

全氟辛酸铵盐(PFOA)对土壤酶活性影响的初步研究

田海霞, 和文祥, 孔 龙, 高亚军

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要 全氟辛酸及其盐类(PFOA)是新近认定的持久性有机污染物之一, 虽然对环境的危害愈来愈严重, 但鲜见其土壤生态毒理的研究报道。为此采用室内模拟的方法, 对 PFOA 与土壤酶(脲酶、脱氢酶、过氧化氢酶)活性间的剂量-效应关系进行了研究。结果表明, PFOA 可显著抑制土壤脱氢酶活性(除 5 号土样外), 二者关系达显著或极显著负相关, 揭示出土壤脱氢酶活性可表征土壤 PFOA 污染的程度; 供试土样 PFOA 轻度和中度污染时的生态剂量 ED_{10} 和 ED_{50} 值分别为 $31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $151 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而且酸性土壤比碱性土壤对 PFOA 反应更敏感, 表明土壤 pH 对 PFOA 的生态毒性有重要影响。PFOA 对纯脲酶、土壤脲酶和过氧化氢酶活性影响规律性不明显, 总体呈波动性变化, 有待进一步研究。

关键词 PFOA; 脱氢酶; 土壤酶; 生态剂量; 土壤 pH

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2010)05-0936-06

The Effect of Perfluorooctanoic Acid Ammonium Salt on Soil Enzyme Activities

TIAN Hai-xia, HE Wen-xiang, KONG Long, GAO Ya-jun

(College of Resources and Environment, Northwest Agricultural & Forest University, Yangling 712100, China)

Abstract Perfluorooctanoic acid(PFOA) and its salts are considered to a persistent organic pollutant(POP). Its harm to the environment has become serious, however there are few reports on its eco-toxicity. The dose-response relationship between PFOA and soil enzymes(urease, dehydrogenase, catalase) was investigated in a laboratory study. Results showed that PFOA could significantly inhibit soil dehydrogenase activity in all but the 5th soil sample. This indicated that soil dehydrogenase activity could be used as an index of soil pollution by PFOA. The critical PFOA concentrations were $31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for slightly polluted soil and $151 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for moderately polluted. In addition, soil dehydrogenase activity in acid soils was more sensitive than alkaline soils to PFOA. This indicated the important influence of soil pH on PFOA toxicity. PFOA had no significant influence on the activity of jackbean urease, soil urease, catalase.

Keywords PFOA; dehydrogenase; soil enzymes; ecological dose; pH

全氟辛酸及其盐类(PFOA)具有低表面张力, 高表面活性的特性, 作为重要的有机中间体可合成含氟憎水、憎油剂和皮革整理剂等产品, 而且氟取代多聚物生产中, 尚未找到合适替代品。近年来随着分析手段的不断提高, 对其环境行为的研究日益深入, 表明其具有难降解性、生物蓄积性和可沿食物链在生物体内富集的作用, 而且进入大气后可远距离迁移, 并随干湿沉降到达地面, 进入水体和土壤, 造成的环境污染已遍及全球^[1-5], 如南极等地已检测出 PFOA 的存

在, 其已被认定为新的持久性污染物。因此监测其在土壤中的含量、了解生态毒理效应等是当前农业和环境科学等关注的热点课题之一^[6]。

土壤酶作为土壤的重要组成部分, 参与土壤中几乎所有的生物化学过程^[7-8], 在污染物质的监测及净化方面也发挥着重要的作用^[9-10]。脲酶是影响 N 素循环的主要土壤酶类, 是唯一一种对尿素肥料起作用的酶类。土壤脱氢酶是土壤微生物活性的量度。过氧化氢酶与土壤呼吸作用和土壤微生物活动息息相关, 其可分解 H_2O_2 而降低对生物的毒害, 同时与土壤有机质含量密切相关, 是表征土壤生物学特性的重要酶类^[11]。国内外许多学者对不同污染物的土壤酶效应进行了大量研究, 提出土壤酶在一定程度上可表征环境污染程度的大小^[12-14]。但目前国内外对 PFOA 的

