

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第1期

Vol.38 No.1

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

南京北郊冬季挥发性有机物来源解析及苯系物健康评估	张玉欣, 安俊琳, 林旭, 王俊秀, 师远哲, 刘静达 (1)
南京冬季重污染过程中黑碳气溶胶的混合态及粒径分布	蒋磊, 汤莉莉, 潘良宝, 刘丹彤, 花艳, 张运江, 周宏仓, 崔玉航 (13)
基于 GAM 模型分析影响因素交互作用对 PM _{2.5} 浓度变化的影响	贺祥, 林振山 (22)
模拟烹饪油烟的粒径分布与扩散	李双德, 徐俊波, 莫胜鹏, 李文辉, 高佳佳, 曹亚裙, 陈运法 (33)
基于光谱分析仪的通量-梯度法测量小型池塘水-气界面温室气体交换通量	赵佳玉, 张弥, 肖薇, 王伟, 吴红艳, 张圳, 肖启涛, 胡诚, 于洲, 曹正达, 徐敬争, 刘寿东, 李旭辉 (41)
闽江口短叶茳茅 + 芦苇沼泽湿地大、小潮日土壤间隙水溶解性 CH ₄ 与 CO ₂ 浓度日动态	谭立山, 杨平, 何露露, 黄佳芳, 胡智强, 全川 (52)
河南鸡冠洞 CO ₂ 季节和昼夜变化特征及影响因子比较	张萍, 杨琰, 孙喆, 梁沙, 张娜, 田宁, 李建仓, 凌新有, 张志钦 (60)
蠡湖表层沉积物荧光溶解性有机质 (FDOM) 荧光光谱特征	陈俊伊, 王书航, 姜霞, 黄晓峰, 赵丽 (70)
滇池沉积物有机质沉积特征与来源解析	韩秀秀, 黄晓虎, 余丽燕, 杨浩, 黄昌春, 黄涛, 余艳红, 罗玉 (78)
紫色土小流域浅层井水中胶体颗粒的季节变化	张维, 唐翔宇, 鲜青松 (87)
太湖湖滨带春季悬浮物沉降特征与水体营养盐响应	祁闯, 王国祥, 吴馨婷, 许晓光, 韩睿明, 吴松峻 (95)
基于 LDI 的土地利用类型与湿地水质的相关性: 以苏州太湖三山岛国家湿地公园为例	杨朝辉, 苏群, 陈志辉, 白俊武, 钱新强, 张志敏 (104)
基于分位数回归的洱海藻类对氮、磷及水温的响应特征	陈小华, 李小平, 钱晓雍, 胡双庆 (113)
深水型水库藻形态功能组 (MBFG) 的季节演替特征	杨毓, 卢金锁, 张颖 (121)
三峡库区水体中可溶性 C、N 变化及影响因素	范志伟, 郝庆菊, 黄哲, 柴雪思, 江长胜 (129)
三峡库区古夫河小流域氮磷排放特征	华玲玲, 李文超, 翟丽梅, 崔超, 刘宏斌, 任天志, 张富林, 雷秋良 (138)
黄土高原坝系流域干湿季交替下氮输出特征及其源解析: 以羊圈沟为例	贾珺杰, 高扬, 陈维梁, 郝卓, 汪亚峰, 陈利顶 (147)
5 种沉水植物的氮、磷吸收和水质净化能力比较	金树权, 周金波, 包薇红, 陈君, 李丹丹, 李洋 (156)
骆马湖表层水体中 32 种 PPCPs 类物质的污染水平、分布特征及风险评估	张芹, 张圣虎, 汪贞, 郭敏, 刘济宁, 石利利, 古文 (162)
大冶湖表层沉积物-水中多环芳烃的分布、来源及风险评价	张家泉, 胡天鹏, 邢新丽, 郑煌, 张丽, 占长林, 刘红霞, 肖文胜, 祁士华 (170)
pH 和络合剂对五价锑在水钠锰矿和水铁矿表面吸附行为的影响	王华伟, 李晓月, 李卫华, 孙英杰 (180)
紫外辐射对高岭土混凝过程的影响机制	王文东, 王昌鑫, 刘荟, 韩雨 (188)
水环境中溶解态腐殖酸对锌抗甲状腺激素干扰效应的影响	艾扬, 孔东东, 于畅, 沈扬, 李剑 (195)
污水中常见违禁药物分析方法优化及验证	高婷婷, 杜鹏, 徐泽琼, 杨军, 张华方, 李喜青 (201)
阴极电场增强活性炭纤维-臭氧体系去除水中硝基苯	赵纯, 张帅, 周宇, 李琨, 周炜, 黎鹏宇, 杨广, 孙志华, 郑怀礼 (212)
碳纳米管改性 PVDF 中空纤维超滤膜处理二级出水抗污染性能研究	王利颖, 石洁, 王凯伦, 关羽琪, 郭瑾 (220)
曝气生物滤池 (Fe ²⁺) - 臭氧组合工艺强化处理石化二级出水	徐敏, 吴昌永, 周岳溪, 郭明昆, 王翼 (229)
4 种反应器中厌氧氨氧化菌完整梯烷脂的特异性	王晗, 方芳, 李凯, 邢晖, 郭劲松, 陈猷鹏, 曾前松 (238)
疏自养填充床反应器降解水中高浓度高氯酸盐的特性及菌群分析	张超, 陶华强, 宋圆圆, 逯彩彩, 郭延凯, 廉静, 郭建博 (247)
CANON 在 SBAF 中的快速启动及其微生物特征	刘竹寒, 岳秀, 于广平, 金腊华, 唐嘉丽, 吉世明 (253)
高浓度游离氨冲击负荷对生物硝化的影响机制	季民, 刘灵婕, 翟洪艳, 刘京, 苏晓 (260)
有机物对亚硝化颗粒污泥中功能菌活性的影响	王书永, 钱飞跃, 王建芳, 沈耀良 (269)
一种新型生物膜法除磷工艺中聚磷菌的富集培养过程	郑莹, 潘杨, 周晓华, 廖炬弘, 孟璇, 夏健伟 (276)
应用于矿山修复的高效菌株鉴定与溶岩机制: 基于增强回归树分析	吴雁雯, 张金池, 郭晓平, 刘鑫 (283)
镉对铜绿假单胞菌降解水体中壬基酚的影响	史广宇, 程媛媛, 施维林 (294)
华北平原不同农田管理措施对于土壤碳库的影响	石小霞, 赵诣, 张琳, 吴文良, 孟凡乔 (301)
缙云山柑橘林土壤微生物磷脂脂肪酸 (PLFAs) 及酶活性的季节变化特征	李南洁, 曾清苹, 何丙辉, 周飞 (309)
中条山十八河铜尾矿库微生物群落组成与环境适应性	刘晋仙, 李鑫, 景炬辉, 贾彤, 刘兴港, 王小云, 柴宝峰 (318)
安徽省部分城市土壤中全氯化物空间分布及来源解析	李法松, 倪卉, 黄涵宇, 徐志兵, 张倩, 李长霞, 黄文秀, 金陶胜 (327)
不同温度制备的生物质炭对土壤有机碳及其组分的影响: 对土壤活性有机碳的影响	赵世翔, 于小玲, 李忠徽, 杨艳, 刘丹, 王旭东, 张阿凤 (333)
水分管理模式与土壤 Eh 值对水稻 Cd 迁移与累积的影响	田桃, 曾敏, 周航, 徐珺, 杨文强, 辜娇峰, 邹佳玲, 张平, 彭佩钦, 廖柏寒 (343)
砒、镉单一及复合污染胁迫下土壤生态功能稳定性的影响机制	陈欣瑶, 杨惠子, 李敏, 牛晓丛, 苏雨轩, 张园 (352)
生物炭、蒙脱石及其混合添加对复合污染土壤中重金属形态的影响	高瑞丽, 唐茂, 付庆灵, 郭光光, 李晚, 胡红青 (361)
某电镀厂六价铬污染土壤还原稳定化试剂筛选与过程监测	李培中, 吕晓健, 王海见, 杨苏才, 魏文侠, 宋云 (368)
多孔 SBA-15 颗粒对 Cd(II) 的吸附缝合及其对土壤 Cd(II) 的修复潜力	黄辉, 宁西翠, 郭瞻宇, 郭堤, 张增强, 李荣华, 王力, Ali Amjad (374)
卤系阻燃剂在东江鱼体中的生物富集	何明靖, 杨婷, 李琦, 王登祥, 赵佳渊 (382)
广州市蔬菜中重金属污染特征研究与评价	陈志良, 黄玲, 周存宇, 钟松雄, 王欣, 戴玉, 蒋晓璐 (389)
蔬菜镉 (Cd) 富集因子变化特征及其影响因素	杨阳, 李艳玲, 陈卫平, 王美娥, 彭驰 (399)
施用污泥堆肥品对土壤和植物总汞及甲基汞的影响	余亚伟, 杨雨洽, 张成, 易建婷, 安思危, 王定勇 (405)
大气臭氧污染对冬小麦气孔吸收通量的影响机制及其时空格局	赵辉, 郑有飞, 曹嘉晨, 徐静馨, 黄积庆, 袁月 (412)
《环境科学》征稿简则 (12)	《环境科学》征订启事 (194)
信息 (21, 51)	

