

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第12期

Vol.33 No.12

**2012**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

特别策划:再生水灌溉利用生态风险研究专题

序 ..... 陈卫平 (4069)  
再生水灌溉利用的生态风险研究进展 ..... 陈卫平, 张炜铃, 潘能, 焦文涛 (4070)  
绿地再生水灌溉土壤微生物量碳及酶活性效应研究 ..... 潘能, 侯振安, 陈卫平, 焦文涛, 彭驰, 刘文 (4081)  
绿地再生水灌溉土壤盐度累积及风险分析 ..... 潘能, 陈卫平, 焦文涛, 赵忠明, 侯振安 (4088)  
再生水灌溉对土壤性质及重金属垂直分布的影响 ..... 赵忠明, 陈卫平, 焦文涛, 王美娥 (4094)  
模型模拟再生水灌溉对土壤水盐运动的影响 ..... 吕斯丹, 陈卫平, 王美娥 (4100)  
模型模拟土壤性质和植被种类对再生水灌溉水盐运移的影响 ..... 吕斯丹, 陈卫平, 王美娥 (4108)  
再生水灌溉农田土壤镉累积规律模拟研究 ..... 赵忠明, 陈卫平, 焦文涛, 王美娥 (4115)  
再生水灌溉土壤人工合成麝香累积模型模拟 ..... 王美娥, 陈卫平, 焦文涛 (4121)  
城市绿化草坪再生水灌溉对地下水水质影响研究 ..... 王巧环, 陈卫平, 王效科, 任玉芬, 张烨 (4127)  
北京市再生水的公众认知度评估 ..... 张炜铃, 陈卫平, 焦文涛 (4133)

研究报告

北京地区臭氧时空分布特征的飞机探测研究 ..... 陈鹏飞, 张蕾, 权建农, 高扬, 黄梦宇 (4141)  
世博会期间上海市大气挥发性有机物排放强度及污染来源研究 ..... 王红丽, 陈长虹, 黄海英, 王倩, 陈宜然, 黄成, 李莉, 张钢锋, 陈明华, 楼晟荣, 乔利平 (4151)  
贡嘎山本底站大气中 VOCs 的研究 ..... 张军科, 王跃思, 吴方堃, 孙杰 (4159)  
区域大气环境风险源识别与危险性评估 ..... 张晓春, 陈卫平, 马春, 詹水芬, 焦文涛 (4167)  
稻草烟尘中正构烷烃和正构脂肪酸的碳同位素 ..... 刘刚, 孙丽娜, 李久海, 徐慧 (4173)  
汽油轿车 NEDC 循环超细颗粒物排放特性 ..... 胡志远, 李金, 谭丕强, 楼狄明 (4181)  
城市道路绿化带不同植物叶片附尘对大气污染的磁学响应 ..... 隆茜, 周菊珍, 孟颖, 达良俊 (4188)  
闽江口养殖塘水-大气界面温室气体通量日进程特征 ..... 杨平, 仝川, 何清华, 黄佳芳 (4194)  
模拟增温对冬小麦-大豆轮作农田土壤呼吸的影响 ..... 刘艳, 陈书涛, 胡正华, 任景全, 沈小帅 (4205)  
广西大石围天坑中多环芳烃的大气传输与分异 ..... 孔祥胜, 祁士华, 孙寿, 黄保健 (4212)  
松花江流域冰封期水体中多环芳烃的污染特征研究 ..... 马万里, 刘丽艳, 齐虹, 白杨, 刘吉敏, 陈忠林, 李一凡 (4220)  
温州城市河流中多环芳烃的污染特征及其来源 ..... 周婕成, 陈振楼, 毕春娟, 吕金刚, 许世远, 潘琪 (4226)  
温州城市河流河岸带土壤中 PAHs 的污染特征与来源 ..... 周婕成, 毕春娟, 陈振楼, 王璐, 许世远, 潘琪 (4237)  
辽河水系沉积物中 PAHs 的分布特征及风险评估 ..... 武江越, 刘征涛, 周俊丽, 高富 (4244)  
某炼油厂退役场地土壤与浅层地下水酚类污染特征研究 ..... 裴芳, 罗泽娇, 彭进进, 祁士华 (4251)  
某大型焦化企业污染场地中多环芳烃空间分布的分异性特征 ..... 刘庚, 郭观林, 南锋, 魏文侠, 李发生, 毕如田 (4256)  
太原市市灌区有机氯农药垂直分布特征及源解析 ..... 廖小平, 张彩香, 赵旭, 向青清, 李佳乐 (4263)  
上海市崇明岛农田土壤中多环芳烃分布和生态风险评价 ..... 吕金刚, 毕春娟, 陈振楼, 周婕成, 韩景超 (4270)  
近 50 年来深圳湾红树林湿地 Hg、Cu 累积及其生态危害评价 ..... 李瑞利, 柴民伟, 邱国玉, 贺蓓 (4276)  
北运河源头区沙河水库沉积物重金属污染特征研究 ..... 张伟, 张洪, 单保庆 (4284)  
太湖表层沉积物重金属赋存形态分析及污染特征 ..... 秦延文, 张雷, 郑丙辉, 曹伟 (4291)  
典型季风型温冰川消融期融水化学日变化特征 ..... 朱国锋, 蒲焘, 何元庆, 王培震, 孔建龙, 张宁宁, 辛惠娟 (4300)  
螺-草水质净化系统氮素环境归趋的实验研究 ..... 周露洪, 谷孝鸿, 曾庆飞, 毛志刚, 高华梅, 孙明波 (4307)  
固定化果胶酶抑制铜绿微囊藻生长研究 ..... 沈清清, 彭谦, 赖泳红, 纪开燕, 韩秀林 (4316)  
采用膜污染指数评估天然有机物在低压超滤膜中的污染行为 ..... 肖萍, 肖峰, 赵锦辉, 秦潼, 王东升, 冯金荣, 许光 (4322)  
水体中甲基汞光化学降解特征研究 ..... 孙荣国, 毛雯, 马明, 张成, 王定勇 (4329)  
土霉素在乙酸水溶液中的臭氧氧化降解研究 ..... 李时银, 李小荣, 朱怡苹, 朱江鹏, 王国祥 (4335)  
酰胺咪唑光降解效能与机制及其影响因素研究 ..... 陈超, 赵倩, 封莉, 张立秋 (4340)  
利用 FeS 去除水中硝基苯的试验研究 ..... 王夏琳, 李睿华 (4346)  
地下污水管线泄漏原位自动监测模拟实验研究 ..... 郭磊, 贾永刚, 付腾飞, 刘晓磊, 赵战坤 (4352)  
表面活性剂改性沸石对水中酚类化合物吸附性能研究 ..... 谢杰, 王哲, 吴德意, 李春杰 (4361)  
抗生素类制药废水厌氧消化产物急性毒性的检测 ..... 季军远, 邢雅娟, 郑平 (4367)  
废砖块作为人工湿地填料的除磷能力研究 ..... 王振, 刘超翔, 李鹏宇, 董健, 刘琳, 朱葛夫 (4373)  
基于生物沸石复合滤料的间歇式脱氨水处理 ..... 庆承松, 鲍韬, 陈天虎, 陈冬, 谢晶晶 (4380)  
硝酸盐对厌氧生物膜和颗粒污泥的同时产甲烷反硝化性能影响研究 ..... 钟晨宇, 叶杰旭, 李若愚, 陈胜, 孙德智 (4387)  
水平电场作用下活性污泥的脱水研究 ..... 季雪元, 王毅力, 冯晶 (4393)  
多重环境因子对氟胺磺隆在土壤中的降解的影响 ..... 宋宁慧, 单正军, 石利利, 郭敏, 许静, 孔德洋 (4400)  
碱后处理对互花米草沼渣理化特性的影响研究 ..... 陈广银, 郑正, 常志州, 王海芹, 叶小梅 (4406)  
含砷废渣高温烧结过程砷的矿物相结构变化与环境释放行为 ..... 王兴润, 农泽喜, 王琪 (4412)  
国家大气污染物排放标准体系研究 ..... 江梅, 张国宁, 张明慧, 邹兰, 魏玉霞, 任春 (4417)  
环境基准向环境标准转化的机制探讨 ..... 毕岑岑, 王铁宇, 吕永龙 (4422)  
对“有毒重金属”实施 2 种总量控制监管方式的利害分析 ..... 傅国伟 (4428)  
《环境科学》第 33 卷(2012 年)总目录 ..... (4434)  
《环境科学》征订启事(4099) 《环境科学》征稿简则(4166) 信息(4180, 4219, 4225, 4275) 专辑征稿通知(4172)

