

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.4

第40卷 第4期

目次

南京江北新区大气单颗粒来源解析及混合状态	于兴娜, 时政, 马佳, 李梅, 龚克坚 (1521)
西安市 PM _{2.5} 中碳质气溶胶污染特征	牟臻, 陈庆彩, 王羽琴, 沈振兴, 华晓羽, 张梓萌, 孙浩堯, 王玛敏, 张立欣 (1529)
太原市冬季 PM _{2.5} 化学组分特征与来源解析	刘素, 马彤, 杨艳, 高健, 彭林, 曹力媛, 逢妮妮, 张浩杰 (1537)
郑州市大气细颗粒物中水溶性离子季节性变化特征及其源解析	闫广轩, 张靖雯, 雷豪杰, 黄海燕, 唐明双, 曹治国, 李云蓓, 樊静, 王跃思, 李怀刚 (1545)
珠海市郊区大气 PM _{2.5} 中元素特征及重金属健康风险评价	杨毅红, 贾燕, 卞国建, 于晓巍, 钟昌琴, 全鼎余 (1553)
一次沙尘事件对沿海及海洋大气气溶胶中金属粒径分布的影响	金同俊, 祁建华, 郝梓延, 林学辉 (1562)
基于 SOA 转化机制的沧州市重点企业秋冬季大气污染模拟	高爽, 伯鑫, 马岩, 雷团团, 王刚, 李时蓓, 陆朝阳, 毛娜, 郝明亮, 黄向峰 (1575)
京津冀大气污染变化规律及其与植被指数相关性分析	孙爽, 李令军, 赵文吉, 齐梦溪, 田欣, 李珊珊 (1585)
2015~2017年北京及近周边平房燃煤散烧及其污染排放遥感测算	赵文慧, 李令军, 鹿海峰, 姜磊, 张立坤, 王新辉, 邱昀 (1594)
基于地基遥感的杭州地区气溶胶光学特性	齐冰, 车慧正, 徐婷婷, 杜荣光, 胡德云, 梁卓然, 马千里, 姚杰 (1604)
四川省人为源挥发性有机物组分清单及其臭氧生成潜势	周子航, 邓也, 谭钦文, 吴柯颖, 宋丹林, 黄凤霞, 周小玲 (1613)
餐饮源挥发性有机物组成及排放特征	高雅琴, 王红丽, 许睿哲, 景盛翱, 刘跃辉, 彭亚荣 (1627)
广州番禺大气成分站一次典型光化学污染过程 PAN 和 O ₃ 分析	邹宇, 邓雪娇, 李菲, 殷长泰 (1634)
北京市典型道路扬尘化学组分特征及年际变化	胡月琪, 李萌, 颜旭, 张超 (1645)
南昌市扬尘 PM _{2.5} 中多环芳烃的来源解析及健康风险评价	于瑞莲, 郑权, 刘贤荣, 王珊珊, 赵莉斯, 胡恭任 (1656)
道路扬尘排放因子建立方法与应用	樊守彬, 杨涛, 王凯, 李雪峰 (1664)
现实工况下挖掘机电尾气排放特征分析	马帅, 张凯山, 王帆, 庞凯莉, 朱怡静, 李臻, 毛红梅, 胡宝梅, 杨锦锦, 王斌 (1670)
雾-霾天人体平均呼吸高度处不同粒径气溶胶的微生物特性	杨唐, 韩云平, 李琳, 刘俊新 (1680)
霾天能见度参数化方案改进及预报效果评估	赵秀娟, 李梓铭, 徐敬 (1688)
支持向量机回归在臭氧预报中的应用	苏筱倩, 安俊琳, 张玉欣, 梁静舒, 刘静达, 王鑫 (1697)
基于中国电网结构及一线典型城市车辆出行特征的 PHEV 二氧化碳排放分析	郝旭, 王贺武, 李伟峰, 欧阳明高 (1705)
岩溶槽谷区地下河硝酸盐来源及其环境效应: 以重庆龙凤槽谷地下河系统为例	段世辉, 蒋勇军, 张远瞩, 曾泽, 王正雄, 吴韦, 彭学义, 刘九缠 (1715)
胶州湾表层水体中邻苯二甲酸酯的污染特征和生态风险	刘成, 孙翠竹, 张智, 唐燎, 邹亚丹, 徐擎擎, 李锋民 (1726)
湛江湾沉积物中六六六 (HCHs)、滴滴涕 (DDTs) 有机氯农药的分布特征与风险评估	彭诗云, 彭平安, 孔德明, 陈法锦, 于赤灵, 李嘉诚, 梁宇钊, 宋建中 (1734)
生态净化系统中 DOM 光学特性及影响因素分析: 以盐龙湖春季为例	马睿, 李璇, 王莲, 王家新, 马卫星, 丁成, 吴向阳 (1742)
溶解性有机物 (DOM) 与区域土地利用的关系: 基于三维荧光-平行因子分析 (EEM-PARAFAC)	李昀, 魏鸿杰, 王侃, 张招招, 于旭彪 (1751)
汉丰湖流域农业面源污染氮磷排放特征分析	谢经朝, 赵秀兰, 何丙辉, 李章安 (1760)
基于 RZWQM 模型模拟太行山低山丘陵区农田土壤硝态氮迁移及淋溶规律	郑文波, 王仕琴, 刘丙霞, 雷玉平, 曹建生 (1770)
澜沧江流域梯级水库建设下水体营养盐和叶绿素 a 的空间分布特征	程豹, 望雪, 马金川, 杨正健, 刘德富, 马骏 (1779)
福州地区海湾和河口潮汐沼泽湿地秋季上覆水营养盐分布特征	何露露, 杨平, 谭立山, 仝川, 黄佳芳 (1788)
尾水受纳河流中 PhACs 在传统水相中的分布及环境风险	王硕, 刘建超, 郑超亚, 张吉琛, 许嘉诚, 徐莹莹, 陆光华 (1797)
绿色屋顶雨洪调控能力与效益评价	李俊生, 尹海伟, 孔繁花, 陈佳宇, 邓金玲 (1803)
超声活化过硫酸盐降解水中典型臭味	孙昕, 孙杰, 李鹏飞, 汤加刚, 杨晴, 唐晓 (1811)
金属有机框架 MIL-53 (Fe) 可见光催化还原水中 U (VI)	闫增元, 刁海玲, 袁立永 (1819)
覆盖材料对洱海不同湖区沉积物溶解态有机磷和无机磷释放影响及差异	龚佳健, 倪兆奎, 肖尚斌, 赵海超, 席银, 王圣瑞 (1826)
氢氧化铜改性介孔稻壳生物炭除磷性能	许润, 石程好, 唐倩, 石稳民, 康建雄, 任拥政 (1834)
改性污泥基生物炭的性质与重金属吸附效果	陈坦, 周泽宇, 孟瑞红, 王洪廷, 陆文静, 金军, 刘颖 (1842)
纳米磁性磷酸二氢钙对 Cd 的吸附、回收与再生	李玉娇, 杨志敏, 陈玉成, 黄磊, 唐海燕 (1849)
赤铁矿抑制硫酸盐废水厌氧消化产甲烷过程中硫化氢形成与机制	黄绍福, 叶捷, 周顺桂 (1857)
微藻膜反应器处理海水养殖废水性能及膜污染特性	马航, 李之鹏, 柳峰, 徐仲, 尤宏, 王芳, 陈其伟 (1865)
生活污水预沉淀-SNAD 颗粒污泥工艺小试	李冬, 崔雅倩, 赵世勋, 刘志诚, 张杰 (1871)
生活污水与人工配水对好氧颗粒污泥系统的影响	李冬, 王樱桥, 李帅, 张杰, 王玉刚 (1878)
硫磺/硫铁矿自养反硝化系统脱氮性能	周娅, 买文宁, 梁家伟, 代吉华, 牛颖, 李伟利, 唐启 (1885)
异养硝化细菌 <i>Pseudomonas putida</i> YH 的脱氮特性及降解动力学	汪旭晖, 杨垒, 任勇翔, 陈宁, 肖倩, 崔坤, 鄯丹 (1892)
污泥龄及 pH 值对反硝化除磷工艺效能的影响	韦佳敏, 黄慧敏, 程诚, 蒋志云, 刘文如, 沈耀良 (1900)
盐度条件下 ANAMMOX-EGSB 反应器颗粒污泥微生物群落	王晗, 李瀚翔, 陈猷鹏, 郭劲松, 晏鹏, 方芳 (1906)
内源碳 PHA 的贮存对混合菌耐低温特性的影响	杨建鹏, 张健, 田晴, 朱艳彬, 李方, Wolfgang Sand (1914)
中国市政污泥中磷的含量与形态分布	王超, 刘清伟, 耿音, 程柳, 王宁, 李彩丹, 毛宇翔 (1922)
广州市售水产品中全氟烷基化合物的污染特征和安全风险评价	王旭峰, 王强, 黎智广, 黄珂, 李刘冬, 赵东豪 (1931)
长江上游典型农业源溪流溶存氧化亚氮 (N ₂ O) 浓度特征及影响因素	田琳琳, 王正, 胡磊, 任光前, 朱波 (1939)
内蒙古河套灌区不同盐碱程度土壤 CH ₄ 吸收规律	杨文柱, 焦燕, 杨铭德, 温慧洋 (1950)
水稻光合碳在植株-土壤系统中分配与稳定对施磷的响应	王莹莹, 肖谋良, 张昀, 袁红朝, 祝贞科, 葛体达, 吴金水, 张广才, 高晓丹 (1957)
土壤水分和温度对西南喀斯特棕色石灰土无机碳释放的影响	徐学池, 黄媛, 何寻阳, 王桂红, 苏以荣 (1965)
黄土丘陵区侵蚀坡面土壤微生物量碳时空动态及影响因素	覃乾, 朱世硕, 夏彬, 赵允格, 许明祥 (1973)
农用地土壤抗生素组成特征与积累规律	孔晨晨, 张世文, 聂超甲, 胡青青 (1981)
生物发酵制药 VOCs 与臭味治理技术研究与进展	王东升, 朱新梦, 杨晓芳, 焦茹媛, 赵珊, 宋荣娜, 吕明哈, 杨敏 (1990)
《环境科学》征订启事 (1612)	《环境科学》征稿简则 (1787)
信息 (1663, 1796, 1833)	

