

固相萃取-高效液相色谱-串联质谱联用法测定饮用水中 17 种氟喹诺酮类抗生素

李胜生*, 高绪安, 林庆文

(安徽省地质实验研究所, 安徽 合肥 230001)

摘要: 建立了固相萃取-高效液相色谱-串联质谱联用法 (SPE-HPLC-MS/MS) 同时测定饮用水中 17 种氟喹诺酮类抗生素的分析方法。水样经 0.45 μm 滤膜过滤后, 采用 HLB 固相萃取柱富集, $V(\text{甲酸}):V(\text{甲醇})=1:1000$ 溶液洗脱, 氮吹浓缩后进行 HPLC-MS/MS 分析。色谱分离采用 BEH C18 柱 (100 mm \times 2.1 mm, 2.7 μm), 以 0.1% 甲酸水溶液-甲醇为流动相进行梯度洗脱, 质谱采用电喷雾正离子源 (ESI+) 和多反应监测 (MRM) 模式。通过系统优化色谱条件和质谱参数, 获得了最佳的分离效果和检测灵敏度。结果表明, 17 种目标化合物在 0.5~200 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好 ($r^2>0.995$), 检出限为 0.08~0.35 ng/L, 定量限为 0.25~1.15 ng/L。在低、中、高 3 个加标水平下, 方法回收率为 82.3%~108.5%, 日内和日间相对标准偏差 (RSD) 分别小于 6.2% 和 8.7%。方法成功应用于 50 份实际饮用水样品的检测, 检出率为 18%, 为饮用水中氟喹诺酮类抗生素的监测和风险评估提供了可靠的技术支撑。

关键词: 氟喹诺酮类抗生素; 固相萃取; 高效液相色谱-串联质谱; 饮用水; 痕量检测

中图分类号: O657 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283 (2026) --

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2025.0242

Determination of 17 Fluoroquinolone Antibiotics in Drinking Water by Solid Phase Extraction-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry LI Sheng-sheng*, GAO Xu-an, LIN Qing-wen (Anhui Institute of Geological Experiment, Hefei 230001, China)

Abstract: A solid-phase extraction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-HPLC-MS/MS) method was developed for simultaneous determination of 17 fluoroquinolone antibiotics in drinking water. Water samples were filtered through 0.45 μm membrane, enriched using an HLB solid phase extraction cartridge, eluted with $V(\text{formic acid}):V(\text{methanol})=1:1000$ solution, concentrated by nitrogen, and analyzed by HPLC-MS/MS. Chromatographic separation was performed on a BEH C18 column (100 mm \times 2.1 mm, 2.7 μm) with gradient elution with 0.1% formic acid aqueous solution and methanol as mobile phases. Mass spectrometry detection employed electrospray positive ionization (ESI+) and multiple reaction monitoring (MRM) mode. Systematic optimization of chromatographic conditions (mobile phase composition, column temperature, flow rate) and mass spectrometry parameters (desolvation temperature, capillary voltage, cone voltage) achieved optimal separation and detection sensitivity. The results showed that all 17 target compounds exhibited good linearity in the range of 0.5-200 $\mu\text{g/L}$ ($r^2>0.995$), with detection limits of 0.08-0.35 ng/L and quantification limits of 0.25-1.15 ng/L. Method recoveries at low, medium and high spiking levels ranged from 82.3% to 108.5%, with intra-day and inter-day relative standard deviations (RSDs) below 6.2% and 8.7%, respectively. The method was applied to 50 actual drinking water samples with a detection rate of 18%, primarily detecting norfloxacin, ciprofloxacin and enrofloxacin. This method provides reliable technical support for monitoring and risk assessment of fluoroquinolone antibiotics in drinking water.

Keywords: fluoroquinolone antibiotics; solid phase extraction; HPLC-MS/MS; drinking water; trace detection

氟喹诺酮类抗生素 (Fluoroquinolones, FQs) 是一类具有 4-氧代喹啉-6-氟-3-羧基结构的合成抗菌药物, 自 20 世纪 80 年代开发以来, 因其抗菌谱广、杀菌能力强、体内分布广泛、半衰期长、价格低廉等优点, 被广泛应用于人类医疗、畜禽养殖和水产养殖业中^[1-3]。此类药物在治疗呼吸道、消化道、泌尿生殖系统等多种感染性疾病方面具有良好的效果, 经过 40 余年的发展, 目前已成为目前全球使用量最大的抗生素类药物之一^[4,5]。然而, 由于 FQs 的大量使用和不合理排放, 这些化合物通过各种途径进入水环境, 在地表水、地下水、污水处理厂出水甚至饮用水中频繁检出。研究表明, FQs 在环境中的长期存在不仅会诱导产生耐药性菌株, 破

坏水生态系统平衡。还可能通过食物链在生物体内富集, 对人类健康和生态环境造成潜在威胁^[6,7]。

目前, 氟喹诺酮类抗生素的检测方法包括高效液相色谱法 (HPLC)、液相色谱-质谱法 (LC-MS) 及液相色谱-串联质谱法 (LC-MS/MS) 等^[8-10]。其中, 高效液相色谱-串联质谱法 (HPLC-MS/MS) 因其具有更强的分离能力、更高的样品通量和灵敏度而成为环境水样中痕量抗生素检测的首选方法^[11]。固相萃取 (SPE) 作为一种高效的样品前处理技术, 可以有效富集水样中的目标化合物, 去除基质干扰, 提高检测灵敏度, 具有富集效率高、有机溶剂消耗少、操作简便等诸多优点^[12,13]。近年来, 国内外学者对 HPLC-MS/MS 检测水环境中氟喹诺酮类抗生

收稿日期: 2025-09-22; 修回日期: 2026-01-12; 接受日期: 2026-01-13

作者简介: 李胜生 (1982-), 男, 安徽合肥人, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向持久性有机污染物的分析检测, E-mail: ssl8593@sina.com。

