



文章栏目：环境监测技术

DOI 10.12030/j.cjee.202204010 中图分类号 X502 文献标识码 A

范素素, 方烨淳, 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): 2764-2774. [FAN Susu, FANG Yeting, CAI Meng, 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): 2764-2774.]

# 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

范素素<sup>1</sup>, 方烨淳<sup>2</sup>, 蔡萌<sup>1</sup>, 马艳<sup>2</sup>, 石健<sup>1,✉</sup>

1. 南通大学分析测试中心, 南通 226019; 2. 南通大学化学化工学院, 南通 226019

**摘要** 为快速、同步检测分析磺胺类抗生素, 有效削减并控制水体中磺胺类上抗生素含量, 基于已有检测仪器和分析测试方法, 建立了一种用于同时测定水体中 8 种磺胺类抗生素(磺胺氯哒嗪、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺喹恶啉、磺胺甲氧哒嗪、磺胺甲噻二唑、磺胺吡啶)残留的固相萃取-液相色谱-三重四极杆串联质谱检测方法; 在检测过程中, 调节水样的 pH 为 3, 用 HLB 固相萃取柱进行净化、富集, 在 40 ℃ 条件下用氮吹浓缩吹干, 用超纯水复溶至 1 mL; 以 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸乙腈溶液作为流动相, 使用 Phenomenex Kinetex F5 色谱柱 (50 mm×3.0 mm, 2.6 μm) 进行分离, 在多反应监测模式 (MRM) 下对样品进行定量、定性分析。结果表明: 8 种磺胺类抗生素线性关系良好, 且拟合度均大于 0.999 0; 检出限为 0.1~0.5 μg·L<sup>-1</sup>, 定量限为 0.5~2.0 μg·L<sup>-1</sup>; 质量浓度为 1、5、50 μg·L<sup>-1</sup> 的混标溶液的加标回收率分别为 78.85%~127.96%、76.69%~114.38% 和 73.55%~125.92%, 相对标准偏差均在 15% 以内。该方法快捷、高效、灵敏, 能够满足水中磺胺类抗生素的定性、定量检测, 可为我国检测方法标准体系的建设提供参考。

**关键词** 磺胺类抗生素; 固相萃取; 液质联用; 环境水体; 残留检测

磺胺类抗生素 (sulfonamides, SAs) 是一种具有磺胺类基本结构的化学合成的广谱抗生素。磺胺类抗生素的应用前景十分广阔, 主要用于动物体和人体中细菌感染疾病的防治<sup>[1]</sup>。随着我国对于磺胺类抗生素的需求和消费量的日渐增长, 导致大量的磺胺类抗生素会排入环境并在环境中聚集和富集, 造成了巨大的风险<sup>[2]</sup>。目前, 有关磺胺类抗生素的残留检测研究主要集中在动物源食品<sup>[3-4]</sup>中, 而环境水体中的残留检测却常常被忽略。何秀婷等<sup>[5]</sup>调查阳江和大亚湾海水养殖区发现, 虽然鱼肉组织中仅磺胺二甲基嘧啶含量超标, 但肝脏样品中的磺胺类抗生素计算超标率却高达 89%。虽然对比世界规定的日允许摄入量 (ADI≤50 μg·kg<sup>-1</sup>) 来说, 远未达到规定值, 但如若长期暴露于低浓度情况下, 水生生物极有可能受到危害<sup>[6]</sup>。由于磺胺类抗生素的耐久性, “二次暴露”的可能性也十分大。水体中残留的磺胺类抗生素通过饮用水<sup>[7]</sup> 或水生动物富集<sup>[8]</sup> 进入人体。细菌与磺胺类抗生素接触后, 对磺胺类抗生素的敏感性降低甚至消失, 形成耐药菌株。如果人类长期食用带有耐药菌株的肉制品, 耐药菌株会继续在人体内积蓄, 使得人体健康受到影响<sup>[9]</sup>。因此, 建立

收稿日期: 2022-04-01; 录用日期: 2022-06-02

基金项目: 南通市社会民生科技计划 (MS12020048); 江苏省水利科技项目 (2020043); 江苏省大型科学仪器开放共享自主研究课题 (TC2021A021)

第一作者: 范素素 (1987—), 女, 硕士, 实验师, fansusu828@ntu.edu.cn; ✉通信作者: 石健 (1972—), 女, 博士, 教授, shi.j@ntu.edu.cn

一种快速检测多种磺胺类抗生素的方法刻不容缓。

目前, 磺胺类抗生素残留检测技术主要包括免疫分析法、液相色谱法、液质联用法等。免疫分析法一般用于大量样品的常规分析或者样品的定性筛查。相比于其他检测方法, 其灵敏度不高, 还易出现假阳性。液相色谱法的灵敏度较低, 一般仅作为筛选方法。液质联用法灵敏度高、选择性特异性好, 对含量较低的目标物也可以进行较好地定性确认, 是目前较为先进的药物残留检测方法<sup>[10]</sup>。刘培勇等<sup>[11]</sup>建立了一种高效液相色谱-串联质谱用于检测猪肉中常见的11种磺胺类抗生素残留的方法, 样品使用 Oasis MCX SPE 柱进行固相萃取, 使用正离子模式测定, 11种磺胺类抗生素的检出限为 0.1~1.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 在 20~400  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  内线性良好, 回收率为 79.3%~105.5%, 相对标准偏差为 1.3%~11.6%( $n=6$ )。环境水样中磺胺类抗生素的富集提取方法主要包括液液萃取、固相萃取和加速溶剂萃取等。作为最早被应用和普及的样品预处理技术, 液液萃取具有操作简单、设备易获取、成本低廉等优点。但传统液液萃取方法存在耗时长、对溶剂要求高、可能造成环境二次污染的缺点。与传统的液液萃取方法相比, 固相萃取具有更高的回收率、更少的有机溶剂、更简易的操作、更低廉的价格和更低的环境负荷等优点。其作用机理是利用固体吸附剂使样品中的目标化合物先被富集吸附, 再利用特定有机溶剂洗脱或者热解吸附, 使目标化合物从吸附剂中脱离出来。液质联用法中的基质效应是制约高通量检测的主要技术瓶颈, 固相萃取则成为去除基质效应的研究重点<sup>[12-14]</sup>, 并被广泛应用于环境水体中抗生素的富集。WANG 等<sup>[15]</sup>采用三聚氰胺/邻苯二醛共价有机框架作为固相萃取剂, 对水样中磺胺类抗生素进行富集, 检测到 6 种抗生素, 检出限为 0.05~0.36  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ , 回收率为 82.5%~104.8%。