异养硝化细菌 *Pseudomonas putida* YH 的脱氮特性及降解动力学

汪旭晖¹, 杨垒^{1*}, 任勇翔¹, 陈宁¹, 肖倩¹, 崔坤¹, 郇丹²

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055; 2. 中国联合工程有限公司, 杭州 310052)

摘要: 针对传统污水处理过程脱氮处理效率低、工艺流程复杂、抗高氨氮冲击负荷能力弱等问题, 以具有高效脱氮能力的异养硝化细菌 *Pseudomonas putida* YH 为研究对象, 开展其生理生化特性、脱氮性能、影响因子及动力学分析。结果表明, 菌株 YH 具有高效的异养硝化能力, 氨氮最大去除率达 99.1%, 约 53% 的去除总氮转化为胞内氮, 反应过程仅有少量的硝化中间产物积累; 菌株 YH 还能够利用好氧条件下利用亚硝酸盐和硝酸盐进行生长代谢, 最大去除率分别为 99.8% 和 99.5%。同时, 结合反硝化功能基因 *napA* 和 *nirK* 的 PCR 成功扩增, 进一步证明菌株 YH 具有好氧反硝化特性; 菌株 YH 生长特性与 Logistic 模型相匹配 ($R^2 > 0.99$), 氮素降解过程则符合 Compertz 模型 ($R^2 > 0.99$), 拟合所得氮素最大转化速率 R_m 为氨氮 > 硝氮 > 亚硝氮, 迟滞时间 t_0 为硝氮 > 亚硝氮 > 氨氮; 异养硝化最佳的条件是碳源为琥珀酸钠、C/N = 10、 $T = 30^\circ\text{C}$ 、 r 为 160 ~ 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 以及 pH = 7, 最优条件下平均氨氧化速率和 R_m 分别为 8.35 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 和 16.71 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$; 菌株 YH 能够适应较宽范围的氨氮负荷, 在高氨氮浓度下 (1 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 仍具有较高的异养硝化能力, 体现了菌株 YH 具有处理高氨氮废水的潜能。

关键词: 异养硝化; 好氧反硝化; 恶臭假单胞菌; 脱氮; 动力学

中图分类号: X172; X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)04-1892-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201809044

Nitrogen Removal by Heterotrophic Nitrifying Bacterium *Pseudomonas putida* YH and Its Kinetic Characteristics

WANG Xu-hui¹, YANG Lei^{1*}, REN Yong-xiang¹, CHEN Ning¹, XIAO Qian¹, CUI Shen¹, LI Dan²

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. China United Engineering Corporation Limited, Hangzhou 310052, China)

Abstract: Due to the low nitrogen removal efficiency, lengthy procedure, and vulnerability to high loads of ammonium of the traditional sewage treatment process, the physiological characteristics, nitrogen removal characteristics, influencing factors, and kinetic analysis were systematically studied for the heterotrophic nitrifier *Pseudomonas putida* YH, which has efficient nitrogen removal ability. The results showed that strain YH exhibited efficient heterotrophic nitrification ability with a low accumulation of nitrification products. The maximum ammonium removal rate was 99.1%, and nearly 53% of the removed TN was converted to intracellular nitrogen. In addition, nitrite and nitrate could also be metabolized by strain YH under aerobic conditions, with a maximum removal rate of 99.8% and 99.5%, respectively. Additionally, the successful PCR amplification of the *napA* and *nirK* genes further improved the aerobic denitrification characteristics of strain YH. The bacterial growth process of strain YH matched the Logistic model ($R^2 > 0.99$), and the nitrogen degradation conformed to the Compertz model ($R^2 > 0.99$). The order of the maximum conversion rates of nitrogen (R_m) was ammonia > nitrate > nitrite, and that of the lag time (t_0) was nitrate > nitrite > ammonia. The optimal conditions for heterotrophic ammonium oxidation with strain YH were succinate as the carbon source, C/N = 10, $T = 30^\circ\text{C}$, $r = 160\text{--}200 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, and pH = 7.0. Under the optimal conditions, the average ammonia oxidation rate and R_m were 8.35 and 16.71 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, respectively. Strain YH could adapt to a broad range of ammonium loads. A high ammonium removal rate was observed under high ammonium concentrations (1 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), indicating the high potential of strain YH for application in high-strength ammonium wastewater treatment.

Key words: heterotrophic nitrification; aerobic denitrification; *Pseudomonas putida*; nitrogen removal; kinetic

目前生物脱氮工艺主要依赖自养硝化和厌氧反硝化过程, 然而硝化和反硝化过程难以同步完成, 使得污水处理厂的工艺流程复杂、占地面积大、基建费用高。此外, 随着含氮化合物排放增加, 传统脱氮工艺逐步暴露出水力停留时间长、能耗高、抗冲击能力弱等不足。

近年来, 越来越多的异养硝化细菌被发现, 主要包括产碱菌属 (*Alcaligenes*)^[1]、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)^[2]、芽孢杆菌 (*Bacillus*)^[3] 和不动杆

菌 (*Acinetobacter*)^[4] 等。相比于自养硝化细菌, 异养硝化细菌具有生长速率快、活性高、增殖底物广泛以及环境适应性强等优点。同时, 有研究发现大部分异养硝化菌能够同步进行有机物降解、硝化和反

收稿日期: 2018-09-06; 修订日期: 2018-10-11

基金项目: 陕西省自然科学基金研究计划项目 (2018JQ5157); 陕西省教育厅重点科研计划项目 (17JS079); 西安建筑科技大学青年科技基金项目 (QN1715)

作者简介: 汪旭晖 (1994 ~), 男, 硕士, 主要研究方向为污水生物处理, E-mail: 351882692@qq.com

* 通信作者, E-mail: yanglei_xuat@126.com

硝化作用^[3,4],使得脱氮反应在同一反应器中进行成为可能,大大减少了占地面积与运行费用.基于异养硝化细菌独特的生物学特性,有研究人员发现一些异养硝化细菌在生活污水、高氨氮养猪废水、含重金属工业废水处理等方面均具有良好的表现^[1,5,6],具有显著的工程应用价值.然而,目前对于异养硝化技术的研究还处于起步阶段,在生物学、动力学、脱氮机制等方面的认识仍不明确,极大地限制了该技术在 实际生产中的应用.因此,加强高效异养硝化细菌脱氮特性及代谢机制方面的研究,对丰富生物脱氮理论以及指导工程实践具有重要意义.

