

休耕田对水产养殖废水抗生素去除及风险评估

聂正鑫, 蒋芷榆, 刘燕青, 曹羨, 李先宁

引用本文:

聂正鑫, 蒋芷榆, 刘燕青, 曹羨, 李先宁. 休耕田对水产养殖废水抗生素去除及风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2): 451–460.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0413>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

某规模化猪场废水中抗生素污染特征及生态风险评估

李盟军, 申健, 姚建武, 宁建凤, 王荣辉, 周凯军, 艾绍英

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 884–893 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1166>

典型养鸡场及其周边土壤中抗生素的污染特征和风险评估

涂棋, 徐艳, 李二虎, 师荣光, 郑向群, 耿以工

农业环境科学学报. 2020, 39(1): 97–107 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0823>

猪场粪污中典型重金属和抗生素的去除及农用风险评估

程宇航, 李合莲, 徐国豪, 韩雪梅, 刘英豪

农业环境科学学报. 2022, 41(1): 183–192 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0574>

小清河流域抗生素污染分布特征与生态风险评估

李嘉, 张瑞杰, 王润梅, 张华, 姜德娟, 邹涛, 唐建辉, 吕剑

农业环境科学学报. 2016, 35(7): 1384–1391 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.07.022>

我国长三角地区淡水池塘养殖水产品中抗生素残留及对人体暴露的贡献评价

贾斌, 庾旸, 马海川, 陈以芹, 李娟英

农业环境科学学报. 2022, 41(2): 238–245 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0607>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

聂正鑫, 蒋芷榆, 刘燕青, 等. 休耕田对水产养殖废水抗生素去除及风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2): 451–460.

NIE Z X, JIANG Z Y, LIU Y Q, et al. Risk assessment of antibiotics removal from aquaculture wastewater from fallow fields[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(2): 451–460.



开放科学 OSID

休耕田对水产养殖废水抗生素去除及风险评估

聂正鑫¹, 蒋芷榆², 刘燕青¹, 曹美¹, 李先宁^{1*}

(1. 东南大学能源与环境学院, 南京 210096; 2. 江苏省环保产业技术研究院有限公司, 南京 210096)

摘要:根据水产养殖废水集中于冬季排放和休耕田需在冬季引水调质的现实需求,提出将水产养殖废水回用休耕田的技术方案,并对废水中典型抗生素磺胺甲恶唑(SMX)在休耕田中的降解途径和效果进行研究,同时对水产养殖废水回用示范区休耕田进行健康风险分析。结果表明:土壤微生物降解是去除废水中SMX的主要途径,去除贡献率为65%~78%,土壤固定和植物吸收对SMX的去除贡献较低。在微生物群落属水平上检测到*Arthrobacter*(节杆菌属)、*Sphingomonas*(鞘氨醇单胞菌属)和*Bacillus*(芽孢杆菌属)3类降解SMX的优势菌属。TN、NO₃-N、TP和COD_{Cr}的去除效果均随SMX浓度升高而降低。在消纳水产养殖废水的休耕田中,残留的抗生素对人体健康和土壤生态系统的风险商值小于0.01,其潜在风险可忽略不计。

关键词:养殖废水;磺胺甲恶唑;去除贡献率;风险评估

中图分类号:X714 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)02-0451-10 doi:10.11654/jaes.2022-0413

Risk assessment of antibiotics removal from aquaculture wastewater from fallow fields

NIE Zhengxin¹, JIANG Zhiyu², LIU Yanqing¹, CAO Xian¹, LI Xianning^{1*}

(1. School of Energy and Environment, Southeast University, Nanjing 210096, China; 2. Jiangsu Environmental Protection Industry Technology Research Institute Co., Ltd., Nanjing 210096, China)

Abstract: Aquaculture wastewater is concentrated in winter and fallow fields need to be diverted and tempered in winter. This paper proposed a technical scheme to reuse aquaculture wastewater in fallow fields and analyzed the degradation of the typical antibiotic sulfamethoxazole (SMX) in wastewater in fallow fields. Meanwhile, a health risk analysis was carried out on the fallow fields in the demonstration area for the reuse of aquaculture wastewater. The results showed that soil microbial degradation was the main mechanism by which SMX was removed from wastewater, with a removal contribution rate of 65%–78%, whereas soil adsorption and plant uptake contributed less to the removal of SMX. At the genus level, *Arthrobacter*, *Sphingomonas*, and *Bacillus* were the dominant SMX-degrading genera. The removal efficiencies of TN, NO₃-N, TP, and COD_{Cr} decreased with increasing SMX concentration. In fallow fields that consume aquaculture wastewater, the risk entropy of residual antibiotics to human health and soil ecosystems was less than 0.01, and the potential risks were negligible.

Keywords: aquaculture wastewater; antibiotic sulfamethoxazole; removal contribution rate; risk assessment

随着我国水产养殖业的快速发展,水产养殖废水的处理成为解决农村面源污染的关键问题。将废水

回用于农田是解决其出路的一种方法,大量研究表明^[1-4],养殖废水回用于农田后,其中的氮、磷和有机

收稿日期:2022-04-23 录用日期:2022-08-16

作者简介:聂正鑫(1998—),男,云南昆明人,硕士研究生,从事水污染控制工程研究。E-mail:1973838158@qq.com

*通信作者:李先宁 E-mail:lxn@seu.edu.cn

基金项目:农村生活污水精准化治理及信息化监管技术与科技示范(BE2021619)

Project supported: Technology Research and Technology Demonstration of Precision Treatment and Informationized Supervision of Rural Domestic Sewage (BE2021619)

物可以被较好去除,同时废水中的营养盐也能为植物的生长持续提供养分。

目前水产养殖废水回用农田多用于灌溉作物,促进作物生长。Castro等^[1]发现用水产养殖废水灌溉农田,可以提高西红柿的产量。余军楠等^[5]对江苏典型养殖塘水中抗生素的分析发现,喹诺酮类抗生素平均浓度为 $16.5\sim 57.14\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$,具有中高风险 $[0.161\leq\text{风险商}(RQ_s)\leq 2.92]$;廖敏^[6]的研究发现,番茄果实对磺胺类抗生素有积累效应,初始浓度越高积累越多,番茄果实越小。然而针对水产养殖废水中抗生素的去除及在回用农田后对生态环境的风险少有研究。在土壤中抗生素主要通过土壤固定、微生物降解、植物吸收以及光解作用被去除^[7]。Michelini等^[8]通过水培实验发现在磺胺二甲氧嗪为 $650\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 条件下,爆竹柳根部在25 d内对其吸收量为 $27.4\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$;Srinivasan等^[9]的研究表明,自然生物降解足以去除土壤中的磺胺甲恶唑(SMX),并且随着温度的升高,抗生素的降解速率显著加快。

