

江苏省畜禽粪便中磺胺类药物残留特征

陈 昇^{1,2,3}, 董元华^{1,2,3}, 王 辉^{1,2}, 安 琼^{1,2}, 张劲强^{1,2,3}, 刘新程^{1,2,3}

(1. 中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 江苏 南京 210008; 2. 中国科学院南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 江苏 南京 210008; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 2005—2006年采集了江苏省各市不同种类的集约化畜禽养殖场共178个畜禽粪便样品,用柱前衍生法高效液相色谱荧光检测器,检测了样品中8种磺胺类药物(磺胺胍、磺胺、磺胺嘧啶、磺胺甲噁唑、磺胺二甲嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺氯吡嗪、磺胺甲恶唑)残留情况。结果表明,磺胺类药物残留的检出率普遍较高,其中磺胺二甲嘧啶、磺胺氯吡嗪、磺胺检出率均高于50%。在平均残留量上磺胺甲噁唑、磺胺氯吡嗪最大。8种药物检出总量变化较大,总量大于3 000 ng·g⁻¹的小于5%,而总量小于200 ng·g⁻¹的约占50%,且各类药物同时检出的现象较为明显。在其地区分布上,苏北地区磺胺残留明显高于苏南,其中宿迁市残留量最高。在饲养类型上,奶牛的粪便磺胺残留最为严重。

关键词: 磺胺; 畜禽粪便; 鸡; 奶牛; 猪

中图分类号: X592 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)01-0385-05

Residual Characteristics of Sulfanilamide in Animal Feces in Jiangsu Province

CHEN Hao^{1,2,3}, DONG Yuan-hua^{1,2,3}, WANG Hui^{1,2}, AN Qiong^{1,2}, ZHANG Jin-qiang^{1,2,3}, LIU Xin-cheng^{1,2,3}

(1.State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences-Hong Kong Baptist University (ISSAS-HKBU) Joint Laboratory on Soil and Environment, Nanjing 210008, China; 3. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: 178 samples of animal manure were collected in Jiangsu Province in 2005 to 2006, the residues of sulfagidine(SG), sulfanilamide (SA), sulfadiazine (SD), sulfamerazine (SM1), sulfadimidin (SM2), sulfamonomethoxine (SMM), sulfachloropyridazine (SCP), sulfamethoxazole (SMZ) were determined by HPLC with fluorimetric detector after pre-column derivatization. The results revealed that the sulfanilamide all had a high level of occurrences of detection. The occurrences of detection of sulfadimidin, sulfachloropyridazine and sulfanilamide were higher than 50%. Sulfamerazine and sulfachloropyridazine had the highest pollution load. The data showed that the residue level with a concentration above 3 000 ng·g⁻¹ was less than 5%, while the pollution load with a concentration less than 200 ng·g⁻¹ was about 50%. Moreover, several sulfanilamides can be detected simultaneously in one feces sample. The pollution load of sulfanilamide residue in north-Jiangsu was higher than that in south-Jiangsu, and the city of Suqian had the highest pollution load. In terms of different kinds of animal feces, dairy manure had the highest pollution load.

Keywords: sulfanilamide; animal feces; chook; milch cow; pig

目前兽用抗生素不仅作为一种疾病治疗药,也作为促进生长和预防疾病的饲料添加剂在畜禽养殖业

中得到广泛使用^[1]。磺胺类药物作为一种典型兽药,其抗菌谱广,性质稳定,价格便宜,对控制感染性疫病有很好的作用。其作为饲料添加剂和疾病治疗药,在国内外都有广泛的使用。尽管磺胺类药物一般无杀菌作用,但它可干扰细菌叶酸的合成而阻止其生长繁殖,能抑制大多数革兰氏阳性菌和部分阴性菌^[2]。这些磺胺类药物中相当部分会随粪便排出体外,从而进入环境。由于磺胺类药物的广谱抗菌作用,其进入环境后必将对环境微生物群落产生影响。因此,极有必要对

收稿日期:2007-03-27

基金项目: 中国科学院知识创新工程方向项目(kzcx3-sw-435, KSCX2-YW-N-51-02); 国家“十一五”科技支撑计划(2006BAD10B05); 国家自然科学基金项目(40671093); 江苏省自然科学基金前期预研项目(BK2004219)

