DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2013.06.025

# 水体中磺胺甲恶唑和甲氧苄氨嘧啶的自然光降解\*

亚 杨<sup>1,2\*\*</sup> Williams Mike<sup>3</sup> Kookana Rai<sup>3</sup> 吴  $\overline{c}^{1,2}$ 

(1. 合肥学院生物与环境工程系,合肥,230022;
 2. 合肥环境工程研究院,合肥,230022;
 3. CSIRO, Land and Water, Water for a Healthy Country Research Flagship, Adelaide, 5064, Australia)

**摘 要** 实验研究了磺胺甲恶唑和甲氧苄氨嘧啶连续暴露于自然光下 72 h,在 pH 值为 4.0、7.0、9.0 水体中的光降解行为,同时考察了黑暗条件下对照样品在不同 pH 条件下的稳定性.实验表明,光强、光照时间、水体 pH 都直接影响到磺胺甲恶唑的去除率.在自然光照环境下,不同 pH 溶液中的磺胺甲恶唑均易发生光降解, 而黑暗对照样品去除率较小.甲氧苄氨嘧啶则比较稳定,几乎未发生降解,但黑暗对照样品在 pH 值为 4.0 和 7.0 的溶液中,与起始浓度相比,去除率大于 10%,这可能主要与该药物在不同 pH 溶液中的离子形态及光照 过程中的温度波动有关.

关键词 磺胺甲恶唑,甲氧苄氨嘧啶,光降解,光照强度,温度.

抗生素药物滥用引起的环境问题目前是全球关注的焦点,经人体或动物排放进入到各种环境介质 中的药物残留对生态环境和人类健康造成的危害日趋严重<sup>[1-2]</sup>.如何最大程度削减药物残留带来的负 面效应是各国科研人员共同努力的方向,而这首先需要了解药物的环境行为.光降解是抗生素药物重要 的环境行为之一,如一部分进入到水体环境中的药物残留长期暴露在自然光下,在光作用下会发生一系 列的降解转化,而药物发生降解的程度,代谢转化产物是否比母体更具有毒性等都需要通过一系列实验 进行考察.

磺胺甲恶唑(SMX)是一种在全球广泛使用的磺胺类抗生素药物,常与甲氧苄氨嘧啶(TRM)以5:1 的质量比联用,用于治疗人体、牲畜感染及作为生长促进剂使用<sup>[3-4]</sup>.近年来对 SMX 和 TRM 在各种模拟 光源下的光降解研究开始兴起<sup>[5-8]</sup>,而对于它们在自然光环境下中的降解报道仍然匮乏.

本文着重考察了 SMX 和 TRM 在自然光条件下,不同 pH 水体溶液中的降解行为,以掌握药物在天 然环境下的光降解能力,从而为今后进一步深入考察药物在水环境中的迁移代谢提供参考数据.

### 1 材料与方法

1.1 实验药物与试剂

SMX、TRM 药物均购于 Sigma 公司,分析纯. 药物理化性质如下:SMX 分子量为 253. 28, lg $K_{ow}$ 为 0. 89,水中溶解度为 0. 6 g·L<sup>-1</sup>, p $K_a$ 为 1. 7/5. 6. TRM 分子量为 290. 32, lg $K_{ow}$ 为 0. 91,水中溶解度为 0. 3—0.4 g·L<sup>-1</sup>, p $K_a$ 为 1. 3/7. 4. 储备溶液均配制溶于甲醇中. 实验中所用甲醇、盐酸、氢氧化钠、氯化钠、乙腈、乙酸等化学试剂均为分析纯,实验用水为超纯水(电阻率为 18. 2 M $\Omega$ ·cm).

