ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第11期

Vol.38 No.11

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办

科学出版社 出版

中国期刊方阵 双奖期刊 中华人民共和国新闻出版总署

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第38卷 第11期
2017年11月15日

目 次

天津市非道路移动源污染物排放清单开发 …… 张意,Andre Michel,李东,张欣,吴琳,张衍杰,马超,邹超,毛洪钧(4447)
基于移动监测和土地利用回归模型的上海市近地面黑碳浓度空间模拟 …… 彭霞, 佘倩楠, 龙凌波, 刘敏, 徐茜, 魏宁, 周陶冶(4454)
鄂东典型工业城市大气 PM_{10} 中元素浓度特征和来源分析 …… 占长林,张家泉,郑敬茹,姚瑞珍,刘红霞,肖文胜,刘先利,曹军骥(4463)
常州夏秋季 $PM_{2.5}$ 中碳质气溶胶特征及来源 …… 叶招莲,刘佳澍,李清,马帅帅,许澎(4469)
徐州市冬季大气细颗粒物水溶性无机离子污染特征及来源解析 …… 范美益,曹芳,张园园,鲍孟盈,刘晓妍,张雯淇,高嵩,章炎麟(4478)
南宁市一次污染过程大气颗粒物理化特性及来源 …… 刘慧琳,陈志明,李宏姣,蒋靖坤,张强,黄炯丽,毛敬英,梁桂云,杨俊超,张达标,莫招育(4486)
西安市秋冬季不同空气质量下可培养微生物气溶胶浓度和粒径分布 …… 李婉欣,路瑞,谢铮胜,王金龙,范春兰,刘鹏霞,李彦鹏(4494)
黄渤海海域秋季营养盐及有色溶解有机物分布特征 …… 唐永,孙语嫣,石晓勇,韩秀荣,苏荣国(4501)
华东沿海滩涂区表层沉积物重金属含量特征及风险评价 …… 张明,鲍征宇,陈国光,雍太健,朱意萍,梁晓红(4513)
基于地球化学特性的海州湾海洋牧场沉积物重金属研究 …… 李大鹏,张硕,张中发,罗娜,魏青青,张瑞,黄宏(4525)
尼洋河流域水化学特征及其控制因素 …… 张涛,蔡五田,李颖智,张智印,耿婷婷,边超,赵淼,蔡月梅(4537)
南亚热带地区水库夏季铁、锰垂直分布特征 …… 杨思远,赵剑,余华章,彭亮,肖利娟(4546)
辽河流域地表水中典型抗生素污染特征及生态风险评估 …… 张晓娇,柏杨巍,张远,马淑芹,郭昌胜,张莉(4553)
东太湖渔业养殖对沉积物营养盐的影响 …… 何肖微,储瑜,曾巾,赵大勇,陆建明,曹萍,吴庆龙(4562)
浑太河不同水生态区营养盐对底栖硅藻的影响及阈值 …… 张莉,林佳宁,张远,王书平,臧小苗,张晓娇(4570)
水环境条件对三峡库区消落带狗牙根氮磷养分淹水浸泡释放的影响 …… 肖丽微,朱波(4580)
野鸭湖湿地芦苇根际微生物多样性与磷素形态关系 …… 滕泽栋,李敏, 朱静,宋明阳(4589)
人为扰动背景下城市边缘溪流底质硝化-反硝化潜力分析 …… 李如忠,郑侠,高苏蒂,叶舟(4598)
不同扰动下外源磷在形态磷间的分布规律 …… 蔡顺智,李大鹏,唐鑫煜,李浩冉,朱伟,黄勇(4607)
伊乐藻-高效脱氮微生物协同作用对污染水体氮素脱除机制的影响 …… 王浩,李正魁,张一品,丁帮璟(4617)
零价铁活化过硫酸钠去除废水中的砷(Ⅴ) …… 周孜迈,邓文娜,杨艺琳,孙艳秋,王悦,柳听义,王中良(4623)
nZVI/AC 复合材料对水中锑的去除 …… 蒋婷,鲍玥,李威,方荣业,史惠祥(4632)
流态对生物添加强化硝化效果的影响 …… 于莉芳,杜倩倩,张茹,杨秀玲,李韧,滑思思,冯云堂(4641)
温度对 SBR 生物脱氮效能及胞外聚合物的影响 …… 孙洪伟,陈翠忠,吴长峰,赵华南,于雪,方晓航(4648)
温度对间歇曝气 SBR 短程硝化及硝化活性的影响 …… 刘宏,彭永臻,卢炯元,李慧,南彦斌,王瑾,陈永志(4656)
不同诱导模式下 CAST 工艺的亚硝酸盐型反硝化除磷能力 …… 马娟,王谨,俞小军,张伟,魏雪芬,陈永志,田文清(4664)
污水处理厂 CANON 工艺小试 …… 李冬,赵世勋,王俊安,朱金凤,关宏伟,张杰(4673)
SBR 加载不同粒径磁性活性炭对其污泥颗粒化进程的影响机制 …… 信欣,管蕾,郭俊元,刘洁, 冯梅,余婷婷(4679)
常温下厌氧氨氧化污泥的储存及活性恢复 …… 黄佳路,王小龙,高大文(4687)
同步脱氮除磷好氧颗粒污泥培养过程微生物群落变化 …… 高景峰,王时杰,樊晓燕,潘凯玲,张丽芳,张树军,高永青,张帅(4696)
硫酸盐和Fe(Ⅱ)EDTA-NO/Fe(Ⅲ)EDTA 厌氧还原过程特性及微生物群落分析 …… 张玉,万方,周集体(4706)
SBR 系统外加磁场对微生物群落多样性和处理效果的影响 …… 耿淑英,付伟章,王静,郑书联(4715)
安徽某铁矿排土场废矿石中产酸微生物群落 …… 杜泽瑞,郝春博,裴理鑫,卫朋飞,张壹,鲁艳春(4725)
典型集雨人饮地区窖水微生物群落多样性及差异解析 …… 杨浩,张国珍,杨晓妮,武福平,赵炜,张洪伟,张翔(4733)
表层沉积物中 6:2氟调醇生物降解对细菌群落结构的影响 …… 王丹,侯珍,张琪,周萤,卢晓霞(4747)
外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响 …… 刘艳秋,赵嫣然,刘梦娇,樊灏,黄艺(4756)
1 株异养硝化-好氧反硝化细菌 DK1 的分离鉴定及其脱氮特性 …… 牟东阳,靳鹏飞,彭永臻,李夕耀,张琼,何建中(4763)
重庆缙云山 4 种典型植被覆盖下汞的释放通量及影响因素 …… 杨光,孙涛,安思危,马明(4774)
模拟氮沉降对闽江口淡水感潮沼泽湿地 CO_2、CH_4 排放通量的短期影响 …… 李冬冬,仝川,谭立山,陈坤龙,孙东耀,黄佳芳(4782)
地膜覆盖对稻-油轮作农田 CH_4 和 N_2O 排放的影响 …… 石将来,郝庆菊,冯迪,张凯莉,石孝均,江长胜(4790)
西安市公园土壤多环芳烃污染特征、来源及风险评价 …… 周燕, 卢新卫(4800)
不同沙生灌木下土壤颗粒及重金属空间分布特征 …… 代豫杰,郭建英,董智,李锦荣,李红丽(4809)
不同水分梯度下 UV-B 辐射对 2 个稻田土壤碳氮转化的影响 …… 蒋梦蝶,王秋敏,徐鹏,周维,邬磊,胡荣桂(4819)
喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落结构及丰度的影响因子 …… 梁月明,苏以荣,何寻阳,陈香碧,胡亚军(4828)
生物炭和草酸活化磷矿粉对镉镍复合污染土壤的应用效果 …… 段然,胡红青,付庆灵,寇长林(4836)
反复冻融与高温老化对砷污染土壤固化稳定化效果的影响 …… 杨洁,钱赵秋,王旌(4844)
皂角苷和柠檬酸联合对污泥中 Cu、Pb 和 Zn 的去除及其稳定性特征 …… 叶涛,黄丽,张克强,张斌,常红,刘智杰,杜连柱(4850)
针铁矿与胡敏酸的交互作用及其复合物的稳定性 …… 王锐,朱朝菊,向文军,方敦,杨小洪,吴少尉,魏世勇(4860)
塑胶跑道中有机磷酸酯的含量及健康风险 …… 印红玲,刘琴,廖林群,王震,罗怡,邓旭,丁浚刚,唐铭(4868)
农业废物堆肥化中理化参数对 GH6 家族基因影响 …… 陈耀宁,苟宇,黎媛萍,伍艳馨,陈艳容,李辉,刘耀,汪元南,张道利,朱福造,曾光明(4874)
F/M 及 HRT 对果蔬垃圾厌氧发酵产氢的影响 …… 李标,孔晓英,李连华,李颖,袁振宏,孙永明,吕鹏梅(4882)
环境模型中敏感性分析方法评述 …… 陈卫平, 涂宏志, 彭驰, 侯鹰(4889)
《环境科学》征稿简则(4462) 《环境科学》征订启事(4672) 信息(4647, 4705, 4789)

同步脱氮除磷好氧颗粒污泥培养过程微生物群落变化

高景峰[1],王时杰[1],樊晓燕[1],潘凯玲[1],张丽芳[1],张树军[2],高永青[2],张帅[2]
(1. 北京工业大学环境与能源工程学院,城镇污水深度处理与资源化利用技术国家工程实验室,北京 100124; 2. 北京城市排水集团有限责任公司科技研发中心,北京 100124)

