

聂宇, 陈娅婷, 孙照勇, 夏子渊, 苟敏. 污水/城市污泥中抗生素对厌氧消化的影响研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26 (2): 479-488

Nie Y, Chen YT, Sun ZY, Xia ZY, Gou M. Research progress on the effects of antibiotics on anaerobic digestion in sewage and municipal sludge [J]. Chin J Appl Environ Biol, 2020, 26 (2): 479-488

污水/城市污泥中抗生素对厌氧消化的影响研究进展

聂宇 陈娅婷 孙照勇 夏子渊 苟敏✉

四川大学建筑与环境学院, 四川省环境保护有机废弃物资源化利用重点实验室 成都 610065

摘要 污水处理厂现有工艺主要针对化学需氧量(COD)和氮/磷的处理, 忽视了对抗生素的去除, 导致污水厂出水及污泥中抗生素含量较高。厌氧消化是污水及城市污泥资源化的常用手段, 但容易受残留抗生素的影响。从抗生素的残留情况、抗生素对生物气/甲烷产量及挥发性脂肪酸代谢过程的影响、抗生素对微生物群落结构的影响以及去除抗生素抑制的方法4个方面, 综述污水/城市污泥中抗生素对厌氧消化体系影响的研究进展。研究表明, 大多数抗生素会抑制生物气/甲烷产量并造成挥发性脂肪酸累积; 水解酸化菌大多对抗生素不敏感, 但互营有机酸氧化菌的活性容易受抗生素抑制; 与氢营养型产甲烷菌相比, 乙酸营养型产甲烷菌更容易受抗生素影响; 预处理(热水解、臭氧氧化、碱处理)及添加外源介质(零价铁、活性炭等)等手段可以在一定程度上缓解抗生素对厌氧消化的抑制作用。未来应在属/种水平上深入探讨单一及联合抗生素对微生物群落结构的影响, 并进一步开发削减抗生素和抗生素抗性基因的厌氧消化工艺, 以加速实现污水/城市污泥的资源化进程并降低抗性传播风险。(表5 参77)

关键词 抗生素; 厌氧消化; 污水; 城市污泥; 微生物群落结构

Research progress on the effects of antibiotics on anaerobic digestion in sewage and municipal sludge

NIE Yu, CHEN Yating, SUN Zhaoyong, XIA Ziyuan & GOU Min✉

Sichuan provincial key lab for resource utilization of organic waste, College of Architecture and Environment, Sichuan University, Chengdu 610065, China

Abstract The existing technologies used in wastewater treatment plants mainly focus on the removal of chemical oxygen demand (COD) and N/P and overlook the treatment of antibiotics, resulting in high antibiotic residues in sewage and municipal sludge. Anaerobic digestion is a recognized method for reusing sewage and sludge; however, it is affected by antibiotics. This study reviewed the influence of antibiotics on the anaerobic digestion system for sewage and sludge treatment, including the residue of antibiotics, influence of antibiotics on the production of biogas/methane and metabolism of volatile fatty acids (VFAs), effect of antibiotics on the microbial community composition, and mitigation measures of antibiotic inhibition. The main conclusions were as follows: most antibiotics inhibit biogas/methane production leading to the accumulation of VFAs; bacteria for hydrolysis and acidogenesis are resistant to most antibiotics, whereas bacteria for VFA oxidation are prone to the inhibition of antibiotics; acetoclastic methanogens are more susceptible to the inhibition of antibiotics than hydrogenotrophic methanogens; and pretreatment (e.g., thermal hydrolysis, ozone oxidation, and alkali treatment) and the addition of exogenous media (e.g., zero valence iron, activated carbon, and so on) can ameliorate the inhibition of antibiotics on anaerobic digestion somewhat. In the future, the effects of single or mixed antibiotics on the microbial community composition (genus or species level) will be further investigated and the process of anaerobic digestion for the removal of antibiotics and antibiotic resistance genes improved to accelerate the reuse of sewage and municipal sludge and reduce the risk of resistance transmission.

Keywords antibiotics; anaerobic digestion; sewage; municipal sludge; microbial community structure

收稿日期 Received: 2019-05-04 接受日期 Accepted: 2019-07-22

科技部政府间国际科技创新合作重点专项(2016YFE0127700)和成都市科技惠民计划项目(2016-HM01-00244-SF)资助 Supported by the Ministry of Science and Technology of China (2016YFE0127700) and the Chengdu Science and Technology Bureau (2016-HM01-00244-SF)

✉通讯作者 Corresponding author (E-mail: goumin@scu.edu.cn)

自1940年青霉素问世以来,抗生素在医药行业中发挥了重要作用。据统计,我国使用最多的前15种药品中,抗生素占据了10种^[1],其年使用量约15-20万吨,分别是美国及英国的10倍^[2]和150倍^[3]。这些抗生素大多会随着废水进入城市污水处理厂。然而现有污水处理厂的工艺主要针对化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)及营养物质(N、P)的处理,而忽视了对抗生素的去除,其排放的污水是自然环境(如地表水、地下水和土壤等)中抗生素的重要来源^[4-5]。此外,由于污泥对抗生素的高吸附能力,污泥中的抗生素含量远远高于污水。以环丙沙星(氟喹诺酮类抗生素)为例,污水厂出水中环丙沙星的最大浓度为0.055 $\mu\text{g/L}$,而污泥中其浓度则高达460 $\mu\text{g/kg}$ ^[6]。因此,污水和城市污泥中的抗生素残留问题都需要得到重视。

由于可实现有机废弃物的减量化、无害化及资源化,厌氧消化在污水及城市污泥处理等方面应用广泛,发达国家50%以上污泥稳定化处理都采用厌氧消化^[7]。厌氧消化通常需要细菌和古菌的协作来完成一系列的反应(包括水解、酸化、产氢产乙酸和产甲烷)以实现有机物的甲烷化过程。因此,每阶段都有特定的功能微生物发挥重要作用。研究显示污水/城市污泥中的残留抗生素对厌氧消化的不同微生物类群有着不同程度的扰动,由此会影响厌氧消化的整体性能^[8]。本文从抗生素的残留情况、抗生素对生物气/甲烷产量、挥发性脂肪酸代谢和微生物群落结构的影响以及去除抗生素抑制的方法等方面,综述国内外污水/城市污泥中抗生素对厌氧消化影响的研究进展,以期对抗生素存在条件下厌氧消化的机理探究及抑制去除提供理论支持。

1 污水/城市污泥中抗生素的残留情况

通常,医疗、制药、生活和畜禽废水中的抗生素含量较高^[9]。由于生活污水COD值较低,一般不进行厌氧消化处理,且目前对制药废水中的抗生素关注较少,因此表1重点总结了国内医疗和畜禽废水中的抗生素残留情况。这两类废水中的抗生素种类及浓度存在较大差异。喹诺酮类和大环内酯类抗生素多为人用抗生素,因此常存在于医疗废水中;而磺胺类和四环素类抗生素常用于畜禽生长促进和疾病防控,所以在畜禽废水中浓度较高。此外,抗生素的种类及浓度具有一定的区域性。例如,Wei等检测了江苏省27个大规模农场的畜禽废水,发现北部废水中磺胺类抗生素含量较高(2.09 $\mu\text{g/L}$),中部废水中灭蝇胺、磺胺嘧啶、土霉素、四环素较多(0.13-3.69 $\mu\text{g/L}$),而南部废水中四环素类抗生素居多(9.80 $\mu\text{g/L}$)。这可能与当地的抗生素使用习惯有关^[10]。

