

DOI:10.19431/j.cnki.1673-0062.2021.02.004

市政污水厂污水和污泥中 15 种典型抗生素 同步测定方法优化

王帆^{1,2,3}, 杨燕⁴, 官悦², 陈杨武², 谭周亮², 邓钦文^{1,3*}

(1. 南华大学 资源环境与安全工程学院, 湖南 衡阳 421001; 2. 中国科学院 环境与应用微生物重点实验室, 四川 成都 610041; 3. 南华大学 衡阳市土壤污染控制与修复重点实验室, 湖南 衡阳 421001;
4. 中国农业大学 资源与环境学院, 北京 100193)

摘要:采用固相萃取/超声辅助萃取-超高效液相色谱-质谱联用技术, 建立了一种适用于市政污水厂污水和污泥中 15 种典型抗生素的同步测定方法。污水样品经过滤、酸化及固相萃取柱富集净化; 污泥样品用体积比为 3:1 的 McIlvaine 缓冲液-乙腈和 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 超声提取后经固相萃取柱富集净化。以体积分数为 0.1% 甲酸水溶液和乙腈为流动相进行梯度洗脱, 采用电喷雾离子源, 在多反应监测、正离子模式下进行定量分析。结果表明, 在优化条件下, 15 种目标分析物在 1~1 000 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性关系良好 (R^2 均大于 0.995), 污水和污泥的加标回收率分别为 57.02%~156.79% 和 36.98%~143.76%, 相对标准偏差分别为 0.18%~10.64% 和 0.77%~8.31%。该方法成功应用于资阳市某污水处理厂污水和污泥样品的检测, 污水和污泥中各有 10 种目标抗生素被检出, 浓度分别为 9.70 ng/L ~551.27 ng/L 和 15.73 ng/g ~2 972.20 ng/g 。

关键词:市政污水厂; 抗生素; 超高效液相色谱-串联质谱; 固相萃取; 超声辅助萃取

中图分类号:X52 **文献标志码:**A

文章编号:1673-0062(2021)02-0025-08

Simultaneous Determination Method Optimization for 15 Typical Antibiotics in Municipal Wastewater Treatment Plants

WANG Fan^{1,2,3}, YANG Yan⁴, GUAN Yue², CHEN Yangwu²,
TAN Zhouliang², DENG Qinwen^{1,3*}

(1. School of Resource Environment and Safety Engineering, University of South China, Hengyang,

收稿日期:2020-12-11

基金项目:中国科学院科技服务网络计划(STS 计划)区域重点项目(KFJ-STQ-QYZD-098);中国博士后科学基金面上项目(2020M673293);湖南省自然科学基金立项项目(2018JJ2332)

作者简介:王帆(1994—),男,硕士研究生,主要从事废水生物处理方面的研究。E-mail:1211617733@qq.com。

*通信作者:邓钦文(1981—),男,副教授,博士,主要从事环境修复理论与技术方面的研究。E-mail:dengqw@usc.edu.cn

Hunan 421001, China;2. Key Laboratory of Environmental and Applied Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu, Sichuan 610041, China;3. Hengyang Key Laboratory of Soil Pollution Control and Remediation, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China;4. College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: A method was developed for the simultaneous determination of 15 typical antibiotics in the wastewater and sludge from wastewater treatment plants, using ultrasonic-assisted extraction followed by solid phase extraction and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. The wastewater samples were enriched and cleaned-up by filtration, acidification and solid phase extraction cartridges. The sludge samples were firstly extracted by ultrasonic-assisted extraction with a mixture of McIlvaine buffer-Acetonitrile and $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ with a volume ratio of 3 : 1, and then followed by SPE process. All antibiotics were separated by gradient elution with the mobile phase of 0.1% formic acid aqueous solution and acetonitrile, and then quantitatively analyzed with an electrospray ionization source in the positive ion and multiple reaction monitoring modes. After Optimization, the 15 antibiotics achieved great linearity in the range of $1 \sim 1\,000 \mu\text{g/L}$ ($R^2 > 0.995$), and the average recoveries of wastewater and sludge were 57.02% ~ 156.79% and 36.98% ~ 143.76%, respectively, and the relative standard deviations were 0.18% ~ 10.64% and 0.77% ~ 8.31%, respectively. This method has been successfully applied in determining samples of the wastewater and sludge from a municipal wastewater treatment plant in Ziyang. Ten target antibiotics were identified in the wastewater and sludge, with the concentration ranges of 9.70 ng/L ~ 551.27 ng/L and 15.73 ng/g ~ 2 972.20 ng/g in wastewater and sludge samples, respectively.

