

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2013.08.026

超高效液相色谱串联质谱检测再生水及土壤中的医药品^{*}

伊丽丽¹ 陈卫平¹ 焦文涛^{1**} 李 曼²

(1. 中国科学院生态环境研究中心,城市与区域生态国家重点实验室,北京,100085;

2. 河北科技大学,环境科学与工程学院,石家庄,050018)

医药品环境污染及其生态效应已成为我国乃至全球所面临的重大环境问题之一.医药品残留的同步检测技术中,固相萃取结合高效液相色谱串联质谱联用技术是目前较为常用的方法.但目前国内研究较多的是单类医药品的同时检测,比如抗生素类(单类或多类)、 β -受体阻断剂等,对于多类医药品同时检测的方法的研究还比较少.

本研究利用50% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ -10% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ 缓冲液和含50%甲醇的 Na_2EDTA -McIlvaine缓冲液($\text{pH}=4$)固相萃取浓缩净化,结合超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)分析技术,建立了同时检测再生水和土壤中10种医药品的分析方法,在13 min内完成了10种医药品的快速分离检测.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

ACQUITY UPLC 超高效液相色谱仪、Quattro Premier XE 质谱联用仪、Masslynx 4.1 工作站(美国 Waters 公司); ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm)、Oasis HLB 固相萃取柱(6 mL/500 mg,美国 Waters 公司); 氧氟沙星(OFL)、诺氟沙星(NOR)、磺胺嘧啶(SDZ)、磺胺甲恶唑(SMX)、四环素(TC)、土霉素(OTC)、氨苄青霉素(AMP)、布洛芬(IBP)、双氯芬酸(DCF)均购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司;环丙沙星(CIP)购自美国 Sigma 公司;甲醇、乙腈和乙酸乙酯(色谱纯,Dikma 公司);超纯水(电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$).

1.2 样品采集与前处理

考虑到再生水及土壤中医药品的种类较多,性质差异较大,选择不加任何酸碱的原 pH 条件下进行固相萃取.

取1 L水样,静置,将上清液过0.45 μm 的滤膜.预先采用5 mL甲醇、5 mL超纯水对HLB柱进行活化处理.控制流速约为3—5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 使提取液通过HLB柱,然后用10 mL超纯水冲洗,继续抽真空10 min以除去柱中残留水分.最后,以2 mL甲醇淋洗3次,收集洗脱液在室温下用 N_2 吹扫至近干,用甲醇-水($V:V=1:1$)定容至1 mL,待测.

土样采自北京农林科学院国家农业信息化工程技术研究中心深100 cm的自然发育的土壤(平均分5层测定).自然风干后过100目筛.称取1.0000 g土样,加入50% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ -10% $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ 缓冲液5 mL,振荡5 min,超声提取15 min,离心收集上清液.反复提取3次后合并提取液稀释至200 mL.另外称取1.0000 g土样,加入含50%甲醇的0.1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Na_2EDTA -McIlvaine缓冲液($\text{pH}=4$)10 mL,重复之前操作,合并提取液稀释至500 mL.后均同水样处理.

1.3 色谱及质谱条件

流动相为0.2%乙酸的水溶液(A)和乙腈(B);柱温30 $^{\circ}\text{C}$;流速0.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;梯度洗脱程序:(0 min,95% A) $\rightarrow$ (1 min,95% A) $\rightarrow$ (5 min,75% A) $\rightarrow$ (8 min,10% A) $\rightarrow$ (9.5 min,10% A) $\rightarrow$ (10 min,95% A) $\rightarrow$ (13 min,95% A);进样量10 μL .

电喷雾离子源;正负离子扫描;雾化气、脱溶剂气、锥孔气为氮气,碰撞气为氩气;源温度和脱溶剂气温度分别为120 $^{\circ}\text{C}$ 和400 $^{\circ}\text{C}$;脱溶剂流速和锥孔气流速分别为650 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ 和50 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$;毛细管电压为3.5 kV;检测方式为MRM模式.

