

营娇龙, 秦晓鹏, 郎杭, 等. 超高效液相色谱 - 串联质谱法同时测定水体中 37 种典型抗生素[J]. 岩矿测试, 2022, 41(3): 394 - 403.

YING Jiaolong, QIN Xiaopeng, LANG Hang, et al. Determination of 37 Typical Antibiotics by Liquid Chromatography - Triple Quadrupole Mass Spectrometry[J]. Rock and Mineral Analysis, 2022, 41(3): 394 - 403.

【DOI: 10.15898/j.cnki.11-2131/td.202111060168】

超高效液相色谱 - 串联质谱法同时测定水体中 37 种典型抗生素

营娇龙¹, 秦晓鹏², 郎杭³, 郭健一⁴, 熊玲¹, 张占昊¹, 刘菲^{1*}

(1. 中国地质大学(北京)水资源与环境学院, 水资源与环境工程北京市重点实验室, 北京 100083;

2. 生态环境部土壤与农业农村生态环境监管技术中心, 北京 100012;

3. 中国水利水电科学研究院, 北京 100038;

4. 首都师范大学附属中学永定分校, 北京 102308)

摘要: 目前抗生素的环境检出受到人们的广泛关注, 但能够同时测试地表水和地下水中七大类抗生素的方法仍较为缺乏。本文采用超高效液相色谱 - 串联三重四极杆质谱法(UPLC - MS/MS), 建立了同时测定地表水和地下水中磺胺类、四环素类、大环内酯类、喹诺酮类、氯霉素类、 β -内酰胺类和其他类共七大类 37 种抗生素的分析方法。该方法对水中抗生素有较好的富集作用及灵敏度, 检出限为 0.6 ~ 10.6 ng/L, 基质加标回收率大多为 60% ~ 130%。采用本方法测定了北京市永定河地表水、潮白河地表水及潮白河流域地下水中的抗生素。结果表明: 永定河地表水中以磺胺类、喹诺酮类和大环内酯类为主, 检出率分别为 88.9%、55.6% 和 33.3%, 其中氧氟沙星的最大值为 111.9 ng/L; 潮白河地表水中磺胺类、喹诺酮类和氯霉素类抗生素的检出率均为 100%, 其中替米考星的浓度高达 71.6 ng/L; 潮白河流域地下水中以磺胺类、喹诺酮类和 β -内酰胺类抗生素为主, 检出率分别为 66.7%、55.6% 和 22.2%, 磺胺嘧啶的最大值为 69.3 ng/L。污水处理厂附近样品中抗生素的检出率及浓度均明显高于其他点位。本研究建立的方法简单、快速、准确, 为地表水和地下水中的抗生素监测提供方法支撑, 为水资源的合理利用及水中新污染物的治理提供了科学依据。

关键词: 抗生素; 超高效液相色谱 - 串联三重四极杆质谱法; 地下水; 地表水; 北京市

要点:

- (1) 建立的 UPLC - MS/MS 同时定量测试七大类 37 种抗生素的方法, 可应用于地表水和地下水中抗生素的检测。
- (2) 该方法应用于北京市永定河地表水、潮白河地表水与潮白河流域地下水中抗生素的检测, 均有不同程度的检出。
- (3) 污水处理厂附近地表水和地下水中抗生素含量相对较高。

中图分类号: O657.63

文献标识码: A

抗生素被广泛用于预防和治疗人类及动物的某些传染性疾病, 可提高生长速度及效率, 此外也被广泛应用于水产养殖^[1-2]。近年来抗生素的生产和使

用量逐年增加, 而其中超过一半的抗生素无法被人 和动物吸收, 以原形排入环境中^[3]。抗生素通常具有 较高的水溶性, 已在各类水体环境中被广泛

收稿日期: 2021 - 11 - 06; 修回日期: 2021 - 12 - 23; 接受日期: 2022 - 01 - 27

基金项目: 国家自然科学基金重点基金“典型抗生素对地下水系统中反硝化过程的影响机理研究”(41731282); 中国地质调查局地质调查项目“地下水有机污染组分对补给方式的响应——水样测试分析质量控制”(DD20190323)

第一作者: 营娇龙, 博士研究生, 水文地质学专业。E-mail: 294217015@qq.com。

通信作者: 刘菲, 博士, 教授, 从事有机物污染监测与地下水污染治理研究。E-mail: feiliu@cugb.edu.cn。

检出^[2]。水体环境中长期存在的痕量抗生素会影响微生物种群数量、对水生生物有毒害作用,抑制植物的光合作用甚至影响硝化反硝化作用的正常进行^[4-5]。由于水体环境中长期存在着抗生素,细菌耐药性问题逐渐显现,成为潜在的生态危害^[6],因此对水体中抗生素的检测日益受到人们的关注,开发不同类型抗生素的同时检测方法已是分析工作者的重点研究课题。

抗生素按照化学结构或作用机理进行分类。化学结构上具有明显区别的六大类抗生素,分别为磺胺类、四环素类、大环内酯类、喹诺酮类、氯霉素类和 β -内酰胺类抗生素。而另外一部分抗生素由于不具有与以上抗生素相近的性质或结构被归为其他类,该类抗生素的应用较为广泛,但相关的环境调查较为缺乏。抗生素的检测方式已有多种,其中液相色谱技术被广泛应用于抗生素检测,尤其是液相色谱-串联质谱技术由于具有灵敏度高、检出限低、多组分同时检测等优点,被用于各类水体中抗生素调查^[7-9]。近年来超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法(UPLC-MS/MS)的应用已有一些报道,如董恒涛等^[10]和朱峰等^[11]采用该方法测定了地表水中喹诺酮类和 β -内酰胺类抗生素的浓度;Xue等^[12]测定了地下水中六大类35种抗生素;马健生等^[13]采用该方法揭示了哈尔滨市地下水中六大类29种抗生素的分布特征。但以上报道均没有涉及第七大类(其他类)抗生素。

本文建立了一种采用UPLC-MS/MS同时测定水体中七大类(包括其他类)共37种抗生素的分析方法。这37种抗生素包括:15种磺胺类、2种四环素类、3种大环内酯类、8种喹诺酮类、2种氯霉素类、2种 β -内酰胺类抗生素和5种其他类抗菌剂,通过空白检出率、空白及基质加标回收率测定评价了方法的可靠性。在野外采集北京市永定河流域地表水和潮白河流域地表水、地下水样品,应用该方法分析其中七大类抗生素的浓度水平及分布特征,验证了方法的实用性。同时也明确了北京市研究区水体环境中抗生素的分布情况,为水资源的合理利用及水体中新污染物的治理提供科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器和主要试剂

