

分类号:

学校代码: 10140

密级: 公开

学号: 4031031284



遼寧大學

LIAONING UNIVERSITY

# 硕士学位论文

THESIS FOR MASTER DEGREE

论文题目:

抗生素在城市河流中的污染特征  
及生态毒性研究

英文题目:

Study on few typical antibiotics pollution characteristics and ecological  
toxicities in the river systems in the northern city, in China.

论文作者: 卫毅梅

指导教师: 张 远 研究员

专 业: 环境科学

完成时间: 二〇一三年四月

申请辽宁大学硕士学位论文

抗生素在城市河流中的污染特征及生态毒性研究

Study on few typical antibiotics pollution  
characteristics and ecological toxicities in the river  
systems in the northern city, in China.

作者: 卫 毅 梅

指导教师: 张 远 研究员

专 业: 环 境 科 学

答辩日期: 2013 年 5 月 25 日

二〇一三年四月·中国辽宁

## 辽宁大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：所呈交的学位论文是本人在导师的指导下独立完成的。论文中取得的研究成果除加以标注的内容外，不包含其他个人或集体已经发表或撰写过的研究成果，不包含本人为获得其他学位而使用过的成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体均已在文中进行了标注，并表示谢意。本人完全意识到本声明的法律结果由本人承担。

学位论文作者签名：卫毅梅

2013年5月30日

## 学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交学位论文的原件、复印件和电子版，允许学位论文被查阅和借阅。本人授权辽宁大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编学位论文。同时授权中国学术期刊（光盘版）电子杂志社将本学位论文收录到《中国博士学位论文全文数据库》和《中国优秀硕士学位论文全文数据库》并通过网络向社会公众提供信息服务。学校须按照授权对学位论文进行管理，不得超越授权对学位论文进行任意处理。

保密（ ），在\_\_\_\_年后解密适用本授权书。（保密：请在括号内划“√”）

授权人签名：卫毅梅

指导教师签名：张红

日期：2013年5月30日

日期：2013年5月31日

## 摘要

可利用水资源紧缺的现状促使我们对使用过的水进行回收再利用。回灌城市河道是再生水主要用途之一。污水处理厂不能很有效的去除抗生素,随着再生水的广泛使用,其中的抗生素类污染物的环境影响不容忽视。本文针对常用的四类抗生素(磺胺类、四环素类、大环内酯类和氟喹诺酮类),建立了它们在水体和沉积物中的分析方法,通过方法优化实现了对多种抗生素的同时分析检测,并应用于北京市清河中抗生素残留状况研究。同时针对调查中清河含有的几种抗生素进行了毒性实验,为清河的生态风险和环境健康评价提供基础数据。

主要研究内容和结果如下:

### (1) 四类抗生素固相萃取-高压液相色谱串联质谱检测方法的优化

通过优化梯度淋洗色谱分离条件,优化沉积物中抗生素的提取过程,选取最优质谱离子对,使本方法适用于同时检测水体和沉积物中的四类抗生素。在水样前处理中,当  $\text{pH}=3$  时,所加入目标物为  $10\text{ng/L}$  和  $100\text{ng/L}$  时的回收率分别达到了  $61\text{--}89\%$  和  $60\text{--}95\%$ ,置信区间在  $10\%$  以内;替代物的回收率为  $79.9\text{--}96.4\%$ ; LOD 为  $0.56\text{--}6.52\text{ng/L}$ , LOQ 为  $1.18\text{--}18.52\text{ng/L}$ 。在沉积物样品前处理中,当提取液中甲醇和柠檬酸缓冲液( $\text{pH}=5$ )体积比为  $1:1$  时,含有  $50$ ,  $100$  和  $200\mu\text{g/Kg}$  抗生素浓度梯度的沉积物相应的回收率分别为  $55.9\text{--}104.2\%$ ,  $48.1\text{--}90.9\%$  和  $67.1\text{--}105.3\%$ ; LOD 为  $0.1\text{--}4.9\mu\text{g/Kg}$ , LOQ 为  $0.2\text{--}12.6\mu\text{g/Kg}$ ;沉积物样品中的替代物的回收率为  $66.8\text{--}85.9\%$ 。方法回收率高,重复性好,灵敏度和准确性较高,可适用于同时测定环境中多种类抗生素,为环境中痕量抗生素的监测提供了重要的方法。

