

超快速液相同时检测八种常用抗生素

No.LC-052

摘要： 本文使用岛津超快速液相色谱仪建立了同时检测八种常用抗生素的分析方法。使用C₁₈柱,乙腈和0.1%甲酸溶液为流动相,紫外检测器对金霉素、土霉素、强力霉素、磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺二甲噁唑、磺胺异恶唑、氯霉素八种抗生素进行同时检测。在5分钟内,各组分即可很好的分离。该方法保留时间的相对变异系数均在0.4%以下,峰面积的相对变异系数均在2.9%以下,标准曲线线性相关系数均在0.999以上。

关键词： 超快速液相 检测 抗生素

四环素类、磺胺类和氯霉素均为常用的合成抗生素,广泛用于治疗和预防人类与动物疾病。过量使用抗生素会导致动物产品中药物残留,严重危害人体健康,同时也对土壤环境、表层水体等带来不良影响,并通过食物链对生态环境产生毒害作用,影响动植物和微生物的生命活动以及生态系统平衡。抗生素在环境中的出现、迁移及潜在的生态危害已成为环境领域的研究热点之一。因此建立准确适用抗生素的分析方法具有重大的现实意义。本文使用岛津新型液相色谱仪Prominence UFLC_{XR},针对八种常用的抗生素,建立了测定方法。

■ 材料与方 法

1、试剂与仪器

试剂:乙腈、甲醇和超纯水,HPLC级;甲酸,分析纯。标准品:金霉素、土霉素、强力霉素、磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺二甲噁唑、磺胺异恶唑、氯霉素(购自中国兽医药品监察所,含量>98%),甲醇溶解。

仪器:ShimadzuProminenceUFLC_{XR},包括LC-20AD_{XR}×2(输液泵),SIL-20AC_{XR}(自动进样器),CTO-20AC(柱温箱),SPD-20AV(紫外检测器),DGU-20A₃(在线脱气机),CBM-20A(控制器),LCsolution(工作站)

2、色谱条件

色谱柱:Shim-pack XR-ODS II 100mm×2.0mm I.D, 2.2 μm;流动相:A:0.1%甲酸溶液(1.0mL甲酸,加超纯水稀释至1000mL)B:乙腈;流速:0.5mL/min;洗脱方式:梯度洗脱(梯度见表1);柱温:40℃;检测波长:270nm,进样量:5 μL,外标法定量

表1 梯度洗脱程

Time	Module	Command	Value
0	Pumps	Pump B Conc.	10
3.00	Pumps	Pump B Conc.	10
3.50	Pumps	Pump B Conc.	40
5.00	Pumps	Pump B Conc.	40
5.01	Pumps	Pump B Conc.	10
7.50	Controller	Stop	

