

## 5 种典型滨海养殖水体中多种类抗生素的残留特性

王敏<sup>1,2</sup>, 俞慎<sup>1\*</sup>, 洪有为<sup>1</sup>, 孙棣棣<sup>1</sup>

1. 中国科学院城市环境研究所城市环境与健康重点实验室, 福建 厦门 361021; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049

**摘要:** 水产集约化养殖的迅速发展带来的抗生素环境问题已经受到各国学者的关注, 尤其是环境残留抗生素对微生物耐药性的诱导和抗生素在食物中的残留, 直接影响水生生态系统健康以及人类健康。应用固相萃取-高压液相色谱-串联质谱方法 (SPE-LC-MS/MS) 研究不同生物养殖水体 (鱼塘、螃蟹池、蛭池、虾池、鸭池) 中残留抗生素类型和质量浓度。结果表明, 基于 LC-MS/MS 分析的固相萃取方法对滨海养殖水体中 5 类 14 种抗生素残留的检测具有较高的萃取效率, 并且检测方法回收率在 63%~124% 之间; 在典型滨海养殖区不同养殖水体中检出了 3 类 7 种抗生素 (含磺胺类增效剂甲氧苄氨嘧啶) 残留, 最高质量浓度分别为诺氟沙星 (3.54 ng·L<sup>-1</sup>, 虾池)、氧氟沙星 (14.8 ng·L<sup>-1</sup>, 蛭池)、磺胺嘧啶 (5.36 ng·L<sup>-1</sup>, 鸭池)、磺胺二甲嘧啶 (7.35 ng·L<sup>-1</sup>, 虾池)、磺胺甲噁唑 (18.5 ng·L<sup>-1</sup>, 虾池)、氟甲砜霉素 (5.00 ng·L<sup>-1</sup>, 虾池) 和甲氧苄氨嘧啶 (40.2 ng·L<sup>-1</sup>, 鸭池), 均低于已有的报道质量浓度水平。养殖水体中残留抗生素种类和质量浓度与养殖生物类型有关, 螃蟹养殖水体抗生素残留种类 (4 种) 最少, 鱼和鸭养殖水体抗生素残留检出达 6 种, 而检出的抗生素最高残留质量浓度主要来自于虾养殖水体。

**关键词:** 抗生素; 水产养殖; 滨海养殖区; 养殖塘

中图分类号: X502

文献标志码: A

文章编号: 1674-5906 (2011) 05-0934-06

全球集约化水产养殖业产量从 1999 年的 3 073 万 t 增加到 2008 年的 5 255 万 t, 已达到全球渔业产量的 37%<sup>[1]</sup>。集约化水产养殖业的迅速增长缓和了人类对水产品不断增长的需求和天然渔场日益衰竭间的矛盾。但是, 集约化水产养殖过程中大量使用抗生素预防疾病和促进生长, 给环境和人类/动物健康带来隐患<sup>[2-3]</sup>, 尤其是环境残留抗生素对水体微生物耐药性基因和病原菌耐药性的诱导<sup>[4-5]</sup>。据不完全统计, 美国仅 2002 年水产养殖约使用了 92.5~196.4 t 抗生素<sup>[6]</sup>。西方国家在鲑鱼、三文鱼、鳟鱼和长须鲸养殖中大量使用抗生素, 而亚洲在虾养殖中使用大量抗生素<sup>[7-8]</sup>。相关研究表明仅 20%~30% 投加的抗生素被鱼类吸收, 而大部分进入水环境中<sup>[9]</sup>。在菲律宾虾养殖塘水和沉积物、越南红树林区虾塘沉积物和我国厦门海域海水中分离到的弧菌 *Vibrios* 具有多种抗生素具有耐性<sup>[10-12]</sup>。欧美发达国家十分重视抗生素的使用管理, 仅批准了土霉素 (仅限于治疗用)、氟甲砜霉素、沙拉沙星、红霉素、磺胺类 (和增效剂-甲氧苄氨嘧啶或邻里氧普林) 用于水产养殖<sup>[13]</sup>。欧盟国家则于 1997 年开始禁用阿伏霉素 (Avoparcin), 并规定从 2006 年 1 月开始, 除球虫和组织鞭毛虫抑制剂外, 禁止使用所有抗生素作为饲料添加剂<sup>[14]</sup>。

