

洛克沙肿在青菜及土壤中的残留特性

张雨梅, 陈冬梅, 马一冬, 朱爱华, 刘宗平

(扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009)

摘要:通过盆栽试验,利用原子荧光和高效液相色谱法研究了洛克沙肿在青菜及土壤中的残留特性。结果表明,青菜对洛克沙肿有明显的吸收累积现象,在试验期内植株中砷浓度均高于国家规定的蔬菜中砷限量($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)。洛克沙肿在土壤中的消除可按指数模型拟合,相关系数大于 0.9,平均半衰期为(20.87 ± 2.16)d。至 60 d 时,除 $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组外,各处理组土中的洛克沙肿含量为 $6.42\sim22.86\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

关键词:洛克沙肿;土壤;青菜

中图分类号:X592 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)06-2467-04

The Characteristics of Roxarsone Residue in Chinese Cabbage and Soil

ZHANG Yu-mei, CHEN Dong-mei, MA Yi-dong, ZHU Ai-hua, LIU Zong-ping

(Veterinary College of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: The pot cultivation experiment, integrated with automic fluorescence analysis & high performance liquid chromatography methods, was developed for exploring the residual property of roxarsone in Chinese cabbage and soil in which the vegetable was planted. The experimental soil was treated by roxarsone at 0, 20, 50, 80, 150 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ concentration. The As content in Chinese cabbage at different growth dates was analysed by automic fluorometry whereas the roxarsone concentration in soil it was measured by HPLC method. The results showed that the absorption and accumulation to roxarsone was obviously found in pakchoi cabbage seedling when it was planted in roxarsone treated soil. The contents of arsenic in the plants druing the whole experimental time were higher than the arsenic permitted limit level ($0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) of vegetables in China. The degradation laws of roxarsone in soil were coincide with exponential equation which the correlation coefficients were more than 0.9 and average half-life was (20.87 ± 2.16)d. The concentrations of roxarsone in soil treated were high in the concentration of $6.42\sim22.86\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ at the 60th day except the group of $20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ roxarsone. Roxarsone, a main organoarsenic residue in animal manure, was then focolized on its safety to soil fertilizer and the arsenic content of vegetable planted in because of the clear absorption and accumulation in Chinese cabbage and slow degradation in soil.

Keywords: roxarsone; soil; Chinese cabbage

洛克沙肿(Roxarsone, ROX),化学名 3-硝基-4-羟基苯肿酸,也称洛克沙生,砷元素占 ROX 分子的质量分数为 28.5%,是一种有机肿饲料添加剂,在世界范围内广泛用于畜禽促生长。我国使用的有机肿添加剂主要有洛克沙肿和阿散酸,以洛克沙肿使用较多。

ROX 进入动物体内吸收很少,主要以药物原形从粪便排出。肉鸡在 42 d 生长期中,若按正常剂量在

饲料中添加,将总共向周围环境排出 150 mg ROX,从鸡场废弃物样品中检测到 $10\sim50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的砷(以总砷计)^[1],相当于 ROX 浓度约为 $35\sim175\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。如果一个养殖场每年养殖 2 亿羽肉鸡,则每年将向环境排放 8 t 以上的砷^[2]。Hancock T C 等^[3-4]研究认为,在美国一个叫 Delmarva Peninsula 的地区,估计每年养殖约 6 亿羽肉鸡,将产生 15 亿 t 粪便,每年向周围排放 20~50 t 砷。由此可以看出畜禽养殖废弃物向环境排放的砷是惊人的。

目前,我国畜禽粪便多未进行无害化处理,仅进行简单处理如腐熟等,有相当比例未经任何处理直接

收稿日期:2008-01-02

基金项目:江苏省高校自然科学基金(06KJB203108)

作者简介:张雨梅(1964—),女,博士,副教授,主要从事兽药残留及其生态毒理研究。E-mail:ymzhnet@sina.com

以有机肥用于农业。畜禽粪便中残留的有机肿可能影响土壤质量及土壤中作物的生长,并可能影响到蔬菜和粮食作物的食用安全性^[5-6],是目前设施农业中无公害蔬菜砷超标的主要原因^[7]。本文通过盆栽试验,模拟畜禽粪便中 ROX 对土壤的污染,为畜禽粪便肥料的施用对土壤中砷水平的影响及对蔬菜生长的安全性评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试土壤采自扬州大学花园土,土质为灰潮土。平均含水率为 12.24%,基本性状如下:pH6.5,有机质 19.08 g·kg⁻¹,速效氮 81.07 mg·kg⁻¹,速效磷 39.72 mg·kg⁻¹,速效钾 74.47 mg·kg⁻¹。

