

土霉素在土壤中降解特性研究

孙春晓, 宋文华*, 高敏苓, 李 双, 宫玉涛

(天津工业大学环境与化学工程学院, 天津 300387)

摘 要:采用室内培养法研究了不同温度条件下,土霉素在土霉素单一及土霉素-锌复合体系中的降解作用。结果表明,在 4℃和 25℃时,土霉素在单一及复合体系中的降解速率均随培养时间增加而降低,随土霉素添加浓度的增加而增加。与 4℃相比,土霉素在 25℃环境条件下降解速率显著提高,半衰期明显缩短。与单一污染相比,在中、高浓度锌胁迫条件下,土霉素的降解速率明显降低,半衰期明显延长。参考 POPs 国际公约关于化学品持久性的定义,土霉素在单一及复合体系中均属易降解有机物。

关键词:土霉素;锌;复合污染;降解;温度

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)06-1141-06

Degradation Properties of Oxytetracycline in Soil

SUN Chun-xiao, SONG Wen-hua*, GAO Min-ling, LI Shuang, GONG Yu-tao

(School of Environmental and Chemical Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, China)

Abstract: Degradation of oxytetracycline (OTC) in single and OTC-zinc combined system at different temperature was studied through incubation experiments. The results showed that degradation rate of OTC decreased with the increasing of culture time and OTC concentration at 4℃ and 25℃. Compared with 4℃, the degradation rate of OTC significantly increased and half-life of degradation decreased at 25℃. The degradation rate of OTC significantly decreased and half-life significantly increased in combined pollution of OTC-500 mg·kg⁻¹ Zn and OTC-1 000 mg·kg⁻¹ Zn. According to Persistent Organic Pollutants (POPs) convention, oxytetracycline was an organic chemical that was degraded easily in single and combined system.

Keywords: oxytetracycline; zinc; combined pollution; degradation; temperature

抗生素的应用范围广泛,主要分为人用和兽用两种,除了用于防治感染性疾病之外,还作为抗菌生长促进剂用于加快动物生长,在畜禽养殖中发挥着重要的作用。据统计,1996年,抗生素总产量的70%左右用于畜牧业^[1]。澳大利亚每年抗生素36%用于人类,8%用于兽药,56%混入饲料当中^[2]。美国每年动物养殖业中抗生素的用量约为11 000 t,约占抗生素总用量的70%左右^[3]。欧共体每年养殖业中抗生素的消耗量达5 000 t。抗生素用量呈现逐年递增趋势,我国目前抗生素原料年产量已达21万t,其中出口3万t,而用于国内畜牧养殖业的有9.7万t之多。现在,全球抗

生素滥用情况极为严重,已经产生了抵抗多种抗生素的“超级细菌”并造成多人死亡。今年世界卫生日以“抗菌素耐药性:今天不采取行动,明天就无药可救”为主题,提醒人们切勿滥用抗生素。

抗生素大多不能被完全吸收,而是以母体或代谢物的形式排出体外。研究发现,病人与动物使用的抗生素有25%~75%以母体药物的形式从粪便中排出体外^[4],排出体外后的抗生素代谢物仍然具有生物活性,能够进一步转化形成代谢物母体。Mellon等在大型养殖场周围的粪便、土壤水体中都检测到了高浓度的多种抗生素:牛粪中含红霉素0.73 mg·kg⁻¹、拉沙里菌素和莫能菌素4.87 mg·kg⁻¹、金霉素和磺胺甲噁唑3.973 mg·kg⁻¹;猪粪中含金霉素、磺胺塞唑及青霉素混合物133 mg·kg⁻¹,金霉素37 mg·kg⁻¹,其含量水平已经接近其他农药类有机污染物的水平^[5]。在水产养殖厂的沉积物中土霉素含量可高达285 mg·kg⁻¹^[6]。

收稿日期:2011-12-01

基金项目:国家自然科学基金(21007045,30800934)

