

水中磺胺类、喹诺酮类、四环素类抗生素残留的测定

戴琨

(山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101)

摘要: 近年来, 抗生素废水的排放加重了水体严重污染, 水体抗生素污染成为社会亟待解决的问题。抗生素类具有极强的水溶性且化学结构稳定, 容易在水环境中蓄积。目前, 地表水、地下水、饮用水、土壤及污水处理厂出水多次被检测到抗生素残留。

抗生素滥用导致了环境中的抗生素、抗药性细菌、抗药性基因的增多, 对人和动物体造成危害, 抗生素残留污染水环境及影响人体健康问题已成为近些年社会关注的热点。

本实验参考 DB22/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, 利用莱伯泰科 SPE 1000 全自动固相萃取系统进行富集, Multi Vap-10 定量平行浓缩仪进行浓缩, 采用 LC-MS/MS 检测样品, 建立了一套检测水中多种抗生素的实验方案, 此方案的回收率及平行性良好, 适合水中多种抗生素的检测。

关键词: 水质; 固相萃取; 浓缩; 磺胺; 喹诺酮; 四环素; 抗生素

1. 仪器设备及试剂耗材

1.1 仪器设备

1.1.1 SPE1000 全自动固相萃取系统，莱伯泰科公司；

1.1.2 SCIEX-4500 液相色谱-质谱仪，AB 公司；

1.1.3 MultiVap-10 定量平行浓缩仪，莱伯泰科公司；

1.1.4 震荡仪。

1.2 试剂耗材

1.2.1 甲醇（色谱纯，Fisher Chemical）；

1.2.2 甲酸（色谱纯，阿拉丁）；

1.2.3 Na₂EDTA（99%，百灵威）；

1.2.4 HLB 固相萃取柱：500mg/6mL，莱伯泰科公司。

1.3 标准溶液

1.3.1 21 种磺胺类抗生素标准使用液：10 μg/mL，溶剂体系为乙腈：0.1%甲酸水=1：4

1.3.2 12 种喹诺酮类抗生素标准使用液：10 μg/mL，溶剂体系为乙腈：0.1%甲酸水=1：

4

1.3.3 四环素标准使用液：10 μg/mL，溶剂体系为甲醇；

土霉素标准使用液：10 μg/mL，溶剂体系为甲醇；

2. 实验过程

2.1 固相萃取样品测定

量取 1000mL 水样，加入 0.5g Na₂EDTA，充分溶解后经 0.45 μm 滤膜过滤，

然后按图 1 的方法进行固相萃取富集，收集液置于 M10 中 35℃ 浓缩至近干，然后用甲醇：0.1%甲酸水溶液定容至 1mL，待测。



图 1 固相萃取方法流程

2.2 标准曲线配制

配制一系列混合抗生素标准使用液，用乙腈：0.1%甲酸水=1：4 配制浓度分别为 0、10、20、50、100、200、500 ng/mL 的标准溶液，供液相色谱-质谱/质谱测定，得到标准工作曲线。

2.3 加标回收率测定

按照前述的方法准备样品，在样品中加入一定体积的 35 种抗生素标准使用液，加标浓度为 200ng/L，最后得到加标样品待上机检测。

2.4 LC-MS/MS 检测条件

- 色谱柱：Shim-pack Velox C18 (2.7 μ m, 2.1*100mm)；
- 柱温：40℃；
- 进样量：5 μ L；
- 流动相：A:0.1%甲酸水溶液，B: 甲醇（梯度洗脱程序见表 1）；
- 流速：0.40 mL/min；
- 离子源参数：
IS 电压：5500V；气帘气 CUR: 30psi；雾化气 GS1: 50psi；
辅助气 GS2: 60psi；离子源温度 TEM: 600℃；碰撞气 CAD: 9 psi；
- 检测方式：正离子模式，多反应监测（MRM）。

