

## 安徽省菜地土壤中 3 种磺胺类抗生素的残留调查

陈海燕, 樊 霆, 叶文玲, 鲁洪娟, 花日茂\*

(安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

**摘 要:** 采集安徽省 9 个县市共 76 份菜地土壤样品, 利用高效液相色谱-荧光检测器分析样品中磺胺嘧啶(SDZ)、磺胺二甲嘧啶(SM2)和磺胺甲恶唑(SMZ)等 3 种磺胺类抗生素(SAs)的残留情况。结果表明, SDZ、SM2 和 SMZ 的检出率分别为 6.58%、67.11% 和 51.32%, 平均含量分别为 0.26、5.41 和 2.58  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 其中磺胺二甲嘧啶的检出率和平均含量均为最高。近期施有机肥的土壤中 3 种 SAs 的总含量明显高于近期未施肥的土壤。9 个地区间菜地土壤的磺胺嘧啶的平均含量无显著差异, 但磺胺二甲嘧啶和磺胺甲恶唑的平均含量在不同地区菜地土壤中存在显著差异。3 种 SAs 总平均含量以六安地区最高, 蒙城地区最低。菜地中施用的有机肥质量需得到重视。

**关键词:** 菜地; 土壤; 磺胺类抗生素

中图分类号: X53

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2014)03-0474-05

### Investigation of three sulfonamides in soils from vegetable lands of Anhui Province

CHEN Haiyan, FAN Ting, YE Wenlin, LU Hongjuan, HUA Rimao

(School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

**Abstract:** Seventy-six soil samples were collected from different vegetable lands in Anhui province, and the residues of three sulfonamides including sulfadiazine(SDZ), sulfamethazine(SM2) and sulfamethoxaz(SMZ) in the soils were determined by HPLC with fluorimetric detector. The results revealed that detectable percentages of SDZ, SM2 and SMZ were 6.58%, 67.11% and 51.32%, respectively, and the average concentrations were 0.26, 5.41 and 2.58  $\mu\text{g}/\text{kg}$  for the SDZ, SM2 and SMZ, correspondingly. Both detectable percentage and average concentration of SM2 are highest. The total concentration of three SAs was higher in the soils applied with manure than in the soils not applied with manure recently. Average concentration of SDZ had not significant difference in all samples, but SM2 and SMZ were on the contrary. The highest average SAs concentration of soil samples was from Lu'an, and the minimum average concentration of soil samples was from Mengcheng. This paper proposes application method of organic fertilizer in vegetable lands should not be neglected.

**Key words:** vegetable lands; soils; sulfonamides

长期以来, 抗生素被广泛地应用于动物疾病治疗和预防, 其可促进动物生长, 降低饲养成本。在养殖业中, 抗生素通常作为动物饲料添加剂以亚剂量治疗长期添加到动物饲料中, 有 60%~90% 的药物以原形或代谢物形式随动物粪便排出<sup>[1]</sup>, 进入生态环境, 对环境生物和安全产生危害<sup>[2-4]</sup>。在我国, 菜地土壤施用粪肥较为普遍, 通过粪肥带入土壤中的磺胺类药物可以在土壤中残留较长时间, 继而成为作物及其他环境介质中磺胺类药物残留的重要来

源<sup>[5]</sup>。至今为止, 国内对于土壤中磺胺类抗生素的残留及污染特征了解较少<sup>[6-8]</sup>, 因此有必要加强这方面的研究, 为农地土壤抗生素污染治理和保障蔬菜农产品质量安全提供科学依据和指导。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器与试剂

1200 高效液相色谱仪-荧光检测器 (美国 Agilent 公司), 配自动进样器; 循环水式多用真空

收稿日期: 2014-03-03

基金项目: 安徽省教育厅自然科学重点项目 (KJ2012A125) 和安徽省国土资源科技项目 (2012-K-12) 共同资助。

作者简介: 陈海燕, 实验师。E-mail: chy@ahau.edu.cn

\* 通信作者: 花日茂, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: rimaohua@ahau.edu.cn