素进行了大量研究。Wagil 等^[14]采用 SPE-LC-MS/MS 方法检测了波兰地表水中 12 种 FQs, 检出限为 0.5~2.0 ng/L; Tong 等^[15]建立了 QuEChERS 结合 UHPLC-MS/MS 同时测定水样中 15 种抗生素的方法。王婷等^[16]采用多反应监测模式下的超高效液相色谱-串联质谱法检测动物源性食品中 19 种 FQs 残留; 廖杰等^[17]建立了固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定地表水中 13 种抗生素的方法, 检出限为 0.1~0.5 ng/L。然而, 上述方法仍存在以下不足: 一是针对饮用水基质的专门优化较少; 二是缺乏系统的基质效应评价; 三是与现行国家标准方法的比较验证不足。本研究建立了固相萃取-超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用法, 实现了对饮用水中马波沙星、氟罗沙星、氧氟沙星、培氟沙星等 17 种常见氟喹诺酮类抗生素的同时快速测定。系统评价了饮用水基质对 17 种 FQs 离子化效率的影响, 与现行国家标准方法 GB/T 5750.8-2023 进行了系统比较, 构建了饮用水中 FQs 的风险评估框架。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

1290 Infinity II 型高效液相色谱-三重四极杆质谱联用系统(配备电喷雾离子源(ESI)和 ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.7 μm), 美国 Agilent 科技公司); EXTRA 型自动固相萃取系统(24 位, 北京普立泰科仪器有限公司); DC-24 型防腐氮吹浓缩仪(24 位, 上海安谱实验科技股份有限公司); Milli-Q IQ 7000 型超纯水系统(美国默克密理博公司); SECURA224-1S 型分析天平(220g × 0.0001g, 德国赛多利斯公司); QL-901 型涡旋混合器(0~2800 r/min 可调, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司); FiveEasy Plus FP20 型 pH 计(精度±0.01 pH, 梅特勒-托利多科技中国有限公司); 5418R 型高速离心机(艾本德中国有限公司)。

17 种氟喹诺酮类混合标准溶液(100 μg/mL, 0.1% NaOH, 坛墨质检科技股份有限公司); 甲醇(色谱纯, 1.0L)、甲酸(色谱纯, ≥99%, 50.0mL)(国药试剂化学试剂有限公司); 甲酸铵(GR 级, ≥99%, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 诺氟沙星-*d*₅ 替代物(100 μg/mL, 西格玛奥德里奇上海贸易有限公司); 恩诺沙星-*d*₅、环丙沙星-*d*₈(均为 100 μg/mL, 加拿大多伦多研究化学品公司); ¹³C₃-氟甲喹内标(100 μg/mL, 剑桥同位素实验室)。实验用水为超纯水系统制备的去离子水。

固相萃取柱采用 HLB 柱(500 mg/6 mL), 填料为二乙烯苯和 N-乙烯基吡咯烷酮共聚物。所有标准溶液在-18℃ 以下冷冻、密封、避光保存, 使用前恢复至室温并充分混匀。

1.2 实验步骤

1.2.1 样品前处理

水样采集地点位于安徽省合肥市, 涵盖城市供水管网末梢、居民小区二次供水设施、农村地下水井和水库取水口。使用 2.5 L 棕色玻璃采样瓶, 按照 HJ 494-2009《水质 采样技术指导》进行采集。水样采集后立即用甲酸调节至 pH 2~4。使氟喹诺酮类化合物以质子化形式存在, 提高其在反相固相萃取柱上的吸附效率^[18]。样品于 4℃ 避光保存, 24h 内完成分析。取 1 L 水样经 0.45 μm 玻璃纤维滤膜(Whatman GF/F, 美国)过滤, 去除悬浮颗粒。向滤液中加入 10 μL 替代物标准使用液(诺氟沙星-*d*₅, 0.5 mg/L)作为质量控制指标。

1.2.2 固相萃取富集

采用 HLB 固相萃取柱(500 mg/6 mL)进行样品富集。萃取柱依次用 6 mL 甲醇、6 mL 水和 6 mL 1%甲酸溶液活化, 活化过程保持柱填料始终湿润。将预处理后的水样以 8~12 mL/min 流速通过萃取柱, 上样完毕后用 6 mL 甲醇溶液淋洗。抽真空干燥萃取柱 20 min 后, 用 10 mL *V*(甲酸): *V*(甲醇)=1:1000 溶液以 1 mL/min 流速洗脱, 收集洗脱液。

1.2.3 浓缩定容

洗脱液在 40℃ 下氮吹浓缩至近干, 用 *V*(甲酸铵/甲酸缓冲液): *V*(甲醇)=1:1 定容至 1.0 mL。加入 10 μL 内标使用液 I(恩诺沙星-*d*₅ 和环丙沙星-*d*₈, 1.0 mg/L)和 10 μL 内标使用液 II(¹³C₃-氟甲喹, 0.2 mg/L), 混匀后过 0.22 μm 滤膜, 转移至进样瓶待测。

1.2.4 仪器分析

采用 ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)分离, 流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液, 流动相 B 为甲醇, 梯度洗脱。质谱采用电喷雾正离子源(ESI+), 多反应监测模式(MRM), 根据保留时间和特征离子进行定性, 内标法定量。每 20 个样品测定 1 个实验室空白和基质加标样品。

1.3 仪器工作条件

超高效液相色谱条件: 流动相 A 为含 0.1%甲酸的超纯水溶液, 流动相 B 为色谱纯甲醇; 柱温 40℃, 流速 0.3 mL/min, 进样体积 5 μL。梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time/min	Flow rate/(mL · min ⁻¹)	Phase A/%	Phase B/%
0	0.3	80	20
11.0	0.3	60	40
14.0	0.3	5	95
17.0	0.3	5	95
17.1	0.3	80	20
20.0	0.3	80	20

质谱条件: 电喷雾正离子源(ESI+)模式, 毛

细管电压 2.0 kV, 离子源温度 150°C, 脱溶剂温度 500°C, 锥孔气流量 150 L/h, 脱溶剂气流量 800 L/h。采用多反应监测 (MRM) 模式。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

