

柴阳阳,程江峰,余向阳. 1 株邻苯二甲酸二丁酯降解内生菌的分离鉴定及降解特性[J]. 江苏农业科学,2018,46(23):296-300.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.23.074

# 1 株邻苯二甲酸二丁酯降解内生菌的分离鉴定及降解特性

柴阳阳<sup>1,2</sup>, 程江峰<sup>1</sup>, 余向阳<sup>2</sup>

(1. 青岛科技大学海洋科学与生物工程学院, 山东青岛 266042; 2. 江苏省农业科学院农产品质量安全与营养研究所, 江苏南京 210014)

**摘要:**从蓼科植物酸模(*Rumex acetosa* L.)中分离得到 1 株内生菌 HBT4,该菌能以邻苯二甲酸二丁酯(DBP)为唯一碳源生长。经菌落形态观察、生理生化试验、16S rDNA 序列以及系统进化树分析,初步鉴定菌株 HBT4 为暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*)。将菌株 HBT4 接种到以 DBP(10 mg/L)为唯一碳源的培养基中,菌株在培养 2 d 时生长量最大,培养 4 d 时对 DBP 的降解率达到 91.9%,菌株的最适培养条件:温度为 35 ℃、pH 值为 7.0、底物浓度为 10 mg/L,与此同时,增加培养基中的接菌量能明显提高 DBP 的降解率。

**关键词:**内生菌;DBP;暹罗芽孢杆菌;降解率

**中图分类号:** S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)23-0296-04

邻苯二甲酸酯(phthalate ester, PAEs)又称酞酸酯,被普遍应用于保鲜膜、胶水、药品、服装、化妆品等产品的生产中<sup>[1-2]</sup>。由于大多数 PAEs 以范德华力或氢键的方式结合到塑料制品中,所以在塑料制品的生产使用过程中很容易释放到环境中,目前在大气、土壤、河流、食品、生物中都有检出,已经成为一种严重的污染物<sup>[3-4]</sup>。邻苯二甲酸二丁酯(DBP)作为塑化剂中一种重要的增塑剂,对人体以及其他生物具有致畸、致癌、致突变的作用,引起了我国、美国和欧盟的重视,被列为优先控制的污染物<sup>[5]</sup>。

近几年来,由于 DBP 的普遍使用,环境中到处都能检测到 DBP 的残留,给人类健康生活带来了隐患<sup>[6]</sup>。环境中 DBP 的水解、光解速度特别慢,而一些微生物可以代谢 DBP,半衰期仅为 1~3 d,因此,微生物降解被认为是治理 DBP 污染的主要途径<sup>[7]</sup>。Xu 等报道了 1 株假单胞菌 B-1 在 10 mg/L DBP 浓度条件下 4 d 能降解 96% 的 DBP<sup>[8]</sup>。Li 等在 2006 年发现 1 株红球菌,对 100 mg/L DBP 降解率达 55%<sup>[9]</sup>。金雷等分离到的 H-2 在 3 d 内对 100 mg/L DBP 的降解率达 87.6%<sup>[10]</sup>。当前,国内外已有大量 DBP 降解菌的报道,如节杆菌(*Arthrobacter* sp.)、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、抗辐射菌(*Deinococcus* sp.)、红球菌(*Rhodococcus* sp.)、分枝杆菌(*Mycobacterium* sp.)、大头茶菌(*Gordonia* sp.)、农杆菌(*Agrobacterium* sp.)等<sup>[11-17]</sup>,目前,所发现的 DBP 降解菌主要集中在体外降解,而对植物内生菌的报道尚未发现。

笔者从污染土壤的植株中分离获得 1 株植物内生菌

HBT4,采用生理生化试验以及 16S rDNA 分析鉴定菌种,测定其对 DBP 的降解特性及影响因素,旨在为进一步研究内生菌对植株中 DBP 的降解及增强植株的抗逆性和治理环境污染提供借鉴和材料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试植株 酸模(*Rumex acetosa* L.)采自江苏省农业科学院内被塑化剂污染的试验田中。

