

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第6期

Vol.38 No.6

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

PM _{2.5} 浓度空间分异模拟模型对比:以京津冀地区为例	吴健生,王茜,李嘉诚,涂媛杰 (2191)
北京地区近35年大气污染扩散条件变化	郭淳薇,孙兆彬,李梓铭,张小玲,杨慧玲 (2202)
北京市典型区域夏季降水及其对大气污染物的影响	韩力慧,张海亮,向欣,张鹏,程水源,魏巍 (2211)
北京山谷风环流特征分析及其对PM _{2.5} 浓度的影响	董群,赵普生,王迎春,苗世光,高健 (2218)
北京市建筑施工扬尘排放特征	薛亦峰,周震,黄玉虎,王堃,聂滕,聂磊,秦建平 (2231)
生物质成型燃料锅炉挥发性有机物排放特征	吴昌达,张春林,白莉,沈丽冉,王伯光,刘军,杨立辉 (2238)
广州番禺大气成分站复合污染过程VOCs对O ₃ 与SOA的生成潜势	邹宇,邓雪娇,李菲,殷长泰 (2246)
南京北郊大气臭氧周末效应特征分析	王俊秀,安俊琳,邵平,邹嘉南,林旭,张玉欣 (2256)
亚热带稻区大气氨/铵态氮污染特征及干湿沉降	王杰飞,朱潇,沈健林,曾冠军,王娟,吴金水,李勇 (2264)
宣威肺癌高发区燃煤排放颗粒物中铁的价态及其氧化性	王强翔,谭正莹,赵慧,李继华,田林玮,王青曜,米持真一,吕森林 (2273)
垃圾焚烧厂区二噁英污染及厂区工人呼吸暴露评估	杜国勇,汪倩,张姝琳,张素坤,邓春萍,张洪铭,朱盟翔,蒋昕,朱成旺,任燕玲 (2280)
重庆市新型干法水泥厂汞排放特征	张成,张雅惠,王永敏,王定勇,罗程钟,徐凤,何秀清 (2287)
轻型汽油车简易瞬态工况法与定容全流稀释采样法(CVS)的排放相关性	王鸿宇,黄成,胡馨遥,李莉,陈勇航,徐健 (2294)
不同排放标准公交车燃用生物柴油颗粒物排放特性	楼狄明,赵成志,徐宁,谭丕强,胡志远 (2301)
西江水氢氧同位素组成的空间变化及环境意义	许琦,李建鸿,孙平安,何师意,于爽 (2308)
基于SWAT与DNDC模型对比研究亚热带流域氮淋溶与输出过程	韩宁,陈维梁,高扬,郝卓,于贵瑞 (2317)
三峡库区澎溪河与磨刀溪电导率等水质特征与水华的关系比较	姜伟,周川,纪道斌,刘德富,任豫霜,Douglas Haffner,谢德体,张磊 (2326)
滇池草海间隙水与上覆水氮磷时空变化特征	王一茹,王圣瑞,焦立新,张云,高秋生,杨枫 (2336)
香溪河沉积物、间隙水的磷分布特征及释放通量估算	罗玉红,聂小倩,李晓玲,戴泽龙,胥焘,黄应平 (2345)
大冶湖表层水和沉积物中重金属污染特征与风险评价	张家泉,田倩,许大毛,占长林,刘婷,姚瑞珍,刘先利,肖文胜 (2355)
海水淡化低温多效蒸馏工艺(LT-MED)沿程溴代消毒副产物的生成	齐菲,孙迎雪,杨哲,胡春芳,常学明,胡洪营 (2364)
两种水体铜配合容量测试方法的适用性比较及应用	王晨烨,姜括,谢文龙,汪磊 (2373)
高地下水位地区透水铺装控制径流污染的现场实验	金建荣,李田,时珍宝 (2379)
稳定型纳米零价铁去除地下水中2,4-二氯苯酚	张永祥,常杉,李飞,徐毅,高维春 (2385)
超声、紫外增强H ₂ O ₂ /KI降解磺胺甲基嘧啶	魏红,孙博成,杨小雨,李克斌 (2393)
不同铅负载量改性膨润土对水中磷酸盐吸附作用的对比	姜博汇,林建伟,詹艳慧,邢云青,黄宏,储鸣,王星星 (2400)
铁炭内电解垂直流人工湿地对污水厂尾水深度脱氮效果	郑晓英,朱星,周翔,徐亚东,王菊,韦诚,高雅洁,周橄 (2412)
组合生物滤池对养殖废水的净化效率及影响因素分析	张世羊,张胜花,张翔凌,王广军 (2419)
温度对聚磷菌活性及基质竞争的影响	张玲,彭党聪,常蝶 (2429)
海洋厌氧氨氧化菌的富集培养及其脱氮特性	冯莉,于德爽,李津,单晓静,杨振琳 (2435)
不同生物过滤系统铵态氮转化速率及生物膜特性分析	周洪玉,韩梅琳,仇天雷,高敏,孙兴滨,王旭明 (2444)
磷酸盐对厌氧氨氧化活性污泥脱氮效能的影响	周正,刘凯,王凡,林兴,李祥,黄勇,顾澄伟 (2453)
碳源胁迫下脱氮除磷颗粒污泥性能变化及其机制	秦诗友,陈威,马兆瑞,刘小英,陈晓国,余文韬,夏媛媛,黄健 (2461)
外源Ca ²⁺ 对SBR启动期活性污泥胞外多聚物的动态影响	任丽飞,杨新萍,张雯雯 (2470)
膨胀污泥中丝状菌的分离鉴定与特性分析	张崇森,牛全睿,徐丽梅,王陇梅,王岱,武少华 (2477)
反硝化悬浮填料适用性及其微生物群落结构解析	谭阳,李激,徐巧,付磊,尤世界,王硕 (2486)
硫代硫酸钠对排硫硫杆菌固碳能力的影响及其作用机制	李欢,王磊,王亚楠 (2496)
关帝山森林土壤真菌群落结构与遗传多样性特征	乔沙沙,周永娜,柴宝峰,贾彤,李鑫 (2502)
基于受体模型与地统计的城市居民区土壤重金属污染源解析	陈秀端,卢新卫 (2513)
基于蒙特卡罗模拟的土壤环境健康风险评价:以PAHs为例	佟瑞鹏,杨校毅 (2522)
Eh、pH和铁对水稻土钾释放的影响机制	钟松雄,尹光彩,陈志良,林亲铁,黄润林,刘德玲,彭焕龙,黄玲,王欣,蒋晓璐 (2530)
典型土壤不同提取态Cd与水稻吸收累积的关系	陈齐,邓潇,陈珊,侯红波,彭佩钦,廖柏寒 (2538)
复合改良剂对Cd污染稻田早晚稻产地修复效果	陈立伟,杨文骏,辜娇峰,周航,高子翔,廖柏寒 (2546)
两种钝化剂对土壤Pb、Cd、As复合污染的菜地修复效果	田桃,雷鸣,周航,杨文骏,廖柏寒,胡立琼,曾敏 (2553)
大豆和小麦根系对非的吸持作用及其生物有效性	王红菊,李倩倩,沈羽,顾若尘,盛好,占新华 (2561)
源自腐殖土的溶解性有机质组分对棕壤和黑土吸附苯并三唑的影响	杨宁伟,毕二平 (2568)
地形、树种和土壤属性对喀斯特山区土壤胞外酶活性的影响	罗攀,陈浩,肖孔操,杨利琼,文丽,李德军 (2577)
长期定位有机物料还田对关中平原冬小麦-玉米轮作土壤N ₂ O排放的影响	郝耀旭,刘继璇,袁梦轩,周应田,杨学云,顾江新 (2586)
基于大气被动式采样的人体头发中类二噁英多氯联苯暴露的途径	袁浩东,白瑶,李秋旭,王英,金军 (2594)
广西刁江野生鱼类重金属积累特征及其健康风险评价	王俊能,马鹏程,张丽娟,陈棉彪,黄楚珊,柳晓琳,胡国成,许振成 (2600)
活性炭在中高温条件下对玉米秸秆厌氧发酵的影响	甘荣,葛明民,刘勇迪,贾红华,闫志英,雍晓雨,吴夏芫,周俊 (2607)
工艺过程源和溶剂使用源挥发性有机物排放成分谱研究进展	王红丽,杨肇勋,景盛翱 (2617)
《环境科学》征稿简则(2452) 《环境科学》征订启事(2560) 信息(2201, 2230, 2384)	

活性炭在中高温条件下对玉米秸秆厌氧发酵的影响

甘荣^{1,2}, 葛明民^{1,2}, 刘勇迪^{1,2}, 贾红华^{1,2}, 闫志英³, 雍晓雨^{1,2}, 吴夏芫^{1,2}, 周俊^{1,2*}

(1. 南京工业大学生物与制药工程学院, 南京 211816; 2. 南京工业大学生物能源研究所, 南京 211816; 3. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041)

