

DB65

新疆维吾尔自治区地方标准

DB 65/T 3951—2016

水质 多种药物残留量的测定 液相色谱串联质谱法

Water quality-determination of poly-drug residues by LC-MS/MS

2016 - 11 - 10 发布

2016 - 12 - 10 实施

新疆维吾尔自治区质量技术监督局 发布

前 言

本标准依据GB/T 1.1-2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的起草规则制定。

本标准由新疆维吾尔自治区分析测试中心提出。

本标准由新疆维吾尔自治区科技厅归口。

本标准起草单位：新疆维吾尔自治区分析测试中心、新疆维吾尔自治区标准化研究院。

本标准主要起草人：文娜、李芳、宋良辉、胡小明、姑丽巴哈尔、张磊、李统中、曹雪琴、毛琼玲、罗建民、邵家丽、杨飞、杨中、陈俊宇、徐熠、王爱霞。

水质 多种药物残留量的测定 液相色谱串联质谱法

1 范围

本标准规定了用液相色谱串联质谱法测定水质中二十八种药物残留量的方法原理、试剂材料、仪器、样品、测定步骤、计算结果、精密度和准确度等要求。

本标准适用于生活饮用水、地表水及其生活污水中一种激素药、一种抗过敏药、一种退热药、六种抗生素、十种磺胺、九种喹诺酮类药物残留量液相色谱-串联质谱的测定。

本方法的检出限：头孢噻吩、罗红霉素、克拉霉素、氢化可的松、盐酸苯海拉明、磺胺嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺二甲异噁唑、磺胺间甲氧噁唑、磺胺多辛为 $0.02\mu\text{g/L}$ ；氯霉素、羟氨苄青霉素、对乙酰氨基酚、青霉素G、磺胺噻唑、沙拉沙星、达氟沙星、恩诺沙星、环丙沙星、诺氟沙星、依诺沙星、氧氟沙星、双氟沙星、培氟沙星为 $0.04\mu\text{g/L}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6379.1 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第1部分：总则与定义

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 方法原理

采用固相萃取技术富集水中多种药物，用甲醇洗脱，洗脱液经液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.2 乙腈：色谱纯。

4.3 甲醇：色谱纯。

4.4 固相萃取柱：Waters HLB 固相萃取柱 600mg 或相当者。采用 5mL 甲醇、5mL 水依次活化 HLB 固相萃取柱，在活化过程中，不要让柱子流干。

4.5 流动相：乙腈+2mM 乙酸铵(用乙酸调 pH3.2)。

4.6 0.1mol/L 盐酸溶液。

4.7 头孢噻吩、氯霉素、羟氨苄青霉素、罗红霉素、克拉霉素、对乙酰氨基酚、青霉素 G 盐、氢化可的松、盐酸苯海拉明、磺胺嘧啶、磺胺甲氧嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺间二甲氧嘧啶、磺

胺甲噁唑、磺胺二甲异噁唑、磺胺间甲氧噁唑、磺胺多辛、磺胺噻唑、沙拉沙星、达氟沙星、恩诺沙星、环丙沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、双氟沙星、培氟沙星标准物质：纯度 $\geq 99\%$ 。

4.8 二十八种药物标准储备溶液：40mg/L。准确称取适量的每种药物标准物质，用甲醇配成40mg/L的标准储备溶液，该溶液在4℃保存，有效期2个月。

4.9 标准混合工作溶液：1 mg/L。取4.8溶液用甲醇稀释成混合标准工作溶液。该溶液在4℃保存，有效期1周。

4.10 滤膜：0.22 μm 有机滤膜。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

5.2 玻璃器皿：容量瓶、移液管均为A级。

5.3 分析天平：感量0.1mg。

5.4 样品瓶：2mL，带聚四氟乙烯旋盖。

5.5 采样瓶：1L或2L具磨口塞的棕色玻璃细口瓶。

5.6 自动固相萃取仪或固相萃取装置

5.7 离心机：转速应达到4000r/min。

6 样品

6.1 样品的采集

样品必须采集在预先洗净烘干的采样瓶（5.4）中，采样前不能用水样预洗采样瓶，以防止样品的沾污或吸附。采样瓶药要完全注满，不留气泡。

6.2 样品的保存

样品采集后应避光于4℃以下冷藏，在7d内萃取，萃取后的样品应避光于4℃以下冷藏，在40d内分析完毕。

7 分析步骤

7.1 样品制备

7.1.1 样品的富集：取采集水样100 mL于离心管中，用0.1mol/L盐酸溶液pH调节至6.0，以6500 r/min离心后去除沉淀，转移上清水样全部上样，以5ml/min的流速流过已活化好的固相萃取柱（4.4）。

