

固相萃取－液质联用分析药物和个人护理品

曾超¹, 蒋科伟², 钱佳¹, 周季堂¹, 刘敏敏^{1*}
(1. 江苏中宜金大分析检测有限公司, 江苏 宜兴 214200; 2. 宜兴市环境监测站, 江苏 宜兴 214200)

摘 要:建立了固相萃取－液质联用分析药物和个人护理品 (PPCPs) 的方法, 采用 Oasis HLB 固相萃取柱分别在酸性条件下和碱性条件下对 PPCPs 进行富集提取, 该法对于宜兴地区能够检出的 30 种 PPCPs 均具有良好的线性, 相关系数为 0.990 ~ 0.999, 检出限为 1.37 ~ 10.12 ng/L。应用该法对宜兴地区地表水中存在的 PPCPs 进行分析, 结果显示 30 种 PPCPs 均有不同程度检出, 分布最广泛的 7 种分别为避蚊胺、阿替洛尔、对乙酰氨基酚、普鲁卡因、 β -雌二醇、卡马西平和苯佐卡因, 阿替洛尔浓度较高, 普遍为 5 ~ 600 ng/L。避蚊胺虽然出现频率最高, 但其在各个采样点浓度偏低, 普遍为 1 ~ 50 ng/L。
关键词: 药物; 个人护理品; 宜兴; 固相萃取－液质联用
中图分类号: X832; O657.63 **文献标志码:** B **文章编号:** 1674-6732(2016)05-0034-04

Determination of Pharmaceutical and Personal Care Products by Solid Phase Extraction Coupled with LC/MS

ZENG Chao¹, JIANG Ke-wei², QIAN Jia¹, ZHOU Ji-tang¹, LIU Min-min^{1*}
(1. Jiangsu Zhongyijinda Analytical & Testing Co., Ltd., Yixing, Jiangsu 214200, China; 2. Yixing Environmental Monitoring Station, Yixing, Jiangsu 214200, China)

Abstract: A method for determination of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) was developed using solid phase extraction-liquid chromatography/mass spectrometry (SPE-LC/MS). The PPCPs were concentrated by Oasis HLB solid phase extraction column at acidic and alkaline conditions. Thirty PPCPs were detected in Yixing City by the developed method with the correlation coefficient in the range of 0.990 ~ 0.999 and the detection limit in the range of 1.37 ~ 10.12 ng/L. The most frequently detected PPCPs were diethyltoluamide, atenolol, paracetamol, procaine, beta-estradiol, carbamazepine and benzocaine. Atenolol had the highest concentration of these PPCPs with the range of 500 ~ 600 ng/L. Diethyltoluamide was the most frequently discovered PPCPs, however, the concentrations were low with the range of 1 ~ 50 ng/L.
Key words: Pharmaceuticals; Personal care; Yixing City; SPE-LC/MS

药物和个人护理品化合物 (PPCPs) 在水环境中的检出水平通常为 ng/L ~ μ g/L 级^[1-5], 这些化合物的生态安全已引起广泛关注, 建立快速、灵敏、可靠的 PPCPs 定量检测方法势在必行。

用于环境样品中 PPCPs 分析检测的方法主要有色谱法和色谱质谱联用法^[6-7]。色谱法的检出限通常在 μ g/L ~ mg/L 级水平, 其灵敏度和检出限均无法满足环境样品中 PPCPs 的检出要求。

相比之下, 色谱质谱联用法灵敏度高, 检出限低, 测定范围广, 更适合于环境样品中 PPCPs 的检测。

常用于色谱质谱联用法对水体中有机物测定

的前处理方法有液液萃取法、液固萃取法^[8-11]。液液萃取法有机溶剂使用量大, 步骤烦琐。而液固萃取法, 以固相萃取 (SPE) 为代表, 所需有机溶剂量少, 过程简单, 操作方便, 且能够进行批量化处理。