由于污泥对抗生素的吸附作用,一部分抗生素会从废水转移到污泥中,因此污泥中抗生素的残留情况也需要关注(表2)。Li等检测了中国45个污水处理厂污泥中的抗生素含量,发现喹诺酮类抗生素的含量最高(8 905 $\mu\text{g/kg}$),其次是大环内酯类抗生素(85.1 $\mu\text{g/kg}$)和磺胺类抗生素(22.7 $\mu\text{g/kg}$)^[11]。喹诺酮类抗生素在污泥中的高检出率和高浓度,可能与其较高的使用量有关,同时它们与污泥间的强静电引力也有利于污泥的吸附^[12]。污泥中抗生素浓度受到季节变化的影响。冬季抗生素的使用量通常比夏季多,且低温不利于污泥中功能微生物的活性,因此冬季污泥中抗生素浓度更高^[13]。此外,污泥中抗生素的浓度还与废水成分、污泥有机物含量、服务人口数

量、污水处理厂的处理技术等因素有关^[11]。例如,高等发现兰州市污水处理厂污泥中喹诺酮类抗生素的浓度较低,分析可能是由于该地区废水中含盐量通常较高,易通过竞争吸附抑制喹诺酮类抗生素与污泥之间的静电引力作用;另一方面,该研究使用的污泥中可能含有喹诺酮类抗生素降解菌,部分抗生素的分解导致其浓度降低^[14]。总之,尽管抗生素种类及浓度在不同地区的污水及污泥中有较大差异,但较高的抗生素残留已成为普遍现象,因此考察污水/城市污泥中抗生素对后续厌氧消化的影响十分必要。

2 抗生素对污水/城市污泥厌氧消化效果的影响

2.1 抗生素对生物气/甲烷产量的影响

研究者们多利用外加抗生素模拟体系,考察了抗生素(尤其是四环素)对污水/污泥厌氧消化产气效果的影响,其研究结果总结于表3及表4。由表可知:大部分抗生素会抑制生物气/甲烷产量,且不同抗生素的抑制效果不同,但抑制程度通常都会随着抗生素浓度的增加而增加。例如,马清佳等发现添加25 mg/L的四环素对高温厌氧消化体系的甲烷产量没有影响,但50 mg/L的四环素使甲烷产量降低了36.13%^[29]。四环素投加量达到500 mg/L时,以乙酸合成废水为底物的厌氧消化体系的产甲烷活动几乎完全停止^[30]。同时,即使同一种抗生素,要达到相同的产甲烷抑制效果,其抑制浓度在不同厌氧消化体系中也存在较大差异^[30, 31]。这些差异可能是厌氧消化体系的微生物种源、物料类型、操作条件等不同而引起的^[32]。Zhao和Lu等分别考察了环丙沙星和头孢氨苄对产甲烷效果的影响,均发现尽管短期内甲烷产量被抗生素明显抑制,但长期作用后该抑制效果逐渐减弱^[33-34]。这说明暴露时间也是影响抗生素作用效果的重要因素。这些厌氧消化体系在后期能够恢复产甲烷能力的原因可能是抗生素被降解^[34]或微生物获得了抗生素耐药性^[32]。Cetecioglu等认为急性抑制(短期暴露)可以体现高浓度抗生素初次暴露或冲击负荷对厌氧消化系统的影响,而慢性抑制(长期暴露)更能反映抗生素对微生物群落的影响机制,有必要对二者进行联合评估^[35]。

由于环境中的抗生素往往不是单独存在的,因此探究多种抗生素的联合作用十分必要。伊斯坦布尔科技大学的Aydin团队进行了大量的相关研究,并重点关注了磺胺甲恶唑(Sulfamethoxazole, S)、红霉素(Erythromycin, E)和四环素(Tetracycline, T)3种抗生素对厌氧消化的联合作用,发现抗生素两两或三者联合的抑制效果均比单独作用更加显著,但抑制程度与抗生素浓度有较大关系^[30, 36-40]。多数情况下,ST、ET、EST、ES的联合抑制效果依次减弱,推测可能是因为T与S之间有更强的协同作用,而E对这种协同作用有一定的拮抗效果。另有研究指出,环境中共存的抗生素和重金属(如Mg、Cu、Ca)容易形成配合物,其对微生物的毒性比抗生素本身更高^[41-42]。例如,环丙沙星独立作用36 h时甲烷产量仅降低了14%,而当其与ZnO联合作用14 h时即可抑制89.7%的甲烷产量^[33]。此外,也有研究显示抗生素在一定程度上能促进甲烷的生成,如Zhi等发现100 mg/L的土霉素、磺胺二甲氧嘧啶和诺氟沙星均能促进高固含量厌氧消化体系的甲烷产量^[43],但相关报道较少。

表1 医疗废水和畜禽废水中的主要抗生素
Table1 Main antibiotics in hospital and livestock wastewater

废水类型 Type of wastewater	抗生素种类 Type of antibiotics	抗生素 Antibiotics	含量 Concentration ($\mu\text{g L}^{-1}$)	地区 Region
医疗废水 Hospital wastewater	喹诺酮类 Quinolones	氧氟沙星 Ofloxacin	2.33	新乡市 Xinxiang ^[15]
			0.377-0.942	新疆 Xinjiang ^[16]
			1.228-48.312	海口市 Haikou ^[17]
		环丙沙星 Ciprofloxacin	1.33	新乡市 Xinxiang ^[15]
			0.087-0.345	新疆 Xinjiang ^[16]
			0.592-4.552	海口市 Haikou ^[17]
	大环内酯类 Macrolides	诺氟沙星 Norfloxacin	1.63	新乡市 Xinxiang ^[15]
		红霉素 Erythromycin	0.48	新乡市 Xinxiang ^[15]
	磺胺类 Sulfonamides	磺胺嘧啶 Sulfadiazine	0.12	新乡市 Xinxiang ^[15]
			0.086-0.574	新疆 Xinjiang ^[16]
		磺胺甲恶唑 Sulfamethoxazole	0-2.248	海口市 Haikou ^[17]
			0.53	新乡市 Xinxiang ^[15]
	四环素类 Tetracyclines	四环素 Tetracycline	0.208-0.596	海口市 Haikou ^[17]
			1.41	新乡市 Xinxiang ^[15]
		土霉素 Oxytetracycline	0.046-0.374	新疆 Xinjiang ^[16]
	头孢菌素类 Cephalosporins	头孢氨苄 Cefalexin	1.48	新乡市 Xinxiang ^[15]
畜禽废水 Livestock wastewater	喹诺酮类 Quinolones	环丙沙星 Ciprofloxacin	0.042-0.448	新乡市 Xinxiang ^[16]
		环丙沙星 Ciprofloxacin	2.39	新乡市 Xinxiang ^[15]
	磺胺类 Sulfonamides	磺胺嘧啶 Sulfadiazine	13.56	天津市 Tianjin ^[18]
		磺胺二甲嘧啶 Sulfamethazine	0-62	江苏省 Jiangsu ^[10]
		磺胺甲恶唑 Sulfamethoxazole	0.21-0.68	天津市 Tianjin ^[18]
		磺胺多辛 Sulfadoxine	0-70	江苏省 Jiangsu ^[10]
		磺胺喹恶啉 Sulfaquinoxaline	0-37	江苏省 Jiangsu ^[10]
		磺胺喹恶啉 Sulfaquinoxaline	0-16	江苏省 Jiangsu ^[10]
	四环素类 Tetracyclines	强力霉素 Doxycycline	0-25	江苏省 Jiangsu ^[10]
			0-41	江苏省 Jiangsu ^[10]
		金霉素 Chlortetracycline	100.75	上海市 Shanghai ^[19]
		金霉素 Chlortetracycline	0.08-89.46	天津市 Tianjin ^[18]
		四环素 Tetracycline	0-20	江苏省 Jiangsu ^[10]
		四环素 Tetracycline	0.55-130.67	天津市 Tianjin ^[18]
	β -内酰胺类 β -lactams	土霉素 Oxytetracycline	0-50	江苏省 Jiangsu ^[10]
		土霉素 Oxytetracycline	31.05	上海市 Shanghai ^[19]
		阿莫西林 Amoxicillin	3.01-8.58	天津市 Tianjin ^[18]
		林可霉素 Lincomycin	0-79	江苏省 Jiangsu ^[10]
		林可霉素 Lincomycin	60.50	上海市 Shanghai ^[19]
		氨苄西林 Ampicillin	60.15-82.59	天津市 Tianjin ^[18]