固相萃取仪:Auto SPE-06C固相萃取仪(SPE,美国Reeko公司),萃取柱为Oasis HLB SPE柱(6mL,500mg,美国Waters公司)。

液相色谱-质谱联用仪:超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱仪(H-Class, Xevo-TQ-S,美国Waters公司),配备电喷雾电离源(ESI),色谱柱为Waters ACQUITY UPLC BEH C18色谱柱(2.1mm \times 50mm)。

标准物质:15种磺胺类抗生素(磺胺二甲基嘧啶、磺胺醋酰、磺胺吡啶、磺胺二甲氧嘧啶、磺胺二甲异噁唑、磺胺多辛、磺胺氯哒嗪、磺胺苯吡唑、磺胺噻唑、磺胺嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺喹恶啉、磺胺甲恶唑及磺胺甲氧哒嗪),2种四环素类抗生素(四环素及土霉素),3种大环内酯类抗生素(林可霉素、罗红霉素及替米考星),8种喹诺酮类抗生素(沙拉沙星、吡哌酸、氟罗沙星、氧氟沙星、西诺沙星、萘啶酸、恶喹酸及氟甲喹),2种氯霉素类抗生素(氯霉素及甲矾氯霉素),2种 β -内酰胺类抗生素(苯唑西林及头孢拉定)及5种其他类抗菌剂(噻苯唑、甲硝唑、甲氧苄胺嘧啶、硝呋酚酰肼及卡巴多),共37种标品,均购自德国Dr. Ehrenstorfer GmbH公司。

同位素内标:磺胺吡啶-¹³C₆(SPD-¹³C₆)、磺胺氯哒嗪-¹³C₆(SCPD-¹³C₆)及二氟沙星-D₃(DIF-D₃)购自德国WITEGA公司;去甲基金霉素(DEOCY)购自德国Dr. Ehrenstorfer GmbH公司;红霉素-¹³C-D₆(ERY-¹³C₆-D₆)购自加拿大TLC Pharmaceutical Standards公司。替代物磺胺二甲嘧啶-D₆(SDX-D₆)及氧氟沙星-D₃(OFL-D₃)购自德国WITEGA公司。

甲醇和乙腈(色谱纯)购自德国Merck公司。盐酸、氢氧化钠购自中国北京化工厂,甲酸购自美国Sigma-Aldrich公司。乙二胺四乙酸二钠购自中国国药集团。所有试剂均为分析纯及以上纯度。

37种抗生素储备液的配制:准确称取37种抗生素标准品各10.00mg溶于甲醇中,定容至100mL,配制成浓度为100mg/L的储备液,于-20℃避光保存。

1.2 样品采集

地表水和地下水样品采集于2021年5月,均遵循标准《地下水污染地质调查评价规范》(DD2008-01)采样程序进行。地表水选取水流平稳、远离岸边在水面10cm以下的位置采集,尽量避免泥沙及颗粒物。所有样品采集1L储存于1L棕色玻璃瓶中,均于当日运回实验室于-4℃避光保存,并于7d内前处理完毕。

永定河流域采样点位于北京市门头沟区、房山区和丰台区(图1)。由于研究区永定河均位于城区

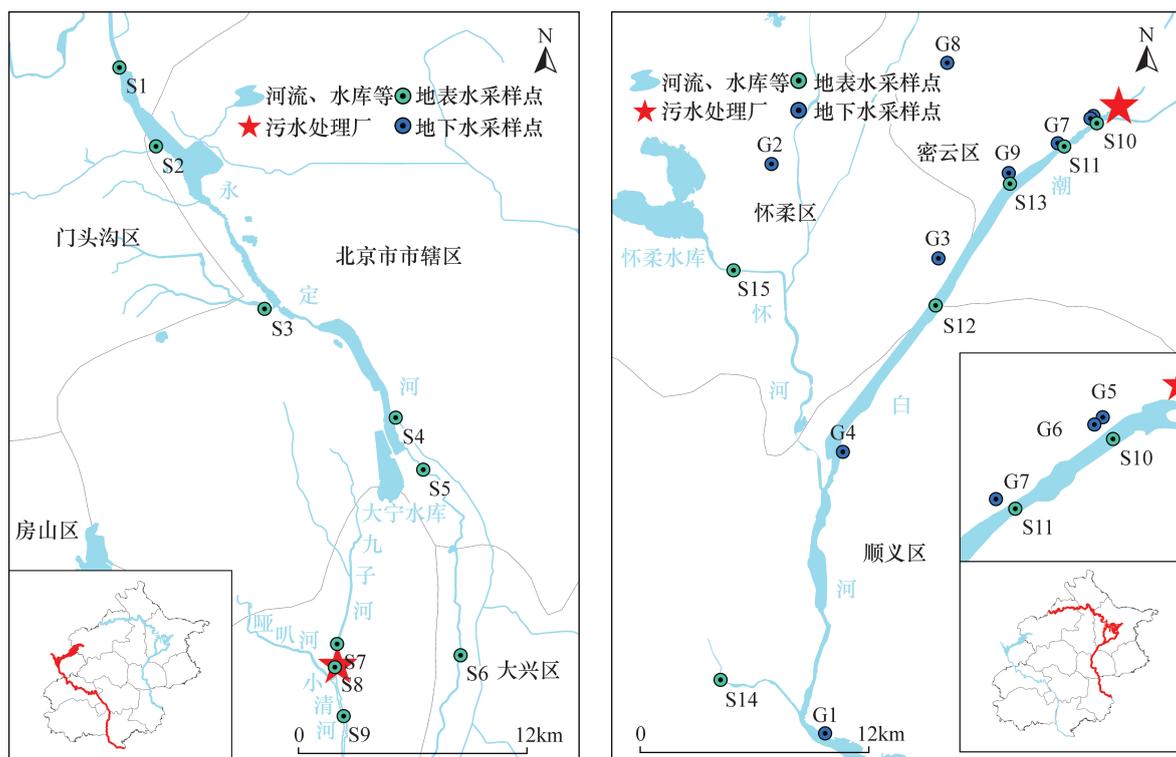


图1 研究区采样点分布图

Fig. 1 Distribution of sampling points in the study area

内,难以采集到离河岸较近的地下水,且离河岸较远的地下水无法说明地下水和地表水之间抗生素的关联,而目前国内外文献中尚未对永定河地表水中抗生素开展系统调研,故本项目组仅采集了永定河地表水中的数据。潮白河流域采样点位于潮白河入北京城区段(怀柔区、顺义区及密云区)。具体采样点位置描述如下。

