

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 PM ₁₀ 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	张正偲, 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, 乔红杰, 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中对肋骨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)
TiO ₂ 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, 方继前, 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 (<i>Chlorella pyrenoidosa</i>) 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 CH ₄ 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 (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	厉阗, 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, 刘苗苗 (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 (<i>Penicillium simplicissimum</i>) 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)

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¹, 李冬², 曾辉平², 畅晓燕², 张杰^{1,2*}

(1. 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 哈尔滨 150090; 2. 北京工业大学水质科学与水环境恢复工程北京市重点实验室, 北京 100124)

摘要: 为了研究 CANON 工艺在常温低氨氮基质条件下的宏观运行效能及微观生态系统, 通过调节曝气量和水力停留时间 (HRT) 实现了 CANON 工艺在不同进水氨氮浓度下的稳定运行, 并基于 PCR-DGGE 和荧光定量 PCR 方法, 分析了氨氮浓度对反应器中氨氧化细菌 (AOB) 和厌氧氨氧化菌 (ANAMMOX 菌) 群落结构及丰度的影响。结果表明, 较高氨氮环境中总氮去除负荷在 $1.0 \text{ g} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ 以上, 当氨氮浓度降至 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 总氮去除负荷明显降低。进水氨氮浓度对 AOB 的群落结构有重要影响, 而对 ANAMMOX 菌群落影响较小。AOB 和 ANAMMOX 菌的丰度随氨氮浓度的降低而减少, 而亚硝酸盐氧化菌 (NOB) 的丰度随氨氮浓度的降低而增加, 这可能是导致系统脱氮效果下降的主要原因。因此, 需要通过一定的调控手段, 减少 AOB 和 ANAMMOX 菌的损失, 抑制 NOB 的生长, 以便维持系统在低氨氮条件下的脱氮性能。

关键词: CANON 工艺; 常温; 低氨氮; PCR-DGGE; 荧光定量 PCR; AOB; ANAMMOX 菌

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2013)02-0773-08

Assessment of the Effect of Influent $\text{NH}_4^+\text{-N}$ Concentration on the Abundance and Community Structure of Functional Bacteria in CANON Process

LIU Tao¹, LI Dong², ZENG Hui-ping², CHANG Xiao-yan², ZHANG Jie^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 2. Key Laboratory of Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

Abstract: To investigate macroscopic performance and microcosmic ecosystem of CANON process in low ammonium concentration at room temperature, a steady-operation CANON reactor was achieved in different ammonium concentrations by adjusting aeration and hydraulic retention time (HRT), and the effect of ammonium concentration on the abundance and community structure of functional bacteria was analyzed using PCR-DGGE and real-time PCR. The results indicated a high TN removal loading of over $1.0 \text{ g} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ in relatively high ammonium which was significantly reduced with the ammonium concentration of $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The community structure of ammonium oxidizing bacteria (AOB) changed sharply with the decrease of ammonium concentration, which was not the same as anaerobic ammonium oxidizing bacteria (ANAMMOX bacteria). Besides, the abundance of the two functional groups of bacteria reduced while the population of nitrite oxidizing bacteria (NOB) rose with the decrease of ammonium, which might be the main reason for the reduction of nitrogen removal efficiency. Consequently, some strategies are needed to reduce the loss of AOB and ANAMMOX bacteria and inhibit the growth of NOB so as to maintain the nitrogen removal performance in low ammonium concentration.

Key words: CANON process; room temperature; low ammonium concentration; PCR-DGGE; real-time PCR; AOB; ANAMMOX bacteria

CANON (completely autotrophic nitrogen removal over nitrite) 工艺作为一种新型生物脱氮工艺, 在单级反应器中通过氨氧化细菌 (AOB) 和厌氧氨氧化菌 (ANAMMOX 菌) 的协同作用实现亚硝化和厌氧氨氧化, 从而达到脱氮目的^[1,2]。由于 CANON 工艺具有脱氮途径简捷、无需外加碳源, 节省曝气等诸多优点^[3], 因此成为研究的热点。然而, 目前 CANON 工艺主要应用在高温高氨氮工业废水方面, 其在生活污水处理方面的应用还需要克服低氨氮浓度 ($< 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和低温 ($< 20^\circ\text{C}$) 两个难题^[4]。因

此, 研究人员针对单级自养脱氮系统, 通过降低进水氨氮浓度或者降低温度的方式, 考察系统的脱氮性能, 以期使其应用在生活污水的处理方面^[4-8]。例

收稿日期: 2012-04-19; 修订日期: 2012-06-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50878003); 北京市自然科学基金项目 (8092006); 城市水资源与水环境国家重点实验室开放基金项目 (QAK201005); 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2008ZX07208-003-003, 2008ZX07208-005-003, 2009ZX07424-001, 2009ZX07424-002-003, 2009ZX07424-005)

作者简介: 刘涛 (1987 ~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为微生物污水脱氮处理, E-mail: hitao Liu@gmail.com

