

# 三氯卡班对土壤微生物数量和酶活性的影响

张丽珍<sup>1</sup>,牛 伟<sup>2</sup>,戎宏立<sup>1</sup>

(1. 山西大学 生命科学与技术学院,山西 太原 030006;2. 山西省农业科学院,山西 太原 030006)

**摘要:**通过室内培养试验,研究了三氯卡班(TCC)对土壤微生物数量和酶活性的影响。结果表明,低浓度 2.5 mg/kg 三氯卡班(TCC)处理对土壤中细菌和放线菌有激活作用,20.0 ~ 70.0 mg/kg 的浓度对土壤中细菌和放线菌有明显的抑制作用,且持续时间较长。而对于真菌,2.5 ~ 20.0 mg/kg 的浓度表现为激活作用,40.0 ~ 70.0 mg/kg 的浓度开始阶段表现为激活作用,随时间推移,激活作用逐渐降低表现为抑制作用,随后又表现为激活作用且激活作用逐渐增强。各个浓度 TCC 处理对土壤中蛋白酶活性和多酚氧化酶活性均有抑制作用,对土壤中过氧化氢酶活性亦有抑制作用,且随着时间的推移,在 21 d 时抑制作用最大,但最后又都表现为激活作用。

**关键词:**三氯卡班;土壤微生物;微生物数量;酶活性

**中图分类号:**S154.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2009)01-0203-04

## Effects of Triclocarban on Soil Microbial Population and Enzyme Activities

ZHANG Li-zhen<sup>1</sup>, NIU Wei<sup>2</sup>, RONG Hong-li<sup>1</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. Shanxi Academy of Agriculture Sciences, Taiyuan 030006, China)

**Abstract:** The effects of Triclocarban on the number of microbial population and activities of the protease, polyphenol oxidase and hydrogen peroxidase in the soil were studied in this study. The result indicated that, after spraying the soil, low concentration of TCC 2.5 mg/kg activated the populations of soil bacteria and actinomyces; 20.0 - 70.0 mg/kg concentration significantly inhibited the populations of soil bacteria and actinomyces number for a longer duration. TCC 2.5 - 20.0 mg/kg in the experiment performance the activation on fungal population, while TCC 40.0 - 70.0 mg/kg performance the activation at first, then have inhabitation for a duration. At last they performance activation again. The effects of TCC on the activities of soil protease and hydrogen peroxidase showed inhibition effects at first, In 21 days they have the greatest effect and then performance the activation at last. The effects of TCC on the activities of soil hydrogen peroxide activity showed inhibition-stimulation effect.

**Key words:** Triclocarban; Soil microbes; Microbial biomass; Enzyme activities

三氯卡班(TCC)作为一种杀菌剂,广泛用于化妆品和洗涤用品中<sup>[1]</sup>。添加在药品和个人护理用品中的抗菌化学物质 TCC,有可能会引发包括癌症、生殖功能障碍和发育异常等病症在内的诸多问题<sup>[2]</sup>。有关污染物对环境影响的研究主要集中在工业化学物质和农药上<sup>[3-6]</sup>,如甲基对硫磷<sup>[7]</sup>,1,3-二氯丙烯<sup>[8]</sup>,2-烯丙基苯酚<sup>[9]</sup>等。实际上污水灌溉和污泥施肥造成的污染后果也不容忽视。研究结果表明,在污水处理设备产生的软泥中,TCC 的浓度高达 10.0 ~ 70.0 mg/kg,与家用香皂中 TCC 浓度相当,其

中 95 % 的污泥施用在田间作为土壤肥料,这相当于我们在向土壤中散播一种已知的再生毒素<sup>[10]</sup>。本研究探讨 TCC 对土壤微生物数量和土壤酶活性的影响,旨在了解其对土壤微生物的生态效应,间接反映该药剂对土壤肥力和环境的影响,以期为该药剂的合理使用和环境毒性评价提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 土壤

