

莫能菌素的柱后衍生HPLC 分析方法

No.LC-014

摘要：建立了莫能菌素的柱后衍生HPLC分析方法，该方法快速而且重复性好，连续6针进样莫能菌素A的峰面积相对标准偏差不超过1%。

关键词：HPLC 柱后衍生 莫能菌素 (monensin)

莫能菌素是聚醚类抗生素，对鸡毒害、柔嫩、堆型、波氏、巨型、变位艾美耳球虫均有高效，是较理想的广谱抗球虫药，已广泛用于世界各地，在畜牧业上还可促进肉牛生长。莫能菌素钠盐为淡黄色粗粉，性质稳定，易溶于氯仿、甲醇、乙醇，但不溶于水。在酸性介质中不稳定，但碱性介质中很稳定。在过去，饲料中抗生素定量方法基本上采用微生物学定量法，需在37℃左右下培养细菌，大约2天后才能得到结果。目前，对于莫能菌素的分析，通常采用高效液相色谱香草醛柱后衍生进行分析，方法快速、简便。

仪器配置

LC-20AT(流动相输液泵)，LC-10Ai(柱后衍生试剂输液泵)，SIL-20AC(自动进样器)，CTO-10ASvp(柱温箱)，SPD-20A(紫外可见检测器)，CRB-6A(化学反应箱)，CBM-20A(系统控制器)，LCSolution(色谱工作站)，反应盘管(0.5mm I.D. × 7M L.Teflon管)。

衍生反应原理

在酸性条件下使羧基脱水，增加双键结构，再经双键位移，双分子缩合等反应生成共轭双键系统，又在酸作用下形成阳碳离子盐而显色。

标样制备

称取莫能菌素约0.25g，加入稀释剂(甲醇:水 = 90:10)50mL，摇匀并机械振荡一小时后，静置过滤，称取1mL至100mL容量瓶中，稀释至刻度，摇匀。莫能菌素的浓度为49.62 μg/mL。结果如下：

分析条件

流动相：甲醇:纯水:醋酸 = 920:80:1

衍生剂：甲醇:硫酸:香草醛=950mL:20mL:30g

流速：流动相和衍生剂均为0.7mL/min

进样体积：200 μL

色谱柱：Waters SunFire C18 5 μm 4.6 × 250mm

柱温：25℃

反应箱温度：95℃

检测波长：520nm

检测池温度：40℃

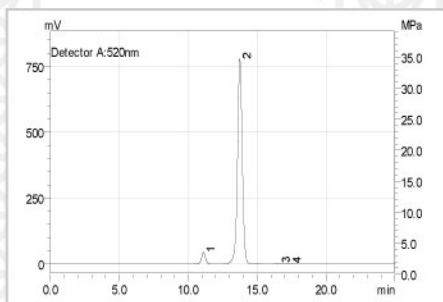


图1 莫能菌素色谱图

#	Name	RT	Area	Area%
1	Monensin-B	11.095	894012	4.5217
2	Monensin-A	13.740	18710936	94.6348
3	Monensin-D	16.576	94816	0.4796
4	Monensin-C	17.360	71972	0.3640

表1 莫能菌素峰表

■ 重现性实验

将上述样品连续进样6次，分别计算保留时间和峰面积的重复性。结果见图2和表2。

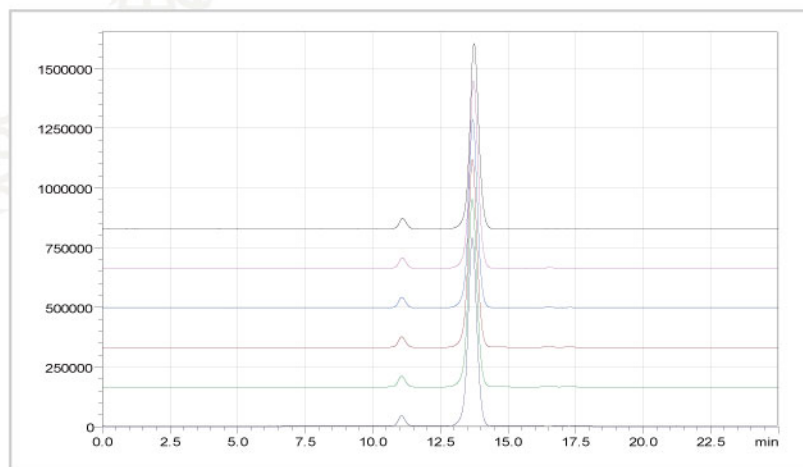


图2 重现性实验色谱图

表2 重现性实验结果

编号	保留时间	峰高	峰面积
1	13.740	777,855	18,680,793
2	13.720	785,813	18,859,372
3	13.691	789,923	18,864,896
4	13.678	788,040	18,896,706
5	13.673	787,502	18,874,316
6	13.673	791,007	18,887,977
RSD%	0.20	0.60	0.43

■ 结论

建立了莫能菌素的检测方法，实验证明该方法有良好的重复性，连续6针峰面积相对标准偏差为0.43%，满足1%以下的要求。