

长期施用粪肥菜地土壤中四环素类抗生素的含量与分布特征

邵义萍^{1,2,3}, 莫测辉^{1,2*}, 李彦文^{1,2}, 吴小莲^{1,2}, 段夏珍^{1,2}, 屈相龙^{1,2}, 黄献培^{1,2}
(1. 暨南大学环境工程系, 广州 510632; 2. 广东省高校水土环境毒害性污染防治与生物修复重点实验室, 广州 510632; 3. 中国科学院华南植物园, 广州 510650)

摘要:规模化养殖场动物粪肥富含抗生素且作为有机肥大量施用于农业生产,由此造成的土壤抗生素污染问题在我国还鲜有研究. 针对亚热带地区长期施用粪肥的“无公害蔬菜”生产基地,利用固相萃取-高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)分析方法,探讨了土壤中4种四环素类(TCs)化合物(四环素、土霉素、金霉素、强力霉素)的含量与分布特征. 结果表明,土壤中4种四环素类化合物的总含量($\sum$ TCs)在1.35~22.52 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,平均为7.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$. 各化合物的检出率在31%~100%之间,平均含量为0.63~3.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$,以土霉素和强力霉素为主. 化合物的含量与组成特征无论在平面上还是在剖面上均存在明显的空间分布差异,且随着深度增加含量迅速降低,但在80 cm深度仍有检出. 土壤中四环素类化合物的含量较低,生态毒性风险较小,但化合物的检出率较高且普遍同时检出多种化合物,其协同生态毒性尤其是耐药性问题值得进一步研究.

关键词:土壤; 粪肥; 四环素类抗生素; 污染; 监测; 高效液相色谱-串联质谱
中图分类号:X592 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3301(2011)04-1182-06

Concentrations and Distribution of Tetracycline Antibiotics in Vegetable Field Soil Chronically Fertilized with Manures

TAI Yi-ping^{1,2,3}, MO Ce-hui^{1,2}, LI Yan-wen^{1,2}, WU Xiao-lian^{1,2}, DUAN Xia-zhen^{1,2}, QU Xiang-long^{1,2}, HUANG Xian-pei^{1,2}

(1. Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Key Laboratory of Water/Soil Toxic Pollutants Control and Bioremediation, Department of Education of Guangdong Province, Guangzhou 510632, China; 3. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: Occurrence of antibiotics in the soils substantially fertilized with antibiotics-enriched animal manures is very of concern. This paper investigated the concentration and distribution of four tetracycline antibiotics in soils from vegetable field chronically fertilized with manures in subtropical area using solid-phase extraction followed by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The sum concentrations of four tetracycline compounds ranged from 1.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to 22.52 $\mu\text{g}/\text{kg}$ with an average of 7.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$. There were thirty one to one hundred percent of the soil samples were detected with average concentrations of 0.63-3.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ for four tetracycline compounds which dominated mostly with oxytetracycline and secondly with deoxytetracycline. Composition and levels of tetracycline compounds varied obviously in both horizontal and vertical soils. The concentration of tetracycline compounds in soil profile decreased rapidly with the depth and some of the compounds were still detected in 60 to 80 centimeter depth of soil. It is concluded that tetracycline antibiotics in soils from vegetable field chronically fertilized with manures in subtropical area were generally lower and less ecotoxic risk for soil ecosystem. But it should not be ignored in view of combined toxic effect and resistance of various compounds.

Key words: soil; manures; tetracycline antibiotics; pollution; monitoring; HPLC-MS/MS

规模化动物养殖中大量使用四环素类等各种抗生素以防病治病、提高饲料利用率和促进动物生长,如德国作为饲料添加剂的抗生素年用量达1 179 t^[1],在我国更是高达6 000 t^[2]. 抗生素使用后通常大部分以药物原形或其代谢物随粪尿排出^[3],造成动物粪便中抗生素的含量普遍较高,甚至高达数十 mg/kg以上^[4~10],成为环境中抗生素的重要来源. 而且,规模化养殖场动物粪肥广泛作为有机肥料大量施用于农业生产,可造成土壤抗生素残留污

