

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定地表水中的磺胺类药物残留

## LCMSMS-056

**摘要：**本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用测定地表水中 12 种磺胺类药物残留的方法。地表水样品中的磺胺类药物经固相萃取富集后，使用超高效液相色谱 LC-30A 快速分离，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析。使用外标法内绘制 12 种磺胺类药物的校准曲线，线性范围宽，校准曲线的相关系数均在 0.999 以上。对 5  $\mu\text{g/L}$ 、10  $\mu\text{g/L}$  和 50  $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.027% ~ 0.590% 和 1.833% ~ 5.140% 之间，系统精密度良好。

**关键词：**磺胺类药物 三重四极杆质谱 地表水

近百年来，抗生素被广泛的应用于人类和动物各种疾病的预防和治疗中。磺胺类药物 (sulfa drugs) 是一类人工合成的抗菌药。因磺胺类药物抗菌谱广、使用方便、价格低廉，为了提高养殖产量，在饲料添加和动物生长中被广泛使用。研究表明，人体或动物摄入体内的抗生素大部分以原药和代谢产物的形式经由动物的粪便和尿液排出体外，从而进入水环境中。残留的抗生素将引起病原体抗性，使得抗生素治疗疾病的能力不断下降，因此，在水环境中的污染及其潜在危害已经成为全球关注焦点。

目前，我国尚未将抗生素列入水环境质量和废水排放标准的监测项目，且未形成相关的标准监测方法。本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定地表水中的磺胺类药物的方法。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD $\times$ 2 输液泵，DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.41 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D.  $\times$  50 mm L., 1.6  $\mu\text{m}$

流动相：A 相 -5 mM 醋酸铵 -0.1 % 甲酸水溶液；  
B 相 - 乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

进样量：5  $\mu\text{L}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%，  
洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
3.50	Pumps	Pump B Conc.	30
4.50	Pumps	Pump B Conc.	30
4.60	Pumps	Pump B Conc.	55
5.00	Pumps	Pump B Conc.	55
5.01	Pumps	Pump B Conc.	10
6.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

离子化模式：ESI(+)

离子喷雾电压：4.5 kV

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 15 L/min

碰撞气：氩气

DL 温度：250 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度：400 $^{\circ}\text{C}$

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间：12 ms

延迟时间：3 ms

MRM 参数：见表 2

### 1.3 标准品溶液的配制

标准物质：共 12 种，分别为磺胺醋酰、磺胺嘧啶、磺胺噻唑、磺胺吡啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲氧哒嗪、磺胺氯哒嗪、磺胺甲噁唑、磺胺甲基异噁唑、磺胺间二甲氧嘧啶和磺胺喹噁啉。

标准工作溶液配制：用甲醇配制 1.0 mg/L 的混合标准中间溶液，用甲醇 + 醋酸铵 - 甲酸水溶液 (V/V, 1:9)

稀释成 0.5 µg/L、1 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L 和 100 µg/L 不同浓度的混合标准工作液。

#### 1.4 样品前处理方法

取水样 500 mL，使用硫酸调节 pH 为 3，用 0.45 µm 滤膜去除水中悬浮颗粒物，加入 Na<sub>2</sub>EDTA 0.4 g，然后水样通过 500 mg/6 mL HLB 固相萃取小柱。HLB 小柱上样前依次用 4 mL 甲醇、4 mL 水和 4 mL 2 g/L Na<sub>2</sub>EDTA 溶液淋洗，流速 3 ~ 5 mL/min，使水样匀速通过 HLB 固相萃取柱。待样品完全流出后，依次用 4 mL 水和 4 mL 10% 甲醇的水清洗 HLB 固相萃取柱，弃去全部流出液。开通真空泵，干燥 HLB 固相萃取柱 30 min，然后用 8 mL 甲醇淋洗，收集洗脱液于 10 mL 试管中，40 °C 条件下氮吹浓缩至近干。使用甲醇水溶液 (V/V, 1:9) 定容至 1 mL，将定容后的溶液过 0.22 µm 微孔滤膜，进样分析检测。

