

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第12期

Vol.37 No.12

**2016**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目 次(卷终)

|                                                                   |                                                        |
|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 基于数值计算的细颗粒物采样管路传输损失评估 .....                                       | 罗李娜,程真,朱雯斐,张强,楼晟荣,乔利平,晏乃强(4457)                        |
| 南京北郊重金属气溶胶粒子来源分析 .....                                            | 秦鑫,张泽锋,李艳伟,沈艳,赵姝慧(4467)                                |
| 南京青奥会期间不同天气条件下大气气溶胶中水溶性离子的分布特征 .....                              | 师远哲,安俊琳,王红磊,邹嘉南,王俊秀(4475)                              |
| 苏州市 PM <sub>2.5</sub> 中水溶性离子的季节变化及来源分析 .....                      | 王念飞,陈阳,郝庆菊,王欢博,杨复沐,赵晴,薄宇,贺克斌,姚玉刚(4482)                 |
| 成都西南郊区春季 PM <sub>2.5</sub> 中元素特征及重金属潜在生态风险评价 .....                | 杨怀金,杨德容,叶芝祥,张恒德,马学款,汤志亚,毛冬艳(4490)                      |
| 泉州市大气降尘中稀土元素地球化学特征及来源解析 .....                                     | 张棕巍,于瑞莲,胡恭任,胡起超,王晓明(4504)                              |
| 青奥会期间基于 $\delta^{13}\text{C}$ 观测的大气 CO <sub>2</sub> 来源解析 .....    | 徐家平,李旭辉,肖薇,次仁旺姆,温学发,刘寿东,杜雪婷,曹畅(4514)                   |
| 民航飞机起飞过程气态污染物排放特征分析 .....                                         | 韩博,黄佳敏,魏志强(4524)                                       |
| 畜禽养殖场空气中可培养抗生素耐药菌污染特点研究 .....                                     | 张兰河,贺雨伟,陈默,高敏,仇天雷,王旭明(4531)                            |
| 有序介孔材料过滤脱除纳米颗粒物 .....                                             | 邢奕,王骥,路培,李子宜,刘应书,于晗(4538)                              |
| 基于 DOC + CDPF 技术的公交车燃用生物柴油气态物道路排放特性 .....                         | 楼狄明,张允华,谭丕强,胡志远(4545)                                  |
| 亚热带浅水池塘水-气界面甲烷通量特征 .....                                          | 龙丽,肖尚斌,张成,张文丽,谢恒,李迎晨,雷丹,穆晓辉,张军伟(4552)                  |
| 浙江汤浦水库浮游植物季节演替及其影响因子分析 .....                                      | 马沛明,施练东,张俊芳,胡菊香,赵先富(4560)                              |
| 太湖典型沉水植物生理指标对水质的响应 .....                                          | 高敏,胡维平,邓建才,胡春华(4570)                                   |
| 利用 UV-vis 及 EEMs 对比冬季完全混合下两个不同特征水库溶解性有机物的光学特性 .....               | 黄廷林,方开凯,张春华,周石磊,曾明正,龙圣海,李扬,夏超,从海兵(4577)                |
| 三峡前置库汉丰湖试运行年水体水质现状及控制效果评估 .....                                   | 杨兵,何丙辉,王德宝(4586)                                       |
| 太湖贡湖湾水域抗生素污染特征分析与生态风险评价 .....                                     | 武旭跃,邹华,朱荣,王靖国(4596)                                    |
| 滇池不同湖区沉积物正构烷烃的分布特征及其环境意义 .....                                    | 余丽燕,韩秀秀,黄晓虎,吴亚林,杨浩,黄涛,余艳红,黄昌春(4605)                    |
| 洱海入湖河口湿地干湿季沉积物氮、磷、有机质垂向分布特征及污染风险差异性 .....                         | 王书锦,刘云根,王妍,侯磊,张超(4615)                                 |
| 蠡湖表层沉积物氮矿化过程及其赋存形态变化 .....                                        | 赵丽,王书航,姜霞,黄晓峰,陈俊伊(4626)                                |
| 三峡库区表层沉积物重金属含量时空变化特征及潜在生态风险变化趋势研究 .....                           | 卓海华,孙志伟,谭凌智,吴云丽,兰静(4633)                               |
| 模拟巢湖流域氯菊酯的迁移转化和生态风险 .....                                         | 刘亚莉,王继忠,彭书传,陈天虎(4644)                                  |
| 有机质胶体对卡马西平在多孔介质中迁移影响模拟实验 .....                                    | 张思,何江涛,朱晓婧(4651)                                       |
| 无机型城市景观水体表面污染的悬浮颗粒物粒度分布特征:以中国运河苏州段为例 .....                        | 李倩倩,潘杨,贡丹燕,黄勇,夏侯刚(4662)                                |
| 清水江流域岩石风化特征及其碳汇效应 .....                                           | 吕婕梅,安艳玲,吴起鑫,吴永贵(4671)                                  |
| 南方典型农田区浅层地下水污染特征 .....                                            | 郭卉,虞敏达,何小松,罗岳平(4680)                                   |
| 水化学和环境同位素在示踪枣庄市南部地下水硫酸盐污染源中的应用 .....                              | 马燕华,苏春利,刘伟江,朱亚鹏,李俊霞(4690)                              |
| 粗放型绿色屋顶对多环芳烃的控制效果 .....                                           | 沈庆然,侯娟,李田(4700)                                        |
| 超滤的预处理工艺对比研究:化学混凝与电絮凝 .....                                       | 赵凯,杨春风,孙境求,李静,胡承志(4706)                                |
| QCM-D 与 AFM 联用解析 EfOM 在 SiO <sub>2</sub> 改性 PVDF 超滤膜表面的吸附机制 ..... | 姜家良,王磊,黄丹曦,黄松,朱振亚,徐亚伟,李青青(4712)                        |
| 群体感应淬灭菌的分离及其膜污染控制性能 .....                                         | 赵畅,王文昭,徐期勇(4720)                                       |
| 水力负荷对生物沉淀池污染物净化性能的影响特性 .....                                      | 王文东,马翠,刘荟,范银萍,刘国旗,张珂(4727)                             |
| 外加微量 N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> 下 SBR 中硝化微生物特性 .....           | 肖凡颖,张代钧,卢培利(4734)                                      |
| 部分半硝化 AGS-SBR 工艺的启动及其种群结构分析 .....                                 | 鲁航,信欣,管蕾,邹长武,余静(4741)                                  |
| 典型油田多环芳烃污染对土壤反硝化微生物群落结构的影响 .....                                  | 姚炎红,王明霞,左小虎,李振轮,罗锋,周志峰(4750)                           |
| 生物强化膜生物反应器(MBR)处理邻苯二甲酸二乙酯(DEP)效果及微生物群落结构分析 .....                  | 张可,关允,罗鸿兵,陈伟,陈佳,陈强(4760)                               |
| 开闭路条件下沉积物微生物燃料电池阳极细菌群落差异解析 .....                                  | 吴义诚,邓全鑫,王泽杰,郑越,李岱霖,赵峰(4768)                            |
| 全氟辛酸(PFOA)厌氧生物可降解性 .....                                          | 李飞,陈轶丹,周真明,廖晓斌,马红芳,苑宝玲(4773)                           |
| 水肥用量对玉米季土壤 CO <sub>2</sub> 排放的综合影响 .....                          | 杨硕欢,张保成,王丽,胡田田(4780)                                   |
| 福建西部山地水土流失区土壤呼吸的空间异质性 .....                                       | 姚雄,余坤勇,曾琪,杨玉洁,张今朝,刘健(4789)                             |
| 基于不确定性分析的土壤-水稻系统镉污染综合风险评估 .....                                   | 杨阳,陈卫平,李艳玲,王美娥,彭驰(4800)                                |
| 北京市不同地区土壤中的球囊霉素荧光特征及其与土壤理化性质的关系 .....                             | 柴立伟,刘梦娇,蒋大林,樊灏,曹晓峰,黄艺(4806)                            |
| 准东煤炭产业区周边土壤重金属污染与健康风险的空间分布特征 .....                                | 刘芳,塔西甫拉提·特依拜,依力亚斯江·努尔麦麦提,王楠,杨春,夏楠,高宇潇(4815)            |
| 河北平原潮土中微生物对氮降解特征 .....                                            | 张灿灿,庞会从,高太忠,张静,李晓玉,付胜霞(4830)                           |
| 砷-非对蜈蚣草根不同碳基团的影响 .....                                            | 廖晓勇,龚雪刚,阎秀兰,马旭,吴泽赢(4841)                               |
| 碱性固体对污泥的调质堆肥影响及产品对土壤的改良潜力 .....                                   | 蔡函臻,宁西翠,王权,张增强,任秀娜,李荣华,王美净, Mukesh Kumar Awasthi(4848) |
| 不同热解及来源生物炭对西北黄土吸附敌草隆的影响 .....                                     | 孙航,蒋煜峰,石磊平,慕仲峰,展惠英(4857)                               |
| 南丹矿业活动影响区人群头发中重金属含量特征 .....                                       | 田美玲,钟雪梅,夏德尚,伏凤艳,陆素芬,李黎,宋波(4867)                        |
| Mg-Al-Me (Me = La, Ce, Zr) 复合氧化物制备及其除氟性能 .....                    | 汪爱河,周康根,刘行,陈泉州,刘芳(4874)                                |
| 铁锰复合氧化物/壳聚糖珠:一种环境友好型除磷吸附剂 .....                                   | 付军,范芳,李海宁,张高生(4882)                                    |
| 不同粒径垃圾焚烧飞灰重金属毒性浸出及生物可给性 .....                                     | 王春峰,陈冠飞,朱艳臣,姚丹,皇晓晨,王连军(4891)                           |
| 《环境科学》第 37 卷(2016 年)总目录 .....                                     | (4899)                                                 |
| 《环境科学》征稿简则(4466) 《环境科学》征订启事(4699) 信息(4489,4881)                   |                                                        |

