

# 南京典型设施菜地有机肥和土壤中四环素类抗生素的污染特征调查<sup>①</sup>

罗 凯<sup>1,2</sup>, 李文红<sup>1</sup>, 章海波<sup>2,4</sup>, 黄玉娟<sup>2</sup>, 马婷婷<sup>2</sup>,  
吴龙华<sup>2\*</sup>, 刘鸿雁<sup>1,3</sup>, 骆永明<sup>2,4</sup>

(1 贵州大学农学院, 贵阳 550025; 2 中国科学院南京土壤研究所土壤环境与污染修复重点实验室, 南京 210008; 3 贵州大学资源与环境工程学院, 贵阳 550003; 4 中国科学院烟台海岸带研究所海岸带环境过程重点实验室, 山东烟台 264003)

**摘要:** 在南京市范围内采集谷里村、锁石村和东庐村 3 个地区的典型设施菜地有机肥及土壤样品, 并利用超声波提取, 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱分析的方法测定了其中的四环素、土霉素、金霉素和强力霉素等 4 环素类抗生素。结果表明, 采集的有机肥和土壤样品中四环素类抗生素均被检测出, 其浓度以土霉素为最高, 四环素和强力霉素其次, 金霉素浓度较低。在调查的 3 个地区中, 谷里村的有机肥中四环素类抗生素浓度最高, 锁石村其次, 东庐村则相对较低, 各地区抗生素总量范围分别在 126~8 071、266~3 326 和 339~373  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 平均浓度分别为 2 152、1 188 和 356  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 不同种类的有机肥中抗生素的浓度差异很大, 其中人畜粪便的抗生素总量为 371~7 820  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 而对 3 个地区土壤中四环素类抗生素浓度的分析结果表明, 谷里村仍为最高, 总量范围为 18.4~483  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。由此可见, 施用含有四环素类抗生素的有机肥已对土壤环境造成一定的威胁, 有机肥农用的潜在问题应当引起关注。

**关键词:** 设施菜地; 有机肥; 四环素抗生素; 污染特征

**中图分类号:** X53

抗生素(antibiotics) 除用于预防和治疗人类疾病外, 在畜牧业和水产养殖业中也发挥着重要作用, 大量用于动物疾病的治疗, 也作为生长促进剂加快牲畜及水产品的生长<sup>[1]</sup>。据调查, 美国每年生产 16 000 t 的抗生素, 其中 70% 用于畜禽的生长促进剂<sup>[2]</sup>; 在丹麦, 1997 年消耗抗生素总量为 150 t, 其中 100 多 t 用于畜禽的生长促进剂<sup>[3]</sup>。研究表明, 抗生素摄入后除少部分残留在生物体内, 约有 60%~90% 以原药和代谢产物的形式经由动物粪尿排出体外<sup>[4]</sup>, 某些抗生素甚至高达 95%<sup>[5-6]</sup>, 随后通过各种途径进入到环境中<sup>[7-8]</sup>; 动物用抗生素造成猪粪、鸡粪等禽畜粪中抗生素浓度普遍较高<sup>[9]</sup>。对我国 7 省市区典型规模化养殖场猪粪中四环素、金霉素、土霉素残留量的调查结果显示, 三者平均浓度分别高达 122、78.6 和 135  $\text{mg}/\text{kg}$ <sup>[10]</sup>。含有抗生素有机肥的施用会直接造成土壤污染<sup>[11]</sup>, 从而危及农产品安全。我国规模化养殖场每年畜禽粪便产量高达 17.3 亿 t, 其中 80% 以上

未经综合处理而直接施于农田<sup>[12-13]</sup>。在设施蔬菜生产过程中, 某些地区有机肥施用量占总施肥量的 61%~88%<sup>[14]</sup>。可见, 有相当比例的兽药抗生素以母体药物或代谢产物的形式通过禽畜粪便等进入土壤, 并由于此类有机肥的施用在土壤中长期滞留, 从而对土壤环境产生潜在威胁<sup>[13]</sup>。

四环素类抗生素(tetracyclines, TCs) 因其成本低廉、使用方便和副作用相对较小等特点, 而成为一种常见的畜禽饲用抗生素。研究表明, 难降解、易吸附的四环素类抗生素可以通过食物链传输, 尤其是含四环素的人畜粪便作为有机肥料施用于设施农田时, 可能导致抗生素随食物链积累的风险<sup>[15]</sup>。随着四环素类抗生素的大量使用, 残留的抗生素通过未经综合处理的有机肥施入土壤, 造成了其在土壤环境中的广泛残留以及较高的生态与环境安全风险<sup>[8]</sup>。

设施农业是通过采用现代农业工程和机械技术, 改变自然环境, 为动、植物生产提供相对可控制甚至

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41271326; 40930739) 和环保公益性行业科研专项项目 (201109018) 资助。

\* 通讯作者(lhwu@issas.ac.cn)

作者简介: 罗凯(1988—), 男, 湖北襄阳人, 硕士研究生, 主要从事土壤污染与植物修复研究。E-mail: kookay8@gmail.com

最适宜的温度、湿度、光照、水和肥等环境条件,而在一定程度上摆脱对自然环境的依赖进行有效生产的农业,具有高投入、高技术含量、高品质、高产量和高效益等特点,是最有活力的农业新型产业<sup>[16]</sup>。但设施农业因其生产处于半封闭状态,且具有有机肥投入量大、温度高、湿度大、光照弱等特点,更易造成抗生素在土壤中的积累及其有效性增加,从而对设施土壤的生态环境造成潜在的负面影响。为了解典型设施农业生产基地菜地中的四环素类抗生素污染现状,本研究采用高效液相色谱-串联质谱方法对南京市 3 个不同地区的典型设施基地的菜地施用的典型有机肥及相应设施土壤样品进行分析,旨在为我国设施农业施用的有机肥及设施菜地土壤中的四环素类抗生素的污染特征提供基础数据,对其在环境中的污染风险和生态毒性评价等进一步研究具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 药品试剂** 甲醇(色谱纯)和甲酸(分析纯, > 98%) 购自德国 Merck 公司;乙腈(色谱纯) 购自美国 Tedia 公司;四环素、土霉素、金霉素、强力霉素等 4 种抗生素标准品购自德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;实验用水均为超纯水。

