

中药物起始浓度增加而降低，表明土壤中降解微生物对磺胺间甲氧嘧啶钠的浓度敏感；土壤含水量的增加明显加快了磺胺间甲氧嘧啶钠残留的降解速率，因而可以通过降低土壤中磺胺间甲氧嘧啶钠残留浓度或提高土壤含水量等方法加速磺胺间甲氧嘧啶钠的降解，以降低其对土壤、水体和生态环境的风险。

关键词：兽药残留，生态毒性，吸附/解吸，降解，土壤

ABSTRACT

As the extensive use of veterinary drug and feed additive, drug residue in animal foods become more and more serious, which threaten human health and public hygiene. Veterinary drug or their metabolites could be released to the soil environment through different exposure routes, and had adverse effect on soil environment, ground water. Those can bring poison impacts on ecological environment through food chain further, and effect normal life activities of animal, plant, microorganism and biology group and ecosystem balance.

Dose-response relationship between four veterinary drugs (sulfadiazine sodium, sulfamonomethoxine sodium, ciprofloxacin, and enrofloxacin) and their inhibition effects on seed germination, root elongation, and shoot elongation of wheat, Chinese cabbages and tomatoes were investigated. Differential tolerances of wheat, Chinese cabbage and tomatoes exposed to four veterinary drugs were assessed. The results showed that a significant positive correlation was found between concentration of veterinary drugs and the inhibition rates of crop root elongation and shoot elongation ($p < 0.05$), and no correlation was found between the concentration of veterinary drugs and seed germination ($p > 0.05$). The inhibition rates of these veterinary drugs on root elongation and shoot elongation of crops were significantly stronger than that on seed germination. The toxicity effects of four veterinary drugs on crops were in the sequence: sulfamonomethoxine sodium \geq sulfadiazine sodium $>$ enrofloxacin $>$ ciprofloxacin. The different crop showed different sensibility to four veterinary drugs.

A sensitive high-performance liquid chromatographic method was developed for the quantitative determination of sulfamonomethoxine sodium in tested soil samples. Sulfamonomethoxine was extracted with $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ sodium hydroxide solution. The recoveries of analysts were at added level of $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ from soil sample assay ranged from 85.53%–91.93% for sulfamonomethoxine sodium. Detection limit of the assay was calculated to be three times the baseline noise from drug free sample and the detection limit was $15 \text{ ug} \cdot \text{ml}^{-1}$ for sulfamonomethoxine sodium.

The adsorption behavior of sulfamonomethoxine sodium in soil and influence of nitrate, urea, anionic surfactant dodecylbenzene sulfonate (SDBS), cationic surfactant hexadecyltrimethyl-ammonium bromide

(CTMAB), soil heavy metal Cd^{2+} and humic acid (HA) were studied. The results showed that: the sulfamonomethoxine sodium is a veterinary antibiotic drug, which can be adsorbed by soil. Sulfamonomethoxine sodium in the soil of the absorption process with a kinetic laws, Freundlich equation can be described, its main role of the physical absorption, distribution coefficient K_d is $18.9 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, organic carbon distribution constant K_{OC} is $466.2 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, its isotherm belongs to L type. The other models in point were Elovich equations and two-constant equation, whereas parabolic diffusion equations were not suitable ones. $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ urea and SDBS can decrease adsorption of sulfamonomethoxine sodium in soil, increasing its mobility in soil. $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd^{2+} can decrease adsorption of sulfamonomethoxine sodium in different extent, $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ urea, CTMAB and HA can increase adsorption of sulfamonomethoxine sodium in soil.

In this study, degradation of sulfamonomethoxine sodium, a widely used veterinary antibiotic, in soil was investigated under various environment conditions by stimulating methods in laboratory, including initial concentration, different moistures, microorganism and sunshine. The results showed that: degradation of sulfamonomethoxine sodium in soils followed the first-order kinetic equation. Sulfamonomethoxine sodium was mainly degraded by chemical and photo degradation, while microorganism ms in soil only account for few portions. The effect of initial sulfamonomethoxine sodium concentration showed that the degradation rate constant increased with decreasing initial concentration, indicating that the bioactivity of the degrading microorganisms in soil was sensitive to sulfamonomethoxine sodium concentration. Sulfamonomethoxine sodium degradation was effectively enhanced with increasing moisture of soil. The results meant that increasing soil moisture or decreasing the initial sulfamonomethoxine sodium concentration may be good solutions to accelerate the degradation and reduce the environment risk of antibiotics residues.

KEY WORDS: veterinary drug residue, ecological toxicity, adsorption/desorption, degradation, soil

独创性声明

本人郑重声明：所提交的学位论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得河南师范大学或其他教育机构的学位或证书所使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

签名： 陈秋颖 日期： 2009年6月10日

关于论文使用授权的说明

本人完全了解河南师范大学有关保留、使用学位论文的规定，即：有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权河南师范大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

签名： 陈秋颖 导师签名： 金彩霞 日期： 2009年6月10日

第一章 绪 论

1.1 前言

兽药(veterinary drug)是指用于预防、治疗和诊断禽畜等动物疾病,有目的地调节其生理机能并规定作用、用途、用法、用量的物质(含饲料药物添加剂),包括血清、菌(疫)苗、诊断液等生物制品^[1]。随着畜牧业生产向现代化、集约化和规模化发展,兽药(包括兽药添加剂)在降低动物发病率与死亡率,提高饲料利用率,促进生长和改善产品品质方面起着显著的作用,已成为现代畜牧业不可缺少的因素。然而,作为饲料添加剂或抗生素喂食动物的兽药,经动物代谢后大部分以原药或代谢物的形式经动物的粪便和尿液的形式排出体外,进入生态环境,对土壤、水体等生态环境产生不良影响,并通过食物链对生态环境产生毒害作用,影响环境中的动植物和微生物的生命活动,最终将影响人类的健康,其后果不容忽视。然而,直到20世纪90年代末,欧洲的一些国家才开始比较系统地调查、研究环境中兽药的残留和污染问题。Steger和Hirsch分别于1997年和1999年在德国发现地表水中有 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 级水平的大环内酯类、磺胺类、氟喹诺酮类、氯霉素、泰乐星、甲氧苄氨嘧啶等抗生素,Lindsey和Kolpin在美国某地表水中也发现了四环素类抗生素^[2]。此后,在奥地利、德国、英国、意大利、西班牙、瑞士、荷兰、美国和日本等国家的水体中相继检测到80多种抗生素药品。

1.2 兽药残留的研究现状

1.2.1 在动物性食品中的残留

发达国家对兽药残留的关注较早,美国在60年代就开始关注肉、禽、奶中的化学物残留,欧、美、日本、澳大利亚、加拿大等国家目前均已具有非常完善的兽药残留监控体系。欧共体、美国等还对上市后的兽药进行严格的监测与评价,包括最高残留限量、对环境的潜在影响、人体对兽药的不良反应等^[3]。我国对兽药残留的研究工作起步较晚,但随着人民生活水平的提高,对动物性食品的安全和卫生问题已引起普遍的关注。2001年李书云等对柳州市市场的牛奶、猪肉、鸡肉中的抗生素残留进行了检测,阳性率分别为2.5%、20.5%、81.5%;2002年刘军等检测了135份鲜牛乳中四环素类抗生素残

留,金霉素、土霉素、四环素残留的检出率分别为8%、18%、14%^[4]。另外,有关“瘦肉精”(盐酸克伦特罗)中毒事件也时有报道,这说明兽药残留严重威胁着人们的生命安全,同时严重影响我国动物性食品出口贸易,成为当前急待解决的问题^[5]。

1.2.2 在环境中的残留

近年来由于大量抗生素和化学药品的使用,环境中兽药的种类也呈现出不断增加的趋势。以丹麦为例,1996年,在自然环境样本中检测到25种药物;1999年,这个数字上升到68种。由于新药的不断推出,这个数目仍然有增加的趋势^[6]。2002年Campagnolo等^[7]在猪和家禽大型养殖厂储便池中检测到多种畜用抗生素(浓度 $>100\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),并在其附近的地表水及地下水中检测到 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 水平的同类抗生素。Giorgia等^[8]发现四环素和氟甲喹在养殖场底泥中的最高浓度分别达到 $246.3\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{dw}^{-1}$ 和 $578.8\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{dw}^{-1}$ 。Hirsch等^[9]在农业区地下水中检测到 $0.47\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磺胺甲基异噁唑和 $0.04\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磺胺嘧啶, Frank等^[10]从Baden-Wurtemberg采集的105份地下水样中有39份检测到 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ 水平的包括磺胺甲基异噁唑、罗红霉素和红霉素降解产物在内的多种药物。随着兽药的大量使用,其在环境中的累积浓度亦在增加, Hamscher G等^[11]报道,在施用厩肥的土壤表层,检测到了土霉素和金霉素的残留,其最大浓度竟分别高达 $32.3\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $26.4\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

由于这些残留在环境中的药物大部分仍具有生物活性,因此其对人类健康和生态环境的影响和潜在的风险是巨大的,而且在一定程度上是难以估计的。因此,药物在环境中的残留和对生态环境、生物的潜在毒性已引起国际环境学者的重视^[12,13],并成为全球环境研究人员研究的一个新热点。目前我国尚缺乏相关方面的研究,因此实地调查的资料较少,但就目前畜牧业发展中存在的问题,我国环境中兽药残留状况也是不容乐观的。当前有关兽药在生态环境(包括水体和土壤环境)中的残留、蓄积、迁移转化等规律以及对生态环境造成的影响还缺乏足够的研究^[14]。尤其是我国在相关的研究领域仍属空白,所以目前急需加强此方面的研究。

1.3 兽药残留对生态环境的影响

1.3.1 对水环境的影响

研究表明,大多数兽药不能被动物体充分吸收利用,而是随着排泄物进入污水或直接排入环境。然而,现有的水处理技术对污水中含有的大部分抗生素类药物没有明显的

去除效果^[15,16]，因此导致水环境中药物残留量超标。水体中的浮游生物数量大、种类多且对各种化学品和重金属污染比较敏感，所以对浮游生物生态毒理学的研究较多。鱼类在水生生态系统中处于较高的营养级，并与人类生活密切相关，而且鱼类对水质的变化很敏感。伊维菌素对大型蚤的毒性大于鱼类，伊维菌素对太阳鱼和虹鳟鱼48h的半数致死浓度分别为4.8和3.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[17]。曲蕊蕊等^[18]采用斑马鱼和鲫鱼作为生物材料，分别研究了兽药添加剂阿散酸和土霉素对斑马鱼的急性毒性及对鲫鱼肾细胞DNA损伤。急性毒性试验表明，阿散酸和土霉素的斑马鱼96h的半数致死浓度分别为520.747和1341.764 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，彗星实验结果表明，阿散酸引起的DNA损伤较小，与阴性对照相比无显著性差异($P>0.05$)，而土霉素能引起较大的DNA损伤，与阴性对照相比均有极显著性差异($P<0.01$)。Wollenberger等^[19]研究了养殖场常用的抗生素甲硝唑、喹乙醇、土霉素和泰乐菌素等对大型蚤的作用，结果发现，喹乙醇对大型蚤的急性毒性最强，并对水环境有潜在的不良作用。陈海刚等^[20]研究表明喹乙醇有明显的致染色体断裂的作用，具有潜在的遗传毒性。目前，对低剂量、长期污染暴露下抗生素对水生生物体内生理、生化以及分子水平等敏感指标的研究还相对较少。

1.3.2 对土壤环境的影响

近二三十年来，随着化学药品(如杀虫剂、杀菌剂、除草剂等)在农业生态系统中的大量使用和城市工业固体废弃物的大量排放，土壤污染(包括由于侵蚀作用而造成的水体污染)问题日益严重。Strong L等^[21]报道了阿维菌素、伊维菌素和美倍霉素在粪便中能保持8周的活性，对草原中的多种昆虫及堆肥周围的多种昆虫都有强大的抑制或杀灭作用。蚯蚓作为土壤环境中的一种指示生物，可用来研究化学物质对土壤环境的污染，并根据这些化学物质对蚯蚓的毒害程度来评价其可能对环境造成的危害程度。曲蕊蕊等^[22]采用土壤中的重要生物赤子爱胜蚓作为生物材料，分别研究了喹乙醇、阿散酸和土霉素对赤子爱胜蚓的急性毒性和对赤子爱胜蚓体腔细胞DNA的损伤。结果表明，喹乙醇溶液法 $\text{LC}_{50}>2000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，滤纸法 $\text{LC}_{50}>5.71\times 10^{-2}\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$ ，而阿散酸和土霉素在所设最大受试剂量内没有毒性。单细胞凝胶电泳试验结果表明，阿散酸没有引起蚯蚓体腔细胞DNA明显损伤；喹乙醇和土霉素均能引起一定程度的DNA损伤，中、高剂量组与阴性对照相比有极显著差异($P<0.01$)。

绝大多数兽药以原药或代谢产物的形式经动物的粪尿排出，通过一定的途径进入农田，使作物的生存环境发生变化，对植物的生长发育造成不同的影响。仅有的研究表明，

施用动物粪肥和污泥后，作物产量降低。这除了与氮和重金属的过度施用有关外，在某种情况下也与粪肥和污泥中的兽药残留有关^[23]。植物不同组织对污染物毒性反应不同，根系和叶是植物体内污染物主要的蓄积场所，他们对污染物的反应较明显。对农作物而言，兽药残留对植物的危害有两种情况^[24]，一是反映在农作物减产或品质降低；二是反映在可食部分有毒物质积累量已超过允许限量，但农作物产量却没有明显下降或不受影响。药物对植物生长发育的影响取决于药物的类型、剂量，药物与土壤吸附能力及其在土壤中的稳定性，同时药物对作物的影响还随药物和植物的品种不同而不同。土霉素和氯四环素对杂色豆的生长有明显的抑制作用，具体表现为：植株的生节、鲜重下降，并影响植物对钙、钾和镁等离子离子的吸收。土霉素和氯四环素能促进萝卜、小麦的生长，但对玉米的生长却没有影响^[25]。目前，国内外关于有机农药和重金属污染土壤对植物生长发育影响的报道很多，而针对兽药在土壤中残留及其对植物的毒性作用方面的研究却鲜有报道，因此急需开展相关方面的研究。

Dijek等^[26]通过研究发现，21种饲料添加的抗菌药物对土壤和水中的36种典型的微生物只有7种敏感，其他29种微生物对这些畜禽常用抗菌药都有天然的耐药性。有机砷制剂曾被广泛用作饲料添加剂使用，其随动物粪便进入土壤环境后，可经过氧化还原作用转化成其他价态的砷，从而对土壤生物产生很强的毒害效应。杨居荣等^[27]对砷和重金属对土壤微生物的作用进行了调查和试验研究，发现砷对土壤固氮细菌、解磷细菌、纤维分解菌、真菌和放线菌均有抑制作用。土壤受砷污染后，土壤呼吸强度降低，其CO₂的产量减少并与土壤细菌总数呈正相关关系。刁晓平等^[23]采用直接吸收法（密闭法）测定了阿维菌素、安普霉素和磺胺二甲基嘧啶对不同类型土壤中微生物呼吸活动的影响，结果表明：从暴露的中期开始，在有机质含量丰富的砂壤中，3种药物在暴露的前期和中期对土壤微生物呼吸有抑制作用，并随含量的增加而增大；高含量的阿维菌素、安普霉素、磺胺二甲基嘧啶组(500mg·kg⁻¹)染毒后51 h之内，土壤中CO₂的平均释放量比对照组分别减少了43%、62%和46%，说明3种药物对有机质较少的土壤中微生物的呼吸表现出明显的抑制作用。研究也表明，兽药残留对土壤中微生物种群的数量和真菌生长也有一定影响，由于兽药的残留影响了土壤微生物的正常生命活动以及土壤酶的活性，进而也会给土壤植物的生长发育造成影响。

1.4 兽药残留对人类健康的影响

1.4.1 毒性反应

动物食品中兽药残留水平通常低于 $2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，每日食入1公斤动物食品会摄入2mg药物，远低于人的治疗剂量，发生急性中毒的可能性很小，但长期摄入可产生慢性或蓄积中毒^[28]。如氯霉素可导致严重的再生障碍性贫血、造血功能紊乱、灰婴综合征等^[29]。许多抗菌药物如青霉素类、四环素类、磺胺类和氨基糖苷类等能使部分人群发生过敏反应甚至休克，并在短时间内出现血压下降、皮疹、喉头水肿、呼吸困难等严重症状。青霉素类药物具有很强的致敏作用，轻者表现为接触性皮炎和皮肤反应，重者表现为致死的过敏性休克。磺胺类药物因化学结构与对氨基苯甲酸(PABA)相似，故能与细菌争夺二氢叶酸合成酶，以致细菌不能利用对氨基苯甲酸合成叶酸，导致核蛋白不能合成，而达到抑菌的目的^[30]。但是磺胺类药物在体内经肝脏代谢为乙酰化磺胺，且乙酰化率高，而乙酰化磺胺无抗菌活性却保留其毒性作用，引起结晶尿、血尿、过敏反应等。四环素类为一类具有共同多环并四苯羧基酰胺母核的衍生物。其作用机制主要是通过与细菌核蛋白体30S亚单位结合，阻止氨基酰-tRNA到达并与mRNA核蛋白体复合物A位结合，从而阻止肽链延伸。四环素类药物可引起过敏和荨麻疹，能与新形成的骨、牙中所沉积的钙相结合，致牙釉质发育不全，棕色色素永久性沉着。大量使用肿制剂作为饲料添加剂也可导致环境污染，危害人类健康。砷被机体吸收后，主要蓄积在肝、肾、脾、骨骼、皮肤及毛发中。动物体酶蛋白有许多功能基团，包括巯基(-SH)、氨基(-NH₂)、羧基(-COOH)等形成酶的活性中心，当汞、砷等与巯基(-SH)结合后，即抑制了酶的活性中心，使酶失活，导致细胞代谢紊乱。

1.4.2 诱导耐药菌株的产生

人们经常食用有兽药残留的动物食品，病原菌长期接触低浓度药物，容易产生耐药性，这对人类疾病的治疗会产生极大影响。在正常情况下，人体的胃肠道存在大量菌群，且互相拮抗、制约以平衡。如果长期接触有抗微生物药物残留的动物性食品，部分敏感菌群将受到抑制或杀死，导致耐药菌或条件性致病菌大量繁殖，微生物平衡遭到破坏，引起疾病的发生，最后损害人体的健康。同样，用于促进畜禽生长的添加剂的抗菌药物，低剂量使用也易使某些细菌产生抗药性，并且细菌的耐药性可以与人群中细菌，动物群中细菌，生态系统中细菌互相传递，由此可产生耐药致病菌。抗生素耐药性的危害十分

严重，它不仅使抗生素疗效减弱，甚至使抗生素失去疗效。当前，由于兽药抗生素的广泛使用使其在不同环境介质中均能进行迁移和转化，由其所诱导的抗性基因也因此具有很高的迁移性和活性，能在全球范围内进行迁移。Pruden等^[31]首次将抗生素抗性基因作为一种环境污染物提出，并指出考虑到其可能对动植物和人体健康造成的潜在生态风险，在养殖业、畜牧业集中地区以及受其影响地区应尽快开展水、土壤环境介质中抗生素抗性基因的环境行为研究。

