

这次,我们介绍一下使用GL-7400高效液相色谱法分析四环素类抗生素的方法。

分析方法是根据厚生劳动省所公布的方法进行分析的(可参考下面的URL)。

目标成分是土霉素,四环素和金霉素。土霉素和四环素是同分析条件,金霉素是其他条件的定量分析。

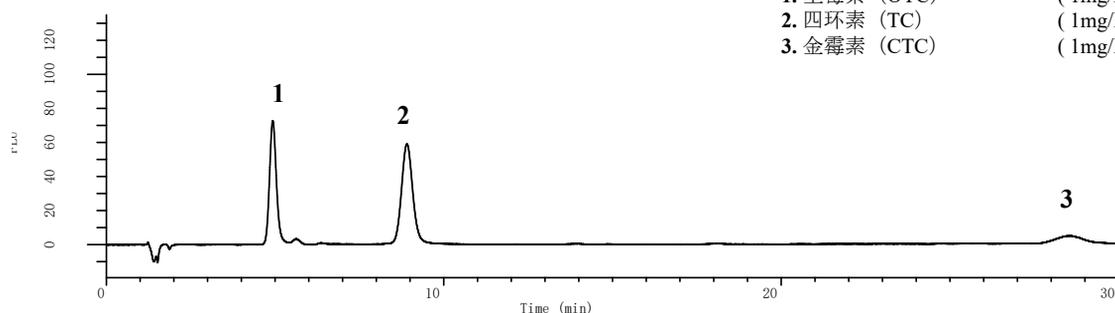
参考URL : <http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/zanryu3/2-038.html>

前处理是由除蛋白质、液液萃取、固相萃取、浓缩操作等多个步骤构成。

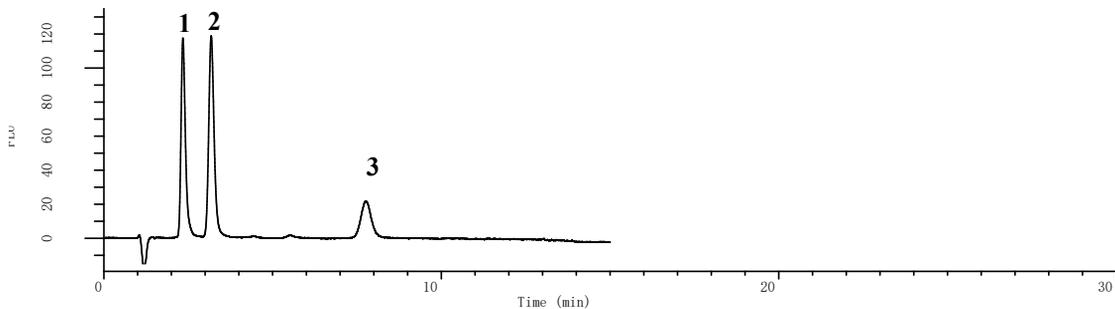
在0.1~2mg/L的范围内得到了良好的校准曲线。

- 准则值 -		
成分	目标视频	准则值
土霉素 (OTC)	肝脏、瘦肉、肾脏、鸡蛋、鱼贝、乳制品	乳制品: 0.1ppm 瘦肉: 0.2ppm
四环素 (TC)	肝脏、瘦肉、肾脏、鸡蛋、乳制品	肝脏: 0.6ppm 肾脏: 1.2ppm
金霉素 (CTC)	肝脏、瘦肉、肾脏、鸡蛋、乳制品	鸡蛋: 0.4ppm 生食生蚝: 0.2ppm

HPLC 条件①



HPLC 条件②



标准溶液色谱图

HPLC 条件

- 色谱柱 Inertsil ODS-3 (5 μ m, 150 x 4.6 mm I.D.)
- 温度 40 $^{\circ}$ C
- 检测器 FL Ex 380 nm Em 520 nm
- 注入量 20 μ L