本文以异养硝化细菌 *Pseudomonas putida* YH 为研究对象,开展其生理生化特性、脱氮性能和影响因子分析,并通过构建 Logistic 和 Compertz 模型分别对 YH 的脱氮特性与菌体生长特性进行模拟,以探究其氮素降解动力学和菌体生长动力学特性.

1 材料与方法

1.1 菌株来源

异养硝化菌株 *Pseudomonas putida* YH (GenBank ID: # KJ765710)从实验室 SBR 活性污泥反应器中分离纯化得到,用甘油冷冻法保存在实验室,使用前富集培养^[7].

1.2 培养基

异养硝化培养基 (BM, g·L⁻¹): (NH₄)₂SO₄ 0.47, 琥珀酸钠 5.62, 维氏盐溶液 50 mL, pH = 7.0.

亚硝酸盐培养基 (DM1, g·L⁻¹): NaNO₂ 0.49, 琥珀酸钠 5.62, 微量元素溶液 2 mL, pH = 7.0.

硝酸盐培养基 (DM2, g·L⁻¹): KNO₃ 0.72, 琥珀酸钠 5.62, 微量元素溶液 2 mL, pH = 7.0.

维氏盐溶液 (g·L⁻¹): K₂HPO₄ · 3H₂O 5.0, MgSO₄ · 7H₂O 2.5, NaCl 2.5, MnSO₄ · 4H₂O 0.05, FeSO₄ · 7H₂O 0.05.

微量元素溶液 (g·L⁻¹): Na₂EDTA 50.0, ZnSO₄ · 7H₂O 2.2, CaCl₂ 5.5, MnCl₂ · 4H₂O 5.06, FeSO₄ 5.0, CuSO₄ · 5H₂O 1.57, CoCl₂ · 6H₂O 1.60.

1.3 菌株形态及生理生化分析

将菌株 YH 在异养硝化培养基中活化后,涂布于异养硝化固体培养基上,30℃ 培养 48 h 后观察菌落特征;将菌株 YH 进行革兰氏染色,在光学显微镜下观察细胞形态;分离菌株的个体形态通过扫描电镜观察;菌株生理生化特性依据文献[8]进行分析.

1.4 亚硝酸盐还原酶 (napA) 和硝酸盐还原酶 (nirK、nirS) 的扩增

菌株 YH 基因组 DNA 通过细菌 DNA 提取试剂盒进行提取 (沃特森,上海).PCR 反应中所需的生物试剂由 Takara 生物技术有限公司提供,PCR 引物由上海生工技术有限公司合成.PCR 引物及其序列见表 1,反应条件见表 2.反应采用 25 μL 反应体系:10 × Buffer 2.5 μL, dNTP 2 μL, 正反引物各 1 μL, Ex Taq 酶 0.2 μL, DNA 模板 2 μL, ddH₂O 16.3 μL. PCR 扩增产物通过 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测,经核酸染料染色后,通过凝胶成像系统成像拍照 (G:Box EF, Syngene, USA).

表 1 PCR 引物
Table 1 PCR primers

基因	引物	区间	引物片段(5'-3')	片段长度/bp
napA	NAP1	1188 ~ 1212	TCTGGACCATGGGCTTCAACCA	877
	NAP2	2 064 ~ 2 048	ACGACGACCGGCCAGCGCAG	
nirK	nirK1F	526 ~ 542	GG(A/C)ATGGT(G/T)CC(C/G)TGGCA	514
	nirK5R	1 023 ~ 1 040	GCCTCGATCAG(A/G)TT(A/G)TGG	
nirS	nirS1F	763 ~ 780	CCTA(C/T)TGGCCGCC(A/G)CA(A/G)T	890
	nirS6R	1 638 ~ 1 653	CGTTGAACCTT(A/G)CCGGT	

表 2 PCR 反应条件
Table 2 PCR reaction conditions

引物	预变性	变性	退火	延伸	后延伸
napA	94℃, 5 min	94℃, 30 s	59℃, 30 s	72℃, 60 s	72℃, 5 min
nirK	94℃, 5 min	94℃, 45 s	56℃, 45 s	72℃, 45 s	72℃, 10 min
nirS	94℃, 5 min	94℃, 45 s	56℃, 45 s	72℃, 45 s	72℃, 10 min

1.5 菌株 YH 的异养硝化和好氧反硝化特性分析

以琥珀酸钠为碳源,分别采用氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐作为单一氮源,氨氮、亚硝氮和硝氮初始

浓度均为 100 mg·L⁻¹, C/N = 10. 在接种量为 1%、30℃、160 mg·L⁻¹ 条件下培养 48 h, 定时测定其 D₆₀₀ 和氮浓度.

1.6 不同反应条件对菌株 YH 异养硝化性能的影响

分别研究碳源、C/N、pH、温度、转速和氨氮初始浓度对氨氮去除效果的影响。碳源包括葡萄糖、乙酸钠、蔗糖、柠檬酸钠和琥珀酸钠；C/N 分别为 2、5、10 和 15；pH 分别为 5、6、7、8、9、10 和 11；温度分别为 10、20、30 和 37℃；摇床转速分别为 80、120、160 和 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ；不同初始氨氮浓度分别取 50、200、500 和 1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。反应过程中除改变单一影响因子，其余反应条件固定不变，分别为氨氮浓度 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、温度 30℃、pH = 7.0、C/N = 10 以及转速 160 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。将处于对数生长期的菌液以 1% 接种量接种至经高压灭菌装有 100 mL 不同培养基的 250 mL 锥形瓶中，摇床培养 24 h，定时取样测定其 D_{600} 和氨氮浓度。

1.7 生长和氨氮降解动力学分析

采用 Logistic 模型^[9]拟合菌株 YH 异养硝化-好氧反硝化过程菌株生长特性。

$$y(t) = \frac{a}{1 + be^{-kt}} \quad (1)$$

式中， a 、 b 、 k 均为 Logistic 生长方程常数； e 为数学常数。

菌株 YH 的异养硝化-好氧反硝化氮素降解过程采用修饰过的 Compertz 模型^[4]进行拟合。

$$S = S_0 \left\{ 1 - \exp \left[- \exp \left(\frac{eR_m}{S_0} (t_0 - t) + 1 \right) \right] \right\} \quad (2)$$

式中， S 为某一时刻氮素浓度， $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； S_0 为基质初始浓度， $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ； R_m 为最大转化速率， $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ ； t_0 为迟滞时间，h； t 为反应时间，h； e 为数学常数。

1.8 分析方法

$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和 TN 浓度均采用标准方法测定^[10]；菌体生长吸光度(D_{600})采用吸光度法测定；动力学拟合采用 Origin 9.1。

2 结果与讨论

2.1 菌株形态特征和生理生化特性

菌株 YH 菌落呈淡黄色、直径约 1 mm、不透明、圆形、凸起、表面光滑。革兰氏染色为阴性。通过电镜照片(图 1)可知，菌株 YH 呈杆状，无鞭毛，大小为 $0.5 \mu\text{m} \times (0.9 \sim 1.0) \mu\text{m}$ 。生理生化检测结果如表 3 所示。

2.2 菌株 YH 异养硝化-好氧反硝化脱氮特性分析

2.2.1 异养硝化特性

菌株 YH 的氨氮降解过程和中间产物变化情况如图 2 所示。经过约 3 h 的适应期后，菌株开始快速生长，在 18 h 达到稳定期， D_{600} 最高达到 1.359，

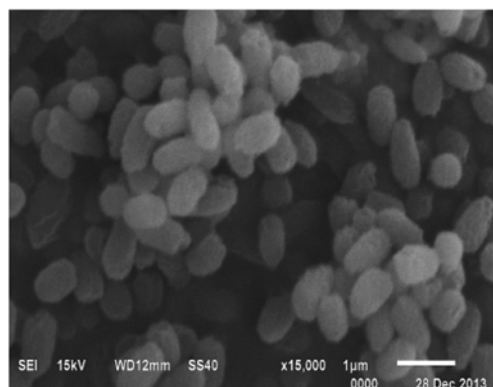


图 1 菌株 YH 电镜扫描照片

Fig. 1 Scanning electron micrograph of strain YH

表 3 菌株 YH 的生理生化特征¹⁾

Table 3 Chemical and physical characteristics of strain YH

检测项目	YH	检测项目	YH
V. P 测定	-	亚硝酸盐还原试验	+
吡啶	-	产氨试验	-
甲基红	-	柠檬酸盐利用	+
接触酶	+	明胶液化	-
氧化酶	+	淀粉水解	-
硝酸盐还原试验	+	H ₂ S 试验	-

