

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第3期

Vol.38 No.3

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

我国人为源挥发性有机物反应性排放清单	梁小明, 张嘉妮, 陈小方, 石田立, 孙西勃, 范丽雅, 叶代启 (845)
上海城郊地区冬季霾污染事件反应性 VOCs 物种特征	高爽, 张坤, 高松, 修光利, 程娜, 潘研 (855)
京津冀地区主要排放源减排对 PM _{2.5} 污染改善贡献评估	吴文景, 常兴, 邢佳, 王书肖, 郝吉明 (867)
北京冬季 PM _{2.5} 中金属元素浓度特征和来源分析	乔宝文, 刘子锐, 胡波, 刘景云, 逢妮妮, 吴方堃, 徐仲均, 王跃思 (876)
2015 年石家庄市采暖期一次重污染过程细颗粒物在线来源解析	路娜, 李治国, 周静博, 赵鑫, 杨丽丽, 冯媛, 靳伟 (884)
利用 SPAMS 研究南宁市四季细颗粒物的化学成分及污染来源	刘慧琳, 陈志明, 毛敬英, 梁桂云, 黄炯丽, 李宏姣, 杨俊超, 莫招育 (894)
南半球海洋大气气溶胶单颗粒的理化特性分析	迟建伟, 李传金, 孙俊英, 张剑, 王辉, 王瀚韬, 李卫军 (903)
喷泉产生的细菌气溶胶空间分布特性	张崇森, 袁琳, 许鹏程, 刘可欣 (911)
生物滴滤塔净化含硫混合废气	叶杰旭, 缪孝平, 诸葛蕾, 赵翔宇, 江宁馨, 章晶晓, 陈东之, 陈建孟 (918)
西安城市不同功能区街道灰尘磁学特征及环境污染分析	房妮, 张俊辉, 王瑾, 姜珊, 夏敦胜 (924)
城乡交错带典型溪流沟渠沉积物氮污染特征及硝化-反硝化潜力	秦如彬, 李如忠, 高苏蒂, 张瑞钢 (936)
三峡库区小江支流沉积物硝化反硝化速率在蓄水期和泄水期的特征	王静, 刘洪杰, 雷禹, 徐晶, 宋立岩, 李勇 (946)
隔河岩水库二氧化碳通量时空变化及影响因素	赵登忠, 谭德宝, 李翀, 申邵洪 (954)
白洋淀多环芳烃与有机氯农药季节性污染特征及来源分析	王乙震, 张俊, 周绪申, 孔凡青, 徐铭霞 (964)
唐山陡河水库沉积物汞的分布、来源及污染评价	吴婷婷, 王明猛, 陈旭锋, 刘文利, 李太山, 闫海鱼, 何天容, 李仲根 (979)
三峡库区消落带优势草本植物淹水后汞的释放特征	邓哈, 张翔, 张成, 王永敏, 王定勇 (987)
电镀厂周边地表水中重金属分布特征及健康风险评估	余葱葱, 赵委托, 高小峰, 程胜高, 黄庭, 尹伊梦, 赵珍丽 (993)
九龙江表层沉积物重金属赋存形态及生态风险	林承奇, 胡恭任, 于瑞莲, 韩璐 (1002)
厦门筲箕湖表层沉积物金属元素赋存形态及污染评价	杨秋丽, 于瑞莲, 胡恭任, 林承奇, 韩璐 (1010)
龙口市污水灌溉区农田重金属来源、空间分布及污染评价	李春芳, 王菲, 曹文涛, 潘健, 吕建树, 吴泉源 (1018)
碳化稻壳-铁锰氧化菌耦合净化严寒村高铁锰地下水效能与机制	孙楠, 湛燕丽, 张颖, 鲁岩, 宋秋霞, 李春艳, 姜昭 (1028)
高藻水臭氧预氧化过程有机物转化及消毒副产物生成势	张赛, 胡学斌, 古励, 李莉, 郭显强 (1038)
预处理对短流程超滤工艺不可逆膜污染影响的中试试验	杨海燕, 邢加建, 王灿, 孙国胜, 赵焱, 梁恒, 徐叶琴, 李圭白 (1046)
Cu-Al ₂ O ₃ 中骨架铜类芬顿催化去除水中有机污染物	徐丹, 张丽丽, 柳丽芬 (1054)
过硫酸钾氧化去除 Cu(CN) ₂ 中的氰污染物	王云飞, 李一兵, 王彦斌, 齐璠静, 赵凯, 田世超, 郭涛, 关伟, 赵旭 (1061)
微生物燃料电池强化去除农药 2,4-二氯苯氧乙酸及同步产电性能	全向春, 全燕苹, 肖竹天 (1067)
桉树遗态结构 HAP/C 复合材料对水中 Cu(II) 的吸附特征	李超, 朱宗强, 曹爽, 朱义年, 谭笑, 丁慧 (1074)
基于 A ² /O 处理工艺的生活污水的成组生物毒性评价	张秋亚, 马晓妍, 王晓昌, 游猛 (1084)
污水氮浓度对粉绿狐尾藻去氮能力的影响	马永飞, 杨小珍, 赵小虎, 胡承孝, 谭碧玲, 孙学成, 吴金水 (1093)
全海水盐度抑制下厌氧氨氧化工艺的恢复特性	齐泮晴, 于德爽, 李津, 管勇杰, 魏思佳 (1102)
饥饿对疏自养反硝化反应器生物群落结构的影响	李芳芳, 施春红, 李海波, 袁蓉芳, 马方曙 (1109)
快速启动厌氧氨氧化工艺	闫刚, 徐乐中, 沈耀良, 吴鹏, 张婷, 程朝阳 (1116)
一种 CANON 工艺处理低氨氮废水的新模式	完颜德卿, 袁怡, 李祥, 毕贞 (1122)
侧流磷回收对低溶解氧 EBPR 系统性能的影响	马娟, 宋璐, 俞小军, 孙雷军, 孙洪伟 (1130)
厌氧氨氧化污泥群体感应信号分子检测及影响研究	陈舒涵, 李安婕, 王越兴, 吴玲娟 (1137)
有机负荷对醋糟厌氧消化系统启动的影响	戴晓虎, 于春晓, 李宁, 董滨, 戴翎翎 (1144)
过氧化钙预处理对活性污泥脱水性能的影响机制	白润英, 陈湛, 张伟军, 王东升 (1151)
不同工况蚯蚓人工湿地表层污泥处理效果	董梦珂, 李怀正, 徐一啸 (1159)
全氟辛酸对大肠杆菌的氧化胁迫和膜损伤	杨蒙, 李伟, 叶锦韶, 龙焰, 秦华明 (1167)
纳米银在环境水样和实验介质中的理化性质和毒性效应	衣俊, 程金平 (1173)
血吸虫病疫区鱼体器官中氯苯化合物的污染特征	李昆, 赵高峰, 周怀东, 张盼伟, 刘巧娜, 赵晓辉, 李东佼, 任敏, 赵丹丹 (1182)
纳米沸石对大白菜生长、抗氧化酶活性及镉形态、含量的影响	秦余丽, 熊仕娟, 徐卫红, 赵婉伊, 王卫中, 陈永勤, 迟苏琳, 陈序根, 张进忠, 熊治庭, 王正银, 谢德体 (1189)
利用 <i>in vitro</i> 方法研究不同铁矿对土壤砷生物可给性的影响	钟松雄, 尹光彩, 黄润林, 何宏飞, 陈志良, 林亲铁, 王文科 (1201)
不锈钢电极对重金属污染土壤的强化电动修复及电极腐蚀结晶现象与机制	温东东, 付融冰, 张卫, 顾莹莹 (1209)
施用无害化污泥影响土壤碳库组分和碳库管理指数的演变	刘晓, 黄林, 郭康莉, 张雪凌, 杨俊诚, 姜慧敏, 张建峰 (1218)
施氮和水分管理对光合碳在土壤-水稻系统间分配的量化研究	王婷婷, 祝贞科, 朱捍华, 汤珍珠, 庞静, 李宝珍, 苏以荣, 葛体达, 吴金水 (1227)
模拟酸雨对次生林土壤呼吸及异养呼吸的影响	陈书涛, 孙鹭, 桑琳, 胡正华 (1235)
土壤硝化和反硝化微生物群落及活性对大气 CO ₂ 浓度和温度升高的响应	刘远, 王光利, 李恋卿, 潘根兴 (1245)
岩性对喀斯特灌丛土壤固氮菌与丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧 (1253)
板栗产区有机堆肥产物磷形态特征及其对叶片磷含量的影响	宋影, 郭素娟, 张丽, 孙慧娟, 谢明明, 武燕奇, 王静 (1262)
酸性物质对猪粪秸秆堆肥过程中氮素转化的影响	姜继超, 尧倩 (1272)
《环境科学》征稿简则 (1092)	
《环境科学》征订启事 (1158)	
信息 (1166, 1261, 1271)	

