

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



2020

Vol.41 No.2
第41卷 第2期

目次

基于GAM模型分析中国典型区域网格化PM _{2.5} 长期变化影响因素	南洋, 张倩倩, 张碧辉 (499)
我国PCDD/Fs网格化大气排放清单	陈露露, 黄韬, 陈凯杰, 宋世杰, 高宏, 马建民 (510)
成都平原PM _{2.5} 中碳质组分时空分布特征与来源	史芳天, 罗彬, 张巍, 刘培川, 郝宇放, 杨文文, 谢绍东 (520)
南京江北新区冬季PM _{2.5} 中化学组分的昼夜变化特征及其来源解析	邱晨晨, 于兴娜, 丁铖, 时政, 张瑞芳, 侯思宇, 侯新红 (529)
南京北郊四季PM _{2.5} 中有机物的污染特征及来源解析	李栩婕, 施晓雯, 马嫣, 郑军 (537)
长三角背景点夏季大气PM _{2.5} 中正构烷烃和多环芳烃的污染特征和来源解析	薛国艳, 王格慧, 吴灿, 谢郁宁, 陈玉宝, 李杏茹, 王心培, 李大鹏, 张思, 葛双双, 丁志健 (554)
2017年秋季长春市PM _{2.5} 中多环芳烃的污染来源及健康风险评价	张艺璇, 曹芳, 郑涵, 张东东, 翟晓瑶, 范美益, 章炎麟 (564)
京津冀及周边区域PM _{2.5} 叠加沙尘重污染过程特征及预报效果分析	朱媛媛, 高愈霄, 柴文轩, 王帅, 李亮, 王威, 王光, 刘冰, 王晓彦, 李健军 (574)
河南省臭氧污染特征与气象因子影响分析	齐艳杰, 于世杰, 杨健, 尹沙沙, 程家合, 张瑞芹 (587)
河南省气溶胶光学特性的时空变化特征	张瑞芳, 于兴娜 (600)
黑炭气溶胶质谱仪(SP-AMS)分析春季PM _{2.5} 中水溶性有机气溶胶	黄雯倩, 陈彦彤, 李旭东, 赵竹子, 马帅帅, 叶招莲, 盖鑫磊 (609)
南京市黑碳气溶胶时间演变特征及其主要影响因素	杨晓旻, 施双双, 张晨, 王红磊, 王振彬, 朱彬 (620)
连云港不同功能区挥发性有机物污染特征及臭氧生成潜势	乔月珍, 陈凤, 李慧鹏, 赵秋月 (630)
挥发性有机物污染控制方案的运行费用效能比较	羌宁, 史天哲, 缪海超 (638)
西安市大气降水污染和沉降特征及其来源解析	丁铖, 于兴娜, 侯思宇 (647)
4种动物养殖场空气中抗生素耐药菌的生物多样性及群落结构	沙云菲, 孙兴滨, 辛文鹏, 高浩泽, 程首涛, 高敏, 王旭明 (656)
辽宁省2000~2030年机动车排放清单及情景分析	金嘉欣, 孙世达, 王芃, 林应超, 王婷, 吴琳, 魏宁, 常俊雨, 毛洪钧 (665)
国六柴油机DPF再生时VOCs排放特性	钱枫, 薛常鑫, 许小伟, 马东, 李朋, 祝能 (674)
南小河流域地表水和地下水的稳定同位素和水化学特征及其指示意义	郭亚文, 田富强, 胡宏昌, 刘亚平, 赵思晗 (682)
乐安河中下游重金属时空分布特征及风险评价	余杨, 吕雅宁, 王伟杰, 渠晓东, 刘聚涛, 温春云 (691)
温榆河水环境质量与浮游植物群落结构的时空变化及其相互关系	朱利英, 陈媛媛, 刘静, 王亚炜, 王春荣, 魏源送, 张育新 (702)
新安江水库河口区水质及藻类群落结构高频变化	宣文怡, 朱广伟, 黎云祥, 吴志旭, 郑文婷, 兰佳, 王裕成, 许海, 朱梦圆 (713)
环渤海芦苇湿地磷的吸附容量及释放风险评估	宋佳伟, 徐刚, 张扬, 吕迎春 (728)
洱海藻类水华高风险期沉积物氮磷释放通量时空变化	刘思儒, 赵继东, 肖尚斌, 倪兆奎, 王圣瑞 (734)
西安市降雪中DOM荧光特性和来源分析	杨毅, 韩丽媛, 刘焕武, 雷颖, 李兢, 徐会宁 (743)
透水砖铺装的设施构造对运行效果的影响	张佳炜, 刘勇, 金建荣, 李田 (750)
微米SiC/石墨烯复合物光催化降解罗丹明B	朱红庆, 杨兵, 魏世强, 杨静静, 张进忠 (756)
锰铁改性针簇莫来石对水中BPA和EE2的去除	周秋红, 龙天渝, 何靖, 郭劲松, 高俊敏 (763)
载钼磁性水热生物炭的制备及其除磷性能	宋小宝, 何世颖, 冯彦房, 花昀, 唐婉莹, 朱秋蓉, 薛利红, 杨林章 (773)
复合金属改性生物炭对水体中低浓度磷的吸附性能	孙婷婷, 高菲, 李莉, 黎睿, 董磊 (784)
磁性硅藻土负载纳米过氧化钙对水中磷酸盐吸附	徐楚天, 李大鹏, 张帅, 耿雪, 陈丽媛, 宋小君, 郭超然, 黄勇 (792)
污水厂尾水受纳河段沉积物磷形态及释放风险效应	汤宁, 李如忠, 王丰庆, 何瑞亮, 刘超 (801)
生物膜生态浮床对城市尾水净化特征分析	赵志瑞, 张佳瑶, 李铎, 李方红 (809)
磁凝凝对市政污水中抗生素抗性基因和重金属抗性基因的削减效能	于雯超, 郑利兵, 魏源送, 王哲晓, 张鹤清, 黄光华, 焦赞仪, 吴振军 (815)
四环素抗生素对污泥中四环素抗性基因丰度和表达水平的作用影响	阮晓慧, 钱雅洁, 薛罡, 高品 (823)
异养硝化细菌Pseudomonas aeruginosa YL的脱氮过程及N ₂ O产生特性	杨垒, 崔坤, 任勇翔, 郭淋凯, 张志昊, 肖倩, 陈宁, 汪旭晖 (831)
包埋厌氧氨氧化菌的环境因子影响特性及群落结构分析	王晓瞳, 杨宏, 苏杨, 刘旭妍 (839)
包埋反硝化填料强化二级出水深度脱氮性能研究及中试应用	周亚坤, 杨宏, 王少伦, 何海超, 刘宗跃, 苏扬, 张辉 (849)
厌氧时间对间歇进水-间歇曝气的好氧颗粒污泥系统影响	张杰, 王玉颖, 李冬, 曹思雨, 李帅 (856)
除磷颗粒诱导的同步短程硝化反硝化除磷颗粒污泥工艺	李冬, 刘博, 王文琪, 张杰 (867)
桂西南地区地球化学异常区农田重金属空间分布特征及污染评价	王佛鹏, 肖乃川, 周浪, 虎瑞, 宋波 (876)
青藏高原表土重金属污染评价与来源解析	杨安, 王艺涵, 胡健, 刘小龙, 李军 (886)
黄河三角洲不同植物群落土壤酶活性特征及影响因子分析	莫雪, 陈斐杰, 游冲, 刘福德 (895)
管理措施对黄土高原油松人工林土壤水溶性碳氮及其三维荧光特征的影响	宋亚辉, 张娇阳, 刘鸿飞, 薛蕊, 李秧秧 (905)
生物炭输入对不同滨岸带土壤营养元素有效态变化的影响	周慧华, 袁旭音, 熊钰婷, 韩年, 叶宏萌, 陈耀祖 (914)
水热炭减少稻田氨挥发损失的效果与机制	余姗, 薛利红, 花昀, 李德天, 谢斐, 冯彦房, 孙庆业, 杨林章 (922)
接种菌根真菌对湿生植物根际土壤硝化反硝化活性的影响及其微生物机制	刘猷, 王磊, 曹湛波, 段灏 (932)
基于漂浮箱法和扩散模型测定淡水养殖鱼塘甲烷排放通量的比较	胡涛, 黄健, 丁颖, 孙志荣, 徐梦凡, 刘树伟, 邹建文, 吴双 (941)
超高效液相色谱串联质谱法同时测定叶菜中13种抗生素	陈乾, 刘洋, 肖丽君, 邹德玉, 刘海学, 吴惠惠 (952)
青菜中镉的吸收和累积对硒的响应规律	余焱, 罗丽韵, 刘哲, 付平南, 李花粉 (962)
两种不同镉富集能力油菜品种耐性机制	卞建林, 郭俊梅, 王学东, 杨俊兴, 杨军, 陈同斌, 曹柳, 成永霞, 任战红, 王杰, 周小勇 (970)
可生物降解螯合剂GLDA强化三叶草修复镉污染土壤	贺玉龙, 余江, 谢世前, 李佩柔, 周宽, 何欢 (979)
我国畜禽粪便重金属含量特征及土壤累积风险分析	穆虹宇, 庄重, 李彦明, 乔玉辉, 陈清, 熊静, 郭丽莉, 江荣凤, 李花粉 (986)
畜禽粪便和桃树枝工业化堆肥过程中微生物群落演替及其与环境因子的关系	蔡涵冰, 冯雯雯, 董永华, 马中良, 曹慧锦, 孙俊松, 张保国 (997)
4种粪便堆肥过程中抗生素的降解特性	朱为静, 朱凤香, 王卫平, 洪春来, 姚燕来 (1005)
《环境科学》征订启事	(553)
《环境科学》征稿简则	(655)
信息	(664, 755, 885)

