

广东省地方标准

《水质 抗生素类化合物的测定 固相萃取 -高效液相色谱-串联质谱法》

编制说明 (征求意见稿)

《水质 抗生素类化合物的测定 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法》编制组
2017 年 6 月

目录

1. 项目背景.....	1
1.1 任务来源.....	1
1.2 工作过程.....	1
1.2.1 成立标准编制工作小组.....	1
1.2.2 查询国内外相关标准和文献资料.....	1
1.2.3 开题汇报，确定标准制订技术路线，制订原则.....	2
1.2.4 实验室内部方法开发.....	2
1.2.5 编写标准讨论稿和编制说明草稿.....	2
1.2.6 方法验证工作.....	2
1.2.7 编写标准文本征求意见稿和编制说明.....	2
2. 标准制修订的必要性.....	3
2.1 目标污染物的环境危害.....	3
2.1.1 目标污染物的基本性质.....	3
2.1.2 抗生素的环境危害.....	10
2.2 相关环保标准和环保工作的需要.....	11
2.3 现行环境监测分析方法标准的实施情况和存在问题.....	11
2.3.1 现行污染物分析方法标准的局限性.....	11
2.3.2 污染物分析仪器、设备、方法等的最新进展.....	11
3. 国内外相关分析方法研究.....	12
3.1 主要国家、地区及国际组织相关分析方法研究.....	12
3.2 本标准与美国 EPA 1694 方法的异同之处.....	12
4. 标准制修订的基本原则和技术路线.....	13
4.1 标准制修订的基本原则.....	13
4.2 标准的适用范围和主要技术内容.....	13
4.3 标准制修订的技术路线.....	14
5. 方法研究报告.....	14
5.1 方法研究的目标.....	14
5.2 方法原理.....	15
5.3 试剂和材料.....	15

5.3.1	实验用水.....	15
5.3.2	试剂.....	15
5.3.3	标准物质.....	15
5.3.4	实验器皿.....	17
5.3.5	实验用气.....	18
5.4	仪器和设备.....	18
5.5	样品保存和预处理.....	18
5.5.1	样品预处理.....	18
5.5.2	样品保存条件.....	18
5.6	固相萃取和仪器分析步骤.....	19
5.6.1	固相萃取条件选择.....	19
5.6.2	仪器分析方法条件优化.....	21
5.6.3	标准曲线.....	24
5.6.4	实验室空白测试 (LRB)	25
5.6.5	方法检出限.....	25
5.6.6	方法精密度.....	29
5.6.7	方法准确度.....	32
5.7	方法适用性.....	35
5.8	结果计算和表示.....	38
5.8.1	定性分析.....	38
5.8.2	定量分析.....	39
5.8.3	结果表示.....	39
6.	方法验证.....	39
6.1	参与方法验证的实验室基本情况.....	39
6.2	方法验证方案.....	40
6.2.1	方法验证内容.....	40
6.2.2	样品准备.....	40
6.3	方法验证过程.....	41
6.4	方法验证结果.....	41
6.4.1	精密度数据.....	41
6.4.2	准确度数据.....	44
	参考文献.....	52

《水质 抗生素类化合物的测定 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法》编制说明

1. 项目背景

1.1 任务来源

近几年，水环境中抗生素的污染问题受到研究人员、政府部门和大众的广泛关注。广东省政府对抗生素的污染非常重视，为配合广东省《南粤水更清行动计划》（2013~2020年），提升自然水体和废水中抗生素的监测能力，特制定本标准。

2015年11月，广东省环境保护厅发布了《广东省环境保护标准修订服务采购项目》（采购项目编号：GPCGD151115FG591F），中国科学院广州地球化学研究所中标该采购项目的包组四“制定水体中抗生素的监测方法标准”，负责进行《水质抗生素类化合物的测定固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法》标准制订。

1.2 工作过程

1.2.1 成立标准编制工作小组

中国科学院广州地球化学研究所接到广东省环境保护厅关于《广东省环境保护标准修订服务采购项目》（采购项目编号：GPCGD151115FG591F）中标通知后，与广东省环境保护厅签订了任务合同书。合同书中规定了内容为“建立适用于污水厂废水、养殖场废水、河流等各类水体中抗生素的监测方法，研究制定《水体中抗生素的监测方法》标准文本及发布所需资料文件”。

收到该任务以后，项目承担单位成立了标准编制工作小组，由熟悉样品前处理、色谱-质谱联用仪的分析人员承担本课题。

1.2.2 查询国内外相关标准和文献资料

2015年12月，项目承担单位接到标准制定任务后，标准编制工作小组根据有关标准制修订工作管理办法的相关规定，检索、查询和收集国内外相关标准和文献资料。调研结果显示，国内外抗生素的检测方法有液相色谱、紫外、荧光、液相色谱与质谱联用技术等，由于紫外、荧光等检测技术灵敏度低，检出限较高，一定程度上影响了结果的准确性和重现性；而近来越来越多的文献研究结果显示，液相色谱串联质谱法是检测抗生素的一种高效、准确、灵敏的方法，但目前国内标准中采用

液相色谱串联质谱法测定环境水体中的抗生素仍是空白。

1.2.3 开题汇报，确定标准制订技术路线，制订原则

2016年1月，编写开题报告，确定了本标准的具体内容、原则、技术路线等内容。根据我国抗生素的使用量、水体中常见抗生素的检出情况等资料，确定了我国常用的32种抗生素为目标物质，包括10种磺胺类、10种氟喹诺酮类、6种大环内酯类、4种四环素类、及林可霉素和甲氧苄啶，采用固相萃取前处理-液相色谱串联质谱法分析的技术方案，实现对不同类型的环境水体中痕量抗生素的高效、准确测定。

1.2.4 实验室内部方法开发

2016年2月至9月，标准编制工作小组采用固相萃取前处理-液相色谱串联质谱仪分析技术方法，在中国科学院广州地球化学研究所污染物化学与生态毒理学实验室内部开展了检出限、精密度、准确度、方法适用性等系列的方法开发工作。实验结果表明，当富集水样体积为1000 mL，浓缩以后定容体积为1.0 mL，进样体积为5.0 μ L时，32种抗生素类化合物在地表水中的方法检出限范围为0.42 ng/L~2.98 ng/L，测定下限范围为1.67 ng/L~11.9 ng/L；在城市污水处理厂废水中的方法检出限范围为0.90 ng/L~9.26 ng/L，测定下限范围为3.60 ng/L~37.0 ng/L；在养殖场废水中的方法检出限范围为0.38 ng/L~11.1 ng/L，测定下限范围为1.50 ng/L~44.2 ng/L。可实现水体中痕量抗生素的定量分析。

1.2.5 编写标准讨论稿和编制说明草稿

2016年10月，标准编制工作小组汇整前期研究成果，编写《水质 抗生素类化合物的测定 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法》的标准草案及编制说明，并对草案和编制说明进行修改。

1.2.6 方法验证工作

2016年9月-2017年4月期间，标准编制工作小组组织了外部5家具备条件的实验室进行方法验证，于2016年4月收回了全部的验证报告，在此基础上进行了数据的汇总和分析整理工作，并编写完成了验证汇总报告。

1.2.7 编写标准文本征求意见稿和编制说明

2017年4月至5月，编写《水体中抗生素的测定 固相萃取 高效液相色谱-串联质谱法》的标准文本（讨论稿）及编制说明，并组织专家对标准文本（讨论稿）及编制说明进行了论证。根据专家意见进一步修改，于2017年6月形成标准文本（征求意见稿）及编制说明。

2. 标准制修订的必要性

2.1 目标污染物的环境危害

2.1.1 目标污染物的基本性质

广义上的抗生素（antibiotics）是指能够抑制或杀死微生物的一类天然或人工合成的化学物质。最初的抗生素是由微生物（包括细菌、真菌和放线菌属）在代谢过程中产生的抑制或杀死其它微生物的一类次级代谢产物，主要用途是抑制其它种类微生物的生长（抑菌作用）或将它们杀死（杀菌作用）。1929年，英国科学家弗莱明发现落到培养基上的青霉菌能抑制葡萄球菌的生长，研究后发现青霉菌分泌的一种抗菌物质能抑制葡萄球菌，他命名为青霉素（penicillin）。近年来，随着科技的进步，又出现合成或半合成抗生素。目前已发现的抗生素已达上万种，不仅包括微生物产生的，也包括高等动植物产生的代谢物以及用化学方法合成和半合成的化合物；不仅包括抗细菌的物质，也包括抗肿瘤、抗原虫、抗病毒、抗真菌、抗藻类、抗寄生虫等的物质。

目前常见的抗生素类型主要有：

（1）**磺胺类**磺胺类药物是应用最早的一类人工合成抗菌药物。磺胺类药物属于广谱抗菌药物，因其抗菌谱广、疗效强、方便安全等优点被广泛用于人体和动物（各种畜禽、水产和宠物）。常见的磺胺类药物主要有磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺甲氧嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、复方新诺明（磺胺甲噁唑+甲氧苄啶）等。磺胺的分子中含有一个苯环，一个对位氨基和一个磺酰胺基。磺胺类化学物主要是通过各种化学基团来取代磺酰胺基上的氢原子制备的有效衍生物（图1）。

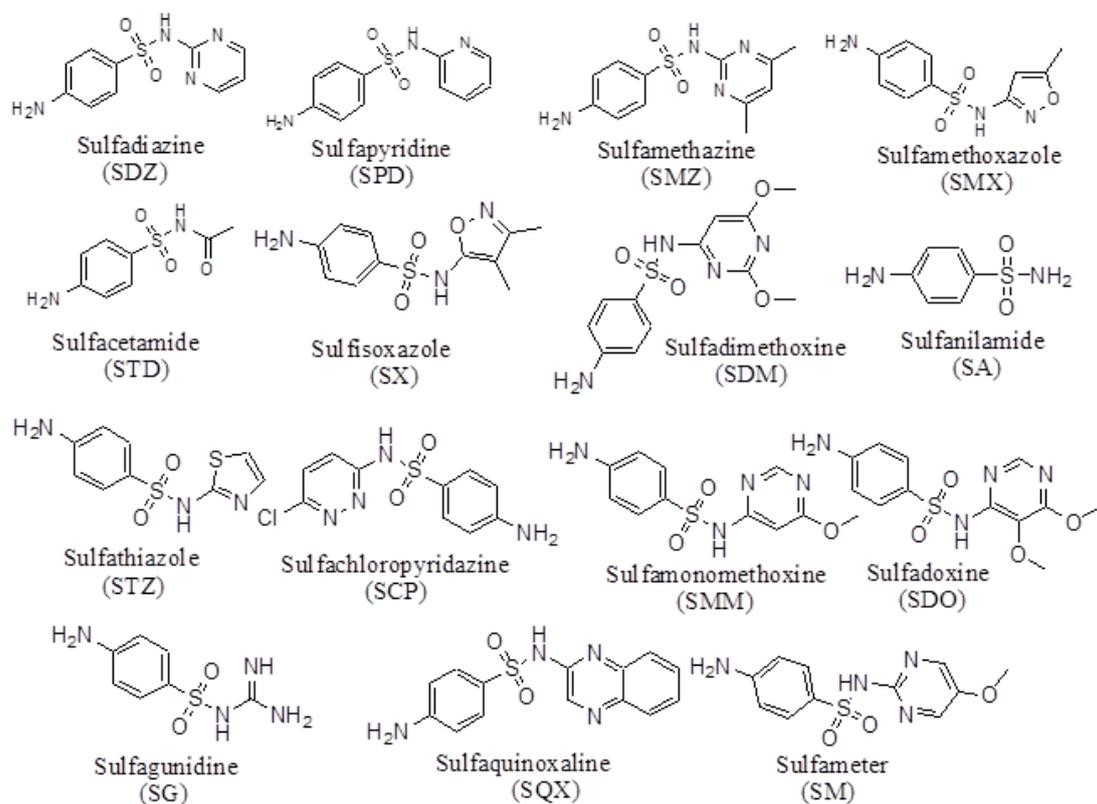


图 1 常见磺胺类抗生素结构图

(2) **四环素类**四环素类抗生素是由放线菌产生的一类广谱抗生素，主要包括四环素、氧四环素（土霉素）、氯四环素（金霉素）和强力霉素等。四环素类抗生素具有抑菌作用并在高浓度具有杀菌作用的半合成广谱抗生素。抗生素可与 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 和 Al^{3+} 等金属离子形成络合物，影响药效，同时与 Ca^{2+} 形成的不溶络合物会影响小儿的牙齿变黄和骨骼发育。因此，小孩和孕妇禁用四环素类抗生素。目前，四环素类抗生素多用于养殖业，如养猪、养鸡和水产养殖等。四环素类抗生素具有共同的基本结构骈四苯，仅取代基有所不同（图 2）。

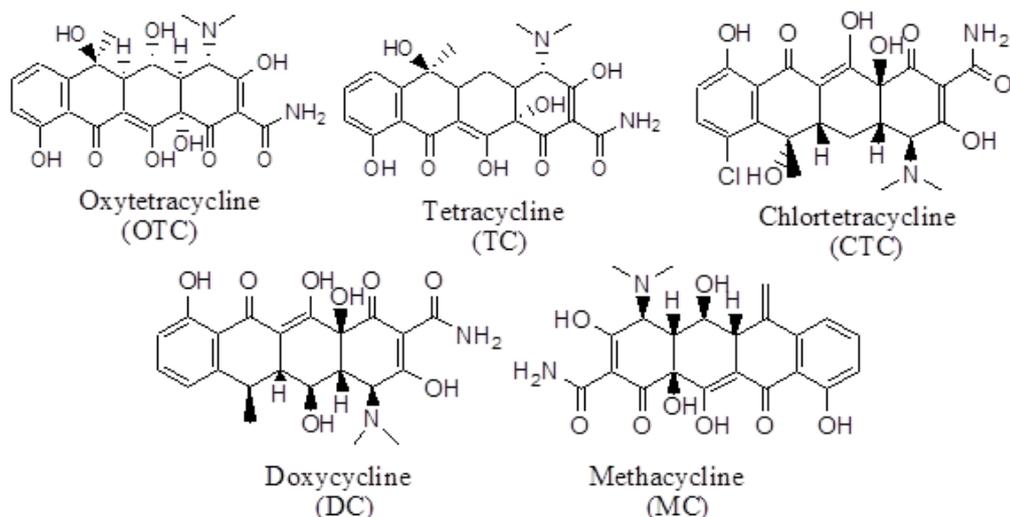


图 2 常见四环素类抗生素结构图

(3) **喹诺酮类**喹诺酮类药物按发明年代的先后和抗菌性能的不同，分为四代。第一代，20 世纪 60 年代开发，抗菌谱窄，主要包括萘啶酸、吡咯酸、恶喹酸等；第二代，20 世纪 70 年代开发，抗菌谱有所扩大，主要是对革兰氏阴性菌有效的抗菌药物，主要包括新恶酸、吡哌酸等；第三代，即氟喹诺酮类药物，药效远大于前两代，对链球菌和耐药性葡萄球菌有杀菌作用，抗菌力强，价格低廉，主要包括环丙沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、恩诺氟沙星和培氟沙星等（图 3）；第四代，结构中有新型的 8-甲氧氟喹诺酮，甲氧基引入有助于加强抗厌氧菌活性，而 C-7 位上的氮双环结构则加强抗革兰氏阳性菌活性，并保持了原来抗革兰氏阴性菌的活性，副作用更小，但价格较贵，主要包括莫西沙星和吉米沙星等。目前，应用最为广泛的为第三代氟喹诺酮类抗生素，主要作为人用和兽用抗生素。该类物质相对比较稳定，溶解度偏低。

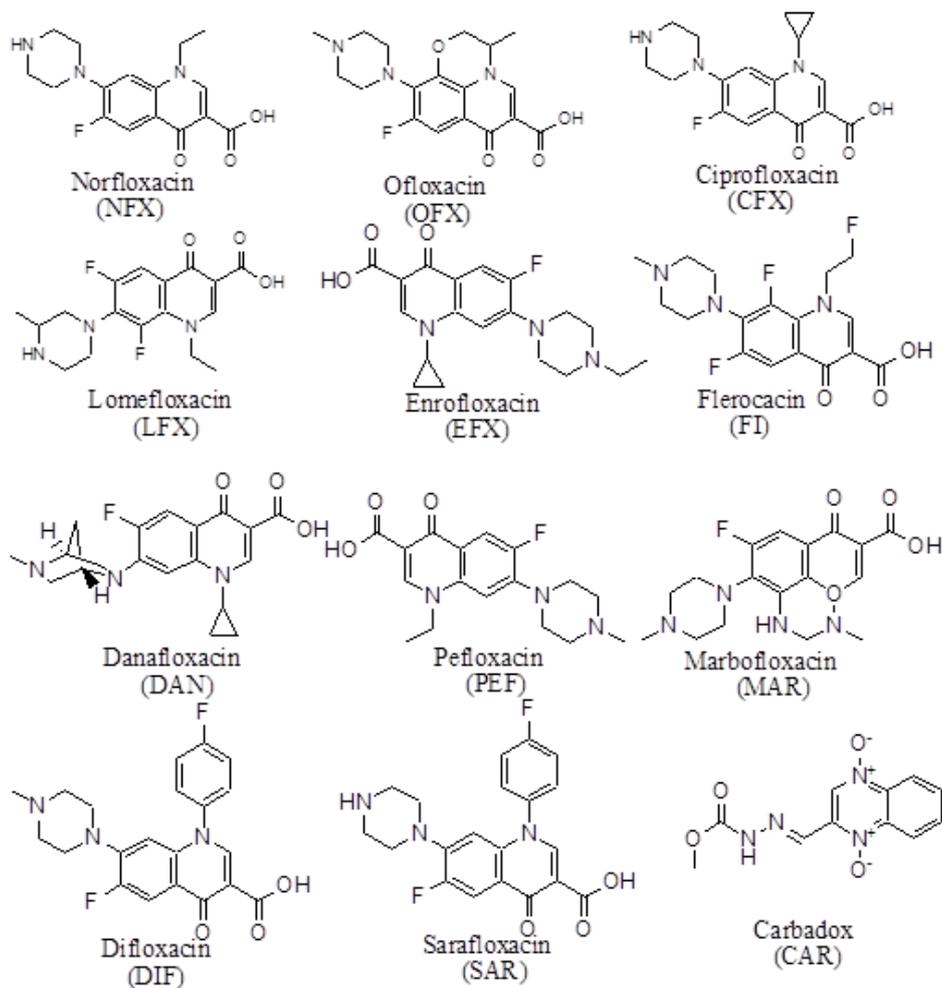


图 3 常见氟喹诺酮类抗生素结构图

(4) **β -内酰胺类**主要指化学结构中具有 β -内酰胺环的一大类抗生素，主要包括青霉素类和头孢菌素类（图 4），以及一些非典型 β -内酰胺类。 β -内酰胺类抗生素的作用主要是作用于青霉素结合蛋白（PBPs），抑制细菌细胞壁的合成，菌体失去渗透屏障而膨胀、裂解，同时借助细菌的自溶酶溶解而产生抗菌作用。青霉素类由母核 6-氨基青霉烷酸(6-APA)及侧链（R-CO-）组成，6-APA 中的 β -内酰胺环是维持抗菌活性的最基本结构。侧链上的 R 接上不同基团，就形成了各种半合成青霉素类。按抗菌谱和耐药性分为 5 类：(I) 窄谱青霉素类：以注射用青霉素 G 和口服用青霉素 V 为代表；(II) 耐酶青霉素类：以注射用甲氧西林和科普副、注射用氯唑西林、氟氯西林为代表；(III) 广谱青霉素类：以注射、口服氨苄西林和口服用阿莫西林为代表；(IV) 抗铜绿假单胞菌广谱青霉素类：以注射用羧苄西林、哌拉西林为代表；(V) 革兰阴性菌青霉素类：以注射用美西林和口服用匹美西林为代表。青霉素类水溶液不稳定，极易失效；不耐热；酸、碱、重金属及青霉素酶可使其 β -内酰胺环破裂，导致失效。头孢菌素类为 7-氨基头孢烯酸（7-ACA）衍生物，具有抗菌谱广、杀菌

