

评估在抗生素分析之前,进行虾净化处理的自动
GPC系统

评估在抗生素分析之前,进
行虾净化处理的自动GPC系
统



简介

- 抗生素已经广泛应用于人类和牲畜的治疗, 超过60年的历史
- 抗生素经常用于在农业以进行各种鱼, 龙虾和虾的传染病防治
- 细菌的出现抑制了抗生素的作用, 使病毒出现在人类的食品供应中



简介(续)

- 近来,美国FDA和欧共体已经制订了一项计划,增加对海产品中抗生素的监测
- 现在,正在研发大量的方法以进行多种抗生素的分析
- 之前的方法采用固相萃取 (SPE),这种方法对于所有的抗生素并不总是有效的



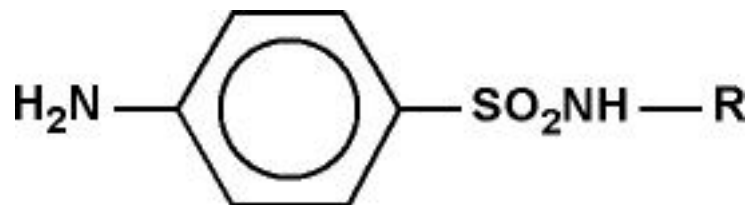
简介(续)

- 凝胶渗透色谱 (GPC)是一种常用的净化技术,能够用于从各类物质中去除大分子量的干扰物质
- 工作于丹佛FDA的Jose Roybal博士开发了一种采用 Sephadex LH 20的手工GPC净化方法.
- 这项研究详细阐述了采用OI分析仪器公司的AutoPrep 2000 GPC系统进行虾的全自动GPC净化的整个过程

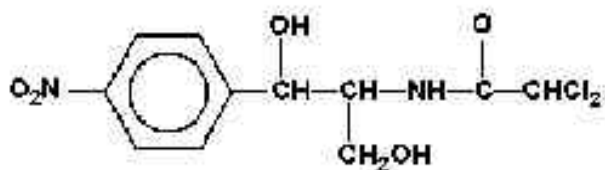


实验

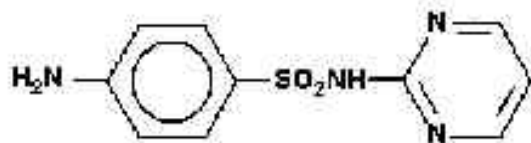
- 材料
 - 所有的溶剂都是农残级或更高级别;所有的化学物质都是ACS级.
 - 抗生素测试: 氯霉素, 诺氟沙星, 磺胺二甲嘧啶, 磺胺甲嘧啶, 磺胺嘧啶和磺胺喹恶啉.



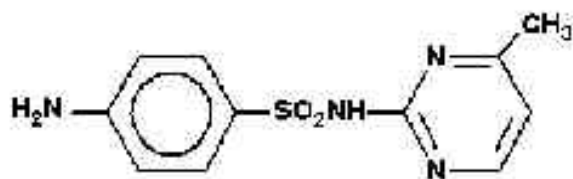
被测试物质的化学结构



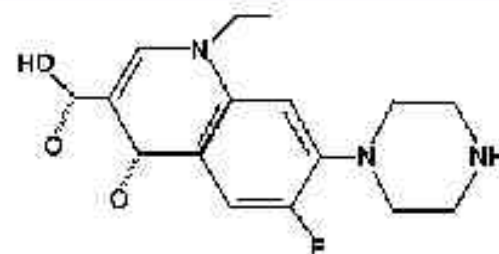
Chloramphenicol (MW 323.13)



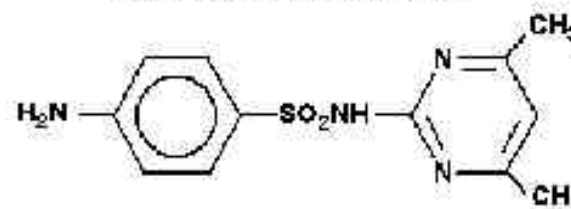
Sulfadiazine (MW 250.28)