表2 MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
磺胺醋酰	215	156*	-23	-10	-29
		92	-23	-23	-17
磺胺嘧啶	251	156*	-30	-15	-29
		92	-30	-25	-17
磺胺噻唑	256	156*	-30	-14	-30
		92	-30	-28	-17
磺胺吡啶	250	156*	-30	-16	-29
		92	-30	-27	-17
磺胺甲基嘧啶	265	156*	-30	-17	-28
		92	-30	-28	-17
磺胺二甲嘧啶	279	186*	-30	-17	-20
		92	-30	-31	-17
磺胺甲氧哒嗪	281	156*	-30	-17	-30
		92	-30	-30	-17
磺胺氯哒嗪	285	156*	-30	-14	-29
		92	-30	-29	-17
磺胺甲噁唑	254	156*	-30	-16	-29
		92	-30	-28	-17
磺胺二甲基异噁唑	268	156*	-30	-13	-16
		92	-30	-27	-17
磺胺间二甲氧嘧啶	311	156*	-23	-22	-29
		92	-23	-35	-17
磺胺喹噁啉	301	156*	-23	-17	-29
		92	-23	-30	-17

注：\*表示定量离子

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

磺胺醋酰的一级质谱图见图 1，产物离子扫描质谱图见图 2。

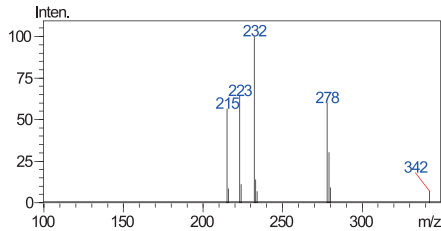


图 1 磺胺醋酰的一级质谱图

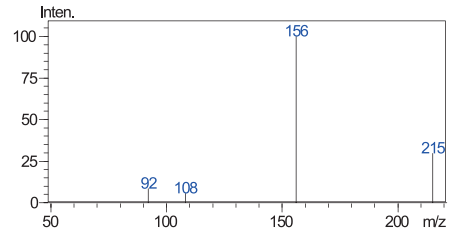


图 2 磺胺醋酰的产物离子扫描图(CE值-10V)

磺胺嘧啶的一级质谱图见图 3，产物离子扫描质谱图见图 4。

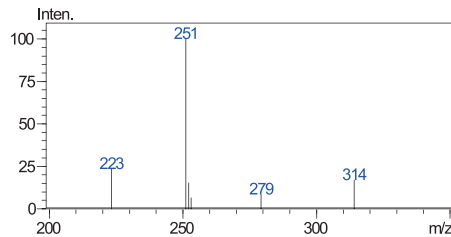


图 3 磺胺嘧啶的一级质谱图

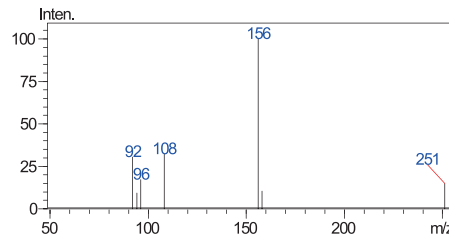


图 4 磺胺嘧啶的产物离子扫描图(CE值-18V)

磺胺噻唑的一级质谱图见图 5，产物离子扫描质谱图见图 6。

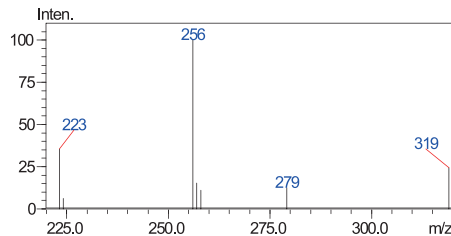


图 5 磺胺噻唑的一级质谱图

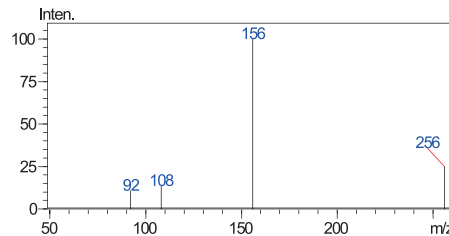


图 6 磺胺噻唑的产物离子扫描图(CE值-15V)