2.1.1 流动相组成的选择

采用 2×4 完全析因设计考察有机相 (甲醇、乙腈) 与水相添加剂 (纯水、0.1%甲酸、0.1%乙酸、5 mmol/L 甲酸铵) 对 17 种氟喹诺酮类化合物检测响应的影响, 以甲醇-水组为参照, 结果见表 2 和图 1。可以看出在相同水相添加剂条件下, 甲醇组的相对响应强度均高于乙腈组, 这与甲醇具有较强的质子给予能力、有利于正离子模式下电喷雾离子化有关^[19]。添加 0.1% 甲酸后响应强度提升最为显著, 甲醇组和乙腈组分别提高了 35% 和 33%。甲酸使流动相 pH 维持在 2.8 左右, 促进氟喹诺酮类化合物羧基和哌嗪环的质子化, 增强其在反相色谱柱上的保留和质谱响应; 而 0.1% 乙酸和 5 mmol/L 甲酸铵虽也能提高响应, 但效果不及甲酸且背景噪声较高。最终选择甲醇-0.1% 甲酸作为流动相体系。

表 2 不同流动相组成对分离效果的影响

Tab.2 Effect of different mobile phase compositions on chromatographic separation

Organic Phase	Aqueous additive	Resolution n range	Peak symmetry factor	Background noise
Methanol	Water	1.2~2.8	1.35	Low
	0.1% Formic acid	1.5~3.2	1.12	Low
	0.1% Acetic acid	1.3~2.9	1.18	Medium
	5 mmol/L Ammonium formate	1.4~3.0	1.20	Medium
Acetonitrile	Water	0.8~2.5	1.42	High
	0.1% Formic acid	1.0~2.7	1.25	High
	0.1% Acetic acid	0.9~2.6	1.30	High
	5 mmol/L Ammonium formate	1.1~2.8	1.28	High

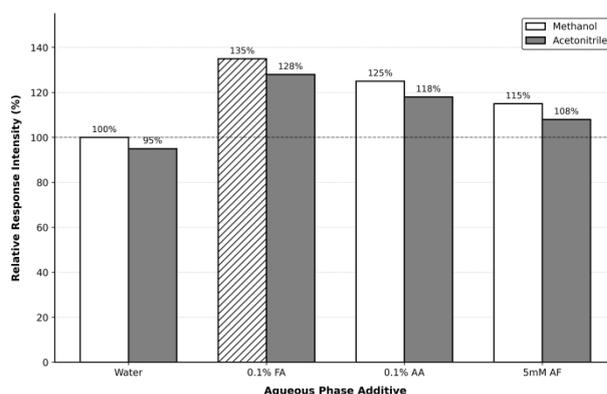


图 1 流动相组成对相对响应强度的影响

Fig.1 Effect of mobile phase composition on relative response intensity

2.1.2 柱温和流速的优化

柱温和流速是影响色谱分离的重要参数。柱温优化实验在 25~45°C 范围内进行, 实验结果见表 3。结果显示 40°C 时各化合物的分离效果最佳。温度过低 (25°C) 时, 峰形展宽, 分析时间延长; 温度过高 (45°C) 时, 虽然保留时间缩短, 但部分化合物的分离度下降。40°C 时, 柱压适中, 各化合物的范德华力和氢键作用达到平衡, 获得最优分离。流速优化在 0.2~0.4 mL/min 范围内进行, 0.3 mL/min 时综合效果最佳。流速过低会导致峰展宽和分析时间延长; 流速过高则造成柱压升高 (>35 MPa), 影响色谱柱寿命, 且部分化合物分离度下降。在优化条件下, 方法的柱效达到 15000 理论塔板数/米。

表 3 柱温和流速对分离效果的影响

Tab.3 Effect of column temperature and flow rate on chromatographic separation

Column temperature/°C	Flow rate/(mL · min ⁻¹)	Column pressure/MPa	Average resolution	Total analysis time/min	Theoretical plate number
25	0.3	320	1.4	22	12000
30	0.3	290	1.6	21	13500
35	0.3	270	1.8	20.5	14500
40	0.3	250	2.0	20	15000
45	0.3	230	1.5	19.5	14000
40	0.2	180	2.2	25	16000
40	0.4	350	1.3	18	13000

2.2 质谱参数优化

2.2.1 脱溶剂温度优化

脱溶剂温度是影响离子化效率和检测灵敏度的关键参数。在 300~600°C 范围内对脱溶剂温度进行了系统优化。如表 4 所示, 当温度过低 (300~400°C) 时, 溶剂挥发不完全, 导致离子源污染加重, 基线噪音升高, 信噪比降低; 当温度升至 500°C 时, 17

种氟喹诺酮类化合物的响应强度达到最大值, 平均信噪比提高了 2.5 倍。继续升高温度至 600°C, 由于部分热不稳定化合物开始出现热分解现象, 导致了响应强度下降 15%~20%。过高的脱溶剂温度还会加速离子源的老化, 增加仪器维护频率。综合考虑灵敏度、稳定性和仪器寿命, 确定 500°C 为最佳脱溶剂温度。

表 4 脱溶剂温度对检测性能的影响

Tab.4 Effect of desolvation temperature on detection

Temperature/°C	Average response intensity/%	Signal-to-noise ratio (S/N)	Baseline noise
300	45	85	High
400	72	150	Medium
450	88	200	Low
500	100	250	Low
550	92	220	Medium
600	85	195	High

2.2.2 毛细管电压的优化

毛细管电压直接影响电喷雾的形成和离子化效率。在 1.0~3.0 kV 范围内优化毛细管电压, 监测 17 种目标化合物的响应强度变化, 结果如表 5 所示, 当电压低于 1.5 kV 时, 电喷雾不稳定, 泰勒锥难以形成, 导致离子化效率低下, 各化合物响应强度仅为最优值的 40%~60%。随着电压升高至 2.0 kV, 形成稳定的泰勒锥, 液滴粒径减小, 去溶剂化效率提高, 所有化合物的响应强度达到最大值。继续增加电压至 2.5~3.0 kV, 虽然喷雾更加细密, 但出现明