作者简介:孙春晓(1986—),女,硕士,主要从事污染物在土壤环境中迁移转归研究。E-mail:sunchunxiao208@139.com

* 通讯作者:宋文华 E-mail:songwenhuatteam@sina.com

在自然环境中,有机物、重金属均不是单独存在,而是与多种污染物形成复合污染。经调查发现,环境中抗生素和重金属复合污染日益突出,并已成为全球性的问题。De Souza 等^[7]发现,由于长期接触低浓度的抗生素和重金属,在南极地区水域能够分离出同时具有重金属抗性和抗生素抗性的微生物菌落,在实际农业生产中施用的有机肥中也经常检测到二者同时存在。张树清等^[8]在对我国多个省份规模化养殖场猪粪检测中发现,风干猪粪中铜和锌含量普遍分别在 500、1 000 mg·kg⁻¹ 以上(仔猪风干粪便中锌可高达 10 000 mg·kg⁻¹),土霉素和金霉素含量平均分别为 9.09、3.57 mg·kg⁻¹。由此可见,土壤中的重金属和抗生素复合污染现象是不容忽视的。

有机污染物和重金属复合污染时,交互作用不仅影响了污染物的生物效应,也影响了污染物在土壤中的环境化学过程。目前,抗生素和重金属在土壤中的单一环境行为均有大量研究,而抗生素和重金属复合污染研究相对较少。Boxall 等^[9]研究了磺胺氯哒嗪在土壤中的吸附作用,结果表明磺胺氯哒嗪在土壤中的吸附系数较低(只有 0.9~18.1 mL·g⁻¹),其较易迁移到地表水中。章明奎等^[10]研究了泰乐菌素和土霉素在土壤中的吸附,发现土壤对土霉素的吸附能力明显高于泰乐菌素。以往的研究表明,与其他抗生素相比,四环素类抗生素在土壤中是难于降解的^[11-13],此类抗生素将更容易在土壤中累积,对生态系统和人体健康形成潜在威胁。茆德安等^[14]研究了不同条件下土壤中四环素与铜的吸附行为,研究结果表明,当铜与四环素共存且平衡液 pH 小于 4.7 或 3.4 时,Cu 的存在降低了四环素在红壤或乌桕土中的吸附量。

降解作用是抗生素在土壤环境中最重要的环境行为之一,是土壤环境中有机污染物分解的重要途径,最终将影响其在土壤生态环境中的持久性和危害性,是评价土壤生态环境安全性的重要指标。本文以四环素类抗生素土霉素为主要研究对象,探讨不同温度条件下,其在土霉素单一及土霉素-锌复合体系中的降解情况,以期对抗生素污染研究提供基础数据,为抗生素与重金属复合污染的致毒机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验仪器

生化培养箱 HPG-280H,哈尔滨东联技术电子开发有限公司;电子天平 FA2104B,上海越平科学仪器有限公司;恒温培养振荡器 HNY-2120C,天津市欧诺

仪器仪表有限公司;高效液相色谱仪 LC600,Labtech;低速台式离心机 RJ-TDL-40M,无锡瑞江分析仪器有限公司。

1.2 主要试剂

土霉素(纯度 98%)购于湖北巨龙堂生物科技发展有限公司;硝酸锌(分析纯)购于天津市北方天医化学试剂厂;土霉素标准品(纯度 99%)购于德国 Dr.E 公司;乙腈(色谱纯)、甲醇(色谱纯)购于天津康科德科技有限公司。

1.3 供试土壤

供试土壤取自天津市西青区,土壤样风干后过 2 mm 筛备用。土壤 pH 为 8.11,有机质含量为 1.82%,田间持水量为 41.98%,容重为 1.26 g·cm⁻³,土壤中土霉素本底值为 0。