磺胺吡啶的一级质谱图见图 7，产物离子扫描质谱图见图 8。

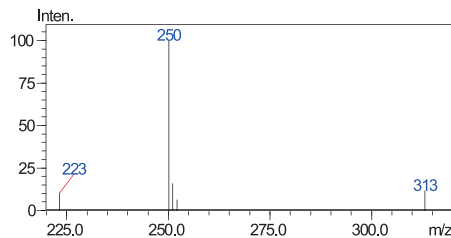


图 7 磺胺吡啶的一级质谱图

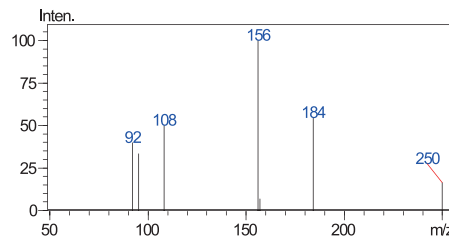


图 8 磺胺吡啶的产物离子扫描图(CE值-20V)

磺胺甲基嘧啶的一级质谱图见图 9，产物离子扫描质谱图见图 10。

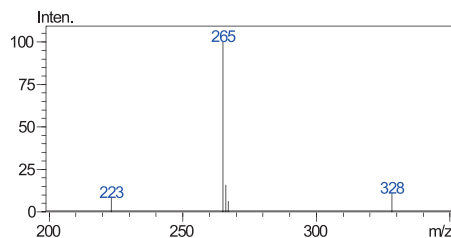


图 9 磺胺甲基嘧啶的一级质谱图

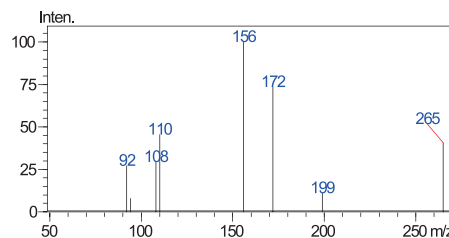


图 10 磺胺甲基嘧啶的产物离子扫描图(CE值-18V)

磺胺二甲嘧啶的一级质谱图见图 11，产物离子扫描质谱图见图 12。

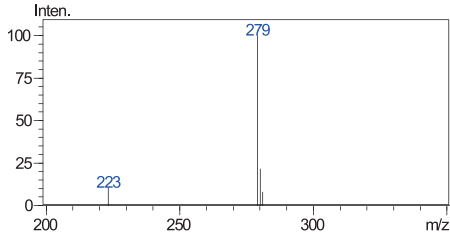


图 11 磺胺二甲嘧啶的一级质谱图

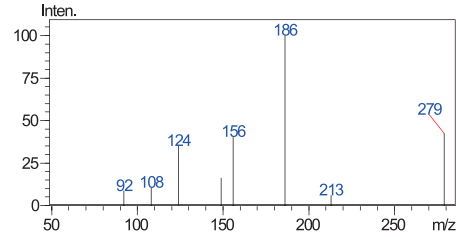


图 12 磺胺二甲嘧啶的产物离子扫描图(CE值-18V)

磺胺甲氧哒嗪的一级质谱图见图 13，产物离子扫描质谱图见图 14。

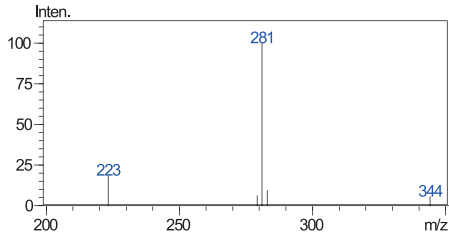


图 13 磺胺甲氧哒嗪的一级质谱图

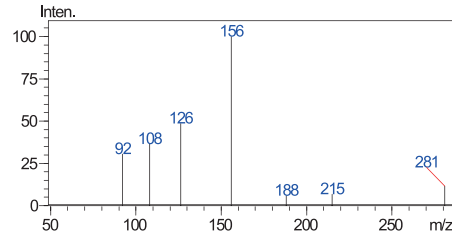


图 14 磺胺甲氧哒嗪的产物离子扫描图(CE值-20V)