ROX 原料药:浙江康达动物保健品有限公司,批号 050420,纯度≥98.5%。

ROX 对照品:ROX 原料药经甲醇 2 次重结晶后得到,经高效液相色谱(HPLC)归一化法测定,含量为 99.86%。

200 mg·L⁻¹ ROX 贮备液:准确称取 ROX 对照品 20.03 mg,用甲醇溶解并定容至 100 mL。

ROX 工作液:吸取 ROX 贮备液 10.0 mL,用流动相稀释定容至 100 mL,即为 20.0 mg·L⁻¹ROX 的工作液。

主要仪器与试剂:AFS-2202a 型双道原子荧光分光光度计(北京万拓仪器有限公司);LC-10AT 高效液相色谱仪紫外检测器(日本岛津公司);硝酸、硼氢化钠、硫脲、抗坏血酸等均为分析纯;砷标准液,GR 级(中国标准中心)。

青菜品种为扬州青。

1.2 方法

1.2.1 盆栽试验

盆栽试验:供试小盆高 30 cm,内径 25 cm。试验时间:2006 年 3 月 1 日—2006 年 6 月 12 日。

供试土壤以鸡粪作为底肥(土肥 10:1)混匀放置 10 d 后,加 ROX 使其浓度分别为 0、20、50、80、150 mg·kg⁻¹,每盆 2.5 kg 土。每盆分别播种 10 粒青菜,每一剂量组 20 盆,添加水分到该土壤田间持水量的 75%。分别在 20、30、40、50、60、70、80、90 d 时每盆中取青菜植株 1 株,一次共取 10~15 株,风干后用原子荧光法测定其中的总砷含量。分别在 ROX 处理后 0、1、3、5、7、9、11、13、15、17、20、30、40、50、60 d 取表层下约 3~4 cm 处的土混合后,用高效液相色谱法测定

土壤中 ROX 含量。

1.2.2 原子荧光法(AFS)测定青菜、番茄中砷含量

AFS 测定条件:光电倍增管负高压 260 V;原子化器温度 200 ℃;原子化器高度 8 mm;灯电流 60 mA;载气流量 400 mL·min⁻¹;屏蔽气流量:1 000 mL·min⁻¹。

砷标准曲线制作:吸取砷标准液适量,稀释成 1、12.5、25.0、50.0、75.0、100.0 μg·L⁻¹ 系列浓度后,上机测定。以 As 浓度与荧光强度绘制标准曲线。

风干并粉碎的青菜样品 0.2 g,精密称定,经硝酸消化后,用水定容至 25 mL,用原子荧光法测定其中的总砷,平行测定 3 次。根据标准曲线计算各试验组青菜中的砷含量。

1.2.3 高效液相色谱法(HPLC)测定土壤中 ROX

色谱条件:ODS C₁₈(5 μm, 150 mm×4.6 mm)柱,C₁₈ 预柱;流动相:0.05 mol·L⁻¹ KH₂PO₄:甲醇:10%乙酸 = 90:5:5;检测波长:254 nm;柱温:30 ℃;流速:1.0 mL·min⁻¹。

工作曲线绘制:分别吸取 ROX 工作液适量,用流动相稀释成浓度分别为 0.050、0.100、0.200、0.500、1.000、2.000、10.000、20.000 mg·L⁻¹ 的溶液,上机测定,每一浓度重复 3 次。以测定的 ROX 峰面积和溶液浓度(mg·L⁻¹)进行线性回归,计算回归方程、线性系数、精密密度。

回收率测定:土壤样品 0.5 g,加入一定量的 ROX 工作液,使土壤中 ROX 终浓度分别为 0.2、2.0、10.0 mg·kg⁻¹,依土壤中 ROX 含量测定方法测定,每个添加浓度重复 5 次,以实际测定量与添加量相比较,计算添加回收率。

