

# 金霉素与强力霉素在不同剖面土壤中的淋溶行为研究

肖磊,王海芳\*,张天玕,赵志峰

(中北大学环境与安全工程学院,山西太原030051)

**摘要:**环境中的抗生素主要通过有机添加剂如污水污泥、牲畜粪便和泥浆进入土壤,采用土柱淋溶法研究了不同初始浓度金霉素与强力霉素在不同剖面土壤(0~30、30~60、60~90 cm)淋溶与各土层渗滤液变化。结果表明,金霉素与强力霉素在土壤中残留浓度均表现为表土层>中土层>底土层;各土层渗滤液抗生素浓度均呈现先快速达到峰值随后逐渐降低的趋势,且强力霉素的淋溶特性强于金霉素。综合这2种抗生素在剖面土壤中的淋溶特性发现,金霉素与强力霉素可以在土壤向下迁移至深层土壤,且污染物浓度越大在土壤中的残留浓度越大,对生态及地下水存在一定的风险。

**关键词:**四环素;金霉素;强力霉素;剖面土壤;渗滤液;淋溶

**中图分类号:**X53;TQ46

**文献标志码:**A

**文章编号:**0253-4320(2021)06-0140-05

**DOI:**10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2021.06.029

## Leaching behavior of chlortetracycline and doxycycline in different soil profiles

XIAO Lei, WANG Hai-fang\*, ZHANG Tian-jì, ZHAO Zhi-feng

(School of Environment and Safety Engineering, North University of China, Taiyuan 030051, China)

**Abstract:** Antibiotics in the environment enter the soil mainly through organic additives such as sewage sludge, livestock manure and mud. In order to explore the leaching behavior of tetracycline antibiotics in different sections of soil, the soil column leaching method is utilized to study the leaching behaviors of different initial concentrations of chlortetracycline and doxycycline in different soil profiles (0-30, 30-60, 60-90 cm), and leachate changes at each soil layer. It is shown that the residual concentrations of both chlortetracycline and doxycycline in the surface layer of soil are larger than that in the middle soil layer, that in the subsoil layer is the fewest. The concentration of antibiotics in the leachate of each soil layer shows a trend of rapidly reaching the peak value and then gradually decreasing, and the leaching characteristics of doxycycline is stronger than that of chlortetracycline. Chlortetracycline and doxycycline both can migrate down to the deep soil, and the higher the concentration of pollutants, the greater the residual concentration in the soil.

**Key words:** tetracycline; chlortetracycline; doxycycline; soil profiles; leachate; leaching

四环素类抗生素是最常用的抗生素,在一些国家也被用作农场动物的生长促进剂<sup>[1]</sup>。然而这类抗生素的生物利用度很低,当这些抗生素以不同的方式进入人或动物体内,约有30%~90%会通过自身粪便和尿液的原药形式排出<sup>[2]</sup>,并通过粪便有机肥的施用、地表径流、渗滤以及淋溶作用等途径进入到土壤环境中,不断的累积造成抗生素的残留。残留于土壤环境中的抗生素不仅会影响环境中微生物的生态功能,而且还会增强微生物的抗药性,诱发抗性基因。研究证明<sup>[3]</sup>,抗性基因的基因组定位很可能转向移动遗传元件,这些基因的水平转移适应土壤或其他生境的细菌支持其独立于原始宿主的环境传播,会引发从动物向人类转移的健康风险。

