

畜禽养殖基地磺胺类喹诺酮类和大环内酯类抗生素污染特征

刘 锋^{1,2}, 廖德润¹, 李 可³, 刘 琳¹, 刘超翔¹, 黄 栩^{1*}

(1. 城市环境与健康重点实验室, 中国科学院城市环境研究所, 福建 厦门 361021; 2. 亚热带农业生态过程重点实验室, 中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410125; 3. 浙江出入境检验检疫局, 杭州 310016)

摘 要: 利用固相萃取-高效液相质谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)技术, 调查了福建厦门市和莆田市畜禽养殖场的畜禽粪便、粪肥、作物土壤、沟渠底泥和人工湿地土壤共 27 份样品中 8 种抗生素的污染特征。结果表明: 从样品类型来分析, 除了大环内酯类在畜禽粪便中的平均检出浓度大于有机肥之外, 样品中抗生素浓度顺序为有机肥>畜禽粪便>作物土壤、沟渠底泥和人工湿地; 从抗生素种类来分析, 喹诺酮类抗生素(QNs)的检出浓度最高, 单个样品总含量 Σ QNs 在粪肥中最高达到 $2\,967.6\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 在作物土壤中最高达到 $579.0\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 值得注意的是, 14 份作物土壤样品中有 50% 样品的 Σ QNs 超过生态毒性效应浓度($100\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$); 磺胺类抗生素(SAs)和大环内酯类抗生素(MLs)的检出浓度相对较低, 单个作物土壤样品 Σ SAs 和 Σ MLs 都低于 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$; 从检出平均值和检出率来分析, 磺胺类污染以磺胺二甲嘧啶(SM2)为主, 大环内酯类以罗红霉素(ROX)为主, 喹诺酮类检测浓度环丙沙星(CIP)最高, 检出率恩诺沙星(ENR)最高。畜禽养殖基地的抗生素污染问题应该引起重视。

关键词: 畜禽养殖基地; 抗生素; 磺胺类; 喹诺酮类; 大环内酯类

中图分类号: X592 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2013)04-0847-07 doi:10.11654/jaes.2013.04.027

Pollution Characteristics of the Sulfonamides, Quinolones and Macrolides in the Samples Collected from Livestock and Poultry Feedlots

LIU Feng^{1,2}, LIAO De-run¹, LI Ke³, LIU Lin¹, LIU Chao-xiang¹, HUANG Xu^{1*}

(1. Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China; 2. Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 3. Zhejiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hangzhou 310016, China)

Abstract: Five kinds of samples, including animal feces, manures, arable soils, ditch sediments and surface soils of constructed wetlands, were collected from three livestock and poultry feedlots in Fujian Province. Eight antibiotics in these samples were investigated using liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The concentrations of all antibiotics in manure and animal feces were totally higher than those in other three kinds of samples. The concentration of quinolones (Σ QNs) and sulfonamides (Σ SAs) in manure were higher than those in animal feces, whereas the results for macrolides (Σ MLs) were opposite. The concentrations of quinolones were observed higher than those of sulfonamides and macrolides in all the samples, with a range of $<\text{LOD}\sim 2\,967.6\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ in all the samples and $<\text{LOD}\sim 579\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ in arable soils. In addition, the quinolones in fifty percent of arable soils exceeded the trigger value of the ecological risk ($100\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), whereas the sulfonamides and macrolides in arable soils never exceed $100\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. The data of average concentration and detection frequency indicated that sulfamethazine was the dominant composition of sulfonamides and roxithromycin was the dominant composition of macrolides. In the quinolones, the concentration of ciprofloxacin was highest and enrofloxacin was most frequently detected. This study suggests that more attention should be paid to antibiotics pollution in livestock and poultry feedlots.

Keywords: livestock and poultry feedlots; antibiotics; sulfonamides; quinolones; macrolides

收稿日期: 2012-09-28

基金项目: 国家自然科学基金(31100371, 41101478); 福建省自然科学基金(2011J05103, 2010J05037); 福建省星火计划重点项目(2011S0011); 浙江省自然科学基金(LY12C01006); 厦门市科技计划项目(3502Z20112018); 国家环境保护环境微生物利用与安全控制重点实验室开放课题(MRC2011D035)

