

超声辅助离子液体液相微萃取-高效液相色谱法 分析水样中加替沙星或氟罗沙星

张 婧 赵文岩* 刘富强 王晓黎

(内蒙古大学化学化工学院 呼和浩特 010021)

摘 要 建立了一种采用离子液体 1-己基-3-甲基咪唑六氟磷酸($[C_6mim][PF_6]$)为萃取剂,超声辅助离子液体液相微萃取-高效液相色谱法分析水样中加替沙星和氟罗沙星的方法。实验考察了溶液酸度、离子液体用量等因素对萃取的影响。在 pH 值分别为 3.3、2.1 的加替沙星和氟罗沙星水样中,加入 0.4 mL $[C_6mim][PF_6]$,超声,离心,离子液体相直接用于 HPLC 进行分析。该方法的线性范围为 0.5 ~ 50 mg/L,测定加替沙星和氟罗沙星的相对标准偏差($n=5$)为 2.80% 和 5.93%,二者的检出限分别为 0.46、0.97 $\mu\text{g/L}$,该方法萃取水样中加替沙星的加标回收率为 80.5% ~ 89.5%,氟罗沙星的加标回收率可达 93.3% ~ 99.0%。

关键词 加替沙星,氟罗沙星,离子液体,超声波

中图分类号:O658.2

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2014)06-0737-05

DOI:10.3724/SP.J.1095.2014.30387

加替沙星(Gatifloxacin, GFLX)和氟罗沙星(Fleroxacin, FLE)是第三代氟喹诺酮类广谱抗生素药物的一种,它们对革兰氏阳性和革兰氏阴性需氧菌、厌氧菌和衣原体有广而强的抗菌活性。但该类药物的过量或不当使用会导致细菌耐药性和潜在致癌性,故其残留问题已引起广泛关注。目前,氟喹诺酮类药物的分析方法主要有高效液相色谱法^[1-2]、紫外分光光度法^[3]、化学发光法和荧光光谱法^[2]等。其中使用最为广泛的主要是高效液相色谱法,而样品预富集是制约色谱检测的瓶颈。

室温离子液体通常简称为离子液体,它由有机阳离子和无机或有机阴离子构成,室温下呈液态。由于其独特的物理化学性质及特有的功能,离子液体作为一种可代替挥发性有机溶剂的新型绿色溶剂,具有无毒、低挥发及粘度大等优点,已广泛应用于提取及色谱等分析领域^[4]。超声波提取的基本技术原理主要是利用超声波的空化作用,使离子液体更完全地分散至目标萃取物中,该提取技术目前已广泛应用于分析领域的萃取应用中^[5-6]。将离子液体、液相微萃取和超声萃取技术三者有机结合起来的研究也渐渐发展起来^[7-8]。三者的结合能够将它们的优点集于一体,实现了样品溶液消耗少、无需加热低温萃取、速度快、无污染和操作简单,尤其提高了萃取效率。刘美华等^[9]建立了将离子液体、分散液相微萃取与超声萃取技术相结合分析废水中3种雌激素物质(己烯雌酚、双烯雌酚、己烷雌酚)的方法,其中使用了0.3 mL 甲醇作为分散剂。目前,人们在使用离子液体超声萃取法时大多会同时使用分散剂,只是有机分散剂的使用会带来二次污染。本文提出了采用超声波法辅助离子液体萃取水样中加替沙星或氟罗沙星,且无需加入分散剂。与普通的离子液体液相微萃取法相比,该方法灵敏、简便且准确,更重要的是避免了有毒有机溶剂做为分散剂的使用,适用于检测水样中加替沙星或氟罗沙星的含量。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

高效液相色谱仪(美国热电公司),PDA 检测器(美国热电公司),SKE-5S 型超声波仪(功率 120 W,频率 40 kHz,容量 5 L,南京博尔迪生物科技有限公司),CENTRIFUGE MODEL S44Z-1 型高速离心机(上海医疗器械有限公司手术机械厂);PHSJ-3F 型 pH 计(上海雷磁仪器厂);净水器(Milli-Q Direct 8)。