磺胺氯哒嗪的一级质谱图见图 15，产物离子扫描质谱图见图 16。

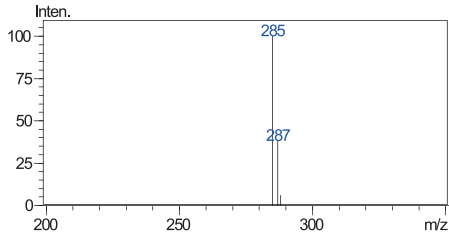


图 15 磺胺氯哒嗪的一级质谱图

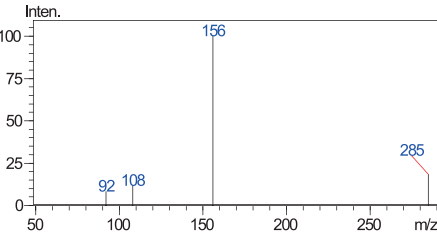


图 16 磺胺氯哒嗪的产物离子扫描图(CE值-15V)

磺胺甲噁唑的一级质谱图见图 17，产物离子扫描质谱图见图 18。

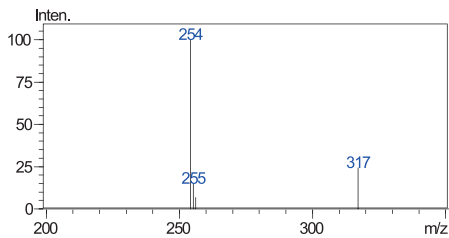


图 17 磺胺甲噁唑的一级质谱图

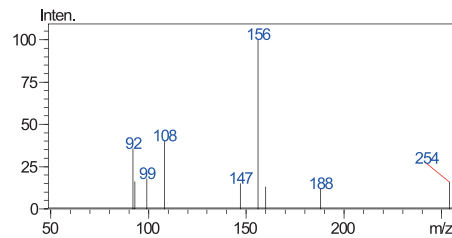


图 18 磺胺甲噁唑的产物离子扫描图(CE值-18V)

磺胺二甲基异噁唑的一级质谱图见图 19，产物离子扫描质谱图见图 20。

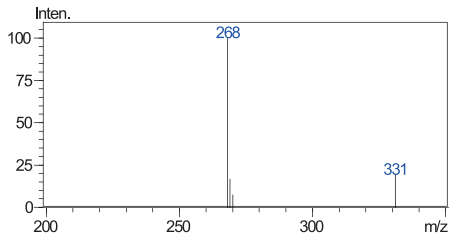


图 19 磺胺二甲基异噁唑的一级质谱图

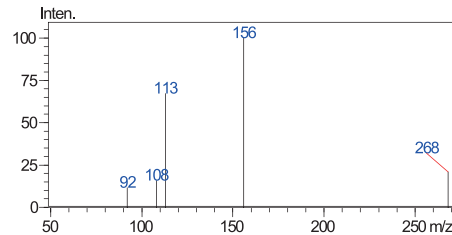


图 20 磺胺二甲基异噁唑产物离子扫描图(CE值-15V)

磺胺间二甲氧嘧啶的一级质谱图见图 21，产物离子扫描质谱图见图 22。

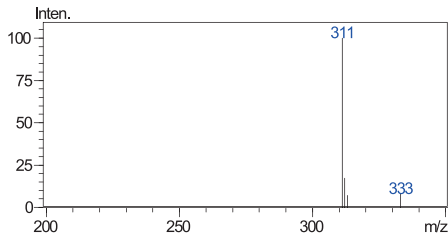


图 21 磺胺间二甲氧嘧啶的一级质谱图

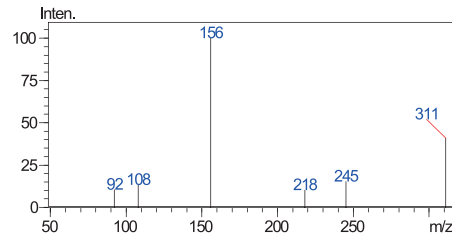


图 22 磺胺间二甲氧嘧啶的产物离子扫描图(CE值-20V)

