

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第3期

Vol.33 No.3

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

典型排放源黑碳的稳定碳同位素组成研究 陈颖军,蔡伟伟,黄国培,李军,张干(673)

天山典型冰川区雪冰中碳质气溶胶浓度特征研究 王圣杰,张明军,王飞腾,李忠勤(679)

兰州市夏秋季颗粒物谱分布特征研究 赵素平,余晔,陈晋北,刘娜,何建军(687)

不同交通状况下道路边大气颗粒物数浓度粒径分布特征 杨柳,吴焯,宋少洁,郝吉明(694)

南京市夏季大气气溶胶新粒子生成事件分析 王红磊,朱彬,沈利娟,康汉青,刁一伟(701)

西北干旱区降水中 $\delta^{18}O$ 变化特征及其水汽输送 李小飞,张明军,李亚举,王圣杰,黄小燕,马潜,马雷宁(711)

海南东部河口和近岸海域总溶解态无机砷的分布及季节变化 曹秀红,任景玲,张桂玲,张金娥,杜金洲,朱德弟(720)

大辽河口痕量元素砷的河口混合行为 简慧敏,姚庆祯,于立霞,田琳(727)

渤海湾表层沉积物各形态重金属的分布特征与生态风险评价 徐亚岩,宋金明,李学刚,袁华茂,李宁(732)

青岛近岸表层海水中PAHs的分布特征及物源初步解析 李先国,邓伟,周晓,唐旭利,魏新运,王岩(741)

广西乐业大石围天坑群多环芳烃的干湿沉降 孔祥胜,祁士华,黄保健,张原,李杰(746)

上海宝山区城市土壤铅污染来源的同位素判别 董辰寅,张卫国,王冠,马鸿磊,刘圆,刘莹,叶雷平,俞立中(754)

溶质迁移模型在地下水有机污染源识别中的应用 王树芳,王丽亚,王晓红,林沛,刘久荣,辛宝东,贺国平(760)

地下水污染风险评估中特征污染物量化方法探讨 王俊杰,何江涛,陆燕,刘丽雅,张小亮(771)

用于地下水回灌的再生水预处理工艺研究 高滢滢,张薛,赵璇,赵刚(777)

菲律宾蛤仔养殖对胶州湾沉积物-水界面生源要素迁移的影响 邓可,刘素美,张桂玲,陆小兰,张经(782)

南京市九乡河流域景观格局空间分异对河流水质的影响 胡和兵,刘红玉,郝敬锋,安静(794)

上海都市农业村域地表水非点源氮素的时空分异特征 王楠,毛亮,黄海波,张进忠,周培(802)

不同粒径地表街尘中重金属在径流冲刷中的迁移转化 何小艳,赵洪涛,李叙勇,连宾,王小梅(810)

新型人工湿地对工业区降雨径流的净化研究 何丽君,马邕文,王金泉,李东亚,王艳(817)

改性膨润土应急截留液态有机物的性能及机制 李宇,刘贤君,张兴旺,雷乐成(825)

卵圆卡盾藻香港株过氧化氢产生的影响因素研究 江涛,吴霓,钟艳,江天久(832)

芽孢杆菌B1胞外活性物质对球形棕囊藻的溶藻特性研究 李蕾,赵玲,尹平河(838)

底泥对洋河水库微囊藻和鱼腥藻生长影响的研究 储昭升,张玉宝,金相灿,徐颖,杨红君(844)

新型无极准分子光源深度处理水相中含N-杂环化合物 叶招莲,汪斌,路娟娟,李峰,张仁熙(849)

La/Ce掺杂钛基二氧化铅电极的制备及电催化性能研究 郑辉,戴启洲,王家德,陈建孟(857)

DTT对三苯基甲烷染料脱色的研究 潘涛,刘大伟,任随周,郭俊,孙国萍(866)

pH及络合剂对亚铁活化 $S_2O_8^{2-}$ 氧化去除活性艳蓝的影响研究 张成,王金泉,马邕文,王艳,黄明智,兰明(871)

臭氧降解高浓度腐殖酸动力学 郑可,周少奇,杨梅梅(879)

采用体积信息熵表征颗粒污泥系统稳定性及其稳定机制 李志华,姬晓琴,李胜,谢磊,赵海龙,王晓昌(885)

活性污泥的理化性质与絮凝调理投药量的关系 李婷,王毅力,冯晶,徐萌(889)

不同颗粒龄的好氧颗粒污泥性能的研究 周曼,杨昌柱,濮文虹,罗应东,龚建宇(896)

颗粒粒径与数量对硝化与反硝化过程的影响 李志华,曾金锋,李胜,姬晓琴,王晓昌(903)

氧化沟不同曝气模式对氮磷去除性能的优化与比较 郭昌梓,彭党聪,陈雪梅,王丹(910)

生物沥浸的酸化效应对城市污泥脱水性能的影响 朱海凤,周立祥,王电站(916)

2种不同生物接触氧化工艺性能差异的微生物研究 钱殷,全向春,裴元生,马景赞,陶锬(922)

微生物群落对土壤微生物呼吸速率及其温度敏感性的影响 范分良,黄平容,唐勇军,李兆君,梁永超(932)

干旱沙区人工固沙植被演变过程中土壤有机碳氮储量及其分布特征 贾晓红,李新荣,周玉燕,李元寿(938)

密云水库上游流域土壤有机碳和全氮密度影响因素研究 王淑芳,王效科,欧阳志云(946)

外加营养源作用下微生物黏结剂对土壤团聚体的影响 莫艳华,汤佳,张仁铎,李方舟(952)

低分子量腐殖酸改性蒙脱土对黄曲霉素的吸附作用 姚佳佳,康福星,高彦征(958)

液固比对土壤洗涤去除多环芳烃效果的影响 吴威,姜林,陈家军,彭胜(965)

基于PPI的土地利用优化研究 武晓峰,李婷(971)

若尔盖高原湿地藻类多样性研究 陈曦,刘如钢,王艳芬,张洪勋(979)

3种杀真菌剂对AM真菌侵染和黄芩生长的影响 贺学礼,王平,马丽,孟静静(987)

崇明东滩夏季沉积物厌氧氨氧化菌群落结构与空间分布特征 郑艳玲,侯立军,陆敏,谢冰,刘敏,李勇,赵慧(992)

厌氧条件下2,2',4,4'-四溴联苯醚的微生物降解 卢晓霞,陈超琪,张姝,欧阳,尹力,吴蔚(1000)

重金属对白腐菌降解十溴联苯醚的影响 熊士昌,尹华,彭辉,何宝燕,龙焰,叶锦韶,张娜,彭素芬(1008)

有机农药滴滴涕和毒死蜱生物降解机制的分子模拟研究 林玉珍,曾光明,张娉,陈明,蒋敏,张嘉超,鲁伦慧,刘利锋(1015)

高效木薯渣分解复合菌群RXS的构建及其发酵特性研究 何江,毛忠贵,张庆华,张建华,唐蕾,张宏建(1020)

四环素类抗生素污染畜禽粪便的厌氧消化特征 童子林,刘元璐,胡真虎,袁守军(1028)

上推流厌氧反应器连续干发酵猪粪产沼气试验研究 陈闯,邓良伟,信欣,郑丹,刘刘,孔垂雪(1033)

《环境科学》征稿简则(878) 《环境科学》征订启事(1007) 信息(759, 770, 870, 1027)

2 种不同生物接触氧化工艺性能差异的微生物研究

钱殷, 全向春*, 裴元生, 马景赟, 陶锬

(北京师范大学环境学院, 水环境模拟国家重点实验室/教育部水沙科学重点实验室, 北京 100875)

摘要: 研究了单级好氧生物接触氧化和缺氧/好氧两级生物接触氧化工艺对高氨氮河流模拟废水的处理效果, 并针对二者工艺性能差异, 采用 PCR-DGGE、FISH/CLSM 及 FISH/FCM 等分子生物学手段对生物膜进行了微生物生态分析, 以考察不同工艺菌群结构的演替以及主要功能菌的空间分布和丰度变化规律, 并探讨不同生物接触氧化工艺性能差异的微观影响因素和机制. 两级生物接触氧化获得了优于单级生物接触氧化的污染物去除效果, COD 平均去除率高约 10%, 氨氮平均去除率高 32% ~ 59%. 单级接触氧化工艺的生物膜厚度大于两级工艺好氧区生物膜, 硝化细菌分布在距生物膜表层 180 ~ 200 μm 的深度, 而两级接触氧化工艺硝化细菌分布在距好氧生物膜表层 105 ~ 125 μm 的深度. PCR-DGGE 结果表明单级接触氧化工艺微生物丰富度指数显著高于两级工艺, FISH/FCM 实验结果表明两级系统中氨氧化细菌 (AOB) 和亚硝酸盐氧化细菌 (NOB) 的相对丰度随运行时间显著增加, 而单级系统则逐渐下降. 结果证明两级生物接触氧化工艺的分层结构有利于硝化细菌等功能菌群的富集, 能够有效提高工艺对有机物和氨氮的去除效率.