4 种反应器中厌氧氨氧化菌完整梯烷脂的特异性

王晗¹, 方芳^{1*}, 李凯¹, 邢晖¹, 郭劲松^{1,2}, 陈猷鹏², 曾前松¹

(1. 重庆大学城市建设与环境工程学院, 重庆 400045; 2. 中国科学院重庆绿色智能技术研究院, 重庆 400714)

摘要: 完整梯烷脂是存在于厌氧氨氧化菌的厌氧氨氧化体膜上的一类特殊磷脂。分别从厌氧 EGSB 反应器、好氧 SBR 反应器、自养脱氮 SBBR 反应器、以及厌氧氨氧化 EGSB 反应器中提取了污泥样品中的磷脂混合物, 利用高效液相色谱-电喷雾串联三重四级杆质谱法检测了污泥磷脂提取物中完整梯烷脂的种类, 分析了完整梯烷脂的特异性, 同时利用高通量测序技术测定了自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥中微生物的群落结构。完整梯烷脂的分析结果表明厌氧 EGSB 反应器和好氧 SBR 反应器的污泥磷脂提取物中未检测到完整梯烷脂, 而自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器的污泥磷脂提取物中检测到了完整梯烷脂。自养脱氮 SBBR 反应器的污泥磷脂提取物中检测到了 5 种完整梯烷脂, 厌氧氨氧化 EGSB 反应器的污泥磷脂提取物中检测到了 7 种完整梯烷脂。高通量测序结果证实自养脱氮 SBBR 反应器含有 *Candidatus Brocadia* 属与 *Candidatus Jettenia* 属 AnAOB, 厌氧氨氧化 EGSB 反应器含有 *Candidatus Kuenenia* 属与 *Candidatus Jettenia* 属 AnAOB。结果说明完整梯烷脂为厌氧氨氧化菌所特有的磷脂物质。

关键词: 厌氧氨氧化菌; 完整梯烷脂; 磷脂; 高通量测序; 反应器

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)01-0238-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201607221

Specificity of Intact Ladderane Lipids in Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria from Four Reactors

WANG Han¹, FANG Fang^{1*}, LI Kai¹, XING Hui¹, GUO Jin-song^{1,2}, CHEN You-peng², ZENG Qian-song¹

(1. College of Urban Construction and Environmental Engineering, Chongqing University, Chongqing 400045, China; 2. Chongqing Institute of Green and Intelligent Technology, Chinese Academy of Sciences, Chongqing 400714, China)

Abstract: Intact ladderane lipids are a special kind of phospholipids in the anammoxosome membrane of AnAOB. Phospholipid organic mixture was extracted respectively from four sludge samples in anaerobic EGSB reactor, aerobic SBR reactor, autotrophic nitrogen removal SBBR reactor and anaerobic ammonium oxidation EGSB reactor. Phospholipid extracts of sludge were detected by the HPLC-ESI-MS/MS method to determine the types of intact ladderane lipids, and the specificity of intact ladderane lipids was also analyzed, at the same time, the bacterial community structure of autotrophic nitrogen removal SBBR reactor and anaerobic ammonium oxidation EGSB reactor was determined by high-throughput sequencing technology. Analytical results of intact ladderane lipids showed that intact ladderane lipids were not detected from anaerobic EGSB reactor and aerobic SBR reactor, and were detected from autotrophic nitrogen removal SBBR reactor and anaerobic ammonium oxidation EGSB reactor. Five kinds of intact ladderane lipids were detected in the phospholipid extract of sludge from autotrophic nitrogen removal SBBR reactor, and seven kinds of intact ladderane lipids were detected in the phospholipid extract of sludge from anaerobic ammonium oxidation EGSB reactor. The results of high-throughput sequencing confirmed that the autotrophic nitrogen SBBR reactor contained AnAOB of the genera *Candidatus Brocadia* and *Candidatus Jettenia*, and the anaerobic ammonium oxidation EGSB reactor contained AnAOB of the genera *Candidatus Kuenenia* and *Candidatus Jettenia*. These results illustrated that intact ladderane lipids were the peculiar phospholipids in AnAOB.

Key words: AnAOB; intact ladderane lipids; phospholipid; high-throughput sequencing; reactor

厌氧氨氧化工艺是近年来环境领域的一个研究热点, 但厌氧氨氧化菌 (anaerobic ammonium oxidizing bacteria, AnAOB) 尚未能纯培养阻碍了相关研究的深入。近年来, 传统研究方法与新技术的结合使研究的深入成为可能, 如稳定同位素^[1, 2]、荧光原位杂交^[3~5]、定量 PCR^[6, 7]、液质/气质联用^[8, 9]等技术, 其中液质/气质联用技术引起了新的关注。

2002 年, Damsté 等^[8]首次利用液质/气质联用技术分析了 AnAOB 中厌氧氨氧化体的膜脂结构,

发现并命名了一类在分子结构上存在楼梯状 (3~5 个线性连接的环丁烷) 结构的脂质分子, 称为梯烷脂 (ladderane lipids)。他们进一步通过小分子荧光渗透实验以及分子模拟手段, 指出该脂类赋予了厌氧氨氧化体膜极高的致密性, 使其能够有效防止厌氧氨氧化反应的有毒中间产物——肼的扩散, 保护

收稿日期: 2016-07-29; 修订日期: 2016-08-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51278509, 51578527)

作者简介: 王晗 (1986~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境生物技术, E-mail: wanghan2202@163.com

* 通信作者, E-mail: fang_cqu@126.com

细胞的其它部分免受危害。

梯烷脂由含“梯烷结构”的烷烃支链与甘油分子结合而成,甘油分子骨架有 3 个连接位点,分别称为 sn-1、sn-2、sn-3;其中 sn-1 和 sn-2 位点连接烷烃支链,sn-3 位可与一个磷酸类极性首基结合;若 sn-3 位失去极性首基,则被称为核心梯烷脂,含有极性首基则被称为完整梯烷脂^[10]。根据首基的不同,完整梯烷脂的极性首基又包括三大类,磷酸胆碱 (phosphocholine, PC), 磷酸乙醇胺 (phosphoethanolamine, PE) 和 磷酸甘油 (phosphoglycerol, PG)^[10, 11]。梯烷脂的发现为 AnAOB 的检测提供了新的思路^[9]。有研究表明^[11~16],完整梯烷脂仅存在于存活的厌氧氨氧化菌中,AnAOB 菌死亡后会迅速分解为核心梯烷脂,完整梯烷脂对存活的 AnAOB 生物量具有表征意义,因此对完整梯烷脂的检测可作为存活 AnAOB 的检测手段。

厌氧氨氧化工艺在生物脱氮领域的应用前景广阔,而对于厌氧氨氧化工艺反应器中 AnAOB 完整梯烷脂的研究则少见报道,反应器污泥中能否检测到完整梯烷脂,是否具有特异性等问题还有待进一步研究。因此,根据常见反应器的类型(好氧、厌氧)和微生物存在形态(活性污泥、颗粒污泥、生物膜污泥)以及厌氧氨氧化的可能发生条件,本研究选取了厌氧 EGSB 反应器、好氧 SBR 反应器、自养脱氮 SBBR 反应器、厌氧氨氧化 EGSB 反应器这 4 种常见反应器,提取污泥中磷脂混合物,检测污泥磷脂提取物是否含有完整梯烷脂,并分析其特异性,并通过高通量测序技术对相关反应器污泥进行了微生物群落的测定。三大类(PC、PE、PG)完整梯烷脂的检测方法各不相同,目前磷酸胆碱型(PC)完整梯烷脂的提取与检测方法相对完善,且其相对含量最高^[11],因此本文以 PC 型完整梯烷脂为检测对象进行研究,以期在反应器中开展 AnAOB 完整梯烷脂的相关研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试剂

正己烷、异丙醇、甲醇、二氯甲烷均为色谱纯,购买于 Fisher 公司;氨水($14.8 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)为色谱纯,购买于天津市科密欧化学试剂有限公司;甲酸为质谱纯,购买于 Sigma-Aldrich 公司;磷酸盐缓冲液(500mL 成品,无菌),购买于北京索莱宝科技有

