

王倩倩, 龚 兰, 朱 磊, 等. 典型兽用抗生素在土壤-叶用莴苣中的转运及风险评估[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(6): 1575-1582.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.06.027

典型兽用抗生素在土壤-叶用莴苣中的转运及风险评估

王倩倩¹, 龚 兰², 朱 磊², 栾枫婷², 何 涛², 王 冉^{1,2}, 魏瑞成²

(1. 南京农业大学动物科技学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏省农业科学院江苏省畜禽产品安全性研究重点实验室, 农业部农产品质量安全风险评估实验室, 江苏 南京 210014)

摘要: 以叶用莴苣为供试材料, 采用盆栽试验对 7 种典型兽用抗生素[磺胺嘧啶(SDZ)、氟苯尼考(FF)、盐酸环丙沙星(CIP)、盐酸林可霉素单水化合物(LCM)、盐酸强力霉素(DOX)、头孢噻吩(EFT)、泰乐菌素(TYL)]在土壤-叶用莴苣中的转运规律进行研究, 以评价其环境风险。结果表明种植叶用莴苣的土壤中兽用抗生素降解速率明显高于无叶用莴苣组, 暴露时间与抗生素残留量呈负相关; 土壤中兽用抗生素初始含量越高, 兽用抗生素降解越快, 最易降解的是 EFT, 最难降解的是 FF。叶用莴苣中兽用抗生素含量随暴露时间延长不断增加, 除 EFT 外其他 6 种兽用抗生素有富集。SDZ、FF、CIP、LCM 在叶用莴苣茎叶的转运能力和富集量大, 在叶用莴苣中食用风险高, DOX 和 TYL 在叶用莴苣中食用风险小。

关键词: 兽药抗生素; 土壤; 叶用莴苣; 转运系数; 富集系数; 风险评估

中图分类号: X592 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)06-1575-08

Transport and risk assessment of typical veterinary antibiotics in soil-lettuce

WANG Qian-qian¹, GONG Lan², ZHU Lei², LUAN Feng-ting², HE Tao², WANG Ran^{1,2}, WEI Rui-cheng²

(1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Animal-derived Food Safety, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences/Key Lab of Agro-Product Safety Risk Evaluation, Ministry of Agriculture, Nanjing 210014, China)

Abstract: In this pot experiment, the transport of seven veterinary antibiotics, such as sulfadiazine (SDZ), florfenicol (FF), ciprofloxacin (CIP), lincomycin (LCM), doxycycline (DOX), ceftiofur (EFT), tylosin (TYL), in soil-lettuce was studied by using lettuce as the experimental material, so as to evaluate environmental risks. The results showed that the degradation rate of veterinary antibiotics in the soil planted with lettuce was significantly higher than that in the soil without lettuce, and the exposure time was negatively correlated with the amount of antibiotic residues. The higher initial content of veterinary antibiotics in the soil, the faster degradation rate of antibiotics. EFT was the most easily degraded, and FF was the most difficult to degrade. With the increase of exposure time, the content of veterinary antibiotics in lettuce increased continuously. Six kinds of antibiotics had enrichment phenomenon except EFT. The transport capacity and enrichment of SDZ, FF, CIP and LCM in the stems and leaves of the lettuce were large, so it had high risk to eat them. On the

contrary, DOX and TYL had low edible risk in lettuce.

Key words: veterinary antibiotics; soil; lettuce; translocation factor; bioconcentration factor; risk assessment

收稿日期: 2021-03-27

作者简介: 王倩倩(1993-), 女, 河南新乡人, 硕士, 主要从事抗生素残留及风险评估研究。(E-mail) 1552493738@qq.com。
龚兰为共同第一作者。

通讯作者: 王 冉, (E-mail) wangran@126.com; 魏瑞成, (E-mail) weiruicheng@126.com

兽用抗生素基于高效性和廉价性, 广泛用于养

殖行业动物疾病的治疗,使用量巨大^[1]。据不完全统计,中国畜牧养殖业每年使用的抗生素量约占全世界畜牧养殖业每年使用总量的 70%,占抗生素年总产量的 46.1%^[2-3]。2019 年农业农村部发布 194 号公告,禁止生产除中药外所有促生长类饲料添加剂。但是作为治疗药物,部分抗生素仍在使用。土壤和植物是人类和动物生活中最重要的环境组成,为人类和动物提供优良的环境条件和物质保障^[4]。约有 30%~90% 兽药将以原药或代谢产物的形式残留在粪尿中,通过各种直接或间接途径进入土壤-植物系统中^[5]。抗生素作为活性大分子污染物,在环境中以原药或代谢物的形式维持较长时间的活性,引发土壤-植物系统中新的生态环境风险,对人类和动物健康造成潜在风险^[6-10]。

抗生素残留在土壤-植物生态系统中的转归特性(吸附、迁移、降解)对于兽药安全风险评估研究至关重要^[11]。迟荪琳等^[12]研究结果表明叶用莴苣对四环素类抗生素具有吸收能力,且吸收量随土壤中施加量的增加而增加。李亚宁等^[13]发现植物的种植会促进磺胺类抗生素在土壤中的降解,同时植物的吸收会增加人类暴露的风险。然而,在环境中存在多种抗生素并存的现象,土壤-植物系统对多种抗生素的迁移、吸收和累积是否存在差异,是否存在降解作用,仍需进一步深入研究。