关键词: 氨氮; 生物接触氧化; DGGE; FISH; 硝化细菌; 群落演替; 空间分布

中图分类号: X172; X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)03-0922-10

Microbial Ecology Analysis of the Biofilm from Two Biological Contact Oxidation Processes with Different Performance

QIAN Yin, QUAN Xiang-chun, PEI Yuan-sheng, MA Jing-yun, TAO Kun

(State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control/Key Laboratory of Water and Sediment Sciences of Ministry of Education, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: This study investigated the performance of one-step aerobic biological oxidation process and anoxic/aerobic two-step biological oxidation process treating modeled river water containing low carbon and rich ammonia. Biofilm microbial ecology was analyzed with multiple molecular technologies including PCR-DGGE, FISH/CLSM and FISH/FCM to investigate the succession of bacteria community and space distribution along with abundance of the main functional bacteria, and to research the micro-influential factors and the mechanism of different biological contact oxidation processes for their performance. Results showed that two-step contact oxidation process achieved higher removal percentage than that of the one-step process, with COD and $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ removal enhanced about 10% and 32% - 59%, respectively. A much thicker biofilm was obtained by the one-step process compared to the two-step process, and nitrobacterium was mainly distributed in the depth of 180-200 μm and 105-125 μm , respectively. PCR-DGGE results found that the two-step process demonstrated less microbial diversity than that of the one-step process, FISH/FCM results showed that ammonia oxidizing bacteria (AOB) and nitrite oxidizing bacteria (NOB) abundance increased in the two-step process with the increase of operation time, while that of the one-step process declined. Experiment results demonstrate that functional partitioning of the anoxic-aerobic two-step biological contact oxidation process could be in favor for harvesting nitrobacteria and other special bacteria in different reactor spaces, which can improve removal efficiency for organics and ammonia finally.

Key words: ammonia; biological contact oxidation; DGGE; FISH; nitrobacteria; community succession; space distribution

传统生物接触氧化工艺在市政及工业废水处理中得到了广泛应用^[1-3]. 鉴于生物接触氧化技术的优点, 近年来也有人尝试用天然介质生物膜接触氧化及人工介质强化的生物接触氧化工艺修复受到严重污染的地表水体^[4], 如高氨氮污染型河流等. 目前, 国内高氨氮污染河流中的氨氮浓度通常高于 15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 因此对生物接触氧化工艺对高氨氮河流废水的处理效果以及内在影响因素的研究具有重要的实用和理论价值. 本研究在 2 个相同的反应器内布置了两套构型不同的生物接触氧化工艺: 单级好氧

生物接触氧化工艺和缺氧/好氧两级生物接触氧化工艺, 以此为基础研究工艺构型对模拟高氨氮污染河流废水中有机物及氨氮去除率的影响机制. 结合 PCR-DGGE 手段研究了不同工艺生物膜中主要菌群随运行时间的演替过程, 利用 FISH/CLSM 技术研究了硝化细菌群落的空间分布特征, 并利用 FISH/

收稿日期: 2011-05-01; 修订日期: 2011-06-27

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2008ZX07209-007-03, 2008ZX07209-009-07)

作者简介: 钱殷 (1986 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向水污染控制工程, E-mail: bnuqian@163.com

* 通讯联系人, E-mail: xchquan@yahoo.com.cn

FCM 对硝化细菌进行了精确的相对计数,跟踪了不同运行阶段生物膜中硝化细菌 AOB 和 NOB 相对数量的变化规律,从分子生物学水平上对生物接触氧化工艺的性能差别进行了分析。

王文斌等^[5]研究认为提高生物处理工艺的水力停留时间可以提高工艺对氨氮的处理能力,另有研究认为生物膜的厚度会在很大程度上影响生物膜的硝化能力强弱^[6]。但对决定生物膜工艺硝化性能的微生物研究很多局限于对生物膜中总微生物种群的演替分析^[7-9],另外有些研究利用传统的生物学手段对硝化菌群的计数难以得出精确可靠的结果^[10]。本研究目的是为不同的生物接触氧化工艺的性能差异得出可靠的微生物尺度解释,并考察影响工艺性能的关键因素以及影响机制,以期对生物接触氧化工艺在高氨氮污染河流中的修复应用提供理论支持和方向。

1 材料与方法

1.1 两套生物接触氧化工艺的运行

本研究中两套生物接触氧化工艺分别为单级好氧生物接触氧化工艺和缺氧/好氧两级生物接触氧化工艺。A 反应器为单级接触氧化工艺,填充本实验室改进的球形悬浮填料,球形悬浮填料内部填充齿轮型悬浮生物填料,整个填料挂膜后可以悬浮于水中。B 反应器两级接触氧化工艺在好氧区也填充相同的球形悬浮填料,并前置了缺氧砾石床反应区,其构型分别如图 1 中所示。

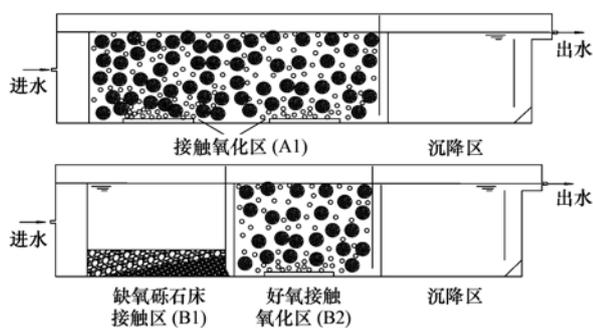


图 1 2 种生物接触氧化反应器的结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the two biological contact oxidation reactors

本实验模拟的实际污染河流的水质为: COD 100 ~ 400 mg·L⁻¹; NH₄⁺-N 15 ~ 50 mg·L⁻¹。反应器接种高碑店污水处理厂 A/O 工艺回流区活性污泥,闷曝 3 d 后连续运行,定期取样检测考察反应器对污染物的去除情况。待出水指标稳定,反应器启动完

成后的运行过程中,分三个阶段提升人工模拟废水 COD, NH₄⁺-N 的浓度负荷。进水理论值 COD 浓度分别为 150、250、350 mg·L⁻¹, NH₄⁺-N 浓度分别为 18、26、36 mg·L⁻¹, TN 浓度分别为 24、34、42 mg·L⁻¹, 进水 pH 值保持在 7.2 ~ 8.0, 2 种工艺总水力停留时间都为 8 h, 其中两级接触氧化工艺两区段的水力停留时间分别为 4 h。单级好氧接触氧化总曝气量约为 4 ~ 6 L·min⁻¹, 两级生物接触氧化的好氧段曝气量为 1.5 ~ 3 L·min⁻¹, 缺氧段不曝气。2 个反应器好氧区 DO 质量浓度控制在 5 ~ 8 mg·L⁻¹, 缺氧区 DO 质量浓度低于 0.8 mg·L⁻¹。温度控制在室温 18 ~ 27℃ 范围内。

1.2 生物接触氧化工艺微生物群落变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE) 分析

在两套工艺不同运行阶段进出水稳定的时间取生物膜样品,使用 1 × PBS 洗涤后在 -20℃ 下保存。生物膜 DNA 采用 EZ Spin Column Genomic DNA Isolation Kit 试剂盒(加拿大 BBI)提取。

DGGE-PCR 用引物 341F-GC 和 907R 扩增 16S rDNA 片段^[11,12], 其序列分别为: 5'-CGCCCGC CGCGCGCGCGGGCGGGGCGGGGCACGGGGGGC CTACGGGAGGCAGCAG-3' 和 5'-CCGTCAATTCMTT TGAGTTT-3', 扩增目标片段长度约 550 bp。PCR 反应体系(50 μL)按如下组分配置: Taq (5 U·μL⁻¹), 0.25 μL; GC Buffer I (Mg²⁺ Plus), 25 μL; dNTP Mixture (各 2.5 mmol·L⁻¹), 4 μL; 模板 DNA(生物膜总 DNA), 1 μL; 引物 341F-GC, 1 μL; 引物 907R, 1 μL; 灭菌 MilliQ 水, 17.75 μL。反应程序采用降落式 PCR^[13]: 94℃ 预变性 5 min, 前 8 个循环为 94℃ 变性 30 s, 63 ~ 56℃ 退火 60 s, 72℃ 延伸 90 s (其中每一个循环后退火温度下降 1℃); 然后 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 60 s, 72℃ 延伸 90 s, 循环 25 次, 最后 72℃ 延伸 7 min。PCR 产物使用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

