刘有华,王思婷,杨乔乔,等. 国内外水体富营养化现状及聚磷菌研究进展[J]. 江苏农业科学,2021,49(9):26-35. doi:10.15889/j. issn. 1002-1302.2021.09.005

国内外水体富营养化现状及聚磷菌研究进展

刘有华1,2, 王思婷1, 杨乔乔4, 韩迎亚1,2, 王倩楠1,2, 安贤惠1,2,3, 李联泰1,2,3

(1. 江苏海洋大学江苏省海洋生物资源与生态环境重点实验室, 江苏连云港 222000;

- 2. 江苏海洋大学江苏省海洋生物技术重点实验室,江苏连云港 222000;
- 3. 江苏海洋大学江苏省海洋生物产业技术协同创新中心, 江苏连云港 222000; 4. 江苏三仪生物工程有限公司, 江苏徐州 221300)

摘要:水体的富营养化打破了水环境原有的生态平衡,严重者会导致水生生物大量死亡,加剧水环境污染。水体富营养化主要由氮、磷等营养盐含量过多引起,其中磷是导致水体富营养化最为关键的因素之一。控制水体中的磷含量是解决水体富营养化问题的关键一环。有一类聚磷菌在厌氧/好氧交替培养下能将大量的磷吸入,并以多聚磷酸盐的形式储存于体内。利用这些细菌控制水体磷含量,不仅成本低、效率高,而且不会造成二次污染,是一种环境友好型的解决方法,对解决水体富营养化问题、缓解水资源匮乏以及改善城乡居住环境具有重要意义。针对水体富营养化问题,着重介绍了国内外水体富营养化现状及危害;比较了几种常用除磷方法的优缺点;总结了生物除磷的发展历程,目前分离筛选的聚磷菌种类、特性及其聚磷机理以及聚磷菌在除磷工艺中的应用;探讨了聚磷菌在富营养化水体治理中的应用前景,以期为解决磷超标问题提供有益的参考。

关键词:水体富营养化;磷;聚磷菌;生物除磷

中图分类号: X52;X172 文献标志码: A 文章编号:1002-1302(2021)09-0026-10

随着工农业生产的发展,大量未经处理的废水

收稿日期:2020-03-12

基金项目: 江苏省研究生科研与实践创新计划(编号: SJCX19 - 0990); 江苏省优势学科建设工程资助项目(编号: PAPD)。

作者简介:刘有华(1995—),男,贵州凯里人,硕士研究生,研究方向 为环境微生物资源与应用。E-mail;18360348311@163.com。

通信作者:李联泰,博士,教授,主要从事环境微生物研究。E-mail: lilt@ jou. edu. cn。

of Phytopathology, 2008, 46(1):243 - 271.

- [49] Rott P, Fleites L, Marlow G, et al. Quorum sensing genes rpfF and xanB2 are not essential for albicidin production nor sugarcane colonisation by Xanthomonas albilineans [C]. Abstracts of the 2009 Meeting of the XIV International Congress on Molecular Plant Microbe Interactions, 2009.
- [50] Rott P, Fleites L A, Mensi I, et al. The RpfCG two component system negatively regulates the colonization of sugar cane stalks by Xanthomonas albilineans [J]. Microbiology (Reading, England), 2013,159 (Pt 6):1149-1159.
- [51] Poplawsky A R, Chun W. pigB determines a diffusible factor needed for EPS and Xanthomonadin production in Xanthomonas campestris pv. campestris [J]. Journal of Bacteriology, 1997, 179(2):439 –444.
- [52] Poplawsky A R, Chun W. Xanthomonas campestris pv. campestris requires a functional pigB for epiphytic survival and host infection [J]. Molecular Plant microbe Interactions, 1998, 11(6):466–475.
- [53] Rott P, Fleites L, Marlow G, et al. An OmpA family outer membrane

直接进入水体,导致各水体中氮、磷的含量不断增加,水体富营养化越来越严重^[1-2]。各国都在努力解决这一问题,制定严格的废水排放标准,限制工矿企业对氮、磷元素的排放。同时多个国际组织也很重视水体富营养化问题,从不同渠道为该问题的解决提供理论依据和处理手段^[3]。早在 20 世纪 70 年代,包括美国在内的 18 个成员国之间建立了国际

- protein is required for both disease symptom development and sugarcane stalk colonisation by *Xanthomonas albilineans* [J]. Phytopathology,2009,99(6S):110-111.
- [54] Mensi I, Daugrois J H, Pieretti I, et al. Surface polysaccharides and quorum sensing are involved in the attachment and survival of Xanthomonas albilineans on sugarcane leaves [J]. Molecular Plant Pathology, 2016, 17(2):236-246.
- [55] Lambalot R H, Gehring A M, Flugel R S, et al. A new enzyme superfamily – the phosphopantetheinyl transferases [J]. Chemistry & Biology, 1996, 3 (11):923 – 936.
- [56] Rott P, Fleites L, Marlow G, et al. Identification of new candidate pathogenicity factors in the xylem – invading pathogen *Xanthomonas albilineans* by transposon mutagenesis [J]. Molecular Plant – Microbe Interactions, 2011, 24(5):594 – 605.
- [57] Rott P, Marguerettaz M, Fleites L, et al. Unravelling pathogenicity of Xanthomonas albilineans, the causal agent of sugarcane leaf scald [J]. International Sugar Journal, 2011, 113 (1351);490-496.

富营养化研究合作计划,该计划在世界各地进行了大量的调查与研究,确定了氮、磷元素是水体富营养化的主要原因和物质基础^[4]。控制水体中的氮、磷含量,是解决水体富营养化的重要手段。生物除磷为水体富营养化的解决提供了有效途径,其中应用 最广 的 是 聚 磷 菌 (phosphate accumulating organisms,PAOs)。探讨聚磷菌的研究现状及应用前景,可为解决水体富营养化问题提供有益的帮助。

1 国内外水体富营养化现状

1.1 国外水体富营养化现状

1.1.1 湖泊、水库和河流的富营养化 水体富营养 化是全球性的重大环境问题,根据 OECD(经济合作 与发展组织) 总磷富营养化界值(0.035 mg/L),世 界各地的富营养化情况相差悬殊,部分地区富营养 化极其严重。其中,湖泊和水库由于水体流动性较 差,水体富营养化情况最为严重[5]。例如,西班牙 800 多座水库中,有 1/3 处于重度富营养化[6]。加 拿大的31.8万个湖泊中,有1/4的湖泊处于富营养 化状态,严重影响了当地居民生活用水[7]。除西班 牙和加拿大外,美国在1996年的水质调查报告中也 显示,高达51%的湖泊和水库遭受着富营养化的威 胁。国际富营养化研究合作计划也曾对全球水体 富营养化状况做过调查,结果显示全球30%~40% 的湖泊和水库遭受着不同程度水体富营养化污 染[7]。水体富营养化的主要原因是工农业、畜牧业 以及污水处理厂的排污,部分是由于自然原因[8]。