力强、对 β -内酰胺酶较稳定以及过敏反应少等特点，比青霉素类稳定（图4）。目前， β -内酰胺类抗生素使用非常广泛。

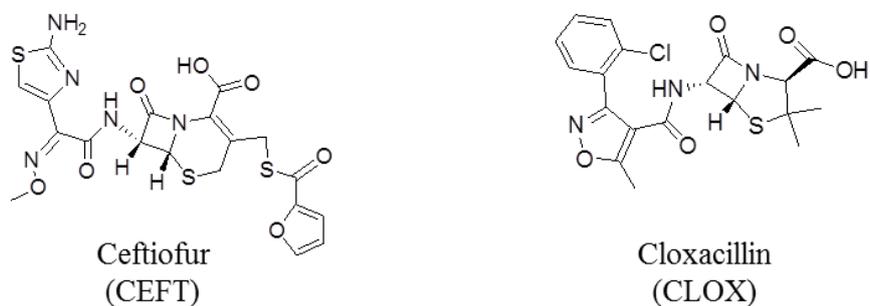


图4 常见头孢菌素类抗生素结构图

(5) **大环内酯类**由链霉菌产生一类具有大环内脂结构的弱碱性抗菌药（图5），对革兰氏阳性菌及支原体抑菌活性较高。主要包括红霉素、罗红霉素、竹桃霉素、交沙霉素等。

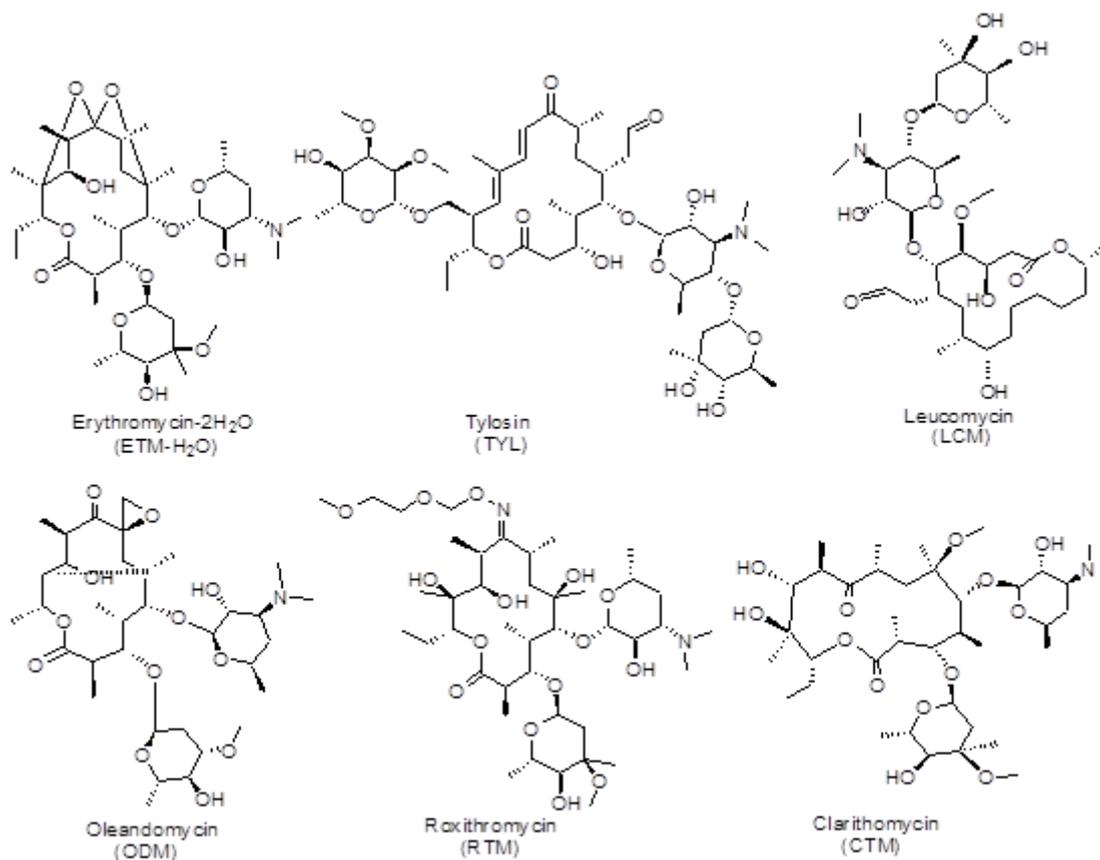


图5 常见大环内脂类抗生素结构图

(6) **聚醚类离子载体类**聚醚类抗生素因其分子中有很多环醚结构而得名(图6)。

具有抗球虫谱广、作用方式独特、耐药性形成缓慢、安全范围窄等特点。目前市场上使用的聚醚类离子载体抗生素品种主要有：莫能菌素、盐霉素、拉沙洛菌素、马杜拉霉素、甲基盐霉素等。聚醚类离子载体抗生素对家禽有较显著的增重效果，作为常用的兽药进行使用。

(7) **多肽类**包括万古霉素类、多粘菌素类和杆菌肽类 (bacitracin)。万古霉素是从链霉菌培养液中分离获得，化学性质稳定。近年却因能够杀灭 MRSA 和耐氧甲氧西林表皮葡萄球菌 (MRSE) 而得到广泛应用。包括万古霉素 (vancomycin)、去甲万古霉素 (norvancomycin) 和替考拉宁。多粘菌素类主要包括多粘菌素 B (polymyxin B)、粘菌素 (多粘菌素 E (polymyxin E))，毒性大，仅作局部使用。杆菌肽类 (Bacitracin) 主要包括杆菌肽和短杆菌肽，常用作兽药 (图 6)。

(8) **林可霉素类**包括林可霉素和氯林可霉素等 (图 6)。用于急、慢性敏感菌引起的骨及关节感染。对于厌氧菌引起的感染也有较好疗效。

(9) **氯霉素类**氯霉素的化学结构含有对硝基苯基、丙二醇与二氯乙酰胺三个部分 (图 6)，其抗菌活性主要与丙二醇有关。性质稳定，能耐热。包括氯霉素、甲砒霉素及无味氯霉素等。因氯霉素的毒副作用较强，我国在 2002 年已禁用氯霉素。

(10) **氨基糖苷脂类**氨基糖苷类抗生素 (aminoglycosides) 都由氨基糖分子和非糖部分的甙元结合而成，它包括链霉素、庆大霉素、卡那霉素、西索米星以及人工合成的妥布霉素、阿米卡星、奈替米星等。氨基糖苷类抗生素对于需氧革兰阴性杆菌所致的严重感染疗效较好，且价格便宜，常被一些基层医疗机构过多使用。但有研究表明，氨基糖苷类抗生素不但造成耐药菌株的增加，其毒副作用、不良反应所带来的后遗症都较为严重。

(11) **硝基咪唑类**具有咪唑基团结构。硝基咪唑类对厌氧菌及原虫有独特的杀灭作用，与其它抗生素联合应用于临床的各个领域。主要包括甲硝唑和替硝唑。

(12) **硝基呋喃类**具有 5-硝基呋喃基本结构。硝基呋喃类抗菌剂原型药在生物体内代谢迅速，无法检测；而其代谢物因和蛋白质结合而相当稳定。国内临床应用的呋喃类药物包括呋喃妥因、呋喃唑酮和呋喃西林。

(13) **其它**其它作用于革兰氏阴性细菌的其它抗生素，如磷霉素、卷霉素、环丝氨酸和利福平等，抗真菌的灰黄霉素，抗肿瘤的丝裂霉素、防线菌素 D、博来霉素和阿霉素等。

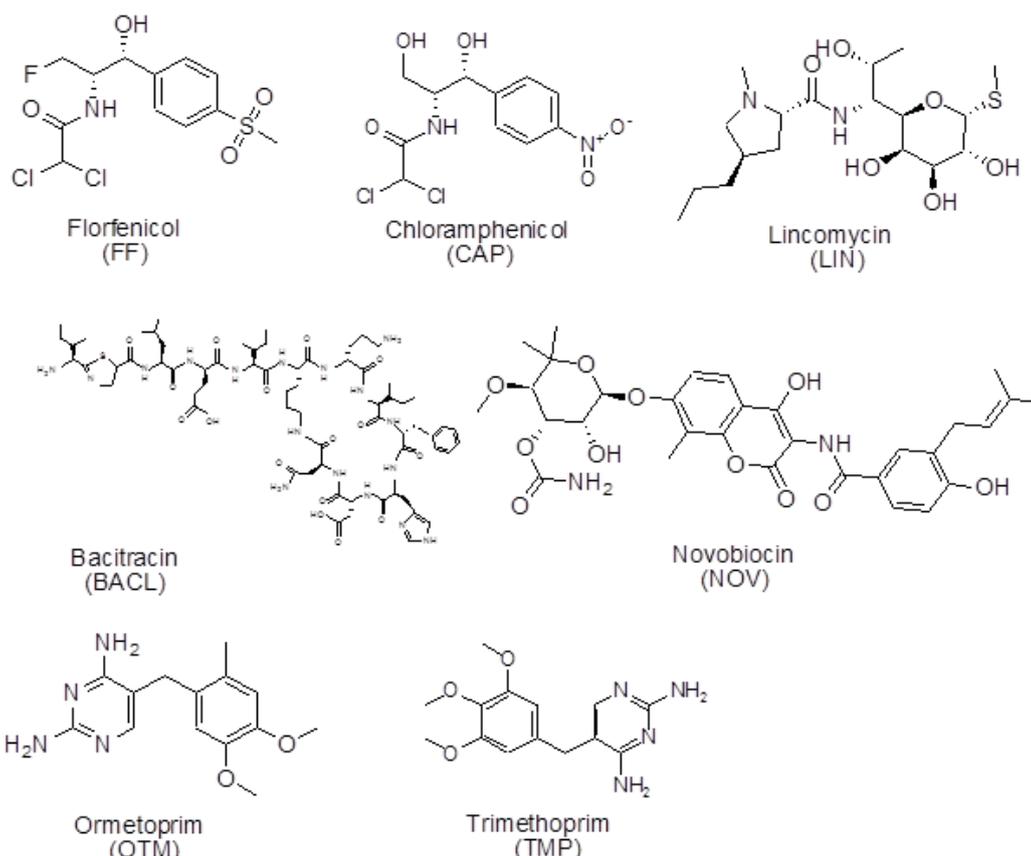


图 6 其他常见的抗生素结构图

可以看出，抗生素包括的种类多种多样，而环境水体的基质复杂，难以对全部抗生素进行有效测定。鉴于此，本标准依据我国抗生素的使用量、环境水体检出情况及方法的有效检测情况，选取常见抗生素。据项目负责人所在的研究组调研资料，常见 36 种目标化学品总使用量为 92665 吨，其中兽用抗生素占总量的 84.3%，人用抗生素占总量的 15.6%。阿莫西林，氟苯尼考，林可霉素，青霉素和诺氟沙星是我国使用量排名前五的抗生素。尽管阿莫西林、青霉素等 β -内酰胺类抗生素的使用量最高，超过 1000 吨/年，但 β -内酰胺类抗生素非常容易水解，在环境中这类抗生素很少检测到，因此没有包含在本标准的目标化合物中。人们对氧氟沙星，四环素和诺氟沙星的使用量超过了 1000 吨/年，因此这几种抗生素都包含在目标化合物中。此外，莫能菌素、盐霉素等离子载体类抗生素由于检测方法的绝对回收率不高，难以满足有效检测，也没有包含在本标准的目标化合物中。最终，选取了 32 种抗生素类化合物作为目标物质，包括 10 种磺胺类、10 种氟喹诺酮类、6 种大环内酯类、4 种四环素类、以及林可霉素和甲氧苄啶。32 种目标化合物的基本信息详见表 1。

表 1 目标抗生素的基本性质

化合物 中文名称	英文名称	英文 简写	所属种类	CAS 号	分子量	分子式	Log Kow	pKa
卡巴多	Carbadox	CAR	氟喹诺酮类	6804-7-5	262.2	C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O ₄	-1.37	
氯四环素	Chlortetracycline	CTC	四环素类	57-62-5	478	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₈	-0.62	3.33, 7.55, 9.33
环丙沙星	Ciprofloxacin	CFX	氟喹诺酮类	85721-33-1	331.3	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	0.4	3.01, 6.14, 8.70, 10.58
克拉霉素	Clarithromycin	CTM	大环内酯类	81103-11-9	748	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃	3.16	8.99
二氟沙星	Difloxacin	DIF	氟喹诺酮类	98106-17-3	399.4	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	0.89	
强力霉素	Doxycycline	DC	四环素类	564-25-0	444.4	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	-0.02	3.02, 7.97, 9.15
恩诺氟沙星	Enrofloxacin	EFX	氟喹诺酮类	93106-60-6	359.4	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	1.1	3.85, 6.19
脱水红霉素	Erythromycin-H ₂ O	ETM-H ₂ O	大环内酯类	23893-13-2	715.9	C ₃₇ H ₆₅ NO ₁₂		
氟罗沙星	Fleroxacin	FL	氟喹诺酮类	79660-72-3	369.34	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	0.24	
北里霉素	Leucomycin	LCM	大环内酯类	1392-21-8	771	C ₃₉ H ₆₅ NO ₁₄		
林可霉素	Lincomycin	LIN	其他	154-21-2	406.5	C ₁₈ H ₃₄ N ₂ O ₆ S	0.56	
罗美沙星	Lomefloxacin	LFX	氟喹诺酮类	98079-51-7	351.3	C ₁₇ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	-0.3	
马波沙星	Marbofloxacin	MAR	氟喹诺酮类	115550-35-1	362.4	C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₄		
甲烯土霉素	Methacycline	MT	四环素类	914-00-1	442.4	C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₈	-1.37	4.05, 6.87, 9.59
诺氟沙星	Norfloxacin	NFX	氟喹诺酮类	70458-96-7	319.3	C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	-1.03	3.1, 8.6
氧氟沙星	Ofloxacin	OFX	氟喹诺酮类	82419-36-1	361.3	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	0.36	5.97, 8.28
竹桃霉素	Oleandomycin	ODM	大环内酯类	3922-90-5	687.9	C ₃₅ H ₆₁ NO ₁₂	1.69	3.31, 7.50
氧四环素	Oxytetracycline	OTC	四环素类	79-57-2	460.4	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	-1.22	3.22/7.46/8.94
罗红霉素	Roxithromycin	RTM	大环内酯类	80214-83-1	837	C ₄₁ H ₇₆ N ₂ O ₁₅	2.75	9.17
沙拉沙星	Sarafloxacin	SAR	氟喹诺酮类	98105-99-8	385.4	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	1.07	6.0, 8.6
磺胺氯吡嗪	Sulfachloropyridazine	SCP	磺胺类	80-32-0	284.7	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S		1.87, 5.45
磺胺嘧啶	Sulfadiazine	SDZ	磺胺类	68-35-9	250.3	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	-0.09	1.6, 6.4
磺胺二甲氧吡嗪	Sulfadimethoxine	SDM	磺胺类	122-11-2	310.3	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	1.63	2.13, 6.08
磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	SMR	磺胺类	127-79-7	264.3	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S		
磺胺对甲氧嘧啶	Sulfameter	SM	磺胺类	651-06-9	280.3	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	0.41	
磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	SMZ	磺胺类	57-68-1	278.3	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	0.80	2.07, 7.49
磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	SMX	磺胺类	723-46-6	253.3	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	0.89	1.85, 5.6
磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	SMM	磺胺类	1220-83-3	280.3	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	0.7	
磺胺吡啶	Sulfapyridine	SPD	磺胺类	144-83-2	249.3	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	0.35	2.58, 8.43
磺胺喹噁啉	Sulfaquinoxaline	SQX	磺胺类	59-40-5	300.4	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	1.68	
四环素	Tetracycline	TC	四环素类	60-54-8	444.4	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	-1.19	3.32/7.78/9.58
甲氧苄啶	Trimethoprim	TMP	其他	738-70-5	290.3	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	0.91	3.23, 6.76
泰勒素	Tylosin	TYL	大环内酯类	1401-69-0	916.1	C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇	1.63	7.73

2.1.2 抗生素的环境危害

我国在抗生素使用方面缺乏规范性文件，在人用或兽用抗生素上均存在滥用的情况，据估计我国每年使用的抗生素达到 16 万吨^[1]。抗生素使用后，大部分以母体

或者活性代谢产物随粪便和尿液排出体外，直接或间接进入环境体系，对人体健康和生态环境造成潜在的危害。抗生素进入地表水系统（河流、湖泊和近海等），会对水生生物产生不利效应，如对藻类生长和光合作用、大型溘生长和繁殖能力等方面产生一定的抑制和干扰。

除此常规毒性外，抗生素残留及其引起的细菌耐药性问题已引起国际和国内社会的高度重视，成为全球性环境与人体健康问题。世界卫生组织将细菌耐药性作为21世纪人类面临的最严峻的问题之一，号召全球共同抑制耐药性的发展，并于2015年提出了全球行动计划，号召各成员国也制定相应的控制抗生素耐药行动计划。我国也于2016年9月由14个部委联合发布了《遏制细菌耐药国家行动计划》，旨在控制抗生素的使用和抗生素耐药性的传播。

2.2 相关环保标准和环保工作的需要

尽管抗生素在自然环境中大量存在，但是各国目前很少有针对抗生素的排放标准。我国在污水综合排放标准（GB 8978—1996）中，对制药工业废水最高允许排放量进行了规定，如生产四环素的企业废水排放不超过为 $1900 \text{ m}^3/\text{t}$ 。但目前对抗生素的其他污染源的废水排放还没有相关排放标准、随着抗生素的环境危害受到越来越多的重视，以及我国《遏制细菌耐药国家行动计划》的出台，有必要建立我国水体中抗生素的监测方法和和地表水环境质量等相关标准，为抗生素的管理提供技术支撑。

2.3 现行环境监测分析方法标准的实施情况和存在问题

2.3.1 现行污染物分析方法标准的局限性

国内外抗生素的标准检测方法有液相色谱（LC）紫外、荧光检测技术、以及LC与质谱的联用技术等。由紫外、荧光检测技术的灵敏度低，对测定结果的精确性和重现性影响较大。

2.3.2 污染物分析仪器、设备、方法等的最新进展

液相色谱串联质谱（以下简称LC-MS/MS）是继气质联用和液质联用以后发展起来的又一新型分离检测技术。其具有分离效率高、分析速度快、灵敏度高、易排除杂质干扰、定性定量精准等众多特点，非常适合于多组分快速检测。近年来，国内外众多学者也开始选用LC-MS/MS进行各种基质样品中抗生素的分析检测，灵敏度高，选择性和特异性较好，能有效地去除基质的干扰，定性定量准确。