表 1 流动相梯度表

步骤	总时间	流速 (mL/min)	A (0.1%甲酸水溶液) %	B (甲醇) %
1	0	0.4	90	10

2	3.50	0.4	70	30
3	4.50	0.4	70	30
4	6.40	0.4	25	75
5	6.50	0.4	5	95
6	8.20	0.4	5	95
7	8.21	0.4	90	10
8	9.50	0.4	90	10

3. 实验结果

3.1 标准样品色谱图

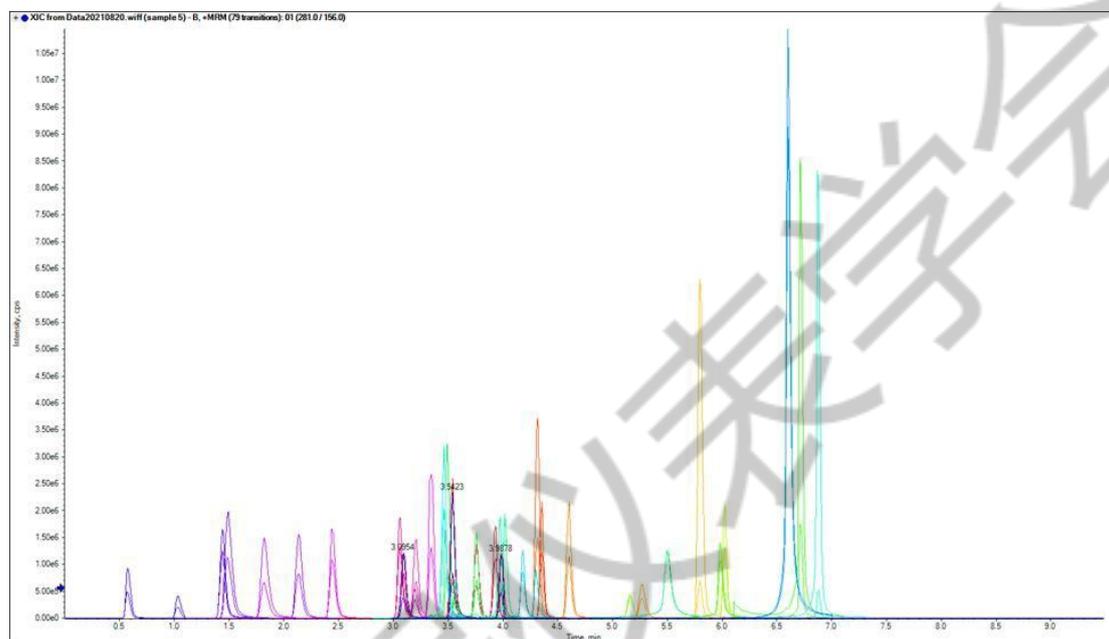


图 2 35 种抗生素色谱图

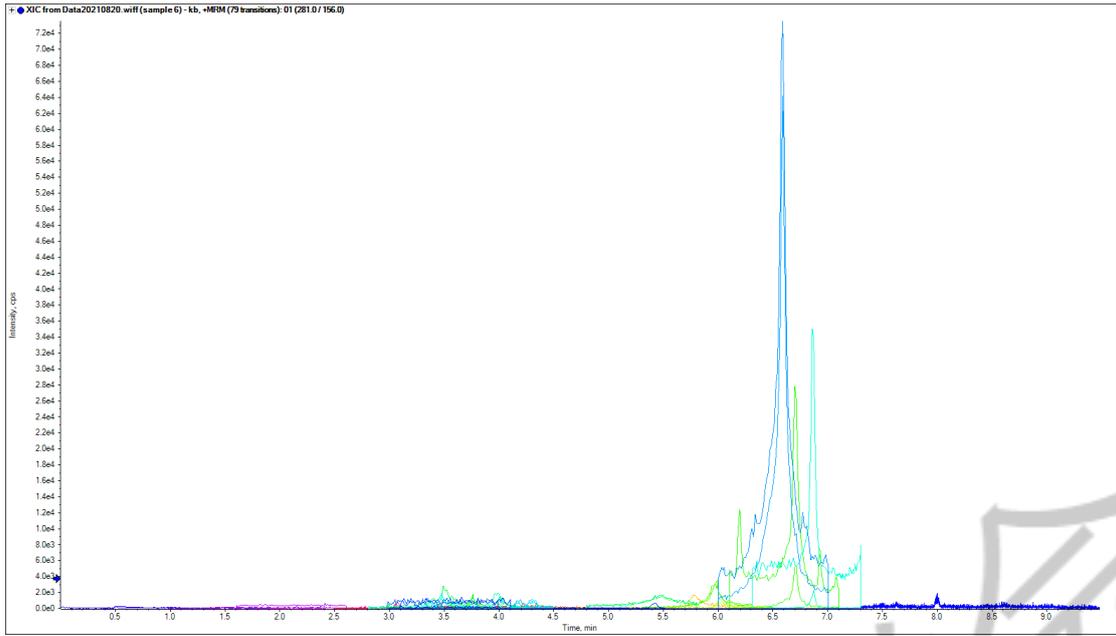


