

# 岛津环境水中抗生素 检测解决方案



# 目 录

前 言 .....	1
大体积进样在线分析系统用于水中抗生素的直接检测 .....	2
LCMSMS 直接进样分析自来水中阿莫西林 .....	8
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 .....	13
超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定地表水中的四环素类抗生素残留 .....	24
超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定地表水中的喹诺酮类抗生素残留 .....	32
三重四极杆质谱检测环境水中的大环内酯类抗生素 .....	42
三重四极杆质谱检测环境水中的 $\beta$ -内酰胺类抗生素 .....	49

## 前言

2014年底，媒体报道我国部分地表水乃至生活饮用水中存在抗生素超标问题。在南京居民家中的自来水甚至直接检测到抗生素阿莫西林。敲响了公共卫生安全的警钟。

抗生素又被称为抗菌素，其用药范围很广，对许多微生物、衣原体、支原体、螺旋体以及其他致病微生物及恶性肿瘤细胞都有抑杀作用。自从青霉素问世以来，人类开始在医疗卫生，家禽饲养，水产养殖，食品加工等行业广泛使用抗生素。目前广泛使用的抗生素按其化学结构分为 $\beta$ -内酰胺类、喹诺酮类、四环素类、氨基糖苷类、大环内酯类、多肽类等。环境水体中的残留抗生素主要来自抗生素工业废水、人用及兽用抗生素的排放。抗生素在其生产过程中产生的废水含有多种难降解的生物毒性物质和较高浓度的活性抗生素。人畜服用抗生素药物大多不被充分吸收，而随排泄物进入环境水中。动物饲料中常添加抗生素，以帮助动物预防疾病、促进生长，提高产量。水产养殖业投放抗生素更是成为业内的“行规”，这是环境水体中抗生素残留的一个重要污染源。每年有大量的家用抗生素由于过期被丢弃，极有可能因浸泡而渗入到环境水中。现有的污水处理技术很少有针对抗生素的专门处理环节，不能完全去除抗生素。此外，现行的饮用水水质标准的106项指标尚未包括抗生素的检测。这些因素都造成了环境中残留的抗生素污染日益严重，抗生素及其衍生物可能通过饮用水进入人体，对居民安全用水及整个生态环境系统构成了长期潜在威胁，是一种重要的药品和个人护理用品类污染物（PPCPs）。

环境水中抗生素常以痕量存在，通常仅有ng/L浓度级别。因此建立水中痕量抗生素的快速、高灵敏的分析方法迫在眉睫。水样前处理通常需要借助固相萃取柱富集、浓缩、重溶后再进样分析，但该过程费时、费力，且容易出现误差。岛津公司开发了大体积进样在线分析系统，只需进行过滤处理，即可对1-2 mL的水样进行自动分析配合LCMS-8050作为检测器，极大提高方法灵敏度，省去了繁琐的手工操作。

岛津公司作为全球著名的分析仪器厂商，秉承“为了人类和地球的健康”这一理念，长期以来一致关注国内外各行业热点突发事件，积极应对，及时提供全面、有效的解决方案。岛津公司推出了《环境水中抗生素检测解决方案》，收录了7篇水体中抗生素检测相关的应用数据，均使用岛津超高灵敏度超快速三重四极杆质谱仪。2篇为大体积直接进样在线分析系统，5篇为使用离线前处理的应用数据，供相关用户参考。期待我们的努力能为您带来有益的帮助。

## 大体积进样在线分析系统用于水中抗生素的直接检测

**摘要:** 本文建立了大体积进样在线分析系统用于水中十种抗生素的直接检测方法。在最优条件下不同浓度的精密度实验得到的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.070~0.18%和 1.82~8.79%之间；方法检出限和方法定量限分别介于 0.027~1.0 ng/L 和 0.090~3.4 ng/L。对自来水和广州某湖泊水进行检测，自来水中无检测到抗生素，而湖泊水中检出 2.4 ng/L 罗红霉素和 5.3 ng/L 克林霉素。本法允许进样量达到 1 mL 以上，全程自动化运行，灵敏度高、精密度好。

**关键词:** 抗生素 大体积进样 在线分析 三重四极杆质谱仪

2014年底，央视记者联合水环境国家模拟重点实验室、北京师范大学的水科院的研究人员对我国部分地表水取样检测时发现：抗生素含量惊人！甚至在南京居民家中的自来水也有抗生素检出。记者在暗访中发现，某制药企业大量偷排抗生素污水，浓度超自然水体10000倍。因此建立水中痕量抗生素的快速、高灵敏的分析方法迫在眉睫。

大部分抗生素可以使用C18反相色谱结合ESI-MS检测器进行分析，但由于水中抗生素含量较低，一般都需要采集较大的样品体积经过固相萃取柱富集、浓缩、重溶后再进样分析，但该过程费时、费力，且容易出现误差。本文使用岛津大体积进样在线分析系统（流路设计见图1），只需进行过滤处理，即可对1-2 mL的水样进行自动分析。

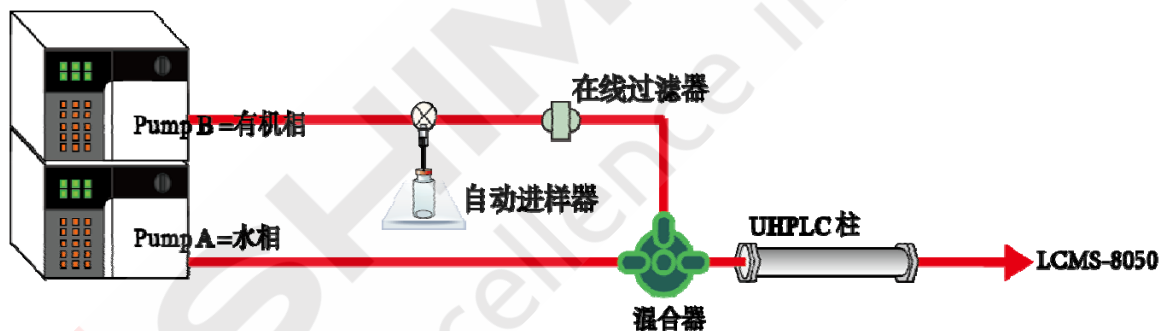


图1. 大体积进样在线分析系统的流路设计

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器配置

本系统由岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 组成。具体配置为: LC-30AD×2 输液泵, 180 μL 混合器, DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-20A 系统控制器, LCMS-8050 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.65 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×50 mm L, 1.6 μm 粒径  
流动相: A=甲酸/水/甲醇(v/v=0.1/90/10); B=甲酸/甲醇(v/v=0.1/100)  
流速: 0.5 mL/min  
进样体积: 1 mL  
柱温: 40°C  
自动进样器清洗液: R0=50%甲醇水; R1=1%甲酸乙腈; R2=异丙醇/甲醇/乙腈/水(v/v=1/1/1/1)  
洗脱方式: 梯度洗脱, B相初始浓度为5%, 时间程序见表1。

#### 质谱条件

分析仪器: LCMS-8050  
离子源: ESI正负离子模式同时分析  
雾化气流速: 3.0 L/min  
加热气流速: 10.0 L/min  
接口温度: 300°C  
DL温度: 250°C  
加热模块温度: 400°C  
干燥气流速: 10.0 L/min  
扫描模式: 多反应监测(MRM)  
驻留时间: 11 ms  
MRM参数: 见表2

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	95
2.00	Pumps	Pump B Conc.	95
2.01	Pumps	Pump B Conc.	5
2.80	Pumps	Pump B Conc.	5
3.00	Pumps	Pump B Conc.	50
7.00	Pumps	Pump B Conc.	60
7.50	Pumps	Pump B Conc.	100
9.50	Pumps	Pump B Conc.	100
9.51	Pumps	Pump B Conc.	5
10.00	Controller	Stop	

表 2. MRM 参数

名称	英文名	CAS NO.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
林可霉素	Lincomycin	154-21-2	+407.00	126.05	11	-30	-35
				359.10	11	-30	-21
金霉素	Chlorotetracycline	57-62-5	+479.05	443.90	11	-18	-21
				461.95	11	-18	-22
罗红霉素	Roxithromycin	80214-83-1	+837.35	679.25	11	-32	-23
				158.05	11	-32	-35
克林霉素	Clindamycin	18323-44-9	+425.00	126.05	11	-20	-29
				288.80	11	-20	-13
四环素	Tetracycline	60-54-8	+445.00	410.05	11	-30	-24
				427.05	11	-30	-14
强力霉素	Oxytetracycline dihydrate	6153-64-6	+445.2	428.05	11	-17	-20
				413.15	11	-17	-14
土霉素	Oxytetracycline	79-57-2	+461.15	426.05	11	-17	-21
				443.05	11	-17	-14
美他环素	Methacycline	914-00-1	+443.15	426.05	11	-17	-15
				201.00	11	-17	-40
磺胺二甲异恶唑	Sulfadoxine	2447-57-6	+268.00	155.95	11	-19	-14
				113.00	11	-19	-16
磺胺硝苯	Sulfanitran	122-16-7	-334.00	135.95	11	15	29
				136.95	11	15	32

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标样制备：1000 mg/L 浓度母液用甲醇溶解后-20℃保存；以后各级用去离子水稀释，标曲各点浓度为：1 ng/L、2.5 ng/L、10 ng/L、25 ng/L、100 ng/L、250 ng/L 和 1000 ng/L。

样品前处理：自来水采自实验室，湖泊水在广州某湖泊采集得到，0.22 μm 滤膜过滤后进样。

## 2. 结果讨论

### 2.1 标准样品的 MRM 色谱图

10 ng/L 混合标准样品的 MRM 色谱图如图 2 所示。

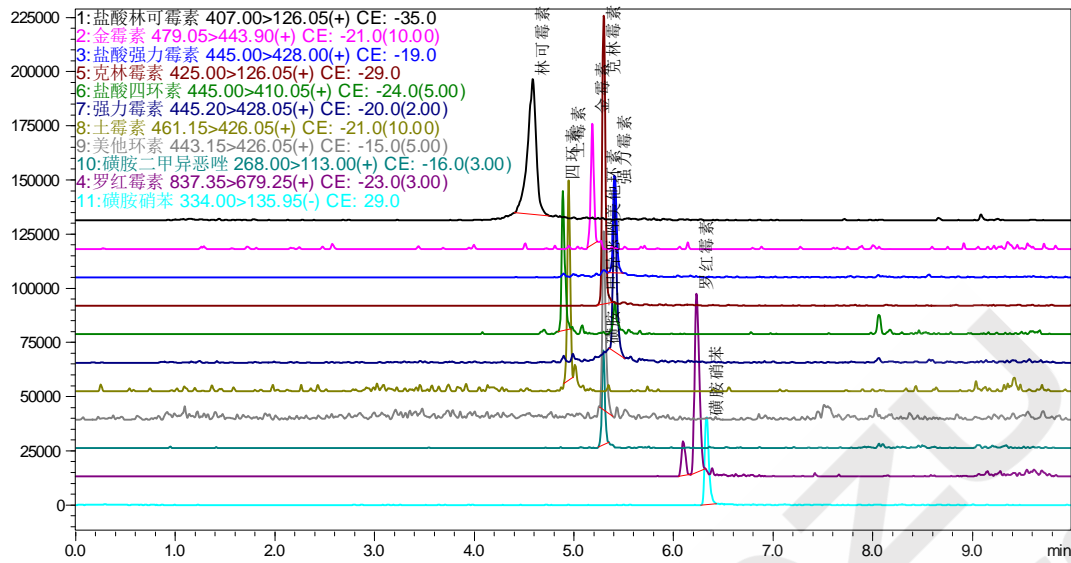


图 2. 十种抗生素 10 ng/L 标准样品的 MRM 色谱图

## 2.2 标准曲线和检出限

按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作校准曲线，如图 3 所示线性良好。线性方程、相关系数、线性范围、检出限和定量限见表 3：十种抗生素的线性相关系数均大于 0.9900，检出限介于 0.027~1.0 ng/L，定量限介于 0.090~3.4 ng/L 之间。

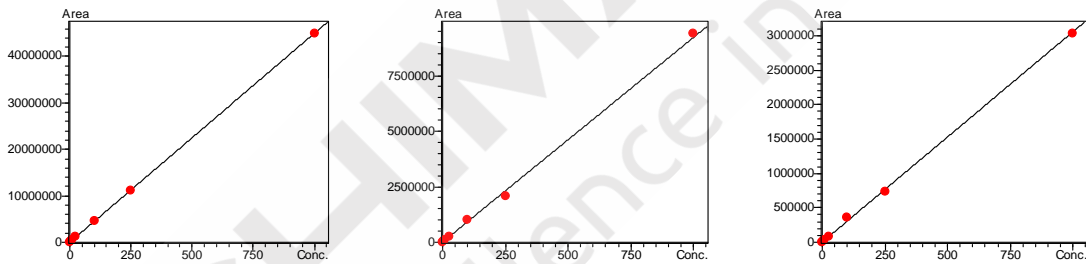


图 3. 林可霉素、罗红霉素和磺胺二甲异恶唑的标准工作曲线

表 3. 10 种抗生素的校准曲线参数

名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围 (ng/L)	检出限* (ng/L)	定量限 (ng/L)
林可霉素	$Y = (4.46078e+007)X + (-753.985)$	0.9997	1-1000	0.090	0.30
金霉素	$Y = (609652)X + (1072.76)$	0.9942	2.5-1000	0.50	1.6
强力霉素	$Y = (1.05094e+007)X + (5828.27)$	0.9929	1-1000	0.22	0.76
罗红霉素	$Y = (1.07988e+007)X + (3530.51)$	0.9964	1-1000	0.086	0.29
克林霉素	$Y = (2.88827e+007)X + (12292.1)$	0.9998	1-1000	0.027	0.090
四环素	$Y = (844850)X + (6480.51)$	0.9933	10-1000	0.25	0.85
土霉素	$Y = (1.17608e+006)X + (1842.02)$	0.9900	2.5-1000	0.53	1.8
美他环素	$Y = (3.59234e+006)X + (2309.35)$	0.9934	10-1000	1.0	3.4
磺胺二甲异恶唑	$Y = (2.97910e+006)X + (1653.73)$	0.9994	1-1000	0.37	1.2

\* 3 倍信噪比确定检出限，10 倍信噪比确定定量限。

### 2.3 精密度实验

对 25 ng/L 和 250 ng/L 两个浓度级别的标样进行分析，平行进样 6 次。十种抗生素的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.07~0.18%和 1.82~8.79%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)

目标物	25 ng/L		250 ng/L	
	R.T	Area	R.T	Area
林可霉素	0.15	2.56	0.07	2.03
金霉素	0.15	6.21	0.07	6.59
罗红霉素	0.18	8.79	0.09	3.85
克林霉素	0.16	3.02	0.09	1.82
四环素	0.15	5.71	0.08	4.20
强力霉素	0.17	3.41	0.09	3.90
土霉素	0.16	5.61	0.09	1.84
美他环素	0.16	6.68	0.08	2.74
磺胺二甲异恶唑	0.14	3.07	0.08	3.23
磺胺硝苯	0.14	4.25	0.07	1.02

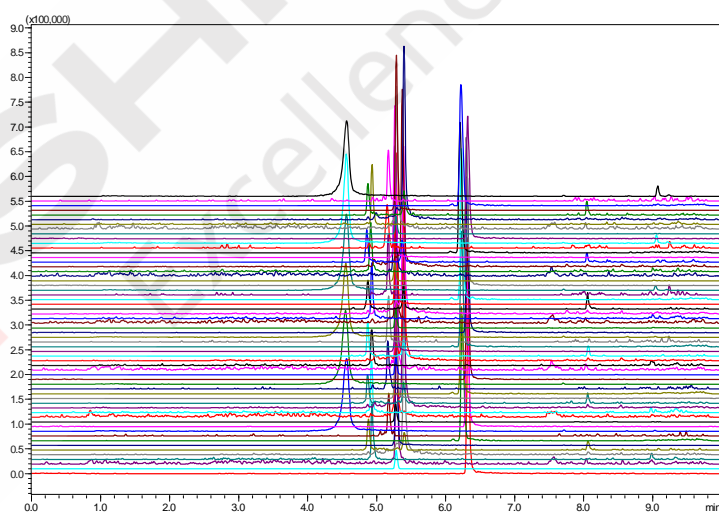


图 4. 25 ng/L 十种抗生素重复性实验色谱图

### 2.4 自来水和湖泊水分析结果

对自来水和广州某湖泊水进行检测，自来水中无检测到抗生素，而湖泊水中检出 2.4 ng/L 罗红霉素和 5.3 ng/L 克林霉素。

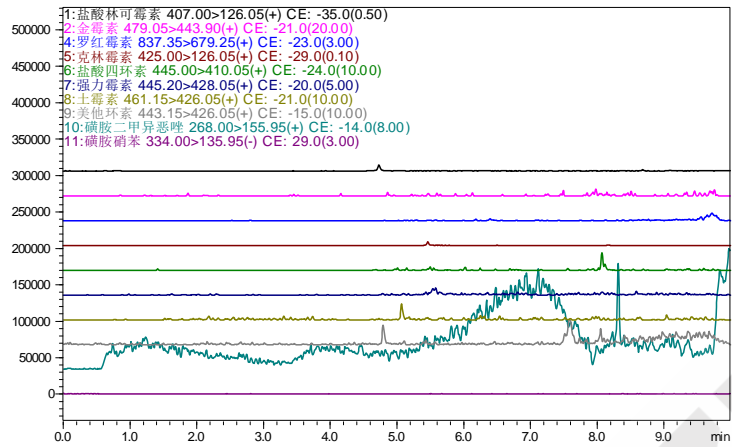


图 5. 自来水色谱图

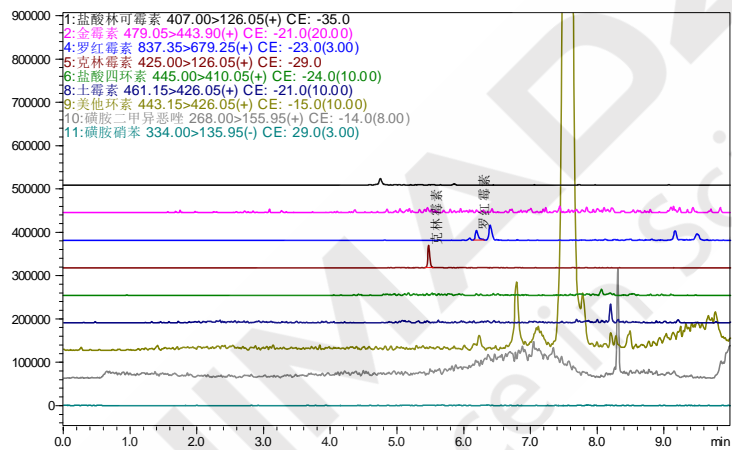


图 6. 湖泊水色谱图

### 3. 总结

建立了大体积进样在线分析系统用于水中抗生素的直接检测方法。在最优条件下不同浓度的精密度实验得到的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.07~0.18% 和 1.82 ~ 8.79% 之间；方法检出限和方法定量限分别介于 0.027~1.0 ng/L 和 0.090~3.4 ng/L。对自来水和广州某湖泊水进行检测，自来水中无检测到抗生素，而湖泊水中检出 2.4 ng/L 罗红霉素和 5.3 ng/L 克林霉素。本系统无需增加额外色谱部件即可通过 LC-30A 进行改装升级，使用岛津独有混合器实现柱头聚焦，富集、分离同步完成；允许进样量达到 1mL 以上，全程自动化运行，灵敏度高、精密度好。

