

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第2期

Vol.34 No.2

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

16 届亚运会期间广州城区 PM_{2.5} 化学组分特征及其对霾天气的影响 陶俊,柴发合,高健,曹军骥,刘随心,张仁健(409)

北京地区秋季雾霾天 PM_{2.5} 污染与气溶胶光学特征分析 赵秀娟,蒲维维,孟伟,马志强,董璠,何迪(416)

上海市秋季大气 VOCs 对二次有机气溶胶的生成贡献及来源研究 王倩,陈长虹,王红丽,周敏,楼晟荣,乔利平,黄成,李莉,苏雷燕,牟莹莹,陈宜然,陈明华(424)

杭州市大气超细颗粒物浓度谱季节性特征 谢小芳,孙在,付志民,杨文俊,林建忠(434)

保定市大气气溶胶中正构烷烃的污染水平及来源识别 李杏茹,杜熙强,王英锋,王跃思(441)

春节期间西安城区碳气溶胶污染特征研究 周变红,张承中,王格慧(448)

华东区域高山背景点 PM₁₀ 和 PM_{2.5} 背景值及污染特征 苏彬彬,刘心东,陶俊(455)

基于电子鼻土壤与地下水污染修复现场 TVOC 和恶臭的评估 田秀英,蔡强,刘锐,张永明(462)

积融雪控制下土壤大气间汞交换通量特征 张刚,王宁,艾建超,张蕾,杨净,刘子琪(468)

靖海湾重金属污染及铅稳定同位素溯源研究 徐林波,高勤峰,董双林,刘佳,傅秀娟(476)

正构烷烃及单体碳同位素记录的石臼湖生态环境演变研究 欧杰,王延华,杨浩,胡建芳,陈霞,邹军,谢云(484)

干旱区城市昌吉降雪及积雪中 PGEs 含量分布及其影响因素 刘玉燕,刘浩峰,张兰(494)

降尘收集方法对降尘效率的影响 张正德,董治宝(499)

海河流域水生生态功能一级二级分区 孙然好,汲玉河,尚林源,张海萍,陈利顶(509)

长江中下游浅水湖泊水下辐照度漫射衰减特征研究 时志强,张运林,王明珠,刘笑茵(517)

内陆水体叶绿素反演模型普适性及其影响因素研究 黄昌春,李云梅,徐良将,杨浩,吕恒,陈霞,王延华(525)

溶氧对富集培养的河口湿地表层沉积物氨氧化菌多样性及氨氧化速率的影响 邱昭政,罗专溪,赵艳玲,颜昌宙(532)

自然条件下盐城海滨湿地土壤水分/盐度空间分异及其与植被关系研究 张华兵,刘红玉,李玉凤,安静,薛星宇,侯明行(540)

淮河流域农业非点源污染空间特征解析及分类控制 周亮,徐建刚,孙东琪,倪天华(547)

高岚河不同降雨径流类型磷素输出特征 崔玉洁,刘德富,宋林旭,陈玲,肖尚斌,向坤,张涛(555)

城市雨水径流水质演变过程监测与分析 董雯,李怀恩,李家科(561)

复合人工湿地系统强化处理单元的运行特性与效果 任峰,陆忆夏,刘琴,汤杨杨,王世和,高海鹰,乔杰杰,王为进(570)

给水管网中耐氯分枝杆菌的灭活特性及机制研究 郑琦,陈超,张晓健,陆品品,刘源源,陈雨乔(576)

1 株溶藻菌的部分生物学特性及溶鱼腥藻作用 李三华,张奇亚(583)

水生植物热解生物油对中肋骨条藻抗氧化酶活性的影响 姚远,李锋民,李媛媛,单时,李杰,王震宇(589)

TiO₂ 光催化联合技术降解苯酚机制及动力学 张轶,黄若男,王晓敏,王齐,丛燕青(596)

皮革废水有机污染物生物降解特性研究 王勇,李伟光,杨力,宿程远(604)

链霉菌 FX645 对偶氮染料红 AR30 的降解机制研究 谢练武,方继东,郭亚平(611)

一种负载型生物载体的制备及性能研究 杨基先,曾红云,周义,邱珊,马放,王蕾,肖大伟(616)

基于污泥资源化利用的蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*) 培养研究 嵇雯雯,夏会龙,方治国,刘惠君(622)

温和热处理对低有机质污泥厌氧消化性能的影响 陈汉龙,严媛媛,何群彪,戴晓虎,周琪(629)

天然和水热合成针铁矿对有机物厌氧分解释放 CH₄ 的影响 姚敦璠,陈天虎,王进,周飞跃,岳正波(635)

蚀刻废液及其回收后生产的铜盐产品中 PCDD/Fs 含量水平及分布特征 青宪,韩静磊,温炎桑(642)

基于特定场地污染概念模型的健康风险评估案例研究 钟茂生,姜林,姚珏君,夏天翔,朱笑盈,韩丹,张丽娜(647)

区域地下水污染风险评价方法研究 杨彦,于云江,王宗庆,李定龙,孙宏伟(653)

地下水有机污染源识别技术体系研究与示范 王晓红,魏加华,成志能,刘培斌,纪轶群,张干(662)

祁连山不同海拔土壤有机碳库及分解特征研究 朱凌宇,潘剑君,张威(668)

黑土有机碳、氮及其活性对长期施肥的响应 骆坤,胡荣桂,张文菊,周宝库,徐明岗,张敬业,夏平平(676)

根茬连续还田对镉污染农田土壤中镉赋存形态和生物有效性的影响 张晶,于玲玲,辛木贞,苏德纯(685)

长期施肥措施下稻田土壤有机质稳定性研究 罗璐,周萍,童成立,石辉,吴金水,黄铁平(692)

外源Cr(III)在我国22种典型土壤中的老化特征及关键影响因子研究 郑顺安,郑向群,李晓辰,刘书田,姚秀荣(698)

某林丹生产企业搬迁遗留场地土壤中六六六的残留特征 潘峰,王利利,赵浩,尤奇中,刘林(705)

大型炼锌厂周边土壤及蔬菜的汞污染评价及来源分析 刘芳,王书肖,吴清茹,林海(712)

天津成人头发指甲中有机氟污染物的残留特征 姚丹,张鸿,柴之芳,沈金灿,杨波,王艳萍,刘国卿(718)

沉积物中雌激素及壬基酚、辛基酚、双酚 A 的测定 吴唯,史江红,陈庆彩,张晖,刘晓薇(724)

动物饲料中砷、铜和锌调查及分析 姚丽贤,黄连喜,蒋宗勇,何兆桓,周昌敏,李国良(732)

氟虫双酰胺在水稻和稻田中的残留动态研究 王点点,宋宁慧,吴文铸,由宗政,何健,石利利(740)

2 株降解菲的植物内生细菌筛选及其降解特性 倪雪,刘娟,高彦征,朱雪竹,孙凯(746)

嗜盐拟香味菌 Y6 降解硝基苯的特性研究 厉闾,钱坤,肖伟,王进军,邓新平(753)

固定化条件对苯系物细胞传感器检测效果的影响 唐阔,马安周,于清,邓雪梅,吕迪,庄国强(760)

16S rDNA 克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性 刘卫国,梁存珍,杨金生,王桂萍,刘苗杰(767)

