

使用 Agilent Bond Elut PPL 和 LC/MS/MS 对饮用水中的药品和个人护理用品 (PPCPs) 污染物进行分析

作者

Xia Yang 和 Zhicong Wang
安捷伦科技有限公司

摘要

本文针对饮用水中的多种药品和个人护理用品 (PPCPs) 污染物开发了一种快速可靠的分析工作流程。首先使用离线固相萃取 (SPE) Agilent Bond Elut PPL 进行前处理，然后对提取净化后的样品进行 LC/MS/MS 分析。我们考察了各种 SPE 产品，其中 Bond Elut PPL 的结果总体来讲最佳，因而选择它进行进一步的方法优化。定量结果表明，39 种 PPCPs 在两种加标浓度水平下，平均回收率为 79%–127%，RSD 小于 20%。定量限 (LOQ) 范围为 0.5–13 ng/L。

实验部分

化学品与试剂

样品前处理所用试剂和溶剂均为 HPLC 级或分析级，LC/MS 分析所用的试剂和溶剂均为 LC/MS 级。乙腈 (ACN) 和甲醇 (MeOH) 购自 Honeywell (Muskegon, MI, USA)。甲酸 (FA)、甲酸铵和抗坏血酸购自安谱公司（中国上海）。磷酸二氢钾购自百灵威科技有限公司（中国北京）。氟化铵和乙二胺四乙酸二钠盐二水合物 (Na₂EDTA) 购自 Sigma-Aldrich。所有目标物标准品和内标（100 µg/mL，溶于乙腈）均购自阿尔塔科技有限公司（中国天津），并储存于 -20 °C 条件下。考虑到稳定性，青霉素和头孢菌素溶液在使用前用 1:1 ACN:水现配，浓度为 100 µg/mL。

设备和消耗品

- Eppendorf 5810R 离心机 (Hamburg, Germany)
- Agilent Bond Elut PPL，6 mL 小柱，500 mg（部件号 12255001）
- Agilent Bond Elut SPE 空柱管 60 mL（部件号 12131012）
- 用于 1、3 和 6 mL Bond Elut 小柱的接头适配器，15/包（部件号 12131001）
- Agilent Vac Elut 20 真空萃取装置（部件号 12234101）

仪器条件

采用 Agilent 1290 Infinity II LC 系统进行 LC/MS/MS 检测。该系统包括 Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)、Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B) 和 Agilent 1290 Infinity II 高容量柱温箱

(G7116B)。将这些组件与配备安捷伦喷射流电喷雾离子源的安捷伦三重四极杆 LC/MS (G6470A) 联用。采用 Agilent MassHunter 工作站软件进行数据采集和分析。表 1 列出了 LC/MS/MS 方法条件。MRM 离子对和设置如表 2 所示。

表 1. LC/MS/MS 方法条件

LC/MS/MS 参数		设置	
色谱柱	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm （部件号 959758-902）		
柱温	40 °C		
自动进样器温度	10 °C		
进样量	10 μL		
流动相	A) 含 4.5 mmol/L 甲酸铵、0.5 mmol/L 氟化铵和 0.1% 甲酸的水溶液 B) 含 4.5 mmol/L 甲酸铵、0.5 mmol/L 氟化铵和 0.1% 甲酸的甲醇溶液		
梯度	时间 (min)	%B	流速 (mL/min)
	0	2	0.35
	1	2	
	3	20	
	8	30	
	10	40	
	15	70	
	16	98	
19	98		
停止时间	19 min		
离子源参数			
气体温度	300 °C		
气体流速	10 L/min		
雾化器	40 psi		
鞘气温度	350 °C		
鞘气流速	11 L/min		
电离模式	正离子		
毛细管电压	+3500		
喷嘴电压	+500		
时间段			
Agilent 1290 Infinity II 二元系统			
开始时间 (min)	扫描类型	分流阀	Delta EMV (+)
0	DMRM	至废液	0
2.8	DMRM	至 MS	400
19	DMRM	至废液	0

