

Biodegradation of Polybrominated Diphenyl Ethers in Mesophilic Anaerobic Digestion of Sewage Sludge

Gang Niu¹, Dachao Sheng¹, Hong Wang¹, Zhigang Liu², Ling Chen¹, Xiaohu Dai², Xiangzhou Meng^{1*}

¹State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai

²National Engineering Research Center for Urban Pollution Control, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai

Email: 15800521713@163.com, *xzmeng@tongji.edu.cn

Received: Nov. 17th, 2016; accepted: Dec. 3rd, 2016; published: Dec. 6th, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

As persistent organic pollutants, polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) were frequently detected in sewage sludge worldwide. The occurrence of PBDEs as well as the irpotential environmental risk was widely concerned in recent years. However, few studies were conducted on the fate of PBDEs during the disposal of sewage sludge. The present study developed a small-scale anaerobic digestion reactor to explore the degradation of PBDEs in sewage sludge in 60 days. Meanwhile, the microbial structure in sludge was analyzed, aiming to further identify the responsible species for the degradation. Results showed that the mesophilic anaerobic digestion reaction reached to equilibrium after two sludge age running (40 days). The mass of BDE-209, a main component of PBDEs in sewage sludge, increased in the first sludge age and then decreased in the following two ages with a degradation rate of 67.5%. For all other PBDE congeners, the mass increased dramatically in the third sludge age, especially for three nona-brominated congeners BDE-206, 207, and 208. Based on mass changes and chemical structures of three nona-brominated congeners, the debromination of BDE-209 is more likely to occur in meta- and ortho-position of bromine rather than para-position. Other degradation products containing bromine are also expected. High-throughput sequencing results indicated that the microbial species in anaerobic sewage sludge is diverse, of which *dehalococcoidaceae* could be contributed more to the degradation of PBDEs. The findings could provide help in the isolation and culture of strains for degradation of PBDEs in sludge.

*通讯作者。

Keywords

Sewage Sludge, Polybrominated Diphenyl Ethers, Anaerobic Digestion, Microbial Degradation, High-Throughput Sequencing

污泥中温厌氧消化过程中多溴联苯醚的生物降解研究

牛刚¹, 盛大超¹, 王虹¹, 刘志刚², 陈玲¹, 戴晓虎², 孟祥周^{1*}

¹同济大学环境科学与工程学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海

²同济大学环境科学与工程学院, 城市污染控制国家工程研究中心, 上海

Email: 15800521713@163.com, *xzmeng@tongji.edu.cn

收稿日期: 2016年11月17日; 录用日期: 2016年12月3日; 发布日期: 2016年12月6日

摘要

多溴联苯醚(PBDEs)是城市污泥中普遍存在的一种持久性有机污染物, 其残留浓度与生态风险近年来受到广泛关注, 但关于污泥处置过程中PBDEs归宿的研究相对较少。本文通过建立小型规模实验装置, 连续运行60天, 考察了典型城市污泥中温厌氧消化过程中PBDEs的生物降解过程, 并初步分析了导致PBDEs降解的微生物群落组成。结果表明: 经过两个泥龄阶段(40天)的运行, 厌氧消化反应达到稳定状态。污泥中主要的PBDEs同系物BDE-209的质量呈现先增加后减少的趋势, 在整个厌氧消化过程中, 降解率达67.5%。其它PBDEs同系物则在第III泥龄阶段均表现出增加的趋势, 特别是三种九溴化合物BDE-206、207和208。根据九溴化合物的增加量及其化合物分子结构, 发现BDE-209脱溴降解主要发生在邻位和间位溴原子上, 同时也有其它含溴化合物的生成。通过16S rDNA高通量测序技术测定表明, 污泥厌氧消化过程中微生物群落组成丰度较高, 多样性较大, 其中脱卤球菌科(*Dehalococcoidaceae*)有可能在PBDEs的降解中起到一定作用。这为进一步分离筛选和培养污泥中厌氧降解PBDEs的优势菌种提供了依据。

关键词

污泥, 多溴联苯醚, 厌氧消化, 微生物降解, 高通量测序

1. 引言

多溴联苯醚(polybrominated diphenyl ethers, 简称 PBDEs)是一种添加型溴代阻燃剂, 曾广泛应用于塑料、纺织品和泡沫等产品中。根据 Br 取代数目及取代位置的不同, PBDEs 共有 209 种同系物[1]。PBDEs 在环境中难以自然降解, 可在生物体内产生累积, 并可通过食物链进行富集。PBDEs 的大量生产和使用导致其广泛存在于各种环境介质中[2] [3] [4]。研究表明, 1981~2000 年间加拿大北极环斑海豹(*Phoca hispida*)体内 PBDEs 浓度一直处于增长趋势, 科学家预计在 2050 年 PBDEs 将成为该生物体内最主要的有机卤素化合物[5]。

高溴代联苯醚可以微生物降解生成毒性更强的低溴代联苯醚。Rayne 等[6]对 PBDEs 的厌氧微生物降解进行了研究, 结果表明 BDE-15 可以在污水厌氧处理过程中脱溴生成 BDE-3 和联苯醚。Gerecke 等[7]以城市污水处理厂消化污泥为接种物, 对 BDE-209 进行降解, 在培养基质中检测到了 2 种九溴联苯醚和 6 种八溴联苯醚同系物, 证明 BDE-209 发生了脱溴降解。He 等[8]研究了厌氧菌 *Sulfurospirillum multivorans* 和 *Dehalococcoides* sp. 对十溴联苯醚(deca-BDE)和八溴联苯醚(octa-BDE)的降解情况。*Sulfurospirillum multivorans* 可降解 deca-BDE, 但不能降解 octa-BDE; 相反, *Dehalococcoides* sp. 可以降解 octa-BDE, 但不能降解 deca-BDE。Lee 等[9]采集不同区域的土壤和沉积物用于 octa-BDE 的降解研究, 发现 octa-BDE 在大部分样品中可发生微生物脱溴过程。Tokarz 等[10]和 Huang 等[11]对 PBDEs 的厌氧降解途径进行了较为详细的研究, 高溴代联苯醚在还原脱溴作用下, 可脱去邻位、间位或对位的溴原子, 生成相应的低溴代产物。