染^[5~7,11~13],其输入量甚至不亚于农药施用量^[4],并

收稿日期:2010-09-22;修订日期:2010-11-03
基金项目:国家自然科学基金项目(30671208,40773062);中央高校基本科研业务费专项(21610410,21609709);广东省自然科学基金重点项目(07117909);广东省科技计划项目(2005B20801002,2006B20601003,2010B020311006);广东省高校高层次人才项目;东莞市科技研究计划项目(2007108101110);惠州市科技研究计划项目(2009B010001009)
作者简介:邵义萍(1983~),女,博士研究生,主要研究方向为土壤污染与农产品安全,E-mail:tyntytyp@163.com
* 通讯联系人,E-mail:tchmo@jnu.edu.cn

可通过干扰土壤微生物的群落结构与功能^[14,15]而影响土壤肥力,甚至可被作物吸收累积^[16,17]从而危及农产品质量安全。此外,土壤抗生素污染还可通过地表径流和淋滤作用进一步造成水体的抗生素污染^[18~20],并引发细菌耐药性^[21],威胁动物与人类健康。因此,抗生素已成为一类新兴的重要环境有机污染物和近年来环境科学研究的国际热点,但研究工作主要集中在水环境污染及其生态效应方面^[18~20,22],而对于土壤环境污染及其生态效应的研究较少^[5~7,14,15],在我国还鲜见报道^[8,11,12,14]。特别是富含抗生素的规模化养殖场动物粪肥长期施用而导致的土壤抗生素污染问题令人关注,而目前国内外特别是在国内还研究较少且不同研究结果之间差异较大^[5~7,11],因为其污染状况与抗生素种类、气候条件、生产方式等各种因素密切相关。为此本研究针对动物养殖中广泛使用的4种四环素类(TCs)化合物(四环素、土霉素、金霉素、强力霉素),探讨了亚热带地区长期施用粪肥的菜地土壤中四环素类化合物的含量与分布特征,以期为粪肥安全施用和土壤抗生素污染控制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Agilent1100型高效液相色谱仪,AB4000QTRAP型电喷雾(ESI)离子源串联质谱仪;SHZ-82恒温振荡器;KQ-250E超声波清洗器;KDC-1042型低速离心机;VisiprepTM-DL型固相萃取装置(Supelco);Oasis HLB固相萃取柱(3 mL/60 mg, Supelco);KL512J型数控恒温水浴。四环素类(TCs)抗生素4种,分别为四环素(TC)、土霉素(OTC)、金霉素(CTC)、强力霉素(DC),标准品均产自德国Ehrenstorfer GmbH公司,纯度>98%。甲醇、乙腈均为色谱纯(Sigma公司),其它化学试剂均为分析纯,实验用水为高纯水。四环素类化合物标准品母液配制:准确称取标准品各0.010 0 g,溶于甲醇并定容至100 mL,配制成浓度为100 $\mu\text{g/mL}$ 的工作母液,于4℃冰箱中避光保存,使用期为6个月。实验所用各种浓度的标准液用乙腈/水(20/80,体积比)按一定比例稀释,配制成浓度范围为0.2~200 $\mu\text{g/L}$ 的校正曲线工作液。EDTA-McIlvaine缓冲液配制:称取柠檬酸12.9 g,磷酸氢二钠27.5 g,乙二胺四乙酸二钠(EDTA)37.2 g,溶于水中并定容到1 L(pH=4.0)。

1.2 样品采集与预处理

研究区为地处亚热带湿热气候条件(年均气温

21.9℃,年降雨量1 682.8 mm)的珠三角地区某现代化农业生态园区内“无公害蔬菜”生产基地,由企业(连片100亩以上)或各农户(10亩/户左右)进行经营,以北江清洁水源进行灌溉,长期施用畜禽粪肥(牛粪、鸡粪等)作为有机肥(250 kg/亩左右),同时施用一定量化肥。根据生产方式、蔬菜品种和环境条件等因素,按环境监测要求选择13个采样地块,分别以多个点位采集表层土壤(20 cm)组成混合样。同时对大白菜和苦麦菜菜地分别采集土壤剖面样品(0~20、20~40、40~60、60~80 cm)。样品采集后按四分法缩减,于室内风干后粉碎过60目筛备测,其中表层土壤样品13个,2个不同蔬菜土壤剖面样品各4个。表层土壤有机质平均含量为10.8 g/kg。土壤pH值为弱酸性,随着深度向中性演化。