金霉素(Chlortetracycline)与强力霉素(Doxycycline)是最早发现、使用最广泛的2种四环素类抗

生素(TCs)。目前有关抗生素的研究主要集中在抗生素在表层土壤上的淋溶行为研究以及各种因素(pH、有机质含量、阳离子类型与浓度)对抗生素淋溶行为的影响。由于不同外界输入条件及土壤理化性质对抗生素的迁移特征影响不同,因而研究其不同深度土层中的淋溶行为很有必要。目前,缺乏抗生素在土壤中不同剖面的淋溶行为研究以及各土层下渗水对下层土壤影响。笔者以2中典型的TCs为代表(CTC、DC),以太原市中北大学周边土壤为供试土壤,考察了2种四环素类抗生素在不同初始污染浓度在剖面土壤(0~30、30~60、60~90 cm)的淋溶行为及各土层渗滤液中TCs的变化情况,揭示了抗生素在土壤中的迁移规律以及上层土壤渗滤液所含TCs对下层土壤环境行为和周边土壤径流的变化影响。

收稿日期:2020-07-16;修回日期:2021-04-06

基金项目:科技部重大专项(2018YFC1801104)

作者简介:肖磊(1993-),男,硕士研究生,研究方向为土壤污染与修复,1327935897@qq.com;王海芳(1968-),女,博士,副教授,研究方向为土壤污染与修复,通讯联系人,652402148@qq.com。

## 1 材料与方方法

### 1.1 试剂与仪器

试剂:金霉素和强力霉素,纯度为98%,上海麦克林生化科技有限公司生产;甲醇与乙腈,均为HPLC级,上海安耐吉(ENERGY)化学有限公司生产;其他化学药品均为分析纯;实验用水为高纯水。 $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -Mcllvaine 缓冲液:将柠檬酸 12.9 g、磷酸氢二钠 27.6 g、乙二胺四乙酸二钠 37.2 g 溶于水并定溶至 1 000 mL。

仪器:赛默飞 UltiMate 3000 高效液相色谱仪(HPLC),赛默飞世尔科技有限公司生产,并配有 C18 柱(5  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm $\times$ 250 mm)、BT01 型蠕动泵。

2 种 TCs 的结构式与基本性质分别如图 1 与表 1 所示。

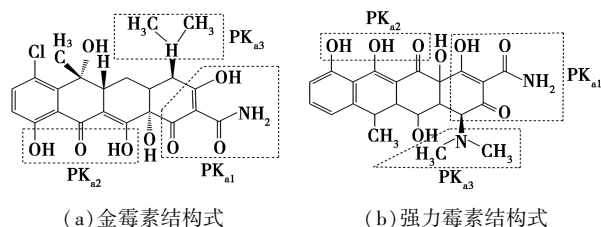


图 1 金霉素与强力霉素结构式

表 1 四环素类抗生素基本性质

四环素类抗生素	金霉素	强力霉素
分子式	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{O}_8\text{N}_2\text{Cl}$	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{N}_2$
分子质量	478.88	444.435
密度/( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	1.7	(1.6 $\pm$ 0.1)
熔点/ $^{\circ}\text{C}$	172~174	206~209
$pK_{a1}$	3.3	3.5
$pK_{a2}$	7.44	7.07
$pK_{a3}$	9.27	9.13

供试土壤采自中北大学后山处自然发育的深 90 cm 的剖面土壤。将土壤中大颗粒石子与杂草去除,经自然风干磨细后,过 2 mm 筛备用。通过参考文献[4]中所述的方法进行土壤基本理化性质的测定,结果如表 2 所示。

表 2 供试土壤基本理化性质

土壤 分层/ cm	含水 率/%	pH	CEC/ ( $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	有机质 质量分 数/%	颗粒组成/%		
					砂粒 ( $>5\ \mu\text{m}$ )	粉粒 ( $2\sim5\ \mu\text{m}$ )	黏粒 ( $<2\ \mu\text{m}$ )
0~30	12.98	8.59	21.42	1.83	19.31%	67.51%	13.18%
30~60	13.87	8.56	20.83	1.15	14.36%	69.9%	15.74%
60~90	14.68	8.61	24.90	0.89	35.48%	54.26%	10.26%

### 1.2 检测条件

TCs 的检测条件:流速为 1 mL/min;柱温度为 35 $^{\circ}\text{C}$ ;检测波长为 355 nm;流动相 A 为乙腈溶液,流动相 B 为 0.01 mol/L 草酸溶液, $V(A):V(B)=28:72$ ;此条件下出峰时间:金霉素为 5.68 min,强力霉素为 7.31 min。