永定河地表水采样点编号为S1~S9。除S1外均位于永定河北京段下游,处于永定河出山后入城区段。其中S1、S3~S6取自永定河干流;S2取自莲石湖公园旁无名支流;S7~S9取自支流小清河。

潮白河地表水采样点编号为S10~S15。其中S10~S13取自潮白河干流;S14取自城北减河上;S15位于怀河上。

潮白河地下水采样点编号为G1~G9。其中G1位于城北减河入潮白河下游左岸;G2及G8位于远离城区的村庄内;G3、G5~G7、G9紧临潮白河干流右岸;G4位于怀河入潮白河处左岸。

1.3 样品前处理

样品前处理是采用实验室前期研究成果^[12]。水样首先经0.45 μm 水相滤膜过滤后,在1L水样中加入6g的 Na_2EDTA ,通过盐酸和氢氧化钠溶液将pH

调整至4.3~4.5。随后将10 μL 替代物标准储备液(SDX-D₆和OFL-D₃,浓度为4mg/L,溶剂为甲醇)加入每个样品中。用6mL甲醇和6mL 0.1g/L的 Na_2EDTA 溶液对SPE柱进行连续活化,活化完成后将制备好的1L水样以6mL/min通过SPE柱。用10mL超纯水浸出SPE柱后在氮气保护下干燥30min,然后以0.5mL/min的速度用6mL氨水与甲醇的混合溶液(V/V=5:95)洗脱。最后利用氮气在30 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下将洗脱液吹扫至1mL以下,并使用甲醇-水溶液(V/V=1:1)将洗脱液体积定容至1.00mL,将10 μL 内标混合物(SPD-¹³C₆、SCPD-¹³C₆、DIF-D₃、DEOCY及ERY-¹³C₆-D₆,浓度为4mg/L,溶剂为甲醇)添加到最终样品中。直至仪器分析前,样品均于-4 $^{\circ}\text{C}$ 避光储存。

1.4 质量控制

前处理及分析过程的质量保证及控制遵循美国EPA 8270D和8000B方法。在永定河地表水和潮白河流域地表水及地下水分析处理中,分别添加一个实验室空白、一个实验室空白加标、一个平行样和一个样品基质加标到检测序列中。测试过程中两组空白样品中抗生素的检出浓度均低于检出限,空白及基质加标回收率均在60%~130%之间。

2 结果与讨论

2.1 抗生素测试方法及优化

根据本文课题组前期的研究^[7,12,14-15],对抗生素分析方法进行了改进和优化^[15],使得测试方法能够应用于七大类共37种抗生素,补充了之前方法所忽略的其他类抗生素。首先对有机流动相进行优化,分别使用甲醇、乙腈、甲醇/乙腈($V/V=1:1$)作为有机流动相来分离37种抗生素。结果发现甲醇作为流动相时,总离子流图中大部分抗生素的峰形拖尾较为明显。而乙腈作为流动相时,部分目标抗生素无法被质谱检测到,这是由于乙腈具有较强的极性,大部分目标分析物会在很短的时间内从色谱柱上洗脱下来,不能使所有物质较好地分离。而选用甲醇-乙腈($V/V=1:1$)作为流动相时,37种目标分析物在15min内可以较好地分离,同时峰形对称性强且没有明显的拖尾。接着在超纯水中不加甲酸和分别加入0.1%、0.2%甲酸,对目标分析物的峰形进行优化。当有机相中加入0.1%甲酸后,抗生素检测的灵敏度显著提高,这是由于流动相中的氢离子浓度升高,增强了正离子模式下分子离子 $[M+H]^+$ 的形成,检测信号增强使得峰形更好。而0.2%甲酸的加入则使得流动相中氢离子浓度过高,进而抑制了 $[M+H]^+$ 的形成,检测信号减弱,抗生素检测的灵敏度下降。

最终液相色谱条件为:流动相A为0.1%甲酸水溶液,流动相B为甲醇和乙腈混合液($V/V=1:1$,含0.1%甲酸),流速为0.2mL/min,梯度洗脱参数如下(以流动相B变化为例):0min,10% B;0~5min,10%~40% B;5.0~11.0min,40%~80% B;11.0~13.0min,80~100% B;13.0~13.1min,100~10% B;13.1~15.0min,10% B。样品进样量为1 μ L,柱温为40 $^{\circ}$ C。

通过将抗生素单标直接注入质谱检测器内,通过mass tune模块扫描并调节锥孔电压选择出准确的分子离子使其响应值达到最大。随后通过逐渐增加碰撞能,选择信号稳定且强度较大的子离子和母离子组成检测离子对。之后不断优化每个离子对的碰撞能和锥孔电压。最后使用Intellistar模块继续优化毛细管电压、锥孔电压和碰撞能等条件。在MS/MS操作中,所有目标分析抗生素采用正离子扫描模式和多反应监测模式。离子源温度和脱溶剂温度分别为120 $^{\circ}$ C和500 $^{\circ}$ C。碰撞气体和脱溶剂气体的流速分别设置为10L/h和900L/h。所分析的37种抗生素的母离子、锥孔电压和碰撞能等质谱条件如表1所示。

2.2 方法线性范围、检出限及回收率

校准曲线的配制:浓度分别为4、12、20、40、60、80、100、120、140 μ g/L标准混合溶液(内标浓度均为40 μ g/L),以各抗生素峰面积与其对应内标物峰面积的比值为纵坐标,样品浓度为横坐标进行线性分析。经上机定量分析,所有目标检测物均有良好的线性关系,相关系数均大于0.99。