摘要: 为提高玉米秸秆厌氧发酵的产气效果, 本文研究活性炭在中温(38℃)和高温(50℃)条件下对玉米秸秆厌氧发酵产甲烷的效果及微生物学机制。结果表明, 添加活性炭能显著促进秸秆厌氧发酵产甲烷, 中、高温试验组(添加活性炭)的累积产甲烷量分别比对照提高了63%和96%; DGGE的结果显示, 高温试验组(添加活性炭)和对照组(未添加活性炭)的发酵液中的优势细菌菌群分别是 *Clostridiales bacterium* 和 *Bacillus*, 中温对照组发酵液和中温试验组发酵液未发现明显优势菌种。添加活性炭分别有利于氢营养型的甲烷鬃毛菌(*Methanosaeta concilii* strain)和乙酸营养型的醋酸甲烷八叠球菌(*Methanosarcina acetivorans* strain), 在中温、高温试验组的发酵液中形成优势古菌菌群。中温试验组活性炭载体上的优势古菌菌群为甲烷鬃毛菌(*Methanosaeta concilii* strain), 而高温试验组活性炭载体上的优势古菌菌群主要为甲烷八叠球菌嗜高温菌属(*Methanosarcina thermophila* strain)。

关键词: 玉米秸秆; 活性炭; 厌氧发酵; 优势菌种; 载体

中图分类号: X712 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)06-2607-10 DOI: 10.13227/j.hjks.201607207

Effect of Activated Carbon Addition on the Anaerobic Fermentation of Corn Straw in Mesophilic and Thermophilic Conditions

GAN Rong^{1,2}, GE Ming-min^{1,2}, LIU Yong-di^{1,2}, JIA Hong-hua^{1,2}, YAN Zhi-ying³, YONG Xiao-yu^{1,2}, WU Xia-yuan^{1,2}, ZHOU Jun^{1,2*}

(1. College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Technology University, Nanjing 211816, China; 2. Bioenergy Research Institute, Nanjing Technology University, Nanjing 211816, China; 3. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract: In order to improve the methane production and concentration, effect of activated carbon addition on the anaerobic fermentation of corn straw under the conditions of mesophilic temperature (38℃) and thermophilic temperature (50℃) was investigated in this study. The results showed that the addition of activated carbon could significantly promote methane production. Compared with the control group in mesophilic and thermophilic conditions, cumulative methane production could be increased by 63% and 96% in test groups. By DGGE analysis, the bacterium enriched by addition of activated carbon was mainly *Clostridiales bacterium*, compared to *Bacillus* (without adding activated carbon) in the thermophilic system, while the differences in fermentation with adding activated carbon and without adding activated carbon was not significant in the mesophilic system. With addition of activated carbon, the archaea enriched in the fermentation liquid was mainly *Methanosaeta concilii* in the mesophilic system, whereas the archaea enriched in the fermentation liquid was mainly *Methanosarcina acetivorans* in the thermophilic system. The archaea enriched on activated carbon was mainly *Methanosaeta concilii* at mesophilic temperature, while the archaea enriched on activated carbon was mainly *Methanosarcina thermophila* at thermophilic temperature.

Key words: corn straw; activated carbon; anaerobic fermentation; dominant bacteria; carrier

我国是农业大国, 每年秸秆产量约8亿t^[1], 其中, 玉米秸秆产量占35%左右, 大量秸秆随地堆弃和任意焚烧, 既污染环境, 又造成了资源的浪费。玉米秸秆的资源化利用已成为大家关注的问题, 已有许多专家提出玉米秸秆还田、气化等解决方法^[2], 但这些方法成本较高, 很难大范围推广。厌氧消化技术是一种有效地利用玉米秸秆的途径, 不仅可以缓解我国的能源危机, 也有利于保护生态环境。

玉米秸秆厌氧发酵过程中存在诸多问题, 如玉米秸秆分解慢、降解率低、产气率低、能耗高等^[3],

其原因是由于玉米秸秆中木质纤维素含量高, 表面有一层蜡质影响厌氧发酵效率。通过了解国内外的研究现状可知, 利用不同手段, 如物理预处理、化学、生物预处理、不同生物质混合发酵等方法, 都

收稿日期: 2016-07-28; 修订日期: 2016-12-30

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2013CB733500); 国家重点研发计划“政府间国际科技创新合作”重点专项(2016YFE0112800); 国家科技支撑计划项目(2014BAC33B00); 国家自然科学基金项目(21307058); 江苏省重点研发计划项目(BE2016389)

作者简介: 甘荣(1993~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为生物能源, E-mail: ganrong@njtech.edu.cn

* 通信作者, E-mail: zhoujun@njtech.edu.cn

可以提高发酵效率^[4,5],但秸秆中木质纤维素转化为沼气的效率仍然较低,因此,秸秆厌氧发酵产沼气过程中存在的问题有待人们更进一步的研究,Eskicioglu 等^[6]通过中温发酵(20~40℃)和高温发酵(45~60℃)比较研究得出中温厌氧发酵中原料转化率低,通过提高温度可提高原料的转化率和沼气产率.王阳等^[7]研究玉米秸秆发酵中添加菌体蛋白和尿素,可抑制秸秆体积的漂浮膨胀,进而提高玉米秸秆的厌氧发酵效率.玉米秸秆厌氧发酵体系中添加外源添加剂能提高厌氧发酵的效率,是一种新途径.Liu 等^[8]将活性炭添加到厌氧发酵系统中,发现可提高废弃物厌氧消化产甲烷的含量.Zhao 等^[9]将活性炭添加到活性污泥厌氧发酵体系,研究发现可以提高甲烷产量以及提高生物质降解率.活性炭的优点是具有多孔结构,比表面积高达 500~1 700 m²·g⁻¹,还具有一定的导热和导电能力,以及一定的机械强度和耐磨性^[10].活性炭中的大孔是微生物的繁殖和栖息之地,可用来富集微生物,不仅是一种添加剂,而且可以作为生物载体促进厌氧发酵.与此相关研究越来越多,然而分析外源添加活性炭提高产气的微生物学机制相对较少.为此,本试验选择活性炭作为添加剂,研究其在玉米秸秆厌氧发酵中的作用,并通过变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析活性炭上和发酵液中的细菌和古菌群落结构的差异,以探讨中温(38℃)、高温(50℃)条件下活性炭加入提高秸秆厌氧发酵产甲烷的效果及微生物学机制.

1 材料与方法

1.1 试验原料

玉米秸秆取自连云港,自然风干后剪切成 3~5 cm,玉米秸秆总固体含量(total solid, TS)为 91.32%,挥发性固体含量(volatile solid, VS)为 90.28%,碳氮比 42:1.活性炭(溧阳竹溪活性炭有限公司)比表面积为 600 m²·g⁻¹,颗粒活性炭 40 目.接种物取自南京工业大学生物能源研究所沼气罐,经 38℃ 驯化至甲烷含量达到 60% 后得到的菌液作为接种物,接种物的 TS 为 6.3%,VS 为 99.3%,碳氮比 25:1.

1.2 厌氧发酵试验

采用 500 mL 的厌氧发酵瓶,有效容积为 400 mL,接种量为 50% (质量分数),活性炭的加入量为 5 g·L⁻¹^[9].设置 4 个处理,处理 1 (中温对照组 R1):38℃,玉米秸秆+接种物;处理 2 (中温试验组

R2):38℃,玉米秸秆+接种物+活性炭;处理 3 (高温对照组 R3):50℃,玉米秸秆+接种物;处理 4 (高温试验组 R4):50℃,玉米秸秆+接种物+活性炭.每个处理设置 3 个重复,通入氮气,密封瓶口,保证整个体系处于无氧状态,厌氧发酵浓度为 8%,周期为 20 d,测量产气量以及气体成分,每日摇晃发酵瓶 3~4 次,每隔 3 天取样一次,用于测定各项指标.

1.3 测定方法

测定指标:总固体及挥发性固体含量根据美国能源部 NREL 原料成分分析方案测定^[11],采用的仪器为箱式炉(KSL-1100X,合肥科晶材料技术有限公司);接种物中总氮采用全自动凯氏定氮仪(海能 K9860)测定,接种物中总碳采用 TOC 仪(SHIMADZU TOC-V CSN)测定;秸秆碳氮比(C/N)由元素分析仪测定(Vario Max CNS, Elementar Americas, Mt. Laurel, NJ USA);纤维素(cellulose)、半纤维素(hemicellulose)和木质素(lignin)含量采用范式法(Van Soest)测定^[12];挥发性有机酸(volatile fatty acid, VFA)采用紫外可见分光光度计(UV-3000,上海美谱达有限公司)进行测定;日产气量采用排水法测定^[13];气体成分采用气相色谱仪测定(SP6800A,山东鲁南瑞虹化仪器有限公司,TCD 检测器,HayeSep Q 多孔高聚物类不锈钢填充柱 ϕ 3 mm×2 m,氦气为载气,流速 52.72 mL·min⁻¹,柱温 45℃,检测器温度 120℃,气化室温度 120℃,进样量 400 μ L)^[14].

活性炭扫描电镜分析:将发酵液中活性炭取出后,用 pH 值为 6.8 的 0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲溶液冲洗 3 次,每次 10 min.然后分别用浓度为 50%、70%、80%、90% 的乙醇进行脱水,接着用 HCP-2 (HITACHI)型临界点干燥仪对样品进行干燥、粘样、喷金,最后采用 IB-5 (Giko)型离子溅射镀膜仪在样品表面镀上一层 1500 nm 的金属膜,扫描电子显微镜(S-3400N3,日本 Hitachi 公司)观察样品^[10,15].

