

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20190923003

张紫琴, 张洪昌, 沈根祥, 等. 青霉素 G 钾在蔬菜地土壤中的降解动力学研究[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(3): 218-226

Zhang Z Q, Zhang H C, Shen G X, et al. Degradation kinetics of penicillin G potassium in a vegetable soil system with compost application [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(3): 218-226 (in Chinese)

## 青霉素 G 钾在蔬菜地土壤中的降解动力学研究

张紫琴<sup>1</sup>, 张洪昌<sup>2</sup>, 沈根祥<sup>2,\*</sup>, 胡双庆<sup>2</sup>, 顾海蓉<sup>2</sup>, 赵晓祥<sup>1,#</sup>

1. 东华大学环境科学与工程学院, 上海 201620

2. 上海市环境科学研究院, 上海 200233

收稿日期: 2019-09-23 录用日期: 2019-12-13

**摘要:** 为确定青霉素 G 钾(penicillin G potassium, PG)在土壤中的半衰期和降解动力学, 选择灭菌与未灭菌、施肥与未施肥蔬菜地土壤作为基质, 研究了 PG 在不同基质中的降解曲线, 并拟合了降解动力学方程。结果表明, PG 在蔬菜地土壤中的半衰期为 1.61 ~ 1.67 d, 最终降解率均达到 99.7% 以上, 但 PG 不会完全降解, 仍会以较低的水平(21 ~ 73  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 在土壤中长期存在。降解动力学方程拟合结果表明, PG 的初始浓度会对降解速率产生影响, 初始浓度越高, 降解速率越快。在灭菌与未灭菌土壤中降解曲线显示其降解过程受生物和非生物作用共同影响, 但添加有机肥的降解过程和未添加组没有显著差异。由于 PG 在土壤中不能被完全降解, 从而增加了诱导抗性基因产生及转移的风险。

**关键词:** 青霉素 G 钾; 蔬菜地土壤; 降解动力学; 有机肥

文章编号: 1673-5897(2020)3-218-09 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## Degradation Kinetics of Penicillin G Potassium in a Vegetable Soil System with Compost Application

Zhang Ziqin<sup>1</sup>, Zhang Hongchang<sup>2</sup>, Shen Genxiang<sup>2,\*</sup>, Hu Shuangqing<sup>2</sup>, Gu Hairong<sup>2</sup>, Zhao Xiaoxiang<sup>1,#</sup>

1. College of Environmental Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China

2. Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai 200233, China

Received 23 September 2019 accepted 13 December 2019

**Abstract:** In order to determine the half-life and degradation kinetics of penicillin G potassium in soil, the degradation curves and the degradation kinetics of penicillin G potassium were studied by using sterilized and non-sterilized, compost and compost-free vegetable soils as substrates. The results showed that the half-life of penicillin G potassium was 1.61 ~ 1.67 d. The penicillin G potassium was degraded by 99.7%, but the lower level of the antibiotic (21 ~ 73  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) in soils could still exist for a long time. The degradation kinetics equation showed that the degradation rate was affected by initial concentration of penicillin G potassium and the degradation rates became faster along with the initial concentration increase. The degradation curves of sterilized and non-sterilized soils showed that the degradation process was affected by both biological and abiotic factors. There was no significant

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项资助项目(2017ZX07207002); 上海市 2016 年度“科技创新行动计划”社会发展领域项目(16DZ1204700); 长江水环境教育部重点实验室开放课题项目(YRWEF201803)

第一作者: 张紫琴(1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为抗生素对土壤微生物的作用, E-mail: zhangziqin185@163.com

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: shengx@saes.sh.cn

# 共同通讯作者 (Co-corresponding author), E-mail: zxx@dhu.edu.cn

difference between the degradation process in organic fertilizer and that in non-sterilized soils. The risk of inducing and transferring resistance genes could increase due to the incomplete degradation of penicillin G potassium.

**Keywords:** penicillin G potassium; vegetable soil; degradation kinetic; compost

自被发现以来,青霉素就作为治疗人类和动物传染病的药物被广泛使用,同时也作为一种添加剂在促进动物生长方面广泛应用<sup>[1-3]</sup>。Chen 等<sup>[4]</sup>和 Klein 等<sup>[5]</sup>研究了包括中国在内的 76 个国家在 2000—2015 年抗生素的消费趋势,结果表明,抗生素的消费总量增加了 65%,至 2015 年广谱青霉素占抗生素消费总量高达 39%。2013 年,我国兽用抗生素消费量约占抗生素总消费量的 52%<sup>[6]</sup>。研究表明,兽用抗生素进入动物体内后不能被动物完全吸收,大约有 50%~90% 的抗生素会以原药或其代谢物的形式排出<sup>[7-8]</sup>。而目前畜禽粪尿还田是最常用的畜禽粪污处理方法,粪尿中的抗生素也会随着还田过程进入农田、水体环境并富集到生物体中,从而对环境微生物群落和人体健康产生危害<sup>[9-10]</sup>。在所有的抗生素种类中,四环素和青霉素是最常用的 2 种兽用抗生素<sup>[11]</sup>。

