DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2013.07.028

头孢曲松氯化消毒转化产物鉴定及机理研究*

李立平 魏东斌** 杜宇国

(环境化学与生态毒理学国家重点实验室,中国科学院生态环境研究中心,北京,100085)

摘 要 以头孢曲松为目标化合物,探索其在氯消毒处理中的转化机理.结果显示头孢曲松在氯化处理中主要发生两种反应,一种为氧化反应,另一种为氯化反应.头孢曲松分子中的硫醚官能团经氧化生成亚砜产物,消毒剂中的氯原子与噻唑环中的4-C原子发生亲电取代反应生成氯代产物.更为重要的是,本研究还探讨了低浓度头孢曲松在环境水体基质中的氯化转化特征,结果表明,本文所推测的反应机理在含头孢曲松的实际环境水样的氯化处理中同样发生.

关键词 头孢曲松, 氯化, 消毒副产物, 转化机理.

近年来抗生素的生产和使用急剧增长^[1],头孢菌素是抗生素中应用最广泛的一类^[2],据报道,头孢 菌素的用量占抗生素总量的50%—70%^[3].头孢菌素被摄入生物体后,仅有一小部分可被代谢,绝大部 分以母体及初级代谢产物的形式排出,进入市政污水系统.传统污水处理工艺难以高效去除该类药物, 导致大量头孢菌素进入环境水体^[4].目前,头孢菌素在国内外地表水中频繁检出.例如,头孢噻肟是深圳 某污水处理厂出水中检出的最主要微量有机污染物,浓度达1100 ng·L^{-1[5]}.台湾某污水处理厂进水中 头孢唑啉的浓度为83—8793 ng·L⁻¹,出水中浓度为2076—3807 ng·L^{-1[6]}.头孢菌素进入环境水体后对 生态环境及人类健康造成潜在威胁.头孢菌素能诱导水体中菌株产生抗药性,并经环境暴露传递给水生 动物和人体,降低人体对抗生素药物的敏感性,影响疾病治疗效果^[7].此外,大量头孢菌素进入地表水, 会通过食物链和食物网在人体内累积,对人类健康产生不可忽视的影响^[8].

头孢曲松是一种半合成的第三代广谱头孢菌素,对呼吸道疾病疗效显著^[9],其结构式如下:



长期以来,消毒是传统污水处理工艺的必要环节,由于消毒剂氯价格低廉,杀菌效率高,在国际水处 理行业中应用广泛^[10].文献报道消毒剂氯可与多种抗生素发生化学反应^[11-13],但有关消毒剂氯与头孢 类抗生素反应的研究鲜有报道,Jiang等报道了头孢曲松在沉积物中的生物降解和非生物降解特征^[2].

本文以头孢曲松为目标化合物,探究其在氯化消毒处理中的转化机理,并以环境水体为基质,模拟 目标化合物在消毒处理中的转化行为,为准确评价该类污染物的环境归趋、优化消毒工艺参数提供科学 依据.

1 实验部分

1.1 药品与试剂

头孢曲松购自日本 TCI 公司;次氯酸钠购自日本 Wako 公司;甲酸(色谱纯)购自美国 Acros 公司;乙

²⁰¹³年2月28日收稿.

^{*}国家自然科学基金项目(21077123, 20877090, 50938004)资助.

^{* *} 通讯联系人, Tel:010-62849441; E-mail: weidb@ rcees. ac. cn

腈(色谱纯)购自 Fisher Scientific 公司;超纯水由 Millipore Purification System 制得. 其他所有试剂均为分 析纯.

1.2 主要仪器与设备

四极杆飞行时间串联质谱仪(micrOTOF QII,德国 Bruker 公司);超高效液相色谱仪(UPLC) (Ultimate 3000,美国 DIONEX 公司).

1.3 氯化实验

为全面探究头孢曲松在氯化处理中的转化机理,本研究设定较高的初始浓度(5 mmol·L⁻¹)以避免 遗漏部分转化产物.同时,考虑到实际环境水体的 pH 值范围 6—9^[14],本研究氯化反应均在中性条件 (pH 7.6)下进行,反应体系的 pH 由 0.2 mmol·L⁻¹磷酸二氢钠-磷酸氢二钠缓冲溶液维持.

