

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20200510001

朱松梅, 董玉瑛, 沙志新, 等. 大环内酯类抗生素对发光菌和脲酶活性影响分析[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(3): 116-122

Zhu S M, Dong Y Y, Sha Z X, et al. Effect of macrolide antibiotics on the urease activity and *Photobacterium phosphoreum* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(3): 116-122 (in Chinese)

大环内酯类抗生素对发光菌和脲酶活性影响分析

朱松梅, 董玉瑛*, 沙志新, 方政, 邹学军

大连民族大学环境与资源学院, 大连 116605

收稿日期: 2020-05-10 录用日期: 2020-07-01

摘要: 新型有机污染物(emerging organic contaminants, EOCs)对生物代谢和生态工程效能的影响受到密切关注。调控污泥生化过程稳定是确保污水处理厂出水水质的关键。为探究 EOCs 胁迫下污泥脲酶和海洋发光菌的应激效应, 分析了阿奇霉素、红霉素、罗红霉素和乙酰螺旋霉素对脲酶和发光菌的毒性作用。结果表明, 4 种抗生素对发光细菌均呈现出不同程度的抑制作用, 其 EC_{50} 分别为 30.05×10^{-5} 、 71.70×10^{-5} 、 108.6×10^{-5} 和 63.44×10^{-5} mol·L⁻¹; 而在不同浓度梯度抗生素的胁迫下, 脲酶呈现不同的应激反应, 包括毒物兴奋效应和耐药性。抗生素对脲酶和发光菌呈现一致的毒性递减现象: 阿奇霉素 > 乙酰螺旋霉素 > 红霉素 > 罗红霉素。研究结果为监控水生生态系统提供了基础数据, 为评价 EOCs 的环境风险和预警污水处理工艺扰动性风险提供参考。

关键词: 大环内酯类抗生素; 脲酶; 发光菌; 应激效应

文章编号: 1673-5897(2020)3-116-07 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effect of Macrolide Antibiotics on the Urease Activity and *Photobacterium phosphoreum*

Zhu Songmei, Dong Yuying*, Sha Zhixin, Fang Zheng, Zou Xuejun

College of Environment & Resources, Dalian Minzu University, Dalian 116605, China

Received 10 May 2020 accepted 1 July 2020

Abstract: The effects of emerging organic contaminants (EOCs) on processes of biological metabolism and performance of ecological engineering have been drawn close concern. Regulating stability of the sludge biochemical process is the key to ensure the quality of the effluent in municipal wastewater treatment plant. The single toxicity effects of azithromycin, erythromycin, roxithromycin, and acetylspiramycin on sludge urease and *Photobacterium phosphoreum* were analyzed. Different degrees of luminous inhibition by four antibiotics to *Photobacterium phosphoreum* were observed, the EC_{50} were 30.05×10^{-5} , 71.70×10^{-5} , 108.6×10^{-5} and 63.44×10^{-5} mol·L⁻¹, respectively. The effects on sludge urease showed different stress responses, including hormesis and drug resistance, under different concentration gradients of four antibiotics. In general, consistent decreasing tendency of toxicity were obtained as azithromycin > acetylspiramycin > erythromycin > roxithromycin to urease and *Photobacterium phosphoreum*. This study could provide basic data for monitoring stressed effect of aquatic ecosystems, evaluating the environ-

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(20180550107); 2020 大连民族大学服务国家战略专项

第一作者: 朱松梅(1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为化学品风险分析和评价, E-mail: 1330505737@qq.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: dong_yuying@163.com

mental risks of EOCs, and early warning the disturbances in wastewater treatment processes as well.

