

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第36卷 第11期

Vol.36 No.11

2015

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

北京市大气气溶胶中糖类化合物的组成及来源	梁林林, Guenter Engling, 段凤魁, 马永亮, 程远, 杜祯宇, 贺克斌 (3935)
北京大气 PM _{2.5} 与惰性 SiO ₂ 的生物毒性比较	刘梦娇, 黄艺, 文航, 邱国玉 (3943)
APEC 期间北京及周边城市 AQI 区域特征及天气背景分析	高庆先, 刘俊蓉, 王宁, 李文涛, 高文康, 苏布达 (3952)
2000 ~ 2014 年北京市 SO ₂ 时空分布及一次污染过程分析	程念亮, 张大伟, 李云婷, 陈添, 李金香, 董欣, 孙瑞雯, 孟凡 (3961)
利用 SPAMS 研究石家庄市冬季连续灰霾天气的污染特征及成因	周静博, 任毅斌, 洪纲, 路娜, 李治国, 李雷, 李会来, 靳伟 (3972)
长江三角洲夏季一次典型臭氧污染过程的模拟	张亮, 朱彬, 高晋徽, 康汉青, 杨鹏, 王红磊, 李月娥, 邵平 (3981)
珠江三角洲区域污染分布及其垂直风场特征	刘建, 吴兑, 范绍佳 (3989)
春季黄渤海海水中尿素分布特征及溶解态氮的组成	李志林, 石晓勇, 张传松 (3999)
洱海流域农业用地与入湖河流水质的关系研究	庞燕, 项颂, 储昭升, 薛力强, 叶碧碧 (4005)
大辽河主要污染源营养盐输入特征	马迎群, 张雷, 赵艳民, 秦延文, 潘晓雪, 曹伟, 刘志超, 杨晨晨 (4013)
三峡库区大宁河沉积物营养盐时空分布及其与叶绿素的相关性分析	张永生, 李海英, 任家盈, 卢佳 (4021)
不同地质背景水库区夏季水-气界面温室气体交换通量研究	李建鸿, 蒲俊兵, 孙平安, 袁道先, 刘文, 张陶, 莫雪 (4032)
周丛生物存在下不同水层氧化还原带的分布及其与微生物的关联	王逢武, 刘玮, 万娟娟, 杨嘉利, 刘雪梅, 向速林, 吴永红 (4043)
华北低平原区地下水中氟分布特征及形成原因: 以南皮县为例	孔晓乐, 王仕琴, 赵焕, 袁瑞强 (4051)
某市典型地段地表水及地下水中氟喹诺酮类抗生素分布特征	崔亚丰, 何江涛, 苏思慧, 杨蕾, 乔肖刚 (4060)
乳山湾邻近海域沉积物中好氧氨氧化微生物分布特征	贺惠, 甄毓, 米铁柱, 张玉, 付璐璐, 于志刚 (4068)
青木关地下河中溶解态甾醇来源及迁移、转化特征	梁作兵, 沈立成, 孙玉川, 王尊波, 江泽利, 张媚, 廖昱, 谢正兰, 张远瞩 (4074)
多环芳烃在岩溶地下表层沉积物-水相的分配	蓝家程, 孙玉川, 肖时珍 (4081)
降雨期间岩溶地下河溶解态多环芳烃变化特征及来源解析	江泽利, 孙玉川, 王尊波, 梁作兵, 任坤, 谢正兰, 张媚, 廖昱 (4088)
重庆南山老龙洞地下河系统重金属分布、迁移及自净能力	任坤, 梁作兵, 于正良, 张宇, 王蓉, 袁道先 (4095)
三峡水库消落带植物汞的分布特征	梁丽, 王永敏, 李先源, 唐振亚, 张翔, 张成, 王定勇 (4103)
物理和生物组合扰动对底泥微界面过程的影响	王忍, 李大鹏, 黄勇, 刘焱见, 陈俊 (4112)
超声、过硫酸钾协同去除水中诺氟沙星的效果	魏红, 史京转, 李佳霖, 李克斌, 赵琳, 韩凯 (4121)
载银活性炭活化过硫酸钠降解酸性橙 7	王忠明, 黄天寅, 陈家斌, 李文卫, 张黎明 (4127)
TiO ₂ 降解迪美唑的动力学及活性物质分析	陈冬梅, 喻泽斌, 孙蕾, 黄俊, 高丽红, 李明洁 (4135)
单宁酸铁吸附去除水中无机氮的性能与机制研究	张瑞娜, 李琳, 刘俊新 (4141)
间歇曝气式膜生物反应器对养猪沼液中兽用抗生素的去除特性	丁佳丽, 刘锐, 郑炜, 宋小燕, 余卫娟, 叶朝霞, 陈吕军, 张永明 (4148)
单级和两级串联臭氧-生物活性炭深度处理垃圾渗滤液比较研究	杜安静, 范举红, 刘锐, 邱松凯, 文晓刚, 陈吕军 (4154)
水力停留时间和溶解氧对陶粒 CANON 反应器的影响	王会芳, 付昆明, 左早荣, 仇付国 (4161)
氨氮对 AOB 抑制的形态及规律	崔剑虹, 李祥, 黄勇, 朱亮, 杨朋兵 (4168)
厌氧氨氧化与反硝化协同脱氮处理城市污水	张诗颖, 吴鹏, 宋吟玲, 沈耀良, 张婷 (4174)
同步硝化反硝化耦合除磷工艺的快速启动及其运行特征	冷璐, 信欣, 鲁航, 唐雅男, 万利华, 郭俊元, 程庆锋 (4180)
HCO ₃ ⁻ 对部分亚硝化-厌氧氨氧化联合工艺脱氮效能的影响	李祥, 陈宗姮, 黄勇, 袁怡, 刘忻, 张大林 (4189)
ABR 耦合 CSTR 一体化工艺好氧颗粒污泥亚硝化性能调控及稳态研究	巫恺澄, 吴鹏, 沈耀良, 李月寒, 王建芳, 徐乐中 (4195)
活化过硫酸盐对市政污泥调理效果的影响	徐鑫, 濮文虹, 时亚飞, 虞文波, 张诗楠, 宋健, 张昊, 何姝, 杨昌柱, 杨家宽 (4202)
温度分化对 APBR 反应器性能及产甲烷菌群落的影响	谢海迎, 汪鑫, 李牧原, 阎叙西, 五十岚泰夫, 罗锋 (4208)
污染场地修复技术筛选方法及应用	白利平, 罗云, 刘俐, 周友亚, 颜增光, 李发生 (4218)
基于 Monte Carlo 模拟的土壤重金属综合风险评价与案例分析	杨阳, 代丹, 蔡怡敏, 陈卫平, 侯瑜, 杨锋 (4225)
大港工业区土壤重金属污染及生态风险评价	张倩, 陈宗娟, 彭昌盛, 李发生, 谷庆宝 (4232)
缙云山不同土地利用方式对土壤团聚体微生物量碳氮的影响	李增全, 江长胜, 郝庆菊 (4241)
不同秸秆翻埋还田对旱地和水田土壤微生物群落结构的影响	兰木岭, 高明 (4252)
生草果园土壤微生物群落的碳源利用特征	杜毅飞, 方凯凯, 王志康, 李会科, 毛鹏娟, 张向旭, 王婧 (4260)
不同有机物料对东南景天修复重金属污染土壤效率的影响	姚桂华, 徐海舟, 朱林刚, 马嘉伟, 柳丹, 叶正钱 (4268)
组配改良剂对土壤-蔬菜系统铅镉转运调控的场地研究	朱维, 刘丽, 吴燕明, 周航, 邓贵友, 杨文骏, 彭佩钦, 曾敏, 廖柏寒 (4277)
水稻品种及典型土壤改良措施对稻米吸收镉的影响	王美娥, 彭驰, 陈卫平 (4283)
大庆湖泊群水体和淡水鱼中多环芳烃污染特征及生态风险评估	王晓迪, 臧淑英, 张玉红, 王凡, 杨兴, 左一龙 (4291)
覆盖层甲烷氧化动力学和甲烷氧化菌群落结构	邢志林, 赵天涛, 高艳辉, 何芝, 杨旭, 彭绪亚 (4302)
阳极内添加阳离子交换树脂提升铝压“三合一”膜电极 MFC 性能	梅卓, 张哲, 王鑫 (4311)
应用基于单克隆抗体的免疫传感器检测环境中的茚和苯并茚	李鑫, 乔琰, 钟国祯 (4319)
《环境科学》征订启事 (4224) 《环境科学》征稿简则 (4318) 信息 (4080, 4173, 4290, 4301)	

温度分化对 APBR 反应器性能及产甲烷菌群落的影响

谢海迎, 汪鑫, 李牧原, 阎叙酉, 五十岚泰夫, 罗锋*

(西南大学资源环境学院, 重庆市能源微生物重点实验室, 重庆 400716)