1.1.2 主要试剂 邻苯二甲酸二丁酯(上海麦克林生化科技有限公司,含量>98.5%);分析纯乙酸乙酯(成都市科龙化工试剂厂);色谱纯乙腈(德国 Darmstadt);细菌 DNA 提取试剂盒(美国 OMEGA 公司);16S rDNA 序列扩增引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;2×Taq PCR Master Mix 由 DBI Bioscience 公司提供。

1.1.3 培养基 无机盐液体培养基(1 L):0.4 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O,0.2 g FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O,0.2 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>,0.2 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,0.08 g CaSO<sub>4</sub>,用去离子水定容至 1 000 mL,pH 值为 7.0~7.2。

LB 液体培养基(1 L):牛肉膏 5.0 g,蛋白胨 10.0 g,NaCl 5.0 g。固体培养基分别在上述液体培养基中加琼脂 15~20 g/L,pH 值为 7.0。

1.1.4 仪器设备 MX-F 型漩渦混合器及 D1008 型离心机(SCILOGEX 公司),Life Pro 基因扩增仪(杭州博日科技有限公司),DYY-6C 型电泳仪(北京市六一仪器厂),STARTER 2100 型实验室 pH 计(奥豪斯仪器有限公司),a-1506 型紫外分光光度计(上海奥析科学仪器有限公司),Agilent Technologies 1200 高效液相色谱仪(美国安捷伦科技公司)。

### 1.2 DBP 降解菌的筛选与纯化

分别将植株的根、茎、叶用自来水冲洗干净,自然风干后进行表面消毒,先用 75% 乙醇浸泡 2~3 min,再用 1% NaClO 漂洗 2~5 min,然后用无菌水清洗 3 次,收集最后 1 次无菌水

收稿日期:2017-07-24

基金项目:国家自然科学基金(编号:41601542);江苏省农业科学院基金(编号:6111672)。

作者简介:柴阳阳(1990—),男,山东滨州人,硕士研究生,主要从事微生物研究工作。Tel:(021)84391229;E-mail:369098873@qq.com。

通信作者:余向阳,博士,研究员,主要从事农产品质量安全研究。E-mail:yuxy@jaas.ac.cn。

的冲洗液,吸取 100  $\mu\text{L}$  涂布至空白 LB 平板中,放置在 30  $^{\circ}\text{C}$  条件下倒置培养 3 d,检查表面消毒是否彻底。将表面消毒的植物样品于灭菌研钵内研磨,将汁液浓度分别稀释至  $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ ,分别吸取 100  $\mu\text{L}$  汁液均匀涂布于 LB 平板上,并将所得菌株进行分离纯化。然后分别将菌株接种于一定浓度 DBP 无机盐培养液中,37  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 摇床培养,定时测定 DBP 的残留浓度,选取降解率高的细菌保存待用。

### 1.3 分离菌株的鉴定

1.3.1 生理生化测定 菌株形态以及生理生化特性测定参照东秀珠等的《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[18]</sup>。

1.3.2 细菌 16S rDNA 的测序与系统发育树的构建 菌株基因组的鉴定采用 16S rDNA 序列分析的方法,首先用试剂盒法提取细菌的基因组 DNA 作为模板,利用 16S rDNA 通用引物进行 PCR 扩增,正向引物为 27F(5' - AGAGTTTGATCMTG GCTCAG - 3'),反向引物为 1492R(5' - GGTACCTTGTTACG ACTT - 3')。PCR 反应体系为 2  $\times$  Taq PCR Mix 10  $\mu\text{L}$ ,引物 27F 与 1492R 各 0.5  $\mu\text{L}$ ,DNA 模板 4  $\mu\text{L}$ ,双蒸水 5  $\mu\text{L}$ 。

PCR 反应条件:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min;95  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min,56  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 2 min,30 次循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min;4  $^{\circ}\text{C}$  保存。PCR 产物的纯化和测序由生工生物工程(上海)股份有限公司完成,引物为 27F 与 1492R,测序方式为双向测序。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,用 MEGA 6.06 软件进行多序列比对,构建系统进化树。

### 1.4 生长曲线测定

挑取斜面菌种接种于 100 mL 富集培养液中,37  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 振荡培养,定时采样测  $D_{600\text{ nm}}$ 。