本研究根据前期全国养殖场面源上抗生素的使用量和畜禽粪便中抗生素残留量的调研结果,选取最具有代表性和研究价值的 7 种抗生素为研究对象,以居民大众消费的叶用莴苣作为代表植物,模拟实际生产中土壤最大持水量(Maximum water holding capacity, MWHC)的 60% 进行温室盆栽试验,通过比较蔬菜不同组织部位中抗生素的残留量和生物富集量,以及不同抗生素在叶用莴苣体内的转运能力,明确兽药抗生素在土壤-蔬菜系统中的转运规律,评估不同兽药抗生素在同一种蔬菜中的累积风险,为兽药抗生素的环境安全性评价提供数据和科学支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验蔬菜:香港软尾叶用莴苣,河北青县常丰种业有限公司提供。试验土壤:沙壤土,含有 79.0% 的沙土,13.0% 的淤泥和 8.0% 的黏土。将土壤与部分泥炭混合,土壤有机质含量达到 2.8%。土壤风

干后过 2 mm 筛后使用。试验药品:磺胺嘧啶(SDZ),纯度 $\geq 99.0\%$,MW=250.28 g/mol;氟苯尼考(FF),纯度 $\geq 98.0\%$,MW=358.21 g/mol;盐酸环丙沙星(CIP),纯度 $\geq 98.0\%$,MW=367.80 g/mol;盐酸林可霉素单水合物(LCM),纯度 $\geq 98.0\%$,MW=443.00 g/mol;盐酸强力霉素(DOX),纯度 $\geq 97.0\%$,MW=503.93 g/mol;头孢噻吩(EFT),纯度 $\geq 99.0\%$,MW=523.56 g/mol;泰乐菌素(TYL),纯度 $\geq 93.0\%$,MW=916.10 g/mol。以上药品均购于 Tapery 公司。

1.2 主要仪器

API 6500 plus 高效液相色谱串联质谱仪(美国 SCIEX 公司产品),N-EVAP TM112 氮吹仪(美国 Organomation 公司产品),LYO QUEST -85 真空冷冻干燥机(西班牙 Telstar 公司产品),Arium Pro 超纯水仪(德国 Sartorius 公司产品),Eppendorf 5810R 高速冷冻离心机(美国 Eppendorf 公司产品),VORTEX 2 漩涡混匀器(德国 IKA 公司产品),HY-2 调速多用振荡器(常州国华电器有限公司产品),KQ-200KDB 型高功率数控超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司产品),PE28 台式 pH 计(瑞士 METTLER TOLEDO 公司产品),真空二十孔固相萃取装置(美国 Waters 公司产品),StrataTM-X33 μ m 固相萃取柱(美国 Phenomenex 公司产品)。

1.3 主要药品与试剂

甲醇、乙腈(色谱级,美国 Honeywell 公司产品),甲酸(色谱级,德国 CNW 公司产品),甲醇(分析纯,江苏强盛功能化学股份有限公司产品),乙腈(分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司产品),柠檬酸(99.5%,天津科密欧化学试剂有限公司产品),乙二胺四乙酸二钠(99.0%,天津科密欧化学试剂有限公司产品),正己烷(分析纯,国药集团化学试剂有限公司产品),十二水磷酸氢二钠(99.0%,成都科隆化学有限公司产品),氢氧化钠(分析纯,西陇科学股份有限公司产品)。

1.4 标准溶液配制和标准曲线

分别准确称取 7 种兽用抗生素的适量标准品,用甲醇溶解并定容,配制成 1.0 mg/ml 单一标准储备液。取 7 种兽用抗生素储备液适量用 10% 乙腈水稀释,配制成 10 mg/L 的混合标准中间工作液。量取适量混合标准中间工作液,用 10% 乙腈水(色谱纯)稀释制备 0.5 μ g/L、1.0 μ g/L、2.0 μ g/L、10.0

μg/L、20 μg/L、100 μg/L混合标准工作液。标准储备液于-20 ℃保存,混合标准工作液保存于4 ℃冰箱避光保存备用。

1.5 种子发芽势和发芽率试验

以叶用莴苣种子作为试验对象,混合兽用抗生素在有机溶剂(丙酮、甲醇、NaOH溶液)中进行溶解。为了排除有机溶剂的影响,将添加相同有机溶剂作为对照,试验设计见表1。试验步骤如下:(1)准备直径为9 cm培养皿,分别铺入相应大小的滤纸一张,对培养皿进行编号。均匀放进30粒颗粒饱

满、大小接近的叶用莴苣种子,用移液枪取5.0 ml已配好的药品混合液于培养皿中。每个处理3次重复。(2)将培养皿放置在人工气候培养箱中,白天光照14 h,温度18 ℃,夜晚黑暗10 h,温度15 ℃,湿度为80%,在第3 d和第7 d观察种子发芽情况。(3)记录对照组和试验组发芽种子数。(4)计算种子发芽势和发芽率。种子发芽势=(前3 d发芽的种子数/供试种子数)×100%,种子发芽率=(前7 d发芽的种子数/供试种子数)×100%。

表1 种子发芽势和发芽率试验设计(n=3)

Table 1 The design of seed germination potential and germination rate experiments(n=3)

