

分析测试

磁性固相萃取-高效液相色谱串联三重四级杆质谱法测定环境水样中的磺胺类抗生素残留

杨梦晖¹, 金晶¹, 高仕谦¹, 顾海东², 张占恩^{1,3*}

- (1. 苏州科技大学环境科学与工程学院, 江苏 苏州 215009;
2. 苏州科技大学江苏省环境科学与工程重点实验室, 江苏 苏州 215009;
3. 苏州科技大学水处理技术与材料协同创新中心, 江苏 苏州 215009)

摘要:建立了磁性固相萃取-高效液相色谱串联三重四级杆质谱法分析环境水样中的磺胺类抗生素残留的方法。优化后的磁性固相萃取条件:将50 mg磁性萃取材料加入100 mL水样,调节水样pH至4,振荡萃取20 min后利用外加磁场收集磁性萃取材料,再用4 mL甲醇(含1%氨水)涡旋洗脱,分离洗脱液氮吹至干,用液相色谱初始流动相定容后进行高效液相色谱-串联质谱分析。4种磺胺类抗生素在5~500 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好,相关系数均大于0.999,检出限为4.2~4.7 $\mu\text{g/L}$,加标回收率为72.3%~88.5%,相对标准偏差在3.5%~10.2%之间。该方法简单便捷、用时短、重现性好、有机试剂消耗少,能够应用于实际水样中磺胺类抗生素的检测。

关键词:磁性固相萃取;高效液相色谱质谱联用;磺胺类抗生素;环境水样

中图分类号:X832

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2018)02-0215-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2018.02.052

Determination of sulfonamides residue in environmental water sample by using magnetic solid phase extraction-high performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry

YANG Meng-hui¹, JIN Jing¹, GAO Shi-qian¹, GU Hai-dong², ZHANG Zhan-en^{1,3*}

- (1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 3. Innovation Center of Water Treatment Technology and Material, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China)

Abstract: A method combining magnetic solid phase extraction with high performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry (HPLC-MS/MS) is established for the determination of sulfonamides residues in environmental water sample. The optimized magnetic solid phase extraction conditions are as follows: 50 mg of magnetic extraction materials is added into 100 mL of water sample and then the pH value of water sample is adjusted to 4. The magnetic extraction material is collected by external magnetic field after 20 min of extraction and then 4 mL of methanol (1% ammonia) is used to elute sulfonamides with eddying. The eluent is separated and then dried to dryness by nitrogen gas. Finally, the eluent is reintegrated to 1 mL by the initial mobile phase of liquid chromatography and analyzed by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. The analysis results of 4 kinds of sulfonamides exhibit fine linearity in the range of 5~500 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ with correlation coefficients all exceeding 0.999 and the detection limits are around 4.2~4.7 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The recoveries are 72.3%~88.5% and the relative standard deviations range from 3.5% to 10.2%. This method is easy and convenient with excellent reproducibility, requiring short time and few organic reagents, and can be applied to detect sulfonamides in real water samples.

Key words: magnetic solid-phase extraction; HPLC-MS/MS; sulfonamide antibiotics; environmental water samples

磺胺类抗生素(SAs)是一类广泛应用于人类医疗和畜牧养殖的广谱抗菌剂^[1]。大量使用这类抗生素不仅会提高细菌对抗菌剂的耐药性,也会导致生物体内毒性蓄积^[2]。环境中磺胺类抗生素主要

有两大来源:一是人类和畜禽尿液、粪便;二是城镇污水处理厂排放,进入环境水体^[3]。不仅对生态环境造成严重污染,还会威胁人类健康和社会的长远发展^[4]。

收稿日期:2017-08-25

基金项目:江苏省高校自然科学研究重大项目(15KJA610003);苏州科技大学青年基金项目(341511201);苏州科技大学人才引进科研项目(331511207)

作者简介:杨梦晖(1993-),女,硕士,研究方向为环境监测分析技术, syqj927@gmail.com;张占恩(1963-),男,博士,教授,研究方向为环境监测,通讯联系人, 0512-68093036, zhanenzhang@126.com。

