

盐酸环丙沙星在不同模拟水体中的降解与残留*

李霞¹, 陈菊芳¹, 聂湘平², 林建锋¹, 周孝治¹

(1. 暨南大学理工学院, 广东 广州 510632; 2. 暨南大学生命科学技术学院, 广东 广州 510632)

摘要: 通过反相高效液相色谱法研究在不同模拟水体中, 溶液质量浓度、pH对盐酸环丙沙星(CPFX)在水和底泥中含量变化的影响, 分析其在模拟水体中降解和残留规律。研究表明: 在1、5、10 mg·L⁻¹三个CPFY溶液质量浓度中, 光降解度最高的溶液质量浓度为1 mg·L⁻¹, 自然光照下, 72 h后盐酸环丙沙星在有底泥和无底泥的水体中残留率分别为19%和20%, 光降解率与初始质量浓度成反比。在pH分别为3、5、9、11条件下, pH=9的微碱性环境下最易光降解, 而当pH=3时其光稳定性最佳, 48 h后水体残留率分别为22.6%和95.7%。盐酸环丙沙星进入模拟水生态系统后, 水体中CPFY质量浓度迅速下降, 45 d后检测不到它的存在; 底泥中CPFY质量分数迅速上升, 之后缓慢下降, 45 d后底泥中仍有一定残留量, 达到93.86 μg·kg⁻¹。

关键词: 盐酸环丙沙星; 光降解; 微宇宙模拟水生态系统

中图分类号: Q178; S811.5 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579(2010)03-0102-05

Degradation and Residue of Ciprofloxacin in Different Simulated Water Bodies

LI Xia¹, CHEN Jufang¹, NIE Xiangping², LIN Jianfeng¹, ZHOU Xiaozhi¹

(1. College of Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2. Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The influence of drug concentration and pH on the photodegradation of ciprofloxacin was investigated, and a reverse-phase high-performance liquid chromatographic method was developed for detecting the changes of ciprofloxacin content in water and sediments. Photodegradation of ciprofloxacin in natural light was most rapid at a concentration of 1 mg·L⁻¹ among the three concentrations tested (1, 5 and 10 mg·L⁻¹). After 72 h, the amounts of ciprofloxacin remaining with and without sediments were 19% and 20%, respectively. The photodegradation rate was inversely proportional to the initial drug concentration. Ciprofloxacin was most sensitive to photodegradation at pH 9 among the four pH levels tested (pH = 3, 5, 9, 11), when the drug was in zwitterionic form. The stability increased considerably when pH = 3. After 48 h, the amounts of ciprofloxacin remaining in water were 22.6% and 95.7%, respectively. When ciprofloxacin was released into microcosms, the concentration of ciprofloxacin in water decreased rapidly, but increased concomitantly in sediments. After 45 days ciprofloxacin was undetectable in water, but a substantial concentration remained in the sediments. (approximately 93.86 μg·kg⁻¹).

Key words: ciprofloxacin hydrochloride; photodegradation; micro-cosmos system

环丙沙星是第三代氟喹诺酮类中抗菌活性较强的药物之一, 广泛应用于人医和兽医的临床实

践^[1]; 在水产养殖业中, 常被作为渔药用来预防和治疗水生动物的细菌感染疾病。但该药物会在水

* 收稿日期: 2009-11-01

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目(8151063201000053); 国家自然科学基金资助项目(40471118)

作者简介: 李霞(1983年生), 女, 硕士生; 通讯作者: 陈菊芳; E-mail: chenjufang116@163.com

产动物的组织、器官或者可食性产品中产生蓄积,能随食物链传递,从而威胁消费者的健康并能诱导人类致病菌对该药产生耐药性;同时水产养殖中部分药物会以原形或代谢物形式经粪便等排泄物进入环境,直接威胁公共卫生安全和污染生态环境^[2]。2002年我国农业部已将环丙沙星(CPFX)列为水产养殖禁用药物^[3],但由于我国水产养殖业自身的特点,药物使用现象依然存在。