土样采自山西大学理科大楼南面空地。分 5 个

收稿日期:2008-12-28

基金项目:国家十一科技支撑计划专题资助项目(2006BAD01A16);山西省青年基金项目(2008021036);山西大学青年基金项目(2007107);山西省留学人员科研项目(2008-119);太原市科技局项目(2008)

作者简介:张丽珍(1977-),女,山西五台人,博士,讲师,主要从事微生物生态学 research。

取样点取样,过 1 mm 筛,剔出瓦砾和植物残根等杂物,自然风干土样,备用。土壤理化性状列于表 1。

表 1 土壤样品的主要理化性质

Tab.1 Main physical and chemical properties of soil samples tested				
全氮/ % Total nitrogen	有效磷/ (mg/ kg) Available phosphorous	速效钾/ (mg/ kg) Available potassium	有机质/ % Organic matter	pH
0.042	2.85	81.9	0.69	7.90

1.2 药品

TCC (Triclocarban) 为 Aldrich 公司产品,纯度为 99 %。

1.3 药剂对土壤的预处理

称取风干的土样 7 份,每份 1 000 g,分别加入不同剂量的 TCC,使之在土壤中的浓度分别为 0,2.5,5.0,10.0,20.0,40.0,70.0 mg/ kg,然后调节土壤含水量至最大田间持水量的 60 %,置于 25 左右的实验室中。每隔一定时间调节土壤的含水量,使之恒定。培养后第 3,9,15,21,36,45 天分别取土样检测其中细菌、真菌、放线菌数量和土壤蛋白酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶活性。试验平行设置 3 组重复。

1.4 三氯卡班对土壤微生物数量的影响

采用平板菌落计数法<sup>[11]</sup>研究 TCC 对土壤微生物数量的影响。细菌用牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌用高氏 1 号合成培养基,真菌用马丁氏培养基。

1.5 三氯卡班对土壤酶活性的影响

铜盐比色法测定土壤蛋白酶活性<sup>[12]</sup>。蛋白酶活性以 1 g 土壤 24 h 酶解蛋白质释放出的 NH<sub>2</sub>-N 微克数量来表示。邻苯三酚比色法测定土壤中多酚氧化酶活性<sup>[12]</sup>。多酚氧化酶活性以 1 g 土壤在 1 h 内生成的没食子素的毫克数表示。滴定法测定土壤中过氧化氢酶活性<sup>[12]</sup>。酶活性以 1 g 土壤 1 h 内消耗 0.1 mol/L K<sub>2</sub>MnO<sub>4</sub>毫升数表示。

1.6 数据处理

所有试验结果以烘干土为基础。TCC 对土壤微生物数量和酶活性抑制率的计算方法:

抑制率 = (b - a) / a × 100 %。

其中,a 为不加药剂的土壤微生物数量或酶活性;b 为药剂处理的土壤微生物的数量或酶活性。

评价标准:抑制率大于零表明激活作用,小于零表明抑制作用。

2 结果与分析

2.1 三氯卡班对土壤微生物的抑制—激活作用

TCC 各浓度处理对细菌数量的影响见图 1。研究表明,随着 TCC 浓度的提高,抑制作用逐渐增强。TCC 浓度为 2.5 mg/ kg 时,在试验期间表现为激活作用,且在第 9 天时为最大激活率,其后激活作用逐渐降低,在试验期末约第 7 周时恢复到初始

水平。其他浓度则在试验期间一直表现为抑制作用,20.0,40.0,70.0 mg/ kg 3 个浓度表现的抑制规律基本相同,且在试验期间抑制作用的波动不大,抑制作用较为持续。

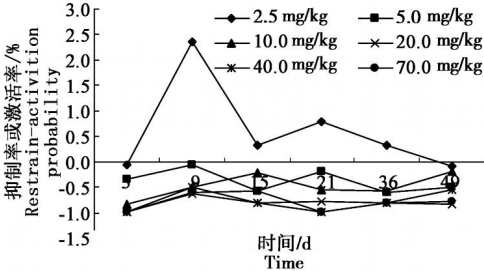


图 1 三氯卡班对土壤细菌的抑制-激活变化  
Fig.1 The influence of TCC on population of the bacteria in soil