1.4 实验设计与培养方法

1.4.1 土壤培养

在试验之前,将土壤含水量调节为最大田间持水量的 40%,置于(25±1)℃生化培养箱中活化培养 1 周(视为新鲜土壤)。

1.4.2 土壤染毒

称取相当于 250 g 干土的 96 份新鲜土壤,然后向其中加入一定量土霉素或(和)硝酸锌储备液,配制成土霉素含量分别为 0、10、50、100 mg·kg⁻¹,硝酸锌含量分别为 0、100、500、1 000 mg·kg⁻¹ 的单一污染及复合污染试验用土,每个处理设 3 个平行。

1.4.3 染毒土壤的培养

用去离子水将染毒土壤水分调节至土壤最大田间持水量的 60%,分别于(4±1)℃、(25±1)℃恒温培养箱中进行暗培养。培养期间,为了保持土壤湿度不变,采取称重差减法,每周用去离子水补充水分并通气一次。分别于培养的第 0、1、7、15、30、45、75、105 d 取样进行土霉素含量的测定。

1.5 分析测定方法

1.5.1 土霉素的提取

准确称取 5.00 g(干重)染毒土样于 250 mL 锥形瓶中,加入 25 mL 提取液(丙酮:盐酸:水=11:1:8),用保鲜膜封口后置于振荡器上,在 37℃、180 r·min⁻¹ 的条件下振荡 45 min 萃取。萃取后于 3 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,上清液用 0.22 μm 膜过滤,滤液用高效液相色谱仪测定。

1.5.2 土霉素的 HPLC 分析条件

流动相为乙腈:0.01 mol·L⁻¹ 草酸溶液=20:80;流速为 1 mL·min⁻¹;柱温为 30℃;紫外检测器,检测波

长为350 nm;进样量 20 μL 。

1.5.3 方法的回收率

精确吸取浓度为 10、50、100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的土霉素溶液 5 mL 分别加入 5.00 g 风干土中(对照土样)并混匀,室温避光放置 2 h。然后按上述方法进行提取,测得土霉素回收率在 65.93%~75.45%之间。

1.5.4 数据处理

所有实验数据由 Excel 和 SPSS16.0 模型拟合。

2 结果与讨论

由图 1 至图 4 土霉素在土壤中的降解动力学曲线可以看出,在开始阶段(0~15 d),土霉素在土壤中降解较快,而随着时间的延长其降解逐渐变缓。因此,土霉素的降解量随时间变化基本符合降解动力学方程:

$$\text{d}C/\text{d}t = -kC_0 \quad (1)$$

式中: C 为某一时刻土壤中土霉素的浓度($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); k 为反应速率常数(d^{-1}); t 为降解时间(d)。

以初始条件 $t=0, C=C_0$ 对上式积分,得:

$$C_t = C_0 e^{-kt} \quad (2)$$

用非线性回归拟合图 1~图 4 中各曲线,可以求出不同条件下的 k 值。土霉素在土壤中降解半衰期的计算公式为:

$$t_{1/2} = \ln 2/k \quad (3)$$

根据 k 值可计算出土壤中不同浓度的土霉素在不同温度下的半衰期 $t_{1/2}(\text{d})$ 。

2.1 不同温度条件下土霉素在单一体系中的降解特性

从图 1 和表 1、表 2 可以看出,在初始阶段,随着土霉素浓度升高,土霉素在单一体系中的降解速率显著增加。以培养第 7 d 为例:在 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,当添加浓度由 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 增加到 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,土霉素降解率由 46.64% 增加到 57.61%;在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,当添加浓度由 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 增加到 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,土霉素降解率由 30.80% 增加到 40.35%。这表明在培养初期,随添加浓度增加,土霉素在土壤中的降解速率增加。土霉素对土壤生物化学性质的影响可以通过两种方式进行:一是其作为碳源增加微生物的活性,二是通过抑制微生物活动影响其活性^[5]。由于两种影响在不同土壤中表现的程度不同,土霉素污染对土壤生物化学性质产生正影响还是负影响最终取决于土壤的特性。实验发现土霉素对该土壤中细菌、真菌和放线菌数量的影响主要表现为刺激作用^[6],且土霉素对土壤生态毒理学指标的刺激率从大到小依次为真菌>细菌>放线菌。可见,造成上述现象可能是由于土霉素本

