

Cd 对不同形态漆酶修复 DDT 污染土壤的影响

赵月春¹, 付蓉¹, 莫测辉^{2*}, 易筱筠³

(1. 华南农业大学应用化学系, 广州 510640; 2. 暨南大学环境工程系, 广州 510632; 3. 华南理工大学环境科学与工程系, 广州 510640)

摘要: 研究了重金属 Cd 对游离漆酶和固定化反胶团漆酶修复土壤有机氯农药 DDT 污染的影响。结果表明, 游离漆酶对土壤中 DDT 各组分均有不同程度降解, 且均随着 Cd 浓度的增大而降低, 含量越高的组分降解率越高, 受到 Cd 污染的影响也越大 (p, p' -DDT > p, p' -DDD > o, p' -DDT > p, p' -DDE); 当 Cd 浓度分别为 0、0.5、1 和 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 游离漆酶对土壤中 DDT 总量的降解率分别为 50.68%、32.50%、14.92% 和 13.40%。固定化反胶团漆酶比游离漆酶能更有效地降解 DDT, DDT 降解率在无 Cd 和有 Cd 存在时 (Cd 浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 分别提高 20% 和 30% 左右。

关键词: 土壤污染修复; 滴滴涕; 镉; 漆酶

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)08-2331-05

Effect of Cd on Remediation of DDT Contaminated Soil Using Different Laccase Forms

ZHAO Yue-chun¹, FU Rong¹, MO Ce-hui², YI Xiao-yun³

(1. Department of Applied Chemistry, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China; 2. Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 3. Department of Environmental Science and Engineering, South China University of Science & Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: This study investigated the effect of Cd on remediation of DDT contaminated soil using free laccase and immobilized reversed micelles laccase. The results show: degradation rates of ingredients of DDT and total DDT reduced with increasing of Cd concentration, the higher percentage of components in total DDT, the greater impact of Cd on them. Degradation rates of different components were p, p' -DDT > p, p' -DDD > o, p' -DDT > p, p' -DDE. When Cd concentration was 0, 0.5, 1 and $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the responding degradation rates of DDTs were measured at 50.68%, 32.50%, 14.92% and 13.40%, respectively. Compared with free laccase, degradation rate of total DDT by immobilized reversed micelles laccase nearly increased by 20% in soil without Cd and 30% in soil with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd, implying that immobilized reversed micelles laccase is more effective for DDT degradation than free laccase.

Key words: remediation of contaminated soil; DDT; Cd; laccase

农药残留和重金属是两类主要的土壤污染物。其中有机氯农药 DDT 是 2001 年联合国环境规划署 (UNEP) 通过的《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》中要求全球统一行动优先控制和消除的 12 种持久性有机污染物 (POPs) 之一。DDT 具有高毒、高残留、持久性和生物蓄积性等特征, 对生态环境和人体健康有严重危害^[1]。尽管我国早在 1983 年就停用 DDT, 但土壤中其检出率仍然很高^[2]。2000 年太湖流域农田土壤 DDT 超标率达 24%, 上海市郊区农田土壤 DDT 含量严重超标^[3], 南京市菜地土壤 DDT 检出率为 100%^[4]。我国农药污染土壤面积达 1 300 ~ 1 600 万 hm^2 。土壤农药污染直接导致农产品中农药超标。据 2000 年国家质检总局数据, 全国约 50% 的蔬菜农药残留超标, 影响出口创汇金额达 74 亿美元^[3]。一些农产品中的 DDT 检出率高达 100%^[5]。因此, 近年来人们对 DDT 污染土壤的微生物修复技术^[6,7]、植物修复技术^[8~11]等进行了研究。生物修复

技术因具有成本低、无二次污染、不破坏土壤环境等特点而日益受到重视。酶修复技术因对低浓度农药的处理更有效等特点也受到了重视^[12,13]。鉴于土壤 DDT 和重金属复合污染的现象普遍存在^[14,15], 且重金属对漆酶活性具有一定的影响^[16,17], 本研究探讨了重金属 Cd 对游离漆酶和固定化反胶团漆酶修复 DDT 污染土壤的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

