《水质 16种磺胺类抗生素的测定 固相萃取-

高效液相色谱-串联质谱法（征求意见稿）》

编制说明

《水质 16种磺胺类抗生素的测定 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法》

标准编制组

二零二肆年六月

项目名称：水质 16种磺胺类抗生素的测定 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法

项目承担单位： 生态环境部南京环境科学研究所

编制组主要成员：张圣虎、漆丹、康国栋、鲁磊磊、张后虎、卜元卿、王宁、吴平、周蓉、王灵、雷荣荣、刘丽青、贺晨、雷利

新疆维吾尔自治区生态环境保护产业协会负责人：

目 录

**1. 项目背景 1**

1.1任务来源 1

1.2工作过程 1

**2. 标准制订的必要性分析 2**

2.1磺胺类抗生素的环境危害 2

2.2相关环保标准和环保工作的需要 3

**3. 国内外相关分析方法研究 4**

3.1 主要国家、 地区及国际组织相关标准分析方法 4

3.2 国内相关分析方法研究 4

3.3 上述方法与本标准的关系 5

**4. 标准制订的基本原则和技术路线 5**

4.1 标准制订的基本原则 5

4.2 标准制订的技术路线 6

**5. 方法研究报告 8**

5.1方法研究的目标 8

5.2 方法原理 9

5.3 试剂和材料 9

5.4 仪器设备 9

5.5 分析步骤 9

5.6 结果计算 15

**6. 方法验证 16**

6.1 方法验证方案 16

6.3 方法验证过程 17

6.4 方法验证结论 17

**7. 与开题报告的差异说明 17**

**8. 标准征求意见情况 18**

**9. 标准技术审查情况 18**

#

# 1. 项目背景

## 1.1任务来源

按照《国家环境保护标准制修订工作管理办法》（环保总局公告 2017 年 1 号） 有关要求，在收到生态环境部南京环境科学研究所提交的立项申请后，2023年8月15日新疆维吾尔自治区生态环境保护产业协会下达了《水质 16种磺胺类抗生素的测定 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法》标准立项通知。

1.2工作过程

1.2.1成立标准编制组

2023年8月，生态环境部南京环境科学研究所成立了标准编制组，主要由从事环境分析、具有丰富技术经验的研究人员组成。

1.2.2 查询国内外相关标准和文献资料

2023年9月，根据国家环保标准制订工作管理办法的相关规定，围绕本标准方法开展了检索、查询、收集与分析国内外有关标准和文献资料的相关工作，并在文献资料调研的基础上确定了本标准制订拟采用的原则、 方法和技术依据， 确定了本标准制订目标，即满足我国水体中抗生素浓度监测与控制要求，适用于我国大部分环境监测实验室和相关实验室的仪器设备、技术能力的要求。

1.2.3 开题汇报，确定标准制定技术路线

2023年10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。根据新疆维吾尔自治区抗生素的使用量、水体中常见抗生素的检出情况等资料，确定了常用的16种磺胺类抗生素为目标物质，采用固相萃取前处理-高效液相色谱-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研究建立标准方法， 进行标准方法论证试验

标准编制组按照制定标准的要求，研究建立标准方法的实验方案，并进行方法前处理条件的选择、仪器条件的确定和方法精密度、准确度及检出限的测定等试验。

1.2.5方法验证工作

2023年11月至2024年4月，组织了5家具有丰富监测经验的实验室进行方法验证，在5家实验室验证数据基础上进行了数据汇总和分析整理工作，并编写完成了《水质 16种磺胺类抗生素的测定 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法》验证汇总报告。

1.2.6 编写标准征求意见稿和编制说明

2024年5月，编写《水质 16种磺胺类抗生素的测定 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法》的标准文本征求意见稿及编制说明。

