

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 µg/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 µg/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 µg/L、20 µg/L 和 200 µg/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, 系统精密性良好。

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

人们在日常活动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×2 (输液泵), DGU-20A₅ (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.×50 mm L., 1.6 µm

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 µL

柱 温: 40℃

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℃
 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

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、秦乐菌素、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 µg/L 的标准工作液。

环境水样品前处理方法:

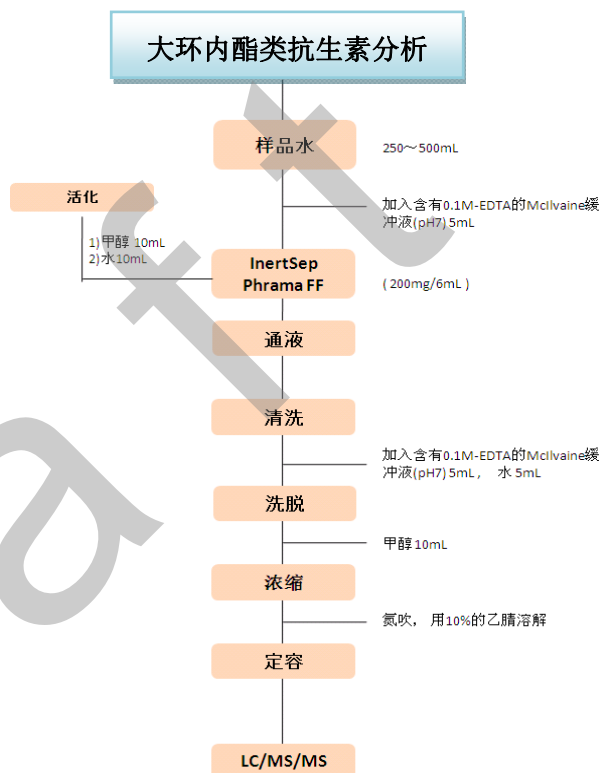


图 1. 环境水中大环内酯类抗生素样品前处理流程图

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*	-26	-45	-19
			540.25	-26	-35	-20
2	替米考星	869.5	174.10*	-28	-50	-20
			696.55	-28	-40	-28
3	竹桃霉素	688.4	158.15*	-22	-30	-18
			544.35	-22	-15	-30
4	秦乐菌素	916.5	174.15*	-30	-45	-20
			722.45	-30	-30	-30
5	北里霉素	772.3	174.10*	-24	-35	-21

			109.05	-24	-45	-23
6	红霉素	734.3	158.15*	-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

