

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



覆盖层甲烷氧化动力学和甲烷氧化菌群落结构

邢志林^{1,2}, 赵天涛^{1,2*}, 高艳辉¹, 何芝¹, 杨旭¹, 彭绪亚²

(1. 重庆理工大学化学化工学院, 重庆 400054; 2. 重庆大学重庆大学城市建设与环境工程学院, 重庆 400045)

摘要: 基于实际填埋场覆盖土建立了可实时在线监测生物气的模拟覆盖层系统, 连续监测了不同垂直梯度生物气浓度变化。甲烷通量不变时, 覆盖层内不同梯度生物气浓度基本保持不变, 系统持续稳定运行, 甲烷通量变化后 2~3 h 生物气可再次持续稳定。考察了覆盖层甲烷氧化特性与甲烷通量的关系, 深度大于 20 cm, 氧气浓度随甲烷通量的增大呈减小趋势, 表层氧气浓度与甲烷通量无相关性, 不同梯度的甲烷氧化速率与甲烷通量呈正相关 (R^2 变化范围 0.851~0.999)。为避免覆盖土脱离系统环境造成的误差, 以动态连续监测结果为基础, 利用双基质 Michaelis-Menten 方程拟合了覆盖层甲烷氧化动力学 (R^2 范围为 0.902~0.955), 得到覆盖土半饱和和常数 K_m 为 0.157~0.729, K_m 随深度的增加而增大。利用高通量测序技术分析了原始覆盖土和经模拟覆盖层运行后的甲烷氧化菌群落结构, 运行后甲烷氧化菌 OUT 数量显著增多, 优势菌群为 I 型菌的 *Methylobacter* 和 *Methylophilaceae* 及 II 型菌 *Methylocystis*。

关键词: 填埋场覆盖层; 连续监测; 动力学; 甲烷氧化菌; 群落结构

中图分类号: X172; X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2015)11-4302-09 DOI: 10.13227/j.hjks.2015.11.047

Depth Profiles of Methane Oxidation Kinetics and the Related Methanotrophic Community in a Simulated Landfill Cover

XING Zhi-lin^{1,2}, ZHAO Tian-tao^{1,2*}, GAO Yan-hui¹, HE Zhi¹, YANG Xu¹, PENG Xu-ya²

(1. School of Chemical Engineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China; 2. College of Urban Construction and Environmental Engineering, Chongqing University, Chongqing 400045, China)

Abstract: Simulated landfill cover with real time online monitoring system was developed using cover soils. Then the system started and the concentrations of bio-gas in various depths were continuously monitored, and it was found that the system ran continually and stably after 2-3 h when methane flux changed. After that, the relationship between regularity of methane oxidation and methane flux in landfill cover was analyzed. The results indicated that concentration of oxygen decreased with increasing methane flux when the depth was deeper than 20 cm, and no obvious correlation between oxygen concentration in landfill cover surface and methane flux, however, methane oxidation rate showed positive correlation with methane flux in various depths (range of R^2 was 0.851-0.999). Kinetics of CH_4 oxidation in landfill cover was fitted by CH_4 - O_2 dual-substrate model (range of R^2 was 0.902-0.955), the half-saturation constant K_m increasing with depth was 0.157-0.729 in dynamic condition. Finally, methanotrophs community structure in original cover soil sample and that in simulated landfill cover were investigated by high-throughout sequencing technology, and the statistics indicated that the abundance and species of methanotrophs in simulated landfill cover significantly increased compared with those in original cover soil sample, and type I methanotrophs including *Methylobacter* and *Methylophilaceae* and type II methanotrophs *Methylocystis* were dominant species.

Key words: landfill cover; continuous monitoring; kinetics; methanotrophs; community structure

生活垃圾填埋场稳定化过程产生的填埋气包含有 55%~60% 的甲烷, 40%~45% 的二氧化碳及微量的非甲烷类有机物 (NMOCs)^[1,2]。作为重要的温室气体, 甲烷对环境变化产生了重要影响, 长期驯化过程覆盖层土壤中衍生的甲烷氧化菌等功能微生物能够有效缓解甲烷等温室气体的排放^[3-5], 因此填埋场覆盖层在人为源甲烷减排领域起着重要作用。受多种因素影响, 填埋气波动范围很大, 甲烷的扩散通量变化范围为 0~1 800 $g \cdot (m^2 \cdot d)^{-1}$ ^[6,7]。准确监测生物气变化过程不同梯度覆盖土的生物特性是有效认识甲烷氧化规律的重要前提, 对强化覆盖土的温室气体减排有重要意义。

近年来, 关于覆盖层甲烷氧化规律及其动力学已做了大量研究。Chanton 等^[8]分析了覆盖层中甲烷氧化能力与甲烷扩散通量间的关系, 同一点监测结果误差达 30% 以上, 尽管得到甲烷氧化速率和甲烷氧化率与甲烷扩散通量有正相关和反相关关系, 但相关性较差 ($0.51 < R < 0.75$)。另外, 由于生物气浓度的不确定性, 使得拟合结果差异很大, 覆盖土

收稿日期: 2015-04-28; 修订日期: 2015-06-25

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51378522); 重庆市基础与前沿研究项目 (cstc2014jcyjA20007)

作者简介: 邢志林 (1988~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境工程, E-mail: 229200985@qq.com

* 通讯联系人, E-mail: zhaott@cqu.edu.cn

的半饱和常数 K_m 变化达 200 倍以上^[9], De Visscher 等^[10] 研究发现 K_m 随覆盖层深度增加而增大, 另有研究者发现 K_m 受多种因素影响, 与深度无显著相关性^[11]. 此外, 还有通过建立生物气迁移转化模型的方法预测生物气浓度变化和甲烷氧化能力的研究^[12], 这些研究多采用理想化条件, 模型参数复杂, 多种原因导致结果与实际情况并不吻合. 目前研究中还无法实现原位生物气的连续检测及实际场地的甲烷氧化动力学, 因此由于生物气通量变化范围大导致的结果差异性始终未得到解决.