Keywords: macrolide antibiotic; urease; *Photobacterium phosphoreum*; stress effect

环境中很多新型有机污染物(emerging organic contaminants, EOCs)来源于医药品和个人护理品, EOCs 在环境中的“假持久性”和对生态系统产生的不利影响逐渐被发现并引起重视^[1-2]。城市中排放的大部分 EOCs 来自于医院、住宅区和制造厂等不同的人类活动,这些污染物最终随管网进入污水处理厂^[3-4]。目前,污水处理厂用化学需氧量、总有机碳、总氮和总磷等传统的综合指标监控出水水质,这些反映污染物整体水平的指标不能针对说明个别污染物是否达到排放标准,其排入地表水中,可能会产生药物残留物及代谢产物,随生物链传递,使生物被动吸收污染物并在体内不断积累,长时间作用可能会产生一定的生物蓄积和耐药性^[5]。探究靶向明确的敏感指标有利于提出合理的应对措施。

调控污泥生化过程的稳定是利用活性污泥法处理污水的关键,其中,不同功能酶在各类污染物胁迫下的应激效应可直接反映活性污泥的生化性能,这与污泥系统去除污染物的能力具有相关性^[6]。脲酶是一种含镍的水解酶,与氮循环和微生物的代谢有着密切的联系,能专一催化尿素水解为 CO₂ 和 NH₃,反应速率是无催化反应速率的 10¹⁵ 倍^[7]。分析 EOCs 对污泥脲酶活性的影响,可为提高或调控污水脱氮工艺的速率提供参考。发光菌具有快速、灵敏、操作简单和应用范围广泛等优点,已有研究将发光菌用于评价排污口污水中总有机污染物毒性^[8]。本研究旨在观察几种不同浓度大环内酯类抗生素对好氧活性污泥中脲酶活性的影响,并对比相同污染物胁迫下海洋明亮发光菌的响应,通过分析 EOCs 对脲酶和发光菌影响的动力学曲线,为控制 EOCs 对污泥活性产生不利影响的潜在风险提供基础数据。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 主要实验仪器

THZ-82 气浴恒温振荡器(江苏金坛市金城国胜试验仪器厂);DHP-9082 电热恒温培养箱(上海一恒科技有限公司);85-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂);SW-CJ-1BU 净化工作台(苏州安泰空气技术有限公司);BS214D 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.2 主要试剂

红霉素肠溶片购于西安利君制药有限责任公司;罗红霉素分散片购于哈药集团制药六厂;乙酰螺旋霉素片购于西南药业股份有限公司;阿奇霉素分散片购于东北制药集团沈阳第一制药有限公司。大环内酯类抗生素的成药除有效成分外,还包含羟丙基纤维素与羧甲基淀粉钠崩解剂、乳糖与微晶纤维素润滑剂等辅料(也称赋形剂),赋形剂与主药无配伍禁忌,不产生副作用,不影响疗效,在常温下不易变形、干裂、霉变、虫蛀、对人体无害和无生理作用,不与主药产生化学或物理作用。在获得纯品有难度的情况下,本研究采用经校正成药的有效成分进行暴露实验^[9]。海洋明亮发光杆菌冻干粉购自中国科学院南京土壤研究所微生物室。活性污泥取自大连某污水处理厂。

1.3 海洋明亮发光菌的培养和毒性分析

经发光菌冻干粉剂复苏、斜面菌种培养、摇瓶菌液培养和工作菌液制备后,进入毒性暴露实验^[10]。调配工作菌液的发光强度在 300 ~ 900 mV。将待测化合物用质量分数为 3% 的 NaCl 溶液稀释配制为十几个对数等间距分布的浓度,吸取不同梯度的样品溶液 2 mL 于具塞磨口比色管中,以 2 mL 质量分数为 3% 的 NaCl 溶液作空白对照,再将 0.5 mL 的工作菌液加入测试管中,加塞上下振荡均匀,去塞,精确计时,于暴露 15 min 时测定发光强度。每组浓度梯度做 3 ~ 5 个平行样,确保毒性分析结果标准偏差低于 10%。

$$\text{发光抑制率} = \frac{\text{对照发光强度} - \text{实验样品发光强度}}{\text{对照发光强度}} \times 100\%$$