2013-07-30 收稿,2013-10-15 修回,2014-01-06 接受

国家自然科学基金资助项目(21167008);内蒙古自治区教育厅重点项目(NJZZ11014)

通讯联系人:赵文岩,副教授;Tel/Fax:0471-4992981;E-mail:wenyan.zh@163.com;研究方向:环境化学

加替沙星(中国药品生物制品检定所),氟罗沙星(中国药品生物制品检定所), $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ (上海成捷化学有限公司),色谱纯乙腈(天津市光复精细化工研究所),乙酸铵、36%乙酸、37%盐酸均为分析纯试剂(天津市光复精细化工研究所)。

加替沙星和氟罗沙星储备液和标准溶液的配制:精密称取加替沙星标准品 10 mg 于 100 mL 容量瓶,超纯水定容;取适量储备液,用超纯水稀释为低浓度的标准溶液。

1.2 色谱条件

色谱柱:Thermo scientific(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相:10 mmol/L 乙酸铵水溶液(用乙酸调节 pH = 3.3)(A)与乙腈(B), $V(\text{A}):V(\text{B}) = 3:1$ ^[10];柱温 30 °C;流速 0.5 mL/min;加替沙星和氟罗沙星的检测波长分别为 290 和 280 nm;加替沙星和氟罗沙星的保留时间分别为 15.1 和 12.6 min;进样量 10 μL。

1.3 实验方法

将一定量的加替沙星或氟罗沙星标准水溶液加入到 15 mL 离心管中,稀释至 10 mL,轻轻摇匀,并用 HAc 和 HCl 分别调至适宜的酸度。向离心管中加入 0.4 mL 离子液体,轻轻振荡,形成乳浊液体系。超声 30 min,室温放置 5 min,4000 r/min 离心 10 min。离子液体萃取剂沉积在离心管底部,用微量进样器吸取 10 μL 沉积相,进行 HPLC 分析。

1.4 回收率的计算

离子液体与水充分振荡混合后,有部分离子液体会与水相混合,当 0.4 mL $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ 萃取 10 mL 水样,经静置分层后,下层离子液体相体积约为 0.35 mL,这与 $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ 在水相的溶解度为 0.75 g/100 mL(离子液体的密度为 1.29 g/mL)^[11] 相吻合。因此回收率的计算公式为:

$$\text{回收率} = \frac{(\rho_{\text{IL}} - \rho_{\text{IL}}^0) \times 0.35/10}{\rho_0}$$

式中, ρ_{IL} 为加标水样萃取后 IL 相中污染物的质量浓度, ρ_{IL}^0 为未加标水样萃取后 IL 相中污染物的质量浓度, ρ_0 为加标质量浓度。

2 结果与讨论

2.1 离子液体体积的影响

鉴于离子液体所萃取的加替沙星和氟罗沙星溶液的体积是相同的,故本实验只考察了离子液体的体积对萃取加替沙星的影响。 $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ 萃取 10 mL 加替沙星水样,实验分别考察了离子液体 0.2 ~ 0.5 mL 时对萃取率的影响,如图 1 所示。当离子液体的体积增加至 0.4 mL 时,富集回收率最大。故本实验选择萃取加替沙星和氟罗沙星溶液的离子液体体积为 0.4 mL。

