

水体中抗生素前处理及检测方法研究进展

王萌, 李佳乐*, 董一慧, 孙占学, 王瑶, 周永康, 赵齐灵, 谢居雄

(东华理工大学水资源与环境工程学院, 江西 南昌 330013)

摘要:综述了环境水体中抗生素浓度测定的前处理技术与检测方法,其中包含了目前常用的固相萃取法与液质联用检测技术;同时分析了各种方法的优缺点、回收率、富集效果、影响因素以及适用范围;并对未来抗生素检测的发展方向进行了展望。

关键词:水; 抗生素; 固相萃取; 前处理; 检测方法

中图分类号:X832

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2023)03-0240-05

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2023.03.045

Research progress on pretreatment and detection methods for antibiotics in water

WANG Meng, LI Jia-le*, DONG Yi-hui, SUN Zhan-xue, WANG Yao, ZHOU Yong-kang,

ZHAO Qi-ling, XIE Ju-xiong

(School of Water Resources & Environmental Engineering, East China University of Technology, Nanchang 330013, China)

Abstract:This paper reviews the pretreatment techniques and detection methods for the determination of antibiotic concentration in environmental water, including the commonly used solid phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry detection techniques. The advantages and disadvantages, recovery, enrichment effect, influencing factors and application scope of various methods are analyzed, and the future development direction of antibiotic detection is prospected.

Key words: water; antibiotics; solid phase extraction; pretreatment; detection method

抗生素是一类具有微生物抗性的天然、半合成或合成化合物,主要用于治疗和预防人类和动物的感染,有时也作为动物生长促进剂以加快动物的生长,改善动物的喂养效率^[1]。虽然抗生素的开发和使用大大降低了死亡率和发病率,但是抗生素的大量使用使抗生素的残留物在环境中无处不在。抗生素的滥用不仅会对水生生物产生毒性,而且会对人体健康造成危害^[2]。抗生素过量使用不仅会使细菌产生耐药性,不利于疾病的治疗,而且会降低人的免疫力,可能导致“三致”作用。为了评估水体中抗生素对环境健康的潜在风险和威胁,越来越多的学者关注环境水体中抗生素的残留,并对其检测手段和方法进行了深入研究。但是,由于环境水体基质复杂,干扰因素多,抗生素浓度低,使得水体中抗生素的测定仍存在难度。本文中对近几年常用的环境水体中抗生素的前处理手段及检测方法进行了综述分析,以期对环境水体中抗生素的检测监管提供参考依据。

1 水体中抗生素前处理方法

由于水体中抗生素的赋存往往是微量级或痕量级,难以直接检测其浓度,因此在仪器检测之前往往需要对水样进行一系列前处理,以达到水样中抗生素的富集、分离和净化^[3]。

1.1 固相萃取

固相萃取(solid phase extraction, SPE)技术是1979年Stonge等首次提出并随之发展起来的样品前处理技术。该技术将水样通过装有高效萃取填料的固相萃取小柱,以达到抗生素的富集和浓缩,详细流程如图1。固相萃取具有操作简单、耗费有机溶剂少、易于实现自动化等优点,而且萃取材料种类丰富,可选择性高,曾被美国环保局作为检测饮用水和废水中有机物的检测方法,近几年已经成为水样中抗生素富集分离纯化的经典方法(表1)。影响SPE回收率的主要因素包括上样体积、水样流速、洗脱剂种类、SPE小柱填料和样品pH等。丁紫荣等^[4]采

收稿日期:2022-10-08;修回日期:2022-12-30

基金项目:国家自然科学基金国际(地区)合作研究项目(51861145308);江西省科技厅自然科学基金项目(20202BAB213015);江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ200769)

作者简介:王萌(1996-),女,硕士生;李佳乐(1986-),男,博士,讲师,研究方向为地下水污染与防治、环境有机污染,通讯联系人,lijiale@ecut.edu.cn。

用固相萃取技术建立了养殖废水中喹诺酮类抗生素的测定方法,发现 pH 优化至 2,可以使 99%的喹诺酮类抗生素及固相萃取吸附剂上的官能团呈中性状态,增强目标化合物在吸附剂上的保留,提高回收率。为了提高效率与灵敏度,研究人员开发出了全自动固相萃取。与手动固相萃取相比,减少了样品制备时间和分析物损失,降低了样品污染、分析物降解和接触有毒溶剂的风险。Zheng 等^[5]应用全自动固相萃取与超高效液相色谱联用检测环境水样中磺