异养硝化细菌 *Pseudomonas aeruginosa* YL 的脱氮过程及N₂O产生特性

杨垒^{1,2}, 崔坤^{1,2}, 任勇翔^{1,2*}, 郭淋凯^{1,2}, 张志昊^{1,2}, 肖倩³, 陈宁^{1,2}, 汪旭晖^{1,2}

(1. 西安建筑科技大学陕西省环境工程重点实验室, 西安 710055; 2. 西安建筑科技大学西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055; 3. 中国恩菲工程技术有限公司成都分公司, 成都 610000)

摘要: 由于含氮废水的大量排放, 水体富营养化日趋严重, 如何高效去除废水中的氮素仍是亟待解决的问题. 针对传统生物脱氮工艺流程复杂、能耗高、抗冲击能力弱以及释放温室气体N₂O等缺陷, 本文基于高效异养硝化细菌 *Pseudomonas aeruginosa* YL, 通过探讨其生理生化特征、异养硝化-好氧反硝化脱氮过程和N₂O产生特性, 进一步解析异养硝化脱氮理论. 结果表明, 菌株 YL 具有高效的异养硝化和好氧反硝化能力, 24 h 培养期 100 mg·L⁻¹ 的NH₄⁺-N、NO₂⁻-N和NO₃⁻-N能够完全去除; 异养硝化过程几乎无中间产物生成, 但以NO₃⁻-N作为氮源时, NO₂⁻-N累积量高达 25.55 mg·L⁻¹. 同时, 反硝化功能基因 *napA*、*nirK* 和 *nosZ* 基因的成功表达, 进一步证实菌株 YL 具有好氧反硝化能力. 菌株 YL 异养硝化-好氧反硝化过程气态氮产物约占去除 TN 的 30%~40%, 脱氮产物主要为 N₂, 当NH₄⁺-N、NO₂⁻-N和NO₃⁻-N分别为唯一氮源时, N₂ 生成量分别为 3.46、3.49 和 3.36 mg. 相比较, 菌株 YL 脱氮过程仅生成微量的中间产物N₂O, 以NH₄⁺-N为唯一氮源时的最终生成总量为 6.63 μg, 低于以NO₂⁻-N和NO₃⁻-N为唯一氮源时N₂O的生成量. 此外, 高 C/N、低 pH、高温以及高NH₄⁺-N和NO₂⁻-N环境均会导致N₂O的大量生成, 但大多数环境因素对菌株 YL 的N₂O生成量影响较小, 且其最高生成量显著低于短程硝化系统和自养硝化系统. 以上研究结果表明菌株 YL 具有优异的脱氮、N₂O控逸和环境耐受能力, 可有效避免水处理过程对大气的二次污染.

关键词: 异养硝化细菌; 反硝化功能基因; 好氧反硝化; 脱氮; N₂O释放

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2020)02-0831-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201908223

Denitrification Process and N₂O Production Characteristics of Heterotrophic Nitrifying Bacterium *Pseudomonas aeruginosa* YL

YANG Lei^{1,2}, CUI Shen^{1,2}, REN Yong-xiang^{1,2*}, GUO Lin-kai^{1,2}, ZHANG Zhi-hao^{1,2}, XIAO Qian³, CHEN Ning^{1,2}, WANG Xu-hui^{1,2}

(1. Shaanxi Key Laboratory of Environmental Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. Key Laboratory of Northwest Water Resource, Environment and Ecology, Ministry of Education, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 3. China ENFI Engineering Co., Ltd., Chengdu Branch, Chengdu 610000, China)

Abstract: Because of the massive discharge of nitrogenous wastewater, the eutrophication of a water body is becoming increasingly serious, and how to effectively remove nitrogen from this wastewater remains an urgent problem to be solved. In this study, due to disadvantages in the traditional biological nitrogen removal process, such as complex and long procedures, high energy consumption, weak impact resistance, and N₂O release, the nitrogen removal theory by heterotrophic nitrification was further analyzed by discussing the physiological-biochemical, heterotrophic nitrification-aerobic denitrification, and N₂O production characteristics of a high-efficiency heterotrophic nitrifying bacteria *Pseudomonas aeruginosa* YL. Results show that the strain YL had an eminent heterotrophic nitrification and aerobic denitrification ability, and NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, and NO₃⁻-N with concentration of 100 mg·L⁻¹ could be completely removed during the 24-hour incubation period. There was almost no intermediate product in the process of heterotrophic nitrification, however when NO₃⁻-N was used as nitrogen source, the accumulation of NO₂⁻-N reached 25.55 mg·L⁻¹. Meanwhile, the successful expression of denitrification genes *napA*, *nirK*, and *nosZ* further confirmed the aerobic denitrification ability of strain YL. Gaseous nitrogen products accounted for about 30%~40% of removed TN in the heterotrophic nitrification-aerobic denitrification process by strain YL, and N₂ was the main denitrification product. When NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, and NO₃⁻-N were used as the sole nitrogen source, N₂ production amounted to 3.46, 3.49, and 3.36 mg, respectively. In contrast, only small amounts of N₂O were produced in the denitrification process by strain YL, and the total amount was 6.63 μg when NH₄⁺-N was the nitrogen source, which was much lower than in the cases of NO₂⁻-N and NO₃⁻-N as the sole nitrogen source. In addition, high C/N, low pH, high temperature, high NH₄⁺-N, and high NO₂⁻-N conditions could result in more N₂O generation. Nevertheless, most environmental factors had little effect on N₂O production of strain YL, and the maximum N₂O production was significantly lower than that of short-cut nitrification system and autotrophic nitrification system. These results demonstrated that strain YL exhibited excellent abilities of nitrogen removal, N₂O emission control, and tolerance to environmental conditions, and could be an effective candidate for treating wastewater without

收稿日期: 2019-08-27; 修订日期: 2019-09-10

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2018JQ5157); 陕西省教育厅重点科研计划项目(17JS079); 国家自然科学基金项目(51878537)

作者简介: 杨垒(1988~), 男, 博士后, 主要研究方向为污水生物处理理论与技术, E-mail: yangleixuat@126.com

* 通信作者, E-mail: ryx@xauat.edu.cn

secondary air pollution.

Key words: heterotrophic nitrifying bacteria; denitrifying functional genes; aerobic denitrification; nitrogen removal; N_2O emission

传统生物脱氮是指利用微生物的同化或异化作用,在适当条件下将有机氮转化为无机氮,最后转化为气态氮或微生物细胞内源氮而去除的过程,是城市污水脱氮处理的重要方法.然而,此技术存在基建面积和运行成本大、水力停留时间长、硝化效果和系统抗冲击能力差以及造成 N_2O 等温室气体大量排放等问题^[1].

高效、低成本生物脱氮新工艺的探索和研究,是近年废水生物脱氮领域的热点.异养硝化细菌的发现,为生物脱氮提供了新的思路.异养硝化菌相对于自养硝化菌而言,具有生长速率快、细胞产量高、所需溶解氧浓度低、耐酸性强等优点,在特定环境下具有良好的脱氮效果^[2-4].然而,由于异养硝化微生物自身的多样性,使其异养硝化机制的研究变得困难,而相关研究的匮乏使得目前对异养硝化细菌本身特性及脱氮能力水平仍不明确.目前,对于异养硝化细菌的研究多集中于氮素的去除效率以及最佳条件的探究,对脱氮产物的生成特性及机制等方面的研究尚不完整.部分研究认为异养硝化过程均存在 N_2O 的累积^[5],而另一些研究发现异养硝化细菌脱氮过程较传统脱氮过程更为彻底,反应产物主要以 N_2 为主,而非 N_2O ^[6,7],异养硝化过程脱氮产物认识的巨大差异将直接限制异养硝化细菌脱氮机制的探究和实际工程的应用.因此,加强异养硝化细菌脱氮产物生成特性的研究,不仅有助于控逸异养硝化脱氮过程中温室气体 N_2O 的排放,而且对丰富异养硝化脱氮理论具有重要的意义.