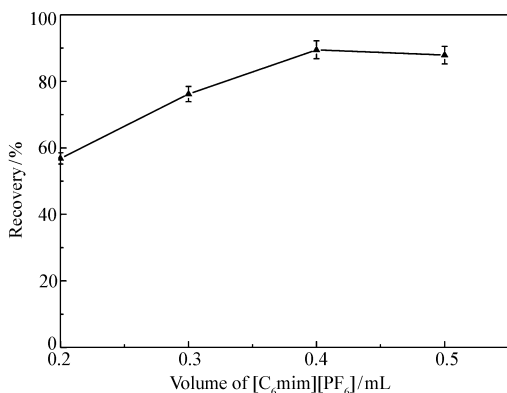


图1 $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ 体积对加替沙星萃取效率的影响

Fig. 1 $[\text{C}_6\text{mim}][\text{PF}_6]$ volume on extraction efficiency for GTFX

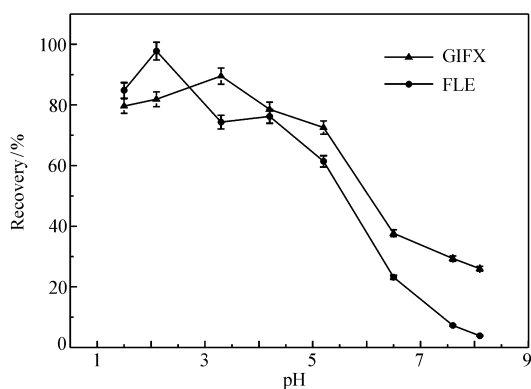


图2 pH 值对萃取效率的影响

Fig. 2 Effect of pH on extraction efficiency

2.2 溶液 pH 值对萃取率的影响

作为两性分子的氟喹诺酮类药物,由于其在水中的存在状态(分子态和离子态)随溶液 pH 值的改变而改变,不同的存在状态影响其在离子液体/水两相的分配系数,最终影响富集效果。本实验考察了不同 pH 值样品溶液对提取效率的影响(见图 2)。由图 2 可见,当加替沙星水样溶液 pH 值为 3.3 和氟罗沙星溶液的 pH 值为 2.1 时,加标回收率略高于其它 pH 值条件。有研究表明,当喹诺酮类药物水溶液为酸性时,该类药物以喹啉式结构存在^[12],此结构较酮式结构相比扩大了 π 电子的离域范围。可能喹啉式结构的喹诺酮类药物更有利于离子液体对其进行萃取。因此,本实验选择 pH 值为 3.3 的加替沙星和 pH 值为 2.1 的氟罗沙星水样溶液进行实验。

2.3 超声时间的影响

超声的目的是促进离子液体与样品溶液的接触和混合,使离子液体分散成小液滴,增大了其与目标物水溶液的接触面积,使得离子液体更迅速并充分地进入待测物水样中,从而达到萃取平衡。本研究在其它实验条件不变的前提下,考察了超声时间为 10、20、30 和 40 min 时离子液体对目标物的回收率,如图 3 所示。当超声时间达到 30 min 时,二者的回收率均达到最大。继续增大超声时间时,回收率便开始下降。这是由于一方面充分的超声时间,可以提高萃取富集效果;另一方面可能由于超声连续辐射时间过长,会产生超声热效应使得样品局部温度过高,从而受热分解,降低了萃取效果。故本实验萃取加替沙星和氟罗沙星的最佳超声时间为 30 min。