图3 自来水样品谱图

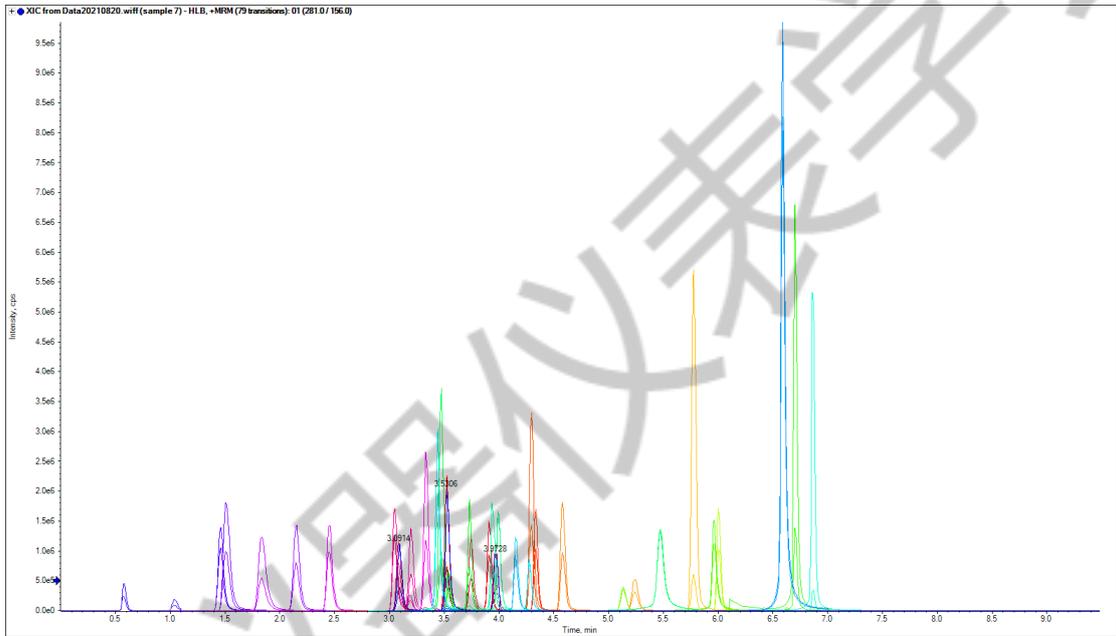


图4 样品加标色谱图

3.2 标准曲线图

35种抗生素标准曲线线性良好， R^2 在0.995-0.9999之间，具体见表2。

表2 35种抗生素线性数据

序号	目标物	标准方程	R^2
1	磺胺甲氧哒嗪	$y=3717.132546x-3986.91331$	0.9991
2	磺胺嘧啶	$y=10777.22676x+6.81909e4$	0.995
3	磺胺二甲基异嘧啶	$y=20081.94273x+3.25382e5$	0.996