目前,国内外对养殖使用的环丙沙星的研究主要集中在药物代谢动力学及其生物积累和残留方面^[4-6],但对于其不同水体中降解和残留的研究还未见较完整的报道。聂湘平^[7]等对珠三角养殖水体中的环丙沙星等进行残留分析发现表层水体中未检出,而底泥有普遍残留。有研究表明^[8]水体中的环丙沙星在光照条件下半衰期大约为2 h。本文利用高效液相色谱法,针对环丙沙星在不同模拟水体中的降解状况、残留程度等问题进行研究,为更好地认识环丙沙星在自然环境中残留、迁移、归趋等过程和评价环丙沙星进入环境中的生态效应提供依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器和材料

1.1.1 主要仪器与设备 Agilent1100型高效液相色谱仪,配有荧光检测器(FLD),KDC-160HR型高速冷冻离心机。

1.1.2 试验药品与试剂 实验用盐酸环丙沙星(浙江华义医药有限公司, $w = 99.5\%$),盐酸环丙沙星标准品(Sigma公司, $w = 99.9\%$);化学试剂中乙腈为色谱纯,正己烷、 $\varphi = 85\%$ 磷酸、氢氧化钠、三乙胺等均为分析纯,流动相为Millipore超纯水。

1.2 色谱分析条件

色谱柱: Hypersil ODS分析柱(250 mm \times 4.0 mm i. d., 5 μm);流动相: 0.05 mol \cdot L⁻¹磷酸(用三乙胺调pH至2.4):乙腈比例为80:20(v/v);检测器: 荧光检测器,激发波长为280 nm,发射波长为452 nm;柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$;进样量: 10 μL ;流速: 0.8 mL \cdot min⁻¹。

1.3 标准曲线的绘制

制备一系列质量浓度的盐酸环丙沙星工作液,在选定的色谱条件下作HPLC分析。将盐酸环丙沙星(CPFX)的色谱峰面积(S)与工作液中盐酸环丙沙星的质量浓度(C)作直线回归。

1.4 试验设计

1.4.1 不同质量浓度下药物的降解和残留 设置3个质量浓度,每个质量浓度设3种实验状态,分别为自然光照+底泥、自然光照(无底泥)、黑暗条件+底泥。每个实验设置两个平行组。

取1000 mL烧杯数个,向其中加入1 cm厚的池塘干底泥(无底泥组不用添加),再加入1000 mL的曝气自来水,静置2 d,待水体沉淀稳定,设计水体中盐酸环丙沙星的质量浓度分别为1、5、10 mg \cdot L⁻¹。在0.5、1、2、4、8、16、24、48、72 h时取样,并用针头滤器过滤,滤液注入进样瓶中待测。

模拟水体经72 h后,刮取并称量2.0 g泥样于50 mL聚丙烯离心管中,加入0.1 mol \cdot L⁻¹的磷酸溶液(pH 12)3.0 mL,充分搅拌,然后加入7.0 mL乙腈,旋涡混合2 min,以4000 r \cdot min⁻¹速度离心10 min,吸取全部上清液于另一离心管中,残渣按上述操作重复提取一次。将上清液在70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中用氮气吹干。测定时用1 mL流动相溶解,以4000 r \cdot min⁻¹速度离心10 min,上清液用针头式微孔滤膜过滤器过滤,滤液备HPLC检测之用。

1.4.2 不同pH值下药物的降解和残留 取500 mL烧杯数个,配制5 mg \cdot L⁻¹的盐酸环丙沙星溶液,然后分别用1 mol L⁻¹的NaOH和1 mol \cdot L⁻¹的稀HCl调节pH值,使其pH值约为3、5、7、9、11。每个pH值的实验设置两个平行组。自然光照下,分别于1、4、8、16、24和48 h时取样并处理测定。