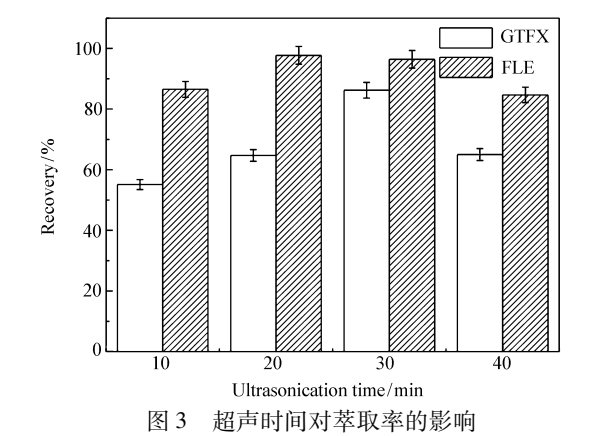


图 3 超声时间对萃取率的影响

Fig. 3 Effect of ultrasonication time on extraction efficiency

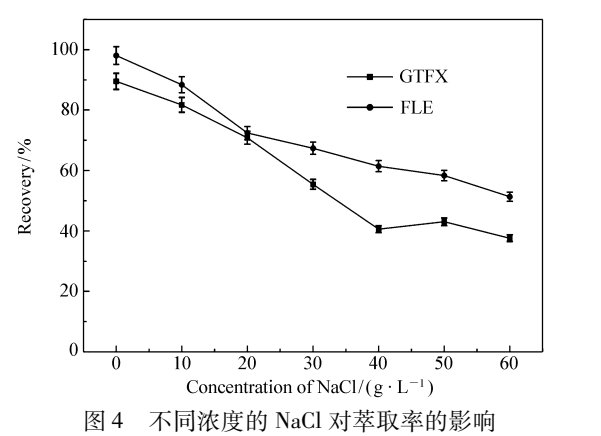


图 4 不同浓度的 NaCl 对萃取率的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of NaCl on extraction efficiency

2.4 无机盐的量对回收率的影响

盐析效应对于固相微萃取和液/液微萃取是一个重要的影响因素。本实验分别考察了样品溶液中 NaCl 浓度(0 ~ 60 g/L)对实验的影响,结果见图 4。可见加入无机盐 NaCl 后加替沙星和氟罗沙星的回收率均有所降低,由于喹诺酮较易溶于酸性水溶液,因此,盐的加入对其在水中的溶解度影响较小,具有较强水溶性的盐可以降低 IL 在水中的溶解度^[13],而使回收的 IL 相体积增大,降低回收率的计算值。固本实验选择不加盐。

2.5 方法的线性范围、重现性与回收率

在最佳的试验条件下,离子液体[C_6mim][PF_6]分别萃取加替沙星和氟罗沙星水溶液,重复萃取 5 次,二者的线性范围、重现性和检出限见表 1。本方法测定水样中加替沙星和氟罗沙星的检出限分别为 0.46、0.97 $\mu g/L$,可适用于微量加替沙星和氟罗沙星的检测。

表 1 线性范围、重现性及检出限				
Table 1 Linear range, reproducibility and detection limits of the optimized method				
Analyte	Linear range/(mg · L ⁻¹)	Correlation coefficient	RSD/% (n = 5)	Limits of detection/(μg · L ⁻¹)
Gatifloxacin	0.5 ~ 50	0.998 4	2.80	0.46
Fleroxacin	0.5 ~ 50	0.999 7	5.93	0.97

取实验室废水 10 mL,按上述最佳实验条件,以加替沙星和氟罗沙星为加标物,加标量为 0.1、0.5、1.0 和 5.0 mg/L 计算回收率,结果见表 2。加替沙星的加标回收率为 80.5%~89.5%,氟罗沙星的加标回收率可达 93.3%~99.0%,氟罗沙星的回收率略高于加替沙星,这是由于氟罗沙星的水溶性小于加替沙星,更易于离子液体进行萃取。

表 2 实验室废水中加替沙星和氟罗沙星的加标回收率及重现性

Table 2 The spiked recovery and reproducibility of Gatifloxacin and Fleroxacin in laboratory waste water									
Analyte	Found/(mg·L ⁻¹)	Spiked level 0.1 mg/L		Spiked level 0.5 mg/L		Spiked level 1.0 mg/L		Spiked level 5.0 mg/L	
		Recovery/%	RSD/% (n=5)	Recovery/%	RSD/% (n=5)	Recovery/%	RSD/% (n=5)	Recovery/%	RSD/% (n=5)
Gatifloxacin	-	88.6	3.3	89.5	3.6	86.3	2.7	80.5	4.2
Fleroxacin	-	93.3	4.8	97.7	3.5	96.4	2.9	99.0	3.8

