

LC-MS/MS 法测定生活饮用水中 14 种喹诺酮类抗生素残留

1 前言

喹诺酮类抗生素是一类人畜通用的药物。因其具有抗菌谱广、抗菌活性强、与其他抗菌药物无交叉耐药性和毒副作用小等特点，被广泛应用于畜牧、水产等养殖业中，包括在鸡、鸭、猪、牛、鱼、虾等的养殖中用于疾病防治。由于喹诺酮类药物在动物机体组织中的残留，人食用动物组织后喹诺酮类抗生素就在人体内残留蓄积，造成人体疾病对该药物的严重耐药性，影响人体疾病的治疗。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则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。因此，本文依据饮用水标准《GB/T 5750.8-2022 生活饮用水标准检验方法 第 8 部分：有机物指标》89.1 项，建立了使用谱育科技自主研发生产的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪 EXPEC 5210 测定生活饮用水中 14 种喹诺酮化合物含量的快速且高灵敏度的检测方法，为生活饮用水中喹诺酮类化合物含量检测提供参考。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：14 种喹诺酮类化合物标准品均购自上海安谱实验科技股份有限公司，于-20℃冰箱保存。

试剂：乙腈、甲醇和甲酸均为色谱级。



2.2 液相和质谱条件

表 1 液相和质谱条件参数

LC 条件	流动相	A: 0.1%甲酸溶液 B: 乙腈-甲醇 (3: 2), 梯度洗脱		
	流速	0.2mL/min		
	色谱柱	Athene UHPLC C18 (2.1 x 100mm, 1.8 μ m)		
	进样量	5 μ L		
	运行时间	15min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0	90	10
		6	70	30
9		50	50	
9.5		0	100	
10.5		0	100	
15		90	10	
MS 条件	运行模式	ESI+		
	雾化气流量	1.2L/min		
	去溶剂气流量	6L/min		
	反吹气流量	1L/min		
	去溶剂气温度	450 $^{\circ}$ C		
	碰撞气流量	0.55mL/min		
	毛细管高压	4.8kV		

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下图 1, 为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

方法片段信	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式	化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
1	0	4.3	ESI+	MRM	吡啶酸	304.3	286.1	0.2	38	18	Unit-Unit
2	4.3	6.15	ESI+	MRM	吡啶酸	304.3	215.1	0.2	38	38	Unit-Unit
3	6.15	15	ESI+	MRM							