表 2. 目标分析物的 MRM 条件

化合物名称	母离子	子离子	RT (min)	碎裂电压	碰撞能量	池加速电压
1,7-二甲基黄嘌呤	181.1	124.0	4.7	116	22	4
		69.1			34	
		42.2			46	
对乙酰氨基酚- ¹³ C ₂ - ¹⁵ N	155.1	110.9	3.9	93	14	4
		65.0			34	
乙酰氨基酚	152.1	110.1	3.9	111	18	4
		93.1			26	
		65.1			38	
氨苄青霉素	350	160.0	6.6	113	10	4
		114.0			36	
		106.0			16	
卡马西平	237.1	194.0	13.8	136	22	4
		179.0			42	
		165.0			50	
头孢噻呋	524	241.0	11.8	146	6	5
		126.0			40	
		124.7			58	
头孢氨苄	348.1	174.1	6.1	116	2	4
		158.2			2	
		106.0			40	
头孢氨苄-d5	353.1	158.1	6.1	88	6	4
		111.0			30	
头孢拉定	350.1	175.9	7.1	102	17	4
		157.9			8	
		107.8			30	
西诺沙星	263.1	245.1	10.2	85	14	4
		217.1			22	
		189.0			30	
环丙沙星	332.1	314.0	6.9	149	20	4
		288.0			20	
		245.0			40	
环丙沙星-d8	340.2	322.2	6.9	131	26	4
		235.0			46	
甲红霉素	748.5	590.4	15.3	100	18	5
		158.0			30	
		83.1			55	
氯唑西林	436	277.0	14.6	70	12	4
		160.0			12	
去氢硝苯地平	345.1	284.1	14.1	146	30	4
		268.1			30	
地尔硫卓	415.2	178.0	13.3	141	26	4
		150.0			50	
		109.0			55	
苯海拉明	256.2	167.0	12.3	80	14	4
		165.0			54	
		152.0			46	

化合物名称	母离子	子离子	RT (min)	碎裂电压	碰撞能量	池加速电压
恩诺沙星	360.2	342.2	7.3	156	20	4
		316.2			16	
		245.1			32	
红霉素	734.5	576.2	14.3	172	6	5
		157.8			18	
		82.8			54	
红霉素- ¹³ C-d3	738.5	161.8	14.3	141	30	5
		82.7			58	
氟甲唑	262.1	244.1	13.3	108	12	4
		202.0			32	
		126.0			52	
氟西汀	310.1	148.1	14.5	106	6	4
		91.0			10	
		44.2			14	
氟西汀-d5	315.2	153.1	14.5	83	4	4
		95.0			50	
		44.1			10	
奥美普林	275.2	259.1	6.4	90	30	4
		123.1			26	
		81.1			54	
苯唑西林	402.1	243.0	14.2	106	10	4
		160.0			14	
奥索利酸	262.1	243.9	11.1	114	20	4
		159.9			45	
青霉素 G	335.1	176.1	13.1	85	2	4
		160.1			2	
青霉素 G-d7	342.1	183.1	13.1	85	10	4
		160.1			10	
沙氟沙星	386.1	368.1	8.3	150	20	4
		342.1			20	
		299.1			40	
沙氟沙星-d8	394.2	376.1	8.3	131	22	4
		350.0			18	
		303.1			30	
磺胺醋酰	215	155.9	3.5	80	4	4
		108.0			16	
		92.0			20	
磺胺氯吡嗪	285	156.0	6.7	108	12	4
		108.1			24	
		92.1			24	
磺胺嘧啶	251.1	156.0	4.1	100	8	4
		108.1			20	
		92.1			28	
磺胺地托辛	311.1	156.0	10.5	141	16	4
		108.1			28	
		92.1			36	
磺胺多辛	311.1	156.0	7.7	126	16	4
		92.1			32	