为提高检测方法的高效性及检测结果的准确性, 本研究在参考美国及欧盟分析测试 PPCPs 方法和已有检测仪器原理的基础上, 采用超高效液相色谱-串联质谱联用检测技术, 比对不同固相萃取柱及水样 pH 值, 探讨最佳固相萃取条件, 建立 8 种磺胺类抗生素标准物质的线性方程, 讨论检测技术的定量限、检出限、稳定性、精密度及空白基质加标回收率, 分析检测技术的时效性、稳定性、灵敏性和数据的准确性, 旨在为水环境中磺胺类抗生素残留问题提供简单、快速、高效、灵敏的检测方案, 亦为我国检测方法标准体系的建设提供参考。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

1) 实验仪器。1290-AB 5500QTRAP 三重四级杆液相色谱质谱联用仪(上海 SCIEX 分析仪器贸易有限公司); Phenomenex Kinetex F5 色谱柱(美国飞诺美公司); EVA30A 多功能样品氮吹浓缩仪(北京普立泰科仪器有限公司); RayCure HLB 固相萃取小柱(60 mg, 3 mL, 技途(大连)科技有限公司); 玻璃纤维滤膜(0.45  $\mu\text{m}$ , 江苏绿盟科学有限公司); Milli-Q 超纯水仪(美国密理博公司); 隔膜真空泵(天津市津腾实验设备有限公司)。

2) 实验试剂。磺胺间二甲氧嘧啶(SDM)、磺胺二甲基嘧啶(SDD)、磺胺甲恶唑(SMZ)、磺胺氯哒嗪(SPSD)、磺胺甲氧哒嗪(SMP)、磺胺吡啶(SASP)、磺胺喹恶啉(SQ)、磺胺甲噻二唑(SMTZ)(100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , 坛墨质检有限公司), 甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 Tedia 公司), 甲酸(99%, 美国 ACS 恩科化学公司), 盐酸(优级纯, 国药集团化学试剂有限公司), 氨水(分析纯, 江苏强盛功能化学股份有限公司), 乙二胺四乙酸二钠( $\geq 99.0\%$ , 上海凌峰化学试剂有限公司)。8 种磺胺类抗生素 CAS 号、分子式、相对分子质量和结构式如表 1 所示。

### 1.2 溶液配制

混合标准储备溶液质量浓度为 100  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 分别量取 8 种磺胺类标准品(磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺氯哒嗪、磺胺甲氧哒嗪、磺胺吡啶、磺胺喹恶啉、磺胺甲噻

二唑)各1 mL,用乙腈定容至100 mL,于-18 ℃条件下避光保存备用。实验用水为超纯水。

### 1.3 实验方法

水样(取自实验室)使用前,经0.45 μm滤膜过滤,再调节pH至3。每1 L过滤水样中加入500 mg EDTA(以乙二胺四乙酸二钠计)。依次使用3 mL甲醇和3 mL超纯水对Waters Oasis HLB固相萃取小柱进行活化。水样过滤后,取50 mL水样并控制水样在6 mL·min<sup>-1</sup>流速下通过萃取柱,直至液体抽干。富集完成后,用3 mL超纯水淋洗数次。在真空泵作用下,抽干萃取柱中液体,最后使用1 mL 2%甲酸甲醇溶液洗脱3次,在自然重力作用下收集洗脱液于10 mL管中。在40 ℃条件下,氮吹浓缩吹干,使用超纯水复溶至1 mL,待测。

### 1.4 仪器工作条件

1) 色谱条件。选择Phenomenex Kinetex F5色谱柱(2.6 μm, 50 mm×3.0 mm),柱温为40 ℃,进样量为100 μL,流速为0.4 mL·min<sup>-1</sup>;流动相A为0.1%甲酸水溶液,流动相B为0.1%甲酸乙腈溶液。采用梯度洗脱,其洗脱程序见表2。

2) 质谱条件。ESI电喷雾离子源电压为5 500 V;扫描采用正离子(ESI<sup>+</sup>)模式;气帘气(CUR)压力为206.84 kPa;雾化气(GS1)压力为344.74 kPa;辅助气(GS20)压力为413.69 kPa;源温度(TEM)为500 ℃;碰撞气(CAD)压力等级为55.16 kPa;监测模式采用多反应监测(MRM)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 质谱条件优化

采用0.1%甲酸溶液与0.1%甲酸乙腈溶液为流动相,MRM模式下对磺胺间二甲氧嘧啶(SDM)、磺胺二甲基嘧啶(SDD)、磺胺甲恶唑(SMZ)、磺胺氯吡啶(SPDZ)、磺胺甲氧吡啶(SMP)、磺胺吡啶(SASP)、磺胺喹恶啉(SQ)与磺胺甲噻二唑(SMTZ)进行检测。进入一级质谱后,在正离子检测方式下,SDM、SDD、SMZ、SPDZ、SMP、SASP、SQ与SMTZ产生稳定的[M+H]<sup>+</sup>分子离子峰,即m/z分别为311.1、279.1、254.1、285.1、281、250.1、301.1和271。进行二级质谱扫描,得到8种磺胺类抗生素特征碎片离子m/z,分别为156.1、186.1、156、156、126.1、156.1、156和156.1。8种磺胺类抗生素的质谱监测离子与主要参数值见表3。