取 20 μL 阳性 PCR 产物在 DCode™ System 上进行变性梯度凝胶电泳 (denatured gradient gel electrophoresis, DGGE) 分析, 凝胶配制条件: 6% 的聚丙烯酰胺凝胶浓度, 35% ~ 55% 的变性剂梯度。电泳条件为: 120 V 恒压, 恒温 60℃, 时间 12 h。电泳完毕后采用 SYBR Green I (美国 Invitrogen) 染料染色 30 min, 在凝胶成像系统中观察并采集图像, 获得图像采用 Quantity One 4.6.2 软件进行处理, 提取各个泳道相关信息并分析。

在紫外透照台上使用手术刀将 DGGE 胶上目

标条带切下放入 0.2 mL PCR 管子中,使用灭菌牙签捣碎胶体后,加入 50 μL 无菌 MiliQ 水后浸泡过夜,取 5 μL 作为模板,用引物 341F 和 907R 进行 PCR 扩增. PCR 反应体系(50 μL)按如下组分配置: *Taq* (5 U $\cdot\mu\text{L}^{-1}$), 0.25 μL ; 10 \times Buffer (Mg^{2+} Plus), 5 μL ; dNTP Mixture (各 2.5 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$), 4 μL ; 模板 DNA, 5 μL ; 引物 341F、引物 907R,各 1 μL ; 灭菌 MiliQ 水, 33.75 μL . 扩增产物送交北京三博生物测序,测序结果提交 GenBank 进行 BLAST 比对,搜索同源序列.

1.3 荧光原位杂交(FISH)法对硝化菌群的分析

1.3.1 荧光原位杂交(FISH)/激光共聚焦显微镜(CLSM)分析生物膜内硝化菌群的空间分布

以往的研究^[14]中证明当生物膜厚度超过 100 μm 时,将会阻碍杂交探针的穿透性和光量子的透过率,对实验结果造成不可校正的影响.而本实验中生物膜厚度都在 400 μm 以上,因此需要对其进行物理切片后再进行 FISH 杂交和显微观察.在反应器运行稳定期,从两座反应器中好氧区分别取 3 颗良好挂膜填料,使用 4% 多聚甲醛固定后,再使用浓度为 50%、80%、96% 乙醇进行梯度脱水后, -20°C 冷冻保存.

生物膜的物理切片使用冷冻切片机完成,使用包埋剂包埋后在 -20°C 的温度下进行切片,厚度为 50 μm ,切片固定在玻片上.杂交时在每个预处理过的样品上滴加 2 μL 浓度 100 ng $\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 的探针和 8 μL 的杂交液,于 46°C 杂交 3 h 以上,在 48°C 进行洗脱,杂交过程严格避光.杂交完成后风干样品采用 CLSM 检测.

1.3.2 荧光原位杂交(FISH)/流式细胞仪(FCM)技术分析好氧区生物膜内硝化细菌丰度的变化

在两座反应器各个运行阶段出水稳定期,从好氧区挂膜填料上分别取一定量的生物膜,进行固定与梯度脱水预处理后,在 -20°C 下保存.

FISH 实验中分别取适量生物膜加入离心管中,使用超声破碎仪进行分散处理,再稀释到 10^8 mL^[15].取 100 μL 样品离心弃上清液后,添加 5 μL 浓度为 100 ng $\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 的探针和 185 μL 杂交液在 46°C 以及严格避光条件下杂交 3 h 以上,在 48°C 下洗脱 20 min 以上.杂交完成后样品充分重悬浮,使用 FACSVANTAGE SE 流式细胞仪进行 FCM 检测分析.

本研究所用荧光探针都委托美国 Thermal 公司合成,其序列及主要特征,如表 1 所示.

表 1 FISH 实验所用荧光探针的主要特性

Table 1 Oligonucleotide probes used in FISH method

探针名称	序列(5'-3')	特异性	标记物	发射波长/nm
EUB338	GCT GCC TCC CGT AGG AGT	大部分细菌(Domain bacteria)	FITC	488
NSO190	CGA TCC CTG CTT TTC TCC	β 亚群氨氧化菌(β -subgroup ammonia oxidizing bacteria)	Cy3	570
NIT3	CCT GTG CTC CAT GCT CCG	亚硝酸盐氧化菌(<i>Nitrobater</i> spp.)	Cy5	650

1.4 分析方法

水样 NH_4^+-N , NO_3-N 常规指标采用美国 SEAL AACE 型流动分析仪测定,COD 采用国家标准中的重铬酸钾消解法测定^[16].溶解氧浓度和温度都采用 HACH Sens-ion6 型便携式溶氧仪测定; pH 采用德国 Satarious PB-10 pH 计测定.

研究中涉及的分子生物学相关仪器包括: DcodeTM 基因突变检测系统(美国 Bio-Rad), Mycycler PCR 仪(美国 Bio-Rad), Infinity-3000 凝胶成像系统(法国 VILBER), LSM 510 型激光扫描共聚焦显微镜(德国 Carl Zeiss), VCX130PB 超声破碎仪(美国 Sonics), CM 3050 冷冻切片机(德国 Leica), FACSVANTAGE SE 流式细胞仪(美国 BD).

2 结果与分析

2.1 两套生物接触氧化工艺处理效果

经过 3 个星期的启动,两套生物接触氧化工艺顺利启动.此后连续运行了 185 d,在整个运行过程中,反应器 A 在进水 COD 理论值为 150、250、350 mg $\cdot\text{L}^{-1}$ 的 3 个阶段中平均去除率都在 80% 左右,而 B 反应器在 3 个阶段中对 COD 的平均去除率都维持在 90% 以上.2 个反应器对进水中的 COD 的去除情况分别见图 2 所示.

A 反应器出水 COD 浓度在 20 ~ 50 mg $\cdot\text{L}^{-1}$ 之间,B 反应器出水 COD 浓度为 10 ~ 30 mg $\cdot\text{L}^{-1}$. 2 种工艺系统都能够有效地去除进水中 COD,但两级生物接触氧化获得了比单级接触氧化工艺高 10% 的 COD 平均去除率.在 B 反应器中,进水 COD 主要在

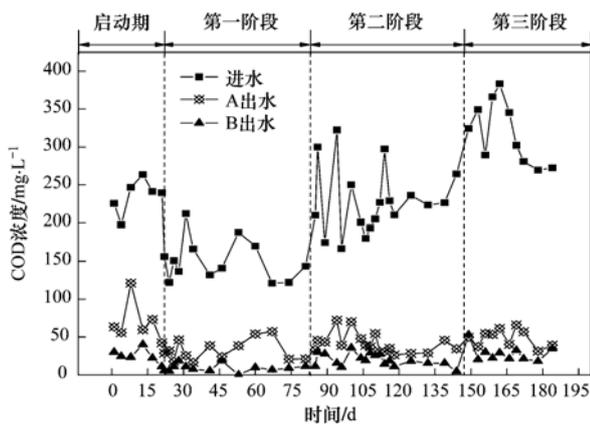


图2 2种生物接触氧化工艺对COD的去除情况

Fig. 2 Removal of COD with operation time in the two biological contact oxidation reactors

第一级缺氧区被去除,启动之后的3个运行阶段中对COD的去除率分别为81%、83%和78%。而第二级好氧区对COD的去除率分别为12%、8%和18%。

随着反应器的运行,进水中COD以及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度不断增加,两套工艺对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除能力逐渐呈现出明显差别,如图3中所示。

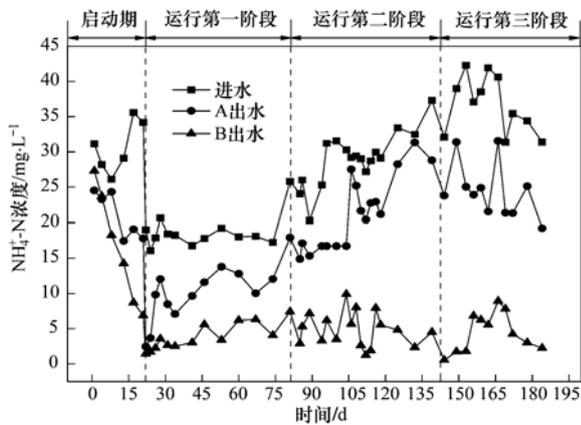


图3 2种生物接触氧化工艺对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除能力差异

Fig. 3 Removal of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in the two biological contact oxidation reactors