身为微生物提供碳源,促进了微生物群落增加,使微生物的活性被激活,进而提高了降解速率。另外,从图 1 各条曲线皆可看出,随着培养时间增加,土霉素在土壤中的降解速率降低,这表明随污染物与土壤接触时间延长,污染物的生物可利用性降低。

由图 1 和表 1、表 2 还可以看出,随着温度增加,土霉素降解速率增加。以培养第 7 d 为例:当土霉素添加浓度为 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,随培养温度增加,土霉素的降解率由 30.80% 增加到 46.64%,半衰期由 16.50 d 缩短到 9.76 d;当土霉素添加浓度为 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,土霉素的降解率由 49.58% 增加到 67.23%,半衰期由 9.00 d 缩短到 5.78 d;当土霉素浓度为 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,土霉素的降解率由 40.35% 增加到 57.61%,半衰期由 20.39 d 缩短到 8.66 d。这表明在相同的初始浓度下,土霉素在 25 $^{\circ}\text{C}$ 时降解速率明显高于 4 $^{\circ}\text{C}$,半衰期明显缩短($P<0.05$)。即在供试温度范围内,随着温度升高,土霉素在土壤中的降解速度加快。温度是影响微生物生长繁殖最重要的因素之一。在一定温度范围内,机体的代谢活动与生长繁殖随着温度的上升而增加。本实验的现象可能是由于随着环境温度逐渐接近于微生物生长的最适温度,微生物酶活性大大提高,使土霉素的降解速率加快。因而温度对控制土霉素的降解转化起着关键作用^[7]。

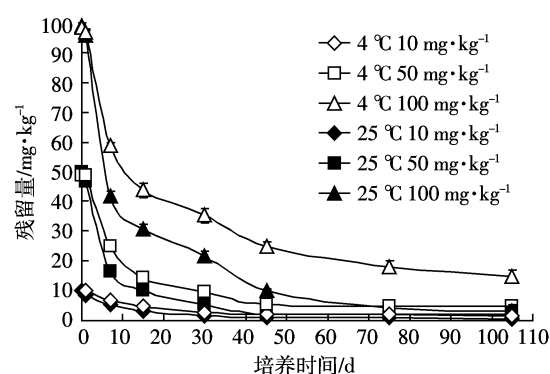


图 1 土霉素在不同环境温度下的降解动力学曲线

Figure 1 Degradation kinetics curve of OTC at different temperature

2.2 不同温度条件下土霉素在复合体系中的降解特性

由图 2~图 4 和表 1、表 2 可知,在不同温度下,锌对土霉素的降解具有一定的抑制作用。当土霉素添加浓度为 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,随着锌浓度增加,其对土霉素的降解无显著影响($P>0.05$);当土霉素添加为 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 或 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,随着锌浓度增加,其对土霉素降解的抑制效应增强,土霉素的残留量增加。以培养第 7 d 为例:在 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,锌含量从 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 增