胺类、喹诺酮类和大环内酯类等共 26 种抗生素。

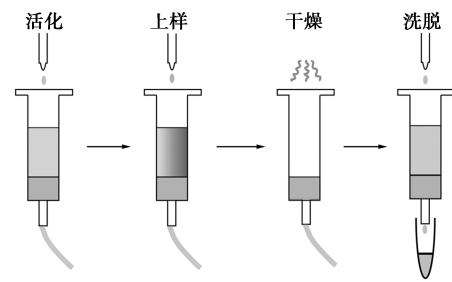


图 1 固相萃取流程

表 1 固相萃取方法参数汇总表

目标物种类	上样体积/ mL	滤膜/ μm	Na ₂ EDTA/ g	固相 萃取柱	pH	上样流速/ (mL·min ⁻¹)	洗脱液种类及体积	加标回收率/ %	检出限/ (ng·L ⁻¹)
MLs, FQs, SAs, TCs, β-LCs ^[6]	2000	0.70	0.50	HLB	3	3	10 mL 甲醇	56~125	0.01~0.3
FQs ^[7]	1000	0.22	—	HLB	3	1~2	6 mL 甲醇	94.8~123.9	0.2~1.2
MLs, TCs, SAs, FQs ^[8]	1000	—	0.20	HLB	3	5~10	12 mL 甲醇	70~130	0.18~2.8
MLs, TCs, SAs, FQs ^[9]	1000	0.45	—	HLB	4	—	12 mL 甲醇	60~132	0.01~4.91
TCs ^[10]	200	0.45	0.20	MAX, HLB	3	3	10 mL 0.1%甲酸甲醇	58.3~88.0	0.01~0.03
MLs, FQs, SAs, CFs ^[11]	800	0.45	0.25	HLB	3	5~10	14 mL 甲醇	77.7~98.8	0.01~1.32
MLs, TCs, SAs, FQs ^[12]	1000	0.70	0.40	HLB	3	5	10 mL 甲醇	71.5~107	0.1~1.8
SAs, FQs, MLs ^[13]	200	0.45	0.20	HLB	3	3~5	8 mL 甲醇	72.1~123.7	0.01~0.08
SAs, TCs, FQs ^[14]	1000	0.45	—	HLB	3	—	甲醇	65~124	0.2~1.3

注: macrolides (MLs), quinolones (FQs), sulfonamides (SAs), tetracyclines (TCs), cephalosporins (CFs), 3β-lactams (β-LCs)。

1.2 固相微萃取

固相微萃取 (solid phase microextraction, SPME) 是 1989 年由 Belardi 等首次提出的利用萃取头表面涂有的特殊吸附材料,将待测物从水样中吸附和解吸分离富集的技术,具体流程如图 2。抽取一定体积的待测水样,通过涂有特殊材料的萃取头,最后用特定有机溶剂将萃取头内的目标化合物洗脱出来。该技术的萃取效率主要取决于涂层表面的吸附材料、萃取时间和搅拌速度等。Mondal 等^[15]研究了一种以氧化石墨烯、碳纳米管和二氧化钛为复合材料,

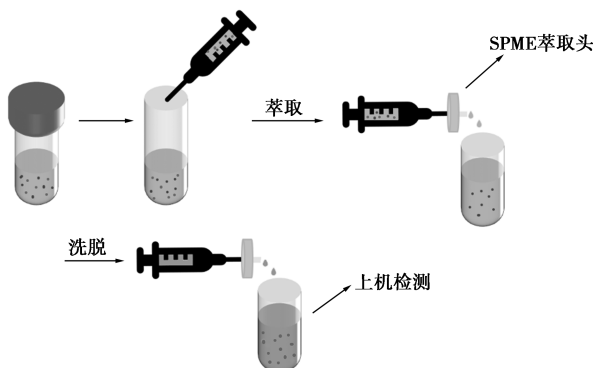


图 2 固相微萃取示意图

聚丙烯腈为支撑材料的 SPME 纤维来检测水样中的 4 种抗生素,与商业石墨烯、碳纳米管、二氧化钛、C18、聚二甲基硅氧烷和丙烯酸酯纤维材料相比,该材料具有更好的性能。Barahona 等^[16]基于最新的分子印迹技术 (MIPs) 提出了一种新型 SPME 纤维 (MIP-HFs),用于萃取水溶液中 4 种 FQs 抗生素。