1.4.3 微宇宙模拟水生态系统 在体积为300 L的聚乙烯水族箱中放入5 cm深底泥,加入曝气自来水250 L,采用自然光照。栽入皇冠草,系统稳定后,陆续移入长6~7 cm的异育银鲫、河蚬,定时投喂饲料,连续充气,pH为6.8 \pm 0.2。试验设置3个平行试验水族箱,1个空白对照,向模拟系统中加入溶解的盐酸环丙沙星试剂,使水中盐酸环丙沙星质量浓度为0.5 mg \cdot L⁻¹。

实验开始后分别于1、7、15、30、45 d取水样、泥样,各样均取3个平行并作空白对照,所取样品置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存备测,样品处理同1.4.1。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度 CPFX 的降解和残留

2.1.1 自然光照+无底泥 在图1中,开始阶段,

不同质量浓度的 CPFX 的水体残留率没有明显区别, 下降都较缓慢, 4 h 后差异明显, 24 h 后各组质量浓度迅速下降。经过 72 h 的自然光照, 水体中 CPFX 的含量分别由 1、5 和 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降到了 0.219、1.921 和 4.951 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由于实验采用的是超纯水, 其杂质含量很低, 基本排除 CPFX 与水中杂质发生反应的可能, 从而验证了 CPFX 光降解效应的存在^[9]。Thoma^[10] 等曾对环丙沙星、萘啶酸等新老一代的喹诺酮使用 HPLC 监测进行了光降解动力学比较实验, 研究表明老一代的喹诺酮遵从准一级降解, 而新一代氟喹诺酮的光降解并不遵循同一固定的动力学反应级数, 降解速度随照射时间的增长而增加。这解释了在光照 24 h 后, 水体中 CPFX 的降解为什么会加速。不同质量浓度的 CPFX 在光照 72 h 后降解程度不同, 初质量浓度越高降解程度越低, CPFX 的降解程度与初始质量浓度成反比。

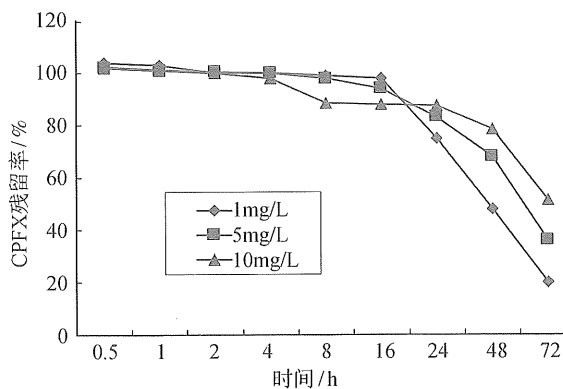


图 1 不同质量浓度下水体中 CPFX 残留率变化 (自然光照)

Fig. 1 The change of residual percentage of CPFX in different concentration solution (natural light without sediment)

2.1.2 自然光照 + 添加底泥 图 2 表示的是在自然光照下, 不同质量浓度的 CPFX 在添加底泥的模拟水体中的降解状况。

从图中发现, 在添加底泥的模拟水体中的 CPFX 的降解状况与不添加底泥的降解状况相当一致, 只是在实验开始阶段, 添加底泥的模拟水体中 CPFX 的降解速率会稍快一些。经过 72 h 的照射后, 水体中 CPFX 的质量浓度分别由 1、5 和 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降到了 0.19、1.40 和 5.20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, CPFX 的降解程度与初始质量浓度成反比; 而对该组的底泥样品进行测定发现底泥中含有较高质量分

数的 CPFX, 分别达到 0.70、3.13、2.87 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。所以, 在该组实验中, 除了光降解外, 底泥的吸附也是水体中 CPFX 质量浓度降低的一个原因。

Kirsti Tornainen^[11] 等应用 HPLC 法研究了不同质量浓度的 CPFX 在特定光照条件下的残留量, 发现 CPFX 光降解速度与其初始质量浓度成反比: 初始质量浓度越高, 降解速率越慢, 水体中 CPFX 的残留率越高。而在本实验中, 在无底泥对照组和光照无底泥组中, 72 h 后水体中初始质量浓度为 1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CPFX 的降解程度最高, 残留百分比分别只有初始质量浓度的 20% 和 19%, 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别为 36% 和 28%, 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降解度最低, 残留分别为 51.5% 和 52%, 研究结果与 Kirsti Tornainen 一致。