key words: municipal wastewater treatment plants; antibiotics; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; solid phase extraction; ultrasonic assisted extraction

0 引 言

抗生素已广泛用于预防和治疗人类及兽类的各种疾病,甚至被用作饲料添加剂以促进畜禽的生长^[1-3]。中国是世界上最大的抗生素生产国和消费国之一,2013 年中国消费了 92 700 t 抗生素,包括 36 种抗生素,其中人类消费占 48%,动物消费占 52%,人均消费量超过英国和北欧大部分地区的使用量 6 倍之多^[4-5]。大量使用的抗生素并不能完全被机体吸收,约有 70% 以活性母体化学物质或代谢产物排出,可通过多种途径进入水环境^[6-8]。近年来抗生素在全球范围内的污水处理厂被广泛检出,污水处理厂已成为抗生素的一个主要污染汇,其浓度多数在 ng/L ~ $\mu\text{g/L}$ 级别。然而,污水处理工艺并不能完全去除抗生素^[9-15]。环境中抗生素的长期存在会诱导耐药菌和耐药基

因大范围的增殖和传播,进而对人类健康产生潜在的威胁^[16-18]。

目前,国内外对于环境样品中抗生素的检测尚未有统一的方法标准,现有的检测方法包括高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)、液相色谱-质谱联用法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS)和超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)等^[19-24]。其中,UPLC-MS/MS 的灵敏度高、选择性好,对环境样品中痕量抗生素的检测具有独特的优势^[22, 25-26]。须指出的是,为实现环境样品抗生素的有效测定,探索合适的样品前处理条件十分关键。通常,水相样品前处理方法

为固相萃取法(solid phase extraction, SPE),固相样品前处理方法为超声溶剂萃取-固相萃取法(ultrasonic solvent extraction-solid phase extraction, USE-SPE)^[19-20,22,27]。由于环境样品中抗生素种类繁多且理化性质差异较大、不同环境基质复杂程度不一,针对不同环境样品优化其前处理条件对于抗生素的准确测定至关重要。近年来,国内外在地表水、自来水、污水等环境基质中抗生素的检测方法开发方面开展了大量工作,并取得了较好的应用效果,但目前仍存在分离效果较差或相对耗时较长等问题,同时针对市政污泥等更为复杂的环境介质中抗生素的检测方法研究还较为缺乏^[14,21,26-30]。因此,建立一种同步测定市政污水厂污水和污泥中多类抗生素的分析方法是十分必要的。

本文以污水处理系统中检出率较高的4大类包括4种四环素类(tetracyclines, TCs)、5种磺胺类(sulfonamides, SAs)、4种喹诺酮类(quinolones, QNs)和2种大环内酯类(macrolides, MLs)共15种典型抗生素为目标抗生素,采用USE/SPE-UPLC-MS/MS技术,着重优化了仪器分析参数和样品前处理方法,建立了一种适用于市政污水厂污水和污泥中4类15种典型抗生素的同步测定方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

超高效液相色谱仪(ACQUITY UPLC,美国Waters公司),配三重四极杆串联质谱仪(Xevo TQ MS,美国Waters公司);固相萃取仪(12管防交叉污染型,美国Supelco公司);氮吹仪(HGC-12D,天津市恒奥科技公司);真空冷冻干燥机(SCIENTZ-12N,宁波新芝生物科技股份有限公司);高速离心机(TDL-5-A,上海安亭科学仪器有限公司);超声波清洗机(AS3120,天津奥特赛恩斯仪器公司);涡旋混匀器(Vortex 2,德国IKA公司);超纯水器(UPT-II-10L,成都优越科技有限公司);固相萃取小柱(Oasis HLB 6 mL/500 mg,美国Waters公司)。

15种抗生素标准品包括4种TCs:强力霉素(doxycycline, DOX)、四环素(tetracycline, TC)、金霉素(chlortetracycline, CTC)、土霉素(oxytetracycline, OTC);5种SAs:磺胺二甲嘧啶(sulfamethazine, SM2)、磺胺嘧啶(sulfadiazine, SDZ)、磺胺甲噁唑(sulfamerazine, SM1)、磺胺间甲氧嘧啶(sul-

famonomethoxine, SMM)、磺胺氯吡嗪(sulfachloropyridazine, SCP);4种QNs:环丙沙星(ciprofloxacin, CIP)、诺氟沙星(norfloxacin, NOR)、氧氟沙星(ofloxacin, OFL)、恩诺沙星(enrofloxacin, ENR);2种MLs:罗红霉素(roxithromycin, ROX)、阿奇霉素(azithromycin, AZM),以上均购自德国Dr. Ehrenstorfer GmbH,纯度均大于99.5%。

