

多种抗生素对畜禽废水厌氧消化的联合抑制

孙建平^{1,2}, 郑平^{1*}, 胡宝兰¹

(1. 浙江大学环境工程系, 杭州 310029; 2. 浙江树人大学生物与环境工程学院, 杭州 310015)

摘要:为研究各种抗生素组合对猪场废水厌氧发酵的影响以及各种抗生素之间的相互作用关系, 根据正交试验方案, 通过分批培养, 对阿莫西林、金霉素、磺胺二甲基氧、氟苯尼考4种抗生素的联合抑制作用进行了研究. 结果表明, 阿莫西林 210 mg/L、金霉素 10 mg/L、磺胺二甲基氧 210 mg/L、氟苯尼考 130 mg/L 的组合对产甲烷的抑制率为 87.8%, 而4种抗生素浓度均为 10 mg/L 的组合对产甲烷速率不但没有抑制影响, 反而有促进作用. 4种抗生素对产甲烷抑制作用的显著性依次为: 金霉素 > 阿莫西林 > 氟苯尼考 > 磺胺二甲基氧. 4种抗生素两两之间呈现不同的互作类型, 除氟苯尼考和磺胺二甲基氧、氟苯尼考和阿莫西林呈现相关加关系外, 其余2种抗生素之间均表现为拮抗关系.

关键词: 抗生素; 厌氧消化; 抑制率; 显著性; 一级互作

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)09-2619-06

Combined Effect of Antibiotics on Anaerobic Digestion of Piggery Wastewater

SUN Jian-ping^{1,2}, ZHENG Ping¹, HU Bao-lan¹

(1. Department of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China)

Abstract: In order to investigate the combined effects of antibiotics on anaerobic digestion of piggery wastewater, batch tests based on orthogonal test were adopted. Amoxicillin, aureomycin, sulfadimethoxine, florfenicol which are the most common antibiotics used in the prevention and treatment of pig diseases were chosen in the experiment. The results showed that the methane production rate was affected most by the combination of 130 mg/L of florfenicol, 210 mg/L of amoxicillin, 10 mg/L doxycycline and 210 mg/L sulfadimethoxine and the inhibitory effect on maximum methane production rate amounted to 87.8%. No inhibitory effect but stimulus was observed on anaerobic digestion in the presence of florfenicol, amoxicillin, aureomycin, sulfadimethoxine with 10 mg/L. The significance of the inhibitory effect of the selected antibiotics was in an order of aureomycin, amoxicillin, florfenicol and sulfadimethoxine ($p > 0.005$). Different kinds of first-order interactions between either two antibiotics were concluded from the experiment. Except that florfenicol was in a additivity relationship with amoxicillin and sulfadimethoxine the interaction in other antibiotics was antagonistic.

Key words: antibiotics; anaerobic digestion; inhibitory rate; significance; first-order interaction

我国已连续多年保持禽肉、猪肉、鸡蛋产量世界第一^[1,2]. 由此所致的畜禽养殖废水污染问题也日益严重. 针对这类废水, 国内外开发了许多行之有效的工艺^[3~6]. 在现行的众多废水处理工艺中, 厌氧处理技术因能耗低、运行维护简单、可产生沼气等而成为畜禽养殖场废水处理的主要技术. 但是, 许多养猪场废水的厌氧处理效果都不理想, 饲料添加剂的过度使用, 导致畜禽养殖废水含有重金属、抗生素、消毒剂等物质, 是造成厌氧处理过程产生障碍的重要原因之一^[7~14]. 对于单一抗生素的抑制作用, 许多学者进行了研究. Varel 等^[15]发现, 喂食莫能霉素的养牛场废物的甲烷产生速率比没有喂食莫能霉素的降低 20% 左右. Poels 等^[16]及 Fischer 等^[17]测定了多种抗生素对厌氧污泥活性的影响, 发现林肯霉素降低厌氧污泥活性最明显. 据 Massé 等^[18]报道, 青霉素和四环素可分别抑制厌氧污泥活性, 使猪场废水厌氧消化的产甲烷速率降低 35% 和 25%. 但是在规模化养

殖过程中, 通常是多种不同类型的抗生素联合使用, 对于多种抗生素对猪场废水厌氧发酵的联合抑制作用, 以及各种抗生素在联合使用时表现出何种相互作用类型, 迄今为止报道不多. 本试验以猪场废水为基质, 通过正交试验, 探究阿莫西林、金霉素、磺胺二甲基氧、氟苯尼考对厌氧消化的联合抑制作用, 同时阐明抗生素之间的相互作用类型, 为合理使用抗生素, 排除抗生素对厌氧生物处理的障碍, 以保证厌氧生物处理工程的正常运行提供有利的理论依据.