组别	兽药抗生素	有机溶剂	种子
对照组 I	无	无	香港软尾叶用莴苣种子
对照组 II-1	无	添加与试验 I 相同体积的有机溶剂(丙酮、甲醇、NaOH)	香港软尾叶用莴苣种子
对照组 II-2	无	添加与试验 II 相同体积的有机溶剂(丙酮、甲醇、NaOH)	香港软尾叶用莴苣种子
对照组 II-3	无	添加与试验 III 相同体积的有机溶剂(丙酮、甲醇、NaOH)	香港软尾叶用莴苣种子
试验组 I	混药(5 mg/L)	丙酮、甲醇、NaOH	香港软尾叶用莴苣种子
试验组 II	混药(20 mg/L)	丙酮、甲醇、NaOH	香港软尾叶用莴苣种子
试验组 III	混药(50 mg/L)	丙酮、甲醇、NaOH	香港软尾叶用莴苣种子

1.6 盆栽试验

称取7种兽用抗生素用丙酮或水溶解后进行混合,配制成适当浓度,将其均匀喷洒在风干的土壤土中,最终得到土壤中每种药物的含量分别为5 mg/kg、50 mg/kg。叶用莴苣种子在24 ℃条件下,放入装有蛭石的穴盘中,在温室中(光照12 h,黑暗12 h,日温20 ℃,夜温18 ℃,相对湿度60%~80%)培养,待叶用莴苣长出3~4片真叶时开始移苗。挑选生长一致的叶用莴苣移栽至装有4.8 kg土壤的花盆(长49.5 cm,宽17.5 cm,高14.0 cm)中,每盆5棵。每天用去离子水灌溉,通过监测盆的质量,使盆中土壤含水量保持在土壤最大持水量的60%。药品含量为0 mg/kg、5 mg/kg、50 mg/kg。对照组(无菜)药物处理含量为5 mg/kg、50 mg/kg,试验组(有菜)药物处理含量为0 mg/kg、5 mg/kg、50 mg/kg。盆栽试验设计如表2。每处理3个重复。对照组分别在移栽后第21 d(早熟期)和第28 d(成熟期)用去离子水灌溉3 h后收集土壤样品。试验组分别在移栽后第21 d(早熟期)和第28 d(成熟期)用去离子水灌溉3 h后收集土壤样品与蔬菜样品。在试验

进行中发现高含量试验组(50 mg/kg)在12 d时叶用莴苣停止生长,所以收集样品的时间增加了对照组移栽后第12 d和试验组移栽后第12 d。由于蔬菜只有通过根系才能吸收富集抗生素,所以在同一深度5 cm处采集蔬菜根系周围的土壤样品。

表2 盆栽试验设计(n=3)

Table 2 The design of pot experiment(n=3)

组别	土壤药物含量(mg/kg)	兽用抗生素	蔬菜种植	暴露时间(d)
对照组	5、50	7种混药	无	12、21、28
试验组	0、5、50	7种混药	有	12、21、28

1.7 蔬菜和土壤中兽用抗生素含量测定

1.7.1 样品前处理 土壤样品避光风干备用。用去离子水彻底冲洗叶用莴苣样品植株,去除附着的土壤颗粒,用纸巾擦拭,分离成根系和茎叶,并分别切成小块,冻干粉碎(冻干前后称质量),-20 ℃保存。

1.7.2 样品兽用抗生素提取 土壤样品:将风干后的土壤样品准确称取5.00 g放置50 ml离心管中,

加入 20 ml 甲醇(分析纯)和 0.1 mol/L Na_2EDTA -Mcllvaine 缓冲溶液(9:1, pH=6.0), 漩涡 30 s, 振荡 10 min, 超声波 20 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至新的离心管, 重复以上步骤再提取一次, 将 2 次的上清液合并。于 40 °C 下氮气吹至 10 ml, 加 0.1 mol/L Na_2EDTA -Mcllvaine 缓冲溶液(pH=6.0)稀释至 30 ml, 备用。蔬菜样品: 准确称取制备后的叶用莴苣 0.5 g 至 50 ml 离心管, 加入 20 ml 乙腈(分析纯)和 0.1 mol/L Na_2EDTA -Mcllvaine 缓冲溶液(9:1, pH=6.0), 漩涡 30 s, 振荡 10 min, 超声波 20 min, 10 000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至新的离心管中, 重复以上步骤再提取一次, 将 2 次的上清液合并。加入 10 ml 正己烷, 振荡 5 min, 8 000 r/min 离心 5 min, 移取下层溶液。于 40 °C 下氮气吹至 10 ml, 加 0.1 mol/L Na_2EDTA -Mcllvaine 缓冲溶液(pH=6.0)稀释至 30 ml, 备用。

1.7.3 样品净化 StrataTM-X33 固相萃取柱依次用 6 ml 甲醇(色谱纯)、6 ml 0.1 mol/L Na_2EDTA -Mcllvaine 缓冲溶液(pH=4.0)活化, 移取全部备用液过柱, 用 10 ml 水淋洗, 抽干。加甲醇(色谱纯)8 ml 洗脱, 用 10 ml 离心管收集洗脱液, 于 40 °C 下氮气吹干, 加入流动相(10%乙腈)1.0 ml 将残余物溶解, 超声波处理 2 min, 混匀后过 0.22 μm 滤头, 测定。