作者简介: 陈 昇(1982—),女,硕士研究生,主要研究方向为污染生态学。E-mail: hchen@issas.ac.cn

通讯联系人: 董元华 E-mail: yhdong@issas.ac.cn

畜禽粪便中磺胺残留状况进行测定和分析,这不仅有利于探讨规模化养殖产生的畜禽粪便农田土壤利用的适宜性及其环境风险,也可以进一步服务于畜禽粪便农用施用量标准的制定。据此,本文对江苏省 13 个市规模化畜禽养殖场畜禽粪便进行了采样,分析了其磺胺残留状况。

1 材料与方 法

1.1 供试粪便样

本实验在江苏省 13 个市内选取代表性畜禽养殖场共采得新鲜粪便样 178 个,畜禽类型包括鸡($n=63$)、猪($n=80$)、牛($n=35$)3 类。粪便鲜样置于塑料瓶中,置于冰箱 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存待用。

1.2 实验仪器

waters2695 型高效液相色谱仪,waters2475 荧光检测器,million-Q 超纯水制备系统,PHS-29 型实验室酸度计,WH-2 微型旋涡混合仪,离心机,恒温振荡器。

1.3 试剂

磺胺(SA)、磺胺甲噁啉(SM1)、磺胺二甲噁啉(SM2)、磺胺间甲氧噁啉(SMM)、磺胺氯哒嗪(SCP)以及衍生剂荧光胺均购于 sigma 公司,磺胺胍(SG)购于东京化成工业株式会社,磺胺甲恶唑(SMZ)、磺胺嘧啶(SD)购于中国药品生物制品检定所。乙腈、甲醇均为色谱纯;乙酸、乙酸钠均为分析纯。

标准溶液:准确称取磺胺、磺胺胍、磺胺甲噁啉、磺胺二甲噁啉、磺胺间甲氧噁啉、磺胺甲恶唑、磺胺氯哒嗪、磺胺嘧啶各 1.00 mg,于 10 mL 棕色容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,作为标准储备液。取各种储备液适量,用甲醇稀释成混合标准母液,再取混合标准母液用甲醇逐步稀释,配制校正曲线工作液,其浓度范围为 $10\sim 1\ 000\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用。

另准确称取荧光胺 20 mg 于 10 mL 容量瓶,加甲醇溶解并定容至刻度,作为荧光衍生剂,置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存待用。

缓冲盐:准确称取 3.414 g 乙酸钠以超纯水定容至 250 mL 为 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸钠母液;取母液 100 mL,

以超纯水定容至 500 mL 为浓度 $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,再以乙酸调节 pH 至 4.75 作上机用缓冲盐溶液。

1.4 方法

准确称取待测粪便鲜样 2.0 g,置于 15 mL 具塞离心管中,以 8 mL 色谱纯甲醇 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 浸泡过夜,再以 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡提取 45 min,在 $4\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速下离心 10 min,将上清液转入 25 mL 尖底试管。再分别以 6 mL 色谱纯甲醇 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡 45 min 提取两次。合并上清液,KD 浓缩至 1 mL,氮气吹干,准确加入 1 mL $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸钠缓冲盐,在涡旋器涡旋 2 min,为待测液。进样前 30 min 加入 $0.1\text{ mL}\ 2\ 000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 荧光胺,供 HPLC 测定。色谱柱及保护柱分别为 Gemini C18 色谱柱($150\text{ mm}\times 4.6\text{ mm I.D.}, 5\ \mu\text{m}$), Gemini C18 保护柱($4.0\text{ mm}\times 3.0\text{ mm I.D.}$)。

本方法对所选 8 种磺胺回收率均高于 80%,最低检出限(DML)为: $0.02\sim 0.08\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (表 1)。

1.5 色谱工作条件

流动相组成:流动相 A 为乙腈,流动相 B 为 pH=4.75 的 $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸钠缓冲盐。梯度条件如表 2。流速为 $0.8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量为 $10\ \mu\text{L}$,柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$,检测器激发波长和发射波长分别为 420 nm 和 485 nm。

1.6 数据处理

数据处理以 excel 及 spss13.0 软件进行数据分析及统计。样品中各种药物残留量不符合正态分布,故其平均值采用中位数表示;在对样品药物残留量与样品类型和地域分布进行 K-W 非参数统计差异显著性检验时,未检出样品按照方法检出限的 1/2 处理。