# LCMSMS 直接进样分析自来水中阿莫西林

**摘要:** 本文建立了直接检测水中阿莫西林的 LC/MS/MS 方法。结果表明, 纯水配制的阿莫西林样品在 5 ng/L~200 ng/L 范围内线性关系良好( $R=0.9995$ ), 方法检出限与定量限分别为 0.97 ng/L 和 3.88 ng/L。不同浓度的阿莫西林纯水样品(5、15、40、160 ng/L)其精密度与准确度分别介于 1.7~8.0%和 97.8~103.5%之间。不同浓度的自来水加标样品(15、40、160 ng/L)回收率介于 66.4~70.1%之间。

**关键词:** 阿莫西林 抗生素 直接进样分析

2014年10月底到11月初, 有媒体报道在全国各地的水体中均不同程度的检出抗生素。央视亦报道在南京鼓楼区居民自来水中检出阿莫西林的为8 ng/L。自来水中的抗生素常以痕量存在, 因此通常需要借助对代测水体样品富集浓缩的方法进行测定, 这样在样品的前处理上就会花费较多时间。

本文使用具有超高灵敏度的岛津LCMS-8050系统, 自来水样品只需进行简单的过滤处理, 即可直接进样分析其中的痕量阿莫西林。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

液相系统: 岛津超高效液相色谱仪LC-30A, 具体配置为: LC-30AD×2输液泵, 180  $\mu$ L混合器, DGU-20A5在线脱气机, SIL-30AC自动进样器, CTO-20A柱温箱, CBM-20A系统控制器。

质谱: 三重四极杆质谱仪LCMS-8050。

软件系统: LabSolutions Ver. 5.65色谱工作站。

### 1.2 分析条件

#### 液相条件

色谱柱: Shim-pack XR-C8, 2.0 mm×75 mm L,

2.2  $\mu$ m粒径

流动相: A=0.1%甲酸水; B=乙腈

流速: 0.35 mL/min

进样体积: 40  $\mu$ L

柱温: 35 $^{\circ}$ C

自动进样器清洗液: R0=50%甲醇水

洗脱方式: 梯度洗脱, B相初始浓度为5%, 时间程序见表1

分析仪器: LCMS-8050

#### 质谱条件

离子源: ESI正离子模式

雾化气流速: 3.0 L/min

加热气流速: 6.0 L/min

接口温度: 400 $^{\circ}$ C

DL温度: 150 $^{\circ}$ C

加热模块温度: 400 $^{\circ}$ C

干燥气流速: 8.0 L/min

扫描模式: 多反应监测(MRM)

驻留时间: 30 ms

MRM参数: 见表2

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	5
1.30	Pumps	Pump B Conc.	5
2.00	Pumps	Pump B Conc.	70
2.50	Pumps	Pump B Conc.	70
3.00	Pumps	Pump B Conc.	5
4.00	Controller	Stop	

表 2. MRM 参数

名称	英文名	CAS NO.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
阿莫西林	Amoxicillin	26787-78-0	+366.00	113.95*	-27	-22	-20
				349.15	-27	-10	-24

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准曲线样品：取适量阿莫西林，以 5%乙腈-95%水配制成 1.0 mg/mL 样品于 2-8℃ 保存备用；用超纯水配制标准曲线样品：5 ng/L、10 ng/L、20 ng/L、50 ng/L、100 ng/L 和 200 ng/L。

精密度与准确度样品：用超纯水配制 5 ng/L、15 ng/L、40 ng/L、160 ng/L。

样品前处理：0.22 μm 滤膜过滤后进样。

## 2. 结果讨论

### 2.1 阿莫西林典型图谱

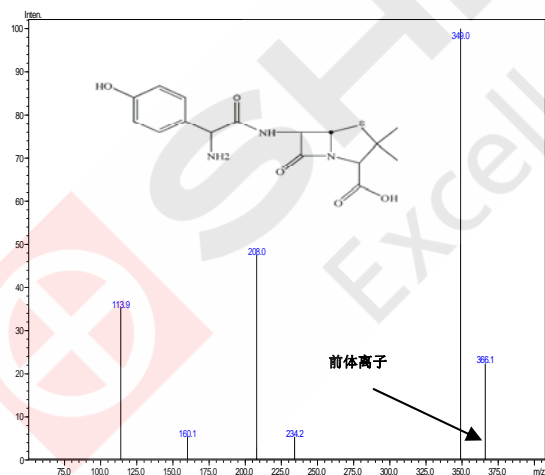


图 1. 阿莫西林产物离子扫描质谱图

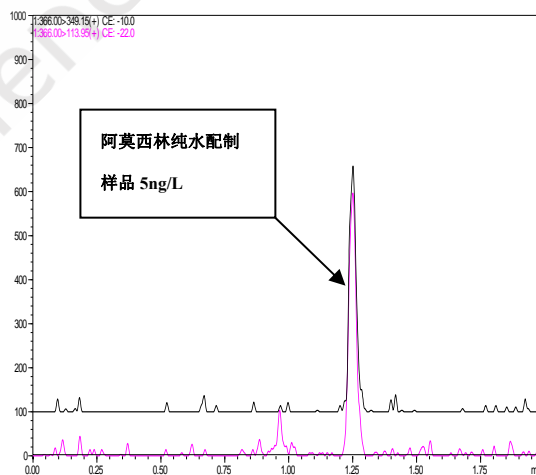


图 2. 标准样品 MRM 色谱图

### 2.2 标准曲线

按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法制作的校准曲线线性良好，线性方程、相关系数、线性范围、准确度(如图 3、表 3 所示)。

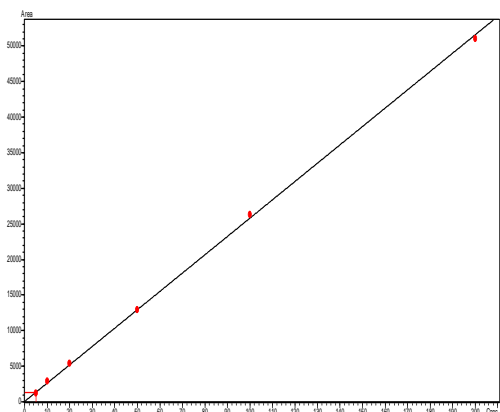


图 3. 阿莫西林标准工作曲线

名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围 (ng/L)
阿莫西林	$Y=257.604X+44.1011$	0.9995	5-200ng/L

表 3. 阿莫西林标准曲线信息

Sample ID	RT(min)	Area	Nominal Conc. (ng/L)	Calculated Conc. (ng/L)	Conc. Accuracy[%]
Blank.lcd	-----	-----	-----	-----	-----
STD1.lcd	1.249	1,209	5	4.702	94.0
STD2.lcd	1.261	2,708	10	10.520	105.2
STD3.lcd	1.253	4,886	20	18.967	94.8
STD4.lcd	1.254	12,672	50	49.174	98.3
STD5.lcd	1.250	26,645	100	103.377	103.4
STD6.lcd	1.259	51,009	200	197.891	98.9
Carry.lcd	-----	-----	-----	-----	-----

### 2.3 检出限与定量限

根据环境监测分析方法标准制修订技术导则（HJ 168-2010）要求，确定方法的检出限、定量限。

表 4. 检出限与定量限

阿莫西林	Conc.( ng/L)- (Batch01)	Conc.( ng/L)- (Batch02)
5 ng/L	5.050	5.002
	4.660	5.010
	4.618	4.519
	5.002	5.007
	5.385	5.595
	4.606	4.507
	5.018	4.735
	平均值	4.977
标准偏差	0.353	0.375
相对标准偏差(%)	7.1	7.6
准确度(%)	99.5	98.2
检出限( ng/L)		0.97
定量限( ng/L)		3.88

## 2.4 精密度与准确度实验

选取纯水配制的浓度为 15、40、160 ng/L 的阿莫西林样品( $n \geq 6$ ), 考察精密度与准确度。结果表明精密度与准确度分别介于 1.7~8.0%和 97.8~103.5%之间(见表 5)。

表 5. 精密度与准确度结果( $n=6$ )

阿莫西林	RT(min)	Area	Conc.( ng/L)
15 ng/L	1.248	3,964	15.392
	1.253	3,290	12.777
	1.251	3,987	15.478
	1.253	3,512	13.639
	1.255	3,932	15.268
	1.251	3,982	15.460
40 ng/L	1.260	11,019	42.758
	1.247	10,956	42.513
	1.260	10,926	42.397
	1.250	10,212	39.629
	1.254	10,501	40.749
	1.253	10,423	40.447
160 ng/L	1.257	40,211	156.003
	1.252	41,291	160.195
	1.254	41,333	160.355
	1.248	42,337	164.251
	1.265	41,451	160.817
	1.252	41,787	162.117
平均值	14.67	41.42	160.62
标准偏差	1.17	1.31	2.72
相对标准偏差(%)	8.0	3.2	1.7
准确度(%)	97.8	103.5	100.4

## 2.5 基质加标实验



图 4. 自来水空白色谱图

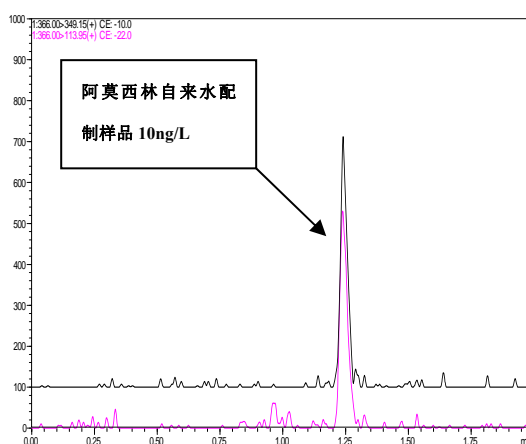


图 5. 10 ng/L 自来水加标色谱图

不同浓度的自来水加标样品 (15、40、160ng/L) 回收率介于 66.4~70.1%之间(见表 6)。

表 6. 自来水加标回收率考察(n=3)

阿莫西林	空白	自来水加标回收率		
		10 ng/L	40 ng/L	160 ng/L
平均值	-	6.64	28.04	106.4
回收率(%)	-	66.4	70.1	66.5

### 3.总结

本文建立了直接检测水中阿莫西林的 LC/MS/MS 方法。结果表明阿莫西林样品在 5 ng/L~200 ng/L 范围内线性关系良好( $R=0.9995$ ), 方法检出限与定量限分别为 0.97ng/L、3.88ng/L。精密度与准确度分别介于 1.7~8.0%和 97.8~103.5%之间。不同浓度的自来水加标样品 (15、40、160ng/L) 回收率介于 66.4~70.1%之间。本方法灵敏、可靠, 可直接对自来水中的阿莫西林进行检测, 检测限达 0.97 ng/L, 定量限达 3.88 ng/L。



SHIMADZU  
Excellence in Science

# 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

**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。

## 1. 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℃

加热模块温度： 400℃

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、1μg/L、5μg/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 ℃ 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

## 2. 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。

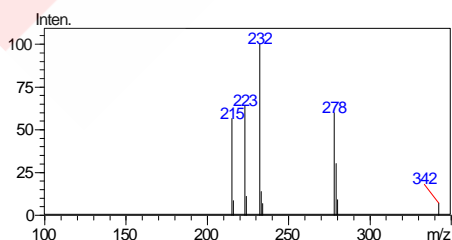


图 1 磺胺醋酰的一级质谱图

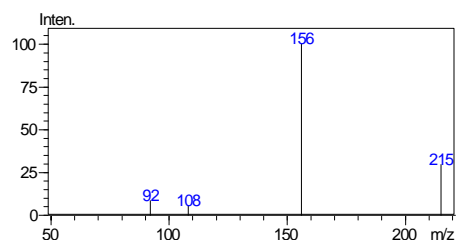


图 2 磺胺醋酰的产物离子扫描图(CE 值-10V)

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。

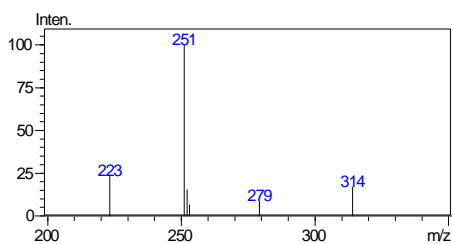


图3 磺胺嘧啶的一级质谱图

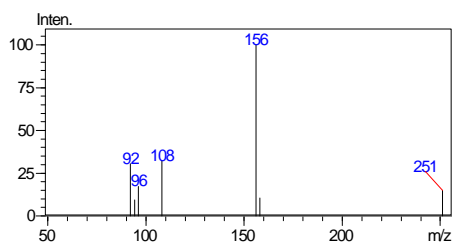


图4 磺胺嘧啶的产物离子扫描图(CE值-18V)

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。

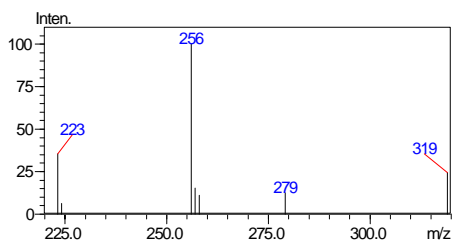


图5 磺胺噻唑的一级质谱图

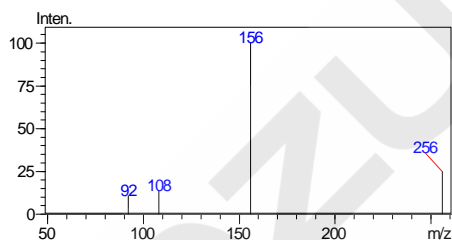


图6 磺胺噻唑的产物离子扫描图(CE值-15V)

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。

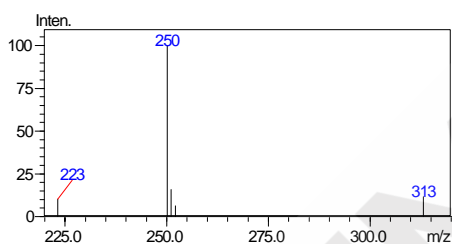


图7 磺胺吡啶的一级质谱图

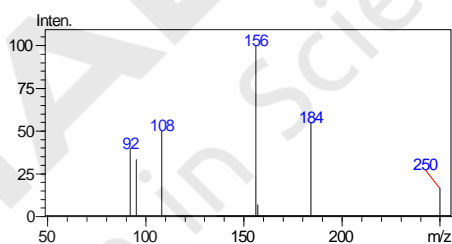


图8 磺胺吡啶的产物离子扫描图(CE值-20V)

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。

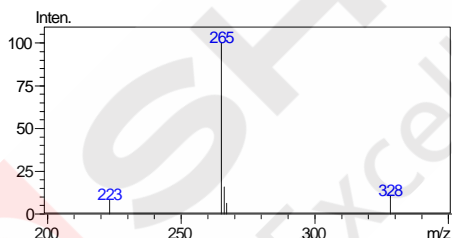


图9 磺胺甲基嘧啶的一级质谱图

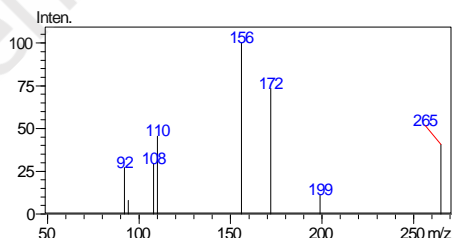


图10 磺胺甲基嘧啶的产物离子扫描图(CE值-18V)

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。

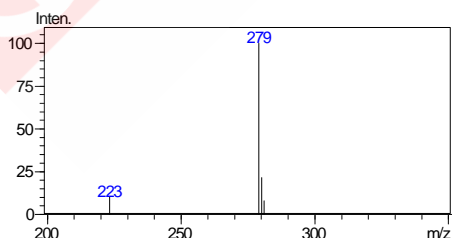


图11 磺胺二甲嘧啶的一级质谱图

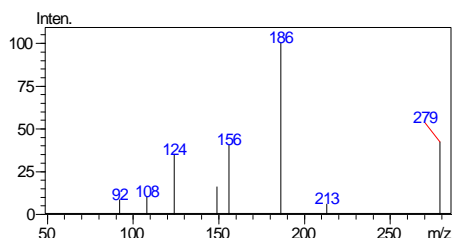


图12 磺胺二甲嘧啶的产物离子扫描图(CE值-18V)

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。

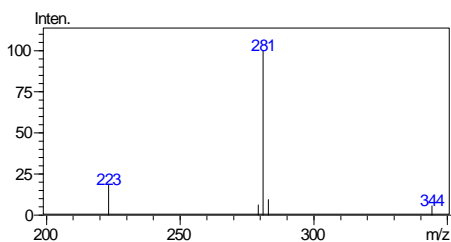


图13 磺胺甲氧噻嗪的一级质谱图

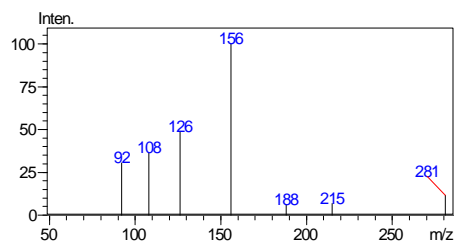


图14 磺胺甲氧噻嗪的产物离子扫描图(CE值-20V)

磺胺氯噻嗪的一级质谱图见图 15，产物离子扫描质谱图见图 16。

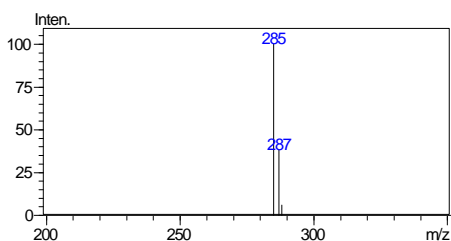


图15 磺胺氯噻嗪的一级质谱图

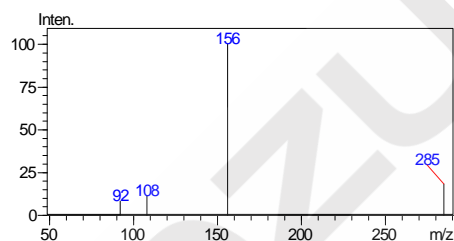


图16 磺胺氯噻嗪的产物离子扫描图(CE值-15V)

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。

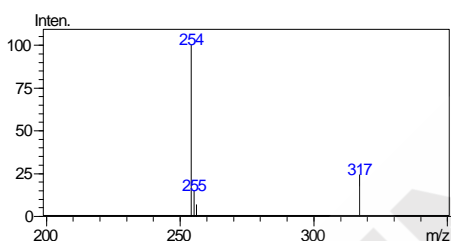


图17 磺胺甲噁唑的一级质谱图

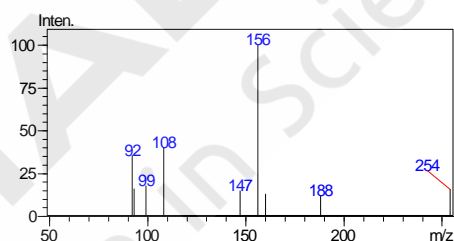


图18 磺胺甲噁唑的产物离子扫描图(CE值-18V)