化合物名称	母离子	子离子	RT (min)	碎裂电压	碰撞能量	池加速电压
磺胺甲噁啉	265.1	156.0	4.9	114	12	4
		108.0			20	
		92.1			28	
磺胺对甲氧噁啉	281.1	215.1	5.6	150	20	4
		156.0			20	
		108.0			35	
磺胺二甲噁啉	279.1	186.1	6.0	116	12	4
		124.0			21	
		92.1			38	
磺胺二甲噁啉-d4	283.1	124.0	6.0	103	30	4
		96.0			34	
磺胺甲二唑	271	156.0	5.7	112	9	4
		92.0			29	
磺胺甲恶唑	254.1	156.0	6.9	108	12	4
		92.1			24	
磺胺甲恶唑-d4	258.1	160.0	6.9	90	14	4
		96.1			30	
磺胺苯吡唑	315.1	158.1	9.7	150	40	4
		92.0			40	
磺胺吡啉	250.1	156.0	4.7	150	17	4
		92.0			29	
磺胺喹恶啉	301.1	156.0	11.1	118	16	4
		92.0			32	
噻菌灵	202	175.0	6.8	130	24	4
		131.0			36	
		65.0			52	
噻菌灵-d4	206.1	179.0	6.7	141	30	4
		135.1			42	
甲氧苄啉	291.2	261.1	5.5	151	18	4
		230.0			20	
		123.1			24	
甲氧苄啉-d3	294.2	230.1	5.5	90	26	4
		123.1			26	
泰乐菌素	916.5	772.4	14.3	280	30	5
		174.1			40	
		101.0			56	

样品前处理

自来水取自上海市供水系统。向 1 L 水中加入 30 mg 抗坏血酸、5.848 g 磷酸二氢钾、0.5 g Na₂EDTA，充分振荡直至完全溶解。使用不同浓度的标准溶液和 1 mg/L 的内标溶液对部分水样进行适当加标。然后使用 Bond Elut PPL，按照 SPE 流程萃取水样，如图 1 所示。