4	磺胺吡啶	$y=10437.58816x+648.27812$	0.996
5	磺胺噻唑	$y=11139.53177x-23012.14273$	0.997
6	磺胺甲氧嘧啶	$y=11724.36084x+9.81426e4$	0.993
7	磺胺二甲嘧啶	$y=7454.71601x+5.57874e4$	0.9991
8	磺胺甲噻二唑	$y=7059.57922x+6.83213e4$	0.993
9	磺胺苄氧嘧啶	$y=18311.70455x+3.91436e5$	0.9991
10	磺胺对甲氧嘧啶	$y=4982.71401x+6090.07390$	0.998
11	磺胺氯吡嗪	$y=11844.92493x+10815.02366$	0.997
12	磺胺甲基异唑	$y=6838.04479x-16374.61503$	0.996
13	磺胺间甲氧嘧啶	$y=4323.77874x+5464.06251$	0.9991
14	磺胺异恶唑	$y=3340.45952x-6087.42436$	0.9993
15	磺胺邻二甲氧嘧啶	$y=19800.03116x+2.20808e5$	0.994
16	苯甲酰磺胺	$y=4905.65699x+12808.94002$	0.998
17	磺胺苯吡唑	$y=4566.04380x+17396.37504$	0.993
18	磺胺间二甲氧嘧啶	$y=5.55167e4x+2384.42877$	0.995
19	磺胺喹恶琳	$y=4872.96043x-21692.49629$	0.995
20	磺胺硝苯	$y=372.28825x+2190.77162$	0.9992
21	磺胺氯吡嗪	$y=3429.09757x-347.31111$	0.995
22	恶喹酸	$y=4995.27914x+981.63610$	0.997
23	氟甲喹	$y=6924.80502x+872.70823$	0.992
24	诺氟沙星	$y=1607.77377x-11812.39856$	0.993
25	环丙沙星	$y=9424.46807x-22274.57193$	0.9996
26	培氟沙星	$y=3943.01048x-3.01304e4$	0.992
27	西诺沙星	$y=8409.86961x-8780.22485$	0.9999
28	盐酸洛美沙星	$y=3719.92954x+4268.19484$	0.996
29	恩喹沙星	$y=3703.37371x-6300.18486$	0.998
30	氧氟沙星	$y=3149.46624x+900.49497$	0.998
31	盐酸沙拉沙星	$y=10344.51319x+5.37140e4$	0.994
32	盐酸二氟沙星	$y=2211.31423x+663.63872$	0.993
33	萘啶酸	$y=4096.66699x+774.07341$	0.992
34	四环素	$y=1345.50678x-8239.23361$	0.998
35	土霉素	$y=157.65579x-1595.60701$	0.992