启动期A反应器对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的平均去除率为30%,B反应器为44%,2种工艺对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率差异不明显。但随着进水污染物浓度负荷的提升,2种工艺反应器对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率的差异逐渐增大。A反应器在运行的第一阶段、第二阶段及第三阶段对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的平均去除率分别为47.9%、22.4%、29.1%,B反应器在这3个阶段对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的平均去除率分别为80.3%、81.0%、88.1%。3个阶段中B

反应器都保持对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的高去除率且远远高于A反应器,并且随着进水污染物浓度的增加,B反应器对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除优势愈加明显,在整个运行过程中对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的平均去除率比A反应器高32%~59%。

2.2 PCR-DGGE 对生物膜菌群演替的分析

利用PCR-DGGE分析了2种工艺3个区段(A1、B1、B2)中生物膜在整个运行过程中微生物群落演替的趋势,2种工艺在4个运行阶段中各功能区的生物膜16S rDNA梯度凝胶电泳结果如图4所示。

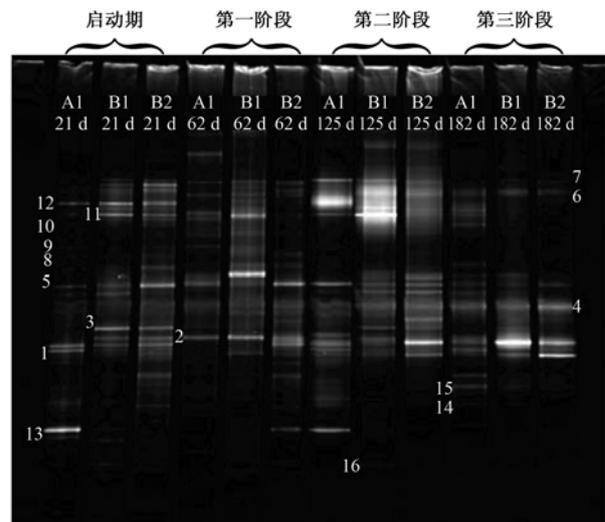


图4 2种生物接触氧化工艺不同运行阶段生物膜DGGE图谱

Fig. 4 DGGE-gel showing 16S rDNA community fingerprint of the biofilm in the two biological contact oxidation reactors at different operation time

由该图谱可知,在反应器启动期间,A、B这2个反应器中生物膜微生物丰富度很接近,但随着运行时间的增加,B反应器在2个区间内生物膜微生物丰富度逐渐下降,而A反应器大部分运行时间都保持很高的微生物丰富度。各个泳道主要条带切胶测序比对结果如表2所示。

结合DGGE电泳图谱可以看出,编号1~5号条带在A、B这2个反应器各运行阶段中普遍存在,其中1、2、4号条带在运行后期占据绝对优势,而5-7号条带代表的*Hydrogenophaga* sp. DD8b、*Fluviicola taffensis* strain RW262、*Solitalea koreensis* strain R2A36-4细菌在启动期和前2个阶段运行过程中并未占据主导地位,在运行后期逐渐占据优势地位。8~12号条带则相反,在反应器启动期21d和62d的3个区间内都有优势地位,但在125d和182d时,已逐渐从B反应器中被淘汰,在A反应器中丰富度也有所下降。

表 2 DGGE 条带测序 BLAST 比对结果

Table 2 BLAST results of DGGE band sequences

条带类型号	长度/bp	相似菌株名称	同源性/%	隶属种类	相似菌株登录号
1	595	<i>Zoogloea caeni</i> strain EMB 43	99	<i>Betaproteobacteria</i>	DQ413148.1
2	593	<i>Sphaerotilus</i> sp. L19	99	<i>Betaproteobacteria</i>	AB087568.1
3	594	<i>Beta proteobacterium</i> OcN1	98	<i>Betaproteobacteria</i>	AF331976.1
4	583	<i>Acidovorax defluvi</i> strain R-31649	99	<i>Betaproteobacteria</i>	AM943035.1
5	590	<i>Hydrogenophaga</i> sp. DD8b	99	<i>Burkholderiales</i>	HQ113382.1
6	575	<i>Fluviicola taffensis</i> strain RW262	99	<i>Flavobacteria</i>	AF493694.2
7	576	<i>Solitalea koreensis</i> strain R2A36-4	92	<i>Sphingobacteria</i>	EU787448.1
8	582	<i>Hydrogenophaga</i> sp. EMB 75	99	<i>Betaproteobacteria</i> ;	DQ413154.1
9	574	<i>Desulfovibrio</i> sp. A2	93	<i>Deltaproteobacteria</i>	AY770382.1
10	580	<i>Delta proteobacterium</i> ZZ-1	94	<i>Deltaproteobacteria</i>	HQ595726.1
11	584	<i>Chlorobium limicola</i>	99	<i>Chlorobia</i>	AM690805.1
12	582	<i>Levinella cohaerens</i> ATCC 23123T	92	<i>Sphingobacteria</i> ;	AM295254.1
13	579	<i>Candidatus Nitrospira defluvi</i>	99	<i>Nitrospirae</i>	FP929003.1
14	571	<i>Nitrospira</i> cf. <i>moscoviensis</i> SBR1024	99	<i>Nitrospiraceae</i>	AF155153.1
15	576	<i>Rhodobacter azotoformans</i> strain S6	96	<i>Alphaproteobacteria</i> ;	FJ349558.1
16	588	<i>Desulfovibrio magneticus</i> RS-1	99	<i>Deltaproteobacteria</i>	AP010904.1

在运行前期,起主要作用硝化细菌条带 13 所代表的 *Candidatus Nitrospira defluvi* 细菌,但在运行后期,主要硝化细菌则变为 14 号条带同源的 *Nitrospira* cf. *moscoviensis* SBR1024 类细菌. 15 号条带的 *Rhodobacter azotoformans* strain S6 同源微生物在运行最后第三阶段成为优势细菌,该类细菌与反应器中氮的迁移转化也息息相关. 而 16 号条带则相反,在运行前期丰度较高,后期逐渐丧失优势地位.

利用 Quantity One 软件从 DGGE 图谱上提取各泳道中条带的峰密度等数据,并利用这些数据计算各个泳道的细菌的多样性指数^[17] (Shannon-Wiener 指数), 3 个区段在运行过程中多样性指数的变化趋势如图 5 所示.

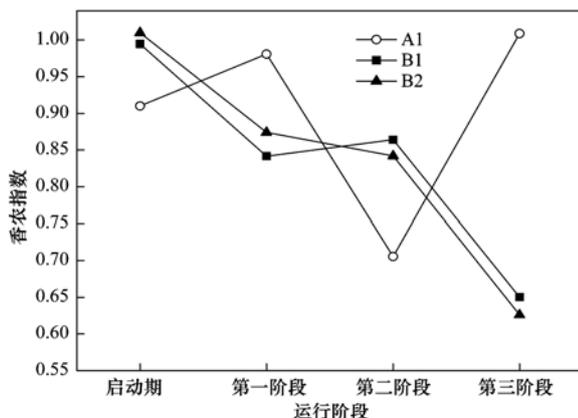


图 5 不同运行阶段 2 个反应器微生物多样性指数变化情况

Fig. 5 Variation of microbial diversity index at different operation stages in the two reactors

在生物接触氧化工艺运行的启动期, B 反应器

2 个区间的微生物多样性指数非常相近, A 反应器好氧区生物膜中微生物多样性指数相对较低, 随着反应器运行时间的增加, A 反应器在运行的第一阶段多样性增加, 在之后的第二阶段反应器中微生物的多样性指数突然下降, 运行第三阶段多样性指数又重新恢复到之前的水平. 从 DGGE 图谱中可以看出, 主要条带的数量的变化趋势与多样性指数的变化一致. 第二阶段 COD 和氨氮浓度的提升对生物膜中的微生物产生明显的选择作用, 不能适应的微生物从反应器中消失, 能够适应的微生物得到更好的富集, 这就导致了条带数量的减少和均匀度的下降, 进而导致生物多样性指数的下降. 第三阶段随着能够适应较高 COD 和氨氮环境微生物的逐渐生长, 生物的多样性又恢复到较高水平.

B 反应器的好氧区和缺氧区生物膜在整个运行过程中变化的趋势一致. 随着运行过程的进行, 主要条带数目和多样性指数持续下降, 到运行第三阶段, 生物多样性指数和主要菌群条带数目都降到最低.