DNA 提取、PCR 扩增和 DGGE 分析:使用 UltraCleanTM Soil DNA Isolation Kit (Mo Bio Laboratories, USA)从 0.5 g 发酵液中提取总 DNA.引物用 338F-GC (CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG)和 518R (ATT ACC GCG GCT GCT GG),PCR 采用 50 μ L 体系,各组分分别为:10×PCR Buffer 5 μ L; dNTP (10 mmol·L⁻¹) 0.5 μ L; Genomic DNA 10 ng; Bar-PCR primer F (50

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 0.5 μL ; Primer R (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 0.5 μL ; Plantium *Taq* (5 U $\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 0.5 μL ; 最后加入灭菌后的双蒸水至 50 μL . PCR 扩增细菌 16S rDNA V3 区^[16].

古菌产甲烷菌 16S rDNA 片段扩增选用古菌引物 PRA46f (5'-YTAAGCCATGCRAGT-3'), PREA110 (5'-YGGGTCTCGCTCGTTRCC-3')^[17]. 采用的仪器包括电泳仪 (DYY-6C), 北京市六一仪器厂; 变性梯度凝胶电泳系统 (Hercules) BIO-RAD.

2 结果与讨论

2.1 中高温条件下添加活性炭对玉米秸秆厌氧发酵产气的影响

厌氧发酵产气的变化见图 1, 图 1(a) 为累计沼气产量, 图 1(b) 为累计甲烷产量, 图 1(c) 为甲烷体积分数. 从中可以看出, 在进料固含物质量相等的情况下, 中温对照组、中温试验组、高温对照组以及高温试验组的累计沼气产量分别为 3 510、5 555、3 800 及 6 480 mL, 本试验发酵瓶有效容积 400 mL, 发酵物浓度为 8%, 接种物 50%, 即每个发酵瓶内添加的秸秆干物质质量约为 16 g, 折算到单位干物质产气量, 其中中温对照组、中温试验组、高温对照组以及高温试验组的累计沼气产量 (以 TS 计) 分别为 219、347、238 以及 405 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$; 中温对照组、中温试验组、高温对照组以及高温试验组的累计甲烷产量分别为 1 628、2 900、1 780 以及 3 480 mL; 中温对照组、中温试验组、高温对照组以及高温试验组沼气中最高甲烷浓度分别为 58.06%、62.54%、58.51%、65.54%.

随着发酵的进行, 产甲烷菌不断富集, 累积产气量随之升高^[7]. 在玉米秸秆厌氧发酵过程中, 高温对照组的单日甲烷浓度均略高于中温对照组, 高温试验组的单日甲烷浓度均高于中温试验组, 高温空白组的累积产甲烷量略高于中温空白组, 高温试验组的累积产甲烷量比中温试验组提高了 20%, 相较中温条件, 高温条件下更加有利于秸秆厌氧发酵的甲烷浓度的提高以及产甲烷量的提高, 且活性炭在高温条件下对秸秆厌氧发酵体系发挥的作用更为显著; 在第 4 d 至第 16 d, 中、高温试验组的甲烷浓度均在 50% 以上, 最高浓度均超过 60%, 第 8 d 至第 14 d, 中、高温对照组的甲烷浓度均在 50% 以上, 最高浓度并未达到 60%, 高温试验组的累计甲烷产量比高温空白组提高了 96%; 中温试验组的累计甲烷产量比中温空白组提高了 63%, 可见, 添加活性炭

在中温和高温条件下均可显著提高秸秆厌氧发酵产甲烷的量及沼气中甲烷的浓度, 且高温条件下添加活性炭的甲烷浓度以及累计产甲烷的量提高更为明显.

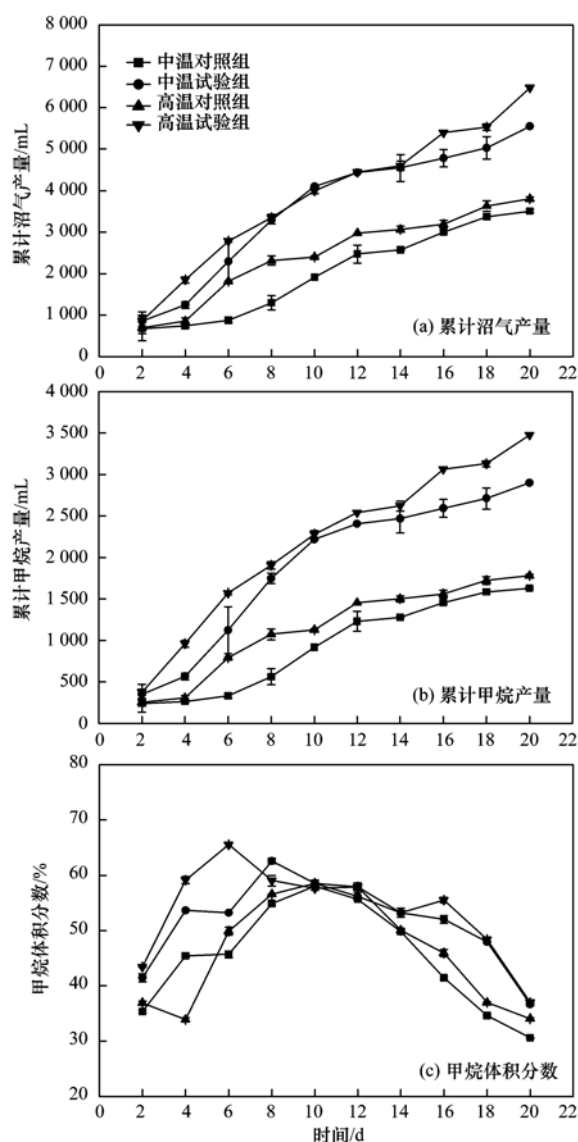


图 1 厌氧发酵产气变化

Fig. 1 Changes of biogas yield during anaerobic fermentation

2.2 玉米秸秆厌氧发酵过程中 pH 值和 VFAs 的变化

厌氧发酵过程中 pH 值的变化如图 2 所示, 可以看出在厌氧发酵初始时 pH 值下降, 至第 4 d 降至最低, 其中, 中温对照组、中温试验组、高温对照组以及高温试验组的 pH 值分别低至 5.810、6.095、6.345 和 7.055. 随着有机酸的利用消耗, 5 d 以后 pH 值开始回升, 最终发酵液的 pH 值维持在 7.500~8.000 之间. 不同处理厌氧发酵过程中有机酸浓度的变化如图 3, 其中图 3(a) 为乙酸, 图 3(b) 为甲酸, 图 3(c) 为丙酸, 从中可以看出, 整个厌氧发酵周

期中,乙酸浓度峰值出现在第1 d,随后处于逐渐下降的状态,在第4 d,中温空白组的乙酸浓度最高,高温对照组和中温试验组次之,高温试验组最低. 整个发酵周期中高温试验组乙酸浓度均低于高温空白组的乙酸浓度,中温条件下的乙酸浓度也均高于高温下的乙酸浓度,且在中温试验组和中温对照组在第11 d会出现一个小幅度的上升;甲酸的浓度在整个厌氧发酵周期中,高温试验组与高温空白组趋势一致,处于一直下降直至平稳的状态,而中温试验组与中温空白组趋势一致,最高峰值在第1 d然后下降,在第11 d存在第二个峰值,然后下降直至平稳;而在整个厌氧发酵过程中,丙酸的浓度均呈现先升后降的趋势,第4 d达到最大,在第8 d以后均降至 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

综合分析厌氧发酵过程的产气变化(图1)、pH值的变化(图2)及有机酸浓度的变化(图3)可以看出,在第1 d到第4 d是产气的启动阶段,该阶段产气量以及甲烷浓度均不高,且丙酸的浓度快速提升,在第4 d达到最大值,同时 pH 值在第4 d达到最低值,表明在发酵初期玉米秸秆快速水解成有机酸^[18],而厌氧发酵水解阶段甲烷菌的数量不足,水解酸化所产生的酸物质和甲烷菌数量未达到平衡^[7],因此这个阶段是最容易造成酸化的阶段,而 pH 值过低又会明显抑制产甲烷菌的活性,因此在这个阶段维持厌氧发酵体系快速分解有机物又不引起酸化是很重要的. 在启动阶段,高温试验组分解有机物使丙酸快速提升达到峰值,且该阶段利用乙酸的速度较快,体系维持中性的范围,产甲烷菌的活动没有被抑制,而高温空白组利用乙酸的速率低于高温试验组,第4 d的 pH 值低至 6.35,体系酸化不利于产甲烷菌的生长,此阶段高温试验组的产气量是

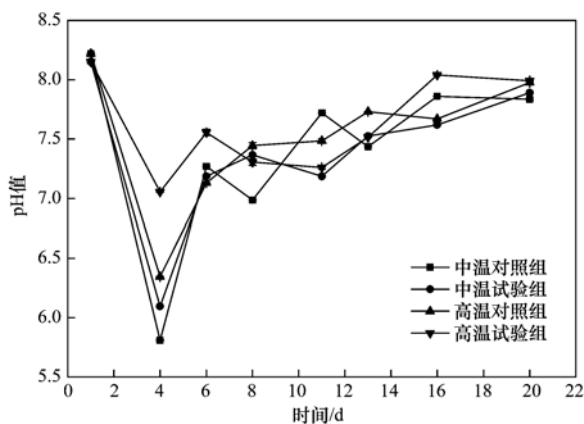


图2 不同处理厌氧发酵过程中 pH 值的变化

Fig. 2 Changes of pH during anaerobic fermentation in different treatments

最高且最稳定的;在启动阶段,中温试验组利用乙酸的速率与高温空白组差异不大,第4 d的 pH 值低至 6.09,而中温空白组乙酸浓度还有些许上升,第4 d的 pH 值低至 5.81,可见,中温的试验组和空白组的体系均酸化是不利于产甲烷的,但是添加活性炭在一定程度上缓解了体系的酸化,中温试验组的累计甲烷产气量高于中温空白组. 在启动阶段,高温条件下秸秆厌氧发酵体系酸化趋势会缓和一些,且添加活性炭能够缓解秸秆厌氧发酵体系酸化的趋势,更加有利于厌氧发酵产甲烷的进行. 启动阶段过后,当发酵液中的乙酸降解到一定程度时,微生物开始利用丙酸,丙酸开始下降,通过系统中的微生物将丙酸转化为产甲烷菌可利用的乙酸和 H_2/CO_2 ^[19].