厌氧氨氧化污泥群体感应信号分子检测及影响研究

陈舒涵¹, 李安婕^{1*}, 王越兴², 吴玲娟¹

(1. 北京师范大学环境学院, 水沙科学教育部重点实验室, 水环境模拟国家重点实验室, 北京 100875; 2. 深圳市水务(集团)有限公司, 深圳 518001)

摘要: 厌氧氨氧化作为一种新型的脱氮工艺具有很好的应用前景, 但厌氧氨氧化污泥富集培养困难. 本研究以处理垃圾渗滤液的污泥作为接种污泥, 在升流式厌氧污泥反应器(UASB)中启动厌氧氨氧化过程; 检测驯化成功的厌氧氨氧化污泥中是否存在群体感应信号分子; 并通过添加外源信号分子(*cis*-11-Methyl-2-dodecanoic acid, DSF 和 *N*-acyl-homoserine lactone, AHL), 探究信号分子对厌氧氨氧化污泥附着生长能力的影响. 结果表明, UASB 反应器在运行 150 d 后, 总氮去除率达到 80%, 菌群结构中厌氧氨氧化菌所占比例超过了 20%, 成功启动厌氧氨氧化工艺, 且厌氧氨氧化污泥中存在低浓度的 AHLs 信号分子; 人为添加 3-碳位置取代基为羰基的 AHLs (3-oxo-C₆-HSL、3-oxo-C₈-HSL、3-oxo-C₁₀-HSL 和 3-oxo-C₁₂-HSL) 信号分子均能促进厌氧氨氧化污泥附着生长, 而 3-碳位置无取代基的 AHLs 中只有 C₁₂-HSL 和 C₆-HSL 存在积极影响, C₈-HSL、C₁₀-HSL 和 DSF 信号分子对厌氧氨氧化污泥的附着生长能力并没有促进作用.

关键词: 厌氧氨氧化; 群体感应; 酰基高丝氨酸内酯 (AHL); 附着生长; 菌群结构

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)03-1137-07 DOI: 10.13227/j.hjxx.201607027

Identification and Influence of Quorum Sensing on Anaerobic Ammonium Oxidation Process

CHEN Shu-han¹, LI An-jie^{1*}, WANG Yue-xing², WU Ling-juan¹

(1. State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, Key Laboratory of Water and Sediment Sciences, Ministry of Education, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 2. Shenzhen Water Group Co., Ltd., Shenzhen 518001, China)

Abstract: Anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX), an innovative nitrogen removal technology, has good prospects for applications. However, ANAMMOX bacteria grow slowly and are hardly accumulated in bioreactors. In this study, a UASB reactor inoculated with sludge from landfill leachate treatment plant was used for the start-up of ANAMMOX process. Besides, exogenous quorum sensing signals (DSF and AHL) were added to improve the adhesion of ANAMMOX sludge. The results showed that the UASB successfully started the ANAMMOX process within 150 days of operation. The total nitrogen removal rate reached 80% and the proportion of ANAMMOX bacteria rose to 20%. There was a low concentration of AHLs signal molecules in the ANAMMOX sludge. If the β -position substituent group of AHL added was a carbonyl group (including 3-oxo-C₆-HSL, 3-oxo-C₈-HSL, 3-oxo-C₁₀-HSL and 3-oxo-C₁₂-HSL), the adhesion growth ability of the ANAMMOX sludge could be improved. In the case of dosing with AHL molecules without β -position substituent groups, only C₆-HSL and C₁₂-HSL could promote the adhesion of ANAMMOX sludge. The additions of C₈-HSL, C₁₀-HSL and DSF all had negative effects on the adhesion of ANAMMOX sludge.

Key words: anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX); quorum sensing; *N*-acyl-homoserine lactone (AHL); adhesion growth; microbial community structure

厌氧氨氧化 (anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX), 指在厌氧或缺氧条件下, 厌氧氨氧化微生物以 NO₂⁻-N 为电子受体, 氧化 NH₄⁺-N 生成氮气的生物过程. 与传统硝化-反硝化脱氮工艺相比, 厌氧氨氧化工艺缩短了氨氮氧化还原成氮气的过程, 降低了曝气量, 是一种高效节能的新型脱氮工艺, 具有很好的应用前景. 但是由于生长速度慢、细胞产率极低、对环境条件敏感等生长特性, 厌氧氨氧化菌的富集培养很困难, 如何调控更高效的厌氧氨氧化工艺是近年来的研究热点.

在菌群生长过程中, 细菌会释放出一种被称作

自诱导物 (auto-inducer, AI) 的胞外信号分子. 当自诱导物在其微环境中达到一个阈值时, 信号被菌群接收并开始调节特定基因的表达^[1]; 这一过程称为群体感应. 群体感应是一种普遍存在于微生物细胞之间的通讯机制, 包括种内和种间的通讯; 根据菌群密度和周围环境变化调节基因表达以调控细菌的诸多生理功能, 如胞外多聚物 (extracellular

收稿日期: 2016-07-04; 修订日期: 2016-10-17

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (51208038)

作者简介: 陈舒涵 (1994 ~), 女, 主要研究方向为废水生物处理技术, E-mail: koalacsh@163.com

* 通信作者, E-mail: liaj@bnu.edu.cn

polymeric substances, EPS) 的合成和分泌^[2]、细菌的聚集以及生物膜的形成等^[3]。顺-2-十二烯-11-甲基酸(*cis*-11-Methyl-2-dodecenoic acid, DSF) 是一种种内和种间的信号分子, 有研究表明 DSF 具有调控 EPS 产生和生物膜形成等功能^[4,5]; 酰基高丝氨酸内酯(*N*-acyl-homoserine lactone, AHLs) 是一种革兰氏阴性菌种内信号分子, 具有较高的种属特异性; 而 AI-2 一般被认为是种间细胞交流的通用信号分子^[6]。细菌细胞间的群体感应已经成为环境科学领域微生物学研究的重点, 也为如何调控更高效的厌氧氨氧化工艺提供了新思路。

丁爽等^[7]研究发现, 厌氧氨氧化菌存在密度依赖性, 并且具有自诱导物 AHLs 的合成潜力, 因此推断厌氧氨氧化菌的活性和团聚行为与群体感应调控有关。刘思彤等^[8]在启动厌氧氨氧化反应过程中, 添加了少量活性较好的厌氧氨氧化颗粒污泥, 此后, 反应器的脱氮效果有了显著提高、厌氧氨氧化菌活性也得到大幅度提高; 推测上述现象产生的原因是加入的活性较好的厌氧氨氧化菌具有较高的细胞密度, 释放了高质量浓度的信号分子, 周围的厌氧氨氧化菌在这些信号分子的诱导下启动表达相关基因, 提高了菌群活性和脱氮效果。Tang 等^[9]研究发现人为添加适量的 C₆-HSL 可以提高厌氧氨氧化菌的生长速率和活性, 添加 C₈-HSL 仅能提高细菌活性, 而添加 C₁₂-HSL 会抑制厌氧氨氧化菌的活性。而 De Clippeleir 等^[10]在厌氧氨氧化颗粒污泥和 OLAND 生物膜系统中发现 C₁₂-HSL 信号分子的存在, 并且证明该信号分子能够提高厌氧氨氧化菌活性。