1.4.3 “三致”作用

“三致”作用，即致癌、致畸、致突变作用。苯丙咪唑类药物通过抑制细胞活性，可杀灭蠕虫及虫卵，有广泛的抗蠕虫作用。然而，其抑制细胞活性的作用具有潜在的致突变性和致畸性。雌激素、肿制剂、喹恶啉类、硝基咪唑类和硝基咪唑类药物等都已证明有“三致”作用^[32]。喹诺酮类药物个别品种已在真核细胞内显示出致突变作用，并具有致肿瘤倾向。链霉素具有潜在的致畸作用。这些药物的残留超标，将严重影响人类的健康。性激素及其类似物被人食用后可产生一系列激素样作用，如潜在的致癌性、发育毒性（儿童早熟）、女性男性化和男性女性化。近年来我国常有儿童性早熟的报道，这与养殖业中非法使用性激素作促生长剂致使其残留于动物食品中有关。

1.5 兽药在土壤中的环境行为

1.5.1 兽药在土壤中的吸附/解吸

关于药物在土壤中的吸附，目前存在两种理论即传统的吸附理论和分配理论。前者认为颗粒物表面存在许多吸附位点作用而吸着于土壤颗粒表面。而分配理论则认为有机污染物是在水溶液和土壤有机质之间进行分配。但是，在目前的文献中，对二者的概念并没有明确区分，通常说“吸附”往往也包含了分配过程在内。几年来，对于表面活性剂改性的土壤吸附水中有机物的特征、机理及规律的研究表明，吸附作用是分配作用和表面吸附共同作用的结果。

土壤对兽药的吸附是影响兽药在土壤环境中迁移、滞留和转化的主要支配因素，是控制兽药环境行为的重要过程。就土壤而言，影响因素主要是土壤粘粒和有机质的种类、含量及组成特征。这些物质通过电荷特性或通过含氧、含氮、含硫的官能团，或者通过巨大的比表面对药物进行吸附^[33]。分配系数大，离解作用强的化合物，容易被土壤吸附；

土壤性质对药物吸附作用的影响也很大。有机质含量高，代换量大，质地粘重的土壤，就容易吸附药物。药物吸附性能的强弱，对药物的生物活性、残留性与移动性都有很大影响。药物被土壤强烈吸附后，其生物活性与微生物对它的降解性能都会减弱。吸附性能强的药物，其移动与扩散的能力弱，不易进一步造成对周围环境的污染^[34]。目前，我国对兽药在水生和陆生环境中的蓄积、迁移、转化及对各种生物的影响还缺乏系统研究，与发达国家间存在很大差距。因此，开展兽药环境行为研究非常重要。

1.5.2 兽药在土壤中的降解

长期以来，兽药被广泛的应用于动物疾病治疗和预防，促进生长，降低饲养成本，通常作为动物饲料添加剂以亚治疗剂量长期添加到动物饲料中，有 50%~90% 的药物以药物原形或代谢物形式随动物粪便排出，进入生态环境，对环境生物的安全产生危害。土壤是兽药抗生素在环境中的“储藏库”，兽药在土壤中的残留、消解动态及其对土壤微生物的影响，都直接关系到兽药的环境污染问题。

药物在环境中可以通过物理的、化学的或者生物学的作用改变形态或者转变成另一物质，水解是有机污染物在水环境中的一种重要的降解途径，在土壤中也存在这种可能。但是些研究表明在自然的 pH 状况下，SAs 类兽药水解的可能性比较小。相关研究表明 SAs 在土壤环境中是不易降解的^[35]。药物在环境中可以通过相应的酶系统的催化作用而发生生物转化，转变成无毒或毒性更强的其它物质。区分生物降解和非生物降解的方法是将土壤灭菌处理和不灭菌处理进行降解的比较实验^[36]，而生物降解又可以分为有氧生物降解和无氧生物降解。在环境中还能在微生物的作用下，发生生物降解。对农药杀虫剂的研究说明，在未灭菌的土壤样品中的降解较灭菌的样品中的降解快^[37,38]。研究不同条件下兽药在土壤中的降解动态，可以预测兽药对环境的污染程度。因此，研究兽药在不同环境条件下的降解规律，对准确有效评估兽药对环境及其人类健康危害的风险有重要意义。

1.6 研究目的和意义

随着集约化养殖业的发展，越来越多的兽用抗微生物药被用于治疗 and 促生长，同时也造成严重的兽药残留问题，引起全世界人们日益的关注。兽用抗生素进入土壤水环境的途径如图 1-1。对于兽药在土壤环境中的残留问题，国外从 20 世纪 70 年代就已开始进行研究，而我国目前尚缺乏这方面的研究，针对化学物质开展的环境生态方面的研

究主要集中在化肥、农药、重金属等对土壤生态环境的影响^[39]。

目前，兽药残留对生态环境的影响已受到环境学界的关注，但是国内外已有的研究成果还不能彻底阐释环境中的兽药（或化学物质）残留对环境生态及人类健康影响的内在作用机制，其实际的环境风险仍是未知的^[40]，因此有必要对其进行系统深入的研究和评价。

本研究中比较了几种常用兽药的生态毒性（主要是对作物根伸长、芽伸长等的抑制效应），选出毒性相对最大的药物作为下一步供试药物，建立其在土壤中的常规 HPLC-UV 的检测方法，研究其在土壤环境的吸附、解吸和降解规律，获得相关的参数，从而对其在环境中产生的生态风险进行一些初步的预测和评价，以期为兽药污染的治理和预防提供理论依据。

1.7 研究目标、内容和技术路线

1.7.1 研究目标

本试验研究兽药对作物种子发芽、根伸长抑制的毒性大小，及对植物生长发育的剂量-效应关系；拟建立兽药在土壤中的提取、净化及检测方法，进而分析药物在土壤中的吸附、解吸环境行为以及降解规律，为进行此类兽药生态环境安全性评价的提供理论支持。

1.7.2 研究内容和方法

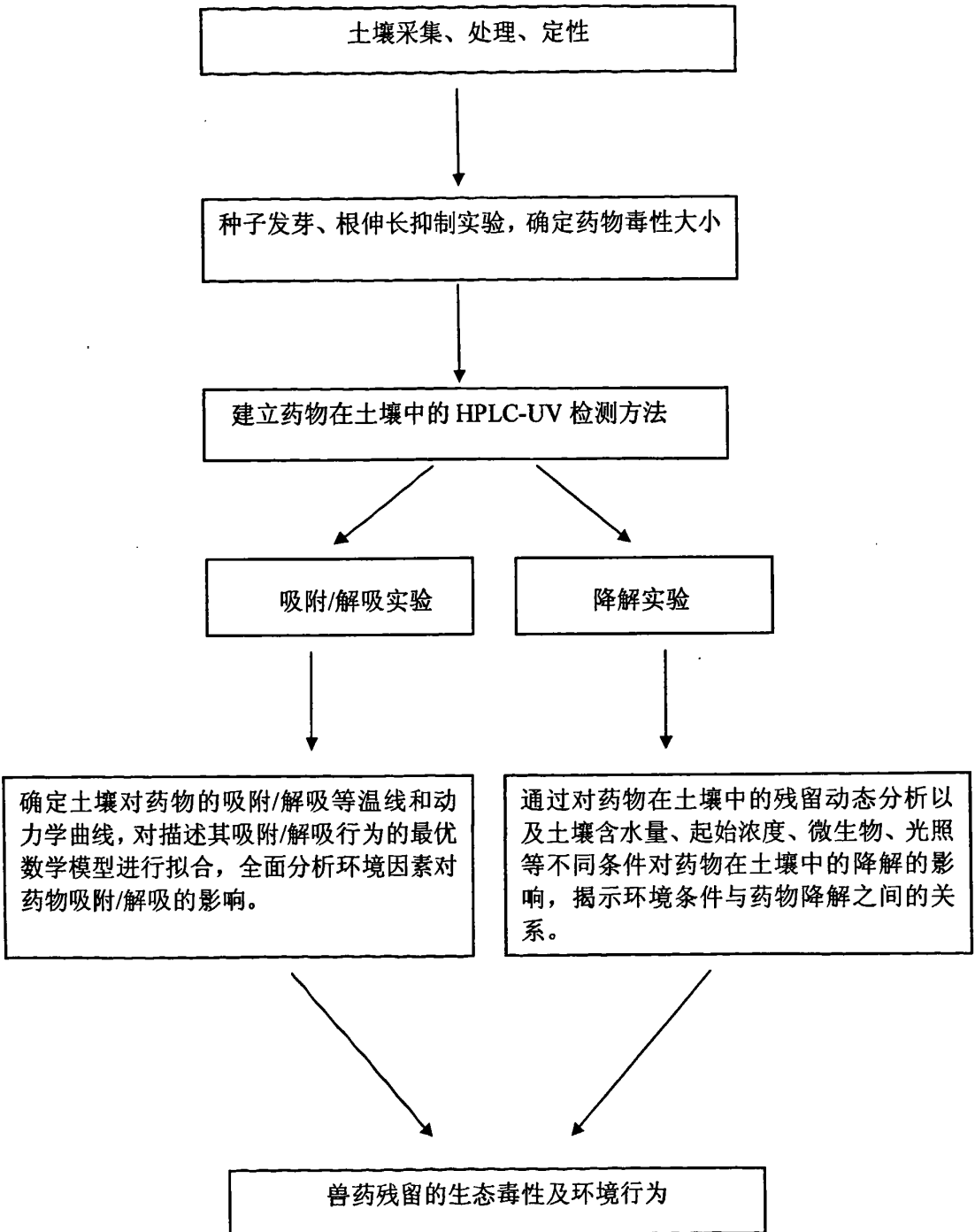
一、采用植物种子发芽、根伸长抑制试验研究土壤中残留兽药（磺胺嘧啶钠、磺胺间甲氧嘧啶钠、环丙沙星和恩诺沙星）对作物生长的毒性影响。

二、利用液-液分配、振荡提取等技术建立兽药在土壤的HPLC-UV检测方法。

三、由于在土壤-水界面上的吸附/解吸行为对兽药在土壤环境转归起着非常重要的作用，因此采用批量平衡法研究兽药在土壤中的吸附/解吸特性以及环境物质对其吸附的影响。

四、采用批培养法在实验室条件下进行兽药在土壤中的残留动态分析，以及土壤含水量、起始浓度、微生物及光照等不同环境条件对其在土壤中降解的影响，揭示环境条件与药物降解之间的关系。

1.7.3 技术路线



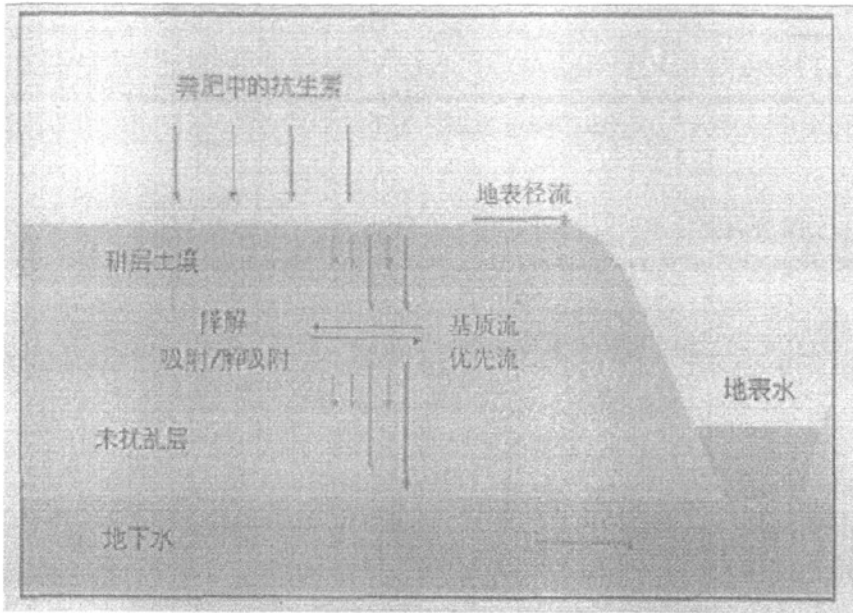


图 1-1 兽用抗生素进入土壤和水环境的途径

第二章 土壤中兽药残留对作物的生态毒性效应研究

2.1 前言

随着我国大中城市和乡镇集约化畜禽养殖业的迅速发展,含有各种兽药抗生素的畜禽粪便的年产出量在不断增加。据估算,到2010年,全国畜禽粪便的排放量将达 $4.5 \times 10^9 \text{t}^{[41]}$ 。如此大量的畜禽粪便排放是构成我国抗生素面源污染的主要原因之一。然而,研究表明,抗生素类药物只有15%可被吸收利用,大约85%未被代谢而被直接排放到环境中,导致生态环境中被检测出的兽药种类和浓度逐年增加^[42]。残留于环境中的兽药大部分仍是具有生物活性的,会给土壤环境、表层水体等带来不良影响,并通过食物链对生态环境产生毒害作用,影响动植物和微生物的生命活动以及生态系统平衡^[43]。因此,目前有关兽药抗生素污染的研究已经成为环境学界研究的一个新热点。

高等植物是生态系统的基本组成部分,平衡、稳定的生态系统就会生产健康、优良的高等植物。利用高等植物的生长状况监测土壤污染,是从生态学角度诊断土壤质量的重要方法之一^[44,45]。目前已建立的高等植物毒理试验方法主要有根伸长试验、种子发芽试验和植物幼苗早期生长试验^[46-48]。有关用这些方法进行土壤污染现场修复以及土壤生物修复过程的污染诊断研究已有较多报道^[49,50]。而针对土壤中兽药抗生素残留对植物的生态毒性效应的研究目前见于报道的还较少。因此,有必要加强相关方面的研究。

磺胺类(Sulfonamides, SAs)和喹诺酮类(Quinolones, QNs)药物是兽药中最常用的两种药物。磺胺类药物是具有对氨基苯磺酰胺结构的一类药物的总称,由于其抗菌谱广、价格低廉,因此这类药物是兽医临床和畜牧养殖业中最常用的药物添加剂之一。喹诺酮类药物是继磺胺药之后迅速发展起来的一类十分重要的人工合成抗菌药物;QNs抗菌谱广,组织穿透力强,高效低毒,抗菌作用力是磺胺药的近千倍,并且价格低廉,在医学和兽医学中应用广泛。据统计,2000年磺胺类药及增效剂原料药国内产量为 $1.1656 \times 10^4 \text{t}$,2001年国内产量为 $1.2472 \times 10^4 \text{t}^{[51]}$;喹诺酮药物的使用量也已经位于抗感染药物前列,在2002年已经超过大环内酯类。本研究中以SAs类的磺胺嘧啶钠、磺胺间甲氧嘧啶钠和QNs类的环丙沙星、恩诺沙星作为供试药物,研究这4种兽药对小麦、白菜和番茄种子发芽与根伸长影响的研究。通过考察作物种子发芽和根伸长受抑制程度,确定4种药物对农

作物的生态毒性，比较四者毒性的相对大小；同时评价出3种作物中对兽药相对敏感的作物，旨在为不同类作物选择不同的厩肥量提供理论支持，亦为评价兽药抗生素污染的潜在生态影响提供科学依据。

2.2 材料与方法

2.2.1 供试材料和仪器

(1) 供试药品：见表 2-1。

表2-1 供试药品

药品名称	化学名	分子式	分子量	规格	厂家
1.磺胺嘧啶钠 (sulfadiazine sodium)	N-2-嘧啶基-4-氨基苯 磺酰胺钠盐	$C_{10}H_9N_4NaO_2S$	273.26	10mL, 1g	洛阳奔鹿药业有 限公司
2.磺胺间甲氧嘧啶钠 (sulfamonomethoxine sodium)	4-氨基-N-(2,6- 甲氧基-4-嘧啶基)苯 磺酰胺钠盐	$C_{11}H_{12}N_4NaO_3S$	310.30	10mL, 1g	江西创导动物保 健品有限公司
3.环丙沙星 (ciprofloxacin)	1-环丙基-6-氟-1,4-二氢 -4-氧代-7(1-哌嗪基)-3- 喹啉羧酸	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$	367.80	10mL, 200mg	中国桐城科尔药 业有限公司
4.恩诺沙星 (enrofloxacin)	1-环丙基-6-氟-1,4-二 氢-4-氧-7(4-乙基-1-哌 嗪基)-3-喹啉羧酸	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$	359.40	10mL, 250mg	成都科锐药业有 限公司

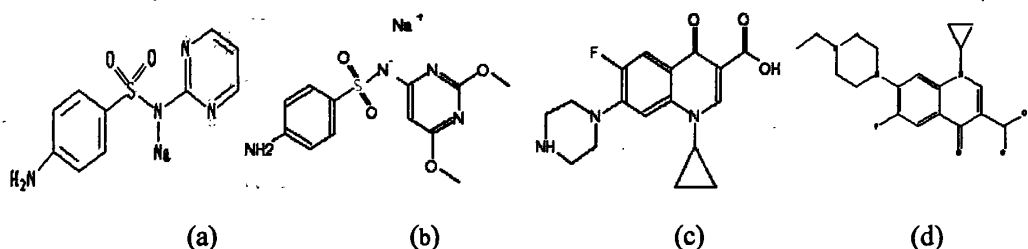


图2-1 磺胺嘧啶钠(a)、磺胺间甲氧嘧啶钠(b)、环丙沙星(c)、恩诺沙星(d)分子结构图

(2) 供试土壤和种子：供试土壤采自校内生物系0~20cm表土（此地为休耕地，未施用任何农业化学品近30年，属于清洁土壤），其理化性质见表2-2；小麦 (*Triticum aestivum* L)，泛麦5号，发芽率为98%；白菜 (*Brassica pekinensis*) 甜嫩黄金，发芽率为98%；番茄 (*Cyphomandra betacea*) 合作908，发芽率为75%，均购自新乡市种子公司。

(3) 仪器：可控生化培养箱、温度计、定性滤纸、培养皿。

表2-2 供试土壤理化性质

干容重/ (g·cm ⁻³)	pH	有机质/ (%)	CEC ¹⁾ / (cmol·kg ⁻¹)	T-P ²⁾ / (mg·kg ⁻¹)	T-K ³⁾ / (mg·kg ⁻¹)	K-N ⁴⁾ / (mg·kg ⁻¹)
1.41	8.31	1.65	12.26	0.04	0.18	0.09