### 1.5 菌株的降解特性研究

1.5.1 菌株对 DBP 的降解及生长规律 将分离纯化后的菌株接种于富集培养基中,在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 下避光培养 24 h,将菌株的菌液离心分离获取菌体,再用 0.85% 无菌生理盐水冲洗 3 次,调整菌液  $D_{600\text{ nm}}$  为 1.0。然后将 1 mL 上述菌液接种到 50 mL 无机盐培养基(DBP 含量为 10 mg/L)中,测定初始  $D_{600\text{ nm}}$  和 DBP 含量,于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 摇床培养,并设置 1 组不加入菌液的无机盐培养基作为对照,每个处理重复 3 次。分不同时间取样测定  $D_{600\text{ nm}}$  及 DBP 残留量。

#### 1.5.2 DBP 高效降解菌的降解条件优化

1.5.2.1 温度 将菌株的菌液离心分离获取菌体,再用无菌生理盐水冲洗 3 次,调整菌液  $D_{600\text{ nm}}$  为 1.0。吸取 1 mL 分别接种到 50 mL 无机盐培养基(DBP 含量为 10 mg/L)中,在温度分别为 25、30、35、40  $^{\circ}\text{C}$  的摇床于 150 r/min 培养 3 d,以不加菌作为对照,用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定 DBP 的含量,同时用紫外分光光度计测定  $D_{600\text{ nm}}$ 。所有试验数据均为 3 次重复的平均值,数据采用 Excel 2013 软件进行分析处理。

1.5.2.2 pH 值 用 1 mol/L NaOH 或 1 mol/L HCl 调节无机盐培养基的 pH 值分别为 4、5、6、7、8、9,灭菌后添加 DBP 至其质量浓度为 10 mg/L,按 2% 接菌量接入  $D_{600\text{ nm}} = 1.0$  的菌悬液,于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 摇床培养 3 d,取样测定培养液中 DBP 的残留量和  $D_{600\text{ nm}}$ 。每个处理重复 3 次。

1.5.2.3 接菌量 于无机盐培养基中分别按 0.5%、2%、5%、10% 的接菌量接入菌悬液。添加 DBP 至其质量浓度为 10 mg/L,调节培养液的 pH 值为 7.0 ~ 7.2,于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 下避光培养,分别于接菌初始和 0.5、1、2、3 d 取样测定培养液中 DBP 残留量。每个处理重复 3 次。

1.5.2.4 DBP 初始浓度 将无机盐培养基中 DBP 的初始质量浓度分别设为 2、5、10、20、50 mg/L,按 2% 的接菌量接入  $D_{600\text{ nm}} = 1.0$  的菌悬液,于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 摇床培养 5 d,取样测定培养液中 DBP 的残留量和  $D_{600\text{ nm}}$ 。每个处理重复 3 次。

### 1.6 DBP 的提取分析方法

采用高效液相色谱法向待测溶液中加入等量的乙酸乙酯,于 180 r/min 摇床振荡萃取 30 min,静置分层后,吸取 2 mL 上清液于 10 mL 玻璃离心管中,氮气吹干后用色谱纯乙腈定容至 4 mL(稀释 2 倍),过 0.22  $\mu\text{m}$  有机相滤膜后上机测定。

HPLC 条件:色谱柱为 ZORBA  $\times$  SB - C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相  $V_{\text{乙腈}} : V_{\text{水}} = 90 : 10$ ;流速为 1.0 mL/min;检测波长为 225 nm;柱温为室温;进样量为 20  $\mu\text{L}$ ;在上述条件下 DBP 的保留时间为 4.9 ~ 5.0 min。

在上述条件下,溶液中 DBP 的回收率在 92.3% ~ 94.7%。

## 2 结果与分析

### 2.1 DBP 降解菌的分离筛选

经过分离筛选得到 1 株 DBP 降解菌,该菌株能够以 DBP 为唯一碳源生长良好,命名为 HBT4。该菌株呈半透明、杆状,中间有凸起,表面褶皱不规则,质地黏稠、边缘整齐;随着培养时间的延长,菌落呈现白色、表面干燥、扁平、边缘整齐。