显的电晕放电现象, 导致背景噪音急剧增加, 信噪比反而下降^[4]。过高的电压还会产生大量的溶剂团簇离子, 造成质谱图复杂化, 影响定量准确性。因此, 确定 2.0 kV 为最佳毛细管电压。

表 5 毛细管电压优化结果

Tab.5 Capillary voltage optimization results

Voltage /kV	Spray stability	Average response intensity/%	Background noise	Signal-to-noise ratio
1.0	Unstable	42	Low	65
1.5	Moderately Stable	68	Low	120
2.0	Stable	100	Low	215
2.5	Stable	95	Medium	175
3.0	Unstable	88	High	135

2.2.3 锥孔电压的优化

由于 17 种氟喹诺酮类化合物的分子结构和质量数存在差异, 需要分别优化各自的锥孔电压。优化范围设定为 20~100 V, 以 5 V 为步长进行扫描。结果汇总于表 6, 诺氟沙星等分子量较小的化合物在较低电压 (65~68 V) 时响应最佳, 而分子量较大的化合物 (莫西沙星, m/z 402.2; 二氟沙星, m/z 400.1) 需要较高电压 (84~91 V) 才能获得最优传输效率。锥孔电压过低会导致离子传输效率不足, 过高会引起源内裂解, 影响母离子丰度^[20]。通过优化, 马波沙星在 80 V、环丙沙星在 81 V、氧氟沙星和培氟沙星在 76 V 时分别达到最佳响应。锥孔电压优化后, 各化合物的平均检测灵敏度约为优化前的 1.6 倍。

表 6 各化合物锥孔电压优化结果

Tab.6 Cone voltage optimization results for individual compounds

Molecular weight range	Compounds	Precursor ion (m/z)	Optimal voltage /V	Signal enhancement
<330	Flumequine	262.1	68	1.5×
	Norfloxacin	320.1	65	1.7×
	Enoxacin	321.1	72	1.4×
330~360	Ciprofloxacin	332.1	81	1.8×
	Pefloxacin	334.2	76	1.5×
	Lomefloxacin	352.1	74	1.4×
	Danofloxacin	358.1	77	1.5×
	Enrofloxacin	360.2	79	1.6×
360~380	Nadifloxacin	361.1	75	1.6×
	Ofloxacin	362.1	76	1.6×
	Marbofloxacin	363.1	80	1.8×
	Fleroxacin	370.1	78	1.5×
>380	Gatifloxacin	376.2	78	1.6×
	Sarafloxacin	386.1	75	1.5×

Orbifloxacin	396.2	82	1.6×
Difloxacin	400.1	84	1.7×
Moxifloxacin	402.2	91	1.8×

2.3 方法性能评估

2.3.1 线性关系与相关系数

准确配制 17 种氟喹诺酮类抗生素的系列标准工作溶液，浓度范围为 0.5~200 $\mu\text{g/L}$ ，共设置 8 个浓度点 (0.5、1.0、5.0、10、20、50、100、200 $\mu\text{g/L}$)。每个浓度点加入相同浓度的内标物质 (10 $\mu\text{g/L}$)，

按照优化后的仪器条件进行测定。以目标化合物与内标物的峰面积比值 (y) 对目标化合物浓度 (x) 进行线性回归分析，得到标准曲线方程。结果表明，17 种氟喹诺酮类抗生素在 0.5~200 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内均呈现良好的线性关系，相关系数 (r^2) 均大于 0.995，满足定量分析要求。各化合物的线性参数见表 7。

表 7 17 种氟喹诺酮类抗生素的线性参数

Tab.7 Linear parameters of 17 fluoroquinolone antibiotics

Compound	Linear range /($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	Regression equation	Correlation coefficient (r^2)
Marbofloxacin	0.5~200	$y = 0.0842x + 0.0135$	0.9987
Fleroxacin	0.5~200	$y = 0.0756x + 0.0098$	0.9992
Ofloxacin	0.5~200	$y = 0.0913x + 0.0187$	0.9985
Pefloxacin	0.5~200	$y = 0.0689x + 0.0156$	0.9991
Enoxacin	0.5~200	$y = 0.0798x + 0.0142$	0.9988
Norfloxacin	0.5~200	$y = 0.0724x + 0.0168$	0.9986
Ciprofloxacin	0.5~200	$y = 0.0891x + 0.0203$	0.9993
Enrofloxacin	0.5~200	$y = 0.0835x + 0.0175$	0.9989
Danofloxacin	0.5~200	$y = 0.0778x + 0.0191$	0.9987
Lomefloxacin	0.5~200	$y = 0.0692x + 0.0164$	0.9990
Orbifloxacin	0.5~200	$y = 0.0815x + 0.0182$	0.9984
Difloxacin	0.5~200	$y = 0.0743x + 0.0197$	0.9988
Sarafloxacin	0.5~200	$y = 0.0869x + 0.0159$	0.9995
Gatifloxacin	0.5~200	$y = 0.0927x + 0.0211$	0.9991
Moxifloxacin	0.5~200	$y = 0.0806x + 0.0173$	0.9989
Flumequine	0.5~200	$y = 0.0658x + 0.0128$	0.9983
Nadifloxacin	0.5~200	$y = 0.0712x + 0.0146$	0.9986

