

畜禽粪便中残留四环素类抗生素和重金属的污染特征及其控制

王 瑞, 魏源送*

(中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

摘 要: 兽用抗生素和微量重金属作为饲料添加剂广泛用于畜禽养殖业, 但超量使用是导致畜禽粪便中高浓度抗生素和重金属残留的根本原因。随着我国畜禽养殖业的规模化发展, 畜禽粪便中残留的四环素类抗生素和重金属(铜、锌、砷)及其复合污染对生态环境和人类健康构成了巨大的潜在威胁。针对这种状况, 总结了我国四环素类抗生素(包括四环素、土霉素和金霉素)和微量重金属元素(铜、锌、砷)在畜禽粪便中的残留量及其区域分布特征, 并概述了这两类物质在畜禽粪便生物处理过程(堆肥和厌氧消化)中的转化、降解及其影响。畜禽粪便中残留的抗生素和重金属可导致环境中出现耐药菌与抗性基因, 是环境与健康领域的又一重大挑战, 其影响不容忽视。

关键词: 畜禽粪便; 四环素类抗生素; 重金属; 复合污染; 堆肥; 厌氧消化

中图分类号: X592 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2013)09-1705-15 doi:10.11654/jaes.2013.09.002

Pollution and Control of Tetracyclines and Heavy Metals Residues in Animal Manure

WANG Rui, WEI Yuan-song*

(Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: Veterinary antibiotics and trace heavy metals are widely used as feed additives in the livestock and poultry industries for growth promotion. However, overuse or misuse of veterinary antibiotics and heavy metals resulted in high concentrations of these residues in animal manure. Along with the rapid development of concentrated operations of livestock and poultry in China, residues of tetracyclines and heavy metals such as copper, zinc and arsenic in animal manure and its combined pollution may pose great threat potential to environment and human health. Through literature review, this paper summarizes residues of tetracyclines, including tetracycline, oxytetracycline and chlortetracycline, and trace heavy metals, including copper, zinc and arsenic in animal manure, as well as their distribution in different regions of China. The present paper also summarizes degradation, transformation and impacts of these two kinds of substances in biological animal manure treatment processes, e.g. composting and anaerobic digestion. Along with land application of animal manure generated from concentrated animal farms, high level tetracyclines and copper accumulated in agricultural soil, and it might form complex under certain circumstance which strongly affect their mobility and their bioavailability. It should be noted that a big challenge would be encountered due to resistant bacteria and resistant genes resulted from antibiotics and heavy metals residues in animal manure and land application of animal manure.

Keywords: animal manure; tetracyclines; heavy metal; combined pollution; composting; anaerobic digestion

近年来,随着我国畜禽养殖业的迅速发展,产生了大量的畜禽粪便,给环境带来了巨大的潜在危害。

据2010年2月6日发布的《第一次全国污染源普查公报》,2007年我国畜禽养殖业粪便产生量2.43亿t,尿液产生量1.63亿t;主要水污染物排放量分别为化学需氧量1 268.26万t,总氮102.48万t,总磷16.04万t,铜2 397.23 t,锌4 756.94 t。由于能够促进动物生长、提高饲料效率和治疗控制疾病,兽用抗生素和一些微量重金属元素,如铜、锌、砷等在集约化畜禽养殖

收稿日期:2013-02-10

基金项目:国家自然科学基金项目(21077122);公益性行业(农业)科研专项经费课题(201303091)

作者简介:王 瑞(1984—),女,河北邯郸人,博士研究生,主要研究方向为有机固体废弃物资源化处理。E-mail:wrhbhd@live.cn

* 通信作者:魏源送 E-mail:yswei@rcees.ac.cn

业中得到了广泛应用。但值得注意的是,我国畜禽饲料中存在超量添加抗生素(如金霉素)和微量金属元素制剂(如高铜、高锌、高砷等制剂)的现象,由于抗生素和微量重金属元素不能在动物体内完全吸收代谢,大部分以原药的形式随粪便排泄出来,这些有毒有害污染物不仅严重威胁我国畜禽产品的质量安全,而且随着畜禽粪便农用进入土壤、水体,对环境和人体健康构成了巨大的潜在危害。为了达到畜禽粪便的安全农用,一个有效途径就是在畜禽粪便农用之前,对其进行适当处理,以便最大限度地去除和安全转化畜禽粪便中残留的抗生素与重金属。好氧堆肥和厌氧消化是畜禽粪便无害化、资源化利用的主要手段。所以,在控制和治理畜禽粪便中常规污染物的基础上,如何有效控制和削减畜禽粪便中有毒有害物质的复合污染,将是今后畜禽粪便处理与资源化利用的严峻挑战。

1 畜禽粪便中四环素类抗生素的残留状况

自 20 世纪 50 年代美国食品与药物管理局(FAD)首次批准将抗生素用作饲料添加剂后,世界各国相继进行了抗生素的饲喂试验,并全面推广应用于畜禽养殖业^[1]。兽用抗生素(Veterinary antibiotics, VAs)不仅在治疗剂量水平上被广泛用来治疗和预防动物疾病,而且还在亚治疗剂量水平上长期作为饲料添加剂促进动物生长^[2-3]。抗生素促生长的原理如下:由于抗生素饲料添加剂对病原微生物有杀灭作用,阻碍了肠道中有害微生物的增殖,从而节约了大量本来应被微生物所消耗的营养成分,提高了养分的利用率;同时,抗生素可使动物的肠壁变薄,利于营养成分通过肠膜,加强养分的吸收^[4]。据报道,美国自 1985 年

允许在饲料中添加抗生素后,一年内的产肉量增加 10%,同时节约 35 亿美元^[4]。

世界各国的兽用抗生素消费量十分可观^[5]。1996 年全世界抗生素饲料添加剂的用量占全部饲料添加剂用量的 45.8%, 抗生素总产量的约 70% 用于畜牧业^[6]。例如:丹麦每年抗生素和饲料添加剂的消费总量为 165 t, 其中 100 t (60.6%) 作为猪场的促生长调节剂, 45 t 为治疗性药物, 10 t 用于集约化渔场, 11 t 用于家禽的疾病防治^[7]。欧盟每年抗生素的消耗量达 5000 t, 其中四环素类抗生素兽药用量达到 2300 t, 占比约为 46%^[8]。美国畜牧业兽用抗生素消耗中, 约 70% 用于非治疗用途^[9]。我国每年约有 6000 t 兽用抗生素用于畜禽饲料添加剂, 占全球抗生素饲料添加剂使用量的 50%, 其中四环素类抗生素在我国及世界畜禽养殖业中的生产量与实际使用量均为最大^[4, 10-12]。

四环素类抗生素(Tetracyclines, TCs)是临床上一类重要的广谱抗菌药物, 由于具有预防疾病和促进动物生长等作用, 常被用作饲料添加剂广泛应用于畜牧业及水产养殖业^[13]。四环素类抗生素家族包括四环素、土霉素、金霉素、地美环素、美他环素、多西环素(强力霉素)、米诺环素等天然和半合成抗生素等, 其化学结构属于氢化并四苯的衍生物, 由 A、B、C、D 4 个环组成, 主要的官能团包括 C4 位上的二甲氨基 $N(CH_3)_2$ 、C2 位上的酰胺基 ($-CONH_2$)、C10 位上的酚羟基 ($-OH$), 还有两个含有酚基和烯醇基的共轭双键系统。因其结构中含有多个可离解性官能团, 四环素类抗生素表现为酸碱两性化合物^[14]。四环素、土霉素和金霉素的分子结构及其主要官能团的 pK_a 值如图 1^[14] 所示。由于四环素类抗生素具有多个 N、O 官能团,

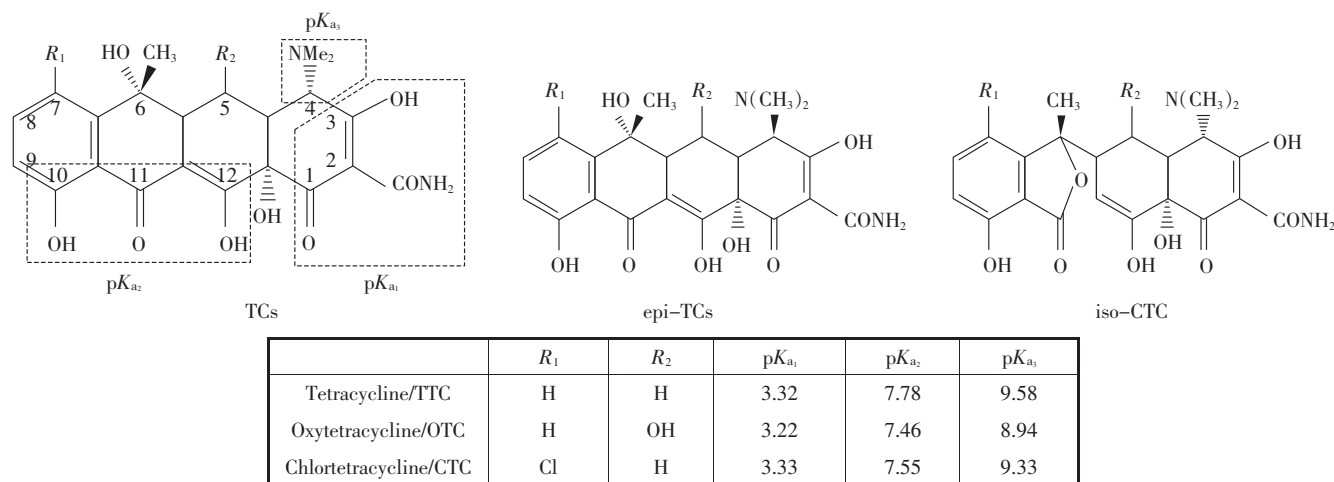


图 1 四环素类抗生素的结构图及其理化特性^[14]

Figure 1 Chemical structure and property of tetracyclines^[14]