3. 国内外相关分析方法研究

3.1 主要国家、地区及国际组织相关分析方法研究

抗生素为一类新型污染物，国内和国际有关抗生素的标准和方法十分有限。当前主要国家、地区和国际组织关于抗生素的标准检测方法详见表2。

表2 主要国家和地区及国际组织相关标准检测方法

方法出处	方法号	目标化合物	前处理	分析方法	检出限	适用范围
中华人民共和国卫生部	GB/T 5009.95-2003	四环素族抗生素	Mcllvaine 缓冲液提取, C ₁₈ 柱净化	微生物管碟法	/	水体和固体
中华人民共和国卫生部	GB/T 4789.27—2008	抗生素	未处理	微生物抑菌法	/	鲜乳
美国环保署 (USEPA)	Method 1694	约40种抗生素	HLB柱固相萃取	LC-MS/MS	0.1~170 ng/L	水体和固体

3.2 本标准与美国 EPA 1694 方法的异同之处

由表3可知，我国目前尚无关于水中抗生素检测的标准方法。在国内的方法中，一般采用微生物法定性检测抗生素，这些方法大都由中华人民共和国卫生部发布。

美国EPA 1694方法（水、土壤、沉积物和污泥中药物和个人护理品的测定HPLC/MS/MS方法）是采用固相萃取结合液相色谱串联质谱法进行水和固体样品中药物和个人护理品（PPCPs）的检测^[2]。该方法主要针对45种抗生素和其他29种药物和个人护理品活性成分的检测，方法采用LC-MS/MS中的多反应监测模式（MRM）以提高检测灵敏度，并从样品保存、内标物选择、固相萃取条件、液相条件、质谱条件以及质控措施等方面进行了大量的验证实验。结果表明，水相中各目标化合物的检出限（MDL）为0.1~170 ng/L，对地表水等实际样品的回收率范围在6% ~ 180%。

美国EPA方法为指导性文件，目的为分析不同环境介质中的常见PPCPs类化合物提供方法文件。本标准则针对我国水体中抗生素污染严重的特点，以水环境中常见抗生素为研究对象，制定环境水体中中抗生素的监测方法标准，为国家开展抗生素化学品的管理提供支撑。因此，本标准在制定过程中，一方面参考了美国EPA 1694中样品保存、内标物选择、质控措施等相关研究成果和要求。另一方面，根据我国

抗生素的使用情况，增加我国养殖业常用的兽用抗生素，建立废水中不同种类抗生素的监测方法标准。在方法优化过程中，对固相萃取洗脱溶剂、液相分离流动相、质谱条件等重要方面均进行了全新的探索和试验，建立一套适用于我国水中抗生素同时检测的固相萃取-液相色谱-串联质谱标准检测方法。

4. 标准制修订的基本原则和技术路线

4.1 标准制修订的基本原则

标准在编写过程中满足以下几个原则：

- (1) 方法的检出限和测定范围满足相关环保标准和环保工作的要求。
- (2) 方法准确可靠，满足各项方法特性指标的要求。
- (3) 方法具有普遍适用性，易于推广使用。

(4) 按照GB/T 1.1-2009《标准化工作导则第1部分：标准的结构和编写》、GB/T 20001.4-2015《标准编写规则第4部分：化学分析方法》和HJ 168-2010《环境监测分析方法标准制修订技术导则》的要求编写。

4.2 标准的适用范围和主要技术内容

本标准适用于地表水、污水处理厂废水和养殖废水中32种抗生素类化合物的测定。通过调节样品pH值，并根据目标组分的化学性质选择合适的固相萃取小柱、合适的乙二胺四乙酸四钠（Na₄EDTA）加入量、洗脱溶剂，设置合理的上样速度、洗脱体积、洗脱流速等重要参数。

通过对液相色谱柱、流动相、梯度分离程序以及质谱中毛细管电压、离子源、锥孔电压、碰撞能量等关键参数进行筛选和调节，建立合适的液相和质谱方法。固相萃取前处理富集后的样品经C₁₈色谱分析柱分离，通过LC-MS/MS的多重反应监测模式（MRM）进行测定，以实现水体中32种抗生素的同时、高效、灵敏、准确的测定。

4.3 标准制修订的技术路线

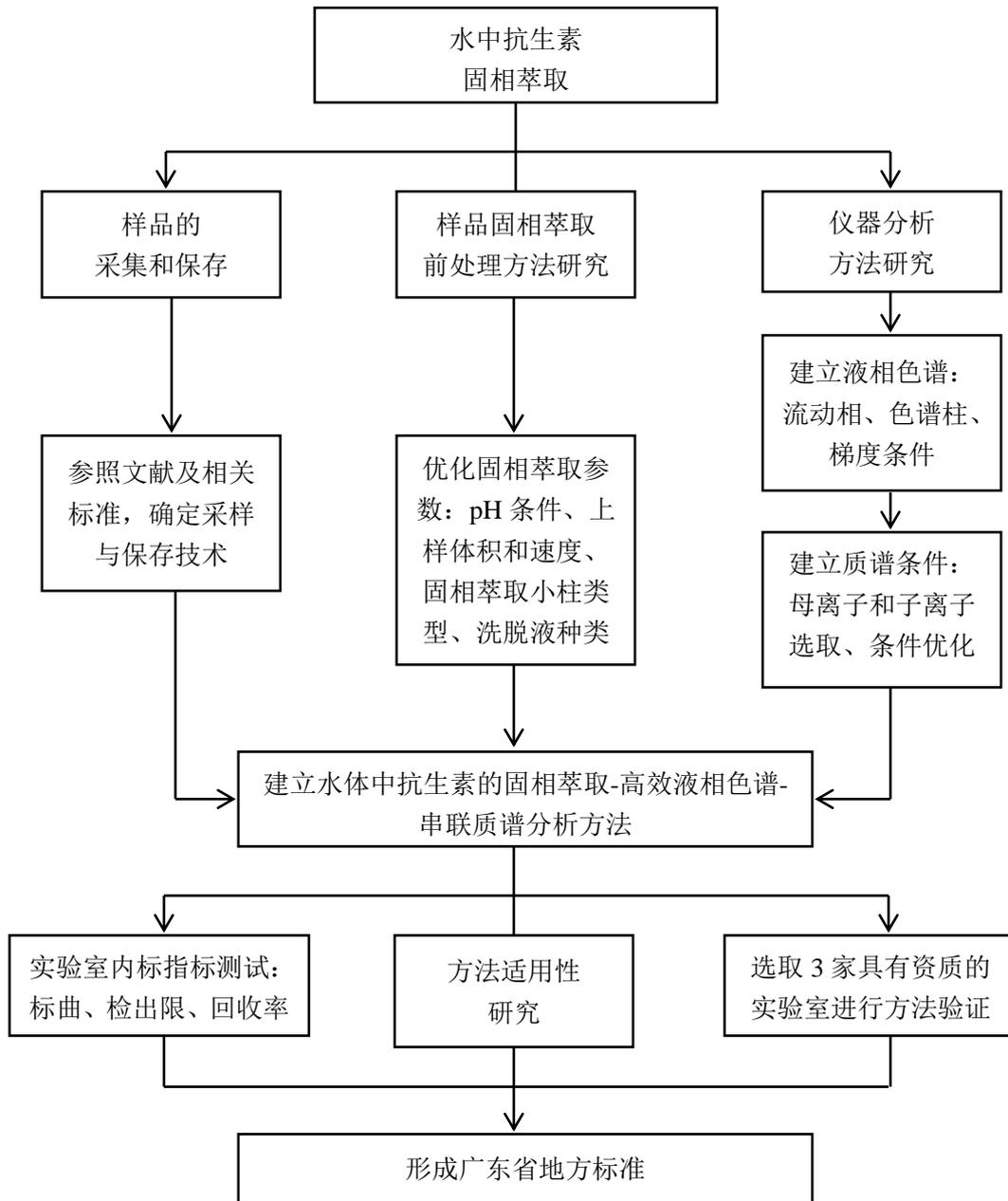


图 7 本标准制定过程的技术路线

5. 方法研究报告

5.1 方法研究的目标

建立适用于地表水、污市政污水处理厂废水和养殖废水等水体中抗生素测定的固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法，实现不同环境水体中痕量抗生素的定量分析。

5.2 方法原理

采集的水样经滤膜过滤除去颗粒物，过滤后水样经固相萃取小柱对目标污染物进行富集，固相萃取柱以溶剂洗脱，经氮气吹干并以混合溶液（甲醇：0.2%甲酸和 2 mM 乙酸铵 =30:70 v/v）重新定容，达到净化和浓缩目的。以缓冲液（0.2%甲酸和 2 mM 乙酸铵）和乙腈为流动相，C₁₈ 反向色谱柱分离，然后以串联质谱 ESI+源进行电离，多重反应监测（MRM）进行分析。根据保留时间和特征离子峰定性，以 8 种稳定同位素标记物和一种四环素结构类似物为内标，进行内标法定量。

5.3 试剂和材料

5.3.1 实验用水

分析时均使用符合国家标准的优级纯试剂，实验用水为新制备的不含目标物的纯水。本实验室采用空白水进行测试的结果表明，未检出任何待测目标物。

5.3.2 试剂

- (1) 甲醇：色谱纯。
- (2) 乙腈：色谱纯。
- (3) 甲酸：色谱纯。
- (4) 乙酸铵：色谱纯。
- (5) 硫酸： $\rho(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1.84 \text{ g/mL}$ ，分析纯。
- (6) NaOH溶液：1.0 mol/L；
- (7) 硫酸溶液：4.0 mol/L；
- (8) 甲酸-乙酸铵水/甲醇混合液：0.20%甲酸（V/V）-2.0 mmol/L乙酸铵水溶液：甲醇（7:3, V/V）。

5.3.3 标准物质

(1) 本标准中所用的标准物质购于 Dr Ehrenstorfer（德国）、Sigma-Aldrich（美国）US Pharmacopoeia（美国）的有证标准溶液，为粉末状物质。参照美国 EPA 1694 方法要求（7.7 节）^[1]，对于纯度大于 98%的固体物质，可直接称量，无需进行额外的校正。准确称取相应的标准物质，溶解于甲醇（5.3.2）中，配制成 100 mg/L 的单标储液。对于喹诺酮类抗生素，则溶于含 0.5% 1.0 mol/L NaOH 的甲醇溶液中。

(2) 2.0 mg/L 脱水红霉素单标溶液：参照 Xu 等人报道的方法进行制备^[3]。推荐的制备方法为：取 400 μL 100 mg/L 红霉素储液于 20 mL 棕色瓶中，加入 19.6 mL 甲醇（5.3.2），向其中加入 10 μL 的 4 mol/L 硫酸（5.3.2）至 pH 为 3，于室温静止 4 h。

于-10℃下保存 2 个月。

(3) 2.0 mg/L 氟喹诺酮类 10 种混标溶液: 采用 100 mg/L 的氟喹诺酮类单标储液, 以甲醇稀释, 配制混标储液。于-10℃下可稳定保存 2 个月。

(4) 2.0 mg/L 磺胺类、大环内酯类和四环素类等其他 21 种混标溶液: 采用 100 mg/L 的氟喹诺酮类单标储液, 以甲醇稀释, 配制混标储液。于-10℃下可稳定保存 2 个月。

(5) 内标物的选择: 本实验选用美国 EPA 1694 方法中建议的内标, 并结合文献中报道的常用内标, 最终选取磺胺甲基嘧啶-d4、磺胺甲噁唑-d4、脱水红霉素-13C-d3、噻苯咪唑-d4、环丙沙星-d8、甲氧苄啶-d3、林可霉素-d3、磺胺甲嘧啶-13C6、甲氧环素作为内标。标准物质对应的内标见表 3。

表 332 种抗生素的英文名称、CAS 号及其对应的内标物质

序号	化合物	英文名称	CAS号	分子式	所属类别	内标物质
1	磺胺氯吡嗪	Sulfachloropyridazine	80-32-0	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ O ₂ S	磺胺类	磺胺甲噁唑-d ₄
2	磺胺嘧啶	Sulfadiazine	68-35-9	C ₁₀ H ₁₀ N ₄ O ₂ S	磺胺类	磺胺二甲嘧啶- ¹³ C ₆
3	磺胺二甲氧嘧啶	Sulfadimethoxine	122-11-2	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S	磺胺类	磺胺甲噁唑-d ₄
4	磺胺甲基嘧啶	Sulfamerazine	127-79-7	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	磺胺类	磺胺甲基嘧啶-d ₄
5	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfameter	651-06-9	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	磺胺类	磺胺二甲嘧啶- ¹³ C ₆
6	磺胺二甲嘧啶	Sulfamethazine	57-68-1	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S	磺胺类	磺胺二甲嘧啶- ¹³ C ₆
7	磺胺甲噁唑	Sulfamethoxazole	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	磺胺类	磺胺甲噁唑-d ₄
8	磺胺间甲氧嘧啶	Sulfamonomethoxine	1220-83-3	C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S	磺胺类	磺胺甲噁唑-d ₄
9	磺胺吡啶	Sulfapyridine	144-83-2	C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S	磺胺类	磺胺二甲嘧啶- ¹³ C ₆
10	磺胺喹噁啉	Sulfaquinoxaline	59-40-5	C ₁₄ H ₁₂ N ₄ O ₂ S	磺胺类	磺胺甲噁唑-d ₄
11	卡巴多	Carbadox	6804-7-5	C ₁₁ H ₁₀ N ₄ O ₄	氟喹诺酮类	噻苯咪唑-d ₄
12	环丙沙星	Ciprofloxacin	85721-33-1	C ₁₇ H ₁₈ FN ₃ O ₃	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
13	二氟沙星	Difloxacin	98106-17-3	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
14	恩诺氟沙星	Enrofloxacin	93106-60-6	C ₁₉ H ₂₂ FN ₃ O ₃	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
15	氟罗沙星	Fleroxacin	79660-72-3	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
16	罗美沙星	Lomefloxacin	98079-51-7	C ₁₇ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
17	马波沙星	Marbofloxacin	115550-35-1	C ₁₇ H ₁₉ FN ₄ O ₄	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
18	诺氟沙星	Norfloxacin	70458-96-7	C ₁₆ H ₁₈ FN ₃ O ₃	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
19	氧氟沙星	Ofloxacin	82419-36-1	C ₁₈ H ₂₀ FN ₃ O ₄	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
20	沙拉沙星	Sarafloxacin	98105-99-8	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₃ O ₃	氟喹诺酮类	环丙沙星-d ₈
21	克拉霉素	Clarithromycin	81103-11-9	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃	大环内酯类	红霉素- ¹³ C-d ₃

序号	化合物	英文名称	CAS号	分子式	所属类别	内标物质
22	脱水红霉素	Erythromycin-H ₂ O	23893-13-2	C ₃₇ H ₆₅ NO ₁₂	大环内酯类	红霉素- ¹³ C-d ₃
23	北里霉素	Leucomycin	1392-21-8	C ₃₉ H ₆₅ NO ₁₄	大环内酯类	红霉素- ¹³ C-d ₃
24	竹桃霉素	Oleandomycin	3922-90-5	C ₃₅ H ₆₁ NO ₁₂	大环内酯类	红霉素- ¹³ C-d ₃
25	罗红霉素	Roxithromycin	80214-83-1	C ₄₁ H ₇₆ N ₂ O ₁₅	大环内酯类	红霉素- ¹³ C-d ₃
26	泰勒素	Tylosin	1401-69-0	C ₄₆ H ₇₇ NO ₁₇	大环内酯类	红霉素- ¹³ C-d ₃
27	氯四环素	Chlotetracycline	57-62-5	C ₂₂ H ₂₃ ClN ₂ O ₈	四环素类	噻苯咪唑-d ₄
28	强力霉素	Doxycycline	564-25-0	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	四环素类	噻苯咪唑-d ₄
29	氧四环素	Oxytetracycline	79-57-2	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	四环素类	噻苯咪唑-d ₄
30	四环素	Tetracycline	60-54-8	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	四环素类	噻苯咪唑-d ₄
31	林可霉素	Lincomycin	154-21-2	C ₁₈ H ₃₄ N ₂ O ₆ S	其他	林可霉素-d ₃
32	甲氧苄啶	Trimethoprim	738-70-5	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	其他	甲氧苄啶-d ₃

我们连续考察了检测序列中内标物的响应值与标准系列中内标物响应值的均值之间偏差。经多次测试，本实验中对于大部分内标，两者相对偏差除林可霉素-d₃以外，基本可稳定保持在 40%以内，说明以各内标作为本实验的内标是稳定可靠的。对于林可霉素-d₃，其内标在样品中的响应值降低了 85%以上，可能与该化合物在固相萃取时绝对回收率不高有关，这与 USEPA 1694 方法中林可霉素在水样中的响应值和回收率偏低一致。不过对于水样中林可霉素的检测，采用同位素标记的内标林可霉素-d₃，则可以有效校正林可霉素在前处理过程中的损失，仍然能够达到有效定量。

下面列举部分测试结果，详见表 4。

表 4 样品中各内标物的检测结果

内标物质	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	标准系列内标平均 响应值 (n=7)	相对偏差范 围 (%)
磺胺甲基嘧啶-d ₄	733700	700700	683900	689500	709100	913100	19.6~25.1
磺胺甲噁唑-d ₄	589200	586600	555700	559700	575300	773400	23.8~28.1
红霉素- ¹³ C-d ₃	2770000	2769000	2717000	2805000	2742000	3175000	11.7~14.4
噻苯咪唑-d ₄	1484000	1406000	1484000	1399000	1425000	1917000	22.6~27.0
环丙沙星-d ₈	1432000	1415000	1235000	1570000	1577000	1604000	1.68~22.9
甲氧苄啶-d ₃	2084000	2198000	2079000	2103000	2108000	3442000	36.1~39.6
林可霉素-d ₃	175800	171200	15120	140000	143000	1238000	85.8~88.7
磺胺二甲嘧啶- ¹³ C ₆	1025000	996200	1050000	910100	928800	1065000	1.35~14.5

5.3.4 实验器皿

本实验过程中，非定量的玻璃器皿使用前均在 450℃ 的马弗炉中烘烤 4 个小时；

定量用的玻璃器皿清洗干净后，使用前均用甲醇和丙酮分别冲洗 3 遍，以确保以去除背景有机物的干扰。

5.3.5 实验用气

本实验用的普通氮气纯度(V/V)≥99.99%，其它仪器用高纯气体则按照仪器厂家的纯度要求进行准备。

5.4 仪器和设备

本标准编制小组采用型号为 Agilent 1200 系列高压液相色谱串联 6460 QQQ MS/MS 的液质联用仪对方法进行优化，采用电喷雾离子化源（ESI）和多重反应模式（MRM）。水样前处理设备主要为固相萃取装置、氮吹浓缩装置等。

5.5 样品保存和预处理

5.5.1 样品预处理

采用孔径为 0.7 μm 的玻璃纤维膜过滤，再按照 5.5.2 和 5.6 的要求进行样品保存和固相萃取前处理。

5.5.2 样品保存条件

本标准编制小组建议样品预处理后及时添加 4 mol/L 硫酸，调节样品最终 pH 为 3 左右，可抑制水体中微生物对目标组分的降解，同时添加 5% 的甲醇用来增加目标污染物的溶解性。采集的样品应置于棕色玻璃瓶中，并于 0~4℃ 冰箱避光冷藏保存。

