

海洋环境沉积物中氯霉素残留量的测定

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

(1. 大连海事大学 环境科学与工程学院, 辽宁 大连 116026; 2. 国家海洋环境监测中心 国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室, 辽宁 大连 116023)

摘要:应用高效液相色谱法测定海洋环境沉积物中的氯霉素残留。本方法的线性范围是 $0.5 \times 10^{-9} \sim 5 \times 10^{-9}$, 其相关系数为0.997, 最低检出浓度为 0.09×10^{-9} , 回收率在85.1% ~ 95.8%之间, 相对标准偏差小于3.6%。该方法快速、灵敏、定量范围宽, 检测结果准确可靠, 应用性强。

关键词: 高效液相色谱; 沉积物; 氯霉素

中图分类号: P736.4⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-6336(2008)03-0269-03

Determination of chloramphenicol residues in sediment in marine environment

YE Sai^{1,2}, HU Ying-ying^{1,2}, LI Ai^{1,2}, XU Heng-zhen², WANG Ju-ying², MA De-yi²

(1. College of Environmental Science and Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116026, China; 2. Key Laboratory of Coastal Environment and Ecosystem Research, SOA, National Marine Environmental Monitoring Center, Dalian 116023, China)

Abstract: A method for the determination of chloramphenicol in sediment was developed. Chloramphenicol was determined by HPLC. Linear plot was obtained between 0.5×10^{-9} and 5×10^{-9} , with linear correlation coefficient of 0.997. The limit of detection was 0.09×10^{-9} . The average recoveries were between 85.1% and 95.8%. The method is quick, sensitive, reliable and applicable for the wide range.

Key words: high performance liquid chromatography; sediment; chloramphenicol

海水养殖自身的生态结构和养殖方式的缺陷, 导致养殖系统生命力脆弱, 易遭病害侵袭。氯霉素被认为是抑制对虾病原弧菌作用最强的药物^[1]。可通过抗生素混入饲料或直接投入水体防治病害, 而抗生素会有相当部分直接散失到环境中, 积累于沉积物, 特别是网箱养殖的底部^[2]。但是氯霉素有严重的副作用, 它能抑制人体骨髓造血功能而引起再生障碍性贫血和粒状白细胞缺乏等疾病。近年来国内已有水体中氯霉素的残留研究^[3,4], 但有关沉积物中氯霉素的残留研究仅见吕玄文等对鱼塘沉积物的测定^[5]。因此, 很有必要建立高效、灵敏、经济的沉积物中氯霉素的检测方法。本工作建立了高效液相色谱

法测定海洋沉积物中氯霉素残留的方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

日立 D-7100 液相色谱泵; 日立 L-7420 紫外可见检测器; 日立 D-7000 数据处理系统; ODS-2 Spherisorb C18 色谱柱; 超声波清洗器; 离心机; 旋转蒸发器。

氯霉素标准品(纯度大于99%), 购于Sigma公司。乙酸乙酯(分析纯, 天津科密欧化学试剂公司); 甲醇(色谱纯, 天津科密欧化学试剂公司); 水(超纯水由Millipore纯水器制备)。

收稿日期: 2007-11-19; 修回日期: 2008-01-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40376035)

作者简介: 叶 赛(1979-), 女, 广西柳州人, 博士研究生, 主要从事海洋环境化学研究。

通讯作者: 马德毅, 研究员, 博士生导师; E-mail: jywang@nmenc.gov.cn

1.2 液相色谱分析条件

流动相为甲醇+水(65+35);检测波长为278 nm;柱压为19~22 MPa;流速为1 mL/min;柱温为室温;进样体积为10 μ L;分析时间为15 min。

1.3 样品制备

称取300 g新鲜沉积物湿样品,置于100 mL烧杯中,加入20 mL乙酸乙酯,均质5 min,再超声萃取15 min,经离心机离心10 min(3000 r/min),将萃取的乙酸乙酯转移至蒸发瓶中,再依次加入20 mL乙酸乙酯,重复2次上述操作,合并3次萃取的乙酸乙酯,于60℃水浴中旋转蒸发,浓缩至近干,乙酸乙酯定容至1 mL,过滤(0.22 μ m油性滤膜)后进样,于278 nm波长下测定。