TCC 各浓度处理对放线菌的影响见图 2。研究表明,在较低浓度处理下(包括 2.5,5.0,10.0 mg/ kg),在试验之初,TCC 对放线菌均表现为激活作用。其中 TCC 浓度为 2.5 mg/ kg 时,除在第 36 天前表现为抑制作用外,其他时间一直表现为激活作用,且随着时间的延长激活作用逐渐减弱。其余浓度处理表现为抑制作用,且抑制作用随时间延长略微增强。20.0,40.0,70.0 mg/ kg 3 个浓度表现的抑制作用基本相同,且在试验期间抑制作用的波动不大,抑制作用较为持续。

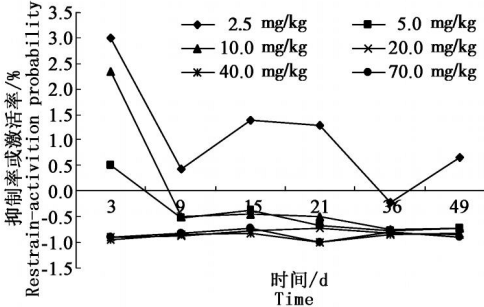


图 2 三氯卡班对土壤放线菌的抑制-激活变化  
Fig.2 The influence of TCC on population of the actinomycetes in soil

TCC 各浓度处理对真菌的影响见图 3。研究表明,在试验浓度范围内,TCC 对真菌表现为激活作用。2.5 mg/ kg 和 5.0 mg/ kg 2 个浓度表现的激活作用随时间的延长逐渐降低,且 5.0 mg/ kg 浓度在试验的最后阶段表现为抑制作用。10.0 mg/ kg 浓度开始表现为激活作用,而 20.0 mg/ kg 浓度开始则表

现为抑制作用,但从第9天开始,两个浓度表现的激活作用变化规律相似。40.0 mg/kg 和 70.0 mg/kg 开始阶段表现为激活作用,随时间推移,激活作用逐渐降低表现为抑制作用,随后又表现为激活作用,且激活作用逐渐增强。

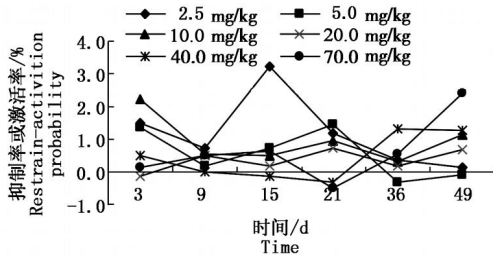


图3 三氯卡班对土壤真菌的抑制-激活变化

Fig.3 The influence of TCC on population of the fungi in soil

## 2.2 三氯卡班对土壤中蛋白酶活性的抑制-激活作用

蛋白酶能够将蛋白质、肽类分解为氨基酸,参与调节生物的氮素循环。在土壤中,蛋白酶由于微生物活动、植物根系分泌和动物残体的分解而富集起来,成为土壤中的一种重要的胞外酶,该酶具有离体活性,能够参与土壤的氮素循环。重金属、有机污染物和不良土壤都能抑制土壤蛋白酶的活性,因此,蛋白酶活性可以反映土壤的环境质量状况。

TCC 各浓度处理对土壤蛋白酶的影响见图4。结果表明,在试验开始阶段,除 10.0, 70.0 mg/kg 2 个浓度表现为激活作用外,其余各浓度均表现为抑制作用,随着时间的延长,抑制作用逐渐减弱,最后均表现为激活作用。而且各个 TCC 浓度对土壤蛋白酶活性的抑制-激活率影响变化规律大体相似。

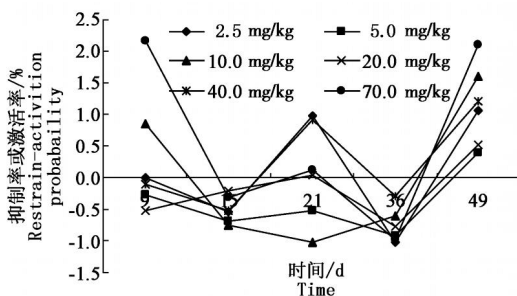


图4 三氯卡班对土壤蛋白酶活性的抑制-激活率

Fig.4 The restrain-activation- probability of  
TCC on the soil protease activity