因此能够和多种金属离子发生螯合作用^[14-17],形成有色络合物。B、C、D环上的O10-O12及A环上的O1、O3、N4都是其可能的结合位。

然而,相当比例的抗生素不能被动物完全吸收利用,而是以原药或代谢产物的形式随粪便排放到环境中^[5]。在环境中,某些抗生素的代谢产物又可恢复到原药状态^[11,18]。部分调查表明,约有30%~90%的兽用抗生素以原药的形式随着畜禽粪便排泄出来,对环境和人体健康构成了巨大潜在危害^[19-23]。

国内外一些学者对四环素类抗生素在动物粪便和环境基质中的残留量做了一些调查研究。张树清等^[24]对我国7个省、市、自治区规模化养殖厂猪粪和鸡粪中残留的四环素类抗生素做了分析研究,结果表明,四环素类抗生素在猪粪中的残留量远远高于其在鸡粪中的残留量,其中土霉素和金霉素的残留量较四环素高,平均值分别为 $20.94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ (Dry weight) ($4.34 \sim 134.75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$)、 $15.26 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ ($0 \sim 121.78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$)、 $12.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ ($0 \sim 78.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$)。另外,在调查采样的7个省、市、自治区中,北京、浙江等经济发达地区的兽药残留量明显高于其他地区。2007年全国8个省的集约化养殖场调查表明^[9],猪粪中土霉素、金霉素的平均含量分别为 59.06 、 $21.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$;2008年北京、上海、重庆的集约化养猪场调查表明,猪粪中四环素类抗生素的平均含量大小排列如下:仔猪>种猪>育肥猪,其中仔猪猪粪中土霉素、四环素、金霉素的含量可高达 524.4 、 77.10 、 $19.22 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ ^[25]。胡献刚等^[26]对天津市4个养殖基地的畜禽粪便样品进行了检测分析,发现四环素、土霉素和金霉素的浓度范围分别是 $10.2 \sim 41.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ 、 $9.7 \sim 173.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ 和 $0.6 \sim 24.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ 。另外,美国集约化畜禽养殖场粪便贮存塘中的金霉素、土霉素、洁霉素的平均浓度分别为 3.94 、 2.37 、 $4.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[27]。总体来看,我国畜禽粪便中四环素类抗生素残留量高于发达国家,四环素和土霉素的残留量高于金霉素,具体情况如表1所示。

残留在畜禽粪便中较高浓度的抗生素如果不经有效降解而直接进入土壤环境不仅会污染土壤,更重要的是还会使土壤中的微生物产生对抗生素的耐药性,形成新一代的抗性菌群^[9],抗性基因既可以在代与代之间传递,又可以在不同细菌间传递。因此,一些耐药性细菌虽然不具有致病性,却能够通过基因横向传播机制把耐药性传递给致病菌,从而对环境和人类的健康造成更大的威胁。

2 畜禽粪便中重金属残留状况

2.1 铜

一些微量金属元素如铜、锌、砷(类金属),不仅可以作为动物生长所必须的养分,而且能起到防治疾病、提高饲料效率、促进动物生长等作用,因此也被广泛应用于饲料添加剂中。Barber曾在1955年首次提出^[28],添加高于正常生理需要10倍数量的铜于育肥猪的饲料中,可以加快生长速度并且提高饲料的利用率。其作用机制主要体现在两方面,增加动物的采食量;刺激体内相关酶的活性^[29]。因此,大多数情况下铜的添加量往往高于动物对其需求量^[30],导致大量的铜不能被有效吸收利用而随动物的排泄物进入土壤环境,形成一定程度的污染。一些调查表明^[31],我国目前畜禽养殖过程中普遍存在超量添加高铜制剂的现象,例如,猪饲料中铜添加量高达 $150 \sim 250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$,是饲料中铜正常添加量($4 \sim 6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$)的20~40倍。北京和阜新两地畜禽养殖厂动物饲料中铜含量的调查结果表明^[30],铜在猪饲料中的添加量平均在 $130.01 \sim 159.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ 之间,最高可达到 $395.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ (表2)。浙江地区的调查表明,规模化养猪厂的猪饲料中铜的添加量最高可达 $914.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ ^[32]。超量添加高铜制剂使得畜禽粪便中铜的残留量非常高^[24]。2002年,江苏省猪粪、鸡粪中平均铜含量分别为 399 、 $89 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ ^[33];2003年7个省、市、自治区的调查表明^[24],猪粪、鸡粪中铜的含量范围分别为 $10.7 \sim 1591 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ 、 $18.6 \sim 775 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$;2005年在北京、辽宁阜新的调查表明^[30],猪粪中铜含量是饲料中铜含量的5倍左右,仔猪猪粪中的铜含量>育肥猪>种猪,其中北京地区仔猪、育肥猪、种猪的猪粪中平均铜含量分别为 1112 、 888 、 $255 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$,阜新地区仔猪、育肥猪和种猪的猪粪中平均铜含量分别为 849 、 692 、 $267 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DW}$ (表3)。

伴随着畜禽粪便的土地利用过程,土壤中过量累积的铜会对土壤和土壤中的微生物菌群产生一定的负面影响^[34]。而诸如铜类微量重金属(或类金属)污染的最大威胁在于它不能被微生物分解,可在生物体内富集,甚至再与有机物作用时形成复合污染,对人体健康和土壤环境产生更大的危害^[29]。另一方面,当生长环境中存在一定浓度的重金属离子(如铜离子)时,可有效诱导出微生物体内对重金属的运输和毒性起到拮抗与解毒作用的抗性基因;另外,在规模化养猪场中,铜等重金属饲料添加剂的大量使用还会导致抗

表 1 动物粪便中残留的四环素类抗生素
Table 1 Literature data of residual tetracyclines in animal manure

地区/年份	粪便类型		畜禽粪便中四环素类抗生素的残留量/mg·kg ⁻¹ DW			参考文献
			土霉素 OTC	四环素 TC	金霉素 CTC	
北京 2005	猪粪	Ave	20.94	12.20	15.26	[24]
		Range	4.34~134.75	0~78.57	0~121.78	
北京 2006	猪粪	Ave	12.45	19.34	15.66	[80]
北京 2009	猪粪	Ave	—	—	—	[25]
		Range	10.2~524.4	11.4~77.1	0.0~19.2	
浙江 2005	猪粪	Ave	8.42	2.48	0.54	[24]
		Range	1.05~15.2	0~5.78	0~2.15	
浙江 2012	猪粪	Ave	9.69	3.33	4.01	[107]
		Range	0~29.60	0~16.75	0~11.63	
山东 2005	猪粪	Ave	3.89	0.90	0	[24]
		Range	1.81~5.97	0~1.79	0	
江苏 2005	猪粪	Ave	11.13	8.90	2.78	[24]
		Range	2.25~20.01	2.19~15.60	2.14~3.41	
吉林 2005	猪粪	Ave	8.11	11.68	6.44	[24]
		Range	2.97~13.40	2.54~43.20	1.28~11.49	
陕西 2005	猪粪	Ave	6.68	0.38	0	[24]
		Range	3.27~8.93	0~1.15	0	
宁夏 2005	猪粪	Ave	4.50	0	0	[24]
北京 2005	鸡粪	Ave	10.79	4.85	3.78	[24]
		Range	3.96~23.43	0~14.56	0~19.03	
北京 2006	鸡粪	Ave	4.23	9.87	3.74	[80]
山东 2005	鸡粪	Ave	5.62	4.60	2.11	[24]
江苏 2005	鸡粪	Ave	5.73	1.82	1.06	[24]
		Range	2.85~10.67	0~4.25	0~2.61	
吉林 2005	鸡粪	Ave	4.04	1.89	0	[24]
		Range	3.67~4.41	1.62~2.16	0	
宁夏 2005	鸡粪	Ave	3.66	0	0	[24]
浙江 2012	鸡粪	Ave	5.94	2.85	1.52	[107]
		Range	0~17.64	0~8.36	0~3.34	

注:—表示数据不可获得。下表同。

铜肠细菌的普遍发生,由此可能对生态环境和人类健康产生更加深远的影响^[29]。

2.2 砷

砷是一种有毒并致癌的化学元素,近几年国内外对砷污染及其控制的关注也越来越多。由于具有毒性低、广谱杀菌、抑制和杀灭肠道寄生虫等类似抗生素的作用^[35],一些有机砷化合物常被用作饲料添加剂,在集约化畜禽养殖业中广泛使用^[36]。目前,我国和美国药品与食品管理局(FDA)等批准使用的有机砷制剂主要有洛克沙砷(Roxarsone,3-硝基-4-羟基苯砷酸)和阿散酸(p-Arsanilic Acid,对氨基苯砷酸)。然而,大部分有机砷制剂不能被动物完全吸收利用而是

以原药的形式随粪便排出^[36-37],进入环境并在环境中积累^[38]。李艳霞等^[37]对北京郊区几个养猪场的29份猪饲料和猪粪的样品分别进行了分析,结果表明,这些样品中砷的检出率达到100%,其中猪饲料中砷的浓度范围在0.15~37.8 mg·kg⁻¹,而猪粪中砷的浓度达到0.42~119.0 mg·kg⁻¹,约是猪饲料中砷含量的3倍。张树清等^[24]的调查表明,北京地区猪粪样品中砷的含量范围在0.55~65.4 mg·kg⁻¹,而浙江省猪粪样品中砷的含量最高达到118 mg·kg⁻¹(范围在1.98~118 mg·kg⁻¹),如表3所示。袁慧等^[39]采用国家标准检测法(GB 13079—1991)检测了湖南省6个地区20个猪、鸡配合饲料中总砷含量,结果表明,85%的样品中总