# 生物强化膜生物反应器 (MBR) 处理邻苯二甲酸二乙酯 (DEP) 效果及微生物群落结构分析

张可<sup>1</sup>, 关允<sup>2</sup>, 罗鸿兵<sup>1</sup>, 陈伟<sup>1</sup>, 陈佳<sup>1</sup>, 陈强<sup>3\*</sup>

(1. 四川农业大学土木工程学院, 都江堰 611830; 2. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090; 3. 四川农业大学资源学院, 成都 611130)

**摘要:** 为强化邻苯二甲酸二乙酯 (DEP) 降解, 将从活性污泥中分离的高效 DEP 降解菌 *Arthrobacter* sp. LMS13 运用到 MBR 反应器, 考察强化系统对 DEP 去除效果, 并通过实时荧光定量 (q-PCR) 和 Illumina MiSeq 技术分别对系统运行期间邻苯二甲酸双加氧酶降解基因 (*phtA*) 数量以及微生物群落结构特征进行了分析. 结果表明, 强化系统能加快反应器启动, 对进水浓度为 800 mg·L<sup>-1</sup> 的 DEP, 强化系统和未经强化系统在运行后期 (61 d) 对 DEP 平均去除率分别为 81% 和 19%. q-PCR 结果显示, 在驯化阶段, *phtA* 基因拷贝数上升, 但当 DEP 浓度大于 400 mg·L<sup>-1</sup> 时, *phtA* 基因数量下降; *phtA* 基因拷贝数与 DEP 降解率呈正相关. MiSeq 测序结果进一步表明, 高浓度 DEP 导致系统中群落多样性指数下降, 但对强化系统多样性影响相对较小. 反应器运行过程中, 原活性污泥中占有较高比例的拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 丰度降低,  $\epsilon$ -变形纲 ( $\epsilon$ -Proteobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 在反应系统中逐渐被淘汰, 而  $\beta$ -变形纲 ( $\beta$ -Proteobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria) 成为系统中的优势菌门, 其中红环菌属 (*Rhodocyclus*)、博得氏杆菌属 (*Bordetella*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*) 为优势菌属, 在 DEP 降解系统中起着主要作用, 是保证 DEP 生物处理效果和维持反应器稳定运行的重要菌属.

**关键词:** 邻苯二甲酸二乙酯; 生物强化; *phtA* 基因; 实时荧光定量 (q-PCR); 细菌群落结构

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)12-4760-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201605082

## Performance and Microbial Community Analysis of Bioaugmented Treatment of Diethyl Phthalate (DEP) in Membrane Bioreactor

ZHANG Ke<sup>1</sup>, GUAN Yun<sup>2</sup>, LUO Hong-bing<sup>1</sup>, CHEN Wei<sup>1</sup>, CHEN Jia<sup>1</sup>, CHEN Qiang<sup>3\*</sup>

(1. College of Civil Engineering, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan 611830, China; 2. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 3. College of Resource, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

**Abstract:** To enhance the degradation of DEP, the DEP-degrading bacterium *Arthrobacter* sp. LMS13 isolated from activated sludge was inoculated in MBR reactor to investigate the DEP removal efficiency. At the same time, the real-time quantitative PCR and Illumina MiSeq high-throughput sequencing techniques were employed to detect the changes of phthalate dioxygenase gene (*phtA*) and the bacterial community structure in the process of reactor operation. The results showed that bioaugmented system shortened the start-up time, and the DEP removed rate of bioaugmented system and unbioaugmented system was 81% and 19%, at concentration of 800 mg·L<sup>-1</sup>, respectively. *phtA* copies increased during domestication, but dropped when DEP concentration exceeded 400 mg·L<sup>-1</sup>. The *phtA* gene abundance and DEP removal rate were positively correlated. Bacteria community analysis showed that, along with the operation of reactor, the abundance of phylum of Bacteroidetes and Firmicutes reduced,  $\epsilon$ -Proteobacteria and Chloroflexi gradually disappeared in the system; on the contrary,  $\beta$ -Proteobacteria and Actinobacteria became the dominant phyla in reactor. *Rhodocyclus*, *Bordetella* and *Arthrobacter* were dominant in the DEP degradation system, and probably maintained the stable operation of reactor.

**Key words:** diethyl phthalate; bioaugmentation; *phtA* gene; real-time quantitative PCR; bacterial community structure

邻苯二甲酸酯 (PAEs) 是一类重要的合成有机物, 邻苯二甲酸二乙酯 (DEP) 是其中常用组分物质, 因其可增加产品可塑性和柔韧性, 是生产塑料和橡胶的重要增塑剂<sup>[1]</sup>, 广泛用于玩具、建筑、汽车与医疗等塑料制品中<sup>[2]</sup>. 近年的研究表明, 邻苯二甲酸酯会干扰内分泌系统、破坏免疫系统、影响儿童智力发育, 且具有致癌、致畸作用<sup>[3]</sup>, 受到了学术界广泛关注. 美、欧等发达国家已将邻苯二甲酸酯类

化合物列为优先控制污染物<sup>[4]</sup>. 由于 PAEs 并非共价聚合到塑料产品的基质中, 而是与聚烯烃类塑料分子之间由氢键或范德华力连接, 彼此保留各自相对独立的化学性质<sup>[5]</sup>, 当环境条件适合时, PAEs 类

收稿日期: 2016-05-12; 修订日期: 2016-07-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51278318); 四川省科技支撑计划项目 (2013SZ0103, 2014NZ0044)

作者简介: 张可 (1982~), 女, 讲师, 主要研究方向为环境微生物及市政污水处理, E-mail: zhangke@sicau.edu.cn

\* 通讯联系人, E-mail: cqiang@sicau.edu.cn

物质可由塑料中迁移到外环境而造成污染,因此在全球主要工业国的环境中已普遍检出<sup>[6]</sup>。

尽管 DEP 可采用光化学、超声波、热解等方法进行降解<sup>[2]</sup>,但其效率极低,属难降解物质。微生物降解被认为是邻苯二甲酸酯完全矿化的主要途径且具有较高降解效率。近年来已大量开展 DEP 生物降解研究,包括降解菌分离、鉴定及降解特性研究,从各类环境已分离得到了许多高效降解 PAEs 的菌株,如节杆菌属(*Arthrobacter* sp.)、鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas* sp.)和红球菌属(*Rhodococcus* sp.)的菌株<sup>[7]</sup>。但目前的研究主要通过摇瓶实验对 PAEs 的降解能力进行考察<sup>[8,9]</sup>,在反应器或工程化应用中的研究还鲜见报道。

生物强化是提高难降解污染物生物去除效率的可行途径<sup>[10]</sup>,有利于加快反应器启动、提高污染物降解速率、提高处理系统的抗冲击负荷能力<sup>[11,12]</sup>。本研究将分离获得的高效 DEP 降解菌运用到 MBR 反应系统,考察生物强化对 DEP 去除效果,利用 q-PCR 技术对不同运行时段反应器中邻苯二甲酸双加氧酶降解基(*phtA*)进行检测,探讨降解基因数量特征与系统稳定性及处理效果之间的关系。同时采用 MiSeq 测序分析反应器运行期间微生物群落结构的动态变化,确定反应器运行过程中的优势微生物菌群,以期对 DEP 污水处理的工程化应用提供一定的理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌株及培养基

采用梯度压力驯化法从制革厂污水处理系统活性污泥中分离 DEP 高效降解菌,分离方法参照文献<sup>[9]</sup>,经分离纯化后的菌株,对其 16S rDNA 进行扩增,T/A 克隆后送上海生工工程有限公司测序。