摘要: 为了研究温度分化对固定床厌氧反应器 (anaerobic packed bed reactor, APBR) 牛粪发酵处理效果及产甲烷菌群落的影响, 反应器发酵温度从室温 ($22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) 阶梯式分化到低温 ($15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)、中温 ($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) 和高温 ($55^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$)。温度变化的过程中, 温度越高 COD (chemical oxygen demand) 去除率和日总产气量越高, 分化后 COD 去除率分别为 25%、45%、60%, 相应的日产气量为 2.3、4.0、8.5 $\text{L} \cdot \text{d}^{-1}$, 但是甲烷含量基本保持不变 ($\sim 60\%$); 温度突然变化造成挥发性脂肪酸含量骤然增加, 并处于波动状态。16S rRNA 基因克隆文库法分析表明, 室温时包含广古菌门中的常见重要产甲烷菌 MBT (甲烷杆菌目)、Mst (甲烷鬃菌科)、Msc (甲烷八叠球菌科) 和 MMB (甲烷微菌目), 以及嗜热菌, 也有少部分泉古生菌门, 发酵温度分化后, 产甲烷菌多样性减少, 中温条件下产甲烷菌种类相对较少。定量 PCR 表明 Mst、MMB 和 Msc 总基因浓度都有所减少, 并且温度越高减少越多, 各菌数量相对比例变化较大, 但 Mst 仍为优势产甲烷菌。

关键词: 厌氧固定床反应器 (APBR); 温度; 牛粪; 产甲烷菌群落; 16S rRNA 基因; Q-PCR

中图分类号: X172; X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)11-4208-10 DOI: 10.13227/j.hjks.2015.11.036

Influence of Temperature on the Anaerobic Packed Bed Reactor Performance and Methanogenic Community

XIE Hai-ying, WANG Xin, LI Mu-yuan, YAN Xu-you, Igarashi Yasuo, LUO Feng*

(Chongqing Key Laboratory of Energy Microorganism, College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: This study aimed to analyze the effect of temperature on performance and microbial community structure of an anaerobic packed bed reactor (APBR). The temperature was increased step-wise from room temperature ($22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) to psychrophilic ($15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), mesophilic ($37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) and thermophilic ($55^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$). The results showed that, in the temperature changing process, the higher the temperature of APBR was, the higher COD removal rate and daily gas production were. After temperature changed to psychrophilic, mesophilic and thermophilic, COD removal rate and daily gas production were 25%, 45%, 60% and 2.3 $\text{L} \cdot \text{d}^{-1}$, 4.0 $\text{L} \cdot \text{d}^{-1}$, 8.5 $\text{L} \cdot \text{d}^{-1}$ respectively. However, there was no significant change in biogas composition ($\sim 60\%$). A sudden temperature change caused a simultaneous increase in the concentration of volatile fatty acids (VFA), which had been fluctuating. Using 16S rRNA gene clone library screening, Euryarchaeota was commonly found, including important methanogens: MBT (*Methanobacteriales*), Mst (*Methanosaetaceae*), Msc (*Methanosarcinaceae*) and MMB (*Methanomicrobiales*), as well as thermophilic bacteria and few spring Archaea. However, the diversity of methanogenic groups was reduced, especially at mesophilic. The results of quantitative PCR showed that the 16S rRNA gene concentrations of Mst, MMB and Msc were reduced by temperature changes. Although the relative proportion of every kind of methanogen was significantly affected, Mst was the dominant methanogen.

Key words: anaerobic packed bed reactor (APBR); temperature; dairy manure; methanogenic community; 16S rRNA gene; Q-PCR

固定床厌氧反应器因具有较高的 COD 去除率、产气率以及抵抗低 pH、高负荷冲击的能力而受到广泛欢迎^[1,2]。目前已在处理畜禽废水、棕榈油厂废水、高浓度有机废水、印染废水以及废水的除磷脱氮等领域开展了广泛的应用与研究^[3,4]。但是, 厌氧发酵过程的稳定性和高效性受到很多因素的影响, 比如废水特征、水力停留时间 (hydraulic retention time, HRT)、污泥停留时间、有机负荷率、pH、温度以及氧化还原电位等, 在这些因素中, 温度是影响厌氧发酵高效稳定运行的主要因素之一。

根据产甲烷菌适宜温度条件的不同, 厌氧发酵可分为低温发酵 ($15 \sim 20^{\circ}\text{C}$)、中温发酵 ($30 \sim$

35°C) 和高温发酵 ($50 \sim 55^{\circ}\text{C}$) 3 种类型。Zhang 等^[5]研究了在低温 ($5 \sim 18^{\circ}\text{C}$) 条件下固定床厌氧反应器性能和主要产甲烷菌结构, 发现 COD 去除率和产气量明显下降。陈智远等^[6]进行了猪粪、鸡粪和牛粪这 3 种粪便分别都在常温、 25°C 和 35°C 这 3 种温度条件下的厌氧发酵反应, 发现各粪便组都在中温 35°C 条件下具有明显的发酵产沼气优势, 表明中温

收稿日期: 2014-05-22; 修订日期: 2014-11-28

基金项目: “国家外专千人计划”启动专项 (2012SWU112097); 中央高校基本科研费重点项目 (XDJK2011B009)

作者简介: 谢海迎 (1990 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向水污染控制, E-mail: xhy702@163.com

* 通讯联系人, E-mail: van77@swu.edu.cn

发酵要优于常温发酵. 而高温发酵比中温发酵更能忍受环境的变化^[7,8], 因此受到广泛欢迎. 但是, 中国大部分沼气池是在室温下运行的, 运行效率不高, 甚至经常不产气, 因此许多沼气池面临着改型, 但又考虑到能源问题, 有些沼气池只能从室温发酵转化为中温发酵, 甚至有的继续维持室温发酵, 而室温发酵到冬天又转化为低温发酵. 因此研究室温发酵分化为低温、中温和高温发酵对沼气池改型或不改型都具有重要的意义, 也丰富了从室温下采集的污泥分别驯化成低温、中温和高温污泥的相关知识, 并且这方面的研究也鲜有报道.

本研究利用固定床厌氧反应器, 探索从室温发酵阶梯式温度分化到低温、中温和高温发酵产甲烷机制和主要产甲烷菌群演替变化, 以期对室温沼气池改型或不改型提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料

接种污泥取自中国农业大学上庄实验基地运行良好的厌氧沼气发酵罐, 总固体 (total solids, TS) 含

量为 3.04%, 挥发性固体 (volatile solids, VS) 含量为 1.93%. 牛粪采自中国农业大学营养代谢实验室, TS 含量为 15.92%, VS 含量为 13.79%.

1.2 实验装置

本研究使用的升流式碳纤维固定床厌氧反应器 (APBR), 用 10 mm 有机玻璃设计加工而成, 外径 24 cm, 总高度 27 cm, 反应器有效总容积为 10 L, 反应器内使用比表面积为 $1\,100\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ 的碳纤维 (日本 Japan Carbon Company) 作为微生物载体, 反应器装置如图 1 所示. APBR 放在生化培养箱中控制温度.

1.3 实验方法

使用牛粪废水作为发酵底物, 在室温 ($22^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) 条件下以 5 d (day) 为 1 个 HRT, COD 为 $15\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 运行 3 个发酵罐, 第 11 d 开罐取挂膜污泥样品 (温度分化前原始样 0 点), 再驯化 1 个 HRT 后以每个 HRT 升降 5°C 的方法进行温度分化, 分别达到低温 R1 ($15^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$)、中温 R2 ($37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$) 和高温 R3 ($55^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$), 在第 50 d 完成温度分化后驯化 1 个 HRT 开罐取挂膜污泥样品, 各罐运行温度如表 1 所示.

表 1 运行温度 / $^\circ\text{C}$

Table 1 Operation temperature/ $^\circ\text{C}$

项目	1 ~ 15 d	15 ~ 20 d	21 ~ 25 d	26 ~ 30 d	31 ~ 35 d	36 ~ 40 d	41 ~ 45 d	45 ~ 50 d	51 ~ 55 d
R1	22	17	15	15	15	15	15	15	15
R2	22	27	32	37	37	37	37	37	37
R3	22	27	32	37	42	47	52	55	55

1.4 各种指标测定与方法

pH 值: 用 B-212 型微量 pH 计 (日本 HORIBA), 每天测定各罐的进出水 pH 值; 化学需氧量 (COD): 采用标准重铬酸钾滴定法^[9]; 总产气量与气体成分: 采用 Geotech Biogas 测定仪 (深圳昂为电子有限公司) 进行测定; 挥发性脂肪酸 (VFA): 使用 QP2010 型气相色谱-质谱 (日本岛津) 测定; 总固体 (TS) 和挥发性固体 (VS): 用重量法测定 TS 和 VS^[9].

1.5 DNA 提取和 PCR 扩增

取 2 mL 样品经 $12\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1} \times 10\text{ min}$ 离心后, 弃掉上清液, 再称取 0.2 ~ 0.3 g 的样品 (准确记录克数), 按照型号为 DP4011 污泥基因组快速提取试剂盒 (北京百泰克) 的说明书操作提取 DNA. 提取得到的 DNA 经检测、分装后, 放 -20°C 保存待用.