**磷酸盐/EDTA 缓冲液配制:** 配制 0.1 mol/L 的磷酸溶液和 0.1 mol/L 的磷酸二氢钠溶液,并按 12 : 88 (v : v) 的比例混合成磷酸盐缓冲液,以 0.1 mol/L 的 HCl 调节 pH 为 3.0,再称取 80 g Na<sub>2</sub>EDTA 添加到 1 L 磷酸盐缓冲液中制备成磷酸盐/EDTA 缓冲液,并按 1 : 1 (v : v) 的比例与乙腈混合备用。

**硝酸镁/氨水混合溶液配制:** 称取 50 g Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 溶于 100 ml 超纯水,随后以 96 : 4 (v : v) 的比例与 2.5% 的氨水混合。此混合溶液需要在使用之前即时配制。

**抗生素标准溶液:** 分别准确称取适量的四环素、土霉素、金霉素和强力霉素标准物质,以甲醇配成 100 mg/L 的标准储备液, -20℃ 避光存放;从上述 4 种储备液中准确吸取 0.1 ml 于 10 ml 容量瓶中,用甲醇定容,配成 1.0 mg/L 的 4 种抗生素混合标准溶液,并用甲醇逐级稀释制备成 5 ~ 500 μg/L 标准工作液, 4℃ 避光存放。

**1.1.2 仪器设备** 4 种抗生素的分析采用 AB Sciex (LC20AD-API3200MS/MS) 高效液相色谱/串联质谱仪;样品干燥采用 Labconco 冷冻干燥机;固相萃取使用 CNW 固相萃取装置及 Waters Oasis HLB 500 mg 6 ml 固相萃取柱;实验用品清洗采用 KQ 600VDE 三

频数控超声波清洗器;样品浓缩使用 Anpel 氮吹仪;样品过滤采用 Anpel 公司的 PTFE 针式滤器。

### 1.2 样品采集与前处理

有机肥及土壤样品采自位于南京市江宁区的谷里村和锁石村的设施菜地,以及位于江宁区南部的溧水县永阳镇东庐村的有机农场,其中谷里村和锁石村均为南京农业科技示范园区,东庐村的有机农场为有机农业示范基地。所选样地包括露天、大棚以及露天/大棚轮作等形式,传统露天蔬菜地不属于设施蔬菜地,本研究采集的部分露天菜地样品前茬以覆盖大棚的形式进行农业生产,揭棚之后仍作为菜地种植,因此露天生产方式是短期的。3 个采样地区的设施大棚以种植蔬菜瓜果为主,其规模化经营技术经验均较为成熟,同时有机肥施用量较高。其中商品有机肥和饼肥均为农户就近购买,均无相应厂家的详细信息。本研究共采集 16 个有机肥样品,其中 6 个为商品有机肥,8 个为人畜粪便,2 个为饼肥;在研究区(区内土壤类型为黄棕壤)共采集 66 个土壤样品,按照设施基地划分分别为谷里村 25 个,锁石村 18 个,东庐村 23 个;按土壤种植年限、蔬菜作物类型和土壤耕作类型等划分,66 个土壤样品的具体信息见表 1。

采样时,每个大棚(或露天菜地)内随机取 5 个点进行采集,最后将 5 个点的样品混合均匀,按四分法缩减样品至每份 250 g 左右,然后带回实验室,进行真空冷冻干燥(48 ~ 72 h)。用研钵将冻干后的样品磨碎,使其颗粒均匀分布,过 60 目网筛后将样品储存在棕色玻璃瓶中, 4℃ 条件下避光保存,待后续抗生素浓度的分析。

样品前处理及测定条件按照参考文献[17]的方法:准确称取 2.0 g 土壤样品(或 0.2 g 有机肥样品)于 50 ml 棕色玻璃离心瓶中,加入磷酸盐/EDTA 缓冲液 15 ml、硝酸镁/氨水混合溶液 5 ml,涡旋 1 min,超声提取 15 min, 5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液。再按照上述方法重复提取 2 次,合并提取液,用滤膜 (0.45 μm) 过滤后超纯水稀释至 500 ml。固相萃取时,预先用 10 ml 甲醇和 10 ml 超纯水对 HLB 固相萃取柱进行活化,然后使提取液以 3 ~ 5 ml/min 的流速上柱,进行萃取富集。富集完毕后,用 10 ml 超纯水淋洗小柱,并用氮气吹干 20 min,除去柱中残留水分,之后用含 0.1%甲酸的甲醇溶液进行洗脱,收集的洗脱液在氮吹仪上吹至近干,再用含 0.1%甲酸的甲醇溶液定容至 1 ml,涡旋混匀后经 0.22 μm 针式滤器过滤至 2 ml 棕色小样品瓶中,待测。

表 1 不同地区设施菜地土壤样品的采集信息  
Table 1 Detailed information of soil samples in three protected vegetable areas

