

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第37卷 第10期

Vol.37 No.10

2016

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

北京地区空气重污染下雾凇和偏东风对 PM_{2.5} 清除作用 孙兆彬, 廖晓农, 王占山, 李梓铭, 赵秀娟, 花丛 (3679)

降雨对不同粒径气溶胶粒子碰撞清除能力 董群, 赵普生, 陈一娜 (3686)

北京冬季雾霾频发期 VOCs 源解析及健康风险评价 刘丹, 解强, 张鑫, 王海林, 闫志勇, 杨宏伟, 郝郑平 (3693)

浙江省制鞋行业挥发性有机物污染特征及其排放系数 徐志荣, 姚轶, 蔡卫丹, 李嫣, 许明珠, 王浙明 (3702)

2014 年 APEC 期间北京市 PM₁₀ 和 PM_{2.5} 氧化性损伤能力研究 郭茜, 邵龙义, 王文华, 侯聪, 赵承美, 幸娇萍, 马施民 (3708)

武汉市洪山区夏季 PM_{2.5} 浓度、水溶性离子与 PAHs 成分特征及来源分析 孙焰, 祁士华, 张莉, 邢新丽, 杨丹, 胡天鹏, 翟程凯 (3714)

基于快速聚类方法分析常州市区 PM_{2.5} 的统计特性 王振, 余益军, 徐圃青, 李艳萍, 夏京, 殷磊 (3723)

PM_{2.5} 在线水溶性离子与滤膜采集-实验室检测的比对分析 杨懂艳, 刘保献, 石爱军, 张大伟, 丁萌萌, 周健楠, 富佳明, 景宽 (3730)

树木模拟燃烧排放烟尘中水溶性离子的组成 刘刚, 黄柯, 李久海, 徐慧 (3737)

轻型汽油车排放颗粒物数浓度和粒径分布特征 樊筱筱, 蒋靖坤, 张强, 李振华, 何立强, 吴焯, 胡京南, 郝吉明 (3743)

基于台架测试的我国船用柴油机废气排放因子 邢辉, 段树林, 黄连忠, 韩志涛, 刘勤安 (3750)

西安城区地表灰尘中邻苯二甲酸酯分布、来源及人群暴露 张文娟, 王利军, 王丽, 史兴民, 卢新卫 (3758)

生活垃圾焚烧厂垃圾的汞含量与汞排放特征研究 段振亚, 苏海涛, 王凤阳, 李智坚, 李韶璞, 王书肖 (3766)

三峡库区消落带土壤中硫酸盐还原菌对汞甲基化作用的影响 陈瑞, 陈华, 王定勇, 向玉萍, 申鸿 (3774)

城市化进程对地下河中溶解态正构烷烃来源的影响 廖昱, 孙玉川, 沈立成, 梁作兵, 王尊波 (3781)

基于 PMF 模型的长江流域水体中多环芳烃来源解析及生态风险评价 王成龙, 邹欣庆, 赵一飞, 李宝杰 (3789)

贡嘎山地区地表水化学特征及水环境质量评价 何晓丽, 吴艳宏, 周俊, 邴海健 (3798)

多元数理统计法研究太子河本溪城市段水体 DOM 紫外光谱特征 钱锋, 吴婕贻, 于会彬, 宋永会, 张美, 孔令昊, 何孟常 (3806)

地下水中溶解性有机物的垂直分布特征及成因 何小松, 张慧, 黄彩红, 李敏, 高如泰, 李丹, 席北斗 (3813)

昆明市不同功能区排水管道沉积物性质 常海东, 金鹏康, 付博文, 李雪兵, 贾锐珂 (3821)

滇池水生植物分布对沉积物间隙水磷浓度的影响 丁帅, 王圣瑞, 张蕊, 肖焱波, 焦立新, 李乐, 王忠诚, 尹诗诗 (3828)

紫色母岩覆盖层控制底泥磷释放的效果及机制 黄雪娇, 石纹豪, 倪九派, 李振轮 (3835)

排水循环灌溉下稻田磷素时空分布特征 焦平金, 许迪, 朱建强, 于颖多 (3842)

快速高效去除微囊藻的 GO/QPEI 复合纳米材料 李洁, 肖琳 (3850)

一体式生物净化-沉淀池对微污染水体污染物的强化去除性能 王文东, 刘荟, 马翠, 韩雨, 常妮妮 (3858)

生物粉末活性炭-超滤组合工艺对微污染水源水中嗅味物质的去除效能及其微生物特性 宣雍祺, 周丽, 邓慧萍, 蔡宙, 李大鹏, 刘刚 (3864)

聚硅酸对不同形态铝沉积行为的影响 赵园园, 张玥, 李素英, 石宝友, 李贵伟, 孙改清 (3870)

典型南方水源氨基酸浓度变化与去除 刘伟, 蔡广强, 卢小艳, 刘丽君, 张金松, 刘嘉祺, 曲莹 (3877)

O₃/UV 降解含氮杂环化合物喹啉 陈傲蕾, 常凤民, 汪翠萍, 徐恒, 吴静, 左剑恶, 王凯军 (3884)

蒽醌-2-磺酸钠促进 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 脱色产氢机制与产能分析 胡金梅, 虞磊, 黄天寅 (3891)

2-丁烯醛生产废水中溶解性有机物的分级解析 孙秀梅, 宋广清, 席宏波, 周岳溪, 牛远方 (3899)

不同缺氧段硝酸盐氮浓度条件下连续流单污泥污水处理系统 PHA、TP 代谢 王晓玲, 员东丹, 白莉, 李紫棋, 余勇, 秦旭东, 张晓旭, 赵可 (3906)

长江口邻近海域沉积物中厌氧氨氧化细菌分布特征研究 付璐璐, 甄毓, 贺惠, 张玉, 米铁柱 (3914)

焦化废水活性污泥细菌菌群结构分析 蒙小俊, 李海波, 曹宏斌, 盛宇星 (3923)

黄土高原不同植被类型下土壤细菌群落特征研究 刘洋, 黄懿梅, 曾全超 (3931)

苯酚对活性污泥活性及微型动物群落结构的影响 胡小兵, 饶强, 唐素兰, 姜晶, 谢瑞桃, 郝文静, 钟梅英 (3939)

城市生活污水和生活垃圾渗滤液抗生素抗性基因污染的比较研究 黄福义, 李虎, 安新丽, 欧阳纬莹, 苏建强 (3949)

菌株 *Desulfovibrio* sp. CMX 的 DNRA 性能和影响因素 谢柄柯, 张玉, 王晓伟, 孙超越, 周集体 (3955)

生活污水灌溉对麦秸还田稻田氨挥发排放的影响 徐珊珊, 侯朋福, 范立慧, 薛利红, 杨林章, 王绍华, 李刚华 (3963)

模拟氮沉降对重庆缙云山马尾松林土壤呼吸和酶活性的季节性影响 曾清苹, 何丙辉, 李源, 夏力文, 杨龙龙, 邓雪梅, 李川 (3971)

生物炭添加和灌溉对温室番茄地土壤反硝化损失的影响 张文娟, 余冬立, Gamareldawla H. D. Agbna, 夏永秋 (3979)

土壤质地对自养固碳微生物及其同化碳的影响 王群艳, 吴小红, 祝贞科, 袁红朝, 隋方功, 葛体达, 吴金水 (3987)

土壤-作物系统中重金属元素吸收、迁移和积累过程模拟 施亚星, 吴绍华, 周生路, 王春辉, 陈浩 (3996)

组配改良剂对稻田系统 Pb、Cd 和 As 生物有效性的协同调控 王英杰, 邹佳玲, 杨文强, 周航, 廖柏寒 (4004)