图 2 显示了 20 ng/L 加标水样中目标物的 LC/MS/MS MRM 色谱图。

SPE 净化：Agilent Bond Elut PPL，6 cc 500 mg，125 μm（部件号 12255001）

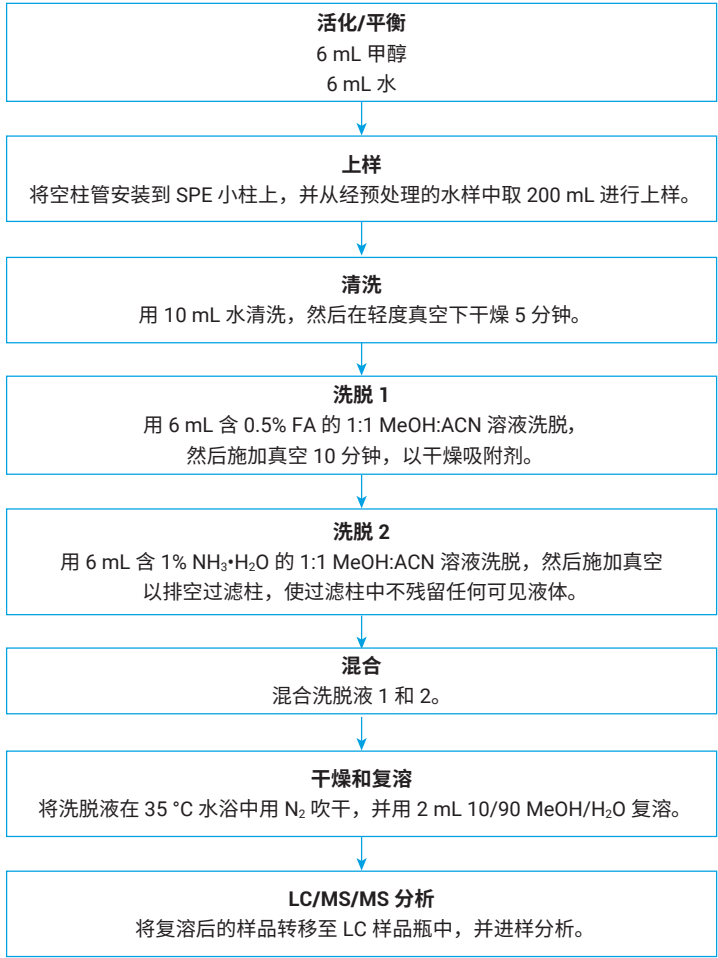


图 1. Agilent Bond Elut PPL 水样萃取 SPE 流程

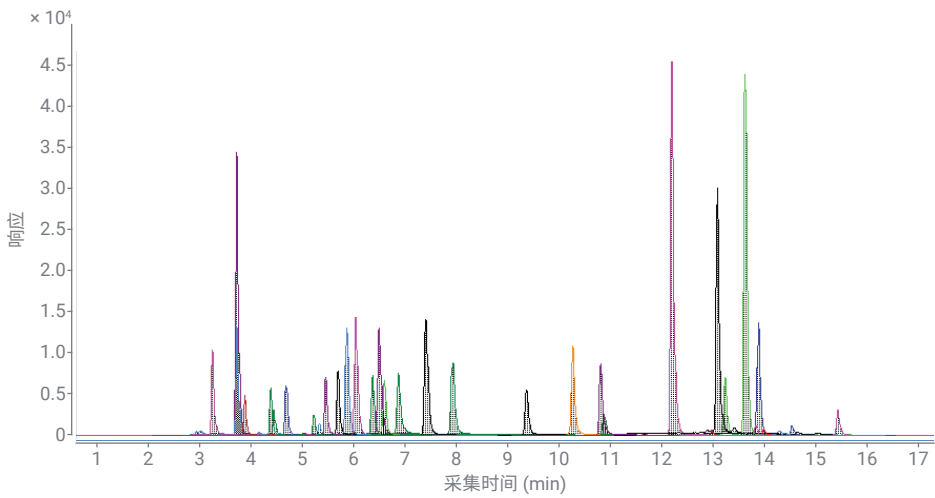


图 2. 20 ng/L 自来水加标样品中目标物的 LC/MS/MS MRM 色谱图

结果与讨论

样品前处理优化

SPE 方法优化包括以下三个参数：SPE 产品的选择、上样条件和目标物洗脱条件。

SPE 吸附剂选择

用 50 mL 纯标准溶液对四种市售的 SPE 产品进行考察：Agilent Bond Elut Plexa、Agilent Bond Elut ENV、Agilent Bond Elut PPL 和 HLB，采用相同的上样方法。上样

方法参照 EPA 方法 1694^[1]，用 1 mol/L HCl 将样品 pH 调节为 2。除 Bond Elut PPL 外，其余产品均使用 100% MeOH 进行洗脱，Bond Elut PPL 按照用户指南，针对多种目标化合物分析采用酸碱顺序洗脱^[2]。图 3 中代表性目标物的回收率结果表明，Bond Elut PPL 具有更出色的总体回收率。对于某些目标物（如红霉素和青霉素 G），无论使用哪种 SPE 产品，回收率都非常低，这可能与样品前处理过程中发生降解有关。

上样条件

饮用水中残留的氯会与某些抗生素发生反应，影响目标物的稳定性。据报道，抗坏血酸是一种有效的氯猝灭剂，并且不会影响水中抗生素的稳定性和分析^[3]。因此，在饮用水中加入抗坏血酸以除去氯，从而保护敏感的目标物。除 EPA 方法外，一些文献表明，对抗生素药物或 PPCPs 进行酸性上样，可以增强其亲脂性，在吸附剂上实现强保留^[4]。然而，酸性条件下红霉素和青霉素 G 的回收率低、变异性