* 通讯联系人, E-mail: 6282031@163.com

如,付昆明^[8]以 CANON 反应器为研究对象,使温度稳定在 35℃,尝试降低氨氮浓度运行反应器,但总氮去除负荷显著降低. Hendrickx 等^[4]以气提式厌氧氨氧化反应器为对象,在 20℃,进水氨氮为 69 mg·L⁻¹时,总氮去除负荷达到 0.26 g·(L·d)⁻¹. De Clippeleir 等^[7]在 OLAND 工艺中,在 25℃,进水氨氮分别为 66 mg·L⁻¹和 29 mg·L⁻¹时,总氮去除负荷分别达到 0.44 g 和 0.38 g·(L·d)⁻¹. 综上,尽管人们做了有针对性地研究,但是多数研究是在系统高温高氨氮环境中稳定运行的前提下突然降低氨氮浓度或者突然降温,而且改变条件后的运行时间较短. 此外,氨氮浓度的改变对系统内微生物丰度以及群落结构的影响尚未进行系统地分析. 因此,本研究以常温下稳定运行的 CANON 反应器作为对象,分析在 200 d 的运行期间内,进水氨氮由 400 mg·L⁻¹逐级降低至 100 mg·L⁻¹时反应器的运行状况,并基于 PCR-DGGE 和 real-time PCR 方法,分析功能微生物的种类和丰度的变化,并对反应器微观生态系统和宏观运行效能的关系进行讨论.

1 材料与方法

1.1 实验装置及运行条件

实验装置如图 1 所示:反应器内径 150 mm,总高度 700 mm,总体积 8.15 L. 柱内装填火山岩活性生物陶粒滤料,滤柱上方设有温度、pH 值、DO 数据采集系统. 实验用水以 NaHCO₃、(NH₄)₂SO₄、KH₂PO₄ 与自来水配置而成,采用上向流进水,底部

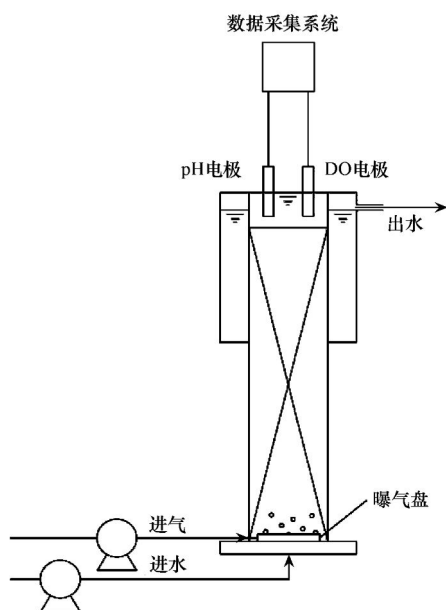


图 1 CANON 反应器实验装置及工艺流程示意

Fig. 1 CANON reactor installation and flowsheet

曝气方式运行.

该装置在室温、高氨氮浓度(>400 mg·L⁻¹)下成功启动并稳定运行约 150 d,之后进水氨氮浓度分别由 400 降低至 300、200、100 mg·L⁻¹,并通过调整曝气和水力停留时间(HRT)使系统达到稳定,考察不同基质浓度下 CANON 系统的运行情况. 在运行过程中,pH 值在 8.0~8.2 之间,温度为室温,变化范围在 15~23℃ 之间.

1.2 检测项目与分析方法

NH₄⁺-N 采用纳氏试剂光度法; NO₂⁻-N 采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法; NO₃⁻-N 采用麝香草酚分光光度法; 溶解氧(DO)和温度采用多功能溶解氧在线测定仪(WTW inoLab StirrOx-G, 德国), pH 值采用 pH 测定仪(OAKTON Waterproof pHTestr 10BNC, 美国).

1.3 DNA 提取

分别在不同进水氨氮浓度下的稳定期内采集反应器内滤料数粒,用无菌刷将生物膜取下后,采用化学法裂解、酚/氯仿/异戊醇抽提,试剂盒纯化回收的方法提取基因组 DNA,具体操作步骤可参照文献[9],与之不同的是在最后一步为了获得更为纯净的基因组 DNA,采用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(天根,北京)对产物进行纯化回收. 提取的 DNA 样品用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳进行检测.

1.4 PCR、DGGE 分析

对于 β -Proteobacteria 的 AOB 的 16S rRNA 扩增采用巢式 PCR:第一阶段,先以 CTO189fA/B/C 以及 CTO654r 为引物进行扩增,引物序列及扩增条件见文献[10];之后以第一阶段的 PCR 产物为模板,以细菌通用引物 F338-GC 和 R518 进行扩增,引物序列及扩增条件见文献[11].

ANAMMOX 菌的 16S rRNA 扩增使用 ANAMMOX 菌的特异性引物对 Amx368F-GC/Amx820,引物序列及扩增条件见文献[12].

PCR 产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测,并经过琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒纯化回收后,采用 D-code 通用突变检测系统(BIO-RAD, 美国)进行 DGGE 电泳分析. DGGE 电泳条件为:聚丙烯酰胺浓度 8%,变性梯度 30%~60%,电压 120 V,电泳时间 6 h,整个过程温度维持在 60℃. 电泳结束后对凝胶进行银染并拍照.

1.5 微生物多样性分析

DGGE 图谱用 Quantity One 软件(版本 4.6.2)进行多样性统计分析,基于 DGGE 凝胶条带的数量

和强度, 利用 Shannon-Wiener 多样性指数 (H) 和 Simpson's 指数 (D) 来评价各个阶段微生物群落的多样性, 二者的计算公式见文献[13].