覆盖层中的微生物活动是实现甲烷氧化的根本原因, 准确分析微生物群落结构, 尤其甲烷氧化菌的群落结构随覆盖层梯度的变化, 能够深入了解覆盖层生物特性. Arora 等^[13] 对同一填埋场的研究得到不同点的甲烷氧化菌数量和甲烷氧化活性变化很大, 分别相差 1 000 倍和 30 倍. Gebert 等^[14] 和 Kong 等^[15] 都调查比较了不同填埋场覆盖土的甲烷氧化菌群落结构, Gebert 等^[14] 认为甲烷氧化菌组成在不同深度和不同覆盖土中无显著差异, 而 Kong 等^[15] 发现甲烷氧化菌群落结构随梯度变化而变化. Lee 等^[16] 通过建立模拟覆盖层分析了不同梯度处甲烷氧化活性和微生物群落结构差异, 发现不同梯度的甲烷氧化菌数量无显著差异. 由于检测手段的局限导致覆盖层甲烷氧化群落分析有较大差异, 深入了解微生物群落结构关系对覆盖层的深入认识有重要意义.

针对无法实现覆盖层原位连续分析生物气浓度而导致的误差问题, 本研究基于实际填埋场覆盖土, 建立可实时在线监测的模拟覆盖层系统; 连续改变初始生物气浓度, 监测不同梯度生物气的连续变化; 以双基质甲烷氧化动力学模型拟合动态变化过程中不同梯度覆盖土动力学参数, 利用高通量测序技术深入分析不同梯度覆盖土微生物群落结构差异性. 该研究通过生物气连续监测分析生物气连续变化过程的甲烷氧化菌活性、多样性和丰度, 可进一步减少误差, 以期为填埋场温室气体减排和甲烷氧化菌群落结构变化研究提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 模拟覆盖层装置的建立

生活垃圾填埋场覆盖土取自重庆市长生桥生活垃圾填埋场, 填埋时间为 1.5 ~ 2 a, 取土深度为 0.1 ~ 0.3 m. 土样经风干破碎, 剔除石块, 过 2 mm 筛混合后有机质碳含量为 1.62% (质量分数), 调节含水

量为 17.61%, 装填高度为 80 cm.

覆盖层中气体扩散和甲烷氧化过程如图 1 所示. 富含甲烷的填埋气 (LFG) 由底部向上扩散 (图中红色虚线), 氧气随空气在顶部向内部扩散 (图中蓝色虚线), 大多数填埋场中甲烷氧化的主要区域为 0 ~ 60 cm 处. 通过检测该范围内甲烷扩散过程中生物气动态变化, 以 Michaelise-Menten 方程为基础推导不同梯度的半饱和常数 K_m ; 对不同深度的覆盖土进行高通量测序分析, 描述甲烷氧化菌群在甲烷氧化过程的动态变化.

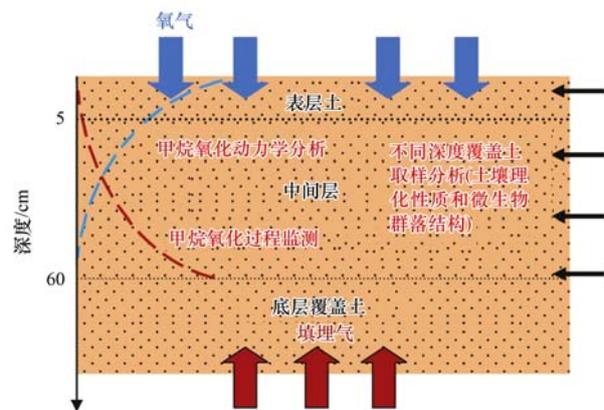


图 1 覆盖层甲烷氧化过程示意

Fig. 1 Process of methane oxidation in landfill cover

1.2 分析测试条件和方法

不同生物气组成通过调节甲烷和空气流量实现, 生物气由柱底端通入, 气体流量采用皂膜流量计测定. 甲烷、氧气和二氧化碳采用气相色谱 (川仪 SC-6000A) 测定, 色谱条件: 不锈钢色谱柱 TDX8-12-25 2 m, 进样口温度、柱温以及检测器 (TCD) 温度分别为 120、90、120℃, 氮气为载气, 载气流速为 25 mL·min⁻¹, 进样量 0.5 mL. 有机质采用硫酸重铬酸钾氧化为容量法测定; 全氮采用硫酸钾为硫酸铜为硒粉消煮, 定氮仪自动分析法测定; 铵态氮和硝态氮采用碱解扩散法测定; 全磷采用硫酸加高氯酸消煮后钼锑抗比色法测定, 以上分析方法见土壤农业化学分析方法^[17].

不同梯度生物气连续监测过程: 每隔 20 cm 设置生物气取样口, 取样管路布置参见前期研究^[18]. 通过反控软件设置程序, 采用六通阀控制气路转换, 继电器控制气路开关, 相邻深度处取样时间间隔为 15 min. 每隔 12 h 改变一次甲烷流量, 监测时间为 32 d.

1.3 土壤 DNA 提取

用 Mobio PowerSoil® DNA Isolation Kit 提取土

壤样品中微生物总基因组 DNA. 用 Mobio PowerWater[®] DNA Isolation Kit 提取富集培养 6 d 后液样中微生物总基因组 DNA. 并利用 Mobio PowerClean[®] DNA Clean-Up Kit 完成对 DNA 的纯化过程. 纯化后的 DNA 产物经琼脂糖凝胶电泳进行检测.

1.4 PCR 扩增及荧光定量

以部分纯化后的 DNA 为扩增模板,用细菌 16S DNA V3 + V4 区引物 (338F: 5'-ACTCCTACGGG AGGCAGCA-3' 及 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWT CTAAT-3'^[19]) 和 TransGen AP221-02; TransStart Fastpfu DNA 聚合酶,在 ABI GeneAmp[®] 9700 型 PCR 仪里进行扩增. 25 μL PCR 反应体系中包括各 0.5 μL 的引物, 1 μL 的 DNA 模板、dNTP (10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 0.5 μL , LA *Taq* (5 $\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 0.5 μL , 10 \times PCR buffer 2.5 μL , 灭菌水 19.5 μL . PCR 扩增升温程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s、55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s、72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 s, 30 个循环, 最后于 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存. 每个样品 3 个重复, 将同一样品的 PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 切胶回收 PCR 产物, Tris-HCl 洗脱; 2% 琼脂糖电泳检测.

参照电泳初步定量结果, 将 PCR 产物用 QuantiFluor[™]-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega 公司) 进行检测定量, 之后按照每个样品的测序量要求, 进行相应比例的混合, 收集于试剂管中放于 Illumina Miseq PE250/PE300 测序仪中测序, 测序参照文献 [20] 的方法.