表 2 动物饲料中的重金属含量
Table 2 Literature data of heavy metals in animal feeds

地区/年份	饲料类型		畜禽饲料中重金属残留量/mg·kg ⁻¹ DW			参考文献
			Cu	Zn	As	
英国 1999	猪饲料	Ave	—	—	—	[108]
		Range	17.9~217.0	150~2920	0.10~1.07	
北京 1999	猪饲料 Grow-finisher	Ave	130.01	—	—	[30]
		Range	12.70~287.70	—	—	
北京 2005	猪饲料 Grow-finisher	Ave	159.24	—	—	[30]
		Range	11.81~283.88	—	—	
北京 2005	猪饲料	Range	—	—	0.15~37.8	[37]
北京 2010	猪饲料	Ave	131.7	—	—	[109]
		Range	2.2~395.2	—	—	
阜新 2005	猪饲料 Grow-finisher	Ave	148.29	—	—	[30]
		Range	10.52~256.73	—	—	
江苏 2004	猪饲料	Ave	105.36	144.17	90 μg·kg ⁻¹	[33]
		Range	4.91~392.1	35.54~320.20	4~111.1 μg·kg ⁻¹	
浙江 2008	猪饲料	Ave	294.10	324.00	5.9	[32]
		Range	62.20~914.20	188.80~589.70	0.07~34.95	
广东 2012	猪饲料	Ave	119.4	486.2	6.5	[110]
广东 2012	鸡饲料	Ave	18.2	124.6	3.6	[110]

砷含量超过国家标准(2 mg·kg⁻¹),其中 13 个样品的总砷含量在 2~10 mg·kg⁻¹ 之间, 占总数的 45%,4 个样品高于18 mg·kg⁻¹, 占总数的 20%。

目前,砷污染已成为全球十分严重的环境与健康问题之一^[40]。根据曾希柏等^[41]于 2006—2007 年间分别在山东寿光、吉林四平、河南商丘及北京市大兴等地对农田土壤中砷积累的调查结果表明,在部分集约化程度高、有机肥和化肥施用量大的农业土壤中,砷含量有逐年升高趋势,且这种趋势与有机肥及化肥中砷的含量、肥料投入量以及含砷制剂的使用等密切相关;在部分使用集约化养猪场粪便的土壤中,砷含量的升高尤为明显^[42]。

2.3 锌

微量元素锌在提高动物繁殖和免疫能力等方面起着极其重要的作用,同时能促进舌粘膜味蕾细胞迅速再生,调节食欲,抑制肠道某些有害细菌等功能,从而维持动物的健康和促进生长发育^[43]。长期以来,以氧化锌、硫酸锌作为锌源添加到猪饲料中以防止猪腹泻,因此导致饲料中锌含量严重超标。邢延铎^[44]的研究表明,仔猪日粮中添加锌的浓度达到 2000~3000 mg·kg⁻¹,而美国和加拿大等发达国家对畜禽饲料中锌的最大限量规定为 500 mg·kg⁻¹^[45],若以此为依据,则我国畜禽饲料中的锌含量严重超标。与铜和砷一

样,畜禽对微量元素锌的吸收利用率低而导致畜禽粪便中锌含量很高。张树清等^[24]的调查表明,北京地区猪粪中锌的含量范围在 281~1295 mg·kg⁻¹ DW,而浙江省猪粪中锌的含量高达 8710 mg·kg⁻¹ DW,如表 3 所示^[24]。彭来真^[46]的调查结果表明,62.90%猪粪样品的锌含量超过 1000 mg·kg⁻¹ DW,分别超过我国“农用污泥中污染物控制标准(GB 4284—1984)”和德国“腐熟堆肥中部分重金属限量标准”的 2 倍和 2.5 倍以上,说明猪粪中锌污染的情况十分严重。

超量使用及动物对微量重金属元素吸收利用率低是导致动物粪便中重金属污染的重要原因,并且不同种类畜禽粪便中重金属含量差异也比较大。刘荣乐等^[47]的研究结果表明,畜禽粪便中铜、锌、砷污染比较严重,从平均含量来看,这 3 种重金属均以猪粪中最高,鸡粪次之,而牛粪和羊粪最低。张树清等^[24]的研究(表 3)也表明了猪粪中铜、锌、砷的含量明显高于鸡粪中的含量。由此可见,猪粪的重金属污染尤为严重。总体来看,我国畜禽粪便中铜、锌、砷的残留量依次为 锌>铜>砷。

畜禽粪便通过生物发酵生产有机肥并用于农田,是治理畜禽粪便污染、提高土壤肥力的重要途径。另外,施用有机肥料不仅能为农作物提供全面营养,而且肥效长,可增加和更新土壤有机质,促进微生物繁

表 3 动物粪便中残留的重金属
Table 3 Literature data of heavy metals in animal manure

地区/年份	粪便类型		畜禽粪便中重金属残留量/mg·kg ⁻¹ DW			参考文献
			Cu	Zn	As	
北京 1999	猪粪(Weaner)	Ave	1 095.75	—	—	[30]
		Range	57.70~1 390.40	—	—	
	猪粪(Grower-finisher)	Ave	505.99	—	—	
		Range	73.20~1 218.00	—	—	
	猪粪(Sow)	Ave	187.84	—	—	
		Range	133.90~252.58	—	—	
北京 2005	猪粪(Weaner)	Ave	1 112.3	—	—	[30]
		Range	289.63~1 918.17	—	—	
	猪粪(Grower-finisher)	Ave	887.68	—	—	
		Range	138.14~2 016.74	—	—	
	猪粪(Sow)	Ave	254.74	—	—	
		Range	70.13~993.74	—	—	
北京 2005	猪粪	Ave	421.07	603.53	18.70	[24]
		Range	92.1~1082	281~1295	0.55~65.4	
北京 2005	猪粪	Range	—	—	0.42~119.0	[37]
北京 2006	猪粪	Ave	134.40	418.54	4.25	[80]
浙江 2005	猪粪	Ave	1 079.25	3 214.5	53.40	[24]
		Range	685~1591	1076~8710	1.98~118	
浙江 2008	猪粪	Ave	1 018.00	1 064.00	59.96	[32]
		Range	286.70~1 905.00	511.60~1 908.00	2.52~194.50	
浙江 2012	猪粪	Ave	1 044.13	1 771.37	16.83	[107]
		Range	96.58~1 788.04	112.17~10 056.68	2.45~76.43	
江苏 2004	猪粪	Ave	399.0	505.9	12 μg·kg ⁻¹	[33]
		Range	35.7~1 726.3	113.6~1 505.6	4~78 μg·kg ⁻¹	
江苏 2005	猪粪	Ave	539.5	866	28.3	[24]
		Range	521~558	561~1171	14.2~42.4	
阜新 2005	猪粪(Weaner)	Ave	849.09	—	—	[30]
		Range	496.81~1 318.33	—	—	
	猪粪(Grower-finisher)	Ave	692.24	—	—	
		Range	90.41~942.57	—	—	
	猪粪(Sow)	Ave	266.52	—	—	
		Range	49.96~705.37	—	—	
山东 2005	猪粪	Ave	259.5	1706	2.66	[24]
		Range	120~399	777~2635	1.33~3.99	
吉林 2005	猪粪	Ave	501.54	681.86	14.31	[24]
		Range	10.7~913	71.3~1256	0.30~54.7	
陕西 2005	猪粪	Ave	306.4	516.3	1.82	[24]
		Range	234.7~412	421.8~618.5	1.32~2.56	
宁夏 2005	猪粪	Ave	59.7	397	1.19	[24]
福建 2007	猪粪	Range	25.81~1 860.46	126.3~4 566.6	0.34~114.28	[46]
北京 2005	鸡粪	Ave	188.08	380.78	8.76	[24]
		Range	42.2~775	83.9~699	0.72~64.4	
北京 2006	鸡粪	Ave	150.35	350.38	1.26	[80]
山东 2005	鸡粪	Ave	97.8	396	19.6	[24]
江苏 2005	鸡粪	Ave	33.08	184.67	0.18	[24]
		Range	23.7~40.3	136~239	0.01~0.23	
吉林 2005	鸡粪	Ave	34.8	218.5	3.56	[24]
		Range	18.6~51	143~294	2.88~4.23	
宁夏 2005	鸡粪	Ave	22.4	185	2.50	[24]
福建 2007	鸡粪	Range	18.62~321.75	103~488.6	0.27~12.89	[46]
浙江 2012	鸡粪	Ave	271.16	379.59	5.04	[107]
		Range	54.32~517.45	98.67~724.35	1.65~11.43	

殖,改善土壤的理化性质和土壤中生物的活性,是绿色食品生产的主要养分来源^[48]。然而,随着高铜、高锌和高砷等饲料添加剂在畜禽养殖业的广泛应用和动物对微量元素低利用率的特点,导致畜禽粪便中重金属污染日趋严重。彭来真^[46]对猪粪、牛粪、鸡粪和鸭粪4种畜禽粪便中重金属含量的调查表明,猪粪中铜、锌、砷超标最为严重。参照我国“农用污泥中污染物控制标准”(GB 4284—1984)和德国“腐熟堆肥中部分重金属限量标准”,猪粪中铜含量的超标率为93.56%~98.39%,锌含量的超标率为91.94%~95.16%,参照我国“有机肥料行业标准”(NY 525—2002),猪粪中砷含量的超标率为38.71%。这些来源于畜禽粪便中的过量重金属通过作物影响土壤功能,并有可能在肥料的反复施用中累积起来,从而对人类和环境的健康造成危害^[49]。由于重金属具有毒性、持久性和生物不可降解性,有机肥中有关重金属的限量标准浓度等问题已受到许多国家的重视^[48]。

3 畜禽粪便中残留四环素类抗生素和重金属的复合污染研究

所谓“复合污染”,主要指多种污染物同时存在而产生的环境污染和生态毒理效应问题,它包括了在环境中发生的两种以上污染过程叠加的环境污染机制及综合生态毒理效应,以及这种复合污染效应对生态系统和人类健康造成的风险评价的研究^[50]。复合污染的环境生态效应主要分为协同作用、拮抗作用、竞争作用和独立作用4大类^[51]。影响复合污染物交互作用的因子有很多,如生物、污染物、环境因子等^[52]。目前有关复合污染机理研究包括复合污染对生物细胞结构的影响,干扰生物生理活动与功能,竞争代谢系统的活性部位。另外,络合或螯合作用也是影响污染物在环境及生物体中行为的重要化学过程,是复合污染物之间作用机理的重要方面^[52]。抗生素往往具有一个非极性的内核和多个极性的官能团,这些官能团决定了抗生素的药性。抗生素能通过这些官能团与金属离子络合,从而相互影响各自的行为^[53]。已有研究表明,喹诺酮类和四环素类抗生素能与很多金属离子形成稳定的络合物^[54-55]。例如,在pH=5,含NaCl的水溶液中,盐酸环丙沙星和CuCl₂能生成络合物[Cu(Cip)₂]Cl₂·11H₂O,并通过电位滴定,测得在铜溶液中滴加环丙沙星后依次生成1:1和1:2的络合物,它们的生成常数为lgK₁=6.2和lgK₂=11.1^[55]。另外,四环素和铜形成的络合物能与DNA发生反应,它们

