

土壤中邻苯二甲酸酯类物质的降解及其对土壤酶活性的影响

张建¹, 石义静², 崔寅³, 谢慧君^{1*}, 王文兴¹

(1. 山东大学环境研究院, 济南 250100; 2. 山东大学环境科学与工程学院, 济南 250100; 3. 山东大学威海分校海洋学院, 威海 264209)

摘要:邻苯二甲酸酯类物质 (PAEs) 是一类在环境中广泛存在的有毒有机化合物, 本研究探讨了不同浓度梯度的 4 种 PAEs 在土壤中的降解, 及其对不同土壤酶活性的影响。用 GC-MS 法测定土壤溶液中 PAEs 的浓度, 结果表明, 土壤中的微生物对 PAEs 的降解起主要作用, 对降解数据拟合发现, PAEs 降解符合一级动力学方程, 并且碳链越短的酯降解效果越好, 降解速率越高。在相对高浓度的 PAE30 环境中, 碳链较长的 DnOP 的降解效率要低于相对低浓度时的降解率, 且在 40 d 后只能降解 73%。采用标准方法测定基质酶的活性, 在 PAEs 加入土壤之后, β -葡萄糖苷酶、磷酸酶、脲酶、蛋白酶的活性均有变化。磷酸酶的活性先降低后升高, β -葡萄糖苷酶活性缓慢下降, 蛋白酶活性先升高后降低, 脲酶则呈逐渐升高的趋势。但是随着胁迫时间的延长 (20 d 后), 除了 β -葡萄糖苷酶的活性继续降低, 其他酶活性都逐渐恢复, 并超过了对照组。

关键词:邻苯二甲酸酯; 土壤酶; 酶活性; 生物降解; 降解动力学

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)12-3056-06

Degradation of Phthalate Esters in Soil and the Effects on Soil Enzyme Activities

ZHANG Jian¹, SHI Yi-jing², CUI Yin³, XIE Hui-jun¹, WANG Wen-xing¹

(1. Environmental Research Institute of Shandong University, Ji'nan 250100, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Shandong University, Ji'nan 250100, China; 3. Marine College, Shandong University at Weihai, Weihai 264209, China)

Abstract: Phthalate esters (PAEs) are a kind of widespread toxic organic compounds in the environment. We discussed the different degradation rate of four kinds of PAEs in the soil and its impact on different soil enzyme activities. We used GC-MS methods to determine the concentration of PAEs in soil. The results showed that soil microorganisms play a major role in the degradation of PAEs. The biodegradation diagram of PAEs was accord with first-order kinetics equation. And the shorter carbon chain, the better degradation efficiency. With the high concentration of PAE30, DnOP, which has long carbon chain, the degradation efficiency is lower than that of PAE1 and PAE10, only 73% was degraded after 40 days. We use standard methods to determine the matrix enzyme activities, after adding the PAEs into soil, β -glucosidase, phosphatase, urease, protease activity have changed. Phosphatase activity decreased at first and then increased, β -glucosidase activity decreased slowly, protease activity increased at first and then decreased, the activity of urease increased gradually. After 20 days, except for β -glucosidase activity continued decreasing, the activities of others enzyme recovered gradually, and higher than the control group.

Key words: Phthalate esters (PAEs); soil enzymes; enzyme activity; bio-degradation; degradation dynamics

邻苯二甲酸酯 (Phthalate esters, PAEs, 俗称酞酸酯) 是世界上生产量大、应用面广的人工合成有机化合物^[1], 它们被广泛用作油漆溶剂、塑料改性剂、涂料等的增塑剂, 也被用作农药载体、驱虫剂、化妆品、润滑剂和去泡剂等的生产原料, 除此之外, 在家具、汽车、电线电缆、服装等行业也有广泛的应用^[2,3]。在塑料制品中邻苯二甲酸酯与聚烯烃类塑料分子之间由氢键或范德华力连接, 彼此保持各自相对独立的化学性质, 所以稳定性相对较差, 容易从塑料中渗出, 污染环境。在大气、水体、土壤、空气乃至生物体内都可检测到邻苯二甲酸酯。目前, PAEs 在中国的产量约为 87 万 t/a, 全世界的产量约