1.6 切胶、测序及系统发育树的构建

切取 DGGE 图谱中的目的条带溶于 TE buffer (pH 8.0) 中, 4℃ 过夜, 以此为模板, 以不含 GC 夹的引物进行 PCR 扩增. 经试剂盒纯化后的 PCR 产物与 pMD19-T 载体连接后, 转化到感受态细胞 DH5α 中, 通过蓝白斑筛选法随机选取阳性克隆子接种于 LB 培养液中, 37℃ 恒温振荡过夜培养, 通过菌落 PCR 方法检验转化是否成功, 将阳性克隆子进行测序. 对测序结果和基因库中已知序列进行相似性分析, 并利用 MEGA 软件 (版本 5.05), 采用邻位相连法 (Neighbor-Joining) 构建系统发育树, 自举值为 1 000.

1.7 荧光定量 PCR

AOB 和 ANAMMOX 菌定量实验所用的引物对分别是 amoA-1F/amoA-2R^[14] 以及 Amx694F/Amx960R^[15]. 为了考察进水氨氮浓度对亚硝酸盐氧化菌 (NOB) 丰度的影响, 也对 NOB 进行了定量实验. 有研究表明, 在污水处理系统中最常见的是硝化螺菌属 (*Nitrospira*), 而硝化杆菌属 (*Nitrobacter*) 是土壤中主要的 NOB^[16]. 因此, 本研究对 *Nitrospira* 进行定量分析, 所用的引物对为 NSR1113/NSR1264^[16]. 采用 20 μL 反应体系, 其中包括终浓度为 1 × SYBR Green I Real-master mix (天根, 中国), 引物各 2 μL 以及 1 μL 基因组 DNA. 反应在 Roche Light Cycler 480II 仪器 (Roche, 瑞士) 上进行, 每个样品重复 3 次, 取其平均值. 反应程序为: 95℃ 变性 3 min, 接 40 个循环, 每个循环包括 95℃ 变性 12 s, 55℃ 退火 12 s, 68℃ 延伸 12 s.

绘制 AOB、NOB 和 ANAMMOX 菌标准曲线所使用的标准品通过克隆实验获得: 分别用 3 类细菌的定量实验引物对扩增基因组 DNA, 得到的 PCR 产物经纯化后连接到 pMD19-T 质粒中, 再转移到感受态细胞 DH5α 中. 通过蓝白斑法筛选出阳性克隆子, 富集培养, 提取质粒并测定其 DNA 序列. 采用 BioPhotometer 核酸蛋白测定仪 (Eppendorf, 德国) 测

量质粒的质量浓度, 并根据重组质粒的 DNA 序列, 计算其分子量. 根据重组质粒的分子量和阿伏加德罗常数 (6.022×10^{23}), 将质粒的质量浓度换算成拷贝数. 将重组质粒梯度稀释后进行荧光定量 PCR 检测, 得到定量标准曲线.

2 结果与讨论

2.1 反应器运行

本实验的进水氨氮浓度由 400 mg·L⁻¹ 最终降低至 100 mg·L⁻¹, 期间共运行 200 d, 在整个运行过程中, 进水氨氮负荷在 1.3 ~ 1.5 g·(L·d)⁻¹ 左右, 温度在 15 ~ 23℃ 范围内. 通过调整曝气量和 HRT, 以期实现反应器的稳定运行, 并维持较高的总氮去除负荷.

由表 1 可见, 在进水氨氮浓度 > 200 mg·L⁻¹ 时, 通过降低曝气量和 HRT, 总氮去除率和总氮去除负荷较高, 这说明在进水氨氮浓度 > 200 mg·L⁻¹ 时, AOB 以及 ANAMMOX 菌能够较好的完成协同代谢过程, 从而保证系统具有较高的运行效能. 研究表明: 较高的氨氮浓度有助于建立好氧和厌氧氨氧化菌共存的系统, 而当氨氮降低时, 可能会破坏二者的平衡^[17]; 此外, 由于此时游离氨浓度较高, 能够有效抑制亚硝酸盐氧化菌 (NOB), 这也是造成这一阶段系统脱氮性能较好的原因之一.

然而当进水氨氮浓度降至 100 mg·L⁻¹ 时, 总氮去除率降至 40%, 总氮去除负荷降至 0.5 g·(L·d)⁻¹, 降幅较大, 但依然略高于 Hendrickx 等^[4] 以及 De Clippeleir 等^[7] 在常温低氨氮浓度下所达到的总氮去除负荷. 此时两类功能微生物的脱氮能力显著下降的可能原因为: 系统内的氨氮基质的降低造成 AOB 活性降低或者数量减少, 从而引发一系列的不利于反应器稳定运行的后果. 例如 AOB 不能有效利用 DO, 从而造成 DO 的积累, 可能会抑制 ANAMMOX 菌的活性; 而亚氮的积累可能会促使 NOB 的生长, 最终破坏系统内的微生态平衡. 此外, 由于 HRT 的降低, 水力负荷增强, 对生物膜的冲刷造成生物膜的破坏也是造成脱氮效果下降的可能原因之一. 反应器内微观生态系统的变化与系统脱氮

表 1 反应器各阶段的运行状况

Table 1 Operational status in different phases of the reactor					
运行天数/d	NH ₄ ⁺ -N/mg·L ⁻¹	曝气量/L·min ⁻¹	HRT/h	总氮去除负荷/g·(L·d) ⁻¹	总氮去除率/%
1 ~ 60	400	5.0	1.2 ~ 1.6	1.00	70
61 ~ 87	300	4.5	0.8 ~ 1.2	1.25	69
88 ~ 153	200	4.0 ~ 4.5	0.6 ~ 0.8	1.04	70
154 ~ 200	100	3.5 ~ 4.0	0.3 ~ 0.4	0.5	40

性能的关系将在接下来的 PCR-DGGE 和荧光定量 PCR 实验中进一步讨论.