1.5 高通量测序数据处理

1.5.1 原始数据处理

对 16S DNA 高变区序列进行测序, 测序区域为 V3 + V4 区. 使用 Trimmomatic、FLASH 软件对 Miseq 测序数据进行处理获得干净数据: ① 过滤 read 尾部质量值 20 以下的碱基, 设置 50 bp 的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于 20 bp, 从窗口开始截去后端碱基, 过滤质控后 50 bp 以下的 read; ② 根据 PE reads 之间的 overlap 关系, 将成对 reads 拼接 (merge) 成一条序列, 最小 overlap 长度为 10 bp; ③ 拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2, 筛选不符合序列; ④ 检测序列末端 box 序列, 最小错配数为 0 将起始端包含 box 的序列进行反向互补, 并去除 box; ⑤ 检测序列上的 barcode 并区分样品, barcode 错配数为 0, 最大引物错配数

为 2.

1.5.2 物种分类及丰度分析

在 Usearch 软件平台中使用 uparse 方法将序列按照彼此相似性为 97% 分归为许多小组, 一个小组为一个 OTU, 从而得到 OTU 的代表序列. 然后, 使用 uchime 检测 PCR 扩增中产生的嵌合体序列并从 OTU 中去除, 再用 usearch_global 方法将优化序列 map 比对回 OTU 代表序列, 最总得到 OTU 各样品序列丰度统计表^[21].

1.6 统计分析

稀释曲线是利用已测得 16S rDNA 序列中已知的各种 OTU 的相对比例, 来计算抽取 n 个 (n 小于测得标签序列总数) 标签序列时出现 OTU 数量的期望值, 然后根据一组 n 值 (一般为一组小于总序列数的等差数列) 与其相对应的 OTU 数量的期望值, 根据软件 R (版本 3.03) 及 Rstudio 做出稀释曲线^[21].

2 结果与讨论

2.1 模拟覆盖层的构建及稳态运行

基于实际填埋场覆盖土, 构建了可实时在线检测的模拟覆盖层系统, 生物气 (甲烷) 由覆盖层底部向上扩散, 氧气由大气中向下自然扩散. 运行过程中, 根据实际填埋场生物气中甲烷通量变化, 将其控制在 $0 \sim 2\,000 \text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ ^[8], 连续监测不同梯度生物气 (甲烷、氧气、二氧化碳) 浓度连续变化过程, 持续监测 32 d. 不同甲烷通量条件下不同梯度生物气连续变化过程 (部分) 如图 2 所示. 甲烷氧化过程中生物气在覆盖层中呈明显的梯度变化, 甲烷通量不变时, 2~3 h 内生物气浓度达稳定状态, 持续监测, 稳定状态十分良好; 甲烷通量改变 (增加或减小), 系统平衡破坏后, 各梯度生物气浓度能迅速 (2~3 h) 恢复稳态 (如图 2).

甲烷在向上扩散过程中逐渐被微生物消耗, 随甲烷通量增大各梯度处的甲烷浓度也逐渐增大 [图 2 (a)], 覆盖层表层甲烷浓度维持在 1% 以下, 说明该覆盖层能够实现甲烷的高效去除. 由于甲烷氧化过程中氧气随空气在覆盖层中由上向下扩散, 氧气浓度与覆盖层深度呈反相关. 甲烷氧化开始阶段, 深度大于 20 cm 浓度氧气浓度迅速减小; 系统稳定后, 深度大于 40 cm 处, 氧气浓度为 0 [图 2 (b)], 多数研究都取得了类似结果^[7]. 不同梯度氧气浓度随甲烷通量的变化如图 3 所示. 在 20 cm 深度处, 随甲烷通量的增大氧气浓度呈减小趋势, 该处氧气