### (2) 北京市清河中四类抗生素的污染特征

通过对清河四季水体和沉积物中痕量抗生素的调查研究表明:清河水体中抗生素污染物浓度水平为  $\text{ng/L}$  和  $\mu\text{g/L}$ ,沉积物中浓度水平达到  $\mu\text{g/Kg}$ ,远高于国内外其他河流。在清河水体中氧氟沙星的浓度最高,其在三月份的最高浓度为  $17.0\mu\text{g/L}$ ,在一月份为  $11.2\mu\text{g/L}$ ;甲氧苄氨嘧啶的中位数浓度在一月份高达  $1.8\mu\text{g/L}$ ;在沉积物中土霉素的浓度最高,为  $218.0\mu\text{g/Kg}$ ;氯霉素在水体和沉积物中的伪分配系数最大,  $K_d$  值中位数范围为  $386.2\text{--}775.3\text{L/Kg}$ 。夏秋两季抗生素的检出率和检出量高于冬春两季,而冬春两季抗生素的浓度高于夏秋两季;

秋季抗生素的伪分配系数最高，沉积物中的抗生素可能成为除了污水处理厂出水的第二污染源。因此清河中的氧氟沙星、甲氧苄氨嘧啶、土霉素和氯霉素在冬春两季的环境行为需要引起关注。

### （3）三种抗生素的急性毒性试验

本文采用费氏弧菌和大型蚤为受试生物，测定了甲氧苄氨嘧啶、磺胺甲噁唑和磺胺氯吡嗪三种抗生素在不同浓度下对费氏弧菌的抑制和对大型蚤的活动的影响作用，磺胺氯吡嗪相对于其余两种抗生素来说，对细菌的毒性较强，对应的  $EC_{50}$  浓度为  $16\text{mg/L}$ ，而对大型蚤的毒性较弱，最大无效应浓度高于  $200\text{mg/L}$ 。低浓度情况下，甲氧苄氨嘧啶可为细菌提供生长所需碳源，促进细菌增殖，其对应的  $EC_{50}$  浓度为  $154\text{mg/L}$ 。磺胺甲噁唑对费氏弧菌的毒性较弱，对大型蚤的毒性和甲氧苄氨嘧啶相当，二者 48h 毒性的  $EC_{50}$  分别为  $115\text{mg/L}$  和  $103\text{mg/L}$ 。甲氧苄氨嘧啶和磺胺甲噁唑对大型蚤的联合毒性试验表明，两者在环境中为简单相加作用。混合物对大型蚤 48h 半数致死时，其中所含甲氧苄氨嘧啶浓度为  $105.0\text{mg/L}$ ，磺胺甲噁唑为  $0.9\text{mg/L}$ 。为生态风险评价更贴近环境现实提供了数据支持。

**关键词：**抗生素，固相萃取，高压液相色谱，清河，生态毒性



## ABSTRACT

The shortage of water resources has prompted the water reuse in China. Urban river recharging is one of ways of reclaimed water reuse. However, wastewater treatment plants are not designed to treat emerging contaminants, such as antibiotics, and the extensive use of reclaimed water may lead to the ecological risks caused by the presence of trace antibiotics. In this paper, analytical methods were developed for determination of four types of commonly used antibiotics in water and sediments, and were applied to investigate the distribution of target antibiotics residues in Qinghe River in Beijing. Ecotoxicity tests for target antibiotics were also conducted to provide fundamental data for the ecological risk and environment health evaluation in Qinghe River.

The research contents and results are as the followings:

(1) The optimization of SPE-HPLC method for four types of antibiotics.

This method is suitable for the simultaneous detection of four types of antibiotics in water and sediments, by optimizing the gradient elution chromatography conditions, the optimal mass ion pair and the extraction process of antibiotics in the sediments. The recovery study in water samples showed that at pH=3, the recoveries of two spiking levels at 10ng/L and 100ng/L were 61-89% and 60-69%, respectively, with the confidence interval less than 10%. The recovery of surrogate was 79.9-96.4%, the LOD was 0.56-6.52ng/L, and the LOQ was 1.18-18.52ng/L. For sediment, with the extracting solution of citrate buffer and methanol (V:V=1:1), the recovery of antibiotics is preferable. The sediment recovery study with antibiotics at three spiking levels of 50μg/Kg, 100μg/Kg and 200μg/Kg was 55.9-104.2%, 48.1-90.9% and 67.1-105.3% respectively. The LOD was 0.1-4.9μg/Kg, and LOQ was 0.2-12.6μg/Kg. The recovery rate of surrogate in sediment was 66.8-85.9%.

(2) The pollution characteristics of antibiotics in Qinghe River.

