溶液 STD		供试品溶液 Sample	
	磺胺间甲氧嘧啶峰面积	甲氧苄啶峰面积	磺胺间甲氧嘧啶峰面积	甲氧苄啶峰面积
	/mAu · min	/mAu · min	/mAu · min	/mAu · min
平均值	63.88	21.06	61.93	20.28
<i>SD</i>	0.02	0.02	0.08	0.04
<i>RSD</i> /%	0.03	0.09	0.13	0.20

2.4 准确度 以所建立方法的测定结果同原永停滴定法测量结果进行比较,计算 5 批样品磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶两种方法测量结果平均值的相对偏差,结果见表 4。结果表明,两种方法测量结果

的相对偏差均不大于 2.42%,方法具有较好的准确度。

表 4 准确度测量结果(*n* = 5)

Tab 4 Accuracy results(*n* = 5)

化合物 Compound	百分含量/% Percentage/%		相对偏差/% <i>RSD</i> /%
	高效液相色谱法	永停滴定法	
磺胺间甲氧嘧啶	9.48	9.95	2.42
<i>SD</i>	0.23	0.02	—
甲氧苄啶	1.97	2.03	1.50
<i>SD</i>	0.44	0.01	—

2.5 耐用性 使用 Agilent infinity LC 1260 高效液相色谱仪(Symmetry C18,5 μm, 4.6 × 250 mm 色谱柱)重新检测含量测定项下的 2 批已测样品,每批样品作 3 个平行,比较不同仪器及不同色谱柱检测结果平均值的相对标准偏差(表 5),考察方法的耐用性,结果表明方法耐用性良好。

表 5 耐用性试验结果(*n* = 3)

Tab 5 Durability test results(*n* = 3)

样品编号 Number	化合物 Compound	含量百分比平均值/% Average percentage		相对偏差/% <i>RSD</i> /%
		Thermo Scientific U3000	Agilent infinity 1260LC	
HBYZ1	磺胺间甲氧嘧啶	9.26	9.20	0.32
	<i>SD</i>	0.14	0.12	—
	甲氧苄啶	2.00	2.00	0.00
	<i>SD</i>	0.10	0.11	—
HBYZ2	磺胺间甲氧嘧啶	9.36	9.27	0.59
	<i>SD</i>	0.08	0.10	—
	甲氧苄啶	1.96	1.96	0.00
	<i>SD</i>	0.06	0.07	—

2.6 专属性 在对照品及样品测试色谱图中,甲氧苄啶及磺胺间甲氧嘧啶标准出峰时间附近未发现明显的干扰峰,甲氧苄啶与其前面杂质峰的分离度为 4.3,与磺胺间甲氧嘧啶峰的分离度为 15.0;

同时,经 DAD 检测器对两个色谱主峰进行识别和定位,均表明方法的专属性良好。

2.7 溶液稳定性试验 精密量取含磺胺间甲氧嘧啶浓度 100.36 μg/mL 和甲氧苄啶浓度为 20.28 μg/mL 的复方磺胺间甲氧嘧啶对照品溶液 20 μL,分别约于 0、24、48 h 上机测定,每次进样两针,磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶三次测量的色谱峰面积平均值的相对标准偏差为 1.36% 和 1.45%,结果见表 6,表明溶液在 48 h 内稳定。

表 6 稳定性测量结果

Tab 6 Stability results

化合物 Compound	峰面积/mAu·min Peak Area/mAu·min			RSD/%
	0 h	24 h	48 h	
磺胺间甲氧嘧啶	63.13	63.31	64.71	1.36
甲氧苄啶	20.73	20.82	21.30	1.45