结果与讨论

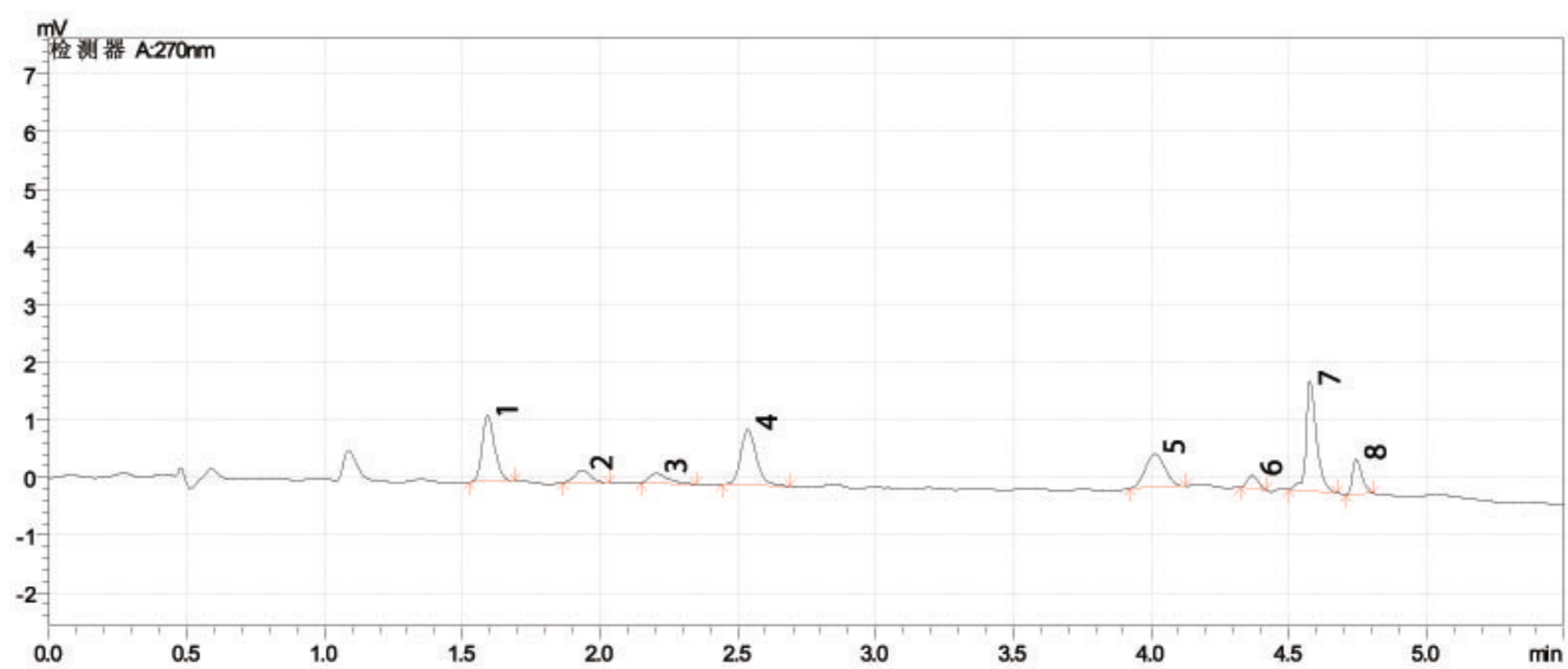


图1-1 0.2 μg/mL

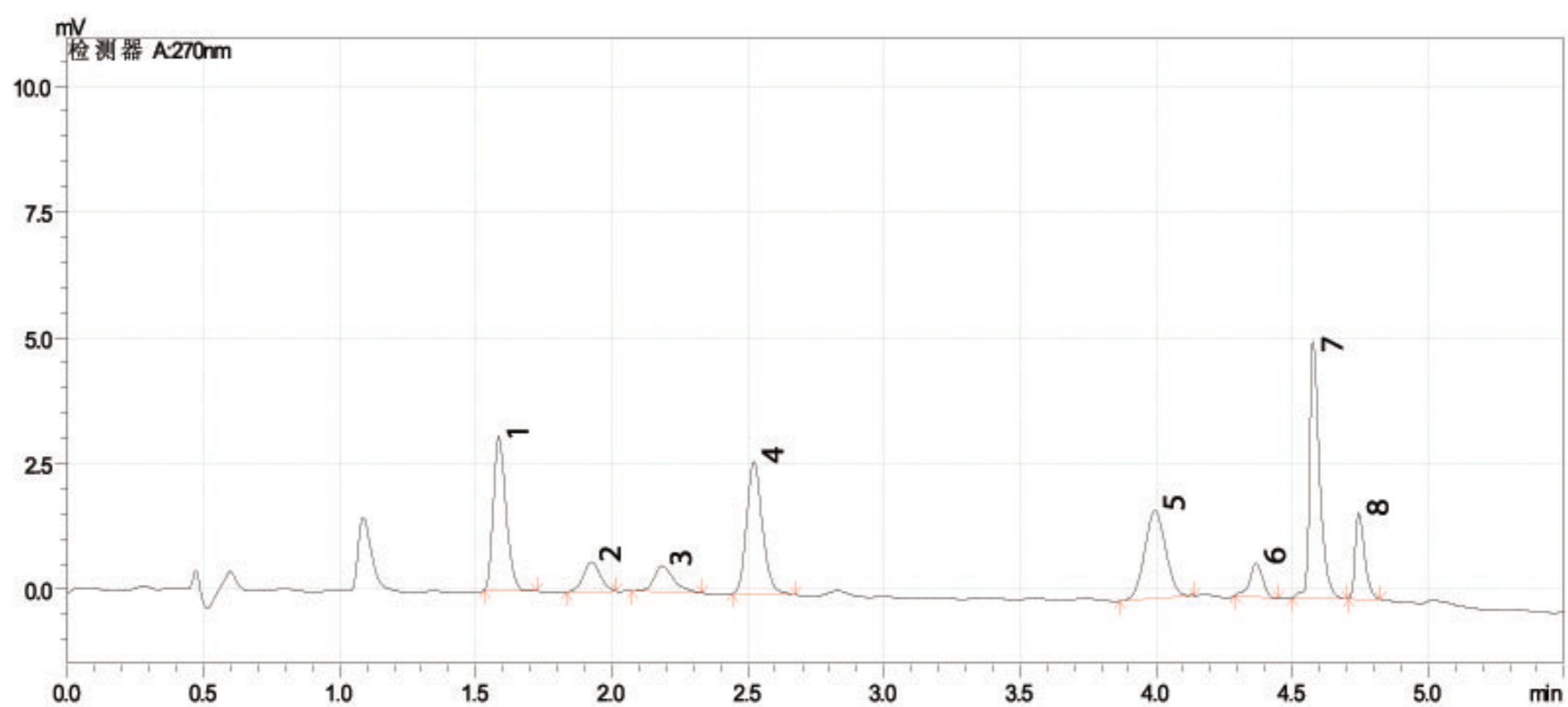


图1-2 0.5 μg/mL

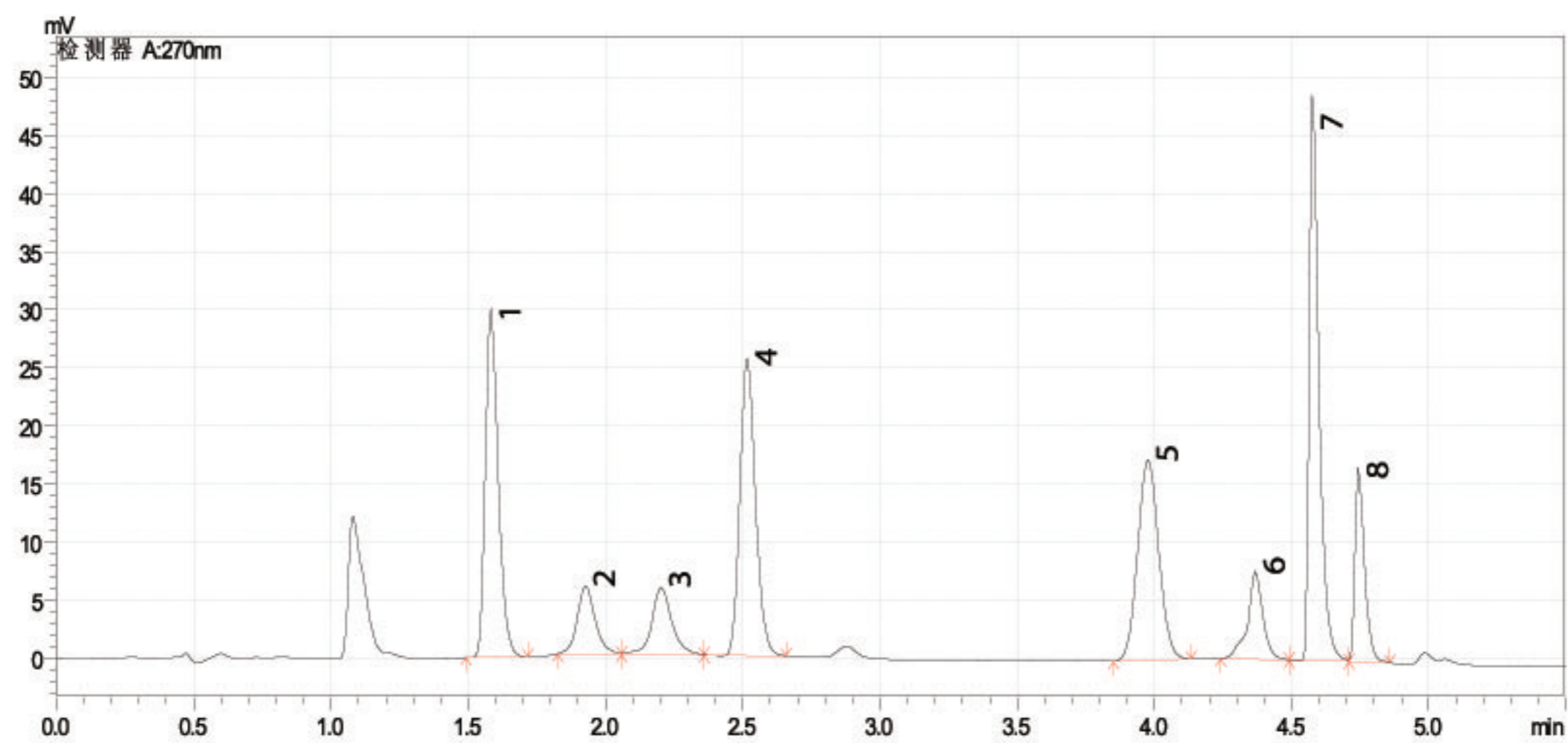


图1-3 5.0 μg/mL

注：1. 磺胺嘧啶 2. 土霉素 3. 强力霉素 4. 磺胺甲噁唑
5. 磺胺二甲噁唑 6. 金霉素 7. 磺胺异恶唑 8. 氯霉素

图1-1至图1-3是八种抗生素的三个不同浓度下采集得到的色谱图，各组分均可在5分钟内得到良好的分离。

分别配制浓度为0.2 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL、5.0 μg/mL的标准溶液，进样体积5 μL，外标法建立标准曲线，得到各组分的标准曲线见图2-1至图2-8。各组分的标准曲线线性关系良好，R²均在0.999以上。