谷里村 (25 个)			锁石村 (18 个)			东庐村 (23 个)		
种植年限(年)	作物类型	耕作类型	种植年限(年)	作物类型	耕作类型	种植年限(年)	作物类型	耕作类型
5	辣椒	大棚	12	茼蒿	大棚	6~7	西红柿	大棚
3	青菜	露天	10	草莓	大棚	3	四季豆	露天
5	番茄	大棚		上海青	露天	10	包菜	大棚
12	茼蒿	大棚	7~8	苦菊	大棚	10	矮脚黄	大棚
12	小青菜	大棚	2	油菜	大棚	10	茄子	大棚
12	萝卜	大棚	6	苦菊	大棚	12	青菜	露天
12	大白菜	大棚	10	菊花脑	大棚	12	芥蓝	大棚
4	小青菜	大棚/露天轮作	11	茼蒿	大棚	11	空心菜	大棚
4	萝卜	露天	5	芥菜	露天	11	杭辣椒	露天
4	小青菜	大棚	5	上海青	露天	8.5	白菜	大棚
4	小青菜	露天	12~13	草莓	大棚	8.5	生菜	大棚
3.5	马兰头	大棚	12~13	菊花脑	大棚	8.5	茼蒿	大棚
6	茼蒿	大棚	12~13	苦菊	大棚	8.5	芹菜	大棚
3	草莓	大棚	10~11	草莓	大棚	8.5	白菜	露天
5~6	青菜	大棚	5~6	草莓	大棚	8.5	花菜	大棚
5~6	青菜	大棚已揭	5~6	草莓	大棚	8.5	青菜	大棚
4~5	茼蒿	大棚	14~15	菊花脑	大棚	8.5	茼蒿	露天
4~5	大白菜	露天对照	14~15	菠菜	大棚	10	幼苗	大棚
3	草莓	大棚				10	空地	大棚
5	茼蒿	大棚				10	茼蒿和甘蓝	大棚
5	茼蒿	大棚				10	空地	大棚
1	小青菜	新搭大棚				10	萝卜	大棚
5~6	蒜苗	大棚				10	西兰花	大棚
5~6	韭菜	露天						
1	萝卜	新搭大棚						
5	辣椒	大棚						
5	青菜	露天						

注：各土壤样品采集地有机肥施用年份与耕作年限一致，且均采用多种有机肥混施的施肥方式。

## 2 结果与分析

### 2.1 3 个调查区有机肥中四环素类抗生素的污染特征

如表 2 所示，在采集的 3 类有机肥，即商品有机肥、人畜粪便和饼肥中，四环素、土霉素、金霉素、强力霉素 4 种抗生素均被检出，且 4 种抗生素总量 ( $\sum TCs$ ) 最高分别达 8 071、7 820 和 266  $\mu g/kg$ ，均值分别为 1 659、2 070 和 237  $\mu g/kg$ 。其中，人畜粪便和饼肥中土霉素的浓度和均值均最高(图 1)，其均值分别为 1 180  $\mu g/kg$  和 159  $\mu g/kg$ ，占四环素类抗生素总量的 57.0% 和 67.0%；金霉素浓度最低，均值仅 28.3  $\mu g/kg$  和 23.1  $\mu g/kg$ 。商品有机肥中四环素和强力霉素的检出量均较高，均值分别为 656  $\mu g/kg$  和 651  $\mu g/kg$ ，金霉素的检出量较低，均值为 19.5  $\mu g/kg$ 。

由此可见，无论检出量抑或平均值，4 种四环素类抗生素的污染程度由高到低的顺序均为土霉素>四环素>强力霉素>金霉素。其中，人畜粪便中四环素类抗生素最高，商品有机肥中抗生素浓度其次，而饼肥中抗生素浓度则相对较低。

### 2.2 不同地区设施菜地有机肥中四环素的污染特征

由分析结果可以看出，3 个调查区的设施菜地使用的主要有机肥中，四环素、土霉素、金霉素和强力霉素 4 种四环素类抗生素均被检出，且除四环素和强力霉素外，土霉素和金霉素的浓度及其污染特征存在着显著差异 ( $P<0.05$ ) (表 3)。其中谷里村四环素类抗生素的最高浓度可达 8 071  $\mu g/kg$ ，而其均值也达到了 2 152  $\mu g/kg$ ；锁石村其次，最高浓度和均值为 3 326  $\mu g/kg$  和 1 188  $\mu g/kg$ ；东庐村则相对较低，最高浓度和均值分别为 373  $\mu g/kg$  和 356  $\mu g/kg$ 。3 个地

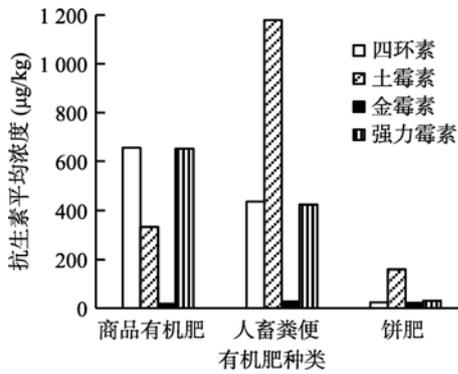


图 1 设施菜地有机肥中四环素类抗生素均值  
Fig. 1 Average concentrations of TCs antibiotics in organic fertilizers from different protected vegetable areas

区样品中的土霉素的浓度均为最高，平均分别为 266、1 002、721 μg/kg；四环素和强力霉素的浓度则相对略低，且二者浓度相对持平；金霉素的浓度更低，其均值分别为 16.3、19.2、28.0 μg/kg。因此，3 个调查区的 4 种四环素类抗生素的污染程度由高到低依次为土霉素、四环素、强力霉素和金霉素；其中，谷里村污染最为严重，锁石村其次，东庐村则污染相对较低（图 2）。

### 2.3 不同地区设施菜地土壤中四环素类抗生素的污染特征

不同调查区的设施菜地土壤中，4 种四环素类抗生素亦全部被检出，且除四环素和强力霉素之外，土

表 2 设施菜地有机肥中四环素类抗生素的浓度 (μg/kg)  
Table 2 Concentrations of TCs antibiotics in protected vegetable organic fertilizers

抗生素名称	商品有机肥 (6 个)		人畜粪便 (8 个)		饼肥 (2 个)	
	范围	均值	范围	均值	范围	均值
四环素	16.6 ~ 3 700	656	41.7 ~ 2 935	437	22.3 ~ 27.0	24.6
土霉素	72.5 ~ 670	333	156 ~ 3 078	1 180	125 ~ 193	159
金霉素	14.7 ~ 28.2	19.5	0 ~ 130	28.3	21.1 ~ 25.1	23.1
强力霉素	30.3 ~ 3 685	651	44.2 ~ 2 885	425	25.7 ~ 35.3	30.5
Σ TCs	126 ~ 8 071	1 659	371 ~ 7 820	2 070	208 ~ 266	237