对环境介质中微量抗生素的高效检出方法是研究环境抗生素残留、代谢及其环境效应的重要前

提。相关研究表明, 固相萃取-高压/高效液相色谱是当今检测环境抗生素的关键手段, 并已经应用于对特定类抗生素检测, 如喹诺酮类<sup>[15]</sup>、磺胺类<sup>[16]</sup>和大环内酯类<sup>[17]</sup>等。对多种或多类抗生素的同时提取、检测技术对抗生素的效应生态学研究十分迫切, 并得到探索<sup>[18-19]</sup>。对于水产养殖水体中抗生素残留的研究主要集中于对特定种类的监测方法建立和残留质量浓度水平的检测, 而对不同养殖模式/养殖生物下抗生素残留质量浓度和种类的比较研究尚未得以开展。本文以我国东南沿海海产养殖区为研究对象, 应用优化的一次提取一次检测多种/多类抗生素分析技术研究不同养殖模式 (不同养殖生物) 下海水养殖水体中抗生素的残留质量浓度, 探讨不同养殖模式对养殖水体抗生素残留质量浓度和种类的影响, 并验证一次提取一次检测多种/多类抗生素检测分析方法的适用性。为我国东南沿海海产养殖区抗生素使用和残留的环境效应以及原位消减等进一步研究提供基础。

### 1 材料和方法

#### 1.1 采样点描述

本研究地点为福建省九龙江入海口紫泥镇滩涂养殖区, 采样点分布如图 1 所示。本研究沿该养殖区一主要进水沟设置采样点, 样塘分布于进水沟两侧。不同的养殖类型包括鸭、虾、鱼、蟹、贝类等 5 类, 每种养殖方式选择 3 个独立养殖池 (蛭池

基金项目: 中国科学院“百人计划”项目“城市湿地生态与环境”(A0815)

作者简介: 王敏 (1986 年生), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境抗生素检测。E-mail: mwang@iue.ac.cn

\*通讯作者: 俞慎。E-mail: syu@iue.ac.cn

收稿日期: 2011-04-29

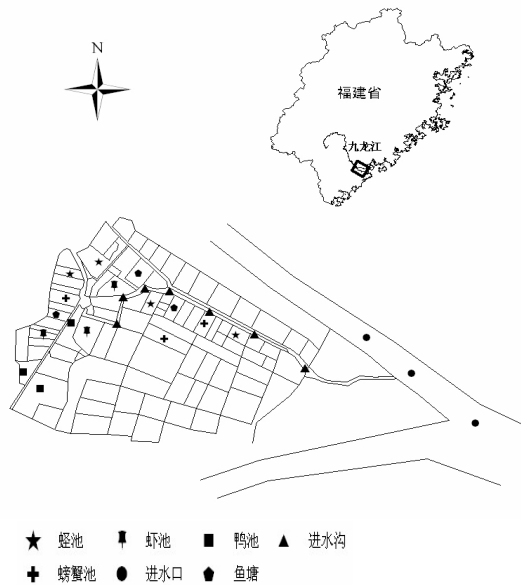


图 1 养殖区采样点分布

Fig.1 Sampling ponds in the seafood aquaculture areas

为 4 个), 每个池分 3 点采样, 然后混合为一个水样。同时对进水沟进行取样, 从进水口向内共取 7 个点, 并在进水口外缘的九龙江采 3 个样点。共 26 个水样。除鸭塘外, 其它为海产养殖塘, 养殖方式为混养。本文采集的样塘在采样时分别是: 虾池以白对虾 *Penaeus vannamei* Boone 和斑节虾 *Penaeus monodon* Fabricius 为主, 鱼塘主要为黄鳍鲷 *Acanthopagrus latus*, 螃蟹池为红蟹 *Geocaroides natalis* 或锯缘青蟹 *Scylla serrata*, 蛭池为缢蛭 *Sinonovacula constricta* Canarck。

环境水样采集后置于冰盒中带回实验室, 并在 4 °C 冰箱中保存。采样及样品处理过程中用到的玻璃器皿都经洗洁精超声清洗两次、超纯水漂洗后, 置于马福炉 450 °C 下灼烧 4 h 后备用。

## 1.2 试剂与仪器

试剂: 本研究所用有机试剂包括甲醇、乙腈、丙酮 (HPLC 级, Tedia, 美国); 甲酸、乙二胺四乙酸二钠 (汕头市西陇化工有限公司); 乙酸铵 (国药集团化学试剂有限公司)。

水: 超纯水 (电阻率=18.2 MΩ·cm, Barnstead, Thermo scientific, 美国)。

固相萃取柱: 500 mg/6 mL Oasis HLB SPE (Waters 公司, 美国)。

仪器: 包括高效液相色谱仪 (LC-20AT, 日本岛津公司), 四级杆串联质谱仪 (3200Q Trap, 美国 ABI 公司)、12 孔固相萃取装置 (美国 Supelco 公司)、水浴氮吹仪 (杭州奥盛仪器有限公司)。

标准品: 分别购自德国 Dr.Ehrenstorfer GmbH 公司 (磺胺嘧啶 ( $w=99.5\%$ ), 红霉素 ( $w=92.2\%$ ),

土霉素 ( $w=96.5\%$ ), 金霉素 ( $w=99.0\%$ ), 氯霉素 ( $w=99.0\%$ ), 甲氧苄氨嘧啶 ( $w=99.5\%$ ), 磺胺二甲嘧啶 ( $w=99.0\%$ ), 磺胺甲噁唑 ( $w=99.0\%$ ), 四环素 ( $w=96.0\%$ ), 氟甲砜霉素 ( $w=99.0\%$ ), 甲砜霉素 ( $w=98.5\%$ ), 诺氟沙星 ( $w=99.5\%$ ) 和美国 Sigma 公司 (氧氟沙星 ( $w=98.0\%$ ) 和罗红霉素 ( $w=90\%$ ))。 $^{13}\text{C}$ -标记咖啡因 ( $w=99.0\%$ , 美国 Sigma 公司) 作为内标物用于分析过程质量控制。