1.2 实验步骤

用盐酸、氢氧化钠、氯化钠分别配制成 pH 值为 4.0、7.0、9.0 的溶液体系,从 SMX、TRM 药物储备 母液中(1 g·L<sup>-1</sup>)移取一定量体积,分别用上述 3 种不同 pH 值溶液稀释成 2 mg·L<sup>-1</sup>的药物溶液 30 mL 置于玻璃试管(Pyrex)中.实验中锡箔包裹的试管样品用作控制样.将所有样品暴露在天然环境下,暴露 时间从第一天早上 10:00 持续第三天早上 10:00(72 h).实验在南澳大利亚 CSIRO 研究所户外进行(纬 度大约为 34.9 s),试管与水平面成 45°夹角,放在楼顶光照. HOBO 记录仪用来实时记录试管样品所处

<sup>2012</sup>年9月10日收稿.

<sup>\*</sup> 中国教育部-澳大利亚联邦科工组织联合培养博士生项目.

<sup>\* \*</sup> 通讯联系人, Tel:13735209310;E-mail:wuyangaww@yahoo.com.cn

体系温度和光照强度的变化.未被包裹的试管样品分别在0、2、4、6、8、22、24、26、28、30、32、48、50、52、54、56 和 72 h 时采样检测残留浓度,包裹的试管样品(黑暗条件对照样品)分别在0、2、8、22、32、48、56 和 72 h 时采样检测浓度变化.所有实验做3次重复.

1.3 检测方法

使用 Agilent 1100 HPLC 对水体中药物进行检测,乙腈(A)和含有 0.3% 的乙酸水溶液(B)作为流动 相,采用梯度洗脱.具体洗脱条件为:起始时 A:B = 20:80,12 min 后 A 所占体积比上升为 60%,2 min 后 A 所占体积比降为 20%,最后用 5 min 作为平衡时间,共 19 min. HPLC 测定的色谱条件为:紫外检测 器下的检测波长 280 nm,C18 柱 (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m,Alltech). 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 28 ℃,注 射体积 20  $\mu$ L. 经 QA/QC 验证,实验所用两种药物在此检测条件下的线性关系、重现性、精密度及回收 率等均表现良好,在该方法下的检测限(LOD,S/N = 3)为 SMX 0.00504 mg·L<sup>-1</sup>, TRM 0.01214 mg·L<sup>-1</sup>. 1.4 数据分析

文中数据差异性的评价采用 SPSS 统计软件进行.

## 2 结果与讨论

### 2.1 SMX 和 TRM 的光降解

起始浓度为 2 mg·L<sup>-1</sup>的 SMX 和 TRM 连续暴露于自然光下 72 h 的去除率如图 1 所示.72 h 内样品 所处环境温度及光强的记录(每隔 5 min 自动记录 1 次数据)如图 2 所示.