1.3 磁性固相萃取

磁性固相萃取 (magnetic solid phase extraction, MSPE) 是 21 世纪发展起来的把磁性吸附剂与固相萃取技术结合,将目标物吸附分离的新型前处理技术。在水样中加入磁性萃取剂,充分混匀,让萃取剂充分吸附目标物,通过磁性分离将吸附有目标物的材料取出,洗脱后上机检测,如图 3。影响萃取效率的主要因素有磁性材料种类、萃取方式、萃取时间、洗脱剂种类和体积等。Qiao 等^[17]利用 Fe₃O₄@SiO₂-SnS₂ 作为磁性固相萃取材料,用于检测自来水中抗生素。用该材料富集萃取日和日内 RSD 为 1.1%~10.8% 和 7.4%~13.5%。Duo 等^[18]制备了一种新型的磁性固相萃取吸附剂 (Ni/ZnO@C) 用于环境水样中硝基咪唑类抗生素的测定。同时对样品 pH、吸附剂、萃取解吸时间、洗脱液类型和盐浓度等因素进

行了优化。

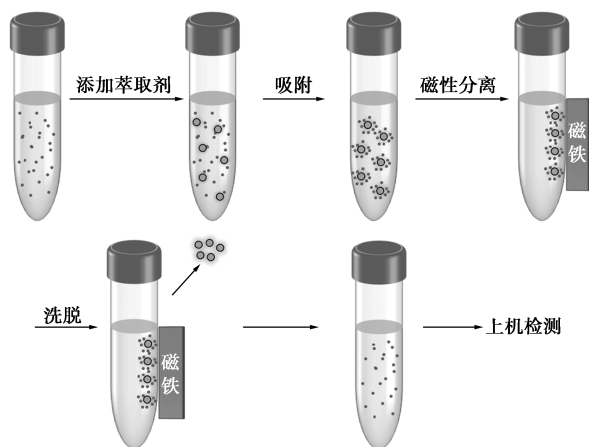


图 3 磁性固相萃取流程

1.4 分散液液微萃取

分散液液微萃取 (dispersive liquid-liquid micro-extraction, DLLME) 是 2006 年由 Rezaee 提出的一种较新的液液萃取模式, 是一种 μL 级小体积的样品富集浓缩技术。将萃取剂和分离剂迅速注射到水样中, 萃取剂会以微滴形式分散在水样中, 增大了水样与萃取剂的接触面积, 提高了萃取效率。在形成混浊溶液后, 达到平衡状态, 经过萃取和离心, 水样中抗生素被萃取到下层有机相中, 最后抽取下层有机相蒸发, 重新溶解在适合 HPLC 的溶剂中检测分析。影响 DLLME 萃取效率的参数包括萃取剂和分散剂的类型和体积、样品 pH、萃取时间和搅拌时间等。Dias 等^[19]应用 DLLME 建立了适用于含盐量低的水样中 5 种喹诺酮类抗生素分离检测的前处理方法。为减少有机溶剂的使用, 也有不使用分散剂的 DLLME 版本。Sereshti 等^[20]开发了亲水/疏水低共熔溶剂 (DES) 系统, 并用作分散剂/萃取剂混合物, 用于水样中 TCs 的萃取, 即气泡辅助分散液液微萃取。

1.5 前处理方法对比

水样中抗生素前处理的方法有很多, 根据不同的需求选择适宜的方法至关重要。表 2 汇总了以上 4 种前处理方法的优缺点及适用范围, 以期前处理方法的选择提供参考。

表 2 检测水体中抗生素残留各种前处理方法对比分析

前处理方法	优点	缺点
固相萃取	操作简单, 适用范围广, 实际应用广泛	水样需求量大, 耗时长, 有机溶剂使用量大, 回收率波动较大, 萃取小柱成本高

固相微萃取	操作简单, 水样需求少	涂层适用范围有限, 涂层易磨损, 造价高, 石英纤维易折断
磁性固相萃取	萃取时间短, 有机溶剂用量少, 吸附速度快, 富集物质种类多	不适用于基质复杂的水样, 新技术研究时间短
分散液液微萃取	所需样品体积小, 有机溶剂用量少	检测限较高, 达到平衡需要时间