表2 污水处理厂污泥中主要抗生素
Table2 Main antibiotics in wastewater treatment plant sludge

抗生素种类 Type of antibiotics	抗生素 Antibiotics	抗生素含量 Concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
喹诺酮类 Quinolones	诺氟沙星 Norfloxacin	4200 ^[20] , 87 ^[21] , 5462 ^[13] , 3200 ^[6] , 289 ^[22]
	环丙沙星 Ciprofloxacin	109 ^[13] , 460 ^[6] , 243 ^[21] , 4800 ^[20] , 2.09 ^[23] , 6858 ^[22]
	氧氟沙星 Ofloxacin	3.408 ^[23] , 8.4 ^[24] , 3400 ^[13] , 11000 ^[6] , 2000 ^[20]
磺胺类 Sulfonamides	磺胺甲恶唑 Sulfamethoxazole	9.13 ^[13] , 11 ^[6] , 21 ^[24]
	磺胺嘧啶 Sulfadiazine	37.8 ^[13]
	磺胺二甲嘧啶 Sulfamethazine	124.9-209.8 ^[25]
	磺胺地索辛 Sulfadimethoxine	523.3 ^[25]
大环内酯类 Macrolides	红霉素 Erythromycin	7.24 ^[13] , 39 ^[6] , 33.8 ^[24] , 0.185 ^[23]
	阿奇霉素 Azithromycin	66.9 ^[24] , 52-158 ^[26] , 64 ^[27] , 838 ^[22]
四环素类 Tetracyclines	强力霉素 Doxycycline	1500 ^[20] , 966 ^[22]
	四环素 Tetracycline	7.5-15.8 ^[28] , 1914 ^[22]
	金霉素 Chlortetracycline	6.9-14.7 ^[28] , 23.4 ^[22] , 498.6-504.8 ^[25]
	土霉素 Oxytetracycline	87.5 ^[22] , 1314.2-2296.4 ^[25]

2.2 抗生素对挥发性脂肪酸代谢的影响

挥发性脂肪酸 (Volatile fatty acids, VFAs) 是厌氧消化过程的重要中间产物, 它们的累积容易导致厌氧消化性能的下降甚至系统崩溃。研究发现, 抗生素的存在会阻碍VFAs

(主要是乙酸、丙酸和丁酸) 的代谢过程^[8]。且抗生素浓度越高VFAs累积越显著, 甚至有报道指出二者之间存在线性关系^[36]。此外, 不同抗生素会造成不同类型的VFAs累积, 例如, Cetecioglu等发现1.65 mg/L的四环素没有导致VFAs的积累,

表3 抗生素对污水中温厌氧消化产气的影响

Table 3 Effects of antibiotics on biogas/methane production during mesophilic anaerobic digestion of sewage

抗生素 Antibiotics	浓度 Concentration ($\rho/\text{mg L}^{-1}$)	废水类型 Type of wastewater	产气影响 Effects on biogas/methane production	参考文献 Reference
磺胺甲恶唑 Sulfamethoxazole	1-1000	乙酸合成废水 Acetate wastewater	IBP: $\geq 100 \text{ mg/L}$ 时抑制明显 IBP: Significantly inhibited after 100 mg/L	[30]
红霉素 Erythromycin	500	乙酸合成废水 Acetate wastewater	IBP: 几乎完全抑制 IBP: Almost completely inhibited	[30]
	0, 1, 200	模拟制药厂废水 Pharmaceutical wastewater	IMP: 200 mg/L 时, 241 d 后无影响 IMP: No effect at 200 mg/L after 241 day	[32]
四环素 Tetracycline	500	乙酸合成废水 Acetate wastewater	IBP: 几乎完全抑制 IBP: Almost completely inhibited	[30]
	0.25	模拟四环素废水 Tetracycline wastewater	IMP: 16.30%-72.82% IMP: 16.30%-72.82%	[44]
磺胺甲恶唑 + 四环素 ST	2	合成有机废水 Synthetic organic wastewater	IMP: 14.5% IMP: 14.5%	[40]
	250	丙酸合成废水 Propionate wastewater	IMP: 48% IMP: 48%	[36]
红霉素 + 四环素 + 磺胺甲恶唑 ETS	40 + 3 + 3	模拟制药厂废水 Pharmaceutical wastewater	IMP: 81% IMP: 81%	[38]
	250	有机酸废水 Organic acid wastewater	IMP: 61% IMP: 61%	[36]
红霉素 + 四环素 ET	22	模拟抗生素废水 Antibiotics wastewater	第30天甲烷产率骤降 The methane yield dropped sharply on the 30th day	[39]
	2	合成有机废水 Synthetic organic wastewater	IMP: 1.7% IMP: 1.7%	[40]
红霉素 + 磺胺甲恶唑 ES	2	合成有机废水 Synthetic organic wastewater	IMP: 10.6% IMP: 10.6%	[40]

IMP: 产甲烷抑制率; IBP: 产沼气抑制率。

IMP: Inhibition rate of methane production; IBP: Inhibition rate of biogas production.

ST: Sulfamethoxazole + tetracycline; ETS: Erythromycin + tetracycline + sulfamethoxazole; ET: Erythromycin + tetracycline; ES: Erythromycin + sulfamethoxazole.

表4 抗生素对污泥厌氧消化产气的影响

Table 4 Effects of antibiotics on biogas/methane production during anaerobic digestion of sludge