表1 8种磺胺类抗生素的CAS号、分子式、相对分子质量和结构式

Table 1 CAS number, molecular formula, relative molecular weight and structural formula of 8 sulfa antibiotics

化合物	CAS号	分子式	相对分子质量
磺胺间二甲氧嘧啶 (sulfamethazine,SDM)	155-91-9	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> S	310.33
磺胺二甲基嘧啶 (sulfamethazine,SDD)	57-68-1	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	278.33
磺胺甲恶唑 (sulfamethoxazole,SMZ)	723-46-6	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	253.28
磺胺氯吡啶 (sulfachloropyridazine,SPDZ)	80-32-0	C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> ClN <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	284.72
磺胺甲氧吡啶 (sulfamethoxypyridazine,SMP)	80-35-3	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub> S	280.30
磺胺吡啶 (sulfapyridine,SASP)	144-83-2	C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> S	249.29
磺胺喹恶啉 (sulfaquinoxaline,SQ)	59-40-5	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S	300.34
磺胺甲噻二唑 (sulfamethizole,SMTZ)	144-82-1	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	270.33

表2 梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution procedures

时间/ min	流速/ (mL·min <sup>-1</sup> )	流动相A 体积分数/%	流动相B 体积分数/%
0	0.4	97	3
1	0.4	97	3
1.1	0.4	85	15
9.5	0.4	25	75
9.6	0.4	5	95
11.5	0.4	5	95
11.6	0.4	97	3
13.6	0.4	97	3

表 3 8 种磺胺类抗生素的质谱监测离子与主要参数  
Table 3 Monitoring ions and main parameters of 8 sulfonamides antibiotics by mass spectrometry

化合物	母离子 $m/z$	定量离子 $m/z$	碰撞能/eV	定性离子 $m/z$	碰撞能/eV	去簇电压/V
SDM	311.1	156.1	28	218	28	200
SDD	279.1	186.1	23	156	27	175
SMZ	254.1	156	22	108	37	138
SPDZ	285.1	156	23	108.1	33	140
SMP	281	126.1	21	156	20	150
SASP	250.1	156.1	20	108	39	150
SQ	301.1	156	20	108	36	167
SMTZ	271	156.1	19	108	32	110

## 2.2 色谱条件优化

1) 柱温优化。柱温对物质保留性质的影响主要是由于温度的不同导致溶质在流动相中的溶解度不同而造成的<sup>[16]</sup>。在其他色谱条件不变的情况下, 考察了柱温(30、35、40、45 和 50 °C)对峰面积的影响(图 1), 并进行了优化。结果显示, 当温度从 30 °C 升至 50 °C 过程中, 各目标物色谱峰的保留时间依次减小。磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺氯吡啶、磺胺吡啶和磺胺甲噻二唑在柱温为 40 °C 时, 各色谱峰的峰面积最大, 响应值最高。磺胺间二甲氧嘧啶在柱温为 35 °C 时, 色谱峰峰面积最大; 40 °C 时的色谱峰峰面积次之。磺胺甲氧吡啶在柱温为 45 °C 时, 色谱峰峰面积最佳, 但温度较高会影响色谱柱寿命。综合考虑, 选取色谱柱柱温为 40 °C 时的色谱峰峰面积最为合适。因此, 本实验的柱温设定为 40 °C。

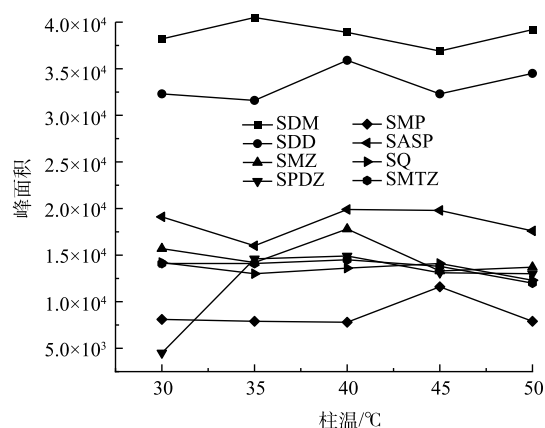


图 1 柱温对 8 种磺胺类抗生素峰面积的影响

Fig. 1 Influence of column temperature on peak area of 8 sulfonamides antibiotics

2) 流动相条件优化。由于磺胺类抗生素呈弱碱性, 分子形态只在酸性溶液中存在, 故加入一定量的甲酸以促进磺胺类抗生素电离, 使其更好地离子化, 且在电离时更易被检测<sup>[17]</sup>。目前, 磺胺类抗生素检测中最为常用的有机相为甲醇<sup>[18]</sup>和乙腈<sup>[17, 19]</sup>。本研究对甲醇和乙腈 2 种流动相进行了考察, 色谱图如图 2 所示。可以看出, 使用甲醇作为有机相时, 虽然分离度良好, 但由于磺胺类药物在结构中含有氨基, 易与色谱填料中的残余硅羟基产生氢键, 造成峰形拖尾、展宽以及保留时间漂移等现象, 从而增加优化难度。乙腈作为有机相时分离效果更明显, 质谱信号响应更强烈。故选择 0.1% 甲酸水溶液和 0.1% 甲酸乙腈溶液作为流动相。