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。

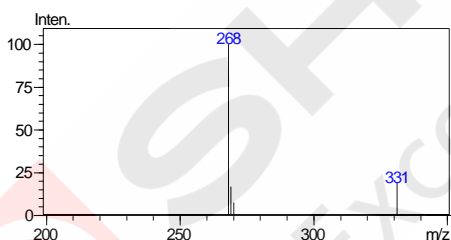


图19 磺胺二甲基异噁唑的一级质谱图

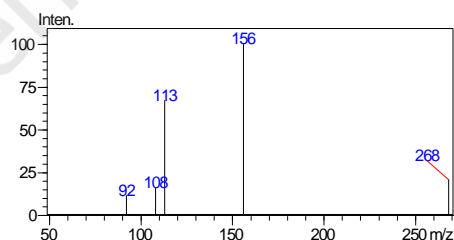


图20 磺胺二甲基异噁唑产物离子扫描图(CE值-15V)

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。

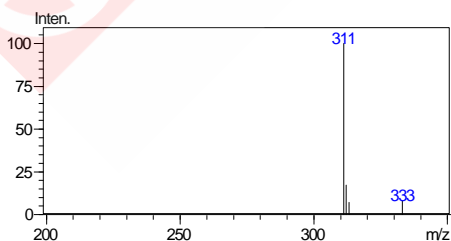


图21 磺胺间二甲氧嘧啶的一级质谱图

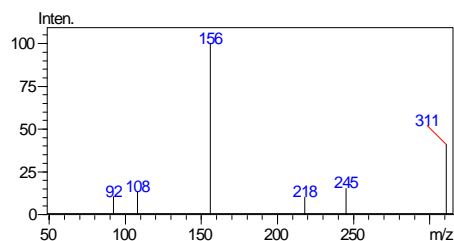


图22 磺胺间二甲氧嘧啶的产物离子扫描图(CE值-20V)

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。

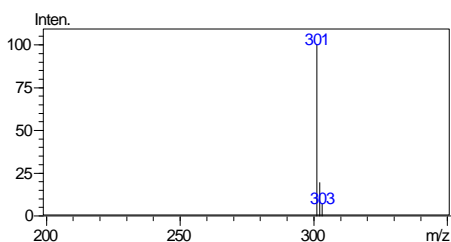


图23 磺胺嘧啶的一级质谱图

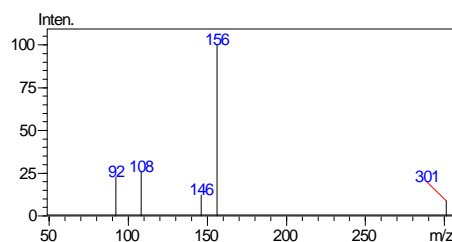


图24 磺胺嘧啶的产物离子扫描图(CE值-20V)

## 2.2 标准样品的MRM色谱图

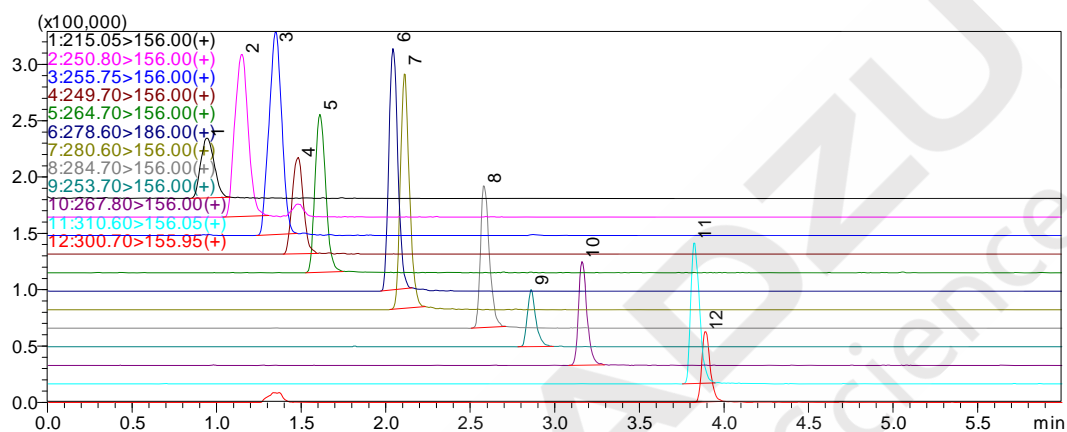


图 25 标准样品的MRM 色谱图(100 µg/L)

(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、磺胺甲氧吡嗪；8、磺胺氯吡嗪；9、磺胺甲噻唑；10、磺胺二甲基异噻唑；11、磺胺间二甲氧嘧啶；12、磺胺嘧啶)

## 2.3 线性范围

将 0.5 µg/L、1µg/L、5µg/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。

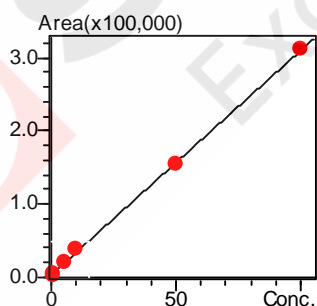


图 26 磺胺醋酰的校准曲线

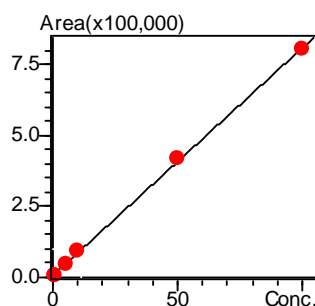


图 27 磺胺嘧啶的校准曲线

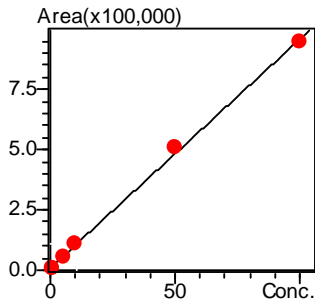


图 28 磺胺噻唑的校准曲线

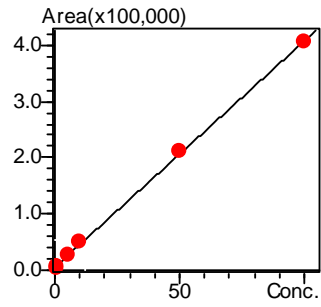


图 29 磺胺吡啶的校准曲线

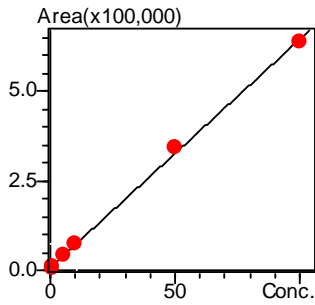


图 30 磺胺甲基嘧啶的校准曲线

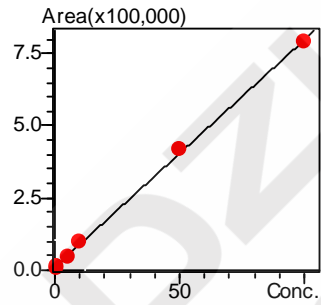


图 31 磺胺二甲嘧啶的校准曲线

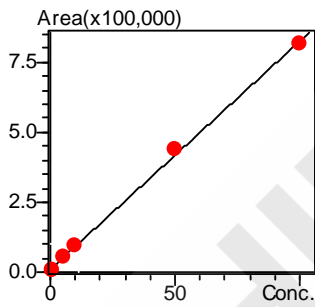


图 32 磺胺甲氧嘧啶的校准曲线

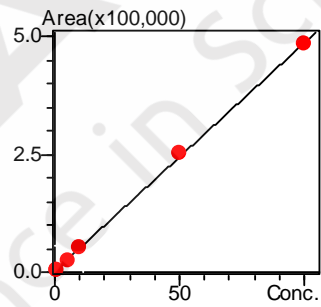


图 33 磺胺氯嘧啶的校准曲线

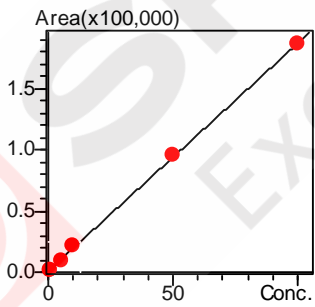


图 34 磺胺甲噁唑的校准曲线

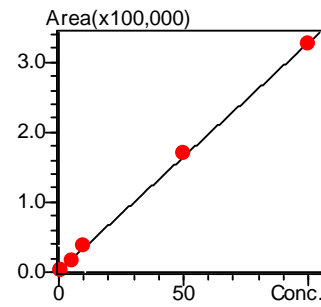


图 35 磺胺二甲基异噁唑的校准曲线

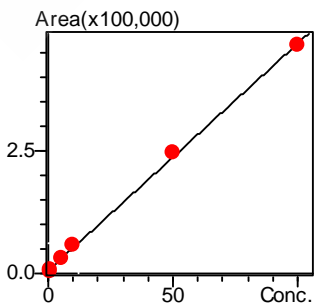


图 36 磺胺间二甲氧嘧啶的校准曲线

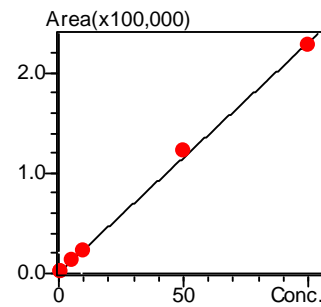


图 37 磺胺喹噁啉的校准曲线

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	磺胺甲氧吡嗪	$Y = (8156.44)X + (9987.91)$	0.5~100	0.9992
8	磺胺氯吡嗪	$Y = (4848.19)X + (2650.69)$	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 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (10 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (50 $\mu\text{g/L}$ )	
	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
磺胺甲氧吡嗪	0.234	4.366	0.142	3.979	0.113	1.173
磺胺氯吡嗪	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  $\mu\text{g/L}$ 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  $\text{MDL} = 3.14 \times S$ , 定量下限  $\text{LOQ} = 4 \times \text{MDL}$ 。测定结果如表5所示。

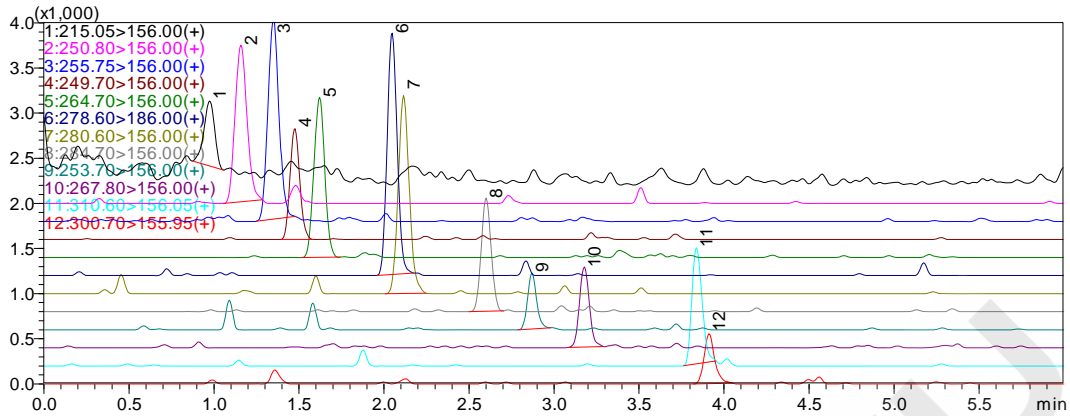


图 38 测试样品(1.0 µg/L)的 MRM 色谱图

(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 µg/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。

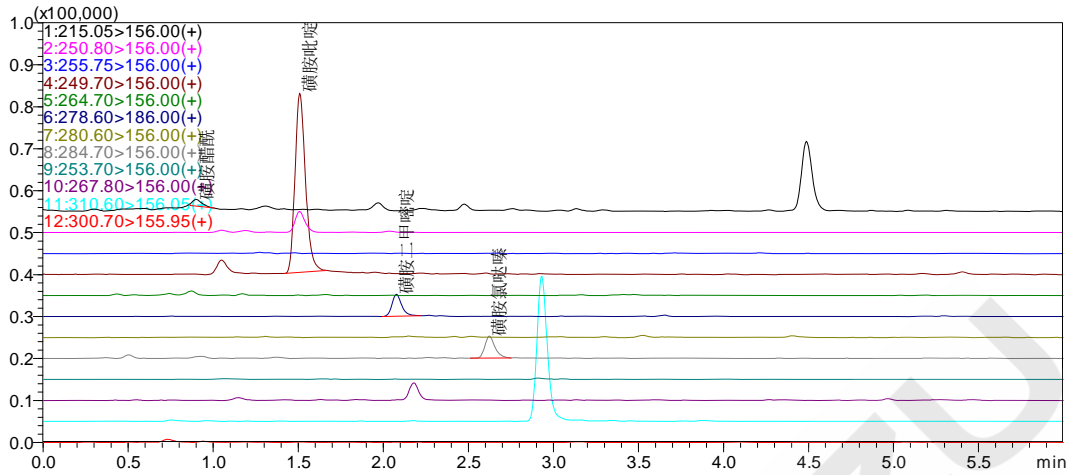


图 39 地表水样的 MRM 色谱图

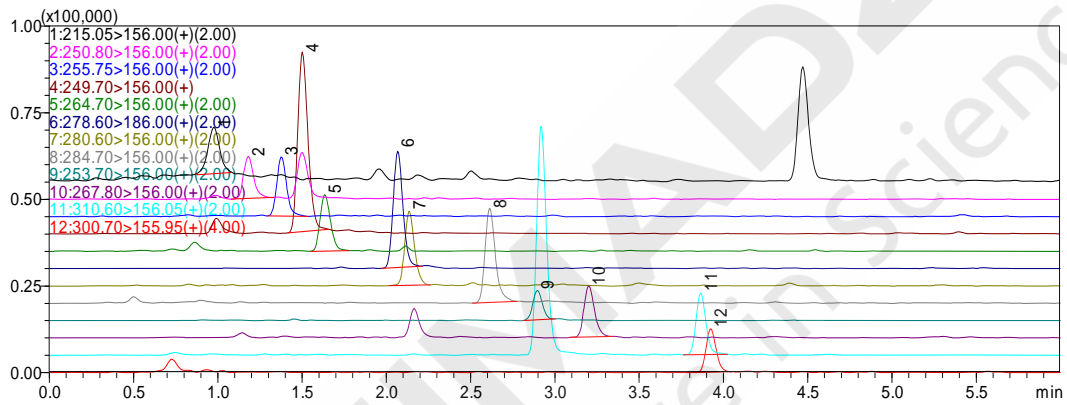


图 40 地表水样加标(0.02 µg/L)的 MRM 色谱图

(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 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 (µg/L)	实测浓度 (µg/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

---

### 3. 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。



SHIMADZU  
Excellence in Science

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定地表水中的四环素类抗生素残留

**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 7 种四环素类抗生素残留的方法。地表水样品中的四环素类抗生素经固相萃取富集后, 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 7 种四环素类抗生素的校准曲线, 线性范围宽, 校准曲线的相关系数均在 0.999 以上。对 10  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$  和 100  $\mu\text{g/L}$  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 0.021%~0.208%和 1.165%~3.731%之间, 系统精密度良好。

**关键词:** 四环素类抗生素 三重四极杆质谱 地表水

四环素类抗生素 (Tetracyclines, TCs) 是临床上重要的一类抗感染药物, 对革兰氏阳性和阴性细菌、立克次氏体等均有抑菌作用, 其作用机理主要是和 30S 核糖体的末端合, 干扰细菌蛋白质的合成。常用的四环素类抗生素有: 四环素、金霉素、土霉素、强力霉素等。在畜禽生产中四环素类抗生素被广泛作为药物添加剂, 这对环境造成潜在威胁。由于残留的抗生素可导致耐药菌, 引起了人们对抗生素在环境中的分布、转归及对环境生物、生态系统和人类健康产生的危害等一系列问题的关注。由于环境介质的复杂性和多样性, 目前尚无环境中抗生素类污染物的标准分析方法。

高效液相色谱-串联质谱联用技术是近些年来发展很快的分析技术, 具有很高的选择性和灵敏度, 对复杂基体中的药物残留具有很强的定性能力, 而且准确度高。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四环素类抗生素的方法。

## 1. 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-C8 2.0 mm I.D. $\times$  100 mm L., 2.2  $\mu\text{m}$

流动相: A—10 mM 三氟乙酸的水溶液;

B—甲醇

流速: 0.3 mL/min

柱温：35℃

进样量：20 μL

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
0.50	Pumps	Pump B Conc.	10
1.00	Pumps	Pump B Conc.	50
3.00	Pumps	Pump B Conc.	65
3.50	Pumps	Pump B Conc.	65
3.60	Pumps	Pump B Conc.	10
5.00	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℃

加热模块温度： 400℃

扫描模式： 多反应监测(MRM)

驻留时间： 10 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 7 种，分别为二甲胺四环素、土霉素、四环素、去甲基金霉素、金霉素、甲烯土霉素和强力霉素。

标准工作溶液配制：用甲醇配制 20 mg/L 的混合标准中间溶液，用甲醇+三氟乙酸水溶液(V/V, 1:19)稀释成不同浓度的混合标准工作液。

### 1.4 样品前处理方法

固相萃取：分别用 3 mL 甲醇和 3 mL 去离子水活化 HLB 固相萃取小柱(200 mg, 6 mL)，流量为 5 mL/min。水样上样速度为 4 mL/min，上样量为 100 mL，3 mL 5% 甲醇淋洗，6 mL 甲醇洗脱。

氮吹仪浓缩至近干，用甲醇-10 mM 三氟乙酸的水溶液(1/9,v/v)溶解定容至 1.0 mL，0.22 μm 微孔滤膜过滤后进样分析。

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)
二甲胺四环素	458.2	441.2*	-22	-21	-30
		283.1	-22	-48	-29
土霉素	461.2	426.1*	-22	-19	-30
		443.1	-22	-12	-22
四环素	445.2	410.2*	-22	-19	-29
		427.2	-22	-12	-30
去甲基金霉素	465.1	448.1*	-23	-18	-30
		430.1	-23	-23	-29
金霉素	478.9	444.1*	-24	-21	-30
		462.1	-24	-18	-23
甲烯土霉素	443.2	426.1*	-21	-18	-30
		201.1	-21	-36	-21
强力霉素	445.2	428.2*	-22	-19	-30
		154.1	-22	-32	-30

注：\*表示定量离子

## 2. 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

二甲胺四环素的一级质谱图见图 1，产物离子扫描质谱图见图 2。

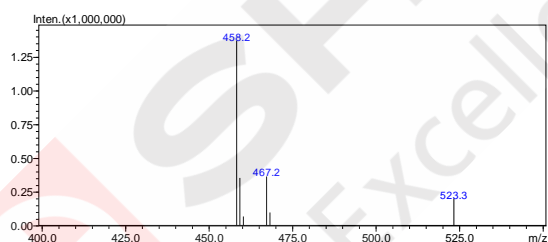


图1 二甲胺四环素的一级质谱图

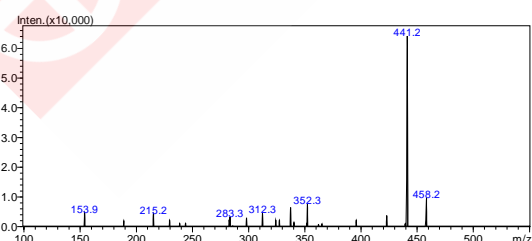


图2 二甲胺四环素的产物离子扫描图(CE值-22V)