为 520 万 t/a^[4,5], 成为全球性最普遍的污染物之一。PAEs 引起的环境污染问题已受到全球性关注, 美国国家环保局 (EPA) 将邻苯二甲酸二异辛酯 (DEHP)、邻苯二甲酸二正辛酯 (DnOP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯 (BBP)、邻苯二甲酸二正丁酯 (DnBP)、邻苯二甲酸二乙酯 (DEP)、邻苯二甲酸甲酯 (DMP) 6 种 PAEs 列为优先控制的有毒污染物, 我国也将 DEP、DMP 和 DnOP 这 3 种 PAEs 确定

收稿日期: 2010-02-07; 修订日期: 2010-04-15

基金项目: 山东大学自主创新基金项目 (2009TS025); 中国博士后科学基金项目 (10000059311025)

作者简介: 张建 (1984 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物学, E-mail: zhangji0273@126.com

* 通讯联系人, E-mail: xiehuij@sdu.edu.cn

为环境优先控制污染物^[6].

目前有关 PAEs 的研究主要集中在生物富集、食物链传递等生态评价以及特殊菌种对 PAEs 的环境降解行为上,却很少涉及其对土壤微生物的影响,同时关于土壤中 PAEs 的降解也仅仅限制于一种或几种 PAEs^[7~10]. 土壤酶是由微生物、动植物活体分泌及由动植物残体、遗骸分解释放在土壤中的一类具有催化能力的生物活性物质,是土壤重要组成部分^[11~13]. 污染物对土壤酶活性的影响集中体现在酶活性与污染物之间关系方面,土壤酶的活性反映了土壤中进行的各种生物化学过程的强度和方向,它的活性易受环境中物理、化学和生物等诸因素的影响^[14~16]. 近年来国内外学者^[17~19]对土壤酶与有机污染物的关系进行了研究,并总结了污染物对土壤酶有激活、抑制和无关 3 类作用. 土壤中酶活性变化对研究土壤生态系统质量状况有重要的指示性意义^[20~22]. 有关 4 种 PAEs 对土壤酶活性影响的报道还较少.

在室内模拟条件下,本实验首先通过对比灭菌土壤样品与自然样品中 PAEs 的降解情况,来评价土壤微生物在 PAEs 降解中所起的作用以及 PAEs 在土壤中的降解动力学,采用土壤中酶的活性变化来反映 PAEs 对土壤生态系统的影响,以期为土地合理利用和生态环境保护以及有机污染物的生物修复提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 土壤样品与材料

土壤样品取自百花公园(山东省济南市,北纬 36.52°,东经 117.19°)的新鲜土样,用柱状采样器采集,按照实验设计在每个层面对称采集 5 个点,并把基质进行等量混合,经风干、磨细后过 60 目筛,根据实验需要进行预处理. 土壤的各项指标如下(以干土计):总有机碳 2.40 g·kg⁻¹,总氮 0.69 g·kg⁻¹,总磷 0.22 g·kg⁻¹,阳离子交换容量(CEC) 21.03 cmol·kg⁻¹,田间含水量 11%,pH 8.02.

土壤样品的处理:将混匀的土壤均分置于容积为 5 L 的玻璃瓶,每个为 1 000 g. 实验采用灭菌(采用高压蒸汽灭菌)和不灭菌的土壤样品,做 4 个 PAEs 梯度,其中每个 PAEs 梯度做 3 组平行. 不灭菌的样品 PAEs 总浓度为 0、4、40 以及 120 mg·kg⁻¹土壤(即 4 种 PAEs 分别加 0、1、10 和 30 mg·kg⁻¹土壤),记为 Control、PAEs1、PAEs10 和 PAEs30. 灭菌的样品 PAEs 总浓度为 4、40 以及 120

mg·kg⁻¹土壤(即 4 种 PAEs 分别加 1、10 和 30 mg·kg⁻¹土壤),记为 S-PAEs1、S-PAEs10 和 S-PAEs30. 将土样混匀,28℃培养 40 d,记录初始土壤质量,定期补充水分,使土壤中水含量保持在 10%~15%. 每 5 d 取出 30 g 土壤,用于 PAEs 浓度测试和土壤酶活性的测定. 土壤中 PAEs 的具体投加量见表 1.