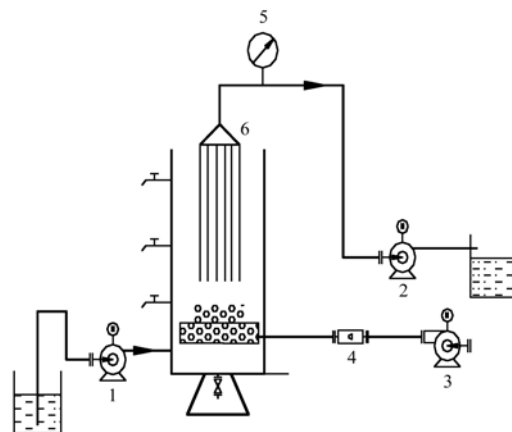
基础无机盐培养基[MSM]:  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.4 g,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.04 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1.70 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.50 g,  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.04 g,  $\text{NaNO}_3$  0.5 g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.0 g,  $\text{FeCl}_3$  0.15 g。LB 培养基: 酵母膏 5 g, 蛋白胨 10 g,  $\text{NaCl}$  5 g, pH 7,  $\text{H}_2\text{O}$  1 000 mL。

### 1.2 实验装置

MBR 反应器为有机玻璃材质,有效容积为 2.5 L,内置 PVDF 材质的膜组件,孔径为 0.1  $\mu\text{m}$ 。反应流程见图 1。

### 1.3 反应器运行

实验采用 MBR 工艺,活性污泥采自于哈尔滨市市政污水处理厂二沉池回流污泥,接种量为 0.6 L。



1. 进水蠕动泵; 2. 出水蠕动泵; 3. 曝气装置;

4. 流量计; 5. 压力表; 6. 膜组件

图 1 MBR 流程图及反应器

Fig. 1 Schematic diagram of the MBR

采用人工配水,以  $\text{NH}_4\text{SO}_4$  为氮源,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  为磷源,  $\text{KCl}$  5 000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 微量元素添加浓度为  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  5 000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{ZnCl}_2$  1 000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  500  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 调节 pH 至 7.0。基于前期实验中投菌量与降解效率的相关分析以及目前好氧生物强化相关研究<sup>[11,18]</sup>, DEP 降解菌接种量为污泥量体积 7%,将对数生长期的降解菌与污泥同时投入 MBR 系统,以不投加 DEP 降解菌反应器为对照。

根据 DEP 降解菌特性及当前环境中 PAEs 浓度相关报道<sup>[2,6]</sup>设定 DEP 浓度,驯化阶段,DEP 为 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,随后以 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  梯度逐渐提高浓度,最终达到 800  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,考察反应器对不同浓度 DEP 的处理能力。处理过程中采用连续进水,通过继电器控制系统运行,溶解氧为 4 ~ 5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,运行温度为 30℃,水力停留时间为 24 h。

### 1.4 实时荧光定量 PCR (q-PCR)

#### 1.4.1 标准质粒构建及质粒 DNA 的提取

以 DEP 降解菌的基因组为模板,用引物 phtF 5'-ACACSCCB CARACSCACAC-3', phtR 5'-CTTG TCCTGCTACAGCTCTTG-3'<sup>[11]</sup>,扩增邻苯二甲酸双加氧酶降解基因(*phtA*),检测目的片段后, pEASY-T5 Zero Cloning Kit 载体连接,转化到 Trans1-T1 感受态细胞,37℃ 培养 1 h,菌液涂板培养过夜,次日挑取白色单克隆接种于 LB/Amp<sup>+</sup> 培养基,在 37℃, 200  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  振荡培养过夜。用 EasyPure 小量质粒提取试剂盒(TransGen, 中国)提取质粒,PCR 鉴定阳性克隆, NanoDrop 2000 (Thermo, 美国) 检测质粒的浓度和质量。根据以下公式计算出质粒的拷贝数

(CN),将已知拷贝数的质粒 10 倍梯度稀释用以制作标准曲线.

$$\text{CN}(\text{copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}) = \frac{N_A \times c}{n \times 660 \times 10^9}$$

式中,  $N_A$  为阿伏伽德罗常数,  $N_A = 6.02 \times 10^{23}$ ;  $c$  为质粒浓度 ( $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ );  $n$  为重组质粒的碱基数,  $n = \text{pEASY-T5 载体长度 (3 953 bp)} + \text{PCR 产物长度}$ ; 660 为一个脱氧核苷酸的平均相对分子质量 ( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ).

#### 1.4.2 实时荧光定量 PCR 运行

荧光定量运行平台为 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System. 反应体系: 模板 1  $\mu\text{L}$ , 上下游引物各 0.6  $\mu\text{L}$ , FastStart Universal SYBR Green Master 10  $\mu\text{L}$  (Roche, 德国), ddH<sub>2</sub>O 补足 20  $\mu\text{L}$ . 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$  预变性 10 min, 95 $^{\circ}\text{C}$  变性 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 45 s, 共 40 个循环. 熔解曲线条件: 95 $^{\circ}\text{C}$  15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$  1 min, 95 $^{\circ}\text{C}$  15 s. 标准曲线及样品均设置 3 个重复. 每个循环的延伸阶段收集荧光信号, 扩增完成后, 进行熔解曲线分析.

#### 1.5 反应器中活性污泥群落结构分析

采用 Illumina MiSeq 对反应器不同运行时段微生物群落结构进行测定. 使用 PowerSoil DNA 提取试剂盒 (MOBIO, Carlsbad) 提取污泥样品基因组 DNA, NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, USA) 检测 DNA 浓度和质量. 以稀释后的基因组 DNA 为模板, 对 16S rRNA 基因 V4 高变区进行 PCR 扩增, 所用引物为 515F (5'-GTTTCGGTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GCCAATGGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')<sup>[13]</sup>, 前引物中加有 barcode 序列及 adaptor 序列, 使用高效和高保真酶进行 PCR, 上海维基生物科技有限公司 Illumina MiSeq 平台完成测序, QIIME (version 1.8.0) 分析, 对有效数据在 97% 水平上进行 OTU 聚类 and 分类学分析, 利用 Mothur

软件对群落丰度及香农指数 (Shannon) 等进行计算.

#### 1.6 分析方法

混合液挥发性悬浮固体 (MLVSS) 的测定采用重量法. DEP 含量测定采用 Agilent 6890-5973N 气相色谱-质谱仪, 色谱柱为 DB-5 (30 m  $\times$  250  $\mu\text{m}$   $\times$  1  $\mu\text{m}$ ), 柱温 90 $^{\circ}\text{C}$  3 min, 以 15  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 300 $^{\circ}\text{C}$  7 min, 运行 30 min; 气相色谱进样口温度为 280 $^{\circ}\text{C}$ , 载气为高纯氦气.

#### 1.7 数据分析

运用 SPSS 21.0 软件对数据进行 One-Way ANOVA 分析, 计算皮尔逊相关系数和  $P$  值, 并采用 LSD 方法进行多重比较, 利用 Origin 8.0 软件进行作图.

### 2 结果与分析

#### 2.1 DEP 降解菌的分离与鉴定

经过梯度压力驯化, 结合降解能力测定, 获得了 1 株具有降解 DEP 能力的细菌菌株 LMS13, 能在 pH 7.0、温度 30 $^{\circ}\text{C}$  条件下, 4 d 摇床培养, 对浓度 800  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DEP 降解率为 90.7%. 提取供试菌株基因组 DNA, 扩增 16S rDNA 片段, T/A 克隆后测序. 将序列提交到 GenBank, 登录号为 KX156955. 利用 MEGA 6.0 构建系统发育树 (图 2). 结果表明, 菌株 LMS13 与节杆菌属 (*Arthrobacter humicola*) JCM 15921 同源性为 100%, 结合形态及生理生化特征, 初步将 LMS13 鉴定为节杆菌属 (*Arthrobacter* sp.) 菌株.

#### 2.2 反应器的启动及污泥的驯化

在反应器启动期间, 强化反应器和未强化反应器进水中 DEP 的浓度均为 200  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 由图 3 可见, 未强化反应器在运行初期对 DEP 去除效率低, 前 5 d 去除率低于 15%, 第 7 d 开始上升. 相反, 接

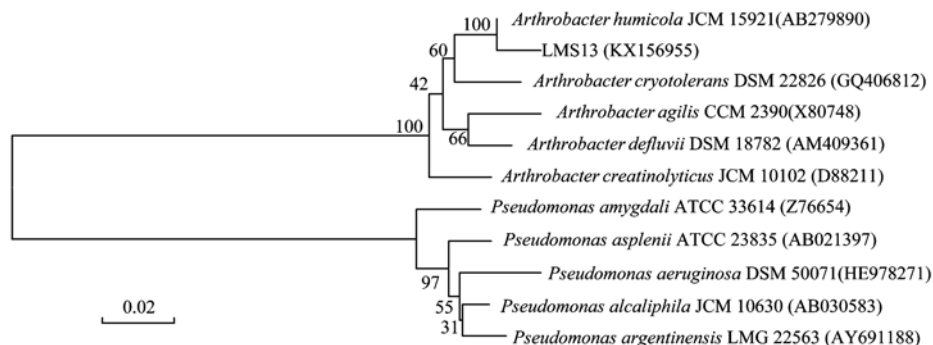


图 2 菌株 16S rDNA 系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree constructed based on 16S rDNA sequences