氨氮浓度对 CANON 工艺功能微生物丰度和群落结构的影响 刘涛,李冬,曾辉平,畅晓燕,张杰(773)

筒青霉(*Penicillium simplicissimum*) 对木质纤维素的降解及相关酶活性特征 沈莹,胡天觉,曾光明,黄丹莲,尹璐,刘杨,吴娟娟,刘晖(781)

石油污染土壤微生物群落结构与分布特性研究 杨萌青,李立明,李川,李广贺(789)

土霉素在鸡粪好氧堆肥过程中的降解及其对相关参数的影响 王桂珍,李兆君,张树清,马晓彤,梁永超(795)

生活垃圾填埋过程含水率变化研究 李睿,刘建国,薛玉伟,张媛媛,岳东北,聂永丰(804)

动物消化机制用于木质纤维素的厌氧消化 吴昊,张盼月,郭建斌,吴永杰(810)

《环境科学》征订启事(447) 《环境科学》征稿简则(493) 信息(508,588,610,731) 专辑征稿通知(788)

固定化条件对苯系物细胞传感器检测效果的影响

唐阔, 马安周*, 于清, 邓雪梅, 吕迪, 庄国强*

(中国科学院生态环境研究中心中科院环境生物技术重点实验室(筹), 北京 100085)

摘要: 利用海藻酸钠作为包埋剂对苯系物细胞传感器 *Pseudomonas fluorescens* A506 (pTS) 进行固定化处理, 并对细胞浓度、固定化时间、投加量等检测因素进行了优化. 固定化后的细胞与游离细胞对苯系污染物的检测效果进行对比. 经过 2 h 固定化处理的细胞传感器, 在检测时间 1.5~6.0 h 内, 信号上升速度为游离细胞的 2.26 倍, 信号最大值为游离细胞的 2.23 倍. 固定化处理后的细胞生长缓慢, 且浓度远低于游离细胞, 说明了固定化处理后的单位细胞信号强度增加. 同时, 细胞浓度随着固定化时间的延长而降低. 在影响因素方面, 细胞浓度和固定化时间对于检测信号的影响较大. 固定化后, 对高浓度的苯系污染物有着更快的信号响应.

关键词: 苯系物检测; 固定化细胞; 细胞浓度; 固定化时间; 投加量

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)02-0760-07

Effect of Immobilization on Biosensor for Benzene Derivates Detection

TANG Kuo, MA An-zhou, YU Qing, DENG Xue-mei, LÜ Di, ZHUANG Guo-qiang

(Key Laboratory of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: A whole cell sensor, *Pseudomonas fluorescens* A506 (pTS), was immobilized by sodium alginate and the factors of cell density, immobilization time and beads usage were optimized. The performance of the immobilized cells was compared with that of the free cells. After 2 h immobilization, the increasing speed of fluorescent signal of immobilized cells was 2.26 times as high as that of the free cells, and the peak value was 2.23 times as high during the detection time ranging from 1.5 to 6.0 h. The constantly lower growth and density of the immobilized cell implied the enhanced signal intensity of single cells after immobilization. Meanwhile, the cell density decreased as the immobilization time prolonged. Cell density and immobilization time were the dominant factors affecting the detection signal. For benzene at higher concentrations, the immobilized biosensor showed more rapid signal response at the early period of detection.

Key words: benzene derivates detection; immobilized cell; cell density; immobilization time; beads usage

细胞传感器的出现使污染物生物有效性的检测过程变得更加快捷和经济^[1], 也使得研究更多地集中在细胞传感器的构建上, 而在细胞传感器使用和操作方法的优化方面还存在进一步提高的空间^[2]. 为了拓展细胞传感器的使用范围, 使之更适于实际环境中应用, 通常对细胞传感器进行固定化处理^[3-6]. 固定化细胞具有明显的优势: 降低环境中不利因素的抑制作用^[7,8]; 减慢细胞在环境中的扩散速度, 降低微生物对环境的影响风险^[9]; 长期保持细胞活性^[10]. 但在细胞传感器的固定化过程中, 各因素对检测效果的影响罕有报道, 为使固定化细胞发挥最佳的检测效果, 有必要研究固定化条件对检测效果的影响.

本研究以苯系物细胞传感器^[11]为模式传感器, 经过海藻酸钠固定化处理, 对比了固定化状态和游离状态下检测效果差别, 对固定化过程中的细胞浓度、固定化时间、固定化颗粒的投加量等因素进行了分析, 并检测了对不同浓度的苯系物

的响应情况.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

苯、甲苯等购自北京化工厂. 海藻酸钠, CaCl₂、NaCl、KH₂PO₄、(NH)₂HPO₄、二甲基亚砜(DMSO)购自国药集团化学试剂有限公司. MgSO₄·7H₂O 购自生工生物工程有限公司. 酵母粉和蛋白胨购自OXOID公司. 其中 NaCl、MgSO₄·7H₂O 为优级纯, 其他为分析纯. 卡那霉素购自北京经科宏达生物技术有限公司.

收稿日期: 2012-05-16; 修订日期: 2012-09-12

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-JS401); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA06A407); 国家科技支撑计划项目(2012BAJ24B02); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-G-072)

作者简介: 唐阔(1986~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向有机污染物降解与检测, E-mail: tk054@163.com

* 通讯联系人, E-mail: gqzhuang@rcees.ac.cn; azma@rcees.ac.cn

1.2 细胞传感器的培养

细胞传感器 *Pseudomonas fluorescens* A506 (pTS) 于 -80°C 条件下保存. 该传感器中, 绿色荧光蛋白基因 (*gfp*) 与甲苯降解途径的启动子基因 (*Ptba1*) 结合, 在自动转录因子 TbuT 存在的条件下, 该细胞传感器可以受到甲苯的诱导而产生绿色荧光蛋白, 绿色荧光蛋白上的发光基因可以吸收特定波长的激发光, 产生稳定的绿色荧光信号. 最终通过对荧光信号的检测, 达到对污染物检测的效果. 培养条件: LB 培养基 (酵母粉 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, NaCl $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 同时加入卡那霉素 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 在 30°C , $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下过夜培养至指数生长末期 (吸光值 $D_{600} = 2.4$).

1.3 细胞传感器的固定化

细胞生长至指数生长末期 ($D_{600} = 2.4$) 后, 取不同体积的菌液在 4°C 下离心, 转速 $4\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 离心 10 min . 菌体用灭菌的磷酸缓冲液 [$(\text{NH})_2\text{HPO}_4$ $3.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $1.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, NaCl $5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.2\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$] 洗涤后, 再次离心. 重复 2 次洗涤离心后的菌体, 用 5 mL 磷酸缓冲液重悬, 形成不同浓度的菌液, 并加入等体积的 4% 海藻酸钠溶液充分混合. 细胞与海藻酸钠的混合溶液再通过 1 mL 移液器针头逐滴滴加至 2% CaCl_2 溶液中, 并形成直径约为 2 mm 的颗粒, 同时对 CaCl_2 溶液进行低速搅拌. 经过不同时间的固定化处理, 颗粒用生理盐水洗涤后取出用于污染物检测.