1.7.4 高效液相色谱质谱条件 液相条件: 采用 ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(100.0 mm×2.1 mm×1.7 μm), 柱温为 40 °C, 流速为 0.3 ml/min, 进样量为 10 μl 。正离子扫描模式下流动相采用甲醇和 0.1%甲酸水。质谱条件: 气帘气为 45 V, 碰撞气为 8 V, 离子源电压为 5 500 V, 离子源温度为 500 °C, 雾化气压力为 3.45 Pa, 辅助气压力为 3.79 Pa, 扫描方式为多反应监测模式。负离子扫描模式下, 流动相采用甲醇和水, 气帘气为 20 V, 碰撞气为 7 V, 离子源电压为 -4 500 V, 离子源温度为 500 °C, 雾化气压力为 3.10 Pa, 辅助气压力为 3.45 Pa, 扫描方式为多反应监测模式。以上各药物的质谱参数和液相条件参照本实验室已经发表的方法^[14]。

为了减少基质效应的干扰, 土壤和蔬菜植株样品采用基质匹配标准曲线进行定量。添加回收含量分别为定量限的 2、10、100 倍, 在 0.68 $\mu\text{g/kg}$ 至 421 $\mu\text{g/kg}$ 范围内测定得到土壤和蔬菜样品中抗生素的回收率分别为: 72.4%~86.2%、69.2%~87.3%, 相

对标准偏差小于 10%; 方法的检出限为 0.34~1.33 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 0.58~4.21 $\mu\text{g/kg}$, 测定结果可满足本试验样品检测的要求。若实际样品测定含量超过 421 $\mu\text{g/kg}$, 可将样品稀释至线性范围内再测定。

1.8 数据统计分析

兽用抗生素在蔬菜中的富集系数(BCF)计算公式为: $BCF_{\text{茎叶}} = C_{\text{茎叶}} / C_{\text{土壤}}$, $BCF_{\text{根}} = C_{\text{根}} / C_{\text{土壤}}$, 其中, $C_{\text{茎叶}}$ 为茎叶中抗生素含量(mg/kg), $C_{\text{根}}$ 为根中抗生素含量(mg/kg), $C_{\text{土壤}}$ 为土壤中抗生素含量(mg/kg)。抗生素从植物地下部向地上部的转运系数(TF)计算公式为: $TF = C_{\text{茎叶}} / C_{\text{根}}$, 其中, $C_{\text{茎叶}}$ 为抗生素在茎叶中的含量(mg/kg), $C_{\text{根}}$ 为抗生素在根中的含量(mg/kg)。某种抗生素的残留率(R)计算公式为: $R = C_t / C_0 \times 100\%$, 其中, C_t 为时间 t(d) 时残留的抗生素含量(mg/kg), C_0 为抗生素起始含量。

测定得到的试验数据先采用 Excel 进行初步统计处理, 然后再用 SPSS 25.0 软件中 One-Way ANOVA 进行显著性差异分析, 以 $P < 0.05$ (差异显著) 作为差异显著性标准, 试验结果以“平均数±标准差”表示。用 Graphpad Prism8.0.2 进行作图。

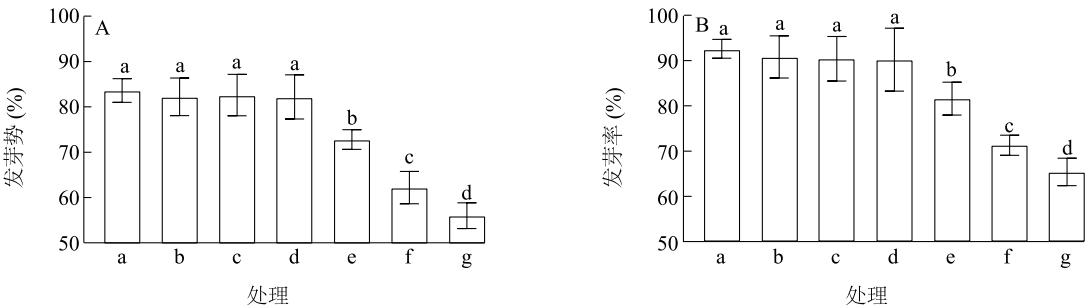
2 结果与分析

2.1 不同处理对叶用莴苣种子发芽的影响

只添加有机溶剂组叶用莴苣种子发芽势、发芽率与对照组之间无显著差异($P > 0.05$)。叶用莴苣种子在 5 mg/L、20 mg/L 和 50 mg/L 兽用抗生素处理组中, 随着兽用抗生素处理量的增加, 其发芽势与发芽率显著下降($P < 0.05$) (图 1)。表明溶解兽用抗生素用的有机溶剂对叶用莴苣种子发芽势与发芽率无显著影响, 随兽用抗生素处理量的增加叶用莴苣的发芽势与发芽率随之显著下降。

2.2 兽用抗生素在土壤中的残留

没有种植叶用莴苣的土壤中随时间的推移, 7 种抗生素残留量均下降(表 3)。早期(0~12 d)土壤中抗生素的降解速率明显大于后期(13~21 d、22~28 d), 尤其是高添加量抗生素的降解速率高于低添加量, 残留量与添加量呈正相关关系。对比各抗生素的残留情况, 试验末期 FF 和 DOX 的残留率最高, 说明 FF 和 DOX 难降解, 在土壤中稳定; EFT、CIP 和 LCM 在 13~28 d 土壤中降解速度快, 在 12 d 之后 EFT 的残留量较低, 说明 EFT 不稳定, 易降解。



a;对照组 I ;b;对照组 II -1;c;对照组 II -2;d;对照组 II -3;e;试验组 I ;f;试验组 II ;g;试验组 III ;各处理见表 1。不同字母表示差异达到显著水平。