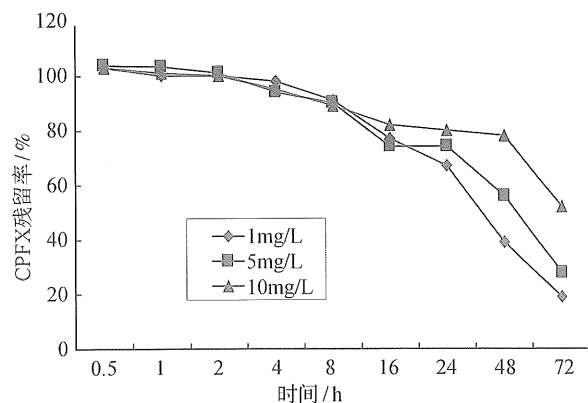


图 2 不同质量浓度下水体中 CPFX 残留率变化 (自然光照 + 底泥)

Fig. 2 The change of residual percentage of CPFX in different concentration solution (natural light with sediment)

2.1.3 黑暗 + 添加底泥 黑暗组中, 烧杯被锡箔纸所包裹着, 得不到阳光的照射, 但是从图 3 中可以看出水体中 CPFX 的质量浓度也在不断减小, 只是其降解速率较光照条件下要小, 残留率在实验结束时也相应较高, 水体中 CPFX 质量浓度分别由开始时的 1、5、10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降到了 0.60、2.65 和 5.30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同时, 黑暗组底泥中的 CPFX 质量分数分别达到 1.34、6.11、16.76 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 结合光照组中底泥 CPFX 的含量, 说明了底泥对 CPFX 具有很强的吸附能力。在黑暗条件下, 底泥的吸附应该是 CPFX 在水体中质量浓度逐渐下降的主要原因。CPFX 与底泥颗粒物的吸附与解吸在一定时间后应该会达到平衡, 但在本实验中发现, 72 h 后水体中 CPFX 的质量浓度依然继续下降, 这可能说明 CPFX 溶液在黑暗条件下也存在一定的降解作用。

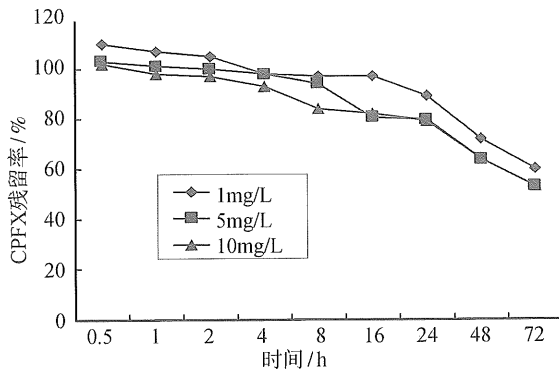


图3 不同质量浓度下水体中 CPFX 残留率变化 (黑暗+底泥)

Fig. 3 The change of residual percentage of CPFX in different concentration solution (dark with sediment)

2.2 不同 pH 条件下 CPFX 的降解与残留

从图4中可以看到在 pH 值为3的实验组中, CPFX 在日光照射后质量浓度基本不变, 降解速率很慢。而在 pH 值为9的实验组中, 经过48 h 的日光照射后, 其 CPFX 的残留量最低, 只有 1.13 mg L^{-1} , 是4个实验组中最低的, 说明 CPFX 在高 pH 值条件下光降解最快。在 pH 值为5和11的实验组中, CPFX 的质量浓度都随着光照时间的增加而减少, 但是两组下降幅度又小于 pH 为9的实验组, 光降解速率较慢。