1):阳离子交换量; 2):总磷; 3):总钾; 4):凯氏氮

2.2.2 实验方法

(1) 预备试验

称取 50g 风干土壤于 90mm 直径的玻璃培养皿中, 将以几何级数配制的磺胺嘧啶钠、环丙沙星水溶液分别均匀的加入培养皿中, 用去离子水调节土壤含水量至最大持水量的 60%, 然后用医用镊子将植物种子均匀播种于土壤中(放置种子时, 保持种子胚根末端和生长方向呈直线), 盖好玻璃培养皿, 置于恒温培养箱中 25℃暗处培养。对照种子发芽率 > 90%, 根长度达 20mm 时, 试验结束。确定种子发芽和根伸长抑制浓度(Inhibition Concentration, IC) 达到 10%~50%抑制率的区间后, 开始正式试验^[52]。抑制率由以下公式计算:

$$\text{抑制率 (IR)} = \frac{\text{处理浓度下根 (芽) 伸长} - \text{对照根 (芽) 伸长}}{\text{对照根 (芽) 伸长}} \times 100\% \quad (2-1)$$

(2) 正式试验

根据预备实验结果, 在种子发芽和根伸长抑制浓度 IC 达到抑制率 10%~50%范围内, 设置 7 个不同处理浓度。每个处理 20 粒种子。实验设 3 个重复。在与预备试验相同的温度和水分条件下, 进行作物种子发芽与生长培养试验。实验结束时, 测定各处理浓度土壤的种子发芽和植株根、地上部长度(根长的测定以胚轴与根之间的过度点开始), 计算发芽率和根长度、芽长度的平均值及标准偏差(OECD, 1984), 并以浓度-抑制率绘制曲线, 进行回归分析, 计算 IC₁₀ 和 IC₅₀(抑制率达 10%和 50%时的浓度)。不同作物的最终设计浓度见表 2-3。

2.3 数据分析

采用 SPSS12.0 和 Origin7.5 数据处理软件(美国 Microcal Software 公司)对实验数据进行单因素方差分析和回归分析, 对剂量-效应曲线进行拟合并作图。实验数据结果采用平均值±标准差(SD)(X±SD)表示, 差异显著性水平为 $p < 0.05$ 。

表2-3 不同作物的试验浓度

药物	作物	小麦	白菜	番茄
磺胺嘧啶钠(mg·kg ⁻¹)		1 5 10 20 50 80 100	1 5 10 20 30 40 60	1 5 10 20 50 80 120
磺胺间甲氧嘧啶钠(mg·kg ⁻¹)		1 5 10 20 50 80 120	1 5 10 20 30 40 60	1 5 10 20 50 80 100
环丙沙星(mg·kg ⁻¹)		100 300 500 800 1200 1500 2000	5 10 50 100 150 200 300	5 50 100 200 400 600 800
恩诺沙星(mg·kg ⁻¹)		20 50 100 300 500 800 1000	5 10 20 50 100 150 200	5 10 20 50 100 150 200

2.4 结果与讨论

2.4.1 磺胺嘧啶钠对作物种子发芽的影响

不同作物的最终试验浓度见表2-3。以小麦、白菜、番茄种子发芽、根伸长、芽伸长抑制率对磺胺嘧啶钠浓度作图。由图2-2可见，同一浓度的磺胺嘧啶钠对3种作物的种子发芽抑制率明显小于对根伸长和芽伸长的抑制率($p < 0.01$)。当小麦根伸长抑制率达48%时，发芽抑制率仅为5.0%；当白菜根伸长抑制率达68.3%时，而发芽抑制率为8.3%；

表2-4 磺胺嘧啶钠对3种作物发芽的影响

作物种类	平均抑制率 (IR) (%)						
浓度 (mg·kg ⁻¹)	1	5	10	20	50	80	100
小麦种子发芽	1.7	3.3	3.3	5.0	3.3	3.3	5.0
小麦根伸长	1.3	17.8	40.9	48.1	61.9	66.4	67.5
小麦芽伸长	-8.9	9.9	51.8	66.6	73.2	75.81	78.2
浓度 (mg·kg ⁻¹)	1	5	10	20	30	40	60
白菜种子发芽	1.7	3.3	5.0	10.0	8.3	6.7	3.3
白菜根伸长	-0.9	6.4	8.9	27.0	68.3	76.4	80.3
白菜芽伸长	-2.8	5.0	24.2	47.0	83.0	87.8	89.7
浓度 (mg·kg ⁻¹)	1	5	10	20	50	80	120
番茄种子发芽	8.3	15.0	13.3	13.3	11.7	18.3	13.3
番茄根伸长	8.1	10.2	14.8	21.5	29.6	45.0	56.1
番茄芽伸长	18.9	7.4	12.0	18.3	33.2	58.0	61.5

同样有番茄根伸长抑制率达59.9%时，而发芽抑制率为13.3%。磺胺嘧啶钠浓度与种子发芽抑制率不相关 ($p > 0.05$)。这可能是由于植物在较低浓度的污染物胁迫下，当根已经

受到毒害作用而表现出抑制时,芽的伸长还能够从种子自身吸取养分而不被抑制。但是,随着污染物浓度的增大,污染物被根部吸收、运输到种胚内,进而影响了芽的伸长和植株生长。由图2-2及表2-4可见,3种作物根伸长和芽伸长抑制率随磺胺嘧啶钠浓度增加而增大,磺胺嘧啶钠浓度与3种作物根伸长和芽伸长抑制率呈正相关(相关系数见表2-5)($p<0.05$)。

磺胺嘧啶钠浓度 $>10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,均显著抑制3种作物的芽伸长和根伸长($p<0.01$),且对芽伸长的胁迫效应均大于对根伸长,对3种作物芽伸长的胁迫效应均大于对根伸长的胁迫效应,这与重金属污染不同;相关研究表明,重金属对白菜根伸长抑制效应大于芽伸长^[53]。目前国内外关于兽药使用方面的信息都是很有限的,得不到关于兽药在家畜的使用及使用模式的公开信息,根据我国磺胺类药物使用情况,有专家估计土壤中浓度为 $1.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,且研究表明磺胺类药物降解缓慢^[54],长期滞留于土壤中会产生假持续现象,因而会对农作物的生长产生一定影响。从表2-5中3种作物根伸长和芽伸长的 IC_{50} 值可以看出,3种作物对于土壤磺胺嘧啶钠胁迫的敏感性依次是小麦 $>$ 白菜 $>$ 番茄,番茄相对于其它2种作物,对磺胺嘧啶钠的耐性更强一些,这可能与其自身的抗性机制有关系,但具体的作用机制目前还不是很清楚,需作进一步实验进行深入研究。

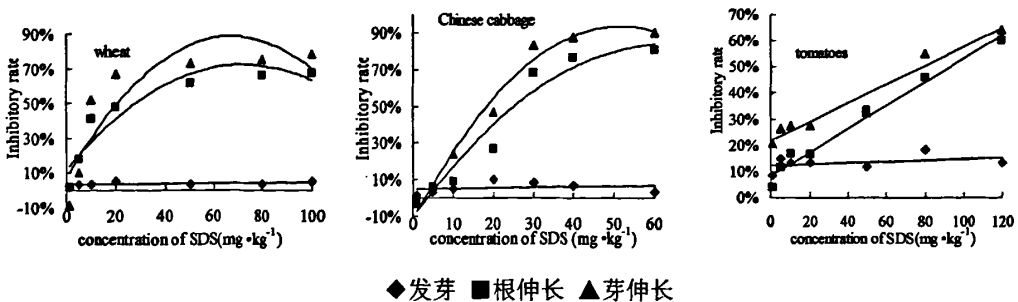


图2-2 磺胺嘧啶钠对3种作物种子发芽、根伸长、芽伸长的影响

由表2-4和图2-2可见,当磺胺嘧啶钠浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,对小麦和白菜芽伸长抑制率均产生负值(分别为 -8.9% 和 -2.8%),对根伸长的抑制率为 1.3% 和 -0.9% ,而抑制率不能为负值,由此可见,在磺胺嘧啶钠浓度较低时,对小麦和白菜的芽伸长没有抑制作用,反而有一定的促进作用。当浓度达到 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,便表现出明显的抑制作用($P<0.01$)。

磺胺嘧啶钠浓度 $>10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,对3种作物芽伸长的胁迫效应均大于对根伸长的胁迫效应($p<0.05$),当浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,对白菜芽伸长的抑制率便达到了 51.8% ;当

浓度达到 $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，芽的生长几乎停止。

表2-5 磺胺嘧啶钠浓度与3种作物生长抑制的回归方程和 IC_{50}

作物种类	回归方程	R	P	n	$IC_{50}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$
小麦根伸长	$y = -0.01176x^2 + 1.6904x + 11.8234$	0.8405	< 0.05	7	28.1
小麦芽伸长	$y = -0.018x^2 + 2.4262x + 7.2741$	0.7552	< 0.05	7	20.8
白菜根伸长	$y = 1.5862x + 0.4184$	0.9395	< 0.01	7	31.3
白菜芽伸长	$y = 1.7359x + 6.536$	0.9217	< 0.01	7	25.0
番茄根伸长	$y = 0.4465x + 8.5113$	0.9886	< 0.01	7	92.9
番茄芽伸长	$y = 0.4670x + 10.817$	0.9724	< 0.01	7	83.9

在试验浓度下，磺胺嘧啶钠始终对番茄的芽伸长表现出明显的抑制作用 ($p < 0.05$)。磺胺嘧啶钠浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，对番茄芽伸长的抑制率为18.9%；磺胺嘧啶钠浓度达到 $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，对番茄芽伸长的抑制率达到58.0%。

2.4.2 磺胺间甲氧嘧啶钠对作物种子发芽的影响

表2-6 磺胺间甲氧嘧啶钠对3种作物发芽的影响

作物种类	平均抑制率(IR) (%)						
	1	5	10	20	50	80	120
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)							
小麦种子发芽	0.0	1.7	1.7	5.0	3.3	6.7	8.3
小麦根伸长	2.8	6.4	7.3	7.9	22.1	29.2	53.0
小麦芽伸长	3.1	2.7	-6.9	-0.9	3.1	37.8	61.7
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)							
白菜种子发芽	11.7	13.3	10.0	6.7	11.7	15.0	11.7
白菜根伸长	4.0	15.1	27.9	61.6	65.8	71.5	75.3
白菜芽伸长	11.1	32.0	45.3	80.8	81.3	84.2	85.3
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)							
番茄种子发芽	0.0	5.0	6.7	6.7	5.0	16.7	11.7
番茄根伸长	8.5	11.0	17.5	25.1	37.04	47.2	52.1
番茄芽伸长	0.7	-1.0	-2.3	10.2	32.8	46.5	54.9

与磺胺嘧啶钠类似，磺胺间甲氧嘧啶钠浓度与3种作物根伸长和芽伸长抑制率呈正

相关（相关系数见表2-7）（ $p < 0.05$ ），在试验浓度下种子发芽表现的并不敏感。磺胺间甲氧嘧啶钠浓度与3种作物根伸长和芽伸长抑制率呈正相关（ $p < 0.05$ ）。3种作物根伸长和芽伸长抑制率随磺胺间甲氧嘧啶钠浓度增加而增大，相关性见表2-7。从表2-6可以得出磺胺间甲氧嘧啶钠对作物根伸长表现出明显的毒性作用。当白菜根伸长抑制率达50%时，磺胺间甲氧嘧啶钠浓度为27.1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，而小麦和番茄的根伸长抑制率达50%时，磺胺间甲氧嘧啶钠浓度分别为120.7 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和88.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。因此，白菜是3种作物中对磺胺间甲氧嘧啶钠最敏感的植物。通过单因素试验下的 IC_{50} 值可以看出，磺胺间甲氧嘧啶钠对白菜和番茄的毒性强于磺胺嘧啶钠，但是对小麦的毒性较磺胺嘧啶钠弱。

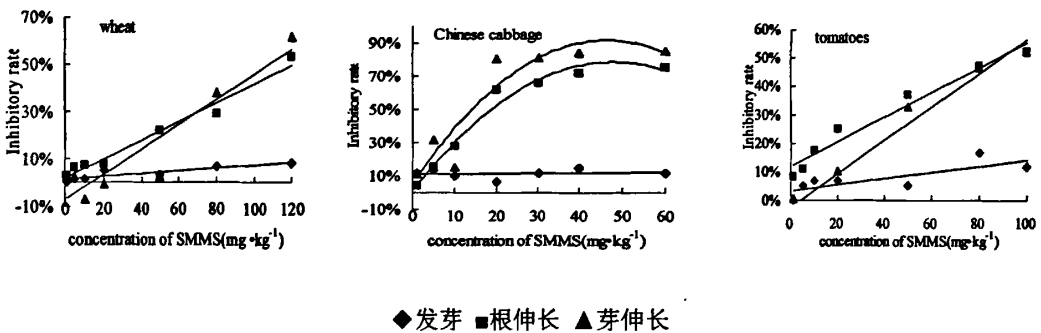


图2-3 磺胺间甲氧嘧啶钠对3种作物种子发芽、根伸长、芽伸长的影响

从表2-6可知，当磺胺间甲氧嘧啶钠浓度达10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，对小麦和番茄的芽伸长抑制率分别为-6.9%和-2.3%，表明在此浓度下磺胺间甲氧嘧啶钠对小麦和番茄的芽伸长有促进作用。当磺胺间甲氧嘧啶钠浓度高于20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，这两种作物的芽伸长抑制率随着

表2-7 磺胺间甲氧嘧啶钠与3种作物生长抑制的回归方程和 IC_{50}

作物种类	回归方程	R	P	n	$\text{IC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$
小麦根伸长	$y=0.3962x+2.1950$	0.9886	< 0.01	7	120.7
小麦芽伸长	$y=0.5265x-7.0743$	0.9348	< 0.01	7	108.4
白菜根伸长	$y=-0.03393x^2+3.2431x+1.0782$	0.9762	< 0.01	7	27.1
白菜芽伸长	$y=-0.04144x^2+3.6422x+12.8339$	0.9535	< 0.01	7	11.8
番茄根伸长	$y=0.4335x+11.8681$	0.9808	< 0.01	7	88.0
番茄芽伸长	$y=0.60472x-2.7293$	0.9888	< 0.01	7	87.2

磺胺间甲氧嘧啶钠浓度的增加而增加。当磺胺间甲氧嘧啶钠浓度小于50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，对

小麦和番茄的根伸长抑制率明显强于对芽伸长的抑制率($P<0.05$)。但是对白菜的芽伸长抑制率明显强于对根伸长的抑制率($P<0.05$)，这种现象与磺胺嘧啶钠的毒性作用相似。

2.4.3 环丙沙星对作物种子发芽的影响

同一浓度的环丙沙星对3种作物的种子发芽抑制率也明显小于对根伸长和芽伸长的抑制率，这与磺胺嘧啶钠的结果一致。小麦根伸长抑制率达24.5%时，出芽抑制率仅为1.7%；白菜根伸长抑制率达25.7%时，出芽抑制率为5.0%；番茄根伸长抑制率达45.3%时，出芽抑制率为10.0%。3种作物根伸长和芽伸长抑制率与环丙沙星浓度呈正相关($P<0.05$)，回归方程见表2-9；环丙沙星浓度与种子发芽抑制率不相关($P>0.05$)。

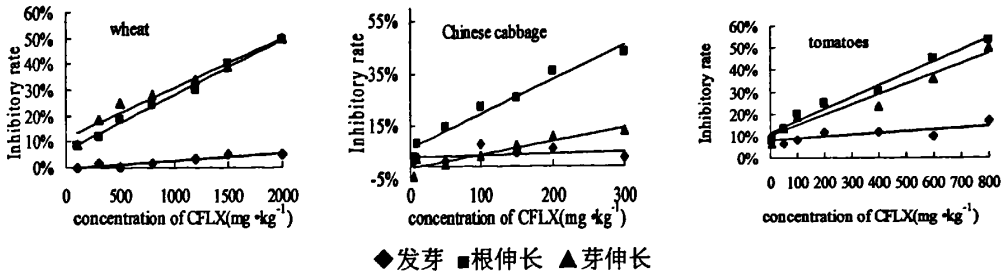
表2-8 环丙沙星对3种作物发芽的影响

作物种类	平均抑制率 (IR) (%)						
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	100	300	500	800	1200	1500	2000
小麦种子发芽	0.0	1.7	0.0	1.7	3.3	5.0	5.0
小麦根伸长	8.7	12.0	18.9	24.5	30.2	40.2	49.3
小麦芽伸长	9.0	18.8	24.9	28.1	34.2	38.8	50.0
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	5	10	50	100	150	200	300
白菜种子发芽	1.8	3.6	1.7	8.3	5.0	6.7	3.3
白菜根伸长	3.5	8.5	14.4	22.4	25.7	35.7	43.4
白菜芽伸长	-4.1	3.1	0.7	4.0	7.7	11.5	13.4
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	5	50	100	200	400	600	800
番茄种子发芽	10.0	16.7	8.3	11.7	11.7	10.0	16.7
番茄根伸长	7.5	13.6	19.7	25.2	30.0	45.3	53.5
番茄芽伸长	6.5	13.3	18.4	25.0	23.4	35.9	50.3

由图2-4和表2-8可见，在环丙沙星浓度较低时，对白菜的芽伸长有一定的刺激作用。当环丙沙星浓度为 $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，对白菜芽长抑制率为-4.1%。而对小麦和番茄的芽伸长却没表现出类似的毒物应激效应，当环丙沙星浓度分别为 $100\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $5\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，对小麦和番茄的抑制率分别为9.0%和6.5%。

同一浓度的环丙沙星对3种作物的种子发芽抑制率也明显小于对根伸长和芽伸长的抑制率。这可能与种子发芽和生长过程有关，种子发芽可以从胚内吸收养分，在这种情

况下，土壤污染物在一定浓度范围内对种子发芽的毒害作用被掩蔽或部分抑制，只有在土壤污染严重时，种子发芽才能完全被抑制。而根从一开始就完全暴露在土壤环境中，其生长发育全过程受土壤条件的影响较大，因此，根对土壤污染的反应更直接、敏感。这与宋玉芳等人的研究结果相似^[55,56]，其在进行重金属对作物种子发芽根伸长抑制的实



◆发芽 ■根伸长 ▲芽伸长
图2-4 环丙沙星对3种作物种子发芽、根伸长、芽伸长的影响

验中发现，当土壤中Pb浓度达1400 mg·kg⁻¹时，小麦的根伸长抑制率为45%，而发芽抑制率仅为5%。在环丙沙星浓度较低时，对白菜的芽伸长有一定的刺激作用，这可能是

表2-9 环丙沙星浓度与3种作物生长抑制的回归方程和IC₅₀

作物种类	回归方程	R	P	n	IC ₅₀ (mg·kg ⁻¹)
小麦根伸长	y=0.021 4x+6.668 6	0.995 8	< 0.01	7	2024.8 ¹⁾
小麦芽伸长	y=0.019 2x+11.527	0.981 3	< 0.01	7	2003.8 ¹⁾
白菜根伸长	y=0.130 8x+6.697 0	0.984 5	< 0.01	7	331.1 ¹⁾
白菜芽伸长	y=0.052 5x-0.920 3	0.927 7	< 0.01	7	969.9 ¹⁾
番茄根伸长	y=0.054 2x+11.112	0.985 7	< 0.01	7	717.5
番茄芽伸长	y=0.046 3x+10.441	0.959 2	< 0.01	7	854.4 ¹⁾