城市污泥中普遍含有 PBDEs [12], 随着污泥的排放, 这些持久性有机污染物将可能会再次进入环境中, 对生态系统和人类形成潜在危害。目前对污泥中 PBDEs 厌氧生物降解的研究多集中在采用序批式实验培养方法, 但是对于工程实际中的污泥厌氧消化厂, 由于在一定的工艺参数下连续运行, 与序批式的培养方式有很大不同。本论文拟通过建立和运行实验室规模的污泥厌氧消化反应器, 来探讨污泥厌氧消化过程中 PBDEs 的降解过程。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

多溴联苯醚标准物质: BDE-17、28、33、47、49、66、99、100、138、153、154、183、190、196、203、206、207、208 和 209 购自美国 Accustandard 公司。回收率指示物标样: BDE-50 和 BDE-172 及内标 BDE-118 和 BDE-128 均购自美国 Accustandard 公司。丙酮、正己烷和二氯甲烷均为色谱纯级, 购自德国 CNW 公司。

2.2. 实验装置

实验所用污泥厌氧消化实验装置由钢材制成, 设有内外两腔, 外腔中注满水, 通过连接的加热和温控装置使内腔保持恒定的温度($35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)。内腔容积为 6 L, 是污泥进行厌氧消化反应的场所, 在外腔的保护下, 可以在运行中维持良好的厌氧状态。该厌氧消化反应器连有搅拌装置, 可设定搅拌速率, 实现反应物不同程度的混匀。进出料口采用密封设计, 可以防止进出污泥的过程中有气体进入或泄露。内腔设有一个气体出口, 与湿式气体流量计相连, 用来测量反应器运行过程中气体的产量。

2.3. 实验方法

污泥厌氧硝化反应装置运行经历驯化和反应两个阶段, 驯化阶段所用污泥来自上海安亭污水处理厂。首先在反应器中加入 6 kg 安亭污泥, 然后每天进出安亭污泥 300 g, 反应器转速设为 60 rpm, 每 10 min 搅拌 1 min, 使反应物充分混合。实验过程中每天记录气体产生量, 直到反应器厌氧消化达到稳定状态。反应阶段每天向反应器加入 300 g 实验污泥(取自上海白龙港污水处理厂), 运行条件和驯化阶段污泥相同, 反应阶段持续 3 个污泥龄, 共 60 d。在反应阶段, 每天记录气体产量, 每 3 d 测定 pH、总固体含量(TS)、挥发性固体含量(VS)、总氨氮(TAN)和总碱度(TA, 以 CaCO_3 计)等指标。同时, 每天采集反应器出污泥样品, 用于后续 PBDEs 测定和 16S rDNA 高通量测序分析。实验污泥样品每隔 15 d 采集一次, 共采集 5 次。接种污泥在驯化阶段结束时, 平行采集 3 次, 用于监控储存期间污泥中 PBDEs 的变化。在反应阶段, 每天记录气体产量, 同时采集反应器内污泥样品, 用于后续 PBDEs 测定和 16S rDNA 高通量测序分析。

2.4. 污泥基本指标分析

污泥 pH 由 Mettler Toledo FE20 型 pH 计直接测得, TS、VS 和 TAN 的测定方法参照美国公共卫生协会(APHA)发布的《水和废水标准检验法》(第 19 版)。为了减少色度和浊度的影响, TA 通过自动碱度滴定仪测定, 滴定终点 pH 设为 4.3。

2.5. 多溴联苯醚的分析

污泥中 PBDEs 的分析参考文献[12]中报道的方法, 即污泥样品经冷冻干燥 48 h 后研磨, 过 60 目筛。取约 0.2 g 污泥样品, 加入 100 μ L 回标(BDE-52, 172), 用 110 mL 二氯甲烷索氏提取 48 h。向提取液中加入 2 mL 浓 H_2SO_4 以去除污泥中的有机质组份, 静止分层后, 将有机层再次通过凝胶色谱柱净化。之后, 向提取液中加入 Cu 片以去除其中的硫。样品浓缩后, 加入内标(BDE-118, 128), 用于后续的仪器分析。PBDEs 的测定使用气相色谱质谱联用仪(Agilent 7890A/5975C), 色谱柱为 DB-5(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m, J & W Scientific)。低溴联苯醚(三至七溴联苯醚, BDE-17、28、33、47、49、66、99、100、138、153、154、183 和 190)的色谱柱升温程序为: 初始温度 80 $^{\circ}C$ (保持 2 min); 之后 12 $^{\circ}C/min$ 升温到 140 $^{\circ}C$, 然后 5 $^{\circ}C/min$ 升温到 280 $^{\circ}C$ (保持 5 min); 后运行 300 $^{\circ}C$ (保持 15 min)。高溴联苯醚(八至十溴联苯醚, BDE-196、203、206、207、208 和 209)的色谱柱升温程序为: 初始温度 110 $^{\circ}C$ (保持 1 min); 然后 10 $^{\circ}C/min$ 升温到 290 $^{\circ}C$ (保持 11 min); 后运行 300 $^{\circ}C$ (保持 15 min)。载气为高纯氦气, 色谱柱流速为 1.36 mL/min, 进样口温度为 280 $^{\circ}C$, 进样量 1 μ L, 进样方式为不分流进样。电离方式选择负化学电离模式, 反应气为甲烷, 离子源温度 200 $^{\circ}C$ 。采用选择性离子检测模式, 除 BDE-209 外, 所有化合物的扫描离子为 79、81; BDE-209 的扫描离子为 79、81、486.70 和 488.70。