1.2.7 征求意见稿技术审查会

待完成。

# 2. 标准制订的必要性分析

## 2.1磺胺类抗生素的环境危害

2.1.1 磺胺类抗生素的理化性质

磺胺类抗生素是应用最早的一类人工合成抗菌药物。磺胺类抗生素属于广谱抗菌药物，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）。常见的磺胺类抗生素主要有磺胺嘧啶、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 16种磺胺类抗生素的化学结构式

2.1.2 磺胺类抗生素的环境危害

磺胺类抗生素的滥用造成了环境介质中该类抗生素的大范围污染，普遍在自然水体、饮用水、土壤、废水、沉积物和乳制品等中广泛检出，呈现全球化污染的特点。磺胺类抗生素残留于水体时，会对微生物和动植物产生毒性效应。已有研究表明，磺胺类抗生素对微藻类浮游生物的生长活动有明显抑制作用，高浓度时甚至会造成细胞死亡。水生动物及两栖类动物在磺胺类抗生素长期暴露下会增加基因变异、胚胎畸形现象发生的可能性。水体中的磺胺类抗生素通过食物链和饮用水进入到人体中，对人类健康造成潜在的风险。磺胺类抗生素的滥用使环境中的微生物逐渐具有多重耐药性，具有多重耐药性的细菌可以使相应的磺胺类抗生素对其产生的抑制作用削减乃至无效。如果对磺胺类抗生素的使用不加以管控，逐渐增多的多重耐药菌会使得人类面临“无药可用”的局面。

## 2.2相关环保标准和环保工作的需要

磺胺类抗生素一部分会经过施用后进入环境，还有一部分可能会直接通过工业排放进入到水环境中。磺胺类抗生素在多种环境介质中的普遍检出以及全球范围内的广泛分布，对环境中磺胺类抗生素种类和浓度的检测手段提出了更高的需求和挑战。而合适的测定方法，对其快速分析和水质质量评估具有关键意义。如今，我国的水质相关标准对磺胺类抗生素的关注度越来越高。目前，在不同国家的环境质量标准与排放标准中还未体现磺胺类抗生素指标，这不仅是由于磺胺类抗生素为新污染物，而且磺胺类抗生素在发达国家的污染问题并不像中国等亚洲国家这么突出。我国的环境质量标准与排放标准中亦未体现磺胺类抗生素指标，但是由于我国磺胺类抗生素污染问题较为突出，关于磺胺类抗生素环境危害评估以及风险管理的呼声越来越高。涉及抗生素的标准体系如表 1 所示。

**表 1 涉及抗生素的标准体系**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **来源** | **名称** | **内容** |
| 中国农业部 | 中华人民共和国农业部公告 第2292号 | 在食品动物中停止使用洛美沙星、培氟沙星、氧氟沙星、诺氟沙星4种兽药 |
| 中国卫计委等14个部门 | 遏制细菌耐药国家行动计划（2016—2020年） | 环境保护部门加快抗菌药物污染物指标评价体系建设 |
| WHO | 控制细菌耐药全球行动计划（草案） | 为各国行动计划提供框架，以应对抗菌药物耐药 |
| 美国疾控中心 | 抗击耐药细菌的国家行动计划 | 强调联邦政府和相关机构必须采取重要措施，以解决耐药性细菌增加的问题 |
| 美国 EPA | 饮用水优先控制污染物名录（第3版） | 抗菌药物红霉素被列入其中  |
| 欧盟 No 37/2010 号条例 | 食品中药物活性物质最大残留限量 | 规定动物源性食品中允许使用的抗生素 |

目前，我国对于磺胺类抗生素的分析标准还很欠缺，本次标准制订的目的是增加此类化合物的分析方法，以弥补目前磺胺类抗生素在分析方法上的空缺，完善磺胺类抗生素的方法标准体系，提升环境监测的能力。