1) 不在实际试验浓度范围内

不同作物对药物产生的抗性机制不同所致。从2种药物对3种作物的剂量-效应关系和对根伸长、芽伸长抑制的IC₅₀值也可以看出，环丙沙星对作物的毒害效应明显小于磺胺嘧啶钠。从根伸长抑制的IC₅₀值和剂量-效应关系可见，3种作物中白菜对环丙沙星最敏感，其次是番茄，再次是小麦。

2.4.4 恩诺沙星对作物种子发芽的影响

与磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠类似，恩诺沙星浓度与3种作物根伸长和芽伸长抑制率呈正相关(相关系数见表2-11) ($p < 0.05$)，而与种子发芽抑制率不相关($p > 0.05$)。但是恩诺沙星对3种作物的毒性阈值明显高于磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠：当磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠和恩诺沙星浓度均为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，对白菜的根伸长抑制率分别为 16.7%、17.5% 和 12.1%。由图 2.5 和表 2-11 可知，当番茄根伸长抑制率达 50% 时，

表2-10 恩诺沙星对3种作物发芽的影响

作物种类	平均抑制率 (IR) (%)						
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	20	50	100	300	500	800	1000
小麦种子发芽	1.7	1.7	5.0	3.3	6.7	5.0	8.3
小麦根伸长	1.1	7.7	20.1	23.6	48.1	57.9	61.9
小麦芽伸长	23.4	22.9	39.4	51.6	74.4	87.1	90.1
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	5	10	20	50	100	150	200
白菜种子发芽	8.3	3.3	8.3	8.3	3.3	10.0	11.7
白菜根伸长	1.8	12.2	21.9	24.7	43.8	54.9	63.5
白菜芽伸长	-0.1	0	3.6	24.8	42.8	53.2	62.7
浓度 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	5	10	20	50	100	150	200
番茄种子发芽	5.0	13.3	10.0	13.3	11.7	8.3	11.7
番茄根伸长	9.0	12.2	17.8	20.9	40.4	59.6	74.8
番茄芽伸长	-12.45	-9.6	-2.9	17.5	34.8	52.4	60.9

时，恩诺沙星浓度为 $125.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，而小麦和白菜的根伸长抑制率达50%时，恩诺沙星浓度分别为 $700.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $138.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。因此，番茄是3种作物种对磺胺间甲氧嘧

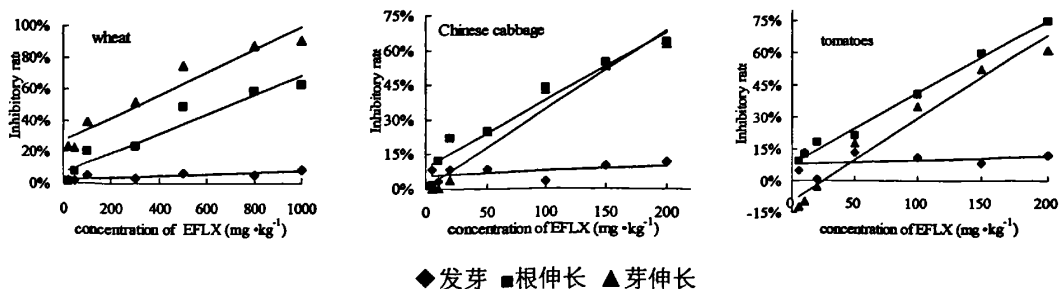


图2-5 恩诺沙星对3种作物种子发芽、根伸长、芽伸长的影响

啉钠最敏感的植物。由此可见同浓度下，恩诺沙星对3种作物的毒性作用明显较磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠弱。

由图2-5和表2-10可见，恩诺沙星浓度高于 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，白菜和番茄的芽伸长抑制率随恩诺沙星浓度增大而增大，且对根伸长的抑制率大于对芽伸长的抑制率。而对于小麦，情况恰好相反，试验浓度下对根伸长的抑制率大于对芽伸长的抑制率。

表2-11 恩诺沙星与3种作物生长抑制的回归方程和 IC_{50}

作物种类	回归方程	R	P	n	$IC_{50}(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$
小麦根伸长	$y=0.06077x+7.4425$	0.9272	<0.01	7	700.0
小麦芽伸长	$y=0.0718x+27.193$	0.9336	<0.01	7	317.6
白菜根伸长	$y=0.2913x+9.5620$	0.9437	<0.01	7	138.8
白菜芽伸长	$y=0.3412x+0.6455$	0.9545	<0.01	7	144.6
番茄根伸长	$y=0.3342x+7.9802$	0.9928	<0.01	7	125.7
番茄芽伸长	$y=0.3876x-9.532$	0.9641	<0.01	7	153.6

2.4.5 4种药物生态毒性的比较

从4种药物对3种作物根伸长的半数抑制浓度 IC_{50} （抑制率达50%时的药物浓度）来看，磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠对3种作物的毒性强于环丙沙星和恩诺沙星（如图2-6）。如，磺胺嘧啶钠对小麦、白菜、番茄的 IC_{50} 分别为28.1、31.3、92.9 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，而环丙沙星对3种作物的 IC_{50} 分别为2024.8、331.1、717.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，也就是说在对3种作物受害程度相同（ IC_{50} ）的情况下，需要环丙沙星和恩诺沙星的浓度远远高于磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠的浓度。这说明，环丙沙星和恩诺沙星对植物的毒害效应相对弱一些，相对于磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠是一种生态安全性较高的兽药。

不同作物对4种药物的胁迫效应表现出敏感性有很大的差别。对于磺胺嘧啶钠来说，3种作物敏感性大小顺序为：小麦>白菜>番茄，小麦相对于其他2种作物来说是最敏感的，当磺胺嘧啶钠浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，小麦、白菜和番茄3种作物的根长抑制率分别是48.0%、27.0%和16.5%，小麦根长抑制率分别是番茄的2.9倍和白菜的1.8倍，由此可见，3种作物对磺胺嘧啶钠的敏感程度差别是很大的。

磺胺类药物（磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠）的作用机制主要是其在结构上类似对氨基苯甲酸(PABA)，可与PABA竞争性作用于细菌体内的二氢叶酸合成酶，从而阻

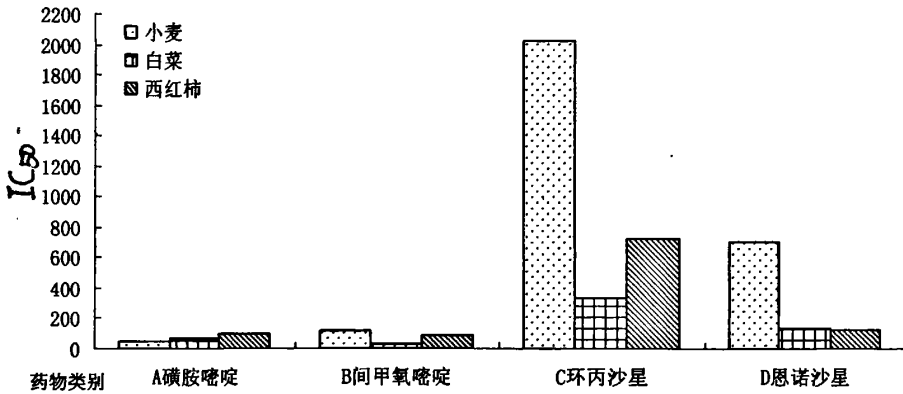


图2-6 3种作物根伸长IC₅₀的比较

止 PABA作为原料合成细菌所需的叶酸，减少了具有代谢活性的四氢叶酸的量，而后者则是细菌合成嘌呤、胸腺嘧啶核苷和脱氧核糖核酸(DNA)的必需物质，因此，抑制了细菌的生长繁殖^[57]。小麦体内可能含有类似结构的作用靶分子，从而对其根伸长产生了较强的胁迫效应，但其具体的作用机制还有待于作进一步的实验加以验证研究。对于环丙沙星，3种作物表现出的敏感性依次为：白菜>番茄>小麦，环丙沙星浓度为100 mg·kg⁻¹时，白菜、番茄和小麦的根长抑制率依次为22.4%、19.7%和8.7%，小麦表现出与磺胺嘧啶钠完全相反的趋势。喹诺酮类药物（环丙沙星和恩诺沙星）作用机理是通过与细菌的脱氧核糖核酸（DNA）的回旋酶亚基A结合，抑制酶的切割与连接功能，进而阻止细菌DNA复制，从而对大部分G-菌有较强的杀灭作用^[58]；小麦对环丙沙星的胁迫效应表现出很强的抗性，这可能与药物作用的靶分子和作物本身的抗性机制有关。由此可见，针对不同的作物对兽药的敏感性，在施用厩肥的过程中应考虑作物类型不同而选择合适的施肥量。

2.5 结论

(1) 磺胺嘧啶钠、磺胺间甲氧嘧啶钠、环丙沙星和恩诺沙星这4种兽药抗生素对小麦、白菜、番茄根伸长和芽伸长的抑制率随着土壤中药物含量的增高而增大，两者呈正相关 ($P < 0.05$)。与根伸长和芽伸长抑制相比，植物种子发芽对兽药抗生素胁迫的敏感性较弱。

(2) 从药物对作物生长抑制的强弱和IC₅₀可见，磺胺嘧啶钠和磺胺间甲氧嘧啶钠

对作物的毒性远强于环丙沙星和恩诺沙星；环丙沙星毒性较恩诺沙星弱。4种药物的生态毒性顺序为磺胺间甲氧嘧啶钠 \geq 磺胺嘧啶钠 $>$ 恩诺沙星 $>$ 环丙沙星。可见，环丙沙星对植物的毒害效应相对最弱。

(3) 对于土壤磺胺嘧啶钠污染，3种作物的敏感性顺序依次为：小麦 $>$ 白菜 $>$ 番茄；对于土壤磺胺间甲氧嘧啶钠污染，白菜 $>$ 番茄 $>$ 小麦；环丙沙星污染时，3种作物的敏感性顺序为：白菜 $>$ 番茄 $>$ 小麦；恩诺沙星污染时，番茄 $>$ 白菜 $>$ 小麦。

第三章 磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中的 HPLC-UV 检测方法的建立

3.1 前言

磺胺间甲氧嘧啶钠 (SMM) 是在畜牧兽医临床上应用的药物之一, 在实际生产中的用量很大。磺胺间甲氧嘧啶钠主要通过粪尿排出体外, 进入环境中的药物, 受环境中理化和生物因素的影响, 发生迁移和转化并可能对环境中的微生物、水生生物及动植物产生影响。环境中的兽药因其进入环境的特殊性, 在环境中的浓度往往是很低的, 为此研究磺胺间甲氧嘧啶钠在环境的转归, 需要建立灵敏的检测方法。本实验在动物组织中的残留检测方法的基础上进行了改进, 建立了简单快速灵敏的土壤中的高效液相色谱检测方法。

3.2 材料与方法

3.2.1 实验材料

(1) 主要试剂

磺胺间甲氧嘧啶钠, 标准品, 白色结晶, 纯度为 99.0%, 美国 Sigma 公司; 冰醋酸 (分析纯, 北京化学试剂公司); 甲醇 (色谱纯, Fisher 公司); 重蒸水

(2) 实验土壤

实验土壤采自河南师范大学生物园, 属于未受任何化学品污染的洁净土壤, 取自 0~20cm 耕作层, 其理化性质见表 1。试验时将土风干、过 2mm 筛。土壤理化性质见表 1。将土壤样品密封置于 4℃ 冰箱待用。

(3) 仪器设备

高效液相色谱仪	SCL-10A 系统控制仪; DGU-12A 脱气装置; SPD-MAOAVP 二极管阵列检测器; LC-1 OATVP 泵; class-VP 工作站(日本 Shimadzu 公司)
恒温摇床	SHK-99 型台式, 北京北方 TZ 生物技术发展公司
低速离心机	TDL-40B 型, 上海安亭科学仪器厂
高速离心机	IK15 型, Sigma 公司
电子天平	0.0001mg, Sartorius 公司

可调微量移液器	20-200 u1, 100-1000 u1, Finnpipette 公司
漩涡混合仪	WH-1 型, 上海沪西分析仪器厂
pH 计	pH211 型酸度计, HANNA 仪器公司
磁力搅拌器	78-1 型, 浙江乐清乐成电器厂
溶剂过滤器	天津市腾达过滤器件厂
超声波清洗器	CX-100 型, 北京医疗设备三厂

3.2.2 实验方法

(1) 色谱条件:

色谱柱: C₁₈ 反向色谱柱, inertsil ODS-3 (4.6 × 250mm, 粒径 5μm) 流动相: 甲醇-1% 乙酸 (40: 60); 检测波长: 270nm; 进样量: 40μL; 流速: 1mL/min; 柱温: 25℃

(2) 标准曲线的绘制:

称取 SMM 10.00 mg, 分别用色谱甲醇溶解, 于 50 mL 棕色容量瓶中定容, 配制成浓度为 200.00 mg·L⁻¹ 的储备液, 4℃ 冰箱中保存。

用流动相将 SMM 的标准工作液稀释, 配成一系列 5 个度: 0.01μg·mL⁻¹, 0.1μg·mL⁻¹, 0.5 μg·mL⁻¹, 1μg·mL⁻¹, 10μg·mL⁻¹。取 40 μL 进样, HPLC 检测, 对峰面积积分, 每一浓度进样 5 次, 取平均值; 然后以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 分别绘制上述两种药物的标准曲线, 求回归曲线和相关系数。

3.2.3 样品前处理

国内外对 SMM 的残留检测方法很多, 包括在不同动物、动物不同组织当中以不同的分析方法检测分析。但对 SMM 在环境中的检测方法却较少。国外相关的检测方法也多采用有机溶剂与水混合提取, 采用 LC-MS、LC-MS-MS 或 GC-MS 等灵敏的仪器来检测^[59-63]。提取方法的选择对于回收率有一定的影响。

称取 2.0g 土壤于 25mL 聚丙烯具塞离心管中, 加入 10mL 0.1M NaOH, 漩涡振荡 15 min, 5000 r·min⁻¹ 离心 20min, 移取上清液, 向沉淀物中再加入 10 mL 0.1M NaOH, 重复提取三次, 合并提取液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

3.2.4 回收率测定

取空白土壤加入预先配制的 50μg·mL⁻¹, 5μg·mL⁻¹ 的标准中间液, 设 0.5mg·kg⁻¹,

5mg·kg⁻¹, 10mg·kg⁻¹, 3 个添加水平, 并设 5 个平行, 涡动混匀, 按照 3.2.3 方法处理样品, 并计算样品中上述两种药物的浓度和回收率。

3.2.5 检测限测定

土壤样品: 取 10 个空白土样, 按 3.2.3 的方法处理土壤样品, HPLC 检测, 测得基线噪音, 取信噪比为 3, 得到 SMM 在土壤样品中的检测限。

3.2.6 精密度测定

土壤样品设 0.5mg·kg⁻¹, 5mg·kg⁻¹, 10mg·kg⁻¹, 3 个添加水平, 并分别设 5 个平行, 按 3.2.3 方法处理样品, 计算样品中上述两种药物的浓度。上述 3 个浓度隔日重复测定 3 次(共做 3 个批次), 并计算它们的批内(日内)、批间(日间)的平均值与变异系数。

3.3 结果与讨论

3.3.1 标准曲线

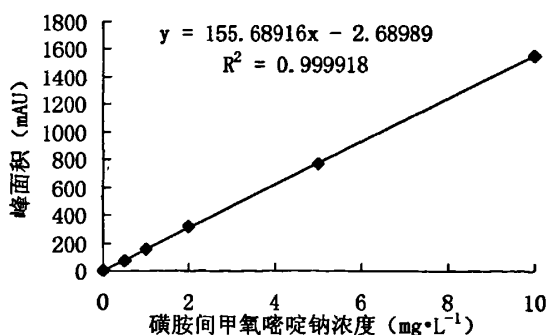


图3-1 SMM标准曲线

将 3.2.2 所述 6 个浓度系列在选定条件下进行 HPLC-UV 检测, 在 0.5mg·L⁻¹—10.0 mg·L⁻¹ 范围内, SMM 色谱峰面积与浓度呈线性相关, 回归方程、相关系数及标准曲线见图 3-1。若分析实际样本的终浓度不在该范围内, 则需稀释或浓缩。

3.3.2 回收率与精密度

大量实验发现:

(1) 用乙醇和丙酮作提取剂, 会使土壤中的有机物溶解, 完全溶解磺胺间甲氧嘧啶钠所

需时间也较长,且易呈絮状而粘壁,引起较大误差。原因应是乙醇和丙酮等有机溶剂会使土壤中的有机物溶解,从而影响吸光度。

(2) 用稀盐酸溶液作提取剂,所得测定结果很不稳定,且大多数情况下结果明显偏大。原因应是稀盐酸溶液可使土壤中的矿物质溶解,从而对测定结果干扰较大。

(3) $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液所得到的各平行处理的回收率如表3-1。由表3-1可见,在实验条件下,土壤中SMM的含量在 $0.5\text{--}10.0\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的范围内,提取的回收率为 $96.7\text{--}99.0\%$,稳定性较好。但 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 比氢氧化钠溶液作提取剂所得回收率误差较大。

试验设 $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 3 个添加水平,对样品进行添加回收试验,结果见表 3-1。

表 3-1 SMM 回收率及变异系数($n=5$)

添加浓度 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	平均回收率(%)	变异系数(%)
0.5	85.53 ± 2.76	3.2
5	90.15 ± 6.07	6.7
10	91.93 ± 1.89	2.1

从上述实验结果可知, SMM 在 $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3 个添加水平时,在土壤中的平均回收率范围为 $85.53\%\text{--}91.93\%$; 变异系数范围分别为 $3.2\%\text{--}6.7\%$ 。

以 $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3 个浓度的添加水平,对土壤样本进行添加回收实验。测得 SMM 的回收率的日内、日间变异系数,结果见表 3-2。

表3-2 SMM的回收率的日内、日间变异系数

添加浓度 ($\text{ug}\cdot\text{kg}^{-1}$)	日内变异系数(%)		日间变异系数(%)	
	实测值	变异系数(%)	实测值	变异系数(%)
20	17.11 ± 0.55	3.2	17.08 ± 1.50	8.8
100	90.16 ± 6.07	6.7	89.79 ± 6.23	6.9
1000	919.30 ± 18.88	2.1	920.33 ± 23.12	2.5

从表 3-1 和表 3-2 可以看出, $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\text{--}10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3 个添加水平,土壤中 SMM 的回收率的日内变异系数范围分别为 $2.1\%\text{--}6.7\%$,; 日间变异系数范围分别为 $2.5\%\text{--}8.8\%$ 。

3.3.3 色谱条件

采用 RP-HPLC 是 SAs 最常用的测定方法, 采用 C_{18} 柱分离和直接紫外法检测^[64]。测定 SAs 的 HPLC 的检测方法很多^[63,65,66,67], 为防止脱尾一般采用酸性流动相。为使 SMM 获得有效保留和分离, 并且抑制固定相表面残余的硅醇基导致 SMM 色谱峰脱, 本实验选择甲醇-冰醋酸(60: 40)作为流动相。