表 1 土壤中 PAEs 投加量/mg·kg⁻¹

Table 1 PAEs dosage in soil samples/mg·kg⁻¹

PAEs	未灭菌组				灭菌组		
	Control	PAEs1	PAEs10	PAEs30	S-PAEs1	S-PAEs10	S-PAEs30
DMP	0	1	10	30	1	10	30
DEP	0	1	10	30	1	10	30
DnBP	0	1	10	30	1	10	30
DnOP	0	1	10	30	1	10	30

1.2 PAEs 的含量测定

用 GC-MS 法测定土壤溶液中 PAEs 的浓度. 利用 ASE300 系统(Dionex, Sunnyvale, CA, USA)将溶液萃取于 66 mL 的不锈钢 ASE 容器中. 将大约(20±0.05) g 土壤样品用相同质量的无水硫酸钠和 10 μL 标样混匀,置于分液萃取器中,用体积比为(2:2:1)的二氯甲烷:正己烷:丙酮溶解后萃取. 分液萃取器与样品的萃取均在预设条件下进行. 然后将萃取物置于 50℃的蒸发器中蒸发浓缩,然后再溶于 50 mL 甲醇中,将样品通过孔径为 0.45 μm 滤膜注入到气相色谱质谱仪中(GC-MS)(Agilent, Wilmington, DE, USA),然后用 HP-5 的弹性石英毛细管质谱色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)分析. 每种 PAEs 用五点法标定曲线进行量化作图. 土壤样品均为烘干的质量.

1.3 土壤酶活性的测定方法

采用标准方法测定基质酶活性,参考文献[23,24]. 具体方法如下.

磷酸酶采用硝基苯磷酸钠比色法. 准确称取 1 g 风干土样置于 50 mL 三角瓶中;加入 4 mL 的酯酸缓冲液(pH 5.6),0.25 mL 甲苯和 1 mL 0.115 mol/L的 *p*-硝基磷酸钠溶液;摇匀后,置于 37℃恒温箱中 1 h;培养结束后,加入 1 mL 0.5 mol/L氯化钙和 4 mL 0.5 mol/L氢氧化钠溶液混合;过滤后,在波长 400 nm 处测其吸光度(UV1601, Shimadzu). 酶活性单位(以对硝基苯酚计)表示为 μg/(g·h), 37℃,并设无土样对照.

β-葡萄糖苷酶采用硝基酚比色法. 准确称取 1 g 风干土样置于 50 mL 三角瓶中;加入 0.9 mL 蒸馏水,用 0.1 mL 甲苯处理 10 min,再加入 1.5 mL 酯酸

缓冲液(pH 4.8)和0.6 mL 0.05 mol/L *p*-硝基苯- β -D 葡萄糖苷溶液. 混合均匀后置于37℃恒温箱中1 h;培养结束后,加入7 mL的乙醇;过滤后,在波长400 nm处测其吸光度. 酶活性单位(以对硝基苯酚计)表示为 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,37℃,并设无土样对照.

蛋白酶采用福林酚比色法. 称取1 g风干土样于大试管中;加入1 mL pH 8.0 Tris-HCl 缓冲液;用0.5 mL 甲苯处理15 min;往土中加入2 mL 1%酪素溶液,将混合物仔细摇匀,在37℃恒温箱中培养24 h;培养结束后加3 mL 三氯醋酸溶液,摇匀过滤后,吸取1 mL 滤液于大试管中,加入0.4 mol/L Na_2CO_3 溶液5 mL,福林酚试剂1 mL;充分摇匀后于37℃恒温箱中培养15 min,待其充分显色后,在波长680 nm处测其吸光度. 酶活性单位(以酪氨酸计)表示为 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,37℃,并设无土样对照.

脲酶采用奈氏比色法. 具体方法为:称取5 g风干土样,置于100 mL三角瓶中. 加入10 mL pH 6.7 磷酸缓冲液及0.5 mL 甲苯. 混合处理15 min后,加入10 mL 10%尿素溶液(对照以水代替),置于37℃恒温箱中培养48 h. 培养结束后,取出,加入20 mL 1 mol/L KCl,充分摇匀10 min. 将悬液用致密滤纸过滤,吸取经过稀释的滤液1 mL置于25 mL容量瓶中. 用水稀释至10 mL,摇匀. 慢慢加入4 mL 1 mol/L NaOH,显色,稀释至刻度. 10 min后,以空白作对照,在波长460 nm处测其吸光度. 酶活性单位(以氮计)表示为 $\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{h})$,37℃,并设无土样对照.

