

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第7期

Vol.34 No.7

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办

科学出版社 出版



目次

唐山市大气颗粒物 OC/EC 浓度谱分布观测研究	郭育红, 辛金元, 王跃思, 温天雪, 李杏茹, 封孝信 (2497)
北京东灵山地区主要大气污染物浓度变化特征	于阳春, 胡波, 王跃思 (2505)
奥运前期与奥运期间北京市大气细颗粒物特征比较分析	张菊, 欧阳志云, 苗鸿, 王效科, 任玉芬, 宋文质 (2512)
华东森林及高山背景区域臭氧变化特征及影响因素	苏彬彬 (2519)
北京市居家空气微生物粒径及分布特征研究	方治国, 孙平, 欧阳志云, 刘芄, 孙力, 王小勇 (2526)
民用燃煤源中多环芳烃排放因子实测及其影响因素研究	海婷婷, 陈颖军, 王艳, 田崇国, 林田 (2533)
醇类汽油车醇醛酮、芳香烃和烯烃类排放的试验研究	张凡, 王建海, 王小臣, 王建昕 (2539)
微波解吸-催化燃烧净化甲苯研究	曹晓强, 张浩, 黄学敏 (2546)
生物滴滤池对 BTEX 的去除及相应细菌群落分析	李建军, 廖东奇, 许玫英, 孙国萍 (2552)
炼油厂废水处理站挥发性羰基化合物成分谱研究	周博宇, 刘旺, 王伯光, 周咪, 黄青, 周磊 (2560)
春季东、黄海溶解甲烷的分布和海气交换通量	曹兴朋, 张桂玲, 马啸, 张国玲, 刘素美 (2565)
千岛湖湖泊区水体季节性分层特征研究	董春颖, 虞左明, 吴志旭, 吴春金 (2574)
新安江流域土地利用结构对水质的影响	曹芳芳, 李雪, 王东, 赵越, 王玉秋 (2582)
长江中下游草型湖泊浮游植物群落及其与环境因子的典范对应分析	孟睿, 何连生, 过龙根, 席北斗, 李中强, 舒俭民, 刁晓君, 李必才 (2588)
河口盐度梯度下溶解态核酸的微生物可利用性	杨青青, 李朋辉, 黄清辉 (2597)
水藻暴发的影响因素定量化研究初步	张卓, 宋志尧, 黄昌春, 俞肇元 (2603)
深水型水库藻类功能组时空演替及生境变化的影响	卢金锁, 胡亚潘 (2611)
结合水体光学分类反演太湖总悬浮物浓度	周晓宇, 孙德勇, 李云梅, 李俊生, 龚绍琦 (2618)
Subwet 模型在人工湿地设计中的应用	李慧峰, 黄津辉, 林超 (2628)
白洋淀荷茎叶提取液对铜绿微囊藻及四尾栅藻化感效应	何连生, 孟繁丽, 刁晓君, 李一葳, 孟睿, 席北斗, 舒俭民 (2637)
苦草 (<i>Vallisneria spiralis</i>) 对城市缓流河道黑臭底泥理化性质的影响	许宽, 刘波, 王国祥, 马久远, 曹勋, 周峰 (2642)
铁屑-微生物协同还原去除水体中 Cr(VI) 研究	汤洁, 王卓行, 徐新华 (2650)
铁铜催化剂非均相 Fenton 降解苯酚及机制研究	杨岳主, 李玉平, 杨道武, 段锋, 曹宏斌 (2658)
不同形态无机氮对水中微量药物安替比林光降解效能影响	赵倩, 陈超, 封莉, 张立秋 (2665)
邻苯二甲酸二甲酯的紫外光-H ₂ O ₂ 降解机制研究	刘青, 陈成, 陈泓哲, 杨绍贵, 何欢, 孙成 (2670)
二胺基改性有序多孔 SBA-15 对溶液中 Cd ²⁺ 离子的吸附研究	张萌, 杨亚提, 秦睿, 王力, 张增强, 李忠宏, 李荣华, 孟昭福 (2677)
酸化蛭石的表面有机修饰及其对疏水性微污染物的吸附	蒋争明, 于旭彪, 胡芸, 任源, 李雪辉, 韦朝海 (2686)
基于废陶瓷的多孔陶瓷研制及其对 Ni ²⁺ 的吸附性能	张永利, 王承智, 史册, 尚玲玲, 马瑞, 董婉莉 (2694)
树皮支持的厌氧生物法去除地下水中的高氯酸盐	王蕊, 刘菲, 陈楠, 陈鸿汉 (2704)
Cr(VI) 污染地下水修复的 PRB 填料实验研究	朱文会, 董良飞, 王兴润, 翟亚丽 (2711)
化学沉淀法去除稀土湿法冶炼废水中钙与高浓度氨氮研究	王浩, 成官文, 宋晓薇, 徐子涵, 蒙金结, 董传强 (2718)
镍铁尾矿硫酸浸出动力学研究	陈安安, 周少奇, 黄鹏飞 (2729)
HRT 对 A ² O 工艺中典型多环麝香迁移转化的影响	刘鹏程, 黄满红, 陈东辉, 陈亮 (2735)
发酵液作为 EBPR 碳源的动力学模拟	张超, 陈银广 (2741)
强化污泥利用水解反应器改善碳源与污泥减量作用研究	熊娅, 王强, 宋英豪, 朱民, 林秀军 (2748)
污泥胞外聚合物的提取方法及其对污泥脱水性能的影响	周俊, 周立祥, 黄焕忠 (2752)
不同粒径铁铝泥对砷(Ⅲ)的吸附效果	林璐, 胥嘉瑞, 吴昊, 王昌辉, 裴元生 (2758)
我国畜禽粪便污染的区域差异与发展趋势分析	仇焕广, 廖绍攀, 井月, 栾江 (2766)
浙北平原富硒土壤资源区硒来源的定量分离	徐明星, 潘卫丰, 岑静, 马学文 (2775)
三江平原土地利用方式变化对土壤锰形态影响	张仲胜, 吕宪国, 宋晓林 (2782)
吉林前郭水田土壤有机碳垂直分布规律和储量研究	汤洁, 张雯辉, 李昭阳, 张楠, 胡猛 (2788)
关中地区农田土壤有机碳固存速率及影响因素: 以陕西武功县为例	张晓伟, 许明祥 (2793)
三峡库区不同林草措施土壤活性有机碳及抗蚀性研究	黄茹, 黄林, 何丙辉, 周立江, 于传, 王峰 (2800)
土壤自养微生物同化碳向土壤有机碳库输入的定量研究: ¹⁴ C 连续标记法	史然, 陈晓娟, 吴小红, 简燕, 袁红朝, 葛体达, 隋方功, 童成立, 吴金水 (2809)
西南丘陵区保护性耕作下小麦农田土壤呼吸及影响因素分析	张赛, 张晓雨, 王龙昌, 罗海秀, 周航飞, 马仲炼, 张翠微 (2815)
丹江口水库迁建区土壤有机氯农药的分布特征及风险评价	李子成, 秦延文, 郑丙辉, 张雷, 赵艳民, 时瑶 (2821)
农药企业场地苯系物污染风险及调控对策	庞博, 王铁宇, 杜立宇, 谭冰, 朱朝云, 吕永龙 (2829)
水分管理对硫铁镉在水稻根区变化规律及其在水稻中积累的影响	张雪霞, 张晓霞, 郑煜基, 王荣萍, 陈能场, 卢普相 (2837)
硝酸盐对沉积物中有机物氧化减量及微生物群落结构的影响	刘近, 邓代永, 孙国萍, 刘永定, 许玫英 (2847)
零价铁对脱色希瓦氏菌 S12 偶氮还原的促进作用	周庆, 陈杏娟, 郭俊, 孙国萍, 许玫英 (2855)
2 株好氧反硝化菌的筛选及其强化贫营养生物膜脱氮效果	全向春, 岑艳, 钱殷 (2862)
反硝化聚磷菌快速富集、培养及其荧光原位杂交技术鉴别	刘立, 汤兵, 黄绍松, 付丰连, 张启泰, 黎健彬, 罗建中 (2869)
1 株反硝化除磷菌的鉴定及其反硝化功能基因研究	张倩, 王弘宇, 桑穗姣, 李孟, 杨开, 马放 (2876)
1 株高效 BBP 降解菌的分离与特性研究	陈湖星, 杨雪, 张凯, 钟秋, 郭佳, 王攀, 熊丽, 刘德立 (2882)
微生物-化学水解联合作用下烟嘧磺隆的降解	张小林, 李咏梅, 袁志文 (2889)
扑草净降解菌的分离、筛选与鉴定及降解特性初步研究	周际海, 孙向武, 胡锋, 李辉信 (2894)
固定化 <i>Lysinibacillus cresolovorans</i> 的 PVA-SA-PHB-AC 复合载体制备及间甲酚的降解	李婷, 任源, 韦朝海 (2899)
生物破乳菌 <i>Alcaligenes</i> sp. S-XJ-1 表面活性物质提取与其破乳特性分析	黄翔峰, 张树聪, 彭开彰, 陆丽君, 刘佳 (2906)
A ² O 工艺活性污泥中可培养丝状细菌的多样性	高莎, 金德才, 赵志瑞, 齐嵘, 彭霞薇, 白志辉 (2912)
生活垃圾堆肥渗滤液污染物组成与演化规律研究	李丹, 何小松, 席北斗, 魏自民, 潘红卫, 赵国鹏, 崔东宇 (2918)
专辑征稿通知 (2551) 《环境科学》征稿简则 (2685) 《环境科学》征订启事 (2868) 信息 (2875)	