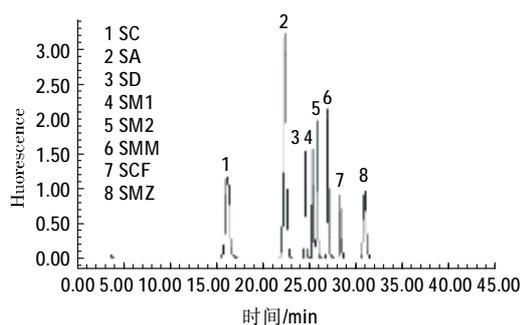


图 1 磺胺类药物标样色谱图

Figure 1 Chromatogram of SAs standard

表 1 回收率及最低检出限

Table 1 The recovery rates and the detection limit

	SG	SA	SD	SM1	SM2	SMM	SCP	SMZ
回收率/%	87 ± 3	83 ± 2	83 ± 2	91 ± 2	90 ± 3	92 ± 2	87 ± 3	81 ± 2
最低检出限/ $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$	0.03	0.02	0.03	0.03	0.05	0.05	0.08	0.06

表 2 流动相梯度洗脱程序
Table 2 Gradient elution program

时间/min	乙腈	乙酸钠缓冲盐
0	25%	75%
15	25%	75%
16	30%	70%
20	30%	70%
21	40%	60%
30	40%	60%
31	25%	75%
45	25%	75%

2 结果与讨论

2.1 江苏省畜禽粪便磺胺类药物残留一般状况

被测粪便样中除了少量粪便样品未检出磺胺类药物外,其他均有不同程度的检出,见表 3。其残留值较高的几种磺胺类药物依次是:磺胺甲噁唑>磺胺氯哒嗪>磺胺胍。检出率较高的几种磺胺类药物依次是:磺胺二甲嘧啶>磺胺氯哒嗪>磺胺,其余磺胺类药物检出率也均为 30% 以上。此次检出的磺胺类药物残留总量变化较大,其中总量大于 $3\ 000\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的小于 5%,而总量小于 $200\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的约占 50%。这一结果可能与磺胺类药物用药的实际情况有关。

2.2 畜禽粪便中磺胺类药物残留的区域性差异

本研究发现畜禽粪便中磺胺类药物残留的区域性差异较大,其分布情况见图 2。其中苏南地区磺胺类药物残留均值较低,苏北地区磺胺类药物残留普遍较高,其中宿迁市磺胺类药物残留量最高。苏中地区除南通市检出磺胺类药物残留较高外其他均较低,其中南京市磺胺类药物残留为江苏省最低。

以 spss13.0 Kruskal Wallis 检验江苏省各地区 8 种磺胺类药物残留差异性,结果显示:苏南苏中地区除磺胺胍及磺胺甲噁唑差异性显著外,其余 6 类磺胺差异性均不显著。苏中苏北地区则除磺胺二甲嘧啶差异性不显著外,其余 7 种磺胺类药物差异性均显著。其中,磺胺二甲嘧啶在各地区间的残留差异性均不显著。

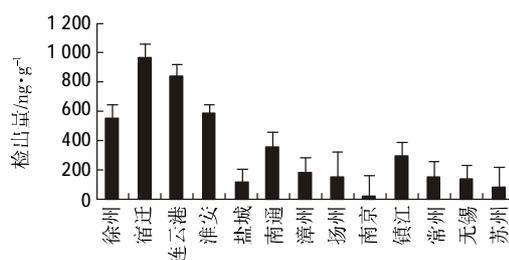


图 2 江苏省各市畜禽粪便中磺胺类药物检出量
Figure 2 The average residue of sulfanilamide in animal manures in the cities of Jiangsu Province

2.3 磺胺类药物残留的类别差异

在不同种类的磺胺类药物的残留中,磺胺胍、磺胺氯哒嗪平均残留量最大,磺胺甲噁唑次之,而磺胺平均残留量最小;检出率最高为磺胺二甲嘧啶。磺胺类药物残留均值与检出率见表 3,检出率与残留量的差异可能也与磺胺类药物的实际使用情况有关。此次检测结果还表明,多数样品为多种磺胺类药物同时检出,这可能在一定程度上反映了磺胺类药物在实际中多为混合使用。据有关文献报道,在磺胺类药物的实际使用中,其无论是做饲料添加剂还是治疗性药物都存在严重的混用现象。