磺胺喹噁啉的一级质谱图见图 23，产物离子扫描质谱图见图 24。

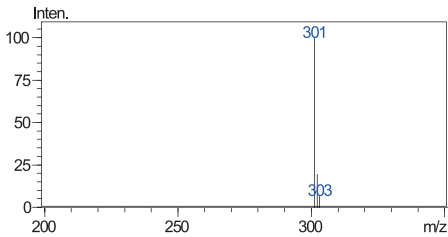


图 23 磺胺喹噁啉的一级质谱图

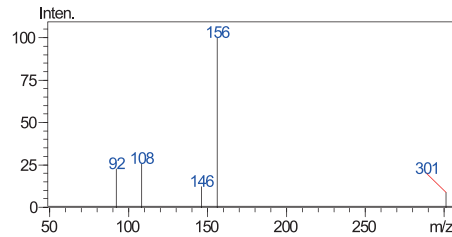


图 24 磺胺喹噁啉的产物离子扫描图(CE值-20V)

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

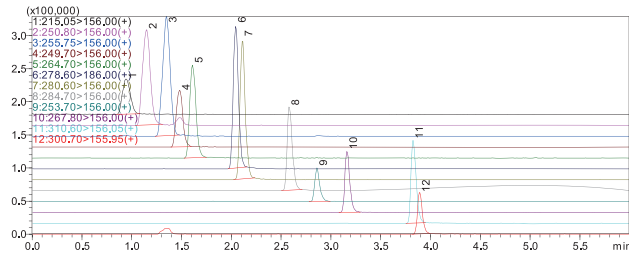


图 25 标准样品的 MRM 色谱图(100 µg/L)

- ( 1、磺胺酯酰；2、磺胺嘧啶；3、磺胺噻唑；4、磺胺吡啶；  
5、磺胺甲基嘧啶；6、磺胺二甲嘧啶；7、磺胺甲氧嘧啶；  
8、磺胺氯吡嗪；9、磺胺甲噁唑；10、磺胺二甲基异噁唑；  
11、磺胺间二甲氧嘧啶；12、磺胺喹噁啉 )

## 2.3 线性范围

将 0.5 µg/L、1 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L 和 100 µg/L 不同浓度的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，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 26~37 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。