土霉素的一级质谱图见图 3，产物离子扫描质谱图见图 4。

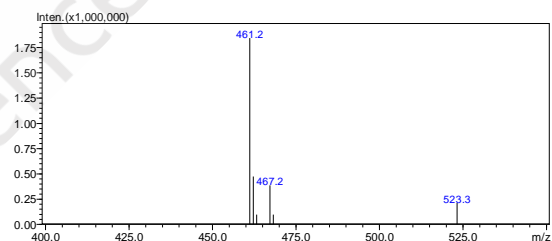


图3 土霉素的一级质谱图

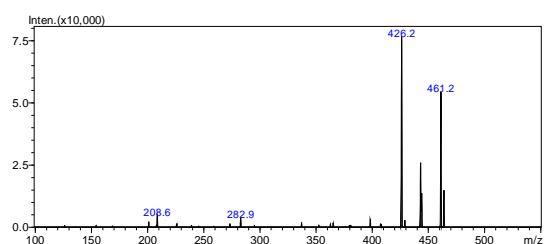


图4 土霉素的产物离子扫描图(CE值-25V)

四环素的一级质谱图见图 5，产物离子扫描质谱图见图 6。

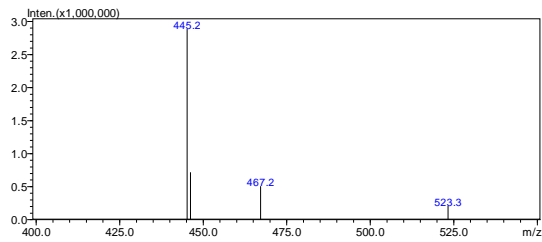


图5 四环素的一级质谱图

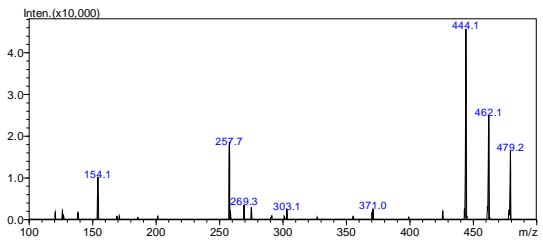


图10金霉素的产物离子扫描图(CE值-20V)

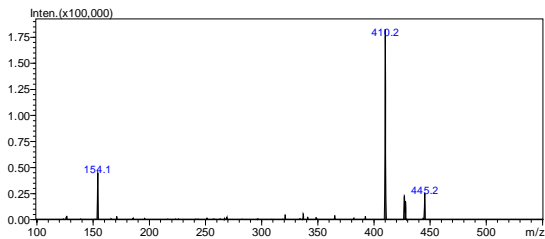


图6 四环素的产物离子扫描图(CE值-20V)

去甲基金霉素的一级质谱图见图 7，  
产物离子扫描质谱图见图 8。

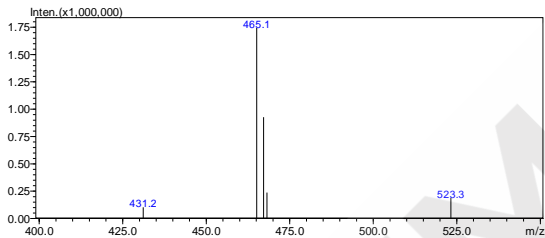


图7 去甲基金霉素的一级质谱图

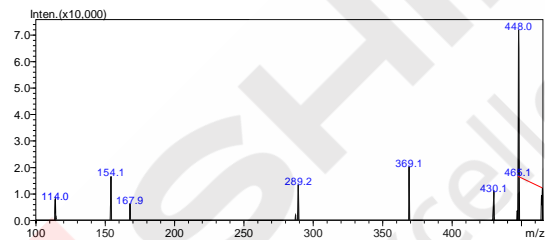


图8 去甲基金霉素的产物离子扫描图(CE值-20V)

金霉素的一级质谱图见图 9，产物离子扫描  
质谱图见图 10。

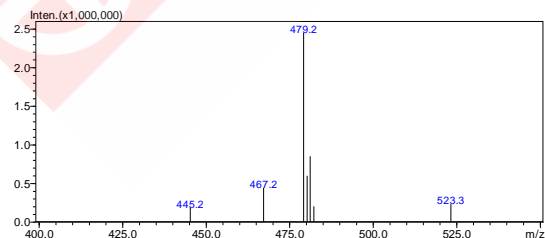


图9 金霉素的一级质谱图

甲烯土霉素的一级质谱图见图 11，产物  
离子扫描质谱图见图 12。

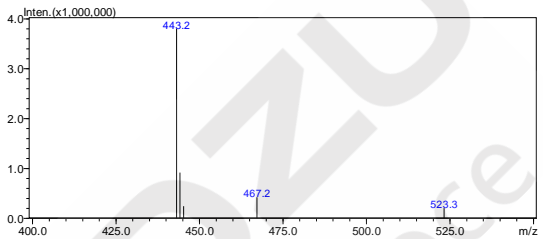


图11 甲烯土霉素的一级质谱图

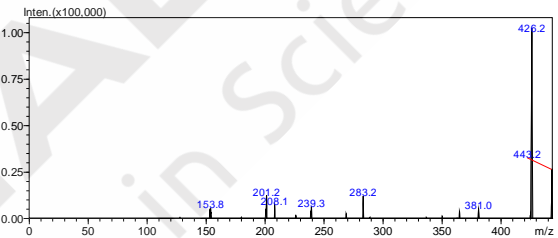


图12 甲烯土霉素的产物离子扫描图(CE值-20V)

强力霉素的一级质谱图见图 13，产物离  
子扫描质谱图见图 14。

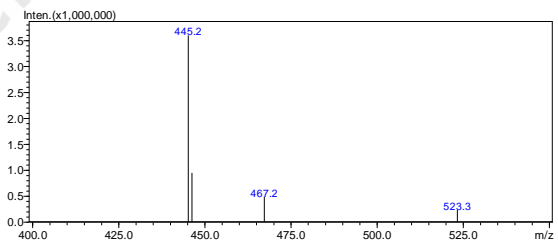


图13 强力霉素的一级质谱图

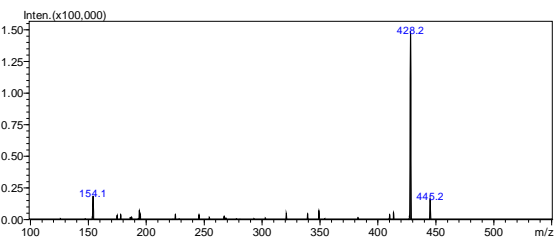


图14 强力霉素的产物离子扫描图(CE值-21V)

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

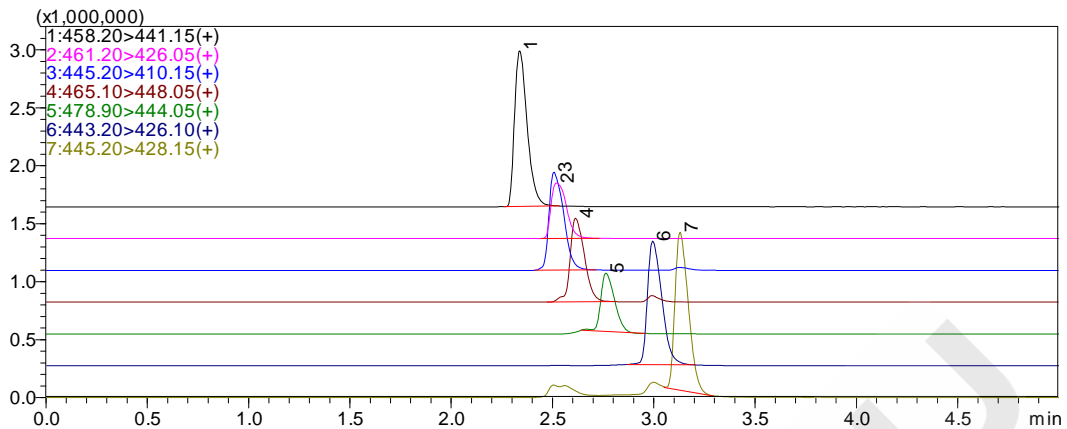


图 15 标准样品的 MRM 色谱图(500 µg/L)

(1、二甲胺四环素；2、土霉素；3、四环素；4、去甲基金霉素；5、金霉素；6、甲烯土霉素；7、强力霉素)

### 2.3 线性范围

将 1 µg/L、3 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L、100 µg/L 和 500 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 16~22 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。

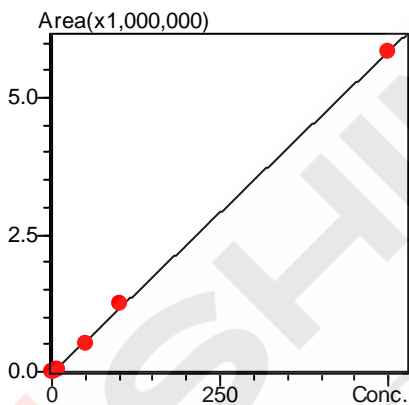


图 16 二甲胺四环素的校准曲线

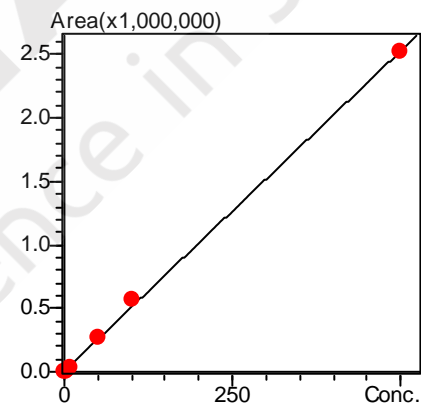


图 17 土霉素的校准曲线

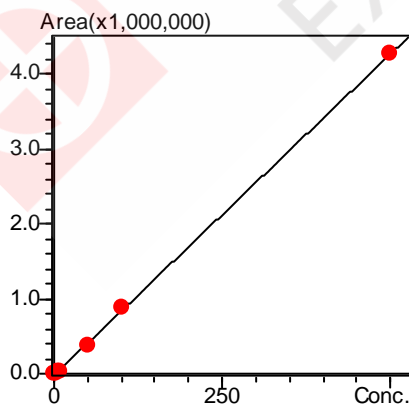


图 18 四环素的校准曲线

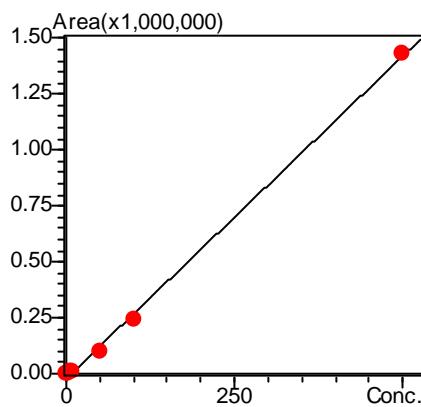


图 19 去甲基金霉素的校准曲线

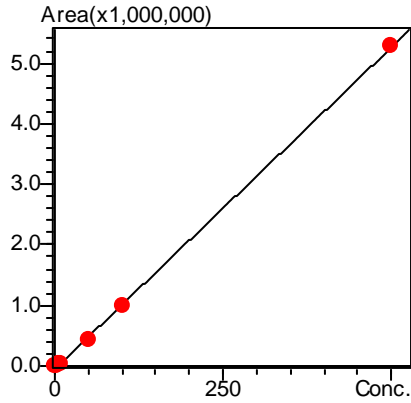


图 20 金霉素的校准曲线

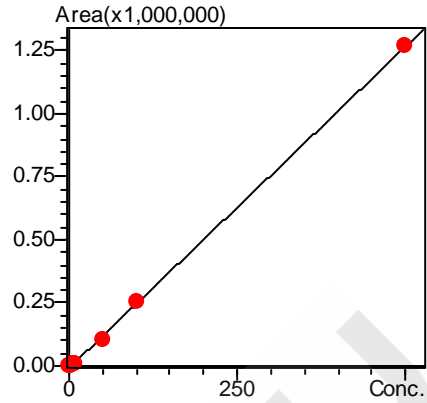


图 21 甲烯土霉素的校准曲线

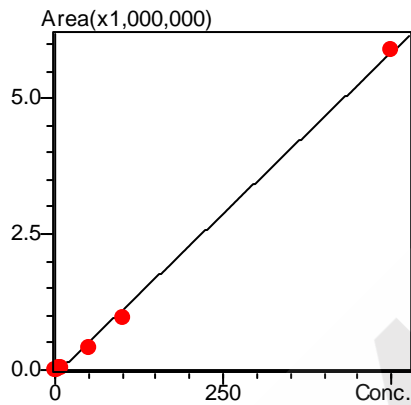


图 22 强力霉素的校准曲线

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	二甲胺四环素	$Y = (11739.6)X + (-28443.4)$	1.0~500	0.9997
2	土霉素	$Y = (5044.19)X + (5932.37)$	1.0~500	0.9995
3	四环素	$Y = (8591.11)X + (-22142.1)$	1.0~500	0.9998
4	去甲基金霉素	$Y = (2883.03)X + (-20841.3)$	1.0~500	0.9994
5	金霉素	$Y = (2549.80)X + (-8631.14)$	1.0~500	0.9998
6	甲烯土霉素	$Y = (10613.5)X + (-50409.7)$	1.0~500	0.9998
7	强力霉素	$Y = (11844.3)X + (-82438.8)$	1.0~500	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 0.021%~0.208%和 1.165%~3.731%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% (10 µg/L)		RSD% (50 µg/L)		RSD% (100 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
二甲胺四环素	0.068	1.469	0.147	2.017	0.031	1.750
土霉素	0.091	3.103	0.208	2.360	0.033	2.443
四环素	0.044	3.731	0.117	1.165	0.040	2.037
去甲基金霉素	0.117	3.552	0.161	1.560	0.021	2.673
金霉素	0.146	3.363	0.075	2.690	0.052	2.953
甲烯土霉素	0.069	1.769	0.136	2.305	0.056	1.858
强力霉素	0.030	3.361	0.110	1.319	0.042	1.682

## 2.5 仪器检出限

以地表水为待测样品，检测7种四环素类抗生素。在地表水样中未检出四环素类抗生素，色谱图如图23。为了考察仪器灵敏度，向空白水样中加入四环素类抗生素混合标液，最终浓度为0.02 µg/L，平行进样7次分析结果，色谱图如图24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×10，定量下限LOQ=4×MDL。测定结果如表5所示。

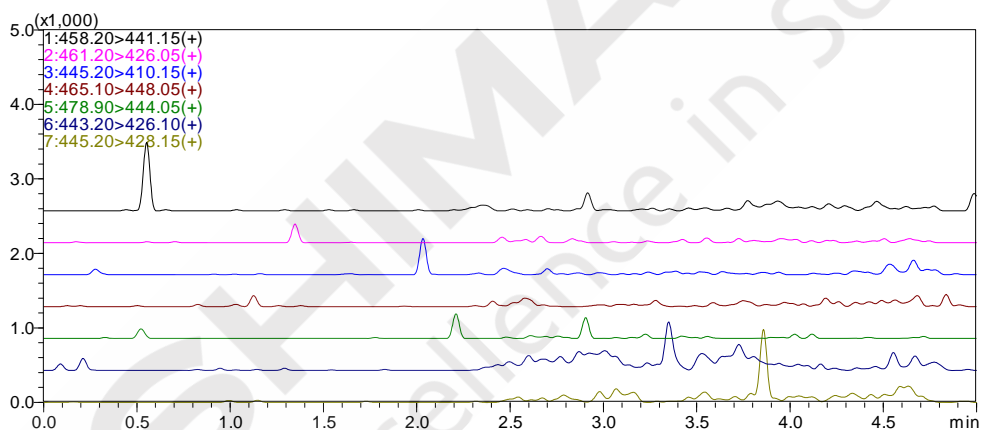


图 23 地表水样的 MRM 色谱图 (未检出)

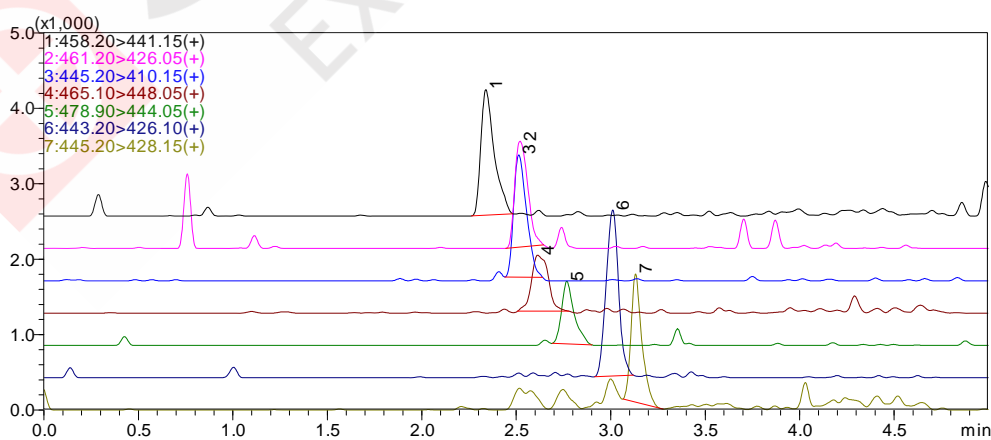


图 24 空白水样加标(0.02 µg/L)的 MRM 色谱图

(1、二甲胺四环素；2、土霉素；3、四环素；4、去甲基金霉素；5、金霉素；6、甲烯土霉素；7、强力霉素)

表 5 四环素类抗生素的检出限和定量下限

No.	名称	标准偏差(S)	检出限(ng/L)	定量下限(ng/L)
1	二甲胺四环素	0.186	5.84	23.37
2	土霉素	0.183	5.76	23.02
3	四环素	0.120	3.77	15.10
4	去甲基金霉素	0.193	6.07	24.26
5	金霉素	0.199	6.24	24.98
6	甲烯土霉素	0.200	6.29	25.16
7	强力霉素	0.142	4.46	17.82

### 3 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四环素类抗生素残留量的检测方法。该方法在 5 min 之内完成 7 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 10  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$  和 100  $\mu\text{g/L}$  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 0.021%~0.208%和 1.165%~3.731%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四环素类抗生素污染现状的调研工作。

# 超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法测定地表水中的喹诺酮类抗生素残留

**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14种喹诺酮类抗生素的方法。地表水样品经固相萃取富集后,用超高效液相色谱LC-30A在7 min内实现快速分离,三重四极杆质谱仪LCMS-8030进行定量分析。使用外标法绘制14种喹诺酮类抗生素的校准曲线,线性良好,相关系数为0.999以上;对不同浓度的标准溶液进行精密实验,连续6次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.437%和4.937%以下,仪器精密良好。