过去的研究报道说明厌氧氨氧化菌确实能产生 AHLs 信号分子, 但是否存在 AI-2 信号分子, 以及各种群体感应信号分子是否都有利于促进厌氧氨氧化菌附着生长仍不是很清楚。因此, 本研究通过检测厌氧氨氧化污泥中存在的信号分子类型, 并探索添加外源信号分子对厌氧氨氧化污泥附着生长能力的影响。从群体感应的角度, 以期为调控和强化厌氧氨氧化工艺提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

报告菌培养所需的抗生素(四环素、壮观霉素、庆大霉素等)和琼脂糖购于上海生工; 实验中所添加的 8 种化学合成 AHLs 信号分子(C₆-HSL、C₈-HSL、C₁₀-HSL、C₁₂-HSL、3-oxo-C₆-HSL、3-oxo-C₈-HSL、3-oxo-C₁₀-HSL、3-oxo-C₁₂-HSL), 以及顺-2-十

二烯-11-甲基酸(*cis*-11-Methyl-2-dodecenoic acid, DSF)均购自 Sigma-aldrich, 8 种 AHLs 均以甲醇为溶剂, 配制浓度为 1 g·L⁻¹ 的溶液; 实验中所用的超纯水是由 Milli-Q 梯度系统(Millipore, Bedford, MA)生产。

1.2 厌氧氨氧化污泥的培养

以处理垃圾渗滤液的活性污泥作为接种污泥, 接种至有效体积为 1.1 L 的 UASB 反应器中。反应器进水采用人工配水(表 1), 在运行过程中, 氮源[(NH₄)₂SO₄ 和 NaNO₂] 的添加量随反应器运行状况逐步增加, 并通过水浴加热的方式控制温度在 35℃ ± 1℃; 进水 pH 通过碳酸氢钾调节, 控制在 7.5 ± 0.05; 初始水力停留时间为 24 h, 随着反应器的运行逐步缩短水力停留时间至 12 h。

表 1 厌氧氨氧化菌富集培养进水配方¹⁾

化合物	浓度/mg·L ⁻¹
(NH ₄) ₂ SO ₄	按需配置
NaNO ₂	按需配置
KH ₂ PO ₄	27.2
MgSO ₄ ·7H ₂ O	300
CaCl ₂ ·2H ₂ O	136
KHCO ₃	500
微量元素溶液 I	1 mL·L ⁻¹
微量元素溶液 II	1 mL·L ⁻¹

1) 微量元素溶液 I: 5 g·L⁻¹ EDTA 和 14.6 g·L⁻¹ FeSO₄·2H₂O; 微量元素溶液 II: 15 g·L⁻¹ EDTA, 0.43 g·L⁻¹ ZnSO₄·7H₂O, 0.25 g·L⁻¹ CuSO₄·5H₂O, 0.24 g·L⁻¹ CoCl₂·6H₂O, 0.99 g·L⁻¹ MnCl₂·4H₂O, 0.22 mg·L⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O, 0.19 mg·L⁻¹ NiCl₂·6H₂O, 0.014 mg·L⁻¹ H₃BO₃

1.3 厌氧氨氧化污泥的群体感应信号分子检测

AHLs 信号分子的检测采用报告菌显色法^[11]: 取反应器中的上清液 50 mL 经 0.22 μm 水系滤膜过滤后, 用乙酸乙酯(色谱纯)等体积萃取 3 次, 再用旋转蒸发仪常温蒸发至 1 mL 后, 使用甲醇(色谱纯)润洗并转移至 10 mL 消解管中, 再用氮气吹干, 再加入 1.5 mL 甲醇定容, 用 0.22 μm 有机滤膜过滤后转移至棕色样品瓶, 用于后续 AHLs 检测。取适量报告菌 *Agrobacterium tumefaciens* JZA1 [KYC55 (pJZ372) (pJZ384) (pJZ410), Ti-] 接种至 100 mL AT 培养基[(NH₄)₂SO₄ 200 mg; MgSO₄ 7.8 mg; CaCl₂ 0.76 mg; FeSO₄·7H₂O 0.5 mg; MnSO₄·H₂O 0.22 mg; KH₂PO₄ 1.07 g; 葡萄糖 0.5 g] 中, 在 28℃、180 ~ 190 r·min⁻¹ 条件下培养 12 ~ 14 h; 再将培养菌液和 50 mL 2.4% 高压灭菌水琼脂混合后, 摇匀后快速倒入灭菌的培养皿中, 待培养基凝固后,

均匀涂布 $60 \mu\text{L } 50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 x-gal; 最后, 取 $100 \mu\text{L}$ 污泥上清液提取液涂布在培养基上, 密封培养皿后将其放入 28°C 的恒温箱中培养 $12 \sim 14 \text{ h}$, 观察其颜色变化. 实验中设置阳性对照[涂布 $40 \mu\text{L}$ 的 *N*-3-羰基辛酰-L-高丝氨酸内酯 (*N*-(3-Oxo-octanoyl)-L-homoserine lactone, 3-oxo- C_8 -HSL) ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 信号分子]和阴性对照(空白).

AI-2 信号分子的检测采用发光检测法^[12]: 取哈氏弧菌 (*Vibrio harveyi*) BB170 接种于 AB 培养基中, 在 30°C 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温培养箱中有氧培养 $16 \sim 18 \text{ h}$ 后, 检测其 $D_{600 \text{ nm}}$ 接近 0.7. 取出 10 mL 左右菌液, 过滤得到后作为阳性上清液, 取同体积的新鲜 AB 培养基过滤后作为阴性对照, 按照 1:5 000 用 AB 培养基稀释剩余菌液并振荡. 分别取 $20 \mu\text{L}$ 反应器中的上清液、阳性对照和阴性对照, 加至白色 96 孔微孔板中, 再加入稀释后的菌液 (每孔 $180 \mu\text{L}$), 混合后置于 30°C 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 恒温培养箱中培养. 随后的 7 h 中, 每 30 min 取出一次, 用酶标仪检测其发光强度. 上述 AB 培养基的配置方法如下, 首先将 $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$, $0.005 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4$, 0.2% 酸水解酪蛋白 (不含维生素) 用 KOH 调节 pH 至 7.5 后, 过滤灭菌, 然后每 100 mL 培养基中加入灭菌后的 $1 \text{ mL } 1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸钾缓冲液 (pH 7.0)、 $1 \text{ mL } 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 精氨酸和 $2 \text{ mL } 50\%$ 甘油.

1.4 厌氧氨氧化污泥附着实验

将 UASB 中培养的污泥接种至六孔微孔板中, 人为添加外源信号分子, 培养一定时间后, 测微生物附着量, 开展厌氧氨氧化污泥附着实验研究.

(1) 考察菌悬液浓度对附着实验的影响

取不同浓度的菌悬液加至微孔板中, 每孔加 5 mL , 并添加所需营养基质, 用封口膜密封后, 在恒温箱 (35°C) 中培养 24 h 后, 测定微生物附着量. 菌悬液浓度用 D_{600} (600 nm 波长下的吸光度) 的值来表征, 分别采用 D_{600} 值为 0.2、0.4、0.6、0.8、1 的 5 个阶梯浓度, 每个浓度做 6 个平行样. 其中添加的营养基质的配方与 UASB 反应器进水相同, 初始氨氮浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 亚硝氮为 $60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

(2) 考察信号分子浓度对厌氧氨氧化污泥附着能力的影响

取一定浓度的菌悬液 ($D_{600} = 0.4$) 加至微孔板中, 每孔加 5 mL , 添加所需营养基质后, 再向微孔板中加入不同浓度 (0 、 1 、 2 、 4 、 $8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 C_{12} -HSL 信号分子, 每组做 6 个平行样. 用封口膜密封后, 在恒温箱 (35°C) 中培养 24 h 后, 测定微生物附

着量.