2.3 不同工艺好氧区生物膜的硝化细菌空间分布

经过物理切片分析及 CLSM 镜检观察获得 A 反应器好氧区生物膜厚度平均厚度为 630 μm , B 反应器好氧区生物膜平均厚度为 420 μm , A 反应器好氧生物膜厚度要明显高于 B 反应器.

传统研究认为硝化细菌包括两大类群: 氨氧化细菌 (ammonia oxidizing bacteria, AOB) 和亚硝酸盐氧化细菌 (nitrite-oxidizing bacteria, NOB), 两类细菌各自发挥不同的功能. 通过物理切片以及 FISH-CLSM 观察综合分析, 可以确定 AOB 和 NOB 在生物

膜的分布位置。

2.3.1 单级好氧接触氧化工艺中好氧生物膜 AOB 和 NOB 菌群的分布

FISH 杂交完成后的样品经过激光共聚焦显微镜观察, 利用 Z-Profile 功能进行多层扫描, 得到的 AOB 及 NOB 在垂直方向上的分布, 如图 6 所示。

图 6(a) 中, 在距表层 150 μm 的层面上观察到的微生物主要为异养细菌, 在图 6(b) 中距表层 170 μm 的层面上开始出现少量红色信号, 到距表层 180 μm 的层面上, 已经可以非常明显地观察到 NOB 细菌的分布, 一直到 200 μm 的层面上, 红色信号逐渐消失。在距表层 194 μm 的层面上观察到绿色信号, 到 200 μm 的深度上, 信号也逐渐消失。

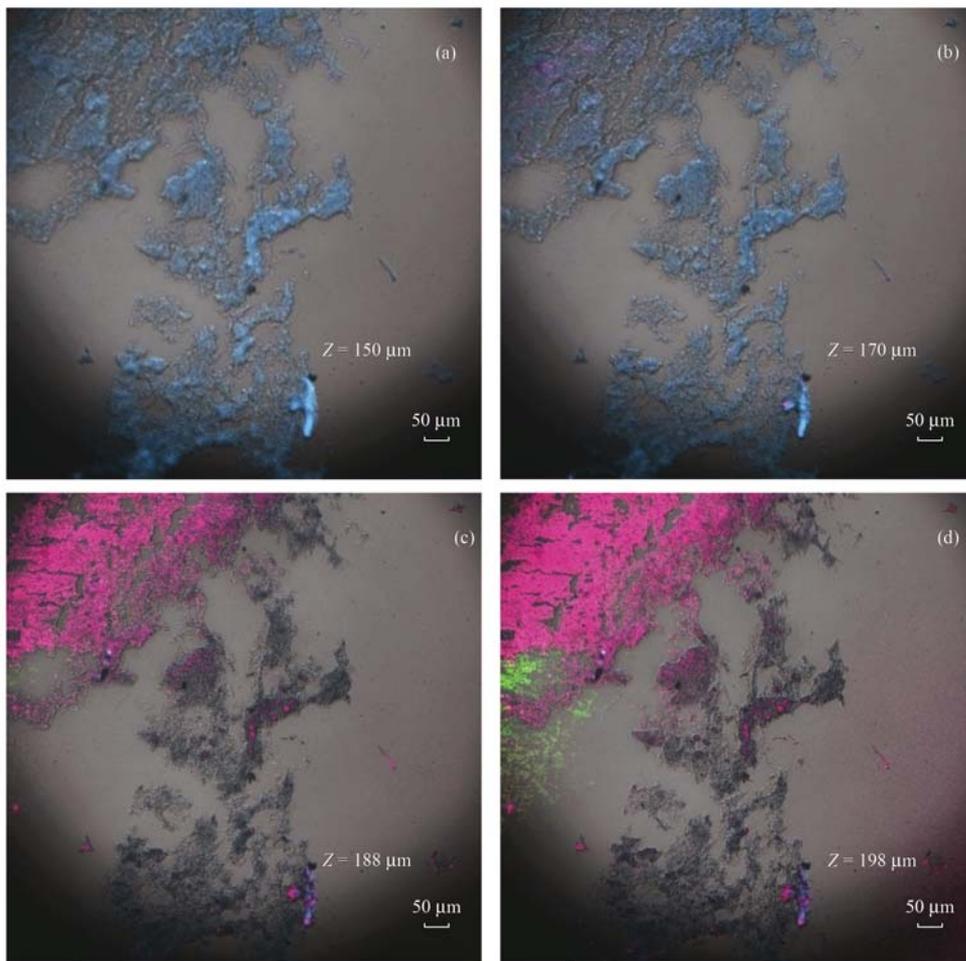
以上 CLSM 观察结果表明, 在单级生物膜接触氧化工艺好氧生物膜中, AOB 细菌分布在 180 ~ 200 μm 的深度上, NOB 细菌在 194 ~ 200 μm 的深度上, 而且信号很弱, NOB 数量较少。

2.3.2 两级生物接触氧化工艺中好氧区生物膜中 AOB 和 NOB 菌群的分布

两级生物接触氧化工艺缺氧区生物膜在反应器连续流运行过程中被证明不具备氧化 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的能力, 因此在本实验中仅研究对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 具备较强去除能力的好氧区生物膜中 AOB 和 NOB 细菌的分布。此区段稳定期的生物膜杂交后 CLSM 观察得到 AOB 和 NOB 的分布情况如图 7 所示。

由多层扫描结果分析可知, B 反应器好氧生物膜区生物膜中, AOB 分布在 106 ~ 122 μm 的深度上, NOB 分布在 112 ~ 124 μm 的深度上。相比两级生物接触氧化工艺, 单级生物接触氧化工艺好氧段生物膜不仅具有更大的厚度, 而且 AOB 和 NOB 细菌在生物膜中的垂直分布也更深。另外, 2 种工艺中 AOB 和 NOB 分布的位置都比较接近。

2.4 2 种工艺好氧生物膜中 AOB 和 NOB 比例随着运行过程的变化



蓝色 EUB338 杂交, 红色 NSO190 杂交, 绿色 NIT3 杂交, 下同

图 6 单级生物接触氧化工艺好氧区生物膜中硝化细菌分布

Fig. 6 Nitro bacteria distribution in the aerobic biofilm of the one-step biological oxidation reactor

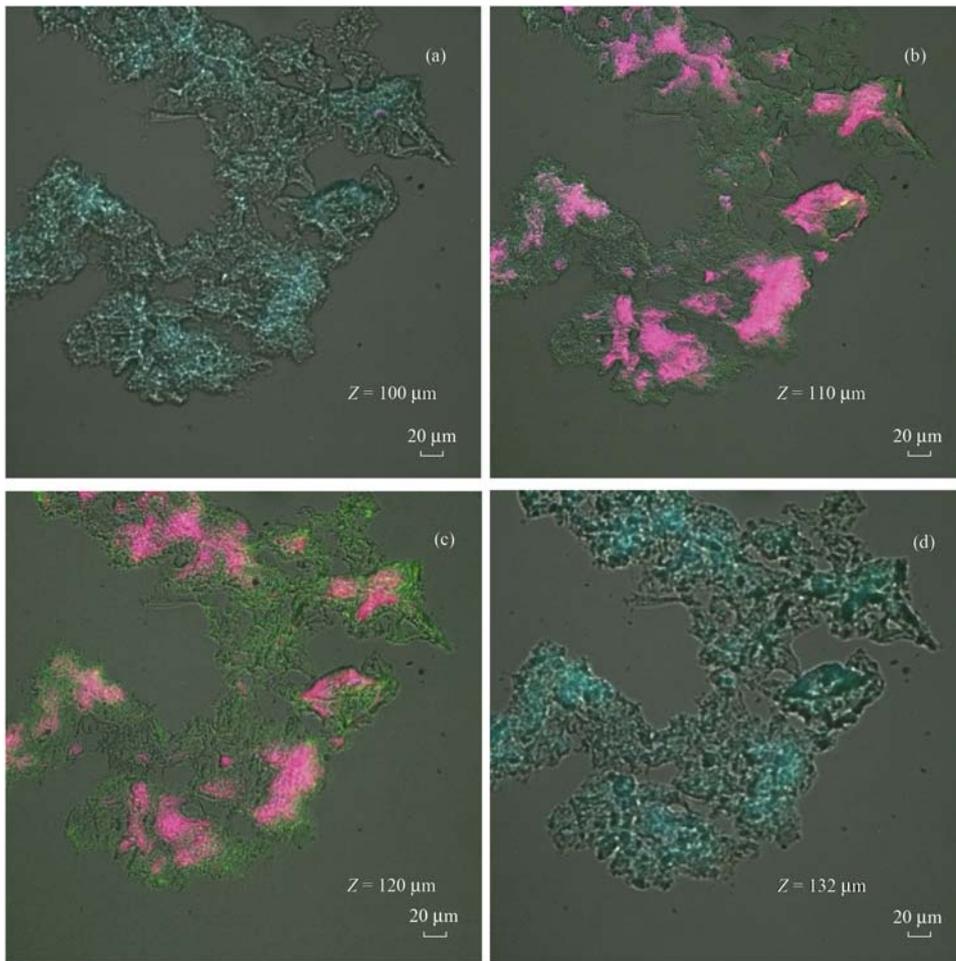


图 7 两级生物接触氧化好氧区生物膜中硝化细菌分布

Fig. 7 Nitro bacteria distribution in aerobic biofilm in the two-step biological oxidation process

2 种工艺好氧区启动期、第一、二、三阶段的生物膜样品利用 FISH 技术分别杂交与上述实验中相同的 3 种探针后,经过 FCM 分析,根据得到数据生成双直方图计算 AOB 和 NOB 占菌落总数的百分比,得出硝化细菌丰度如图 8 和图 9 所示.