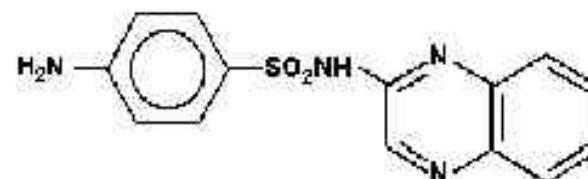
Sulfamethazine (MW 278.32)



Norfloxacin (MW 319.23)



Sulfamerazine (MW 264.30)



Sulfaquinoxaline (MW 300.33)

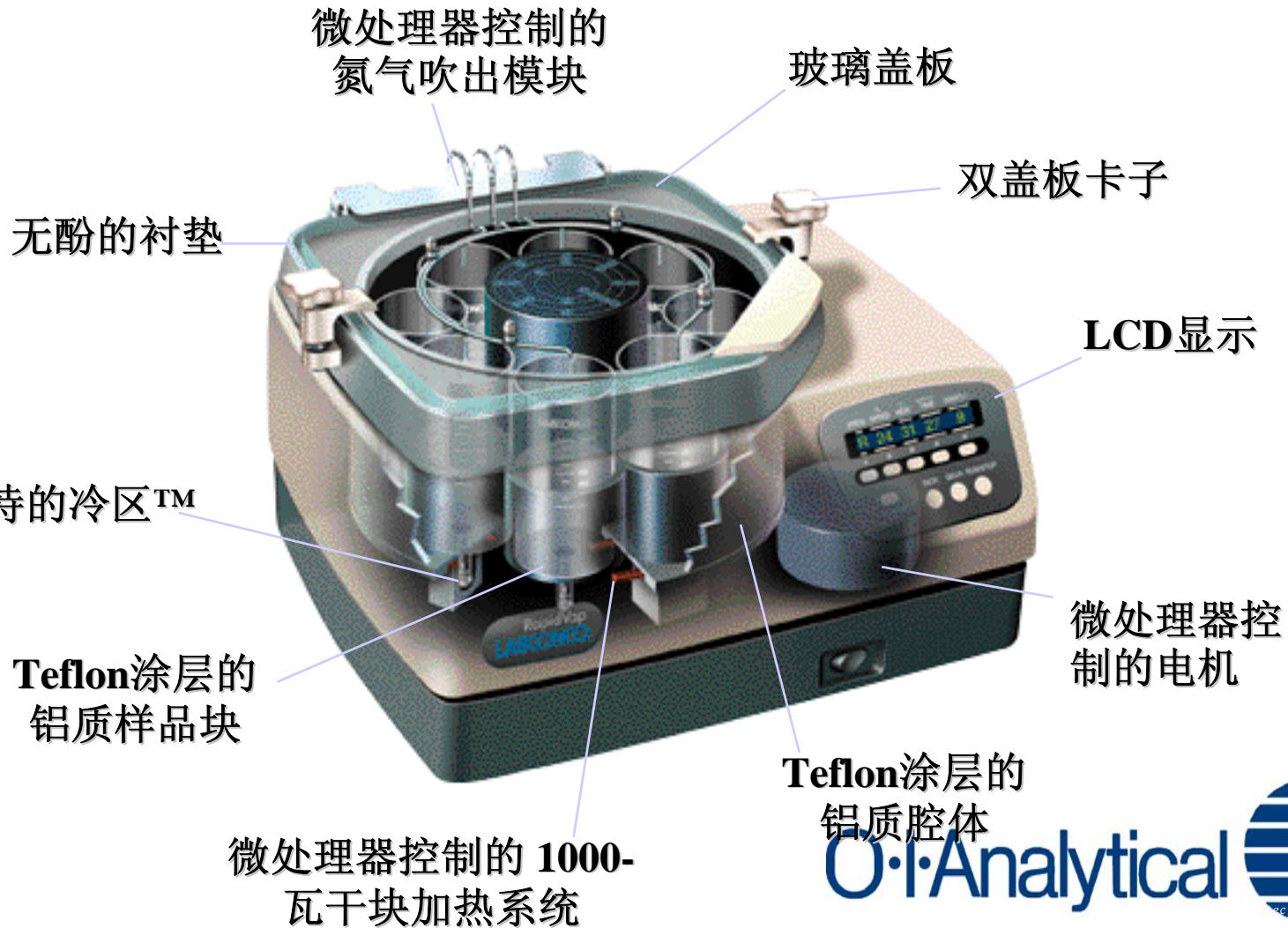
实验 - 萃取

- 在食品处理机上研碎 40 g 虾组织, 然后转移入一个清洁的烧杯
- 加入 400 ml 乙酸乙酯, 超声 15 分钟
- 过滤后放入一个 450-ml RapidVap 管
- 采用 RapidVap N2 蒸发系统于 75 °C 和 70% 的涡流速度蒸发至干.
- 重新溶解于 10 ml 二氯甲烷用于 GPC 净化

