

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第5期

Vol.38 No.5

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

南京工业区夏冬季节二次有机气溶胶浓度估算及来源解析	刘静达, 安俊琳, 张玉欣, 师远哲, 林旭 (1733)
南京北郊大气细粒子在人体呼吸系统沉积特性	梁静舒, 安俊琳, 王红磊, 张玉欣, 王俊秀, 施双双, 王潇 (1743)
广西北海涠洲岛春季大气颗粒物浓度特征及影响因素	高元官, 张凯, 王体健, 陈志明, 耿红, 孟凡 (1753)
神农架大九湖大气中的多环芳烃	金梦云, 邢新丽, 柯艳萍, 郑煌, 胡天鹏, 孙焰, 丁洋, 李绘, 张泽洲, 祁士华 (1760)
沧州市春季 NMHCs 空间分布特征	段菁春, 周雪明, 张鹤丰, 谭吉华, 胡京南, 柴发合 (1769)
北京市民用燃煤烟气中气态污染物排放特征	梁云平, 张大伟, 林安国, 马召辉, 郭晓东 (1775)
生活垃圾堆肥设施 VOCs 排放特征及臭氧生成潜势分析	邵珠泽, 郑国砥, 王元刚, 高定, 朱彦莉, 陈同斌, 聂二旗 (1783)
低温等离子体对复合 CVOCs 的降解特性	姜理英, 张迪, 郭海倩, 缪晶晶, 陈怡伶, 李慧 (1792)
运城市道路扬尘化学组成特征及来源分析	武媛媛, 李如梅, 彭林, 端允, 王海京, 李颖慧, 白慧玲, 牟玲 (1799)
高架道路周边建筑物灰尘重金属污染风险: 以常州市为例	姚静波, 王明新, 齐今笛, 孙向武, 张文艺 (1807)
上海降水中氢氧同位素特征及与 ENSO 的关系	董小芳, 邓黄月, 张彦, 朱志鹏, 王琳, 郑祥民, 周立旻 (1817)
DOC + CDPF 对重型柴油车排放特性的影响	张允华, 楼狄明, 谭丕强, 胡志远 (1828)
我国重点城市饮用水中砷健康累积风险评价	张秋秋, 潘申龄, 刘伟, 张昱, 安伟 (1835)
基于 Monte Carlo 模拟法对水源水体中微囊藻毒素的健康风险评估	王阳, 徐明芳, 耿梦梦, 黎明, 耿耕南 (1842)
北京城区水体中 PPCPs 的分布特征及潜在风险	张盼伟, 周怀东, 赵高峰, 李昆, 赵晓辉, 刘巧娜, 任敏, 赵丹丹, 李东佼 (1852)
长江口及邻近海域春夏季有色溶解有机物时空分布特征及主要影响因素	孙语嫣, 白莹, 苏荣国, 石晓勇 (1863)
垃圾填埋有色溶解性有机质与铜络合机制	肖骁, 何小松, 高如泰, 席北斗, 张慧, 黄彩红, 李丹, 袁志业 (1873)
3 种生物滞留设计对城市地表径流溶解性氮的去除作用	李立青, 胡楠, 刘雨情, 涂声亮, 陈华超 (1881)
三峡库区小流域稻田空间格局对氮磷流失影响	陈成龙, 高明, 倪九派, 谢德体, 邓华 (1889)
NO ₃ ⁻ -N 负荷对树皮填料人工湿地早期反硝化及释碳速率的影响	姜应和, 李瑶, 张莹, 张翔凌 (1898)
湿地基质及阴极面积对人工湿地型微生物燃料电池去除偶氮染料同步产电的影响	李薛晓, 程思超, 方舟, 李先宁 (1904)
阳极材料对 6 L 微生物燃料电池性能及有机废水处理效果的影响	丁为俊, 于立亮, 陈杰, 成少安 (1911)
臭氧-混凝交互作用对水体有机物的影响	刘海龙, 付晶森, 郭雪峰, 柴建恬, 张忠民 (1918)
紫外线和次氯酸钠对 <i>Escherichia coli</i> 和 Poliovirus 的消毒作用	徐丽梅, 张崇森, 王晓昌, 吉铮, 周进宏 (1928)
不同沉淀 pH 值条件下制备的水合氧化铝对水中磷酸盐的吸附作用	王星星, 林建伟, 詹艳慧, 张志斌, 邢云青, 姜博汇, 储鸣 (1936)
树脂基纳米钛锆氧化物复合吸附剂同步去除水中磷和氟	陈家凯, 聂广泽, 刘志英, 姚远, 徐炎华 (1947)
灼烧净水污泥投加方式对磷吸附和磷形态的影响	朱培颖, 李大鹏, 于胜楠 (1957)
城市污水管网中污染物冲刷与沉积规律	桑浪涛, 石烜, 张彤, 付博文, 金鹏康 (1965)
11 种邻苯二甲酸酯在好氧污水处理系统中的归趋	周林军, 古文, 刘济宁, 石利利, 徐炎华 (1972)
反硝化抑制硫酸盐还原的工艺特性	金鹏康, 杨珍瑞, 李蓉, 李岩, 周立辉 (1982)
Fe ⁽⁰⁾ -活性炭强化短程反硝化脱氮及影响因素	吕永涛, 刘婷, 曾玉莲, 孙婷, 张瑶, 王磊 (1991)
两种不同抑制策略下部分亚硝化系统运行特性比较	李惠娟, 彭党聪, 陈国燕, 王博, 姚倩, 卓杨 (1997)
基质比对 ABR 厌氧氨氧化工艺脱氮性能的影响	闫刚, 徐乐中, 沈耀良, 吴鹏, 张婷, Samwine Thomas (2006)
温度对 SCSC-S/Fe 复合系统脱氮除磷及微生物群落特性的影响	范军辉, 郝瑞霞, 朱晓霞, 万京京, 刘思远, 王丽沙 (2012)
SCAR 处理城市生活污水的效能及其微生物群落动态分析	杨波, 徐辉, 冯修平, 李方, 田晴, 马春燕 (2021)
喹啉降解菌 <i>Ochrobactrum</i> sp. 的好氧降解特性及其在焦化废水中的生物强化作用	徐伟超, 吴翠平, 张玉秀, 张琪, 张怡鸣 (2030)
锰氧化菌 <i>Arthrobacter</i> sp. HW-16 的锰氧化特性和氧化机制	万文结, 薛芷筠, 张泽文, 何冬兰 (2036)
温度对海洋厌氧氨氧化菌脱氮效能的影响	周同, 于德爽, 李津, 吴国栋, 王晓静 (2044)
包埋固定化活性污泥脱氮特性与微生物群落分析	许晓毅, 尤晓露, 吕晨培, 王斌, 胡碧波 (2052)
强化两相污泥高固厌氧消化系统的微生物群落	曹知平, 吴静, 左剑恶, 王晓璐, 王翀, 王广启, 王凯军, 钱易 (2059)
三峡库区城乡消落带人工植被恢复土壤放线菌多样性特征	秦红, 任庆水, 杨文航, 李昌晓 (2065)
川中丘陵区农田源头沟渠玉米季中氧化亚氮排放及其影响因素	田琳琳, 朱波, 汪涛, 赵原, 董宏伟, 任光前, 胡磊 (2074)
双氰胺对冬闲稻田和油菜地 N ₂ O 排放的影响	伍延正, 张苗苗, 秦红灵, 陈春兰, 王娟, 魏文学, 李勇 (2084)
生物炭介导的不同地表条件下土壤 N ₂ O 的排放特征	邹娟, 胡学玉, 张阳阳, 张迪, 陈威, 王向前, 陈窈君, 刘扬 (2093)
垄作秸秆覆盖下西南地区蚕豆田土壤呼吸与有机碳特征	熊瑛, 王龙昌, 杜娟, 赵琳璐, 周泉, 张赛 (2102)
广东省土壤 Cd 含量空间分布预测	孙慧, 郭治兴, 郭颖, 袁宇志, 柴敏, 毕如田, 杨静 (2111)
宿鸭湖沉积物重金属空间分布及潜在生态风险评价	张鹏岩, 康国华, 庞博, 郭依, 何坚坚, 秦明周 (2125)
腐殖酸活性组分及其比例对紫色潮土中铅形态转化和有效性演变动态的影响	王青清, 蒋珍茂, 王俊, 魏世强 (2136)
紫色水稻土颗粒有机质对重金属的富集特征	李秋言, 赵秀兰 (2146)
生物炭增强黄绵土对西替利嗪的吸附作用	吴志娟, 毕二平 (2154)
两种木材生物炭对铜离子的吸附特性及其机制	王彤彤, 马江波, 曲东, 张晓媛, 郑纪勇, 张兴昌 (2161)
牛粪源蛭蛭及其生物炭对 Pb ²⁺ 、Cd ²⁺ 的吸附特性	杜文慧, 朱维琴, 潘晓慧, 沈旭阳, 陈思远, 陈可乐, 坎吉汗·木沙拉, 张杭君, 丁颖 (2172)
C ₃ N ₄ /BiOBr 复合可见光催化剂的性能及其作用机制	鲍玥, 周旻昀, 邹骏华, 史宇滨, 万先凯, 史惠祥 (2182)
《环境科学》征稿简则 (2020) 《环境科学》征订启事 (2035) 信息 (1782, 1798, 1827)	