1 株高效 BBP 降解菌的分离与特性研究

陈湖星, 杨雪, 张凯, 钟秋, 郭佳, 王攀, 熊丽*, 刘德立

(华中师范大学生命科学学院, 湖北省遗传调控与整合生物学重点实验室, 武汉 430079)

摘要: 从湖北省荆沙河泥样中富集培养分离得到了1株能够以邻苯二甲酸丁基苄基酯为唯一碳源和能源生长的细菌并命名为HS-B1。采用形态学、生理生化及16S rDNA序列分析对其进行了鉴定,发现HS-B1是1株杆状、需氧、革兰氏阴性细菌,接触酶呈阳性反应,氧化酶呈阴性反应,不产硫化氢气体,且该菌的16S rDNA序列与琼氏不动杆菌(*Acinetobacter junii*)的相似性高达99%。因此初步鉴定该菌株为不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)。摇瓶实验表明,菌株HS-B1生长和BBP降解的最适培养条件为35℃, pH 8.0。采用0.10 mmol·L⁻¹非离子型表面活性剂吐温-80提高了BBP在水溶液中的表观溶解度,发现在最适培养条件下,HS-B1能够在48 h内将浓度为1 000 mg·L⁻¹ BBP完全降解,证明是一株高效降解菌。底物广谱性实验中,菌株HS-B1也能够有效利用DMP、DEP、DBP等邻苯二甲酸酯类化合物,说明该菌株在处理邻苯二甲酸酯类化合物的污染治理中有独特的应用潜力。

关键词: 邻苯二甲酸丁基苄基酯; 16S rDNA; 生物降解; 吐温-80; 表观溶解度; 底物广谱性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)07-2882-07

Isolation and Characterization of a Highly Efficient BBP-degrading Bacterium

CHEN Hu-xing, YANG Xue, ZHANG Kai, ZHONG Qiu, GUO Jia, WANG Pan, XIONG Li, LIU De-li

(Hubei Key Laboratory of Genetic Regulation and Integrative Biology, College of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079, China)

Abstract: A bacterial strain HS-B1 which can utilize *n*-butyl benzyl phthalate as the sole source of carbon and energy was isolated from contaminated sludge in the Jinsha River of Hubei Province. Based on its morphology, physiological characteristic and 16S rDNA sequence analysis, HS-B1 was identified as *Acinetobacter* sp.. Shake flask experiments indicated the optimum pH, temperature for growth and BBP biodegradation by HS-B1 was found to be 8.0 and 35℃, respectively. When using 0.10 mmol·L⁻¹ non-ionic surfactant Tween-80 as co-solvent to increase the apparent solubility of BBP in water, HS-B1 was able to completely degrade 1 000 mg·L⁻¹ BBP within 48 hours. Diversity of degradable substrates also showed that HS-B1 can efficiently utilize many other phthalate esters such as dimethyl phthalate and diethyl phthalate. It revealed that the strain HS-B1 has special application potential in dealing with the pollution caused by phthalate esters.

Key words: butyl benzyl phthalate (BBP); 16S rDNA; biodegradation; Tween-80; apparent solubility; diversity of degradable substrates

邻苯二甲酸酯(phthalate acid esters, PAEs)是一种人工合成的聚氯乙烯增塑剂类化合物,可以作为增塑剂、软化剂及添加剂,广泛用于塑料、化妆品、去污剂、润滑剂、服装和农药等行业^[1]。由于PAEs与塑料主体结构之间不以化学键相结合,在塑料制品的生产、使用等过程中很容易从塑料中释放出来,污染环境,因此该类化合物已成为一种全球性的环境有机污染物,在土壤、水体、大气、生物甚至人体中都已发现PAEs的分布^[2]。邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)作为PAEs类化合物的重要一员,由于出色的增塑性(塑化速度快,填充剂容量大,耐水性、耐热性和耐油抽出性强),已逐渐被广泛使用。BBP是已经被报道的具有明显雌激素生物效应的8种PAEs中的一种^[3],有较强的生殖毒性^[4],能够诱导细胞癌变^[5],正严重威胁人类的生命健康。美国

环境保护署(EPA)、欧盟委员会已经将其列入了优先控制污染物黑名单^[6]。

邻苯二甲酸酯(phthalate acid esters, PAEs)在环境中的水解、光解的速率非常缓慢,属于难降解物质^[7]。因此,微生物降解被认为是自然环境中PAEs完全矿化的主要过程^[8]。目前已经有许多关于PAEs类化合物生物降解的报道,但是大多数都集中在二烷基类邻苯二甲酸酯的生物降解上,而对复杂的、不容易降解的烷基芳香基邻苯二甲酸酯(如BBP)的报道较少^[9]。本研究从长期受PAEs污

收稿日期: 2012-10-31; 修订日期: 2012-12-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(30771429, 31071653); 教育部留学归国人员科研基金项目; 中央高校基本科研业务费专项