几种有机物料对设施菜田土壤 Cd、Pb 生物有效性的影响 周贵宇, 姜慧敏, 杨俊诚, 张建峰, 张水勤, 梁雷 (4011)

蒙脱石对有机物料施入土壤磷形态和有效性的影响 宋贤威, 赵秀兰, 张进忠, 胡梦坤, 徐艳昭, 王明禹 (4020)

不同镉浓度及 pH 条件下纳米沸石对土壤镉形态及大白菜镉吸收的影响 秦余丽, 熊仕娟, 徐卫红, 赵婉伊, 王卫中, 陈永勤, 迟芬琳, 陈序根, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体 (4030)

黑麦草和牵牛花对铬耐受能力和积累效果的指标表征研究 董冰冰, 陈友媛, 惠红霞, 陆维佳, 杨秀卿, 刘逸凡 (4044)

挥发性甲基硅氧烷的体外代谢行为 黎敏丹, 郑国贸, 万伟, 胡建英 (4054)

中药渣与城市污泥好氧共堆肥的效能 宿程远, 郑鹏, 阮祁华, 覃菁菁, 卢宇翔, 李俊兵 (4062)

《环境科学》征订启事 (3827) 《环境科学》征稿简则 (4053) 信息 (3736, 3930, 4043)

蒽醌-2-磺酸钠促进 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 脱色产氢机制与产能分析

胡金梅¹, 虞磊², 黄天寅^{1*}

(1. 苏州科技大学环境科学与工程学院, 苏州 215009; 2. 南京林业大学生物与环境学院, 南京 210037)

摘要: 采用 0~0.5 mmol·L⁻¹ 蒽醌-2-磺酸钠(AQS)研究其对 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 厌氧降解甲基橙(MO)的影响,对比细菌产氢、降解碳源及生成产物等情况,得出最佳浓度为 0.1 mmol·L⁻¹. 在该浓度下,*Klebsiella oxytoca* GS-4-08 可在 10 h 内完全脱色 MO,25 h 内降解蔗糖达到 92%,同时产生 0.117 mol·mol⁻¹ 乙醇和 0.116 mol·mol⁻¹ 乙酸,2.25 mol·mol⁻¹ 氢气;将实验结果与已有研究进行对比,分析了 AQS 促进 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 厌氧脱色 MO 与产氢的机制. 通过将细菌降解过程中的物质转换为 COD 进行对比,对降解过程中电子转移进行了分析,得到 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 浓度时电子得率最高,其为 87.98%;并将细菌降解过程中的能源转换进行对比,得到 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 浓度时能源产量最高,其为 802 kJ·mol⁻¹;同时得出 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 发酵过程可产生两种以上生物燃料,表明了其在工业生产应用上的前景.

关键词: 甲基橙; 氢气; 降解产物; 能源; 蒽醌-2-磺酸钠

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2016)10-3891-08 DOI: 10.13227/j.hjks.2016.10.030

Impact of Anthraquinone-2-sulfonic Acid on the MO Decolorization, Hydrogen Production and Energy Creation During Anaerobic Fermentation of *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 with Sucrose

HU Jin-mei¹, YU Lei², HUANG Tian-yin^{1*}

(1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 2. School of Biological and the Environmental, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: The effect of 0-0.5 mmol·L⁻¹ anthraquinone-2-sulfonic acid on anaerobic fermentation of *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 was analyzed. By comparing bio-hydrogen production, carbon source degradation, and degradation products, the optimal concentration of 0.1 mmol·L⁻¹ was acquired. Under this concentration, *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 could decolorize 100% methyl orange within 10 h, degrade 92% sucrose within 25 h, meanwhile produce 0.117 mol·mol⁻¹ ethanol, 0.116 mol·mol⁻¹ acetic acid, 2.25 mol·mol⁻¹ hydrogen. Besides, the promoting mechanism of AQS on MO decolorization and hydrogen production by *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 was analyzed by comparing the experimental results and the literatures. The electron transfer and energy conversion are analyzed during the bacterial degradation process by converting the substances into COD; the optimal electron yield was 87.98% and the optimal energy generation rate was 802 kJ·mol⁻¹, and both were achieved under 0.1 mmol·L⁻¹ of AQS. Using *Klebsiella oxytoca* GS-4-08, at least two types of biofuels could be produced via fermentation process, which showed prospects in future applications.

Key words: methyl orange; hydrogen; degradation product; energy; anthraquinone-2-sulfonic acid

偶氮染料是常应用于纺织、印染行业的典型染料,其具有生产废水色度大、特征污染物结构复杂、难降解等特点^[1,2],采用的处理方法主要有吸附法、高级氧化法、微生物法等^[3]. 吸附法和高级氧化法快速、高效,但处理能力有限,耗能高,且容易造成二次污染^[4]. 近年来,基于添加胞外电子穿梭体的微生物处理法由于脱色彻底、耗能低、经济等特点,逐渐成为降解偶氮染料废水研究的热点^[5,6],其中提高生物产氢、产乙醇率是其实验研究的关键.

蒽氢醌-2,6-二磺酸钠(AHQDS)\蒽醌-2-磺酸钠\腐殖质等都可以作为胞外电子穿梭体,以加快降解过程中细菌生长率、产氢率和转变降解产物^[7],

其中蒽醌-2-磺酸钠(AQS)作为胞外电子穿梭体微小颗粒的还原型,在微生物新陈代谢过程中不仅可以提供和接受电子,而且不会被消耗^[8],可循环利用. 此外,相比于嗜温菌,嗜热菌产氢效率更高,但升温耗能会降低整个过程的效能^[5,9],所以通常采用嗜温菌作为厌氧发酵的主要菌株,例如 Xu 等^[10]利用希瓦氏菌脱色偶氮染料甲基红,Chookaew 等^[5]

收稿日期: 2016-02-22; 修订日期: 2016-05-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(51478283,51308300); 江苏省普通高校学术学位研究生科研创新计划项目(SKCX15_024)

作者简介: 胡金梅(1992~),女,硕士研究生,主要研究方向为污水处理与回用技术,E-mail:1300249814@qq.com

* 通讯联系人,E-mail: huangtianyin111@sohu.com

用克雷伯氏菌降解粗甘油脱色产氢, Maru 等^[11]用肠杆菌属暗发酵产氢. 实验中采用嗜温菌 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 作为单一菌种进行厌氧发酵, 菌株在脱色的同时可将 VFA 降解生成不同的产物(乙醇、氢气等), 相比于肠杆菌属等有着更高的脱色和产氢性能^[12,13]; 氢气作为可再生能源, 不仅清洁无污染, 而且可用于工业生产, 符合如今“废物资源化”的思想. 现有的报道中有一些关于克雷伯氏菌厌氧脱色与产氢机制的研究^[5], 但关于葱醌-2-磺酸钠对其降解过程的影响研究不多, 因此本研究采用嗜温菌 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 作为单一菌株厌氧发酵, 添加 AQS 作为电子穿梭体以改变其电子传递速率, 对降解过程中甲基橙(MO)厌氧脱色和产氢机制进行了分析, 同时对电子平衡和能源转换进行了分析.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验选用染色纺织品和棉纺行业的典型染料——偶氮染料 MO 作为模拟污染物, 其购置于 Sigma-aldrich 试剂公司, 化学结构如图 1 所示.

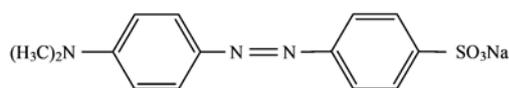


图 1 甲基橙化学结构

Fig. 1 Chemical structure of methyl orange

实验中采用菌株为 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 (CGMCC 5237), 保存在 LB 平板上, 环境温度保持为 4℃.