2.4 不同养殖类型畜禽粪便中磺胺类药物残留检出率比较

不同养殖类型畜禽粪便中磺胺类药物残留检出率不同。其中猪类养殖中,肉猪粪和母猪粪均为磺胺二甲嘧啶检出率最高(大于 50%),而在肉猪粪中磺胺甲噁唑、磺胺间甲氧嘧啶及磺胺氯哒嗪检出率明显高于母猪粪,如图 3。在鸡类养殖中,肉鸡和蛋鸡均为磺胺检出率最高,磺胺间甲氧嘧啶次之,其他磺胺类药物检出率如图 4。在奶牛养殖中,磺胺二甲嘧啶检出率最高(大于 70%),磺胺氯哒嗪其次(大于 60%),其他种类磺胺类药物检出率如图 5。

2.5 不同养殖类型畜禽粪便中磺胺类药物残留总量比较

不同养殖类型畜禽粪便中磺胺类药物残留总量

表 3 江苏省各市畜禽粪便中磺胺类药物残留一般状况 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 干重)

Table 3 Residue of sulfanilamide in concentrated animal manures in Jiangsu Province ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ dry weight)

	SG	SA	SD	SM1	SM2	SMM	SCP	SMZ
检出率/%	36	50	32	40	57	49	51	34
检出最大值	7 105	2 493	3 693	2 942	1 947	5 185	3 280	6 478
检出最小值	0.08	0.37	0.81	1.26	0.26	0.14	0.11	0.36
检出均值	61	24	49	69	34	31	68	27
变异系数/%	155	313	157	180	172	225	141	339

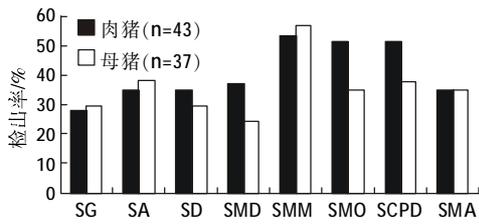


图 3 猪类养殖磺胺类药物残留检出率比较

Figure 3 The comparison of the detection rate of sulfanilamide in different types of pig raising

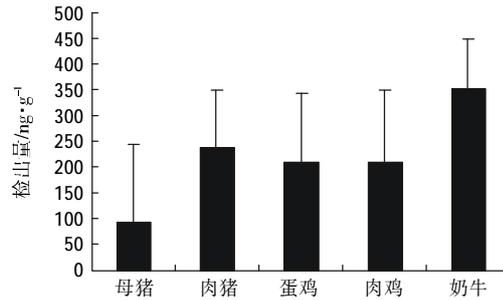


图 6 不同养殖类型磺胺残留量比较

Figure 6 The comparison of the residue level of sulfanilamide in different types of animal raise

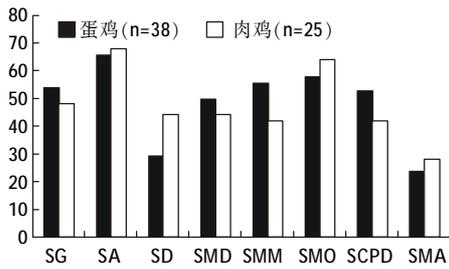


图 4 鸡类养殖磺胺类药物残留检出率比较

Figure 4 The comparison of the detection rate of sulfanilamide in different types of chicken raising

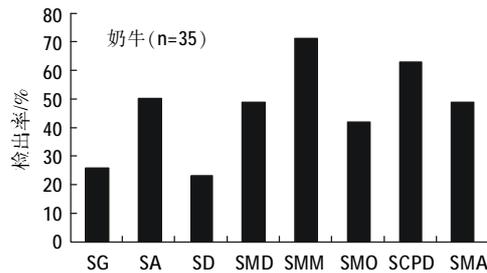


图 5 奶牛养殖磺胺类药物残留检出率比较

Figure 5 The comparison of the detection rate of sulfanilamide in milch cow raising

不同,如图 6 所示,奶牛粪中磺胺类药物残留总量最高而母猪粪中磺胺类药物残留总量最低。在鸡粪中,蛋鸡粪中磺胺类药物残留总量略低于肉鸡粪,但残留水平相差并不明显。在猪粪中,母猪粪中磺胺类药物残留总量明显低于肉猪粪,这可能与磺胺类药物