限公司;DNA 提取试剂盒,购买于 OMEGA 公司。

1.1.2 仪器

高效液相色谱仪(Agilent 1200),三重四级杆质谱仪(Agilent 6410),冷冻干燥机(博医康 FD-1-50),超声波细胞粉碎机(新芝 SCIENTZ II D),高速冷冻离心机(天美 CT15RT),氮吹仪(艾普 MD 200-1),FastPrep-1 便携式匀浆器(MP Biomedicals),Quickchem 8500 S2 流动注射分析系统(哈希),DRB200 消解器(哈希),手持式水质多参数仪(YSI ProDSS)。

1.2 样品采集

1.2.1 水质样品

每隔 2d 分别取厌氧 EGSB 反应器、好氧 SBR 反应器、自养脱氮 SBBR 反应器及厌氧氨氧化 EGSB 反应器的进出水样品,分别测定其中 TN、 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 、COD 等指标,连续监测一个月。

1.2.2 污泥样品

分别从 4 种反应器中取湿污泥约 5 g 于 50 mL 玻璃离心管中,以 $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速离心,去上清液后置于冷冻干燥机中干燥 16~24h,备用。

1.3 样品提取

1.3.1 污泥样品总 DNA 的提取

取冷冻干燥后的自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥样品 0.2 g,用 FastPrep-1 便携式匀浆器进行充分分散,分散后的污泥样品用 Soil DNA Extract Kit(OMEGA)试剂盒提取污泥总 DNA,用于微生物群落的测定。

1.3.2 污泥样品中磷脂混合物的提取

污泥样品中磷脂混合物的提取参考文献[17~23]的报道,主要包括超声、离心、分液、氮吹这 4 个步骤,并在实际提取过程中对部分步骤进行了改进。①向冷冻干燥后的污泥样品中依次加入 10 mL 甲醇、5 mL 二氯甲烷和 4 mL 磷酸盐缓冲液,使三者比例为 2:1:0.8(体积比),用超声波细胞粉碎机进行冰浴超声破碎 15min。②再加入 5 mL 二氯甲烷和 5 mL 磷酸盐缓冲液,使甲醇、二氯甲烷、磷酸盐缓冲液比例为 1:1:0.9(体积比),以 $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10min。③将离心管中的液相转移至分液漏斗中,静置分液。按①~③的步骤重复操作 5 次,将分液漏斗中的有机相液体收集于玻璃试管中。④将玻璃试管于氮吹仪中浓缩,浓缩后溶解于 1 mL 正己烷与异丙醇比例为 4:1(体积比)的有机溶剂,用 $0.45 \mu\text{m}$ 有机滤膜过滤,置于 -80°C 冰箱中备用,用于 PC 型完整梯烷脂的测定。

1.4 分析测定

1.4.1 水质指标测定

采用 Quickchem 8500 S2 流动注射分析系统测定反应器水样的 TN 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 等指标; 采用 DRB200 消解器与分光光度法测定反应器水样的 COD; 采用手持式水质多参数仪测定各反应器中的 DO、pH、温度等指标。

1.4.2 微生物群落测定

委托上海美吉生物医药科技公司对所提取污泥总 DNA 进行测定。利用 Illumina 测序平台 MiSeq PE250 测序仪, 以细菌 338F/806R 作为通用引物, 测定自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器中污泥样品的微生物群落信息。

1.4.3 污泥磷脂提取物中 PC 型完整梯烷脂的测定

污泥磷脂提取物中 PC 型完整梯烷脂的检测方法参考文献[10, 11, 18, 19, 24]的报道, 并在实际测定过程中进行了一定改动。采用高效液相色谱-电喷雾串联三重四级杆质谱 (HPLC-ESI-MS/MS) 进行测定, 所用色谱柱为二醇基色谱柱 (岛津技迹, 5020-05616) ($250\text{mm} \times 2.1\text{mm}, 5\mu\text{m}$), 设置柱温为 30°C , 进样量为 $20\mu\text{L}$ 。采用两种组合溶剂构成的流动相进行梯度洗脱, 其中 A 组合为: 正己烷/异丙醇/甲酸/ $14.8\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氨水 (79: 20: 0.12: 0.04, 体积比), B 组合为: 异丙醇/超纯水/甲酸/ $14.8\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氨水 (88: 10: 0.12: 0.04, 体积比), 流动相流速为 $0.25\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。梯度洗脱方案为: 首先用 100%

A 组合运行 45 min; 然后更改为 35% A 组合 + 65% B 组合运行, 持续 20 min; 最后再恢复为 100% A 组合用以重新平衡色谱柱, 持续 20 min。质谱离子源为电喷雾电离源, 选定分子量为 184 的磷酸胆碱作为母离子, 采用正向母离子扫描模式, 质荷比 (m/z) 检测范围为 100 ~ 1 000。该模式下检测分子均被施加一个正电荷, 故质荷比即相对分子质量。碰撞气体为 N_2 , 碰撞能量为 35 V, 气体温度为 300°C 。

测试后, 采用 Agilent Mass Hunter Workstations 数据处理系统从总离子流色谱图中调取基于 m/z 为 184 母离子扫描的质量色谱图, 再调取质量色谱图中每个色谱峰对应的质谱图。对质谱图上检测到的每种物质进行质荷比 (m/z) 比对并明确每种物质相对分子质量, 与已报道的 PC 型完整梯烷脂进行比对, 相对分子质量一致即可判定。

1.5 数据处理

采用 Agilent Mass Hunter Workstations (B.03.01) 数据处理系统, Microsoft Office Excel (2013), Microsoft Office Word (2013) 等软件处理数据。

2 结果与分析

2.1 反应器状况

各反应器运行状况如表 1 所示。其中各项水质指标均为反应器运行稳定后, 连续 1 个月内监测值的均值。从中可知, 虽然 4 种反应器的功能和定位均不相同, 但运行性能良好。

表 1 各反应器状况¹⁾
Table 1 Status of each reactor

项目		厌氧 EGSB 反应器	好氧 SBR 反应器	自养脱氮 SBBR 反应器	厌氧氨氧化 EGSB 反应器
参数	溶解氧/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	≤ 0.1	4.0	0.2 ~ 2.0	≤ 0.05
	水力停留时间/h	2.5	12.0	24.0	6.0
	污泥龄/d	—	20	—	—
	pH	6.8 ~ 7.5	7.0 ~ 7.5	8.0 ± 0.2	7.5 ~ 8.0
	温度/ $^{\circ}\text{C}$	20 ± 1.0	25 ± 1.0	30 ± 2.0	33 ± 1.0
	上升流速/ $\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$	5.0	—	—	4.4
水质	进水 COD/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	350 ~ 450	350 ~ 400	< 20	< 20
	出水 COD/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	< 40	< 50	< 20	< 20
	进水氨氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	30 ± 5	—	200 ± 5	200 ± 5
	出水氨氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	—	—	< 20	< 15
	进水亚硝氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	—	—	< 5	200 ± 5
	出水亚硝氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	—	—	< 15	< 10
	进水总氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	30 ± 5	45 ~ 50	200 ± 5	400 ± 10
	出水总氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	—	< 15	< 35	< 30
运行效果	COD 去除率/%	89.0 ~ 93.6	78.9 ~ 92.1	—	—
	氨氮去除率/%	—	—	> 90.0	> 90.0
	亚硝氮去除率/%	—	—	—	> 95.0
	总氮去除率/%	—	—	> 80.0	> 80.0

