



Cleanert LDC (PEP-2) 大体积水专用柱用于水中抗生素的测定

AF10078

应用及技术服务部

摘要：本实验采用固相萃取方法结合液相色谱-串联质谱的方法，建立了水中抗生素的检测方法。

水中的抗生素经 Cleanert LDC (PEP-2) 固相萃取柱净化，Venusil MP C18 色谱柱 (2.1 × 150 mm, 5 μm, 100 Å) 分离，0.1% 甲酸水溶液 (V/V) 和乙腈为流动相进行梯度洗脱，外标法进行定量。结果表明，抗生素添加量为 0.02 μg/L 时，回收率在 60% ~ 120% 之间，能够满足检测要求。

关键词：抗生素； Cleanert LDC (PEP-2)； LC/MS/MS

前言

抗生素以前被称为抗菌素，事实上它不仅能杀灭细菌而且对霉菌、支原体、衣原体、螺旋体、立克次氏体等其它致病微生物也有良好的抑制和杀灭作用，通常将抗菌素改称为抗生素。抗生素可以是某些微生物生长繁殖过程中产生的一种物质，用于治病的抗生素除由此直接提取外；还有完全用人工合成或部分人工合成的。通俗地讲，抗生素就是用于治疗各种非病毒感染的药物。但是在临床使用中已经显现了许多副作用。大量使用抗生素会带来较强毒副作用，直接伤害身体，尤其是对儿童听力产生伤害。滥用抗生素会使细菌产生耐药性，会大量杀灭人体内正常细菌，使人体正常菌群失调

因此通过有效的实验技术手段，对水中的抗生素进行监控，以确保人们的身体安全具有重要意义。

本实验以抗生素在水中的检测方法为基础，通过优化前处理方法建立了同时确证定量检多种抗生素在水中的高效液相串联质谱方法。

实验部分

仪器、试剂与材料

主要仪器设备

地址：天津经济开发区西区南大街 179 号 邮编：300462

电话：022-25321032 传真：022-25321033

Email: service@agela.com.cn 网址: www.agela.com.cn 客服: 400-606-8099



AB SCIEX API 4000+液相质谱联用仪;

试剂材料

乙腈为色谱纯; 实验用水为超纯水;

5%氨化甲醇: 取 5 mL 氨水, 用甲醇溶解并稀释到 100 mL;

0.1%甲酸水溶液: 取甲酸 0.2 mL, 用水溶解并稀释至 200 mL;

一次性无菌注射器; 针式过滤器(0.22 μ m, 直径 13 mm);

Cleanert LDC(PEP-2)固相萃取柱: 1 g/200 mL

样品制备

样品制备

量取 500 mL 水样, 加入 0.25 g EDTA, 用盐酸调节 pH 为 4.0, 待净化。

样品净化

取 Cleanert LDC (PEP-2) 大体积水专用柱 (1 g/200 mL), 依次用 9 mL 甲醇, 5 mL 水, 5 mL 0.1%甲酸水(V/V)溶液活化小柱, 将上述待净化液以 90 mL/min 流速通过小柱, 再用 5 mL 水淋洗小柱, 抽干 15 min; 最后用 20 mL 5%氨化甲醇 (V/V) 洗脱, 收集; 45 $^{\circ}$ C 氮气吹干洗脱液, 用 1 mL 20%乙腈水(V/V) 溶解定容, 取上层清液适量过 0.22 μ m 针式过滤器, 供 LC/MS/MS 检测。

基质混合标准工作溶液配制

取高浓度农药混合标准溶液, 用空白样品基质溶液稀释成 0.01 μ g/mL 的基质混合标准工作溶液。

实验条件

液相条件

色谱柱: Venusil MP C18, 5 μ m, 100 $\text{\AA}$, 2.1 $\times$ 150 mm;

流动相: A: 0.1%甲酸水溶液 (V/V); B: 乙腈, 使用前经微孔滤膜过滤

柱温: 30 $^{\circ}$ C

进样量: 10 μ L

质谱条件

正离子模式

离子源: ESI+; 电喷雾电压: 5500 V; 雾化气压力: 55 psi; 气帘气压力:



20 psi; 辅助气压力: 50 psi; 离子源温度: 650°C; 采集方式: 多反应监测(MRM)。

负离子模式

离子源: ESI-; 电喷雾电压: -3500 V; 雾化气压力: 60 psi; 气帘气压力:

15 psi; 辅助气压力: 50 psi; 离子源温度: 600°C; 采集方式: 多反应监测(MRM)。

梯度洗脱: 见表1、表2

表 1. 液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	A/%	B/%
1.00	0.30	90	10
3.00	0.30	40	60
5.00	0.30	5	95
7.00	0.30	5	95
8.00	0.30	90	10
20.00	0.30	90	10

表 2. 负离子模式液相色谱梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	A/%	B/%
1.50	0.30	85	15
5.00	0.30	30	70
5.01	0.30	10	90
6.00	0.30	10	90
6.01	0.30	85	15
10.00	0.30	85	15

质谱参数: 见表3

表3. 13种抗生素质谱参数

物质名称	Q1	Q3	DP/V	CE/V
红霉素	734.6	<u>158.1</u>	81	49
		576.8	86	49
交沙霉素	828.3	<u>174.3</u>	121	45



		109.3	126	45
吉他霉素	772.4	215	116	41
		<u>174.1</u>	121	41
噁唑酸	262	<u>244</u>	41	27
		216	41	41
氟甲喹	262	<u>244</u>	41	27
		202	41	45
萘啶酸	233	<u>215</u>	40	19
		187	40	35
磺胺吡啶	250	<u>156</u>	65	24
		184	65	24
磺胺氯哒嗪	285	<u>156</u>	50	23
		108	50	35
磺胺甲噻啶	265	<u>156</u>	60	25
		172	60	25
磺胺甲噻二唑	271	<u>156</u>	50	20
		107	50	32
磺胺甲氧哒嗪	281	<u>156</u>	70	25
		<u>215</u>	60	25
磺胺对甲氧噻啶	281	<u>156</u>	70	25
		108	70	35
氟甲砒霉素	356	336	-78	-23
		<u>185</u>	-78	-23

注：加下划线的即为定量离子对

结果与讨论

实验结果

地址：天津经济开发区西区南大街 179 号 邮编：300462

电话：022-25321032 传真：022-25321033

Email: service@agela.com.cn 网址: www.agela.com.cn 客服：400-606-8099



由表 4 可知，采用固相萃取结合高效液相串联质谱法检测抗生素加标回收率在 60%~120%之间，变异系数值小于 20%，能够满足检测要求。由图 1、2、3、4、5、6、7、8 可看出经 Cleanert LDC (PEP-2) 固相萃取柱净化效果良好，采用 Venusil MP C18 色谱柱检测得到的抗生素峰形良好，且保留时间稳定。

表 4. 水中抗生素加标回收实验结果(添加水平 0.02 µg/L)

物质名称	平均回收率/%	变异系数/%	保留时间/min
红霉素	74.8	14.2	5.91
交沙霉素	82.3	2.0	6.19
吉他霉素	100.7	15.0	6.05
噁喹酸	92.6	14.0	7.11
氟甲喹	104.2	6.3	6.58
萘啶酸	107.8	8.6	7.08
磺胺吡啶	94.9	10.7	5.65
磺胺氯哒嗪	75.5	0.3	6.31
磺胺甲噁啉	75.1	12.4	5.81
磺胺甲噻二唑	95.5	14.1	5.98
磺胺甲氧哒嗪	80.6	7.9	6.01
磺胺对甲氧嘧啶	68.3	4.6	6.19
氟甲砜霉素	86.3	3.9	7.07