用于哺乳动物将降低产仔率,同时增大幼崽致畸率有关。此次研究中,奶牛粪中磺胺类药物残留总最高,这可能与磺胺类药物可以有效治疗牛的某种疾病有关。

以 spss13.0 Kruskal Wallis 检验江苏省不同养殖类型畜禽粪便中磺胺类药物残留差异性,结果显示,母猪粪和肉猪粪中磺胺类药物残留,除磺胺甲嘧啶及磺胺间甲氧嘧啶差异性显著外,其他各类磺胺类药物差异性均不显著。蛋鸡和肉鸡粪中磺胺类药物残留,各种磺胺类药物差异性均不显著。对猪粪与牛粪中磺胺类药物残留统计分析结果显示,8 类磺胺类药物残留量差异性均显著。对于猪粪与鸡粪而言,除磺胺胍及磺胺差异性显著外,其他各类磺胺药物差异性均不显著。而对于牛粪与鸡粪而言,除磺胺胍、磺胺及磺胺间甲氧嘧啶差异性不显著外,其他各类磺胺药物差异性均显著。

2.6 畜禽粪便中磺胺类药物残留的风险预估

这些磺胺类药物进入环境必然会对环境产生重要影响。对于磺胺类药物的环境毒理研究国内外都已经开始了初步的研究,有关结果列于表 6。本实验中粪便中磺胺总浓度高于 1 mg·kg⁻¹ 的约占总被测样品的 22%,其中磺胺嘧啶浓度高于 0.003 mg·kg⁻¹ 的约占种被测样品的 28%,尽管进入环境的磺胺类药物还

表 6 磺胺类药物生态毒理效应

Table 6 The eco-toxicological effect of sulfanilamide

药物	浓度	环境效应	来源
磺胺嘧啶	1 mg · kg ⁻¹	影响土壤微生物的呼吸作用	Yvonne Zielesny, 等 ^[3]
磺胺嘧啶	0.003~7.35 mg · kg ⁻¹	土壤微生物的禁阻效应 ED ₁₀ 即 10%有效剂量	Thiele-Bruhn, 等 ^[4]
磺胺类药物	1~25 mg · L ⁻¹	环境微生物产生禁阻和致死效应	Eng R H K, 等 ^[5]
磺胺二甲嘧啶	10 mg · L ⁻¹	影响土壤微生物的呼吸作用	刁晓平, 等 ^[6]
磺胺二甲嘧啶	125 mg · kg ⁻¹	抑制土壤中细菌生长	刁晓平, 等 ^[6]
磺胺二甲嘧啶	高于 10 mg · kg ⁻¹	蚯蚓的半致死浓度	刁晓平, 等 ^[7]

将有进一步的稀释,但其对环境产生的潜在影响不容小视。

3 结论

此次调查中磺胺类药物的检出率普遍较高,磺胺二甲嘧啶、磺胺、磺胺氯哒嗪检出率均高于50%,磺胺嘧啶检出率最低但也高于30%。在平均残留量上磺胺甲嘧啶、磺胺氯哒嗪最大,磺胺甲恶唑次之,而磺胺最小。8种磺胺类药物残留总量变化均较大,其中大致分布范围为总量大于 $3\ 000\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 的小于5%,而总量小于 $200\text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 的约占50%。此外,各种磺胺类药物同时检出的现象较为明显。在其地区分布上,其中苏南地区磺胺类药物残留均值较低,苏北地区磺胺类药物残留普遍较高,苏中地区除南通市检出磺胺类药物残留较高外其他均较低。在饲养类型上,奶牛的粪便磺胺类药物残留最高。

参考文献:

- [1] 梁剑平,李 蓉,张 力,等. 饲料添加抗生素的研究新进展[J]. 中兽医医药杂志,1997,2 :45-46.
- [2] 尤启冬. 药物化学[M]. 第五版,北京:人民卫生出版社,2004. 295-296.
- [3] Yvonne Zielezny, Joost Groeneweg, Harry Vereecken, et al. Impact of sulfadiazine and chlorotetracycline on soil bacterial community structure and respiratory activity[J]. *Soil Biology & Biochemistry*,2006,38: 2372-2380.
- [4] Thiele-Bruhn S, Beck I-C. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass[J]. *Chemosphere*, 2005,59:457-465.
- [5] Eng R H K, Padberg F T, Smith S M, et al. Bactericidal effects of antibiotics on slowly growing and nongrowing bacteria[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1991,1824-1828.
- [6] 刁晓平,孙英健,孙振钧,等. 磺胺二甲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.
- [7] 刁晓平,孙英健,孙振钧,等. 3种兽药在不同暴露系统对蚯蚓的急性毒性[J]. 农业环境科学学报,2004,23(4):823-826.