### 1.3 实验方法

本实验选用自行设计的内径 240 mm、每层土壤填充高度为 25 cm 的淋溶装置。山西省太原市的年降雨量与土柱横截面积计算得设计的淋溶量为 9.0 L(山西年平均降雨量为 330 mm 左右)<sup>[5]</sup>。首先在淋溶装置最低端铺一层 260 目的滤网,然后覆盖 3 cm 厚的酸洗石英砂(1~2 mm),之后在石英砂层上面填充过 2 mm 筛的深层土(60~90 cm),每填充 5 cm 厚时,慢慢摇晃并敲打土柱,使土柱均匀密实。然后将底层土柱与中层土柱的法兰环用螺丝固定紧,在这一层土柱中,首先在渗滤液收集槽上方铺一层 260 目的滤网,以便截留槽上方土壤。接下来开始填充 30~60 cm 的土壤,填充时同样边填充边摇晃与敲打,以使土柱均匀密实。然后填充 0~30 cm 的表层土,与填充中层土的操作一样。实验前,为达到土壤离子平衡,用一定量的蒸馏水(含 0.01 mol/L 的  $\text{CaCl}_2$  溶液)预先饱和土柱。使用蠕动泵供淋溶液,每天淋溶 10 h,直到达到设计淋溶量为止。淋溶过程中,隔一定时间收集每层土的渗滤液。淋溶结束后,分别在各土层的 8 cm 与 18 cm 处取土样。淋溶结束后,蠕动泵停止供水。考察在 30、40、60 mg/kg 不同初始质量分数下,污染物在剖面土壤中的垂向迁移及各土层渗滤液的浓度变化规律。

水样处理:稀盐酸调节 pH 为 3.0 左右,并加入 0.25 g  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ,以防止 TCs 与二价阳离子的络合。将液体通过 0.45  $\mu\text{m}$  的玻璃纤维滤膜,将过滤后的水样通过 oasis HLB 固相萃取小柱(预先用 6 mL 甲醇与 6 mL 超纯水活化),过样之后用 5 mL 5% 甲醇水溶液淋洗,真空干燥 10 min,用 10 mL 甲醇洗脱液洗脱并收集于 50 mL 具塞离心瓶中,用氮气吹至近干,再用 20% 乙腈水溶液定溶至 2 mL,待测。

土样处理:将所采集的土样房在黑暗阴凉处风干后,研磨过 60 目筛混匀,准确称取 5 g 土样于离心管中,加入 20.0 mL  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -Mcllvaine 缓冲液,振荡 5 min,超声萃取 20 min,在 4 500 r/min 下离心 10 min,将上清液转移至 150 mL 锥形瓶中。再次加入 15.0 mL  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ -Mcllvaine 缓冲液于离心管中

进行振荡、超声、离心,以上操作共重复 3 次,合并提取液。之后净化与浓缩过程同水样。

### 1.4 数据分析

数据图形采用 Origin 2018 制作,抗生素分子结构式采用 Chem office 2016 绘制。

## 2 结果与讨论

### 2.1 TCs 不同浓度对金霉素淋溶规律的影响

金霉素在土柱中不同深度的残留质量分数如表 3 所示。

表 3 不同剖面深度金霉素的残留质量分数 mg/kg

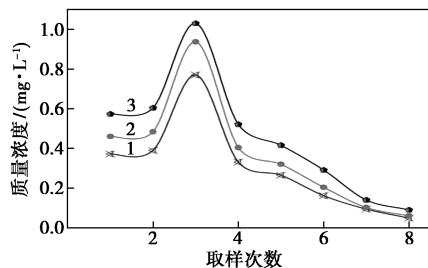
不同土层	深度/ cm	初始质量分数		
		60 mg/kg	40 mg/kg	30 mg/kg
0~30 cm 土层	8	16.804±0.1104	11.742±0.0651	8.685±0.2314
	18	11.090±0.0563	7.526±0.0602	4.836±0.0208
30~60 cm 土层	8	6.951±0.0600	3.547±0.2088	1.976±0.01528
	18	2.921±0.0284	1.725±0.01249	0.943±0.003
60~90 cm 土层	8	1.629±0.0180	0.974±0.0153	0.454±0.0086
	18	0.8313±0.0165	0.497±0.0017	0.1893±0.0012