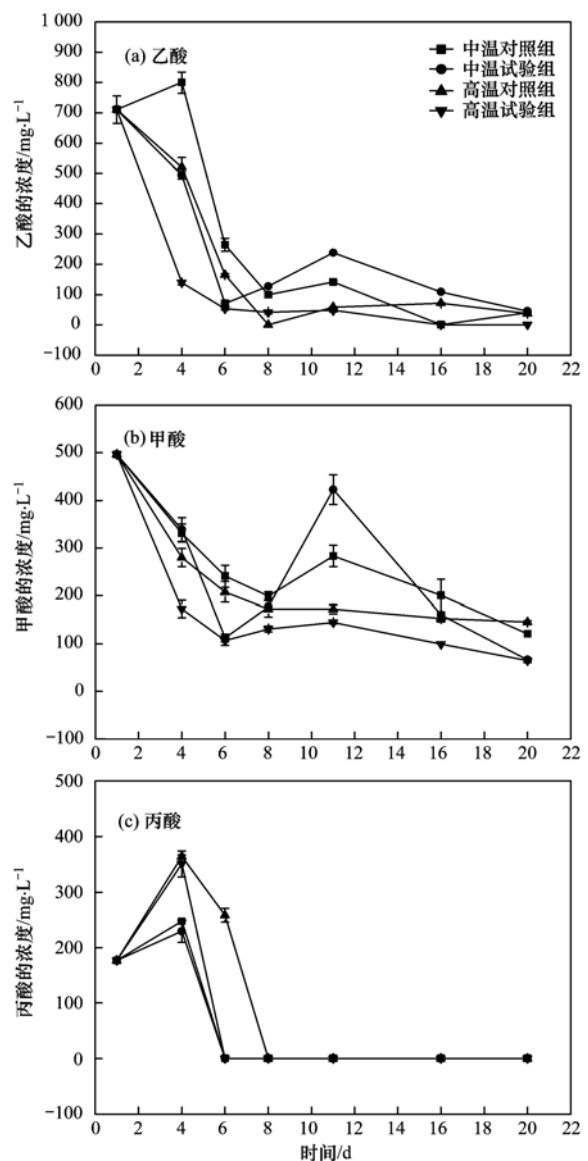


图3 不同处理厌氧发酵过程中有机酸浓度的变化

Fig. 3 Changes of VFAs concentration during anaerobic fermentation in different treatments

2.3 添加活性炭对玉米秸秆厌氧发酵前后化学组分影响

厌氧发酵前后玉米秸秆中半纤维素、纤维素、木质素的变化如表 1 所示,中、高温对照组秸秆半纤维素的含量较发酵前分别降低了 12% 和 18%,纤维素含量分别降低了 26% 和 31%;中高温试验组秸秆半纤维素的含量较发酵前的样品分别降低了 63% 和 64%,纤维素的含量分别降低了 47% 和 57%;中温试验组较中温对照组半纤维素、纤维素降解率分别提高了 42% 和 38%;高温试验组较高温对照组厌氧发酵后秸秆的半纤维素、纤维素降解率分别提高了 56% 和 63%。

综合分析厌氧发酵过程中产气的变化(图 1)及厌氧发酵前后玉米秸秆中半纤维素、纤维素、木质素含量变化(表 1)可知,在进料含固物质量相等的情况下,高温试验组的累计甲烷产量较中温试验组提高了 20%,且高温试验组的甲烷浓度均高于中温试验组,且中、高温试验组秸秆半纤维素的含量

较发酵前的样品分别降低了 63% 和 64%,纤维素的含量分别降低了 47% 和 57%,可见温度的提高更由利于微生物分解利用秸秆中的纤维素、半纤维素,提高沼气产量及原料利用率,因此高温比中温更有利于玉米秸秆的厌氧发酵,但是差异并不是特别显著,这与文献[20]的结论一致。另外,添加活性炭后,中、高温试验组的累计甲烷产量分别比中高温对照组提高了 63% 和 96%,中、高温试验组的甲烷浓度均高于中、高温对照组,中温试验组厌氧发酵后秸秆的半纤维素、纤维素降解率分别比中温对照组提高了 42% 和 38%,高温试验组厌氧发酵后秸秆的半纤维素、纤维素降解率分别比高温对照组提高了 56% 和 63%。可见,添加活性炭可提高厌氧发酵对玉米秸秆中纤维素、半纤维素的降解率,可能是由于活性炭吸附菌群后,改变菌群数量和种类,富集强化产甲烷菌,促进产气,提高厌氧发酵体系的累计产气量以及厌氧发酵过程中沼气中甲烷的浓度^[20]。

表 1 厌氧发酵前后玉米秸秆中半纤维素、纤维素、木质素含量变化/%

Table 1 Hemicellulose, cellulose, and lignin contents of corn straw before and after anaerobic fermentation/%					
项目	发酵前	中温对照组发酵后	中温试验组发酵后	高温对照组发酵后	高温试验组发酵后
纤维素	37.449 ± 0.146	27.651 ± 0.133	17.100 ± 0.047	25.473 ± 0.012	16.164 ± 0.020
半纤维素	18.333 ± 0.081	16.049 ± 0.099	6.781 ± 0.059	14.976 ± 0.083	6.520 ± 0.172
木质素	10.791 ± 0.119	24.165 ± 0.002	32.223 ± 0.281	27.745 ± 0.014	35.734 ± 0.039

2.4 活性炭表面菌群的扫描电镜(SEM)观察

为进一步研究添加活性炭提高沼气产量的机制,通过 SEM 观察发酵前后活性炭上菌群的形态。由图 4 放大 30 000 倍条件下的中、高温试验组活性炭扫描电镜图中可发现,中、高温条件下活性炭表面附着大量的类似菜花状的球菌;对比相同放大倍数条件下的发酵前后的活性炭的扫描电镜图,发现挂膜后活性炭表面空隙明显减小;由中、高温试验组发酵后的活性炭的不同倍数下的扫描电镜图可以看到,经过厌氧发酵后的活性炭表面及孔道里面附着大量的球状及杆状微生物;观察图 4,可发现中、高温条件下活性炭表面的微生物的形态也有一定的差异。