产漆酶的多孔菌购自中国科学院广州化学有限公司。供试赤红壤取自华南农业大学树木园, 其质地

收稿日期: 2007-11-16; 修订日期: 2008-04-22

基金项目: 广东省自然科学基金项目(021016, 036716); 广东省科技计划项目(2002C31603, 2003C34505); 广州市科技计划项目(2007Z3-E0471)

作者简介: 赵月春(1964~), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向为土壤有机污染生物修复, E-mail: ceyczhao@tom.com

* 通讯联系人, E-mail: tchmo@jnu.edu.cn

为粉沙质壤土, pH 值(水/土 = 2.5/1)为 5.35, 有机质为 $7.89 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 氮、磷、钾为别 0.71 、 0.72 、 $2.61 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Cd 和 DDT 均未检出(前者检出限为 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 后者检出限见下文). DDT 的 4 种组分 p, p' -DDE、 o, p' -DDT、 p, p' -DDD 和 p, p' -DDT 的标准物质购于美国 Supelco 公司.

1.2 试验方法

1.2.1 不同形态漆酶制备及酶活测定

多孔菌首先接种到马铃薯液体培养基上活化, 然后再接种到马铃薯液体培养基中培养 9 d, 即获得游离漆酶液, 经盐析和 Sephadex G-75 柱层析纯化进一步提高其活力^[18]. 量取该漆酶液 0.4 mL 与 0.796 mL 醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 为 4.6, 离子浓度为 $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、 44.3 mL 含 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AOT 气溶胶及 $0.00625 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tween-80 的异辛烷溶液混合, 在磁力搅拌器上搅拌 12 h, 即得到含水量为 30 的反胶团漆酶溶液(含水量 R 值的定义为有机相中水的摩尔浓度与 AOT 摩尔浓度之比, 即 $R = [\text{H}_2\text{O}] / [\text{AOT}]$). 取 3 g 硅藻土作载体, 加入一定量的 Tween-80 对硅藻土进行表面改性, 充分搅拌均匀后加入含水量为 30 的反胶团漆酶液 25 mL, 混匀后在 30℃ 下搅拌干燥, 直至其成固体粉末状, 即得到固定化反胶团漆酶.

以邻联甲苯胺为底物, 与游离漆酶液或反胶团漆酶液反应 30 min, 在 756MC 型紫外可见分光光度计上测定其 600 nm 处的光密度(D 值). 酶活力以酶与底物反应 30 min 后光密度的改变值表示, 每 min 光密度增加 0.01 为 1 个酶活力单位(U)^[19].

1.2.2 漆酶修复 DDT 污染土壤试验

DDT 溶液的制备, 将 0.0547 g DDT 放入 100 mL 容量瓶中, 用丙酮定容至刻度. 此溶液 DDT 浓度为 $0.547 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 置于 4℃ 冰箱中保存备用. 在 50 g 过 60 目筛的土壤中加入 5 mL DDT 丙酮溶液, 搅拌均匀, 室内风干后再与 450 g 过 2 mm 筛的土壤混合均匀, 即制得人工配制 DDT 污染土壤. 按照实验设计投加一定浓度的 CdCl_2 溶液, 使土壤中 Cd 污染水平分别为 0.5 、 1 和 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 然后使 Cd 与 DDT 污染土壤混合, 放置 4 周后进行漆酶修复试验. 试验中保持土壤的含水率为 15% 左右. 试验前测定土壤 DDT 的初始浓度见表 1.