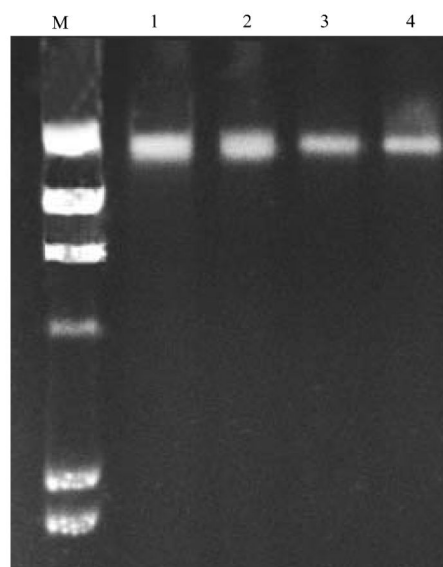
2.2 DNA 提取及 PCR 扩增

当系统内总氮去除负荷及总氮去除率保持一定水平不再波动时可认为系统达到该控制条件下的稳定状态,此时从反应器中采集生物膜样品并提取总细菌的基因组 DNA. 基因组 DNA 的琼脂糖凝胶电泳检测结果如图 2 所示,片断大小约 23 kb 左右,亮度和纯度都较好,为后续的实验提供了较为理想的 DNA 模板.

各类引物对的 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果见图 3,扩增出的 DNA 片断大小与预期相符,且只扩增出单一目的条带. 阴性对照组为不加模板,只加 PCR 反应液,并未扩增出相应的条带(阴性对照组电泳图未列出).

2.3 进水氨氮对功能微生物群落的影响

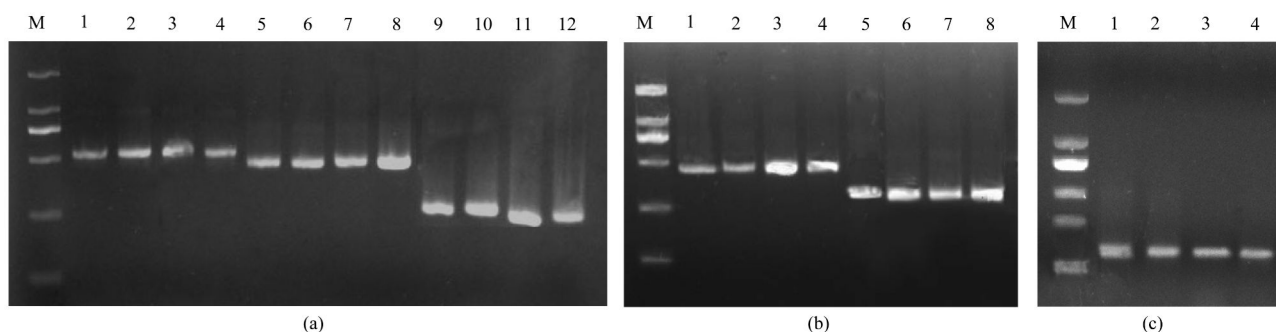
不同进水氨氮浓度下 AOB 和 ANAMMOX 菌的 PCR-DGGE 图谱如图 4 所示. DGGE 图谱中每条条



M: λ -Hind III digest; 泳道 1~4 分别为进水氨氮浓度为 400、300、200 以及 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的 DNA 样品

图 2 基因组 DNA 电泳图

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of genomic DNA



(a) 为 AOB 的扩增产物,其中泳道 1~4,5~8,9~12 分别为 amoA-1F/amoA-2R、CTO189fA/B/C/CTO654r、F338-GC/R518 的 PCR 扩增产物; (b) 为 ANAMMOX 菌扩增产物,泳道 1~4,5~8 分别为 Amx368F-GC/Amx820R 以及 Amx694F/Amx960R 的扩增产物; (c) 为 NOB 扩增产物,泳道 1~4 为 NSR1113/NSR1264 扩增产物; M: DL2000 DNA maker

图 3 PCR 扩增产物电泳图

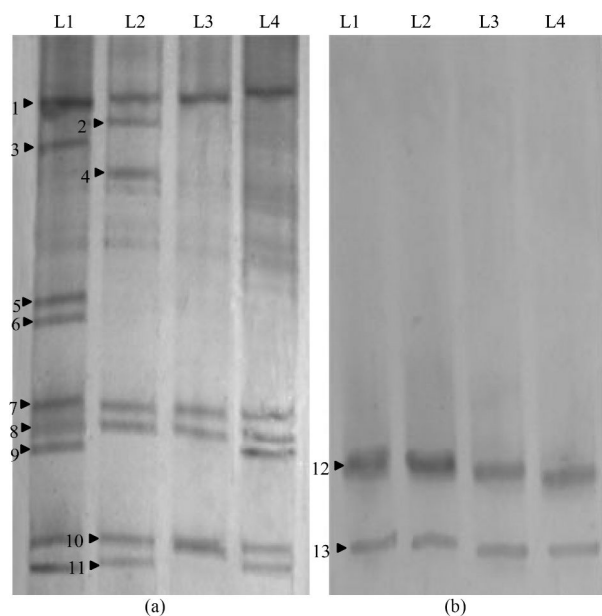
Fig. 3 Agarose gel electrophoresis of PCR products