2. 结果讨论

2.1 标准样品的产物离子扫描

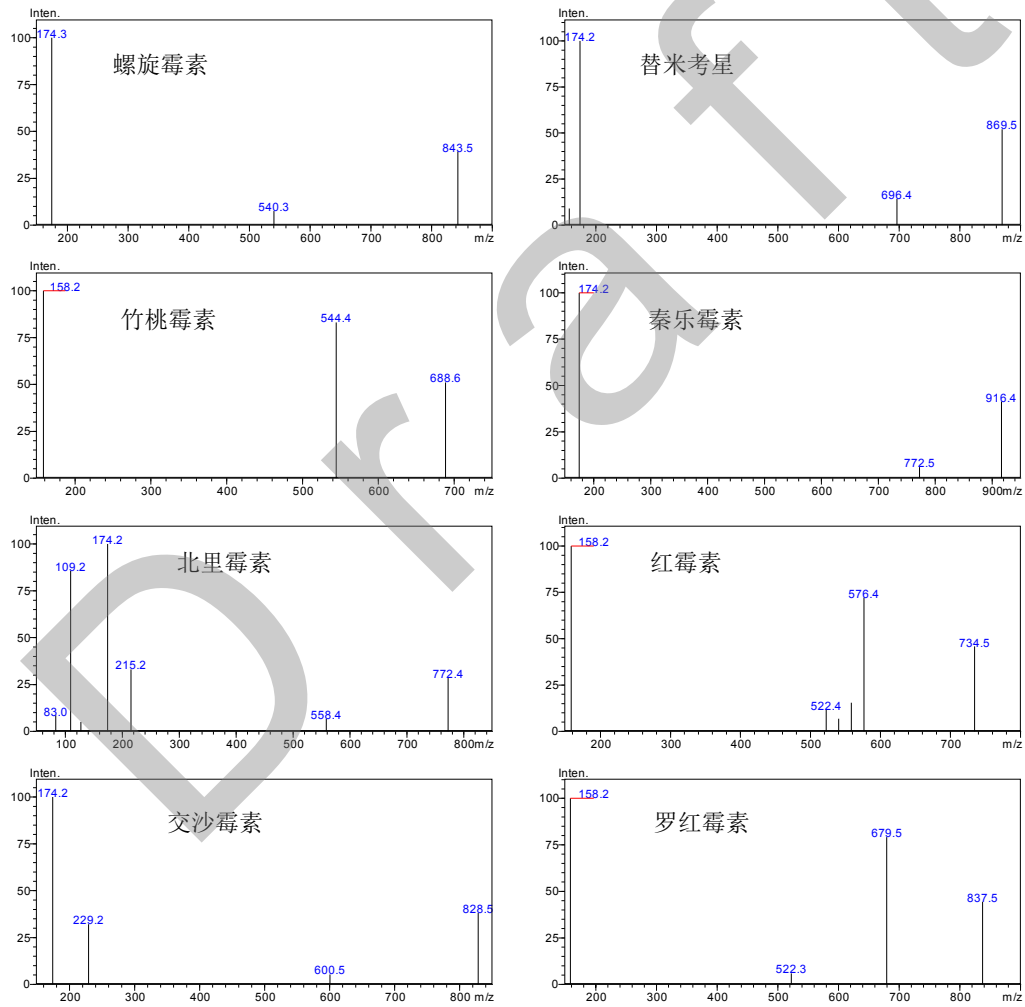


图 2. 标准样品产物离子扫描结果

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。

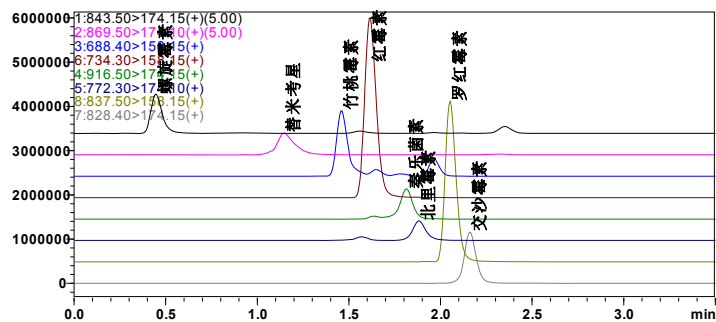
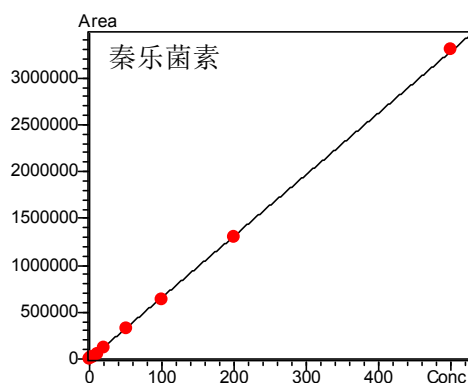
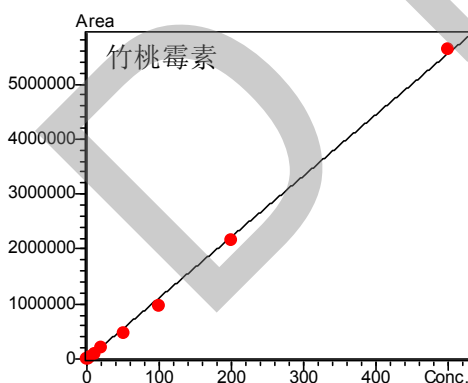
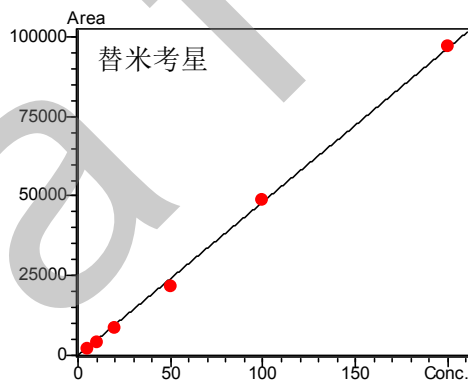
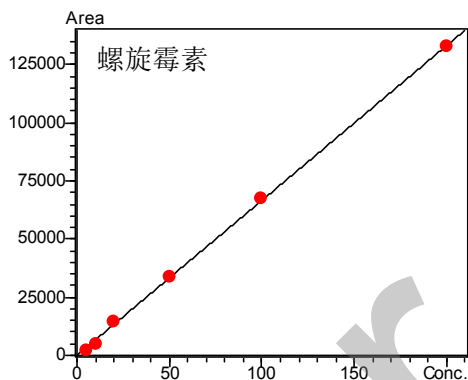