7.1.2 干燥和洗脱：用5mL水淋洗萃取柱，抽干萃取柱，5 mL甲醇洗脱，高纯氮气吹干。

7.1.3 用1mL乙腈+2mM乙酸铵（用乙酸调pH3.2）混合液（1:1，V/V）定容，过0.22 μm 滤膜后，液相色谱-串联质谱分析。

7.2 标准曲线的制备

吸取二十八种药物标准混合工作溶液（4.9），配制成质量浓度分别为0.8，2.0，8.0，16.0，40.0，160.0及400 ng/mL的标准系列。

7.3 色谱测定

7.3.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: Waters BEH C18 色谱柱(100 mm×2.1mm, 1.7μm), 或相当者;
 b) 流动相: 乙腈(A)+2mM 乙酸铵(用乙酸调 pH3.2)(B): 梯度洗脱程序见表 1:

表1 梯度洗脱程序

时间 (min)	A (%)	B (%)
0	5	95
6	95	5
9	95	5
11	5	95
13	5	95

- c) 流速: 0.3 mL/min;
 d) 柱温: 30℃;
 e) 进样量: 3μL。

7.3.2 质谱条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源;
 b) 扫描方式: 除氯霉素为负离子扫描外, 其他为正离子扫描;
 c) 检测方式: 多反应监测;
 d) 毛细管电压: 3.0KV;
 e) 锥孔电压: 30.0V;
 f) 离子源温度: 150℃;
 g) 脱溶剂气温度: 500℃;
 h) 脱溶剂气: 1000L/hr;
 i) 锥孔气流速: 50L/hr;
 j) 定性离子对、定量离子对、锥孔电压、毛细管电压, 见表 2。

表2 28 药物的定性离子对、定量离子对、锥孔电压、碰撞电压及参考保留时间

名称	英文名称	参考保留 时间/min	定性离子对/(m/z) (母离子/子离子)	定量离子对/(m/z) (母离子/子离子)	锥孔电压 /CV	碰撞电压 /CE
头孢噻呋	ceftiofur	5.73	524.4/241.2	524.4/241.2	34	25
			524.4/210.2		34	25
氯霉素	Chloramphenicol	4.60	321.1/152.0	321.0/257.1	28	14
			321.1/257.1		28	10
羟氨苄青霉素	Amoxicilin	5.64	419.5/83.0	419.5/158.1	16	14
			419.5 /158.1		16	16
罗红霉素	Roxithromycin	5.61	837.5/158.1	837.5/158.1	30	34
			837.5/679.5		30	22
克拉霉素	Claricid	5.58	748.5/158.1	748.5/158.1	28	30
			748.5/590.4		28	20
阿奇霉素	Azithromycin	5.56	748.5/116.1	748.5/116.1	30	40
			748.5/158.1		30	28

对乙酰氨基酚	Paracetamol	5.05	152.0/101.9 152.0/125.9	152.0/125.9	68 68	30 28
青霉素 G 盐	penicilin	4.66	335.1/70.0 335.1/217.0	335.1/217.0	40 40	26 14
氢化可的松	Hydrocortisone	4.78	363.2/121.1 363.2/327.2	363.2/121.1	28 28	20 16
盐酸苯海拉明	Diphenhydramine Hydrochloride	5.02	256.2/167.1 256.2/152.0	256.2/152.0	14 14	14 34
磺胺喹噁啉	sulfachinoxalln	4.84	301.1/156.0 301.1/108.0	301.1/156.0	32 32	16 28
磺胺嘧啶	sulfadiazine	2.96	251.1/156.0 251.1/92.0	251.1/92.0	22 22	14 28
磺胺甲基嘧啶	sulfamerazine	3.41	265.1/156.0 265.1/92.0	265.1/92.0	26 26	16 28
磺胺二甲嘧啶	sulfamethazine	3.70	279.1/186.1 279.1/124.1	279.1/186.1	28 28	18 24
磺胺对甲氧嘧啶	sulfameter	3.76	281.1/156.0 281.1/92.0	311.1/92.0	30 30	18 28
磺胺甲噁唑	sulfamethoxazole	4.36	254.1/92.0 254.1/156.0	254.1/92.0	26 26	22 16
磺胺二甲异噁唑	sulfisoxazole	4.49	268.1/156.0 268.1/92.0	268.1/92.0	24 24	14 24
磺胺间甲氧嘧啶	sulfamonomethoxi ne	3.76	281.1/92.0 281.1/156.0	281.1/92.0	32 32	26 16
磺胺多辛	sulfadoxine	4.26	311.1/156.0 311.1/92.0	311.1/92.0	30 30	18 28
磺胺噻唑	sulfathiazole	3.19	256.0/156.0 256.0/108.0	256.0/156.0	24 24	14 22
沙拉沙星	Sarafloxacin	3.89	386.2/299.1 386.2/322.1	386.2/299.1	36 36	26 26
达氟沙星	Danofloxacin	3.49	358.2/82.0 358.2/283.2	358.2/283.2	36 36	34 22
恩诺沙星	Enrofloxacin	3.62	360.2/245.2 360.2/203.4	360.2/245.2	32 32	26 34
培氟沙星	pelioxacin	3.38	334.2/233.1 334.2/205.0	334.2/233.1	30 30	24 34
双氟沙星	Difloxacin hydrochloride	3.49	400.2/299.1 400.2/256.1	400.2/299.1	34 34	28 46
氧氟沙星	ofloxacin	3.36	362.2/261.1 362.2/205.1	362.2/261.1	32 32	26 38
诺氟沙星	Norfloxacin	3.32	320.1/288.1 320.1/231.0	320.1/231.0	74 74	20 38