锰氧化菌 *Arthrobacter* sp. HW-16 的锰氧化特性和氧化机制

万文结, 薛芷筠, 张泽文, 何冬兰*

(中南民族大学生命科学院, 武汉 430070)

摘要: 锰作为一种常见的无机污染物, 难以从环境中除去. 本研究采用选择性培养基从锰矿土壤中分离到 1 株高效锰氧化细菌 *Arthrobacter* sp. HW-16. 此外, 高通量测序发现, 不同驯化条件下微生物群落结构有明显差异, 且 *Arthrobacter* 在含 Mn(II) 培养基里为优势菌属. 本文对 *Arthrobacter* sp. HW-16 的微生物特性和锰氧化机制进行了初步的研究. 结果表明, 菌株 HW-16 的 Mn(II) 耐受质量浓度高达 $5\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 菌株 HW-16 在 $3\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Mn(II) 培养基里取得最大 Mn(II) 氧化率为 66.28%. 单因素变量实验表明环境因子影响菌株 HW-16 的生长和 Mn(II) 氧化率. 菌株 HW-16 在 30°C , pH 7.0, 1% 或 3% 盐度, $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下生长得最好. 高温 ($\geq 40^\circ\text{C}$), 高 pH (≥ 7), 高转速和低盐度条件下 Mn(II) 氧化率高. 菌株 HW-16 通过合成锰氧化活性因子促使 Mn(II) 氧化和产生碱性代谢产物促使 Mn(II) 转化为沉淀.

关键词: 锰氧化细菌; 锰氧化率; 环境因子; 活性因子; 氧化机制

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)05-2036-08 DOI: 10.13227/j.hjks.201611103

Manganese Oxidation Characteristics and Oxidation Mechanism of a Manganese-Oxidizing Bacterium *Arthrobacter* sp. HW-16

WAN Wen-jie, XUE Zhi-jun, ZHANG Ze-wen, HE Dong-lan*

(College of Life Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430070, China)

Abstract: Manganese is a common inorganic pollutant, which is difficult to remove from the environment. In this research, a high efficient manganese-oxidizing bacterium *Arthrobacter* sp. HW-16 was isolated from the manganese-rich soil using selective media. Besides, high-throughput sequencing revealed that there were significant differences of the microbial community compositions when bacteria were acclimated in different conditions, and *Arthrobacter* was the dominant genus in Mn(II) containing media. In this paper, the microbiological properties of strain HW-16 and Mn(II) oxidation mechanism were investigated. The results indicated that the maximal Mn(II) tolerance mass concentration of strain HW-16 was $5\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, and it exhibited a decent Mn(II) oxidation efficiency with the highest value of 66.28% at a Mn(II) concentration of $3\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Single factor experiments demonstrated that environmental factors could affect the growth and Mn(II) oxidation efficiency of strain HW-16. At 30°C or pH 7.0, at 1% or 3% salinity, and at $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, strain HW-16 got the highest biomass. While the highest Mn(II) oxidation efficiency occurred at high temperature ($\geq 40^\circ\text{C}$), high pH (≥ 7), high shaking speed and low salinity. Strain HW-16 could oxidize Mn(II) by producing Mn(II) oxidizing active factor and turn Mn(II) into precipitation by synthesizing alkaline metabolites.

Key words: manganese-oxidizing bacterium; Mn(II) oxidation efficiency; environmental factors; Mn(II) oxidizing active factor; oxidation mechanism

锰(manganese, Mn)在陆地和水体中含量丰富, 是人体必需的微量元素^[1, 2], 然而经呼吸道、消化道或皮肤摄入过量的锰会引起人体锰中毒^[3]. 近年来, 一些行业大量使用含锰金属和含锰氧化物, 锰污染物不可避免地进入生态系统中^[4], 严重地污染了地下水和饮用水, 影响人类的健康^[5]. 目前, 锰污染的治理常采用生物除锰法, 借助锰氧化细菌将可溶性 Mn(II) 氧化成不溶的锰氧化物沉淀, 经过滤得以除去^[6]. 生物除锰法较传统的除锰方法如硫化物沉淀法^[7]、吸附法^[8]和离子交换法^[9]等方法具有成本低, 能耗小, 专一性强等优点.

锰氧化细菌广泛存在于淡水、海水和土壤等自

然环境中^[6, 10], 对锰的氧化起着重要的作用. 国内外学者对锰氧化细菌的锰氧化机制做了大量的研究. 目前普遍认为, 微生物氧化锰与多铜氧化酶(multicopper oxidase, MCO)的催化作用有关^[6, 11]. MCO 是一个结构功能各异的蛋白质家族, 以 Cu(II) 为辅因子, 能够氧化 Fe(II)、Mn(II) 等无机离子和酚醛等有机物^[12, 13]. 一些编码 MCO 的基因陆续被发现, *Bacillus* sp. SG-1 里 *mnxG* 基因,

收稿日期: 2016-11-12; 修订日期: 2016-12-05

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2015BAB01B00); 中央高校基本科研业务费专项(CZW15054)

作者简介: 万文结(1989~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为分子微生物和环境微生物, E-mail: 644699979@qq.com

* 通信作者, E-mail: hdl@mail.scuec.edu.cn

Pseudomonas putida 里 GB-1 和 MnB1, *Leptothrix discophora* SS1 里 *mofA* 基因^[6,10]。芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、土微菌属 (*Pedomicrobium*)、披毛菌属 (*Gallionella*) 和纤发菌属 (*Leptothrix*) 等属中陆续报道发现了一些锰氧化细菌^[14], 然而仅有假单胞菌属、芽孢杆菌属、土微菌属和纤发菌属细菌作为模式菌株。因此, 筛选新型的锰氧化细菌和探索其锰氧化的机制显得尤为重要。

本研究从锰矿土壤中筛选纯化得到 1 株锰氧化菌 *Arthrobacter* sp. HW-16, 对该菌 Mn(II) 氧化能力和耐受性, 环境因子对该菌株 HW-16 氧化 Mn(II) 的影响进行了研究, 同时对菌株 HW-16 氧化 Mn(II) 的机制做了初步的探讨, 以期为该菌应用于锰废水治理提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 主要培养基

牛肉膏蛋白胨培养基 (BET) (L^{-1}): 牛肉浸膏, 3 g; 蛋白胨, 10 g; NaCl 5 g, pH 7.0 ~ 7.1。

PYCM 培养基^[15] (L^{-1}): 牛肉浸膏, 3 g; 胰蛋白胨, 10 g; NaCl 5 g; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 9.218 g (锰终质量浓度为 $3\ 000\ mg \cdot L^{-1}$, PYCM-3000) 或 6.645 g (锰终质量浓度为 $2\ 000\ mg \cdot L^{-1}$, PYCM-2000) 或 3.073 g (锰终质量浓度为 $1\ 000\ mg \cdot L^{-1}$, PYCM-1000), pH 7.0 ~ 7.1。

LB 培养基 (L^{-1}): 胰蛋白胨, 10 g; 酵母浸出物, 5 g; NaCl 10 g, pH 7.0 ~ 7.2。

1.2 菌株的分离纯化与鉴定

称取 5 g 锰矿土壤 (锰质量分数为 4.46%), 加入至 100 mL 无菌水中, $200\ r \cdot min^{-1}$ 、 $30^\circ C$ 下振荡 1 h。土壤水混合物于 $4\ 000\ r \cdot min^{-1}$ 下离心 5 min。吸取 5 mL 上清液, 分别加入至 100 mL BET 培养基, PYCM-1000 培养基, PYCM-2000 和 PYCM-3000 培养基中, $200\ r \cdot min^{-1}$ 、 $30^\circ C$ 下培养 4 d。待培养结束后, 用 TIANamp Bacteria DNA 试剂盒 (天根科技, 北京) 提取各样品里细菌总 DNA, 细菌总 DNA 经检测后送于上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序, 以确定来源于锰矿土壤里的微生物在不同浓度锰离子驯化条件下微生物群落结构的改变。