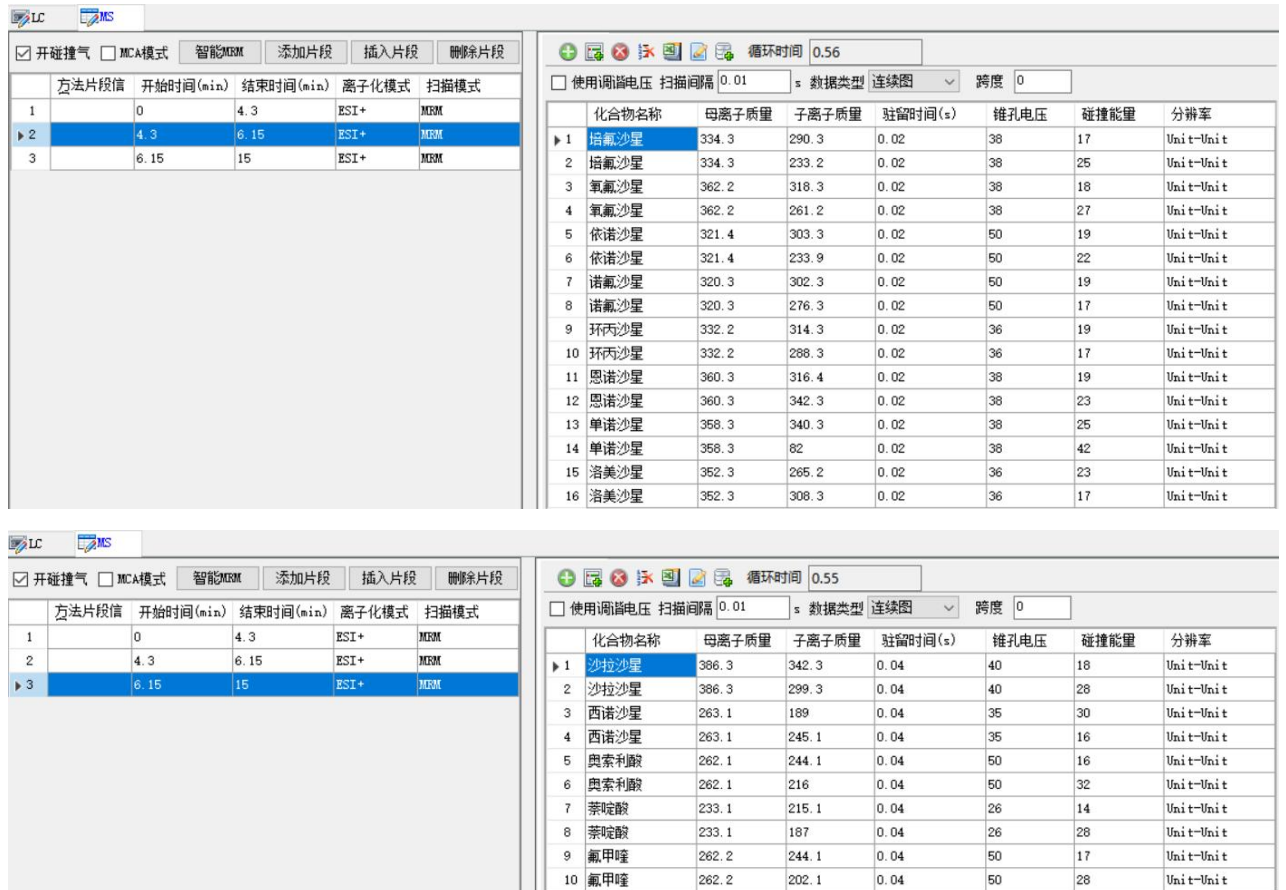


图 1 14 种喹诺酮类化合物质谱参数

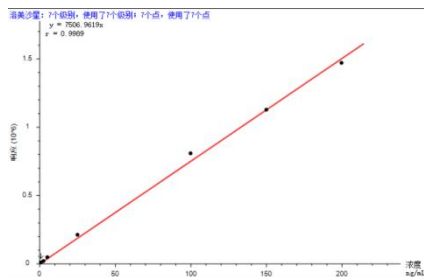
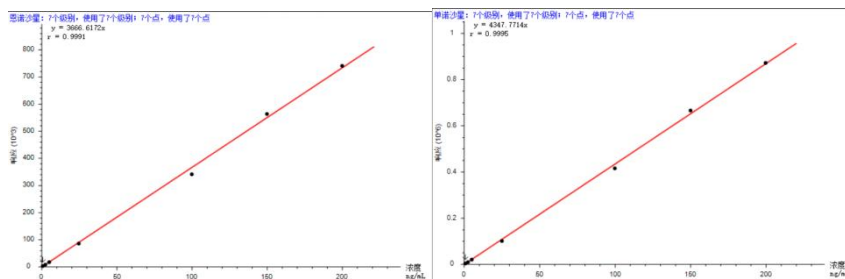
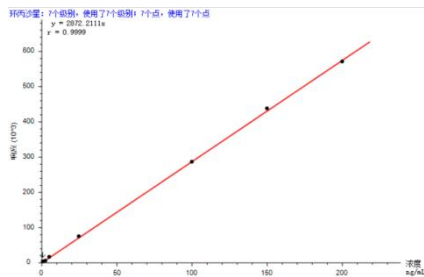
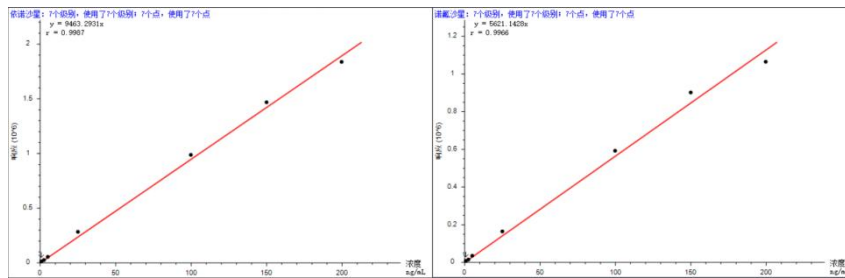
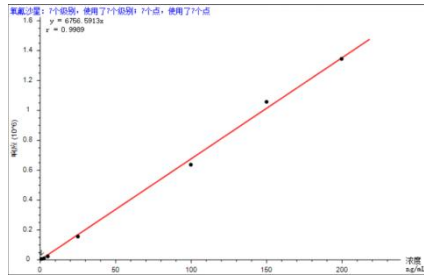
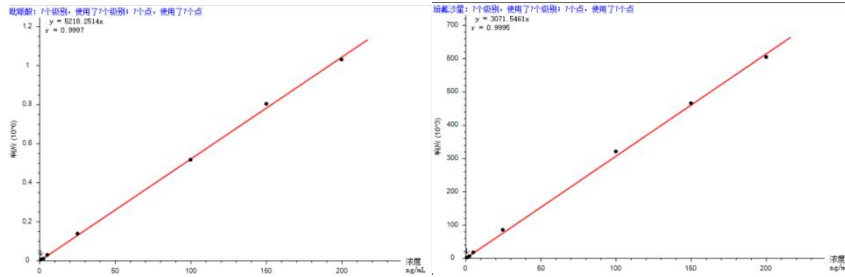
2.3 样品前处理