甲醇、乙腈、乙酸乙酯和甲酸均为色谱纯级;Na₂EDTA、氢氧化钠、硝酸镁、氨水、柠檬酸、磷酸氢二钠和磷酸等均为分析纯级。

1.2 溶液配制

精确称取5.0 mg各抗生素标准品溶于甲醇中,将其转移至100.0 mL棕色容量瓶中定容并摇匀,配制成50.0 mg/L的抗生素标准储备溶液于-20℃下避光保存。精密吸取各抗生素标准储备溶液4 mL至100 mL棕色容量瓶中,用甲醇稀释定容并摇匀,配制成2.0 mg/L的抗生素混合标准储备溶液于-20℃下避光保存。使用时,用体积分数为20%的甲醇溶液稀释至所需浓度。

1.3 样品采集与前处理

2020年5月,采集了四川省资阳市某污水处理厂进出水及生化池泥水混合液样品6个,每个取样点采集2 L水样装入棕色采样瓶中,在冰浴下运回实验室,并于4℃下保存,48 h内完成前处理。

污水样品:水样经0.45 μm玻璃纤维滤膜过滤后,准确量取500 mL,加入0.25 g Na₂EDTA,混匀,(络合水样中的金属阳离子等),然后用H₃PO₄调节pH至3.0左右,储存于4℃下并在48 h内完成固相萃取。依次用10 mL甲醇、10 mL超纯水、10 mL pH=3的超纯水活化HLB小柱。将预处理后的水样以3 mL/min左右的流速通过HLB小柱进行富集;完成过柱后,用10 mL超纯水淋洗HLB小柱以去除杂质;真空干燥2 h左右,再用9 mL体积分数为0.1%甲酸-甲醇溶液洗脱,洗脱液用10 mL的氮吹管收集,且保持洗脱流速为1 mL/min左右;将收集的洗脱液在35℃下用温和的氮气吹至0.1 mL左右,用体积分数为20%的甲醇溶液复溶至1 mL,涡旋振荡2~3 min,用0.22 μm针孔滤膜过滤后转移至1.5 mL棕色瓶中储存于-20℃下,待UPLC-MS/MS分析。

污泥样品:将采集的污泥样品于-20℃下冷冻一周左右,经48 h冷冻干燥后研磨过筛,准确称取1.0 g过筛后的污泥样品于50 mL的聚四氟

乙烯离心管中,加入 15 mL 体积比为 1 : 1 的 McIlvaine 缓冲液和乙腈溶液,涡旋震荡 2 min,超声 15 min,5 000 r/min 离心 10 min,转移上清液至棕色玻璃瓶中,重复萃取 2 次;再向残余物中加入 5 mL 体积比为 96 : 4 的 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 和 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 溶液继续萃取,步骤同上,重复萃取 2 次;合并萃取液,用超纯水稀释至 500 mL,随后进行固相萃取,步骤与污水样品的处理相同。

1.4 分析条件

色谱条件:ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱 (2.1 mm×100 mm,1.7 μm);柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;进样体积:5 μL ;流速:0.3 mL/min;流动相 A:体积分数 0.1% 甲酸水溶液,流动相 B:乙腈;梯度洗脱程序:0 min,10% B;8 min,12% B;10.5 min,18% B;15 min,54% B;17 min,55% B;17 min,90% B。

质谱条件:电喷雾离子源 (electrospray ion source,ESI),正离子模式;离子源温度:150 $^{\circ}\text{C}$;脱

溶剂温度:500 $^{\circ}\text{C}$,脱溶剂气流量:800 L/h;毛细管电压:3.5 kV;锥孔电压:35 V;采用多反应监测 (multiple reaction monitoring,MRM) 模式检测。

2 结果与讨论

2.1 质谱参数的优化

据文献报道^[26-27,31],4 大类目标抗生素在 ESI 正离子模式下扫描,采用 MRM 模式时响应较强。因此,本文选择多反应监测 ESI+模式监测。将 15 种 50 $\mu\text{g/L}$ 目标抗生素标准溶液分别注入离子源,在 ESI+模式下进行离子扫描,选取响应最高的离子峰作为该化合物的母离子,然后对母离子进行破碎,选择 2 个合适的碎片离子作为子离子,并对各目标抗生素的子母离子对进行碰撞能量等质谱参数优化。15 种目标抗生素在 MRM 模式下的质谱参数见表 1。

表 1 MRM 模式下 15 种目标抗生素的质谱采集参数

Table 1 Mass spectrometry acquisition parameters for the 15 target antibiotics in MRM mode