故尝试建立一种针对 PPCPs 的固相萃取－液质联用检测方法, 并应用该方法对宜兴市地表水中的 PPCPs 分布状况进行检测和分析。

收稿日期: 2016-04-29; 修订日期: 2016-06-24

作者简介: 曾超 (1981—), 男, 工程师, 硕士, 从事环境监测与管理工作。

*通讯作者: 刘敏敏 E-mail: 4310357@qq.com

1 实验部分

1.1 仪器及试剂

U3000 液相色谱 - LTQ Orbitrap XL ETD 型质谱联用仪 (Thermos 公司, 美国); SB - C18 色谱柱 (1.7 μm , 2.1 mm $\times$ 150 mm, Agilent 公司, 美国); HLB SPE 小柱 (200 mg, 6 cc, Waters 公司, 美国); CYH SPE 小柱 (500 mg, 6 cc, 上海安谱实验科技股份有限公司); BOND ELUTE C18 SPE 小柱 (250 mg, 6 cc, Varian 公司, 美国), 固相萃取装置 (Supleco 公司, 美国), 精密 pH 计 (Mettler Toledo 公司, 瑞士)。

青霉素 G ($\geq 98\%$)、洛伐他汀 ($\geq 98\%$) 和磺胺嘧啶 ($\geq 98\%$), 购自百灵威科技有限公司, 对乙酰氨基酚 (99.9%)、苯卡佐因 (99.3%)、可替宁 (99.1%)、阿司匹林 (98.0%)、避蚊胺 (96%)、甲苄噻嗪 (98%)、萘啶酸 (97%)、卡马西平 (99%)、普鲁卡因 (99%)、西咪替丁 (99%)、酮洛芬 (99%)、苯海拉明 (99%)、托芬那酸 (99%)、阿替洛尔 (96%)、美托洛尔 (96%)、 β - 雌二醇 (99%)、磺胺二甲嘧啶 (99%)、异丙嗪 (98%)、三氯生 (99%)、甲氧苄啶 (99%)、氯咪巴唑 (98%)、可待因 (96%)、华法林 (96%)、氟西汀 (99%)、奥吩达唑 (99%)、氧氟沙星 (99%)、氢化可的松 (99%)、地塞米松 (99%)、司帕沙星 (99%)、土霉素 (99%), 购自 Sigma - Aldrich 公司。用甲醇将上述药品配制成 500mg/L 的储备液。甲醇、乙腈和异丙醇为色谱纯, 购自 Tedia 公司, 甲酸、醋酸铵、氨水购自宜兴德茂商贸有限公司。

1.2 样品采集和预处理

1.2.1 样品采集

在宜兴主要河流和湖泊设置 31 个采样点, 在 2015 年 6—10 月期间, 每个点位每月采样一次, 每个点位采集 2.0 L 水样, 收集于预先清洗干净的 Teflon FEP 瓶中, 冷藏保存, 并于 24 h 内进行 SPE 浓缩处理。

1.2.2 样品预处理

用 5 mL 甲醇和 5 mL 超纯水预平衡固相萃取小柱。将 500 mL 经甲酸调节 pH 值为 2.0 的水样以 10 mL/min 的流速过预平衡过的固相萃取柱, 5 mL 超纯水进行淋洗后, 用 5 mL 含有 5% 氨水的甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液。另取一份 500 mL 经氨水调节 pH 值为 13.0 的水样以 10 mL/min 的流速过另一预平衡过的固相萃取小柱, 5 mL 超纯水

淋洗后, 用 5 mL 含有 5% 甲酸的甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液。合并 2 种提取方式的提取液, 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下, 用温和的氮气吹干, 用甲醇定容至 1 mL, 待测。

1.3 分析方法

液相色谱条件: 10% 异丙醇冲洗泵头, 色谱柱为 Agilent SB - C18 柱, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 正离子模式下, 流动相 A 为 0.1% 甲酸溶液, 流动相 B 为乙腈, 负离子模式下, 流动相 A 为 20 mmol/L 乙酸铵溶液, 流动相 B 为甲醇。洗脱程序为 95% 流动相 A 保持 1.5 min, 在 30 min 减少至 5%, 流速为 0.2 mL/min, 进样体积为 20 μL 。

质谱条件: 采用 Orbitrap 质量分析器, 离子化方式为 ESI + 和 ESI -, 毛细管温度 350 $^{\circ}\text{C}$, 鞘气压力 2.0×10^5 Pa, 辅助气流速 3.3 L/min。正离子模式下喷雾电压 3.5 kV, 毛细管电压 30 V, 管透镜电压 80 V, 负离子模式下喷雾电压 2.5 kV, 毛细管电压 10 V, 管透镜电压 50 V。全扫描模式分辨率 $R = 60\,000$, 全扫描范围 100 ~ 1 000。