在不同 Cd 污染水平土壤中投加游离漆酶(每 g 土壤加酶 6 U), 以考察不同 Cd 污染水平对游离漆酶修复 DDT 污染土壤的影响. 在无 Cd 和 Cd 含量为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤中分别投加游离漆酶和固定化

反胶团漆酶(每 g 土壤加酶 6 U), 以考察无 Cd 和一定浓度 Cd 对游离漆酶和固定化反胶团漆酶修复 DDT 污染土壤的影响. 同时进行无 Cd 对照和不加酶对照试验. 每个处理用土 15 g, 设 3 个重复, 分别置于烧杯中试验处理 25 d. 实验后将土壤风干, 过 60 目筛备测.

表 1 土壤 DDT 初始浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

Table 1 Initial concentration of DDT in soil for laccase remediation/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

DDT 组分及总量	Cd			
	0	0.5	1	2
p, p' -DDE	0.354	0.358	0.359	0.361
o, p' -DDT	0.764	0.776	0.786	0.787
p, p' -DDD	1.424	1.425	1.433	1.440
p, p' -DDT	2.340	2.349	2.360	2.369
DDTs ¹⁾	4.882	4.907	4.932	4.957

1) DDTs 表示 DDT 各组分总含量

1.3 样品预处理与 DDT 的气相色谱(GC)分析

样品预处理和 DDT 的检测参照 GB/T 14550-93 方法进行^[20].

1.3.1 样品预处理

称取 10 g 土壤置于索氏抽提器中, 用体积比为 1:1 的石油醚和丙酮混合液 100 mL 浸泡 10 h 后抽提 6 h. 同时做空白试验. 将抽提液转移至分液漏斗中, 加入 10% 的无水硫酸钠溶液, 摆荡 1 min 后静止分层, 取上层石油醚层并加入相当于石油醚层体积 1/10 的浓硫酸分配 3~4 次, 直至上层都呈无色为止. 再加入剩余石油醚层体积一半的 10% 无水硫酸钠溶液洗涤, 直至石油醚层溶液至中性, 过无水硫酸钠脱水, 浓缩, 定容至 10 mL, 待测.

1.3.2 DDT 的气相色谱(GC)分析

DDT 标准溶液含 p, p' -DDE、 o, p' -DDT、 p, p' -DDD 和 p, p' -DDT 4 种组分, 其质量浓度分别为 20 、 20 、 60 、 0.08 和 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 用丙酮(色谱纯)稀释出 4 个浓度系列.

气相色谱仪为 HP5890 II, 色谱柱为 HP-5, $30 \text{ m} \times 0.320 \text{ mm} (\text{id}) \times 0.25 \mu\text{m}$; 载气为 99.999% 的高纯氮气, 气化室温度 220°C , 柱温 195°C , 检测器(ECD)温度为 245°C , 载气流速 $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. 采用不分流进样, 进样量为 $2 \mu\text{L}$.

用回收率指示物(2,4,5,6-四氯间二甲苯)控制整个操作流程的回收率, 抽提样品用回收标样控制整个操作流程的回收率. 指示物的回收率为 78%~88.6%, DDT 总量(DDTs)的回收率为 88.4%~98.7%. p, p' -DDE、 o, p' -DDT、 p, p' -DDD 和 p, p' -DDT 的检测限分别为 0.902 、 3.869 、 2.8471 和