目前测定磺胺类抗生素的方法主要有紫外光度法^[5]、毛细管电泳法^[6]、薄层色谱法^[7]、高效液相色谱法^[8]和高效液相色谱串联质谱法^[9]等。环境水样中磺胺类抗生素的前处理方法主要采用固相萃取(SPE)^[10]、固相微萃取(SPME)^[11]、液相微萃取法(LPME)^[12-13]等。以磁性材料为萃取剂的磁性固相萃取技术(MSPE)由于具有萃取高效、步骤简单等特点,成为当前环境、材料等多个领域的研究热点。磁性固相萃取法直接将萃取剂分散到水样中,解决了传统的固相萃取过程中常出现的柱堵塞难题。磁性纳米材料比表面积大,易于扩散,短时间内即能达到吸附平衡^[14-15],已成功应用于四环类抗生素^[16]、酰胺类除草剂^[17]等多类物质的分析检测。

笔者以由吡咯烷酮基和二乙烯基苯修饰的磁性纳米材料(Etp Elut PLS)为萃取剂,结合高效液相色谱串联三重四级杆质谱法建立了环境水样中 4 种磺胺类抗生素的分析方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Ultimate 3000 高效液相色谱仪,美国 Thermo 公司生产;TSQ Quantum Ultra EMR 三重四级杆质谱检测器,美国 Thermo 公司生产;HY-2 调速多用振荡器,苏州威尔实验用品有限公司生产;Milli-Q Academic 超纯水净化器,美国 Millipore 公司生产;SK-1 快速混匀器,金坛市科析仪器有限公司生产;DC-12 型氮吹仪,上海安普公司生产;雷磁 PHS-3C pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司生产;KQ-100E 超声波清洗器,昆山超声仪器有限公司生产。

磺胺吡啶、磺胺甲噁唑、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲基嘧啶标准品,纯度均达到 98.0%,上海阿拉丁生化科技股份有限公司生产。将磺胺类抗生素标准品用甲醇分别配制为 1000 mg/L 的标准储备液,于-4℃的冰箱中保存。实际使用时,再取适量标准储备液混合并用甲醇稀释配成 1.0 mg/L 的标准工作溶液;甲醇、乙腈、丙酮,均为色谱纯,美国 Tedia 公司生产;氨水,分析纯,无锡市展望化工试剂有限公司生产;冰乙酸,分析纯,上海润捷化学试剂有限公司生产;磁性纳米材料(Etp Elut PLS),上海英芮诚生化科技有限公司生产;实际水样为自来水和校园人工湖水,先后经 0.45 μm 和 0.15 μm 的水相滤膜过滤后于-4℃保存待用。

1.2 样品的前处理

准确称量 50 mg 磁性萃取材料于锥形瓶中,加

入 100 mL 含磺胺类抗生素(SAs)的水样,用冰乙酸调节 pH 为 4,振荡萃取 20 min。萃取完成后静置 5 min,利用磁铁吸附磁性萃取材料,小心倾去上层水样。然后用 4 mL 甲醇(含 1%氨水)分 2 次涡旋洗脱,每次 1 min,收集洗脱液并氮吹至干,用液相色谱初始流动相定容至 1.0 mL 后进行高效液相色谱-串联质谱分析。

1.3 色谱条件

色谱柱:Zorbax Eclipse XDB-C₁₈ 反向色谱柱(50 mm×3 mm, 1.8 μm),柱温为 25℃,流速为 0.2 mL/min,进样量为 10 μL,流动相 A 为 0.1%甲酸,流动相 B 为甲醇,洗脱梯度为 0~1 min,90% A~80% A;1~2.5 min,80% A~20% A;2.5~4.9 min,20% A;4.9~5 min,20% A~90% A;5~7 min,90% A。

1.4 质谱条件

离子源:电喷雾离子源(ESI⁺);毛细管温度:350℃;监测模式:选择反应监测(SRM);喷雾温度:300℃;正极喷雾电压:3 500 V,负极喷雾电压:3 000 V;鞘气流速:34 L/min。4 种磺胺类抗生素的反应监测模式的各参数如表 1 所示。

表 1 反应监测模式下 4 种磺胺类抗生素的质谱参数

抗生素	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能/V
磺胺吡啶	4.41	249.9	92.1, 155.9, 108.0*	27, 16, 26
磺胺甲噁唑	4.86	253.9	155.9, 108.0, 92.0*	15, 23, 25
磺胺甲基嘧啶	4.51	264.9	92.1, 171.8, 65.0*	27, 17, 42
磺胺二甲基嘧啶	4.70	278.9	185.9, 92.1, 124.1*	17, 30, 25

