

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第35卷 第1期

Vol.35 No.1

2014

中国科学院生态环境研究中心 主办

科学出版社 出版



目次

雾霾重污染期间北京居民对高浓度 PM_{2.5} 持续暴露的健康风险及其损害价值评估 谢元博, 陈娟, 李巍 (1)

长白山 PM_{2.5} 中水溶性离子季节变化特征研究 赵亚南, 王跃思, 温天雪, 戴冠华 (9)

青岛大气颗粒物数浓度变化及对能见度的影响 柯馨姝, 盛立芳, 孔君, 郝泽彤, 屈文军 (15)

重庆市大气二噁英污染水平及季节变化 张晓岭, 卢益, 朱明吉, 蹇川, 郭志顺, 邓力, 孙静, 张芹, 罗财红 (22)

西南地区再生铝冶炼行业二噁英大气排放 卢益, 张晓岭, 郭志顺, 蹇川, 朱明吉, 邓力, 孙静, 张芹 (30)

西南地区新型干法水泥生产中的二噁英大气排放 张晓岭, 卢益, 蹇川, 郭志顺, 朱明吉, 邓力, 孙静, 张芹 (35)

杭州市办公场所室内空气中 PBDEs 的污染现状与特征 蒋欣慰, 孙鑫, 裴小强, 金漫彤, 李云龙, 沈学优 (41)

模拟不同排放源排放颗粒及多环芳烃的粒径分布研究 符海欢, 田娜, 商惠斌, 张彬, 叶素芬, 陈晓秋, 吴水平 (46)

川东北地区元素大气沉降通量及其季节变化 童晓宁, 周厚云, 游镇烽, 汤静, 刘厚均, 黄颖, 贺海波 (53)

重庆市铁山坪 2001 ~ 2010 年酸沉降变化 余德祥, 马萧萧, 谭炳全, 赵大为, 张冬保, 段雷 (60)

汉江上游金水河流域氮湿沉降 王金杰, 张克荣, 吴川, 张全发 (66)

麦秸及其烟尘中正构脂肪酸的组成 刘刚, 李久海, 吴丹, 徐慧 (73)

兰州市室内大气降尘环境磁学特征及其随高度变化研究 吴铎, 魏海涛, 赵瑞瑞, 张蕊, 刘建宝 (79)

中亚热带针阔混交林土壤-大气界面释汞通量研究 马明, 王定勇, 申源源, 孙荣国, 黄礼昕 (85)

水稻秸秆生物炭对耕地土壤有机碳及其 CO₂ 释放的影响 柯跃进, 胡学玉, 易卿, 余忠 (93)

黄海和东海海域溶解钼地球化学分布特征 吴晓丹, 宋金明, 吴斌, 李学刚 (100)

浑河上游(清原段)水环境中重金属时空分布及污染评价 马迎群, 时瑶, 秦延文, 郑丙辉, 赵艳民, 张雷 (108)

POCIS 采样技术应用于九龙江流域水环境中雌激素的检测 张利鹏, 王新红, 李永玉, 吴玉玲, 张祖麟 (117)

降雨条件下岩溶地下水微量元素变化特征及其环境意义 陈雪彬, 杨平恒, 蓝家程, 莫雪, 师阳 (123)

锡林河流域地表水水化学主离子特征及控制因素 唐玺雯, 吴锦奎, 薛丽洋, 张明泉, Frauke Barthold, Lutz Breuer, Hans-Georg Frede (131)

子牙河水系河流氮素组成及空间分布特征 赵钰, 单保庆, 张文强, 王超 (143)

水稻种植对中亚热带红壤丘陵区小流域氮磷养分输出的影响 宋立芳, 王毅, 吴金水, 李勇, 李裕元, 孟岑, 李航, 张满意 (150)

黄东海表层沉积物中磷的分布特征 宋国栋, 刘素美, 张国玲 (157)

河流沉积物中有机磷提取剂 (NaOH-EDTA) 提取比例与机制研究 张文强, 单保庆, 张洪, 唐文忠 (163)

沉积物短期扰动下 BAPP 再生和转化机制 武晓飞, 李大鹏, 汪明 (171)

三峡库区典型农村型消落带沉积物风险评价与重金属来源解析 敖亮, 雷波, 王业春, 周谐, 张晟 (179)

太湖东部不同类型湖区疏浚后沉积物重金属污染及潜在生态风险评价 毛志刚, 谷孝鸿, 陆小明, 曾庆飞, 谷先坤, 李旭光 (186)

滇池沉积物中主要污染物含量时间分异特征研究 王心宇, 周丰, 伊旋, 郭怀成 (194)

浓度层析荧光光谱局部匹配溢油鉴别技术 王春艳, 史晓凤, 李文东, 张金亮 (202)

光电 Fenton 技术处理污泥深度脱水液研究 王现丽, 王世峰, 吴俊峰, 濮文虹, 杨昌柱, 张敬东, 杨家宽 (208)

同步脱氮除磷颗粒污泥硝化反硝化特性试验研究 刘小英, 林慧, 马兆瑞, 王磊, 刘静伟, 郭超, 姜应和 (214)

垃圾填埋场渗滤液短程生物脱氮的长期稳定性实验研究 孙洪伟, 郭英, 彭永臻 (221)

油田区土壤石油烃组分残留特性研究 胡迪, 李川, 董倩倩, 李立明, 李广贺 (227)

水稻光合同化碳在土壤中的矿化和转化动态 谭立敏, 彭佩钦, 李科林, 李宝珍, 聂三安, 葛体达, 童成立, 吴金水 (233)

土地利用及退耕对喀斯特山区土壤活性有机碳的影响 廖洪凯, 李娟, 龙健, 张文娟, 刘云飞 (240)

水稻土团聚体 Cu²⁺ 吸附过程中铝的溶出及土壤溶液 pH 变化 许海波, 赵道远, 秦超, 李玉姣, 董长勋 (248)

Cr(VI) 对两种黏土矿物在单一及复合溶液中 Cu(II) 吸附的影响 刘娟娟, 梁东丽, 吴小龙, 屈广周, 钱勋 (254)

淹水时长对 3 种丛枝菌根 (AM) 真菌侵染 2 种湿地植物的影响 马雷猛, 王鹏腾, 王曙光 (263)

太湖水质与水生生物健康的关联性初探 周笑白, 张宁红, 张咏, 牛志春, 刘雷, 于红霞 (271)

3 种典型污染物对水生生物的急性毒性效应及其水质基准比较 姜东生, 石小荣, 崔益斌, 李梅 (279)

某制药废水对发光细菌急性毒性的评价研究 杜丽娜, 杨帆, 穆玉峰, 余若祯, 左剑恶, 高俊发, 余忻, 滕丽君, 汤薪瑶 (286)

异丙甲草胺与锌共存对斜生栅藻毒性手性差异影响 胡晓娜, 张淑娟, 陈彩东, 刘惠君 (292)

Biotic Ligand Model 的简化模型及预测性能评价 王万宾, 陈莎, 吴敏, 苏德丽, 赵婧 (299)

基于 USEtox 的焦化行业优先污染物筛选排序研究 郝天, 杜鹏飞, 杜斌, 曾思育 (304)

微囊藻毒素降解菌 *Paucibacter* sp. CH 菌的分离鉴定及其降解特性 游狄杰, 陈晓国, 向荟圯, 欧阳溱, 杨冰 (313)

硝酸盐抑制油田采出水中硫酸盐还原菌活性研究 杨德玉, 张颖, 史荣久, 韩斯琴, 李光哲, 李国桥, 赵劲毅 (319)

降解纤维素产甲烷的四菌复合系 吴俊妹, 马安周, 崔萌萌, 于清, 齐鸿雁, 庄绪亮, 庄国强 (327)

中国陆地生态系统土壤异养呼吸变异的影响因素 谢薇, 陈书涛, 胡正华 (334)

内蒙古羊草草原根呼吸和土壤微生物呼吸区分的研究 史晶晶, 耿元波 (341)

南京河流夏季水-气界面 N₂O 排放通量 韩洋, 郑有飞, 吴荣军, 尹继福, 孙霞 (348)

杀菌剂对湖泊水体温室气体浓度分析的影响 肖启涛, 胡正华, James Deng, 肖薇, 刘寿东, 李旭辉 (356)