吸取 5 mL PYCM-3000 里的菌液, 加入至 100 mL PYCM-3000 培养基, $200\ r \cdot min^{-1}$ 、 $30^\circ C$ 下培养 3 d。以 3 d 为 1 个循环, 依此驯化 5 个循环。将驯化后的菌液进行梯度稀释, 吸取 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 和 10^{-8} 稀释度的菌液各 0.1 mL, 涂布于 PYCM-3000

平板上, 然后置于 $30^\circ C$ 培养箱中培养 1 d。挑取平板上长势较好的单菌落, 划线于 PYCM-3000 平板上, 依此挑取单菌落划线传代培养 6 次。

菌株生理生化试验参照文献 [16]。采用 TIANGEN DNA 提取试剂盒 (天根生化科技, 北京) 提取细菌总 DNA。使用细菌通用引物^[17] (27F, 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3'; 1492R, 5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') 来扩增菌株 16S rDNA 基因。PCR 产物经纯化后送于武汉擎科创新生物科技有限公司测序。将测得的 16S rDNA 序列上传至 NCBI 中与已知的 16S rDNA 比对, 使用 MEGA6^[18] 软件构建系统进化树。

1.3 菌株 Mn(II) 氧化能力和 Mn(II) 耐受性检测

挑取上述纯化的单菌落, 接种于 100 mL LB 培养基中, $30^\circ C$ 下培养 16 h。将菌液于 $5\ 000\ r \cdot min^{-1}$ 下离心 10 min, 用无菌水重悬菌株至菌液 D_{600} 值为 1, 该溶液作为菌株种子菌液备用。

采取 1% 的接种率, 将菌株种子溶液 ($D_{600} = 1$) 接种至 PYCM-3000 培养基中, $200\ r \cdot min^{-1}$ 、 $30^\circ C$ 下培养 6 d。每 12 h 测定菌液的 D_{600} 值和上清液中 Mn(II) 的质量浓度, 绘制生长曲线。此外, 将菌株种子溶液 ($D_{600} = 1$) 按 1% 接种率接种至含 $500 \sim 6\ 000\ mg \cdot L^{-1}$ Mn(II) 的 PYCM 培养基中, 于相同条件下培养 24 h 后, 测定菌液 D_{600} 值, 培养基 pH 和上清液中 Mn(II) 的质量浓度。Mn(II) 质量浓度的测定采用甲醛肟分光光度法^[19]。

探究 PYCM-3000 培养基里锰存在的形态及其含量的变化, 取 10 mL PYCM-3000 培养基里培养 24 h 后的菌液, 于 $12\ 000\ r \cdot min^{-1}$ 下离心 10 min, 上清液经 $0.22\ \mu m$ 微孔滤膜过滤后测定 Mn(II) 质量浓度 (游离态锰质量浓度); 将离心后的菌体用 $10\ mL\ 50\ mmol \cdot L^{-1}\ CuSO_4$ 溶液复溶^[20], $100\ r \cdot min^{-1}$ 、 $4^\circ C$ 下振荡 48 h [确保 Mn(II) 彻底被 Cu(II) 置换出], 于 $12\ 000\ r \cdot min^{-1}$ 下离心 10 min, 上清液经 $0.22\ \mu m$ 微孔滤膜过滤后测定 Mn(II) 质量浓度 (吸附态锰质量浓度); 离心后的沉淀经无菌水洗涤后用 $10\ mL\ 20\ mmol \cdot L^{-1}$ 盐酸羟胺浸泡 12 h [将高价态锰还原为 Mn(II)], 于 $12\ 000\ r \cdot min^{-1}$ 下离心 10 min, 上清液经 $0.22\ \mu m$ 微孔滤膜过滤后测定 Mn(II) 质量浓度 (沉淀态锰质量浓度)。

1.4 环境因子对 Mn(II) 氧化的影响

将菌株种子溶液 ($D_{600} = 1$) 按 1% 接种率接种于 PYCM-3000 培养基中。在探究最适温度实验中, 培养基 pH 为 7, 将培养物分别置于 10、15、20、25、

30、35 或 40℃ 下, 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 24 h. 在探究最适 pH 实验中, 调节 PYCM-3000 培养基初始 pH 为 4、5、6、7、8、9 或 10, 培养物于 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、30℃ 下培养 24 h. 在探究最适盐度实验中, 培养基 pH 为 7.0, 用 NaCl 调节 PYCM-3000 培养基盐度 (NaCl 质量浓度) 为 1%、3%、5%、7%、9%、11% 或 13%, 培养物于 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、30℃ 下培养 24 h. 在探究最适溶氧度实验中, 培养基 pH 为 7.0, 调节转速为 0、40、80、120、160 或 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 培养物于 30℃ 下培养 24 h.

待培养结束后, 测定菌液的 D_{600} 值, 培养基 pH 值和上清液中 Mn(II) 的质量浓度.

1.5 Mn(II) 氧化过程中 Mn(III) 的检测

Mn(III) 能与焦磷酸钠形成稳定的络合物, 并在 480 nm 处有最大吸收峰^[21]. 将菌株种子溶液 ($D_{600}=1$) 按 1% 接种率接种至 BET 和 PYCM-3000 培养基中, 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、30℃ 下培养 144 h. 每隔 24 h, 分别向 10 mL BET 培养基中的菌液 (MnSy), 10 mL PYCM 培养基中的菌液 (MySy), 以及 10 mL PYCM-3000 培养基 (MySn) 加入 1 mL 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 焦磷酸钠溶液, 30℃ 下反应 2 h, 反应液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后于酶标仪 (Thermo, USA) 上测定 D_{480} 下的光密度以确定 Mn(III)-焦磷酸钠络合物的含量.

1.6 锰氧化活性因子分布定位

将菌株种子溶液 ($D_{600}=1$) 按 1% 接种率接种至 BET 和 PYCM-3000 培养基中, 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、30℃ 下培养 144 h. 待培养结束后, 取 10 mL PYCM-3000 培养基里的菌液于 4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、4℃ 下离心 10 min, 保留上清液 (YS); 取 3 份 10 mL 菌液于 2 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、4℃ 下离心 2 min, 保留 1 份含菌株的上清液 (YP), 另 2 份上清液 (YP) 于 4 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、4℃ 下离心 10 min, 收集菌体, 菌株经 1.0 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 7.0) 洗涤两次后于 10 mL 1.0 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH 7.0) 中重悬, 保留 1 份菌悬液 (YJ), 另 1 份菌悬液经超声破碎 (100 W, 工作 5 s, 间歇 5 s) 20 min 后, 裂解液于 8 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 5 min, 保留裂解上清液 (YL). 按相同方法, 从 BET 培养基中处理得到的各部分液体或菌体依次记为 NS、NP、NJ 和 NL. 将 1 mL 3 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ MnSO_4 溶液分别加入至 YS、YP、YJ、YL、NS、NP、NJ、NL 以及 10 mL 无菌水 (对照组) 中, 于 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、30℃ 下反应 4 h 后测定上清液中 Mn(II) 质量浓度.

1.7 数据计算与分析

$$\text{Mn(II) 氧化率} = 100\% \times (\rho_0 - \rho_1) / \rho_0$$

式中, ρ_0 为上清液中初始 Mn(II) 质量浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), ρ_1 为上清液中最终 Mn(II) 质量浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

T 检验用于差异性分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 作为显著性水平. 实验中每个处理做 3 次, 标准差由 Microsoft Excel 计算而来.

