

土壤中氟喹诺酮类药物残留的生态效应及归宿

高元钢¹ 向云彬¹ 陈京元² 余知和^{1*}

(1. 长江大学生命科学学院 荆州 434025)

(2. 湖北省林业科学研究院 武汉 430079)

摘要: 氟喹诺酮类药物是人工合成的高效广谱抗菌药, 对细菌的 DNA 螺旋酶具有选择性抑制作用, 因其具有良好的药物动力学特性及治疗效果, 临床应用非常广泛, 但同时也引起环境污染。本文综述了氟喹诺酮类药物的理化特性及其对环境的影响, 土壤中残留氟喹诺酮类药物的检测以及氟喹诺酮类药物污染土壤的生物修复。

关键词: 抗生素, 环境污染, 生物降解, 土壤分析

Ecological Effects and Fate of Fluoroquinolones Residues in Soil

GAO Yuan-Gang¹ XIANG Yun-Bin¹ CHEN Jing-Yuan² YU Zhi-He^{1*}

(1. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434025)

(2. Hubei Academy of Forestry, Wuhan 430079)

Abstract: Fluoroquinolones are synthetic antimicrobial agents that are active against a broad spectrum of pathogenic Gram-negative and -positive bacteria by selectively inhibiting DNA gyrase and used in a wide variety in clinic because of their good pharmic kinetics and curing effects, thus causing environmental pollution. The physicochemical characteristics of fluoroquinolones and their environmental effect, identification, monitoring and bioremediation in soil were summarized in this paper.

Keywords: Antibiotic, Environmental pollution, Biodegradation, Soil analysis

近 10 年来, 由于各种医药品的大量使用造成在环境中的残留, 这些残留物不仅成分复杂, 排放量大, 而且可能具有不利的生态学毒性(ecotoxicity)影响人类的健康, 因而引起社会和科学界的特别关注^[1-3]。因此, 检测生态系统中各种医药品的残留, 探明不同环境残留物的转化过程, 进而评估其危害, 寻找有效的污染环境修复方法已显得十分必要。目

前, 有关青霉素、四环素、磺胺类药物及大环内酯类药物的残留已成为环境监测的重要研究对象^[1, 4]。然而, 有关喹诺酮类(quinolones)和氟喹诺酮类(fluoroquinolones)药物的残留问题却一直未引起人们的重视^[5]。喹诺酮类药物是一类具有 4-喹诺酮共同结构的全合成抗菌药, 从 1962 年萘定酸问世以来, 已合成数以千计的喹诺酮类药物^[6]。20 世纪 70 年

基金项目: 湖北省教育厅青年项目(No. 2004Q002); 湖北省自然科学基金项目(No. 2004ABA255); 自然科技资源共享平台部分经费资助

* 通讯作者: Tel: 0716-8066712; E-mail: zhiheyu@hotmail.com

收稿日期: 2007-04-08; 接受日期: 2007-05-29

代喹诺酮类药物进入快速发展时期,在其主环6或8位加入氟原子后发展成氟喹诺酮类药物。由于氟喹诺酮类药物能选择性地抑制细菌的DNA螺旋酶(DNA gyrase),对革兰氏阳性和阴性菌及支原体都有很好的抗菌效果^[7],因此,氟喹诺酮类药物被广泛用于人和其它动物细菌性感染的临床治疗。据统计,1997年氟喹诺酮类药物在全世界范围内的销售额达30.4亿美元,而且呈逐年增加的态势^[5]。10年来,氟喹诺酮类药物在临床治疗中的大量使用,使环境中氟喹诺酮类药物残留物也在持续增长。目前,有关食品及水体生态系统中氟喹诺酮类药物残留分析的研究较多^[5],而有关氟喹诺酮类药物的理化特性及对土壤环境的影响研究甚少。本文将重点评价氟喹诺酮类药物的理化特性、氟喹诺酮类药物对环境的影响、土壤残留氟喹诺酮类药物的检测方法以及有关氟喹诺酮类药物污染土壤的生物修复等。

1 氟喹诺酮类药物的物理化学特性及其对环境的影响

大多数氟喹诺酮类药物具有光稳定、耐高温、难水解、易吸附等理化特性^[8],此外,还能与土壤中的二价和三价金属离子如 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Al^{3+} 等形成稳定的化合物^[9]。