# 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标准分析方法

 主要国家、地区及国际组织关于磺胺类抗生素的标准方法如表 2 所示。

**表 2 主要国家、地区及国际组织关于磺胺类抗生素的标准分析方法**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **标准来源** | **标准编号** | **目标化合物** | **前处理方法** | **仪器方法** | **适用范围** |
| 美国 EPA | Method 1694（2007 年） | PPCPs | 固相萃取 | HPLC-MS/MS | 污水、污泥、沉积物 |
| 中国 | DB21/T 3286-2020 | 磺胺类抗生素 | 固相萃取 | HPLC-MS/MS | 地表水、地下水、海水、工业废水和生活污水 |
| 中国 | DB50/T 1367-2023 | 磺胺类抗生素 | 固相萃取 | HPLC-MS/MS | 地表水、地下水、生活污水和工业废水 |

## 3.2 国内相关分析方法研究

表 3列出了国内对于磺胺类抗生素的测定方法，可以看出对于水质中磺胺类抗生素类化合物所采用的前处理方法大多集中在固相萃取，分析方法有很多，从大量的文献可以看出，目前应用于磺胺类抗生素的分析的方法主要是LC/MS（液相色谱-质谱法）、HPLC/MS/MS（高效液相色谱-质谱/质谱法）、UPLC-MS/MS（超高效液相色谱-质谱/质谱法）。

**表3 磺胺类抗生素分析方法研究**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **方法** | **水体类型** | **抗生素数量** | **回收率(%)** | **检测限(ng/L)** | **参考文献** |
| SPE-HPLC-MS/MS | 水 | 58 | 52.14-92.56 | 0.002-4.839 | 赵富强等，2022 |
| SPE-LC-MS | 水 | 21 | 81.7- 132.7 | 0. 027-1. 268 | 吴天宇等，2022 |
| SPE-UPLC-MS/MS | 水 | 12 | 70.33-108.96 | 0.06-0.21 | 刘晓晖等，2018 |
| SPE-HPLC-MS/MS | 污水 | 11 | 43.5-102.8 | 4.2-22.8 | 曹君等，2022 |
| SPE-UPLC-MS/MS | 饮用水 | 7 | 80.5-92.5 | 0.004-0.009 | 付晓燕等，2023 |
| SPE-HPLC-MS/MS | 引用水 | 4 | 81.82-151.11 | 27.2-224.1 | 丁苗苗等，2018 |
| SPE-HPLC-MS/MS | 水 | 10 | 71.4-104.8 | 0.000126-0.000227 | 将昕庆等，2024 |
| SPE-UPLC-MS/MS | 水 | 10 | 77-114 | 0.004-0.06 | 李敏等，2024 |
| SPE-UPLC-MS/MS | 水 | 52 | 65.1-133.3 | 0.1-0.6 | 郝春慧等，2024 |
| SPE-UPLC-MS/MS | 养殖水 | 6 | 86.1-102.1 | 9-36 | 董飞等，2024 |

## 3.3 上述方法与本标准的关系

本标准研究旨在建立一项满足新疆维吾尔自治区水体中磺胺类抗生素浓度监测与控制要求，在环境管理目标和技术手段上与国际接轨，适应新疆维吾尔自治区大部分环境监测及相关实验室仪器设备和技术能力的监测方法标准。通过查阅国内外相关文献资料，制定条件优化方案，确保本方法前处理所采用的装置操作简便，能够满足新疆维吾尔自治区实验室的条件要求。本标准拟采用高效液相色谱-质谱法测定抗生素。水样的前处理步骤、质量控制和保证措施参考文献资料和课题组前期研究积累，检测方法参考文献资料，选择合适的色谱柱以及仪器条件。力求方法在稳定、可靠和实用的基础上，达到国际先进水平，以适应新疆维吾尔自治区水体中抗生素监测工作的需要。

# 4. 标准制订的基本原则和技术路线

## 4.1 标准制订的基本原则

按照《国家环境保护标准制修订工作管理办法》和《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》（HJ168-2010）的要求，兼顾新疆维吾尔自治区监测分析实际情况，确保本标准的先进性、适用性、可操作性和实用性。