### 2.2 菌种鉴定

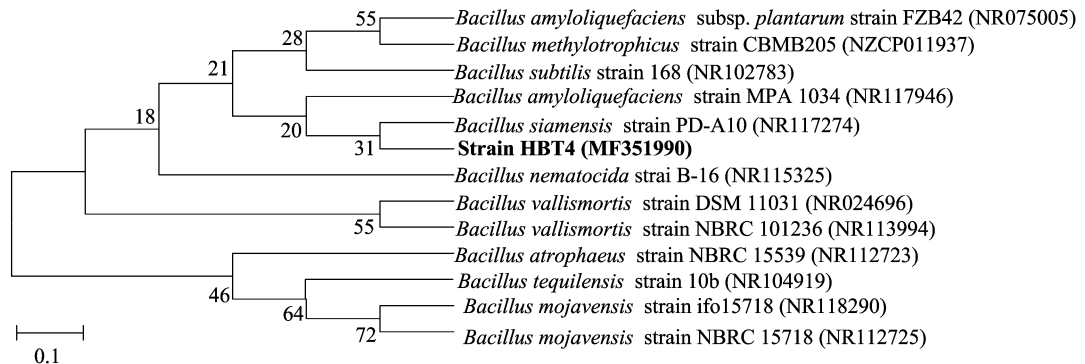
利用 16S rDNA 通用引物,以菌株 HBT4 DNA 为模板 PCR 扩增,测序得到长度为 1440 bp 的 16S rDNA 基因片段,在 NCBI(美国国立生物技术信息中心网站)上经 BLAST 同源性比对,发现该菌株 HBT4(NCBI 登录号为 MF351990)基因序列与芽孢杆菌属相似度达 99%,构建的系统发育树如图 1 所示,菌株 HBT4 与 *Bacillus siamensis* strain PD - A10 亲缘关系最近。结合生理生化试验结果(表 1)初步鉴定菌株 HBT4 为暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*)。

### 2.3 生长曲线测定

如图 2 所示,菌株 HBT4 在 LB 液体培养基中滞留 4 h 后进入对数生长期,对数生长期持续约 6 h,随后生长速度有所减缓,到 20 h 时菌株 HBT4 达到生长高峰,进入稳定期。生长曲线符合微生物生长规律。

### 2.4 菌株 HBT4 对 DBP 的降解特性及生长状况

由图 3 可知,以 2% 的接菌量接入 HBT4,在 10 mg/L DBP 为唯一碳源的无机盐培养基中,菌株 HBT4 以 DBP 为唯一碳源和能源生长繁殖,在培养 2 d 时达到生长高峰,其对 DBP 的降解率达到 65.15%,至培养 4 d 时,DBP 的残留量为 0.76 mg/L,降解率达到 91.9%,而在未接菌的处理中,DBP 降解率仅为 5.7%。在 2 ~ 4 d 期间,随着大量 DBP 被降解利用,菌株逐渐进入衰退期,菌株数量减少,主要原因可能是由于 DBP 的减少以及菌株自身代谢废物的累积导致菌株的生



加粗的部分为筛选获得的菌株。括号内为NCBI登录号。*Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*—解淀粉芽孢杆菌植物亚种；*Bacillus methylotrophicus*—甲基营养型芽孢杆菌；*Bacillus subtilis*—枯草芽孢杆菌；*Bacillus amyloliquefaciens*—解淀粉芽孢杆菌；*Bacillus siamensis*—暹罗芽孢杆菌；*Bacillus nematocida*—杀线虫芽孢杆菌；*Bacillus vallismortis*—死谷芽孢杆菌；*Bacillus atrophaeus*—萎缩芽孢杆菌；*Bacillus tequilensis*—特基拉芽孢杆菌；*Bacillus mojavensis*—莫海威芽孢杆菌