由图 1 和图 2 可看出, SMX 在白天太阳光照下, 去除率随着温度、光照强度的上升而增加, 与黑暗对 照样品相比,在不同 pH 的水体中呈现出不同的去除率(P<0.05).磺胺类药物是易解离的化合物,主要 由其2个酸性解离常数(pKa)所决定,基于水相的pH来指明其质子化或去质子化.pKal属于氨基团的解 离( $-NH_3^+$ ),通常发生在低 pH 中(pH 值为 2-3 左右), pK<sub>a</sub>涉及到磺胺基团的质子化( $-SO_2NH-$ ), 发生在 pH 较高的范围内( pH 值为 5—11 左右)<sup>[9]</sup>. 实验结果表明,在 3 种 pH 值下 SMX 的离子形态对 于太阳光均有很强的吸收,能够发生直接光降解.进入夜间后,随着温度的下降及光照强度的锐减,SMX 的去除率开始趋于平缓,基本无降解发生.综合72 h 时间来看,SMX 在 pH 值为4.0 的溶液中,降解速率 最快,其中在8h时,去除率已达到60%以上,在32h后,去除率上升到85%以上,随后降解速率趋于平 缓,72 h 的平均去除率达到了 90% 以上;在 pH 值为 7.0 的溶液中,去除率随着白天光照时间的增加而 提高,72 h 平均去除率达到了 50% 以上;在 pH 值为 9.0 的溶液中,8 h 内的降解速率与在 pH 值为 7.0 的溶液相比差异不明显,但在32 h 的降解速率快速上升,其原因为在碱性水溶液下,SMX 以去质子化 (阴离子)形态存在,药物的光降解活性相对于酸性条件下来说,起始阶段受到一定抑制,但随着光照时 间的提高,抑制效应逐渐被打破,使得光降解活性提高显著,最终72h的平均去除率也达到了80%以 上. SMX 的黑暗对照样品在 72 h 内的浓度变化率不高,均低于 10%,最高浓度变化率约为 7%,出现在 pH 值为 7.0 的溶液中,这表明在不同 pH 值溶液中,SMX 均不易发生水解. 对于 TRM,去除率随着温度 和太阳光强度的波动没有出现明显促进或抑制作用,在实验所用3种 pH 值溶液中的平均去除率均低 于 5%,在实验 72 h 内的环境条件下表现相当稳定,基本无降解发生.数据结果发现,TRM 的黑暗对照 样品,在pH值为4.0和7.0的溶液中,在8-22h、32-48h区间内,与光照样品相比,去除率明显.从图 2 监测数据可看出,在这两个时段样品均处于由白天光照状态过渡到夜间,光照强度逐渐降至为零,所 处体系温度也逐渐降低. 尽管在 pH 值为 4.0 和 7.0 的溶液中去除率较为明显,然而 TRM 黑暗对照样品 在 pH 值为 9.0 溶液中则保持相对稳定,72 h 后的平均去除率仅为 3.6%. 推测 TRM 黑暗对照样品去除 率的发生与体系温度的变化及不同 pH 下的离子形态关联程度较高. TRM 在不同 pH 下的离子形态可按 照以下酸碱平衡公式阐释<sup>[10]</sup>:

### $TH^+ \leftrightarrow T + H^+$

这里 T 代表 TRM, TH<sup>+</sup>代表共轭酸.

TRM 在较低的 pH 下以质子化形态存在,当 pH 值提高到超出 pK<sub>a</sub>7.4 时,此时 TRM 主要以中性分子形式存在.该实验过程中,在 pH 值为 4.0、7.0 溶液中的 TRM 主要以阳离子形态存在,黑暗对照样品

由于吸收了部分热量,随温度降低放热的过程中促进了阳离子形态的 TRM 的水解发生率,而在 pH 值为 9.0 溶液中,TRM 主要以中性分子存在,随温度变化依然保持稳定,不易发生水解.目前对于温度变化诱导不同 pH 值溶液中的 TRM 水解的发生尚没有相关的数据报道,具体诱导机制还有待今后温度调控实验进一步揭示.



图 1 SMX 和 TRM 在自然光下随时间的去除率 Fig. 1 Removal efficiency of SMX and TRM with time under natural light





Fig. 2 The fluctuation of temperature and light intensity under natural light for 72 h

对 SMX 的降解,选取了采样时间为暴露在太阳光照射下的时段(共3个时段,分别为第0—8h、 第22—32h和第48—56h)的数据平均值,用一级动力学方程进行拟合,拟合结果如表1所示.

$$C = C_0 e^{-kt} \tag{1}$$

式中,*C*代表药物浓度随着光照时间变化后的浓度( $mg \cdot L^{-1}$ ),*C*<sub>0</sub>为药物的起始浓度( $mg \cdot L^{-1}$ ),*k*为反应 速率常数( $h^{-1}$ ).

从数据拟合结果可以看出,SMX 在该3个时段光降解过程中的相关系数范围为0.9342 ≤ R<sup>2</sup> ≤ 0.9859. 光强及温度纪录显示,尽管所处时段的太阳光照强度及温度波动幅度较大,但 SMX 在不同 pH 条件下,自然光下(太阳光照)3个时段的光降解过程仍然能较好地符合一级动力学模型,再次表明了 SMX 对光源的敏感程度较高,极易发生光降解.