表 1 土霉素在 25 ℃的降解动力学参数
Table 1 Degradation kinetics parameters of OTC at 25 ℃

土霉素浓度/mg·kg ⁻¹	锌浓度/mg·kg ⁻¹	拟合方程	k/d ⁻¹	R ²	半衰期/d
10.15	0	y=9.38e ^{-0.071x}	0.071	0.970**	9.76d
	100	y=10.44e ^{-0.064x}	0.064	0.972**	10.83cd
	500	y=9.87e ^{-0.061x}	0.061	0.976**	11.32c
	1 000	y=9.72e ^{-0.056x}	0.056	0.981**	12.38c
49.90	0	y=50.25e ^{-0.120x}	0.120	0.983**	5.78f
	100	y=49.26e ^{-0.102x}	0.102	0.974**	6.80f
	500	y=49.53e ^{-0.081x}	0.081	0.989**	8.56e
	1 000	y=50.58e ^{-0.063x}	0.063	0.992**	11.00cd
94.86	0	y=97.75e ^{-0.080x}	0.080	0.954*	8.66e
	100	y=94.50e ^{-0.058x}	0.058	0.959**	11.95c
	500	y=93.74e ^{-0.047x}	0.047	0.961**	14.75b
	1 000	y=93.46e ^{-0.039x}	0.039	0.964**	17.77a

注: *P<0.05; **P<0.01; 半衰期存在相同字母表示差异不显著(P>0.05), 反之则差异显著。下同。

表 2 土霉素在 4 ℃的降解动力学参数
Table 2 Degradation kinetics parameters of OTC at 4 ℃

土霉素浓度/mg·kg ⁻¹	锌浓度/mg·kg ⁻¹	拟合方程	k/d ⁻¹	R ²	半衰期/d
9.84	0	y=10.03e ^{-0.042x}	0.042	0.932*	16.50e
	100	y=9.71e ^{-0.034x}	0.034	0.941*	20.39de
	500	y=9.80e ^{-0.033x}	0.033	0.941*	21.00d
	1 000	y=9.81e ^{-0.031x}	0.031	0.934*	22.36d
48.77	0	y=49.37e ^{-0.077x}	0.077	0.955*	9.00f
	100	y=49.57e ^{-0.060x}	0.060	0.949*	11.55f
	500	y=48.05e ^{-0.081x}	0.047	0.956*	14.75e
	1 000	y=48.08e ^{-0.040x}	0.040	0.964**	17.33e
93.28	0	y=91.66e ^{-0.034x}	0.034	0.906*	20.39de
	100	y=93.49e ^{-0.028x}	0.028	0.935*	24.76c
	500	y=93.68e ^{-0.024x}	0.024	0.944*	28.88b
	1 000	y=94.28e ^{-0.021x}	0.021	0.957*	33.01a

加到 1 000 mg·kg⁻¹、土霉素添加浓度为 10 mg·kg⁻¹ 时,土霉素的降解率由 36.46%减少到 35.51%,半衰期由 10.83 d 增加到12.38 d; 土霉素添加浓度为 50 mg·kg⁻¹ 时, 土霉素的降解率由 60.18%减少到 30.14%,半衰期由 6.80 d 增加到 11.00 d;土霉素添加浓度为 100 mg·kg⁻¹ 时,土霉素的降解率由 48.63%减少到 40.83%,半衰期由 11.95 d 增加到 17.77 d。在 4 ℃条件下, 当锌的含量从 100 mg·kg⁻¹ 增加到 1 000 mg·kg⁻¹、土霉素添加浓度为 10 mg·kg⁻¹ 时,土霉素的降解率由 24.62%减少到 19.85%, 半衰期由 20.39 d 增加到 22.36 d;土霉素添加浓度为 50 mg·kg⁻¹ 时,土霉素的降解率由 45.24%减少到 35.52%, 半衰期由 11.55 d 增加到 17.33 d; 土霉素添加浓度为 100 mg·

kg⁻¹ 时,土霉素的降解率由 31.91%减少到 26.24%,半衰期由 24.76 d 增加到 33.01 d。

由表 1、表 2 可以看出,与土霉素单一污染相比, 当土霉素浓度为 50、100 mg·kg⁻¹ 时,锌胁迫条件下土霉素在土壤中的半衰期增加,且随温度增加,半衰期缩短。这表明锌对土霉素的降解有一定的抑制作用。研究发现,锌污染可导致土壤微生物生物量变化,且随着污染程度的加剧,土壤微生物生物量碳、氮均有递减的趋势^[8]。可见,锌的存在抑制了土壤中微生物的生物活性,从而影响土霉素的降解,且抑制作用随锌浓度增加而增强。土壤微生物具有多样性,某些微生物对重金属具有一定的抗性及解毒作用,可通过胞内积累、胞外络合作用、氧化、还原、甲基化和去甲基化等作用转化