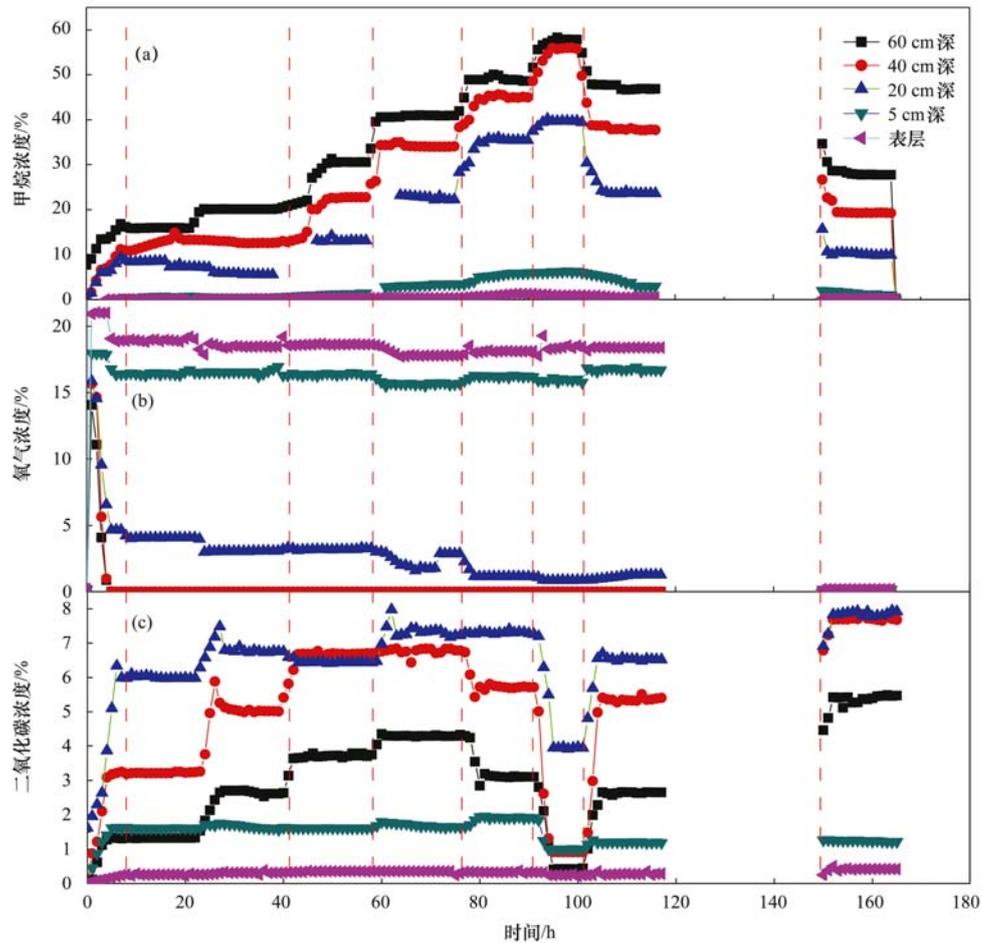


图2 不同梯度生物气连续监测曲线

Fig. 2 Continuous monitoring curves of bio-gas in different depths

浓度小于 5%；当甲烷通量小于 $1\,200\text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 时, 5 cm 深处的氧气浓度与甲烷通量无相关性, 甲烷通量继续增大时, 氧气浓度呈减小趋势 [图 2 (b)]; 而表层氧气浓度与甲烷通量几乎没有关联性. 不同甲烷通量, 覆盖层生物氧化过程产生的二氧化碳在不同梯度分布如图 2 (c) 所示. 甲烷氧化开始时, 覆盖层内部二氧化碳浓度迅速增加, 在 20 cm 深处的浓度最大, Mahieu 等^[22] 通过碳同位素示踪法也发现该处是二氧化碳浓度峰值, 且其分布与模型拟合结果相符.

通过分析覆盖层中氧气能够间接反映覆盖层内部的甲烷氧化程度, 甲烷氧化过程中的氧气在不同梯度的分布与甲烷通量的关系如图 3 所示. 在 20 cm 深度处, 氧气浓度随甲烷通量的增大而减小, 接近表层的覆盖土的氧气含量由于与大气接触, 基本不受甲烷通量控制. 以相同流量的惰性气体由覆盖层底端通入时, 此时覆盖层中无甲烷氧化发生, 此时覆盖层中 60 cm 深处的氧气浓度可达 10% 以上 (数

据未显示), 对比甲烷氧化过程可知该区域仍有较高的甲烷氧化活性; 当生物气通量为 0 时, 覆盖层内部的氧气浓度仍呈梯度变化, 说明覆盖层内除甲烷氧化菌外, 还有其他微生物的生命活动^[12].

2.2 甲烷氧化活性与甲烷通量相关性

不同梯度甲烷氧化速率随甲烷通量变化如图 4 所示. 当甲烷通量小于 $600\text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$, 在 20 ~ 60 cm 深处甲烷氧化速率与甲烷通量呈正相关 (R^2 为 0.851 和 0.965), 当甲烷通量继续增大, 甲烷氧化速率增加缓慢或保持不变, 此时甲烷在该区域内达饱和 [图 4 (a) 和 4 (b)]. 在 0 ~ 20 cm 区域内, 甲烷氧化速率随甲烷通量增大而增大, 且线性关系显著 ($R^2 = 0.999$), Chanton 等^[8] 通过实际场地抽样检测也分析了它们之间关系, 但其数据相关性较差 (R^2 为 0.62 和 0.67), 并未准确预测覆盖层的甲烷氧化规律. 与多数研究者得到的结论相同^[10, 23, 24], 甲烷氧化活性主要集中在 0 ~ 20 cm 区域内, 但同样可以看出在 60 cm 处仍有较高的甲烷氧化活性, 平均甲

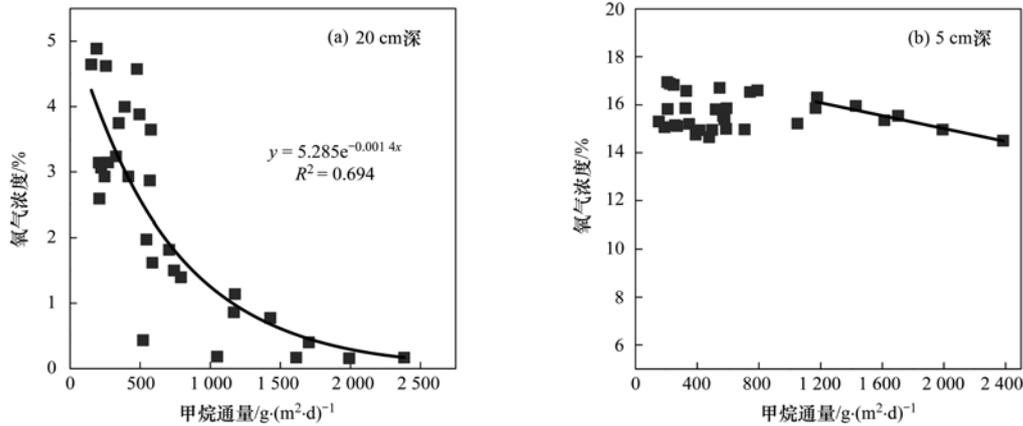


图3 覆盖层中氧气浓度随甲烷通量变化关系

Fig. 3 Change of oxygen concentration in landfill cover with methane flux

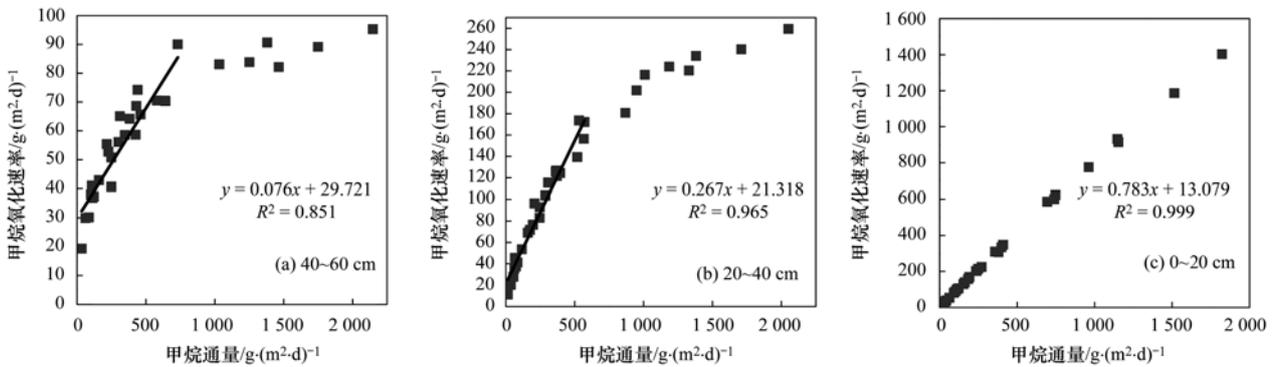


图4 不同梯度甲烷氧化速率与甲烷通量相关性

Fig. 4 Correlation between methane oxidation rate and methane flux in different depths

烷氧化速率大于 $500 \text{ g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$.