除酵母膏、蛋白胨、AQS 为优级纯外, 其余均为分析纯试剂.

微量元素: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.011 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0.268 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0.203 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 H_3BO_3 $0.029 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ $0.025 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

PBS 溶液(100 mL): $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (60 mL) $17.9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; KH_2PO_4 (40 mL) $6.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

LB 培养基: 酵母膏 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、蛋白胨 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NaCl $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和琼脂 $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 用于细菌的平板保存; 未加琼脂的 LB 培养基用于细菌的好氧培养.

MO 脱色产氢的模拟废水配方: 蔗糖 $6.84 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、MO $0.033 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ $1.57 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 KH_2PO_4 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和微量元素 $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$.

仪器类型: 紫外分光光度计 (UV-2550; Shimadzu, Japan)、气相色谱仪 (GC-9790, FuLi, China) 和恒温气浴振荡器 (SHZ-82, 金坛科析, China).

1.2 脱色和产氢实验

菌株先在 LB 培养基中 35°C 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 好氧培养 12h, 直到细菌生长到指数生长期, 对其 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 倒掉上清液, 利用 PBS 溶解下层菌液; 取 250 mL 的血清瓶作为模拟反应器, 加入 100 mL 的 MO 脱色产氢模拟废水, 氮吹 3 min 后, 立即用橡胶塞密封以保持瓶中厌氧环境, 用一次性注射器将菌液 100% 接菌到模拟废水中, 并置于恒温气浴振荡器中 35°C 、 $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡, 实时取样监测. 血清瓶中最初的细胞干重为 $0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \pm 0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. 实验中蔗糖和 MO 分别作为电子供体和电子受体, 进行 MO 脱色和产氢, 监测产生的降解产物、MO 剩余浓度、蔗糖剩余浓度、细菌生长量及产氢浓度.

$$\text{脱色率}(\%) = \frac{A - B}{A} \times 100$$

式中, A 为最初吸光度值; B 为监测吸光度值.

1.3 分析方法

培养基中细菌浓度采用 660 nm 处的光浊度测定, 细胞干重 CDW 采用标准方法测定^[13], 蛋白浓度 (Pro) 采用考马斯亮蓝法在 595 nm 处测定; D_{660} 与 Pro 换算公式如下:

$$\text{Pro} = 250D_{660} - 3 \quad (R^2 = 0.9985) \quad (1)$$

换算公式表明 $1.0 D_{660} \approx 140 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (以 Pro 计) $\approx 240 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ (以 CDW 计).

MO 采用紫外分光光度法测定, 样品于 $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min 取上清液, 在其最大吸收波长 465 nm 处测定吸光度值; 蔗糖测定采用蒽酮硫酸法, 在 620 nm 处测定其吸光度值.

降解产物采用 GC 测定, 方法为: 检测器 (FID) 温度 300°C , 进样器温度 250°C , 色谱柱为毛细柱 DB-FFAP, 程序升温条件: 70°C 保持 3 min, 以 $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升到 180°C , 保持 3 min, 载气为氮气, $1 \mu\text{L}$ 进样量; 氢气测定也采用 GC, 方法为: 0.5 nm 分子筛色谱柱, 柱温 60°C , 进样器温度 100°C , 检测器 (TCD) 温度 105°C , 载气为氩气, 流速 $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, $1 \mu\text{L}$ 进样量. 累计产氢量的计算采用 Liu 等^[14]的计算方法.

产氢动力学方程: Gompertz 公式^[15]用于拟合累计产氢量, 如公式(2)所示:

$$P_i = P_{(\max,i)} \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{\exp(1) \times R_i}{P_{(\max,i)} (\lambda_i - t)} + 1 \right] \right\} \quad (2)$$

式中, $P_{(\max,i)}$ 为最大累积产氢量, mL; P_i 为拟合累计产氢量, mL; R_i 为产氢速率, mL·h⁻¹; λ_i 为延滞期, h; i 代表氢气。

2 结果与讨论

2.1 产氢机制分析

结合文献[16~19]分析添加 AQS 对细菌产氢的作用: 细菌厌氧发酵在糖酵解过程中形成 NADH, 其再分配形成不同的最终产物, 包括有机酸、醇类、氢气等; 整个过程通过产物的再生来维持细胞新陈代谢和能源的平衡。克雷伯氏菌依赖于胞内电子载体产生质子(H⁺)产氢, 来扩展还原当量和再生氧化载流子 NAD⁺ 促进降解产物的产生^[20~22]。其中氢气摩尔当量受有机酸、溶剂和氧化酶电子当量的影响, 也受到胞外醌类物质(AQS)的影响; AQS 的添加可改变细胞内 NADH/NAD⁺ 的比率和部分酶的活性, 改变细胞产氢速率^[23, 24]。

本实验中对不同浓度的 AQS, 研究其对 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 发酵产氢的影响, 结果如图 2 所示。从中可以看出在 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 浓度时, 累计产氢总量最高。本研究利用 Gompertz 公式对不同浓度 AQS 产氢动力学进行拟合, 各相关参数见表 1, 不同情况下的 R^2 均大于 0.987, 说明实验中的产氢过程均满足 Gompertz 公式的产氢动力学模型。从表 1 可以看出, 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 产氢速

率常数最高为 10.07 mL·h⁻¹, 延滞期最短为 5.29 h, 产氢总量最高为 100.58 mL, 是 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 发酵产氢合适的 AQS 浓度; AQS 浓度为 0.25 mmol·L⁻¹、0.5 mmol·L⁻¹ 时, 产氢量分别为 79.72 mL、75.20 mL, 延滞期分别为 5.29 h、5.30 h, 实验结果表明: 相较于空白实验, 随着 AQS 浓度的增加, 产氢量下降, 延滞期增长, 初步推测是过高的 AQS 抑制了细菌的生长, 在此特增加不同 AQS 浓度下细菌生长情况, 如图 3 所示, 实验中细菌接菌率为 100%, 所以初始细菌干重较大, 从中可以看出, 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 细菌生长量最多, 相较于空白实验, 随着 AQS 浓度的增加, 细菌生长量下降, 这与上述推测相符。

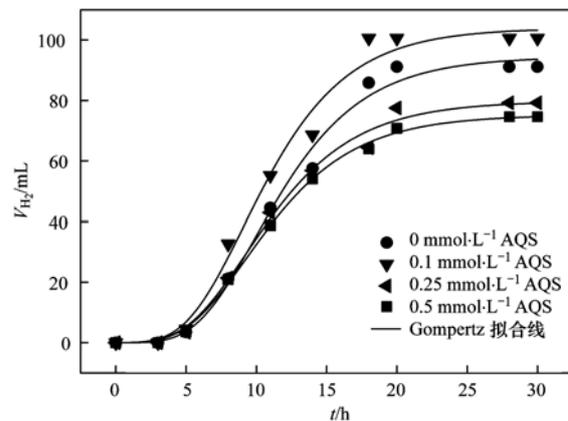


图 2 不同 AQS 浓度下拟合产氢情况

Fig. 2 Fitting hydrogen production under different AQS concentrations

表 1 产氢动力学数据

Table 1 Data of hydrogen production kinetics

$c_{\text{AQS}}/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	公式	P_{\max}/mL	$P_{\text{实际}}/\text{mL}$	$r/\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	λ_i/h	R^2
0	$y = 94.4 \cdot \exp \left\{ - \exp \frac{23.22}{94.4 \times (6.02 - t)} + 1 \right\}$	94.4	91.13	8.87	6.02	0.992
0.1	$y = 103.89 \cdot \exp \left\{ - \exp \frac{26.36}{103.89 \times (5.29 - t)} + 1 \right\}$	103.89	100.58	10.07	5.29	0.987
0.25	$y = 79.72 \cdot \exp \left\{ - \exp \frac{19.29}{79.72 \times (5.29 - t)} + 1 \right\}$	79.72	79.2	7.37	5.29	0.993
0.5	$y = 75.16 \cdot \exp \left\{ - \exp \frac{18.27}{75.16 \times (5.3 - t)} + 1 \right\}$	75.20	74.58	6.98	5.3	0.998