本研究通过对太湖流域养殖塘实地调研,结合养殖废水集中冬季排放,以及养殖塘周围农田在冬季需停止耕作并引水调质的现实需求^[10],提出采用冬季休耕田作为养殖废水消纳的场所,选择养殖废水中含量较高、存在范围较广的典型抗生素SMX进行研究,对水体、土壤以及植物中残留的SMX进行检测,分析SMX在休耕田系统中的去除途径和贡献比,并通过微生物测序技术,探究SMX对微生物群落的影响。同时,在示范工程实际环境中,评价废水中的SMX对人体及土壤环境的影响,评判休耕田作为养殖废水消纳场所的可行性。

1 试验材料与方法

1.1 小试试验

1.1.1 试验装置

装置模拟现实休耕田(图1),装置采用PVC制作,直径0.3 m,高1.5 m,由下至上每隔20 cm安装1个取水阀,共安装5个。装置内填入取自常州市武进区新康村的休耕稻田土约70 kg,深度为1 m,模拟实际休耕田,并在每层取水阀处铺设3 cm厚的鹅卵石层,每层土设置一个取土口,取土口间距为20 cm。土壤表层栽种水芹,种植密度为 $50\text{ 棵}\cdot\text{m}^{-2}$,水芹通过营养液培养15 d后再移栽至装置内,每个装置内的水芹初始生物量相同。装置顶部预留25 cm以防止灌水后溢出。

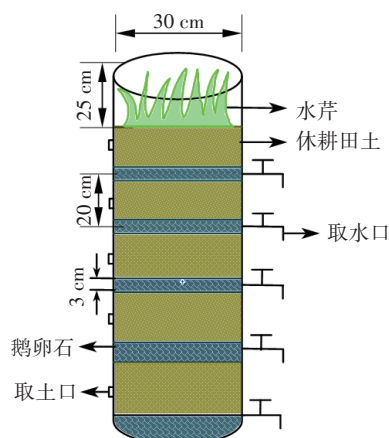


图1 试验装置示意图

Figure 1 Schematic diagram of the test device

1.1.2 试验设计

根据对武进区不同水产养殖水体采样检测结果,采用自来水浸泡鱼饲料的方法模拟水产养殖废水,称取25 g通用鱼饲料浸泡于2 L水中,2 h后过滤掉上层悬浮的鱼饲料,将滤液倒入配水桶内稀释至80 L,另分别称取 NH_4Cl 0.70 g、尿素0.26 g投入配水桶内,搅拌均匀,其中TN、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、TP、 COD_{Cr} 的范围分别为9~10、3.5~4.5、2~4、1.6~2.0、60~80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,水量负荷为 $300\text{ L}\cdot\text{m}^{-2}$ 。试验设置对照组A(不添加SMX),试验组H(SMX $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),试验组I(SMX $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),试验组J(SMX $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。

定期取各组各深度水样10 mL混合,探究水体中SMX浓度的变化,并研究SMX浓度对水质净化效果的影响。当水体中SMX浓度较稳定时,分别取各层土壤5 g混合,检测土壤中残留的SMX浓度以及土壤中的微生物群落结构。试验后收获水芹,冷冻干燥后称质量比较水芹生物量,同时对水芹中残留的SMX浓度进行检测,计算植物吸收、土壤固定对SMX去除的贡献率。各样品均设3组平行,试验结果取其平均值,4个试验装置的接纳水量、运行时间、植物类型、取样间隔及方法均相同。

1.2 示范区应用试验

试验区位于江苏省常州市武进区新康村善塘($119^{\circ}99'\text{E}$, $31^{\circ}54'\text{N}$),休耕稻田共1 200 m^2 ,采用引水漫灌的方式灌入水产养殖废水,水量负荷为 $300\text{ L}\cdot\text{m}^{-2}$ 。养殖废水来自周边养殖鱼塘,废水中抗生素有SMX、恩诺沙星(ERX)、甲砒霉素(THP)、氟苯尼考(FF)等,本试验选择相对浓度较高的9种抗生素进行研究,其相对浓度如表1所示。

表1 示范区养殖废水中典型抗生素相对浓度($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)Table 1 Typical relative concentrations of antibiotics in aquaculture wastewater in the demonstration area ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

磺胺甲恶唑 SMX	甲砒霉素 THP	氟苯尼考 FF	恩诺沙星 ERX	磺胺间二甲氧 嘧啶SDM	沙拉沙星 SAR	青霉素 PENG	甲氧苄啉 TRI	强力霉素 DOX
6 235	2 886	2 080	619	425	389	294	125	113

在试验区域采集土壤样品,按0~20、20~40 cm和40~60 cm 3层取样。每个试验区土壤样品采用梅花点法采集5个样点并按四分法组成1个混合样,混合样装入无菌封口袋,剔除可见的动植物残体,室内自然风干、研磨、过1 mm筛,用来测定土壤中抗生素,并评估对土壤生态环境的风险。

受灌休耕田栽种水芹,行株距控制在35~40 cm,每穴3~5株。30 d左右水芹生长稳定后,将水产养殖废水排入休耕稻田。水芹生长成熟后,收获作物进行抗生素含量检测,并评估对人体健康的风险。

1.3 相关指标测定方法

1.3.1 水质指标

各种水质指标均按国家标准方法测定^[11],其中溶解氧(DO)采用便携式溶解氧测定仪(JPB-607A,上海雷磁)测定,pH采用pH计(PHS-3C,上海雷磁)测定,水中SMX用高效液相色谱仪检测。

1.3.2 土壤指标

土壤中的抗生素采用高效液相色谱仪检测。通过土壤固定作用去除抗生素的贡献率的计算方法如公式(1)所示。

$$\omega_1 = \frac{m_1 \times C_1}{Q(C - C_2)} \times 100\% \quad (1)$$

式中: ω_1 为通过土壤固定去除抗生素的贡献率,%; m_1 为土壤质量,kg; C_1 为土壤中的抗生素含量, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; Q 为灌入的废水体积,L; C 为原废水中的抗生素浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; C_2 为试验结束后废水中的抗生素浓度, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.3.3 植物指标

水芹体内的SMX浓度检测委托南京瑞源生物科技有限公司完成。植物吸收作用去除抗生素的贡献率占比计算方法如公式(2)所示。

$$\omega_2 = \frac{m_2 \times C_3}{Q(C - C_2)} \times 100\% \quad (2)$$

式中: ω_2 为植物吸收去除抗生素的贡献率,%; m_2 为植物干质量,g; C_3 为植物中的抗生素含量, $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

1.3.4 抗生素指标

(1)土样中SMX的提取:配制抗生素萃取液——甲醇:柠檬酸溶液($0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$):EDTA二钠溶液($0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)=2:1:1,称量1~2 g混合土样至50 mL