2 结果与讨论

2.1 PPCPs 富集方法建立

现选择酸性药物青霉素 G (pK_a 2.80)、碱性药物洛伐他汀 (pK_a 13.49) 和中性药物磺胺嘧啶 (pK_a 6.50) 3 种药物, 分别用 3 种广谱性 SPE 柱在不同 pH 值下进行提取, 提取结果见表 1。

表 1 不同 SPE 柱在不同 pH 值下对 3 种药物提取的回收率

SPE 柱	pH 值	回收率/%		
		青霉素 G	洛伐他汀	磺胺嘧啶
CNWBOND CYH	2	105	0	33
	6.5	55	0	28
	13	0	110	25
Oasis HLB	2	98	0	100
	6.5	51	0	53
	13	9	99	0
BOND ELUTE C18	2	11	0	3
	6.5	0	0	0
	13	0	0	0

由表 1 可见, CNWBOND CYH 固相萃取柱在酸性条件下对酸性药物青霉素 G 的提取效果最好, 回收率为 105%, 碱性条件最有利于碱性药物洛伐他汀的提取, 其回收率为 110%, 不利于中性药物的富集提取 (回收率为 25% ~ 33%)。Oasis HLB 固相萃取柱在酸性条件下可用于对酸性和中

性药物提取,在碱性条件下可用于对碱性药物提取。BOND ELUTE C18 固相萃取柱在酸性中性和碱性条件下,对 3 种药物的提取效率均较低或无回收,即 BOND ELUTE C18 固相萃取柱不适合做 PPCPs 的富集提取。因此,本研究选用 Oasis HLB 固相萃取柱分别在酸性条件下和碱性条件下对 PPCPs 进行富集提取。

2.2 PPCPs 的鉴定

对宜兴市地表水样品浓缩富集后进行分析,将分析结果与常规使用药物和护理品的精确分子量进行比对分析,筛查出宜兴市地表水中含有 30

种 PPCPs,筛查结果见表 2,图 1(a)(b)(c)(d)(e)和图 2(a)(b)(c)(d)(e)为 5 种含量较大的 PPCPs 的质谱鉴定结果。

2.3 线性关系与检测限

采用 SIM 模式,对 30 种 PPCPs 标准品进行分析,得到 30 种 PPCPs 回归方程的线性均较好,相关系数为 0.990~0.999,见表 2。

对浓度值为估计方法检出限值 2~5 倍的样品进行 14 次平行测定,根据文献[12]计算方法检出限(MDL)。结果显示 30 种 PPCPs 的检出限为 1.37~10.12 ng/L,见表 2。