## 1.3 标准溶液的配制

分别称取 10.0 mg 标准品, 用乙腈溶解并定容至 10 mL 棕色玻璃瓶中, 配制成  $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的单标储备液, 置于 -20 °C 冰箱中保存。

按需配制成相应质量浓度的单标准工作液。取各单标储备液适量, 用甲醇: 水 (体积比 1: 9) 配制成所需质量浓度的混合标准溶液。

红霉素在酸性条件下不稳定, 口服后易被胃酸破坏, 发生分子内脱水环合反应, 生成脱水红霉素, 使环境中常有脱水红霉素残留<sup>[20]</sup>。因此, 脱水红霉素标准溶液 (ETM-H<sub>2</sub>O) 按刘玉春等<sup>[17]</sup>方法由红霉素 (ETM) 标准溶液制备获得。

## 1.4 样品前处理

本文对水样残留抗生素提取的前处理方法是基于苏仲毅等<sup>[18]</sup>方法改进的, 即 500 mL 水样通过 0.45 μm 滤膜除去悬浮物, 加入 0.5 g EDTA Na<sub>2</sub> 和 50 μL  $1\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $^{13}\text{C}$ -咖啡因 (对前处理过程进行质量控制 (QC)), 用盐酸酸化水样 (pH 3.0), 然后以流速  $5\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$  负压抽滤通过 500 mg/6mL 的 Oasis HLB SPE 小柱。富集抗生素的 SPE 小柱先用 6 mL 含  $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  乙酸铵的 0.1% ( $w$ ) 甲酸水溶液淋洗, 再将 SPE 小柱于氮气保护下干燥 1 h, 然后用 10 mL 甲醇洗脱, 洗脱液收集于试管中, 在 35 °C 下用氮气吹干。然后, 用甲醇: 水 (体积比 1: 9) 定容至 1.0 mL, 经 0.22 μm 的针头式滤器过滤后待测。所用 SPE 小柱预先经 6 mL 丙酮、6 mL 甲醇和 6 mL 含  $5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  乙酸铵的 0.1% ( $w$ ) 甲酸水溶液依次淋洗进行活化。

## 1.5 色谱-质谱条件

色谱条件: LC 色谱柱采用 Inertsil® ODS-SP C<sub>18</sub> (150 mm×4.6 mm, 5 μm); 正离子检测模式流动相为 0.1% 甲酸水 ( $\phi$ ) (A) 和乙腈 (B), 而负离子检测模式流动相为超纯水 (A) 和乙腈 (B); 柱温均为 40 °C, 流速  $1.0\ \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

正离子检测模式的梯度洗脱程序为: 0~3 min, 15%~20% B 溶液; 3~6 min, 20%~25% B 溶液; 6~13 min, 25%~65% B 溶液; 13~13.1 min, 65%~15% B 溶液, 并且保持 15% B 溶液至 20 min; 负离子检测模式的梯度洗脱程序: 0~2.5 min, 0%~35% B 溶液;

3~8 min, 35%~50% B 溶液; 8~9.1 min, 50%~35% B 溶液, 并且保持 35% B 溶液至 15 min。进样量为 20  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件: 电喷雾离子源 (ESI 源); 正离子扫描的离子源 I (GSI) 和 II (GSI) 气体流量分别为 50 和 60  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 辅助加热气温度为 550  $^{\circ}\text{C}$ , 电离电压为 5 500 V; 负离子扫描的离子源 I (GSI) 和 II (GSI) 气体流量都为 60  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , 辅助加热气温度为 600  $^{\circ}\text{C}$ , 电离电压为 -4 500 V; 气体均为氮气。质谱的去簇电压、碰撞能对 14 种抗生素裂解有重要影响, 对目标物单独进样, 将 14 种抗生素标准溶液进行全扫描得到最大响应值的母离子, 在 MS/MS 模式下, 调整碰撞能找到该母离子对应的子离子, 以多反应监测模式 (multiple reaction monitoring, MRM) 进行分析<sup>[19]</sup>。去簇电压、碰撞能及目标抗生素其他质谱条件见表 1。

### 1.6 抗生素的回归方程、相关系数、检出限

样品测定采用高效液相色谱-串联质谱检测系统, 氯霉素类抗生素采用负离子模式, 其余为正离子模式, 采用目标化合物的母离子和特征子离子为监测离子对, 根据不同抗生素化合物不同保留时间进行分析。配制 0、10、20、50、100、200  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  系列混合抗生素标准溶液, 与样品相同测试条件进行测定, 得到质量浓度-峰面积标准工作曲线; 将 3 倍信噪比 ( $S/N=3$ ) 对应的质量浓度确定为分析物的仪器检测限, 具体数据见表 2。