(3) 考察不同信号分子类型对厌氧氨氧化菌附着能力的影响

取一定浓度的菌悬液 ($D_{600} = 0.4$) 加至微孔板中, 每孔 5 mL , 添加所需营养基质后, 再向微孔板中分别加入 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 9 种信号分子 (C_6 -HSL、 C_8 -HSL、 C_{10} -HSL、 C_{12} -HSL、3-oxo- C_6 -HSL、3-oxo- C_8 -HSL、3-oxo- C_{10} -HSL、3-oxo- C_{12} -HSL、DSF), 并设置空白对照组, 每组做 6 个平行样. 用封口膜密封后, 在恒温箱 (35°C) 中培养 24 h 后, 测定微生物附着量. 附着实验的微生物附着量采用结晶紫染色法^[13,14]来测定.

1.5 常规指标的分析方法

氨氮、亚硝氮和硝氮的测定均采用紫外分光光度法 (HACH DR6000); 污泥量 MLSS 采用重量法^[15]测定; pH 采用 HACH pH01 电极测定, 溶解氧浓度采用 HACH LDO101 电极测定. 为分析污泥样品的微生物多样性, 实验中采用高通量测序法 (Illumina MiSeq sequencing) 测定菌群结构^[16~18], 具体方法如下: 首先采用 E. Z. N. A.® Bacteria DNA 提取试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U. S.) 提取厌氧氨氧化污泥样品中细菌基因组 DNA; 将提取到的 DNA 通过 PCR 扩增 16S 核糖体 RNA 基因的 V3-V4 可变区, 所用引物为 338F 5'-barcode-ACTCTACGGGAGGCAGCA-3' 和 806R 5'-GGACTACHV- GGGTWTCTAAT-3', 反应体系为 $20 \mu\text{L}$ (包括 $4 \mu\text{L}$ 的 $5 \times \text{FastPfu Buffer}$, $2 \mu\text{L}$ 的 $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ dNTPs}$, $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物各 $0.8 \mu\text{L}$, $0.4 \mu\text{L}$ 的 FastPfu Polymerase 和 10 ng 模板 DNA), 扩增条件为: 95°C 解链 2 min , 95°C 30 s , 55°C 30 s , 72°C 30 s , 25 个循环, 再 72°C 延伸 5 min , 每个样品的扩增均做 3 次重复, 然后从 2% 琼脂糖凝胶中回收扩增子, 采用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, U. S.) 进行纯化, 再用 QuantiFluor™-ST (Promega, U. S.) 进行定量. 最后将纯化后的扩增子等量混合, 然后根据 Illumina MiSeq 测序平台的标准流程进行双端 ($2 \times 300 \text{ bp}$) 测序. 原始数据提交到 NCBI Sequence Read Archive (SRA) 数据库进行比对、分析.

2 结果与讨论

2.1 厌氧氨氧化工艺运行情况

反应器的进水氨氮与亚硝氮浓度之比为 5:6, 初始进水氨氮浓度为 $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、亚硝氮为 84

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; 在运行过程中,进水氨氮逐渐提高至 $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,亚硝氮也成比例提高至 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ [图 1(a)],出水氨氮和亚硝氮稳定在较低水平. 然而,随着进水氮源浓度显著提高,出水硝氮浓度不仅没有出现大幅提高的趋势,反而有所降低,在运行 150 d 后,出水硝氮由初期的 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上,降到了 $75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,总氮降解率达到了 80% 以上. 整个培养过程中,不断提升进水氨氮、亚硝氮浓度并逐渐降低 HRT,通过这两种方式提升总氮去除负荷.

在自然环境中,厌氧氨氧化菌 (ANAMMOX) 通常与好氧氨氧化菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) 和硝化细菌 (nitrite-oxidizing bacteria, NOB) 共同存在,考虑到 AOB 和 NOB 在氮元素转换过程中也发挥了很大作用,根据厌氧氨氧化、好氧氨氧化和硝化反应的反应式,可以推导出 3 个方程式:

$$\text{进水氨氮} - \text{AOB} - \text{ANAMMOX} = \text{出水氨氮} \quad (1)$$

$$\text{进水亚硝氮} + \text{AOB} - \text{NOB} - 1.32\text{ANAMMOX} = \text{出水亚硝氮} \quad (2)$$

$$\text{NOB} + 0.26\text{ANAMMOX} = \text{出水硝氮} \quad (3)$$

这 3 个方程式反映了进出水氨氮、亚硝氮以及硝氮浓度与 3 类菌种在反应器中消耗的氮浓度之间的关系,通过这 3 个方程式可以计算出不同菌种的氮消耗量,进而量化出 3 种细菌在氮循环中发挥的功效. 在运行 150 d 后,用上述公式计算出反应器内 AOB、NOB 和 ANAMMOX 各自发挥的作用 [图 1(b)],结果表明,反应器中厌氧氨氧化菌的作用明显大于好氧氨氧化菌和硝化细菌,由此可推断,厌氧氨氧化菌已经成为反应器内利用氮源的优势菌种.

2.2 厌氧氨氧化污泥菌群结构

在反应器运行 150 d 后,测定了反应器内活性污泥的菌群结构 (图 2). 其中, *Candidatus brocadia*、*Candidatus kueningia* 和 *Candidatus anammoxoglobus* 均为厌氧氨氧化菌属^[19]. *Candidatus brocadia* 在菌群结构中的比例达到了 10%, *Candidatus kueningia* 的比例为 8.7%, *Candidatus anammoxoglobus* 的比例为 1.8%; 总体来看,厌氧氨氧化菌在菌群中所占比例超过了 20%. 其接种污泥的菌群结构中, *Candidatus brocadia* 和 *Candidatus anammoxoglobus* 所占比例均不超过 1%, 运行 150 d 后, *Candidatus brocadia* 和 *Candidatus anammoxoglobus* 所占比例有了大幅度上升,并且新产生了 *Candidatus kueningia* 属的厌氧氨氧化菌; 主要原因是氮负荷的持续提高和适宜的生长环境,促进了厌氧氨氧化菌的生长和富集.

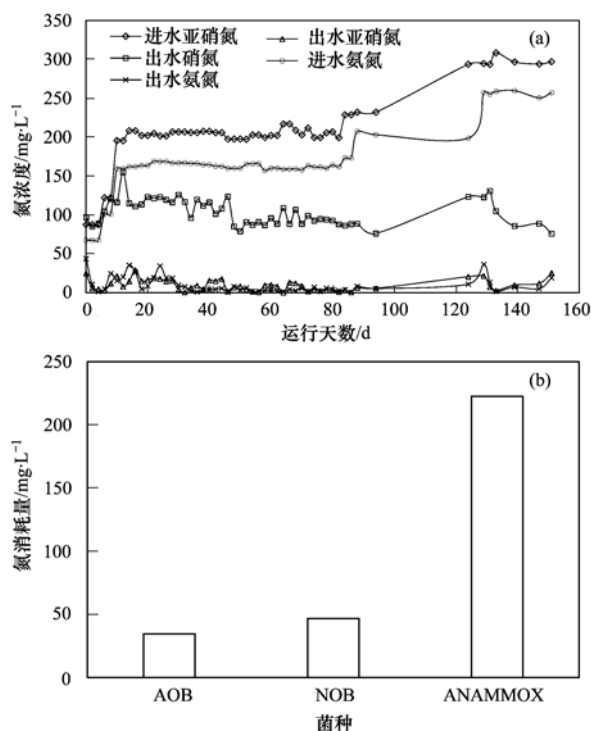


图 1 反应器的脱氮效果和不同菌种的氮消耗量

Fig. 1 Nitrogen removal efficiency and nitrogen consumption of different bacteria in the bioreactor