摘要: 本实验利用生活污水培养具有同步脱氮除磷(simultaneous nitrogen and phosphorus removal,SNPR)功能的好氧颗粒污泥(aerobic granular sludge,AGS). 采用 Illumina MiSeq PE300 高通量测序对 AGS 培养过程中细菌群落变化进行了研究,以期揭示污泥好氧颗粒化成因. 采用实时荧光定量 PCR 对 AGS 培养过程中氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria,AOB)、氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea,AOA)、亚硝酸盐氧化菌(nitrite-oxidizing bacteria,NOB)和聚磷菌(polyphosphate accumulating organisms,PAOs)的丰度变化进行了研究. 结果表明:历时 100 d 培养出的 AGS 质地紧实,具有良好的 SNPR 效果. AGS 胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)中多糖含量在培养过程中增加明显,而蛋白质含量保持稳定. AGS 培养过程中,AOB 的丰度略微下降,AOA 的丰度明显下降,NOB 的丰度无明显变化,而 PAOs 的丰度在 AGS 培养初期明显增加. 在 AGS 培养过程中,细菌群落多样性呈现出先升高后降低的趋势,且细菌群落组成发生了明显的变化. 持久型 OTUs 占样品总序列数的 92.70%,其中变形菌门(Proteobacteria,31.07% ~ 53.67%)、拟杆菌门(Bacteroidetes,6.70% ~ 16.50%)和绿弯菌门(Chloroflexi,7.84% ~ 13.36%)是 AGS 培养过程中的细菌优势门. *Candidatus competibacter* 属在 AGS 培养过程中大量富集(由种泥中的 0.11% 增加到 35.33%),其可能会分泌胞外多糖,形成黏性 EPS,促进絮状污泥团聚成为 AGS.

关键词:好氧颗粒污泥; 高通量测序; 细菌群落组成; 同步脱氮除磷
中图分类号: X172; X703.1 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2017)11-4696-10 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201703275

Microbial Population Dynamics During Sludge Granulation in a Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal System

GAO Jing-feng[1], WANG Shi-jie[1], FAN Xiao-yan[1], PAN Kai-ling[1], ZHANG Li-fang[1], ZHANG Shu-jun[2], GAO Yong-qing[2], ZHANG Shuai[2]
(1. National Engineering Laboratory for Advanced Municipal Wastewater Treatment and Reuse Technology, College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2. Research and Development Center of Beijing Drainage Group Co., Ltd., Beijing 100124, China)

Abstract: In this study, domestic sewage was utilized to cultivate aerobic granular sludge (AGS) in a simultaneous nitrogen and phosphorus removal (SNPR) system. The bacterial population dynamics during the aerobic sludge granulation were investigated to reveal the granulation mechanisms using Illumina MiSeq PE300 high-throughput sequencing. Quantitative real time polymerase chain reactions (PCR) were used to investigate shifts in the abundance of ammonia-oxidizing bacteria (AOB), ammonia-oxidizing archaea (AOA), nitrite-oxidizing bacteria (NOB) and polyphosphate accumulating organisms (PAOs). After cultivation for 100 d, the AGS was compact and demonstrated good SNPR performance. During the AGS formation process, extracellular polysaccharides obviously increased, while extracellular proteins kept relatively stable. The abundance of AOA significantly decreased during the formation of AGS process, while the abundance of PAOs increased. The bacterial diversity increased at first and then decreased during the formation of AGS. The bacterial community changed dramatically during aerobic sludge granulation. Persistent operational taxonomic units (OTUs) accounted for 92.70% of the total sequences. Proteobacteria (31.07%-53.67%), Bacteroidetes (6.70%-16.50%) and Chloroflexi (7.84%-13.36%) were the dominant phyla. *Candidatus competibacter* was obviously enriched in the AGS formation process (increased from 0.11% in the seed sludge to 35.33% in the AGS) and may play an important role in the formation of AGS.
Key words: aerobic granular sludge; high-throughput sequencing; microbial community composition; simultaneous nitrogen and phosphorus removal

颗粒污泥相较于传统的絮状活性污泥,具有生物量高、密度大等特点,在生物反应器内可维持更高的微生物浓度与更短的沉淀时间[1]. 颗粒污泥工艺首先应用于厌氧系统中,如上流式厌氧污泥床反应器(up-flow anaerobic sludge bed,UASB)[2]. 之后,好氧颗粒污泥(aerobic granular sludge,AGS)工艺也在研究中被提出[3],并得到广泛应用,例如荷兰代尔伏特理工大学与 DHV 公司推出 Nereda® 工艺,目前,全

收稿日期: 2017-03-30; **修订日期**: 2017-05-27
基金项目: 国家自然科学基金项目(51378027,51578015); 北京市自然科学基金项目(8162010)
作者简介: 高景峰(1974 ~),男,博士,教授,博士生导师,主要研究方向为水污染控制,E-mail: gao.jingfeng@bjut.edu.cn

球已有 30 多座运行或在建污水厂使用了该工艺.

深度脱氮除磷一直是污水处理工艺的研究重点,由于 AGS 的结构特点造成的溶解氧传递限制,可以在颗粒内部形成缺氧、厌氧区,为反硝化菌及聚磷菌提供了良好条件,有利于在单污泥系统中实现同步脱氮除磷(simultaneous nitrogen and phosphorus removal,SNPR)[4]. 目前已有许多研究利用 AGS 实现 SNPR,例如 Cassidy 等[5]利用屠宰废水培养出具有 SNPR 效果的 AGS,高景峰等[6]对 AGS 如何实现 SNPR 及其反应机制进行了研究. 与此同时,分子生物学方法也被运用于相关研究中,例如荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization,FISH)[6]、变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis,DGGE)[7]以及末端限制性片段长度多态性技术(terminal restriction fragment length polymorphism,TRFLP)[8]. 这些方法可以用来研究 AGS 培养过程中微生物的群落变化,但其存在着 PCR 差异和通量低等限制因素,对于研究结果有一定的限制性. 高通量测序作为新兴的第二代测序技术,具有通量高、周期短、高自动化等特点,其在环境微生物研究领域的应用逐渐兴起[9,10]. 同时,高通量测序技术也开始运用于 AGS 中微生物的研究,例如 Lv 等[11]利用其对 AGS 培养过程中微生物群落变化进行了研究. 但是,利用高通量测序技术对 SNPR 功能的 AGS 培养过程中微生物群落变化的研究鲜见报道.

因此,本研究使用生活污水培养具有 SNPR 功能的 AGS,研究了 AGS 培养过程中活性污泥胞外聚合物(extracellular polymeric substances,EPS)的组分变化,并利用 Illumina MiSeq 高通量测序和实时荧光定量 PCR(real-time quantitative PCR,qPCR)对 AGS 培养过程中细菌群落以及硝化与除磷微生物丰度的变化进行了研究,以期为 AGS 的颗粒化机理提供理论支持.

1　材料与方法

1.1　接种污泥与实验用水

实验所用污泥取自北京市某再生水厂曝气池,混合液污泥浓度(mixed liquid suspended solids,MLSS)为3 600 mg·L^{-1}. 实验用水为生活污水,水质指标如表 1 所示,由于所用生活污水 COD 浓度较低,因此混合投加乙酸钠与丙酸钠作为碳源,反应器进水 COD、NH_4^+-N、NO_2^--N、NO_3^--N 和 TP 平均浓度分别为 300、52.4、0.1、1.2 和 7.8 mg·L^{-1}.

表 1　污水水质/mg·L^{-1}

Table 1　Wastewater characteristics/mg·L^{-1}

项目	COD	BOD_5	NH_4^+-N	NO_2^--N	NO_3^--N	TN	TP
范围	85.3 ~ 185.5	30.2 ~ 75.4	38.5 ~ 53.2	0.02 ~ 0.14	0.1 ~ 2.3	38.6 ~ 57.2	4.5 ~ 10.8

1.2　实验装置与运行条件

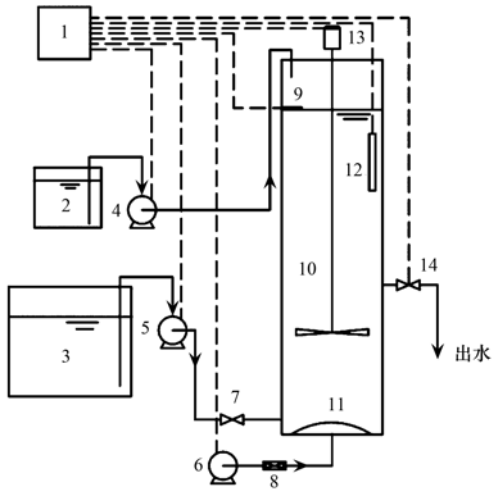
实验所用 SBR 反应器如图 1 所示,反应器采用有机玻璃制成,高 150 cm,直径 40 cm,总容积 188 L,有效容积 150 L,设定排水比为 1/2. 采用空气压缩机供气,用转子流量计控制曝气量. 反应器内设置有加热控温装置,使运行温度维持在 25℃ 左右. 反应器运行分为进水(15 min)、厌氧搅拌(120 min)、曝气(150 min)、沉淀(10 ~ 5 min)、排水(5 min)和闲置这 6 个阶段,采用时控开关控制各阶段运行时间.