离心管,并准确量取20 mL萃取液至离心管中,将离心管在常温下振荡2 h,再涡旋振荡10 min,而后超声振荡30 min,低温离心5 min($4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $6\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)后收集上清液,沉淀泥样经冷冻干燥后计算样品干质量。上清液过SPE小柱后进行氮吹,以萃取液复溶,过孔径为0.22 μm 的有机滤膜后注入液相色谱的小棕瓶(1.5 mL)中,以高效液相色谱仪进行浓度测定,根据样品干质量计算泥样的SMX浓度。

(2)水样中SMX的提取:量取提取的水样1~2 mL,过孔径为0.22 μm 的水系滤膜后注入液相色谱小棕瓶,待上机检测。

(3)SMX的测定:使用液相色谱仪对SMX的浓度进行定量分析,液相色谱仪的色谱柱为C18柱,紫外吸收波长为269 nm,流动相为配制的混合溶液, $V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}$ 为3:7,加0.1%甲酸(以水体积计),流速为 $1.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温为 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$,样品间隔时间为2 min。

1.3.5 微生物群落多样性检测

土壤微生物降解去除SMX的贡献率可由公式(3)计算得出。

$$\eta = \frac{M_1 - M_2 - M_3 - M_4}{M_1} \quad (3)$$

式中: η 为微生物降解去除抗生素的贡献率,%; M_1 为水体中抗生素去除的总质量,mg; M_2 为土壤残留的抗生素质量,mg; M_3 为植物吸收的抗生素质量,mg; M_4 为其他因素降解的抗生素质量,由于本研究水体pH值为6.44~6.84,且除表层水体受光照影响外,其余土壤层完全接受不到光照影响,因此,本试验对SMX的水解和光解作用^[12]不予考虑, M_4 取值为0。

同时对需要检测的样品进行基因组DNA提取,利用1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组DNA,对16s rRNA的V4~V5区域进行PCR扩增,将PCR产物混合后用2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用AxyPrepDNA凝胶回收试剂盒(AXYGEN公司)切胶回收提纯PCR产物,Tris_HCl洗脱后进行2%琼脂糖电泳检测。参照电泳初步定量结果,将PCR产物用QuantiFluor™-ST蓝色荧光定量系统(Promega公司)进行检测定量,应用高通量测序平台对扩增产物进行焦磷酸测序,将测序接头及引物序列去除,并对下机数据进行预处理

理,即对数据进行拆分以及 PE Reads 拼接,过滤 read 尾部质量值 20 以下的碱基,根据 PE Reads 之间的 overlap 关系,将成对 read 拼接成一条最小 overlap 长度为 10 bp 的序列。根据最大错配比率(0.2)筛选不符合序列。根据序列首尾两端的 barcode 和引物区分样品,并调整序列方向。将以上 Tags 序列数据与数据库进行对比分析土壤中微生物群落的组成与结构。试验中的微生物群落多样性检测(包括样品的 DNA 提取以及 PCR 扩增等过程)均由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.4 风险评估方法

1.4.1 人体健康风险评估

为评估含 SMX 的水芹对人体健康的风险,根据人体对抗生素的日均可接受量(ADI),采用风险商值(RQ_s)法计算水芹中 SMX 浓度对人体健康的风险,若 $RQ_s \leq 0.01$,则说明水芹中残留的 SMX 对人体健康造成影响可忽略,具体计算公式如下^[13]:

$$RQ_s = c_s \times (1 - \omega) / DWEL \quad (4)$$

$$DWEL = ADI \times BW \times HQ / (DWI \times AB \times FOE) \quad (5)$$

式中: c_s 为水芹(干质量)中 SMX 的检出量, $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$; ω 为水芹含水率,本试验取值为 94.6%; $DWEL$ 为抗生素水芹当量值, $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$; ADI 为日均可接受摄入量, $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; BW 为人均体质量, kg; HQ 为最高风险,按 1 计算; DWI 为每日水芹摄入量, $\text{kg} \cdot \text{d}^{-1}$; AB 为胃肠吸收率,按 1 计算; FOE 为暴露频率,按 0.96 计算。其中, BW 采用生态环境部推荐值,男童为 24 kg、女童为 23 kg,成人男性为 66.1 kg、女性为 57.8 kg; SMX 的 ADI 值参考澳大利亚卫生署的药物清单^[14],取值为 $130 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; DWI 采用《中国居民膳食指南(2016 版)》中的建议值,儿童为 $0.33 \text{ kg} \cdot \text{d}^{-1}$,成人 为 $0.5 \text{ kg} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

1.4.2 土壤生态风险评估

根据欧洲风险评估技术指导文件(TGD)^[15],采用风险商值(RQ_{soil})法评价土壤中残留的抗生素对土壤生态系统的风险, $RQ_{\text{soil}} \leq 0.01$ 为无风险, $0.01 < RQ_{\text{soil}} \leq 0.1$ 为低风险, $0.1 < RQ_{\text{soil}} \leq 1$ 为中等风险, $RQ_{\text{soil}} > 1$ 为高风险^[16],计算公式如下:

$$RQ_{\text{soil}} = MEC_{\text{soil}} / PNEC_{\text{soil}} \quad (6)$$

$$PNEC_{\text{soil}} = PNEC_{\text{water}} \times K_{\text{dsoil}} \quad (7)$$

式中: MEC_{soil} 为土壤中抗生素的检测量, $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$; $PNEC_{\text{soil}}$ 为土壤中的无效应含量, $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$; $PNEC_{\text{water}}$ 为水体中的无效应浓度, $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; K_{dsoil} 为土壤-水分配系数, $\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2 结果与讨论

2.1 休耕田对 SMX 的去除特性

图 2 为各组水体中 SMX 浓度随时间的变化。试验结束时,试验组 H、I、J 水体中的 SMX 浓度分别为 1.29 、 1.67 、 $5.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, SMX 去除率分别为 74.2%、83.3%、70.8%,即 SMX 初始浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,系统对水体中 SMX 的去除效果最好。在试验开始的 50 h 内,试验组 I 和 J 水体中的 SMX 浓度呈显著下降趋势,去除速率逐渐升高,这可能与初期土壤吸附作用有关,随后各试验组的 SMX 浓度继续下降,并随着土壤吸附作用的饱和而逐渐趋于平缓;试验组 I 在 120 h 左右出现 SMX 去除速率再次升高的现象,而试验组 J 在 250 h 时才出现该现象,后续各试验组的去除速率趋于平缓。

研究指出在对抗生素具有较强适应性的菌种中更容易找到能利用该抗生素的细菌^[17-18]。试验组 I 中的微生物可能较快适应了 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的抗生素环境,能利用 SMX 的微生物增多,因此比其他两组更早出现了去除速率再次升高的现象;试验组 J 中的微生物难以较快适应高浓度抗生素环境,从而显现出对抗生素去除延缓的现象。在对微生物群落分析时(见 2.1.3 部分),土壤中占优势的 Actinobacteria(放线菌门)、Chloroflexi(绿弯菌门)、Acidobacteria(酸杆菌门)在试验组 H 中丰度分别为 26.6%、12.9%、10.8%,均低于试验组 I 的 34.1%、13.4%、11.7%,可能是因为较低浓度的抗生素在土壤环境中更容易受其他金属离子影响,使其对微生物的有效性降低,因此试验组 H 去除速率再次升高的现象也有所延后,这与 Boleas 等^[19]的研究结果类似。