2 结果与讨论

2.1 土壤微生物对 PAEs 降解结果

2.1.1 土壤微生物的降解作用

由图1可以看出,与未灭菌的土壤样品相比,灭菌土壤样品中PAEs浓度变化不大,总去除率较低,3种不同浓度PAEs的总去除率分别为8.08%、2.02%和5.03%,这说明土壤中PAEs的降解主要是微生物的作用,吸附作用所占比重较小. 这与Chang等^[8]对土壤中2种PAEs(DBP和DEHP)的研究结果一致.

2.1.2 土壤微生物对不同浓度 PAEs 的降解效果

不灭菌土壤样品中PAEs的浓度随时间的变化见图2. 由图2可以看出,在不同浓度的PAEs样品中,PAEs的浓度随着时间的延长而降低. 在40 d时,PAE1中DMP、DEP、DnBP和DnOP的浓度最低,分别为6.00、3.67、18.59和73.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$. 所

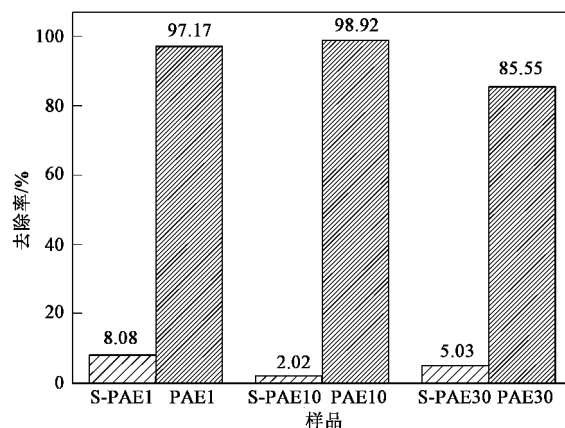


图1 培养40 d后灭菌与未灭菌的土壤样品中PAEs的总去除率

Fig.1 Removal of each PAE after 40 d incubation of microcosms with sterilized and non-sterilized soils

有样品中,DnOP的降解效果最差. 15 d时,PAEs1和PAEs10样品中的DMP、DEP和DnBP的浓度已经很低,但是PAE30样品中,DnBP和DnOP仍然保持较高的浓度,去除率分别仅为71.8%和29.2%. 总起来说,碳链越短、降解效果越好、降解速率越快;污染物浓度越高、污染物降解需要的时间越长.

2.1.3 PAEs 降解动力学

采用降解动力学模型对土壤中4种PAEs的降解进行拟合. 一级降解动力学见式(1):

$$c_t = c_0 \exp(-kt) \quad (1)$$

其中, c_t ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,土壤)为时间 t 时的PAEs浓度, c_0 ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,土壤)初始PAEs浓度, k 为降解动力学常数. PAEs半衰期 DT_{50} 可以表示为 $\ln 2/k$.

PAEs的降解动力学符合一级动力学模型,其中拟合方程和相关系数如图3所示. PAEs10的降解速率比PAEs1稍高,而浓度太高(PAEs总浓度为 $120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)则抑制了微生物活性. 对于同一浓度梯度,DMP、DEP、DnBP和DnOP的降解速率逐渐降低,表明随着烷基链增长,PAEs表现出更难降解的性质. 因为原子质量和体积的增加使其空间位阻增大,降低了物质的水溶性,从而阻碍了PAEs的降解.

2.2 PAEs 对土壤酶活性的影响

2.2.1 PAEs 对土壤磷酸酶活性的影响

4种不同浓度的PAEs对土壤磷酸酶活性的影响见图4. 结果表明,在整个实验周期内,样品Control的磷酸酶活性呈缓慢下降趋势;而胁迫样品PAEs1、PAEs10、PAEs30则变化较明显,磷酸酶活性总体呈现出先降低后升高的趋势. 15 d时,胁迫