用于蒸发的RapidVap N2 蒸发系统



RapidVap N2 蒸发系统



实验 – GPC 净化

- 实验条件
 - **AutoPrep 2000 GPC 系统**
 - **EnviroSep-ABC 分离柱 (部件号. 308842)**
 - **2.5 ml 样品环**
 - **二氯甲烷移动相**
 - **流速 = 4.5 ml/min**
 - 柱子的校准采用 **GPC 标样**, 含有玉米油, 邻苯二甲酸酯, 甲氧滴滴涕, 二萘嵌苯和硫
 - **254 nm 紫外检测器**

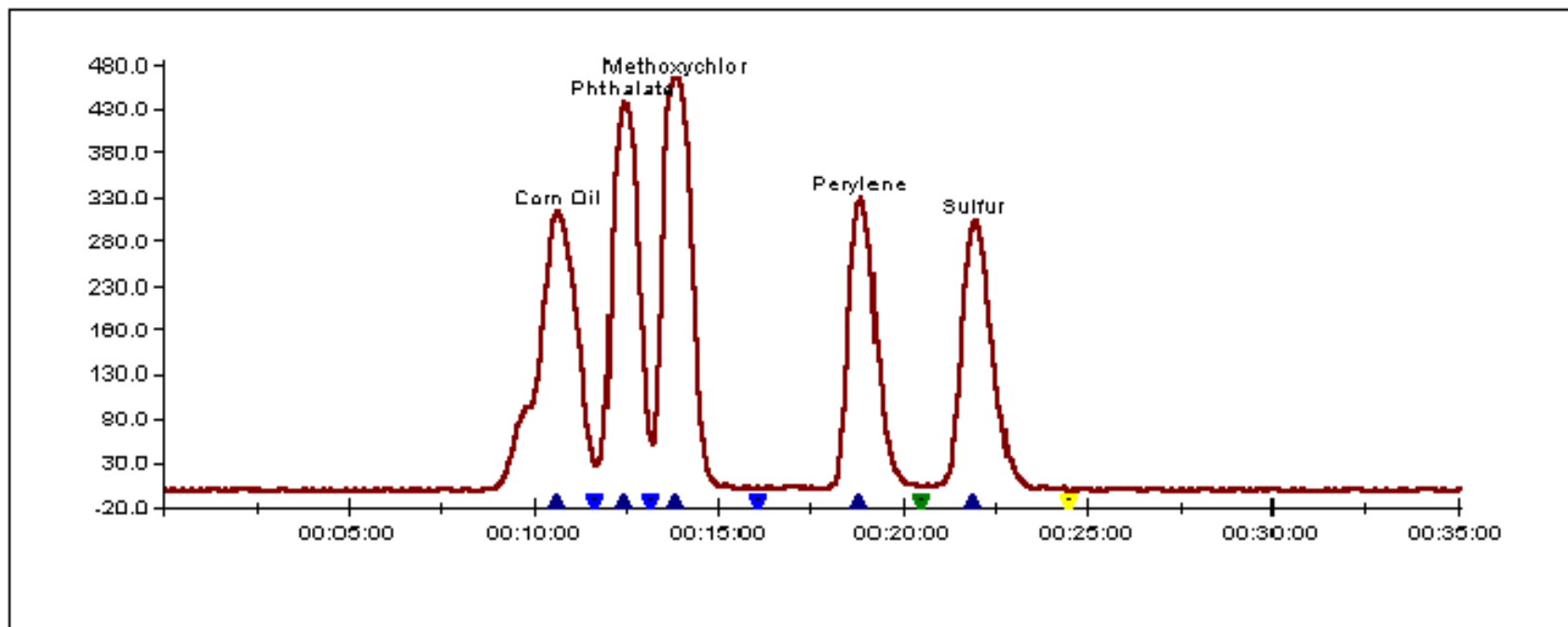


实验 – GC和HPLC分析

- HPLC 配置254nm 紫外检测器
- 气相色谱仪配置一台脉冲式火焰光度检测器(硫模式)和J&W DB5柱子. 分流比9:1



Calibration Details:



Peak Resolution:

Peaks	Resolution (%)	Criteria (%)	Pass/Fail	Delta (%)	Criteria (%)	Pass/Fail
1 - 2	91.0	85	Pass	6	15	Pass
2 - 3	88.0	85	Pass	3	15	Pass
3 - 4	100.0	85	Pass	0	15	Pass
4 - 5	99.0	90	Pass	0	10	Pass

Peak Retention:

Peaks	Time	% Delta	Criteria (%)	Pass/Fail
1	10:40	1	5	Pass
2	12:25	0	5	Pass
3	13:50	1	5	Pass
4	18:50	0	5	Pass

Calculated Run Times:

Cycle	Time (min:sec)
Dump	11:39
Collect	8:49
Wash	13:59



GPC

- Methods
 - Antibiotic
 - Antibiotic cleanup
 - Cal. Std 1 calib - 1/23/C
 - CalibrateEnvirosep
 - CalibrateEnviroSepMeth
 - CalMethCLhex
 - Ex Calibration (Frac)
 - Ex Calibration (UV)
 - Ex Sample Cleanup
 - 00Cleanup
 - 00Cleanup2
 - 00Oilfraction
 - 00PestMix
 - 00PestStd
 - Shrimp
 - Smerazine
 - Sulfamethazine test
 - Sulfonamides
 - test1
 - Test1010303
 - Test2dumpcollect
- Sequences
- Results
- Calibrations

Configuration Status Methods Sequences Results Run Log

Method Name: Antibiotic cleanup

Type

- Cleanup
 Fractionation

Fraction Timing (minutes)

Dump Time: 14

Collect Time: 7

Dump Time 2: 0

Collect Time 2: 0

Wash Time: 5

Total Run Time: 26

Method Description:

Cleanup of shrimp extracts for antibiotic analysis
- 2.5 ml loop at 4.5 ml/min.;