带代表一种微生物物种或者一个可操作分类单元 (OTU),条带的数量和光密度值可以反映系统中微生物群落结构的复杂程度. 在图 4(a) 中,各泳道的条带分布差异较为明显,说明 CANON 系统中 AOB 的群落结构随进水氨氮浓度的降低发生了较大的变化. 而 ANAMMOX 菌 PCR-DGGE 图谱的四条泳道几乎一致 [图 4(b)],且只有两个条带,说明 ANAMMOX 菌群落结构简单,且在运行过程中保持了群落结构的稳定.

通过 Quantity One 软件,根据 DGGE 图谱中条带的数量和光密度值进行 Shannon-Wiener 多样性指数 (H) 和 Simpson's 指数 (D) 计算,用以评价进水氨氮浓度对各个阶段微生物群落多样性的影响,结果

见图 5. ANAMMOX 菌的 Shannon-Wiener 多样性指数 (H) 和 Simpson's 指数 (D) 几乎没有发生变化,这也与 ANAMMOX 菌的 DGGE 图谱所体现出的群落结构的稳定性相一致,这说明尽管氨氮浓度下降,但反应器内 ANAMMOX 菌种群落结构还没有受到很大的冲击,ANAMMOX 菌的群落结构受进水氨氮影响不大.

而 AOB 的 Shannon-Wiener 多样性指数 (H) 和 Simpson's 指数 (D) 在进水氨氮浓度为 400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最大,当进水氨氮浓度降至 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时出现了明显的下降,在 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时又有所回升. 出现这种现象的原因可能为:由于系统在高氨氮条件下已经稳定运行 150 d,因此系统内部已经形成了适应高



(a)、(b) 分别为 AOB 和 ANAMMOX 菌 DGGE 图谱. L1 ~ L4 分别代表进水氨氮浓度为 400、300、200 以及 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

图 4 PCR-DGGE 图谱

Fig. 4 PCR-DGGE profile

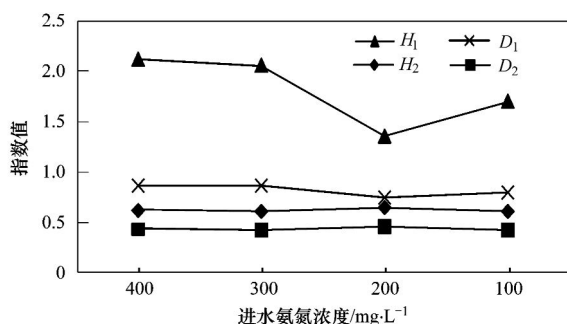


图 5 AOB 和 ANAMMOX 菌的 Shannon-Wiener 多样性指数 (H_1 、 H_2) 以及 Simpson's 指数 (D_1 、 D_2)

Fig. 5 Shannon-Wiener index (H_1 , H_2) and Simpson's index (D_1 , D_2) of AOB and ANAMMOX bacteria

氨氮以及高盐离子浓度环境的微生物区系。当氨氮浓度下降时,某些适应能力较弱的微生物,例如与氨氮亲和力较差的 AOB 会随着氨氮浓度的降低遭到淘汰,因此造成 Shannon-Wiener 多样性指数(H)和 Simpson's 指数(D)的下降。然而这种多样性的下降并没有造成系统脱氮能力的降低(表 1),可见这些被淘汰的 AOB 并不是系统在脱氮过程中发挥主流作用的微生物。然而,在氨氮浓度降至 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,由于某些适合在低氨氮和低盐离子浓度下生长的 AOB 得到积累,而适应高氨氮以及高盐离子浓度环境的 AOB 进一步被淘汰,因此 Shannon-Wiener 多样性指数(H)和 Simpson's 指数(D)又有所回升。尽管此时系统内 AOB 的群落结构多样性较高,但是由

于该工况下水力停留时间短,曝气量降低,可能会影响功能微生物的代谢,所以微生物活性并不高,从而导致了反应器脱氮能力的降低(表 1),说明之前相对稳定的微生物区系已经被另一个新的适应低氨氮环境的微生物群落所替代。

对图 4 中 AOB 和 ANAMMOX 菌的 13 个条带的 DNA 序列进行测序,提交至 GenBank,得到的序列号为 JQ886072-JQ886084,将相似度大于 97% 的序列归并为一个可操作分类单元(OTU),AOB 共得到 6 个 OTU,分别为 OTU1(条带 1)、OTU2(条带 2)、OTU3(条带 3,4,5,7,8,9)、OTU4(条带 6)、OTU5(条带 10)以及 OTU6(条带 11)。基于邻位相连法构建的系统发育树显示了它们的种属特征以及系统发育地位(图 6)。可见,OTU1,OTU2,OTU3 与亚硝化单胞菌(*Nitrosomonas*)具有很近的亲缘关系,它们构成了 CANON 体系中主要的 AOB 菌群,而 *Nitrosomonas* 作为短程硝化系统中的优势菌群已经见诸报道^[18]。OTU4(条带 6)与亚硝化螺菌(*Nitrosospira*)处于一个分枝上,仅存在于 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 环境中,随着进水氨氮浓度的降低而被淘汰,说明在 CANON 系统中,*Nitrosomonas* 与 *Nitrosospira* 相比具有更强的适应能力,这也与之前的报道相一致^[18]。值得注意的是,OTU6 与无色杆菌属(*Achromobacter*)具有更近的亲缘关系,该细菌并不属于 AOB 类,说明在使用巢式 PCR 进行 DGGE 分析时,获得了不属于 AOB 的 DNA 序列,可见采用该方法区分环境样品中的 AOB 仍然存在局限性。ANAMMOX 菌的两个序列相似度为 98%,可以归并为一个 OTU,与已知 DNA 序列进行比对,结果显示它们与浮霉菌属的 *Candidatus Jettenia Asiatica* 具有较高的相似度(相似度 > 97%)。