2.2 蔗糖降解分析

Ye 等^[4] 在研究添加蒽氢醌-2,6-二磺酸钠(AQDS)情况下, 细菌利用葡萄糖、木糖、纤维二糖发酵产氢中碳源降解率分别为 85%、89% 和 74%; Chookaew 等^[5] 在利用嗜热菌降解粗甘油产氢中最佳碳源利用率为 81%; Zee 等^[25] 发现细菌在脱色产氢过程中受到偶氮染料毒性的影响, 醌类物质的投

加促进染料的脱色, 降低染料毒性对细菌的影响, 促进细菌生长, 从而增加细菌对碳源的利用率; Yu 等^[19] 对 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 利用甘露糖、半乳糖、葡萄糖、蔗糖等降解 MO 情况进行了分析, 得出最佳碳源为蔗糖, 同时对 0~20 mmol·L⁻¹ 蔗糖浓度进行降解 MO 分析, 得出最佳蔗糖浓度为 20 mmol·L⁻¹, 因此, 文中直接沿用 20 mmol·L⁻¹ 蔗糖

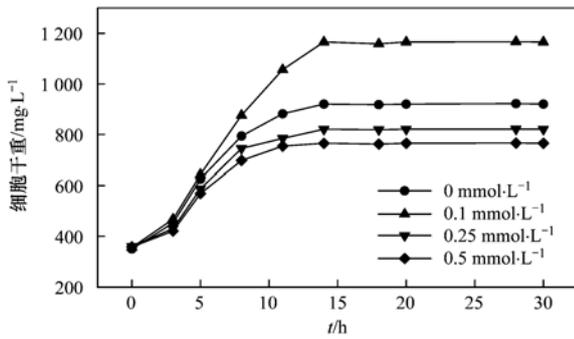


图3 不同 AQS 浓度细菌生长情况

Fig. 3 Growth of bacteria under different AQS concentrations

作为培养基底物。

本实验中对不同浓度的 AQS, 研究其对 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 降解碳源的影响, 结果如图 4 所示。文中对不同浓度 AQS 降解蔗糖过程进行一级动力学拟合, 各相关参数见表 2, 不同情况下的 R^2 均大于 0.97, 说明实验中的蔗糖降解过程均满足一级降解动力学模型。从图 4 中可以看出细菌在 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 时对蔗糖的降解常数达到最高为 0.11 h⁻¹, 高于 0、0.25、0.5 mmol·L⁻¹ AQS 时的 0.072、0.085 和 0.079 h⁻¹; 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 利用碳源的延滞期也最短为 6.3 h, 0、0.25、0.5 mmol·L⁻¹ AQS 延滞期分别为 9.6、8.2、8.8 h。0.5 mmol·L⁻¹ AQS 的延滞期高于 0.25 mmol·L⁻¹ AQS, 说明 AQS 浓度可以影响细菌对碳源的利用, 但不是唯一影响因素; 确定合适的 AQS 浓度有利于 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 充分利用碳源, 这也有利于其在工业废水处理上的应用。

表 2 蔗糖降解动力学数据

Table 2 Data of sucrose degradation kinetics

c_{AQS} /mmol·L ⁻¹	公式	k/h^{-1}	t/h	R^2
0	$\ln(c/c_0) = -0.072t + 0.051$	0.072	9.6	0.98
0.1	$\ln(c/c_0) = -0.11t - 0.135$	0.11	6.3	0.99
0.25	$\ln(c/c_0) = -0.085t + 0.046$	0.085	8.2	0.98
0.5	$\ln(c/c_0) = -0.079t + 0.059$	0.079	8.8	0.98

2.3 染料降解机制分析

通过改变 AQS 浓度, 研究了胞外电子穿梭体浓度对细菌脱色 MO 的影响, 结果如图 5 所示, 可以看出不同浓度 AQS 的 MO 脱色率均随着时间的增长而增大, MO 的脱色效率随着 AQS 浓度的升高而升高; 0.1、0.25、0.5 mmol·L⁻¹ AQS 能够分别在 2.5、5、7 h 内完全脱色 MO, 未投加 AQS 的空白实验在 25 h 尚未脱色完全; 文中对不同浓度 AQS 脱色 MO 过程进行一级动力学拟合, 各相关参数见表 3, 不同

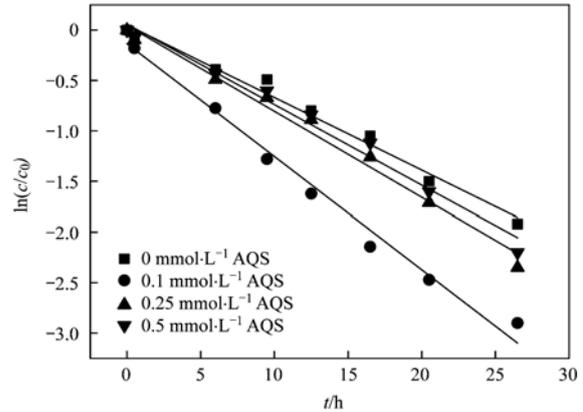


图4 不同 AQS 浓度拟合蔗糖降解情况

Fig. 4 Fitted sucrose degradation under different AQS concentrations

AQS 浓度下的 R^2 均大于 0.95, 说明实验中的 MO 脱色过程均满足一级动力学降解模型。从中可以看出, 随着 AQS 浓度的增加, 降解动力学常数 k 逐渐增大, 半衰期逐渐缩短, 反应速率逐渐增大; 在反应初期, 速率常数增幅较大, 随着反应的进行, 速率常数增幅逐渐降低; 在 AQS 浓度为 0.1、0.25 和 0.5 mmol·L⁻¹ 时, MO 降解的半衰期分别缩短为 1.24、0.53 和 0.31 h, 反应速率常数分别提高了 622%、1467% 和 2467%, 可见 AQS 的添加可显著提高 MO 脱色效率。当 AQS 浓度超过 2 mmol·L⁻¹ 时, MO 脱色效率变化不大 (结果未体现), 这与文献 [26] 中

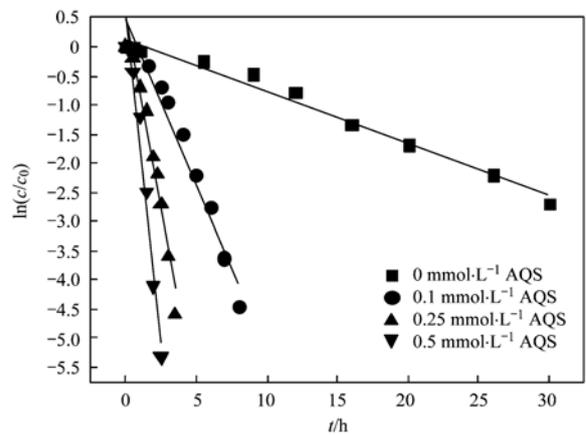


图5 不同 AQS 浓度 MO 脱色动力学拟合

Fig. 5 Decoloring kinetic fitting of MO under different AQS concentrations

表 3 MO 脱色动力学数据

Table 3 Data of MO decoloring kinetics

c_{AQS} /mmol·L ⁻¹	公式	k/h^{-1}	t/h	R^2
0	$\ln(c/c_0) = -0.09t + 0.13$	0.09	7.7	0.98
0.1	$\ln(c/c_0) = -0.56t + 0.43$	0.56	1.24	0.96
0.25	$\ln(c/c_0) = -1.32t + 0.49$	1.32	0.53	0.95
0.5	$\ln(c/c_0) = -2.22t + 0.52$	2.22	0.31	0.96