水样经 0.45um 微孔滤膜过滤后直接进样分析。

3 结果

3.1 线性和检出限

用初始流动相稀释得到一系列浓度的 14 种喹诺酮类化合物混标(1ng/mL、2.5ng/mL、5ng/mL、25ng/mL、100ng/mL、150ng/mL、200ng/mL)，按照上述方法进样，以各目标物的定量离子色谱峰面积平均值为纵坐标(Y)，目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标，采用外标法拟合后 14 种喹诺酮类药物的标准曲线如下图 2 所示，在对应的线性范围内，14 种喹诺酮类化合物的线性系数 r 均在 0.995 以上，线性良好。标准曲线最低点的定量离子的色谱图如图 3 所示。配置 1ng/ml 标准溶液进样，按照 S/N=10 和 S/N=3 计算定量限和检出限，结果如下表 2 所示。



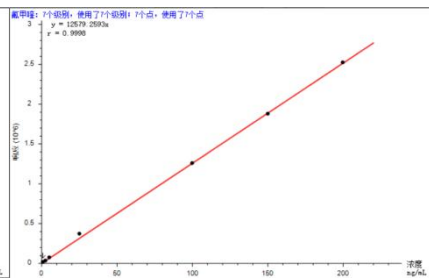
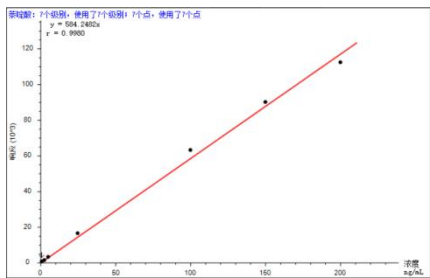
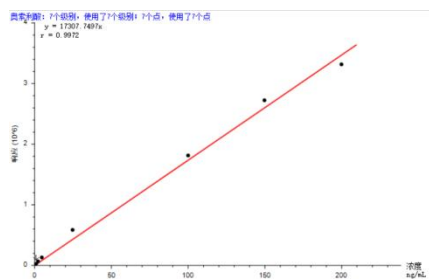
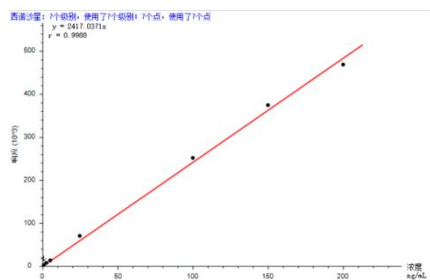
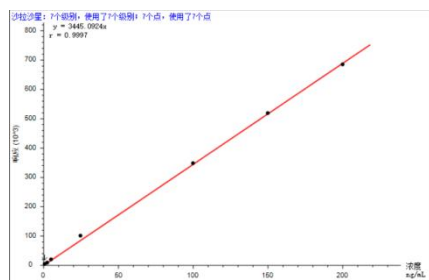