相对湖泊和水库来说,河流的富营养化情况较为乐观,因为低程度的富营养化可以促进水底植物的生长,反而有益于提高河流系统的自净能力。但依然存在着一些河流富营养化的问题。法国、印度和扎伊尔等国家的环境调查报告中显示,很多河流由于叶绿素值过高,藻类生长十分迅速,大量大型植物降低了水流,影响航运交通^[4]。美国水质调查报道也显示,有40%的河流受到富营养化的负面影响^[7]。

1.1.2 海洋的富营养化 海洋富营养化是由于海洋中限制性营养盐的增加,使原有的生态系统发生结构改变和功能退化。国外有许多关于海洋水体富营养化的报道,比如:黑海、北海、墨西哥湾、巴伦支海和格林兰海域等都受到了水体富营养化的威胁,使得海洋生态遭受破坏,降低了海洋生态系统的物种多样性和稳定性^[9-11]。意大利、法国等多个沿海地区也因为富营养化问题,暂停渔业捕捞作

业,关闭海滨浴场,直接减缓了海洋经济和国民经济的发展。

1.2 我国水体富营养化现状

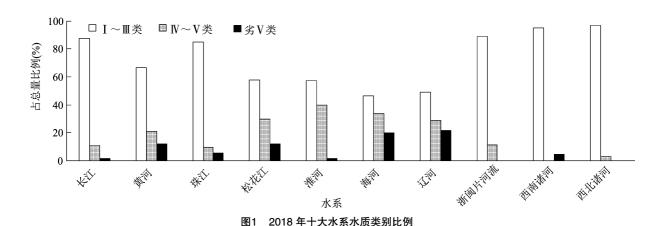
我国水资源总量较多,但人均淡水资源占有量却低于世界平均水平,其主要原因之一就是我国水资源遭受严重污染。《2011 年中国环境状况公报》表明,调查的 26 个重点湖泊中,有 57.7% 没有达到Ⅲ类水质指标^[12]。此外,还对 139 座主要水库进行了调查,有 21 座没有达到Ⅲ类水标准,其中 8 座水库处于劣 V 类水质状态。在对长江、黄河等十大水系实时监测的约 470 个断面中, I ~ Ⅲ 类占61.0%,没达到Ⅲ类水质指标占39%(其中Ⅳ~ V 类占 26.7%,劣 V 类占 13.7%)。

直到2018年,生态环境部调查报告显示,监测的111个重点湖泊/水库中, I~Ⅲ类占66.6%、IV~V类占25.2%、劣V类占8.1%,其中有6座处于中度富营养化状态,25座处于轻度富营养化状态^[13]。对长江、黄河等十大流域监测的1600多个断面中, I~Ⅲ类占74.3%,相比2011年提高13.3百分点; IV~V类占18.9%,同比降低7.9百分点;劣V类断面比例为6.9%,同比降低6.8百分点(图1)。虽然近年来我国水环境有所改善,但水体富营养化仍是当前须迫切解决的环境污染问题之一。

2 水体富营养化中磷的来源途径及其危害

无机磷化合物、含磷有机物以及 PH₃(磷化氢)是磷存在的主要 3 种形式^[14]。无机磷主要包括正磷酸盐和偏磷酸盐,偏磷酸盐很不稳定,容易在有氧环境下转化为正磷酸盐^[15],一般存在于化肥、电镀、磷化工厂废水中。有机磷主要是有机磷农药,不溶于水,通过农业施肥、农药、食物残屑、工业废水以及沉积物释放等方式进入水体。 PH₃ 也是普遍存在的一种磷形态,它有较强的还原性,很容易在光和氧的条件下转化为溶解态的磷酸盐。在某种意义上,PH₃ 可以看作是沉积态的磷向溶解态磷转化的一种中间产物^[16]。大多研究者认为 PH₃ 是由于某些厌氧细菌分解有机磷化合物的结果^[17]。

水体富营养化会诱发藻类大量繁殖,如果不及时治理就会危害到整个水环境。主要危害包括以下几点:第一、水体富营养化使得大量藻类覆盖于水面,隔断了大气和水体间的氧平衡,加上水生生物呼吸会消耗大量溶氧,导致水体缺氧,造成赤潮或水华;第二、引起水生动植物大量死亡,危及整个



水环境质量,使水体变得腐败、腥臭,还会导致水体透明度下降,影响整个水体的感官性状;第三、水生动植物尸体污染水源,扩大水体污染范围,加大水处理的难度和成本;第四、水体富营养化促进藻类生长,能分泌毒素的藻类不仅危害水生生物,而且通过海产品进入人体导致人慢性中毒[18]。

3 3 种除磷法的比较及生物除磷的发展历程

3.1 3种除磷方法的优缺点比较

3 种除磷方法包括物理除磷法、化学除磷法和 生物除磷法(表1)。

物理除磷法是通过吸附或絮凝生成沉淀而达到去磷目的,主要包括吸附和絮凝 2 种^[19]。相较于其他方法,物理除磷法耗能少,不会造成污染或污染较小,且除磷快,可循环。但物理法也存在许多弊端,如:pH 值对物理除磷影响较大,且在物理除磷工艺中 pH 值不易控制。此外,物理法成本较高,选择性强,技术复杂,难以得到普遍应用等^[20]。

化学除磷法包括化学凝聚法、化学吸附法、结晶法等,这种方法是通过化学药剂与磷酸盐反应生成不可溶性沉淀然后去除。此方法设备及操作简单,处理效果较稳定,应用范围广。但由于化学药剂的投加会产生大量污泥,难以后续处理,加上技术相对不够成熟,极有可能给环境带来二次污染^[21]。

生物除磷法是通过聚磷微生物在厌氧/好氧条件下交替培养,将磷以聚合的形态超量储藏在菌体内并形成高磷污泥排出系统外,达到从废水中除磷的效果。多项研究表明,在水体污染治理中,生物除磷具有良好的应用效果^[22-27]。生物除磷法的优点主要有:(1)成本低、工作量小,效率高,适用范围广;(2)化学药剂使用较少,不会造成二次污染;(3)水中盐浓度较低,易于后续处理;(4)污泥肥分较高,有益于二次利用。但生物除磷法同时也存在一些缺陷,如:(1)过度依赖水质,水质变化对除磷效果影响较大;(2)稳定性和灵活性比较差;(3)污泥中的磷随着工艺循环有可能回流,影响除磷效果。

