

在线固相萃取 - 高效液相色谱 - 串联质谱法测定饮用水中 4 种兴奋剂

周佳佳, 付杰

(江苏康达检测技术股份有限公司, 江苏 苏州 215000)

摘要:可替宁、可待因、1,7-二甲基黄嘌呤和咖啡因作为药物及其代谢产物广泛应用于日常生活中,其在环境中的残留物可能对人类健康和生态环境安全造成威胁。采用在线固相萃取法进行前处理,酸性条件(0.1%甲酸水溶液)上样,水样加硫代硫酸钠(1 L 水样加 0.1 g 硫代硫酸钠)除去余氯后用高效液相色谱 - 串联质谱法测定饮用水中可替宁、可待因、1,7-二甲基黄嘌呤和咖啡因这 4 种兴奋剂。当进样体积为 1.0 mL 时,方法检出限为 0.633 ~ 1.75 ng/L,测定下限为 2.53 ~ 6.98 ng/L,饮用水样品加标回收率为 80.0% ~ 129%,多次测定均值的相对标准偏差(RSD) < 5%。方法检出限低,精密度和准确度好,能满足饮用水样品中 4 种兴奋剂的日常检测。

关键词:在线固相萃取;高效液相色谱 - 串联质谱;兴奋剂;饮用水

中图分类号:X832;O657.7⁺²

文献标志码:B

文章编号:1674-6732(2019)03-0027-03

Determination of 4 Stimulants in Drinking Water — On-line Solid Phase Extraction Followed by High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

ZHOU Jia-jia, FU Jie

(Jiangsu Kangda Testing Technology Co., Ltd., Suzhou, Jiangsu 215000, China)

Abstract: Cotinine, Codeine, 1,7-Dimethylxanthine and Caffeine are widely used in daily life as drugs and their metabolites. The stimulant residues in the environment may pose a threat to human health and ecological environment safety. Water samples were sampled under acidic conditions (0.1% formic acid aqueous solution) and the residual chlorine was removed by adding sodium thiosulfate (1 L water sample with 0.1 g sodium thiosulfate) to the water samples. On-line solid phase extraction followed by LC-MS-MS was used to determine 4 stimulants in drinking water, including Cotinine, Codeine, 1,7-Dimethylxanthine and Caffeine. When the injection volume was 1.0 mL, the detection limit of this method was 0.633 ~ 1.75 ng/L, the low limit of determination was 2.53 ~ 6.98 ng/L and the recoveries of standard-added drinking water samples ranged from 80.0% to 129%. The method has low detection limit and high recovery, and can meet the requirements of the daily detection of four stimulants in drinking water samples.

Key words: On-line solid phase extraction; LC-MS-MS; Stimulants; Drinking water

药品和个人护理品(PPCPs)作为一种新兴污染物越来越受到世界各国的关注^[1]。目前广泛应用于人类和动物疾病治疗及预防的药物达 4 000 多种,且随着社会经济的发展呈逐年增高的趋势^[2]。然而药物在人体和动物体内只有一小部分能被吸收,大部分会随着尿液和粪便排出体外,进入环境^[3-4]。可替宁是烟草中尼古丁在人体中代谢后的主要产物,可待因常用于麻醉镇痛、治疗咳嗽等,咖啡因和 1,7-二甲基黄嘌呤是咖啡中的成分及代谢物。这 4 种兴奋剂类化合物在日常生活

中应用广泛,其在环境中的残留会通过食物链和饮用水进入人体,危害人类健康。现选用可替宁、可待因、1,7-二甲基黄嘌呤和咖啡因作为研究对象,采用在线固相萃取前处理方法,高效液相色谱 - 串联质谱法测定饮用水中上述 4 种兴奋剂类化合物。通过优化仪器分析参数和样品前处理过程,建立准确高效的检测体系,以满足实际饮用水样品的检测。

收稿日期:2019-03-25;修订日期:2019-04-08

作者简介:周佳佳(1991—),女,工程师,硕士,从事环境检测工作。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器:岛津 LC-MS-MS 8060 型液相色谱三重四极杆质谱仪,配有电喷雾离子源(ESI)(日本岛津公司);InertSustain AQ-C18 色谱柱(日本 GL Sciences 公司);AOE 在线固相萃取系统(日本岛津公司);HLB Direct Connect HP 固相萃取柱 2 支(20 μm \times 2.1 mm \times 30 mm,美国 Waters 公司);0.22 μm 玻璃纤维滤膜[月旭科技(上海)股份有限公司];和泰 Dura 纯水仪(12V,上海和泰仪器有限公司)。