2 结果与讨论

2.1 微生物群落结构的变化

图 1 揭示了来源于锰矿土壤中的微生物在不同 Mn(II) 浓度培养基里培养 4 d 后微生物群落结构在属水平上的不同. 在牛肉膏蛋白胨培养基 (BET) 里, 肠杆菌属 (*Enterobacter*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 为优势属, 相对丰度分别为 32.14% 和 11.12%, 也存在少量节杆菌属 (*Arthrobacter*) (2.24%). 在 PYCM-1000 培养基里, 优势属为节杆菌属 (*Arthrobacter*) (24.29%)、盐杆菌属 (*Halobacterium*) (19.27%)、肠杆菌属 (*Enterobacter*) (10.28%)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) (9.27%) 和硝化螺菌属 (*Nitrospira*) (5.73%). 在 PYCM-2000 培养基中, 优势属为节杆菌属 (*Arthrobacter*) (57.39%)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) (7.28%)、纤毛菌属 (*Leptothrix*) (6.25%) 和柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*) (5.43%). 与 PYCM-2000 里微生物种类相比, PYCM-3000 培养基中优势属仍然为节杆菌属 (*Arthrobacter*)、假单

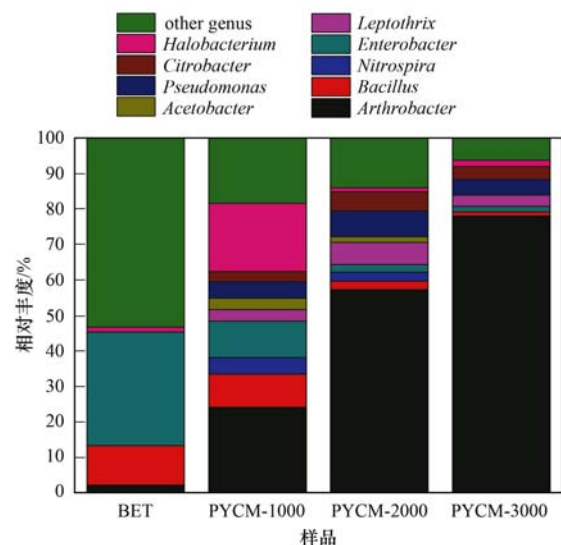


图 1 16S rDNA 基因高通量测序确定不同驯化条件下微生物群落结构

Fig. 1 Microbial community composition in different acclimation conditions as determined by Illumina sequencing of 16S rDNA genes

胞菌属 (*Pseudomonas*)、纤毛菌属 (*Leptothrix*) 和柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*)，相对丰度分别为 78.12%、4.37%、3.24% 和 3.59%。由此可见，高浓度 Mn(II) 能够抑制一些种类细菌的生长，对 Mn(II) 具有较高耐受性的细菌得以富集，因而不同 Mn(II) 浓度培养基里的微生物群落结构不同。最新报道表明，柠檬酸杆菌属 (*Citrobacter*) 和节杆菌属 (*Arthrobacter*) 中也存在一些锰氧化细菌^[14, 22]，该研究为定向筛选高浓度 Mn(II) 耐受性菌株提供了理论依据。

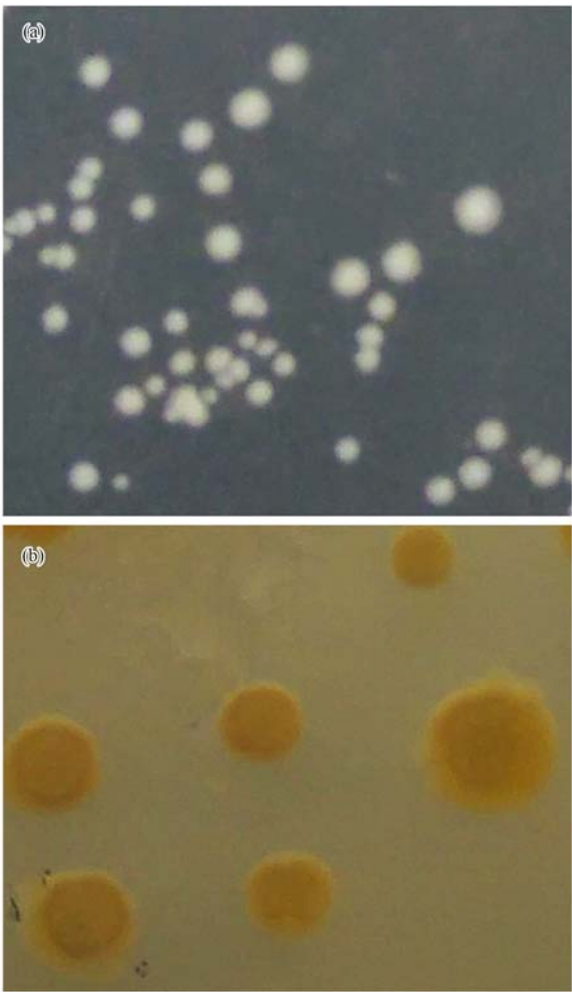
2.2 菌株的鉴定

从 PYCM-3000 培养基中经初筛、复筛和分离纯化获得 1 株锰氧化细菌，将其命名为 HW-16。该菌株 HW-16 在 BET 固体培养基上生长的单菌落呈圆形，乳白色，表面湿润，边缘整齐[图 2(a)]。在 PYCM-3000 固体培养基生长的单菌落呈棕褐色[图 2(b)]。革兰氏染色知该菌株为杆菌。生理生化结果如表 1 所示，初步认定菌株 HW-16 属于 *Arthrobacter* 属^[16]。菌株 HW-16 的 16S rDNA (GenBank ID: KY173031) 上传至 NCBI 里与已知 16S rDNA 序列进行比对，该 1 487 bp 的片段与已知

表 1 菌株 HW-16 主要的生理生化特征¹⁾

Table 1 Main physiological-biochemical properties of strain HW-16			
试验项目	结果	试验项目	结果
革兰氏染色	+	α-乳糖利用	+
VP 试验	-	D-木糖利用	+
淀粉水解试验	+	海藻糖利用	+
甲基红试验	+	鼠李糖利用	+
柠檬酸试验	-	蔗糖利用	+
吡啶试验	-	麦芽糖利用	+
尿素水解试验	-	山梨醇利用	+
产氨试验	+	甘露醇利用	+
过氧化氢接触试验	+	甲醇利用	+
明胶液化试验	-	乙醇利用	+
丙二酸盐试验	-	草酸利用	-
硫化氢试验	-	乙酸钠利用	+
葡萄糖利用	+	酒石酸钾钠利用	+

1) + 阳性反应；- 阴性反应



(a) 菌株 HW-16 在 BET 培养基上生长的单菌落；
(b) 菌株 HW-16 在 PYCM-3000 培养基上生长的单菌落

图 2 菌株 HW-16 的菌落形态

Fig. 2 Colony morphology of strain HW-16

的菌株 *Arthrobacter* sp. FB24 (Accession number: NR 074590.1) 的 16S rDNA 序列显示出 99% 的相似性且两者位于系统进化树的同一支上(图 3)。基于生理生化试验和 16S rDNA 序列分析，菌株 HW-16 可鉴定为 *Arthrobacter* sp. 菌株。

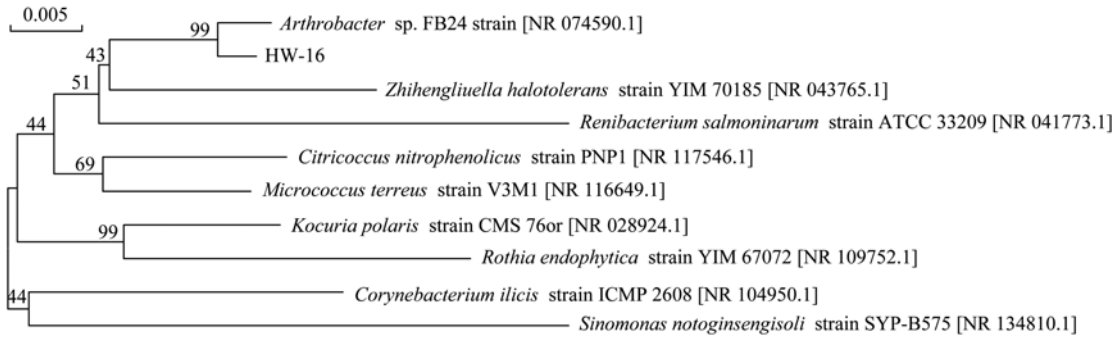
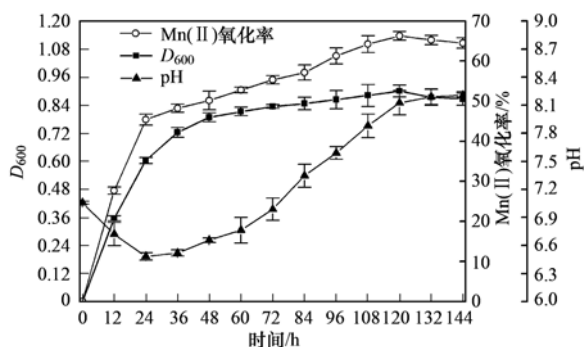