AQDS 促进偶氮染料脱色的结果一致。

Zee 等^[25]的研究结果表明醌类物质作为胞外电子穿梭体不仅可以作为电子受体(供体)参与氧化还原反应,而且能够充当偶氮还原反应的媒介;结合文献[27,28]分析 AQDS 促进 MO 脱色机制:蔗糖被细菌消耗传出电子,AQDS 接收电子转变为还原态,还原态 AQDS 把电子传递到 MO 上,偶氮键断裂,脱色完全,还原态 AQDS 累积在瓶底用于再次降解 MO 和进行胞外电子传递;为了进一步证实这个推理,通过观察模拟废水中 MO 脱色过程,发现脱色的同时溶液颜色从亮黄色转变为暗绿色,这与 AQDS 从氧化态到还原态转变过程相符,说明此时的 AQDS 充当催化剂的作用,可循环使用,降低脱色过程的活化能,提高电子传递速率,促进 MO 的脱色;关于沉积在瓶底的 AQDS,这与细菌处于稳定期后,蔗糖被消耗,代谢物质不断积累,导致微生物细胞生长速率下降,死亡率上升,新增加的细胞数与死亡细胞数趋于平衡,表现为细胞数量稳定;由于营养物质减少,细胞之间易于相互黏附,分泌物增多,形成菌胶团(絮体),稳定期微生物不但具有一定的氧化有机物的能力,而且还具有良好的沉降性能。菌胶团沉降在瓶底,吸附 AQDS,颜色偏深,导致血清瓶底呈暗绿色^[29]。

2.4 产物分析

本实验中通过改变 AQDS 浓度,研究胞外电子穿

梭体浓度对细菌产酸、产醇、产氢以及细菌生长量的影响,结果如图 6 所示。从中可以看出 AQDS 浓度在 $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时产酸、产醇及细菌生长量均最高分别为 $0.117 \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 、 $0.116 \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 、 $1.9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在 $0.25 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ AQDS 时,产酸、产醇及细菌生长量分别为 $0.102 \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 、 $0.111 \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 、 $1.34 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.11 \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 、 $0.112 \text{ mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 、 $1.25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,乙醇与乙酸之比先增高后降低再增高,这与 Niu 等^[30]细菌降解代谢流模型结论相同,因为在产乙醇路径中消耗 NADH 辅酶,产乙酸过程中产 ATP,ATP 给产氢过程提供能量,从而提高产氢量。同时随着 AQDS 浓度增加,细菌生长量逐渐降低,产氢量的下降可能与过高的 AQDS 浓度抑制细菌产氢酶、双向氢化酶活性有关,细菌生长量的降低与 AQDS 影响细菌生长耐受性有关。

厌氧发酵过程中,部分蔗糖降解用于细菌合成新的有机体,其余蔗糖通过糖酵解(EMP)途径生成电子供体 NADH 和丙酮酸钠,NADH 被偶氮还原酶用来还原甲基橙,而丙酮酸钠则继续经过 TCA 循环生成大量电子供体,这些电子供体中只有小部分传递给偶氮还原酶催化偶氮键的断裂^[31],绝大部分用于乙酸、乙醇、氢气等降解产物生成过程。经过计算^[9,15],在细菌利用碳源降解的过程中,0、0.1、

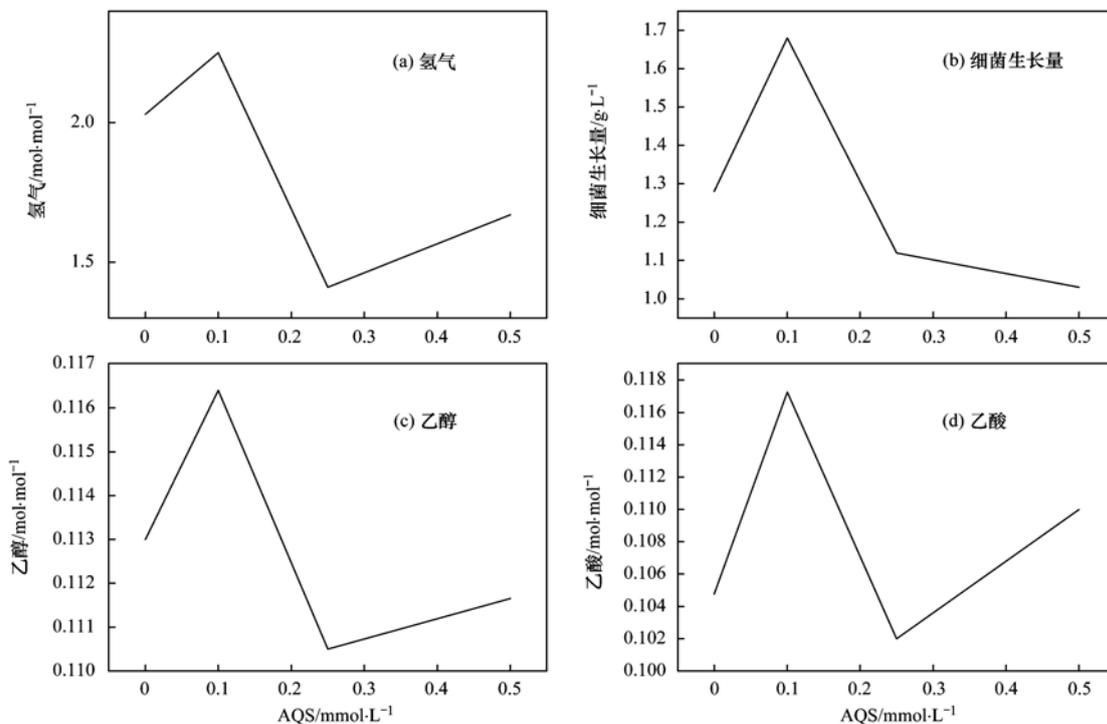


图 6 不同 AQDS 浓度降解产物情况

Fig. 6 Degradation products under different AQDS concentrations

0.25、0.5 mmol·L⁻¹ AQS 产生的乙酸、乙醇与氢气的 COD 值总和分别为 416.16、448.41、376.49、408.44 mg 远高于 150、190、134、125 mg 的细菌生长量,这与张晓玉^[31]的研究结论类似。

为进一步推测细菌发酵产氢过程,结合文献分析,蔗糖首先被转化酶分解为葡萄糖,葡萄糖经过糖代谢转变为丙酮酸产生电子,为细菌打开 MO 的偶氮键提供电子;一部分的丙酮酸被格式酶催化产甲酸,甲酸被甲酸氢化酶降解产氢;另一部分的丙酮酸被脱氢酶催化断裂产生电子与氢化酶结合产氢,与此同时剩余电子先后被传递到 NAD⁺、NADH、固氮酶,最终与 H⁺ 结合产氢^[8,32-34];这与实验中模拟废水脱色迅速,产氢缓慢的现象相符合。Liu 等^[14]利用粗甘油产氢,氢气最大产量为 0.75 mol·mol⁻¹,Jitrwung 等^[32]优化培养基成分促进粗甘油产氢,最大产氢量为 0.95 mol·mol⁻¹,实验中投加电子穿梭体促进蔗糖产氢,最大产氢量能够达到 2.25 mol·mol⁻¹。