收稿日期: 2009-10-11

基金项目: 农业部公益性行业(农业)科研专项(200803029-13); 西北农林科技大学“青年学术骨干人才支持”计划项目

作者简介: 田海霞(1984—), 女, 硕士。E-mail: jingyi_180@163.com

通讯作者: 和文祥 E-mail: wxhe1968@163.com

研究多集中在生物(如鱼类等)毒性及其环境行为方面^[15-17],从土壤酶的角度探讨 PFOA 的土壤生态毒理效应尚属空白。为此本文拟采用室内模拟方法,初步探讨 PFOA 对土壤脲酶、脱氢酶和过氧化氢酶 3 类酶活性的影响,以期环境监测和保护等提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试土样

采自陕西省黄龙县的褐土(简育干润淋溶土, Hapli-Ustic Argosols)、杨凌区的壤土(土垫旱耕人为土 Eum Orthic Anthrosols)、榆林市的风沙土(干旱砂质新成土, Aridi-Sandic Primosols)和江西省鹰潭市的红壤(简育湿润富铁土 Hap Udic Ferrisols)。采样时,先去除 0~5 cm 的表土,取 5~20 cm 土样,混匀风干,过 1 mm 筛后备用。常规方法分析^[18]土样的理化性质,结果见表 1。

1.2 试剂

PFOA、纯洋刀豆脲酶(Jackbean urease)购自Sigma-Aldrich 公司。

1.3 试验方案

向 5.00 g 土样中加入 1 mL 甲苯,15 min 后添加 5 mL 不同质量浓度(0.0、50、100、150、200、300、400 mg·kg⁻¹)的 PFOA 溶液,混匀维持 30 min 后,加入相应的底物和缓冲液,37℃培养,定期取样。采用靛酚蓝、三苯基四氮唑氯化物(TTC)比色法和容量法分别测定土壤脲酶、脱氢酶和过氧化氢酶活性^[7],单位分别用 NH₃-N、三苯基甲膦(TPF)的量 μg·g⁻¹·h⁻¹ 和消耗的 KMnO₄ 毫升数 mL·g⁻¹·h⁻¹ 来表示。每处理重复 3 次,设无底物、无土壤处理作为对照。

1.4 数据分析

采用 Excel 和 DPS7.05 软件对数据进行计算分析。

相对活性=处理的酶活性/对照酶活性×100%

生态剂量(Ecological dose)ED₁₀ 和 ED₅₀ 分别是指土壤酶活性变化 10%和 50%时外界污染物的浓度,可表征土壤轻微和中度污染时的临界浓度^[20]。

2 结果分析

2.1 PFOA 对土样脲酶活性的影响

由供试土样脲酶活性(图 1 和表 2)可看出:(1)未添加 PFOA 时,同一类型土壤的脲酶活性值,随有机质含量的增加而明显增大。其与有机质($r=0.72^*$)、全磷($r=0.71^*$)呈显著正相关,这主要是由于土壤酶是以吸附态与有机质等结合存在的缘故^[8]。(2)PFOA 的加入,纯脲酶活性总体呈现抑制作用,除 200 mg·kg⁻¹ 外,其余降幅为 9%~24%,但随 PFOA 浓度增加,纯脲