（1） 先进性：其准确度、精密度和灵敏度达到国内同类方法的同等水平。

（2） 适用性：方法具有普遍适用性，易于推广使用。

（3） 可操作性：符合新疆维吾尔自治区目前检测仪器设备和试剂、材料的供应条件。

（4） 实用性：符合检测从业人员的技术水平，能被新疆维吾尔自治区主要的环境分析实验室所使用并达到所规定的要求。

## 4.2 标准制订的技术路线

本标准的技术路线为：采用固相萃取系统提取、净化、浓缩样品中的16种磺胺类抗生素，用高效液相色谱串联质谱检测，并利用同位素内标法定量。

# 5. 方法研究报告

## 5.1方法研究的目标

本标准规定了水中磺胺类抗生素测定的高效液相色谱-质谱法。

通过实验确定前处理方法及检测仪器，优化测定条件， 明确方法检出限、 测定范围、精密度、准确度等特性指标，规范操作步骤； 通过统计检验技术确认外部实验室试验结果的准确性；通过外部实验室验证方法的再现性。

## 5.2 方法原理

水中的抗生素经过滤后固相萃取柱净化，用高效液相色谱-串联质谱法检测。以保留时间和特征离子定性，内标法定量。

## 5.3 试剂和材料

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准的分析纯试剂和不含目标化合物的去离子水。

## 5.4 仪器设备

固相萃取-高效液相色谱-串联质谱技术（SPE-HPLC-MS/MS）是一种用于环境样品常见的检测技术。环境样品基质较为复杂，利用LC-MS仪器的电喷雾（ESI）模式进行检测化合物时，会出现样品杂质抑制或增强色谱信号的基质效应，为了降低这种基质效应，在进样前需要对样品进行富集净化，本实验采用的净化技术为固相萃取（SPE），通过目标化合物在SPE小柱上吸附-再脱附的过程完成净化和富集。SPE-HPLC-MS/MS方法的检测限低，检测时间短，特别是在处理大批量样品时快速高效。

## 5.5 分析步骤

**5.5.1** 净化方法的选择

实际环境水样中存在各种各样的杂质，会对磺胺类抗生素的测定产生影响。因此，需要采取一定的净化措施去除杂质的干扰，常用的净化方式有液液萃取和固相萃取两种。

液液萃取较为方便简捷，但当环境中的样品含量较低时， 需要对样品进行大体积的富集浓缩后再进样，试剂使用量较大，耗费人力。而固相萃取分离磺胺类抗生素与干扰物的效率较高，可同时完成样品的富集与净化，能够大大提高检测灵敏度。 因此，选择固相萃取作为水中抗生素的净化方法。实验选取 Oasis HLB柱（50mg，6CC）进行实验。

**5.5.2** 洗脱溶剂的优化

洗脱液的标准是在不与磺胺类抗生素和环境杂质起作用的条件下，将目标抗生素从固相萃取小柱上洗脱下来。本标准测定的16种磺胺类抗生素，其化学结构不同，理化性质存在差异，单独使用有机溶剂洗脱得不到较好的洗脱效果。甲醇是实验室常用的分析有机试剂，性质稳定，对大部分的化学药品具有良好的溶解性。经过文献调研后选择甲醇或2%（v/v）氨水/甲醇溶液作为洗脱液。

课题组研究结果显示，用6 mL甲醇或6 mL 2%（v/v）氨水/甲醇洗脱两次的效果均较好。因此，以6 mL甲醇和6 mL 2%（v/v）氨水甲醇溶液作为洗脱液，保证了各类抗生素均有较高的回收率。

**5.5.3 仪器条件的优化**

（1）流动相优化

正离子模式下，色谱柱需要快速有效地分离16种目标抗生素，分离效果会根据流动相极性特征以及酸碱度表现出不同的效果。本方法选择了三种流动相：甲醇-水、乙腈-水和乙腈-0.2%（v/v）甲酸/水溶液，来考察正离子模式下16种抗生素的色谱分离效果。采用优化后的流动相体系时16种抗生素的总离子流色谱图（200 *μ*g/L）见图2。