实验谱图

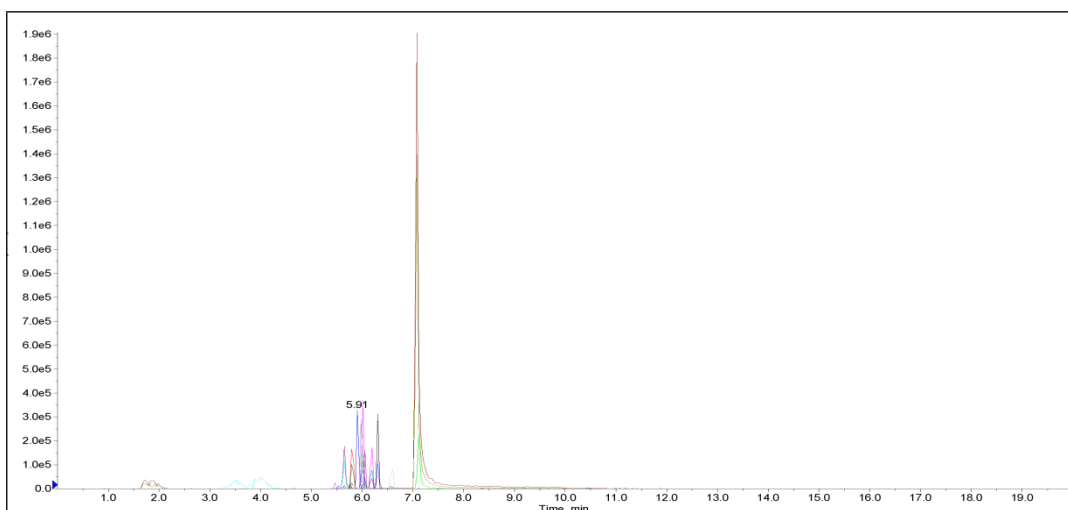


图 1. 正离子模式 0.01 µg/mL 混合标准工作溶液 LC/MS/MS 色谱图

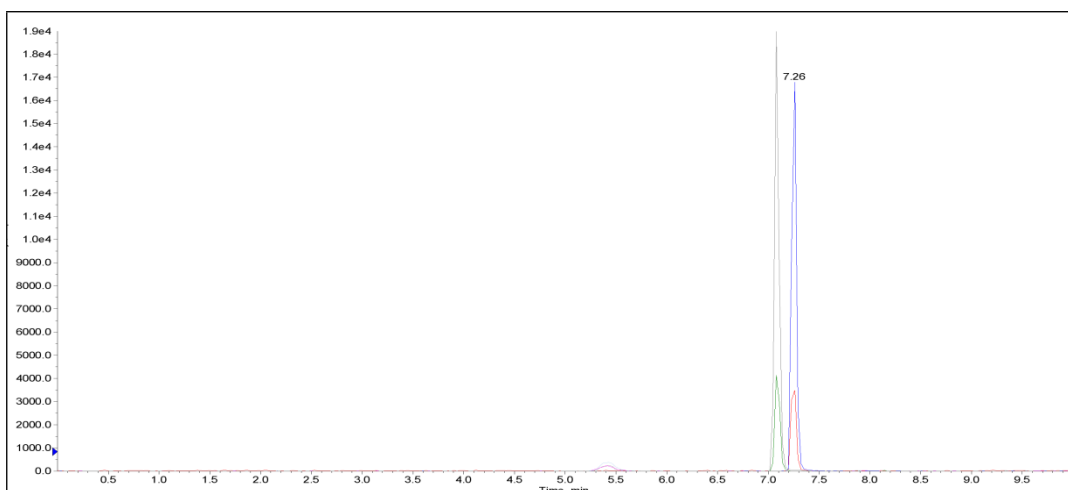


图 2. 负离子模式 0.01 µg/mL 混合标准工作溶液 LC/MS/MS 色谱图

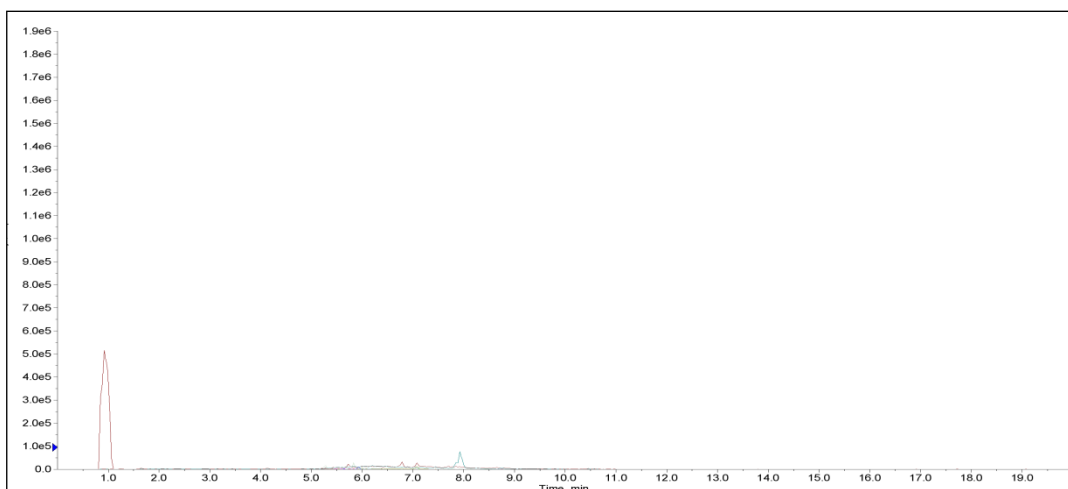


图 3. 正离子模式水基质空白 LC/MS/MS 色谱图

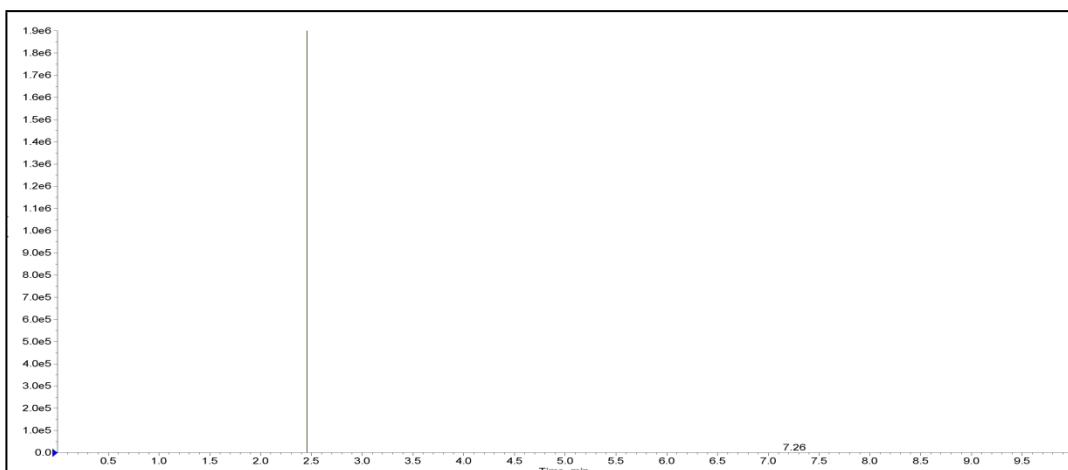


图 4. 负离子模式水基质空白 LC/MS/MS 色谱图

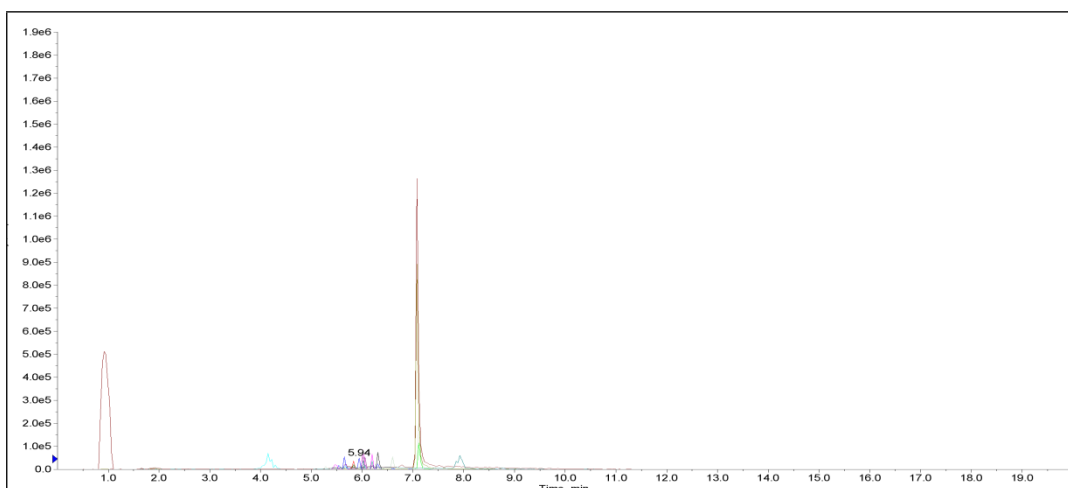