从表 3 中可以看出,污染浓度越大,金霉素在不同深度的残留量也随之增加。总体呈现出金霉素的残留量随着土壤中土壤深度的增加而不断降低的趋势。污染浓度增大时,在同一深度土层中,CTC 的质量分数也随之增大,说明随着抗生素污染浓度的增加,会加重土壤受抗生素的污染程度,导致其在土壤中的不断积累,进而危害土壤生态环境。CTC 容易在表层土壤中富集,原因有以下两点:①由于表层土壤中的有机质质量分数高于中层与底层土壤,而腐殖质作为有机质的主要成分,其有多种官能团(羧基、酚羟基、羰基、胺基和甲氧基),这些官能团都是具有极性的原子基团,会使土壤表面带有大量的负电荷量,可以通过不同的作用力(氢键、范德华力)增大与 CTC 的吸附作用,进而降低了 CTC 向下迁移的能力。②与 CTC 的自身结构有关,吸附分配系数( $K_d$ )值越大,表明该物质吸附强度越大。四环素类抗生素与氟喹诺酮类、大环内酯类、磺胺类相比, $K_d$  值较大(800~2 700 L/kg)<sup>[6]</sup>,而磺胺类的水溶性较大(77~1 500 mg/L)<sup>[7]</sup>;  $K_d$  值较小(0.10~4.39 L/kg),在土壤中降解较慢( $t_{1/2}$ >14 d)<sup>[8]</sup>,因而四环素类抗生素在土壤环境中更容易积累。

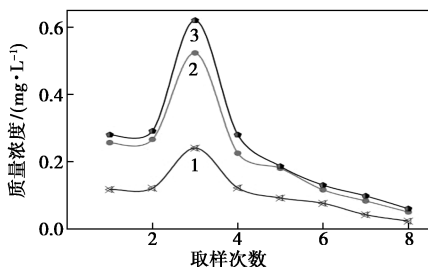
综上所述,当抗生素质量分数不断升高,表层土壤中金霉素逐步累积达到平衡后,会向下边的土壤

迁移,随着时间的推移以及抗生素的不断施入土壤中,向深层土壤迁移的浓度也随之再增多,从而加剧土壤中抗生素的污染程度。

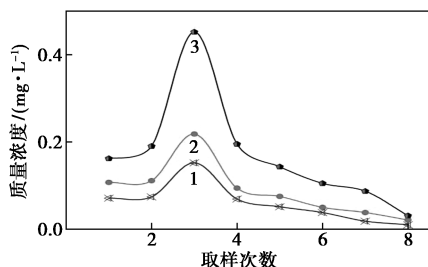
不同抗生素污染物质量分数下,金霉素在土柱中各土层渗滤液质量浓度随时间的变化情况如图 2 所示。



(a) 初始污染物质量分数为 30 mg/kg



(b) 初始污染物质量分数为 40 mg/kg



(c) 初始污染物质量分数为 60 mg/kg

1—0~30 cm 渗滤液质量浓度;2—30~60 cm 渗滤液质量浓度;3—60~90 cm 渗滤液质量浓度

图 2 不同土层渗滤液在不同初始污染质量分数下的质量浓度(CTC)