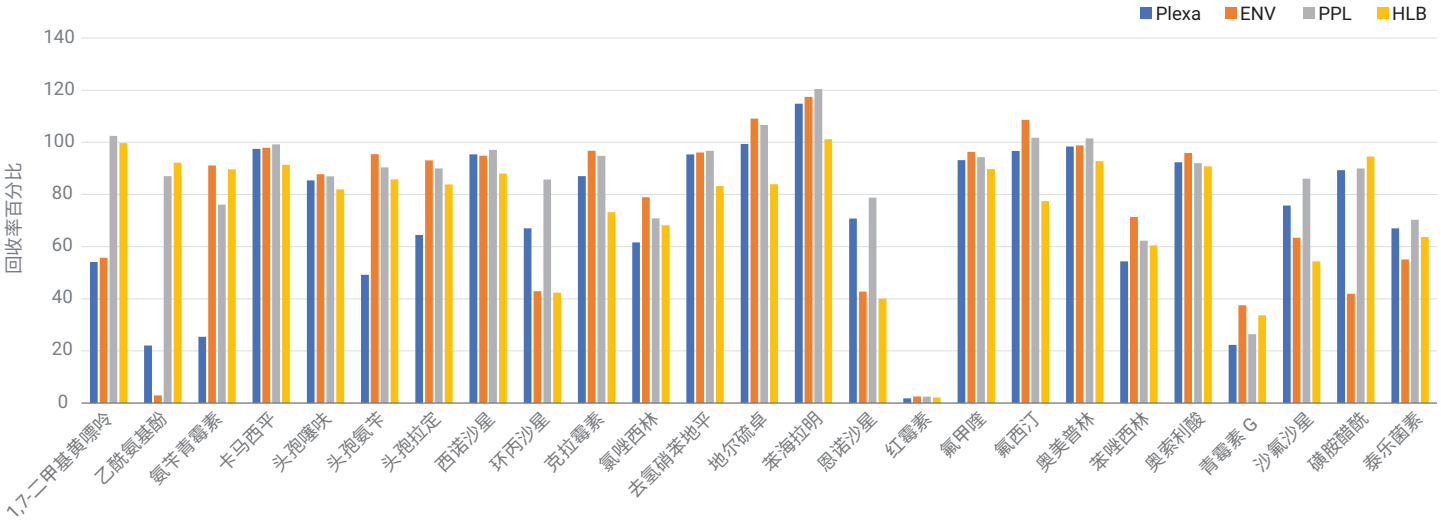


图 3. 比较不同 SPE 产品对代表性目标物的萃取效果

高，可能导致方法失败。为了验证上样条件的适用性，我们同时比较测试了酸性上样和中性上样。从图 4 的结果可以看出，对于红霉素和青霉素 G，中性上样条件比酸性上样条件具有更高的回收率，而对于其他目标物，两种上样条件下的结果相似。此外，我们还在室温条件下测试了 PPCPs 在中性水和酸性水 (pH 2) 中 12 小时内的稳定性，每 90 分钟取样一次，使用 LC/MS/MS 监测分析物响应。如图 5 所示，酸性样品条件导致青霉素和大环内酯类迅速大量降解。相反，在中性样品条件下，这些目标物表现出更好的稳定性。因此，在最终的 SPE 方法中采用了中性上样条件。

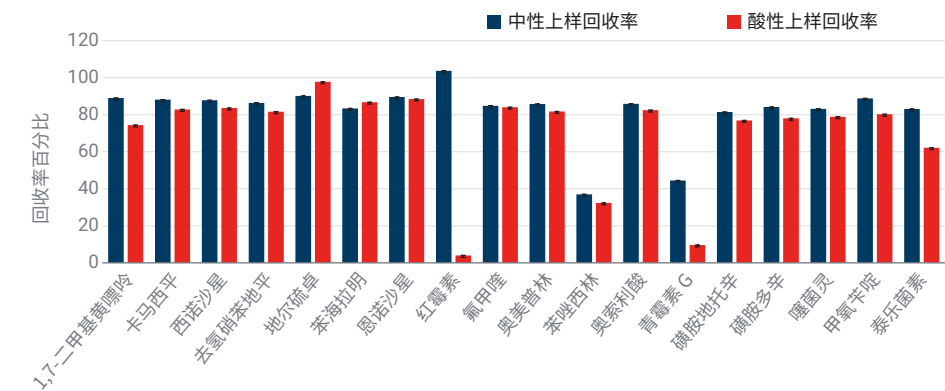


图 4. 中性上样和酸性上样条件下，代表性 PPCPs 的回收率和重现性比较 (n = 5)