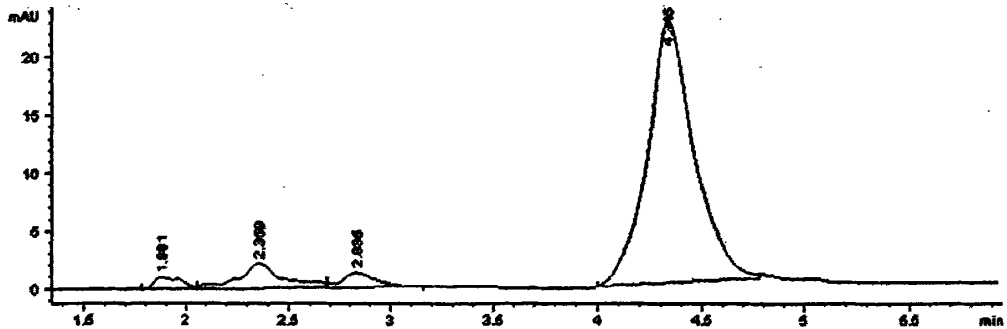


图3-2 SMM的标准品色谱图

实验结果表明该流动相可很好的将 SMM 达到基线分离, 峰形对称并与杂质峰的分
离很好。该药物的标准品色谱图如图 3-2。

3.3.4 回收率与检测限

添加回收结果如表 3-1, 3-2 所示, 在土样添加中, $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ — $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围 SMM 的回收率为 85.3%—91.93%, 日内与日间的变异系数范围分别为 2.1%—6.7%, 2.5%—8.8%。SMM 在土壤中的检测限为 $15\text{ug}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。Jen^[61]等报道了七种 SAS(包括 SMM)药物在猪粪便废水中的 HPLC—UV 残留检测方法, 定量范围为 0.05ppm—10ppm 之间。SMM 的检测限为 $15\text{ug}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。Michel^[66]等报道了 SAS 在动物粪肥中的残留的定量分析方法, 定量限低于 0.1ppm。Grant 等^[63]建立一种非常敏感的方法, 同时检测 SMZ、 N_4 —ACE—SMZ 在环境样本中的残留, 利用 SPIE 柱结合 MALDI—TOF—MS 能够快速检测 SMZ、 N_4 —ACE—SMZ 在土、水及粪肥中的残留, 大约 1.5 个小时就可以完成 8—24 个样本的富积、探测和处理质谱检测, 能够完成 SMZ、 N_4 —ACE—SMZ 在环境样本中的低 ppb 级的检出和定量, 但回收率很低。

本方法对土壤、水等环境样品的检测方法检测限低于或接近于文献报道方法的检测限, 操作简便, 尤其在土壤样品的提取过程中完全不用有机溶剂, 减少了有机溶剂的使用, 节约了成本。该方法稳定, 灵敏度高, 能满足对 SMM 在土壤中残留分析的需要。

3.4 结论

建立了土壤中 SMM 残留分析的 HPLC-UV 检测方法。土壤中 SMM 的残留分析的高效液相色谱法：用 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液作为提取溶剂经过振荡重复提取，滤膜过滤净化，反相高效液相色谱测定。在 $0.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ — $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 范围内测得土壤中 SMM 的平均回收率范围分别为 85.53%—91.93%；日内变异系数分别为 2.1%—6.7%；日间变异系数分别为 2.5%—8.8%，检测限为 $15\text{ug}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。与文献相比实验方法操作简便，检测仪器采用 HPLC—UV 检测，该方法的检测限低于文献中检测限，回收率高，无需 LC—MS 等高级检测仪器。

第四章 磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中的吸附/解吸及环境物质的影响

4.1 前言

兽药及饲料添加剂在土壤—水界面上的吸附特性对其在土壤环境中的转归起着非常重要的作用，它是兽药与土壤环境之间相互作用的一个主要过程，它直接或间接影响着其他过程，进入土壤的兽药，可以通过物理吸附、化学吸附、氢键结合、配位键结合等形式吸附在土壤颗粒的表面^[68]。兽药在土壤环境中的吸附是影响其环境行为和归宿的支配要素之一^[69]。土壤胶体对兽药的吸附是确定它在固相、液相和气相分配的主要过程之一。随着兽药在畜牧兽医临床中的应用及对环境潜在影响的增加，需要对兽药的吸附进行定量化的研究。而在环境质量评价中，我们研究兽药在农业上应用的潜在影响就需要知道其在介质中的吸附量。因此，定量研究兽药在土壤中的吸附过程对评价兽药在环境中转归是十分必要的。药物在土壤环境中的行为归宿，包括迁移、滞留(吸附-脱附、浸渍等)和转化(生物、化学及光解等)过程。土壤对药物的吸附/解吸是影响药物在土壤环境中迁移、滞留和转化的主要支配因素，是控制药物环境行为的重要过程^[70]。土壤对药物的吸附/解吸作用是影响药物在环境中持久性和有效性的重要因素，是进行药物环境安全性评价的重要指标，将直接影响到兽药在土壤中的淋溶速度与深度，另外药物的吸附常数 K_f 也是很多预警模型的重要输入参数^[71]。因此研究药物在土壤中的吸附/解吸作用具有重要的理论价值和实际意义。目前，我国对兽药在水生和陆生环境中的蓄积、迁移、转化及对各种生物的影响，还缺乏系统研究，与发达国家间存在着很大的差距^[72-75]。因此，开展兽药吸附/解吸环境行为的研究对制定预防和控制兽药污染的措施奠定一定的理论基础。

本试验研究了 SMM 在河南壤土上的吸附/解吸行为，通过吸附/解吸热力学、动力学试验确定 SMM 在土壤中的吸附/解吸等温线和动力学曲线，同时对描述其吸附/解吸行为的最优数学模型进行了拟合，并探究了环境物质对 SMM 吸附的影响，为全面评价 SMM 的环境行为及制定兽药污染土壤修复措施提供理论依据。

4.2 材料与amp;方法

尿素($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) (分析纯, 广州化学试剂厂)、腐殖酸(HA) (分析纯, 上海巨枫化学

科技有限公司)、十二烷基苯磺酸钠 (SDBS)、十六烷基三甲基溴化铵 (CTMAB)。试验其他试剂、材料及色谱条件同第三章。

4.2.1 吸附/解吸等温热力学试验

(1) 吸附试验: 称取 10.0g(折合含水量后)供试土壤, 分别加入 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的供试 SMM 水溶液 1mL, 然后用 0.01M CaCl_2 重蒸水溶液补齐至 50mL(起始浓度分别为 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 在振荡器充分振荡 24 小时, 转速为 164 rpm/min, 使其达到吸附平衡, 然后以 6000rpm/min 的离心速度离心 20min, 上层清液通过 $0.45 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤, 测定水相体积以及吸附平衡后液相中供试物质的浓度。将单位质量土壤中的吸附量 Q 作为供试物质平衡浓度 C 的函数作图。

(2) 解吸试验: 将经过达到吸附平衡后的土壤中加入 50mL 0.01M CaCl_2 重蒸水溶液。在振荡器上充分振荡 24 小时, 转速为 164 rpm/min, 使其达到吸附平衡, 然后以 6000rpm/min 的离心速度离心 20min, 上层清液通过 $0.45 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤, 进 HPLC 测定液相中供试物质的浓度。

4.2.2 吸附/解吸动力学试验

(1) 吸附试验: 称取 10.0g(折合含水量后)供试土壤, 加入 2mL 浓度为 $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SMM 水溶液(使起始浓度分别为 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)以及 48mL 0.01M CaCl_2 重蒸水溶液, 在振荡器上充分振荡, 转速为 164rpm/min, 温度控制在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 。按照平行法, 吸附时间设定 0、0.1、0.3、0.5、1、2、6、8、10、15、20 小时, 每个吸附时间设 3 次重复。振荡完成后以 6000rpm/min 的离心速度离心 20min, 上层清液通过 $0.45 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤, 进 HPLC 测定液相中供试物质的浓度。

(2) 解吸试验: 称取 10.0g(折合含水量后)供试土壤, 加入 2mL 浓度为 $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SMM 水溶液以及 0.01M CaCl_2 重蒸水溶液, 在振荡器上充分振荡 24 小时, 转速为 164rpm/min, 使其达到吸附平衡, 然后以 6000rpm/min 的离心速度离心 20min, 倒出上清液, 然后在土壤相中加入 50mL 0.01M CaCl_2 重蒸水溶液。按照平行法, 吸附时间设定 0、0.1、0.3、0.5、1、2、6、8、10、15、20 小时, 每个吸附时间设 3 次重复。振荡完成后以 6000rpm/min 的离心速度离心 20min, 上层清液通过 $0.45 \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤, 进 HPLC 测定液相中供试物质的浓度。

表4-1 SMM吸附试验设计

实验序号	吸附组分	吸附溶液	试验目的
1	土壤	重蒸水	吸附动力学
2	土壤	标准溶液*(包含 50 mg·L ⁻¹ 的尿素)	尿素对吸附的影响
3	土壤	标准溶液*(包含 500 mg·L ⁻¹ 的尿素)	尿素对吸附的影响
4	土壤	标准溶液*(包含 50 mg·L ⁻¹ 的 SDBS)	SDBS 对吸附的影响
5	土壤	标准溶液*(包含 500 mg·L ⁻¹ 的 SDBS)	SDBS 对吸附的影响
6	土壤	标准溶液*(包含 50 mg·L ⁻¹ 的 CTMAB)	CTMAB 对吸附的影响
7	土壤	标准溶液*(包含 500 mg·L ⁻¹ 的 CTMAB)	CTMAB 对吸附的影响
8	土壤	标准溶液*(包含 10 mg·L ⁻¹ 的 Cd ²⁺)	Cd ²⁺ 对吸附的影响
9	土壤	标准溶液*(包含 100 mg·L ⁻¹ 的 Cd ²⁺)	Cd ²⁺ 对吸附的影响
10	土壤+0.1g固体HA	标准溶液*	HA对吸附的影响

*标准溶液包含 0.01M CaCl₂ 和已知浓度的 SMM 溶液

4.3 计算方法

将单位质量土壤中的吸附量 Q 作为供试物质平衡浓度 C 的函数作图。

土壤中 SMM 吸附量的计算公式^[76]:

$$Q_s = \frac{(C_0 - C_e) \times V}{W} \quad (4-1)$$

(其中, Q_s 为土壤吸附量)

吸附系数(K_d)是指:在一定测试条件下,当达到吸附平衡后,土壤相中的供试物质的含量与水相中供试物质的质量浓度的比值,可通过下式计算^[77]:

$$K_d = \frac{\sum C_s^{ads}(eq)}{\sum C_{aq}^{ads}(eq)} \quad (4-2)$$

(其中, $C_s^{ads}(eq)$: 吸附平衡时, 供试物质在土壤中的含量 (mg·kg⁻¹); $C_{aq}^{ads}(eq)$: 吸附平衡时, 供试物质在水相中的含量 (mg·L⁻¹))

有机碳吸附系数 K_{oc} 与 K_d 以及土壤样品有机碳含量存在下列关系^[77]:

$$K_{oc} = K_d \cdot \frac{100}{\%OC} (mL \cdot g^{-1}) \quad (4-3)$$

(其中, %OC: 土壤样品中有机碳的含量 (g·g⁻¹))

吸附反应自由能与有机碳吸附常数的关系式^[77]:

$$\Delta G = -RT \ln K_{oc}, \quad (4-4)$$

(其中 $K_{oc} = \frac{100K_d}{OC\%}$)

4.4 结果与讨论

4.4.1 SMM 在土壤中吸附/解吸热力学特性

将吸附等温数据用线性方程、Freundlich、Langmuir (1) 和 Langmuir (2) 吸附等温方程进行拟合, 拟合性见图 4-1。由图 4-1 和表 4-2 可见土壤对 SMM 的吸附等温线与上述各方程式均有较好的拟合性, 相关性都达到了显著水平, 相关系数在 0.9728—0.9955 之间, 而且用 Freundlich 吸附等温方程进行拟合的 R 值均大于线性方程的 R 值, 说明 SMM 在土壤中的吸附、解吸等温曲线与 Freundlich 吸附等温方程非常符合, 吸附/解吸等温方程以及回归系数如表 4-2 所示。

然而, 对 Langmuir 方程(1), 虽然相关性极其显著, 但是从该方程计算得出的土壤的最大吸附量(X_m)为 $37.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 而本试验中加入最大 SMM 浓度($100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)时, 土壤对 SMM 的吸附量达到 $46.5\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 这显然是不符合实际情况的, 因而 Langmuir 方程(1)不适宜描述 SMM 在土壤中的等温吸附行为。与 Langmuir 方程(2)拟合时, 本试验中在最大 SMM 浓度($100\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)下, 土壤对 SMM 的吸附量大于计算所得 X_m 值, 超过 X_m 值 $23.1\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。最大吸附量计算值出现与实际不符合现象说明, 这是一种假相关现象, Langmuir 方程(2)也不适宜描述 SMM 在土壤中的等温吸附行为。

表4-2 SMM在土壤中的等温吸附/解吸行为拟合最优方程

	线性方程		Freundlich 方程			
	方程	R	方程	R	K_f	$1/n$
吸附等温	$y=1.7805x+3.7384$	0.9885	$y=0.84085x+0.5378$	0.9909	3.83	0.79
解吸等温	$y=16.91x+2.4945$	0.9728	$y=1.1774x+1.2589$	0.9740	2.09	0.82

由于 Langmuir 方程(1)和(2)的计算 X_m 值与实际不符, 与线性方程拟合的 R 值(达到 1%显著性)小于 Freundlich 方程的拟合值(已达 1%显著性), 因此综合以上分析, 可以认为, 用线性方程或 Freundlich 方程来描述 SMM 在土壤中的等温吸附行为最为适宜。Freundlich 方程中的 a 值可以作为土壤对 SMM 吸附作用力的强度指标, 即 a 值越大, 土壤对 SMM 的吸附作用越强^[84]。

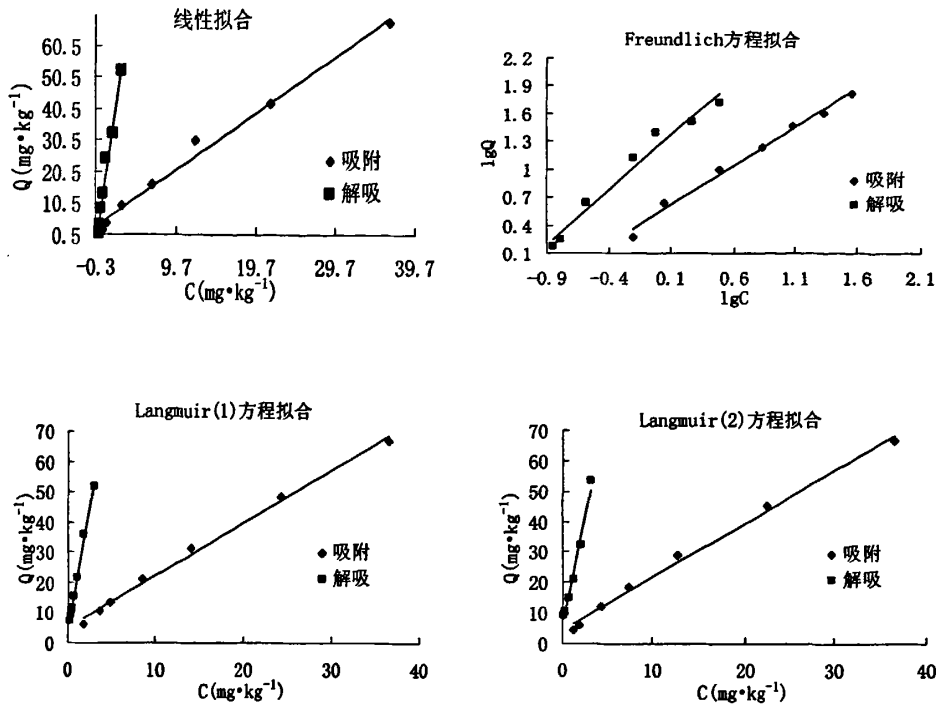


图4-1 不同方程拟合的SMM在土壤中吸附等温线

等温吸附试验求得吸附系数 K_d 为 $18.9\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ ，有机碳吸附常数 K_{oc} 为 $466.2\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。参照McCall等^[78]方法，采用 K_{oc} 值对土壤中的移动性能进行分类， K_{oc} 值在 $150\text{-}500\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 范围内属于“中等移动性”，因此SMM在土壤中具有一定的移动性，对地下水和地表水存在一定风险。

表4-3 SMM在土壤中的吸附/解吸等温线拟合的特征值

	线性方程 $Y=aX+b$	Freundlich 方程 $\text{Log}Y = \log K + \frac{1}{a}\log C$		Langmuir 方程(1) $\frac{C}{Y} = \frac{1}{aX_m} + \frac{C}{X_m}$			Langmuir 方程(2) $\frac{1}{Y} = \frac{1}{X_m} + \frac{K}{X_m} \frac{1}{C}$		
	R	R	a K	R	X_m	A	R	X_m	K
吸附	0.9885**	0.9909***	3.83 0.79	0.9955***	37.5	0.24	0.9889***	23.4	0.19
解吸	0.9728**	0.9742***	2.09 0.82	0.9831***	32.9	0.10	0.9776***	21.6	0.36

Y: 土壤SMM的吸附量($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); C: 平衡浓度($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$); X_m : 最大吸附量; a、K: 常数; ** $p<0.01$,*** $p<0.001$

SMM在土壤中的吸附经验常数 $1/n$ 均小于1，属于L-型吸附等温线^[85,86]，说明等温

线在初始阶段吸附介质和 SMM 之间有较好的亲和力。随着吸附介质上吸附位点被占据，供试药物寻找吸附位点变得越来越困难，研究表明多数农药的吸附等温线均属于 L-型曲线^[87]。因此，随着药物浓度增加，吸附量反而降低。