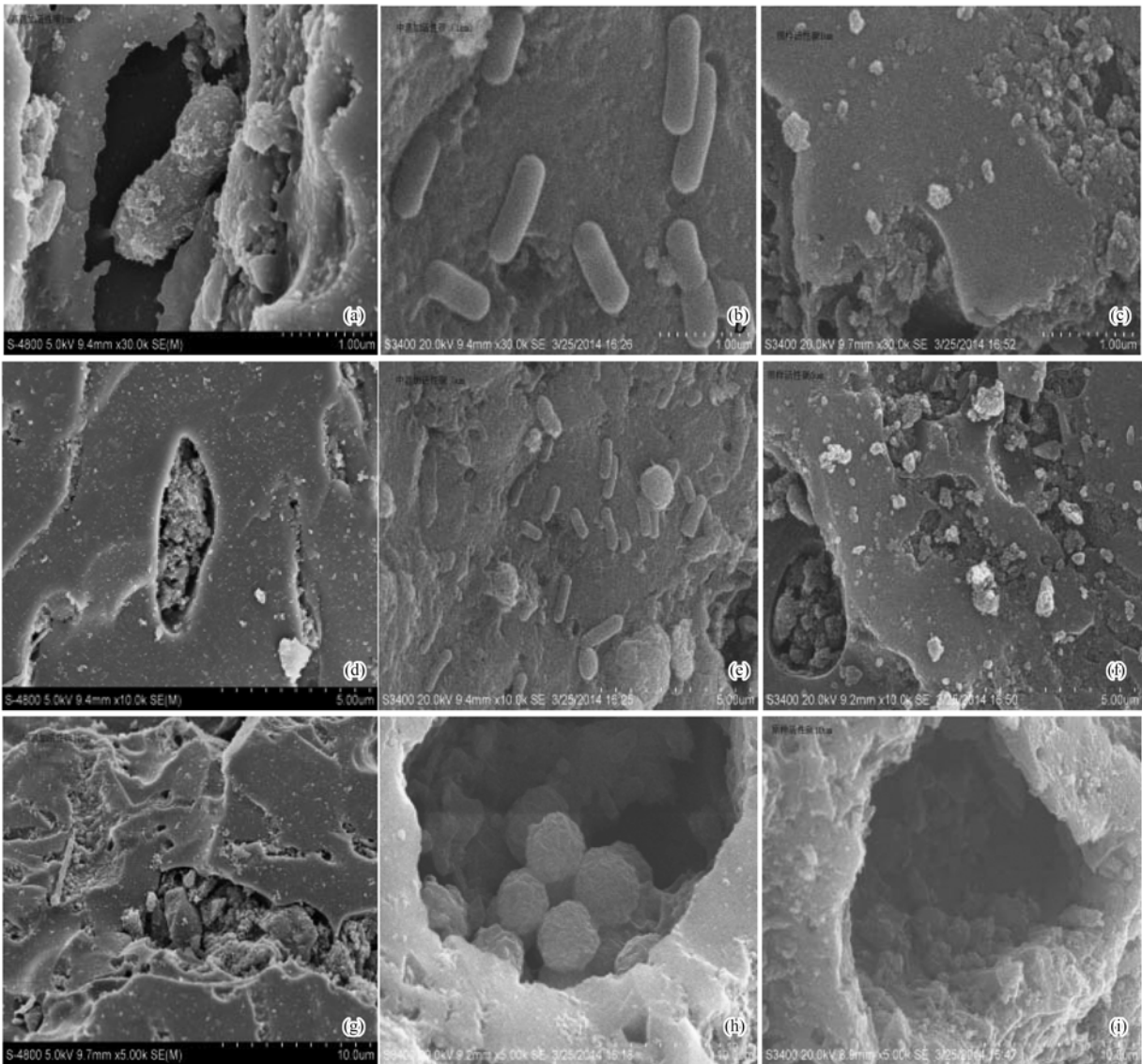
在中、高温条件下,活性炭表面附着的大量形状如菜花状的球菌,据文献报道可能是产甲烷球菌属^[21]。同时活性炭表面粗糙,孔隙丰富,其表面的大孔和中孔附着大量微生物生长繁殖,是有利于更多的有机物转化为甲烷的^[10,21],活性炭表面的微生物形态各异,可见,活性炭可作为生物载体材料增加

厌氧反应系统中的微生物的数量以及种类,为产气的提升提供可能性。添加活性炭能提高玉米秸秆产气效率的机制可能是由于产甲烷菌驻留在活性炭上形成生物势菌群,进而提高系统的稳定性和效率^[22,23]。

2.5 不同处理厌氧发酵前后细菌菌群结构的变化

2.5.1 不同处理发酵前后细菌多样性分析

图 5 为不同阶段样品中细菌的 DGGE 图谱,从中可发现除原样样品外,其余 6 个样品中条带的数目均较为丰富。由表 2 可知,原样样品中的香农指数偏小,其余各样品中该数值差异不显著。同时,由不同阶段样品中的细菌种群的相似性指数 Cs(表 3)可知,发酵后的 6 个样品与发酵前原样中的细菌种群相似性均较差,高温试验组活性炭表面及发酵液中的细菌多样性均比中温试验组的低,且中、高试验组的活性炭上的细菌多样性均比中、高试验组的发酵液中的低,这可能由于温度升高改变了微生物体内酶的种类及活性,特别是细胞膜上许多酶类的活力^[24,25]。



(a)、(b)、(c)放大30 000倍;(d)、(e)、(f)放大10 000倍;(g)、(h)、(i)放大5 000倍;(a)、(d)、(g)为高温试验组发酵后活性炭;
(b)、(e)、(h)中温试验组发酵后活性炭;(c)、(f)、(i)为发酵前活性炭

图 4 活性炭扫描电镜图片

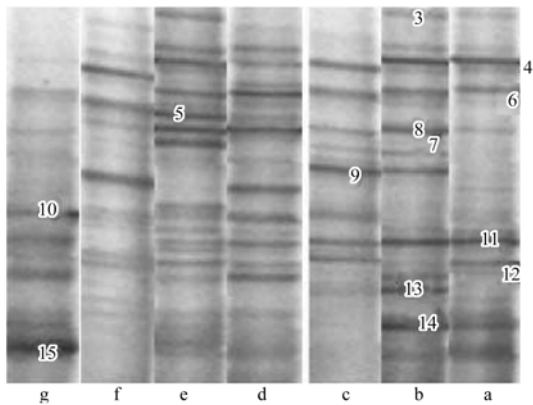
Fig. 4 SEM pictures of activated carbon

表 2 不同阶段样品中细菌种群香农指数

Table 2 Shannon index of bacterial population in samples of different anaerobic fermentation periods						
接种物	中温对照组 发酵液	中温试验组 活性炭表面	中温度试验 组发酵液	高温试验组 活性炭表面	高温试验组 发酵液	高温对照组 发酵液
2. 575	4. 343	3. 582	5. 212	3. 474	4. 777	4. 984

表 3 不同阶段样品中细菌种群相似性指数

Table 3 Comparability index of bacterial population in samples of different anaerobic fermentation periods							
	接种物	中温对照组 发酵液	中温试验组 活性炭表面	中温试验组 发酵液	高温试验组 活性炭表面	高温试验 组发酵液	高温对照 组发酵液
接种物	100	54. 68	11. 42	24. 89	0. 00	0. 45	1. 20
中温对照组发酵液		100	13. 21	17. 74	4. 81	34. 60	24. 05
中温试验组活性炭表面			100	51. 89	18. 04	32. 11	33. 62
中温试验组发酵液				100	24. 04	25. 27	33. 41
高温试验组活性炭表面					100	22. 64	49. 55
高温试验组发酵液						100	66. 09
高温对照组发酵液							100



(a) 高温对照组发酵液; (b) 高温试验组发酵液; (c) 高温试验组活性炭表面; (d) 中温试验组发酵液; (e) 中温试验组活性炭表面; (f) 中温对照组发酵液; (g) 接种物, 下同

图 5 不同阶段样品中细菌的 DGGE 图谱
Fig. 5 DGGE fingerprint of bacteria in samples of different anaerobic fermentation periods

2.5.2 不同处理发酵前后细菌测序性分析

经过序列比对分析后,由图 5 和表 4 可以看出,发酵前原样中 *Sporosarcina globispora* strain 可能是一种需氧的芽孢杆菌,经发酵后消失了;*Capnocytophaga canimorsus* 可能是一种厌氧菌,经发酵后出现. 高温对照组的发酵液中的优势菌种是 *Bacillus* sp., 属于厚壁菌门, 高温试验组的发酵液中的优势菌种是 *Clostridiales bacterium*, 属于拟杆菌门. 中温对照组的发酵液和中温试验组的发酵液中均未发现明显优势细菌菌种. *Porphyromonadaceae bacterium* 和 *Petrimonas sulfuriphila* strain 也是一类产酸菌,既存在于高温试验组发酵液中也存在于中温试验组发酵液.

细菌的 DGGE 图谱中条带数目均有增加,原样样品中的香农指数偏小,其余各样品中该数值差异不显著,且发酵后的样品与发酵前原样中的细菌种群相似性均较差,可见经过秸秆的厌氧发酵,体系中的细菌菌群发生很大的变化,发酵前原样存在的 *Sporosarcina globispora* strain 经发酵后消失了,而 *Capnocytophaga canimorsus* 经发酵后出现,说明经发酵后,某些在接种物中并不占优势的细菌会逐渐占优势,这也是造成发酵前后细菌菌群变化大的原因之一^[26,27]. 高温对照组和试验组的发酵液中的优势细菌菌群分别是 *Bacillus* sp. 和 *Clostridiales bacterium*,这两种细菌均为产酸菌,可水解淀粉、蛋白质、纤维素等大分子物质,利用发酵液中的营养物质产生有机酸,参与厌氧发酵的第一阶段,这可能是高温对照组和试验组的纤维素以及半纤维素的降

解率分别高于中温的原因之一. *Porphyromonadaceae bacterium* 和 *Petrimonas sulfuriphila* strain 存在于中、高温试验组发酵液中,在中、高温对照组的发酵液中并不存在,均属于产酸菌,这一类产酸菌在发酵过程中分解葡萄糖产生乙酸、CO₂ 和 H₂,将 S 还原成 H₂S,添加活性炭能促进秸秆厌氧发酵体系细菌菌群更为丰富,是提高秸秆厌氧发酵体系的甲烷浓度以及产甲烷量的重要原因之一^[28].