2 结果与讨论

2.1 磁性萃取剂的选择

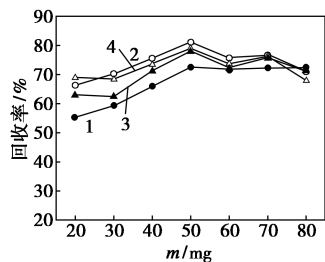
根据文献[18]中的报道,对比 PLS、C18、HLB 3 种富集材料可发现,PLS 材料对磺胺类抗生素的富集效果最优。而磁性纳米材料(Etp Elut PLS)是以普通 PLS 材料为基础的高级聚合物,其表面由亲水的吡咯烷酮基团和疏水的二乙烯基苯基团修饰,具有顺磁性、亲水亲脂较为平衡的特点。因而选择 Etp Elut PLS 作为磁性固相萃取的萃取剂,用于目标物磺胺类抗生素的吸附。

2.2 萃取条件优化

2.2.1 萃取材料的质量对萃取效率的影响

萃取材料的质量是影响磁性固相萃取效率的关键因素。分别选取 20、30、40、50、60、70、80 mg 磁性材料加入到 100 mL 水样中进行实验,磁性材料质量

对萃取效率的影响如图1所示。由图1可以看出,当磁性萃取材料质量从20 mg增加到50 mg时,萃取效率明显提高;超过50 mg后,萃取效率出现小幅下滑,且再无显著增加趋势,因此,最佳磁性萃取材料质量为50 mg。

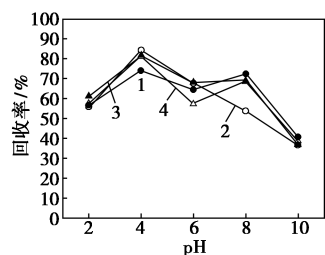


1—磺胺吡啶;2—磺胺甲噁唑;3—磺胺甲基嘧啶;
4—磺胺二甲基嘧啶

图1 磁性材料质量对萃取效率的影响

2.2.2 水样的 pH 对萃取效率的影响

水样的 pH 能够影响磁性萃取材料表面的电荷分布,从而影响萃取效率。分别考察了 pH 为 2、4、6、8、10 时,磁性萃取材料对目标物的吸附情况,如图2所示。由图2可以看出,当 pH 为 4 时,磁性萃取材料对磺胺类抗生素的吸附效果最佳;当 pH 为 10 时,萃取效率下降十分明显。这是由于 4 种磺胺类抗生素皆为弱酸性,当 pH 为 4 时,体系中 H^+ 浓度增大,根据电离平衡原理,反应向分子化方向进行,疏水作用增强,促进吸附,从而提高了萃取效率。因此,最适水样 pH 为 4。



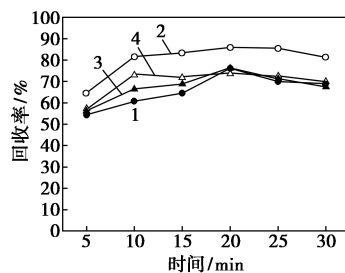
1—磺胺吡啶;2—磺胺甲噁唑;3—磺胺甲基嘧啶;
4—磺胺二甲基嘧啶

图2 pH 对萃取效率的影响

2.2.3 萃取吸附时间对萃取效率的影响

萃取吸附时间是磁性固相萃取过程中的关键考察因素。在确保萃取完全的情况下,应当选择最短的萃取吸附时间,从而提高分析检测效率。考察了萃取吸附时间分别为 5、10、15、20、25、30 min 时对萃取效率的影响,结果如图3所示。由图3可以看出,当振荡时间从 5 min 提高到 20 min 时,吸附效果逐渐增强;超过 20 min 后,萃取效率进入稳定期,表