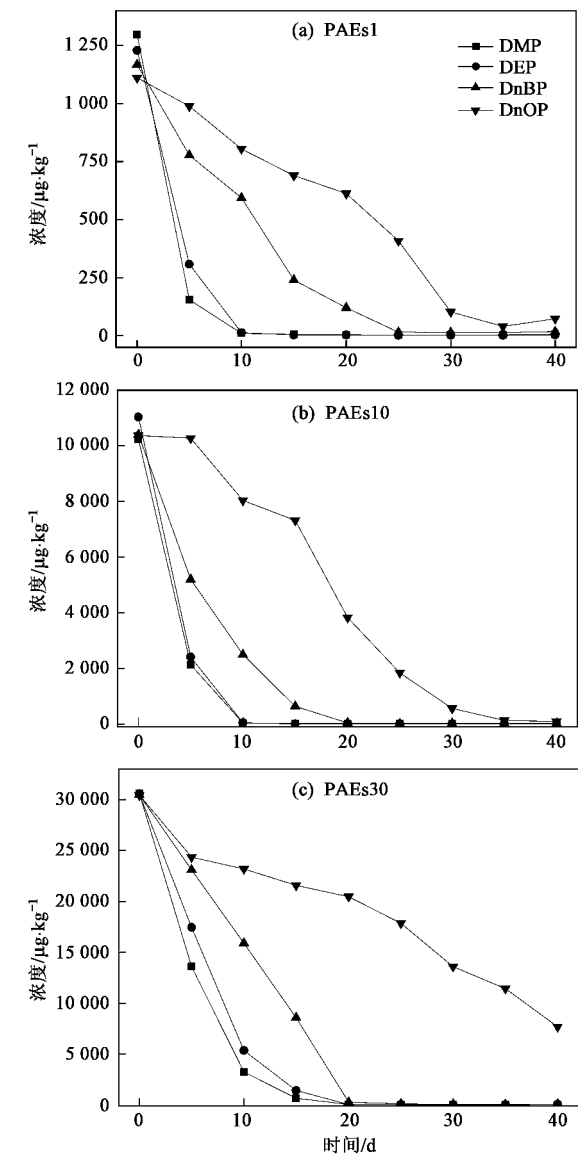


图2 PAEs 浓度随时间的变化
Fig.2 Concentration variation of the PAEs with time

样品的磷酸酶活性达到最低值,分别为 166.5、177.5、171.5 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,比样品 Control 分别低了 29%、24%、27%,可见在此阶段 PAEs 对土壤磷酸酶的抑制作用是显著的.而在 35 d 时胁迫样品的活性均略高于样品 Control,40 d 时 PAEs1、PAEs10、PAEs30 的磷酸酶活性全部大幅度超过样品 Control,分别为 Control 的 1.26、1.64 和 1.41 倍.可见在 PAEs 的胁迫下,经过一定的时间磷酸酶的活性可以恢复,并且有一定的激活作用.这与 Wang 等^[25]的研究结果基本一致.他们以吉林农业大学校园内的表层土壤为样品进行分析,加入不同浓度的 DEHP,所测出的磷酸酶活性总体较低,但也是随时间的延