表 1	3	种除磷法的比较	⇡
7X I	J	까만 Pist With JTC ロリレレンチ	v

除磷方法	优点	缺点	参考文献
物理除磷法	耗能少、污染小、去除快和可循环	生物质的吸附容量较小,受 pH 值及其几种特定的 阴离子影响较大;且物理除磷法成本高、技术复杂	[19 – 20]
化学除磷法	处理效果较稳定,应用范围广;操作简单	会产生大量的污泥,难以处理,使用化学试剂较多,造成环境的二次污染,增高处理费用	[15]
生物除磷法	工艺简单、处理成本低、污染小、节约能源、适用范围产	稳定性和灵活性比较差;易受废水温度和酸碱度 影响	[21 - 22,28]

3.2 生物除磷的发展历程

聚磷菌的首次发现,是 Greenburg 等于 1955 年 发现污泥中的磷量和微生物正常生长所需量间的 关系,而推断出生物吸磷^[29]。

1959 年来自印度的 Srinarh 等曾报道废水处理

厂中污泥出现超量吸磷现象^[30],随后 Alarcon 等在 1961 年发现污泥在搅拌和曝气后有过量吸磷现象 并发表相关报道^[31]。

1965年, Shapiro 和他的学生 Levin 对磷的吸收和释放现象做了大量研究,并指出该现象和微生物

生长代谢有关^[32]。直到 1972 年, Shapiro 等对吸磷现象进行了解释, 这也就伴随着生物除磷工艺 (Phostrip 工艺)的诞生^[32]。

1975年,Fuhs 等发现活性污泥出现大量吸磷的前提是对磷的释放;不久就报道了磷在厌氧条件下释放是生物超量吸磷的前提,而且只有在较低的ORP条件下才能实现^[33]。

20世纪90年代,人们发现硝酸盐对生物除磷也具有促进作用。1993年,Kuba等发现在厌氧/好氧交替条件下存在一类兼有反硝化和聚磷作用的细菌,即反硝化聚磷菌(denitrifying phosphate accumulating organisms,DPAOs),从此反硝化聚磷菌正式问世[34]。

21 世纪初,王亚宜等国内学者对反硝化聚磷菌也做了大量研究,并认为以反硝化聚磷菌进行除磷可减少污泥的产生,进一步在我国生物除磷技术方面取得突破^[35]。

直到如今,聚磷菌的发展历程还在延续,在环境治理中仍是国内外研究热点。

4 聚磷菌的研究现状

4.1 传统聚磷菌的种类

聚磷菌是一类复杂的微生物群体,早期的研究

认为主要的聚磷菌是不动杆菌,实则其数量仅占 1%~10%。直至目前已报道的聚磷菌按菌属来分 (表 2),主要有不动杆菌属、葡萄球菌属、气单胞菌属、假单胞菌属、微丝菌属、莫拉氏菌属等,其中气单胞菌和假单胞菌就占 15%~20% [16]。

表 2 聚磷菌的种类

种类	学名	参考文献
不动杆菌属	Acinetobacte sp.	[36 - 37]
葡萄球菌属	Staphylococcus sp.	[38]
俊片菌属	Lampropedia sp.	[39]
微丝菌属	Microthrix sp.	[40]
气单胞菌属	Aeromonas sp.	[40 -41]
假单胞菌属	Pseudomonas sp.	[38,40]
莫拉氏菌属	Moraxella sp.	[42]
肠球菌属	Enterococcus sp.	[38]
棒状杆菌属	Corynebacterium sp.	[38]
伯克氏菌	Burkholderia	[43]
积磷小月菌	${\it Microlunatus phosphovorus}$	[44 - 45]

4.2 反硝化聚磷菌的种类

反硝化聚磷菌是一类能够在厌氧状态下释磷,缺氧存在硝酸盐(NO₃⁻)或亚硝酸盐(NO₂⁻)的情况下超量聚磷的微生物^[46]。近年来,反硝化聚磷菌被陆续发现,其中主要包括不动杆菌属、气单胞菌属、假单胞菌属、芽孢杆菌属、产碱菌属等^[47](表3)。

表 3 反硝化聚磷菌的种类

种类	拉丁学名	参考文献	种类	拉丁学名	参考文献
假单胞菌属	Pseudomonas sp.	[48 – 52]		Neisseria sp.	[49]
不动杆菌属	Acinetobacter sp.	[53 – 56]	微小杆菌	Exiguobacterium	[67]
芽孢杆菌属	Bacillus sp.	[57 – 58]	微球菌属	Micrococcus sp.	[68]
副球菌属	Paracoccus sp.	[59]	产碱菌属	Alcaligenes sp.	[68]
寡养单胞菌属	Stenoligomonas sp.	[60]	弧菌属	Vibrionaceae sp.	[69]
克雷伯氏菌属	Klebsiella sp.	[61 - 62]	葡萄糖菌属	Staphylococcus sp.	[59]
索氏菌属	Thauera sp.	[63]	节杆菌属	Arthrobacter sp.	[63]
丛毛单胞菌属	Comamonas sp.	[60,64]	普罗维登斯菌属	Providencia sp.	[64]
柠檬酸杆菌	Citrobactera	[49]	假苍白杆菌属	${\it Pseudochrobactrum} {\rm sp.}$	[64]
气单胞菌属	Aeromonas sp.	[49,65]	泛菌属	Pantoea sp.	[59]
短波单胞菌属	Brevundimonas sp.	[66]	大肠埃希氏菌属	Escherichia sp.	[70]
无色杆菌属	Achromobacter sp.	[66]	恶臭假单胞菌属	${\it Pseudomonsaputida} \ {\it sp.}$	[71]
皮氏罗尔斯顿菌	Ralstoniapickettii	[61]			

4.3 聚磷菌的影响因子

4.3.1 pH 值对聚磷菌的影响 生物除磷过程中的 每个阶段都有各自适宜的 pH 值,pH 值的变化会引 起细胞膜电荷的变化从而影响聚磷菌对营养物质 的吸收,最终影响聚磷菌的聚磷效率。此外,pH 值

还会影响细胞代谢过程中酶的活性,从而影响除磷过程中的生化反应速率。有研究表明,聚磷菌的适宜 pH 值范围为7.0~8.0,此范围内 pH 值对聚磷菌的代谢和聚磷效率影响不大^[72]。当 pH 值为 8 时,除磷系统能充分实现释磷和吸磷,并取得最好的除