由于氟喹诺酮类药物具有良好的药物动力学性质,它们在体内的代谢率 $<25\%$ ^[10],因此大多数氟喹诺酮类药物以原型药物经人和动物排泄物、医药废水以及水产饲料等途径进入到环境中,少数如司氟沙星以葡萄糖醛酸共轭物的形式进入环境^[11]。残留在环境中的氟喹诺酮类药物很难自然转化和降解,经生物和非生物作用逐渐累积形成氟喹诺酮类药物和其部分降解产物的混合物。当环境中氟喹诺酮类药物残留累积达到一定浓度,不仅会改变土壤的正常结构和功能,促进耐药菌株的进化,影响植物的生长发育,而且可通过食物链影响人体健康。已有研究报道在医药污水和其他氟喹诺酮类药物污染的环境中发现耐药甚至多抗性的耐药致病菌^[12]。低于正常抗菌浓度的氟喹诺酮类药物给细菌耐药性的进化提供了选择压力,很大程度上促进了耐药菌株的产生和耐药基因的水平转移。耐药菌株经自然循环,使其它环境如地下水中的细菌产生耐药性,进而给人类和动物带来潜在的危害^[2]。

另外,有研究表明,实验条件下往土壤中加入5 mg/kg的恩诺沙星(enrofloxacin)会抑制植物根和叶的生长^[13]。但在自然条件下,氟喹诺酮类药物污

染的土壤栽培植物非常普遍,氟喹诺酮类药物污染的土壤对植物生长的潜在毒性有待进一步地研究。

2 土壤中氟喹诺酮类药物残留物的检测及其降解产物的分析

因为关系到人的健康和安全,目前有关生物产品和食品中的氟喹诺酮类药物残留物的检测方法研究较多。自1998至2003年间,已有相关的研究文章近100篇^[14],而有关土壤中氟喹诺酮类药物残留物的检测仅有零星报道^[15, 16]。土壤生态环境复杂,不同的区域无机物、有机物和微生物的种类和数量都不一样。这些生物和非生物因素与土壤中的氟喹诺酮类药物残留物的相互作用也不确定^[17]。因此,土壤样品中氟喹诺酮类药物残留物的检测分析要排除这些因素的干扰,难度较大,而且需借助色谱、质谱和核磁共振等物理和化学检测方法。Pierini等利用液相色谱和紫外分光光度法(LC-UV)成功地检测出了某猪场排泄物污染的土壤样品中恩诺沙星的含量^[18]。Christian等利用液相色谱和质谱(LC-MS)联用的方法分别检测了动物排泄物及周围污染土壤和污水中环丙沙星(ciprofloxacin)的含量^[19]。孙慧等以分子印迹聚合物为固定相分离和测定了4种氟喹诺酮类药物,使得应用分子印迹技术分析氟喹诺酮类药物样品成为可能^[20]。这些检测方法也被应用在氟喹诺酮类药物的降解产物分析方面。Wetzstein等采用高效液相色谱法分析条纹粘褶菌(*Gloeophyllum striatum*)降解环丙沙星的代谢过程,分离出11种降解产物,质谱和核磁共振检测结果表明,这些降解产物分为monohydroxylated congeners, dihydroxylated congeners, an isatin-type compound和piperazinyl moieties四类^[21]。同样,Parshikov等利用拉曼毛霉(*Mucor ramannianus*)降解恩诺沙星,检测到enrofloxacin N-oxide (62%)、N-acetyl-ciprofloxacin (8.0%)和desethylene-enrofloxacin (3.5%) 3种代谢物^[22]。

3 氟喹诺酮类药物污染土壤的生物修复

关于生态环境中污染物的降解,目前研究者认为生态系统中普遍存在光解、水解、植物修复和微生物修复等途径,且这些降解途径与污染物本身的化学性质、结构等密切相关。其中,光解和水解作用效果相对有限且过程漫长,降解的主要途径是植物修复和微生物修复。因此,在自然生态系统中微生物担负起了环境污染“清洁工”的重任^[23]。微生物

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

修复是较为理想的一种治理污染的途径,具有处理费用低,对环境影响小,效率高等优点^[24]。氟喹诺酮类药物残留物的微生物降解是指在微生物作用下,使氟喹诺酮类药物残留物的结构发生改变,从而引起其化学和物理性质发生改变的过程。通过将氟喹诺酮类药物残留物从大分子化合物降解为小分子化合物,最后成为 H₂O 和 CO₂,实现对环境污染的无害化处理。