2 结果与讨论

2.1 流动相配比的选择

表1为不同体积比的甲醇和水混合溶液($V_{\text{甲醇}} + V_{\text{水}} = 50 + 50, 35 + 65, 30 + 70$)作为流动相对氯霉素保留时间的影响。可以看出,增大甲醇比例会使出峰时间提前,氯霉素的保留时间缩短,难以分离,影响检测的准确性;减小甲醇比例则使色谱峰扩展严重,峰形变差。权衡氯霉素出峰时间、峰形和响应因子等因素,以选择甲醇和水混合溶液($V_{\text{甲醇}} + V_{\text{水}} = 35 + 65$)的流动相为宜。

表1 流动相的选择

Tab.1 Selection of mobile phase

流动相($V_{\text{甲醇}} + V_{\text{水}}$)	相对保留时间/min	响应因子
50+50	1.2	1461
35+65	5.5	1780
30+70	8.4	1592

2.2 波长的选择

表2 相对保留时间和响应因子的重复性测定结果

Tab.2 Duplication of retention time and response factor

项目	测定次数						平均值	SD	RSD/(%)
	1	2	3	4	5	6			
相对保留时间/min	5.3	5.19	5.17	5.17	4.97	5.03	5.14	0.1	2.3
响应因子	1359	1386	1367	1371	1356	1468	1385	42.3	3.0

表3 沉积物中氯霉素加标回收率测定结果

Tab.3 Results of recovery of chloramphenicol from spiked sediment

氯霉素含量/($\times 10^{-6}$)	回收率/(%)					平均值/(%)	SD	RSD/(%)
	1	2	3	4	5			
0.1	80.6	91.1	85.8	86.8	82.8	85.4	4.0	3.6
0.5	91.2	81.8	90.1	89.0	86.5	87.7	3.7	3.3
1.0	91.4	90.7	95.5	92.5	96.4	93.3	2.5	2.3
2.0	88.0	90.3	82.6	80.4	84.1	85.1	4.0	3.6
5.0	96.3	90.7	98.3	97.1	96.4	95.8	3.0	2.6

2.7 环境样品的测定

2004年9月,对大连近岸海域10个经常发生病害的

依据文献报道,分别选择波长278 nm^[6]和280 nm^[7]

用高效液相色谱仪进行测定。结果表明,在波长278 nm处,相对保留时间和响应因子分别为5.5 min和1780;在波长280 nm处,相对保留时间和响应因子分别为5.34 min和1688。二者没有明显差异,在本实验中采用278 nm为检测波长。

2.3 线性关系与回归方程

精密称取SIGMA公司的氯霉素标准品,用乙酸乙酯分别配制0.00、0.50、1.0、2.0、3.0、4.0和5.0 mg/L的标准溶液,进样10 μ L,测定。以氯霉素进样的质量为横坐标x,峰面积为纵坐标y,计算回归方程为 $y = 1696x - 1631.1$,其相关系数r为0.997。结果表明,在5~50 ng范围内,氯霉素进样量与其峰面积的线性关系较好。

2.4 检测限

按10倍于仪器信噪比($S/N = 10$)计算氯霉素的定量检测限,其氯霉素的最小检出限为 0.09×10^{-9} 。

2.5 保留时间和响应因子的重复性

在不同的时间间隔内,重复测定6次,其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2。由表2可知,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%。可见,本方法的精密度高,重复性好。

2.6 加标回收实验

采用标准加入法测定此方法的回收率。沉积物中氯霉素的加标浓度水平分别为(0.1、0.5、1、2、5) $\times 10^{-6}$ 时,其加标回收率及相对标准偏差见表3。由表3可知,本法的回收率为85.1%~95.8%,相对标准偏差为2.3%~3.6%,准确度较高。