与DNA的作用方式随着络合物类型(1:1型和1:2型)及DNA浓度的差异而不尽相同^[56]。重金属和抗生素之间的相互作用改变了二者的形态,从而影响它们在环境中的各种行为和生物吸收及毒性^[50]。例如,四环素和铜在一定条件下形成的络合物会影响铜在土壤中的吸附行为,从而进一步影响铜的生物有效性^[34]。在pH=8~9.5和pH=4~6并且有氧气存在的条件下,Cu²⁺和Mn²⁺与四环素类抗生素形成的络合物可以促进这些抗生素的代谢及转化^[14]。

随着畜禽粪便的土地利用,大量的抗生素和重金属在土壤环境中共存并相互作用。因此,研究重金属与抗生素的复合污染有利于准确评价它们的环境和生态效应,并对此采取有效的控制措施。

四环素类抗生素具有多个N、O官能团,因此能够与Ca²⁺、Mg²⁺、Fe³⁺、Cu²⁺等多种金属离子发生络合作用^[14-17,34],形成有色络合物,而猪粪中较高含量的铜、锌、砷和四环素类抗生素在一定程度上可能形成复合污染现象,会对畜禽粪便后续的处理工艺和土地利用造成一定的影响。关于抗生素和重金属复合污染的问题,孙建平^[57]研究了Cu(Ⅱ)、Zn(Ⅱ)、Cr(Ⅲ)3种重金属元素和几种常用的抗生素对猪场废水厌氧消化过程的抑制毒性,其研究表明,Cu(Ⅱ)的抑制毒性最强,IC₅₀为0.68 mg·L⁻¹,而Cr(Ⅲ)的抑制毒性相对较弱,IC₅₀为11.32 mg·L⁻¹;对几种不同抗生素的抑制毒性研究表明,金霉素的抑制毒性最强,IC₅₀为1.17 mg·L⁻¹,而磺胺二甲氧的抑制毒性相对较弱,其IC₅₀为83.00 mg·L⁻¹。在此基础上,对抗生素和微量重金属元素的联合抑制毒性又做了进一步的调查研究,其结果表明,铜离子、锌离子和金霉素3种抑制剂的联合毒性表现为相加和拮抗作用。重金属与抗生素复合污染的环境效应由重金属和抗生素的性质决定,因此不同的重金属和抗生素其复合污染的环境效应不同^[51]。Kong等^[58]发现土霉素与铜复合污染的环境效应不能单纯地定义为协同或是拮抗作用,在不同的pH条件下,其复合污染的环境效应也不尽相同。阮存鑫^[5]通过种子生长培养实验研究表明,四环素与铜共存时,铜在一定程度上减缓了四环素的毒性,其复合污染效应表现为拮抗。四环素和铜均能显著抑制脲酶活性,铜能抑制蔗糖酶活性,二者共存时对脲酶和蔗糖酶的抑制效果要高于单一四环素或铜处理的结果。

对环境选择最为敏感的微生物可通过自身的进化和发展形成抗生素和重金属离子协同选择抗性^[59]。目前存在的4种抗生素和重金属协同选择抗性机制

包括协同抗性机制、交叉抗性机制、协同调控机制和生物膜形成诱导机制^[59]。由于畜禽养殖业大量使用抗生素和重金属作为饲料添加剂,使得养殖场及其周边形成了一个重金属和抗生素交叉污染的典型环境。目前已有研究结果表明,养殖场废水中分离筛选出7株具有重金属和抗生素协同抗性的细菌^[60],渔业养殖场分离得到的假单胞菌属和气单胞菌属的细菌对多种重金属和抗生素具有抗性^[61],而最令人担忧的是环境中很多同时抗多种重金属和多耐药性菌株是常见的致病菌^[62]。近几年来,人们在人迹罕至的南极也发现了同时具有重金属抗性和抗生素抗性的微生物群落,表明抗生素和重金属的复合污染问题已经越来越受到人们的关注,成为亟待解决的环境问题^[5]。

4 畜禽粪便生物处理过程中残留四环素类抗生素的去除研究

4.1 堆肥过程

堆肥化是利用微生物在一定条件下将复杂有机物分解为腐殖质,并且在分解过程中产生高温杀死病原微生物、寄生虫及其虫卵等,使之达到无害化、资源化和稳定化的技术^[63]。

目前的研究表明,堆肥能够有效去除畜禽粪便中残留的抗生素^[64-70]。Arikan等^[64]的实验室规模堆肥试验研究表明,在35 d的堆肥过程中,牛粪中土霉素浓度在堆肥初期6 d内就开始迅速下降,最终的去除率达到95%。Bao等^[65]研究了堆肥对仔鸡粪、鸡粪、育肥猪粪中金霉素的去除效果,发现猪粪中金霉素的降解率仅为27.33%,而鸡粪中金霉素的降解率均大于90%。在Dilliver等^[69]的研究中,经过堆肥后,牛粪中的金霉素快速降解,不到10 d其去除率就超过了99%。吴晓凤等^[70]的研究表明,堆肥可有效地去除畜禽粪便中四环素类抗生素的残留,其中CTC、OTC和TC的去除率分别达到了74%、92%和70%,半衰期分别为8.2、1.1 d和10.0 d,并且在堆肥过程中还检测到5种代谢产物包括ETC、EOTC、ECTC、DMCTC和ATC。目前有关畜禽粪便中四环素类抗生素代谢产物方面的研究还比较少,主要研究的对象仅限于水体^[71]和土壤间隙水^[72-73],较少涉及到畜禽粪便堆肥过程中四环素类抗生素代谢产物的研究。一些对抗生素的水解、光解、吸附和其他药物动力学的研究发现,四环素类抗生素更易进行非生物降解,通过差向异构、脱水和质子转移等途径形成代谢产物^[73-75]。一般降解过程会降低抗生素的药效,但有些抗生素的代谢

产物具有和母体相同的毒性,甚至比母体的毒性更强^[76],且一些代谢产物在环境中还可能进一步转回母体的形式^[18,77],因而也亟需关注。

影响堆肥过程的因素有很多,诸如堆料的pH、含水率、温度、有机质初始浓度以及堆肥化管理措施等,这些因素对于堆肥过程中残留抗生素去除的影响已有很多报道。Wang等^[78]的研究表明,土霉素的降解率随着动物粪便含水率的升高而增加,并认为高含水率的粪便中微生物的活性提高,从而导致了土霉素较高的降解率;同时还认为,粪便中较高的抗生素初始浓度可能会抑制微生物的活性,从而降低降解率;粪便中的土霉素在中高温的条件下(如35℃和45℃)的降解明显快于低常温(如15℃和25℃),且在中高温情况下,土霉素的降解呈现线性。Arikan等^[79]同样认为温度是影响堆肥去除残留抗生素的一个重要因素。经过30 d的堆肥处理后,室温25℃下牛粪中金霉素的去除率达到49%,而高温55℃下的去除率高达99%,高温条件下金霉素的降解明显快于室温。通过正交批量试验,沈颖等^[23]研究了温度、初始含水率以及时间等因素对猪粪中3种四环素类抗生素的降解影响情况,证实了3种四环素类抗生素的降解率均随温度的升高而提高。张树清等^[80]考察了强制通风堆肥过程中猪粪/鸡粪+麦秸和外源添加微生物对四环素类抗生素残留去除的影响,结果表明,不同堆肥处理的四环素、土霉素和金霉素均以猪粪+麦秸和鸡粪+麦秸处理的去除效果最好。

4.2 厌氧消化过程

厌氧消化技术是畜禽粪便资源化、减量化、无害化的主要生物处理技术之一,它可以在降解畜禽粪便中大量有机物的同时产生可作为能源回收的沼气,在畜禽粪便处理中广为应用。畜禽粪便中高残留的抗生素在影响厌氧消化效率的同时又可以在厌氧消化过程中得到降解。

目前,国内外关于抗生素对厌氧消化过程影响的报道已有很多。Sanz等^[81]学者研究了15种不同特性和作用机制的抗生素在将有机物转化为甲烷的过程中对不同微生物群落的抑制作用,结果表明,不同类型的抗生素对产甲烷的影响程度有一定的差异。除大环内酯类的红霉素没有对产甲烷过程产生干扰外,其他种类的抗生素都能够抑制产甲烷过程。四环素类的金霉素(干扰蛋白质的合成)对甲烷的产量抑制效应最强烈,其 IC_{50} 达到 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,与Gartiser等^[82]根据ISO标准进行厌氧抑制性测试的结果相一致。丁酸型

发酵菌的活性在低浓度金霉素下受到抑制,在其浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时则被灭活。多数所研究的抗生素仅对产酸菌产生抗菌活性,对产甲烷菌没有表现出抗菌活性,金霉素则完全抑制了产甲烷菌的活性。由此作者得出结论,影响细胞壁合成的抗生素可能对产酸菌有抑制作用,而金霉素则抑制产甲烷菌的活性。Alvarez 等^[83]研究了猪粪厌氧消化过程中金霉素和土霉素对甲烷产量的影响,发现当金霉素和土霉素的浓度均为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,甲烷的产量减少了 45.4%,并且这种对产甲烷的抑制作用随着它们浓度的增加而增强,由抗生素的初始浓度和产甲烷活性的相关性得出 IC_{50} 为 $8.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Arikan 等^[84]的研究发现,当土霉素的浓度为 $3.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,牛粪厌氧消化过程中的甲烷产量减少了 27%(表 4)。