1.4 脲酶活性的测定

脲酶活性采用苯酚钠比色法测定^[11],以 1 g 烘干污泥 24 h 生成 NH₃-N 的毫克数表示。脲酶活性测定的抗生素浓度 0、15、30、90、120、150、180 和 240 μg·L⁻¹,以 1:1 的药泥体积比进行暴露,将污泥在抗生素下的暴露时间设置为 15 h。在暴露后的污泥中取 5 mL 污泥悬浊液和上清液分别与 1 mL 甲苯混合于 50 mL 容量瓶中,此处加入少量甲苯能够使微生物溶解释放出脲酶并且能够使后续尿素水解速率大幅增加^[12-13]。200 r·min⁻¹下震荡 20 min 后,加

入 1 mL 10% 尿素溶液和 4 mL 柠檬酸缓冲溶液(pH =6.7), 于 37 °C 恒温培养箱中培养 24 h。取出后充分摇匀, 用 9 cm 滤纸将混合液过滤至干净的试管。取出 3 mL 滤液转移至 50 mL 容量瓶中, 依次加入 4 mL 0.28 mol·L⁻¹ 苯酚钠和 3 mL 1% 次氯酸钠。将混合液混匀静置 20 min 后呈靛蓝色。最后稀释至 50 mL 刻度处并在 578 nm 下测其吸光度。

$$\text{脲酶活性} = (a_{\text{样品}} - a_{\text{无污泥}} - a_{\text{无基质}}) \times V \times n / m$$

式中: $a_{\text{样品}}$ 、 $a_{\text{无污泥}}$ 和 $a_{\text{无基质}}$ 分别为样品、无污泥和无基质对应吸光度值按标准曲线求得的 NH₃-N 毫克数; V 为显色液体积(mL); n 为分取倍数, 浸出液体积/吸取滤液体积; m 为烘干污泥的质量(g)。

$$\text{脲酶活性变化率} = \frac{\text{样品脲酶活性} - \text{对照脲酶活性}}{\text{对照脲酶活性}} \times 100\%$$

1.5 实验质量控制

通过多次测量空白组脲酶活性, 对其进行误差校正, 最终确定为 141.5 mg(NH₃-N)·g⁻¹。曝气池中污泥混合液悬浮固体(MLSS)质量浓度为 3 049 mg·L⁻¹, 挥发性悬浮物(VSS)约为 0.7 mg·L⁻¹, 污泥容积指数(SVI)在 80 ~ 120 mL·g⁻¹。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 大环内酯类抗生素对海洋明亮发光菌的毒性作用

4 种抗生素对发光菌呈现不同程度的抑制作用(图 1), 阿奇霉素、红霉素、罗红霉素和乙酰螺旋霉素的半最大效应浓度(EC₅₀)分别为 30.05×10⁻⁵、71.70×10⁻⁵、108.6×10⁻⁵ 和 63.44×10⁻⁵ mol·L⁻¹, 抗生素浓度和发光菌死亡率之间的可决系数(R²)经显著性水平检验, 置信区间范围>90%(表 1)。根据抗生素对发光强度的影响及 EC₅₀ 可知, 4 种抗生素的单一毒性大小为: 阿奇霉素>乙酰螺旋霉素>红霉素>罗红霉素。

2.2 大环内酯类抗生素对脲酶的毒性作用

脲酶在 4 种大环内酯类抗生素的胁迫下表现出不同的应激反应, 根据脲酶活性的变化得到 4 种抗生素的毒性作用强弱为: 阿奇霉素>乙酰螺旋霉素>红霉素>罗红霉素(图 2)。其中, 红霉素、乙酰螺旋霉素和罗红霉素胁迫下脲酶活性表现为先激活后抑制, 这种现象被称为毒物兴奋效应, 即在相同测量参数下, 高剂量和低剂量观察到相反的效应^[14]; 阿奇霉素的毒性在 4 种抗生素中最大, 对脲酶呈现抑制效果。

