

好氧颗粒污泥及其高效菌株降解苯胺的试验研究

项正心, 张丽丽*, 陈建孟

(浙江工业大学生物与环境工程学院, 杭州 310032)

摘要: 以苯胺为唯一碳源和氮源, 培养降解高浓度苯胺废水的好氧颗粒污泥, 该体系对苯胺废水的最高耐受浓度高达 6 000 mg/L. 通过分离纯化, 从颗粒污泥体系中获得 2 株具有不同降解特征的苯胺降解菌 adx1 和 adx3, 菌株 adx1 在降解速率上具有明显优势, 而菌株 adx3 对苯胺的最高耐受浓度高于 adx1. 上述菌株在降解苯胺过程中均遵循 Haldane 动力学模型, 菌株 adx1 和 adx3 的最大比较降解速率分别为 0.924 g/(g·h) 和 0.645 g/(g·h), 比生长速率分别为 0.487 g/(g·h) 和 0.440 g/(g·h). 16S rDNA 测序结果表明 adx1 和 adx3 分别属于 *Pseudomonas* 和 *Achromobacter* 属, 与好氧颗粒污泥 PCR-DGGE 指纹图条带 1 和 4 测序结果一致, 表明上述菌株分别为好氧颗粒化体系中优势菌群之一.

关键词: 苯胺; 好氧颗粒污泥; *Pseudomonas*; *Achromobacter*

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)11-3336-06

Aniline Removal by Aerobic Granules and High-Efficiency Aniline-Degrading Bacteria

XIANG Zheng-xin, ZHANG Li-li, CHEN Jian-meng

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

Abstract: Aerobic granules were successfully cultivated with aniline as the sole source of carbon and nitrogen. This system could effectively degrade aniline as high as 6 000 mg/L. Two aniline-degrading strains which were named as adx1 and adx3, were isolated and purified from the aerobic granular sludge. The degradation characteristics of these two bacteria were different. The strain adx1 possessed a relatively higher degradation rate of aniline, while the strain adx3 could stand up to a higher concentration of aniline than the strain adx1. The degrading process of these two strains followed the Haldane kinetic model. The maximum aniline biodegradation rates of adx1 and adx3 were up to 0.924 g/(g·h) and 0.645 g/(g·h), respectively. The maximum specific growth rates were as high as 0.487 g/(g·h) and 0.440 g/(g·h), respectively. Identification by 16S rDNA gene sequence analysis showed that adx1 and adx3 were *Pseudomonas* sp. and *Achromobacter* sp., which was consistent with the identification by the bands 1 and 4 in the PCR-DGGE profile of the aerobic aniline-degrading granules. Therefore, it could be proposed that the strains adx1 and adx3 were one of the main functional microorganisms inhabited in the aerobic granules.

Key words: aniline; aerobic granular sludge; *Pseudomonas*; *Achromobacter*

苯胺是重要的有机化工原料之一, 由其制得的化工产品和中间体有 300 多种, 广泛应用于农药、医药、印染、塑料等行业, 制药、橡胶及其他许多化工厂的废水中均含有较高浓度的苯胺^[1]. 苯胺污染物因其毒性大, 对生物生态造成严重污染而被世界各国列为严重污染环境和危害人体健康的优先控制污染物^[2~5], 在工业排水中要求严格控制. 生物降解具有效率高、成本低、反应条件温和以及无二次污染等优点, 是废水中去除苯胺类污染物的重要途径之一.

目前, 国内外研究者对苯胺的生物降解已开展了大量研究工作, 已分离到一些在好氧或厌氧条件下降解苯胺的细菌, 主要有 *Pseudomonas*、*Acinetobacter*、*Rhodococcus*、*Frateria*、*Delftia acidovorans*、*Bacillus*、*Ochrobactrum anthracis* 等^[6~13], 也有利用活性污泥、生物膜反应器降解苯胺类污染物的报道^[14, 15]. 大量研究表明苯胺降解速率及耐受浓度仍是生物降解技术应用的瓶颈.

本研究以苯胺为唯一碳源和氮源, 培养出具有高效降解性能及耐受浓度的好氧颗粒污泥, 考察了好氧颗粒污泥体系对苯胺类物质的降解动力学特性及最高耐受浓度, 并从该体系分离纯化获得 2 株高效功能菌株, 对其种属特征及降解特性进行了分析.