## 2.3 固相萃取条件的优化

1) 固相萃取柱的选择。目前, 磺胺类抗生素前处理常见的几种固相萃取柱包括 HLB<sup>[20]</sup>、MCX<sup>[11, 21]</sup>、Silica<sup>[22]</sup>、C18、ENV<sup>+</sup>柱等<sup>[23]</sup>。已有研究<sup>[20, 24-25]</sup>表明, HLB 柱在萃取效果方面的综合性能较好。本研究比较了 pH=3 条件下 HLB 柱、MCX 柱的回收率。依次用 3 mL 甲醇、3 mL 超纯水活化 HLB 柱、MCX 柱。HLB 柱实验组用 3 mL 2% 甲酸甲醇溶液洗脱; MCX 柱实验组用 3 mL 5% 氨水甲醇溶液洗脱。

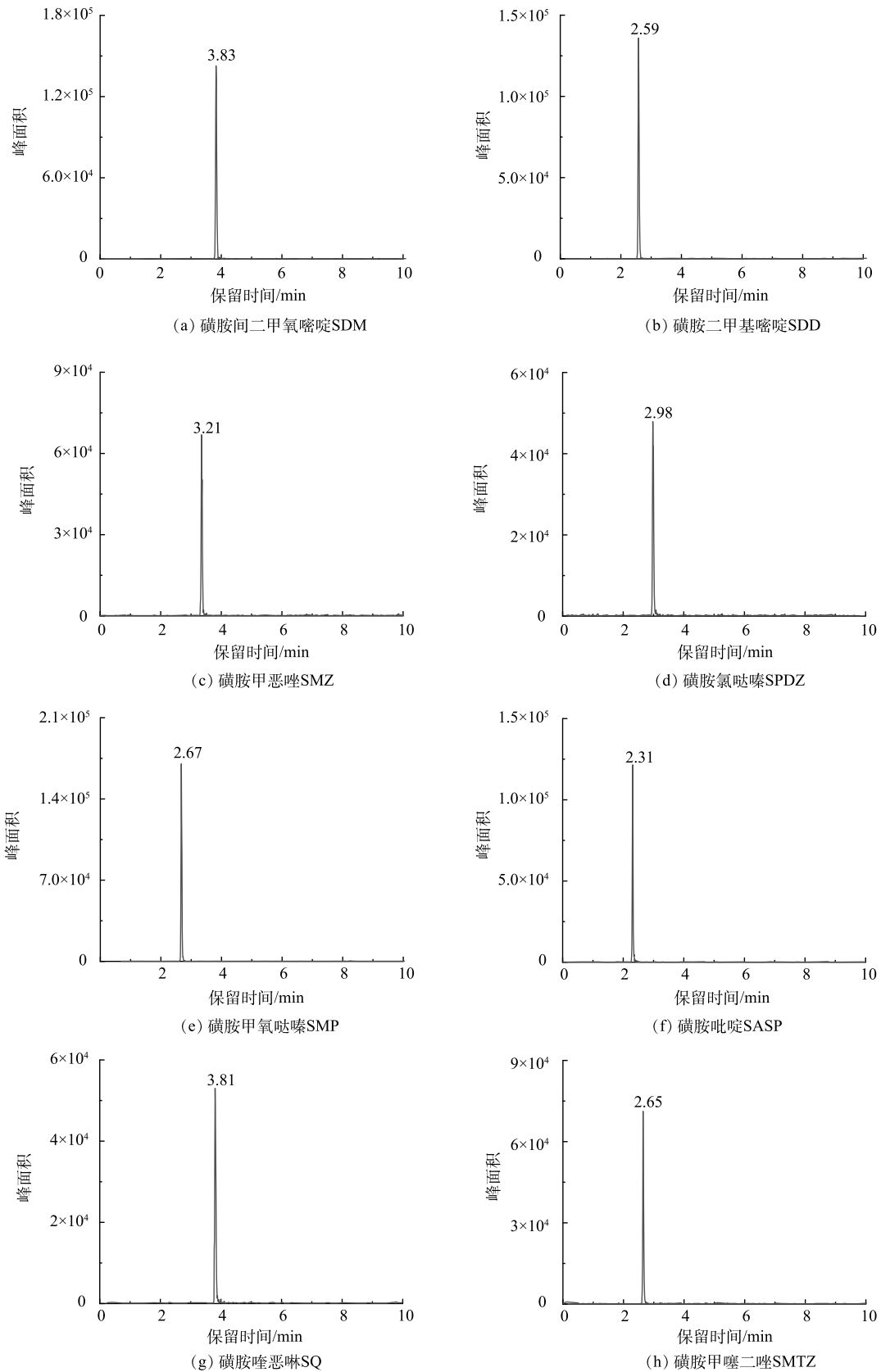


图2 8种磺胺类抗生素色谱图

Fig. 2 Chromatograms of 8 sulfonamides antibiotics

洗脱后结果如图 3 所示。可以看出, HLB 柱的萃取效果最好, 加标回收率为 86.45%~105.70%; MCX 柱的萃取效果次之, 加标回收率为 65.86%~81.36%。这可能是因为磺胺类抗生素是极性物质造成的。而 HLB 柱是由亲脂基团和亲水基团聚合而成的, 对于极性化合物的保留有很好的效果<sup>[26]</sup>。磺酰基团会导致磺胺类抗生素带有弱酸性, 选择 0.2% 甲酸甲醇溶液洗脱, 能去除部分碱性和中性干扰物。综合考虑, 选择 HLB 固相萃取柱作为吸附剂。