阿奇霉素与罗红霉素均属于第二代大环内酯类抗生素, 二者在抗菌作用和抗菌谱间存在差异。阿奇霉素为 15 元氮杂大环内酯类, 具有抗菌谱广、抗菌活性强、血液和组织浓度高以及半衰期长等特点, 其抗菌作用更强劲, 但不良反应也更多、更严重; 罗红霉素为 14 元大环内酯类, 抗菌谱和抗菌作用基本上和红霉素相仿, 仅有少部分作用对象会出现较轻的不良反应^[15-16]。这与本文关于二者对发光菌和脲酶单一毒性作用的研究结果均一致。

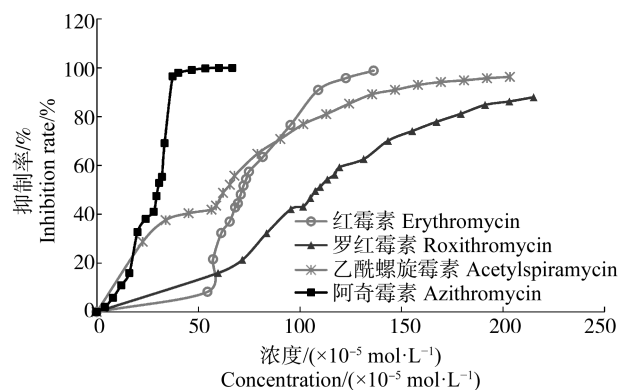


图 1 大环内酯类抗生素对海洋明亮发光菌的毒性作用

Fig. 1 Toxicity of macrolide antibiotics to *Photobacterium phosphoreum*

表 1 4 种大环内酯类抗生素对发光菌单独作用时的半最大效应浓度 (EC₅₀)

Table 1 Concentration for 50% of maximal effect (EC₅₀) values for *Photobacterium phosphoreum* when four macrolide antibiotics act alone

抗生素 Antibiotics	线性方程 Linear equation	R ²	EC ₅₀ / (×10 ⁻⁵ mol·L ⁻¹)
阿奇霉素 Azithromycin	y=4.786x-0.9379	0.9334	30.05
红霉素 Erythromycin	y=2.378x-1.205	0.9965	71.70
罗红霉素 Roxithromycin	y=0.9315x-0.5118	0.9931	108.6
乙酰螺旋霉素 Acetylspiramycin	y=1.237x-0.2844	0.9912	63.44

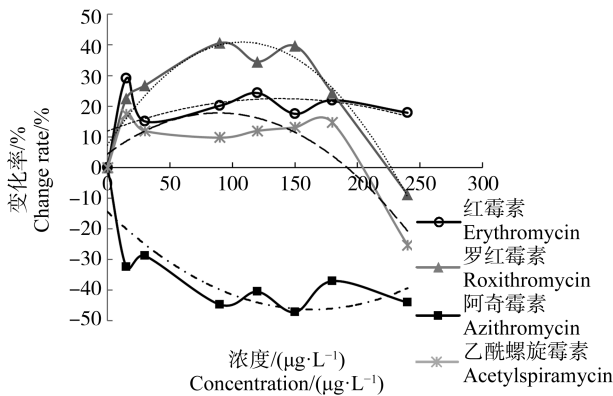


图2 大环内酯类抗生素作用下脲酶的变化

注:虚线为每种抗生素对脲酶影响的拟合趋势线。

Fig. 2 Changes of urease under the action of macrolide antibiotics

Note: The dotted line is the fitted trend line of the influence of each antibiotic on urease.

2.3 脲酶和发光菌的毒性作用分析和环境影响评价

污染物对脲酶和发光菌的毒性作用结果一致,但随污染物浓度增加发光菌的发光强度减弱,脲酶则呈现非单调趋势。用发光菌的发光强度判断污染物毒性,结果表明,污染物浓度与发光强度呈显著负相关关系,这与方战强等^[17]的研究结果相似,污染物与发光菌之间为单向影响。对于脲酶而言,不仅污染物的含量会对其活性产生影响,且脲酶和氮循环密切相关,需要与其他微生物一起参与物质转化和生化反应,故污染物与脲酶之间存在双向影响^[18]。活性污泥成分复杂,其中,脲酶来自不同的微生物群落,各个群落间存在一定协同和拮抗作用,不同群落之间相互影响,即它们在不同梯度暴露水平下对营养的竞争更能体现生长抑制或是协同作用^[19]。这些原因导致抗生素对脲酶的毒性作用呈现波动变化。而单一的模式生物发光菌的毒性实验中没有复杂的生长环境,毒性作用多为单调变化趋势。如图2所示,添加了每种抗生素对脲酶影响的趋势线,每种抗生素都是在某个浓度范围出现个别异于趋势线的波动点,根据变化率可以发现其波动范围都比较小,包括在波动点范围内的趋势仍为促进作用。脲酶和发光菌都能对环境,尤其水生生态系统起到较好的指示作用。