重金属^[9],从而弱化了微生物对土霉素的降解作用。培养后期,无论在单一体系还是复合体系中,土霉素在土壤中的降解速率均趋于平缓,土霉素含量基本无明显变化。这表明随着培养时间延长,土霉素的生物可利用性降低和(或)土壤中有效锌的含量降低,导致其对土壤微生物的抑制作用减弱,或者降解土霉素的微生物适应了锌胁迫环境,对锌的抑制作用产生抗性。这与陈

小莹^[16]研究的铅对土霉素的抑制作用基本一致。

3 讨论

参考 POPs 国际公约^[20]关于化学品持久性的定义,根据有机物在土壤中降解半衰期,可将有机物的土壤降解性划分成 5 个等级:<1 个月为易降解;1~3 个月为较易降解;3~6 个月为中等降解性;6~12 个月为较难降解性;>12 个月为难降解。根据此划分标准,通过研究土霉素在土壤中降解特性发现,在 4℃ 和 25℃ 的条件下,土霉素在单一污染体系及与锌的复合污染体系中都具易降解性。该结论与鲍艳宇^[21]的研究结果土霉素具中等降解性不同,主要是由于两种实验用土不同,本实验可取土壤呈碱性,而其土壤呈酸性。Adriana M 等^[22]研究了 pH、温度等对土霉素降解的影响,结果表明,在酸性条件和较低温度条件下,土霉素较稳定;而在碱性条件和较高温度条件下,土霉素降解较快,这与本研究结果一致。

土霉素为四环素类抗生素(TCs),其化学结构为氢化苯四环衍生物,由放线菌产生,其母核由 A、B、C、D 4 个环组成,是两性化合物。其中,三羰基甲烷系统具有酸性(pKa=3.3),酚二酮系统也具有酸性(pKa=7.7),但酸性较弱。而土霉素呈现碱性(pKa=9.6)是由于二甲胺基的存在。在 pH4~8 范围内,此类抗生素以两性离子形态存在^[21]。研究表明,四环素类抗生素不稳定的 A 环手性原子和 C₆ 的羟基易发生差向异构和降解反应^[23]。通过本实验可以发现,土霉素易降解的特性与土霉素本身的结构特性和环境条件有关。

4 结论

(1)土霉素在单一和复合污染土壤中的降解速率随其添加浓度的降低和培养时间的延长而降低。当土壤中的土霉素浓度为 50、100 mg·kg⁻¹ 时,在中、高浓度锌的胁迫下,土霉素的降解速率明显低于其单一污染,且随着锌添加浓度的增加,土霉素降解速率降低,半衰期增加。

(2)随温度增加,土霉素在单一及复合体系中的降解速率显著提高,半衰期明显缩短。

(3)不同温度条件下,土霉素在单一及复合污染土壤中都具易降解性。

参考文献:

- [1] Heilig S, Lee P, Breslow L. Curtailing antibiotic use in agriculture[J]. *West J Med*, 2002, 176:9-11.