图 3 基于 16S rDNA 序列的系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences

2.3 菌株 HW-16 生长曲线和Mn(Ⅱ)氧化能力

菌液 D_{600} 值、培养基 pH 和 Mn(Ⅱ) 氧化率在菌株培养期间发生变化如图 4 所示. 从接种至 48 h 为调整期(在图 4 上未明确反映出来)和对数期, 菌株 HW-16 生长较快. 48 h 后, 菌株 HW-16 进入稳定期, D_{600} 接近 0.83, 基于平板计数细菌总数为 $1.12 \times 10^{10} \sim 2.39 \times 10^{10} \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$. 第 120 h 后, D_{600} 略微减小. Mn(Ⅱ) 的氧化率变化与生长曲线的变化基本保持一致. 在第 120 h, Mn(Ⅱ) 氧化率达到最大值 66.28%, 此时菌体达到饱和. 随后 Mn(Ⅱ) 氧化率逐渐降低至第 144 h 下的 64.49%. 培养基 pH 从接种时的 7.06 降低至第 24 h 下的 6.48, 随后逐渐上升至第 144 h 下的 8.21. 数据分析显示, 第 24 h 下的 pH 明显低于第 144 h 下的 pH ($P < 0.01$). 该结果表明, 在培养初期, 菌株 HW-16 产生了酸性中间产物, 随后菌株 HW-16 逐渐产生碱性代谢物. 此外, 实验中逐渐出现棕色沉淀, 推断 Mn(Ⅱ) 转化为沉淀. 尽管菌株 HW-16 的最大 Mn(Ⅱ) 氧化率 (66.28%) 低于混合菌群 *Idiomarina*、*Nitratireductor* 和 *Algorihagus* 培养于 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn(Ⅱ) 培养基下的最大 Mn(Ⅱ) 氧化率 (72%), 然而当 Mn(Ⅱ) 质量浓度超过 $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 混合菌群的 Mn(Ⅱ) 氧化率低于 20%^[1]. 由此可见, 菌株 HW-16 对于含锰污水的治理具有巨大的应用情景.



数据为 3 个样品的平均值, 误差线代表标准误差, 下同

图 4 菌株在 144 h 下的生长曲线和 Mn(Ⅱ) 氧化率

Fig. 4 Growth curve and Mn(Ⅱ) oxidation efficiency of strain HW-16 during 144 h

2.4 菌株 HW-16 Mn(Ⅱ) 耐受性和锰形态确定

如图 5(a) 所示, 菌株 HW-16 在含低质量浓度 ($\leq 2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Mn(Ⅱ) 培养基下明显生长得较好 ($P < 0.05$), 最大 D_{600} 值 (0.94) 于 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Mn(Ⅱ) 下取得, 菌株 HW-16 在含高质量浓度 ($\geq 5500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Mn(Ⅱ) 的培养基里几乎不生长. Mn(Ⅱ) 氧化率最大值在 Mn(Ⅱ) 质量浓度为 $3000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下取得, 明显高于 $2500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $3500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下的 Mn(Ⅱ) 氧化率 ($P < 0.05$), 以及其他 Mn(Ⅱ) 质量浓度下的 Mn(Ⅱ) 氧化率 ($P < 0.01$).

当 Mn(Ⅱ) 浓度低于 $3500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 各培养基 pH 均接近 6.48; 当 Mn(Ⅱ) 质量浓度高于 $3500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 培养基 pH 随着菌株生长愈发受到抑制而变化较小(培养基初始 pH 为 7.06). 该结果表明, 当 Mn(Ⅱ) 质量浓度超过 $3000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 菌株 HW-16 受到 Mn(Ⅱ) 毒害加深而不能氧化更多的 Mn(Ⅱ), 而当 Mn(Ⅱ) 浓度低于 $3000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 菌株 HW-16 为生存而氧化更多的 Mn(Ⅱ). Mongodin 等^[23] 报道 *Arthrobacter* 属细菌能够在含低营养和有毒化学物等恶劣环境下生长.

如图 5(b) 所示, 游离态锰质量浓度从 $3000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低至第 120 h 下的 $1011 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 然后逐渐升高至第 144 h 下的 $1065.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 由于菌株 HW-16 的些许死亡(第 120 h 后 D_{600} 值下降). 沉淀态锰在接种后的 24 h 内快速积累, 然后逐渐增加到第 144 h 下的 $1810 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 与此同时, 吸附态锰缓慢地积累至第 120 h 下的 $197.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 随后逐渐降低至第 144 h 下的 $124.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 该结果表明, 上清液中游离态锰主要转变为沉淀态锰, 少量被吸附在菌体表面. 该结果与 *Aminobacter* sp. H1^[20] 在 180 h 内沉淀形态锰含量高于吸附态锰含量的结果不同.

2.5 环境因子对菌株 HW-16 的影响

如图 6(a) 所示, 菌株 HW-16 能够在较宽温度范围内生长, 在 30°C 下生长得最好, 明显优于在 25°C ($P < 0.05$) 以及其他温度 ($P < 0.01$) 下的生长. 当温度低于 30°C 时, Mn(Ⅱ) 氧化率随着菌株 HW-16 生物量的增加而变大; 当温度达到 35°C 时, 菌株 HW-16 生长受到影响, 因而 Mn(Ⅱ) 氧化率降低; 当温度达到 40°C 时, 菌株 HW-16 生长进一步受到影响, 然而 Mn(Ⅱ) 氧化率却达到最大值 (47.89%). 高温能够增加表面活性和动能^[24], 因而促使 Mn(Ⅱ) 氧化加强.

如图 6(b) 所示, 菌株 HW-16 在 pH 6、7 或 8 下的生长得较好, 在 pH 5 或 9 下生长得较差 ($P < 0.01$), 在 pH 4 或 10 下生长得最差 ($P < 0.01$). Mn(Ⅱ) 的氧化率随着 pH 的升高而变大, 于 pH 10 下达到最大值 90.52%. 当 $\text{pH} < 7$ 时, Mn(Ⅱ) 氧化率主要由菌株数量决定; 当 $\text{pH} > 7$, Mn(Ⅱ) 氧化率由 pH 决定^[25], 此时 Mn(Ⅱ) 与氢氧根形成沉淀而导致 Mn(Ⅱ) 氧化率升高. 此外, pH 亦影响酶的活性,