2.4 脲酶影响脱氮过程的作用机理

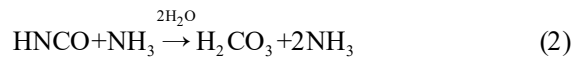
近年来,二、三季度藻类水华现象频发,氨氮含量增加是直接因素^[20]。为降低水体富营养化风险和接纳水体的负荷,对于氮磷的去除要求不断提升。

对比污水厂污泥驯化时微生物的存在和变化规律,随着污泥驯化的进行,出现了2种代表污泥系统稳定运行的微生物——钟型虫和轮虫,且脲酶活性不断增加说明酶活性和生物相间有显著正相关关系^[21]。通过改变微生物的结构和种群密度能影响活性污泥分泌脲酶。污水厂生物脱氮工艺包括好氧段和缺氧段。好氧脱氮方式主要为氧化酶催化下的氧化脱氨反应和某些好氧菌在水解酶催化作用下的水解脱氨反应(式(1)),若没有催化作用的水解反应则要消耗更多水(式(2))。在好氧条件下,硝化反应先将氨氮氧化为硝酸盐(式(3)),再在缺氧条件下通过反硝化反应将硝酸盐还原成气态氮(式(4))排出完成脱氮^[22]。

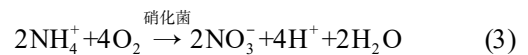
氨化反应方程式:



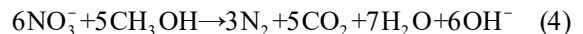
↓ 没有催化作用的消去反应



硝化总反应方程式:



反硝化总反应方程式:



脲酶属于专一水解尿素的含镍水解酶,当污染物对脲酶活动进行干扰时,可能是由抗生素某些类似尿素的惰性结构替代了底物,进入脲酶活性中心与 Ni^{2+} 发生作用,抑制了脲酶水解尿素^[23]。这在一定程度上可能对氨化过程产生抑制,影响硝化和反硝化反应的效率,对脱氮工艺产生负面影响。

2.5 污水处理系统污泥稳定性和耐药性的传播风险

脲酶很有可能在低浓度的乙酰螺旋霉素、红霉素和罗红霉素的胁迫下产生了一定的耐药性。这种情况的发生使抗生素和抗生素耐药性决定因素通过污水处理厂排入到水生环境中,可能影响其他生物对污染物的响应,长此以往容易削弱这些药物治疗感染性疾病的能力^[24]。水生生态系统的复杂性以及污染物传播途径的多样性使污染物在环境中的不可控性可能比实验的预估风险更高^[4]。

抗生素耐药性环境传播的潜在途径如图3所示。环境中存在的大量抗生素会对周围菌种产生刺激,从而引起环境中的菌株通过低于致死剂量的抗生素诱导基因产生新突变以及通过基因水平转移而获得耐药性。基因转移对抗生素抗性基因环境传递有很大影响,携带耐药基因的DNA可以在相同或