图2 十四种喹诺酮类化合物的标准曲线图

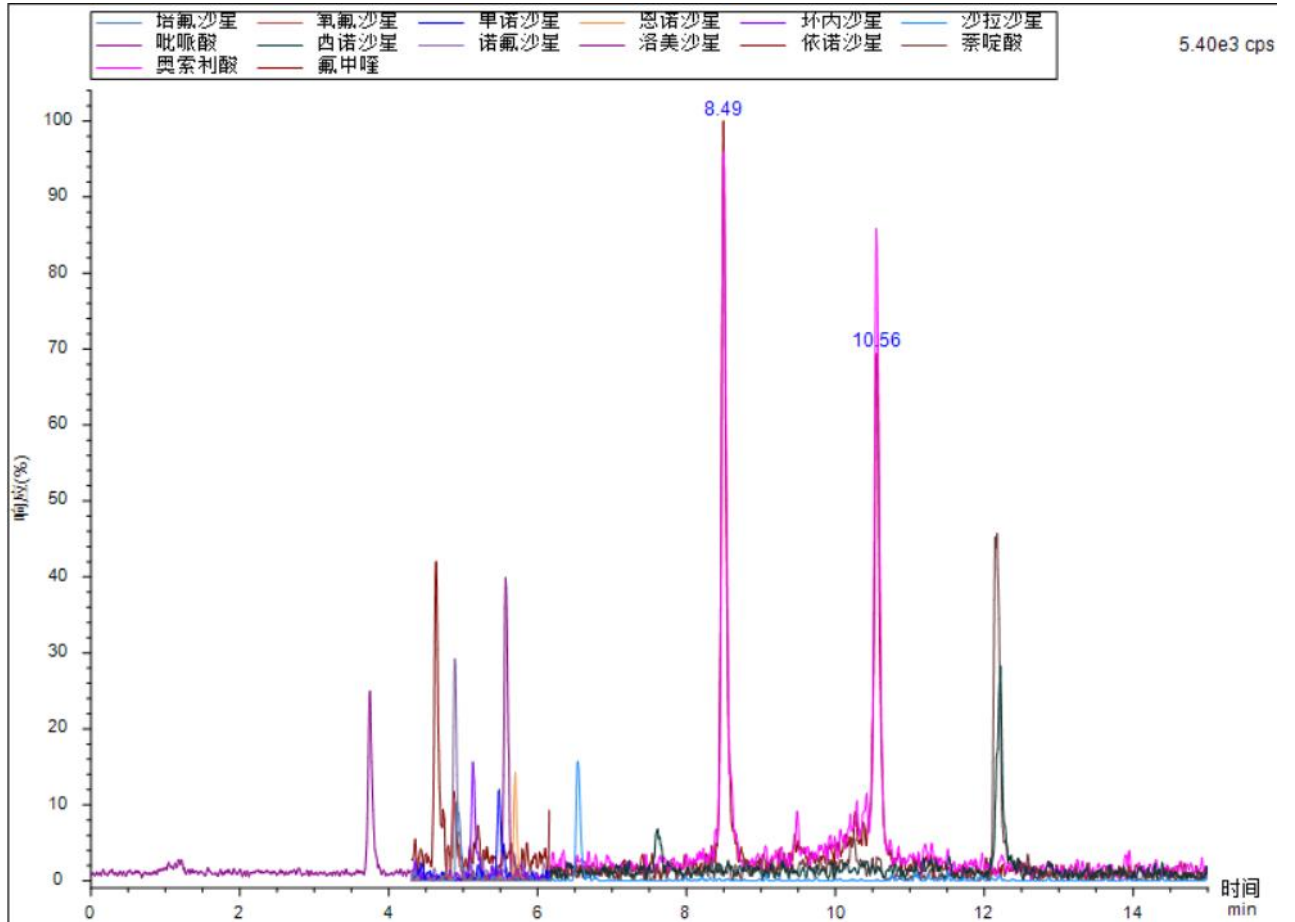


图 3 十四种喹诺酮的 MRM 叠加图 (1ng/ml)