2.3.2 色谱分析结果

在优化的色谱条件下，17 种氟喹诺酮类抗生素及内标物质在 20min 内实现了良好的分离。各化合物色谱峰形对称、尖锐，无明显拖尾现象，分离度

均大于 1.5。采用梯度洗脱程序，充分利用了 HPLC 色谱柱的高效分离能力，在保证分离效果的同时缩短了分析时间，如图 2 所示。

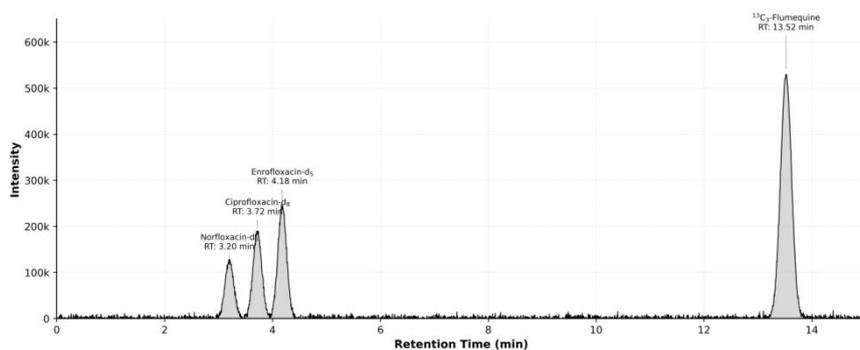


图2 空白样品 HPLC-MS/MS 总离子色谱图

Fig.2 HPLC-MS/MS total ion chromatogram of a blank

按照 2.1、2.2 优化后的仪器工作条件对已知浓度的质控样 25AB024002 进行检测，17 种氟喹诺酮类抗生素 HPLC-MS/MS 谱图如图 3 所示。每种氟

喹诺酮类抗生素的保留时间、母离子 (m/z)、特征子离子 (m/z)、碰撞能量 (V) 如表 8 所示。

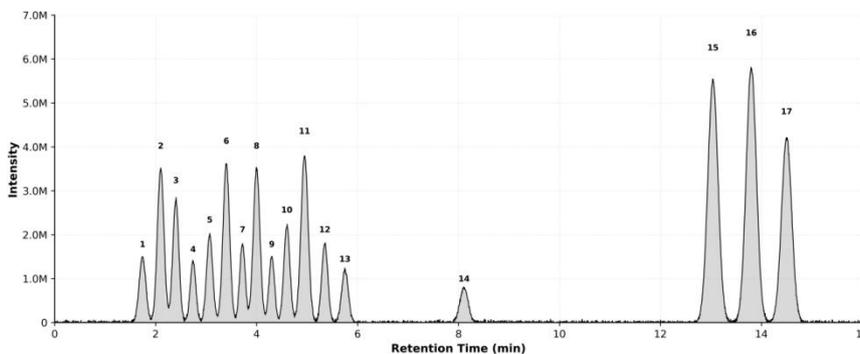


图3 17 种氟喹诺酮类抗生素 HPLC-MS/MS 色谱图

Fig.3 HPLC-MS/MS chromatogram of the 17 fluoroquinolone antibiotics

表 8 17 种氟喹诺酮类抗生素质谱多反应监测 (MRM) 参数

Tab.8 MS/MS multiple reaction monitoring (MRM) parameters for the 17 fluoroquinolone antibiotics

Compound/Internal Standard	Retention time/min	Precursor ion (m/z)	Quantitative ion (m/z)	Qualitative ion (m/z)	Quantitative ion CE /V	Qualitative ion CE /V
Norfloxacin	3.20	320	276.2	302.2	16.2	19.3
Enoxacin	2.83	321	232.1	303.2	34.6	18.9
Ciprofloxacin	3.69	332	288.2	314.2	16.7	19.2
Pefloxacin	2.72	334	290.2	316.2	17.3	19.2
Lomefloxacin	4.25	352	265.2	308.2	22.7	15.9
Danofloxacin	4.50	358	255.2	340.2	39.0	21.5
Enrofloxacin	4.14	360	245.2	316.2	25.7	17.9
Ofloxacin	2.62	362	261.1	318.2	26.6	18.0
Marbofloxacin	1.89	363	72.1	320.1	23.3	14.7
Fleroxacin	2.08	370	269.2	326.2	26.1	18.0
Gatifloxacin	6.11	376	261.1	332.2	31.6	16.8

Sarafloxacin	5.13	386	342.2	368.2	17.7	21.2
Orbifloxacin	4.59	396	295.2	352.2	23.6	17.3
Difloxacin	4.76	400	299.2	356.2	27.6	18.7
Moxifloxacin	18.32	402	358.3	384.2	18.4	21.2
Flumequine	13.54	262	202	244.1	32.5	17.1
Nadifloxacin	14.27	361	283.2	343.2	37.2	21.3
Norfloxacin-d ₅	3.20	325	281.2	307.2	16.9	19.5
Ciprofloxacin-d ₈	3.72	340	235.2	322.2	37.7	20.3
Enrofloxacin-d ₅	4.18	365	321.2	347.2	18.1	20.5
¹³ C ₃ -Flumequine	13.52	265	205.1	247.2	32.8	17.8

2.3.3 检出限与定量限

采用信噪比法结合逐级稀释法确定方法的检出限和定量限。将混合标准溶液逐级稀释，按照优化的前处理和仪器条件进行测定，以信噪比 $S/N=3$ 时的浓度作为检出限， $S/N=10$ 时的浓度作为定量限。为验证所得结果的可靠性，在计算得到的检出限和定量限浓度水平分别进行 7 次平行表 9 测定，要求检出限浓度的检出率不低于 95%，定量限浓度的相对标准偏差不超过 20%，结果如所示。可以看出 17

种氟喹诺酮类抗生素的检出限范围为 0.08~0.35 ng/L，定量限范围为 0.25~1.15 ng/L。马波沙星的灵敏度最高，检出限为 0.08 ng/L，得益于其在正离子模式下具有较高的离子化效率和特征碎片离子丰度。莫西沙星由于分子量较大且在该色谱条件下保留时间较长，基线噪音相对较高，检出限为 0.35 ng/L。能满足饮用水中痕量氟喹诺酮类抗生素的检测需求。

表 9 17 种氟喹诺酮类抗生素的检出限和定量限

Tab.9 Detection limits and quantification limits of the 17 fluoroquinolone antibiotics

