

DB 21

辽宁省地方标准

DB 21/—2024

水质 喹诺酮类、磺胺类、 β -内酰胺类和
氯霉素类抗生素的测定
直接进样/液相色谱-质谱法

Water quality—Determination of Quinolones, Sulfonamides,

Beta-lactam and Chloramphenicol Antibiotics—

Direct injection/ Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

2024- - 发布

2024- - 实施

辽 宁 省 市 场 监 督 管 理 局 发 布

目 次

前 言	II
1 适用范围	1
2 规范性引用文件	1
3 方法原理	1
4 试剂和材料	1
5 仪器和设备	2
6 样品	2
7 分析步骤	2
8 结果计算与表示	6
9 准确度	7
10 质量保证和质量控制	7
11 废物处置	8
附录 A （规范性附录） 方法的检出限和测定下限	9
附录 B （资料性附录） 方法的准确度	10

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》，防治抗生素污染，改善生态环境质量，规范辽宁省抗生素监测工作，制定本标准。

本文件为首次发布。

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》规则的规定起草。

本文件由辽宁省生态环境厅提出并归口。

本文件起草单位：辽宁省大连生态环境监测中心。

本文件主要起草人：付晓燕、李振国、张旭鸿、包艳英、刘畅、张哲、刘莲莲、苑芷茜、杨硕、刘顺、张帆、郑冬、高冬婧、杨惠、彭晓、刘雅、徐洁、孙震、曹姗姗、陈建宇。

归口管理部门通讯地址：辽宁省生态环境厅（沈阳市浑南区双园路30甲），联系电话：024-62788591。

文件起草单位通讯地址：辽宁省大连生态环境监测中心（辽宁省大连市沙河口区连山街58号），联系电话：0411-81895586。

水质 喹诺酮类、磺胺类、 β -内酰胺类和 氯霉素类抗生素的测定 直接进样/液相色谱-质谱法

警告：实验中所使用的标准物质和有机溶剂为有毒有害物质，内标物具有放射性，实验操作时应按要求佩戴防护器具，避免吸入呼吸道或接触皮肤和衣物，溶液配制过程应在通风橱内进行。

1 适用范围

本文件规定了测定地表水、地下水和生活饮用水中喹诺酮类、磺胺类、 β -内酰胺类和氯霉素类 4 类共 13 种抗生素的直接进样/液相色谱-质谱法。

本文件适用于地表水、地下水和生活饮用水中诺氟沙星、环丙沙星、氧氟沙星、恩诺沙星、培氟沙星、磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲恶唑、阿莫西林、氯霉素和氟苯尼考共 13 种抗生素的测定。

当进样体积为 50.0 μl 时，4 类 13 种目标化合物的方法检出限为 0.005 $\mu\text{g/L}$ ~0.009 $\mu\text{g/L}$ ，测定下限为 0.020 $\mu\text{g/L}$ ~0.036 $\mu\text{g/L}$ 。详见附录 A。

2 规范性引用文件

本文件引用了下列文件或其中的条款。凡是未注日期的引用文件，其最新版本适用于本文件。

GB/T 14581 水质 湖泊和水库采样技术指导

HJ 91.2 地表水环境监测技术规范

HJ 164 地下水环境监测技术规范

HJ 493 水质 样品的保存和管理技术规定

3 方法原理

水样中 4 类 13 种抗生素经滤膜过滤后，用液相色谱仪分离，串联质谱仪在多反应监测（MRM）条件下测定，根据保留时间和特征离子对定性，内标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准和分析纯试剂，实验用水为新制备的、不含目标化合物的纯水。

4.1 乙腈（ CH_3CN ）：色谱纯。

4.2 甲酸 (HCOOH)：色谱纯。

4.3 甲酸水溶液：1+1000 (V/V)。

移取1.0 ml 甲酸 (4.2) 加入1 L实验用水中，混匀。

4.4 乙二胺四乙酸二钠 (EDTA-2 Na)：优级纯。

4.5 抗生素标准物质。

阿莫西林、磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、诺氟沙星、氧氟沙星、磺胺二甲嘧啶、环丙沙星、培氟沙星、恩诺沙星、磺胺间甲氧嘧啶、氟苯尼考、磺胺甲恶唑、氯霉素标准物质：纯度 $\geq 99\%$ 。

4.6 标准溶液。

4.6.1 抗生素标准贮备液： $\rho = 100.0 \text{ mg/L}$ 。

准确称取适量的每种抗生素标准物质 (4.5)，用乙腈 (4.1) 配成100.0 mg/L的标准贮备液，或直接购买有证标准溶液，贮备液在4 °C冷藏、密封、避光保存。阿莫西林标准贮备液的保存期限为5 d，