然而,一些关于四环素类抗生素对畜禽粪便厌氧消化过程的影响研究所得的结果不尽相同。如在 Sanz 等^[81]所研究的 15 种抗生素(包括四环素类、 β -内酰胺类和大环内酯类、氯霉素等)中,四环素类中的金霉素抑制作用最强;而 Loftin 等^[85]的研究结果表明,在所考察的 8 种抗生素中(包括四环素类、磺胺类和大环内酯类),尽管四环素类的抗生素也表现出了一定的抑制效应,但泰乐菌素对产甲烷的抑制作用最强,浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对产甲烷的抑制率高达 65%。与以上相反,Lallai 等^[86]的研究则表明,即使当土霉素的浓度高达 $125 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,也没

有对甲烷产量产生明显的抑制作用。表 4 列举了目前报道的关于四环素类抗生素对畜禽粪便厌氧消化过程影响的研究结果。这些结果之间的差异,可能与他们研究体系中的操作条件如粪便和接种体的来源、抗生素的种类与浓度、体系中微生物的种类、反应器差异等有关。

在畜禽粪便厌氧消化过程中部分残留的兽用抗生素(如四环素类抗生素等)会发生一定程度的降解。相当一部分研究者认为,好氧条件比厌氧条件更有利于抗生素的降解^[70]。如 Kuhne 等^[87]通过研究液体猪粪中四环素的稳定性发现,8 d 后好氧条件下四环素的浓度很快降低到初始浓度的 30%,而厌氧条件下其浓度仍为初始浓度的 57.6%,好氧条件下的降解速率明显快于厌氧条件。Loke 等^[75]模拟了粪便中土霉素的厌氧降解实验并检测厌氧过程中其自由态浓度的变化,结果表明,6 个月后仍然能够检测到土霉素,且浓度大于 $0.02 \mu\text{M}$ 。Arikan 等^[84,88]采用 6 个实验室规模 1 L 的批式厌氧反应器,在中温 35°C 的条件下,分别研究了牛粪中金霉素和土霉素的降解情况。结果表明,经过 33 d 的厌氧消化后,这两种形态(水溶态和缓冲液可提取态)的金霉素浓度都快速地下降,去除率分别达到 75% 和 84%;相对于金霉素而言,土霉素在厌氧消化过程中不易被降解,在经过 64 d 的厌氧消化后,去除率仅为 59%。Alvarez 等^[83]同样分别研究了猪粪厌氧消化过程中水溶态和缓冲液可提取态的金霉素和土霉素的变

表 4 四环素类抗生素对畜禽粪便厌氧消化过程中甲烷产量的影响

Table 4 Effects of tetracyclines on methane production during animal manure anaerobic digestion

四环素类抗生素	试验时间/d	基质	试验规模及条件	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	产甲烷的 抑制率/%	参考文献
金霉素	14	VFA+厌氧颗粒污泥(UASB)	实验室规模 温度: 30°C	5	20	[111]
				40	50	
				152	80	
土霉素	12	猪粪混合液(Pig waste slurry)	实验室规模 温度: 37°C	125	0	[112]
				150	0	
土霉素	12	猪粪混合液(Pig waste slurry) 厌氧塘(Anaerobic lagoon)	温度: $31\sim 33^\circ\text{C}$	1	2	[113]
				5	5	
				25	7	
金霉素	12	猪粪混合液(Pig waste slurry) 厌氧塘(Anaerobic lagoon)	温度: $31\sim 33^\circ\text{C}$	1	32	
				5	33	
				25	44	
土霉素	64	牛粪混合液	实验室规模 温度: 35°C	3.1	27	[84]
金霉素	216	猪粪混合液	实验室规模(化粪池工艺) 温度: $10\sim 20^\circ\text{C}$	28.0	27.8	[114]
金霉素和土霉素	31	猪粪混合液	实验室规模 温度: 35°C	10	45.2	[115]
				50	56.5	
				100	64.1	

化,发现经过 31 d 的厌氧消化,金霉素和土霉素的去除率分别在 53.2%~67.7%、89.9%~91.3% 的范围内。

5 畜禽粪便生物处理过程中微量重金属元素的控制研究

畜禽粪便的堆肥和厌氧消化都是实现固体废弃物资源化、减量化、无害化的有效方式。在生物处理过程中,由于微生物的作用,畜禽粪便中重金属的形态会发生改变,从而影响重金属的毒性和生物有效性。

5.1 堆肥过程

目前我国畜禽养殖业中并没有对重金属的排放进行限定,如我国的 GB 18596—2001《畜禽养殖业污染物排放标准》,其控制的污染物指标体系中没有涉及到重金属的控制。由于畜禽粪便常用作肥料施用于农田,其残留的重金属必将给土壤环境带来重金属污染风险。土壤环境质量标准中对重金属的总量进行了规定,但是仅仅关注重金属的总量是远远不够的,因为重金属的毒性、生物可利用性和生物有效性与其形态分布密切相关,重金属的形态分布比总量信息更为重要^[89-91],能更好地预测重金属在环境中的迁移性和生物可利用性,从而准确评估其潜在的环境风险。

目前对畜禽粪便中重金属的堆肥处理技术研究主要集中在不同钝化剂的处理效果及重金属的形态变化方面^[80,92-94]。张树清等^[80]研究表明,通过高温堆肥后,重金属的生物有效性明显降低,添加钝化剂对堆肥中重金属 Cu、Zn、Cr、As 元素的形态影响显著。无论是猪粪还是鸡粪,添加风化煤对水溶态的重金属都有良好的钝化作用。刘浩荣等^[92]研究了沸石、海泡石和膨润土等钝化剂对猪粪堆肥中重金属的钝化效果,表明堆肥处理能促进猪粪中重金属 Zn、Cu 等的形态向活性低的方向转化,降低了重金属的生物有效性。在 3 种重金属钝化剂处理中,海泡石对降低猪粪中重金属 Cu 的生物有效性效果最好。郑国砥等^[93]研究了猪粪堆肥过程中重金属的含量和形态变化,同样发现堆肥处理能降低猪粪中重金属的生物有效性。Jenn 等^[94]发现,随着猪粪堆肥过程中有机质不断被降解,重金属 Cu 和 Zn 的浓度都升高,且重金属的化学形态分布与堆肥的时间无关,其中 Cu 主要以有机结合态为主。何增明等^[95]研究表明,经堆肥处理后,猪粪中重金属 As、Cu 和 Zn 的总浓度均有所增加,从重金属结合形态的变化来看,可交换态 As 和 Zn 含量降低,残渣态 As 和 Zn 含量升高,表明 As 和 Zn 有向生物有效性相对较低的形态转化的趋势。重金属 Cu 则

表现出不同的变化趋势,即可交换态与残渣态 Cu 含量下降,而碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态及有机结合态 Cu 含量有所增加。此外,吴晓凤等^[63]在规模化堆肥现场调查和中试规模猪粪堆肥研究表明,堆肥初期,80%以上的 Cu 为有机物结合态,残渣态 Cu 约占 8%,而其他 3 种形态的 Cu(可交换态、碳酸盐结合态和铁锰氧化物结合态)所占比例约为 10%;在堆肥过程中,可交换态 Cu 的比例在 1%~3.8% 范围内浮动,变化不明显;碳酸盐结合态 Cu 基本保持在 1% 左右,铁锰氧化物结合态的 Cu 也没有发生明显的变化,而残渣态 Cu 有略微上升的趋势。有机结合态 Cu 在整个堆肥周期内的变化范围为 80%~85%,与堆肥初期所占的比例相比,略有升高。因此,Cu 在堆肥过程中有趋于稳定化的趋势。

5.2 厌氧消化过程

目前关于畜禽粪便中残留重金属在厌氧消化过程中形态变化的研究较少,关于重金属对厌氧消化过程的抑制影响有部分报道。不同重金属对产酸和产甲烷过程的影响依次为:Cu>Zn>Cr>Cd>Ni>Pb 和 Cd>Cu>Cr>Zn>Pb>Ni。由于重金属不可生物降解,通过在生物体内富集可达到一定的毒性浓度^[96]。一些研究表明,重金属离子的毒性机理主要包括:破坏生物活性分子的主要功能基团,如-SH 等;置换生物活性分子(如辅酶)中的金属元素;改变生物活性分子(如酶)的活性构象^[96]。酶是厌氧消化过程中大量生化反应的主要催化剂,而某些微量金属元素常常作为酶的必要组成成分(例如辅酶)存在。Takashima 等^[97]研究了 10 种产甲烷菌细胞中的 Fe、Zn、Ni、Co、Mo、Cu 6 种微量金属元素的含量,其中 Fe 的含量最高,Cu 的含量最低。微量重金属元素在厌氧消化这一复杂的生物化学反应过程中可能扮演的角色包括:(1)与 S^{2-} 、 CO_3^{2-} 、 OH^- 等离子形成沉淀;(2)吸附于固相上,包括生物体或惰性颗粒物质;(3)在溶液中与消化中间产物和终产物形成复杂的络合物^[96]。在这些形态中,只有溶解的游离态才有可能对微生物产生毒性。一些研究中提到^[96,98-99],重金属毒性与金属自由离子浓度紧密相关,而与重金属总的浓度没有显著相关性。

重金属对厌氧微生物的影响与它们的浓度、金属的化学形态、环境 pH 值、氧化还原电位等有着密不可分的关系。关于重金属元素对厌氧消化过程的影响,不同的研究得出的结论也不尽相同。Zayed 和 Winter^[100]的研究表明,产酸菌对毒性重金属的抗性要

比产甲烷菌好;而 Hickey 等^[101]则提出,对于突然加入一定浓度的重金属离子来说,产甲烷菌的抗性要比厌氧消化过程中其他微生物更好。另外,有关厌氧消化过程中铜形态的迁移转化研究表明,厌氧消化过程中铜从液相迁移到固相中而导致固相中铜的富集,并且铜逐渐从不稳定状态向稳定状态转化^[63]。

5.3 其他有关畜禽粪便重金属的去除控制技术研究

由于堆肥和厌氧消化对畜禽粪便中重金属的控制效果有限,只能达到形态上趋于稳定化的结果,不能降低重金属的总量及其风险,因此如化学沉淀、化学浸提、生物淋滤、离子交换等方法在去除畜禽粪便重金属含量上也备受关注。