抗生素 Antibiotics	浓度 Concentration	污泥来源 Sludge source	消化温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	产气影响 Effects on biogas/methane production	参考文献 Reference
红霉素 Erythromycin	25, 50 mg/L	市政污水厂 Municipal sewage treatment plant	55	IMP: 40.60%-44.91% IMP: 40.60%-44.91%	[29]
螺旋霉素 Spiramycin	25, 50 mg/L	市政污水厂 Municipal sewage treatment plant	55	IMP: 54.61%-55.69% IMP: 54.61%-55.69%	[29]
四环素 Tetracycline	50 mg/L	市政污水厂 Municipal sewage treatment plant	55	IMP: 36.13% IMP: 36.13%	[29]
土霉素 Oxytetracycline	10-800 mg/L	厌氧反应器 Anaerobic digester	35	10 mg/L 时无抑制, 800 mg/L 时完全抑制 No inhibition at 10 mg/L, Completely inhibited at 800 mg/L	[45]
强力霉素 Doxycycline	100-200 mg/L 400-1200 mg/L	啤酒厂 Brewery	35	IBP: 80% IBP $\geq 60\%$	[46]
脱水土霉素 Anhydroxytetracycline	400-1200 mg/L	啤酒厂 Brewery	35	IBP $< 40\%$	[46]
林可霉素 Lincomycin	25-50 mg/L	市政污水厂 Municipal sewage treatment plant	55	IMP: 29.39%-51.27% IMP: 29.39%-51.27%	[29]
庆大霉素 Gentamicin	100 mg/L	高温厌氧反应器 Thermophilic anaerobic reactor	52	IMP: 81% IMP: 81%	[47]
卡那霉素 Kanamycin	100 mg/L	高温厌氧反应器 Thermophilic anaerobic reactor	52	IMP: 27% IMP: 27%	[47]
头孢氨苄 Cephalexin	0-2000 mg/L	二沉池 Secondary sedimentation tank	35	600 mg/L: 甲烷产量促进了28% 1000 mg/L: 甲烷产量促进了68% 600 mg/L: promoted by 28% 1000 mg/L: promoted by 68%	[34]
头孢唑林 Cefazolin	25, 50 mg/L	市政污水厂 Municipal sewage treatment plant	55	IMP: 43.03%-47.49% IMP: 43.03%-47.49%	[29]
环丙沙星 Ciprofloxacin	0, 10, 100, 500 mg/kg	污泥处理厂 Sludge treatment plant	35	35 d 后几乎没有影响 No effect after 35 day	[33]
环丙沙星 + ZnO Ciprofloxacin + ZnO	—	污泥处理厂 Sludge treatment plant	35	IMP: 89.7% IMP: 89.7%	[33]
TC + OTC + CTC + STZ + SMX + SML	2 mg/L	污水处理厂的 Wastewater treatment plant	35	IMP: 25% IMP: 25%	[48]

IMP: 产甲烷抑制率; IBP: 产沼气抑制率; TC: 四环素; OTC: 土霉素; CTC: 金霉素; STZ: 磺胺噻唑; SMX: 磺胺甲恶唑; SML: 磺胺甲二唑。

IMP: Inhibition rate of methane production; IBP: Inhibition rate of biogas production; TC: Tetracycline; OTC: Oxytetracycline; CTC: Chlortetracycline; STZ: Sulfathiazole; SMX: Sulfamethoxazole; SML: Sulfamethizole.

当其浓度达到8.5 mg/L时, 乙酸和丙酸分别累积了457和385 mg/L^[35]。但他们的另一个研究中, 在45 mg/L的磺胺甲恶唑作用下, 厌氧消化体系累积的VFAs为丙酸和丁酸, 浓度分别为438和342 mg/L^[49]。从热力学角度来看, 厌氧消化体系内底物消耗的困难程度依次为H₂>甲酸>乙酸>丙酸≈丁酸, 通常只有当体系中的乙酸小于10 mmol/L时, 丙酸才能进行代谢反应。Lins等认为是抗生素对H₂消耗菌群(如氢营养型产甲烷菌、同型产乙酸菌、硫酸盐还原菌)的短期扰动, 间接阻碍了VFAs(特别是丙酸和丁酸)的代谢^[47]。抗生素联合作用对VFAs代谢也有类似的影响。Aydin团队向厌氧序批式反应器中分别投加不同浓度的混合抗生素(ST和EST), 发现当ST反应器运行到270-300 d时, 乙酸和丙酸分别累积了1 000和691 mg/L; 而在EST反应器中, 360 d时乙酸和丁酸的浓度分别高达800和710 mg/L。因此, 他们推测ST和EST可能分别抑制了丙酸和丁酸代谢菌群的活性^[38]。也有研究指出抗生素可能只影响乙酸代谢的部分过程。Cetecioglu等探究了磺胺甲恶唑和四环素对厌氧消化的急性抑制, 发现甲烷产量减少但乙酸并未累积, 他们认为抗生素的抑制作用与酶的非竞争抑制类似, 即抗生素虽然不影响乙酸的转移反应, 但会结合酶底物复合物, 从而阻断乙酸到甲烷的后续步骤^[30]。这种抑制作用在好氧条件下也有报道^[50]。

3 抗生素对厌氧消化群落结构的影响

抗生素是由微生物产生的次级代谢产物或人工合成的类似物。它可以通过干扰细胞壁或核酸合成、抑制蛋白质合成和破坏细菌膜结构等方式扰乱其它细胞的发育功能, 从而达到抑菌(bacteriostatic)或杀菌(bactericidal)的目的^[51]。抗生素会选择性攻击某类微生物并导致其相对丰度发生变化, 进而改变厌氧消化体系内的微生物群落结构, 影响厌氧消化的整体效果^[52-53]。目前研究者们考察了不同抗生素(主要是四环素, 表5)对厌氧消化微生物群落的影响, 结果显示抗生素对厌氧消化不同阶段功能微生物的影响存在差异。

3.1 抗生素对水解酸化菌的影响

水解酸化是厌氧消化的初级阶段, 该阶段的功能微生物多来自于Bacteroidetes、Firmicutes、Thermotogae、

Actinobacteria和Spirochaetes菌门。研究表明多数水解酸化菌受抗生素影响较小, 甚至可以耐受高浓度的抗生素。菌属*Clostridium*在阿奇霉素和磺胺甲恶唑存在的反应器中均可以保持较高的丰度^[54]。*Eubacterium sulci*、*Candidatus cloacamonas acidaminovorans*、*Ignavibacterium album*和*Anaerococcus burkinensis*可以耐受19.2-241.7 mg/L的阿莫西林^[55]。在20 mg/L四环素作用下, 消化体系中的Bacteroidetes、Spirochaetes和Firmicutes比150 μg/L时丰度更高, 其中*Clostridium aurantibutyricum*、*Microbacter margulisiae*、*Porphyromonas pogonae*、*Treponema zuelzeriae*和*Proteiniphilum acetatigenes*等有机酸生成菌的相对丰度明显增多^[56]。有报道指出, 由于水解酸化菌具有多样性丰富、生长速度较快, 且更容易对抗生素产生适应性等特点, 因此不易受抗生素影响^[57]。也有学者认为, 从动力学角度来看, 水解过程容易发生, 其产生的溶解性物质能很快被利用并转化为产甲烷菌的底物, 因此多数情况下水解酸化菌不易受抗生素抑制^[58]。另外, 某些菌种自身的特性也会赋予其抗生素耐性, 例如, *Clostridium aurantibutyricum*在高浓度四环素作用下可通过形成孢子免受侵害^[56]。

3.2 抗生素对VFAs氧化菌的影响

受热力学反应的限制, VFAs氧化菌难以将VFAs转化为乙酸和H₂, 通常需要与古菌形成互营关系, 即利用氢营养型产甲烷菌降低氢分压才能实现甲烷生产^[59]。多数研究发现, 抗生素的存在会抑制VFAs氧化菌的生物活性, 从而导致VFAs累积和/或甲烷产量下降。例如, 土霉素使得畜禽粪便厌氧消化体系中的互营乙酸氧化菌*Clostridium ultunense*和*Syntrophaceticus schinkii*的活性明显降低^[60]。Xiong等考察了不同浓度四环素(1 μg/L、150 μg/L、20 mg/L)对以VFAs为底物的厌氧消化体系的影响, 发现互营丙酸氧化菌*Syntrophobacter wolinii*和*Desulfomicrobium baculatum*的丰度均有所降低^[56]。Aydin等提出在以单独/混合VFAs为底物的厌氧消化体系中, 混合抗生素(ET、ETS、ST、ES)的存在可能影响丙酸互营代谢的主要途径^[36], 即甲酯丙二酰辅酶A途径(Methylmalonyl coenzyme A, MMC), 该途径主要存在于*Syntrophobacter*中^[61]。VFAs氧化菌的丰度/活性抑制可能是源于抗生素的直接作用, 也可能是抗生素抑制了产甲烷菌, 使得体系内乙酸和氢气累积, 间接