土壤样品预处理方法参考文献[12]。准确称取1.00 g左右土壤样品置于10 mL离心瓶中,加入甲醇/EDTA-McIlvaine(1:1,体积比)缓冲液混合液5 mL,依次振荡10 min,超声提取15 min,离心(4 500 r/min,10 min)收集上清液。残渣按上述方法反复提取2次。合并上清液进行旋转蒸发,浓缩液通过HLB小柱[先后用6 mL甲醇和6 mL的EDTA-McIlvaine(1:1,体积比)缓冲液活化]萃取富集。先用6 mL高纯水淋洗,再用3 mL甲醇洗脱小柱。洗脱液在40℃水浴下用氮气吹至近干,用甲醇/水(60/40,体积比)溶液定容至1 mL,溶液过0.22 μm 滤膜后收集于样品瓶中待测。

1.3 LC-MS/MS分析与质控

色谱条件:色谱柱,20RBAX XDB-C18(2.1×50 mm);流动相:水(4%甲酸)-乙腈(1%甲酸),其体积比=80:20;进样体积:5 μL 。质谱条件:离子源为ESI源;离子源I(GS1)和II(GS2)的气体流量分别为50和60 mL/min,帘气流量为10 mL/min,气体均为 N_2 ;离子源温度为500℃;离子源电压为4 500 V;检测方式为多反应选择监测(MRM)离子模式。以3个加标浓度(10、50和100 $\mu\text{g/kg}$)进行四环素类化合物的回收率测定。结果表明,各化合物在不同加标浓度下的回收率总体上差别不大,相对标准偏差均低于10%。4种化合物的回收率在87%~112%之间,符合分析要求(表1)。

以四环素类抗生素混合标准工作液系列浓度0.2、0.5、1.0、5.0、10、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ 进行LC-MS/MS分析,建立各化合物标准曲线的线性回归方程。根据0.2 $\mu\text{g/L}$ 混合工作液分析中重组离子色谱峰的3倍信噪比(3S/N)和10倍信噪比

表 1 土壤中四环素类化合物的加标回收率/%			
Table 1 Recovery of tetracycline antibiotics in soils/%			
化合物	加标浓度/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$		
	10	50	100
土霉素	105 ± 6.7	107 ± 6.9	112 ± 7.5
四环素	90 ± 3.0	88 ± 2.9	95 ± 2.5
金霉素	89 ± 1.9	87 ± 1.8	90 ± 2.3
强力霉素	99 ± 1.4	100 ± 1.4	106 ± 3.0

表 2 四环素类化合物的线性回归方程、检测限和定量限						
Table 2 Equation of linear regression, limit of detection and limit of quantification of tetracycline antibiotics						
化合物	碎片离子 /母离子 (m/z)	浓度范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回归方程	相关系数 r	检测限 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	定量限 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
土霉素	426.2/461.2	0.2 ~ 200	$y = 3.44\text{e}^3x - 6.36\text{e}^3$	0.9999	0.04	0.15
四环素	410.2/445.2	0.2 ~ 200	$y = 1.46\text{e}^4x - 5.7\text{e}^4$	0.9998	0.03	0.11
金霉素	444.2/479.2	0.2 ~ 200	$y = 2.4\text{e}^3x - 1.45\text{e}^4$	0.9996	0.05	0.18
强力霉素	428.2/445.2	0.2 ~ 200	$y = 1.12\text{e}^4x - 5.11\text{e}^4$	0.9999	0.06	0.22