2) 水样 pH 值的优化。已有研究<sup>[27]</sup>表明, 水样 pH 值对固相萃取回收率存在一定影响。本研究比较了磺胺类抗生素样品在 pH 值为 3 和 7 时的回收效率(图 4)。结果表明: pH=3 时, 磺胺类抗生素回收率保持在 80% 以上; 而 pH=10 时, 回收率不是很理想。这可能是由于磺胺类抗生素( $pK_{a1}=1.11\sim 2.75$ ,  $pK_{a2}=4.18\sim 7.59$ )是具备弱碱性和酸性的两性电解质而导致的。当 pH 为 2~5 时, 磺胺类抗生素呈中性状态, 在水样中能保持等电状态, 从而达到优秀的吸附效率<sup>[19]</sup>。已有研究<sup>[28]</sup>在酸性条件下进行固相萃取并取得了满意的结果。因此, 本研究选用 pH 值为 3 的水样进行固相萃取。

## 2.4 检测效果

对配制好的 0.5、1、2、5、10、20、30、50、100 和 200  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的混合标准溶液进行测定。以峰面积响应值为纵坐标(y), 溶液浓度为横坐标(x), 绘制相应的标准曲线(其标准曲线见图 5)。由表 4 可以看出, 8 种磺胺类抗生素计算所得拟合度均在 0.999 0 以上, 说明该方法具有可靠性。

1) 方法定量限及检出限。根据信噪比理论, 8 种抗生素方法的检出限计算结果(表 5)为 0.1~0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 定量限为 0.5~2  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。除磺胺二甲基嘧啶(SDD)以外, 其余抗生素测定相对标准偏差均在 5% 以内, 磺胺二甲基嘧啶(SDD)在 5% 左右, 说明该方法精密度高。

2) 方法的精密度。准确吸取质量浓度为 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的混标溶液 1 mL, 重复进样 6 次, 计算 8 种磺胺类抗生素的峰面积的相对标准偏差(RSD), 结果如表 6 所示。可以看出, 除磺胺二甲基嘧啶(SDD)外, 其余抗生素测定相对标准偏差均在 5% 以内, 磺胺二甲基嘧啶(SDD)维持在 5% 左右, 说明该方法精密度高。

3) 方法的稳定性。将 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的混标溶液在环境中密封保存, 分别在 0、4、8、24 和 48 h 对该溶液进行测定。各化合物峰面积响应值如表 7 所示。可以看出, 48 h 之内, 溶液中 8 种抗生素含量的波动在 7% 以内, 说明该方法稳定性较好。

4) 加标回收率。向水样中添加不同浓度的目标抗生素混合标准溶液, 进行加标回收实验, 测得 8 种磺胺类抗生素的回收率及 RSD, 结果如表 8 所示。为进一步确认方法的可靠性, 向水样中