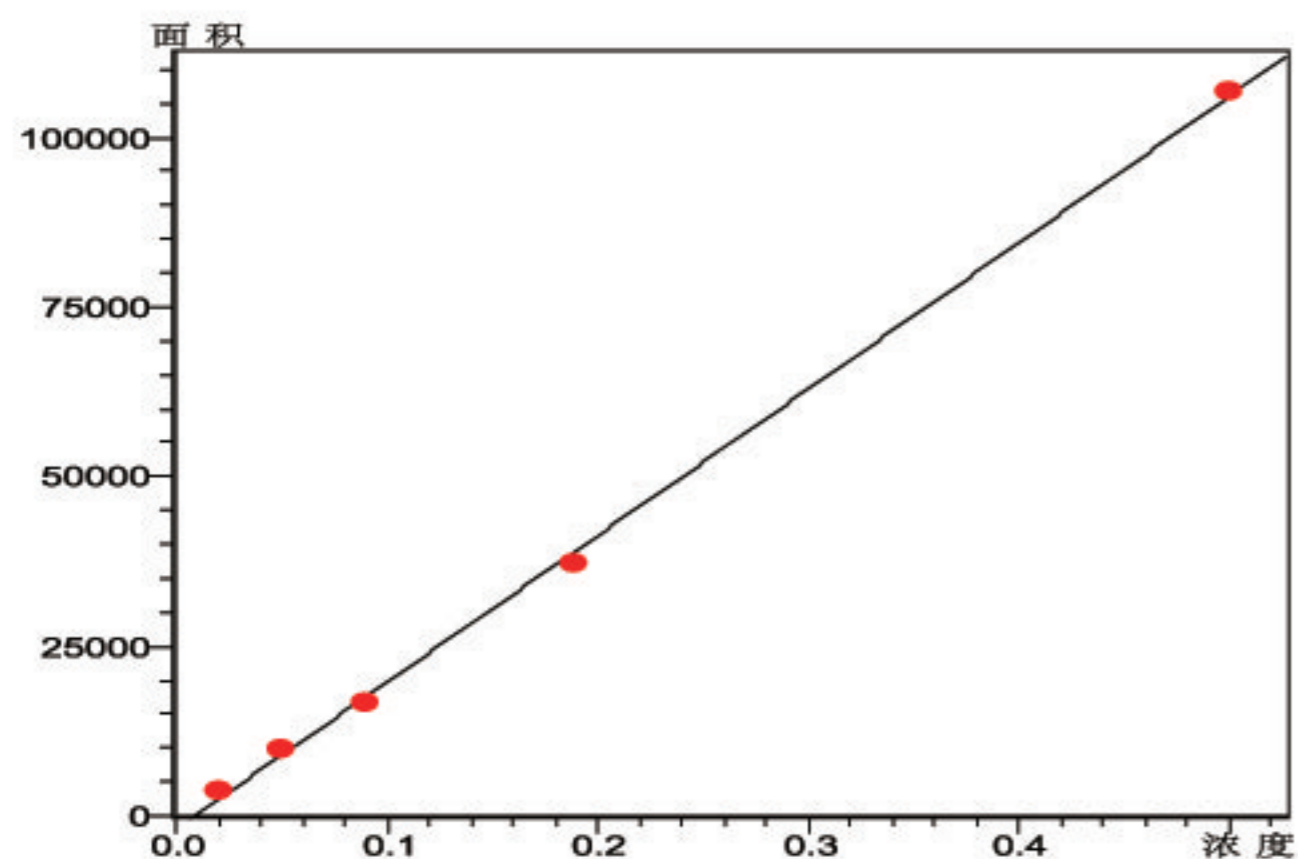


图2-1 磺胺嘧啶标准曲线

$$Y = aX + b$$

$$a = 216201.5$$

$$b = -1537.104$$

$$R^2 = 0.9995646$$

$$R = 0.9997823$$

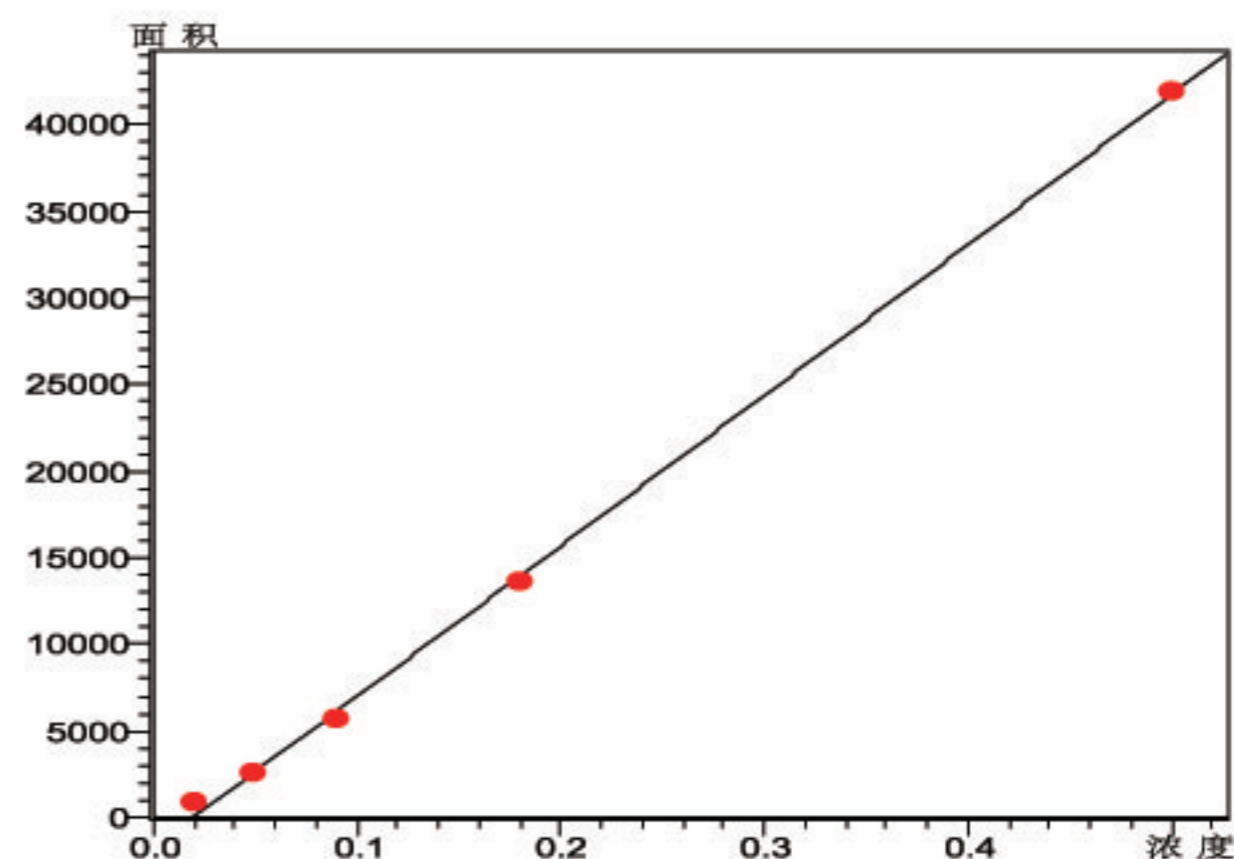


图2-2 土霉素标准曲线

$$Y = aX + b$$

$$a = 86833.12$$

$$b = -1681.813$$

$$R^2 = 0.9990788$$

$$R = 0.9995393$$

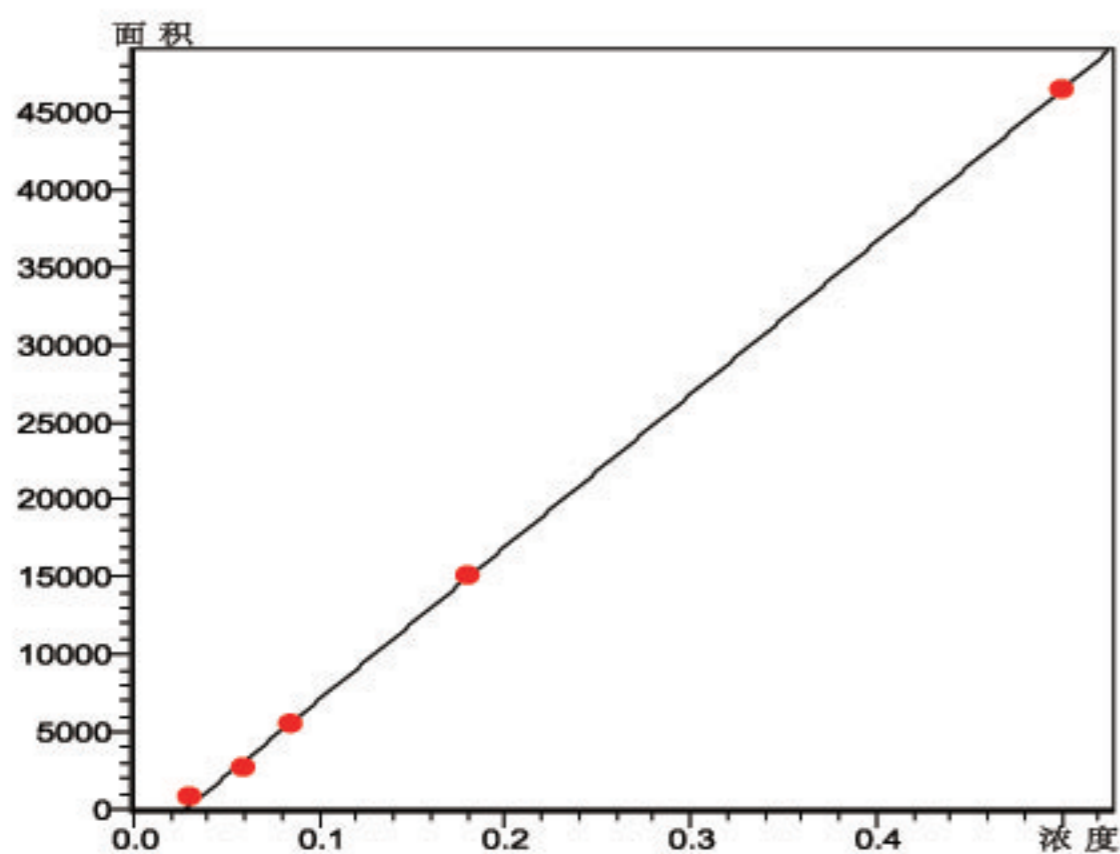


图2-3 强力霉素标准曲线