1 材料与方法

1.1 化学药剂

氟苯尼考和金霉素为兽用注射针剂, 浓度别为

收稿日期: 2008-10-20; 修订日期: 2009-01-04

基金项目: 浙江省科技厅重大科技攻关项目(2005C13004)

作者简介: 孙建平(1971~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为废水生物处理技术, E-mail: jianpingsun@163.com

* 通讯联系人, E-mail: pzhang@zju.edu.cn

1 g/10 mL 和 500 mg/10 mL,产于天津市保龄动物保健品有限公司;阿莫西林为粉剂,产于杭州杭江动物药品厂;磺胺二甲基氧(SM₂)为兽用针剂,浓度为 1 g/10 mL,产于江西博莱大药厂.

1.2 试验装置

发酵试验采用 150mL 血清瓶,有效容积 100 mL.瓶口用橡胶塞密封,橡胶塞上设置导管,将产生的气体引入刻度试管,刻度试管中充满 5% NaOH 溶液,以吸收气体中的 CO₂,计量气体中的 CH₄. 试验装置如图 1 所示.

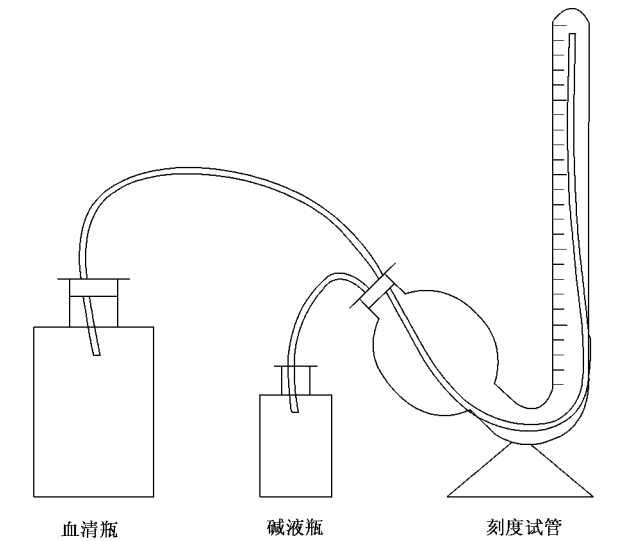


图 1 试验装置
Fig.1 Fermentation vessel

1.3 基质和污泥

猪场废水取自杭州某养猪场,废水取回后用 Lovibond PC-53565 型 COD 测定仪以及安捷伦 1200 型液相色谱仪测定了废水的 COD 浓度及所选抗生素的浓度,结果见表 1.接种污泥取自该养猪场厌氧处理装置,TCOD 为 36.8 g/L,TSS 为 37.8 g/L,VSS 为 31.5 g/L,VSS/TSS 为 0.833.为了消除残留基质对试验的影响,厌氧污泥用生理盐水清洗 3 次,取 15mL 分装至每个血清瓶中.试验前,将装有接种污泥的血清瓶放入 30℃恒温室预培养 1 d.

表 1 猪场废水成分/mg•L⁻¹

Table 1 Components of piggery wastewater/mg•L ⁻¹				
COD	阿莫西林	金霉素	氟苯尼考	磺胺二甲基氧
6 100	15	65	25	20

1.4 试验方法

为考察抗生素阿莫西林、金霉素、磺胺二甲基氧(SM₂)、氟苯尼考对厌氧消化过程的联合抑制,按 L₂₅

(5⁶)正交表进行 4 因素 5 水平的正交实验.根据废水中所选抗生素浓度确定试验因素和水平及试验组合,见表 2、表 3,试验分 25 组,每组采用 3 个平行,同时设置 1 组空白试验作为对照,编为 0 号.