目标抗生素			保留时间/min	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量/eV
磺胺类 (SAs)	磺胺嘧啶	SD	2.67	251.1	156.0 [*] /92.1	14/27
	磺胺甲嘧啶	SM1	3.82	265.1	92.1 [*] /156.0	26/22
	磺胺二甲嘧啶	SM2	5.34	279.1	92.2 [*] /186.1	32/24
	磺胺间甲氧嘧啶	SMM	10.14	281.1	156.1 [*] /92.1	32/28
	磺胺氯吡嗪	SCP	10.29	285.0	156.1 [*] /124.0	24/21
四环素类 (TCs)	土霉素	OTC	6.63	461.1	426.2 [*] /201.2	32/35
	四环素	TC	8.54	445.2	410.3 [*] /427.3	17/10
	金霉素	CTC	15.77	479.1	153.9 [*] /444.1	30/20
	强力霉素	DOX	17.81	445.2	428.2 [*] /321.5	24/30
喹诺酮类 (QNs)	诺氟沙星	NOR	7.61	320.1	302.2 [*] /276.1	21/10
	氧氟沙星	OFL	7.61	362.1	318.5 [*] /261.0	17/25
	环丙沙星	CIP	8.38	332.1	314.1 [*] /288.1	20/15
	恩诺沙星	ENR	10.68	360.2	342.4 [*] /316.1	19/17
大环内酯类 (MLs)	阿奇霉素	AZM	17.49	749.5	591.3 [*] /158.0	25/25
	罗红霉素	ROX	22.55	837.5	679.5 [*] /158.1	30/35

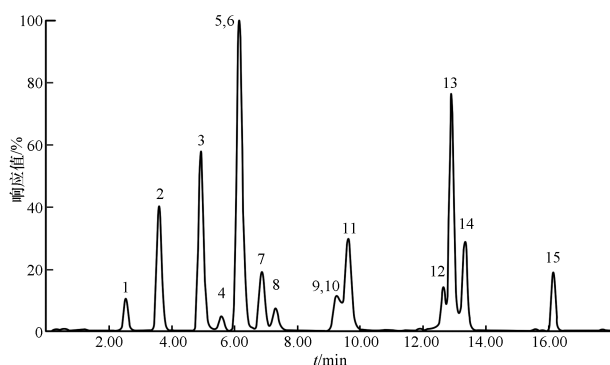
注: * 为定量离子。

2.2 色谱分离程序的优化

对于抗生素等药物类化合物常用乙腈、甲醇和含无机酸的水溶液组成的流动相体系进行分离,如甲酸和氨水等离子化助剂可以有效改善目

标抗生素的峰形、提高分析灵敏度^[25,29,32-33]。本研究发现在流动相中加入体积分数为 0.1% 甲酸可以显著改善目标抗生素的峰形。因此,本文采用体积分数为 0.1% 甲酸-水和乙腈溶液作为二元

流动相体系对目标抗生素进行梯度洗脱分离。结果发现,15种目标抗生素均可以得到较高的响应值,但是有部分抗生素的响应峰存在重叠,分离效果不理想。为了使15种目标抗生素均可被有效分离,对流动相洗脱程序进行了优化,最终确定梯度洗脱程序为:0 min,10% B;8 min,12% B;10.5 min,18% B;15 min,540% B;17 min,55% B;17 min,90% B。总离子流色谱图如图1所示,分离效果较好,无明显峰形拖尾。



1—SD;2—SM1;3—SM2;4—OTC;5—NOR;6—OFL;7—CIP;
8—TC;9—SMM;10—SCP;11—ENR;12—CTC;13—AZM;
14—DOX;15—ROX。

图1 15种目标抗生素的总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current (TIC) chromatogram of the 15 target antibiotics

2.3 样品前处理方法的优化

固相萃取(solid phase extraction,SPE)和超声溶剂萃取(ultrasonic solvent extraction,USE)技术已经被广泛应用于环境样品中抗生素类化合物的前处理^[19-20,22,32]。因此,本文采用SPE和USE技术对污水和污泥样品中抗生素进行提取、富集和净化,为减少环境基质的干扰同时提高目标抗生素的回收率,需对SPE洗脱剂和USE提取剂进行优化。

已报道的研究中大多选择用甲醇作为目标分析物的洗脱剂^[28,34],本文对比了洗脱剂A:体积分数为0.1%甲酸-甲醇溶液、洗脱剂B:体积比为1:1的甲醇-乙腈、洗脱剂C:体积分数为2%氨水-甲醇溶液和洗脱剂D:体积比为1:1的甲醇-乙酸乙酯对目标抗生素的洗脱效果,如图2所示,洗脱剂A对所有目标抗生素的洗脱效果均较好,回收率介于57.02%~156.79%;当使用洗脱剂B、C和D时,四环素类、喹诺酮类和大环内酯类