1) “—”表示该项目未考察或未涉及

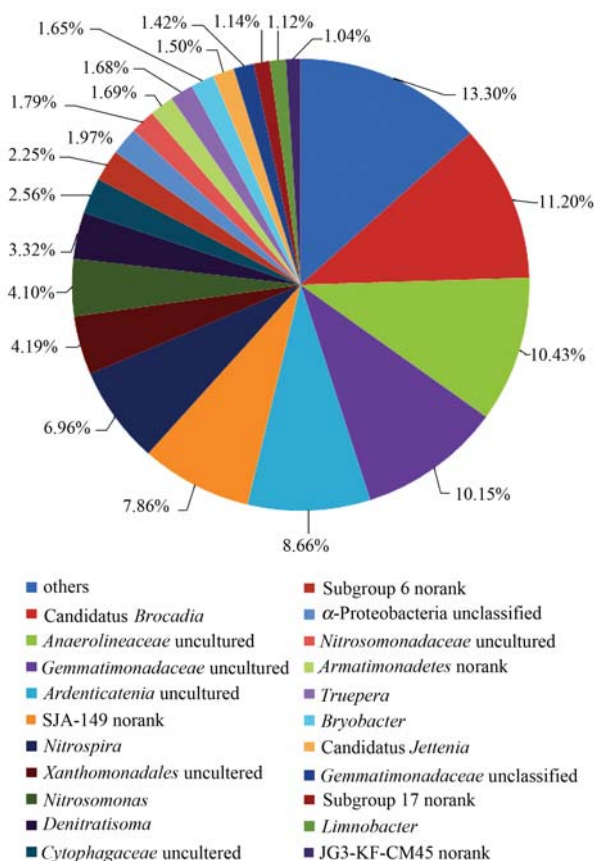
厌氧 EGSB 反应器用于探索常温下处理低浓度有机废水的可行性,其作用是去除废水中的 COD,表 1 显示反应器对 COD 去除率高达 89.0% ~ 93.6%;该反应器进水仅存在低浓度氨氮,反应器内部很难具有 AnAOB 存在的条件,因此该反应器中不含有 AnAOB. 好氧 SBR 反应器作用也是去除废水中的 COD,对 COD 去除率达到 78.9% ~ 92.1%,其溶解氧水平处于 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右,此浓度下 AnAOB 很难生存,因此该反应器中也不含有 AnAOB. 自养脱氮 SBBR 反应器作用是去除废水中的氨氮,在 DO 为 $0.2 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的限氧条件下运行. 该反应器初始氮素为氨氮(约 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),氨氮和总氮去除率分别大于 90.0% 和 80.0%,且运行效果良好,氮素去除主要包括氨氧化和厌氧氨氧化两个过程,因此该反应器中存在 AnAOB. 厌氧氨氧化 EGSB 反应器的作用是通过厌氧氨氧化作用去除废水中的氨氮和亚硝氮,反应器厌氧环境赋予了 AnAOB 良好的生存条件,且较高的上升流速也利于颗粒污泥的形成与稳定;该反应器的初始氮源为氨氮和亚硝氮两种,出水氨氮和亚硝氮水平均较低,氨氮和亚硝氮去除率分别大于 90.0% 和 95.0%,说明反应器脱氮性能优异,所以该反应器中存在 AnAOB.

2.2 微生物群落结构

根据 2.1 节的分析,推测自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器中存在 AnAOB,故对两反应器中污泥的微生物群落结构进行了测定,图 1 和图 2 分别为属水平上两反应器污泥微生物的群落结构.

由图 1 和图 2 可知,自养脱氮 SBBR 反应器和 EGSB 反应器中均检测到了 AnAOB,其中自养脱氮 SBBR 反应器中检测到了 *Candidatus Brocadia* 属与 *Candidatus Jettenia* 属,厌氧氨氧化 EGSB 反应器中检测到了 *Candidatus Jettenia* 属和 *Candidatus Kuenenia* 属.

自养脱氮 SBBR 反应器污泥中鉴定出了 21 个相对丰度 >1% 的属,如图 1 所示. 其中跟氮素转化的主要有厌氧氨氧化微生物、硝化作用微生物、亚硝化作用微生物. 厌氧氨氧化微生物为 AnAOB,包括 *Candidatus Brocadia* 属与 *Candidatus Jettenia* 属,*Candidatus Brocadia* 属相对丰度较高,达到了 11.2%,为 AnAOB 的优势属. 硝化作用微生物主要是硝化螺旋菌属(*Nitrospira*),其相对丰度达到了 7.9%. 亚硝化作用的微生物主要是变形菌门的



将丰度低于 1% 种属及未鉴定出的种属合计为 others,下同

图 1 属水平自养脱氮 SBBR 反应器微生物群落结构

Fig. 1 Bacterial community structure of autotrophic nitrogen removal SBBR reactor on genus level

亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)和亚硝化单胞菌科不可纯培养属(*Nitrosomonadaceae uncultured*),二者相对丰度分别达到了 4.1% 和 1.8%。此外,反应器中还存在一些归属于绿弯菌门、芽单胞菌门、拟杆菌门、酸杆菌门等菌门的微生物种属,多常见于污水生物处理系统及土壤生态系统中,大部分种属的功能并不明确,其中归属于绿弯菌门的微生物功能较明确,主要具有污泥消化及微生物残体降解的功能^[25].

厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥中鉴定出的种属种类较少,如图 2 所示. AnAOB 包括 *Candidatus Kuenenia* 属与 *Candidatus Jettenia*,其中 *Candidatus Jettenia* 属相对丰度较高,高达 55.8%,为 AnAOB 的优势属. 变形菌门的 γ -Proteobacteria unclassified 的相对丰度为 7.2%,该属多涉及氨氧化作用,说明厌氧氨氧化 EGSB 反应器进水中存在微量溶解氧. 反应器中不可避免地存在死亡微生物,属于绿弯菌门的不可培养厌氧绳菌属(*Anaerolineaceae uncultured*)的相对丰度为 8.26%,而该属多与细胞残体降解相

关^[26],可能承担此功能. SM1A02 属和 *Phycisphaeracea* unclassified 属与 AnAOB 同属于浮霉状菌门,二者是否具有厌氧氨氧化活性还有待研究.

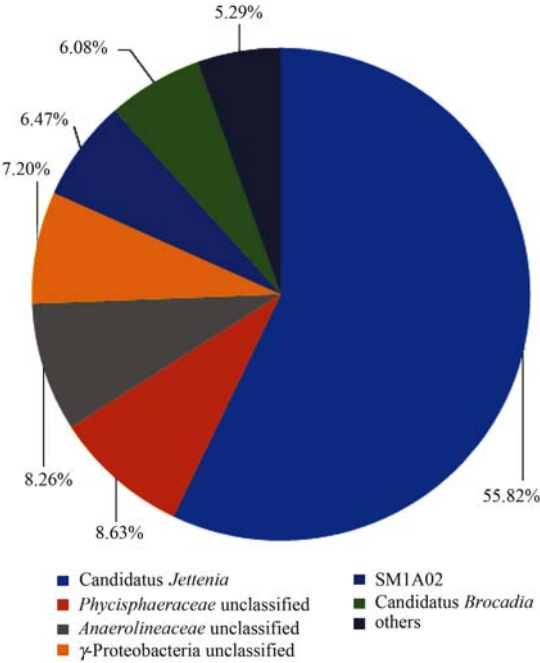


图2 属水平厌氧氨氧化 EGSB 反应器微生物群落结构
Fig. 2 Bacterial community structure of anaerobic ammonium oxidation EGSB reactor on genus level

2.3 污泥磷脂提取物中 PC 型完整梯烷脂分析

2.3.1 液相色谱分析

由于污泥磷脂提取物成分复杂,因此用液相色谱仪对提取物进行了初分离,所采用的二醇基色谱柱和优化后的流动相,可较好地实现对极性

量差异较小的几种 PC 型完整梯烷脂的分离.

图3 为各反应器污泥磷脂提取物基于 m/z 184 母离子扫描的质量色谱图.

由图3可知,厌氧 EGSB 反应器 and 好氧 SBR 反应器以及自养脱氮 SBBR 反应器污泥磷脂提取物的质量色谱图中有 2~3 个色谱峰,且出峰时间基本一致且峰形类似. 厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物的质量色谱图中有 4 个色谱峰,且整体出峰时间较前 3 种反应器均提前,表明厌氧氨氧化 EGSB 反应器磷脂提取物与前 3 种反应器污泥磷脂提取物组分差异较大.

2.3.2 质谱分析

PC 型完整梯烷脂种类较多^[10, 11],且一些完整梯烷脂分子量和极性差异极小,通过高效液相色谱仪不能把每种完整梯烷脂完全分离,质量色谱图中单个色谱峰也仅代表一些分子量和极性接近的物质,并不代表单种物质,需要进一步分析对应的质谱图.

(1) 厌氧 EGSB 反应器污泥

图4 为厌氧 EGSB 反应器污泥磷脂提取物的质量色谱峰对应的质谱图,其中(a)、(b)分别对应图3(a)中的色谱峰 A、峰 B.

由图4可知,厌氧 EGSB 反应器污泥磷脂提取物质量色谱峰 A 中丰度最高的是 m/z 为 787 的物质, m/z 为 722 和 760 的物质丰度次之,另外还含有低丰度的 m/z 为 708、736 和 748 的物质,峰 B 中主要含有 m/z 为 523 的物质. 与已报道文献[10, 11]的比对可知,峰 A、峰 B 中所含物质均非 PC 型完整梯烷脂.