试剂:4 种兴奋剂混标(100 mg/L,溶于甲醇,上海安谱实验科技股份有限公司);4 种兴奋剂标准使用液(用甲醇稀释至 50 和 5 $\mu\text{g}/\text{L}$, -10 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光可保存 1 个月);内标贮备液(可替宁-d₃, 纯度 98%,上海安谱实验科技股份有限公司);内标使用液(用甲醇稀释至 50 $\mu\text{g}/\text{L}$, -10 $^{\circ}\text{C}$ 以下避光保存)。乙腈、甲醇、异丙醇(均为色谱纯),甲酸(质谱级),硫代硫酸钠(美国化学协会标准级),氨水(分析纯),以上试剂均购于月旭科技(上海)股份有限公司;实验用水为超纯水(电阻率 18.2 M Ω ·cm)。

1.2 仪器工作条件

1.2.1 液相色谱条件

流动相为 0.1% 的甲酸水溶液(A 相)和乙腈(B 相),柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。液相色谱流动相梯度洗脱程序见表 1,15.00 min 结束洗脱程序。

表 1 液相色谱流动相梯度洗脱程序

时间/ min	流量/ ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	流动相占比/%	
		A 相	B 相
0	0.4	95	5
2.30	0.4	95	5
8.50	0.4	25	75
9.00	0.4	0	100
11.60	0.4	0	100
11.70	0.4	95	5

1.2.2 在线固相萃取系统条件

在线固相萃取系统通过阀切换可实现双柱交叉进样,提高工作效率。C 泵 A 路为 0.1% 甲酸水溶液,C 泵 B 路为乙腈,进样体积 1.0 mL。在线固相萃取系统条件见表 2。

表 2 在线固相萃取系统条件

时间/ min	流量/ ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	C 泵
0	2	A 路(100%),初始阀位于“1”(“0”)号位
1.50	2	A 路(100%),阀切换至“0”(“1”)号位,进行另一柱的清洗,待上样
1.60	4	切换至 B 路(100%)
3.60	4	切换至 A 路(100%)
7.60	4	A 路(100%)
7.70	0.1	A 路(100%)

1.2.3 质谱参考条件

质谱条件如下:电喷雾(ESI)离子源,正离子模式;接口温度 300 $^{\circ}\text{C}$;进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$;加热块温度 400 $^{\circ}\text{C}$;雾化器流量 3 L/min;加热器流量 10 L/min;干燥器流量 10 L/min;多反应监测(MRM)方式,具体条件见表 3。

表 3 目标化合物的 MRM 条件参数

序号	化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	Q1 偏差/ V	碰撞电 压/V	Q3 偏差/ V
1	可替宁-d ₃	180.30	80.00	-20	-26	-30
		180.30	101.05	-10	-16	-17
2	可替宁	177.00	79.90	-21	-26	-11
		177.00	98.10	-10	-22	-15
3	1,7-二甲基 黄嘌呤	181.15	124.05	-21	-21	-19
		181.15	55.05	-11	-31	-20
4	可待因	299.90	165.00	-15	-41	-14
		299.90	215.05	-15	-26	-20
5	咖啡因	195.10	138.15	-10	-20	-24
		195.10	110.10	-10	-25	-17

1.3 实验方法

根据文献[5]推荐方法,采用含 HLB 填料的萃取柱作为在线固相萃取柱。饮用水样品用 500 mL 玻璃瓶采集至满瓶,密封。水样经 0.22 μm 玻璃纤维滤膜过滤后直接上机分析。

2 结果与讨论

2.1 上样条件的选择

在线固相萃取系统 C 泵 A 路上样,当 A 路溶液分别选为水相(中性)、0.1% 甲酸水溶液(酸性)和 0.1% 氨水水溶液(碱性)时,4 种兴奋剂在酸性条件下出峰响应较中性、碱性条件下好,故选定 C 泵 A 路溶液为 0.1% 甲酸水溶液。C 泵 B 路为有机相乙腈,作用是清洗待上样富集柱。样品经过滤

后直接上机,样品中目标物被 HLB 柱富集,通过阀切换 HLB 柱接入串联质谱系统,经 A 相和 B 相梯度洗脱(表 1),目标物被 AQ-C18 柱分离,然后进入串联质谱系统进行分析。