作者简介: 陈湖星(1988~),男,硕士研究生,主要研究方向为环境微生物学, E-mail: HX_nehc@hotmail.com

* 通讯联系人, E-mail: xionglily@mail.ccnu.edu.cn

染的荆沙河泥样中分离到了 1 株能够以邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)为唯一碳源和能源生长的细菌,采用形态学、生理生化和 16S rDNA 序列分析对该菌进行了鉴定,并对其生长和降解特性进行了初步的分析,以期对邻苯二甲酸酯类有机污染物的治理及相应环境修复中提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和器材

主要试剂为:邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP),购自上海阿拉丁试剂(纯度 $\geq 98\%$);BBP 标准品($\geq 99\%$)购于美国 Accustandard 公司;吐温-80(化学纯)和乙酸乙酯(分析纯)购自国药集团化学试剂有限公司(上海);色谱级甲醇(购自 Sigma 公司);酵母粉(Yeast extract)、蛋白胨(Tryptone)购于英国 OXOID 公司;细菌 DNA 提取试剂盒和琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒分别来自上海赛百盛基因技术有限公司和爱思进生物技术有限公司;引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成;Taq DNA 聚合酶、dNTP 均购自 Fermentes 公司;其他试剂均为国产分析纯。

主要器材为:UV-1100 紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);高效液相色谱仪(美国瓦里安公司);电泳仪(北京六一仪器厂);PCR 仪(德国 Eppendorf 公司);旋转蒸发仪(上海亚荣生化有限公司);小型高速冷冻离心机(5415 型, Eppendorf 公司)。

1.2 培养基的配制

无机盐培养基($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): NH_4Cl 2.0, NaCl 0.5, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, KH_2PO_4 0.4, $\text{K}_2\text{HPO}_4\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 2.0, 痕量元素 1 mL;调整 pH 为 8.0,于 121℃ 湿热灭菌 20 min,固体培养基加琼脂 18.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。1 L 痕量元素溶液($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): $\text{CaSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 4.0, $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 7.0, $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 7.0, $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{NaMoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 3.4, $\text{CaCl}_2\cdot \text{H}_2\text{O}$ 2.0,调节 pH 为 7.0。

富集培养基($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): 酵母膏 5.0, 蛋白胨 10.0, NaCl 5.0;加水至 1 L,调整 pH 为 7.0,于 121℃ 湿热灭菌 20 min,固体培养基加琼脂 18.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

1.3 样品采集与菌株分离纯化

泥样采自湖北省荆州市荆沙河。从样品中称取 1 g 淤泥接种于含有 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的邻苯二甲酸丁基苄基酯 100 mL 无机盐液体培养基中,采用梯度压力驯化法在 30℃、黑暗条件下振荡培养 5 d,然后按 10% 的接种量逐步转接至含有 250、400、500、800、1 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 邻苯二甲酸丁基苄基酯的无机盐培养基中

进行培养。初筛采用稀释涂平板法,在含有 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BBP 的无机盐固体培养基上进行涂布。待菌体生长后,选择生长状态良好,形态不同的菌落转接至含同浓度的 BBP 无机盐液体培养基中,转接 3 次后,采用平板划线法,在含有 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BBP 的无机盐固体培养基上分别进行划线,挑取单一菌落至富集培养基中培养。培养后再经多次平板划线,直至分离得到纯的单菌落。

1.4 菌株鉴定

菌株的形态学分析采用扫描电子显微镜(JOEL JSM-6700F),生理生化鉴定参考文献[10,11]进行。菌株 16S rDNA 序列分析中,以菌株的基因组 DNA 为模板(提取按照细菌基因组 DNA 抽提试剂盒说明进行),采用通用引物进行 PCR 扩增,即正向引物为 FC27:5'AGAGTTTGATCATGGCTCAG3';反向引物为 RC1492:5'CTACGGTACCTTGTTACGAC3'^[12]。PCR 扩增条件为:94℃ 预变性 4 min;94℃ 变性 1 min,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,35 个循环后 72℃ 延伸 7 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,由南京金斯瑞有限公司完成测序工作。将测序结果同 GenBank 数据库中的基因序列进行 BLAST 比对,以获得相似性较高的相关菌株,采用 Clustalx 1.8 软件进行多序列比对,最后用 MEGA 4.0 软件构建系统进化树^[13]。

1.5 菌株的特性研究

1.5.1 菌株的生长与降解特性

将分离纯化得到的菌株,接种于富集培养基中,培养 12 h 后收集菌体,在无菌条件下用 pH 为 7.4 的 PBS 缓冲液洗涤 3 次,用同样的缓冲液将菌体重悬,调菌悬液 D_{600} 至 1.0,作为种子液备用。取新鲜种子液 2 mL,接种于 50 mL 无机盐培养基的 150 mL 密闭培养瓶中,分别考察了在初始 BBP 浓度 1 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、摇瓶转速 180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下,不同 pH、温度对菌株生长和 BBP 降解的影响,以及非离子型表面活性剂吐温-80 的添加对菌株生长和 BBP 降解的影响。

1.5.2 菌株的底物广谱性分析

选取邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二丁酯(DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)等常见 PAEs 类化合物,PAEs 类化合物的代谢中间产物如邻苯二甲酸、原儿茶酸^[14],以及部分常见的芳香族化合物如苯甲酸、邻苯二酚、苯酚、二甲苯、甲苯等作为测试底物。在无机盐培养基中加入底物使其最终浓度为 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,无菌处理后接种新鲜种子

液,振荡培养 48 h,观察菌株的生长状况。

1.6 分析方法

降解率的测定:在进行降解实验的培养瓶中加入 20 mL 乙酸乙酯,于摇床中振荡萃取 15 min,收集有机相。水相再用 20 mL 乙酸乙酯萃取 2 次,合并有机相,用旋转蒸发仪进行旋转蒸发。待蒸发完毕后用甲醇定容至 10 mL,用高效液相色谱仪测定 DBP 的残留量。色谱柱为 5 μ m Eclipse XDB-C18,色谱条件为柱温 25℃、流动相为甲醇/水(90:10)、流动相流速为 1.0 mL $\cdot$ min⁻¹,检测器波长为 254 nm^[15],进样量为 20 μ L(进样前需用孔径为 0.22 μ m 微孔滤膜过滤)。

生物量的测定:采用 UV-1100 紫外可见分光光度计测量培养液在 600 nm 时的光密度值,经吐温-80 增溶处理的实验组则采用平板菌落计数法。

2 结果与分析

2.1 菌株 HS-B1 的形态学与生理生化特性

通过富集培养从荆沙河泥样中分离得到了 1 株细菌 HS-B1,经过驯化后 HS-B1 能够在浓度为 1 000 mg $\cdot$ L⁻¹ 邻苯二甲酸丁基苄基酯的无机盐培养基中

良好生长。菌株 HS-B1 在固体 LB 平板上培养,形成的菌落较大,呈淡黄色、湿润、微凸、不透明。经过扫描电镜观察,菌株 HS-B1 彼此相互黏附,无芽孢,不形成鞭毛,为杆状细菌,长度约 3~10 μ m,宽度约 0.5~0.75 μ m(图 1)。生理生化测试发现,菌株 HS-B1 为需氧革兰氏阴性菌,接触酶呈阳性反应,氧化酶呈阴性反应,不产硫化氢气体,吡啶反应、明胶液化反应、硝酸盐还原反应均呈阴性反应,能够发酵多种糖类和氨基酸(详见表 1)。