生物表面活性剂强化剩余污泥微生物燃料电池产电特性研究 彭海利, 张植平, 李小明, 杨麒, 罗琨, 易欣 (365)

不同硅铝比 Fe-ZSM-5 催化剂对氧化亚氮催化分解性能的研究 卢仁杰, 张新艳, 郝郑平 (371)

硫酸铵和尿素对废物焚烧过程中多种途径生成氯苯类的抑制作用 严密, 祁志福, 李晓东, 胡艳军, 陈彤 (380)

县域尺度的京津冀都市圈 CO₂ 排放时空演变特征 汪浩, 陈操操, 潘涛, 刘春兰, 陈龙, 孙莉 (385)

保水剂性能及其农用安全性评价研究进展 李希, 刘玉荣, 郑袁明, 贺纪正 (394)

《环境科学》征订启事 (65) 《环境科学》征稿简则 (220) 信息 (226, 270, 298, 364)

硝酸盐抑制油田采出水中硫酸盐还原菌活性研究

杨德玉^{1,2}, 张颖², 史荣久^{2*}, 韩斯琴², 李光哲¹, 李国桥³, 赵劲毅³

(1. 沈阳师范大学化学与生命科学学院, 沈阳 110034; 2. 中国科学院沈阳应用生态研究所污染生态与环境工程重点实验室, 沈阳 110016; 3. 大庆油田有限责任公司第二采油厂中心化验室, 大庆 163414)

摘要: 硫酸盐还原菌(SRB)的生长代谢可导致油藏酸化,进而引发一系列环境和腐蚀等问题. 硝酸盐(NO_3^-)补加及对硝酸盐还原菌(NRB)的调控是抑制 SRB 活性进而控制油藏酸化的重要策略. 本研究从大庆油田水驱采出液中分离筛选出了 1 株兼性自养的 NRB 菌株 DNB-8,并分析了在有机碳源充足的条件下不同浓度的 NO_3^- 结合使用该菌株抑制 SRB 富集培养物 SO_4^{2-} 还原活性的作用效果与机制. 结果表明,浓度 $\leq 1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- 无法抑制 SRB 的 SO_4^{2-} 还原活性; NO_3^- 浓度 $> 1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 或 NO_2^- 浓度 $> 0.45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 均可有效抑制 SRB 的 SO_4^{2-} 还原活性. 此时,NRB 对有机碳源的竞争以及在利用 NO_3^- 的同时产生的 NO_2^- 是抑制 SRB 活性的主要机制. 另外,大庆油田采出水中 SRB 富集培养物的细胞内存在异化 NO_3^- 还原生成 NH_4^+ 的代谢途径(NO_2^- 为中间产物). 当 NO_3^- 浓度较高时,SRB 可能通过该代谢途径减轻 NO_2^- 引起的抑制效应.

关键词: 硫酸盐还原菌; 油藏酸化; 硝酸盐还原菌; 大庆油田; 采出水

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)01-0319-08

Inhibition of the Activity of Sulfate-reducing Bacteria in Produced Water from Oil Reservoir by Nitrate

YANG De-yu^{1,2}, ZHANG Ying², SHI Rong-jiu², HAN Si-qin², LI Guang-zhe¹, LI Guo-qiao³, ZHAO Jin-yi³

(1. College of Chemistry and Life Sciences, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China; 2. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Processes, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 3. Center Laboratory of No. 2 Oil Production Plant, Daqing Oilfield Company Ltd., Daqing 163414, China)

Abstract: Growth and metabolic activity of sulfate-reducing bacteria (SRB) can result in souring of oil reservoirs, leading to various problems in aspects of environmental pollution and corrosion. Nitrate addition and management of nitrate-reducing bacteria (NRB) offer potential solutions to controlling souring in oil reservoirs. In this paper, a facultative chemolithotrophic NRB, designated as DNB-8, was isolated from the produced fluid of a water-flooded oil reservoir at Daqing oilfield. Then the efficacies and mechanisms of various concentrations of nitrate in combination with DNB-8 in the inhibition of the activity of SRB enriched culture were compared. Results showed that $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of nitrate or $0.45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of nitrite inhibited the sulfate-reducing activity of SRB enrichments; the competitive reduction of nitrate by DNB-8 and the nitrite produced were responsible for the suppression. Besides, the SRB enrichment cultures showed a metabolic pathway of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) via nitrite. The SRB cultures could possibly alleviate the nitrite inhibition by DNRA when they were subjected to high-strength nitrate.

Key words: sulfate-reducing bacteria; souring of oil reservoir; nitrate-reducing bacteria; Daqing Oilfield; produced water

硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)是一类以 SO_4^{2-} 为最终电子受体进行能量代谢生成 S^{2-} (H_2S) 的厌氧微生物的统称^[1,2]. SRB 种类繁多,广泛分布于油藏及采出水^[3-5]、海床、底泥等缺/厌氧环境中,并在碳、氮、硫等元素的生物地球化学循环中发挥着重要作用^[6].

在石油开采工业中,向油藏中注水以提高原油采收率(简称“水驱”)是最重要的采油方法之一. 随着水驱的进行,注入水中含有的 SO_4^{2-} 促进了油藏及管线中 SRB 的代谢活动,进而引发一系列的生产及环境问题,如 SRB 会导致油田输油设备及注入水设备等金属设备的腐蚀; SRB 的代谢产物 H_2S 还会导致油藏酸化(souring),降低原油和天然气的质

量,并严重危害工人的身体健康. 油藏及采出水中 SRB 危害的有效控制是石油工业中亟待解决的重要课题之一.

目前,控制油田 SRB 代谢活性的方法主要是使用化学杀菌剂. 常用的化学杀菌剂有戊二醛、四羟甲基硫酸磷等^[7-9]. 但是,长时间使用这些化学杀菌剂,SRB 会对其产生耐药性^[10,11]; 此外,化学杀菌剂具有较高的环境污染风险^[9]. 近几年来,基于调节硝酸盐还原菌(nitrate-reducing bacteria, NRB)活

收稿日期:2013-04-10; 修订日期:2013-05-02

基金项目:国家自然科学基金项目(31270167); 中国科学院污染生态与环境工程重点实验室项目(2012B)

作者简介:杨德玉(1987~),男,硕士研究生,主要研究方向为油藏微生物生理生态学,E-mail:yangdeyu@yahoo.com.cn

* 通讯联系人,E-mail:shirongjiu@iae.ac.cn

性以抑制 SRB 活性的“生物抑制法”受到广泛重视^{[12,13][10,11]}。有研究表明,向油藏中加入 NO_3^- 激活油藏中的异养硝酸盐还原菌(hNRB)使其与 SRB 竞争电子供体(有机碳源)可实现对 SRB 代谢活性的竞争性抑制^[14]。此外, NO_3^- 的存在还会促进油藏中的自养硝酸盐还原-硫化物氧化菌(nitrate-reducing, sulfide-oxidizing bacteria, NR-SOB)的代谢活性,从而把 SRB 已经产生的 H_2S 去除。另一些研究则显示, NO_3^- 还原过程中产生的 NO_2^- 对 SRB 细胞内亚硫酸盐还原酶活性具有强烈的抑制作用^[15]; NO_3^- 还原过程中,系统的氧化还原电位升高,使得 SRB 驱动的 SO_4^{2-} 还原作用无法进行。与化学杀菌剂等方法相比,“生物抑制法”环境友好、经济可行。尽管如此,油藏环境的巨大异质性和 SRB 种群组成的多样性^[16]决定了 NO_3^- 抑制油藏酸化作用机制的复杂和不确定性,该过程所需 NO_3^- 的剂量和抑制作用效果常受油藏中 SRB 的种群组成、注水水质、有机物浓度等因素的影响。因而,针对特定油藏实际优化生物控制过程以油藏酸化的需要而具体问题具体分析^[17]。

大庆油田是我国开发较早、水驱历史较长的特大油田。目前,在不同区块油藏及其采出水中 SRB 的数量通常可达 $10^2 \sim 10^5 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$, H_2S 浓度接近 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$,出现了不同程度的酸化问题^[18]。近年来,虽然已有一些研究者开展了物理法(如紫外杀菌法)或化学法控制油藏 SRB 危害研究,但生物抑制法的有关研究尚不多见,针对特定油藏环境条件下利用 NO_3^- 和 NRB 抑制 SRB 的作用效果和机制等研究仍十分薄弱^[19]。本研究从大庆油田水驱油藏中分离筛选到 1 株高效的硝酸盐还原菌 DNB-8,并考察了不同 NO_3^- 浓度对于抑制大庆油田水驱油藏采出水中 SRB 富集培养物活性的影响,旨在探讨基于 NO_3^- 和 NRB 抑制大庆油田 SRB 活性的作用效果与机制,并为该油藏酸化的生物控制研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 油田采出水