泵 (上海知信实验仪器技术有限公司); EYELA 旋转浓缩仪 (上海爱郎仪器有限公司); 中佳 SC-3612 低速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司); SHA-C 数显水浴恒温振荡器 (金坛市江南仪器厂); KQ-5200 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); DHG-9070A 型电热鼓风干燥箱 (上海一恒科技有限公司); pHs-25 酸度计 (上海雷磁); 艾科浦 AYJ1-100Z-U 超纯水系统。

抗生素标准品: 磺胺嘧啶 (sulfadiazine, SDZ)、磺胺二甲嘧啶 (sulfamethazine, SM2)、磺胺甲噁唑 (sulfamethoxazole, SMZ), 均购自 Sigma 公司, 纯度  $\geq 99\%$ ; 荧光胺 (Fluorescamine) 购自 Alfa Aesar 公司; 甲醇、乙腈、丙酮均为 HPLC 级, 购自 TEDIA 公司; 二氯甲烷为优级纯, 购自天津四友公司; 乙酸、盐酸、乙酸钠等均为分析纯; 实验用水为超纯水。

抗生素标准溶液: 准确称取 0.0100 g 抗生素标准品溶于 10 mL 甲醇, 配置成  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的标准母液, 冷藏保存。

0.02% 荧光胺丙酮溶液配制: 准确称取 5 mg 荧光胺, 用丙酮溶解定容至 25 mL, 冷藏保存。

$0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  乙酸钠溶液配制: 准确称取乙酸钠 4.92 g, 用约 90 mL 水溶解, 用  $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸调 pH 到 3.0, 用水定容至 100 mL。

## 1.2 样品的采集和制备

从安徽省 9 个地区采集了 76 块菜地土壤样品, 共计 76 份土样。采样地的土壤类型包括近 3 个月施过有机肥的和近 3 个月未施有机肥的。根据各地区菜地的分布状况和周边环境, 采样时沿一定的线路, 按照随机、等量、多点混合的原则, 在每块菜地内采集多个土壤样品进行混合, 每个混合样由 6~8 个分样点组成。采集的土壤样品为表层 (耕作层), 深度为 0~20 cm, 采样时避开菜地边缘、作物根部和刚施肥的点。将 6~8 个采样点土壤混合均匀, 取 1.0 kg 左右置于托盘内, 再按四分法取 0.5 kg 左右装入采样袋, 封住袋口。带回实验室后将样品平铺在托盘中, 置于干净整洁的室内自然风干, 磨细后过 60 目筛备测。

## 1.3 HPLC 检测方法

**1.3.1 检测仪器** 荧光检测器, Hypersil ODS 色谱柱 ( $0.46\times 250 \text{ mm}$ ,  $5 \mu\text{m}$ ), Agilent 化学工作站。

**1.3.2 检测条件** 本实验选择乙腈和 0.5% 醋酸作为流动相, 采用梯度洗脱。梯度洗脱条件: 0 min, 乙腈: 0.5% 醋酸=30: 70, 10 min, 乙腈: 0.5% 醋酸=55: 45, 流速  $1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ; 检测波长  $\text{Ex}=405 \text{ nm}$ ,  $\text{Em}=495 \text{ nm}$ 。柱温:  $30^\circ\text{C}$ ; 进样体积  $20 \mu\text{L}$  [9]。

## 1.4 土壤样品预处理

准确称取 2 g 样品置于 50 mL 离心管中, 加入  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液 10 mL [10], 振荡、超声提取各 10 min, 离心 5 min ( $4000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ ), 收集上清液, 残渣再重复提取 2 次, 合并上清液, 加入 10 mL 二氯甲烷萃取, 收集有机相, 水相再重复萃取 2 次, 合并有机相, 浓缩至干, 衍生化后测定。