磷效果^[73];当 pH 值上升到 8.5 时,释磷量反而下降,这是由于部分磷酸盐沉淀,阻碍了聚磷菌对碳源的吸收以及磷的释放^[74-75]。

4.3.2 温度对聚磷菌的影响 温度对生物除磷系统存在一定影响,但影响不大,一般在4~37℃均可进行除磷工作^[70,76]。彭党聪等研究也表明,当温度在20~25℃之间,生物除磷速率能达到最大值^[77]。而李微等研究显示,温度低于13℃时,聚磷菌不能发挥作用,除磷率低^[78]。实际上,温度主要是通过影响聚磷菌的数量和活跃程度进而影响其聚磷效率^[79]。在可控温度范围内,升高温度会加快生化反应速率,除磷工艺运转速率也随之加快,聚磷效率也更高。

4.3.3 其他因素对聚磷菌的影响 影响生物除磷系统的因素还有很多,比如 DO(溶解氧)、COD(化学需氧量)、总有机碳/磷值等。DO是好氧微生物进行生命活动最直接的氧化剂,而氧又是聚磷反应的电子受体,会直接影响聚磷菌在好氧阶段的聚磷效率。COD浓度对聚磷菌的聚磷效果也有直接影响,低浓度的COD会导致聚磷菌需求的碳源供应不足,从而减少在厌氧阶段合成的聚羟基烷酸盐,最终影响好氧阶段的聚磷效率,增加COD浓度,有利于聚磷菌除磷。

当总有机碳含量偏低、磷含量偏高时,聚磷菌会缺乏足够的有机质合成聚羟基烷酸盐,导致除磷机制崩溃,除磷效率变低。相反,当总有机碳变高、磷含量变低时,充足的有机质导致好氧阶段的异养菌数量增加,与聚磷菌产生竞争导致其比重下降^[80]。因此,适宜的总有机碳/磷值对生物除磷系统也很重要。

4.4 反硝化聚磷菌的影响因子

4.4.1 pH 值对反硝化聚磷菌的影响 pH 值的变化会导致酶活性改变,引起细胞膜电荷的变化从而影响反硝化聚磷菌对营养物质的吸收,进而影响菌株代谢。马放等研究发现,pH 值是 DPAOs 的重要理化因素,虽然对菌株生长影响较小,但对菌株的除磷效果影响却很大,只有当 DPAOs 处于中性偏碱性时,才能有效进行脱氮除磷^[81]。Filipe 等认为 pH 值 7.25 是反硝化聚磷菌的一个临界值^[82]:当 pH 值 >7.25 时,有利于 DPAOs 进行脱氮除磷工作;当 pH 值 <7.25 时,除磷系统遭受破坏,除磷效果显著下降。

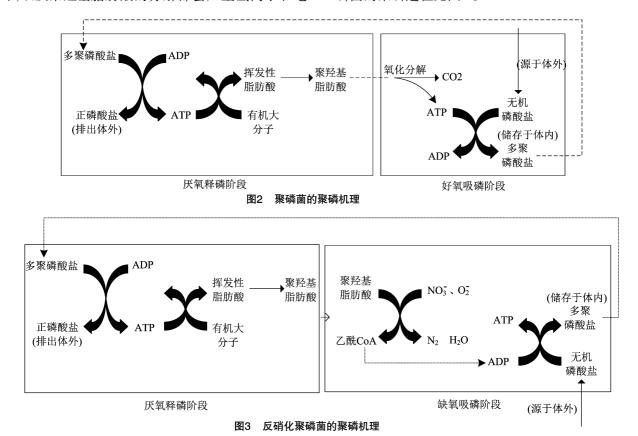
4.4.2 温度对反硝化聚磷菌的影响 反硝化聚磷

菌的温度范围较宽,但温度过低或过高仍会对其有一定的影响。低温会导致菌膜凝胶,阻碍营养物质运输,从而影响菌株的生长。当温度升高到一定限值时,菌体内蛋白质、酶和核酸会发生变性、失活,导致细菌死亡。Li 等研究发现,温度过低(<10 ℃)时,会明显降低 DPAOs 的生长和聚磷效率^[83];随着温度升高至 35 ℃,菌内的酶遭受破坏,DPAOs 的生长受到抑制,聚磷作用也显著下降。在 20 ~30 ℃温度范围内,有利于菌株生长和脱氮除磷效果。马放等也发现反硝化聚磷菌的适宜温度范围为 20 ~30 ℃,在此范围菌株生长和除磷效果均最佳^[81]。

4.4.3 其他因素对反硝化聚磷菌的影响 碳源是反硝化脱氮除磷过程中所需的重要营养物质之一。由于碳源的组成成分存在差异导致其分解速率不同,对反硝化聚磷菌的除磷效果也不相同。Wachtmeister等研究发现,在厌氧释磷阶段加入一定量的乙酸、丙酸和葡萄糖等有机物,能诱发反硝化聚磷菌对磷的释放,特别是加入乙酸时,除磷效果最佳^[84]。在脱氮除磷系统中,不同的氮源对反硝化聚磷菌的生长和除磷效果的影响也存在一定差异。Carvalho等研究发现,某些反硝化聚磷菌在乙酸盐的作用下,能够利用 O₂ 和亚硝酸盐进行除磷工作而不能利用硝酸盐^[85]。Barak等指出,NO₃⁻ - N是反硝化聚磷菌缺氧吸磷阶段进行高效除磷的必备条件^[86]。

4.5 聚磷菌的聚磷机理

聚磷菌在厌氧/好氧交替培养下,从外部环境 摄取大量的磷,以聚合的形态储藏在菌体内并形成 高磷污泥排出系统外,达到从废水中除磷的效 果[87]。目前公认的聚磷理论包含厌氧释磷和好氧 吸磷2个过程。在厌氧阶段,聚磷菌通过水解胞内 贮存的多聚磷酸盐而获得能量,并将其水解产生的 正磷酸盐释放到细胞外;同时,聚磷菌将细胞外的 有机大分子转化为挥发性脂肪酸,并将其聚合产生 的聚羟基脂肪酸作为好氧阶段所需的能源储存于 细胞内。在好氧阶段,聚磷菌将聚羟基脂肪酸氧化 分解供自身生长以及为摄取细胞外大量磷元素提 供能量,并以多聚磷酸盐的形式积累在细胞内,而 完成整个聚磷流程。聚磷菌的聚磷过程见图 2。 Chuang等认为反硝化聚磷菌与传统聚磷菌有相似 的除磷机理和潜力[88-90]。实则两者不同于缺氧阶 段,反硝化聚磷菌以 NO; 和 O; 为电子受体,利用 厌氧阶段产生的聚羟基脂肪酸作能源,分解成乙酰 CoA。得到的乙酰 CoA 经过三羧酸循环和乙醛酸循 环,以及聚羟基脂肪酸的分解都会产生氢离子和电 子,它们经过电子传递产生能量供自身生长以及大量摄取环境中的磷并合成多聚磷酸盐。反硝化聚磷的聚磷过程见图3。