**关键词:** 喹诺酮类抗生素 三重四极杆质谱 地表水 富集

喹诺酮类(Quinolones)是一类含有4-喹诺酮母核的化学合成抗菌药,它的抗菌谱广、抗菌活性强,广泛应用于畜牧、水产等养殖业中。然而,喹诺酮类药物有潜在的致癌性和遗传毒性,同时还容易使病菌产生耐药性。近年来,喹诺酮类抗生素在环境水体中的出现、迁移及潜在的生态危害已成为国际上环境领域研究的热点之一,建立准确适用的分析方法是研究环境中抗生素分布及其环境行为与风险的基础。由于环境介质的复杂性和多样性,目前尚无环境中抗生素类污染物的标准分析方法。

高效液相色谱-串联质谱联用技术是近些年来发展很快的分析技术,具有很高的选择性和灵敏度,对复杂基质中的抗生素类残留具有很强的定性能力,准确度高,是目前超痕量残留分析的首选方法。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-8030 联用测定地表水中 14 种喹诺酮类抗生素的方法。

## 1. 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-8030 联用系统。具体配置为 LC-30AD×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-8030 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.× 150 mm L., 2.2 μm

流动相:

A—0.2%甲酸水溶液;

B—甲醇-乙腈溶液(40:60; V/V)

流速: 0.3 mL/min

柱温: 40℃

进样量: 20 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 20%，梯度洗脱程序见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
4.5	Pumps	Pump BConc.	40
4.6	Pumps	Pump B Conc.	95
5.5	Pumps	Pump B Conc.	95
5.6	Pumps	Pump B Conc.	20
7	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℃

加热模块温度： 400℃

扫描模式： 多反应监测(MRM)

驻留时间： 20 ms

延迟时间： 3 ms

MRM 参数： 见表 3

### 1.3 标准品溶液的配制

标准物质：共 14 种，分别为依诺沙星、氧氟沙星、诺氟沙星、培氟沙星、环丙沙星、洛美沙星、达氟沙星、恩诺沙星、沙拉沙星、噁喹酸、氟甲喹、吡呱酸、萘啶酸和西诺沙星。

标准工作溶液配制：用甲醇配制 20 mg/L 的混合标准中间溶液，用含有 0.2 %甲酸的甲醇水 (20:80; /V) 溶液稀释成不同浓度的混合标准工作液。各标准物质的具体浓度见表 2。

表 2 混合标准工作液中各标准物质的浓度(μg/L)

名称	浓度 1	浓度 2	浓度 3	浓度 4	浓度 5	浓度 6
依诺沙星	1	5	10	50	100	500
氧氟沙星	0.5	2.5	5	25	50	250
诺氟沙星	5	25	50	250	500	2500
培氟沙星	1	5	10	50	100	500
环丙沙星	1	5	10	50	100	500
洛美沙星	0.5	2.5	5	25	50	250
达氟沙星	1	5	10	50	100	500
恩诺沙星	1	5	10	50	100	500
沙拉沙星	1	5	10	50	100	500
噁喹酸	0.5	2.5	5	25	50	250
氟甲喹	0.5	2.5	5	25	50	250
吡呱酸	0.5	2.5	5	25	50	250
萘啶酸	0.5	2.5	5	25	50	250
西诺沙星	5	25	50	250	500	2500

## 1.4 水样前处理方法

固相萃取：取100 mL地表水，用磷酸调节pH4.2作为待净化水样。分别用6 mL甲醇和pH4.2的去离子水，活化HLB固相萃取小柱(200 mg, 6 mL)。将100 mL待净化水样以5 mL/min的流速过柱。用3 mL 5%甲醇淋洗，低真空抽干HLB固相萃取小柱。再以甲醇洗脱喹诺酮类抗生素。45℃氮吹仪浓缩至近干，用0.2%甲酸的甲醇水(20:80; V/V)溶液定容至1.0 mL，过滤后进样分析。

表3 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)
依诺沙星	321.2	303.1*	-16.0	-20.0	-23.0
		203.9	-16.0	-48.0	-23.0
氧氟沙星	362.2	318.2*	-30.0	-18.0	-24.0
		261.1	-30.0	-28.0	-19.0
诺氟沙星	320.2	302.1*	-16.0	-20.0	-23.0
		231.1	-16.0	-46.0	-28.0
培氟沙星	334.2	316.2*	-13.0	-20.0	-24.0
		290.1	-13.0	-16.0	-22.0
环丙沙星	332.2	314.1*	-13.0	-16.0	-24.0
		231.0	-13.0	-44.0	-18.0
洛美沙星	352.2	265.0*	-18.0	-22.0	-20.0
		308.2	-18.0	-16.0	-23.0
达氟沙星	358.2	340.1*	-14.0	-20.0	-26.0
		255.0	-14.0	-42.0	-29.0
恩诺沙星	360.3	342.2*	-29.0	-20.0	-26.0
		316.2	-29.0	-20.0	-24.0
沙拉沙星	386.2	368.1*	-15.0	-20.0	-28.0
		299.1	-15.0	-25.0	-23.0
噁喹酸	262.1	244.1*	-30.0	-18.0	-30.0
		216.0	-30.0	-32.0	-26.0
氟甲喹	262.1	244.1*	-30.0	-16.0	-18.0
		202.0	-30.0	-36.0	-23.0
吡呱酸	304.2	286.1*	-30.0	-18.0	-22.0
		215.1	-30.0	-38.0	-24.0
萘啶酸	233.1	215.1*	-30.0	-14.0	-26.0
		187.0	-30.0	-28.0	-22.0
西诺沙星	263.1	245.1*	-21.0	-16.0	-19.0
		189.0	-21.0	-30.0	-22.0

注：\*表示定量离子

## 2. 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

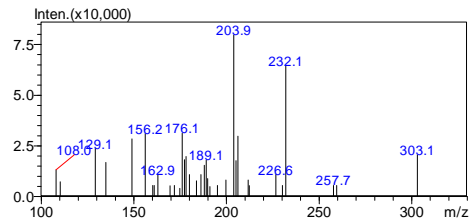
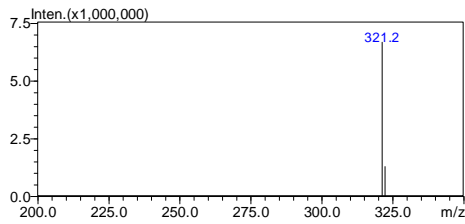


图1 依诺沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-48V）（右图）

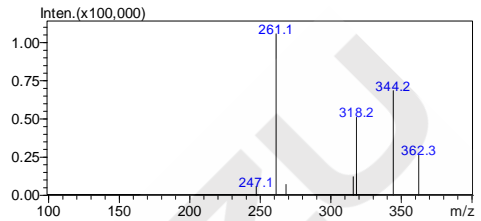
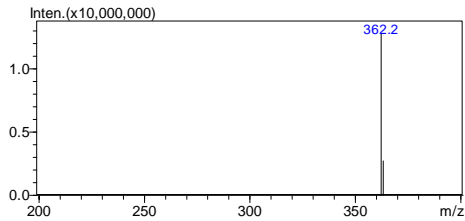


图2 氧氟沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

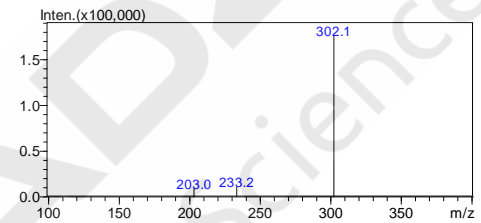
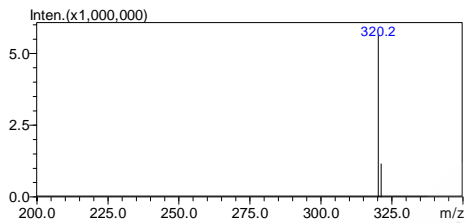


图3 诺氟沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

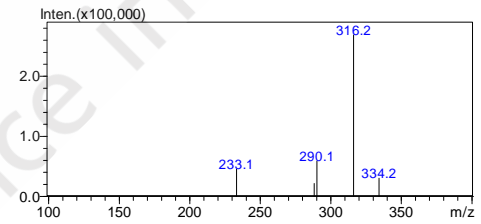
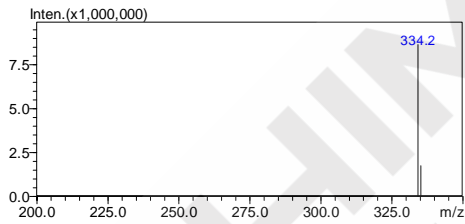


图4 培氟沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

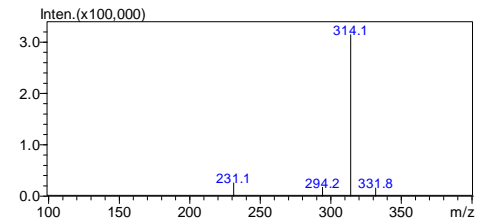
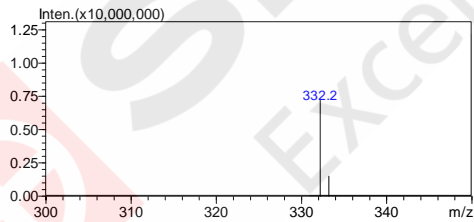


图5 环丙沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

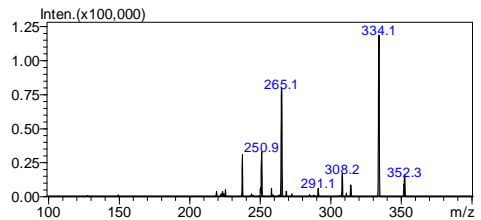
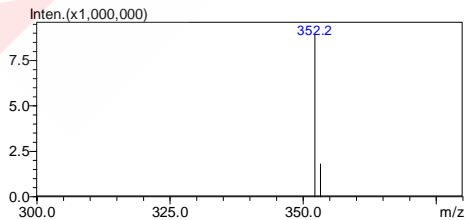


图6 洛美沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

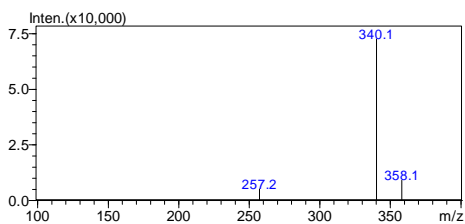
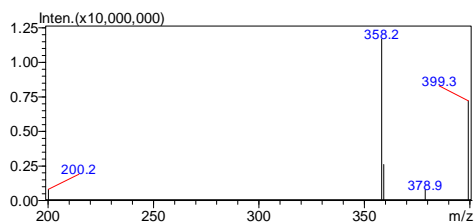


图7 达氟沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

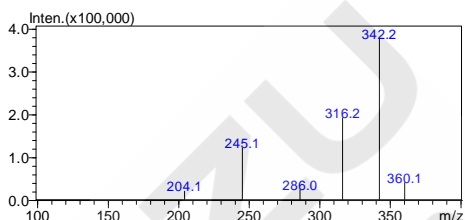
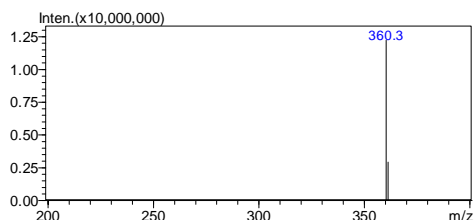


图8 恩诺沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

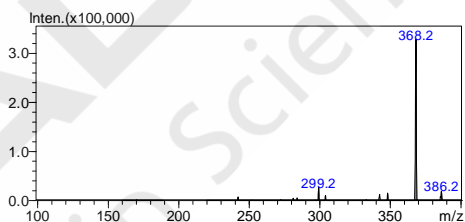
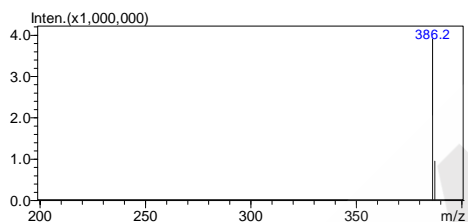


图9 沙拉沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

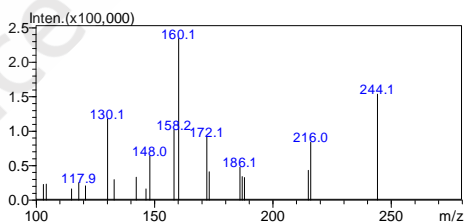
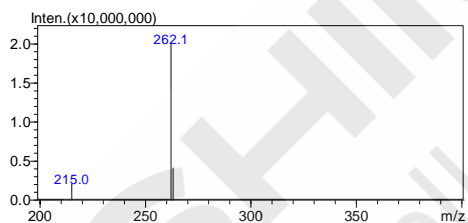


图10 噁嗪酸的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

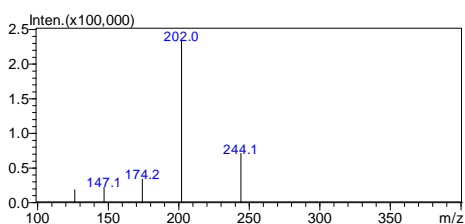
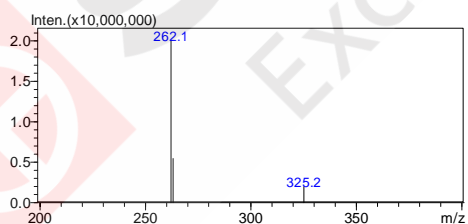


图11 氟甲喹的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

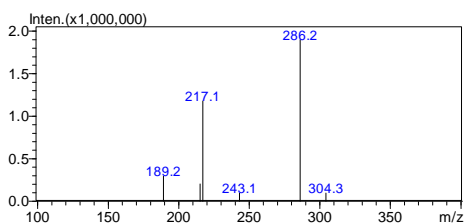
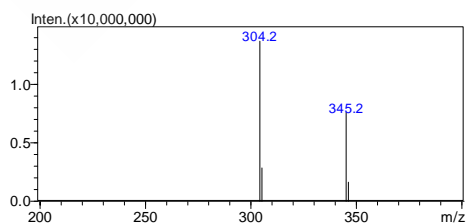


图12 吡嗪酸的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

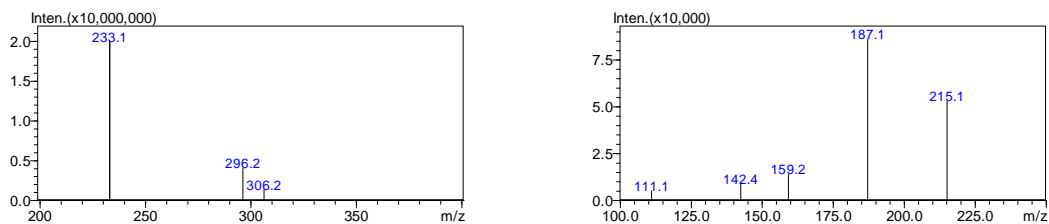


图 13 茶碱酸的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

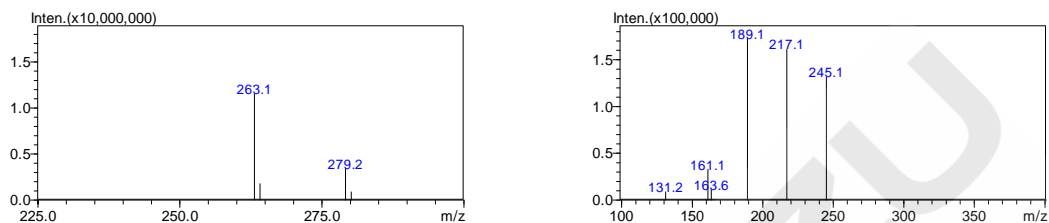


图 14 西诺沙星的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（CE 值-25V）（右图）

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

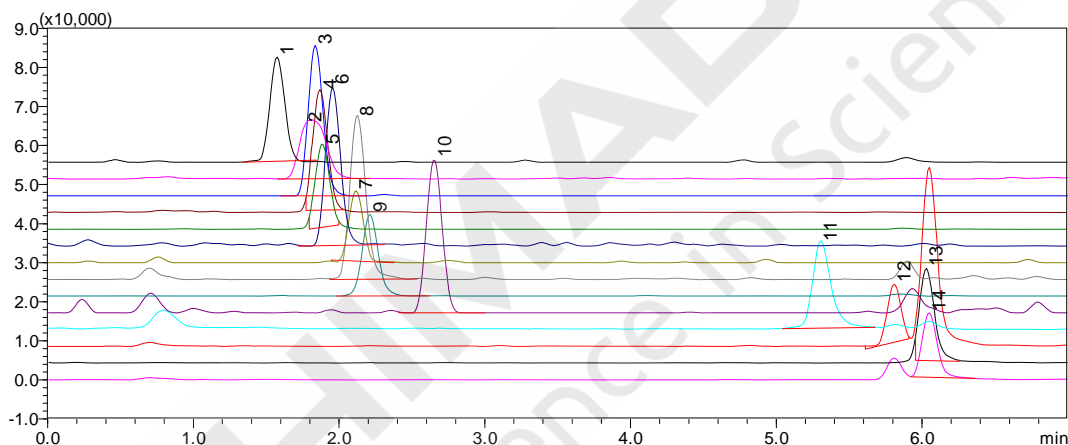


图 15 标准样品的 MRM 色谱图

(1、2.5  $\mu\text{g/L}$  吡嗪酸；2、5  $\mu\text{g/L}$  依诺沙星；3、2.5  $\mu\text{g/L}$  氧氟沙星；4、25  $\mu\text{g/L}$  诺氟沙星；5、5  $\mu\text{g/L}$  培氟沙星；6、5  $\mu\text{g/L}$  环丙沙星；7、2.5  $\mu\text{g/L}$  洛美沙星；8、5  $\mu\text{g/L}$  达氟沙星；9、5  $\mu\text{g/L}$  恩诺沙星；10、5  $\mu\text{g/L}$  沙拉沙星；11、25  $\mu\text{g/L}$  西诺沙星；12、2.5  $\mu\text{g/L}$  噁喹酸；13、2.5  $\mu\text{g/L}$  茶碱酸；14、2.5  $\mu\text{g/L}$  氟甲啶)

## 2.3 线性范围

将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 30~43 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 4。