表 4 不同阶段样品中细菌的测序结果
Table 4 Sequencing results of bacteria in samples of different anaerobic fermentation periods

条带	最近的属类	相似度/%
3	<i>Capnocytophaga cynodegmi</i>	87
4	<i>Ruminofilibacter xylanolyticum</i> strain	100
5	<i>Ruminofilibacter xylanolyticum</i> strain	87
6	<i>Flavobacterium</i> sp.	97
7	<i>Porphyromonadaceae bacterium</i>	89
8	<i>Capnocytophaga canimorsus</i>	87
9	<i>Flavobacterium cauense</i> strain	99
11	<i>Petrimonas sulfuriphila</i> strain	96
12	<i>Bacillus</i> sp.	99
13	<i>Clostridiales bacterium</i>	99
15	<i>Sporosarcina globispora</i> strain	92

2.6 不同处理发酵前后古菌的菌群结构的变化

2.6.1 不同处理发酵前后古菌多样性分析

对发酵前后的样品进行总 DNA 提取,PCR 扩增及 DGGE 分析,得到样品中古菌的 DGGE 图谱,如图 6 所示. 可以看出:古菌的 DGGE 图谱上,总体上条带的数目均较丰富,2 号条带存在于接种液、中温活性炭表面上、中温试验组液中的 4 号条带经过厌氧发酵后消失;13 号条带在中温条件下亮度

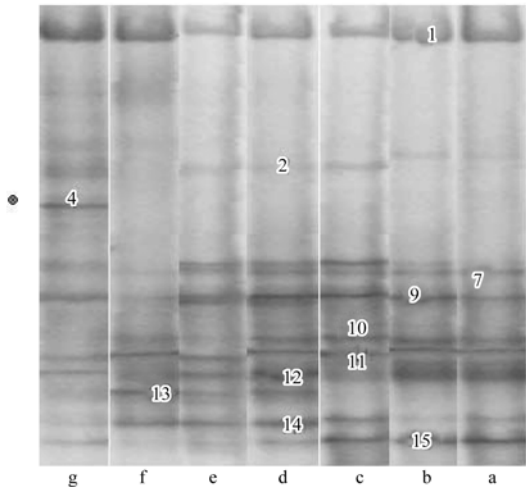


图 6 不同阶段样品中古菌的 DGGE 图谱
Fig. 6 DGGE fingerprint of archaea in samples of different anaerobic fermentation periods

有所增强,在高温条件下不明显. 15 号条带在接种液中及中温条件下不明显,在高温条件下亮度增强. 计算得到各个样品中古菌的香农指数如表 5 所示,可以看出香农指数没有显著差异. 样品之间古菌种群的相似性指数 Cs 如表 6 所示,可以看

出接种物与发酵后的样品中古菌种群相似性相对较差,中、高温发酵体系中发酵液中的古菌种类差异不显著,中、高温试验组中活性炭上的古菌多样性均低于中、高温试验组的发酵液中的古菌多样性.

表 5 不同阶段样品中古菌种群相似性指数

Table 5 Shannon index of archaea population in samples of different anaerobic fermentation periods						
接种物	中温对照组 发酵液	中温试验组 活性炭表面	中温度试验组 发酵液	高温试验组 活性炭表面	高温试验组 发酵液	高温对照组 发酵液
2. 575	2. 361	1. 923	1. 773	2. 114	2. 325	2. 406

表 6 不同阶段样品中古菌种群香农指数

Table 6 Comparability index of archaea population in samples of different anaerobic fermentation periods							
	接种物	中温对照组 发酵液	中温试验组 活性炭表面	中温试验组 发酵液	高温试验组 活性炭表面	高温试验组 发酵液	高温对照组 发酵液
接种物	100	49. 62	44. 79	50. 69	47. 59	55. 03	56. 23
中温对照组发酵液		100	78. 25	81. 48	50. 13	69. 00	70. 01
中温试验组活性炭表面			100	51. 89	77. 64	73. 70	71. 17
中温试验组发酵液				100	80. 05	84. 54	78. 95
高温试验组活性炭表面					100	80. 67	78. 95
高温试验组发酵液						100	95. 39
高温对照组发酵液							100

2. 6. 2 不同处理发酵前后古菌测序分析

经过序列比对分析后,由图 6 和表 7 可以看出,随着发酵的进行,样品中优势古菌菌群变化较大. 接种物中的优势古菌菌群为 *Methanobacterium subterraneum* sp., 且发酵后的样品中均未出现;发酵后中温对照组的发酵液中优势古菌菌群主要为产甲烷八叠球菌属 (*Methanosarcina* sp.), 中温试验组的活性炭上的古菌菌群与中温试验组的发酵液中的古菌菌群差异不显著,优势古菌菌群均主要为甲烷鬃毛菌 (*Methanosaeta concilii* strain) 和产甲烷八叠球菌属;高温对照组的发酵液中优势菌群主要为甲烷囊菌属 (*Methanoculleus* sp.), 高温试验组的活性炭上的古菌菌群与高温试验组的发酵液中的古菌菌群存在较大差异,发酵后高温试验组的发酵液中优势古菌菌群主要为醋酸甲烷八叠球菌 (*Methanosarcina acetivorans* strain) 和甲烷囊菌属,而高温试验组活性炭表面上富集的主要为甲烷八叠球菌嗜高温菌属 (*Methanosarcina thermophila* strain) 和甲烷八叠球菌.

古菌的 DGGE 图谱上条带的数目均较丰富,香农指数没有显著差异. 随着发酵的进行,接种物中优势菌群会发生变化,接种物中的优势菌群 *Methanobacterium subterraneum* 经发酵后发酵液中和活性炭上不存在,可能由于底物 (H_2/CO_2 和甲酸盐) 缺乏,导致甲烷杆菌消失,这个可能是导致厌氧

发酵体系前后菌群相似性差异较大的原因之一^[29]. 中温对照组发酵后的优势古菌菌群主要为产甲烷八叠球菌属,中温试验组发酵后的活性炭上的优势古菌菌群和发酵液中的优势古菌菌群均为甲烷鬃毛菌和产甲烷八叠球菌属,可见,中温条件下添加活性炭有利于氢营养型甲烷鬃毛菌在秸秆厌氧发酵体系中形成优势古菌群落,促进提高秸秆厌氧发酵的甲烷浓度以及甲烷产量. 高温对照组发酵后的发酵液中的优势古菌菌群主要为甲烷囊菌属,高温试验组发酵后的发酵液中优势菌群主要为醋酸甲烷八叠球菌和甲烷囊菌属,可见,高温条件下添加活性炭有利于乙酸营养型的醋酸甲烷八叠球菌在秸秆厌氧发酵体系中形成优势古菌群落,促进有机物的分

表 7 不同阶段样品中古菌的测序结果

Table 7 Sequencing results of archaea in samples of different anaerobic fermentation periods		
条带	最近的属类	相似度/%
1	<i>Methanosarcina</i> sp.	85
2	<i>Methanocorpusculum aggregans</i>	99
4	<i>Methanobacterium subterraneum</i> sp.	83
7	<i>Methanocorpusculum aggregans</i>	99
9	<i>Methanosarcina acetivorans</i> strain	90
11	<i>Methanosarcina thermophila</i> strain	99
12	<i>Methanosaeta concilii</i> strain	90
13	<i>Methanosarcina</i> sp.	99
14	<i>Methanosarcina</i> sp.	99
15	<i>Methanoculleus</i> sp.	100

解,提高产气甲烷. 高温试验组发酵后的活性炭上的优势古菌菌群与发酵液中的优势古菌菌群存在较大差异的,在高温条件下活性炭表面上富集的主要为甲烷八叠球菌嗜高温菌属和甲烷八叠球菌,八叠球菌嗜高温菌属在低的 pH 值或乙酸积累的情况下仍能够生存^[30],可能是高温条件酸化趋势较为缓和,高温启动阶段产气优于中温的原因.

3 结论

(1)对比中高温秸秆厌氧发酵体系,高温比中温更有利于秸秆的厌氧发酵产沼气. 添加活性炭的秸秆厌氧发酵体系气体产量均有显著的提高,整个周期甲烷浓度有提升,玉米秸秆中纤维素、半纤维素的降解率也均有显著提高. 添加活性炭可有效缓解厌氧发酵系统的酸化,促进厌氧发酵纤维素及半纤维素的降解,活性炭表面能富集大量微生物,形成生物膜,尤其是其对产甲烷菌的驻留作用能提高玉米秸秆的产气效率,添加活性炭对高温秸秆厌氧发酵体系中的甲烷浓度以及甲烷产量的提升最优.

(2)在秸秆厌氧发酵体系中,经过厌氧发酵,中温对照组和试验组的发酵液中均未出现明显优势细菌菌群,高温对照组和试验组发酵液中的优势细菌菌种分别为 *Bacillus* 和 *Clostridiales bacterium*,均属于产酸菌,能促进水解大分子物质产生有机酸,从而提高纤维素、半纤维素的降解率,这些优势细菌菌群是高温秸秆厌氧发酵体系的产气优于中温的重要原因之一;中温试验组的活性炭上的古菌菌群和发酵液中的古菌菌群差异不显著,中温条件下添加活性炭有利于氢营养型甲烷鬃毛菌在发酵液中以及活性炭上形成优势古菌群落,能促进中温条件下甲烷浓度的提高以及甲烷产量的提高. 添加活性炭对高温秸秆厌氧发酵体系的古菌菌群的影响更为明显,使古菌优势群落更为丰富多样,高温试验组的活性炭上的古菌菌群和发酵液中的古菌菌群存在明显的差异,高温条件下添加活性炭有利于乙酸营养型的醋酸甲烷八叠球菌在秸秆厌氧发酵体系的发酵液中形成优势古菌群落,而高温试验组中活性炭表面上富集的主要古菌群落为甲烷八叠球菌嗜高温菌和甲烷八叠球菌,能缓和酸化趋势,提高气体产量,促进高温条件下产甲烷,这也是高温试验组的累计气体产量优于其他处理的重要原因之一. 添加活性炭能促进秸秆厌氧发酵体系的古菌以及细菌菌群更为丰富多样,从而促进有机物的分解,促进甲烷浓度以及累计气体产量的提高,且在高温体系中的促进作用

更为显著.