2 结果与讨论

2.1 色谱与质谱条件优化

比较了不同的流动相组合(含0.1%、0.2%、0.5%的甲酸、乙酸、草酸或乙酸铵的水溶液分别与甲醇或乙腈组合)、柱温(25、30、35、40 $^{\circ}\text{C}$)、梯度洗脱顺序(5种)对目标物分离效果的影响.最后综合考虑目标物的峰形、灵敏度及平衡时间,最终选择0.2%乙酸(pH 值在2.7—2.8之间)作为水相流动相(A)和乙腈作为有机相流动相(B)的组合、30 $^{\circ}\text{C}$ 柱温、时间为13 min的梯度洗脱顺序.在以上条件下,10种医药品在10 min内实现了较好的分离.

10种医药品的扫描模式、母/子离子及其优化电压如表1所示.

2013年1月23日收稿.

^{*} 国家自然科学基金青年科学基金项目(41001330)资助.

^{**} 通讯联系人,Tel:010-62843981;E-mail:wtjiao@rcees.ac.cn

表 1 多反应监测模式下 10 种医药品的质谱分析参数

物质	类别	母/子离子	锥孔电压/V	碰撞电压/V	ESI 模式
OFL	氟喹诺酮类	362.0>318.2,362.0>260.9	25	15、25	+
NOR	氟喹诺酮类	320.0>233.0,320.0>275.9	35	23、22	+
CIP	氟喹诺酮类	332.0>288.0,332.0>313.8	30	18、27	+
SDZ	磺胺类	250.9>91.2,250.9>155.2	20	28、15	+
SMX	磺胺类	253.7>106.8,253.7>155.0	25	25、15	+
TC	四环素类	445.0>153.3,445.0>409.9	28	15、18	+
OTC	四环素类	461.0>426.1,461.0>443.0	15	15、13	+
AMP	青霉素类	382.0>159.5,382.0>222.8	25	25、13	+
IBP	消炎止痛药类	205.0>160.9	18	8	-
DCF	消炎止痛药类	293.9>249.8,293.9>213.7	23	10、20	-

2.2 洗脱溶剂和土壤样品提取缓冲液的选择

在 500 mL 超纯水中添加混合标准溶液使其中医药品的浓度为 500 μg·L⁻¹,进行固相萃取试验. 分别考察不同极性有机溶剂的洗脱效果和不同提取缓冲液的提取效率. 洗脱溶剂分别为:6 mL 甲醇、6 mL 乙腈、6 mL 乙酸乙酯、6 mL 甲醇-乙酸乙酯 (V: V=1:1). 提取缓冲液分别为: A. 0.1 mol·L⁻¹ Na₂ EDTA-McIlvaine 缓冲液 (pH=4)、B. 含 50% 甲醇的 0.1 mol·L⁻¹ Na₂ EDTA-McIlvaine 缓冲液 (pH=4)、C. 0.2 g 的 Na₂ EDTA + 含 50% 乙腈的磷酸盐缓冲液 (pH=2)、D. 50% Mg(NO₃)₂-10% NH₃·H₂O 缓冲液. 根据实验结果,甲醇对大多数化合物具有较好的洗脱效果. 乙酸乙酯对于氟喹诺酮类药物的洗脱效果较差,原因可能是乙酸乙酯的极性较弱,对氟喹诺酮类药物的溶解能力较差. 乙腈对于氟喹诺酮类药物的洗脱效果较好但对其他药物的洗脱效果较差. 综合考虑,最终选定 6 mL 甲醇为洗脱溶剂. A 缓冲液对 10 种医药品的回收率大多在 40%—60%,在其中加入甲醇后,大部分医药品的回收率得到改善,但对氟喹诺酮类药物的回收率较低. 原因可能是氟喹诺酮类药物的极性结构决定了其可溶于有机溶剂和碱性水溶液,而 A 缓冲液的 pH 较低. C 缓冲液仅对 NOR 和环丙沙星的 CIP 较好. 为了提高氟喹诺酮类药物的回收率,选择 D 缓冲液对其单独提取. 其他化合物采用 B 缓冲液提取.