抗生素的回收率均小于35%。因此,本文选择体积分数为0.1%甲酸-甲醇溶液作为洗脱剂。

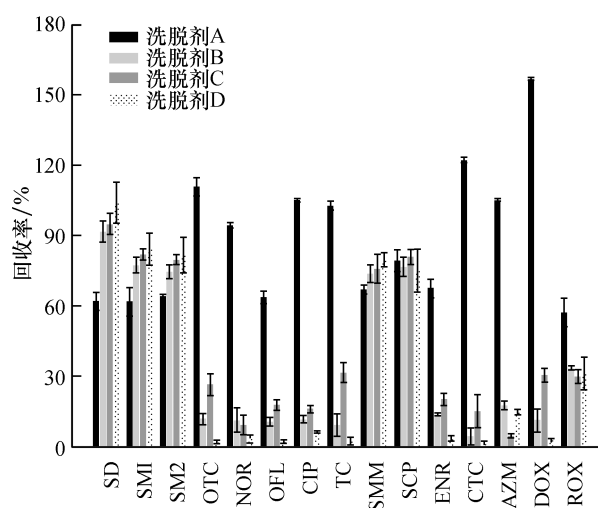


图2 不同洗脱剂下目标抗生素回收率

Fig.2 Target antibiotic recovery rate under different eluents

4大类抗生素的化学结构不同,极性和酸碱性差异较大。根据目标分析物的理化性质和前人的研究发现,由乙腈、甲醇等有机溶剂和弱酸弱碱溶液组成的萃取剂可以有效提取固相样品中残留的抗生素等药物^[28,32-35]。同时,亦有研究者发现在萃取剂中添加 Mg^{2+} 盐可以有效提高喹诺酮类抗生素的回收率^[19-20]。本文考察了萃取剂A:体积比为3:1的McIlvaine缓冲液-乙腈和 $Mg(NO_3)_2 \cdot NH_3 \cdot H_2O$ 、萃取剂B:体积比为1:1的McIlvaine缓冲液和甲醇溶液和萃取剂C:体积比为1:1的McIlvaine缓冲液和乙腈溶液对21种目标抗生素的提取效果,如图3所示,萃取剂A对所有目标抗生素的提取效果均较好,回收率介于43.3%~143.8%;当使用萃取剂B和C时,无法提取出NOR、OFL和CIP。因此,本文选择体积比为3:1的McIlvaine缓冲液-乙腈和 $Mg(NO_3)_2 \cdot NH_3 \cdot H_2O$ 作为污泥样品的萃取剂。

2.4 线性范围、检出限、定量限和回收率

配制1、5、10、50、100、250、500和1000 $\mu g/L$ 不同质量浓度梯度的混合标准工作溶液,按1.4中的分析条件进行测定,外标法定量。以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制校准曲线,线性方程及相关系数见表2。结果表明,15种目标抗生素的线性关系良好,相关系数(R^2)均大于0.995,满

足测定要求。仪器的检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 分别以信噪比 (S/N) ≥ 3 和 $S/N \geq 10$ 来确定,获得 15 种目标抗生素的 LOD 和 LOQ 分别为 $0.01 \mu\text{g/L} \sim 2.97 \mu\text{g/L}$ 和 $0.06 \mu\text{g/L} \sim 9.90 \mu\text{g/L}$ 。以污水和污泥样品为基底进行加标回收实验,加标浓度为 $100 \mu\text{g/L}$,设置 3 个平行样,按 1.3 中的方法进行样品前处理,考察方法回收率和精密度。结果表明,目标抗生素在污水和污泥基质中的回收率分别为 $57.02\% \sim 156.79\%$ 和 $36.98\% \sim 143.76\%$,相对标准偏差分别为 $0.18\% \sim 10.64\%$ 和 $0.77\% \sim 8.31\%$ 。