图1 基于分离菌株 HBT4 与亲缘关系相近菌株的 16S rDNA 序列的系统发育树

表 1 菌株 HBT4 的生理生化特性

测试指标	结果
菌体形态	杆状
明胶	+
淀粉水解反应	+
VP 试验	-
脲酶	-
柠檬酸盐	-
L-鼠李糖	-
甘露醇	-
麦芽糖	-
D-核糖	+

注：“+”表示结果呈阳性；“-”表示结果呈阴性。

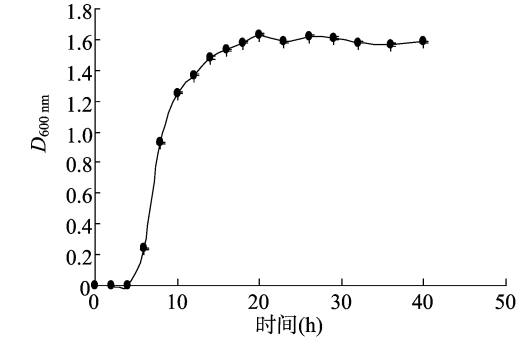


图2 菌株 HBT4 的生长曲线

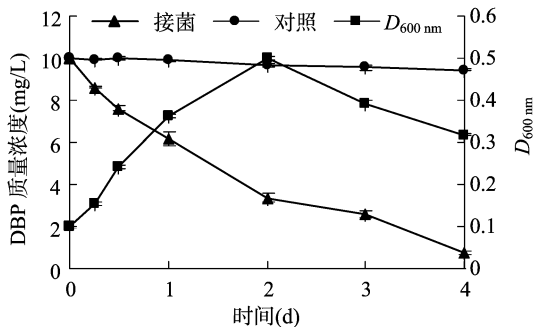


图3 菌株 HBT4 利用 DBP 的生长和降解曲线

存环境恶化,抑制了菌株的生长繁殖。

2.5 HBT4 对 DBP 的降解条件优化

2.5.1 温度的影响 由图 4 可知,菌株 HBT4 对 DBP 的降解效果随着温度的升高而升高,到达最高值以后随着温度升高而降低,最适生长温度为 35 ℃,降解率达到 87.23%,温度过高过低都会影响菌株的生长及降解活性。这与张颖等关于温度对菌株降解 DBP 的影响中的结果<sup>[19]</sup>是一致的,最适温度是 35 ℃,过高过低都抑制了菌株的生长和降解效率。

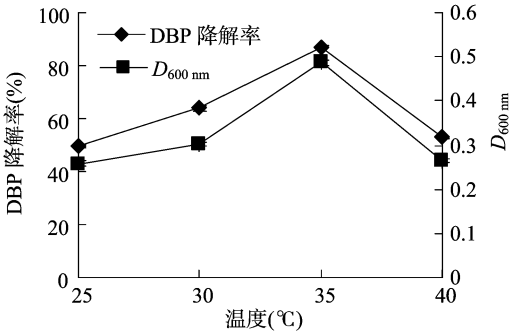


图4 温度对菌株 HBT4 生长及降解 DBP 的影响

2.5.2 pH 值的影响 由图 5 可知,在 pH 值为 4.0~9.0 时,菌株 HBT4 的生长量先随 pH 值的升高而升高,在到达最适 pH 值后,菌株生长量随 pH 值的继续升高而降低。适合菌株培养的 pH 值为 6.0~8.0,其中 pH 值为 7.0 时,DBP 降解效果最明显,降解率达 78.32%。当 pH 值为 4.0 时,菌株几乎不能生长,DBP 的降解率不足 10%。pH 值过高或过低都会影响菌株的生长,同时也会抑制酶活性,影响 DBP 的降解。

2.5.3 接菌量的影响 由图 6 可知,在 DBP 浓度均为 10 mg/L 的培养基中,随着初始接菌量的增加,DBP 的降解速率明显提高。在接菌量为 0.05% 时,菌株 HBT4 的滞留期延长,DBP 的降解速度缓慢,在培养 3 d 时降解率也只有 16.9%,接菌量在 2%、5%、10% 时,培养 3 d 的降解率分别为 81.8%、92.7%、96.2%。由此表明,随着接菌量的增加,DBP 降解速率逐渐增加,并且随着底物浓度的不断降低,降解速率变缓。