化学浸提法是通过添加化学提取剂将土壤、污泥、粪便以及沉积物中的污染物分离出来,从而降低有害物质含量的方法。化学提取剂一般为无机酸、有机酸、螯合剂以及一些无机化合物。重金属从污泥或粪便中溶出后,液相中的重金属可通过添加 CaO、NaOH、NaHCO₃ 等碱性物质或 NaS、H₂S、FeS 等硫化物使其沉淀而被去除^[102-103]。但该方法因为耗酸量大、处理费用高、操作不方便等缺点在实际工程中的应用受限。

生物淋滤早期是利用微生物来浸提矿石中重金属的方法,它是通过微生物的新陈代谢使重金属得到溶解^[104]。主要细菌为氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌的生物淋滤法对畜禽粪便和污泥中重金属具有较高的去除效率和低成本等优点,近年来在国际上备受关注。生物淋滤的效果受温度、O₂ 和 CO₂ 浓度、起始 pH、底物种类和浓度、抑制因子、Fe³⁺ 浓度等的影响^[105]。周俊等^[106]的研究表明随着 Fe²⁺ 添加量的增加,猪粪中重金属的去除率呈上升趋势,其中,4 g·L⁻¹ Fe²⁺+2 g·L⁻¹ S⁰ + 接种嗜酸性硫杆菌的处理效果最好,沥浸结束后对 Cu 和 Zn 的去除率分别达到了 87.3% 和 91.9%,重金属 Zn 先于 Cu 从猪粪中溶出。生物淋滤后猪粪中重金属的含量大幅度降低,含量低于污泥农用时污染物控制标准限值(GB 4284—1984),能够进行土地利用^[106]。

6 总结与建议

超量使用四环素类抗生素和重金属是导致畜禽粪便中抗生素和重金属污染的根本原因。本文对我国不同地区畜禽粪便中残留的四环素类抗生素和重金属元素及其地区分布特征做了分析总结,并概述了这两类物质在畜禽粪便生物处理过程中的降解及转化

方式。四环素类抗生素和重金属可能在特定环境下形成络合物,给后续的生物处理过程和周边环境带来更加复杂的影响。此外,由抗生素滥用引发的耐药菌及抗性基因已被定义为新的环境污染物并逐步受到人们的关注,但目前我国有关这些污染物控制方面的研究还很欠缺。因此,今后研究重点可能如下:

(1)深入开展畜禽粪便中抗生素和重金属的复合污染及其控制研究,包括复合污染特征、复合污染效应、基于源头—过程—末端协同控制的复合污染控制技术与措施。

(2)重视畜禽粪便中抗生素和重金属复合污染导致的抗性基因与耐药菌污染及其控制研究。

(3)在管理层面,应建立和完善相应的法律法规,从源头上减少抗生素与重金属用量,使畜禽养殖业中饲料添加剂的应用规范化、监管标准化。

(4)大力推广畜禽粪便的生物处理与资源化技术,如堆肥技术和厌氧消化技术,在满足其对畜禽粪便中常规污染物处理效果的同时,优化工艺参数,提高抗生素和重金属及其抗性基因等的消减效果。

参考文献:

- [1] 张慧敏,章明奎,顾国平. 浙北地区畜禽粪便和田间土壤中四环素类抗生素残留[J]. 生态与农村环境学报, 2008, 24(3): 69-73.
ZHANG Hui-min, ZHANG Ming-kui, GU Guo-ping. Residues of tetracyclines in livestock and poultry manures and agricultural soils from North Zhejiang Province[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2008, 24(3): 69-73.
- [2] 周启星,罗 义,王美娥. 抗生素的环境残留、生态毒性及抗性基因污染[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(3): 243-251.
ZHOU Qi-xing, LUO Yi, WANG Mei-e. Environmental residues and ecotoxicity of antibiotics and their resistance gene pollution: A review[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2007, 2(3): 243-251.
- [3] Koike S, Krapac I, Oliver H, et al. Monitoring and source tracking of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater adjacent to swine production facilities over a 3-year period[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(15): 4813.
- [4] 魏建英,张 然,丁 胜,等. 抗生素类饲料添加剂在畜牧业中的应用[J]. 内蒙古农业科技, 2004(4): 52-53.
WEI Jian-ying, ZHANG Ran, DING Sheng, et al. Application of antibiotics as feed additive in livestock industries[J]. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*, 2004(4): 52-53.
- [5] 阮存鑫. 四环素与铜复合污染对土壤硝化作用及植物生长的影响[D]. 南京:南京林业大学, 2010.
RUAN Cun-xing. Effect of combined pollution of tetracycline and copper on soil nitrification and plant grow[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2010.
- [6] Heilig S, Lee P, Breslow L. Curtailing antibiotic use in agriculture: It is time for action; This use contributes to bacterial resistance in humans[J]. *Western Journal of Medicine*, 2002, 176(1): 9.

- [7] Wollenberger L, Halling-Sørensen B, Kusk K O. Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*[J]. *Chemosphere*, 2000, 40(7):723-730.
- [8] Hirsch R, Ternes T, Haberer K, et al. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment[J]. *Science of the Total Environment*, 1999, 225(1):109-118.
- [9] Zhao L, Dong Y H, Wang H. Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2010, 408(5):1069-1075.
- [10] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A. 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.
- [11] 陈育枝, 张元元, 袁希平, 等. 动物四环素类抗生素现状及前景[J]. 兽药与饲料添加剂, 2006, 11(3):16-17.
CHEN Yu-zhi, ZHANG Yuan-yuan, YUAN Xi-ping, et al. Application and perspective of tetracyclines in animal industries[J]. *Veterinary Pharmaceuticals & Feed Additives*, 2006, 11(3):16-17.
- [12] 李兆君, 姚志鹏, 张杰, 等. 兽用抗生素在土壤环境中的行为及其生态毒理效应研究进展[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(1):15-20.
LI Zhao-jun, YAO Zhi-peng, ZHANG Jie, et al. A Review on fate and ecological toxicity of veterinary antibiotics in soil environments[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(1):15-20.
- [13] 李瑞萍, 张艺, 黄应平. 环境样品中四环素类抗生素的检测技术[J]. 化学进展, 2008, 20(12):2075-2082.
LI Rui-ping, ZHANG Yi, HUANG Ying-ping. Determination of tetracycline antibiotics in the environmental samples[J]. *Progress in Chemistry*, 2008, 20(12):2075-2082.
- [14] Chen W R, Huang C H. Transformation of tetracyclines mediated by Mn(II) and Cu(II) ions in the presence of oxygen[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(2):401-407.
- [15] Nelson M L. Chemical and biological dynamics of tetracyclines[J]. *Adv Dent Res*, 1998, 12:5-11.
- [16] Albert A, Rees C W. Avidity of the tetracyclines for the cations of metals[J]. *Nature*, 1956, 177(4505):433-434.
- [17] Doluisio J T, Martin A N. Metal complexation of tetracycline hydrochlorides[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1963, 6(1):16-22.
- [18] Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment[J]. *Ecological Indicators*, 2008, 8(1):1-13.
- [19] Donoho A. Biochemical studies on the fate of monensin in animals and in the environment[J]. *Journal of Animal Science*, 1984, 58(6):1528.
- [20] Elmund G K, Morrison S, Grant D, et al. Role of excreted chlortetracycline in modifying the decomposition process in feedlot waste[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1971, 6(2):129-132.
- [21] Bound J, Voulvoulis N. Pharmaceuticals in the aquatic environment—a comparison of risk assessment strategies[J]. *Chemosphere*, 2004, 56(11):1143-1155.
- [22] Heberer T. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: A review of recent research data[J]. *Toxicology Letters*, 2002, 131(1):5-17.
- [23] 沈颖, 魏源送, 郑嘉嘉, 等. 猪粪中四环素类抗生素残留物的生物降解[J]. 过程工程学报, 2009, 9(5):962-968.
SHEN Ying, WEI Yuan-song, ZHENG Jia-xi, et al. Biological degradation of tetracyclines antibiotics residues in swine manure[J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2009, 9(5):962-968.
- [24] 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.
- [25] 沈颖. 集约化养猪猪粪中四环素类抗生素残留及其堆肥去除的研究[D]. 北京: 中国科学院生态环境研究中心, 2009.
SHEN Ying. Tetracycline antibiotics in swine manure of concentrated animal feeding operations: Residues and removal by composting[D]. Beijing: Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, 2009.
- [26] 胡献刚, 罗义, 周启星, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定畜牧粪便中13种抗生素药物残留[J]. 分析化学, 2008, 36(9):1162-1166.
HU Xian-gang, LUO Yi, ZHOU Qi-xing, et al. Determination of thirteen antibiotics residues in manure by solid phase extraction and high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2008, 36(9):1162-1166.
- [27] Zilles J T S, Jindal A, Robert M, et al. Presence of macrolide-lincosamide-streptogramin B and tetracycline antimicrobials in swine waste treatment processes and amended soil[J]. *Water Environment Research*, 2005, 77(1):57-62.
- [28] Barber R, Braude R, Mitchell K. Antibiotic and copper supplements for fattening pigs[J]. *Br J Nutr*, 1955, 9:378-381.
- [29] 贡娇娜. 猪场内外环境中抗铜肠细菌及其抗性基因的研究[D]. 昆明: 云南大学, 2010.
GONG Jiao-na. Research on copper resistant enteric bacteria and resistance gene around swine farm[D]. Kunming: Yunnan University, 2010.
- [30] Yan-Xia L, Wei L, Juan W, et al. Contribution of additives Cu to its accumulation in pig feces: Study in Beijing and Fuxin of China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19:610-615.
- [31] 王幼明, 王小龙. 高铜的应用对畜禽的慢性中毒作用及对环境生态的影响[J]. 中国兽医杂志, 2001, 37(6):36-38.
WANG You-ming, WANG Xiao-long. Application of high level copper for chronic poisoning effect on livestock and poultry and ecological environment[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2001, 37(6):36-38.
- [32] 董占荣, 陈一定, 林咸永, 等. 杭州市郊规模化养殖场猪粪的重金属含量及其形态[J]. 浙江农业学报, 2008, 20(1):35-39.
DONG Zhan-rong, CHEN Yi-ding, LIN Xian-yong, et al. Investigation on the contents and fractionation of heavy metals in swine manures from intensive livestock farms in the suburb of Hangzhou[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2008, 20(1):35-39.
- [33] CANG L, WANG Y J, ZHOU D M, et al. Heavy metals pollution in poultry and livestock feeds and manures under intensive farming in Jiangsu Province, China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2004, 16(3):371-374.
- [34] Jia D A, Zhou D M, Wang Y J, et al. Adsorption and cosorption of Cu(II) and tetracycline on two soils with different characteristics[J]. *Geoderma*, 2008, 146(1-2):224-230.