2 结果与讨论

2.1 表层土壤中四环素类化合物的含量及其分布特征

研究区以清洁的江水进行灌溉,因此土壤中抗生素主要来源于粪肥的施用.表层土壤中4种四环素类化合物总含量($\sum$ TCs)在1.35 ~ 22.52 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,平均为7.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (表3),以低于5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 为主(84.62%),在5 ~ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间和高于10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 分别占7.69%和7.69%[图1(a)].各化合物的检出率在31% ~ 100%之间,含量大部分在5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下[图1(b)].其中土霉素和强力霉素的检出率均为100%,含量分别在0.71 ~ 11.62 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0(低于定量限) ~ 6.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,平均含量分别为2.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和3.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$;四环素和金霉素的检出率分别为77%和31%,含量分别在0(低于检测限) ~ 4.90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0(低于检测限) ~ 4.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间,平均含量分别为0.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和0.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$.化合物的最高含量顺序为土霉素(11.62 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > 强力霉

(10S/N)分别确定检测限(LOD)和定量限(LOQ),结果见表2.为控制实验过程中人为污染,保证操作过程准确,每10个样品间隔设置空白、样品平行样、样品加标样,并且在进样过程中同时进固定浓度标样进行质量控制.空白中均未检出4种四环素类化合物,平行样品测试结果标准偏差均 < 1%,整个分析流程的回收率为86% ~ 98%.

素(6.92 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > 四环素(4.90 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > 金霉素(4.35 $\mu\text{g}/\text{kg}$),平均含量顺序为强力霉素(3.11 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > 土霉素(2.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > 金霉素(0.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$) > 四环素(0.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$).可见,研究区表层土壤中四环素类化合物以土霉素和强力霉素为主.所有土壤样品均检出2种以上四环素类化合物,其中能同时检出4个、3个和2个化合物的土壤样品分别占31%、46%和23%.

表 3 长期施用粪肥菜地土壤中四环素类化合物的含量特征 ¹⁾ / $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$				
Table 3 Concentrations of tetracyclines in soils chronically fertilized with manures/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$				
化合物	最大值	最小值	平均值 $\pm$ 标准偏差	检出率/%
土霉素	11.62	0.71	2.74 ± 2.93	100
四环素	4.90	ND	0.63 ± 1.32	77
金霉素	4.35	ND	0.87 ± 1.46	31
强力霉素	6.92	NQ	3.11 ± 2.68	100
$\sum$ TCs	22.52	1.35	7.35 ± 5.61	100

1) ND 表示低于检测限, NQ 表示低于定量限, 均按 0 参与统计

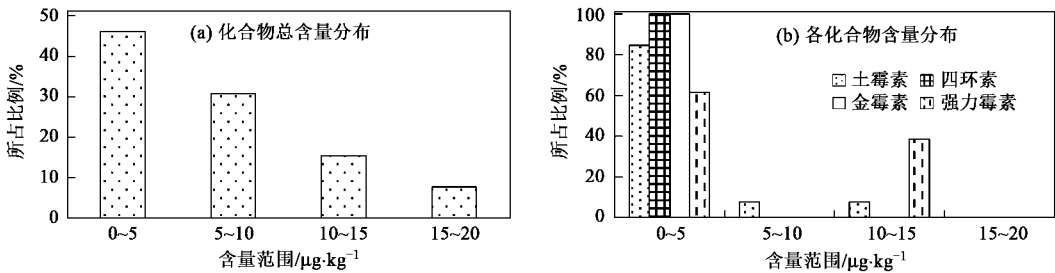


图 1 长期施用粪肥土壤中四环素类化合物的含量分布特征

Fig. 1 Concentration distribution of tetracycline compounds in soils chronically fertilized with manures