<条件① OTC和TC的分析>

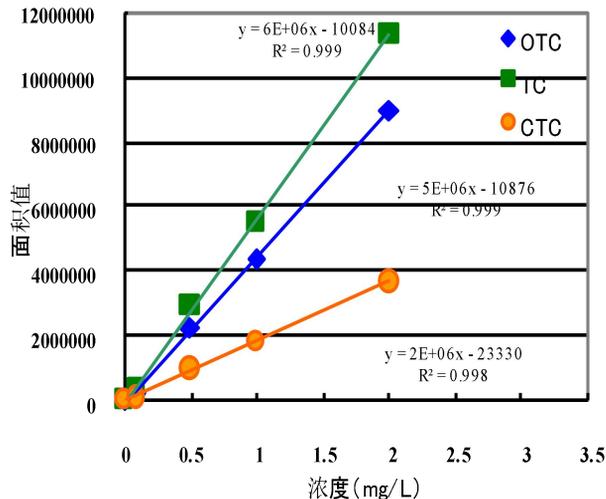
- 流动相 : A) CH₃OH B) Imidazol Buffer
A/B = 15/85, v/v
- 流速 : 1.2 mL/min

<条件② CTC的分析>

- 流动相 : A) CH₃OH B) Imidazol Buffer
A/B = 25/75, v/v
- 流速 : 1.4 mL/min

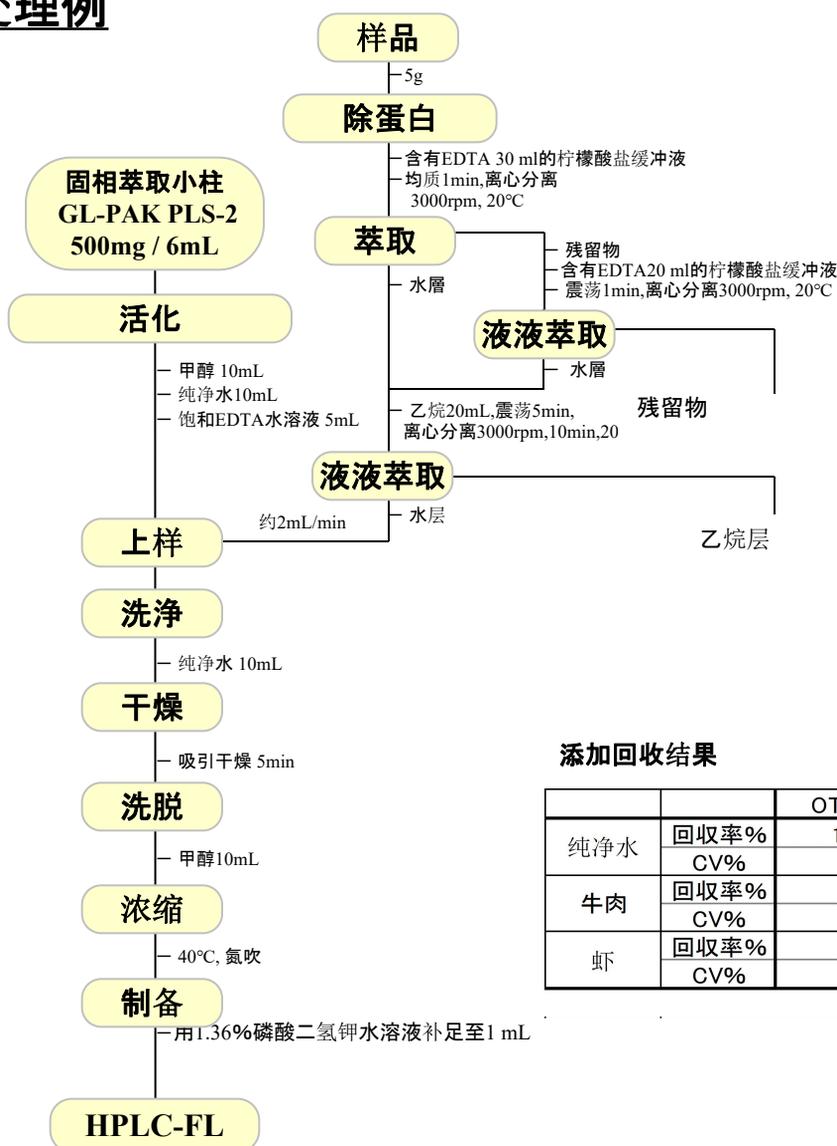
Imidazol Buffer:

加入68.08克咪唑, 0.37克EDTA和10.72克乙酸镁。溶解在水中后, 用水将水溶液补足至800mL。用乙酸将pH调节至7.2, 并用水将溶液补足至1000mL。