本文对高效异养硝化细菌 *Pseudomonas aeruginosa* YL 的生理生化特征、异养硝化-好氧反硝化过程和 N_2O 产生特性进行研究,从氮素转化、反硝化功能基因扩增、气态氮生成及其环境影响因子等角度进行分析,探究异养硝化细菌 *P. aeruginosa* YL 的异养硝化-好氧反硝化能力和脱氮产物的生成机制.

1 材料与方法

1.1 菌株来源

异养硝化菌株 *Pseudomonas aeruginosa* YL (GenBank ID: # KJ765709) 筛选于实验室活性污泥系统,纯化后于 25% 的甘油中冷冻保存^[8].

1.2 培养基

亚硝酸盐培养基 ($g \cdot L^{-1}$): 琥珀酸钠 5.62, $NaNO_2$ 0.49, 微量元素溶液 2 mL, pH = 7.0.

硝酸盐培养基 ($g \cdot L^{-1}$): 琥珀酸钠 5.62, KNO_3 0.72, 微量元素溶液 2 mL, pH = 7.0.

异养硝化培养基 ($g \cdot L^{-1}$): 琥珀酸钠 5.62, $(NH_4)_2SO_4$ 0.47, 维氏盐溶液 50 mL, pH = 7.0.

微量元素溶液 ($g \cdot L^{-1}$): $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1.57, $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 1.60, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.2, $FeSO_4$ 5.0, $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 5.06, $CaCl_2$ 5.5, Na_2EDTA 50.0.

维氏盐溶液 ($g \cdot L^{-1}$): $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 2.5, $NaCl$ 2.5, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.05, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 5.0.

1.3 菌株形态及生理生化分析

取冷冻保存的 YL 菌液于异养硝化培养基中活化,利用接种环蘸取少量菌液在异养硝化固体培养基中均匀划线,30℃ 下恒温培养 2 d 后观察菌落特征;将活化后菌株 YL 进行革兰氏染色,菌株个体形态特征通过显微镜以及扫描电镜进行观测;菌株生理生化特性依据文献^[9]进行分析.

1.4 反硝化功能酶基因 PCR 扩增

采用细菌 DNA 提取试剂盒 (沃特森,上海) 提取菌株 YL 基因组 DNA. 并将提取的 DNA 进行 PCR 扩增. 使用的 PCR 引物序列见表 1, 反应体系为 25 μL , 其中包括正反引物各 1 μL , dNTP 2 μL , Ex Taq 酶 0.2 μL , 10 $\times$ Buffer 2.5 μL , DNA 模板 2 μL , ddH_2O 16.3 μL . 反应条件如表 2 所示, PCR 扩增产物检测采用 1% 琼脂糖凝胶电泳,经核酸染料染色

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
<i>napA</i>	NAP1	1 188 ~ 1 212	TCTGGACCATGGGCTTCAACCA	877
	NAP2	2 064 ~ 2 048	ACGACGACCGCCAGCGCAG	
<i>nirK</i>	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	
<i>nirS</i>	nirS1F	763 ~ 780	CCTA(C/T)TGGCCGCC(A/G)CA(A/G)T	890
	nirS6R	1 638 ~ 1 653	CGTTGAACCTT(A/G)CCGGT	
<i>nosZ</i>	nosLb	1 124 ~ 1 144	CCCCTGCACACC(A/G)CCTTCGA	300
	nosRb	1 405 ~ 1 425	CGTCGCC(C/G)GAGATCTCGATCA	

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
<i>napA</i>	94℃, 5 min	94℃, 30 s	59℃, 30 s	72℃, 60 s	72℃, 5 min
<i>nirK</i>	94℃, 5 min	94℃, 45 s	56℃, 45 s	72℃, 45 s	72℃, 10 min
<i>nirS</i>	94℃, 5 min	94℃, 45 s	56℃, 45 s	72℃, 45 s	72℃, 10 min
<i>nosZ</i>	94℃, 2 min	94℃, 30 s	58℃, 30 s	72℃, 60 s	72℃, 20 min

后,通过凝胶成像系统拍照(G;Box EF, Syngene, USA).

1.5 异养硝化和好氧反硝化过程及脱氮产物生成特性

分别使用初始浓度均为100 mg·L⁻¹的氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮作为单一氮源,以琥珀酸钠为碳源,在接种量为1%、C/N为10、*r*为160 r·min⁻¹、温度为30℃条件下于装有100 mL培养基的250 mL锥形瓶中振荡培养,锥形瓶采用橡胶塞密封,试验前通过玻璃管向瓶中鼓入充足纯氧,采用无菌封口膜密封后放入摇床培养48 h,定时测定氮浓度、*D*₆₀₀和气态氮变化.

1.6 不同反应条件对菌株 YL 脱氮产物N₂O生成的影响

改变单一影响因子,固定其余条件不变,分别研究碳源、C/N、pH、温度、氨氮和亚硝酸盐氮初始浓度对脱氮产物生成的影响. 固定基准条件为氨氮浓度100 mg·L⁻¹、亚硝酸盐氮浓度0 mg·L⁻¹、温度30℃、pH 7.0、C/N 10以及转速160 r·min⁻¹. 影响因子如下:碳源包括葡萄糖、乙酸钠、蔗糖、柠檬酸钠和琥珀酸钠;C/N为2、5、10和15;pH分别为5、6、7、8、9、10和11;温度为10、20、30和37℃;初始氨氮浓度取50、200、500和1 000 mg·L⁻¹;亚硝酸盐氮浓度分别取100和200 mg·L⁻¹. 菌株 YL 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,试验前通过玻璃管向橡胶塞密封的锥形瓶中鼓入纯氧,采用无菌封口膜密封后摇床培养48 h,期间测定N₂O生成量.

1.7 分析方法

采用吸光度法测定菌体生长吸光度(*D*₆₀₀);分别采用纳氏试剂光度法、*N*-(1-萘基)-乙二胺光度法、酚二磺酸光度法以及过硫酸钾氧化-紫外分光光度法测定NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N和TN浓度^[10];采用气相色谱法测定N₂O、N₂、O₂^[11]. N₂O释放因子为N₂O-N占去除NH₄⁺-N的比例.

2 结果与讨论

2.1 菌株形态和生理生化特征

菌株 YL 的菌体呈杆状,无芽孢,无鞭毛,革兰

氏阴性,大小为0.5 μm×(1.0~1.5) μm. 菌落为蓝绿色,不透明、不规则、表面扁平湿润,直径约2~3 mm. 生理生化检测结果如表3所示,YL能够利用柠檬酸盐,不能进行淀粉水解,接触酶、氧化酶、硝酸盐还原试验阳性,V.P测定、吲哚、甲基红呈阴性.

表 3 菌株 YL 的生理生化特征¹⁾

Table 3 Chemical and physical characteristics of strain YL			
检测项目	结果	检测项目	结果
V. P 测定	-	亚硝酸盐还原试验	+
吲哚	-	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

2.2 菌株 YL 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 YL 在异养硝化过程中的生长情况如图1(a)所示. 菌株在前6 h生长缓慢,*D*₆₀₀较低,菌株 YL 处于适应期. 对数生长期生长速度加快,约24 h时趋于稳定,生长期最大比生长速率达到0.28 h⁻¹,*D*₆₀₀最大值为1.13. 培养30 h之后,菌株 YL 进入内源呼吸期,在此阶段细菌细胞大量裂解使得*D*₆₀₀值有所降低.

图1(b)为菌株 YL 在异养硝化过程中的氨氮去除以及中间产物生成情况,NH₄⁺-N在24 h内几乎完全去除,最大去除率为99.37%,最大氨氮去除速率为7.05 mg·(L·h)⁻¹,显著高于*Pseudomonas alcaligenes* AS-1^[12]、*Pseudomonas* sp. ADN-42^[13]等其它异养硝化细菌. 反应后期NH₄⁺-N浓度逐渐增加,此时菌群进入内源呼吸期,将之前用于细胞合成的氮素又再次分解为NH₄⁺-N. 菌株 YL 异养硝化过程中仅有少量的硝化中间产物NO₂⁻-N和NO₃⁻-N生成,约59.15 mg 氮素转化为内源氮,占去除TN的62.25%. 反应48 h后,TN和NH₄⁺-N最终去除率分别为95.02%和97.63%.