种 DEP 降解菌 LMS13 强化的反应器, 运行 3 d 后, DEP 去除率达到 48%。随着反应器的运行, 强化系统到第 8 d、未强化系统到 11 d 达到一个相对稳定的状态, 降解率分别在 82.7% ~ 84.3% 和 57.8% ~ 59.4% 之间, 整个启动和驯化经历 15 d。

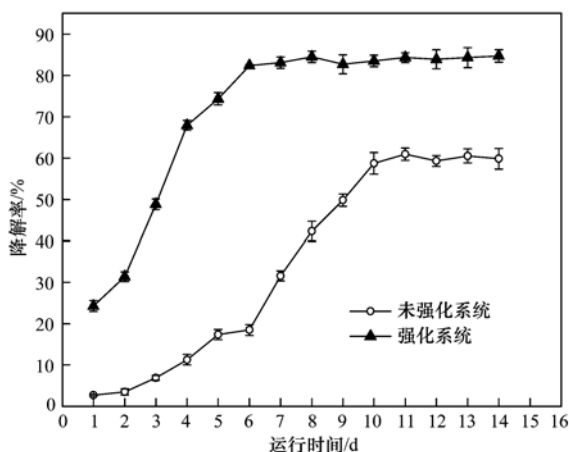


图3 反应器启动及污泥的驯化期间对 DEP 去除效果

Fig. 3 Removal rate of DEP during the startup and domestication phases

### 2.3 反应器对不同浓度 DEP 的降解

在反应器启动和驯化结束后, 通过改变进水 DEP 浓度, 考察系统对 DEP 去除能力。由图 4 可见, 在第 16 d, 当 DEP 浓度从  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 两个反应系统对 DEP 的去除率都显著下降, 随后逐渐上升, 强化系统降解率略高于进水浓度为  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时的降解率。当 DEP 浓度增大到  $800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 强化系统降解能力受到冲击, 但降解率最终稳定在 81% 左右, 这是由于降解菌 (*Arthrobacter* sp. LMX13) 是从含 DEP 的处理反复驯化获得, 当系统 DEP 浓度增大时, 表现出了较强的抗冲击负荷能力; 而未强化系统 DEP 降解率迅速下降到 17%, 此后降解率一直低于 20%。这与乔琳等<sup>[14]</sup>的结果不同, 他们在研究生物强化吡啶降解时发现, 添加降解菌有助于反应器的快速启动, 但当吡啶浓度逐渐增大时, 强化生物系统与未强化系统对吡啶去除无显著差异, 分析原因认为是由于降解菌在系统中的流失所导致。

### 2.4 降解基因 *phtA* 的 q-PCR 分析

邻苯二甲酸双加氧酶基因 (*phtA*) 是 DEP 降解的关键基因<sup>[2]</sup>, 每 5 d 采集一次污泥样品, 利用 q-PCR 检测了 MBR 系统中活性污泥 *phtA* 基因数量变化, 结果见图 5。从中可知, 在系统运行的各阶段, 强化系统中 *phtA* 基因拷贝数均大于未强化系统, 在驯

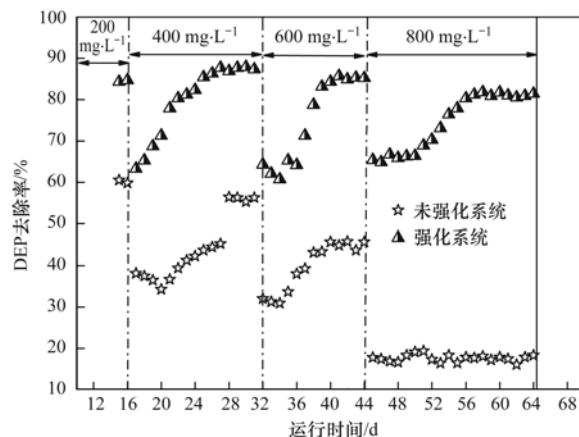


图4 反应器对不同浓度 DEP 去除效果

Fig. 4 Removal rate of DEP in MBR under different DEP concentrations

化阶段, 系统中 *phtA* 基因数量逐渐增加。对于未强化系统, 在 DEP 浓度为  $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, *phtA* 基因数量 (以 MLVSS 计) 最大为  $2.1 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{mg}^{-1}$ , 当 DEP 浓度继续增大, 降解基因数量下降, 说明高浓度 DEP 对系统中 *phtA* 基因产生了抑制作用。对于强化系统, 在 DEP 浓度增大时, *phtA* 基因数量下降, 但仍保持相对较高水平。结合图 3 和图 4 分析, *phtA* 基因数量和降解率呈正相关, 说明高 *phtA* 基因拷贝数是反应器中 DEP 降解的保证。这种关系也可以解释在第 20 d、35 d 以及 45 d, DEP 降解率下降的原因。由于单个细胞的 *phtA* 基因拷贝数是固定的, 因此在实际运用中可以通过增加反应器中 DEP 降解功能菌数量并保证其活性以提高 DEP 降解效率。

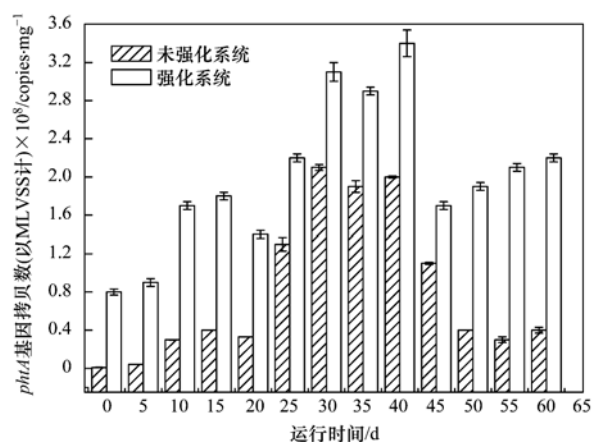


图5 反应器运行期间 *phtA* 基因拷贝数变化情况

Fig. 5 Changes of *phtA* gene copies during reactor operation

### 2.5 反应器运行各时段 MLVSS 的变化

废水处理系统对有机物的去除效果与系统中活性污泥的性能和状态有关<sup>[13]</sup>, 在反应器运行期间, 每 5 d 取一次样, 对 MLVSS 进行了测定, 考虑到污



泥流失太大可能对处理效果产生影响,因此采样时不从取样口收集样品,而是直接从反应器上方采集 10~15 mL 污泥,结果见图 6. 从中可知,两个反应系统中 MLVSS 变化趋势基本相同,在驯化期以及浓度为 400 mg·L<sup>-1</sup> 时,MLVSS 逐渐增大,但随着 DEP 浓度继续增大,MLVSS 值下降,这可能由于高浓度 DEP 对降解菌群中微生物造成毒害,导致菌群生长受到限制. 在强化系统中由于含有在高浓度下反复驯化的降解菌,DEP 增大对 MLVSS 影响相对较小,也说明在活性污泥中 DEP 降解菌可能占有较大比例. 在第 60 d,DEP 为 800 mg·L<sup>-1</sup> 时,强化系统中

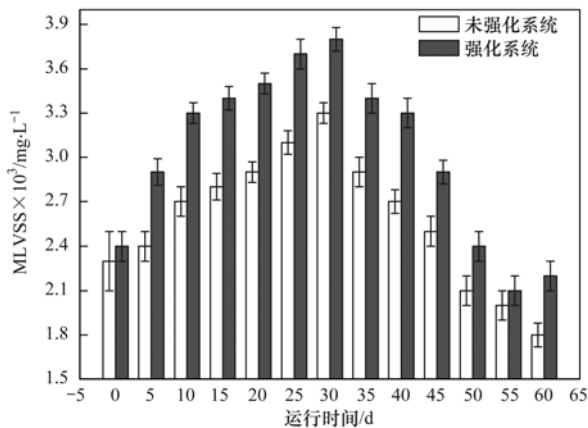


图 6 反应器运行期间 MLVSS 的变化情况  
Fig. 6 Changes of MLVSS during reactor operation

MLVSS 为  $2.2 \times 10^3$  mg·L<sup>-1</sup>,而未强化系统仅为  $1.1 \times 10^3$  mg·L<sup>-1</sup>,说明强化系统在高浓度污染负荷下降解菌群可保持较高活性,这与王金玉等<sup>[15]</sup>在研究苯胺强化降解时得出的结论一致.

2.6 细菌群落结构分析

2.6.1 细菌群落丰度和多样性

结合反应器对 DEP 去除效果,选取在 0、5、15、30、42、64 d 采集的活性污泥样品,采用 MiSeq 对 2 个反应系统中的活性污泥进行测序,非强化系统和强化系统分别获得 164 365 条和 203 097 条有效 16S rDNA 序列数. 在 97% 的序列相似性基础上对序列进行 OTU 计算,非强化系统和强化系统分别获得 5 842 个和 6 276 个 OTU. 基于 OTU 对活性污泥样本群落多样性进行计算,结果见表 1. 从中可见,在驯化初期两个系统中 Shannon 指数相近,随着系统运行,多样性指数均呈下降趋势. 随着 DEP 浓度逐渐增大,未经强化系统多样性指数下降迅速,当 DEP 浓度增大到 800 mg·L<sup>-1</sup> 时,Shannon 指数仅为 1.31. 经强化的系统,当 DEP 浓度增大到 800 mg·L<sup>-1</sup>,虽然多样性指数有所下降,但 Shannon 指数仍达 3.12,这可能是由于强化系统中含有高效降解菌并在驯化初期形成了相对稳定的群落结构,说明强化系统在维持降解菌群多样性、提高降解率方面优于未经强化的系统.