2.6. 16S rDNA 测序

以 5-50 ng DNA 为模板, PCR 扩增细菌 16S rDNA 上包括 V3、V4 和 V5 的 3 个高度可变区。通过 PCR 向 16S rDNA 的 PCR 产物末端加上带有 Index 的接头。其中, V3 和 V4 高度可变区进行扩增的正向引物包含序列“CCTACGGRRBGCASCAGKVRVGAAT”, 进行扩增的反相引物包含序列“GGACTAC NVGGGTWTCTAATCC”。V4 和 V5 高度可变区进行扩增的正向引物包含序列“GTGYCAGCMGCCGC GGTAAT”, 进行扩增的反相引物包含序列“CTTGTGCGGKCCCCGCAATTC”。然后, 使用生物分析仪(Agilent 2100)检测文库质量, 并且通过 Qubit 和实时定量 PCR (Applied Biosystems)检测文库浓度。DNA 文库混合后, 进行 2 \times 250 bp 双端测序, 并读取序列信息, 最后在 Illumina basespace 云端计算平台进行初始分类分析。

2.7. 质量控制与保障

污泥样品分析过程中, 同时分析方法空白、加标空白及其平行样来进行质量控制和质量保证。每个样品中均加入回收率指示物(BDE-50 和 BDE-172), 其回收率为分别为 99.29% \pm %8.54% 和 87.02% \pm %6.48%。以干重计, 目标物 BDE-17、28 + 33、47、49、66、99、100、138、153、154、183、190、196、203、206、207、208 和 209 的方法检出限依次为 0.15、0.37、0.17、0.07、0.17、0.15、0.11、0.20、0.10、0.09、0.15、0.09、0.50、0.20、0.54、1.3、0.90 和 0.59 ng/g。样品中 PBDEs 同系物通读低于其检测限时, 以 1/2 检测限计。样品浓度均扣除空白值, 且不经回收率校正。

2.8. 数据分析

实验所用污泥厌氧消化实验装置由钢材制成, 设有内外两腔, 外腔中注满水, 通过连接的加热和温

控装置使内腔保持恒定的温度(35°C ± 1°C)。内腔容积为 6 L, 是污泥进行厌氧消化反应的场所, 在外腔的保护下, 可以在运行中维持良好的厌氧状态。该厌氧消化反应器连有搅拌装置, 可设定搅拌速率, 实现反应物不同程度的混匀。进出料口采用密封设计, 可以防止进出污泥的过程中有气体进入或泄露。内腔设有一个气体出口, 与湿式气体流量计相连, 用来测量反应器运行过程中气体的产量。

2.8.1. 污泥中 PBDEs 质量的变化

厌氧消化反应中污泥所含 PBDEs 质量的变化由其浓度计算得到, 如公式(1)所示。

$$\Delta M = \Delta C \times V \times \theta \quad (1)$$

其中, ΔM 表示污泥中 PBDEs 质量的日变化量(μg), ΔC 表示污泥中 PBDEs 浓度的日变化量(ng/g dw), V 表示厌氧消化反应器体积(L, 此值恒定为 6 L), θ 表示污泥的含水率(测定值为 18.6%, 假定反应过程中该值恒定), k 表示单位转换系数。

污泥中 PBDEs 浓度的变化可由公式(2)计算得到。

$$\Delta C = C_{\text{exp}(i)} - C_{\text{Pre}(i)} \quad (2)$$

其中, $C_{\text{exp}(i)}$ 表示反应第 i 天污泥中 PBDEs 的测定值(ng/g dw), $C_{\text{Pre}(i)}$ 表示反应第 i 天污泥中 PBDEs 的预测值(ng/g dw), 可由公式(3)计算得到。

$$C_{\text{Pre}(i)} = \left(C_{\text{exp}(i-1)} \times V + C_0 \right) / (V + v) \quad (3)$$

其中, $C_{\text{exp}(i-1)}$ 表示反应第 $i-1$ 天污泥中 PBDEs 的测定值(ng/g dw), v 表示每天加入的污泥量(L, 此值恒定为 0.3 L, 假定 300 g 污泥的体积为 0.3 L)。

2.8.2. 污泥中 PBDEs 所含溴元素摩尔数(物质的量)

厌氧消化污泥中 PBDEs 所含溴元素摩尔数可由公式(4)计算得到。

$$n_{\text{exp}(i)} = \left(C_{\text{exp}(i)} \times V \times \theta \times m \times k \right) / MW \quad (4)$$

其中, $n_{\text{exp}(i)}$ 表示反应第 i 天污泥中 PBDEs 所含 Br 摩尔数的测定值(μmol), m 表示 PBDEs 各同系物所含的溴原子个数, MW 表示 PBDEs 各同系物的分子量(g/mol)。

另外, 我们假定污泥中的 PBDEs 在厌氧消化反应中未发生降解, 此时可以根据公式(5)计算得到 PBDEs 所含 Br 摩尔数的预测值

$$n_{\text{Pre}(i)} = n_{\text{exp}(i)} + \Delta n_i \quad (5)$$

其中, $n_{\text{Pre}(i)}$ 表示反应第 i 天污泥中 PBDEs 所含 Br 摩尔数的预测值(μmol), Δn_i 表示反应第 i 天污泥中 PBDEs 所含 Br 摩尔数的变化值(μmol), 可由公式(6)计算得到。

$$\Delta n_i = \left(\Delta C \times V \times \theta \times m \times k \right) / MW \quad (6)$$