1 材料与方法

1.1 污泥来源

取自中石化镇海炼化曝气池的活性污泥.

1.2 颗粒污泥的驯化培养基

以苯胺为唯一碳源和氮源, 磷由 KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 提供, 其中 COD:N:P 约为 100:5:1. $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.022 g/L, FeCl_3 0.005

收稿日期: 2008-12-02; 修订日期: 2009-03-09

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(Y507270)

作者简介: 项正心(1984~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为污水生物处理技术, E-mail: xiangzhengxin@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: llzhang@zjut.edu.cn

g/L, 1 mL/L 微量元素($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.13 g/L, ZnCl_2 0.23 g/L, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.42 g/L, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.15 g/L, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L)。

1.3 菌株分离纯化培养基

菌株分离纯化采用 MM 培养基(g/L): KH_2PO_4 0.24, Na_2HPO_4 0.24, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.069 6, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.022, FeCl_3 0.005, 微量元素($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.13 g/L, ZnCl_2 0.23 g/L, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.42 g/L, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.15 g/L, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L) 1 mL/L, 苯胺为唯一碳源和氮源, 浓度为 200 mg/L. pH 7.2, 121 °C, 20 min 灭菌。

1.4 颗粒污泥及菌株形态观察

颗粒污泥微生物相观察采用 Philip XL-30-ESEM 扫描电镜, 菌株形态观察采用 JEOL JEM-1230-TEM 透射电镜。

1.5 苯胺浓度测定

采用 Agilent Technologies 1200Series HPLC 分析。检测条件: Eclipse XDB-C18 反相柱(5 μm , 4.6 mm $\times$ 150 mm); 检测波长 230 nm; 流动相为 0.2 mL/L 磷酸溶液/ 甲醇= 75/25; 流速 0.8 mL/min; 进样量 5 μL ; 柱温 30 °C。

1.6 菌株的分离纯化

取 5 mL 污泥与 20 mL MM 培养液到 250 mL 锥形瓶中, 加入若干玻璃珠, 180 r/min 振荡 1 h, 取振荡后上清液, 在含苯胺 200 mg/L 的 MM 固体培养基上进行稀释涂布, 30 °C 培养。4 d 后取长势良好的单菌落接入含苯胺 200 mg/L 的 MM 液体培养基, 取对苯胺有降解效果的菌株在平板上划线分离, 如此分离纯化几次, 得到 2 株高效降解苯胺的纯菌。

1.7 菌种液制备

从固体培养基上接菌到含苯胺 500 mg/L 的 MM 培养液中, 30 °C, 180 r/min 摇床培养 24 h, 使其 $D_{600} = 1.2 \pm 0.05$ 。

菌浓度测定参照参考文献[16]。

1.8 颗粒污泥种群分析

DNA 提取采用 3S 柱离心式环境样品 DNA 回收试剂盒(V2.2, 上海申能博彩生物科技有限公司)的提取和纯化 DNA。

PCR 扩增: 16S rDNA V3 可变区进行 PCR 扩增, 选用细菌的通用引物 PRBA338f 和 PRUN518r, PCR 反应条件 94 °C 预变性 5 min, 30 个循环(94 °C 变性 60 s, 53 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 120 s), 最终 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保温 10 min. PCR 扩增产物经 1.5% Agarose

胶检验后于 -20 °C 保存备用。

变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析: 采用 Bio-rad DCode System 的基因突变检测系统对 PCR 产物进行分析。

目标条带分析: 从 DGGE 胶上割下目标条带的凝胶块, 回收 DNA, 以回收的 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 引物及反应条件同上. PCR 产物交由华大基因公司测序。

1.9 菌株 16S rDNA 序列分析

菌株 16S rDNA 的 PCR 扩增和序列测定: 采用 3S 柱离心式环境样品 DNA 回收试剂盒提取和纯化 DNA. PCR 扩增, 选用细菌的通用引物 BSF8/20 和 BSR1541/20. 94 °C 预变性 4 min, 35 个循环(94 °C 变性 60 s, 59 °C 退火 60 s, 72 °C 延伸 90 s), 最终 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保温 10 min. PCR 产物交由华大基因公司测序。