0.756 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

2 结果与讨论

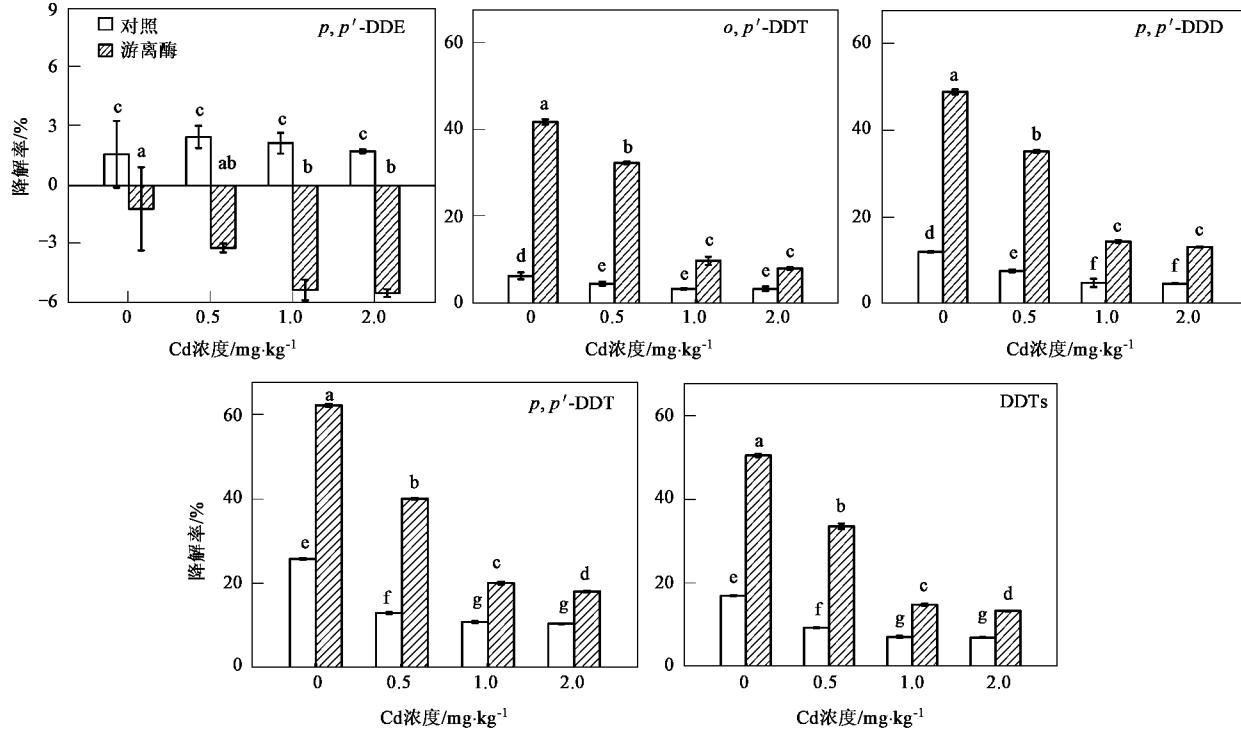
分析数据采用 SPSS11.5 for Windows 软件进行分析,作 One-way ANOVA 检验。

2.1 不同 Cd 污染水平对游离漆酶修复 DDT 污染土壤的影响

不同 Cd 污染水平土壤中 DDT 各组分及总量的降解率见图 1。从中可见,与无 Cd 对照处理相比,不同 Cd 污染水平下 DDT 各组分(p, p' -DDE 除外)及总量的降解率均显著降低,并且随着 Cd 污染浓度的提

高而不断降低,不同组分降低的程度不同。因此,Cd 的存在对 DDT 污染土壤的酶修复有一定影响,其中组分含量越高受到的影响越大,可能与重金属污染导致土壤酶活性的降低有关^[21]。

对于 DDT 的总量 DDTs,在游离酶处理中,无 Cd 污染时其降解率为 50.68%,当 Cd 浓度为 0.5、1 和 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,其降解率分别只有 32.50%、14.92% 和 13.40%,其间差异显著;在不加酶对照处理中,无 Cd 污染时其降解率为 17.64%,当 Cd 浓度为 0.5、1 和 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时分别只有 9.42%、7.50% 和 7.28%,后两者差异不显著。



数据为平均值,同一化合物不同处理间含相同字母者差异不显著,下同。

图 1 不同 Cd 污染水平下游离漆酶对 DDT 污染土壤的降解

Fig. 1 Degradation of DDT by free laccase in soil polluted by different Cd levels

对于 o, p' -DDT,在游离酶处理中,无 Cd 污染时其降解率为 42.21%,当 Cd 浓度为 0.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,其降解率均迅速降低(32.57%、9.96%),且差异显著,当 Cd 浓度提高到 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时其降解率(8.22%)仅略微降低;在不加酶对照处理中,无 Cd 污染时其降解率仅为 6.39%,当 Cd 浓度为 0.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时降解率显著降低,但随着 Cd 污染的提高降解率差异不显著。