2.2 水样除余氯影响分析

取某地自来水作为实际样品,通过加硫代硫酸钠和不加硫代硫酸钠对水样进行分析。结果表明,在相同的加标浓度下,水样不加硫代硫酸钠除余氯时,可待因和 1,7-二甲基黄嘌呤 2 种物质峰响应差,基本不出峰(图 1),化合物序号同表 3;而在加了硫代硫酸钠的水样中,可待因和 1,7-二甲基黄嘌呤均有较好的出峰和响应强度(图 2)。原因可能是在未加硫代硫酸钠除余氯的水样中,可待因和 1,7-二甲基黄嘌呤与余氯反应^[6-8],导致其浓度降低。因此,在水样检测前,需加入硫代硫酸钠除去余氯,减少对样品检测结果的干扰。此外,实验中需对所用的试剂耗材做干扰测试,确保对实验结果无影响。

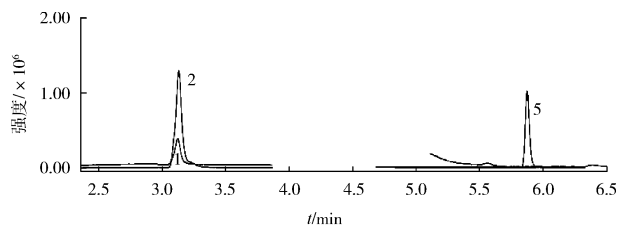


图 1 未加硫代硫酸钠的水样色谱图

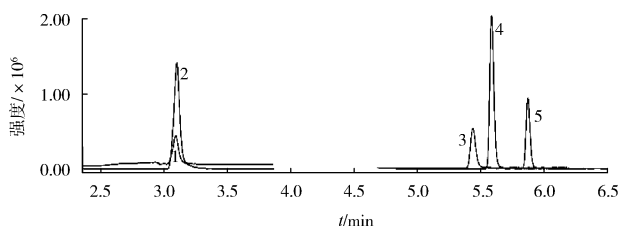


图 2 加入硫代硫酸钠的水样色谱图

2.3 工作曲线与测定下限

分别吸取不同体积的标准使用液,用纯水稀释至 10 mL,配制 7 个质量浓度的标准系列。4 种兴奋剂的质量浓度分别为 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 和 100.0 ng/L,分别于标准系列溶液中加入 10 μ L 内标物使用液,使内标物的质量浓度为 50 ng/L,按照 1.2 所述仪器工作条件进行分析。以标准系列溶液质量浓度与内标物质量浓度比值为横坐标,以目标组分峰面积与内标物峰面积比值为

纵坐标,绘制校准曲线(表 4)。依据文献[9],用空白样品加标配制 2.0 ng/L 的水样,重复测定 7 次,以 3 倍标准偏差作为检出限,4 倍检出限作为测定下限。

表 4 校准曲线及相关系数 ($n=7$)

序号	化合物	校准曲线	相关系数 (r^2)	检出限/ ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	测定下 限/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	可替宁	$y = 1.41x + 0.046$	0.995	1.75	7.00
2	1,7-二甲基黄嘌呤	$y = 0.834x + 0.016$	0.996	0.633	2.53
3	可待因	$y = 1.04x - 0.001$	0.998	1.11	4.44
4	咖啡因	$y = 0.906x + 0.084$	0.994	0.860	3.44

2.4 精密度和准确度实验

依据文献[5]和[9]关于方法验证和回收率的要求,采用在线固相萃取系统进样,以某饮用水为统一样品,测定 2 种不同浓度加标样品的精密度和准确度,结果见表 5。

表 5 方法的精密度和准确度结果

序号	化合物名称	ρ (实际样品)/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标量/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	测定均值/($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)	RSD/%	加标回收率/%
1	可替宁	6.38	10	16.2	0.582	91.1 ~ 103
			80	98.9	3.40	109 ~ 120
2	1,7-二甲基黄嘌呤	—	10	8.68	0.211	82.9 ~ 89.9
			80	76.1	4.15	86.4 ~ 101
3	可待因	—	10	12.4	0.371	119 ~ 128
			80	98.4	3.42	117 ~ 129
4	咖啡因	—	10	8.48	0.287	80.0 ~ 88.5
			80	74.9	2.57	88.3 ~ 98.1

由表 5 可见,某饮用水样品测定值的相对标准偏差(RSD) < 5%,加标回收率为 80.0% ~ 129%,方法的精密度和准确度良好,可以满足饮用水样品的检测分析。

3 结语

采用在线固相萃取样品前处理方法,用具有 MRM 模式的高效液相色谱 - 串联质谱法检测饮用水中的 4 种兴奋剂,方法检出限为 0.633 ~ 1.75 ng/L,加标回收率为 80.0% ~ 129%,多次测定均值的 RSD < 5%,检出限低,精密度和准确度高,

(下转第 35 页)