氟喹诺酮类药物残留物降解菌的来源主要有以下两个方面: a. 从土壤和污水等污染环境中直接分离筛选或经过富集培养获得; b. 利用化学或物理等诱变方法或基因工程手段改造原降解菌,从而获得降解谱广、降解效率高、对环境适应性强的工程菌株。降解菌的富集培养方法主要有: 液体富集培养法(batch culture or liquid enrichment culture)、土壤环流法(soil percolation or soil perfusion)和连续流动培养法(continuous flow method)。国内在农药、石油、氰化物等污染物降解菌的筛选中应用富集培养法较多,尚很少采用富集培养法筛选氟喹诺酮类药物残留物降解菌。国外在这方面的研究较早,也筛选了很多具降解作用的菌株。如 Martens 等采用富集培养方法筛选出 *Gloeophyllum striatum*、*Irpex lacteus*、*Phanerochaete chrysosporium*、*Phellinus gilvus* 和 *Stropharia rugosoannulata* 5 种木腐真菌可降解恩诺沙星^[25]。Wetzstein 等用相同的方法获得了能降解环丙沙星的 16 种担子菌。这 16 种担子菌在以环丙沙星为唯一碳源和氮源的不含缓冲液的无机盐培养基上培养 90h 后,代谢产物分析结果表明这些菌株对环丙沙星的降解率都超过 50%^[21]。

自然界存在的氟喹诺酮类药物残留物降解菌由于受外界环境因素的影响,它们自身的降解能力相当有限,或者说不能从根本上解决氟喹诺酮类药物污染问题,因而从自然界直接分离得到的降解菌,作为研究氟喹诺酮类药物残留物降解菌的基础途径,根据生产和社会的实际需要,必须对已获得的降解菌进行改造。

其一是对已获得的氟喹诺酮类药物残留物降解菌进行改造^[26],即将降解不同氟喹诺酮类药物残留物的不同菌株进行基因重组、原生质体融合等生物技术处理,改变原有降解菌降解能力低、目标单一、生长条件苛刻等生物学性状,获得新的降解工程菌,使改造的降解菌具有降解谱广、降解效率高、对环境的适应性强等优点。

其二可利用不同物种对氟喹诺酮类药物残留物

的降解和代谢能力的不同进行改造,将其他物种的降解基因通过生物技术手段导入微生物体内,培育新的氟喹诺酮类药物残留物降解菌菌种。

4 存在的问题和趋势

环境中氟喹诺酮类药物残留物普遍存在,但有关氟喹诺酮类药物残留物对人、动物、植物以及土壤微生物的影响研究较少,对其产生的危害缺乏全面的评估。

虽然已有学者利用传统的 LC-UV 和 LC-MS 等理化手段成功检测了环境中氟喹诺酮类药物残留物,但氟喹诺酮类药物残留物提取过程需进一步简化,检测方法的选择性不强,灵敏度也有待提高。

有关氟喹诺酮类药物污染土壤的微生物降解机理目前仍还不清楚。氟喹诺酮类药物污染土壤的微生物修复也仅限于实验室研究。微生物修复技术的成功运用还需解决几个方面的问题。a. 高效降解菌株资源匮乏; b. 引入外源微生物的条件与原则问题; c. 微生物修复过程中微生物的适应机制与影响因素研究问题; d. 微生物修复的现场放大技术问题; f. 对微生物修复技术的生态毒理诊断与评价问题; g. 微生物修复效果的监测与评价指标体系的建立与完善等。相信随着研究的不断深入,利用微生物降解氟喹诺酮类药物,修复污染的土壤,保护生态环境将成为现实。

致 谢: 诚挚地感谢中国科学院微生物研究所汪中文博士帮助文献的查找和对手稿的建设性建议。

参 考 文 献

- [1] Boxall ABA, Kolpin DW, Halling-Sorensen B, *et al.* Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environ Sci Technol*, 2003, **37**: 286A–294A.
- [2] Boxall ABA. The environmental side effects of medication. *Embo Rep*, 2004, **5**: 1110–1116.
- [3] Rigos G, Troisi GM. Antibacterial agents in Mediterranean finfish farming: a synopsis of drug pharmacokinetics in important euryhaline fish species and possible environmental implications. *Rev Fish Biol Fisher*, 2005, **15**: 53–73.
- [4] Giger W, Alder A, Golet EM, *et al.* Occurrence and fate of antibiotics as trace contaminants in wastewaters, sewage sludges, and surface. *Chimia*, 2003, **57**: 485–491.
- [5] Picó Y, Andreu V. Fluoroquinolones in soil—risks and challenges. *Anal Bioanal Chem*, 2007, **387**: 1287–1299.
- [6] 刘明亮, 郭惠元. 喹诺酮类抗菌药的概况与展望. 国外抗生素分册, 2001, **22**: 1.