4.6 聚磷菌在除磷工艺中的应用

4.6.1 传统聚磷菌除磷工艺 自 1972 年美国的 Shapiro 和他的学生 Levin 提出生物除磷工艺 (Phostrip 工艺)以来,大量的除磷工艺不断被开发^[32]。主要有传统聚磷菌除磷工艺和反硝化聚磷菌除磷工艺。传统的聚磷菌除磷工艺是在厌氧和好氧交替运行的条件下达到除磷效果,典型的传统聚磷菌除磷工艺包括: Phostrip 工艺、A/O 工艺、A²/O 工艺、Bardenpho 工艺、Phoredox 工艺、UCT 工艺、SBR 工艺和 VIP 工艺等^[91-92]。

(1) A/O 工艺和 A²/O 工艺。A/O 工艺即 Anaerobic/Oxic 的简称,是 Spector 于 1975 年研究活性污泥菌丝膨胀时所开发出来的一种生物除磷工艺。A/O 工艺与 Bardenpho 工艺较为相似,是当前最简单的除磷工艺。其流程图如图 4(实线部分)所示,在厌氧阶段聚磷微生物将胞内的磷释放于体外,并在好氧阶段将外界的磷超量摄取。利用其超量摄磷能力将高含磷污泥以剩余污泥的方式排出处理系统而达到除磷目的。Anaerobic/Anoxic/Oxic

即为 A²/O 工艺,就是在 A/O 工艺的基础上增加一个缺氧阶段,流程图如图 4(虚线部分)^[93]。缺氧段的增加能使好氧区中的混合液回流至缺氧段中,从而进行反硝化脱氮。所以 A²/O 工艺既能除磷也有脱氮作用。



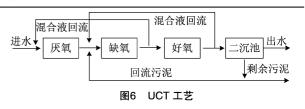
(2) Bardenpho 工艺和 Phoredox 工艺。1973 年,南非学者 Barnard 为克服 A/O 工艺脱氮的不完全,在试验中发现,若反硝化很彻底时除磷效果比较显著,而且认为 ORP 值越低,越能促进磷的吸收,于是开发出 Bardenpho 工艺(图 5 实线部分)。该除磷工艺在美国、加拿大等国家被广泛应用。为解决回流污泥中存在的硝酸盐和亚硝酸盐问题,在 Bardenpho工艺基础上增加一个厌氧发酵池(图 5 虚线部分)。使回流污泥和原废水于厌氧池中完全混合,并进行

2 轮硝化和反硝化反应而达到彻底反硝化目的,以期促进磷的吸收。Phoredox 工艺脱氮除磷效果显著,适用于低负荷污水厂。



(3)UCT 工艺。1976 年,Barnard 对 Phoredox 工艺进行中试研究时发现,倘若污泥和原废水直接回流到厌氧池中,多少会带有 NO₃,这不利于厌氧池反应。于是对其进行改进,保证厌氧区为真正的非充氧区,使污泥回流至缺氧池而非厌氧池,再将混合液由缺氧池回流到厌氧池,好氧池混合液回流至缺氧池,具体流程见图 6(即 UCT 工艺)。UCT 工艺缺氧段中的硝酸盐浓度低,为生物需氧量转为发酵产物提供最佳条件,使厌氧阶段生物除磷效果更加理想^[94]。

4.6.2 反硝化聚磷菌除磷工艺 反硝化聚磷菌除磷工艺与传统聚磷菌除磷工艺相比,由于反硝化聚



磷菌是以 NO₃ 作为电子受体,能减少一定的生物需氧量和氧的消耗,并相应减少一半的剩余污泥量。还能避免硝化时间过长和有机物的大量消耗等弊端。典型的反硝化除磷工艺有 BCFS 工艺和Dephanox 工艺等。

(1) BCFS 工艺。荷兰 Delft 工业大学研发了一种既能高效脱氮除磷还减少污泥量产生的除磷工艺——BCFS 工艺(图7)^[95]。它是在 UCT 工艺基础上增加了 2 个混合液内循环(Ⅰ和Ⅲ)以及 2 个反应池(接触池和混合池)。混合液内循环 Ⅰ和Ⅲ的增设,增加了硝化和反硝化的机会,使反硝化更彻底。接触池的增加能使混合液充分混合从而吸附剩余 COD,其次能很快地反硝化脱除回流污泥中的硝酸盐氮。混合池则可以减少污泥量的产生以及保证污泥的再生不会影响除磷和反硝化效果。

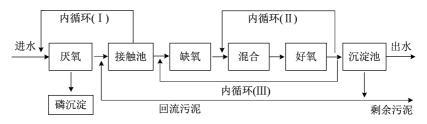


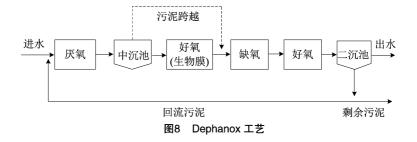
图7 BCFS 工艺

(2) Dephanox 工艺。1992 年, Wanner 开发出一种具有很好的除磷脱氮效果, 且含硝化和反硝化双泥回流系统的脱氮除磷工艺——Dephanox 工艺(图8)。 Dephanox 工艺增加了 1 个中沉池用于泥水分离, 使富集氨氮的上清液直接进入好氧(生物膜)池进行硝化反应; 而含有大量有机物的反硝化聚磷菌沉淀则与好氧(生物膜)池结束硝化反应产生的消化液共同进入缺氧阶段, 以 NO3 作为电子受体进行

一系列除磷工作^[95]。Dephanox 工艺能充分节省除磷系统中的能量,降低剩余污泥量的产生及解决反硝化系统中碳源不足等问题。

5 结论与展望

随着对聚磷菌研究的不断深入和改进,聚磷菌 除磷技术已成为水污染治理的重要技术。但目前 的聚磷菌除磷技术主要是基于传统、单一的除磷措



施,多是以 A/O 及 A²/O 工艺衍伸出来的除磷工艺, 而没有将多种除磷技术组合成有效的净化系统以 达到高效除磷目的。因此笔者对聚磷菌在生物除 磷与其他除磷技术联用的发展有以下几点看法,为 磷的高效去除提供理论依据和重要保障。