## 2.3 三氯卡班对土壤中多酚氧化酶的抑制-激活作用

土壤多酚氧化酶主要是来源于土壤微生物、植物根系分泌物及动植物残体分解释放的酶,是一种复合性酶。土壤多酚氧化酶能把土壤中芳香族化合物氧化成醌,醌与土壤中蛋白质、氨基酸、糖类、矿物质等反应生成大小分子量不等的有机质和色素,完

成土壤芳香族化合物循环。

TCC 各浓度处理对土壤多酚氧化酶的影响见图5。研究结果表明,开始阶段,2.5 ~ 70.0 mg/kg 浓度(10.0 mg/kg 除外)对土壤中的多酚氧化酶均有抑制作用,且随着 TCC 浓度的提高抑制作用增强。2.5 ~ 10.0 mg/kg 的处理浓度,随着时间的推移,抑制作用减弱,最后表现为激活作用。20.0 ~ 70.0 mg/kg 的浓度在全试验阶段均表现为抑制作用,且抑制作用逐渐减弱。

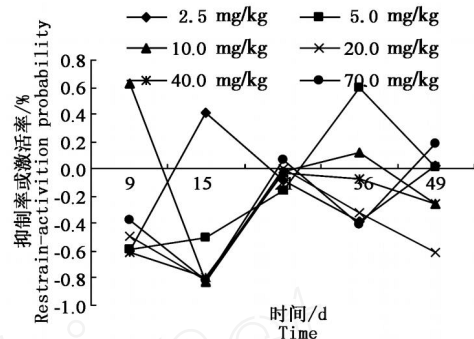


图5 三氯卡班对土壤多酚氧化酶活性的抑制-激活变化

Fig.5 The restrain-activation- probability  
of TCC on the soil PPO activity

## 2.4 三氯卡班对土壤中过氧化氢酶活性的抑制-激活作用

过氧化氢酶能酶促过氧化氢分解为水和分子氧的反应。过氧化氢是在生物呼吸作用过程中与有机物质的各种生物化学氧化反应而形成的。在生物体中(包括土壤中),过氧化氢酶的作用在于破坏对生物体有毒的过氧化氢。

TCC 各浓度处理对土壤过氧化氢酶的影响见图6。研究结果表明,在开始阶段(第9天时),2.5 mg/kg 和 5.0 mg/kg 浓度对土壤中过氧化氢酶表现为抑制作用,而 10.0, 20.0, 40.0, 70.0 mg/kg 浓度则表现为激活作用。但随着时间的推移,各个浓度均表现为抑制作用,到 21 d 时抑制作用达到最大。随后抑制作用逐渐减弱,到试验最后阶段各个浓度均

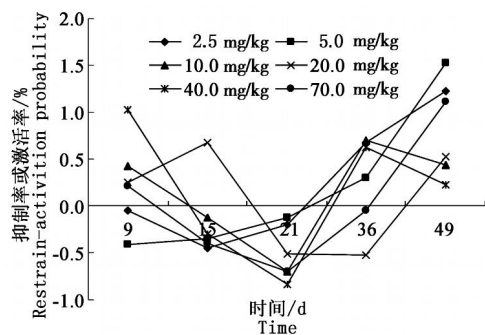


图6 三氯卡班对土壤过氧化氢酶活性的抑制-激活变化

Fig.6 The restrain-activation- probability of  
TCC on the soil hydrogen peroxidase