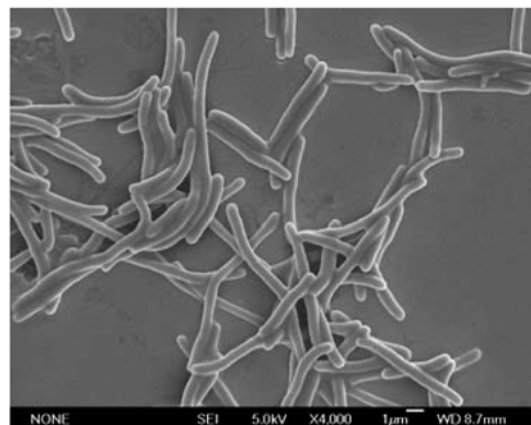


图 1 HS-B1 扫描电镜图

Fig. 1 SEM image of strain HS-B1

表 1 菌株 HS-B1 的部分生理生化特征¹⁾

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of strain HS-B1

检测指标	结果	检测指标	结果	检测指标	结果
氧气	好氧	草酸盐	+	L-苯丙氨酸	+
革兰氏染色	阴	丙三醇	+	L-精氨酸	+
H ₂ S	-	D-山梨醇	-	L-赖氨酸	+
接触酶	+	葡萄糖	+	L-酪氨酸	+
氧化酶	-	蔗糖	+	L-鸟氨酸	+
吡啶反应	-	麦芽糖	+	L-丙氨酸	+
明胶液化	-	可溶性淀粉	-	L-组氨酸	+
硝酸盐还原	-	α -乳糖	+	L-缬氨酸	-
柠檬酸盐	+	D-半乳糖	+	L-苏氨酸	-
乙酸盐	+	D-果糖	+	L-异亮氨酸	-
酒石酸盐	-	D-甘露糖	+	L-甲硫氨酸	-

1) +: 阳性; -: 阴性

2.2 菌株 HS-B1 的 16S rDNA 分子鉴定与系统发育分析

以菌株 HS-B1 的基因组 DNA 作为模板,采用 PCR 技术扩增出其 16S rDNA 基因,回收纯化后送公司进行测序。测序结果表明,HS-B1 的 16S rDNA 基因序列大小为 1 439 bp, GenBank 的登录号为 JF901932。在 GenBank 中进行 BLAST 比对分析,结果发现与菌株 HS-B1 的 16S rDNA 序列相似性最高的是 *Acinetobacter junii*(No. FJ544395),其相似性达

到 99%。选取邻近序列,用 Clustalx1.8 进行序列比对分析,再用 MEGA 4.0 软件包构建系统发育树(图 2)。结合其形态学和生理生化特征,可以初步确定 HS-B1 为 *Acinetobacter* sp.。

2.3 菌株 HS-B1 的生长与 BBP 降解特性研究

2.3.1 pH 值对菌株 HS-B1 生长及 BBP 降解率的影响

为考察 pH 值对菌株生长和 BBP 生物降解的影响,设定培养条件:温度 35℃、摇瓶转数 180

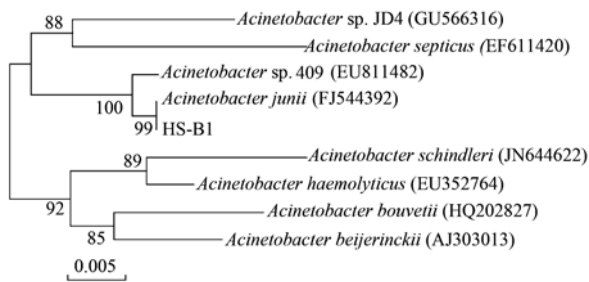


图 2 菌株 HS-B1 的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of strain HS-B1 and related species based on 16S rDNA

$\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$, 以及 pH 值分别为 6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 时, 在含 $1\,000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BBP 作为唯一碳源的无机盐培养基中接种 HS-B1 种子液, 培养 36 h 后测定菌株的生物量和 BBP 的降解率. 结果如图 3 所示, HS-B1 适合在偏碱性的培养环境中生长, 当培养液的初始 pH 为 8.0~9.0 之间时, 菌体的生长和 BBP 的降解情况较好. 可能是偏碱性的培养条件下, 容易中和 BBP 代谢中产生的一些酸性中间产物, 使细菌的降解酶系保持一个较高的活性状态; 当 pH 小于 6.0 时或者大于 10.0 时, 菌体的生长缓慢, BBP 的降解作用也受到较强的抑制; HS-B1 较适宜的培养 pH 为 8.0~9.0, pH 8.0 为最佳.

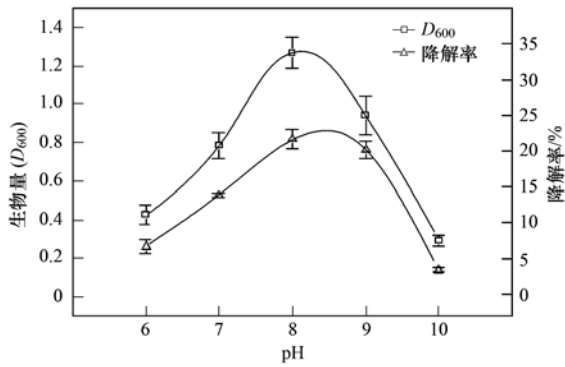


图 3 pH 值对 HS-B1 生长及 BBP 降解的影响

Fig. 3 Effect of pH value on the growth of HS-B1 and BBP biodegradation

2.3.2 温度对菌株 HS-B1 生长及 BBP 降解率的影响

为考察培养温度对菌株生长和 BBP 生物降解的影响, 设定培养条件: pH 8.0、摇瓶转数 $180\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 以及温度分别为 20、25、30、35、42℃ 时, 在含 $1\,000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BBP 作为唯一碳源的无机盐培养基中接种 HS-B1 种子液, 培养 36 h 后测定菌株的生物量和 BBP 的降解率. 结果如图 4 所示: 当培养温度为 30~35℃ 之间时, HS-B1 的生长和 BBP 的降解情况较好, 在 35℃ 时达到了最高的菌株生长量和

BBP 降解率, 而培养温度低于 25℃ 时, 菌体生长和 BBP 降解都相对缓慢; 当培养温度为 42℃ 时, HS-B1 可以缓慢生长, 并没有出现大量死亡, 在已知不动杆菌属内只有鲍氏不动杆菌可以在 42℃ 生长^[11]; 因此 HS-B1 最适宜的培养温度为 35℃.