抗生素在土壤中的降解动力学研究以磺胺类、喹诺酮类和四环素类较多<sup>[12-14]</sup>,而  $\beta$ -内酰胺类抗生素虽然在土壤及有机肥中常被检出,浓度范围在 0.62~12 mg·kg<sup>-1</sup><sup>[15-17]</sup>,但其降解动力学研究主要集中在牛奶和废水等基质中<sup>[18-21]</sup>,在土壤中的研究鲜见报道。马静静<sup>[17]</sup>检测了内蒙古牧区 12 个土壤样品中的青霉素,其中,阳性样本占 50%,检出浓度最高为 1.88 mg·kg<sup>-1</sup>。刘燕等<sup>[6]</sup>指出江苏省南京市横溪镇农田土中青霉素残留浓度为 2 mg·kg<sup>-1</sup>。段子恒<sup>[15]</sup>的研究表明,某制药厂提供给西红柿种植的青霉素菌渣肥(处理后)中青霉素浓度为 12 mg·kg<sup>-1</sup>。Li 等<sup>[22]</sup>的研究表明,制药废水经过厌氧、水解及 2 个好氧单元处理,大部分的青霉素 G 可以被除去,最终浓度为  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  量级,且其在地表水中的主要降解产物为青霉噻唑酸(penicilloic acid)、中间体青霉氧酸(penicilloic acid)和青霉二酸异构体(isopenillic acid)。

因此,本文选取畜禽养殖业中常用的典型  $\beta$ -内酰

胺类抗生素——青霉素 G 钾作为目标抗生素,研究其在灭菌及未灭菌的蔬菜地土壤以及添加有机肥土壤中的降解行为,并使用一级动力学方程和二级动力学方程来拟合,为防止抗生素对环境造成污染提供依据。

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 实验试剂与材料

试剂:青霉素 G 钾(penicillin G potassium, PG)标准品(纯度>97%)、内标物氘代青霉素 G 钾盐(penicillin G-d5 potassium salt, phenyl-d5)标准品(纯度 98.7%),均购于德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;本实验中用到的甲醇、乙腈和甲酸等均为色谱级试剂,其中,有机溶剂购于美国 Tedia 公司,甲酸购于德国 CNW 科技公司;磷酸、磷酸二氢钠为分析纯,购于上海润捷化学试剂有限公司;实验室用水为 Milli-Q 超纯水。将青霉素 G 钾标准品用甲醇溶解配制为 500 mg·L<sup>-1</sup> 的标准储备液,避光保存在 4 °C 冰箱中。

磷酸盐缓冲溶液:称取 24.0 g 磷酸二氢钠,用超纯水定容至 1 L,用磷酸调节溶液 pH 至 3.0。

供试土壤及有机肥:本实验所用土壤采自上海市金山区的一块空白实验蔬菜地(121.278933°W, 30.788379°N),该地在之前的 5 年内未施用有机肥,采集农田表层土壤(深度 0~20 cm)带回,经自然风干后,去除植物残根及沙砾,磨碎过 10 目筛,保存在 4 °C 环境中。有机肥采集自沁依猪场自然堆肥 18 d 后的猪粪,保存在 -20 °C 环境中。所用土壤及有机肥均未有目标抗生素检出,理化性质如表 1 所示。

仪器与材料:Waters Xevo TQ-S Micro 高效液相色谱串联质谱仪(美国 Waters 公司),色谱柱为 ACQUITY UPLC<sup>®</sup> BEH C18 column (2.1 mm×50 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ) (美国 Waters 公司);CEM MARS CLASSIC 高压微波消解萃取仪(美国 CEM 公司);

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 The basic physical and chemical properties of the soil

物质 Material	pH	含水率/% Moisture content/%	总有机碳/(g·kg <sup>-1</sup> ) Total organic carbon/(g·kg <sup>-1</sup> )	阳离子交换量/(coml·kg <sup>-1</sup> ) Cation exchange capacity/(coml·kg <sup>-1</sup> )
土壤 Soil	7.64	32.1	4.71	7.0

YXQ-LS-50G 立式压力蒸汽灭菌器(上海博讯医疗生物仪器股份有限公司); Fotector Plus 高通量全自动固相萃取仪(厦门睿科仪器有限公司); AUTO-EVA 全自动氮吹浓缩仪(厦门睿科仪器有限公司); Oasis<sup>®</sup> HLB 60  $\mu\text{m}$  (6 mL, 500 mg) 固相萃取柱(美国 Waters 公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司); LDG-0.3C 低温真空冷冻干燥机(上海昊博低温真空设备有限公司)。

## 1.2 降解实验

### 1.2.1 青霉素 G 钾在灭菌及未灭菌蔬菜地土壤中的降解实验

准确称取( $50.000 \pm 0.0001$ ) g(干重)过筛土壤于 100 mL 烧杯中,设置灭菌组和未灭菌组。灭菌组在 121  $^{\circ}\text{C}$  条件下湿热灭菌 3 次,间隔时间为 24 h。将抗生素的甲醇稀释液加入到土壤中,充分混匀,使土壤中的其初始浓度分别为 1、5 和 10  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,然后将烧杯置于通风橱下 24 h,待载体溶剂甲醇挥发干后,用灭菌后的超纯水调节土壤湿度为 30%。最后,将样品用保鲜膜封口,在保鲜膜上保留通气孔,且用铝箔纸包裹置于 20  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中培养,隔天称重并补充样品损失水分,每天摇晃以鼓入空气,维持好氧条件。在培养的第 0、1、3、5、7、14、21、28、35 和 42 天破坏性取样,测定土壤样品中抗生素的残留量,并记录。