2.5.4 DBP 初始浓度的影响 由图 7 可知,随着初始底物浓度的增加,生长曲线和降解曲线都呈现先增加后降低的趋势。

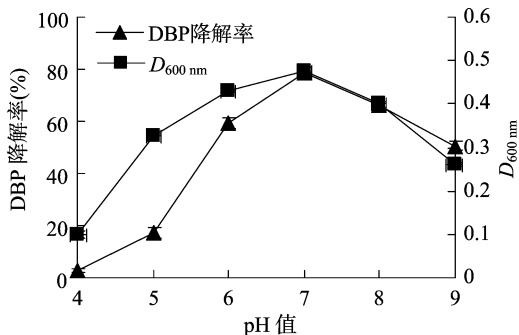


图5 pH 值对菌株 HBT4 生长及 DBP 降解的影响

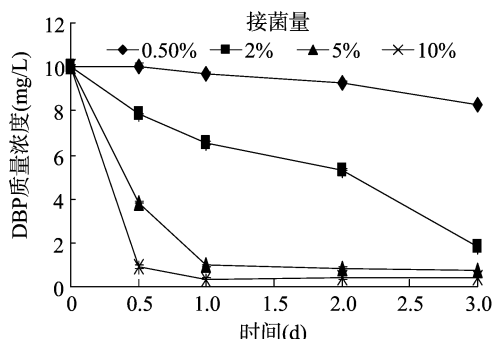


图6 不同接菌量下菌株 HBT4 降解 DBP 的动态曲线

底物浓度为 2、5 mg/L 时,由于浓度较低,导致菌株不能大量生长繁殖,从而影响了 DBP 的降解率,降解率分别为 67.01%、73.19%;底物浓度为 10 mg/L 时,降解率达到最大值,为 89.33%;当底物浓度大于 10 mg/L 时,由于底物初始浓度较大,对应的降解率随着底物浓度增加而降低;当底物浓度为 50 mg/L 时,菌株仍可以生长,但生长受到抑制,降解率最低,为 30.9%。

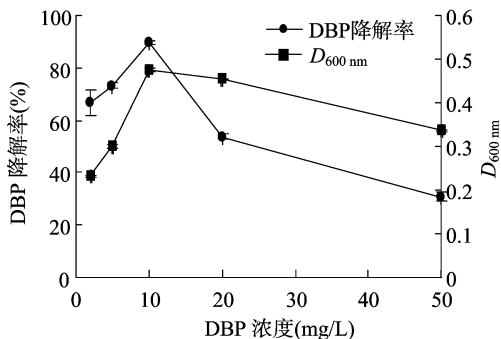


图7 初始 DBP 浓度对菌株 HBT4 生长及 DBP 降解的影响

### 3 结论与讨论

本研究从污染土壤的酸模植株中分离到 1 株降解 DBP 的内生菌 HBT4,经生理生化指标及 16S rDNA 同源性比对,初步鉴定该菌株为暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*)。菌株 HBT4 的生长和降解 DBP 的最适条件为温度 35℃,pH 值 7.0,底物浓度 10 mg/L,同时加大接菌量能明显提高降解效率。已有相关报道表明,*Bacillus siamensis* 能分泌表面活性剂至发酵液,具有生防菌的作用<sup>[20]</sup>。本研究首次报道了植物内生菌 *Bacillus siamensis* 具有 DBP 的降解功能,进一步丰富了该菌株在环境污染治理方面的用途。

