



郭瑞子, 罗雪莲, 张 草, 等. 阿散酸在模拟池塘水体中的降解消除规律及对水生态的影响[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(1): 9-13.

阿散酸在模拟池塘水体中的降解消除规律及 对水生态的影响

郭瑞子, 罗雪莲, 张 草, 张 帆, 孙永学

(华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】研究模拟池塘水生态系统中阿散酸在水体与底泥中的降解规律及对水生态功能的影响。【方法】设立空白猪粪添加 50、150 和 500 mg/L 阿散酸的试验池, 采集不同时间池中水及 2 cm 深处底泥样品, 采用 HPLC 法测定阿散酸质量浓度, HG-AFS 法测定总砷含量。【结果和结论】阿散酸在水体和底泥中的降解时间随药物质量浓度的增大而延长, 降解半衰期分别为 3.73 ~ 16.04 和 35.17 ~ 61.27 d, 而总砷在底泥中呈现由浅入深的沉降趋势且消减缓慢。各生态池用药后对其溶解氧(DO)、pH 和初级生产力(*P/R*)、底泥碱性磷酸酶、过氧化氢酶以及全氮和全磷含量等指标进行定期检测。结果表明:阿散酸质量浓度 ≥ 150 mg/L 对水生态系统可造成不可逆转的影响, 高质量浓度阿散酸对过氧化氢酶活性产生明显的抑制作用, 底泥全氮含量呈现“抑制-促进”变化过程, 各质量浓度下全磷含量均出现下降且呈现浓度依赖性关系。

关键词:阿散酸; 水生态系统; 降解; 生态影响

中图分类号:S859

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2015)01-0009-05

Degradation-elimination rules and influences on aquatic ecosystems of arsenic acid in simulating pond

GUO Ruizi, LUO Xuelian, ZHANG Cao, ZHANG Fan, SUN Yongxue

(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】In this paper, by simulating the pond water ecosystem, degradation rule in water and sediment and the impact on aquatic ecosystem of arsenic acid were studied. 【Method】Four mini-aquatic pond ecosystems were established; the control was added 100 g pig manure and treated with different mass concentrations of 50, 150 and 500 mg/L of arsenic acid. Samples of water and 2 cm-depth-sediment were taken. Arsenic acid was determined by HPLC and the total arsenic contents were determined by HG-AFS. 【Result and conclusion】The half-life of arsenic acid increased with the extension of the delivery drug concentration in pond water and surface sediment, which was 3.73 to 16.04 d and 35.17 to 61.27 d, respectively, and the total arsenic showed a distinguished subsidence trend in sediment and degraded slowly. The values of dissolved oxygen(DO), pH, primary productivity(*P/R*), activities of sediment alkaline phosphatase and catalase, and the content of total nitrogen and phosphorus indicators were regularly detected. The results showed that 500, and 150 mg/L arsenic acid could cause irreversibly detectable effects on the ponds. High mass concentration of arsenic acid obviously inhibited catalase activities. The total nitrogen content of sediment showed an inhibition-promotion-change process,

收稿日期:2014-01-18 优先出版时间:2014-12-02

优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7671/j.issn.1001-411X.2015.01.002.html>

作者简介:郭瑞子(1989—),女,硕士研究生, E-mail:874518231@qq.com;通信作者:孙永学(1969—),男,教授,博士,
E-mail:sunyx@scau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(31172368);广东省自然科学基金(S2011010001090)

and all mass concentrations of the total phosphorus content declined and presented a concentration dependent relationship.

Key words: arsanilic acid; aquatic ecosystem; degradation; ecotoxicity

阿散酸(Asanilic acid,又名氨基苯胂酸)是一种有机胂类化合物,因具有抗菌促生长、改进动物生产品质等作用,自1996年被批准用作饲料添加剂以来,在我国畜禽养殖业上应用非常广泛.据估测,一个年出栏万头肉猪的养猪场仅在商品猪饲料中添加阿散酸100 mg/kg,则每年将使用360 kg阿散酸原药,其经粪尿等排放大约124 kg元素砷^[1].有试验表明,阿散酸经猪混料饲喂后经胃肠道的吸收较少,生物利用度仅为24.5%,大部分以原形随粪便排出体外^[2-4],并经多种可能途径(如施肥、粪便堆放、经排污口排至鱼塘等)进入土壤和水中,其在环境中的迁移、转化、降解与潜在生态毒性以及可能经食物链等途径而增加人类的神暴露风险已引起人们的日益关注.本文通过建立池塘水生态池模型进行了不同质量浓度阿散酸与猪粪混合物在生态池水及底泥中的降解消除规律及对水生态池功能的影响研究.