1.3　分析项目与测试方法

COD、NH_4^+-N、NO_2^--N、NO_3^--N、PO_4^{3-}-P、MLSS、SV 等常规分析项目均采用国家标准方法测定[12]; DO、pH 采用 WTW Multi 3400 (WTW Laborprodukte, Germany) 便携分析仪测定; 采用 Olympus BX51/52(OLYMPUS,Japan)光学显微镜观察污泥外形; AGS 表面微观形态采用 Hitachi S-3400N(HITACHI,Japan)扫描电子显微镜(scanning electronic microscopy, SEM)表征; 采用 Microtrac S3500(Microtrac Inc,USA)激光粒度分析仪测定污泥样品的粒径分布. 采用阳离子树脂交换法[13]提取活性污泥样品中的 EPS; 胞外蛋白质采用考马斯亮蓝法[14]测定,使用牛血清蛋白配置标准溶液; 胞外多糖采用苯酚-硫酸法[15]测定,使用葡萄糖配置标准溶液.

1.4　实验样品

本实验共分为两个阶段,第一阶段为 AGS 的快速培养,用时 40 d,取种泥(R0)、初步形成 AGS(第 20 d,R1)以及阶段末期完全形成 AGS(第 40 d,R2)作为样品点. 第二阶段用时 60 d,为 SNPR 培养阶段,选取第 50 d(R3)、第 65 d(R4)、第 75 d(R5)和第 85 d(R6)这些粒径明显增长与处理效果增强的点,以及第 100 d 时形成 SNPR 功能的点,取污泥样品,真空冻干后于 −20℃ 储存,用于后续实验.



1. 时控开关; 2. 外加碳源水箱; 3. 原水箱; 4. 外加碳源泵; 5. 进水泵; 6. 空气压缩机; 7. 止回阀; 8. 气体流量计; 9. 液位计; 10. SBR 反应器; 11. 曝气盘; 12. 加热装置; 13. 电动搅拌器; 14. 排水阀

图 1 SBR 反应系统示意

Fig. 1 Schematic diagram of the SBR reactor

1.5 微生物多样性分析

1.5.1 DNA 提取与 Illumina MiSeq 高通量测序分析

样品经冻干碾碎后,使用 Fast DNA® Spin kit for soil(Qiagen,CA,USA)DNA 提取试剂盒提取样品 DNA,并采用 NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific,USA)测定提取 DNA 浓度和质量. DNA 样品送往美吉生物(上海)医药科技有限公司进行高通量测序,测序平台为 Illumina MiSeq PE300(Illumina,USA),测序区域为细菌 16S rRNA V3-V4 区,所用引物为 338F (5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3′) 和 806R (5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′). 测序产生的原始数据经筛选去除低质量序列以及嵌合体后,得到有效序列,并对各样品序列进行均一化处理,以保证在相同的测序深度下进行分析比较. 使用 QIIME[16] 进行后续分析,利用 Usearch 算法划分操作分类单元(OTUs),相似度设置为 97%. 采用 Silva 数据库对 OTUs 进行物种注释,之后对所得细菌分类信息进行多样性与群落组成分析.

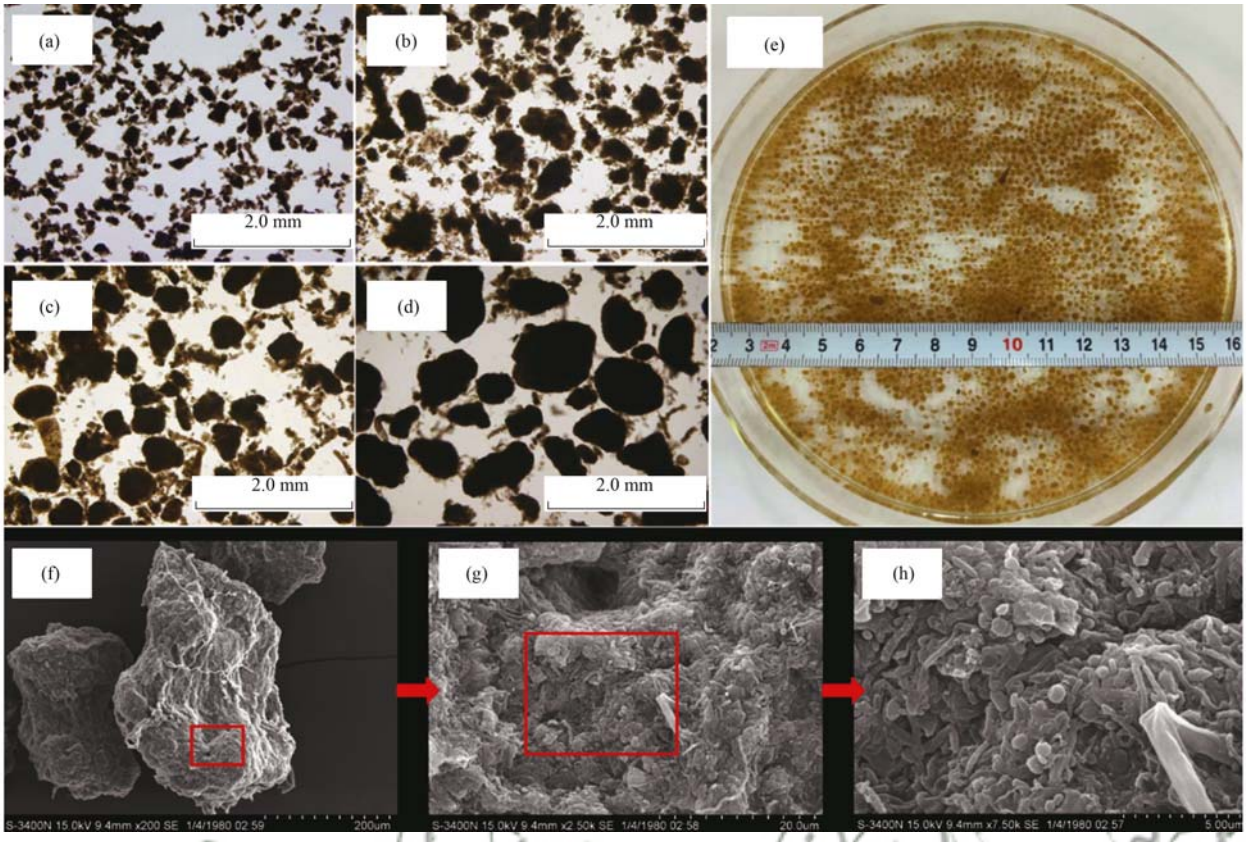
1.5.2 PCR 与 qPCR

DNA 样品经过 PCR 扩增、克隆、摇菌后,从携带有目的菌基因片段的菌液中提取质粒作为 qPCR 的标准品. 对提取的质粒进行 10 倍梯度稀释制作成一系列标准样品. 标准品和未知样品,均做 3 个平行,并设置阴性对照(无菌水作为模板). 分别采用特异性引物 GenAOAF (5′-ATAGAGCCTCAAGTAGGAAAGTTCTA-3′) 和 GenAOAR (5′-CCAAGCGGCCATCCAGCTGTATGTCC-3′)[17] 对氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea,AOA)的 *amoA* 基因进行定量; 特异性引物 CTO189f[该引物是由 CTO189fA/B (5′-GGAGRAAAGCAGGGGATCG-3′) 与 CTO189fC (5′-GGAGGAAAGTAGGGGATCG-3′) 以 2∶1 的比例混合而成] 和 CTO654r (5′-CTAGCYTTGTAGTTTCAAACGC-3′)[18] 对氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria,AOB)的 16S rRNA 基因进行定量; 特异性引物 Nsr 1113f (5′-CCTGCTTTCAGTTGCTACCG-3′) 和 Nsr 1264r (5′-GTTTGCAGCGCTTTGTACCG-3′)[19] 对亚硝酸盐氧化菌 *Nitrospira*(nitrite-oxidizing bacteria,NOB)的 16S rRNA 基因进行定量; 以及特异性引物 518f(5′-CCAGCAGCCGCGGTAAT-3′) 和 PAOs 846r (5′-GTTAGCTACGGCACTAAAAGG-3′)[20] 对活性污泥中优势聚磷菌 *Candidatus accumulibacter* (polyphosphate accumulating organisms, PAOs) 的 16S rRNA基因进行定量. 定量 PCR 反应体系为 20 μL,其组成为: 7.2 μL 无菌水、10 μL GoTaq® qPCR Master Mix、0.4 μL 上、下游引物和 2 μL DNA 模板、质粒标准品或无菌水. 使用仪器 Stratagene MX3005p(Agilent Technologies,USA)运行反应体系.