$$Y = aX + b$$

$$a = 98315.77$$

$$b = -2728.613$$

$$R^2 = 0.9995324$$

$$R = 0.9997662$$

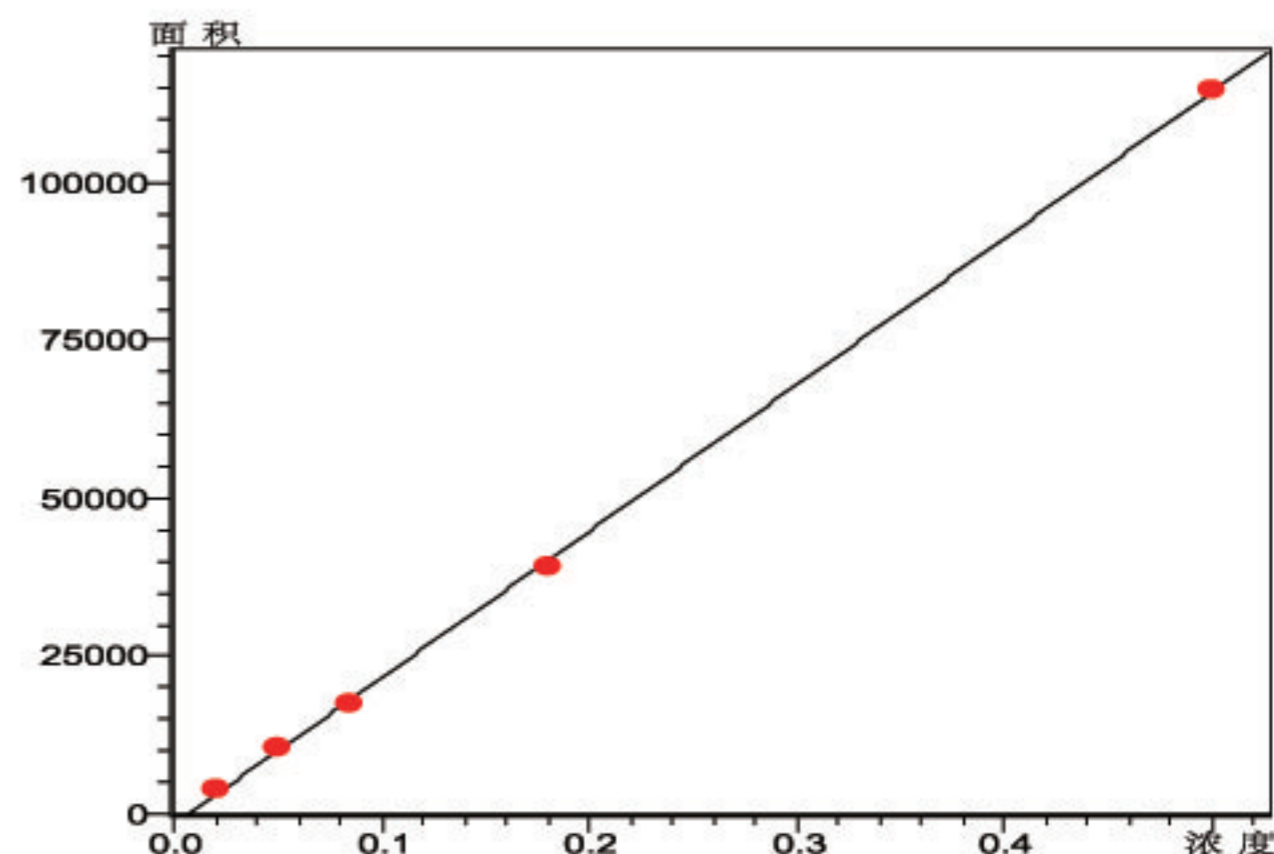


图2-4 磺胺甲噁唑标准曲线

$$Y = aX + b$$

$$a = 232235.3$$

$$b = -1654.527$$

$$R^2 = 0.9996704$$

$$R = 0.9998352$$

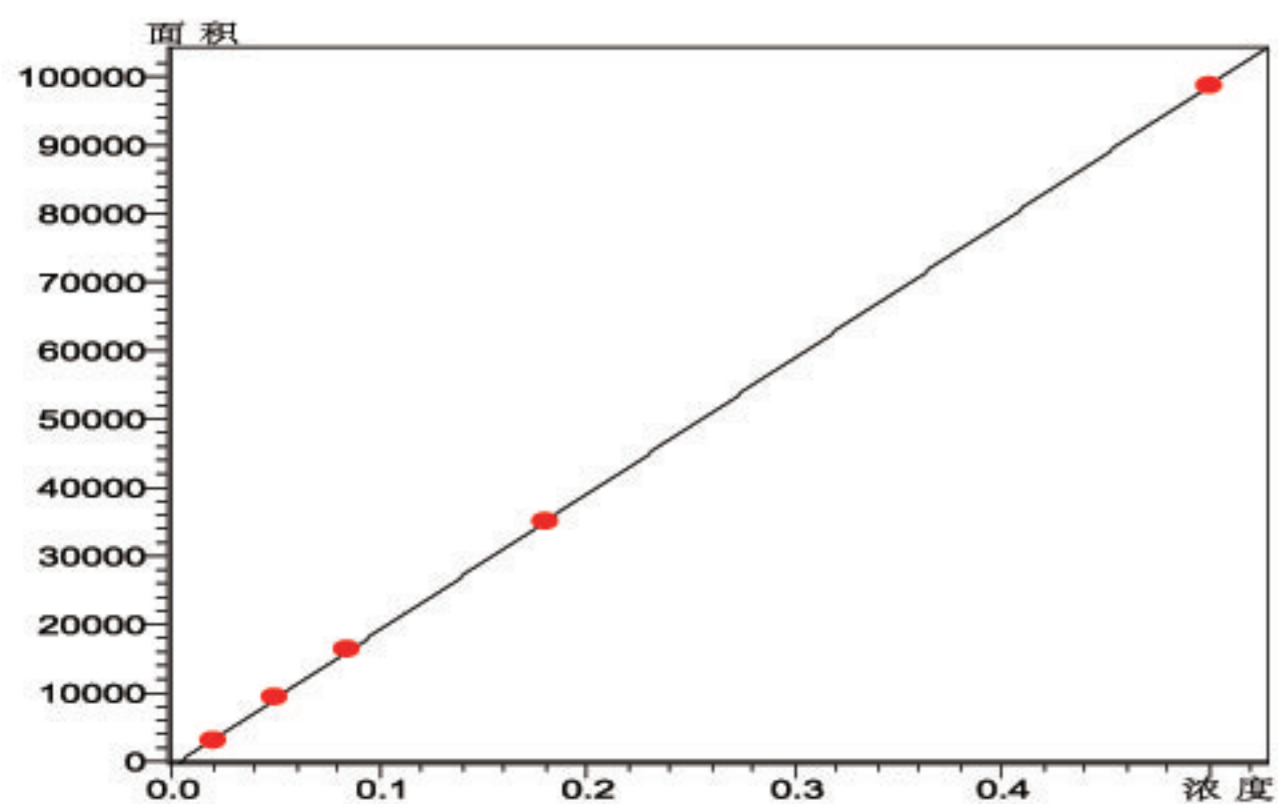


图2-5 磺胺二甲嘧啶标准曲线

$$Y = aX + b$$

$$a = 199316.5$$

$$b = -876.7534$$