5.1 物理法模拟固定化微生物技术

固定化微生物技术(Immobilized Micro - organisms)在废水除磷处理中广泛使用,主要方法有吸附法、交联法和包埋法,是通过聚乙烯醇(PVA)、海藻酸盐、琼脂、明胶等固定聚磷微生物,达到除磷效果。常会庆等的物理生态工程(PEEN)研究给了废水除磷处理很大的一个启示,利用纳米材料固定聚磷微生物,模拟固定化微生物技术达到除磷目的,将是具有前景的发展方向^[16]。

5.2 生物除磷与化学除磷的联用技术

有研究表明,生物法除磷在低磷浓度的废水中除磷效果较好,但在浓度较高时会有一定的局限性,需要化学除磷方法辅助方能很好地除磷^[96]。刘钰等为了研究生物除磷和化学除磷之间的关系,在厌氧阶段添加一定量的 FeCl₃,结果发现生两者间产生了协同作用,除磷效率也有很大的增强^[97]。李子富等研究也表明,在除磷工艺中添加化学剂(聚合氯化铝)能提高除磷效果,使出水磷含量达到污水排放标准^[98]。可见将生物除磷和化学除磷相结合,在未来的废水除磷中具有广阔的发展前景。

5.3 以磷化氢的形式除磷技术

气态磷的产生是由于厌氧磷酸盐还原菌分解 有机化合物的结果,这些厌氧菌的发现为废水除磷 找到一种新的方法。探索开发以磷化氢形式除磷 的发展理念,将会是未来的研究方向。

参考文献:

- [1]王 静. 富营养化水库沉积物聚磷菌多样性及群落结构研究 [D]. 福州:福建师范大学,2017:11-12.
- [2]宋小敏. 聚磷微生物的筛选及其对富营养化水体中磷的去除效果研究[D]. 南京:南京理工大学,2015.
- [3]刘婷婷. 富营养化湖泊蓝藻及噬藻体光合作用基因 psbA 多样性的初步研究[D]. 昆明:昆明理工大学,2016:19-20.
- [4]马经安,李红清. 浅谈国内外江河湖库水体富营养化状况[J]. 长江流域资源与环境,2002,11(6):575-578.
- [5] 王以淼,周胜利. 浙江省水体富营养化特征及防治对策[J]. 中国环境监测,2018,34(6);170-178.
- [6]曹文平,孙 玲,汪银梅,等. 载体在富营养化水体脱氮中的应用 现状及发展趋势[J]. 徐州工程学院学报(自然科学版),2019,34(4):83-87.

- [7]周石磊. 混合充氧强化水源水库贫营养好氧反硝化菌的脱氮特性及技术应用研究[D]. 西安:西安建筑科技大学,2017;27.
- [8] 周保华,潘恒健,谷长强. 湖泊水库营养状态分区研究进展[J]. 环境与可持续发展,2006(3):10-13.
- [9] Capriulo G M, Smith G, Troy R, et al. The planktonic food web structure of a temperate zone estuary, and its alteration due to eutrophication [J]. Hydrobiologia, 2002, 475(1):263-333.
- [10]王寿兵,徐紫然,张 洁. 大型湖库富营养化蓝藻水华防控技术发展述评[J]. 水资源保护,2016,32(4);88-99.
- [11]梁伟林. 湖泊富营养化评价方法研究及其系统设计[D]. 成都:电子科技大学,2017.
- [12]环保部发布《2011年中国环境状况公报》[J]. 环境经济,2012 (7):6.
- [13]2018 年《中国生态环境状况公报》(摘录二)[J]. 环境保护, 2019,7(12);50-55.
- [14] Dévai I, Felföldy L, Wittner I, et al. Detection of phosphine; new aspects of the phosphorus cycle in the hydrosphere [J]. Nature, 1988, 333; 343 345.
- [15] 钟 进. 生活污水处理工艺中的除磷设计[J]. 绿色科技,2018 (12):75 77.
- [16]常会庆,杨肖娥,濮培民. 微生物除磷研究与工艺技术的发展前景[J]. 农业环境科学学报,2005,24(增刊1):375-378.
- [17] Cook A M, Daughton C G, Lexander M. Phosphonates utilization bybacteria [J]. Bacteriol, 1978, 133(1):85-90.
- [18]喻 航. 水体富营养化的危害及防治对策[J]. 智能城市, 2019,5(17):147-148.
- [19] 茹改霞. 富营养化水体除磷技术的研究进展[J]. 广东化工, 2017,44(23):100,114.
- [20] 杨徐烽. 浅析废水除磷工艺[J]. 节能与环保,2020(3):48 49.
- [21] 刘东强. 化学沉淀对废水除磷效果的研究[J]. 水务世界,2015 (2):50-51.
- [22] Fraser L H, Carty S M, Steer D. A test of four plant species to reduce total nitrogen and total phosphorus from soil leachate in subsurface wetland microcosms[J]. Bioresource Technology, 2004, 94(2):185-192.
- [23]吴 梦,张大超,徐 师,等. 废水除磷工艺技术研究进展[J]. 有色金属科学与工程,2019,10(2):97-103.
- [24] Li W, Friedrich R. In situ removal of dissolved phosphorus in irrigation drainage water by planted floats: preliminary results from growth chamber experiment [J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2002, 90(1):9-15.
- [25]王 平,李研伟,王艳明. 污水生物除磷技术的现状与研究进展 [J]. 环境污染与防治,2015,37(4):111.
- [26] Tang C C, Chen H M, Liu M, et al. Research progress in the use of adsorption for dephosphorization [J]. Industrial Water Treatment, 2015,34(7):1-4.
- [27]付君正, 葛晓红, 姚凡凤, 等. 去除污水中总磷的两种方法效果比较[J]. 绿色科技, 2018(20):92-94.
- [28] 杨会芳,王 芳. 城市生活污水处理厂污水除磷效果的措施 [J]. 中国资源综合利用,2018,36(4):38-40,43.