根据菌群结构分析发现 [图 2(a)], 本研究的厌氧氨氧化污泥中也存在一定量的 AOB 和 NOB, 但其比例均远小于 ANAMMOX, ANAMMOX 所占比例约为 NOB 的 10 倍、AOB 的 20 倍 [图 2(b)]. 对比厌氧氨氧化污泥中 ANAMMOX、AOB 和 NOB 存在的数量及其氮消耗量 [图 1(b)] 可以发现, 无论是菌群数量还是氮消耗量, 都存在着 $\text{ANAMMOX} > \text{NOB} > \text{AOB}$ 的关系. AOB 和 NOB 主要生长在反应器内溶氧相对较高的位置, AOB 把氨氮氧化成亚硝氮, 可作为 NOB 的氮源. 由于整个反应器内溶解氧浓度低, 同时 AOB 和 NOB 都与优势菌 ANAMMOX 存在竞争氮源的关系, 反应器内环境不利于 AOB 和 NOB 生长, 因此这两类细菌在整个菌群中所占比例很低. ANAMMOX 作为优势菌种, 在该体系中发挥着主要的脱氮作用.

2.3 厌氧氨氧化污泥群体感应信号分子类型

用 JAZ1 作为报告菌, 检测厌氧氨氧化污泥提取液中是否存在 AHLs 信号分子的结果 [图 3(a)] 表明, 在过夜培养后, 有厌氧氨氧化污泥提取液的培养皿 (ANAS) 显现出蓝色, 阳性对照显现出较深的蓝色, 而阴性对照不显色. 实验结果表明厌氧氨氧化污泥中确实有 AHLs 信号分子存在, 但是浓度很低. 此外, 用哈氏弧菌发光检测法检测污泥中是否

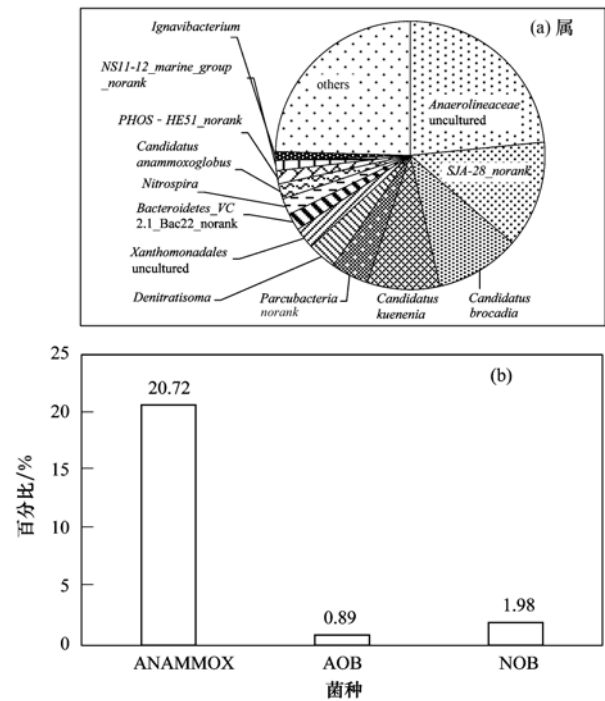


图2 厌氧氨氧化污泥的菌群结构及ANAMMOX、AOB和NOB所占比例

Fig. 2 Microbial community structure of ANAMMOX sludge and the proportions of ANAMMOX, AOB and NOB

存在中间信号分子 AI-2,若实验组最低点发光强度与初始发光强度比值大于空白组的该比值,则说明存在 AI-2 信号分子;厌氧氨氧化污泥的发光检测实验的结果表明[图 3(b)],污泥样品中不存在 AI-2 信号分子,可能是由于厌氧氨氧化污泥的菌群结构较为单一。

现有研究表明,AHLs 信号分子会通过调节 EPS 的产生来促进污泥聚集生长、生物膜的形成和颗粒化^[1],本研究发现,虽然厌氧氨氧化污泥自身可以产生 AHLs 信号分子,但是浓度较低;因此,推测可以通过添加外源信号分子的方式,促进厌氧氨氧化污泥聚集生长,实现快速颗粒化。

2.4 外源添加信号分子对厌氧氨氧化污泥附着生长的影响

2.4.1 菌悬液浓度的影响

对厌氧氨氧化污泥附着生长实验条件优化(图 4)可以发现,菌悬液浓度为 $D_{600} = 1.0$ 时,微生物附着量明显大于其他浓度下的微生物附着量; $D_{600} = 0.4$ 和 $D_{600} = 0.6$ 的浓度下的微生物附着量略大于 $D_{600} = 0.2$ 和 $D_{600} = 0.8$ 浓度下的附着量。考虑到一次性取大量厌氧氨氧化污泥用于附着实验,会影响反应器的脱氮效果和富集培养过程,因此,选取相对较低的浓度,又能获得较高的微生物附着量的菌悬

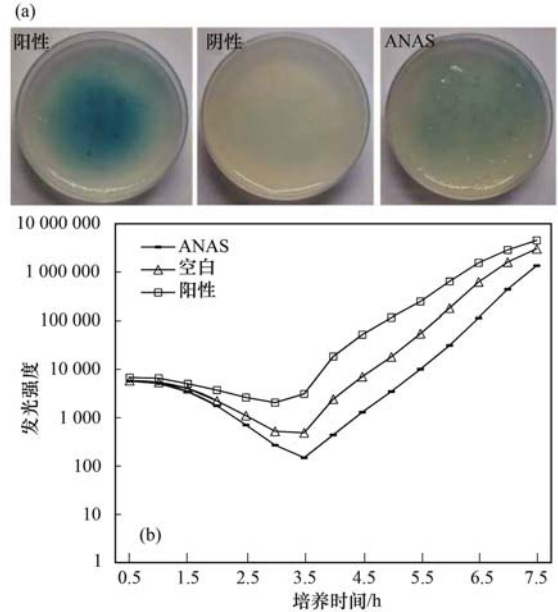


图3 AHLs和AI-2信号分子的检测

Fig. 3 Detection of AHLs and AI-2 signal molecules

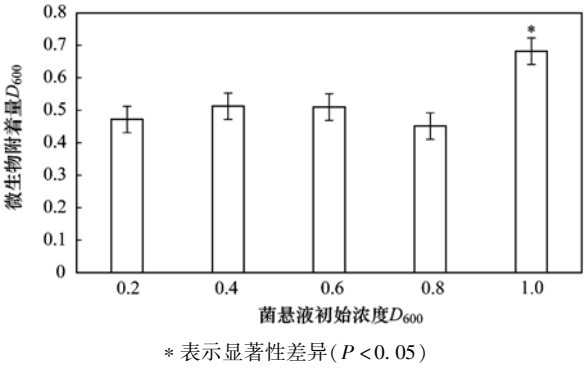


图4 初始生物量对厌氧氨氧化污泥附着生长的影响

Fig. 4 Effect of initial biomass on the adhesion growth of ANAMMOX sludge

液初始浓度 $D_{600} = 0.4$ 来进行后续的附着实验。

2.4.2 信号分子浓度的影响

通过添加不同浓度的 C_{12} -HSL 信号分子的附着实验(图 5)可以发现,添加 C_{12} -HSL 信号分子的实验组的微生物附着量均高于空白组,随着信号分子浓度提高,微生物附着量也更高;这表明 C_{12} -HSL 信号分子对厌氧氨氧化污泥的附着生长能力有促进作用,并且浓度越高,促进作用越强。随着信号分子浓度的增加,微生物附着量的差异越来越小,可以推测信号分子浓度对厌氧氨氧化污泥附着生长的促进作用并不是线性增长的关系。信号分子浓度为 2、4 和 $8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的实验组微生物附着量均达到了较高的水平,并且三组的差异很小,同时考虑到信号分子的成本问题,在后续实验中,采用信号分子浓度为 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行实验。侯保连等^[20]在研究信号分子

对硝化污泥附着生长能力的影响实验中,加入的信号分子浓度为 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; Valle 等^[21]在探索信号分子对活性污泥中微生物的群落组成和功能的影响实验中,采用的信号分子浓度也是 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; Gamage 等^[22]在添加外源信号分子修复生物膜的实验中发现,添加 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 C_8 -HSL 信号分子最有利于生物膜的形成. 结合本实验的研究结果,说明以信号分子浓度 $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行附着实验是合适的.