方法检出限(MDL)是通过向1L超纯水中加入37种抗生素标准溶液,连续分析7个空白加标样品,加标配制浓度列于表2,用校准曲线计算样品中目标分析物的浓度,计算7次测定浓度的标准偏差,按下列公式计算方法检出限。37种抗生素的检出限范围为0.6~10.6ng/L,如表2所示。

$$MDL = s \times t_{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$$

式中: s —加标样品测试结果的标准偏差; t —自由度为 $n-1$ 时的Student's t 值,查 t 值表得到当 $n=7$ 时,在99%置信区间($\alpha=0.01$)下, $t=3.14$; n —加标样品数量, $n \geq 7$ 。

实验室空白样品中37种抗生素的浓度均低于相应的方法检测限(MDL),替代物的回收率范围为83.7%~106.4%,平行样中抗生素浓度的RSD小于10%,平行性较好。在超纯水、地表水和地下水中分别设置加标样品,以评价该方法在不同水体环境中的适用性。实验室空白加标、地表水及地下水加标是将10 μ L 37种抗生素的混标(浓度为4mg/L,溶剂为甲醇)分别加入1L超纯水、地表水及地下水中,随后采用上述前处理及分析测试方法进行抗生素浓度分析。地表水加标样品选择为S6点,该点除磺胺嘧啶(4ng/L)、磺胺甲噁唑(3.6ng/L)及甲砷氯霉素(29.7ng/L)外其余抗生素均未检出;地下水加标样品选择为G1点,该点除氯霉素(2.7ng/L)及苯唑西林(18.8ng/L)外其余抗生素均未检出。80%以上的超纯水加标($n=3$)、地表水基质加标($n=2$)和地下水基质加标($n=2$)的抗生素回收率的RSD在10%以内。

各抗生素在三种水中回收率的平均值见表2。超纯水中94.6%的抗生素回收率在60%~130%,地表水中78.4%的抗生素回收率在60%~130%,地下水中86.5%的抗生素回收率在60%~130%。地表水和地下水中抗生素的平均回收率低于超纯水,说明样品基质的复杂性对抗生素的回收率是有影响的。地表水中抗生素的回收率略低于地下水,这种差异主要集中于磺胺类抗生素。甲砷氯霉素在

表1 37种抗生素的定量内标和质谱参数

Table 1 Quantitative internal standard and mass spectrometric parameters of 37 antibiotics

抗生素类别	抗生素名称	英文缩写	内标	母离子 m/z	锥孔电压 (V)	子离子1/ 碰撞能(V)	子离子2/ 碰撞能(V)
磺胺类	磺胺二甲基嘧啶	SM2	SPD - $^{13}\text{C}_6$	279.22	56	124.18/22	186.15/15
	磺胺酯酰	SA	SPD - $^{13}\text{C}_6$	215.03	4	156.00/10	108.00/20
	磺胺吡啶	SPD	SPD - $^{13}\text{C}_6$	250.19	32	156.10/14	92.15/26
	磺胺二甲氧嘧啶	SDM	SCPD - $^{13}\text{C}_6$	311.08	2	155.98/18	92.07/30
	磺胺二甲异噁唑	SIZ	SPD - $^{13}\text{C}_6$	268.08	2	156.00/12	113.08/14
	磺胺多辛	SDO	SCPD - $^{13}\text{C}_6$	311.11	2	155.97/18	92.06/28
	磺胺氯哒嗪	SCPD	SCPD - $^{13}\text{C}_6$	284.99	4	155.97/14	92.06/28
	磺胺苯吡唑	SPP	SCPD - $^{13}\text{C}_6$	315.20	48	92.10/38	158.17/28
	磺胺噻唑	ST	SPD - $^{13}\text{C}_6$	256.16	32	92.05/26	156.05/14
	磺胺嘧啶	SD	SPD - $^{13}\text{C}_6$	251.08	72	92.05/24	156.05/14
	磺胺间甲氧嘧啶	SMM	SPD - $^{13}\text{C}_6$	280.77	80	92.01/26	155.92/16
	磺胺甲基嘧啶	SMI	SCPD - $^{13}\text{C}_6$	264.84	2	155.92/16	92.00/24
	磺胺喹恶啉	SQ	SPD - $^{13}\text{C}_6$	301.24	24	92.11/32	156.03/16
	磺胺甲恶唑	SMZ	SPD - $^{13}\text{C}_6$	254.24	26	92.12/24	156.04/14
	磺胺甲氧哒嗪	SMP	SCPD - $^{13}\text{C}_6$	281.09	2	92.07/28	155.99/16
四环素类	四环素	TC		445.15	2	410.21/18	154.11/26
	土霉素	OTC	DEOCY	461.10	6	426.22/18	443.32/12
大环内酯类	林可霉素	LIN		407.32	52	126.25/26	359.36/16
	罗红霉素	ROX	ERY - $^{13}\text{C}_6$ - D_6	837.51	40	158.20/30	679.54/18
	替米考星	TIL		869.74	12	88.07/72	174.17/40
喹诺酮类	沙拉沙星	SAR	ERY - $^{13}\text{C}_6$ - D_6	385.77	2	299.01/26	348.00/32
	吡哌酸	PPA	DIF - D_3	304.29	40	217.24/20	189.19/30
	氟罗沙星	FLE	DIF - D_3	370.31	64	326.30/18	269.25/26
	氧氟沙星	OFL	DIF - D_3	362.74	42	318.26/17	261.22/26
	西诺沙星	CIN	DIF - D_3	263.25	10	245.19/15	217.21/20
	萘啶酸	NDA	DIF - D_3	232.21	38	215.19/16	187.20/24
	噁喹酸	OXA	DIF - D_3	262.20	2	244.21/18	216.01/30
	氟甲喹	FLU	DIF - D_3	262.19	44	202.16/30	244.20/16
氯霉素类	氯霉素	CAP		305.00	2	275.00/14	165.00/25
	甲矾氯霉素	TAP	DEOCY	355.97	46	228.92/24	73.11/22
β -内酰胺类	苯唑西林	MRSA		401.95	68	143.95/30	242.99/20
	头孢拉定	CED	DEOCY	349.81	12	157.93/8	91.02/44
其他类	噻苯唑	TBZ		202.15	20	131.07/28	175.08/22
	甲硝唑	MTZ		172.12	32	56.11/16	82.04/20
	甲氧苄胺嘧啶	TMP	DEOCY	290.78	2	229.98/22	123.05/28
	硝呋酚酰肼	NIF		276.19	36	93.04/38	121.04/16
	卡巴多	CBX		263.23	36	90.09/26	231.15/12