2 结果与讨论

2.1 AGS 的培养

本实验共分为两个阶段,第一阶段通过逐渐缩短沉淀时间培养 AGS,第二阶段通过改变运行条件实现 SNPR. 在第一阶,根据反应器内污泥沉淀性能及 MLSS 的变化,将沉淀时间由最初的 9 min 逐步缩减至 6 min. 期间,活性污泥逐渐团聚形成颗粒,污泥粒径(中位径,D50)由 R0 的 124.7 μm[图 2(a)] 增长到 R2 的 279.4 μm[图 2(b)],已基本形成 AGS. 在第二阶段,根据反应器出水效果,调整各阶段运行时间,同时将沉淀时间缩短并维持在 5 min,AGS 粒径出现持续增长,由 R4 的 346.3 μm[图 2(c)]增长到了 R5 的 567.5 μm[图 2(d)],到 R7 时达到了 781.8 μm. 如图 2(e)所示,成熟 AGS 呈棕黄色,均匀饱满. SEM 照片如图 2(f)所示,AGS 外形规则,轮廓清晰,进一步放大后可观察到[图 2(g)和 2(h)]表面存在明显的凸起与凹陷,并且分布有大量的杆菌与球菌. 表 2 为各取样点的出水水质和污染物去除率,系统在运行85 d后具有了较好的



(a)R0、(b)R2、(c)R4 和(d)R5 的显微镜照片；(e)R7 的相机照片；(f)～(h)R7 的 SEM 照片

图 2　AGS 培养过程中活性污泥的外观形态

Fig. 2　Morphoglogy of activated sludge during the formation of AGS

表 2　出水水质与去除率

Table 2　Effluent water quality and removal efficiency

样品点	出水浓度/mg·L^{-1}				去除率/%			
	COD	NH_4^+-N	TN	TP	COD	NH_4^+-N	TN	TP
R1	40.6	6.4	41.7	3.12	87.6	88.1	25.6	62.4
R2	36.1	0.7	36.4	3.04	91.2	98.6	31.3	60.0
R3	28.2	1.1	27.5	1.12	90.7	97.7	43.5	86.1
R4	31.2	0.4	20.1	0.76	89.2	99.3	65.4	90.2
R5	40.2	0.6	17.3	0.40	87.1	98.9	70.4	95.6
R6	37.6	1.2	12.8	0.12	88.3	97.4	74.5	98.2
R7	27.5	0.4	13.0	0.08	92.7	99.0	76.3	95.7

SNPR 效果，出水 NH_4^+-N < 1.0 mg·L^{-1}、TP < 0.5 mg·L^{-1}，TN 和 TP 去除率分别达到了 76.3% 和 95.7%，出水水质符合 GB 18918-2002 一级标准中 A 标准.

2.2　AGS 培养过程中 EPS 的变化

EPS 是 AGS 中主要的组成部分，其可以促进微生物的团聚，对于 AGS 的形成具有重要作用[21]. 提取各样品的 EPS，研究其在培养的第一及第二阶段的浓度变化，结果如图 3 所示. 在 AGS 培养的第一阶段，活性污泥由絮状凝聚为颗粒，EPS 含量也随之增加，其中多糖含量增加明显，由 R0 的 15.46 mg·g^{-1}增加到 R2 中的 64.62 mg·g^{-1}. 在第二阶段，虽然 AGS 粒度继续增长，但 EPS 中多糖含量增长减缓，成熟 AGS(R7)中浓度为 80.83 mg·g^{-1}. 蛋白质含量在 AGS 形成初期由 R0 的 12.42 mg·g^{-1}增加到 R1 的 27.72 mg·g^{-1}，AGS 形成后，其含量在 13.81 ~ 26.11 mg·g^{-1}之间浮动. 可以看出，样品 EPS 中多糖含量要远高于蛋白质，并且其在 AGS 形成阶段的增幅也要比蛋白质的明显，因此，EPS 中多糖含量的增加可能会促进 AGS 的形成，而蛋白质对 AGS 的形成影响较小.

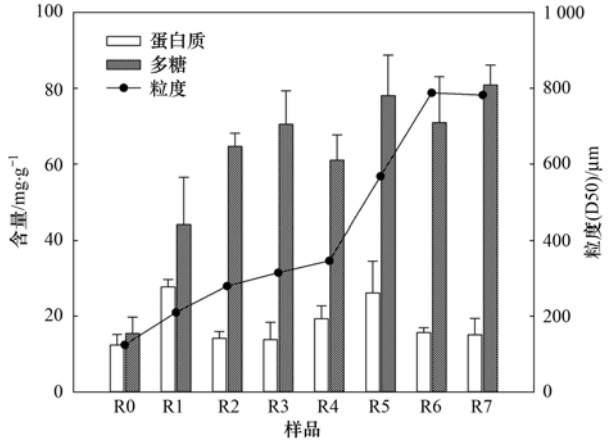


图 3 AGS 培养过程中 EPS 变化

Fig. 3 Variations of EPS during the formation of AGS

2.3 硝化微生物与除磷微生物丰度变化

AGS 培养过程中硝化微生物和除磷微生物的 qPCR 定量结果如图 4 所示. 从图 4(a)中可以看出,在第一阶段(R0 ~ R2),AOB 的 16S rRNA 基因丰度保持不变,范围(以 dry sludge 计,下同)在 $3.35 \times 10^9 \sim 9.00 \times 10^9$ copies·g^{-1},第二阶段(R3 ~ R7),随着粒径增长,AOB 丰度发生小幅下降,R7 中丰度为 4.75×10^8 copies·g^{-1}. AOA 的 *amoA* 基因丰度在整个培养过程中大幅下降[图 4(b)],由 R0 中的 2.18×10^6 copies·g^{-1} 减少至 R7 中的 7.54×10^3 copies·g^{-1},说明在 AGS 培养过程中,逐步缩减沉淀时间造成的洗脱作用,可能不利于 AOA 这种世代时间较长的微生物的生长与富集,对于 AOB 来说这种影响可能较小. 因此,在 SNPR 系统中,AOB 可能是主要的氨氧化作用执行者. NOB 的 16S rRNA 基因丰度在培养过程中无明显变化[图 4(c)],范围在 $2.09 \times 10^9 \sim 1.12 \times 10^{10}$ copies·g^{-1},说明污泥颗粒化过程对其影响较小. PAOs 的 16S rRNA 基因丰度在第一阶段由 R0 的 3.53×10^9 copies·g^{-1} 增长到 R2 的 1.10×10^{11} copies·g^{-1},在第二阶段 AGS 形成后其丰度保持稳定,R7 中的丰度为 1.83×10^{10} copies·g^{-1},说明 AGS 的形成有利于 PAOs 的生长.

2.4 细菌群落组成与多样性分析

8 个样品经高通量测序后共产生496 597条原始序列,经过去除嵌合体以及均一化等处理后,各样品有效序列数均为51 226条. 通过与数据库的比对划分,共得到1 614个 OTUs,各样品 OTUs 数分别为 1 197(R0)、1 324(R1)、1 293(R2)、1 317(R3)、1 259(R4)、1 208(R5)、1 111(R6)和1 045(R7). 图 5(a)为各样品的稀缺性曲线,其中各条曲线都趋于平坦,说明测序深度可以覆盖样品中绝大多数细菌信息. 从各样品 OTUs 数可以看出,在 AGS 培养的第一阶段(R0 ~ R2),细菌种类产生了小幅上升,