表 1 污泥样品中细菌群落丰度和多样性指数

Table 1 Abundance and diversity of bacteria in activated sludge

| 样品   | 序列数    |        | OTU   |       | Coverage |      | Shannon 指数 |      |
|------|--------|--------|-------|-------|----------|------|------------|------|
|      | 未强化    | 强化     | 未强化   | 强化    | 未强化      | 强化   | 未强化        | 强化   |
| 0 d  | 34 701 | 35 373 | 1 132 | 1 077 | 0.98     | 0.98 | 5.43       | 5.03 |
| 5 d  | 30 984 | 36 431 | 1 074 | 1 213 | 0.99     | 0.97 | 4.97       | 4.77 |
| 15 d | 30 941 | 31 075 | 998   | 1 010 | 0.98     | 0.98 | 4.36       | 3.66 |
| 30 d | 332.3  | 29 875 | 874   | 998   | 0.99     | 0.99 | 3.17       | 3.23 |
| 42 d | 27 398 | 34 612 | 1 021 | 947   | 0.99     | 0.98 | 2.69       | 3.19 |
| 64 d | 37 209 | 35 731 | 743   | 1 031 | 0.97     | 0.99 | 1.31       | 3.12 |

2.6.2 不同运行时段细菌群落构成

在反应器运行的不同时段采集活性污泥样本,其群落结构在门水平上分类如图 7 所示. 由图 7 (a) 可见,接种的污水处理厂二沉池活性污泥主要由变形菌门 (Proteobacteria) 组成,占整个系统的 40% 左右,其中又以  $\beta$ -变形纲 ( $\beta$ -Proteobacteria) 为主. 其次为拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和厚壁菌门 (Firmicutes), 梭杆菌门 (Fusobacteria) 也占有相当比例. 对于未强化系统,随着驯化进行,拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 以及变形菌门 (Proteobacteria) 中的  $\gamma$ -变形纲 ( $\gamma$ -Proteobacteria)

丰度逐渐降低,到驯化结束时, $\beta$ -变形纲 ( $\beta$ -Proteobacteria) 丰度略有增加,浮霉菌门 (Planctomycete) 丰度由接种初期的 5% 增加到 7%,放线菌门 (Actinobacteria) 丰度 1% 增加到 12%. 当进水中 DEP 浓度逐渐升高,梭杆菌门 (Clostridia)、 $\epsilon$ -变形纲 ( $\epsilon$ -Proteobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 丰度急剧下降,当 DEP 浓度增大到 800 mg·L<sup>-1</sup> 时,梭杆菌门 (Clostridia) 仅占 1%,而  $\epsilon$ -变形纲 ( $\epsilon$ -Proteobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 从系统中消失. 由图 7 (b) 可见,对于强化系统,其群落结构变化与未强化系统相似,但强化系统在驯化期,放线菌

门 (Actinobacteria) 就占有较大比例, 这与 DEP 降解菌的投入有一定关系, 在驯化结束时占 22%, 随后保持在 35% 左右. 当 DEP 浓度达到  $800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 对放线菌门 (Actinobacteria) 丰度影响较小, 这是由于降解菌 LMS13 是经 DEP 反复驯化, DEP 增加对其毒害相对较小, 且由于在高浓度 DEP 作用下其它菌群消失, 反而导致其相对丰度有所增加. 在反应器运行期间, 变形菌门中的  $\beta$ -变形菌纲 ( $\beta$ -Proteobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria) 为 DEP 降解系统中的优势菌门.

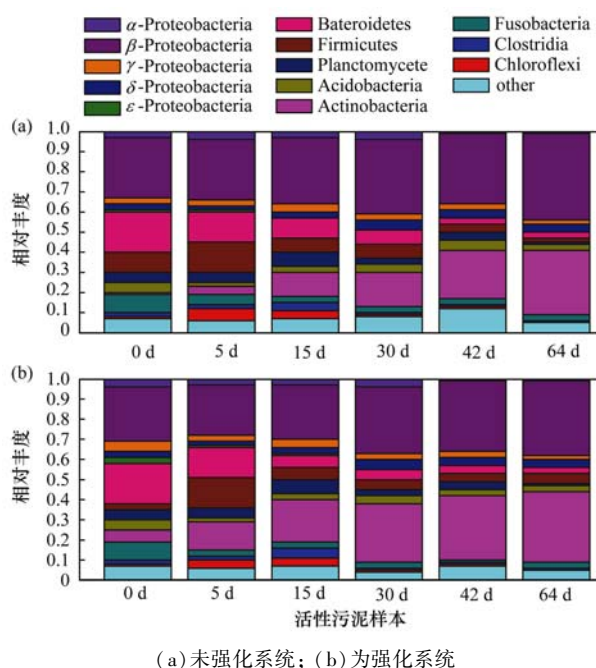


图 7 活性污泥样品在门分类水平上的细菌群落组成

Fig. 7 Bacterial composition at the phylum level from activated sludge

活性污泥群落结构在属水平上分类如图 8 所示, 在系统启动初期, 主要由硝化螺菌属 (*Nitrospira*)、亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、从毛单胞菌属 (*Clostridium*) 以及陶厄氏菌属 (*Thauera*) 等组成, 这与城市污水处理活性泥中主要菌属类型一致<sup>[16]</sup>. 由图 8(a) 可见, 对于未强化系统, 随着驯化进行, 梭菌属 (*Clostridium*), 陶厄氏菌属 (*Thauera*) 细菌在系统中所占比例逐渐下降, 在驯化结束时, 相对丰度分别由 8% 和 7% 下降到 1% 和 3%, 在运行后期, 当 DEP 浓度增大时, 梭菌属 (*Clostridium*) 和 *Micropruina* 从系统中淘汰. 相反, 随着 DEP 浓度增大, 系统中红环菌属 (*Rhodocyclus*), 博得氏杆菌属 (*Bordetella*) 比例增加. 由图 8(b) 可知, 强化系统反应器在运行初期, 节杆菌属 (*Arthrobacter*) 明显高于未强化系统, 这

与降解菌 LMS13 直接加入有关, 随着驯化进行, 短杆菌属 (*Brevibacterium*)、纤维菌属 (*Cellulomonas*)、博得氏杆菌属 (*Bordetella*) 以及在未强化系统同样有增加趋势的红环菌属 (*Rhodocyclus*) 相对丰度增加, 但与未强化系统不同的是梭菌属 (*Clostridium*), *Micropruina* 属未从系统中消失. 在两个反应系统中硝化螺菌属 (*Nitrospira*)、亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*) 以及陶厄氏菌属 (*Thauera*) 在反应器运行期间均存在, 这些菌属为主要的脱氮除磷微生物<sup>[17]</sup>, 反应器是否同时具有一定的脱氮除磷能力还有待研究. 由以上分析可知, 红环菌属 (*Rhodocyclus*)、博得氏杆菌属 (*Bordetella*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*) 以及短杆菌属 (*Brevibacterium*) 为 DEP 处理系统中的优势菌属, 可能在 DEP 去除过程中起着关键作用.

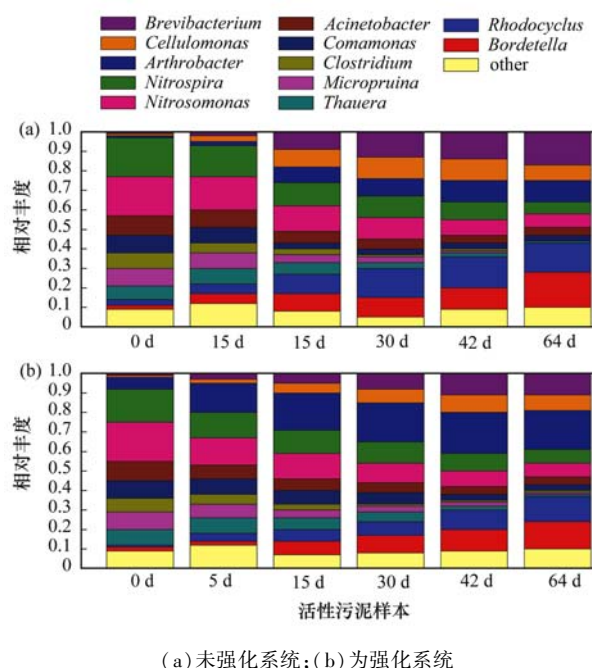


图 8 活性污泥样品在属分类水平上的细菌群落组成

Fig. 8 Bacterial composition at the genus level from activated sludge

### 3 讨论

实验中采用从活性污泥中分离到的 DEP 降解菌用以强化 DEP 降解, 从启动时间看, 强化系统缩短了反应器启动时间, 未强化系统中活性污泥由于不适应 DEP, 导致驯化初期出水中 DEP 浓度高, 启动时间慢. 生物强化在加速反应器的启动、提高对有机物降解能力方面已有相关报道<sup>[18,19]</sup>, 例如宋国军等<sup>[20]</sup>采用生物强化溴氨酸 (BAA) 降解, 经过 30 d 驯化, 运行达到稳定, 进水 BAA 浓度为  $550 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, HRT 为 11 h 时, 脱色率达 98%, COD 去除率在