<b>Table 1</b> Degradation kinetics of SMX under sunlight (0—8 h,22—32 h,48—56 h)			
处理(0—8 h)	降解动力学方程 $C = C_0 e^{-kt}$	相关系数 $R^2$	反应速率常数 <i>k</i> /h <sup>-1</sup>
SMX(pH=4)	$C = 1.926 e^{-0.1307t}$	0.9820	0.1307
SMX(pH = 7)	$C = 1.940 e^{-0.0325t}$	0.9342	0.0325
SMX(pH = 9)	$C = 1.968 \mathrm{e}^{-0.0563t}$	0.9859	0.0563
处理(22—32 h)	降解动力学方程 $C = C_0 e^{-kt}$	相关系数 <i>R</i> <sup>2</sup>	反应速率常数 <i>k</i> /h <sup>-1</sup>
SMX(pH=4)	$C = 0.764 e^{-0.1227t}$	0.9806	0.1227
SMX(pH = 7)	$C = 1.534 e^{-0.0316t}$	0.9737	0.0316
SMX(pH=9)	$C = 1.419 e^{-0.0771t}$	0.9813	0.0771
处理(48—56 h)	降解动力学方程 $C = C_0 e^{-kt}$	相关系数 <i>R</i> <sup>2</sup>	反应速率常数 $k/h^{-1}$
SMX(pH=4)	$C = 0.228 \mathrm{e}^{-0.0589 t}$	0.9698	0.0589
SMX(pH = 7)	$C = 1.118 e^{-0.0191 t}$	0.9689	0.0191
SMX(pH = 9)	$C = 0.655 e^{-0.0569 t}$	0.9793	0.0569

表1 SMX 在太阳光照下(第0-8 h、第22-32 h、第48-56 h)的降解动力学方程

2.2 光照条件下 SMX 和 TRM 降解机制的初步探讨

起始浓度为2 mg·L<sup>-1</sup>的 SMX 在自然光源下暴露 72 h,不同 pH 的水溶液中均发生了不同程度的降 解,而相同起始浓度的 TRM 几乎无降解发生.药物的光解速率受自身性质及环境因子所影响,通常情况 下,药物吸收紫外可见光的程度与其本身的结构密切相关.分子结构不同,其吸光能力不同,光解速率随 之不同.一个化合物要成为光活性物质,在它的分子结构中必须具有带 π 电子的光吸收基团,即发色 团,如烯烃、羰基化合物、亚胺,偶氮基团以及芳环烃<sup>[11-13]</sup>.此外,水相中 pH 可以改变一些药物的质子状 态和吸收光谱,同时,在酸性或碱性溶液中,H<sup>+</sup>和 OH<sup>-</sup>离子的存在抑制了水的电离,这些因素都会影响 到药物在水体中的降解速率<sup>[16-17]</sup>.

对于这两种药物在不同基质中的光降解机制,当前已有研究报道还处在对降解产物的分析鉴定及 部分可能存在的降解转化路径推测阶段,对于某些产物的生成转化过程仍需要加以论证,其原因在于在 基质(如土壤、成分复杂的污水及污泥混合液)中的母体转化及产物鉴定涉及到多方面因素,准确分离 并进行鉴定还存在一些难度.最新的一些国外研究报道了磺胺类药物及 TRM 在某些环境条件下可能的 光降解途径<sup>[14-16]</sup>.对于 SMX 来说,磺胺结合键的的分裂和苯环的重组代表了主要的降解途径,这其中主 要涉及到羟基自由基侵袭苯环或芬芳环<sup>[14,16-17]</sup>.然而,TRM 与磺胺类药物相比,性质比较稳定,在本实 验条件下几乎不发生降解,但有报道指出在有催化剂存在的情况下,可以发生明显降解. Abellan 等 人<sup>[18]</sup>的研究报道指出一定量的 TiO<sub>2</sub>对于反应速率影响较大,在水溶液体系中反应速率随着 TiO<sub>2</sub>量的增 加而得到提高. Sirtori 等<sup>[19]</sup>也研究得出了 TiO<sub>2</sub>作为催化剂在 TRM 光降解中的促进作用,并推断假设了 TRM 在模拟海水中(20 mg·L<sup>-1</sup>的起始浓度)的光降解反应过程中的产物生成过程,认为 TRM 的不同降 解机制涉及到起初的直接照射下的慢速反应,然后进入第二阶段快速反应过程,由光催化反应的中间产 物诱发带来的自动催化效应. 羟基化作用,去甲基化作用,母体药物分子的分裂都被认为是 TRM 主要的 降解途径,而其中羟基的激发诱导机制被认为是最主要的降解途径<sup>[19-21]</sup>.