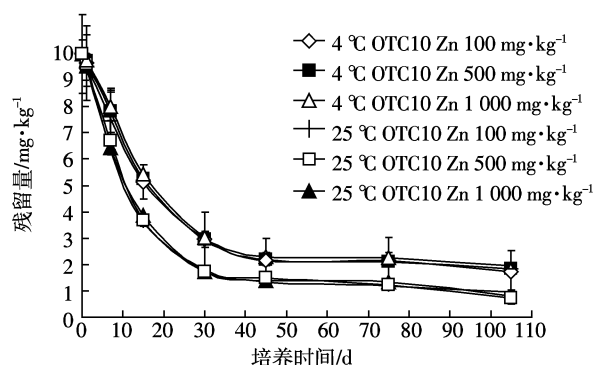


图 2 不同温度下锌对低浓度土霉素(10 mg·kg⁻¹)降解作用影响

Figure 2 Effect of zinc on degradation of 10 mg·kg⁻¹ OTC at different temperature

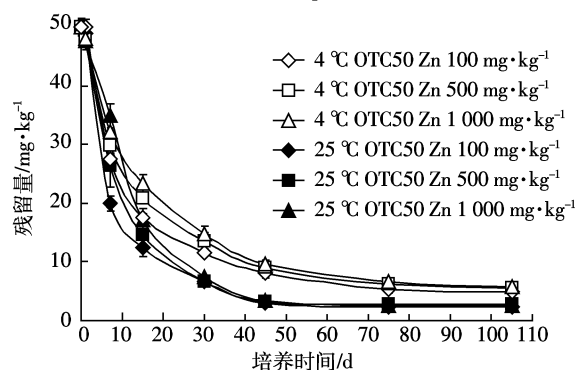


图 3 不同温度下锌对中浓度土霉素(50 mg·kg⁻¹)降解作用影响

Figure 3 Effect of zinc on degradation of 50 mg·kg⁻¹ OTC at different temperature

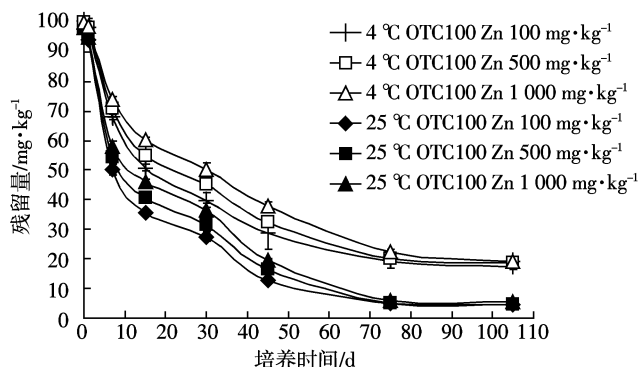


图 4 不同温度下锌对高浓度土霉素(100 mg·kg⁻¹)降解作用影响

Figure 4 Effect of zinc on degradation of 100 mg·kg⁻¹ OTC at different temperature