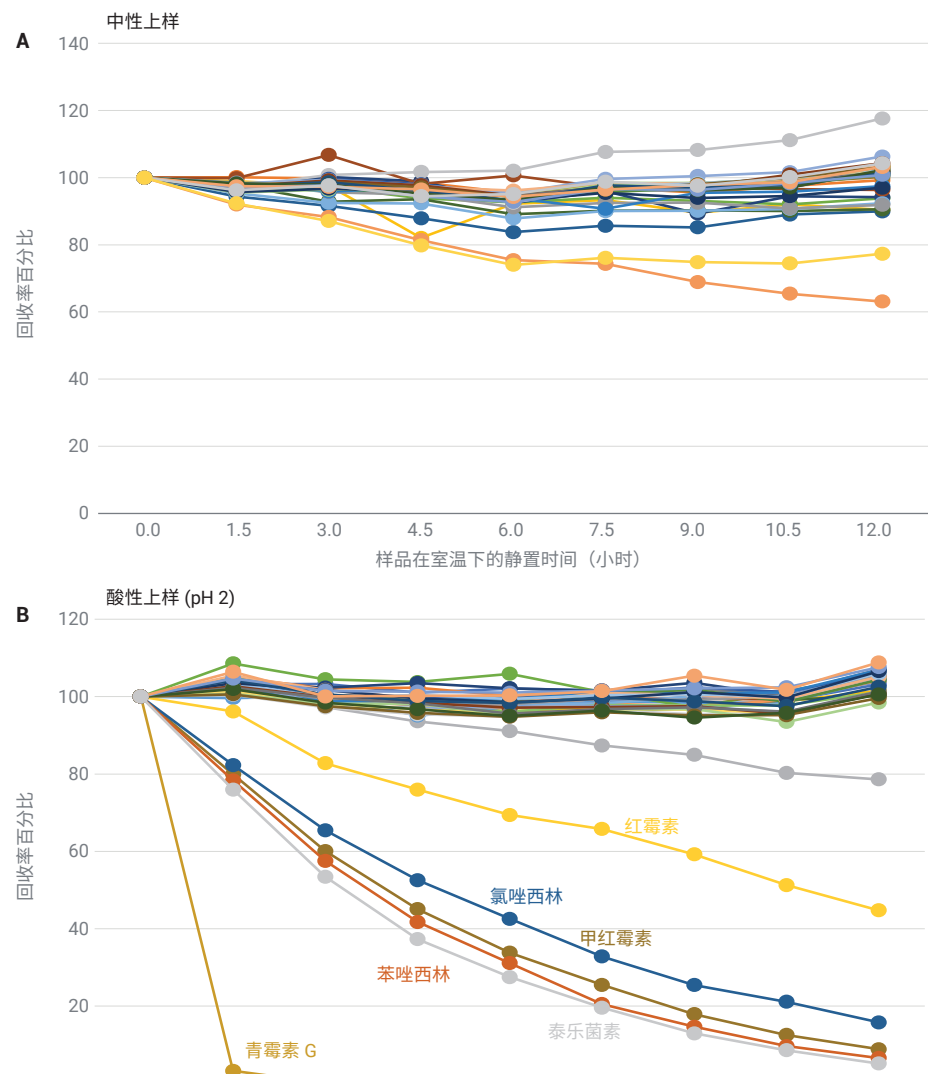


图 5. 室温条件下，PPCPs 在中性和酸性缓冲溶液 (pH = 2) 中的稳定性研究

洗脱条件

按 Bond Elut PPL 用户指南中的建议^[2]，用甲醇进行中性洗脱时大多数目标物都能获得良好的回收率，而用酸性/碱性溶剂或混合溶剂进行酸性或碱性洗脱会显著提高某些分析物的回收率。对于多种目标物的分析，酸性和碱性顺序洗脱能获得更出色的结果^[2]。因此，考虑到目标物的回收率和酸不稳定化合物的稳定性，对不同的洗脱条件进行了考察。图 6 所示的结果证实了本应用中酸-碱顺序洗脱的必要性，以确保所有目标物的回收率均在可接受的范围内。

方法验证

定量方法验证包括在低加标浓度和高加标浓度下的校准曲线线性、定量限 (LOQ)、分析物回收率和精密度。详细的定量结果如表 3 所示。使用至少十个校准标样在 0.05 ng/mL 到 25、50 或 100 ng/mL 的动态范围内生成校准曲线，具体取决于