表5 不同浓度四环素对厌氧消化群落的影响

Table 5 Effects of different concentrations of tetracycline on microbial community of anaerobic digestion

浓度 Concentration	受影响的微生物 Affected microorganism	相对丰度 Relative abundance	参考文献 Reference
1 μg/L	<i>Thauera aminoaromatica</i>	消失 Disappeared	[62]
50 μg/L	<i>Proteobacterium</i>	增加 Increased	
	<i>Rhodocyclus</i> , <i>Dechloromonas</i> , <i>Byssovorax cruenta</i>	减少 Decreased	
100 μg/L	<i>Proteobacterium</i>	减少 Decreased	[63]
	<i>Treponema</i> , <i>Syntrophobacter</i> , <i>Desulfovibrio</i>	增加 Increased	
250 μg/L	<i>Stenotrophomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Methanobacterium</i>	先减少再增加 First decreased then increased	
	<i>Syntrophorhabdus</i> , <i>Syntrophobacter wolinii</i> , <i>Ignavibacterium album</i> , <i>Marinithermophilum abyssii</i> , <i>Petrimonas sulfuriphila</i> , <i>Vallitalea guaymasensis</i> , <i>Geobacter argillaceus</i>	随着浓度增加而减少 Decreased with the concentration increasing	[56]
1 μg/L	<i>Syntrophomonas</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Spirochaetes</i> , <i>Methanomassiliicoccus</i> , <i>Clostridium aurantibutyricum</i> , <i>Microbacter margulisiae</i> , <i>Porphyromonas pogonae</i> , <i>Treponem zuelzeriae</i> , <i>Proteiniphilum acetatigenes</i>	随着浓度增加而增加 Increased with the concentration increasing	
150 μg/L	<i>Methanobacterium</i> , <i>Methanothrix</i> , <i>Methanoculleus</i> , <i>Methanosarcina</i>	持平 Stable	
20 mg/L	<i>Desulfomicrobium baculatum</i> , <i>Macellibacteroides fermentans</i>	随着浓度的增加先增加再减少 First increased and then decreased with the concentration increasing	

对VFAs氧化菌造成影响^[36]。也有研究发现某些VFAs氧化菌对抗生素不敏感。例如,在500 mg/kg环丙沙星作用下,来自Hydrogenophilaceae和Desulfomicrobiaceae的VFAs氧化菌的相对丰度有所升高^[33]。且19.2-241.7 mg/L阿莫西林对丁酸氧化菌的活性也没有影响^[55]。因此,VFAs氧化菌对抗生素的不同响应可能是抗生素及微生物群落共同影响的结果,但目前关于抗生素对VFAs氧化菌影响的报道十分有限。

3.3 抗生素对产甲烷菌的影响

厌氧消化的产甲烷阶段主要依赖于产甲烷古菌的作用。由于古菌结构的特殊性,不同抗生素对其影响效果存在差异。例如四环素类抗生素可通过与核糖体30S亚基结合抑制蛋白质的合成^[64],而古菌和细菌的核糖体结构相似,因此古菌也易受到四环素抑制; β -内酰胺类抗生素会抑制细胞壁的肽聚糖合成,但古菌细胞壁中不含肽聚糖,因此不易受直接影响^[65]。此外,微生物体内的某些酶对抗生素的敏感性也会导致抑制现象,如产甲烷古菌代谢所必须的氢化酶对氯霉素很敏感^[66],因此,氯霉素可以抑制厌氧消化体系的产甲烷过程。

乙酸营养型和氢营养型产甲烷菌是两类重要的产甲烷古菌。研究发现,单一抗生素(如磺胺甲恶唑、四环素、阿莫西林、泰乐素等)和混合抗生素(ETS、ST)均对乙酸营养型产甲烷菌有更强的抑制效果,而对氢营养型产甲烷菌影响不大甚至有促进作用^[30, 37, 54-56, 67]。与乙酸营养型产甲烷菌相比,氢营养型产甲烷菌通常拥有更高的底物利用率、生长速度和细胞产量,可能导致它们更不易受到抗生素影响^[68]。大量报道指出,抗生素对乙酸营养型产甲烷途径的抑制,容易导致消化体系产甲烷途径的转变,尤其互营细菌和氢营养型产甲烷菌的共代谢途径被加强^[36, 39]。此外,甲醇营养型产甲烷菌的作用也可能被激发,例如,*Methanomassiliicoccus*在20 mg/L四环素作用下丰度的升高被证实与甲烷产量的回升有直接关系^[56]。但抗生素并非对所有的乙酸营养型产甲烷菌均有抑制作用。一些结果显示*Methanosaeta*容易受抗生素抑制,而*Methanosarcina*的相对丰度可能会在抗生素作用下增加^[58, 67]。这两种乙酸营养型产甲烷菌属对抗生素的不同响应可能是因为:(1)抗生素导致VFAs积累,使厌氧消化体系pH降低,而*Methanosarcina*和*Methanosaeta*的最适pH分别为5.5-8.0和6.8-8.2,因此前者能耐受更高浓度的VFAs^[67];

(2)在高乙酸浓度下,*Methanosarcina*的比生长速率和半饱和系数更高,因此更具有竞争力^[69];(3)*Methanosarcina*不仅可以利用乙酸,也可以同时利用H₂、CO₂、甲醇,其营养结构更多元化,生存能力可能更强;(4)丝状的*Methanosaeta*比球形的*Methanosarcina*更容易受到抑制剂(比如NH₃)的影响,因为其具有较高的比表面积且生长速度较慢,因此这也可能会导致它们对抗生素的高敏感性^[70]。

4 去除抗生素抑制的方法

针对抗生素对污水/城市污泥的厌氧消化的影响,有少量研究探讨了去除抗生素抑制的方法,主要包括预处理及添加外源介质强化两大类。

目前研究的预处理方法主要有热水解、臭氧氧化和碱处理等,这些方法在多数情况下有助于提高抗生素的去除效率。Yi等报道称,在一定范围内,温度每升高10℃,四环素的水解速率会加快2.22-2.74倍。当温度由25℃上升到85℃时,土霉素的半衰期从173.17 h降低到0.19 h^[71-72]。Gómez-Pacheco等指出,10 min的臭氧氧化可以使初始浓度为100 mg/L的四环素、土霉素或金霉素完全降解。并且活性炭的存在会加速这个过程,因为活性炭不仅能吸附四环素降解的产物,还会促使溶解的臭氧分解成自由基,从而提高反应效率^[73]。但上述预处理方法并非能改善所有抗生素的去除效率,如热水解对氟喹诺酮类抗生素、罗红霉素和磺胺甲恶唑的去除没有影响^[74-75],碱处理甚至不利于罗红霉素的去除^[75]。