养殖区域进行监测,其调查站位见图1,其中对近期使用过氯霉素的皮口和大窑湾设置断面站位,各设6个站位

点(站位相距 100 m)。采用本文的 HPLC 方法测定沉积物中的氯霉素,所有站位样品的残留都低于检出限,即大连近岸海域 10 个养殖区域中氯霉素的含量低于 0.09×10^{-9} 。图 2(A)为其中一个沉积物样品的色谱,图 2(B)为该样品的加标色谱。在本课题前期研究同步采集的养殖

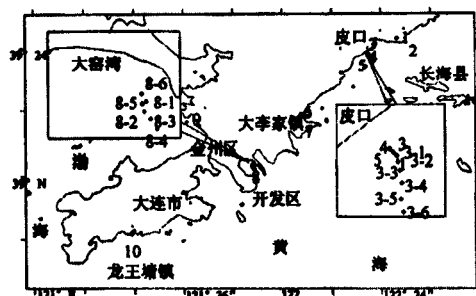


图1 大连近岸采样站位

Fig. 1 Sample locations in Dalian coast

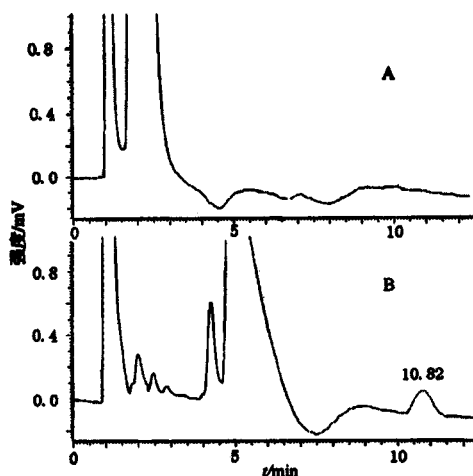


图2 沉积物样品及其加标的对照色谱

(A—沉积物样品;B—加标沉积物样品)

Fig. 2 HPLC chromatography of spiked sediment

(A—original sample; B—spiked sample)

海水样品中仅有一个检出含氯霉素,该样品采自某鲍鱼育苗室排水^[8],而该站位的沉积物却未检出氯霉素,又因氯霉素在表层海水中的光降解较快,倾向于在沉积物中积累,可以排除是以前使用的氯霉素的残留,分析此区域的养殖中正在使用氯霉素,也就是说,虽然氯霉素已经严禁使用但是并未做到严格控制。

3 结论

(1)大连近海养殖区沉积物中的氯霉素残留量普遍低于 0.09×10^{-9} 。

(2)高效液相色谱法适合于测定海洋中沉积物的氯霉素。

(3)高效液相色谱法测定海洋环境中沉积物的氯霉素具有高效、快速、灵敏、经济的特点。

参考文献:

- [1] 杨成对,宋莉晖,毛丽哈,等. 对虾中氯霉素残留的分析方法研究[J]. 分析化学,2004,32(7):905-907.
- [2] 徐永健,钱鲁闽. 海水网箱养殖对环境的影响[J]. 应用生态学报,2004,15(3):532-536.
- [3] 谭建华,唐才明,余以义,等. 高效液相色谱法同时分析城市河水中的多种抗生素[J]. 色谱,2007,25(4):546-549.
- [4] 徐维海,张干,邹世春,等. 典型抗生素类药物在城市污水处理厂中的含量水平及其行为特征[J]. 环境科学,2007,28(8):1779-1783.
- [5] 吕玄文,梁敏思,党志,等. 鱼塘沉积物中氯霉素的超声萃取、净化与测定[J]. 农业环境科学学报,2007,26(3):1195-1200.
- [6] SN 0341-95,出口肉及肉制品中氯霉素残留量检验方法[S].
- [7] 关日晴. 氯霉素片中氯霉素含量的HPLC法测定[J]. 分析测试学报,2002,21(6):96-97.
- [8] 胡莹莹,叶赛,李爱,等. 高效液相色谱法分析海水中的氯霉素[J]. 环境化学,2005,24(4):481-482.