### 1.2.2 青霉素 G 钾在添加与未添加有机肥蔬菜地土壤中的降解实验

中国有机农业网发布的要使蔬菜地大棚的土壤有机质保持在 1.5% 的水平,对于 150 000 kg 耕作层土壤而言,每年施入的有机质至少应为 450 kg,根据有机肥的有机质含量(12%)设定混合基质中土壤与有机肥的质量比为 1:0.025,有机肥在培养的第 0 天

一次性添加,即准确称取 50 g 土壤(干重)和 1.25 g 有机肥(干重)于 100 mL 烧杯中。剩余实验过程与 1.2.1 中一致。

## 1.3 样品提取与净化

将土壤样品真空低温冻干后,研磨过 20 目筛,准确称取( $1.000 \pm 0.0001$ ) g 于 100 mL 微波萃取管中,加入 10  $\mu\text{L}$  5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的内标物,加入 50 mL 乙腈-磷酸盐缓冲液( $V:V = 1:1$ ),于 65  $^{\circ}\text{C}$  条件下微波萃取 30 min。后续抗生素提取液的富集净化步骤参考汪仙仙等<sup>[7]</sup>的方法。

## 1.4 样品检测分析

目标抗生素的定性和定量分析通过高效液相色谱串联质谱仪来实现。液相色谱条件:流动相 A 为 0.5% 甲酸水溶液,流动相 B 为乙腈,流速为 0.35  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ,进样量为 2  $\mu\text{L}$ 。梯度洗脱程序为:0 ~ 2.2 min, 84% B; 2.2 ~ 5.5 min, 84% ~ 5% B; 5.5 ~ 6.0 min, 5% ~ 84% B; 6.0 ~ 9.0 min, 84% B。质谱条件:采用电喷雾离子源正离子模式(ESI+),扫描方式为多反应离子检测(MRM),毛细管电压为 3 kV,脱溶剂气温度为 500  $^{\circ}\text{C}$ ,脱溶剂气流速为 1 000  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ 。用甲醇将抗生素储备溶液逐级稀释成不同系列的浓度,设置标准曲线范围为 1.37 ~ 500  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,以浓度为横坐标,仪器响应值为纵坐标,绘制标准曲线。目标抗生素的母离子、子离子、标准曲线、定量限、检测限和加标回收率等参数如表 2 所示。

## 1.5 数据分析

数据为 3 次平行实验的算术平均值,实验结果由 Origin 2017 进行一级动力学方程、二级动力学方程拟合,显著性分析采用单因素方差分析。

(1)降解实验数据拟合一级降解动力学方程:

$$C_t = C_0 e^{-kt}$$

表 2 目标抗生素的标准曲线、检测限、定量限和加标回收率

Table 2 The standard curves, detection limits, quantitative limits and recoveries of antibiotics

	多反应离子检测(MRM) Multi reaction monitoring mode (MRM)	标准曲线 Regression equation	$R^2$	检测限	定量限	回收率/% ( $n=6$ )	
				/( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) Limit of detection /( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	/( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) Limit of quantification /( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	200 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
青霉素 G 钾(PG) Penicillin G potassium (PG)	367.13* /159.65** / 216.82***	$Y=0.6961x+$ 0.808189	0.993	0.01	0.034	90.95 $\pm$ 5.7	78.13 $\pm$ 3.41

注:\*表示母离子,\*\*表示定量离子,\*\*\*表示定性离子。

Note: \* represents parent ion; \*\* represents quantitative ion; \*\*\* represents qualitative ion.

抗生素在土壤中的半衰期为:  $DT_{50} = \frac{\ln(2)}{k}$

抗生素在土壤中的降解速率为:  $\eta = \left| \frac{dC_t}{dt} \right| = C_0 k e^{-kt}$

(2)降解实验数据拟合二级降解动力学方程:

$$\frac{1}{C_t} = \frac{1}{C_0} + kt$$

抗生素在土壤中的半衰期为:  $DT_{50} = \frac{1}{kC_0}$

抗生素在土壤中的降解速率为:  $\eta = \left| \frac{dC_t}{dt} \right| = \frac{k}{\left(\frac{1}{C_0} + kt\right)^2}$

式中:  $C_0$  为土壤中抗生素初始浓度,  $mg \cdot kg^{-1}$ ;  $C_t$  为时间为  $t$  时土壤中抗生素浓度,  $mg \cdot kg^{-1}$ ;  $t$  为时间(d);  $k$  为降解速率常数( $d^{-1}$ );  $\eta$  为降解速率( $mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ )。

## 2 结果 (Results)

### 2.1 灭菌与未灭菌对土壤中抗生素降解的影响

以青霉素 G 钾初始浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  为例, 培养周期内土壤中抗生素的残留量和降解速率变化如图 1(a)、1(c)所示(降解速率由拟合后一级反应动力学的参数计算得出)。在未灭菌的土壤中, 实验第