国外针对施用粪肥土壤中四环素类抗生素污染特征的研究有一些报道^[5-7],而在国内只有个别报道^[11],但不同研究结果之间差异很大. 澳大利亚粪肥中金霉素、土霉素和四环素的含量分别高达 46、29 和 23 mg/kg,但施用粪肥土壤中土霉素和四环素的含量均低于检测限,而金霉素的含量高达 391 $\mu\text{g/kg}$ ^[6]. 意大利、土耳其等国施用粪肥土壤中土霉素和金霉素的含量高达 100 $\mu\text{g/kg}$ 甚至 500 $\mu\text{g/kg}$ 以上^[7,23]. 我国浙北地区施用粪肥土壤中土霉素、金霉素和四环素的含量高达 500 $\mu\text{g/kg}$ 甚至 5 000 $\mu\text{g/kg}$ 以上^[11]. 而德国、丹麦、加拿大等国施用粪肥土壤中土霉素、金霉素和四环素的含量则低于 100 $\mu\text{g/kg}$ ^[5,13,24,25]. 不同地区的温度、湿度等气候因素对于施用粪肥土壤中抗生素的环境行为影响很大,通常高温、高湿有利于抗生素的降解^[26-28]. 其它因素如粪肥种类(猪粪、鸡粪等)及其中抗生素含量、施肥方式、施肥后时间长短、土壤特性、耕作条件等等都会影响施用粪肥土壤中抗生素的含量,而且这些因素之间又可能相互影响. 施用粪肥土壤中抗生素的含量随着时间推移可能发生很大变化^[25,29],鸡粪中抗生素的降解速率比猪粪中的快^[30],砂壤质土壤中抗生素的降解速率比砂质土壤中的快^[25]. 连续施用粪肥可能导致土壤中抗生素含量的累积提高^[13],也可能不累积甚至反而降低^[29],后者可能是因为连续施肥促进了土壤微生物的活动性从而有利于抗生素的降解. 与不施用粪肥相比,施用粪肥可促进土壤中抗生素的降解^[26],而且粪肥施用量越大土壤中抗生素降解越快^[27]. 此外,类似于有机物污染土壤的植物修复作用一样^[31],在蔬菜生产中较高复种指数和经常性轮作有利于降低施用粪肥土壤中新兴有机污染物抗生素的含量. 因此,与上述其它地区施用粪肥土壤相比,本研究区施用粪肥土壤中四环素类抗生素的含量较低,而且远低于兽药国际协调委员会(VICH)筹划指导委员会提出土壤中抗生素生态毒害效应的触发值(100 $\mu\text{g/kg}$)^[7],对土壤生物群落结构与功能的生态毒害风险较小. 但是也有报道,潜育灰壤在四环素存在下孵化 8 周后当浓度为 10 $\mu\text{g/kg}$ 时代谢熵仍受到显著影响^[32],而本研究土壤中土霉素的最高含量已接近 10 $\mu\text{g/kg}$. 特别是研究区土壤中 4 种四环素类化合物的检出率均较高,且土壤中多数能同时检出 3 种以上四环素类化合物,各化合物之间的联合生态毒性尤其是耐药性问题值得关注,需要进一步研究与控制.

2.2 不同蔬菜土壤中四环素类化合物的组成及其

含量特征

不同品种蔬菜土壤中四环素类化合物的组成及其含量特征有明显差异(图 2). 首先在总含量($\sum \text{TCs}$)上变化范围在 1.53 ~ 10.67 $\mu\text{g/kg}$ 之间,其中韭菜、大白菜和西兰花土壤中 $\sum \text{TCs}$ 较高,而油麦菜、苦麦菜等土壤中 $\sum \text{TCs}$ 较低;其次在化合物组成上,韭菜、菜心、苦麦菜土壤中以土霉素和强力霉素为主,西兰花、葱花土壤中以土霉素、金霉素和强力霉素为主,大白菜土壤中以土霉素、四环素和强力霉素为主,萝卜土壤中以土霉素和金霉素为主,而油麦菜土壤中以土霉素为主. 同一品种蔬菜不同地块土壤中四环素类化合物的组成及其含量特征也有明显差异(图 3). 大白菜 4 个不同地块土壤中四环素类化合物总含量($\sum \text{TCs}$)变化在 1.35 ~ 22.52 $\mu\text{g/kg}$ 之间,且大白菜 1、大白菜 2 土壤中以土霉素和强力霉素为主,大白菜 3 土壤中以土霉素为主,而大白菜 4 土壤中以土霉素、四环素和强力霉素为主. 不同植物根际对土壤中有有机污染物的降解情