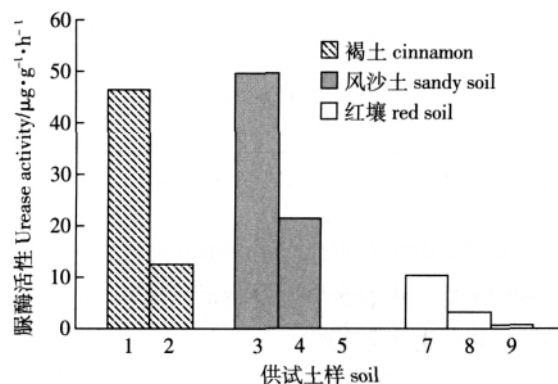


图 1 供试土壤脲酶活性

Figure 1 Urease activity of soils tested

表 1 供试土样的理化性质

Table 1 The physic-chemical properties of soils tested

土样 Soil samples	编号 No.	有机质 O.M/ g·kg ⁻¹	全氮 TN/ g·kg ⁻¹	全磷 TP/ g·kg ⁻¹	碱解氮 Alk-hydrolyzabe N/ mg·kg ⁻¹	CEC/ cmol·kg ⁻¹	pH(H ₂ O)
褐土 cinnamon	1	26.07	0.77	1.83	101.93	8.05	8.15
	2	14.59	0.38	0.80	61.33	7.41	8.63
风沙土 Sandy soil	3	19.46	0.51	1.04	101.39	7.27	8.13
	4	17.63	0.31	0.44	60.37	4.49	8.69
	5	0.92	0.02	0.22	5.87	1.63	8.94
壤土 Lou soil	6	23.66	1.78	1.59	141.28	16.91	8.34
红壤 Red soil	7	20.02	1.43	0.66	126.70	14.48	5.48
	8	8.22	0.69	0.45	61.85	6.23	4.03
	9	9.60	0.83	0.34	57.38	13.22	5.00

注:褐土、风沙土、壤土的主要矿物学类型为水云母-蛭石,红壤的为高岭土-水云母^[19]。

表 2 不同浓度 PFOA 作用下的土壤脲酶活性 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)Table 2 Soil urease activities affected by PFOA($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)

编号 No.	项目 Items	PFOA 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$						
		0	50	100	150	200	300	400
纯脲酶 Jackbean urease	A	225.8±0.0ab	189.2±9.8c	192.1±19.6bc	180.2±0.0c	234.7±21.0a	205.0±21.0abc	172.3±8.4c
	R	100	84	85	80	104	91	76
1	A	46.43±0.53b	48.78±1.05b	50.02±3.50b	49.16±2.28b	55.97±1.75a	39.74±3.68c	49.03±0.35b
	R	100	105	108	106	121	86	106
2	A	12.32±1.65a	10.05±1.42ab	6.63±0.27c	10.40±1.00ab	10.32±0.34ab	8.72±0.77bc	9.29±0.50b
	R	100	82	54	84	84	71	75
3	A	49.61±0.48a	46.08±0.41b	47.49±1.03ab	42.65±0.07c	40.14±2.39c	50.24±0.82a	46.33±1.30b
	R	100	93	96	86	81	101	93
4	A	21.26±0.58e	24.77±1.15de	26.40±1.15cd	22.32±3.00de	30.32±2.08bc	34.48±0.35b	42.97±2.66a
	R	100	117	124	105	143	162	202
5	A	0.16±0.15c	0.32±0.47bc	0.49±0.06abc	0.16±0.28c	0.91±0.06abc	0.96±0.51ab	1.23±0.30a
	R	100	206	312	100	581	610	784
6	A	16.66±0.36ab	17.56±0.36a	16.34±1.54ab	14.67±0.09bc	16.34±1.36ab	13.38±0.09c	17.37±0.27a
	R	100	105	98	88	98	80	104
7	A	10.45±1.54a	10.15±0.73a	9.69±0.39a	10.15±0.02a	9.85±0.57a	10.94±0.81a	11.40±0.59a
	R	100	97	93	97	94	105	109
8	A	3.36±0.24a	1.40±0.36b	1.83±1.01ab	2.74±0.00ab	2.39±0.45ab	2.59±0.22ab	3.26±1.20a
	R	100	42	55	82	71	77	97
9	A	0.69±0.02ab	0.89±0.15ab	0.46±0.05b	0.94±0.26ab	0.99±0.15a	1.17±0.07a	0.89±0.37ab
	R	100	128	66	136	143	169	128