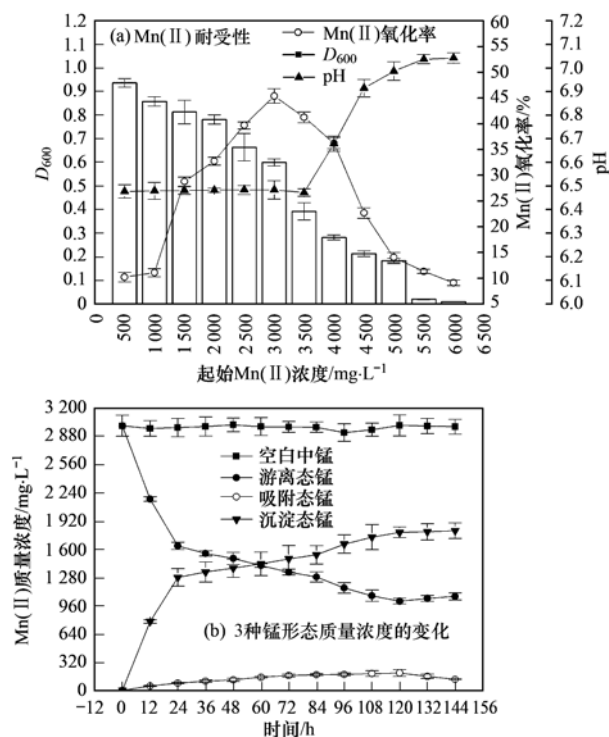


图5 菌株 HW-16 Mn(II) 耐受性和锰形态

Fig. 5 Mn(II) tolerance of strain HW-16 and forms of manganese

进而影响菌的生长和Mn(II) 氧化率。

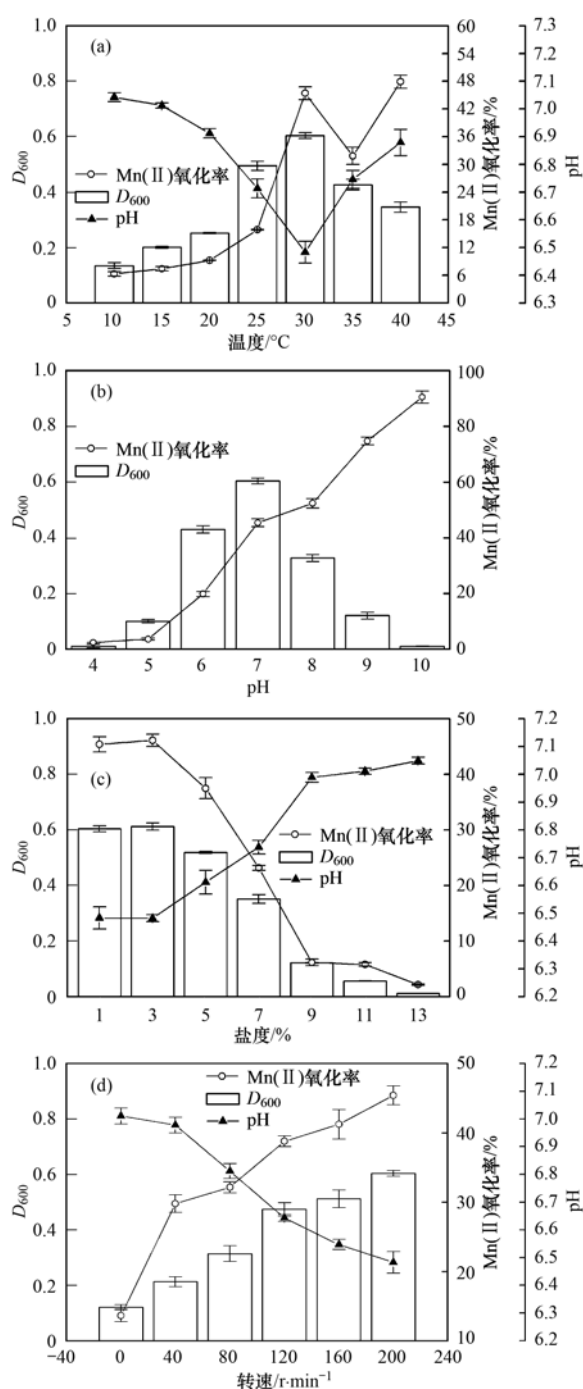
如图6(c)所示,高盐度($\geq 9\%$)明显抑制菌株 HW-16 的生长($P < 0.01$),盐度越高,菌株 HW-16 生长受到的抑制越大。Mn(II) 氧化率随着盐度的升高而减小,而培养基 pH 的变化趋势与 D_{600} 值的变化趋势相反。由此可见,盐度影响菌株 HW-16 的生长,进而影响了Mn(II) 的氧化率。

如图6(d)所示,菌株 HW-16 为好氧细菌,培养时的转速越大,溶氧量越高,因而菌株生长得越好,Mn(II) 氧化成高价态也需要氧,因而Mn(II) 氧化率随转速的增大而变大,而培养基 pH 的变化趋势依然与 D_{600} 值得变化趋势相反。

2.6 菌株 HW-16 氧化Mn(II) 机制的初探

用 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 焦磷酸钠捕捉菌株 HW-16 于 PYCM-3000 培养基里培养 24 h 后培养液中的 Mn(III),紫外扫描显示 480 nm 处有明显吸收峰[图 7(a)],该结果表明溶液中存在的Mn(III) 与焦磷酸钠形成了络合物。

如图7(b)所示,实验组(MySy)培养液的 D_{480} 值在 0~120 h 内逐渐增加,120 h 后略微减小。对照组(MnSy 和 MySn)培养液的 D_{480} 在 144 h 内几乎没有变化。该结果表明,菌株 HW-16 在氧化Mn(II) 的过程中,有Mn(III) 中间体的形成。Mn(II) 氧化成中间态Mn(III) 是必要的^[6, 26],Mn(III) 能够与水



(a) 温度对菌株 HW-16 的影响;(b) pH 对菌株 HW-16 的影响;
(c) 盐度对菌株 HW-16 的影响;(d) 溶氧量对菌株 HW-16 的影响

图6 菌株 HW-16 在不同培养条件下的生物量和Mn(II) 氧化率

Fig. 6 Biomass and Mn(II) oxidation efficiency of strain HW-16 in different culture conditions

反应形成 MnO_2 沉淀。

如图8所示,来源于菌株 HW-16 的各部分溶液对Mn(II) 氧化效果不同,有锰体系里的Mn(II) 氧化率明显高于无锰体系里的Mn(II) 氧化率,且两种体系里各部分溶液对Mn(II) 的氧化能力强弱呈现出一致性,即菌株悬液 > 上清液 > 菌体 > 裂解液。

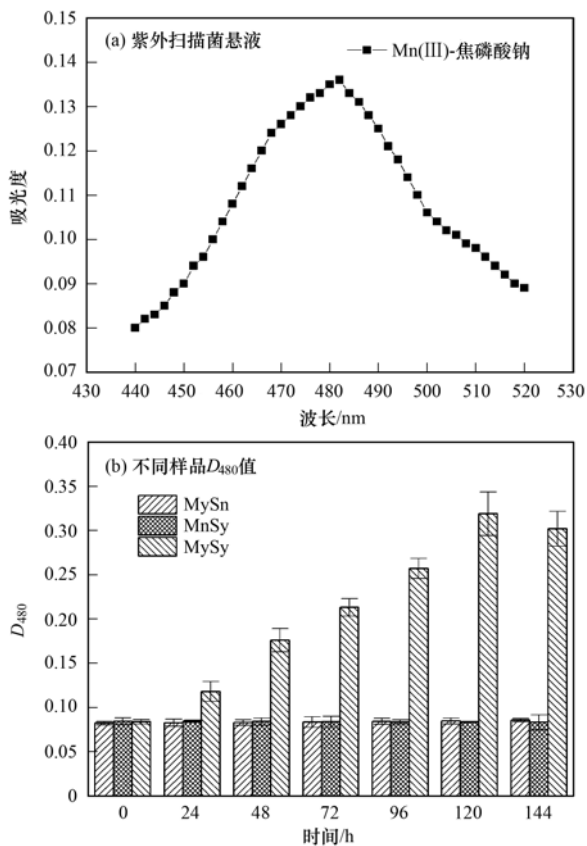


图7 菌悬液中Mn(Ⅲ)的含量

Fig. 7 Contents of Mn(Ⅲ) in the bacterial suspension

该结果与来源于菌株 *Aminobacter* sp. H1^[20] 各部分溶液对Mn(Ⅱ)的氧化能力强弱顺序有所不同. 菌株 HW-16 氧化Mn(Ⅱ)主要是菌株释放锰氧化活性因子的结果. Mn(Ⅱ)氧化活性因子在细胞内合成后,主要分泌到细胞外环境或吸附在菌体细胞表面(经 Tris-HCl 洗涤后的菌株仍有较大的Mn(Ⅱ)氧化率).

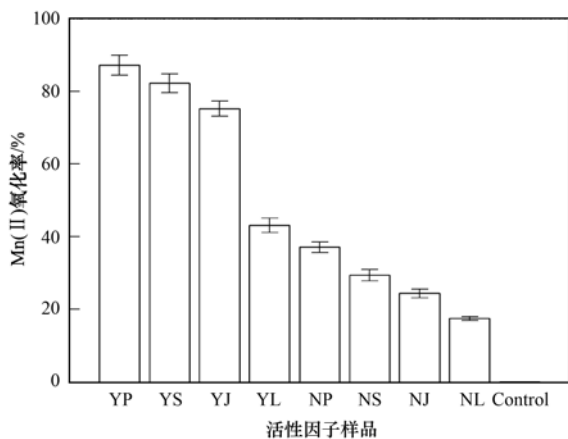


图8 菌株 HW-16 锰氧化活性因子定位

Fig. 8 Location of the Mn(Ⅱ) oxidizing active factors in strain HW-16

3 结论

(1)利用高质量浓度Mn(Ⅱ)选择性培养基筛选到1株高效氧化Mn(Ⅱ)的菌株 *Arthrobacter* sp. HW-16,在含3 000 mg·L⁻¹培养基里,菌株 HW-16 最大Mn(Ⅱ)氧化率达66.28%. 此外,菌株 HW-16 的Mn(Ⅱ)耐受质量浓度达5 000 mg·L⁻¹.

(2)在菌株驯化的过程中,发现不同Mn(Ⅱ)浓度下微生物群落结构不同. 一些锰氧化细菌如节杆菌属、假单胞菌属、纤毛菌属和柠檬酸杆菌属的细菌逐渐成为优势菌属.

(3)环境因子如 pH、温度、盐度等影响菌株 HW-16 的生长和Mn(Ⅱ)氧化率. 高温($\geq 40^\circ\text{C}$)有助于Mn(Ⅱ)氧化. pH < 7 时,Mn(Ⅱ)氧化主要由菌株 HW-16 决定,而当 pH > 7 时,Mn(Ⅱ)主要转化为氢氧化沉淀而使得Mn(Ⅱ)氧化率增大. 盐度和溶氧影响菌株的生长,进而影响Mn(Ⅱ)氧化率.