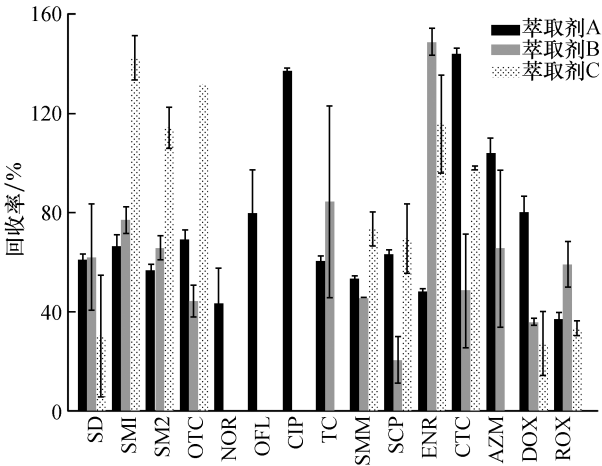


图 3 不同萃取剂下目标抗生素回收率
Fig.3 Target antibiotic recovery rate under different extractants

表 2 15 种抗生素的线性范围、线性方程、检出限、定量限和回收率
Table 2 The linear range, linear equation, limit of detection, limit of quantitation and recoveries of 15 target antibiotics

抗生素	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	线性方程	相关系数 (R^2)	检出限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	定量限/ ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率/%	
						污水	污泥
SD	1-250	$y=29.817x-5.8953$	0.999	0.24	0.80	61.88	61.16
SM1	1-250	$y=56.277x-76.617$	0.999	0.02	0.06	61.87	66.46
SM2	1-250	$y=81.882x-72.48$	0.999	0.01	0.18	64.35	56.97
SMM	5-500	$y=6.239x-35.639$	0.999	0.14	0.46	110.73	69.20
SCP	1-500	$y=7.9046x-59.573$	0.999	0.08	0.26	94.44	43.30
TC	10-500	$y=13.433x-354.1$	0.997	0.31	1.03	63.57	79.91
CTC	10-500	$y=15.262x-420.09$	0.995	0.13	0.44	105.18	137.07
DOX	10-500	$y=20.987x-521.53$	0.995	0.06	0.20	102.77	60.57
OTC	10-500	$y=7.5844x-179.72$	0.997	0.44	1.48	66.92	53.26
NOR	10-1000	$y=14.708x-756.15$	0.996	0.33	1.11	79.38	63.26
OFL	10-1000	$y=124.12x-2486.6$	0.999	0.02	0.07	67.49	48.28
CIP	10-500	$y=12.391x-157.8$	0.999	1.21	4.06	122.17	143.76
ENR	5-250	$y=31.934x-71.893$	0.999	2.97	9.90	105.19	103.97
AZM	5-500	$y=66.27x-169.7$	0.999	0.02	0.08	156.79	80.12
ROX	1-250	$y=23.692x+17.034$	0.999	0.12	0.41	57.02	36.98

2.5 实际样品检测

将本文所建立的方法应用于四川省资阳市某市政污水处理厂污水和污泥样品中抗生素的测定,结果如图 4 和图 5 所示。污水和污泥中各有 10 种目标抗生素被检出,其浓度分别为 $9.70 \text{ ng/L} \sim 551.27 \text{ ng/L}$ 和 $15.73 \text{ ng/g} \sim 2972.20 \text{ ng/g}$ 。出水中残留的抗生素污染物主要为 SCP 和 OFL,其

浓度分别为 196.05 ng/L 和 494.67 ng/L ;污泥中残留的抗生素污染物主要为 NOR 和 OFL,其浓度分别为 $2113.63 \text{ ng/g} \sim 2437 \text{ ng/g}$ 和 $2901.03 \text{ ng/g} \sim 2972.20 \text{ ng/g}$ 。污水处理工艺对部分抗生素难以有效去除或是没有真正的去除。因此,有必要针对污水处理厂中抗生素类污染物的分布和去除进行深入研究。

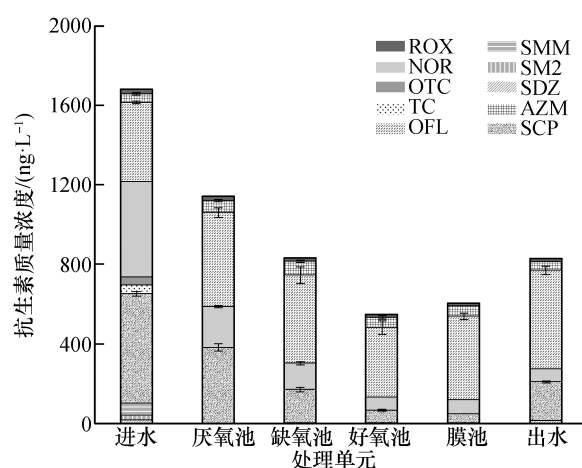


图4 资阳市某市政污水处理厂不同处理单元水样中抗生素浓度

Fig. 4 Concentration of antibiotics in wastewater of different treatment units from a municipal wastewater treatment plant in Ziyang