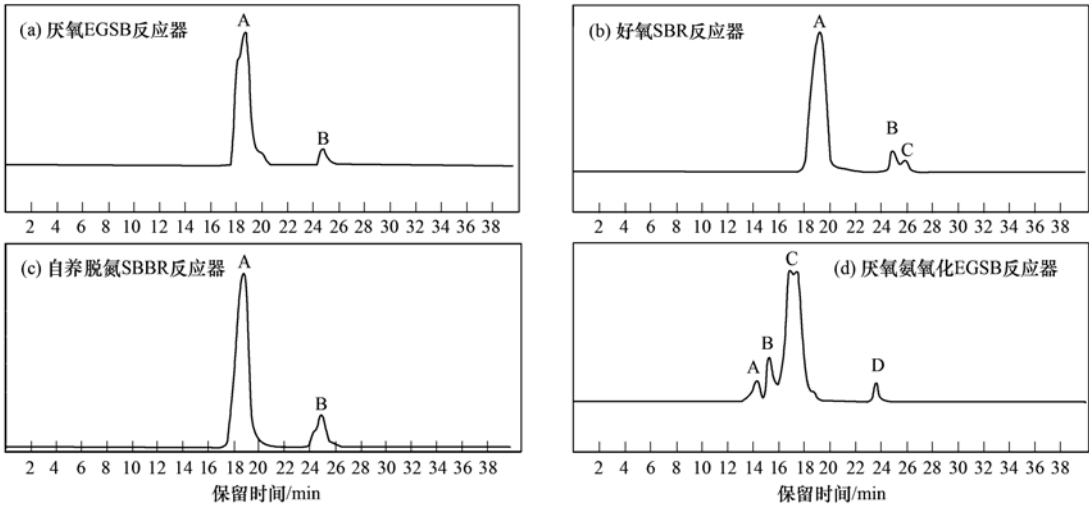


图3 各反应器污泥磷脂提取物基于质荷比 184 母离子扫描的质量色谱图

Fig. 3 Mass chromatogram of phospholipid extract from sludge in each reactor based on m/z 184 precursor ion scan

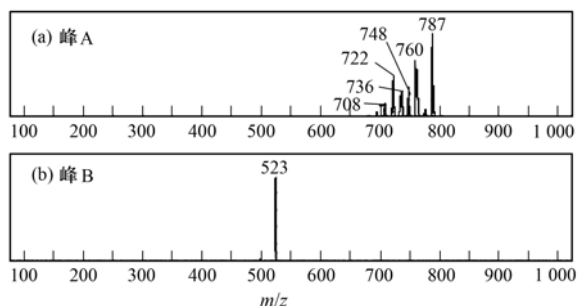


图 4 厌氧 EGSB 反应器污泥磷脂提取物质量色谱峰对应的质谱图

Fig. 4 Mass spectra corresponding to the peaks of mass chromatogram in phospholipid extract of anaerobic EGSB reactor

(2) 好氧 SBR 反应器活性污泥

图 5 为好氧 SBR 反应器污泥磷脂提取物的质量色谱峰对应的质谱图, 其中 (a)、(b)、(c) 分别对应图 3(b) 中的色谱峰 A、峰 B、峰 C。

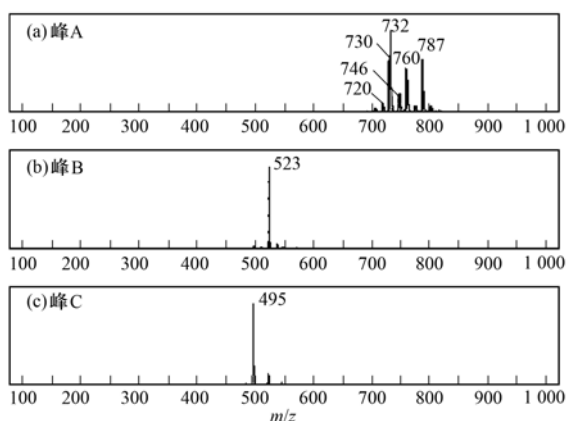


图 5 好氧 SBR 反应器污泥磷脂提取物质量色谱峰对应的质谱图

Fig. 5 Mass spectra corresponding to the peaks of mass chromatogram in phospholipid extract of aerobic SBR reactor

由图 5 可知, 好氧 SBR 反应器污泥磷脂提取物的质量色谱峰 A 中丰度最高的是 m/z 为 732 的物质, m/z 为 730、760 和 787 的物质丰度次之; 此外, 还含有一些低丰度的 m/z 为 720、746 和 762 的物质。峰 B 中丰度最高的是 m/z 为 523 的物质。峰 C 中丰度最高是 m/z 为 495 的物质。与已报道文献 [10, 11] 的比对可知, 色谱峰 A、峰 B、峰 C 中所含物质均不是 PC 型完整梯烷脂。

(3) 自养脱氮 SBBR 反应器生物膜污泥

图 6 为自养脱氮 SBBR 反应器污泥磷脂提取物的质量色谱峰对应的质谱图, 其中 (a)、(b) 分别对应图 3(c) 中的色谱峰 A、峰 B。

由图 6 可知, 自养脱氮 SBBR 反应器污泥磷脂

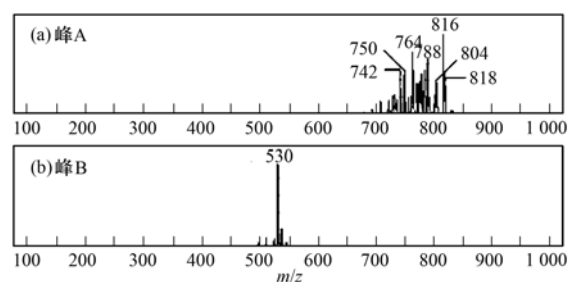


图 6 自养脱氮 SBBR 反应器污泥磷脂提取物质量色谱峰对应的质谱图

Fig. 6 Mass spectra corresponding to the peaks of mass chromatogram in phospholipid extract of autotrophic nitrogen removal SBBR reactor

提取物的质量色谱峰 A 中丰度最高的是 m/z 为 816 的物质, m/z 为 742、750、764、788、804 和 818 的物质丰度也比较高, 另外还含有一些低丰度的 m/z 为 748、778 和 784 的物质。峰 B 中丰度最高的是 m/z 为 530 的物质, 以及少量低丰度的物质。与已报道文献 [10, 11] 的比对可知, 峰 A 中含有 PC 型完整梯烷脂, 主要是 m/z 为 742、816、788 的 3 种。峰 B 中也含有 PC 型完整梯烷脂, 主要是 m/z 为 530 的完整梯烷脂。

(4) 厌氧氨氧化 EGSB 反应器

图 7 为厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物的质量色谱峰对应的质谱图, 其中 (a)、(b)、(c)、(d) 分别对应图 3(d) 中的色谱峰 A、峰 B、峰 C、峰 D。

由图 7 可知, 厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷

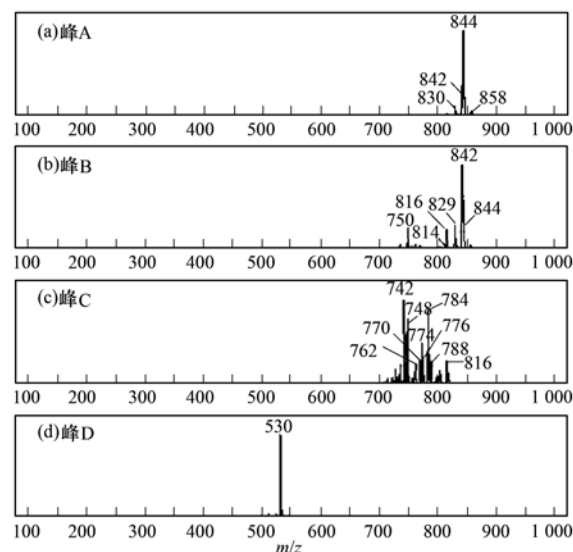


图 7 厌氧氨氧化 EGSB 颗粒污泥提取物质量色谱峰对应的质谱图

Fig. 7 Mass spectra corresponding to the peaks of mass chromatogram in phospholipid extract of anaerobic ammonium oxidation EGSB reactor

脂提取物的质量色谱峰 A 中丰度最高的是 m/z 为 844 的物质,还含有一些低丰度的 m/z 为 830、842 和 858 的物质;峰 B 中丰度最高的是 m/z 为 842 的物质, m/z 为 750、816、829 和 844 的物质丰度次之,另外还有低丰度的 m/z 为 814 的物质;峰 C 中丰度最高是 m/z 为 742、748 和 784 的物质, m/z 为 762、770、774、776、788 和 816 的物质丰度次之;峰 D 中丰度最高的是 m/z 为 530 的物质. 与已报道文献[10, 11]的比对可知,峰 A 中所含物质均不属于完整梯烷脂;峰 B 中含有完整梯烷脂,主要包括

m/z 为 816 和 814 的两种;峰 C 中含有 PC 型完整梯烷脂,主要包括 m/z 为 742、774、788、816 的 4 种;峰 D 中也含有 PC 型完整梯烷脂,主要为 m/z 为 530 的一种.