2.5 电子平衡计算

将细菌生长前添加的碳源与生长结束产生的降解产物、细菌生长量等均转化为 COD,并对其进行电子平衡的计算,计算过程参见 Wu 等^[9,15]的计算方法。

通过改变 AQS 浓度,研究胞外电子穿梭体的浓度对电子平衡计算的影响,计算结果如表 4 所示。从中可以看出 AQS 浓度在 0.1 mmol·L⁻¹ 时,生成的乙酸量、乙醇量、细菌量、产氢量均最多,其总量(以 COD 计,下同)达到 638.41 mg,高于 0、0.25、0.5 mmol·L⁻¹ AQS 的 566.25、556.5、568.44 mg;电子得率可达 90.5%,高于 0、0.25、0.5 mmol·L⁻¹ AQS 的 86.7%、75.5%、79.8%;说明 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 适合 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 利用蔗糖降解 MO。在整个降解过程的电子平衡计算中,电子得率范围在 72.61%~87.98% 之间,这是因为在产氢过程中有一些未检测到的降解产物的生成。

表 4 电子平衡计算

Table 4 Electronic balance calculation

c_{AQS} /mmol·L ⁻¹	COD(蔗糖) /mg·L ⁻¹	COD(加入 蔗糖)/mg	COD(剩余 蔗糖)/mg	COD(乙酸+ 乙醇)/mg	COD(细菌量) /mg	COD(H ₂) /mg	COD(总量) /mg	电子得率 /%
0	7 690	769	100	351.06	128.16	65.1	644.32	83.8
0.1	7 690	769	60	373.57	168.16	74.84	676.57	87.98
0.25	7 690	769	70	331.42	111.91	45.07	558.4	72.61
0.5	7 690	769	80	355.17	103.04	53.27	591.48	76.92

2.6 能源分析

Klebsiella oxytoca GS-4-08 利用蔗糖降解 MO 的过程中,产生乙醇和氢气,其燃烧热值分别是 1366 kJ·mol⁻¹ 和 286 kJ·mol⁻¹。能源计算公式参考 Wu 等^[9,15]的计算方法。本文研究了不同 AQS 浓度对细菌降解 MO 产氢过程中能源转化的影响,结果见表 5。从中可以看出最大的能源产率是 0.1 mmol·L⁻¹ AQS

的 102.2 × 10⁻³ kJ·(h·L)⁻¹,在 0、0.25、0.5 mmol·L⁻¹ AQS 浓度,能源产率均较低,分别为 99.2 × 10⁻³、91.3 × 10⁻³、97.9 × 10⁻³ kJ·(h·L)⁻¹;能源产量在 0.1 mmol·L⁻¹ AQS 最高为 802 kJ·mol⁻¹,其余浓度能源产量均较低,分别为 735、538、631 kJ·mol⁻¹。降解产物中氢气属于气体、乙醇沸点较低;这两种物质比较容易分离,其热能可应用于工业生产。

表 5 能源计算

Table 5 Energy calculation

c_{AQS} /mmol·L ⁻¹	$c_{\text{蔗糖}}$ /mg·L ⁻¹	乙醇产率 /mmol·(h·L) ⁻¹	氢气产率 /mmol·(h·L) ⁻¹	乙醇产量 /mol·mol ⁻¹	氢气产量 /mol·mol ⁻¹	能源产生率 × 10 ⁻³ /kJ·(h·L) ⁻¹	能源产量 /kJ·mol ⁻¹
0	7 690	72.32	1.36	0.11	2.03	99.2	735
0.1	7 690	74.50	1.49	0.12	2.25	102	802
0.25	7 690	66.66	0.94	0.11	1.41	91.3	551
0.5	7 690	71.46	1.11	0.11	1.67	97.9	631

3 结论

(1) 通过改变 AQS 浓度,研究 AQS 浓度对 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 厌氧降解 MO 的影响,得

到最佳浓度。结果表明该浓度下 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 脱色 MO、降解蔗糖、产醇、产酸、产氢均能达到较高程度。

(2) 通过对不同 AQS 浓度下,MO 脱色降解过

程建立一级动力学,得出随着 AQS 浓度增加,MO 脱色越快、延滞时间越短,并对 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 脱色 MO 的机制进行了分析;同时对产氢过程建立动力学模型,得出最佳 AQS 浓度、最佳产氢量和产氢速率,并对细菌产氢机制进行了初步的分析。

(3)将 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 降解 MO 过程中加入和产出的物质转换成 COD,计算降解过程中电子得率,得到最佳电子得率;对降解过程中加入与产出的能量进行对比,得到最高能源产量,表明 *Klebsiella oxytoca* GS-4-08 在工业化应用上有很大发展前景。

参考文献:

- [1] Cai P J, Xiao X, He Y R, et al. Anaerobic biodecolorization mechanism of methyl orange by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, **93**(4): 1769-1776.
- [2] Yu L, Li W W, Lam M H W, et al. Adsorption and decolorization kinetics of methyl orange by anaerobic sludge[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, **90**(3): 1119-1127.
- [3] Dafale N, Rao N N, Meshram S U, et al. Decolorization of azo dyes and simulated dye bath wastewater using acclimatized microbial consortium-biostimulation and halo tolerance [J]. Bioresource Technology, 2008, **99**(7): 2552-2558.
- [4] Ye X F, Zhang X Y, Morgenroth E, et al. Anthrahydroquinone-2, 6-disulfonate increases the rate of hydrogen production during *Clostridium beijerinckii* fermentation with glucose, xylose, and cellobiose[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2012, **37**(16): 11701-11709.
- [5] Chookaew T, O-Thong S, Prasertsan P. Fermentative production of hydrogen and soluble metabolites from crude glycerol of biodiesel plant by the newly isolated thermotolerant *Klebsiella pneumoniae* TR17[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2012, **37**(18): 13314-13322.
- [6] Lo Y C, Chen W M, Hung C H, et al. Dark H₂ fermentation from sucrose and xylose using H₂-producing indigenous bacteria: feasibility and kinetic studies[J]. Water Research, 2008, **42**(4-5): 827-842.
- [7] da Silva M E R, Firmino P I M, dos Santos A B. Impact of the redox mediator sodium anthraquinone-2, 6-disulfonate (AQDS) on the reductive decolourisation of the azo dye Reactive Red 2 (RR2) in one- and two-stage anaerobic systems [J]. Bioresource Technology, 2012, **121**: 1-7.
- [8] Hatch J L, Finneran K T. Influence of reduced electron shuttling compounds on biological H₂ production in the fermentative pure culture *Clostridium beijerinckii*[J]. Current Microbiology, 2008, **56**(3): 268-273.
- [9] Wu K J, Saratale G D, Lo Y C, et al. Simultaneous production of 2, 3-butanediol, ethanol and hydrogen with a *Klebsiella* sp. strain isolated from sewage sludge[J]. Bioresource Technology, 2008, **99**(17): 7966-7970.
- [10] Xu M Y, Guo J, Sun G P. Biodegradation of textile azo dye by *Shewanella decolorationis* S12 under microaerophilic conditions [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, **76**(3): 719-726.
- [11] Maru B T, Constanti M, Stchigel A M, et al. Biohydrogen production by dark fermentation of glycerol using *Enterobacter* and *Citrobacter* sp. [J]. Biotechnology Progress, 2013, **29**(1): 31-38.
- [12] Lo Y C, Chen X J, Huang C Y, et al. Dark fermentative hydrogen production with crude glycerol from biodiesel industry using indigenous hydrogen-producing bacteria[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2013, **38**(35): 15815-15822.
- [13] Nasr N, Elbeshbishy E, Hafez H, et al. Bio-hydrogen production from thin stillage using conventional and acclimatized anaerobic digester sludge[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2011, **36**(20): 12761-12769.
- [14] Liu B C, Christiansen K, Parnas R, et al. Optimizing the production of hydrogen and 1, 3-propanediol in anaerobic fermentation of biodiesel glycerol [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2013, **38**(8): 3196-3205.
- [15] Wu K J, Lin Y H, Lo Y C, et al. Converting glycerol into hydrogen, ethanol, and diols with a *Klebsiella* sp. HE1 strain via anaerobic fermentation [J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2011, **42**(1): 20-25.
- [16] Varrone C, Giussani B, Izzo G, et al. Statistical optimization of biohydrogen and ethanol production from crude glycerol by microbial mixed culture [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2012, **37**(21): 16479-16488.
- [17] Ye X F, Morgenroth E, Zhang X Y, et al. Anthrahydroquinone-2, 6, -disulfonate (AH₂QDS) increases hydrogen molar yield and xylose utilization in growing cultures of *Clostridium beijerinckii*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, **92**(4): 855-864.
- [18] Hong Y G, Wu P, Li W R, et al. Humic analog AQDS and AQS as an electron mediator can enhance chromate reduction by *Bacillus* sp. Strain 3C₃ [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, **93**(6): 2661-2668.
- [19] Yu L, Li W W, Lam M H W, et al. Isolation and characterization of a *Klebsiella oxytoca* strain for simultaneous azo-dye anaerobic reduction and bio-hydrogen production [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, **95**(1): 255-262.
- [20] Yu L, Chen Z X, Tong X, et al. Anaerobic degradation of microcrystalline cellulose: kinetics and micro-scale structure evolution [J]. Chemosphere, 2012, **86**(4): 348-353.
- [21] Cheng C H, Hsu S C, Wu C H, et al. Quantitative analysis of microorganism composition in a pilot-scale fermentative biohydrogen production system [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2011, **36**(21): 14153-14161.
- [22] Matsumoto K, Mukai Y, Ogata D, et al. Characterization of thermostable FMN-dependent NADH azoreductase from the moderate thermophile *Geobacillus stearothermophilus*[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, **86**(5): 1431-1438.
- [23] Ooi T, Shibata T, Sato R, et al. An azoreductase, aerobic NADH-dependent flavoprotein discovered from *Bacillus* sp.: functional expression and enzymatic characterization[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, **75**(2): 377-386.
- [24] Misal S A, Lingojwar D P, Lokhande M N, et al. Enzymatic transformation of nitro-aromatic compounds by a flavin-free