地表水中的回收率过高(131.2%),这可能是由于地表水中较高的离子含量,促进了其在地表水中的离子化以及 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 分子离子的形成,导致检测信号增强浓度偏大。西诺沙星和萘啶酸的回收率超过100%,说明在检测时有仪器离子效应,样品基质中某些离子会与其结合,增强了其响应值和检出浓度。头孢拉定在三种水体中的回收率均不高,水解是头

孢拉定在环境中浓度降低的主要原因^[16],可能是由于三种水均呈中性或弱碱性更有利于 β -内酰胺类抗生素在水体中的水解^[17],导致其回收率较低。另外甲硝唑在三种水基质中的回收率均较低,约为40%,但其回收率在多次测试中均是稳定的。回收率较低的头孢拉定和甲硝唑在后续测试中的数据仅供参考。

表2 不同水基质中各抗生素加标回收率的平均值和方法检出限

Table 2 Average recoveries of antibiotics in different aqueous matrixes and detection limits

抗生素名称	空白检出浓度 (ng/L)	回收率(%)			方法检出限 (ng/L)	方法检出限配制浓度 (ng/L)
		超纯水加标 (n=3)	地表水加标 (n=2)	地下水加标 (n=2)		
磺胺二甲基嘧啶	ND	80.8	81.6	76.8	2.1	5
磺胺醋酰	ND	82.2	79.3	83.2	1.8	5
磺胺吡啶	ND	77.5	65.3	92.3	3.1	5
磺胺二甲氧嘧啶	ND	79.3	83.5	86.1	1.3	5
磺胺二甲异噻唑	ND	73.5	64.8	92.4	2.8	5
磺胺多辛	ND	81.4	66.5	94.8	1.9	5
磺胺氯哒嗪	ND	78.9	69.9	75.7	0.6	5
磺胺苯吡唑	ND	76.2	62.7	90.9	1.6	5
磺胺噻唑	ND	76.4	90.7	90.7	1.9	5
磺胺嘧啶	ND	80.9	58.8	94.6	3.1	5
磺胺间甲氧嘧啶	ND	65.9	57.1	96.3	1.8	5
磺胺甲基嘧啶	ND	78.7	95.3	90.5	1.5	5
磺胺喹恶啉	ND	77.7	76.4	80.7	2.0	5
磺胺甲恶唑	ND	77.6	74.7	97.3	2.0	5
磺胺甲氧哒嗪	ND	68.8	63.5	96.3	3.0	5
四环素	ND	89.0	112.9	114.8	2.4	15
土霉素	ND	107.0	103.6	66.0	1.6	15
林可霉素	ND	84.9	91.5	82.3	2.8	5
罗红霉素	ND	67.7	70.9	69.6	0.8	5
替米考星	ND	66.8	64.3	57.7	2.1	5
沙拉沙星	ND	84.5	53.9	55.3	3.4	15
吡哌酸	ND	100.8	71.3	94.3	2.0	15
氟罗沙星	ND	76.6	76.2	102.5	8.3	15
氧氟沙星	ND	97.0	87.8	88.0	6.1	15
西诺沙星	ND	105.8	118.3	128.3	1.8	15
萘啶酸	ND	82.8	105.7	118.6	4.4	15
噻啶酸	ND	99.8	74.8	75.1	2.3	15
氟甲喹	ND	97.0	104.9	117	2.5	15
氯霉素	ND	74.0	40.7	70.8	1.6	15
甲矾氯霉素	ND	72.0	131.2	83.8	14.7	15
苯唑西林	ND	64.5	66.5	50.6	7.4	15
头孢拉定	ND	35.3	13.4	23.4	1.7	15
噻苯唑	ND	71.8	59.7	73.3	2.4	5
甲硝唑	ND	39.0	40.5	35.0	1.8	5
甲氧苄胺嘧啶	ND	75.9	73.1	58.9	2.6	5
硝呋酞酰肼	ND	80.3	65.5	94.8	4.6	5
卡巴多	ND	70.9	65.3	97.5	10.6	15

注:ND表示未检出。

2.3 实际地表水和地下水样品抗生素测试结果

2.3.1 永定河和潮白河水体抗生素总体浓度水平

使用本文建立的方法对永定河9个地表水采样点及潮白河6个地表水采样点、9个地下水采样点抗生素含量进行了测试,其中被检出抗生素的检出

率及检出浓度如图2所示。从图中可知17种抗生素在测试中被检出,包括磺胺类抗生素(磺胺吡啶、磺胺氯哒嗪、磺胺嘧啶、磺胺甲恶唑),大环内酯类抗生素(林可霉素、罗红霉素、替米考星),喹诺酮类抗生素(氧氟沙星、西诺沙星、萘啶酸、氟甲喹),氯霉素类抗生素(氯霉素、甲矾氯霉素), β -内酰胺类抗生素(苯唑西林、头孢拉定)及其他类抗菌剂(甲硝唑、甲氧苄胺嘧啶)。六大类抗生素在永定河地表水9个采样点中检出率分别为88.9%、33.3%、55.6%、44.4%、22.2%和33.3%,在潮白河地表水6个采样点中五大类抗生素被检出,分别为磺胺类(100%)、大环内酯类(50%)、喹诺酮类(100%)、氯霉素类(100%)和其他类(33.3%)。在潮白河地下水9个采样点中共检出磺胺类、大环内酯类、喹诺酮类、氯霉素类和 β -内酰胺类抗生素五类抗生素,检出率分别为66.7%、22.2%、22.2%、55.6%和11.1%。所有在地下水中有检出的抗生素均在地表水中被检出。抗生素的环境分布受到其理化性质的影响,检出浓度和检出率较高的磺胺类抗生素具有最低的 K_{oc} 和 K_d 值,在固体颗粒上的吸附能力较弱^[18],更易于在水体中迁移。氧氟沙星较长的半衰期使得其能够持续在环境中存在^[19]。大环内酯类抗生素的高检出率和检出浓度与以往研究不同^[20],可能是由于其高水溶性及环境难降解性所致^[21]。