用于 NRB 分离筛选和 SRB 富集的油藏采出水取自大庆油田水驱油藏的某油水分离罐。采用预先灭菌且充满高纯 N_2 (99.99%) 的玻璃瓶采集 2.0 L 左右的采出水(采出水完全充满玻璃瓶以避免接触空气),尽快(约 15 h)运抵实验室并立即开展菌种富集和筛选等实验。

1.2 培养基

NRB 分离筛选的培养基(M-1 培养基)成分为($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$): 柠檬酸钠 5.0, KNO_3 2.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, KH_2PO_4 0.5, K_2HPO_4 1.0, 琼脂 20。将培养基的 pH 调至 7.2 ~ 7.5,并在 121°C 灭菌 20 min 备用。NRB 的液体培养基不含琼脂,其他成分同 M-1 培养基。

NRB 自养氧化 S^{2-} 培养基(M-2 培养基)成分为($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$): NaHCO_3 5.0, KNO_3 2.0, K_2HPO_4 0.5, KH_2PO_4 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, 蒸馏水 1.0 L, pH = 7.5。121°C 灭菌 20 min 放凉后加入适量经 0.22 μm 滤膜过滤除菌的高浓度 $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 贮备液,使培养基中 S^{2-} 终浓度达 $1.89 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

SRB 富集培养基(M-3 培养基)成分为($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$): 乳酸钠 8.0, 酵母膏 2.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4, KH_2PO_4 1.0, Vc 0.2, 蒸馏水 1.0 L, pH = 7.2。

NO_3^- 或 NO_2^- 抑制 SRB 批次实验用培养基:以 M-3 为基础,另加入不同浓度的 KNO_3 或 NaNO_2 (具体见 1.4 节),其他成分不变。

本研究中所有培养基的配制、菌种转接等操作均参照 Hungate 厌氧培养技术进行。

1.3 NRB 的分离筛选、初步鉴定及代谢特征

采用夹层平板法结合 Hungate 厌氧微生物分离筛选法筛选和纯化 NRB。取 1.0 mL 采出水,用灭菌 M-1 液体培养基进行 10 倍梯度稀释,然后涂布 M-1 固体夹层平板,并用液体石蜡将皿盖与皿底间缝隙封闭,最后置于 45°C 条件下恒温培养。当夹层平板上出现单菌落时,迅速将其挑出接入液体培养基中继续培养。重复使用夹层平板法和液体培养法,直至获得纯菌株。选取液体培养基中硝酸盐还原活性最强的菌株,作为开展后续抑制实验的 NRB 菌株。

采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒(DP302, TIANGEN, 北京)提取目的 NRB 菌株的基因组 DNA,采用细菌通用引物 27f-1492r 引物(27f: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG- 3'; 1492r: 5'-TACCTTGTTACGACTT-3')扩增其 16S rRNA 基因。PCR 扩增反应条件为:95°C 5 min; 94°C 30 s, 52°C 30 s, 72°C 2 min, 30 个循环, 72°C 7 min。PCR 产物经 TA 克隆法进行序列测定(由北京六合华大基因科技股份有限公司完成序列测定)。测序完成后,采用 RDP (Ribosomal database project) 中的 Chimera Detection 程序对所获得的 16S rDNA 序列进行嵌合体检验,然后通过 GenBank 数据库中的 BLASTn 软件进行基因同源性比对分析。菌株的生理生化实验

参考文献[20]完成。

取一定体积的处于对数生长期的目的 NRB 菌液,在 $8\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min 搜集菌体,分别用适量的新鲜配制的液体 M-1 和 M-2 培养基重悬菌体,然后按 5% 比例分别接种 M-1 和 M-2 液体培养基中,考察 NRB 菌株异养 NO_3^- 还原和自养氧化 S^{2-} 能力。不接菌的对照组补加等体积的灭菌的相应液体培养基,每个处理设 3 个重复。

1.4 采出水中 SRB 的富集及 NRB 对富集培养物 SO_4^{2-} 还原活性的抑制

用无菌注射器取 10 mL 采出水加入到含有 100 mL 已灭菌的 M-3 培养基的 350 mL 血清瓶中(顶空气体为高纯 N_2),在 45°C 条件下富集培养 $6\sim 10\text{ d}$ 。按 1.3 中相同的方法搜集 SRB 富集培养物菌体,备用。

NO_3^- 及 NRB 菌株对 SRB 富集培养物活性的抑制通过批次实验完成。将 M-3 培养基煮沸,在高纯 N_2 保护条件下放凉至室温,然后分装 200 mL 培养基至总体积为 250 mL 的血清瓶中,并在高纯 N_2 保护条件下迅速用橡胶塞密封血清瓶。灭菌后再用无菌注射器补加适量体积的经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤除菌的高浓度的 KNO_3 或 NaNO_2 储备液。实验共设“加 NO_3^- ”和“加 NO_2^- ”两组。在第一组中,血清瓶内 NO_3^- 的终浓度分别为 0.5 、 1.0 、 3.0 、 6.0 、 $10.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$;第二组中 NO_2^- 的终浓度梯度为 0.6 、 1.0 、 2.5 、 5.5 、 $8.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。两个实验组需要接种 SRB 富集培养物和/或 NRB 菌株,其接种比例为 5%。第一组实验中同时设不接种 NRB 的对照(补加与接种 NRB 菌液等体积的除氧无菌水)。每个处理设 3 个重复。所有血清瓶置于 45°C 培养箱内静置、避光培养,定期取样测定 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 NH_4^+ 和 S^{2-} 的浓度变化。取样时先将血清瓶倒置,用预先充满 3 mL 高纯 N_2 的注射器将气体注入培养瓶中,然后再用注射器抽出 3 mL 液体样品,经 $8000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后取上清液用于测定各目标离子的浓度。

1.5 各理化指标的测定

S^{2-} 含量的测定采用亚甲基蓝分光光度法(GB 13801-1992); SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 含量的测定采用离子色谱仪(ICS-900,戴安中国有限公司)完成。所用的色谱柱为 AS22 分析柱,淋洗液为 $4.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Na}_2\text{CO}_3$ 和 $1.4\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaHCO}_3$,流速为 $1.2\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,温度为 30°C ,抑制器为 ASRS; NH_4^+

的含量采用流动化学分析仪(FUTURA, Alliance Instruments)进行测定。

2 结果与分析

2.1 采出水中 NRB 的筛选、初步鉴定及其代谢活性

采用夹层平板法共获得具有硝酸盐还原功能的菌株 8 株。其中,编号为 DNB-8 的菌株在本实验条件下 NO_3^- 还原活性最强,故后续的相关研究以该菌株为基础展开。DNB-8 为革兰氏阴性菌,细胞呈短杆状,无芽孢,大小约为 $0.4\text{ }\mu\text{m}\times 1.0\text{ }\mu\text{m}$ 。菌落呈圆形,乳白色,且边缘整齐、光滑。经 16S rRNA 基因序列同源性比对及生理生化特征(表 1)分析,初步将菌株 DNB-8 鉴定为施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)。

表 1 菌株 DNB-8 的生理生化特征

Table 1 Physiological and biochemical properties of the bacterial strain DNB-8

特征	微生物菌株	
	DNB-8	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
革兰氏染色	-	-
V-P 测定	-	-
接触酶	+	+
葡萄糖	+	+
甘露醇	-	-
蔗糖	-	-
硝酸盐还原	+	+
明胶液化	-	-
石蕊牛奶试验	产碱	产碱
吡啶试验	+	+
淀粉水解	+	+
柠檬酸盐试验	+	+
产氨试验	+	+

DNB-8 为兼性营养型菌株。当培养基中存在有机碳源时,该菌株能进行异养 NO_3^- 还原代谢,其中间代谢产物为 NO_2^- [图 1(a)]。整个代谢过程中培养体系的 NH_4^+ 浓度基本保持稳定,意味着 NRB-8 在厌氧异养 NO_3^- 还原过程中未产生 NH_4^+ 或产生的 NH_4^+ 被迅速转化。