0、1、3、5 和 7 天的降解速率分别为  $4.32$ 、 $2.83$ 、 $1.22$ 、 $0.53$  和  $0.23 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 在第 7 天, 抗生素的降解率  $>97\%$ , 已基本降解完全。7 d 后降解速率  $<0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 实验结束后, 青霉素 G 钾在土壤中的最终浓度为  $29.8 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在灭菌土壤中, 实验第 0、1、3、5 和 7 天的降解速率分别为  $1.53$ 、 $1.31$ 、 $0.96$ 、 $0.70$  和  $0.52 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 在第 7 天, 抗生素的降解率  $<60\%$ , 7 d 后仍以较快速度继续降解, 到 14 d 时降解速率为  $0.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (降解率为  $94\%$ ), 实验结束后, 抗生素的最终浓度为  $22.6 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

灭菌与未灭菌土壤、不同初始浓度的青霉素 G 钾的降解动力学计算结果如表 3 所示。结果表明, 在本实验的浓度范围内( $1 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 一级动力学方程和二级动力学方程均能很好地拟合实验结果, 一级动力学方程拟合相关系数( $r^2$ )在  $0.951 \sim 0.997$  之间, 二级动力学方程拟合相关系数( $r^2$ )在  $0.85 \sim 0.975$  之间, 降解速率与抗生素的初始浓度有关。由表 3 可知, 青霉素 G 钾在灭菌土壤中的半衰期在  $4.48 \sim 6.48 \text{ d}$  之间, 在未灭菌土壤中的半衰期在  $1.61 \sim 1.67 \text{ d}$  之间。青霉素 G 钾在灭菌土壤中的半衰期显著高于未灭菌土壤, 表明微生物与其他非生物因素在抗生素的降解中发挥着重大的作用, 且抗生素在土壤中的半衰期较短( $<7 \text{ d}$ ), 在环境中易分解而不易残留和转移。

表 3 PG 在灭菌和未灭菌土壤上的降解动力学参数

Table 3 Kinetic parameters for the degradation of PG in sterile and non-sterile soils

初始浓度 ( $mg \cdot kg^{-1}$ ) Initial concentration ( $mg \cdot kg^{-1}$ )	处理方式 Treatments	一级动力学 First-order kinetics			二级动力学 Second-order kinetics		
		方程 Equation	$r^2$	半衰期( $DT_{50}$ )/d 50% degradation time ( $DT_{50}$ )/d	方程 Equation	$r^2$	半衰期( $DT_{50}$ )/d 50% degradation time ( $DT_{50}$ )/d
1	灭菌 Sterile	$C_t = 1.03337 \times e^{-0.13046 t}$	0.98135	5.31	$\frac{1}{C_t} = 0.24 \times t + \frac{1}{1.09297}$	0.93129	3.81
	未灭菌 Non-sterile	$C_t = 0.98339 \times e^{-0.43145 t}$	0.99729	1.61	$\frac{1}{C_t} = 0.9307 \times t + \frac{1}{1.01936}$	0.97481	1.05
5	灭菌 Sterile	$C_t = 5.36336 \times e^{-0.10692 t}$	0.95171	6.48	$\frac{1}{C_t} = 0.03589 \times t + \frac{1}{5.51831}$	0.85027	5.05
	未灭菌 Non-sterile	$C_t = 5.11273 \times e^{-0.41579 t}$	0.98610	1.67	$\frac{1}{C_t} = 0.16253 \times t + \frac{1}{5.20114}$	0.94183	1.18
10	灭菌 Sterile	$C_t = 9.86046 \times e^{-0.15485 t}$	0.98905	4.48	$\frac{1}{C_t} = 0.03082 \times t + \frac{1}{10.45883}$	0.93742	3.10
	未灭菌 Non-sterile	$C_t = 10.2619 \times e^{-0.42074 t}$	0.99519	1.65	$\frac{1}{C_t} = 0.08311 \times t + \frac{1}{10.40837}$	0.93791	1.16



## 2.2 添加有机肥对土壤中抗生素降解的影响

培养周期内青霉素 G 钾在添加有机肥土壤中的残留量和降解速率变化如图 1(b)、1(d)所示(降解速率由拟合后一级反应动力学的参数计算得出)。以青霉素 G 钾初始浓度为  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  为例,可以看出,土壤中青霉素 G 钾的浓度随时间逐渐降低,在培养的前 7 天,抗生素快速降解,第 0、1、3、5 和 7 天的降解速率分别为  $3.71$ 、 $2.61$ 、 $1.29$ 、 $0.64$  和  $0.32 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ,降解在第 7 天之后趋于平缓。在实验第 7 天,土壤中青霉

素 G 钾的浓度为  $0.07 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,降解率为  $99.3\%$ ,在实验结束后,抗生素的浓度为  $28.7 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