图 1 不同处理对叶用莴苣种子发芽势和发芽率的影响
Fig.1 Effects of different treatments on seed germination potential and germination rate in lettuce

当在土壤中种植蔬菜后,随时间的推移,土壤中 7 种兽用抗生素的残留量和残留率均下降,并且兽用抗生素降解速率高于无蔬菜的土壤,残留量与添加量呈现正相关关系(表 4),说明兽用抗生素初始添加量会影响其在土壤中的去除效果。早期(0~12

d)土壤中兽用抗生素含量下降速度明显大于后期(13~21 d、22~28 d)。高、低添加量处理的兽用抗生素残留率除 FF 外均小于 4%,残留量低于无蔬菜组,说明蔬菜确实可以通过吸收迁移抗生素。

表 3 不同添加量兽用抗生素处理土壤(没有种植叶用莴苣)后不同时间土壤中的残留量

Table 3 Residue content of veterinary antibiotics in soil (without lettuce) at different time under different treatments

兽用 抗生素	添加量 (mg/kg)	0 d		12 d		21 d		28 d	
		残留含量 (mg/kg)	残留率 (%)	残留含量 (mg/kg)	残留率 (%)	残留含量 (mg/kg)	残留率 (%)	残留含量 (mg/kg)	残留率 (%)
SDZ	5	4.21	84.3	2.44	48.9	0.80	16.10	0.45	9.00
	50	36.71	73.4	12.81	25.6	4.69	9.40	2.64	5.30
FF	5	4.48	89.6	3.10	62.0	1.96	39.30	1.38	27.60
	50	40.22	80.4	17.22	34.4	7.77	15.50	4.20	8.40
CIP	5	3.62	72.4	1.01	20.2	0.35	7.00	0.12	2.40
	50	37.34	74.7	10.23	20.5	3.79	7.60	2.31	4.60
LCM	5	3.70	73.9	1.13	22.7	0.42	8.40	0.23	4.60
	50	37.87	75.8	11.81	23.6	4.21	8.40	2.38	4.80
DOX	5	4.41	88.2	2.66	53.2	1.18	23.60	0.78	15.50
	50	38.19	76.4	13.28	26.6	5.14	10.30	2.98	6.00
EFT	5	3.77	75.4	0.09	1.9	ND	ND	ND	ND
	50	36.72	73.4	4.73	9.5	0.02	0.04	0.02	0.03
TYL	5	4.42	88.4	2.63	52.5	0.98	19.60	0.57	11.40
	50	38.04	76.1	13.61	27.2	5.47	10.90	2.95	5.90

SDZ:磺胺嘧啶;FF:氟苯尼考;CIP:盐酸环丙沙星;LCM:盐酸林可霉素单水合物;DOX:盐酸强力霉素;EFT:头孢噻吩;TYL 泰乐菌素。ND 表示未检测到。

2.3 兽用抗生素在叶用莴苣不同部位的迁移规律

由于高添加量(50 mg/kg)兽用抗生素抑制了叶用莴苣的生长,因此只采集了移栽后 12 d 的叶用莴苣,低添加量处理组采集了 12 d、21 d、28 d 的叶用莴苣。测定结果(表 5)显示 7 种兽用抗生素除 EFT 外,均在叶用莴苣组织中检测到,说明 EFT 迁

移到蔬菜中造成兽用抗生素残留的风险较小,这与 EFT 在环境中不稳定有关。

在低添加量组暴露 12 d、21 d、28 d,除 EFT 外,其余 6 种兽用抗生素在茎叶和根中均有检出。12 d 时叶用莴苣中兽用抗生素的残留量最高,随着种植时间的延长,叶用莴苣组织中残留量呈下降的趋势。

可能是叶用莴苣对兽用抗生素的吸收减缓或停止,随后植物组织中可能发生了代谢、氧化、光解或微生物作用,兽用抗生素被降解,导致组织中兽用抗生素含量降低。此结果也进一步佐证了 0~12 d 土壤中兽用抗生素残留量下降率明显高于 21 d 和 28 d 的结果。值得注意的是 FF 在蔬菜和土壤中残留量均

是最高,表明 FF 在环境中稳定,不易受到光照、微生物和酶等因素影响而降解。

叶用莴苣对兽用抗生素具有吸收能力,FF、SDZ、CIP 和 LCM 含量茎叶>根系,DOX 和 TYL 含量根系>茎叶。茎叶对 FF 的吸收率最高,对 TYL 的吸收率最低,这与药物本身的结构性质有关。

表 4 不同添加量兽用抗生素处理土壤(种植叶用莴苣)后不同时间土壤中的残留含量

Table 4 Residue content of veterinary antibiotics in soil (with lettuce) at different time under different treatments