对于 p, p' -DDD,情况与 o, p' -DDT 相似,在游离酶处理中,无 Cd 污染时其降解率为 49.20%,当 Cd

浓度为 0.5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,其降解率均迅速降低(35.24%、14.48%),且差异显著。当 Cd 浓度提高到 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时其降解率(13.20%)仅略微降低;在不加酶对照处理中,无 Cd 污染时其降解率为 13.33%,当 Cd 浓度为 0.5、1 和 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,降解率分别为 7.70%、4.93% 和 4.78%,后两者差异不显著。

对于 p, p' -DDT,情况与 DDTs 相似,在游离酶处理中,无 Cd 污染时其降解率为 62.57%,当 Cd 浓度为 0.5、1 和 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,分别只有 40.15%、20.14%

和 18.12%，其间差异显著；在不加酶对照处理中，无 Cd 污染时其降解率为 26.09%，当 Cd 浓度为 0.5、1 和 2 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时分别为 13.02%、10.86% 和 10.45%，后两者差异不显著。

对于 p,p' -DDE，从图 1 可以看出，各 DDT 组分中 p,p' -DDE 最难降解。对照处理中微生物对 p,p' -DDE 的降解作用使其含量降低，降解率为正值。而在游离酶处理中，原有 p,p' -DDE 在被降解的同时，其它 DDT 组分在降解过程中又生成了新的 p,p' -DDE^[22]，当生成量大于总降解量时就会出现降解率为负值的现象。在游离酶处理过程中 p,p' -DDE 的降解率也随着 Cd 浓度的提高而降低，但 Cd 浓度达到 1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时才与无 Cd 污染时差异显著；在不加酶对照处理中，Cd 的存在提高了 p,p' -DDE 的降解率，但差异不显著。

图 1 还表明，与不加酶对照相比，不管 Cd 是否存在及其浓度如何，游离酶的处理均显著提高了 DDT 各组分及其总量的降解率，如在无 Cd 存在时提高 35% 左右，在 Cd 浓度为 0.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时提高 25% 左右。

2.2 游离漆酶与固定化反胶团漆酶对 DDT 污染土壤的修复比较

2.2.1 无 Cd 存在时游离漆酶与固定化反胶团漆酶对 DDT 污染土壤的修复比较

无 Cd 存在时游离漆酶与固定化反胶团漆酶修复 DDT 污染土壤的结果见图 2。可以看出，与不加酶对照相比，游离漆酶和固定化反胶团漆酶处理中 DDT 各组分 (p,p' -DDE 除外) 及其总量的降解率均显著提高，而且在固定化反胶团漆酶处理中其降解率也显著高于游离漆酶处理。固定化反胶团漆酶对 DDT 的降解优于游离漆酶，是因为其中含有亲水基向内而疏水基向外的反胶团，并固定在经表面改性的硅藻土上，较好地保持漆酶的活性和稳定性，从而提高了其修复效果。对于 DDTs，在不加酶对照、游离漆酶和固定化反胶团漆酶处理中其降解率分别为 17.05%、50.53% 和 69.17%。 o,p' -DDT、 p,p' -DDD 和 p,p' -DDT 在不加酶对照处理中的降解率为 6.48% ~ 25.88%，在游离漆酶处理中的降解率为 42.00% ~ 62.36%，在固定化反胶团漆酶处理中的降解率为 64.10% ~ 80.17%。 p,p' -DDE 在不加酶对照、游离漆酶和固定化反胶团漆酶处理中的降解率分别为 1.56%、-1.20% 和 6.07%。