$$R^2 = 0.9999766$$

$$R = 0.9999883$$

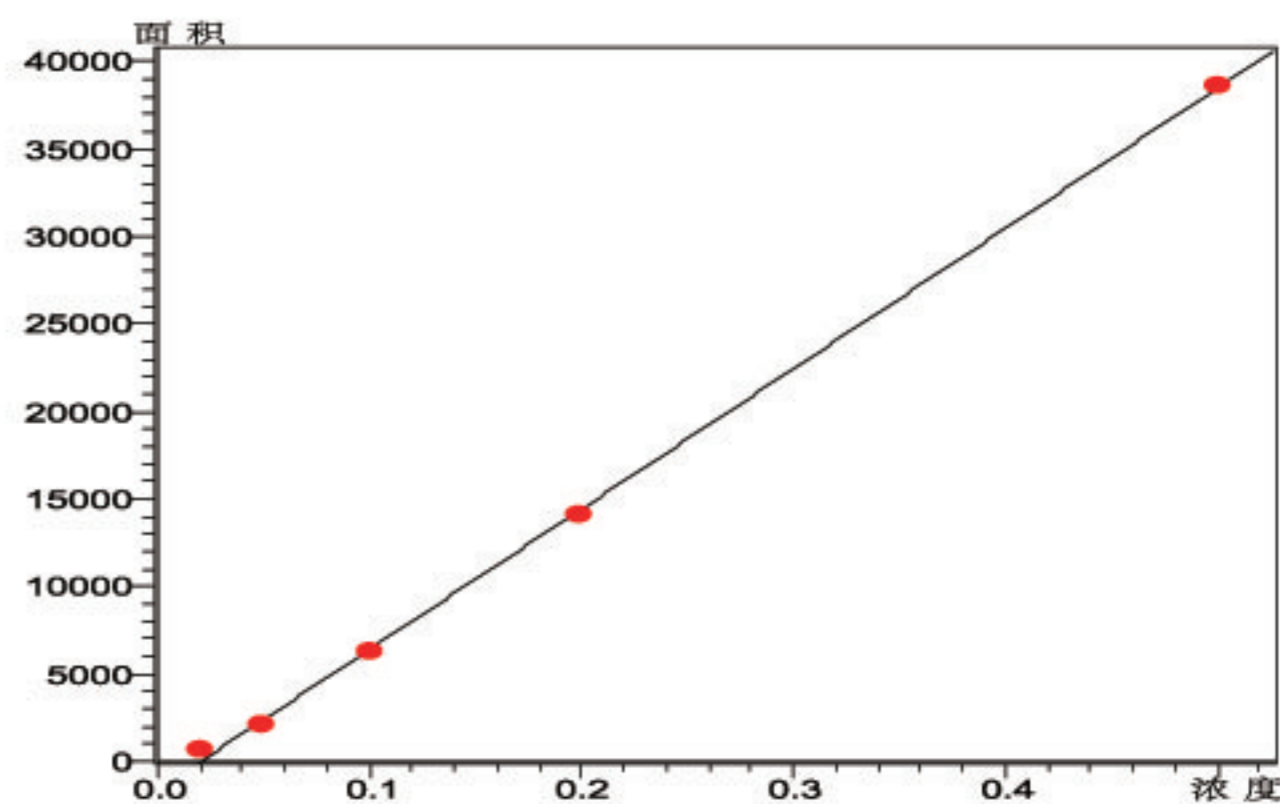


图2-6 金霉素标准曲线

$$Y = aX + b$$

$$a = 80184.43$$

$$b = -1604.496$$

$$R^2 = 0.9993797$$

$$R = 0.9996898$$

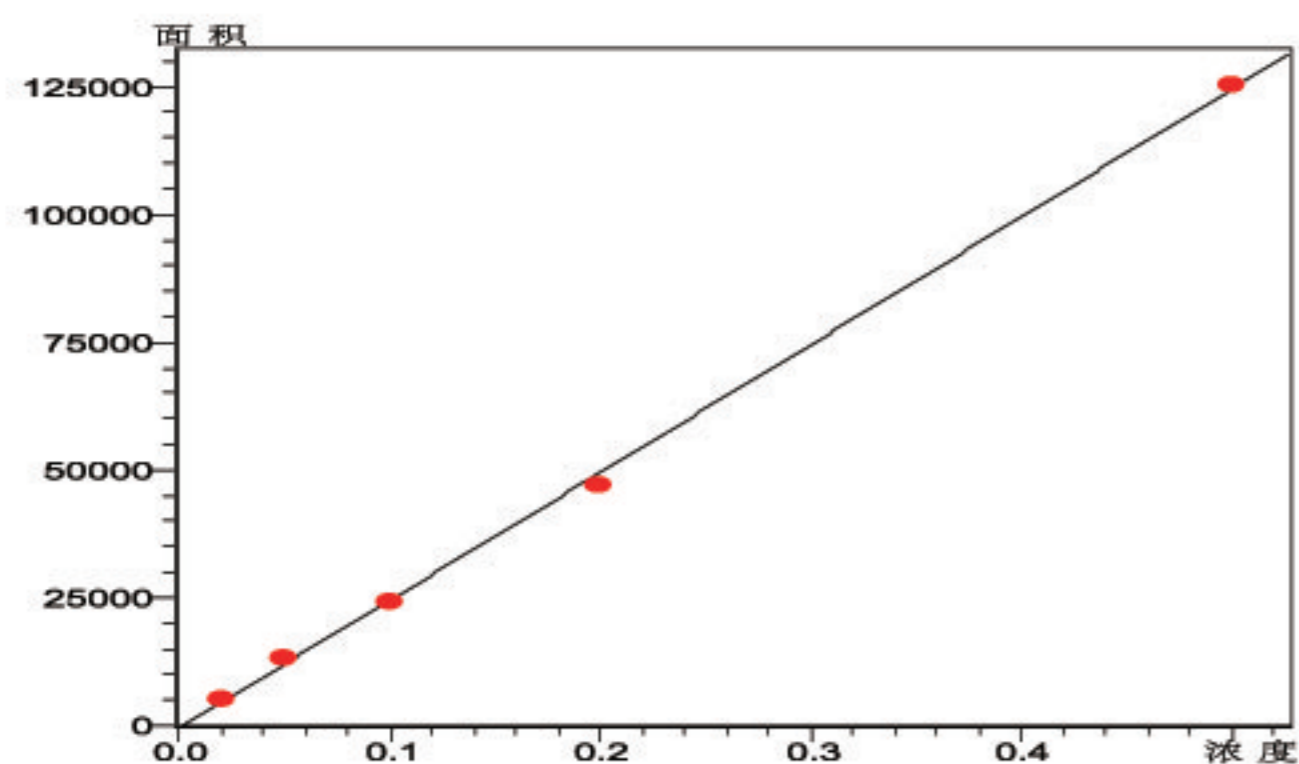


图2-7 磺胺异恶唑标准曲线

$$Y = aX + b$$

$$a = 250366.6$$

$$b = -594.6591$$

$$R^2 = 0.9991416$$

$$R = 0.9995707$$