兽用 抗生素	添加量 (mg/kg)	0 d		12 d		21 d		28 d	
		残留含量 (mg/kg)	残留率 (%)	残留含量 (mg/kg)	残留率 (%)	残留含量 (mg/kg)	残留率 (%)	残留含量 (mg/kg)	残留率 (%)
SDZ	5	4.20	83.9	1.60	32.0	0.16	3.2	0.04	0.7
	50	37.40	74.8	6.27	12.5	0.85	1.7	0.39	0.8
FF	5	4.46	89.3	2.31	46.2	0.24	4.8	0.17	3.5
	50	40.87	81.7	11.98	24.0	2.57	5.1	1.17	2.3
CIP	5	3.71	74.3	0.72	14.4	0.08	1.6	0.01	0.3
	50	37.20	74.4	3.24	6.5	0.61	1.2	0.31	0.6
LCM	5	3.66	73.2	1.35	26.9	0.12	2.3	0.01	0.2
	50	36.86	73.7	3.91	7.8	0.70	1.4	0.26	0.5
DOX	5	4.40	88.0	0.66	13.1	0.08	1.6	0.03	0.6
	50	38.05	76.1	5.81	11.6	0.86	1.7	0.14	0.3
EFT	5	3.77	75.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	50	36.80	73.6	7.06	14.1	ND	ND	ND	ND
TYL	5	4.41	88.2	0.54	10.8	0.29	5.8	0.04	0.9
	50	38.64	77.3	2.65	5.3	1.18	2.4	0.53	1.1

SDZ:磺胺嘧啶;FF:氟苯尼考;CIP:盐酸环丙沙星;LCM:盐酸林可霉素单水合物;DOX:盐酸强力霉素;EFT:头孢噻唑;TYL 泰乐菌素。ND 表示未检测到。

表 5 叶用莴苣不同组织中兽用抗生素残留量

Table 5 Residue content of veterinary antibiotics in different tissues of lettuce

兽用 抗生素	5 mg/kg 兽用抗生素处理 12 d		50 mg/kg 兽用抗生素处理 12 d		5 mg/kg 兽用抗生素处理 21 d		5 mg/kg 兽用抗生素处理 28 d	
	茎叶中残留含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	根中残留含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	茎叶中残留含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	根中残留含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	茎叶中残留含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	根中残留含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	茎叶中残留含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	根中残留含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
SDZ	1 380.04±64.01	519.76±7.92	5 943.74±72.92	2 670.44±43.72	168.22±9.83	134.44±4.00	66.17±7.11	44.08±2.23
FF	1 623.33±0.22	602.44±109.84	11 632.92±695.19	5 055.34±613.51	488.17±90.76	73.14±13.46	178.57±16.40	63.57±6.88
CIP	506.79±15.59	199.13±4.02	2 688.52±89.92	1 607.91±22.14	93.58±15.68	71.25±8.48	32.67±0.85	33.67±3.66
LCM	900.36±55.33	421.36±0.22	3 457.38±31.31	2 008.40±9.55	92.80±0.86	90.54±0.74	46.63±0.63	48.67±6.42
DOX	100.85±0.67	118.96±3.53	1 451.06±70.74	1 725.76±21.76	47.33±5.78	59.79±7.54	22.71±2.07	32.21±1.38
TYL	95.08±7.17	100.21±0.14	1 040.48±119.23	1 372.45±72.18	16.09±5.44	21.81±10.32	5.63±0.75	8.04±1.30

SDZ:磺胺嘧啶;FF:氟苯尼考;CIP:盐酸环丙沙星;LCM:盐酸林可霉素单水合物;DOX:盐酸强力霉素;TYL 泰乐菌素。头孢噻唑均未检测到。

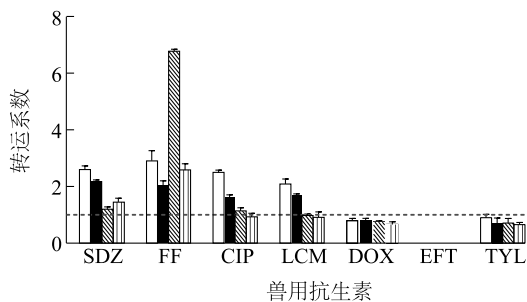
2.4 兽用抗生素在叶用莴苣组织器官中的转运系数(TF)

从图 2 可以看出,SDZ、FF、LCM、CIP 的 TF 值>1,说明在暴露 12 d,它们在叶用莴苣中从根到茎叶的转运能力较强,而 DOX 和 TYL 的 TF 值<1,说明

暴露 12 d 时,它们在叶用莴苣中从根到茎叶的转运能力较弱。在低添加量处理下,叶用莴苣对兽用抗生素的转运能力表现为 FF>SDZ>CIP>LCM>TYL>DOX;在高添加量处理下,叶用莴苣对兽用抗生素的转运能力表现为 SDZ>FF>CIP>LCM>TYL>DOX,说

明兽用抗生素在蔬菜中的转运能力与兽用抗生素的种类和添加量有关。

从图2可以看出,21 d、28 d与12 d相比,受到植物体内已有兽用抗生素的影响,各兽用抗生素的转运系数均降低,其中SDZ、FF、CIP的 TF 值 >1 ,说明此时它们在叶用莴苣中从根到茎叶的转运能力较强;LCM、TYL、DOX的 TF 值 <1 ,说明此时它们在叶用莴苣中从根到茎叶的转运能力较弱。在21 d时,低添加量处理下,FF的转运系数(6.82)最高,说明其转运能力最强。