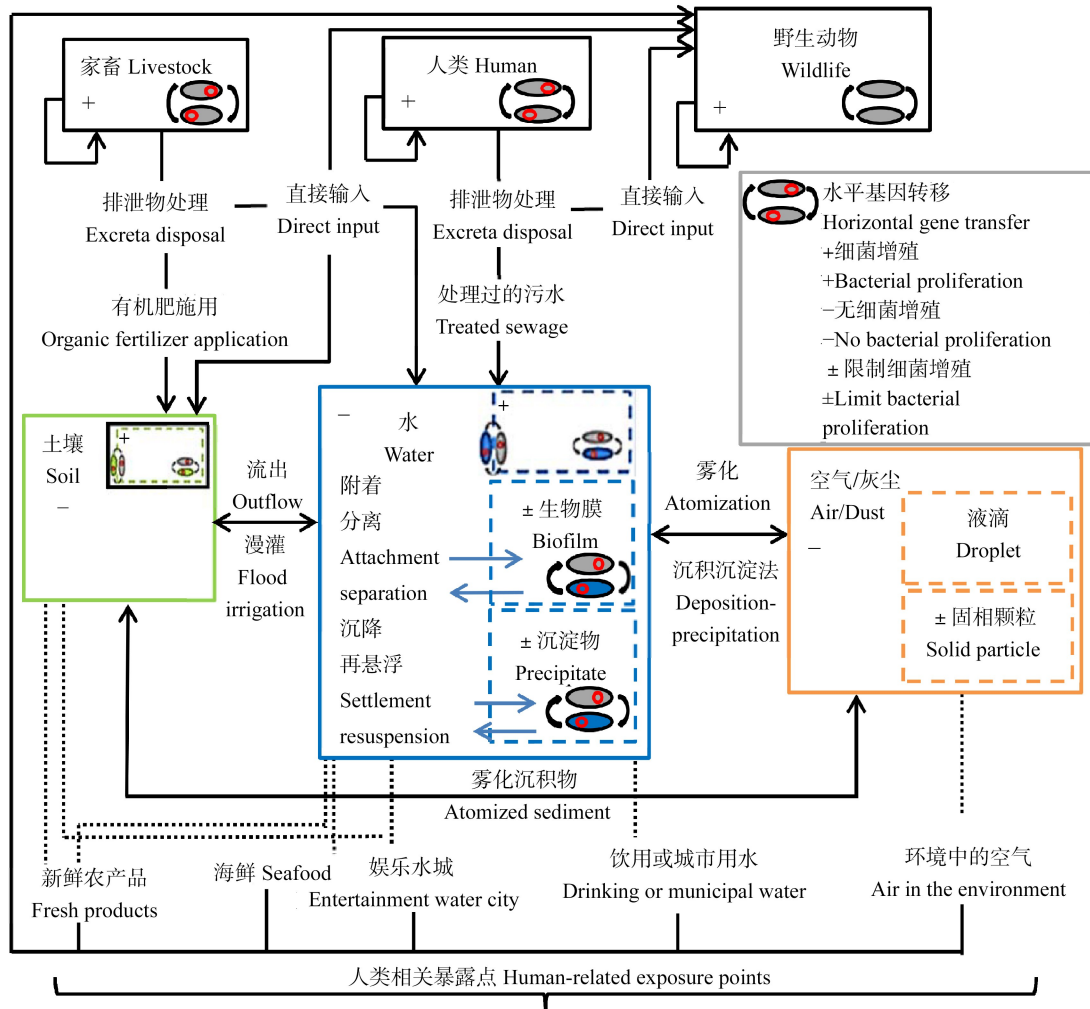


图3 抗生素耐药性环境传播潜在途径

Fig. 3 Potential path of antibiotic resistance environment transmission

不同种属的细菌间相互传播,并在不同环境介质中扩散^[25-27]。考虑到有些污水厂的出水可能用于二次灌溉,基于脲酶与环境间的双向作用,若出水中脲酶过多流向土壤,容易使尿素水解过快导致氨挥发使土壤氮素损失^[7]。因此,污水厂出水中对脲酶的监测同样重要,这有助于污水处理工艺控制出水水质。

污染物通过污水厂的出水进行污染传播,以脲酶和海洋明亮发光菌反映了其在生物体和环境中的发生、传播与存在。污水处理过程中污染物对脲酶与其底物的作用进行阻断,而污染物对发光菌的影响多是通过对其发光强度的响应进行评价。研究中4种抗生素对脲酶和发光菌的单一毒性作用基本一致,二者的不同之处主要在于:污染物对发光菌的影响是单向的,而脲酶与污染物之间存在双向影响。研究可在一定程度上用于EOCs的环境风险评价和