使用 Mastercycler gradient PCR 仪 (德国 Eppendorf) 进行 16S rRNA 基因的 PCR 扩增. 古菌

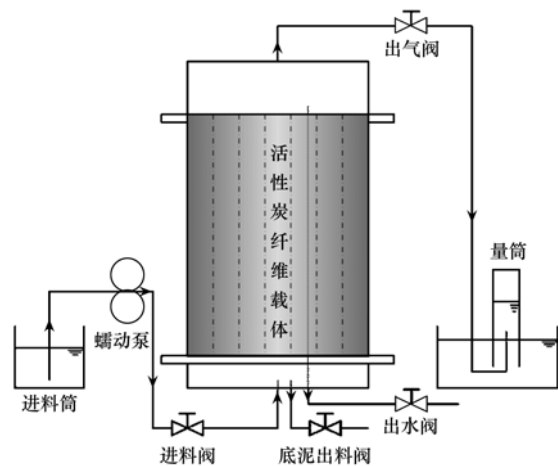


图 1 固定床厌氧反应器 (APBR) 装置系统

Fig. 1 Schematic diagram of anaerobic packed bed reactor (APBR)

PCR 使用的通用引物为: A109f (5'-ACKGCT CAGTAACACGT-3') 和 A912rt (5'-GTGCTCCCC CGCCAATTCCTTTA-3')^[10]. 反应程序为: 94°C 预变性 5 min, (93°C 变性 1 min, 50°C 退火 1 min, 72°C

延伸 1 min 30 s) × 30 个循环,最后 72℃ 延伸 5 min. PCR 产物用 1% 的琼脂糖胶电泳进行检测,PCR 产物用离心柱型琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(北京天根)纯化.

1.6 16S rRNA 克隆文库和系统发育树的构建

PCR 样品经纯化回收后,按照试剂盒的方法步骤连接到质粒 pGEM® -T Easy Vector(日本 Chiba). 随机各挑选 100 个克隆子,在所建立的克隆文库中挑取阳性转化子,引物用 5'-TAATACGACTCA CTATAGGG- 3') 和 Sp6 (5'-ATTTAGGTGACACT ATAG-3') 进行菌落 PCR.

经菌落 PCR 得到的模板 DNA 用于限制性酶切片长度多态性分析(restriction fragment length polymorphism analysis, RFLP). 古菌单酶切体系: NE Buffer 2 μL, PCR 产物 3 μL, Hinf I 1 μL, 加无菌水至总体积 20 μL. 然后经过 37℃ 水浴 3 h, 产物通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 比对并筛选出不同带型的克隆子后, 再从克隆文库中挑选出这些不同带型的克隆子, 放入 1.5 mL 的离心管(加入有 LB 培养基)中培养 2 h 后, 送出测序(上海生工生物工程有限公司). 最后得到的 DNA 序列通过 GenBank 网站, 用 BLAST 软件进行比对.

根据所测定的 16S rRNA 序列, 通过 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/> 数据库进行相似性检索, 进行同源性分析和相关信息检索, 近缘种序列及本研究所获得序列一起载入 CLUSTAL X 软件包, 通过程序 MEGA 4 构建系统发育树, 分析亲缘关系及相似性^[11].

1.7 古细菌定量 PCR(Q-PCR)

使用 ABI 7500 仪器(美国 Applied Biosystems) 进行定量 PCR(Q-PCR) 反应. 反应体系为: 使用 2 × TaqMan Universal PCR Master mix 来配成 20 μL, 反应体系如下: 1 μL 的 DNA 模板, 6.4 μL 的去离子水, 正反向引物各 1 μL(引物的最终浓度为 10 μmol·L⁻¹), 0.2 μL 的 TaqMan probe(最终浓度: 100 nmol·L⁻¹), 0.4 μL 的 50 × ROX II(终浓度为 1 ×), 10 μL 的 2 × Premix Ex Taq(Probe qPCR) Reaction Solution(终浓度 1 ×)(大连 TaKaRa). 每次测定的时候, 每种菌都需要设置一个空白对照.

使用两步扩增 PCR 程序: 94℃ 变性 10 min, 随后进行 40 个热循环(94℃ 变性 10 s, 60℃ 退火与延伸 30 s), 注意 MMB 的退火温度和延伸唯独都为 63℃.

Q-PCR 使用的特异性引物对和 5'-探针为:

MMB (Methanomicrobiales; MMB282F, MMB749F, MMB832R; 扩增长度: 506 bp); Msc (Methanosarcinaceae; Msc380F, Msc492F, Msc828R; 扩增长度: 408 bp) 和 Mst (Methanosaetaceae; Mst702F, Mst753F, Mst862R; 扩增长度: 164 bp). 这些引物都在 TaqMan 探针上标上了 FAM(荧光基团)和 BHQ-1(猝灭基团). 古菌标准菌株由 NITE Biological Research Center(日本 Chiba)提供, 培养 3 个不同种的古菌作为标准菌株, 并用其基因组 DNA 来制作定量 PCR 的标准曲线: Methanomicrobiales (*Methanospirillum hungatei* NBRC100397, 产甲烷微生物目), Methanosarcinaceae (*Methanosarcina acetivorans* NBRC100939, 产甲烷八叠球菌科), Methanosaetaceae (*Methanosaeta thermophila* NCB101360, 产甲烷鬃毛菌科) 分别用 MMB、Msc、Mst. 采用传统的 PCR 手段用上文提到的相应引物, 对每一株甲烷菌的目的 rRNA 基因进行扩增, 经纯化后, 采用 TIANgel Midi 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒回收 DNA 并连接到 pGEM-T Easy Vector(美国 Promega)载体内, 随后转化到大肠杆菌中, 扩大培养后, 采用 PL0301 高纯质粒小量快速提取试剂盒(北京博迈德)提取质粒. 然后对每一个质粒 DNA 按照 10 倍浓度梯度进行 10² ~ 10⁹ copies·μL⁻¹ 不同梯度稀释, 用于制作定量 PCR 的标准曲线.

2 结果与分析

2.1 温度分化对 COD 去除率的影响

COD 去除率是反映 APBR 处理粪便废水效果的一个重要指标, COD 去除率越高处理效果越好. 各罐 COD 去除率如图 2 所示. 在前 10 d 温度分化前 COD 去除率维持在 55% 左右, 各罐运行稳定且具有较高的 COD 去除率; 在第 11 d 开罐取样, 由于反应器进入空气, 溶解氧增加, 部分厌氧菌活性受到抑制, 各罐 COD 去除率迅速下降, R1 低至 8%, 但是取样后各罐的 COD 去除率迅速恢复, 表明此时各罐具有较高的运行效率; 在温度分化的过程中, 各罐的 COD 去除率基本符合 R3 > R2 > R1 的规律, 且随着运行时间的增加, 各罐的 COD 去除率也逐渐波动增加, 但是到温度分化结束后, 只有 R3 达到了温度分化前 10 d 的 COD 去除率, 约为 60%, 而 R1、R2 基本稳定在 45% 和 25% 左右, 可能是由于 11 d 开罐取样对 COD 去除率造成的影响; R3 COD 去除率在 42℃ 和 47℃ 交替时, 32 ~ 38 d 这个阶段出现一个低谷, 在第 36 d 时仅为 28%, 可能是在此温度下嗜

温微生物与嗜热微生物处于激烈竞争阶段,微生物群落比较混乱不稳定导致 COD 去除率下降。

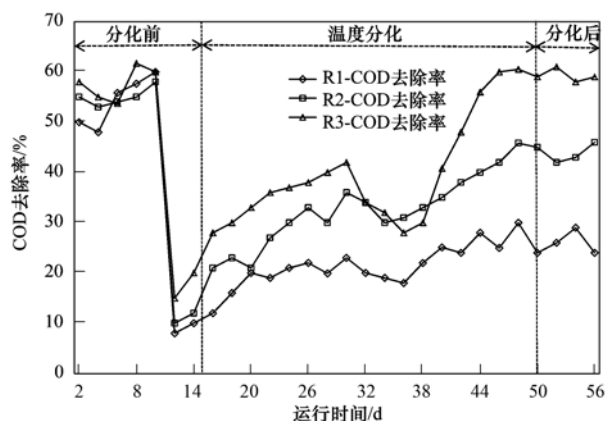


图2 各发酵罐 COD 去除率变化

Fig. 2 Variations of COD removal in different fermentation tanks

2.2 温度分化对产气效果的影响

产气量和甲烷含量是评估反应器稳定高效运行的重要指标. 各罐日产气量如图 3(a) 所示, 温度分化前各罐日产气量在 $2 \sim 4 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ 之间浮动, 说明各罐能稳定运行. 在温度分化初期, 各罐日产气量均上升, 这与前人的研究结果相符, 温度的增加引起产气量的临时增加^[12,13]. 但 R1 温度降到 17°C , 产气量在第 18 d 增加至 $4.6 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$, 这与前人的研究结果相反^[5,12,14], 这可能是由于在室温条件下存在很多食氢产甲烷菌, 温度的降低刺激了食氢产甲烷菌的活性, 从而导致产气量增加. 在温度分化过程中, R3 在 42°C 和 47°C 时, 32 ~ 36 d 和 38 ~ 42 d 这两个时间段中, 日产气量出现两个低谷, 在 35 d 和 40 d 时仅为 $3.5 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $4.4 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$, 与此时 R3 COD 去除率降低相符, 许多研究表明当温度升到略超过 45°C , 反应器稳定能明显降低, 产气量下降^[15,16], 这可能是由于 45°C 是嗜温微生物和嗜热微生物生存的边缘^[13]. 温度分化结束后, R1、R2、R3 日产气量分别稳定在 2.3 、 4.0 、 $8.5 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ 左右, 可见温度分化后 R3 明显增加, R2 略有增加, R1 略有减少, 说明温度升高有利于产气量的增加, 升高温度促进微生物生长和基质利用率^[17], 伴随着更快的生化反应^[18], 从而使产气量增加. 但是从图 3(b) 可以看出, 温度分化对甲烷含量基本没有影响, 维持在 65% 左右, 但是 CO_2 含量略有增加, 各项结果表明, 各罐在各温度下都具有较高的产甲烷效率.