- [29] Greenburg A E, Levin G, Kauffman W J. The effect ofphosphorus removal on the activated sludge process [J]. Sewageand Industrial Wastes, 1955, 27;277-282.
- [30] Srinath E G, Sastry C A, Pillai S C. Rapid removal of phosphorus from sewage by activated sludge [J]. Experientia, 1959, 15 (9): 339-340.
- [31] Alarcon G. Removal of phosphorus from sewage [D]. Baltimore: JohnsHopkins University, 1961;14-15.
- [32] Levin G V, Shapiro J. Metabolic uptake of phosphorus by wastewater organisms [J]. Water Pollution Control Federation. 1965,37:800-821.
- [33] Fuhs G W, Chen M. Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater [J]. Microbial Ecology, 1975, 2(2):119-138.
- [34] Kuba T, Smolder G, Van L M, et al. Biological phosphorus removal from wastewater by anaerobic aeroxic sequencing batch reactor [J]. Water science&technology, 1993, 27(5):241-252.
- [35]王亚宜,彭永臻,王淑莹,等. 反硝化除磷理论、工艺及影响因素 [J]. 中国给水排水,2003,19(1);33-36.
- [36]郭丽英,何 维,张煜光,等. 一株不动杆菌聚磷菌的除磷效果研究[J]. 广东化工,2019,46(16):37-39.
- [37] Buchan L. Possible biological mechanism of phosphorus removal [J]. Water Science&Technology, 1983, 15(3):87 103.
- [38] 范 琛,袁林江,孙 源,等. SBR 生物除磷系统中聚磷菌的特性研究[J]. 中国给水排水,2008,24(19):1-5.
- [39] Stante L. Biological phosphorus removal by pure culture of Lampropedia spp. [J]. Water Research, 1997, 31 (6): 1317 – 1324.
- [40] Brodisch K U, Joyner S J. The role of Micro Organisms other than acinetobacter in biological phosphate removal in activated sludge processes [J]. Water Science and Technology, 1983, 15(3):117 125.
- [41]何冬兰,詹 锐,万文结,等. 一株厌氧型聚磷菌的分离鉴定与聚磷特性[J]. 中南民族大学学报(自然科学版),2016,35(2): 23-25,50.
- [42] Meganck M, Malnou D, Flohic P L, et al. The importance of the acidogenic microflora in biological phosphorus removal [J]. Water ence&Technology, 1985, 17 (11):199-212.
- [43] Mullan A, Quinn J P, Mcgrath J W. Enhanced phosphate uptake and polyphosphate accumulation in *Burkholderia cepacia* grown under low pH conditions [J]. Microbial Ecology, 2002, 44 (1): 69-77.
- [44] Nakamura K, Hiraishi A, Yoshimi Y, et al. *Microlunatus phosphovorus* gen. nov., sp. nov., a new gram positive polyphosphate accumulating bacterium isolated from activated sludge[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1995, 45(1):17 22.
- [45] Eschenhagen M, Schuppler M, Röske I. Molecular characterization of the microbial community structure in two activated sludge systems for the advanced treatment of domestic effluents [J]. Water Research, 2003, 37 (13):3224-3232.

- [46] Ahn J, Daidou T, Tsuneda S, et al. Characterization of denitrifying phosphate accumulating organisms cultivated under different electron acceptor conditions using polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis assay [J]. Water Research, 2002,36(2):403-412.
- [47]孙 玲,钱雨荷,张惠芳,等. 反硝化聚磷菌研究进展[J]. 节水灌溉,2015(2):40-44.
- [48] Bao L L, Li D, Li X K, et al. Phosphorus accumulation by bacteria isolated from a continuous flow two sludge system[J]. Journal of Environmental Sciences China, 2007, 19(4):391–395.
- [49] Wang Q, Ma F, Wei L, et al. Screen and characteristics of a denitrifying phosphorus removal bacteria [J]. Journal of Biotechnology, 2008, 136:123 127.
- [50] Diep C N, Cam P M, Vung N H, et al. Isolation of pseudomonas stutzeri in wastewater of catfish fish ponds in the Mekong delta and its application for wastewater treatment [J]. BioresourceTechnology, 2009, 100(16); 3787-3791.
- [51] Li H F, Li B Z, Wang E T, et al. Removal of low concentration of phosphorus from solution by free and immobilized cells of Pseudomonas stutzeri YG 24 [J]. Desalination, 2011, 286; 242 247.
- [52] Paulo A S, Plugge C M, García E P A, et al. Anaerobic degradation of Sodium dodecyl sulfate (SDS) by denitrifying bacteria [J]. International Biodeterioration& Biodegradation, 2013,84(10):14 – 20.
- [53] Versalovic J, Koeuth T, Lupski J R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes [J]. Nucleic Acids Research, 1991, 19 (24): 6823 – 6831.
- [54] Wang L, Li J, Kang W L. Bioremediation of eutrophicated water by acinetobactercalcoaceticus [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2007, 78(6):527-530.
- [55] Vaneechoutte M, de Baere T, Nemec A, et al. Reclassification of Acinetobacter grimontii Carr et al. 2003 as a later synonym of Acinetobacter junii Bouvet and Grimont 1986 [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2008, 58 (Pt 4):937-940.
- [56] Nemec A, Musílek M, Maixnerová M, et al. Acinetobacter beijerinckii sp. nov. and Acinetobactergyllenbergii sp. nov., haemolytic organisms isolated from humans [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59 (Pt 1):118 124.
- [57]张 千. 基于固相反硝化和吸附除磷的低碳源污水脱氮除磷技术研究[D]. 重庆:重庆大学,2016;41.
- [58]谢蔚鹏,陈 敏. 反硝化聚磷菌株 YH12 的鉴定及脱氮除磷特性[J]. 杭州师范大学学报(自然科学版),2019,18(2):141-145.
- [59]张立成,吴春蓉. 不同碳源对 4 种亚硝化反硝化聚磷菌脱氮除磷的影响[J]. 工业用水与废水,2012,43(6);11-15.
- [60] 吕志堂, 纪翠平, 苏强, 等. 3 株反硝化聚磷菌的分离与鉴定 [J]. 环境工程学报, 2009, 3(8): 1405-1408.