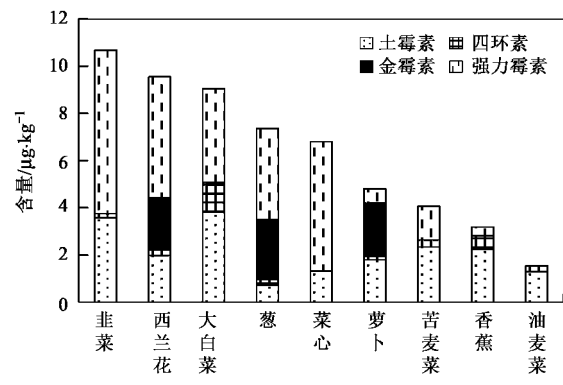


图 2 不同蔬菜土壤中四环素类化合物组成
Fig. 2 Occurrence of tetracyclines in soils
grown different species of vegetables

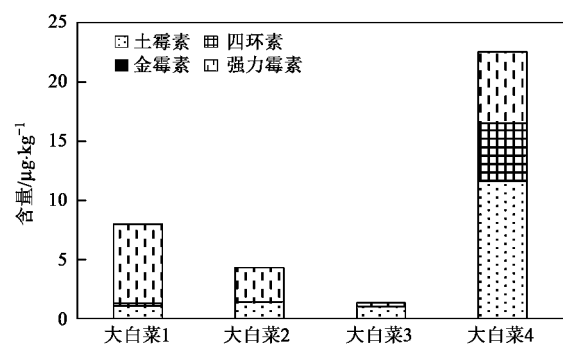


图 3 大白菜不同地块土壤中四环素类化合物组成
Fig. 3 Occurrence of tetracyclines in different soils
grown Chinese cabbage

况存在明显差异^[31],与植物根系分泌物等生理生化特征以及根际微生物种群结构与功能的差异等因素有关,这是导致不同蔬菜土壤中四环素类化合物组成及其含量差异的重要原因.另外,蔬菜基地内不同农户之间生产方式(如施肥、灌溉、轮作等)不同也会造成土壤中四环素类化合物的降解性、迁移性等环境行为的不同^[33],从而导致同一品种蔬菜不同地块土壤中四环素类化合物的组成及其含量特征的差异.

2.3 土壤剖面中四环素类化合物的组成及其含量特征

由于四环素类化合物在土壤中较强的吸附性^[34,35],在土壤剖面中其含量随着深度的增加而迅速降低(图4).这与前人的研究结果相似,但也有一定差异,如我国浙北地区施用粪肥土壤中四环素、土霉素和金霉素的含量从表层土壤(0~20 cm)到亚表层土壤(20~40 cm)降低2~3倍^[11],而德国施用粪肥土壤中四环素在土壤不同深度0~10、10~20

和20~30 cm的含量分别为86.2、198.7和171.7 μg/kg,而在深度30 cm以下时含量低于检测限^[13].不同蔬菜土壤剖面中四环素类化合物的组成及其含量随深度的变化特征差异较大.大白菜土壤剖面不同深度(0~20、20~40、40~60和60~80 cm)土壤中均检出土霉素、四环素和强力霉素3个化合物;而苦麦菜土壤剖面0~20 cm土壤中检出土霉素、四环素和强力霉素3个化合物,但在20~40 cm和40~60 cm土壤中仅检出土霉素和强力霉素2个化合物,且在60~80 cm土壤中未检出四环素类化合物.这种差异与不同植物根系生理生化特征和各农户生产方式不同而导致土壤中抗生素的环境行为不同有关,不同耕作方式直接影响土壤中抗生素的活动性、迁移性及其在土壤剖面的分布^[33,34].总体上各化合物的含量随着土壤剖面深度的增加而降低的幅度为四环素>土霉素>强力霉素,这与化合物在土壤中的吸附能力大小顺序吻合^[35,36],即化合物的吸附能力越强,其含量随着土壤剖面深度降低的幅度就越大.