2.3 温度分化对 VFA 的影响

温度分化前各罐的甲酸、乙酸和丙酸含量相对比较低(甲酸 = $0.005 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 乙酸 = $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 丙

酸 = $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 表明各罐运行比较稳定, 没有酸积累现象(图 4). 在 16 d 开始温度分化时, 各罐甲酸、乙酸和丙酸含量急剧上升, 这与 Dohányos 等^[19] 研究结果相符, 温度的突然改变引起挥发性脂肪酸的短暂积累, 尤其是乙酸和丙酸, 这可能是由于增加的部分氢压力促使专性食质子细菌的选择抑制作用的结果^[20], 导致产甲烷菌的活性受到抑制, 不能及时地分解利用各类酸, 从而影响了甲烷的产量. 随着阶梯式温度分化, 甲酸、乙酸和丙酸的含量略有下降, 此后各酸的浓度小幅度波动, 表明微生物菌群处于扰动的环境中, 不能及时地分解利用所有的有机酸, 从而造成少量有机酸的积累. 温度分化后 R1、R2、R3 甲酸含量稳定在 0.42 、 0.18 、 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右, R1 甲酸含量较高, 约为 R2 和 R3 甲酸含量的 2 倍; R1、R2、R3 乙酸含量稳定在 0.62 、 0.47 、 $0.43 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右, R1 乙酸含量略高; R1、R2、R3 丙酸含量稳定在 0.21 、 0.44 、 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右, R2 丙酸含量较高, 约为 R1 和 R3 丙酸含量的 2 倍, 丙酸不能直接被产甲烷菌利用, 只能先通过产氢产乙酸菌将其分解成乙酸^[21], 丙酸是产甲烷的主要限制因素^[22], 中温罐丙酸含量的增加说明反应器表现出一定程度的不稳定性, 但总体都未出现酸化现象.

2.4 16S rRNA 古菌基因克隆文库与系统发育树分析

2.4.1 温度分化前古菌群落结构分析

原始点建立了 100 个古菌克隆子, 分析图 5 可以发现在原始点处的污泥中, 共有 10 个 OTUs (operational taxonomic unit, 操作分类单元) 隶属于广古生菌门 (Euryarchaeota) 的产甲烷菌: 登录号 AB181816 的 *Methanobrevibacter* sp. 97 和登录号 GU936489 的 *Methanobacterium* sp. 为嗜氢产甲烷杆菌 MBT; 登录号 NR_102903.1 的 *Methanosaeta concilii* GP6 为产甲烷鬃毛菌 Mst; 登录号 NR_102454 的 *Methanomethylovorans* 为甲烷八叠球菌 Msc; 登录号 KC876048.1 为甲烷微菌 MMB. 也有嗜热菌: 登录号 AY099181.1 为高温球菌属 (*Thermococcus mexicalis*), 它是 Antoine 在 1996 年发现的一种从深海热液沉积物分离出来的新嗜热古菌; 登录号 NR_074260.1 的 *Methanothermobacter thermautotrophicus* str. 也为热杆菌属. 同时, 原始底泥中还有 2 个 OTUs 隶属于泉古生菌门 (Crenarchaeota), 泉古生菌门大多数为极端嗜热和嗜酸菌: 登录号 HQ675790.1 的 *Crenarchaeote* 和登录号 GU187356.1 的 *Thermofilum* sp. 都是属于泉古生菌门的嗜高温菌, 它们都是化能无机自养型的古

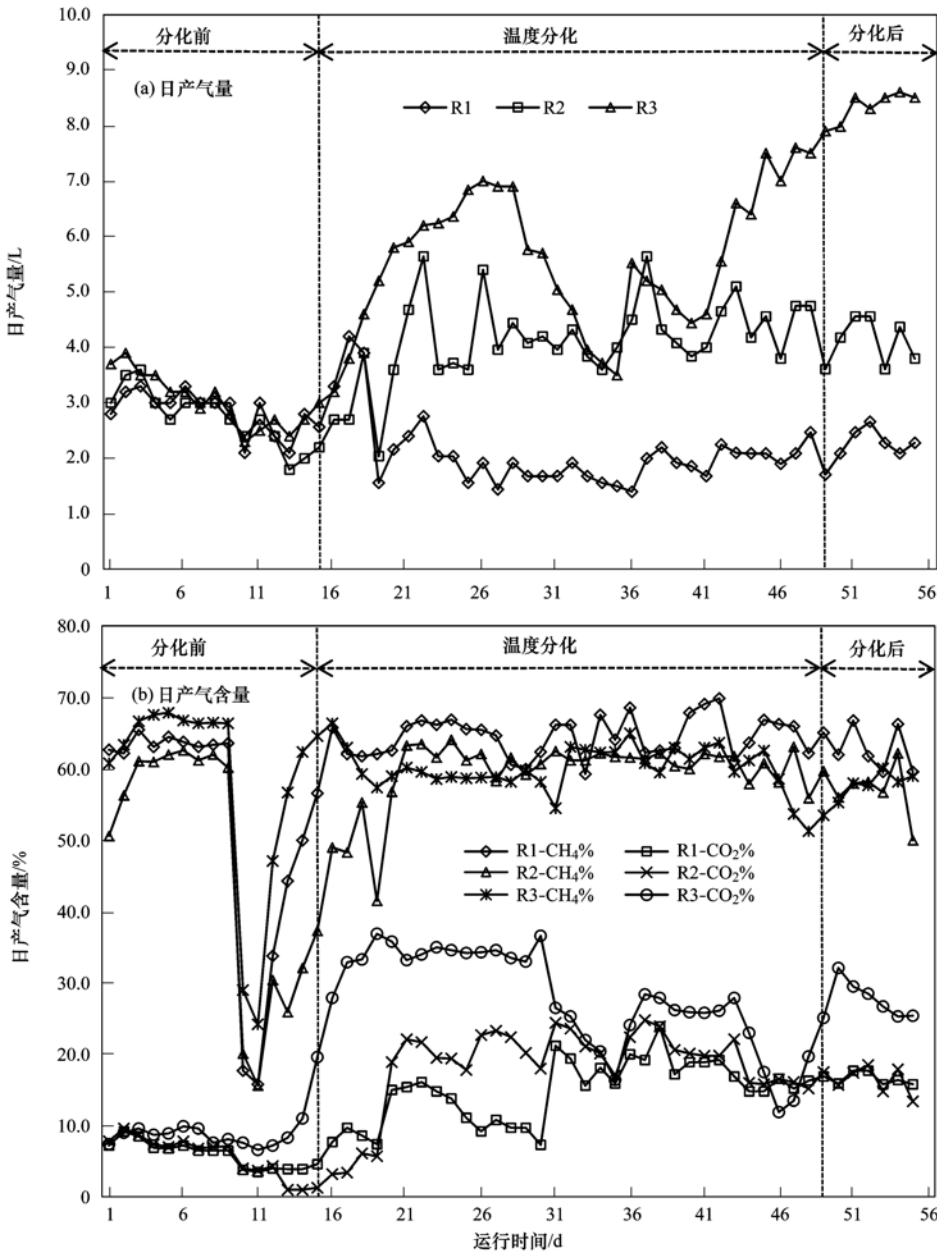


图 3 各发酵罐日产气指标

Fig. 3 Variations of daily biogas production in different fermentation tanks

菌,能在厌氧的条件下促进碳循环.

结果表明在温度变化开始之前的原始的底泥中,存在着大量的产甲烷古菌,并且有嗜高温菌的存在,这为后续的温度升高实验提供了可能性理论.

2.4.2 温度分化后各罐古菌群落结构分析

(1)低温罐 R1 温度分化后古菌群落结构分析(图 6). 经过低温驯化后,基于 16S rRNA 的克隆文库分析表明,100 个克隆子分属于 10 个 OTUs,比原始点污泥减少了 3 个 OTUs. 登录号 AB679168.1 的 *Methanosaeta* 和 NR_102903.1 的 *Methanosaeta* 为产甲烷鬃毛菌 Mst. 登录号 NR_102454.1 的

Methanomethylovorans 为甲烷八叠球菌 Msc; 登录号 KC876048.1 和 NR_028253.1 为甲烷微菌 MMB; NR_074235.1 的 *Methanobrevibacter* 和 AB368917.1 的 *Methanobacterium* 为嗜氢产甲烷杆菌 MBT.

表明在低温条件下,典型的产甲烷古菌也继续存活,其中包括嗜乙酸产甲烷菌 Mst 和 Msc,以及嗜氢产甲烷菌 MMB.