2.1.1 休耕田土壤对 SMX 的固定作用

试验后各试验组土壤中残留 SMX 的含量见图 3。试验组 H、I、J 土壤中残留 SMX 的含量分别为 0.42、0.63、 $1.60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,试验组 J 土壤中残留的 SMX 最多,即试验组 J 通过土壤固定作用去除 SMX 的量最大。计算得到试验组 H、I、J 的土壤去除贡献率分别为 39.60%、26.47%、30.43%。

磺胺类抗生素中具有酰胺基和苯胺基两个离子型官能团,主要通过氢键、范德华力和阳离子键桥等作用与土壤矿物、土壤有机质、土壤溶液和土壤生物发生固定作用^[20-21]。同时,研究发现土壤-水分配系数(K_{dsoil} , $K_{\text{dsoil}} = C_s / C_w$,其中, C_s 为土壤中污染物浓度, C_w 为水中污染物浓度)越大,土壤对抗生素的固定作用

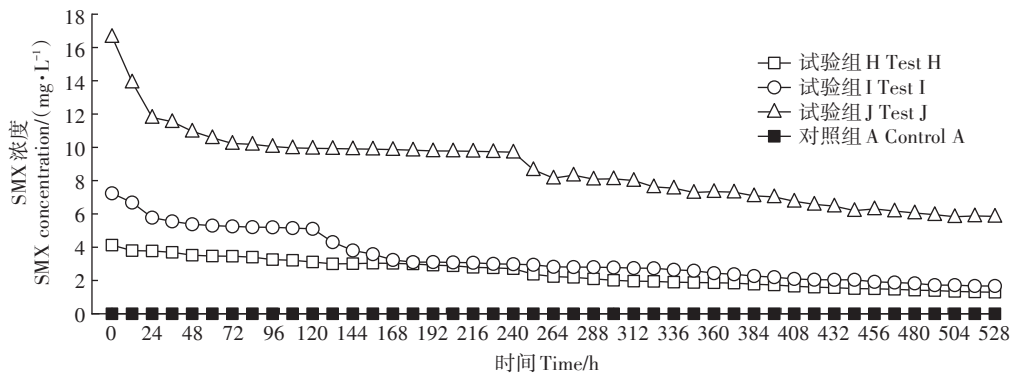


图2 各试验组水体中SMX浓度变化
Figure 2 Changes of SMX concentration in water of each experimental group

越强^[22],且 K_{dsoil} 会随土壤类型、抗生素种类等条件的不同而变化。试验采用的土壤为典型水稻土,根据郭欣妍等^[23]的研究,水稻土的 K_{dsoil} 约为2.26,比其他土壤对SMX的固定能力更强,随着初始SMX含量增多,通过固定作用残留在土壤中的SMX量也会增多。试验组I的土壤去除贡献率最低,这进一步说明了试验组I的微生物降解作用效果优于其他两组,从而降低了土壤固定对SMX的去除。

2.1.2 休耕田植物对SMX的吸收作用

图4为试验结束后各试验组中的水芹生物量(干质量)。A、H、I、J组中水芹的生物量分别为4.72、1.47、1.28、1.09 g,表明SMX浓度越高,对水芹生长抑制作用越显著。其主要原因是植物根系中积累的抗生素会阻碍植物吸收其他营养物质^[6],抗生素会使根细胞内活性氧自由基的产生速率增大,膜脂过氧化使细胞膜的结构和功能遭到破坏,根系活力下降^[24],且各试验组初始SMX浓度较高,SMX迁移至水芹茎、叶中后会干扰细胞的正常代谢,从而降低水芹的生物量,影响水芹正常生长。也有研究指出,抗生素对一些酶的抑制也会影响水芹的生长^[25]。

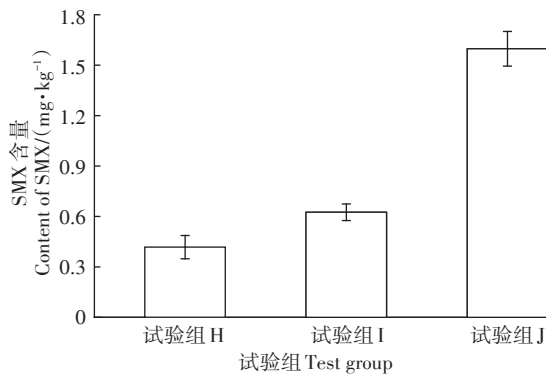


图3 试验后各试验组土壤中残留SMX含量
Figure 3 The residual SMX content in the soil of each experimental group after the experiment

水芹对SMX的吸收及去除贡献率如表2所示,试验组H、I、J栽种的水芹吸收的SMX总量分别为62.0、60.4、143.1 μg ,通过水芹吸收去除SMX的贡献率分别为0.079%、0.034%、0.048%,其中试验组I的贡献率最低。试验组H初始SMX浓度相对较低,对根系的影响较弱,水芹根系活力得到更好的保持,使水芹吸收去除SMX的贡献率要高于另外两组。尽管试验组I的初始浓度低于试验组J,但其可能由于微生物降解了大部分SMX,因此通过水芹根系吸收去除水体中的SMX量最少。总体而言,相比于土壤固定作用,SMX通过植物吸收去除的贡献较少。

2.1.3 休耕田微生物对抗生素的降解作用

通过公式(3)、图3和表2计算可知,试验组H、I、

表2 各试验组水芹吸收SMX的情况			
Table 2 Absorption of SMX by cress in each experimental group			
试验组 Test group	去除总量 Total removal amount/mg	水芹平均吸收量 Average absorption amount/ μg	平均去除贡献率 Average removal contribution rate/%
H	78.5	62.0	0.079
I	175.4	60.4	0.034
J	298.4	143.1	0.048

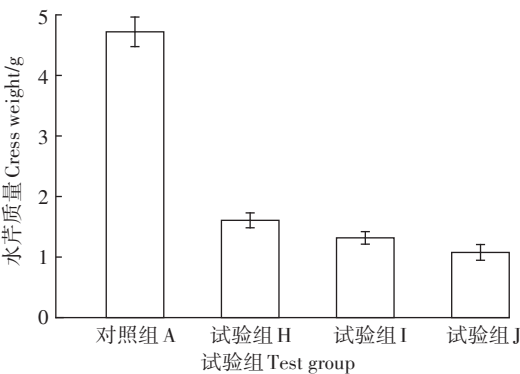


图4 试验后各试验组水芹生物量
Figure 4 The biomass of cress in each experimental group after the experiment