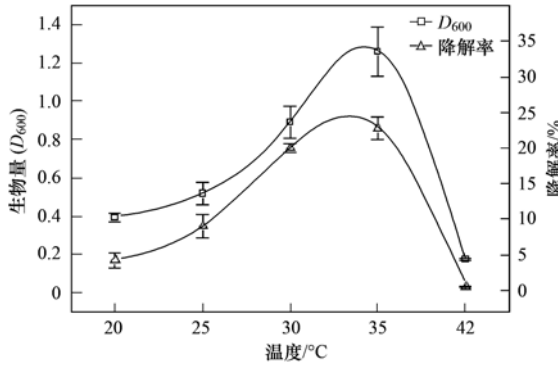


图 4 温度对 HS-B1 生长及 BBP 降解的影响

Fig. 4 Effect of tempure on the growth of HS-B1 and BBP biodegradation

2.3.3 吐温-80 对菌株 HS-B1 生长的影响

为考察表面活性剂吐温-80 对菌株 HS-B1 生长的影响, 设定培养条件: pH 8.0、温度 35℃、摇瓶转数 $180\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 并添加不同浓度的吐温-80 作为促进剂增加 BBP 在水溶液中的表观溶解度 (apparent solubility)^[16], 然后在含有 $1\,000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BBP 无机盐培养基中培养 (对照组则未添加). 选取的浓度梯度为 0.05、0.10、0.1、0.20 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 接种 HS-B1 种子液, 培养 36 h 后采用平板菌落计数法测定菌体密度, 以衡量菌株的生物量. 由于吐温-80 对 BBP 的乳化作用, 培养液在摇瓶实验中长时间呈乳白色, 对 D_{600} 值的测定能形成较强的干扰, 故不采用 D_{600} 值进行衡量. 实验结果如图 5 所示, 菌株 HS-B1 在含有浓度为 0.05~0.15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 吐温-80 的培养环境中, 以 $1\,000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BBP 作为碳源, 生长状态相对良好, 但与对照组相比, 菌株的生长仍然受到很明显的抑制; 当吐温-80 浓度高于 0.2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之后, 菌体的生长则受到较强的抑制作用, 变得十分缓慢; 综合以上结果表明, 吐温-80 对菌株 HS-B1 利用 BBP 作为碳源的生长中有抑制作用, 在高浓度吐温-80 ($>0.2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 条件下抑制作用较明显, 而在低浓度吐温-80 (0.10 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 条件下抑制作用相对较小.

2.3.4 吐温-80 增溶条件下菌株 HS-B1 对 BBP 的降解

为考察吐温-80 增溶条件下菌株 HS-B1 对 BBP

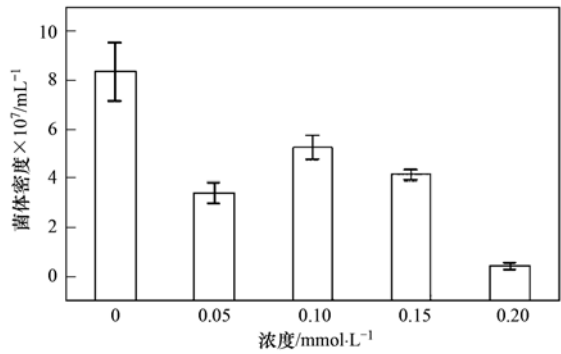


图 5 不同浓度吐温-80 对菌株生长的影响
Fig. 5 Effect of tween-80 concentration on the growth of strain HS-B1

的降解,设定培养条件:pH 8.0、温度 35℃、摇床转数 180 r·min⁻¹,采用 0.1 mmol·L⁻¹ 吐温-80 对 BBP 进行增溶处理,接种 HS-B1 种子液后,测定菌株在不同培养时间下对 BBP 的降解率.另设置空白对照和条件对照,空白对照组不接种 HS-B1 种子液,条件对照组则不添加吐温-80.实验结果如图 6、7 所示,实验组中,菌株 HS-B1 在 48 h 内将浓度为 1 000 mg·L⁻¹ BBP 全部降解,并且在 HPLC 检测中没有发现大量的代谢产物残留;与实验组相比,条件对照组中 BBP 的降解过程则十分缓慢,48 h 的平均残留率高达 60%;同时空白对照组中,BBP 几乎没有发生降解,说明吐温-80 的存在并不能催化 BBP 在摇瓶中的自然水解过程.综合以上结果表明,采用低浓度吐温-80 (0.1 mmol·L⁻¹) 对 BBP 进行增溶处理,能够极有效地提高菌株 HS-B1 对 BBP 的生物降解效率.

2.4 菌株 HS-B1 底物广谱性分析

底物广谱性实验结果如表 2 所示,菌株 HS-B1

表 2 菌株 HS-B1 的底物广谱性¹⁾

Table 2 Diversity of degradable substrates by strain HS-B1

底物	利用情况	底物	利用情况	底物	利用情况
DMP	++	DEHP	+	原儿茶酸	+
DEP	++	邻苯二甲酸	++	甲苯	-
DBP	++	苯甲酸	++	二甲苯	-
DOP	+	邻苯二酚	+	吐温-80	+

1) ++ 表示生长良好, + 表示能利用生长; - 表示不能利用生长

3 讨论

Acinetobacter sp. 是一类专性需氧的革兰氏阴性细菌,其广泛存在于自然界中,有十分强的黏附能力,能够降解许多种有机污染物比如:苯酚^[18]、4-氯酚^[19]、苯甲酸盐^[20]、均三嗪^[21]等,在自然环境的

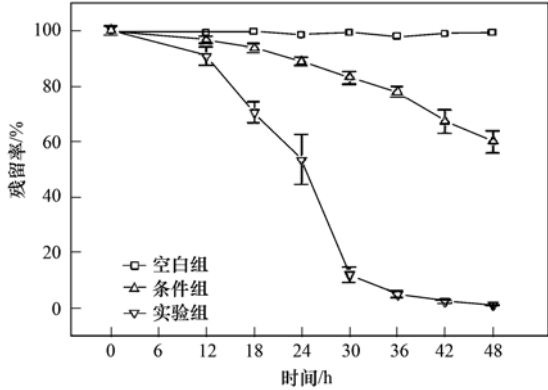


图 6 不同的培养时间下菌株对 BBP 的降解
Fig. 6 Effect of incubation time on BBP biodegradation of strain HS-B1

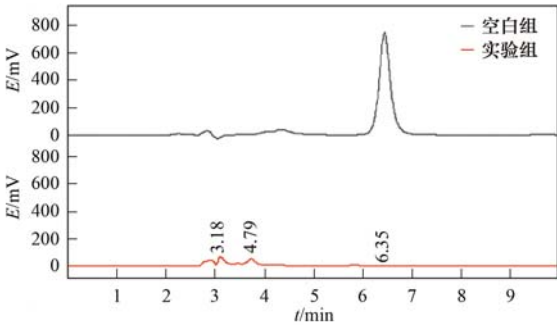


图 7 降解 48 h 后 BBP 的 HPLC 检测
Fig. 7 HPLC detection of BBP after biodegradation by 48 h

能够在以 DMP、DEP、DBP、DOP 等邻苯二甲酸酯类化合物为唯一碳源的无机盐培养基中生长,而且 HS-B1 对烷基碳链较短的 DMP、DEP、DBP 利用较快,与文献[17]报道结果一致;同时 HS-B1 对常见的 PAEs 代谢衍生物及部分芳香族的化合物如:邻苯二甲酸、苯甲酸、邻苯二酚、原儿茶酸也有一定的利用能力.