(2)中温罐 R2 温度分化后古菌群落结构分析(图 7). 经过低温驯化后,基于 16S rRNA 的克隆文库分析表明,100 个克隆子分属于 5 个 OTUs,与原始点污泥减少了 8 个 OTUs. 登录号 AJ244284.1 的

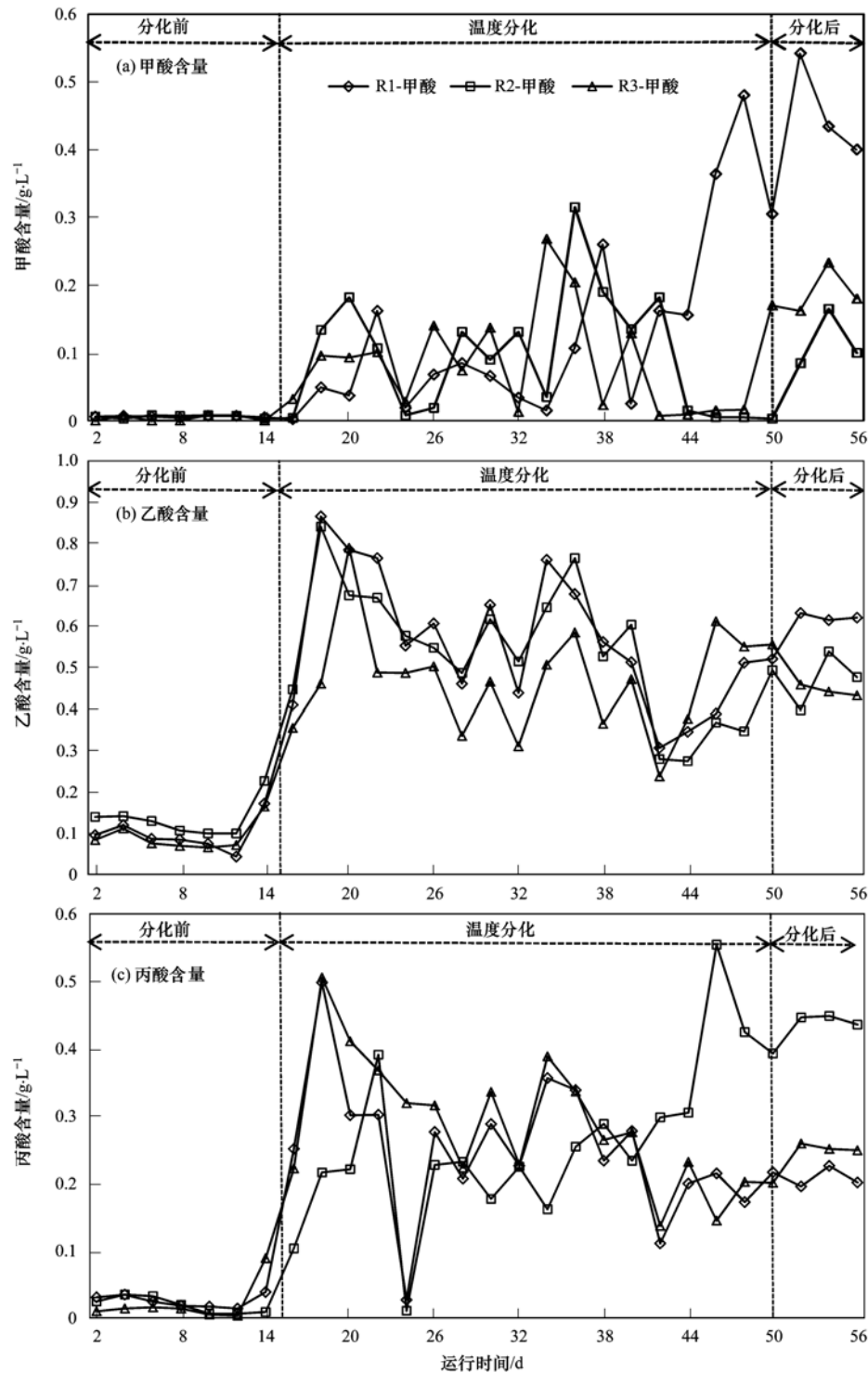


图 4 各发酵罐挥发性脂肪酸含量变化

Fig. 4 Variations of VFAs in different fermentation tanks

Anaerobic methanogenic archaeon (厌氧产甲烷古菌) 能在 15 ~ 30℃ 的时候降解纤维素, 这可能是因为进料废水为牛粪, 纤维素含量较高. 登录号 NR_074235.1 的 *Methanobrevibacter* 为嗜氢产甲烷杆菌 MBT; FR749949 的 *Methanocorpusculum sinense* 为甲烷微菌 MMB; NR_102903.1 的 *Methanosaeta* 为产甲

烷鬃毛菌 Mst.

中温条件下的菌群种类不够丰富, 对比中温条件下丙酸含量较高, 进一步说明了微生物群落单一不够稳定, 可能是一小部分菌群迅速生长成为优势菌群, 导致其他非优势菌群难以存活.

(3) 高温罐 R3 温度分化后古菌群落结构分析

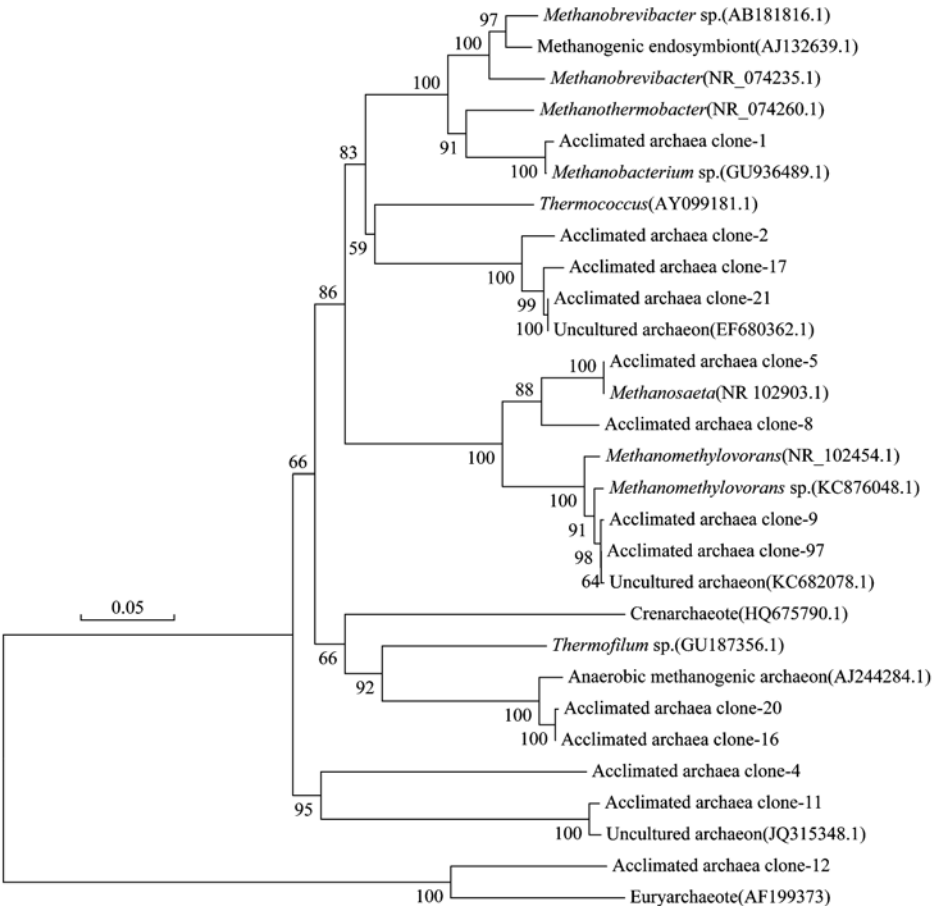


图 5 原始点产甲烷古菌 16S rRNA 系统发育树

Fig. 5 16S rRNA phylogenetic tree based on the sequence of methanogenic archaea in the sample of original sludge

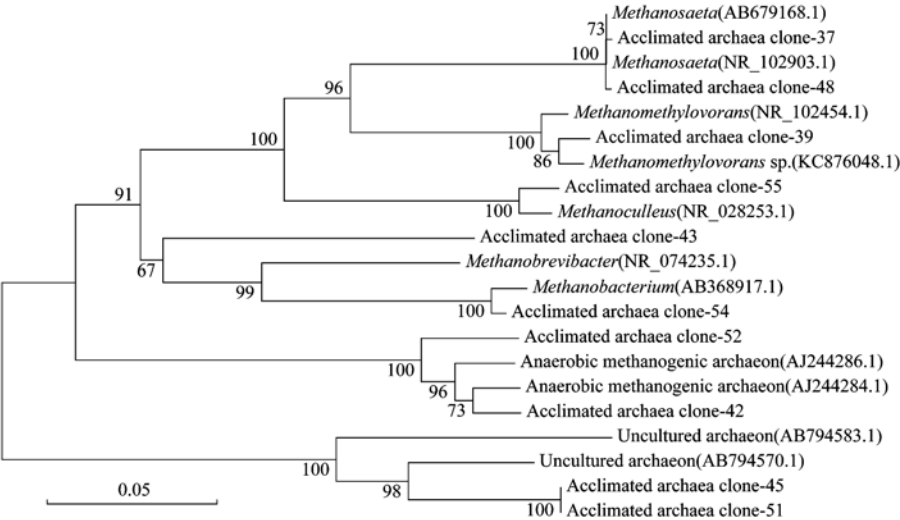


图 6 罐 R1 产甲烷古菌 16S rRNA 系统发育树

Fig. 6 16S rRNA phylogenetic tree based on the sequence of methanogenic archaea in the sludge sample of R1

(图 8). 经过高温驯化后,基于 16S rRNA 的克隆文库分析表明,100 个克隆子分属于 9 个 OTUs,与原始点污泥减少了 4 个 OTUs. 登录号 NR_102903 的 *Methanosaeta* 为产甲烷鬃毛菌 Mst; NR_074110 的