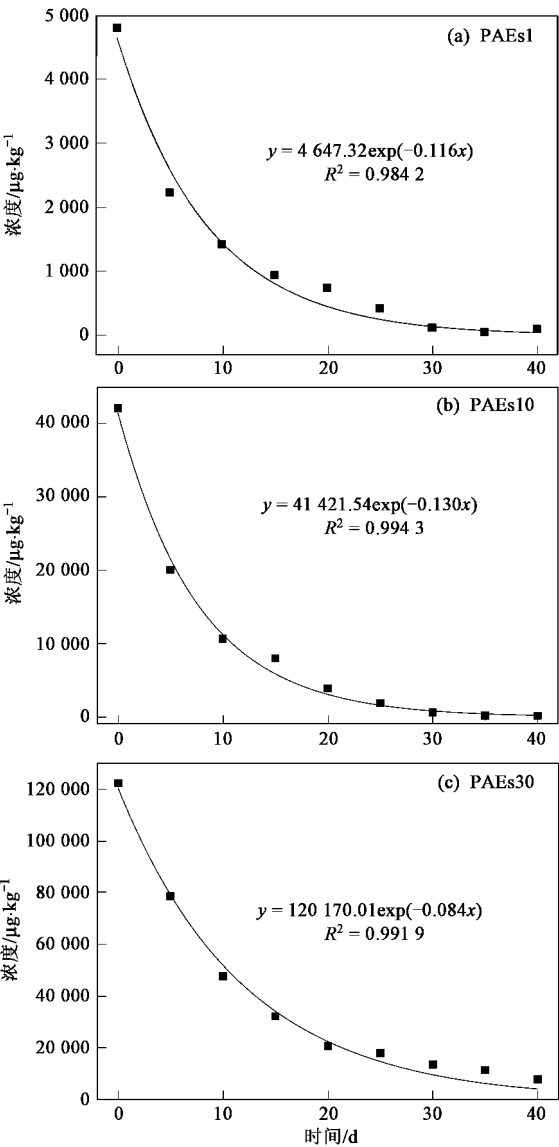


图3 土壤中 PAEs 的降解动力学
Fig.3 Degradation kinetics of PAEs in soil

长酶活性有升高,且随着 DEHP 浓度的升高这种效应不受影响,在 500 mg/kg 以及 1 000 mg/kg 的浓度下磷酸酶活性相对波动较小.

2.2.2 PAEs 对土壤 β -葡萄糖苷酶活性的影响

4 种不同浓度的 PAEs 对土壤 β -葡萄糖苷酶活性的影响见图 5.在整个实验周期内,样品 Control 的 β -葡萄糖苷酶活性呈缓慢下降趋势.其它样品的酶活性变化规律一致,在整个实验周期内酶活逐渐降低,并在 30 d 时酶活骤然下降,PAEs1、PAEs10、PAEs30 的 β -葡萄糖苷酶活性分别为 10.8、8.4、10.15 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,比空白低了 52%、63%、55%.由此可见 PAEs 对 β -葡萄糖苷酶有抑制作用. Chen

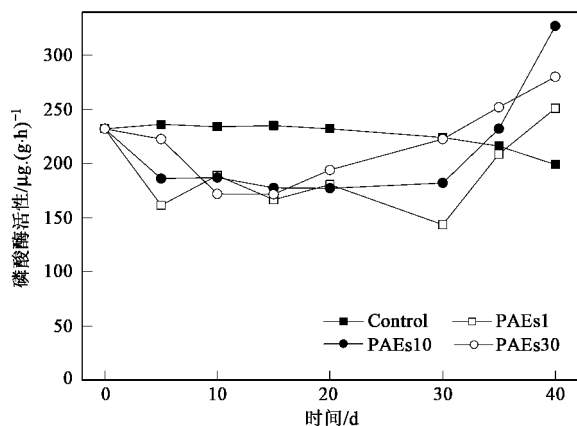


图4 不同浓度 PAEs 对土壤中磷酸酶活性的影响

Fig. 4 Effects of PAEs with different concentrations on phosphatase activity in soil

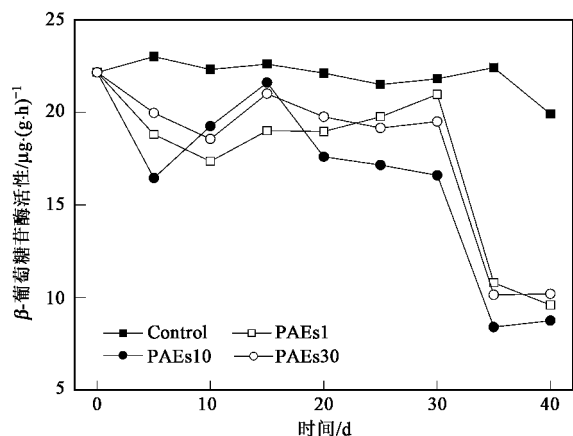
图5 不同浓度 PAEs 对土壤中 β -葡萄糖苷酶活性的影响

Fig. 5 Effects of PAEs with different concentrations on β -glucosidase activity in soil

等^[26]也报道了联苯类污染物能够降低土壤中 β -葡萄糖苷酶的活性。

2.2.3 PAEs 对土壤蛋白酶活性的影响

4 种不同浓度的 PAEs 对土壤蛋白酶活性的影响见图 6。在整个实验周期内,空白 Control 的蛋白酶活性先升高后降低,但是总体趋势趋于稳定,比较而言变化不大。而胁迫样品 PAEs1、PAEs10、PAEs30 有明显的活性变化,总体呈先升高后降低的趋势,PAEs 对蛋白酶有激活作用。蛋白酶在 20 d 或 25 d 时出现酶活性最高峰值,胁迫样品比 Control 分别高 56%、148% 和 141%。