作者简介: 刘 锋(1978—), 男, 副研究员, 主要从事有机污染生物地球化学研究。E-mail: Liufeng@isa.ac.cn

* 通信作者: 黄 栩 E-mail: xhuang@iue.ac.cn

规模化动物养殖中抗生素主要用于预防治疗动物疾病和促进动物生长。调查发现动物养殖消耗的抗生素已经远远超过人类医疗所消耗^[1]。抗生素进入动物机体后,少部分以原形或者代谢产物方式蓄积于组织、器官以及蛋奶等产品中,而有相当部分以原形或者代谢产物随粪、尿等排泄物排出^[2]。这些外排的动物粪便中抗生素的含量普遍较高^[3-4],现已经成为环境中抗生素污染的重要来源。据统计,一个万头猪场每年向环境排泄的兽用抗生素达 300~500 kg^[5]。规模化养殖场产生的大量畜禽粪便直接或者被做成有机粪肥后施用于菜地、农田和果园^[6]。堆肥等工艺能够在一定程度上分解抗生素^[7],但我国 80%以上的畜禽粪便未经综合治理便直接使用^[6]。这些进入环境的抗生素,残留在土壤、表层水体等^[8],干扰土壤微生物功能^[9]和引起细菌耐药性^[10],还可能通过食物链传递到植物、动物等,最终影响人类健康。

抗生素污染已经引起国内外环境学者的重视。动物粪肥和施肥土壤中抗生素的残留和环境行为逐步成为关注的热点问题。我国学者在珠三角^[11-12]、天津^[13]和山东^[14]等地对施肥土壤的抗生素污染已经展开调查。福建省是我国畜禽养殖大省,根据福建省统计年鉴,截止 2011 年底全省出栏生猪达 1 950.43 万头,肉牛 23.29 万头,肉羊 138.47 万只,肉兔 1 850.23 万只,家禽 2.18 亿羽,其中生猪、肉羊和家兔分别比 2000 年统计值增长了 389.62 万头、40.67 万只和 671.23 万只。目前,关于福建省畜禽养殖过程和作物土壤中抗生素污染特征的研究报道还很少。本研究选取厦门市和莆田市的畜禽养殖基地,对动物粪便、粪肥、作物土壤、沟渠底泥和人工湿地土壤中 3 种磺胺类抗生素、3 种喹诺酮类抗生素和 2 种大环内酯类抗生素的污染特征进行分析,为该区域规模化养殖中抗生素污染减量化控制及农业环境安全评估提供一些基础数据。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

甲醇和乙腈均为色谱纯(Tedia 公司),实验用水均为 Milli-Q 超纯水,其他化学试剂为分析纯。

磺胺类抗生素(SAs)为磺胺嘧啶(Sulfadiazine, SDZ)、磺胺二甲嘧啶(Sulfamethazine, SM2)和磺胺甲噁唑(Sulfamethoxazole, SMZ),标准品购自加拿大 Bio Basic 公司,纯度 $\geq 98\%$ 。喹诺酮类抗生素(QNs)为环丙沙星(Ciprofloxacin, CIP)、恩诺沙星(Enrofloxacin,

ENR)和氧氟沙星(Ofloxacin, OFL);大环内酯类抗生素(MLs)为罗红霉素(Roxithromycin, ROX)和阿奇霉素(Azithromycin, AZI),标准品分别购自加拿大 Bio Basic 公司和上海生工生物工程股份有限公司,纯度 $\geq 96\%$ 。

抗生素标准溶液:准确称取各种抗生素标准品溶于甲醇,配制成 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合标准储备液,避光保存于 -20°C 冰箱中备用。

磷酸盐乙腈溶液:称取 31.2 g 磷酸二氢钠,用超纯水定容至 1 L,然后用 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸调节 $\text{pH}=3.0$,再加入等体积的乙腈,制成磷酸盐乙腈溶液,避光保存备用。

固相萃取装置(Supelco),高效液相三重四极杆线性离子阱质谱仪(ABI 3200 Q TRAP)。

1.2 样品采集

样品采集选择福建省莆田涵江区和厦门市同安区的生猪养殖基地和禽类养殖基地。根据抗生素在养殖生产过程中的使用、转移和最终的环境释放途径规律,我们从生猪养殖场采集了猪粪、有机肥、邻近种植作物的土壤、沟渠底泥和人工湿地生态系统(污水处理设施)的表层土壤共 18 份样品;从禽类养殖场采集了鸡粪、鸭粪、有机肥、邻近作物土壤和沟渠底泥共 9 份样品。其中有机肥 2 份,由当地动物粪便制成;邻近菜地土壤 14 份,依据种植作物的种类和生长周期,或猪粪浇灌过,或施用过有机肥;畜禽粪便 4 份;沟渠底泥 4 份;人工湿地表层土壤 3 份。采集土壤样品时按照环境监测要求,根据地块大小同一个地块采集 3~6 个点位组成混合样,采样深度在 0~20 cm 之间。样品运回实验室后, -60°C 冷冻干燥,研磨过 80 目筛备用。