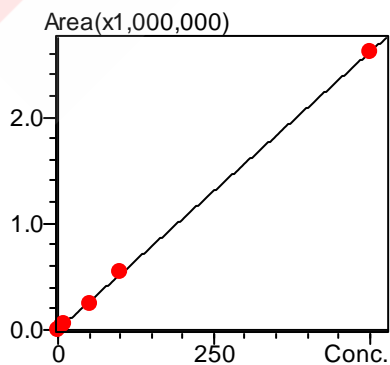


图 16 依诺沙星的校准曲线

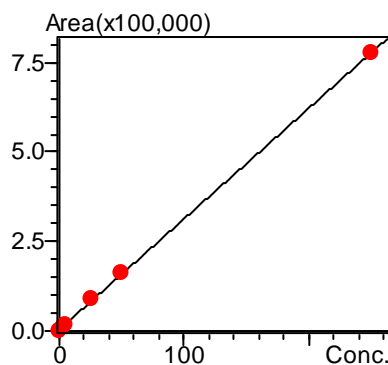


图 17 氧氟沙星的校准曲线

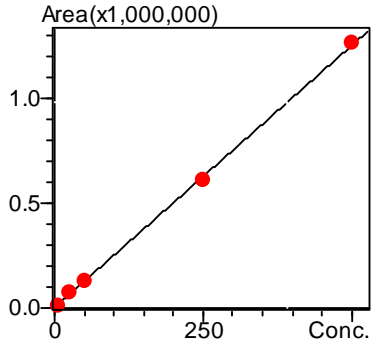


图 18 诺氟沙星的校准曲线

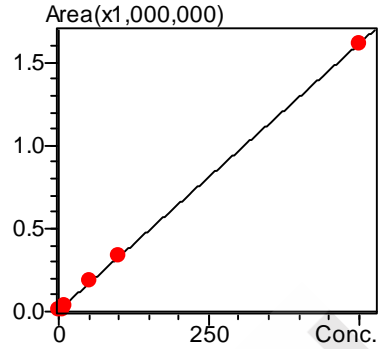


图 22 达氟沙星的校准曲线

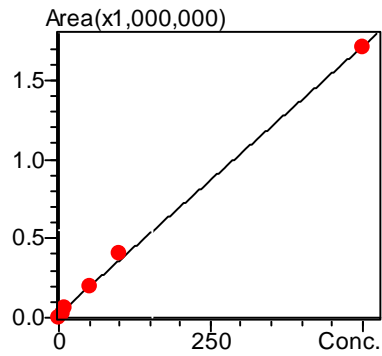


图 19 培氟沙星的校准曲线

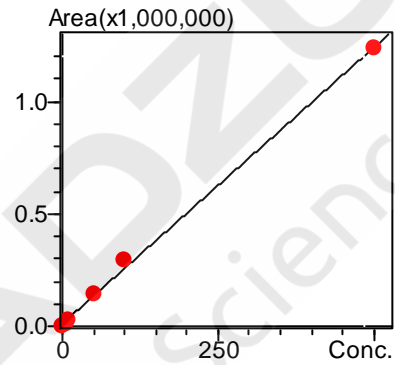


图 23 恩诺沙星的校准曲线

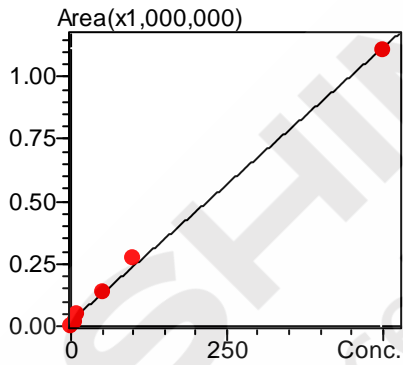


图 20 环丙沙星的校准曲线

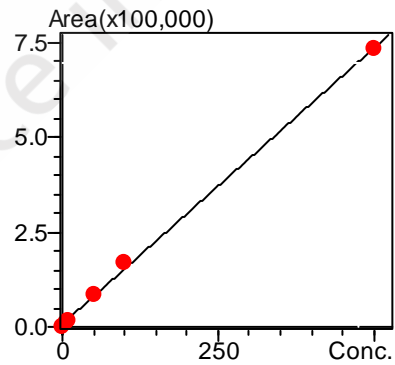


图 24 沙拉沙星的校准曲线

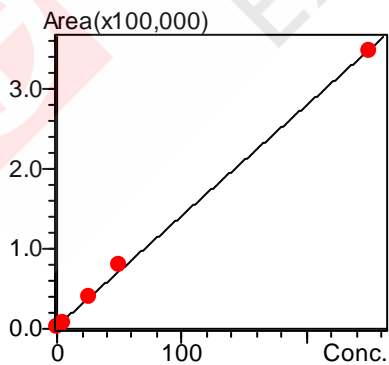


图 21 洛美沙星的校准曲线

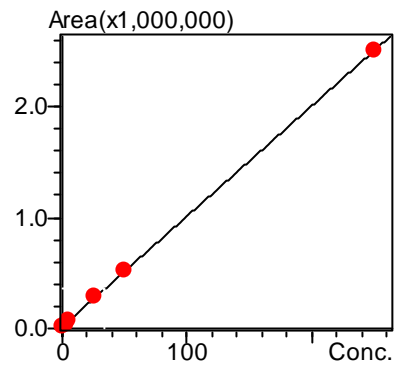


图 25 噻嗪酸的校准曲线

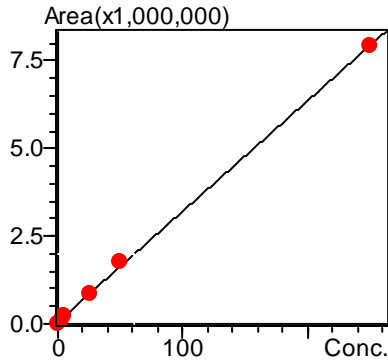


图 26 氟甲嗪的校准曲线

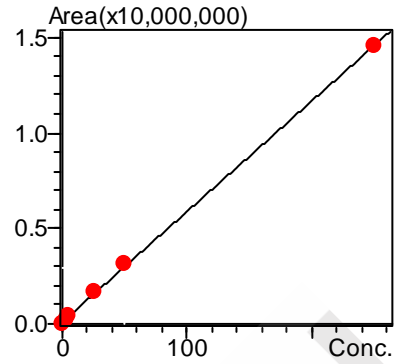


图 28 吡嗪酸的校准曲线

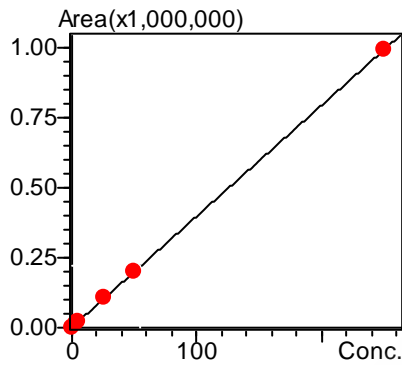


图 27 吡嗪酸的校准曲线

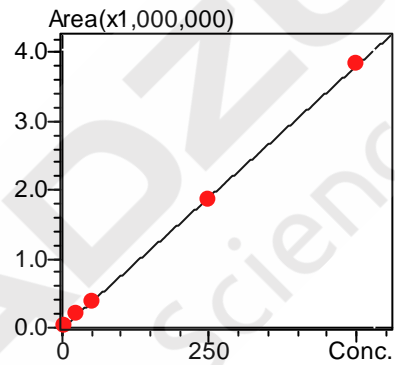


图 29 西诺沙星的校准曲线

表 4 校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	线性范围 (μg/L)	相关系数 r
1	依诺沙星	$Y = (5210.26)X + (3090.70)$	1.0~500	1.0000
2	氧氟沙星	$Y = (3088.28)X + (4327.79)$	0.5~250	0.9998
3	诺氟沙星	$Y = (2499.58)X + (1672.78)$	5~500	0.9998
4	培氟沙星	$Y = (3370.81)X + (26856.7)$	1.0~500	0.9993
5	环丙沙星	$Y = (2189.90)X + (21093.5)$	1.0~500	0.9992
6	洛美沙星	$Y = (1382.09)X + (3417.15)$	0.5~250	0.9995
7	达氟沙星	$Y = (3207.19)X + (7670.04)$	1.0~500	0.9999
8	恩诺沙星	$Y = (2457.58)X + (12362.3)$	1.0~500	0.9992
9	沙拉沙星	$Y = (1453.99)X + (7474.59)$	1.0~500	0.9994
10	噁嗪酸	$Y = (9946.96)X + (18523.3)$	0.5~250	0.9999
11	氟甲嗪	$Y = (31449.4)X + (66461.2)$	0.5~250	0.9998
12	吡嗪酸	$Y = (3955.87)X + (2805.99)$	0.5~250	1.0000
13	萘啶酸	$Y = (57834.6)X + (105320)$	0.5~250	0.9999
14	西诺沙星	$Y = (7624.15)X + (-8145.69)$	5~500	0.9998

## 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 5 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 0.014% ~ 0.437% 和 1.309% ~ 4.937% 之间, 仪器精密度良好。

表 5 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
依诺沙星	0.437	4.576	0.272	3.315	0.152	1.309
培氟沙星	0.158	4.419	0.248	3.974	0.065	1.762
环丙沙星	0.273	4.706	0.163	3.438	0.085	2.81
达氟沙星	0.143	3.545	0.186	3.172	0.079	2.468
恩诺沙星	0.212	4.756	0.225	3.75	0.099	2.719
沙拉沙星	0.238	4.353	0.06	1.918	0.119	2.622
	RSD% (2.5 µg/L)		RSD% (5 µg/L)		RSD% (25 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
氧氟沙星	0.245	4.625	0.3	4.556	0.145	2.719
洛美沙星	0.188	4.937	0.14	4.052	0.119	2.916
噁喹酸	0.023	4.79	0.023	3.308	0.014	2.45
氟甲喹	0.018	2.934	0.014	2.184	0.019	2.251
吡呱酸	0.202	3.765	0.268	3.762	0.036	2.645
萘啶酸	0.057	4.633	0.01	2.592	0.046	2.738
	RSD% (25 µg/L)		RSD% (50 µg/L)		RSD% (250 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
诺氟沙星	0.2	3.989	0.252	2.864	0.069	2.706
西诺沙星	0.046	4.384	0.075	1.782	0.04	1.344

## 2.5 灵敏度实验

为考察仪器的灵敏度，将低浓度混合标准工作液按 1.2 中的分析条件下进行测定。通过 LabSolutions Ver. 5.41 软件计算信噪比和检出限(以 3 倍信噪比计算)，依诺沙星、氧氟沙星、培氟沙星、培氟沙星、环丙沙星、洛美沙星、达氟沙星、恩诺沙星、沙拉沙星、噁喹酸、氟甲喹、吡呱酸、萘啶酸和西诺沙星的信噪比和方法检出限如表 6 所示。

表 6 信噪比(S/N)和方法检出限(LOD)

名称	浓度水平(µg/L)	S/N	LOD(ng/L)
依诺沙星	1.00	13.99	2.36
氧氟沙星	0.50	30.66	0.54
诺氟沙星	5.00	38.72	4.26
培氟沙星	1.00	46.99	0.70
环丙沙星	1.00	7.97	4.14
洛美沙星	0.50	50.95	0.32
达氟沙星	1.00	9.50	3.47
恩诺沙星	1.00	32.37	1.02
沙拉沙星	1.00	9.16	3.60
噁喹酸	0.50	39.59	0.42
氟甲喹	0.50	69.69	0.24
吡呱酸	0.50	26.84	0.61
萘啶酸	0.50	44.12	0.37
西诺沙星	5.00	29.67	5.56

## 2.6 加标回收率实验

以地表水为待测样品，检测 14 种喹诺酮类抗生素。在地表水中检测到萘啶酸，含量为 9.17 ng/L，色谱图如图 30。为了研究该前处理方法对不同浓度水样的提取效率，以 100 mL 水样为研究对象，分别加入不同量萘啶酸标准物质，水样的浓度分别为 50 ng/L、250 ng/L 和 500 ng/L，加标回收率分别为 90.0%、96.2%和 80.8%。地表水加标样品的色谱图见图 31、图 32 和图 33。

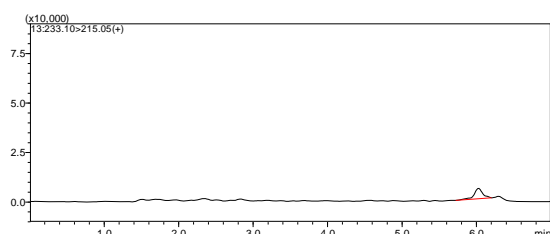


图 30 地表水样检测到萘啶酸色谱图

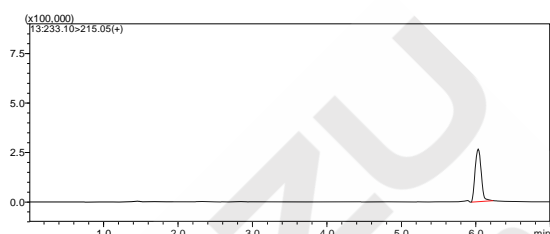


图 32 地表水样加标(250 ng/L)色谱图

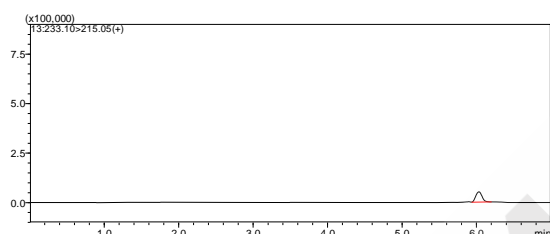


图 31 地表水样加标(50 ng/L)色谱图

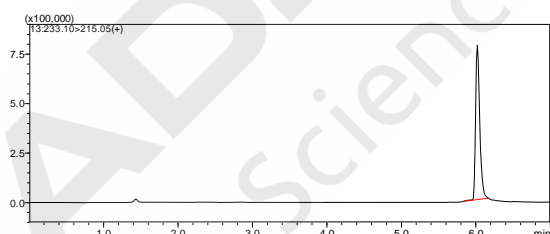


图 33 地表水样加标(500 ng/L)色谱图

## 3 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-8030联用测定地表水中14种喹诺酮类抗生素的方法。该方法在7.0 min 之内完成14 种目标物的分离分析，且精密度高，线性范围宽，校准曲线的相关系数均在0.999以上。在地表水中检测到萘啶酸，含量为9.17 ng/L，萘啶酸的加标回收率在80.8%~96.2%之间。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喹诺酮类抗生素污染现状的调研工作。

# 三重四极杆质谱检测环境水中的大环内酯类抗生素

**摘要:** 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-8030 联用快速测定环境水中痕量 (ng/L) 大环内酯类抗生素的方法。样品经提取后, 用超高效液相色谱 LC-30A 分离, 三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 进行定量分析。8 种大环内酯类抗生素在 4 分钟内得到快速分离和检测。螺旋霉素、替米考星在 5~200  $\mu\text{g/L}$ ; 竹桃霉素、泰乐菌素、北里霉素、红霉素、交沙霉素、罗红霉素在 1-500  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好, 标准曲线的相关系数均在 0.9996 以上; 对 5  $\mu\text{g/L}$ 、20  $\mu\text{g/L}$  和 200  $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液进行精密实验, 连续 6 次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 1.87% 和 5.04% 以下, 系统精密良好。

**关键词:** 环境水 大环内酯类抗生素 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

人们在日常生活过程中对药物的使用, 尤其是抗生素类药物的大量使用以及其对环境生态的影响, 长期以来一直被忽视。近年来在一些欧美发达国家, 抗生素滥用所造成的水环境污染已经引起了高度关注。我国被视为滥用抗生素类药物最为严重的国家之一, 因此对我们来说建立环境水当中抗生素残留量的检测分析方法应视为重中之重。大环内酯类抗生素 (Macrolide Antibiotics) 是一类用量大、使用范围广且容易进入环境水体的抗生素, 在水体中多以痕量存在, 因此检测难度较大。目前国内尚未有对环境水中抗生素类药物痕量分析的相关标准。

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-8030 联用, 建立了一种快速测定环境水中 8 种大环内酯类抗生素 (螺旋霉素、替米考星、竹桃霉素、泰乐菌素、北里霉素、红霉素、交沙霉素、罗红霉素) 的方法, 并采用所建立的方法对上海某条河流水源中的该类抗生素污染状况进行了检测, 供相关检测人员参考。

## 1. 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-8030 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-8030 (三重四极杆质谱仪), LabSolutions Ver. 5.41 (色谱工作站)。

### 1.2 分析条件

#### 液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统

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

流动相: A—0.1% 甲酸水溶液; B—乙腈

流速: 0.4 mL/min

进样体积: 20  $\mu$ L

柱温: 40 $^{\circ}$ C

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 15%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time (min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	40
2.01	Pumps	Pump B Conc.	80
2.20	Pumps	Pump B Conc.	80
2.30	Pumps	Pump B Conc.	15
4.00	Controller	Stop	

### 质谱条件

分析仪器: LCMS-8030  
离子源: ESI, 正离子扫描  
离子源接口电压: ESI(+), 4.5kV  
雾化气: 氮气 3.0 L/min  
干燥气: 氮气 15 L/min  
碰撞气: 氩气  
脱溶剂管温度: 250 $^{\circ}$ C  
加热模块温度: 400 $^{\circ}$ C  
扫描模式: 多反应监测 (MRM)  
驻留时间: 20 ms  
延迟时间: 2 ms  
MRM 参数: 见表 2

表 2. MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	螺旋霉素	843.5	174.14 <sup>*</sup>	-26	-45	-19
			540.25	-26	-35	-20
2	替米考星	869.5	174.10 <sup>*</sup>	-28	-50	-20
			696.55	-28	-40	-28
3	竹桃霉素	688.4	158.15 <sup>*</sup>	-22	-30	-18
			544.35	-22	-15	-30
4	秦乐菌素	916.5	174.15 <sup>*</sup>	-30	-45	-20
			722.45	-30	-30	-30
5	北里霉素	772.3	174.10 <sup>*</sup>	-24	-35	-21
			109.05	-24	-45	-23
6	红霉素	734.3	158.15 <sup>*</sup>	-40	-35	-18
			576.35	-40	-20	-32

7	交沙霉素	828.4	174.15*	-26	-35	-20
			229.15	-26	-30	-17
8	罗红霉素	837.5	158.15*	-26	-40	-18
			679.40	-26	-25	-36

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制:

准确称取适量螺旋霉素、替米考星、竹桃霉素、泰乐菌素、北里霉素、红霉素、交沙霉素、罗红霉素 8 种标准物质，用甲醇配制 1000 mg/L 的混合标准储备溶液溶液，用流动相稀释成浓度为 1、2、5、10、20、50、100、200、500  $\mu\text{g/L}$  的标准工作液。

环境水样品前处理方法:

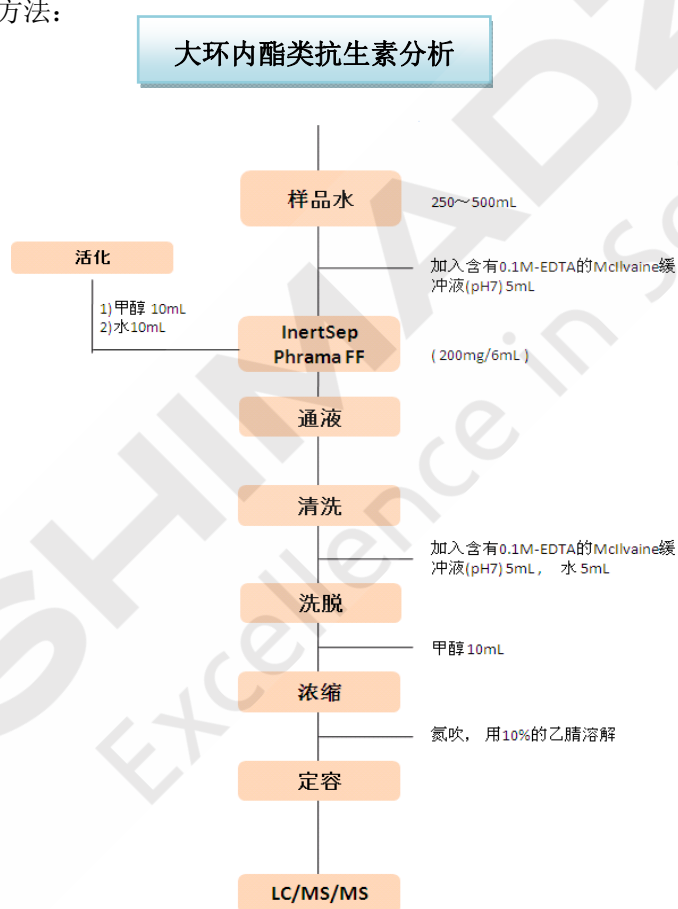


图 1. 环境水中大环内酯类抗生素样品前处理流程图

## 2. 结果讨论

### 2.1 标准样品的产物离子扫描

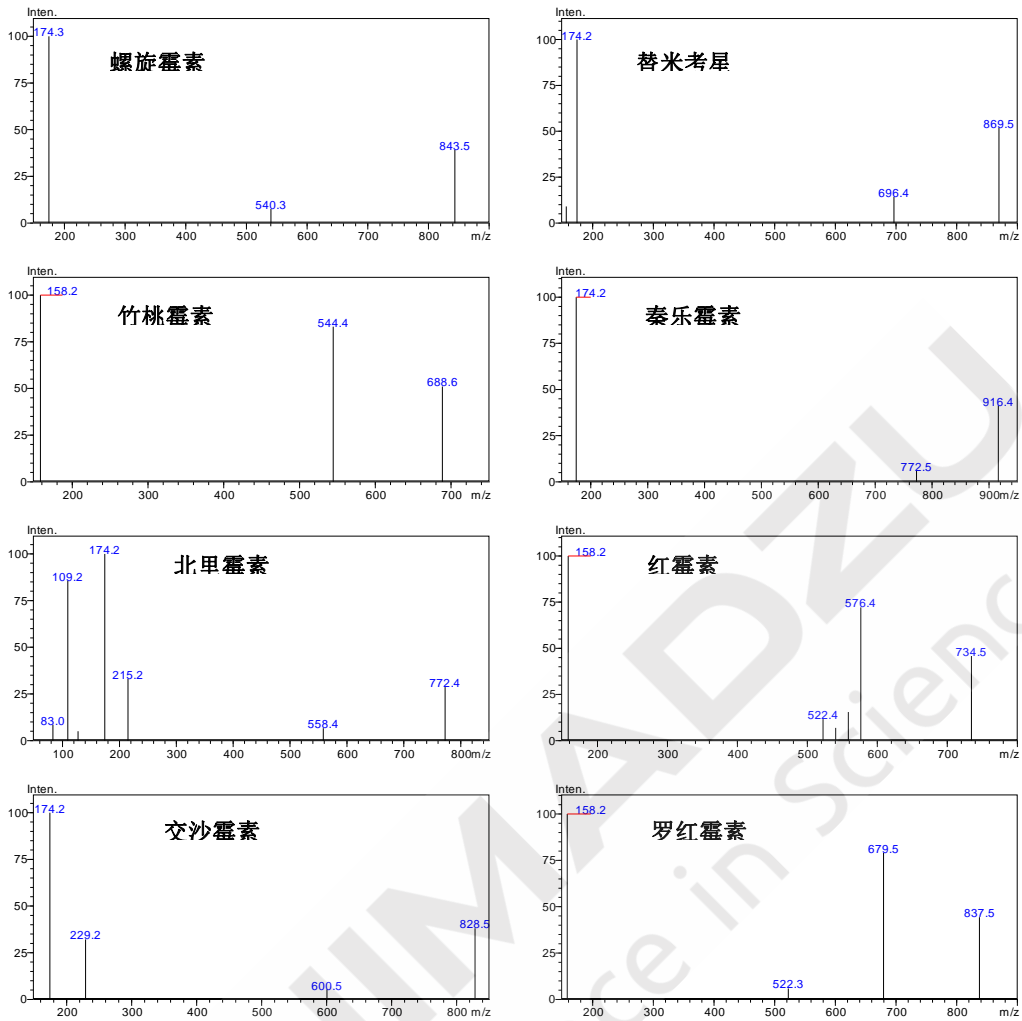


图 2. 标准样品产物离子扫描结果

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

图 3 为 500  $\mu\text{g/L}$  标准样品的 MRM 色谱，8 种大环内酯类抗生素在 4 分钟内得到了快速检测。

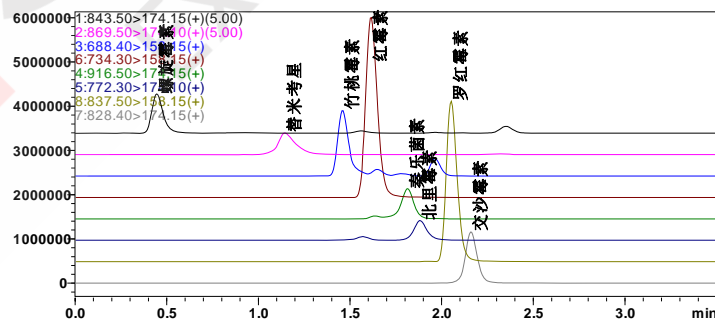


图 3. 大环内酯类抗生素标准样品的 MRM 色谱图

## 2.3 线性关系

将浓度为 1、2、5、10、20、50、100、200、500  $\mu\text{g/L}$  的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 4 所示。螺旋霉素、替米

考星在 5~200  $\mu\text{g/L}$ ; 竹桃霉素、秦乐菌素、北里霉素、红霉素、交沙霉素、罗红霉素在 1-500  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好。线性方程、相关系数及由软件计算得检出限和定量限见表 3。

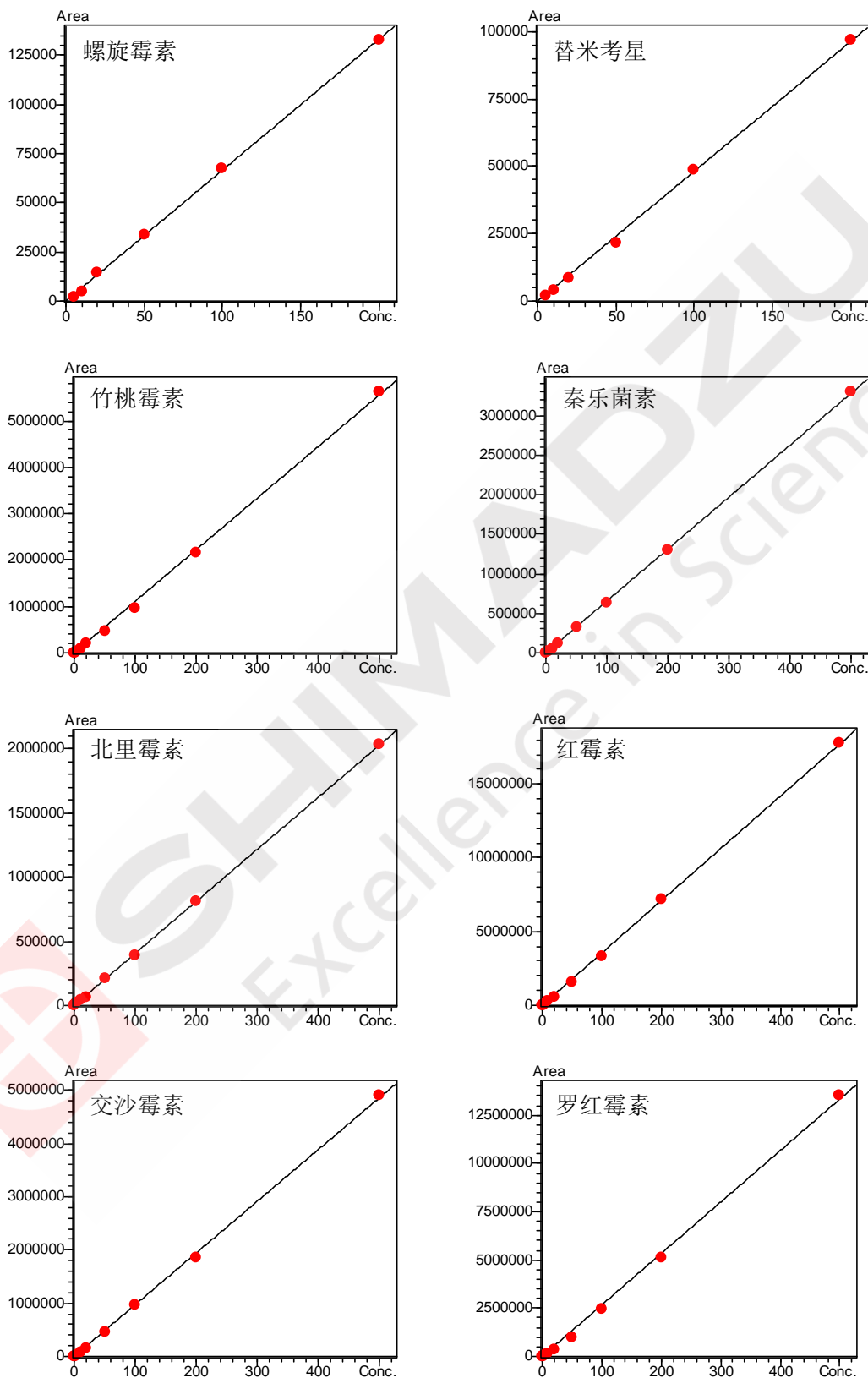


图 4.8 种大环内酯类抗生素的标准工作曲线

表 3.8 种大环类抗生素的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围	检出限( $\mu\text{g/L}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )
1	螺旋霉素	$Y = 665.9713X$	0.9997	5-200	1.24	3.76
2	替米考星	$Y = 482.1126X$	0.9997	5-200	1.07	3.24
3	竹桃霉素	$Y = 11126.75 X$	0.9996	1-500	0.16	0.48
4	泰乐菌素	$Y = 6573.865 X$	0.9999	1-500	0.11	0.35
5	北里霉素	$Y = 4055.260X$	0.9999	1-500	0.19	0.57
6	红霉素	$Y = 35452.73X$	0.9999	1-500	0.13	0.39
7	交沙霉素	$Y = 9725.036X$	0.9998	1-500	0.18	0.54
8	罗红霉素	$Y = 26698.20X$	0.9996	1-500	0.13	0.40

## 2.4 精密度实验

对 5  $\mu\text{g/L}$ 、20  $\mu\text{g/L}$  和 200  $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液连续 6 次进样，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。3 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.02%~1.87%和 0.97%~5.04 %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 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (20 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (200 $\mu\text{g/L}$ )	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
螺旋霉素	1.87	3.82	0.17	1.67	0.20	1.22
替米考星	1.50	4.06	0.36	3.53	0.42	2.04
竹桃霉素	0.11	1.83	0.13	2.55	0.08	1.51
泰乐菌素	0.06	3.40	0.05	2.23	0.05	0.97
北里霉素	0.07	4.52	0.09	3.81	0.03	1.68
红霉素	0.10	5.04	0.08	4.41	0.08	1.24
交沙霉素	0.10	2.97	0.04	3.74	0.03	1.81
罗红霉素	0.08	5.00	0.05	4.16	0.02	1.06

## 2.5 基质加标实验

为了考察方法的灵敏度，在处理后的空白地表水样品中添加混合标样，其中螺旋霉素和替米考星加标浓度为 5  $\mu\text{g/L}$ ；其他样品加标浓度为 1  $\mu\text{g/L}$ ，得到色谱图如图 5 所示。从图中可以看到，基质加标样品在定量限上均有很好的响应。

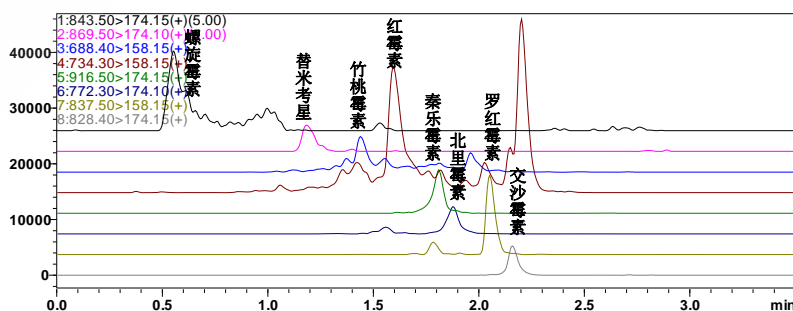


图 5. 地表水空白基质加标样品的色谱图

---

### 3. 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用测定环境中 8 种大环内酯类抗生素的方法。该方法分析速度快，灵敏度高，精密度良好；螺旋霉素、替米考星在 5 ~ 200  $\mu\text{g/L}$ ；竹桃霉素、泰乐菌素、北里霉素、红霉素、交沙霉素、罗红霉素在 1-500  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好，所有样品的标准曲线的相关系数均在 0.9996 以上。在处理后的空白地表水样品中添加混合标样，基质加标样品在定量限上均有很好的响应。



SHIMADZU  
Excellence in Science

## 三重四极杆质谱检测环境水中的 $\beta$ -内酰胺类抗生素

**摘要:** 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-8030 联用快速测定环境水中痕量 (ng/L)  $\beta$ -内酰胺类抗生素的方法。样品经提取后, 用超高效液相色谱 LC-30A 分离, 三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 进行定量分析。6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素在 3 分钟内得到快速分离和检测。所有样品在 0.5 ~ 1000  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内线性良好, 标准曲线的相关系数均在 0.9999 以上; 对 0.5  $\mu\text{g/L}$ 、2  $\mu\text{g/L}$  和 5  $\mu\text{g/L}$  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相对标准偏差分别在 0.728% 和 3.581% 以下, 系统精密度良好; 从本市某自来水厂水源中检测出青霉素 V、邻氯青霉素和乙氧萘青霉素, 含量分别为 3.126、8.638 和 2.900 ng/L。

**关键词:** 环境水  $\beta$ -内酰胺类抗生素 超高效液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

随着抗生素的大量使用, 在环境中相继检出抗生物质, 并且抗生素在环境水体中的污染尤为严重。这些在环境水体中残留的抗生素会引起细菌抗药性增强, 已经直接影响到了人类的健康。 $\beta$ -内酰胺类抗生素 ( $\beta$ -lactams) 是一类用量大、使用范围广且容易进入环境水体的抗生素, 在水体中多以痕量存在, 以此检测难度较大、分析成本高。目前国内尚未有对环境水中抗生素类药物痕量分析的相关标准。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-8030 联用, 建立了一种快速准确测定环境水中  $\beta$ -内酰胺类抗生素的方法, 并采用所建立的方法对上海某条河流水源中的  $\beta$ -内酰胺类抗生素污染状况进行了检测, 供相关检测人员参考。

### 1. 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-8030 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-8030 (三重四极杆质谱仪), LabSolutions Ver. 5.41 (色谱工作站)。

#### 1.2 分析条件

##### 液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统

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

流动相: A—0.1%甲酸水溶液; B—乙腈

流速: 0.4 mL/min

进样体积: 20  $\mu\text{L}$

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 40%，时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time (min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	65
2.01	Pumps	Pump B Conc.	90
2.30	Pumps	Pump B Conc.	90
2.31	Pumps	Pump B Conc.	40
4.00	Controller	Stop	

**质谱条件**

分析仪器： LCMS-8030  
 离子源： ESI，正离子同时扫描  
 离子源接口电压： ESI+ 4.5kV  
 雾化气： 氮气 3.0 L/min  
 干燥气： 氮气 15 L/min  
 碰撞气： 氩气  
 脱溶剂管温度： 250℃  
 加热模块温度： 400℃  
 扫描模式： 多反应监测（MRM）  
 驻留时间： 20 ms  
 延迟时间： 2 ms  
 MRM 参数： 见表 2

表 2. MRM 参数

编号	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	青霉素G	335	160*	-10	-15	-19
			176	-10	-15	-21
2	青霉素 V	351	160*	-18	-15	-19
			114	-18	-40	-23
3	苯唑青霉素	402	160*	-12	-10	-19
			143	-12	-10	-19
4	邻氯青霉素	436	160*	-13	-15	-12
			277	-13	-20	-21
5	乙氧萘青霉素	415	199*	-13	-15	-15
			171	-13	-35	-20
6	双氯青霉素	470	160*	-14	-15	-18
			311	-14	-15	-24

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

标准溶液配制:

准确称取适量青霉素 G、青霉素 V、乙氧萘青霉素、苯唑青霉素、邻氯青霉素、双氯青霉素 6 种标准物质, 用乙腈/水 (1/3) 配制 1000 mg/L 的混合标准储备溶液, 用水稀释成浓度为 0.5、1、2、5、10、20、50、100、200、500、1000  $\mu\text{g/L}$  的标准工作液。

环境水样品前处理方法:

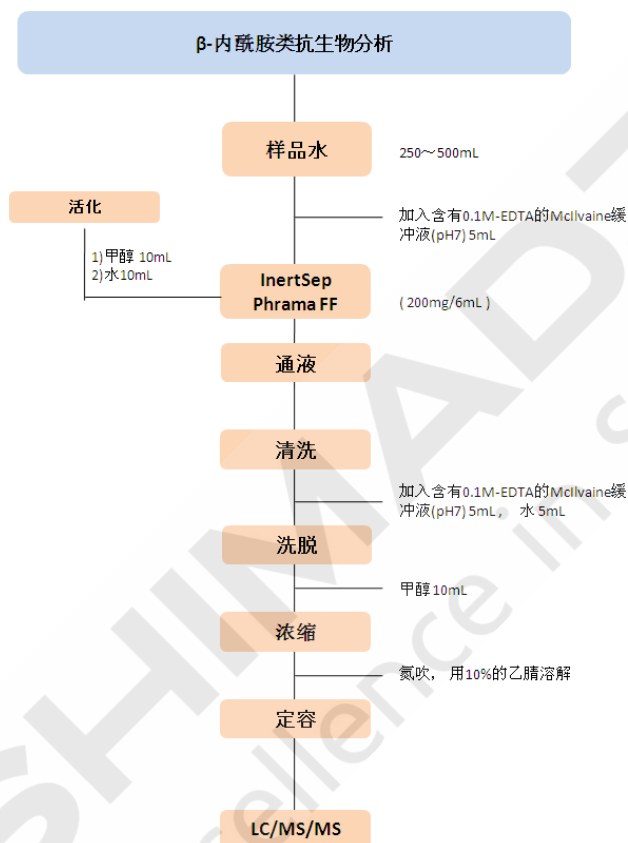


图 1. 环境水中  $\beta$ -内酰胺类抗生素样品前处理流程图

## 2. 结果讨论

### 2.1 标准样品的产物离子扫描

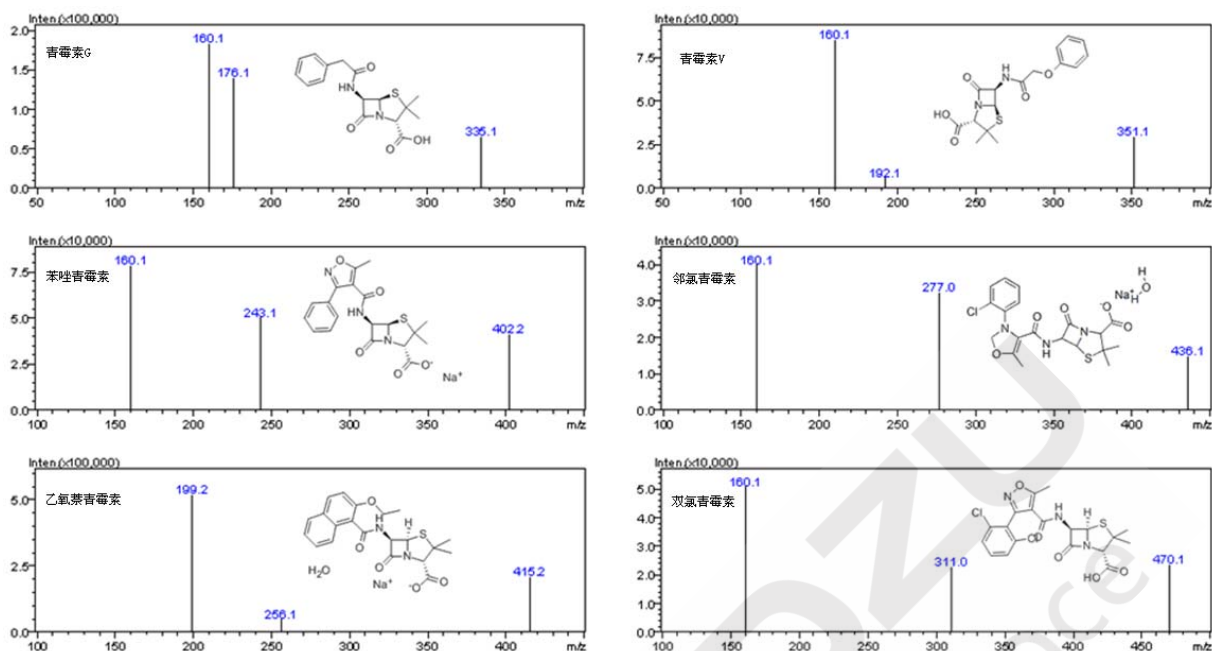


图 2. 标准样品产物离子扫描结果

## 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

图 3 为 500  $\mu\text{g/L}$  标准样品的 MRM 色谱，6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素在 2 分钟内得到了快速检

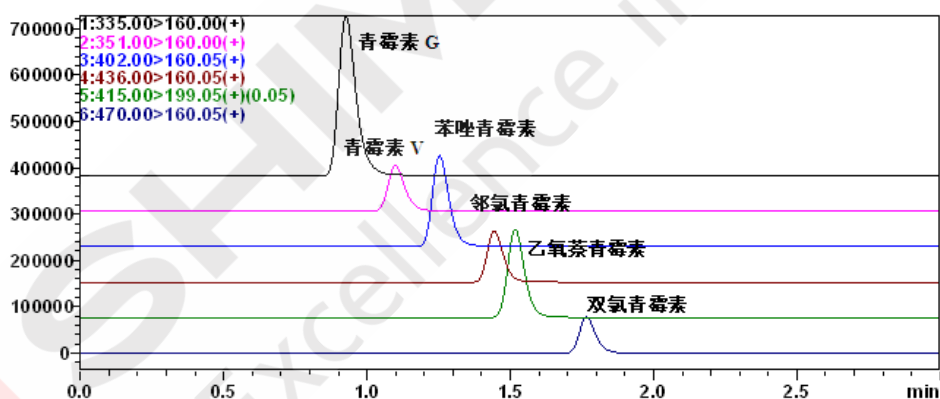


图 3.  $\beta$ -内酰胺类抗生素标准样品的 MRM 色谱图

## 2.3 线性关系

将浓度为 0.5、1、2、5、10、20、50、100、200、500、1000  $\mu\text{g/L}$  的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图所示。6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素在 0.5 ~ 1000  $\mu\text{g/L}$  浓度范围内所得校准曲线线性关系良好。线性方程、相关系数及由软件计算得检出限和定量限见表 3。

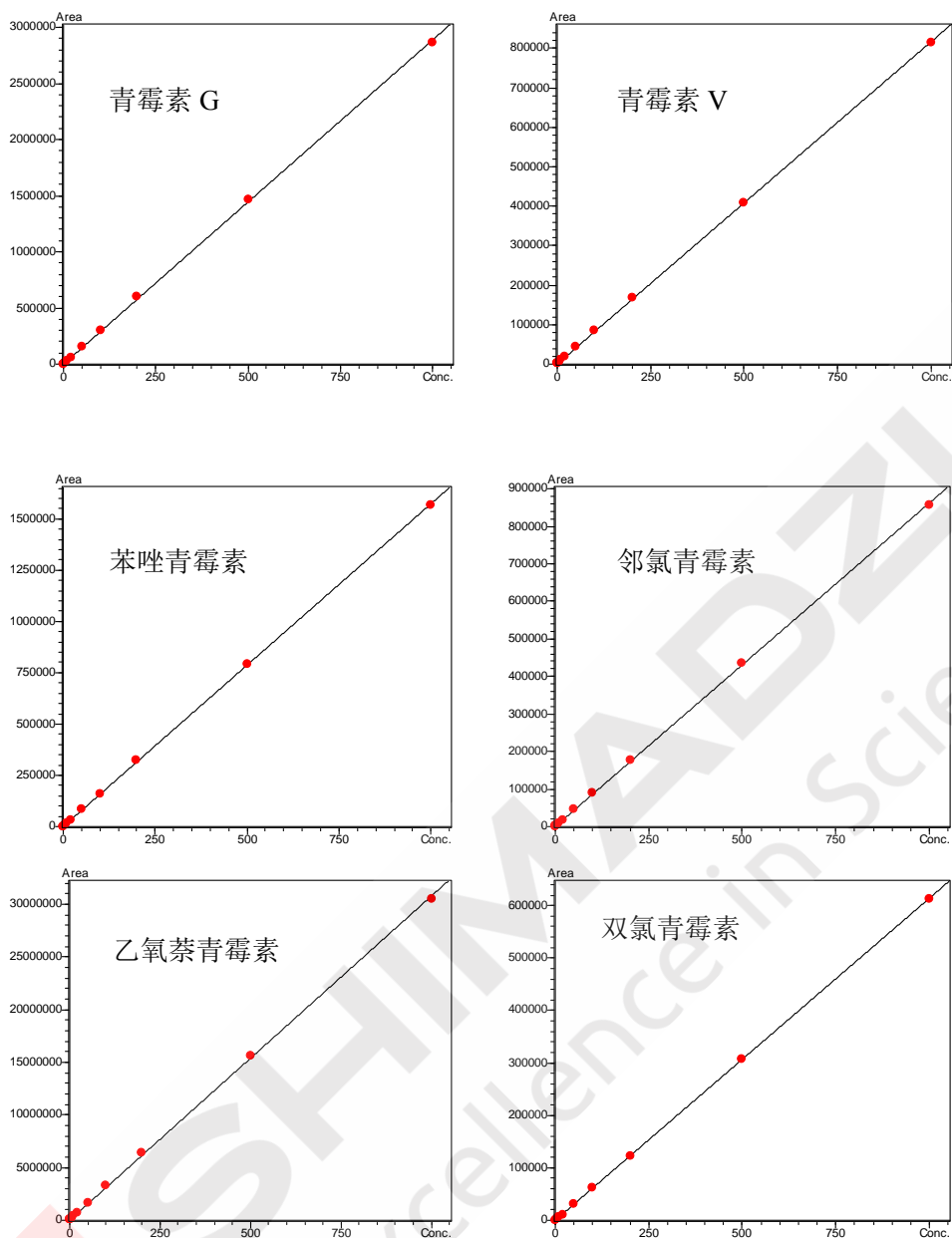


图 4. 6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素的标准工作曲线

表 3. 6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素的校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	相关系数 r	检出限( $\mu\text{g/L}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )
1	青霉素 G	$Y = 2888.94X$	0.9999	0.06	0.20
2	青霉素 V	$Y = 817.009X$	0.9999	0.30	0.71
3	苯唑青霉素	$Y = 1573.83X$	0.9999	0.03	0.17
4	邻氯青霉素	$Y = 861.933X$	0.9999	0.08	0.28
5	乙氧萘青霉素	$Y = 30762.9X$	0.9999	0.01	0.05
6	双氯青霉素	$Y = 614.067X$	0.9999	0.07	0.21

## 2.4 精密度实验

对 5  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$  和 500  $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液连续 6 次进样，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。3 个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.201%~0.728%和 0.719%~3.581%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% (50 µg/L)		RSD% (500 µg/L)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
青霉素 G	0.728	0.935	0.558	2.150	0.469	0.988
青霉素 V	0.506	2.075	0.488	3.409	0.400	0.724
苯唑青霉素	0.607	2.247	0.436	1.215	0.369	1.661
邻氯青霉素	0.463	2.431	0.361	3.149	0.316	1.855
乙氧萘青霉素	0.311	1.549	0.299	0.719	0.300	0.911
双氯青霉素	0.238	3.581	0.201	1.802	0.365	1.360

## 2.5 灵敏度及回收率实验

6 种 β-内酰胺类抗生素低浓度 (0.5 µg/L) 标准品色谱图如图 5 所示。回收率试验以 500 mL 环境水样为研究对象，分别加入不同浓度的 β-内酰胺类抗生素混标，按 1.3 中的方法进行前处理，以考察分析方法的可靠性。在 500 mL 环境水样中，加标浓度分别为 1 ng/L、4 ng/L 和 10 ng/L，加标回收率结果详见表 5。环境水样加标色谱图见图 6、图 7 和图 8。

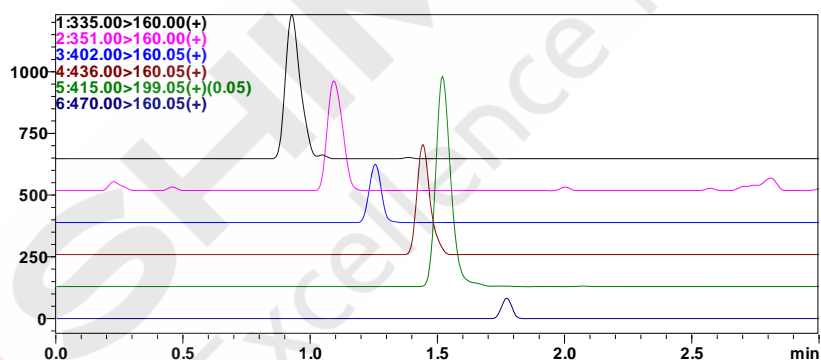


图 5. 0.5 µg/L 6 种 β-内酰胺类抗生素标准样品色谱图

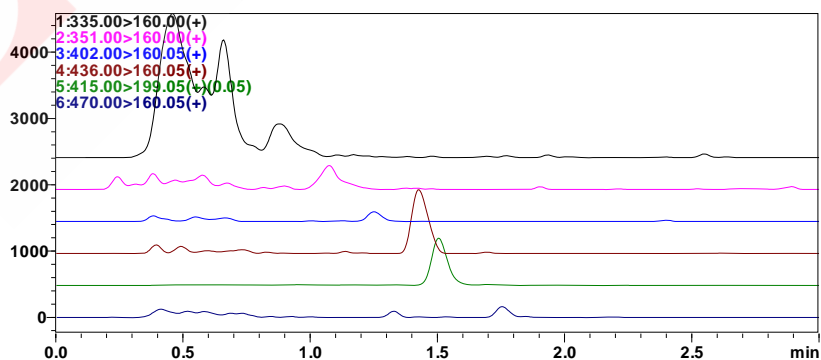


图 6. 1 ng/L 6 种 β-内酰胺类抗生素环境水基质加标色谱图

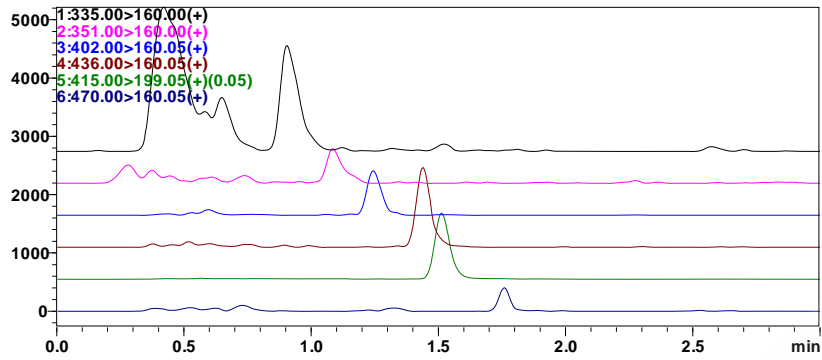


图 7. 4 ng/L 6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素环境水基质加标色谱图

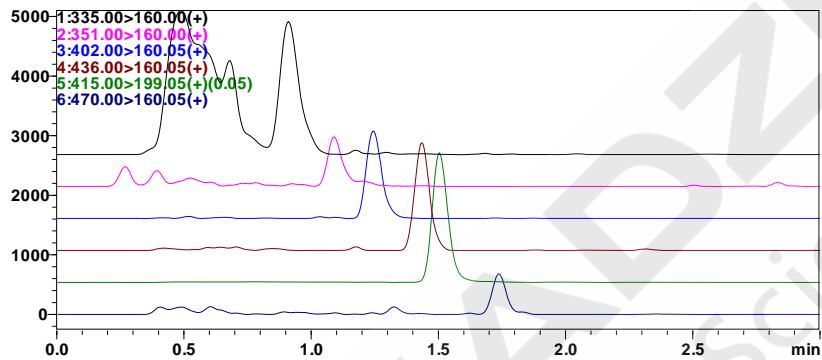


图 8. 10 ng/L 6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素环境水基质加标色谱图

表 5 6 种  $\beta$ -内酰胺类抗生素平均回收率结果

样品名称	加标浓 1 ng/L	加标浓度 4 ng/L	加标浓度 10 ng/L
青霉素 G	91.03%	114.90%	85.18%
青霉素 V	104.13%	87.96%	95.48%
苯唑青霉素	92.40%	86.05%	83.60%
邻氯青霉素	84.32%	89.45%	95.68%
乙氧萘青霉素	88.23%	84.95%	97.34%
双氯青霉素	92.20%	102.55%	85.52%

## 2.6 实际样品

将上海某条河流水源为环境水样品，定性离子对的相对丰度与与浓度相当的标准溶液的相对丰度一致，相对丰度偏差不超过表 6 中的规定，判定样品中存在相应的被测物，环境水样中检出了三种  $\beta$ -内酰胺类抗生素（青霉素 V、邻氯青霉素和乙氧萘青霉素），其浓度分别为 3.126、8.638 和 2.900 ng/L。

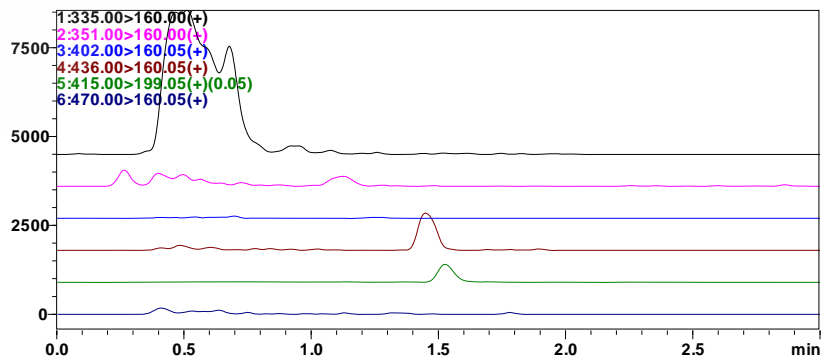


图 9. 环境水样品色谱图

表 6 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	>20%-50%	>10%-20%	≤10%
允许的相对偏差	±20%	±25%	±30%	±50%

表 7 环境水样中检出的三种 β-内酰胺类抗生素相对离子丰度信息

名称	0.5 μg/L 标准样品	环境水样
青霉素 V	39.36	38.35
邻氯青霉素	53.33	51.84
乙氧萘青霉素	36.66	36.90

### 3. 结论

建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用测定环境水中 6 种 β-内酰胺类抗生素的方法。该方法分析速度快，灵敏度高，精密度良好；在 0.05 ~ 1000 μg/L 浓度范围内线性良好，所有样品的标准曲线的相关系数均在 0.9999 以上。从上海某条河流水源中检测出青霉素 V、邻氯青霉素和乙氧萘青霉素，含量分别为 3.126、8.638 和 2.900 ng/L。



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

## ⊕ 岛津企业管理 ( 中国 ) 有限公司 / 岛津 ( 香港 ) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

### 北京

北京市朝阳区朝外大街 16 号中国人寿大厦 14F  
 邮政编码: 100020  
 电话: (010) 8525-2310/2312  
 传真: (010) 8525-2326/2329

### 上海

上海市淮海西路 570 号红坊 E 楼  
 邮政编码: 200052  
 电话: (021) 2201-3888  
 传真: (021) 2201-3555

### 沈阳

辽宁省沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层  
 邮政编码: 110001  
 电话: (024) 2383-6735  
 传真: (024) 2383-6378

### 四川

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞创意成都B座12层  
 邮政编码: 610015  
 电话: (028) 8619-8421/8422  
 传真: (028) 8619-8420

### 武汉

武汉市汉口建设大道568号新世界国贸大厦1座41层4116室  
 邮政编码: 430022  
 电话: (027) 8555-7910  
 传真: (027) 8555-7920

### 广州

广州市流花路109号之9达宝广场7楼  
 邮政编码: 510010  
 电话: (020) 8710-8603  
 传真: (020) 8710-8698

### 西安

西安市南二环西段88号老三届世纪星大厦24层G座  
 邮政编码: 710065  
 电话: (029) 8838-6016  
 传真: (029) 8838-6497

### 乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14层H座  
 邮政编码: 830000  
 电话: (0991) 230-6271/6272  
 传真: (0991) 230-6273

### 昆明

昆明市青年路 432 号天恒大酒店 908 室  
 邮政编码: 650021  
 电话: (0871) 315-2987  
 传真: (0871) 315-2991

### 南京

南京市中山南路 49 号商茂世纪广场 23 层 A1 座  
 邮政编码: 210005  
 电话: (025) 8689-0278  
 传真: (025) 8689-0237

### 重庆

重庆市渝中区青年路 38 号重庆国贸中心 1702 室  
 邮政编码: 400010  
 电话: (023) 6380-6057/6058  
 传真: (023) 6380-6551

### 深圳

深圳市福田区福华一路98号卓越大厦15楼1号  
 邮政编码: 518040  
 电话: (0755) 8340-2852  
 传真: (0755) 8389-3100

### 河南

郑州市郑东新区金水东路21号永和广场A区14层1405、1406室  
 邮政编码: 450046  
 电话: (0371) 8663-2981/2983  
 传真: (0371) 8663-2982

### 香港

Suite 1028, Ocean Centre, Harbour City.  
 Tsim Sha tsui, Kowloon, Hong-Kong  
 电话: (00852) 2375-4979  
 传真: (00852) 2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439  
 400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准  
 样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知