# 固定化果胶酶抑制铜绿微囊藻生长研究

沈清清<sup>1</sup>, 彭谦<sup>2</sup>, 赖泳红<sup>2</sup>, 纪开燕<sup>2</sup>, 韩秀林<sup>2</sup>

(1. 文山学院生化系, 云南 文山 663000; 2. 云南大学微生物研究所, 昆明 650091)

**摘要:** 为证实固定化果胶酶抑制蓝藻生长的作用, 在实验室条件下, 以铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 为受试藻种, 用共培养法观察了固定化果胶酶对藻细胞群体的作用、用电镜观察了共培养后藻细胞的损伤状况, 测定了其生理生化特征的影响。结果表明固定化果胶酶与藻共培养液第 3 d 明显黄化, 且黄化程度与固定化果胶酶的用量和培养时间呈正相关关系; 电镜照片显示固定化果胶酶对藻细胞有损伤作用, 轻微损伤的藻细胞出现质壁分离, 表面粗糙、凸凹不平, 形状不规则, 严重损伤的藻细胞表面发生深度皱缩或细胞结构完全解体; 随着固定化果胶酶与铜绿微囊藻共培养时间的延长, 藻细胞生长量、叶绿素 a 含量显著降低, 表明藻细胞受到胁迫和伤害, 藻细胞正常的光合作用受到严重影响。丙二醛 (MDA) 值显示藻细胞抗氧化防御体系被破坏, 细胞内发生严重膜脂过氧化。固定化果胶酶能有效抑制铜绿微囊藻细胞的生长, 铜绿微囊藻生长抑制率可高达 96%。

**关键词:** 铜绿微囊藻; 藻细胞; 固定化果胶酶; 抑制; 生长

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)12-4316-06

## Growth Inhibition Effect of Immobilized Pectinase on *Microcystis aeruginosa*

SHEN Qing-qing<sup>1</sup>, PENG Qian<sup>2</sup>, LAI Yong-hong<sup>2</sup>, JI Kai-yan<sup>2</sup>, HAN Xiu-lin<sup>2</sup>

(1. Department of Biology and Chemistry, Wenshan University, Wenshan Yunnan 663000, China; 2. Yunnan Institute of Microbiology, Yunnan University, Kunming 650091, China)

**Abstract:** To confirm the growth inhibition effect of immobilized pectinase on algae, co-cultivation method was used to investigate the effect of immobilized pectinase on the growth of *Microcystis aeruginosa*. After co-cultivation, the damage status of the algae was observed through electron microscope, and the effect of immobilized pectase on the physiological and biochemical characteristics of the algae was also measured. The results showed that the algae and immobilized pectase co-cultivated solution etiolated distinctly on the third day and there was a significantly positive correlation between the extent of etiolation and the dosage as well as the treating time of the immobilized pectinase. Under electron microscope, plasmolysis was found in the slightly damaged cells, and the cell surface of these cells was rough, uneven and irregular; the severely damaged cells were collapsed or disintegrated completely. The algal yield and the chlorophyll a content decreased significantly with the increase of the treating time. The measurement of the malondialdehyde (MDA) value showed that the antioxidation system of the treated algal cells was destroyed, and their membrane lipid was severely peroxidated. The study indicated that the immobilized pectinase could efficiently inhibit the growth of *M. aeruginosa*, and the inhibitory rate reached up to 96%.

**Key words:** *Microcystis aeruginosa*; algal cells; immobilized pectinase; inhibit; growth

水体富营养化导致藻类等水生浮游植物异常繁殖并形成水华, 在我国尤其以蓝藻属的铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 在数量和发生频率上占绝对优势<sup>[1]</sup>, 铜绿微囊藻的暴发性生长除了会抑制或破坏其它水体动植物的正常生长外, 还会释放出被公认为肝毒素和促癌剂的微囊藻毒素, 对环境中的各种生物构成严重威胁<sup>[2]</sup>, 其治理亟待解决。目前, 国内外除藻技术主要包括物理法、化学法、生态法, 但这些方法均存在成本高、效率低、操作时间长、易造成二次污染等缺点<sup>[3]</sup>, 因而它们的推广受到了极大的限制。近年来水华治理的热点主要是利用水生植物化感作用抑制水华藻类<sup>[4, 5]</sup>, 因为该方法具有经济、环保、良好的景观效果等优点, 但此法周期长, 不能在短期内见效, 因此其应用也受到限制。

为尽快降低水华引发的生态风险, 开发更高速高效、环境友好型的藻类生长控制技术变得十分紧迫且势在必行, 因此酶的诸多优点给水华治理提供了新的思路。酶是生物催化剂, 近 10 年来, 随着酶工程的迅猛发展, 因其高效、安全、经济等优点<sup>[6]</sup> 在能源开发, 环境保护, 水质净化与石油污染净化方面的应用日益扩大。其中, 果胶酶 (pectinase) 就曾被利用进行污水处理且有效地降低了环境污染<sup>[7]</sup>。果胶酶是能分解果胶质的酶, 具有方便储存、经济实惠、效果显著以及安全无污染等特点<sup>[8]</sup>, 过去主要应用