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴 2013 [M]. 北京: 中国统计出版社, 2013.
- [2] 石磊, 赵由才, 柴晓利, 等. 我国农作物秸秆的综合利用技术进展[J]. 中国沼气, 2005, **23**(2): 11-14, 19.
Shi L, Zhao Y C, Chai X L, et al. Comprehensive utilization techniques progress of crop straws in China [J]. China Biogas, 2005, **23**(2): 11-14, 19.
- [3] 吴楠, 孔垂雪, 刘景涛, 等. 农作物秸秆产沼气技术研究进展[J]. 中国沼气, 2012, **30**(4): 14-20.
Wu N, Kong C X, Liu J T, et al. Research Progress on crop straw biogas technology [J]. China Biogas, 2012, **30**(4): 14-20.
- [4] 杜婷婷, 云斯宁, 朱江, 等. 生物质废弃物厌氧发酵的研究进展[J]. 中国沼气, 2016, **34**(2): 46-52.
Du T T, Yun S N, Zhu J, et al. Research progress of anaerobic fermentation of different biomass waste [J]. China Biogas, 2016, **34**(2): 46-52.
- [5] 楚莉莉, 田孝鑫, 杨改河. 不同生物预处理对玉米秸秆厌氧发酵产气特性的影响[J]. 东北农业大学学报, 2014, **45**(4): 118-122.
Chu L L, Tian X X, Yang G H. Effect of biopretreatment on biogas production characteristics of anaerobic fermentation of corn stalk [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2014, **45**(4): 118-122.
- [6] Eskicioglu C, Kennedy K J, Marin J, et al. Anaerobic digestion of whole stillage from dry-grind corn ethanol plant under mesophilic and thermophilic conditions [J]. Bioresource Technology, 2011, **102**(2): 1079-1086.
- [7] 王阳, 林聪, 侯雨, 等. 吸附型添加剂对玉米秸秆厌氧消化的影响[J]. 中国沼气, 2011, **29**(6): 3-6, 11.
Wang Y, Lin C, Hou Y, et al. Effect of adsorption-type additives on anaerobic digestion of cornstalk [J]. China Biogas, 2011, **29**(6): 3-6, 11.
- [8] Liu F H, Rotaru A E, Shrestha P M, et al. Promoting direct interspecies electron transfer with activated carbon [J]. Energy & Environmental Science, 2012, **5**(10): 8982-8989.
- [9] Zhao Z Q, Zhang Y B, Woodard T L, et al. Enhancing syntrophic metabolism in up-flow anaerobic sludge blanket reactors with conductive carbon materials [J]. Bioresource Technology, 2015, **191**: 140-145.
- [10] 张露思, 郭婉茜, 丁杰, 等. 活性炭载体对颗粒污泥形成及产氢的影响[J]. 哈尔滨工程大学学报, 2010, **31**(11): 1544-1548.
Zhang L S, Guo W Q, Ding J, et al. Effects of an activated carbon carrier on formation of granular sludge and hydrogen production [J]. Journal of Harbin Engineering University, 2010, **31**(11): 1544-1548.
- [11] Sluiter A, Ruiz R, Scarlata C, et al. Determination of extractives in biomass: Laboratory Analytical Procedure (LAP) [R]. Technical Report NREL/TP-510-42619. Golden, CO, USA, National Renewable Energy Laboratory, 2008.
- [12] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. (第三版). 北京: 中国农业大学出版社, 2007. 63-70.
- [13] 中国科学院成都生物研究所沼气发酵常规分析编写组. 沼气

- 发酵常规分析[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1984. 48-51.
- [14] 谢欣欣, 周俊, 吴美容, 等. 酸碱预处理对芦苇秸秆厌氧发酵的影响[J]. 化工学报, 2014, **65**(5): 1883-1887.
- Xie X X, Zhou J, Wu M R, *et al.* Effect of acid and alkali pretreatment on anaerobic fermentation of *Artemisia selengensis* straw[J]. CIESC Journal, 2014, **65**(5): 1883-1887.
- [15] Hidalgo M D, García-Encina P A. Biofilm development and bed segregation in a methanogenic fluidized bed reactor[J]. Water Research, 2002, **36**(12): 3083-3091.
- [16] Liu P W G, Whang L M, Chang T C, *et al.* Verification of necessity for bioaugmentation—lessons from two batch case studies for bioremediation of diesel-contaminated soils [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2009, **84**(6): 808-819.
- [17] 王刘阳. 沼气发酵微生物区系变化及产甲烷古菌群落结构分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
- Wang L Y. The variety of microbial community in biogas digesters and analysis on methanoarchaea community structure [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008.
- [18] Zhang M X, Zhang G M, Zhang P Y, *et al.* Anaerobic digestion of corn stovers for methane production in a novel bionic reactor [J]. Bioresource Technology, 2014, **166**: 606-609.
- [19] Stams A J M, Plugge C M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea [J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, **7**(8): 568-577.
- [20] Li Y B, Zhu J, Wan C, *et al.* Solid-state anaerobic digestion of corn stover for biogas production [J]. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2011, **54**(4): 1415-1421.
- [21] Gong W J, Liang H, Li W Z, *et al.* Selection and evaluation of biofilm carrier in anaerobic digestion treatment of cattle manure [J]. Energy, 2011, **36**(5): 3572-3578.
- [22] 王永泽, 邵明胜, 杨立, 等. 不同吸附剂对棉花秸秆沼气发酵效率的影响研究[J]. 现代农业科技, 2008, (23): 178-179.
- [23] 蒋凯凤, 肖继波. 水处理生物膜载体研究进展[J]. 浙江林学院学报, 2010, **27**(3): 451-455.
- Jiang K F, Xiao J B. Research progress of biofilm carrier for wastewater treatment[J]. Journal of Zhejiang Forestry College, 2010, **27**(3): 451-455.
- [24] 邢薇, 左剑恶, 林甲, 等. 20℃ EGSB 反应器中颗粒污泥的微生物种群结构分析[J]. 环境科学, 2008, **29**(9): 2558-2563.
- Xing W, Zuo J E, Lin J, *et al.* Microbial community in granules from an EGSB reactor operated at 20℃ [J]. Environmental Science, 2008, **29**(9): 2558-2563.
- [25] Könneke M, Widdel F. Effect of growth temperature on cellular fatty acids in sulphate-reducing bacteria [J]. Environmental Microbiology, 2003, **5**(11): 1064-1070.
- [26] Larkin J M, Stokes J L. Taxonomy of psychrophilic strains of *Bacillus*[J]. Journal of Bacteriology, 1967, **94**(4): 889-895.
- [27] Özavci V, Kirkan S. Detection of *Capnocytophaga canimorsus* and *Capnocytophaga cynodegmi* by cultural and molecular methods in dogs in Western Turkey [J]. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 2013, **19**(5): 875-880.
- [28] Grabowski A, Tindall B J, Bardin V, *et al.* *Petrimonas sulfuriphila* gen. nov., sp. nov., a mesophilic fermentative bacterium isolated from a biodegraded oil reservoir [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2005, **55**(3): 1113-1121.
- [29] Kotelnikova S, Macario A J L, Pedersen K. *Methanobacterium subterraneum* sp. nov., a new alkaliphilic, eurythermic and halotolerant methanogen isolated from deep granitic groundwater [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, **48**(2): 357-367.
- [30] Illmer P, Reitschuler C, Wagner A O, *et al.* Microbial succession during thermophilic digestion: the potential of *Methanosarcina* sp. [J]. PLoS One, 2014, **9**(2): e86967.