Quantity of Rinses: 1

Needle Rinse Time (sec): 10

Column Type: Envirosep ABC

Pump flow rate (mL/min): 4.5

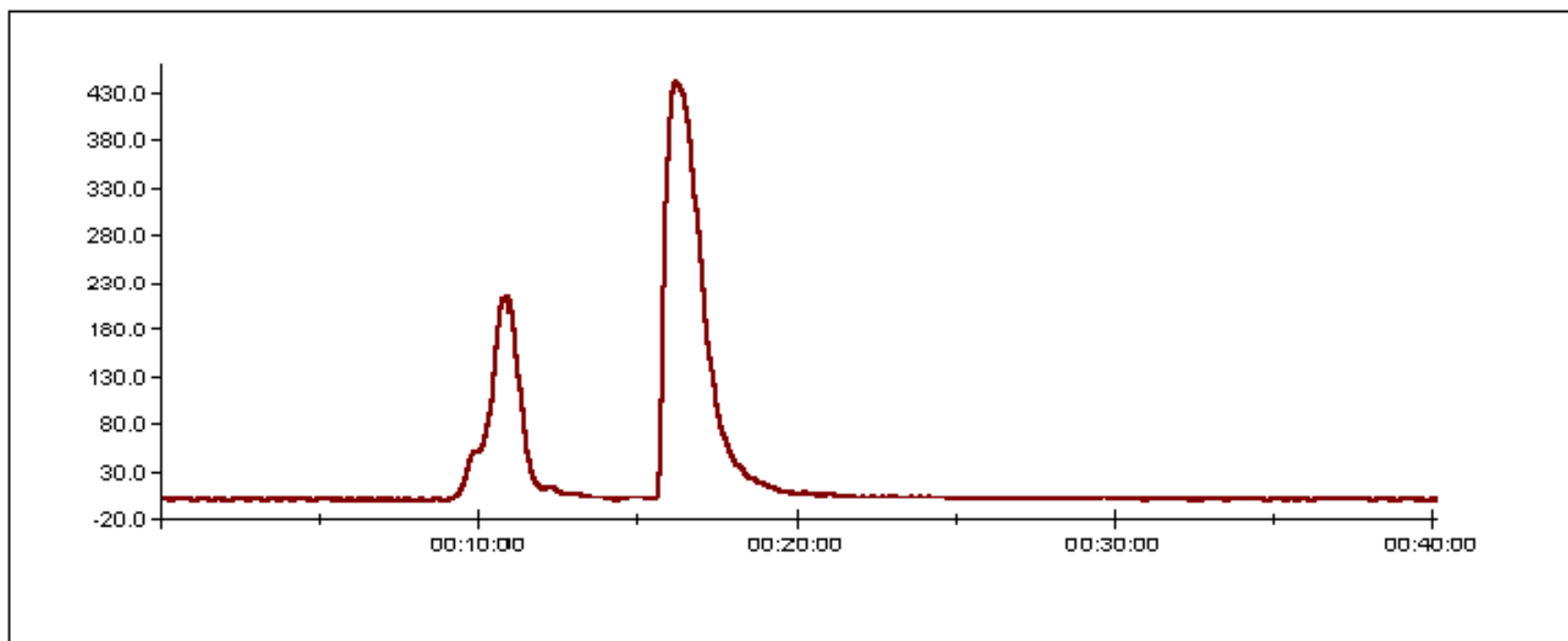
Previous Method

Next Method

Save

Save As

Cancel



分析物的相对淋洗时间

分析物	保留时间
玉米油	10.9 min
邻苯二甲酸酯	12.9 min
甲氧滴滴涕	14.5 min
磺胺甲基嘧啶	15.0 min
氯霉素	15.1 min
磺胺喹恶啉	15.2 min
诺氟沙星	15.2 min
磺胺二甲基嘧啶	15.5 min
磺胺嘧啶	15.8 min
二萘嵌苯	18.5 min
硫	22.5 min



- GPC
 - Methods
 - Sequences
 - 03202002 WinSEP V2.0
 - CalEnvirosepMethod2
 - CalibrateEnvirosep
 - Calibration
 - Ex Calibration (Frac)
 - Ex Calibration (UV)
 - Ex Sample Cleanup
 - Sulfa drugs
 - Sulfamethazine
 - test0001
 - Test1Win2.2v88
 - Test2dumpcollect
 - Results
 - Calibrations