- [61] Tsuneda S, Ohno T, Soejima K, et al. Simultaneous nitrogen and phosphorus removal using denitrifying phosphate – accumulating organisms in a sequencing batch reactor [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 27(3):191 – 196.
- [62] 樊晓梅. 反硝化聚磷菌吸磷能力和生长特性研究[J]. 沈阳建筑大学学报(自然科学版),2017,33(1):119-126.
- [63]孙 玲. 反硝化聚磷菌诱变育种及其生物学特性研究[D]. 徐州:中国矿业大学,2017:56-58.
- [64] 谢蔚鹏, 褚文珂, 陈 敏. 反硝化聚磷菌的筛选及多样性分析 [J]. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2018, 17(6): 597 601.
- [65]李 慧,刘丹丹,陈文清. 反硝化聚磷菌的筛选及脱氮除磷特性 [J]. 环境工程,2016,34(4):25-28,90.
- [66] 聂毅磊,贾 纬,曾艳兵,等. 两株好氧反硝化聚磷菌的筛选、鉴定及水质净化研究[J]. 生物技术通报,2017,33(3):116-121.
- [67] 许彦娟, 张利平. 反硝化聚磷菌的分离筛选及鉴定[J]. 河北农业大学学报, 2008, 31(3):60-63.
- [68]李相昆,张 杰,黄荣新,等. 反硝化聚磷菌的脱氮除磷特性研究[J]. 中国给水排水,2006,22(3):35-39.
- [69] 焦中志,李相昆,张立成,等. 反硝化聚磷菌菌种筛分与除磷特性分析[J]. 沈阳建筑大学学报(自然科学版),2009,25(3):535-540.
- [70]靳 茹. 高效好氧反硝化聚磷菌的分离鉴定及脱氮除磷影响因素分析[D]. 太原:太原科技大学,2018:36-37.
- [71] 陈 晶,张敏特,陈 萍,等. 菌剂强化潜流湿地总氮总磷去除及功能菌特性[J]. 环境化学,2015,34(12);2268-2274.
- [72] 郭春艳. 不同电子受体及 pH 值对聚磷菌代谢的影响[D]. 北京:北京工业大学,2010:77-87.
- [73]李 楠,王秀蘅,亢 涵,等. pH 对低温除磷微生物种群与聚磷 菌代谢的影响[J]. 环境科学与技术,2013,36(3):9-11+19.
- [74] Li W, Zhang H Y, Sun H Z, et al. Influence of pH on short cut denitrifying phosphorus removal [J]. Water Science and Engineering, 2018, 11(1):17 22.
- [75] Zhang S H, Huang Y, Hua Y M. Denitrifying dephosphatation over nitrite: effects of nitrite concentration, organic carbon, and pH[J]. Bioresource Technology, 2010, 101 (11): 3870 - 3875.
- [76]刘有华,韩迎亚,王倩楠,等. 一株聚磷菌的形态特征及其发酵条件研究[J]. 准海工学院学报(自然科学版),2019,28(4):74-80.
- [77] 彭党聪, 樊香妮, 张 玲, 等. 温度对生物除磷系统微生物种群 关系及动力学的影响[J]. 环境工程学报, 2017, 11(4): 2091 2096.
- [78]李 微,胡筱敏,孙铁珩,等. 温度对 SBBR/BAF 处理污水效能 影响[J]. 环境科学与技术,2010,33(S2):230-233.
- [79]王 璐. 聚磷菌和聚糖菌及其子群的代谢途径研究[D]. 长春: 吉林建筑大学,2018:29-34.
- [80]李 慧,冯元平,苏公平,等. 反硝化聚磷菌的富集及其特性研究[J]. 四川化工,2016,19(3):4-7.
- [81] 马 放, 王春丽, 王立立. 高效反硝化聚磷菌株的筛选及其生物 学特性[J]. 哈尔滨工程大学学报, 2007, 28(6):631-635.

- [82] Filipe C M, Daigger G T, Grady C L. pH as a key factor in the competition between Glycogen – Accumulating organisms and Phosphorus – Accumulating organisms [J]. Water Environment Research, 2001, 73(2):223-232.
- [83] Li Z K, Pu P W. Improvement of taihu water quality by the technology of immobilized nitrogen cycle bacteria [J]. Nuclear Science and Techniques, 2002, 13(2):115-120.
- [84] Wachtmeister A, Kuba T, Loosdrecht M C, et al. A sludge characterization assay for aerobic and denitrifying phosphorus removing sludge [J]. Water Research, 1997, 31(3):471-478.
- [85] Carvalho G, Lemos P C, Oehmen A, et al. Denitrifying phosphorus removal: linking the process performance with the microbial community structure [J]. Water Research, 2007, 41 (19):4383 4396.
- [86] Barak Y, van Rijn J. Relationship between nitrite reduction and active phosphate uptake in the phosphate – accumulating denitrifier *Pseudomonas* sp. strain JR 12 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66 (12):5236 – 5240.
- [87] 张静思,崔俊涛.城市污泥中高效聚磷真菌的筛选及聚磷特性分析?[J].吉林农业大学学报,2015,37(2):185-190.
- [88] Chuang S H, Ouyang C F, Wang Y B. Kinetic competition between phosphorus release and denitrification on sludge under anoxic condition [J]. Water Research, 1996, 30 (12):2961-2968.
- [89] Bortone G, Libelli S M, Tilche A, et al. Anoxic phosphate uptake in the dephanox process [J]. Water Science & Technology, 1999, 40 (4):177-185.
- [90] Lemos P C, Dai Y, Yuan Z, et al. Elucidation of metabolic pathways in glycogen – accumulating organisms with in vivo ¹³C nuclear magnetic resonance [J]. Environmental Microbiology, 2007, 9 (11):2694-2706.
- [91]田淑媛,杨 睿,顾 平,等. 生物除磷工艺技术发展[J]. 城市 环境与城市生态,2000,13(4);45-47.
- [92]王 琳,李 季,康文利,等. 污水生物除磷研究进展[J]. 环境污染与防治,2006,28(5):348-351.
- [93] Chen Y, Zhao Z, Peng Y, et al. Performance of a full scale modified anaerobic/anoxic/oxic process: High - throughput sequence analysis of its microbial structures and their community functions[J]. Bioresource Technology, 2016, 220:225 - 232.
- [94] 祁晓娟. 污水处理工艺的应用分析[J]. 决策探索:中,2020 (3):92-93.
- [95]曹海艳,孙云丽,刘必成,等. 废水生物除磷技术综述[J]. 水科 学与工程技术,2006(5):25-28.
- [96] Wang D B, Li X M, Yang Q, et al. Improved biological phosphorus removal performance driven by the aerobic/extended – idle regime with propionate as the sole carbon source [J]. Water Research, 2012,46(12):3868 – 3878.
- [97]刘 钰,刘飞萍,刘 霞,等. 催化铁耦合生物除磷工艺中生物与化学除磷的关系[J]. 环境工程学报,2016,10(2):611-616.
- [98]李子富,云玉攀,曾 灏,等. 城市污水处理厂化学强化生物除 磷的试验研究[J]. 中国环境科学,2014,34(12):3070-3077.