1.3 样品预处理

抗生素提取:准确称取 1.00 g 样品置于离心管中,加入 0.1 g Na_2EDTA ,再加入 10 mL 磷酸盐缓冲液和乙腈的混合液(1:1, V/V, $\text{pH}=3.0$)。将离心管置于摇床中 $250 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡 20 min,再超声振荡 10 min,然后 7000 g 离心 10 min,将上清液转移至 1 L 的烧杯中。重复提取两次,上清液合并后用超纯水稀释至 500 mL,准备固相萃取。本实验中每个样品做两个平行测定。

固相萃取:固相萃取小柱使用前依次用 6.0 mL 丙酮、6.0 mL 甲醇和 6.0 mL 0.5% 甲酸水溶液预处理。将上述提取液以 $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 左右的速度过 Oasis HLB(6 mL, 200 mg)固相萃取小柱。过柱之后,用 6.0 mL 0.5% 甲酸水溶液冲淋,然后抽真空干燥 30 min。干

燥后,用 6.0 mL 的甲醇将目标化合物洗脱到氮吹管中,用温和的氮气流将甲醇吹干。最后用 1.0 mL 20% 的甲醇水溶液定容,定容后溶液用 0.45 μm 有机滤膜过滤,4 ℃保存。

1.4 HPLC-MS/MS 分析和质量控制

样品用高效液相三重四极杆线性离子阱质谱仪 (ABI 3200 Q TRAP) 进行分析。色谱条件:Inertsil® ODS-SP 液相色谱柱(4.6×150 mm,5 μm),柱温为 40 ℃;进样量为 20 μL;流动相 A 液为甲醇,B 液为 0.5% 甲酸水溶液;流速为 0.8 mL·min⁻¹;运行梯度洗脱程序,流动相 A 开始占比 15%,6.5 min 时上升到 85%,8.1 min 时再次降为 15%,全程运行 13 min。质谱条件:采用 ESI 电离源,离子源 I (GS1)和 II (GS2)的气流量分别为 50、60 mL·min⁻¹,电离电压为 5500 V;辅助加热温度为 550 ℃。各目标化合物的监测离子对和保留时间见表 1。

取混合标准储备液,配制浓度为 10、20、50、100、200、500 μg·L⁻¹ 的 8 种抗生素混合标准溶液,制作标准曲线,其线性方程的 R² 都大于 0.99(表 1)。采用加标法^[15]测定 8 种抗生素的回收率和检测限。测得的样品回收率在 30.8%~100.9%之间,检测限在 0.20~4.52 μg·kg⁻¹ 之间,依样品类型和抗生素类型有所变化,但与前人的测试结果相近^[14-16],且回收率的标准偏差在 1.1%~8.8%之间,重现性较好。

2 结果与分析

2.1 不同类型样品抗生素的污染特征

2.1.1 磺胺类

由表 2 可见,所有 27 份样本中,SM2 检出率 100%,最高含量为 59.6 μg·kg⁻¹,均值 7.20 μg·kg⁻¹;SMZ 检出率 96.2%,最高含量 18.9 μg·kg⁻¹,均值 2.7 μg·kg⁻¹;SDZ 的检出率较低,仅 29.6%,最高含量为

表 2 3 类抗生素在全部样品中的检出情况分析
Table 2 Range, mean value and detection frequency of SAs, QNs and MLs antibiotics in all the samples

抗生素	含量范围/μg·kg ⁻¹	平均值/μg·kg ⁻¹	检出率/%
磺胺类 ΣSAs	2.2~73.1	10.4	100
磺胺嘧啶 SDZ	ND~4.4	0.5	29.6
磺胺二甲嘧啶 SM2	1.7~59.6	7.2	100
磺胺甲噁唑 SMZ	ND~18.9	2.7	96.2
喹诺酮类 ΣQNs	ND~2 967.6	223.6	81.5
环丙沙星 CIP	ND~1 131.2	99.4	74.1
氧氟沙星 OFL	ND~1 015.7	61.1	59.3
恩诺沙星 ENR	ND~820.7	63.1	81.5
大环内酯类 ΣMLs	ND~119.4	9.9	96.3
罗红霉素 ROX	ND~112.2	7.8	96.3
阿奇霉素 AZI	ND~7.2	2.1	74.1

