

超高效液相色谱 - 串联质谱法测定水源水中 10 种抗生素残留

LCMSMS-749

摘要：使用岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用系统建立了测定水源水中 10 种抗生素残留量的方法。水体样品通过 HLB 固相萃取柱富集提取后，使用 C18 色谱柱进行分离。采用正离子模式进行电离，通过多反应监测模式对目标化合物进行测定。结果表明：使用外标法定量，磺胺嘧啶、头孢氨苄等 10 种抗生素药物在 0.5 ng/mL ~ 50 ng/mL 浓度范围内线性良好，所得校准曲线线性相关系数在 0.995 以上，各校准点准确度在 86.1%~113.1% 之间，且精密度和不同浓度水平的加标回收率实验结果良好。

关键词：三重四极杆质谱 水源水 抗生素

技术特点：

- ❖ 参考标准 DB 22/T 2838-2017，该方法检出限优于标准要求。
- ❖ 优化质谱参数后，各化合物检测灵敏度高，且具有更宽的线性范围。

抗生素是一类在人与动物疾病防治中广泛使用的药物，主要用于治疗各种细菌、致病微生物等引起的感染性疾病。我国作为抗生素的生产和使用大国，普遍存在着抗生素滥用和有序排放等现象。环境中抗生素的来源主要包括生活污水、医疗废水以及动物饲料和水产养殖废水排放等。水源水中抗生素药物较高浓度的残留，会诱导细菌对抗生素耐药性的产生，进而对生态系统和人体健康构成潜在威胁。

抗生素在环境介质中常以痕量存在，且受空间分布影响较大，这给抗生素的检测带来了较大难度。目前，

较常用的抗生素检测方法有免疫检测法、高效液相色谱法和液相色谱 - 质谱联用技术等。高效液相色谱 - 串联质谱 (LC-MS/MS) 法由于具有灵敏度高、特异性强和结果准确性好的特点，已成为水环境中痕量有机物分析的主要方法。本文基于岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用技术，建立了水源水中 10 种抗生素残留量的测定方法。该方法简单、快速、准确，可为水源水中磺胺嘧啶、头孢氨苄等抗生素监测提供方法支持，为水资源的合理利用及水源水中污染物的治理提供了依据。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.113		

1.2 分析条件

液相条件

- 色谱柱：Shim-pack GLSS C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.9 μm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30048-02)
- 流动相：A相 - 0.1% 甲酸水溶液；B相 - 乙腈
- 流速：0.4 mL/min
- 柱温：35°C
- 进样体积：2 μL
- 洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为 25%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
4.50	Pumps	Pump B Conc.	50
5.00	Pumps	Pump B Conc.	90
5.50	Pumps	Pump B Conc.	90
6.00	Pumps	Pump B Conc.	25
9.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI +	接口温度：350°C
接口电压：4.0 kV	DL 温度：250°C
雾化气流速：氮气 3.0 L/min	加热块温度：400°C
加热气流速：空气 10 L/min	驻留时间：200 ms
干燥气流速：氮气 10 L/min	扫描模式：多反应监测 (MRM)
碰撞气：氩气 270 kPa	MRM 参数：见表 2

1.3 样品前处理方法

参考标准 DB 22/T 2838-2017 《生活饮用水及水源水中 10 种抗生素的检验方法 超高效液相色谱 - 质谱 / 质谱法》中样品预处理方法。

1.4 校准曲线的制备

吸取适量 10 µg/mL 浓度的混合标准中间液，使用初始比例流动相进行稀释，配制成 0.5 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL 和 50 ng/mL 不同浓度的抗生素混合标准溶液。以各组分的浓度为横坐标，各组分对应的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。各化合物信息及质谱参数如表 2 所示。

表 2 MRM 参数

化合物名称	英文名称	前体离子	产物离子	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
磺胺嘧啶	Sulfadiazine	251.00	156.00*	-30	-15	-29
			92.05	-30	-25	-17
头孢氨苄	Cephalexin	348.10	158.00*	-24	-8	-34
			174.05	-24	-14	-20
土霉素	Oxytetracycline	461.20	426.05*	-22	-20	-30
			444.15	-22	-15	-34
氧氟沙星	Ofloxacin	362.10	318.10*	-40	-19	-24
			261.10	-40	-26	-30
四环素	Tetracycline	445.20	410.10*	-22	-19	-22
			154.05	-22	-28	-34
磺胺氯吡嗪	Sulfaclorazina	284.80	156.00*	-30	-14	-29
			92.00	-30	-29	-17
磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	254.00	156.00*	-30	-16	-29
			92.00	-30	-28	-17