本标准编制小组选择添加浓度为 100 ng/L 的样品，用硫酸酸化至 pH 为 3 进行保存，一段时间内进行跟踪检测，详见表 5。检测结果表明，样品保存 2 天内绝大部分化合物可保持稳定，样品浓度在第 4 天时克拉霉素、泰乐素等化合物的质量浓度即出现明显的下降，超过 30%，而 2 天时的质量浓度基本保持稳定，因此样品应在采集后 48 小时内处理完毕。

表 5 水体中抗生素加标 100.0 ng/L 的样品检测结果

化合物名称	不同样品保存时间下的抗生素的加标检测（平均值±标准偏差）（ng/L）					
	0 天	1 天	2 天	4 天	9 天	14 天
卡巴多	92.7±5.56	103±4.57	117±4.44	98.5±10.4	103±1.82	86.2±3.98
氯四环素	108±46.3	119±24.7	105±14.2	111±22.8	81.2±12.9	83.5±12.2
环丙沙星	103±1.47	124±3.73	116±4.03	179±9.05	118±1.17	103±3.11
克拉霉素	96.4±2.46	98.5±3.36	95.3±10.8	68.0±10.8	50.8±3.99	31.5±1.91
二氟沙星	129±16.9	144±34.0	154±44.8	108±36.6	160±26.7	134±19.7
强力霉素	139±52.3	140±11.3	131±13.8	150±14.3	113±11.6	135±2.69

化合物名称	不同样品保存时间下的抗生素的加标检测（平均值±标准偏差）（ng/L）					
	0天	1天	2天	4天	9天	14天
恩诺氟沙星	196±3.5	130±4.75	141±31.1	136±37.1	124±24.7	139±9.74
脱水红霉素	114±1.69	91.3±1.46	93.2±3.85	92.9±3.85	102±2.37	114±2.88
氟罗沙星	146±1.23	65.8±2.30	77.8±5.57	73.7±9.22	66.2±1.5	83.5±5.62
北里霉素	142.7±2.32	159±1.80	169±27.4	162±72.9	172±2.79	200±4.23
林可霉素	90.3±4.70	83.7±3.52	81.0±5.85	82.2±2.83	86.7±10.1	82.2±5.83
罗美沙星	185±17.3	165±53.4	171±44.8	125±43.2	178±30.5	151±21.1
马波沙星	88.4±9.25	86.1±5.58	97.9±13.7	84.9±13.2	86.0±13.2	96.9±9.16
诺氟沙星	80.3±2.98	72.3±5.93	73.5±8.70	84.4±4.74	71.1±2.68	72.5±5.78
氧氟沙星	165±3.07	102±2.01	112±6.7	126±42.6	94.8±15.6	106±7.27
竹桃霉素	103±1.39	97.3±3.10	96.8±0.84	137±11.0	101±1.95	104±2.47
氧四环素	123±39.5	138±29.4	126±16.8	124±41.7	123±16.2	155±1.8
罗红霉素	122±2.65	108±5.68	101±9.15	84.6±2.86	63.7±4.79	42.8±2.37
沙拉沙星	82.7±7.69	94.2±57.1	93.8±45.6	66.8±32.8	112±41.4	79.9±18.1
磺胺氯哒嗪	111±4.46	90.3±3.23	87.0±4.37	86.3±2.79	87.4±1.49	78.9±3.1
磺胺嘧啶	137±1.97	107±2.57	106±0.54	111±1.74	109±0.65	102±1.48
磺胺二甲氧哒嗪	89.1±2.95	87.3±4.11	83.5±3.35	86.7±1.20	84.7±0.63	81.7±2.05
磺胺甲基嘧啶	91.4±2.06	91.5±2.60	91.0±1.17	92.6±2.45	89.8±0.86	89.0±1.97
磺胺对甲氧嘧啶	98.8±0.71	90.7±3.47	89.8±3.78	85.7±4.17	90.2±0.25	85.2±0.15
磺胺二甲嘧啶	98.0±2.11	85.4±2.79	85.0±2.70	86.1±2.26	85.4±1.24	82.5±0.93
磺胺甲噁唑	82.3±1.48	92.6±3.10	91.3±2.71	90.4±1.43	89.8±1.02	87.8±1.95
磺胺间甲氧嘧啶	96.3±1.93	98.1±5.48	96.3±5.49	102±3.61	98.2±1.84	92.7±0.75
磺胺吡啶	73.9±0.30	76.6±2.22	75.0±0.95	67.1±17.5	75.6±0.61	75.4±1.25
磺胺喹喔啉	90.7±2.56	90.9±5.12	84.9±3.37	77.4±8.81	82.2±0.42	79.0±1.90
四环素	122±48.6	99.6±21.7	106±8.69	99.4±23.8	82.1±18.0	82.2±6.87
甲氧苄啶	101±1.64	90.2±3.00	89.0±0.88	91.8±1.55	91.1±1.29	93.1±0.99
泰勒索	141±4.94	149±9.53	134±19.6	54.5±46.4	60.4±5.59	28.5±2.10

5.6 固相萃取和仪器分析步骤

5.6.1 固相萃取条件选择

本标准中涉及的目标抗生素的理化性质差异明显，同步提取具有一定的难度。根据已有的报道，采用HLB柱富集和净化抗生素是最常用的方法，涉及的抗生素类别主要有磺胺类^[4,5]、喹诺酮类^[4]、磺胺类增效剂^[4]、四环素类^[6]、大环内酯类^[7]林可霉素类^[8]。因此，本标准在优化过程直接选用HLB柱富集和净化水体中抗生素。

固相萃取（SPE）过程主要优化了水样pH值（3和7）、洗脱溶剂（甲醇和含有0.1%甲酸的甲醇）和Na₄EDTA添加量（0.5 g和1 g）等条件。

各条件下的回收率数据结果见表6。总体而言,在pH 3条件(添加0.5 g Na₄EDTA, 甲醇洗脱)下共有绝大部分目标化合物在50%~150%范围内。因此,选取pH 3+0.5gNa₄EDTA+甲醇洗脱作为水体中固相萃取富集净化抗生素的最优条件。

表 6 水体中抗生素在不同固相萃取条件下的回收率

化合物		pH 3 ^a	pH7 ^b	0.1% 甲酸甲 醇洗脱液	Na ₄ EDTA 0.5 g ^d	Na ₄ EDTA 1 g ^e
磺胺类	SCP	74±5	70±4	79±13	66±2	70±1
	SDM	64±6	65±2	72±1	67±2	63±1
	SDZ	129±6	123±10	114±8	124±3	132±6
	SM	102±5	98±3	120±5	105±4	98±0.5
	SMM	71±2	78±7	74±5	68±3	62±10
	SMR	109±2	87±2	106±2	110±5	106±4
	SMX	90±1	79±1	93±1	82±3	82±1
	SMZ	95±8	119±9	90±4	88±8	92±4
	SPD	82±2	78±3	82±0.5	81±3	83±0.6
	SQX	65±2	66±1	73±5	70±3	72±4
	氟喹诺酮类	CAR	84±2	88±3	85±3	83±3
CFX		95±1	113±4	102±2	86±3	102±1
DIF		56±2	129±7	57±3	52±8	76±4
EFX		200±6	427±20	206±7	187±29	269±15
FL		87±0.3	200±9	86±0.2	78±9	110±2
LFX		75±3	166±7	73±2	69±10	100±5
MAR		108±2	263±13	109±5	102±16	141±5
NFX		98±3	102±1	107±3	81±8	98±1
OFX		101±4	267±6	99±2	92±15	137±4
SAR		53±3	52±1	58±4	51±5	10±1
四环素类	CTC	95±5	65±10	95±7	147±7	108±2
	DC	96±5	126±7	131±10	132±8	137±4
	OTC	168±19	40±3	203±15	193±9	210±10
	TC	78±5	50±8	88±9	109±5	94±7
大环内酯类	CTM	82±2	78±3	91±5	81±3	82±2
	ETM-H ₂ O	119±13	85±3	94±4	95±3	108±6
	LCM	137±3	115±3	152±3	135±2	136±2
	ODM	186±2	195±2	217±5	184±3	192±2
	RTM	142±4	149±3	156±6	136±5	142±5
	TYL	115±2	134±0.7	147±1	146±2	148±1
其他	OMP	111±0.6	103±1	121±3	112±2	112±1
	TMP	103±1	97±0.3	113±1	103±0.9	103±0.5
	LIN	123±9	92±3	149±9	114±7	138±3

5.6.2 仪器分析方法条件优化

本实验中采用Agilent SB-C₁₈色谱柱为分析柱，各组分均获得了良好的分离效果。由于电喷雾质谱的电离是在溶液状态下进行的，因此流动相的组成和配比不但影响目标化合物的色谱行为，而且影响目标化合物的离子化效率，从而影响灵敏度。

仪器条件优化主要是针对 32 种抗生素在不同环境基质（地表水、污水处理厂废水、养殖场废水）中的仪器测试方法。32 种目标化合物包括磺胺类、四环素类、喹诺酮类、大环内酯类、林可霉素类、磺胺类增效剂等。

正模式下，选用乙腈作为有机相；为了最大程度地获取较好的抗生素峰型和灵敏度，水相流动相尝试了 5 mM 草酸、0.1% 甲酸、0.5% 甲酸、0.1% 甲酸和 5 mM 乙酸胺、0.1% 甲酸和 2 mM 乙酸胺、0.2% 甲酸和 2 mM 乙酸胺。四环素类抗生素在草酸条件下可以产生较好的灵敏度、分离度、重复性和较低的基质效应，这可能于草酸能够络合色谱柱及样品中的重金属有关^[9]。然而，草酸不利于挥发，很容易在液相色谱串联质谱（LC-MS/MS）毛细管端口累积，堵塞毛细管，因此不建议使用。0.2% 甲酸和 2 mM 乙酸胺作为水相流动相时，喹诺酮类、离子载体类和大环内酯类抗生素可以获得较好的分离度和灵敏度，四环素类抗生素也可以获得可以接受的灵敏度。因此，仪器流动相最终选取乙腈（有机相）和 0.2% 甲酸和 2 mM 乙酸胺（水相）。

为了更好地分离多种抗生素并获取满意的峰型，实验过程中在正模式条件下尝试多种色谱柱。Agilent Zorbax SB-C₁₈ column (100 mm×3 mm, 1.8 μm)在乙腈（有机相）和 0.2% 甲酸和 5 mM 乙酸胺（水相）流动相条件下，可以满足除四环素类之外的其他抗生素的分离。对于四环素类抗生素而言，Agilent Zorbax Eclipse Plus C₁₈ column (100 mm×3 mm, 1.8 μm; 100 mm×2.1 mm, 1.8 μm; doubly end-capped) 相对于 Agilent Zorbax SB-C₁₈ columns (100 mm×3 mm, 1.8 μm; and 50 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 和 Agilent Zorbax XDB column (50 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 可以获得更好的峰型和灵敏度；特别是 Agilent Zorbax Eclipse Plus C₁₈ column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 相对于 Agilent Zorbax Eclipse Plus C₁₈ column (100 mm×3.0 mm, 1.8 μm) 柱效更高，可以获得更窄的峰型，更高的灵敏度和更好的线性。实验过程中发现，较短的保留时间 (<4 min) 可以完全消除四环素类的拖尾问题，但快速出峰过程中大量杂质同步进入离子源，造成严重的基质干扰。因此，实验过程中，综合考虑峰型及目标化合物和杂质的分离情况，设定浓度梯度。四环素类抗生素在硅胶柱上进行分离时容易出现拖尾和分离度及灵敏度差的情况，主要是因为四环素类抗生素容易与金属离子和硅醇基团发生络合^[10]。合适的填料和较高的柱效可以有效地减少四环素类的吸附，获得较好的峰型、线性和重现性。基于实验结果，Agilent Zorbax eclipse plus C₁₈ column (100

mm×2.1 mm, 1.8 μm) 最终用于抗生素的分离。

最终优化后的液相色谱条件为：色谱柱为 C₁₈ 柱 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) 或等效色谱柱，在色谱柱前段连接在线过滤器，以去除流动相和样品中细小颗粒物。流动相流速为 0.3 mL/min；柱温箱的温度设为 40℃，进样量为 5 μL。流动相为缓冲液 (0.2% 甲酸和 2 mmol/L 乙酸铵) (A) 和乙腈 (B)，梯度洗脱程序如下：0 min10% B, 5 min15% B, 7 min20% B, 11 min40% B, 15 min60% B, 16 min95% B, 25 min95% B。流动相的流速为 0.3 mL/min。

抗生素标准样品的总离子流图见图 8，提取离子流图见标准文本附录 F。

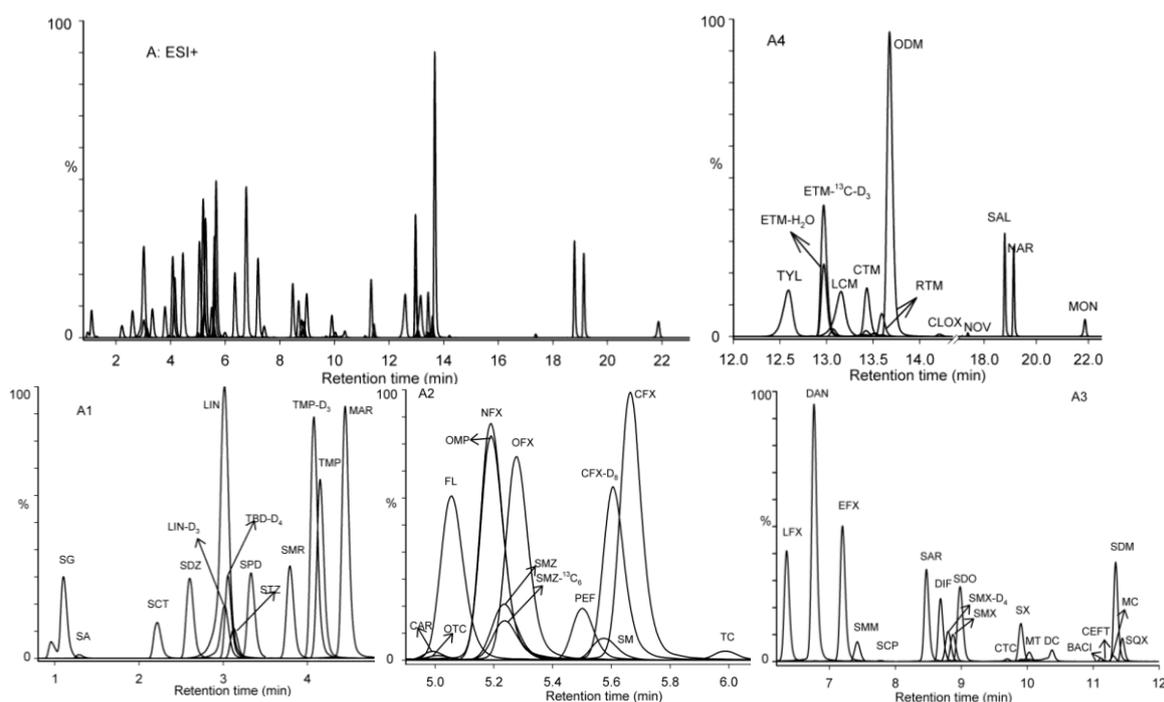


图 8 目标抗生素的总离子流图

对于质谱分析，采用 Agilent 公司的 Optimizer 软件对碰撞能、碎裂电压、母离子和子离子进行优化，结果见表 7。质谱参考条件设为：干燥气温度和流速为 325℃ 和 6 mL/min；雾化器压力 45 psi；鞘气温度和流速为 350℃ 和 11 L/min；毛细管电压和喷嘴电压分别为 3500 V 和 0 V。正模式下，目标化合物的母离子均为 [M+H]⁺。

表 732 种抗生素的质谱条件

化合物	保留时间/min	母离子 (m/z)	子离子(m/z) ^a	碎裂电压/V	碰撞能/eV	相对丰度 /% ^b
磺胺嘧啶	2.46	251.3	156 92.1	100	9 25	82.5
林可霉素	2.64	407.5	126.1 70.1	155	32 72	2.00
磺胺吡啶	3.18	250.3	156 108.1	114	13 21	54.1

化合物	保留时间/min	母离子 (m/z)	子离子(m/z) ^a	碎裂电压/V	碰撞能/eV	相对丰度 /% ^b
磺胺甲基嘧啶	3.67	265.1	156 108.0	104	13 25	89.3
甲氧苄啶	3.88	291.4	230.1 123.1	144	25 21	74.0
马波沙星	4.07	363.4	72.1 70.1	125	24 44	8.70
卡巴多	4.64	263.2	129 102.1	120	32 56	63.1
氟罗沙星	4.70	370.3	326.2 269.1	145	20 28	54.6
氧四环素	4.74	461.2	426.1 201.1	135	17 41	10.3
诺氟沙星	4.81	320.3	302.1 276	129	17 17	13.4
氧氟沙星	4.92	362	318 261.0	130	15 25	79.3
磺胺二甲嘧啶	5.14	279.3	124.1 156	124	21 12	62.8
环丙沙星	5.35	332.2	314.1 288	124	17 17	16.9
磺胺对甲氧嘧啶	5.41	281.1	92.1 108.1	115	32 28	78.5
四环素	5.83	445	410 427.0	120	16 5	36.2
罗美沙星	6.15	352.3	265.1 334.1	124	25 17	69.1
恩诺氟沙星	7.04	360.4	342.1 316.1	134	17 17	93.9
磺胺间甲氧嘧啶	7.30	281.3	92.1 108.1	120	36 28	78.5
磺胺氯哒嗪	7.70	285.7	92.1 109.0	115	24 24	95.3
沙拉沙星	8.56	386.4	368.2 342.2	155	24 16	36.7
二氟沙星	8.82	400.4	356.2 299.1	165	20 28	69.5
磺胺甲噁唑	8.90	254.3	156 108.1	90	13 21	63.3
氯四环素	10.04	479.1	444 462	130	20 17	57.4
强力霉素	11.13	445.2	428.1 154	134	16 25	67.1
磺胺二甲氧哒嗪	12.47	311.3	156 92.1	130	20 36	31.3
磺胺喹喔啉	12.71	301.3	92.1 108.1	115	36 28	76.6
北里霉素	14.66	772.4	174.1 83.1	230	32 68	88.2
泰勒索	15.66	916.5	174.1 132.1	260	44 33	9.20
脱水红霉素	15.85	716.5	158.2 558	195	25 25	10.9
克拉霉素	16.00	748.9	158.1	180	24	11.0

化合物	保留时间/min	母离子 (m/z)	子离子(m/z) ^a	碎裂电压/V	碰撞能/eV	相对丰度 /% ^b
			590		14	
罗红霉素	16.04	838.1	158.1 679	195	37 15	11.5
竹桃霉素	16.05	772.3	158.1 544	180	29 15	9.05
林可霉素-d3	2.64	410.6	129.1 73.1	170	36 76	2.72
噻苯咪唑-d4	2.77	206.1	179.1 135.1	130	25 35	70.8
磺胺甲基嘧啶-d4	3.61	269.1	160 112	120	12 16	93.2
甲氧苄啶-d3	3.81	294.4	123 230.0	152	21 21	91.0
磺胺二甲嘧啶-13C6	5.15	285.3	124.1 162	105	24 12	69.0
环丙沙星-d8	5.28	340.2	322 296.2	125	20 20	53.2
磺胺甲噁唑-d4	8.82	258.1	160.1 112	110	13 21	77.1
红霉素-13C-d3	15.85	720.6	162.1 562.2	162	25 20	28.0