1.4 游离细胞与固定化细胞的生长

培养基中的游离细胞与固定化细胞在相同的时间间隔取样检测细胞浓度. 游离细胞直接通过分光光度计 (UNICO UV-2000, 上海丽度电子科技发展有限公司) 检测其吸光值 D_{600} , 再转化成所对应的细胞浓度 ($\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$). 固定化细胞在通过 EDTA ($\text{pH} = 8.0$) 溶解后进行梯度稀释. 稀释后均匀涂在含有卡那霉素 ($50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的固体 LB 培养基上, 通过平板计数法得到相应的细胞浓度.

1.5 细胞传感器检测污染物

一定比例的细胞传感器转移至含有 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 卡那霉素的 LB 培养基中, 以 DMSO 作为助溶剂, 加入不同种类和浓度的污染物进行检测, 待测的污染物包括苯和甲苯. 检测条件与细胞培养条件相同, 经过一定的时间后对游离和固定化细胞传感器取样检测. 游离细胞取样 $180\ \mu\text{L}$ 菌液, 固定化细胞取 4 颗固定化颗粒 ($100\ \mu\text{L}$) 置于 96 孔板 (Black, flat-bottom, COSTAR[®], USA) 内, 通过全波长扫描式多

功能酶标仪 (Thermo[®], USA) 对荧光信号进行检测, 激发光为 488 nm , 发射光为 510 nm , 检测信号单位为 RFU (Relative Fluorescence Unit).

2 结果与讨论

2.1 固定化及检测条件的优化

为了优化固定化细胞传感器的检测, 将固定化时间、细胞与包埋剂之间的比例, 以及固定化颗粒投加量等条件作为影响因素, 通过正交试验考察一定范围内, 各因素对单位体积检测信号 ($\text{RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的影响. 检测物为甲苯, 浓度 $117.40\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$. 试验各因素的水平设定如表 1.

表 1 固定化细胞检测正交试验设计方案

Table 1 Solution of the orthogonal experimental design for immobilized biosensor detection

水平	A 细胞/包埋剂 (菌液)/(包埋剂) / $\text{mL}\cdot\text{mL}^{-1}$	B 固定化时间 /h	C 固定化颗粒投加量 (颗粒)/(培养基) / $\text{mL}\cdot\text{mL}^{-1}$
1	20/10	2	10/50
2	10/10	4	5/50
3	5/10	6	1.25/50
试验序号	A	B	C
1	1	1	1
2	1	2	2
3	1	3	3
4	2	1	2
5	2	2	3
6	2	3	1
7	3	1	3
8	3	2	1
9	3	3	2

正交试验结果通过直观分析后 (图 1), 可以得出: 在 1.5 、 3.0 、 6.0 h , 细胞与包埋剂比例在 3 个因素中对荧光信号强度的影响最大, 且比例越高得到的荧光信号越强. 而在 18.0 h 时, 细胞与包埋剂比例与其他两个因素对荧光信号影响差别不大.

1.5 h 时, 固定化时间和固定化颗粒投加量对荧光信号影响相当, 且固定化时间越长, 荧光信号越弱. 在 3.0 h 时, 固定化时间对信号影响强于颗粒投加量. 投加量对荧光信号的影响在 3 个因素中是最小的, 在 1.5 、 6.0 和 18.0 h 都与固定化时间影响相当, 在 3.0 h 影响最小.

通过 MiniTab 软件对试验结果进行方差分析, 结果如表 2. 其中细胞与包埋剂比例对信号的影响最为显著, 在 1.5 h 和 3.0 h 时对于结果的影响高度显著. 影响程度次之的是固定化时间, 只在 1.5 h 对检测结果的影响高度显著, 而投加量的影响相对比较弱, 只有在 1.5 h 是显著影响. 6.0 h 之后的各因素对于检测结果影响都减弱.

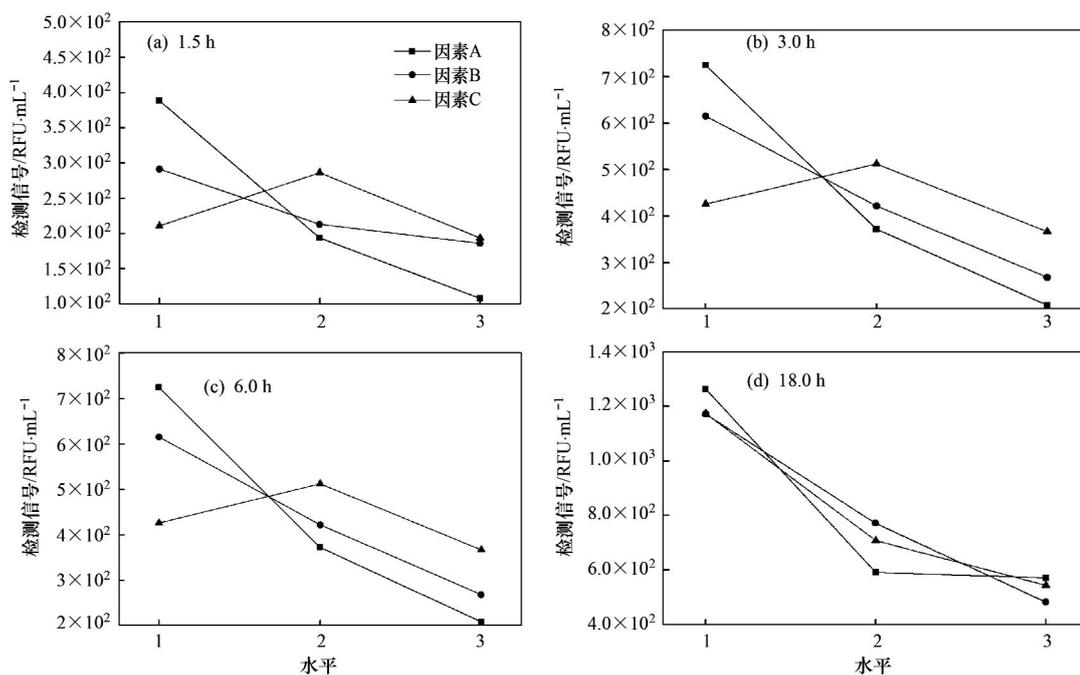


图1 正交试验结果

Fig. 1 Results of the orthogonal experimental design

表2 方差分析各因素影响显著性

Table 2 Significance analysis by ANOVA table

因素	1.5 h	3.0 h	6.0 h	18.0 h
A 细胞与包埋剂比例	高度显著	高度显著	无影响	影响
B 固定化时间	高度显著	显著	无影响	影响
C 投加量	显著	影响	无影响	影响

2.2 游离细胞与固定化细胞的检测效果

海藻酸钠作为包埋剂在固定化细胞降解中普遍采用^[12],而海藻酸钠和 CaCl_2 的浓度在一定范围内对于传质影响不明显^[13],因此本研究选择浓度为2%的海藻酸钠作为细胞传感器的包埋剂进行研究.待测污染物为甲苯,浓度为 $117.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,未加入污染物的样品作为对照.加入待测污染物后,依次在1.5、3.0、6.0以及18.0 h时取样检测荧光信号.经过固定化处理和游离状态下的细胞的检测效果见图2.

经2 h固定化处理后细胞传感器,在6 h内检测信号强度持续上升,且上升速度明显快于游离状态细胞.两者在1.5 h的信号强度分别是 $178.22 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $82.34 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$,随后固定化细胞的信号强度在6 h上升至 $482.62 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$,而游离状态细胞仅为 $216.70 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$,前者为后者的2.23倍,此时的信号上升速度固定化细胞是游离细胞的2.26倍.经过18.0 h诱导后,游离细胞信号出现回落,而固定化细胞则相对略有上升.