添加有机肥土壤中不同初始浓度的青霉素 G 钾的降解动力学计算结果如表 4 所示。结果表明,在本实验的浓度范围内( $1 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),一级动力学方程和二级动力学方程均能很好地拟合实验结果,一级动力学方程拟合相关系数( $r^2$ )在  $0.91 \sim 0.978$  之间。由表 4 可知,青霉素 G 钾在添加了有机肥蔬菜地土壤中的半衰期为  $1.85 \sim 2.39 \text{ d}$ 。

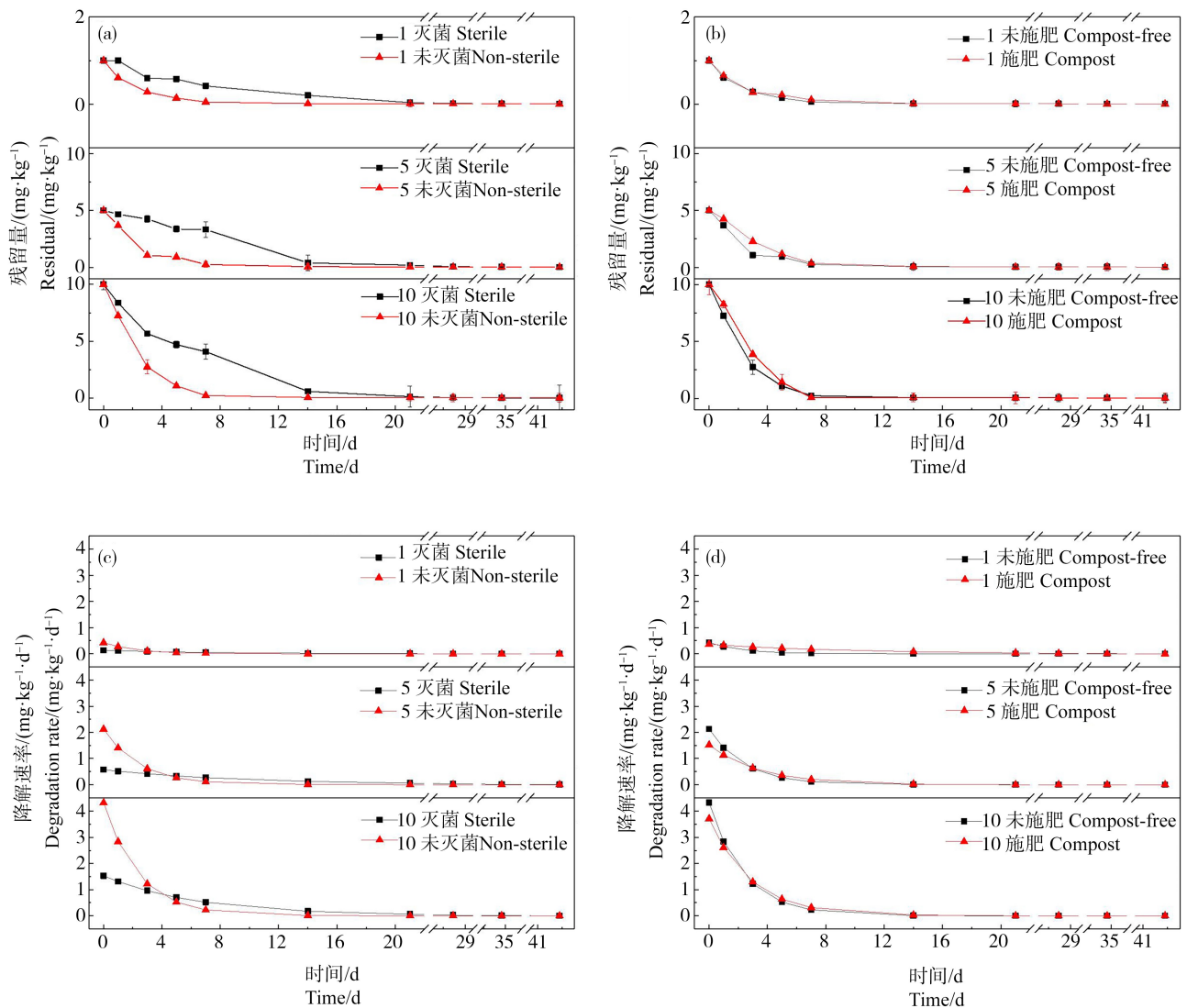


图 1 PG 在蔬菜地土壤中残留量和降解速率随时间的变化

注:图中 1、5 和 10 分别表示土壤中 PG 的初始浓度为  $1$ 、 $5$  和  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ; (a)、(c) 表示 PG 在灭菌与未灭菌组土壤中的残留量和降解速率, (b)、(d) 表示 PG 在施加有机肥与未施加有机肥组土壤中的残留量和降解速率。

Fig. 1 Residue and degradation rates of PG in vegetable soil

Note: 1, 5 and 10 denote the initial concentration of  $1$ ,  $5$  and  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  for PG in soil, respectively;

(a) and (c) denote residue and degradation rates of PG in sterile and non-sterile soil;

(b) and (d) indicate residue and degradation rates of PG in compost and compost-free soil.