50%左右。但也有研究结果显示,在生物强化反应中,降解菌的投加只能加速启动时间,对有机物质去除效果不显著<sup>[14]</sup>,分析认为在污染物浓度高于纯菌驯化浓度时,强化系统的降解菌发生流失。也有研究发现生物强化作用优势仅表现在投菌初期,后期由于投加的强化菌被系统中的原生动捕食而从系统中消失<sup>[21]</sup>,因此在进行生物强化时,如何保证外源强化菌在长期运行过程中不流失,是生物强化作用中需要解决的问题,对其调控机制还有待系统研究。尽管本次实验中 DEP 降解菌投入后,在系统中保持了一定数量和活性,但其控制因素还有待开展进一步实验。当前,生物强化的工程化应用研究报道还较少,仅见赵立军等<sup>[22]</sup>采用联合投菌方法,低温条件下 12 d 实现对哈尔滨太平污水厂生化池成功启动的报道。

在 PAEs 的好氧降解过程中,酯键的水解是一个共同的起始步骤,在微生物酯酶作用下,PAEs 水解形成邻苯二甲酸单酯,再生成邻苯二甲酸,其中邻苯二甲酸的降解是完成整个降解过程的关键步骤<sup>[6]</sup>,而这个步骤由邻苯二甲酸双加氧酶基因 *phtA* 控制,因此,*phtA* 是 DEP 最终实现矿化的关键基因。反应器中 *phtA* 基因拷贝数和降解率呈正相关,*phtA* 的高拷贝数是 DEP 降解效率的保证,由于特定细胞其 *phtA* 基因拷贝数是一定的,因而可通过增加降解菌数量以提高 *phtA*,但在实际运用过程中,过量降解菌投入是否会因竞争等因素对菌群结构产生影响从而破坏反应系统值得深入研究。

在活性污泥系统中,微生物是污染物去除的主体,系统的稳定运行依赖其中的微生物群落结构及其活性<sup>[15,23]</sup>,认识反应系统中微生物群落结构的动态变化规律,对维持活性污泥系统的稳定运行具有重要作用。在反应器运行期间,活性污泥的群落结构发生变化,随着 DEP 浓度升高,活性污泥中的梭杆菌门(Clostridia)丰度急剧下降, $\epsilon$ -变形纲( $\epsilon$ -Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)从系统中消失,而  $\beta$ -变形纲( $\beta$ -Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)丰度增加,为系统中的优势菌门。在属水平上,红环菌属(*Rhodocyclus*)、博得氏杆菌属(*Bordetella*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)以及短杆菌属(*Brevibacterium*)存在于反应器运行的各阶段。其中博得氏杆菌属(*Bordetella*)菌株被广泛报道具有有机污染物去除能力<sup>[24]</sup>,短杆菌属(*Brevibacterium*)菌株能产生表面活性剂<sup>[25]</sup>,因此在反应系统中这些菌属可能起到了联合降解 DEP 的

作用。

#### 4 结论

(1)采用梯度压力驯化法,从活性污泥中分离到 1 株 DEP 高效降解菌,经 T/A 克隆后鉴定为节杆菌属菌株(*Arthrobacter* sp.)。将其运用到 MBR 系统,缩短了反应器启动时间、提高了系统的抗冲击负荷能力,对进水浓度为  $800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 DEP,在系统运行后期平均去除率达到 81%,是未经强化系统去除率的 4 倍。

(2)在驯化期以及在浓度为  $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,MLVSS 逐渐增大,但随着 DEP 浓度继续增大,MLVSS 值下降。*phtA* 降解基因拷贝数与 DEP 降解率呈正相关,*phtA* 降解基因高拷贝数是高浓度 DEP 降解的保证。

(3)经过驯化,反应器中细菌多样性指数下降,在 DEP 作用下富集了特定的微生物菌群。在反应器运行过程中,拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)丰度降低, $\epsilon$ -变形纲( $\epsilon$ -Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)逐渐从系统中消失,而  $\beta$ -变形纲( $\beta$ -Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)成为系统中的优势菌门。红环菌属(*Rhodocyclus*)、博得氏杆菌属(*Bordetella*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)为优势菌属,在 DEP 降解体系及反应器稳定运行中起着重要作用。

#### 参考文献:

- [1] 张静,陈会明. 邻苯二甲酸酯类增塑剂的危害及监管现状[J]. 现代化工, 2011, **31**(12): 1-6.  
Zhang J, Chen H M. Hazards and supervision status of phthalate plasticize[J]. Modern Chemical Industry, 2011, **31**(12): 1-6.
- [2] 郭静波,陈微,姜丽杰,等. 邻苯二甲酸二丁酯生物降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20**(6): 1104-1110.  
Guo J B, Chen W, Jiang L J, et al. Research progresses in dibutyl phthalate biodegradation[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2014, **20**(6): 1104-1110.
- [3] Wittassek M, Angerer J, Kolossa-Gehring M, et al. Fetal exposure to phthalates-a pilot study[J]. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2009, **212**(5): 492-498.
- [4] 金雷,严忠雍,施慧,等. 邻苯二甲酸二丁酯 DBP 降解菌 S-3 的分离、鉴定及其代谢途径的初步研究[J]. 农业生物技术学报, 2014, **22**(1): 101-108.  
Jin L, Yan Z Y, Shi H, et al. Identification of a Dibutyl Phthalate (DBP)-degrading strain S-3 and preliminary studies on the metabolic pathway [J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2014, **22**(1): 101-108.
- [5] Gu J D, Li J, Wang Y. Biochemical pathway and degradation of phthalate ester isomers by bacteria[J]. Water Science and Technology, 2005, **52**(8): 241-248.