图2 采用优化后流动相体系时16种抗生素的总离子流色谱图（200 *μ*g/L）

（2）优化质谱条件

质谱仪器分析是依赖于检测物质的离子质荷比（质量/电荷比，m/z）对物质进行定性分析，因此结合文献并根据6类抗生素的理化性质，特别是分子结构中的基团特征，最终选择多反应监测下ESI+模式进行扫描。

优化质谱条件的进样方式为半自动式，将质量浓度为100 *μ*g/L的单个标准储备液注入离子源，流速为5 *μ*L/min。进行一级质谱分析时，选取响应峰最高的离子峰作为母离子Q1；再进行二级质谱分析，检测物质会受到550 V电压的轰击作用，母离子发生破碎得到少数碎片离子，选择两个以上响应峰值最高的离子峰，其对应的离子质荷比称为子离子Q3；最后在多反应模式下，根据定量、定性离子对（Q1/Q3）对目标化合物进行碰撞能量（CE）、去簇电压（DP）、入口电压（EP）、出口电压（CXP）等质谱参数的优化，质谱参数的优化可以调整峰形，使其达到检测多种化合物时所需的准确度和精确性。16种抗生素在多反应监测模式下的质谱参数见表4。

表4 16种磺胺类抗生素的质谱参数

| 抗生素 | 母离子*（m/z）* | 子离子*（m/z）* | 碰撞能量/V | 去簇电压/V | 入口电压/V | 出口电压/V |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 磺胺醋酰 | 215.1 | 156.0\* | 11 | 50 | 50 | 50 |
| 107.9 | 23 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺嘧啶 | 251.0 | 156.0\* | 16 | 50 | 50 | 50 |
| 108.0 | 27 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺噻唑 | 255.8 | 156.0\* | 24 | 50 | 50 | 50 |
| 108.0 | 35 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺吡啶 | 250.2 | 156.1\* | 24 | 50 | 50 | 50 |
| 184.1 | 24 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺甲嘧啶 | 265.0 | 107.9\* | 18 | 50 | 50 | 50 |
| 156.0 | 15 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺甲二唑 | 271.1 | 156.2\* | 22 | 50 | 50 | 50 |
| 108.2 | 35 | 50 | 50 | 50 |
| 甲氧苄啶 | 291.0 | 230.0\* | 28 | 50 | 50 | 50 |
| 261.0 | 26 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺二甲嘧啶 | 278.9 | 186.1\* | 19 | 50 | 50 | 50 |
| 155.9 | 18 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺甲氧哒嗪 | 280.9 | 155.9\* | 17 | 50 | 50 | 50 |
| 92.0 | 31 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺甲噁唑 | 253.8 | 155.9\* | 23 | 50 | 50 | 50 |
| 108.1 | 35 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺间甲氧嘧啶 | 281.0 | 156.1\* | 19 | 50 | 50 | 50 |
| 107.8 | 28 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺对甲氧嘧啶 | 280.9 | 156.1\* | 25 | 50 | 50 | 50 |
| 108.0 | 37 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺邻二甲嘧啶 | 311.1 | 155.9\* | 19 | 50 | 50 | 50 |
| 107.7 | 30 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺异噁唑 | 268.1 | 155.9\* | 22 | 50 | 50 | 50 |
| 113 | 24 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺苯酰 | 277.1 | 155.8\* | 20 | 50 | 50 | 50 |
| 108.1 | 35 | 50 | 50 | 50 |
| 磺胺间二甲氧嘧啶 | 310.9 | 156.0\* | 32 | 50 | 50 | 50 |
| 108.0 | 25 | 50 | 50 | 50 |