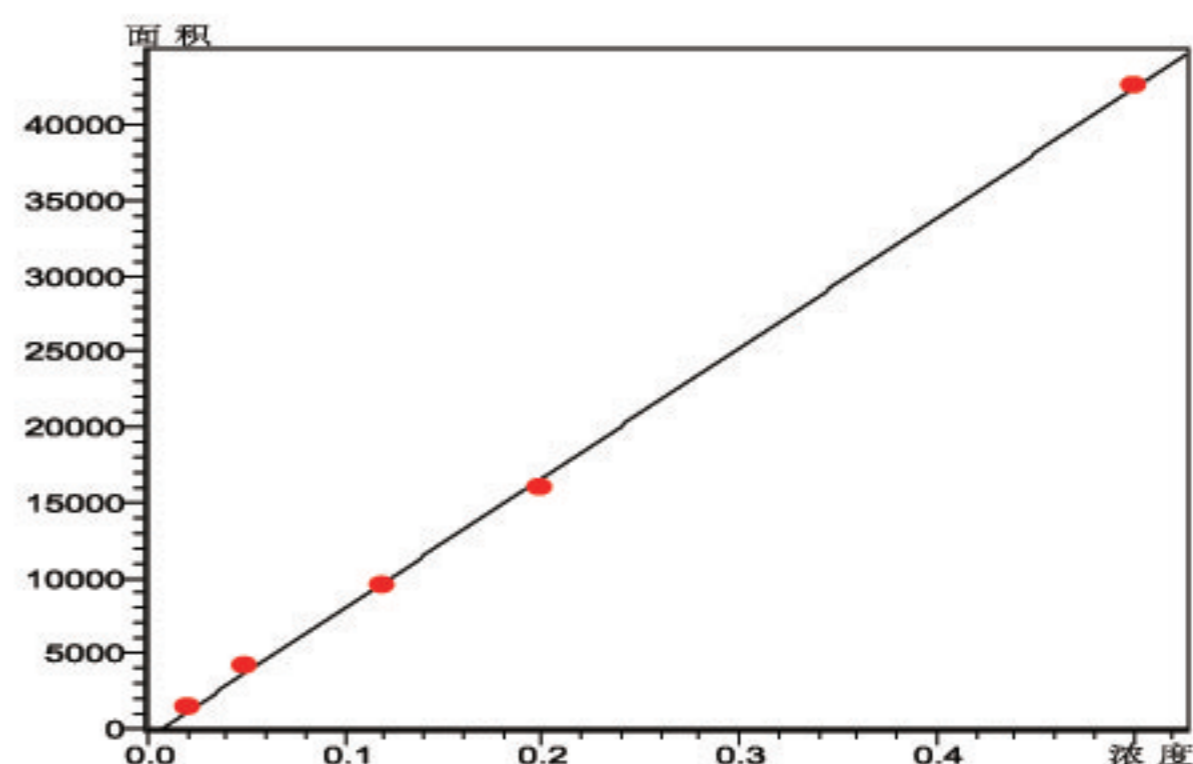


图2-8 氯霉素标准曲线

$$Y = aX + b$$

$$a = 85919.48$$

$$b = -551.6627$$

$$R^2 = 0.9993148$$

$$R = 0.9996573$$

对浓度为 $2.0 \mu\text{g/mL}$ 的标准品重复进样5次,得到的各色谱图见图3,保留时间及峰面积重现性见表2。各组分的保留时间相对变异系数均在0.4%以下,峰面积的相对变异系数均在2.9%以下,方法的重现性良好。

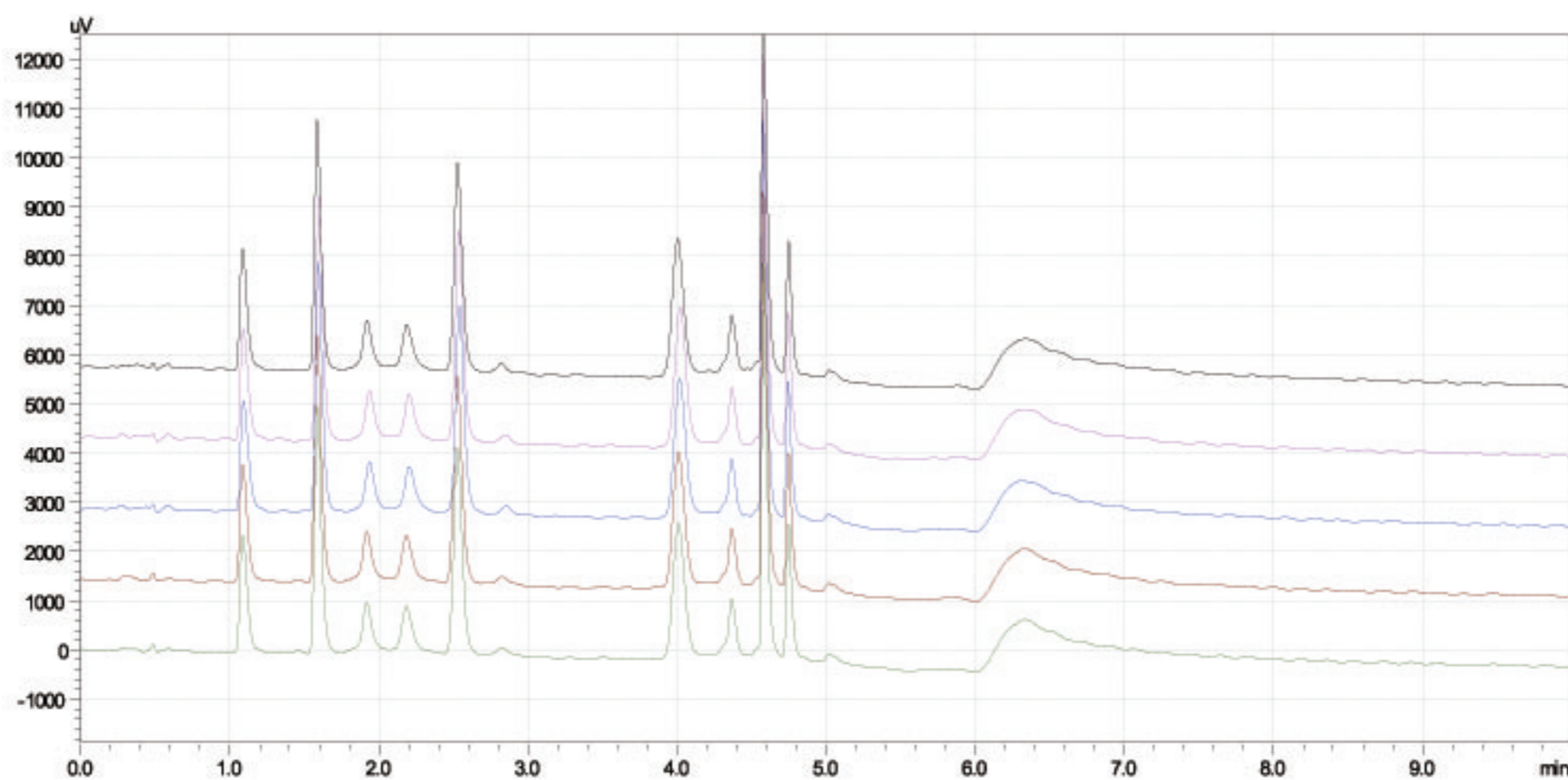


图3 5次重复进样的色谱图比较

表2 5次重复进样的结果比较

组分	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
磺胺嘧啶	0.2836	0.2859
土霉素	0.3942	1.4880
强力霉素	0.3090	2.7412
磺胺甲噁唑	0.1776	0.6786
磺胺二甲噁	0.1768	1.6394
金霉素	0.0251	2.8511
磺胺异恶唑	0.0182	1.1170
氯霉素	0.0176	0.6781

结论

使用Prominence UFLC_{XR}液相色谱、紫外检测器,测定八种抗生素,仪器检出限为 $0.2 \mu\text{g/mL}$,线性相关系数良好,使用 $2.2 \mu\text{m}$ 粒径的 C_{18} 色谱柱,八种抗生素分离良好,并且节约了分析时间。在分析过程中不仅有很高的灵敏度,而且有很好的重现性,适于在常规检测使用。