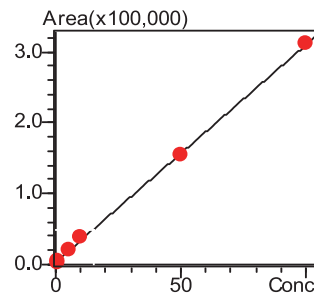


图 26 磺胺酯酰的校准曲线

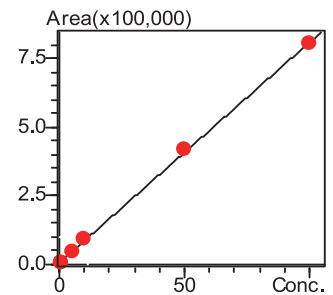


图 27 磺胺嘧啶的校准曲线

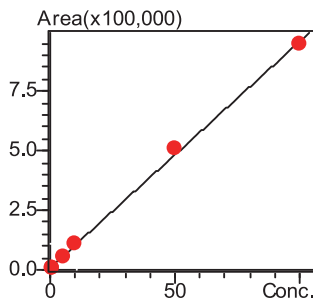


图 28 磺胺噻唑的校准曲线

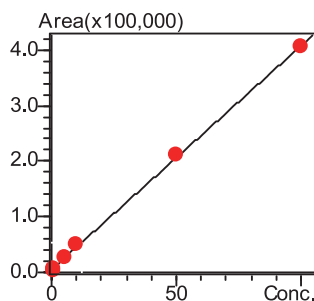


图 29 磺胺吡啶的校准曲线

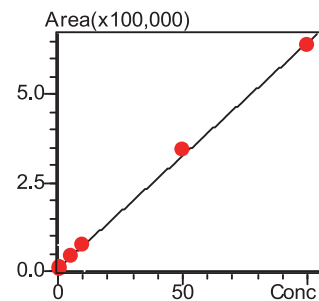


图 30 磺胺甲基嘧啶的校准曲线

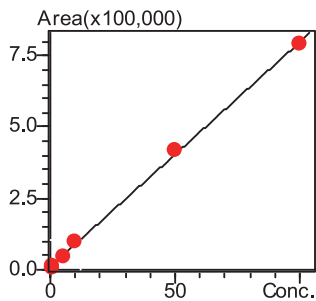


图31 磺胺二甲嘧啶的校准曲线

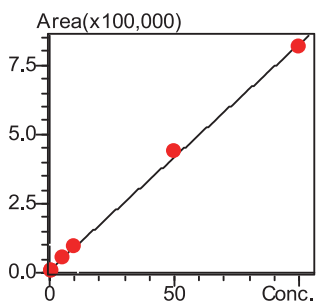


图32 磺胺甲氧哒嗪的校准曲线

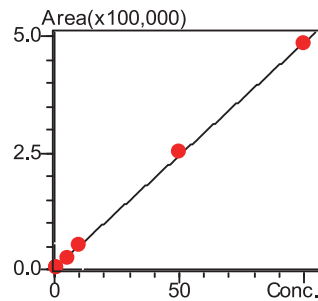


图33 磺胺氯哒嗪的校准曲线

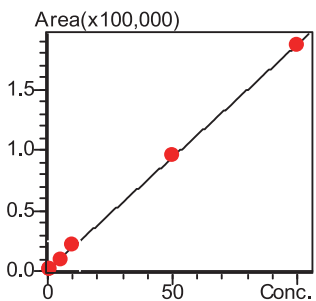


图34 磺胺甲噁唑的校准曲线

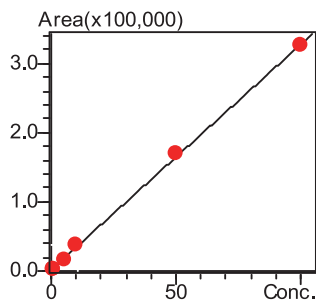


图35 磺胺二甲基异噁唑的校准曲线

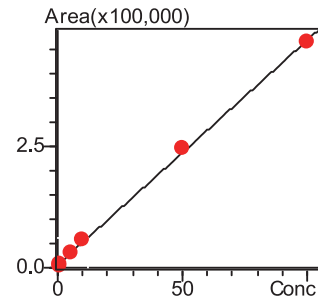


图36 磺胺间二甲氧嘧啶的校准曲线

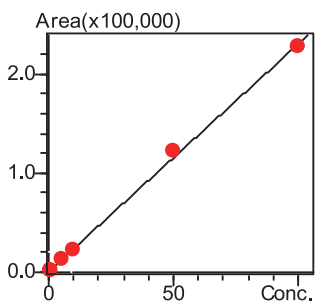


图37 磺胺喹噁啉的校准曲线

表3 校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	相关系数 r
1	磺胺醋酰	$Y = (3061.68)X + (3718.98)$	0.5~100	0.9996
2	磺胺嘧啶	$Y = (8031.87)X + (6423.65)$	0.5~100	0.9997
3	磺胺噻唑	$Y = (9490.25)X + (8972.01)$	0.5~100	0.9993
4	磺胺吡啶	$Y = (4022.92)X + (5243.83)$	0.5~100	0.9996
5	磺胺甲基嘧啶	$Y = (6370.07)X + (7407.14)$	0.5~100	0.9993
6	磺胺二甲嘧啶	$Y = (7869.28)X + (11010.3)$	0.5~100	0.9993
7	磺胺甲氧哒嗪	$Y = (8156.44)X + (9987.91)$	0.5~100	0.9992
8	磺胺氯哒嗪	$Y = (4848.19)X + (2650.69)$	0.5~100	0.9998
9	磺胺甲噁唑	$Y = (1859.52)X + (988.441)$	0.5~100	0.9999
10	磺胺二甲基异噁唑	$Y = (3253.93)X + (2022.74)$	0.5~100	0.9998
11	磺胺间二甲氧嘧啶	$Y = (4633.31)X + (5730.41)$	0.5~100	0.9995
12	磺胺喹噁啉	$Y = (2287.45)X + (1074.47)$	0.5~100	0.9993