取 10 mL浓度为 5 mmol·L⁻¹的头孢曲松溶液于 25 mL 铝箔包裹的锥形瓶中,加入 215 μL 浓度为 2.30 mmol·L⁻¹的次氯酸钠溶液,头孢曲松与次氯酸钠的物质的量之比为 1:10,以确保头孢曲松反应完 全. 在避光、恒温 25 ℃搅拌反应 1 h,立即加入 1 mmol·L⁻¹亚硫酸钠溶液终止反应,亚硫酸钠与次氯酸钠 的物质的量之比为 1.2:1^[15],以保证剩余次氯酸钠被还原而终止反应. 将终止后的反应液在 10000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液,UPLC-MS 检测.所有实验均设两个平行.

1.4 环境水样氯化处理

为更好地模拟环境浓度水平的头孢曲松在实际消毒处理中的转化特征,采集北京郊区某水库水样, 基本水质参数如下:pH=8.51,DOC=4.2 mg·L⁻¹, [NH₄⁺-N]=0.15 mg·L⁻¹.水样经0.45 µm 玻璃纤 维滤膜过滤两次.量取400 mL 过滤后的水样于1 L 茄型烧瓶中,先后投加头孢曲松和次氯酸钠储备液, 浓度分别为1 µmol·L⁻¹和2.66 mg·L⁻¹.避光、恒温25 ℃搅拌反应1 h.将反应液旋转蒸发近干,剩余溶 液转移至25 mL 梨形瓶中,并用适量高纯水淋洗茄形瓶3次,淋洗液并入梨形瓶,旋蒸至干.加入1 mL 超纯水溶解蒸干的样品,经0.22 µm 滤膜过滤后 UPLC-MS 检测.

1.5 色谱条件

色谱柱为 Agilent SB-Aq column (2.1 mm×100 mm,1.8 μm);流动相 A:纯乙腈,流动相 B:0.25% 甲酸水溶液;流速:0.2 mL·min⁻¹;梯度洗脱条件如表1 所示.进样体积为3 μL;离子源:电喷雾离子源 ESI;扫描模式:正离子;干燥气温度:220 ℃;干燥气流量:4 L·min⁻¹.

Table 1	Gradient procedures of ultra performance liquid chromatography (UPLC)	
时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	95	5
15.0	70	30
15.1	40	60
20.0	40	60
27.0	28	72
27.1	10	90
32.0	5	95
35.0	5	95
35.1	95	5
45.0	95	5

表1 UPLC 梯度洗脱条件

2 结果与讨论

2.1 产物鉴定

头孢曲松经氯化处理后混合液的总离子流图如图 1 所示,可以看出,有 3 个比较明显的产物峰出现,分别标记为 P1、P2 及 P3,各产物的精确分子量及同位素信息如图 2 所示.











由图 2 可知, P1 和 P2 分子量相同, 均为 571.045, 且与母体化合物的分子量相差 16 Da, 初步推测 P1 和 P2 同为头孢曲松加氧产物的同分异构体. 从有机化学反应原理分析, 硫醚官能团中的硫原子容易 被氧化形成亚砜和砜^[16]. 头孢曲松分子结构中含有 3 个硫原子, 分别标记为 S1、S2 和 S3(图 3). 据文献 报道, 硫醚被氧化的难易与硫原子的电子云密度密切相关^[16], 而静电势电荷能较好地表征电子云密度. 因此, 利用 MOPAC 6.0 软件模拟计算头孢曲松中 3 个硫原子的静电势电荷(图 3), S1、S2 及 S3 的静电 势电荷分别为 0.1220 a. u. -0.2415 a. u. 及 -0.1988 a. u. 由此可见, S2 和 S3 原子的电子云密度较高, 容易发生氧化反应生成亚砜, 因此 P1 和 P2 应为在 S2 和 S3 发生氧化反应生成的亚砜产物. 而 S1 原子的静电势电荷为正, 不容易被氧化.



图 3 头孢曲松分子中部分原子的静电势电荷 Fig. 3 Electrostatic potential charges of some atoms in ceftriaxone

为进一步确定 P1 及 P2 的分子结构,对其二级质谱进行解析. P1 的二级质谱如图 4 所示,碰撞能量为 15 eV 时,P1 共产生 3 个主要碎片峰,分别为 m/z 412.0395、394.0304 及 350.0404.根据内酰胺类化合物在软电离 ESI 下轰击时的断裂规律,对 3 个主要碎片峰的分子结构进行推测,结果如图 4 所示.3 个碎片峰的结构完全支持表 2 中所推测的 P1 结构,从而为 P1 结构的确定提供了理论依据,由于 P1 结构的确定,其同分异构体 P2 的结构也随之确定(表 2).