适当干预措施的设计,以确保水环境的良好状态。

通讯作者简介:董玉瑛(1968—),女,环境科学博士,教授,主要研究方向为有机污染化学。

参考文献 (References):

[1] Bartrons M, Peñuelas J. Pharmaceuticals and personal-care products in plants [J]. Trends in Plant Science, 2017, 22: 194-203

[2] 纪建飞, 孙佳, 杜尔登, 等. 11种典型PPCPs在污水处理厂尾水及其周围水体中的分布特征与生态风险评估[J]. 安全与环境工程, 2017, 24(6): 56-61

Ji J F, Sun J, Du E D, et al. Distribution characteristics and ecological risk assessment of eleven typical PPCPs in tail water and surrounding water bodies of a sewage treatment plant [J]. Safety and Environmental Engineering,

- 2017, 24(6): 56-61 (in Chinese)
- [3] Ashfaq M, Li Y, Rehman M S U, et al. Occurrence, spatial variation and risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in urban wastewater, canal surface water, and their sediments: A case study of Lahore, Pakistan [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 688: 653-663
- [4] Mattias S, Hugo C P, Malin U, et al. Mass loads, source apportionment, and risk estimation of organic micropollutants from hospital and municipal wastewater in recipient catchments [J]. *Chemosphere*, 2019, 234: 931-941
- [5] Christen V, Hickmann S, Rechenberg B, et al. Highly active human pharmaceuticals in aquatic systems: A concept for their identification based on their mode of action [J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 96(3): 167-181
- [6] 汤芳, 蒋延梅, 荣颖慧, 等. 淄博市某城市污水处理厂运行效果分析[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(5): 2175-2183
- Tang F, Jiang Y M, Rong Y H, et al. Assessment of performance of a municipal wastewater treatment plant in Zibo, China [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2016, 10(5): 2175-2183 (in Chinese)
- [7] Mazzei L, Cianci M, Benini S, et al. The structure of the elusive urease-urea complex unveils the mechanism of a paradigmatic nickel-dependent enzyme [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(22): 7415-7419
- [8] 那广水, 张月梅, 陈彤, 等. 发光细菌法评价排污口污水中总有机污染物毒性[J]. *中国环境监测*, 2010, 26(5): 61-64
- Na G S, Zhang Y M, Chen T, et al. *Photobacterium* method for assessment of total organic pollutants toxicity of sewage outlets [J]. *Environmental Monitoring in China*, 2010, 26(5): 61-64 (in Chinese)
- [9] 张敏. 罗红霉素分散片工艺和质量控制研究[J]. *科技风*, 2018(11): 179
- [10] 方政, 董玉瑛, 赵晶晶, 等. 3种不同功效医药品活性成分对发光菌的毒性作用[J]. *生态毒理学报*, 2018, 13(4): 185-190
- Fang Z, Dong Y Y, Zhao J J, et al. The toxic effects of three active pharmaceutical ingredients with different efficacy to *Photobacterium phosphoreum* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, 13(4): 185-190 (in Chinese)
- [11] 丰晓, 段建平, 蒲小鹏, 等. 土壤脲酶活性两种测定方法的比较[J]. *草原与草坪*, 2008(2): 70-72
- Feng X, Duan J P, Pu X P, et al. Comparative analyses between two methods of measuring soil urease activity [J]. *Grassland and Turf*, 2008(2): 70-72 (in Chinese)
- [12] 李世清, 李生秀. 几种测定条件下土壤尿素水解速率的差异[J]. *西北农业大学学报*, 1997(1): 31-35
- Li S H, Li S X. Differences of urea hydrolysis rates under several determination conditions [J]. *Journal of Northwest A & F University*, 1997(1): 31-35 (in Chinese)
- [13] 和文祥, 蒋新, 茂旭, 等. 甲苯对壤土脲酶活性影响的实验研究[J]. *环境科学*, 2001, 22(6): 91-94
- He W X, Jiang X, Mao X, et al. Effect of toluene on urease activity of Lou soil [J]. *Environmental Science*, 2001, 22(6): 91-94 (in Chinese)
- [14] Calabrese E J, Blain R B. The hormesis database: The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2011, 202(3): 289-301
- [15] 王蓓, 刘冬, 许西琳. 长期小剂量罗红霉素与阿奇霉素治疗稳定期 COPD 的临床对比研究[J]. *中国现代医药杂志*, 2019, 21(6): 34-37
- Wang B, Liu D, Xu X L. Clinical comparative study of long-term low-dose roxithromycin and azithromycin in the treatment of stable COPD [J]. *Modern Medicine Journal of China*, 2019, 21(6): 34-37 (in Chinese)
- [16] 温爱成, 刘振民, 毛红荣. 阿奇霉素口服治疗小儿支原体肺炎临床疗效及安全性观察[J]. *基层医学论坛*, 2020, 24(14): 1949-1950
- [17] 方战强, 陈中豪, 胡勇有, 等. 发光菌法在水质监测中的应用[J]. *重庆环境科学*, 2003, 25(2): 56-58
- Fang Z Q, Chen Z H, Hu Y Y, et al. Application of *Photobacterium phosphoreum* toxicity test method for water monitoring [J]. *Chongqing Environmental Science*, 2003, 25(2): 56-58 (in Chinese)
- [18] Huang T L, Li X, Rijnaarts H, et al. Effects of storm runoff on the thermal regime and water quality of a deep, stratified reservoir in a temperate monsoon zone, in Northwest China [J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 485-486: 820-827
- [19] Elias S, Banin E. Multi-species biofilms: Living with friendly neighbors [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2012, 36(5): 990-1004
- [20] Fang J, Qiu J P, Ouyang J, et al. Regularity for change of urease and catalase in wastewater treatment with activated sludge process [C]. Berlin: The 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering, 2010: 1-5
- [21] 吴属连, 刘欢, 崔理华. 复合人工湿地系统酶活性及其与污染物净化效果的相关性[J]. *环境工程*, 2015, 33(1): 15-18, 61
- Wu S L, Liu H, Cui L H. The enzyme activities and its correlation with the purification of pollutants in integrated constructed wetland [J]. *Environmental Engineering*, 2015,