2.4 进水氨氮对功能微生物丰度的影响

分别利用 AOB、ANAMMOX 菌以及 NOB 的 Real-time PCR 引物对 amoA-1F/amoA-2R, Amx694F/Amx960R 和 NSR1113/NSR1264 扩增基因组 DNA,得到的目的片段均为与预期大小相符的单一目的条带[图 3(a)的 1~4 泳道,图 3(b)的 5~8 泳道以及图 3(c)的 1~4 泳道],证实了实验的可靠性。将 PCR 产物连接到 pDM19-T 质粒中,并作为三者 real-time PCR 进行定量的标准 DNA。根据标准曲线得到的 AOB、ANAMMOX 菌以及 NOB 的回归方程分别为: $Y = -3.030X + 13.73$, $Y = -3.125X + 18.46$ 以及 $Y = -3.354X + 20.80$,相关性系数(R^2)分别为 0.991, 0.994 以及 0.995,说明所建立的标准

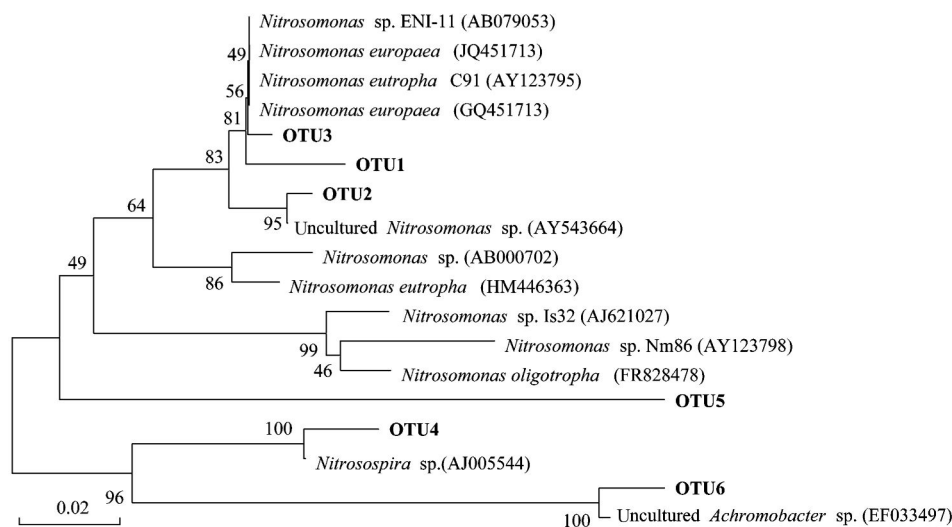


图6 AOB的6个OTU的系统发育树

Fig. 6 Phylogenetic tree of the 6 OTUs of AOB

曲线具有较好的精确度. 根据 PCR 效率公式^[19]可以计算出 real-time PCR 效率 E 值分别为 1.138、1.089、0.987. 一般认为最佳的标准曲线的 PCR 扩增效率应该在 0.9 ~ 1.1 之间^[19], 本研究所得到的扩增效率 E 值中, AOB 的 E 值略高于 1.1, 可能需要在后续实验中对其 PCR 反应体系进行进一步的优化调整.

由于 AOB 每个细胞平均含有 2.5 个 *amoA* 基因拷贝数^[20], ANAMMOX 菌属于浮霉状菌 (*Planctomycetales*), 后者每个基因组的 16S rRNA 拷贝数为 1.5 ~ 2.0 个 (本研究按 1.75 计)^[9], *Nitrospira* 每个细胞的 16S rRNA 拷贝数为 1 个^[21], 因此可以将拷贝数换算成细胞数. AOB、ANAMMOX 菌以及 NOB 的细胞浓度随氨氮浓度的变化见图 7. AOB 的细胞浓度分别为 $(6.10 \pm 1.30) \times 10^8$ 、 $(9.63 \pm 3.48) \times 10^7$ 、 $(1.19 \pm 0.57) \times 10^8$ 、 $(5.52 \pm 0.13) \times 10^7$ cells·mL⁻¹; ANAMMOX 菌的细胞浓度分别为 $(2.88 \pm 0.68) \times 10^9$ 、 $(1.89 \pm 0.29) \times 10^9$ 、 $(1.65 \pm 0.25) \times 10^9$ 、 $(6.29 \pm 0.80) \times 10^8$ cells·mL⁻¹; NOB 的细胞浓度分别为 $(3.40 \pm 0.85) \times 10^4$ 、 $(5.42 \pm 2.02) \times 10^5$ 、 $(8.90 \pm 4.33) \times 10^6$ 、 $(2.64 \pm 0.48) \times 10^6$ cells·mL⁻¹. 可见, 尽管 AOB 的种类多于 ANAMMOX 菌, 但是 AOB 的细胞浓度明显比 ANAMMOX 菌少了约 1 个数量级. AOB 的数量随着进水氨氮浓度的下降有减小的趋势, 这之前报道的氨氮浓度与 AOB 数量存在正相关性相符^[22]. 造成这一现象的原因一方面是由于氨氮基质的减少影响了 AOB 的正常代谢, 另一方面也可能由