菌株 16S rDNA 序列分析: 利用 BLAST 将所测得序列与 GenBank 数据库中的 16S rDNA 基因序列进行同源性比较分析, 选取 1 400 bp 左右的长度进行比对[Clustex (1.81)], 采用邻位连接(Neighbour Joining, NJ)法进行系统学分析(MEGA)。

2 结果与讨论

2.1 颗粒污泥内微生物相的观察

图 1 为驯化培养 30d 的颗粒污泥轮廓及其微生物形态的电镜照片。颗粒污泥外观呈椭球形, 结构致密, 具有清晰的轮廓[图 1(a)], 其表面聚集的微生物群落以短杆菌、球菌为主, 可见少量丝状菌[图 1(b)]。

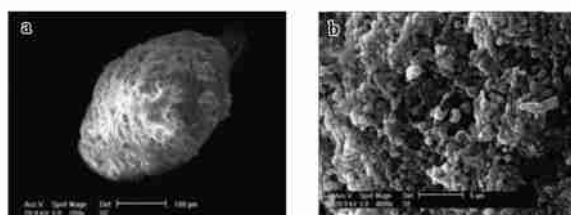


图 1 颗粒污泥电镜照片

Fig. 1 SEM images of aerobic granules

2.2 颗粒污泥苯胺降解曲线及其动力学

取 13 个 500 mL 锥形瓶, 在瓶中加入 50 mL 驯化后污泥及 50 mL 新鲜培养液, 分别加入 50、100、200、400、500、600、800、1 500、2 500、3 500、4 500、6 000、7 000 mg/L 的苯胺, 苯胺随时间的降解曲线如图 2。当苯胺浓度不超过 6 000 mg/L 时, 污泥均可以较好地降解苯胺, 苯胺对微生物的抑制作用不

明显,降解过程中抑制期较短.当苯胺浓度达到 7 000 mg/L 时,苯胺在 72 h 内去除率仅为 8% 左右,可能是高浓度苯胺的毒性抑制了微生物对苯胺的降解.据报道,生物法降解苯胺的最高浓度为 2 000

mg/L 左右^[17],这可能由于好氧颗粒化体系中的微生物群体构成了一个任何微生物个体都难以单独胜任的高效代谢网,且能形成对微生物个体的保护,从而增强了对有毒污染物的耐受能力和降解性能.

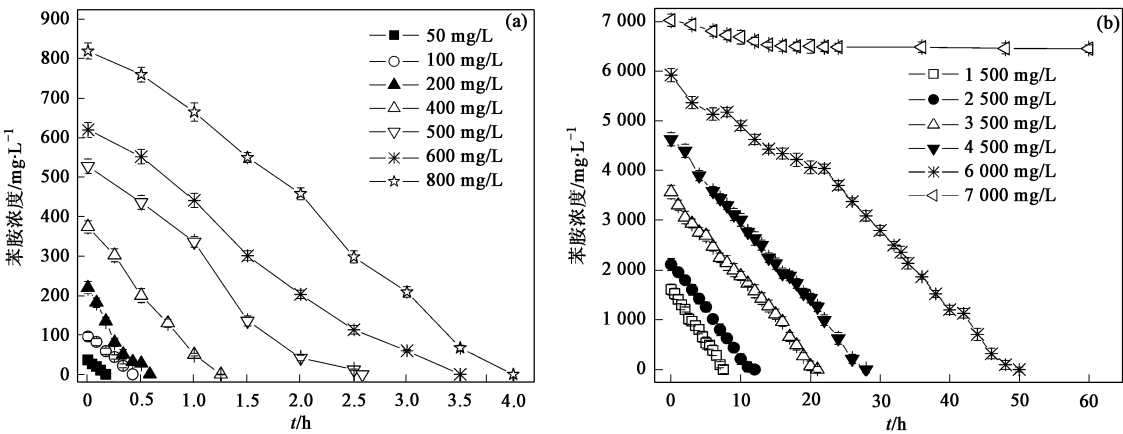


图 2 污泥降解苯胺曲线
Fig. 2 Aniline degradation by aerobic granule sludge

2.3 微生物群落结构分析

应用 PCR-DGGE 指纹图分析微生物菌落.取好氧颗粒污泥提取 DNA 进行 16S rDNA V3 可变区特异性片段扩增,其 PCR 产物通过 DGGE 分析,所得指纹图如图 3 所示,泳道 b 为 a 的平行样.