注：除人畜粪便中的金霉素检出率为 87.5% 以外，其余抗生素在各种有机肥中的检出率均为 100%。

表 3 不同地区设施菜地有机肥中四环素类抗生素的浓度 (μg/kg)  
Table 3 Concentrations of TCs antibiotics in different regions of protected vegetable organic fertilizer

抗生素名称	谷里村 (25 个)		锁石村 (18 个)		东庐村 (23 个)	
	范围	均值	范围	均值	范围	均值
四环素	16.6 ~ 3 700 a	706	22.3 ~ 117 a	86.7	27.4 ~ 43.6 a	35.5
土霉素	72.5 ~ 2 000 b	721	193 ~ 3 078 b	1 002	262 ~ 271 b	266
金霉素	0 ~ 130 c	28.0	14.4 ~ 25.1 c	19.2	14.7 ~ 17.9 a	16.3
强力霉素	13.3 ~ 3 685 a	697	25.7 ~ 117 a	80.7	31.5 ~ 44.0 a	37.7
Σ TCs	126 ~ 8 071	2 152	266 ~ 3 326	1 188	339 ~ 373	356

注：除谷里村的有机肥样品金霉素检出率为 90.0% 以外，其余抗生素在各种有机肥中的检出率均为 100%；同列不同小写字母表示结果之间存在着显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

霉素和金霉素的浓度范围也差异显著 ( $P < 0.05$ ) (表 4)。就 4 种四环素类抗生素含量的平均值而言，由高到低依次为谷里村、东庐村和锁石村，其均值分别为 77.9、15.1、14.9 μg/kg。其中，土霉素的含量是 4 种抗生素中最高的，其所占比例分别为四环素类抗生素总含量的 76.4%、70.2% 和 56.0%，其在谷里村的含量尤为突出，最高达到 432 μg/kg；金霉素、四环素和强力霉素含量则相对较低，其中四环素和强力霉素的含量较为接近。可见，各个调查区中，谷里村四环素类抗生素的污染特征较为明显，污染程度较高；而各类抗生素中，土霉素的污染最为严重，金霉素等虽然检出含量相对较低，但由于其可能存在低剂量抗性筛选风险，仍需引起关注。

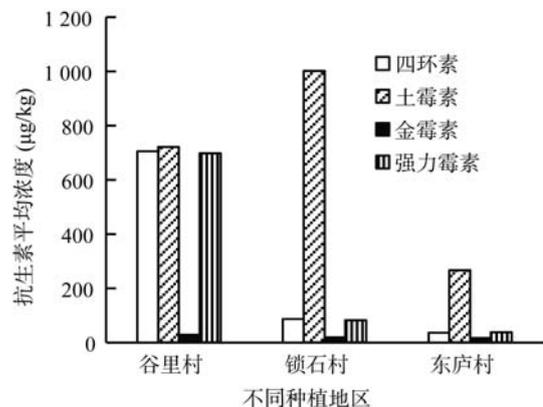


图 2 不同地区设施菜地有机肥中四环素类抗生素均值  
Fig. 2 Average concentrations of TCs antibiotics in organic fertilizers from different protected vegetable areas

表 4 不同地区设施菜地土壤中四环素类抗生素含量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )  
Table 4 Concentrations of TCs antibiotics in different regions of protected vegetable soils

抗生素名称	谷里村 (25 个)		锁石村 (18 个)		东庐村 (23 个)	
	范围	均值	范围	均值	范围	均值
四环素	1.17 ~ 48.9 a	5.81	0.97 ~ 22.1 a	2.36	1.02 ~ 1.82 a	1.30
土霉素	13.3 ~ 432 b	59.5	1.73 ~ 36.6 b	8.34	2.14 ~ 41.1 b	10.6
金霉素	0 ~ 102 c	7.34	1.36 ~ 4.94 a	2.12	0 ~ 4.30 bc	2.13
强力霉素	1.18 ~ 47.4 a	5.24	0 ~ 21.5 a	2.09	0.80 ~ 1.51 a	1.03
$\Sigma$ TCs	18.4 ~ 483	77.9	5.56 ~ 57.9	14.9	5.46 ~ 45.7	15.1

注：除谷里村土壤中的金霉素检出率为 96.2%、锁石村土壤中强力霉素检出率为 94.4%、东庐村土壤中金霉素检出率为 95.7% 以外，其余抗生素在各种土壤中的检出率均为 100%；同列不同小写字母表示结果之间存在着显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

## 2.4 设施菜地不同蔬菜地类型下土壤中四环素类抗生素的污染特征

不同土地利用方式即露天和大棚的设施土壤中，四环素类抗生素的污染特征见表 5。露天菜地中 3 个调查区的四环素类抗生素均值分别为 114、17.5、14.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，大棚菜地中分别为 63.9、14.4、15.4  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。从总体上看，露天菜地土壤中的四环素类抗生素总含量比大棚菜地土壤略高，特别是谷里村，露天菜地比大棚菜地土壤中含量高 78.4%。据调查，露天菜地常以附近地表水作为灌溉水源，而地表水受抗生素污染的几率较高，因此露天菜地

比大棚菜地中抗生素含量高的另一原因可能与露天菜地的灌溉方式有关；而东庐村大棚土壤中的四环素类抗生素的平均含量比露天土壤的高出 8.45%。其中，4 种抗生素在露天菜地土壤中的平均含量由高到低依次为土霉素、四环素、强力霉素和金霉素，而在大棚菜地土壤中的平均含量由高到低依次为土霉素、金霉素、四环素和强力霉素。可见，无论是在露天还是大棚的设施土壤中，土霉素的含量总是最高的，平均含量 87.2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，占四环素类抗生素总浓度均值的 76.5%，而强力霉素的含量则是四环素类抗生素中最低的，最低仅为抗生素浓度均值的 4.16%。