表 2 正交试验因素及水平表/mg•L⁻¹

水平	因素			
	阿莫西林	金霉素	SM ₂	氟苯尼考
1	10.0	10.0	10.0	10.0
2	30.0	30.0	30.0	30.0
3	70.0	70.0	70.0	70.0
4	130.0	130.0	130.0	130.0
5	210.0	210.0	210.0	210.0

表 3 L₂₅(5⁶)正交试验表¹⁾

试验号	列号					
	A	B	C	D	e ₁	e ₂
1	1	1	1	1	1	1
2	1	2	2	2	2	2
3	1	3	3	3	3	3
4	1	4	4	4	4	4
5	1	5	5	5	5	5
6	2	1	2	3	4	5
7	2	2	3	4	5	1
8	2	3	4	5	1	2
9	2	4	5	1	2	3
10	2	5	1	2	3	4
11	3	1	3	5	2	4
12	3	2	4	1	3	5
13	3	3	5	2	4	1
14	3	4	1	3	5	2
15	3	5	2	4	1	3
16	4	1	4	2	5	3
17	4	2	5	3	1	4
18	4	3	1	4	2	5
19	4	4	2	5	3	1
20	4	5	3	1	4	2
21	5	1	5	4	3	2
22	5	2	1	5	4	3
23	5	3	2	1	5	4
24	5	4	3	2	1	5
25	5	5	4	3	2	1

1)其中 A、B、C、D 分别为阿莫西林、金霉素、磺胺二甲基氧和氟苯尼考,e₁ 和 e₂ 为误差列

2 结果与分析

2.1 厌氧消化产气性能

设置 3 组平行试验,每组试验包括空白组 0 号及正交试验 25 组(1~25 号).各反应瓶有效容积 100 mL,取 3 组平行试验的平均值作为厌氧反应的容积产气量,结果见表 4.

表 4 不同反应瓶的累计容积产气量/mL

Table 4 Accumulated methane production in each reaction bottle/mL

实验 组号	反应时间/d														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
0	9.0	41.0	55.0	66.2	82.7	101.7	112.7	112.7	113.7	113.7	113.7	113.7	113.7	113.7	113.7
1	12.5	44.2	59.2	73.7	87.9	100.9	109.9	109.9	110.9	116.9	121.9	125.9	128.4	131.9	133.2
2	9.5	42.5	65.5	75.0	87.2	101.2	113.7	113.7	114.2	116.2	119.2	123.2	126.2	129.2	131.2
3	8.0	38.0	43.0	45.7	46.2	48.7	48.7	48.7	48.7	48.7	48.7	48.7	48.7	48.7	48.7
4	4.5	14.0	34.5	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0	37.0
5	6.0	16.0	41.0	41.5	41.5	41.7	41.7	41.7	41.7	41.7	41.7	41.7	41.7	41.7	41.7
6	10.5	42.7	51.7	67.2	83.7	95.7	102.7	102.7	102.7	102.7	102.7	102.7	102.7	102.7	102.7
7	5.5	38.5	45.0	46.0	46.0	46.5	46.5	46.5	46.5	46.5	46.5	46.5	46.5	46.5	46.5
8	5.5	20.5	44.0	46.5	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0	48.0
9	6.2	16.7	45.2	47.2	47.2	49.7	50.7	50.7	50.7	50.7	50.7	50.7	50.7	50.7	50.7
10	3.7	27.2	62.7	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3	65.3
11	11.0	44.2	47.7	47.9	47.9	47.9	47.9	47.9	47.9	47.9	47.9	47.9	47.9	47.9	47.9
12	9.5	34.6	58.1	60.3	66.5	66.5	66.5	66.5	66.5	66.5	66.5	66.5	66.5	66.5	66.5
13	5.5	15.0	42.0	47.3	47.3	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5	47.5
14	3.5	20.1	42.6	48.1	49.1	49.3	49.3	49.3	49.3	49.3	49.3	49.3	49.3	49.3	49.3
15	6.5	14.0	38.0	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2
16	8.5	35.2	71.2	79.9	91.6	104.1	115.2	115.6	115.6	115.6	115.6	115.6	115.6	115.6	115.6
17	2.0	25.0	49.0	60.2	61.7	61.7	61.7	61.7	61.7	61.7	61.7	61.7	61.7	61.7	61.7
18	5.2	25.2	45.2	48.2	54.4	54.4	54.4	54.4	54.4	54.4	54.4	54.4	54.4	54.4	54.4
19	5.0	12.2	44.2	48.7	49.7	57.2	57.2	57.2	57.2	57.2	57.2	57.2	57.2	57.2	57.2
20	3.5	5.5	42.5	46.0	46.0	46.0	46.0	46.0	46.0	46.0	46.0	46.0	46.0	46.0	46.0
21	4.5	5.0	28.5	36.2	37.7	43.2	43.2	43.2	43.2	42.2	43.2	43.2	43.2	43.2	43.2
22	8.0	12.2	38.7	42.7	54.5	43.5	43.5	43.5	43.5	43.5	43.5	43.5	43.5	43.5	43.5
23	7.0	14.0	38.5	44.2	44.7	44.7	44.7	44.7	44.7	44.7	44.7	44.7	44.7	44.7	44.7
24	5.5	12.0	37.5	46.0	54.0	54.0	54.1	54.1	54.1	54.1	54.1	54.1	54.1	54.1	54.1
25	5.5	6.0	30.5	40.2	41.9	41.9	41.9	41.9	41.9	41.9	41.9	41.9	41.9	41.9	41.9