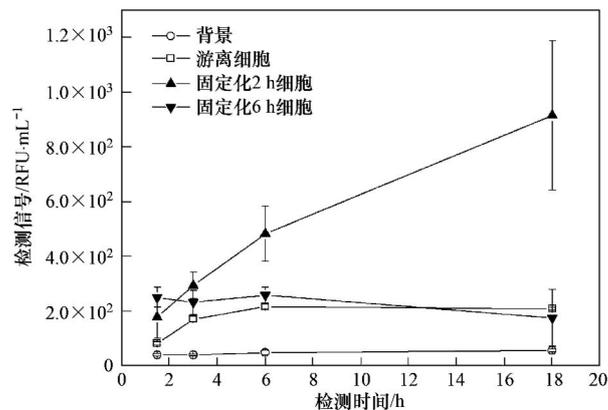


图2 游离细胞与固定化细胞检测效果

Fig. 2 Detection by free cells and immobilized cells

经6 h固定化处理后细胞传感器,在初始阶段,既1.5 h时其检测信号为 $250.50 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$,不仅明显高于游离状态下的诱导信号,还高于同一检测时间的2 h固定化细胞.但之后直到6 h信号强度不再上升,而在3 h信号强度略高于游离状态细胞但略低于2 h固定化细胞,说明固定化时间对于细胞传感器的信号产生快慢具有影响.

18.0 h诱导后,固定化细胞所处的培养基出现浑浊.对出现浑浊的培养基进行检测,并未发现有荧光信号产生(数据未给出).

2.3 固定化对细胞生长影响

检测过程中固定化细胞生长及荧光信号随时间

变化情况如图 3 所示. 相对于游离细胞在 6.0 h 内连续生长, 固定化颗粒中的细胞浓度保持稳定, 且浓度远小于游离细胞浓度, 不足游离细胞的 4.5%, 说明固定化颗粒中的细胞生长受到了抑制. 细胞活性通过单个细胞的荧光信号, 即单位体积荧光强度 ($\text{RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$) 与细胞浓度 ($\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的比值来反映, 在各个检测时间单个固定化细胞的荧光信号都远大于游离细胞, 这也说明固定化过程不仅影响细胞的生长, 也提升了单个细胞对于待测污染物的检测活性.

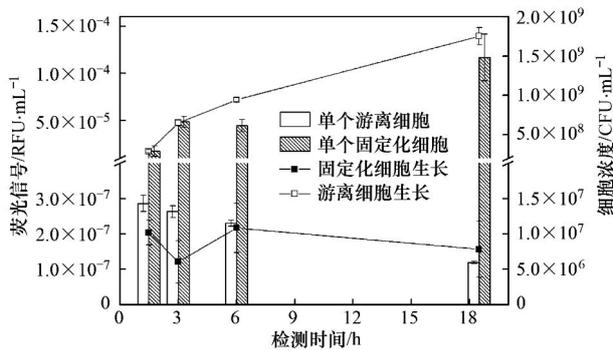


图 3 游离细胞与固定化细胞生长及其荧光信号

Fig. 3 Growth and fluorescent signal of free and immobilized cells

比较不同固定化时间下细胞浓度的差别, 结果如图 4 所示, 固定化 2 h 后的细胞浓度为 $1.11 \times 10^7 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$. 固定化 4 h 后的细胞浓度下降 53.5%, 为 $5.17 \times 10^6 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$. 而固定化 6 h 后, 细胞浓度仅为 $1.69 \times 10^6 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, 比 2 h 固定化的细胞浓度下降了 87.8%. 说明固定化时间越长, 固定化颗粒中细胞存活数越低.

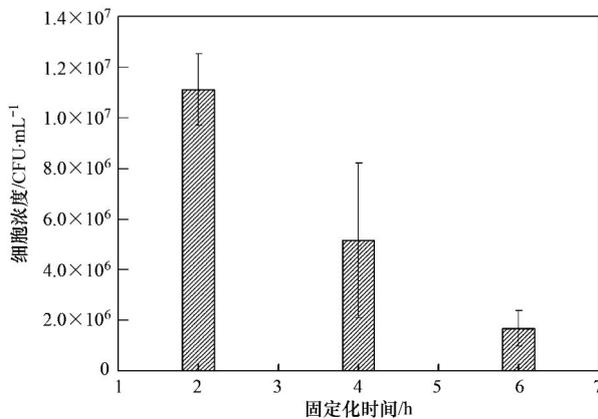


图 4 固定化时间对细胞浓度影响

Fig. 4 Effect of the immobilization on the cell density

2.4 保存后固定化细胞的检测效果

制备完成的固定化细胞置于 4℃ 冰箱中保存,

经过一定时间保存后再用于检测, 检测的物质为甲苯, 浓度 $117.40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 结果如图 5. 同样是诱导 1.5 h, 随着固定化细胞保存时间从 0 d 上升到 3 d, 其荧光信号也由 $67.27 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 上升至 $178.86 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$. 经过 7 d 保存后, 荧光信号回落至 $123.47 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$. 而诱导 3.0 h 的检测结果随保存时间的变化规律与之相同, 从 0 d 的 $276.84 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 上升至 3 d 的 $353.82 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$.

诱导 6.0 h 的检测结果, 除了保存 1 d 后荧光信号相对较低以外, 其他各个保存时间的荧光信号变化并不明显, 0、3、7 d 的荧光信号分别为 414.31、439.40 和 $459.93 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$.

在诱导 18.0 h 后, 荧光信号随保存时间逐渐下降, 保存时间 0 d 的荧光信号最高, 为 $528.25 \text{ RFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, 3 d 的荧光信号为 230.87, 下降了 56.30%. 之后到 7 d 处基本稳定.

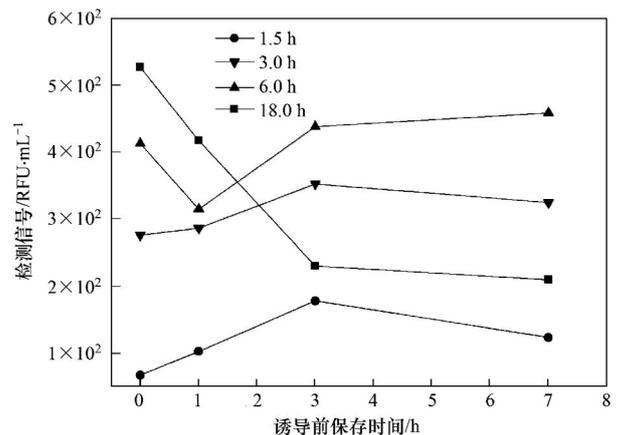


图 5 保存后固定化细胞检测效果

Fig. 5 Detection by the immobilized cells after storage

2.5 固定化细胞对不同浓度的苯的检测效果

Pseudomonas fluorescens A506 (pTS) 作为针对苯系物的一种细胞传感器, 当处于游离状态下, 对于苯的响应信号相对较弱, 尤其是对于浓度较低的苯, 诱导信号与背景值差异并不大^[11]. 因此利用固定化细胞对不同浓度的苯进行检测, 并于游离细胞检测效果进行比较. 根据正交试验结果, 选择优化后的固定化因素和检测条件为: 细胞与包埋剂比例为 20 mL 菌液/10 mL 包埋剂; 固定化时间为 2 h; 固定化颗粒投加量为 1.25 mL 颗粒/50 mL 培养基. 如图 6 所示, 检测结果转化成信噪比 SNR (信噪比 = 含有一定浓度污染物的荧光信号值/无污染物的荧光信号值) 的形式给出.