2.8 添加回收试验 以编号为 SHGY1 的样品作

为本底样品,称取约 500 mg,精密称定,精密添加磺胺间甲氧嘧啶原料药(含量为 97.38%)约 50 mg 和甲氧苄啶 10 mg(含量为 99.3%),使两者的添加量均达到原本底含量的约 100%,按照供试品溶液的配制方法制成供试品溶液进行含量测定,共做 8 个平行。按(实测含量 - 本底含量)/实际添加量 × 100% 计算添加回收率,测得磺胺间甲氧嘧啶的回收率为 98.83% ~ 101.95%,平均回收率为 100.53%,RSD 为 0.91%;甲氧苄啶的回收率为 99.02% ~ 103.09%,平均回收率为 101.53%,RSD 为 1.23%,结果见表 7。

2.9 样品检测 取 5 批试验样品,按供试品溶液的制备方法分别制成供试品溶液后进行含量测定,每批样品作三个平行,结果见表 8。结果表明,各批次磺胺间甲氧嘧啶的 RSD 均小于 2.0%;甲氧苄啶的 RSD 相差较大,可能是其含量较低且有部分样品没有混匀的缘故。

表 7 磺胺间甲氧嘧啶、甲氧苄啶回收率测量结果(n=8)

Tab 7 Recovery rates of SMM and TMP(n=8)

化合物 Compound	本底取样量/mg Weight	本底含量/mg Background amount	实际添加量/mg Added amount	实测含量/mg Tested amount	回收率/% Recovery rate	平均回收率/% Average recovery rate	RSD/%
磺胺间甲氧嘧啶	500.36	48.48	55.44	103.28	98.83	100.53	0.91
	506.27	49.06	49.37	98.75	100.64		
	503.17	48.76	49.49	98.29	100.09		
	506.70	49.10	49.01	99.07	101.95		
	504.99	48.93	50.69	99.86	100.47		
	503.61	48.80	50.30	99.26	100.32		
	504.17	48.85	50.19	99.38	100.66		
	503.23	48.76	49.33	98.74	101.30		
甲氧苄啶	500.36	9.83	11.44	21.35	100.75	101.53	1.23
	506.27	9.94	10.62	20.72	101.51		
	503.17	9.88	10.14	20.22	101.94		
	506.70	9.95	10.08	19.93	99.02		
	504.99	9.92	10.129	20.19	101.37		
	503.61	9.89	10.46	20.67	103.09		
	504.17	9.90	11.19	21.31	101.90		
	503.23	9.88	10.32	20.47	102.64		

表 8 5 批样品中磺胺间甲氧嘧啶及甲氧
苄啶含量测量结果 ($n=3$)

Tab 8 Content determination results of SMM and
TMP in 5 samples ($n=3$)

化合物 Compound	百分含量/% Percentage/%				
	HBYZ1	HBYZ2	HBYZ3	SHGY1	SHGY2
磺胺间甲氧嘧啶	9.27	9.36	9.32	9.69	9.76
RSD/%	1.55	0.90	1.44	0.37	0.21
甲氧苄啶	2.00	1.94	1.97	2.96	1.98
RSD/%	4.94	2.97	1.88	0.42	0.59

3 讨论与结论

3.1 色谱条件及检测波长的选择 当前文献报道测量磺胺类药物的高效液相色谱法所使用的流动相系统有 0.1% 磷酸溶液 - 乙腈 (90:18, V/V)^[6]、乙腈 - 甲醇 - 水 - 乙酸 (2+2+9+0.2)^[7]、0.017 mol/L 磷酸 - 乙腈 (80+20)^[8]、磷酸盐溶液 - 甲醇 (65+35)^[9]、甲醇 - 水 - 三乙胺 (200:799:1, V/V) (用氢氧化钠试液或冰醋酸调节 pH 值至 5.9)^[10-11] 等,柱温主要有 30、40℃,检测波长多为 270、240、230 nm。在 200~400 nm 波长范围内对磺胺间甲氧嘧啶对照品溶液进行波长扫描,发现磺胺间甲氧嘧啶最大吸收峰为 295、250、230 nm,在 285、270、215 nm 处均有较强吸收峰。陈锡龙^[12]采用流动相为 0.1% 磷酸溶液 - 乙腈 (80:20) 检测磺胺间甲氧嘧啶 (钠) 的含量,认为磺胺间甲氧嘧啶 (钠) 的出峰时间适当,峰形良好,且 0.1% 的磷酸溶液也容易配制。由于增加了对甲氧苄啶的检测,流动相的比例也应作出适当调整。检测中发现甲氧苄啶色谱峰的保留时间受流动相比例变化的影响较大,即有机相增加,出峰时间提前,且峰形尖锐;有机相减少,出峰延迟,峰形变钝。研究发现,同时检测磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶时,采用流动相 0.1% 磷酸溶液 - 乙腈 (86:14) 效果最佳。但有专家认为该流动相酸性较强,有可能会损伤色谱柱。实验表明,该流动相的 pH 值略大于 2.0,约为 2.05 左右,满足一般色谱柱对 pH 值的要求范围,