2.2.2 好氧反硝化特性

当亚硝酸盐和硝酸盐作为单一氮源时,菌株 YL 氮素降解过程和中间产物变化情况如图2所示. 菌

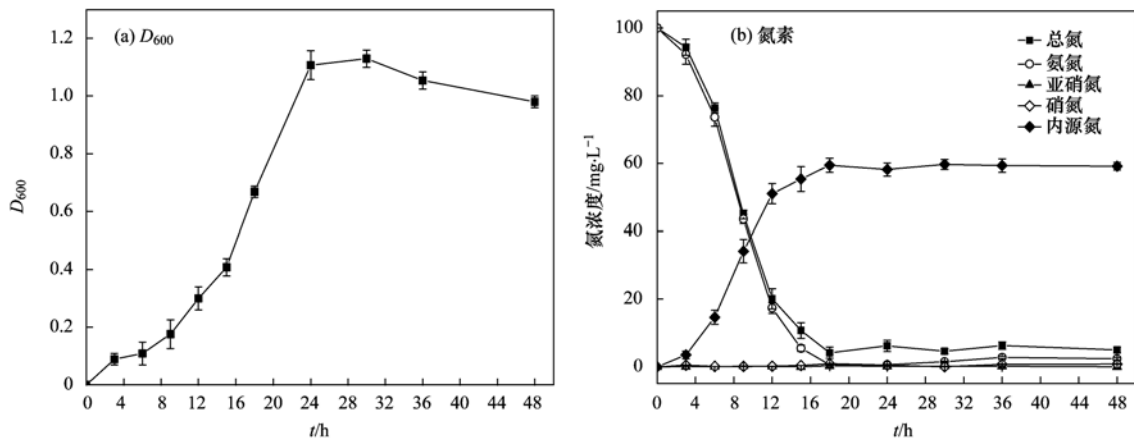


图1 以氨氮为唯一氮源时的 D_{600} 和氮素变化情况

Fig. 1 Changes in D_{600} and nitrogen compounds when ammonium was used as sole nitrogen source

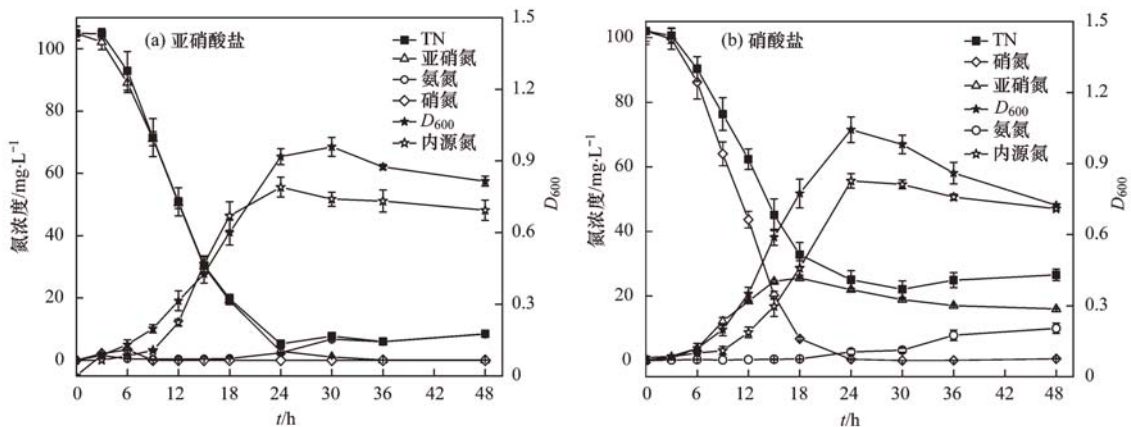


图2 以亚硝酸盐和硝酸盐为唯一氮源时菌株 YL 的好氧反硝化性能

Fig. 2 Capabilities of aerobic denitrification by strain YL when nitrite and nitrate were used as sole N-sources

株 YL 分别可以利用亚硝酸盐和硝酸盐作为氮源进行生长代谢,但相较于以氨氮为氮源时,其生长适应期更长, D_{600} 在 24 ~ 30 h 取得最大值 0.96 和 1.04. 以亚硝酸盐为唯一氮源时,在 12 ~ 15 h 时,菌株 YL 出现最大比生长速率 0.17 h^{-1} 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 最大降解速率 $6.85 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 和 TN 的最终去除率分别为 99.95% 和 91.95%,显著高于 *Acinetobacter* sp. HA2^[14] 等细菌. 去除的 TN 中约 48.15 mg 转化为内源氮,占去除 TN 的 49.88%. 反应 24 h 后,由于菌体进入内源呼吸期,死亡的菌体所释放的有机氮被转化为 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 从而导致其浓度逐渐升高. 当以硝酸盐作为唯一氮源时,菌株 YL 最大比生长速率和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 最大降解速率出现在 12 ~ 15h,分别为 0.19 h^{-1} 和 $7.30 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 TN 最终去除率分别为 99.44% 和 73.95%,其中 62.34% 的 TN (47.02mg) 转化为内源氮. 反应过程出现明显的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 累积,此现象与 *Acinetobacter junii* YB^[15] 和 *Aeromonas* sp. HN-02^[16] 一致,在 18 h 时达到最大累积量 $25.55 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 反应末期 TN 以 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 形式存在,主要是反硝化不完全以及菌体进

入内源呼吸期释放 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 所致.

2.2.3 好氧反硝化酶功能基因扩增

硝酸盐还原酶(Nar)参与好氧反硝化中硝酸盐还原为亚硝酸盐的过程,在好氧反硝化的过程中优先表达周质 Nar^[17]. 由图 3 可知,利用引物 NAP1/NAP2 对菌株 YL 进行 Nar 基因扩增,于 870 bp 左右处观察到清晰的目标条带,对应周质 Nar 的大亚基 *napA* 基因. 亚硝酸盐还原酶(Nir)可以将亚硝酸盐还原转化为氮氧化物,利用引物 nirK1F/nirK5R 和 nirS1F/nirS6R 对菌株 YL 进行 DNA 扩增,仅在 514bp 左右一处发现了清晰的特异性条带,推测是菌株细胞内基因 *nirK* 成功表达,而 *nirS* 未能表达. 此结果与一种细菌中只有一类 Nir 存在相一致^[18]. 氧化亚氮还原酶(Nos)可以将氧化亚氮还原为氮气,利用引物 nosLb/nosRb 对菌株 YL 的 DNA 进行扩增,结果表明试验菌株的特异性条带出现在 300 bp 左右,与 *Pseudomonas stutzeri*^[19]、*Halomonas campisalis*^[20] 和 *Pseudomonas migulae* AN-1^[21] 等细菌相同,证明 *nosZ* 在菌株 YL 中可成功表达. 本研究中 *napA*、*nirK* 和 *nosZ* 基因的成功表达可以证明菌

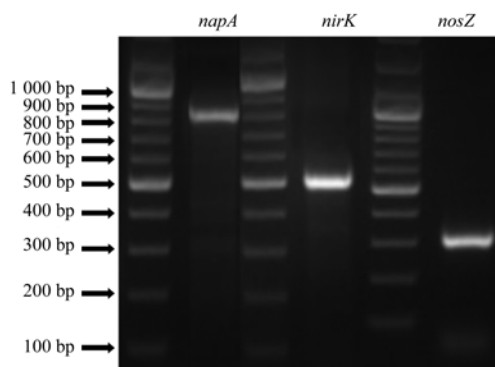
图3 菌株 YL 的 *napA*、*nirK* 和 *nosZ* 基因 PCR 扩增