表 5 不同土地利用方式的设施菜地土壤中四环素类抗生素含量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )  
Table 5 Concentrations of TCs antibiotics in different land use patterns of protected vegetable soils

土地利用方式	抗生素名	谷里村		锁石村		东庐村	
		范围	均值	范围	均值	范围	均值
露天	四环素	1.49 ~ 48.9	12.6	1.04 ~ 1.11	1.07	1.02 ~ 1.46	1.18
	土霉素	13.8 ~ 432	87.2	3.87 ~ 19.3	13.3	2.14 ~ 32.5	10.3
	金霉素	1.41 ~ 5.05	2.32	1.42 ~ 3.64	2.18	1.38 ~ 2.23	1.68
	强力霉素	1.35 ~ 47.4	11.9	0.87 ~ 0.95	0.91	0.81 ~ 1.30	0.97
	四环素类	19.4 ~ 483	114	9.45 ~ 22.7	17.5	5.46 ~ 36.2	14.2
大棚	四环素	1.17 ~ 11.9	3.17	0.97 ~ 22.1	2.62	1.10 ~ 1.82	1.34
	土霉素	13.3 ~ 239	48.8	1.73 ~ 36.6	7.35	2.26 ~ 41.1	10.7
	金霉素	0 ~ 102	9.29	1.36 ~ 4.94	2.11	0 ~ 4.30	2.26
	强力霉素	1.18 ~ 9.95	2.66	0 ~ 21.5	2.33	0.80 ~ 1.51	1.05
	四环素类	18.4 ~ 262	63.9	5.56 ~ 57.9	14.4	6.67 ~ 45.7	15.4

注：除谷里村和大棚土壤中的金霉素检出率均为 94.4%，锁石村的大棚土壤中强力霉素的检出率为 93.3% 以外，其余均为 100%。

## 2.5 不同种植年限下设施菜地土壤中四环素类抗生素的污染特征

不同种植年限下设施菜地土壤（包括露天和大棚蔬菜地）中的四环素类抗生素的污染特征见图 3。从图 3 中不难看出，3 个调查区中，土霉素的含量是 4 种抗生素中最高的，而谷里村的抗生素总含量也是 3 个地区中最高的。随着种植年限的增加，谷里村的四环素类抗生素平均含量呈先减后增的趋势，在种植 4 ~

6 年时，其土壤中的抗生素含量最低，均值为 46.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；东庐村和锁石村的抗生素总含量相对略低，且东庐村与谷里村含量变化的趋势大致相同，均为先下降后逐渐上升，种植年限为 8 年时，这种随年限变化的趋势可能与实际各蔬菜地施用有机肥的结构和数量有关。由于有机肥的施用量因种植作物类型的不同而存在较大变化，且各设施土壤上种植的蔬菜种类复杂，年限差异较大，因此需进一步调查分析和

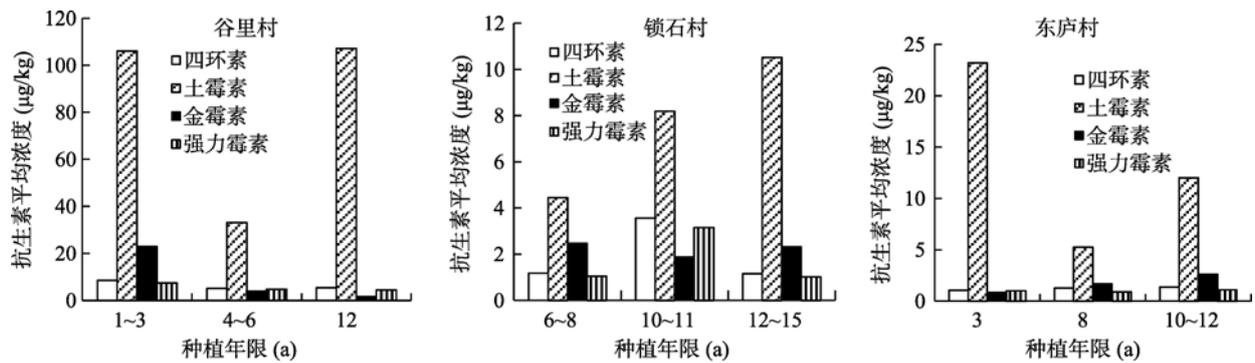


图 3 设施菜地土壤中不同种植年限四环素类抗生素的含量均值

Fig. 3 Average concentrations of TCs antibiotics in different planting years of protected vegetable soils

详细了解相关信息,以准确地解释这一趋势产生的原因。土壤中抗生素含量最低,为  $9.11 \mu\text{g}/\text{kg}$ ;而锁石村土壤中的抗生素含量变化趋势则为先上升后逐渐下降,在种植 10~11 年时,其抗生素含量达到最高均值,为  $16.78 \mu\text{g}/\text{kg}$ 。可见,土霉素是 3 个地区最主要的抗生素污染物,土霉素的含量影响着各地区抗生素的总含量走势,而四环素、金霉素及强力霉素的含量则随着种植年限的增加,呈现出逐渐下降的趋势。总的来说,3 个调查区土壤中的 4 种四环素类抗生素的含量变化趋势为,随着种植年限的增加,土霉素的平均含量正不断上升,而四环素、金霉素及强力霉素的平均含量却随着时间的推移逐渐减少,也即土壤四环素类抗生素的平均含量可通过不断种植作物而使其缓慢下降。