1) “+”表示阳性，“-”表示阴性

生长过程中最大比生长速率为 0.49 h^{-1} 。与 *Thiosphaera pantotropha*^[11] $0.28 \sim 0.45 \text{ h}^{-1}$ ，*Alcaligenes faecalis* No. 4^[12] 0.2 h^{-1} 等菌相当。采用 Logistic 模型对菌株 YH 异养硝化过程生长特性进行模拟，如图 2(b) 所示，拟合所得 R^2 大于 0.99，表明该模型能够充分表征菌株 YH 的生长特性。

同时，反应过程氨氮最大去除率为 99.1%，平均氨氧化速率为 $8.35 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ ，与自养硝化细菌 $[7.0 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}]$ 在同一数量级^[13]，但高于 *Klebsiella pneumoniae* CF-S9^[14] $[4.3 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}]$ 、*Rhodococcus* sp. CPZ24^[15] $[3.1 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}]$ 等异养硝化细菌。降解过程中仅有少量的硝化中间产物(亚硝氮和硝氮)生成。反应 24 h 后氨氮浓度逐渐增加(氨氮最终去除率为 98.9%)，说明此时菌群进入内源呼吸期，之前用于细胞合成的氮源又再次分解为氨氮回到水中。由于硝化产物含量较低且快速降解，TN 去除趋势几乎与氨氮一致，反应 48 h 菌株 YH 的 TN 去除率为 98.5%。通过氮物质平衡分析，菌株 YH 菌体生长合成的内源氮约占去除 TN 的 53%，其余部分通过好氧反硝化去除。

2.2.2 好氧反硝化特性

由图 3 可见，当亚硝酸盐和硝酸盐作为单一氮源时，菌株 YH 生长良好， D_{600} 均在 18 ~ 24 h 取得最大值 1.386 和 1.276，表明菌株 YH 能够利用亚硝氮和硝氮生长代谢，这与菌株 *Acinetobacter* sp.

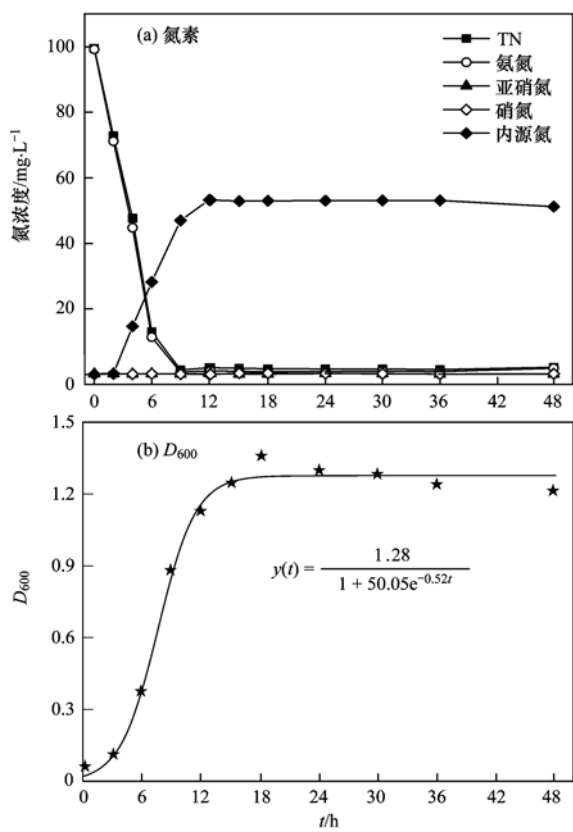


图2 以氨氮为唯一氮源时的氮素和 D_{600} 变化情况
Fig. 2 Changes in nitrogen compounds and D_{600} when ammonium was used as the sole nitrogen source

YN3^[16]、*Enterobacter cloacae* HW-15^[17] 等一致。以亚硝酸盐为唯一氮源时，菌株 YH 最大比生长速率和亚硝氮最大降解速率出现在 6~9 h，分别为 0.27 h⁻¹ 和 8.78 mg·(L·h)⁻¹。反应中有微量的氨氮和硝氮生成，亚硝氮和总氮最终去除率分别为 99.5% 和 98%。相比于菌株 *Bacillus* sp. YX-6^[18] 等菌在亚硝氮浓度为 20~40 mg·L⁻¹ 时活性便受到抑制，菌株 YH 能利用更高浓度的亚硝氮。以硝酸盐为唯一氮源时，菌株 YH 最大比生长速率和最大硝氮降解速率出现在 6~9 h，分别为 0.31 h⁻¹ 和 8.86 mg·(L·h)⁻¹。硝氮和总氮最终去除率分别为 99.8% 和 98%。硝氮降解初期存在亚硝氮累积现象，最大累积量为 9.33 mg·L⁻¹，表明菌株对数生长期，高浓度硝氮较多被转化为亚硝氮，而亚硝氮反硝化不及时致使亚硝氮累积。但不同于菌株 YL^[19] 只是快速地将硝氮转化为亚硝氮而不完全去除，菌株 YH 好氧反硝化所累积的亚硝氮最终会完全降解。氮平衡分析表明分离菌株菌体生长合成的内源氮占去除 TN 的 51%~55%，剩余损失 TN 则通过好氧反硝化作用去除。

如表 4 所示，Compertz 模型可以较好地描述菌株 YH 异养硝化-好氧反硝化过程中氮素的降解情况，拟合所得最大降解速率 R_m 为氨氮 > 硝氮 > 亚

硝氮，迟滞时间 t_0 为 硝氮 > 亚硝氮 > 氨氮，显著优于菌株 *Acinetobacter* sp. JQ1004 [氨氮： $R_m = 7.9$ mg·(L·h)⁻¹， $t_0 = 5.9$ h；硝氮 $R_m = 4.1$ mg·(L·h)⁻¹， $t_0 = 12.7$ h]^[4]。以氨氮为唯一氮源时，氮素最大降解速率最高，迟滞期最短，其原因可能是异养硝化-好氧反硝化过程中氨氧化酶活性高于好氧反硝化酶活性，以及高浓度硝酸盐和亚硝酸盐对微生物活性有一定的抑制作用^[20]。

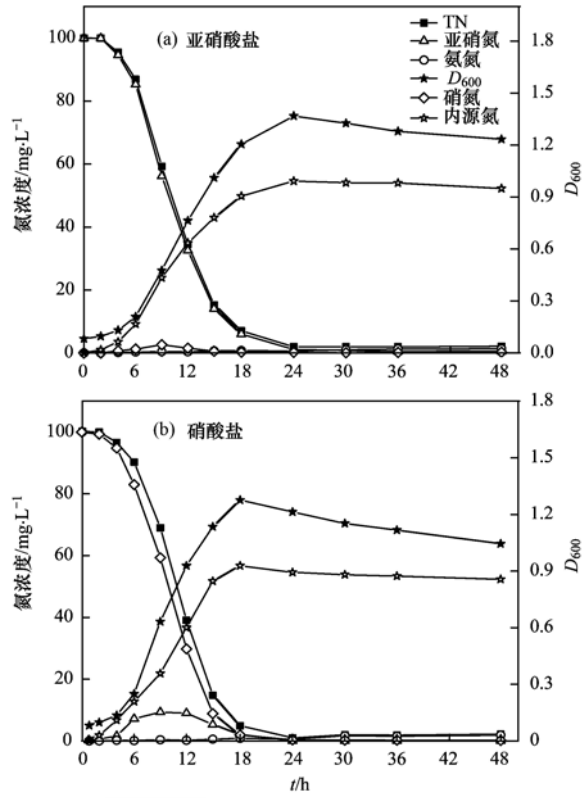


图3 以亚硝酸盐和硝酸盐为唯一氮源时菌株 YH 的好氧反硝化性能

Fig. 3 Aerobic denitrification capabilities of strain YH when nitrite and nitrate were used as the sole N-source, respectively