2.3.2 永定河地表水抗生素分布特征

永定河地表水被检出的15种抗生素中,磺胺甲恶唑的检出率最高,检出率高达88.9%,永定河流域地表水中检出峰值浓度最高的是氧氟沙星、林可霉素和磺胺甲恶唑,分别为111.9ng/L、42.1ng/L和39.6ng/L。浓度平均值最高的三种抗生素也是磺胺甲恶唑、氧氟沙星和林可霉素,分别为16.4ng/L、14.0ng/L和11.5ng/L。与北京市其他地表水体相比较,其检出浓度显著低于清河、温榆河等^[22-23]。与中国其他大型城市河流相比,永定河地表水中抗生素浓度和检出率略低于上海黄浦江和广州段珠江地表水^[24-25]。采集于永定河干流的S1、S2、S4、S5和S6点的抗生素总检出浓度均小于50ng/L,说明永定河干流受到抗生素污染较轻。S7、S8、S9三个点抗生素检出率及浓度均较高,各点总浓度分别为126.3ng/L、155.2ng/L和151.3ng/L。这三个点布设于房山区小清河与其支流九子河上,分别位于某污水处理厂上游500m、附近及下游2000m处,说明污水处理厂对附近地表水中抗生素的浓度有一定的影响。

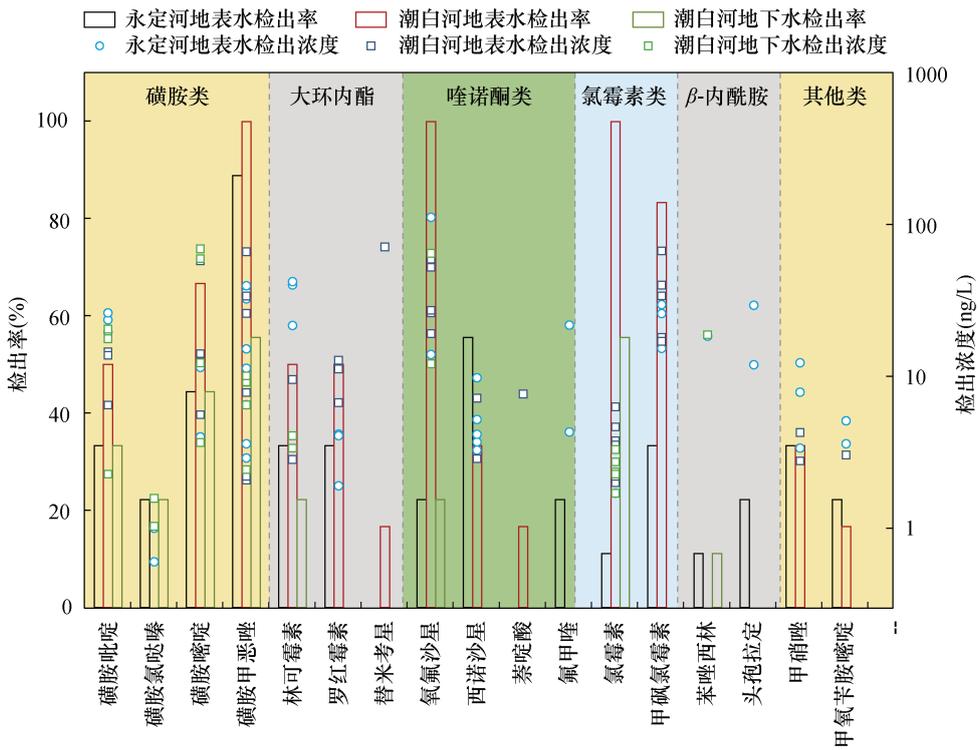


图2 永定河流域地表水($n=9$)、潮白河流域地表水($n=6$)和潮白河流域地下水($n=9$)中抗生素的检出率及检出浓度

Fig. 2 Detection rate and concentration of antibiotics in surface water ($n=9$) of Yongding River, surface water ($n=6$) of Chaobai River and groundwater ($n=9$) of Chaobai River Basin

2.3.3 潮白河流域地表水与地下水抗生素分布特征

潮白河地表水的抗生素检出率及检出浓度均高于永定河地表水,略低于前人的研究^[26]。潮白河地表水被检出的13种抗生素中,磺胺甲恶唑、氧氟沙星和氯霉素的检出率均达到100%,其次是磺胺嘧啶(66.7%),磺胺吡啶、林可霉素和罗红霉素检出率均为50.0%。检出浓度最高的抗生素为替米考星、甲氧氯霉素及磺胺甲恶唑,检出浓度分别为71.6ng/L、67.1ng/L及66.3ng/L。潮白河干流的S10和S11位于某污水处理厂附近,其中抗生素总浓度分别为103.2ng/L和200.1ng/L,而距离污水处理厂较远的S13点的抗生素总浓度为73.8ng/L。位于另一污水处理厂附近的S15点的抗生素总浓度为215.7ng/L。可见潮白河与永定河地表水抗生素分布规律一致,污水处理厂附近的地表水中抗生素浓度较高。

潮白河流域地下水被检出的8种抗生素中,磺胺甲恶唑和氯霉素的检出率最高,达55.6%。检出浓度最高的抗生素是磺胺嘧啶、氧氟沙星和磺胺吡啶,浓度分别为69.3ng/L、64.8ng/L和20.47ng/L。与前人对该流域地下水调查获得的抗生素检出水平

相似^[27]。与潮白河流域地表水中抗生素的检出率与检出浓度较高不同的是,地下水中抗生素的检出率和浓度均比地表水低,这可能是土壤吸附和微生物降解等作用使得抗生素在通过含水层进入地下水的过程中发生了衰减^[28]。G5、G6点的抗生素总浓度分别为94.8ng/L和105.31ng/L,与其下游其他点相比,抗生素总浓度明显偏高,有文献表明该点附近的某污水处理厂出水排放是潮白河抗生素输入的主要点源^[29]。位于G6点下游的G7点也受到污水处理厂的影响(总浓度为25.7ng/L),其中只有磺胺类被检出,其附近的地表水S11点的抗生素总浓度为200.1ng/L,其中磺胺类抗生素总浓度为90.3ng/L,约占总抗生素浓度的一半,故地下水中的抗生素可能是由被污水处理厂污染的地表水经含水层入渗进入地下水。因此,对污水处理厂附近地下水中的抗生素需要开展长期监测。

3 结论

本文利用超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法同时测试地表水和地下水中七大类37种抗生素,空白加标回收率和基质加标回收率均在令人满意的范围内,其中超纯水基质加标回收率略高于地