同时,本实验还考察了普通萃取法萃取加替沙星和氟罗沙星水溶液,当加标量为 0.5 mg/L 时,普通液液微萃取法萃取加替沙星的回收率为 86.0%,萃取氟罗沙星的回收率为 92.8%。这表明,超声辅助萃取法更有助于提高离子液体的萃取率。

3 结 论

本实验建立了一种超声辅助离子液体萃取水样中加替沙星或氟罗沙星的方法,该方法萃取加替沙星的回收率可达 80.5%~89.5%,萃取氟罗沙星的回收率可达 93.3%~99.0%。提出了利用超声辅助离子液体萃取的样品前处理方法可替代有机溶剂提取,具有环境友好的优点。实验结果表明,离子液体及样品溶液消耗小,操作简便,适用于水样中加替沙星或氟罗沙星的检测。

参 考 文 献

[1] ZHANG Yujie,LI Qian,WANG Xia,*et al.* Determination of Fluoroquinolones in Tissues of Several Animals by HPLC[J]. *Chinese J Vet Drug*,2012,**46**(7):65-68(in Chinese).
张玉洁,李倩,汪霞,等. 高效液相色谱法检测多种动物组织中氟喹诺酮类药物残留量的研究[J]. *中国兽药杂志*, 2012,**46**(7):65-68.

[2] YU Suhua,MENG Wenjing,LU Tingting,*et al.* Spectrophotometric, Spectrofluorimetric and Reversed-phase High-performance Liquid Chromatographic Methods for Determination of Gatifloxacin in Its Capsule[J]. *J Yangzhou Univ(Nat Sci Edn)*,2008,**11**(2):40-44(in Chinese).
于素华,孟文静,陆婷婷,等. 加替沙星的紫外-荧光分光光度法和高效液相色谱法测定[J]. *扬州大学学报(自然科学版)*,2008,**11**(2):40-44.

[3] LI Sheng,YAO Junxue,AODENG Gaowa. Spectrophot Ometric Study on Fleroxacin and Its Application[J]. *J Inner Mongolia Univ(Nat Sci Edn)*,2005,**36**(3):273-275(in Chinese).
李胜,姚俊学,敖登高娃. 氟罗沙星的分光光度法研究及应用[J]. *内蒙古大学学报(自然科学版)*,2005,**36**(3): 273-275.

[4] Han J,Wang Y,Yu C L. Extraction and Determination of Chloramphenicol in Feed Water, Milk, and Honey Samples Using an Ionic Liquid/Sodium Citrate Aqueous Two-phase System Coupled with High-performance Liquid Chromatography [J]. *Anal Bioanal Chem*,2011,**399**:1295-1304.

[5] Zhang Y F, Lee H. Ionic Liquid-based Ultrasound-assisted Dispersive Liquid liquid Microextraction Followed High-performance Liquid Chromatography for the Determination of Ultraviolet Filters in Environmental Water Samples[J]. *Anal Chim Acta*,2012,**750**:120-126.

[6] Han D D, Row K H. Determination of Luteolin and Apigenin in Celery Using Ultrasonic-assisted Extraction Based on Aqueous Solution of Ionic Liquid Coupled with HPLC Quantification[J]. *J Sci Food Agric*,2011,**91**:2888-2892.

[7] Ma C H,Wang S Y, Yang L,*et al.* Ionic Liquid-aqueous Solution Ultrasonic-assisted Extraction of Camptothecin and 10-Hydroxycamptothecin from Camptotheca Acuminata Samara[J]. *Chem Eng Proc*,2012,**57**:59-64.

[8] Lou Z X,Wang H X,Zhu S,*et al.* Ionic Liquids Based Simultaneous Ultrasonic and Microwave Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Burdock Leaves[J]. *Anal Chim Acta*,2012,**716**:28-33.