对 DGGE 图谱上的主要特征条带 1~ 5 进行割胶回收、重新扩增和电泳检测,所得的样品经测序,得到片段长度在 170~ 190 bp,通过 Blast 程序与 GenBank 中核酸数据进行比对分析(表 1).颗粒污泥内主要菌群分别属于 *Pseudomonas*、*Flavobacteria*、*Achromobacter*、*Thermophilic*.而有文献报道,*Pseudomonas* 和 *Flavobacteria* 均是苯胺主要降解菌^[18, 19],另报道 *Achromobacter* 可降解对硝基苯酚^[20].

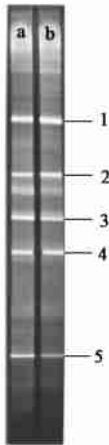


图 3 好氧颗粒污泥 DGGE 指纹图
Fig. 3 DGGE fingerprints of PCR-amplified 16S rDNA from aniline-degrading aerobic granules

表 1 部分优势菌 16S rDNA DGGE 片段测序分析结果
Table 1 Sequencing results of several 16S rDNA DGGE fragments

条带	序列长度/bp	相似菌种(登录号)	相似度/%	菌属
1	186	<i>Pseudomonas putida</i> strain HF3-45(FJ405893)	100	<i>Pseudomonas</i>
2	182	<i>Pseudomonas</i> sp. KNU C271(EU239186)	100	<i>Pseudomonas</i>
3	171	<i>Flavobacterium</i> sp. BF63(AM934678)	99	<i>Flavobacteri</i> a
4	170	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> strain (AF411020)	98	<i>Achromobacter</i>
5	191	<i>Gamma proteobacterium</i> WJ2(AJ630298)	98	<i>Thermophilic</i>

2.4 菌株形态特征

菌株 adx1 菌落形态为白色透明,圆形,边缘整

齐,凸状隆起.电镜观察,呈杆状,大小为(0.5~ 0.8) $\mu\text{m} \times (1.0 \sim 1.5) \mu\text{m}$,无鞭毛,无芽孢,如图 4(a).菌

株 *adx3* 菌落形态为黄色, 圆形, 边缘整齐, 凸状隆起. 电镜观察, 大小为 $(0.5 \sim 0.7) \mu\text{m} \times (0.9 \sim 1.2) \mu\text{m}$, 无鞭毛, 无芽孢, 如图 4(b).

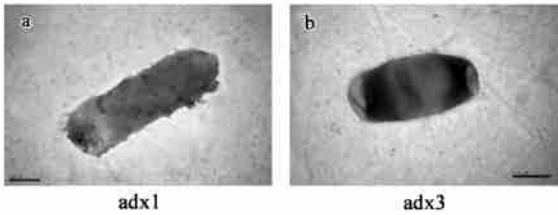


图 4 菌株电镜照片
Fig.4 TEM images of bacteria

2.5 菌株苯胺降解曲线及生长速率

将两菌株分别以 2% 的接种量接入 50mL MM 培养液中($D_{600} = 0.04$), *adx1* 菌株降解的苯胺浓度范围为 50~ 3 000 mg/L; *adx3* 菌株降解的苯胺浓度分别为 50~ 4 500 mg/L. 图 5(a) 和 (b) 分别为菌株 *adx1* 和 *adx3* 的苯胺降解曲线. 菌株 *adx1* 和 *adx3* 在苯胺初始浓度分别不超过 2 500 mg/L 和 4 000 mg/L 时, 苯胺去除率可达 95% 以上, 而当苯胺初始浓度分别达 3 000 mg/L 和 4 500 mg/L 时, 上述菌株对苯胺在 120 h 内的去除率均约为 25%, 微生物生长受到抑制. 此外, 在苯胺初始浓度相同的情况下, 菌株 *adx1* 对苯胺的降解速率明显高于 *adx3*, 而菌株 *adx3* 对苯胺的最高耐受浓度高于 *adx1*, 表明颗粒化体系中的菌株 *adx1* 和 *adx3* 对苯胺的降解特征明显不同.