2.2 多种抗生素联合抑制

根据试验组和对照组累积产甲烷量的差异,计算每组试验的产甲烷抑制率,以此为指标判定各抗生素组合对厌氧发酵抑制作用的强弱。

从表 5 可以看出,第 1 组,即阿莫西林、金霉素、SM₂、氟苯尼考浓度均为 10 mg/L 时,以及第 2 组,即 4 种抗生素浓度分别为 10、30、30、30 mg/L 时,抑制率

为负值,说明该抗生素组合对厌氧产甲烷有促进作用.其余各组都表现为抑制作用,在阿莫西林浓度 10 mg/L、金霉素 30 mg/L、SM₂ 30 mg/L、氟苯尼考 30 mg/L 的条件下,对产甲烷的抑制程度最小,抑制率为 9.67%;在 4 种抗生素浓度分别为 210、10、210、130 mg/L 的条件下,对产甲烷的抑制程度最大,抑制率可达 87.8%。

表 5 各试验组的抑制率/%

Table 5 Inhibitory rate/%

试验组号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
抑制率	- 38.89	- 19.09	57.17	67.46	63.32	9.67	59.1	57.78	59.27	58.89	57.87	41.51	63.41
试验组号	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
抑制率	61.11	65.85	14.15	77.78	52.15	70.24	86.59	87.8	70.24	65.85	70.73	50	

2.3 正交试验结果分析

正交试验结果极差分析见表 6。

由极差分析可知,在所试验的 4 种抗生素中,金霉素所致的极差最大,说明它对容积产甲烷速率影

表 6 正交试验结果极差分析¹⁾

Table 6 Range analysis of the orthogonal test results				
因素	阿莫西林	金霉素	磺胺二甲基氧	氟苯尼考
I _j	130.0	53.6	203.5	214.3
II _j	244.7	306.5	269.5	265.1
III _j	289.8	296.4	254.5	255.7
IV _j	300.9	328.8	230.9	332.4
V _j	344.6	324.7	351.6	242.5
k _j	5.0	5.0	5.0	5.0
I _j /k _j	26.0	10.7	40.7	42.9
II _j /k _j	48.9	61.3	53.9	53.0
III _j /k _j	58.0	59.3	50.9	51.1
IV _j /k _j	60.2	65.8	46.2	66.5
V _j /k _j	68.9	64.9	70.3	48.5
D _j	42.9	54.2	29.6	23.6

1)表中: I_j 为第 j 列“1”水平所对应的试验指标的数值之和; II_j 为第 j 列“2”水平所对应的试验指标的数值之和; III_j 为第 j 列“3”水平所对应的试验指标的数值之和; k_j 为第 j 列同一水平出现的次数. 等于试验的次数(n)除以第 j 列的水平数; I_j/k_j 为第 j 列“1”水平所对应的试验指标的平均值; II_j/K_j 为第 j 列“2”水平所对应的试验指标的平均值; III_j/K_j 为第 j 列“3”水平所对应的试验指标的平均值; D_j 为第 j 列的极差. 等于第 j 列各水平对应的试验指标平均值中的最大值减最小值

响最大,其他依次是阿莫西林、氟苯尼考和磺胺二甲基氧.

正交试验结果方差分析见表 7.