[9] LIU Meihua,QIU Bin,CHEN Guonan,*et al.* Determ Ination of Estrogens in Waste Water by Ultrasound-Assisted Ionic Liquid Dispersive Liquid-Phase Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography[J]. *Anal Test*

Technol Instrum, 2009, **15**(3):151-157 (in Chinese).

刘美华, 邱彬, 陈国南, 等. 超声辅助离子液体分散液相微萃取-高效液相色谱法测定废水中雌激素的研究[J]. 分析测试技术与仪器, 2009, **15**(3):151-157.

- [10] WANG Ying, XIAO Yao, REN Ruibing, *et al.* Homogeneous Ionic Liquid Microextraction of Fleroxacin and Sulfaquinoxaline from Water Samples[J]. *Chem J Chinese Univ*, 2010, **9**(31):1721-1724 (in Chinese).
- 王影, 肖瑶, 任瑞冰, 等. 水样中氟罗沙星和磺胺喹噁啉的离子液体均匀提取[J]. 高等学校化学学报, 2010, **9**(31):1721-1724.
- [11] Chun S, Dzyuba S V, Bartsch R A. Influence of Structural Variation in Room-Temperature Ionic Liquids on the Selectivity and Efficiency of Competitive Alkali Metal Salt Extraction by a Crown Ether[J]. *Anal Chem*, 2001, **73**:3737-3741.
- [12] DU Liming, JIN Weijun, DONG Chuan, *et al.* Studies on Correlation Between Protonation and Tautomerism and Luminescence Characteristics of Quinolone[J]. *Spectrosc Spectr Anal*, 2001, **21**(4):518-520 (in Chinese).
- 杜黎明, 晋卫军, 董川, 等. 喹诺酮类药物的质子化作用及互变异构现象与荧光特性的相关性研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2001, **21**(4):518-520
- [13] Visser A E, Swatloski R P, Reichert W M, *et al.* Traditional Extractions in Nontraditional Solvents: Groups 1 and 2 Extraction by Crown Ethers in Room-temperature Ionic Liquids[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2000, **39**:3596-3604.

Determination of Gatifloxacin or Fleroxacin in Water Sample by Ultrasound-Assisted Ionic Liquid Liquid-Phase Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography

ZHANG Jing, ZHAO Wenyan*, LIU Fuqiang, WANG Xiaoli

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

Abstract A method was established for the analysis of gatifloxacin or fleroxacin in water sample by ultrasonic assisted hydrophobic ionic liquid (1-hexyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate, $[C_6mim][PF_6]$) liquid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography (HPLC). The pH value of solution, amount of ionic liquid and other factors which might affect the extraction efficiency were researched. To gatifloxacin water sample at pH = 3.3 and fleroxacin water sample at pH = 2.1 was added 0.4 mL of $[C_6mim][PF_6]$, respectively, for ultrasonic extraction. After extraction, phase separation was performed by centrifugation. The sediment phase were injected into the HPLC system for analysis. By this method, the linear ranges for analysis are 0.5 ~ 100 $\mu\text{g/L}$ and the relative standard deviations ($n = 5$) for them are 2.80 and 5.93, respectively. The limits of detection ($3S/N$) for gatifloxacin and fleroxacin are 0.46 and 0.97 $\mu\text{g/L}$, respectively. Under the above mentioned conditions, the extraction recoveries for gatifloxacin or fleroxacin water samples were found to be 80.5% ~ 89.5% and 93.3% ~ 99.0%, respectively.

Keywords gatifloxacin, fleroxacin, ionic liquid, ultrasonic extraction

Received 2013-07-30; Revised 2013-10-15; Accepted 2014-01-06

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21167008); the Inner Mongolia Autonomous Region Key Academic Discipline Project for University (No. NJZZ11014)

Corresponding author: ZHAO Wenyan, associate professor; Tel/Fax: 0471-4992981; E-mail: wenyan.zh@163.com; Research interests: environmental chemistry