从图 2 中可以看出,各土层中渗滤液抗生素质量浓度均呈现先快速达到高峰后逐渐降低的趋势。各污染浓度下,不同土层渗滤液中抗生素质量浓度均为表土层>中土层>底土层。且随着 TCs 初始质量浓度的升高,同一土层渗滤液中抗生素浓度明显增多。当初始污染质量分数为 30 mg/kg 时,表土层在第 1 次取样时所检测到的质量浓度为 0.377 mg/L,随后在第 3 个取样点达到了最大值 0.78 mg/L。中土层和底土层也表现出同样的规律,最大淋出量分别为 0.256 mg/L 和 0.152 mg/L。当初始污染质量

分数为 40 mg/kg 与 60 mg/kg 时,表土层在第 1 次取样时所检测到的质量浓度分别为 0.46 mg/L 与 0.593 mg/L,随后在第 3 个取样点质量浓度均达到了最大值 0.937 mg/L 与 1.21 mg/L。中土层最大淋出质量浓度分别为 0.523 mg/L 与 0.675 mg/L;底土层质量浓度为 0.218 mg/L 与 0.454 mg/L。研究表明<sup>[9]</sup>,同一土壤中,金霉素较土霉素吸附量少,且解吸滞后系数小于土霉素,这也导致金霉素容易在土壤中迁移。Yin<sup>[10]</sup>采集了 20 个蔬菜大棚土样并进行分析,其中四环素最高质量分数为 139.16  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、土霉素质量分数为 332.02  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、金霉素质量分数为 391.31  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,说明金霉素较四环素与土霉素更容易迁移。

综上所述,金霉素比土霉素与四环素有更大的溶解率与迁移率。分析其原因是金霉素 R 基的 CL 原子是亲水性基团,增强了金霉素的水溶性,加强了金霉素的迁移与穿透性。

## 2.2 TCs 不同浓度对强力霉素淋溶规律的影响

强力霉素在土柱中不同深度的残留质量分数如表 4 所示。

表 4 不同剖面深度强力霉素的残留浓度  $\text{mg}/\text{kg}$

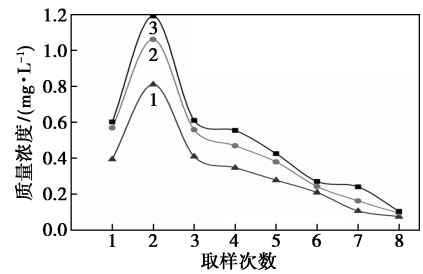
不同土层	深度/ cm	初始质量分数		
		60 mg/kg	40 mg/kg	30 mg/kg
0~30 cm 土层	8	15.583±0.0866	10.93±0.0305	8.486±0.2203
	18	10.479±0.0595	6.956±0.0404	4.637±0.0493
30~60 cm 土层	8	6.667±0.0515	3.260±0.1604	1.861±0.0110
	18	2.876±0.0214	1.710±0.0098	0.931±0.002
60~90 cm 土层	8	1.673±0.0127	0.985±0.0134	0.494±0.0051
	18	0.849±0.0111	0.515±0.0026	0.198±0.0021

从表 4 可以看出,与金霉素在土柱中的变化规律相似。与同一深度金霉素残留量相比,要低于同一水平的金霉素残留量。所有初始质量浓度强力霉素(DC)中层土壤与底层土壤分别占表层土壤的 30.3%、8.26%。从表层土的残留浓度来看,DC 较 CTC 容易向下迁移。有研究表明<sup>[11]</sup>,DC 水溶解度为 630 mg/L,CTC 为 130 mg/L。因而 DC 更易随水下移。由表 1 可知,强力霉素的分子质量低于金霉素,即强力霉素单位质量的电荷量小于金霉素所带的电荷量,即土壤与强力霉素通过离子交换作用、键合以及其他作用力所产生的吸附大大减弱,导致强力霉素在土壤中的残留减少。土壤中由于动物活动(如蚯蚓)、土壤中腐败物降解及其他变化(如土壤含水率变化引起的裂缝等)会形成土壤大孔隙<sup>[12]</sup>,