2.3 覆盖层甲烷氧化动力学

通过拟合覆盖层甲烷氧化动力学能够进一步分析不同深度覆盖层甲烷氧化潜力. 覆盖层中甲烷的需氧氧化过程主要受甲烷和氧气控制, 因此以双基质 Michaelis-Menten 方程^[9,25]为基础, 利用动态平衡结果进行拟合, 推导过程如下:

$$V_{\text{CH}_4} = V_{\text{max}} \frac{c_{\text{CH}_4}}{K_{\text{m,CH}_4} + c_{\text{CH}_4}} \times \frac{c_{\text{O}_2}}{c_{\text{O}_2} + K_{\text{m,O}_2}} \quad (1)$$

式中, V_{CH_4} 为甲烷氧化速率, $\text{g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$; $K_{\text{m,CH}_4}$ 为甲烷半饱和和常数, %; $K_{\text{m,O}_2}$ 为氧气半饱和和常数, %; c_{CH_4} 为甲烷浓度, %; c_{O_2} 为氧气浓度, %. 其中 V_{CH_4} 计算方法为^[17]:

$$V_{\text{CH}_4} = (Q_0 \cdot c_{0,\text{CH}_4} - Q_z \cdot c_{z,\text{CH}_4}) / S \quad (2)$$

式中, Q_0 和 Q_z 分别为初始和深度 z 处生物气流量, $\text{g} \cdot \text{d}^{-1}$; c_{0,CH_4} 和 c_{z,CH_4} 分别为初始和深度 z 处甲烷浓度, %; S 为覆盖层横截面积, m^2 . 式(1)线性转化可得:

$$\frac{1}{V_{\text{CH}_4}} = \frac{c_{\text{O}_2} + K_{\text{m,O}_2}}{c_{\text{O}_2} V_{\text{max}}} \cdot K_{\text{m,CH}_4} \times \left(\frac{1}{c_{\text{CH}_4}} + \frac{c_{\text{O}_2} + K_{\text{m,O}_2}}{c_{\text{O}_2} V_{\text{max}}} \right) \quad (3)$$

通过监测不同梯度处 c_{CH_4} , 计算 $1/c_{\text{CH}_4}$ 和 $1/V_{\text{CH}_4}$ 并进行线性拟合即可得到动态甲烷氧化过程中覆盖层不同区域动力学参数 $K_{\text{m,CH}_4}$.

以动态连续监测数据拟合不同梯度覆盖层甲烷氧化动力学曲线如图5所示. 拟合结果理想 (R^2 为 0.955、0.913 和 0.902), 动态和静态拟合结果如表1所示, 不同梯度覆盖土甲烷半饱和和常数 K_{m} 误差小于 1.6%, 所以可以通过原位生物气浓度监测实现覆盖层中动力学参数的拟合. 垃圾填埋场环境处于连续动态变化, 包括生物气通量, 温度等多种环境因子, 尤其生物气(甲烷、氧气)通量是影响覆盖土生物特性的最重要因素之一. 因此通过连续动态监测覆盖土中生物气浓度变化实现覆盖土的动力学参数拟合可有效避免覆盖土脱离系统环境造成的误差,

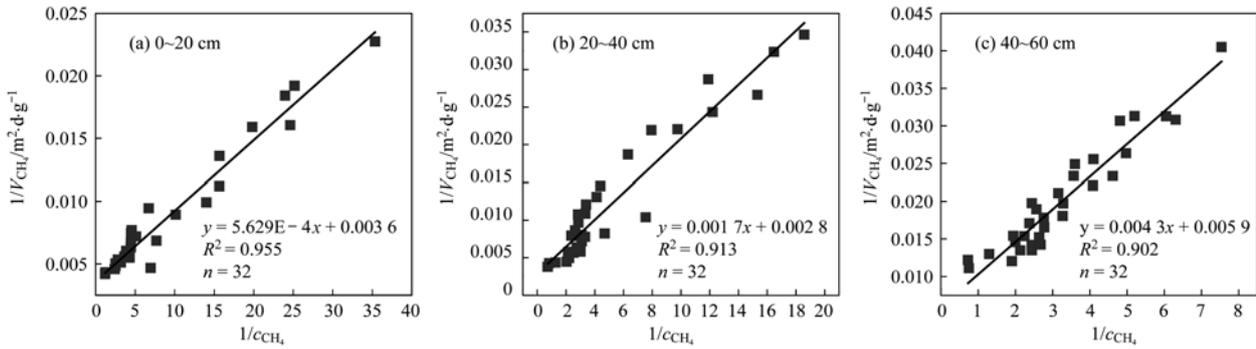


图 5 动态甲烷氧化过程动力学拟合

Fig. 5 Kinetics fitting of CH₄ oxidation in landfill cover

表 1 动态和静态拟合结果

Table 1 Fitting results in dynamic condition and static condition

深度/cm	方程	R ²	连续条件下 K _{m,CH₄} /%	离位条件下 K _{m,CH₄} /%	误差/%
0 ~ 20	y = 5.629E-4x + 0.0036	0.955	0.157	0.162	1.6
20 ~ 40	y = 0.0017x + 0.0028	0.913	0.607	0.590	1.4
40 ~ 60	y = 0.0043x + 0.0059	0.902	0.729	0.745	1.1

这对于更准确认识覆盖土的生物特性有重要意义。

不同土壤的甲烷氧化动力学参数差异很大,许多研究对不同场地,不同条件下的覆盖土动力学参数进行了分析^[1,9,11,23,24,26],统计发现覆盖土的 K_{m,CH₄} 变化范围为 0.08% ~ 2.5%, 本研究中 K_{m,CH₄} 为 0.157% ~ 0.729%, 说明该覆盖土对甲烷有较强亲和氧化能力. 不同梯度覆盖土的 K_{m,CH₄} 不同,覆盖层剖面生物气平均浓度分布及 K_{m,CH₄} 随覆盖层梯度变化如图 6 所示. 生物气在覆盖层中分布符合覆盖层中气体分布的一般规律,环境条件一定时,不同梯度甲烷氧化活性主要受甲烷和氧气浓度控制,当梯度大于 40 cm 时,此处甲烷浓度处于饱和,并远高于 K_{m,CH₄}, 因此控制因素主要为氧气浓度^[25,27]. K_{m,CH₄} 随覆盖层梯度增加而增大, De Visscher 等^[10,23] 多次研究也发现其与覆盖层梯度呈正相关, 而 Im 等^[25] 发现 K_{m,CH₄} 随梯度的增加而减小. K_{m,CH₄} 一定程度上反映不同梯度甲烷氧化活性, 受土壤特性和环境变化的影响处于动态变化过程, 不同研究呈现不同结果, Dunfield 等^[28] 发现甚至在纯培养微生物中 K_{m,CH₄} 也是不断变化过程. 本研究基于连续监测结果, 分析可知较高的甲烷氧化活性对应较高的甲烷亲和性, 并随着甲烷浓度的增大, K_{m,CH₄} 变大.