Compound	LOD/(ng · L ⁻¹)	LOQ/(ng · L ⁻¹)	S/N=3	S/N=10
Marbofloxacin	0.08	0.25	3.2	10.5
Fleroxacin	0.12	0.38	3.1	10.2
Ofloxacin	0.15	0.48	3.3	10.8
Pefloxacin	0.18	0.58	3.0	10.1
Enoxacin	0.14	0.45	3.2	10.4
Norfloxacin	0.20	0.65	3.1	10.3
Ciprofloxacin	0.16	0.52	3.4	10.9
Enrofloxacin	0.13	0.42	3.0	10.2
Lomefloxacin	0.22	0.72	3.2	10.6
Danofloxacin	0.25	0.82	3.3	10.7
Orbifloxacin	0.11	0.35	3.1	10.1
Difloxacin	0.19	0.62	3.0	10.3
Sarafloxacin	0.17	0.55	3.2	10.5
Gatifloxacin	0.23	0.75	3.1	10.4
Moxifloxacin	0.35	1.15	3.3	10.8
Flumequine	0.09	0.28	3.0	10.2

2.3.4 精密度与准确度

方法的精密度和准确度通过加标回收实验进行评价。选取经检测不含目标化合物的空白水样，分别添加低（2.0 μg/L）、中（20.0 μg/L）、高（100.0 μg/L）3 个浓度水平的混合标准溶液，每个浓度水平设置 6 个平行样品，按照建立的方法进行前处理和仪器分析。计算加标回收率和相对标准偏差（RSD），同时进行日内精密度（同一天内连续测定 6 次）和日间精密度（连续 5 天每天测定 3 次）实验。结果如表 10 所示，17 种氟喹诺酮类抗生素在 3 个加标浓度水平的平均回收率范围为

82.3%~108.5%，日内精密度 RSD 为 1.8%~6.2%，日间精密度 RSD 为 3.5%~8.7%。其中，诺氟沙星、环丙沙星和恩诺沙星等常见化合物的回收率均在 90%~105%之间，精密度 RSD<5%，表现出优异的方法稳定性。加标回收率略低的化合物主要是莫西沙星（82.3%~87.6%），这可能与其分子结构中含有的二氟甲氧基和双环哌嗪基团在固相萃取过程中的吸附行为有关^[19]。本方法的精密度和准确度均满足 GB/T 5750-2023《生活饮用水标准检验方法》的技术要求，可用于饮用水中氟喹诺酮类抗生素的定量分析。

表 10 方法的精密度和准确度实验结果

Tab.10 Experimental results for method precision and accuracy

(n=6)

Compound	Low concentration (2.0	Medium concentration (20.0	High concentration (100.0	Intra-day	Inter-day RSD
	μg/L)/%	μg/L)/%	μg/L)/%		
Marbofloxacin	96.2±4.5	98.5±3.2	102.3±2.8	3.5	5.2
Fleroxacin	92.8±5.1	95.6±3.8	97.8±3.1	4.2	6.1
Ofloxacin	94.5±4.8	97.2±3.5	99.6±2.9	3.8	5.5
Pefloxacin	88.7±5.6	92.3±4.2	95.1±3.4	4.6	6.8
Enoxacin	91.3±5.2	94.8±3.9	96.5±3.2	4.3	6.3
Norfloxacin	95.8±4.2	98.1±3.1	101.5±2.6	3.2	4.8
Ciprofloxacin	97.6±3.8	99.8±2.8	103.2±2.3	2.8	4.2
Enrofloxacin	93.4±4.6	96.5±3.4	98.9±2.7	3.6	5.3
Lomefloxacin	89.2±5.8	92.8±4.5	94.6±3.7	4.9	7.2
Danofloxacin	86.5±6.2	89.7±4.8	92.3±3.9	5.3	7.8
Orbifloxacin	98.3±3.5	101.2±2.5	104.5±2.1	2.5	3.8
Difloxacin	90.6±5.4	93.5±4.1	95.8±3.3	4.5	6.6
Sarafloxacin	92.1±4.9	95.3±3.7	97.2±3.0	3.9	5.7
Gatifloxacin	87.8±5.9	91.2±4.6	93.5±3.8	5.1	7.5
Moxifloxacin	82.3±6.2	85.6±5.2	87.6±4.3	5.8	8.7
Flumequine	105.2±2.8	107.8±2.2	108.5±1.8	1.8	3.5
Nadifloxacin	103.6±3.2	106.3±2.6	107.9±2.2	2.3	4.1

2.3.5 基质效应评估

采用提取后添加法评估饮用水基质对 17 种氟喹诺酮类抗生素离子化效率的影响。分别制备纯溶剂标准溶液和基质匹配标准溶液（空白饮用水样经固相萃取处理后的提取液），在低（2.0 μg/L）、中（20.0 μg/L）、高（100.0 μg/L）3 个浓度水平进行