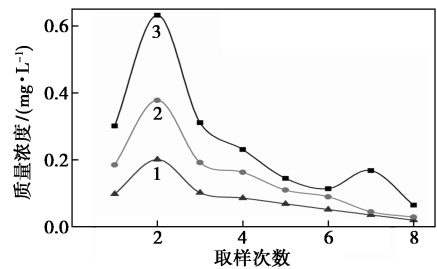
分子质量小的物质会优先进入这些孔隙中,以可溶态随水向下迁移,这也是表层土中强力霉素比金霉素残留少的又一原因。土壤是一个复杂的系统,其本身是一个各种阳离子( $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 等)与土著微生物共存的整体,土壤中的阳离子与强力霉素争夺土壤吸附点位,比金霉素产生的竞争性吸附强导致强力霉素在土壤中残留浓度变低。已经有研究证明<sup>[13]</sup>,土壤中的阳离子会影响强力霉素在土壤中的吸附容量和解吸速率。

综上所述,强力霉素在土壤中较金霉素更易迁移至深层土壤进而对地下水构成威胁。表层土壤中的有机质质量分数较高是 TCs 在表层土壤中容易富集与积累的直接因素。

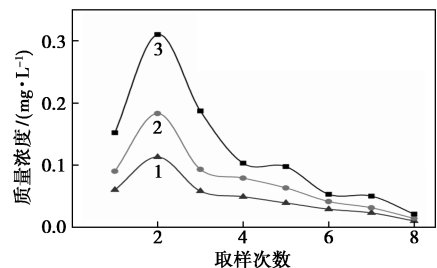
在不同抗生素污染物质量分数下,强力霉素在土柱中各土层渗滤液质量浓度随时间的变化情况如图 3 所示。



(a) 初始污染物质量分数为 30 mg/kg



(b) 初始污染物质量分数为 40 mg/kg



(c) 初始污染物质量分数为 60 mg/kg

1—0~30 cm 渗滤液质量浓度;2—30~60 cm 渗滤液质量浓度;  
3—60~90 cm 渗滤液质量浓度

图 3 不同土层渗滤液在不同初始质量分数下的质量浓度(DC)

从图 3 中可以看出,与金霉素各土层渗滤液的变化相似,先快速达到一个峰值又慢慢降低直至平衡。强力霉素(DC)土层渗滤液中抗生素浓度也表现为表土层>中土层>底土层。且随着 TCs 初始质量浓度的升高,同一土层渗滤液中抗生素浓度明显增多。当初始污染质量分数为 30 mg/kg 时,表土层在第 1 次取样时所检测到的质量浓度为 0.394 mg/L,随后在第 2 个取样点处即达到了最大值,为 0.81 mg/L;当初始质量分数为 40、60 mg/kg 时,也表现出了同样的规律,表土层在第 1 次取样时所检测到的渗滤液质量浓度为 0.558、0.651 mg/L,最大值分别为 1.16、1.33 mg/L。从各土层的淋出量来看,说明 DC 在土壤中较 CTC 容易向下迁移至下层土壤。这与张旭<sup>[14]</sup>的研究结果一致。在 4 种四环素类抗生素中,强力霉素在土柱中的移动性最强,其次是金霉素。原因为强力霉素旁边苯环上的羟基的缺失使其较为稳定,水溶性大于其他 TCs,而且也不易于与 Ca<sup>2+</sup> 在內的二价或者三价离子反应<sup>[15]</sup>,土壤对其吸附作用被削弱,使其比 CTC 易随着淋溶液及土壤间隙水向下淋溶。

从生态毒理学的角度来看,抗生素在渗滤液和地下水中的浓度更为相关。因为在渗滤液及地下水中,抗生素质量浓度若超过 0.1 μg/L,则需对其进行风险评估预算<sup>[16]</sup>。