Fig. 3 PCR amplification of *napA*, *nirK*, and *nosZ* genes in strain YL

株 YL 存在 Nir、Nar 和 Nos, 具有完整的反硝化酶系及好氧反硝化的能力。

2.3 不同反应条件菌株 YL 脱氮产物的生成规律

2.3.1 以氨氮为唯一氮源时脱氮产物生成情况

菌株 YL 以 NH_4^+ -N 为氮源时的脱氮产物生成情况如图 4(a) 所示, 经过 48 h 反应, 气相中 O_2 含量由初始的 100% 最终降为 25.11%, 共消耗 74.89% 的 O_2 , 说明摇瓶中的 O_2 足以保证系统处于好氧状态。菌株 YL 在反应初期即生成 N_2 , 反应 3~4 h 后 N_2 生成量为 0.39 mg, 表明菌株在接入培养基初期便开始进行异养硝化-好氧反硝化作用。在反应 9~12 h 左右 NH_4^+ -N 基本降解完全, 但却有大量 N_2 生成, 推测原因可能是菌体生长过程中大量 NH_4^+ -N 转移至体内并在胞内酶体系作用下完成硝化与反硝化作用, 反应完成后一部分氮素才以 N_2 形式排放。反应末期, 菌株 YL 氮气生成量共 3.46 mg, 约占去除 TN 的 36.41%, 而 N_2O 生成量很低, 其产生量在 DO 下降到 50% 后快速增加, 最终为 6.63 μg 。此外, 一般认为逸出的 N_2O 难以再溶于液相, 从图中可以看出, 菌株 YL 的 N_2O 生成量达到最大后, 气相中 N_2O 含量出现降低现象, 推测是摇瓶为封闭系统, 逸出到气相中的 N_2O 分压逐渐增大, 随着反应进行液相中溶解 N_2O 逐渐消耗完全, 逸出的 N_2O 仍可以再缓慢溶于液相中。

2.3.2 以亚硝酸盐氮为唯一氮源时脱氮产物生成情况

如图 4(b) 所示, 以 NO_2^- -N 为唯一氮源时, 反应 48 h 菌株 YL 消耗 76.57% 的 O_2 , 反应结束气相中残留 23.43% 的 O_2 , 保证了系统的好氧状态。反应 4 h 氮气生成量为 0.51 mg, 相较于以 NH_4^+ -N 为唯一氮源时菌株脱氮相对更快, 表明菌株 YL 的反硝化酶系更容易适应高浓度 NO_2^- -N 条件。反应 48 h 后, 最终 N_2 生成量为 3.49 mg, 占去除 TN 的 36.15%。此外, 试验菌株在利用 NO_2^- -N 时的 N_2O 生成量相较于

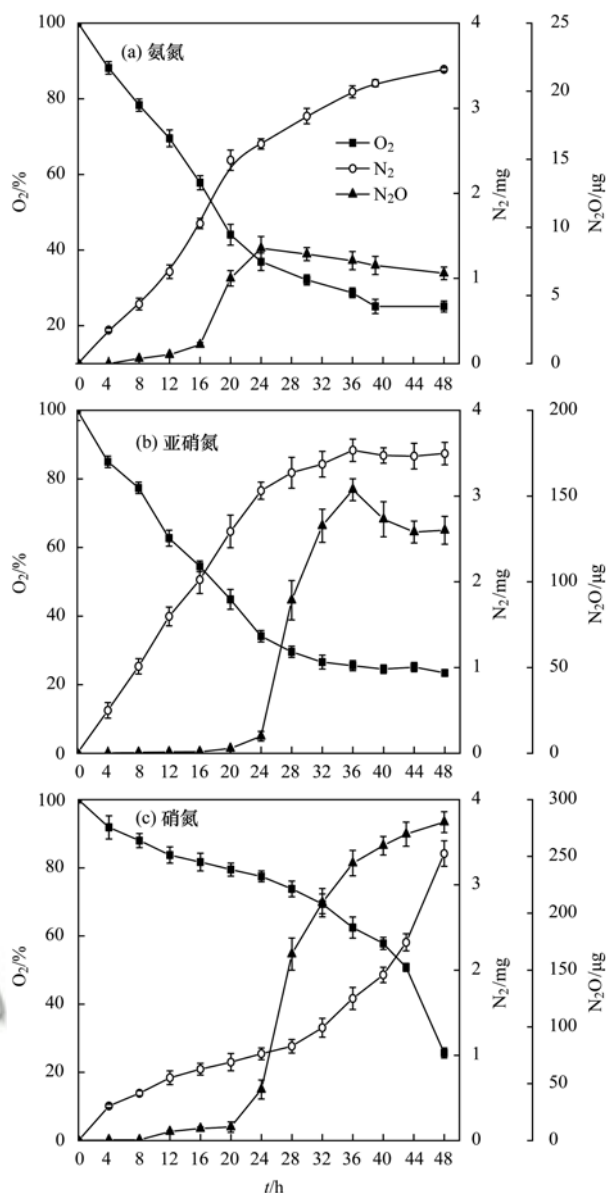


图4 菌株 YL 以氨氮、亚硝氮和硝氮为唯一氮源时气态氮变化情况

Fig. 4 Changes in gaseous constituents by strain YL when ammonia, nitrite and nitrate were used as the sole N-sources

NH_4^+ -N 明显增大, 反应 38 h 达到最大生成量 153.74 μg , 而后逐渐降低。从气相组分变化情况来看, N_2O 大量生成发生在 O_2 迅速降低后, 因此除了高浓度 NO_2^- -N 对 Nos 抑制外, 低 DO 也是导致 N_2O 大量增加的原因之一。

2.3.3 以硝酸盐氮为唯一氮源时脱氮产物生成情况

以 NO_3^- -N 为唯一氮源时, 图 4(c) 显示反应 48 h 菌株 YL 消耗 74.29% 的 O_2 , 反应结束气相中残留 25.71% 的 O_2 。菌株 YL 在反应前期 N_2 生成速率缓慢, 反应 24 h 生成量仅为 1.02 mg, 24 h 后 N_2 生成速率明显加快并在 48 h 达到最大。从 N_2 生成速率上看, 相较于 NO_2^- -N 和 NH_4^+ -N, 以 NO_3^- -N 为氮源时 N_2 生成明显滞后, 菌株 YL 反硝化活性可能受到游

离亚硝酸的抑制,这与 NO_3^- -N反硝化过程较高的 NO_2^- -N累积相一致.此外,菌株 YL 以 NO_3^- -N为氮源时 N_2O 生成量在3种氮源中最大,反应24 h后 N_2O 释放急剧增加,在46 h达到最大值293.98 μg ,此现象与 NO_2^- -N为氮源时类似,均是随 O_2 显著降低后快速升高.

2.3.4 环境因子对 N_2O 生成的影响

(1)碳源 如图5(a)所示,在柠檬酸钠、蔗糖、葡萄糖、乙酸钠和琥珀酸钠这5种碳源条件下,菌株 YL 的 N_2O 生成量大致相同,分别为4.77、3.68、3.73、4.14和3.92 μg ,其中利用柠檬酸钠等有机酸时生成量略大.前期研究表明碳源的化学结构以及分子质量会对菌株 YL 异养硝化性能造成影响,小

分子有机酸为碳源条件时的异养硝化效果显著优于大分子糖类为碳源时的情况^[8].通过计算,糖类培养基中 N_2O 释放因子(1.21‰~1.93‰)相对其它几种有机酸碳源(0.42‰~0.53‰)更大,原因可能是可利用碳源不足时, N_2O 还原酶相比其它反硝化酶的得电子能力相对较弱^[22].因此,在以有机酸为碳源时,菌株 YL 不仅能更好地进行异养硝化作用,且 N_2O 释放量低.

(2) C/N 如图5(b)所示,在低 C/N 条件($\text{C/N}=2$ 和5), N_2O 生成量较低,菌株 YL 的 N_2O 生成量随 C/N 比升高而增大.当 C/N 比从2增到15时, N_2O 生成量从1.85 μg 大幅增加至35.20 μg ,说明高 C/N 比会促进 N_2O 的生成.而 C/N 为2和5时的