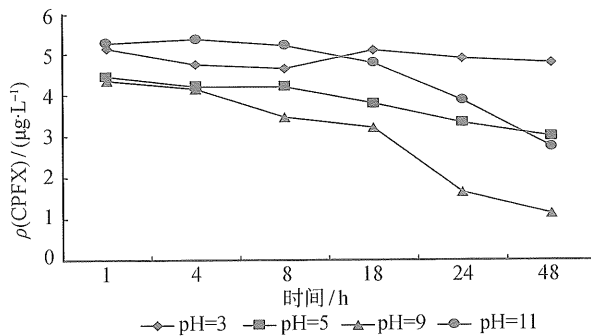


图4 不同 pH 条件下 5 mg/L CPFX 在水体中的质量浓度变化

Fig. 4 The concentration change of CPFX under the condition of different pH

Kirsti Torniainen^[11]等以高压汞灯照射光源, 发现微碱性 pH 环境下即环丙沙星在两性离子状态下最容易光降解, 并且在低 pH 条件下如趋于 3~4 时环丙沙星的光稳定性还有所增加, 说明了 CPFX 在酸性条件下对光较为稳定。而本实验结果说明 pH 对 CPFX 的光降解效应的影响在自然日光照射下也同样有效。

2.3 模拟水生态系统中 CPFX 的残留

2.3.1 CPFX 在水体中的含量变化 水体中 CPFX 质量浓度变化趋势见图5。CPFX 进入水体立即向底泥、悬浮颗粒物、水草等各介质分配, 以及光降解的作用, 导致水中 CPFX 质量浓度显著降低, 1 d 内水体中 CPFX 含量由给药时的 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降到 $15.30 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 但很快 CPFX 在各介质中的分配就达到相对平衡。1 d 后 CPFX 在水体中缓慢下降, 这可能是各种胶体颗粒物吸附的 CPFX 的解吸重新进入水体导致的, 也可能与模拟水生态系统中鱼类、河蚬等向水体排泄含有 CPFX 的代谢废物有关。但由于光降解和模拟水体中各种生物对 CPFX 的降解和吸附作用^[12], CPFX 在水体中一直呈现下降趋势, 30 d CPFX 在水体的含量降至 $1.33 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 45 d 后水中检测不到其存在。

2.3.2 CPFX 在底泥中的含量变化 CPFX 在底泥中的含量变化如图5所示, 在第一天内大量的 CPFX 被吸附到底泥表层, CPFX 在底泥中的质量分数达到 $385.57 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。不过底泥对 CPFX 的吸附是一个可逆过程, 吸附到底泥表层的 CPFX 由于吸附点位的竞争可被重新释放回水体中, CPFX 在 7 d 降至一平衡, 其后由于模拟水生态系统中各生物对 CPFX 的降解以及 CPFX 自身的光降解作用, 底泥中 CPFX 质量分数又缓慢下降, 45 d 时底泥中残留量约为 $93.86 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

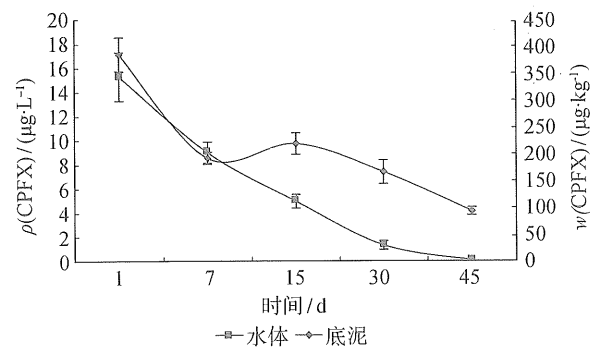


图5 水体和底泥中 CPFX 的含量变化

Fig. 5 The change of CPFX in sediments and water borne

CPFX 具有较大的 K_{ow} 值, 易吸附于有机体和颗粒物表面, 在底泥中 CPFX 不易随孔隙水向下迁移^[13]。Kümmerer^[14]报道环丙沙星进入水体后, 会被沉积物所吸附, 在水体中消失的环丙沙星中有 65% 进入到底泥中。从本实验中也可看出, 底泥对 CPFX 有很强的吸附作用, 且底泥中 CPFX 较难脱离进入水体。有文献报道土壤对恩诺沙星具有较强