注：对于不同的质谱仪器，仪器参数可能存在差异，测定前应将质谱参数优化到最佳。

^a 上面的离子为定量离子。

^a 相对丰度=(定性离子峰面积/定量离子峰面积百分比)*100。

1)非商业性声明：附录D所列参考质谱条件是在Agilent QQQ 6460质谱仪上完成的，此处列出试验用仪器型号仅为提供参考，并不涉及商业目的，鼓励标准使用者尝试不同厂家型号仪器。

5.6.3 标准曲线

配制浓度依次为 1.00μg/L、5.00μg/L、10.0μg/L、50.0μg/L、100μg/L、200μg/L 的抗生素类标准工作液系列（此为参考浓度序列）。在该浓度范围内 32 种化合物的相关系数（R）均大于 0.99，如表 8 所示。

表 8 32 种抗生素类化合物的标准曲线线性方程、线性范围和相关系数

序号	化合物	英文简写	线性方程	线性范围（μg/L）	相关系数 R
1	磺胺氯吡嗪	SCP	$Y=0.041*X-0.0001$	0~200	0.9995
2	磺胺嘧啶	SDZ	$Y=0.9589*X-0.0054$	0~200	0.9999
3	磺胺二甲氧吡嗪	SDM	$Y=5.1646*X+0.0005$	0~200	0.9996
4	磺胺甲基嘧啶	SMR	$Y=1.2650*X-0.003$	0~200	0.9998
5	磺胺对甲氧嘧啶	SM	$Y=0.8916*X-0.0058$	0~200	0.9996
6	磺胺二甲嘧啶	SMZ	$Y=0.969*X-0.0053$	0~200	0.9997
7	磺胺甲噁唑	SMX	$Y=1.2291*X-0.0042$	0~200	0.9998
8	磺胺间甲氧嘧啶	SMM	$Y=1.4984*X-0.0087$	0~200	0.9966

序号	化合物	英文简写	线性方程	线性范围 (µg/L)	相关系数 R
9	磺胺吡啶	SPD	$Y=1.3936*X-0.0021$	0~200	0.9998
10	磺胺喹喔啉	SQX	$Y=1.0431*X-0.0044$	0~200	0.9998
11	卡巴多	CAR	$Y=0.0372*X-0.0001$	0~200	0.9992
12	环丙沙星	CFX	$Y=0.7658*X-0.0036$	0~200	0.9927
13	二氟沙星	DIF	$Y=0.4334*X-0.0022$	0~200	0.9996
14	恩诺氟沙星	EFX	$Y=0.6746*X-0.0072$	0~200	0.9994
15	氟罗沙星	FL	$Y=0.7285*X-0.0075$	0~200	0.9990
16	罗美沙星	LFX	$Y=0.4732*X-0.0026$	0~200	0.9996
17	马波沙星	MAR	$Y=1.1089*X-0.0078$	0~200	0.9995
18	诺氟沙星	NFX	$Y=0.8205*X-0.0083$	0~200	0.9990
19	氧氟沙星	OFX	$Y=0.8419*X-0.0069$	0~200	0.9992
20	沙拉沙星	SAR	$Y=0.5342*X-0.0019$	0~200	0.9995
21	克拉霉素	CTM	$Y=0.2178*X+0.002$	0~200	0.9916
22	脱水红霉素	ETM-H2O	$Y=0.8121*X+0.0076$	0~200	0.9989
23	北里霉素	LCM	$Y=0.7963*X-0.0179$	0~200	0.9965
24	竹桃霉素	ODM	$Y=2.7367*X-0.0292$	0~200	0.9934
25	罗红霉素	RTM	$Y=0.1153*X+0.0006$	0~200	0.9920
26	泰勒索	TYL	$Y=0.4593*X+0.0012$	0~200	0.9959
27	氯四环素	CTC	$Y=0.3323*X-0.0011$	0~200	0.9966
28	强力霉素	DC	$Y=1.1960*X-0.0144$	0~200	0.9986
29	氧四环素	OTC	$Y=0.4481*X+0.0096$	0~200	0.9988
30	四环素	TC	$Y=1.022*X-0.0026$	0~200	0.9998
31	林可霉素	LIN	$Y=7.2965*X-0.0159$	0~200	0.9996
32	甲氧苄啶	TMP	$Y=0.8864*X-0.0011$	0~200	0.9997

5.6.4 实验室空白测试 (LRB)

参照EPA 1694方法的要求, 为保证实验用水、试剂、器具以及检测过程中所接触的仪器设备各部件不会对样品测试带来干扰和影响, 本实验以纯水为样品, 配制6份实验室空白平行样品, 经固相萃取处理后上机测试, 未发现实验室空白中含有任何抗生素。

5.6.5 方法检出限

5.6.5.1 方法检出限确定

按照 HJ 168-2010 标准中空白实验中未检出目标物质的检出限测定方法, 依据仪器灵敏度情况, 本实验分别对溪流水库水(地表水)、污水处理厂废水、养殖场废水加标, 加标浓度为 10.0 ng/L, 样品体积为 1000 mL。每种类型配制 7 份平行模拟水样, 经固相萃取全过程分析, 数据结果见表 9-11。地表水方法的检出限范围为 0.4ng/L~3.0 ng/L, 测定下限范围为 1.7ng/L~12ng/L; 污水处理厂废水的方法的检出

限范围为 0.9 ng/L~9.3 ng/L, 测定下限范围为 3.6 ng/L~37 ng/L; 养殖场废水的方法的检出限范围为 0.4 ng/L~11 ng/L, 测定下限范围为 1.5 ng/L~44 ng/L。

表 9 地表水添加浓度(10.0 ng/L)—方法检出限、测定下限计算结果

抗生素 简写	10.0 ng/L 加标量							平均值 ng/L	SD (ng/L)	检出限 (ng/L)	测定下限 (ng/L)
	1	2	3	4	5	6	7				
CAR	12.1	12.2	11.9	12.1	11.8	11.9	11.3	11.9	0.32	1.0	4.0
CTC	14.1	12.2	12.0	12.8	13.3	11.8	11.3	12.5	0.95	3.0	12
CFX	8.87	9.86	8.36	8.66	8.90	9.13	8.39	8.88	0.51	1.6	6.5
CTM	10.4	10.5	10.1	9.42	9.91	9.40	9.55	9.89	0.44	1.4	5.6
DIF	10.8	9.37	10.3	10.8	9.88	11.4	10.3	10.4	0.67	2.1	8.4
DC	13.2	12.3	12.6	11.7	12.3	11.7	13.5	12.5	0.69	2.2	8.7
EFX	13.3	11.9	12.3	11.0	12.7	12.9	13.0	12.4	0.79	2.5	9.9
ETM-H ₂ O	11.6	12.3	11.8	12.6	11.9	12.4	12.3	12.1	0.36	1.1	4.5
FL	10.6	9.72	10.5	9.53	9.73	11.0	10.3	10.2	0.57	1.8	7.1
LCM	6.65	7.15	6.99	7.88	7.16	8.02	7.48	7.33	0.49	1.5	6.1
LIN	21.1	20.0	20.1	20.6	21.7	21.0	21.4	20.9	0.63	2.0	7.9
LFX	15.7	14.4	15.1	13.7	13.6	14.9	14.7	14.6	0.77	2.4	9.7
MAR	7.79	6.98	7.16	7.87	6.6	6.98	6.43	7.12	0.55	1.7	6.9
NFX	4.93	4.39	5.2	5.69	4.91	5.42	5.37	5.13	0.43	1.3	5.4
OFX	11.4	9.95	10.7	9.59	10.3	10.3	11.1	10.5	0.64	2.0	8.0
ODM	10.0	9.96	10.3	10.4	10.4	10.5	10.5	10.3	0.22	0.7	2.7
OTC	40.2	40.6	39.9	41.2	39.9	39.2	41.2	40.3	0.75	2.4	9.4
RTM	14.9	15.2	14.8	14.0	14.1	14.8	13.7	14.5	0.56	1.8	7.0
SAR	9.17	7.54	7.46	7.89	7.37	8.95	7.96	8.05	0.73	2.3	9.2
SCP	8.08	7.95	8.46	9.04	8.07	8.19	8.47	8.32	0.37	1.2	4.7
SDZ	10.8	10.9	10.2	11.3	10.3	10.1	11.3	10.7	0.50	1.6	6.2
SDM	7.37	7.01	6.76	6.08	6.76	6.97	6.53	6.78	0.41	1.3	5.1
SMR	7.68	7.62	7.54	7.36	7.75	7.72	7.54	7.60	0.13	0.4	1.7
SM	10.6	10.4	11.2	9.65	10.7	10.9	11.4	10.7	0.58	1.8	7.3
SMZ	8.64	8.90	8.95	8.51	9.18	8.73	8.68	8.80	0.23	0.7	2.8
SMX	7.91	8.47	8.31	7.68	7.77	7.70	7.81	7.95	0.31	1.0	3.9
SMM	10.6	10.3	10.7	10.1	10.2	10.7	10.6	10.4	0.25	0.8	3.2
SPD	7.43	7.74	6.99	7.58	7.89	7.07	7.32	7.43	0.33	1.1	4.2
SQX	6.44	6.13	5.47	5.81	5.73	5.91	5.71	5.88	0.31	1.0	4.0
TC	12.4	12.8	13.2	13.0	13.3	12.4	12.3	12.8	0.41	1.3	5.1
TMP	7.77	8.05	8.04	8.02	8.27	7.95	7.77	7.98	0.18	0.6	2.2
TYL	11.6	12.3	12.0	11.2	12.5	12.4	11.7	12.0	0.47	1.5	5.9

*具有本底值的化合物: EFX、ETM-H₂O、OFX、ODM、SMM 低于测定下限; OTC 为 28.0 ng/L, LIN 为 8.93 ng/L。

表 10 城市污水处理厂废水添加浓度(10.0 ng/L)—方法检出限、测定下限计算结果

抗生素 简写	10.0 ng/L 加标量*							平均值 ng/L	SD (ng/L)	检出限 (ng/L)	测定下限 (ng/L)
	1	2	3	4	5	6	7				
CAR	13.2	14.9	15.0	12.2	13.9	15.5	11.7	13.8	1.47	4.6	18
CTC	14.2	15.6	17.2	16.9	18.3	20.1	13.5	16.6	2.31	7.3	29
CFX	12.4	13.2	13.8	13.9	13.5	13.4	13.0	13.3	0.50	1.6	6.3
CTM	10.6	9.86	9.63	9.93	11.3	9.51	10.1	10.1	0.61	1.9	7.7
DIF	5.32	4.04	4.23	4.12	5.88	4.72	4.33	4.66	0.69	2.2	8.7
DC	19.6	18.1	23.1	18.9	20.2	24.1	25.9	21.42	2.95	9.3	37
EFX	17.5	16.8	17.9	16.2	19.1	18.5	19.4	17.9	1.18	3.7	15
ETM-H ₂ O	69.3	70.0	68.9	68.4	69.2	69.2	69.4	69.2	0.49	1.5	6.2
FL	8.84	9.81	9.56	9.84	9.00	9.44	9.28	9.40	0.38	1.2	4.8
LCM	11.5	10.7	15.3	10.7	11.6	12.0	13.1	12.1	1.61	5.1	20
LIN	12.5	12.1	12.7	12.0	12.2	12.0	11.3	12.1	0.45	1.4	5.7
LFX	9.00	10.3	9.37	9.69	10.2	9.39	9.15	9.59	0.51	1.6	6.4
MAR	7.54	8.19	8.41	8.17	8.66	8.16	8.77	8.27	0.40	1.3	5.1
NFX	9.46	10.0	10.2	10.4	10.2	9.60	10.8	10.1	0.47	1.5	5.9
OFX	10.8	12.4	11.6	11.6	11.4	11.3	11.5	11.5	0.46	1.4	5.8
ODM	15.6	14.9	16.5	14.9	16.2	17.8	18.4	16.4	1.34	4.2	17
OTC	47.6	53.2	48.3	48.8	46.3	48.2	44.2	48.1	2.74	8.6	34
RTM	16.6	13.2	13.2	12.5	14.1	13.8	15.6	14.1	1.46	4.6	18
SAR	8.36	6.95	6.55	6.11	8.55	7.32	6.51	7.19	0.94	2.9	12
SCP	17.4	14.8	15.9	16.8	16.5	15.3	16.8	16.2	0.92	2.9	12
SDZ	11.6	12.0	11.8	11.8	11.3	12.2	12.3	11.9	0.34	1.1	4.3
SDM	12.3	9.99	9.73	10.1	12.6	10.3	10.3	10.8	1.17	3.7	15
SMR	9.48	9.70	10.02	9.44	9.48	9.72	10.3	9.74	0.32	1.0	4.1
SM	14.2	13.6	14.2	12.6	12.9	14.5	14.7	13.8	0.78	2.5	9.8
SMZ	41.1	40.6	39.7	40.2	40.2	40.5	40.7	40.4	0.45	1.4	5.7
SMX	11.6	11.9	11.4	11.9	12.2	12.0	11.7	11.8	0.29	0.9	3.6
SMM	13.5	12.7	12.9	12.6	13.2	13.8	13.3	13.2	0.42	1.3	5.3
SPD	9.67	8.66	9.44	8.82	9.48	9.87	9.88	9.40	0.49	1.5	6.1
SQX	7.48	7.71	7.53	8.39	7.68	7.60	7.68	7.72	0.31	1.0	3.8
TC	22.1	22.5	25.5	24.6	24.0	25.5	20.7	23.6	1.84	5.8	23
TMP	12.2	12.4	11.9	12.5	12.9	12.6	12.5	12.4	0.30	0.9	3.8
TYL	17.6	16.9	15.9	16.8	15.9	16.3	16.9	16.6	0.64	2.0	8.1

*CTC、ETM-H₂O、LIN、OTC、SMX、SMM、TC、TMP 具有本底值。

表 11 养殖场废水添加浓度(10.0 ng/L)—方法检出限、测定下限计算结果

抗生素 简写	10.0 ng/L 加标量*							平均值 ng/L	SD (ng/L)	检出限 (ng/L)	测定下限 (ng/L)
	1	2	3	4	5	6	7				
CAR	12.1	12.8	13.2	12.3	13.2	11.3	12.0	12.4	0.71	2.2	8.9
CTC	18.4	17.3	23.6	19.8	23.9	18.8	18.8	20.09	2.60	8.2	33
CFX	10.3	10.2	10.5	10.1	10.5	10.5	10.6	10.37	0.19	0.6	2.3
CTM	8.90	10.8	7.12	10.5	9.46	6.05	5.86	8.38	2.05	6.4	26
DIF	7.67	8.82	8.11	8.03	7.51	7.00	7.44	7.80	0.59	1.8	7.4
DC	11.5	11.7	12.3	11.1	10.8	10.1	10.8	11.2	0.73	2.3	9.2
EFX	16.7	17.9	15.4	14.5	17.3	15.6	16.5	16.3	1.18	3.7	15
ETM-H ₂ O	8.33	7.98	8.83	7.97	8.24	8.78	9.13	8.47	0.45	1.4	5.7
FL	9.88	10.2	9.64	9.26	10.0	9.11	9.20	9.62	0.45	1.4	5.6
LCM	10.2	7.19	13.6	8.76	9.61	12.3	15.9	11.1	3.02	9.5	38
LIN	17.0	16.2	18.2	17.3	17.9	17.9	19.4	17.7	1.00	3.1	12
LFX	10.1	11.6	11.0	10.9	11.6	9.72	10.9	10.8	0.71	2.2	8.9
MAR	7.53	7.96	7.30	7.40	8.21	7.21	7.43	7.58	0.37	1.2	4.6
NFX	8.64	8.51	8.42	8.38	8.11	8.21	8.13	8.34	0.20	0.6	2.5
OFX	12.6	12.6	12.1	11.9	12.2	11.6	11.8	12.1	0.39	1.2	4.8
ODM	9.88	8.63	11.6	8.75	9.24	12.2	12.6	10.4	1.67	5.3	21
OTC	65.4	55.9	60.6	57.9	64.9	62.8	59.7	61.1	3.52	11	44
RTM	13.5	14.8	11.2	11.3	12.9	10.4	10.1	12.0	1.74	5.5	22
SAR	8.71	9.21	8.39	9.76	8.51	8.11	8.6	8.76	0.56	1.7	6.9
SCP	11.9	11.5	11.7	10.7	12.3	11.5	12.6	11.8	0.61	1.9	7.6
SDZ	10.9	10.7	11.1	10.3	10.9	10.8	11.2	10.9	0.30	0.9	3.8
SDM	7.52	7.51	7.35	7.47	7.53	7.13	7.1	7.37	0.19	0.6	2.3
SMR	6.71	7.07	6.89	6.85	7.11	6.92	6.77	6.90	0.15	0.5	1.8
SM	8.78	8.26	8.99	8.20	8.65	9.08	8.94	8.70	0.35	1.1	4.4
SMZ	8.05	8.13	8.55	7.96	8.49	8.01	8.19	8.20	0.23	0.7	2.9
SMX	7.34	7.37	7.48	7.23	7.53	7.68	7.57	7.46	0.15	0.5	1.9
SMM	34.5	33.6	34.3	33.8	35.1	33.7	34.2	34.2	0.49	1.5	6.1
SPD	5.72	6.06	6.15	5.72	5.94	5.82	6.11	5.93	0.18	0.6	2.3
SQX	6.25	6.66	5.80	6.55	5.78	5.39	5.4	5.98	0.52	1.63	6.5
TC	13.1	12.4	12.3	13.8	12.3	12.8	13.1	12.9	0.52	1.6	6.5
TMP	7.02	7.18	7.40	7.20	7.32	7.24	7.19	7.22	0.12	0.4	1.5
TYL	10.1	12.4	9.08	11.0	12.4	9.89	9.98	10.70	1.30	4.1	16

* CTC、CFX、EFX、ETM-H₂O、LCM、LIN、MAR、OFX、OTC、SCP、SDZ、SMZ、SMM、TC、TMP 具有本底值。

5.6.6 方法精密度

精密度是对三个浓度水平分别为10.0 ng/L、100 ng/L、200 ng/L的流溪河加标水样进行了精密度测试（见表12-表14），每个浓度水平配制7份平行样品，经全过程固相萃取和仪器分析。从表中可以看出，不同浓度的水库水加标水样，测试的相对标准偏差（RSD）10.0 ng/L、100 ng/L、200 ng/L分别为1.75%~9.05%、0.75%~15.7%，0.47%~18.5%，说明方法的精密度良好。