生物修复中发挥着重要作用.在目前已报道的 BBP 降解菌中,不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.) 是一个较新的菌属,仅 Chatterjee 等^[22]在 2008 年报道的菌株 FW 为此属菌,但是 FW 不能单独降解 BBP,需要与菌株 WY (*Arthrobacter* sp.) 进行联合降解,而且周期相对较长(需要 44 d 才能将 1 000 mg·L⁻¹ BBP 完

全降解)。在其他菌属的 BBP 降解菌中,菌株 DK4 (*Sphigomonas* sp.) 只能完全降解初始浓度 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 BBP,菌株 018 (*Corynebacterium* sp.) 能够完全降解初始浓度低于 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 BBP^[17]; 菌株 *Pleurotus ostreatus* 在 YMG 培养基中培养 7 d 后,能够在 24 h 内完全降解 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BBP,但是在无机盐培养基中需要 5 d 才能完全降解 $35 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BBP^[23]; 菌株 MTCC 4818 (*Gordonia* sp.) 能够在浓度为 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BBP 生长良好,但不能将其彻底降解^[24]。相比之下,HS-B1 降解 BBP 的培养条件要求低,对 BBP 降解彻底,而且有十分高的耐受性和降解速率,具有明显的优势。

邻苯二甲酸酯(PAEs)在环境中分布十分广泛,目前我国的工农业用地、河流、湖泊均受到了相当程度的污染,广州、深圳地区一些蔬菜生产基地的土壤中 PAEs 含量达到了 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[25],长江武汉段部分水域沉积相中 PAEs 含量甚至超过了 $400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[26]。底物广谱性实验表明,HS-B1 除了能够有效地降解烷基芳香基邻苯二甲酸酯(BBP)外,对 5 种常见的二烷基邻苯二甲酸酯以及部分芳香族衍生污染物也有十分明显的降解作用。因此,菌株 HS-B1 将会在处理 PAEs 和一些芳香族化合物的污染治理中有着独特的应用潜能。

吐温-80(Tween-80)为聚氧乙烯山梨醇酐单油酸酯,是一种聚氧乙烯型非离子表面活性剂。由于其很好的乳化作用与增溶作用,对微生物的毒性较小,常常作为促进剂而被运用于多环芳烃等疏水性难降解有机物生物处理中^[27]。邻苯二甲酸酯(PAEs)也是常见的疏水性难降解有机污染物,但目前有关表面活性剂对 PAEs 生物降解影响的报道相对较少,而且研究结果并不统一,例如:Chang 等^[28]发现添加表面活性剂对 PAEs 的生物降解有促进作用,Chao 等^[29]则认为添加表面活性剂对 PAEs 的生物降解有阻碍作用,原因是表面活性剂所形成的胶团不可逆地破坏了细胞膜结构,对受试菌株产生一定的毒性。本研究中,吐温-80 作为增溶剂对菌株生长存在明显的抑制作用,但在低浓度吐温-80 ($0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 条件下,抑制作用相对较小,反而能够有效地促进 HS-B1 对 BBP 的降解。因此推测表面活性剂能否促进 PAEs 类污染物的生物降解与表面活性剂的类型、受试菌的特点有关,需要综合考虑。另一方面,吐温-80 的相对分子质量较大^[30],生物利用性较差,在环境修复中洗脱其他有毒有机物的同时容易造成二次污染^[27]。以菌株 HS-B1 作为受试

菌,发现菌株 HS-B1 能够缓慢利用吐温-80。因此在吐温-80 增溶条件下对 BBP 降解中,菌株 HS-B1 对吐温-80 的降解情况还需要进一步的研究。

4 结论

(1)从长期受邻苯二甲酸酯类化合物污染的污泥中分离得到了 1 株能够以邻苯二甲酸丁基苄基酯(BBP)为唯一碳源和能源生长的细菌 HS-B1,经过形态学特征、生理生化特征和 16S rDNA 序列系统学分析,初步鉴定该菌株为不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)。

(2)HS-B1 生长和降解 BBP 的最适宜培养条件为:温度 35°C , pH 8.0; 在此条件下,HS-B1 迅速利用 BBP 作为碳源和能源进行生长,能够在 BBP 浓度为 $1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的无机盐培养基中生长良好,有较高的耐受性和降解效率。

(3)较低浓度非离子型表面活性剂吐温-80 ($0.10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 对 HS-B1 的生长影响相对较小,作为增溶剂能够有效地促进 HS-B1 对 BBP 的生物降解,48 h 平均降解效率提高了约 60%。

参考文献:

- [1] Koo J W, Parham F, Kohn M C, et al. The association between biomarker-based exposure estimates for phthalates and demographic factors in a human reference population [J]. Environmental Health Perspectives, 2002, 110 (4): 405-410.
- [2] 刘慧杰,舒为群. 邻苯二甲酸酯类化合物的毒理学效应及对人群健康的危害[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26 (19): 1778-1781.
- [3] 陈正夫,朱坚,周亚康. 环境激素的分析与评价[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [4] Ema M, Miyawaki E. Effects on development of the reproductive system in male offspring of rats given butyl benzyl phthalate during late pregnancy [J]. Reproductive Toxicology, 2002, 16 (1): 71-76.
- [5] Hsieh T H, Tsai C F, Hsu C Y, et al. n-Butyl benzyl phthalate promotes breast cancer progression by inducing expression of lymphoid enhancer factor 1 [J]. PLoS One, 2012, 7 (8): 1-12.
- [6] Wang J L, Liu P, Qian Y. Microbial degradation of di-n-butyl phthalate [J]. Chemosphere, 1995, 31 (9): 4051-4056.
- [7] Stales C A, Peterson D R, Parkerton T F, et al. The environmental fate of phthalate esters: A literature review [J]. Chemosphere, 1997, 35 (4): 667-749.
- [8] 骆祝华,黄翔玲,叶德赞. 环境内分泌干扰物——邻苯二甲酸酯的生物降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14 (6): 890-897.
- [9] Xu X R, Li H B, Gu J D. Elucidation of n-butyl benzyl phthalate biodegradation using high-performance liquid