校准曲线

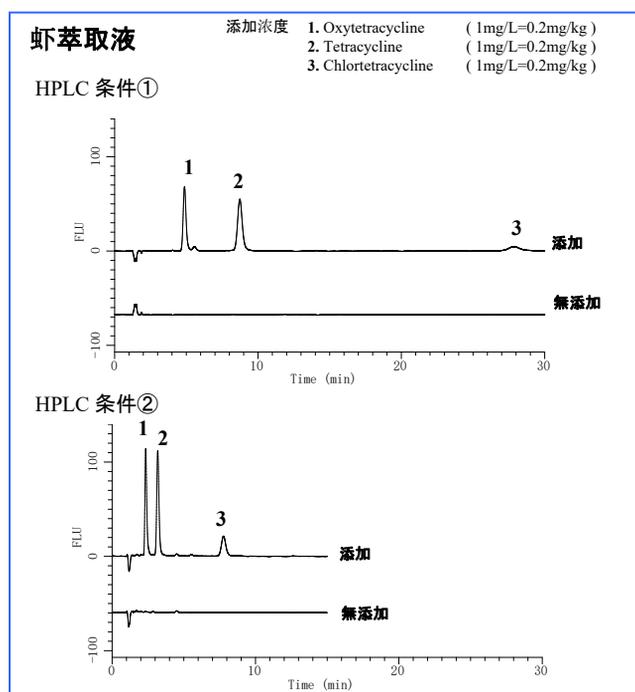
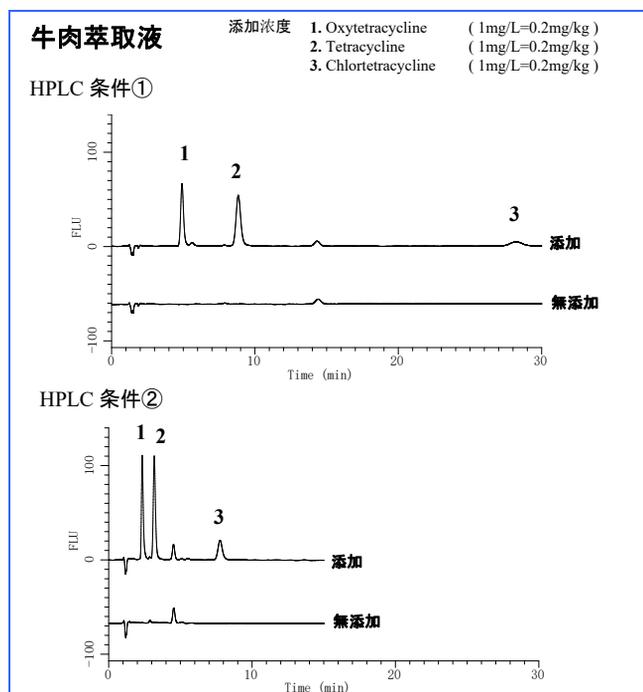
前处理例



添加回收结果

		OTC	TC	CTC
纯净水	回收率%	100.2	93.1	93.9
	CV%	4.3	4.0	9.2
牛肉	回收率%	97.3	83.5	83.0
	CV%	2.5	7.7	6.2
虾	回收率%	98.3	86.1	86.2
	CV%	1.4	1.6	4.7

(N=5)