收稿日期: 2012-01-17; 修订日期: 2012-08-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30760006)

作者简介: 沈清清 (1980 ~), 女, 硕士, 讲师, 主要研究方向为溶藻细菌与微生物资源开发, E-mail: 391291180@qq.com

在食品工业的果汁制造<sup>[9]</sup>和果酒酿造<sup>[10, 11]</sup>上,可使果汁澄清,是一种安全可靠的生物酶。至今关于利用果胶酶治理水华的报道尚鲜见报道,因此本研究就果胶酶对铜绿微囊藻生长情况的影响进行了分析。游离状态的果胶酶只能使用一次,与水混合后无法回收,如果直接投入水体,用量较大,成本较高,无法达到可持续性治理和从根本上消除水体污染的目的。因此为了提高果胶酶的酶学活性和稳定性以及可重复性,减少果胶酶的使用量,节约治理成本,本实验室对果胶酶进行了固定化技术处理,获得了固定化果胶酶能有效抑制铜绿微囊藻生长的结论,且效果稳定、高效持久。并通过研究固定化果胶酶与铜绿微囊藻共培养后藻细胞群体、数量、生理生化特征的时相变化以及细胞结构变化探讨果胶酶抑制铜绿微囊藻生长的生物化学机制,以期为进一步开发果胶酶控藻剂治理水华提供理论指导和有价值的研究资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*): 购自中国科学院武汉水生生物研究所; 果胶酶: 美国 sigma 公司生产, 酶活为 400 ~ 800 U·g<sup>-1</sup>。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 铜绿微囊藻的培养

采用 BG-11 培养液, 将 20 mL 处于对数生长期的藻种转接入 150 mL 培养基 (pH 7.1) 中连续培养, 培养温度为 (25 ± 1) °C, 光照强度约 3 000 lx, 每天光照时间不低于 8 h, 人工振荡 6 ~ 9 次·d<sup>-1</sup>, 扩大培养 15 d 用于实验。一切用具均经过高温湿热灭菌, 实验步骤采取无菌操作。

#### 1.2.2 固定化果胶酶的制备和加入

固定化果胶酶的制备: 将 4% 海藻酸钠与 4% 明胶各 100 mL 于 80 °C 水浴中混合溶解, 约 1 h 后将混合液降至 50 °C 左右, 加入 2% 果胶酶液 100 mL 搅拌 2 ~ 3 min, 待充分混合后加入 5% 戊二醛 15 mL 搅拌均匀, 保持混合液在 50 °C 水浴中, 制成小球。静置 2 h 后放入 0.05% 戊二醛中固定过夜 (4 °C 冰箱中浸泡)。滤出小球并以蒸馏水洗涤数次, 滤纸吸干, 4 °C 保存备用。

无菌条件下将扩大培养 15 d 的铜绿微囊藻液混匀后分装入 250 mL 的锥形瓶中, 每支装 150 mL 的等浓度藻液 (初始藻细胞浓度为 28 × 10<sup>6</sup> 个·mL<sup>-1</sup>, 叶绿素质量浓度 4 mg·L<sup>-1</sup>)。按照浓度梯

度分别加入 15、20、25 g 的固定化果胶酶, 每组设 3 个平行, 每个梯度设一个对照, 摇匀后培养, 温度为 (25 ± 1) °C, 光照强度约 3 000 lx, 每天光照时间不低于 8 h, 人工振荡 6 ~ 9 次·d<sup>-1</sup>。自加入固定化果胶酶当日开始, 每 48 h 取一定量藻液测定各种检测指标。

#### 1.2.3 扫描电镜观察

取一定量藻液于 1.5 mL 离心管中, 5 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 弃上清, 加入生理盐水, 重悬后离心, 弃上清, 加入 3% 戊二醛溶液固定, 置 4 °C 冰箱过夜, 离心, 用无菌水重悬藻体, 离心后弃去上清, 用适量无菌水稀释藻细胞, 接种环蘸取适量藻液于盖玻片上涂布, 将盖玻片粘到载玻片上, 置 37 °C 烘箱中烘干, 喷金后, 扫描电镜观察、拍照。玻片喷金工作于云南大学现代分析测试中心完成; 扫描电镜观察、拍照工作于昆明医学院完成。

#### 1.2.4 测定方法

铜绿微囊藻细胞数量和生长抑制率的测定: 采用显微镜下血球计数法计算藻细胞数量。

生长抑制率的计算公式:

$$\eta = \frac{N_0 - N}{N_0} \times 100\%$$

式中,  $\eta$  为生长抑制率;  $N_0$  为对照组藻浓度;  $N$  为实验组藻浓度。

铜绿微囊藻叶绿素的测定: 参照热乙醇萃取分光光度法 (乙醇法)<sup>[12]</sup>, 取 5 mL 藻液离心, 弃上清后放入冰箱冷冻 12 h 以上, 取出后迅速用 90% 热乙醇 (80 °C) 于 80 °C 热水浴萃取 2 min, 再超声振荡 10 min, 于暗处静置萃取 24 h 后, 离心 30 min 得上清液定容, 90% 乙醇做空白对照。分光光度计于波长 665 nm 和 750 nm 处测吸光值, 然后加入三滴 1 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸酸化, 于波长 665 nm 和 750 nm 处再测吸光值。

丙二醛 (MDA) 含量的测定: 参照硫代巴比妥酸法 (TBA)<sup>[13]</sup>, 取 5 mL 藻液在 4 °C 下 10 000 r·min<sup>-1</sup> 冷冻离心 7 min, 弃上清, 加入 1 mL 的磷酸缓冲液 (PBS pH 7.0) 用石英砂研磨, 再用 PBS 定容, 4 °C 离心, 上层液即为酶液。取 1.5 mL 酶液于试管中, 加入 2.5 mL 0.5% TBA 沸水浴 20 min。冷却后离心, 上清液分别测定 532、600、450 nm 处的吸光值。

#### 1.2.5 实验数据处理

采用 SPSS 16.0 软件包和 Microsoft Excel 2003 进行 ANOVA 统计分析, 以  $P < 0.05$  为显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 固定化果胶酶对铜绿微囊藻生长的影响

实验观察结果如图 1 所示,实验第 3 d 对照组中铜绿微囊藻为深绿色,与固定化果胶酶共培养的藻液颜色均开始变浅,1 号藻液变化尤其显著,呈乳黄色,2、3 号藻液呈浅绿色. 实验第 6 d(图 2)可看出 2、3 号藻液均已呈乳黄色,1 号藻液呈乳白色. 镜检三组藻液发现大部分藻细胞已裂解,出现许多细胞残碎片,少部分没有裂解的藻细胞发生形态畸变、体积显著缩小、颜色变淡甚至变成白色,藻体凝集结块、发生粘壁现象. 表明固定化果胶酶对铜绿微囊藻表现出较好的抑制效应,加入的固定化果胶酶量越大,效应发挥所需时间越短,且共培养时间越长效果越显著. 针对本实验中藻细胞初始浓度为  $28 \times 10^6$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ 的藻液,3 组剂量的实验结果对比后表明固定化果胶酶添加剂量为 15 g 时已能达到显著抑藻效应(下文中各项指标均在此剂量下进行测定). 将对照组与实验组藻液在相同条件下放置 2 个月后,1、2、3 号藻液颜色均变得更浅甚至透明,表明铜绿微囊藻已大部分死亡,固定化果胶酶作用效果持久、稳定.