- 33(1): 15-18, 61 (in Chinese)
- [22] 周娇. 高氮城市污水处理 CAST 工艺调试运行研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2009: 72-73
Zhou J. Highly influent nitrogen concentration wastewater treatment CAST process debugging and operation study [D]. Chongqing: Chongqing University, 2009: 72-73 (in Chinese)
- [23] 吕婧. 脲酶结构与功能的动力学研究及其抑制剂的设计筛选[D]. 杭州: 浙江大学, 2011: 1-12
Lv J. Molecular dynamics simulation on structure and function of urease and its inhibitors design and screening [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011: 1-12 (in Chinese)
- [24] Choi J, Rieke E L, Moorman T B, et al. Practical implications of erythromycin resistance gene diversity on surveillance and monitoring of resistance [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94(4): 1-11
- [25] Luo Y, Mao D, Rysz M, et al. Trends in antibiotic resistance genes occurrence in the Haihe River, China [J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, 44(19): 7220-7225
- [26] Allen H K, Donato J, Wang H H, et al. Call of the wild: Antibiotic resistance genes in natural environment [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(4): 251-259
- [27] 徐冰洁, 罗义, 周启星, 等. 抗生素抗性基因在环境中的来源、传播扩散及生态风险[J]. *环境化学*, 2010, 29(2): 169-178
Xu B J, Luo Y, Zhou Q X, et al. Sources, dissemination and ecological risks of antibiotic resistance genes (ARGs) in the environment [J]. *Environment Chemistry*, 2010, 29(2): 169-178 (in Chinese) ◆