\*表示定量离子

**5.5.4 标准曲线、检出限、定量限、回收率**

根据高效液相色谱-串联质谱检测器的灵敏度及线性要求，配置一定浓度范围的磺胺类抗生素系列标准工作溶液，分别测定目标化合物色谱峰面积，将色谱峰面积对浓度线性拟合得到工作曲线。对16种100 μg/L的抗生素混合标准溶液用HPLC-MS/MS连续测定3次，得出的RSD为精密度。16种抗生素的检出限与定量限见表5。

环境样品分析需要通过空白加标回收实验验证方法的可行性，本方法以实验室自制的超纯水做加标浓度为10 ng/L和100 ng/L的空白回收实验，设置3个平行样和1个空白水样。回收实验的回收率（Rec）和精密度（RSD）的详细结果见表5。

结果表明，加标浓度为100 ng/L时目标抗生素的加标回收率为79.6%~120.2%，相对标准偏差为1.1%~8.9%；加标浓度为10 ng/L目标抗生素的加标回收率61.1%~123.8%，相对标准偏差为3.8%~12.5%。

表5 16种磺胺类抗生素的方法检出限、方法定量限、回收率和标准偏差

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 抗生素 | LOQ (ng/L) | LOD (ng/L) | 10 ng/L | 100 ng/L |
| 加标回收率（%） | 相对标准偏差（%） | 加标回收率（%） | 相对标准偏差（%） |
| 磺胺醋酰 | 0.462 | 1.540 | 83.4~90.1 | 3.8 | 101.1~108.6 | 3.6 |
| 磺胺嘧啶 | 0.010 | 0.034 | 83.9~102.4 | 9.9 | 91.8~104.3 | 6.4 |
| 磺胺噻唑 | 0.045 | 0.150 | 61.1~76.1 | 10.9 | 79.6~81.2 | 1.1 |
| 磺胺吡啶 | 0.045 | 0.149 | 78.3~88.0 | 5.9 | 94.7~108.0 | 7.0 |
| 磺胺甲嘧啶 | 0.008 | 0.028 | 72.3~98.5 | 12.5 | 82.1~91.3 | 5.3 |
| 磺胺甲二唑 | 0.070 | 0.234 | 96.8~123.8 | 12.2 | 91.9~96.7 | 2.8 |
| 甲氧苄啶 | 0.001 | 0.003 | 84.5~108.4 | 12.4 | 110.4~118.4 | 3.7 |
| 磺胺二甲嘧啶 | 0.012 | 0.039 | 99.1~118.2 | 9.3 | 100.7~120.2 | 8.9 |
| 磺胺甲氧哒嗪 | 0.028 | 0.095 | 66.9~80.2 | 6.8 | 101.3~105.9 | 2.3 |
| 磺胺甲噁唑 | 0.033 | 0.109 | 83.8~89.3 | 3.5 | 100.4~104.8 | 2.3 |
| 磺胺间甲氧嘧啶 | 0.048 | 0.159 | 77.5~92.4 | 9.2 | 105.0~114.5 | 4.6 |
| 磺胺对甲氧嘧啶 | 0.032 | 0.108 | 90.8~102.7 | 6.7 | 83.7~93.1 | 5.4 |
| 磺胺邻二甲嘧啶 | 0.107 | 0.356 | 69.1~84.9 | 11.5 | 84.2~94.4 | 5.9 |
| 磺胺异噁唑 | 0.013 | 0.042 | 93.8~104.3 | 5.5 | 93.4~106.1 | 6.9 |
| 磺胺苯酰 | 0.025 | 0.083 | 80.8~89.4 | 5.4 | 87.7~96.3 | 4.7 |
| 磺胺间二甲氧嘧啶 | 0.025 | 0.082 | 80.6~93.7 | 6.7 | 83.4~95.3 | 6.2 |