J通过微生物降解作用去除SMX的贡献率分别为62.47%、74.82%、62.42%。相比于土壤固定和植物吸收,微生物降解的贡献比最大,且试验组I的微生物降解作用最强,可认为本试验过程中土壤对SMX的降解作用主要依赖微生物的降解。为探究SMX进入休耕田系统后对微生物群落的影响,试验结束后均匀取各试验组土壤,进行16s rRNA高通量测序,A、H、I、J组分别记为EGCK、EGH、EGI和EGJ。

各试验组土壤中的微生物在门水平上的相对丰度分布见图5a。其中Actinobacteria(放线菌门)、Proteobacteria(变形菌门)、Chloroflexi(绿弯菌门)、Acidobacteria(酸杆菌门)是土壤中常见的几种优势菌门,相对丰度范围分别为26.6%~36.0%、20.1%~27.0%、12.9%~13.1%、10.8%~13.1%。已有研究证明,Bacteroidetes(拟杆菌门)是降解SMX的优势菌门^[26],该菌门在本研究各试验组土壤中的相对丰度无显著差异($P>0.05$);试验组H、I、J的Firmicutes(厚壁菌门)相对丰度分别为5.1%、3.3%、3.4%,低于A组的6.4%,Firmicutes对土壤氮素的转化和利用具有较高能力^[27],因此推测SMX的投加可能会影响土壤微生物对氮的去除。其余各菌门在供试土壤接纳含抗生素的模拟废水后无显著差异,微生物群落结构相对稳定。

各试验组土壤中的微生物在属水平上的分类较为复杂,因此选择相对丰度较高的3种菌属进行讨论,如图5b所示,包括*Arthrobacter*(节杆菌属)、*Sphingomonas*(鞘氨醇单胞菌属)和*Bacillus*(芽孢杆菌属)。其中试验组I中*Arthrobacter*、*Sphingomonas*、*Bacillus*的相对丰度分别为5.86%、3.85%、2.04%,3种菌属的相对丰度高于其余两组($P>0.05$)。*Arthrobacter*是一种革兰氏阳性菌,有很强的环境适应性和抗逆性,具有高效降解环境中有机污染物和吸附重金属的能力^[28]。闫雷等^[29]发现,*Arthrobacter*对SMX具有降解效果。*Sphingomonas*中有很多菌能够降解苯、甲苯、萘、菲、芘、氯化酚和多种除草剂以及杀虫剂等有机物^[30]。赵冬雪等^[31]通过4次富集培养获得了*Sphingomonas*,并指出该菌属很有可能在SMX的降解中发挥重要作用。而研究发现*Bacillus*同样也是降解SMX的优势菌^[32]。这3种降解SMX的优势菌属均在各试验土壤中被检测出,且相对丰度较高,说明了微生物降解是休耕田系统去除SMX的主要途径。同时可以验证试验组I的微生物降解效果要优于试验组H和试验组J。

2.2 SMX胁迫下休耕田系统对水质净化效果的影响

图6为不同SMX浓度条件下TN、NO₃-N、TP、

COD_C随时间的变化。图6a和图6b中,在第22天,A、H、I、J 4组水体中的TN浓度分别为0.73、1.52、2.00、4.45 mg·L⁻¹,去除率分别为90.72%、81.75%、77.06%、57.00%,NO₃-N浓度分别为0.10、0.43、1.32、3.02 mg·L⁻¹,TN和NO₃-N的去除率均随SMX浓度增加而降低。在门水平上微生物群落的研究表明,对照组的Firmicutes相对丰度高于各试验组,而Firmicutes能有效利用土壤中的氮,分析是由于SMX的投加导致了土壤中部分参与反硝化反应的微生物失活,反硝化作用受到抑制,导致试验组TN的去除效果下降。

图6c为不同SMX浓度下TP浓度的变化,第22天时A、H、I、J 4组水体中的TP浓度分别为0.74、0.81、0.90、1.02 mg·L⁻¹,去除率分别为59.72%、53.14%、45.03%、41.96%,TP的去除率与SMX浓度呈负相关。如前所述,土壤中的抗生素会抑制植物根系活力,从而影响植物吸收土壤中的氮磷;同时由于SMX本身

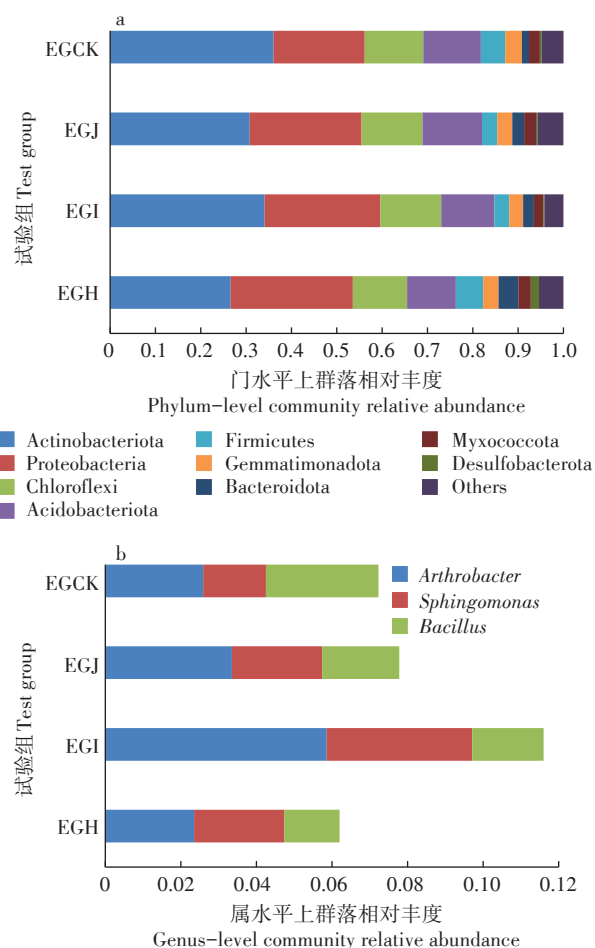


图5 各试验组土壤中微生物门和属水平相对丰度分布

Figure 5 The relative abundance distribution of microbial phyla and genus in soil of each experimental group

的化学结构与细菌体内一些酶的结构类似,也会对细菌的生长繁殖和功能表达有一定影响,如SMX浓度越高,对聚磷菌的聚磷功能抑制作用越明显^[33];此外,由于水体中的磷也会被土壤吸附,和SMX一样两者均可利用土壤有机质作为吸附位点^[34],因此两者之间可能存在相互竞争关系,从而影响磷的去除。

图6d为不同SMX浓度条件下COD_{Cr}浓度的变化,发现初始SMX浓度越高,水体中COD_{Cr}的初始浓度越高。在第22天时,A、H、I、J组对废水COD_{Cr}的去除率分别为61.43%、58.25%、37.26%、43.21%,这表明SMX的投加会影响水体中COD_{Cr}的去除效果。这可能是由于SMX不仅可作为额外碳源使水体中COD_{Cr}的初始浓度升高,而且会导致部分微生物失活,影响废水中有机质的消耗,从而降低COD_{Cr}的去除效果。