- chromatography and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, **386**(2): 370-375.
- [10] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 53-364.
- [11] Buchanan R E, Gibans N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. (第八版). 北京: 科学出版社, 1984. 604-607.
- [12] 金德才, 梁任星, 王洋洋, 等. 一株 DBP 高效降解菌的筛选及其降解特性[J]. 中南大学学报(自然科学版), 2010, **41**(1): 8-14.
- [13] 刘旭光, 张杰. 分子生物学软件应用[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2007.
- [14] Eaton R W. Plasmid-encoded phthalate catabolic pathway in *Arthrobacter keyseri* 12B[J]. Journal of Bacteriology, 2001, **183**(12): 3689-3703.
- [15] Wu X L, Liang R X, Dai Q Y, *et al.* Complete degradation of di-n-octyl phthalate by biochemical cooperation between *Gordonia* sp. strain JDC-2 and *Arthrobacter* sp. strain JDC-32 isolated from activated sludge[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, **176**(1-3): 262-268.
- [16] Kim H S, Weber W J. Preferential surfactant utilization by a PAH-degrading strain: Effects on Micellar Solubilization phenomena[J]. Environmental Science and Technology, 2003, **37**(16): 3574-3580.
- [17] Chang B V, Yang C M, Cheng C H, *et al.* Biodegradation of phthalate esters by two bacteria strains[J]. Chemosphere, 2004, **55**(4): 533-538.
- [18] Kobayashi F, Maki T, Nakamura Y. Biodegradation of phenol in seawater using bacteria isolated from the intestinal contents of marine creatures [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2012, **69**: 113-118.
- [19] 吴为中, 冯叶成, 王建龙. 不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)降解 4-氯酚的特性及机制研究[J]. 环境科学, 2008, **29**(11): 3185-3188.
- [20] Zhan Y H, Yu H Y, Yan Y L, *et al.* Benzoate catabolite repression of the phenol degradation in *Acinetobacter calcoaceticus* PHEA-2[J]. Current Microbiology, 2009, **59**(4): 368-373.
- [21] Fajardo C, Saccà M L, Gibello A, *et al.* Assessment of s-Triazine catabolic potential in soil bacterial isolates applying *atz* genes as functional biomarkers[J]. Water, Air & Soil Pollution, 2012, **223**(6): 3385-3392.
- [22] Chatterjee S, Dutta T K. Complete degradation of butyl benzyl phthalate by a defined bacterial consortium: role of individual isolates in the assimilation pathway[J]. Chemosphere, 2008, **70**(5): 933-941.
- [23] Hwang S S, Kim H Y, Ka J O, *et al.* Changes in the Activities of Enzymes Involved in the Degradation of Butylbenzyl Phthalate by *Pleurotus ostreatus* [J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, **22**(2): 239-243.
- [24] Chatterjee S, Dutta T K. Metabolic cooperation of *Gordonia* sp. strain MTCC 4818 and *Arthrobacter* sp. strain WY in the utilization of butyl benzyl phthalate: effect of a novel co-culture in the degradation of a mixture of phthalates [J]. Microbiology, 2008, **154**(Pt 11): 3338-3346.
- [25] 王凡, 沙玉娟, 夏星辉, 等. 长江武汉段水体邻苯二甲酸酯分布特征研究[J]. 环境科学, 2008, **29**(5): 1163-1169.
- [26] 蔡全英, 莫测辉, 李云辉, 等. 广州、深圳地区蔬菜生产基地土壤中邻苯二甲酸酯(PAEs)研究[J]. 生态学报, 2005, **25**(2): 283-288.
- [27] 赵磊, 张甲耀, 许振文, 等. 吐温 80 降解菌的分离及其性能的初步研究[J]. 环境科学与技术, 2006, **29**(1): 4-6.
- [28] Chang B V, Liao G S, Yuan S Y. Anaerobic degradation of di-n-butyl phthalate and di-(2-ethylhexyl) phthalate in sludge[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2005, **75**(4): 775-782.
- [29] Chao W L, Lin C M, Shiung L L, *et al.* Degradation of di-butyl-phthalate by soil bacteria[J]. Chemosphere, 2006, **63**(8): 1377-1383.
- [30] Kim I S, Park J S, Kim K W. Enhanced biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons using nonionic surfactants in soil slurry[J]. Applied Geochemistry, 2001, **16**(11-12): 1419-1428.