3. 结果与讨论

3.1. 污泥的基本性质

接种污泥(即驯化后污泥)和实验污泥(即厌氧消化反应所用污泥)的基本性质如表 1 所示。接种污泥和实验污泥的 pH 初始值分别为 8.0 和 7.5, 适于进行厌氧消化反应[13]。两种污泥的 TS 含量均大于 15%, 属于高含固率污泥, VS 的含量范围为 7.7%~11.8%。接种污泥中 TAN 和 TA 分别为 3530 mg/L 和 11,200 mg/L, 相应地, 实验污泥中 TAN 和 TA 分别为 2690 mg/L 和 9010 mg/L。

厌氧消化过程中污泥 pH [14]、VS/TS [15]、TAN [16]、TA [17]的变化情况可用来判断反应的稳定性。

通常, 在反应的初始阶段(0~20 d, 第 I 泥龄), 这些指标的变化范围较大, 而在反应后期(如 40~60 d, 第 III 泥龄)变化较小。例如, 初始阶段污泥的 pH 值在 8.0~8.4 之间; 反应后期 pH 值相对稳定, 在 8.0 左右。同样, 初始阶段 VS/TS 变化幅度较大(39.2%~51.3%), 反应后期趋于稳定, 其平均值为 48.8%, 标准偏差仅为 0.2%。这说明在初始阶段随着实验污泥的加入, 改变了由接种污泥形成的厌氧消化反应平衡, 导致系统处于不稳定状态。经过两个泥龄(40 天)的运行, 系统达到稳定状态。在反应稳定阶段(40~60 d, 第 III 泥龄), 反应器每天产气量的平均值为 7.2 L。

3.2. 污泥中多溴联苯醚的含量

接种污泥和实验污泥中 19 种 PBDEs 同系物(BDE-17、28、33、47、49、66、99、100、138、153、154、183、190、196、203、206、207、208 和 209)的含量如表 2 所示。每种目标物均可以在污泥样品中检测到, 表明 PBDEs 已广泛存在于上海市政污泥中, 这与先前的研究结果相似[12]。以干重计, 接种污泥中 19 种 PBDEs 的总浓度($\sum_{19} \text{PBDEs}$)为 357 ng/g dw, 远远低于实验污泥中 PBDEs 的总含量(19,000 ng/g dw), 这可能与两个污水处理厂的污水来源有关。两种污泥样品中, 十溴联苯醚(BDE-209)都占绝对比例, 分别为 92.1% (接种污泥)和 99.9% (实验污泥), 然后依次是 BDE-207、208、206、203、193、99 和 47 等。污泥中 PBDEs 同系物分布特征主要与我国大量生产和使用十溴联苯醚工业品有关, 其主要成份是 BDE-209。在我国其它环境介质如土壤[18]、沉积物[19]和室内灰尘[20]等样品中, 也发现了类似的分布特征。

Table 1. Basic characteristics of inoculated and experimental sludge

表 1. 接种污泥和实验污泥的基本性质

参数	接种污泥		实验污泥		
	初始值	初始值	0~20 d (第 I 泥龄)	21~40 d (第 II 泥龄)	41~60 d (第 III 泥龄)
pH	8.0	7.5	8.0~8.4	8.1~8.3	8.0~8.1
总固体 TS (%)	19.7	20.3	18.2~19.7	17.7~19.0	17.9~18.4
挥发性固体 VS (%)	7.7	11.8	7.7~9.8	8.3~8.8	8.8~9.1
挥发性固体/总固体 VS/TS (%)	39.2	58.1	39.2~51.3	44.3~48.7	48.2~50.1
总氮氮 TAN (mg/L)	3550	2690	5100~6400	5370~6540	3490~6850
总碱度 TA (CaCO ₃ , mg/L)	11200	9010	10,200~11,500	11,800~12,300	12,000~12,400
产气量(L)	-	-	6.5~9.5	6.1~8.4	6.3~8.3

Table 2. The concentrations of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in inoculated and experimental sludge

表 2. 接种污泥和实验污泥中多溴联苯醚的含量

PBDEs (ng/gdw)	接种污泥 初始值	实验污泥 初始值	PBDEs (ng/g dw)	接种污泥 初始值	实验污泥 初始值	PBDEs (ng/g dw)	接种污泥 初始值	实验污泥 初始值
BDE-17	0.2	0.3	BDE-100	0.5	0.7	BDE-203	0.9	10.7
BDE-28	0.5	0.9	BDE-138	0.5	0.5	BDE-206	0.7	125
BDE-33	0.1	0.1	BDE-153	0.4	0.9	BDE-207	13.4	284
BDE-47	0.6	1.9	BDE-154	0.7	0.6	BDE-208	7.2	260
BDE-49	0.1	0.1	BDE-183	0.6	1.7	BDE-209	329	18300
BDE-66	0.2	0.3	BDE-190	0.8	0.7	\square_{18} PBDEs	28.3	703
BDE-99	0.6	1.8	BDE-196	0.4	13.6	\square_{19} PBDEs	357	19000

3.3. 污泥厌氧消化过程中多溴联苯醚的变化

根据污泥中 PBDEs 同系物的分布特征, 该部分选择主要目标物(BDE-209、208、207、206、203、196、183、153、138、99、47 和 28)作为对象, 研究其在污泥厌氧消化过程中 PBDEs 的变化规律。

对于厌氧消化反应器内污泥中的 BDE-209, 存在两种来源。其一是实验污泥的添加导致其不断增加, 其二是微生物的降解导致其逐渐减少, 二者在不同反应阶段对 BDE-209 质量变化的贡献不同, 致使 BDE-209 质量呈现上升或下降的趋势(图 1)。在第 I 泥龄和第 II 泥龄阶段初期, BDE-209 质量呈现增加现象, 主要是因为该物质在实验污泥中的浓度(18300 ng/g dw)远远高于接种污泥含量(329 ng/g dw), 会迅速增加反应器内 BDE-209 的质量, 而此时厌氧反应尚未稳定, 微生物的降解程度可能相对较低。在第 III 泥龄阶段, 厌氧反应已经稳定, 微生物酶活性增强, BDE-209 的质量则呈现下降趋势, 平均减少 7820 μg 。若考虑整个厌氧反应过程中(0~60 d)BDE-209 质量的减少情况, 则减少量约为 19,600 μg , 约占总质量的 67.5%, 表明在 60 天的厌氧消化过程中, 污泥含有的 BDE-209 有 67.5% 发生了降解。