此外,少数研究报道了添加外源介质对含抗生素废水/污泥厌氧消化的强化作用。程佳琦等在四环素废水中添加6种外源介质(零价铁、Fe₂O₃、Fe₃O₄、碳纳米管、粉末活性炭、石墨烯),发现产甲烷效果均有不同程度的改善,并推测这些外源介质具有以下作用:(1)强化细菌之间的连接,显著提高种间直接电子传递(Direct interspecies electron transfer, DIET)的效率;(2)促进胞外聚合物和内源介体的分泌以强化种间间接电子传递的过程;(3)促进H₂和CO₂转化为CH₄的途径;(4)对四环素降解产物的去除有显著作用;(5)铁材料会向体系内缓慢释放Fe²⁺以提高某些厌氧微生物的活性,比如粉末活性炭和零价铁的添加会改变体系内*Syntrophomonas*、*Syntrophus*、*Methanosaeta*和*Methanobacterium*的丰度,提高系统内互营细菌和产甲烷菌间“电子互营”的可能性,进而增强厌氧消化过程^[76]。Zhang等也提出在体系内投加活性炭有利于去除抗生素的抑制,它们可以提高厌氧消化过程中相关细菌和古菌的丰度,并起到增强DIET的作用^[77]。

5 展望

污水/城市污泥中抗生素的广泛存在会影响厌氧消化性能,并增加抗性基因的传播风险。目前,国内外的相关研究主要集中于抗生素对厌氧消化抑制效果的考察,对微生物群落的分析多限于门水平,缺乏对群落结构的系统认识,因此抑制机制尚不明确。而且现有研究主要针对四环素类抗生素,有必要进一步明确其它抗生素对厌氧消化的影响及作用机理。其次,污水/城市污泥中的抗生素一般不是单独存在的,往往伴随着其它抗生素或金属离子,因此,考察它们的联合作用有助于还原自然状态下这些污染物对厌氧消化的影响。此外,需要进一步开发能够同时削减残留抗生素及抗性基因的厌氧消化工艺,以加速实现污水/城市污泥的资源化进程并降低抗性传播风险。一些新的预处理方式,如高级氧化预处理(电催化氧化、Fenton试剂)、微波预处理、内电解法预处理、硫酸盐预处理等能有效地提高污水/污泥的厌氧消化效率,它们也可能有助于抗生素的削减,但有待进一步验证。

参考文献 [References]

- 1 李贞, 段文海, 邵蓉. 我国抗生素使用现状分析[J]. 国际医药卫生导报, 2005 (21): 83-84 [Li Z, Duan WH, Shao R. Analysis of antibiotic use in China [J]. *Int Med Health Guid News*, 2005 (21): 83-84]
- 2 Larson C. China's lakes of pig manure spawn antibiotic resistance [J]. *Science*, 2015, **347** (6223): 704-704
- 3 Zhang QQ, Ying GG, Pan CG, Liu YS, Zhao JL. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance [J]. *Environ Sci Technol*, 2015, **49** (11): 6772-6782
- 4 沈怡雯, 黄智婷, 谢冰. 抗生素及其抗性基因在环境中的污染、降解和去除研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2015, **21** (2): 181-187 [Shen YW, Huang ZT, Xie B. Advances in research of pollution, degradation and removal of antibiotics and antibiotic resistance genes in the environment [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2015, **21** (2): 181-187]
- 5 张婉茹, 那广水, 陆紫皓, 高会, 李瑞婧, 吴限, 祖国仁, 姚子伟. 北黄海岸海域磺胺类抗生素及其抗性 *Escherichia coli* 分布[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20** (3): 401-406 [Zhang WR, Na GS, Lu ZH, Gao H, Li RJ, Wu X, Zu GR, Yao ZW. Distribution of sulfonamides and sulfonamide-resistant *Escherichia coli* in the coastal marine environment of northern Yellow Sea, China [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, **20** (3): 401-406]
- 6 Gao L, Shi Y, Li W, Niu H, Liu J, Cai Y. Occurrence of antibiotics in eight sewage treatment plants in Beijing, China [J]. *Chemosphere* 2012, **86** (6): 665-671
- 7 戴晓虎. 城镇污水处理厂污泥稳定化处理的必要性和迫切性的思考[J]. 给水排水, 2017 (12): 2-6 [Dai XH. Consideration on necessity and urgency of sludge stabilization treatment in urban sewage treatment plant [J]. *Water Wastewater Eng*, 2017 (12): 2-6]
- 8 Cheng DL, Ngo HH, Guo WS, Chang SW, Nguyen DD, Kumar SM, Du B, Wei Q, Wei D. Problematic effects of antibiotics on anaerobic treatment of swine wastewater [J]. *Biores Technol*, 2018, **263**: 642-653
9. Rodriguez-Mozaz S, Chamorro S, Marti E, Huerta B, Gros M, Sanchez-Melsio A, Borrego CM, Barcelo D, Luis Balcazar J. Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river [J]. *Water Res*, 2015, **69**: 234-242
- 10 Wei R, Ge F, Huang S, Chen M, Wang R. Occurrence of veterinary antibiotics in animal wastewater and surface water around farms in Jiangsu Province, China [J]. *Chemosphere*, 2011, **82** (10): 1408-1414
- 11 Li W, Shi Y, Gao L, Liu J, Cai Y. Occurrence, distribution and potential affecting factors of antibiotics in sewage sludge of wastewater treatment plants in China [J]. *Sci Total Environ*, 2013, **445**: 306-313
- 12 Li B, Zhang T. Biodegradation and adsorption of antibiotics in the activated sludge process [J]. *Environ Sci Technol*, 2010, **44** (9): 3468-3473
- 13 Li W, Shi Y, Gao L, Liu J, Cai Y. Occurrence and removal of antibiotics in a municipal wastewater reclamation plant in Beijing, China [J]. *Chemosphere*, 2013, **92** (4): 435-444
- 14 高俊红, 王兆炜, 张涵瑜, 朱俊民, 谢超然, 谢晓芸. 兰州市污水处理厂中典型抗生素的污染特征研究[J]. 环境科学学报 2016, **36** (10): 3765-3773 [Gao JX, Wang ZW, Zhang HY, Zhu MJ, Xie CR, Xie XY. Occurrence and the fate of typical antibiotics in sewage treatment plants in Lanzhou [J]. *Acta Sci Circum*, 2016, **36** (10): 3765-3773]
- 15 Wang Q, Wang P, Yang Q. Occurrence and diversity of antibiotic resistance in untreated hospital wastewater [J]. *Sci Total Environ*, 2018, **621**: 990-999
- 16 Li C, Lu J, Liu J, Zhang G, Tong Y, Ma N. Exploring the correlations between antibiotics and antibiotic resistance genes in the wastewater treatment plants of hospitals in Xinjiang, China [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, **23** (15): 15111-15121
- 17 肖湘波, 唐天乐, 徐浩, 唐文浩, 王培, 杨洋. 医院典型废水处理工艺单元的抗生素去除效果与评价[J]. 环境科学与技术 2015, **38** (4): 121-127 [Xiao XB, Tang TL, Xu H, Tang WH, Wang P, Yang Y. Removal and evaluation of antibiotics by typical hospital wastewater treatment processes [J]. *Environ Sci Technol*, 2015, **38** (4): 121-127]
- 18 Zhi S, Zhou J, Yang F, Tian L, Zhang K. Systematic analysis of occurrence and variation tendency about 58 typical veterinary antibiotics during animal wastewater disposal processes in Tianjin, China [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, **165**: 376-385
- 19 姜蕾, 陈书怡, 杨蓉, 任重远, 尹大强. 长江三角洲地区典型废水中抗生素的初步分析. 环境化学, 2008 (3): 371-374 [Jiang L, Chen SY, Yang R, Ren ZY, Yi DQ. Occurrence of antibiotics in the aquatic environment of the Chang Jiang delta, China [J]. *Environ Chem*, 2008 (3): 371-374]
- 20 Lindberg RH, Wennberg P, Johansson MI, Tysklind M, Andersson BAV. Screening of human antibiotic substances and determination of weekly mass flows in five sewage treatment plants in Sweden [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, **39** (10): 3421-3429
- 21 Okuda T, Yamashita N, Tanaka H, Matsukawa H, Tanabe K. Development of extraction method of pharmaceuticals and their occurrences found in Japanese wastewater treatment plants [J]. *Environ Inter*, 2009, **35** (5): 815-820
- 22 McClellan K, Halden RU. Pharmaceuticals and personal care products in archived U.S. biosolids from the 2001 EPA national sewage sludge survey [J]. *Water Res*, 2010, **44** (2): 658-668
- 23 Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, Melis M, Fanelli R. Source, occurrence and fate of antibiotics in the Italian