注:ND 表示未检出,未检出样品以数值 0 参与平均值计算。

4.4 μg·kg⁻¹,均值 0.5 μg·kg⁻¹。无论从检出率还是从平均值来评价,3 种磺胺类抗生素污染程度为 SM2 > SMZ > SDZ。所有样品均不同程度检出磺胺类抗生素,其中有机肥样品的总含量 (ΣSAs) 较高,最高达到 73.1 μg·kg⁻¹,但低于 100 μg·kg⁻¹,平均值 44.1 μg·kg⁻¹;畜禽粪便样品总含量次之,平均值 15.1 μg·kg⁻¹;作物土壤样品总含量较低,平均值仅 5.8 μg·kg⁻¹;沟渠底泥样 ΣSAs 的平均值为 8.5 μg·kg⁻¹;人工湿地样品 ΣSAs 均值为 7.0 μg·kg⁻¹(图 1)。

2.1.2 喹诺酮类

受到检测限的影响,有 5 份样品未检出任一喹诺酮类化合物,其中 3 份为人工湿地土壤样品。所有 27 份样本中,CIP 的检出率 74.1%,最高含量 1 131.2 μg·kg⁻¹,均值 99.4 μg·kg⁻¹;OFL 的检出率 59.3%,最高含量 1 015.7 μg·kg⁻¹,均值 61.1 μg·kg⁻¹;ENR 的检出率为 81.5%,最高含量 820.7 μg·kg⁻¹,均值 63.1 μg·kg⁻¹(表 2)。3 个最高的含量值均来自有机肥样品。虽然

表 1 抗生素的质谱分析条件和线性方程
Table 1 MS conditions and equation of linear regression for antibiotics

目标化合物	检测离子对	保留时间/min	标准曲线方程	相关系数
磺胺嘧啶 SDZ	251/91.9	3.07	y=1830x+14 300	0.994 4
磺胺二甲嘧啶 SM2	265/107.8	4.31	y=3200x+28 400	0.991 3
磺胺甲噁唑 SMZ	253.9/92.1	4.89	y=2330x+16 900	0.997 1
环丙沙星 CIP	332 /314	4.63	y=290x+1720	0.990 8
氧氟沙星 OFL	362.2/261.0	4.35	y=1840x+1690	0.997 4
恩诺沙星 ENR	360.1/245.1	4.73	y=2450x+11 400	0.997 1
罗红霉素 ROX	837.4/158	6.68	y=711x+5140	0.992 1
阿奇霉素 AZI	749.9/591	5.84	y=2540x+15 900	0.990 9

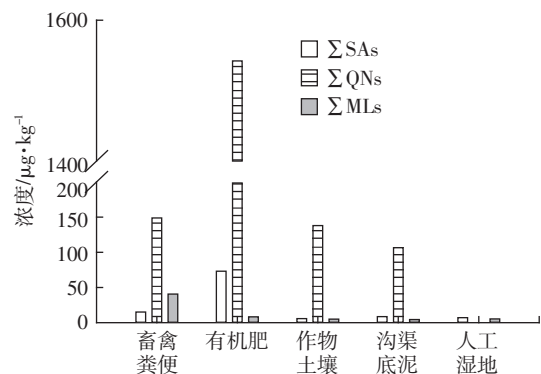


图 1 5 种样品中 3 类抗生素总含量的平均值
Figure 1 The mean value of Σ SAs, Σ QNs and Σ MLs in various types of samples

ENR 的检出率略高于 CIP,但是其平均含量比 CIP 低得多,OFL 的检出率和平均含量都相对较低。有机肥样品的总含量(Σ QNs)较高,最高达到 $2\,767.6\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $1\,542.1\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;畜禽粪便中 Σ QNs 浓度也较高,最高达到 $380.5\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $148.7\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;作物土壤样品的最高 Σ QNs 达到 $579.0\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $138.0\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;沟渠底泥样品 Σ QNs 最高达到 $282.0\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $106.5\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (图 1)。