表 4 菌株 YH 降解不同氮素的动力学参数与最终去除率

Table 4 Kinetic parameters and final removal efficiencies of strain YH in the biodegradation of different nitrogen sources				
氮源	R_m /mg·(L·h) ⁻¹	t_0 /h	R^2	最终去除率/%
NO ₂ ⁻ -N	9.94	4.63	1.00	99.5
NO ₃ ⁻ -N	10.86	4.89	1.00	99.8
NH ₄ ⁺ -N	16.71	2.28	1.00	98.9

2.2.3 好氧反硝化功能基因(*napA*、*nirK*)扩增

采用引物 NAP1/NAP2 对菌株 YH 的 NAR 进行基因扩增，如图 4 所示，菌株 YH 在 870 bp 左右处得到清晰的目标条带，与周质 NAR 的大亚基 *napA* 基因相对应，因此可初步判断分离菌株含 *napA* 基因。利用引物 *nirK1F/nirK5R* 和 *nirS1F/nirS6R* 对菌株 YH 的 DNA 样品进行扩增，菌株 YH 仅在 514bp 左右得到清晰的特异性条带，表明基因 *nirK* 在菌株

YH 细胞中成功表达, 而 *nirS* 未能表达, 说明菌株 YH 含有铜离子的 NIR, 但不存在细胞色素 *cd1* 的 NIR, 此结果与一种细菌中只有一类 NIR 存在的结论相一致^[21]. 本研究 *napA* 和 *nirK* 基因的成功表达, 进一步表明了 NIR 和 NAR 的存在, 在分子水平证明了菌株 YH 具有好氧反硝化的能力. 基于菌株 YH 对不同氮源的利用转化、中间产物的生成规律以及好氧反硝化功能基因的检测分析, 推测其脱氮途径为:

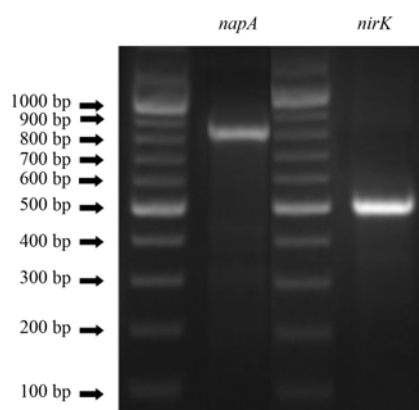
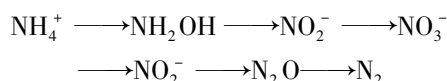


图4 菌株 YH 的 *napA* 和 *nirK* 基因 PCR 扩增

Fig. 4 Amplification of *napA* and *nirK* in strain YH by PCR

2.3 不同反应条件菌株 YH 异养硝化特性及氨氮降解动力学分析

2.3.1 碳源

当采用葡萄糖和蔗糖作为碳源时, 菌株 YH 生长缓慢, D_{600} 最高值仅 0.218 和 0.082; 氨氮降解效果较差, 最终去除率分别为 49.5% 和 25.5% (表 5). 拟合所得 R_m 分别为 $1.16 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $0.56 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 说明菌株 YH 难以利用葡萄糖、蔗糖等大分子糖类为碳源降解氨氮. 在采用柠檬酸钠、乙酸钠和琥珀酸钠为碳源时, 菌体生长好且氨氮基本完全去除. 与柠檬酸钠和乙酸钠相比, 琥珀酸钠的 R_m 提高至 $16.71 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, t_0 缩短为 2.28 h, 是一种最理想的碳源. 主要因为它是微生物将复杂有机物 (如糖类、蛋白质和脂类) 转化为简单小分子有机物时三羧酸循环过程中的中间产物, 能够直接用于生物合成. 这与菌株 *Pseudomonas* sp. N6^[22]、*Acinetobacter junii* YB^[23] 对有机酸的利用率高于糖类的结论一致.

2.3.2 C/N

低 C/N 条件下 (C/N 为 2、5), 氨氮去除率低, 菌株生长情况差, 主要是由于碳源不足导致异养硝化效果不完全. 在 C/N = 10 时, 菌株 YH 生长良

好, 菌体生长量最大为 1.359, 氨氮最终去除率为 98.9%. 当 C/N 提高到 15 时, 菌体生长 (D_{600} 最大为 1.781) 和氨氮去除率 (99.9%) 均有所提高. 如表 5 所示, C/N 为 10 和 15 时, 迟滞时间分别为 1.08 h 和 0.86 h, 氨氮最大转化速率分别为 $12.99 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $15.09 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$. 与 *Alcaligenes faecalis* OKK17^[24] 等菌相比, 菌株 YH 能够适应更高的 C/N 环境, 而且 C/N 的越高, 去除速率越快. 但 C/N 提高到 15 时, 氨氮降解速率只有略微增加, 而氨氮去除率并没有明显变化, C/N 过高会导致资源的浪费, 综合考虑运行效果和经济效益, 确定菌株 YH 脱氮的最适宜 C/N 为 10.

2.3.3 温度

根据表 5 的拟合结果, t_0 随温度的升高明显降低, 说明温度越高越有利于接种初期细菌适应环境. 温度为 30℃ 时, R_m 取得最大值 $16.71 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 表明氨氮降解速率在 30℃ 达到最佳. 在 30℃ 和 37℃ 条件下, 氨氮去除率均在 12 h 达到最高, 分别为 99.29% 和 99.85%. 但在 37℃ 时, D_{600} 最大为 1.347 低于 30℃ 时的 1.359, 且反应 15 h 后出现氨氮不断升高的现象 (氨氮最终去除率为 83.3%), 这可能因为温度升高, 生物活性物质变性, 细胞功能下降甚至死亡, 最终影响反应效果^[25]. 综合比较而言, 菌株 YH 的最佳反应温度为 30℃, 此结果与所报道的大多数异养硝化菌的最佳温度 (30 ~ 37℃) 一致^[2,6,7]. 近些年研究发现一些嗜冷型异养硝化细菌, 这类细菌在低温条件下仍然具有较高的硝化活性. 值得注意的是, 菌株 YH 在低温条件下具有良好的脱氮能力. 根据拟合结果, 当培养温度为 10℃ 时, $t_0 = 8.43 \text{ h}$, $R_m = 3.29 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, YH 需要更长的时间以适应低温环境, 但经过 48h 反应, 氨氮最终去除率仍高达 99.2%. 菌株 YH 低温环境下较强的适应能力将为寒冷地区污水生物脱氮提供高效菌源^[26,27].

2.3.4 转速

转速对菌株 YH 异养硝化的影响结果如表 5 所示, t_0 随着转速的提高而缓慢增加, 表明菌株 YH 需要更长的时间适应高 DO 环境. 就氨氮处理效果而言, DO 对于菌株 YH 的异养硝化效果影响较小, 在 4 种转速条件下, 氨氮的最终去除率均在 99% 左右. 但是, 菌株 YH 的氨氮降解速率和菌体生长情况随转速的提高而明显改善, 氨氮最大转化速率由 $4.64 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 提高到 $25.84 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, 160 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 和 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下 D_{600} 最高分别为 1.359 和 1.455. 故转速在 160 ~ 200 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 较为适宜, 这

表 5 菌株 YH 在不同环境条件下的氨氮降解动力学参数与最终去除率

Table 5 Kinetic parameters and final removal efficiencies for the degradation of ammonium by strain YH under different environmental conditions					
环境因子		$R_m/\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$	t_0/h	R^2	氨氮最终去除率/%
碳源	葡萄糖	1.16	0.00	0.82	49.5
	蔗糖	0.56	0.00	0.74	25.5
	柠檬酸钠	14.42	7.36	0.99	99.3
	乙酸钠	8.33	7.18	0.99	99.8
	琥珀酸钠	16.71	2.28	1.00	98.9
C/N	2	5.21	0.00	0.98	60.3
	5	9.80	0.83	0.99	78.6
	10	12.99	1.08	0.99	98.9
	15	15.09	0.86	0.99	99.9
温度/ $^{\circ}\text{C}$	10	3.29	8.43	0.99	99.2
	20	13.22	4.16	0.99	99.5
	30	16.71	2.28	1.00	98.9
	37	12.59	1.05	0.92	83.3
转速/ $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$	80	4.64	0.98	0.99	99.6
	120	15.34	2.09	0.99	99.5
	160	16.19	2.35	1.00	99.0
	200	25.84	2.42	1.00	99.3
pH	5	13.61	3.89	1.00	99.2
	6	15.91	2.58	1.00	99.5
	7	26.07	3.68	1.00	98.9
	8	16.21	1.93	0.99	91.4
	9	18.26	3.22	1.00	99.4
	10	11.10	1.57	1.00	99.3
	11	4.93	0.00	0.85	87.7