3 讨论

表 2 为 4 种反应器污泥磷脂提取物中 PC 型完整梯烷脂检测结果汇总表,表 3 为文献[10, 11]中部分 PC 型完整梯烷脂种类与 AnAOB 属的对应关系表.

表 2 4 种反应器污泥磷脂提取物中 PC 型完整梯烷脂检测结果汇总¹⁾

Table 2 Summary of test results of intact ladderane phosphatidylcholine (PC) lipids in sludge extract of four reactor

m/z	厌氧 EGSB 反应器	好氧 SBR 反应器	自养脱氮 SBBR 反应器	厌氧氨氧化 EGSB 反应器
530	-	-	+	+
742	-	-	+	+
774	-	-	-	+
788	-	-	+	+
814	-	-	-	+
816	-	-	+	+

1) “+”代表检测到了该种梯烷脂,“-”代表未检测到

表 3 文献[10,11]中部分 PC 型完整梯烷脂种类与 AnAOB 属的对应关系¹⁾

Table 3 Corresponding relation reported in the literature [10,11] between some kinds of intact ladderane phosphatidylcholine (PC) lipids and genera of AnAOB

PC 型完整梯烷脂种类	m/z	Candidatus <i>Anammoxoglobus</i>	Candidatus <i>Brocadia</i>	Candidatus <i>Kuenenia</i>	Candidatus <i>Scalindua</i>
II	530	*	*	*	— ¹⁾
IVf、IVg	742	*	*	*	*
IVc	774	*	—	*	*
Vc	788	*	*	—	*
Vb	814	*	*	*	*
Va	816	*	*	*	*

1) “*”代表含有该种梯烷脂,“—”代表不含有;IVf、IVg 完整梯烷脂的相对分子质量一致,无法区分两种完整梯烷脂,视为两种

如表 2 所示,自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物中均检测到了若干种完整梯烷脂,而厌氧 EGSB 反应器和好氧 SBR 反应器污泥磷脂提取物中均未检测到完整梯烷脂;该结果与前述对各反应器中是否含有 AnAOB 的分析一致,也表明完整梯烷脂仅存在于 AnAOB 中.

根据文献[10, 11],完整梯烷脂命名按照罗马数字和小写字母组合的方式表示,PC 型完整梯烷脂又可细分为三类,分别用罗马数字 II、IV、V 表示;连接支链共有 17 种,分别用 a~q 表示. 各类区别在于 sn-1 位连接键和连接支链的不同,当 sn-1 位仅连接一个氢时,称为 II 类(仅 1 种),当通过醚键与支链 a~q 连接时称为 IV 类(共 17 种),当通过脂键与支链 a~q 连接时称为 V 类(共 17 种),共计

35 种.

通过表 2 和表 3 对比可知,在自养脱氮 SBBR 反应器污泥磷脂提取物中共检测到 5 种主要完整梯烷脂,分别为 II、IVg、IVf、Va、Vc;厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物中共检测到 7 种主要完整梯烷脂,分别为 II、IVg、IVf、IVc、Va、Vb、Vc;其中,II、IVg、IVf、Va、Vc 这 5 种完整梯烷脂为两反应器污泥磷脂提取物种共有,而 Vb(m/z 814)和 IVc(m/z 774)这 2 种完整梯烷脂则仅在厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物中被检测到.

完整梯烷脂 II 是最简单的一种 PC 型完整梯烷脂,已有报道表明该种完整梯烷脂可以较好地表征反应器中 AnAOB 的存活量^[24]. Jaeschke 等^[17]关于爱尔兰海深层沉积物中厌氧氨氧化的研究表明,PC

型完整梯烷脂 II 的浓度与厌氧氨氧化活性呈正相关,适合作为 AnAOB 的指示物. Brandsma 等^[19]结合 FISH 和 qPCR 手段发现,瑞典 Gullmar 海湾沉积物中完整梯烷脂 II 的相对丰度与 AnAOB 的丰度以及厌氧氨氧化活性呈正相关. 由表 2 及表 3 可知,自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物中均检测到了完整梯烷脂 II.

AnAOB 共有 5 个属,即 *Candidatus Anammoxoglobus*、*Candidatus Brocadia*、*Candidatus Kuenenia*、*Candidatus Scalindua*、*Candidatus Jettenia*, 其中前 4 个属中所含 PC 型完整梯烷脂种类的信息已经报道,而 *Candidatus Jettenia* 属中所含 PC 型完整梯烷脂种类的信息尚未见报道. 已有研究表明^[10,11],通常多数种类的完整梯烷脂是多个 AnAOB 属所共有的,而某些完整梯烷脂则不存在于某个 AnAOB 的属中. 如表 3 所示,PC 型完整梯烷脂 IV c 不存在于 *Candidatus Brocadia* 属中,完整梯烷脂 V c 不存在于 *Candidatus Kuenenia* 属中,完整梯烷脂 II 不存在于 *Candidatus Scalindua* 属中.

结合图 1、图 2 与表 2、表 3 可知,自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器中实际所含种属与检测到的完整梯烷脂种类并不能很好地对应,存在一定差异. 例如,厌氧氨氧化 EGSB 反应器中含有 *Candidatus Kuenenia* 属 AnAOB,该属不含有 PC 型完整梯烷脂 V c,但却检测出了该种完整梯烷脂;这可能是因为与 *Candidatus Jettenia* 属共存的结果,且 *Candidatus Jettenia* 属丰度较高,该属可能含有完整梯烷脂 V c,因此被检出. 自养脱氮 SBBR 反应器中含有 *Candidatus Brocadia* 属 AnAOB,PC 型完整梯烷脂 V b 应该被检测出,但却未检测出. 这可能是因为环境因素差异所导致的,完整梯烷脂的种类不仅在 AnAOB 不同属上存在差异,同一属在不同环境因素影响下也会出现变化. 同一属的 AnAOB 在外界环境变化时,其厌氧氨氧化体膜脂结构中完整梯烷脂含量和种类也可能会发生变化. 已有研究中关于环境因素与完整梯烷脂之间关系的讨论较少,可能的环境因素主要包括氧气^[17]、营养盐^[24]、温度^[27]等,本研究中自养脱氮 SBBR 反应器与厌氧氨氧化 EGSB 反应器在这几方面均存在差异. 自养脱氮 SBBR 反应器处于 $0.2 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的限氧水平,而 EGSB 则要求厌氧条件;自养脱氮 SBBR 反应器进水为氨氮废水,而厌氧氨氧化 EGSB 反应器进水为氨氮和亚硝氮废水;另外,自养脱氮 SBBR 反应器温度也略低于厌氧氨氧化 EGSB 反应

器,因此这些差异均可能对完整梯烷脂造成影响.

此外,本研究未对某些丰度极低的完整梯烷脂进行比对分析,检测出的 PC 型完整梯烷脂种类远少于 35 种,也可能是出现上述差异的原因,有待进一步研究.

4 结论

(1)对厌氧 EGSB 反应器、好氧 SBR 反应器、自养脱氮 SBBR 反应器、以及厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物中 PC 型完整梯烷脂特异性的研究结果表明,仅在自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物中检测到了 PC 型完整梯烷脂. 实验结果与各反应器的运行状况相符,说明完整梯烷脂为 AnAOB 特有的磷脂物质.

(2)高通量测序结果表明,自养脱氮 SBBR 反应器和厌氧氨氧化 EGSB 反应器中均含有 AnAOB. 自养脱氮 SBBR 反应器含有 *Candidatus Brocadia* 属与 *Candidatus Jettenia* 属 AnAOB,厌氧氨氧化 EGSB 反应器含有 *Candidatus Kuenenia* 属与 *Candidatus Jettenia* 属 AnAOB. 自养脱氮 SBBR 反应器污泥磷脂提取物中检测到了 II、IV g、IV f、V a、V c 这 5 种 PC 型完整梯烷脂,厌氧氨氧化 EGSB 反应器污泥磷脂提取物中检测到了 II、IV g、IV f、IV c、V a、V b、V c 这 7 种 PC 型完整梯烷脂,两反应器中检测到的 PC 型完整梯烷脂种类与所检测出的属存在一定对应关系.