The antibiotics levels in water of Qinghe River were at ng/L and μg/L, and in

sediment the level was up to  $\mu\text{g/Kg}$ , far higher than other rivers. Ofloxacin had the highest concentration in water samples, with  $17.0\mu\text{g/L}$  in March and  $11.2\mu\text{g/L}$  in January, followed by trimethoprim with the median concentration of  $1.8\mu\text{g/L}$  in January, while oxytetracycline was the most dominant one in sediment with the value of  $218.0\mu\text{g/Kg}$ . The pseudo-partition of chlortetracycline was highest among all target compounds, with the median value ranged from  $386.2\text{--}775.3\text{L/Kg}$ . The detection rate and detectable amount of antibiotics was higher in summer and fall, but the concentration was higher in spring and winter. The risks of ofloxacin, trimethoprim, oxytetracycline and chlortetracycline in Qinghe River should not be overlooked.

### (3) The toxicity test.

In this study, toxicity of three antibiotics' (trimethoprim, sulfamethoxazole and sulfachloropyridazine) to *V. fischeri* and *D. magna* was investigated. Sulfachloropyridazine has the strong toxicity to *V. fischeri* with the  $\text{EC}_{50}$  of  $16\text{mg/L}$ , and less toxicity to *D. magna* with the maximum no-effect concentration higher than  $200\text{mg/L}$ . Trimethoprim can be a carbon source for bacterial at low concentration with  $\text{EC}_{50}$  of  $154\text{mg/L}$ . Sulfamethoxazole has less toxicity to *V. fischeri*, and a similar 48h- $\text{EC}_{50}$  to trimethoprim on *D. magna*, with the concentrations of  $115\text{mg/L}$  and  $103\text{mg/L}$ , respectively. The study on combination toxicity of trimethoprim and sulfamethoxazole to *D. magna* indicated that the effect of the two drugs in the environment was a simple additive effect. The mixture to *D. magna* for the median lethal in 48h contained trimethoprim with the concentration of  $105.0\text{mg/L}$  and sulfamethoxazole  $0.9\text{mg/L}$ .

**Key words:** antibiotics, SPE, HPLC, Qinghe River, ecotoxicity

# 目 录

引 言 .....	1
0.1 概述 .....	1
0.1.1 抗生素简介 .....	1
0.1.2 抗生素的使用现状 .....	2
0.1.3 再生水简介 .....	3
0.1.4 再生水的使用现状 .....	4
0.2 水环境中抗生素的来源与归宿 .....	5
0.2.1 城市河流环境中抗生素的来源 .....	5
0.2.2 城市河流环境中抗生素的归宿 .....	6
0.3 水环境中抗生素残留的危害 .....	7
0.4 水环境中抗生素的分析方法 .....	8
0.4.1 样品预处理方法 .....	8
0.4.2 样品检测技术 .....	9
0.5 水体中抗生素的生态毒性研究方法 .....	10
0.5.1 发光细菌在毒性研究中的作用 .....	11
0.5.2 大型溞在毒性研究中的作用 .....	12
0.5.3 联合毒性 .....	12
0.6 课题来源、意义及研究内容 .....	14
0.6.1 课题来源 .....	14
0.6.2 研究背景及意义 .....	14
0.6.3 研究内容 .....	14
0.6.4 创新点 .....	15
0.6.5 技术路线 .....	16
0.7 小结 .....	16
第 1 章 17 种抗生素多环境介质的前处理及分析方法的优化 .....	17



1.1 实验材料 .....	17
1.1.1 仪器与设备 .....	17
1.1.2 标准物质与试剂 .....	17
1.2 实验方法 .....	20
1.2.1 玻璃容器的清洗 .....	20
1.2.2 水样及沉积物样品采集 .....	20
1.2.3 样品前处理 .....	21
1.2.4 液相色谱与双质谱联用的分析 .....	22
1.2.5 定量和方法验证 .....	22
1.3 结果与讨论 .....	23
1.3.1 HPLC-MS/MS 条件的选择与优化 .....	23
1.3.2 水样前处理优化 .....	26
1.3.3 沉积物样品前处理的优化 .....	27
1.3.4 分析方法的确认及定量 .....	29
1.4 本章小结 .....	32
第 2 章 北京清河中抗生素的污染特征 .....	33
2.1 研究区域概况 .....	33
2.2 样品采集与样品前处理 .....	33
2.3 结果与讨论 .....	36
2.3.1 抗生素在城市河流水体中四季的浓度含量调查结果 .....	36
2.3.2 抗生素在城市河流沉积物中四季的浓度含量调查结果 .....	40
2.3.3 抗生素在城市河流水体和沉积物中的伪分配系数 .....	44
2.4 本章小结 .....	45
第 3 章 三种典型抗生素的急性毒性研究 .....	47
3.1 受试生物与材料 .....	47
3.1.1 受试生物 .....	47
3.1.2 实验材料和仪器 .....	47
3.2 实验方法 .....	47
3.2.1 费氏弧菌毒性实验的方法 .....	48