明已达到吸附平衡。所以,选择最适萃取吸附时间为 20 min。



1—磺胺吡啶;2—磺胺甲噁唑;3—磺胺甲基嘧啶;
4—磺胺二甲基嘧啶

图3 萃取时间对萃取效率的影响

2.2.4 洗脱剂的选择

萃取完成后,选择合适的洗脱剂将目标抗生素洗脱下来是影响磁性固相萃取效率的关键。本试验中,选取甲醇、乙腈、丙酮 3 种洗脱溶剂,结果如表 2 所示。由表 2 可以看出,甲醇能够较好地磺胺类抗生素进行洗脱。同时还考察了含 1% 氨水的甲醇和 5% 氨水的甲醇的洗脱效果,结果发现,含 1% 氨水的甲醇洗脱能力更强。这是由于添加氨水后提高了洗脱剂的 pH, OH^- 浓度变大,与 H^+ 发生中和,根据电离平衡原理,反应向离子化方向移动,有利于解吸附的进行,亲水作用增强。由于甲醇与水极性相近,因此,能溶于极性较强的含 1% 氨水的甲醇中。而 5% 氨水的甲醇由于碱性过强反而降低了洗脱效率。因此,选择含 1% 氨水的甲醇为洗脱剂。

表2 不同种类洗脱剂洗脱效果分析 %

抗生素	丙酮	乙腈	甲醇	含 1% 氨水的甲醇	含 5% 氨水的甲醇
磺胺吡啶	43.32	47.99	57.57	69.29	64.92
磺胺甲噁唑	42.51	50.21	61.24	86.42	77.03
磺胺甲基嘧啶	43.32	46.52	61.41	78.16	69.89
磺胺二甲基嘧啶	40.25	37.00	53.50	79.37	62.49

2.2.5 洗脱剂的体积

洗脱剂体积不仅能够提高萃取效率,还能减少后续氮吹时间,节约有机溶剂。分别用 2、3、4、5、6、7 mL 的洗脱剂对磺胺类抗生素进行洗脱,结果发现,当洗脱剂用量为 4 mL 时,洗脱效率最高。因此,选用 4 mL 洗脱剂对目标物进行洗脱。

2.3 方法的线性范围和检出限

分别配制质量浓度分别为 0.5、1、5、10、50、100、500 $\mu g/L$ 的标准溶液,采用优化后的最佳条件对其进行前处理后进行 HPLC-MS/MS 分析测定,再以色谱峰面积 (y) 和浓度 (x , $\mu g/L$) 进行线性拟

合。结果表明,4 种磺胺类抗生素在 5~500 μg/L 范围内线性良好,相关系数 r^2 大于 0.999,检出限均小于 5 μg/L,相对标准偏差在 4.5%~7.8%之间,详见表 3。

表 3 4 种磺胺类抗生素的线性方程、相关系数、线性范围、检出限和相对标准偏差

抗生素	线性方程	相关系数	线性范围/ (μg·L ⁻¹)	检出限/ (μg·L ⁻¹)	相对标准偏差/ %
磺胺吡啶	$y=12681x-27234$	0.9991	5~500	4.2	4.5
磺胺甲噁唑	$y=11214x-76382$	0.9990	5~500	4.7	7.8
磺胺甲基嘧啶	$y=9660.5x-18079$	0.9997	5~500	4.4	6.4
磺胺二甲基嘧啶	$y=6487.6x-8977.7$	0.9999	5~500	4.6	6.7

2.4 实际样品分析

实际水样分别取自自来水和校园人工湖水。在最佳萃取条件对实际水样进行前处理后检测,未检出磺胺类抗生素。对 2 种实际水样进行低、高质量浓度加标,分别为 50 μg/L 和 500 μg/L,得到相应回收率为 72.3%~88.5%,相对标准偏差小于 10.2%。表明该方法的精密度较好,能够运用于磺胺类抗生素实际水样的分析测定,详见表 4。

表 4 自来水、校园人工湖水中磺胺类抗生素的回收率 (n=5)

抗生素	加标浓度/ (μg·L ⁻¹)	自来水		校园湖水	
		回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%
磺胺吡啶	50.0	75.6	8.9	72.3	6.7
	500.0	73.5	6.5	80.6	9.4
磺胺甲噁唑	50.0	81.7	4.4	88.5	3.5
	500.0	77.4	7.1	85.1	5.2
磺胺甲基嘧啶	50.0	76.1	10.2	82.5	7.3
	500.0	75.2	6.4	73.7	8.2
磺胺二甲基嘧啶	50.0	78.3	8.5	84.1	4.7
	500.0	74.8	4.2	86.3	6.6

