###

GB/T XXXXX—201X

中华人民共和国国家标准

ICS 07.080

A 21

β-内酰胺类抗生素高分子聚合物测定-凝胶色谱法

**Determination of the** **high-molecular polymers in β-lactam antibiotics—Gel filtration chromatography**

（征求意见稿）



发布

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局

中国国家标准化管理委员会

201X-XX-XX 发布

201X-XX-XX实施

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009给出的规则起草。

本标准由中国标准化研究院提出并归口。

本标准起草单位：

本标准主要起草人：

**β-内酰胺类抗生素中高分子聚合物****检测 高效凝胶色谱法**

1 范围

本标准规定了β-内酰胺类抗生素中高分子聚合物凝胶色谱法的原理、仪器和设备、试剂和材料、操作步骤、结果分析。

本标准适用于β-内酰胺类抗生素中内源性高分子聚合物的检测。

2 规范性引用文件

本标准引用下列文件，凡是不注明日期的引用文件，其有效版本适用于本标准。

GB/T 6682-2008分析实验室用水规格和试验方法。

3. 术语和定义

**3.1**

**高分子聚合物 high-molecular polymers**

β-内酰胺类抗生素分子自身聚合而成的一类高分子物质。

4 原理

根据分子量的大小，利用高效凝胶色谱柱对抗生素及其高分子聚合物进行分离，经紫外检测器在254 nm测定，以色谱峰保留时间定性，以峰面积定量待测物的量。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪：配紫外检测器。

5.2 高效凝胶色谱柱：粒径为5μm，孔径120A的硅胶基质，理论塔板数10000以上。

5.3 电子天平：称量精度为0.001g。

5.4 溶剂过滤系统。

5.5 微量移液器。

6 试剂和材料

6.1 总则

 除非有另外说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682-2008规定的一级水。

6.2 试剂

6.2.1 5 mmol/L磷酸缓冲液，pH 7.0

准确称取0.432 g的磷酸氢二钠和0.186 g的磷酸二氢钠，加水溶解后定容到1L，配制成pH 7.0的5 mmol/L磷酸缓冲液。

7 操作步骤

7.1 分析方法的选择

若有高分子聚物对照品，宜以高分子聚物对照品的色谱峰面积为对照，以峰面积法计算待测抗生素样品中高分子聚合物的含量；若无高分子聚物对照品，宜以抗生素对照品溶液主成分的色谱峰面积为对照，以待测抗生素样品溶液图谱中的高分子聚合物峰面积作被测峰，计算待测抗生素样品中高分子聚合物的含量。

7.2 试样制备

根据待测样品的溶解特性，水溶性样品用磷酸缓冲液进行溶解，脂溶性样品用乙腈溶解，并用0.22μm滤膜过滤。

7.3 色谱条件

色谱仪为高效液相色谱仪，色谱柱为高效凝胶色谱柱，流动相A为磷酸缓冲液，流动相B为乙腈，A：B体积比为90：10，流速为0.8 mL/min，柱温为25 ℃，检测波长为254 nm。

7.4 标准曲线的制作

 若有高分子聚合物对照品，则将高分子聚合物对照品按梯度稀释后，按7.2方法配制成5个以上浓度梯度的样品溶液，其浓度范围在0.0005 -5 mg/mL之内，由低浓度到高浓度依次进样，以其对应的峰面积为纵坐标，进行线性回归分析，选择线性回归拟合程度*R2*值在0.95以上的5个连续浓度梯度，建立标准曲线。

若有高分子聚合物对照品，则将抗生素对照品按梯度稀释后，按7.2方法配制成5个以上浓度梯度的样品溶液，其浓度范围在0.005 -5 mg/mL之内，由低浓度到高浓度依次进样，以浓度为横坐标，以抗生素对照品主成分对应的峰面积为纵坐标，进行线性回归分析，选择线性回归拟合程度*R2*值在0.95以上的5个连续浓度梯度，建立标准曲线。

7.5 试样溶液测定

根据7.4的标准曲线，将试样按7.2进行溶解，使得其浓度落在标准曲线的浓度范围内，按照与7.4同样的仪器条件进行测定。

8 结果分析

8.1 结果计算

8.1.1 若以高分子聚物对照品的色谱峰面积为对照，高分子聚合物浓度和百分比分别按公式（1）和公式（2）进行计算：

$C\_{P1}=\frac{S\_{P1} × C\_{P0} }{S\_{P0}}$ ……………… …………………………………………(1)

$P\_{1}=\frac{C\_{P1} × V\_{P1}×100 }{m}$…………………………………………………………(2)

式中：

*CP*1——试样溶液中高分子聚合物浓度（mg/mL）；

*SP*1——试样溶液高分子聚合物的峰面积；

*CP*0——高分子聚合物对照品峰面积所对应的浓度（mg/mL）；

*SP*0——高分子聚合物对照品的峰面积；

*P1*——试样中高分子聚合物百分比含量（%）；

*VP*1——试样溶液体积；

*m*——试样总量，g。

8.1.2 若以抗生素对照品溶液主成分的色谱峰面积为对照，高分子聚合物浓度和百分比分别按公式（3）和公式（4）进行计算：

$C\_{A1}=\frac{S\_{A1} × C\_{A0} }{S\_{A0}}$ ……………… …………………………………………(3)

$A\_{1}=100-\frac{C\_{A1} × V\_{A1}×100 }{m}$…………………………………………………(4)

式中：

*CA*1——试样中主成分浓度（mg/mL）；

*SA*1——试样主成分的峰面积；

*CA*0——抗生素对照品主成分峰面积所对应的浓度（mg/mL）；

*SA*0——抗生素对照品主成分的峰面积；

*A1*——试样中高分子聚合物百分比含量（%）；

*VA*1——试样溶液体积；

*m*——试样总量（g）。

以平行样的平均值为最终的含量值，计算结果保留到小数点后两位。

8.2 重复性

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

**附录A**

**（资料性附录）**



主成分

降解成分

高分子聚合物

**图A.1 头孢噻吩的液相色谱图**

高分子聚合物



主成分

**图A.2 头孢曲松的液相色谱图**



降解成分

主成分

高分子聚合物

**图A.3 头孢呋辛的液相色谱图**



主成分

**图A.4 头孢替唑的液相色谱图**



主成分

降解成分

降解成分

高分子聚合物

**图A.5 头孢拉定的液相色谱图**



主成分

**图A.6 头孢哌酮的液相色谱图**



主成分

**图A.7 头孢唑林的液相色谱图**



主成分

降解成分

高分子聚合物

**图A.8 苯唑西林的液相色谱图**



降解成分

高分子聚合物

主成分

**图A.9 磺苄西林的液相色谱图**



主成分

**图A.10 盐酸普鲁卡因的液相色谱图**



降解成分

主成分

高分子聚合物

**图A.11 青霉素V钾的液相色谱图**

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_