相对于已报道的 DBP 降解菌<sup>[8-10]</sup>,本研究分离的内生菌 HBT4 对高浓度 DBP 的降解效率偏低,这可能与该菌株所在植株中 DBP 浓度较低、环境对菌株的胁迫压力较小有关。但植物内生菌与宿主植株之间存在复杂的关系。一些植物内生菌具有抑制和杀灭许多病原微生物、促进植株生长、增强宿主植物抗逆境、抗病虫害等作用<sup>[21-22]</sup>,而在重金属污染严重的土壤植物内生菌能够提高植物对重金属的吸附量,具有促进植物修复的作用<sup>[23-24]</sup>。如今,利用植物内生菌治理环境污染已成为研究热点,Lodewyckx 等利用植物内生菌可以加速根际污染物质的降解,使植物可以自我修复<sup>[25]</sup>;Chen 等利用内生菌提高了水生植物对污染水源的修复效率<sup>[26]</sup>。HBT4 是一株性能良好的 DBP 降解菌,在消除食品塑料垃圾的 PAEs 残留污染方面具有独特的应用潜力。同时关于植物内生细菌 HBT4 在植物体内的定殖以及其在植物体内代谢塑化剂及适应塑化剂污染中的作用还需进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 刘明华. 塑化剂的危害与预防分析[J]. 绿色科技, 2013(4): 210-212.
- [2] Erythropel H C, Maric M, Nicell J A, et al. Leaching of the plasticizer di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) from plastic containers and the question of human exposure[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(24): 9967-9981.
- [3] 夏凤毅, 郑平, 周琪, 等. 酞酸酯曝气生物降解规律的研究[J]. 四川大学学报(工程科学版), 2002, 34(1): 72-76.
- [4] Martinen S K, Kettunen R H, Rintala J A. Occurrence and removal of organic pollutants in sewages and landfill leachates[J]. Science of the Total Environment, 2003, 301(1/2/3): 1-12.
- [5] Chen J A, Liu H, Qiu Z, et al. Analysis of di-n-butyl phthalate and other organic pollutants in Chongqing women undergoing parturition[J]. Environmental Pollution, 2008, 116(3): 849-853.
- [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.
- [7] Staples 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] Xu X R, Li H B, Gu J D. Biodegradation of an endocrine-disrupting chemical di-n-butyl phthalate ester by *Pseudomonas fluorescens* B-1[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2005, 55(1): 9-15.
- [9] Li J, Chen J A, Zhao Q, et al. Bioremediation of environmental endocrine disruptor di-n-butyl phthalate ester by *Rhodococcus ruber*[J]. Chemosphere, 2006, 65(9): 1627-1633.
- [10] 金雷, 陈瑜, 严忠雍, 等. 邻苯二甲酸二丁酯高效降解菌 H-2 的分离鉴定及其降解特性[J]. 食品科学, 2014, 35(15): 202-206.
- [11] Wen Z D, Gao D W, Wu W M. Biodegradation and kinetic analysis of phthalates by an *Arthrobacter* strain isolated from constructed wetland soil[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(10): 4683-4690.
- [12] 王琳, 罗启芳. 邻苯二甲酸二丁酯降解优势菌的筛选和特性研究[J]. 卫生研究, 2004, 33(2): 137-139.

熊江波, 赖发英, 李小飞, 等. 城市污泥改良沙土的环境影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(23): 300–303.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.23.075

# 城市污泥改良沙土的环境影响

熊江波<sup>1</sup>, 赖发英<sup>1</sup>, 李小飞<sup>2</sup>, 凌志友<sup>1</sup>, 郭佳玮<sup>1</sup>, 李 昊<sup>3</sup>

(1. 江西农业大学国土资源与环境学院, 江西南昌 330045; 2. 江西省红壤研究所, 江西南昌 331717;  
3. 江西省万载县农业局, 江西万载 336100)

**摘要:**采用室内喷头模拟降雨试验, 研究不同污泥施用量对沙土养分含量和重金属污染的影响。设置 3 个处理, 各处理污泥施用量为 0.3、0.9、1.5 g/cm<sup>2</sup>。结果表明, 随着污泥施用量的增加, 沙土中总氮和总磷含量明显增加; 随着淋溶次数的增加, 总氮和总磷的淋失量增加, 3 个处理 0.3、0.9、1.5 g/cm<sup>2</sup> 总氮的淋失率分别为 27.38%、27.14%、25.41%, 总磷的淋失率分别为 0.87%、1.16%、2.60%, 总氮淋失率大于总磷。3 个处理铜(Cu)、锌(Zn)、铬(Cr)淋失率均小于 2%, 铅(Pb)约 10%, 镉(Cd)约 20%; 重金属 Zn、Cu、Pb、Cr、Cd 在沙土中的滞留量均以 1.5 g/cm<sup>2</sup> 处理最大, 滞留量顺序为 Zn > Cu > Cr > Pb > Cd, Zn 最大, 约为 120.32 mg, Cd 最小, 约为 0.18 mg; 3 个处理滞留率 Zn、Cu、Cr 大于 95%, Pb 为约 90%, Cd 为约 80%。以 1.5 g/cm<sup>2</sup> 污泥施用量进行风险评估, 沙土中各单项重金属含量均远小于土壤环境质量三级标准, 内罗梅综合污染指数除 Zn(0.9)达警戒线值外, Cu、Pb、Cr、Cd 都远小于 0.7。城市污泥以 1.5 g/cm<sup>2</sup> 施用量改良沙土具有较好的可行性。