□ 5 mg/kg兽用抗生素处理12 d; ■ 50 mg/kg兽用抗生素处理12 d;
▨ 5 mg/kg兽用抗生素处理21 d; ▤ 5 mg/kg兽用抗生素处理28 d

SDZ:磺胺嘧啶;FF:氟苯尼考;CIP:盐酸环丙沙星;LCM:盐酸林可霉素单水合物;DOX:盐酸强力霉素;EFT:头孢噻呋;TYL:泰乐菌素。

图2 兽用抗生素在叶用莴苣组织器官中的转运系数(TF)

Fig.2 The translocation factor (TF) of veterinary antibiotics in lettuce tissues and organs

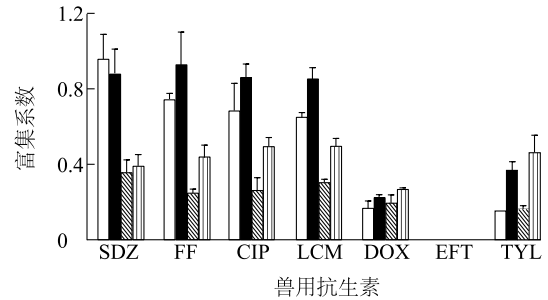
2.5 兽用抗生素在叶用莴苣中不同部位的富集能力(BCF)

在叶用莴苣茎叶部,SDZ、FF、CIP、LCM的富集能力强于DOX和TYL。图3和图4表明在5 mg/kg低添加量的处理组中,随着暴露时间的推移,叶用莴苣茎叶中SDZ、CIP、LCM富集能力与暴露时间成正比。由于12 d以后50 mg/kg高添加量处理组抑制了叶用莴苣的生长,所以这里不再对高添加量暴露下的叶用莴苣茎叶和根富集能力进行阐述。

在叶用莴苣根部,低添加量处理组 BCF 为0.169~0.365 mg/kg,高添加量处理组 BCF 为0.275~0.469 mg/kg。图3和图4表明随着暴露时间的推移,根中SDZ、FF、CIP和LCM富集能力与时间成正比。

综合分析发现,SDZ、FF、CIP和LCM这4种兽用抗生素的风险较大,DOX和TYL在蔬菜中的富集风险较小,EFT未检出因此相对比较安全。叶用莴

苣茎叶部比根部更易富集SDZ和FF。

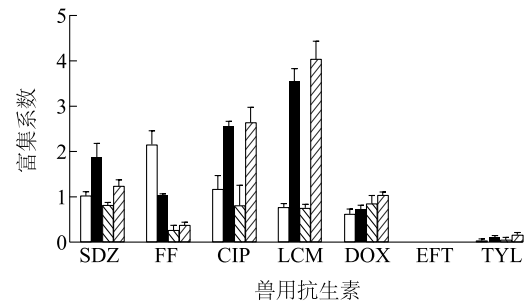


□ 5 mg/kg-茎叶; ■ 50 mg/kg-茎叶; ▨ 5 mg/kg-根; ▤ 50 mg/kg-根

兽用抗生素见表3注。

图3 不同添加量兽用抗生素处理12 d时叶用莴苣茎叶和根的富集系数

Fig.3 The bioconcentration factor of veterinary antibiotics in stems, leaves and roots of lettuce at 12 days



□ 21 d-茎叶; ■ 28 d-茎叶; ▨ 21 d-根; ▤ 28 d-根

兽用抗生素见表3注。

图4 5 mg/kg兽用抗生素处理12 d和28 d时叶用莴苣茎叶和根的富集系数

Fig.4 The bioconcentration factor of 5 mg/kg veterinary antibiotics in stems, leaves and roots of lettuce at 21 and 28 days

3 讨论

3.1 兽用抗生素在土壤中的残留规律

试验中发现土壤中兽用抗生素的降解速率与暴露时间、抗生素的初始添加量、兽用抗生素的种类和有无种植蔬菜均有关系。在0~12 d,土壤中兽用抗生素的降解速率最快,与徐秋桐^[15]研究结果一致。张圣新等^[16]通过4种叶菜水培试验发现,强力霉素在无蔬菜种植的培养液中降解速度要低于有蔬菜种植的培养液中的降解速率,表明蔬菜有吸收迁移兽用抗生素的作用,这与本研究中蔬菜种植的土壤兽用抗生素降解速率快的结论一致。EFT在土壤中降解速度最快,这可能与头孢噻呋的光降解速度较快有关^[17]。氟苯尼考在土壤中的半衰期较长,生物有效性较高,氟苯尼考在土壤中的残留量最高^[18]。

3.2 兽用抗生素在叶用莴苣中的残留、迁移规律

杨晓静^[19]研究了叶用莴苣在水培条件下对 10 种抗生素的吸收规律,发现其茎叶 FF 的含量随暴露时间的延长呈逐渐升高,而根中 FF 的含量随暴露时间的延长先降低后升高,且在暴露 30 d 后,茎叶中 FF 的含量最高。这与本试验结果相似,本试验中叶用莴苣茎叶中 FF 的含量最高,随着暴露时间的延长叶用莴苣中 FF 残留量呈逐渐下降的趋势。另外,在本研究中,不同暴露时间且不同抗生素添加量处理的叶用莴苣茎叶比根更易富集 FF、SDZ、CIP,不易富集 DOX 和 TYL,是由于 FF、SDZ、CIP 的分子量小于 500 g/mol,药物易通过细胞膜到达木质部,增加其在叶中的积累,而 DOX 和 TYL 的分子量大于 500 g/mol,药物难以通过细胞膜到达木质部,导致其在叶中积累减少,叶中富集系数降低^[20]。