检测时间为 1.5 h 时 [图 6(a)], 游离细胞传感器对于各个浓度苯的检测效果差别并不明显,

且与背景值接近. 固定化细胞传感器对低浓度苯的检测效果与游离状态接近或略低, 但是当浓度为 $58.70 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $117.40 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, SNR 分别为 1.82 和 1.56, 高于相应浓度下游离细胞的检测结果.

检测时间为 3.0 h 时[图 6(b)], 游离细胞传感器在各个浓度苯的 SNR 均略有上升, 但并不如固定化细胞传感器上升明显. 此时的固定化细胞传感器不仅对高浓度的苯具有较高的 SNR, 在低浓度, 即 7.04 、 14.08 、 $35.20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 也拥有较游离细胞更高的 SNR, 分别为 1.32、1.43、2.13.

检测时间为 6.0 h 时[图 6(c)], 结果与 3.0 h 接近, 固定化细胞传感器的所有浓度的检测结果信噪比(浓度由低到高依次为 1.33、1.52、2.19、2.88、3.13)都高于游离细胞检测结果, 各个浓度苯的 SNR 分别为相应浓度游离细胞检测结果的 1.47、1.34、1.95、2.08、1.98 倍. 浓度越高, 固定化细胞传感器的 SNR 提高的越多.

检测时间为 18.0 h 时[图 6(d)], 固定化细胞传感器在各个浓度苯的 SNR 分别为 1.28、1.52、1.97、2.40、2.29, 和检测时间 6 h 的结果相比, 均产生回落.

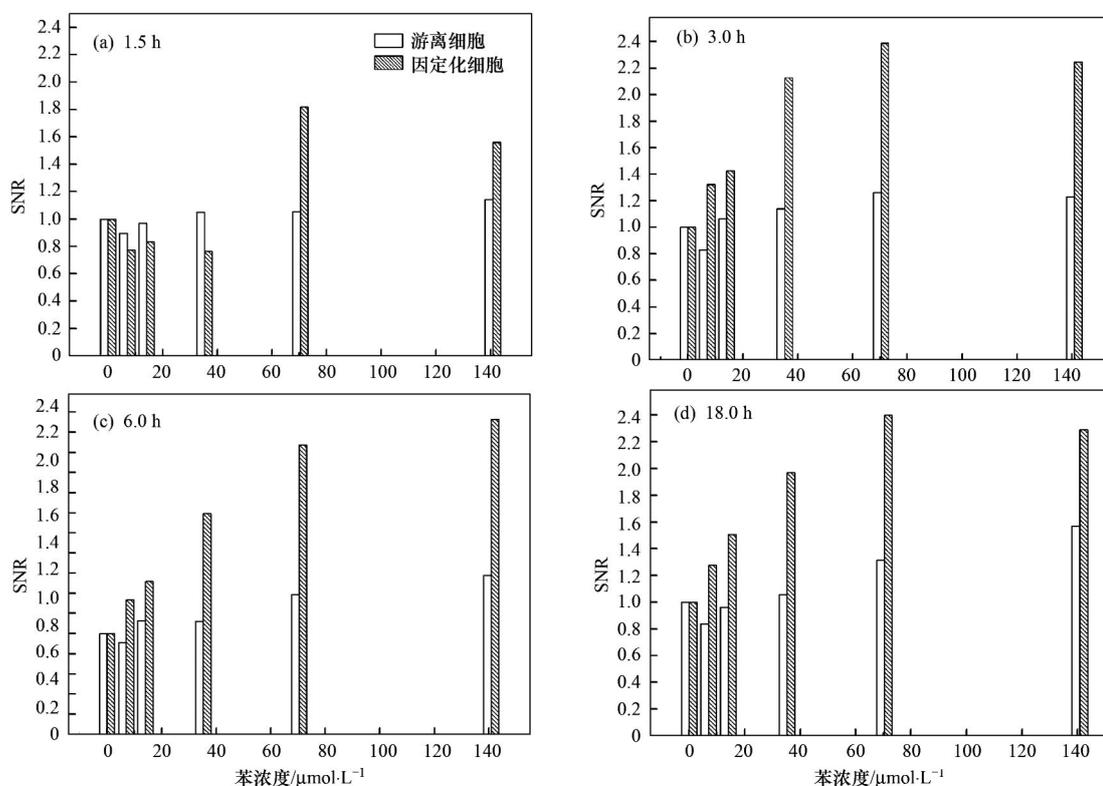


图 6 固定化与游离细胞传感器对各个浓度苯的检测

Fig. 6 Detection of different concentrations of benzene by both free and immobilized biosensor

3 讨论

随着对环境污染检测要求的不断提高, 包括细胞传感器^[14]在内的各种手段和方法被应用其中. 细胞传感器的固定化处理使之可以更加方便地应用于实际环境中的污染物检测^[15], 然而在固定化处理之后的细胞会受到不同因素的影响^[16]而发生生理甚至是形态上的变化^[17], 细胞传感器的检测效果也会受到影响. 本研究对固定化检测过程中各个条件因素进行试验, 对其影响进行了分析.

在固定化处理和检测条件优化过程中, 细胞与

包埋剂比例对于细胞传感器的检测效果的影响最为明显. 细胞浓度对于不同时间的固定化处理的影响都显著或非常显著(表 2). 单位体积内的细胞数量越多, 产生的报告基因蛋白越多, 可检测到的信号强度也就越强. Polyak 等^[18]发现, 在使用溶胶凝胶法固定化细胞传感器并用于检测有毒物质的过程中, 提高细胞浓度可以使检测信号也随之上升, 但是细胞浓度超过一定范围后会阻碍营养及氧气的扩散而产生负面影响. Trögl 等^[4]使用同样的固定化方法处理 *Pseudomonas fluorescens* HK, 研究表明浓度在 $8.0 \times 10^4 \text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上时具有很好的检测效果,

但是 8.0×10^4 、 8.0×10^6 和 8.0×10^8 CFU·mL⁻¹ 检测效果差别不大。Yoclubal 等^[19]发现在多孔材料中的细胞浓度对于信号强度和响应时间都会产生影响。在本研究所讨论的细胞与包埋剂的比例范围内 [细胞(mL)/包埋剂(mL)为 20/10、10/10、5/10], 比值越大有利于检测信号的提高, 因此采用细胞(mL)/包埋剂(mL) = 20/10 作为固定化条件用于苯系物细胞传感器的检测。固定化时间也是重要的影响因素, 而固定化时间的影响为 2 h 时有着最高的信号强度, 而随着固定化时间的越长, 检测信号越弱。最佳固定化时间与菌种和包埋剂等因素有关^[5,20,21]。固定化时间越长, 有利于空间结构的强化, 但是对于固定化细胞的浓度与活性却有影响。首先在细胞浓度方面, 如图 4 所示, 固定化时间越长, 细胞数量因缺乏营养而减少, 信号强度也随之减弱。另一方面, 如图 2 所示, 固定化时间越长, 信号到达稳定的时间却缩短。分析其原因, 可能是长时间处于含有钙离子环境中, 导致细胞膜通透性增加^[21,22], 缩短了待检测的底物进入细胞内所需的时间, 使细胞在更短的时间内对底物产生响应信号。固定化颗粒投加量也会对细胞传感器响应结果产生影响, 与前两者的影响结果相比并不大, 但还是会在检测初始阶段(1.5h)时有显著影响。