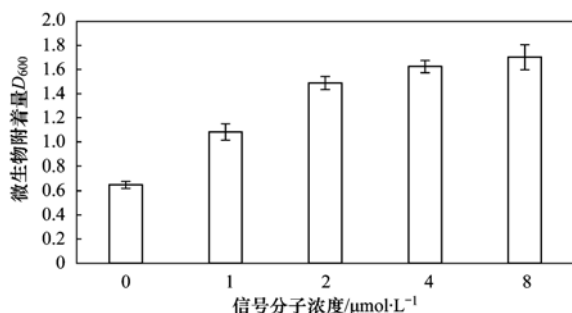


图5 信号分子浓度对厌氧氨氧化污泥附着生长的影响

Fig. 5 Effect of signal molecule concentration on the adhesion growth of ANAMMOX sludge

2.4.3 信号分子类型的影响

通过添加浓度相同但类型不同的信号分子的附着实验(图6)发现,不同类型的信号分子对厌氧氨氧化污泥的附着生长发挥着不同作用. 其中,添加 3-oxo- C_8 -HSL 对微生物附着生长的促进效果最明显;其次是 3-oxo- C_6 -HSL 和 3-oxo- C_{12} -HSL,且这两组的微生物附着量相当;再次是 C_{12} -HSL、 C_6 -HSL 和 3-oxo- C_{10} -HSL;添加 DSF、 C_8 -HSL 和 C_{10} -HSL 均未能提高厌氧氨氧化污泥的附着生长能力. 由此可见,3-碳位置取代基为羰基(3-oxo- C_6 -HSL、3-oxo- C_8 -HSL、3-oxo- C_{10} -HSL、3-oxo- C_{12} -HSL)的 AHLs 均对厌氧氨氧化污泥的附着生长有较明显的促进作用,而3-碳位置无取代基的 AHLs 中只有 C_6 -HSL 和 C_{12} -HSL 发挥积极影响.

Tan 等^[23]研究发现添加外源 3-oxo- C_6 -HSL、3-oxo- C_8 -HSL 和 C_6 -HSL 信号分子明显促进了好氧污泥 EPS 的产生. Kusada 等^[24]在一种 β -内酰胺抗药性细菌 *Acidovorax* sp. strain MR-S7 中人为添加 3-碳位置取代基为羰基的 AHLs,发现这些信号分子均能促进生物膜的形成. Li 等^[25]发现添加 3-碳位置取代基为羰基的 AHLs,对自养硝化污泥附着生长的促进作用优于 3-碳位置无取代基的 AHLs. 结合本研究结果表明,3-碳位置取代基为羰基(3-oxo- C_6 -HSL、3-oxo- C_8 -HSL、3-oxo- C_{10} -HSL、3-oxo- C_{12} -HSL)的

AHLs 信号分子对多种微生物的附着生长均能发挥积极的影响,非常适用于强化菌群多样性高的活性污泥附着生长及其颗粒化. 而 3-碳位置无取代基的 AHLs 则很可能针对不同的菌种发挥不同的作用. 已有研究发现厌氧氨氧化颗粒污泥中存在 C_{12} -HSL^[10],还有研究发现人为添加适量的 C_6 -HSL 可以提高厌氧氨氧化菌的生长速率和活性^[8],由此可以解释这两种 3-碳位置无取代基的 AHLs 对厌氧氨氧化菌的附着生长能起到促进作用. DSF 信号分子对厌氧氨氧化污泥的附着生长没有起到促进作用,这很可能是因为 DSF 的存在会抑制 EPS 的生成^[1],而 EPS 通常有利于活性污泥凝聚及附着生长. 因此,通过外源添加 AHLs 信号分子(特别是 3-碳位置取代基为羰基的 AHLs)来促进厌氧氨氧化工艺的启动从而提高脱氮能力是可行的.

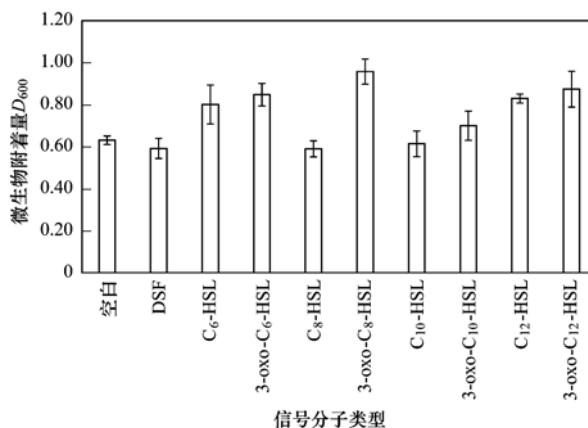


图6 信号分子类型对厌氧氨氧化污泥附着生长的影响

Fig. 6 Effect of AHLs and DSF on the adhesion growth of ANAMMOX sludge

3 结论

(1) 厌氧氨氧化污泥能产生少量浓度较低的 AHLs 信号分子,但不存在 AI-2 种间信号分子.

(2) 添加 3-碳位置取代基为羰基的 AHLs 信号分子,均可促进厌氧氨氧化污泥的附着生长,促进效果由高到低依次为 3-oxo- C_8 -HSL、3-oxo- C_6 -HSL、3-oxo- C_{12} -HSL、3-oxo- C_{10} -HSL; 3-碳位置无取代基的 AHLs 中只有 C_{12} -HSL、 C_6 -HSL 存在积极影响,而 C_8 -HSL、 C_{10} -HSL 以及 DSF 信号分子对厌氧氨氧化污泥的附着生长能力并没有促进作用.

参考文献:

- [1] Feng H J, Ding Y C, Wang M Z, et al. Where are signal molecules likely to be located in anaerobic granular sludge? [J]. Water Research, 2014, 50: 1-9.
- [2] Ding Y C, Feng H J, Zhao Z Q, et al. The effect of quorum sensing on mature anaerobic granular sludge in unbalanced