1 材料与方法

1.1 试验药品与主要试剂

阿散酸对照品,质量分数为99.0%,由德国Dr. Ehrenstorfer公司提供;阿散酸原粉,质量分数为99.6%,广州惠华动物保健品公司生产;甲醇为进口色谱纯,三乙胺、甲酸、二氯甲烷等为国产分析纯.

1.2 主要仪器

高效液相色谱仪,Agilent HP1100型,美国AGILENT公司;原子荧光光度仪(HG-AFS),AFS-9130型,北京吉天仪器有限公司;微波消解系统,意大利Milestone公司.

1.3 模型建立

采集一未污染的鱼塘底表层底泥,充分混合并等量加入5 cm厚度的底泥到4个模拟生态池中(60 cm × 30 cm × 40 cm水族箱),立即加入40 L已暴露脱氯24 h自来水,同时加入相当于1 mg/L总氮(TN)的KNO₃、0.1 mg/L总磷(TP)的NaH₂PO₄及加入NaHCO₃.分别在1号池加入100 g空白猪粪,2~4号池各加入100 g空白猪粪并分别添加50、150和500 mg/L阿散酸溶液,自然条件下培育1个月后池中出現藻类、浮游动物、小田螺等生物,系统逐渐成熟.

1.4 样品采集及前处理

1.4.1 水体和底泥中阿散酸降解规律试验 给药前采空白水样和底泥,用药后分别于0.25、0.5、1、2、3、

5、7、10、14、21、30、40、54、75、103、142和170 d采水面下10 cm处水样,并分别于1、3、7、14、21、49、63、91、119、147、203 d采集池底2 cm处底泥,-20℃保存备用.水样前处理:充分混匀,取1 mL经12 000 r/min离心10 min,过0.22 μm有机微孔滤膜,上机检测.底泥样前处理:称1.0 g底泥于15 mL离心管中,加入3 mL甲醇-乙腈混合液,旋涡混匀,8 000 r/min离心10 min,倾上清液,重复提取,合并2次上清液,40℃氮气吹干后取1 mL流动相复溶,加入0.2 mL二氯甲烷经涡旋振荡2 min,12 000 r/min离心10 min,过0.22 μm有机微孔滤膜,上机检测.

1.4.2 底泥中总砷降解规律试验 给药前采空白底泥,用药后分别于1、3、7、14、21、49、63、91、119、147、203 d采集2 cm处底泥.取0.5 g底泥样于消解罐中,依次加入消解液(3 mL HF + 3 mL HCl + 3 mL HNO₃)进行微波消解预处理.

1.5 样品测定

1.5.1 水体和底泥中阿散酸浓度测定(HPLC法) 色谱条件:色谱柱ODS-2 HYPERSIL column(250 mm × 4.6 mm,5 μm);流动相:甲醇-磷酸盐缓冲液(含0.005 mol/L磷酸二氢钾,0.005 mol/L四丁基溴化铵和1.4 mL/L三乙胺,甲酸调pH至4.64~4.70)[V(甲醇):V(磷酸盐)=4:96];紫外检测波长244 nm.水体与底泥中阿散酸检测限为0.05 μg/g,定量限为0.1 μg/g;绝对回收率86.5%~92.9%,变异系数日内2.15%~3.51%,日间3.26%~3.99%.

1.5.2 底泥中总砷测定(HG-AFS法) 以体积分数为2%盐酸作载液,氩气作载气,体积分数为1%硼氢化钾为还原剂,采用HG-AFS法测定.底泥中总砷检测限为0.05 ng/g,回收率为96.8%~101.5%,符合检测要求.

1.5.3 生态池溶解氧(DO)和初级生产力(P/R)测定 溶解氧参照“水质溶解氧的测定碘量法”(GB 7489-87)测定;P/R参照“水质初级生产力测定法-黑白瓶测定法”(SL 354-2006)测定.

1.5.4 底泥酶活性、全氮和全磷测定 全氮按“HClO₄-H₂SO₄法”测定^[5];全磷按“钼锑抗比色法”测定^[5];底泥碱性磷酸酶活性按“磷酸苯二钠比色法(2)”测定^[6];过氧化氢酶活性按“容量法”测定^[6].

1.6 数据分析

采用WINNONLIN软件对数据进行分析.