2.3 示范区应用风险评估

2.3.1 健康风险评估

收获示范试验区内的水芹,选择甲氧苄啉(TRI)、SMX、磺胺间二甲氧嘧啶(SDM)、磺胺嘧啶(SDZ)、克拉霉素(CLR)和克林霉素(CLI)6种抗生素进行检测。为确保健康风险评估具有参考性,选择各类抗生素检测含量最大值进行计算,各类抗生素在水芹中的残留量范围及ADI值见表3。

计算水芹中各类抗生素对不同群体的RQ_s,结果见图7,其值均小于0.01,表明水产养殖废水回灌休耕田后对人体健康造成的风险可忽略不计。

2.3.2 土壤生态风险评估

根据已有研究^[35]以及TGD中的建议,采用评估因子法(AF),即选择3个营养级中慢性毒性数据

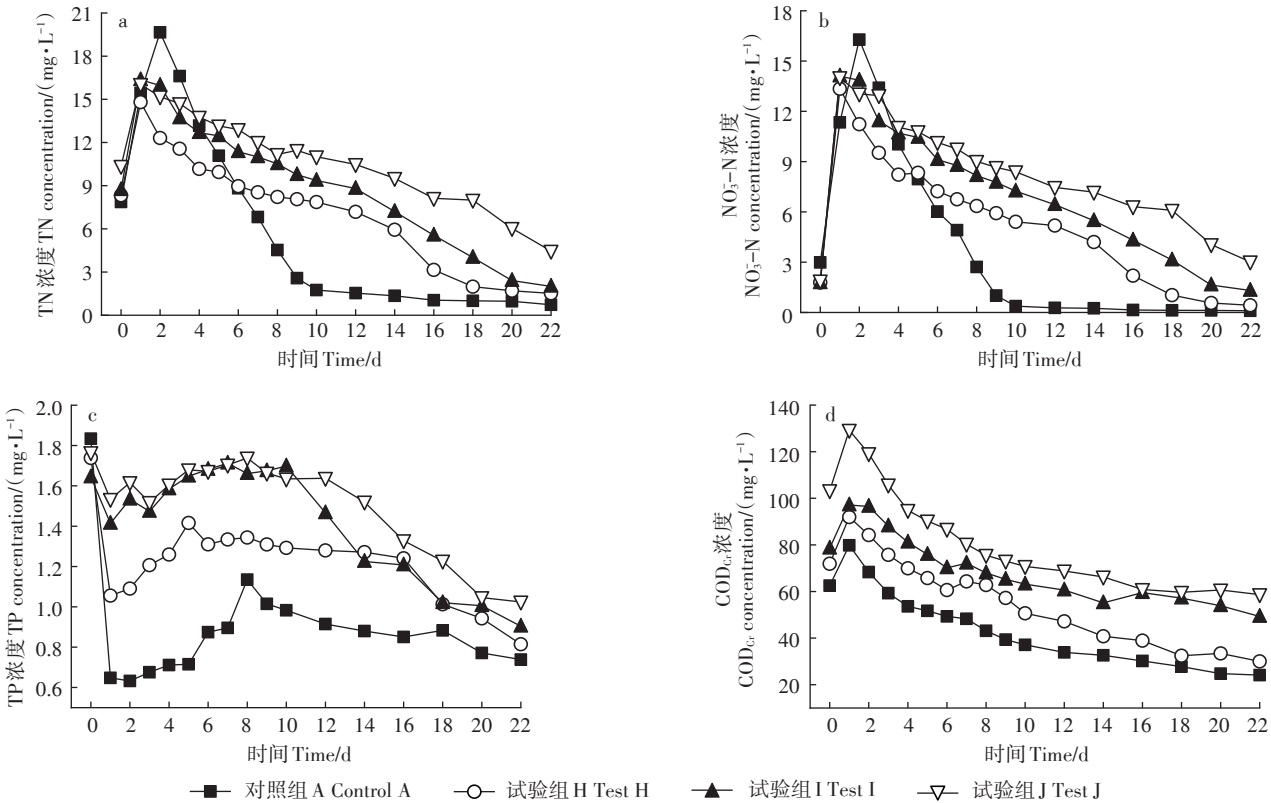


图6 不同SMX浓度条件下水体中TN、NO₃-N、TP、COD_{Cr}的变化

Figure 6 Changes of TN, NO₃-N, TP, and COD_{Cr} in water under different SMX concentrations

表3 各类抗生素在水芹中的残留量

Table 3 Residual amount of various antibiotics in cress

项目 Item	甲氧苄啉 TRI	磺胺嘧啶 SDZ	磺胺甲恶唑 SMX	磺胺间二甲氧嘧啶 SDM	克拉霉素 CLR	克林霉素 CLI
含量 Content/(ng·kg ⁻¹)	100.1~1 971.0	143.2~3 806.7	500.6~27 600.0	0.3~8.8	1.7~12.1	4.3~128.0
ADI/(μg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	4.2	20	130	200	30	9.3

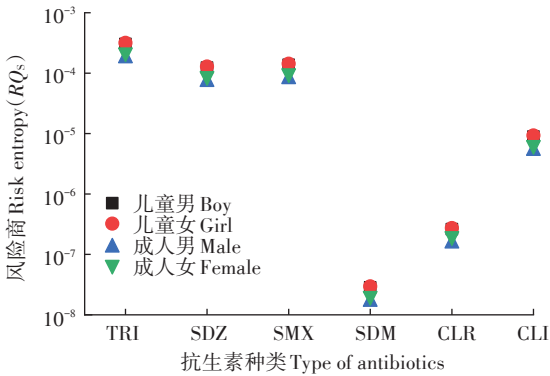


图7 水芹中各类抗生素对不同人群的健康风险
Figure 7 Health risks of various antibiotics in cress to different populations

(NOEC)与AF的比值计算 $PNEC_{water}$ 值。试验选择评价的抗生素种类及Ecosar软件模拟出的毒理数据见表4,相关数据来源于文献[35]。

为保证风险评估的可参考性,选取各类抗生素最大检测含量进行计算,各类抗生素在土壤中残留含量及计算所得的风险评价见表5。

结果显示,4种抗生素的 RQ_s 均小于0.01,因此其对土壤生态系统的潜在风险可忽略不计。水产养殖废水中的抗生素进入休耕田后,水芹体内残留的SMX对人体造成的风险,以及SMX本身对土壤环境造成的风险都较小,进一步说明了在休耕田系统降解SMX过程中,土壤微生物降解是去除SMX的主要途径。

3 结论

(1)本试验条件下,水体中磺胺甲恶唑(SMX)的去除途径主要有土壤固定、微生物降解以及植物吸收。其中微生物降解对SMX的去除贡献率最高,10 $mg \cdot L^{-1}$ 的抗生素浓度对微生物的驯化效果较好,其土壤中降解SMX的优势菌属的相对丰度高于5 $mg \cdot L^{-1}$ 和20 $mg \cdot L^{-1}$ 两组。