导致其它 PBDEs 同系物质量发生变化的有三部分作用, 即实验污泥的添加、BDE-209 的脱溴生成、微生物的降解。总体上, 这些同系物呈现出不同的变化规律(图 1)。BDE-208 和 207 在第 I 泥龄阶段均出现了减少趋势, 表明微生物产生的降解作用要大于实验污泥的添加和高溴代 PBDEs 的脱溴生成作用之和。在第 I 和 III 泥龄阶段, BDE-208 和 207 的质量处于增加状态。对于 BDE-203 和 196, 在第 I 和 II 泥龄阶段均呈现减少现象, 但绝对质量变化不大, 平均值分别为 1.6 μg 和 2.9 μg , 在第 III 泥龄阶段开始增加。其余的 PBDEs, 包括 BDE-206、183、153、138、99、47、28, 其质量在整个消化反应过程中一直处于增加状态, 平均增加量分别为 0.55、0.34、0.12、0.38、0.68 和 0.33 μg 。接种污泥(即驯化后污泥)和实验污泥(即厌氧消化反应所用污泥)的基本性质如表 1 所示。接种污泥和实验污泥的 pH 初始值分别为 8.0。

3.4. 污泥中 BDE-209 的降解产物

低溴代 PBDEs 质量的增加表明了 BDE-209 在厌氧消化反应过程中发生了脱溴降解。前人研究表明, 含卤化合物可以在厌氧条件下可以进行还原脱卤降解[10] [21]。在这些反应中, 含卤化合物通常作为微生物呼吸和共代谢过程的电子受体。在本研究中, 三种九溴代同系物 BDE-208、207 和 206 质量的增加幅度较大, 平均值分别为 11.8、106 和 179 μg , 说明 BDE-209 首先脱溴生成九溴化合物。另外, BDE-206 和 207 质量的增加量约为 BDE-208 的十倍, 根据化合物分子结构, 推断出 BDE-209 脱溴降解主要发生在邻位和间位溴原子上。Lee 等在共培养菌 GY2(由 *Dehalococcoides* 和 *Desulfovibrio* 组成)快速降解 BDE-47、99 和 100 过程中, 也发现邻位上的溴原子会被优先脱去[22]。然后, Tokarz 等以沉积物为培养基质对 BDE-209 进行厌氧降解, 观察到三种九溴同系物(BDE-206、207 和 208)均有明显增加, 脱溴程度与溴原子位置无明显关系[10]。也有研究发现, 厌氧条件下 BDE-209 的降解主要发生在对位和间位, 生成 BDE-208 和 BDE-207, 而邻位脱溴产物 BDE-206 没有明显增加[23]。厌氧降解过程中 PBDEs 脱溴位置的差别可能与微生物种类有关, 其具体机理有待于进一步研究[24]。

此外, 我们还分析了污泥厌氧消化过程中 PBDEs 所含溴元素的变化规律, 如图 2 所示。在反应初始, 反应器中仅有接种污泥, 此时溴元素含量为 4.1 μmol (以物质的量计)。随着实验污泥的加入, 溴元素的含量逐渐增多。在第 I 泥龄阶段结束时, 溴元素含量达到 102 μmol , 增加超过 20 倍; 然而在第 II 泥龄阶段, 溴元素含量变化不大, 在 100~201 μmol 之间(平均值为 152 μmol), 并随反应时间延长有减少趋势。在第 III 泥龄阶段, 厌氧消化反应进入稳定阶段, 溴元素含量也相对稳定, 在 64.5~166 μmol 之间, 平均值为 123 μmol , 略低于第 II 泥龄阶段的平均值。同时, 假定污泥中 PBDEs 在未发生生物降解情况下, 我们计算了所含溴元素的物质的量, 可以发现其随着实验污泥的加入, 一直处于增加状态。在第 I 泥龄和第 II 泥龄阶段前半段(30 d), 溴元素的理论值和实测值基本相同, 表明 PBDEs 从高溴代同系物全部脱