2 结果与分析

2.1 生态池水与底泥中阿散酸的降解规律

阿散酸在水体与底泥中的降解药-时曲线见图1、图2,其降解动力学参数见表1(1号池水、底泥中阿散酸质量浓度均为0)。

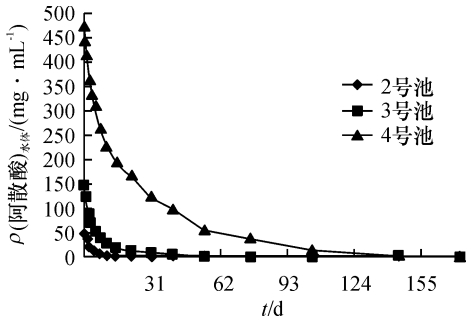


图1 不同质量浓度阿散酸在水中降解的药-时曲线

Fig.1 Concentration-time curve of degradation of arsanilic acid at different contents in water

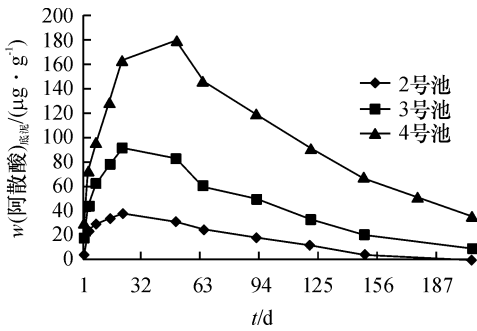


图2 不同质量浓度阿散酸在底泥中降解的药-时曲线

Fig.2 Concentration-time curve of degradation of arsanilic acid at different contents in sediment

表1 各生态池水中和底泥中阿散酸的降解动力学参数

Tab.1 Pharmacokinetic parameters of degradation of arsanilic acid in all ecological pools

样品编号	$\beta/(d^{-1})$	$t_{1/2\beta}/d$	AUC ⁽¹⁾	AUMC ⁽²⁾	MRT/d
水体 2	0.185	3.73	160.21	545.19	3.40
3	0.068	10.15	1 005.21	10 434.39	10.38
4	0.043	16.04	10 678.65	313 138.98	29.32
底泥 2	0.019	35.17	3 157.33	174 050.90	55.13
3	0.015	45.55	9 094.55	624 915.23	68.71
4	0.011	61.27	21 112.22	16 810 001.17	79.63

1) 水体中 AUC 计量单位为 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{d}$,底泥中 AUC 计量单位为 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}$;2) 水体中 AUMC 计量单位为 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{d}^2$,底泥中 AUMC 计量单位为 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^2$ 。

2号池(50 mg/L)水体中阿散酸降解速度较快,第21天已降至0.28 $\mu\text{g}/\text{mL}$,第30天时已检不出阿散酸。3号池(150 mg/L)和4号池(500 mg/L)水体中阿散酸降解较慢,第54天时原形药物质量浓度分别为1.19和55.54 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (图1)。2、3和4号池水中阿散酸降解半衰期分别为3.73、10.15和16.04 d,平

均滞留时间分别为3.40、10.38和29.32 d(表1)。可见不同质量浓度阿散酸在水中的降解半衰期和平均滞留时间存在明显差异,水体中阿散酸质量浓度越高,其降解半衰期和平均滞留时间越长。

阿散酸在底泥中经历了从沉积到降解的变化过程,低、中和高剂量池底泥中阿散酸最高浓度分别出现在第21、21和49天。在第203天时,2号池(50 mg/L)已检不到药物,而3号和4号池原形药物分别为9.11和35.37 $\mu\text{g}/\text{g}$ (图2)。2、3和4号池底泥中阿散酸的降解半衰期分别为35.17、45.55和61.27 d,平均滞留时间分别为55.13、68.71和79.63 d(表1)。阿散酸在底泥中的降解半衰期和平均滞留时间随给药质量浓度的增高而延长。

2.2 底泥中总砷的降解规律

底泥中总砷降解的药-时曲线见图3,降解动力学参数见表2(1号池底泥中阿散酸质量浓度为0,底泥中总砷浓度可忽略)。生态池底泥中总砷的变化趋势与阿散酸的原形相似,即出现从沉积到消减的过程,2、3和4号池底泥中总砷的最高质量分数分别出现在第49、49和63 d。给药后第203天时,3个池底泥中检出的总砷质量分数分别为2.22、7.55和50.79 $\mu\text{g}/\text{g}$ (图3)。3个池底泥中总砷的消除半衰期分别为46.45、52.44和104.05 d,平均滞留时间分别为78.05、77.23和92.56 d(表2)。结果表明,添加不同质量浓度阿散酸的底泥中总砷的消减特征与水体和底泥中的阿散酸原形不同,添加低质量浓度与中质量浓度阿散酸的底泥中总砷消减相接近。