4.4.2 SMM 在土壤中的吸附/解吸动力学特性

本试验的目的是明确 SMM 在土壤中的吸附/解吸动力学特征，并进一步为等温吸附/解吸热力学试验确定吸附/解吸平衡时间。

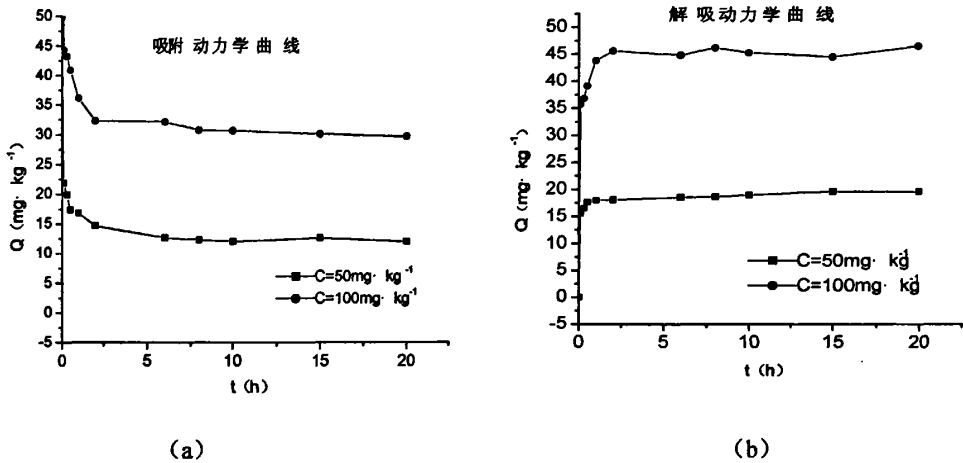


图4-2 SMM在重蒸水中的吸附/解吸动力学曲线

如图4-2 (a)，吸附动力学试验结果表明：SMM与土壤溶液接触振荡1h完成快速吸附阶段，SMM很快吸附到土壤颗粒表面，使得吸附量迅速增加，溶液中SMM浓度急剧降低，随后趋于平缓，即进入慢速吸附阶段；2h后，随着反应的进行，土壤中较易吸附的疏水位点逐渐被SMM占据，SMM开始向土壤颗粒内部扩散，进入土壤内部不易吸附的疏水位点，吸附速度开始减缓，溶液中SMM浓度变化不大，但此时各种与吸附有关的化学和物理反应仍可能继续进行；2~20 h之间，溶液中SMM的浓度保持一致，固液相浓度基本保持稳定，表明此时吸附已达到平衡状态，本试验将平衡时间定为24h。

在土壤对SMM吸附的快速反应阶段，土壤对SMM的等温吸附特征可通过表4-5中的4种常见吸附动力学方程拟合来进一步描述^[79,80]。模型拟合性指由模型所得计算值与实测值的符合程度，常用相关系数(r)和标准误(Se)判定， r 越大， Se 越小，模型的拟合性越好。从表4-5可以看出，描述土壤对SMM吸附的最优动力学方程为一级动力学方程，其次是Elovich方程和双常数速率方程，最差模型为扩散方程。这表明土壤对SMM的吸附

表4-4 SMM在各种吸附介质中的吸附系数(K_d)和有机碳吸附常数(K_{oc})

环境物质	重蒸水	尿素/ 50 mg·L ⁻¹	尿素 500 mg·L ⁻¹	SDBS 50 mg·L ⁻¹	SDBS 500 mg·L ⁻¹
$K_d(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	18.9	16.5	31.1	17.5	14.4
$K_{oc}(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	466.2	407.0	767.1	431.7	355.2

环境物质	CTMAB 50 mg·L ⁻¹	CTMAB 500 mg·L ⁻¹	Cd ²⁺ 10 mg·L ⁻¹	Cd ²⁺ 100 mg·L ⁻¹	固体HA 0.1g
$K_d(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	20.1	28.3	18.1	6.1	44.6
$K_{oc}(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	495.8	498.1	446.5	150.5	1100.1

近似于一级反应。化学物质在吸附过程中自由能的变化可以作为衡量吸附反应和推动力的定量依据，偏摩尔自由能变化量越大则表明吸附作用越强。 ΔG 值绝对值小于 $40\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，表明化合物以物理吸附为主^[81]； G 值绝对值大于 $40\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，则化合物以化学吸附为主。根据吸附反应自由能与有机碳吸附常数的关系式(4-4)求出SMM在土壤中的吸附自由能为 $28.4\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ，因其值均小于 $40\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ^[82]，表明SMM在土壤上的吸附以物理作用为主。

表4-5 4种动力学方程的相关系数(r)和标准误差(Se)(25℃)

浓度 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	Elovich方程 $Y = A + B\sqrt{t}$		扩散方程 $Y/Y_{\max} = A + B$		双常数方程 $\ln Y = A + B \ln t$		一级动力学方程 $\ln(Y_{\max} - Y) = A + B \ln t$	
	r	Se	r	Se	r	Se	r	Se
50	0.9216***	0.9865	0.7658***	0.0054	0.9126**	0.1568	0.9656**	0.1885
100	0.8945***	1.5564	0.7342	0.0324	0.8627**	1.3545	0.9342**	0.8935

Y :任意时刻的吸附量 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); t :时间, A, B :模型参数. 模型拟合度常用相关系数(r)和标准误差(Se)来衡量, r 越大, Se 越小, 该模型越优. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

SMM在土壤中的解吸过程研究发现，与吸附过程相比较，解吸平衡速度稍慢，出现了滞后现象。从图4-2 (b) SMM解吸动力学曲线可以看出，土壤中SMM的解吸量随时间延长而增加，试验进行6h时基本达到平衡。4h后溶液中的SMM浓度变化趋于稳定，24小时后解吸已完全达到平衡。因此，本试验将吸附/解吸的平衡时间确定为24小时。目前，人们对解吸滞后现象的认识还不是很清楚，可能的原因包括污染物在土壤聚体的各部分产生不可逆的化学结合或锁定、被土壤矿物的微孔捕集、土壤有机质吸附点位吸

附等^[83]。但作为土壤聚体中的重要组成部分,土壤有机质和粘土矿物在土壤对疏水性污染物的解吸过程中起着决定性作用,一旦有机污染物进入刚性有机质或粘土矿纳米级微孔,再扩散出来就相当困难,使得污染物的解吸非常缓慢。

4.4.3 尿素对 SMM 吸附动力学的影响

作为常用化学肥料尿素被应用到本研究中,本试验设计了两种不同浓度的尿素溶液,表示在常量施肥(50 mg·L⁻¹)和超量施肥(500 mg·L⁻¹)条件下尿素的可能浓度^[88]。试验结果表明,尿素会对 SMM 在土壤中的吸附产生影响。如图 4-3 所示,50 mg·L⁻¹(图 4-3 中尿素 1)浓

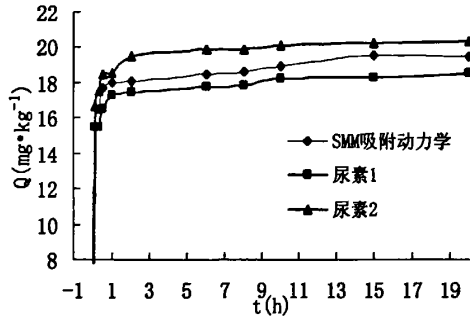


图 4-3 尿素对 SMM 吸附动力学的影响

度水平可减少 SMM 在土壤上的吸附,500 mg·L⁻¹(图 4-3 中尿素 2)可增大 SMM 在土壤上的吸附。由表 4-4 可以看出,试验中不含尿素处理的 K_d 和 K_{OC} 分别为 18.9 mL·g⁻¹ 和 466.2 mL·g⁻¹,尿素浓度为 50 mg·L⁻¹ 和 500 mg·L⁻¹ 处理的 K_d 和 K_{OC} 分别为 16.5 mL·g⁻¹, 31.1 mL·g⁻¹ 和 407.0 mL·g⁻¹, 767.1 mL·g⁻¹。因此,超常量施肥会导致土壤 SMM 吸附量增加。

4.4.4 SDBS 对 SMM 吸附动力学的影响

SDBS 和 CTMAB 是两种常用的表面活性剂, SDBS 还是许多洗涤剂的主要成分。生活洗涤剂以及工业废水很容易进入河道,流到农田里造成面源污染^[89]。由于表面活性剂具有其独特的两亲性,可有效的改变溶液的表面性质^[90],因此对药物的环境行为可能会产生不同的影响。作为典型的阴离子表面活性剂十二烷基苯磺酸钠(SDBS)被应用到本研究中。表面活性剂在土壤-水体系中形成被吸附到土壤的和存在于水中的两相。被吸附到土壤的表面活性剂会增加 SMM 对土壤的亲合力,而存在于水中的表面活性剂则增加了 SMM 对溶液的亲合力。表面活性剂的加入是增加还是减小 SMM 在土壤中的吸附,主要取决于吸附相的表面活性剂占优势还

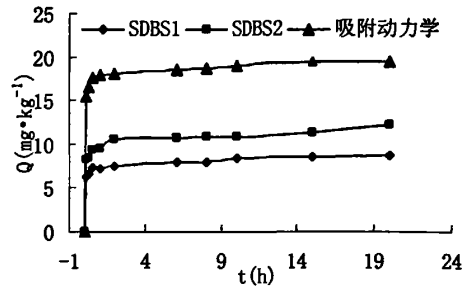


图 4-4 SDBS 对 SMM 吸附动力学的影响

是水相中的表面活性剂占优势。图4-4表明,阴离子表面活性剂SDBS在 $50\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图4-4中SDBS1, SDBS2)两种浓度下都表现出增溶作用,减少了SMM在土壤中的吸附的趋势,由表4-4可以看出,两种浓度下的 K_d 和 K_{OC} 分别为 $17.5\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, $14.4\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $431.7\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, $355.2\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 试验中对照的 K_d 和 K_{OC} 分别为 $18.9\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $466.2\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。阴离子表面活性剂的存在可增大化合物在水中的溶解度^[91],因此SDBS能够增加SMM的迁移,减少吸附,在这种情况下,一定程度上增强了土壤中SMM迁移至地下水或地表水的能力,提高了SMM的环境生态风险。

4.4.5 CTMAB 对 SMM 吸附动力学的影响

作为典型的阳离子表面活性剂,十六烷基二甲基溴化铵(CTMAB)被应用到本研究中。试验结果表明表面活性剂会对SMM在土壤中的吸附产生影响。

由表4-4可以看出,两种浓度下的 K_d 和 K_{OC} 分别为 $20.1\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, $28.3\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $495.8\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, $698.1\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 试验中对照的 K_d 和 K_{OC} 分别为 $18.9\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $466.2\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。如图4-5所示, $50\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CTMAB1, CTMAB2的浓度水平均不同程度增大了SMM在土壤上的吸附。

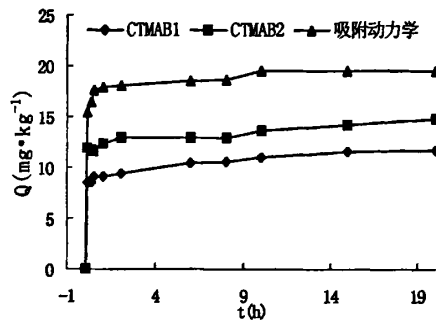


图 4-5 CTMAB 对 SMM 吸附动力学的影响

4.4.6 Cd^{2+} 对 SMM 吸附动力学的影响

作为土壤污染常见重金属 Cd^{2+} 被应用到本研究中。试验结果表明 Cd^{2+} 会对 SMM 在土壤中的吸附产生影响。由表 4-4 可以看出,两种浓度下的 K_d 和 K_{OC} 分别为 $6.1\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, $18.1\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $150.5\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, $446.5\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 试验中对照的 K_d 和 K_{OC} 分别为 $18.9\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $466.2\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。如图 4-6 所示, $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的浓度水平均不同程度减小了 SMM 在土壤上的吸附。具体机理仍需进一步研究。

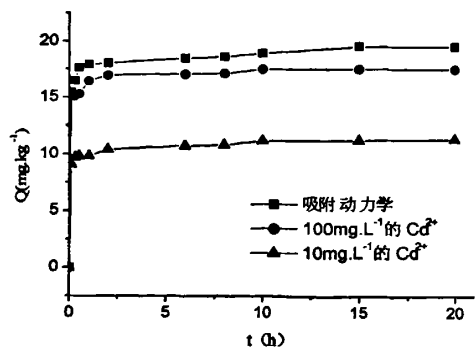


图 4-6 Cd^{2+} 对 SMM 吸附动力学的影响

4.4.7 HA 对 SMM 吸附的影响

试验结果表明,在吸附体系加入固体 HA 对 SMM 的吸附具有显著的影响,吸附系数 K_d 和有机质吸附常数 K_{OC} 分别由 $18.9 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $466.2 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 增加到 $44.6 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $1100.1 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。这是因为 HA 本身就是一种很强的吸附剂,是土壤胶体的重要组成部分,具有较大的比表面积和阳离子交换量,很容易被土壤吸附^[92]。

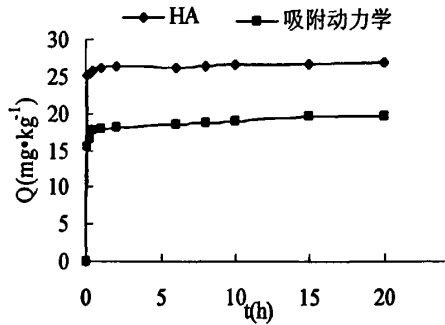


图 4-7 HA⁺对 SMM 吸附动力学的影响

当土壤有机碳含量大于 0.1% 时,土壤有机质在土壤吸附非离子型有机化合物中占主导地位^[93]。土壤有机质不仅对药物有增溶和溶解作用,而且因其中的腐殖酸结构中有能够与药物结合的特殊位点,对药物还具有表面吸附作用,能够将 SMM 吸附到表面,因此增大了土壤对 SMM 的吸附量(见图 4-7),不利于土壤的修复和药物在土壤中的迁移。

4.5 结论

本试验用批量平衡法进行了 SMM 在土壤中的吸附/解吸动力学试验以及吸附/解吸等温实验。吸附/解吸动力学试验结果表明: SMM 与土壤溶液接触振荡 2~4h 完成快速吸附阶段,解吸比吸附稍滞后,24h 吸附/解吸完全达平衡状态;描述土壤对 SMM 吸附的动力学最优方程为一级动力学方程,其次是 Elovich 方程和双常数速率方程,最差模型为扩散方程。

吸附/解吸等温试验结果表明,吸附系数 K_d 为 $18.9 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, 有机质吸附常数 K_{OC} 为 $466.2 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, SMM 在土壤中具有中等移动性; SMM 在土壤中的吸附自由能为 $28.4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 以物理吸附为主。SMM 在土壤中的吸附/解吸等温曲线均符合线性方程和 Freundlich 吸附等温方程,其等温曲线属于 L-型,即随着药物浓度增加,吸附量降低。因此,超量残留可能会增加 SMM 对地下水的潜在威胁。

本试验设计了尿素、阴阳离子表面活性剂 (SDBS 和 CTMAB)、 Cd^{2+} 以及腐殖酸 (HA) 存在下 SMM 在土壤中的吸附情况。吸附动力学试验结果表明: $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 尿素可降低土壤对 SMM 的吸附量,增大其在土壤中的移动性; $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 尿素可增大土壤

对 SMM 的吸附量； $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cd^{2+} 可不同程度的降低土壤对 SMM 的吸附量；HA 可显著增加 SMM 在土壤中的吸附。阴离子表面活性剂 SDBS 可以减少 SMM 的吸附，增加其移动性；而阳离子表面活性剂 CTMAB 可增大 SMM 在土壤中的吸附，因此也可能影响其生物有效性。

第五章 磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中的降解动态研究

5.1 前言

尽管兽药与农药进入到环境的途径不完全相同,但它们不论以何种剂型、方式进入到环境,对环境来说,都是将外来的化学物质扩散到环境中,不可避免的在环境的各组成要素中迁移和转化。一些化学性质较稳定的药物还可能在环境中远距离迁移,或通过食物链富集^[94]。但是不论多稳定的化学物质,都在转移过程中伴随着化学变化,包括一系列的生物和非生物转化,有机污染物的微生物和化学转化过程统称为降解作用^[95]。

随粪肥进入到环境中兽药在土壤环境中的降解,自然条件下包括土壤微生物降解、化学降解与光降解三部分,兽药在土壤中发生降解的主要过程有氧化作用、还原作用、水解作用与链接作用等,土壤中兽药降解通常是两个或多个作用的组合。对兽药起降解作用微生物主要有细菌、真菌、藻类、放线菌等^[96]。影响土壤降解的因子,除与兽药的性质有关外,还与气候及土壤条件关系密切。在高温湿润,土壤有机质含量高、土壤微生物活跃和土壤偏碱的地区,兽药容易降解。土壤是化学物在环境中的贮藏库,也是它们在环境中的集散地。兽药在土壤中的降解性能,是评价兽药对整个环境危害影响十分重要的指标。磺胺间甲氧嘧啶钠是兽医临床中应用最广泛的药物之一,且临床应用的剂量较大,它可以通过粪肥扩散到农田环境中,研究它在土壤环境中的持留时间对它在环境中的安全性评价有着十分重要的意义。Coats 等研究报道磺胺间甲氧嘧啶钠在鸡粪中的降解很慢^[97]。N⁴-ACE-SMM 是磺胺间甲氧嘧啶钠动物体内的主要代谢产物,结构与磺胺间甲氧嘧啶钠稍有不同,六位氨基上的一个氢原子被磺酞基取代,虽然失去了药物活性其毒性依然存在,国外有研究报道在活性淤泥中有可能重新转化成其母体化合物磺胺间甲氧嘧啶钠^[98]。

本试验旨在通过对磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中的残留动态分析,以及土壤含水量、起始浓度、微生物及光照等不同环境条件对磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中降解的影响,揭示环境条件与磺胺间甲氧嘧啶钠降解之间的关系,为评价磺胺间甲氧嘧啶钠对环境生物产生的毒害效应提供理论依据。

5.2 材料与方法

5.2.1 材料与仪器

同第三章。

5.2.2 试验方法

(1) 在有微生物及光照条件下SMM的降解

称取土壤样品 9 份, 每份 20g, 分别装入培养皿中, 将样品分成 3 组, 每组 3 份, 并编号为 A, B, C 其中 A 组作灭菌、照光处理, B 组作灭菌、暗处理, C 组作未灭菌、暗处理。3 组样品加入一定量的 SMM 标准溶液, 使土壤中 SMM 浓度为 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 充分混匀, 待溶剂挥发后, A、B 组加灭菌水, C 组加蒸馏水湿润土壤, 使土壤含水量为其饱和含水量的 60%, 3 组样品于 25°C 下培养, 在加药当日和培养后第 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80 天采样测定。

(2) 不同含水量土壤中SMM的降解

称取土壤样品 9 份, 每份 20g, 分别装入培养皿中。将样品分成 3 组, 每组 3 份, 并编号为 5, 6, 7。加入一定量的 SMM 标准溶液, 使土壤中 SMM 浓度为 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 充分混匀, 待溶剂挥发后, 用蒸馏水调节土壤含水量为其饱和含水量的 20%, 50%, 80%, 3 组样品于 25°C 下培养, 在加药当日和培养后第 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80 天采样测定。

(3) 不同起始浓度的SMM在土壤中的降解

称取土壤样品 9 份, 每份 20g, 分别装入具培养皿中。将样品分成 3 组, 每组 3 份, 并编号为 1, 2, 3。加入一定量的 SMM 标准溶液, 使土壤中 SMM 浓度为 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 充分混匀, 待溶剂挥发后, 用蒸馏水调节土壤含水量为其饱和含水量的 60%, 将 4 组样品于 25°C 下培养, 在加药当日和培养后第 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80 天采样测定。

5.2.3 分析方法

(1) 土壤样品前处理

称取 2.0g 土壤于 25mL 聚丙烯具塞离心管中, 加入 10mL0.1M NaOH, 旋涡振荡 15 min, $5500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20min, 移取上清液, 向沉淀物中再加入 10 mL0.1M NaOH, 重