环丙沙星、培氟沙星、恩诺沙星、氟苯尼考、氯霉素标准贮备液的保存期限为10 d，诺氟沙星、氧氟沙星标准贮备液的保存期限为15 d，磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲恶唑标准贮备液的保存期限为20 d，或参照制造商的产品说明保存使用。

4.6.2 抗生素标准使用液： $\rho=1.00\text{ mg/L}$ 。

将抗生素标准贮备溶液（4.6.1）用甲酸水溶液（4.3）稀释至 1.00 mg/L ，现用现配。

4.7 抗生素内标物质。

环丙沙星-D₈（诺氟沙星、氧氟沙星、环丙沙星、培氟沙星、恩诺沙星的内标物）、磺胺甲基嘧啶-¹³C₆（磺胺嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲恶唑的内标物）、阿莫西林-D₄（阿莫西林的内标物）、氯霉素-D₅（氟苯尼考、氯霉素的内标物）：纯度 $\geq 99\%$ 。

4.7.1 抗生素内标贮备液： $\rho=100.0\text{ mg/L}$ 。

准确称取适量的抗生素标准物质（4.5），用乙腈（4.1）配成 100.0 mg/L 的标准贮备液，或直接购买有证标准溶液，贮备液在4℃冷藏、密封、避光保存或参照制造商的产品说明保存使用。

4.7.2 抗生素内标使用液： $\rho=10.0\text{ }\mu\text{g/L}$ 。

将抗生素内标贮备溶液（4.7.1）用甲酸水溶液（4.3）稀释至 $10.0\text{ }\mu\text{g/L}$ ，现用现配。

4.8 针式过滤器：滤膜孔径 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ ，亲水性聚四氟乙烯（PTFE）、玻璃纤维或其他等效材质。

4.9 氮气：纯度 $\geq 99.99\%$ 。

5 仪器和设备

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准A级玻璃量器。

5.1 高效液相色谱/三重四极杆质谱仪：高效液相色谱仪具备大体积进样器；三重四极杆质谱仪配有电喷雾离子化源（ESI）。

5.2 色谱柱：固定相填料为五氟苯基F5，粒径 $3.0\text{ }\mu\text{m}$ ，柱长 100 mm ，内径 2.6 mm ，或其他等效色谱柱。

5.3 棕色样品瓶： 2.0 ml 。

5.4 采样瓶： 500 ml 棕色玻璃瓶，螺旋盖（具聚四氟乙烯涂层的密封垫）。

5.5 微量注射器： $10\text{ }\mu\text{l}$ 、 $50\text{ }\mu\text{l}$ 、 $100\text{ }\mu\text{l}$ 、 1 ml 。

5.6 一般实验室常用仪器和设备。

6 样品

6.1 样品采集与保存

按照GB/T 14581、HJ 91.2、HJ 164和HJ 493的相关规定进行样品的采集和保存。

采集样品时，向采样瓶（5.4）中加入 250 mg EDTA-2 Na（4.4），以消除金属离子干扰，加入 $500\text{ }\mu\text{l}$ 甲酸（4.2），然后采集样品至满瓶，拧紧螺旋盖密封，摇匀。水样 $0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下冷藏、密封、避光保存，48 h内完成分析。

采集样品时应同时采集全程序空白样品。用采样瓶（5.4）装满水带至采样现场，采样时将水转移至另一个采样瓶（5.4）中，作为全程序空白样品，随实际样品一起保存并运输至实验室。

6.2 试样制备

样品经针式过滤器（4.8）过滤，弃去至少1ml初滤液后，取1.0 ml置于棕色样品瓶（5.3）中，加入10.0 μ l内标使用液（4.7.2），混匀待测。

6.3 空白试样的制备

以实验用水代替样品，按照与试样的制备（6.2）相同的步骤制备实验室空白试样。

7 分析步骤

7.1 仪器参考条件

7.1.1 液相色谱仪参考条件

流动相：流动相A为乙腈（4.1），流动相B为甲酸水溶液（4.3），线性梯度洗脱程序见表1；
柱温：40℃；

进样体积：50 µl；

流速：0.4 ml/min。

表1 液相色谱流动相梯度洗脱程序

时间 (min)	流动相 A (%)	流动相 B (%)
0	10.0	90.0
0.5	10.0	90.0
5.0	95.0	5.0
6.0	95.0	5.0
6.1	10.0	90.0
7.5	10.0	90.0