表 2 十四种喹诺酮的检出限和定量限

序号	化合物名称	信噪比 (S/N)	检出限 (ng/ml)	定量限 (ng/ml)
1	吡哌酸	111	0.03	0.09
2	培氟沙星	87	0.04	0.11
3	氧氟沙星	56	0.06	0.18
4	依诺沙星	33	0.10	0.30
5	诺氟沙星	54	0.06	0.19
6	环丙沙星	96	0.03	0.10
7	恩诺沙星	123	0.03	0.08
8	单诺沙星	45	0.07	0.22
9	洛美沙星	112	0.03	0.09
10	沙拉沙星	163	0.02	0.06
11	西诺沙星	15	0.22	0.67
12	奥索利酸	122	0.03	0.08
13	萘啶酸	33	0.10	0.30
14	氟甲喹	141	0.02	0.07

3.2 重复性

分别配置浓度为 1ng/mL、2.5ng/mL 的 14 种喹诺酮类化合物混合标样溶液，分别连续进样 6 次，考察保留时间、峰面积的重复性，结果如下所示。

1ng/mL 重复性：峰面积的 RSD 值在 2.89%-7.81%之间，保留时间的 RSD 值在 0.0%-0.27%之间。

样品信息					吡嗪酸		培氟沙星		氧氟沙星		依诺沙星		诺氟沙星		环丙沙星		恩诺沙星		单诺沙星	
!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	14种喹诺酮-1ppb-1	2021-06-08 17:32	14种喹诺酮线性 20210611	3.73	5668.73	4.92	3426.67	4.86	6166.21	4.62	9210.67	4.87	6302.96	5.10	3401.85	5.67	3694.34	5.46	2868.44
2	▼	14种喹诺酮-1ppb-2	2021-06-08 17:48	14种喹诺酮线性 20210611	3.72	5900.70	4.91	3542.93	4.85	5717.34	4.62	8699.34	4.86	6217.34	5.11	3308.02	5.68	3586.67	5.48	3788.00
3	▼	14种喹诺酮-1ppb-3	2021-06-08 18:03	14种喹诺酮线性 20210611	3.71	5886.74	4.91	3185.09	4.85	5393.83	4.61	8620.00	4.86	5639.34	5.10	3128.07	5.68	3396.67	5.46	3584.00
4	▼	14种喹诺酮-1ppb-4	2021-06-08 18:18	14种喹诺酮线性 20210611	3.72	5909.53	4.91	3210.67	4.86	5044.18	4.61	8356.00	4.86	5792.01	5.09	2996.00	5.66	3506.67	5.45	3574.00
5	▼	14种喹诺酮-1ppb-5	2021-06-08 18:33	14种喹诺酮线性 20210611	3.71	5890.95	4.91	3254.67	4.86	5568.01	4.62	8834.67	4.86	6670.05	5.11	2873.33	5.67	2994.67	5.47	3414.67
6	▼	14种喹诺酮-1ppb-6	2021-06-08 18:49	14种喹诺酮线性 20210611	3.73	5180.63	4.92	3128.00	4.86	5047.69	4.63	8018.01	4.86	6055.12	5.10	2806.71	5.67	3298.67	5.48	3640.00
Mn					3.71	5180.63	4.91	3128.00	4.85	5044.18	4.61	8018.01	4.86	5639.34	5.09	2806.71	5.66	2994.67	5.45	3414.67
Max					3.73	5909.53	4.92	3542.93	4.86	6166.21	4.63	9210.67	4.87	6670.05	5.11	3401.85	5.68	3694.34	5.48	3868.44
AVG					3.72	5739.55	4.91	3291.34	4.86	5489.54	4.62	8623.11	4.86	6112.80	5.10	3085.66	5.67	3412.95	5.46	3644.85
SD					0.01	288.74	0.00	159.64	0.00	428.64	0.01	408.24	0.00	370.95	0.01	237.55	0.01	247.56	0.01	162.61
RSD					0.17	5.03	0.10	4.85	0.10	7.81	0.15	4.73	0.08	6.07	0.14	7.70	0.12	7.25	0.21	4.46
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