### 3 讨论

蔬菜在人们日常饮食结构中占有重要地位,其质量的优劣直接关系到人们的身体健康。近年来设施菜地土壤污染、设施蔬菜品质和安全等问题备受关注。随着绿色有机农业产业的兴起,以动物粪便为主要原料的有机肥在蔬菜、花卉等的种植上得到了广泛施用<sup>[18]</sup>。设施菜地土壤的利用强度很高,其有机肥施用量更可达到露天菜地施用量的 4~10 倍<sup>[19]</sup>。赵娜<sup>[20]</sup>通过对珠三角地区 4 种不同类型的菜地土壤中四环素类和磺胺类抗生素的检测发现,所有土壤样品中均有一种以上抗生素的检出,土壤中四环素类抗生素的平均含量高于磺胺类,不同类型菜地土壤中抗生素的总含量由高到低为:养猪场菜地、无公害蔬菜基地、普通蔬菜基地、绿色蔬菜基地。此研究表明,菜地土壤大量施加含有抗生素的有机肥后,已经明显加重了土壤的抗生素污染。设施土壤由于经常处于高温、高湿、无雨水淋溶的环境条件之中,加之长期实行高投入、高产出及单一化栽培的生产模式,大量的化肥、有机肥及未处理畜禽粪便等的施用,使得各设

施大棚在使用到一定年限后,其土壤中的抗生素便产生明显积累,导致土壤环境质量发生退化,并对土壤环境质量和农产品安全产生不利影响,严重威胁土壤、作物和水体环境安全,成为设施农业可持续发展的关键制约因素。

由于处理技术的局限,有机肥生产过程中对于抗生素的去除效率不高<sup>[21]</sup>,导致市售有机肥中仍有大量的抗生素残留,因此含有抗生素的有机肥是设施农业土壤中的抗生素的主要来源。据唐春玲等<sup>[22]</sup>报道,上海地区市售 40 种有机肥中存在不同程度的四环素类抗生素残留。残留大量抗生素的有机肥施入农田中后,一些抗生素会与土壤颗粒紧密结合或形成稳定化合物并长期存在,从而对农田土壤造成污染<sup>[2]</sup>,如 Aga 等<sup>[23]</sup>在施用过畜禽粪便的土壤中检测到四环素类化合物的残留;Mart 等<sup>[24]</sup>在澳大利亚施用粪肥的土壤中检测到四环素类、磺胺类和甲氧苄氨嘧啶化合物的残留;Karci 等<sup>[25]</sup>也在土耳其农田土壤中检测到四环素类、磺胺类和氟喹诺酮类化合物的残留。农田土壤中的抗生素主要通过食物链对生态环境产生毒害作用,影响植物、动物和微生物的正常生命活动<sup>[26-27]</sup>。张慧敏等<sup>[28]</sup>分析了浙北地区畜禽粪便样和施用畜禽粪肥的农田土壤中 3 种四环素类抗生素(土霉素、四环素和金霉素)的残留状况,发现施用畜禽粪肥农田表层土壤中土霉素、四环素和金霉素的平均残留量分别为未施畜禽粪肥农田的 38 倍、13 倍和 12 倍,说明畜禽粪肥是农田土壤抗生素的重要来源。潘霞等<sup>[29]</sup>对浙江富阳和余杭地区规模化养殖场畜禽有机肥样品及施用有机肥的设施菜地土壤进行分析发现,各土壤样品中的四环素类抗生素含量最高,占各类抗生素总含量的 86.7%,特别是金霉素含量高达  $18.2 \mu\text{g}/\text{kg}$ ;该研究还发现,抗生素污染不仅存在于土壤表层,还有可能向下迁移造成地下水污染。另外,抗生素会诱导土壤细菌产生抗药性和抗生素抗性基因<sup>[26-28, 30-31]</sup>,从而对生态环境造成二次污染,

形成潜在环境风险。我国现行的有机肥标准主要为中华人民共和国农业行业标准 NY525-2012 中的有机肥料标准<sup>[32]</sup>,该标准规定了有机质、总养分、水分、重金属 (As、Cd、Pb、Cr、Hg) 的含量及酸碱度、蛔虫卵死亡率和大肠杆菌值等一系列技术指标,但至今未将抗生素残留指标列入其中。因此,建立有效检测有机肥中残留抗生素的方法并制定相应的行业及国家标准等,对提高有机肥的质量和维持生态环境安全具有重要意义。

四环素类抗生素在各种环境土壤中普遍存在。Hamscher 等<sup>[33]</sup>检测到畜禽粪便中四环素和金霉素的质量浓度分别为 4.0 mg/kg 和 0.1 mg/kg,土壤中四环素和金霉素的残留分别为 86.2 ~ 199  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 4.6 ~ 7.3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Wang 等<sup>[34]</sup>认为,抗生素一旦从畜禽粪便进入土壤,就会在土壤环境中长期存在。已有研究表明,土壤环境中不同种类抗生素的质量浓度在 0.1 ~ 2 683  $\mu\text{g}/\text{kg}$  范围内,其中土霉素在土壤环境中的残留量最大,可达 2 683  $\mu\text{g}/\text{kg}$ <sup>[35-36]</sup>。此外,不同地区土壤环境中的抗生素残留有很大的区别,Hu 等<sup>[37]</sup>检测到中国北方土壤环境中四环素和金霉素的残留质量浓度分别为 20.9 ~ 105  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 33.1 ~ 1 079  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。Aust 等<sup>[8]</sup>研究发现加拿大土壤中四环素的质量浓度可达 52.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。综上所述,四环素类抗生素的大量使用已经造成了其在土壤环境中的广泛残留,并且对土壤环境造成了很大的潜在威胁。

本研究主要针对南京市典型设施菜地的有机肥及土壤中四环素类抗生素的污染而进行的调查,从结果看,不同种类有机肥的抗生素浓度有所差异,其中人畜粪便的抗生素浓度相对较高,其四环素、土霉素、金霉素和强力霉素的平均浓度分别为 437、1 180、28.3 和 425  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。在 3 类有机肥中,土霉素含量最高,最高可达 3 078  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。据报道,我国东部大型规模化养猪场的猪粪中土霉素最高检出量为 354 mg/kg<sup>[38]</sup>,而浙北地区规模化养殖场畜禽粪便中四环素、土霉素和金霉素平均浓度则分别为 1.57、3.10 和 1.80 mg/kg<sup>[28]</sup>。与其他文献报道相比,本研究所调查有机肥中四环素类抗生素污染相对较低,但土霉素的污染状况仍然是四环素类抗生素中污染现状最严重的。人畜粪便中抗生素浓度最高,商品有机肥则相对较低,这可能是由于商品有机肥生产过程中对生产原料的处理方式所致;而饼肥中抗生素的浓度更低,原因可能是由于饼肥本身是植物废弃物,其中抗生素初始含量不高,而其中含有的抗生素也可能在生产过程中得到一定的消减。