Configuration Status Methods Sequences Results Run Log

Progress

Sequence Name: Sulfamethazine

Currently Processing Vial: 1 of 2

Time Remaining for Vial: 6.35

Current Stage: Dump

Time Remaining for Stage: 1.35

Pressure

Current Pressure: 87 psig

Pressure Alarm: 350 psig

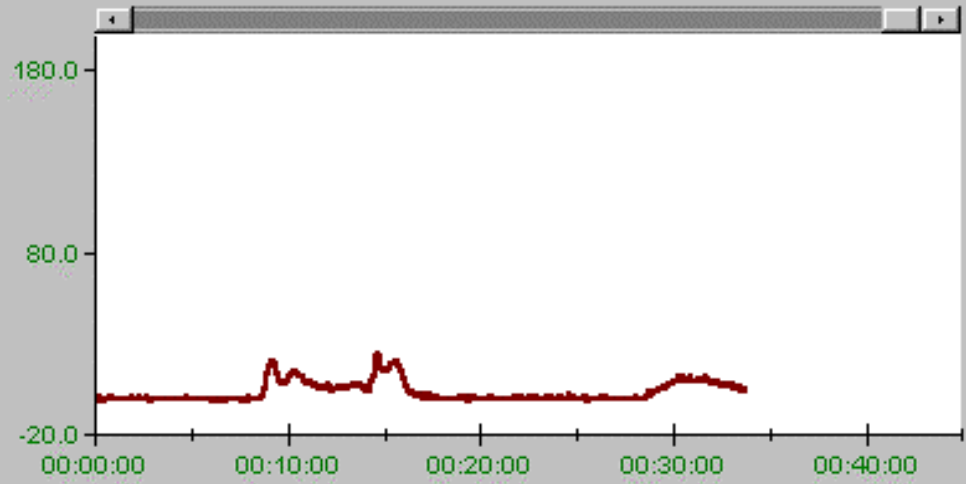
Alarms

Low Pressure High Pressure

Comm. Error Device Failure

Equilibrate