表 6 菌株 YH 在不同初始氨氮浓度下的氨氮降解动力学参数与最终去除率

Table 6 Kinetic parameters and final removal efficiencies for the degradation of ammonium by strain YH under different initial ammonium concentrations					
起始浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$R_m/\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$	t_0/h	R^2	氨氮最终去除率/%	
50	13.98	1.07	1.00	99.7	
100	16.71	2.28	1.00	98.9	
200	28.70	4.03	1.00	99.8	
500	26.03	1.95	1.00	66.7	
1 000	36.93	1.81	0.98	58.9	

与肖继波等^[28]研究异养硝化菌 *Colloides* sp. JZ1-1 时所得结论一致。

2.3.5 pH

pH 对于菌株 YH 氨氮去除效果影响较小, 但对其氨氮降解速率存在明显影响。pH 在 5 ~ 10 范围内氨氮最终去除率均高于 90%, 当 pH 提高到 11 时, 氨氮最终去除率略有下降, 相较于 *Pseudomonas* sp. GL19^[27] 等异养硝化菌, 菌株 YH 的 pH 耐受范围更广, 去除率更高。从表 5 可以看出, 弱碱性条件(pH 为 7 ~ 9)下 R_m 最高, 菌体生长也呈现出相同的趋势。已报道的诸多异养硝化菌均适宜在弱碱性条件下生长, 原因可能是弱碱性环境中较多的游离氨促进了氨氮加氧酶的氧化^[29,30]。 R_m 在 pH = 7 时最大, 表明 pH = 7 为菌株 YH 异养硝化的最佳 pH。

2.3.6 氨氮浓度

起始浓度为 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 氨氮能够在 9 h 内基本完全降解, 此时由于氮源不足, 菌体生长受到一定限制, 最高 D_{600} 仅为 0.963。起始浓度提高到 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 氨氮在 30 h 内分别降解至 0.91 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 0.61 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 菌体生长有所改善(D_{600} 最大分别为 1.359 和 1.849)。当起始浓度为 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 1 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 菌体生长并未受限, 最高 D_{600} 分别为 1.917 和 1.853, 48 h 内氨氮分别降至 165.23 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 406.70 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 氨氮最终去除率分别为 66.7% 和 58.9%。起始浓度较低时, 氨氮去除较完全, 随着起始浓度的提高, 菌株需要的反应时间延长。拟合结果显示(表 6), 随着起始浓度由 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提高到 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, t_0 从 1.07 h 上升到 4.03 h, 表明菌株适应期变长; R_m 由

13.97 mg·(L·h)⁻¹ 增加至 28.70 mg·(L·h)⁻¹, 在上述起始浓度范围内, 菌株 YH 异养硝化速率同起始浓度成正相关关系. 与 *Bacillus* sp. LY^[31] 等菌株随起始浓度升高, 氨氮最大转化速率逐渐降低不同, 菌株 YH 随着起始浓度提高至 1 000 mg·L⁻¹, R_m 明显提高, t_0 则相对缩短. 菌株 YH 能够适应较宽范围的氨氮负荷, 在高氨氮负荷下仍具有较高的异养硝化能力, 表明菌株 YH 具有处理高浓度氨氮废水的潜能.

3 结论

(1) 菌株 YH 可以利用氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐作为唯一氮源生长代谢, 最大去除率分别为 99.1%、99.5%、99.8%, 结合反硝化功能基因 *napA* 和 *nirK* 的 PCR 成功扩增, 进一步证明菌株 YH 具有好氧反硝化特性.

(2) YH 菌体生长特性与 Logistic 模型相匹配 ($R^2 > 0.99$), 菌株 YH 对于不同氮素的降解特性则符合修饰过的 Compertz 模型 ($R^2 > 0.99$), 拟合所得氮素最大转化速率 R_m 为氨氮 > 硝氮 > 亚硝氮, 迟滞时间 t_0 分别为硝氮 > 亚硝氮 > 氨氮. 拟合参数的确定有助于进一步明确菌株 YH 的代谢特征.

(3) 菌株 YH 异养硝化最适宜的条件是碳源为琥珀酸钠、C/N = 10、 $T = 30^\circ\text{C}$ 、 r 为 160 ~ 200 r·min⁻¹ 以及 pH = 7, 最优条件下氨氧化平均速率和最大转化速率分别为 8.35 mg·(L·h)⁻¹ 和 16.71 mg·(L·h)⁻¹.

(4) 菌株 YH 能够适应较宽范围的氨氮负荷, 氨氮起始浓度提高至 500 mg·L⁻¹ 和 1 000 mg·L⁻¹, 氨氮最终去除率分别为 66.7% 和 58.9%, R_m 进一步提高且菌体生长未受明显抑制, 表明菌株 YH 具有处理高浓度氨氮废水的潜能.

参考文献:

- [1] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Piggery wastewater treatment using *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 with heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. Water Research, 2006, **40**(16): 3029-3036.
- [2] Zhang J B, Wu P X, Hao B, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium *Pseudomonas stutzeri* YZN-001[J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(21): 9866-9869.
- [3] Rout P R, Bhunia P, Dash R R. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorous from domestic wastewater using *Bacillus cereus* GS-5 strain exhibiting heterotrophic nitrification, aerobic denitrification and denitrifying phosphorous removal [J]. Bioresource Technology, 2017, **244**: 484-495.
- [4] 王秀杰, 王维奇, 李军, 等. 异养硝化菌 *Acinetobacter* sp. 的分离鉴定及其脱氮特性[J]. 中国环境科学, 2017, **37**(11): 4241-4250.
- Wang X J, Wang W Q, Li J, et al. Isolation and identification of a heterotrophic nitrifier, *Acinetobacter* sp., and its characteristics of nitrogen removal[J]. China Environmental Science, 2017, **37**(11): 4241-4250.
- [5] Sun Z Y, Lv Y T, Liu Y X, et al. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a novel metal resistant bacterium *Cupriavidus* sp. S1 [J]. Bioresource Technology, 2016, **220**: 142-150.
- [6] Su J F, Shi J X, Huang T L, et al. Kinetic analysis of simultaneous denitrification and biomineralization of novel *Acinetobacter* sp. CN86 [J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, **109**(1): 87-94.
- [7] Yang L, Ren Y X, Zhao S Q, et al. Isolation and characterization of three heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria from a sequencing batch reactor[J]. Annals of Microbiology, 2016, **66**(2): 737-747.
- [8] 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.
- [9] Chen J, Zhao B, An Q, et al. Kinetic characteristics and modelling of growth and substrate removal by *Alcaligenes faecalis* strain NR [J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2016, **39**(4): 593-601.
- [10] 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. 254-279.
- [11] Robertson L A, Kuenen J G. Heterotrophic nitrification in *Thiosphaera pantotropa*: oxygen uptake and enzyme studies[J]. Journal of General Microbiology, 1988, **134**(4): 857-863.
- [12] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Characteristics of ammonium removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* No. 4 [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2005, **100**(2): 184-191.
- [13] 张自杰. 排水工程[M]. (第四版). 北京: 中国建筑工业出版社, 1999: 311-312.
- [14] Padhi S K, Tripathy S, Sen R, et al. Characterisation of heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying *Klebsiella pneumoniae* CF-S9 strain for bioremediation of wastewater [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, **78**: 67-73.
- [15] Chen P Z, Li J, Li Q X, et al. Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by bacterium *Rhodococcus* sp. CPZ24 [J]. Bioresource Technology, 2012, **116**: 266-270.
- [16] 颜薇芝, 张汉强, 余从田, 等. 1 株异养硝化好氧反硝化不动杆菌的分离及脱氮性能[J]. 环境工程学报, 2017, **11**(7): 4419-4428.
- Yan W Z, Zhang H Q, Yu C T, et al. Isolation of *Acinetobacter* sp. YN3 and its heterotrophic nitrification-aerobic denitrification characters [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2017, **11**(7): 4419-4428.
- [17] Wan W J, He D L, Xue Z J. Removal of nitrogen and phosphorus by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a denitrifying phosphorus-accumulating bacterium *Enterobacter cloacae* HW-15 [J]. Ecological Engineering, 2017, **99**: 199-208.
- [18] Song Z F, An J, Fu G H, et al. Isolation and characterization of an aerobic denitrifying *Bacillus* sp. YX-6 from shrimp culture ponds [J]. Aquaculture, 2011, **319**(1-2): 188-193.
- [19] 梁贤, 任勇翔, 杨垒, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌 YL 的脱氮特性[J]. 环境科学, 2015, **36**(5): 1749-1755.
- Liang X, Ren Y X, Yang L, et al. Characteristics of nitrogen removal by a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium YL [J]. Environmental Science, 2015, **36**(5): 1749-1755.