2.4 覆盖层中甲烷氧化菌群落结构

覆盖土原始土样(OCS)和模拟覆盖层中不同梯度覆盖土的理化性质如表 2 所示. 理化性质分析了全 N、全 P、有机质、硝态氮和铵态氮. 除全 P 外,

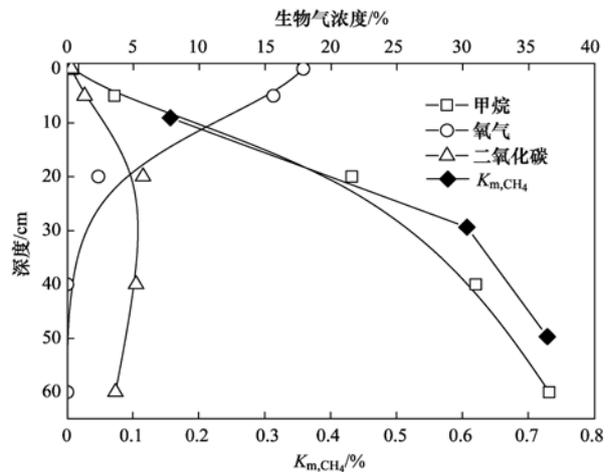


图 6 K_{m,CH₄} 与深度和生物气分布的关系

Fig. 6 Relationship between K_{m,CH₄} and depth and distribution of bio-gas in landfill cover

原始土样的其他理化性质和覆盖层中相比有显著性差异,有机质含量显著增大,而硝态氮和铵态氮显著减少;表明原始土样经覆盖层的甲烷氧化过程实现了微生物的富集,并在此过程中有 N 的消耗. 不同梯度覆盖土样的全 N、全 P 和铵态氮含量无显著性差异,有机质含量在 20 cm 处最高,有研究表明有机质含量在覆盖土中对甲烷氧化有重要影响,一般情况下甲烷氧化能力随着含量增多而增强^[29,30],但此处硝态氮含量最低,无机氮含量对填埋场覆盖土中甲烷氧化的影响相对复杂^[5],何品晶等^[31] 研究发现在一定条件下,随着铵态氮含量的增加,甲烷氧化速

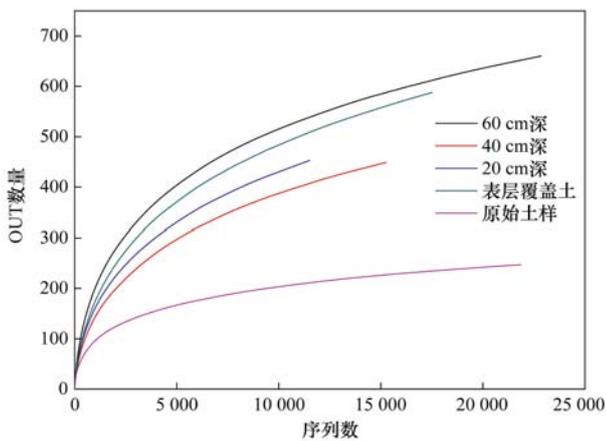
率与之呈正相关. 可以推测该处有较强的甲烷氧化能力,使得菌体富集更多,并消耗了较多的氮元素.

表 2 填埋场覆盖土理化性质

Table 2 Physico-chemical properties of landfill cover soils

深度/cm	总氮/g·kg ⁻¹	总磷/g·kg ⁻¹	有机质/g·kg ⁻¹	硝态氮/mg·kg ⁻¹	铵态氮/mg·kg ⁻¹
原始覆盖土	2.10 ± 0.015 8	0.54 ± 0.033 8	15.9 ± 0.236 6	45.1 ± 0.089 8	256.2 ± 8.595 1
60	1.38 ± 0.009 3	0.635 ± 0.029 4	23.7 ± 0.809 0	27.9 ± 0.329 2	23.2 ± 0.024 9
40	1.54 ± 0.004 7	0.619 ± 0.015 0	23.6 ± 0.214 9	16.9 ± 0.463 8	25.6 ± 0.074 7
20	1.87 ± 0.017 8	0.629 ± 0.027 9	27.8 ± 1.698 4	14.4 ± 0.344 1	20.4 ± 0.573 0
0	1.53 ± 0.002 1	0.750 ± 0.031 3	24.9 ± 0.609 0	18.9 ± 0.074 8	19.0 ± 0.323 9

覆盖土原始土样和模拟覆盖层中不同梯度样品经高通量测序后的稀释性曲线如图 7 所示,样品的序列长度 > 15 000,相似水平为 97%. 可以明显看出原始土样的稀释曲线趋于平缓,而在覆盖层中反应后稀释曲线较陡,说明甲烷富集驯化后的微生物多样性显著增加;表层覆盖土和 60 cm 深覆盖土的微生物多样性高于 20 cm 和 40 cm 处覆盖土. 20 ~ 40 cm 处的覆盖层为高活性甲烷氧化区,所以该区



相似度 = 97%

图 7 样品中微生物群落稀释曲线

Fig. 7 Rarefaction curves of microbial communities in landfill cover soils

域的微生物群落中的甲烷氧化菌对其他微生物产生竞争性优势;而表层和底层(60 cm)处的主要生物气分别为甲烷和氧气,甲烷氧化活性很低,并且其他微生物(厌氧、好氧或兼性厌氧型)与甲烷氧化菌竞争性很小,能够呈现出共同繁殖状态. 因此出现表层和底层的微生物多样性大于中间层.