在调查的 3 个地区中,谷里村的设施菜地中四环

素类抗生素含量较高,其次为锁石村和东庐村。其中,谷里村设施菜地所施用的有机肥中四环素和强力霉素检出量达到 3 700  $\mu\text{g}/\text{kg}$  和 3 685  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。而 3 个地区的土壤中抗生素的含量则依次是谷里村>锁石村>东庐村,各调查区范围内最高浓度分别为 483、57.9 和 45.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。由于谷里村和锁石村为南京设施农业大棚的两处核心区域,故有机肥施用较为普遍,抗生素检测浓度也比较高;而东庐村有机农场位于溧水县永阳镇东庐村秋湖山麓,该地区倡导农业可持续发展,并多年进行土壤改良、水文环境治理,区域生态环境良好,再加上其使用的有机肥在生产加工过程中的抗生素消耗,故该区域样品中检测出的四环素类抗生素浓度较低。

为了实现农业的可持续发展以及确保农产品安全,应当适当减少大型规模化养殖中四环素类抗生素的使用,且加强有机肥生产加工过程中的必要监管,尽量实现上游缩减四环素类抗生素进入土壤的可能性;另外,还需要深入研究四环素类抗生素在设施农业土壤生态环境中的迁移降解规律及其生态学效应等,以期从分子水平对研究微生物的抗性水平,从而在设施农业生产方面降低四环素类抗生素的潜在风险,保障农产品安全,减少设施农田土壤污染对人类健康产生的负面影响。

## 4 结论

(1) 南京典型设施菜地有机肥及土壤中存在 4 种四环素类抗生素的污染,其中以土霉素污染为主,均值最高达 1 180  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,因而其污染不容忽视。调查的 3 个地区中,锁石村和东庐村的四环素类抗生素污染程度相对较低,而对于抗生素污染较为严重的谷里村而言,加强对抗生素的使用管理及污染修复工作势在必行。

(2) 有机肥-土壤-植物系统中四环素类抗生素的迁移,设施菜地抗生素污染的管理与控制是今后需要引起足够重视和充分研究的重要内容。

(3) 相较其他形式的农业生产而言,有机农业生产模式下的抗生素污染的水平尚属较低。

## 参考文献:

- [1] Richardson BJ, Lam PKS, Martin M. Emerging chemicals of concern: Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Asia, with particular reference to Southern China[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2005, 50: 913-920
- [2] Sarmah AK, Meyer MT, Boxall AB. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment[J]. *Chemosphere*, 2006, 65: 725-759