图 3. 大环内酯类抗生素标准样品的 MRM 色谱图

2.3 标准曲线

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。



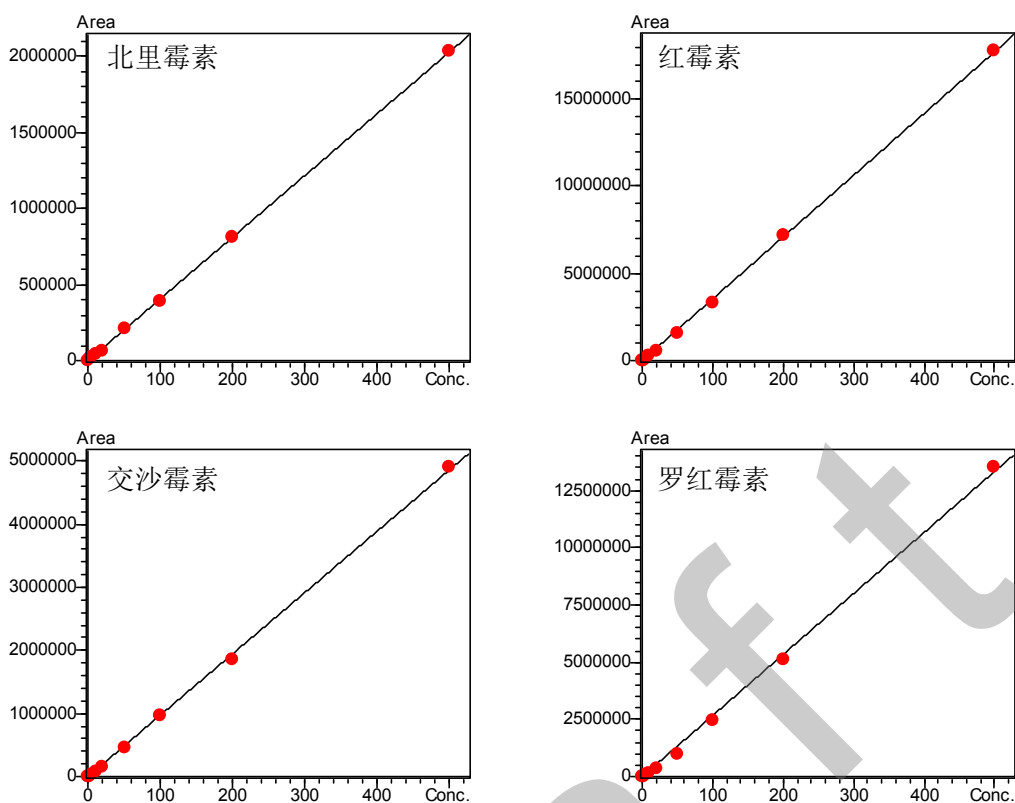


图 4. 8 种大环内酯类抗生素的标准工作曲线

表 3. 8 种大环类抗生素的校准曲线参数

No.	名称	方程式	相关系数 r	浓度 (μg/L)	检出限(μg/L)	定量限 (μg/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 μg/L、20 μg/L 和 200 μg/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。

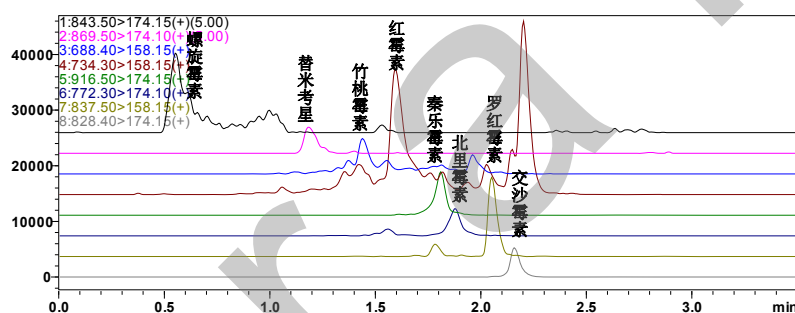


图 5. 地表水空白基质加标样品的色谱图

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。