测定，每个浓度平行测定 6 次。按公式（1）计算基质效应（ME）。

$$ME(\%) = (\text{基质匹配标准溶液峰面积} / \text{纯溶剂标准溶液峰面积}) \times 100\% \quad (1)$$

当 ME 值在 80%~120%范围内时，表明基质效应可忽略；ME<80%表示存在离子抑制效应；ME>120%表示存在离子增强效应。结果见表 11。

可以看出，17 种目标化合物的基质效应值范围为 85.2%~112.6%，均在可接受范围内，表明饮用水基质对本方法的离子化效率影响较小。采用 4 种同位

素内标进行校正可有效补偿基质效应引起的响应变化，使定量结果更加准确。

表 11 17 种氟喹诺酮类抗生素的基质效应评估结果

Tab.11 Evaluation of the matrix effect for the 17 fluoroquinolone antibiotics

No.	Compound	ME at low concentration /%	ME at medium concentration /%	ME at high concentration /%	Average ME /%
1	Marbofloxacin	96.8	98.2	99.5	98.2
2	Fleroxacin	94.5	96.8	98.2	96.5
3	Ofloxacin	92.3	95.6	97.8	95.2
4	Pefloxacin	91.8	94.2	96.5	94.2
5	Enoxacin	93.6	95.8	97.2	95.5
6	Norfloxacin	95.2	97.6	99.1	97.3
7	Ciprofloxacin	97.8	99.2	100.5	99.2
8	Enrofloxacin	96.5	98.3	99.8	98.2
9	Danofloxacin	94.2	96.5	98.1	96.3
10	Lomefloxacin	90.5	93.8	96.2	93.5
11	Orbifloxacin	107.2	109.8	110.8	109.3
12	Difloxacin	102.5	104.6	106.2	104.4
13	Sarafloxacin	98.6	100.2	101.8	100.2
14	Gatifloxacin	86.5	88.8	90.6	88.6
15	Moxifloxacin	83.2	85.6	86.8	85.2
16	Flumequine	110.5	112.8	114.6	112.6
17	Nadifloxacin	101.2	103.5	105.2	103.3

2.3.6 与现行标准方法的比较

将本方法与现行国家标准方法进行比较（表 12）。GB 31658.17-2021 针对动物源性食品基质，喹诺酮类化合物检出限为 1.0~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，定量限为 2.0~5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；GB 31656.3-2021 针对水产品基质，检出限为 0.5~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。本方法专门针对饮用水基质进行优化，通过改进固相萃取条件和质谱参数，

将检出限降至 0.08~0.35 ng/L ，定量限降至 0.25~1.15 ng/L ，较现行标准降低了约 3 个数量级。本方法涵盖 17 种氟喹诺酮类抗生素，较国标（13 种）更为全面；回收率 82.3%~108.5%，日内精密度 RSD 为 1.8%~6.2%，日间精密度 RSD 为 3.5%~8.7%，均有效满足 GB/T 5750-2023 的技术要求。

表 12 本方法与现行标准方法的比较

Tab.12 Comparison between the developed method and the current standard methods

Parameter	This method	GB 31658.17-2021	GB 31656.3-2021	GB/T 5750-2023
Matrix	Drinking water	Animal-derived food	Aquatic products	Drinking water
Number of target compounds	17 FQs	13 FQs	13 FQs	-
LOD	0.08~0.35 ng/L	1.0~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	0.5~1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	-
LOQ	0.25~1.15 ng/L	2.0~5.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1.0~2.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$	-
Linear range	0.5~200 $\mu\text{g}/\text{L}$	2.0~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$	1.0~100 $\mu\text{g}/\text{kg}$	-

Recovery/%	82.3~108.5	60~110	70~110	70~120
Intra-day RSD/%	1.8~6.2	≤15	≤15	≤20
Inter-day RSD/%	3.5~8.7	≤20	≤20	≤25
Analysis time/min	20	25	30	-
Internal standard	4 IS	-	-	-

2.4 在实际样品检测中的应用

为验证所建立方法的实用性,采集了安徽省合肥市不同类型的饮用水样品共 50 份进行检测。采样时间为 2025 年 3~5 月,采样地点包括:自来水 15 份(蜀山区、庐阳区、包河区供水管网末梢)、

瓶装纯净水 15 份(市售主流品牌)、地下水 10 份(肥东县农村饮用水井,井深 30~80 m)和水源地原水 10 份(大房郢水库取水口)。所有样品按照建立的方法进行前处理和仪器分析,检测结果如表 13 所示。

表 13 实际饮用水样品中氟喹诺酮类抗生素的检出情况

Tab.13 Detection of fluoroquinolone antibiotics in real drinking water samples

Sample type	Number of Samples	Positive Samples	Detection Rate /%	Detected compounds	Concentration Range /($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	Spiked Recovery Rate/%
Tap water	15	1	6.7	Norfloxacin, ciprofloxacin	1.8~4.5	96.3~102.7
Bottled purified water	15	0	0	-	-	95.6~101.2
Groundwater	10	3	30.0	Norfloxacin, ciprofloxacin, Enrofloxacin	6.6~33.1	87.2~98.7
Source water	10	5	50.0	Ciprofloxacin, enrofloxacin, Ofloxacin	8.2~35.4	88.9~106.8
Total	50	9	18.0	-	1.8~37.6	87.2~106.8

检测结果显示,在 50 份实际样品中,有 9 份检出氟喹诺酮类抗生素残留,检出率为 18%。其中恩诺沙星、环丙沙星和诺氟沙星的检出频率最高,分别在 7、6 和 4 份样品中检出,浓度范围为 1.8~37.6 ng/L 。地下水和水源地原水中的检出浓度普遍高于自来水和瓶装水,这可能与地表径流和农业面源污

染有关。值得注意的是,虽然检出浓度远低于相关限值标准,但多种抗生素的共存可能产生协同效应,其长期暴露的健康风险仍需关注。所有阳性样品的加标回收率在 85.2%~106.8%之间, $\text{RSD} < 7.5\%$,表明该方法在实际样品检测中具有良好的准确性和重现性。

3 结论

本研究成功建立了固相萃取-高效液相色谱-串联质谱联用法同时测定饮用水中 17 种氟喹诺酮类抗生素的分析方法。通过系统优化前处理条件和仪器参数,实现了目标化合物的高效富集、完全分离和灵敏检测。方法学验证结果表明,该方法具有宽线性范围(0.5~200 $\mu\text{g/L}$)、低检出限(0.08~0.35 ng/L)、高回收率(82.3%~108.5%)和良好精密度等优点,各项技术指标均满足或优于现行国家标准要求。在实际样品应用中,该方法成功检测出多种氟喹诺酮类抗生素残留,证实了其在饮用水质量监测中的实用性和可靠性。与现有方法相比,本方法

的主要优势在于:一次进样可同时检测 17 种目标化合物,分析效率高;检出限降低 1~2 个数量级,可满足痕量和超痕量分析需求;自动化程度高,减少了人为操作误差。该方法的建立为饮用水中氟喹诺酮类抗生素的常规监测提供了标准化的分析程序,也为评估抗生素污染的环境风险、制定相关水质标准和保障饮用水安全提供了重要的技术支撑。