### 1.7 空白和水样加标回收率实验

分别取纯水和养殖塘水样 500 mL, 添加抗生素标准溶液和  $^{13}\text{C}$ -咖啡因至最终质量浓度达到 100  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ , 按照 1.4 部分的方法进行处理, 在最优化 LC-MS/MS 条件下测定, 加标回收水样平行 3 份。

表 2 抗生素标准曲线方程和相关系数及方法和检出限

Table 2 Detection limit, correlation coefficient, and regression equation of standard curves for targeting antibiotics

抗生素	回归方程	相关系数	仪器检测限 ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
土霉素	$y=0.0022x-4.1761$	$R^2=0.9948$	1.62
四环素	$y=0.0024x+0.0999$	$R^2=0.9997$	2.09
金霉素	$y=0.0051x+3.0634$	$R^2=0.9896$	5.61
罗红霉素	$y=0.0071x+1.0694$	$R^2=0.9999$	2.14
脱水红霉素	$y=0.0161x+1.2663$	$R^2=0.9966$	4.51
诺氟沙星	$y=0.0023x-1.1798$	$R^2=0.9777$	1.57
氧氟沙星	$y=0.0007x-2.2240$	$R^2=0.9922$	0.47
磺胺嘧啶	$y=0.0021x-3.7219$	$R^2=0.9986$	1.00
磺胺二甲嘧啶	$y=0.0004x-7.2966$	$R^2=0.9927$	0.19
磺胺甲噁唑	$y=0.0005x-2.0093$	$R^2=0.9996$	0.27
甲氧苄氨嘧啶	$y=0.0007x-1.6958$	$R^2=0.9994$	0.37
甲砒霉素	$y=0.0019x-7.1664$	$R^2=0.9947$	0.58
氟甲砒霉素	$y=0.0012x-3.8991$	$R^2=0.9978$	0.47
氯霉素	$y=0.0011x-3.7320$	$R^2=0.9983$	0.47

## 2 结果与讨论

### 2.1 方法回收率和 QC

应用标准溶液添加法得到 14 种抗生素的纯水和环境水样回收率分别为 55.3%~135.6% 和 63.0%~124.9% (表 3)。通过比较纯水和养殖塘水样加标回收率, 发现 14 种抗生素中, 仅土霉素、诺氟沙星、氯霉素和甲氧苄氨嘧啶回收率显著区别于纯水, 其余种类抗生素在养殖塘水样和纯水中的回收率无显著差异 (表 3)。但是不同养殖生物池水的  $^{13}\text{C}$ -咖啡因回收率有较大差异 (鸭池 113.8% $\pm$ 5.7%、鱼塘 102.2 $\pm$ 3.7%、虾池 93.0% $\pm$ 8.2%、螃蟹池 115% $\pm$ 10.0%、蛭池 96.7% $\pm$ 8.3%), 表明不同水样性质对抗生素提取效率有影响。我们推测主要影响可能来自于可溶性有机质。徐维海等<sup>[21]</sup>也发现海水和河水

表 1 多反应监测模式下 14 种抗生素的主要质谱分析参数

Table 1 The MS/MS parameters for 14 antibiotics in MRM module

抗生素		保留时间/min	监测离子对( $m/z$ )		去簇电压/V	碰撞能/V
大类	种类					
四环素类	土霉素(OTC)	5.95	461.0 / 426.0*	461.0 / 444.0	45	25
	四环素(TC)	7.27	445.0 / 427.0	445.0 / 410.0*	45	25
	金霉素(CTC)	10.88	479.0 / 444.0*	479.0 / 462.0	51	26
大环内酯类	罗红霉素(RTM)	12.17	837.0 / 679.0	837.0 / 158.0*	60	40
	脱水红霉素(ETM)	12.36	716.0 / 558.0	716.0 / 158.0*	40	34
氟喹诺酮类	诺氟沙星(NFC)	6.55	320.3 / 233.0*	320.3 / 302.0	52	35
	氧氟沙星(OFC)	6.64	362.2 / 318.0	362.2 / 261.0*	64	35
磺胺类	磺胺嘧啶(SDZ)	4.76	251.0 / 91.9*		51	35
	磺胺二甲嘧啶(SMZ)	7.37	279.0 / 186.1*		46	23
	磺胺甲噁唑(SMX)	10.84	253.9 / 92.1*		41	37
	甲氧苄氨嘧啶(TMP)	5.53	291.3 / 260.9*		45	35
氯霉素类	甲砒霉素(TAP)	2.64	356.1 / 184.9*	356.1 / 291.8	-35	-22
	氟甲砒霉素(FF)	4.15	357.9 / 184.7*	357.9 / 338.0	-35	-22
	氯霉素(CAP)	4.40	323.2 / 152.3*	323.2 / 175.7	-35	-22