反应器 A 中,好氧区生物膜启动期时 AOB 和 NOB 占总细菌的百分比分别为 8.2% 和 7.2%. 随着反应器的运行时间增加,AOB 和 NOB 的比例逐渐下降. AOB 在运行第一、第二及第三阶段占总细菌的比例分别为 11.3%、9.6% 和 9.2%,NOB 在这 3 个阶段中的在总细菌中所占比例分别为 10.3%、4.7% 和 2.5%. 在反应器运行的第二和第三阶段,生物膜内 AOB 细菌仍然占比较大的比重,但是 NOB 细菌的所占百分比则非常低.

反应器 B 的好氧生物膜中 AOB 和 NOB 细菌所占的比例在启动期时与 A 反应器非常接近,在之后随着反应器运行时间的增加有不断上升的趋势.

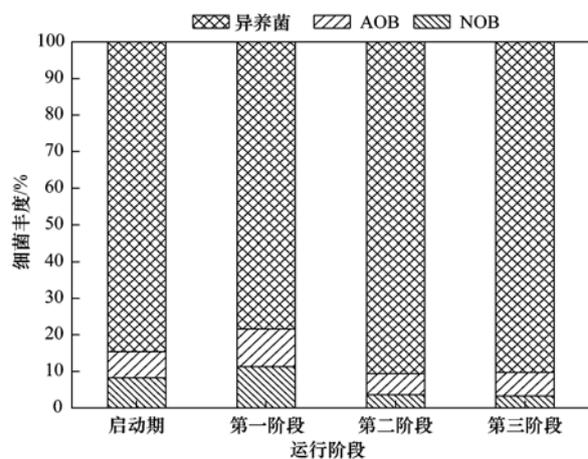


图 8 A 反应器不同运行阶段 AOB 和 NOB 比例的变化

Fig. 8 Variation of AOB and NOB ratio in reactor

A at different operation stages

AOB 在启动期、第一阶段、第二阶段以及第三阶段占总细菌百分比分别为 9.3%、17.7%、24.6% 以

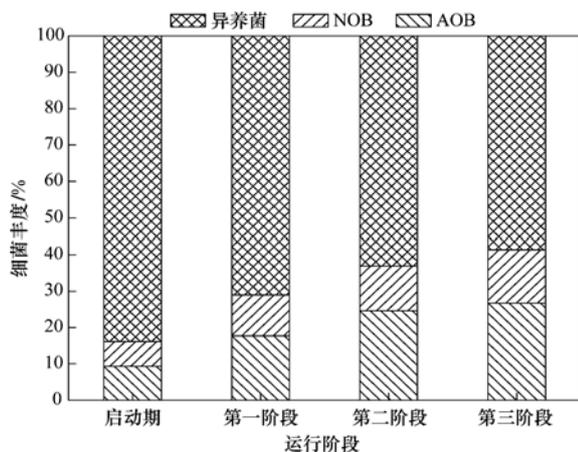


图9 B 反应器不同运行阶段好氧生物膜中 AOB 和 NOB 比例的变化

Fig. 9 Variation of the percentage of AOB and NOB in aerobic biofilm of reactor B

及 26.7%, NOB 所占的比例分别为 6.8%、11.3%、12.3% 以及 14.6%。与启动期相比,在运行第一阶段稳定期的生物膜中 AOB 细菌和 NOB 细菌所占的比例都迅速增加,但在第二和第三阶段, AOB 和 NOB 细菌的比例仅有小幅度的上升,此时 AOB 和 NOB 在生物膜中形成了比较稳定的结构。

3 讨论

3.1 不同接触氧化工艺中生物膜细菌群落演替分析

反应器运行启动期, B 反应器 2 个区段的生物膜微生物群落构成和 A 反应器基本相同,但随着运行时间的增加, A 反应器中微生物群落优势微生物种类和丰度变化很小,而 B 反应器中优势种群发生变化,优势细菌种群的数量相对启动期也急剧下降,这二者的差异来源于 2 种工艺反应器构型上的不同。

对 2 种工艺反应器进出水的监测结果表明, A 反应器中好氧区要同时承担去除 COD 和 NH_4^+ -N 的任务,而 B 反应器区中缺氧区主要进行 COD 的去除,好氧区则主要进行 NH_4^+ -N 的去除。反应器功能区的划分可能会导致该区间起净化作用的生物膜中微生物优势种群更加单一化,以便更加有效地承担其主要功能,PCR-DGGE 的电泳图谱以及切胶测序比对分析证明了这一点。

多样性指数分析结果表明 A 反应器好氧区生物膜中在大部分的运行时间内多样性指数都比 B 反应器的 2 个区域中任何一个要高,从电泳图谱上

可以发现 A 反应器好氧生物膜同样拥有更丰富的优势菌群数量,并且这一趋势随着进水浓度负荷的提高不断增大。这说明两级式接触氧化工艺功能区的划分导致 2 个功能区更倾向于选择对功能区降解能力有利的细菌种群。

Wang 等^[18]在研究 A/O 生物除磷工艺时,通过 PCR-DGGE 实验也发现,随着反应器运行时间的增加,其对污染物去除率上升之后,主要优势微生物种群数量从 19 种降低到 13 种。这与本实验中 B 反应器对 NH_4^+ -N 具有高去除率,但是 2 个区间微生物群落多样性不断下降的现象具有相同趋势。

测序结果发现 B 反应器中 2 个区段的生物膜微生物群落具有相对较高的相似度,这可能是由于缺氧区和好氧区是连通的,两个区间的生物膜会发生扩散作用,进入彼此的功能区,影响生物膜主要菌群构成。

3.2 不同接触氧化工艺好氧区硝化细菌分布以及占总细菌比例变化的分析

从 FISH-CLSM 的所得结果中可以看出, 2 种工艺好氧区的生物膜中 AOB 和 NOB 分布在 100~200 μm 的深度上, AOB 和 NOB 细菌都分布在相近的位置上,这与 2 种细菌利用的底物有关, AOB 氧化 NH_4^+ -N 后的产物 NO_2 -N 正好可以被 NOB 细菌加以利用,这 2 种类别的细菌之间可能存在互利共生的关系。

Okabe 等^[19]曾用 FISH 方法对生物转盘上的生物膜进行研究,发现 AOB 和 NOB 分布在生物膜表层的 100 μm 左右。Gieseke 等^[20]利用 FISH 方法对生物移动床内载体表面生物膜的结构进行了分析,其研究表明,其生物膜的平均厚度在 500 μm 左右,亚硝酸盐氧化菌主要分布在表层 200~250 μm 的范围内,这些研究与本实验中得出的结果相近。

在单级生物接触氧化工艺和两级生物接触氧化工艺好氧区相对比,在实验中测得的单位质量填料上生物膜质量表明, A 反应器中填料上的生物膜量明显高于 B 反应器中的生物膜量, CLSM 镜检也反映了 A 反应器中填料上的生物膜相对更厚,且生物膜中 AOB 和 NOB 分布在距生物膜表层更深的位置上。由于 2 个反应器所有的运行参数基本一致,造成这种差异最可能的原因是好氧区的进水中有机物含量的差别。单级接触氧化工艺好氧区进水中仍然具有浓度较高的 COD。而两级接触氧化工艺中,大部分进水中 COD 在缺氧区已被去除,污水进入好氧区

时 COD 的含量已经非常低. 单级生物接触氧化工艺进水中有机物营养相对两级接触氧化工艺好氧区更加丰富, 因此异养微生物繁殖大大加速, 导致生物膜厚度也高于两级生物接触氧化工艺的好氧区生物膜.