2 水体中抗生素检测方法

近几年常用的检测水体中抗生素的方法有很多, 包括基于高效液相色谱分离技术的高效液相色谱-质谱串联法、高效液相色谱-紫外检测法、高效液相色谱-二极管阵列检测法、高效液相色谱-荧光分析法等。另外, 还有毛细管电泳法、电化学分析法以及免疫分析法。

2.1 高效液相色谱-质谱联用法

高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 以水相或有机相为流动相, 通过高压的形式, 将载液和进样器内的待测物泵入色谱柱中, 在柱内各成分被分离后, 进入质谱检测器、紫外检测器和荧光检测器等检测器中进行分析, 是近年来应用广泛的抗生素分离技术。该方法可用于环境、生物和临床基质中有机样品的检测、有机合成中间体和产品的检测、天然药物的分离和分析等。姜明宏等^[21]利用 HPLC-MS 同时测定海水中 3 大类 12 种抗生素, 在流动相中添加甲酸, 以减少 C18 色谱柱填料中的硅羟基与含碱基基团抗生素相互作用造成峰形拖尾现象。随着科学技术的进步, 又在高效液相色谱的基础上出现了超高效液相色谱 (UPLC), 并将其与质谱串联分析。Holton 等^[22]建立了 UPLC-MS/MS 方法, 用于河水和废水中 58 种抗生素鉴定和定量。该方法线性度高达 $3\ 000\ \mu\text{g/L}$, $\text{LOQ} < 0.044\ \text{ng/L}$ 。

2.2 毛细管电泳法

毛细管电泳 (capillary electrophoresis, CE) 是一种高效的液相分离方法, 毛细管电泳所用的石英毛细管柱内表面带负电, 和溶液接触时形成双电层。这就会使带正电的离子、中性或不带电粒子和带负电的离子以不同的速度流出, 以此达到分离的效果。Li 等^[23]建立了场放大进样毛细管区带电泳法 (FASI-CZE) 检测水中磺胺噻唑、磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲噁唑和磺胺异噁唑等磺胺类抗生素

残留,背景电解质溶液(BGE)为70 mmol/L 硼砂和60 mmol/L 硼酸(包括10%甲醇,pH为9.1)。电泳分离在19 kV电压下进行。毛细管温度保持在20℃,6种磺胺类药物在35 min内完全分离。与CZE相比,FASI-CZE的灵敏度增加了6.25%~10%,检出限降至0.02~0.05 μg/mL。

2.3 电化学分析法

电化学分析方法(electrochemical analysis, EC)是一种基于溶液中物质的电化学性质的仪器分析方法。电化学检测抗生素是根据电势、电导、阻抗、电流和电量与抗生素含量之间的关系进行的。分析环境样品中痕量有机物的常用电化学检测技术包括电化学传感器、分子印迹传感器和电化学生物传感器等。陈涛^[24]运用电化学传感器检测水环境的环丙沙星,构建了基于氮等离子体修饰的电化学传感器(NP-GCE)和基于激光微加工系统的激光诱导石墨烯(LIG)电极2种不同的电化学检测器。于壮壮^[25]以四环素为模板分子,4-氨基苯硫酚(4-ATP)为功能单体,在玻碳电极表面电聚合分子印迹膜,建立了分子印迹传感器来检测水环境中的四环素。

2.4 免疫分析法

免疫分析法(immunoassay, IA)的原理是抗原和抗体的特异性结合,具有高选择性和低检测限的优点。一般应用于临床药物检测、食品中细菌检测以及低浓度药物检测等。免疫分析法根据标记物的有无可分为非标记免疫分析技术和标记免疫分析技术,其中,标记免疫分析技术包括荧光免疫分析法和电化学免疫分析法,目前已经应用于环境水体中抗生素的检测。杨明月^[26]构建了3种电化学免疫传感器检测水中磺胺类抗生素。卓雨欣等^[27]利用荧光免疫分析法建立了一种基于倏逝波光纤生物传感器快速检测水样中诺氟沙星的方法,通过优化确定最佳光纤反应时间为240 s,抗体浓度为1 μg/mL,光纤探头使用寿命超过400次。