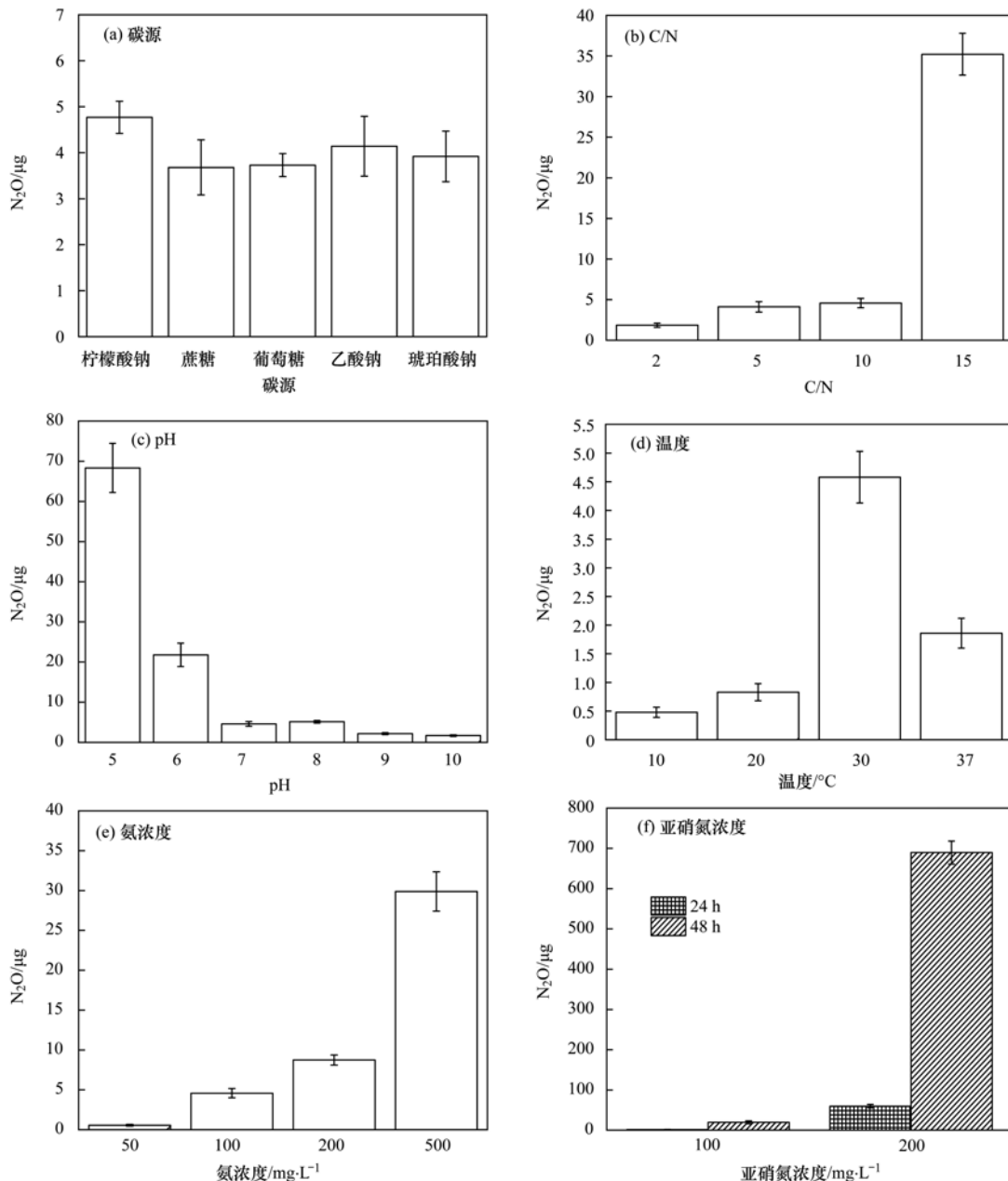


图5 环境因子对菌株 YL 异养硝化-好氧反硝化过程 N_2O 产生的影响

Fig. 5 Effects of environmental factors on N_2O production during heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of strain YL

N_2O 释放因子分别为 0.51‰ 和 0.64‰, 均高于 $C/N = 10$ 时的情况 (0.49‰), 可能是由于低 C/N 比条件反硝化不完全和中间产物积累等原因。此外, 当 $C/N = 15$, 菌株 YL 的 N_2O 生成量和释放因子 (3.90‰) 均大幅增加, 这一结果与 C/N 高于 10 会导致脱氮过程中 N_2O 释放增加的结论一致^[23]。

(3) pH 菌株 YL 在不同 pH (5 ~ 10) 条件下的 N_2O 生成情况如图 5 (c) 所示, 反应 24 h 后 N_2O 生成量分别为 68.35、21.78、4.58、5.13、2.16 和 1.68 μg , 对应的 N_2O 释放因子分别为 7.74‰、2.38‰、0.49‰、0.52‰、0.22‰ 和 0.21‰。菌株 YL 的 N_2O 生成量随 pH 降低而逐渐增加, 这与 Kesik 等^[24] 研究结论较为一致, 菌株 *Alcaligenes faecalis* sp. 的 N_2O 生成随 pH 降低而逐渐减少, 但当 pH 降低至 ≤ 4 时却急剧增加, 主要原因在于酸性条件下化学反硝化作用 (如亚硝酸盐的化学降解等) 大大加强。因此, 酸性条件下 N_2O 的大量生成可能主要归因于生物反硝化抑制作用和化学反硝化作用^[8, 24]。

(4) 温度 不同温度条件菌株 YL 的 N_2O 生成量如图 5 (d) 所示, 低温条件 N_2O 释放量少, 20℃ 时, N_2O 生成量及其释放因子仅为 0.83 μg 和 0.09‰, 这可能是反硝化速率慢导致 N_2O 生成量下降或低温条件下 N_2O 溶解度提高所致。随着温度升高到 30℃, YL 的 N_2O 生成量达到最大 4.58 μg , 对应的 N_2O 释放因子为 0.49‰。当温度进一步提高到 37℃ 时, 分离菌株的 N_2O 生成量有所下降, 为 1.86 μg , N_2O 释放因子 (0.19‰) 也随之下降。温度对菌株 YL 的 N_2O 生成及释放的影响可能是由于不同温度下酶活性和代谢途径改变、酶系间对于电子供体的竞争以及酶促减缓等原因^[25 ~ 27]。

(5) 氨氮浓度 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度被认为是导致 N_2O 大量生成的主要因素之一。如图 5 (e) 所示, 菌株 YL 在 48 h 的 N_2O 生成量随 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 起始浓度的升高而增加, 50 ~ 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下分别为 0.55、4.58、8.73 和 29.89 μg 。此外, 氨氮浓度为 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下 N_2O 释放因子接近于 0.10‰, 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时增加至 0.49‰, 随着 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度升高至 200 和 500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, YL 的 N_2O 释放因子提高到 0.50‰ 和 1.28‰。高 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 条件较多的 N_2O 释放主要是由于碱性环境和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 积累^[15, 28], 但仍显著低于短程硝化系统 (400 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下的 N_2O 释放量为 6.4 mg)^[29] 和自养硝化系统 (500 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下的 N_2O 释放量为 33.8 mg)^[30]。因此, 相比于常规脱氮系统, 菌株 YL 不仅能抵抗高氨氮浓度的冲击^[8], 而且能够有效控制污水处理过程中 N_2O 等温室气体的排放。

(6) 亚硝酸盐氮 如图 5 (f) 所示, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度对试验菌株 N_2O 的产生影响显著, 当 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度由 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 反应 24 h 菌株 YL 的 N_2O 生成量由 1.49 μg 增长至 59.80 μg , 释放因子从 0.15‰ 增加到 5.98‰; 48 h 的 N_2O 生成量由 19.51 μg 显著提高至 689.42 μg , 释放因子从 3.14‰ 增长至 37.19‰。急剧增长的 N_2O 释放量可能是由于高浓度 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 易对反硝化酶系中的氧化亚氮还原酶产生毒害作用, 导致 N_2O 无法还原而大量积累^[31]。

3 结论

(1) 菌株 YL 具有高效的异养硝化和好氧反硝化能力, 24 h 培养期 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 能够完全去除, 且异养硝化过程几乎无中间产物生成。同时, 反硝化功能基因 *napA*、*nirK* 和 *nosZ* 基因 PCR 的成功表达, 从分子水平进一步证实菌株 YL 具有异养硝化和好氧反硝化特性。

(2) 菌株 YL 的脱氮产物主要为 N_2 , 仅有微量的 N_2O 生成。以 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 分别为唯一氮源时, 菌株 YL 的 N_2 生成量分别为 3.46、3.49 和 3.36 mg , N_2O 生成量分别为 6.63、153.74 和 293.98 μg , 气态氮产物约占去除 TN 的 30% ~ 40%。

(3) 在好氧条件下, 控逸氧化亚氮释放的最佳工艺条件是: 琥珀酸钠为碳源, C/N 为 10, pH 为 10, 温度为 20℃。此外, 高 C/N 、低 pH、高温、氨氮和亚硝酸盐氮积累等条件会促进 N_2O 的生成, 但大部分条件对 N_2O 生成量影响较小, 且最高生成量显著低于短程硝化系统和自养硝化系统, 表明试验菌株具有良好的控逸 N_2O 释放的能力。

参考文献:

- [1] Hospido A, Moreira M T, Fernández-Couto M, et al. Environmental performance of a municipal wastewater treatment plant[J]. The International Journal of Life Cycle Assessment, 2004, 9: 261-271.
- [2] 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.
- [3] Yao S, Ni J R, Chen Q, et al. Enrichment and characterization of a bacteria consortium capable of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification at low temperature [J]. Bioresource Technology, 2013, 127: 151-157.
- [4] Guo L Y, Chen Q K, Fang F, et al. Application potential of a newly isolated indigenous aerobic denitrifier for nitrate and ammonium removal of eutrophic lake water [J]. Bioresource Technology, 2013, 142: 45-51.
- [5] 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.
- [6] Zheng M S, He D, Ma T, *et al.* Reducing NO and N₂O emission during aerobic denitrification by newly isolated *Pseudomonas stutzeri* PCN-1[J]. *Bioresource Technology*, 2014, **162**: 80-88.
- [7] 陈杰, 汪霞, 赵彬, 等. *A. faecalis* strain NR 的包埋固定及其氨氮降解性能[J]. *环境工程学报*, 2015, **10**(6): 3303-3311.
- Chen J, Wang X, Zhao B, *et al.* Embedding immobilization of *A. faecalis* strain NR and its capability of ammonium removal[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2015, **10**(6): 3303-3311.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [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] Lv Y T, Ju K, Sun T, *et al.* Effect of the dissolved oxygen concentration on the N₂O emission from an autotrophic partial nitrification reactor treating high-ammonium wastewater[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016, **114**: 209-215.
- [12] Su J J, Yeh K S, Tseng P W. A strain of *Pseudomonas* sp. isolated from piggery wastewater treatment systems with heterotrophic nitrification capability in Taiwan[J]. *Current Microbiology*, 2006, **53**(1): 77-81.
- [13] Jin R F, Liu T Q, Liu G F, *et al.* Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the marine origin bacterium *Pseudomonas* sp. ADN-42[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2015, **175**(4): 2000-2011.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 陈茂霞, 王欢, 周后珍, 等. 异养硝化-好氧反硝化菌 HN-02 的筛选及其特性[J]. *应用与环境生物学报*, 2013, **19**(4): 688-693.
- Chen M X, Wang H, Zhou H Z, *et al.* Screening and characteristics of heterotrophic nitrification - aerobic denitrification strain HN-02[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2013, **19**(4): 688-693.
- [17] 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.
- [18] Huang F, Pan L Q, Lv N, *et al.* Characterization of novel *Bacillus* strain N31 from mariculture water capable of halophilic heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2017, **124**(5): 564-571.
- [19] Ji B, Wang H Y, Yang K. Tolerance of an aerobic denitrifier (*Pseudomonas stutzeri*) to high O₂ concentrations[J]. *Biotechnology Letters*, 2014, **36**(4): 719-722.
- [20] Guo Y, Zhou X M, Li Y G, *et al.* Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Halomonas campisalis* [J]. *Biotechnology Letters*, 2013, **35**(12): 2045-2049.
- [21] Qu D, Wang C, Wang Y, *et al.* Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel groundwater origin cold-adapted bacterium at low temperatures[J]. *RSC Advances*, 2015, **5**: 5149-5157.
- [22] Zhang X W, Wang X Q, Zhang J, *et al.* Reduction of nitrous oxide emissions from partial nitrification process by using innovative carbon source (mannitol) [J]. *Bioresource Technology*, 2016, **218**: 789-795.
- [23] Otte S, Schalk J, Kuenen J G, *et al.* Hydroxylamine oxidation and subsequent nitrous oxide production by the heterotrophic ammonia oxidizer *Alcaligenes faecalis* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1999, **51**(2): 255-261.
- [24] Kesik M, Blagodatsky S, Papen H, *et al.* Effect of pH, temperature and substrate on N₂O, NO and CO₂ production by *Alcaligenes faecalis* p. [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, **101**(3): 655-667.
- [25] Li H, Pan M L, Zhou S F, *et al.* Characterization of nitrous oxide emissions from a thermophilic denitrifying bacterium *Chelatococcus daeguensis* TAD1 in an aerated sequencing batch reactor[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2016, **112**: 233-240.
- [26] Adouani N, Limousy L, Lendormi T, *et al.* N₂O and NO emissions during wastewater denitrification step: influence of temperature on the biological process[J]. *Comptes Rendus Chimie*, 2015, **18**(1): 15-22.
- [27] Wang X J, Yang X R, Zhang Z J, *et al.* Long-term effect of temperature on N₂O emission from the denitrifying activated sludge[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, **117**(3): 298-304.
- [28] Zhao B, An Q, He Y L, *et al.* N₂O and N₂ production during heterotrophic nitrification by *Alcaligenes faecalis* strain NR[J]. *Bioresource Technology*, 2012, **116**: 379-385.
- [29] 吴娟, 张建, 贾文林, 等. 人工湿地污水处理系统中氧化亚氮的释放规律研究[J]. *环境科学*, 2009, **30**(11): 3146-3151.
- Wu J, Zhang J, Jia W L, *et al.* Nitrous oxide fluxes of constructed wetlands to treat sewage wastewater [J]. *Environmental Science*, 2009, **30**(11): 3146-3151.
- [30] Kong Q. Impact of ammonium and salinity concentrations on nitrous oxide emission in partial nitrification system[J]. *KSCE Journal of Civil Engineering*, 2015, **19**(4): 873-879.
- [31] Alinsafi A, Adouani N, Béline F, *et al.* Nitrite effect on nitrous oxide emission from denitrifying activated sludge[J]. *Process Biochemistry*, 2008, **43**(6): 683-689.