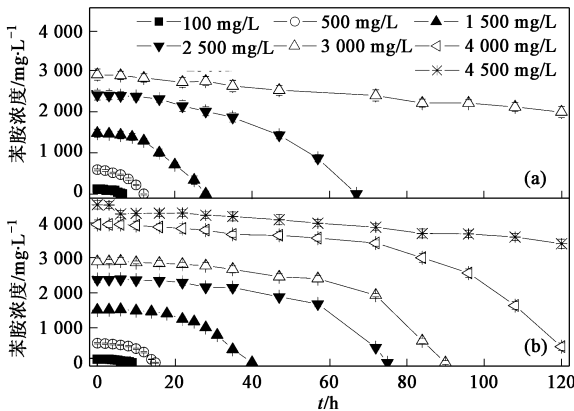


图 5 菌株降解曲线
Fig.5 Aniline degradation by strains *adx1* and *adx3*

2.6 菌株比生长速率及降解动力学

由不同苯胺初始浓度的降解过程得出, 菌株 *adx1* 和 *adx3* 的生长和降解符合 Haldane 动力学模型. Haldane 动力学方程如下:

$$\frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S + S^2/K_i}$$

$$\frac{1}{X} \frac{dS}{dt} = - \frac{v_{\max} S}{K_s + S + S^2/K_i}$$

式中, X 为菌浓度, mg/L; t 为时间, h; S 为底物浓度 (以苯胺计), mg/L; $\mu_{\max}$ 为菌株最大比生长速率, $g/(g \cdot h)$; K_s 为半饱和系数 (以苯胺计), mg/L; K_i 为抑制系数, mg/L; $v_{\max}$ 为最大比降解速率, $g/(g \cdot h)$.

应用上述动力学方程, 对菌株降解不同浓度苯胺的序批实验结果进行拟合. 图 6(a) 和 (b) 分别为菌株 *adx1* 和 *adx3* 的比生长速率动力学曲线. *adx1* 的比生长动力学参数分别为 $\mu_{\max} = 0.487 g/(g \cdot h)$, $K_s = 84.854 \text{ mg/L}$, $K_i = 246.723 \text{ mg/L}$; *adx3* 的比生长动力学参数分别为 $\mu_{\max} = 0.440 g/(g \cdot h)$, $K_s = 138.882 \text{ mg/L}$, $K_i = 211.038 \text{ mg/L}$. 图 6(c) 和 (d) 分别为菌株 *adx1* 和 *adx3* 的比降解速率动力学曲线, *adx1* 和 *adx3* 的最大比降解速率分别为 $0.924 g/(g \cdot h)$ 和 $0.645 g/(g \cdot h)$. 可见, 菌株 *adx1* 的最大比生长速率和比降解速率均高于菌株 *adx3*.

2.7 菌株的生理生化特性及 16S rDNA 序列分析

菌株 *adx1* 的主要生理生化特性为: 革兰氏染色显阴性, 氧化酶、过氧化氢酶、明胶液化均为阳性, 吡啶实验、甲基红实验、V-P 实验、硫化氢实验、葡萄糖、乳糖实验、淀粉水解酶实验、硝酸盐实验均为阴性. 菌株 *adx3* 革兰氏染色阴性, 氧化酶、过氧化氢酶、V-P 实验均为阳性, 明胶液化、吡啶实验、甲基红实验、硫化氢实验、葡萄糖、乳糖实验、淀粉水解酶实验均为阴性, 硝酸盐还原产气.

菌株 *adx1* 和 *adx3* 在 GenBank 中的序列登录号分别为 FJ169466 和 FJ169468, 利用 BLAST 将所测得的菌株 *adx1* 和 *adx3* 的 16S rDNA 序列与 GenBank 数据序列进行同源性比较, 结果显示, 菌株 *adx1* 和 *adx3* 分别与假单胞菌属的 *Pseudomonas putida* 和无色杆菌属的 *Achromobacter piechaudii* 同源性最高, 均为 99%. 根据 *adx1* 和 *adx3* 的 16S rDNA 序列分别与假单胞菌属和无色杆菌属相关菌种的 16S rDNA 序列做系统进化树, 结果见图 7 和图 8, 菌株 *adx1* 和 *adx3* 分别处于 *Pseudomonas* 和 *Achromobacter* 属之中.