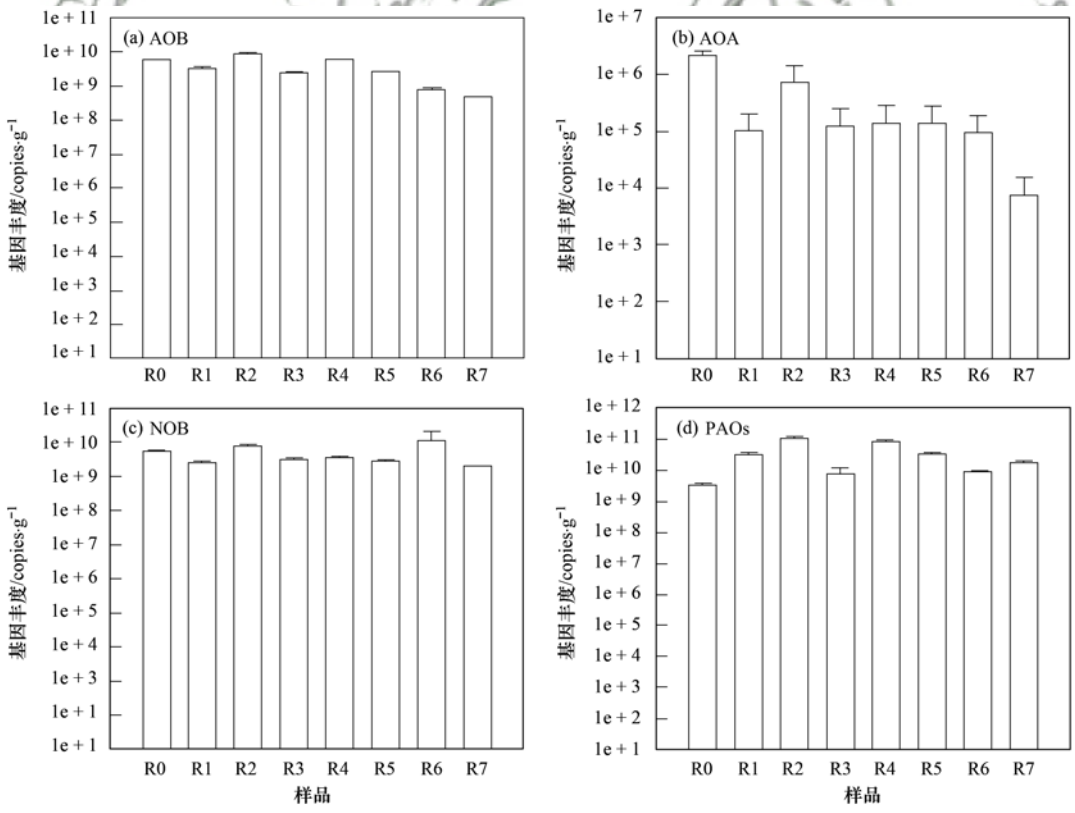


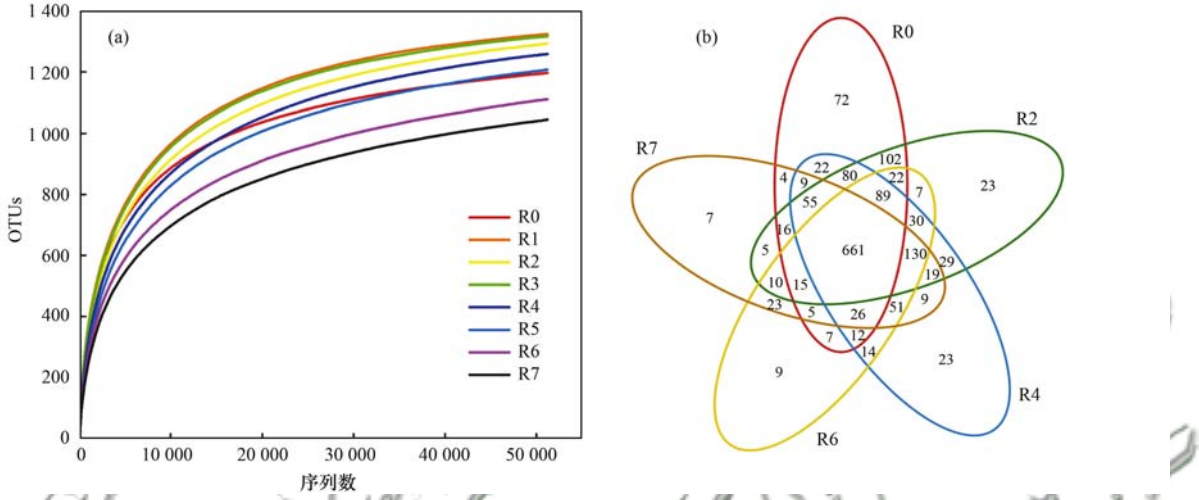
图 4 AOB、AOA、NOB 和 PAOs 的定量结果

Fig. 4 Abundance of AOB, AOA, NOB and PAOs

之后的第二阶段(R3 ~ R7),随着 AGS 粒径的增长,并产生 SNPR 效果,细菌种类又产生了下降.

选取 R0 和第一阶段末期培养出 AGS 的点 R2,第二阶段污泥粒径明显增长的点 R4 和 R6,以及具有 SNPR 功能的点 R7 做 Venn 图,结果如图 5(b)所示. 5 个样品共有 OTUs 占总数的 40.95%,R0 与样品 R2、R4、R6 和 R7 所共有的 OTUs 逐渐减少,分别为 64.44%、59.11%、51.86% 和 49.00%. 说明在污泥颗粒化过程中,细菌群落组成产生了明显的变化,但也有部分细菌得到了保留. 从各样品独有的 OTUs 来看,R0(4.46%)远多于其它样品 R2(1.43%)、R4(1.43%)、R6(0.56%)和 R7(0.43%),但占总 OTUs 的比例较少.

各样品的 α 多样性指数如表 2 所示. 可以看出,Chao1 指数在培养初期第一阶段发生小幅上升,由 R0 的1 398增加到 R2 的1 408,之后第二阶段出现下降,最终降为 R7 的1 218. 香农指数也表现出同样的规律,由 R0 的 5.69 上升到 R1 的 5.85 之后逐渐下降到 R7 的 4.34,表明在 AGS 形成初期,活性污泥中细菌的丰富度的和多样性都产生了增长,而在之后颗粒污泥粒径增长和 SNPR 形成阶段,丰富度和多样性反而产生了下降.



(a)各样品点细菌稀缺性曲线;(b)特定样品点 OTUs 的 Venn 图

图 5　细菌稀缺性曲线与 Venn 图

Fig. 5　Rarefaction curves and Venn diagrams of the bacterial communities

表 2　细菌群落 α 多样性

Table 2　The α-diversity indices of bacterial community

编号	序列数	OTUs 数	Chao1 指数	香农指数	覆盖率
R0	51 226	1 197	1 308	5.69	0.997 2
R1	51 226	1 324	1 398	5.85	0.997 3
R2	51 226	1 293	1 408	5.54	0.996 6
R3	51 226	1 317	1 410	5.70	0.997 2
R4	51 226	1 259	1 373	5.20	0.996 5
R5	51 226	1 208	1 342	4.93	0.996 4
R6	51 226	1 111	1 295	4.98	0.996 1
R7	51 226	1 045	1 218	4.34	0.996 2

8 个样品点 OTUs 组成的 PCA 分析如图 6 所示. 主成分 1(PC1)与主成分 2(PC2)是造成样品差异的两个最大差异特征,贡献率分别为 86.69% 与 6.00%. 从图 6 中可看出,R0 与 R1 相距甚远,可能是由于反应器在启动后,随着沉淀时间的减少,某些细菌在短时间内被排出,而易絮凝、团聚的细菌得到了保留,导致活性污泥中细菌群落组成产生了明显变化,此时反应器内污泥也由最初的絮状变为小颗粒,从而造成图 6 中 R0 ~ R1 的明显变化. 之后,随着 AGS 的形成,以及运行条件的稳定,其它几个样品点间的差距在逐渐的缩小,例如 R2 与 R3,以及 R4 ~ R7. 从图 6 中可看出,R4 ~ R7 这 4 个样品点聚集在一起,而 R4 ~ R7 之间 AGS 的粒径仍然存在较大增长,说明相较于 AGS 形成过程,AGS 在粒径增长过程中细菌群落组成变化较小.

在 AGS 培养过程中,某些微生物种属持续存在

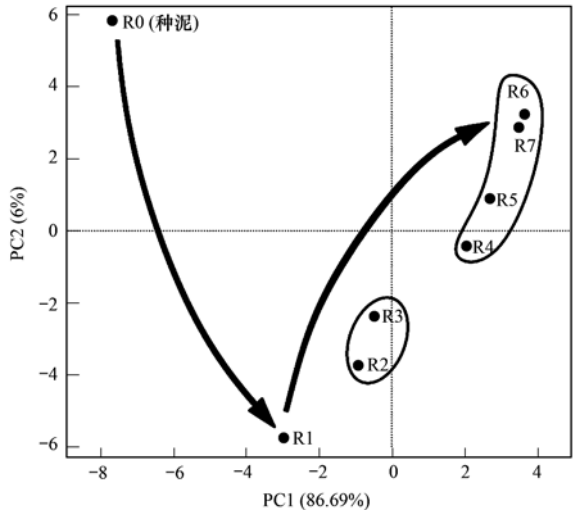


图 6 基于样品 OTUs 的 PCA 分析排序

Fig. 6 Ordination plots generated by PCA analysis based on the OTUs

且相对丰度较高,其可能为系统的核心微生物[22]. 而某些微生物种属存在时间较短且相对丰度较低,也可能会对系统产生一定影响. 通过分析不同 OTUs 在 8 个样品点的出现频率,将1 614个 OTUs 划分为 3 个类型,分别为瞬时型(只出现在 1 个样品中,即出现频率为 12.5%)、间歇型(在 2~6 个样品中均出现,即出现频率为 25.0% ~75.0%)以及持久型(在 7 或 8 个样品中均出现,即出现频率为 87.5%、100.0%). 不同出现频率下的 OTUs 数如图 7(a)所示,随着出现频率升高,OTUs 数也随之增多. 图 7(b)为 3 种类型的 OTUs 数分布,持久型所占百分比为 53.1%,略高于间歇型的 43.4%,而瞬时型所占百分比较小,仅为 3.5%. 不同类型 OTUs 对应的序列数百分比如图 7(c)所示,持久型 OTUs 对应的序列占总序列数的 92.7%,远高于间歇型的 7.1%与瞬时型的 0.2%,说明在利用生活污水培养 AGS 时,持久型 OTUs 所对应的微生物种属可能与 AGS 及 SNPR 功能形成有关. 间歇型与瞬时型的 OTUs 数总和虽然占到了 46.9%,但对应的序列数占比较低(7.3%),说明其对应的微生物种属可能与污泥颗粒化及 SNPR 的关系较小.

针对以上结果,对持久型 OTUs 对应的细菌群落组成,以及在各个样品中所占的相对丰度进行进一步分析,结果如图 8 所示. 属于持久型 OTUs 的细菌在各样品中的相对丰度为 78.04% ~90.08%,占比较高. 持久性 OTUs 属于 29 个门,其中,变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和绿弯菌门(Chloroflexi)为各样品中的优势门. 前人研究也发现变形菌门为活性污泥中最主要的细菌门[9]. 从图中可以看出在 AGS 培养过程中,变形菌门的相对丰度产生了较大增长,由 R0 的 31.07%增长为 R7 中的 53.67%,拟杆菌门和绿弯菌门的相对丰度变化较小,在各样中为 6.70% ~16.50%和 7.84% ~13.36%. 而其它一些相对丰度较小的门,例如放线菌门(Actinobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes),在培养过程中均出现了下降,放线菌门与污泥的丝状膨胀相关[23],在 AGS 培养的第一阶段,其相对丰度由 R0 的 8.03%下降到 R2 的 3.00%,说明减少沉淀时间对其产生了较大影响.