CONTENTS

Influencing Factors of Long-term Variations on Gridded PM _{2.5} of Typical Regions in China Based on GAM Model	NAN Yang, ZHANG Qian-qian, ZHANG Bi-hui (499)
Gridded Atmospheric Emission Inventory of PCDD/Fs in China	CHEN Lu-lu, HUANG Tao, CHEN Kai-jie, <i>et al.</i> (510)
Spatio-Temporal Variations and Source Apportionment of Carbonaceous Species in PM _{2.5} Across Multiple Sampling Locations in the Chengdu Plain	SHI Fang-tian, LUO Bin, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (520)
Diurnal Variations and Source Apportionment of Water-soluble Ions in PM _{2.5} During Winter in Nanjing Jiangbei New Area	QIU Chen-chen, YU Xing-na, DING Cheng, <i>et al.</i> (529)
Characterization, Seasonal Variation, and Source Apportionments of Particulate Amines (PM _{2.5}) in Northern Suburb of Nanjing	LI Xu-jie, SHI Xiao-wen, MA Yan, <i>et al.</i> (537)
Pollution Characteristics and Source Apportionment of <i>n</i> -Alkanes and PAHs in Summertime PM _{2.5} at Background Site of Yangtze River Delta	XUE Guo-yan, WANG Ge-hui, WU Can, <i>et al.</i> (554)
Source Apportionment and Health Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in PM _{2.5} in Changchun City, Autumn of 2017	ZHANG Yi-xuan, CAO Fang, ZHENG Han, <i>et al.</i> (564)
Heavy Pollution Characteristics and Assessment of PM _{2.5} Predicted Model Results in Beijing-Tianjin-Hebei Region and Surrounding Areas During November 23 to December 4, 2018	ZHU Yuan-yuan, GAO Yu-xiao, CHAI Wen-xuan, <i>et al.</i> (574)
Analysis of Characteristics and Meteorological Influence Factors of Ozone Pollution in Henan Province	QI Yan-jie, YU Shi-jie, YANG Jian, <i>et al.</i> (587)
Spatio-Temporal Distribution and Variation Characteristics of Aerosol Optical Properties in Henan Province	ZHANG Rui-fang, YU Xing-na (600)
Analysis of Water Soluble Organic Aerosol in Spring PM _{2.5} with Soot Particle Aerosol Mass Spectrometry (SP-AMS)	HUANG Wen-qian, CHEN Yan-tong, LI Xu-dong, <i>et al.</i> (609)
Temporal Evolution and Main Influencing Factors of Black Carbon Aerosol in Nanjing	YANG Xiao-min, SHI Shuang-shuang, ZHANG Chen, <i>et al.</i> (620)
Pollution Characteristics and Ozone Formation Potential of Ambient Volatile Organic Compounds(VOCs) in Summer and Autumn in Different Functional Zones of Lianyungang, China	QIAO Yue-zhen, CHEN Feng, LI Hui-peng, <i>et al.</i> (630)
Operation and Maintenance of Cost-Effective Volatile Organic Compounds Abatement Alternatives	QIANG Ning, SHI Tian-zhe, MIAO Hai-chao (638)
Pollution and Deposition Characteristics of Precipitation and Its Source Apportionment in Xi'an City	DING Cheng, YU Xing-na, HOU Si-yu (647)
Bacterial Diversity and Community Structure Antibiotic-resistant Bacteria in Bioaerosol of Animal Farms	SHA Yun-fei, SUN Xing-bin, XIN Wen-peng, <i>et al.</i> (656)
Vehicle Emission Inventory and Scenario Analysis in Liaoning from 2000 to 2030	JIN Jia-xin, SUN Shi-da, WANG Peng, <i>et al.</i> (665)
VOCs Emission Characteristics of DPF Regeneration in National VI Diesel Engine	QIAN Feng, XUE Chang-xin, XU Xiao-wei, <i>et al.</i> (674)
Characteristics and Significance of Stable Isotopes and Hydrochemistry in Surface Water and Groundwater in Nanxiaohegou Basin	GUO Ya-wen, TIAN Fu-qiang, HU Hong-chang, <i>et al.</i> (682)
Spatio-Temporal Distribution and Risk Assessment of Heavy Metals in Middle and Lower Reaches of Le'an River	YU Yang, LÜ Ya-ning, WANG Wei-jie, <i>et al.</i> (691)
Spatio-temporal Evolution and Relationship of Water Environment Quality and Phytoplankton Community in Wenyu River	ZHU Li-ying, CHEN Yuan-yuan, LIU Jing, <i>et al.</i> (702)
High-Frequency Dynamics of Water Quality and Phytoplankton Community in Inflowing River Mouth of Xin'anjiang Reservoir, China	DA Wen-yi, ZHU Guang-wei, LI Yun-xiang, <i>et al.</i> (713)
Phosphorus Storage Capacity and Loss Risk in Coastal Reed Wetland Surrounding Bohai Sea	SONG Jia-wei, XU Gang, ZHANG Yang, <i>et al.</i> (728)
Spatio-Temporal Variation of Release Flux of Sediment Nitrogen and Phosphorus in High-Risk Period of Algal Bloom in Lake Erhai	LIU Si-ru, ZHAO Ji-dong, XIAO Shang-bin, <i>et al.</i> (734)
Fluorescence Characteristics and Source Analysis of DOM in Snowfall of Xi'an	YANG Yi, HAN Li-yuan, LIU Huan-wu, <i>et al.</i> (743)
Performance Assessment of Permeable Interlocking Concrete Pavement Facility Structure	ZHANG Jia-wei, LIU Yong, JIN Jian-rong, <i>et al.</i> (750)
Photocatalytic Degradation of Rhodamine B with Micro-SiC/Graphene Composite Under Visible Light Irradiation	ZHU Hong-qing, YANG Bing, WEI Shi-qiang, <i>et al.</i> (756)
Removal of BPA and EE2 from Water by Mn-Fe Embedded in Acicular Mullite	ZHOU Qiu-hong, LONG Tian-yu, HE Jing, <i>et al.</i> (763)
Fabrication of La-MHTC Composites for Phosphate Removal; Adsorption Behavior and Mechanism	SONG Xiao-bao, HE Shi-ying, FENG Yan-fang, <i>et al.</i> (773)
Adsorption of Low-Concentration Phosphorus from Water by Composite Metal Modified Biochar	SUN Ting-ting, GAO Fei, LIN Li, <i>et al.</i> (784)
Phosphate Adsorption from Water on CaO ₂ -loaded Magnetic Diatomite	XU Chu-tian, LI Da-peng, ZHANG Shuai, <i>et al.</i> (792)
Phosphorus Forms and Release Risk of Sediments in Urban Sewage Treatment Plant Effluent and Receiving Stream Reach	TANG Ning, LI Ru-zhong, WANG Yu-qing, <i>et al.</i> (801)
Purification Characteristics of Urban Tail Water from Sewage Treatment Plant by Biofilm Ecological Floating Bed	ZHAO Zhi-rui, ZHANG Jia-yao, LI Duo, <i>et al.</i> (809)
Removal Performance of Antibiotic Resistance Genes and Heavy Metal Resistance Genes in Municipal Wastewater by Magnetic-Coagulation Process	YU Wen-chao, ZHENG Li-bing, WEI Yuan-song, <i>et al.</i> (815)
Effect of Tetracycline Antibiotic on Abundance and Transcriptional Expression Level of Tetracycline Resistance Genes in Activated Sludge	RUAN Xiao-hui, QIAN Ya-jie, XUE Gang, <i>et al.</i> (823)
Denitrification Process and N ₂ O Production Characteristics of Heterotrophic Nitrifying Bacterium <i>Pseudomonas aeruginosa</i> YL	YANG Lei, CUI Shen, REN Yong-xiang, <i>et al.</i> (831)
Environmental Factors Influence and Microbial Community Structure Analysis of Entrapped Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria	WANG Xiao-tong, YANG Hong, SU Yang, <i>et al.</i> (839)
Research on Denitrification Performance of Enhanced Secondary Effluent by Embedded Denitrification Filler and Pilot Application	ZHOU Ya-kun, YANG Hong, WANG Shao-lun, <i>et al.</i> (849)
Temporal Anaerobic Effect on Aerobic Granular Sludge with Intermittent Influent-Intermittent Aeration	ZHANG Jie, WANG Yu-ying, LI Dong, <i>et al.</i> (856)
Simultaneous Short-Cut Nitrification-Denitrification Phosphorus Removal Granules Induced by Phosphorus Removal Granules	LI Dong, LIU Bo, WANG Wen-qi, <i>et al.</i> (867)
Spatial Distribution Characteristics and Pollution Assessment of Heavy Metals on Farmland of Geochemical Anomaly Area in Southwest Guangxi	WANG Fo-peng, XIAO Nai-chuan, ZHOU Lang, <i>et al.</i> (876)
Evaluation and Source of Heavy Metal Pollution in Surface Soil of Qinghai-Tibet Plateau	YANG An, WANG Yi-han, HU Jian, <i>et al.</i> (886)
Characteristics and Factors of Soil Enzyme Activity for Different Plant Communities in Yellow River Delta	MO Xue, CHEN Fei-jie, YOU Chong, <i>et al.</i> (895)
Effects of Management Measures on Soil Water-soluble Carbon and Nitrogen and Their Three-Dimensional Fluorescence Characteristics of <i>Pinus tabulaeformis</i> Plantations on Loess Plateau	SONG Ya-hui, ZHANG Jiao-yang, LIU Hong-fei, <i>et al.</i> (905)
Effects of Biochar Input on Changes of Available Nutrient Elements in Riparian Soils with Different Landuse Types	ZHOU Hui-hua, YUAN Xu-yin, XIONG Yu-ting, <i>et al.</i> (914)
Effect of Applying Hydrochar for Reduction of Ammonia Volatilization and Mechanisms in Paddy Soil	YU Shan, XUE Li-hong, HUA Yun, <i>et al.</i> (922)
Effects of Mycorrhizal Fungi on Nitrification and Denitrification in the Rhizospheric Soil of Aquatic Plants and Its Microbial Mechanism	LIU Duo, WANG Lei, CAO Zhan-bo, <i>et al.</i> (932)
Comparison of Floating Chamber and Diffusion Model Methods for Measuring Methane Emissions from Inland Fish-Aquaculture Ponds	HU Tao, HUANG Jian, DING Ying, <i>et al.</i> (941)
Simultaneous Quantitative Detection of Thirteen Common Antibiotics in Leafy Vegetables by Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry	CHEN Qian, LIU Yang, XIAO Li-jun, <i>et al.</i> (952)
Accumulation and Translocation of Cd in <i>Brassica rapa</i> Under the Influence of Selenium	YU Yao, LUO Li-yun, LIU Zhe, <i>et al.</i> (962)
Tolerance Mechanism and Cadmium Enrichment Abilities in Two <i>Brassica napus</i> L. Cultivars	BIAN Jian-lin, GUO Jun-mei, WANG Xue-dong, <i>et al.</i> (970)
Enhanced Phytoextraction of Cadmium Contaminated Soil by <i>Trifolium Repens</i> with Biodegradable Chelate GLDA	HE Yu-long, YU Jiang, XIE Shi-qian, <i>et al.</i> (979)
Heavy Metal Contents in Animal Manure in China and the Related Soil Accumulation Risks	MU Hong-yu, ZHUANG Zhong, LI Yan-ming, <i>et al.</i> (986)
Microbial Community Succession in Industrial Composting with Livestock Manure and Peach Branches and Relations with Environmental Factors	CAI Han-bing, FENG Wen-wen, DONG Yong-hua, <i>et al.</i> (997)
Degradation Characteristics of Antibiotics During Composting of Four Types of Feces	ZHU Wei-jing, ZHU Feng-xiang, WANG Wei-ping, <i>et al.</i> (1005)