表4 PG在添加有机肥土壤中的降解动力学参数

Table 4 Kinetic parameters for the degradation of PG in vegetable soils with compost

初始浓度 ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) Initial concentration ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	一级动力学 First-order kinetics			二级动力学 Second-order kinetics		
	方程 Equation	$r^2$	$\text{DT}_{50}/\text{d}$	方程 Equation	$r^2$	$\text{DT}_{50}/\text{d}$
1	$C_t=0.9791\times e^{-0.37438t}$	0.99117	1.85	$\frac{1}{C_t}=0.79487\times t+\frac{1}{1.09297}$	0.97768	1.23
5	$C_t=5.23582\times e^{-0.29011t}$	0.98983	2.39	$\frac{1}{C_t}=0.1063\times t+\frac{1}{5.33504}$	0.92784	1.76
10	$C_t=10.5359\times e^{-0.35176t}$	0.98334	1.97	$\frac{1}{C_t}=0.06524\times t+\frac{1}{10.62675}$	0.91066	1.44

### 3 讨论 (Discussion)

青霉素 G 钾在未灭菌土壤和灭菌土壤中的降解存在着显著差异( $P<0.05$ ),未灭菌土壤中青霉素 G 钾的降解速率快于灭菌土壤,且无论是灭菌土壤还是未灭菌土壤,青霉素 G 钾的降解都呈现先快后慢的趋势,最后趋于平衡,青霉素 G 钾会以一个很低的水平(小于兽药国际协调委员会提出的生态毒害效应触发值  $100\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )在土壤中存在很长时间,可能会存在诱导土壤中抗性基因的产生及转移的风险<sup>[23]</sup>。研究表明,青霉素 G 钾在土壤中的降解由生物与非生物共同作用所致。这一结果与 Andreozzi 等<sup>[24]</sup>研究阿莫西林的降解工艺包括非生物(水解)和生物(活性污泥中的生物降解)一致。Liu 等<sup>[25]</sup>研究好氧堆肥过程中阿莫西林的降解也得出类似结论,阿莫西林的降解过程中  $\beta$ -内酰胺环的开环受到生物和非生物因素的共同影响。

相同实验时间和相同处理条件下,不同浓度的抗生素降解速率表现出显著不同( $P<0.05$ ),抗生素初始浓度越高,降解速率越快,但不同初始浓度的抗生素在土壤中降解的半衰期基本一致,最终降解程度也无明显差异,即污染水平对抗生素的半衰期无明显影响,进入环境中的青霉素 G 钾能很快降解(参考 POPs 国际公约中关于化学品持久性的定义,有机物在土壤中的半衰期小于 1 个月的为易降解),但由于青霉素在畜禽养殖业中的大量使用,导致青霉素源源不断地进入到环境中,造成假性持久性污染。Zhang 等<sup>[26]</sup>研究初始浓度为  $898.51\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的青霉素菌渣与猪粪共堆肥时,发现青霉素的半衰期为 1.7 d,在堆肥混合料中添加青霉素发酵菌渣对堆肥过程没有影响,甚至对堆肥中微生物的活性没有促进作用。与本实验结果相反, Yang 等<sup>[27]</sup>研究磺胺嘧啶在

土壤中的降解情况时,设置了 1、10 和  $25\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  3 个浓度,发现其半衰期分别为 2、18 和 34 d,认为高浓度的磺胺嘧啶抑制了土壤中的微生物活性,影响到了抗生素的降解过程。Selvam 等<sup>[28]</sup>研究四环素的降解时也发现了类似结果,四环素的半衰期为 11.5 d。因此,可以假设,由于青霉素降解速率快,半衰期短,其初始浓度对细菌种群的影响较小且非生物作用在青霉素的降解过程中起着重要的作用。

运用 SPSS 24 对实验期内抗生素在未添加有机肥土壤和添加有机肥土壤的残留量数据进行单因素方差分析,发现 2 组数据差异不明显( $P>0.05$ )。可能是由于本实验用的是堆肥 18 d 后的有机肥,每单位干重有机肥的碳、氮含量低于动物鲜粪<sup>[29]</sup>,且添加有机肥比例较小,实验期内土壤碳源充足,导致所添加有机肥不能有效地增加土壤中微生物的数量,对土壤中抗生素的生物降解影响较小。实验结束后,2 种土壤中青霉素 G 钾含量均  $<30\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,差异不大,表明在当前添加有机肥的含量下,对抗生素的最终降解率不产生明显影响。

抗生素在土壤中的降解,除生物降解以外,还有其他因素的影响,如抗生素的理化性质、土壤的理化性质及环境因素等<sup>[30-33]</sup>。本实验在避光环境下进行,光照对于抗生素降解的影响可忽略不计,因此,非生物降解主要考虑水解和土壤理化性质影响。研究表明, $\beta$ -内酰胺类抗生素结构中的  $\beta$ -内酰胺环不稳定,在环境中容易受酸碱度、二价重金属离子、羟基离子和  $\beta$ -内酰胺酶的影响,发生酰胺键断裂开环,使得抗生素发生降解<sup>[25,34-35]</sup>。青霉素类抗生素在酸性、中性和碱性环境中,均能发生水解反应, $\beta$ -内酰胺环开环<sup>[36]</sup>,有些金属离子,例如 Chen 等<sup>[37]</sup>研究发现, $\text{Fe}^{3+}$ 能与氨苄西林的羧基和叔氮配位,促进