从 DC 与 CTC 在各土层的渗滤液质量浓度的变化规律来看,DC 在第 2 个取样点出现了峰值,而 CTC 在第 3 个取样点达到了峰值,这也说明了 DC 具有更强的迁移性。

### 3 结论

通过不同质量浓度的 TCs 在不同剖面土壤中的土柱淋溶实验,得出如下结论:

(1) 2 种 TCs 在土柱中均有一定的迁移性,且大部分残留于表层土壤,随着土层深度的增加,抗生素残留浓度呈现依次递减的规律。在同一土层金霉素的残留浓度>强力霉素。

(2) 各土层渗滤液中,均呈现先快速达到峰值随后渐渐降低直至平衡的趋势。渗滤液的浓度变化为表土层>中土层>底土层。浓度越大,渗滤液中的浓度也随之增大。

(3) 抗生素初始质量浓度升高,相应的土壤残留浓度与淋出液浓度也随之增大。其在土壤中的淋

溶特性与剖面土壤的理化性质及抗生素自身性质密切相关。

### 参考文献

- [1] Xiang L, Wu X L, Jiang Y N, *et al.* Occurrence and risk assessment of tetracycline antibiotics in soil from organic vegetable farms in a subtropical city, south China [J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2016, 23(14): 13984-13995.
- [2] 王瑞, 魏源送. 畜禽粪便中残留四环素类抗生素和重金属的污染特征及其控制[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(9): 1705-1719.
- [3] Carballo M, Fernando Esperón, Carlos Sacristán, *et al.* Occurrence of tetracycline residues and antimicrobial resistance in gram negative bacteria isolates from cattle farms in Spain [J]. *Advances in Bioence and Biotechnology*, 2013, 4(2): 295-303.
- [4] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [5] 郑顺安, 郑向群, 张铁亮, 等. 污染紫色土重金属的淋溶特征及释放动力学研究[J]. *水土保持学报*, 2011, 25(4): 253-256.
- [6] Guptal D S. Antibiotic losses in leaching and surface runoff from manure-amended agricultural land [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2008, 37(3): 1227-1237.
- [7] 汪仙仙, 张洪昌, 沈根祥, 等. 典型磺胺类抗生素在稻田土中的纵向迁移[J]. *环境化学*, 2018, 37(8): 1746-1754.
- [8] 张从良, 王岩, 王福安. 磺胺类药物在土壤中的微生物降解[J]. *农业环境科学学报*, 2007, 26(5): 1658-1662.
- [9] 李鑫, 王东升, 张婷. 土霉素和金霉素在土壤中的吸附-解吸行为[J]. *地球环境学报*, 2015, (5): 317-322.
- [10] Yin C Y, Luo Y M, Teng Y, *et al.* Pollution characteristics and accumulation of antibiotics in typical protected vegetable soils [J]. *Huanjing Kexue*, 2012, 33(8): 2810-2816.
- [11] Alvarez E C, Conde C M, Fernandez C D, *et al.* Adsorption-desorption of doxycycline in agricultural soils: Batch and stirred-flow-chamber experiments [J]. *Environmental research*, 2020, 186: 109565.
- [12] 何利文, 石利利, 孔德洋, 等. 呋喃丹和阿特拉津在土柱中的淋溶及其影响因素[J]. *生态与农村环境学报*, 2006, 22(2): 71-74.
- [13] 李美兰. 三种典型抗生素在凹凸棒土中的吸附行为研究[D]. 南京: 南京大学, 2012.
- [14] 张旭. 典型抗生素在土壤中的淋滤行为研究[D]. 广州: 暨南大学, 2012.
- [15] 李蓝青. 肥料中四环素类抗生素的检测方法及其在土壤中的降解与作物吸收效应[D]. 上海: 上海交通大学, 2016.
- [16] Anne Ostermann, Jan Siemens, Gerhard Welp, *et al.* Leaching of veterinary antibiotics in calcareous Chinese croplands [J]. *Chemosphere*, 2013, 91(7): 928-934. ■