在此次光降解实验中,选取了 SMX 及 TRM 在 pH 值为 4.0 溶液中,在太阳光照条件下,将反应 0 h 和 4 h 后的样品用 LC-MS/MS(Thermo scientific)在全扫描模式下获取了色谱图.如图 3 所示.通过色谱 图比较发现,SMX 在光照 4 h 后均出现了比较明显的未知化合物峰,通过质谱全扫描进一步发现,SMX 在 pH 值为 4.0 的溶液中,在 t = 2.65 min 处,未知化合物峰母离子扫描的 m/z = 254,推测此物质可能为 SMX 的同分异构物,扫描质谱图及分子式如图 4 所示.TRM 在经过 4 h 光照后,与起始状态的色谱及质 谱图相比对,未能发现明显降解产物.由于实验中所用反应物起始浓度相对较低及分析手段的局限性, 未能发现其它微量的代谢产物.在今后的研究中会提高反应物的起始浓度,借助飞行质谱(TOF)及 NMR 对其它不同代谢产物进行鉴定分析及深入探讨转化机制.





# 3 结论

光降解是抗生素药物的重要环境归趋之一. 对该两种药物在自然光环境下,不同 pH 值的水体中的 降解实验表明,光强、光照时间、水体 pH 等都是影响 SMX 去除率的重要因素. SMX 比较容易发生光降 解,而 TRM 在无外来环境因素影响(如催化剂、氧化剂等),自然光环境下的水体中很难发生降解,但在 黑暗对照样品中浓度变化较明显,这可能与药物在不同环境下的离子形态及体系所处的温度波动关联 密切,但具体的影响机制及在其它外来因素下的降解规律还有待今后进一步考察. 此外,药物在光降解 条件下形成的多种代谢产物分析及鉴定过程、是否更加具有毒理上的持久性等问题也需要后续进行 探究.