## 5.6 结果计算

**5.6.1定性分析**

每个目标化合物选择 1 个母离子和 2 个子离子进行定性分析。在相同的实验条件下，试样中目标化合物的保留时间与标准样品中该目标化合物的保留时间比较，相对偏差的绝对值应小于 2.5%；样品谱图中各目标化合物定性离子的相对离子丰度（*K*sam）与浓度接近的标准溶液谱图中对应的定性离子的相对离子丰度（*K*std）进行比较，偏差不超过表 6规定的范围，则可判定为样品中存在对应的目标化合物。定性离子的相对离子丰度分别按照式（1）、式（2）计算：

 $K\_{sam}=\frac{A\_{2}}{A\_{1}}$ （1）

式中：*K*sam——样品中某组分定性离子的相对离子丰度， %；
*A*2——样品中某组分定性离子对的峰面积（或峰高）；
*A*1——样品中某组分定量离子对的峰面积（或峰高）。

 $K\_{std}=\frac{A\_{std2}}{A\_{std1}}$ （2）

式中：*K*std——标准样品中某组分定性离子的相对离子丰度， %；

*A*std2——标准样品中某组分定性离子对的峰面积（或峰高）；
*A*std1——标准样品中某组分定量离子对的峰面积（或峰高）。

 表 6 定性确认时相对离子丰度的最大允许偏差 单位： %

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 标准样品中某组分定性离子的相对离子丰度（*K*std） | *K*std＞50 | 20＜*K*std≤50 | 10＜*K*std≤20 | *K*std≤10 |
| 样品中某组分定性离子的相对离子丰度（*K*sam）允许的最大偏差 | ±20 | ±25 | ±30 | ±50 |

**5.6.2 结果计算**

样品中目标化合物的质量浓度，按照式（3）计算：

 ρ *i* = ρ1 ×*D* （3）

式中： *ρi* ——样品中目标化合物的质量浓度， μg/L；
 *ρ*1 ——由标准曲线得到的试样中目标化合物的质量浓度， μg/L；
 *D* ——样品的稀释倍数。

**5.6.3 结果表示**

测定结果小数点后位数的保留与方法检出限一致，最多保留 3 位有效数字。

# 6. 方法验证

## 6.1 方法验证方案

按照《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010） 的要求进行方法验证。根据影响方法的精密度和准确度的主要因素和数理统计学的要求， 编制方法验证报告，验证数据主要包括精密度、准确度以及加标回收率等。本标准编制组向4家验证单位提供了统一的抗生素标准贮备液以及地表水和城市污水处理厂废水样品。

**6.1.1 验证方案**

编制组根据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》（HJ 168-2010）的要求编写了《水质 抗生素的测定 高效液相色谱-质谱法 方法验证方案》，主要技术要求如下：

**（1）精密度的测定**

选择地表水和城市污水处理厂废水的实际水样，配制浓度为 10.0 ng/L和100 ng/L 的加标样品。采用固相萃取法，由各个实验室进行测定，每种样品平行测定3次。将所得数据填入《方法验证报告》中，并按规定公式进行平均值、标准偏差、相对标准偏差等各项参数的计算。

**（2）准确度的测定**

选择地表水和城市污水处理厂废水的实际水样，配制浓度为 10.0 ng/L和100 ng/L 的加标样品。采用固相萃取法，由各个实验室进行测定，每种样品平行测定3次。将所得数据填入《方法验证报告》中，并按规定公式计算平均值和加标回收率。

## 6.3 方法验证过程

筛选有资质的验证单位，向验证单位提供方法草案、验证方案、标准溶液和验证报告格式。验证单位按照方法草案准备实验用品，在规定时间内完成验证实验并反馈验证结果报告。在方法验证前，参加验证的操作人员应熟悉和掌握方法原理、操作步骤及流程。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。

## 6.4 方法验证结论

# 7. 与开题报告的差异说明

适用范围变更为地表水和城市污水处理厂废水。

# 8. 标准征求意见情况

待完成。

# 9. 标准技术审查情况

待完成。