2.2.4 PAEs 对土壤脲酶活性的影响

4 种不同浓度的 PAEs 对土壤脲酶活性的影响见图 7。由图 7 可知在整个实验周期内,空白 Control 的脲酶活性先升高后降低,但是总体趋势趋于稳定,

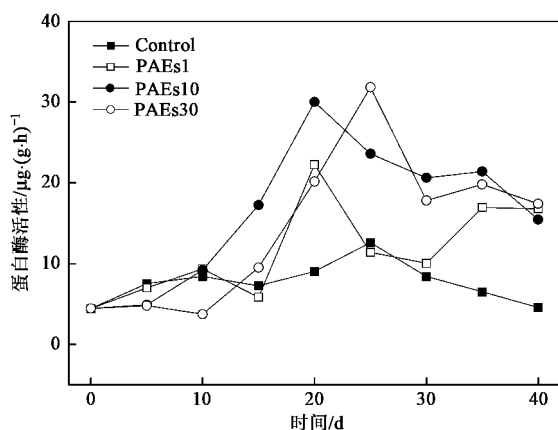


图6 不同浓度 PAEs 对土壤蛋白酶活性的影响

Fig. 6 Effects of PAEs with different concentrations on protease activity in soil

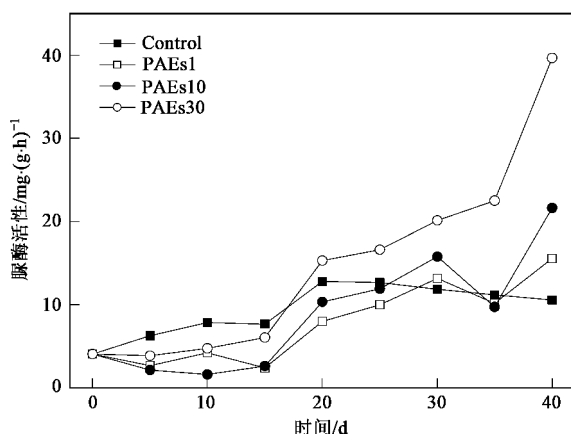


图7 不同浓度 PAEs 对土壤脲酶活性的影响

Fig. 7 Effects of PAEs with different concentrations on urease activity in soil

变化不大。而胁迫样品 PAEs1、PAEs10、PAEs30 整体呈现升高趋势,并最终活性高于空白。40 d 时 PAEs1、PAEs10、PAEs30 的酶活分别比 Control 高 47%、105%、275%。可见 PAEs 对土壤中脲酶有激活作用。这与 Wang 等^[25]的研究结果不太一致。他们的研究结果显示,不同浓度的 DEHP 胁迫后,脲酶的活性有随时间的延长呈波浪型变化的趋势,15 d 左右达到峰值,在培养第 30 d 时达到最低值,随后 35~56 d 变化不明显且处于较高活性值。这可能与培养时间的长短和胁迫浓度的高低有关系。

3 结论

(1)微生物对土壤中的 PAEs 的降解起主要作用。对降解数据拟合发现,PAEs 降解符合一级动力学方程,碳链越短的酯降解效果越好,降解速率越高。而在相对高浓度的 PAE30 环境中,碳链较长的

DnOP 的降解效率要低于相对低浓度 PAE1 和 PAE10 时的降解率。

(2)在 PAEs 加入土壤之后,β-葡萄糖苷酶、磷酸酶、脲酶、蛋白酶的活性均有变化。磷酸酶的活性先降低后升高,β-葡萄糖苷酶活性缓慢下降,蛋白酶活性先升高后降低,脲酶则呈逐渐升高的趋势。但是随着胁迫时间的延长,除了 β-葡萄糖苷酶的活性继续降低,其他酶活性都逐渐恢复,并超过了对照组。

致谢:本研究在 PAEs 测试部分得到了山东省分析测试中心赵汝松副研究员的帮助,在此表示感谢。

参考文献:

[1] 凌波. 环境内分泌干扰物的健康影响[J]. 中国公共卫生, 2002, **18**(2): 237-239.

[2] Prokupková G, Holadová K, Poustka J, *et al.* Development of a solid-phase microextraction method for the determination of phthalic acid esters in water[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, **457**: 211-223.