注:A 为酶活性,R 为相对活性,同行不同字母(a,b等)表明差异显著($P<0.05$),下同。

酶活性变化规律性不明显。(3)PFOA 加入对土壤脲酶活性影响较大,其中 5 个土样酶活性减小,4 个增大。一方面,由于土壤脲酶受到有机质等的保护作用;另一方面,土壤中的某些矿物质可能吸附了 PFOA,使土壤脲酶对 PFOA 的反应不敏感,表现出的规律性更差。(4)随 PFOA 质量浓度增加,同一种土样脲酶活性呈波动性变化,并均未达到显著水平。反映出供试土样脲酶与 PFOA 的关系较为复杂,有待进一步研究。

2.2 PFOA 对土样脱氢酶活性的影响

由表 3 可看出(1)供试土壤脱氢酶活性与有机质($r=0.86^{**}$)、全磷($r=0.81^{**}$)、碱解氮($r=0.74^{*}$)达显著或极显著正相关。表明在未污染的土壤中,有机质含量越高,土壤越肥沃,土壤微生物数量和活性越大。(2)PFOA 的加入导致了土壤脱氢酶活性减小,表明 PFOA 抑制脱氢酶活性。(3)随 PFOA 质量浓度的增加,脱氢酶活性值持续减小,且大多数处理间均达到显著差异水平,反映出其抑制作用增强。如当 PFOA 质量浓度由 0 增加到 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,脱氢酶活性降幅为 4%~34%,当浓度增加至 $400\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,1~6 号土样的脱氢酶活性降幅为 32%~69%,红壤的降幅高达

97%~100%,脱氢酶受到完全抑制。同时揭示出酸性土壤中的脱氢酶比碱性土壤的对 PFOA 污染更敏感,侧面反映 PFOA 的毒害作用更强。(4)PFOA 质量浓度(C)与脱氢酶活性(U)线性拟合结果(表 4)显示,除 5 号土样外,其余均达显著或极显著负相关,揭示脱氢酶在一定程度上可表征土壤 PFOA 污染程度的大小。(5)计算得到了污染的生态剂量值 ED_{10} 和 ED_{50} 分别为 $31\sim111\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $153\sim554\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。表明酸性土壤轻度和中度污染时 PFOA 临界浓度分别为 31 和 $153\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,碱性土壤轻度和中度污染时 PFOA 临界浓度分别为 55 和 $277\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。(6)酸性土壤 ED_{10} 、 ED_{50} 值最小值分别为碱性土壤的 56.4%和 55.2%,证明酸性土壤比碱性土壤对 PFOA 的污染反应更敏感。

2.3 PFOA 对土样过氧化氢酶活性的影响

由表 5 看出(1)在未添加 PFOA 时,同一类型土壤的过氧化氢酶活性,随有机质含量的增加而明显增大。其与有机质($r=0.77^{**}$)、全磷($r=0.82^{**}$)呈极显著正相关,与脲酶和脱氢酶的结果类似。(2)当加入 PFOA 后,土壤过氧化氢酶活性变化幅度很小。随着 PFOA 质量浓度的增加,过氧化氢酶活性呈现出波动性变

表 3 不同浓度 PFOA 作用下的土壤脱氢酶活性 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)
Table 3 Soil dehydrogenase activities affected by PFOA ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)