- [7] Goldstein FW, Acar JF. Epidemiology of quinolone resistance: Europe and North and South America. *Drugs*, 1995, **49**: 36.
- [8] Thiele-Bruhn S. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils-a review. *J Plant Nutr Soil Sci*, 2003, **166**: 145-167.
- [9] Turiel E, Martin-Esteban A, Tadeo JL. Multiresidue analysis of quinolones and fluoroquinolones in soil by ultrasonic-assisted extraction in small columns and HPLC-UV. *Anal Chim Acta*, 2006, **562**: 30-35.
- [10] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants. *Chemosphere*, 2003, **52**: 1233-1244.
- [11] World Health Organization. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. *WHO Tech Rep Ser*, 1995, **855**: 17-24.
- [12] Bila DM, Dezotti M. Fármacos no meio ambiente. *Quim Nova*, 2003, **26**: 523-530.
- [13] Boxall ABA, Johnson P, Smith EJ, et al. Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *J Agric Food Chem*, 2006, **54**: 2288-2297.
- [14] Stolker AAM, Brinkman UAT. Analytical strategies for residue analysis of veterinary drugs and growth-promoting agents in food-producing animals-a review. *J Chromatogr A*, 2005, **1067**: 15-53.
- [15] Heberer T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol Lett*, 2002, **131**: 5-17.
- [16] Díaz-Cruz MS, Barcelo D. LC-MS trace analysis of antimicrobials in water, sediment and soil. *Trends Anal Chem*, 2005, **24**: 645-657.
- [17] Díaz-Cruz MS, de Alda MJL, Barcelo D. Determination of estrogens and progestogens by mass spectrometric techniques. *Trends Anal Chem*, 2003, **22**: 340-351.
- [18] Pierini E, Famiglini G, Mangani F, et al. Fate of enrofloxacin in swine sewage. *J Agric Food Chem*, 2004, **52**: 3473-3477.
- [19] Christian T, Schneider RJ, Farber HA, et al. Determination of antibiotic residues in manure, soil, and surface waters. *Acta Hydrochim Hydrobiol*, 2003, **31**: 36-44.
- [20] 孙 慧, 董襄朝, 吕宪禹, 等. 以分子印迹聚合物为固定相分离和测定氟喹诺酮类药物. 色谱, 2003, **21**: 233-238.
- [21] Wetzstein HG, Stadler M, Tichy HV, et al. Degradation of ciprofloxacin by Basidiomycetes and identification of metabolites generated by the brown rot fungus *Gloeophyllum striatum*. *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**: 1556-1563.
- [22] Parshikov IA, Freeman JP, Lay JO, et al. Microbiological transformation of enrofloxacin by the fungus *Mucor ramanianus*. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**: 2664-2667.
- [23] 徐亚同, 史家梁, 张 明. 生物修复技术的作用机理和应用. 环境保护, 2001, **18**: 4-7.
- [24] 曹启民, 王 华, 郑永良, 等. 污染土壤的微生物修复机理及研究进展. 华南热带农业大学学报, 2006, **12**: 29-33.
- [25] Martens R, Wetzstein HG, Zadrazil F, et al. Degradation of the fluoroquinolone enrofloxacin by wood-rotting fungi. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62**: 4206-4209.
- [26] 李捍东, 王庆生, 谷庆宝, 等. 高效复合降解工程菌处理抗生素废水的研究. 云南环境科学, 2000, **19**: 148-150.

生物实验室

将原来“技术与方法”栏目改为“生物实验室”。刊发的文章主要侧重于从实验室科研人员的角度, 深度报道使用某种仪器设备进行实验后所获得的最新结果, 交流由此衍生出的新技术新方法。希望此栏目能够成为架起实验室与实验室, 以及实验室与仪器生产商之间联系的桥梁。