表 2 比对筛查结果、方法性能指标及宜兴地区 PPCPs 的检出结果

序号	名称	ESI + / -	分子量	线性关系	相关系数	MDL /(ng · L ⁻¹)	检出率 /%	检出范围 /(ng · L ⁻¹)
1	对乙酰氨基酚	152.070 9(+)	151.063 1	y = 7 575 x + 932 3	0.994	2.00	58	1 ~ 38
2	苯佐卡因	166.086 5(+)	165.078 7	y = 26 789 x + 83 042	0.995	1.38	29	1 ~ 19
3	可替宁	177.102 5(+)	176.094 7	y = 3 208 x + 26 055	0.991	3.71	3	6
4	阿司匹林	181.049 8(+)	180.042 0	y = 70 533 x - 64 582	0.992	2.23	6	6 ~ 23
5	避蚊胺	192.138 4(+)	191.130 6	y = 18 031 x - 38 434	0.995	1.37	100	1 ~ 50
6	甲苄噻嗪	221.114 9(+)	220.107 1	y = 5 668 x - 14 140	0.998	3.58	13	1 ~ 45
7	萘啶酸	233.092 3(+)	232.084 5	y = 10 607 x - 54 979	0.997	1.81	26	1 ~ 76
8	卡马西平	237.102 5(+)	236.094 7	y = 15 476 x - 23 214	0.999	1.59	35	2 ~ 41
9	普鲁卡因	237.159 8(+)	236.152 0	y = 9 287 x + 15 912	0.997	2.75	55	1 ~ 21
10	西咪替丁	253.127 3(+)	252.119 5	y = 19 457 x + 53 931	0.996	3.64	3	5 ~ 7
11	酮洛芬	253.086 1(-)	254.093 9	y = 7 268 x - 22 732	0.998	4.86	6	9 ~ 10
12	苯海拉明	256.169 6(+)	255.161 8	y = 7 841 x - 20 629	0.997	3.88	3	15
13	托芬那酸	260.047 6(-)	261.055 4	y = 48 212 x - 35 704	0.998	1.06	3	6 ~ 8
14	阿替洛尔	267.170 3(+)	266.162 5	y = 68 200 x + 65 543	0.995	2.29	77	4 ~ 600
15	美托洛尔	268.190 6(+)	267.182 8	y = 11 005 x + 11 341	0.993	3.15	10	23 ~ 200
16	β - 雌二醇	271.169 2(-)	272.177 0	y = 8 151 x - 5 081	0.990	7.73	45	1 ~ 94
17	磺胺二甲嘧啶	279.095 3(+)	278.087 5	y = 8 996 x + 20 718	0.996	4.76	16	1 ~ 7
18	异丙噻	285.146 1(+)	284.138 3	y = 31 886 x - 77 685	0.999	3.35	3	11
19	三氯生	286.943 2(-)	287.951 0	y = 19 988 x + 65 582	0.993	3.54	6	1 ~ 20
20	甲氧苄啶	291.145 3(+)	290.137 5	y = 87 196 x + 27 255	0.993	2.25	23	1 ~ 13
21	氯咪巴唑	293.105 3(+)	292.097 5	y = 11 172 x + 12 707	0.998	2.78	6	7 ~ 25
22	可待因	300.159 4(+)	299.151 6	y = 32 477 x - 12 467	0.996	2.44	3	4 ~ 8
23	华法林	307.096 6(-)	308.104 4	y = 38 908 x - 129 825	0.998	2.28	10	1 ~ 45
24	氟西汀	310.141 7(+)	309.133 9	y = 25 514 x - 11 741	0.999	2.39	3	6 ~ 9
25	奥吩达唑	316.079 3(+)	315.071 5	y = 4 577 x - 11 664	0.999	7.84	23	2 ~ 48
26	氧氟沙星	362.1512(+)	361.1434	y = 48 685 x + 21 194	0.996	2.49	3	72 ~ 94
27	氢化可的松	363.216 3(+)	362.208 5	y = 38 703 x - 83 235	0.999	3.32	3	11 ~ 64
28	地塞米松	393.207 0(+)	392.199 2	y = 59 736 x - 45 792	0.998	2.40	6	2 ~ 71
29	司帕沙星	393.173 5(+)	392.165 7	y = 85 207 x - 167 601	0.998	1.65	3	7
30	土霉素	461.155 3(+)	460.147 5	y = 2 138 x - 1 121	0.991	10.12	3	41

2.4 宜兴市地表水中 PPCPs 浓度分布

对宜兴市的 31 个采样点中检出的 PPCPs 进行浓度分析,结果见表 2。30 种 PPCPs 在宜兴地区地表水中不同程度检出,检出范围为 1~600 ng/L。

其中,避蚊胺在各采样点均有检出,但检出浓度较低,普遍在 1~50 ng/L 范围。其他化合物只在部分采样点有检出,阿替洛尔、对乙酰氨基酚、普鲁卡因、β - 雌二醇、卡马西平和本佐卡因检出率相对

较高,其中阿替洛尔浓度较高,普遍在 4 ~ 600 ng/L。这可能是由于含避蚊胺驱蚊产品、高血压药阿替洛尔、感冒药对乙酰氨基酚等在宜兴地区使用普遍,其带来的环境隐患不容忽视。

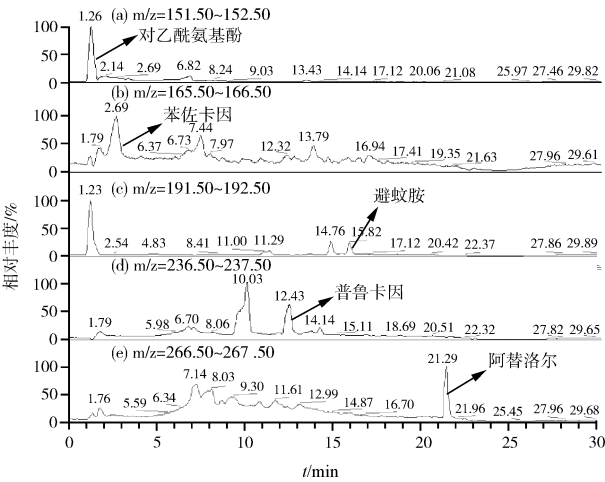


图 1 部分检出 PPCPs 的总离子流图 (TIC)