## 1.5 衍生化方法

本研究采用柱前衍生化处理, 向浓缩瓶中准确加入 5 mL  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  盐酸溶解。过  $0.45 \mu\text{m}$  滤头, 准确吸取 0.5 mL 至进样瓶中, 加  $0.6 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  乙酸钠缓冲溶液 (用  $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 调节 pH3) 0.5 mL, 再加 0.2 mL 0.02% 荧光胺溶液。衍生化 30 min (水浴  $18^\circ\text{C}$ ), HPLC 测定 [9]。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线的绘制

将 3 种标准品母液用  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的盐酸稀释, 配制成浓度为 0.01、0.02、0.05、0.1 和  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的混合标准系列溶液, 按样品衍生化方法衍生化后 HPLC 测定, 绘制标准曲线, 相关系数均大于 0.9995, 符合实验要求。

### 2.2 添加回收实验

向 2 g 空白土壤样品中分别添加浓度为 0.005、0.02、0.1 和  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的 SAs 标准工作溶液, 得到 4 种不同浓度 SAs 的添加回收率。结果表明, 土壤样品中 3 种磺胺类抗生素添加浓度为  $2.5\sim 500 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  时, SDZ 的平均回收率为 74.17%~95.47%, 相对标准偏差 (RSD) 为 3.25%~9.71%; SM2 的平均回收率为 75.00%~79.29%, RSD 为 4.36%~9.56%; SMZ 的平均回收率为 77.78%~104.35%, RSD 为 3.98%~8.01%。该方法对 4 种不同浓度的添加回收率基本都高于 75%, 具有较高的准确性。RSD 均小于 10%, 具有较高的精密度。以 3 倍信噪比求得 3 种磺胺类抗生素的仪器检出限为  $1.32\sim 2.05 \text{ ng}$ , 根据最小添加水平, 由添加回收实验得知在土样中的检出限为  $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。见表 1。

结果表明该方法具有较高的准确度和精密度, 能够满足土壤样品中磺胺类药物残留分析的要求。

### 2.3 菜地土壤磺胺类抗生素残留及污染特征分析

从表 2 可知, 9 个地区的菜地土壤中均有磺胺类抗生素检出。SDZ 的含量范围在  $0\sim 6.73 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , SM2 的含量范围  $0\sim 34.17 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , SMZ 的含量范围是  $0\sim 12.21 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。3 种 SAs 的总含量范围是  $0\sim 35.35 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。76 个土样中, SDZ 的检出率最低,

仅为 6.58%，SM2 和 SMZ 的检出率分别为 67.11% 和 51.32%。在所有的土样中，SDZ、SM2 和 SMZ 的平均含量分别为 0.26、5.41 和 2.58  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，其中，SM2 的平均含量最高，SDZ 的平均含量最低。3 种抗生素总量的平均值为 7.99  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

结果表明，近期施用过有机肥的蔬菜地，有 67.86% 土样中 3 种 SAs 的总含量在 0~10  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  之间，19.64% 的土样其总含量在 10~20  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  之间，有 12.5% 的土样其总含量大于 20  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ；SDZ、SM2

和 SMZ 的平均含量分别为 0.35、6.70 和 2.81  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，而近 3 个月未施有机肥的蔬菜地，土样中 3 种 SAs 的总含量主要集中在 0~10  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，占有样品的 95%，3 种磺胺类抗生素残留总量全部在 20  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  以下；SDZ、SM2 和 SMZ 的平均含量分别为 0、1.81 和 1.93  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。总体上，近 3 个月施用过有机肥的蔬菜地土壤中 3 种 SAs 的总量和平均含量都明显高于未施用有机肥的蔬菜地土壤（见图 1）。

表 1 土壤中 3 种磺胺类抗生素的加标回收率

Table 1 Recoveries of three SAs in the soil ( $n=5$ )

添加水平/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ Added level	平均回收率/% RSD Average recovery		
	SDZ	SM2	SMZ
2.5	95.47/3.81	79.29/6.71	104.35/8.01
10	74.17/9.71	75.00/9.56	78.67/5.35
50	78.97/6.05	79.10/7.60	77.78/6.80
500	77.27/3.25	78.95/4.36	84.00/3.98