在自养条件下,NRB-8 表现出 NO_3^- 还原-硫化物氧化活性:反应体系中 S^{2-} 的初始浓度为 $1.892\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 120 h 后 S^{2-} 被完全氧化,对应的氧化速率为 $0.016\text{ mmol}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ [图 1(b)]。

2.2 大庆油田水驱油藏采出水 SRB 富集培养物的 SO_4^{2-} 还原活性

SRB 富集培养物具有较强的 SO_4^{2-} 还原活性。 72 h 之内,培养体系中初始浓度为 $1.693\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$

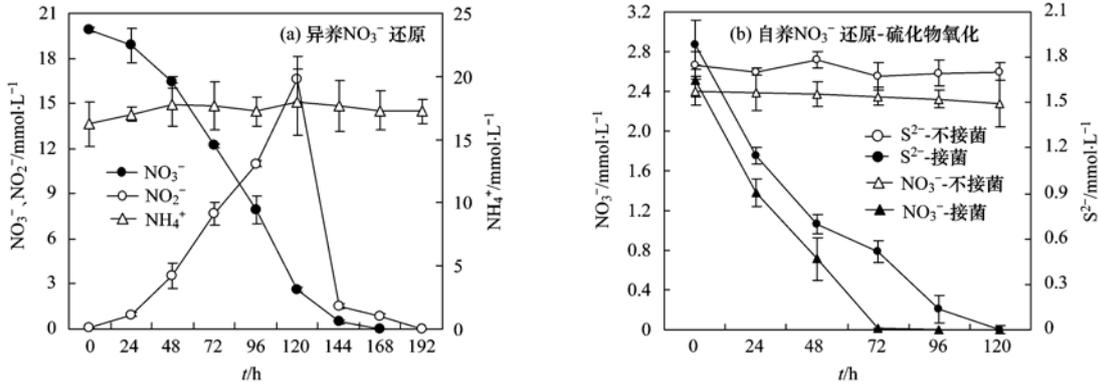


图 1 菌株 DNB-8 异养 NO_3^- 还原及自养 NO_3^- 还原-硫化物氧化活性

Fig. 1 Heterotrophic nitrate-reducing and chemolithotrophic nitrate-reducing, sulfide-oxidizing activity of DNB-8

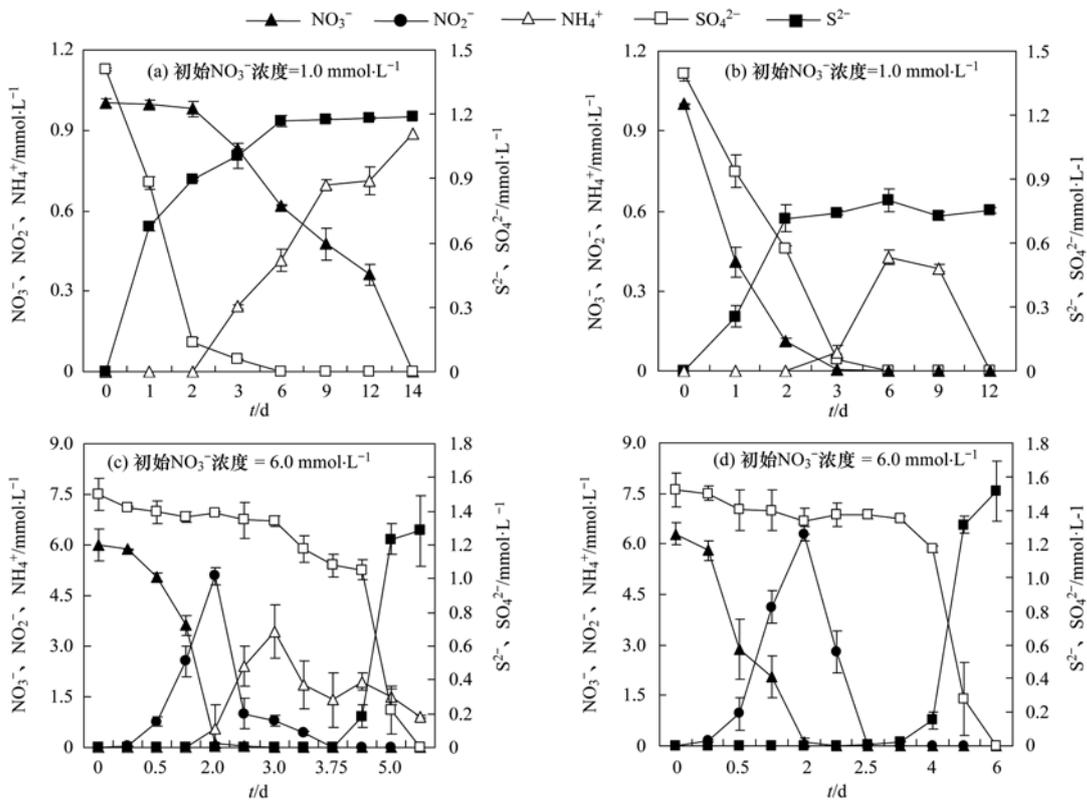
的 SO_4^{2-} 被完全消耗, 其中的 96.4% 被还原生成 S^{2-} ($1.633 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$).

2.3 NO_3^- 对 SRB 富集培养物硫酸盐还原活性的抑制

2.3.1 初始 NO_3^- 浓度对 SRB 富集培养物硫酸盐还原活性的影响

培养体系中未接种 NRB 的处理中, 不同 NO_3^- 浓度对 SRB 富集物硫酸盐还原活性的抑制效果呈现出明显差异. 本实验中共有 2 组处理的初始 NO_3^-

浓度低于 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 在这些处理中, NO_3^- 、 SO_4^{2-} 等离子浓度的变化趋势极为相似, 为简便起见, 本研究仅以初始 NO_3^- 浓度等于 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理 [图 2 (a)] 为代表做结果阐释. 当初始 NO_3^- 浓度 $\leq 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 (低 NO_3^- 条件), SRB 富集培养物优先利用 SO_4^{2-} 为电子受体进行代谢, 产生 H_2S [图 2 (a)]. 第 2 d, 培养体系中 SO_4^{2-} 浓度从初始的 $1.4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时迅速降低至 $0.14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, NO_3^- 还



(a) $\text{NO}_3^-/\text{SO}_4^{2-} = 0.7$, 不接种 NRB-8; (b) $\text{NO}_3^-/\text{SO}_4^{2-} = 0.7$, 接种 NRB-8;
(c) $\text{NO}_3^-/\text{SO}_4^{2-} = 4.3$, 不接种 NRB-8; (d) $\text{NO}_3^-/\text{SO}_4^{2-} = 4.3$, 接种 NRB-8

图 2 碳源充足条件下硝酸盐抑制 SRB 富集培养物活性

Fig. 2 Inhibition of sulfate reduction in enrichment cultures of SRB by nitrate under organic substrate unlimited conditions

原开始启动. 至培养结束时, $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- 全部被还原, 产生的 NH_4^+ 浓度为 $0.89 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 即 89% 的 NO_3^- 被异化还原成 NH_4^+ . 整个培养实验期间未检测到 NO_2^- 的累积. 该结果还表明, 大庆油田采出水中的 SRB 细胞内存在异化 NO_3^- 还原生成 NH_4^+ 的代谢途径^[21,22], 该途径也被称为氨化作用 (ammonification); 另一方面, 加入低浓度的 NO_3^- 对 SRB 富集培养物硫酸盐还原活性无抑制作用.

当培养体系中初始 NO_3^- 的浓度 $> 1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 (高 NO_3^- 浓度), SRB 富集培养物则优先利用加入的 NO_3^- 为电子受体进行异养硝酸盐代谢 [图 2(c)]. 本实验设计的 1.5 、 3.0 、 $6.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 这 3 个处理中, 各离子浓度变化趋势也非常相似, 以初始 NO_3^- 浓度为 $6.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理 [图 2(c)] 为例进行结果阐述. 在高 NO_3^- 浓度条件下, SRB 富集培养物优先利用 NO_3^- 为电子受体进行异化硝酸盐还原生成 NH_4^+ , NO_2^- 为中间代谢产物. 在本实验条件下, SRB 富集培养物的硝酸盐还原活性较强, 加入到培养体系中的 $6.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_3^- 在 2 d 内完全被耗尽, 同时产生了 $5.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_2^- 和 $0.56 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NH_4^+ . 第 2~3 d 期间, 所产生的 NO_2^- 进一步向 NH_4^+ 转化, 直至第 3 d NH_4^+ 浓度达到最高 ($3.44 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). 第 3.75 d, NO_2^- 完全耗尽, SRB 富集培养物的硫酸盐还原过程开始启动, 并在约 2 d 内迅速将 SO_4^{2-} 完全还原生成了 H_2S [图 2(c)].