Pseudomonas 为常见的苯胺降解菌属^[8], 而无色杆菌属 *Achromobacter* 是活性污泥菌胶团中常见的优势菌之一, 目前尚未发现利用无色杆菌属 *Achromobacter* 降解苯胺的报道. 上述菌株 16S rDNA 测序结果与好氧颗粒污泥 PCR-DGGE 指纹图中条带 1 和 4 测序结果一致 (图 3), 表明它们分别为降解苯胺的好氧颗粒化体系中优势菌群之一, 假单胞菌属

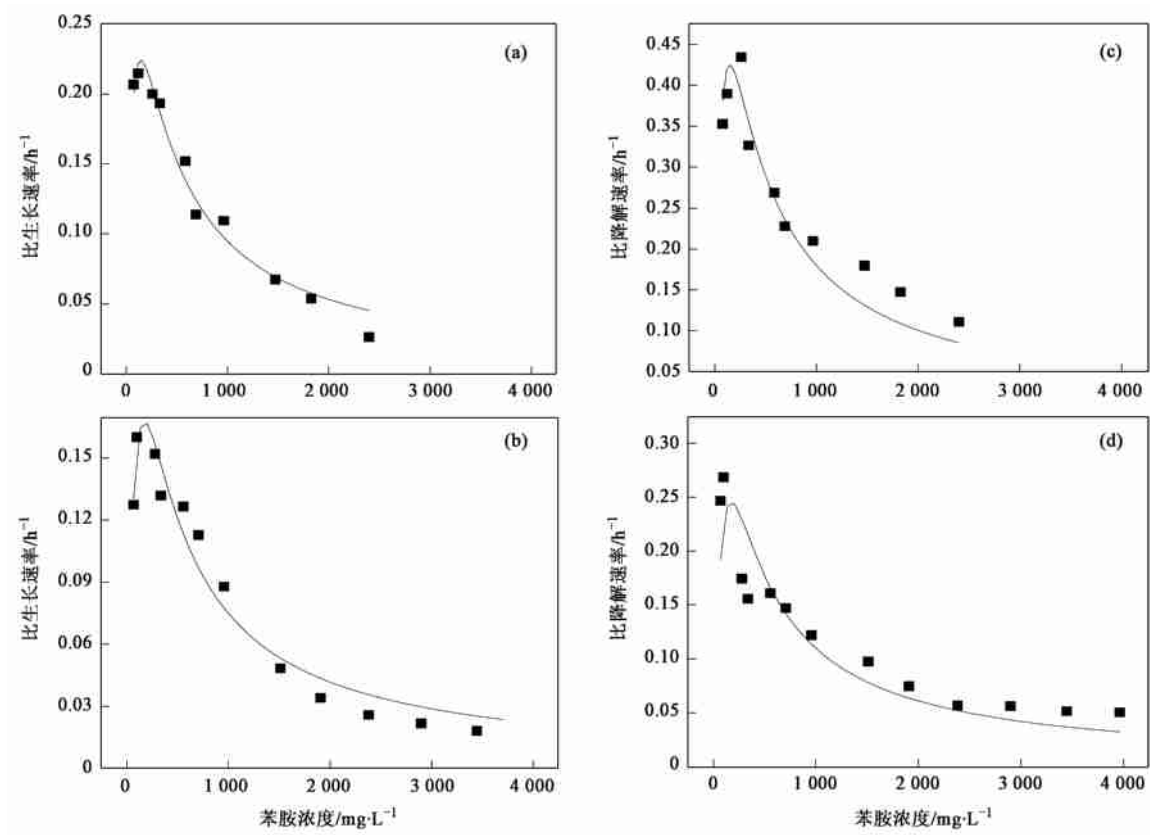


图 6 菌株降解苯胺动力学曲线

Fig. 6 Aniline biodegradation kinetics by strains adx1 and adx3

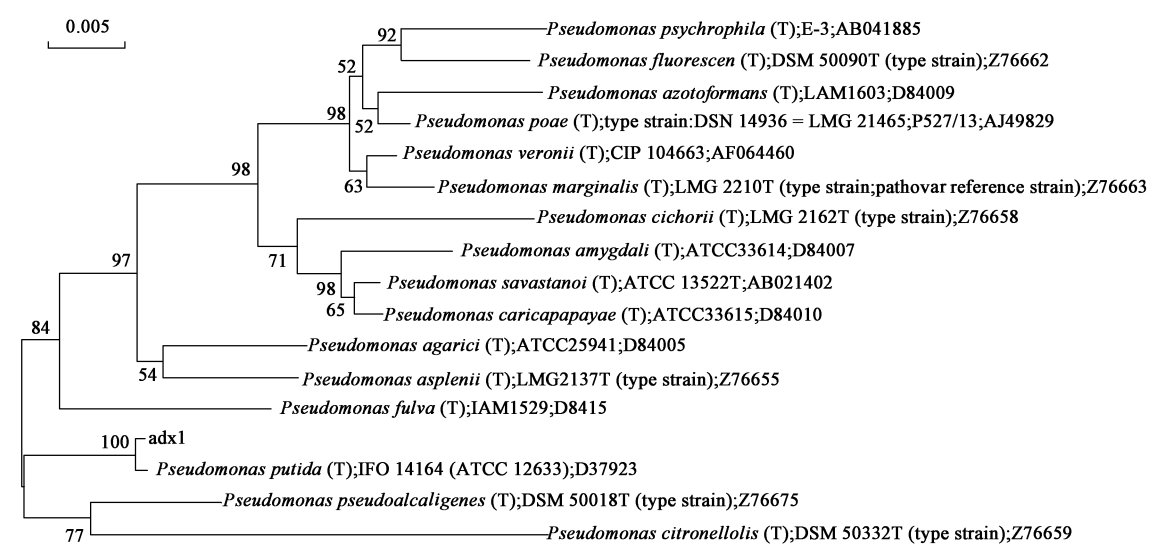


图 7 菌株 *adx1* 的 16S rDNA 序列系统进化树

Fig. 7 Phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequence of *adx1* with its related species

的 *Pseudomonas putida* 具有较高的降解速率,而无色杆菌属 *Achromobacter* 则具有较高的耐受能力,可推

测其在好氧颗粒化体系苯胺降解过程中将发挥不同的作用。

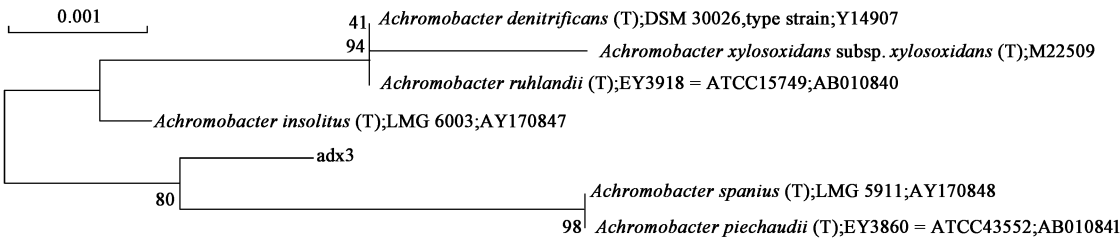