样品信息					洛美沙星		沙拉沙星		西诺沙星		奥索利酸		茶啶酸		氟甲唑	
!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	14种喹诺酮-1ppb-1	2021-06-08 17:32	14种喹诺酮线性 20210611	5.56	9626.47	6.52	4162.32	7.60	4046.20	8.49	27960.55	10.24	1072.94	10.57	20060.59
2	▼	14种喹诺酮-1ppb-2	2021-06-08 17:48	14种喹诺酮线性 20210611	5.55	8468.01	6.52	3793.03	7.60	3883.20	8.49	27318.21	10.22	1009.45	10.56	19836.64
3	▼	14种喹诺酮-1ppb-3	2021-06-08 18:03	14种喹诺酮线性 20210611	5.55	9167.78	6.52	3587.77	7.60	4216.31	8.49	26382.89	10.24	1142.20	10.56	21315.06
4	▼	14种喹诺酮-1ppb-4	2021-06-08 18:18	14种喹诺酮线性 20210611	5.55	9212.01	6.51	4140.06	7.58	4172.14	8.49	27666.22	10.29	1061.86	10.56	21689.26
5	▼	14种喹诺酮-1ppb-5	2021-06-08 18:33	14种喹诺酮线性 20210611	5.55	9242.67	6.51	4050.69	7.61	4055.92	8.49	26656.59	10.22	1010.18	10.56	22806.27
6	▼	14种喹诺酮-1ppb-6	2021-06-08 18:49	14种喹诺酮线性 20210611	5.55	8130.67	6.51	3536.37	7.61	4031.40	8.49	25614.23	10.25	1181.51	10.55	20179.69
Min					5.55	8130.67	6.51	3536.37	7.58	3883.20	8.49	25614.23	10.22	1009.45	10.55	19836.64
Max					5.56	9626.47	6.52	4162.32	7.61	4216.31	8.49	27960.55	10.29	1181.51	10.57	22806.27
AVG					5.55	8974.60	6.52	3878.37	7.60	4067.53	8.49	26933.12	10.24	1079.69	10.56	20981.25
SD					0.00	558.45	0.01	278.39	0.01	117.43	0.00	878.64	0.03	69.86	0.01	1161.35
RSD					0.07	6.22	0.11	7.18	0.13	2.89	0.00	3.26	0.27	6.47	0.05	5.54
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

2.5ng/mL 重复性：峰面积的 RSD 值在 2.24%-5.49%之间，保留时间的 RSD 值在 0.04%-0.16%之间。

样品信息					吡嗪酸		培氟沙星		氧氟沙星		依诺沙星		诺氟沙星		环丙沙星		恩诺沙星		单诺沙星	
!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-1	2021-06-09 17:25	14种喹诺酮线性 20210611	3.73	10907.77	4.92	5249.33	4.86	4686.33	4.62	12045.34	4.87	11074.67	5.12	6038.67	5.68	5172.08	5.48	5162.67
2	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-2	2021-06-09 17:40	14种喹诺酮线性 20210611	3.73	9949.99	4.93	5610.78	4.87	4863.34	4.63	19248.21	4.89	11540.01	5.12	6451.28	5.70	4904.20	5.49	5744.22
3	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-3	2021-06-09 17:55	14种喹诺酮线性 20210611	3.73	10478.59	4.91	5645.29	4.86	4670.67	4.63	12366.68	4.87	11757.34	5.11	6414.00	5.69	5314.67	5.47	5715.39
4	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-4	2021-06-09 18:11	14种喹诺酮线性 20210611	3.73	9788.64	4.93	5042.00	4.88	4470.00	4.63	19286.01	4.88	12522.67	5.12	6388.00	5.68	4761.33	5.48	5684.00
5	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-5	2021-06-09 18:26	14种喹诺酮线性 20210611	3.72	10092.92	4.92	5316.83	4.86	4665.34	4.63	18777.35	4.88	10946.67	5.12	6069.33	5.68	5214.59	5.48	5320.00
6	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-6	2021-06-09 18:41	14种喹诺酮线性 20210611	3.72	10868.97	4.92	5527.33	4.87	4154.67	4.62	19524.01	4.87	11302.00	5.11	5570.67	5.69	4763.04	5.48	5580.00
Min					3.72	9788.64	4.91	5042.00	4.86	4154.67	4.62	18777.35	4.87	10946.67	5.11	5570.67	5.68	4761.33	5.47	5162.67
Max					3.73	10907.77	4.93	5645.29	4.88	4863.34	4.63	21366.68	4.89	12522.67	5.12	6451.28	5.70	5314.67	5.49	5744.22
AVG					3.72	10347.81	4.92	5398.59	4.87	4585.06	4.62	19874.60	4.88	11523.89	5.12	6155.32	5.69	5021.65	5.48	5534.38
SD					0.00	477.11	0.01	236.04	0.01	244.92	0.00	1064.20	0.01	572.11	0.00	338.07	0.01	242.55	0.01	238.91
RSD					0.10	4.61	0.14	4.37	0.16	5.34	0.10	5.35	0.16	4.96	0.09	5.48	0.13	4.83	0.11	4.32
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