图 5. 正离子模式 0.01 µg/mL 水基质混合标准工作液 LC/MS/MS 色谱图

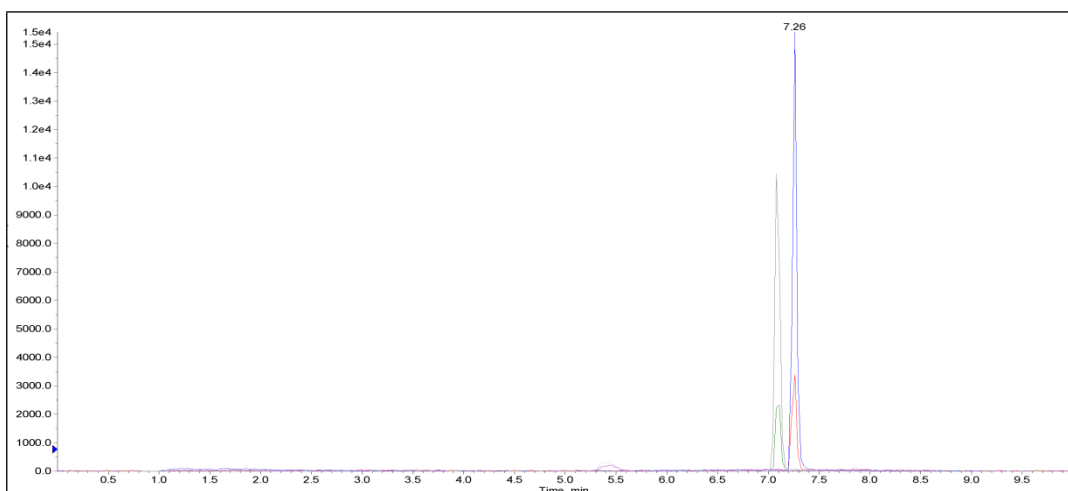


图 6. 负离子模式 0.01 µg/mL 水基质混合标准工作液 LC/MS/MS 色谱图

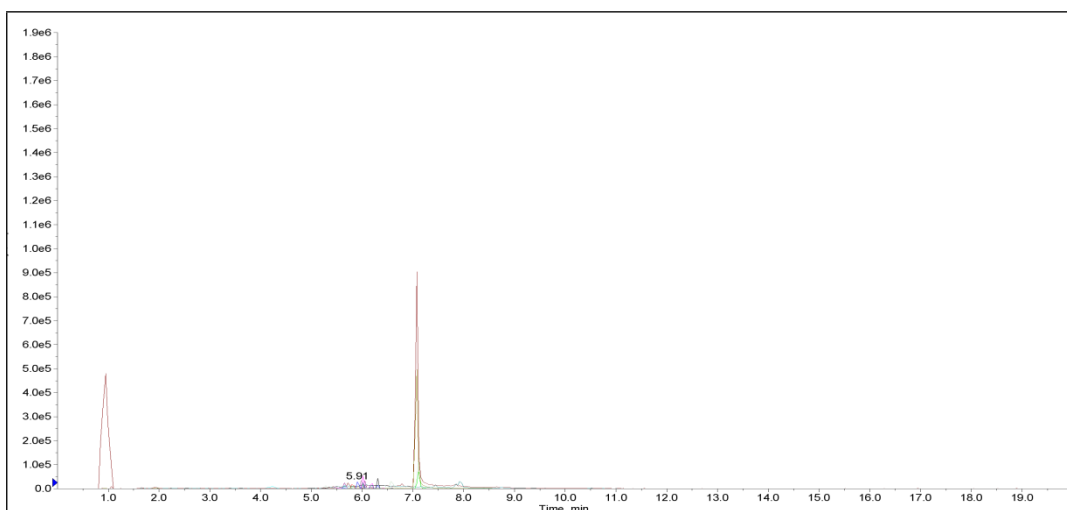


图 7. 正离子模式 0.02 µg/L 水中加标 LC/MS/MS 色谱图

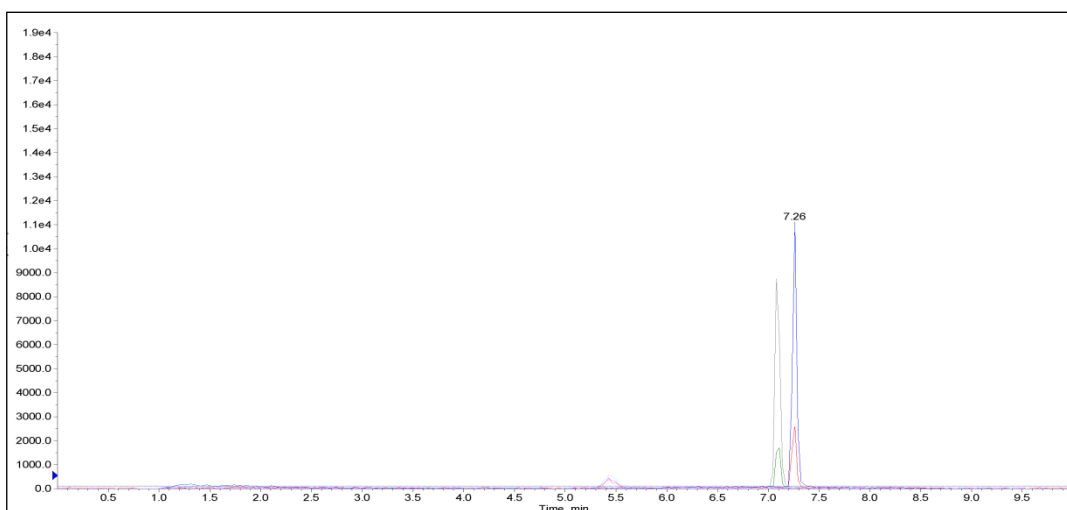


图 8. 负离子模式 0.02 µg/L 水中加标 LC/MS/MS 色谱图

结论

本实验建立了水中抗生素的 LC/MS/MS 检测方法，并结合固相萃取技术对水中抗生素的含量进行了测定。