金霉素	Chlortetracycline	479.20	444.05*	-24	-21	-32
			462.05	-24	-16	-36
阿奇霉素	Azithromycin	749.60	591.30*	-38	-30	-28
			158.20	-28	-40	-36
罗红霉素	Roxithromycin	837.60	158.10*	-22	-36	-32
			679.40	-32	-22	-34

注：* 表示定量离子对

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

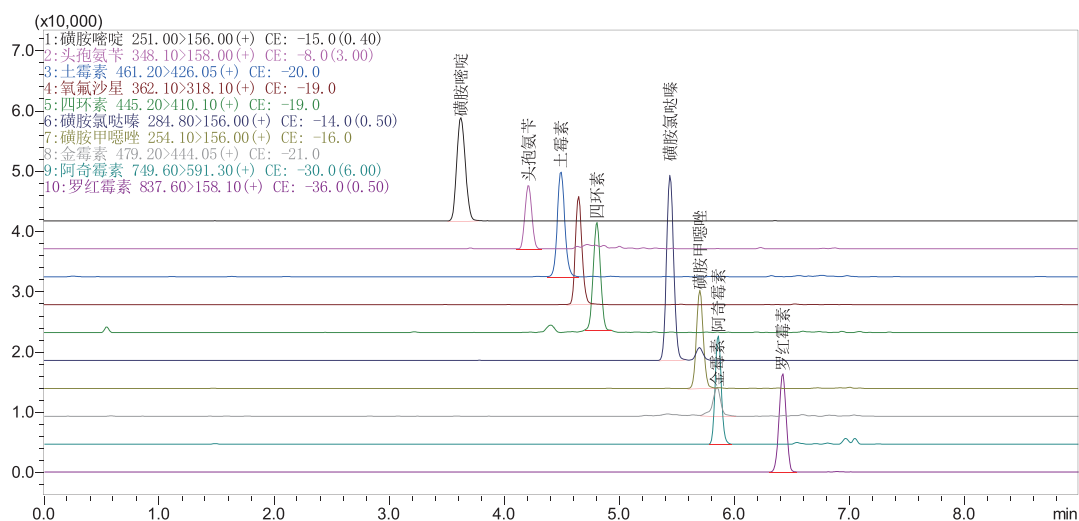
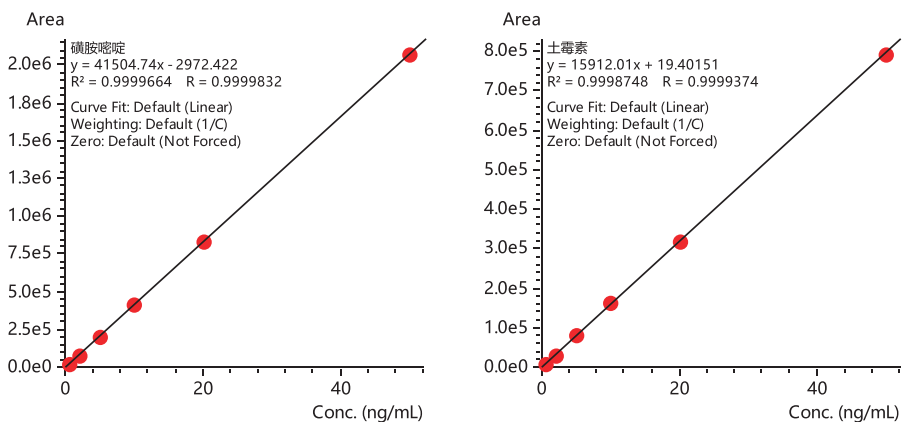


图1 10种抗生素 (5 μg/L) 的MRM图谱

2.2 线性范围与检出限

将 0.5 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL 和 50 ng/mL 不同浓度的抗生素混合标准系列工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。