(4)*Arthrobacter* sp. HW-16 主要通过产生锰氧化活性因子和释放碱性产物(培养后期培养基 pH 升高)提高体系 pH 这两种方式来催化氧化 Mn(Ⅱ). 菌株 HW-16 将体内合成的锰氧化活性因子一部分分泌至细胞外环境,一部分留在菌体细胞表面,因而3种形态锰的含量会发生变化. Mn(Ⅱ)被氧化为Mn(Ⅲ),随后Mn(Ⅲ)水解产生 MnO₂ 而转化为沉淀.

参考文献:

- [1] Zhou H, Pan H X, Xu J Q, et al. Acclimation of a marine microbial consortium for efficient Mn(Ⅱ) oxidation and manganese containing particle production [J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, **304**: 434-440.
- [2] Omri A, Benzina M. Removal of manganese (Ⅱ) ions from aqueous solutions by adsorption on activated carbon derived a new precursor: *Ziziphus spina-christi* seeds [J]. Alexandria Engineering Journal, 2012, **51**(4): 343-350.
- [3] Zhu Y H, Li S, Teng X H. The involvement of the mitochondrial pathway in manganese-induced apoptosis of chicken splenic lymphocytes[J]. Chemosphere, 2016, **153**: 462-470.
- [4] Baker T J, Tyler C R, Galloway T S. Impacts of metal and metal oxide nanoparticles on marine organisms [J]. Environmental Pollution, 2014, **186**: 257-271.
- [5] Frančišković-Bilinski S, Bilinski H, Grbac R, et al. Multidisciplinary work on barium contamination of the karstic upper Kupa River drainage basin (Croatia and Slovenia); calling for watershed management[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2007, **29**(1): 69-79.
- [6] Tebo B M, Johnson H A, McCarthy J K, et al. Geomicrobiology of manganese(Ⅱ) oxidation[J]. Trends in Microbiology, 2005, **13**(9): 421-428.

- [7] Bryson A W, Bijsterveld C H. Kinetics of the precipitation of manganese and cobalt sulphides in the purification of a manganese sulphate electrolyte[J]. Hydrometallurgy, 1991, **27** (1): 75-84.
- [8] Jusoh A B, Cheng W H, Low W M, *et al.* Study on the removal of iron and manganese in groundwater by granular activated carbon[J]. Desalination, 2005, **182**(1-3): 347-353.
- [9] Shafaei A, Rezayee M, Arami M, *et al.* Removal of Mn^{2+} ions from synthetic wastewater by electrocoagulation process [J]. Desalination, 2010, **260**(1-3): 23-28.
- [10] Tebo B M, Bargar J R, Clement B G, *et al.* Biogenic manganese oxides: properties and mechanisms of formation [J]. Annual Review of Earth and Planetary Sciences, 2004, **32**: 287-328.
- [11] Francis C A, Tebo B M. Enzymatic manganese(II) oxidation by metabolically dormant spores of diverse *Bacillus* species [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(2): 874-880.
- [12] Butterfield C N, Tao L Z, Chacón K N, *et al.* Multicopper manganese oxidase accessory proteins bind Cu and heme [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics, 2015, **1854**(12): 1853-1859.
- [13] Schlosser D, Höfer C. Laccase-catalyzed oxidation of Mn^{2+} in the presence of natural Mn^{3+} chelators as a novel source of extracellular H_2O_2 production and its impact on manganese peroxidase[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(7): 3514-3521.
- [14] Tang W W, Xia J, Zeng X P, *et al.* Biological characteristics and oxidation mechanism of a new manganese-oxidizing bacteria FM-2 [J]. Bio-Medical Materials and Engineering, 2014, **24** (1): 703-709.
- [15] Xu J C, Chen G, Huang X F, *et al.* Iron and manganese removal by using manganese ore constructed wetlands in the reclamation of steel wastewater[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, **169** (1-3): 309-317.
- [16] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- Dong X Z, Cai M Y. Common bacterial identification system manual[M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [17] Lane D J. 16S/23S rRNA sequencing[A]. In: Stackebrandt E, Goodfellow M (Eds.). Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics[M]. New York: John Wiley and Sons Inc, 1991. 115-175.
- [18] Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, **30**(12): 2725-2729.
- [19] APAAH. Standard methods for the examination of water and wastewater (20th ed.) [M]. Washington, D. C., USA: American Public Health Association, 1998.
- [20] 晏平, 姜理英, 陈建孟, 等. 锰氧化菌 *Aminobacter* sp. H1 的分离鉴定及其锰氧化机制研究[J]. 环境科学, 2014, **35** (4): 1428-1436.
- Yan P, Jiang L Y, Chen J M, *et al.* Isolation and identification of Mn oxidizing bacterium *Aminobacter* sp. H1 and its oxidation mechanism[J]. Environmental Science, 2014, **35** (4): 1428-1436.
- [21] Webb S M, Dick G J, Bargar J R, *et al.* Evidence for the presence of Mn(III) intermediates in the bacterial oxidation of Mn(II) [J]. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2005, **102**(15): 5558-5563.
- [22] 许旭萍, 王芳, 李敏. *Arthrobacter echigonensis* 介导生物氧化锰形成的机制及生物氧化锰的成分[J]. 环境科学, 2011, **32**(6): 1772-1777.
- Xu X P, Wang F, Li M. Biogenic manganese oxides component and formation mechanisms catalysed by *Arthrobacter echigonensis* [J]. Environmental Science, 2011, **32**(6): 1772-1777.
- [23] Mongodin E F, Shapir N, Daugherty S C, *et al.* Secrets of soil survival revealed by the genome sequence of *Arthrobacter aureus* TC1 [J]. PLoS Genetics, 2006, **2**(12): e214.
- [24] Vijayaraghavan K, Yun Y S. Utilization of fermentation waste (*Corynebacterium glutamicum*) for biosorption of Reactive Black 5 from aqueous solution [J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, **141**(1): 45-52.
- [25] Zhang W S, Cheng C Y, Pranolo Y. Investigation of methods for removal and recovery of manganese in hydrometallurgical processes[J]. Hydrometallurgy, 2010, **101**(1-2): 58-63.
- [26] Patil D S, Chavan S M, Oubagaranadin J U K. A review of technologies for manganese removal from wastewaters[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2016, **4**(1): 468-487.