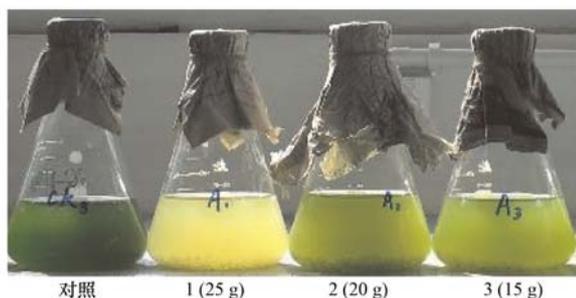


图 1 加入固定化果胶酶第 3 d 对照、1、2、3 号铜绿微囊藻的生长情况

Fig. 1 Growth of the control, No. 1, No. 2 and No. 3 on the third day after addition of immobilized pectinase into the algal cultures

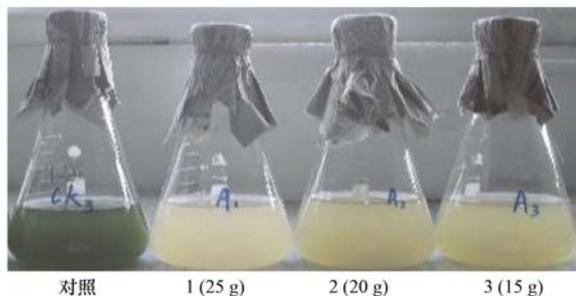


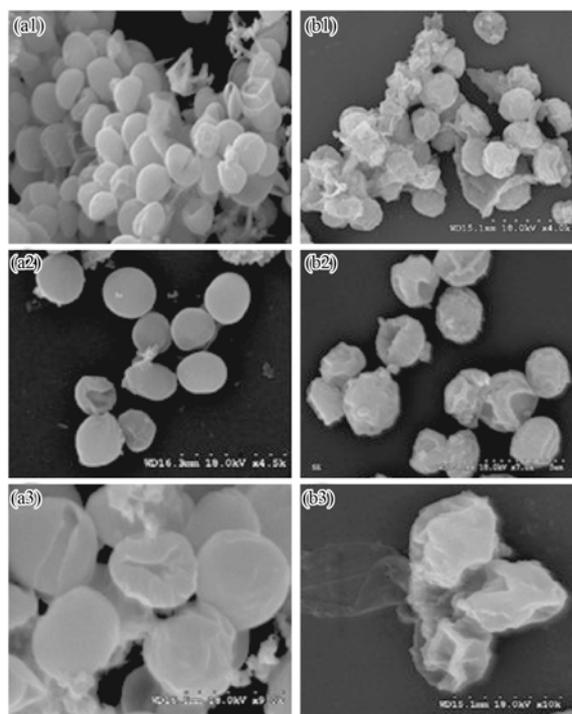
图 2 加入固定化果胶酶第 6 d 对照、1、2、3 号铜绿微囊藻的生长情况

Fig. 2 Growth of the control, No. 1, No. 2 and No. 3 on the sixth day after addition of immobilized pectinase into the algal cultures

## 2.2 固定化果胶酶对铜绿微囊藻细胞结构的影响

为详细了解没有解体的藻细胞形态变化情况,

将对照组和 3 号实验组藻细胞进行了扫描电镜拍照. 如图 3 所示,a1 和 b1 均是铜绿微囊藻细胞簇状聚集的电镜照片. 可以明显看出对照组 a1 藻细胞簇中大部分细胞表面光滑、圆润,球形结构完整,细胞与细胞间的边界清晰,在藻细胞簇中可以明显的区分细胞个体,仅有少数细胞表面凹凸不平,可能是新老细胞更替时出现的正常细胞衰亡现象. 而与固定化果胶酶共培养后 b1 藻细胞簇的大部分细胞表面粗糙、凹凸不平,形状不规则,有的细胞表面发生深度皱缩,聚集的藻细胞簇中大部分细胞外壁粘连,细胞之间的边界模糊不清,外形混沌,细胞呈衰亡状态. 从 a3 可看出对照中大部份的藻细胞外包裹一层胶质鞘,而 b3 藻细胞的胶质鞘已从细胞脱离,细胞壁破损,细胞干瘪,皱缩.



a1、a2、a3 为对照组藻细胞;b1、b2、b3 为固定化果胶酶实验组藻细胞;a1 和 b1 放大倍数为 4 000 $\times$ ,a2 和 b2 放大倍数为 4 500 $\times$ ,a3 和 b3 放大倍数为 10 000 $\times$

图 3 固定化果胶酶对铜绿微囊藻细胞结构的影响

Fig. 3 Effect of immobilized pectinase on the structure of *M. aeruginosa*

铜绿微囊藻是一种单细胞集群蓝藻,常聚集呈簇状,也有分散生长<sup>[14]</sup>. 文献[15]报道了铜绿微囊藻在分散生长和聚集生长下对外来刺激的抵抗能力会有较大差异,在应对相同控藻或抑藻剂时可以依靠变化生长形式来躲避伤害,为证实固定化果胶酶对分散生长的藻细胞也能发挥效应,如图 3 中 a2 和 b2 所示,对分散生长状态的藻细胞进行了扫描电镜

拍照,结果表明 b2 与 b1 无明显差异,b2 与聚集生长状态下藻细胞受损情况一致.说明固定化果胶酶对聚集生长和分散生长状态下的铜绿微囊藻细胞均存在显著损伤效应.

### 2.3 固定化果胶酶对铜绿微囊藻细胞生长量的影响

由图 4 可知,对照藻细胞在实验后的第 3 d 进入对数生长期,尽管期间藻细胞生长情况有所波动,但藻细胞增长率明显大于死亡率,到实验第 30 d 细胞浓度达  $43.375 \times 10^6$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ . 实验组前 3 d 固定化果胶酶对藻细胞的影响不显著 ( $P > 0.05$ , ANOVA),这可能是铜绿微囊藻遇到逆境胁迫时启动应急机制和自我修复机能从而表现暂时的生长耐受性,因此固定化果胶酶对铜绿微囊藻的抑制作用表现出一定的滞后效应;另外据报道铜绿微囊藻具有利用有机底物进行化能异养生长的能力<sup>[16]</sup>,因此分析微囊藻在生长受胁迫时可能具有利用固定化果胶酶所释放的少量有机物质进行化能异养生长的能力,但是此能力微弱,不足以维持藻细胞的持久生长.因此度过 3 d 缓冲期后,本该进入对数生长期的铜绿微囊藻不能再耐受固定化果胶酶的损伤作用和毒性,也无法再进行自我修复而进入生长延滞期,最终步入衰亡阶段,与对照比较第 4 d 固定化果胶酶开始显著抑制藻细胞生物量的增加 ( $P < 0.05$ , ANOVA),自第 7 d 开始藻细胞数量显著减少,平均每天减少  $1.296 \times 10^6$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ 藻细胞,第 30 d 时的藻细胞数量已下降至  $1.599 \times 10^6$  个 $\cdot$ mL $^{-1}$ ,此时固定化果胶酶对铜绿微囊藻的生长抑制率达 96.312%.