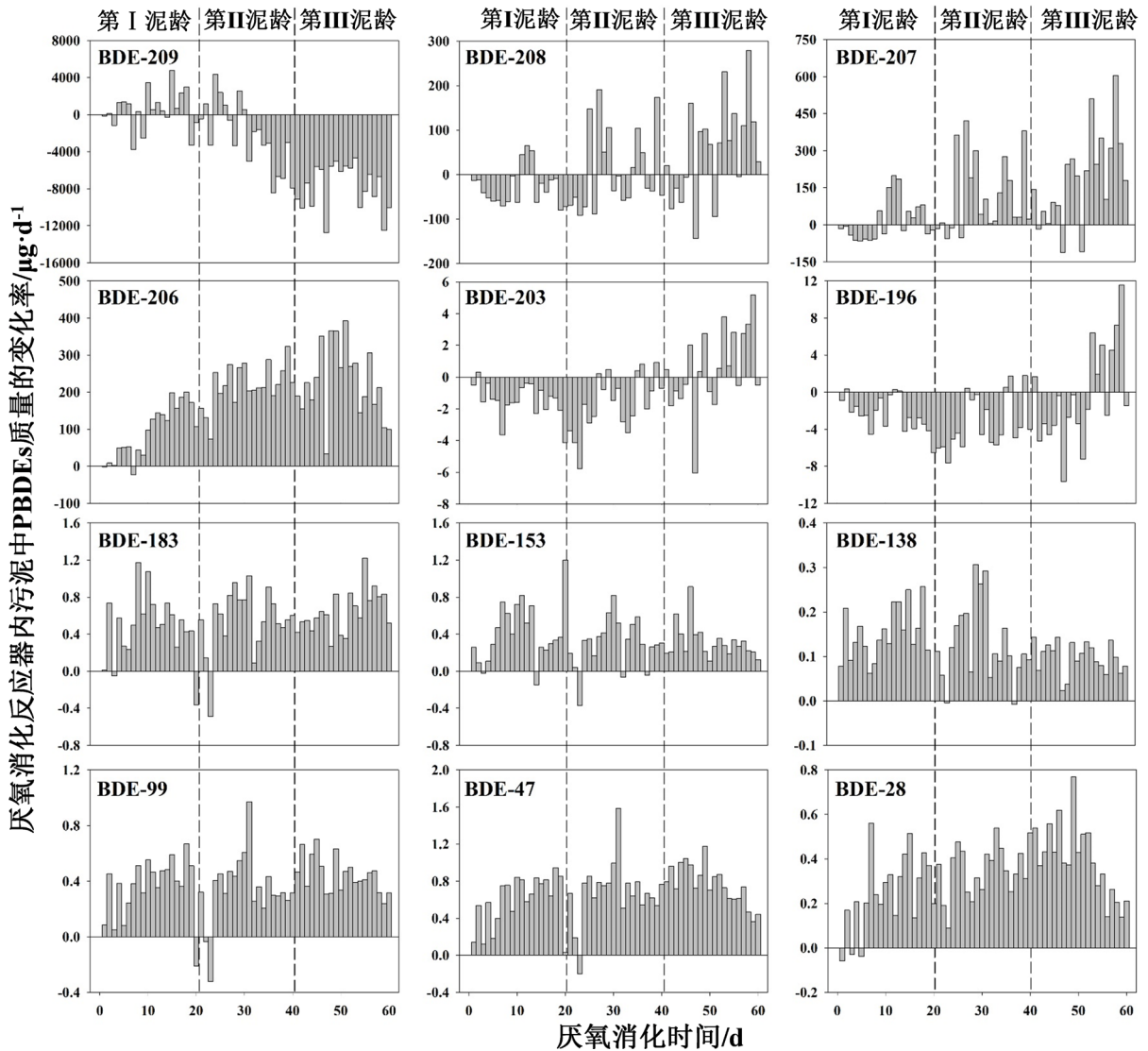


Figure 1. The mass variation of PBDEs during anaerobic digestion of sewage sludge
图 1. 污泥厌氧消化过程中多溴联苯醚同系物总质量变化率

溴生成低溴代同系物，即污泥中 PBDEs 主要组份 BDE-209，全部脱溴生成了 BDE-206、207 和 208，而无其它含溴化合物的产生。从第 II 泥龄阶段后半段(31 d)开始，溴元素含量的实测值一直小于理论值，在第 60 d，该差值达到 197 μmol ，占理论值的 64.6%。此差值说明 PBDEs 厌氧降解生成了其它溴代化合物，可能是目标物以外的低溴代 PBDEs 同系物，也可能是非 PBDEs 的含溴化合物。对于这些潜在的降解产物，则需要利用同位素示踪技术和质谱技术、并结合可能降解途径进一步确定其结构。

3.5. 污泥中降解 PBDEs 厌氧菌的初步分析

为进一步确定厌氧消化过程中对 PBDEs 产生降解作用的细菌种类，我们分别采集不同反应阶段的污泥样品进行了微生物群落分析。样品共有四组，包括第 0 天污泥(接种污泥)、第 20 d 污泥(代表第 I 泥龄阶段)、第 40 d 污泥(代表第 II 泥龄阶段)和第 60 d 污泥(代表第 III 泥龄阶段)。

污泥样品中测定的物种有细菌和古细菌，共覆盖 46 门，其中厚壁菌门(*Firmicutes*)是最主要的门，在 0 d、20 d、40 d 和 60 d 污泥样品中的相对丰度分别为 62.9%、61.7%、57.4%和 59.3%。其次是变形菌门

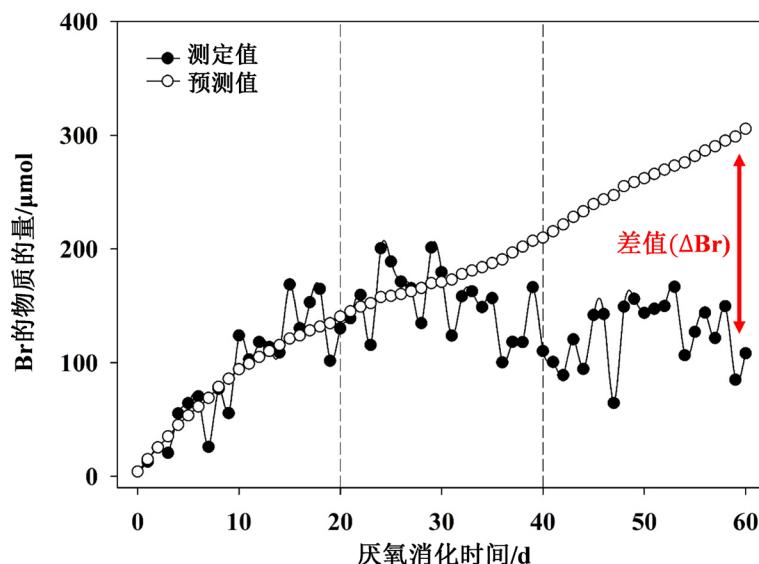


Figure 2. The variation of Br derived from PBDEs during anaerobic digestion of sewage sludge