且自从 2013 年开始使用 0.1% 磷酸溶液 - 乙腈流动相系统研究检测磺胺类药物以来,未曾发生一例色谱柱受到损坏的情况。为使该 0.1% 磷酸溶液 - 乙腈流动相系统 (以下简称磷酸 - 乙腈系统) 能被更加广泛地应用于检测多种磺胺类药物,研究还考察了其 与 甲 醇 - 水 - 三 乙 胺 (200:799:1, V/V) (用氢氧化钠试液或冰醋酸调节 pH 值至 5.9) 流动相系统 (以下简称甲醇 - 三乙胺系统) 检测不同磺胺药物含量的比较情况,发现后者同样能够对多种磺胺有良好的分离,但缺点是洗脱能力差,容易污染色谱柱,从而导致色谱柱柱效快速下降,使用寿命大大缩短。考虑到为保持将来磺胺类药物检测方法的一致性,同时也能够获得较好的分离效果,故选择 240 nm 作为检测波长,40℃ 作为色谱柱柱温,0.1% 磷酸溶液 - 乙腈 (86:14, V/V) 作为流动相。

3.2 样品提取方法的优化 对于样品的提取方法,陈锡龙^[13]采用加入 1 mL 的盐酸溶解处理样品后再加水定容的方法。但盐酸的破坏力极强,可能会对样品造成不可预知的破坏,也存在一定的安全隐患,同时,该方法处理样品后需要迅速进行稀释,否则,磺胺间甲氧嘧啶特别是甲氧苄啶容易析出结晶,导致测量结果出现偏差。用甲醇提取样品或溶解对照品时可获得满意的检测效果,但要注意上机溶液中有有机溶剂的比例不宜超过 20%,否则,易产生溶剂效应,使甲氧苄啶的峰形变差,甚至出现分叉等,从而影响检测结果。

3.3 高效液相色谱法测量结果比永停滴定法略低的原因分析 使用高效液相色谱法测量磺胺间甲氧嘧啶时,其结果往往要略低于传统的永停滴定法测量的结果。分析认为是磺胺间甲氧嘧啶在贮存过程中会产生一定程度的降解,且其降解产物也属于磺胺类物质,使用永停法进行测量时,仪器无法识别出该产物;而使用高效液相色谱仪进行测量时,该降解产物则能够被很好地识别出来,即在前文图 1 中磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶混合对照品及预混剂供试品溶液色谱图中保留时间约为 6.7 min (磺胺间甲氧嘧啶相对保留时间约 0.48 处) 的较小的色谱峰,所以,高效液相色谱法测量结果比

永停滴定法略低也就不难理解了。该降解产物经二极管阵列检测器检测,在 238.8、265.0、288.6 nm 波长处有最大吸收。其相对峰面积甚至可能高达 10% 以上。但是,关于该降解产物的性质及其对药品质量会产生什么样的影响尚不清楚。

本研究建立的复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂含量的高效液相色谱测定法是可行的,该方法简单,准确,精密度好,回收率高,可以作为复方磺胺间甲氧嘧啶预混剂的质量控制标准中同时测定磺胺间甲氧嘧啶和甲氧苄啶含量方法的补充。