本研究对比了固定化细胞与游离细胞的生长与检测特性。如图 3 所示, 在生长特性上, 固定化颗粒中的细胞和游离细胞相比, 细胞浓度在一定时间内保持稳定, 而且细胞浓度相对更低, 说明了固定化细胞由于空间受限, 生长缓慢这一性质^[5]。在检测特性上, 尽管固定化细胞生长缓慢但固定化细胞却得到了高于游离细胞的单位体积信号强度, 而固定化细胞浓度相对更低, 说明了单个细胞信号强度上升。对于固定化细胞降解过程, 传统的观点认为较高的降解效率是由于固定化细胞浓度相对较高^[23,24], 但本研究得到的结果显示固定化细胞没有获得相对游离细胞更高的细胞浓度, 其较高的信号强度而很可能是固定化后细胞生理生化条件变化导致的结果。这也和前期关于固定化研究的报道中某些细胞固定化后细胞生理活性的变化研究结果相符^[25]。而固定化细胞经过保存后仍具有一定的检测效果, 有报道表明固定化细胞传感器在 -80℃ 下保存, 使用的有效期可以达到 2 个月^[26]。本研究中当检测时间较短时, 保存时间对其结果影响不大; 当检测时间达到 18.0 h 时, 其结果随保存时间的增加而降低。

对于不同浓度的苯的检测, 固定化处理对于检

测效果的影响也不同。浓度越高, 固定化细胞传感器相对与游离细胞的信号提高的越多。尤其是在检测时间较短的情况下(1.5 h), 游离细胞对于高浓度苯的检测结果并不明显, 在浓度 $58.70 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 SNR 仅为 1.05, 但固定化细胞传感器在相应浓度下的 SNR 可以达到 1.82。之前有报道表明, 使用固定化细胞传感器检测低浓度芳香族污染物的响应时间, 比高浓度更长^[27], 有报道认为海藻酸钙作为固定化材料会对氯仿等有机物的传质产生影响^[28], 固定化后的细胞传感器达到峰值信号所需要的时间也比游离细胞更短。在本研究中, 与游离细胞相比, 固定化细胞传感器对高浓度苯的响应更迅速, 其原因可能是不同浓度的污染物在固定化颗粒中的传质速度不同, 因此对于不同浓度的待检测物, 获得信号所需要的时间也不相同。

4 结论

(1) 对固定化及检测条件进行优化, 结果表明当细胞与包埋剂比例为 20 mL 菌液/10 mL 包埋剂、固定化时间为 2 h、固定化颗粒投加量为 1.25 mL 颗粒/50 mL 培养基, 具有最高的检测信号。各个因素对检测结果的影响程度有强到弱依次是: 细胞与包埋剂比例、固定化时间、固定化颗粒投加量。

(2) 固定化方法提高了单位体积荧光信号, 限制了细胞传感器 *Pseudomonas fluorescens* A506(pTS) 生长。相比游离细胞, 具有更高的单个细胞活性。

(3) 固定化细胞传感器 *Pseudomonas fluorescens* A506(pTS) 对不同浓度苯的检测结果表明: 在检测时间为 1.5 h 时, 固定化方法只对高浓度污染物的检测信号有明显提高。随着检测时间延长至 3~6 h, 固定化方法对于低浓度污染物的检测信号也会提高, 但其提高程度不如高浓度的检测信号。

致谢: 感谢爱荷华州立大学 Halverson L J 教授在研究工作中给予的帮助。

参考文献:

- [1] Kohlmeier S, Mancuso M, Deepthike U, et al. Comparison of naphthalene bioavailability determined by whole-cell biosensing and availability determined by extraction with Tenax [J]. Environmental Pollution, 2008, **156**(3): 803-808.
- [2] Harms H, Wells M C, Van der Meer J R. Whole-cell living biosensors - are they ready for environmental application? [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, **70**(3): 273-280.
- [3] Applegate B, Kelly C, Lackey L, et al. *Pseudomonas putida* B2: a *tod-lux* bioluminescent reporter for toluene and trichloroethylene co-metabolism [J]. Journal of Industrial