土壤样品处理:取土样 5 g,精密称定,加入 0.05 mol·L⁻¹ K₂HPO₄ 溶液 10 mL 振荡(25 ℃,160 r·min⁻¹)12 h,3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,上清液过 0.45 μm 滤膜后,上机测定。每样平行测定 3 次。根据色谱峰面积,从工作曲线求得土壤样品中 ROX 的含量。

2 结果

2.1 青菜中砷水平的变化

AFS 法测定砷的标准工作曲线为: $y=39.52x+98.609$ 。 y 为荧光强度, x 为砷浓度,μg·L⁻¹;线性关系 $R^2=0.9996$ 。

图 1 为青菜中砷含量变化曲线图,从中可以看出生长期在 50 或 60 d 内,青菜中砷含量呈逐渐增加的态势,50 或 60 d 后缓慢降低;至 90 d 时各组砷含量仅比峰值下降 3.9%~10.5%,20、50、80、150 mg·kg⁻¹ 组

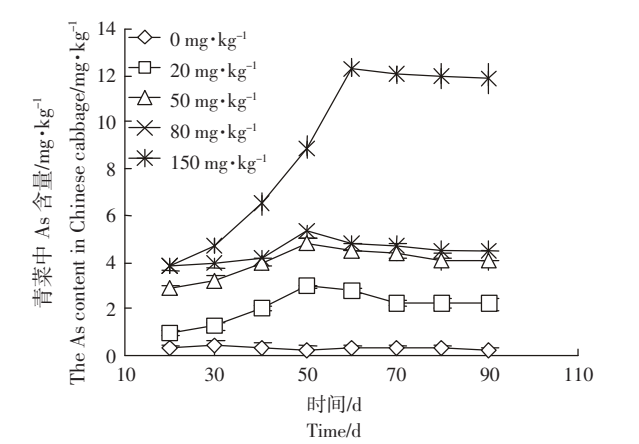


图 1 青菜中砷含量变化

Figure 1 The concenction of As in Chinese cabbage planted in the soil with roxarsone pollution

降解率分别为 23.66%、15.14%、14.83%、3.94%；至 90 d 时,150 mg·kg⁻¹ 组青菜砷含量仍超过 10 mg·kg⁻¹, 其他各组砷含量均大于 2 mg·kg⁻¹。

2.2 土壤中 ROX 的消解变化

2.2.1 测定土壤中 ROX 的 HPLC 方法

在选定的色谱条件下,ROX 的保留时间约为 7.58 min。工作曲线为 $y=17.726x$ 。x 为 ROX 浓度 mg·L⁻¹, y 为峰面积, $R^2=0.999\ 1$ 。线性范围在 0.10~20.00 mg·L⁻¹。最低检测浓度可达 0.02 mg·L⁻¹。

在 ROX 添加水平为 0.2、2.0、10.0 mg·kg⁻¹ 时,回收率分别测得为 (81.60±3.68)%、(84.12±3.25)% 和 (92.82±2.38)%。批内批间精密密度均小于 10%。

2.2.2 土壤中 ROX 的消解曲线

从图 2 中可以看出,ROX 在种植青菜的土壤中的消除是缓慢的,至 60 d 时,除 20 mg·kg⁻¹ ROX 组在土中的浓度小于 2 mg·kg⁻¹ 外,其他各处理组 ROX 在土中的含量均大于 7 mg·kg⁻¹ (7.13~22.86 mg·kg⁻¹)。

2.2.3 ROX 在土壤中的残留动态模拟

ROX 在土壤中的消解动态变化,按经典的负增长指数模型拟合,拟合方程见表 1。

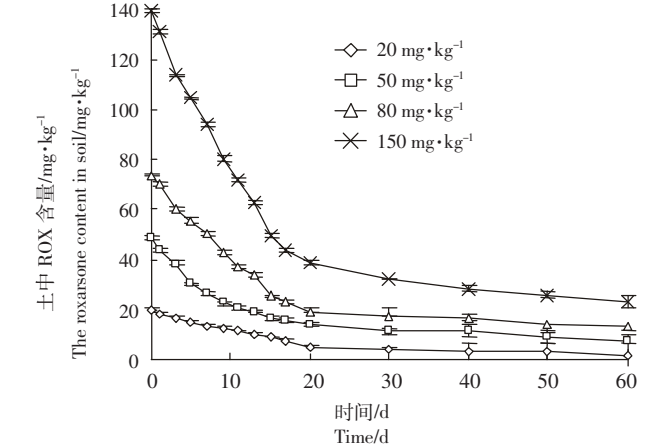


图 2 种植青菜的土中 ROX 含量变化

Figure 2 The concenction of roxarsone in the polluted soil by roxarsone where Chinese cabbage was planted in