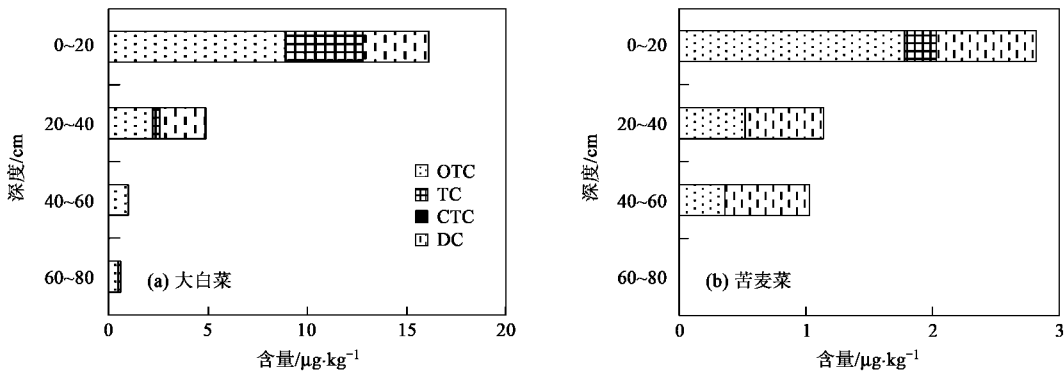


图4 土壤剖面中四环素类化合物的组成及其含量特征
Fig.4 Composition and level of tetracycline compounds in soil profiles

3 结论

(1)亚热带某蔬菜基地长期施用粪肥土壤中4种四环素类化合物的总含量(∑TCs)在1.35~22.52 μg/kg之间,平均为7.35 μg/kg.

(2)各化合物的检出率在31%~100%之间,平均含量为0.63~3.11 μg/kg,以土霉素和强力霉素为主.化合物的组成及其含量特征无论在平面上还是在剖面上均有明显差异,且随着深度增加含量迅速降低,但在60~80 cm深度仍有检出.虽然土壤中四环素类化合物的含量较低,生态毒性风险较小,但化合物的检出率较高且普遍同时检出多种化合物,其协同生态毒性尤其是耐药性问题值得进一步研究.

参考文献:

[1] Kools S A E, Moltmann J F, Knacker T. Estimating the use of veterinary medicines in the European union [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2008, **50**(1):59-65.
[2] 侯放亮. 饲料添加剂应用大全[M]. 北京:中国农业出版社, 2003. 1-45.
[3] Halling-Sørensen B, Nielsen S N, Lanzky P F, et al. Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment—a review[J]. Chemosphere, 1998, **36**(2):357-393.
[4] Haller M Y, Muller S R, McArdell C S, et al. Quantification of veterinary antibiotics (sulfonamides and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2002, **952**(1-2):111-120.
[5] Aust M O, 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.
- [6] Martínez-Carballo E, González-Barreiro C, Scharf S, *et al.* Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria [J]. Environmental Pollution, 2007, **148**(2): 570-579.
- [7] Karcı A, Balcıoğlu I A. 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): 4652-4664.
- [8] 沈颖,魏源送,郭睿,等.超高效液相色谱串联质谱检测猪粪中残留的四环素类抗生素[J].环境化学,2009,**28**(5):747-752.
- [9] 胡献刚,罗义,周启星,等.固相萃取-高效液相色谱法测定畜牧粪便中13种抗生素药物残留[J].分析化学,2008, **36**(9):1162-1166.
- [10] 刘新程,董元华,王辉.江苏省集约化养殖畜禽排泄物中四环素类抗生素残留调查[J].农业环境科学学报,2008,**27**(3): 1177-1182.
- [11] 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.
- [12] 李彦文,莫测辉,赵娜,等.菜地土壤中磺胺类和四环素类抗生素污染特征研究[J].环境科学,2009,**30**(6): 1762-1766.
- [13] Hamscher G, Sczesny S, Höper H, *et al.* 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): 1509-1518.
- [14] Kong W D, Zhu Y G, Fu B J, *et al.* The veterinary antibiotic oxytetracycline and Cu influence functional diversity of the soil microbial community [J]. Environmental Pollution, 2006, **143**(1): 129-137.
- [15] Thiele S, Beck I C. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass [J]. Chemosphere, 2005, **59**(4): 457-465.
- [16] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants [J]. Chemosphere, 2003, **52**(7): 1233-1244.
- [17] Redshaw C H, Wootton V G, Rowland S J. Uptake of the pharmaceutical fluoxetine hydrochloride from growth medium by *Brassicaceae* [J]. Phytochemistry, 2008, **69**(13): 2510-2516.
- [18] Wu C X, Witter J D, Sponberger A L, *et al.* Occurrence of selected pharmaceuticals in an agricultural landscape, western Lake Erie basin [J]. Water Research, 2009, **43**(14): 3407-3416.
- [19] Arikana O A, Rice C, Codling E. Occurrence of antibiotics and hormones in a major agricultural watershed [J]. Desalination, 2008, **226**(1-3): 121-133.
- [20] Weiss K, Schüssler W, Porzelt M. Sulfamethazine and flubendazole in seepage water after the sprinkling of manured areas [J]. Chemosphere, 2008, **72**(9): 1292-1297.
- [21] Rysz M, Alvarez P J J. Amplification and attenuation of tetracycline resistance in soil bacteria: aquifer column experiments [J]. Water Research, 2004, **38**(17): 3705-3712.
- [22] Wollenberger L, Halling-Sørensen B, Kusk K O. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna* [J]. Chemosphere, 2000, **40**(7): 723-730.
- [23] Brambilla G, Patrizi M, Filippis S P D, *et al.* Oxytetracycline as environmental contaminant in arable lands [J]. Analytica Chimica Acta, 2007, **586**(1-2): 326-329.
- [24] Liguoro M D, Cibin V, Capolongo F, *et al.* Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: evaluation of transfer to manure and soil [J]. Chemosphere, 2003, **52**(1): 203-212.
- [25] Jacobsen A M, Halling-Sørensen B, Ingerslev F, *et al.* Simultaneous extraction of tetracycline, macrolide and sulfonamide antibiotics from agricultural soils using pressurised liquid extraction, followed by solid-phase extraction and liquid chromatography- tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2004, **1038**(1-2): 157-170.
- [26] Wang Q Q, Yates S R. Laboratory study of oxytetracycline degradation kinetics in animal manure and soil [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2008, **56**(5): 1683-1688.
- [27] Wang Q Q, Guo M X, Yates S R. Degradation kinetics of manure-derived sulfadimethoxine in amended soil [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2006, **54**(1): 157-163.
- [28] Stoob K, Singer H P, Mueller S R, *et al.* Dissipation and transport of veterinary sulfonamide antibiotics after manure application to grassland in a small catchment [J]. Environmental Science and Technology, 2007, **41**(21): 7349-7355.
- [29] Aga D S, O'Connor S, Ensley S, *et al.* 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 & Food Chemistry, 2005, **53**(8): 7165-7171.
- [30] Bao Y Y, Zhou Q X, Guan L Z, *et al.* Depletion of chlortetracycline during composting of aged and spiked manures [J]. Waste Management, 2009, **29**(4): 1416-1423.
- [31] Mo C H, Cai Q Y, Li H Q, *et al.* Potential of different species for use in removal of DDT from the contaminated soils [J]. Chemosphere, 2008, **73**(1): 120-125.
- [32] Sören T B. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—a review [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2003, **166**(2): 145-167.
- [33] Blackwell P A, Kay P, Ashauer R, *et al.* Effects of agricultural conditions on the leaching behaviour of veterinary antibiotics in soils [J]. Chemosphere, 2009, **75**(1): 13-19.
- [34] Kay P, Blackwell P A, Boxall A B A. Column studies to investigate the fate of veterinary antibiotics in clay soils following slurry application to agricultural land [J]. Chemosphere, 2005, **60**(4): 497-507.
- [35] Tolls J. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review [J]. Environmental Science and Technology, 2001, **35**(17): 3397-3406.
- [36] Sassman S A, Lee L S. Sorption of three tetracyclines by several soils: accessing the role of pH and cation exchange [J]. Environmental Science and Technology, 2005, **39**(15): 7452-7459.