复提取3次，合并提取液，用0.45 μm 微孔滤膜过滤，用HPLC-UV检测。

(2) HPLC 色谱操作条件

HP1100 高效液相色谱仪 (UV 检测器, 色谱工作站); C_{18} 反相色谱柱, inertsilODS-3(4.6 \times 250mm, 粒径 5 μm); 流动相: 甲醇-1%乙酸 (40: 60); 检测波长: 270nm; 进样量: 40 μL ; 流速: 1mL/min; 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$

5.2.4 统计方法

所有试验数据均采用 SPSS 统计软件进行分析, 将试验数据直接拟合一级动力学方程求得 SMM 在土壤中的降解速率常数。

5.3 结果与讨论

5.3.1 土壤中 SMM 残留检测方法的验证

用0.1M NaOH稀释储备液配置系列浓度的混合标准工作液: 0.1、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 用HPLC检测, 每个浓度梯度的标准液设4次重复, 取平均值绘制标准曲线。另在空白样品中添加1、5和10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3个浓度, 做验证回收率实验。

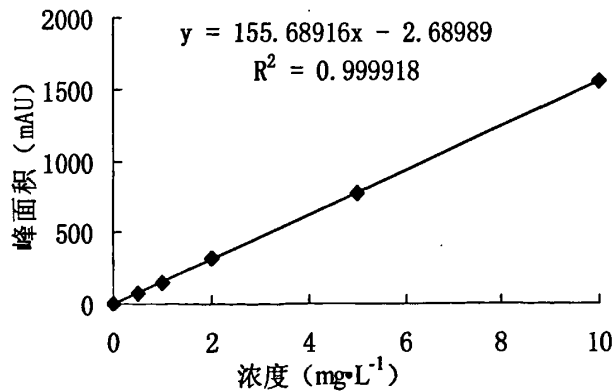


图5-1 SMM标准曲线

结果显示: 标准曲线在0.5-10.0 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度期间呈线性相关, 回归方程为: $y = 155.68916x - 2.68989$, 相关系数 R^2 为0.999918回收率在85.9%~97.7%, 最低检测限为0.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 最低定量限为0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。经验证, 此检测方法回收率高、分析结果稳定、可符合兽药残留的分析要求。

5.3.2 微生物和光照对 SMM 降解的影响

药物在土壤中降解速率的快慢，影响药物在环境中的持久性、有效性与危害性。药物在土壤中的降解包括微生物降解、化学降解和光降解^[99,100]。本实验研究了微生物和光照对土壤中 SMM 降解的影响，由图 5-2 可以看出，土壤经过灭菌处理后，SMM 的降解率下降，在实验期内降解了 40.3%，而未灭菌组土壤中 SMM 降解了 52.9%。由表 5-1 可见，SMM 在灭菌避光和未灭菌避光条件下的降解速率常数分别为 4.9×10^{-3} 和 7.2×10^{-3} ，半衰期分别为 109.8d、70.6d，说明微生物的存在加快了 SMM 的降解。

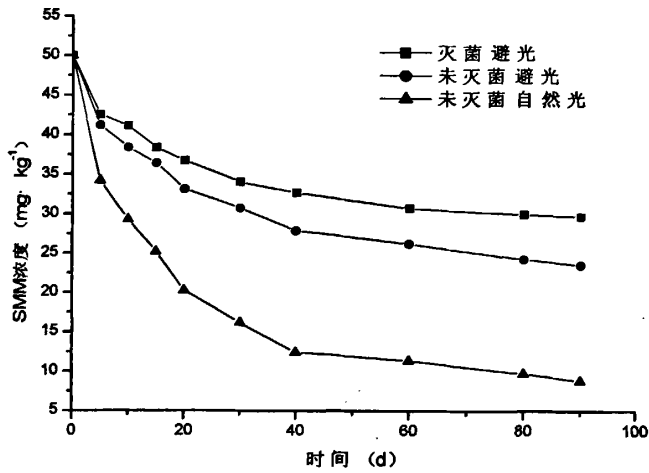


图5-2 微生物和光照对SMM降解的影响

未灭菌见光处理组的土壤在实验周期内，土壤中SMM被降解了82.3%，由此可见，光照条件下SMM在土壤中的降解速率明显加快 ($P < 0.05$)，说明光照对SMM的降解有一定影响，且相对于微生物降解，其作用更强一些。这可能与SMM自身对光较敏感，在光照条件不稳定有关。Hailing-Sorensen(1998)和Dimou(2005)^[101,102]发现部分兽药如喹唑啉类、咪唑唑酮等对光敏感，在光存在下，尤其在水体中容易被降解。由此可以认为，SMM在土壤中的降解，主要是以光降解和化学降解为主，微生物降解仅占较小比例，这可能主要与其较强的抑菌性有关。3个处理SMM降解速率快慢的顺序为：未灭菌自然光 > 未灭菌避光 > 灭菌避光。

5.3.3 土壤不同含水量对 SMM 降解的影响

土壤湿度是影响兽药在土壤中降解的重要因素,通过改变土壤的孔隙度、氧化还原电位、药物的溶解性、以及药物和土壤的吸附作用等对药物的降解产生影响^[103]。从图5-3可以看出,土壤含水量的高低明显影响了SMM的降解速率,含水量越高,其降解速率越快,反之则降解速率减慢。当土壤中含水量为20%时,其降解半衰期为46.1d,而当含水量增加到50%和80%时,其降解半衰期分别缩短为27.9和19.9d。其中的原因可能是土壤中水分增加,有利于土壤中微生物的活动和酶活性的发挥^[104]。也有研究认为^[105],土壤水分的增加可能增加了土壤水相中药物的浓度、活度,同时可能使药物在土壤中吸附表面积下降,即土壤组分中药物浓度减少,有利于药物的降解。本实验发现,含20%水分的土壤样品在整个实验期内均为新鲜固体状,而50%和80%含水量土壤组,尤其是80%水分组,在实验第5d后逐渐变为流体状,这可能增加了土壤中药物的溶解和被吸附药物的解吸过程而加快了微生物对药物降解速率。其具体机理尚不清楚,有待于进一步实验研究。

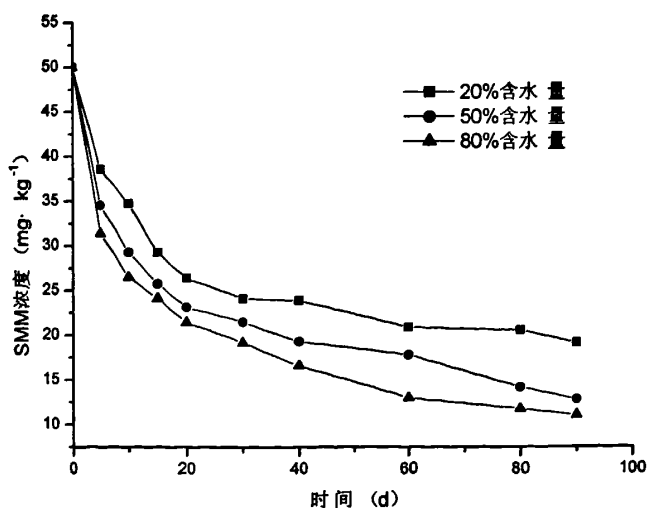


图5-3土壤不同含水量对SMM降解的影响

5.3.4 不同起始浓度对 SMM 降解的影响

不同起始浓度SMM在土壤中的降解动态曲线见图5-4。从表5-1看出,不同起始浓度药物的降解趋势不同,浓度越低降解越快,半衰期越短,随SMM浓度由高到低,其半

衰期分别为42.6、11.1和9.2d,这可能与在一定范围内药物和微生物之间的相互作用有关。由于SMM是抗菌药物,对微生物有一定的活性,在一定量的土壤中其微生物数量是基本恒定的,而药物浓度低时,微生物比较活跃,药物会被快速降解;而同样数量的微生物随药物浓度增加,微生物对药物的降解会被削弱。

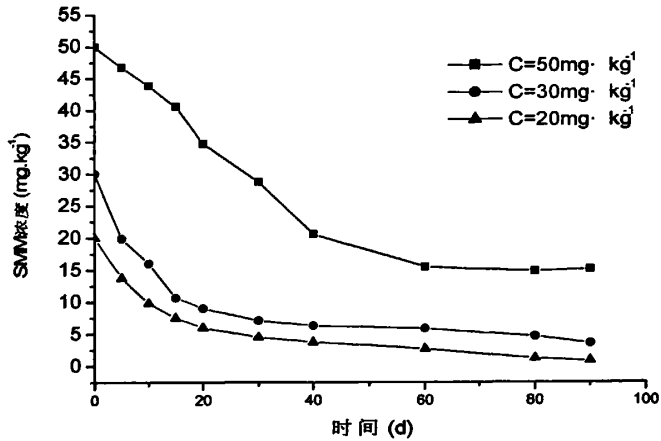


图5-4 不同起始浓度对SMM降解的影响

同时,由图5-4可以看出,随SMM浓度升高,其降解曲线在最初几天内呈现快速下降趋势,而后逐渐变缓,这与Boxall等(2002)的报道基本一致,Boxall^[106]等在研究中发现部分兽药抗生素在土壤或土壤的降解曲线,当药物浓度较高时呈L型下降特征,并认为这可能与药物和土壤的吸附有关。药物进入土壤、土壤或其他环境媒介中,均会发生不同程度的吸附,且在一定吸附能力范围内随药物浓度增加被吸附量也在增加^[107]。王军等^[108](2003)报道的除草剂二甲戊乐灵在土壤中的吸附研究证实了这一观点,在一定吸附能力范围内随药物浓度增加土壤对除草剂二甲戊乐灵的吸附量增加。

Boxall等认为药物在土壤中的吸附有两种过程:固相溶解和专属吸附。固相溶解即分配过程类似于有机物在有机溶剂中的溶解作用;专属吸附即有机污染物通过某些化学键的作用结合在土壤有机质的某些特定位点上^[109],而如果部分药物被土壤不可逆吸附而被屏蔽在土壤孔隙内,不能与微生物接触而降解缓慢,而那部分可逆吸附的药物(即被吸附在土壤表面或分布于土壤水相中的药物)则会在刚开始被快速的降解,这与土壤屏蔽反应理论基本一致^[110]。目前,关于兽药抗生素在土壤中的吸附研究报告较少,对土壤中药物的吸附特性以及吸附对药物降解的影响,还有待于进一步研究。

表5-1 SMM在不同条件下的降解参数和降解半衰期

条件	降解动力学方程	降解常数 k/d^{-1}	相关系数 r	半衰期 $t_{1/2}/d$
灭菌避光	$C = 42.824e^{-0.0049t}$	0.0049	0.9026	109.8
未灭菌避光	$C = 41.564e^{-0.0072t}$	0.0072	0.9329	70.6
未灭菌自然光	$C = 33.837e^{-0.017t}$	0.0170	0.9317	17.7
20%含水量	$C = 37.011e^{-0.0085t}$	0.0085	0.8759	46.1
50%含水量	$C = 34.852e^{-0.0119t}$	0.0119	0.9248	27.9
80%含水量	$C = 32.801e^{-0.0138t}$	0.0138	0.9260	19.9
起始浓度 $C_0=50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$C = 47.333e^{-0.015t}$	0.0150	0.9619	42.6
起始浓度 $C_0=30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$C = 17.911e^{-0.0193t}$	0.0193	0.9091	11.1
起始浓度 $C_0=20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$C = 14.169e^{-0.0314t}$	0.0314	0.9826	9.2

5.4 结论

兽药抗生素在土壤中的降解实际上是一个药物与土壤相互作用的复杂过程,在这个过程中,土壤中微生物的构成、土壤含水量、药物的浓度以及当时的环境条件如温度、光照甚至pH值等因素均会对药物的降解速率产生影响。本试验研究也证实了这一观点。本试验所有的降解曲线均符合一级反应动力学方程,除了20%含水量时的相关系数为0.8759外,其它相关系数均大于0.9000。各条件下的降解常数和半衰期见表5-1。SMM在土壤中的降解动态主要是化学降解和光解,在避光灭菌状态下较稳定,微生物对SMM降解有一定促进作用,但是只占很小的比例。随着土壤湿度加大和药物浓度降低,SMM残留的降解加快。这提示我们,可以通过提高土壤含水量或降低土壤中药物的浓度来提高药物的降解速率,以降低对环境的污染风险。

第六章 总 结

本论文以磺胺嘧啶钠、磺胺间甲氧嘧啶钠（SAs类）和环丙沙星和恩诺沙星（QN_s类）4种常用兽药作为供试药物，开展这4种兽药对小麦、白菜和番茄种子发芽与根伸长影响的研究。通过考察作物种子发芽和根伸长受抑制程度，确定磺胺嘧啶钠、磺胺间甲氧嘧啶钠、环丙沙星和恩诺沙星对农作物的生态毒性，通过比较四者毒性的相对大小，得出磺胺间甲氧嘧啶钠是4种兽药中对作物生长发芽毒性最大的药物；同时评价出3种作物中对兽药相对敏感的作物，旨在为不同类作物选择不同的厩肥量提供理论支持，亦为评价兽药抗生素污染的潜在生态影响提供科学依据。

以兽药磺胺间甲氧嘧啶钠为研究对象，建立了其在土壤中的HPLC-UV检测方法；研究了其在壤土中的吸附、降解情况，并探究了环境因素对其吸附、降解的影响，研究结果对于评价兽药及其代谢产物的环境安全性、阐明其在环境中的转归以及对地下水污染提供参考等而言均具有重要的理论意义和实际应用价值。

在生态农业和环境科学中，兽药对土壤和地下水的污染的风险评价是十分重要的，研究随粪肥施加到农田的兽药在表层土壤中的迁移转化规律，将为其对土壤和地下水环境污染的风险评估提供科学依据。以上所获得的实验结果对于研究磺胺间甲氧嘧啶钠的环境风险评价具有重要的参考意义，并为进一步研究数学模拟提供了重要的实验数据。

本文创新之处

1. 目前,国内外关于农药、重金属对土壤的污染方面报道较多;有关兽药抗生素在动物源食品中残留问题的报道较多,而关于其在土壤中的残留问题还鲜有报道,本论文针对几种常用兽药在土壤中残留的毒性效应进行了研究。

2. 目前,采用鱼类、蚯蚓、大型蚤等动物对兽药抗生素的毒性效应的研究已有报道,而针对高等植物的生态毒性效应研究尚属空白。

3. 对磺胺间甲氧嘧啶钠的吸附特性的研究国外虽已涉足,但尚不多见。本文在国内系统的开展了磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中的吸附特性及环境物质对其影响的研究。

上述试验结果的获得对于进一步研究兽药磺胺间甲氧嘧啶钠的环境风险评价具有重要的参考意义;为研究兽药在环境中的转归研究提供了一种简单易行的模式。进一步的研究仍需进行,如:兽药抗生素的复合污染问题、在土壤中的迁移问题以及降解产物问题等。

参考文献

- [1] 周启星,孔繁翔,朱琳.生态毒理学[M].北京:科学出版社,2004,392 – 393.
- [2] Thomas H. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review in recent research data [J]. *Toxicol Lett*, 2002, 131: 5 – 17.
- [3] 冯淇辉,刘建中.欧共体、美国等国家对上市兽药的管理与监测[J].*中国兽医学报*, 2000, 20 (2): 105 – 107.
- [4] 耿志明,陈明,王冉,等.动物源性食品中兽药残留的现状、危害及对策[J].*中国标准导报*,2004,(11):14-16.
- [5] 马艳梅.动物性食品兽药残留及其控制措施[J].*江西畜牧兽医杂志*,2005,(1):37– 38.
- [6] Ingerslev F, Holten Lutzhoft HC, Halling-Sorensen B. Humant anvendte lagemidlers vejtil miljoeter gennem rensningsanlagget. *Dansk Kemi*, 1999, 80(6-7):222 – 225(in Danish)
- [7] Campagnolo ER, Johnson KR, Karpati A, et al.Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large – scales wine and poultry feeding operations [J] .*Sci Total Environ*, 2002, 299: 89 – 951.
- [8] GiorgiaML, Davide C, Paolo G, et al.Preliminary investigation on the environmental occurrence and effects of antibiotics used in aquaculture in Italy [J].*Chemosphere*, 2004,54: 661 – 6681.
- [9] Roman H, Thomas T, Klaus H, et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment [J].*Sci Total Environ*, 1999,225: 109 – 1181.
- [10] Frank S, Frank TL, Heinz JB, et al. Pharmaceuticals in groundwater analytical methods and results of a monitoring program in badenwurttemberg, Germany[J].*J Chromatogr A*, 2001, 938:1990 – 2101.
- [11] Hamscher G, Sczesny S, Háper N H. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilised with liquid manure by high- performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Anal. Chem.*, 2002, 74: 1509 – 1518.
- [12] Halling-Sorensen B, Nielsen N, Lansky PF, et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceuticals in the environment-Areview[J]. *Chemosphere*, 1998, 36:357 – 394.