- [2] Bruce J R, Paul K S L, Michael M. Emerging chemicals of concern: Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in Asia, with particular reference to Southern China [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2005, 50: 913–920.
- [3] Sassman S A, Lee L S. Sorption of three tetracyclines by several soils: Assessing the role of pH and cation exchange[J]. *Environmental Science Technology*, 2005, 39: 7452–7459.
- [4] Elmund G K, Morrison S M, Grant D W, et al. Role of excreted chlortetracycline in modifying the decomposition process in feedlot waste[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1971, 6(2): 129–135.
- [5] 姚建华, 牛德奎, 李兆君, 等. 抗生素土霉素对小麦根际土壤酶活性和微生物生物量的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(4): 721–728. YAO Jian-hua, NIU De-kui, LI Zhao-jun, et al. Effects of antibiotics oxytetracycline on soil enzyme activities and microbial biomass in wheat rhizosphere[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(4): 721–728.
- [6] 王 冉, 刘铁铮, 王 恬. 抗生素在环境中的转归及其生态毒性[J]. 生态学报, 2006, 26(1): 265–269. WANG Ran, LIU Tie-zheng, WANG Tian. The fate of antibiotics in environment and its ecotoxicology: A review[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(1): 265–269.
- [7] De Souza M J, Nair S, Bharathi P A. Metal and antibiotic-resistance in psychrotrophic bacteria from Antarctic marine waters[J]. *Ecotoxicology*, 2006, 15: 379–384.
- [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. ZHANG Shu-qing, ZHANG Fu-dao, LIU Xiu-mei, et al. Determination and analysis on main harmful composition in excrement of scale livestock and poultry feedlots[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2005, 11(6): 822–829.
- [9] Boxall A B A, Blackwell P, Cavallo R, et al. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems[J]. *Toxicology*, 2002, 131: 19–28.
- [10] 章明奎, 王丽平, 郑顺安. 两种外源抗生素在农业土壤中的吸附与迁移特性[J]. 生态学报, 2008, 28(2): 761–766. ZHANG Ming-kui, WANG Li-ping, ZHENG Shun-an. Adsorption and transport characteristics of two exterior-source antibiotics in some agricultural soils[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(2): 761–766.
- [11] Hamscher G, Sczesny S, Hoper H, et al. Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74: 1509–1518.
- [12] Aga D S, O'Connor S, Enslev S O, et al. Determination of the persistence of tetracycline antibiotics and their degradates in manure-amended soil using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 53: 7165–7171.
- [13] Thiele-Bruhn S, Peters D, Halling-Sorensen B, et al. Photodegradation and ageing of antibiotic pharmaceutical on soil [C]. Lyon, Presentation of Project Results on Enviropharma European Conference, 2003: 14–16.
- [14] 荚德安. 土壤中四环素与铜吸附行为及其影响因素研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2008. JIA De-an. Study of adsorption of tetracycline and copper in soils and impact of factors on their adsorption[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2008.
- [15] Hossain A K M, Alexander M. Enhancing soybean rhizosphere colonization by *Rhizobium japonicum*[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1984, 48: 468–472.
- [16] 陈小莹. 抗生素与重金属复合污染的土壤生态毒理学效应研究[D]. 天津: 天津工业大学, 2011. CHEN Xiao-ying. The ecotoxicology of antibiotic and heavy metal combined pollution on soil[D]. Tianjin: Tianjin Polytechnic University, 2011.
- [17] 高海英. 三唑酮在土壤环境中的吸附和降解行为研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006. GAO Hai-ying. Study on adsorption and degradation of triadimefon in soil[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2006.
- [18] 王秀丽, 徐建民, 谢正苗, 等. 重金属铜和锌污染对土壤环境质量生物学指标的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2002, 28(2): 190–194. WANG Xiu-li, XU Jian-min, XIE Zheng-miao, et al. Effect of Cu and Zn contamination on soil biological indicators of environmental quality. [J]. *Journal of Zhejiang University(Agric and Life Sci)*, 2002, 28(2): 190–194.
- [19] 李 震. 重金属对微生物的毒性作用[J]. 吉林师范学院学报, 1999, 20(3): 64–65. LI Xia. Toxicity of heavy metal on microorganism[J]. *Journal of Jilin Teachers College*, 1999, 20(3): 64–65.
- [20] Martin Alexander. Biodegradation of organic chemicals[J]. *Environ Sci Technol*, 1985, 19(2): 106–111.
- [21] 鲍艳宇. 四环素类抗生素在土壤中的环境行为及生态毒性研究[D]. 天津: 南开大学, 2008. BAO Yan-yu. Environmental behavior and eco-toxicity of tetracycline antibiotics in soils[D]. Tianjin: Nankai University, 2008.
- [22] Verma B, Headley J V, Roberts R D. Behaviour and fate of tetracycline in river and wetland waters on the Canadian northern Great Plains[D]. *Environ Sci Health, Part A*, 2007, 42(2): 109–117.
- [23] 匡光伟, 孙志良, 陈小军, 等. 四环素类抗菌药物在鸡粪中的降解研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(5): 1784–1788. KUANG Guang-wei, SUN Zhi-liang, CHEN Xiao-jun, et al. Degradation of tetracyclines in chicken feces[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(5): 1784–1788.