(2)SMX对水芹有明显的胁迫作用,随着SMX浓度升高,对水芹生长的抑制作用越明显。同时,通过水芹吸收去除废水中SMX的贡献低于土壤固定和微生物降解。

(3)废水中的SMX对休耕田净化养殖废水水质有明显的影 响,由于SMX对植物、微生物的抑制作用以及对土壤吸附位点的竞争,TN、 NO_3^- -N、TP和 COD_{Cr} 的去除效果均与SMX浓度呈负相关。

(4)通过人体健康和土壤生态风险评估发现,水产养殖废水中的抗生素在水芹中以及土壤的残留量对人体健康和土壤生态系统的风险商值小于0.01,其潜在风险可忽略不计,因此采用冬季休耕田消纳水产养殖废水是可行的。

参考文献:

[1] CASTRO R S, AZEVEDO C, BEZERRA-NETO F. Increasing cherry tomato yield using fish effluent as irrigation water in northeast Brazil[J]. *Scientia Horticulturae*, 2006, 110(1):44-50.

表4 各类抗生素的 $PNEC_{water}$ 、 K_{dsoil} 和 $PNEC_{soil}$ 值
Table 4 $PNEC_{water}$, K_{dsoil} and $PNEC_{soil}$ values of various antibiotics

抗生素 Type of antibiotics	鱼类Fish/ ($\mu g \cdot L^{-1}$)	浮游类Plankton/ ($\mu g \cdot L^{-1}$)	藻类Algae/ ($\mu g \cdot L^{-1}$)	测试终点 Test endpoint	AF	$PENC_{water}/$ ($\mu g \cdot L^{-1}$)	$K_{dsoil}/$ ($L \cdot kg^{-1}$)	$PENC_{soil}/$ ($\mu g \cdot kg^{-1}$)
磺胺甲恶唑SMX	1 000	62	8 578	NOEC	10	6.2	1.15 ^[35]	7.13
金霉素CTC	30 807	11 324	12 522	NOEC	10	1 132.4	1 280 ^[35]	1 449 472
氯霉素CHL	15 464	47 615	217	NOEC	10	21.7	1 001 ^[36]	21 721.7
替米考星TIL	184	107	205	NOEC	10	10.7	—	—

注: K_{dsoil} 数据来源于已发表文献[37-38],TIL的相关 K_{dsoil} 数据未获得。
Note:The K_{dsoil} data are from published literature[37-38], and the related K_{dsoil} data of the TIL have not been obtained.

表5 各类抗生素在土壤中的残留量及风险商
Table 5 Residual concentration and RQ_s of various antibiotics in soil

项目 Item	磺胺甲恶唑SMX	金霉素CTC	氯霉素CHL	替米考星TIL
含量Content/($\mu g \cdot kg^{-1}$)	0.013 9~0.038 1	0.437~0.697	0.016~0.058	0.004 1~0.021 4
RQ_s	5.3×10^{-3}	4.8×10^{-7}	2.7×10^{-6}	3.3×10^{-7}
风险影响Risk impact	可忽略	可忽略	可忽略	可忽略

- [2] 高远, 林山杉, 李天宇, 等. 再生水回灌对土壤理化性质及土壤细菌的影响[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2019, 55(4): 100–106. GAO Y, LIN S S, LI T Y, et al. Effects of reclaimed water on soil physicochemical properties and soil bacteria[J]. *Journal of Northwest Normal University(Natural Science Edition)*, 2019, 55(4): 100–106.
- [3] 郝飞麟, 沈明卫. 甲鱼养殖废水作为温室番茄栽培灌溉用水的效果研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(1): 160–163. HAO F L, SHEN M W. Irrigation using turtle cultivation wastewater for greenhouse tomato production[J]. *Journal of Agro-Environment Sciences*, 2007, 26(1): 160–163.
- [4] 杨茜. 不同处理程度农村生活污水农田消纳可行性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2019. YANG Q. Feasibility of agriculture land disposal of sewage treated in different levels[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
- [5] 余军楠, 方昊, 胡建林, 等. 江苏四个典型克氏原螯虾养殖区抗生素污染特征与生态风险评估[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(2): 386–393. YU J N, FANG H, HU J L, et al. Contamination characteristics and ecological risk assessment of antibiotics in four typical *Procambarus clarkii* aquaculture environments in Jiangsu Province, China [J]. *Journal of Agro-Environment Sciences*, 2020, 39(2): 386–393.
- [6] 廖敏. 三种磺胺类药物在植物体内的迁移与积累研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012: 19–21. LIAO M. Study on uptake and accumulation of three sulfonamides in plants[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2012: 19–21.
- [7] JECHALKE S, HEUER H, SIEMENS J, et al. Fate and effects of veterinary antibiotics in soil[J]. *Trends in Microbiology*, 2014, 22(9): 536–545.
- [8] MICHELINI L, MEGGIO F, LA ROCCA N, et al. Accumulation and effects of sulfadimethoxine in *Salix Fraggilis* L. plants: A preliminary study to phytoremediation purposes[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2012, 14(4): 388–402.
- [9] SRINIVASAN P, SARMAH A K. Dissipation of sulfamethoxazole in pasture soils as affected by soil and environmental factors[J]. *Science of the Total Environment*, 2014(479/480): 284–291.
- [10] 黄国勤, 赵其国. 中国典型地区轮作休耕模式与发展策略[J]. 土壤学报, 2018, 55(2): 283–292. HUANG G Q, ZHAO Q G. Mode of rotation/fallow management in typical areas of China and its development strategy[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2018, 55(2): 283–292.
- [11] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 四版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 701–705. State Environmental Protection Administration. Methods for monitoring and analysis of water and wastewater[M]. 4th Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002: 701–705.
- [12] 巫杨. 几种典型抗生素药物在水体及土壤中的环境行为及呼吸抑制的研究[D]. 上海: 东华大学, 2011: 8–10. WU Y. The environmental behaviors and respiratory inhibition of selected pharmaceutical antibiotics in aquatic and soil environment[D]. Shanghai: Donghua University, 2011: 8–10.
- [13] 李辉, 陈瑀, 封梦娟, 等. 南京市饮用水源地抗生素污染特征及风险评估[J]. 环境科学学报, 2020, 40(4): 1269–1277. LI H, CHEN Y, FENG M J, et al. Pollution characteristics and risk assessment of antibiotics in Nanjing drinking water sources[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(4): 1269–1277.
- [14] 金磊, 姜蕾, 韩琪, 等. 华东地区某水源水中13种磺胺类抗生素的分布特征及人体健康风险评估[J]. 环境科学, 2016, 37(7): 2515–2521. JIN L, JIANG L, HAN Q, et al. Distribution characteristics and health risk assessment of thirteen sulfonamides antibiotics in a drinking water source in east China[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(7): 2515–2521.
- [15] GUERIT I, BOCQUENE G, JAMES A, et al. Environmental risk assessment: A critical approach of the European TGD in an *in situ* application[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 71(1): 291–300.
- [16] HERNANDO M D, MEZCUA M, FERNANDEZ-ALBA A R, et al. Environmental risk assessment of pharmaceutical residues in wastewater effluents, surface waters and sediments[J]. *Talanta*, 2006, 69(2): 334–342.
- [17] GAUTHIER H, YARGEAU V, COOPER D G. Biodegradation of pharmaceuticals by *rhodococcus rhodochrous* and *aspergillus niger* by co-metabolism[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(7): 1701–1706.
- [18] LIU Q, LI M, LIU X, et al. Removal of sulfamethoxazole and trimethoprim from reclaimed water and the biodegradation mechanism[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2018, 12(6): 6–13.
- [19] BOLEAS S, ALONSO C, PRO J, et al. Toxicity of the antimicrobial oxytetracycline to soil organisms in a multi-species-soil system (MS center dot 3) and influence of manure co-addition[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2005, 122(3): 233–241.
- [20] FIGUEROA R A, LEONARD A, MACKAY A A. Modeling tetracycline antibiotic sorption to clays[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(2): 476–483.
- [21] 提清清, 高增文, 季慧慧, 等. 抗生素在土壤中的吸附行为研究进展[J]. 土壤, 2017, 49(3): 437–445. TI Q Q, GAO Z W, JI H H, et al. Adsorption of antibiotics in soils: A review[J]. *Soils*, 2017, 49(3): 437–445.
- [22] 章明奎, 徐秋桐. 农田系统中兽用抗生素的污染及其行为研究进展[J]. 浙江农业学报, 2013, 25(2): 416–424. ZHANG M K, XU Q T. Review on pollution and behavior of veterinary antibiotics in agricultural systems[J]. *Acta Agriculture Zhejiangensis*, 2013, 25(2): 416–424.
- [23] 郭欣妍, 王娜, 许静, 等. 5种磺胺类抗生素在土壤中的吸附和淋溶特性[J]. 环境科学学报, 2013, 33(11): 3083–3091. GUO X Y, WANG N, XU J, et al. Adsorption and leaching behavior of sulfonamide in soils[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2013, 33(11): 3083–3091.
- [24] 鲍陈燕, 顾国平, 章明奎. 兽用抗生素胁迫对水芹生长及其抗生素积累的影响[J]. 土壤通报, 2016, 47(1): 1664–1672. BAO C Y, GU G P, ZHANG M K. Effects of veterinary antibiotics stress on growth and antibiotics accumulation of *Oenanthe javanica* DC[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2016, 47(1): 1664–1672.
- [25] WEBER K P, MITZEL M R, SLAWSON R M, et al. Effect of ciprofloxacin on microbiological development in wetland mesocosms[J].