2.5 不同检测方法对比

以上几种抗生素检测方法在水样中均有应用,其中高效液相色谱与超高效液相色谱法应用较多,各种检测方法的优缺点与适用范围详见表3。

表3 水样中抗生素各种检测方法对比

检测方法	优点	缺点
高效液相色谱-质谱联用法	检测限低,进样量小,分离时间短,多种目标物同时检测,适用于痕量或超痕量检测	成本较高,有机溶剂用量大,前处理要求高

毛细管电泳法	成本低,流动相用量少,无需有机溶剂	灵敏度低,实际应用少不适用于痕量检测
电化学分析法	无需有机溶剂,检测时间短,成本低,适用于痕量检测	易受离子干扰,技术程序复杂,研发时间短
免疫分析法	无需有机溶剂,成本低,适用于痕量检测	技术程序复杂,研发时间短

3 结论与展望

地表水、地下水、废水和饮用水等环境水样抗生素浓度含量低且浓度的数量级不同,因此,前处理方法的选择与优化对于抗生素的富集浓缩至关重要。固相萃取对水样需求量大,处理过程对有机溶剂的使用和添加会对环境造成危害。为了解决这种方法对环境造成的二次污染,其他方法应运而生。固相微萃取和磁性固相萃取可以做到绿色环保,但在材料的制备方面仍需要长时间的研究和开发。分散液液微萃取由于只需要μL级小体积水样,因此对有机溶剂的使用量也是μL级,对环境的污染较小。在几种检测方法中,液质联用法在环境水样抗生素的残留检测和分析中应用得较多。此外,经过研究人员的不断努力尝试,也开发出了耗时短、准确度和灵敏度更高的超高效液相色谱技术。未来在环境水样前处理及检测研究上应重点关注以下3个方面。

(1)现场工作适用性:水样前处理对于目标物的检测至关重要,开发出一种可以满足现场检测需求、绿色环保、经济实惠并且具有高灵敏度和高回收率的前处理材料,既可以节省实验时间与人力物力,又可以解决抗生素在水样运输与存放过程中带来的损失问题。

(2)建立多类抗生素同时检测体系:在过去,虽然各国学者对同时检测和定量多种抗生素的分析技术进行了深入研究,但由于环境样品的基质不同,每种目标物的性质不同,导致分析方法的开发极具挑战。因此,建立多类抗生素同时检测的标准化分析方法和检测体系,是未来环境样品中抗生素检测的主要研究方向,这对成功监测和了解抗生素在环境中的归趋至关重要。

(3)全自动一体化:全自动固相萃取仪的研发和应用将水样处理引向了自动化的道路,这为开发出一种可以同时前处理和检测的水样处理平台提供了可能。只需在计算机上对不同模块进行方法