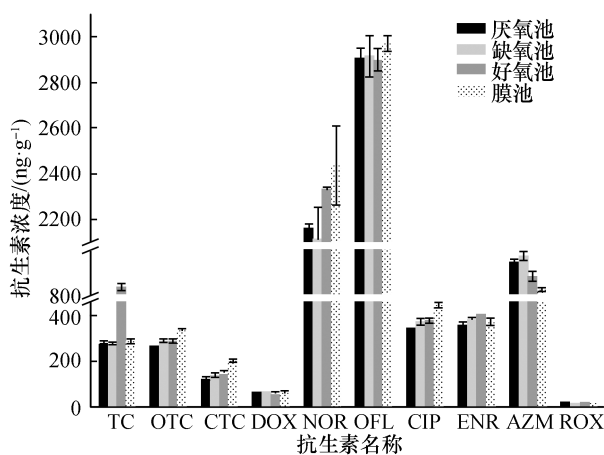


图5 资阳市某市政污水处理厂不同处理单元污泥中抗生素浓度

Fig. 5 Concentration of antibiotics in the sludge of different treatment units from a municipal wastewater treatment plant in Ziyang

3 结论

本文基于 USE/SPE-UPLC-MS/MS 技术,着重优化了目标抗生素的提取条件、富集净化过程中的洗脱条件以及 LC-MS 条件,建立了一种适用于污水和污泥中四环素类、磺胺类、喹诺酮类和大环内酯类共 15 种典型抗生素的同步测定方法,方法检出限和定量限分别为 $0.01 \mu\text{g/L} \sim 2.97 \mu\text{g/L}$ 和 $0.06 \mu\text{g/L} \sim 9.90 \mu\text{g/L}$,污水和污泥的加标回收率分别为 $57.02\% \sim 156.79\%$ 和 $36.98\% \sim 143.76\%$,相对标准偏差分别为 $0.18\% \sim 10.64\%$ 和 $0.77\% \sim$

8.31% 。本方法成功应用于资阳市某污水处理厂污水和污泥样品的检测中,共检出 10 种抗生素,其在污水和污泥中的浓度分别为 $9.70 \text{ ng/L} \sim 551.27 \text{ ng/L}$ 和 $15.73 \text{ ng/g} \sim 2972.20 \text{ ng/g}$ 。

参考文献:

- [1] GASKINS H R, COLLIER C T, ANDERSON D B. Antibiotics as growth promotants; Mode of action[J]. Animal biotechnology, 2002, 13(1): 29-42.
- [2] KUMMERER K. Antibiotics in the aquatic environment-A review-Part I[J]. Chemosphere, 2009, 75(4): 417-434.
- [3] KUMMERER K, HENNINGER A. Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent[J]. Clinical microbiology and infection, 2003, 9(12): 1203-1214.
- [4] SARMAH A K, MEYER M T, BOXALL A B A. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment[J]. Chemosphere, 2006, 65(5): 725-759.
- [5] 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.
- [6] AUST M O, GODLINSKI F, TRAVIS G R, et al. Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after subtherapeutic use in cattle [J]. Environmental pollution, 2008, 156(3): 1243-1251.
- [7] JIANG Y H, LI M X, GUO C S, et al. Distribution and ecological risk of antibiotics in a typical effluent-receiving river (Wangyang River) in north China[J]. Chemosphere, 2014, 112(2): 67-74.
- [8] YAN C X, YANG Y, ZHOU J L, et al. Antibiotics in the surface water of the Yangtze Estuary: Occurrence, distribution and risk assessment[J]. Environmental pollution, 2013, 175: 22-29.
- [9] HERNANDEZ F, CALISTO-ULLOA N, GOMEZ-FUENTES C, et al. Occurrence of antibiotics and bacterial resistance in wastewater and sea water from the Antarctic[J]. Journal of hazardous materials, 2019, 363: 447-456.
- [10] KARTHIKEYAN K G, MEYER M T. Occurrence of antibiotics in wastewater treatment facilities in Wisconsin, USA[J]. Science of the total environment, 2006, 361(1): 196-207.
- [11] LI W H, SHI Y L, GAO L H, et al. Occurrence and removal of antibiotics in a municipal wastewater reclamation plant in Beijing, China[J]. Chemosphere, 2013, 92