- aquatic environment [J]. *J Hazard Mater*, 2010, **179** (1-3): 1042-1048
- 24 Radjenovic J, Jelic A, Petrovic M, Barcelo D. Determination of pharmaceuticals in sewage sludge by pressurized liquid extraction (PLE) coupled to liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, **393** (6-7): 1685-1695
 - 25 Pan X, Ben WW, Qiang ZM. Simultaneous determination of several classes of antibiotics in the activated sludge of municipal sewage treatment plants by high performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *J Instru Anal*, 2011, **30** (4): 448-452
 - 26 Gobel A, Thomsen A, McArdell CS, Alder AC, Giger W, Theiß N, Löffler D, Ternes TA. Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage sludge [J]. *J Chroma A*, 2005, **1085** (2): 179-189
 - 27 Gobel A, Thomsen A, McArdell CS, Joss A, Giger W. Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, **39** (11): 3981-3989
 - 28 Sponberg AL, Witter JD. Pharmaceutical compounds in the wastewater process stream in Northwest Ohio [J]. *Sci Total Environ*, 2008, **397** (1-3): 148-157
 - 29 马清佳, 田哲, 员建, 宋建阳, 杨敏, 张昱. 9种抗生素对污泥高温厌氧消化的急性抑制[J]. 环境工程学报, 2018, **12** (7): 2084-2093 [Ma QJ, Tian Z, Yuan J, Song JY, Yang M, Zhang Y. Acute inhibition of nine antibiotics on sludge thermophilic anaerobic digestion [J]. *Chin J Environ Eng*, 2018, **12** (7): 2084-2093]
 - 30 Cetecioglu Z, Ince B, Orhon D, Ince O. Acute inhibitory impact of antimicrobials on acetoclastic methanogenic activity [J]. *Biores Technol*, 2012, **114**: 109-116
 - 31 Gartiser S, Urich E, Alexy R, Kuemmerer K. Anaerobic inhibition and biodegradation of antibiotics in ISO test schemes [J]. *Chemosphere*, 2007, **66** (10): 1839-1848
 - 32 Amin MM, Zilles JL, Greiner J, Charbonneau S, Raskin L, Morgenroth E. Influence of the antibiotic erythromycin on anaerobic treatment of a pharmaceutical wastewater [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, **40** (12): 3971-3977
 - 33 Zhao L, Ji Y, Sun P, Li R, Xiang F, Wang H, Ruiz-Martinez J, Yang Y. Effects of individual and complex ciprofloxacin, fullerene C-60 and ZnO nanoparticles on sludge digestion: methane production, metabolism, and microbial community [J]. *Biores Technol*, 2018, **267**: 46-53
 - 34 Lu X, Zhen G, Liu Y, Hojo T, Estrada AL, Li YY. Long-term effect of the antibiotic cefalexin on methane production during waste activated sludge anaerobic digestion [J]. *Biores Technol*, 2014, **169**: 644-651
 - 35 Cetecioglu Z, Ince B, Gros M, Rodriguez-Mozaz S, Barcelo D, Orhon D, Ince O. Chronic impact of tetracycline on the biodegradation of an organic substrate mixture under anaerobic conditions [J]. *Water Res*, 2013, **47** (9): 2959-2969
 - 36 Aydin S, Cetecioglu Z, Arikan O, Ince B, Ozbayram EG, Ince O. Inhibitory effects of antibiotic combinations on syntrophic bacteria, homoacetogens and methanogens [J]. *Chemosphere*, 2015, **120**: 515-520
 - 37 Aydin S, Ince B, Ince O. Application of real-time PCR to determination of combined effect of antibiotics on bacteria, methanogenic Archaea, Archaea in anaerobic sequencing batch reactors [J]. *Water Res*, 2015, **76**: 88-98
 - 38 Aydin S, Ince B, Ince O. The joint acute effect of tetracycline, erythromycin and sulfamethoxazole on acetoclastic methanogens [J]. *Water Sci Technol*, 2015, **71** (8): 1128-1135
 - 39 Aydin S, Ince B, Cetecioglu Z, Arikan O, Ozbayram EG, Shahi A, Ince O. Combined effect of erythromycin, tetracycline and sulfamethoxazole on performance of anaerobic sequencing batch reactors [J]. *Biores Technol*, 2015, **186**: 207-214
 - 40 Ozbayram EG, Arikan O, Ince B, Cetecioglu Z, Aydin S, Ince O. Acute effects of various antibiotic combinations on acetoclastic methanogenic activity [J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2015, **22** (8): 6230-6235
 - 41 Lu X, Gao Y, Luo J, Yan S, Rengel Z, Zhang Z. Interaction of veterinary antibiotic tetracyclines and copper on their fates in water and water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) [J]. *J Hazard Mater*, 2014, **280**: 389-398
 - 42 Pulicharla R, Das RK, Brar SK, Drogui P, Sarma SJ, Verma M, Surampalli RY, Valero JR. Toxicity of chlortetracycline and its metal complexes to model microorganisms in wastewater sludge [J]. *Sci Total Environ*, 2015, **532**: 669-675
 - 43 Zhi S, Li Q, Yang F, Yang Z, Zhang K. How methane yield, crucial parameters and microbial communities respond to the stimulating effect of antibiotics during high solid anaerobic digestion [J]. *Biores Technol*, 2019, **283**: 286-296
 - 44 Lu M, Niu X, Liu W, Zhang J, Wang J, Yang J, Wang W, Yang Z. Biogas generation in anaerobic wastewater treatment under tetracycline antibiotic pressure [J]. *Sci Rep*, 2016, **6**: 28336
 - 45 Hashemi H, Safari M, Khodabakhshi A. Determination of inhibitory concentration of oxytetracycline on methanogenic bacteria by *in vitro* study [J]. *J Med Bacteriol*, 2015, **4** (1/2): 21-26
 - 46 唐礼庆, 何成达, 王惠民. 两种四环素类抗生素厌氧生物毒性试验研究[J]. 四川环境, 2007 (3): 11-14 [Tang QL, He CD, Wang HM. Study on toxicity to anaerobes of two kinds of tetracycline antibiotics [J]. *Sichuan Environ*, 2007 (3): 11-14]
 - 47 Lins P, Reitschuler C, Illmer P. Impact of several antibiotics and 2-bromoethanesulfonate on the volatile fatty acid degradation, methanogenesis and community structure during thermophilic anaerobic digestion [J]. *Biores Technol*, 2015, **190**: 148-158