2.3.2 NRB 对 NO_3^- 抑制 SRB 富集培养物硫酸盐还原活性的影响

培养体系中存在 NRB 且初始 NO_3^- 浓度 $\leq 1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下, NO_3^- 还原和 SO_4^{2-} 还原同时启动 [图 2(b)], 24 h 后即有 H_2S 产生. 第 3 d 时, 培养体系中 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 几乎同时耗尽. 值得注意的是, 在第 2 d 开始, 培养瓶内检测到 NH_4^+ 浓度的增加, 其最高浓度达到 $0.530 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. 整个培养过程中, 未检测到 NO_2^- 的存在及累积.

当培养瓶内初始 NO_3^- 浓度 $> 1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 接入 NRB 后, NO_3^- 在 2 d 内被迅速还原, 全部生成了 NO_2^- [图 2(d)]. 所产生的 NO_2^- 又在随后的 0.5 d 内耗尽. 第 3 d 开始, SO_4^{2-} 还原开始启动, 且在此后 2 d 内将 SO_4^{2-} 全部还原产生 H_2S . 整个培养实验期间, 未检测到 NH_4^+ .

2.3.3 NO_2^- 抑制 SRB 富集物的活性

NO_2^- 对 SRB 富集培养物 SO_4^{2-} 还原活性的抑制作用如图 3 所示. 与 NO_3^- 作用相比, 较低浓度的 NO_2^- ($0.610 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 可较好地抑制 SO_4^{2-} 还原活性. 但是, 当培养瓶中的 NO_2^- 逐渐降低至 $0.45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, SRB 富集培养物 SO_4^{2-} 还原活性开始启动 [图 3(a)]. 此后的几天内, 体系中所有的 SO_4^{2-} 均被还原生成 H_2S ; 当培养瓶中 NO_2^- 初始浓度较高时, 即使 NO_2^- 被完全耗尽后的 24 h 内, SRB 富集培养物的 SO_4^{2-} 还原活性仍处于抑制状态 [图 3(b)].

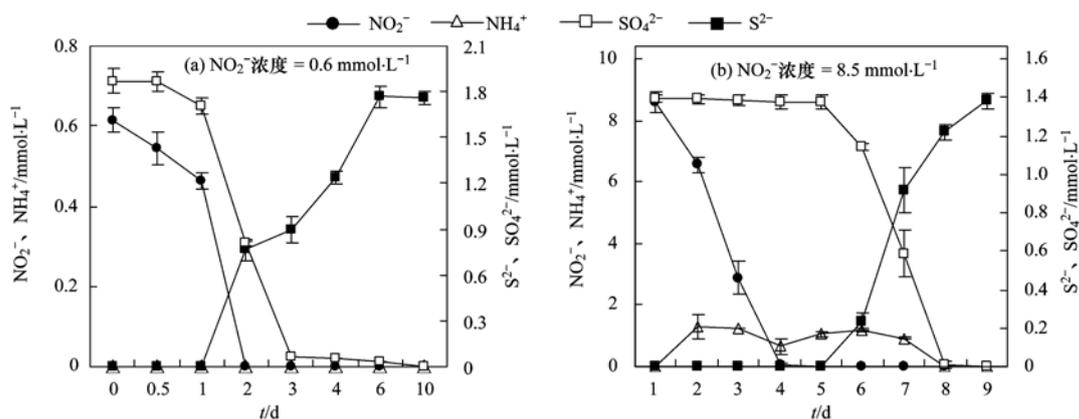


图3 亚硝酸盐抑制 SRB 富集培养物活性

Fig. 3 Inhibition of sulfate reduction in enrichment cultures of SRB by nitrite

3 讨论

3.1 大庆油田采出水中 SRB 对 $\text{NO}_3^-/\text{SO}_4^{2-}$ 作为电子受体的选择性

大庆油田油藏内及其采出水中存在多种 SRB^[18]. 深入认识 SRB 种群的代谢特点对于应用生物控制技术抑制油藏酸化具有至关重要的作用. 本研究结果表明, 大庆油田采出水中的 SRB 富集培

养物具有异化 NO_3^- 还原生成 NH_4^+ 的代谢途径[图 2(c)、图 3(b)]. 为了排除富集培养物中可能存在的杂菌对该代谢途径的贡献,本研究利用 Hungate 厌氧培养技术从 SRB 富集培养物中分离筛选到 1 株 SRB 纯菌株. 进一步的研究证实该纯菌株具有明确的异化 NO_3^- 还原生成 NH_4^+ 的代谢活性(结果未给出). 已有研究显示,在所有的 SRB 中,只有少数种类的 SRB 具有 NO_3^- 还原成铵的能力,如 *Desulfobulbus propionicus*^[23]、*Desulfobacterium catecholicum*^[22,24] 以及 *Desulfovibrio* 属的部分种^[25~28]. 当环境中同时存在 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 时,上述大多数 SRB 菌株可以同时利用两者电子受体. 但 Seitz 等^[25] 报道了菌株 *Desulfovibrio desulfuricans* Essex 6 优先利用 NO_3^- 而非 SO_4^{2-} ; 对 *Desulfovibrio desulfuricans* 菌株 C4S 的研究表明,当培养基中加入高浓度的 SO_4^{2-} (1.5 或 5.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 则菌株的 NO_3^- 还原成铵的活性受到强烈抑制. 即使 SO_4^{2-} 被消耗殆尽, NO_3^- 还原成铵的活性在随后的 10h 内仍没有恢复 (NO_3^- 浓度始终维持在 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)^[25,29]. 本实验结果与以往研究均有所不同,当环境中同时存在 NO_3^- 和 SO_4^{2-} 时, NO_3^- 浓度的高低对大庆油田采出水中的 SRB 对两者电子受体选择的“偏好性”具有重要影响: NO_3^- 浓度 ≤ 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的情况下, SRB 种群优先利用 SO_4^{2-} [图 2(a)]; 而当 NO_3^- 浓度 > 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, SRB 可同时利用两者电子受体,甚至优先利用了 NO_3^- [图 2(c)]. 这些差异可能是由于大庆油田采出水中的 SRB 种群与以往研究所使用的菌种不同所致. 该结果同时意味着,如果单纯采用投加 NO_3^- 的方式抑制 SRB 活性和酸化, NO_3^- 的工作浓度高于 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 是必要的; 另一方面, NO_3^- 投加的方式应采用连续投加或保持采出水中 NO_3^- 的浓度不低于 1.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$. 否则,一旦 NO_3^- 被消耗, SRB 的 SO_4^{2-} 还原活性将恢复.

3.2 NO_3^- 抑制大庆油田采出水中 SRB 的 SO_4^{2-} 活性的机制

NO_3^- 抑制油藏酸化的作用机制复杂,主要有如下 4 种认识:① NO_3^- 激活或促进了油藏中 hNRB 的生长代谢并优先利用了油藏中的电子供体(如小分子脂肪酸等有机物),进而竞争性抑制 SRB 的活性^[13,14,30]; ②硝酸盐还原-硫化物氧化菌(NR-SOB)以 NO_3^- 为电子受体将 SRB 产生的 H_2S 重新氧化掉(比如,氧化成 SO_4^{2-} 或单质硫等); ③ NO_3^- 还原过

程中产生中间代谢产物,如 NO_2^- 等对硫酸盐还原菌的抑制效应^[12,31]. NO_2^- 可强烈抑制 SRB 细胞内的亚硫酸盐还原酶(*Dsr*)活性^[15]. ④NRB 代谢过程中引起环境中氧化还原电位的大幅升高 (> -150 mV), 进而使 SRB 的 SO_4^{2-} 还原活性受到抑制.