CONTENTS

Comparison of Models on Spatial Variation of PM _{2.5} Concentration; A Case of Beijing-Tianjin-Hebei Region	WU Jian-sheng, WANG Xi, LI Jia-cheng, <i>et al.</i> (2191)
Change of Atmospheric Pollution Diffusion Conditions in Beijing in Recent 35 Years	GUO Chun-wei, SUN Zhao-bin, LI Zi-ming, <i>et al.</i> (2202)
Precipitation and Its Effects on Atmospheric Pollutants in a Representative Region of Beijing in Summer	HAN Li-hui, ZHANG Hai-liang, XIANG Xin, <i>et al.</i> (2211)
Impact of Mountain-Valley Wind Circulation on Typical Cases of Air Pollution in Beijing	DONG Qun, ZHAO Pu-sheng, WANG Ying-chun, <i>et al.</i> (2218)
Fugitive Dust Emission Characteristics from Building Construction Sites of Beijing	XUE Yi-feng, ZHOU Zhen, HUANG Yu-hu, <i>et al.</i> (2231)
Characteristics of Volatile Organic Compounds Emitted from Biomass-pellets-fired Boilers	WU Chang-da, ZHANG Chun-lin, BAI Li, <i>et al.</i> (2238)
Effect of VOCs on O ₃ and SOA Formation Potential During the Combined Pollution Process in Guangzhou Panyu Atmospheric Composition Station	ZOU Yu, DENG Xue-jiao, LI Fei, <i>et al.</i> (2246)
Characteristic Study on the "Weekend Effect" of Atmospheric O ₃ in Northern Suburb of Nanjing	WANG Jun-xiu, AN Jun-lin, SHAO Ping, <i>et al.</i> (2256)
Atmospheric Ammonia/Ammonium-nitrogen Concentrations and Wet and Dry Deposition Rates in a Double Rice Region in Subtropical China	WANG Jie-fei, ZHU Xiao, SHEN Jian-lin, <i>et al.</i> (2264)
Species of Iron in Size-resolved Particle Emitted from Xuanwei Coal Combustion and Their Oxidative Potential	WANG Qiang-xiang, TAN Zheng-ying, ZHAO Hui, <i>et al.</i> (2273)
Dioxin Pollution and Occupational Inhalation Exposure of PCDD/Fs in Municipal Solid Waste Incinerator	DU Guo-yong, WANG Qian, ZHANG Shu-lin, <i>et al.</i> (2280)
Characteristics of Mercury Emissions from Modern Dry Processing Cement Plants in Chongqing	ZHANG Cheng, ZHANG Ya-hui, WANG Yong-min, <i>et al.</i> (2287)
Correlations of Light-duty Gasoline Vehicle Emissions Based on VMAS and CVS Measurement Systems	WANG Hong-yu, HUANG Cheng, HU Qing-yao, <i>et al.</i> (2294)
Emission Characteristics of Particulate Matter from Diesel Buses Meeting Different China Emission Standards Fueled with Biodiesel	LOU Di-ming, ZHAO Cheng-zhi, XU Ning, <i>et al.</i> (2301)
Spatial Variation and Environmental Significance of δ ¹⁸ O and δD Isotope Composition in Xijiang River	XU Qi, LI Jian-hong, SUN Ping-an, <i>et al.</i> (2308)
Comparative Study of SWAT and DNDC Applied to N Leach and Export from Subtropical Watershed	HAN Ning, CHEN Wei-liang, GAO Yang, <i>et al.</i> (2317)
Comparison of Relationship Between Conduction and Algal Bloom in Pengxi River and Modao River in Three Gorges Reservoir	JIANG Wei, ZHOU Chuan, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2326)
Temporal and Spatial Variation Characteristics of Nitrogen and Phosphorus in Sediment Pore Water and Overlying Water of Dianchi Caohai Lake	WANG Yi-ru, WANG Sheng-ru, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (2336)
Distribution and Emission Flux Estimation of Phosphorus in the Sediment and Interstitial Water of Xiangxi River	LUO Yu-hong, NIE Xiao-qian, LI Xiao-ling, <i>et al.</i> (2345)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals in Water and Sediment from Daye Lake	ZHANG Jia-quan, TIAN Qian, XU Da-mao, <i>et al.</i> (2355)
Formation of Brominated Disinfection By-products in Low Temperature Multi-effect Distillation (LT-MED) Process for Seawater Desalination	QI Fei, SUN Ying-xue, YANG Zhe, <i>et al.</i> (2364)
Applicability Comparison and Application Study of Two Methods for Determination of the Copper Complexing Capacity of Waters	WANG Chen-ye, JIANG Kuo, XIE Wen-long, <i>et al.</i> (2373)
Performance of Applying Scale Permeable Pavements for Control of Runoff Pollution in an Area with High Groundwater Level	JIN Jian-rong, LI Tian, SHI Zhen-bao (2379)
Removal of 2,4-dichlorophenol in Underground Water by Stabilized Nano Zero-valent Iron	ZHANG Yong-xiang, CHANG Shan, LI Fei, <i>et al.</i> (2385)
Enhancement of Sulfamerazine Degradation Under H ₂ O ₂ /KI System by Ultrasound and UVA Irradiation	WEI Hong, SUN Bo-cheng, YANG Xiao-yu, <i>et al.</i> (2393)
Comparison of Phosphate Adsorption onto Zirconium-Modified Bentonites with Different Zirconium Loading Levels	JINAG Bo-hui, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (2400)
Removal of Nitrogen in Municipal Secondary Effluent by a Vertical Flow Constructed Wetland Associated with Iron-carbon Internal Electrolysis	ZHENG Xiao-ying, ZHU Xing, ZHOU Xiang, <i>et al.</i> (2412)
Purification Efficiency and Influencing Factors of Combined Bio-filters for Aquaculture Wastewater	ZHANG Shi-yang, ZHANG Sheng-hua, ZHANG Xiang-ling, <i>et al.</i> (2419)
Effect of Temperature on PAO Activity and Substrate Competition	ZHANG Ling, PENG Dang-cong, CHANG Die (2429)
Enrichment and Nitrogen Removal Characteristics of Marine Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria	FENG Li, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (2435)
Ammonia Removal Rate and Microbial Community Structures in Different Biofilters for Treating Aquaculture Wastewater	ZHOU Hong-yu, HAN Mei-lin, QIU Tian-lei, <i>et al.</i> (2444)
Influence of Phosphate on Nitrogen Removal Efficiency of ANAMMOX Sludge	ZHOU Zheng, LIU Kai, WANG Fan, <i>et al.</i> (2453)
Characteristics and Mechanism of Biological Nitrogen and Phosphorus Removal Granular Sludge Under Carbon Source Stress	QIN Shi-you, CHEN Wei, MA Zhao-nui, <i>et al.</i> (2461)
Evolution of Extracellular Polymeric Substances of the Activated Sludge with Calcium Ion Addition During Set-up Period of Sequencing Batch Reactors	REN Li-fei, YANG Xin-ping, ZHANG Wen-wen (2470)
Isolation, Identification and Characterization of the Filamentous Microorganisms from Bulking Sludge	ZHANG Chong-miao, NIU Quan-rui, XU Li-mei, <i>et al.</i> (2477)
Applicability and Microbial Community Structure of Denitrification Suspended Carriers	TAN Yang, LI Ji, XU Qiao, <i>et al.</i> (2486)
Effect of Thiosulfate on the Carbon Fixation Capability of <i>Thiobacillus thioparus</i> and Its Mechanism	LI Huan, WANG Lei, WANG Ya-nan (2496)
Characteristics of Fungi Community Structure and Genetic Diversity of Forests in Guandi Mountains	QIAO Sha-sha, ZHOU Yong-na, CHAI Bao-feng, <i>et al.</i> (2502)
Source Apportionment of Soil Heavy Metals in City Residential Areas Based on the Receptor Model and Geostatistics	CHEN Xiu-duan, LU Xin-wei (2513)
Environmental Health Risk Assessment of Contaminated Soil Based on Monte Carlo Method; A Case of PAHs	TONG Rui-peng, YANG Xiao-yi (2522)
Influencing Mechanism of Eh, pH and Iron on the Release of Arsenic in Paddy Soil	ZHONG Song-xiong, YIN Guang-cai, CHEN Zhi-liang, <i>et al.</i> (2530)
Correlations Between Different Extractable Cadmium Levels in Typical Soils and Cadmium Accumulation in Rice	CHEN Qi, DENG Xiao, CHEN Shan, <i>et al.</i> (2538)
Remedying Effects of a Combined Amendment for Paddy Soil Polluted with Cd for Spring and Autumn Rice	CHEN Li-wei, YANG Wen-tao, GU Jiao-feng, <i>et al.</i> (2546)
Effects of Two Amendments on Remedying Garden Soil Complexly Contaminated with Pb, Cd and As	TIAN Tao, LEI Ming, ZHOU Hang, <i>et al.</i> (2553)
Sorption of Phenanthrene to Soybean and Wheat Roots and the Bioavailability of Sorbed Phenanthrene	WANG Hong-ju, LI Qian-qian, SHEN Yu, <i>et al.</i> (2561)
Effects of Dissolved Organic Matter Fractions Extracted from Humus Soil on Sorption of Benzotriazole in Brown Soil and Black Soil	YANG Ning-wei, BI Er-ping (2568)
Effects of Topography, Tree Species and Soil Properties on Soil Enzyme Activity in Karst Regions	LUO Pan, CHEN Hao, XIAO Kong-cai, <i>et al.</i> (2577)
Effects of Long-term Organic Amendments on Soil N ₂ O Emissions from Winter Wheat-maize Cropping Systems in the Guanzhong Plain	HAO Yao-xu, LIU Ji-xuan, YUAN Meng-xuan, <i>et al.</i> (2586)
Exposure Route of Dioxin-like Polychlorinated Biphenyls in Hair Based on Passive Sampling	YUAN Hao-dong, BAI Yao, LI Qiu-xu, <i>et al.</i> (2594)
Accumulation Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Wild Fish Species from Diaojiang River, Guangxi	WANG Jun-neng, MA Peng-cheng, ZHANG Li-juan, <i>et al.</i> (2600)
Effect of Activated Carbon Addition on the Anaerobic Fermentation of Corn Straw in Mesophilic and Thermophilic Conditions	GAN Rong, GE Ming-min, LIU Yong-di, <i>et al.</i> (2607)
Volatile Organic Compounds (VOCs) Source Profiles of Industrial Processing and Solvent Use Emissions; A Review	WANG Hong-li, YANG Zhao-xun, JING Sheng-ao (2617)