抗生素的水解反应。王伟杰和贾励瑛<sup>[38]</sup>研究头孢克洛的水解行为,发现温度在 25 ~ 45 °C 内,抗生素水解率随温度升高而增大,推测是温度的升高加速了水解反应的进行。章明奎等<sup>[39]</sup>研究 4 类抗生素在 10 种不同土壤中的降解行为,结果表明,土壤粘粒含量和氧化铁含量与降解率呈显著负相关关系,土壤有机质含量轻微影响抗生素降解率,土壤 pH 和阳离子交换量几乎不影响抗生素降解率。

综上,本研究表明,青霉素 G 钾在土壤中的降解速度很快,7 d 内降解率达到 97% 以上。本实验周期内(42 d)青霉素 G 钾以较低的水平( $<100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )在土壤中长期存在且难以降解完全;青霉素 G 钾在灭菌与未灭菌蔬菜地土壤的降解曲线显示,其降解过程受生物和非生物作用共同影响。动力学拟合方程表明,青霉素 G 钾的降解速率与浓度呈正相关,但其半衰期与浓度无显著关系(1.61 ~ 1.67 d);按质量比 1:0.025(土壤:有机肥)添加自然堆肥 18 d 后的猪粪不改变青霉素 G 钾的最终降解率,且降解过程和未添加有有机肥组无显著差异。

**通讯作者简介:** 沈根祥(1965—),男,博士,教授级高级工程师,主要研究方向为农村生态保护和生态毒理学。

**共同通讯作者简介:** 赵晓祥(1961—),男,工学博士,研究员,主要研究方向为环境生物技术、生物修复、生态毒理、环境材料和生物检测。

#### 参考文献 (References):

- [1] Chu L B, Chen D, Wang J L, et al. Degradation of antibiotics and antibiotic resistance genes in erythromycin fermentation residues using radiation coupled with peroxymonosulfate oxidation [J]. *Waste Management*, 2019, 96: 190-197
- [2] Iakovides I C, Michael-Kordatou I, Moreira N F F, et al. Continuous ozonation of urban wastewater: Removal of antibiotics, antibiotic-resistant *Escherichia coli* and antibiotic resistance genes and phytotoxicity [J]. *Water Research*, 2019, 159: 333-347
- [3] Zhu Y G, Hashsham S A, Tiedje J M, et al. Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110 (9): 3435-3440
- [4] Chen D, Chu L B, Wang J L, et al. Degradation of antibiotic cephalosporin C in aqueous solution and elimination of antimicrobial activity by gamma irradiation [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 374: 1102-1108
- [5] Klein E Y, van Boeckel T P, Martinez E M, et al. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(15): 3463-3470
- [6] Liu Y S, Zhang Q Q, Pan C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river Basins of China: Source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(11): 6772-6782
- [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
- Wang X X, Zhang H C, Shen G X, et al. Vertical migration of typical sulfonamide antibiotics in paddy soil [J]. *Environmental Chemistry*, 2018, 37 (8): 1746-1754 (in Chinese)
- [8] Zhang Q C, Dick W A. Growth of soil bacteria, on penicillin and neomycin, not previously exposed to these antibiotics [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 493: 445-453
- [9] Selvam A, Wong J W C. 12-Degradation of Antibiotics in Livestock Manure during Composting [M]//Wong J, Tyagi R D, Pandey A. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier, 2017: 267-292
- [10] Aust M, Godlinski F, Travis G R, et al. Distribution of sulfamethazine, chlortetracycline and tylosin in manure and soil of Canadian feedlots after subtherapeutic use in cattle [J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156(3): 1243-1251
- [11] Kumar K, Gupta S, Chander Y, et al. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment [J]. *Advances in Agronomy*, 2005, 87: 1-54
- [12] Chen J F, Jiang X S, Tong T L, et al. Sulfadiazine degradation in soils: Dynamics, functional gene, antibiotic resistance genes and microbial community [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 691: 1072-1081
- [13] Pan M, Chu L M. Adsorption and degradation of five selected antibiotics in agricultural soil [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 545-546: 48-56
- [14] Sollicc M, Roy-Lachapelle A, Gasser M, et al. Fractionation and analysis of veterinary antibiotics and their related degradation products in agricultural soils and drainage waters following swine manure amendment [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 543: 524-535