内径3mm柱子的优势

GL-7400和Inertsil系列色谱柱由于缩小尺寸，所以成本也有所降低。

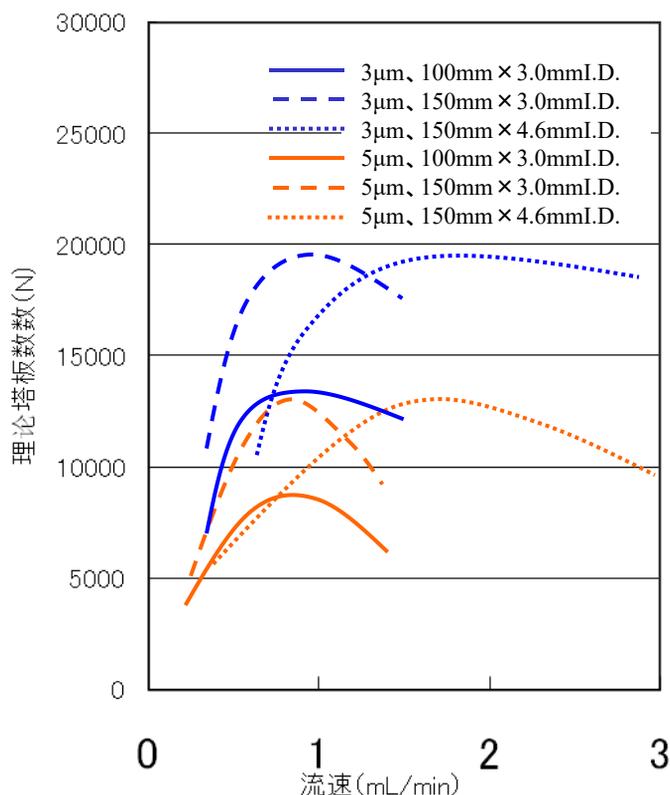
·高灵敏度和省溶

通过减小色谱柱的内径，可以减慢最佳流速，并可以减少所用溶剂的量。

此外，在诸如UV和FL的浓度依赖性检测器中，随着流速降低，灵敏度上升，从而可以进行高灵敏度分析。

·关于填料粒径

颗粒越细，理论塔板数越高，所以即使是短的色谱柱也可以实现同等效果的分离性能。



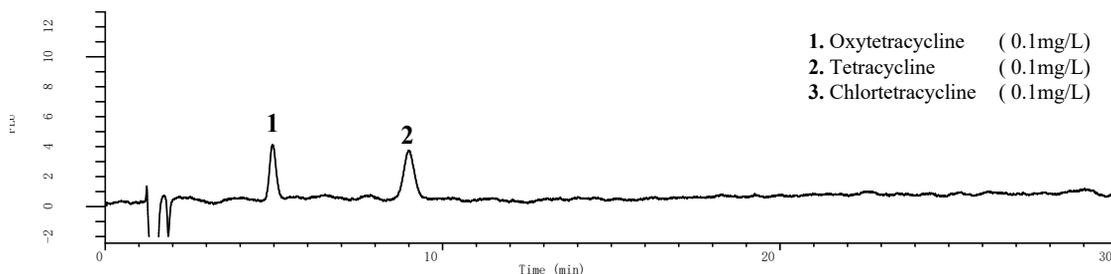
用粒径3µm、长度150mm、内径3.0mm的色谱柱，与线速度^{※1}基本相同进行测定。

除了分离良好意外，也减缓了流速，减少了溶剂量。

此外，即使使用了长度为100mm的柱子，也可以保证良好的理论塔板数(参考右上图)，可以缩短分析时间。

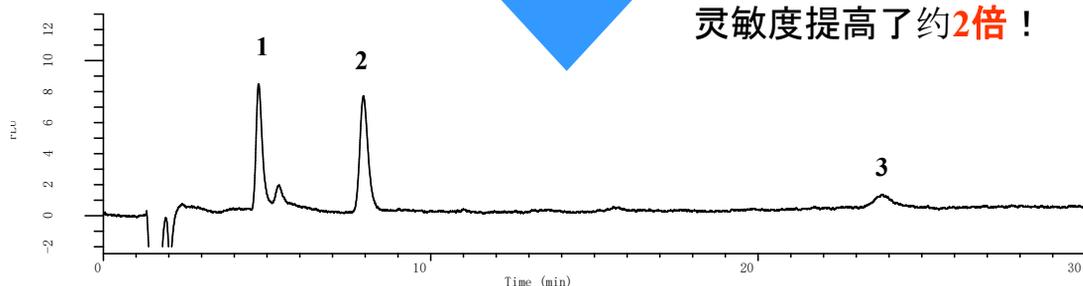
·内径4.6mm的柱子

(150 x 4.6 mm I.D. 粒径5µm 流速 1.2mL/min)



·内径3.0mm HP^{※2}的柱子

(150 x 3.0 mm I.D. 粒径3µm 流速 0.5mL/min^{※3})



溶剂使用量约减少至溶^{2/5}

灵敏度提高了约^{2倍}！

※1 线速度 = Linear Velocity (L.V.)
= 单位时间的流量 ÷ 色谱柱的横截面

※2 向甲醇系流动相，3µm，长度150mm变更的情况下，推荐使用高耐压型(耐压50 Mpa)的HP系列色谱柱。

※3 流动相的组成和分析条件①一样。