表水和地下水,可能是受到样品基质复杂性的影响。应用该方法分析了北京市永定河流域地表水及潮白河流域地下水中磺胺类、四环素类、大环内酯类、喹诺酮类、氯霉素类、 β -内酰胺类和其他类共七大类37种抗生素。研究表明:永定河地表水、潮白河地表水和潮白河流域地下水中抗生素有不同程度的检出,除四环素类外其余六大类共17种抗生素被检出,磺胺类抗生素的检出率最高。氧氟沙星的局部检出浓度最高达111.9ng/L,其浓度水平可能与污水处理厂出水有一定关系,因此需要加强对污水处理厂排放的科学管理和监测。

本文将七大类抗生素的测试方法同时应用于地表水和地下水的检测,为地表水地下水调查提供了抗生素测试方法支撑。丰富了永定河地表水、潮白河流域地表水及地下水抗生素数据。建议后续可以扩充七大类抗生素数据库,进一步增加可检出的抗生素种类。

4 参考文献

- [1] 祁彦洁,刘菲. 地下水中抗生素污染检测分析研究进展[J]. 岩矿测试,2014,33(1):1-11.
Qi Y J, Liu F. Analysis of antibiotics in groundwater: A review[J]. Rock and Mineral Analysis,2014,33(1):1-11.
- [2] Huang F Y, An Z Y, Moran M J, et al. Recognition of typical antibiotic residues in environmental media related to groundwater in China (2009—2019) [J]. Journal of Hazardous Materials,2020,399:122813.
- [3] Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance [J]. Environmental Science & Technology,2015,49(11):6772-6782.
- [4] Hagenbuch I M, Pinckney J L. Toxic effect of the combined antibiotics ciprofloxacin, lincomycin, and tylosin on two species of marine diatoms[J]. Water Research,2012,46(16):5028-5036.
- [5] Chen L P, Huang F Y, Zhang C, et al. Effects of norfloxacin on nitrate reduction and dynamic denitrifying enzymes activities in groundwater [J]. Environmental Pollution, 2021,273:116492.
- [6] Hoai T D, Trang T T, Tuyen N V, et al. Aeromonas veronii caused disease and mortality in channel catfish in Vietnam[J]. Aquaculture,2019,513:734425.
- [7] Huang F Y, Zou S Z, Deng D D, et al. Antibiotics in a typical karst river system in China: Spatiotemporal variation and environmental risks [J]. Science of the Total Environment,2019,650:1348-1355.
- [8] Duan L, Zhang Y Z, Wang B, et al. Characteristics of pharmaceutically active compounds in surface water in Beijing, China: Occurrence, spatial distribution and biennial variation from 2013 to 2017 [J]. Environmental Pollution,2020,264:114753.
- [9] 朱帅,沈亚婷,贾静,等. 环境介质中典型新型有机污染物分析技术研究进展[J]. 岩矿测试,2018,37(5):586-606.
Zhu S, Shen Y T, Jia J, et al. Review on the analytical methods of typical emerging organic pollutants in the environment [J]. Rock and Mineral Analysis, 2018, 37 (5):586-606.
- [10] 董恒涛,姚劲挺,郝红元,等. 超高效液相色谱三重四级杆质谱联用法测定地表水中14种喹诺酮类抗生素残留[J]. 环境化学,2018,37(6):1436-1439.
Dong H T, Yao J T, Hao H Y, et al. Determination of 14 quinolones residues in surface water by UHPLC-MS/MS [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37 (6):1436-1439.
- [11] 朱峰,吉文亮,阮丽萍,等. 高效液相色谱-质谱联用法同时检测水体中13种 β -内酰胺类药物残留[J]. 色谱,2016,34(3):299-305.
Zhu F, Ji W L, Ruan L P, et al. Simultaneous determination of 13 β -lactam residues in water by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016,34(3):299-305.
- [12] Xue Q, Qi Y J, Liu F. Ultra-high performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry for the analysis of antibiotic residues in environmental waters [J]. Environmental Science & Pollution Research International,2015,22(21):16857.
- [13] 马健生,王卓,张泽宇,等. 哈尔滨市地下水中29种抗生素分布特征研究 [J]. 岩矿测试,2021,40(6):944-953.
Ma J S, Wang Z, Zhang Z Y, et al. Study on distribution characteristics of 29 antibiotics in groundwater in Harbin [J]. Rock and Mineral Analysis, 2021, 40 (6):944-953.
- [14] Zou S Z, Huang F Y, Chen L, et al. The occurrence and distribution of antibiotics in the karst river system in Kaiyang, southwest China [J]. Water Science and Technology - Water Supply,2018,18(6):2044-2052.
- [15] 郎杭. 地下水中典型药物定性识别及抗生素定量的方法研究与应用[D]. 北京:中国地质大学(北京),2020.
Lang H. Pharmaceutical identification and antibiotics detection in groundwater [D]. Beijing: China University of Geosciences (Beijing),2020.