2.1.3 大环内酯类

所有 27 份样品中,ROX 的检出率 96.3%,最高含量 $112.2\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $7.8\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;AZI 的检出率为 74.1%,最高含量 $7.2\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $2.1\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 2)。两者的最高含量来自同一个猪粪样品。从检出率和均值可以看出,ROX 的污染程度要高于 AZI。畜禽粪便样品的 Σ MLs 最高,最高值为 $119.4\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值为 $40.6\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;有机肥样品的 Σ MLs 次之,均值 $8.2\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;作物土壤的 Σ MLs 也有一定浓度,均值 $5.0\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;沟渠底泥样品的 Σ MLs 均值为 $4.4\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;人工湿地土壤样品的 Σ MLs 均值为 $5.3\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (图 1)。

2.2 作物土壤中抗生素的污染特征

在 27 份样本中,有 14 份样本为种植作物的土壤。磺胺类 14 份作物土壤样品中,SDZ 的检出率 28.6%,最高含量 $3.2\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $0.4\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;SM2 的检出率为 100%,最高含量 $7.8\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $3.7\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;SMZ 的检出率 92.9%,最高含量 $6.6\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $1.6\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 3)。无论从检出率还是从平均值来看,作物土壤中磺胺类抗生素污染程度同样是 $\text{SM2} > \text{SMZ} > \text{SDZ}$ 。从磺胺类抗生素总含量 Σ SAs 来看,施用猪粪的小白菜地 Σ SAs 最高,为 $12.2\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,其余的作物土壤样品的 Σ SAs 都小于 $10\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (图 2)。由于磺胺

表 3 3 类抗生素在作物土壤中的污染特征分析

Table 3 Ranges, mean values and detection frequencies of SAs, QNs and MLs antibiotics in arable soil samples

抗生素	含量范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	平均值/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	检出率/%
磺胺类 Σ SAs	2.2~12.2	5.8	100
磺胺嘧啶 SDZ	ND~3.2	0.4	28.6
磺胺二甲嘧啶 SM2	1.8~7.8	3.7	100
磺胺甲噁唑 SMZ	ND~6.6	1.6	92.9
喹诺酮类 Σ QNs	ND~579.0	138.0	92.9
环丙沙星 CIP	ND~138.3	58.9	85.7
氧氟沙星 OFL	ND~205.7	29.2	64.3
恩诺沙星 ENR	ND~235.0	49.4	92.9
大环内酯类 Σ MLs	0.9~16.7	5.0	100
罗红霉素 ROX	0.9~12.2	2.6	100
阿奇霉素 AZI	ND~4.5	1.6	57.1

注:ND 表示未检出,未检出样品以数值 0 参与平均值计算。

类抗生素的检出浓度普遍较低,不同作物土壤的受污染水平差距不大。

喹诺酮类 14 份作物土壤样品中,CIP 的检出率达到 85.7%,最高含量 $138.3\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $58.9\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;OFL 的检出率 64.3%,最高含量 $205.7\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $29.2\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;ENR 的检出率为 92.8%,最高含量 $235.0\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $49.4\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 3)。CIP 在作物土壤中的均值最高,检出率略低于 ENR,而 OFL 的检出率和均值都相对较低。3 种喹诺酮类抗生素的最高含量值均来自地瓜地土壤样品,因此种植地瓜的土壤 Σ QNs 最高,达到 $579.0\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。种植不同作物或种植相同作物不同地块的土壤, Σ QNs 差别很大,14 份作物土壤样品中,50%的 Σ QNs 超过 $100\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,35.7%的 Σ QNs 居于 $10\sim 100\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间,21.4%的 Σ QNs 小于 $10\,\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (图 2)。种植大葱的土壤未检出任何喹诺酮类抗生素。

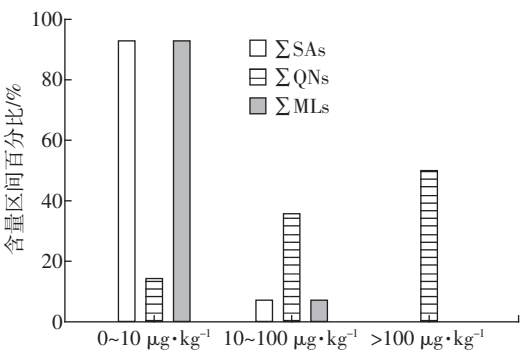


图 2 作物土壤中 3 类抗生素总含量的浓度区间分布特征
Figure 2 The distribution of Σ SAs, Σ QNs and Σ MLs from arable soils in three concentration ranges