在属水平,挑选各样品中相对丰度大于 1%的属,对持久型 OTUs 对应的细菌进行分析,结果如图 8(b)所示. 从中可看出,*Candidatus competibacter*、*Candidatus accumulibacter*、*Defluviicoccus*、*Anaerolineaceae* 以及 *MVP-88* 属在 R0 中相对丰度较低,分别为 0.11%、0.27%、0.21%、0.18%以及

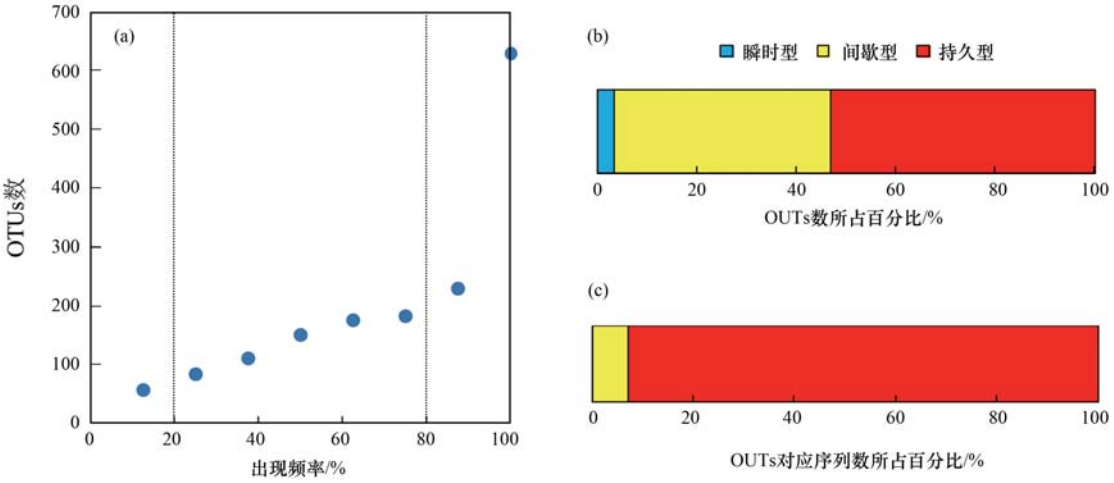


图 7 样品 OTUs 组成分析

Fig. 7 Composition analysis of the sample OTUs

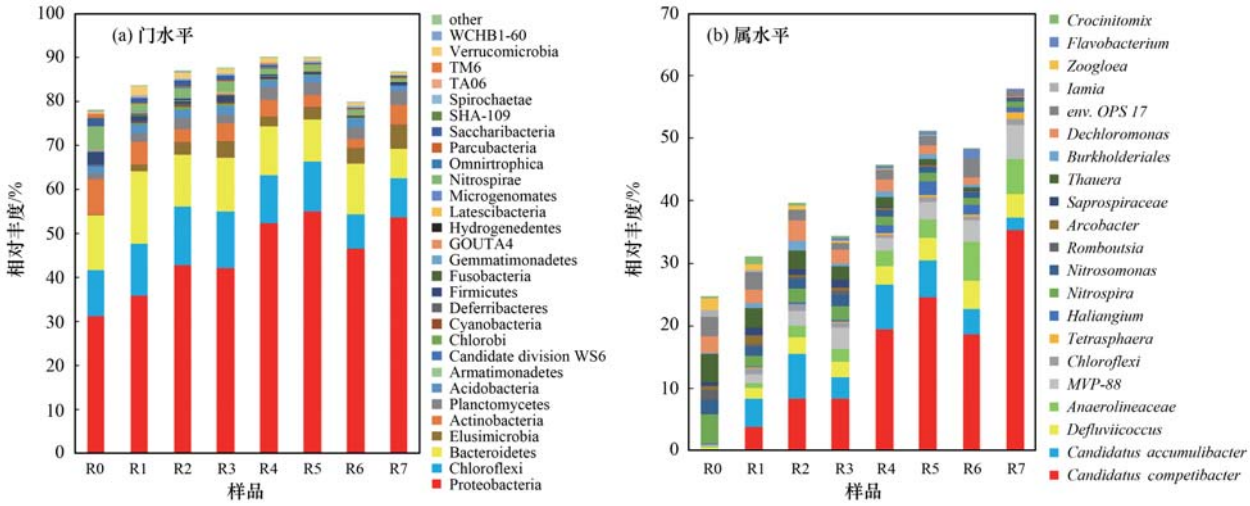


图 8　持久型 OTUs 在各样品中的细菌群落组成分析

Fig. 8　Bacterial communities of persistent OTUs for the different samples

0.10%，而在第一阶段末期，其相对丰度发生了明显增加，在 R2 中的相对丰度为 8.35%、7.27%、2.55%、1.88% 以及 2.32%. 在第二阶段，*C. competibacter*、*Anaerolineaceae* 和 *MVP-88* 属的相对丰度持续增长，*C. competibacter* 属增长尤为明显，在 R7 中达到了 35.33%，其它两个属分别为 5.50% 和 5.46%. *Chloroflexi*、四球虫属（*Tetrasphaera*）、*Haliangium*、*Romboutsia*、亚硝化单胞菌属（*Nitrosomonas*）以及硝化螺旋菌属（*Nitrospira*），在各样品中相对丰度均较低，而后两者属于活性污泥中典型的 AOB 与 NOB.

Lemaire 等[24]的研究发现，采用厌氧/好氧交替运行方式培养具有脱氮除磷功能的 AGS 时，AGS 中富集了大量的 *C. competibacter*. Cai 等[25]研究发现，在以丙酸盐作为碳源时，也有利于 *C. competibacter* 的生长富集. *C. competibacter* 作为一种聚糖菌，可以在厌氧条件下吸收乙酸、丙酸等挥发性脂肪酸，合成聚-β-羟基烷酸，但在好氧条件下却不吸收磷也不合成聚磷，对除磷没有贡献，因此与 PAOs 存在竞争关系[26]. *C. accumulibacter* 作为实际污水处理系统中已知的优势聚磷菌，在本研究中，其相对丰度在培养过程中也产生较明显增加，并且 *C. competibacter* 在 AGS 中的富集并未影响到系统的除磷能力.

Seviour 等[27]的研究发现，AGS 中富集的 *C. competibacter* 可能会分泌某种胶状胞外多糖，使其 EPS 具有胶状特性并有别于普通絮状污泥中的 EPS. Lin 等[28]的研究结果也表明，这种胶状的胞外多糖有助于微生物团聚形成 AGS. De Kreuk 等[29]的研究发现，*C. competibacter* 以及 *C. accumulibacter* 等增长缓慢的微生物，有利于形成紧实稳定的 AGS. 本文在培养具有 SNPR 的 AGS 时，采用厌氧/好氧交替的运行方式，并且使用丙酸钠与乙酸钠作为碳源，使得 *C. competibacter* 在培养过程中快速富集，其可能分泌大量的胶状胞外多糖，对样品 EPS 测定结果也表明，在第一阶段，EPS 中多糖的含量产生明显增加（图 3），这些胶状多糖可能形成了更具黏性的 EPS，将絮状活性污泥粘连成较大的菌胶团，最终形成 AGS，并且在第二阶段，促进了 AGS 粒径增加且变得更加紧实.

Meyer 等[30]利用透射光成像对 *C. competibacter* 富集的 AGS 研究发现，*C. competibacter* 集中分布于 AGS 表层，限制了氧和底物向核心部位的扩散，使得 AGS 内部活性微生物较少. 本次研究中，成熟 AGS 中富集的 *C. competibacter* 可能分布于颗粒表层，其分泌的大量黏性 EPS 也可能会阻碍底物与氧的传递，一方面会在 AGS 内部形成缺/厌氧区，有利于反硝化菌及聚磷菌在好氧条件下 SNPR. 另一方面，可能会使 AGS 中微生物与底物和氧的接触不如种泥时的絮状污泥充分，造成其在形成颗粒后微生物多样性产生降低.

3　结论

（1）利用生活污水，经 100 d 培养出具有 SNPR 功能的 AGS，其 EPS 中多糖含量在培养初期（前 40 d）增幅明显，之后趋于稳定，蛋白质的含量与增幅均低于多糖.

（2）AOB 在 AGS 培养过程中丰度略有降低；

AOA 的丰度大幅下降; NOB 在培养过程中丰度维持稳定; PAOs 在 AGS 形成初期丰度上升,之后趋于稳定.

(3)在 AGS 培养过程中,细菌多样性先升高后降低,细菌群落组成变化明显. 变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和绿弯菌门(Chloroflexi)为 AGS 培养过程中的优势门. *C. competibacter* 属在 AGS 培养过程中大量富集,其可能促进了絮状污泥团聚成 AGS.

参考文献:

[1] Van Loosdrecht M C M, Eikelboom D, Gjaltema A, *et al*. Biofilm structures[J]. Water Science and Technology, 1995, **32**(8): 35-43.

[2] Lettinga G, Van Velsen A F M, Hobma S W, *et al*. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1980, **22**(4): 699-734.

[3] Morgenroth, Sherden T, Van Loosdrecht M C M, *et al*. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor[J]. Water Research, 1997, **31**(12): 3191-3194.

[4] De Kreuk M K, Heijnen J J, Van Loosdrecht M C M. Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2005, **90**(6): 761-769.