- [3] Jensen LB, Baloda S, Boye M, Aarestrup FM. Antimicrobial resistance among *Pseudomonas* spp. and the *Bacillus cereus* group isolated from Danish agricultural soil[J]. *Environment International*, 2001, 26: 581–587
- [4] Halling SB, Nors NS, Lanzky PF, Ingerslev F, Holten Lützhøft HC, Jørgensen SE. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment -A review[J]. *Chemosphere*, 1998, 36(2): 357–393
- [5] Elmund GK, Morrison SM, Grant DW, Nevins SrMP. Role of excreted chlortetracycline in modifying the decomposition process in feedlot waste[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1971, 6(2): 129–135
- [6] Beconi BMG, Hornish RE, Vidmar TJ, Dame KJ, Brown SA. Ceftiofur hydrochloride: plasma and tissue distribution in swine following intramuscular administration at various doses[J]. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1996, 19(3): 192–199
- [7] Blackwell PA, Kay P, Ashauer R, Boxall ABA. Effects of agricultural conditions on the leaching behaviour of veterinary antibiotics in soils[J]. *Chemosphere*, 2009, 75: 13–19
- [8] Aust MO, Godlinski F, Travis GR, Hao X, McAllister TA, Leinweber P, Thiele-Bruhn S. Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after subtherapeutic use in cattle[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156: 1 243–1 251
- [9] Campagnolo ER, Johnson KR, Karpat IA, Rubin CS, Kolpin DW, Meyer MT, Esteban JE, Currier RW, Smith K, Thu KM, McGeehin M. Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations[J]. *Science of the Total Environment*, 2002, 299: 89–95
- [10] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 王玉军, 邹绍文, 何绪生. 规模化养殖畜禽粪主要有毒成分测定分析研究[J]. *北京: 植物营养与肥料学报*, 2005, 11(6): 822–829
- [11] Golet EM, Strehler A, Alder A C, Giger W. Determination of fluoroquinolone antibacterial agents in sewage sludge and sludge treated soil using accelerated solvent extraction followed by solidphase extraction[J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74: 5 455–5 462
- [12] 李兆君, 姚志鹏, 张杰, 梁永超. 兽用抗生素在土壤环境中的行为及其生态毒理效应研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2008, 3(1): 15–20
- [13] 史奕, 赵牧秋, 王俊, 宋玉芳. 设施菜地土壤-植物系统中有机肥源抗生素的影响研究进展[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(增刊): 240–244
- [14] 张彦才, 李巧云, 翟彩霞, 陈丽莉, 吴永山, 康富忠. 河北省大棚蔬菜施肥状况分析与评价[J]. *河北农业科学*, 2005, 9(3): 61–67
- [15] Díaz Cruz MS, López de Alda MJ, Barcelo D. Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2003, 22(6): 340–351
- [16] 朱德文, 陈永生, 程三六. 我国设施农业发展存在的问题与对策研究[J]. *农业装备技术*, 2007, 33(1): 5–7
- [17] Huang YJ, Cheng MM, Li WH, Wu LH, Chen YS, Luo YM, Christie P, Zhang HB. Simultaneous extraction of four classes of antibiotics in soil, manure and sewage sludge and analysis by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with the isotope-labelled internal standard method[J]. *Analytical Methods*, 2013, 5: 3 721–3 731
- [18] 杨玉爱. 我国有机肥料研究及进展[J]. *土壤学报*, 1996, 33(4): 414–422
- [19] 余海英, 李廷轩, 周建民. 设施土壤次生盐渍化及其对土壤性质的影响[J]. *土壤*, 2005, 37(6): 581–586
- [20] 赵娜. 珠三角地区典型菜地土壤抗生素污染特征研究[D]. 广州: 暨南大学, 2007
- [21] 陈永山, 章海波, 骆永明, 胡冠九, 赵永刚, 宋静. 典型规模化养猪场废水中兽用抗生素污染特征与去除效率研究[J]. *环境科学学报*, 2010, 30(11): 2 205–2 212
- [22] 唐春玲, 张文清, 夏玮, 左萍萍, 朱恩. 固相萃取-高效液相色谱法测定有机肥中四环素类抗生素药物残留[J]. *中国土壤与肥料*, 2011(2): 92–95
- [23] Aga DS, O'Connor S, Ensley S, Payero JO, Snow D, Tarkalson D. Determination of the persistence of tetracycline antibiotics and their degradates in manure-amended soil using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(3): 7 165–7 171
- [24] Mart NC, Gonz LBC, Scharf S, Gans O. Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 148(2): 570–579
- [25] Karci A, Balciog LIA. Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey[J]. *Science of the Total Environment*, 2009, 407(16): 4 652–4 664
- [26] 俞慎, 王敏, 洪有为. 环境介质中的抗生素及其微生物生态学效应[J]. *生态学报*, 2011, 31(15): 4 437–4 446
- [27] 周启星, 罗义, 王美娥. 抗生素的环境残留、生态毒性及抗性基因污染[J]. *生态毒理学报*, 2007, 2(3): 243–251
- [28] 张慧敏, 章明奎, 顾国平. 浙北地区畜禽粪便和农田土壤中四环素类抗生素残留[J]. *生态与农村环境学报*, 2008, 24(3): 69–73
- [29] 潘霞, 陈励科, 卜元卿, 章海波, 吴龙华, 滕应, 骆永明. 畜禽有机肥对典型蔬果地土壤剖面重金属与抗生素分布的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2012, 28(5): 518–525
- [30] 吴柄, 乔敏. 土壤环境中四环素类抗生素残留及抗性基因污染的研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(5): 618–627
- [31] 叶小梅, 常志州, 陈欣, 黄红英, 马艳, 张建英. 畜禽养殖场排放物病原微生物危险性调查[J]. *生态与农村环境学报*, 2007, 23(2): 66–70.
- [32] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业行业标准 NY525-2012, 有机肥料[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012
- [33] Hamscher G, Sczesny S, Höper H, Nau H. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with

- electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74(7): 1 509–1 518
- [34] Wang QQ, Yates SR. Laboratory study of oxytetracycline degradation kinetics in animal manure and soil[J]. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 2008, 56(5): 1 683–1 688
- [35] Brambilla G, Patrizii M, DE Filippis SP, Bonazzi G, Mantovi P, Barchi D, Migliore L. Oxytetracyclines as environmental contaminant in arable lands[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 586(1/2): 326–329
- [36] Hamscher G, Pawelzick HT. Different behaviour of tetracyclines and sulfonamides in sandy soils after repeated fertilization with liquid manure[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(4): 861–868
- [37] Hu XG, Zhou QX, Luo Y. Occurrence and source analysis of typical veterinary antibiotics in manure, soil, vegetables and ground water from organic vegetable bases, Northern China[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(9): 2 992–2 998
- [38] Chen YS, Zhang HB, Luo YM, Song J. Occurrence and assessment of veterinary antibiotics in swine manures: A case study in east China[J]. *Environmental Chemistry*, 2012, 57(6): 606-614

## Pollution Characteristics of Tetracycline Antibiotics in Typical Protected Vegetable Organic Fertilizer of Nanjing City

LUO Kai<sup>1,2</sup>, LI Wen-hong<sup>1</sup>, ZHANG Hai-bo<sup>1,4</sup>, HUANG Yu-juan<sup>2</sup>, MA Ting-ting<sup>2</sup>,  
WU Long-hua<sup>2\*</sup>, LIU Hong-yan<sup>1,3</sup>, LUO Yong-ming<sup>2,4</sup>

(1 College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3 College of Resources and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang 550003, China; 4 Key Laboratory of Coastal Zone Environmental Processes, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai, Shandong 264003, China)

**Abstract:** The occurrence and distribution of four selected antibiotics, include tetracycline (TC), oxytetracycline (OTC), chlortetracycline (CTC) and doxycycline (DOC), in organic fertilizers were investigated at three typical protected vegetable fields in Guli, Suoshi and Donglu villages, suburb of Nanjing City. These four antibiotics were extracted by solvent, and detected by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS). The results showed that TCs antibiotics were detectable in all the organic fertilizer samples. The highest concentration was OTC, TC and DOC were the second, and CTC had a lowest level. In those three different regions of Guli, Suoshi and Donglu, the concentration of which ranged from 126–8 071, 266–3 326, 339–373  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , and with the average of 2 152, 1 188, 356  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . The results also suggested that the concentration of antibiotics in different types of organic fertilizers were quite variable, especially the total concentrations of animal and human excreta, ranged from 371 to 7 820  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Therefore, tetracyclines pollution from organic fertilizers might threaten to the soil environment, and need be concerned.

**Key words:** Protected vegetable land, Organic fertilizer, Tetracyclines, Pollution characteristics