- Microbiology and Biotechnology, 1997, **18**(1): 4-9.
- [4] Trögl J, Ripp S, Kuncová G, *et al.* Selectivity of whole cell optical biosensor with immobilized bioreporter *Pseudomonas fluorescens* HK44 [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2005, **107**(1): 98-103.
- [5] Kong I C. Application of stimulating agents on the immobilized bioluminescence strain *Pseudomonas putida* mt- 2 KG1206, preserved by deep-freezing, for the convenient biomonitoring[J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, **22**(9): 1475-1480.
- [6] Gil G C, Kim Y J, Gu M B. Enhancement in the sensitivity of a gas biosensor by using an advanced immobilization of a recombinant bioluminescent bacterium [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2002, **17**(5): 427-432.
- [7] Mollaei M, Abdollahpour S, Atashgahi S, *et al.* Enhanced phenol degradation by *Pseudomonas* sp. SA01: gaining insight into the novel single and hybrid immobilizations[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, **175**(1-3): 284-292.
- [8] Manohar S, Kim C K, Karegoudar T B. Enhanced degradation of naphthalene by immobilization of *Pseudomonas* sp. strain NGK1 in polyurethane foam [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, **55**(3): 311-316.
- [9] Power B, Liu X, Germaine K J, *et al.* Alginate beads as a storage, delivery and containment system for genetically modified PCB degrader and PCB biosensor derivatives of *Pseudomonas fluorescens* F113 [J]. Journal of Applied Microbiology, 2011, **110**(5): 1351-1358.
- [10] Parameswarappa S, Karigar C, Nagenahalli M. Degradation of ethylbenzene by free and immobilized *Pseudomonas fluorescens*-CS2 [J]. Biodegradation, 2008, **19**(1): 137-144.
- [11] Stiner L, Halverson L J. Development and characterization of a green fluorescent protein-based bacterial biosensor for bioavailable toluene and related compounds [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(4): 1962-1971.
- [12] Liu X M, Germaine K J, Ryan D, *et al.* Whole-cell fluorescent biosensors for bioavailability and biodegradation of polychlorinated biphenyls [J]. Sensors, 2010, **10**(2): 1377-98.
- [13] Blandino A, Macías M, Cantero D. Formation of calcium alginate gel capsules: influence of sodium alginate and CaCl₂ concentration on gelation kinetics [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 1999, **88**(6): 686-689.
- [14] Tecon R, Van der Meer J R. Bacterial biosensors for measuring availability of environmental pollutants [J]. Sensors, 2008, **8**(7): 4062-4080.
- [15] Belkin S. Microbial whole-cell sensing systems of environmental pollutants [J]. Current Opinion in Microbiology, 2003, **6**(3): 206-212.
- [16] 王建龙. 固定化对微生物生理变化的影响 [J]. 中国生物工程杂志, 2003, **23**(7): 62-66.
- [17] Shim H, Yang S T. Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by a coculture of *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas fluorescens* immobilized in a fibrous-bed bioreactor [J]. Journal of Biotechnology, 1999, **67**(2-3): 99-112.
- [18] Polyak B, Bassis E, Novodvoretz A, *et al.* Bioluminescent whole cell optical fiber sensor to genotoxicants: system optimization [J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2001, **74**(1-3): 18-26.
- [19] Yolcubal I, Piatt J J, Pierce S A, *et al.* Fiber optic detection of in situ *lux* reporter gene activity in porous media: system design and performance [J]. Analytica Chimica Acta, 2000, **422**(2): 121-130.
- [20] Chung T P, Tseng H Y, Juang R S. Mass transfer effect and intermediate detection for phenol degradation in immobilized *Pseudomonas putida* systems [J]. Process Biochemistry, 2003, **38**(10): 1497-1507.
- [21] Ha J, Engler C R, Wild J R. Biodegradation of coumaphos, chlorferon, and diethylthiophosphate using bacteria immobilized in Ca-alginate gel beads [J]. Bioresource Technology, 2009, **100**(3): 1138-1142.
- [22] Kim J W, Rainina E I, Mulbry W W, *et al.* Enhanced-rate biodegradation of organophosphate neurotoxins by immobilized nongrowing bacteria [J]. Biotechnology Progress, 2002, **18**(3): 429-436.
- [23] Wang J L, Quan X C, Han L P, *et al.* Microbial degradation of quinoline by immobilized cells of *Burkholderia pickettii* [J]. Water Research, 2002, **36**(9): 2288-96.
- [24] Patil N K, Veeranagouda Y, Vijaykumar M H, *et al.* Enhanced and potential degradation of o-phthalate by *Bacillus* sp. immobilized cells in alginate and polyurethane [J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2006, **57**(2): 82-87.
- [25] Marines F, White D W. Immobilization of *Escherichia coli* expressing the *lux* genes of *Xenorhabdus luminescens* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, **60**(10): 3862-3863.
- [26] Ivask A, Green T, Polyak B, *et al.* Fibre-optic bacterial biosensors and their application for the analysis of bioavailable Hg and As in soils and sediments from Aznalcollar mining area in Spain [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2007, **22**(7): 1396-1402.
- [27] Heitzer A, Malachowsky K, Thonnard J, *et al.* Optical biosensor for environmental on-line monitoring of naphthalene and salicylate bioavailability with an immobilized bioluminescent catabolic reporter bacterium [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, **60**(5): 1487-1494.
- [28] Eltzov E, Pavluchkov V, Burstin M, *et al.* Creation of a fiber optic based biosensor for air toxicity monitoring [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2011, **155**(2): 859-867.