表 7 正交试验结果方差分析¹⁾

Table 7 Variance analysis of the orthogonal test results				
指标	阿莫西林	金霉素	氟苯尼考	磺胺二甲基氧
试验指标平均值 y	52.398			
总偏差平方和	22 017.56			
误差平方和 S _e	8 050.4			
误差的方差 V _e	1 006.3			
因素偏差平方和 S _j	5 368.2	10 992.7	2 505.2	1 530.4
自由度 f _j	4.0	4.0	4.0	4.0
方差 V _j	1 342.0	2 748.2	626.3	382.6
方差比 F _j	1.3	2.7	0.6	0.4

1)表中: S_j 为偏差平方和; f_j 为自由度, f_j 第 j 列的水平数 - 1; V_j 为方差, V_j = S_j/f_j; V_e 为误差列的方差, V_e = S_e/f_e; F_j 为方差之比, F_j = V_j/V_e.

由于氟苯尼考和磺胺二甲基氧所致的方差小于误差的方差,可将这 2 列并入误差列,因此新误差的偏差平方和为12 086,新误差自由度为 16,新误差的均方为 755,金霉素和阿莫西林的方差分别变成 3.64 和 1.78,其显著性分析见表 8.

由方差分析可知,金霉素的抑制作用达到极显著水平(F > 0.05);说明金霉素对厌氧消化的影响明显;阿莫西林、氟苯尼考和磺胺二甲基氧的抑制作

用在显著性水平 0.1 上均不显著.

表 8 抑制的显著性分析

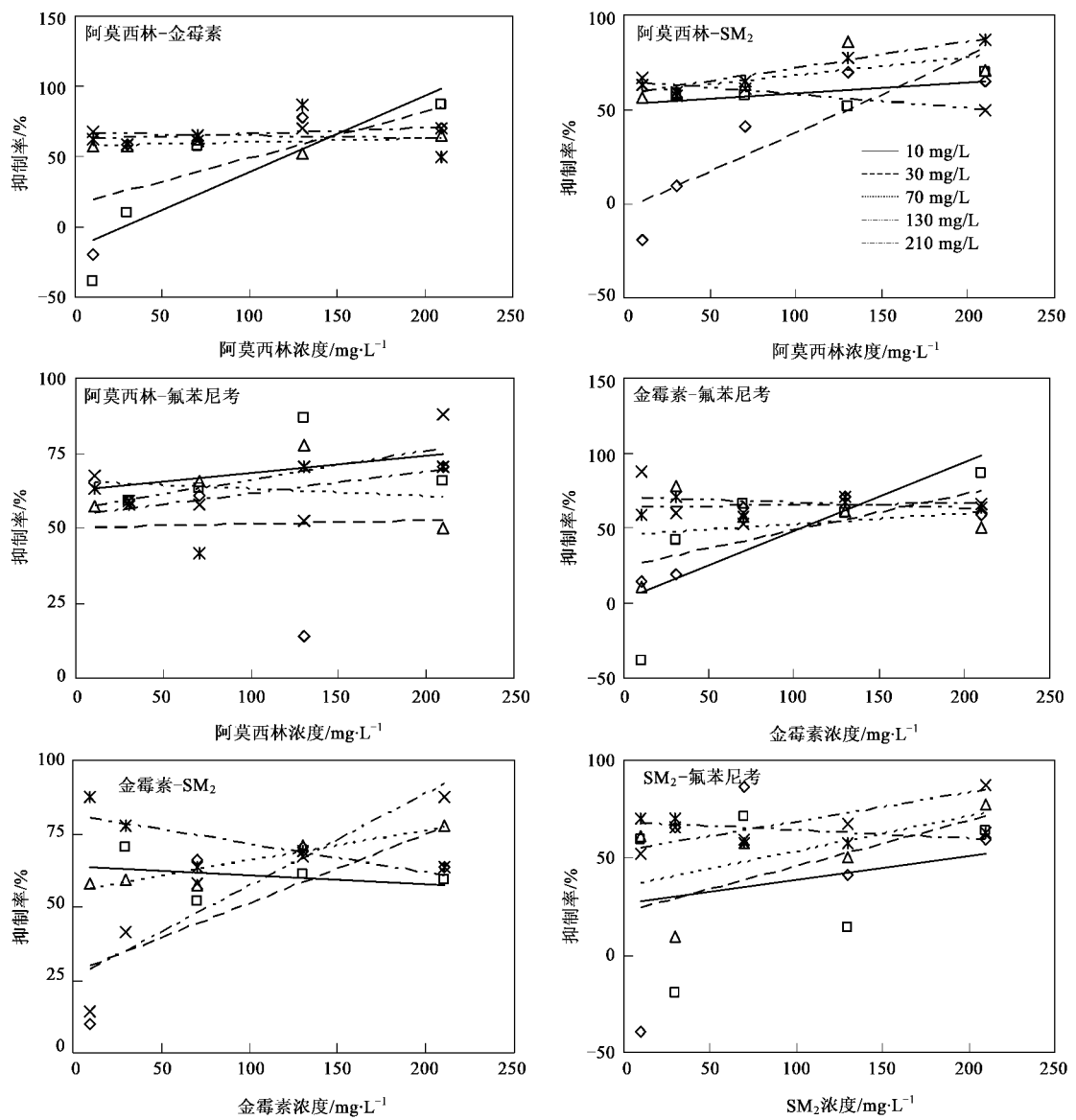
Table 8 Significance analysis of inhibition			
	p 值	金霉素	显著性
F _{0.1} (4, 16)	2.33	3.64	*(显著)
F _{0.05} (4, 16)	3.01		
F _{0.01} (4, 16)	4.77		

