

李超群, 李立湘, 任颖俊, 等. 在线固相萃取大体积进样-高效液相色谱-串联质谱法检测地表水中 35 种抗生素[J]. 岩矿测试, 2024, 43(6): 945–956. DOI: [10.15898/j.ykcs.202404050076](https://doi.org/10.15898/j.ykcs.202404050076).

LI Chaoqun, LI Lixiang, REN Yingjun, et al. Determination of 35 Antibiotics in Surface Water by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with Online Solid-Phase Extraction and Large-Volume Injection[J]. Rock and Mineral Analysis, 2024, 43(6): 945–956. DOI: [10.15898/j.ykcs.202404050076](https://doi.org/10.15898/j.ykcs.202404050076).

在线固相萃取大体积进样-高效液相色谱-串联质谱法检测地表水中 35 种抗生素

李超群¹, 李立湘², 任颖俊¹, 赵锦华¹, 黄钢³, 周施阳², 刘立平¹, 蒋敬思¹, 梁锋¹

(1. 湖南省地质实验测试中心, 湖南 长沙 410014;

2. 中国地质调查局长沙自然资源综合调查中心, 湖南 长沙 410600;

3. 岛津企业管理(中国)有限公司广州分公司分析中心, 广东 广州 510656)

摘要: 抗生素在水环境中常有检出, 是国际公约管控的新污染物之一。为了控制水质和保证饮用水来源的安全使用, 需要建立快速和高效的抗生素分析方法。目前能够快速测试地表水中多种类抗生素的综合分析方法有待补充。本文建立了在线固相萃取(SPE)大体积进样-高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)分析地表水中 9 种磺胺类、16 种喹诺酮类、4 种大环内酯类、4 种四环素类和 2 种其他类共 35 种抗生素的分析方法。根据化合物在 SPE 柱的保留和 pH 条件实验, 确定莫西沙星、达氟沙星 2 种抗生素为碱性上样(0.1% 氨水溶液), 其余 33 种抗生素为酸性上样(0.1% 甲酸-水溶液)。采用多反应监测(MRM)扫描模式、内标法定量, 35 种抗生素在线性范围内的相关系数均大于 0.995; 方法检出限在 0.1~5.2ng/L 之间; 在 5ng/L、50ng/L 和 200ng/L 三种加标浓度下, 方法精密度分别为 1.65%~12.3%、0.20%~10.4% 和 0.05%~9.92%; 加标回收率分别为 62.1%~93.1%、65.4%~127% 和 65.9%~124%。本方法所需样品体积小(10mL)、前处理简单, 当酸性和碱性进样体积分别为 3mL 时, 30min 内能完成样品在线富集和分离分析过程。本方法应用于 21 件地表水样中 35 种抗生素的检测, 林可霉素的检出率达到 90.5%, 氧氟沙星的检出含量最高达到 98.2ng/L。本文建立的在线方法测定结果与离线方法一致, 且操作简捷、灵敏度高、分析速度快, 适合地表水中痕量抗生素的残留分析。

关键词: 抗生素; 地表水; 在线固相萃取; 大体积进样; 高效液相色谱-串联质谱法

要点:

- (1) 在线固相萃取大体积进样 HPLC-MS/MS 技术的样品前处理简单快速, 保证了检测过程的一致性, 准确度高、检出限较低, 可满足地表水样品中抗生素检测需求。
- (2) 只需样品体积 10mL, 分别进行一次酸性进样(3mL 样品)和一次碱性进样(3mL 样品), 30min 内即可完成样品中 35 种抗生素的进样、富集、净化、浓缩和分析过程。
- (3) 建立的 HPLC-MS/MS 能定量检测地表水中六类 35 种抗生素。

中图分类号: O657.63; X832

文献标识码: B

收稿日期: 2024-04-05; 修回日期: 2024-09-18; 接受日期: 2024-09-27; 网络出版日期: 2024-11-14

基金项目: 中国地质调查局地质调查项目(DD20220215); 中央引导地方科技发展专项资金项目(2018KT5001); 湖南省自然资源标准项目(2022B03)

作者简介: 李超群, 博士, 正高级工程师, 主要从事冶金物理化学和环境化学的研究和应用工作。

E-mail: lichaoqun65@163.com。

抗生素长期被大量地用于人类和动物的疾病防治和促进动物生长,但因不合理使用和长期滥用,对生态系统及人体健康带来长期潜在的危害^[1-2],成为全世界广泛关注的、国际公约管控的新污染物之一^[3]。近年来,水中抗生素的检测方法研究报道越来越多^[4-5],分析方法也在不断完善^[6-7]。目前,水中抗生素的检测方法主要有:酶免疫分析法^[8-9]、电化学方法^[10-11]、高效液相色谱法^[12-14]、液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[15-17]等。酶免疫分析法是一种定性和半定量的筛选方法,分析过程相对简单,但仅能提供待测物的初步信息。电化学方法和高效液相色谱法的方法检出限一般较高,且电化学方法应用少;液相色谱法容易出现假阳性,适合于高浓度抗生素的检测。HPLC-MS/MS法具有灵敏度高、检出限低,定性分析结果可靠、定量准确、使用范围广等优势,是目前使用最广泛的抗生素分析技术。但由于抗生素种类多、理化性质差异大,在水体中浓度低,目前大都聚焦于某一类^[15-16]或某几种抗生素^[17-18]的检测。中国尚没有建立水体中多种类、多组分抗生素的检测标准,近年来环境分析工作者为此作出了不懈的努力,取得较大进展。祁彦洁^[19]通过固相萃取与HPLC-MS/MS仪器联用,在多反应监测模式下,建立了35种抗生素的检测方法,在10ng/L和40ng/L浓度水平下,去离子水和地下水加标回收率范围分别为53.79%~103.84%、56.79%~93.64%和67.13%~93.00%、68.91%~92.67%,超纯水的方法检出限为0.29~4.03ng/L。营娇龙等^[20]对1L水样进行过滤、除杂、pH调试、SPE柱富集、浓缩定容后,利用HPLC-MS/MS测定地表水和地下水中七大类37种抗生素的检出限为0.6~10.6ng/L,加标回收率大多为60%~130%。王蕴馨等^[21]测定了生活饮用水及水源水中13种抗生素,在10~500μg/L浓度范围内,相关系数大于0.999,其中10种抗生素的检出限在0.01~0.03μg/L,相对标准偏差(RSD)小于10%,回收率为61.8%~117.0%。从上述文献报道结果看,方法检出限偏高,回收率偏低,精密度数据差异大;需要采集大体积样品(一般采集1L),萃取时间长,上样、洗脱、浓缩、定容等步骤多,过程繁琐且费时,成本较高^[22-23]。

在线SPE大体积进样是近几年发展起来的一项新技术。Garcia-Ac等^[24]用在线SPE大体积进样-液相色谱-串联质谱法连续测定饮用水和地表水中14种抗生素,进样体积为10.0mL,方法检出限为0.6~6ng/L,回收率为60%~109%。García-Galán