\*为定量离子对

表 3 纯水和环境水样抗生素加标回收率  
Table 3 Recoveries of antibiotics in spiked distilled water and field water samples

抗生素	回收率/%	
	纯水	环境水样
OTC	128.4±20.1	92.8±6.7
TC	112.6±20.1	114.8±7.2
CTC	100.9±18.9	86.0±14.0
RTM	69.0±17.8	68.2±9.4
ETM	55.3±13.9	63.0±2.7
NOR	134.3±28.0	66.1±4.1
OFL	99.9±17.5	78.9±0.8
SDZ	94.9±10.0	78.7±6.4
SMZ	91.7±13.9	77.0±4.6
SMX	79.2±10.0	76.7±5.1
TMP	135.6±25.6	93.8±4.1
TAP	93.8±20.2	91.2±1.6
FF	106±20.2	103.6±6.2
CAP	97.3±12.3	124.9±9.4
<sup>13</sup> C-咖啡因	99.6±6.8	101.0±8.2

的抗生素加标回收率差异不大, 分别为 64%~90% (海水) 和 61%~85% (河水), 但是不同来源地水样对回收率影响较大。在本研究中, 5 大类 14 种抗生素的方法检测限 (Method detection limit, MDL) 除四环素类金霉素为 11.2 ng·L<sup>-1</sup> 外, 其它抗生素的 MDL 都达到 10 ng·L<sup>-1</sup> 以下。

### 2.2 抗生素的检出种类及质量浓度

本研究在进水口、进水沟和 5 类海产养殖塘水样中共检测到氟喹诺酮类 (诺氟沙星和氧氟沙星)、磺胺类 (磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶和磺胺甲噁唑)、氯霉素类 (氟甲砜霉素) 和磺胺增效剂 (甲氧苄氨嘧啶) 等 3 类 7 种抗生素。其中氟喹诺酮类、磺胺类及其增效剂甲氧苄氨嘧啶是本研究区海产养殖水体的主要残留抗生素 (图 2)。7 种抗生素最高检出质量浓度和养殖生物分别为: 诺氟沙星 (3.54 ng·L<sup>-1</sup>, 虾池)、氧氟沙星 (14.8 ng·L<sup>-1</sup>, 蛭池)、磺胺嘧啶 (5.36 ng·L<sup>-1</sup>, 鸭池)、磺胺二甲嘧啶 (7.35 ng·L<sup>-1</sup>, 虾池)、磺胺甲噁唑 (18.5 ng·L<sup>-1</sup>, 虾池) 和氟甲砜霉素 (5.00 ng·L<sup>-1</sup>, 虾池), 而甲氧苄氨嘧啶则鸭池水中检出最高达 40.2 ng·L<sup>-1</sup>。由此可见, 研究区虾养殖过程中投入了大量并且多种抗生素, 这与 Homstrom 等<sup>[7]</sup>2003 年在泰国滨海虾养殖场调查结果相一致。同时, 本研究还表明在鸭养殖过程中使用了大量的磺胺嘧啶, 并且与甲氧苄氨嘧啶联合使用。另外, 7 种抗生素在进水口水体中均有检出, 最高检出质量浓度分别为诺氟沙星 (0.9 ng·L<sup>-1</sup>)、氧氟沙星 (4.1 ng·L<sup>-1</sup>)、磺胺嘧啶 (2.7 ng·L<sup>-1</sup>)、磺胺二甲嘧啶 (16.4 ng·L<sup>-1</sup>)、磺胺甲噁唑 (3.0 ng·L<sup>-1</sup>)、氟甲砜霉素 (4.3 ng·L<sup>-1</sup>)、甲氧苄氨嘧啶 (4.3 ng·L<sup>-1</sup>)。在进水沟检出的抗生素种类和质量浓度分

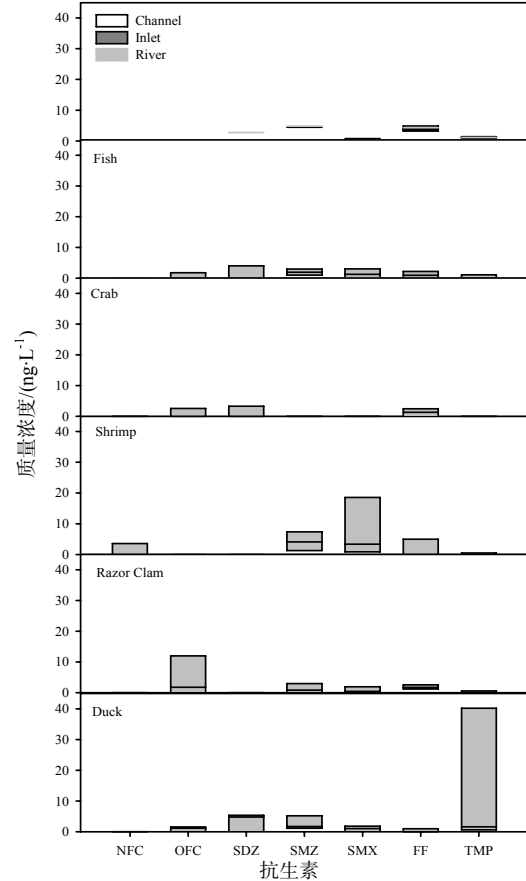


图 2 不同养殖方式下水体抗生素残留质量浓度  
Fig.2 Concentrations of residual antibiotics in water from various aquacultures