### 2.4 精密度实验

对不同浓度混合标准工作液连续测定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：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.027%~0.590%和1.173%~5.140%之间，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

样品名称	RSD% (5 µg/L)		RSD% (10 µg/L)		RSD% (50 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
磺胺醋酰	0.483	4.897	0.495	3.907	0.303	3.017
磺胺嘧啶	0.574	2.795	0.590	3.993	0.302	2.964
磺胺噻唑	0.579	4.169	0.160	3.489	0.336	3.102
磺胺吡啶	0.535	4.200	0.125	3.133	0.145	2.777
磺胺甲基嘧啶	0.396	4.523	0.131	2.273	0.147	2.195
磺胺二甲嘧啶	0.109	4.874	0.094	1.859	0.121	2.678
磺胺甲氧哒嗪	0.234	4.366	0.142	3.979	0.113	1.173
磺胺氯哒嗪	0.243	4.945	0.129	1.973	0.090	3.325
磺胺甲噁唑	0.176	3.726	0.133	3.961	0.052	2.785
磺胺二甲基异噁唑	0.161	4.755	0.118	3.911	0.051	2.401
磺胺间二甲氧嘧啶	0.136	3.429	0.090	2.922	0.027	2.749
磺胺喹噁啉	0.155	5.140	0.068	5.034	0.050	3.635

### 2.5 灵敏度实验

为了考察仪器灵敏度，配制浓度为1.0 µg/L测试样品7份，平行进样7次分析结果，色谱图如图38所示。由7次进样测定的标准偏差(S)计算出检测限和最低定量浓度，此时检出限MDL = 3.14 × S，定量下限LOQ=4 × MDL。测定结果如表5所示。

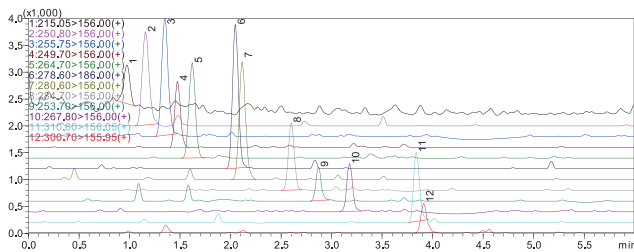


图38 测试样品(1.0 µg/L)的MRM色谱图

- (1、磺胺醋酰；2、磺胺嘧啶；3、磺胺噻唑；4、磺胺吡啶；  
5、磺胺甲基嘧啶；6、磺胺二甲嘧啶；7、磺胺甲氧哒嗪；  
8、磺胺氯哒嗪；9、磺胺甲噁唑；10、磺胺二甲基异噁唑；  
11、磺胺间二甲氧嘧啶；12、磺胺喹噁啉)

表5 磺胺类药物检出限和定量下限

No.	名称	标准偏差 (S)	检出限 (µg/L)	定量下限 (µg/L)
1	磺胺醋酰	0.047	0.147	0.589
2	磺胺嘧啶	0.065	0.203	0.812
3	磺胺噻唑	0.065	0.204	0.816
4	磺胺吡啶	0.022	0.070	0.282
5	磺胺甲基嘧啶	0.017	0.054	0.216
6	磺胺二甲嘧啶	0.041	0.127	0.510
7	磺胺甲氧哒嗪	0.055	0.172	0.689
8	磺胺氯哒嗪	0.095	0.298	1.191
9	磺胺甲噁唑	0.136	0.427	1.707
10	磺胺二甲基异噁唑	0.078	0.245	0.979
11	磺胺间二甲氧嘧啶	0.018	0.058	0.230
12	磺胺喹噁啉	0.060	0.188	0.751