- 48 Xu R, Yang ZH, Zheng Y, Wang QP, Bai Y, Liu JB, Zhang YR, Xiong WP, Lu Y, Fan CZ. Metagenomic analysis reveals the effects of long-term antibiotic pressure on sludge anaerobic digestion and antimicrobial resistance risk [J]. *Biores Technol*, 2019, **282**: 179-188
- 49 Cetecioglu Z, Ince B, Gros M, Rodriguez-Mozaz S, Barcelo D, Ince O, Orhon D. Biodegradation and reversible inhibitory impact of sulfamethoxazole on the utilization of volatile fatty acids during anaerobic treatment of pharmaceutical industry wastewater [J]. *Sci Total Environ*, 2015, **536**: 667-674
- 50 Ozkok IP, Yazan TK, Cokgor EU, Insel G, Talinli I, Orhon D. Respirometric assessment of substrate binding by antibiotics in peptone biodegradation [J]. *J Environ Sci Health*, 2011, **46** (13): 1588-1597
- 51 Kohanski MA, Dwyer DJ, Collins JJ. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks [J]. *Nature Rev Microbiol*, 2010, **8** (6): 423-435
- 52 Ke X, Wang CY, Li RD, Zhang Y. Effects of oxytetracycline on methane production and the microbial communities during anaerobic digestion of cow manure [J]. *J Integr Agric*, 2014, **13** (6): 1373-1381
- 53 Wang S, Hou X, Su H. Exploration of the relationship between biogas production and microbial community under high salinity conditions [J]. *Sci Rep*, 2017, **7** (1): 1149
- 54 Cetecioglu Z, Ince B, Orhon D, Ince O. Anaerobic sulfamethoxazole degradation is driven by homoacetogenesis coupled with hydrogenotrophic methanogenesis [J]. *Water Res*, 2016, **90**: 79-89
- 55 Meng LW, Li XK, Wang K, Ma KL, Zhang J. Influence of the amoxicillin concentration on organics removal and microbial community structure in an anaerobic EGSB reactor treating with antibiotic wastewater [J]. *Chem Eng J*, 2015, **274**: 94-101
- 56 Xiong Y, Harb M, Hong PY. Performance and microbial community variations of anaerobic digesters under increasing tetracycline concentrations [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, **101** (13): 5505-5517
- 57 Niu Q, Kubota K, Qiao W, Jing Z, Zhang Y, Yu YL. Effect of ammonia inhibition on microbial community dynamic and process functional resilience in mesophilic methane fermentation of chicken manure [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2015, **90** (12): 2161-2169.
58. Mustapha NA, Sakai K, Shirai Y, Maeda T. Impact of different antibiotics on methane production using waste-activated sludge: mechanisms and microbial community dynamics [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2016, **100** (21): 9355-9364
- 59 Junicke H, Feldman H, Van Loosdrecht MCM, Kleerebezem R. Limitation of syntrophic coculture growth by the acetogen [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2016, **113** (3): 560-567
- 60 Akyol Ç, Aydin S, Ince O, Ince B. A comprehensive microbial insight into single-stage and two-stage anaerobic digestion of oxytetracycline-medicated cattle manure [J]. *Chem Eng J*, 2016, **303**: 675-684
- 61 Li J, Ban Q, Zhang L, Jha AK. Syntrophic propionate degradation in anaerobic digestion: a review [J]. *Int J Agric Biol*, 2012, **14** (5): 843-850
- 62 Zhang W, Huang MH, Qi FF, Sun PZ, Van Ginkel SW. Effect of trace tetracycline concentrations on the structure of a microbial community and the development of tetracycline resistance genes in sequencing batch reactors [J]. *Biores Technol*, 2013, **150**: 9-14
- 63 陆美青, 牛晓君, 林晓忠, 林小艺, 许达文, 黄继琳. 用Illumina MiSeq高通量测序方法探讨四环素对厌氧消化系统微生物群落结构的影响[J]. 环境工程学报, 2017, **11** (5): 2797-2803 [Lu MQ, Niu XJ, Lin XZ, Lin XY, Xu DW, Huang JL. Using Illumina MiSeq high-throughput sequencing to analyze influence of tetracycline on microbial community structure in anaerobic digestion system [J]. *Chin J Environ Eng*, 2017, **11** (5): 2797-2803]
- 64 Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2001, **65** (2): 232-260
- 65 Hilpert R, Winter J, Hammes W, Kandler O. The sensitivity of archaeobacteria to antibiotics [J]. *Zentralbl Bakteriol Hyg*, 1981, **2** (1): 11-20
- 66 McKellar RC, Sprott GD. Solubilization and properties of a particulate hydrogenase from *Methanobacterium* strain G2R [J]. *J Bacteriol*, 1979, **139** (1): 231-238
- 67 Shimada T, Li X, Zilles JL, Morgenroth E, Raskin L. Effects of the antimicrobial tylosin on the microbial community structure of an anaerobic sequencing batch reactor [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2011, **108** (2): 296-305
- 68 Aydin S, Ince B, Cetecioglu Z, Ozbayram EG, Shahi A, Okay O, Arikan O, Ince O. Performance of anaerobic sequencing batch reactor in the treatment of pharmaceutical wastewater containing erythromycin and sulfamethoxazole mixture [J]. *Water Sci Technol*, 2014, **70** (10): 1625-1632
- 69 Conklin A, Stensel HD, Ferguson J. Growth kinetics and competition between *Methanosarcina* and *Methanosaeta* in mesophilic anaerobic digestion [J]. *Water Environ Res*, 2006, **78** (5): 486-496
- 70 Lu Y, Liaquat R, Astals S, Jensen PD, Batstone DJ, Tait S. Relationship between microbial community, operational factors and ammonia inhibition resilience in anaerobic digesters at low and moderate ammonia background concentrations [J]. *N Biotechnol*, 2018, **44**: 23-30
- 71 Yi Q, Gao Y, Zhang H, Zhang H, Zhang Y, Yang M. Establishment of a pretreatment method for tetracycline production wastewater using enhanced hydrolysis [J]. *Chem EngJ*, 2016, **300**: 139-145
- 72 Yi Q, Zhang Y, Gao Y, Tian Z, Yang M. Anaerobic treatment

- of antibiotic production wastewater pretreated with enhanced hydrolysis: simultaneous reduction of COD and ARGs [J]. *Water Res*, 2017, **110**: 211-217
- 73 Gomez-Pacheco CV, Sanchez-Polo M, Rivera-Utrilla J, Lopez-Penalver J. Tetracycline removal from waters by integrated technologies based on ozonation and biodegradation [J]. *Chem Eng J*, 2011, **178**: 115-121
- 74 Zhang X, Li R. Variation of antibiotics in sludge pretreatment and anaerobic digestion processes: degradation and solid-liquid distribution [J]. *Biores Technol*, 2018, **255**: 266-272
- 75 Carballa M, Omil F, Alder AC, JM Lema. Comparison between the conventional anaerobic digestion of sewage sludge and its combination with a chemical or thermal pretreatment concerning the removal of pharmaceuticals and personal care products [J]. *Water Sci Technol*, 2006, **53** (8): 109-117
- 76 程佳琦. 外源介体强化四环素废水厌氧消化过程与效能研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2016 [Cheng JQ. Research on the enhanced process and performance during anaerobic digestion of tetracycline wastewater by redox mediator [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2016]
- 77 Zhang J, Mao F, Loh KC, Gin KYH, Dai Y, Tong YW. Evaluating the effects of activated carbon on methane generation and the fate of antibiotic resistant genes and class I integrons during anaerobic digestion of solid organic wastes [J]. *Biores Technol*, 2018, **249**: 729-736