Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

使用CORTECS HILIC色谱柱快速高效分析10种常见氨基糖苷类抗生素

黄德凤
沃特世科技（上海）有限公司

沃特世解决方案

针对氨基糖苷类抗生素具有强亲水性的特点，亲水作用色谱（HILIC）方法是用于其分离分析的理想技术手段。然而，常规的亲水作用色谱柱及其色谱方法在氨基糖苷的检测分离中都不同程度的表现出选择性不足和峰形拖尾等问题。

简介

氨基糖苷类抗生素是一类含有氨基糖苷键的抗生素，抗菌谱广，对需氧革兰阴性杆菌具有强大的抗菌活性，临床应用广泛，目前已有数十个天然抗生素或半合成品种。天然的氨基糖苷类抗生素由链霉菌、小单孢菌和细菌产生，包括链霉素、卡那霉素、妥布霉素、大观霉素、新霉素、庆大霉素、西索米星、阿司米星等；半合成氨基糖苷类抗生素包括阿米卡星、奈替米星等。

氨基糖苷类抗生素由于其高效和低价，是当今世界使用最为普遍的抗生素种类之一，广泛用于养殖业中。然而，由于其具有耳肾等毒副作用，且通过食品长期的摄入体内后将使人体产生耐药性。动物源性食品中的抗生素残留是食品安全领域的一个重要问题，食品中抗生素的残留监测也将越来越重要。

氨基糖苷类抗生素的结构特点及理化性质

氨基糖苷类抗生素由氨基糖与碱性1，3-二氨基肌醇以苷键结合而成，1，3-二氨基肌醇为碱性多元环己醇结构，因此氨基糖苷类抗生素均具有碱性，极性大的特性。

氨基糖苷类抗生素检测难点

氨基糖苷类抗生素易溶于水，极性强，在C_{18}柱上保留很弱，通常选择加入改性剂（酸、盐、离子对试剂），增加目标物在柱子上的保留。目前，使用最多地是通过加入离子对试剂来增强保留。然而，这将衍生出新的问题如与质谱不兼容或产生离子抑制效应等。此外，常见的10中氨基糖苷类抗生素如：链霉素，双氢链霉素，新霉素，庆大霉素，壮观霉素，卡那霉素，阿普拉霉素，潮霉素B，妥布霉素，丁胺卡那霉素，其在常规色谱柱上往往很难同时获得良好的峰形和分离，这也是目前检测工作人员面临的挑战之一。

详细实验条件

液相条件

色谱系统：ACQUITY UPLC® I-Class
色谱柱：CORTECS HILIC
（100 × 2.1，1.6 μm）
流动相A：H_2O
（200 mM甲酸铵，pH=2.5）
流动相B：70%乙腈水溶液
（100 mM甲酸铵，PH=4.0）

质谱条件

质谱系统：Xevo® TQ-S
离子源：ESI+
毛细管电压：3.0 kV
源温度：150 ˚C
雾化气温度：450 ˚C
雾化气流速：900 L/h

本应用中采用沃特世最新实心核颗粒技术，全新超高效CORTECS™ HILIC色谱柱同时分离上述十种氨基糖苷类抗生素，可获得更好地保留和良好的峰形，满足定性、定量要求，并提高检测通量。

实验结果

Compound	English Name	MRM Transition	Retention Time(min)	LOQ (ng/mL)
妥布霉素	Tobramycin	468.3/163.1 468.5/324.1	1.87	500
庆大霉素	Gendamicin	478.4/156.7 478.4/321.8	2.10	100
卡那霉素	Kanamycin	485.2/162.5 485.2/323.7	1.75	100
潮霉素B	Hygromycin B	528.3/177.1 528.3/352.1	1.66	100
安普霉素	Apramycin	539.9/216.6 539.9/377.8	1.87	100
丁胺卡那霉素	Amikacin	586.3/163.1 586.3/264.4	1.80	100
新霉素	Neomycin	615.4/108.8 615.4/278.8	0.40	100
大观霉素	Spectinomycin	332.8/139.6 332.8/111.6	0.90	50
链霉素	Streptomycin	581.9/262.7 581.9/245.7	1.28	50
双氢链霉素	Dihydrostreptomycin	583.9/262.7 583.9/245.7	1.31	50