编号 No.	项目 Items	PFOA 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$						
		0	50	100	150	200	300	400
1	A	2.13±0.01a	1.73±0.03b	1.40±0.00c	1.41±0.01c	1.23±0.01d	0.90±0.02e	0.83±0.03f
	R	100	81	65	66	58	42	39
2	A	2.17±0.04a	2.01±0.05b	1.87±0.03c	1.78±0.01d	1.62±0.02e	1.50±0.01f	1.37±0.01g
	R	100	93	86	82	75	69	63
3	A	2.35±0.04a	1.94±0.05b	1.81±0.03c	1.75±0.03c	1.58±0.04d	1.58±0.05d	1.45±0.08e
	R	100	83	77	74	67	67	62
4	A	1.72±0.04a	1.65±0.06a	1.37±0.00b	1.22±0.02b	1.09±0.09c	1.39±0.01d	1.00±0.07d
	R	100	95	79	71	63	80	58
5	A	0.08±0.03a	0.08±0.00a	0.08±0.01a	0.05±0.01a	0.08±0.02a	0.09±0.00a	0.05±0.00a
	R	100	96	99	68	94	111	68
6	A	2.97±0.04a	2.29±0.11b	2.09±0.03bc	1.87±0.12cd	1.56±0.05d	1.18±0.35e	0.91±0.05e
	R	100	77	70	63	52	40	31
7	A	1.28±0.00a	0.94±0.10b	0.85±0.02bc	0.79±0.08c	0.64±0.03d	0.46±0.01e	0.04±0.02f
	R	100	74	66	62	50	36	3
8	A	0.70±0.01a	0.62±0.00b	0.54±0.03c	0.51±0.02c	0.37±0.03d	0.18±0.02e	0.01±0.02f
	R	100	89	77	73	53	26	2
9	A	0.66±0.02a	0.43±0.03b	0.10±0.00c	0.04±0.00d	0.03±0.00de	0.00±0.00e	0.00±0.00e
	R	100	66	16	6	4	1	0

表 4 土壤脱氢酶活性与 PFOA 质量浓度的线性拟合
Table 4 The regression equations between soil dehydrogenase activity and concentration of PFOA

编号 No.	拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	ED ₁₀ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	ED ₅₀ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
1	$U=-3.1\times10^{-3}\times C+1.902$	-0.95**	61	307
2	$U=-2.0\times10^{-3}\times C+2.098$	-0.98**	105	525
3	$U=-1.9\times10^{-3}\times C+2.104$	-0.89**	111	554
4	$U=-1.5\times10^{-3}\times C+1.608$	-0.79*	107	536
5	$U=-3.0\times10^{-5}\times C+0.078$	-0.35	-	-
6	$U=-4.8\times10^{-3}\times C+2.661$	-0.97**	55	277
7	$U=-2.7\times10^{-3}\times C+1.178$	-0.98**	44	218
8	$U=-1.7\times10^{-3}\times C+0.719$	-0.99**	42	212
9	$U=-1.4\times10^{-3}\times C+0.428$	-0.78*	31	153

化,在供试 PFOA 浓度范围内,碱性土壤酶活性的变幅为-32%~9%,酸性土壤的为-23%~17%。揭示土壤过氧化氢酶对 PFOA 不敏感。

3 讨论

土壤矿物质种类多,化学组成复杂,而全氟辛酸铵盐(PFOA)溶于水后,可完全电离为 PFO⁻和 NH₄⁺,当它进入土壤后,土壤中的有机、无机矿物质会影响到它在其中的存在和转化。

试验发现,PFOA 对于纯脲酶的影响总体上表现

为抑制作用,而对土壤脲酶的影响则表现为有的抑制,有的激活,这可能是因为土壤中的有机、无机矿物质对脲酶的保护和对 PFOA 的吸附作用。

PFOA 可以显著地抑制土壤脱氢酶活性,可能是由于 PFOA 与脱氢酶争夺底物,也可能是对微生物产生了毒害作用,具体机理还有待进一步研究。7 号土样的有机质含量相对较高,对脱氢酶有相对较大的保护作用,对 PFOA 的缓冲作用比较强,即对 PFOA 的污染反应不敏感,但是试验表明它对 PFOA 的污染较敏感,说明 pH 是 PFOA 对土壤脱氢酶影响中比较重要的因子。Higgins 等^[21]研究也表明,沉积物中的有机碳是主要的影响全氟化合物吸附沉积物特性的参数,这种吸附随 pH 降低而增加,静电作用起着重要作用。

获得了供试土样中度污染时 PFOA 浓度为 153~554 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。Olson 等^[22]用 Fisher 大鼠研究 PFOA 的急性毒性,证明 PFOA 经口染毒的急性毒性作用较弱,雄性和雌性大鼠的半数致死量(LD₅₀)分别为>500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 250~500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;而本文得出的酸性和碱性土壤中度污染的临界浓度分别为 153 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 277 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。揭示出采用土壤酶活性来探讨 PFOA 的生态毒理效应更敏感。