的吸附作用,但恩诺沙星在土壤中迁移能力较弱,研究结论与本结果一致^[15]。

3 结 论

1) 反相高效液相色谱法测定不同质量浓度的 CPFX 在有底泥和无底泥两种模拟水体中经自然光照后的残留量。结果表明, CPFX 光降解速度与其初始质量浓度成反比。初始质量浓度越高,降解速率越慢;初始质量浓度越低,降解速率越高。

2) 不同 pH 值对模拟水体中 CPFX 光降解及残留的影响实验表明,水体中 CPFX 的残留百分比在不同 pH 值水体中差异明显,以 pH 值为 3 时最大, pH 值为 9 时最小;微碱性 pH 环境下环丙沙星最容易光降解, CPFX 在酸性条件下对光较为稳定。

3) CPFX 进入模拟水生态系统后,由于 CPFX 的光降解及微生物中各种生物对它的降解和吸附作用,导致水体中 CPFX 含量呈下降趋势。底泥对 CPFX 具有很强的吸附能力,但 CPFX 在底泥中降解缓慢,从而导致了它在环境中半衰期的延长。

参考文献:

- [1] 农业部. 农业部发布关于食品动物禁用的兽药及其他化合物清单[J]. 中国兽药杂志, 2002, 36 (4): 11 - 12.
- [2] HIRSCH R, TEMES T A, HABERER K, et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment[J]. *Sci Total Environ*, 1999, 225: 109 - 118.
- [3] 农业部渔业局, 全国水产标准化技术委员会编. 中国水产标准汇编——无公害食品卷[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002: 154.
- [4] VYBIRALOV Z, NOBILIS M, ZOULOVA J, et al. High-performance liquid chromatographic determination of ciprofloxacin in plasma samples[J]. *Pharmac Biomed Anal*, 2005, 37: 851 - 858.
- [5] 杨先乐, 刘至治, 横山雅仁. 盐酸环丙沙星在中华绒螯蟹体内药物代谢动力学研究[J]. *水生生物学报*, 2003, 27 (1): 18 - 22.
- [6] 聂湘平, 陈菊芳, 王翔, 等. 环丙沙星在异育银鲫体内的积累分布及其毒性效应[J]. *生态学报*, 2008, 28 (1): 246 - 252.
- [7] 聂湘平, 何秀婷, 杨永涛, 等. 珠江三角洲养殖水体中喹诺酮类药物残留分析[J]. *环境科学*, 2009, 30 (1): 266 - 270.
- [8] CARDOZA L A, KNAPP C W, LARIVE C K, et al. Ciprofloxacin attenuation rates and mechanisms in aquatic field system[J]. *Water Air Soil Poll*, 2005, 161, 383 - 398.
- [9] KIRSTI T, JORMA M, CURT-PETER A, et al. Structure elucidation of a photodegradation product of ciprofloxacin[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1997, 15: 887 - 894.
- [10] THOMA K, KUBLER N. Photodegradation of quinolones[J]. *Pharmazie*, 1997, 52 (7): 519
- [11] KIRSTI T, SEIJA T, VEIKKO U. The effect of pH, buffer type and drug concentration on the photodegradation of ciprofloxacin[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 1996, 132: 53 - 61.
- [12] BELDEN J B., MAUL J D, LYDY M J. Partitioning and photodegradation of ciprofloxacin in aqueous systems in the presence of organic matter[J]. *Chemosphere*, 2007, 66: 1390 - 1395.
- [13] 毕新慧, 储少岗, 徐晓白. 多氯联苯在水稻田中的迁移行为[J]. *环境科学学报*, 2001, 21 (4): 454 - 458.
- [14] KUMMERER K. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources—a review[J]. *Chemosphere*, 2001, 45 (5): 957 - 969.
- [15] 吴银宝, 汪植三, 廖新梯, 等. 土壤对恩诺沙星的吸附和解吸特性研究[J]. *生态环境*, 2005, 14 (5): 645 - 649.