图 8 菌株 *adx3* 的 16S rDNA 序列系统进化树

Fig. 8 Phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequence of *adx3* with its related species

3 结论

- (1) 以苯胺为唯一碳源和氮源, 可成功培养出降解苯胺废水的好氧颗粒污泥, 对苯胺最高耐受浓度可达6 000 mg/L, 去除率可达 99% 以上.
- (2) 好氧颗粒污泥 PCR-DGGE 图谱上的特征条带回收测序, 结果表明, 颗粒污泥中的主要菌群分别属于 *Pseudomonas*、*Flavobacteria*、*Achromobacter*、*Thermophilic* 类群.
- (3) 从好氧颗粒污泥体系中筛选获得 2 株苯胺高效降解菌 *adx1* 和 *adx3*. 经 16S rDNA 鉴定菌株 *adx1* 和 *adx3* 分别处于 *Pseudomonas* 和 *Achromobacter* 类群之中, 与颗粒污泥 DGGE 指纹图中条带 1 和 4 结果一致, 表明 *adx1* 和 *adx3* 分别为颗粒化体系中优势功能菌群之一.
- (4) 菌株 *adx1* 和 *adx3* 均可高效降解苯胺, 降解过程遵循 Haldane 动力学模型, 但降解特征明显不同, 菌株 *adx1* 在降解速率上具有明显优势, 而菌株 *adx3* 对苯胺的最高耐受浓度高于 *adx1*, 可推测其 在好氧颗粒化微生物生态体系中发挥不同的作用.