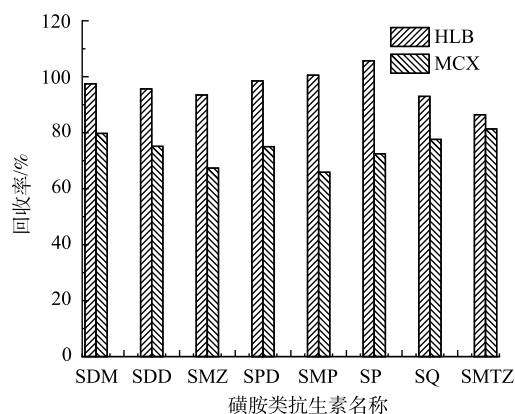


图 3 固相萃取柱对加标回收率的影响

Fig. 3 Influence of SPE column on recovery rate

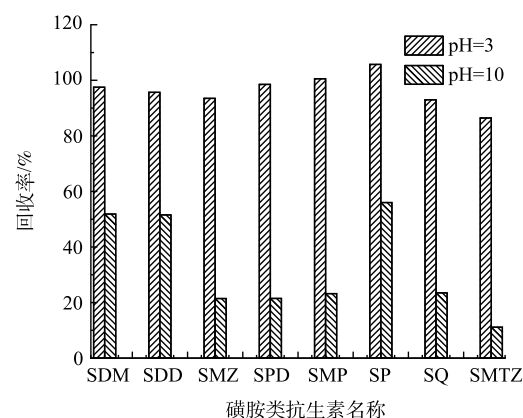


图 4 水样 pH 对加标回收率的影响

Fig. 4 Influence of pH of water sample on spiked recovery rate

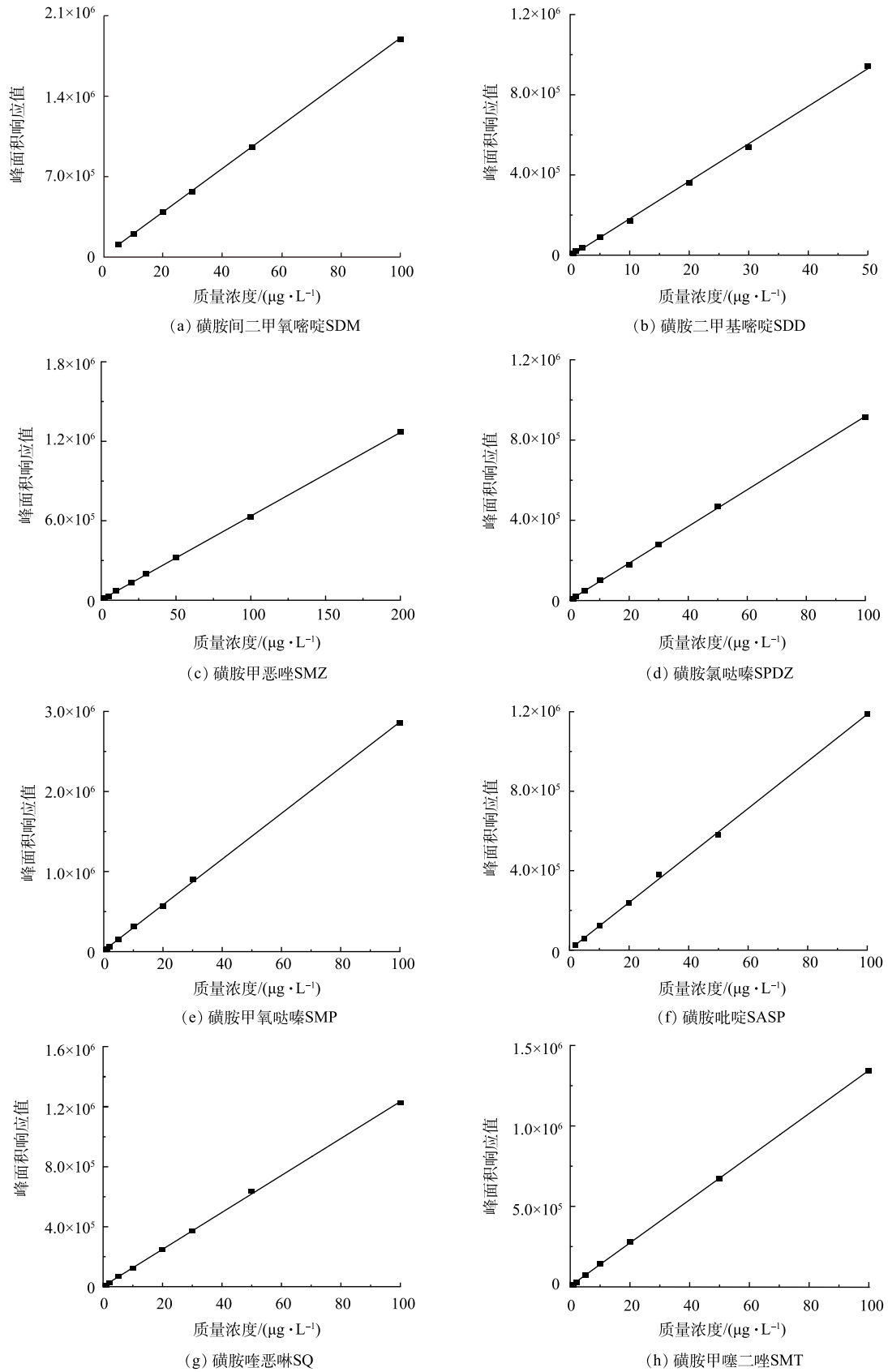


图5 8种磺胺类抗生素标准曲线图

Fig. 5 Standard curves of 8 sulfonamides antibiotics

表 4 8 种磺胺类抗生素的回归方程及拟合度  
Table 4 Regression equation and correlation coefficient of 8 sulfonamides antibiotics

名称	线性方程	拟合度
磺胺间二甲氧嘧啶(SMD)	$y = 18\ 883x + 7\ 996.2$	0.999 9
磺胺二甲基嘧啶(SM2)	$y = 18\ 719x - 5\ 789.2$	0.999 1
磺胺甲恶唑(SMZ)	$y = 6\ 311.6x + 4\ 186.6$	0.999 9
磺胺氯哒嗪(SPD)	$y = 9\ 147.4x + 3\ 617.4$	0.999 7
磺胺甲氧哒嗪(SMP)	$y = 28\ 527x + 13\ 484$	0.999 6
磺胺吡啶(SP)	$y = 11\ 841x + 3\ 076.3$	0.999 3
磺胺喹恶啉(SQ)	$y = 12\ 326x + 2\ 834.8$	0.999 7
磺胺甲噻二唑(SMTZ)	$y = 13\ 402x + 4\ 856.1$	0.999 9

表 5 8 种磺胺类抗生素的定量限、检出限  
Table 5 Limits of quantitation and detection of 8 sulfonamides antibiotics

名称	定量限/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	检出限/( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
磺胺间二甲氧嘧啶(SDM)	0.5	0.1
磺胺二甲基嘧啶(SDD)	0.5	0.1
磺胺甲恶唑(SMZ)	2.0	0.5
磺胺氯哒嗪(SPDZ)	1.0	0.1
磺胺甲氧哒嗪(SMP)	2.0	0.5
磺胺吡啶(SASP)	0.5	0.1
磺胺喹恶啉(SQ)	1.0	0.1
磺胺甲噻二唑(SMTZ)	1.0	0.1

表 6 8 种磺胺类抗生素的精密度  
Table 6 Precision of 8 sulfonamides antibiotics

名称	峰面积						相对标准偏差/%
	第1次	第2次	第3次	第4次	第5次	第6次	
磺胺间二甲氧嘧啶(SDM)	299 200	284 600	286 400	289 300	292 700	265 300	4.01
磺胺二甲基嘧啶(SDD)	255 700	275 900	262 300	249 700	255 600	236 700	5.09
磺胺甲恶唑(SMZ)	106 800	108 400	10 6800	10 4000	96 530	108 500	4.31
磺胺氯哒嗪(SPDZ)	78 570	75 830	8 1520	79 370	74 020	79 720	3.52
磺胺甲氧哒嗪(SMP)	191 800	185 300	193 000	188 800	191 500	191 900	1.5
磺胺吡啶(SASP)	156 700	167 500	160 700	155 200	162 300	159 600	2.73
磺胺喹恶啉(SQ)	104 800	109 200	111 300	101 100	107 200	111 800	3.81
磺胺甲噻二唑(SMTZ)	194 000	183 400	185 000	198 800	185 300	181 200	3.66

表 7 8 种磺胺类抗生素的稳定性测定  
Table 7 Stability determination of 8 sulfonamides antibiotics