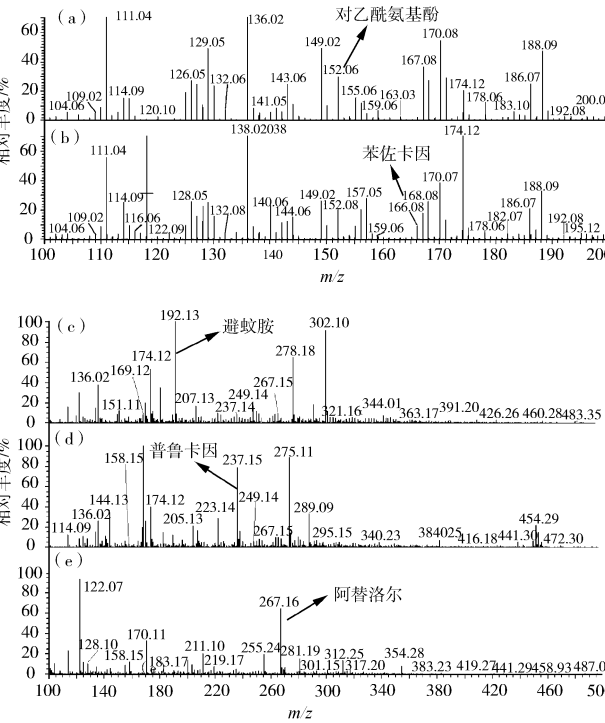


图 2 部分检出 PPCPs 的高分辨质谱图

3 结语

Oasis HLB 固相萃取柱可分别在酸性条件下和碱性条件下实现对不同性质 PPCPs 高效富集提取。用此方法筛选出宜兴市地表水中含有 30 种 PPCPs。建立了 30 种 PPCPs 的标准曲线,并计算出检出限。31 个采样点中出现频次最高的 7 种 PPCPs 分别为避蚊胺、阿替洛尔、对乙酰氨基酚、普鲁卡因、β - 雌二醇、卡马西平和苯卡佐因。阿替洛尔浓度最大,普遍在 4 ~ 600 ng/L。避蚊胺检出频率最高,31 个采样点均有检出,质量浓度为 1 ~ 50 ng/L。

[参考文献]

[1] KUMMERER K. Antibiotics in the aquatic environment-a review-part II[J]. Chemosphere, 2009, 75(4):435 - 441.

[2] HEBERER T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data[J]. Toxicology Letter, 2002, 131(1 - 2):5 - 17.

[3] HOLM J V, RUGGE K, BJERG P L, et al. Occurrence and distribution of pharmaceutical organic compounds in the ground water down gradient of a landfill[J]. Environment Science & Technology, 1995, 29:1415 - 1420.

[4] 王朋华, 袁涛, 谭佑铭. 水环境药物污染对水生物和人体健康的影响[J]. 环境与健康杂志, 2008(2):172 - 174.

[5] KUMMERER K. The presence of pharmaceuticals in the environment due to human use-present knowledge and future challenges[J]. Journal of Environment Management, 2009, 90(8):2354 - 2366.

[6] 李锐峰, 袁圣柳, 姜晓满, 等. 液相色谱 - 串联质谱法测定饮用水中 6 类 12 种药品和个人护理品[J]. 环境化学, 2014(9):1573 - 1580.

[7] 朱斌, 胡昌勤. 喹诺酮类药物光稳定性实验 HPLC 分析方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2006, (12):254 - 258.

[8] 张盼伟, 赵高峰, 周怀东, 等. 超声波萃取 - 高效液相色谱 - 串联质谱同时测定沉积物中 10 种 PPCPs 化合物[J]. 中国环境监测, 2014(1):138 - 143.

[9] 吴立乐, 任金涛, 王凯, 等. 固相萃取 - 高效液相色谱法同时测定环境水体中微量药品和个人护理用品[M]. 理化检验(化学分册), 2014(12):1481 - 1485.

[10] 王丹, 隋倩, 赵文涛, 等. 中国地表水环境中药物和个人护理品的研究进展[J]. 科学通报, 2014(9):743 - 751.

[11] 陈方荣, 吴波, 马培丽, 等. 固相萃取 - 液相色谱法同时检测 4 种酸性 PPCPs[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2011(2):168 - 173.

[12] 环境保护部. 环境监测分析方法标准制订修订技术导则: HJ168—2010[S]. 北京:中国环境科学出版社,2010.