**关键词:**污水处理厂; 城市污泥; 沙土改良; 养分含量; 重金属污染; 淋溶; 滞留量; 风险评估; 内罗梅综合污染指数

**中图分类号:** X703 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)23-0300-04

城市污泥是指城市生活污水处理厂在污水处理过程中产生的固体废弃物。我国干污泥排放量为 550 万~600 万 t/年,

收稿日期: 2018-04-07

基金项目: 江西省科技计划(编号: 20142BBF60003)。

作者简介: 熊江波(1974—), 女, 硕士, 高级实验师, 主要从事环境监测与分析研究。E-mail: xjb13879103690@126.com。

通信作者: 赖发英, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事土壤污染治理与生态工程修复研究。E-mail: laifyjx@163.com。

而且每年以 20% 的速度递增<sup>[1]</sup>, 如何科学合理地处理处置这些污泥已成为当前亟待解决的问题<sup>[2]</sup>。李艳霞等对我国 29 个城市的污泥进行统计分析, 得出我国城市污泥(不包含工业污泥)有机质平均含量高达 384 g/kg, 氮、磷、钾分别为 27.0、14.3、7.0 g/kg, 有机质、氮和磷比纯猪粪分别高 1/3~2/3<sup>[3]</sup>。由于污泥中富含氮、磷和植物必需的微量元素, 使污泥成为一种极具潜力的肥料<sup>[4]</sup>。污泥土地利用已成为国际上污泥处置的重要途径之一, 在我国土地施用法处置的污泥

[13] Yang C F, Wang C C, Chen C H. Di-n-butyl phthalate removal by strain *Deinococcus* sp. R5 in batch reactors[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, 95: 55–60.

[14] 李 俊, 舒为群, 陈济安, 等. 降解 DBP 菌株 CQ0302 的分离鉴定及其降解特性[J]. *中国环境科学*, 2005, 25(1): 47–51.

[15] Jin D C, Liang R X, Dai Q Y, et al. Biodegradation of di-n-butyl phthalate by *Rhodococcus* sp. JDC-11 and molecular detection of 3,4-phthalate dioxygenase gene[J]. *Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2010, 20(10): 1440–1445.

[16] 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(1/2/3): 262–268.

[17] Wu X E, Wang Y Y, Liang R X, et al. Biodegradation of an endocrine-disrupting chemical di-n-butyl phthalate by newly isolated *Agrobacterium* sp. and the biochemical pathway[J]. *Process Biochemistry*, 2011, 46(5): 1090–1094.

[18] 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.

[19] 张 颖, 王丽华, 陈艺洋, 等. 一株 DBP 高效降解菌的筛选及降

解特性研究[J]. *东北农业大学学报*, 2016, 47(8): 46–54.

[20] 陈倩倩, 刘 波, 王阶平, 等. 芽孢杆菌 FIAT-28592 抗真菌脂肽的研究[J]. *农业生物技术学报*, 2016, 24(2): 261–269.

[21] 王永中, 肖亚中. 植物内生菌及其活性代谢产物[J]. *生物学杂志*, 2004, 21(4): 1–5.

[22] 黄丽丽, 乔宏萍, 康振生. 植物内生细菌及其在农业方面的应用研究[J]. *临沂大学学报*, 2006, 28(6): 63–68.

[23] Barzanti R, Ozino F, Bazzicalupo M, et al. Isolation and characterization of endophytic bacteria from the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum bertolonii*[J]. *Microbial Ecology*, 2007, 53(2): 306–316.

[24] Idris R, Trifonova R, Puschenreiter M, et al. Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2004, 70(5): 2667–2677.

[25] Lodewyckx C, Vangronsveld J, Porteous F, et al. Endophytic bacteria and their potential applications[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2002, 21(6): 583–606.

[26] Chen W M, Tang Y Q, Mori K, et al. Distribution of culturable endophytic bacteria in aquatic plants and their potential for bioremediation in polluted waters[J]. *Aquatic Biology*, 2012, 15(2): 99–110.