当生物膜厚度增加, 硝化细菌将被包裹到更深的位置, 通过生物膜的 DO、 NH_4^+ -N 和碳源等营养物质的传质阻力也大大增加, 硝化细菌难以有效利用. 而处于生物膜外围的异养有机物降解细菌对 DO 和营养物的竞争都处于优势地位, 将会严重抑制生物膜内部氨氧化细菌 (AOB) 和亚硝酸盐氧化细菌 (NOB) 的活力, 并最终影响生物膜体系中 AOB 和 NOB 的丰富度.

在 FISH-FCM 实验中, 笔者得出的结果表明, A 反应器好氧区生物膜中 AOB 和 NOB 细菌占总细菌数量的比例要低于 B 反应器. 王荣昌等^[21]在研究悬浮载体生物膜上硝化细菌的空间分布时, 也观察到随着反应器进水 COD/ NH_4^+ -N 进水的提高, AOB 和 NOB 在整个生物膜中所占的比例逐渐减小. 这与本实验中 2 种反应器好氧区生物膜中 AOB 和 NOB 比例的变化趋势正好相符.

Terada 等^[22]的研究证明, 低有机物负荷营养环境能够抑制生物膜中异养微生物的繁殖, 而有利于自养的硝化细菌的生长. 异养微生物生长速度被抑制, 接触氧化工艺的生物膜厚度得到有效控制, 生物膜内的硝化细菌能够更好地获取水体中的 NH_4^+ -N、DO 以及其它营养物质, 使其数量增加, 生物膜总体的硝化活性也得到增强.

反应器 B 在 3 个阶段的运行过程中, 进水 COD 浓度不断增大, 但由于缺氧区对 COD 的高效去除, 缺氧区的出水中有机物浓度始终维持在很低的浓度, 这样就不会对好氧区生物膜中的硝化细菌的生长产生抑制作用, 好氧区生物膜中硝化细菌始终维持很高的丰度, 硝化活力也得以保持. 综上所述, 单级生物接触氧化工艺的硝化活力容易受到进水有机物负荷的影响, 增加前置缺氧区的接触氧化工艺能够强化生物接触氧化工艺对 NH_4^+ -N 的去除能力.

4 结论

(1) 缺氧/好氧两级式生物接触氧化工艺和单级好氧生物接触氧化工艺相比对污染物具有更高的降解能力, 前者对 COD 的平均去除率比后者高 10%, 对 NH_4^+ -N 的平均去除率高 32% ~ 59%.

(2) 两级式接触氧化工艺的功能分区会使生物

膜中优势种群单一化, 2 个功能区中生物膜的微生物多样性指数都低于单级生物接触氧化工艺.

(3) 两级生物接触氧化工艺的缺氧区对 COD 的高效去除, 消除了高浓度 COD 对好氧区自养的氨氧化细菌的抑制作用, 好氧区的生物膜厚度相对更小, 硝化细菌分布在较浅的深度, AOB 和 NOB 的丰度相对更高, 形成了稳定的结构, 因此具有更强的硝化活性.

参考文献:

- [1] 卜全民, 毕军, 袁增伟, 等. 生物接触氧化流化床处理氨氮污水的实验研究[J]. 水资源保护, 2008, 24(6): 96-100.
- [2] Huo S L, Xi B D, Yu H C, et al. In situ simultaneous organics and nitrogen removal from recycled landfill leachate using an anaerobic-aerobic process[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(14): 6456-6463.
- [3] Mu X D, Hu Y C, Wang G J, et al. Research progress in biological package for aquaculture wastewater treatment [J]. Journal of Agricultural Science, 2010, 2(2): 210-213.
- [4] 王荣昌, 文湘华, 景永强, 等. 悬浮载体生物膜反应器修复受污染河水试验研究[J]. 环境科学, 2004, 25(增刊): 67-69.
- [5] 王文斌, 祁佩时. 悬浮生物膜载体强化氨氮降解研究[J]. 环境科学, 2006, 26(12): 2502-2506.
- [6] 肖羽堂, 许建华. 生物接触氧化法净化微污染原水的机理研究[J]. 环境科学, 1999, 20(3): 85-88.
- [7] 牟洁, 孙宝盛, 陈谊. 利用 PCR-DGGE 研究膜生物反应器中微生物的群落结构[J]. 环境科学学报, 2010, 30(4): 729-734.
- [8] 李娜, 林晓珊, 张毅. PCR-DGGE 技术分析倒置 A2/O 工艺处理染织废水中的微生物区系[J]. 环境科学学报, 2010, 30(3): 490-496.
- [9] 邢德峰, 任南琪, 宫曼丽. PCR-DGGE 技术解析生物制氢反应器微生物多样性[J]. 环境科学, 2005, 26(2): 172-176.
- [10] 李先宁, 宋海亮, 吕锡武, 等. 反应器分区提高生物接触氧化硝化性能的研究[J]. 中国环境科学, 2006, 26(1): 62-66.
- [11] Geard M, Thorsten B, Ulrich N, et al. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology [A]. In: Molecular microbial ecology manual [M]. (2nd ed.). Netherlands; Kluwer Academic Publishers, 2004. 743-770.
- [12] Nancharaiyah Y V, Wattiau P, Wuertz S, et al. Dual labeling of *Pseudomonas putida* with fluorescent proteins for in situ monitoring of conjugal transfer of the TOL plasmid[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(8): 4846-4852.
- [13] 肖勇, 杨朝晖, 曾光明, 等. PCR-DGGE 研究处理垃圾渗滤液序批式生物膜反应器 (SBBR) 中的细菌多样性[J]. 环境科学, 2007, 28(5): 1096-1101.
- [14] Barranguet C, Van Beusekom S A M, Veuger B, et al. Studying undisturbed autotrophic biofilms: still a technical challenge[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2004, 34(1): 1-9.

- [15] 张燕燕, 陈进军, 郑少奎. FISH-FCM 方法检测酵母-细菌二元体系中微生物数量[J]. 生态学报, 2008, **28**(10): 4850-4855.
- [16] 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. 228-304.
- [17] Dar S A, Kuenen J G, Muyzer G. Nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis approach to determine the diversity of sulfate-reducing bacteria in complex microbial communities[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005; **71**(5): 2325-2330.
- [18] Wang X H, Zhang K, Ren N Q, *et al.* Monitoring microbial community structure and succession of an A/O SBR during start-up period using PCR-DGGE [J]. Journal of Environmental Science, 2009, **21**(2): 223-228.
- [19] Okabe S, Satoh H, Itoh T, *et al.* Microbial ecology of sulfate-reducing bacteria in wastewater biofilms analyzed by microelectrodes and fish (fluorescent *in situ* hybridization) technique[J]. Water Science and Technology, 1999, **39**(7): 41-47.
- [20] Gieseke A, Arnz P, Amann R, *et al.* Simultaneous P and N removal in a sequencing batch biofilm reactor: insights from reactor-and microscale investigations [J]. Water Research, 2002, **36**(2): 501-509.
- [21] 王荣昌, 文湘华, 钱易. 悬浮载体生物膜内硝化菌群空间分布规律[J]. 环境科学, 2006, **27**(11): 2358-2362.
- [22] Terada A, Hibiya K, Nagai J, *et al.* Nitrogen removal characteristics and biofilm analysis of a membrane-aerated biofilm reactor applicable to high-strength nitrogenous wastewater treatment[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2003, **95**(2): 170-178.