大环内酯类 14 份作物土壤样品中,ROX 的检出率 100%,最高含量 $12.2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $2.64 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$;AZI 的检出率为 57.1,最高含量 $4.5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,均值 $1.64 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 3)。从检出率和平均值可以看出,ROX 在作物土壤中的污染水平要高于 AZI。同磺胺类抗生素相似,14 份作物土壤样品中,92.9%的作物土壤 ΣMLs 小于 $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,剩下的 7.1%处于 $10\sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间,不同作物土壤受大环内酯类污染的程度差别不大(图 2)。

3 讨论

本研究同时调查了畜禽养殖场的畜禽粪便、有机肥、作物土壤、沟渠底泥和人工湿地表层土壤中磺胺类、喹诺酮类和大环内酯类抗生素的污染特征。畜禽粪便中抗生素的检出水平能够反映养殖基地抗生素的使用情况。喹诺酮类抗生素在畜禽粪便中的浓度要高于磺胺类和大环内酯类,这是喹诺酮类抗生素在所有样品中的浓度水平要远远高于磺胺类和大环内酯类的直接原因。许多研究都发现,粪肥中各类抗生素的浓度最高能达到 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 级^[17-19],而本研究中,仅喹诺酮类抗生素的浓度达到 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 级,磺胺类和大环内酯类抗生素比文献报道的要低,这可能与现有的畜禽养殖过程中这两类抗生素使用较少有关^[17-19]。堆肥技术是处理固体有机废物,使之无害化和资源化的一种有效手段。有研究发现堆肥能够降低动物粪便中的抗生素浓度^[7,20-21]。经过 40 d 的堆肥后,外源添加的 $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 金霉素 (CTC)、 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的磺胺二甲嘧啶 (SM2) 和 $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的泰乐菌素 (TYL) 的浓度都下降到可施用粪肥的抗生素浓度标准以下 (韩国标准, CTC $0.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、SM2 $0.2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 TYL $1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 其中 TYL 下降最快^[7]。TYL 属于大环内酯类,其浓度在 5 d 之内即快速下降,而 CTC 和 SM2 的浓度在两周之后才开始降低,尤其是在未添加锯末的情况下,降解非常缓慢^[7]。本研究中大环内酯类在粪肥中的浓度同样小于其在畜禽粪便中的浓度。然而另外两类抗生素磺胺类和喹诺酮类,在粪肥中的浓度都比动物粪便中的高。这可能存在两个方面的原因:一是在粪肥使用前堆肥的时间太短或者没有添加合适的碳源,部分抗生素未充分降解而仍有较高浓度;二是养殖中抗生素并非连续使用,粪便样品具有样本偶然性,在非给药期间采集的动物粪便中抗生素浓度会比较低。

施用猪粪和粪肥是养殖场周边作物土壤中抗生素污染的主要来源。经过长时间的积累,用于处理养

殖污水的人工湿地和排放污水的沟渠也受到抗生素的污染。与动物粪便具有样本偶然性不同,作物土壤、人工湿地土壤和沟渠底泥中的抗生素则是经历了长期的累积过程,其结果体现了时间浓度关系。抗生素在环境介质中的含量和环境行为受到抗生素种类、土壤特性和土地利用方式和气候条件等的影响。Pico 和 Andreu 认为喹诺酮类抗生素具有较强的吸附于土壤和沉积物颗粒的能力^[22]。相反,磺胺类抗生素颗粒介质吸附能力弱,能够较快地渗透到地下水环境中,因此它们在介质中具有较强的迁移能力,在一些地下水样品也能够检测到磺胺类抗生素^[23]。通常,化合物的吸附能力与它的土壤-水平衡系数 K_d 有关。根据已有的文献统计,喹诺酮类抗生素在不同介质中的 K_d 值范围在 $496\sim 61\,000 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间^[13],而磺胺类抗生素的 K_d 值范围在 $0.9\sim 10 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间^[24],目前,关于大环内酯类抗生素的环境行为的研究还不多,仅知泰乐菌素 (TYL) 的 K_d 范围为 $8.3\sim 128 \text{ L}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[24],因此较强的介质吸附能力应该是喹诺酮类抗生素在作物土壤、沟渠底泥和人工湿地土壤中检出浓度高于磺胺类和大环内酯类的重要原因。近期的一些调查研究也发现喹诺酮类抗生素在养殖基地和蔬菜种植基地的检出浓度较高,例如:在广州、深圳的菜地土壤中, ΣQNs 的检出浓度范围在 $27.8\sim 1\,527.4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 之间,而 ΣSAs 的检出范围为 $29.0\sim 321.4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[25];在天津的农业土壤中, ΣQNs 的检出范围是 $\text{ND}\sim 274.8 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, ΣMLs 的检出范围为 $\text{ND}\sim 29.3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,而 ΣSAs 的检出范围仅为 $\text{ND}\sim 5.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[13];在山东的菜地土壤中, ΣQNs 的检出范围为 $\text{ND}\sim 1\,017.1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, ΣSAs 的检出范围 $0.01\sim 33.62 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,而 ΣMLs 的检出范围仅为 $\text{ND}\sim 2.14 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。本研究中厦门和莆田地区的作物土壤 3 类抗生素的检出情况与这些调查结果相似(表 3)。