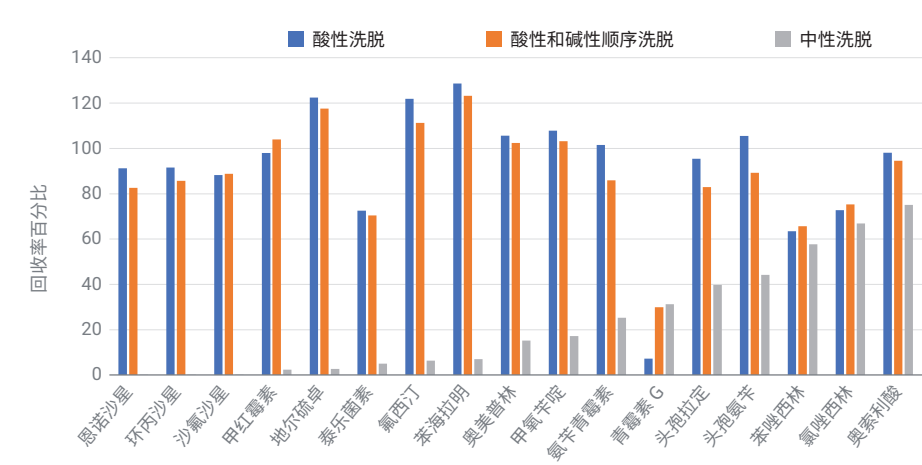


图 6. 比较代表性 PPCPs 的不同样品洗脱条件

水样中对应加标浓度为 0.5 到 1000 ng/L 的各目标物。采用线性回归拟合和 $1/x^2$ 加权。所有目标物均具有出色的校准曲线线性，相关系数 (R^2) > 0.992。对 5 ng/L 的低浓度加标 QC 样品重复分析七次，方法检测限 (MDL) 定义为标准偏差 (SD) 的 3.14 倍，而 LOQ 下限定义为

4 倍 MDL^[5,6]。饮用水中 PPCPs 的 LOQs 范围为 0.5–13 ng/L。除了因基质背景影响导致的 1,7-二甲基黄嘌呤在低加标浓度 (5 ng/L) 下的回收率偏高外，其他回收率均在可接受范围内 (79%–127%)。在两种加标浓度下，所有分析物的 RSDs 均小于 20%。

表 3. 饮用水中 39 种 PPCPs 的 LC/MS/MS 方法定量结果

分析物	IS	校准范围 (ng/L)	R ²	LOQ (ng/L)	5 ng/L 加标浓度 (n = 5)		20 ng/L 加标浓度 (n = 5)	
					LQC-回收率%	LQC-RSD	HQC-回收率%	HQC-RSD
1,7-二甲基黄嘌呤	甲氧苄啶-d3	0.5–1000	0.9992	3.1	150	3.3%	109	1.9%
乙酰氨基酚	对乙酰氨基酚- ¹³ C ₂ - ¹⁵ N	0.5–1000	0.9999	1.4	102	2.1%	107	0.7%
氨苄青霉素	青霉素 G-d7	0.5–1000	0.9995	4.6	95	9.1%	79	4.1%
卡马西平	甲氧苄啶-d3	0.5–250	0.9923	0.5	112	0.6%	109	1.3%
头孢噻吩	对乙酰氨基酚- ¹³ C ₂ - ¹⁵ N	0.5–1000	0.9996	2.8	90	2.0%	88	4.1%
头孢氨苄	头孢氨苄-d5	0.5–1000	0.9997	12.9	103	18.0%	107	7.4%
头孢拉定	甲氧苄啶-d3	0.5–1000	0.9995	7.2	104	13.5%	94	9.1%
西诺沙星	环丙沙星-d8	0.5–1000	0.9955	1.8	100	2.6%	123	2.2%
环丙沙星	环丙沙星-d8	0.5–1000	0.9979	2.0	90	3.8%	103	0.7%
甲红霉素	甲氧苄啶-d3	0.5–1000	0.9980	0.9	108	1.1%	109	3.1%
氯唑西林	对乙酰氨基酚- ¹³ C ₂ - ¹⁵ N	0.5–1000	0.9999	5.2	93	9.7%	98	2.2%
去氢硝苯地平	甲氧苄啶-d3	0.5–1000	0.9991	0.7	105	1.2%	107	1.8%
地尔硫卓	环丙沙星-d8	0.5–1000	0.9988	1.1	104	1.7%	127	4.3%
苯海拉明	环丙沙星-d8	0.5–1000	0.9931	0.9	110	1.3%	118	3.7%
恩诺沙星	环丙沙星-d8	0.5–1000	0.9990	2.6	114	4.0%	122	2.8%
红霉素	红霉素- ¹³ C-d3	0.5–1000	0.9994	8.6	105	11.4%	119	2.9%
氟甲喹	红霉素- ¹³ C-d3	0.5–250	0.9978	5.2	100	8.5%	115	1.1%
氟西汀	氟西汀-d5	0.5–1000	0.9989	0.9	109	1.5%	111	0.8%
奥美普林	磺胺二甲嘧啶-d4	0.5–250	0.9982	1.6	115	2.4%	116	2.4%
苯唑西林	青霉素 G-d7	0.5–1000	0.9997	3.6	98	5.4%	89	2.0%
奥索利酸	甲氧苄啶-d3	0.5–500	0.9981	1.2	113	1.7%	106	3.2%
青霉素 G	青霉素 G-d7	0.5–1000	0.9991	4.1	91	6.9%	107	1.7%
沙氟沙星	沙氟沙星-d8	0.5–1000	0.9993	1.7	98	2.9%	105	0.7%
磺胺醋酰	磺胺甲恶唑-d4	0.5–500	0.9922	1.0	88	1.5%	87	1.1%
磺胺氯吡啶	头孢氨苄-d5	0.5–1000	0.9983	4.0	96	4.9%	88	3.4%
磺胺嘧啶	磺胺甲恶唑-d4	0.5–1000	0.9935	0.7	86	1.2%	83	1.5%
磺胺地托辛	甲氧苄啶-d3	0.5–1000	0.9958	1.6	98	3.0%	101	1.8%
磺胺多辛	甲氧苄啶-d3	0.5–500	0.9962	2.0	104	2.9%	104	1.3%
磺胺甲噁唑	磺胺甲恶唑-d4	0.5–1000	0.9951	0.7	99	1.3%	99	1.6%
磺胺对甲氧嘧啶	磺胺甲恶唑-d4	0.5–1000	0.9967	2.6	101	4.8%	104	2.7%
磺胺二甲嘧啶	磺胺二甲嘧啶-d4	0.5–1000	0.9941	1.5	100	2.1%	108	1.2%
磺胺甲二唑	磺胺甲恶唑-d4	0.5–1000	0.9996	1.7	86	3.9%	83	1.7%
磺胺甲恶唑	磺胺甲恶唑-d4	0.5–1000	0.9997	1.7	101	3.1%	101	1.3%
磺胺苯吡唑	磺胺甲恶唑-d4	0.5–1000	0.9971	0.8	102	1.3%	97	1.6%
磺胺吡啶	磺胺甲恶唑-d4	0.5–500	0.9948	1.5	100	1.7%	96	2.6%
磺胺噻恶啉	头孢氨苄-d5	0.5–1000	0.9995	4.7	94	5.5%	80	4.2%
噻菌灵	噻菌灵-d4	0.5–1000	0.9952	1.4	106	1.5%	105	1.8%
甲氧苄啶	甲氧苄啶-d3	0.5–1000	0.9943	2.2	105	3.1%	109	1.6%
泰乐菌素	噻菌灵-d4	0.5–1000	0.9988	3.4	92	6.3%	104	5.5%