2.3 线性范围、检出限、回收率

配制 10—1000 μg·L⁻¹ 的系列工作标准溶液,绘制标准工作曲线. 10 种医药品的浓度与峰面积线性关系很好,相关系数 R² > 0.99. 设定信噪比 (S/N = 3) 为检出限. 在 500 mL 超纯水中添加混合标准溶液使其中医药品的浓度为 500 μg·L⁻¹、100 μg·L⁻¹,进行水样回收率实验. 在土壤,称取 1.0000 g 不含目标物的土样(0—20 cm)添加混合标准溶液使其中医药品的浓度为 500 μg·kg⁻¹、100 μg·kg⁻¹,在室温下暗处放置 24 h 后进行土样回收率实验. 10 种医药品在水样和土样中的检出限和回收率如表 2 所示.

表 2 10 种医药品在水样和土样中的检出限和回收率 (n=3)

物质	水样检出限/ (ng·L ⁻¹)	土样检出限/ (μg·kg ⁻¹)	水样回收率% ± RSD/%		土样回收率% ± RSD/%	
			100 μg·L ⁻¹	500 μg·L ⁻¹	100 μg·L ⁻¹	500 μg·L ⁻¹
OFL	1.93	6.73	65.4 ± 5.7	61.3 ± 8.5	57.4 ± 6.7	51.1 ± 5.4
NOR	10.17	14.94	72.5 ± 9.3	73.6 ± 4.8	69.2 ± 4.3	76.2 ± 7.5
CIP	14.41	21.12	69.2 ± 9.1	75.6 ± 13.0	68.7 ± 6.8	68.5 ± 5.7
SDZ	2.96	1.53	60.1 ± 14.2	61.8 ± 13.6	72.1 ± 9.4	67.8 ± 8.9
SMX	3.29	5.35	67.2 ± 6.4	60.7 ± 4.3	66.5 ± 7.9	80.5 ± 6.5
TC	6.85	23.67	76.4 ± 11.1	83.0 ± 3.0	77.8 ± 19.7	83.2 ± 19.6
OTC	0.98	3.56	86.3 ± 3.7	86.6 ± 1.9	87.3 ± 20.2	78.3 ± 7.8
AMP	15.94	28.90	87.9 ± 10.8	89.1 ± 12.0	77.6 ± 19.5	73.1 ± 12.1
IBP	24.82	36.77	78.0 ± 5.8	87.8 ± 7.5	78.5 ± 15.1	77.4 ± 5.8
DCF	15.39	29.38	79.7 ± 8.4	90.5 ± 9.3	68.0 ± 17.5	85.3 ± 4.4

2.4 实际样品测定

用本研究建立的方法检测中国科学院生态环境研究中心草坪灌溉所用的再生水,检出 2 种氟喹诺酮类抗生素. 氧氟沙星浓度为 107.8 ng·L⁻¹;诺氟沙星浓度为 68.0 ng·L⁻¹. 与国内相关文献报道的水平相比浓度偏低^[1]. 采自北京农林科学院国家农业信息化工程技术研究中心深 100 cm 的自然发育的剖面土壤中未检出目标医药品.

3 结论

利用 HLB 固相萃取柱结合超高效液相色谱串联质谱技术,可同时对再生水、土壤中的 10 种不同种类的医药品进行萃取测定. 该套方法简便、快速,方法的检出限和回收率可以满足测定实验室模拟样品的需求.

关键词: 抗生素, 消炎止痛药, 固相萃取, UPLC-MS/MS.

参 考 文 献

[1] Gao L H, Shi Y L, Li W H, et al. Occurrence of antibiotics in eight sewage treatment plants in Beijing, China [J]. Chemosphere, 2012, 86 (6): 665-671