等^[25]得到地下水和地表水中19种磺胺类抗生素的检出限分别为0.02~5.13ng/L和0.02~4.52ng/L,不同水基质的仪器重复性低于10%。Oscar等^[26]用在线固相萃取-液相色谱/电喷雾串联质谱方法对水中抗生素进行了定量和鉴定,地下水和地表水中16种抗生素的检出限在0.4~4.3ng/L之间,回收率为74%~123%,相对标准偏差<14%。Singer等^[27]测定地表水中磺胺类抗生素的回收率为85%~112%,不同水中检出限范围为0.5~5ng/L。Ding等^[28]用1mL水样注入SPE柱中,用3mL高纯水冲洗基质,分析得到5种大环内脂类抗菌素的检出限为2~6ng/L,定量限为7~20ng/L,回收率为86.5%~98.3%,日内和日间精度分别小于7.2%和8.9%。Feitosa-Felizzola等^[29]检测了废水中12种抗生素的回收率为40%~120%,检出限为1~46ng/L。吴斌等^[30]用在线SPE-UPLC-MS/MS方法定量测定了5mL水源水和生活饮用水中六类15种抗生素,方法的检出限(3倍信噪比)为0.74~3.28ng/L,相关系数均大于0.99,加标回收率为49.6%~130.2%。根据文献报道,在线SPE大体积进样与HPLC-MS/MS分析技术联用,能实现样品前处理和检测一体化、自动化,只需进行过滤处理,即可对1~10mL水样进行自动分析,大大减少前处理时的样品处理量、前处理步骤和人为误差,方法检出限低,稳定性好,分析效率高。但上述分析方法连续检测的抗生素类别和数量还不够多,分析方法还需完善。

本文采用在线固相萃取大体积进样-高效液相色谱-串联质谱(SPE-HPLC-MS/MS)分析技术检测地表水中35种抗生素,这些抗生素使用量较大、在水体中较常见、检出频率较高、环境毒性较强、监测需求迫切,主要包括磺胺类9种(磺胺醋酰、磺胺吡唑、磺胺甲噻二唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺对甲氧嘧啶、磺胺氯哒嗪、磺胺邻二甲氧嘧啶、磺胺二甲异噻唑、磺胺间二甲氧嘧啶),喹诺酮类16种(吡哌酸、依诺沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、氟罗沙星、环丙沙星、洛美沙星、恩诺沙星、司帕沙星、双氟沙星、西诺沙星、噁喹酸、莫西沙星、萘啶酸、氟甲喹、达氟沙星),大环内酯类4种(螺旋霉素、红霉素、罗红霉素、交沙霉素),四环素类4种(土霉素、四环素、金霉素、强力霉素)和其他抗生素2种(林可霉素、氯霉素)。本文研究方法只需样品体积10mL(实际每次进样3mL),样品前处理简单,30min内能进行一次酸性上样和一次碱性上样、完成样品中35种抗生素的进样、富集、净化、浓缩和分析过程。运用该方法对浙南某

流域水样进行了实际测定,验证了该方法在水样中应用的可行性,为这些抗生素的检测方法标准化和监测系统中推广使用提供了技术基础。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津在线固相萃取大体积自动进样(AOE)和超高效液相色谱三重四极杆质谱仪(HPLC-MS8050)联用系统(日本 Shimadzu 公司);ASPE 899 全自动固相萃取仪(日本 GL Sciences 公司);Syncore Polyvap 平行浓缩仪(瑞士 BUCHI 公司);EFAA-DC12-RT 氮吹仪(上海安谱实验科技有限公司)。

1.2 标准溶液和主要试剂

35种抗生素标准溶液(100mg/L,甲醇)。

6种内标标准溶液(分别是噻苯达唑-D₄、磺胺吡啶-¹³C₆、氧氟沙星-D₃、洛美沙星-D₅、磺胺二甲嘧啶-¹³C₆、磺胺氯哒嗪-¹³C₆),浓度均为100mg/L,溶剂为甲醇。

2种固体内标物质:达氟沙星-D₃,10mg,99.9%;氯霉素-D₅,1mg,97.2%。均购自上海安谱实验科技股份有限公司。

甲醇(农残级,含量≥99.8%)和乙腈(HPLC 梯度级,含量≥99.9%)由上海安谱实验科技股份有限公司提供;甲酸(质谱纯,含量98%)由国药集团化学试剂有限公司生产;氨水(分析纯,25%~28%)由成都市科隆化学品有限公司生产。实验用水为超纯水。

1.3 样品采集和制备

样品采自于浙江瓯江流域,包括瓯江干流、主要支流以及流域内的内塘河网和乐清诸河等地,共设置20个采样点,在水面以下大约0.5m处采样体积为2L的样品,迅速加入2mL甲醇,抑制微生物活性,在4℃温度下避光保存,24h内运回实验室进行提取分析。

用玻璃注射器抽取水样10mL,经0.22μm PVDF 滤膜过滤,注入15mL专用小瓶中,加入内标溶液至浓度为100ng/L,备用。

1.4 分析条件

1.4.1 在线固相萃取分析和仪器条件

液相色谱泵配置低压梯度比例阀,共有三种可选溶液,其中E流路为0.1%甲酸-水溶液,F流路为乙腈-甲醇(1:1,V/V),C流路为0.1%氨水溶液。当上样条件为酸性时,平衡溶液为E流路溶液,液相色谱泵以3mL/min流速将目标物溶液推送到固相萃取柱(Oasis HLB Direct Connect HP, 2.1mm×30mm,

20μm),2min后完成萃取过程,此后,固相萃取柱与色谱柱串联,用梯度洗脱方式对固相萃取柱上萃取的目标物进行解吸和分离,流动相A为0.1%甲酸水溶液,流动相B为乙腈,流速为0.25mL/min,梯度洗脱参数如下(以流动相B变化为例):有机相初始比例为12%,保持2min后开始线性梯度变化,9min后有机相比例为70%,10min后有机相比例为95%并保持1min,0.1min之内有机相比例变为12%并保持不变直至15min后分析结束。若上样条件为碱性,则平衡溶液为C流路溶液,上样过程与前面所述相同。

色谱柱:Shim-pack GIST C18(2.1mm×100mm, 2μm, P/N:227-30160-04,岛津(上海)实验器材有限公司)。

流动相:A相为0.1%甲酸水,B相为乙腈,流速0.25mL/min,柱温40℃,进样量3mL。

35种抗生素中,莫西沙星、达氟沙星采用碱性上样,其余33种抗生素采用酸性上样。

酸性上样方法:取地表水样品离心,过0.22μm滤膜,取10mL滤液加入10μL内标工作液,再加入10μL甲酸,混匀后装入样品瓶中待测。启动仪器定量推送3mL样品溶液进入系统,经在线SPE柱富集、解吸和分离,进入质谱仪检测。

碱性上样方法:只是用10μL氨水取代酸性上样中的甲酸,用建立的碱性上样方法进行分析,其余步骤相同。

1.4.2 离线固相萃取分析和仪器条件

在ASPE 899全自动固相萃取仪上,依次用6mL甲醇和6mL超纯水活化HLB小柱,保证小柱柱头浸润。准确量取1000mL经0.45μm微孔滤膜过滤除去悬浮颗粒物的地表水样,加入0.5g乙二胺四乙酸二钠和100μL 1.0μg/mL内标物,混匀,以3~5mL/min流量过柱,水样全部通过小柱后,用10mL纯水淋洗小柱,再用氮气干燥小柱。接着分别用6mL含0.1%甲酸的甲醇和6mL含0.5%氨水的甲醇进行洗脱。洗脱液经氮气轻轻吹至近干,用0.1%甲酸水-甲醇(3:2,V/V)混合溶液复容至1mL,经0.22μm有机相滤膜过滤后,待测。