CONTENTS

Characterization of Chemical Compositions in PM _{2.5} and Its Impact on Hazy Weather During 16 th Asian Games in Guangzhou	TAO Jun, CHAI Fa-he, GAO Jian, <i>et al.</i> (409)
PM _{2.5} Pollution and Aerosol Optical Properties in Fog and Haze Days During Autumn and Winter in Beijing Area	ZHAO Xiu-juan, PU Wei-wei, MENG Wei, <i>et al.</i> (416)
Forming Potential of Secondary Organic Aerosols and Sources Apportionment of VOCs in Autumn of Shanghai, China	WANG Qian, CHEN Chang-hong, WANG Hong-li, <i>et al.</i> (424)
Study on Number Concentration Distribution of Atmospheric Ultrafine Particles in Hangzhou	XIE Xiao-fang, SUN Zai, FU Zhi-min, <i>et al.</i> (434)
Pollution Characteristics and Source Identification of Atmospheric Particulate Matters <i>n</i> -Alkanes in Baoding City	LI Xing-ru, DU Xi-qiang, WANG Ying-feng, <i>et al.</i> (441)
Study on Pollution Characteristics of Carbonaceous Aerosols in Xi'an City During the Spring Festival	ZHOU Bian-hong, ZHANG Cheng-zhong, WANG Ge-hui (448)
Characteristics of PM ₁₀ and PM _{2.5} Concentrations in Mountain Background Region of East China	SU Bin-bin, LIU Xin-dong, TAO Jun (455)
Assessment of TVOC and Odor in the Remediation Site of Contaminated Soil and Groundwater Using Electronic Nose	TIAN Xiu-ying, CAI Qiang, LIU Rui, <i>et al.</i> (462)
Characteristics of Mercury Exchange Flux Between Soil and Atmosphere Under the Snow Retention and Snow Melting Control	ZHANG Gang, WANG Ning, AI Jian-chao, <i>et al.</i> (468)
Study on Heavy Metal Contaminations and the Sources of Pb Pollution in Jinghai Bay Using the Stable Isotope Technique	XU Lin-bo, GAO Qin-feng, DONG Shuang-lin, <i>et al.</i> (476)
Eco-environmental Evolution Inferred from <i>n</i> -Alkanes and $\delta^{13}\text{C}$ Records in the Sediments of Shijiu Lake	OU Jie, WANG Yan-hua, YANG Hao, <i>et al.</i> (484)
Distribution of PGEs Contents and Its Factors in Snowfall and Snow Cover over the Arid Region in Changji City	LIU Yu-yan, LIU Hao-feng, ZHANG Lan (494)
Effect of Dust Deposition Collection Methods on Collection Efficiency	ZHANG Zheng-cai, DONG Zhi-bao (499)
Regionalization of the Freshwater Eco-regions in the Haihe River Basin of China	SUN Ran-hao, JI Yu-he, SHANG Lin-yuan, <i>et al.</i> (509)
Characteristics of Diffuse Attenuation Coefficient of Underwater Irradiance in the Lakes in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River	SHI Zhi-qiang, ZHANG Yun-lin, WANG Ming-zhu, <i>et al.</i> (517)
Study on Influencing Factors and Universality of Chlorophyll- <i>a</i> Retrieval Model in Inland Water Body	HUANG Chang-chun, LI Yun-mei, XU Liang-jiang, <i>et al.</i> (525)
Effect of Dissolved Oxygen on Diversity of Ammonia-Oxidizing Microorganisms in Enrichment Culture from Estuarine Wetland Surface Sediments and Ammonia-oxidizing Rate	QIU Zhao-zheng, LUO Zhuan-xi, ZHAO Yan-ling, <i>et al.</i> (532)
Spatial Variation of Soil Moisture/Salinity and the Relationship with Vegetation Under Natural Conditions in Yancheng Coastal Wetland	ZHANG Hua-bing, LIU Hong-yu, LI Yu-feng, <i>et al.</i> (540)
Spatial Heterogeneity and Classified Control of Agricultural Non-Point Source Pollution in Huaihe River Basin	ZHOU Liang, XU Jian-gang, SUN Dong-qi, <i>et al.</i> (547)
Phosphorus Output Characteristics Under Different Rainfall-Runoffs in Gaolan River	CUI Yu-jie, LIU De-fu, SONG Lin-xu, <i>et al.</i> (555)
Monitoring and Analysis on Evolution Process of Rainfall Runoff Water Quality in Urban Area	DONG Wen, LI Huai-en, LI Jia-ke (561)
Characteristics and Contribution of the Strengthening Units of Composite Constructed Wetland for Treating Urban Sewage	REN Feng, LU Yi-xia, LIU Qin, <i>et al.</i> (570)
Inactivation of <i>Mycobacteria mucogenicum</i> in Drinking Water: Chlorine Resistance and Mechanism Analysis	ZHENG Qi, CHEN Chao, ZHANG Xiao-jian, <i>et al.</i> (576)
Partial Biological Characteristics and Algicidal Activity of an Algicidal Bacterium	LI San-hua, ZHANG Qi-ya (583)
Effects of Macrophytes Pyrolysis Bio-oil on <i>Skeletonema costatum</i> Antioxidant Enzyme Activities	YAO Yuan, LI Feng-min, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i> (589)
Mechanism and Kinetics of Phenol Degradation by TiO ₂ Photocatalytic Combined Technologies	ZHANG Yi, HUANG Ruo-nan, WANG Xiao-min, <i>et al.</i> (596)
Biodegradation Characteristics of Organic Pollutants Contained in Tannery Wastewater	WANG Yong, LI Wei-guang, YANG Li, <i>et al.</i> (604)
Microbial Degradation Mechanism of Disperse Azo Dye Red 30 by <i>Streptomyces</i> sp. FX645	XIE Lian-wu, FANG Ji-qian, GUO Ya-ping (611)
Study on Preparation and Performance of a Biological Carrier with Tourmaline	YANG Ji-xian, ZENG Hong-yun, ZHOU Yi, <i>et al.</i> (616)
Study on the <i>Chlorella pyrenoidosa</i> Cultivation Technology Based on the Excess Sludge Utilization	JI Wen-wen, XIA Hui-long, FANG Zhi-guo, <i>et al.</i> (622)
Effects of Mild Thermal Pretreatment on Anaerobic Digestibility of Sludge with Low Organic Content	CHEN Han-long, YAN Yuan-yuan, HE Qun-biao, <i>et al.</i> (629)
Effect of Natural and Hydrothermal Synthetic Goethite on the Release of Methane in the Anaerobic Decomposition Process of Organic Matter	YAO Dun-fan, CHEN Tian-hu, WANG Jin, <i>et al.</i> (635)
Concentrations and Distribution Characteristics of PCDD/Fs in Spent Etching Solution and Its Copper Salt Recycling Products	QING Xian, HAN Jing-lei, WEN Yan-shen (642)
Case Study on Health Risk Assessment Based on Site-Specific Conceptual Model	ZHONG Mao-sheng, JIANG Lin, YAO Jue-jun, <i>et al.</i> (647)
Study on the Risk Assessment Method of Regional Groundwater Pollution	YANG Yan, YU Yun-jiang, WANG Zong-qing, <i>et al.</i> (653)
Groundwater Organic Pollution Source Identification Technology System Research and Application	WANG Xiao-hong, WEI Jia-hua, CHENG Zhi-neng, <i>et al.</i> (662)
Study on Soil Organic Carbon Pools and Turnover Characteristics Along an Elevation Gradient in Qilian Mountain	ZHU Ling-yu, PAN Jian-jun, ZHANG Wei (668)
Response of Black Soil Organic Carbon, Nitrogen and Its Availability to Long-term Fertilization	LUO Kun, HU Rong-gui, ZHANG Wen-ju, <i>et al.</i> (676)
Phytoavailability and Chemical Speciation of Cadmium in Different Cd-Contaminated Soils with Crop Root Return	ZHANG Jing, YU Ling-ling, XIN Shu-zhen, <i>et al.</i> (685)
Study on Mechanism of SOM Stabilization of Paddy Soils Under Long-term Fertilizations	LUO Lu, ZHOU Ping, TONG Cheng-li, <i>et al.</i> (692)
Aging Process of Cr(III) in 22 Typical Soils of China and Influence Factors Analysis	ZHENG Shun-an, ZHENG Xiang-qun, LI Xiao-chen, <i>et al.</i> (698)
Residual Characteristics of HCHs in Soils of a Former Lindane Production Enterprise	PAN Feng, WANG Li-li, ZHAO Hao, <i>et al.</i> (705)
Evaluation and Source Analysis of the Mercury Pollution in Soils and Vegetables Around a Large-scale Zinc Smelting Plant	LIU Fang, WANG Shu-xiao, WU Qing-ru, <i>et al.</i> (712)
Residue of Organic Fluorine Pollutants in Hair and Nails Collected from Tianjin	YAO Dan, ZHANG Hong, CHAI Zhi-fang, <i>et al.</i> (718)
Analysis of Estrogens, Nonylphenol, 4-tert-Octylphenol and Bisphenol A in the Sediments	WU Wei, SHI Jiang-hong, CHEN Qing-cai, <i>et al.</i> (724)
Investigation of As, Cu and Zn Species and Concentrations in Animal Feeds	YAO Li-xian, HUANG Lian-xi, JIANG Zong-yong, <i>et al.</i> (732)
Residue Dynamics of Flubendiamide in Paddy Field	WANG Dian-dian, SONG Ning-hui, WU Wen-zhu, <i>et al.</i> (740)
Isolation of Two Endophytic Phenanthrene-Degrading Strains and Their Degradation Capacity	NI Xue, LIU Juan, GAO Yan-zheng, <i>et al.</i> (746)
Biodegradation of Nitrobenzene by a Halophilic <i>Myroides odoratimimus</i> Strain Y6	LI Tian, QIAN Kun, XIAO Wei, <i>et al.</i> (753)
Effect of Immobilization on Biosensor for Benzene Derivates Detection	TANG Kuo, MA An-zhou, YU Qing, <i>et al.</i> (760)
Investigation of Bacterial Diversity in the Biological Desulfurization Reactor for Treating High Salinity Wastewater by the 16S rDNA Cloning Method	LIU Wei-guo, LIANG Cun-zhen, YANG Jin-sheng, <i>et al.</i> (767)
Assessment of the Effect of Influent NH ₄ ⁺ -N Concentration on the Abundance and Community Structure of Functional Bacteria in CANON Process	LIU Tao, LI Dong, ZENG Hui-ping, <i>et al.</i> (773)
Biodegradation of Lignocellulose by <i>Penicillium simplicissimum</i> and Characters of Lignocellulolytic Enzymes	SHEN Ying, HU Tian-jue, ZENG Guang-ming, <i>et al.</i> (781)
Microbial Community Structure and Distribution Characteristics in Oil Contaminated Soil	YANG Meng-qing, LI Li-ming, LI Chuan, <i>et al.</i> (789)
Degradation of Oxytetracycline in Chicken Feces Aerobic-Composting and Its Effects on Their Related Parameters	WANG Gui-zhen, LI Zhao-jun, ZHANG Shu-qing, <i>et al.</i> (795)
Research of Moisture Content Variation in MSW Landfill	LI Rui, LIU Jian-guo, XUE Yue-wei, <i>et al.</i> (804)
Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass with Animal Digestion Mechanisms	WU Hao, ZHANG Pan-yue, GUO Jian-bin, <i>et al.</i> (810)

《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)

2013年2月15日 34卷 第2期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 2 Feb. 15, 2013

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. sciencecp. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencecp. 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: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发刊