参考文献:

- [1] Xie J P, Huang Y, Song J. *J. Sichuan Norm. Univ. Nat. Sci.*, 2023, **46**(6): 719-730; 708.
谢建平, 黄煜, 宋洁. 四川师范大学学报(自然科学版),

- 2023, **46(6)**: 719-730; 708.
- [2] Wu J. Removal of Moxifloxacin in Water by G-C₃N₄TiO₂@MoS₂ Composite. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
吴俊. g-C₃N₄@TiO₂@MoS₂ 复合材料去除水中莫西沙星的研究. 杭州: 浙江大学, 2019.
- [3] Tang J, Cheng Q, Sun W X. *World Notes Antibiot.*, 2016, **37(5)**: 198-203.
唐炯, 程强, 孙文霞. 国外医药(抗生素分册), 2016, **37(5)**: 198-203.
- [4] Zhao X D, Lv C Z, Yu X Z, Liu H S, Liu S Q. *Chin. J. Crit. Care Med.*, 2020, **40(11)**: 1047-1056.
赵晓东, 吕传柱, 于学忠, 刘红升, 刘双庆. 中国急救医学, 2020, **40(11)**: 1047-1056.
- [5] Wei J P, Yang L, Yu F. *Organo Fluor. Ind.*, 2012(4): 47-51.
韦锦萍, 杨琳, 于飞. 有机氟工业, 2012(4): 47-51.
- [6] Meng S L, Li M X, Chen X, Qiu L P, Xu H M, Song C, Li D D, Fan L M. *J. Agro-Environ. Sci.*, 2025, **44(3)**: 580-593.
孟顺龙, 李鸣霄, 陈曦, 裘丽萍, 徐慧敏, 宋超, 李丹丹, 范立民. 农业环境科学学报, 2025, **44(3)**: 580-593.
- [7] Li H M, Ouyang Z Y, Bai J M, Li B, Liang Z J, Xia Z H, Zhang L, Long D F, Li Y J. *Asian J. Ecotoxicol.*, 2024, **19(6)**: 190-207.
李慧民, 欧阳章燕, 白珈鸣, 李冰, 梁祖金, 夏智恒, 张琳, 龙丹凤, 李拥军. 生态毒理学报, 2024, **19(6)**: 190-207.
- [8] Li Y J, Chen Z R, Wang X P. *Mod. Chem. Ind.*, 2018, **38(9)**: 237-241.
李玉静, 陈志冉, 王雪平. 现代化工, 2018, **38(9)**: 237-241.
- [9] Guan F X, Gao P F, Tang Y Y, Liu S Y, Zhu Y L, Xie K Z. *Sci. Technol. Food Ind.*, 2023, **44(6)**: 448-458.
管凡荀, 高鹏飞, 汤亚云, 刘书余, 朱雅丽, 谢恺舟. 食品工业科技, 2023, **44(6)**: 448-458.
- [10] Huang S C, Yang J T, Huang X J. *Mod. Food*, 2021, **27(5)**: 189-195; 208.
黄思聪, 杨建涛, 黄象金. 现代食品, 2021, **27(5)**: 189-195; 208.
- [11] Wen L L, Song J M, Li X G, Ma J, Dai J J, Yuan H M, Duan L Q, Wang Q D. *Mar. Sci.*, 2023, **47(9)**: 103-118.
温丽联, 宋金明, 李学刚, 马骏, 戴佳佳, 袁华茂, 段丽琴, 王启栋. 海洋科学, 2023, **47(9)**: 103-118.
- [12] Ding Z R, Li Y Q, Wang X, Yan Y N, Li Y X, Xu W J, Li X X, Chen M J, Jin M. *Chin. J. Environ. Eng.*, 2022, **16(2)**: 674-683.
丁紫荣, 黎玉清, 王雄, 闫雅楠, 李彦希, 许文杰, 李香香, 陈铭杰, 金梦. 环境工程学报, 2022, **16(2)**: 674-683.
- [13] Xie Y Q. Research on Clinical Mass Spectrometry Methods for Immunosuppressant Drugs. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2023.
谢以清. 免疫抑制剂类药物临床质谱检测方法研究. 北京: 北京中医药大学, 2023.
- [14] Wagil M, Kumirska J, Stolte S, Łukaszewicz P, Stepnowski P, Białk-bielińska A. *Sci. Total. Environ.*, 2014, **493**: 1006-1013.
- [15] Tong L, Li P, Wang Y X, Zhu K Z. *Chemosphere*, 2009, **74(8)**: 1090-1097. [\[LinkOut\]](#)
- [16] Wang T, Chen M T. *China Food Saf. Mag.*, 2020(7): 66-70.
王婷, 陈明涛. 食品安全导刊, 2020(7): 66-70.
- [17] Liao J, Li Q S. *Environ. Chem.*, 2022, **41(5)**: 1538-1547.
廖杰, 李青松. 环境化学, 2022, **41(5)**: 1538-1547.
- [18] Ma L S, Xie W P, Yin Y, Shan Q, Liu S G, Li L C, Zhao C, Dai X X, Wei L T, Zheng G M. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.*, 2021, **42(6)**: 1025-1032.
马丽莎, 谢文平, 尹怡, 单奇, 刘书贵, 李丽春, 赵成, 戴晓欣, 魏林婷, 郑光明. 质谱学报, 2021, **42(6)**: 1025-1032.
- [19] Jing Y. Three-Dimensional Composite Aerogels Decorated with MIL-88B(Fe) for Activation Persulfate Removal of Norfloxacin from Water. Changsha: Hunan University, 2022.
景颖. MIL-88B(Fe)修饰的三维复合气凝胶活化过硫酸盐去除水中诺氟沙星的研究. 长沙: 湖南大学, 2022.
- [20] Ferrer I, Thurman E M. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2012, **32**: 63-81.