表1. 十种常见氨基糖苷抗生素检测结果信息。

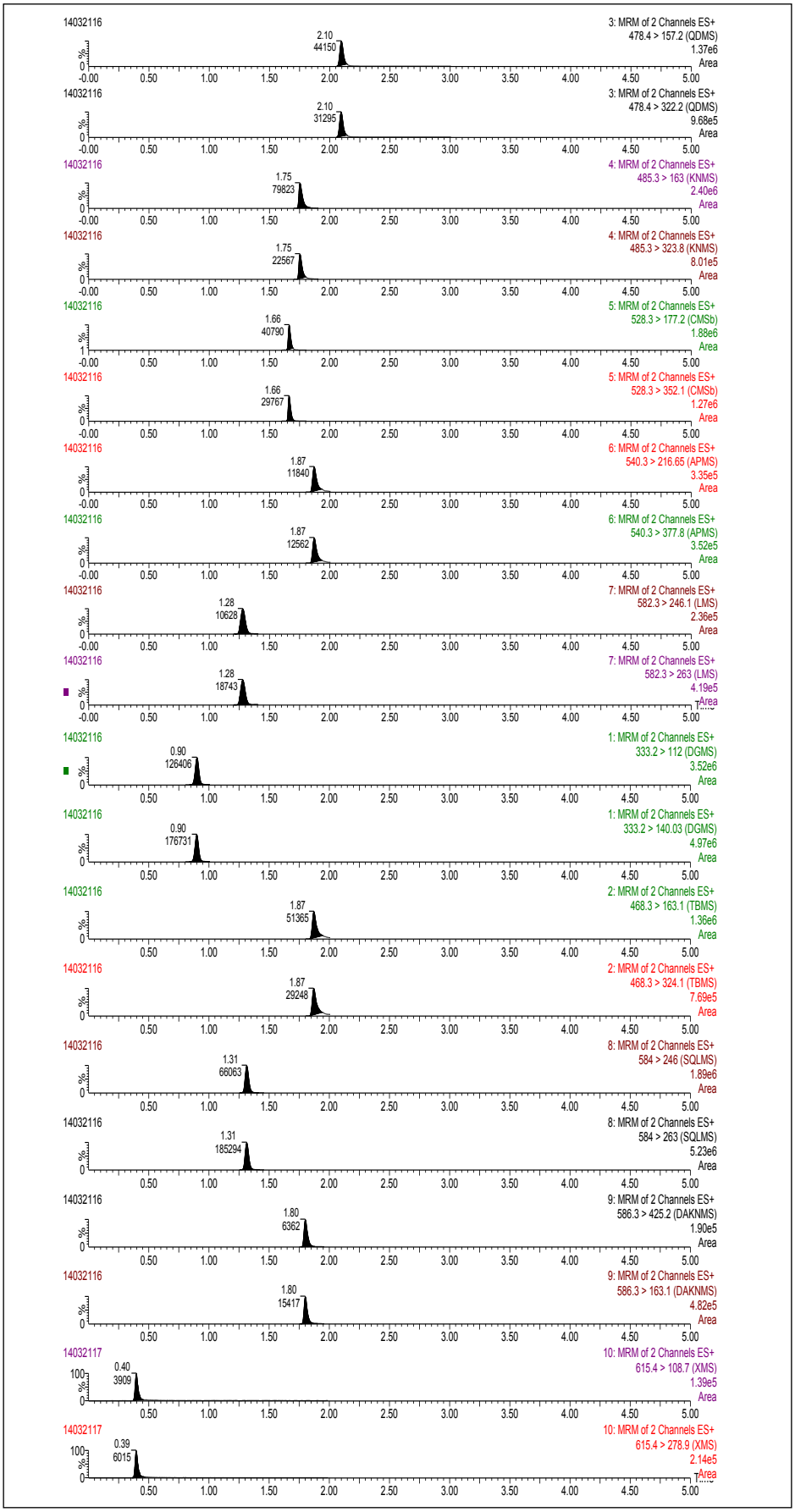

图1. 十种常见氨基糖苷类抗生素化合物检测谱图。

结果与讨论

- 亲水作用色谱（HILIC）是一种对在反相色谱中保留性能较差的强极性分析物进行有效保留的模式。CORTECS HILIC色谱柱所含有的未经键合的实心核颗粒可以保留极性化合物。本应用中采用CORTECS HILIC柱对十中氨基糖苷类抗生素进行分析均可获得良好的保留。
- 使用CORTECS HILIC色谱柱仅使用甲酸铵缓冲液进行十种氨基糖苷类抗生素分析，即可获得很好地保留和峰形，成功解决了这类应用在常规C_{18}柱时使用离子对试剂造成的质谱兼容性问题及普通HILIC柱出现部分目标峰峰形拖尾的问题。
- 使用CORTECS HILIC色谱柱，结合ACQUITY UPLC I-Class超高效液相色谱及Xevo TQ-S质谱建立的10种氨基糖苷类抗生素MRM质谱方法，其灵敏度符合相关法规要求，对常见十中氨基糖苷类抗生素可进行准确定性和定量要求，并提高了检测分析通量。

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

©2014 年沃特世公司。印制于中国。

沃特斯中国有限公司
沃特世科技（上海）有限公司

北京：010 - 5209 3866
上海：021 - 6156 2666
广州：020 - 2829 6555
成都：028 - 6554 5999
香港：852 - 2964 1800

免费售后服务热线：800 (400) 820 2676
www.waters.com