- [35] 张雨梅. 畜禽养殖废弃物中有机磷残留对环境的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(3):224-228.
ZHANG Yu-mei. Effects of organoarsenic compounds in animal manures on environment[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(3):224-228.
- [36] Garbarino J R, Bednar A J, Rutherford D W, et al. Environmental fate of roxarsone in poultry litter:I. Degradation of roxarsone during composting[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(8):1509-1514.
- [37] Li Y, Chen T. Concentrations of additive arsenic in Beijing pig feeds and the residues in pig manure[J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2005, 45(4):356-367.
- [38] Rutherford D, Bednar A, Garbarino J, et al. Environmental fate of roxarsone in poultry litter:Part II. Mobility of arsenic in soils amended with poultry litter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(8):1515-1520.
- [39] 袁 慧, 陈竞峰. 畜禽配合饲料中砷的污染量及其分析报告[J]. 湖南饲料, 2000(3):2-3.
YUAN Hui, CHEN Jing-feng. The analysis report on contamination level of arsenic in livestock and poultry feed[J]. *Hunan Feed*, 2000(3):2-3.
- [40] 孙 歆, 韦朝阳, 王五一. 土壤中砷的形态分析和生物有效性研究进展[J]. 地球科学进展, 2006, 21(6):625-631.
SUN Xin, WEI Chao-yang, WANG Wu-yi. The research progress on arsenic species analysis and its bioavailability[J]. *Advances in Earth Science*, 2006, 21(6):625-631.
- [41] 曾希柏, 李莲芳, 白玲玉, 等. 山东寿光农业利用方式对土壤砷累积的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(2):310-316.
ZENG Xi-bai, LI Lian-fang, BAI Ling-yu, et al. Arsenic accumulation in different agricultural soils in Shouguang of Shandong Province[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(2):310-316.
- [42] 和秋红, 曾希柏. 土壤中砷的形态转化及其分析方法 [J]. 应用生态学报, 2008, 19(12):2763-2768.
HE Qiu-hong, ZENG Xi-bai. Form transformation of arsenic in soil and corresponding analyzing methods[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(12):2763-2768.
- [43] 王志武, 孙建钢, 孙锐峰, 等. 微量元素锌的生物学功能及其应用进展[J]. 饲料研究, 2006(8):12-16.
WANG Zhi-wu, SUN Jian-gang, SUN Yue-feng, et al. The biological function of zinc and its application progress[J]. *Feed Research*, 2006(8):12-16.
- [44] 邢廷铤. 研究和应用环保型饲料是未来饲料工业发展的必然趋势[J]. 饲料工业, 2005, 26(11):1-5.
XING Ting-xi. Research and application of green feed is the inevitable trend of future development of feed industry[J]. *Feed Industry*, 2005, 26(11):1-5.
- [45] 游金明, 瞿明仁, 张宏福. 猪饲料中必需微量元素的盈亏对养猪生产的影响[J]. 中国饲料, 2003, 8:16-17.
YOU Jin-ming, ZHAI Ming-ren, ZHANG Hong-fu. The effect of sufficiency or lack about essential trace elements in swine feed on swine industry[J]. *Chinese Feed*, 2003, 8:16-17.
- [46] 彭来真. 畜禽粪便中铜、锌、砷在土壤-蔬菜系统的迁移和富集[D]. 福州:福建农林大学, 2007.
PENG Lai-zhen. Move and concentrate of copper, zinc, arsenic in the livestock and poultry excrement in the soil-vegetable system [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2007.
- [47] 刘荣乐, 李书田, 王秀斌, 等. 我国商品有机肥料和有机废弃物中重金属的含量状况与分析[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(2):392-397.
LIU Rong-le, LI Shu-tian, WANG Xiu-bin, et al. The situation and analysis on heavy metal content of commercial organic fertilizers and organic waste in China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(2):392-397.
- [48] 田野, 刘善江, 马 良, 等. 有机肥料中重金属测定综述[J]. 中国农学通报, 2011, 27(7):16-21.
TIAN Ye, LIU Shan-jiang, MA Liang, et al. Determination summary of heavy metals in organic fertilizer[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27(7):16-21.
- [49] Henry C, Harrison R. Fate of trace metals in sewage sludge compost [M]. *Biogeochemistry of Trace Metals*, Adriano, D. C., 1992, (ISBN 08-737-15233.):195-216.
- [50] 王 朋. 抗生素及其与重金属复合污染的玉米吸收和毒性研究[D]. 北京:中国科学院生态环境研究中心, 2010.
WANG Peng. Maize (*Zea mays* L.) uptake and toxicity of antibiotics and antibiotic-heavy metal complexes[D]. Beijing: Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, 2010.
- [51] 周启星, 程 云, 张倩茹, 等. 复合污染生态毒理效应的定量关系分析[J]. 中国科学:C 辑, 2003, 33(6):566-573.
ZHOU Qi-xing, CHENG Yun, ZHANG Qian-ru, et al. The quantitative relationship analysis on the ecotoxicological effects of combined pollution[J]. *Science in China: Series C*, 2003, 33(6):566-573.
- [52] 何勇田, 熊先哲. 复合污染研究进展[J]. 环境科学, 1994, 15(6):79-83.
HE Yong-tian, XIONG Xian-zhe. Research progress on combined pollution[J]. *Chinese Journal of Environmental Science*, 1994, 15(6):79-83.
- [53] Turel I. The interactions of metal ions with quinolone antibacterial agents[J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2002, 232(1):27-47.
- [54] López-Gresa M, Ortiz R, Perello L, et al. Interactions of metal ions with two quinolone antimicrobial agents (cinoxacin and ciprofloxacin): Spectroscopic and X-ray structural characterization. Antibacterial studies[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2002, 92(1):65-74.
- [55] Wallis S C, Gahan L R, Charles B G, et al. Copper(II) complexes of the fluoroquinolone antimicrobial ciprofloxacin. Synthesis, X-ray structural characterization, and potentiometric study[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 1996, 62(1):1-16.
- [56] 文美琼, 高云涛, 罗永刚, 等. 四环素-铜(II)配合物与DNA相互作用的吸收光谱研究[J]. 感光科学与光化学, 2005, 23(1):71-78.
WEN Mei-qiong, GAO Yun-tao, LUO Yong-gang, et al. Absorption spectra research on the interaction between tetracycline, Cu(II) complex and DNA[J]. *Photographic Science and Photochemistry*, 2005, 23(1):71-78.
- [57] 孙建平. 抗生素与重金属对猪场废水厌氧消化的抑制效应及其调控对策[D]. 杭州:浙江大学, 2009.
SUN Jian-ping. Inhibitory effect of antibiotics and heavy metals on anaerobic digestion of piggery wastewater and its control strategy[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2009.
- [58] Kong W D, Zhu Y G, Fu B J, et al. The veterinary antibiotic oxytetracy-