4 结 论

通过研究不同添加量兽用抗生素在土壤和叶用莴苣中的分布、迁移、吸收和降解规律,发现兽用抗生素在土壤中的残留受到兽用抗生素添加量、类型和暴露时间的影响,最易降解的兽用抗生素是 EFT,最难降解的兽用抗生素是 FF。

种植蔬菜有利于兽用抗生素从土壤迁移至植物体内,经研究发现兽用抗生素的分子量大小影响其在植物体内的迁移转运,分子量越小,转运能力越强,茎叶部对其吸收富集量越大。本研究中 7 种兽用抗生素在叶用莴苣中有 6 种在叶用莴苣中富集,茎叶中 SDZ、FF、CIP 和 LCM 的 *BCF* 值较高,*TF* 值 > 1,FF 的转运能力最强,因此 SDZ、FF、CIP 和 LCM 在叶用莴苣中食用风险高;茎叶中 DOX、TYL 的 *BCF* 值较低,*TF* 值 < 1,DOX、TYL 在叶用莴苣中食用风险较小,因为叶用莴苣不吸收 EFT,在叶用莴苣中相对比较安全。

参考文献:

- [1] KUMMERER K. Antibiotics in the aquatic environment--a review--part II[J]. Chemosphere, 2009, 75(4): 435-441.
- [2] 欧阳朋倩,谢光炎,许燕滨. 养殖环境中抗生素抗性基因的研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(10): 3470-3480.
- [3] 郝斯贝,刘成斌,陈晓燕,等. 畜禽粪便中氮磷及抗生素的高效检测方法研究进展[J]. 中国环境科学, 2021, 41(4): 1746-1755.
- [4] 黄丹,叶茂,朱国繁,等. 抗生素/抗性细菌/抗性基因在土壤-植物系统中迁移转化及阻控消减的研究进展[J]. 土壤, 2020, 52(5): 891-900.
- [5] 王卫中,迟荪琳,徐卫红. 四环素类抗生素对土壤-生菜系统的生物效应及其迁移降解特性[J]. 环境科学, 2021, 42(3): 1545-1558.
- [6] KOPMANN C, JECHALKE S, ROSENDAHL I, et al. Abundance and transferability of antibiotic resistance as related to the fate of sulfadiazine in maize rhizosphere and bulk soil[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2013, 83(1): 125-134.
- [7] CHRISTOU A, KARAOLIA P, HAPESHI E, et al. Long-term wastewater irrigation of vegetables in real agricultural systems: Concentration of pharmaceuticals in soil, uptake and bioaccumulation in tomato fruits and human health risk assessment[J]. Water Research, 2016, 109: 24-34.
- [8] DE BOER M A, HAMMERTON M, SLOOTWEG J C. Uptake of pharmaceuticals by sorbent-amended struvite fertilisers recovered from human urine and their bioaccumulation in tomato fruit[J]. Water Research, 2018, 133 (APR.15): 19-26.
- [9] 刘伟杰,贺小娜,韩珊珊,等. 禽畜粪便中抗生素耐药菌的分离与分子鉴定[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(1): 291-293.
- [10] 刘迪,李赞,卢信,等. 抗生素在土壤中的环境风险及锰氧化物修复技术的研究进展[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3): 785-794.
- [11] PAN M, CHU L M. Adsorption and degradation of five selected antibiotics in agricultural soil[J]. Science of The Total Environment, 2016, 545/546(1): 48-56.
- [12] 迟荪琳,王卫中,徐卫红,等. 四环素类抗生素对不同蔬菜生长的影响及其富集转运特征[J]. 环境科学, 2018, 39(2): 935-943.
- [13] 李亚宁,张丽红,吴鹏,等. 磺胺类抗生素在土壤中的迁移转化及植物效应[J]. 安全与环境学报, 2019, 19(4): 1425-1430.
- [14] WEI R C, HE T, ZHANG S X, et al. Occurrence of seventeen veterinary antibiotics and resistant bacteria in manure-fertilized vegetable farm soil in four provinces of China[J]. Chemosphere, 2019, 215: 234-240.
- [15] 徐秋桐. 土壤-蔬菜系统典型污染物的污染特征及抗生素的生理效应[D]. 杭州:浙江大学, 2019.
- [16] 张圣新,罗盼盼,鲍恩东,等. 4 种叶菜对强力霉素的吸收与富集特征[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(5): 112-117.
- [17] 何杨. 生物炭对紫色土中氟苯尼考吸附机理与迁移行为影响研究[D]. 成都:西南交通大学, 2019.
- [18] 陈晨,董联,孙继超,等. 兽用头孢噻唑在食品动物中的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(11): 17-23.
- [19] 杨晓静. 蔬菜中抗生素的分析及吸收规律研究[D]. 大连:大连理工大学, 2017.
- [20] LI Y, SALLACH J B, ZHANG W, et al. Insight into the distribution of pharmaceuticals in soil-water-plant systems[J]. Water Research, 2019, 152: 38-46.

(责任编辑:张震林)