2.3 青菜中砷含量与土中 ROX 残留量的关系

土壤中的 ROX 含量与青菜植株中砷含量的关系如图 3 所示。土壤中 ROX 能够被青菜吸收,在一定范围内,土壤中 ROX 残留量与青菜的吸收呈正相关,在

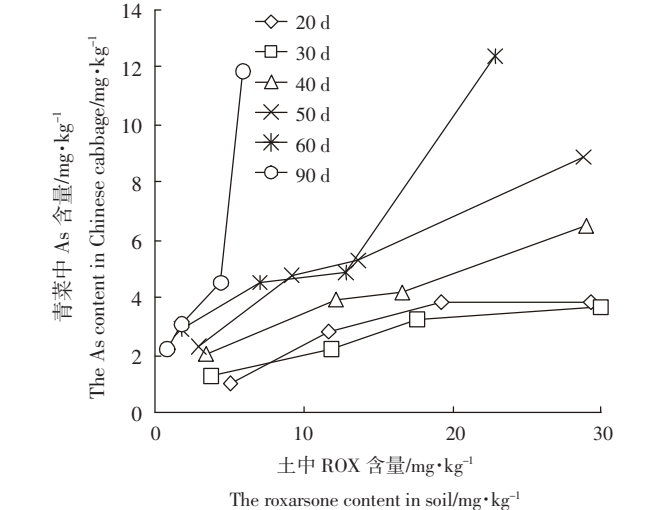


图 3 不同生长期青菜中砷含量与土中 ROX 含量关系

Figure 3 The relationship of roxarsone residue between Chinese cabbage and soil at different experimental time

表 1 ROX 在土壤中的残留动态模拟及半衰期				
Table 1 The mimetic residues dynamic and half degradation time of roxarsone in soil				
剂量组/mg·kg ⁻¹ Groups/mg·kg ⁻¹	方 程 Equation	相关系数 Correlation coefficient	$T_{1/2}$ /d	平均半衰期/d Average $T_{1/2}$ /d
20	$Y=16.95e^{-0.039\ 5t}$	0.972\ 9	17.54	20.87±2.16
50	$Y=33.076e^{-0.028\ 6t}$	0.921\ 5	24.23	
80	$Y=54.707e^{-0.029\ 8t}$	0.909\ 6	23.26	
150	$Y=103.907e^{-0.030\ 8t}$	0.923\ 8	22.43	

青菜种植后 20、30、40、50、60、90 d 时,两者的相关性分别为 0.872 8、0.949 7、0.992 3、0.989 7、0.940 5、0.873 2。图 3 中曲线的斜率随种植时间的延长而加大,结合不同时间点青菜中总砷的含量,也说明青菜对土中的 ROX 有吸收累积现象,90 d 时,平均生物富集因子为 1.86±0.56。

3 讨论

从青菜中砷水平测定结果可以看出,在 ROX 污染的土壤中生长的青菜对土壤中 ROX 有明显的吸收累积,且随着 ROX 的污染量加大吸收量也增加,在一定范围内呈正相关。青菜属于芸苔属植物,与文献报道^[8-9]芸苔属植物对重金属有较明显的吸收累积现象相一致。在整个试验期内,ROX 不同剂量处理的土壤中生长的青菜中砷含量均超过我国无公害蔬菜质量标准中砷限量(以无机砷计为 0.5 mg·kg⁻¹),说明在 ROX 污染的土壤中生长的蔬菜,存在着砷超标的风险,对蔬菜的食用安全性存在威胁。曾希柏等研究认为设施农业生产方式下无公害蔬菜砷超标与长期使用含砷残留的畜禽粪便有关^[7]。提示我们应对畜禽粪便作为有机肥使用,对蔬菜或农作物中砷含量可能超标应进一步认识,对畜禽粪便中砷、重金属残留等对蔬菜及粮食作物的食用安全性进行风险评价,对畜禽粪便中有毒有害金属、类金属的排放及排放限量加强研究和立法。