Methanosarcina 为甲烷八叠球菌 Msc; NR_028163 的 *Methanolinea tarda* 为甲烷微菌 MMB; KC139248 的 *Methanococcus voltae* PS 为沃式甲烷球菌 (*Methanococcus*),刘莉等^[23]对沃式甲烷球菌的研究

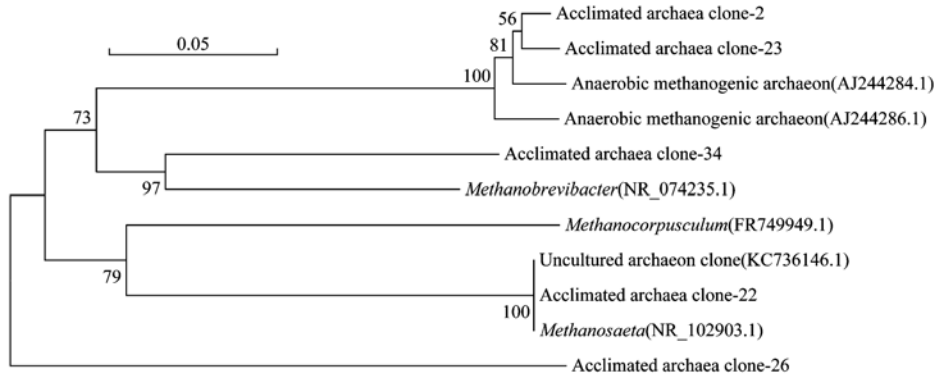


图 7 罐 R2 产甲烷古菌 16S rRNA 系统发育树

Fig. 7 16S rRNA phylogenetic tree based on the sequence of methanogenic archaea in the sludge sample of R2

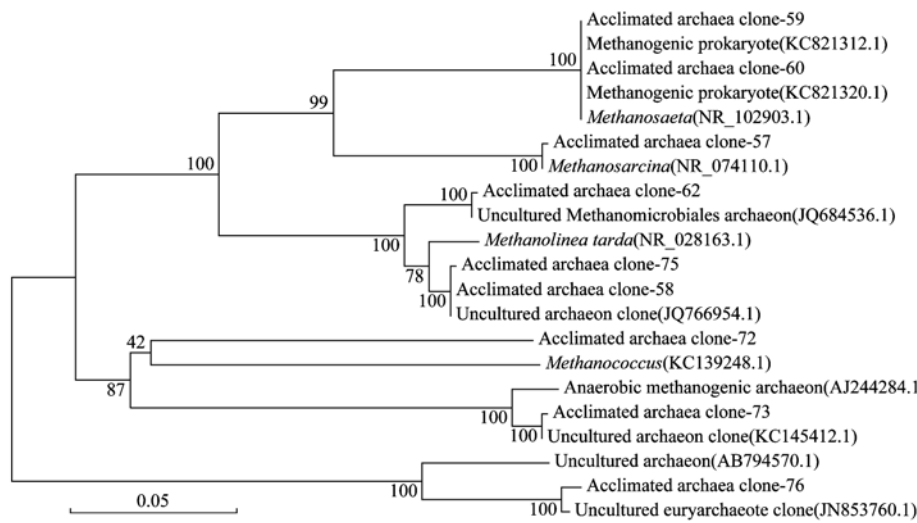


图 8 罐 R3 产甲烷古菌 16S rRNA 系统发育树

Fig. 8 16S rRNA phylogenetic tree based on the sequence of methanogenic archaea in the sludge sample of R3

表明其能利用 CO 产甲烷. 结果表明,在高温环境中,也存在着嗜乙酸产甲烷菌 Mst 和 Msc,以及嗜氢产甲烷菌 MMB.

2.5 典型产甲烷古菌定量 PCR 分析

图 9 中,产甲烷微菌 MMB 为嗜氢产甲烷菌,而甲烷八叠球菌 Msc 和甲烷鬃毛菌 Mst 为嗜乙酸产甲烷菌,这 3 种主要产甲烷菌基因总数在温度分化后都有下降的趋势,并且 $R1 > R2 > R3$. 温度分化前, Mst 为主要优势产甲烷菌,其 16S rRNA 浓度(以 VS 计,下同)为 $8.79 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$,约占 3 种产甲烷菌基因总数的 98.7%; 其次是 MMB,为 $9.14 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$; Msc 最低,仅为 $2.30 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$,不到基因总数的 0.3%. 温度分化后,各罐 Mst 虽然略有减少,但是仍然占主导地位, $R1 = 8.24 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ (占基因总数的 99.6%, 是分化前的 93.7%), $R2 = 5.07 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ (88.5%, 57.7%), $R3 = 2.56 \times 10^9 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ (95.5%,

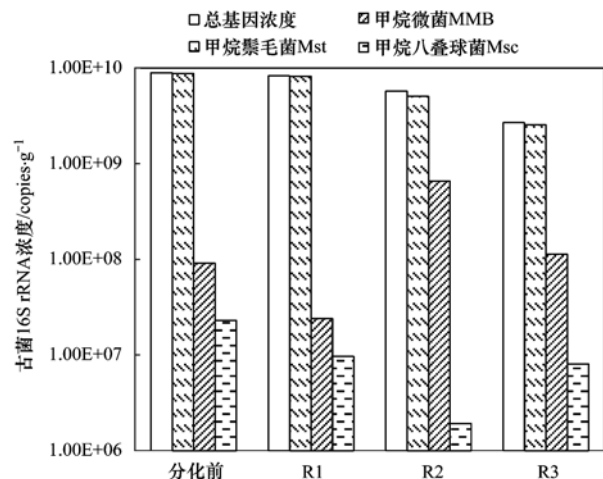


图 9 产甲烷古菌的定量 PCR 分析

Fig. 9 Quantitative changes in the 16S rRNA gene concentration of methanogens under different treatments

29.1%), Nissila 等^[24]的研究表明,若在厌氧发酵反应器中存在大量的 Mst,将有助于促进颗粒污泥的

形成,而颗粒污泥的形成能有效提高厌氧体系的发酵效率,因此,Mst 往往是活性较好的颗粒污泥中的主导产甲烷菌^[25~27]。而温度分化后,MMB 则表现为在 R1 明显减少,约占分化前的 26.4%;R2 则显著增加,为 $6.59 \times 10^8 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$ 是分化前的 7 倍之多,占基因总数的 11.5%;R3 则是略微的增加,其影响不大;可能是温度分化过程中,中温环境给 MMB 创造了更有利的生长环境。甲烷八叠球菌 Msc 为嗜乙酸产甲烷菌,其数量表明在整个过程中,Msc 为非优势种群,温度分化后各罐 Msc 数量都较温度分化前大量减少,尤其是 R2 下降为 $1.92 \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$,仅为分化前的 8.3%,R1 为分化前的 42.1%,R3 为分化前的 35.1%。

3 讨论

温度是对甲烷发酵的处理效率具有很大影响的因素之一,甲烷发酵相关的厌氧菌群特别是产甲烷菌对温度的变化很敏感。16S rRNA 克隆文库分析表明,温度分化导致古菌群落多样性减少,R1 减少了 3 个 OUTs,R2 减少了 5 个 OUTs,R3 减少了 4 个 OUTs,但是主要产甲烷菌还存在,比如 Mst、MMB、Msc 等。Mst 能够形成稳定的丝状结构,有利于污泥颗粒化过程及高负荷下系统的稳定,在多种成分复杂的废水厌氧消化过程中被检测到。Lerma 等^[28]利用 SSCP 研究了处理有机废弃物的工业化反应器,发现古菌群中 Mst 占主导地位,Siggins 等^[29]利用 16S rRNA 克隆文库研究了低温(7℃)处理三氯乙烯废水微生物群落,结果显示嗜乙酸型 Mst 在所有反应器中均占优势,这与本实验中 Mst 占优势的结论相一致。Mst 只能利用乙酸作为碳源,对乙酸有强亲和性^[22],因此,乙酸对 Mst 的生长与代谢起着至关重要的作用,大量乙酸的存在有助于促进 Mst 的生长。接种污泥 Mst 丰富的反应器运行更加稳定,而其它产甲烷菌占优势的反应器在启动阶段更容易产生挥发性脂肪酸大量积累以致启动过程受到抑制^[30]。温度分化结束后,各罐乙酸含量 $R1 > R2 > R3$,对比定量 PCR 图,Mst 浓度大小也为 $R1 > R2 > R3$,这表明乙酸对 Mst 生长代谢的正相关性和重要性。

MMB 只能利用 CO_2 作为碳源, H_2 以及甲酸盐等作为电子供体最终生成甲烷,牛粪原料进料之前的酸化可能使得整个体系内的氢分压的增大,再加上 MMB 具有较高的抗逆性(抗酸性)^[31],因此促进了 MMB 的大量繁殖。温度分化后 R2 MMB 数量明显增加,而 R2 丙酸含量也高于 R1 和 R3, Kim 等^[25]

认为,厌氧发酵系统里面的甲烷鬃毛菌 MMB 与丙酸的平均浓度存在着正相关的关系。

甲烷八叠球菌 Msc 为嗜乙酸产甲烷菌,其数量表明在整个过程中,Msc 为非优势种群。Jetten 等^[32]曾经报道,通常情况下,Msc 若需正常代谢,环境中的乙酸阈值最低不低于 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,远远高于 Mst 的最低阈值 $0.3 \sim 1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。尽管各罐在温度分化过程中的乙酸浓度同时满足二者的利用需求,但仍以 Mst 为主,这与张兰英等^[33]中得出的“乙酸浓度较低时,Mst 占优势;乙酸浓度较高时,Msc 占优势”结论有所差别。在温度分化过程中,各罐 Msc 数量都大量减少,可能是牛粪成分比较复杂,存在抑制 Msc 生长的因素,也可能是因为 Msc 为球形菌,容易随废液出水流出反应器,导致后续各罐数量减少^[34]。