- cline and Cu influence functional diversity of the soil microbial community[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 143(1): 129–137.
- [59] 季秀玲, 魏云林, 林连兵. 细菌抗生素和重金属协同选择抗性机制研究进展[J]. *生物技术通报*, 2010(5): 65–69.
- JI Xiu-ling, WEI Yun-lin, LIN Lian-bing. Research advances on co-selection resistant mechanisms of antibiotic and heavy metals resistance in bacteria[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2010(5): 65–69.
- [60] 李彬辉, 许燕滨, 赵欣欣, 等. 养殖废水中抗生素与重金属交叉抗性微生物的筛选及其抗性研究[J]. *中国农学通报*, 2012, 28(11): 103–107.
- LI Bin-hui, XU Yan-bin, ZHAO Xin-xin, et al. Screening on resistance strains of antibiotic and heavy metal from breeding wastewater and its resistance research [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28(11): 103–107.
- [61] Akinbowale O L, Peng H, Grant P, et al. Antibiotic and heavy metal resistance in motile aeromonads and pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2007, 30(2): 177–182.
- [62] Parkhill J, Dougan G, James K, et al. Complete genome sequence of a multiple drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18[J]. *Nature*, 2001, 413(6858): 848–852.
- [63] 吴晓凤. 猪粪生物处理过程中残留四环素类抗生素与重金属铜的迁移转化[D]. 北京: 中国科学院生态环境研究中心, 2011.
- WU Xiao-feng. The behavior of residual tetracyclines and Cu during the biological treatment of swine manure[D]. Beijing: Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, 2011.
- [64] Arikan O A, Sikora L J, Mulbry W, et al. Composting rapidly reduces levels of extractable oxytetracycline in manure from therapeutically treated beef calves[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(1): 169–176.
- [65] Bao Y, Zhou Q, Guan L, et al. Depletion of chlortetracycline during composting of aged and spiked manures[J]. *Waste Management*, 2009, 29(4): 1416–1423.
- [66] Ramaswamy J, Prasher S O, Patel R M, et al. The effect of composting on the degradation of a veterinary pharmaceutical[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(7): 2294–2299.
- [67] Kakimoto T, Osawa T, Funamizu N. Antibiotic effect of amoxicillin on the feces composting process and reactivation of bacteria by intermittent feeding of feces[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98: 3555–3560.
- [68] Kakimoto T, Funamizu N. Factors affecting the degradation of amoxicillin in composting toilet[J]. *Chemosphere*, 2007, 66(11): 2219–2224.
- [69] Dolliver H, Gupta S, Noll S. Antibiotic degradation during manure composting[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2008, 37(3): 1245–1253.
- [70] Wu X, Wei Y, Zheng J, et al. The behavior of tetracyclines and their degradation products during swine manure composting[J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(10): 5924–5931.
- [71] Jia A, Xiao Y, Hu J Y, et al. Simultaneous determination of tetracyclines and their degradation products in environmental waters by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216(22): 4655–4662.
- [72] Søborg T, Ingerslev F, Halling–Sørensen B. Chemical stability of chlortetracycline and chlortetracycline degradation products and epimers in soil interstitial water[J]. *Chemosphere*, 2004, 57(10): 1515–1524.
- [73] Halling–Sørensen B, Lykkeberg A, Ingerslev F, et al. Characterisation of the abiotic degradation pathways of oxytetracyclines in soil interstitial water using LC–MS–MS[J]. *Chemosphere*, 2003, 50(10): 1331–1342.
- [74] Sanderson H, Ingerslev F, Brain R A, et al. Dissipation of oxytetracycline, chlortetracycline, tetracycline and doxycycline using HPLC–UV and LC/MS/MS under aquatic semi–field microcosm conditions [J]. *Chemosphere*, 2005, 60(5): 619–629.
- [75] Loke M–L, Jespersen S, Vreeken R, et al. Determination of oxytetracycline and its degradation products by high–performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry in manure–containing anaerobic test systems[J]. *Journal of Chromatography B*, 2003, 783(1): 11–23.
- [76] Halling–Sørensen B, Sengelov G, Tjornelund J. Toxicity of tetracyclines and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline–resistant bacteria[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2002, 42(3): 263–271.
- [77] Sarmah A K, Meyer M T, Boxall A B A. 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.
- [78] Wang Q Q, Yates S R. Laboratory study of oxytetracycline degradation kinetics in animal manure and soil[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(5): 1683–1688.
- [79] Arikan O A, Mulbry W, Rice C. Management of antibiotic residues from agricultural sources: Use of composting to reduce chlortetracycline residues in beef manure from treated animals[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164(2–3): 483–489.
- [80] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 高温堆肥对畜禽粪中抗生素降解和重金属钝化的作用[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(2): 337–343.
- ZHANG Shu-qing, ZHANG Fu-dao, LIU Xiu-mei, et al. Degradation of antibiotics and passivation of heavy metals during thermophilic composting process[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(2): 337–343.
- [81] Sanz J L, Rodriguez N, Amils R. The action of antibiotics on the anaerobic digestion process[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1996, 46(5–6): 587–592.
- [82] Garter S, Urich E, Alexy R, et al. Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes[J]. *Chemosphere*, 2007, 66(10): 1839–1848.
- [83] Alvarez J A, Otero L, Lema J M, et al. The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(22): 8581–8586.
- [84] Arikan O A, Sikora L J, Mulbry W, et al. The fate and effect of oxytetracycline during the anaerobic digestion of manure from therapeutically treated calves[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41(7): 1637–1643.
- [85] Loftin K A, Henny C, Adams C D, et al. Inhibition of microbial metabolism in anaerobic lagoons by selected sulfonamides, tetracyclines, lincomycin, and tylosin tartrate[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(4): 782–788.
- [86] Lallai A, Mura G, Onnis N. The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry[J]. *Bioresource Technology*, 2002, 82(2): 205–208.
- [87] Kuhne M, Ihnen D, Moller G, et al. Stability of tetracycline in water and liquid manure[J]. *Journal of Veterinary Medicine Series a–Physiology Pathology Clinical Medicine*, 2000, 47(6): 379–384.

- [88] Arkan O A. Degradation and metabolization of chlortetracycline during the anaerobic digestion of manure from medicated calves[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 158(2-3):485-490.
- [89] Eneji A E, Honna T, Yamamoto S, et al. The relationship between total and available heavy metals in composted manure[J]. *Journal of Sustainable Agriculture*, 2003, 23(1):125-134.
- [90] Albores A F, Cid B P, Gomez E F, et al. Comparison between sequential extraction procedures and single extractions for metal partitioning in sewage sludge samples[J]. *Analyst*, 2000, 125(7):1353-1357.
- [91] Kunito T, Saeki K, Goto S, et al. Copper and zinc fractions affecting microorganisms in long-term sludge-amended soils[J]. *Bioresource Technology*, 2001, 79(2):135-146.
- [92] 刘浩荣, 宋海星, 荣湘民, 等. 钝化剂对好氧高温堆肥处理猪粪重金属含量及形态的影响[J]. *生态与农村环境学报*, 2008, 24(3):74-80.
- LIU Hao-rong, SONG Hai-xing, RONG Xiang-min, et al. Effect of heavy metal passivator on concentrations and forms of heavy metals in pig manure composted aerobically under high temperature[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2008, 24(3):74-80.
- [93] 郑国砥, 陈同斌, 高定, 等. 好氧高温堆肥处理对猪粪中重金属形态的影响[J]. *中国环境科学*, 2005, 25(1):6-9.
- ZHENG Guo-di, CHEN Tong-bin, GAO Ding, et al. Influence of high temperature aerobic composting treatment on the form of heavy metals in pig manure[J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(1):6-9.
- [94] Hsu J H, Lo S L. Effect of composting on characterization and leaching of copper, manganese, and zinc from swine manure[J]. *Environmental Pollution*, 2001, 114(1):119-127.
- [95] 何增明, 刘强, 谢桂先, 等. 好氧高温猪粪堆肥中重金属砷、铜、锌的形态变化及钝化剂的影响[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(10):2659-2665.
- HE Zeng-ming, LIU Qiang, XIE Gui-xian, et al. Changes of heavy metals form during aerobic high temperature composting of pig manure and the effects of passivators[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(10):2659-2665.
- [96] Chen Y, Cheng J J, Creamer K S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review[J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(10):4044-4064.
- [97] Takashima M, Shimada K, Speece R E. Minimum requirements for trace metals (Iron, Nickel, Cobalt, and Zinc) in thermophilic and mesophilic methane fermentation from glucose [J]. *Water Environment Research*, 2011, 83(4):339-346.
- [98] 金仁村, 黄冠男, 沈李东. 厌氧消化工艺的金属抑制现象[J]. *环境污染与防治*, 2010, 32(1):78-84.
- JIN Ren-cun, HUANG Guan-nan, SHEN Li-dong. Metal inhibition on anaerobic digestion[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2010, 32(1):78-84.
- [99] 郁建栓. 浅谈重金属对生物毒性效应的分子机理[J]. *环境污染与防治*, 1996, 18(4):28-31.
- YU Jian-shuan. Discussion on the molecular mechanism of heavy metals biological toxicity effect[J]. *Environmental Pollution & Control*, 1996, 18(4):28-31.
- [100] Zayed G, Winter J. Inhibition of methane production from whey by heavy metals-protective effect of sulfide[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2000, 53:726-731.
- [101] Hickey R F, Vanderwielen J, Switzenbaum M S. The effect of heavy metals on methane production and hydrogen and carbon monoxide levels during batch anaerobic sludge digestion[J]. *Water Res*, 1989, 23(2):207-218.
- [102] Couillard D, Mercier G. Optimum residence time (in CSTR and airlift reactor) for bacterial leaching of metals from anaerobic sewage sludge [J]. *Water Res*, 1991, 25(2):211-218.
- [103] Brooks C S, Brooks P L, Hansen G, et al. Metal recovery from industrial waste[M]. Michigan: Lewis Publishers, 1991.
- [104] Torma A E. Biotechnology applied to mining of metals[J]. *Biotechnology Advances*, 1983, 1(1):73-80.
- [105] 周顺桂, 周立祥, 黄焕忠. 生物淋滤技术在去除污泥中重金属的应用[J]. *生态学报*, 2002, 22(1):125-133.
- ZHOU Shun-gui, ZHOU Li-xiang, HUANG Huan-zhong. Removal of heavy metals from sewage sludge by bioleaching[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(1):125-133.
- [106] 周俊, 王电站, 刘奋武, 等. 生物沥浸法去除猪粪中重金属和提高其脱水性能研究[J]. *环境科学学报*, 2011, 31(2):388-394.
- ZHOU Jun, WANG Dian-zhan, LIU Fen-wu, et al. Removal of heavy metals and dewaterability of pig slurry facilitated by bioleaching[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, 31(2):388-394.
- [107] 单英杰, 章明奎. 不同来源畜禽粪的养分和污染物组成[J]. *中国生态农业学报*, 2012, 20(1):80-86.
- SHAN Ying-jie, ZHANG Ming-kui. Contents of nutrient elements and pollutants in different sources of animal manures[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20(1):80-86.
- [108] Nicholson F, Chambers B, Williams J, et al. Heavy metal contents of livestock feeds and animal manures in England and Wales[J]. *Bioresour Technol*, 1999, 70(1):23-31.
- [109] Xiong X, Li Y X, Li W, et al. Copper content in animal manures and potential risk of soil copper pollution with animal manure use in agriculture[J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2010, 54(11):985-990.
- [110] 姚丽贤, 黄连喜, 蒋宗勇, 等. 动物饲料中砷、铜和锌调查及分析[J]. *环境科学*, 2013, 34(2):732-739.
- YAO Li-xian, HUANG Lian-xi, JIANG Zong-yong, et al. Investigation of As, Cu and Zn species and concentrations in animal feeds[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(2):732-739.
- [111] Sanz J, Rodriguez N, Amils R. The action of antibiotics on the anaerobic digestion process[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1996, 46(5):587-592.
- [112] Lallai A, Mura G, Onnis N. The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry[J]. *Bioresour Technol*, 2002, 82(2):205-208.
- [113] Loftin K A, Henny C, Adams C D, et al. Inhibition of microbial metabolism in anaerobic lagoons by selected sulfonamides, tetracyclines, lincomycin, and tylosin tartrate[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2009, 24(4):782-788.
- [114] Stone J J, Clay S A, Zhu Z, et al. Effect of antimicrobial compounds tylosin and chlortetracycline during batch anaerobic swine manure digestion[J]. *Water Res*, 2009, 43(18):4740-4750.
- [115] Ivarez J, Otero L, Lema J, et al. The effect and fate of antibiotics during the anaerobic digestion of pig manure[J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(22):8581-8586.