结论

采用 Agilent Bond Elut PPL SPE 萃取和 LC/MS/MS 检测联用技术，开发了饮用水中多类别多残留 PPCPs 的可靠分析方法。根据 LOQs、回收率和精密度以及校准范围，对该方法进行了定量分析验证。结果表明，该方法是一种强大可靠的饮用水分析方法，可用于饮用水中 PPCPs 的日常监测，并有望扩展至环境水分析。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE58474833

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2022
2022 年 1 月 3 日，中国出版
5994-4493ZHCN

参考文献

1. Method 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment, and Biosolids by HPLC/MS/MS (epa.gov)
2. Agilent Bond Elut PPL. *Agilent Technologies user guide* (安捷伦科技公司用户指南)，出版号 5994-4162EN, **2021**
3. Ye, Z.; Weinberg, H. S.; Meyer, M. T. Trace Analysis of Trimethoprim and Sulfonamide, Macrolide, Quinolone, and Tetracycline Antibiotics in Chlorinated Drinking Water Using Liquid Chromatography Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2007**, 79, 1135–44
4. Gros, M.; Rodríguez-Mozaz, S.; Barceló, D. Rapid Analysis of Multiclass Antibiotic Residues and Some of Their Metabolites in Hospital, Urban Wastewater and River Water by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Coupled To Quadrupole-Linear Ion Trap Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr A* **2013**, 1292, 173–188
5. 40 CFR Part 136 - GUIDELINES ESTABLISHING TEST PROCEDURES FOR THE ANALYSIS OF POLLUTANTS, Appendix B
6. Chinese regulation HJ 168-2020