覆盖层中甲烷氧化菌的种类和数量直接影响甲烷氧化活性,不同梯度覆盖层的甲烷氧化多样性有较大差异,通过高通量测序技术得到的原始土样和不同梯度覆盖土的甲烷氧化菌属水平 OTU 数量如表 3 所示. 与原始土覆盖土相比,模拟覆盖层中的甲烷氧化菌 OTU 数量和多样性显著增加,说明经甲烷富集后实现了甲烷氧化菌的大量富集. 原始覆盖土中 I 型甲烷氧化菌的 α -Proteobacteria 里的 *Methylobacter*、*Methylocaldum*、*Methylococcaceae* 和 *Methylococcales* 及 II 型甲烷氧化菌 α -Proteobacteria 的 *Methylocystis* 为优势甲烷氧化菌,且比例相近. 在模拟覆盖层中运行 30 d 后,除 *Methylocystis* 和 *Methylobacterium* 外所有甲烷氧化菌 OTU 数量均显著增加,优势甲烷氧化菌为 *Methylobacter* 和 *Methylococcales*,两者比例达 70% ~ 89%. 不同地区覆盖层的微生物群结构差异性较大,Geibert 等^[14]在瑞士的研究中发现只有 *Methylosarcina* 为覆盖土中

表 3 覆盖土中甲烷氧化菌序列数(OTU)和相对丰度¹⁾

Table 3 Sequence number and relative abundance of methanotrophs in landfill cover soil

类型	甲烷氧化菌	甲烷氧化菌序列数(OTU)和相对丰度/%				
		OCS	D60	D40	D20	D0
I 型	<i>Methylobacillus</i>	0 (0.00)	292 (4.37)	116 (1.78)	73 (1.83)	192 (2.86)
	<i>Methylobacter</i>	47 (13.74)	1 880 (28.16)	1 211 (18.53)	1 392 (34.83)	3 313 (49.43)
	<i>Methylobacterium</i>	4 (1.17)	1 (0.01)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
	<i>Methylocaldum</i>	40 (11.70)	425 (6.37)	255 (3.90)	370 (9.26)	452 (6.74)
	<i>Methylococcaceae</i>	49 (14.33)	256 (3.83)	73 (1.12)	24 (0.60)	176 (2.63)
	<i>Methylococcales</i>	44 (12.87)	3 193 (47.83)	4 701 (71.94)	1 979 (49.51)	2 197 (32.78)
	<i>Methyломicrobium</i>	0 (0.00)	15 (0.22)	6 (0.09)	3 (0.08)	5 (0.07)
	<i>Methylophilaceae</i>	65 (19.01)	533 (7.99)	135 (2.06)	117 (2.93)	277 (4.13)
II 型	<i>Methylosarcina</i>	1 (0.29)	5 (0.07)	3 (0.05)	1 (0.03)	6 (0.09)
	<i>Methylocystis</i>	92 (26.90)	76 (1.14)	35 (0.54)	38 (0.95)	85 (1.27)
	总和	342	6 676	6 535	3 997	6 703

1) OCS 为原始覆盖土,D60、D40、D20 和 D0 分别表示 60 cm、40 cm、20 cm 和表层覆盖土

优势菌; Sadasivam 等^[12] 调查的浙江地区的覆盖土中得到的优势菌群有 *Methylocystis*、*Methylosoma*、*Methylcaldum* 和 *Methylococcus*。

随覆盖层梯度的增加, *Methylobacter* 比例呈减小趋势, 而 *Methylococcales* 呈增加趋势。通过连续检测数据分析知 20 ~ 30 cm 处的甲烷氧化活性最高, 可以推测 *Methylococcales* 相比 *Methylobacter* 有更高的甲烷氧化活性。另外, 运行 30 d 后 II 型甲烷氧化菌 *Methylocystis* 数量并未增加, 说明该覆盖层中的甲烷氧化过程主要为 I 型甲烷氧化菌起作用, 有研究表明 I 型甲烷氧化菌相对于 II 型甲烷氧化菌有较高的甲烷亲和性, 低浓度甲烷/高浓度氧气有利于 I 型甲烷氧化菌的生长, II 型甲烷氧化菌更适合生长在高浓度甲烷/低浓度氧气的环境中, 因此通常在覆盖土的上层 I 型甲烷氧化菌较多^[32~34]。

3 结论

(1) 构建了可以实时在线监测的模拟覆盖层系统, 通过连续调节甲烷浓度 $[0 \sim 2\,000 \text{ g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}]$ 可以监测不同梯度生物气(甲烷、氧气和二氧化碳)连续变化, 甲烷通量不变时, 各梯度生物气可持续稳定, 改变甲烷通量 2 ~ 3 h 即可实现系统稳定。该系统能有效监测覆盖层甲烷氧化过程生物气的连续变化。

(2) 深度大于 20 cm, 随甲烷通量的增大氧气浓度呈减小趋势, 表层氧气浓度与甲烷通量无相关性。不同梯度的甲烷氧化速率与甲烷通量呈正相关(R^2 变化范围 0.851 ~ 0.999)。以平衡后生物气浓度为基础, 以双基质方程:

$$\frac{1}{V_{\text{CH}_4}} = \frac{c_{\text{O}_2} + K_{\text{m}, \text{O}_2}}{c_{\text{O}_2} V_{\text{max}}} \cdot K_{\text{m}, \text{CH}_4} \times \left(\frac{1}{c_{\text{CH}_4}} + \frac{c_{\text{O}_2} + K_{\text{m}, \text{O}_2}}{c_{\text{O}_2} V_{\text{max}}} \right)$$

拟合了甲烷氧化动力学 (R^2 范围为 0.902 ~ 0.955), 得到动态拟合参数 K_{m} 为 0.157 ~ 0.729, 与静态拟合相比误差为 1.1% ~ 1.6%, 且 K_{m} 随深度的增加而增大。

(3) 高通量测序分析了原始覆盖土和模拟覆盖层中覆盖土的甲烷氧化菌等微生物群落结构, 与原始覆盖土相比, 32 d 后模拟覆盖层中微生物 OTU 数量和种类显著增多, 通过甲烷氧化菌 OTU 和相对丰度确定优势菌群为 I 型菌的 *Methylobacter* 和 *Methylophilaceae* 及 II 型菌 *Methylocystis*。

参考文献:

- [1] Omar H, Rohani S. Treatment of landfill waste, leachate and landfill gas: a review [J]. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 2015, **9**(1): 15-32.
- [2] Saquing J M, Chanton J P, Yazdani R, *et al.* Assessing methods to estimate emissions of non-methane organic compounds from landfills [J]. *Waste Management*, 2014, **34** (11): 2260-2270.
- [3] Semrau J D. Current knowledge of microbial community structures in landfills and its cover soils [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, **89**(4): 961-969.
- [4] 赵天涛, 何成明, 张丽杰, 等. 矿化垃圾中金黄杆菌甲烷亲和氧化动力学[J]. *化工学报*, 2011, **62**(7): 1915-1921.
- [5] Zheng Y, Zhang L M, He J Z. Immediate effects of nitrogen, phosphorus, and potassium amendments on the methanotrophic activity and abundance in a Chinese paddy soil under short-term incubation experiment [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, **13**(1): 189-196.
- [6] Yao Y J, Su Y, Wu Y, *et al.* An analytical model for estimating the reduction of methane emission through landfill cover soils by methane oxidation [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, **283**: 871-879.
- [7] Abichou T, Kormi T, Yuan L, *et al.* Modeling the effects of vegetation on methane oxidation and emissions through soil landfill final covers across different climates [J]. *Waste Management*, 2015, **36**: 230-240.
- [8] Chanton J, Abichou T, Langford C, *et al.* Observations on the methane oxidation capacity of landfill soils [J]. *Waste Management*, 2011, **31**(5): 914-925.
- [9] Chi Z F, Lu W J, Li H, *et al.* Dynamics of CH₄ oxidation in landfill biocover soil: Effect of O₂/CH₄ ratio on CH₄ metabolism [J]. *Environmental Pollution*, 2012, **170**: 8-14.
- [10] De Visscher A, Van Cleemput O. Simulation model for gas diffusion and methane oxidation in landfill cover soils [J]. *Waste Management*, 2003, **23**(7): 581-591.
- [11] Wang J, Xia F, Bai Y, *et al.* Methane oxidation in landfill waste biocover soil: Kinetics and sensitivity to ambient conditions [J]. *Waste Management*, 2011, **31**(5): 864-870.
- [12] Sadasivam B Y, Reddy K R. Landfill methane oxidation in soil and bio-based cover systems: a review [J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2014, **13**(1): 79-107.
- [13] Arora P K, Bae H. Role of dehalogenases in aerobic bacterial degradation of chlorinated aromatic compounds [J]. *Journal of Chemistry*, 2014, **2014**: Article ID: 157974.
- [14] Gebert J, Singh B K, Pan Y, *et al.* Activity and structure of methanotrophic communities in landfill cover soils [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, **1**(5): 414-423.
- [15] Kong J Y, Su Y, Zhang Q Q, *et al.* Vertical profiles of community and activity of methanotrophs in landfill cover soils of different age [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, **115** (3): 756-765.

- [16] Lee E H, Moon K E, Kim T G, *et al.* Depth profiles of methane oxidation potentials and methanotrophic community in a lab-scale biocover[J]. *Journal of Biotechnology*, 2014, **184**: 56-62.
- [17] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. 18-96.
- [18] 邢志林, 赵天涛, 陈新安, 等. 覆盖层氧气消耗通量模型及甲烷氧化能力预测[J]. *化工学报*, 2015, **66**(3): 1117-1125.
- [19] Claesson M J, O'Sullivan O, Wang Q, *et al.* Comparative analysis of pyrosequencing and a phylogenetic microarray for exploring microbial community structures in the human distal intestine[J]. *PLoS One*, 2009, **4**(8): e6669.
- [20] Mckenna P, Hoffmann C, Minkah N, *et al.* The macaque gut microbiome in health, lentiviral infection, and chronic enterocolitis[J]. *PLoS Pathog*, 2008, **4**(2): e20.
- [21] Huson D H, Auch A F, Qi J, *et al.* MEGAN analysis of metagenomic data[J]. *Genome Research*, 2007, **17**(3): 377-386.
- [22] Mahieu K, De Visscher A, Vanrolleghem P A, *et al.* Modelling of stable isotope fractionation by methane oxidation and diffusion in landfill cover soils[J]. *Waste Management*, 2008, **28**(9): 1535-1542.
- [23] De Visscher A, Thomas D, Boeckx P, *et al.* Methane oxidation in simulated landfill cover soil environments[J]. *Environmental Science & Technology*, 1999, **33**(11): 1854-1859.
- [24] Nazaries L, Murrell J C, Millard P, *et al.* Methane, microbes and models: fundamental understanding of the soil methane cycle for future predictions[J]. *Environmental Microbiology*, 2013, **15**(9): 2395-2417.
- [25] Im J, Moon S, Nam K, *et al.* Estimation of mass transport parameters of gases for quantifying CH₄ oxidation in landfill soil covers[J]. *Waste Management*, 2009, **29**(2): 869-875.
- [26] Bogner J E, Spokas K A, Burton E A. Kinetics of methane oxidation in a landfill cover soil; temporal variations, a whole-landfill oxidation experiment, and modeling of net CH₄ emissions [J]. *Environmental Science & Technology*, 1997, **31**(9): 2504-2514.
- [27] Heyer K U, Hupe K, Stegmann R. Methane emissions from MBT landfills[J]. *Waste Management*, 2013, **33**(9): 1853-1860.
- [28] Dunfield P F, Conrad R. Starvation alters the apparent half-saturation constant for methane in the type II methanotroph *Methylocystis* strain LR1 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(9): 4136-4138.
- [29] 杨芊葆, 范分良, 王万雄, 等. 长期不同施肥对暗棕壤甲烷氧化菌群落特征与功能的影响[J]. *环境科学*, 2010, **31**(11): 2756-2762.
- [30] 费平安, 王琦. 填埋场覆盖层甲烷氧化机理及影响因素分析[J]. *可再生能源*, 2008, **26**(1): 97-101.
- [31] 何晶晶, 瞿贤, 杨琦, 等. 土壤因素对填埋场终场覆盖层甲烷氧化的影响[J]. *同济大学学报(自然科学版)*, 2007, **35**(6): 755-759.
- [32] 余婷, 何晶晶, 吕凡, 等. 生活垃圾填埋操作方式对覆土中I型甲烷氧化菌的影响研究[J]. *环境科学*, 2008, **29**(10): 2987-2992.
- [33] 何若, 姜晨竞, 王静, 等. 甲烷胁迫下不同填埋场覆盖土的氧化活性及其菌群结构[J]. *环境科学*, 2008, **29**(12): 3574-3579.
- [34] Chowdhury T R, Mitsch W J, Dick R P. Seasonal methanotrophy across a hydrological gradient in a freshwater wetland [J]. *Ecological Engineering*, 2014, **72**: 116-124.

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 Si-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 Nitrification-ANAMMOX Process	LI Xiang, CHENG Zong-heng, HUANG Yong, <i>et al.</i>	(4189)
Research on Cultivation and Stability of Nitrification 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

国内外公开发行人