表12添加浓度(10.0 ng/L)—低浓度空白基体加标测定精密度数据

抗生素 简写	10.0 ng/L 加标量							平均值 ng/L	SD (ng/L)	RSD (ng/L)
	1	2	3	4	5	6	7			
CAR	12.1	12.2	11.9	12.1	11.8	11.9	11.3	11.9	0.32	2.71
CTC	14.1	12.2	12.0	12.8	13.3	11.8	11.3	12.5	0.95	5.78
CFX	8.87	9.86	8.36	8.66	8.90	9.13	8.39	8.88	0.51	7.59
CTM	10.4	10.5	10.1	9.42	9.91	9.40	9.55	9.89	0.44	4.47
DIF	10.8	9.37	10.3	10.8	9.88	11.4	10.3	10.4	0.67	5.53
DC	13.2	12.3	12.6	11.7	12.3	11.7	13.5	12.5	0.69	6.41
EFX	13.3	11.9	12.3	11.0	12.7	12.9	13.0	12.4	0.79	6.34
ETM-H ₂ O	11.6	12.3	11.8	12.6	11.9	12.4	12.3	12.1	0.36	2.96
FL	10.6	9.72	10.5	9.53	9.73	11.0	10.3	10.2	0.57	5.54
LCM	6.65	7.15	6.99	7.88	7.16	8.02	7.48	7.33	0.49	6.67
LIN	21.1	20.0	20.1	20.6	21.7	21.0	21.4	20.9	0.63	5.27
LFX	15.7	14.4	15.1	13.7	13.6	14.9	14.7	14.6	0.77	3.03
MAR	7.79	6.98	7.16	7.87	6.6	6.98	6.43	7.12	0.55	7.71
NFX	4.93	4.39	5.2	5.69	4.91	5.42	5.37	5.13	0.43	8.32
OFX	11.4	9.95	10.7	9.59	10.3	10.3	11.1	10.5	0.64	2.10
ODM	10.0	9.96	10.3	10.4	10.4	10.5	10.5	10.3	0.22	6.06
OTC	40.2	40.6	39.9	41.2	39.9	39.2	41.2	40.3	0.75	1.86
RTM	14.9	15.2	14.8	14.0	14.1	14.8	13.7	14.5	0.56	3.86
SAR	9.17	7.54	7.46	7.89	7.37	8.95	7.96	8.05	0.73	9.05
SCP	8.08	7.95	8.46	9.04	8.07	8.19	8.47	8.32	0.37	4.49
SDZ	10.8	10.9	10.2	11.3	10.3	10.1	11.3	10.7	0.50	5.97
SDM	7.37	7.01	6.76	6.08	6.76	6.97	6.53	6.78	0.41	4.64
SMR	7.68	7.62	7.54	7.36	7.75	7.72	7.54	7.60	0.13	5.46
SM	10.6	10.4	11.2	9.65	10.7	10.9	11.4	10.7	0.58	2.41
SMZ	8.64	8.90	8.95	8.51	9.18	8.73	8.68	8.80	0.23	1.75
SMX	7.91	8.47	8.31	7.68	7.77	7.70	7.81	7.95	0.31	3.95
SMM	10.6	10.3	10.7	10.1	10.2	10.7	10.6	10.4	0.25	2.56
SPD	7.43	7.74	6.99	7.58	7.89	7.07	7.32	7.43	0.33	4.49
SQX	6.44	6.13	5.47	5.81	5.73	5.91	5.71	5.88	0.31	5.34

抗生素 简写	10.0 ng/L 加标量							平均值 ng/L	SD (ng/L)	RSD (ng/L)
	1	2	3	4	5	6	7			
TC	12.4	12.8	13.2	13.0	13.3	12.4	12.3	12.8	0.41	3.20
TMP	7.77	8.05	8.04	8.02	8.27	7.95	7.77	7.98	0.18	2.21
TYL	11.6	12.3	12.0	11.2	12.5	12.4	11.7	12.0	0.47	3.93

*具有本底值的化合物: EFX、ETM-H₂O、OFX、ODM、SMM 低于测定下限; OTC 为 28.0 ng/L, LIN 为 8.93 ng/L。

表13添加浓度(100 ng/L)—中浓度空白基体加标测定精密度数据

抗生素 简写	100 ng/L 加标量							平均值 ng/L	SD (ng/L)	RSD (ng/L)
	1	2	3	4	5	6	7			
CAR	84.9	104	106	93.1	101	97.7	111	99.6	8.63	8.67
CTC	152	107	115	118	120	121	103	119	15.7	13.2
CFX	101	91.7	98.2	101	96.8	99.8	99.1	98.2	3.18	3.24
CTM	82.7	85.1	86.	91.2	83.9	80.4	77.9	83.9	4.26	5.08
DIF	91.1	142	114	112	129	97.	107	113	17.7	15.7
DC	118	127	129	118	108	124	111	119	8.13	6.81
EFX	161	170	173	172	184	159	185	172	9.99	5.81
ETM-H ₂ O	117	119	119	118	123	119	120	119	1.9	1.59
FL	124	152	159	140	162	137	162	148	14.8	9.99
LCM	95.7	90.5	100	85.5	104	104	105	97.8	7.52	7.68
LIN	94.8	111	119	109	119	121	112	112	9.06	8.05
LFX	146	185	177	162	182	178	179	173	13.9	8.05
MAR	67.9	82.9	86.0	77.3	88.3	74.9	86.6	80.6	7.44	9.24
NFX	64.3	57.5	64.0	63.3	60.4	64.3	65.4	62.7	2.81	4.47
OFX	118	113	126	122	124	121	127	122	4.70	3.87
ODM	106	108	111	106	113	113	115	110	3.65	3.31
OTC	142	157	154	177	148	160	163	157	11.3	7.16
RTM	132	130	134	138	129	125	123	130	5.22	4.01
SAR	68.7	100	75.8	79.7	83.7	70.3	71.2	78.5	11.0	14.1
SCP	80.0	81.4	79.8	77.5	80.4	76.6	74.7	78.6	2.41	3.07
SDZ	106	107	101	106	105	102	102	104	2.07	1.98
SDM	60.3	63.7	65.1	62.6	64.0	61.3	61.8	62.7	1.67	2.66
SMR	73.8	80.6	80.1	76.0	79.3	79.4	82.5	78.8	2.95	3.75
SM	125	128	126	125	126	127	125	126	0.94	0.75
SMZ	85.8	90.4	88.9	88.1	86.7	86.6	90.0	88.1	1.76	2.00
SMX	68.1	70.1	69.0	68.6	70.0	68.0	67.7	68.8	0.97	1.41
SMM	92.6	98.5	97.4	93.6	96.6	92.6	95.	95.2	2.37	2.49
SPD	73.5	73.6	71.7	74.4	72.1	72.3	71.8	72.8	1.07	1.46
SQX	51.1	55.1	58.9	56.7	56.5	53.1	54.4	55.1	2.55	4.63
TC	154	153	141	139	152	154	148	149	6.16	4.14
TMP	74.9	76.4	78.7	76.5	78.4	75.8	77.2	76.8	1.36	1.77

抗生素 简写	100 ng/L 加标量							平均值 ng/L	SD (ng/L)	RSD (ng/L)
	1	2	3	4	5	6	7			
TYL	116	109	115	113	109	107	100	110	5.56	5.07

*具有本底值的化合物: EFX、ETM-H₂O、OFX、ODM、SMM 低于测定下限; OTC 为 28.0 ng/L, LIN 为 8.93 ng/L。

表14添加浓度(200 ng/L)—高浓度空白基体加标测定精密度数据

抗生素 简写	200 ng/L 加标量							平均值 ng/L	SD (ng/L)	RSD (ng/L)
	1	2	3	4	5	6	7			
CAR	277	256	278	251	257	255	285	266	13.6	5.12
CTC	244	274	241	237	245	218	233	242	16.9	7.00
CFX	189	195	191	197	192	190	187	192	3.25	1.70
CTM	236	232	227	225	221	227	224	227	5.22	2.30
DIF	213	188	171	179	179	186	172	184	14.2	7.73
DC	297	272	306	274	240	281	280	279	21.2	7.62
EFX	329	311	259	326	296	273	234	290	35.8	12.3
ETM-H ₂ O	217	218	222	222	221	222	224	221	2.53	1.15
FL	239	242	209	237	221	219	192	223	18.3	8.21
LCM	171	142	165	133	141	149	149	150	13.6	9.05
LIN	227	214	240	219	237	232	277	235	20.5	8.72
LFX	291	270	255	264	251	266	272	267	13.2	4.93
MAR	154	163	140	153	154	151	138	151	8.76	5.82
NFX	133	139	134	148	140	132	128	136	6.65	4.88
OFX	237	240	204	236	214	209	207	221	16.1	7.27
ODM	183	188	190	194	195	199	201	193	6.38	3.30
OTC	306	332	330	325	344	314	320	324	12.5	3.86
RTM	335	324	324	318	316	340	327	326	8.74	2.68
SAR	170	157	162	149	158	174	175	164	9.79	5.98
SCP	152	165	160	163	158	161	156	159	4.54	2.85
SDZ	202	206	211	211	209	202	217	208	5.19	2.49
SDM	154	150	144	146	149	148	133	146	6.32	4.32
SMR	161	159	160	157	157	160	163	160	2.32	1.45
SM	136	222	155	173	198	144	154	169	31.2	18.5
SMZ	184	183	185	185	184	183	184	184	0.87	0.47
SMX	155	154	155	155	158	154	160	156	2.11	1.35
SMM	205	211	203	208	213	207	208	208	3.43	1.65
SPD	152	158	165	159	165	158	165	160	4.94	3.08
SQX	141	134	135	129	135	138	114	132	8.79	6.65
TC	275	256	281	274	254	258	275	268	10.9	4.09
TMP	173	175	175	171	176	175	177	174	2.00	1.15
TYL	334	326	322	310	302	296	291	311	16.2	5.22

*具有本底值的化合物: EFX、ETM-H₂O、OFX、ODM、SMM 低于测定下限; OTC 为 28.0 ng/L, LIN 为 8.93 ng/L。

5.6.7 方法准确度

对三个浓度水平分别为 10.0 ng/L、100 ng/L、200 ng/L 的流溪河水库加标水样进行了准确度测试（见表 15-17），每个浓度水平配制 7 份平行样品，经全过程分析。在 32 种抗生素中，有 7 种抗生素在流溪河水库样品中具有本底值，其中恩诺氟沙星（EFX）、脱水红霉素（ETM-H₂O）、竹桃霉素（ODM）、氧四环素（OTC）、磺胺间甲氧嘧啶（SMM）低于相应的测定下限，林可霉素（LIN）为 8.93 ng/L，氧四环素（OTC）为 28.0 ng/L。因此加标后所测结果为减去本底值的数据。从表中可以看出，对于 10 ng/L 加标浓度的水样，测试的相对误差为 1.10%~48.7%；对于 100 ng/L 加标浓度的水样，测试的相对误差为 0.43%~72.7%；对于 200 ng/L 加标浓度的水样，测试的相对误差为 3.52%~63.2%。总体上，在 3 个加标浓度中，75% 的化合物的相对误差 < 30%，说明方法准确度对于绝大部分化合物较好。相对误差比较大的物质为罗美沙星（LFX）、诺氟沙星（NFX）、恩诺氟沙星（EFX）、罗红霉素（RTM）、磺胺喹啉（SQX）、四环素（TC）、强力霉素（DC）、氧四环素（OTC）、泰来素（TYL），这与它们没有对应的同位素内标有一定的关系，当采用相似结构的化合物同位素标记物为内标时，仍不可避免产生较大的偏差。

表15添加浓度(10.0ng/L)—低浓度空白基体加标测定准确度数据

抗生素 简写	10.0 ng/L 加标量							平均值 ng/L	加标值 ng/L	相对误差 %
	1	2	3	4	5	6	7			
CAR	12.1	12.2	11.9	12.1	11.8	11.9	11.3	11.9	10.0	18.8
CTC	14.1	12.2	12.0	12.8	13.3	11.8	11.3	12.5	10.0	25.0
CFX	8.87	9.86	8.36	8.66	8.90	9.13	8.39	8.88	10.0	11.2
CTM	10.4	10.5	10.1	9.42	9.91	9.40	9.55	9.89	10.0	1.10
DIF	10.8	9.37	10.3	10.8	9.88	11.4	10.3	10.4	10.0	4.07
DC	13.2	12.3	12.6	11.7	12.3	11.7	13.5	12.5	10.0	24.7
EFX	13.3	11.9	12.3	11.0	12.7	12.9	13.0	12.4	10.0	10.8
ETM-H ₂ O	11.6	12.3	11.8	12.6	11.9	12.4	12.3	12.1	10.0	15.9
FL	10.6	9.72	10.5	9.53	9.73	11.0	10.3	10.2	10.0	2.13
LCM	6.65	7.15	6.99	7.88	7.16	8.02	7.48	7.33	10.0	26.7
LIN	21.1	20.0	20.1	20.6	21.7	21.0	21.4	20.9	10.0	19.4
LFX	15.7	14.4	15.1	13.7	13.6	14.9	14.7	14.6	10.0	45.9
MAR	7.79	6.98	7.16	7.87	6.6	6.98	6.43	7.12	10.0	28.8
NFX	4.93	4.39	5.2	5.69	4.91	5.42	5.37	5.13	10.0	48.7
OFX	11.4	9.95	10.7	9.59	10.3	10.3	11.1	10.5	10.0	11.2
ODM	10.0	9.96	10.3	10.4	10.4	10.5	10.5	10.3	10.0	8.16
OTC	40.2	40.6	39.9	41.2	39.9	39.2	41.2	40.3	10.0	23.6

抗生素 简写	10.0 ng/L 加标量							平均值 ng/L	加标值 ng/L	相对误差 %
	1	2	3	4	5	6	7			
RTM	14.9	15.2	14.8	14.0	14.1	14.8	13.7	14.5	10.0	45.1
SAR	9.17	7.54	7.46	7.89	7.37	8.95	7.96	8.05	10.0	19.5
SCP	8.08	7.95	8.46	9.04	8.07	8.19	8.47	8.32	10.0	16.8
SDZ	10.8	10.9	10.2	11.3	10.3	10.1	11.3	10.7	10.0	6.93
SDM	7.37	7.01	6.76	6.08	6.76	6.97	6.53	6.78	10.0	32.2
SMR	7.68	7.62	7.54	7.36	7.75	7.72	7.54	7.60	10.0	24.0
SM	10.6	10.4	11.2	9.65	10.7	10.9	11.4	10.7	10.0	6.86
SMZ	8.64	8.90	8.95	8.51	9.18	8.73	8.68	8.80	10.0	12.0
SMX	7.91	8.47	8.31	7.68	7.77	7.70	7.81	7.95	10.0	20.5
SMM	10.6	10.3	10.7	10.1	10.2	10.7	10.6	10.4	10.0	3.05
SPD	7.43	7.74	6.99	7.58	7.89	7.07	7.32	7.43	10.0	25.7
SQX	6.44	6.13	5.47	5.81	5.73	5.91	5.71	5.88	10.0	41.2
TC	12.4	12.8	13.2	13.0	13.3	12.4	12.3	12.8	10.0	27.9
TMP	7.77	8.05	8.04	8.02	8.27	7.95	7.77	7.98	10.0	20.2
TYL	11.6	12.3	12.0	11.2	12.5	12.4	11.7	12.0	10.0	19.6

注：数据为去除本底值。具有本底值的化合物：EFX、ETM-H₂O、OFX、ODM、SMM低于测定下限；OTC为28.0 ng/L，LIN为8.93 ng/L。

表16添加浓度(100ng/L)—中浓度空白基体加标测定准确度数据

抗生素 简写	100 ng/L 加标量							平均值 ng/L	加标值 ng/L	相对误差 %
	1	2	3	4	5	6	7			
CAR	84.9	104	106	93.1	101	97.7	111	99.6	100	0.43
CTC	152	107	115	118	120	121	103	119	100	19.4
CFX	101	91.7	98.2	101	96.8	99.8	99.1	98.2	100	1.83
CTM	82.7	85.1	86.	91.2	83.9	80.4	77.9	83.9	100	16.1
DIF	91.1	142	114	112	129	97.	107	113	100	13.2
DC	118	127	129	118	108	124	111	119	100	19.5
EFX	161	170	173	172	184	159	185	172	100	70.7
ETM-H ₂ O	117	119	119	118	123	119	120	119	100	18.6
FL	124	152	159	140	162	137	162	148	100	48.0
LCM	95.7	90.5	100	85.5	104	104	105	97.8	100	2.19
LIN	94.8	111	119	109	119	121	112	112	100	3.54
LFX	146	185	177	162	182	178	179	173	100	72.7
MAR	67.9	82.9	86.0	77.3	88.3	74.9	86.6	80.6	100	19.4
NFX	64.3	57.5	64.0	63.3	60.4	64.3	65.4	62.7	100	37.3
OFX	118	113	126	122	124	121	127	122	100	20.0
ODM	106	108	111	106	113	113	115	110	100	9.20
OTC	142	157	154	177	148	160	163	157	100	29.5
RTM	132	130	134	138	129	125	123	130	100	30.2

抗生素 简写	100 ng/L 加标量							平均值 ng/L	加标值 ng/L	相对误差 %
	1	2	3	4	5	6	7			
SAR	68.7	100	75.8	79.7	83.7	70.3	71.2	78.5	100	21.5
SCP	80.0	81.4	79.8	77.5	80.4	76.6	74.7	78.6	100	21.4
SDZ	106	107	101	106	105	102	102	104	100	4.18
SDM	60.3	63.7	65.1	62.6	64.0	61.3	61.8	62.7	100	37.3
SMR	73.8	80.6	80.1	76.0	79.3	79.4	82.5	78.8	100	21.2
SM	125	128	126	125	126	127	125	126	100	26.1
SMZ	85.8	90.4	88.9	88.1	86.7	86.6	90.0	88.1	100	11.9
SMX	68.1	70.1	69.0	68.6	70.0	68.0	67.7	68.8	100	31.2
SMM	92.6	98.5	97.4	93.6	96.6	92.6	95.0	95.2	100	5.56
SPD	73.5	73.6	71.7	74.4	72.1	72.3	71.8	72.8	100	27.2
SQX	51.1	55.1	58.9	56.7	56.5	53.1	54.4	55.1	100	44.9
TC	154	153	141	139	152	154	148	149	100	48.7
TMP	74.9	76.4	78.7	76.5	78.4	75.8	77.2	76.8	100	23.2
TYL	116	109	115	113	109	107	100	110	100	9.77

注：数据为去除本底值。具有本底值的化合物：EFX、ETM-H₂O、OFX、ODM、SMM低于测定下限；OTC为28.0 ng/L，LIN为8.93 ng/L。

表17添加浓度(200ng/L)—高浓度空白基体加标测定准确度数据

抗生素 简写	200.0 ng/L 加标量							平均值 ng/L	加标值 ng/L	相对误差 %
	1	2	3	4	5	6	7			
CAR	277	256	278	251	257	255	285	266	200	32.8
CTC	244	274	241	237	245	218	233	242	200	20.8
CFX	189	195	191	197	192	190	187	192	200	4.11
CTM	236	232	227	225	221	227	224	227	200	13.7
DIF	213	188	171	179	179	186	172	184	200	8.05
DC	297	272	306	274	240	281	280	279	200	39.3
EFX	329	311	259	326	296	273	234	290	200	44.3
ETM-H ₂ O	217	218	222	222	221	222	224	221	200	10.2
FL	239	242	209	237	221	219	192	223	200	11.4
LCM	171	142	165	133	141	149	149	150	200	25.0
LIN	227	214	240	219	237	232	277	235	200	13.1
LFX	291	270	255	264	251	266	272	267	200	33.5
MAR	154	163	140	153	154	151	138	151	200	24.7
NFX	133	139	134	148	140	132	128	136	200	31.9
OFX	237	240	204	236	214	209	207	221	200	9.78
ODM	183	188	190	194	195	199	201	193	200	4.07
OTC	306	332	330	325	344	314	320	324	200	48.2
RTM	335	324	324	318	316	340	327	326	200	63.2
SAR	170	157	162	149	158	174	175	164	200	18.1
SCP	152	165	160	163	158	161	156	159	200	20.4