图 4 产物 P1 及 P3 的二级质谱图 Fig. 4 MS² spectra of P1 and P3 products







P3 的一级质谱图(图 2)显示其具有明显的氯同位素特征峰,表明 P3 中含有一个氯原子.此外,P3 精确分子量比母体大 50 Da,提示 P3 分子中除含有一个氯原子外,还可能含有一个氧原子.由图 3 可知,由于 S2 静电势电荷最负,亚砜产物 P1 最易生成.因此,P3 应为亚砜产物 P1 继续发生氯化反应而得.

为进一步验证这一推测,利用 MOPAC 6.0 软件计算噻唑环上 4-C 原子的静电势电荷(图3),为 -0.7615 a.u.,表明氯原子易与噻唑环中 4-C 发生亲电取代反应生成氯代产物 P3.另外,P3 的二级质 谱图解析结果进一步佐证所推测的结构.在12 eV 能量的轰击下,P3 碎裂成3 个碎片峰(图4),由同位 素信息可知,3 个碎片峰均含1 个氯原子.结合同位素信息及化合物的断裂规律,推测3 个碎片峰的结构、碎裂规律均与所推测的 P3 结构完全一致.

2.2 机理推导

根据文献[17-18],结合有机化学反应原理,推测亚砜产物 P1 及 P2 的形成机理如图 5(a)所示. 头孢曲松中的硫原子为活泼的亲核试剂,经亲电氯代、水解形成亚砜产物.氯化产物 P3 的生成机理如 图 5(b)所示.由于次氯酸分子中 Cl—O 键的极化使得氯原子带部分正电荷,较易与负电荷较高的原子 发生亲电取代反应.头孢曲松分子中的噻唑环存在 p-π 共轭效应,加之 2 位氨基取代基的给电子效应增 强了噻唑环共轭体系的电子云密度,使得 4-C 原子的负电性较高,易与氯原子发生亲电取代反应,生成 产物 P3.



图 5 产物 P1(a)和 P3(b)的生成机理 Fig. 5 Formation mechanisms for P1 (a) and P3 (b) products

在推测出 3 种主要转化产物分子结构的基础上,进一步对其反应路径进行了推导,如图 6 所示.头 孢曲松先经氧化反应生成 P1 及 P2 两种亚砜产物,P1 进一步发生亲电取代反应生成产物 P3.



图 6 头孢曲松在氯化消毒处理中的转化路径 Fig. 6 Transformation pathways of ceftriaxone in chlorination process

2.3 环境意义

图 7 中(a)、(b)分别为不含头孢曲松的空白环境水样及含头孢曲松的环境水样经氯化消毒所得总 离子流图. 与图 7a 相比,图 7b 中色谱峰的个数有明显不同,表明环境水样中的污染物确与次氯酸钠发 生反应生成转化产物.同时,比较图 2 (超纯水基质)与图 7(环境水体基质)可知,头孢曲松在环境水样 中氯化消毒后色谱峰数量明显增多,这一结果提示,实际水样中存在多种其他环境污染物,也可与次氯 酸钠溶液反应生成转化产物.虽然实际水样的氯化处理色谱峰增多,但就头孢曲松而言,超纯水基质中 所检出的主要产物 P1、P2 及 P3 在实际水样的氯化消毒处理中均被检出.由此说明,即使在复杂环境基 质条件下,环境浓度水平的头孢曲松在氯化消毒过程中的转化机理仍能重现.



图 7 环境水样消毒前后总离子流图 (a)空白水样;(b)头孢曲松氯化消毒后水样

Fig.7 Total ion chromatogram of ambient water sample before and after chlorination treatment (a) blank ambient water matrix without chlorination, (b) ambient water matrix spiked ceftriaxone with chlorination

3 结论与展望

综上,头孢曲松在氯化消毒处理中可发生两种主要类型的反应,一种为氧化反应,另一种为氯化反 应.头孢曲松分子中的硫原子经氧化生成亚砜,而噻唑环中的4-C原子由于具有较高的负电性,容易与 氯原子发生亲电取代反应生成氯代产物.较低浓度水平的头孢曲松在复杂环境水体基质的氯化处理中 仍能再现所推测的反应机理.以往研究多关注抗生素在氯化过程中的转化动力学及反应机理,对反应前 后的毒性变化关注较少.因此,在今后的研究工作中,应对头孢菌素在氯化过程中的毒性进行深入研究, 这样才能更全面地了解头孢菌素在氯化消毒处理中的潜在危害,从而为优化工艺参数,科学评价头孢类 抗生素的环境归趋和潜在风险提供参考.