- NADH azoreductase from *Lysinibacillus sphaericus* [J]. *Biotechnology Letters*, 2014, **36**(1): 127-131.
- [25] van der Zee F P, Bouwman R H M, Strik D P B T B, *et al.* Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2001, **75**(6): 691-701.
- [26] dos Santos A B, Cervantes F J, Van Lier J B. Azo dye reduction by thermophilic anaerobic granular sludge, and the impact of the redox mediator anthraquinone-2, 6-disulfonate (AQDS) on the reductive biochemical transformation [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, **64**(1): 62-69.
- [27] Bai L P, Wu X B, Jiang L J, *et al.* Hydrogen production by over-expression of hydrogenase subunit in oxygen-tolerant *Klebsiella oxytoca* HP1 [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2012, **37**(17): 13227-13233.
- [28] 崔姗姗, 徐宏勇, 周思辰, 等. 氧化还原介体对偶氮染料厌氧脱色的影响 [J]. *哈尔滨理工大学学报*, 2008, **13**(2): 103-106.
- [29] 李建政, 赵丹, 秦智, 等. *环境工程微生物学* [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004. 75-77.
- [30] Niu K, Zhang X, Tan W S, *et al.* Effect of culture conditions on producing and uptake hydrogen flux of biohydrogen fermentation by metabolic flux analysis method [J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**(15): 7294-7300.
- [31] 张晓玉. 克雷伯氏菌好氧降解偶氮染料机理及有关酶学性质研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2015. 13-24.
- [32] Jitrwung R, Yargeau V. Optimization of media composition for the production of biohydrogen from waste glycerol [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2011, **36**(16): 9602-9611.
- [33] Chen X, Sun Y Q, Xiu Z L, *et al.* Stoichiometric analysis of biological hydrogen production by fermentative bacteria [J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2006, **31**(4): 539-549.
- [34] Kim J H, Block D E, Mills D A. Simultaneous consumption of pentose and hexose sugars; an optimal microbial phenotype for efficient fermentation of lignocellulosic biomass [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, **88**(5): 1077-1085.