4 结论

(1)温度分化对 APBR 反应器处理效果具有显著的影响。在进水 COD 为 $15\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,HRT 为 5 d 的条件下,发酵温度从室温阶梯式分化到 15、37 和 55℃,COD 的去除率和日产气量随温度增加而增加,分化后日产气量分别为 2.3、4.0 和 $8.5 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$,但是甲烷含量维持在 60% 左右,基本保持不变。

(2)温度分化影响产甲烷古菌群落的丰度和多样性。温度分化过程古菌多样性减少,R2 减少比较严重,产甲烷菌 Mst、MMB、Msc 总基因浓度都有所减少,Mst 仍为主导产甲烷菌,只有 MMB 在 R2 和 R3 中有不同程度的增加,分别为分化前的 7.2 倍、1.2 倍。

参考文献:

- [1] 林长松,袁旭峰,王小芬,等. 碳纤维载体固定床厌氧发酵启动运行效果实验[J]. 环境工程学报, 2009, 3(9): 1557-1562.
- [2] 冯宗强,袁旭峰,林长松,等. 固定床厌氧反应器处理高浓度禽畜粪尿[J]. 环境工程学报, 2010, 4(2): 278-282.
- [3] Nikolaeva S, Sánchez E, Borja R. Dairy wastewater treatment by anaerobic fixed bed reactors from laboratory to pilot-scale plant: a case study in costa rica operating at ambient temperature[J]. International Journal of Environmental Research, 2013, 7(3): 859-866.
- [4] Meesap K, Boonapatcharoen N, Techkarnjanaruk S, et al. Microbial communities and their performances in anaerobic hybrid sludge bed-fixed film reactor for treatment of palm oil mill effluent under various organic pollutant concentrations [J]. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2012, 2012: Article ID 902707, doi: 10.1155/2012/902707.
- [5] Zhang D D, Zhu W B, Tang C, et al. Bioreactor performance and methanogenic population dynamics in a low-temperature (5-18℃) anaerobic fixed-bed reactor[J]. Bioresource Technology,

- 2012, **104**: 136-143.
- [6] 陈智远, 蔡昌达, 石东伟. 不同温度对畜禽粪便厌氧发酵的影响[J]. 贵州农业科学, 2009, **37**(12): 148-151.
- [7] Iranpour R, Alatrste-Mondragon F, Cox H H J, *et al.* Effects of transient temperature increases on odor production from thermophilic anaerobic digestion [J]. Water Science and Technology, 2005, **52**(1-2): 229-235.
- [8] Rademacher A, Nolte C, Schönberg M, *et al.* Temperature increases from 55 to 75°C in a two-phase biogas reactor result in fundamental alterations within the bacterial and archaeal community structure [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, **96**(2): 565-576.
- [9] 贺延龄. 废水的厌氧生物处理[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 535-537.
- [10] Lueders T, Friedrich M W. Effects of amendment with ferrihydrite and gypsum on the structure and activity of methanogenic populations in rice field soil [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(5): 2484-2494.
- [11] Wang X F, Haruta S, Wang P, *et al.* Diversity of a stable enrichment culture which is useful for silage inoculant and its succession in alfalfa silage [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2006, **57**(1): 106-115.
- [12] Ahn J H, Forster C F. The effect of temperature variations on the performance of mesophilic and thermophilic anaerobic filters treating a simulated papermill wastewater [J]. Process Biochemistry, 2002, **37**(6): 589-594.
- [13] Gao W J, Leung K T, Qin W S, *et al.* Effects of temperature and temperature shock on the performance and microbial community structure of a submerged anaerobic membrane bioreactor [J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(19): 8733-8740.
- [14] Massé D I, Masse L, Croteau F. The effect of temperature fluctuations on psychrophilic anaerobic sequencing batch reactors treating swine manure [J]. Bioresource Technology, 2003, **89**(1): 57-62.
- [15] Bouskova A, Dohányos M, Schmidt J E, *et al.* Strategies for changing temperature from mesophilic to thermophilic conditions in anaerobic CSTR reactors treating sewage sludge [J]. Water Research, 2005, **39**(8): 1481-1488.
- [16] Choerit W, Wisarnwan P. Effect of temperature on the anaerobic digestion of palm oil mill effluent [J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2007, **10**(3): 376-385.
- [17] Chen Y R, Hashimoto A G. Substrate utilization kinetic model for biological treatment process [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1980, **22**(10): 2081-2095.
- [18] Ratkowsky D A, Olley J, McMeekin T A, *et al.* Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures [J]. Journal of Bacteriology, 1982, **149**(1): 1-5.
- [19] Dohányos M, Kosová B, Zabranská J, *et al.* Production and utilization of volatile fatty acids in various types of anaerobic reactors [J]. Water Science & Technology, 1985, **17**(1): 191-205.
- [20] Peck M W, Skilton J M, Hawkes F R, *et al.* Effects of temperature shock treatments on the stability of anaerobic digesters operated on separated cattle slurry [J]. Water Research, 1986, **20**(4): 453-462.
- [21] Ahring B K, Westermann P. Kinetics of butyrate, acetate and hydrogen metabolism in a thermophilic, anaerobic, butyrate-degrading triculture [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1987, **53**(2): 434-439.
- [22] Wijekoon K C, Visvanathan C, Abeynayaka A. Effect of organic loading rate on VFA production, organic matter removal and microbial activity of a two-stage thermophilic anaerobic membrane bioreactor [J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(9): 5553-5360.
- [23] 刘莉, 刘晓凤, 王娟, 等. 利用沃氏甲烷球菌将 CO 转化成 CH₄ 的研究初报 [J]. 中国沼气, 2006, **24**(1): 15-17.
- [24] Nissila M E, Li Y, Wu S, *et al.* Hydrogenic and methanogenic fermentation of birch and conifer pulps [J]. Applied Energy, 2012, **100**: 58-65.
- [25] Kim W, Lee S Y, Seung G S, *et al.* Methanogenic community shift in anaerobic batch digesters treating swine wastewater [J]. Water Research, 2010, **44**(17): 4900-4907.
- [26] Roest K, Heilig H G H J, Smidt H, *et al.* Community analysis of a full-scale anaerobic bioreactor treating paper mill wastewater [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2005, **28**(2): 175-185.
- [27] Díaz E E, Stams A J M, Amils R, *et al.* Phenotypic properties and microbial diversity of methanogenic granules from a full-scale upflow anaerobic sludge bed reactor treating brewery wastewater [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**(7): 4942-4949.
- [28] Lerma S, Kleyböckera A, Miethling-Graff R, *et al.* Archaeal community composition affects the function of anaerobic co-digesters in response to organic overload [J]. Waste Management, 2012, **32**(3): 389-399.
- [29] Siggins A, Enright A M, O'Flaherty V. Low-temperature (7°C) anaerobic treatment of a trichloroethylene-contaminated wastewater: Microbial community development [J]. Water Research, 2011, **45**(13): 4035-4046.
- [30] McMahon K D, Stroot P G, Mackie P I, *et al.* Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions- II: microbial population dynamics [J]. Water Research, 2001, **35**(7): 1817-1827.
- [31] Zhang D D, Li J, Guo P, *et al.* Dynamic transition of microbial communities in response to acidification in fixed-bed anaerobic baffled reactors (FABR) of two different flow directions [J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(7): 4703-4711.
- [32] Jetten M S M, Stams A J M, Zehnder A J B. Methanogenesis from acetate: a comparison of the acetate metabolism in *Methanotrix soehngenii* and *Methanosarcina* spp. [J]. FEMS Microbiology Letters, 1992, **88**(3-4): 181-197.
- [33] 张兰英, 刘娜, 孙立波. 现代环境微生物技术 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2005.
- [34] 林长松, 袁旭峰, 王小芬, 等. 碳纤维载体固定床厌氧发酵启动运行效果实验 [J]. 环境工程学报, 2009, **3**(9): 1557-1562.