基于本研究结果,在 NO_3^- 的浓度较低时, hNRB 和 SRB 对有机碳源的竞争作用并不明显. 如[图 2(b)]所示,在接种了 NRB 的培养瓶中监测到了 NH_4^+ 的累积,而这部分 NH_4^+ 极有可能源自 SRB 的代谢而不是 NRB,因为接种的 NRB 在厌氧条件下利用 NO_3^- 时不产生 NH_4^+ [图 1(a)]. 该结果表明尽管可能存在 NRB 对有机碳源的竞争, SRB 异养 NO_3^- 还原成 NH_4^+ 的代谢过程未受明显影响. 然而,当培养体系中存在较高 NO_3^- 时, NRB 表现出了对 SRB 的底物竞争性抑制效应[图 2(c)]: NRB 优先利用了有机底物进行异养 NO_3^- 还原代谢,而 SRB 的活性受到抑制. 当然,需要注意的是不能忽视中间产物 NO_2^- 的累积对于 SRB 硫酸盐还原活性抑制的贡献. 图 3 中显示的实验结果也进一步证实 NO_2^- 的抑制作用. 尽管如此,也有许多研究表明,不同 SRB (甚至同一种的不同菌株间)对 NO_2^- 抑制的敏感程度不一. 许多菌株细胞内含有细胞色素 c 亚硝酸盐还原酶基因(*nrf*), 该基因的诱导表达可使 SRB 通过亚硝酸盐还原酶解除 NO_2^- 的抑制^[32]. 图 3(b) 中的实验结果同时明确证明,大庆油田采出水中的 SRB 能够还原 NO_2^- 生成 NH_4^+ , 其细胞内含有亚硝酸盐还原酶.

虽然本研究中没有对培养瓶内的氧化还原电位进行观测,但推测培养体系中氧化还原电位的变化幅度不大,未对 SRB 的代谢行为产生实质性影响,因为从图 2(c)、2(d) 都可以看出,一旦 NO_2^- 耗尽, SRB 的 SO_4^{2-} 还原代谢经短暂停滞后可迅速启动,进而快速产生了 H_2S . 因而,在本研究条件下,氧化还原电位不是影响 SRB 活性的主要因素.

本研究中接种的 NRB 是一种兼性营养的硝酸盐还原菌,但在有机碳源充足的实验条件下,未能观测到该菌株的 NO_3^- 还原- S^{2-} 氧化活性. 在接种 NRB 的培养瓶中,后期产生的 H_2S 浓度没有进一步降低(数据未给出),这可能是因为 NRB 菌株更倾向于以有机碳源而非 S^{2-} 作为电子供体进行代谢. 显然,环境中碳源不足时的情形怎样,或真实油藏环境中是否存在活性更强的 NR-SOB 等问题尚需进一步研究和探讨.

3.3 NRB 在 NO_3^- 抑制 SRB 的 SO_4^{2-} 还原活性的作用

尽管本研究使用的 DNB-8 是一株兼性营养的 NO_3^- 还原菌,但该菌株在所有处理中仅体现了异养 NO_3^- 还原活性而并未展现 NO_3^- 还原- S^{2-} 氧化活性 [图 2(b)、2(d)]. 这可能因为培养瓶中的培养基成分(比如充足的有机碳源)不适合该菌株进行自养代谢。

单就 DNB-8 作为 hNRB 而言,其在抑制 SRB 的 SO_4^{2-} 还原活性的过程中所发挥的作用似乎因初始 NO_3^- 的浓度的高低而不同. 当使用低浓度的 NO_3^- 时,由于 NRB 自身的 NO_3^- 还原代谢活性,使环境中原本浓度就不高的 NO_3^- 和 NO_2^- 浓度进一步迅速降低,间接促使 SO_4^{2-} 还原活性更快启动,从而体现出对于酸化控制的负面作用;但是,当 NO_3^- 浓度较高时,NRB 的作用却是“一分为二”的:一方面,通过其对 SRB 的底物竞争抑制作用和其自身较强的异养 NO_3^- 还原活性,可迅速产生较高浓度的 NO_2^- 以抑制 SRB 活性,具有积极作用;另一方面,DNB-8 对于 NO_2^- 这一中间代谢产物的快速消耗使 NO_2^- 抑制 SRB 活性的时间相对缩短 [图 2(d)]. 这一点显然对于酸化控制是不利的。

简言之, $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 抑制油藏酸化的作用机制复杂,不但受油藏温度、注水水质等环境因子的影响,而且受 SRB 种群组成及代谢特点等微生物因素的影响. 因此,对于特定油藏的微生物生理生态学等相关研究仍亟待加强^[33,34]. 另一方面,本研究采用的是 SRB 的富集培养物和分离筛选到的 NRB 的纯培养物,鉴于油藏及采出水环境中微生物种群结构的多样性^[18, 33],仍有必要在油田现场开展原位的 NO_3^- 抑制 SRB 实验,以获得更为准确的认识. 只有如此才能发挥生物控制技术的最大功能,达到抑制 SRB 活性进而消除其危害的目的。

4 结论

(1) $\text{NO}_3^- > 1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 或 $\text{NO}_2^- > 0.45 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 可有效抑制 SRB 富集培养物的 SO_4^{2-} 还原活性。

(2) 补加 NO_3^- 抑制大庆油田采出水中 SRB 富集培养物 SO_4^{2-} 还原活性的主要作用机制是 NRB 对电子受体的竞争作用以及产生的 NO_2^- 对 SRB 的活性抑制作用。

(3) 大庆油田采出水中的 SRB 富集培养物细胞内存在异化 NO_3^- 还原生成 NH_4^+ 的代谢途径. 采出

水中的 NO_3^- 还原菌兼具 NO_3^- 还原-硫化物氧化活性. 但有机碳源充足的条件下, DNB-8 未展现自养 NO_3^- 还原-硫化物氧化活性。

致谢:本研究得到大庆油田有限责任公司第二采油厂技术发展部主任尹中民博士、刘卫东副主任的大力支持;在采出液样品采集过程中还得到了第二采油厂中心化验室纪海龙、郭明、郝金生、闵洁、贾小兵等的热心帮助;中国科学院沈阳应用生态研究所的史奕研究员在 SO_4^{2-} 等离子浓度测定方面给予了帮助与指导;中国科学院污染生态与环境工程重点实验室的贾永峰研究员、王新副研究员也对本研究予以指导,在此一并表示诚挚感谢!

参考文献:

- [1] Thauer R K, Stackebrandt E, Hamilton W A. Energy metabolism and phylogenetic diversity of sulphate-reducing bacteria [A]. In Barton L L, Hamilton W A (Eds.). Sulphate-reducing Bacteria: Environmental and Engineering Systems [M]. New York: Cambridge University Press, 2007. 1-37.
- [2] Muyzer G, Stams A J M. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria [J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6(6): 441-454.
- [3] Bastin E S, Greer F E, Merritt C A, et al. The presence of sulphate reducing bacteria in oil field waters [J]. Science, 1926, 63(1618): 21-24.
- [4] Rosnes J T, Torsvik T, Lien T. Spore-forming thermophilic sulfate-reducing bacteria isolated from North Sea Oil Field waters [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(8): 2302-2307.
- [5] Bernard O, Michel M. Petroleum microbiology [M]. Washington: American Society for Microbiology Press, 2005.
- [6] Jørgensen B B. Mineralization of organic matter in the sea bed—the role of sulphate reduction [J]. Nature, 1982, 296(5858): 643-645.
- [7] Reinsel M A, Sears J T, Stewart P S, et al. Control of microbial souring by nitrate, nitrite or glutaraldehyde injection in a sandstone column [J]. Journal of Industrial Microbiology, 1996, 17(2): 128-136.
- [8] 关建宁, 汪海波. 杀菌剂 DMHSEA 在油井注水中杀菌效果评价 [J]. 工业水处理, 2001, 21(2): 7-8.
- [9] Tang K, Baskaran V, Nemati M. Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology, biokinetics and their role in petroleum and mining industries [J]. Biochemical Engineering Journal, 2009, 44(1): 73-94.
- [10] Telang A J, Ebert S, Foght J M, et al. Effects of two diamine biocides on the microbial community from an oil field [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1998, 44(11): 1060-1065.
- [11] Gardner L R, Stewart P S. Action of glutaraldehyde and nitrite against sulfate-reducing bacterial biofilms [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2002, 29(6): 345-