由于供试土样过氧化氢酶对 PFOA 不敏感,不能用来表征 PFOA 的污染。

表 5 不同浓度 PFOA 作用下的土壤过氧化氢酶活性 (mL·g⁻¹·h⁻¹)
Table 5 Soil catalase activities affected by PFOA (mL·g⁻¹·h⁻¹)

编号 No.	项目 Items	PFOA 浓度/mg·kg ⁻¹						
		0	50	100	150	200	300	400
1	A	14.85±0.00	14.40±0.00	14.55±0.40	14.85±0.00	14.45±0.35	14.45±0.09	14.60±0.23
	R	100	97	98	100	97	97	98
2	A	11.30±0.23	11.40±0.00	11.40±0.00	11.30±0.09	11.25±0.15	11.25±0.15	11.40±0.15
	R	100	101	101	100	100	100	101
3	A	14.65±0.09	14.85±0.00	14.60±0.09	14.55±0.15	14.55±0.15	14.60±0.09	14.65±0.09
	R	100	101	100	99	99	100	100
4	A	6.85±0.09	6.55±0.11	6.95±0.75	7.50±0.26	7.10±0.96	7.65±0.98	7.55±0.71
	R	100	96	101	109	104	112	110
5	A	0.95±0.09	0.70±0.09	0.65±0.09	0.80±0.09	0.80±0.09	0.80±0.09	0.85±0.09
	R	100	74	68	84	84	84	89
6	A	10.65±0.15	10.45±0.23	10.45±0.23	10.90±0.23	10.70±0.23	10.25±0.35	10.50±0.26
	R	100	98	98	102	100	96	99
7	A	5.49±0.00	5.67±0.18	5.61±0.10	5.61±0.21	5.61±0.10	5.25±0.46	5.25±0.46
	R	100	103	102	102	102	96	96
8	A	1.23±0.23	1.19±0.10	1.19±0.10	1.13±0.00	1.25±0.21	1.25±0.21	0.95±0.00
	R	100	97	97	92	102	102	77
9	A	1.07±0.10	1.25±0.21	1.19±0.10	1.19±0.10	1.07±0.10	1.07±0.21	1.07±0.10
	R	100	117	111	111	100	100	100

4 结论

(1)土壤脲酶、脱氢酶和过氧化氢酶活性在一定水平上都可以用以表征土壤有机质含量水平。

(2)供试 PFOA 浓度下土样脲酶和过氧化氢酶活性变化规律不明显 ,有的酶活性增加 ,有的则减小。

(3)PFOA 显著抑制土壤脱氢酶活性 ,除 5 号土样外 ,其余均达显著或极显著负相关 ,揭示出土壤脱氢酶活性可表征土壤 PFOA 污染的程度。

(4)计算得到供试土样轻度和中度 PFOA 污染时的生态剂量 ED₁₀ 和 ED₅₀ 分别为 31 mg·kg⁻¹ 和 153 mg·kg⁻¹。

(5)相对碱性土样而言 ,酸性土壤对 PFOA 的毒害反应更敏感 ,表明土壤 pH 对 PFOA 的生态毒性有重要影响。

参考文献：

[1] Calafat A M, Needham L L, Kuklenyik Z, et al. Perfluorinated chemicals in selected residents of the American continent[J]. *Chemosphere*, 2006, 63(4) :490–496.

[2] Kaanan K, Tao L, Sinclair E, et al. Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain[J]. *Arch Environ Contain Toxicol*, 2005, 48(4) :559–566.

[3] Smithwick M, Muir D C, Mabury S A, et al. Perflouroalkyl contaminmts in liver tissue from East Greenland polar bears(*Ursus maritimus*) [J]. *Environ Toxicol Chem*, 2005, 24(4) :981–986.