表 2 安徽省不同地区菜地土壤中 3 种 SAs 含量

Table 2 Contents of 3 SAs in vegetable soils from different cities of Anhui Province

地区 Region	种植作物 Planted crop	近 3 个月是否 施加有机肥	SDZ	SM2	SMZ	$\Sigma$ SAs $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
桐城 Tongcheng	豆角 Greenbean	否 No	ND	4.70	2.74	7.44
	豆角 Greenbean	是 Yes	ND	14.92	4.61	19.53
	茄子 Eggplant	否 No	ND	ND	5.05	5.05
	茄子 Eggplant	是 Yes	ND	2.84	7.92	10.76
	毛豆 Soybean	否 No	ND	11.87	2.85	14.72
	毛豆 Soybean	是 Yes	ND	13.59	5.94	19.53
宿松 Susong	苋菜 Amaranth	是 Yes	ND	4.59	ND	4.59
	韭菜 Chinese chives	是 Yes	ND	5.12	ND	5.12
	辣椒 Chilli pepper	是 Yes	ND	3.56	3.42	6.98
	四季豆 Kidney bean	是 Yes	ND	ND	2.76	2.76
	空心菜 Water spinach	是 Yes	ND	5.58	7.32	12.9
	丝瓜 Loofah	是 Yes	ND	ND	ND	0
临泉 Linquan	丝瓜 Loofah	否 No	ND	ND	ND	0
	丝瓜 Loofah	是 Yes	ND	4.57	3.18	7.75
	豆角 Greenbean	否 No	ND	ND	ND	0
	豆角 Greenbean	是 Yes	ND	4.04	ND	4.04
	辣椒 Chilli	否 No	ND	ND	3.84	3.84
	辣椒 Chilli	是 Yes	ND	3.77	2.85	6.62
庐江 Lujiang	青菜 Green vegetable	是 Yes	ND	ND	ND	0
	莴笋 Asparagus lettuce	是 Yes	ND	3.53	ND	3.53
	洋葱 Onion	是 Yes	ND	4.72	ND	4.72
	雪里蕻 Potherb mustard	是 Yes	ND	2.69	ND	2.69
	蚕豆 Broad bean	是 Yes	ND	4.37	ND	4.37
	大白菜 Chinese cabbage	是 Yes	ND	ND	4.94	4.94
	菠菜 Spinach	是 Yes	ND	2.53	ND	2.53
	卷心菜 Cabbage	是 Yes	ND	ND	ND	0
	香菜 Caraway	是 Yes	ND	ND	ND	0
	大蒜 Garlic	是 Yes	ND	ND	3.65	3.65
	豌豆 Pea	是 Yes	ND	7.27	ND	7.27