3 结论

建立了磁性固相萃取-高效液相色谱-串联三重四级杆质谱法测定环境水样中的磺胺类抗生素(磺胺吡啶、磺胺甲噁唑、磺胺甲基嘧啶和磺胺二甲基嘧啶)残留的分析方法,所分析的 4 种磺胺类抗生素在 5~500 μg/L 都有较好的线性,相关系数全部大于 0.999,检出限在 4.2~4.7 μg/L 之间,实际水样加标回收率是 72.3%~88.5%,相对标准偏差

低于 10.2%。该方法具有较广的线性范围,用时较短,有机试剂消耗少,重现性佳,因此能够应用于实际水样中磺胺类抗生素的检测。

参考文献

- [1] 薛保铭,杨惟薇,王英辉,等.钦州湾水体中磺胺类抗生素污染特征与生态风险[J].中国环境科学,2013,33(9):1664-1669.
- [2] Kong X,Gao R,He X, *et al.* Synthesis and characterization of the core-shell magnetic molecularly imprinted polymers (Fe₃O₄@MIPs) adsorbents for effective extraction and determination of sulfonamides in the poultry feed[J]. Journal of Chromatography A, 2012,1245(1245):8-16.
- [3] 方龙飞,魏群山,王元宏,等.上海黄浦江上游典型抗生素来源及分布污染特征研究[J].环境污染与防治,2017,39(3):301-306.
- [4] 王良,荆雨众.双水相萃取抗生素的应用研究进展[J].现代化工,2016(2):34-36.
- [5] 耿新,李井会,高礼让,等.稳健回归解析紫外光度法同时测定磺胺甲噁唑和甲氧苄啶[J].分析化学,2001,29(9):1036-1038.
- [6] 谢玉璇,谢天尧,刘秋英,等.毛细管电泳-电导法分离检测磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑和磺胺二甲嘧啶[J].分析测试学报,2006,25(3):100-102.
- [7] 刘雪红,李娟,董紫凌,等.鸡肉中磺胺类药物残留的薄层色谱检测方法[J].中国畜牧兽医,2007,34(5):31-33.
- [8] 贺南南,管永祥,梁永红,等.固相萃取-高效液相色谱同时测定沼液中 3 种四环素类和 6 种磺胺类抗生素[J].分析科学学报,2017,33(3):373-377.
- [9] 赵健,杨晓凡,周福来,等.固相萃取/高效液相色谱/串联质谱法测定磺胺类抗生素[J].中国给水排水,2012,28(14):107-110.
- [10] 闫幸,余卫娟,兰亚琼,等.固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定猪栏废水中 10 种抗生素[J].理化检验-化学分册,2014,50(3):273-277.
- [11] 周爱霞,苏小四,高松,等.高效液相色谱测定地下水、土壤及粪便中 4 种磺胺类抗生素[J].分析化学,2014,42(3):397-402.
- [12] 李晓怡,李建军,薛爱芳,等.液-液-液三相微萃取-液相色谱测定水中磺胺[C].中国化学会学术年会第 9 分会场,2012.
- [13] 吴翠琴,陈迪云,周爱菊,等.离子液体单滴微萃取-高效液相色谱法测定水体中磺胺类药物[J].分析化学,2011,39(1):17-21.
- [14] 王志,王春.磁性固相萃取技术研究的新进展[J].色谱,2012,30(10):977-979.
- [15] 刘占孟,叶鑫,李俊叶,等.磁性纳米材料对重金属吸附的磁固相萃取研究进展[J].现代化工,2016(10):50-53.
- [16] 国明,于峰,贾科玲,等.磁性固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法测定环境水样中的四环素类抗生素[J].色谱,2016,34(4):407-413.
- [17] 白沙沙,李芝,臧晓欢,等.磁性石墨烯固相萃取-分散液液微萃取-气相色谱法测定水和绿茶中酰胺类除草剂残留[J].分析化学,2013,41(8):1177-1182.
- [18] 孙晓杰,李兆新,董晓,等.固相萃取-液相色谱-串联质谱法同时检测海水中抗生素多残留[J].分析科学学报,2016,32(5):639-643. ■