的设置即可在无人的情况下,完成水样的处理分析工作,这对简化处理流程、提高效率、节省人力有着重要意义。

参考文献

- [1] Jia L, Yang L S, Zhang L, *et al.* Antibiotics in soil and water in China—a systematic review and source analysis[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 266: 115147.
- [2] Perez J I, Alvarez-Arroyo R, Arrieta J, *et al.* Occurrence of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria (ARB) in the Nervion river[J]. *Chemosphere*, 2022, 288: 132479.
- [3] Khataei M M, Epi S B H, Lood R, *et al.* A review of green solvent extraction techniques and their use in antibiotic residue analysis[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2022, 209: 114487.
- [4] 丁紫荣,黎玉清,王雄,等.固相萃取-液相色谱-三重四极杆串联质谱测定养殖废水中 17 种氟喹诺酮类抗生素[J]. *环境工程学报*, 2021, 16(2): 674-683.
- [5] Zheng M, Tang S, Bao Y, *et al.* Fully-automated SPE coupled to UHPLC-MS/MS method for multiresidue analysis of 26 trace antibiotics in environmental waters: SPE optimization and method validation[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 29: 16973-16987.
- [6] Zainab S M, Junaid M, Rehman M Y A, *et al.* First insight into the occurrence, spatial distribution, sources, and risks assessment of antibiotics in groundwater from major urban-rural settings of Pakistan[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 791: 148298.
- [7] Ding G, Chen G, Liu Y, *et al.* Occurrence and risk assessment of fluoroquinolone antibiotics in reclaimed water and receiving groundwater with different replenishment pathways[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 738: 139802.
- [8] Ding H, Wu Y, Zhang W, *et al.* Occurrence, distribution, and risk assessment of antibiotics in the surface water of Poyang Lake, the largest freshwater lake in China[J]. *Chemosphere*, 2017, 184: 137-147.
- [9] Yao L, Wang Y, Tong L, *et al.* Occurrence and risk assessment of antibiotics in surface water and groundwater from different depths of aquifers: A case study at Jiangnan Plain, central China[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 135: 236-242.
- [10] Huang X, Chen C, Zeng Q, *et al.* Field study on loss of tetracycline antibiotics from manure-applied soil and their risk assessment in regional water environment of Guangzhou, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 827: 154273.
- [11] Fu C, Xu B, Chen H, *et al.* Occurrence and distribution of antibiotics in groundwater, surface water, and sediment in Xiong'an New Area, China, and their relationship with antibiotic resistance genes[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 807: 151011.
- [12] Jiang Y, Li M, Guo C, *et al.* Distribution and ecological risk of antibiotics in a typical effluent-receiving river (Wangyang River) in north China[J]. *Chemosphere*, 2014, 112: 267-274.
- [13] Gu D, Feng Q, Guo C, *et al.* Occurrence and risk assessment of antibiotics in manure, soil, wastewater, groundwater from livestock and poultry farms in Xuzhou, China[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2019, 103(4): 590-596.
- [14] Hu Y, Yan X, Shen Y, *et al.* Antibiotics in surface water and sediments from Hanjiang River, Central China: Occurrence, behavior and risk assessment[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 157: 150-158.
- [15] Mondal S, Jiang J, Li Y, *et al.* Carbon and tin-based polyacrylonitrile hybrid architecture solid phase microextraction fiber for the detection and quantification of antibiotic compounds in aqueous environmental systems[J]. *Molecules*, 2019, 24(9): 1-15.
- [16] Barahona F, Albero B, Tadeo J L, *et al.* Molecularly imprinted polymer-hollow fiber microextraction of hydrophilic fluoroquinolone antibiotics in environmental waters and urine samples[J]. *Journal of Chromatography A*, 2019, 1587: 42-49.
- [17] Qiao L Z, Yu C M, Sun R T, *et al.* Three-dimensional magnetic stannic disulfide composites for the solid-phase extraction of sulfonamide antibiotics[J]. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1652: 462372.
- [18] Duo H, Wang S, Lu X, *et al.* Magnetic mesoporous carbon nanosheets derived from two-dimensional bimetallic metal-organic frameworks for magnetic solid-phase extraction of nitroimidazole antibiotics[J]. *Journal of Chromatography A*, 2021, 1645: 462074.
- [19] Dias R A, Sousa E R, Silva G S, *et al.* Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for determination of enrofloxacin in surface waters[J]. *Microchemical Journal*, 2021, 160: 105633.
- [20] Sereshti H, Abdolhosseini G, Soltani S, *et al.* Natural thymol-based ternary deep eutectic solvents: Application in air-bubble assisted-dispersive liquid-liquid microextraction for the analysis of tetracyclines in water[J]. *Journal of Separation Science*, 2021, 44(19): 3626-3635.
- [21] 姜明宏,王金鹏,赵阳国.固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定海水中 12 种抗生素[J]. *中国海洋大学学报:自然科学版*, 2021, 51(10): 107-114.
- [22] Holton E, Kasprzyk-Hordern B. Multiresidue antibiotic-metabolite quantification method using ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry for environmental and public exposure estimation[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2021, 413(23): 5901-5920.
- [23] Li X H, Yang Y Q, Miao J J, *et al.* Determination of sulfa antibiotic residues in river and particulate matter by field-amplified sample injection-capillary zone electrophoresis[J]. *Electrophoresis*, 2020, 41(18): 1584-1591.
- [24] 陈涛.电化学传感器检测水环境中环丙沙星的研究[D].北京:中国地质大学,2020.
- [25] 于壮壮.分子印迹材料制备及其电化学传感快速检测环境抗生素的应用研究[D].北京:北京工业大学,2020.
- [26] 杨明月.环境水体中磺胺类抗生素的电化学免疫分析方法研究[D].镇江:江苏大学,2020.
- [27] 卓雨欣,徐文娟,程源,等.倏逝波光纤维生物传感器快速检测环境中的诺氟沙星[J]. *中国环境科学*, 2022, 42(5): 283-2288. ■