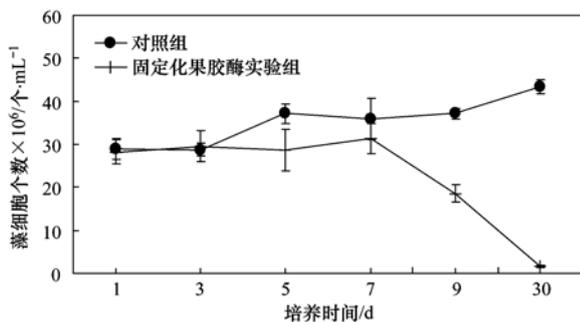


图 4 固定化果胶酶对铜绿微囊藻生长的影响

Fig. 4 Effect of immobilized pectinase on the growth of *M. aeruginosa*

### 2.4 固定化果胶酶对铜绿微囊藻叶绿素 a 含量的影响

如图 5 所示,对照组中的叶绿素 a 浓度 7 d 内从  $4.008 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  上升至  $7.886 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,至实验第 30 d 达  $17.763 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,表明铜绿微囊藻生长情况良好.而固定化果胶酶实验组的藻细胞叶绿素 a 浓度

从第 2 d 起就显著下降,表明固定化果胶酶开始显著抑制藻细胞生物量的增加 ( $P < 0.05$ , ANOVA),作用第 3 d 其叶绿素 a 值为  $3.050 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,仅为同期对照组的 42.054%,到第 7 d 叶绿素 a 值降为  $0.093 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,仅为同期对照组的 1.179%.实验进行至 30 d,实验组的叶绿素 a 值为 0.说明固定化果胶酶实验组的藻细胞叶绿素 a 已被完全降解.这一结果与藻细胞数量逐渐减少和 2.1 节中的实验观察结果一致,表明随着藻液的黄化,藻细胞叶绿素 a 浓度降低,至最低值时,藻细胞基本死亡.

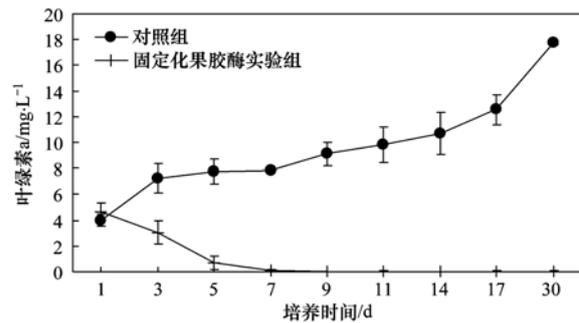


图 5 固定化果胶酶对铜绿微囊藻叶绿素 a 含量的影响

Fig. 5 Effect of immobilized pectinase on the chlorophyll-a content of *M. aeruginosa*

比较分析图 4 与图 5 中曲线的变化情况,发现加入固定化果胶酶后,尽管藻细胞的生长量和叶绿素 a 的合成均受到抑制,但两者的变化规律存在明显差异,从图 4 可知实验前 7 d 藻细胞的生长率与死亡率基本平衡,而从图 5 可知实验前 7 d 藻细胞叶绿素 a 的合成率已显著低于降解率 ( $P < 0.05$ , ANOVA),表明实验中虽然一部分藻细胞仍能继续生长并分裂出新的藻细胞,但新生成的藻细胞已不再具有合成叶绿素 a 的能力.

### 2.5 固定化果胶酶对铜绿微囊藻 MDA 含量的影响

从图 6 可看出固定化果胶酶实验组第 5 d 的 MDA 值较第 1 d 升高了 43.208%,而对照组 MDA 值未见大幅度波动,表明固定化果胶酶具有促膜脂过氧化效应,它可刺激藻细胞产生大量 MDA.从第 5 d 起,固定化果胶酶实验组 MDA 值开始下降,至作用第 30 d 时其值与第 1 d 相比下降了 48.240%.表明 MDA 的大量积累最终导致了藻细胞膜结构受到严重损伤,细胞膜解体,细胞死亡,藻细胞死亡后细胞解体,MDA 量开始下降,至第 7 d 低于对照,说明此时藻细胞已经大部分消亡.此结果与藻细胞数量、叶绿素 a 含量下降,以及电镜中所观察到的情况和时间相符合并存在相关性.

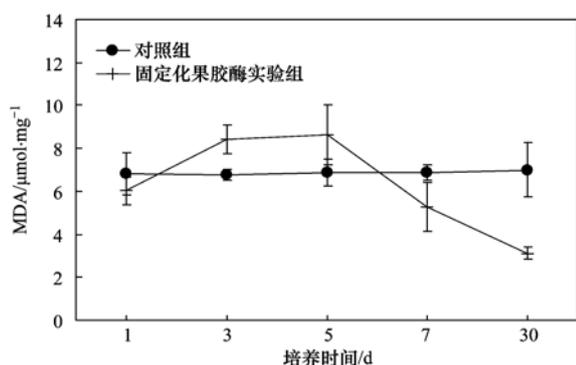


图 6 固定化果胶酶对铜绿微囊藻 MDA 含量的影响

Fig. 6 Effect of immobilized pectinase on the MDA content of *M. aeruginosa*

### 3 讨论

铜绿微囊藻的细胞壁有内外两层,内层是纤维素,外层是以果胶质为主的胶质衣鞘<sup>[17, 18]</sup>,果胶质对藻细胞结构起到支撑和保护作用,也是防止病原微生物或异物入侵的天然屏障<sup>[14]</sup>,如果这一屏障受损,藻细胞内随之而改变的渗透压、电势电位等理化因素可能会影响细胞的正常生理,藻细胞生长就可能受到抑制或细胞崩溃解体。现今市面上出售的能分解果胶质的产品主要是果胶酶,它可以裂解或 $\beta$ 消去作用的方式切断果胶质中的糖苷键,使果胶质裂解为多聚半乳糖醛酸,进而再产生半乳糖醛酸单体。本研究中电镜照片中显示的未解体的藻细胞表面受损情况表明,果胶酶确实能破坏铜绿微囊藻细胞壁中的果胶质成分,使细胞壁缺损,因此分析藻细胞大量死亡的直接原因可能是细胞壁受损后其细胞形态和防御功能无法继续维持从而其抗干扰力变弱、生活力丧失、直至细胞解体死亡。