- 360.
- [12] Myhr S, Lillebø B L P, Sunde E, *et al.* Inhibition of microbial H₂S production in an oil reservoir model column by nitrate injection [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, **58**(3): 400-408.
- [13] Hubert C, Voordouw G. Oil field souring control by nitrate-reducing *Sulfurospirillum* spp. that outcompete sulfate-reducing bacteria for organic electron donors [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(8): 2644-2652.
- [14] Grigoryan A A, Cornish S L, Buziak B, *et al.* Competitive oxidation of volatile fatty acids by sulfate-and nitrate-reducing bacteria from an oil field in Argentina [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, **74**(14): 4324-4335.
- [15] Kaster K M, Grigoriyan A, Jenneman G, *et al.* Effect of nitrate and nitrite on sulfide production by two thermophilic, sulfate-reducing enrichments from an oil field in the North Sea [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, **75**(1): 195-203.
- [16] Stetter K O, Huber R, Blochl E, *et al.* Hyperthermophilic archaea are thriving in deep North Sea and Alaskan oil reservoirs [J]. *Nature*, 1993, **365**(6448): 743-745.
- [17] Gieg L M, Jack T R, Foght J M. Biological souring and mitigation in oil reservoirs [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, **92**(2): 263-282.
- [18] Wei L, Ma F, Zhao G. Composition and dynamics of sulfate-reducing bacteria during the waterflooding process in the oil field application [J]. *Bioresource Technology*, 2010, **101**(8): 2643-2650.
- [19] 赵楠, 李岩, 王堂彪, 等. 反硝化抑制石油集输系统中硫酸盐还原菌的现场实验 [J]. *环境工程学报*, 2012, **6**(12): 4699-4704.
- [20] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [21] Moura J J G, Gonzalez P, Moura I, *et al.* Dissimilatory nitrate and nitrite ammonification by sulphate-reducing eubacteria [A]. In: Barton L L, Hamilton W A (Eds.). *Sulphate-reducing Bacteria: Environmental and Engineering Systems* [C]. New York: Cambridge University Press, 2007. 241-264.
- [22] Moura I, Bursakov S, Costa C, *et al.* Nitrate and nitrite utilization in sulfate-reducing bacteria [J]. *Anaerobe*, 1997, **3**(5): 279-290.
- [23] Widdel F, Pfennig N. Studies on dissimilatory sulfate-reducing bacteria that decompose fatty acids. II. Incomplete oxidation of propionate by *Desulfobulbus propionicus* gen. nov., sp. nov. [J]. *Archives of Microbiology*, 1982, **131**(4): 360-365.
- [24] Szewzyk R, Pfennig N. Complete oxidation of catechol by the strictly anaerobic sulfate-reducing *Desulfobacterium catecholicum* sp. nov. [J]. *Archives of Microbiology*, 1987, **147**(2): 163-168.
- [25] Seitz H J, Cypionka H. Chemolithotrophic growth of *Desulfovibrio desulfuricans* with hydrogen coupled to ammonification of nitrate or nitrite [J]. *Archives of Microbiology*, 1986, **146**(1): 63-67.
- [26] Keith S M, Herbert R A. Dissimilatory nitrate reduction by a strain of *Desulfovibrio desulfuricans* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1983, **18**(1-2): 55-59.
- [27] McCready R G L, Gould W D, Cook F D. Respiratory nitrate reduction by *Desulfovibrio* sp. [J]. *Archives of Microbiology*, 1983, **135**(3): 182-185.
- [28] Mitchell G J, Jones J G, Cole J A. Distribution and regulation of nitrate and nitrite reduction by *Desulfovibrio* and *Desulfotomaculum* species [J]. *Archives of Microbiology*, 1986, **144**(1): 35-40.
- [29] Dalsgaard T, Bak F. Nitrate reduction in a sulfate-reducing bacterium, *Desulfovibrio desulfuricans*, isolated from rice paddy soil: sulfide inhibition, kinetics, and regulation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, **60**(1): 291-297.
- [30] Lambo A J, Noke K, Larter S R, *et al.* Competitive, microbially-mediated reduction of nitrate with sulfide and aromatic oil components in a low-temperature, western Canadian oil reservoir [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(23): 8941-8946.
- [31] Hubert C, Nemati M, Jenneman G, *et al.* Containment of biogenic sulfide production in continuous up-flow packed-bed bioreactors with nitrate or nitrite [J]. *Biotechnology Progress*, 2003, **19**(2): 338-345.
- [32] Greene E A, Hubert C, Nemati M, *et al.* Nitrite reductase activity of sulphate-reducing bacteria prevents their inhibition by nitrate-reducing, sulphide-oxidizing bacteria [J]. *Environmental Microbiology*, 2003, **5**(7): 607-617.
- [33] 罗丽, 刘永军, 王晓昌. 石油集输系统中硫酸盐还原菌的分布和多样性 [J]. *环境科学*, 2010, **31**(9): 2160-2165.
- [34] 魏利, 马放, 王继华, 等. 油田硫酸盐还原菌快速定量检测方法 [J]. *环境科学*, 2007, **28**(2): 441-444.