- [15] 段子恒. 青霉素菌渣肥对土壤环境和西红柿生长的影响研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2016: 16-17  
Duan Z H. Effect of penicillin mycelial dreg fertilizer on soil environment and growth of tomato [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2016: 16-17 (in Chinese)
- [16] 刘燕, 张振华, 鲍王波, 等. 青霉素对土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2016, 32(2): 309-314  
Liu Y, Zhang Z H, Bao W B, et al. Effects of penicillin on soil microbial community structure [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2016, 32(2): 309-314 (in Chinese)
- [17] 马静静. 内蒙古牧区土壤中兽药青霉素的残留及吸附研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2010: 24-27  
Ma J J. Study on veterinary penicillin residues and adsorption in soil of Inner Mongolia pastoral [D]. Hohhot: Inner Mongolia University, 2010: 24-27 (in Chinese)
- [18] Lida I T, Saurav R, Halan P, et al. Solar photo-Fenton oxidation for the removal of ampicillin, total cultivable and resistant *E. coli* and ecotoxicity from secondary-treated wastewater effluents [J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 355: 91-102
- [19] Chu L B, Zhuang S T, Wang J L. Degradation kinetics and mechanism of penicillin G in aqueous matrices by ionizing radiation [J]. Radiation Physics and Chemistry, 2018, 145: 34-38
- [20] 刘庆, 马力. 超声波对牛奶中青霉素的降解研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3): 138-296  
Liu Q, Ma L. Study on resolving the penicillin in milk by ultrasonic technology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(3): 138-296 (in Chinese)
- [21] 刘庆. 牛奶中抗生素的降解研究[D]. 成都: 西华大学, 2011: 43-44  
Liu Q. The study on degradation of antibiotic in milk [D]. Chengdu: Xihua University, 2011: 43-44 (in Chinese)
- [22] Li D, Yang M, Hu J Y, et al. Determination of penicillin G and its degradation products in a penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river [J]. Water Research, 2008, 42(1): 307-317
- [23] Levin-Reisman I, Ronin I, Gefen O, et al. Antibiotic tolerance facilitates the evolution of resistance [J]. Science, 2017, 355(6327): 826-830
- [24] Andreozzi R, Giudice R, Zuccato E, et al. Antibiotics in the environment: Occurrence in Italian STPs, fate, and preliminary assessment on algal toxicity of amoxicillin [J]. Environmental Science & Technology, 2004, 38 (24): 6832-6838
- [25] Liu N, Han H J, Yin H J, et al. Variations in the fate and risk analysis of amoxicillin and its degradation products during pig manure aerobic composting [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 346: 234-241
- [26] Zhang Z H, Zhao J, Yu C G, et al. Evaluation of aerobic co-composting of penicillin fermentation fungi residue with pig manure on penicillin degradation, microbial population dynamics and composting maturity [J]. Bioresource Technology, 2015, 198: 403-409
- [27] Yang J F, Ying G G, Yang L H, et al. Degradation behavior of sulfadiazine in soils under different conditions [J]. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 2009, 44(3): 241-248
- [28] Selvam A, Zhao Z Y, Li Y C, et al. Degradation of tetracycline and sulfadiazine during continuous thermophilic composting of pig manure and sawdust [J]. Environmental Technology, 2013, 34(16): 2433-2441
- [29] 李红燕. 畜禽粪便堆肥过程中有机肥腐熟研究[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(12): 70-72  
Li H Y. Study on ageing of organic fertilizer in composting process of livestock and poultry manure [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2019, 47(12): 70-72 (in Chinese)
- [30] Wang W, Han Q, Zhu Z J, et al. Enhanced photocatalytic degradation performance of organic contaminants by heterojunction photocatalyst BiVO<sub>4</sub>/TiO<sub>2</sub>/RGO and its compatibility on four different tetracycline antibiotics [J]. Advanced Powder Technology, 2019, 30(9): 1882-1896
- [31] Wang J L, Zhuan R, Chu L B. The occurrence, distribution and degradation of antibiotics by ionizing radiation: An overview [J]. Science of the Total Environment, 2019, 646: 1385-1397
- [32] Kaeseberg T, Zhang J, Schubert S, et al. Abiotic, biotic and photolytic degradation affinity of 14 antibiotics and one metabolite-batch experiments and a model framework [J]. Environmental Pollution, 2018, 241: 339-350
- [33] Braschi I, Blasioli S, Fellet C, et al. Persistence and degradation of new  $\beta$ -lactam antibiotics in the soil and water environment [J]. Chemosphere, 2013, 93(1): 152-159
- [34] Cha J M, Yang S, Carlson K H. Trace determination of  $\beta$ -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1115(1): 46-57
- [35] Leung H W, Minh T B, Murphy M B, et al. Distribution, fate and risk assessment of antibiotics in sewage treatment plants in Hong Kong, South China [J]. Environment Inter-



- national, 2012, 42: 1-9
- [36] Hirsch R, Ternes T, Haberer K, et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment [J]. *Science of the Total Environment*, 1999, 225(1): 109-118
- [37] Chen J B, Wang Y, Qian Y J, et al. Fe(III)-promoted transformation of  $\beta$ -lactam antibiotics: Hydrolysis vs oxidation [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 335: 117-124
- [38] 王伟杰, 贾励璞.  $\beta$ -内酰胺类抗生素水解行为的研究 [J]. *云南化工*, 2018, 45(4): 111-112
- Wang W J, Jia L Y. Study on hydrolysis behavior of beta-lactam antibiotics [J]. *Yunnan Chemical Technology*, 2018, 45(4): 111-112 (in Chinese)
- [39] 章明奎, 顾国平, 鲍陈燕. 兽用抗生素在土壤中的衰减特征及其与土壤性状的关系研究 [J]. *中国农学通报*, 2015, 31(31): 228-236
- Zhang M K, Gu G P, Bao C Y. Degradation characteristics of veterinary antibiotics in soils and its relationship with soil properties [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2015, 31(31): 228-236 (in Chinese) ◆