续表 2 Continued table 2

蒙城 Mengcheng	西红柿 Tomato	是 Yes	ND	2.71	ND	2.71	
	辣椒 Chilli pepper	否 No	ND	ND	2.74	2.74	
	辣椒 Chilli pepper	是 Yes	ND	ND	ND	0	
	黄瓜 Cucumber	是 Yes	ND	3.24	2.96	6.2	
泾县 Jingxian	空心菜 Water spinach	否 No	ND	ND	2.96	2.96	
	青菜 Green	是 Yes	ND	5.63	8.59	14.22	
	青菜 Green	否 No	ND	ND	4.50	4.5	
	豆苗 Bean seedling	是 Yes	ND	4.24	4.26	8.5	
	花生 Peanut	是 Yes	ND	3.62	ND	3.62	
	棉花 Cotton	否 No	ND	ND	ND	0	
	韭菜 Chinese chives	是 Yes	ND	10.27	5.63	15.9	
	大蒜 Garlic	是 Yes	ND	5.20	ND	5.2	
	土豆 Potato	是 Yes	ND	ND	ND	0	
	长丰 Changfeng	茄子 Eggplant	是 Yes	ND	30.85	4.50	35.35
大蒜 Garlic		是 Yes	4.18	5.50	ND	5.5	
小白菜 Pakchoi		是 Yes	ND	ND	7.37	7.37	
大葱 Green Chinese onion		否 No	ND	2.76	ND	2.76	
韭菜 Chinese chives		是 Yes	ND	13.11	3.58	16.69	
苋菜 Amaranth		否 No	ND	3.74	ND	3.74	
莴笋 Asparagus lettuce		是 Yes	2.54	5.37	ND	5.37	
香菜 CAraway		是 Yes	ND	ND	ND	0	
菠菜 Spinch		否 No	ND	ND	5.73	5.73	
生菜 Lettuce		是 Yes	ND	5.27	3.96	9.23	
韭菜 Chinese chives		是 Yes	ND	16.25	4.39	20.64	
瓠子 Club bottle gourd fruit		是 Yes	ND	6.47	ND	6.47	
蚕豆 Broad bean		是 Yes	6.73	16.97	8.33	25.3	
六安 Lu'an		茼蒿 Crowndaisy chrysanthemum	是 Yes	3.15	4.42	3.85	8.27
		葱 Green Chinese onion	是 Yes	ND	ND	7.46	7.46
		大蒜 Garlic	是 Yes	ND	26.47	6.68	33.15
	萝卜 Radish	是 Yes	ND	7.38	ND	7.38	
	油菜 Rape	是 Yes	ND	2.65	ND	2.65	
	辣椒 Chilli pepper	是 Yes	ND	ND	ND	0	
	红薯 Sweet potato	是 Yes	ND	34.17	ND	34.17	
	空心菜 Water	否 No	ND	ND	3.62	3.62	
	空心菜 Water	是 Yes	ND	13.59	12.21	25.8	
	香菜 CAraway	否 No	ND	2.89	ND	2.89	
	豌豆 Pea	否 No	ND	3.23	ND	3.23	
南陵 Nanling	卷心菜 Cabbage	是 Yes	ND	21.68	3.46	25.14	
	蚕豆 Broad bean	否 No	ND	ND	ND	0	
	荠菜 Shepherd's purse	是 Yes	ND	12.34	7.23	19.57	
	葱 Green Chinese onion	是 Yes	3.25	11.37	5.96	17.33	
	大蒜 Garlic	是 Yes	ND	5.64	4.79	10.43	
	茼蒿 Crowndaisy chrysanthemum	是 Yes	ND	3.36	ND	3.36	
	青菜 Green	否 No	ND	4.19	ND	4.19	
	萝卜 Radish	是 Yes	ND	9.65	5.28	14.93	
	黄豆 Soybean	否 No	ND	ND	4.61	4.61	
	菠菜菠菜 Spinch	否 No	ND	2.86	ND	2.86	
平均值 Average			0.26	5.41	2.58	7.99	
检出率 Detection rate			6.58%	67.11%	51.32%		

注: 表中 ND 为低于检测限。

Note: ND in the table means not detected. 最近 3 个月是否施加有机肥, Organic fertilizer addition or not in recent 3 months.

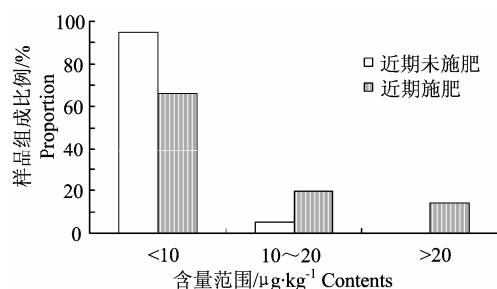


图1 未施肥菜地和施肥菜地土壤中3种SAs总含量分布特征  
Figure 1 Distribution of total concentrations of 3 SAs in soils from vegetable fields