液相色谱条件:色谱流动相A为0.1%甲酸溶液,流动相B为乙腈,流速0.25mL/min,柱温40℃,进样体积5μL。色谱柱与流动相梯度设置与在线固相萃取分析条件一致。

1.4.3 质谱条件

离子源:ESI(+),ESI(-),接口电压-3kV,雾化气

流速 3L/min, 加热气流速 10.0L/min, 干燥气流速 10.0L/min, 接口温度 350℃, DL 温度 150℃。扫描模式: 多反应监测 (MRM)。MRM 参数见表 1。

1.5 标准溶液的配制

酸性上样: 分别取磺胺醋酰等 33 种抗生素标准溶液, 用甲醇稀释, 配制混合工作液。取混合工作液

表 1 抗生素分析中 MRM 优化参数、保留时间、线性相关系数和方法检出限

Table 1 MRM mass spectrum optimum parameters, retention time, linear correlation coefficient and method detection limits of antibiotic analysis.

抗生素	母离子	子离子	Q1 电压 (V)	碰撞电压 (V)	Q3 电压 (V)	保留时间 (min)	相关系数	检出限 [▲] (ng/L)	内标分组
林可霉素 (LIN)	407.3	126.1 [*] /359.3	14	30	12	5.501	0.9998	0.8	2
吡哌酸 (PPA)	304.15	286.1 [*] /215.05	14	20	13	5.540	0.9998	0.9	2
磺胺醋酰 (SA)	215.05	156 [*] /92.05	22	13	26	5.605	0.9997	0.9	2
依诺沙星 (ENO)	320.9	303 [*] /204.05	11	22	14	6.021	0.9957	0.8	1
诺氟沙星 (NOR)	319.9	302.1 [*] /230.95	11	24	14	6.163	0.995	2.8	1
氧氟沙星 (OFL)	362.2	318.15 [*] /261.1	13	19	15	6.183	0.9971	1.8	3
磺胺吡啶 (SPD)	250	156 [*] /92.05	11	16	15	6.191	0.9996	0.1	2
氟罗沙星 (FLE)	370	326 [*] /269	10	20	15	6.210	0.9983	2.2	4
土霉素 (OTC)	461.1	426.05 [*] /443.1	12	21	21	6.239	0.9987	2.1	4
环丙沙星 (CIP)	332.2	314.1 [*] /231	12	22	22	6.272	0.9986	5.1	4
洛美沙星 (LOM)	352.2	265 [*] /308.15	12	25	12	6.429	0.9966	4.9	5
四环素 (TC)	445.1	410 [*] /427.1	12	20	19	6.527	0.9981	1.9	5
恩诺沙星 (ENR)	360.25	342.15 [*] /316.15	13	23	16	6.538	0.9983	5.2	5
磺胺甲噁二唑 (SMTZ)	271	156 [*] /108	18	15	30	6.858	0.9989	0.1	6
磺胺二甲噁啉 (SM2)	279	186 [*] /92.05	13	18	19	6.871	0.9989	0.1	6
螺旋霉素 (SPI)	843.5	174.15 [*] /540.25	24	35	17	6.888	0.9987	0.1	6
司帕沙星 (SPR)	393	349 [*] /292	10	20	16	6.957	0.9983	1.4	6
双氟沙星 (DIF)	400	356 [*] /299	14	19	12	6.971	0.9983	0.2	6
磺胺对甲氧嘧啶 (SMT)	281.1	156.1 [*] /108.1	13	17	16	7.004	0.9995	0.1	6
金霉素 (CTC)	478.8	443.95 [*] /154.05	17	22	15	7.290	0.9991	1.2	7
强力霉素 (DOX)	444.9	428.05 [*] /154.1	12	20	20	7.468	0.9985	2.8	7
磺胺氯哒嗪 (SCPD)	285	156 [*] /92.05	19	15	16	7.548	0.9995	1.2	7
西诺沙星 (CIN)	263.1	245.05 [*] /189	12	16	16	7.739	0.9992	0.3	7
磺胺邻二甲氧嘧啶 (SDO)	311	156 [*] /108	14	18	16	7.775	0.9993	0.1	7
磺胺二甲异噁唑 (SIZ)	268	156 [*] /92.05	12	14	27	8.011	0.9995	0.1	8
氯霉素 (CAP)	321	152.1 [*] /257	11	16	27	8.118	0.9996	0.1	8
噁唑酸 (OXA)	262.1	244.05 [*] /216	12	19	11	8.125	0.9998	0.1	8
红霉素 (ERY)	734.3	158.15 [*] /576.35	20	31	10	8.167	0.9987	1.1	8
磺胺间二甲氧嘧啶 (SDM)	311	156.05 [*] /92.05	14	21	16	8.472	0.9987	0.1	8
罗红霉素 (ROX)	837.5	158.15 [*] /679.4	222	33	16	8.952	0.9998	0.2	8
萘啶酸 (NDA)	233.1	215.05 [*] /187	11	17	22	9.097	0.9987	0.1	8
氟甲唑 (FLU)	262.1	244.1 [*] /202	12	20	24	9.228	0.9996	0.1	8
交沙霉素 (JOS)	828.4	174.15 [*] /229.15	2	34	18	9.291	0.9976	0.1	8
莫西沙星 (MOX)	358.2	340.1 [*] /225	12	23	16	7.107	0.9957	0.3	7
达氟沙星 (DAN)	402.1	245.05 [*] /261	18	39	25	6.405	0.9979	1.0	4
噻苯达唑-D ₄	206	135.00 [*] /179.1	13	33	13	5.793	—	—	1
磺胺吡啶- ¹³ C ₆	256.05	190.05 [*] /162.05	17	20	20	6.169	—	—	2
氧氟沙星-D ₃	361.1	254.95 [*] /343.1	17	40	25	6.194	—	—	3
达氟沙星-D ₃	365.1	261.00 [*] /321.1	17	30	17	6.395	—	—	4
洛美沙星-D ₅	357.05	270.10 [*] /339.05	12	24	12	6.434	—	—	5
磺胺二甲噁啶- ¹³ C ₆	285.05	204.05 [*] /162.05	10	17	12	6.879	—	—	6
磺胺氯哒嗪- ¹³ C ₆	291	162.05 [*] /114.05	10	16	10	7.538	—	—	7
氯霉素-D ₅	326.05	157.10 [*] /262.15	11	17	10	8.088	—	—	8

注: “*”表示定量离子; “▲”表示检出限结果是在不同的目标物浓度下得到的, 检出限结果在 0.1 ~ 0.3ng/L、0.8 ~ 2ng/L、2.1 ~ 2.8ng/L、4.9 ~ 5.2ng/L 范围使用的目标物浓度分别为 0.5ng/L、5ng/L、10ng/L 和 15ng/L。