CONTENTS

Scavenging Effect of Rime and East Wind on PM _{2.5} Under Air Heavy Pollution in Beijing	SUN Zhao-bin, LIAO Xiao-nong, WANG Zhan-shan, <i>et al.</i> (3679)
Impact of Collision Removal of Rainfall on Aerosol Particles of Different Sizes	DONG Qun, ZHAO Pu-sheng, CHEN Yi-na (3686)
Source Apportionment and Health Risk Assessment of VOCs During the Haze Period in the Winter in Beijing	LIU Dan, XIE Qiang, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (3693)
Pollution Characteristics and Emission Coefficient of Volatile Organic Compounds from Shoe-making Industry in Zhejiang Province	XU Zhi-rong, YAO Yi, CAI Wei-dan, <i>et al.</i> (3702)
Oxidative Capacity of the PM ₁₀ and PM _{2.5} in Beijing During 2014 APEC	GUO Qian, SHAO Long-yi, WANG Wen-hua, <i>et al.</i> (3708)
Concentration, Water-Soluble Ionic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Composition and Sources of PM _{2.5} During Summer in Hongshan District, Wuhan	SUN Yan, QI Shi-hua, ZHANG Li, <i>et al.</i> (3714)
Statistical Characteristics of Urban Changzhou PM _{2.5} Based on <i>k</i> -means Analysis	WANG Zhen, YU Yi-jun, XU Pu-qing, <i>et al.</i> (3723)
Comparison Test Between On-line Monitoring of Water-soluble Ions and Filter-based Manual Methods for PM _{2.5}	YANG Dong-yan, LIU Bao-xian, SHI Ai-jun, <i>et al.</i> (3730)
Chemical Composition of Water-soluble Ions in Smoke Emitted from Tree Branch Combustion	LIU Gang, HUANG Ke, LI Jiu-hai, <i>et al.</i> (3737)
Number Concentration and Size Distribution of Particles Emitted by Light-duty Gasoline Vehicles	FAN Xiao-xiao, JIANG Jing-kun, ZHANG Qiang, <i>et al.</i> (3743)
Testbed-Based Exhaust Emission Factors for Marine Diesel Engines in China	XING Hui, DUAN Shu-lin, HUANG Lian-zhong, <i>et al.</i> (3750)
Distribution, Source and Human Exposure of Phthalic Acid Esters (PAEs) in Surface Dust in Urban Area of Xi'an City, China	ZHANG Wen-juan, WANG Li-jun, WANG Li, <i>et al.</i> (3758)
Mercury Emission Characteristics and Mercury Concentrations of Municipal Solid Waste in Waste Incineration Plants	DUAN Zhen-ya, SU Hai-tao, WANG Feng-yang, <i>et al.</i> (3766)
Role of Sulfate-Reducing Bacteria in Mercury Methylation in Soil of the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir Area	CHEN Rui, CHEN Hua, WANG Ding-yong, <i>et al.</i> (3774)
Impact of Urbanization on the Sources of Dissolved <i>n</i> -alkane in Underground River	LIAO Yu, SUN Yu-chuan, SHEN Li-cheng, <i>et al.</i> (3781)
Source Apportionment and Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Surface Water from Yangtze River, China; Based on PMF Model	WANG Cheng-long, ZOU Xin-qing, ZHAO Yi-fei, <i>et al.</i> (3789)
Hydro-chemical Characteristics and Quality Assessment of Surface Water in Gongga Mountain Region	HE Xiao-li, WU Yan-hong, ZHOU Jun, <i>et al.</i> (3798)
UV-Visible Spectra Properties of DOM from Taizi River in Benxi City Section by Multivariable Analysis	QIAN Feng, WU Jie-yun, YU Hui-bin, <i>et al.</i> (3806)
Vertical Distribution Characteristics of Dissolved Organic Matter in Groundwater and Its Cause	HE Xiao-song, ZHANG Hui, HUANG Cai-hong, <i>et al.</i> (3813)
Sediment Characteristics of Sewer in Different Functional Areas of Kunming	CHANG Hai-dong, JIN Peng-kang, FU Bo-wen, <i>et al.</i> (3821)
Concentration of Phosphorus in Sediments Interstitial Water as Affected by Distribution of Aquatic Plants in Dianchi Lake	DING Shuai, WANG Sheng-rui, ZHANG Rui, <i>et al.</i> (3828)
Efficiency and Mechanism of Capping with Purple Parent Rocks to Control Phosphorus Release from Sediments	HUANG Xue-jiao, SHI Wen-hao, NI Jiu-pai, <i>et al.</i> (3835)
Temporal and Spatial Distribution of Phosphorus in Paddy Fields Under Cyclic Irrigation of Drainage Water	JIAO Ping-jin, XU Di, ZHU Jian-qiang, <i>et al.</i> (3842)
GO/QPEI Nanocomposite for Fast and High-capacity Removal of <i>M. Aeruginosa</i>	LI Jie, XIAO Lin (3850)
Enhanced Pollutant Removal Performance of an Integrated Biological Settling Tank from Micro-polluted Water Bodies	WANG Wen-dong, LIU Hui, MA Cui, <i>et al.</i> (3858)
Odorants Removal and Microbial Characteristics in Treatment of Micro-polluted Source Water with Biological Powdered Activated Carbon-Ultrafiltration Combined Process	XUAN Yong-qi, ZHOU Li, DENG Hui-ping, <i>et al.</i> (3864)
Effect of Polysilicic Acid on the Deposition Behavior of Different Aluminum Species	ZHAO Yuan-yuan, ZHANG Yue, LI Su-ying, <i>et al.</i> (3870)
Concentration Variation and Removal of Amino Acids in Typical Drinking Sources in the South of China	LIU Wei, CAI Guang-qiang, LU Xiao-yan, <i>et al.</i> (3877)
Degradation of the Nitrogenous Heterocyclic Compound Quinoline by O ₃ /UV	CHEN Ao-lei, CHANG Feng-min, WANG Cui-ping, <i>et al.</i> (3884)
Impact of Anthraquinone-2-sulfonic Acid on the MO Decolorization, Hydrogen Production and Energy Creation During Anaerobic Fermentation of <i>Klebsiella oxytoca</i> GS-4-08 with Sucrose	HU Jin-mei, YU Lei, HUANG Tian-yin (3891)
Classification and Analysis of Dissolved Organic Matter in 2-Buternal Manufacture Wastewater	SUN Xiu-mei, SONG Guang-qing, XI Hong-bo, <i>et al.</i> (3899)
Concentration of Nitrate in Main Anoxic Stage and PHA, TP Metabolism for Nitrogen and Phosphorus Removal in Single Sludge System with Continuous Flow	WANG Xiao-ling, YUAN Dong-dan, BAI Li, <i>et al.</i> (3906)
Distribution Characteristics of Anaerobic Ammonia Oxidation Bacteria in Sediments from the Adjacent Seas of Yangtze Estuary	FU Lu-lu, ZHEN Yu, HE Hui, <i>et al.</i> (3914)
Bacterial Community Composition of Activated Sludge from Coking Wastewater	MENG Xiao-jun, LI Hai-bo, CAO Hong-bin, <i>et al.</i> (3923)
Soil Bacterial Communities Under Different Vegetation Types in the Loess Plateau	LIU Yang, HUANG Yi-mei, ZENG Quan-chao (3931)
Effects of Phenol on Activity and Microfauna Community Structure of Activated Sludge	HU Xiao-bing, RAO Qiang, TANG Su-lan, <i>et al.</i> (3939)
Comparative Investigation of Antibiotic Resistance Genes Between Wastewater and Landfill Leachate	HUANG Fu-yi, LI Hu, AN Xin-li, <i>et al.</i> (3949)
Performance and Influencing Factors of Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium Process by the Strain <i>Desulfonitrospira</i> sp. CMX	XIE Bing-ke, ZHANG Yu, WANG Xiao-wei, <i>et al.</i> (3955)
Effect of Straw Incorporation and Domestic Sewage Irrigation on Ammonia Volatilization from Paddy Fields	XU Shan-shan, HOU Peng-fu, FAN Li-hui, <i>et al.</i> (3963)
Seasonal Effect of Simulated Nitrogen Deposition on Soil Respiration and Soil Enzyme Activity in Masson Pine Forest in Mt. Jinyun, Chongqing, China	ZENG Qing-ping, HE Bing-hui, LI Yuan, <i>et al.</i> (3971)
Effects of Biochar Amendment and Irrigation on Denitrification Losses in Greenhouse Tomato Fields	ZHANG Wen-juan, SHE Dong-li, Gamareldawla H. D. Agbna, <i>et al.</i> (3979)
Effects of Soil Texture on Autotrophic CO ₂ Fixation Bacterial Communities and Their CO ₂ Assimilation Contents	WANG Qun-yan, WU Xiao-hong, ZHU Zhen-ke, <i>et al.</i> (3987)
Simulation of the Absorption, Migration and Accumulation Process of Heavy Metal Elements in Soil-crop System	SHI Ya-xing, WU Shao-hua, ZHOU Sheng-lu, <i>et al.</i> (3996)
Synergetic Control of Bioavailability of Pb, Cd and As in the Rice Paddy System by Combined Amendments	WANG Ying-jie, ZOU Jia-ling, YANG Wen-tao, <i>et al.</i> (4004)
Effects of Different Organic Materials on Bio-availability of Cd, Pb in a Contaminated Greenhouse Soil	ZHOU Gui-yu, JIANG Hui-min, YANG Jun-cheng, <i>et al.</i> (4011)
Effect of Montmorillonite on Fractions and Availability of Phosphorus in Soils Applied with Organic Fertilizer	SONG Xian-wei, ZHAO Xiu-lan, ZHANG Jin-zhong, <i>et al.</i> (4020)
Effect of Nano Zeolite on Chemical Fractions of Cd in Soil and Uptake by Chinese Cabbage at Different Soil pH and Cadmium Levels	QIN Yu-li, XIONG Shi-juan, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (4030)
Characterization of Cr Tolerance and Accumulation in <i>Lolium perenne</i> L. and <i>Pharbitis purpurea</i> (L.) Voigt	DONG Bing-bing, CHEN Yu-yuan, HUI Hong-xia, <i>et al.</i> (4044)
<i>In vitro</i> Metabolism of Volatile Methyl Siloxanes	LI Min-dan, ZHENG Guo-mao, WAN Yi, <i>et al.</i> (4054)
Efficiency of Aerobic Co-composting of Urban Sludge and Chinese Medicinal Herbal Residues	SU Cheng-yuan, ZHENG Peng, RUAN Qi-hua, <i>et al.</i> (4062)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 赵进才

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
赵进才 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)

2016年10月15日 第37卷 第10期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 37 No. 10 Oct. 15, 2016

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	赵进才	Editor-in -Chief		ZHAO Jin-cai
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	中国国际图书贸易集团有限公司 (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