参考文献:

- [1] Thamdrup B, Dalsgaard T. Production of N_2 through anaerobic ammonium oxidation coupled to nitrate reduction in marine sediments[J]. *Applied and environmental microbiology*, 2002, **68**(3): 1312-1318.
- [2] Risgaard-Petersen N, Nielsen L P, Rysgaard S, et al. Application of the isotope pairing technique in sediments where anammox and denitrification coexist [J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 2003, **1**(1): 63-73.
- [3] Schmid M C, Maas B, Dapena A, et al. Biomarkers for in situ detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(4): 1677-1684.
- [4] Jetten M S M, Wagner M, Fuerst J, et al. Microbiology and application of the anaerobic ammonium oxidation ('anammox') process[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2001, **12**(3): 283-288.
- [5] 刘冬英,邱艳玲,袁宪正,等. 厌氧氨氧化菌的富集培养与分子鉴定[J]. *环境科学*, 2012, **33**(9): 3208-3213.
Liu D Y, Qiu Y L, Yuan X Z, et al. Enrichment and identification of anaerobic ammonium oxidation bacteria [J]. *Environmental Science*, 2012, **33**(9): 3208-3213.

- [6] Bae H, Park K S, Chung Y C, *et al.* Distribution of anammox bacteria in domestic WWTPs and their enrichments evaluated by real-time quantitative PCR[J]. *Process Biochemistry*, 2010, **45** (3): 323-334.
- [7] Hamersley M R, Lavik G, Woebken D, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation in the Peruvian oxygen minimum zone[J]. *Limnology and Oceanography*, 2007, **52**(3): 923-933.
- [8] Damsté J S S, Strous M, Rijpstra W I C, *et al.* Linearly concatenated cyclobutane lipids form a dense bacterial membrane [J]. *Nature*, 2002, **419**(6908): 708-712.
- [9] Kuypers M M M, Slikers A O, Lavik G, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea[J]. *Nature*, 2003, **422**(6932): 608-611.
- [10] Boumann H A, Hopmans E C, Van De Leemput I, *et al.* Ladderane phospholipids in anammox bacteria comprise phosphocholine and phosphoethanolamine headgroups[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, **258**(2): 297-304.
- [11] Rattray J E, Van De Vossenberg J, Hopmans E C, *et al.* Ladderane lipid distribution in four genera of anammox bacteria [J]. *Archives of Microbiology*, 2008, **190**(1): 51-66.
- [12] Zink K G, Wilkes H, Disko U, *et al.* Intact phospholipids—microbial “life markers” in marine deep subsurface sediments [J]. *Organic Geochemistry*, 2003, **34**(6): 755-769.
- [13] Sturt H F, Summons R E, Smith K, *et al.* Intact polar membrane lipids in prokaryotes and sediments deciphered by high - performance liquid chromatography/electrospray ionization multistage mass spectrometry—new biomarkers for biogeochemistry and microbial ecology [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2004, **18**(6): 617-628.
- [14] Rütters H, Sass H, Cypionka H, *et al.* Microbial communities in a Wadden Sea sediment core—clues from analyses of intact glyceride lipids, and released fatty acids [J]. *Organic Geochemistry*, 2002, **33**(7): 803-816.
- [15] Aries E, Doumenq P, Artaud J, *et al.* Occurrence of fatty acids linked to non-phospholipid compounds in the polar fraction of a marine sedimentary extract from Carteau cove, France [J]. *Organic Geochemistry*, 2001, **32**(1): 193-197.
- [16] Zink K G, Mangelsdorf K, Granina L, *et al.* Estimation of bacterial biomass in subsurface sediments by quantifying intact membrane phospholipids [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2008, **390**(3): 885-896.
- [17] Jaeschke A, Rooks C, Trimmer M, *et al.* Comparison of ladderane phospholipid and core lipids as indicators for anaerobic ammonium oxidation (anammox) in marine sediments [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2009, **73** (7): 2077-2088.
- [18] Jaeschke A, Hopmans E C, Wakeham S G, *et al.* The presence of ladderane lipids in the oxygen minimum zone of the Arabian Sea indicates nitrogen loss through anammox[J]. *Limnology and Oceanography*, 2007, **52**(2): 780-786.
- [19] Brandsma J, Van De Vossenberg J, Risgaard - Petersen N, *et al.* A multi - proxy study of anaerobic ammonium oxidation in marine sediments of the Gullmar Fjord, Sweden [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2011, **3**(3): 360-366.
- [20] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, **37**(8): 911-917.
- [21] Rush D, Hopmans E C, Wakeham S G, *et al.* Occurrence and distribution of ladderane oxidation products in different oceanic regimes[J]. *Biogeosciences*, 2012, **9**(7): 2407-2418.
- [22] Bale N J, Villanueva L, Fan H X, *et al.* Occurrence and activity of anammox bacteria in surface sediments of the southern North Sea[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, **89**(1): 99-110.
- [23] Jaeschke A, Lewan M D, Hopmans E C, *et al.* Thermal stability of ladderane lipids as determined by hydrous pyrolysis [J]. *Organic Geochemistry*, 2008, **39**(12): 1735-1741.
- [24] Jaeschke A, Abbas B, Zabel M, *et al.* Molecular evidence for anaerobic ammonium - oxidizing (anammox) bacteria in continental shelf and slope sediments off northwest Africa [J]. *Limnology and Oceanography*, 2010, **55**(1): 365-376.
- [25] Rivière D, Desvignes V, Pelletier E, *et al.* Towards the definition of a core of microorganisms involved in anaerobic digestion of sludge[J]. *The ISME Journal*, 2009, **3**(6): 700-714.
- [26] Damsté J S S, Rijpstra W I C, Strous M, *et al.* A mixed ladderane/n-alkyl glycerol diether membrane lipid in an anaerobic ammonium-oxidizing bacterium [J]. *Chemical Communications*, 2004, (22): 2590-2591.
- [27] Rattray J E, Van De Vossenberg J, Jaeschke A, *et al.* Impact of temperature on ladderane lipid distribution in anammox bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, **76**(5): 1596-1603.