用甲醇以逐级稀释方法配制标准工作液,浓度分别为1、2、5、10、20、50、100、500 $\mu\text{g/L}$ 。分别取内标溶液,用甲醇稀释成浓度为100 $\mu\text{g/L}$ 的内标工作液。在0.1%甲酸-水溶液中按照1000:1依次加入上述标准工作液,再按照1000:1加入内标工作液,配制1、2、5、10、20、50、100、500 ng/L 校准曲线溶液,内标溶液浓度为100 ng/L 。待分析。

碱性上样:分别取莫西沙星、达氟沙星抗生素标准溶液,用甲醇稀释,配制混合工作液。取混合工作液用甲醇以逐级稀释方法配制标准工作液,浓度分别为1、2、5、10、20、50、100、500 $\mu\text{g/L}$ 。分别取内标溶液,用甲醇稀释成浓度为100 $\mu\text{g/L}$ 的内标工作液。在0.1%氨水溶液中按照1000:1依次加入上述标准工作液和内标工作液,配制成1、2、5、10、20、50、100、500 ng/L 校准曲线溶液,内标溶液浓度为100 ng/L 。待分析。

2 结果与讨论

2.1 实验条件的优化

通过查阅大量文献和标准物质证书,初步确定目标物的母离子、子离子对质量数范围以及设置仪器相应的Q1电压、碰撞电压(CE电压)、Q3电压、接口电压、加热气流速、干燥气流速、接口温度、DL温度(脱溶剂管温度)、加热模块温度等参数,在此基础上,不断进行优化实验,确定最优参数。其中35种抗生素和8种内标物的母离子、子离子对质量数和Q1电压、CE电压、Q3电压的优化结果见表1。接口电压分别为0、-0.5、-1、-2、-3、-4和-4.5V,DL温度分别为50 $^{\circ}\text{C}$ 、200 $^{\circ}\text{C}$ 、250 $^{\circ}\text{C}$ 和300 $^{\circ}\text{C}$,加热气流速分别为5、8、10、12和15 L/min ,干燥气流速分别为15、12、10、8和5 L/min ,干燥气和加热气总流速为20 L/min ,接口温度分别为250 $^{\circ}\text{C}$ 、300 $^{\circ}\text{C}$ 、350 $^{\circ}\text{C}$ 和400 $^{\circ}\text{C}$ 。通过优化实验,最后确定最佳条件为:接口电压-3kV,雾化气流速3 L/min ,加热气流速10.0 L/min ,干燥气流速10.0 L/min ,接口温度350 $^{\circ}\text{C}$,DL温度150 $^{\circ}\text{C}$ 。

分别选用乙腈和甲醇作流动相B时,比较它们对抗生素分离效果和检测结果的影响,发现选择乙腈作流动相B时,方法检测灵敏度高,峰形稳定,线性相关系数高,因此选用乙腈作流动相B。

2.2 pH对地表水样品中抗生素分析的影响

抗生素大多含有酸性或碱性基团,因此水样的pH值很大程度上决定了它们的存在形态、稳定性以及固相萃取柱对目标物的富集效果^[31]。本文研究

的35种抗生素分属不同类别,极性、溶解度和酸度系数等理化性质差异大,溶液pH值对化合物的回收率影响大。当样品的pH值较高时,抗生素以离子态存在^[31-32],无法在疏水基团的固相萃取小柱上保留,从而影响其萃取效率,最终表现为回收率低。例如,四环素类抗生素(TCs)对pH较为敏感,在碱性条件下会发生差向异构化和降解反应,且解离速度会随着pH的升高而加快,其回收率在酸性条件下高于弱碱性条件^[33]。大环内酯类抗生素在碱性条件下易发生开环反应^[34],磺胺类、诺酮类和大环内酯类抗生素整体表现为随pH升高回收率变差,在弱碱性条件下,回收率明显下降。根据前期实验结果,35种抗生素分为两个组别,碱性条件下的pH为9.0,检测莫西沙星、达氟沙星2种抗生素;酸性条件下的pH为4~4.5,检测其余33种抗生素。

实验结果表明,达氟沙星在酸性溶液校准曲线不是线性关系,莫西沙星在酸性溶液中的线性方程相关系数小于0.995,不符合标准要求,并且回收率低。而在弱碱性条件下,这两种抗生素的回收率得到明显改善,抗生素的回收率分别为70.3%~86.9%和75.2%~78.6%,均能满足实验要求。因此本文研究中,对于达氟沙星和莫西沙星两种抗生素的检测,先将水样pH调节至9后再进行测定分析。孙慧婧等^[34]的检测结果也表明水样中部分抗生素在中性或弱碱性条件下的回收率更好。

2.3 方法检出限

在屈臣氏饮用水中加入35种抗生素标准溶液,配制成目标物浓度为5 ng/L 的样品7份,按照样品分析要求依次上机检测,取7次样品的检测结果进行分析,依照《环境监测分析方法标准制订技术导则》(HJ 168—2020)相关方法计算检出限(MDL),对于初次加标样品测定平均值与MDL比值不在2~5之间的化合物,通过增加或减少浓度,重新进行平行分析,直至比值在2~5之间。选择比值在2~5之间的MDL作为该化合物的MDL。从表1结果分析,方法检出限为0.1~5.2 ng/L ,检出限值较低,证明检测方法灵敏度高,7次检测结果的标准偏差较小,表明分析方法的稳定性好,对于低含量抗生素的水样也能定量检测,完全能够满足环境水体中抗生素的检测要求。

祁彦洁^[19]用SPE-LC-MS/MS方法得到35种抗生素的方法检出限为0.29~4.03 ng/L 。本文方法检测结果与之比较,只有磺胺氯哒嗪、环丙沙星、红霉素、恩诺沙星和洛美沙星5种化合物的检出限结

果略高,其余30种抗生素的检出限结果更低。吴斌等^[30]用3倍信噪比得到的方法检出限为0.74~3.28ng/L,有12种抗生素包括在本文方法检测的35种抗生素内,其中5种抗生素的检出限结果略低,其余7种的测定结果相比较高。

在线萃取-液相色谱-串联质谱法检测水中抗生素是近年发展起来的方法,如Garcia-Ac等^[24]采用在线SPE大体积进样-液相色谱-串联质谱法测定饮用水和地表水中14种抗生素,García-Galán等^[25]测定地下水和地表水中19种磺胺类抗生素,Oscar等^[26]检测地下水和地表水中16种抗生素,Singer等^[27]检测不同水体抗生素,Ding等^[28]检测环境水中4种大环内脂类抗菌素。相比于离线SPE萃取-高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法,在线萃取方法得到的检出限数值更低,与本文研究结果更接近。但相比文献报道的在线萃取-液相色谱-串联质谱法检测水中抗生素的方法,本文方法研究的抗生素种类和数量更多,应用范围更广,进样体积小,分析时间短,效率高。

总之,尽管文献中检测的抗生素类别和数量不同,但得到的抗生素检出限都低,整体上在线萃取-

HPLC-MS/MS方法得到的检出限结果普遍低于离线SPE方法。比较而言,本文研究得到的大部分抗生素的检出限低于或等于文献报道值,因此,在给定的置信度内可从样品中定性检出待测抗生素的浓度或含量更低。