2.4 一级互作分析

根据不同抗生素组合对产甲烷的抑制率,可以推算出一种抗生素的抑制率随另一种抗生素浓度的变化趋势,进而推导出 2 种抗生素的相互作用情况. 由图 2 可以看出,SM₂ 和阿莫西林的抑制作用随氟苯尼考浓度的增加呈现一组平行线,其一级互作为相加关系;其余抗生素的一级互作曲线均为相交直线,说明抗生素两两之间呈现拮抗关系.

3 讨论

阿莫西林属于 β-内酰胺药物(β-lactam) 抗生素,其杀菌机制是抑制细菌细胞壁合成. 细菌细胞内有多种能与青霉素结合的蛋白,称为青霉素结合蛋白(penicillin-binding protein, PBP),有些 PBP 就是转肽酶,当 PBP 与 β-内酰胺药物结合后,转肽反应被抑制,导致细胞壁缺陷. Koig 等^[19] 分析了从甲烷杆菌目的 3 个属中分离到的细胞壁球囊的肽聚糖多聚体,发现含有 3 种 L-氨基酸(L-赖氨酸、L-谷氨酸、L-丙氨酸或 L-苏氨酸)、1 种 N-乙酰氨基糖(N-乙酰葡萄糖胺或 N-乙酰半乳糖胺)和 N-乙酰-L-塔罗糖胺糖醛酸,不含胞壁酸或 LL-二氨基庚二酸、D-谷氨酸和 D-丙氨酸,这种类型的肽聚糖与真细菌的肽聚糖成分全然不同. 而阿莫西林的 β-内酰胺环里具有高度反应性的CO—N化学键,其作用靶位恰恰为 N-乙酰胞壁酸^[20],因此产甲烷菌不受此类抗生素作用,进而导致阿莫西林对产甲烷的抑制作用较弱. 金霉素也称氯四环素,此类抗生素与核糖体 30S 亚基结合,阻碍 30S 亚基与氨基酰 tRNA 结合,导致细菌蛋白合成受阻^[20],因此,厌氧过程的 3 大菌群,水解发酵细菌、产氢产乙酸菌和产甲烷菌都受其抑制,进而导致金霉素的抑制作用最强. 氟苯尼考属于氯霉素类抗生素能与 50S 亚基结合,干扰肽酰基转移酶,抑制氨基酸结合到正在合成的多肽链上. SM₂ 属于磺胺抗生素,通过干扰细菌的叶酸代谢抑制细菌的生长. 细菌不能直接利用环境中的叶酸,形成四氢叶酸后,四氢叶酸的活化型是一碳单位的传递体,在嘌呤和氧核苷酸合成过程中起重要的传递作用. 磺胺可



各曲线分别代表另一种抗生素在不同浓度时产甲烷抑制率的线性回归

图 2 抗生素间一级相互作用

Fig.2 First-order interaction

竞争二氢叶酸合成酶,阻碍二氢叶酸合成,从而抑制细菌的核酸代谢。

阿莫西林、氟苯尼考和 SM₂ 与金霉素的作用都属于拮抗作用,这是因为金霉素是快速抑菌性抗生素,可快速抑制敏感细菌的繁殖,而阿莫西林是快速杀菌性抗生素,对处于繁殖期的细菌作用最强,如果把它们联用,则可导致阿莫西林“无菌可杀”,无形中削弱了阿莫西林的杀菌能力,对于氟苯尼考和 SM₂ 是同样的道理。