- (4):435-444.
- [12] MICHAEL I, RIZZO L, MCARDELL C S, et al. Urban wastewater treatment plants as hotspots for the release of antibiotics in the environment: A review[J]. Water research, 2013, 47(3):957-995.
- [13] TRAN N H, CHEN H J, REINHARD M, et al. Occurrence and removal of multiple classes of antibiotics and antimicrobial agents in biological wastewater treatment processes[J]. Water research, 2016, 104:461-472.
- [14] ZHANG X, ZHAO H X, DU J, et al. Occurrence, removal, and risk assessment of antibiotics in 12 wastewater treatment plants from Dalian, China[J]. Environmental science and pollution research, 2017, 24(19):16478-16487.
- [15] OSTMAN M, LINDBERG R H, FICK J, et al. Screening of biocides, metals and antibiotics in Swedish sewage sludge and wastewater[J]. Water research, 2017, 115:318-328.
- [16] FROST I, SMITH W P J, MITRI S, et al. Cooperation, competition and antibiotic resistance in bacterial colonies[J]. Isme journal, 2018, 12(6):1582-1593.
- [17] VERRAES C, VAN BOXSTAEL S, VAN MEERVENNE E, et al. Antimicrobial resistance in the food chain: A review[J]. International journal of environmental research and public health, 2013, 10(7):2643-2669.
- [18] YOUNESSI N, SINEGANI A A S, KHODAKARAMIAN G. Detection of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from soils around mines in Hamedan, Iran[J]. International journal of environmental science and technology, 2019, 16(12):7643-7652.
- [19] CHEN M, YI Q T, HONG J J, et al. Simultaneous determination of 32 antibiotics and 12 pesticides in sediment using ultrasonic-assisted extraction and high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Analytical methods, 2015, 7(5):1896-1905.
- [20] HUANG Y J, CHENG M M, LI W H, et al. Simultaneous extraction of four classes of antibiotics in soil, manure and sewage sludge and analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with the isotope-labelled internal standard method[J]. Analytical methods, 2013, 5(15):3721-3731.
- [21] TRAN N H, CHEN H J, DO T V, et al. Simultaneous analysis of multiple classes of antimicrobials in environmental water samples using SPE coupled with UHPLC-ESI-MS/MS and isotope dilution[J]. Talanta, 2016, 159:163-173.
- [22] 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.
- [23] 李清雪, 孙王茹, 汪庆. SPE-HPLC 测定水中 β -内酰胺类、喹诺酮类、磺胺类抗生素[J]. 中国给水排水, 2019, 35(18):118-122.
- [24] 赵立军, 郭磊, 陈进富, 等. 抗生素废水的 GC-MS 分析与显色物质的初步确定[J]. 环境工程学报, 2009, 3(10):1830-1834.
- [25] 崔敬鑫, 石秋俊, 王国民, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定环境水样中的 15 种抗生素[J]. 环境化学, 2020, 39(4):1065-1074.
- [26] 杜鹃, 赵洪霞, 陈景文. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定养殖海水中 23 种抗生素[J]. 色谱, 2015, 33(4):348-353.
- [27] 封梦娟, 杨正标, 张芹, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定表层水体中 5 类 40 种抗生素[J]. 色谱, 2019, 37(5):525-532.
- [28] WANG K, WANG X, XU Z, et al. Simultaneous determination of multi-class antibiotics and steroid hormones drugs in livestock and poultry faeces using liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. Food additives and contaminants part A, 2020, 37(9):1467-1480.
- [29] 柴玉峰, 冯玉启, 张玉秀, 等. 猪场废水中 24 种抗生素同时检测方法优化[J]. 环境化学, 2017, 36(10):2147-2154.
- [30] DU J, ZHAO H X, LIU S S, et al. Antibiotics in the coastal water of the South Yellow Sea in China: Occurrence, distribution and ecological risks[J]. Science of the total environment, 2017, 595:521-527.
- [31] 李经纬, 丁紫荣, 余乐洹, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时检测水中 17 种抗生素[J]. 分析科学学报, 2016, 32(6):851-856.
- [32] 邵天华, 贲伟伟, 苏都, 等. 城市污水处理厂污水及污泥中典型药物及其代谢产物的定量检测[J]. 环境科学学报, 2020, 40(6):2136-2141.
- [33] 陈书鑫, 王静, 何士冲, 等. 超高效液相色谱串联质谱法测定水体中 17 种抗生素[J]. 中国环境监测, 2020, 36(6):119-126.
- [34] ARCHUNDIA D, DUWIG C, LEHEMBRE F, et al. Antibiotic pollution in the Katari subcatchment of the Titicaca Lake: Major transformation products and occurrence of resistance genes[J]. Science of the total environment, 2017, 576:671-682.
- [35] RASHID A, MAZHAR S H, ZENG Q, et al. Simultaneous analysis of multiclass antibiotic residues in complex environmental matrices by liquid chromatography with tandem quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of chromatography B, 2020, 1145:122103.