- Nitrogen supply[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2016, **227** (9): 334.
- [3] Shiner E K, Rumbaugh K P, Williams S C. Interkingdom signaling: deciphering the language of acyl homo-serine lactones [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2005, **29** (5): 935-947.
- [4] Deng Y Y, Wu J E, Tao F, *et al.* Listening to a new language DSF-based quorum sensing in gram-negative bacteria [J]. *Chemical Reviews*, 2011, **111**(1): 160-173.
- [5] Tao F, Swarup S, Zhang L H. Quorum sensing modulation of a putative glycosyltransferase gene cluster essential for *Xanthomonas campestris* biofilm formation [J]. *Environmental Microbiology*, 2010, **12**(12): 3159-3170.
- [6] 张勇, 王瑶, 陈士云. 群体感应信号分子 AI-2 研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2005, **25**(9): 14-18.
Zhang Y, Wang Y, Chen S Y. Advances on quorum sensing AI-2 signal molecular[J]. *China Biotechnology*, 2005, **25**(9): 14-18.
- [7] 丁爽, 郑平, 张萌, 等. 厌氧氨氧化菌群体感应系统研究[J]. *生态学报*, 2012, **32**(8): 2581-2587.
Ding S, Zheng P, Zhang M, *et al.* Quorum sensing in anaerobic ammonium oxidation bacteria[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, **32**(8): 2581-2587.
- [8] 刘思彤, 姜博. Anammox 反应器启动过程中菌群群体感应现象[J]. *北京工业大学学报*, 2015, **41**(10): 1455-1461.
Liu S T, Jiang B. Quorum-sensing of Anammox bacteria during the start-up of Anammox reactor [J]. *Journal of Beijing University of Technology*, 2015, **41**(10): 1455-1461.
- [9] Tang X, Liu S T, Zhang Z T, *et al.* Identification of the release and effects of AHLs in Anammox culture for bacteria communication[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, **273**: 184-191.
- [10] De Clippeleir H, Defoirdt T, Vanhaecke L, *et al.* Long-chain acylhomoserine lactones increase the anoxic ammonium oxidation rate in an OLAND biofilm [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, **90**(4): 1511-1519.
- [11] Yeon K M, Cheong W S, Oh H S, *et al.* Quorum sensing: a new biofouling control paradigm in a membrane bioreactor for advanced wastewater treatment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, **43**(2): 380-385.
- [12] Raut N, Pasini P, Daunert S. Deciphering bacterial universal language by detecting the quorum sensing signal, autoinducer-2, with a whole-cell sensing system [J]. *Analytical Chemistry*, 2013, **85**(20): 9604-9609.
- [13] Stepanović S, Vuković D, Dakić I, *et al.* A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2000, **40**(2): 175-179.
- [14] Taweechaisupapong S, Kaewpa C, Arunyanart C, *et al.* Virulence of *Burkholderia pseudomallei* does not correlate with biofilm formation [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2005, **39**(3): 77-85.
- [15] APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater (21st ed.) [M]. Washington, DC, USA: American Public Health Administration, 2005.
- [16] 陈重军, 张海芹, 汪瑶琪, 等. 基于高通量测序的 ABR 厌氧氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析[J]. *环境科学*, 2016, **37**(7): 2652-2658.
Chen C J, Zhang H Q, Wang Y Q, *et al.* Characteristics of microbial community in each compartment of ABR ANAMMOX reactor based on high-throughput sequencing[J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(7): 2652-2658.
- [17] Sun Q, Li A J, Li M X, *et al.* Effect of pH on biodiesel production and the microbial structure of glucose-fed activated sludge [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, **104**: 224-230.
- [18] 曾宪磊, 刘兴国, 吴宗凡, 等. 处理水产养殖污水潜流湿地中的厌氧氨氧化菌群特征[J]. *环境科学*, 2016, **37**(2): 615-621.
Zeng X L, Liu X G, Wu Z F, *et al.* Community characteristics of ANAMMOX bacteria in subsurface flow constructed wetland (SSFCW) for processing of aquaculture waste water [J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(2): 615-621.
- [19] 贾方旭, 彭永臻, 杨庆. 厌氧氨氧化菌与其他细菌之间的协同竞争关系[J]. *环境科学学报*, 2014, **34**(6): 1351-1361.
Jia F X, Peng Y Z, Yang Q. Competition and synergism between Anammox bacteria and other bacteria [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2014, **34**(6): 1351-1361.
- [20] 侯保连, 李安婕, 孙趣. AHLs 群体感应信号分子对硝化污泥附着生长及硝化效果的影响[J]. *环境科学学报*, 2015, **35**(9): 2773-2779.
Hou B L, Li A J, Sun Q. The effect of N-acyl-homoserine lactones mediated quorum-sensing on the adhesion growth and nitrification of nitrifying sludge [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, **35**(9): 2773-2779.
- [21] Valle A, Bailey M J, Whiteley A S, *et al.* N-acyl-L-homoserine lactones (AHLs) affect microbial community composition and function in activated sludge [J]. *Environmental Microbiology*, 2004, **6**(4): 424-433.
- [22] Gamage A M, Shui G H, Wenk M, *et al.* N-Octanoylhomoserine lactone signalling mediated by the BpsI-BpsR quorum sensing system plays a major role in biofilm formation of *Burkholderia pseudomallei* [J]. *Microbiology*, 2011, **157**(4): 1176-1186.
- [23] Tan C H, Koh K S, Xie C, *et al.* The role of quorum sensing signalling in EPS production and the assembly of a sludge community into aerobic granules [J]. *The ISME Journal*, 2014, **8**(6): 1186-1197.
- [24] Kusada H, Hanada S, Kamagata Y, *et al.* The effects of N-acylhomoserine lactones, β -lactam antibiotics and adenosine on biofilm formation in the multi- β -lactam antibiotic-resistant bacterium *Acidovorax* sp. strain MR-S7 [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, **118**(1): 14-19.
- [25] Li A J, Hou B L, Li M X. Cell adhesion, ammonia removal and granulation of autotrophic nitrifying sludge facilitated by N-acyl-homoserine lactones [J]. *Bioresource Technology*, 2015, **196**: 550-558.