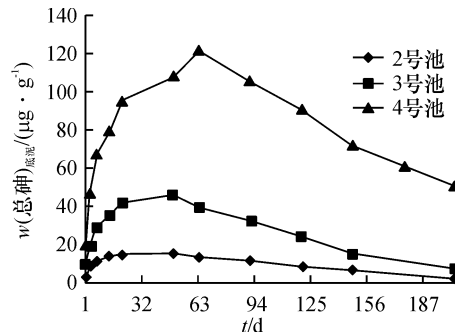


图3 总砷在底泥中降解的药-时曲线

Fig.3 Concentration-time curve of degradation of total arsenic in sediment

表2 底泥中总砷降解动力学参数

Tab.2 Pharmacokinetic parameters of degradation of total arsenic in sediment

样品编号	$\beta/(d^{-1})$	$t_{1/2\beta}/d$	AUC/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}$)	AUMC/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^2$)	MRT/d
2	0.015	46.45	1 962.66	153 149.42	78.05
3	0.013	52.44	5 448.81	420 836.75	77.23
4	0.007	104.05	17 556.57	1 625 055.93	92.56

2.3 底泥中阿散酸在总砷中所占比例

将阿散酸按照其结构中砷质量分数 34.52% 进行折算,与总砷比较,阿散酸占总砷百分比呈现先升高、后降低的变化趋势(图4)。表明底泥中阿散酸在降解过程中可能转化为其他砷形态。

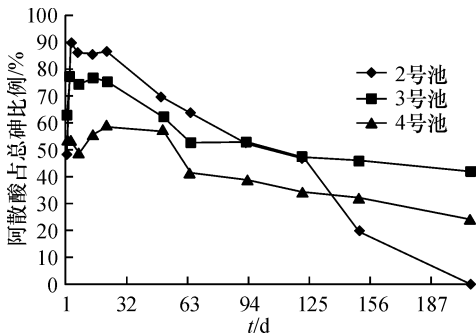


图4 底泥中阿散酸在总砷中所占比例

Fig. 4 Proportion of arsenic acid in total arsenic in sediment

2.4 阿散酸对模拟生态池的影响

2.4.1 对水体透亮度的影响 施药后可观察到,与1号池相比,2号和3号池水均由清亮变为黑褐色,4号池水发黑,各池面均有一层油状膜持续达1个月之久。用药后40 d时各池水面均漂着厚厚的绿色青苔,用药后70 d,2号池水开始恢复清亮;而3、4号池水无明显改善。

2.4.2 对生态池溶解氧、pH和P/R的影响 1号空白猪粪对照池溶解氧和pH在初期稍下降,随后又恢复正常;2号低质量浓度池溶解氧在第1天小幅上升后趋于平稳;3号和4号池溶解氧在第1天即出现快速下降,其后一直维持低水平状态,其中4号高质量浓度池溶解氧下降更为明显。不同质量浓度阿散酸均可影响生态池的pH,2号池pH先出现降低随后得到恢复,其恢复正常的时间约为21 d。3号和4号池的pH一直呈现下降变化趋势,其中3号池在第7天时pH下降到最低值3.77,4号池下降更明显,在第5天时pH下降到最低值3.03,此后2个池的pH一直维持较低水平。各用药生态池P/R均出现下降变化,质量浓度越高对P/R的影响也越大,3号和4号生态池在给药后P/R值迅速下降,其后一直处于很低的水平,可观察到其中水生植物,尤其浮游藻类几乎全部死亡,几乎已丧失初级生产能力,水生态系统接近“死亡”,生态池外观性状表现为黑色池水且有轻微恶臭味。结果表明,阿散酸的用药质量浓度越高,对生态池P/R值影响越大。

2.4.3 对底泥全氮、全磷含量和酶活性的影响 由试验结果可知,不同质量浓度阿散酸用药池的全氮含量均经历了抑制-促进的过程,最后恢复初始水平;3个给药池底泥中全磷含量均出现下降,且在暴