Prime Syringe



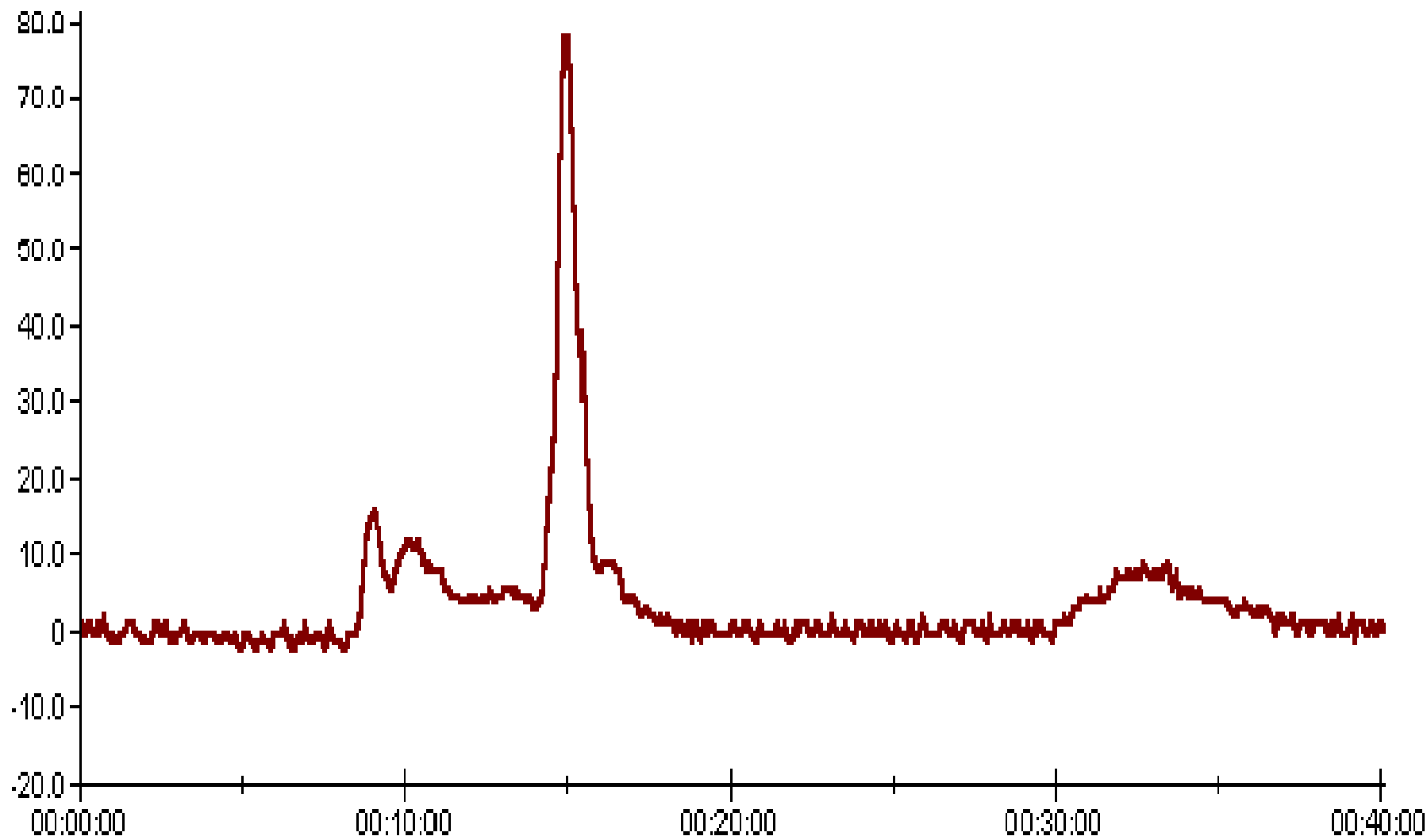
Start

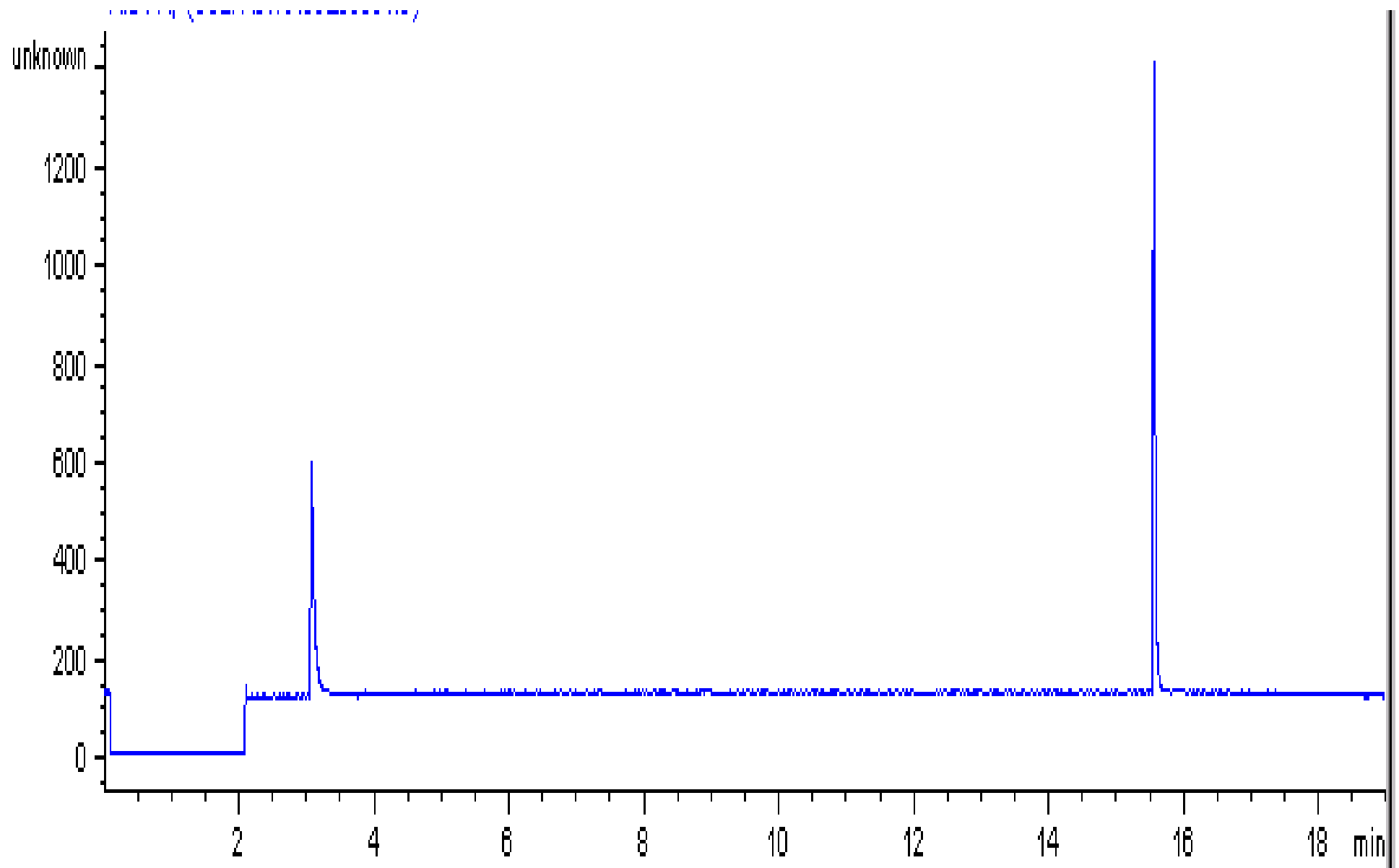
Pause

Stop

Abort

View Live Data





总结和结论

- GPC AutoPrep 2000配置一根 EnviroSep-ABC柱子能够有效地从各类抗生素中分离大分子量的干扰物质, 例如油脂和色素.
- GPC具有其它类型的萃取净化, 例如SPE, 所不具备的优势.
 - 能够应用于各种类型或者种类的物质;"通用型"; 例如, 氟喹诺酮类抗生素
 - 不会破坏分析物
 - 按照尺寸进行分离
 - 便于实现自动化; 无人值守的技术



未来的研究课题

- LC/MS的回收率研究
- GPC净化的其它类型的移动相
- 研究其它类型的抗生素