CONTENTS

An Assessment of PM _{2.5} Related Health Risks and Impaired Values of Beijing Residents in a Consecutive High-Level Exposure During Heavy Haze Days	XIE Yuan-bo, CHEN Juan, LI Wei (1)
Seasonal Variation of Water-Soluble Ions in PM _{2.5} at Changbai Mountain	ZHAO Ya-nan, WANG Yue-si, WEN Tian-xue, <i>et al.</i> (9)
Variation of Atmospheric Particle Number Concentrations in Qingdao and Its Impact on Visibility	KE Xin-shu, SHENG Li-fang, KONG Jun, <i>et al.</i> (15)
Concentrations of PCDD/Fs in the Atmosphere of Chongqing City and Its Seasonal Variation	ZHANG Xiao-ling, LU Yi, ZHU Ming-ji, <i>et al.</i> (22)
Atmospheric Emission of PCDD/Fs from Secondary Aluminum Metallurgy Industry in the Southwest Area, China	LU Yi, ZHANG Xiao-ling, GUO Zhi-shun, <i>et al.</i> (30)
Atmospheric Emission of PCDD/Fs from Modern Dry Processing Cement Kilns with Preheating in the Southwest Area, China	ZHANG Xiao-ling, LU Yi, JIAN Chuan, <i>et al.</i> (35)
Pollution Status and Characteristics of PBDEs in Indoor Air of Hangzhou	JIANG Xin-wei, SUN Xin, PEI Xiao-qiang, <i>et al.</i> (41)
Size Distribution of Particle and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Particle Emissions from Simulated Emission Sources	FU Hai-huan, TIAN Na, SHANG Hui-bin, <i>et al.</i> (46)
Atmospheric Deposition Fluxes and Seasonal Variations of Elements in Northeast of Sichuan, Central China	TONG Xiao-ning, ZHOU Hou-yun, YOU Chen-feng, <i>et al.</i> (53)
Trend in Acid Deposition at Tieshanping, Chongqing During 2001-2010	YU De-xiang, MA Xiao-xiao, TAN Bing-quan, <i>et al.</i> (60)
Wet Deposition of Atmospheric Nitrogen of the Jinshui Watershed in the Upper Hanjiang River	WANG Jin-jie, ZHANG Ke-rong, WU Chuan, <i>et al.</i> (66)
Chemical Compositions of <i>n</i> -Alkanoic Acids in Wheat Straw and Its Smoke	LIU Gang, LI Jiu-hai, WU Dan, <i>et al.</i> (73)
Magnetic Properties of Indoor Dustfall at Different Heights in Lanzhou	WU Duo, WEI Hai-tao, ZHAO Rui-rui, <i>et al.</i> (79)
Mercury Fluxes from Conifer-Broadleaf Forested Field in Central Subtropical Forest Zone	MA Ming, WANG Ding-yong, SHEN Yuan-yuan, <i>et al.</i> (85)
Impacts of Rice Straw Biochar on Organic Carbon and CO ₂ Release in Arable Soil	KE Yue-jin, HU Xue-yu, YI Qing, <i>et al.</i> (93)
Geochemical Distribution of Dissolved Bismuth in the Yellow Sea and East China Sea	WU Xiao-dan, SONG Jin-ming, WU Bin, <i>et al.</i> (100)
Temporal-spatial Distribution and Pollution Assessment of Heavy Metals in the Upper Reaches of Hunhe River (Qingyuan Section), Northeast China	MA Ying-qun, SHI Yao, QIN Yan-wen, <i>et al.</i> (108)
Determination of Estrogenic Compounds in Water of Jiulong River Using Polar Organic Chemical Integrative Sampler	ZHANG Li-peng, WANG Xin-hong, LI Yong-yu, <i>et al.</i> (117)
Variation Characteristics and Environmental Significant of Trace Elements Under Rainfall Condition in Karst Groundwater	CHEN Xue-bin, YANG Ping-heng, LAN Jia-cheng, <i>et al.</i> (123)
Major Ion Chemistry of Surface Water in the Xilin River Basin and the Possible Controls	TANG Xi-wen, WU Jin-kui, XUE Li-yang, <i>et al.</i> (131)
Forms and Spatial Distribution Characteristics of Nitrogen in Ziya River Basin	ZHAO Yu, SHAN Bao-qing, ZHANG Wen-qiang, <i>et al.</i> (143)
Impact of Rice Agriculture on Nitrogen and Phosphorus Exports in Streams in Hilly Red Soil Earth Region of Central Subtropics	SONG Li-fang, WANG Yi, WU Jun-shui, <i>et al.</i> (150)
Study on Distribution of Phosphorus in Surface Sediments of the Yellow Sea and the East China Sea	SONG Guo-dong, LIU Su-mei, ZHANG Guo-ling (157)
Characterization and Optimization of the NaOH-EDTA Extracts for Solution ³¹ P-NMR Analysis of Organic Phosphorus in River Sediments	ZHANG Wen-qiang, SHAN Bao-qing, ZHANG Hong, <i>et al.</i> (163)
Regeneration and Transformation of BAPP in Suspended Solids Under Short-term Sediment Disturbance	WU Xiao-fei, LI Da-peng, WANG Ming (171)
Sediment Risk Assessment and Heavy Metal Source Analysis in Typical Country Water Level Fluctuated Zone (WLFZ) of the Three Gorges	AO Liang, LEI Bo, WANG Ye-chun, <i>et al.</i> (179)
Pollution Distribution and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Sediments from the Different Eastern Dredging Regions of Lake Taihu	MAO Zhi-gang, GU Xiao-hong, LU Xiao-ming, <i>et al.</i> (186)
Study on the Stages of Major Sediments in Dianchi Lake	WANG Xin-yu, ZHOU Feng, YI Xuan, <i>et al.</i> (194)
Oil Spill Identification Using Partial Surface Fitting Method Based on Concentration-Synchronous-Matrix-Fluorescence Spectra	WANG Chun-yan, SHI Xiao-feng, LI Wen-dong, <i>et al.</i> (202)
Treatment of Sludge Liquor Produced in Deep Dehydration by Photoelectro-Fenton Process	WANG Xian-li, WANG Shi-feng, WU Jun-feng, <i>et al.</i> (208)
Characteristics of Nitrification and Denitrification for Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal by Granular Sludge	LIU Xiao-ying, LIN Hui, MA Zhao-rui, <i>et al.</i> (214)
Study on Long-Term Stability of Biological Nitrogen Removal via Nitrite from Real Landfill Leachate	SUN Hong-wei, GUO Ying, PENG Yong-zhen (221)
Compositions and Residual Properties of Petroleum Hydrocarbon in Contaminated Soil of the Oilfields	HU Di, LI Chuan, DONG Qian-qian, <i>et al.</i> (227)
Dynamics of the Mineralization and Transformation of Rice Photosynthesized Carbon in Paddy Soils - a Batch Incubation Experiment	TAN Li-min, PENG Pei-qin, LI Ke-lin, <i>et al.</i> (233)
Effects of Land Use and Abandonment on Soil Labile Organic Carbon in the Karst Region of Southwest China	LIAO Hong-kai, LI Juan, LONG Jian, <i>et al.</i> (240)
Aluminum Dissolution and Changes of pH in Soil Solution During Sorption of Copper by Aggregates of Paddy Soil	XU Hai-bo, ZHAO Dao-yuan, QIN Chao, <i>et al.</i> (248)
Effect of Cr(VI) Anions on the Cu(II) Adsorption Behavior of Two Kinds of Clay Minerals in Single and Binary Solution	LIU Juan-juan, LIANG Dong-li, WU Xiao-long, <i>et al.</i> (254)
Effect of Flooding Time Length on Mycorrhizal Colonization of Three AM Fungi in Two Wetland Plants	MA Lei-meng, WANG Peng-teng, WANG Shu-guang (263)
Preliminary Study on the Relationship Between the Water Quality and the Aquatic Biological Health Status of Taihu Lake	ZHOU Xiao-bai, ZHANG Ning-hong, ZHANG Yong, <i>et al.</i> (271)
Acute Toxicity of Three Typical Pollutants to Aquatic Organisms and Their Water Quality Criteria	JIANG Dong-sheng, SHI Xiao-rong, CUI Yi-bin, <i>et al.</i> (279)
Evaluation of the Acute Toxicity of Pharmaceutical Wastewater to Luminescent Bacteria	DU Li-na, YANG Fan, MU Yu-feng, <i>et al.</i> (286)
Influence of the Coexistence of Zn ²⁺ on the Enantioselective Toxicity of Metolachlor to <i>Scenedesmus obliquus</i>	HU Xiao-na, ZHANG Shu-xian, CHEN Cai-dong, <i>et al.</i> (292)
Simplification of Biotic Ligand Model and Evaluation of Predicted Results	WANG Wan-bin, CHEN Sha, WU Min, <i>et al.</i> (299)
Priority Pollutants Ranking and Screening of Coke Industry based on USEtox Model	HAO Tian, DU Peng-fei, DU Bin, <i>et al.</i> (304)
Isolation, Identification and Characterization of a Microcystin-degrading Bacterium <i>Paucibacter</i> sp. Strain CH	YOU Di-jie, CHEN Xiao-guo, XIANG Hui-yi, <i>et al.</i> (313)
Inhibition of the Activity of Sulfate-reducing Bacteria in Produced Water from Oil Reservoir by Nitrate	YANG De-yu, ZHANG Ying, SHI Rong-jiu, <i>et al.</i> (319)
Bioconversion of Cellulose to Methane by a Consortium Consisting of Four Microbial Strains	WU Jun-mei, MA An-zhou, CUI Meng-meng, <i>et al.</i> (327)
Factors Influencing the Variability in Soil Heterotrophic Respiration from Terrestrial Ecosystem in China	XIE Wei, CHEN Shu-tao, HU Zheng-hua (334)
Study on the Distinguishing of Root Respiration from Soil Microbial Respiration in a <i>Leymus chinensis</i> Steppe in Inner Mongolia, China	SHI Jing-jing, GENG Yuan-bo (341)
Nitrous Oxide Flux at the Water-Air Interface of the Rivers in Nanjing During Summer	HAN Yang, ZHENG You-fei, WU Rong-jun, <i>et al.</i> (348)
Effects of Antiseptic on the Analysis of Greenhouse Gases Concentrations in Lake Water	XIAO Qi-tao, HU Zheng-hua, James Deng, <i>et al.</i> (356)
Electricity Generation of Surplus Sludge Microbial Fuel Cell Enhanced by Biosurfactant	PENG Hai-li, ZHANG Zhi-ping, LI Xiao-ming, <i>et al.</i> (365)
Fe-ZSM-5 Catalysts with Different Silica-Alumina Ratios for N ₂ O Catalytic Decomposition	LU Ren-jie, ZHANG Xin-yan, HAO Zheng-ping (371)
Inhibition of Chlorobenzene Formation via Various Routes During Waste Incineration by Ammonium Sulfate and Urea	YAN Mi, QI Zhi-fu, LI Xiao-dong, <i>et al.</i> (380)
County Scale Characteristics of CO ₂ Emission's Spatial-Temporal Evolution in the Beijing-Tianjin-Hebei Metropolitan Region	WANG Hao, CHEN Cao-cao, PAN Tao, <i>et al.</i> (385)
Characterization and Soil Environmental Safety Assessment of Super Absorbent Polymers in Agricultural Application	LI Xi, LIU Yu-rong, ZHENG Yuan-ming, <i>et al.</i> (394)

《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)

2014年1月15日 35卷 第1期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 35 No. 1 Jan. 15, 2014

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