2000 年,兽药国际协调委员会提出将土壤中抗生素生态毒害效应的触发值从原先的 $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 提高到 $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[26]。本研究中 50%的作物土壤样品喹诺酮类抗生素总浓度超过 $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (图 2),最大值达到 $579.0 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,部分样品甚至单个喹诺酮类抗生素就超过 $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。因此,可以认为作物土壤中的喹诺酮类抗生素具有潜在的生态风险,寻找在源头上控制使用喹诺酮类抗生素或者采用更有效的降低粪肥中喹诺酮类抗生素的方法非常重要。绝大部分作物土壤样品的磺胺类和大环内酯类抗生素总浓度都低于 $10 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,说明磺胺类和大环内酯类抗生素存在的生态风险比较低。但有研究表明,土壤中很低浓度

的抗生素也有可能通过多种抗生素的协同效应或者基因的水平转移等方式诱导土壤微生物的抗性^[27],一些病原菌的抗生素抗性的提高会影响到人类和动物某些传染性疾病的有效治疗。

4 结论

(1)从样品类型来看,除了大环内酯类在畜禽粪便中的平均检出浓度大于有机肥之外,样品中抗生素浓度顺序为有机肥>畜禽粪便>作物土壤、沟渠底泥和人工湿地。

(2)畜禽养殖及周边土壤喹诺酮类抗生素污染浓度较高,而磺胺类和大环内酯类抗生素浓度较低。其中磺胺类污染以 SM2 为主,大环内酯类以 ROX 为主,喹诺酮类检测浓度 CIP 最高,检出率 ENR 最高。

(3)作物土壤的抗生素污染情况与总的污染情况相似,此外,50%的作物土壤喹诺酮类抗生素总浓度超过兽药国际协调委员会提出的生态毒性效应浓度 $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,具有潜在的生态风险。

在养殖业生产中抗生素使用方面急需加强管理,合理使用甚至减少使用抗生素,寻求较为有效的降低粪肥中抗生素浓度的方法和开展抗生素环境行为和生态毒性效应方面的系统研究十分必要。

参考文献:

- [1] UCS, Hogging it; Estimates of antimicrobial abuse in livestock[OL]. Food and Environment, Union of Concerned Scientists(UCS). 2001, <http://www.ucsusa.org/food-and-environment/antibiotic-resistance/index>
- [2] 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.
- [3] Li Y X, Zhang X L, Li W, et al. The residues and environmental risks of multiple veterinary antibiotics in animal faeces[J]. *Environ Monit Assess*, 2012, DOI 10.1007/s10661-012-2702-1.
- [4] 邵义萍, 罗晓栋, 莫测辉, 等. 广东省畜牧粪便中喹诺酮类和磺胺类抗生素的含量与分布特征研究[J]. *环境科学*, 2011, 32(4):1188-1193.
- [5] 廖新伟, 蒋 骥, 吴银宝, 等. 猪场使用药物饲料添加剂对环境的影响[J]. *家畜生态*, 2001, 22(1):13-15.
- [6] 史 奕, 赵牧秋, 王 俊, 等. 设施菜地土壤-植物系统中有机肥源抗生素的影响研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(增刊):240-244.
- [7] SHI Yi, ZHAO Mu-qiu, WANG Jun, et al. Effect of antibiotics from organic manure on protected vegetable soil-plant system: A review[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(Suppl):240-244.
- [8] Kim K R, Owens G, Ok Y S, et al. Decline in extractable antibiotics in manure-based composts during composting[J]. *Waste Management*, 2012, 32(1):110-116.
- [9] Radke M, Lauwigi C, Heinkele G, et al. Fate of the antibiotic sulfamethoxazole and its two major human metabolites in a water sediment test[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(9):3135-3141.
- [10] Ding C, He J Z. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 87(3):925-941.
- [11] Wu N, Qiao M, Zhang B, et al. Abundance and diversity of tetracycline resistance genes in soils adjacent to representative swine feedlots in China[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(18):6933-6939.
- [12] 邵义萍, 莫测辉, 吴小莲, 等. 绿色和有机蔬菜基地土壤中喹诺酮类抗生素的污染特征[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(1):125-130.
- [13] TAI Yi-ping, MO Ce-hui, WU Xiao-lian, et al. Occurrence of quinolone antibiotics in the soils from a green and an organic vegetable fields[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(1):125-130.
- [14] 李彦文, 莫测辉, 赵 娜, 等. 菜地土壤中磺胺类和四环素类抗生素污染特征研究[J]. *环境科学*, 2009, 30(6):1762-1766.
- [15] LI Yan-wen, MO Ce-hui, ZHAO Na, et al. Investigation of sulfonamides and tetracyclines antibiotics in soils from various vegetable fields[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(6):1762-1766.
- [16] Shi Y, Gao L, Li W, et al. Investigation of fluoroquinolones, sulfonamides and macrolides in long-term wastewater irrigation soil in Tianjin, China[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2012, 89(4):857-861.
- [17] 尹春艳, 骆永明, 滕 应, 等. 典型设施菜地土壤抗生素污染特征与积累规律研究[J]. *环境科学*, 2012, 33(8):2810-2816.
- [18] YIN Chun-yan, LUO Yong-ming, TENG Ying, et al. Pollution characteristics and accumulation of antibiotics in typical protected vegetable soils[J]. *Environmental Science*, 2012, 33(8):2810-2816.
- [19] Zhang D, Lin L, Luo Z, et al. Occurrence of selected antibiotics in Jiulongjiang River in various seasons, South China[J]. *J Environ Monit*, 2011, 13(7):1953-1960.
- [20] Karci A, Balcioglu I A. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey[J]. *Sci Total Environ*, 2009, 407(16):4652-4664.
- [21] Martinez-Carballo E, Gonzalez-Barreiro C, Scharf S, et al. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria[J]. *Environ Pollut*, 2007, 148(2):570-579.
- [22] Zhao L, Dong Y H, Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China[J]. *Sci Total Environ*, 2010, 408(5):1069-1075.
- [23] Christian T, Schneider R J, Farber H A, et al. Determination of antibi-

- otic residues in manure, soil, and surface waters[J]. *Acta Hydrochimica Et Hydrobiologica*, 2003, 31(1):36-44.
- [20] Dolliver H, Gupta S, Noll S. Antibiotic degradation during manure composting[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2008, 37(3):1245-1253.
- [21] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 高温堆肥对畜禽粪中抗生素降解和重金属钝化的作用[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(2):337-343.
- ZHANG Shu-qing, ZHANG Fu-dao, LIU Xiu-mei, et al. Degradation of antibiotics and passivation of heavy metals during thermophilic composting process[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(2):337-343.
- [22] Pico Y, Andreu V. Fluoroquinolones in soil—risks and challenges[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 387(4):1287-1299.
- [23] Lindsey M E, Meyer T M, Thurman E M. Analysis of trace levels of sulfonamide and tetracycline antimicrobials in groundwater and surface water using solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2001, 73(19):4640-4646.
- [24] Thiele-Bruhn S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science—Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung Und Bodenkunde*, 2003, 166(2):145-167.
- [25] Li Y W, Wu X L, Mo C H, et al. Investigation of sulfonamide, tetracycline, and quinolone antibiotics in vegetable farmland soil in the Pearl River Delta Area, Southern China[J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(13):7268-7276.
- [26] Qiao M, Chen W, Su J, et al. Fate of tetracyclines in swine manure of three selected swine farms in China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2012, 24(6):1047-1052.
- [27] Ghosh S, LaPara T M. The effects of subtherapeutic antibiotic use in farm animals on the proliferation and persistence of antibiotic resistance among soil bacteria[J]. *Isme Journal*, 2007, 1(3):191-203.