- [6] 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.
- Luo Z H, Huang X L, Ye D Z. Advances in research of biodegradation of environmental endocrine disruptors-phthalate esters [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2008, **14**(6): 890-897.
- [7] Wang J L, Zhao X, Wu W Z. Biodegradation of phthalic acid esters (PAEs) in soil bioaugmented with acclimated activated sludge [J]. Process Biochemistry, 2004, **39** (12): 1837-1841.
- [8] 温志丹, 高大文, 李喆, 等. 邻苯二甲酸酯降解菌的分离鉴定及降解特性[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2013, **45**(12): 38-42.
- Wen Z D, Gao D W, Li Z, *et al.* Isolation and identification of phthalate-degrading bacteria and their characteristics [J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 2013, **45**(12): 38-42.
- [9] Wang Y Y, Miao B, Hou D M, *et al.* Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate and expression of the 3, 4-phthalate dioxygenase gene in *Arthrobacter* sp. ZH<sub>2</sub> strain [J]. Process Biochemistry, 2012, **47**(6): 936-940.
- [10] Herrero M, Stuckey D C. Bioaugmentation and its application in wastewater treatment: a review [J]. Chemosphere, 2015, **140**: 119-128.
- [11] 郭渊明, 刘春, 郭亚楠, 等. 不同生物反应器中基因工程菌生物强化处理阿特拉津研究[J]. 环境科学, 2011, **32**(2): 554-559.
- Guo Y M, Liu C, Guo Y N, *et al.* Bioaugmented treatment of atrazine by genetically engineered microorganism in different bioreactors [J]. Environmental Science, 2011, **32** (2): 554-559.
- [12] 王艳芬, 王海磊, 刘国生, 等. 序批式反应器生物强化处理苯酚废水的研究[J]. 环境污染与防治, 2008, **30**(5): 42-46.
- Wang Y F, Wang H L, Liu G S, *et al.* Bioaugmented SBR treatment of phenol wastewater [J]. Environmental Pollution and Control, 2008, **30**(5): 42-46.
- [13] Zhou J, Guan D W, Zhou B K, *et al.* Influence of 34-years of fertilization on bacterial communities in an intensively cultivated black soil in northeast China [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, **90**: 42-51.
- [14] 乔琳, 王建龙. 利用 T-RFLP 解析生物强化去除吡啶过程中微生物种群动态变化 [J]. 环境科学学报, 2012, **32**(5): 1025-1032.
- Qiao L, Wang J L. The analyses of microbial community dynamics by T-RFLP during the bioaugmented removal of pyridine in SBR [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, **32** (5): 1025-1032.
- [15] 王金玉, 李旭东, 刘庆华. 荧光定量 PCR 检测生物强化 SBR 系统中苯胺降解菌的数量变化 [J]. 环境科学学报, 2014, **34**(7): 1674-1679.
- Wang J Y, Li X D, Liu Q H. Monitoring of the number changes of aniline-degrading bacterium in bioaugmented system by quantitative Real-time PCR [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014, **34**(7): 1674-1679.
- [16] 闻韵, 王晓慧, 林常青. Miseq 测序分析活性污泥系统中细菌群落的动态变化 [J]. 环境工程学报, 2015, **9**(11): 5225-5230.
- Wen Y, Wang X H, Lin C Q. Bacterial community dynamics in an activated sludge system based on Miseq sequencing [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015, **9**(11): 5225-5230.
- [17] Chen Q, Ni J R, Ma T, *et al.* Bioaugmentation treatment of municipal wastewater with heterotrophic-aerobic nitrogen removal bacteria in a pilot-scale SBR [J]. Bioresource Technology, 2015, **183**: 25-32.
- [18] Tahhan R A, Ammari T G, Goussous S J, *et al.* Enhancing the biodegradation of total petroleum hydrocarbons in oily sludge by a modified bioaugmentation strategy [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, **65**(1): 130-134.
- [19] 高晨晨, 郑兴灿, 游佳, 等. 城市污水脱氮除磷系统的活性污泥菌群结构特征 [J]. 中国给水排水, 2015, **31**(23): 37-42.
- Gao C C, Zheng X S, You J, *et al.* Structure characteristics of activated sludge microbial communities in nitrogen and phosphorus removal system of municipal wastewater [J]. China Water & Wastewater, 2015, **31**(23): 37-42.
- [20] 宋国军, 王竞, 周集体, 等. 生物强化序批式膜生物反应器处理溴氨酸废水 [J]. 中国环境科学, 2008, **28**(3): 229-232.
- Song G J, Wang J, Zhou J T, *et al.* Treatment of bromoamine acid wastewater in bioaugmented sequencing batch membrane bioreactor [J]. China Environmental Science, 2008, **28**(3): 229-232.
- [21] Yu F B, Ali S W, Guan L B, *et al.* Bioaugmentation of a sequencing batch reactor with *Pseudomonas putida* ONBA-17, and its impact on reactor bacterial communities [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, **176**(1-3): 20-26.
- [22] 赵立军, 马放, 赵庆建, 等. 生物强化技术在污水厂快速启动中的工程应用 [J]. 哈尔滨工业大学学报, 2007, **39**(12): 1886-1889.
- Zhao L J, Ma F, Zhao Q J, *et al.* Practical application of bioaugmentation technology during rapid start-up of a sewage treatment plant [J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 2007, **39**(12): 1886-1889.
- [23] 魏健, 宋永会, 赵乐. MBR 处理腈纶废水的效能及微生物群落结构分析 [J]. 环境科学, 2014, **35**(12): 4610-4617.
- Wei J, Song Y H, Zhao L. Capability and microbial community analysis of a membrane bioreactor for acrylic fiber wastewater treatment [J]. Environmental Science, 2014, **35** (12): 4610-4617.
- [24] 张楠, 陈波水, 杨致邦, 等. 润滑油降解菌的分离、鉴定及降解特性 [J]. 环境科学研究, 2010, **23**(6): 748-753.
- Zhang N, Chen B S, Yang Z B, *et al.* Isolation, identification and degradation characteristics of bacterial strains for biodegradation of lubricating oil [J]. Research of Environmental Sciences, 2010, **23**(6): 748-753.
- [25] 曹文娟, 吴蔓莉, 张明辉, 等. 石油降解菌的筛选优化及其对油污土壤的修复特性 [J]. 环境工程学报, 2014, **8**(12): 5493-5498.
- Cao W J, Wu M L, Zhang M H, *et al.* Isolation and optimization of petroleum degrading bacteria and their bioremediation effects on petroleum-contaminated soil [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, **8**(12): 5493-5498.