本研究中藻细胞计数、叶绿素 a 含量都反映了铜绿微囊藻的生物量消长。铜绿微囊藻的主要营养方式是光合自养,叶绿素 a 是蓝藻光合作用的主要色素,它是光系统的重要组成成分,在光合作用中能捕收、传递和转化光能,并且对许多与光合作用相关基因的翻译、光系统的装配都起到关键的调控作用<sup>[19, 20]</sup>。因此叶绿素 a 是指示铜绿微囊藻光合系统生理状况的重要指标,其含量在某种程度上反映着藻的生长能力,藻细胞受到损伤时叶绿素 a 合成减少,降解加快,叶绿素 a 含量下降致使内囊体和光合片层结构严重受损,使其不能进行光合作用,可直接导致藻细胞死亡<sup>[21, 22]</sup>。经固定化果胶酶处理的铜绿微囊藻的细胞数量变化与叶绿素 a 含量呈显著正相关,结合结果 2.1 节说明固定化果胶酶损坏藻

细胞壁中的果胶质成分后可能进一步使藻细胞内部结构受损,阻断了合成光合色素的部分途径,进而导致内囊体和光合片层的功能和结构受到损坏、叶绿素 a 分解。Lee 等<sup>[23]</sup>和 Lyck<sup>[24]</sup>曾报道铜绿微囊藻叶绿素 a 浓度的积累是导致其产生微囊藻毒素的主要原因。实验中藻细胞与固定化果胶酶共培养后的前 7 d 尽管仍能分裂产生新细胞,但从实验第 2 d 开始藻细胞叶绿素 a 的合成就受到显著抑制并大量降解,表明在藻死亡前固定化果胶酶已对藻细胞叶绿素 a 造成了破坏,分析固定化果胶酶可能切断或减少了微囊藻毒素的合成,因此在这一层面上增加了固定化果胶酶作为控藻剂使用的安全性。

本研究中藻细胞丙二醛(MDA)值的变化从生理生化的角度也印证了铜绿微囊藻受到了固定化果胶酶显著的胁迫与伤害。MDA 是一种高活性的膜脂过氧化指标,其积累数量可以作为细胞膜结构损伤和藻体受胁迫程度的标志,当藻细胞衰老或受逆境胁迫时,其细胞内膜脂质发生过氧化反应会产生 MDA,同时 MDA 的积累也可能对膜和细胞造成一定程度的伤害。此外,MDA 还具强交联性,可使核酸、蛋白质等交联成 Schiff 碱,导致蛋白质分子及酶变性失活,使 DNA 受损,破坏细胞质膜包括内囊体和光合片层膜结构<sup>[25, 26]</sup>,降低膜的流动性及其与多种生物酶的结合力,进而影响位于片层膜上的叶绿素 a 含量。实验中固定化果胶酶作用后藻体受胁迫呈 MDA 值先增加后减少的趋势,与结果 2.4 节比较分析可得出前 6 d 叶绿素 a 值与 MDA 值是呈负相关的结论。说明固定化果胶作用后藻细胞内部脂质过氧化产生 MDA,伴随 MDA 的积累藻细胞的膜结构受到严重损伤,细胞代谢逐渐失调直至死亡,叶绿素 a 随之分解。藻细胞的死亡与解体导致细胞内积累的 MDA 降解,仅在未解体的藻细胞中能测出 MDA 含量,但此时总藻细胞数量已显著下降,因此 6 d 后与对照比较藻细胞群体的 MDA 值不再增加反而降低。叶绿素 a 和 MDA 值的变化规律与文献<sup>[27]</sup>中金鱼藻对铜绿微囊藻叶绿素 a 和 MDA 值的影响情况基本相同,说明两者的抑藻机制可能存在相似之处,近年来化感物质的抑藻机制研究的较多涵盖面较广且有了较明确的结论,因此可将这些研究结果作为后续果胶酶抑藻机制研究的重要参考,并在此基础上进行深入探讨。