别为诺氟沙星 (3.2 ng·L<sup>-1</sup>)、磺胺二甲嘧啶 (0.8 ng·L<sup>-1</sup>)、磺胺甲噁唑 (0.8 ng·L<sup>-1</sup>)、氟甲砜霉素 (4.9 ng·L<sup>-1</sup>)、甲氧苄氨嘧啶 (1.5 ng·L<sup>-1</sup>)。相对进水沟来说, 抗生素在进水口水体中检出种类多, 且质量浓度较高, 可能是沿岸地区畜禽及水产养殖场废水进入九龙江水体所致<sup>[18]</sup>。但进水口和进水沟中水体抗生素质量浓度都小于各养殖塘水体。

由于养殖方式或者混养方式的不同, 不同养殖生物的养殖塘水抗生素种类和质量浓度都不相同 (图 2)。如上所述, 虾池中检出了 5 种抗生素 (诺氟沙星、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲噁唑、氟甲砜霉素和甲氧苄氨嘧啶), 但只有磺胺二甲嘧啶和磺胺甲噁唑在 3 个采样池中都有检出, 其余仅在其中的一个池中检出。鱼塘和鸭池水体中检出的残留抗生素类型最多, 各达 6 种。鱼塘水体残留抗生素以磺胺二甲嘧啶、磺胺甲噁唑、氟甲砜霉素和甲氧苄氨嘧啶为主 (2 个和 2 个以上采样塘中检出), 而鸭池水体中残留抗生素则主要为氧氟沙星、磺胺嘧啶、磺胺二甲嘧啶、磺胺甲噁唑和甲氧苄氨嘧啶, 氟甲砜霉素仅在 1 个采样池水中检出 (约 1.00 ng·L<sup>-1</sup>)。养蛭池水中也有 5 种抗生素残留检出, 但只有氟甲砜霉素在 4 个采样池中都有检出, 质量浓度为

( $1.81 \pm 0.72$ )  $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。螃蟹养殖是本研究调查的养殖方式中池水抗生素残留种类检出最少的,仅3种,即氧氟沙星、磺胺嘧啶和氟甲砜霉素。除氟甲砜霉素有2个采样螃蟹池检出外,其它2种仅在1个采样池中检出,并且质量浓度较低。

对于抗生素种类而言,氟甲砜霉素在本研究采集的所有类型养殖水体都有检出,并且在进水沟和进水口的九龙江潮感区江水中都有检出(图2)。由于氯霉素对人体造血机能的副作用被许多国家禁用<sup>[22]</sup>,氟甲砜霉素作为氯霉素替代品被广泛应用于畜禽和水产养殖业。其次是磺胺类和喹诺酮类(氧氟沙星)抗生素。而作为磺胺类抗生素增效剂的甲氧苄氨嘧啶在除螃蟹养殖池外都有检出,在进水沟和进水口水体都有残留。磺胺类抗生素在不同养殖水体中被频繁检出与磺胺类药物大量使用有关,同时可能与磺胺类药物亲水性较强、稳定性较高的性质有关,比如磺胺甲噁唑<sup>[23]</sup>。

与其他国家和国内相关研究比较表明,本研究区海产品养殖水体中抗生素残留质量浓度相对较低,但种类、数量相似<sup>[15-16,21,24-26]</sup>。然而,在其它研究中常常被检出的四环素类抗生素在本研究区没有检出,这可能是该类抗生素没有大量在本区使用,或者因四环素类抗生素有很强的吸附能力,被沉积物吸附固定或被悬浮颗粒吸附在样品预处理时被过滤损失,如土霉素和四环素<sup>[27]</sup>,因此,有待对沉积物中抗生素质量浓度和种类的进一步验证。同时,该区是福建省重要的海产品出口生产基地,由于进口国对海产品抗生素残留控制的要求,可能影响渔民使用抗生素的用量,从而使四环素类等较稳定抗生素在本研究养殖区内残留质量浓度较低。

### 3 结论

本研究应用固相萃取-液相色谱-串联质谱方法(SPE-MS/MS)分析了典型海产养殖区5种不同养殖生物水体中5类14种抗生素的残留质量浓度。研究表明,

1) 采用的0.45  $\mu\text{m}$ 滤膜过滤-EDTANa<sub>2</sub>络合-固相萃取方法对海产养殖水样残留抗生素萃取效率较高,<sup>13</sup>C-咖啡因的方法回收率达到93%~115%,并且养殖塘水样的加标回收率与超纯水加标回收率相当;