露第2—19天低、中质量浓度阿散酸组底泥全磷含量低于高质量浓度组。不同质量浓度阿散酸对底泥碱性磷酸酶活性的影响差异不大,各池基本维持在初始水平。2号低质量浓度与3号中质量浓度池底泥中过氧化氢酶变化规律相似,均呈现“抑制-激活”的变化过程,最后低于初始水平,而4号高质量浓度池在用药后第2天活性即呈现急剧下降,此后一直处于低水平的状态,表明高质量浓度阿散酸对水生生态系统中过氧化氢酶活性可产生明显抑制作用。

3 讨论与结论

3.1 试验浓度的选择

本研究中对模拟池塘水生态系统添加阿散酸的质量浓度选择为50、150和500 mg/L,按阿散酸中As元素含量为34.52%计,折合添加As质量浓度分别为17.26、51.78和172.6 mg/L。以上质量浓度选择主要依据对我国部分猪场周边环境砷污染状况监测调查。曾婧^[7]对我国7个主要养殖省份43个猪场周边环境土壤、水体和植物中总砷含量进行监测,结果表明大部分猪场土壤砷含量均超过我国土壤砷最高背景值(15 mg/kg)2~3倍,水体砷含量均大大超过我国渔业水质和地表水砷含量标准(50 μg/L)2~6倍和饮用水标准(上限为10 μg/L)10~30倍,达到84.6~296.5 μg/L。张树清等^[8]对我国7省区畜禽粪中重金属含量调查显示猪粪、鸡粪中砷质量分数分别可达65.4和19.6 mg/kg。李银生等^[9]对长期使用洛克沙肿的2个猪场周围环境调查显示,离排污口较远处砷含量最高达到43.29 mg/kg。目前多数猪场一般是将猪粪尿直接或先行沼气处理后排放到鱼塘中,长期应用后神经排泄可在池塘水体底泥中蓄积,因此本研究选择了17.26、51.78和172.6 mg/L(以As计)3个系列质量浓度进行阿散酸水体底泥降解及对水生态影响的初步研究。

3.2 水体与底泥中阿散酸及总砷的降解

本研究中阿散酸在生态池水中的质量浓度出现迅速降低,主要由于大部分药物沉降到底泥表层,随着滞留时间延长,静置水中砷越少^[10];部分原形发生降解,其降解形式可能有以下几种:1)微生物降解。据报道禽粪排泄物的水提取物中洛克沙肿能迅速被降解为砷酸盐,但该提取物被灭菌后,其中药物未能被降解,证实微生物可引起有机砷的降解转化^[11]。本试验中添加空白粪便使得水体中含大量微生物,这可能是引起阿散酸降解的主要原因。2)物理化学因素。曾婧^[7]报道,阿散酸在光照下不稳定,可发生不同程度降解,生态池中浮游植物的死亡亦造成池内呈缺氧环境,厌氧菌大量繁殖,导致水体pH变化较

大.生态池中阿散酸的质量浓度越高,其pH降低越多,降解半衰期和平均滞留时间也越长,因此pH变化可能是阿散酸降解的原因之一.

底泥中阿散酸经历了从沉积到降解的过程,总砷变化趋势与原形相似,但滞后于原形降解约2周. Woolson^[12]研究表明阿散酸在土壤中消除很快,能与土壤中Al、Fe、Ca等以砷酸盐和磷酸盐相同的方式形成盐.本研究中阿散酸占总砷百分比呈现先升高后降低的变化,表明底泥中的阿散酸可能转化为其他形态砷.荆红卫等^[13]报道砷在土壤环境中具有低至中等的迁移能力,环境条件变化对其化学行为和活动水平影响显著.

3.3 阿散酸对模拟池塘水生态系统的影响

生态池中加入中高质量浓度阿散酸溶液和空白猪粪后,很快出现藻类等生物部分或全部死亡,残体与猪粪沉入底泥层进行有机降解,有机降解为耗氧过程,结果观察到溶解氧长期处于低水平状态,导致系统几乎失去初级生产能力.

王力平等^[14]报道土壤固氮菌与砷量呈显著负相关,说明砷会引起土壤有益菌含量降低,从而影响土壤正常代谢即氮改变.陈静等^[15]报道砷与磷在土壤中常为共生,土壤砷一定程度上随着土壤有效磷含量的增加而增加.本研究中全氮含量经历了抑制-促进过程,最后恢复到初始水平,其原因可能与药物对微生物的影响有关,高浓度药物抑制细菌的生长.后期随阿散酸的降解而浓度降低,细菌群落亦趋于稳定,全氮含量逐渐恢复到初始水平.杨四坤等^[16]报道土壤总砷与全磷存在显著负相关,这与本研究结果一致.