### 4 结论

(1) 固定化果胶酶与铜绿微囊藻共培养实验结

果表明,固定化果胶酶对铜绿微囊藻具有较强的生长抑制能力,抑制率可高达 96%。固定化果胶酶投入的剂量越大、共培养时间越长,抑制效果越明显。

(2)固定化果胶酶对藻细胞结构具有有显著的损伤效应,并且能快速降解藻细胞中的叶绿素,以及引起藻细胞膜脂过氧化从而积累过量的 MDA。

#### 参考文献:

- [1] 刘靖,杜桂森,武佃卫,等. 北京城市河湖营养状态与蓝藻水华研究[J]. 安全与环境学报, 2006, **6**(2): 5-8.
- [2] 王昊,徐立红. 微囊藻毒素研究的当前进展和未来方向[J]. 水生生物学报, 2011, **35**(3): 504-515.
- [3] 聂发辉,李田,吴晓芙,等. 藻型富营养化水体的治理方法[J]. 中国给水排水, 2006, **22**(18): 11-15.
- [4] Li F M, Hu H Y. Isolation and characterization of a novel anti-algal allelochemical from *Phragmites communis*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(11): 6545-6553.
- [5] 张庭廷,郑春艳,何梅,等. 亚油酸对铜绿微囊藻的抑制机理[J]. 中国环境科学, 2009, **29**(4): 419-424.
- [6] 宋思扬. 生物技术概论[M]. 北京: 科学出版社, 2010. 154-171.
- [7] 黄俊丽,李常军,王贵学. 微生物果胶酶的分子生物学及其应用研究进展[J]. 生物技术通报, 2006, **17**(6): 992-994.
- [8] 薛长湖,张永勤,李兆杰,等. 果胶及果胶酶研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2005, **24**(6): 94-99.
- [9] 罗仓学,张长青. 果胶酶制剂对草莓汁澄清作用的研究[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2001, **19**(5): 5-6.
- [10] Pinelo M, Zeuner B, Meyer A S. Juice clarification by protease and pectinase treatments indicates new roles of pectin and protein in cherry juice turbidity[J]. Food and Bioproducts Processing, 2010, **88**(2-3): 259-265.
- [11] Roberts J A, Gonzalez-Carranza Z H. Pectinase functions in abscission[J]. Stewart Postharvest Review, 2009, **5**(1): 1-4.
- [12] 陈宇炜,高锡云. 浮游植物叶绿素 a 含量测定方法的比较测定[J]. 湖泊科学, 2000, **12**(2): 185-188.
- [13] Heath R L, Parker L. Photoperitition in isolated chloroplasts kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1968, **25**(2): 189-198.
- [14] Zilliges Y, Kehr J C, Mikkat S, et al. An extracellular glycoprotein is implicated in cell-cell contacts in the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* PCC 7806[J]. Journal of Bacteriology, 2008, **190**(8): 2871-2879.
- [15] Kehr J C, Zilliges Y, Springer A, et al. A mannan binding lectin is involved in cell-cell attachment in a toxic strain of *Microcystis aeruginosa* [J]. Molecular Microbiology, 2006, **59**(3): 893-906.
- [16] Burkholder J M, Glibert P M, Skelton H M. Mixotrophy, a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters [J]. Harmful Algae, 2008, **8**(1): 77-93.
- [17] Forni C, Telo F R, Caiola M G. Comparative analysis of the polysaccharides produced by different species of *Microcystis* (Chroococcales, Cyanophyta) [J]. Phycologia, 1997, **36**(3): 181-185.
- [18] Nakagawa M, Takamura Y, Yagi O. Isolation and characterization of the slime from a cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa* K-3A [J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1987, **51**(2): 329-337.
- [19] 郭美婷,胡洪营,陈健,等. 紫外线对铜绿微囊藻的抑制效果及特性研究[J]. 环境科学, 2011, **32**(6): 1608-1613.
- [20] Louda J W, Li J, Liu L, et al. Chlorophyll-a degradation during cellular senescence and death[J]. Organic Geochemistry, 1998, **29**(5-7): 1233-1251.
- [21] 吕秀平,张翔,康瑞娟,等. Fe<sup>3+</sup>对铜绿微囊藻生长和光合作用的影响[J]. 北京化工大学学报(自然科学版), 2006, **33**(1): 27-30.
- [22] 周文彬. 水华蓝藻铜绿微囊藻生长和光合作用对镉浓度增加响应[D]. 武汉: 华中师范大学, 2005. 11-16.
- [23] Lee S J, Jang M H, Kim H S, et al. Variation of microcystin content of *Microcystis aeruginosa* relative to medium N:P ratio and growth stage [J]. Journal of Applied Microbiology, 2000, **89**(2): 323-329.
- [24] Lyck S. Simultaneous changes in cell quotas of microcystin, chlorophyll a, protein and carbohydrate during different growth phases of a batch culture experiment with *Microcystis aeruginosa* [J]. Journal of Plankton Research, 2004, **26**(7): 727-736.
- [25] 刘洁生,陈芝兰,杨维东,等. 凤眼莲根系丙酮提取物抑制赤潮藻类生长的机制研究[J]. 环境科学学报, 2006, **26**(5): 815-820.
- [26] 史顺玉,沈银武,李郭海,等. 溶藻细菌 DC21 的分离、鉴定及其溶藻特性[J]. 中国环境科学, 2006, **26**(5): 587-590.
- [27] 李小路,潘慧云,徐洁,等. 金鱼藻与铜绿微囊藻共生情况下的化感作用[J]. 环境科学学报, 2008, **28**(11): 2243-2249.