CONTENTS

Observation of Size Distribution of Atmospheric OC/EC in Tangshan, China	GUO Yu-hong, XIN Jin-yuan, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (2497)
Changing Characteristics of the Main Air Pollutants of the Dongling Mountain in Beijing	YU Yang-chun, HU Bo, WANG Yue-si (2505)
Characteristic Comparative Study of Particulate Matters in Beijing Before and During the Olympics	ZHANG Ju, OUYANG Zhi-yun, MIAO Hong, <i>et al.</i> (2512)
Characteristics and Impact Factors of O ₃ Concentrations in Mountain Background Region of East China	SU Bin-bin (2519)
Studies on the Size Distribution of Airborne Microbes at Home in Beijing	FANG Zhi-guo, SUN Ping, OUYANG Zhi-yun, <i>et al.</i> (2526)
Emission Factors of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Residential Coal Combustion and Its Influence Factors	HAI Ting-ting, CHEN Ying-jun, WANG Yan, <i>et al.</i> (2533)
Experimental Research on Alcohols, Aldehydes, Aromatic Hydrocarbons and Olefins Emissions from Alcohols Fuelled Vehicles	ZHANG Fan, WANG Jian-hai, WANG Xiao-cheng, <i>et al.</i> (2539)
Combination Process of Microwave Desorption-Catalytic Combustion for Toluene Treatment	CAO Xiao-qiang, ZHANG Hao, HUANG Xue-min (2546)
Removal of BTEX by a Biotrickling Filter and Analysis of Corresponding Bacterial Communities	LI Jian-jun, LIAO Dong-qi, XU Mei-ying, <i>et al.</i> (2552)
Source Profile of Volatile Carbonyl Compounds in Wastewater Treatment Plant of an Oil Refinery	ZHOU Bo-yu, LIU Wang, WANG Bo-guang, <i>et al.</i> (2560)
Distribution and Air-Sea Fluxes of Methane in the Yellow Sea and the East China Sea in the Spring	CAO Xing-peng, ZHANG Gui-ling, MA Xiao, <i>et al.</i> (2565)
Study on Seasonal Characteristics of Thermal Stratification in Lacustrine Zone of Lake Qiandao	DONG Chun-ying, YU Zuo-ming, WU Zhi-xu, <i>et al.</i> (2574)
Effects of Land Use Structure on Water Quality in Xin'anjiang River	CAO Fang-fang, LI Xue, WANG Dong, <i>et al.</i> (2582)
Canonical Correspondence Analysis Between Phytoplankton Community and Environmental Factors in Macrophtic Lakes of the Middle and Lower Reaches of Yangtze River	MENG Rui, HE Lian-sheng, GUO Long-gen, <i>et al.</i> (2588)
Microbial Bioavailability of Dissolved Nucleic Acids Across the Estuarine Salinity Gradient	YANG Qing-qing, LI Peng-hui, HUANG Qing-hui (2597)
Elementary Quantitative Study on Factors of Phytoplankton Bloom	ZHANG Zhuo, SONG Zhi-yao, HUANG Chang-chun, <i>et al.</i> (2603)
Spatiotemporal Succession of Algae Functional Groups and the Influence of Environment Change in a Deep-water Reservoir	LU Jin-suo, HU Ya-pan (2611)
Hyperspectral Remote Sensing of Total Suspended Matter Concentrations in Lake Taihu Based on Water Optical Classification	ZHOU Xiao-yu, SUN De-yong, LI Yun-mei, <i>et al.</i> (2618)
Application of Subwet Model in the Design of Constructed Wetland	LI Hui-feng, HUANG Jin-hui, LIN Chao (2628)
Allelopathic Effect of <i>Nelumbo nucifera</i> Stem and Leaf Tissue Extract on the Growth of <i>Microcystis aeruginosa</i> and <i>Scenedesmus quadricauda</i>	HE Lian-sheng, MENG Fan-li, DIAO Xiao-jun, <i>et al.</i> (2637)
Influence of <i>Vallisneria spiralis</i> on the Physicochemical Properties of Black-odor Sediment in Urban Sluggish River	XU Kuan, LIU Bo, WANG Guo-xiang, <i>et al.</i> (2642)
Removal of Cr(VI) by Iron Filings with Microorganisms to Recover Iron Reactivity	TANG Jie, WANG Zhuo-xing, XU Xin-hua (2650)
Degradation of Phenol with a Fe/Cu-Catalytic Heterogeneous-Fenton Process	YANG Yue-zhu, LI Yu-ping, YANG Dao-wu, <i>et al.</i> (2658)
Effect of Different Forms of Inorganic Nitrogen on the Photodegradation of Antipyrine in Water	ZHAO Qian, CHEN Chao, FENG Li, <i>et al.</i> (2665)
Degradation Mechanisms of Dimethyl Phthalate in the UV-H ₂ O ₂ System	LIU Qing, CHEN Cheng, CHEN Hong-zhe, <i>et al.</i> (2670)
Adsorption of Cd ²⁺ Ions in Aqueous by Diamine-Modified Ordered Mesoporous SBA-15 Particles	ZHANG Meng, YANG Ya-ti, QIN Rui, <i>et al.</i> (2677)
Surface Organic Modification of Acid Vermiculite and Its Adsorption of Hydrophobic Micro Pollutants in Aqueous Solutions	JIANG Zheng-ming, YU Xu-biao, HU Yun, <i>et al.</i> (2686)
Preparation of Porous Ceramics Based on Waste Ceramics and Its Ni ²⁺ Adsorption Characteristics	ZHANG Yong-li, WANG Cheng-zhi, SHI Ce, <i>et al.</i> (2694)
Perchlorate Removal from Underground Water by Anaerobic Biological Reduction with Bark	WANG Rui, LIU Fei, CHEN Nan, <i>et al.</i> (2704)
Experimental Study on the Remediation of Chromium Contaminated Groundwater with PRB Media	ZHU Wen-hui, DONG Liang-fei, WANG Xing-run, <i>et al.</i> (2711)
Removal of Calcium and High-strength Ammonia Nitrogen from the Wastewater of Rare-earth Elements Hydrometallurgical Process by Chemical Precipitation	WANG Hao, CHENG Guan-wen, SONG Xiao-wei, <i>et al.</i> (2718)
Leaching Kinetics of Josephinite Tailings with Sulfuric Acid	CHEN An-an, ZHOU Shao-qi, HUANG Peng-fei (2729)
Effects of HRT on Fate of Typical Polycyclic Musk by A ² O Process	LIU Peng-cheng, HUANG Man-hong, CHEN Dong-hui, <i>et al.</i> (2735)
Kinetic Simulation of Enhanced Biological Phosphorus Removal with Fermentation Broth as Carbon Source	ZHANG Chao, CHEN Yin-guang (2741)
Effluent Carbon Source Improvement and Sludge Reduction by Hydrolysis Reactor with Enhanced Sludge Utilization	XIONG Ya, WANG Qiang, SONG Ying-hao, <i>et al.</i> (2748)
Optimization of Extracellular Polymeric Substance Extraction Method and Its Role in the Dewaterability of Sludge	ZHOU Jun, ZHOU Li-xiang, WONG Woo-chung (2752)
Effectiveness of Arsenite Adsorption by Ferric and Alum Water Treatment Residuals with Different Grain Sizes	LIN Lu, XU Jia-rui, WU Hao, <i>et al.</i> (2758)
Regional Differences and Development Tendency of Livestock Manure Pollution in China	QIU Huan-guang, LIAO Shao-pan, JING Yue, <i>et al.</i> (2766)
Quantitative Partitioning of Soil Selenium in the Selenium-Rich Area of Northern Zhejiang Plain	XU Ming-xing, PAN Wei-feng, CENG Jing, <i>et al.</i> (2775)
Effects of Land Use on Manganese Distribution and Fractions in Wetland Soil of Sanjiang Plain, Northeast China	ZHANG Zhong-sheng, LU Xian-guo, SONG Xiao-lin (2782)
Research on Vertical Distribution Pattern and Reserve of Organic Carbon in Paddy Field Soil of Qianguo, Jilin	TANG Jie, ZHANG Wen-hui, LI Zhao-yang, <i>et al.</i> (2788)
Soil Organic Carbon Sequestration Rate and Its Influencing Factors in Farmland of Guanzhong Plain; A Case Study in Wugong County, Shanxi Province	ZHANG Xiao-wei, XU Ming-xiang (2793)
Effects of Biological Regulated Measures on Active Organic Carbon and Erosion-Resistance in the Three Gorges Reservoir Region Soil	HUANG Ru, HUANG Lin, HE Bing-hui, <i>et al.</i> (2800)
Quantifying Soil Autotrophic Microbes-Assimilated Carbon Input into Soil Organic Carbon Pools Following Continuous ¹⁴ C Labeling	SHI Ran, CHEN Xiao-juan, WU Xiao-hong, <i>et al.</i> (2809)
Analysis of Soil Respiration and Influence Factors in Wheat Farmland Under Conservation Tillage in Southwest Hilly Region	ZHANG Sai, ZHANG Xiao-yu, WANG Long-chang, <i>et al.</i> (2815)
Distribution Characteristics and Risk Evaluation of Organochlorine Pesticides in Soil from Relocation Areas of the Danjiangkou Reservoir	LI Zi-cheng, QIN Yan-wen, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (2821)
Risk Assessment and Countermeasure of BTEX in Pesticide Factory	PANG Bo, WANG Tie-yu, DU Li-yu, <i>et al.</i> (2829)
Accumulation of S, Fe and Cd in Rhizosphere of Rice and Their Uptake in Rice with Different Water Managements	ZHANG Xue-xia, ZHANG Xiao-xia, ZHENG Yu-ji, <i>et al.</i> (2837)
Effects of Nitrate on Organic Removal and Microbial Community Structure in the Sediments	LIU Jin, DENG Dai-yong, SUN Guo-ping, <i>et al.</i> (2847)
Zero-Valent Iron-Enhanced Azoreduction by the <i>Shewanella decolorationis</i> S12	ZHOU Qing, CHEN Xing-juan, GUO Jun, <i>et al.</i> (2855)
Isolation, Identification of Two Aerobic Denitrifiers and Bioaugmentation for Enhancing Denitrification of Biofilm Under Oligotrophic Conditions	QUAN Xiang-chun, CEN Yan, QIAN Yin (2862)
Rapid Enrichment and Cultivation of Denitrifying Phosphate-Removal Bacteria and Its Identification by Fluorescence <i>in situ</i> Hybridization Technology	LIU Li, TANG Bing, HUANG Shao-song, <i>et al.</i> (2869)
Identification of a Denitrifying Polyphosphate-accumulating Organism (DPAO) and Study on Its Denitrifying Functional Genes	ZHANG Qian, WANG Hong-yu, SANG Wen-jiao, <i>et al.</i> (2876)
Isolation and Characterization of a Highly Efficient BBP-degrading Bacterium	CHEN Hu-xing, YANG Xue, ZHANG Kai, <i>et al.</i> (2882)
Degradation of Nicosulfuron by Combination Effects of Microorganisms and Chemical Hydrolysis	ZHANG Xiao-lin, LI Yong-mei, YUAN Zhi-wen (2889)
Isolation, Screening and Identification of Prometryne-Degrading Bacteria and Their Degrading Characteristics	ZHOU Ji-hai, SUN Xiang-wu, HU Feng, <i>et al.</i> (2894)
Preparation of PVA-SA-PHB-AC Composite Carrier and <i>m</i> -Cresol Biodegradation by Immobilized <i>Lysinibacillus cresolivorans</i>	LI Ting, REN Yuan, WEI Chao-hai (2899)
Extraction of Surface Active Substance and Analysis of Demulsifying Characteristics for the Demulsifying Strain <i>Alcaligenes</i> sp. S-XJ-1	HUANG Xiang-feng, ZHANG Shu-cong, PENG Kai-ming, <i>et al.</i> (2906)
Diversity of Culturable Filamentous Bacteria in the Activated Sludge from A ² O Wastewater Treatment Process	GAO Sha, JIN De-cai, ZHAO Zhi-rui, <i>et al.</i> (2912)
Composition and Transformation of Leachates During Municipal Solid Waste Composting	LI Dan, HE Xiao-song, XI Bei-dou, <i>et al.</i> (2918)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2013年7月15日 34卷 第7期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 7 Jul. 15, 2013

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行