## CONTENTS

|                                                                                                                                                                                                                  |                                                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Transport Loss Estimation of Fine Particulate Matter in Sampling Tube Based on Numerical Computation .....                                                                                                       | LUO Li-na, CHENG Zhen, ZHU Wen-fei, <i>et al.</i> (4457)                 |
| Sources Analysis of Heavy Metal Aerosol Particles in North Suburb of Nanjing .....                                                                                                                               | QIN Xin, ZHANG Ze-feng, LI Yan-wei, <i>et al.</i> (4467)                 |
| Distribution Characteristics of Water Soluble Ions Under Different Weather Conditions During the Youth Olympic Games in Nanjing .....                                                                            | SHI Yuan-zhe, AN Jun-lin, WANG Hong-lei, <i>et al.</i> (4475)            |
| Seasonal Variation and Source Analysis of the Water-soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter in Suzhou .....                                                                                            | WANG Nian-fei, CHEN Yang, HAO Qing-ju, <i>et al.</i> (4482)              |
| Characteristics of Elements and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in PM <sub>2.5</sub> at the Southwest Suburb of Chengdu in Spring .....                                                     | ..... YANG Huai-jin, YANG De-rong, YE Zhi-xiang, <i>et al.</i> (4490)    |
| Geochemical Characteristics and Source Apportionment of Rare Earth Elements in the Dustfall of Quanzhou City .....                                                                                               | ZHANG Zong-wei, YU Rui-lian, HU Gong-ren, <i>et al.</i> (4504)           |
| <sup>13</sup> C-based Sources Partitioning of Atmospheric CO <sub>2</sub> During Youth Olympic Games, Nanjing .....                                                                                              | XU Jia-ping, LI Xu-hui, XIAO Wei, <i>et al.</i> (4514)                   |
| Gaseous Emission Characterization of Civil Aviation Aircraft During Takeoff .....                                                                                                                                | HAN Bo, HUANG Jia-min, WEI Zhi-qiang (4524)                              |
| Pollution Characteristics of Antibiotic Resistant Bacteria from Atmospheric Environment of Animal Feeding Operations .....                                                                                       | ZHANG Lan-he, HE Yu-wei, CHEN Mo, <i>et al.</i> (4531)                   |
| Removing Nano Particles by Filtration Using Materials with Ordered Mesoporous Structure .....                                                                                                                    | XING Yi, WANG Cong, LU Pei, <i>et al.</i> (4538)                         |
| Emission Characteristics of Gaseous Pollutants from City Bus Fueled with Biodiesel Based on DOC + CDPF Technology in Real Road Conditions .....                                                                  | ..... LOU Di-ming, ZHANG Yun-hua, TAN Pi-qiang, <i>et al.</i> (4545)     |
| Characteristics of Methane Flux Across the Water-air Interface in Subtropical Shallow Ponds .....                                                                                                                | LONG Li, XIAO Shang-bin, ZHANG Cheng, <i>et al.</i> (4552)               |
| Succession of Phytoplankton Assemblages and Its Influencing Factors in Tangpu Reservoir, Zhejiang Province .....                                                                                                 | MA Pei-ming, SHI Lian-dong, ZHANG Jun-fang, <i>et al.</i> (4560)         |
| Responses of Physiological Indices of Typical Submerged Macrophytes to Water Quality in Taihu Lake .....                                                                                                         | GAO Min, HU Wei-ping, DENG Jian-cai, <i>et al.</i> (4570)                |
| Optical Characteristics of Dissolved Organic Matter from Two Different Full Mixed Reservoirs in Winter Based on UV-vis and EEMs .....                                                                            | ..... HUANG Ting-lin, FANG Kai-kai, ZHANG Chun-hua, <i>et al.</i> (4577) |
| Hanfeng Pre-dam Commissioning Eutrophication Status and Control Evaluation in Three Gorges Reservoir .....                                                                                                       | YANG Bing, HE Bing-hui, WANG De-bao (4586)                               |
| Occurrence, Distribution and Ecological Risk of Antibiotics in Surface Water of the Gonghu Bay, Taihu Lake .....                                                                                                 | WU Xu-yue, ZOU Hua, ZHU Rong, <i>et al.</i> (4596)                       |
| Distribution Characteristics of <i>n</i> -alkanes in Sediment Core and Implication of Environment in Different Lakes of Dianchi .....                                                                            | YU Li-yan, HAN Xiu-xiu, HUANG Xiao-hu, <i>et al.</i> (4605)              |
| Vertical Distribution and Pollution Risk Assessment of Nitrogen, Phosphorus, and Organic Matter in Sediment of Inflowing Rivers of Erhai Lake Estuarine Wetland in Wet and Dry Seasons .....                     | ..... WANG Shu-jin, LIU Yun-gen, WANG Yan, <i>et al.</i> (4615)          |
| Variation of Nitrogen Forms in Sediments of Lihu Lake During Mineralization .....                                                                                                                                | ..... ZHAO Li, WANG Shu-hang, JIANG Xia, <i>et al.</i> (4626)            |
| Temporal and Spatial Variation Characteristics of the Heavy Metals Content in the Surface Sediment and the Potential Ecological Risk Trends in the Three Gorges Reservoir Area .....                             | ..... ZHUO Hai-hua, SUN Zhi-wei, TAN Ling-zhi, <i>et al.</i> (4633)      |
| Modeling the Environmental Behaviors and Ecological Risks of Permethrin in Chaohu Lake .....                                                                                                                     | LIU Ya-li, WANG Ji-zhong, PENG Shu-chuan, <i>et al.</i> (4644)           |
| Simulation Experiment; Effect of Organic Colloid on Carbamazepine Transport in Porous Media .....                                                                                                                | ZHANG Si, HE Jiang-tao, ZHU Xiao-jing (4651)                             |
| Grain Size Distribution Characteristics of Suspended Particulate Matter as Influenced by the Apparent Pollution in the Inorganic Type Urban Landscape Water: Taking the Canal of Suzhou Section as Example ..... | LI Qian-qian, PAN Yang, GONG Dan-yan, <i>et al.</i> (4662)               |
| Rock Weathering Characteristics and the Atmospheric Carbon Sink in the Chemical Weathering Processes of Qingshuijiang River Basin .....                                                                          | LÜ Jie-mei, AN Yan-ling, WU Qi-xin, <i>et al.</i> (4671)                 |
| Pollution Characteristics Analysis in Shallow Groundwater of Typical Farmland Area, Southern China .....                                                                                                         | GUO Hui, YU Min-da, HE Xiao-song, <i>et al.</i> (4680)                   |
| Identification of Sulfate Sources in the Groundwater System of Zaozhuang; Evidences from Isotopic and Hydrochemical Characteristics .....                                                                        | MA Yan-hua, SU Chun-li, LIU Wei-jiang, <i>et al.</i> (4690)              |
| Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Extensive Green Roofs .....                                                                                                                                       | SHEN Qing-ran, HOU Juan, LI Tian (4700)                                  |
| Comparative Study on Pretreatment Process of Ultrafiltration; Chemical Coagulation and Electrocoagulation .....                                                                                                  | ZHAO Kai, YANG Chun-feng, SUN Jing-qiu, <i>et al.</i> (4706)             |
| Adsorption Mechanisms Analysis of EOM on PVDF Ultrafiltration Membranes Modified by SiO <sub>2</sub> Using QCM-D and AFM .....                                                                                   | JIANG Jia-liang, WANG Lei, HUANG Dan-xi, <i>et al.</i> (4712)            |
| Isolation of Quorum Quenching Bacteria and Their Function for Controlling Membrane Biofouling .....                                                                                                              | ZHAO Chang, WANG Wen-zhao, XU Qi-yong (4720)                             |
| Effects of Hydraulic Loading Rate on the Removal of Pollutants from an Integrated Biological Settling Tank .....                                                                                                 | WANG Wen-dong, MA Cui, LIU Hui, <i>et al.</i> (4727)                     |
| Characteristics of Nitrobacteria in SBR with Trace N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> Addition .....                                                                                                                  | XIAO Peng-ying, ZHANG Dai-jun, LU Pei-li (4734)                          |
| Start-up of Partial Nitrification AGS-SBR and Analysis of Its Microbial Community Composition .....                                                                                                              | LU Hang, XIN Xin, GUAN Lei, <i>et al.</i> (4741)                         |
| Effects of PAHs Pollution on the Community Structure of Denitrifiers in a Typical Oilfield .....                                                                                                                 | YAO Yan-hong, WANG Ming-xia, ZUO Xiao-hu, <i>et al.</i> (4750)           |
| Performance and Microbial Community Analysis of Bioaugmented Treatment of Diethyl Phthalate (DEP) in Membrane Bioreactor .....                                                                                   | ZHANG Ke, GUAN Yun, LUO Hong-bing, <i>et al.</i> (4760)                  |
| Comparative Analysis of the Bacterial Community on Anodic Biofilms in Sediment Microbial Fuel Cell Under Open and Closed Circuits .....                                                                          | ..... WU Yi-cheng, DENG Quan-xin, WANG Ze-jie, <i>et al.</i> (4768)      |
| Anaerobic Biodegradability of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) .....                                                                                                                                                | LI Fei, CHEN Yi-dan, ZHOU Zhen-ming, <i>et al.</i> (4773)                |
| Comprehensive Effects of the Application of Water and Fertilizer Amount on CO <sub>2</sub> Emission from Soils of Summer-maize Field .....                                                                       | YANG Shuo-huan, ZHANG Bao-cheng, WANG Li, <i>et al.</i> (4780)           |
| Spatial Heterogeneity of Soil Respiration in the Soil Erosion Area of West Mountains in Fujian Province, China .....                                                                                             | YAO Xiong, YU Kun-yong, ZENG Qi, <i>et al.</i> (4789)                    |
| Comprehensive Risk Evaluation of Cadmium in Soil-rice System Based on Uncertainty Analysis .....                                                                                                                 | YANG Yang, CHEN Wei-ping, LI Yan-ling, <i>et al.</i> (4800)              |
| Fluorescence Properties of Glomalin and Its Relationship with Soil Physicochemical Characteristics in Different Regions of Beijing City .....                                                                    | ..... CHAI Li-wei, LIU Meng-jiao, JIANG Da-lin, <i>et al.</i> (4806)     |
| Spatial Distribution Characteristics of Heavy Metal Pollution and Health Risk in Soil Around the Coal Industrial Area of East Junggar Basin .....                                                                | ..... LIU Fang, Tashpolat Tiyp, Ilyas Nurmamat, <i>et al.</i> (4815)     |
| Characteristics of Microbial Nitrogen Degradation in Fluvio-aquic Soil of Hebei Plain .....                                                                                                                      | ZHANG Can-can, PANG Hui-cong, GAO Tai-zhong, <i>et al.</i> (4830)        |
| Influence of Arsenate and Phenanthrene on Carbon-groups of <i>Pteris vittata</i> L. Roots .....                                                                                                                  | LIAO Xiao-yong, GONG Xue-gang, YAN Xiu-lan, <i>et al.</i> (4841)         |
| Effect of Alkali Solids Amendment on Sewage Sludge Aerobic Composting and the Potential of Related Products on Infertile Soil Amelioration .....                                                                 | ..... CAI Han-zhen, NING Xi-cui, WANG Quan, <i>et al.</i> (4848)         |
| Adsorption and Influential Factors of Diuron on the Loess Soil by Adding Different Biochar Prepared at Varying Temperatures .....                                                                                | SUN Hang, JIANG Yu-feng, SHI Lei-ping, <i>et al.</i> (4857)              |
| Characteristics of Heavy Metal Contents in Human Hairs of Mine Contaminated Areas in Nandan County .....                                                                                                         | TIAN Mei-ling, ZHONG Xue-mei, XIA De-shang, <i>et al.</i> (4867)         |
| Preparation of Mg-Al-Me (Me = La, Ce, Zr) Composite Oxides for Efficient Fluoride Uptake .....                                                                                                                   | WANG Ai-he, ZHOU Kang-gen, LIU Xing, <i>et al.</i> (4874)                |
| Fe-Mn Binary Oxide Impregnated Chitosan Bead (FMCB): An Environmental Friendly Sorbent for Phosphate Removal .....                                                                                               | FU Jun, FAN Fang, LI Hai-ning, <i>et al.</i> (4882)                      |
| Leaching Toxicity and Bioaccessibility of Heavy Metals in MSWI Fly Ash with Various Particle Sizes .....                                                                                                         | WANG Chun-feng, CHEN Guan-fei, ZHU Yan-chen, <i>et al.</i> (4891)        |

# 《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 赵进才

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 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明  
赵进才 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)

2016年12月15日 第37卷 第12期(卷终)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 12 Dec. 15, 2016

|         |                                                                                                                                                                     |                  |    |                                                                                                                                                                                                                         |
|---------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 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)<br>北京市环境保护科学研究院<br>清华大学环境学院                                                                                                                               | Co-Sponsored     | by | Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection<br>School of Environment, Tsinghua University                                                                                                          |
| 主 编     | 赵进才                                                                                                                                                                 | Editor-in -Chief |    | ZHAO Jin-cai                                                                                                                                                                                                            |
| 编 辑     | 《环境科学》编辑委员会<br>北京市2871信箱(海淀区双清路<br>18号, 邮政编码:100085)<br>电话:010-62941102, 010-62849343<br>传真:010-62849343<br>E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn<br>http://www. hjkx. ac. cn | Edited           | by | The Editorial Board of Environmental Science ( HUANJING KEXUE )<br>P. O. Box 2871, Beijing 100085, China<br>Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343<br>E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn<br>http://www. hjkx. ac. cn |
| 出 版     | 科 学 出 版 社<br>北京东黄城根北街16号<br>邮政编码:100717                                                                                                                             | Published        | by | Science Press<br>16 Donghuangchenggen North Street,<br>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<br>电话:010-64017032<br>E-mail: journal@ mail. sciencep. com                                                                                                | Distributed      | by | Science Press<br>Tel:010-64017032<br>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   | 中国国际图书贸易集团有限公司<br>(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: 120.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行