- Water Research*, 2011, 45(10):3185-3196.
- [26] LIAO X, LI B, ZOU R, et al. Antibiotic sulfanilamide biodegradation by acclimated microbial populations[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(5):2439-2447.
- [27] FIERER N, LAUBER C L, RAMIREZ K S, et al. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients[J]. *ISME Journal*, 2012, 6(5):1007-1017.
- [28] 李娟, UWAREMWE C, 冷艳, 等. 节杆菌属细菌处理有机物和重金属污染物的研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2017, 40(10):89-97. LI J, UWAREMWE C, LENG Y, et al. Progress on the study of biodegradation of organic pollutants and adsorption of heavy metals with arthrobacter strains[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 40(10):89-97.
- [29] 闫雷, 梁斌, 王爱杰, 等. 微生物降解磺胺甲恶唑的研究进展[J]. *微生物学报*, 2020, 60(12):2747-2762. YAN L, LIANG B, WANG A J, et al. Progress in microbial degradation of sulfamethoxazole[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(12):2747-2762.
- [30] 台喜生, 冯佳丽, 李梅, 等. 鞘氨醇单胞菌在生物降解方面的研究进展[J]. *湖南农业科学*, 2011(7):21-25. TAI X S, FENG J L, LI M, et al. Progress in application of *Sphingomonas* sp. in biodegradation[J]. *Hunan Agricultural Science*, 2011(7):21-25.
- [31] 赵冬雪, 刘璐, 穆迎春, 等. 磺胺甲恶唑高效降解菌群的多样性分析和降解微生物的分离表征[J]. *生物技术进展*, 2021, 11(2):196-203. ZHAO D X, LIU L, MU Y C, et al. Diversity analysis of sulfamethoxazole degradation community and isolation and characterization of degrading microorganism[J]. *Current Biotechnology*, 2021, 11(2):196-203.
- [32] XU B J, MAO D Q, LUO Y, et al. Sulfamethoxazole biodegradation and biotransformation in the water-sediment system of a natural river [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(14):7069-7076.
- [33] 赵美玲. 磺胺甲恶唑对强化生物除磷系统的影响研究[D]. 天津: 天津大学, 2012:25-46. ZHAO M L. Study on the effects of sulfamethoxazole on the EBPR system[D]. Tianjin: Tianjin University, 2012:25-46.
- [34] 张海洋, 陈凌源, 何鸿庆, 等. 农田土壤对磺胺甲恶唑和双酚 A 的吸附[J]. *安徽农业科学*, 2020, 48(19):60-64. ZHANG H Y, CHEN L Y, HE H Q, et al. Adsorption of sulfamethoxazole and bisphenol A to cropland soils[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2020, 48(19):60-64.
- [35] 汪涛, 杨再福, 陈勇航, 等. 地表水中磺胺类抗生素的生态风险评估[J]. *生态环境学报*, 2016, 25(9):1508-1514. WANG T, YANG Z F, CHEN Y H, et al. Ecological risk assessment for sulfonamides in surface waters[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016, 25(9):1508-1514.
- [36] CLEUVERS M. Aquatic ecotoxicity of pharmaceuticals including the assessment of combination effects[J]. *Toxicology Letters*, 2003, 142(3):185-194.
- [37] 雷晓宁. 新疆典型湖泊中抗生素的污染状况与分布特征[D]. 石河子: 石河子大学, 2014:42-45. LEI X N. Distribution and pollution levels of antibiotics from typical lakes in Xinjiang[D]. Shihezi: Shihezi University, 2014:42-45.
- [38] 涂棋, 徐艳, 李二虎, 等. 典型养鸡场及其周边土壤中抗生素的污染特征和风险评估[J]. *农业环境科学学报*, 2020, 39(1):97-107. TU Q, XU Y, LI E H, et al. Occurrence and risk assessment of antibiotics in typical chicken farms and surrounding soils[J]. *Journal of Agro-Environment Sciences*, 2020, 39(1):97-107.

(责任编辑:朱晓昱)