2) 在研究养殖区水体中总计检出3类7种抗生素(含磺胺类增效剂甲氧苄氨嘧啶)残留,其中螃蟹养殖水体中检出种类最少,鱼和鸭养殖水中检出抗生素多达6种,最高检出质量浓度来自于虾养殖水体;

3) 本研究检出的海产养殖区水体抗生素残

留质量浓度较其他研究要低,抗生素种类相差不多,但四环素类和大环内酯类抗生素没有在研究区检出,可能与抗生素本身性质和沉积物/悬浮颗粒物吸附固定有关,有待对沉积物抗生素残留的进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2008 FAO Yearbook: Fishery and aquaculture statistics[R]. Rome, Italy: FAO, 2010.
- [2] CABELLO F C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(7): 1137-1144.
- [3] RIGOS G, BITCHAVAK I N. Antibacterial drugs in products originated from aquaculture: assessing the risks to public welfare[J]. Mediterranean Marine Science, 2010, 11(1): 33-41.
- [4] BAQUERO F, MARTINEZ J L, CANTON R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2008, 19(3): 260-265.
- [5] 高盼盼, 罗义, 周启星, 等. 水产养殖环境中抗生素抗性基因(ARGs)的研究及进展[J]. 生态毒理学报, 2009, 4(6): 770-779. GAO Panpan, LUO Yi, ZHOU Qixing, et al. Research advancement of antibiotics resistance genes (ARGs) in aquaculture environment[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2009, 4(6): 770-779.
- [6] BENBROOK C M. Antibiotic drug use in U.S. aquaculture. Institute for Agriculture and Trade Policy Report[EB/OL]. [2011-04-14]. <http://www.mindfully.org/Water/Antibiotic-Aquaculture-BenbrookFeb02.htm>.
- [7] HOLMSTROM K, GRASLUND S, WAHLSTROM A, et al. Antibiotic use in shrimp farming and implications for environmental impacts and human health[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2003, 38(3): 255-266.
- [8] RODGERS C J, FURONES M D. Antimicrobial agents in aquaculture: Practice, needs and issues[J]. Options Mediterraneennes, 2009, A/86: 41-59.
- [9] SAMUELSEN O B. Degradation of oxytetracycline in seawater at two different temperatures and light intensities, and the persistence of oxytetracycline in the sediment from a fish farm[J]. Aquaculture, 1989, 83(1-2): 7-16.
- [10] TENDENCIA E A, de la PENA L D. Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds[J]. Aquaculture, 2001, 195(3-4): 193-204.
- [11] LE T X, MUNEKAG Y, KATO S. Antibiotic resistance in bacteria from shrimp farming in mangrove areas[J]. Science of the Total Environment, 2005, 349(1-3): 95-105.
- [12] 陈双红, 巴剑波, 徐雄利, 等. 厦门海域优势致病性弧菌对抗生素敏感性调查研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2008, 12(4): 406-408. CHEN Shuanghong, BA Jianbo, XU Xiongli, et al. Identification of and analysis on the antibiotic susceptibility of the dominant pathogenic vibrios of Xiamen China sea[J]. Chinese Journal of Disease Control & Prevention, 2008, 12(4): 406-408.
- [13] SERRANO P H. Responsible use of antibiotics in aquaculture. Fisheries Technical Paper 469[R]. Rome, Italy: FAO, 2005.
- [14] Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council[J]. Official Journal of the European Union L 268, 2003-10-18:9.
- [15] 杨守国, 李兆新, 王清印, 等. 高效液相色谱法检测海水养殖环境中喹诺酮类药物残留[J]. 渔业科学进展, 2010, 31(2): 95-101. YANG Shouguo, LI Zhaoxin, WANG Qingyin et al. Determination of quinolones drug residues in aquacultural seawater using HPLC