样品信息					洛美沙星		沙拉沙星		西诺沙星		奥索利酸		茶啶酸		氟甲唑	
!	▼	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-1	2021-06-09 17:40	14种喹诺酮线性 20210611	5.56	16534.01	6.52	7289.89	7.58	5518.43	8.49	51088.90	10.24	2134.60	10.55	32856.16
2	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-2	2021-06-09 17:40	14种喹诺酮线性 20210611	5.57	18043.33	6.53	7449.08	7.61	5810.36	8.49	52341.52	10.24	2399.70	10.55	30029.82
3	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-3	2021-06-09 17:55	14种喹诺酮线性 20210611	5.56	16848.01	6.52	7772.02	7.61	5827.39	8.49	52401.77	10.22	2289.83	10.54	30425.94
4	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-4	2021-06-09 18:11	14种喹诺酮线性 20210611	5.57	16733.33	6.54	7857.13	7.61	5886.32	8.49	51908.41	10.22	2281.73	10.55	31276.52
5	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-5	2021-06-09 18:26	14种喹诺酮线性 20210611	5.57	18472.00	6.54	7411.90	7.60	5776.32	8.49	49660.57	10.25	2323.11	10.55	31233.72
6	▼	14种喹诺酮2-2.5ppb-6	2021-06-09 18:41	14种喹诺酮线性 20210611	5.57	16726.67	6.53	7515.35	7.60	5725.24	8.49	49281.12	10.22	2233.00	10.55	29254.35
Min					5.56	16534.01	6.52	7289.89	7.58	5518.43	8.49	49281.12	10.22	2134.60	10.54	29254.35
Max					5.57	18472.00	6.54	7857.13	7.61	5886.32	8.49	52401.77	10.25	2399.70	10.55	32856.16
AVG					5.57	17226.22	6.53	7549.23	7.60	5757.34	8.49	51113.71	10.23	2277.00	10.55	30846.09
SD					0.00	816.62	0.01	219.88	0.01	128.70	0.00	1361.53	0.01	88.97	0.00	1245.18
RSD					0.09	4.74	0.13	2.91	0.14	2.24	0.04	2.66	0.12	3.91	0.04	4.04
IDL					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

可知所有化合物的相对峰面积 RSD 值和保留时间 RSD 值均在 7.81%和

0.27%以下，精密度较好。

4 结论

本文考察了水质中 14 种喹诺酮类化合物的线性、精密度、灵敏度等，结果表明：14 种喹诺酮类化合物在检测范围内线性良好，相关系数 r 均大于 0.996，方法精密度在 8% 以内，标准曲线线性相关系数 r 和灵敏度均较好。使用谱育科技自主研发生产的高灵敏、高抗污染能力的超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪 EXPEC 5210 系统，可以对水中 14 种喹诺酮类残留进行灵敏、准确的定量检测。