环丙沙星	Ciprofloxacin	3.42	332.1/245.1 332.1/203.2	332.1/245.1	32 32	26 36
------	---------------	------	----------------------------	-------------	----------	----------

7.3.3 液相色谱-串联质谱测定

7.3.3.1 定性测定

每种被测组分选择1个母离子，2个子离子，在仪器稳定工作条件下，以保留时间和离子比率相结合进行定性。样品图谱中各组分定性离子的相对离子丰度与浓度接近的对照品工作液中对应的定性离子的相对离子丰度进行比较，若偏差不超过规定的范围，则可判定为样品中存在对应的待测物。相对离子丰度偏差范围见表3。

表3 定性确证时相对离子丰度的偏差范围

相对丰度%	允许偏差%
>50	±20
20~50	±25
10~20	±30
≤10	±50

7.3.3.2 定量测定

用混合标准曲线系列分别进样，以标准系列浓度（ng/mL）为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对样品进行定量，样品溶液中二十八种药物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱条件和质谱条件下，二十八种药物的参考保留时间见表2。二十八种药物的定量离子通道见附录A。

7.4 平行试验

按与样品测定相同步骤，对同一试样进行平行试验测定。

7.5 空白试验

在分析样品的同时，应做空白实验，即用离子水（4.1）代替水样，按与样品测定相同步骤分析，检查分析过程中是否有污染。

7.6 回收率实验

在阴性样品中添加适量标准溶液，按7.1和7.3操作，测定后计算样品添加的回收率。

8 结果计算

结果按式(1)计算：

$$X = C \times V / V_0 \times 1000 / 1000 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- X——试样中被测组分残留量，单位为微克每升（μg/L）；
- C——从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；
- V——试样溶液定容体积，单位为毫升（mL）；