- [13] Jorgensen SE, Halling-Sorensen B. Drugs in the environment [J]. *Chemosphere*, 2000, 40:691 – 699.
- [14] Chen ZL, Yang GX, Sun YX, et al. Advance of toxicities and ecotoxicology of veterinary drug residues [J]. *South China Agric Univ*, 2001, 22(1):88 – 91.
- [15] Carballa M, Omil F, Juan M. Behavior of pharmaceuticals, cosmetics and hormones in a sewage treatment plant [J]. *Water Res.*, 2004, 38: 2918 – 2926.
- [16] Seino A, Furusho S, Masunaga S. Occurrence of pharmaceuticals used in human and veterinary medicine in aquatic environments in Japan [J]. *Journal of Japan Society on Water Environment*, 2004, 27(11): 685 – 690.
- [17] 刁晓平,孙振钧,沈建忠. 兽药的生态毒理及其对环境影响的研究进展[J]. *应用生态学报*, 2004, 15(2):321 – 325.
- [18] 曲薨薨,孙立伟,历以强. 兽药添加剂阿散酸和土霉素的毒理学研究[J]. *农业环境科学学报*, 2004, 23(2):240 – 242.
- [19] Wollenberger L, Halling-Sorensen B, Kusk KO. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna* [J]. *Chemosphere*, 2000, 40:723 – 730.
- [20] 陈海刚,李兆利,徐韵. 兽药添加剂喹乙醇的生态毒理学效应研究[J]. *农业环境科学学报*, 2006, 25(4):885– 889.
- [21] Strong L, Wall R, Woolford A, et al. The effect of faecally excreted ivermectin and fenbendazole on the insect colonization of cattle dung following the oral administration of sustained release boluses [J]. *VetParasitol*, 1996, 62 (3-4):253 – 266.
- [22] 曲薨薨,徐韵,陈海刚,等. 三种兽药添加剂对土壤赤子爱胜蚓的毒理学研究[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(6):1108 – 1111.
- [23] 刁晓平,孙英健,孙振钧等. 3种兽药对土壤微生物呼吸的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2006, 11(2): 39– 43.
- [24] 李建政,等. *环境毒理学* [M]. 北京:化学工业出版社, 2005, 10 :130 – 131.
- [25] Batchelder AR. Chlortetracycline and oxytetracycline effects on plant growth and development in liquid culture [J]. *Environ Qual*, 1981, 10:515 – 518.
- [26] Dijek PV. Sensitivity of environmental microorganism to antimicrobial agents [J]. *Appl Environ*

- Microbiol, 1976, 31(3):332 – 336.
- [27] 杨居荣,任燕,刘虫工,等.砷对土壤微生物及土壤生化活性的影响[J].土壤,1996,2:101– 104.
- [28] 王晓社.兽药残留对畜产品的影响[J].甘肃农业,2005,7:74.
- [29] 吴祥集.动物性食品中兽药残留对人体健康的危害及其控制[J].贵州畜牧兽医,2006,30(3):25-27.
- [30] Pereyre S, Guyot C, Renaudin H, et al. In vitro selection and characterization of resistance to macrolides and related antibiotics in mycoplasma pneumoniae. [J] Antimicrob. Agents Chemother., 2004, 48: 460 – 465.
- [31] Pruden A, Pei R, Storteboom H, et al. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado [J]. Environ. Sci. Technol., 2006, 40: 7445 – 7450.
- [32] 贺家亮,李开雄,于见亮,等.动物性食品中兽药残留现状及对策[J].食品研究与开发,2006,127(6):176 – 191.
- [33] Hirsch R, Ternes T, Haberer K, et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment [J]. Sci. Total Environ., 1999, 225: 109 – 118.
- [34] Ternes TA, Joss A, Siegrist H. Scrutinizing pharmaceutical and personal care products in wastewater treatment [J]. Environ. Sci. Technol., 2004, 38: 392A – 399A.
- [35] Al-Almad A, Dasehner FD, Kümmerer K. Biodegradability of Cefotiam, Ciprofloxacin, Meropenem, Penicillin G, and Sulfamethoxazole and Inhibition of Wastewater Bacteria. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1999, 37:158 – 163.
- [36] Ingerslev F, and Halling-Soermsen B. Biodegradability properties of environmental chemistry–biodegradability properties of sulfonamides in activated sludge [J]. Envir. Toxicol. Chem.2000, 19:2467 – 2473.
- [37] 张宗炳等.杀虫剂毒理及应用[M].北京工业出版社出版, 1993.
- [38] 韩熹莱主编.中国农业百科全书(农药卷) [M].北京:农业出版社, 1993.
- [39] Richard D. Kammer FV, Jamie R. Lead, et al. The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles [J]. Ecotoxicology, 2008, 17:287 – 314.
- [40] Nicole Kemper .Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment [J]. Ecological Indicators 2008, 8:1 – 13.
- [41] Ingerslev F, Holten Lutzhoft HC, Halling-Sorensen B. Humant anvendtelagemidlers vejtil miljoeter gennem rensningsanlagge [J]. Dansk Kemi, 1999, 80 (6 – 7):222 – 225(in Danish).

- [42] Montforts MHMM. Environmental Risk Assessment for Veterinary Medicinal Products. Part 1: Other than GMO- Containing and Immunological Products [R]. RIVM report, 1999,601300 001, N120. National Institute of Public Health and the Environment, Bithoven, the Netherlands.
- [43] Ince NH, Dirilgen IG, Tezcanli AG, et al. Assessment of toxic interactions of heavy metals in binary mixtures: A statistical approach [J]. Arch. Environ Contamn Toxicol, 1999, 36:365 – 372.
- [44] Knoke K, Marwood TM, Cassidy M B, et al. A comparison of five bioassays to monitor toxicity during bioremediation of Pentachlorophenol- contaminated soil [J]. Water, Air and Soil Pollution, 1999, 110:157 – 169.
- [45] International Organization for Standardization (ISO). Soil quality-Determination of the effects of pollutants on soil flora[S]. Part 1: method for the measurement of inhibition of root growth. BeiJing, China ISO, 1993a, 11269 – 1.
- [46] International Organization for Standardization (ISO). Soil quality-Determination of the effects of pollutants on soil flora[S]. Part 2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants. BeiJing, China ISO, 1993b, 11269 – 2.
- [47] Greene JC, Bartels GL, Warren-Hicks WJ. Protocols for short-term toxicity screening of hazardous waste sites[S]. US Environmental Protection Agency. 1998, EPA/ 600/ 3 – 88/ 029.
- [48] Mishra A, Choudhurt MA. Monitoring of phytotoxicity of lead and mercury from germination and early seeding growth indices in two rice cultivators [J]. Water Air Soil Poll, 1999, 110:340 – 345.
- [49] Gong P, Wilke BM, Strozzi E et al. Evaluation and refinement of a continues seed germination and early seedling growth test for the use in the eco-toxicological assessment of soils [J]. Chemosphere, 2001, 44:491 – 500.
- [50] Song YF, Xu HX, Ren LP, et al. Inhibition and Eco-toxicity of heavy metals pollution on vegetable growth in soil [J]. A gro-environmental Protection, 2003, 22(1):13 – 15(in Chinese).
- [51] 陈志宇,苏继影,栾冬梅. 畜禽粪便堆肥技术研究进展[J].当代畜牧, 2004, 10:41– 43
- [52] Hektoen, H., Berge, J.A., Hormazabal, V, et al. Persistence of antibacterial agents in marine sediment s [J]. Aquaculture. 1995, 133: 175 – 184.
- [53] Paul A. Blackwell, PK, Alistair BA.The dissipation and transport of veterinary antibiotics in a sandy loam [J]. Chemosphere, 2007, 67: 292 – 299

- [54] Aga DS, Goldfish R, Kulshrestha P. Application of ELISA in determining the fate of tetracyclines in land-applied livestock wastes[J].Analyst, 2003, 128: 658 – 662
- [55] Song YF, Xu HX, Ren LP, et al. Eco-toxicology of heavy metals on the inhibition of seed germination and root elongation of radish in soils [J]. Chinese Journal of ecology, 2001, 4(2): 4 – 8.
- [56] Song YF, Zhou QX, Xu HX, et al. Eco-toxicology of heavy metals on the inhibition of seed germination and root elongation of wheat in soils [J]. Chinese Journal of applied ecology. 2002, 13 (4):459 – 462.
- [57] Dolliver H, Kumar K, Gupta S. Sulfamethazine uptake by plants from manure amended soil [J]. Journal of Environmental Quality, 2007, 36 (4):1224 – 1230.
- [58] Boxall ABA, Fogg A, Kay P, et al. Prioritisation of veterinary medicines in the UK environment [J]. Toxicol. Lett. 2003, 142:207 – 218.
- [59] Miehle YH. Quantification of veterinary antibiotics (Sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of ChromatographyA. 2002, 952:111 – 120.
- [60] 沈建忠, 何方洋, 何继红, 等.动物组织中磺胺二甲嘧啶残留检测ELISA试剂盒的研制[J].中国兽医杂志,2003,06:6 – 8.
- [61] Fon J, Lee HL, Lee BN. Simultaneous determination of seven sulfonamide residues in swine wastewater by high-performance Liquid chromatography [J]. Journal of ChromatographyA. 1998, 793:378– 382
- [62] Hou X, Shen J, Zhang S, et al. Coats J R. Bioconcentration and elimination of Sulfamethazine and its main metabolite in sturgeon (*Acipenser schrenkji*) [J]. J. Agric. Food. Chem., 2003, 52:7725 – 7729.
- [63] Kumar N, Singh SD, Jayachandran C. Pharmacokinetics of enrofloxacin and its active metabolite ciprofloxacin and its interaction with diclofenac after intravenous administration in buffalo calves [J]. Vet. J. 2003, 165, 302 – 306.
- [64] 李俊锁, 李西旺, 魏广智, 等.鸡肝组织中磺胺类药物多残留分析法畜牧兽医学报[J].2002, 33(5):468– 472.
- [65] Gerry J, Reimen, Agtipina S. Development of a screening method for five sulfonamides in salmon muscle tissue using thin-layer chromatography [J]. J Chromatography.1991, 555:315 – 320.

- [66] Michele E, Lindsey, Michael M, et al. 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.Ahem.2001, 73: 4640 – 4646.
- [67] Unnuh J , Schwartz DP, Barford RA. Qauantitatim of sulfamethazine in pork tissue by thin-layer chormatographu[J].JAOAC.1993, 76 (2):335– 34.
- [68] H.H麦尔尼科夫, A.N沃尔科夫, O.A. 科罗特科娃著, 李巍岷、姚家伟、龚著勤译[M].农药与环境.北京化学工业出版社, 1985,28 – 33.
- [69] 韩慕莱主编[M].农药概论.北京:北京农业大学出版社, 1995,84 – 102.
- [70] Afyuni MM, Wagger MG, Leidy RB. Runoff of two sulfonylurea herbicides in relation to tillage system and rainfall intensity[J]. Journal of Environmental Quality, 1997, 26: 1318 – 1326.
- [71] Oliver DP, Baldock JA, Kookana RS, et al. The effect of land use on soil organic carbon chemistry and sorption of pesticides and metabolites [J]. Chemosphere, 2005, 60: 531 – 541.
- [72] Weber JB, Wilkerson GG, Reinhardt CF. Calculating pesticide sorption coefficient (K_d) using selected soil properties [J]. Chemosphere, 2004, 55: 157 – 166.
- [73] Singh G, Spencer WF, Cliath MM, et al. Sorption behaviour of striazine and thiocarbamate herbicides on soils [J]. Journal of Environmental Quality, 1990, 19: 520 – 525.
- [74] Briggs GG. Theoretical and experimental relationships between soil adsorption, octanol-water partition coefficients, water solubilities, bioconcentration factors, and the parachor [J]. J. Agric. Food. Chem., 1981, 29: 1050 – 1059.
- [75] Chen ZY, Su JY, Luan DM. Research progress of domestic animal compost technology [J].Contemporary animal husbandry, 2004, 10:41 – 43.
- [76] Hyun S, Lee L S. Factor's controlling sorption of prosulfuron by variable-charge soils and model sorbents [J]. Journal of Environmental Quality, 2004, 33: 1354 – 1361.
- [77] Pedersen K, Pedersen K, Jensen H, et al. Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs [J]. Antimicrob. Chemother. 2007, 60:775 – 781.
- [78] McCall PJ, Laskowski DA, Swmann RL. Test protocols for environmental fate and movement of toxicants. Washington D C: Proceedings of symposium of AOAC, 1980: 89 – 109.
- [79] Li DC, Huaug SB, Wang WH. Study on kinetics of adsorption-desorption of CIA (III) in different

- soils [J]. *Acta Sci Circums.* 2000, 20(5):548 – 553.
- [80] Wei QF. The reaction dynamics in silt and soil [J]. *Chin, J Soil Sci*, 1992, 23(2):92 – 96.
- [81] Carter MC, Kilduff JE, Weber WJ. Site energy distribution analysis of preloaded adsorbents[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 1995, 29: 1773 – 1780.
- [82] Spark KM, Swift RS. Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption [J]. *The Science of Total Environment*, 2002, 298(1/ 3):147 – 161.
- [83] Holmen BA, Gschwend PM. Estimating sorption rates of hydrophobic organic compounds in iron oxide–and aluminosilicated clay coated aquifer sands [J]. *Environ Sci Technol*, 1997, 31 (1): 105 – 113.
- [84] Lin YS, Xue JH. L sing of Freudlich equation for study mechanism and movement of Zn added in calcareous soil [J]. *Acta Pedol Sin*, 1991, 28(4):390 – 395.
- [85] Pedersen K, et al. Usage of antimicrobials and occurrence of antimicrobial resistance among bacteria from mink, *Vet. Microbiol*, doi:10.1016/j.vetmic.2008.06.005
- [86] Wang Q, Yang W, Liu W. Adsorption of acetanilide herbicides on soils and its correlation with soil properties [J]. *Pestic Sci.*, 1999, 55:1103 – 1108.
- [87] Carter MC, Kilduff JE, Weber WJ. Site energy distribution analysis of preloaded adsorbents [J]. *Environ Sci Technol*, 1995, 29:1773 – 178.
- [88] 侯彦林,王曙光,郭伟. 尿素施肥量对土壤微生物和酶活性的影响[J]. *土壤通报*, 2004, 35 (3) : 303 – 307.
- [89] Kiled E, Chiou CT, Helburn RS. Effect of some petroleum surfactant on the apparent water solubility of organic compounds [J]. *Environmental Science &Technology*, 1990, 24(2):205 – 208.
- [90] Leej F, Crumj R, Boyd SA. Enhanced retention of organic contaminants by soils exchanged with organic cations [J]. *Environmental Science &Technology*, 1989, 23(11):1365 – 1372.
- [91] Laure M, Enrique B. Glyphosate adsorption in soils compared to herbicides replaced with the introduction of glyphosate resistant crops [J]. *Chemosphere*, 2005, 61, 844 – 855
- [92] 王小艺, 黄炳球. 表面活性剂在农药中的应用及其农药增效机理[J]. *世界农药* , 1997,(04):52 – 57.
- [93] Zhao J, Yi GX, He SP. Development of a monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent

- assay for the herbicide chlorimuron-ethyl [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 4948 – 4953.
- [94] Northcott GL, Jones KC. Experimental approaches and analytical techniques for determining organic compound bound residues in soil and sediment [J]. *Environmental Pollution*, 2000, 108(1):19 – 43.
- [95] Giger W, Alder AC, Golet EM, et al. Occurrence and fate of antibiotics as trace contaminants in wastewaters sewage sludge and surface waters [J]. *Chimia*, 2003, 57:485 – 491.
- [96] Gavalchin J, Katz, SE. The persistence of faecal-borne antibiotics in soil [J]. *Journal of AOAC International*. 1994, 7(2):481 – 485.
- [97] 任理, 毛萌. 阿特拉津在饱和砂质壤土中非平衡运移的模拟 [J]. *土壤学报*, 2003, 40(6):829 – 837.
- [98] Coats J R., Metalf R, et al. Model ecosystem evaluation of the environmental impacts of the veterinary drugs phenothiazine, Sulfamethazine, clodidol and diethylstilbestrol [J]. *Environmental Health Perspectives*. 1976, 18:167 – 179.
- [99] Kummerer K. Significance of antibiotics in the environment [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2003, 52:5 – 7.
- [100] Koskinen WC, Rice PJ, Anhalt JA, et al. Sorption-desorption of aged sulfonylaminocarbonyl tria-zolinone herbicides in soil [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50:5368 – 5372.
- [101] Hailing-Sorensen B, Nors NS, Lanzky PF, et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment – A review [J]. *Chemosphere*, 1998, 36: 357 – 393.
- [102] Dimou AD, Sakkas VA, Albanis TA. Metolachlor photodegradation study in aqueous media under natural and simulated solar irradiation [J]. *J Agri-Food Chem*, 2005, 53: 694 – 701.
- [103] Ingerslev H, Marie-Louise Loke LT, et al. Primary biodegradation of veterinary antibiotics in aerobic and anaerobic surface water simulation systems [J]. *Chemosphere*, 2001, 4: 865 – 872.
- [104] Doi AM, Stoskopf MK. The kinetics of oxytetracycline degradation in deionized water under varying temperature, pH, light, substrate, and organic matter [J]. *J Aquat Anim Health*, 2000, 12; 246 – 253
- [105] Muangsiri W, Kirsch LE. The kinetics of the alkaline degradation of daptomycin [J]. *Jom Sci*, 2001, 90: 1066 – 1075.
- [106] Boxall ABA, Kolpin DW, Halling-Sorensen B, et al. Are veterinary medicines causing environmental risks? [J] *Environ Sci Technol*, 2003, 37: 286A – 294A.

- [107] Gavalchin J, Katz SE. The persistence of fecal-borne antibiotics in soil [J]. *J AOAC Int*, 1994, 77:481–485.
- [108] 王军, 朱鲁生, 林爱军, 等. 二甲戊乐灵在土壤中的吸附及微生物降解[J]. *农业环境科学学报*, 2003, 22(4): 488 – 492.
- [109] Kummerer K. Drugs in the environment: Emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources-A review [J]. *Chemosphere*, 2001, 45: 957 – 969.
- [110] Boivin A, Cherrier R, Perrin-Ganier C, et al. Time effect on beta zone sorption and degradation in soil [J]. *Pest Manag Sci*, 2004, 60: 809 – 814.

致 谢

本论文是在我的导师金彩霞副教授的精心设计和悉心指导下完成的。三年来，导师严谨的治学态度、灵敏开阔的思路、务实的科研作风将使我受益终生；导师在学业、科研和生活上给予我的关怀、指导和帮助，令我终生难忘。在我的心目中，导师不仅是治学严谨、博学多才的老师，更是我生活道路上正直、热心的领路人。在此，我衷心地向我的导师表示最诚挚的感谢和深深的祝福！

在论文的完成过程中，环境科学教研室的周庆祥，王建玲等老师也给予了我热心的帮助，还得到了仪器室的张一敏、牛建平老师和资料室、药品室老师们的支持和帮助。此外，我的同学、师弟也为我的论文设计及试验提出了好的建议和帮助，在此一并向他们表示衷心的感谢！

同时，我也要感谢我的家人，三年硕士生活中，他们在物质上、精神上给予了我大力的支持和鼓励，使我有这样的机会和信心面对学习和生活的挑战。感谢所有曾经帮助过我的亲人和朋友！

陈秋颖

二零零九年六月

攻读学位期间发表的学术论文目录

- 1 金彩霞, 陈秋颖, 刘军军, 周庆祥。两种常用兽药对作物发芽的生态毒性效应。环境科学学报。2009.29 (3): 619 - 625
- 2 陈秋颖, 金彩霞, 吕山花, 樊颖伦。兽药残留及其对生态环境影响的研究进展。安徽农业科学。2008, 36(16): 6943 - 6945
- 3 Caixia JIN, Qiuying CHEN, Junjun LIU, Qingxiang ZHOU. Eco-toxic effects of Sulfadiazine sodium, Sulfamonomethoxine sodium and Enrofloxacin on Wheat, Chinese cabbage and Tomato. (Ecotoxicology, accept) DOI: 10.1007/s10646-009-0349-7
- 4 金彩霞, 陈秋颖, 刘军军, 周庆祥。环境物质对磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中的降解的影响。环境污染与防治(已录用)
- 5 金彩霞, 周启星, 陈秋颖, 刘军军。镉、豆磺隆联合胁迫下黑土质量的变化。辽宁工程技术大学学报(自然科学版)。2008, 27(3): 461 - 464
- 6 金彩霞, 陈秋颖, 刘军军, 周庆祥。磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中的吸附/解吸特性研究。(审稿中)
- 7 金彩霞, 陈秋颖, 刘军军, 周庆祥。环境物质对磺胺间甲氧嘧啶钠在土壤中的吸附/解吸的影响。(审稿中)
- 8 金彩霞, 陈秋颖, 刘军军, 周启星。Cd-豆磺隆联合胁迫下土壤-水界面Cd扩散过程。河南省化学会。2008, 21.