名称	峰面积					相对标准偏差/%
	初始时刻	放置4 h	放置8 h	放置24 h	放置48 h	
磺胺间二甲氧嘧啶(SDM)	450 400	445 600	463 600	451 400	432 600	2.49
磺胺二甲基嘧啶(SDD)	379 000	352 900	389 700	401 900	346 600	6.34
磺胺甲恶唑(SMZ)	173 900	185 000	170 300	179 600	161 400	5.18
磺胺氯哒嗪(SPDZ)	150 300	145 500	140 000	139 300	134 800	4.23
磺胺甲氧哒嗪(SMP)	110 800	112 200	121 500	111 800	102 100	6.16
磺胺吡啶(SASP)	248 600	233 800	242 500	237 200	219 600	4.61
磺胺喹恶啉(SQ)	91 680	92 780	97 230	101 200	95 920	3.95
磺胺甲噻二唑(SMTZ)	345 100	347 200	359 600	340 900	334 700	2.67

分别添加质量浓度为 1、5 和 50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  抗生素, 每组进行 3 次重复实验。结果表明, 8 种磺胺类抗生素的加标回收率分别 78.85%~103.10%、76.69%~107.01% 和 73.55%~107.66%, 相对标准偏差均在



表 8 8 种磺胺类抗生素的回收率测定  
Table 8 Recovery rate of 8 sulfonamides antibiotics

抗生素名称	质量浓度为1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		质量浓度为5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		质量浓度为50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
磺胺间二甲氧嘧啶(SDM)	103.1	14.3	107.01	4.07	93.26	9.43
磺胺二甲基嘧啶(SDD)	94.56	7.21	97.49	7.14	102.44	11.8
磺胺甲恶唑(SMZ)	94.98	7.81	89.41	5.19	87.38	10.98
磺胺氯吡嗪(SPDZ)	78.85	8.42	85.37	3.89	86.17	7.17
磺胺甲氧吡嗪(SMP)	104.47	2.93	100.56	3.78	107.66	3.95
磺胺吡啶(SASP)	95.77	10.63	94.7	7.01	92.94	5.54
磺胺喹噁啉(SQ)	90.02	7.25	76.69	4.31	84.24	8.47
磺胺甲噻二唑(SMTZ)	83.96	10.17	81.03	10.22	73.55	5.53

15% 以内。

### 3 结论

1) 采用固相萃取净化法, 建立了水环境中 8 种磺胺类抗生素 (磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲恶唑、磺胺氯吡嗪、磺胺甲氧吡嗪、磺胺吡啶、磺胺喹噁啉、磺胺甲噻二唑) 的超高效液相色谱-串联质谱检测方法。8 种磺胺类抗生素线性关系良好, 且拟合度均大于 0.999 0。

2) 固相萃取-液相色谱-三重四极杆串联质谱检测方法定量限为 0.5~2  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 检出限为 0.1~0.5  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。用空白基质做 3 种不同质量浓度 1、5、50  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  的加标回收, 加标回收率分别为 78.85%~127.96%、76.69%~114.38% 和 73.55%~125.92%, 相对标准偏差均小于 15%。

3) 固相萃取-液相色谱-三重四极杆串联质谱检测方法通过精密度测试, 得出各类磺胺类抗生素测定相对标准偏差均在 5% 左右, 同时通过稳定性测试得出溶液中 8 种抗生素含量的波动在 7% 以内, 说明该方法稳定且可靠。

### 参考文献

- [1] JIN L, JIANG L, HAN Q, et al. Distribution characteristics and health risk assessment of thirteen sulfonamides antibiotics in a drinking water source in East China[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(7): 2515-2521.
- [2] KOLPIN D W, FURLONG E T, MEYER M T, et al. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U. S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance[J]. *Environmental Science Technology*, 2002, 36(6): 1202-1211.
- [3] 杨梅, 孙思, 王安波, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中磺胺类药物残留量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(9): 3633-3638.
- [4] ZHE M, SHI Z H, LIANG S X, et al. Residues investigation of fluoroquinolones and sulphonamides and their metabolites in bovine milk by quantification and confirmation using ultra-performance liquid chromatography-Tandem mass spectrometry[J]. *Food Chemistry*, 2015, 174: 597-605.
- [5] 何秀婷, 王奇, 聂湘平, 等. 广东典型海水养殖区沉积物及鱼体中磺胺类药物的残留及其对人体的健康风险评估[J]. *环境科学*, 2014, 35(7): 2728-2735.
- [6] 孔志明. 环境毒理学[M]. 南京: 南京大学出版社, 2017.
- [7] 陈哲, 吴立明, 苏怡. 生活饮用水中磺胺类抗生素污染现状及其控制的研究进展[J]. *上海预防医学*, 2018, 30(5): 412-415.
- [8] 李秀文, 何益得, 张巍, 等. 磺胺类抗生素对水环境的污染及生态毒理效应[J]. *环境科学与技术*, 2018, 41(S1): 62-67.
- [9] JIAN X, XU Y, WANG H M, et al. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river[J]. *Chemosphere*, 2015, 119: 1379-1385.