[4] Tomy G T, Budakowski W, Halldorson T, et al. Fluorinated organic compounds in an eastern Arctic marine food web[J]. *Environ Sci Technol*, 2004, 38(24) :6475–6481.

[5] Kannan K, Choi J W, Iseki N, et al. Concentrations of perfluorinated acids in livers of birds from Japan and Korea[J]. *Chemosphere*, 2002, 49(3) :225–231.

[6] Washington J W, Matthew Henderson M, Jackson Ellington J, et al. Analysis of perfluorinated carboxylic acids in soils II Optimization of chromatography and extraction[J]. *Journal of Chromatography A*, 2008, 1181(1–2) :21–32.

[7] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京 :农业出版社, 1986.

GUAN Song-yin. Soil enzyme and its research methods[M]. Beijing : China Agriculture Press, 1986.

[8] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京 :科学出版社, 1987.

ZHOU Li-kai. Soil enzymology[M]. Beijing :Science Press, 1987.

[9] Gianfreda L, Rao M A. Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils :A review[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2004, 35(4) :339–354.

[10] Caldwell B A. Enzyme activities as a component of soil biodiversity :A review[J]. *Pedobiologia*, 2005, 49(6) :637–644.

[11] Lettinga G, Field J, Van L, et al. Advanced anaerobic wastewater treatment in the near future[J]. *Wat Sci Tech*, 1997, 35(10) :5–12.

[12] 和文祥, 陈会明, 冯贵颖, 等. 汞铬砷元素污染土壤的酶监测研究[J].

- 环境科学学报, 2000, 20(3) :338-343.
- HE Wen-xiang, CHENG Hui-ming, FENG Gui-ying, et al. Study on enzyme index in soils polluted by mercury, chromium and arsenic[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2000, 20(3) :338-343.
- [13] Hinojosa M B, Carreira J A, Rodríguez-Maroto J M, et al. Effects of pyrite sludge pollution on soil enzyme activities Ecological dose-response model[J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 396(2-3) :89-99.
- [14] Yang Zhi-xin, Liu Shu-qing, Zheng Da-wei, et al. Effects of cadmium, zinc and lead on soil enzyme activities[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2006, 18(6) :1135-1141.
- [15] 周启星, 胡献刚. PFOS/PFOA 环境污染行为与毒性效应及机理研究进展[J]. 环境科学, 2007, 28(10) :2153-2162.
- ZHOU Qi-xing, HU Xian-gang. Researching progresses in environmental pollution behavior, toxic effects and mechanisms of PFOS/PFOA [J]. *Environmental Science*, 2007, 28(10) :2153-2162.
- [16] 刘 薇, 金一和, 全 雯, 等. 沈阳市降雪中 PFOS 和 PFOA 污染现状调查[J]. 环境科学, 2007, 28(9) :2068-2073.
- LIU Wei, JIN Yi-he, QUAN Xie, et al. Investigation of PFOS and PFOA pollution in snow in Shenyang, China[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(9) :2068-2073.
- [17] Hansen K J, Johson H O, Eldridge J S. Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River [J]. *Environ Sci Technol*, 2002, 36(8) :1681-1685.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京 :中国农业出版, 2000.
- BAO Shi-dan. Agricultural chemistry analysis for soil [M]. Beijing : China Agriculture Press, 2000.
- [19] 中国科学院南京土壤研究所. 中国土壤 [M]. 北京 :科学出版社, 1978.
- Nanjing Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. China soils[M]. Beijing Science Press, 1978.
- [20] Doelman P, Haanstra L. Short-and long-term effects of heavy metals on phosphatase activity in soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1989, 8(3) :235-241.
- [21] Higgins C P, Field J A, Criddle C S, et al. Quantitative determination of perfluorochemicals in sediments and domestic sludge [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, 39 (11), 3946-3956.
- [22] Olson C T, Andersen, M E. The acute toxicity of perfluorooctanoic and perfluorodecanoic acid in male rats and effects on tissue fatty acids[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1983, 70(3), 362-372.