7.1.2 质谱仪参考条件

正/负离子模式（ESI⁺/ESI⁻）；

离子喷雾电压：5500/-4500 V；

离子源温度：550℃；

检测方式：多反应检测（MRM）；

气帘气（CUR）压力：35.0 kPa（5 psi）；

喷雾气（GS1）压力：55.0 kPa（8 psi）；

辅助加热气（GS2）压力：35.0 kPa（5 psi），多反应监测条件见表2。

表2 目标化合物的多反应监测条件

类别	化合物	母离子	子离子	去簇电压 DP /V	碰撞能量 CE /V
喹诺酮类	诺氟沙星	320.1	302.0*/276.1	80	31/26
	环丙沙星	332.1	245.1*/288.1	80	33/25
	环丙沙星-D ₈	340.2	296.1	80	25
	氧氟沙星	362.2	318.1*/261.1	80	26/38
	恩诺沙星	360.0	316.1*/245.1	80	25/35
	培氟沙星	334.1	316.1*/290.2	80	27/25

磺胺类	磺胺嘧啶	251.1	156.0*/92.0	80	22/38
	磺胺甲基嘧啶	265.2	156.1*/172.1	80	23/23
	磺胺甲基嘧啶- ¹³ C ₆	271.0	162.0	80	25
	磺胺二甲嘧啶	279.1	186.1*/156.0	80	23/27
	磺胺间甲氧嘧啶	281.1	156.0*/92.1	40	25/46
	磺胺甲恶唑	254.1	156.0*/108.0	40	23/31
β-内酰胺类	阿莫西林	366.2	208.0*/349.0	70	17/11
	阿莫西林-D ₄	370.2	113.9	70	24
氯霉素类	氯霉素	320.9	152.0*/257.0	60	-24/-15
	氯霉素-D ₅	325.9	157.0	60	-22
	氟苯尼考	356.0	185.0*/336.0	75	-26/-13
注：*为定量离子					

7.1.3 仪器调谐

按照仪器使用说明书在规定时间和频次内校正液相色谱/三重四极杆质谱仪的质量数和分辨率，以确保仪器处于最佳测试状态。

7.2 校准

7.2.1 标准曲线的建立

取一定量抗生素标准使用液（4.6.2）于甲酸水溶液（4.3）中，制备至少5个浓度点的标准系列，诺氟沙星和环丙沙星的质量浓度分别为0.040 μg/L、0.100 μg/L、0.200 μg/L、0.500 μg/L、1.00 μg/L，其他11种抗生素的质量浓度分别为0.020 μg/L、0.050 μg/L、0.100 μg/L、0.200 μg/L、0.500 μg/L、1.00 μg/L。每毫升标准系列溶液中加入10.0 μl抗生素内标使用液（4.7.2），贮存在棕色样品瓶（5.3）中。

将标准系列溶液按浓度由低到高的顺序依次进样，以标准系列溶液中抗生素的质量浓度为横坐标，抗生素的峰面积（或峰高）与内标物的峰面积（或峰高）比值和内标物浓度的乘积为纵坐标，绘制标准