CONTENTS

Estimating the Secondary Organic Aerosol Concentration and Source Apportionment During the Summer and Winter in the Nanjing Industrial District	LIU Jing-da, AN Jun-lin, ZHANG Yu-xin, <i>et al.</i> (1733)
Modeled Deposition of Fine Particles in Human Airway in Northern Suburb of Nanjing	LIANG Jing-shu, AN Jun-lin, WANG Hong-lei, <i>et al.</i> (1743)
Concentration Characteristics and Influencing Factors of Atmospheric Particulate Matters in Spring on Weizhou Island, Beihai, Guangxi Province	GAO Yuan-guan, ZHANG Kai, WANG Ti-jian, <i>et al.</i> (1753)
Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Atmosphere of Dajiuahu, Shennongjia, China	JIN Meng-yun, XING Xin-li, KE Yan-ping, <i>et al.</i> (1760)
Spatial Distribution Characteristics of NMHCs in Spring in Cangzhou City	DUAN Jing-chun, ZHOU Xue-ming, ZHANG He-feng, <i>et al.</i> (1769)
Emission Characteristics of Residential Coal Combustion Flue Gas in Beijing	LIANG Yun-ping, ZHANG Da-wei, LIN An-guo, <i>et al.</i> (1775)
Emission Characteristics and Ozone Formation Potential of VOCs from a Municipal Solid Waste Composting Plant	SHAO Zhu-ze, ZHENG Guo-di, WANG Yuan-gang, <i>et al.</i> (1783)
Degradation Characteristics of Composite CVOCs by Non-thermal Plasma	JIANG Li-ying, ZHANG Di, GUO Hai-qian, <i>et al.</i> (1792)
Chemical Compositions and Source Apportionment of Road Dust in Yuncheng	WU Yuan-yuan, LI Ru-mei, PENG Lin, <i>et al.</i> (1799)
Pollution Risk of Heavy Metals in Dust from the Building Along Elevated Road; A Case Study in Changzhou	YAO Jing-bo, WANG Ming-xin, QI Jin-di, <i>et al.</i> (1807)
Characteristics of Stable Isotope in Precipitation and Its Relationship with ENSO in Shanghai	DONG Xiao-fang, DENG Huang-yue, ZHANG Luan, <i>et al.</i> (1817)
Effects of DOC + CDPF on Emission Characteristics of Heavy-duty Diesel Vehicle	ZHANG Yun-hua, LOU Di-ming, TAN Pi-qiang, <i>et al.</i> (1828)
Accumulated Health Risk Assessment of Arsenic in Drinking Water of Major Cities of China	ZHANG Qiu-qi, PAN Shen-ling, LIU Wei, <i>et al.</i> (1835)
Health Risk Assessment of Microcystins from Drinking Water Source by Monte Carlo Simulation Method	WANG Yang, XU Ming-fang, GENG Meng-meng, <i>et al.</i> (1842)
Potential Risk and Distribution Characteristics of PPCPs in Surface Water and Sediment from Rivers and Lakes in Beijing, China	ZHANG Pan-wei, ZHOU Huai-dong, ZHAO Gao-feng, <i>et al.</i> (1852)
Assessment of the Spatial-temporal Distribution Characteristics and Main Affecting Factors of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Spring and Summer at the Changjiang Estuary and Adjacent Areas	SUN Yu-yan, BAI Ying, SU Rong-guo, <i>et al.</i> (1863)
Complexation Between Copper(II) and Colored Dissolved Organic Matter from Municipal Solid Waste Landfill	XIAO Xiao, HE Xiao-song, GAO Ru-tai, <i>et al.</i> (1873)
Effects of Three Bioretention Configurations on Dissolved Nitrogen Removal from Urban Stormwater	LI Li-qing, HU Nan, LIU Yu-qing, <i>et al.</i> (1881)
Influence of Spatial Pattern of Paddy Field on the Losses of Nitrogen and Phosphorus in Three Gorges Reservoir Area	CHEN Cheng-long, GAO Ming, NI Jiu-pai, <i>et al.</i> (1889)
Effects of NO ₃ ⁻ -N Loading on the Early-Period Efficiency of Denitrification and Carbon Releasing in Constructed Wetland Filled with Bark ...	JIANG Ying-be, LI Yao, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (1898)
Effects of Microbial Fuel Cell Coupled Constructed Wetland with Different Support Matrix and Cathode Areas on the Degradation of Azo Dye and Electricity Production	LI Xue-xiao, CHENG Si-chao, FANG Zhou, <i>et al.</i> (1904)
Effects of Anode Materials on Electricity Generation and Organic Wastewater Treatment of 6 L Microbial Fuel Cells	DING Wei-jun, YU Li-liang, CHEN Jie, <i>et al.</i> (1911)
Effects of Joint-reaction Combined by Ozonation and Coagulation on Aquatic Organic Matters	LIU Hai-long, FU Jing-miao, GUO Xue-feng, <i>et al.</i> (1918)
Disinfection Action of Ultraviolet Radiation and Chlorination on <i>Escherichia coli</i> and Poliovirus	XU Li-mei, ZHANG Chong-miao, WANG Xiao-chang, <i>et al.</i> (1928)
Adsorption of Phosphate from Aqueous Solution on Hydrous Zirconium Oxides Precipitated at Different pH Values	WANG Xing-xing, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (1936)
Performance of Polymer-based Titanium and Zirconium Oxides Composite Adsorbent for Simultaneous Removal of Phosphorus and Fluorine from Water	CHEN Jia-kai, NIE Guang-ze, LIU Zhi-ying, <i>et al.</i> (1947)
Effect of Different Adding Means of Ignited Water Purification Sludge on Phosphorus Adsorption and Forms	ZHU Pei-ying, LI Da-peng, YU Sheng-nan (1957)
Law of Pollutant Erosion and Deposition in Urban Sewage Network	SANG Lang-tao, SHI Xuan, ZHANG Tong, <i>et al.</i> (1965)
Fate of Eleven Phthalic Acid Esters in Aerobic Sewage Treatment System	ZHOU Lin-jun, GU Wen, LIU Ji-ning, <i>et al.</i> (1972)
Characteristics of Denitrification Inhibiting Sulfate Reducing Process	JIN Peng-kang, YANG Zhen-rui, LI Rong, <i>et al.</i> (1982)
Enhanced Short-cut Denitrification by Fe ⁽⁰⁾ -activated Carbon and Its Influencing Factors	LÜ Yong-tao, LIU Ting, ZENG Yu-lian, <i>et al.</i> (1991)
Comparison of Operating Performance of Partial Nitrification Systems with Two Different Inhibition Strategies	LI Hui-juan, PENG Dang-cong, CHEN Guo-yan, <i>et al.</i> (1997)
Effect of Substrate Ratio on Nitrogen Removal Performance of ANAMMOX in ABR	LÜ Gang, XU Le-zhong, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (2006)
Effects of Temperature on the Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Removal and Microbial Community in SCSC-S/Fe	FAN Jun-hui, HAO Rui-xia, ZHU Xiao-xia, <i>et al.</i> (2012)
Analysis on Performance and Microbial Community Dynamics of a Strengthen Circulation Anaerobic Reactor Treating Municipal Wastewater	YANG Bo, XU Hui, FENG Xiu-ping, <i>et al.</i> (2021)
Aerobic Degradation Characteristics of the Quinoline-Degrading strain <i>Ochrobactrum</i> sp. and Its Bioaugmentation in Coking Wastewater	XU Wei-chao, WU Cui-ping, ZHANG Yu-xiu, <i>et al.</i> (2030)
Manganese Oxidation Characteristics and Oxidation Mechanism of a Manganese-Oxidizing Bacterium <i>Arthrobacter</i> sp. HW-16	WAN Wen-jie, XUE Zhi-jun, ZHANG Ze-wen, <i>et al.</i> (2036)
Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance of Marine Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria	ZHOU Tong, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (2044)
Nitrogen Removal Performance and Microbial Community Analysis of Activated Sludge Immobilization	XU Xiao-yi, YOU Xiao-lu, LÜ Chen-pei, <i>et al.</i> (2052)
Microbial Structure of an Enhanced Two-phase High-solid Anaerobic Digestion System Treating Sludge	CAO Zhi-ping, WU Jing, ZUO Jian-e, <i>et al.</i> (2059)
Comparative Studies on Soil Actinobacterial Biodiversity After Re-vegetation in the Urban and Rural Hydro-fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region	QIN Hong, REN Qing-shui, YANG Wen-hang, <i>et al.</i> (2065)
Nitrous Oxide Emissions and Its Influencing Factors from an Agricultural Headwater Ditch During a Maize Season in the Hilly Area of Central Sichuan Basin	TIAN Lin-lin, ZHU Bo, WANG Tao, <i>et al.</i> (2074)
Effect of Dicyandiamide on N ₂ O Emission in Fallow Paddy Field and Rape Cropping	WU Yan-zheng, ZHANG Miao-miao, QIN Hong-ling, <i>et al.</i> (2084)
Characteristics of Biochar-mediated N ₂ O Emissions from Soils of Different Surface Conditions	ZOU Juan, HU Xue-yu, ZHANG Yang-yang, <i>et al.</i> (2093)
Characteristics of Soil Respiration and Soil Organic Carbon in Fava Bean Farmland Under Ridge Tillage and Straw Mulching in Southwest China	XIONG Ying, WANG Long-chang, DU Juan, <i>et al.</i> (2102)
Prediction of Distribution of Soil Cd Concentrations in Guangdong Province, China	SUN Hui, GUO Zhi-xing, GUO Ying, <i>et al.</i> (2111)
Spatial Distribution and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Sediments of Suya Lake	ZHANG Peng-yan, KANG Guo-hua, PANG Bo, <i>et al.</i> (2125)
Effects of the Active Components of Humic Acids and Their Proportions on the Dynamics of Lead Transformation and Availability in Purple Alluvial Soil	WANG Qing-qing, JIANG Zhen-mao, WANG Jun, <i>et al.</i> (2136)
Enrichment Characteristics of Heavy Metals in Particulate Organic Matter of Purple Paddy Soil	LI Qiu-yan, ZHAO Xiu-lan (2146)
Enhanced Sorption of Cetirizine to Loessial Soil Amended with Biochar	WU Zhi-juan, BI Er-ping (2154)
Characteristics and Mechanism of Copper Adsorption from Aqueous Solutions on Biochar Produced from Sawdust and Apple Branch	WANG Tong-tong, MA Jiang-bo, QU Dong, <i>et al.</i> (2161)
Adsorption of Pb ²⁺ and Cd ²⁺ from Aqueous Solution Using Vermicompost Derived from Cow Manure and Its Biochar	DU Wen-hui, ZHU Wei-qin, PAN Xiao-hui, <i>et al.</i> (2172)
Performance and Mechanism Study of Visible Light-driven C ₃ N ₄ /BiOBr Composite Photocatalyst	BAO Yue, ZHOU Min-yun, ZOU Jun-hua, <i>et al.</i> (2182)