- method[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2010, 31(2): 95-101.
- [16] 苏仲毅, 陈猛, 袁东星, 等. 固相萃取-超高压液相色谱-串联质谱法分析海水中 9 种磺胺类抗生素[J]. *厦门大学学报:自然科学版*, 2007, 46(A01): 72-76.  
SU Zhongyi, CHEN Meng, YUAN Dongxing, et al. Determination of nine sulfonamide antibiotics in seawater using solid phase extraction and ultra performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Xiamen University:Natural Science*, 2007, 46(A01): 72-76.
- [17] 刘玉春, 徐维海, 余莉莉, 等. 固相萃取液相色谱-质谱/质谱联用测定河水中大环内酯类抗生素[J]. *分析测试学报*, 2006, 25(2): 1-5.  
LIU Yuchun, XU Weihai, YU Lili, et al. Determination of trace macrolides in water using solid-phase extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2006, 25(2): 1-5.
- [18] 苏仲毅. 环境水样中 24 种抗生素残留的同时分析方法及其应用研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2008: 23-35, 54.  
SU Zhongyi. Study on determination method for 24 antibiotics in aquatic environment samples and its application[D]. Xiamen: Xiamen University, 2008: 23-35.
- [19] 马丽丽, 郭昌胜, 胡伟, 等. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法同时测定土壤中氟喹诺酮、四环素和磺胺类抗生素[J]. *分析化学*, 2010, 38(1): 21-26.  
MA Lili, GUO Changsheng, HU Wei, et al. Simultaneous extraction and determination of eighteen fluoroquinolone, tetracycline and sulfonamide antibiotics from soils using solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2010, 38(1): 21-26.
- [20] 叶计朋, 邹世春, 张干, 等. 典型抗生素类药物在珠江三角洲水体中的污染特征[J]. *生态环境*, 2007, 16(2): 384-388.  
YE Jipeng, ZOU Shichun, ZHANG Gan, et al. Characteristics of selected antibiotics in the aquatic environment of the Pearl River Delta, south China[J]. *Ecology and Environment*, 2007, 16(2): 384-388.
- [21] 徐维海, 张干, 邹世春, 等. 香港维多利亚港和珠江广州河段水体中抗生素的含量特征及其季节变化[J]. *环境科学*, 2006, 27(12): 2458-2462.  
XU Weihai H, ZHANG Gan, ZHOU Shichun, et al. Occurrence and seasonal changes of antibiotics in the Victoria Harbour and the Pearl River, South China[J]. *Chinese Journal of Environmental Science*, 2006, 27(12): 2458-2462.
- [22] 胡莹莹, 王菊英, 马德毅. 近岸养殖区抗生素的海洋环境效应研究进展[J]. *海洋环境科学*, 2004, 23(4): 76-80.  
HU Yingying, WANG Juying, MA Deyi. Research progress on environmental effect of antibiotic agents in marine aquaculture[J]. *Marine Environmental Science*, 2004, 23(4): 76-80.
- [23] RICHARDSON M L, BOWRON J M. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment[J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1985, 37(1): 1-12.
- [24] THURMAN E M, DIETZE J E, SCRIBNER E A. Occurrence of antibiotics in water from fish hatcheries[R]. Washington, DC: USGS Fact Sheet 120-02, U.S. GPO, 2003.
- [25] HIRSCH R, TERNES T, HABERER K, et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment[J]. *Science of the Total Environment*, 1999, 225(1/2): 109-118.
- [26] LE T X, MUNEKAGE Y. Residues of selected antibiotics in water and mud from shrimp ponds in mangrove areas in Viet Nam[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 49(11/12): 922-929.
- [27] YANG J F, YIN G G, ZHAO J L, et al. Simultaneous determination of four classes of antibiotics in sediments of the Pearl Rivers using RRLC-MS/MS[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(16): 3424-3432.

## Residual characterization of multi-categorized antibiotics in five typical aquaculture waters

WANG Min<sup>1,2</sup>, YU Shen<sup>1</sup>, HONG Youwei<sup>1</sup>, SUN Didi<sup>1</sup>

1. Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China;

2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** The environmental problems caused by heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture have been increasingly receiving public concerns in the world. The induction of resistant microorganisms by antibiotics entering into environment and food-chains become a emerging problem for aquatic ecosystem health and human health. In this study, a solid-phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry (SPE-LC-MS/MS) approach was used to determine antibiotics residuals in five aquaculture waters (fish, crab, razor clam, shrimp, and duck) in Jiulong River estuary of southeastern China. Results showed that the solid-phase extraction procedures had promised extraction efficiency for 14 residual antibiotics of 5 groups in aquaculture water samples. The overall recoveries of spiked <sup>13</sup>C-labeled caffeine ranged between 63%~124%. In the investigated estuarine area, 7 antibiotics from 3 groups were detected in the series of aquatic animal ponds. The highest concentrations of detected antibiotics were 3.54 ng·L<sup>-1</sup> of norfloxacin (shrimp ponds), 14.8 ng·L<sup>-1</sup> of ofloxacin (razor clam ponds), 5.36 ng·L<sup>-1</sup> of sulfadiazine (duck ponds), 7.35 ng·L<sup>-1</sup> of sulfamethazine (shrimp ponds), 18.5 ng·L<sup>-1</sup> of sulfamethoxazole (shrimp ponds), 5.00 ng·L<sup>-1</sup> of florfenicol (shrimp ponds), and 40.2 ng·L<sup>-1</sup> of trimethoprim (duck ponds), respectively. But, the concentrations of residual antibiotics in these aquatic animal ponds were lower than other studies. The type and concentration of residual antibiotics varied between different aquaculture ponds, 4 types of residual antibiotics were detected in crab ponds while 6 types in fish ponds and duck ponds. The highest concentrations of antibiotics were detected in shrimp ponds.

**Key words:** antibiotics; aquaculture; estuarine aquaculture areas; aquaculture ponds