- [10] 张天, 王仁萍, 王猛, 等. 芬太尼的人体内分析及药动学研究进展[J]. 药学服务与研究, 2017, 17(3): 167-173.
- [11] 刘培勇, 张惠, 米之金, 等. 两步液液萃取-固相萃取净化结合高效液相色谱-串联质谱法测定猪肉中11种磺胺类兽药残留[J]. 色谱, 2019, 37(10): 1098-1104.
- [12] 陈岑, 颜琳琦, 程巧鸳. QuEChERS-HPLC-MS/MS法测定4种化妆品基质中15种硝基咪唑类非法添加药物的基质效应研究[J]. 日用化学工业, 2020, 50(4): 275-281.
- [13] 刘红, 杨飘飘, 李丽霞. 通过式高效净化/超高效液相色谱-串联质谱法测定化妆品中73种糖皮质激素[J]. 分析测试学报, 2020, 39(9): 1112-1119.
- [14] 罗辉泰, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. QuEChERS-同位素稀释-液相色谱-高分辨飞行时间质谱法高通量筛查化妆品中86种糖皮质激素[J]. 分析化学, 2017, 45(9): 1381-1388.
- [15] WANG X M, XU G J, WANG X L, et al. Melamine/o-phthalaldehyde covalent organic frameworks for solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of sulfonamide antibiotics in environmental samples[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2018, 46(12): 1990-1996.
- [16] 陈辉华. 水产品中四环素类和氟喹诺酮类药物残留的同时检测[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
- [17] CHEN X H, ZHAO Y G, QIU Q L, et al. A fast and high throughput LC-MS/MS method for the determination of 58 human and veterinary drugs in river water[J]. Analytical Methods, 2017, 29(9): 4228-4233.
- [18] MYCHELLE A, BERNARDETE F, ROSANA G, et al. Development and validation of liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods for determination of beta-lactams, macrolides, fluoroquinolones, sulfonamides and tetracyclines in surface and drinking water from Rio De Janeiro, Brazil[J]. Journal of the Brazilian Chemical Society, 2018, 29(4): 801-813.
- [19] 高凯, 孟祥峰, 杨永顺, 等. 高效液相色谱法同时测定黑臭水体中的7种抗生素[J]. 广东化工, 2019, 46(16): 174-177.
- [20] WU D Q, SUI Q, YU X, et al. Identification of indicator PPCPs in landfill leachates and livestock wastewaters using multi-residue analysis of 70 PPCPs: Analytical method development and application in Yangtze River Delta, China[J]. Science of the Total Environment, 2021, 753: 141653.
- [21] 王军淋, 胡争艳, 冯靓, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定消毒产品中的22种抗生素[J]. 卫生研究, 2019, 48(1): 129-135.
- [22] HONG C, HU J, ASAMI M, et al. Simultaneous analysis of 16 sulfonamide and trimethoprim antibiotics in environmental waters by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1190(1/2): 390-393.
- [23] GROS M, RODRÍGUEZ-MOAZAZ S, BARCELÓ D. Rapid analysis of multiclass antibiotic residues and some of their metabolites in hospital, urban wastewater and river water by ultra-high-performance liquid chromatography coupled to quadrupole-linear ion trap tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1292(1): 173-188.
- [24] 李柳毅, 范辉, 范磊, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定地表水中4种磺胺类抗生素[J]. 化学分析计量, 2017, 26(6): 38-40.
- [25] CHAI Y F, ZHANG Y X, CHEN M X, et al. Distribution and treatment of antibiotics in typical WWTPs in small towns in China[J]. Environmental Science, 2018, 39(6): 2724-2731.
- [26] KIM C, RYU H D, CHUNG E G, et al. A review of analytical procedures for the simultaneous determination of medically important veterinary antibiotics in environmental water: Sample preparation, liquid chromatography, and mass spectrometry[J]. Journal of Environmental Management, 2018, 217: 629-645.
- [27] 王大鹏, 张娟, 颜昌宙. 高效液相色谱串联质谱法测定污水污泥中4种磺胺类药物及其乙酰化代谢物[J]. 环境化学, 2018, 37(10): 2143-2151.
- [28] LI T, WANG C, XU Z A, et al. A coupled method of on-line solid phase extraction with the UHPLC/MS for detection of sulfonamides antibiotics residues in aquaculture[J]. Chemosphere, 2020, 254: 126765.

(责任编辑: 郑晓梅)

## Establishment of solid phase extraction-liquid mass spectrometry method for detection of sulfa antibiotics in water environment and its effect evaluation

FAN Susu<sup>1</sup>, FANG Yeting<sup>2</sup>, CAI Meng<sup>1</sup>, MA Yan<sup>2</sup>, SHI Jian<sup>1,\*</sup>

1. Analysis and Testing Center of Nantong University, Nantong 226019, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Nantong University, Nantong 226019, China

\*Corresponding author, E-mail: shi.j@ntu.edu.cn

**Abstract** In order to quickly and synchronously detect and analyze sulphonamides, effectively reduce and control sulphonamides content in water, based on the existing detection instruments and analysis and testing methods, a liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry method was developed to simultaneously detect the residues of 8 antibiotics in water: sulfadiazine, sulfadimethyrimidine, sulfadimethyrimidine, sulfamethoxazole, sulfamequinoline, sulfamethoxyazine, sulfamethothiazole, sulfamepyridine. During the detecting process, the sulfonamides in water samples were enriched with HLB solid phase extraction column at pH=3, then dried by nitrogen blowing at 40 °C and re-dissolved to 1mL by ultrapure water, lastly separated by Phenomenex Kinetex F5 column (50 mm×3.0 mm, 2.6 μm) using 0.1% formic acid aqueous solution and 0.1% formic acid acetonitrile as mobile phase. The results showed that there was a good linear relationship between the 8 sulfonamides antibiotics and the fitting degree was higher than 0.999. The limits of detection were 0.1~0.5 μg·L<sup>-1</sup>, and the limits of quantification were 0.5~2.0 μg·L<sup>-1</sup>. The recoveries of mixed standard solutions with mass concentrations of 1, 5 and 50 μg·L<sup>-1</sup> were 78.85%~127.96%, 76.69%~114.38% and 73.55%~125.92%, respectively, and the relative standard deviations (RSD) were not higher than 15%. The method is quick, efficient and sensitive, and can satisfy the qualitative and quantitative detection of sulfa antibiotics in water. It can provide a reference for the construction of standard system of detection methods in China.

**Keywords** sulphonamides; solid phase extraction; liquid chromatograph-mass spectrometer; environmental water; residual detection