表现为激活作用。

### 3 讨论

大量有关农药对土壤微生物生态效应的研究表明,农药会对土壤微生物及其活性产生抑制或促进作用,但这种作用一般是短暂的;按推荐浓度正常使用农药通常不会影响土壤微生物的各种生化过程和活性,对土壤的物质循环和土壤肥力也没有不利影响;土壤熏蒸剂和杀真菌剂能改变土壤微生物平衡,它们对土壤微生物的作用强于杀虫剂和除草剂。TCC 是一种高效、广谱抗菌剂,它具备持续、安全、稳定的杀菌特点,广泛应用于药品和个人护理用品中,对革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、真菌、酵母菌、病毒都具有高效抑杀作用。在污水处理设备产生的软泥中,TCC 的浓度高达 10.0 ~ 70.0 mg/kg,其中 95 % 的污泥施用在田间作为土壤肥料。本试验研究表明,在低浓度范围内,对细菌和放线菌的影响表现为先激活后逐渐恢复;但在高浓度范围内表现为抑制作用,且抑制作用较为持续。而对于真菌,各浓度均主要表现为激活作用。由此可见,真菌对 TCC 的响应规律与细菌和放线菌不同;细菌和放线菌对不同浓度 TCC 的响应规律不同。低浓度的 TCC 对土壤中微生物的影响是暂时的,不会对土壤生态系统中的物质循环造成潜在危害,高浓度的 TCC 对土壤微生物的抑制作用表现出持续性。

20 世纪 70 年代初,人们开始注意到土壤微生物活性与土壤酶的相关性。与此同时,土壤酶也逐渐被广泛地应用于污染物对土壤微生物影响的研究。有人研究了脲酶抑制剂氢醌对多酚氧化酶、磷酸酶、蛋白酶、脱氢酶和固氮酶活性的影响,结论是氢醌能暂时促进或抑制这 5 种酶的活性,但培养结束时(88 d)抑制作用和促进作用均消失<sup>[3]</sup>。2-烯丙基苯酚在所设计的浓度下,对土壤过氧化氢酶和脲酶活性没有明显影响<sup>[9]</sup>。而研究 1,3-二氯丙烯对土壤过氧化氢酶活性影响表明,对土壤过氧化氢酶表

现为抑制-激活作用<sup>[7]</sup>。本试验研究表明,各个浓度 TCC 处理对土壤中蛋白酶活性和多酚氧化酶活性均有抑制作用。各个浓度 TCC 处理对土壤中过氧化氢酶活性均有抑制作用,且随着时间的推移,在 21 d 有抑制作用最大,最后又都表现为激活作用。

### 参考文献:

- [1] 胡洪营,王超,郭美婷.药品和个人护理用品(PPCPs)对环境的污染现状与研究进展[J].生态环境,2005,14(6):947-952.
- [2] Jiangang Chen, Ki Chang Ahn, Nancy A. Gee, *et al.* Triclocarban enhances testosterone action: A new type of endocrine disruptor [J]. *Endocrinology*, 2008, 149: 1173-1179.
- [3] 龚平,孙铁珩,李培军.农药对土壤微生物的生态效应[J].应用生态学报,1996,6(7):127-132.
- [4] 杨万勤,王开运.土壤酶研究动态与展望[J].应用与环境生物学报,2002,8(5):564-570.
- [5] 杨云马,薛世川,夏风召,等.腐植酸复合肥对土壤微生物量的影响[J].华北农学报,2007,22(增刊):187-189.
- [6] 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.
- [7] 张瑞福,崔中利,何健.甲基对硫磷长期污染对土壤微生物的生态效应[J].农村生态环境,2004,20(4):1-5.
- [8] 范昆,王开运,王东.1,3-二氯丙烯药剂对土壤微生物数量和酶活性的影响[J].生态学报,2008,28(2):695-701.
- [9] 胡继业,吴宪,张文吉,等.2-烯丙基苯酚的土壤微生物生态效应[J].环境化学,2005,24(3):284-287.
- [10] Heidler J, Sapkota A, Halden R U. Partitioning, persistence, and accumulation in digested sludge of the topical antiseptic triclocarban during wastewater treatment [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, 40: 3634-3639.
- [11] 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.
- [12] 章家恩.生态学常用研究实验方法与技术[M].北京:化学工业出版社,2007.