[5] Cassidy D P, Belia E. Nitrogen and phosphorus removal from an abattoir wastewater in a SBR with aerobic granular sludge[J]. Water Research, 2005, **39**(19): 4817-4823.

[6] 高景峰, 陈冉妮, 苏凯, 等. 同步脱氮除磷好氧颗粒污泥形成与反应机制的研究[J]. 环境科学, 2010, **31**(4): 1021-1029.
Gao J F, Chen R N, Su K, *et al*. Formation and reaction mechanism of simultaneous nitrogen and phosphorus removal by aerobic granular sludge[J]. Environmental Science, 2010, **31**(4): 1021-1029.

[7] Henriet O, Meunier C, Henry P, *et al*. Improving phosphorus removal in aerobic granular sludge processes through selective microbial management[J]. Bioresource Technology, 2016, **211**: 298-306.

[8] Barr J J, Cook A E, Bond P L. Granule formation mechanisms within an aerobic wastewater system for phosphorus removal[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, **76**(22): 7588-7597.

[9] Zhang T, Shao M F, Ye L. 454 pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants[J]. The ISME Journal, 2012, **6**(6): 1137-1147.

[10] Bowers R M, Clements N, Emerson J B, *et al*. Seasonal variability in bacterial and fungal diversity of the near-surface atmosphere[J]. Environmental Science & Technology, 2013, **47**(21): 12097-12106.

[11] Lv Y, Wan C L, Lee D J, *et al*. Microbial communities of aerobic granules: granulation mechanisms[J]. Bioresource Technology, 2014, **169**: 344-351.

[12] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.

[13] Frølund B, Palmgren R, Keiding K, *et al*. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin[J]. Water Research, 1996, **30**(8): 1749-1758.

[14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, **72**(1-2): 248-254.

[15] Dubois M, Gilles K A, Hamilton J K, *et al*. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956, **28**(3): 350-356.

[16] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al*. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, **7**(5): 335-336.

[17] Meinhardt K A, Bertagnolli A, Pannu M W, *et al*. Evaluation of revised polymerase chain reaction primers for more inclusive quantification of ammonia-oxidizing archaea and bacteria[J]. Environmental Microbiology Reports, 2015, **7**(2): 354-363.

[18] Kowalchuk G A, Bodelier P L E, Heilig G H J, *et al*. Community analysis of ammonia-oxidising bacteria, in relation to oxygen availability in soils and root-oxygenated sediments, using PCR, DGGE and oligonucleotide probe hybridisation[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1998, **27**(4): 339-350.

[19] Dionisi H M, Layton A C, Harms G, *et al*. Quantification of *Nitrosomonas oligotropha*-like ammonia-oxidizing bacteria and *Nitrospira* spp. from full-scale wastewater treatment plants by competitive PCR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(1): 245-253.

[20] He S M, Gall D L, McMahon K D. "*Candidatus* Accumulibacter" population structure in enhanced biological phosphorus removal sludges as revealed by polyphosphate kinase genes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, **73**(18): 5865-5874.

[21] McSwain B S, Irvine R L, Hausner M, *et al*. Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(2): 1051-1057.

[22] Van Der Gast C J, Walker A W, Stressmann F A, *et al*. Partitioning core and satellite taxa from within cystic fibrosis lung bacterial communities[J]. The ISME Journal, 2011, **5**(5): 780-791.

[23] Seviour R J, Kragelund C, Kong Y H, *et al*. Ecophysiology of the *Actinobacteria* in activated sludge systems[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2008, **94**(1): 21-33.

[24] Lemaire R, Yuan Z G, Blackall L L, *et al*. Microbial distribution of *Accumulibacter* spp. and *Competibacter* spp. in aerobic granules from a lab-scale biological nutrient removal system[J]. Environmental Microbiology, 2008, **10**(2): 354-363.

[25] Cai W, Huang W L, Li H F, *et al*. Acetate favors more phosphorus accumulation into aerobic granular sludge than propionate during the treatment of synthetic fermentation liquor[J]. Bioresource Technology, 2016, **214**: 596-603.

[26] Saunders A M, Oehmen A, Blackall L L, *et al*. The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (enhanced biological phosphorus removal) plants[J]. Water Science and Technology,

2003，**47**(11)：37-43.

[27] Seviour T W，Lambert L K，Pijuan M，*et al*. Selectively inducing the synthesis of a key structural exopolysaccharide in aerobic granules by enriching for *Candidatus* "*Competibacter phosphatis*"[J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2011，**92**(6)：1297-1305.

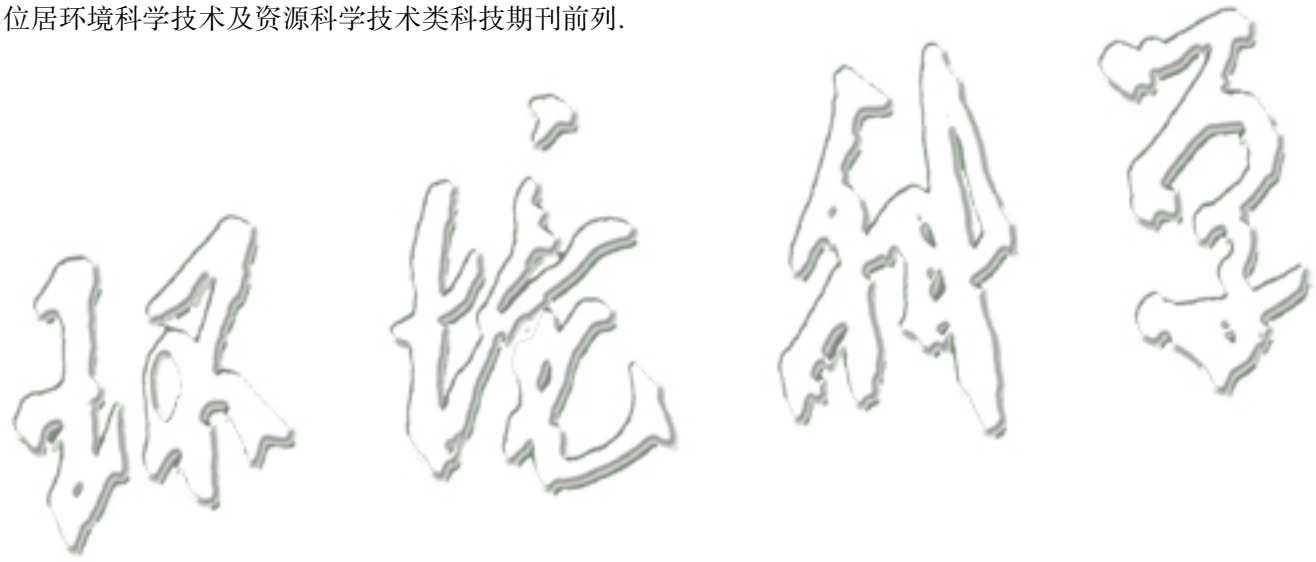
[28] Lin Y M，De Kreuk M，Van Loosdrecht M C M，*et al*. Characterization of alginate-like exopolysaccharides isolated from aerobic granular sludge in pilot-plant[J]. Water Research，2010，**44**(11)：3355-3364.

[29] De Kreuk M K，Van Loosdrecht M C M. Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability[J]. Water Science and Technology，2004，**49**(11-12)：9-17.

[30] Meyer R L，Saunders A M，Zeng R J，*et al*. Microscale structure and function of anaerobic-aerobic granules containing glycogen accumulating organisms[J]. FEMS Microbiology Ecology，2003，**45**(3)：253-261.

《环境科学》多项引证指标名列前茅

2016 年 10 月 12 日，中国科学技术信息研究所在中国科技论文统计结果发布会上公布了 2015 年度中国科技论文统计结果. 统计结果显示《环境科学》2015 年度总被引频次8 844，影响因子 1.617，多项引证指标位居环境科学技术及资源科学技术类科技期刊前列.



HUANJING KEXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 38 No. 11

Nov. 15, 2017

CONTENTS

Development of a Non-Road Mobile Source Emissions Inventory for Tianjin ····· ZHANG Yi, Andre Michel, LI Dong, *et al.* (4447)

Spatial Simulation of Black Carbon Concentrations Based on a Land Use Regression Model and Mobile Monitoring over Shanghai, China ····· PENG Xia, SHE Qian-nan, LONG Ling-bo, *et al.* (4454)

Characteristics and Sources of Elements of a PM_{10} Measurements from a Typical Industrial City in Eastern Hubei Province ····· ZHAN Chang-lin, ZHANG Jia-quan, ZHENG Jing-ru, *et al.* (4463)

Characteristics and Source Identification of Carbonaceous Aerosols in $PM_{2.5}$ Measurements During Summer and Fall in Changzhou ····· YE Zhao-lian, LIU Jia-shu, LI Qing, *et al.* (4469)

Characteristics and Sources of Water Soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter During Winter in Xuzhou ····· FAN Mei-yi, CAO Fang, ZHANG Yuan-yuan, *et al.* (4478)

Physiochemical Properties and Sources of Atmospheric Particulate Matter During Pollution Monitoring in Nanning, China ····· LIU Hui-lin, CHEN Zhi-ming, LI Hong-jiao, *et al.* (4486)

Concentration and Size Distribution Characteristics of Culturable Bioaerosols at Various Air Quality Levels During Fall and Winter in Xi'an, China ····· LI Wan-xin, LU Rui, XIE Zheng-sheng, *et al.* (4494)