图 2. 污泥厌氧消化过程中多溴联苯醚所含溴元素的变化

(*Proteobacteria*), 在四个污泥样品中所占比例分别为 20.6%、18.4%、22.1%和 17.3%, 也处于优势地位。然后依次是放线菌门(*Actinobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、WS6 门、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、互养菌门(*Synergistetes*)、TM7 门、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、OP9 门、装甲菌门(*Armatimonadetes*)和广古菌门(*Euryarchaeota*), 相对丰度在 0.1%到 10%之间, 余下各门相对丰度大都在 0.1%以下。这与前期的研究结果类似[25] [26] [27]。例如: Chouari 等[25]发现 *Firmicutes* 和 *Actinobacteria* 是厌氧消化污泥中主要的细菌门类, 相对丰度为 21.8%, 其次为 *Chloroflexi* (20.2%)、*Bacteroidete* (14.5%)和 *Proteobacteria* (14.4%)。另外, OP10、WS3、OP8、TM6、OD1 和 C2 等这些未培养的种类, 也常在厌氧污泥中被检测到, 且可作为潜在的门或纲[27]。

Chloroflexi 门的厌氧绳菌纲(*Anaerolineae*)包含一些嗜热菌和中温菌, 在厌氧污泥中常被检出[28]。前期研究表明, *Chloroflexi* 中的脱卤球菌属(*Dehalococcoides*)具有还原脱卤作用, 可以脱去 PBDEs 中的溴原子[9]。本研究中未检测到 *Dehalococcoides*, 但在 60 d 污泥样品中检测到了脱卤球菌科(*Dehalococcoidaceae*), 相对丰度为 0.008%, 其很有可能在 PBDEs 的降解中起到一定作用。且在厌氧消化过程中, *Chloroflexi* 的相对丰度随时间不断增加, 这可能加快污泥中 PBDEs 的降解。

本研究仅对污泥中可能降解 PBDEs 的菌种进行了探讨, 未来的研究需要对单一菌种的脱溴机理展开研究, 从实际污泥样品中分离、筛选和优化出有利于 PBDEs 降解的微生物优势菌种。

4. 结论

1) 中温污泥厌氧消化反应系统经过两个泥龄的运行, 达到平衡状态。在整个反应过程中, BDE-209 的质量呈现先上升后下降趋势, 减少量约为 19,600 μg, 约占总质量的 67.5%, 表明在 60 天的厌氧消化过程中, 污泥含有的 BDE-209 有 67.5%发生了降解。其它 PBDEs 同系物呈现出不同的变化规律。在第 I 和 III 泥龄阶段, BDE-208 和 207 的质量处于增加状态。对于 BDE-203 和 196, 在第 I 和 II 泥龄阶段均呈现减少现象, 但绝对质量变化不大, 在第 III 泥龄阶段开始增加。其余的 PBDEs, 包括 BDE-206、183、153、138、99、47、28, 其质量在整个消化反应过程中一直处于增加状态。

2) 三种九溴代同系物 BDE-208、207 和 206 质量的增加幅度较大, 说明 BDE-209 首先脱溴生成九溴

化合物。另外, BDE-206 和 207 质量的增加量约为 BDE-208 的十倍, 结合化合物分子结构, 推断出 BDE-209 脱溴降解主要发生在邻位和间位溴原子上。

3) 通过 16S rDNA 高通量测序技术测定表明, 污泥厌氧消化过程中微生物群落组成丰度较高, 多样性较大。污泥样品中的细菌和古细菌共覆盖 46 门, 其中厚壁菌门(*Firmicutes*)是最主要的门, 其次是变形菌门(*Proteobacteria*)。 *Chloroflexi* 门的脱卤球菌科(*Dehalococcoidaceae*), 相对丰度虽然较低, 但可能是降解 PBDEs 的重要菌种。

基金项目

本课题获国家自然科学基金(41172318); 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07313001); 新世纪优秀人才计划项目(NCET-12-0417)资助。

参考文献 (References)