- 法快速测定蔬菜水果中 129 种农药的残留量[J]. 色谱, 2013,31(3):228-239.
- [8] 陈经涛,田安祥,李克斌,等.我国含氯农药污染现状研究进展[J].延安大学学报(自然科学版),2007,26(3):55-60.
- [9] 李丽君,王娜,王海娇,等.索氏提取-气质联用同时测定土壤中 7 种多氯联苯[J].分析实验室,2009,28(增刊):4-7.
- [10] 郎印海,蒋新,赵振华,等.土壤中 13 种有机氯农药超声波提取方法研究[J].环境科学学报,2004,24(2):291-296.
- [11] 时磊,陈海英,蔡小虎,等.超声提取-气相色谱法同时测定稻谷中 18 种有机氯农药和 7 种多氯联苯[J].理化检验(化学分册),2016,52(9):1090-1094.
- [12] 蔡小虎,蔡述伟,时磊,等. QuEChERS-GC/ECD 法分析土壤和沉积物中残留有机氯农药和多氯联苯[J].环境监控与预警,2016,8(3):14-17.
- [13] 魏峰,沈小明,陈海英,等.土壤和沉积物中 22 种有机氯和 8 种多氯联苯的气相色谱分析[J].岩矿测试,2013,32(6):952-958.
- [14] 佟玲,吴淑琪,杨佳佳,等.土壤中 25 种有机氯农药和多氯联苯的气相色谱分析方法研究[J].岩矿测试,2010,29(3):277-281.
- [15] 徐宜宏,黄滢滢,裴程程,等. QuEChERS-气相色谱质谱法同时测定土壤中多种常见多氯联苯及有机氯农药[J].农药,2018,57(5):351-354.
- [16] 高翔云,杨敏娜,刘秋香.气相色谱-质谱法测定沉积物中的有机氯和多氯联苯[J].环境监测管理与技术,2015,27(3):48-51.
- [17] 宋晓娟,贺心然,尹明明,等.快速溶剂萃取-气相色谱-串联质谱法同时测定土壤中有机氯及有机磷农药[J].色谱,2018,36(10):1038-1044.
- [18] 王道玮,赵世明,金伟,等.加速溶剂萃取-固相萃取净化-气相色谱/质谱法测定沉积物中的多氯联苯和多环芳烃[J].分析化学,2013,41(6):861-868.
- [19] 黄苗.样品前处理与液相色谱联用测定水样中可吸附态有机卤污染物的研究[D].广州:华南理工大学化学与化工学院,2013.
- [20] 林得平.水环境和土壤中 56 种农药的残留分析[D].济南:山东大学化学与化工学院,2014.
- [21] SHAHID M, GHAZALA S. Determination of organochlorine and nitrogen-containing pesticides in water, soil sediments and fish by Reversed-High performance liquid chromatography[J]. Agricultural Science & Technology, 2009, 10(5):9-12.

(上接第 29 页)

可满足饮用水样品的检测分析。同时该方法具有前处理自动化程度高、操作简便等特点,在实际样品检测中可以节省水样处理时间,提高工作效率。

[参考文献]

- [1] 王樱凝,崔迪,庞长珑,等.水中 PPCPs 的污染现状及其控制技术的研究进展[J].中国给水排水,2015,31(24):25-29.
- [2] 王琦,武俊梅,彭晶倩,等.饮用水系统中药物和个人护理用品的研究进展[J].环境化学,2018,37(3):453-461.
- [3] 刘莹,管运涛,水野忠雄,等.药品和个人护理用品类污染物研究进展[J].清华大学学报(自然科学版),2009(3):368-372.
- [4] LIU J L, WONG M H. Pharmaceuticals and personal care products(PPCPs):A review on environmental contamination in China[J]. Environment International,2013,59:208-224.
- [5] U. S. EPA. Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS:1694-2007[S]. 2007.
- [6] QIAO T J, YU Z R, ZHANG X H, et al. Occurrence and fate of pharmaceuticals and personal care products in drinking water in southern China[J]. Journal of Environmental Monitoring, 2011, 13(11):3097-3103.
- [7] BOYD G R, REEMTSMA H, GRIMM D A, et al. Pharmaceuticals and personal care products(PPCPs) in surface and treated waters of Louisiana, USA and Ontario, Canada[J]. Science of the Total Environment, 2003, 311(1-3):135-149.
- [8] GIB S J, STACKELBERG P E, FURLONG E T, et al. Persistence of pharmaceuticals and other organic compounds in chlorinated drinking water as a function of time[J]. Science of The Total Environment, 2007, 373(1):240-249.
- [9] 环境保护部.环境监测 分析方法标准制修订技术导则:HJ 168—2010[S].北京:中国标准出版社,2010.