- [20] Yang L, Ren Y X, Liang X, *et al.* Nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrifier *Acinetobacter junii* YB and its potential application for the treatment of high-strength nitrogenous wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2015, **193**: 227-233.
- [21] Braker G, Zhou J Z, Wu L Y, *et al.* Nitrite reductase genes (*nirK* and *nirS*) as functional markers to investigate diversity of denitrifying bacteria in pacific northwest marine sediment communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(5): 2096-2104.
- [22] 姜磊, 徐成斌, 马溪平, 等. 1 株好氧反硝化菌的分离鉴定和反硝化特性研究[J]. *环境科学与技术*, 2013, **36**(3): 12-15.
- Jiang L, Xu C B, Ma X P, *et al.* Identification and denitrification characteristics of an aerobic denitrifier [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **36**(3): 12-15.
- [23] Ren Y X, Yang L, Liang X. The characteristics of a novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium, *Acinetobacter junii* YB[J]. *Bioresource Technology*, 2014, **171**: 1-9.
- [24] Nishio T, Yoshikura T, Mishima H, *et al.* Conditions for nitrification and denitrification by an immobilized heterotrophic nitrifying bacterium *Alcaligenes faecalis* OKK17 [J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1998, **86**(4): 351-356.
- [25] 杨秀玲, 杨宗政, 庞金钊, 等. 具有硝化作用的异养菌脱除氨氮的性能研究[J]. *天津科技大学学报*, 2005, **20**(1): 24-26, 48.
- Yang X L, Yang Z Z, Pang J Z, *et al.* Study on removal of $\text{NH}_3\text{-N}$ using nitrification and heterotrophic bacteria [J]. *Journal of Tianjin University of Science & Technology*, 2005, **20**(1): 24-26, 48.
- [26] Yao S, Ni J R, Ma T, *et al.* Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification at low temperature by a newly isolated bacterium, *Acinetobacter* sp. HA2 [J]. *Bioresource Technology*, 2013, **139**: 80-86.
- [27] 王兆阳, 陈国耀, 姜珂, 等. 1 株耐冷兼性嗜碱好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性[J]. *环境科学*, 2014, **35**(6): 2341-2348.
- Wang Z Y, Chen G Y, Jiang K, *et al.* Identification and denitrification characteristics of a psychrotolerant facultative basophilic aerobic denitrifier [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(6): 2341-2348.
- [28] 肖继波, 江惠霞, 褚淑祎. 新异养硝化菌 *Colloides* sp. JZ1-1 的鉴定及其硝化性能[J]. *应用生态学报*, 2012, **23**(6): 1635-1640.
- Xiao J B, Jiang H X, Chu S Y. Identification of a new heterotrophic nitrobacterium strain *Colloides* sp. JZ1-1 and its nitrifying capability [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, **23**(6): 1635-1640.
- [29] Zhang Q L, Liu Y, Ai G M, *et al.* The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7 [J]. *Bioresource Technology*, 2012, **108**: 35-44.
- [30] Ye J, Zhao B, An Q, *et al.* Nitrogen removal by *Providencia rettgeri* strain YL with heterotrophic nitrification and aerobic denitrification [J]. *Environmental Technology*, 2016, **37**(17): 2206-2213.
- [31] 何霞, 赵彬, 吕剑, 等. 异养硝化细菌 *Bacillus* sp. LY 脱氮性能研究[J]. *环境科学*, 2007, **28**(6): 1404-1408.
- He X, Zhao B, Lv J, *et al.* Nitrogen removal by *Bacillus* sp. LY with heterotrophic nitrification ability [J]. *Environmental Science*, 2007, **28**(6): 1404-1408.