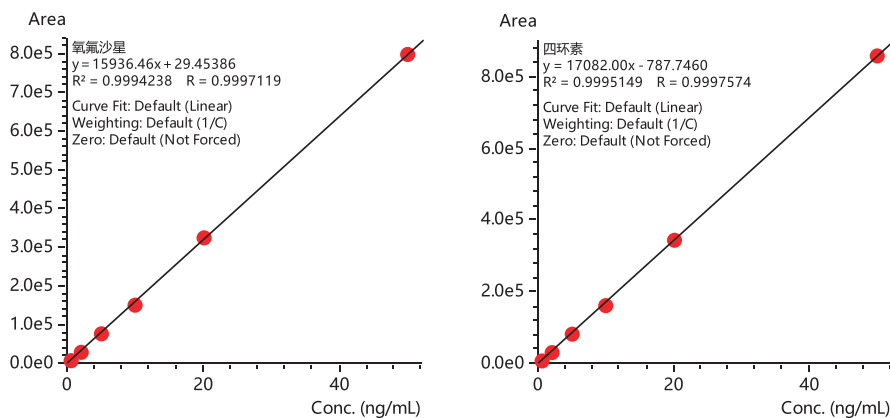


图 2 部分抗生素药物的校准曲线

表 3 标准曲线与检出限信息

化合物名称	校准曲线	r	线性范围 (ng/mL)	准确率 (%)	检出限 (ng/mL)
磺胺嘧啶	$Y = (41504.7)X + (-2972.42)$	0.9999	0.5~50	97.4~102.8	0.16
头孢氨苄	$Y = (2995.32)X + (-289.193)$	0.9995	0.5~50	94.0~106.2	0.17
土霉素	$Y = (15912.0)X + (19.4015)$	0.9999	0.5~50	97.9~102.3	0.16
氧氟沙星	$Y = (15936.5)X + (29.4539)$	0.9997	0.5~50	95.8~108.1	0.16
四环素	$Y = (17082.0)X + (-787.746)$	0.9997	0.5~50	92.3~111.8	0.16
磺胺氯吡嗪	$Y = (52731.5)X + (2691.96)$	0.9996	0.5~50	93.7~103.9	0.16
磺胺甲噁唑	$Y = (13018.4)X + (923.067)$	0.9993	0.5~50	93.0~105.7	0.16
金霉素	$Y = (5040.80)X + (484.630)$	0.9985	0.5~50	88.6~107.4	0.17
阿奇霉素	$Y = (2636.84)X + (-544.468)$	0.9985	0.5~50	86.1~113.1	0.17
罗红霉素	$Y = (30620.0)X + (-97.9771)$	0.9994	0.5~50	93.7~106.8	0.16

2.3 精密度实验

对 5 ng/mL、10 ng/mL 和 20 ng/mL 不同浓度的 10 种抗生素药物混合标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：10 种抗生素药物保留时间和峰面积的相对标准偏差不高于 0.99% 和 6.34%，显示仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物名称	5 ng/mL		10 ng/mL		20 ng/mL	
	R. T.	RSD/%	R. T.	RSD/%	R. T.	RSD/%
磺胺嘧啶	0.93	2.44	0.23	1.22	0.25	0.90
头孢氨苄	0.99	6.17	0.26	4.62	0.27	3.37
土霉素	0.93	3.62	0.22	3.29	0.29	1.30
氧氟沙星	0.87	3.02	0.20	4.36	0.26	3.96
四环素	0.83	5.84	0.23	2.29	0.24	1.75
磺胺氯吡嗪	0.71	2.49	0.16	1.99	0.20	0.89
磺胺甲噁唑	0.68	3.59	0.14	2.57	0.17	2.16
金霉素	0.61	6.17	0.16	5.68	0.15	3.47
阿奇霉素	0.58	6.34	0.15	5.73	0.14	3.43
罗红霉素	0.13	3.66	0.06	0.78	0.05	2.52

2.4 加标回收率实验

取空白水体样，加入少量 10 种抗生素药物混合标准品储备溶液，使水样中添加浓度为分别为 0.6 ng/mL、1.2 ng/mL 和 2.4 ng/mL，平行做 3 份。按照 1.3 样品前处理方法提取净化后，测定 10 种抗生素药物的添加回收率，各化合物的平均加标回收率结果在 60.8% ~119.4% 之间（见表 5）。

表 5 10 种抗生素的加标回收率结果 (n=3)

化合物名称	添加浓度水平		
	0.6 ng/mL	1.2 ng/mL	2.4 ng/mL
磺胺嘧啶	114.6%	106.0%	107.2%
头孢氨苄	87.8%	89.2%	83.2%
土霉素	96.4%	87.9%	80.4%
氧氟沙星	103.6%	119.4%	106.1%
四环素	101.0%	90.5%	83.9%
磺胺氯哒嗪	112.2%	106.5%	103.6%
磺胺甲噁唑	114.8%	118.1%	104.9%
金霉素	70.2%	80.2%	84.3%
阿奇霉素	60.8%	99.0%	94.8%
罗红霉素	62.0%	88.6%	84.8%

■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统建立了测定水源水中磺胺嘧啶、头孢氨苄等五类抗生素药物残留的检测方法。该方法灵敏度高、精密度好，且结果准确，9 min 内完成 10 种不同种类抗生素的上机分析，可为水源水质的有效监控及环境水体中抗生素污染状况的进一步研究提供参考。

岛津应用云