- [1] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall B A, et al. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment [J]. Chemosphere, 2006, 65(5): 725-759
- Batt A L, Snow D D, Aga D S, et al. Occurrence of sulphonamide antimicrobials in private water wells in Washington County. Idaho, USA
  Chemosphere, 2006, 64(11): 1963-1971
- [3] 巫杨, Smith L, Kookana R, et al. 磺胺甲恶唑和甲氧苄氨嘧啶在土壤中的好氧降解及对微生物呼吸的影响[J]. 环境化学, 2011, 30(12): 2015-2021
- [4] Jogensen S E, Halling-Soensen B. Drugs in the environment [J]. Chemosphere, 2000, 40:691-699
- [5] Ryan C C, Tan D T, Arnold W A. Direct and indirect photolysis of sulfamethoxazole and trimethoprim in wastewater treatment plant effluent [J]. Water Research, 2011, 45(3):1280-1286
- [6] Boreen A L, Arnold W A, McNeill K. Photochemical fate of sulfa drugs in the aquatic environment: Sulfa drugs containing five-membered heterocyclic groups[J]. Environmental Science and Technology, 2004, 38 (10):3933-3940
- [7] Trovo A G, Nogueira R F P, Aguerra A, et al. Degradation of sulfamethoxazole in water by solar photo-Fenton. Chemical and toxicological evaluation [J]. Water Research, 2009, 43:3922-3931
- [8] Canonica S, Meunier L, von Gunten U. Phototransformation of selected pharmaceuticals during UV treatment of drinking water [J]. Water Research, 2008, 42 (1/2):121-128
- [9] Gao J, Pedersen J A. Adsorption of sulfonamide antimicrobial agents to clay minerals [J]. Environ Sci Technol, 2005, 39:9509-9516
- [10] Bekci Z, Seki Y, Yurdakoc M K. Equilibrium studies for trimethoprim adsorption on montmorillonite KSF [J]. Journal of Hazardous Materials, 2006, 133: 233-242
- [11] Schwarzenbach R P, Gschwend P M, Imboden D M. Photochemical transformation reactions//Environmental Organic Chemistry, second ed
  [M]. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2003: 611-686
- [12] Packer J L, Werner J J, Latch D E, et al. Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen [J]. Aquatic Sciences, 2003, 65 (4):342-351
- [13] Rosario-Ortiz F L, Wert E C, Snyder S A. Evaluation of UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment for the oxidation of pharmaceuticals in wastewater[J]. Water Research, 2010, 44 (5): 1440-1448
- [14] Huber M M, Canonica S, Park G Y, von Gunten U. Oxidation of pharmaceuticals during ozonation and advanced oxidation processes [J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(5): 1016-1024
- [15] Trovo A G, Nogueira R F P, Aguerra A, et al. Photodegradation of sulfamethoxazole in various aqueous media: Persistence, toxicity and photoproducts assessment[J]. Chemosphere, 2009, 77:1292-1298
- [16] Abellan M N, Gimenez J, Esplugas S. Photocatalytic degradation of antibiotics: The case of sulfamethoxazole and trimethoprim [J]. Catalysis Today, 2009, 144:131-136
- [17] Rodayan A, Roy R, Yargeau V. Oxidation products of sulfamethoxazole in ozonated secondary effluent [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 177:237-243
- [18] Abellan M N, Bayarri B, Gimenez J, et al. Photocatalytic degradation of sulfamethoxazole in aqueous suspension of TiO<sub>2</sub>[J]. Appl Catal (B: Environ), 2007, 74:233-241
- [19] Sirtori C, Aguera A, Gernjak W, et al. Effect of water-matrix composition on Trimethoprim solar photodegradation kinetics and pathways
  [J]. Water Research, 2010, 44: 2735-2744
- [20] Luo X Z, Zheng Z, Greaves J, et al. Trimethoprim: Kinetic and mechanistic considerations in photochemical environmental fate and AOP treatment[J]. Water Research, 2012, 46(4): 1327-1336
- [21] Michael I, Hapeshi E, Osorio V, et al. Solar photocatalytic treatment of trimethoprim in four environmental matrices at a pilot scale: Transformation products and ecotoxicity evaluation[J]. Sci Total Environ, 2012, 430:167-173

# Natural sunlight photodegradation of sulfamethazole and trimethoprim in aquatic environment

WU Yang<sup>1,2\*</sup> WILLIAMS Mike<sup>3</sup> KOOKANA Rai<sup>3</sup> WU Ke<sup>1,2</sup>

(1. Department of Biology & Environmental Engineering, Hefei University, Hefei, 230022, China;

2. Hefei institute of Environmental Engineering, Hefei, 230022, China;

3. CSIRO, Land and Water, Water for a Healthy Country Research Flagship, Adelaide, 5064, Australia)

#### ABSTRACT

In this study, natural sunlight photodegradation behavior of sulfamethoxazole and trimethoprim in aqueous solution with pH 4.0, 7.0 and 9.0 for consecutive 72 h was studied, while dark controls were used to test the stability of selected drugs under the same condition. The results show that light intensity, illumination time and pH are directly responsible for the loss of sulfamethoxazole. The chemical was susceptible to photodegradation under different pH conditions, but no loss was found for dark controls. Trimethoprim was quite resistant to photodegradation, with hardly any removal. However, over 10% loss of parent compound was observed in aqueous solution with pH 4.0 and 7.0 for dark controls. It is probably related to speciation of TRM as a function of pH, combined with fluctuation of temperature during the photolysis process.

Keywords: sulfamethoxazole, trimethoprim, photodegradation, light intensity, temperature.