## 2.6 回收率实验

以地表水为待测样品，检测 12 种磺胺类药物。在地表水样中有检出部分磺胺类药物，色谱图如图 39。为了研究该前处理方法对不同浓度水样的提取效率，以 500 mL 水样为研究对象，加入 12 种磺胺类药物标准物质，使最终浓度为 0.02  $\mu\text{g/L}$ ，加标色谱图如图 40 所示。地表水中磺胺类药物检测与加标回收率结果见表 6。

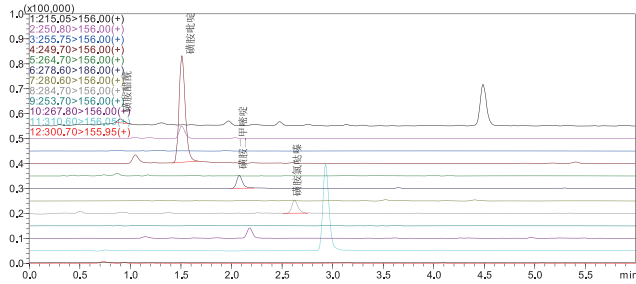


图 39 地表水样的 MRM 色谱图

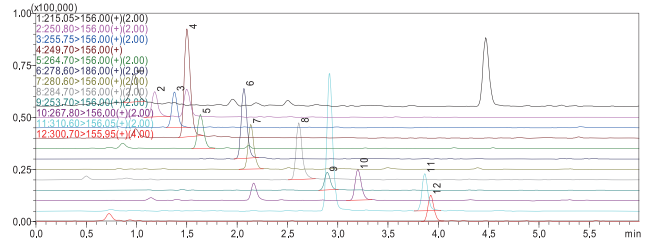


图 40 地表水样加标 (0.02  $\mu\text{g/L}$ ) 的 MRM 色谱图

(1、磺胺醋酰；2、磺胺嘧啶；3、磺胺噻唑；4、磺胺吡啶；  
 5、磺胺甲基嘧啶；6、磺胺二甲嘧啶；7、磺胺甲氧哒嗪；  
 8、磺胺氯哒嗪；9、磺胺甲噁唑；10、磺胺二甲基异噁唑；  
 11、磺胺间二甲氧嘧啶；12、磺胺喹噁啉)

表 6 地表水中磺胺类药物检测与加标回收率结果

No.	名称	地表水检测浓度 (ng/L)	样品加标浓度 ( $\mu\text{g/L}$ )	实测浓度 ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 (%)
1	磺胺醋酰	5.67	0.02	9.06	62.2
2	磺胺嘧啶	N.D.	0.02	3.05	30.5
3	磺胺噻唑	N.D.	0.02	3.01	30.1
4	磺胺吡啶	89.12	0.02	56.76	122.1
5	磺胺甲基嘧啶	N.D.	0.02	4.17	41.7
6	磺胺二甲嘧啶	2.44	0.02	7.19	59.7
7	磺胺甲氧哒嗪	N.D.	0.02	4.02	40.2
8	磺胺氯哒嗪	8.18	0.02	11.40	73.1
9	磺胺甲噁唑	N.D.	0.02	8.45	84.5
10	磺胺二甲基异噁唑	N.D.	0.02	8.54	85.4
11	磺胺间二甲氧嘧啶	N.D.	0.02	6.36	63.6
12	磺胺喹噁啉	N.D.	0.02	5.13	51.3

注：N.D表示未检出

## 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定地表水中的 12 种磺胺类药物残留量的检测方法。该方法在 6 min 之内完成 12 种目标物的分离分析，且线性范围宽，校准曲线的相关系数均在 0.999 以上。对 5  $\mu\text{g/L}$ 、10  $\mu\text{g/L}$  和 50  $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.027% ~ 0.590% 和 1.173% ~ 5.140% 之间，仪器精密度良好。该方法具有分析速度快、灵敏高的特点，适合大规模环境水体磺胺类药物污染现状的调研工作。