参考文献:

- [1] 中国兽药典委员会. 兽药质量标准(化学药品卷)2017 年版[M]. 北京:中国农业出版社,2017:355-356.
- Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. Quality Standards for Veterinary Drugs chemical volume 2017 Edition [M]. Beijing:China Agricultural Publishing House,2017:355-356.
- [2] Bilandžić N, Božić D, Kolanović B S, *et al.* Distribution of sulfamonomethoxine and trimethoprim in egg yolk and white [J]. Food Chem,2015,178:32-37.
- [3] Wang Z, Wang X, Tian H, *et al.* High through-put determination of 28 veterinary antibiotic residues in swine wastewater by one-step dispersive solid phase extraction sample cleanup coupled with ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chemosphere,2019;230:337-346.
- [4] Guo S J, Zhang Z M, Fu S J, *et al.* Simultaneous Determination of Sulfamonomethoxine Sodium and Trimethoprim in Compound Sulfamonomethoxine Sodium Propolis Solution by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) [J]. Animal Husbandry and Feed Science,2015,(4):238-245.
- [5] 查玉兵,陈美,王晓芳,等. 高效液相色谱法测定猪肉中五种磺胺类药物残留量[J]. 分析仪器,2008,(4):44-45.
- Zha Y B, Chen M, Wang X F. *et al.* Determination of five sulfonamide residues in meat by high performance liquid chromatography [J]. Analytical instrumentation, 2008,(4):44-45.
- [6] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典(一部)[M]. 二〇一五年版. 北京:中国农业出版社,2016:463.
- Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. The Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China, volume 2, 2015 Edition [M]. Beijing:China Agricultural Publishing House, 2016:463.
- [7] 中国兽医药品监察所. 中国兽医药品监察所兽药残留检验操作规程 CJC2020[Z].
- China Institute of Veterinary Drug Control. CJC2020 Code of practice for veterinary drug residue inspection of the China Institute of Veterinary Drug Control[Z].
- [8] 耿士伟,曲斌,姜加华,等. QuEChERS-UPLC-MS/MS 快速测定鸡肝中七种磺胺类药物残留[J]. 中国兽药杂志,2011,45(10):16-19.
- Gen S W, Qu B, Jiang J H. *et al.* Rapid Determination of Seven Sulphonamides in Chicken Liver by UPLC-MS/MS via QuEChERS[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2011,45(10):16-19.
- [9] 郭时金,沈志强,张志美,等. HPLC 法检测磺胺间甲氧嘧啶钠和甲氧苄啶方法的研究[J]. 家畜生态学报,2010,31(4):73-76.
- Guo S J, Shen Z Q, Zhan Z M. *et al.* Study on Simultaneous Determination of Sulfamonomethoxine Sodium and Trimethoprim by HPLC[J]. Acta Ecologica Animalis Domastici, 2010, 31(4):73-76.
- [10] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典(一部)[S].
- Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. The Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China, volume 2, 2015 Edition [S].
- [11] 中国兽药典委员会. 兽药质量标准(化学药品卷)2017 年版[M]. 北京:中国农业出版社,2017:159-165.
- Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. Quality Standards for Veterinary Drugs chemical volume 2017 Edition [M]. Beijing:China Agricultural Publishing House,2017:159-165.
- [12] 陈锡龙. 高效液相色谱法测定磺胺间甲氧嘧啶钠的含量[J]. 中国兽药杂志,2017,51(2):16-19.
- Chen X L. Determination of Sulfamonomethoxine by HPLC[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2017, 51(2):16-19.
- [13] 陈锡龙. HPLC 法测定复方磺胺对甲氧嘧啶片中磺胺对甲氧嘧啶的含量[J]. 中国兽药杂志,2014,48(7):30-33.
- Chen X L. Determination of Sulfamethoxydiazine in Compound Sulfamethoxydiazine Tablets by HPLC [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug,2014,48(7):30-33.

(编辑:侯向辉)