CONTENTS

Reactivity-based Anthropogenic VOCs Emission Inventory in China	LIANG Xiao-ming, ZHANG Jia-ni, CHEN Xiao-fang, <i>et al.</i> (845)
Characteristics of Reactive VOCs Species During High Haze-Pollution Events in Suburban Area of Shanghai in Winter	GAO Shuang, ZHANG Kun, GAO Song, <i>et al.</i> (855)
Assessment of PM _{2.5} Pollution Mitigation due to Emission Reduction from Main Emission Sources in the Beijing-Tianjin-Hebei Region	WU Wen-jing, CHANG Xing, XING Jia, <i>et al.</i> (867)
Concentration Characteristics and Sources of Trace Metals in PM _{2.5} During Wintertime in Beijing	QIAO Bao-wen, LIU Zi-rui, HU Bo, <i>et al.</i> (876)
Online Source Analysis of Particulate Matter (PM _{2.5}) in a Heavy Pollution Process of Shijiazhuang City During Heating Period in 2015	LU Na, LI Zhi-guo, ZHOU Jing-bo, <i>et al.</i> (884)
Analysis of Chemical Composition and Pollution Source of the Fine Particulate Matter by the SPAMS in the Four Seasons in Nanning	LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, MAO Jing-ying, <i>et al.</i> (894)
Physico-chemical Characteristics of Individual Aerosol Particles in Marine Atmosphere on South Hemisphere	CHI Jian-wei, LI Chuan-jin, SUN Jun-ying, <i>et al.</i> (903)
Characteristics of Spatial Distribution of Bacterial Aerosols Produced by Fountain	ZHANG Chong-miao, YUAN Lin, XU Peng-cheng, <i>et al.</i> (911)
Removal of Volatile Sulfur Odor by the Biotrickling Filter	YE Jie-xu, MIAO Xiao-ping, ZHUGE Lei, <i>et al.</i> (918)
Magnetic Characteristics and Environmental Pollution Analysis of Street Dust in Different Functional Zones of Xi'an City	FANG Ni, ZHANG Jun-hui, WANG Jin, <i>et al.</i> (924)
Pollution Characteristics and Nitrification and Denitrification Potential of Superficial Sediments from Streams in an Urban-Rural Fringe	QIN Ru-bin, LI Ru-zhong, GAO Su-di, <i>et al.</i> (936)
Nitrification and Denitrification Rates in a Small Tributary, Nanhe River, of Three Gorge Dam Reservoir During Water Collection and Release Events	WANG Jing, LIU Hong-jie, LEI Yu, <i>et al.</i> (946)
Tempo-spatial Variations and Influential Factors of Carbon Dioxide Emissions from the Geheyan Reservoir over the Qingjiang River Basin, China	ZHAO Deng-zhong, TAN De-bao, LI Chong, <i>et al.</i> (954)
Seasonal Pollution Characteristics and Source Identification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Organochlorine Pesticides in Surface Water of Baiyangdian Lake	WANG Yi-zhen, ZHANG Jun, ZHOU Xu-shen, <i>et al.</i> (964)
Distributions, Sources and Pollution Assessment of Hg in Sediment of Douhe Reservoir in Tangshan City	WU Ting-ting, WANG Ming-meng, CHEN Xu-feng, <i>et al.</i> (979)
Release Characteristics of Mercury from Submersed Typical Herbaceous Plants in the Water-Level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Area	DENG Han, ZHANG Xiang, ZHANG Cheng, <i>et al.</i> (987)
Distribution Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Surface Water Around Electroplating Factories	YU Cong-cong, ZHAO Wei-tuo, GAO Xiao-feng, <i>et al.</i> (993)
Speciation and Ecological Risk of Heavy Metals in Surface Sediments from Jiulong River	LIN Cheng-qi, HU Gong-ren, YU Rui-lian, <i>et al.</i> (1002)
Fractionation and Contamination Assessment of Metal Elements in the Surface Sediments of Yundang Lagoon in Xiamen	YANG Qiu-li, YU Rui-lian, HU Gong-ren, <i>et al.</i> (1010)
Source Analysis, Spatial Distribution and Pollution Assessment of Heavy Metals in Sewage Irrigation Area Farmland Soils of Longkou City	LI Chun-fang, WANG Fei, CAO Wen-tao, <i>et al.</i> (1018)
Efficiency and Mechanism of Purifying High Iron-Manganese from Ground Water in the Cold Villages and Towns Based on The Coupling of Rice Husk and Iron-Manganese Oxidizing Bacteria	SUN Nan, CHEN Yan-li, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (1028)
Peroxidation of High Algae-laden Water by Ozone; Algae Organic Matter Transformation and Disinfection By-products Formation	ZHANG Sai, HU Xue-bin, GU Li, <i>et al.</i> (1038)
Effects of Pretreatment on Hydraulic Irreversible Membrane Fouling During Ultrafiltration Short Process: A Pilot Study	YANG Hai-yan, XING Jia-jian, WANG Can, <i>et al.</i> (1046)
Fenton-like Catalytic Removal of Organic Pollutants in Water by Framework Cu in Cu-Al ₂ O ₃	XU Dan, ZHANG Li-li, LIU Li-fen (1054)
Oxidation Destruction of Cu(CN) ₃ ²⁻ by Persulfate	WANG Yun-fei, LI Yi-bing, WANG Yan-bin, <i>et al.</i> (1061)
Enhanced Removal of Herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid and Simultaneous Power Generation in Microbial Fuel Cells	QUAN Xiang-chun, QUAN Yan-ping, XIAO Zhu-tian (1067)
Adsorption Characteristics of Copper in Water by the Porous Biomorph-Genetic Composite of HAP/C with Eucalyptus Wood Template	LI Chao, ZHU Zong-qiang, CAO Shuang, <i>et al.</i> (1074)
Biological Toxicity Evaluation of Domestic Wastewater Based on A ² /O Treatment Processes Using a Battery of Bioassays	ZHANG Qiu-ya, MA Xiao-yan, WANG Xiao-chang, <i>et al.</i> (1084)
Effect of Wastewater Nitrogen Concentrations on Nitrogen Removal Ability of <i>Myriophyllum aquaticum</i>	MA Yong-fei, YANG Xiao-zhen, ZHAO Xiao-hu, <i>et al.</i> (1093)
Recovery Performance of ANAMMOX Process after Inhibition Resulting from Seawater	QI Pan-qing, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (1102)
Impact of Starvation Conditions on Biological Community Structure in Sulfur Autotrophic Denitrification Reactor	LI Fang-fang, SHI Chun-hong, LI Hai-bo, <i>et al.</i> (1109)
Quick Start-up of Anaerobic Ammonium Oxidation Process	LÜ Gang, XU Le-zhong, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (1116)
A New Model for the Treatment of Low Ammonia Nitrogen Wastewater by CANON Process	WANYAN De-qing, YUAN Yi, LI Xiang, <i>et al.</i> (1122)
Effects of Side-stream Phosphorus Recovery on the Performance of EBPR System Under Low Dissolved Oxygen Condition	MA Juan, SONG Lu, YU Xiao-jun, <i>et al.</i> (1130)
Identification and Influence of Quorum Sensing on Anaerobic Ammonium Oxidation Process	CHEN Shu-han, LI An-jie, WANG Yue-xing, <i>et al.</i> (1137)
Effects of Organic Loading Rate on Startup Performance of Anaerobic Digestion with Vinegar Residues	DAI Xiao-hu, YU Chun-xiao, LI Ning, <i>et al.</i> (1144)
Influencing Mechanism of Calcium Peroxide Pre-treatment on Dewatering Performance of Waste Activated Sludge	BAI Run-ying, CHEN Zhan, ZHANG Wei-jun, <i>et al.</i> (1151)
Treatment Effects of Earthworm Constructed Wetlands in Different Working Conditions	DONG Meng-ke, LI Huai-zheng, XU Yi-xiao (1159)
Effect of PFOA on Oxidative Stress and Membrane Damage of <i>Escherichia coli</i>	YANG Meng, LI Yi, YE Jin-shao, <i>et al.</i> (1167)
Physicochemical Properties and Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles; A Comparison of Environmental and Laboratorial Conditions	YI Jun, CHENG Jin-ping (1173)
Pollution Characteristics of Chlorobenzenes in Organs of Fish from Typical Epidemic Areas of Schistosomiasis Prevalence	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1182)
Effect of Nano Zeolite on Growth, Activity of Antioxidant Enzyme, and Chemical Fractions and Concentration of Cd in Chinese Cabbage	QIN Yu-li, XIONG Shi-juan, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (1189)
Effect of Different Iron Minerals on Bioaccessibility of Soil Arsenic Using <i>in vitro</i> Methods	ZHONG Song-xiong, YIN Guang-cai, HUANG Run-lin, <i>et al.</i> (1201)
Enhanced Electrokinetic Remediation of Heavy Metals Contaminated Soils by Stainless Steel Electrodes as well as the Phenomenon and Mechanism of Electrode Corrosion and Crystallization	WEN Dong-dong, FU Rong-bing, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (1209)
Influence of the Application of Non-Hazardous Sewage Sludge on the Evolution of Soil Carbon Pool and Carbon Pool Management Index	LIU Xiao, HUANG Lin, GUO Kang-li, <i>et al.</i> (1218)
Input and Distribution of Photosynthesized Carbon in Soil-Rice System Affected by Water Management and Nitrogen Fertilization	WANG Ting-ting, ZHU Zhen-ke, ZHU Han-hua, <i>et al.</i> (1227)
Effects of Simulated Acid Rain on Soil Respiration and Heterotrophic Respiration in a Secondary Forest	CHEN Shu-tao, SUN Lu, SANG Lin, <i>et al.</i> (1235)
Response of Soil Nitrifier and Denitrifier Community and Activity to Elevated Atmospheric CO ₂ Concentration and Temperature	LIU Yuan, WANG Guang-li, LI Lian-qing, <i>et al.</i> (1245)
Effects of Lithology on the Abundance and Composition of Soil Nitrogen-fixing Bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Karst Shrub Ecosystem	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (1253)
Characterization of Phosphorus Forms in Organic Composts and Their Effects on Leaf Phosphorus Content of <i>Castanea mollissima</i> in Chinese Chestnut Producing Area	SONG Ying, GUO Su-juan, ZHANG Li, <i>et al.</i> (1262)
Effects of Acidic Materials on the N Transformations During the Composting of Pig Manure and Wheat Straw	JIANG Ji-shao, YAO Qian (1272)