2.2.2 Cd 对游离漆酶和固定化漆酶反胶团降解土壤中 DDT 的影响

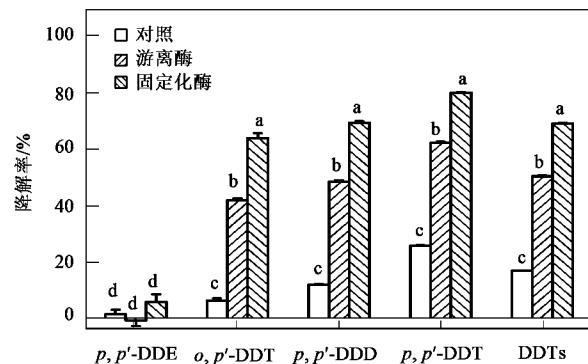


图 2 无 Cd 存在时游离漆酶与固定化反胶团漆酶对 DDT 污染土壤的降解

Fig. 2 Degradation of DDT by free laccase and immobilized reversed micelles laccase in soil without Cd

在一定 Cd 浓度 (0.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 下，游离漆酶与固定化反胶团漆酶修复 DDT 污染土壤的结果见图 3。可以看出，在一定 Cd 浓度 (0.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 下，与不加酶对照相比，游离漆酶和固定化反胶团漆酶处理中 DDT 各组分 (p,p' -DDE 除外) 及其总量的降解率也均显著提高，而且在固定化反胶团漆酶处理中其降解率也显著高于游离漆酶处理。对于 DDTs，在不加酶对照、游离漆酶和固定化反胶团漆酶处理中其降解率分别为 9.47%、32.78% 和 60.35%。 o,p' -DDT、 p,p' -DDD 和 p,p' -DDT 在不加酶对照处理中的降解率为 4.35% ~ 13.42%，在游离漆酶处理中的降解率为 32.50% ~ 33.74%，在固定化反胶团漆酶处理中的降解率为 49.96% ~ 73.58%。上述表明，在一定 Cd 浓度 (0.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 下，固定化反胶团漆酶比游离漆酶具有较强的对 Cd 污染的抵抗能力和对 DDT 较强的降解能力，在无 Cd 和有 Cd 存在时，前者对

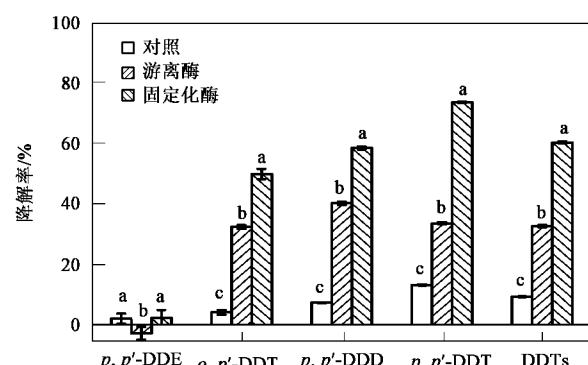


图 3 Cd 为 0.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时游离漆酶与固定化反胶团漆酶对 DDT 污染土壤的降解

Fig. 3 Degradation of DDT by free laccase and immobilized reversed micelles laccase in soil with 0.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cd

DDT降解率分别比后者提高18.64%和27.57%。

3 结论

(1)游离漆酶对土壤中DDT各组分均有不同程度降解,且均随着Cd浓度的增大而降低,含量越高的组分降解率越高,受到Cd污染的影响也越大(p,p' -DDT> p,p' -DDD> o,o' -DDT> p,p' -DDE)。

(2)游离漆酶对土壤中DDT总量的降解率随着土壤Cd浓度的增大而明显下降,当Cd浓度分别为0、0.5、1和 $2\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,DDT总量的降解率分别为50.68%、32.50%、14.92%和13.40%。

(3)固定化反胶团漆酶比游离漆酶能更有效地降解DDT,DDT降解率在无Cd和有Cd存在时分别提高20%和30%左右。无Cd存在时游离漆酶和固定化反胶团漆酶处理中DDT总量的降解率分别为50.53%和69.17%,当Cd浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时分别仅为32.78%和60.35%。

参考文献:

- [1] Marco J A M, Kishimba M A. Concentrations of pesticide residues in grasses and sedges due to point source contamination and the indications for public health risks, Vikuge, Tanzania [J]. Chemosphere, 2005, **61**(9): 1293-1298.
- [2] 赵其国. 净土洁食问题[N]. 科学时报, 2003-06-19.
- [3] 李顺鹏,蒋建东. 农药污染土壤的微生物修复研究进展[J]. 土壤, 2004, **36**(6): 577-583.
- [4] 安琼,董元华,王辉,等. 南京地区土壤中有机氯农药残留及其分布特征[J]. 环境科学学报, 2005, **25**(4): 470-474.
- [5] 郁红建,蒋新. 有机氯农药在南京市郊蔬菜中的生物富集与质量安全[J]. 环境科学学报, 2005, **25**(1): 91-93.
- [6] Arisoy M. Biodegradation of chlorinated organic compounds by white rot fungus[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1998, **60**(60): 872-876.
- [7] 方玲. 降解有机氯农药的微生物菌株分离筛选及应用效果[J]. 应用生态学报, 2000, **11**(3): 249-252.
- [8] Garrison A W, Nzengung V A, Avants J K, et al. Phytodegradation of p,p' -DDT and the enantiomers of o,o' -DDT [J]. Environ Sci Technol, 2000, **34**(9): 1663-1670.
- [9] Suresh B, Sherkhane P D, Kale S, et al. Uptake and degradation of DDT by hairy root cultures of *Cichorium intybus* and *Brassica juncea* [J]. Chemosphere, 2005, **61**(9): 1288-1292.
- [10] 魏峰,董元华,安琼,等. 花生对DDT的吸收积累[J]. 土壤学报, 2007, **44**(5): 907-912.
- [11] 邢素芝,汪建飞,段立珍,等. 杂交苏丹草(*Sorghum bicolor* × *S. sudanense*)修复DDT污染土壤效果研究[J]. 土壤, 2007, **39**(4): 577-581.
- [12] 和文祥,蒋新,朱茂旭,等. 酶修复土壤农药污染的研究进展[J]. 生态学杂志, 2001, **20**(3): 47-51.
- [13] 付蓉. 多孔菌漆酶修复DDT污染土壤的研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2006. 11-36.
- [14] 安中华,董元华,安琼,等. 苏南某市农田土壤环境质量评价及其分级[J]. 土壤, 2004, **36**(6): 631-635.
- [15] 孙立波,郭观林,周启星,等. 某污灌区重金属与两种持久性有机污染物(POPs)污染趋势评价[J]. 生态学杂志, 2006, **25**(1): 29-33.
- [16] Lorenzo M, Moldes D, Couto S R, et al. Inhibition of laccase activity from *Trametes versicolor* by heavy metals and organic compounds[J]. Chemosphere, 2005, **60**: 1124-1128.
- [17] 兰瑞芳,林少琴,林玉满,等. 杏鲍菇漆酶的生物学特性[J]. 食用菌学报, 2002, **9**(2): 14-16.
- [18] 王宜磊,周长路. 多孔菌 *Polyporus W38* 漆酶的纯化及性质研究[J]. 微生物学杂志, 2002, **22**(6): 28-29.
- [19] 陈嘉翔. 生物漂白用酶液的制备与酶活测定[J]. 纸和造纸, 1995, (6): 45-46.
- [20] GB/T 14550-93. 中华人民共和国国家标准——土壤中六六六和滴滴涕的测定气相色谱法[S].
- [21] 邱莉萍,张兴昌. Cu、Zn、Cd和EDTA对土壤酶活性影响的研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, **25**(1): 30-33.
- [22] Shivaramaiah H M, Odeh I O A, Kennedy Ivan R, et al. Mapping the Distribution of DDT Residues as DDE in the Soils of the Irrigated Regions of Northern New South Wales, Australia Using ELISA and GIS[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, **50**: 5360-5367.