V_0 ——试样溶液所取体积，单位为毫升（mL）；

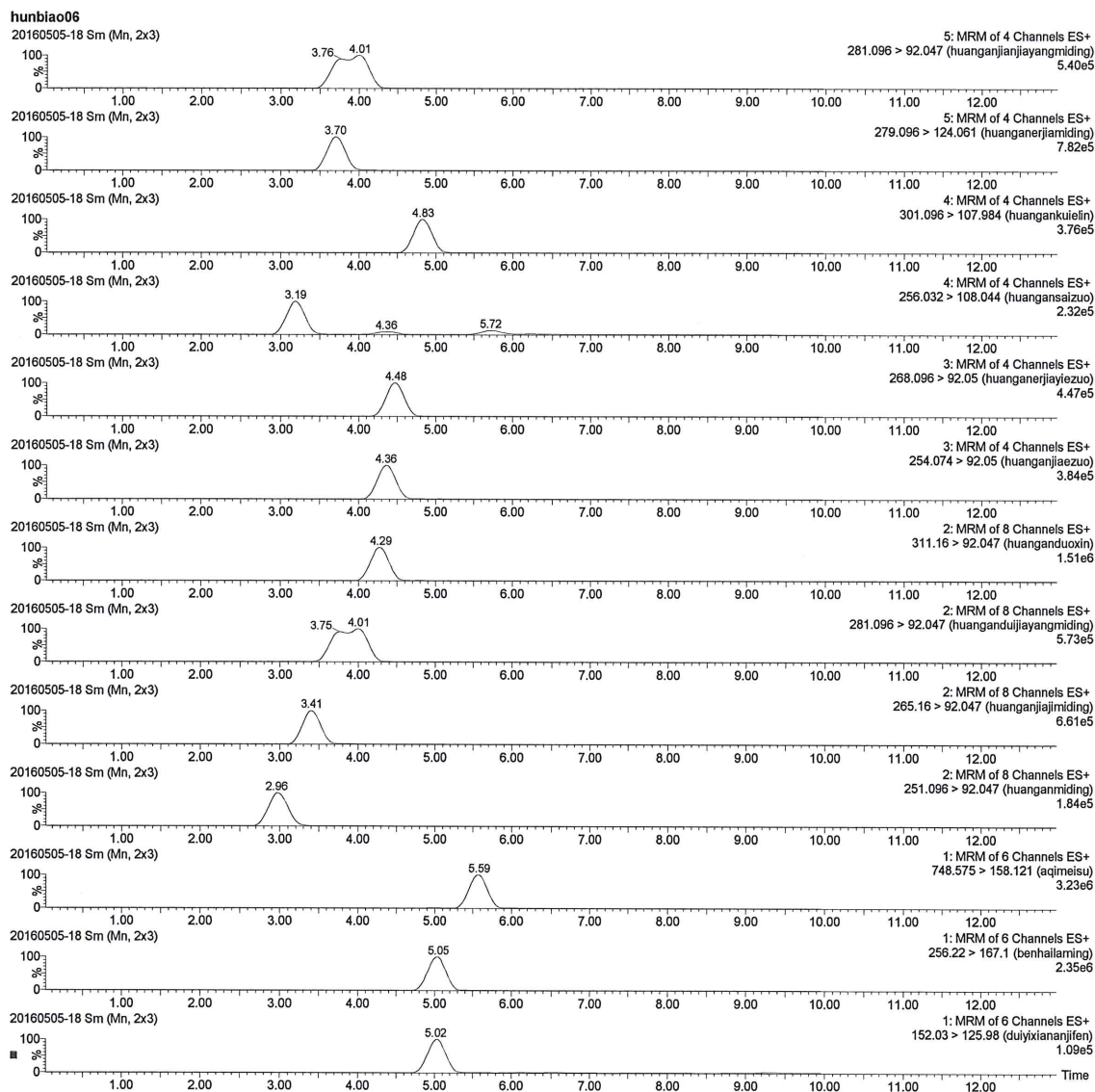
注：计算结果应扣除空白值，结果保留三位有效数字。

9 精密度和准确度

精密度数据是按照GB/T 6379.1和GB/T 6379.2的规定确定的，在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

在测定过程中，建议每测定20个~30个样品用同一份标准溶液或标准物质检查仪器的稳定性。为了保证分析结果的准确，要求每批样品至少做一个加标回收实验，当样品加标为10倍检出限时，回收率在80%~120%之间。

附 录 A
(规范性附录)
二十八种药物的定量离子通道图



hunbiao04

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

15: MRM of 2 Channels ES-
321.096 > 152.011 (lvmeisu) 4.90e3

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

14: MRM of 2 Channels ES+
837.54 > 158.12 (luohongmeisu) 8.03e4

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

13: MRM of 2 Channels ES+
748.54 > 158.11 (kelameisu) 1.74e5

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

10: MRM of 4 Channels ES+
400.223 > 299.1 (shuangfushaxing) 7.43e3

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

10: MRM of 4 Channels ES+
362.223 > 261.149 (yangfushaxing) 1.04e4

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

9: MRM of 5 Channels ES+
360.287 > 245.181 (ennuoshaxing) 1.32e4

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

9: MRM of 5 Channels ES+
358.223 > 283.211 (dafushaxing) 2.80e3

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

8: MRM of 10 Channels ES+
524.4 > 241.2 (toubaoaifu) 3.27e5

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

8: MRM of 10 Channels ES+
419.479 > 158.121 (qingnianbianqingmeisu) 1.60e4

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

8: MRM of 10 Channels ES+
363.287 > 121.119 (qinghuakedisong) 9.64e3

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

8: MRM of 10 Channels ES+
335.16 > 217.097 (qingmeisuG) 5.34e3

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

7: MRM of 4 Channels ES+
386.16 > 299.148 (shalashaxing) 9.00e3

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

7: MRM of 4 Channels ES+
332.16 > 245.136 (huanblingshaxing) 1.46e3

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

6: MRM of 5 Channels ES+
334.16 > 233.099 (peifushaxing) 4.00e3

20160505-16 Sm (Mn, 2x3)

6: MRM of 5 Channels ES+
320.16 > 231.043 (nuofushaxing) 1.78e3

Time