- [16] Jiang M X, Wang L H, Ji R. Biotic and abiotic degradation of four cephalosporin antibiotics in a lake surface water and sediment [J]. *Chemosphere*, 2010, 80 (11): 1399 – 1405.
- [17] Volmer D A, Hui J P M. Study of erythromycin A decomposition products in aqueous solution by solid – phase microextraction/liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 1998, 12(3): 123 – 129.
- [18] Baran W, Sochacka J, Wardas W. Toxicity and biodegradability of sulfonamides and products of their photocatalytic degradation in aqueous solutions [J]. *Chemosphere*, 2006, 65(8): 1295 – 1299.
- [19] Lapworth D J, Baran N, Stuart M E, et al. Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence [J]. *Environmental Pollution*, 2012, 163: 287 – 303.
- [20] Zhou L J, Ying G G, Liu S, et al. Simultaneous determination of human and veterinary antibiotics in various environmental matrices by rapid resolution liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1244: 123 – 138.
- [21] Ying J L, Qin X P, Zhang Z H, et al. Removal of lincomycin from aqueous solution by birnessite: Kinetics, mechanism, and effect of common ions [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(3): 3590 – 3600.
- [22] 朱琳, 张远, 渠晓东, 等. 北京清河水体及水生生物体内抗生素污染特征 [J]. *环境科学研究*, 2014, 27(2): 139 – 146.
- Zhu L, Zhang Y, Qu X D, et al. Occurrence of antibiotics in aquatic plants and organisms from Qing River, Beijing [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2014, 27(2): 139 – 146.
- [23] 章琴琴. 北京温榆河流域抗生素污染分布特征及源解析研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2012.
- Zhang Q Q. Determination and source apportionment of three classes of antibiotics in Beijing Wenyu Rivers [D]. Chongqing: Chongqing University, 2012.
- [24] 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.
- Fang L F, Wei Q S, Wang Y H, et al. Source and distribution of typical antibiotics in the Upper Huangpu River, Shanghai [J]. *Environmental Pollution & Control*, 2017, 39(3): 301 – 306.
- [25] 周志洪, 赵建亮, 魏晓东, 等. 珠江广州段水体抗生素的复合污染特征及其生态风险 [J]. *生态环境学报*, 2017, 26(6): 1031 – 1041.
- Zhou Z H, Zhao J L, Wei X D, et al. Co – occurrence and ecological risk of antibiotics in surface water of Guangzhou Section of Pearl River [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2017, 26(6): 1031 – 1041.
- [26] Du S, Ben W W, Strobel B W, et al. Occurrence, source estimation and risk assessment of pharmaceuticals in the Chaobai River characterized by adjacent land use [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 712: 134525.
- [27] 吴苗苗. 再生水回灌过程中典型磺胺类抗生素的行为特性研究 [D]. 北京: 清华大学, 2015.
- Wu M M. The behavior of typical sulfonamides in soil by groundwater recharge with reclaimed water [D]. Beijing: Tsinghua University, 2015.
- [28] Hanna N, Sun P, Sun Q, et al. Presence of antibiotic residues in various environmental compartments of Shandong Province in eastern China: Its potential for resistance development and ecological and human risk [J]. *Environment International*, 2018, 114: 131 – 142.
- [29] Zhang C H, Wang L L, Gao X Y, et al. Antibiotics in WWTP discharge into the Chaobai River, Beijing [J]. *Archives of Environmental Protection*, 2016, 42(4): 48 – 57.

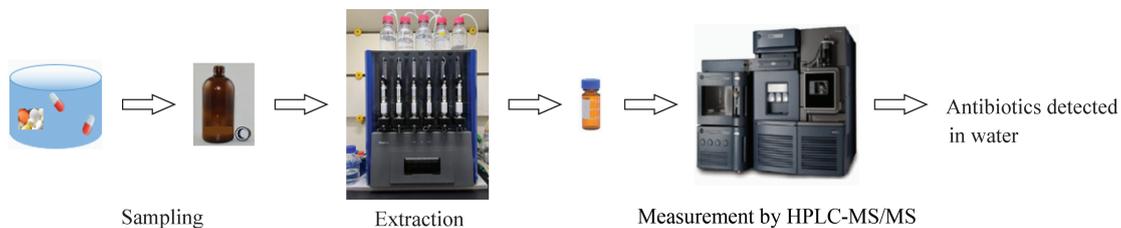
Determination of 37 Typical Antibiotics by Liquid Chromatography – Triple Quadrupole Mass Spectrometry

YING Jiaolong¹, QIN Xiaopeng², LANG Hang³, GUO Jianyi⁴, XIONG Ling¹, ZHANG Zhanhao¹, LIU Fei^{1*}

- (1. Beijing Key Laboratory of Water Resources and Environmental Engineering, School of Water Resources and Environment, China University of Geosciences (Beijing), Beijing 100083, China;
2. Technical Centre for Soil, Agricultural and Rural Ecology and Environment, Ministry of Ecology and Environment, Beijing 100012, China;
3. China Institute of Water Resources and Hydropower Research, Beijing 100038, China;
4. Yongding Middle School Affiliated to Capital Normal University, Beijing 102308, China)

HIGHLIGHTS

- (1) A method for simultaneous determination of 37 antibiotics by ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was established, which can be applied to the detection of antibiotics in surface water and groundwater simultaneously.
- (2) The method was applied to the detection of antibiotics in surface water of the Yongding River, and surface water and groundwater of the Chaobai River in Beijing, whose antibiotics were detected in different levels.
- (3) The concentration of antibiotics near the sewage treatment plant was relatively high.



ABSTRACT

BACKGROUND: Currently, the environmental detection of antibiotics is receiving extensive attention, but there is still a lack of methods that can simultaneously analyze seven categories of antibiotics in surface water and groundwater.

OBJECTIVES: To establish a method that can detect thirty-seven antibiotics (15 sulfonamides, 2 tetracyclines, 3 macrolides, 8 quinolones, 2 chloramphenicols, 2 β -lactams and 5 other kinds) simultaneously.

METHODS: Solid phase extraction coupled with ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was used to quantify the concentration of antibiotics.

RESULTS: The method had good sensitivity and enrichment effect for the surface water and groundwater, the recoveries ranged from 60% to 130%, the detection limits ranged from 0.6 to 10.6 ng/L. The method was applied to the determination of antibiotics in surface water of the Yongding and Chaobai Rivers, and groundwater of the Chaobai River in Beijing. Sulfonamides, quinolones and macrolides were the main antibiotics in the surface water of the Yongding River, and the detection rates were 88.9%, 55.6% and 33.3%, respectively. The highest concentration of floxacin was 111.9 ng/L. Sulfonamides, quinolones and chloramphenicols were the main antibiotics in the surface water of the Chaobai River with detection rates of 100%. The highest concentration of tilmicosin was 71.6 ng/L. Sulfonamides, quinolones and β -lactams antibiotics were the main antibiotics in the groundwater of the Chaobai River Basin, and the detection rates of were 66.7%, 55.6% and 22.2%, respectively. The highest concentration of sulfadiazine was 69.3 ng/L. In both surface water and groundwater, the detection rate and concentration near the sewage treatment plant were significantly higher than those at other points.

CONCLUSIONS: The method established in this study is simple, rapid and accurate, which can be used for the simultaneous determination of 37 antibiotics in seven categories in surface water and groundwater. It provides antibiotic analysis method support for surface water and groundwater investigation, and provides a scientific basis for rational utilization of water resources and management of new pollutants in water.

KEY WORDS: antibiotic; ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole-mass spectrometry; groundwater; surface water; Beijing City