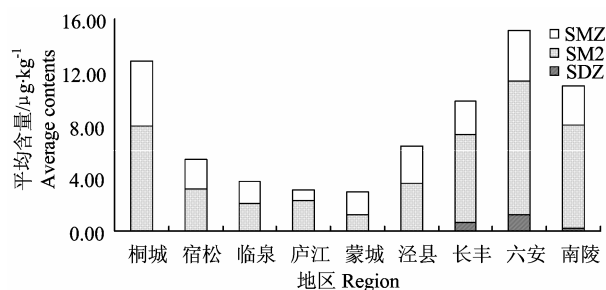


图2 安徽省9个地区菜地土壤中3种SAs的平均含量  
Figure 2 Contents of 3 SAs in soils from vegetable fields from 9 cities of Anhui Province

由图2可以看出,在所有地区当中,六安地区土样中SDZ和SM2的平均含量均为最高,3种SAs的总平均含量也最高,桐城地区土样中SMZ的平均含量最高。桐城、宿松、临泉、庐江、蒙城、泾县地区均未检出SDZ。9个地区的SAs总平均含量高低顺序为:六安>桐城>南陵>长丰>泾县>宿松>临泉>庐江>蒙城。

DPS差异显著性分析表明,安徽省不同地区菜地土壤中SDZ平均含量无显著差异;六安土样SM2平均含量与蒙城存在显著差异,其他地区之间差异不显著;桐城土样中SMZ平均含量与庐江土样存在显著差异,其他地区之间不存在显著性差异。

### 3 结论

安徽省菜地土壤中均有磺胺类抗生素检出,SDZ的检出率最低,为6.58%,SM2和SMZ的检出率均超过50%,SDZ、SM2和SMZ的平均含量分别为0.26、5.41和2.58  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。综合检出率和残

留含量等因素,3种SAs中SDZ在土壤中的残留量较少,而SM2在土壤中的污染较为严重。

近期施过有机肥的蔬菜地土壤中,SDZ、SM2和SMZ的平均含量分别为0.35、6.70和2.81  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。而近期未施肥的蔬菜地土壤中,SDZ、SM2和SMZ的平均含量分别为0、1.81和1.93  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。近期施肥的菜地土壤中3种SAs的平均含量均明显高于近期未施肥的土壤。

安徽省9个地区菜地土壤中SDZ平均含量无显著差异,SM2和SMZ的平均含量在不同地区菜地土壤中存在显著差异。六安地区3种SAs总平均含量最高,蒙城地区3种SAs总平均含量最低。

### 参考文献:

- [1] Halling-Serensen B, Nors-Nielsen S, Lanzky P F, et al. Occurrence fate and effects of pharmaceutical substances in the environment: a review[J]. Chemosphere, 1998, 36: 357-393.
- [2] 刁晓平,孙英健,孙振钧,等.磺胺二甲基嘧啶对土壤微生物活动的影响[J].农业环境科学学报,2005,24(4): 694-697.
- [3] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants[J]. Chemosphere, 2003, 52: 1233-1244.
- [4] Liu F, Ying G G, Tao R, et al. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities[J]. Environmental Pollution, 2009, 157(5): 1636-1642.
- [5] Li, Y W, Mo C H, Zhao N, et al. Determination of sulfonamides antibiotics in water and soil using high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2008, 36(7): 954-958.
- [6] 李彦文,莫测辉,赵娜,等.菜地土壤中磺胺类和四环素类抗生素污染特征研究[J].环境科学,2009,30(6): 1762-1766.
- [7] 陈海燕,花日茂,李学德,等.不同类型菜地土壤中3种磺胺类抗生素污染特征研究[J].安徽农业科学,2011,23: 14224-14226; 14229.
- [8] 尹春艳,骆永明,滕应,等.典型设施菜地土壤抗生素污染特征与积累规律研究[J].环境科学,2012,33(8): 2810-2816.
- [9] 李学德,鲜啟明,刘红玲,等.高效液相色谱-荧光检测法同时测定蔬菜中3种磺胺类药物残留[J].分析化学,2010,38(3): 429-433.
- [10] 文春波.磺胺嘧啶在土壤中的迁移和降解研究[D].郑州:郑州大学,2007.