

LCMSMS 检测疫苗中卡那霉素残留

LCMSMS-636

摘要： 本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测疫苗中卡那霉素抗生素残留的方法。样品经乙腈沉淀蛋白，离心滤过后上机分析。采用外标法定量，在 0.5~100 ng/mL 范围内，相关系数大于 0.997。LOQ 基质标液 0.5 ng/mL 连续 6 次进样保留时间 RSD% 小于 0.4%，峰面积的 RSD 为 5.06%，仪器精密度良好。三个浓度样品加标回收率在 90.10~101.50% 之间，每个浓度平行处理三次，测试结果的 RSD 在 0.65~2.38% 之间；该方法稳定可靠，可为疫苗及生物制品中卡那霉素抗生素残留测定提供参考。

关键词： 卡那霉素残留 疫苗 三重四极杆液质联用仪

卡那霉素是一种常见的氨基糖苷类抗生素，主要通过抑制细菌核糖体 30S 亚单位结合，进而抑制细菌蛋白质合成，达到杀菌和抑菌的作用。目前传统的细胞培养中常用的一种高效和高性价比的抗生素，用于细胞生产过程中为了预防潜在的细菌污染的风险。但是抗生素的加入，导致后期生产纯化过程中无法彻底去除，需要严格进行含量控制，保证生物制品产品质量的安全性。

对于生物制品中的卡那霉素检测，目前常用的方法为酶联免疫吸附试验（ELISA）方法，该方法设备简

单，成本低，易于操作，但是由于细胞培养的培养基中成分复杂，含有的蛋白和脂类等一些内源性物质，常会对 ELISA 法的结果造成干扰，进而影响检测灵敏度和专一性。目前需要一种普适用于生物制品中卡那霉素抗生素的快速检测方法。

本文建立了一种采用三重四极杆液质联用仪检测卡那霉素的残留量的分析方法。该方法前处理简单、专一性强、分析速度快、灵敏度高，可供相关分析检测人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。

具体配置为：

系统控制器：SCL-40

脱气机：DGU-405

输液泵：LC-40BX3×2

自动进样器：SIL-40CX3

柱温箱：CTO-40S

质谱仪：LCMS-8045

色谱工作站：LabSolutions Ver.5.99

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST Amide 150 mm x 2.1 mm I.D., 3.0 μm;

P/N: 227-30818-06; 岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A-250 mM 甲酸铵 +0.1% 甲酸水溶液；B- 乙腈

流速：0.8 mL/min

柱温：50°C

进样体积：10 μL

洗针方式：外壁洗针

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 75 %，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	5
3.00	Pumps	Pump B Conc.	5
3.10	Pumps	Pump B Conc.	75
5.00	Controller	Stop	

Data#	数据文件名	级别号	保留时间	面积	浓度 (ug/L)	标准浓度	精确度%	统计
1	LOQ-repeat001.lcd	1	1.471	792	0.510	0.5	101.9	☑
2	LOQ-repeat002.lcd	1	1.473	834	0.528	0.5	105.5	☑
3	LOQ-repeat003.lcd	1	1.473	873	0.544	0.5	108.8	☑
4	LOQ-repeat004.lcd	1	1.475	956	0.579	0.5	115.8	☑
5	LOQ-repeat005.lcd	1	1.473	857	0.537	0.5	107.4	☑
6	LOQ-repeat006.lcd	1	1.484	779	0.504	0.5	100.9	☑
	平均		1.475	849	0.534		106.7	
	MRSD		0.314792	7.519816	5.059569		5.057181	
	最大		1.484	956	0.579		115.8	
	最小		1.471	779	0.504		100.9	
	标准偏差		0.004642	63.819737	0.027001		5.396792	

图3 精密度结果 (n=6)

2.4 加标回收实验

使用本方法检测了 C 群脑膜炎球菌多糖结合物原液样品，在阴性样品中添加标准溶液，配制为三个不同浓度的加标样品，每个浓度平行制备三份，按照 1.4 处理后上机分析，样品检测结果和加标回收结果见表 3。三个浓度加标回收率在 90.10~101.50% 之间，测试结果的 RSD 在 0.65~2.38% 之间，方法可靠。

表3 样品加标回收率 (n=3)

化合物名称	样品含量 ng/mL	1.0 ng/mL		10 ng/mL		80 ng/mL	
		回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	RSD/%
卡那霉素	N.D.	90.10	2.38	90.80	0.65	101.50	1.06

注：N.D. 表示未检出。

2.5 残留考察

高浓度标准样品 (100 ng/m) 分析完成后，进样分析溶剂空白，分析结果与定量下限 (0.5 ng/mL) 比对，残留考察结果表明，卡那霉素定量检测通道中均无干扰，结果见图 4。

2.6 样品检测

用该方法对 A 群 C 群脑膜炎球菌多糖结合物原液平行制备 3 份样品，均未检测出卡那霉素抗生素残留，结果见图 5。

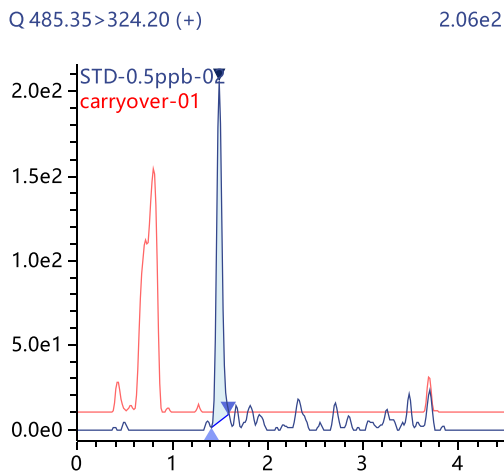


图4 残留考察溶剂空白和定量下限 MRM 重叠图

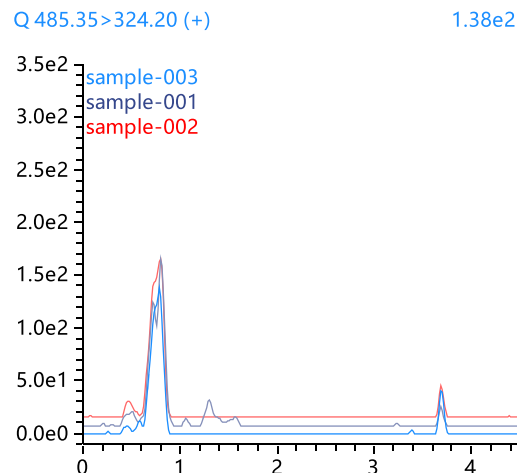


图5 样品检测的 MRM 色谱图

■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045 测定疫苗中卡那霉素抗生素残留的方法。并使用本方法对 A 群 C 群脑膜炎球菌多糖结合物原液样品进行检测，并未检出卡那霉素抗生素残留。本方法快速、灵敏、准确，适用于疫苗及生物制品中卡那霉素抗生素的检测和监控。

岛津应用云