参考文献:

[1] Kearney P C, Kaufman D D. *Herbicides: Chemistry, Degradation and Mode of Action*[M]. (2nd ed). New York: Marcel Dekker, 1975.

[2] Emtiazi G, Satani M, Mazaherion F. The utilization of aniline, chlorinated aniline, and aniline blue as the only source of nitrogen by fungi in water[J]. *Wat Res*, 2001, **35**(5): 1219-1224.

[3] Bhunia F, Saha N C, Kaviraj A. Effects of aniline-an aromatic amine to some freshwater organisms[J]. *Ecotoxicology*, 2003, **12**(5): 397-404.

[4] Chung K T, Kirkovsky L, Kirkovsky A, *et al.* Review of mutagenicity of monocyclic aromatic amines: quantitative structure-activity relationships[J]. *Mutation Res*, 1997, **387**(1): 1-16.

[5] Crabtree H C, Hart D, Thomas M C, *et al.* Carcinogenic ranking of aromatic amines and nitro compounds[J]. *Mutation Res*, 1991, **264**(4): 155-162.

[6] Konopka A, Knight D, Turco R F. Characterization of a *Pseudomonas* sp. capable of aniline degradation in the presence of secondary carbon sources[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1989, **55**(2): 385-389.

[7] Kim S I, Ha K S, Leem S H. Differential organization and transcription of the *cat2* gene cluster in aniline-assimilating *Achromobacter lwoffii* K24[J]. *Biosci Bioeng*, 1999, **88**(3): 250-257.

[8] 王薇, 张逸飞, 顾挺, 等. 苯胺降解菌的分离鉴定及其降解特性研究[J]. *农业环境科学学报*, 2008, **27**(3): 964-969.

[9] Aoki K, Ohtsuka K, Shinke R, *et al.* Rapid biodegradation of aniline by *Frutaria* species ANA-18[J]. *Agri Biol Chem*, 1984, **48**(4): 856-872.

[10] 章健, 刘庆都. 苯胺的微生物降解[J]. *安徽农业大学学报*, 1997, **24**(3): 283-286.

[11] 刘志培, 杨惠芳. 苯胺降解菌的分离和特性研究[J]. *环境科学学报*, 1999, **19**(2): 174-179.

[12] 韦海潮, 任源, 吴超飞. *Ochrobactrum anthropi* 对苯胺的降解特性[J]. *环境科学*, 1998, **19**(5): 22-24.

[13] 任随周, 郭俊, 曾国驱, 等. 2 株苯胺降解菌的分离鉴定及其降解特性研究[J]. *环境科学*, 2006, **27**(12): 2525-2530.

[14] 曹宏斌, 李玉平, 陈艳丽, 等. 生物膜接触氧化法处理苯胺废水[J]. *环境科学学报*, 2004, **24**(1): 33-37.

[15] 盛多红, 张素琴, 海舟. 一株高浓度苯胺降解菌的分离[J]. *应用与环境生物学报*, 1999, **5**(增刊): 18-20.

[16] Jiang H L, Tay J H, Maszenan A M, *et al.* Bacterial diversity and function of aerobic granules engineered in a sequencing batch reactor for phenol degradation[J]. *Appl Microbiol Biotchnol*, 2004, **70**(11): 6767-6775.

[17] 朱靖, 许炉生. 生物膜电极法处理高浓度苯胺废水的研究[J]. *环境污染与防治*, 2003, **25**(5): 307-311.

[18] 曾国驱, 任随周, 曹涓, 等. 兼性厌氧苯胺降解菌的分离鉴定及其特性[J]. *环境科学*, 2006, **27**(8): 1618-1622.

[19] 朱亮, 徐向阳, 曹丹凤, 等. 降解苯胺和氯苯胺类污染物好氧污泥颗粒化及微生物种群结构分析[J]. *微生物学报*, 2007, **47**(4): 654-661.

[20] 万年升, 顾继东, 黄锦辉, 等. *Achromobacter xylosoxidans* NS12 的分离和对硝基苯酚的降解[J]. *环境科学*, 2007, **28**(2): 422-426.