CONTENTS

Composition and Source Apportionments of Saccharides in Atmospheric Particulate Matter in Beijing	LIANG Lin-lin, Guenter Engling, DUAN Feng-kui, <i>et al.</i> (3935)
Comparing Cell Toxicity of <i>Schizosaccharomyces pombe</i> Exposure to Airborne PM _{2.5} from Beijing and Inert Particle SiO ₂	LIU Meng-jiao, HUANG Yi, WEN Hang, <i>et al.</i> (3943)
Analysis on Regional Characteristics of Air Quality Index and Weather Situation in Beijing and Its Surrounding Cities During the APEC ...	GAO Qing-xian, LIU Jun-rong, WANG Ning, <i>et al.</i> (3952)
Analysis About Spatial and Temporal Distribution of SO ₂ and An Ambient SO ₂ Pollution Process in Beijing During 2000-2014	CHENG Nian-liang, ZHANG Da-wei, LI Yun-ting, <i>et al.</i> (3961)
Characteristics and Formation Mechanism of a Multi-Day Haze in the Winter of Shijiazhuang Using a Single Particle Aerosol Mass Spectrometer(SPAMS)	 ZHOU Jing-bo, REN Yi-bin, HONG Gang, <i>et al.</i> (3972)
Modeling Study of A Typical Summer Ozone Pollution Event over Yangtze River Delta	ZHANG Liang, ZHU Bin, GAO Jin-hui, <i>et al.</i> (3981)
Distribution of Regional Pollution and the Characteristics of Vertical Wind Field in the Pearl River Delta	LIU Jian, WU Dui, FAN Shao-jia (3989)
Distribution Characteristics of Urea and Constitution of Dissolved Nitrogen in the Bohai Sea and the Huanghai Sea in Spring	LI Zhi-lin, SHI Xiao-yong, ZHANG Chuang-song (3999)
Relationship Between Agricultural Land and Water Quality of Inflow River in Erhai Lake Basin	PANG Yan, XIANG Song, CHU Zhao-sheng, <i>et al.</i> (4005)
Input Characteristics and Pollution Assessment of Nutrients Pollution in the Primary Pollution Source of the Daliao River	MA Ying-qun, ZHANG Lei, ZHAO Yan-min, <i>et al.</i> (4013)
Temporal and Spatial Distribution of Nutrients in Daning River Sediments and Their Correlations with Chlorophyll in the Three Gorges Reservoir Area	 ZHANG Yong-sheng, LI Hai-ying, REN Jia-ying, <i>et al.</i> (4021)
Summer Greenhouse Gases Exchange Flux across Water-air Interface in Three Water Reservoirs Located in Different Geologic Setting in Guangxi, China	 LI Jian-hong, PU Jun-bing, SUN Ping-an, <i>et al.</i> (4032)
Distribution of Redox Zone at Different Water Layers in the Presence of Periphyton and the Responsible Microorganisms	WANG Feng-wu, LIU Wei, WAN Juan-juan, <i>et al.</i> (4043)
Distribution Characteristics and Source of Fluoride in Groundwater in Lower Plain Area of North China Plain: A Case Study in Nanpi County	 KONG Xiao-le, WANG Shi-qin, ZHAO Huan, <i>et al.</i> (4051)
Distribution Characteristics of Fluoroquinolones Antibiotics in Surface Water and Groundwater from Typical Areas in A City	CUI Ya-feng, HE Jiang-tao, SU Shi-hui, <i>et al.</i> (4060)
Distribution of Aerobic Ammonia-Oxidizing Microorganisms in Sediments from Adjacent Waters of Rushan Bay	HE Hui, ZHEN Yu, MI Tie-zhu, <i>et al.</i> (4068)
Sources, Migration and Conversion of Dissolved Sterols in Qingmuguan Underground River	LIANG Zuo-bing, SHEN Li-cheng, SUN Yu-chuan, <i>et al.</i> (4074)
Water-Sediment Partition of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Karst Underground River	LAN Jia-cheng, SUN Yu-chuan, XIAO Shi-zhen (4081)
Variation Characteristics and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Karst Subterranean River During Rainfall Events	JIANG Ze-li, SUN Yu-chuan, WANG Zun-bo, <i>et al.</i> (4088)
Distribution and Transportation Characteristics of Heavy Metals in Nanshan Laolongdong Subterranean River System and Its Capacity of Self-Purification in Chongqing	 REN Kun, LIANG Zuo-bing, YU Zheng-liang, <i>et al.</i> (4095)
Distribution of Mercury in Plants at Water-Level-Fluctuating Zone in the Three Gorges Reservoir	LIANG Li, WANG Yong-min, LI Xian-yuan, <i>et al.</i> (4103)
Development of Sediment Micro-Interface Under Physical and <i>Chironomus plumosus</i> Combination Disturbance	WANG Ren, LI Da-peng, HUANG Yong, <i>et al.</i> (4112)
Norfloxacin Solution Degradation Under Ultrasound, Potassium Persulfate Collaborative System	WEI Hong, SHI Jing-zhuan, LI Jia-lin, <i>et al.</i> (4121)
Degradation of Acid Orange 7 with Persulfate Activated by Silver Loaded Granular Activated Carbon	WANG Zhong-ming, HUANG Tian-yin, CHEN Jia-bin, <i>et al.</i> (4127)
Kinetics and Reactive Species Analysis of Dimetridazole Degradation by TiO ₂	CHEN Dong-mei, YU Ze-bin, SUN Lei, <i>et al.</i> (4135)
Performance and Mechanism of Ferric Tannate in the Removal of Inorganic Nitrogen from Wastewater	ZHANG Rui-na, LI Lin, LIU Jun-xin (4141)
Performance of an Intermittent Aeration Membrane Bioreactor for Removal of Veterinary Antibiotics from Piggery Wastewater	DING Jia-li, LIU Rui, ZHENG Wei, <i>et al.</i> (4148)
Advanced Treatment of Incineration Leachate with O ₃ -BAC and Double O ₃ -BAC	DU An-jing, FAN Ju-hong, LIU Rui, <i>et al.</i> (4154)
Effects of Hydraulic Retention Time and Dissolved Oxygen on a CANON Reactor with Haydite as Carrier	WANG Hui-fang, FU Kun-ming, ZUO Zao-rong, <i>et al.</i> (4161)
Inhibiting Form of Ammonium to AOB and Inhibiting Rule	CUI Jian-hong, LI Xiang, HUANG Yong, <i>et al.</i> (4168)
Nitrogen Removal Using ANAMMOX and Denitrification for Treatment of Municipal Sewage	ZHANG Shi-ying, WU Peng, SONG Yin-ling, <i>et al.</i> (4174)
Rapid Start-up of Simultaneous Nitrification and Denitrification Coupled Phosphorus Removal Process and Its Performing Characteristics	LENG Lu, XIN Xin, LU Hang, <i>et al.</i> (4180)
Effect of HCO ₃ ⁻ on Nitrogen Removal Efficiency in Partial Nitritation-ANAMMOX Process	LI Xiang, CHENG Zong-heng, HUANG Yong, <i>et al.</i> (4189)
Research on Cultivation and Stability of Nitritation Granular Sludge in Integrated ABR-CSTR Reactor	WU Kai-cheng, WU Peng, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (4195)
Influence of the Application of Activated Persulfate on Municipal Sludge Conditioning	XU Xin, PU Wen-hong, SHI Ya-fei, <i>et al.</i> (4202)
Influence of Temperature on the Anaerobic Packed Bed Reactor Performance and Methanogenic Community	XIE Hai-ying, WANG Xin, LI Mu-yuan, <i>et al.</i> (4208)
Research on the Screening Method of Soil Remediation Technology at Contaminated Sites and Its Application	BAI Li-ping, LUO Yun, LIU Li, <i>et al.</i> (4218)
Comprehensive Risk Assessment of Soil Heavy Metals Based on Monte Carlo Simulation and Case Study	YANG Yang, DAI Dan, CAI Yi-min, <i>et al.</i> (4225)
Heavy Metals Pollution in Topsoil from Dagang Industry Area and Its Ecological Risk Assessment	ZHANG Qian, CHEN Zong-juan, PENG Chang-sheng, <i>et al.</i> (4232)
Effects of Land Use Type on Soil Microbial Biomass Carbon and Nitrogen in Water-Stable Aggregates in Jinyun Mountain	LI Zeng-quan, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju (4241)
Influence of Different Straws Returning with Landfill on Soil Microbial Community Structure Under Dry and Water Farming	LAN Mu-ling, GAO Ming (4252)
Carbon Source Utilization Characteristics of Soil Microbial Community for Apple Orchard with Interplanting Herbage	DU Yi-fei, FANG Kai-kai, WANG Zhi-kang, <i>et al.</i> (4260)
Effects of Different Kinds of Organic Materials on Soil Heavy Metal Phytoremediation Efficiency by <i>Sedum alfredii</i> Hance	YAO Gui-hua, XU Hai-zhou, ZHU Lin-gang, <i>et al.</i> (4268)
<i>In-situ</i> Study on Effects of Combined Amendment on Translocation Control of Pb and Cd in Soil-Vegetable System	ZHU Wei, LIU Li, WU Yan-ming, <i>et al.</i> (4277)
Effects of Rice Cultivar and Typical Soil Improvement Measures on the Uptake of Cd in Rice Grains	WANG Mei-e, PENG Chi, CHEN Wei-ping (4283)
Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of PAHs in Water and Fishes from Daqing Lakes	WANG Xiao-di, ZANG Shu-ying, ZHANG Yu-hong, <i>et al.</i> (4291)
Depth Profiles of Methane Oxidation Kinetics and the Related Methanotrophic Community in a Simulated Landfill Cover	XING Zhi-lin, ZHAO Tian-tao, GAO Yan-hui, <i>et al.</i> (4302)
Enhanced Performance of Rolled Membrane Electrode Assembly by Adding Cation Exchange Resin to Anode in Microbial Fuel Cells	MEI Zhuo, ZHANG Zhe, WANG Xin (4311)
Development of a Monoclonal Antibody-Based Sensor for Environmental Pyrene and Benzo(a)pyrene Detection	LI Xin, QIAO Yan, ZHONG Guo-zhen (4319)

《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 刘 毅 汤鸿霄 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)

2015年11月15日 第36卷 第11期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 36 No. 11 Nov. 15, 2015

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: 120.00 元

国外发行代号: M 205

国 内 外 公 开 发 行