曲线。或者按照公式（1）和（2）计算目标抗生素的平均相对响应因子 RRF 。

$$RRF_i = \frac{A_i}{A_{is}} \times \frac{\rho_{is}}{\rho_i} \quad (1)$$

$$\overline{RRF} = \frac{\sum_{i=1}^n RRF_i}{n} \quad (2)$$

式中：

RRF_i ——标准系列中第*i*点目标抗生素的相对响应因子，无量纲；

A_i ——标准系列中第*i*点目标抗生素定量离子的峰面积（或峰高）；

A_{is} ——标准系列中第*i*点目标抗生素相对应内标定量离子的峰面积（或峰高）；

ρ_{is} ——标准系列中目标抗生素内标的浓度，μg/L；

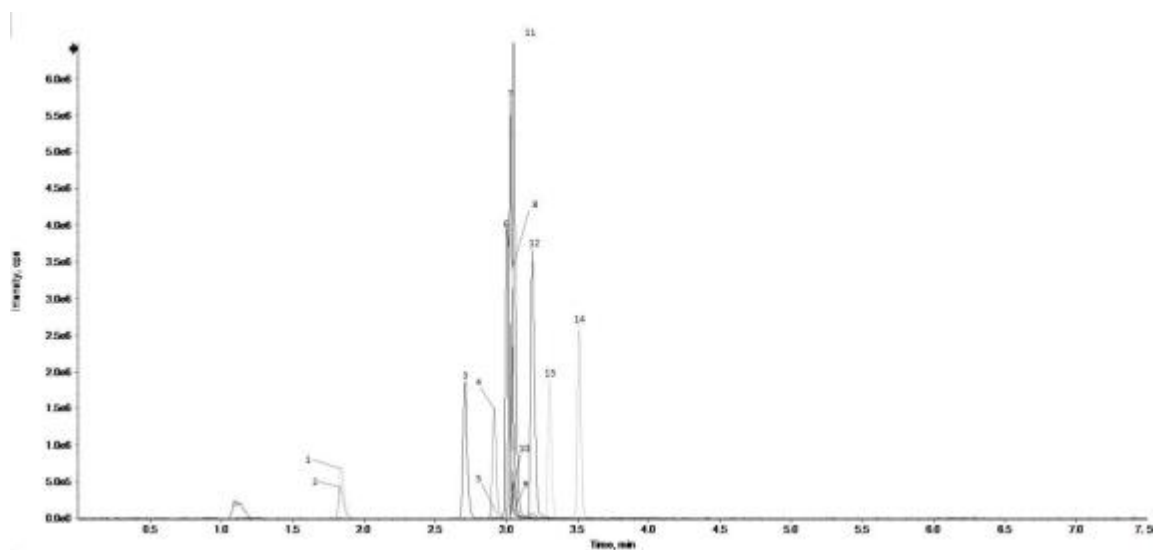
ρ_i ——标准系列中第*i*点目标抗生素的质量浓度，μg/L；

RRF ——目标物的平均相对响应因子，无量纲；

n ——标准系列点数。

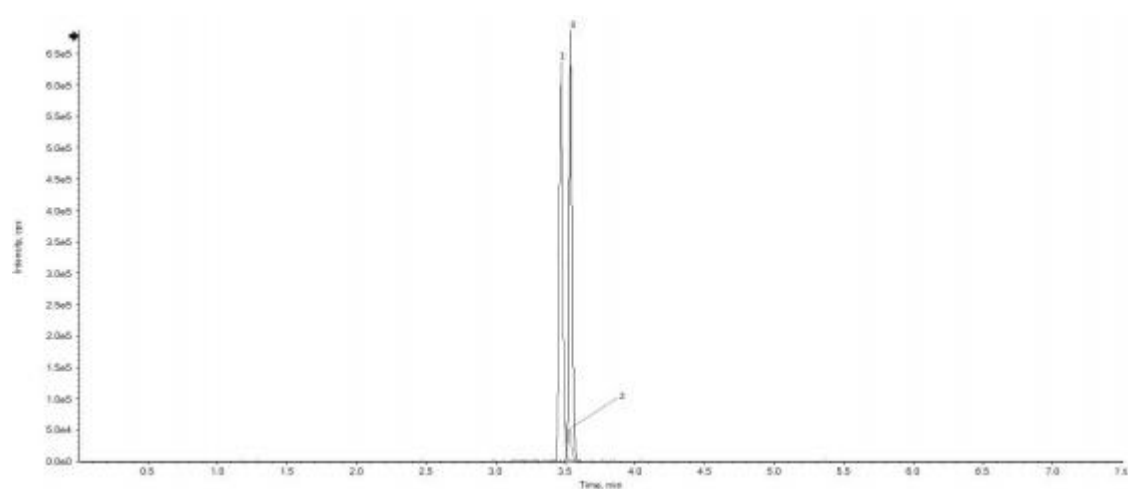
7.2.2 标准参考谱图

在本文件推荐的仪器参考条件下，阳离子模式目标化合物的总离子色谱图见图1，阴离子模式目标化合物的总离子色谱图见图2。目标物的质量浓度为1.0 μg/L，内标物的质量浓度为0.1 μg/L。



1——阿莫西林；2——阿莫西林-D₄；3——磺胺嘧啶；4——磺胺甲基嘧啶；5——磺胺甲基嘧啶-¹³C₆；
6——诺氟沙星；7——氧氟沙星；8——磺胺二甲嘧啶；9——环丙沙星-D₈；10——环丙沙星；11——培氟沙星；
12——恩诺沙星；13——磺胺间甲氧嘧啶；14——磺胺甲恶唑。

图1 正离子模式11种抗生素和3种内标物的总离子色谱图



1——氟苯尼考；2——氯霉素-D₅；3——氯霉素。

图2 负离子模式2种抗生素和1种内标物的总离子色谱图

7.3 测定

7.3.1 试样测定

按照与标准曲线的建立（7.2.1）相同的步骤进行试样（6.2）的测定。

注：若样品中抗生素浓度过高，超出标准曲线范围，应采用甲酸水溶液（4.3）稀释后再进行测定。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/025004101004011331>