

# 使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱与 ELSD 检测器分析氨基糖苷类抗生素杂质

## 作者

Rongjie Fu 和 Adam Bivens  
安捷伦科技公司

## 摘要

氨基糖苷类是一类作用强大且使用广泛的抗生素。氨基糖苷类及其杂质都具有强极性，因此很难使用反相色谱 (RPLC) 对其进行分析。亲水相互作用色谱 (HILIC) 是一种分离极性分子快速便捷的方法，与 RPLC 相比，仅需要对系统和溶剂进行极小的改动。

## 前言

本应用简报展示了如何使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.7  $\mu\text{m}$  色谱柱将目标杂质新霉胺及其他杂质与常见的氨基糖苷类抗生素核糖霉素分离。

两种化合物的紫外信号均较弱, 故使用 ELSD 检测。

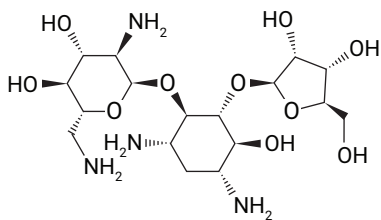


图 1. 核糖霉素结构

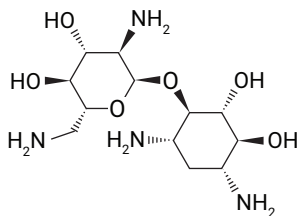


图 2. 新霉胺结构

## 实验部分

### 试剂与化学品

所有试剂均为 HPLC 级或更高等级。HPLC 级乙腈购自 J. T. Baker (Center Valley, PA, U.S.A.)。水经由 EMD Millipore Milli-Q Integral 系统 (Darmstadt, Germany) 纯化。乙酸铵、硫酸核糖霉素和新霉胺购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)。

### 仪器和材料

- Agilent InfinityLab 接头
- 色谱柱进样口:** Agilent InfinityLab Quick Connect 快速连接接头 (部件号 5067-5965)
- 色谱柱出口:** Agilent InfinityLab Quick Turn 接头 (部件号 5067-5966)
- Agilent Captiva 经济型过滤器, PTFE 膜, 直径 13 mm, 孔径 0.2  $\mu\text{m}$  (部件号 5190-5265)
- 安捷伦样品瓶, 螺口, 棕色, 带书写签, 经认证, 2 mL, 100/包 (部件号 5182-0716)
- 安捷伦固定螺口盖, 带 PTFE/红色硅胶隔垫 (部件号 5190-7024)
- Agilent InfinityLab 溶剂瓶, 棕色, 1000 mL (部件号 9301-6526)
- Agilent InfinityLab Stay Safe 溶剂瓶安全盖, GL45, 3 口, 1 个放空阀 (部件号 5043-1219)
- Eppendorf 移液器和连续分液器
- 超声仪 (VWR, Radnor, PA, USA)
- 涡旋器和多管涡旋器 (VWR, Radnor, PA, USA)

### 仪器

- Agilent 1260 Infinity II 二元泵 (G7112B)
- Agilent 1260 Infinity II 样品瓶进样器 (G7129C)
- Agilent 1260 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116A)
- Agilent 1290 Infinity II ELSD (G7102A)
- Agilent OpenLAB 软件

### 样品前处理

- 样品 1:** 0.4 mg/mL 硫酸核糖霉素和 0.2 mg/mL 新霉胺的混合水溶液, 用乙腈 (ACN) 稀释至 50%
- 样品 2:** 4 mg/mL 硫酸核糖霉素加标 2% 新霉胺 (0.08 mg/mL) 的混合水溶液

### 流动相前处理

精确称取一定量的乙酸铵并用水稀释至浓度为 100 mM。一次配置 1 L 缓冲液, 定期更换以防降解或微生物生长。

### 仪器条件

HPLC 条件	
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 $\times$ 100 mm (部件号 685775-924)
流动相 A	100 mM 乙酸铵
流动相 B	乙腈
流速	0.40 mL/min
柱温	25 $^{\circ}\text{C}$
进样量	2 $\mu\text{L}$
梯度	0–1 min 内 B 为 65% 1–5 min 内 B 由 65% 降至 55% 5–10 min 内 (停止) B 为 55% 10–13 min 内 (后运行) B 为 65%
ELSD 条件	
雾化器温度	40 $^{\circ}\text{C}$
蒸发器温度	40 $^{\circ}\text{C}$
气体流速	1.6 SLM
数据采集速率	40 Hz

## 结果

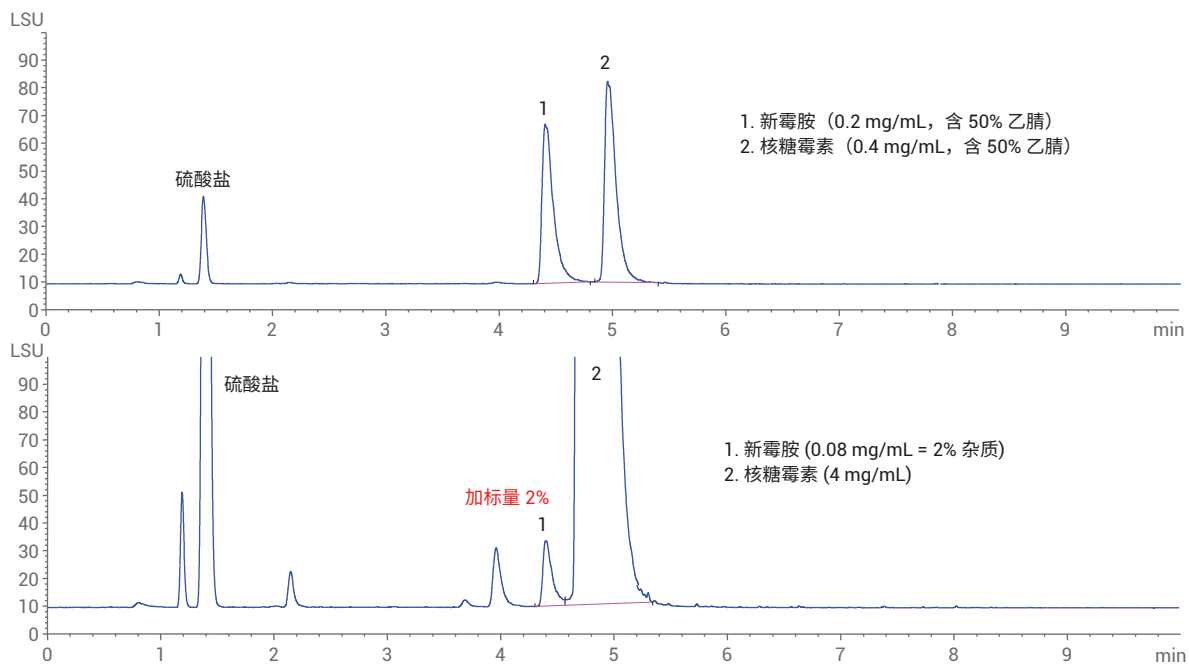


图 3. 使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 液相色谱柱分离新霉素与核糖霉素

## 结论

使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱成功实现了新霉素等杂质与主要化合物核糖霉素的分离。两性离子 HILIC-Z 键合相既能提供出色的分离度，又能得到良好的峰形。

查找当地的安捷伦客户中心：

**[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)**

免费专线：

**800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)**

联系我们：

**[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)**

在线询价：

**[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)**

**[www.agilent.com](http://www.agilent.com)**

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2018  
2018 年 5 月 24 日，中国出版  
5991-8824ZHCN