抗生素 简写	200.0 ng/L 加标量							平均值 ng/L	加标值 ng/L	相对误差 %
	1	2	3	4	5	6	7			
SDZ	202	206	211	211	209	202	217	208	200	4.22
SDM	154	150	144	146	149	148	133	146	200	26.9
SMR	161	159	160	157	157	160	163	160	200	20.2
SM	136	222	155	173	198	144	154	169	200	15.5
SMZ	184	183	185	185	184	183	184	184	200	7.89
SMX	155	154	155	155	158	154	160	156	200	22.0
SMM	205	211	203	208	213	207	208	208	200	3.52
SPD	152	158	165	159	165	158	165	160	200	19.9
SQX	141	134	135	129	135	138	114	132	200	34.0
TC	275	256	281	274	254	258	275	268	200	33.8
TMP	173	175	175	171	176	175	177	174	200	12.8
TYL	334	326	322	310	302	296	291	311	200	55.6

注：数据为去除本底值。具有本底值的化合物：EFX、ETM-H₂O、OFX、ODM、SMM低于测定下限；OTC为28.0 ng/L，LIN为8.93 ng/L。

5.7 方法适用性

对两个浓度的河水、污水处理厂废水和养殖废水进行加标回收实验，其中地表水和污水处理厂废水 2 个加标浓度分别为 10.0 ng/L 和 100 ng/L；养殖场废水 2 个加标浓度分别为 50.0 ng/L 和 100 ng/L。每个加标浓度平行配制 7 份水样，其平均值、标准偏差和加标回收率结果见表 18~表 20。从表中看出，河流中 16 种抗生素检测到本底值，两个浓度的加标回收率为 41.5%~173%，其中 70.3%的化合物回收率为 70%~130%；污水处理厂出水中 8 种化合物具有本底值，两个浓度的加标回收率为 46.6%~196%，其中 64.1%的化合物回收率为 70%~130%；养殖场废水中 16 种化合物具有本底值，加标回收率在 57.6%~187%，其中 73.4%的化合物回收率为 70%~130%。因此，整体上来说绝大部分化合物的准确度良好，满足检测要求。

表 18 添加浓度(10.0 ng/L 和 100 ng/L)的河水样品加标测定准确度数据

抗生素 简写	本底 (n=3)		加标 10.0ng/L 扣除本底*			加标 100ng/L 扣除本底*		
	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%
CAR			16.4	1.08	164	115	11.6	115
CTC			12.9	1.03	129	125	19.0	125
CFX			7.93	0.97	79.3	108	0.76	108
CTM			11.1	0.42	111	129	16.0	129
DIF			6.82	0.97	68.2	41.5	2.73	41.5
DC			14.8	1.44	148	141	11.8	141

抗生素 简写	本底 (n=3)		加标 10.0ng/L 扣除本底*			加标 100ng/L 扣除本底*		
	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%
EFX	<测定下限		22.2	1.39	158	154	13.4	148
ETM-H ₂ O	6.65	0.29	16.4	0.46	97.1	96.4	2.87	89.8
FL	<测定下限		10.9	2.15	96.1	86.3	4.64	85.0
LCM			11.8	0.97	118	111	14.6	111
LIN	8.77	0.55	18.6	0.69	97.8	103	4.29	94.0
LFX			14.0	4.45	140	82.4	4.47	82.4
MAR			8.77	0.36	87.7	70.4	4.60	70.4
NFX	<测定下限		14.2	3.10	103	84.0	2.57	80.1
OFX			13.9	0.38	139	107	5.95	107
ODM			17.3	0.61	173	134	14.7	134
OTC	48.7	2.15	63.0	3.23	143	179	31.2	130
RTM	<测定下限		18.5	0.56	129	168	11.8	163
SAR			7.35	0.70	73.5	64.6	2.39	64.6
SCP	<测定下限		14.1	1.01	116	129	60.7	126
SDZ	6.69	0.18	15.5	0.13	88.5	106	2.21	98.9
SDM			10.2	0.13	102	77.0	4.77	77.0
SMR	<测定下限		12.1	0.29	106	101	2.21	99.7
SM			13.8	0.21	138	119	3.11	119
SMZ	3.37		12.8	0.16	94.8	187	4.24	85.6
SMX	<测定下限		12.5	0.17	104	101	1.90	98.8
SMM	11.4	0.26	18.6	0.35	71.8	135	4.26	124
SPD	4.38	0.01	11.6	0.24	71.9	78.6	1.75	74.2
SQX			8.39	0.25	83.9	56.1	6.06	56.1
TC	18.1	0.41	30.6	0.80	125	187	9.66	168
TMP	4.18	0.17	12.2	0.21	80.4	85.3	1.52	81.2
TYL			14.8	0.45	148	119	15.3	119

*注：为扣除本底值

表 19 添加浓度(10.0 ng/L 和 100 ng/L)的污水处理厂废水样品加标测定准确度数据

抗生素 简写	本底 (n=3)		加标 10.0ng/L 扣除本底*			加标 100ng/L 扣除本底*		
	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%
CAR			14.2	2.90	142	130	9.61	130
CTC	<测定下限		16.6	2.31	140	120	6.55	118
CFX			13.3	0.50	133	70.8	9.50	70.8
CTM			10.4	0.99	104	96.7	10.9	96.7
DIF			4.66	0.69	46.6	134	38.9	134
DC			17.8	2.46	178	108	5.21	108
EFX			17.5	1.63	175	129	10.4	129

抗生素 简写	本底 (n=3)		加标 10.0ng/L 扣除本底*			加标 100ng/L 扣除本底*		
	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%
ETM-H ₂ O	5.19	0.78	20.8	0.21	156	133	3.11	127
FL			9.40	0.38	94.0	114	10.8	114
LCM			14.0	3.79	140	124	20.8	124
LIN	<测定下限		12.1	0.45	104	122	7.72	121
LFX			9.59	0.51	95.9	159	41.6	159
MAR			8.27	0.40	82.7	98.1	6.73	98.1
NFX			10.1	0.47	101	67.7	4.93	67.7
OFX			11.5	0.46	115	83.1	7.53	83.1
ODM			16.4	1.34	164	121	6.72	121
OTC	113	1.79	130	21.8	172	282	60.5	169
RTM			14.5	1.84	145	162	16.2	162
SAR			7.19	1.33	71.9	127	24.4	127
SCP			16.2	0.92	162	100	7.48	100
SDZ			11.9	0.34	119	101	6.22	101
SDM			10.8	1.17	108	69.5	6.29	69.5
SMR			9.73	0.32	97.3	82.4	1.13	82.4
SM			13.3	1.59	133	128	5.40	128
SMZ			12.2	0.16	122	89.0	1.39	89.0
SMX	<测定下限		11.8	0.29	109	81.0	0.73	80.1
SMM	<测定下限		13.2	0.42	117	109	7.32	108
SPD			9.40	0.48	94.0	82.2	1.31	82.2
SQX			7.72	0.31	77.2	58.9	8.01	58.9
TC	<测定下限		23.0	2.65	196	125	9.88	122
TMP	<测定下限		12.4	0.30	117	85.1	0.79	84.4
TYL			17.2	1.31	172	112	16.7	112

*注：为扣除本底值

表 20 添加浓度(50.0 ng/L 和 100 ng/L)的养殖场废水样品加标测定准确度数据

抗生素 简写	本底 (n=3)		加标 50.0ng/L 扣除本底*			加标 100ng/L 扣除本底*		
	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%
CAR			62.1	3.55	124	116	3.15	116
CTC	<测定下限		100	13.0	186	160	29.9	153
CFX	<测定下限		51.9	0.93	99.4	96.4	1.64	94.3
CTM			41.9	10.2	83.8	106	13.9	106
DIF			39.0	2.94	78.0	78.2	12.9	78.2
DC			55.9	3.66	112	128	19.0	128
EFX	<测定下限		84.9	9.36	153	162	27.6	153
ETM-H ₂ O	<测定下限		42.3	2.25	83.7	91.1	2.95	90.6

抗生素 简写	本底 (n=3)		加标 50.0ng/L 扣除本底*			加标 100ng/L 扣除本底*		
	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%	平均值 ng/L	标准偏差 ng/L	回收率%
FL			48.1	2.23	96.2	92.4	6.81	92.4
LCM	<测定下限		56.8	27.5	108	123	31.2	120
LIN	9.74	6.80	177	10.0	172	227	8.86	136
LFX			54.2	3.57	108	110	11.1	110
MAR	<测定下限		37.9	1.85	73.7	72.3	5.86	71.3
NFX	5.66	0.65	41.7	1.00	72.1	63.2	2.98	57.6
OFX	<测定下限		60.5	1.93	106	110	9.48	103
ODM			52.0	8.35	104	134	11.9	134
OTC	855	85.7	949	197	187	1031	286	177
RTM			63.9	10.8	128	173	19.0	173
SAR			43.8	2.79	87.6	81.5	9.88	81.5
SCP	21.7	1.23	60.4	4.83	77.5	113	3.69	91.2
SDZ	17.7	2.26	54.5	1.51	75.0	115	2.70	97.7
SDM			36.9	0.94	73.7	88.0	2.60	88.0
SMR			34.5	0.74	69.0	87.5	2.18	87.5
SM			43.5	1.76	87.0	128	3.67	128
SMZ	<测定下限		41.0	1.17	79.1	103	0.95	101
SMX			37.3	0.77	74.6	89.1	1.97	89.1
SMM	437	13.4	514	7.31	153	518	10.1	80.6
SPD			29.7	0.91	59.3	82.9	2.06	82.9
SQX			29.9	2.58	59.7	78.0	6.97	78.0
TC	8.95	1.97	64.3	2.58	113	178	30.0	170
TMP	<测定下限		36.1	0.59	71.3	86.5	1.62	86.1
TYL			52.1	10.9	104	157	31.5	157

*注：为扣除本底值

5.8 结果计算和表示

5.8.1 定性分析

参照文献^[11]每种目标化合物选择 1 个母离子和 1~2 个子离子进行监测。在相同的实验条件下，标准样品中色谱峰的保留时间和待分析样品中响应峰的保留时间，应满足两者的相对保留时间（RRT）在 2.5% 的误差范围内。

各组分定性离子与标准溶液谱图中对应的定性离子相对丰度（*K*），偏差不超过表21规定的范围，则可判定为样品中存在对应的目标组分。

表 21 定性分析时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 K	$K > 50\%$	$20 < K \leq 50\%$	$10 < K \leq 20\%$	$K \leq 10\%$
允许的最大偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

5.8.2 定量分析

目标化合物经定性鉴别后,根据定量离子的峰面积,用内标法计算。按公式(1)计算样品中单个化合物的质量浓度:

$$\rho_i = \frac{\left(\frac{A_i \times \rho_{is}}{A_{is}} - a\right) \times V_i}{b \times V} \quad (1)$$

式中:

ρ_i ——样品中组分*i*的质量浓度, ng/L;

A ——样品中目标组分*i*的峰面积;

A_{is} ——样品中组分*i*对应内标物的峰面积;

ρ_{is} ——样品中组分*i*对应内标物的浓度, ng/L;

a ——标准曲线的截距;

b ——标准曲线的斜率;

V_i ——提取液定容后的体积, mL;

V ——水样体积, mL。

5.8.3 结果表示

当测定结果大于或等于 1 ng/L 时,保留三位有效数字;当结果小于 1 ng/L,保留至小数点后两位。

6. 方法验证

6.1 参与方法验证的实验室基本情况

本标准编制小组按照《环境监测分析方法标准制修订技术导则》(HJ/T168 - 2010)和《国家环境污染物监测方法标准制修订工作暂行要求》(环科函[2009]10 号)的要求,通过筛选,最终选定 5 家有资质的实验室对本标准进行验证。参与本次标准验证的液质联用仪见表 22。

表 22 本实验室与参与验证的实验室仪器基本情况

序号	单位名称	仪器品牌	液相系统型号	质谱系统型号
1	广州市环境监测中心站	安捷伦	Agilent 1200	Agilent QQQ 6420
2	安捷伦科技（中国）有限公司	安捷伦	Agilent 1290	Agilent QQQ 6495
3	佛山市中科院环境与安全检测认证中心有限公司	热电	Accela 1250	Vantage
4	环境保护部华南环境科学研究所	安捷伦+AB	Agilent 1200	AB Qtrap 5500
5	华南师范大学环境研究院	安捷伦	Agilent 1200	Agilent QQQ 6410

6.2 方法验证方案

6.2.1 方法验证内容

(1) 方法检出限、测定下限：加标量为 10.0 ng/L 的 1000mL 干净河水、水库水（提取后在进样小瓶中目标化合物质量浓度为 10.0 μg/L），剔除离群值后将 7 个测定结果计算其标准偏差 S ，此时方法检出限 $LOD = S \times 3.14$ 。测定下限 $LOQ = LOD \times 4$ ，即以 4 倍方法检出限确定为本方法目标物的测定下限。

(2) 方法精密度、准确度：取流溪河水库水，加标浓度分别为 0.010 μg/L、0.1 μg/L、0.2 μg/L，固相萃取后测定，对测定结果剔除离群值后将各平行测定 7 次的结果计算平均值、标准偏差、相对标准偏差等。

(3) 实际样品加标回收率：选取 1 个实际地表水、1 个污水厂废水和 1 个养殖废水样品，分别进行空白和加标的固相萃取，加标量为 10.0ng/L 和 100ng/L（养殖废水为 50ng/L 和 100ng/L），每个样品 7 个平行，平行样。分别计算每个样品的本底值、平均值、标准偏差、相对标准偏差、加标回收率等。

6.2.2 样品准备

由于本标准中包含 32 种目标抗生素物和 8 种内标，化合物种类较多，因此需要确定具有在广州地区具有较强检测能力的实验室，最终确定 5 实验室参与验证，分别为广州市环境监测中心站、安捷伦科技（中国）有限公司广州实验室、佛山市中科院环境与安全检测认证中心有限公司、环境保护部华南环境科学研究所、华南师范大学环境研究院。

按照方法标准文本要求，准备水样、标准物质和实验设备。方法验证过程中所用的试剂和材料、仪器和设备及分析步骤应符合方法相关要求。

参与验证实验室与方法编制单位同步采集了流溪河水库水样、河流水样、污水处理厂废水和养殖场废水，单个样品的水量为 1000 mL。按照标准要求，采用固相萃取法进行前处理，最后浓缩定容到 1 mL 0.20%甲酸（V/V）-2.0 mmol/L 乙酸铵水溶液:甲醇（7:3, V/V）溶液中。

6.3 方法验证过程

在方法验证前，确保参加验证的操作人员熟悉和掌握仪器原理、操作步骤，上机所用的试剂和溶剂应符合方法相关要求。各参与验证单位采用标准物质对仪器进行方法调试，确定方法后，将准备好的样品按步骤上机，并进行数据分析。

6.4 方法验证结果

6.4.1 精密度数据

6家实验室对32种抗生素类化合物浓度为10.0 ng/L、100ng/L和200 ng/L的水样加标样品分别进行了7次重复测定。10.0 ng/L、100ng/L和200 ng/L加标浓度下，实验室内相对标准偏差分别为1.42%~17.4%、0.74%~24.1%和0.78%~28.9%，实验室间相对标准偏差分别为4.04%~51.3%、5.75%~45.4%、5.18%~33.5%，重复性限范围分别为0.74 ng/L~3.09 ng/L、6.82 ng/L~51.1 ng/L、17.9 ng/L~97.3 ng/L，再现性限范围分别为1.49 ng/L~16.1 ng/L、11.2 ng/L~83.2 ng/L、27.9 ng/L~151 ng/L。每种化合物的具体数据详见表23。

表 23 方法精密度汇总表

序号	化合物	加标浓度 (ng/L)	总均值 (ng/L)	实验室内相对 标准偏差 (%)	实验室间相对 标准偏差 (%)	重复性限r (ng/L)	再现性限R (ng/L)
1	磺胺氯哒嗪	10.0	10.5	4.49-7.30	17.6	1.83	4.74
		100	126	3.07-9.05	28.9	23.2	78.3
		200	238	2.85-13.6	25.0	65.6	151
2	磺胺嘧啶	10.0	11.4	4.11-7.91	19.3	1.65	1.65
		100	106	1.98-6.73	10.9	15.2	15.2
		200	205	2.49-7.76	6.44	33.7	33.7
3	磺胺二甲氧哒嗪	10.0	9.69	5.03-6.52	18.6	1.59	4.91
		100	97.6	2.66-19.5	22.1	28.8	54.9
		200	214	2.40-13.5	22.0	48.3	100
4	磺胺甲基嘧啶	10.0	9.45	1.42-3.81	12.1	0.83	3.74
		100	98.6	0.94-5.28	11.4	9.87	37.0

序号	化合物	加标浓度 (ng/L)	总均值 (ng/L)	实验室内相对 标准偏差 (%)	实验室间相对 标准偏差 (%)	重复性限r (ng/L)	再现性限R (ng/L)
		200	198	1.23-7.79	11.2	25.5	85.6
5	磺胺对甲氧嘧啶	10.0	11.0	3.70-5.66	12.5	1.50	1.50
		100	122	0.75-4.82	9.76	11.6	11.6
		200	226	2.46-18.5	19.0	53.9	97.9
6	磺胺二甲嘧啶	10.0	9.30	1.88-4.25	4.04	0.74	1.49
		100	95.4	0.79-4.57	6.48	8.35	14.2
		200	193	0.47-7.71	6.18	22.1	27.9
7	磺胺甲噁唑	10.0	9.43	3.36-9.37	19.3	1.67	4.70
		100	93.9	1.41-6.15	18.0	12.0	51.8
		200	191	1.35-28.9	19.6	83.1	118
8	磺胺间甲氧嘧啶	10.0	10.8	2.41-7.11	15.3	1.56	4.28
		100	117	2.32-12.2	18.7	30.4	54.9
		200	251	1.65-13.8	21.1	72.7	113
9	磺胺吡啶	10.0	7.86	2.30-9.23	6.10	1.23	1.65
		100	79.2	1.46-4.73	5.75	7.52	16.8
		200	1660	3.08-7.36	8.61	23.5	45.2
10	磺胺喹喔啉	10.0	10.3	4.11-5.61	25.7	1.44	5.89
		100	107	4.63-15.9	29.6	37.9	74.4
		200	225	2.60-14.1	27.8	55.4	142
11	卡巴多	10.0	11.5	2.71-6.85	5.79	1.62	1.62
		100	97.1	4.76-8.92	10.5	20.3	27.2
		200	219	4.43-7.85	13.9	35.6	35.6
12	环丙沙星	10.0	9.55	4.74-8.77	9.52	1.86	2.12
		100	106	1.59-9.89	9.48	19.7	25.3
		200	210	1.70-9.78	10.1	32.7	48.6
13	二氟沙星	10.0	13.3	4.63-6.41	16.6	2.17	4.38
		100	136	8.02-17.8	17.9	47.7	63.4
		200	243	7.73-15.0	27.4	76.4	142
14	恩诺氟沙星	10.0	11.3	4.88-9.05	19.2	2.00	3.53
		100	140	5.81-12.6	22.6	42.9	42.9
		200	235	7.76-15.7	17.7	82.9	82.9