4 结论

(1)在低浓度下,4 种抗生素的组合对猪场废水

厌氧发酵有促进作用,在高浓度下,4 种抗生素的组合都有抑制作用,产甲烷抑制率在 9.67% ~ 87.8% 之间。

(2)4 种抗生素对猪场废水厌氧发酵的抑制顺序为金霉素 > 阿莫西林 > 氟苯尼考 > 磺胺二甲氧,金霉素对厌氧发酵有显著的抑制作用,其余 3 种抗生素没有显著抑制作用。

(3)抗生素之间除 SM₂ 和氟苯尼考以及阿莫西林和氟苯尼考为相加关系外,一级互作均为拮抗关系。

参考文献:

[1] 国家环境保护总局自然生态保护司. 全国规模化畜禽养殖业

- 污染情况调查及防治对策[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [2] 苏杨. 我国集约化畜禽养殖场污染问题研究[J]. 中国生态农业学报, 2006, **14** (2): 15-18.
- [3] 林伟华, 蔡昌达. 厌氧-SBR 工艺处理畜禽废水[J]. 中国给水排水, 2003, **19**(5): 93-94.
- [4] 邓良伟, 陈铭铭. IC 工艺处理猪场废水试验研究[J]. 中国沼气, 2001, **19**(2): 12-15.
- [5] 廖新弟, 骆世明. 人工湿地对猪场废水有机物处理效果的研究[J]. 应用生态学报, 2002, **13**(1): 113-117.
- [6] 邓良伟, 郑平, 陈子爱. Anarwia 工艺处理猪场废水的技术经济性研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2004, **30** (6): 628-634.
- [7] Chakraborty N, Sarkar G M, Lahiri S C. Effect of pesticide (Tara-909) on biomethanation of sewage sludge and isolated Methanogens [J]. Biomass Bioenergy, 2002, **23**(1): 75-80.
- [8] Chen W H, Han S K, Sung S. Sodium inhibition of thermophilic methanogens [J]. J Environ Eng, 2003, **129**(6): 506-512.
- [9] Gadd G M, Griffiths A J. Microorganisms and heavy metal toxicity [J]. Microb Ecol, 1978, **4**: 303-317.
- [10] Gould M S, Genetelli E J. Heavy metal complexation behavior in anaerobically digested sludge [J]. Water Res, 1978, **12**: 505-512.
- [11] Hansen K H, Angelidaki I, Ahring B K. Anaerobic digestion of swine manure: inhibition by ammonia [J]. Water Res, 1998, **32**: 5-12.
- [12] Hashimoto A G. Ammonia inhibition of methanogenesis from cattle waste [J]. Agric Wastes, 1986, **17**: 241-261.
- [13] Poels J, Van Assche P, Verstraete W. Effects of disinfectants and antibiotics on the anaerobic digestion of piggery waste [J]. Agric Wastes, 1984, **9**: 239-248.
- [14] Hilpert R, Winter J, Kandler O. Agricultural feed additives and disinfectants as inhibitory factors in anaerobic digestion [J]. Agric Wastes, 1984, **10**: 103-116.
- [15] Varel V H, Hashimoto A G. Effect of Dietary Monensin or Chlortetracycline on methane production from Cattle Waste [J]. Appl Environ Microbiol, 1981: **41**: 29-34.
- [16] Poels J, Van Assche P, Verstraete W. Effect of antibiotics and chemotherapeutics on biogas production from piggery waste [J]. Bioenergy, 1984, **84**: 422-426.
- [17] Fischer J R, Iannotti E L, Sievers D M. Anaerobic digestion of manure from swine fed on various diets [J]. Agr Wastes, 1981, **3**: 201-214.
- [18] Massé D I, Lu D, Masse L, *et al.* Effect of antibiotics on psychrophilic anaerobic digestion of swine manure slurry in sequencing batch reactors [J]. Bioresource Technology, 2000, **75**: 205-211.
- [19] 闵航, 陈美慈, 赵宇华, 等. 厌氧微生物学[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1993. 252-253.
- [20] 王岳, 方金瑞. 抗生素[M]. 北京: 科学出版社, 1988. 83-87, 101-103.