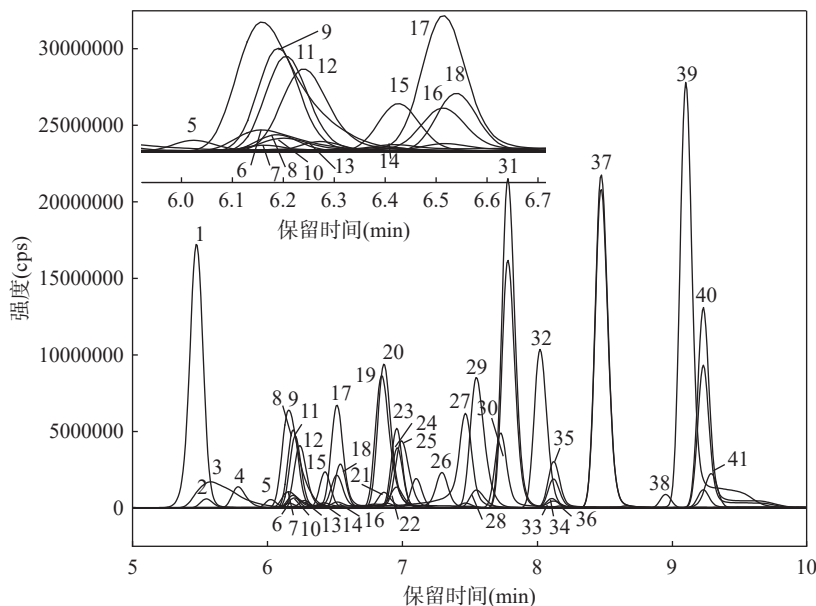
2.4 标准溶液的MRM色谱图和线性相关系数

按照1.5节方法配制35种抗生素各浓度混合标准溶液,加入内标浓度为100ng/L,采用MRM模式进行实验,得到抗生素MRM色谱图见图1。

以各目标物浓度与内标浓度比为横坐标,目标物峰面积与内标峰面积之比为纵坐标,绘制标准曲线,建立的线性方程的相关系数见表1。在1~500ng/L浓度范围内,线性相关系数均大于0.995,与大多数文献报道结果一致^[24-31],检测结果线性相关性良好,达到了实验方法的相关要求,能够定量测定水中35种抗生素。

2.5 方法精密度和正确度

取地表水样品,按照1.4节步骤制备35种抗生素浓度分别为5ng/L、50ng/L和200ng/L样品各6份,平行测定各样品,计算每组样品的加标回收率和相对误差。测试结果(表2)显示,基质样品(自来水)



1—林可霉素; 2—吡哌酸; 3—磺胺醋酰; 4—噻苯达唑-D₄; 5—依诺沙星; 6—诺氟沙星; 7—磺胺吡啶-¹³C₆; 8—氧氟沙星; 9—磺胺吡啶; 10—氧氟沙星-D₃; 11—氟罗沙星; 12—土霉素; 13—环丙沙星; 14—达氟沙星-D₃; 15—洛美沙星; 16—洛美沙星-D₃; 17—四环素; 18—恩诺沙星; 19—磺胺甲噁二唑; 20—磺胺二甲嘧啶; 21—磺胺二甲嘧啶-¹³C₆; 22—螺旋霉素; 23—司帕沙星; 24—双氟沙星; 25—磺胺对甲氧嘧啶; 26—金霉素; 27—强力霉素; 28—磺胺氯哒唑-¹³C₆; 29—磺胺氯哒唑; 30—西诺沙星; 31—磺胺邻二甲氧嘧啶; 32—磺胺二甲异噁唑; 33—氯霉素-D₃; 34—氯霉素; 35—噁唑酸; 36—红霉素; 37—磺胺间二甲氧嘧啶; 38—罗红霉素; 39—萘啶酸; 40—氟甲唑; 41—交沙霉素。

图1 抗生素酸性上样MRM色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of antibiotics with acidic injection.

中目标物未检出, 基质样品分别加标 5ng/L、50ng/L 和 200ng/L, 回收率分别为 62.1% ~ 93.1%、65.4% ~ 127% 和 65.9% ~ 124%, 精密度 (RSD) 分别为 1.65% ~ 12.3%、0.20% ~ 10.4% 和 0.05% ~ 9.92%。

从精密度结果来看, 标准规范要求半挥发性有机物的精密度实验结果的相对偏差 < 30%, 与表 2 结果比较, 本实验中三种浓度的分析测试结果精密度均满足规范要求, 说明该方法的精密度良好。从方法的正确度来看, 半挥发性有机物的基体加标回收率应在 60% ~ 160%, 本实验的基体

加标回收率在 62.1% ~ 127%, 满足标准规范要求, 说明本实验方案的正确度良好。与文献报道结果比较 [19-21, 24-31, 35-36], 本文研究得到的大部分抗生素的精密度优于文献报道值, 正确度范围与文献报道结果一致。

3 实际样品分析

对浙南某流域 21 个点位采集的地表水用 0.22μm 滤膜过滤后, 分别取 10mL 装入 15mL 进样小瓶中, 然后按照 1 : 1000 的比例加入内标工作液,

表 2 方法加标回收率和精密度实验结果 (n=6)

Table 2 Precision and accuracy of the method for the determination of 35 antibiotics (n=6).

抗生素	浓度 (ng/L)	加标浓度 (5ng/L)		加标浓度 (50ng/L)		加标浓度 (200ng/L)	
		回收率 (%)	RSD(%)	回收率 (%)	RSD(%)	回收率 (%)	RSD(%)
林可霉素 (LIN)	ND	65.2	8.71	67.2	8.37	68.5	7.34
吡哌酸 (PPA)	ND	75.4	9.12	79.9	8.88	81.0	0.05
磺胺醋酰 (SA)	ND	63.7	6.43	68.2	4.41	70.5	4.26
依诺沙星 (ENO)	ND	85.2	8.32	114	1.73	88.0	3.80
诺氟沙星 (NOR)	ND	79.4	12.3	112	10.23	94.0	6.01
氧氟沙星 (OFL)	ND	70.5	5.34	71.5	2.39	75.6	1.04
磺胺吡啶 (SPD)	ND	76.2	3.97	75.4	0.20	77.9	1.85
氟罗沙星 (FLE)	ND	70.3	12.2	68.8	8.92	71.5	9.92
土霉素 (OTC)	ND	62.1	6.85	65.4	5.87	67.7	3.40
环丙沙星 (CIP)	ND	71.2	4.39	70.7	0.89	82.5	1.42
洛美沙星 (LOM)	ND	75.2	9.85	77.7	6.74	85.0	1.16
四环素 (TC)	ND	69.1	7.69	79.9	0.62	70.2	4.47
恩诺沙星 (ENR)	ND	72.1	3.82	101	1.90	73.9	1.92
磺胺甲噁二唑 (SMTZ)	ND	73.2	6.96	77.4	4.83	77.3	0.35
磺胺二甲嘧啶 (SM2)	ND	80.5	3.21	82.0	1.41	76.2	1.20
螺旋霉素 (SPI)	ND	76.7	8.76	81.3	4.14	81.2	0.61
司帕沙星 (SPR)	ND	72.1	10.2	76.6	8.46	73.7	4.36
双氟沙星 (DIF)	ND	75.3	7.64	111	2.87	73.1	3.74
磺胺对甲氧嘧啶 (SMT)	ND	78.6	5.36	81.1	0.26	77.7	2.37
金霉素 (CTC)	ND	65.2	9.86	67.2	8.26	65.9	7.27
强力霉素 (DOX)	ND	62.1	12.1	69.8	10.36	68.7	2.51
磺胺氯哒嗪 (SCPD)	ND	72.3	6.78	79.6	0.58	80.0	1.19
西诺沙星 (CIN)	ND	93.1	5.74	119	3.47	124	2.37
磺胺邻二甲氧嘧啶 (SDO)	ND	80.3	3.58	80.5	0.65	85.1	1.35
磺胺二甲异噁唑 (SIZ)	ND	71.2	2.46	75.3	1.53	78.2	0.74
氯霉素 (CAP)	ND	65.1	5.64	68.6	2.99	73.5	1.56
噁唑酸 (OXA)	ND	83.1	7.26	103	2.16	88.5	1.78
红霉素 (ERY)	ND	85.1	8.37	127	1.91	99.1	6.40
磺胺间二甲氧嘧啶 (SDM)	ND	72.3	4.56	74.5	1.69	81.6	0.12
罗红霉素 (ROX)	ND	92.1	6.21	114	5.22	124	0.17
萘啶酸 (NDA)	ND	85.6	6.89	120	0.53	108	4.36
氟甲唑 (FLU)	ND	90.3	1.65	119	0.40	93.6	0.70
交沙霉素 (JOS)	ND	87.6	5.82	116	4.51	123	1.86
莫西沙星 (MOX)	ND	70.3	9.65	86.9	7.84	82.8	3.30
达氟沙星 (DAN)	ND	76.1	8.78	75.2	8.84	78.6	2.36