对于加标量为 0.02 µg/L 的样品进行了检测，回收率在 60%~120%，符合要求，固相萃取方法稳定并且色谱柱重现性良好，说明本方法能够用于检测水中抗生素的残留量。



附：相关产品

产品名称	规格描述	包装数量	订货号
Venusil MP C18	5 μm , 100 $\text{\AA}$, 2.1 $\times$ 150 mm	1 支	VA951502-0
Cleanert LDC(PEP-2)	1 g/200 mL	4 支/pk	LPE000100-2
M08 型正压固相萃取装置	8 通道,配置大体积水上样装置	1 台	SPE-M08
15 位氮吹仪	15 位	1 台	NV15-M
保护柱套	适用于 4.6 $\times$ 10 mm 和 2.1 $\times$ 10 mm	1 支	SH-100
直联式保护柱芯	5 μm , 100 $\text{\AA}$; 2.1 $\times$ 10 mm	4 支/包	VA950102-0S
1.5 mL 样品瓶	短螺纹透明带书写处 32 $\times$ 11.6 mm	100/pk	1109-0519
1.5 mL 样品瓶盖	9 mm 中心孔蓝盖, 红色橡胶/米色 PTFE 隔垫 45°Shore A; 1.0 mm	100/pk	0915-1819



博纳艾杰尔产品应用案例

针式过滤器	单膜, 13 mm, 0.22 μm	200 个/包	AS021320
一次性注射器	2 mL 无针头	100 支/包	LZSQ-2ML
甲醇	4 L/瓶, 色谱纯	4 $\times$ 4 L/箱	AH230-4
乙腈	4 L/瓶, 色谱纯	4 $\times$ 4 L/箱	AH015-4