参考文献

- [1] Heberer T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data [J]. Toxicology Letters, 2002, 131: 5-7
- [2] Jiang M X, Wang L H, Ji R. Biotic and abiotic degradation of four cephalosporin antibiotics in a lake surface water and sediment [J]. Chemosphere, 2010, 80: 1399-1405
- [3] Kümmerer K. Antibiotics in the aquatic environment: A review-Part I [J]. Chemosphere, 2009, 75: 417-434
- [4] Dodd M C, Rentsch D, Singer H P, et al. Transformation of β-lactam antibacterial agents during aqueous ozonation: reaction pathways and quantitative bioassay of biologically-active oxidation products [J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44: 5940-5948

- [6] Lin A Y C, Lin C F, Tsai Y T, et al. Fate of selected pharmaceuticals and personal care products after secondary wastewater treatment process in Taiwan [J]. Water Science and Technology, 2010, 62: 2450-2458
- [7] Li X L, Zheng W, Machesky M L, et al. Degradation kinetics and mechanism of antibiotic ceftiofur in recycled water derived from a beef farm [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59: 10176-10181
- [8] Andreozzi R, Cappio V, Ciniglia C, et al. Antibiotics in the environment: Occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin [J]. Environmental Science & Technology, 2004, 38: 6832-6838
- [9] Carreerr R, Deby-Dupont G, Deby C, et al. Oxidant-scavening activities of beta-lactam agents [J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 1998, 17: 43-45
- [10] Li B, Zhang T. pH significantly affects removal of trace antibiotics in chlorination of municipal wastewater [J]. Water Research, 2012, 46: 3703-3713
- [11] Dodd M C, Shan A D, von Gunten U, et al. Interactions of fluoroquinolone antibacterial agents with aqueous chlorine: Reactions kinetics, mechanisms, and transformation pathways [J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39: 7065-7076
- [12] Wang P, He Y L, Huang C H. Reactions of tetracycline antibiotics with chlorine dioxide and free chlorine [J]. Water Research, 2011, 45: 1838-1846
- [13] Chamerlain E, Adams C. Oxidation of sulfonamides, macrolides, and carbadox with free chlorine and monochloramine [J]. Water Research, 2006, 40: 2517-2526
- [14] Deborde M, von Gunten U. Reaction of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment-Kinetics and mechanisms: A critical review [J]. Water Research, 2008, 42: 13-51
- [15] Qiang Z M, Macauley J J, Mormile M R, et al. Treatment of antibiotics and antibiotic resistant bacteria in swine wastewater with free chlorine [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54: 8144-8154
- [16] Spry D O. Oxidation of penicillin and dihydrocephalosporine derivatives with ozone [J]. Journal of Organic Chemistry, 1976, 37: 793-795
- [17] Drozdz R, Naskalski J W, Sznajd J. Oxidation of aminoacids and peptides in reaction with myeloperoxidase, chloride and hydrogen peroxide [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1988, 957: 47-52
- [18] Armesto X L, Canle L M, Fernandez M I, et al. First steps in the oxidation of sulfu-containing amino acids by hypohalogenation: Very fast generations of intermediate sulfenyl halides and halosulfonium cations [J]. Tetrahedron, 2000, 56: 1103-1109

Transformation of ceftriaxone in chlorination process : Products identification and transformation pathways

LI Liping WEI Dongbin* DU Yuguo

(State Key Laboratory of Environmental Chemistry and Ecotoxicology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100085, China)

ABSTRACT

Ceftriaxone was targeted to explore its transformation pathways in chlorination process. The results demonstrated that two reactions occurred during ceftriaxone chlorination, one was oxidation of sulfur atom in thioether to form sulfoxide products, and the other was electrophilic substitution by chlorine atom on 4-carbon atom with large negative charge in thiazole ring of ceftriaxone. In addition, we simulated the chlorination process of trace level ceftriaxone in ambient water matrix. It was found that the proposed transformation pathways of ceftriaxone in ultrapure water matrix occured in the ambient water matrix.

Keywords: ceftriaxone, chlorination, disinfection by products, transformation mechanism.