序号	化合物	加标浓度 (ng/L)	总均值 (ng/L)	实验室内相对 标准偏差 (%)	实验室间相对 标准偏差 (%)	重复性限r (ng/L)	再现性限R (ng/L)
15	氟罗沙星	10.0	8.38	5.06-11.4	19.8	1.72	2.08
		100	124	6.86-14.2	32.5	39.8	62.0
		200	232	6.05-14.7	11.4	64.7	64.7
16	罗美沙星	10.0	15.0	5.27-9.90	7.30	2.87	4.05
		100	167	5.08-9.04	9.68	32.1	40.8
		200	237	4.93-10.5	24.9	53.9	91.2
17	马波沙星	10.0	8.96	3.39-7.71	21.3	1.37	4.77
		100	102	7.29-13.5	45.4	33.0	83.2
		200	169	4.34-14.4	33.5	47.6	120
18	诺氟沙星	10.0	7.36	5.47-9.80	21.9	1.73	3.15
		100	77.7	4.47-13.3	13.6	21.3	35.5
		200	161	4.20-11.7	11.6	34.1	66.8
19	氧氟沙星	10.0	10.5	5.51-8.49	24.6	1.94	4.44
		100	115	3.87-15.0	14.6	33.1	43.7
		200	273	4.95-16.6	18.8	97.3	138
20	沙拉沙星	10.0	11.9	4.93-9.05	27.6	2.20	4.85
		100	104	12.9-24.1	21.9	51.1	69.9
		200	166	5.98-15.0	15.9	52.5	77.3
21	克拉霉素	10.0	9.74	2.75-7.54	27.4	1.28	3.45
		100	97.6	1.75-10.3	14.7	15.3	34.0
		200	206	1.58-8.72	9.54	28.3	28.3
22	脱水红霉素	10.0	12.4	1.97-6.59	12.3	1.48	2.65
		100	112	0.84-6.22	12.1	11.2	11.2
		200	240	0.81-10.5	18.4	40.7	54.2
23	北里霉素	10.0	10.3	3.69-8.61	18.9	1.90	4.50
		100	125	2.48-14.9	27.1	36.3	58.3
		200	241	2.15-9.05	26.2	42.5	146
24	竹桃霉素	10.0	13.6	2.10-4.33	15.5	1.40	4.81
		100	134	0.74-6.34	28.5	19.0	51.0
		200	242	1.27-8.34	27.3	40.1	115
25	罗红霉素	10.0	12.4	3.82-7.91	30.5	1.73	4.81

序号	化合物	加标浓度 (ng/L)	总均值 (ng/L)	实验室内相对 标准偏差 (%)	实验室间相对 标准偏差 (%)	重复性限r (ng/L)	再现性限R (ng/L)
		100	127	1.19-6.24	16.1	15.2	46.5
		200	280	2.04-9.84	18.8	36.5	94.3
26	泰勒斯	10.0	9.65	3.93-9.94	31.0	1.63	1.63
		100	126	4.50-5.88	31.5	18.9	78.6
		200	247	1.98-8.19	23.9	33.6	33.6
27	氯四环素	10.0	10.2	7.29-12.9	30.8	2.56	3.56
		100	90.5	11.2-19.3	35.2	35.2	52.6
		200	185	6.46-16.7	28.7	55.4	78.6
28	强力霉素	10.0	9.98	5.05-7.64	30.5	1.78	2.72
		100	109	6.81-10.7	23.7	29.0	37.3
		200	218	6.56-10.5	30.9	47.6	87.7
29	氧四环素	10.0	31.1	1.83-7.85	51.3	3.09	16.0
		100	137	7.16-17.1	21.1	47.2	56.2
		200	279	3.31-18.2	13.0	80.5	80.5
30	四环素	10.0	10.8	3.20-17.4	27.6	2.70	3.61
		100	110	4.14-18.1	30.9	43.0	45.7
		200	238	4.09-12.7	32.1	72.1	127
32	林可霉素	10.0	15.3	3.03-7.94	36.5	1.96	5.87
		100	99.0	3.89-12.9	15.2	26.5	29.2
		200	199	4.46-11.1	17.1	47.2	47.2
32	甲氧苄啶	10.0	9.44	2.21-5.10	8.76	1.08	2.87
		100	88.4	0.75-4.41	11.5	6.82	31.1
		200	177	0.87-6.95	13.1	17.9	54.6

6.4.2 准确度数据

6家实验室对32种抗生素类化合物的统一样品进行了低浓度和高浓度加标分析测定，地表水和污水处理厂废水加标浓度分别为10.0 ng/L和100 ng/L，养殖废水加标浓度分别为50.0 ng/L和100 ng/L。地表水低浓度和高浓度加标回收率分别为76.6%~164%、55.1%~165%；城市污水处理厂废水低浓度和高浓度加标回收率分别为68.3%~174%、74.6%~159%；养殖场废水低浓度和高浓度加标回收率分别为62.1%~163%、62.0%~169%。每种化合物的具体数据详见表24。

表 24 方法准确度汇总表

序号	化合物	样品类型	样品浓度 (ng/L)	加标浓度 (ng/L)	加标回收率 范围 (%)	加标回收率 \bar{P} (%)	加标回收率最终值 $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
1	磺胺氯哒嗪	地表水	ND	10.0	116-140	129	129±24.2
				100	114-126	120	120±12.3
		STP 废水	ND	10.0	118-165	148	148±52.1
				100	100-114	109	109±15.7
		养殖废水	28.7	50.0	77.5-129	96.8	96.8±55.9
				100	91.2-127	110	110±36.4
2	磺胺嘧啶	地表水	ND	10.0	88.5-94.3	91.3	91.3±5.77
				100	81.5-100	93.5	93.5±20.8
		STP 废水	ND	10.0	118-149	129	129±35.2
				100	93.0-105	99.7	99.7±12.3
		养殖废水	16.4	50.0	63.1-76.5	71.5	71.5±14.6
				100	80.5-104	94.0	94.±24.2
3	磺胺二甲氧哒嗪	地表水	ND	10.0	102-144	117	117±47.6
				100	77.0-168	119	119±92.1
		STP 废水	ND	10.0	105-118	110	110±13.0
				100	69.5-112	85.1	85.1±46.7
		养殖废水	ND	50.0	73.7-138	112	112±68.1
				100	88.0-143	124	124±62.1
4	磺胺甲基嘧啶	地表水	1.83	10.0	105-155	122	122±57.2
				100	99.7-125	112	112±25.2
		STP 废水	ND	10.0	97.3-150	123	123±52.6
				100	82.4-106	96.9	96.9±25.5
		养殖废水	ND	50.0	69.0-95.9	84.4	84.4±27.8
				100	87.5-117	106	106±32.0
5	磺胺对甲氧嘧啶	地表水	ND	10.0	138-143	140	140±6.24
				100	88.8-119	103	103±30.3
		STP 废水	ND	10.0	84.5-133	109	109±48.5
				100	111-128	117	117±18.5
		养殖废水	ND	50.0	70.9-87.0	78.2	78.2±16.3

序号	化合物	样品类型	样品浓度 (ng/L)	加标浓度 (ng/L)	加标回收率 范围 (%)	加标回收率 \bar{P} (%)	加标回收率最终值 $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
				100	102-128	114	114±26.8
6	磺胺二甲嘧啶	地表水	ND	10.0	94.8-126	107	107±32.8
				100	85.6-183	135	135±97.8
		STP 废水	ND	10.0	120-135	126	126±15.7
				100	89.0-96.0	91.6	91.6±7.64
		养殖废水	ND	50.0	79.1-87.9	82.5	82.5±9.49
				100	100-110	104	104±10.6
7	磺胺甲噁唑	地表水	ND	10.0	97.1-109	103	103±11.9
				100	98.8-123	114	114±26.0
		STP 废水	ND	10.0	109-129	116	116±22.2
				100	80.1-116	97.4	97.4±35.5
		养殖废水	ND	50.0	74.6-90.5	83.1	83.1±16.0
				100	89.1-106	96.5	96.5±16.9
8	磺胺间甲氧嘧啶	地表水	12.6	10.0	71.8-126	95.7	95.7±55.3
				100	105-138	123	123±33.1
		STP 废水	ND	10.0	108-118	114	114±10.9
				100	91.5-136	112	112±45.5
		养殖废水	580	50.0	117-153	133	133±36.4
				100	80.6-115	99.6	99.6±34.9
9	磺胺吡啶	地表水	ND	10.0	71.9-117	96.6	96.6±45.7
				100	63.5-90.9	76.2	76.2±27.6
		STP 废水	ND	10.0	94.0-160	119	119±71.3
				100	82.2-89.2	85.0	85.0±7.43
		养殖废水	ND	50.0	57.4-69.6	62.1	62.1±13.1
				100	80.7-97.1	86.9	86.9±17.8
10	磺胺喹喔啉	地表水	ND	10.0	83.9-148	125	125±71.8
				100	56.1-128	90.1	90.1±72.3
		STP 废水	ND	10.0	72.9-110	86.8	86.8±40.7
				100	58.9-96.1	74.6	74.6±38.5
		养殖废水	ND	50.0	59.7-164	107	107±105
				100	78.0-125	108	108±51.7

序号	化合物	样品类型	样品浓度 (ng/L)	加标浓度 (ng/L)	加标回收率 范围 (%)	加标回收率 \bar{P} (%)	加标回收率最终值 $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
11	卡巴多	地表水	ND	10.0	106-164	137	137±58.3
				100	70.4-115	92.9	92.9±44.6
		STP 废水	ND	10.0	102-142	121	121±40.5
				100	98.9-130	116	116±31.3
		养殖废水	ND	50.0	99.2-124	112	112±24.9
				100	96.5-116	105	105±19.8
12	环丙沙星	地表水	ND	10.0	79.3-140	100	100±69.4
				100	99.8-127	112	112±28.3
		STP 废水	ND	10.0	122-135	130	130±13.4
				100	70.8-147	106	106±76.7
		养殖废水	ND	50.0	97.1-113	103	103±16.9
				100	92.0-117	101	101±27.0
13	二氟沙星	地表水	ND	10.0	68.2-82.3	76.6	76.6±14.8
				100	41.5-69.3	55.1	55.1±27.8
		STP 废水	ND	10.0	46.6-86.2	68.3	68.3±40.1
				100	71.6-134	108	108±65.2
		养殖废水	ND	50.0	78.0-134	109	109±57.0
				100	78.2-165	120	120±86.7
14	恩诺氟沙星	地表水	ND	10.0	125-158	140	140±33.5
				100	148-164	156	156±16.4
		STP 废水	ND	10.0	131-175	156	156±45.1
				100	90.6-160	126	126±69.3
		养殖废水	ND	50.0	146-165	155	155±19.6
				100	135-160	150	150±25.6
15	氟罗沙星	地表水	ND	10.0	72.1-96.1	86.9	86.9±26.0
				100	85.0-89.2	87.3	87.3±4.23
		STP 废水	ND	10.0	93.1-143	110	110±57.0
				100	79.4-161	118	118±81.6
		养殖废水	ND	50.0	87.4-108	97.3	97.3±21.1
				100	89.5-98.0	93.3	93.3±8.58
16	罗美沙星	地表水	ND	10.0	124-140	135	135±17.8

序号	化合物	样品类型	样品浓度 (ng/L)	加标浓度 (ng/L)	加标回收率 范围 (%)	加标回收率 \bar{P} (%)	加标回收率最终值 $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)		
		STP 废水	ND	100	82.4-98.7	89.2	89.2±16.9		
				10.0	95.9-119	106	106±24.4		
		养殖废水	ND	100	96.5-163	140	140±74.9		
				50.0	108-151	127	127±44.6		
						100	110-173	134	134±68.3
17	马波沙星	地表水	ND	10.0	77.9-89.7	85.1	85.1±12.6		
				100	70.4-104	89.4	89.4±34.6		
		STP 废水	ND	10.0	79.1-133	98.1	98.1±59.7		
				100	98.1-163	128	128±65.4		
		养殖废水	ND	50.0	73.7-111	96.5	96.5±40.1		
				100	71.3-114	95.9	95.9±44.1		
18	诺氟沙星	地表水	6.16	10.0	90.0-110	101	101±19.9		
				100	80.1-83.8	81.6	81.6±3.86		
		STP 废水	ND	10.0	101-150	123	123±49.5		
				100	67.7-142	105	105±74.7		
		养殖废水	7.52	50.0	64.3-81.6	72.7	72.7±17.4		
				100	57.6-67.3	62.1	62.1±9.84		
19	氧氟沙星	地表水	ND	10.0	115-139	124	124±25.9		
				100	107-140	119	119±36.4		
		STP 废水	ND	10.0	115-135	125	125±20.3		
				100	83.1-119	106	106±40.5		
		养殖废水	8.24	50.0	106-129	117	117±23.6		
				100	103-132	114	114±31.0		
20	沙拉沙星	地表水	ND	10.0	70.4-134	92.6	92.6±71.7		
				100	59.8-66.5	63.6	63.6±6.91		
		STP 废水	ND	10.0	71.9-86.7	79.1	79.1±14.8		
				100	127-139	135	135±13.3		
		养殖废水	ND	50.0	87.6-111	98.7	98.7±24.0		
				100	81.5-99.0	90.7	90.7±17.6		
21	克拉霉素	地表水	ND	10.0	111-142	128	128±31.8		
				100	129-150	137	137±23.1		

序号	化合物	样品类型	样品浓度 (ng/L)	加标浓度 (ng/L)	加标回收率 范围 (%)	加标回收率 \bar{P} (%)	加标回收率最终值 $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
		STP 废水	ND	10.0	85.6-108	99.1	99.1±23.6
				100	96.7-122	105	105±28.5
		养殖废水	ND	50.0	83.8-86.3	85.4	85.4±2.84
				100	103-118	109	109±15.7
22	脱水红霉素	地表水	6.32	10.0	97.1-115	107	107±18.7
				100	89.8-118	108	108±31.2
		STP 废水	6.18	10.0	141-156	146	146±16.8
				100	100-127	116	116±27.6
		养殖废水	ND	50.0	66.8-83.7	75.0	75.0±16.9
				100	72.2-90.6	81.9	81.9±18.4
23	北里霉素	地表水	ND	10.0	118-168	140	140±50.5
				100	76.1-113	99.9	99.9±41.1
		STP 废水	ND	10.0	99.0-141	127	127±47.8
				100	89.5-124	110	110±36.3
		养殖废水	ND	50.0	78.0-108	94.7	94.7±30.5
				100	105-138	121	121±32.8
24	竹桃霉素	地表水	ND	10.0	159-173	164	164±16.1
				100	97.2-134	115	115±36.8
		STP 废水	ND	10.0	164-182	174	174±18.4
				100	96.3-122	113	113±28.9
		养殖废水	ND	50.0	93.8-108	102	102±14.3
				100	111-135	127	127±26.5
25	罗红霉素	地表水	ND	10.0	129-175	155	155±47.4
				100	162-170	165	165±9.08
		STP 废水	ND	10.0	141-145	143	143±3.86
				100	136-162	150	150±26.1
		养殖废水	ND	50.0	124-161	138	138±41.2
				100	135-173	153	153±37.7
26	泰勒素	地表水	ND	10.0	148-165	159	159±18.7
				100	119-155	143	143±40.8
		STP 废水	ND	10.0	146-172	159	159±26.0

序号	化合物	样品类型	样品浓度 (ng/L)	加标浓度 (ng/L)	加标回收率 范围 (%)	加标回收率 \bar{P} (%)	加标回收率最终值 $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
		养殖废水	ND	100	112-141	126	126±29.5
				50.0	104-133	120	120±29.8
				100	157-187	169	169±31.6
27	氯四环素	地表水	ND	10.0	123-165	139	139±45.1
				100	97.8-136	120	120±39.7
		STP 废水	ND	10.0	101-149	130	130±50.6
				100	118-142	133	133±26.5
		养殖废水	ND	50.0	117-186	146	146±71.8
				100	98.0-153	125	125±55.0
28	强力霉素	地表水	ND	10.0	130-152	143	143±23.2
				100	140-154	145	145±16.1
		STP 废水	ND	10.0	114-178	151	151±66.6
				100	106-118	111	111±12.5
		养殖废水	ND	50.0	112-153	129	129±42.6
				100	128-156	146	146±31.1
29	氧四环素	地表水	45.9	10.0	128-155	142	142±26.8
				100	130-176	146	146±52.4
		STP 废水	117	10.0	147-172	156	156±27.1
				100	149-169	159	159±20.2
		养殖废水	830	50.0	139-187	163	163±48.2
				100	105-177	142	142±72.5
30	四环素	地表水	13.4	10.0	122-165	137	137±48.2
				100	141-175	161	161±35.6
		STP 废水	ND	10.0	119-196	163	163±79.6
				100	77.7-146	115	115±69.7
		养殖废水	8.49	50.0	113-122	116	116±10.0
				100	106-170	130	130±69.5
31	林可霉素	地表水	8.05	10.0	87.3-103	96.0	96.0±16.0
				100	94.0-131	109	109±38.6
		STP 废水	ND	10.0	103-105	104	104±2.34
				100	86.7-121	102	102±34.9

序号	化合物	样品类型	样品浓度 (ng/L)	加标浓度 (ng/L)	加标回收率 范围 (%)	加标回收率 \bar{P} (%)	加标回收率最终值 $\bar{P} \pm 2S_{\bar{P}}$ (%)
		养殖废水	35.4	50.0	119-172	151	151±56.6
				100	104-185	142	142±81.0
32	甲氧苄啶	地表水	5.75	10.0	67.4-104	83.9	83.9±37.0
				100	81.2-97.8	90.8	90.8±17.2
		STP 废水	ND	10.0	107-119	114	114±12.9
				100	84.4-106	96.1	96.1±22.0
		养殖废水	ND	50.0	71.3-89.8	82.2	82.2±19.3
				100	86.1-114	103	103±30.5

注：STP表示城市污水处理厂；ND表示未检出。

参考文献

- [1] Zhang QQ, Ying GG, Pan CG, Liu YS, Zhao JL. Comprehensive Evaluation of Antibiotics Emission and Fate in the River Basins of China: Source Analysis, Multimedia Modeling, and Linkage to Bacterial Resistance. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(11):6772-6782.
- [2] USEPA. Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS. U.S. Environmental Protection Agency, 2007.
- [3] Xu WH, Zhang G, Zou SC, Li XD, Liu YC. Determination of selected antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China using high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Environmental Pollution*, 2007, 145(3):672-679.
- [4] Chang H, Hu JY, Asami M, Kunikane S. Simultaneous analysis of 16 sulfonamide and trimethoprim antibiotics in environmental waters by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1190(1-2):390-393.
- [5] Shelver WL, Hakk H, Larsen GL, DeSutter TM, Casey FXM. Development of an ultra-high-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry multi-residue sulfonamide method and its application to water, manure slurry, and soils from swine rearing facilities. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(8):1273-1282.
- [6] Xiao Y, Chang H, Jia A, Hu J. Trace analysis of quinolone and fluoroquinolone antibiotics from wastewaters by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1214(1–2):100-108.
- [7] Tagiri-Endo M, Suzuki S, Nakamura T, Hatakeyama T, Kawamukai K. Rapid determination of five antibiotic residues in swine wastewater by online solid-phase extraction–high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 393(4):1367-1375.
- [8] Kim SC, Carlson K. Temporal and spatial trends in the occurrence of human and veterinary antibiotics in aqueous and river sediment matrices. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(1):50-57.
- [9] Nami Kartal S. Removal of copper, chromium, and arsenic from CCA-C treated wood by EDTA extraction. *Waste Management*, 2003, 23(6):537-546.
- [10] Petrović M, Hernando MD, Díaz-Cruz MS, Barceló D. Liquid

chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1067(1–2):1-14.

- [11] Zhou LJ, Ying GG, Liu S, Zhao JL, Chen F, Zhang RQ, Peng FQ, Zhang QQ. 2012. Simultaneous determination of human and veterinary antibiotics in various environmental matrices by rapid resolution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1244:123-138.