注: ND 表示检测值低于检出限。

按照本文建立的在线检测研究方法进样分析, 结果见表 3。由 21 件水样实测结果看出, 有 20 件样品中共检测出 13 种抗生素, 含量为 ND ~ 98.2ng/L; 其中 19 件样品中有林可霉素检出, 检出率为 90.5%; 氧氟沙星的检出浓度最高, 达到 98.2ng/L。

21 件样品同时采用离线检测方法进行分析对比, 样品制备按 1.4.2 节离线固相萃取条件和色谱条件进行, 检测结果见表 3。比较表 3 中数据, 在线方法与离线方法的检出率基本一致, 含量相差 0 ~ 13.2%, 证明在线检测方法可靠。Turjel 等^[37]用两种 SPE 模式分析医院废水中(氟)喹诺酮残留时, 得到的回收率和重复性效果相当。但从分析流程来看, 由于水体中残留的抗生素浓度通常在 ng/L 水平, 离线方法通常需要借助固相萃取柱对大量样品进行富集、净化、洗脱、浓缩、复溶和定容等过程, 整个流程需要 3 个多小时, 步骤多、耗时长、通量低, 且容易出现误差。

在线 SPE 大体积进样技术能够大幅增加液体样品的进样量, 与液质技术联用, 将样品富集、净化和分析高度集成, 大大减少样品处理量和手工劳动, 减少了人为误差; 前处理过程简单, 目标化合物损失少, 更适合于水样中化学性质各异的抗生素的检测^[34], 保证结果稳定性, 同时缩短了样品前处理时间, 提高了分析效率^[38]。在线 SPE-HPLC-MS/MS 技术应用, 还大大减小了现场采样体积, 由 1000mL×2 瓶减少到 10mL×2 瓶, 降低了运输和场地占用成本。此外, 在线 SPE 与离线 SPE 比较, 使用的标准溶液浓

度由 μg/L 减小至 ng/L, 减少了有机溶剂消耗量, 降低了成本。

4 结 论

结合在线 SPE 大体积进样和液相色谱-串联质谱仪联用系统, 建立了地表水中 35 种抗生素的检测方法, 其中酸性条件 (0.1% 甲酸水溶液) 上样的抗生素有 33 种, 碱性条件 (0.1% 氨水) 上样的抗生素有 2 种, 进样体积均为 3mL, 在 30min 内分别完成一次酸性样品和一次碱性样品的上样、在线富集和分离分析过程。在 1 ~ 500ng/L 浓度范围内, 35 种抗生素的线性良好, 相关系数均大于 0.995, 方法检出限为 0.1 ~ 5.2ng/L。三种加标浓度下, 回收率分别为 62.1% ~ 93.1%、65.4% ~ 127% 和 65.9% ~ 124%, 相对标准偏差分别为 1.65% ~ 12.3%、0.20% ~ 10.4% 和 0.05% ~ 9.92%。应用该方法对 21 件水样中 35 种抗生素进行检测, 共检出 13 种抗生素, 其中林可霉素检出率达到 90.5%, 其次是磺胺吡啶, 检出率为 38.1%; 氧氟沙星检出含量最高达到 98.2ng/L, 其次是恩诺沙星, 检出含量最高达到 68.4ng/L。

本文建立的 SPE-HPLC-MS/MS 联用检测方法灵敏、可靠、快速和高通量, 大大简化了样品前处理过程, 保证了检测过程的一致性, 方法检出限较低, 实验结果有较好的重复性和准确性, 实现了水质样品的即时检测, 可为地表水中抗生素污染物准确、快速检测分析提供参考。

表 3 实际样品中检出的抗生素及含量范围

Table 3 The detected antibiotics and their content ranges in samples.

抗生素	在线检测			离线检测		
	检出样品数 (件)	检出率 (%)	含量范围 (ng/L)	检出样品数 (件)	检出率 (%)	含量范围 (ng/L)
林可霉素 (LIN)	19	90.5	ND ~ 55.7	18	85.7	ND ~ 62.1
吡哌酸 (PPA)	2	9.5	ND ~ 48.0	2	9.5	ND ~ 52.0
氧氟沙星 (OFL)	4	19.1	ND ~ 98.2	4	19.1	ND ~ 90.2
磺胺吡啶 (SPD)	8	38.1	ND ~ 5.6	8	38.1	ND ~ 6.1
氟罗沙星 (FLE)	4	19.1	ND ~ 38.5	4	19.1	ND ~ 40.2
恩诺沙星 (ENR)	2	9.5	ND ~ 68.4	2	9.5	ND ~ 60.4
磺胺二甲嘧啶 (SM2)	1	4.8	ND ~ 14.3	1	4.8	ND ~ 15.1
双氟沙星 (DIF)	5	23.8	ND ~ 40.5	5	23.8	ND ~ 40.5
强力霉素 (DOX)	1	4.8	ND ~ 33.7	1	4.8	ND ~ 36.2
磺胺氯哒嗪 (SCPD)	1	4.8	ND ~ 5.9	1	4.8	ND ~ 6.1
氟甲唑 (FLU)	1	4.8	ND ~ 11.3	1	4.8	ND ~ 12.1
莫西沙星 (MOX)	1	4.8	ND ~ 25.8	1	4.8	ND ~ 26.5
达氟沙星 (DAN)	1	4.8	ND ~ 28.2	1	4.8	ND ~ 30.1

Determination of 35 Antibiotics in Surface Water by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with Online Solid-Phase Extraction and Large-Volume Injection

LI Chaoqun¹, LI Lixiang², REN Yingjun¹, ZHAO Jinhua¹, HUANG Gang³, ZHOU Shiyang², LIU Liping¹, JIANG Jingsi¹, LIANG Feng¹

(1. Hunan Geological Experimental and Testing Center, Changsha 410014, China;

2. Changsha Natural Resources Comprehensive Survey Center, China Geological Survey, Changsha 410600, China;

3. Analytical Applications Center, Shimadzu (China) Co., Ltd., Guangzhou Branch, Guangzhou 510656, China)

HIGHLIGHTS

- (1) The sample pretreatment of the online SPE-HPLC-MS/MS method is simple, fast and convenient, which ensures the consistency of the detection process. The detection method meets the requirements of antibiotic detection in surface water with high accuracy and low detection limit.
- (2) The developed method only required a 10mL sample. When the acidic and basic injection volume were both 3mL, the total sample run time was only 30min including sample uptake, injection, online preconcentration, and detection.
- (3) A method for continuous determination of 35 antibiotics by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) was established. .