[3] Blount B C, Milgram K E, Silva M J, *et al.* Quantitative detection of eight phthalate metabolites in human urine using HPLC-APCI-MSPMS[J]. *Analytical Chemistry*, 2000, **249**: 13-17.

[4] Wang J L, Xuan Z, Wu W Z. Biodegradation of phthalic acid esters (PAEs) in soil bioaugmented with acclimated activated sludge[J]. *Process Biochemistry*, 2004, **39**:1837-1841.

[5] Mackintosh C E, Maldonado J A, Ikononou M G, *et al.* Sorption of phthalate esters and PCBs in a marine ecosystem [J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, **40**: 3481-3488.

[6] Wang J L. Comparison of Di-*n*-methyl Phthalate Biodegradation by Free and Immobilized Microbial Cells[J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2003, **16**: 126-132.

[7] 谢慧君, 石义静, 滕少香, 等. 邻苯二甲酸酯对土壤微生物群落多样性的影响[J]. *环境科学*, 2009, **30**(5): 1286-1291.

[8] Chang B V, Lu Y S, Yuan S Y, *et al.* Biodegradation of phthalate esters in compost-amended soil [J]. *Chemosphere*, 2009, **74**: 873-877.

[9] Wang J L, Liu P, Shi H C, *et al.* Biodegradation of phthalic acid ester in soil by indigenous and introduced microorganisms [J]. *Chemosphere*, 1997, **35**:1747-1754.

[10] Chang B V, Yang C M, Cheng C H, *et al.* Biodegradation of

phthalate esters by two bacteria strains[J]. *Chemosphere*, 2004, **55**: 533-538.

[11] 和文祥, 黄英锋, 朱铭莪, 等. 汞和镉对土壤脲酶活性影响[J]. *土壤学报*, 2002, **3**(93): 412-420.

[12] 巩余禾, 赵文良. 环境水体中邻苯二甲酸酯类化合物的方法研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2009, **11**:2468-2469.

[13] 刘文莉, 张珍, 朱连秋, 等. 电子垃圾拆解地区土壤和植物中邻苯二甲酸酯分布特征[J]. *应用生态学报*, 2010, **2**:489-494.

[14] Marx M C, Wood M, Jarvis C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, **33**: 1633-1640.

[15] Kalam A, Tah J, Mukherjee A K. Pesticide effects on microbial population and soil enzyme activities during vermicomposting of agricultural waste[J]. *Journal of Environmental Biology*, 2004, **25**(2): 201-208.

[16] 孙晓峰, 高乃云, 徐斌, 等. 邻苯二甲酸二甲酯在颗粒活性炭中的穿透特性[J]. *环境科学*, 2007, **28**(8):1738-1745.

[17] 李会茹, 曾锋, 崔昆燕. *Pseudomonas fluorescens* Z1999 降解邻苯二甲酸酯的二级动力学特征[J]. *环境化学*, 2005, **24**(2): 189-192.

[18] Omar S A, Abdel-Sater M A. Microbial populations and enzyme activities in soil treated with pesticides [J]. *Water Air & Soil Pollution*, 2001, **127**(1-4): 49-63.

[19] 郑巍, 刘惠君, 刘维屏. 吡虫啉及代谢物对土壤过氧化氢酶活性的影响[J]. *中国环境科学*, 2000, **20**(6): 524-527.

[20] 和文祥, 闵红, 王娟, 等. 2,4-D 对土壤酶活性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2006, **25**(1): 224-228.

[21] 夏凤毅, 郑平, 周琪, 等. 7 种邻苯二甲酸酯的模拟曝气降解性研究[J]. *环境科学*, 2002, **23**(增刊): 11-15.

[22] Min H, Ye Y F, Chen Z Y, *et al.* Effects of butachlor on microbial populations and enzyme activities in paddy soil [J]. *Environmental Science Health*, 2001, **36**(5):581-595.

[23] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京:科学出版社,1985.

[24] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京:农业出版社,1986.

[25] Wang X, Yuan X, Hou Z, *et al.* Effect of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on microbial biomass C and enzymatic activities in soil[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2009, **22**: 135-177.

[26] Chen H L, Yao J, Wang F, *et al.* Study on the toxic effects of diphenol compounds on soil microbial activity by a combination of methods[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **167**: 846-851.