CONTENTS

Source Apportionment of Volatile Organic Compounds and Health Assessment of Benzene Series in Northern Suburb of Nanjing in Winter	ZHANG Yu-xin, AN Jun-lin, LIN Xu, <i>et al.</i> (1)
Size Distribution and Mixing State of Black Carbon Aerosol in Nanjing During a Heavy Winter Pollution Event	JIANG Lei, TANG Li-li, PAN Liang-bao, <i>et al.</i> (13)
Interactive Effects of the Influencing Factors on the Changes of PM _{2.5} Concentration Based on GAM Model	HE Xiang, LIN Zhen-shan (22)
Particle Size Distribution and Diffusion for Simulated Cooking Fume	LI Shuang-de, XU Jun-bo, MO Sheng-peng, <i>et al.</i> (33)
Greenhouse Gas Fluxes at Water-Air Interface in Small Pond Using Flux-Gradient Method Based on Spectrum Analyzer	ZHAO Jia-yu, ZHANG Mi, XIAO Wei, <i>et al.</i> (41)
Diurnal Variations of Concentration of Porewater Dissolved CH ₄ and CO ₂ in a Brackish Marsh Dominated by <i>Cyperus malaccensis</i> and <i>Phragmites australis</i> During Neap and Spring Tidal Days in the Minjiang River Estuary	TAN Li-shan, YANG Ping, HE Lu-lu, <i>et al.</i> (52)
Comparisons Between Seasonal and Diurnal Patterns of Cave Air CO ₂ and Control Factors in Jiguan Cave, Henan Province, China	ZHANG Ping, YANG Yan, SUN Zhe, <i>et al.</i> (60)
Fluorescence Spectral Characteristics of Fluorescent Dissolved Organic Matter (FDOM) in the Surface Sediments from Lihu Lake	CHEN Jun-yi, WANG Shu-hang, JIANG Xia, <i>et al.</i> (70)
Sedimentary Characteristics and Sources of Organic Matter in Sediments of Dianchi Lake	HAN Xiu-xiu, HUANG Xiao-hu, YU Li-yan, <i>et al.</i> (78)
Seasonal Variation of Colloid Particles in the Shallow Well Water of a Small Watershed of Purple Soil	ZHANG Wei, TANG Xiang-yu, XIAN Qing-song (87)
Deposition Characteristics of Suspended Solids and the Response of Dissolved Nutrients in Spring in the Western Lakeside of Taihu Lake	QI Chuang, WANG Guo-xiang, WU Xin-ting, <i>et al.</i> (95)
Correlation Between LDI-based Land Use Types and Water Quality in Sanshan Island of Taihu Lake National Wetland Park, Suzhou	YANG Zhao-hui, SU Qun, CHEN Zhi-hui, <i>et al.</i> (104)
Response Characteristics of Algal Chlorophyll-a to Nitrogen, Phosphorus and Water Temperature in Lake Erhai Based on Quantile Regression	CHEN Xiao-hua, LI Xiao-ping, QIAN Xiao-yong, <i>et al.</i> (113)
Seasonal Succession Characteristics of the Morphologically-based Functional Groups (MBFG) in Deep-water Reservoir	YANG Yu, LU Jin-suo, ZHANG Ying (121)
Change and Influencing Factors of Dissolved Carbon and Dissolved Nitrogen in Water of the Three Gorges Reservoir	FAN Zhi-wei, HAO Qing-ju, HUANG Zhe, <i>et al.</i> (129)
Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Emissions in the Gufu River Small Watershed of the Three Georges Reservoir Area	HUA Ling-ling, LI Wen-chao, ZHAI Li-mei, <i>et al.</i> (138)
Characteristics of Nitrogen Transport and Its Source Trace in Loess Plateau's Dam Watershed in Alternating Wet and Dry Seasons: A Case Study of Yangjuangou Watershed	JIA Jun-jie, GAO Yang, CHEN Wei-liang, <i>et al.</i> (147)
Comparison of Nitrogen and Phosphorus Uptake and Water Purification Ability of Five Submerged Macrophytes	JIN Shu-quan, ZHOU Jin-bo, BAO Wei-hong, <i>et al.</i> (156)
Pollution Level, Distribution Characteristics and Risk Assessment of 32 PPCPs in Surface Water of Luomahu Lake	ZHANG Qin, ZHANG Sheng-hu, WANG Zhen, <i>et al.</i> (162)
Distribution, Sources and Risk Assessment of the PAHs in the Surface Sediments and Water from the Daye Lake	ZHANG Jia-quan, HU Tian-peng, XING Xin-li, <i>et al.</i> (170)
Effects of pH and Complexing Agents on Sb(V) Adsorption onto Birnessite and Ferrihydrite Surface	WANG Hua-wei, LI Xiao-yue, LI Wei-hua, <i>et al.</i> (180)
Effects of UV Radiation on the Coagulation Process of Kaolin and Involved Mechanisms	WANG Wen-dong, WANG Chang-xin, LIU Hui, <i>et al.</i> (188)
Effect of Dissolved Humic Acid on Thyroid Receptor Antagonistic Activity of Zinc in Aquatic Environment	AI Yang, KONG Dong-dong, YU Chang, <i>et al.</i> (195)
Optimization and Validation of the Analytical Method to Detect Common Illicit Drugs in Wastewater	GAO Ting-ting, DU Peng, XU Ze-qiong, <i>et al.</i> (201)
Cathode Electric Field Enhanced Removal of Nitrobenzene from Aqueous Solution Based on Activated Carbon Fibers (ACF)-Ozone Technique	ZHAO Chun, ZHANG Shuai, ZHOU Yu, <i>et al.</i> (212)
Effect of PVDF Hollow Fiber Ultrafiltration Membranes Modification with Carbonnanotube on Membrane Fouling Control During Ultrafiltration of Sewage Effluent	WANG Li-ying, SHI Jie, WANG Kai-lun, <i>et al.</i> (220)
Enhanced Treatment of Petrochemical Secondary Effluent by Biological Aerated Filter (Fe ²⁺)-Ozonation Process	XU Min, WU Chang-yong, ZHOU Yue-xi, <i>et al.</i> (229)
Specificity of Intact Ladderane Lipids in Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria from Four Reactors	WANG Han, FANG Fang, LI Kai, <i>et al.</i> (238)
Characteristics of Perchlorate Reduction and Analysis of Consortium Structure in a Sulfur-Based Reactor at a High Perchlorate Concentration	ZHANG Chao, TAO Hua-qiang, SONG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (247)
Fast Start-up of SBAF System Assisted CANON Process and the Microbial Analysis	LIU Zhu-han, YUE Xiu, YU Guang-ping, <i>et al.</i> (253)
Mechanism for Effects of High Free Ammonia Loadings on Biological Nitrification	JI Min, LIU Ling-jie, ZHAI Hong-yan, <i>et al.</i> (260)
Impact of Biodegradable Organic Matter on the Functional Microbe Activities in Partial Nitrification Granules	WANG Shu-yong, QIAN Fei-yue, WANG Jian-fang, <i>et al.</i> (269)
Process of Enrichment and Culture of PAOs on a Novel Biofilm Process of Dephosphorization	ZHENG Ying, PAN Yang, ZHOU Xiao-hua, <i>et al.</i> (276)
Identification of Efficient Strain Applied to Mining Rehabilitation and Its Rock Corrosion Mechanism: Based on Boosted Regression Tree Analysis	WU Yan-wen, ZHANG Jin-chi, GUO Xiao-ping, <i>et al.</i> (283)
Effect of Cadmium on Biodegradation of Nonylphenol by <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	SHI Guang-yu, CHENG Yuan-yuan, SHI Wei-lin (294)
Effects of Different Agricultural Practices on Soil Carbon Pool in North China Plain	SHI Xiao-xia, ZHAO Yi, ZHANG Lin, <i>et al.</i> (301)
Seasonal Variations of Soil Microbial PLFAs and Soil Enzyme Activity Under the Citrus Plantation in Mt. Jinyun, Chongqing	LI Nan-jie, ZENG Qing-ping, HE Bing-hui, <i>et al.</i> (309)
Composition and Environmental Adaptation of Microbial Community in Shibabe Copper Tailing in Zhongtiao Mountain in Shanxi	LIU Jin-xian, LI Cui, JING Jun-hui, <i>et al.</i> (318)
Spatial Distribution and Source of Perfluorinated Compounds in Urban Soil from Part of Cities in Anhui Province, China	LI Fa-song, NI Hui, HUANG Han-yu, <i>et al.</i> (327)
Effects of Biochar Pyrolyzed at Varying Temperatures on Soil Organic Carbon and Its Components; Influence on the Soil Active Organic Carbon	ZHAO Shi-xiang, YU Xiao-ling, LI Zhong-hui, <i>et al.</i> (333)
Effects of Different Water Managements and Soil Eh on Migration and Accumulation of Cd in Rice	TIAN Tao, ZENG Min, ZHOU Hang, <i>et al.</i> (343)
Mechanism of Soil Eco-Functional Stability Under Pyrene/Cadmium Simplex and Combined Pollution Stress	CHEN Xin-yao, YANG Hui-zi, LI Min, <i>et al.</i> (352)
Fractions Transformation of Heavy Metals in Compound Contaminated Soil Treated with Biochar, Montmorillonite and Mixed Addition	GAO Rui-li, TANG Mao, FU Qing-ling, <i>et al.</i> (361)
Screening of the Reduction/Stabilization Reagent for Cr(VI) Contaminated Soil in a Planting Site and Reaction Process Monitoring	LI Pei-zhong, LÜ Xiao-jian, WANG Hai-jian, <i>et al.</i> (368)
Cd(II) Ion Adsorption and Sealing onto SBA-15 Mesoporous Particles and the Related Potential on Cd(II) Polluted Soil Remediation	HUANG Hui, NING Xi-cui, GUO Zhan-yu, <i>et al.</i> (374)
Bioaccumulation of Halogenated Flame Retardants in Fish of Dongjiang River	HE Ming-jing, YANG Ting, LI Qi, <i>et al.</i> (382)
Characteristics and Evaluation of Heavy Metal Pollution in Vegetables in Guangzhou	CHEN Zhi-liang, HUANG Ling, ZHOU Cun-yu, <i>et al.</i> (389)
Variation Characteristics of Vegetables Cadmium Uptake Factors and Its Relations to Environmental Factors	YANG Yang, LI Yan-ling, CHEN Wei-ping, <i>et al.</i> (399)
Effect of Sewage Sludge Compost Products Application on Total Mercury and Methylmercury in Soil and Plants	YU Ya-wei, YANG Yu-han, ZHANG Cheng, <i>et al.</i> (405)
Influencing Mechanism and Spatio-temporal Pattern of Stomatal Ozone Flux of Winter Wheat Under Ozone Pollution	ZHAO Hui, ZHENG You-fei, CAO Jia-chen, <i>et al.</i> (412)

《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)

2017年1月15日 第38卷 第1期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 38 No. 1 Jan. 15, 2017

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	北京宝昌彩色印刷有限公司	Printed	by	Beijing Baochang Color Printing Co., Ltd.
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: 140.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行人

ISSN 0250-3301