ABSTRACT: Antibiotics are one of the emerging pollutants of concern in the world. Fast and efficient analytical methods for potential analysis of these pollutants are required, in order to control water quality and assure the safety of its use as a source of drinking water. However, there are few comprehensive methods to test multiple types of antibiotics in surface water. An online solid-phase extraction (SPE) of large-volume injection coupled with the high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS) method was used for the simultaneous determination of 35 antibiotics in surface water, including 9 sulfonamides, 16 quinolones, 4 macrolides, 4 tetracyclines and 2 other classes. According to compound retention in SPE column and pH condition experiments, moxifloxacin and danofloxacin were confirmed as alkaline injection (0.1% ammonia solution), while the remaining 33 antibiotics were acidic injection (0.1% formic acid solution). The analytes were detected by multiple reaction monitoring (MRM) mode and were quantified by an internal standard method. The correlation coefficients of 35 antibiotics were greater than 0.995 with the calibration concentration range from 1–500ng/L. The method limits of detection (MLD) were low, ranging between 0.1–5.2ng/L. At 3 spiked concentrations of 5ng/L, 50ng/L, and 200ng/L, the relative standard deviation (RSD) of matrix labeling ($n=6$) were 1.65%–12.3%, 0.2%–10.4% and 0.05%–9.92%, respectively. The recovery rate of target compounds spike in the water samples were 62.1%–93.1%, 65.4%–127% and 65.9%–124%, respectively. The developed method only required a small sample volume (10mL) and simple pretreatment. When the acidic and basic injection volume were both 3mL, the total sample run time was only 30min including sample uptake, injection, online preconcentration, and detection. The developed method was applied to the analysis of 35 antibiotics in 21 surface waters, of which the detection rate of lincomycin reached 90.5%, and the highest content of ofloxacin reached 98.2ng/L. Compared with the conventional offline detection method, the detection results of the two methods were consistent, but the online detection method was simple, sensitive, accurate and fast, and capable of the real-time detection of water samples, making it suitable for residual analysis of trace antibiotics in surface water.

KEY WORDS: antibiotics; surface water; online solid-phase extraction; large-volume injection; HPLC-MS/MS

参考文献

- [1] 黄业茹, 张烜, 翁燕波, 等. 水质环境热点污染物分析方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2014.
Huang Y R, Zhang T, Weng Y B, et al. Analysis method of water quality and environmental hot spot pollutants[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2014.
- [2] Luo L, Wang G L, Wang Z M, et al. Optimization of Fenton process on removing antibiotic resistance genes from excess sludge by single-factor experiment and response surface methodology[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 788: 14788.
- [3] 史晓, 卜庆伟, 吴东奎, 等. 地表水中 10 种抗生素 SPE-HPLC-MS/MS 检测方法的建立[J]. *环境化学*, 2020, 39(4): 1075–1083.
Shi X, Bu Q W, Wu D K, et al. Simultaneous determination of 10 antibiotic residues in surface water by SPE-HPLC-MS/MS[J]. *Environmental Chemistry*, 2020, 39(4): 1075–1083.
- [4] 牛颖, 安圣, 陈凯, 等. 2012—2021 年中国地下水抗生素污染现状及分析技术研究进展[J]. *岩矿测试*, 2023, 42(1): 39–58.
Niu Y, An S, Chen K, et al. A review of current status and analysis methods of antibiotic contamination in groundwater in China (2012—2021)[J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2023, 42(1): 39–58.
- [5] Han Y R, Wang Q J, Mo C H, et al. Determination of four fluoroquinolone antibiotics in tap water in Guangzhou and Macao[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(7): 2350–2358.
- [6] Li B, Zhang T, Xu Z Y, et al. Rapid analysis of 21 antibiotics of multiple classes in municipal wastewater using ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 645(1–2): 64–72.
- [7] Ye Z, Weinberg H S, Meyer M T. Trace analysis of trimethoprim and sulfonamide, macrolide, quinolone, and tetracycline antibiotics in chlorinated drinking water using liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2007, 79(3): 1135–1144.
- [8] Ecke A, Schneider R J. Pitfalls in the immunochemical determination of β -Lactam antibiotics in water[J]. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 2021, 10(3): 298–310.
- [9] Tian H J, Liu T, Mu G D, et al. Rapid and sensitive determination of trace fluoroquinolone antibiotics in milk by molecularly imprinted polymer-coated stainless steel sheet electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Talanta*, 2020, 219: 121282.
- [10] 王群. 电化学传感器检测水中氯霉素和氧氟沙星的研究[D]. 北京: 中国地质大学(北京), 2021.
Wang Q. Study on the detection of chloramphenicol and ofloxacin in water by electrochemical sensor[D]. Beijing: China University of Geosciences (Beijing), 2021.
- [11] Lara F J, García-Campaa A M, Neusüss C, et al. Determination of sulfonamide residues in water samples by in-line solid-phase extraction-capillary electrophoresis[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(15): 3372–3379.
- [12] 周爱霞, 苏小四, 高松, 等. 高效液相色谱测定地下水、土壤及粪便中 4 种磺胺类抗生素[J]. *分析化学*, 2014, 42(3): 397–402.
Zhou A X, Su X S, Gao S, et al. Determination of four sulfa antibiotics in groundwater, soil and excreta samples using high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2014, 42(3): 397–402.
- [13] He K, Blaney L. Systematic optimization of an SPE with HPLC-FLD method for fluoroquinolone detection in wastewater[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 282: 96–105.
- [14] Guan S P, Wu H, Yang L, et al. Use of a magnetic covalent organic framework material with a large specific surface area as an effective adsorbent for the extraction and determination of six fluoroquinolone antibiotics by HPLC in milk sample[J]. *Journal of Separation Science*, 2020, 43(19): 3775–3784.
- [15] 侯锦英, 孙志洪, 卢冠宇. 全自动固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定药企周边地表水中 5 种大环内酯类抗生素的残留量[J]. *理化检验(化学分册)*, 2023, 59(3): 332–336.
Hou J Y, Sun Z H, Lu G Y. Simultaneous determination of residues of 5 macrolide antibiotics in surface water around pharmaceutical enterprises by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with automatic solid phase extraction[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis)*, 2023, 59(3): 332–336.
- [16] 范素素, 方焯淳, 蔡萌, 等. 水环境中磺胺类抗生素固相萃取-液质联用检测方法的建立及效果评估[J]. *环境工程学报*, 2022, 16(8): 1–11.
Fan S S, Fang Y T, Cai M, et al. Establishment of solid