ROX 随畜禽粪便进入土壤后,必然会增加土壤中砷含量。由于 ROX 在土壤中的降解较慢,在长期使用畜禽粪便施肥的地区,特别是畜禽粪便施肥量超过土壤负荷量时,土壤中砷含量会明显升高^[7-11],进而会影响到在其中生长的动植物的安全;由于 ROX 在土壤中的吸附迁移^[12-13],还可能会影响到地下水或地表水中的砷含量,必然会影响到土壤-水生态环境。

参考文献:

[1] Garbarino J R, Bednar A J, Rutherford D W, et al. Environmental fate of roxarsone in poultry litter. I. Degradation of roxarsone during composting[J]. *Environ Sci Technol*, 2003, 37(8):1509-1514.

[2] Jackson B P, Bertsch P M, Cabrera M L, et al. Trance element speciation in poultry litter[J]. *J Environ Qual*, 2003, 32(2):535-540.

[3] Miller C V, Foster G D, Huff T B, et al. Organic compounds and trace el-

ements in the Pocomoke River and tributaries[R]. Maryland, USGS Open File Report 99-57, 1999. 35.

[4] Sims J, Wolf D. Poultry waste management-agricultural and environmental issues[J]. *Advances in Agronomy*, 1994(52):1-83.

[5] 李道林, 程磊. 砷在土壤中的形态分布与青菜的生物学效应[J]. 安徽农业大学学报, 2000, 27 (2) :131-134.

LI Dao-lin, CHENG Lei. Distribution of As forms in soils and biological effect of As on Chinese cabbage(*Brassica chinensis* L.)[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2000, 27 (2) :131-134.

[6] 李海华,刘建武,李树人,等. 土壤-植物系统中重金属污染及农作物富集研究进展[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(1) : 30 - 34.

LI Hai-hua, LIU Jian-wu, LI Shu-ren, et al. The present progress of research on heavy metal pollution and plant enrichment in soil-plant system[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2000, 34(1) : 30 - 34.

[7] 曾希柏,李莲芳,白玲玉. 山东寿光农业利用方式对土壤砷累积的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18 (2) : 310-316.

ZENG Xi-bai, LI Lian-fang, BAI Ling-yu, et al. Arsenic accumulation in different agricultural soils in Shouguang of Shandong province [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007,18(2):310-316.

[8] Raskin I, Kumer N P, Dushenkov S, et al. Bioconcentration of heavymetal by plants[J]. *Current Opinion in Bio-technology*, 1994(5): 285-290.

[9] 王松良,郑金贵. 13 种小白菜基因型对 Cd、Pb、As 累积特性比较[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2005,34(3):304-308.

WANG Song-liang, ZHENG Jin-gui. Differential accumulation of cadmium,lead and arsenic among 13 cabbage(*Brassica chinensis* L.) genotypes in hydroponics culture[J]. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2005,34(3):304-308.

[10] 胡锋,李辉信,史玉英,等. 两种基因型小麦根际土壤生物动态及根际效应[J]. 土壤通报,1998, 29(3) : 133-135.

HU Feng, LI Hui-xin, SHI Yu-ying,et al. Dynamics of soil organism and rhizospheric effect in wheat of two genotypes[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1998, 29(3) : 133-135.

[11] 王付民,陈杖榴,孙永学,等. 有机肿饲料添加剂对猪场周围及农田环境污染的调查研究[J]. 生态学报,2006,26(1):154-162.

WANG Fu-min, CHEN Zhang-liu, SUN Yong-xue, et al. Investigation on the pollution of organoarsenical additives to animal feed in the surroundings and farmland near hog farms[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006,26(1):154-162.

[12] Brown B L, Slaughter A D, Schreiber M E. Controls on roxarsone transport in agricultural watersheds[J]. *Applied Geochemistry*, 2005 (20): 123-133.

[13] 张雨梅,陈冬梅,陈军,等. 洛克沙肿在土壤中的吸附特性 [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(6):2075-2079.

ZHANG Yu-mei, CHEN Dong-mei, CHEN Jun, et al. The sorption characteristics of roxarsone in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(6):2075-2079.