于曝气量的不断降低, 不能为 AOB 的生长代谢提供足够的 DO. 此外, 由于游离氨浓度的下降, 对 NOB 的抑制作用减弱, NOB 的数量随进水氨氮浓度的下降而增多 (图 7). ANAMMOX 菌的丰度随着氨氮浓度的下降同样有减小的趋势. 由于 ANAMMOX 菌属于严格厌氧微生物, 虽然随着曝气量的降低, 理论上有利于其生长和代谢, 但是由于氨氮基质的减少, 造成 AOB 丰度的降低, 不能为厌氧氨氧化反应提供足够的反应基质; 而 NOB 数量的增多, 会与 ANAMMOX 菌竞争亚氮基质, 可能影响其正常代谢, 进而造成其数量的下降.

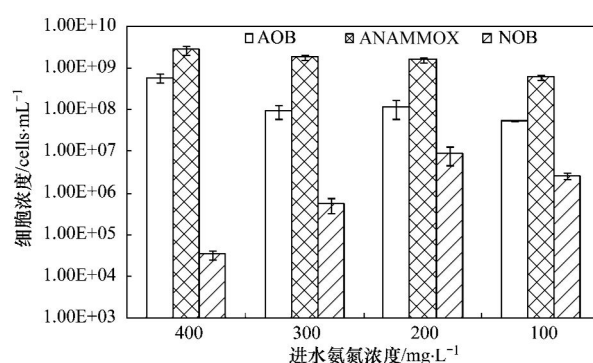


图7 进水氨氮对三类脱氮微生物丰度的影响

Fig. 7 Effect of influent ammonium on the population of three kinds of nitrogen-removal microorganisms

需要注意的是, 在运行效能较好的前 3 阶段, AOB、ANAMMOX 菌的细胞浓度分别达到约 10^8 cells·mL⁻¹ 和 10^9 cells·mL⁻¹; 而脱氮效果较差的第 4 阶段, 系统中 AOB 和 ANAMMOX 菌细胞浓度仅为 10^7 cells·mL⁻¹ 和 10^8 cells·mL⁻¹, 降低了约 1 个数量

级; 而 NOB 在后两个阶段的细胞浓度与前两个阶段相比升高了 1~2 个数量级, 进一步验证了 AOB、ANAMMOX 菌以及 NOB 的丰度在一定程度上直接与整个系统的脱氮效能相关, AOB 和 ANAMMOX 菌细菌数量越多, NOB 丰度越低, 系统出水的水质越高, 这与方芳等^[23]研究结果相一致。然而, 之前报道称, 厌氧氨氧化活性的维持需要在细胞浓度 $> 10^{10} \sim 10^{11} \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时才能显现出来^[24], 而本研究所测得的 ANAMMOX 菌浓度仅为 $10^8 \sim 10^9 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$, 但依然保持了较高的厌氧氨氧化活性, 说明该 CANON 反应器中的 ANAMMOX 菌活性较高, 即使在相对较低的细胞浓度下依然具有较高的活性。

总体来说, 在常温、较低氨氮条件下, 本实验所使用的 CANON 系统可以维持较好的脱氮效果, 这也证明 CANON 工艺应用在生活污水的处理方面是很有潜力的。然而, 由于生活污水的氨氮含量低, 要想保持较高的去除负荷, 就必须控制低的水力停留时间, 因此水力负荷的增强势必会破坏生物膜或者降低污泥龄, 从而造成功能微生物的损失。而本实验结果显示 AOB 和 ANAMMOX 菌数量的降低显然会造成脱氮效果降低, 因此, 需要采取一定措施, 减少因水力负荷的提高而导致的功能微生物数量的损失, 从而保持良好的生物截留性, 并设法抑制 NOB 的生长, 从而维持系统良好的脱氮性能。此外, 受季节的影响, 生活污水水温在冬季会低于 15°C , 温度过低会造成微生物活性降低^[25]。因此, 如何在低温下保持 CANON 工艺较高的脱氮效果还需要更进一步的研究。

3 结论

(1) 通过调整曝气量和水力停留时间, CANON 工艺在常温, 氨氮浓度 $> 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时脱氮效果良好; 氨氮浓度降至 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时氮去除负荷降低。

(2) AOB 群落结构随氨氮浓度的变化而明显改变, AOB 群落多样性在氨氮浓度降至 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最低, 此后群落多样性又有所回升; 而氨氮浓度对 ANAMMOX 菌群结构组成无显著影响。

(3) 鉴于 AOB、ANAMMOX 菌以及 NOB 的丰度在一定程度上直接与整个系统的脱氮效能相关, 因此, 需要保证系统内 AOB、ANAMMOX 菌数量上的优势, 抑制 NOB 的生长, 从而维持系统的脱氮性能。

参考文献:

[1] Windey K, De Bo I, Verstraete W. Oxygen-limited autotrophic

nitrification-denitrification (OLAND) in a rotating biological contactor treating high-salinity wastewater[J]. *Water Research*, 2005, **39**(18): 4512-4520.