## CONTENTS

Preface .....	CHEN Wei-ping (4069)
Ecological Risks of Reclaimed Water Irrigation: A Review .....	CHEN Wei-ping, ZHANG Wei-ling, PAN Neng, <i>et al.</i> (4070)
Study on Soil Enzyme Activities and Microbial Biomass Carbon in Greenland Irrigated with Reclaimed Water .....	PAN Neng, HOU Zhen-an, CHEN Wei-ping, <i>et al.</i> (4081)
Soil Salinity in Greenland Irrigated with Reclaimed Water and Risk Assessment .....	PAN Neng, CHEN Wei-ping, JIAO Wen-tao, <i>et al.</i> (4088)
Effect of Reclaimed Water Irrigation on Soil Properties and Vertical Distribution of Heavy Metal .....	ZHAO Zhong-ming, CHEN Wei-ping, JIAO Wen-tao, <i>et al.</i> (4094)
Simulation of Effect of Irrigation with Reclaimed Water on Soil Water-Salt Movement by ENVIRO-GRO Model .....	LÜ Si-dan, CHEN Wei-ping, WANG Mei-e (4100)
Simulation of Effects of Soil Properties and Plants on Soil Water-salt Movement with Reclaimed Water Irrigation by ENVIRO-GRO Model .....	LÜ Si-dan, CHEN Wei-ping, WANG Mei-e (4108)
Modeling the Cd Accumulation in Agricultural Soil Irrigated with Reclaimed Water .....	ZHAO Zhong-ming, CHEN Wei-ping, JIAO Wen-tao, <i>et al.</i> (4115)
Model Simulation of the Transportation, Transformation and Accumulation of Synthetic Musk in Soils Input Through Recycle Water Irrigation .....	WANG Mei-e, CHEN Wei-ping, JIAO Wen-tao (4121)
Impacts of Reclaimed Water Irrigation of Urban Lawn on Groundwater Quality .....	WANG Qiao-huan, CHEN Wei-ping, WANG Xiao-ke, <i>et al.</i> (4127)
Public Awareness Assessment of Water Reuse in Beijing .....	ZHANG Wei-ling, CHEN Wei-ping, JIAO Wen-tao (4133)
Temporal and Spatial Distribution of Ozone Concentration by Aircraft Sounding over Beijing .....	CHEN Peng-fei, ZHANG Qiang, QUAN Jian-nong, <i>et al.</i> (4141)
Emission Strength and Source Apportionment of Volatile Organic Compounds in Shanghai During 2010 EXPO .....	WANG Hong-li, CHEN Chang-hong, HUANG Hai-ying, <i>et al.</i> (4151)
Study on Atmospheric VOCs in Gongga Mountain Base Station .....	ZHANG Jun-ke, WANG Yue-si, WU Fang-kun, <i>et al.</i> (4159)
Regional Atmospheric Environment Risk Source Identification and Assessment .....	ZHANG Xiao-chun, CHEN Wei-ping, MA Chun, <i>et al.</i> (4167)
Carbon Isotopic Compositions of <i>n</i> -Alkanes and <i>n</i> -Alkanoic Acids in the Smoke from Combustion of Rice Straw .....	LIU Gang, SUN Li-na, LI Jiu-hai, <i>et al.</i> (4173)
Research on NEDC Ultrafine Particle Emission Characters of a Port Fuel Injection Gasoline Car .....	HU Zhi-yuan, LI Jin, TAN Pi-qiang, <i>et al.</i> (4181)
Magnetic Response of Street Tree Leaves to Particulate Pollution in Shanghai .....	LONG Qian, ZHOU Ju-zhen, MENG Jie, <i>et al.</i> (4188)
Diurnal Variations of Greenhouse Gas Fluxes at the Water-Air Interface of Aquaculture Ponds in the Min River Estuary .....	YANG Ping, TONG Chuan, HE Qing-hua, <i>et al.</i> (4194)
Effects of Simulated Warming on Soil Respiration in a Cropland Under Winter Wheat-Soybean Rotation .....	LIU Yan, CHEN Shu-tao, HU Zheng-hua, <i>et al.</i> (4205)
Transport and Differentiation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Air from Dashiwei Karst Sinkholes in Guangxi, China .....	KONG Xiang-sheng, QI Shi-hua, SUN Qian, <i>et al.</i> (4212)
Pollution Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water of Songhua River Basin During the Icebound Season .....	MA Wan-li, LIU Li-yan, QI Hong, <i>et al.</i> (4220)
Pollution Characteristics and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Urban Rivers of Wenzhou City .....	ZHOU Jie-cheng, CHEN Zhen-lou, BI Chun-juan, <i>et al.</i> (4226)
Pollution Characteristics and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Riparian Soils Along Urban Rivers of Wenzhou City .....	ZHOU Jie-cheng, BI Chun-juan, CHEN Zhen-lou, <i>et al.</i> (4237)
Spatial Distribution and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Partial Surface Sediments of Liaohe River .....	WU Jiang-yue, LIU Zheng-tao, ZHOU Jun-li, <i>et al.</i> (4244)
Phenols Pollutants in Soil and Shallow Groundwater of a Retired Refinery Site .....	PEI Fang, LUO Ze-jiao, PENG Jin-jin, <i>et al.</i> (4251)
Heterogeneous Characteristic of PAHs' Spatial Distribution in a Large Coking Site of China .....	LIU Geng, GUO Guan-lin, NAN Feng, <i>et al.</i> (4256)
Vertical Distribution and Source Analysis of Organochlorine Pesticides in Sewage Irrigation Area, Taiyuan City .....	LIAO Xiao-ping, ZHANG Cai-xiang, ZHAO Xu, <i>et al.</i> (4263)
Distribution and Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Agricultural Soil of the Chongming Island in Shanghai .....	LÜ Jin-gang, BI Chun-juan, CHEN Zhen-lou, <i>et al.</i> (4270)
Mercury and Copper Accumulation During Last Fifty Years and Their Potential Ecological Risk Assessment in Sediment of Mangrove Wetland of Shenzhen, China .....	LI Rui-li, CHAI Min-wei, QIU Guo-yu, <i>et al.</i> (4276)
Characteristics of Heavy Metal Pollution in the Sediments from Shahe Reservoir, the Upper Reach of the North Canal River .....	ZHANG Wei, ZHANG Hong, SHAN Bao-qing (4284)
Speciation and Pollution Characteristics of Heavy Metals in the Sediment of Taihu Lake .....	QIN Yan-wen, ZHANG Lei, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (4291)
Chemical Composition and Daily Variation of Melt Water During Ablation Season in Monsoonal Temperate Glacier Region; A Case Study of Baishui Glacier No. 1 .....	ZHU Guo-feng, PU Tao, HE Yuan-qing, <i>et al.</i> (4300)
Experimental Study on the Environmental Fate of Nitrogen in Snail-Macrophyte Ecosystem for Water Purification .....	ZHOU Lu-hong, GU Xiao-hong, ZENG Qing-fei, <i>et al.</i> (4307)
Growth Inhibition Effect of Immobilized Pectinase on <i>Microcystis aeruginosa</i> .....	SHEN Qing-qing, PENG Qian, LAI Yong-hong, <i>et al.</i> (4316)
A Novel Approach of Using Fouling Index to Evaluate NOM Fouling Behavior During Low Pressure Ultrafiltration Process .....	XIAO Ping, XIAO Feng, ZHAO Jing-hui, <i>et al.</i> (4322)
Characteristics of Monomethylmercury Photodegradation in Water Body .....	SUN Rong-guo, MAO Wen, MA Ming, <i>et al.</i> (4329)
Degradation of Oxytetracycline with Ozonation in Acetic Acid Solvent .....	LI Shi-yin, LI Xiao-rong, ZHU Yi-ping, <i>et al.</i> (4335)
Photodegradation Performance and Mechanisms of Carbamazepine and Its Impact Factors .....	CHEN Chao, ZHAO Qian, FENG Li, <i>et al.</i> (4340)
Investigation of Nitrobenzene Removal by Iron Sulfide (FeS) .....	WANG Xia-lin, LI Rui-hua (4346)
Experimental Research on <i>In-Situ</i> Auto-Monitoring for Underground Sewage Pipeline Leakage .....	GUO Lei, JIA Yong-gang, FU Teng-fei, <i>et al.</i> (4352)
Adsorption of Phenol Chemicals by Surfactant-Modified Zeolites .....	XIE Jie, WANG Zhe, WU De-yi, <i>et al.</i> (4361)
Acute Toxicity of Antibiotics and Anaerobic Digestion Intermediates in Pharmaceutical Wastewaters .....	JI Jun-yuan, XING Ya-juan, ZHENG Ping (4367)
Study on Phosphorus Removal Capability of Constructed Wetlands Filled with Broken Bricks .....	WANG Zhen, LIU Chao-xiang, LI Peng-yu, <i>et al.</i> (4373)
Denitrification Water Treatment with Zeolite Composite Filter by Intermittent Operation .....	QING Cheng-song, BAO Tao, CHEN Tian-hu, <i>et al.</i> (4380)
Influence of Nitrate on the Simultaneous Methanogenesis and Denitrification Reaction of Anaerobic Biofilm and Granular Sludge .....	ZHONG Chen-yu, YE Jie-xu, LI Ruo-yu, <i>et al.</i> (4387)
Study on Dewatering of Activated Sludge Under Applied Electric Field .....	JI Xue-yuan, WANG Yi-li, FENG Jing (4393)
Effects of Multiple Environmental Factors on Trifluorsulfuron-methyl Degradation in Soils .....	SONG Ning-hui, SHAN Zheng-jun, SHI Li-li, <i>et al.</i> (4400)
Effect of Alkaline Post-Treatment on Physicochemical Property of Digested <i>Spartina alterniflora</i> .....	CHEN Guang-yin, ZHENG Zheng, CHANG Zhi-zhou, <i>et al.</i> (4406)
Structural Changes in Mineral Phases and Environmental Release Behavior of Arsenic During Sintering of Arsenic-containing Waste .....	WANG Xing-run, NONG Ze-xi, WANG Qi (4412)
Study on Emission Standard System of Air Pollutants .....	JIANG Mei, ZHANG Guo-ning, ZHANG Ming-hui, <i>et al.</i> (4417)
Mechanism for Transformation of Environmental Criteria into Environmental Standards in China .....	BI Cen-cen, WANG Tie-yu, LÜ Yong-long (4422)
Effect Analysis on the Two Total Load Control Methods for Poisonous Heavy Metals .....	FU Guo-wei (4428)

# 《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

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 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明  
欧阳自远 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)

2012年12月15日 33卷 第12期

## ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 12 Dec. 15, 2012

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) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science ( HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, 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 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 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	中国国际图书贸易总公司 (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: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行