



高效液相色谱法分析海水中的氯霉素*

在海水养殖中, 氯霉素被认为是抑制对虾病原弧菌作用最强的药物。由于氯霉素存在严重的副作用, 能引起人的再生障碍性贫血、粒状白细胞缺乏症等疾病, 许多发达国家相继禁止或严格限制使用氯霉素。因此, 有必要对养殖环境中残留的氯霉素进行监测。目前, 有关海洋环境介质中痕量氯霉素检测方法的研究报道不多, 在相关的实验室加标试验中, 由于加标量较大, 水样中的氯霉素采取直接进样。

本文建立了一种海水中痕量氯霉素的高效液相色谱检测方法, 并应用此方法测定大连海域典型养殖区水体中氯霉素的残留量。

1 高效液相色谱测定海水中痕量氯霉素的方法

1.1 线性关系及测定范围

分别定量称取氯霉素标准品, 依次用乙酸乙酯稀释成 0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的氯霉素标准溶液, 进样测定。结果表明, 进样量 m 与峰面积 A 线性关系良好 ($r=0.997$), 回归方程为 $A=1696m-1631$, 其线性范围为 5 ng—50 ng。

1.2 检出限

以相当于三倍噪音的响应值计算检出限, 该仪器的检出限为 0.064 ng。如果海水量以 500 ml 计, 该分析方法最低可以测定海水样品中 1.28 $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ 含量的氯霉素。

1.3 保留时间和响应因子的重复性

在不同的测定时间间隔内, 重复测定 6 次, 氯霉素的相对保留时间、响应因子及其标准偏差 (SD) 和相对偏差 (RSD) 列于表 1。氯霉素的相对保留时间和响应因子的相对标准偏差分别为 2.3% 和 3.0%。由此可见, 本方法的精密度高, 重复性好。

表 1 保留时间和响应因子的重复性测定结果

测定次数	1	2	3	4	5	6	平均值	SD	RSD/%
相对保留时间/min	5.30	5.19	5.17	5.17	4.97	5.03	5.14	0.12	2.3
响应因子	1359	1386	1367	1370	1355	1468	1384	42	3.0

1.4 加标回收实验

采用标准加入法测定此方法的回收率。当海水中氯霉素的加标浓度水平依次为 5, 50, 100, 500 和 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 时, 其加标回收率及相对标准偏差见表 2。本方法的回收率为 96.2%—118.4%, 相对偏差为 2.0%—8.9%, 其准确度较高。

表 2 海水中氯霉素加标回收实验结果

海水体积/ml	500				
氯霉素加入量/ μg	2.5	25	50	250	500
回收率/%	1	83.6	104.2	101.2	113.5
	2	97.7	108.8	102.3	117.5
	3	102.2	105.9	102.9	121.3
	4	92.3	107.6	111.7	114.3
	5	105.3	109.4	114.2	121.1
平均值	96.2	107.2	106.5	114.7	118.4
SD	8.6	2.2	6.0	7.4	8.2
RSD/%	8.9	2.0	5.7	6.4	6.9

2004 年 12 月收稿。

* 国家自然科学基金项目 (40376035)。

1.5 氯霉素稳定性实验

对贮存在冰箱(4℃)内的 $5\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 氯霉素标准溶液,在42d内,间隔不同时间共测定13次,旨在考察低温(4℃)下乙酸乙酯中氯霉素的稳定性和测定方法的稳定性.13次的响应因子测定值都在警告限($\bar{X}\pm\text{SD}$)内,大部分测定值位于($\bar{X}\pm\text{SD}$)附近,偏离最大值为 $\bar{X}\pm 1.59\text{SD}$.由此可见,低温下乙酸乙酯中氯霉素在42d内能稳定保存.

对室温下放置的加标浓度为 $5\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 及 $50\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ 的氯霉素样品,间隔19d进样测定,样品中氯霉素的降解率分别为22%和17%.由此可见,室温自然环境下保存氯霉素样品,降解较快.

萃取过程中加酸处理的样品,其回收率为103%;未加酸处理的样品,其回收率为102%.表明在萃取过程中,酸度对氯霉素的稳定性没有影响.

2 环境样品的测定

2.1 样品的采集与分析

选择大连沿岸海域10个经常发生养殖病害、并使用抗生素治疗的典型养殖区,于2004年9月采集了22个海水样品,以反映大连沿岸海域养殖中使用氯霉素在海洋环境中的残留情况.

准确量取500ml海水置于分液漏斗中,加入50ml乙酸乙酯,振荡1min,静置分层,将分离的乙酸乙酯收集到旋转蒸发瓶中.按照上述提取方法,再分别用20ml乙酸乙酯,重复萃取海水2次,合并3次萃取液于旋转蒸发瓶中旋转蒸发,浓缩至近干,用乙酸乙酯定容至1ml,过0.22 μm 油性滤膜,进样,在波长278nm下测定.

2.2 环境样品的测定结果

样品测定结果表明,仅在黄海海区一站位检出氯霉素,其含量为 $47.0\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$.其余站位都低于本方法的检出限 $1.28\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$.因为只有一个样品检出氯霉素,为了确证,我们进行了加标测定,通过环境样品及其加标样品的色谱图比较,样品中的峰与氯霉素标准具有相同的保留时间,且加标时该峰面积增大,因此,确定了检出样品中的峰就是氯霉素的峰.由此可以看出,用本方法测定海水中的氯霉素,可以准确确定氯霉素峰的位置,而且氯霉素的峰能很好地和其它组分的峰分离,应用此方法可以满足养殖海域水体中氯霉素的测定.

综上所述,本文建立的高效液相色谱法测定海水中的氯霉素,分离效果好,灵敏度高,还具有快速、准确、可靠等特点.应用此方法测定大连沿岸海域典型养殖区海水中的氯霉素,在黄海海区有一站点检出氯霉素,其含量为 $47.0\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$,其余站位都低于本方法的检出限 $1.28\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$.

胡莹莹^{1,2} 叶 赛^{1,2} 李 爱^{1,2} 徐恒振¹ 王菊英¹ 马德毅¹ 供稿

(1 国家海洋环境监测中心,大连,116023; 2 大连海事大学环境学院,大连,116026)