[2] 彭新红, 吴立波, 宫玥. CANON 工艺研究的新进展[J]. *水处理技术*, 2008, **34**(2): 9-11.

[3] 郑平, 胡宝兰. 生物脱氮技术的研究进展[J]. *环境污染与防治*, 1997, **19**(4): 25-28.

[4] Hendrickx T L G, Wang Y, Kampman C, *et al.* Autotrophic nitrogen removal from low strength waste water at low temperature [J]. *Water Research*, 2012, **46**(7): 2187-2193.

[5] De Graaff M S, Temmink H, Zeeman G, *et al.* Autotrophic nitrogen removal from black water: calcium addition as a requirement for settleability [J]. *Water Research*, 2011, **45**(1): 63-74.

[6] Isaka K, Date Y, Kimura Y, *et al.* Nitrogen removal performance using anaerobic ammonium oxidation at low temperatures [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, **282**(1): 32-38.

[7] De Clippeleir H, Yan X G, Verstraete W, *et al.* OLAND is feasible to treat sewage-like nitrogen concentrations at low hydraulic residence times [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, **90**(4): 1537-1545.

[8] 付昆明. 全程自养脱氮 (CANON) 反应器的启动及其脱氮性能[D]. 北京: 北京工业大学, 2010. 93-94.

[9] 杨洋, 左剑恶, 全哲学, 等. UASB 反应器中厌氧氨氧化污泥的种群分析[J]. *中国环境科学*, 2006, **26**(1): 52-56.

[10] Kowalchuk G A, Stephen J R, De Boer W, *et al.* Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the beta subdivision of the class *Proteobacteria* in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(4): 1489-1497.

[11] Muyzer G, Dewaal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, **59**(3): 695-700.

[12] 沈李东, 胡宝兰, 郑平, 等. 西湖底泥中厌氧氨氧化菌的分子生物学检测[J]. *环境科学学报*, 2011, **31**(8): 1609-1615.

[13] Watanabe T, Asakawa S, Nakamura A, *et al.* DGGE method for analyzing 16S rDNA of methanogenic archaeal community in paddy field soil [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2004, **232**(2): 153-163.

[14] Hoshino T, Noda N, Tsuneda S, *et al.* Direct detection by in situ PCR of the *amoA* gene in biofilm resulting from a nitrogen removal process [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**(11): 5261-5266.

[15] Ni B J, Hu B L, Fang F, *et al.* Microbial and physicochemical characteristics of compact anaerobic ammonium-oxidizing granules in an upflow anaerobic sludge blanket reactor [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, **76**(8): 2652-2656.

- [16] Dionisi H M, Layton A C, Harms G, *et al.* Quantification of *Nitrosomonas oligotropha*-like ammonia-oxidizing bacteria and *Nitrospira* spp. from full-scale wastewater treatment plants by competitive PCR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(1): 245-253.
- [17] 操家顺, 蔡娟. 新型生物脱氮工艺——CANON 工艺[J]. 中国给水排水, 2005, **21**(8): 26-29.
- [18] Liu S T, Yang F L, Xue Y, *et al.* Evaluation of oxygen adaptation and identification of functional bacteria composition for anammox consortium in non-woven biological rotating contactor [J]. Bioresource Technology, 2008, **99**(17): 8273-8279.
- [19] 史瑞, 刘飞, 霍贵成, 等. 基于 DNA 扣除法的 Real-time RT-PCR 对工程乳酸菌外源基因表达的绝对定量分析[J]. 生物工程学报, 2009, **25**(8): 1240-1246.
- [20] 董莲华, 杨金水, 袁红莉. 氨氧化细菌的分子生态学研究进展[J]. 应用生态学报, 2008, **19**(6): 1381-1388.
- [21] Harms G, Layton A C, Dionisi H M, *et al.* Real-time PCR quantification of nitrifying bacteria in a municipal wastewater treatment plant [J]. Environmental Science & Technology, 2003, **37**(2): 343-351.
- [22] Park H, Rosenthal A, Jezek R, *et al.* Impact of inocula and growth mode on the molecular microbial ecology of anaerobic ammonia oxidation (anammox) bioreactor communities [J]. Water Research, 2010, **44**(17): 5005-5013.
- [23] 方芳, 秦宇, 郭劲松, 等. 单级自养脱氮反应器效能与微生物群落结构的相关性[J]. 土木建筑与环境工程, 2010, **32**(3): 113-118.
- [24] Strous M, Fuerst J A, Kramer E H M, *et al.* Missing lithotroph identified as new *Planctomycete* [J]. Nature, 1999, **400**(6743): 446-449.
- [25] Hao X D, Heijnen J J, Van Loosdrecht M C M. Model-based evaluation of temperature and inflow variations on a partial nitrification-ANAMMOX biofilm process [J]. Water Research, 2002, **36**(19): 4839-4849.

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-zheng, <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 Yu-wei, <i>et al.</i>	(804)
Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass with Animal Digestion Mechanisms	WU Hao, ZHANG Pan-yue, GUO Jian-ben, <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. 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: 90.00 元

国外发行代号: M 205

国 内 外 公 开 发 行