CONTENTS

Source Apportionment and Mixing State of Single Particles in the Nanjing Jiangbei New Area	YU Xing-na, SHI Zheng, MA Jia, <i>et al.</i> (1521)
Characteristics of Carbonaceous Aerosol Pollution in PM _{2.5} in Xi'an	MU Zhen, CHEN Qing-cai, WANG Yu-qin, <i>et al.</i> (1529)
Chemical Composition Characteristics and Source Apportionment of PM _{2.5} During Winter in Taiyuan	LIU Su, MA Tong, YANG Yan, <i>et al.</i> (1537)
Seasonal Variation and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Ions in Fine Particulate Matter in Zhengzhou	YAN Guang-xuan, ZHANG Jing-wen, LEI Hao-jie, <i>et al.</i> (1545)
Elemental Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Atmospheric PM _{2.5} in a Suburb of Zhuhai City	YANG Yi-hong, JIA Yan, BIAN Guo-jian, <i>et al.</i> (1553)
Impact of a Dust Event on the Size Distribution of Metal Elements in Atmospheric Aerosols at a Coastal Region and over the Ocean	JIN Tong-jun, QI Jian-hua, XI Zi-yan, <i>et al.</i> (1562)
CALPUFF Modeling of the Influence of Typical Industrial Emissions on PM _{2.5} in an Urban Area Considering the SOA Transformation Mechanism	GAO Shuang, BO Xin, MA Yan, <i>et al.</i> (1575)
Variation in Pollutant Concentrations and Correlation Analysis with the Vegetation Index in Beijing-Tianjin-Hebei	SUN Shuang, LI Ling-jun, ZHAO Wen-ji, <i>et al.</i> (1585)
Estimation of Coal Consumption and the Emission of Related Contaminants in the Plain Area Around Beijing During 2015-2017	ZHAO Wen-hui, LI Ling-jun, LU Hai-feng, <i>et al.</i> (1594)
Column-integrated Aerosol Optical Properties Determined Using Ground-based Sun Photometry Measurements in the Hangzhou Region	QI Bing, CHE Hui-zheng, XU Ting-ting, <i>et al.</i> (1604)
Speciated VOCs Emission Inventory and Ozone Formation Potential in Sichuan Province	ZHOU Zi-hang, DENG Ye, TAN Qin-wen, <i>et al.</i> (1613)
Characterization of Volatile Organic Compounds from Cooking Emissions	GAO Ya-qin, WANG Hong-li, XU Rui-zhe, <i>et al.</i> (1627)
Analysis of Peroxyacetyl Nitrate and Ozone During a Typical Photochemical Pollution Process at the Panyu Atmospheric Composition Station	ZOU Yu, DENG Xue-jiao, LI Fei, <i>et al.</i> (1634)
Characteristics and Interannual Variation of Chemical Components in Typical Road Dust in Beijing	HU Yue-qi, LI Meng, YAN Xu, <i>et al.</i> (1645)
Sources Analysis and Health Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the PM _{2.5} Fraction of Fugitive Dust in Nanchang City	YU Rui-lian, ZHENG Quan, LIU Xian-rong, <i>et al.</i> (1656)
Methods and Application of Road Fugitive Dust Emission Factor Localization	FAN Shou-bin, YANG Tao, WANG Kai, <i>et al.</i> (1664)
Characterization of Tailpipe Emissions from in-use Excavators	MA Shuai, ZHANG Kai-shan, WANG Fan, <i>et al.</i> (1670)
Microbial Properties of Different Size Aerosols at Human Average Respiratory Height During Fog-haze Days	YANG Tang, HAN Yun-ping, LI Lin, <i>et al.</i> (1680)
Modification and Performance Tests of Visibility Parameterizations for Haze Days	ZHAO Xiu-juan, LI Zi-ming, XU Jing (1688)
Application of Support Vector Machine Regression in Ozone Forecasting	SU Xiao-qian, AN Jun-lin, ZHANG Yu-xin, <i>et al.</i> (1697)
Analysis of PHEV CO ₂ Emission Based on China's Grid Structure and Travelling Patterns in Mega Cities	HAO Xu, WANG He-wu, LI Wei-feng, <i>et al.</i> (1705)
Sources of Nitrate in Groundwater and Its Environmental Effects in Karst Trough Valleys: A Case Study of an Underground River System in the Longfeng Trough Valley, Chongqing	DUAN Shi-hui, JIANG Yong-jun, ZHANG Yuan-zhu, <i>et al.</i> (1715)
Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Phthalate Esters (PAEs) in the Surface Water of Jiaozhou Bay	LIU Cheng, SUN Cui-zhu, ZHANG Ge, <i>et al.</i> (1726)
Distribution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Organochlorine Pesticides in Sediments of Zhanjiang Bay	PENG Shi-yun, PENG Ping-an, KONG De-ming, <i>et al.</i> (1734)
Analysis of the Optical Properties and Factors Influencing DOM in an Ecological Purification System: A Case Study of Yanlong Lake in Spring	MA Rui, LI Xuan, WANG Lian, <i>et al.</i> (1742)
Analysis of the Relationship Between Dissolved Organic Matter (DOM) and Watershed Land-use Based on Three-dimensional Fluorescence-Parallel Factor (EEM-PARAFAC) Analysis	LI Yun, WEI Hong-jie, WANG Kan, <i>et al.</i> (1751)
Analysis of the Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Emissions from Agricultural Non-point Sources on Hanfeng Lake Basin	XIE Jing-chao, ZHAO Xiu-lan, HE Bing-hui, <i>et al.</i> (1760)
Simulation of the Migration and Leaching of Nitrate Nitrogen in the Farmland Soil Profile in a Hilly Area of Taihang Mountain with the RZWQM Model	ZHENG Wen-bo, WANG Shi-qin, LIU Bing-xia, <i>et al.</i> (1770)
Spatial Distribution Characteristics of Nutrients and Chlorophyll A in the Lancang River Basin Under Cascade Reservoirs	CHENG Bao, WANG Xue, MA Jin-chuan, <i>et al.</i> (1779)
Nutrient Distribution of Overlying Water in Tidal Marshes in Five Estuaries and Bays of the Fuzhou Region in Autumn	HE Lu-lu, YANG Ping, TAN Li-shan, <i>et al.</i> (1788)
Distribution and Environmental Risk of Pharmaceutically Active Compounds in the Traditionally Aqueous Phase of Effluent-receiving Rivers	WANG Shuo, LIU Jian-chao, ZHENG Chao-ya, <i>et al.</i> (1797)
Effects of a Green Roof on Stormwater Regulation and Cost-benefit Analysis	LI Jun-sheng, YIN Hai-wei, KONG Fan-hua, <i>et al.</i> (1803)
Ultrasonically Activated Persulfate Degrades Typical Odors in Water	SUN Xin, SUN Jie, LI Peng-fei, <i>et al.</i> (1811)
Metal Organic Framework MIL-53(Fe) as a Photocatalyst for Visible-light Catalytic Reduction of U(VI) in Aqueous Solution	YAN Zeng-yuan, XI Hai-ling, YUAN Li-yong (1819)
Effects and Differences of the Release of Dissolved Organic and Inorganic Phosphorus in Different Sediments Covered by Different Materials of Erhai Lake	GONG Jia-jian, NI Zhao-kui, XIAO Shang-bin, <i>et al.</i> (1826)
Phosphate Removal Using Rice Husk Biochars Modified with Lanthanum Hydroxide	XU Run, SHI Cheng-hao, TANG Qian, <i>et al.</i> (1834)
Characteristics and Heavy Metal Adsorption Performance of Sewage Sludge-derived Biochar from Co-pyrolysis with Transition Metals	CHEN Tan, ZHOU Ze-yu, MENG Rui-hong, <i>et al.</i> (1842)
Adsorption, Reclaim, and Regeneration of Cd by Magnetic Calcium Dihydrogen Phosphate Nanoparticles	LI Yu-jiao, YANG Zhi-min, CHEN Yu-cheng, <i>et al.</i> (1849)
Effect of Hematite on the Inhibition of Hydrogen Sulfide Formation and Its Mechanism During Anaerobic Digestion and Methanogenesis of Sulfate Wastewater	HUANG Shao-fu, YE Jie, ZHOU Shun-gui (1857)
Pollutant Removal Performance and Membrane Fouling Characteristics in Marine Aquaculture Wastewater Treatment by a Microalgae Membrane Reactor	MA Hang, LI Zhi-peng, LIU Feng, <i>et al.</i> (1865)
Pre-precipitation of Sewage-SNAD Granular Sludge Process Test	LI Dong, CUI Ya-qian, ZHAO Shi-xun, <i>et al.</i> (1871)
Impact of Actual Domestic Sewage and Simulated Wastewater on an Aerobic Granular Sludge System	LI Dong, WANG Ying-qiao, LI Shuai, <i>et al.</i> (1878)
Nitrogen Removal Performance of a Sulfur/Pyrite Autotrophic Denitrification System	ZHOU Ya, MAI Wen-ning, LIANG Jia-wei, <i>et al.</i> (1885)
Nitrogen Removal by Heterotrophic Nitrifying Bacterium <i>Pseudomonas putida</i> YH and Its Kinetic Characteristics	WANG Xu-hui, YANG Lei, REN Yong-xiang, <i>et al.</i> (1892)
Effect of Sludge Retention Time and pH on the Denitrifying Phosphorus Removal Process	WEI Jia-min, HUANG Hui-min, CHENG Cheng, <i>et al.</i> (1900)
Microbial Community of Granular Sludge in an ANAMMOX-EGSB Reactor Under Saline Conditions	WANG Han, LI Han-xiang, CHEN You-peng, <i>et al.</i> (1906)
Effect of Intracellular Carbon Source (PHA) Storage on the Mixed Growth Microbial Community Resistance to Low Temperature	YANG Jian-peng, ZHANG Jian, TIAN Qing, <i>et al.</i> (1914)
Contents and Forms of Phosphorus in the Municipal Sewage Sludge of China	WANG Chao, LIU Qing-wei, ZHI Yin, <i>et al.</i> (1922)
Contamination Characteristics and Safety Risk Assessment of Perfluorinated Alkylated Substances in Aquatic Products from Guangzhou	WANG Xu-feng, WANG Qiang, LI Zhi-guang, <i>et al.</i> (1931)
Characteristics of the Dissolved Nitrous Oxide (N ₂ O) Concentrations and Influencing Factors in a Representative Agricultural Headwater Stream in the Upper Reach of the Yangtze River	TIAN Lin-lin, WANG Zheng, HU Lei, <i>et al.</i> (1939)
CH ₄ Uptake in Different Saline-alkaline Soils in Hetao Irrigation District, Inner Mongolia	YANG Wen-zhu, JIAO Yan, YANG Ming-de, <i>et al.</i> (1950)
Allocation and Stabilization Responses of Rice Photosynthetic Carbon in the Plant-Soil System to Phosphorus Application	WANG Ying-ying, XIAO Mou-liang, ZHANG Yun, <i>et al.</i> (1957)
Effect of Soil Moisture and Temperature on the Soil Inorganic Carbon Release of Brown Limestone Soil in the Karst Region of Southwestern China	XU Xue-chi, HUANG Yuan, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (1965)
Temporal and Spatial Dynamics of Soil Microbial Biomass Carbon and Its Influencing Factors on an Eroded Slope in the Hilly Loess Plateau Region	QIN Qian, ZHU Shi-shuo, XIA Bin, <i>et al.</i> (1973)
Composition, Characteristics, and Accumulation of Antibiotics in the Soil in Agricultural Land	KONG Chen-chen, ZHANG Shi-wen, NIE Chao-jia, <i>et al.</i> (1981)
VOCs and Odors Control and Development in Pharmaceutical Fermentation Industry	WANG Dong-sheng, ZHU Xin-meng, YANG Xiao-fang, <i>et al.</i> (1990)