- [1] La Guardia, M.J., Hale, R.C. and Harvey, E. (2006) Detailed Polybrominated Diphenyl Ether (PBDE) Congener Composition of the Widely Used Penta-, Octa-, and Deca-PBDE Technical Flame-Retardant Mixtures. *Environmental Science & Technology*, **40**, 6247-6254. <https://doi.org/10.1021/es060630m>
- [2] Darnerud, P.O., Eriksen, G.S., Jóhannesson, T., et al. (2001) Polybrominated Diphenyl Ethers: Occurrence, Dietary Exposure, and Toxicology. *Environmental Health Perspectives*, **109**, 49-68. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s149>
- [3] Hites, R.A. (2004) Polybrominated Diphenyl Ethers in the Environment and in People: A Meta-Analysis of Concentrations. *Environmental Science & Technology*, **38**, 945-956. <https://doi.org/10.1021/es035082g>
- [4] Law, R.J., Covaci, A., Harrad, S., et al. (2014) Levels and Trends of PBDEs and HBCDs in the Global Environment: Status at the End of 2012. *Environment International*, **65**, 147-158. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.01.006>
- [5] Ikonou, M.G., Rayne, S. and Addison, R.F. (2002) Exponential Increases of the Brominated Flame Retardants, Polybrominated Diphenyl Ethers, in the Canadian Arctic from 1981 to 2000. *Environmental Science & Technology*, **36**, 1886-1892. <https://doi.org/10.1021/es011401x>
- [6] Rayne, S., Ikonou, M.G. and Whale, M.D. (2003) Anaerobic Microbial and Photochemical Degradation of 4,4'-Dibromodiphenyl Ether. *Water Research*, **37**, 551-560. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00311-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00311-1)
- [7] Gerecke, A.C., Hartmann, P.C., Heeb, N.V., et al. (2005) Anaerobic Degradation of Decabromodiphenyl Ether. *Environmental Science & Technology*, **39**, 1078-1083. <https://doi.org/10.1021/es048634j>
- [8] He, J.Z., Robrock, K.R. and Alvarez-Cohen, L. (2006) Microbial Reductive Debromination of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs). *Environmental Science & Technology*, **40**, 4429-4434. <https://doi.org/10.1021/es052508d>
- [9] Lee, L.K. and He, J. (2010) Reductive Debromination of Polybrominated Diphenyl Ethers by Anaerobic Bacteria from Soils and Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, **76**, 794-802. <https://doi.org/10.1128/AEM.01872-09>
- [10] Tokarz, J.A., Ahn, M.Y., Leng, J., et al. (2008) Reductive Debromination of Polybrominated Diphenyl Ethers in Anaerobic Sediment and a Biomimetic System. *Environmental Science & Technology*, **42**, 1157-1164. <https://doi.org/10.1021/es071989t>
- [11] Huang, H.W., Chang, B.V. and Lee, C.C. (2014) Reductive Debromination of Decabromodiphenyl Ether by Anaerobic Microbes from River Sediment. *International Biodeterioration and Biodegradation*, **87**, 60-65. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2013.10.011>
- [12] Yang, C., Meng, X.-Z., Chen, L. and Xia, S. (2011) Polybrominated Diphenyl Ethers in Sewage Sludge from Shanghai, China: Possible Ecological Risk Applied to Agricultural Land. *Chemosphere*, **85**, 418-423. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.068>
- [13] Lay, J.J., Li, Y.Y. and Noike, T. (1997) Influences of pH and Moisture Content on the Methane Production in High-Solids Sludge Digestion. *Water Research*, **31**, 1518-1524. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(96\)00413-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(96)00413-7)
- [14] Dai, X.H., Duan, N.N., Dong, B. and Dai, L. (2013) High-Solids Anaerobic Co-Digestion of Sewage Sludge and Food Waste in Comparison with Mono Digestions: Stability and Performance. *Waste Management*, **33**, 308-316. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2012.10.018>
- [15] 段妮娜, 董滨, 李江华. 污泥和餐厨垃圾联合干法中温厌氧消化性能研究[J]. 环境科学, 2013, 34(1): 321-327.
- [16] Rajagopal, R., Masse, D.I. and Singh, G. (2013) A Critical Review on Inhibition of Anaerobic Digestion Process by Excess Ammonia. *Bioresour. Technol.*, **143**, 632-641. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.06.030>

- [17] 付胜涛, 于水利, 严晓菊. 剩余活性污泥和厨余垃圾的混合中温厌氧消化[J]. 环境科学, 2006, 27(7): 1459-1463.
- [18] Duan, Y.P., Meng, X.Z., Yang, C., *et al.* (2010) Polybrominated Diphenyl Ethers in Background Surface Soils from the Yangtze River Delta (YRD), China: Occurrence, Sources, and Inventory. *Environmental Science and Pollution Research*, **17**, 948-956. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0295-1>
- [19] Mai, B.X., Chen, S.J., Luo, X.J., *et al.* (2005) Distribution of Polybrominated Diphenyl Ethers in Sediments of the Pearl River Delta and Adjacent South China Sea. *Environmental Science & Technology*, **39**, 3521-3527. <https://doi.org/10.1021/es048083x>
- [20] Li, Y., Chen, L., Wen, Z.H., *et al.* (2015) Characterizing Distribution, Sources, and Potential Health Risk of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Office Environment. *Environmental Pollution*, **198**, 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.12.024>
- [21] Schmidt, S., Fortnagel, P. and Wittich, R.M. (1993) Biodegradation and Transformation of 4,4'-and 2,4-Dihalodiphenyl Ethers by *Sphingomonas* sp. Strain SS33. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**, 3931-3933.
- [22] Lee, L.K., Ding, C., Yang, K.L. and He, J. (2011) Complete Debromination of Tetra- and Penta-Brominated Diphenyl Ethers by a Coculture Consisting of Dehalococcoides and Desulfovibrio Species. *Environmental Science & Technology*, **45**, 8475-8482. <https://doi.org/10.1021/es201559g>
- [23] Gerecke, A.C., Giger, W. and Hartmann, P.C. (2006) Anaerobic Degradation of Brominated Flame Retardants in Sewage Sludge. *Chemosphere*, **64**, 311-317. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.12.016>
- [24] Robrock, K.R., Korytar, P. and Alvarez-Cohen, L. (2008) Pathways for the Anaerobic Microbial Debromination of Polybrominated Diphenyl Ethers. *Environmental Science & Technology*, **42**, 2845-2852. <https://doi.org/10.1021/es0720917>
- [25] Chouari, R., Le Paslier, D., Daegelen, P., *et al.* (2005) Novel Predominant Archaeal and Bacterial Groups Revealed by Molecular Analysis of an Anaerobic Sludge Digester. *Environmental Microbiology*, **7**, 1104-1115. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2005.00795.x>
- [26] Ariesyady, H.D., Ito, T. and Okabe, S. (2007) Functional Bacterial and Archaeal Community Structures of Major Trophic Groups in a Full-Scale Anaerobic Sludge Digester. *Water Research*, **41**, 1554-1568. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.12.036>
- [27] 刘君寒, 胡光荣, 李福利. 厌氧消化系统微生物菌群的研究进展[J]. 工业水处理, 2011, 31(10): 10-14.
- [28] Yamada, T., Sekiguchi, Y., Imachi, H., *et al.* (2005) Diversity, Localization, and Physiological Properties of Filamentous Microbes Belonging to Chloroflexi Subphylum I in Mesophilic and Thermophilic Methanogenic Sludge Granules. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 7493-7503. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7493-7503.2005>

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: amb@hanspub.org