Distribution Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter and Nutrients from the Yellow Sea and Bohai Sea in Autumn ····· TANG Yong, SUN Yu-yan, SHI Xiao-yong, *et al.* (4501)

Characteristics and Risks of Heavy Metals Content in Surface Sediment of Tidal Flat Areas in Eastern China ····· ZHANG Ming, BAO Zhen-yu, CHEN Guo-guang, *et al.* (4513)

Heavy Metals in Sediments from the Haizhou Bay Marine Ranching Based on Geochemical Characteristics ····· LI Da-peng, ZHANG Shuo, ZHANG Zhong-fa, *et al.* (4525)

Major Ionic Features and Their Possible Controls in the Water of the Niyang River Basin ····· ZHANG Tao, CAI Wu-tian, LI Ying-zhi, *et al.* (4537)

Vertical Distribution Characteristics of Fe and Mn in Subtropical Reservoirs During Summer ····· YANG Si-yuan, ZHAO Jian, YU Hua-zhang, *et al.* (4546)

Occurrence, Distribution, and Ecological Risk of Antibiotics in Surface Water in the Liaohe River Basin, China ····· ZHANG Xiao-jiao, BAI Yang-wei, ZHANG Yuan, *et al.* (4553)

Effects of Optimized Fish Farming on the Sediment Nutrients of Eastern Lake Taihu ····· HE Xiao-wei, CHU Yu, ZENG Jin, *et al.* (4562)

Responses of the Benthic Diatom Community to Nutrients and the Identification of Nutrient Thresholds in Three Aquatic Ecoregions of the Huntai River, Northeast China ····· ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, *et al.* (4570)

Impacts of Environmental Conditions on the Soaking Release of Nitrogen and Phosphorus from *Cynodon dactylon* (Linn.) Pers. in the Water-level Fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region ····· XIAO Li-wei, ZHU Bo (4580)

Effects of Soil Microbial Diversity on the Phosphate Fraction in the Rhizosphere of *Phragmites communis* in the Yeyahu Wetland in Beijing, China ····· TENG Ze-dong, LI Min, ZHU Jing, *et al.* (4589)

Nitrification and Denitrification Potential of Benthic Sediments in a Suburban Stream under Intense Human Disturbance Scenarios ····· LI Ru-zhong, ZHENG Xia, GAO Su-di, *et al.* (4598)

Distribution of External Phosphorus in the Sedimentary Phosphorus forms Under Different Disturbances ····· CAI Shun-zhi, LI Da-peng, TANG Xin-yu, *et al.* (4607)

Effect of *Elodea nuttallii*-Immobilized Nitrogen Cycling Bacteria on the Mechanism of Nitrogen Removal in Polluted River Water ····· WANG Hao, LI Zheng-kui, ZHANG Yi-pin, *et al.* (4617)

Zero-Valent Iron (ZVI) Activation of Persulfate (PS) for Oxidation of Arsenic (Ⅴ) Form Aqueous Solutions ····· ZHOU Zi-mai, DENG Wen-na, YANG Yi-lin, *et al.* (4623)

Removal of Antimony from Water by Nano Zero-Valent Iron/Activated Carbon Composites ····· JIANG Ting, BAO Yue, LI Wei, *et al.* (4632)

Effect of the Flow Patterns of Main-stream Reactors on the Efficiency of Nitrification Enhancement with Bioaugmentation ····· YU Li-fang, DU Qian-qian, ZHANG Ru, *et al.* (4641)

Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance and the Extracellular Polymeric Substance (EPS) in a Sequencing Batch Reactor (SBR) ····· SUN Hong-wei, CHEN Cui-zhong, WU Chang-feng, *et al.* (4648)

Effects of Temperature on Shortcut Nitrification and Nitrification Activity of Nitrification in an Intermittent Aeration Sequencing Batch Reactor ····· LIU Hong, PENG Yong-zhen, LU Jiong-yuan, *et al.* (4656)

Nitrite Type Denitrifying Phosphorus Removal Capacity of Cycle Activated Sludge Technology Processes Under Different Inducing Patterns ····· MA Juan, WANG Jin, YU Xiao-jun, *et al.* (4664)

Laboratory-scale CANON Processes Applied to Wastewater Treatment Plants ····· LI Dong, ZHAO Shi-xun, WANG Jun-an, *et al.* (4673)

Effects of Magnetic Activated Carbon with Different Particle Sizes on Sludge Granulation in a SBR System ····· XIN Xin, GUAN Lei, GUO Jun-yuan, *et al.* (4679)

Storage and Reactivation of Anaerobic Ammonium Oxidation (ANAMMOX) Sludge at Room Temperature ····· HUANG Jia-lu, WANG Xiao-long, GAO Da-wen (4687)

Microbial Population Dynamics During Sludge Granulation in a Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal System ····· GAO Jing-feng, WANG Shi-jie, FAN Xiao-yan, *et al.* (4696)

Anaerobic Reduction Process Characteristics and Microbial Community Analysis for Sulfate and Fe(Ⅱ)EDTA-NO/Fe(Ⅲ)EDTA ····· ZHANG Yu, WAN Fang, ZHOU Ji-ti (4706)

Treatment Efficiency and Microbial Community Diversity in a Magnetic Field Enhanced Sequencing Batch Reactor (SBR) ····· GENG Shu-ying, FU Wei-zhang, WANG Jing, *et al.* (4715)

Molecular Research of Acid-Generating Microbial Communities in Abandoned Ores in the Waste Dump of an Iron Mine in Anhui Province ····· DU Ze-rui, HAO Chun-bo, PEI Li-xin, *et al.* (4725)

Microbial Community Diversity and Differences in Cellar water of Typical Rainwater Harvesting Area ····· YANG Hao, ZHANG Guo-zhen, YANG Xiao-ni, *et al.* (4733)

Impact of the Biodegradation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol on the Bacterial Community Structure of Surface Sediment ····· WANG Dan, HOU Zhen, ZHANG Qi, *et al.* (4747)

Degradation Process of Exogenous Naphthenic Acids and Their Effects on Microbial Community Structure in Soil ····· LIU Yan-qiu, ZHAO Yan-ran, LIU Meng-jiao, *et al.* (4756)

Identification and Nitrogen Removal Characteristics of the Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification Bacterial Strain DK1 ····· MU Dong-yang, JIN Peng-fei, PENG Yong-zhen, *et al.* (4763)

Mercury Release Flux and Its Influencing Factors Under Four Typical Vegetation Covers at Jinyun Mountain, Chongqing ····· YANG Guang, SUN Tao, AN Si-wei, *et al.* (4774)

Short-term Effects of Nitrogen Deposition on CO_2 and CH_4 Fluxes from Wetlands in the Minjiang River Estuary ····· LI Dong-dong, TONG Chuan, TAN Li-shan, *et al.* (4782)

Effects of Plastic Film Mulching on Methane and Nitrous Oxide Emissions from a Rice-Rapeseed Crop Rotation ····· SHI Jiang-lai, HAO Qing-ju, FENG Di, *et al.* (4790)

Assessment of Pollution, Sources, and Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil from Urban Parks in Xi'an City, China ····· ZHOU Yan, LU Xin-wei (4800)

Spatial Distribution of Soil Particles and Heavy Metals Under Different Psammophilic Shrubs in the Ulan Buh Desert ····· DAI Yu-jie, GUO Jian-ying, DONG Zhi, *et al.* (4809)

Effects of UV-B Radiation on Soil Carbon and Nitrogen Transformation under Different Soil Moisture Contents from Two Paddy Fields ··· JIANG Meng-die, WANG Qiu-min, XU Peng, *et al.* (4819)

Various effects on the Abundance and Composition of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities in Soils in Karst Shrub Ecosystems ····· LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, *et al.* (4828)

Remediation of Cd/Ni Contaminated Soil by Biochar and Oxalic Acid Activated Phosphate Rock ····· DUAN Ran, HU Hong-qing, FU Qing-ling, *et al.* (4836)

Effects of Repeated Freezing and Thawing and High Temperature Aging on the Solidification and Stabilization of Arsenic Contaminated Soil ····· YANG Jie, QIAN Zhao-qiu, WANG Jing (4844)

Evaluation of the Combined Removal of Heavy Metals by Saponin and Citric Acid from Municipal Sewage Sludges and Metal Stability Features ····· YE Tao, HUANG Li, ZHANG Ke-qiang, *et al.* (4850)

Interactions between Goethite and Humic Acid and the Stability of Goethite-Humic Acid Complex ····· WANG Rui, ZHU Chao-ju, XIANG Wen-jun, *et al.* (4860)

Contents and Health Risks of Organic Phosphorus Esters in Plastic Runway Products ····· YIN Hong-ling, LIU Qin, LIAO Lin-qun, *et al.* (4868)

Effects on Physico-chemical Parameters of Glycoside Hydrolase Family 6 Genes During Composting of Agricultural Waste ····· CHEN Yao-ning, GOU Yu, LI Yuan-ping, *et al.* (4874)

Effect of the Food to Mass Ratio and Hydraulic Retention Time on Hydrogen Production from Fruit and Vegetable Waste ····· LI Biao, KONG Xiao-ying, LI Lian-hua, *et al.* (4882)

Comment on Sensitivity Analysis Methods for Environmental Models ····· CHEN Wei-ping, TU Hong-zhi, PENG Chi, *et al.* (4889)