- phase extraction-liquid mass spectrometry method for detection of sulfa antibiotics in water environment and its effect evaluation[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2022, 16(8): 1–11.
- [17] Tang P O, Ho C, Lai S L. High-throughput screening for multi-class veterinary drug residues in animal muscle using liquid chromatography/tandem mass spectrometry with on-line solid-phase extraction[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2010, 20(17): 2565–2572.
- [18] 李明明. SPE-HPLC-MS/MS 检测地表水中的萘啶酸, 吡哌酸, 培氟沙星, 氧氟沙星, 司帕沙星和加替沙星残留[J]. *中国测试*, 2021, 47(4): 67–71.
- Li M M. Determination of nalidixic acid, piperidic acid, pefloxacin, ofloxacin, sparfloxacin and gatifloxacin residue in surface water by SPE-HPLC-MS/MS[J]. *China Measurement & Test*, 2021, 47(4): 67–71.
- [19] 祁彦洁. 水中抗生素的检测方法与非生物衰减行为研究[D]. 北京: 中国地质大学(北京), 2014.
- Qi Y J. Determination and abiotic attenuation of antibiotics in water [D]. Beijing: China University of Geosciences (Beijing), 2014.
- [20] 营娇龙, 秦晓鹏, 郎杭, 等. 超高效液相色谱串联质谱法同时测定水体中 37 种典型抗生素[J]. *岩矿测试*, 2022, 41(3): 394–403.
- Ying J L, Qin X P, Lang H, et al. Ultra-high performance for determination of 37 typical antibiotics by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Rock and Mineral Analysis*, 2022, 41(3): 394–403.
- [21] 王蕴馨, 刘思洁, 李青, 等. 全自动固相萃取-超高效液相色谱串联质谱法测定生活饮用水及水源水中 13 种抗生素[J]. *中国卫生工程学*, 2018, 17(3): 401–403.
- Wang Y X, Liu S J, Li Q, et al. Determination of 13 antibiotics in drinking water and source water by automatic solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Public Health Engineering*, 2018, 17(3): 401–403.
- [22] Batt A L, Aga D S. Simultaneous analysis of multiple classes of antibiotics by ion trap LC/MS/MS for assessing surface water and groundwater contamination [J]. *Analytical Chemistry*, 2005, 77(9): 2940–2947.
- [23] Locatelli M A F, Fernando F S, Jardim W F. Determination of antibiotics in Brazilian surface waters using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2011, 60(3): 385–393.
- [24] Garcia-Ac A, Segura P A, Viglino L. On-line solid-phase extraction of large-volume injections coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the quantitation and confirmation of 14 selected trace organic contaminants in drinking and surface water[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(48): 8518–8527.
- [25] García-Galán M J, Díaz C M S, Barcelo D. Determination of 19 sulfonamides in environmental water samples by automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-LC-MS/MS)[J]. *Talanta*, 2010, 81(1-2): 355–366.
- [26] Oscar J P, Carlos G, Juan V S, et al. Efficient approach for the reliable quantification and confirmation of antibiotics in water using on-line solid-phase extraction liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1103(1): 83–93.
- [27] Singer H P, Stoob K, Goetz C W, et al. Fully automated online solid phase extraction coupled directly to liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Quantification of sulfonamide antibiotics, neutral and acidic pesticides at low concentrations in surface waters[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1097(1): 138–147.
- [28] Ding J, Ren N, Chen L. On-line coupling of solid-phase extraction to liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of macrolide antibiotics in environmental water[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 634(2): 215–221.
- [29] Feitosa-Felizzola J, Temime B, Chiron S. Evaluating on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-ion trap mass spectrometry for reliable quantification and confirmation of several classes of antibiotics in urban wastewaters[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, 1164(1-2): 95–104.
- [30] 吴斌, 苏宇亮, 胡克武, 等. 在线固相萃取 UHPLC-MS/MS 法测定水中 15 种抗生素[J]. *净水技术*, 2022, 41(8): 163–168.
- Wu B, Su Y L, Hu K W, et al. Determination of 15 antibiotics in water by UHPLC-MS/MS with online solid-phase extraction[J]. *Water Purification Technology*, 2022, 41(8): 163–168.
- [31] Petrovic M, Hernado M D, Díaz C M S. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: A review[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1067(1): 1–14.
- [32] 许燕娟, 沈斐, 魏焕平, 等. 在线固相萃取-超高效液相色谱-三重四极杆质谱快速测定地表水中磺胺类抗生

- 素[J]. *环境监控与预警*, 2022, 14(3): 49–54.
- Xu Y J, Shen F, Wei H P, et al. Rapid and ultra-trace level analysis of sulfonamide antibiotics in surface water by on-line solid phase extraction with ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. *Environmental Monitoring and Forewarning*, 2022, 14(3): 49–54.
- [33] 宋焕杰, 谢卫民, 王俊, 等. SPE-UPLC-MS/MS 同时测定水环境中 4 大类 15 种抗生素[J]. *分析实验室*, 2022, 41(1): 50–54.
- Song H J, Xie W M, Wang J, et al. Simultaneous determination of 15 antibiotics in 4 categories water environment by SPE-UPLC-MS/MS[J]. *Chinese Journal of Analytical Laboratory*, 2022, 41(1): 50–54.
- [34] 孙慧婧, 李佩纹, 张蓓蓓, 等. 大体积直接进样-超高效液相色谱-三重四极杆质谱法测定水中 7 大类 42 种抗生素残留[J]. *色谱*, 2022, 40(4): 333–342.
- Sun H J, Li P W, Zhang B B, et al. Determination of 42 antibiotic residues in seven categories in water using large volume direct injection by ultra high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2022, 40(4): 333–342.
- [35] 王娅南, 彭洁, 谢双, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定地表水中 40 种抗生素[J]. *环境化学*, 2020, 39(1): 188–196.
- Wang Y N, Peng J, Xie S, et al. Determination of 40 antibiotics in surface water by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Environmental Chemistry*, 2020, 39(1): 188–196.
- [36] 高振刚, 梁延鹏, 曾鸿鹄, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-三重四极杆质谱法测定水中 15 种抗生素残留[J]. *分析实验室*, 2021, 40(8): 875–880.
- Gao Z G, Liang Y P, Zeng H H, et al. Detection of 15 antibiotic in water by solid phase extraction-ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2021, 40(8): 875–880.
- [37] Turiel E, Bordin G, Rodriguez A R. Determination of quinolones and fluoroquinolones in hospital sewage water by off-line and on-line, solid-phase extraction procedures coupled to HPLC-UV[J]. *Journal of Separation Science*, 2005, 28(3): 257–267.
- [38] Claude R M. 使用沃特世的 On-line SPE/LC/MS/MS 技术分析饮用水源地水中的痕量优先污染物[J]. *环境化学*, 2010, 29(5): 990–991.
- Claude R M. Analysis of trace pollutants in drinking water sources using the on-line SPE/LC/MS/MS technology of waters company[J]. *Environmental Chemistry*, 2010, 29(5): 990–991.