3.3 精密度及准确度结果

通过固相萃取富集、浓缩进行水中 35 种抗生素的加标测试，经 LC-MS/MS 分析结果见表 3。

表 3 自来水加标回收率结果

化合物	加标浓度 ng/L	加标回收率/%						均值	RSD
		1	2	3	4	5	6	%	%
磺胺甲氧	200	81.4	85.4	85.4	77.7	85.9	95.2	85.2	6.9
磺胺嘧啶	200	88.2	79.5	88.8	85.8	87.5	80.6	85.1	4.7
磺胺二甲	200	85.8	92.5	85.8	84.5	81.7	88.5	86.5	4.3
磺胺吡啶	200	80.4	92.9	79.9	94.6	99.9	77.7	87.6	10.7
磺胺噻唑	200	92.3	91.9	84.8	87.6	97.3	98.0	92.0	5.7
磺胺甲氧	200	90.7	76.4	88.5	96.0	75.7	94.0	86.8	10.1
磺胺二甲	200	82.8	86.6	82.9	84.8	91.1	77.3	84.3	5.4
磺胺甲噻	200	86.0	89.3	86.7	86.7	91.0	87.8	87.9	2.1
磺胺苄氧	200	87.1	94.0	100.4	87.1	95.8	93.8	93.0	5.6
磺胺对甲	200	99.0	86.4	92.8	97.6	95.0	92.3	93.8	4.8
磺胺氯吡	200	81.9	81.2	91.0	88.8	83.8	85.2	85.3	4.5
磺胺甲基	200	78.5	94.1	87.6	91.2	82.6	86.1	86.7	6.5
磺胺间甲	200	91.7	83.5	83.8	83.0	81.6	85.7	84.9	4.2
磺胺异恶	200	92.3	83.2	81.4	81.8	86.1	87.1	85.3	4.8
磺胺邻二	200	83.0	87.3	83.9	77.4	85.4	79.7	82.8	4.4
苯甲酰磺	200	88.8	86.9	95.4	79.5	87.5	81.0	86.5	6.6
磺胺苯吡	200	87.9	85.2	79.7	88.3	87.3	76.6	84.2	5.8
磺胺间二	200	93.8	98.4	94.1	89.2	80.8	78.1	89.1	9.1
磺胺喹恶	200	83.4	83.0	85.3	82.9	81.7	83.2	83.2	1.4
磺胺硝苯	200	66.8	76.4	64.4	78.3	67.7	74.1	71.3	8.0
磺胺氯吡	200	92.7	95.2	89.5	88.0	79.8	82.3	87.9	6.8
恶喹酸	200	103.2	101.5	107.5	101.1	88.8	99.7	100.3	6.2
氟甲喹	200	69.3	69.1	74.4	71.3	71.4	68.3	70.6	3.2
诺氟沙星	200	99.4	97.8	84.2	95.9	95.5	82.4	92.5	7.9
环丙沙星	200	104.4	103.7	97.6	106.1	103.7	103.5	103.2	2.8
培氟沙星	200	79.8	96.7	91.6	96.9	82.1	84.5	88.6	8.4
西诺沙星	200	90.5	87.1	86.5	80.8	86.5	85.5	86.2	3.6
盐酸洛美	200	78.7	84.6	89.4	83.2	77.2	80.4	82.3	5.4
恩喹沙星	200	97.0	92.4	95.3	97.2	94.8	93.5	95.0	2.0
氧氟沙星	200	95.2	99.7	94.7	98.4	96.4	102.5	97.8	3.0

盐酸沙拉	200	95.0	94.6	98.9	93.6	97.0	98.7	96.3	2.3
盐酸二氟	200	92.9	105.6	93.8	103.2	96.0	102.4	99.0	5.4
萘啶酸	200	78.6	74.7	77.3	84.9	69.7	72.4	76.2	7.0
四环素	200	70.9	71.8	75.0	74.1	71.3	72.4	72.6	2.3
土霉素	200	84.3	86.2	80.0	85.4	90.1	90.3	86.1	4.5

4. 结果与讨论

本方法采用莱伯泰科 SPE 1000 全自动固相萃取系统和 MultiVap-10 定量平行浓缩仪进行水中 35 种抗生素的富集和浓缩实验, 通过 LC-MS/MS 分析得到样品的加标回收情况, 加标回收率结果在 71.3%-103.2%之间, RSD 在 1.4%- 10.7%之间, 能够满足标准要求。

莱伯泰科 SPE 1000 全自动固相萃取系统可实现最多八个样品同时上样, 萃取大体积水质样品时能实现喷淋进行清洗样品瓶操作, 较少目标物粘壁, 提高回收率, 确保实验结果准确、可重复、无上样管路交叉污染, MultiVap-10 定量平行浓缩仪可实现自动定量, 节省人力, 提高实验效率, 且空白测定结果中没有目标物的检出, 可以确认前处理过程中不会产生系统污染和交叉污染。本实验中采用的固相萃取、浓缩方法简便、快速, 适用于水中多种抗生素的检测分析。

参考文献

DB22/T2838-2017 生活饮用水及水源水中 10 中抗生素的检验方法 超高效液相色谱-质谱/质谱法