何念祖等^[17]报道土壤中磷酸酶活性与砷含量呈显著或极显著相关性.Zantua等^[18]发现土壤具有保护酶的能力.本研究中不同质量浓度阿散酸对碱性磷酸酶活性的影响差异不大,基本都维持在初始水平.可判断本研究中底泥对砷的缓冲容量和对碱性磷酸酶活性的保护容量较大.王力平等^[14]报道土壤中砷投入量大于5 mg/kg时,多酚氧化酶和过氧化氢酶活性的抑制率分别达5%~20%和25%.本研究的低与中质量浓度组中过氧化氢酶变化规律相似,呈抑制-激活变化过程,但高质量浓度组在用药后第2天即呈急剧下降,此后一直处于低水平的状态,表明高浓度阿散酸对水生态系统中过氧化氢酶活性可产生抑制作用.

本研究结果表明,水体与底泥中阿散酸的降解半衰期随药物暴露浓度的增大而延长,总砷在底泥中有自上而下沉降的趋势.较高质量浓度(150 mg/L以上)阿散酸对模拟池塘生态系统的外观性状、溶解

氧、pH、P/R、过氧化氢酶活性等均可造成严重影响.

参考文献:

- [1] 刘强,但堂胜.从生态效益出发及早禁用含砷药物作为畜禽促生长剂[J].兽药饲料添加剂,1997(3):25-27.
- [2] 罗雪莲,李轲,陈超,等.阿散酸在猪体内的药动学与生物利用度研究[J].中国兽医科学,2011,41(10):1076-1079.
- [3] OVERBY L R, FREDRICKSON R L. Metabolism of arsenic acid:II; Localization and type of arsenic excreted and retained by chickens[J]. Toxicol Appl Pharmacol,1965,7(6):855-867.
- [4] OVERBY L R, STRAUBE L. Metabolism of arsenic acid: I; Metabolic stability of doubly labeled arsenic acid in chickens[J]. Toxicol Appl Pharmacol,1965,7(6):850-854.
- [5] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [6] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京:农业出版社,1986.
- [7] 曾婧.我国部分猪场砷污染调查及阿散酸在猪鸡饲料后的排泄规律研究[D].广州:华南农业大学,2010.
- [8] 张树清,张夫道,刘秀梅,等.规模化养殖畜禽粪主要有害成分测定分析研究[J].植物营养与肥料学报,2005,11(6):822-829.
- [9] 李银生,曾振灵,陈杖榴,等.2种含砷兽药对蚯蚓的急性毒性试验[J].中国兽医学报,2005,25(4):425-426.
- [10] 贝荣塔,王乐,郑才庆,等.污染底泥砷解析规律研究[J].现代农业科技,2010(6):279-281.
- [11] GARBARINO J R, RUTHERFORD D W, WERSHAW R L. Degradation of roxarsone in poultry litter[C/OL]//Anon. The proceedings of arsenic in the environment workshop. [2013-10-01]. <http://search.usa.gov/search?affiliate=usgs&utf8=%E2%9C%93&query=+Degradation+of+Roxarsone+in+Poultry+Litter%3A&commit=Search>.
- [12] WOOLSON E A. The persistence and chemical distribution of arsenic acid in three soils [J]. J Agric Food Chem,1975,23(4):677-681.
- [13] 荆红卫,许嘉琳,杨居荣.砷污染土壤的作物效应及其影响因素[J].土壤,1996(2):85-89.
- [14] 王力平,杨居荣,任燕,等.砷对土壤微生物及土壤生化活性的影响[J].土壤,1996(2):101-104.
- [15] 陈静,方萍.土壤-植物系统中磷和砷相互作用关系的研究进展[J].四川环境,2010(6):118-121.
- [16] 杨四坤,祖艳群,李元,等.丘北辣椒种植区土壤中砷和磷的含量及其相互关系[J].农业环境科学学报,2010(S1):84-88.
- [17] 何念祖,史建华,林玉胜.砷和铅对土壤酶活性的影响[J].环境科学学报,1987,7(4):498-502.
- [18] ZANTUA M I, BREMNER J M. Stability of urease in soils [J]. Soil Biol Biochem,1977,9(2):135-140.

【责任编辑 柴 焰】