CONTENTS

Stable Carbon Isotope of Black Carbon from Typical Emission Sources in China	CHEN Ying-jun, CAI Wei-wei, HUANG Guo-pei, <i>et al.</i> (673)
Characteristics of Carbonaceous Aerosol Concentration in Snow and Ice of Glaciers in Tianshan Mountains	WANG Sheng-jie, ZHANG Ming-jun, WANG Fei-teng, <i>et al.</i> (679)
Size Distribution Properties of Atmospheric Aerosol Particles During Summer and Autumn in Lanzhou	ZHAO Su-ping, YU Ye, CHEN Jin-bei, <i>et al.</i> (687)
Particle Number Size Distribution near a Major Road with Different Traffic Conditions	YANG Liu, WU Ye, SONG Shao-jie, <i>et al.</i> (694)
Atmospheric Particle Formation Events in Nanjing During Summer 2010	WANG Hong-lei, ZHU Bin, SHEN Li-juan, <i>et al.</i> (701)
Characteristics of $\delta^{18}\text{O}$ in Precipitation and Moisture Transports over the Arid Region in Northwest China	LI Xiao-fei, ZHANG Ming-jun, LI Ya-ju, <i>et al.</i> (711)
Distributions and Seasonal Variations of Total Dissolved Inorganic Arsenic in the Estuaries and Coastal Area of Eastern Hainan	CAO Xiu-hong, REN Jing-ling, ZHANG Gui-ling, <i>et al.</i> (720)
Mixing Behavior of Arsenic in the Daliaohe Estuary	JIAN Hui-min, YAO Qing-zheng, YU Li-xia, <i>et al.</i> (727)
Variation Characteristics and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Surface Sediments of Bohai Bay	XU Ya-yan, SONG Jin-ming, LI Xue-gang, <i>et al.</i> (732)
Distribution of PAHs in Surface Seawater of Qingdao Coast Area and Their Preliminary Apportionment	LI Xian-guo, DENG Wei, ZHOU Xiao, <i>et al.</i> (741)
Atmospheric Deposition of PAHs in Dashiwei Karst Tiankeng Group in Leye, Guangxi	KONG Xiang-sheng, QI Shi-hua, HUANG Bao-jian, <i>et al.</i> (746)
Lead Isotope Signatures and Source Identification in Urban Soil of Baoshan District, Shanghai	DONG Chen-yin, ZHANG Wei-guo, WANG Guan, <i>et al.</i> (754)
Solute Transport Modeling Application in Groundwater Organic Contaminant Source Identification	WANG Shu-fang, WANG Li-ya, WANG Xiao-hong, <i>et al.</i> (760)
Quantitative Method of Representative Contaminants in Groundwater Pollution Risk Assessment	WANG Jun-jie, HE Jiang-tao, LU Yan, <i>et al.</i> (771)
Study on the Advanced Pre-treatments of Reclaimed Water Used for Groundwater Recharge	GAO Yu-tuan, ZHANG Xue, ZHAO Xuan, <i>et al.</i> (777)
Influence of <i>Ruditapes philippinarum</i> Aquaculture on Benthic Fluxes of Biogenic Elements in Jiaozhou Bay	DENG Ke, LIU Su-mei, ZHANG Gui-ling, <i>et al.</i> (782)
Influence of Spatial Difference on Water Quality in Jiuxiang River Watershed, Nanjing	HU He-bing, LIU Hong-yu, HAO Jing-feng, <i>et al.</i> (794)
Temporal and Spatial Variation of Non-Point Source Nitrogen in Surface Water in Urban Agricultural Region of Shanghai	WANG Nan, MAO Liang, HUANG Hai-bo, <i>et al.</i> (802)
Migration and Transformation of Heavy Metals in Street Dusts with Different Particle Sizes During Urban Runoff	HE Xiao-yan, ZHAO Hong-tao, LI Xu-yong, <i>et al.</i> (810)
Treatment Studies of Industrial Rainoff With a New Type of Constructed Wetland	HE Li-jun, MA Yong-wen, WAN Jin-quan, <i>et al.</i> (817)
Emergent Retention of Organic Liquid by Modified Bentonites: Property and Mechanism	LI Yu, LIU Xian-jun, ZHANG Xing-wang, <i>et al.</i> (825)
Production of Peroxide Hydrogen in <i>Chattonella ovata</i> Hong Kong Strain	JIANG Tao, WU Ni, ZHONG Yan, <i>et al.</i> (832)
Characteristics Study of Extracellular Active Substance of <i>Bacillus</i> sp. B1 on <i>Phaeocystis globosa</i>	LI Qiang, ZHAO Ling, YIN Ping-he (838)
Effects of Sediment on the Growth of <i>Microcystis</i> and <i>Anabaena</i> in Yanghe Reservoir	CHU Zhao-sheng, ZHANG Yu-bao, JIN Xiang-can, <i>et al.</i> (844)
New-Type Electroless Excilamp for Advanced Treatment on Nitrogen-Heterocyclic Compounds (NHCs) in Aqueous Solution	YE Zhao-lian, WANG Bin, LU Juan-juan, <i>et al.</i> (849)
Preparation and Electro-catalytic Characterization on La/Ce Doped Ti-base Lead Dioxide Electrodes	ZHENG Hui, DAI Qi-zhou, WANG Jia-de, <i>et al.</i> (857)
Study on Decolorization of Triphenylmethane Dyes by DTT	PAN Tao, LIU Da-wei, REN Sui-zhou, <i>et al.</i> (866)
Influences of pH and Complexing Agents on Degradation of Reactive Brilliant Blue KN-R by Ferrous Activated Persulfate	ZHANG Cheng, WAN Jin-quan, MA Yong-wen, <i>et al.</i> (871)
Degradation Kinetics of Ozone Oxidation on High Concentration of Humic Substances	ZHENG Ke, ZHOU Shao-qi, YANG Mei-mei (879)
Index of Stability and Its Mechanisms of Aerobic Granular System Using Volume-based Information Entropy	LI Zhi-hua, JI Xiao-qin, LI Sheng, <i>et al.</i> (885)
Relationship Between Physicochemical Characteristics of Activated Sludge and Polymer Conditioning Dosage	LI Ting, WANG Yi-li, FENG Jing, <i>et al.</i> (889)
Research of Aerobic Granule Characteristics with Different Granule Age	ZHOU Man, YANG Chang-zhu, PU Wen-hong, <i>et al.</i> (896)
Effect of Size and Number of Aerobic Granules on Nitrification and Denitrification	LI Zhi-hua, ZENG Jin-feng, LI Sheng, <i>et al.</i> (903)
Optimization and Comparison of Nitrogen and Phosphorus Removal by Different Aeration Modes in Oxidation Ditch	GUO Chang-zi, PENG Dang-cong, CHENG Xue-mei, <i>et al.</i> (910)
Effect of Acidification on the Dewaterability of Sewage Sludge in Bioleaching	ZHU Hai-feng, ZHOU Li-xiang, WANG Dian-zhan (916)
Microbial Ecology Analysis of the Biofilm from Two Biological Contact Oxidation Processes with Different Performance	QIAN Yin, QUAN Xiang-chun, PEI Yuan-sheng, <i>et al.</i> (922)
Altered Microbial Communities Change Soil Respiration Rates and Their Temperature Sensitivity	FAN Fen-liang, HUANG Ping-rong, TANG Yong-jun, <i>et al.</i> (932)
Storages and Distributed Patterns of Soil Organic Carbon and Total Nitrogen During the Succession of Artificial Sand-Binding Vegetation in Arid Desert Ecosystem	JIA Xiao-hong, LI Xin-rong, ZHOU Yu-yan, <i>et al.</i> (938)
Factors Controlling Soil Organic Carbon and Total Nitrogen Densities in the Upstream Watershed of Miyun Reservoir, North China	WANG Shu-fang, WANG Xiao-ke, OUYANG Zhi-yun (946)
Impact of Microbial Aggregating Agents on Soil Aggregate Stability Under Addition of Exogenous Nutrients	MO Yan-hua, TANG Jia, ZHANG Ren-duo, <i>et al.</i> (952)
Adsorption of Aflatoxin on Montmorillonite Modified by Low-Molecular-Weight Humic Acids	YAO Jia-jia, KANG Fu-xing, GAO Yan-zheng (958)
Influence of Operating Parameters on Surfactant-enhanced Washing to Remedy PAHs Contaminated Soil	WU Wei, JIANG Lin, CHEN Jia-jun, <i>et al.</i> (965)
Study on the Land Use Optimization Based on PPI	WU Xiao-feng, LI Ting (971)
Research on Algal Diversity in Zoige Alpine Wetland	CHEN Xi, LIU Ru-yin, WANG Yan-fen, <i>et al.</i> (979)
Effects of Three Fungicides on Arbuscular Mycorrhizal Fungal Infection and Growth of <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	HE Xue-li, WANG Ping, MA Li, <i>et al.</i> (987)
Community Structure and Spatial Distribution of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria in the Sediments of Chongming Eastern Tidal Flat in Summer	ZHENG Yan-ling, HOU Li-jun, LU Min, <i>et al.</i> (992)
Microbial Degradation of 2,2',4,4'-Tetrabrominated Diphenyl Ether Under Anaerobic Condition	LU Xiao-xia, CHEN Chao-qi, ZHANG Shu, <i>et al.</i> (1000)
Effect of Heavy Metals on Degradation of BDE-209 by White-rot Fungus	XIONG Shi-chang, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> (1008)
Biodegradation Mechanism of DDT and Chlorpyrifos Using Molecular Simulation	LIN Yu-zhen, ZENG Guang-ming, ZHANG Yu, <i>et al.</i> (1015)
Construction of a Microbial Consortium RXS with High Degradation Ability for Cassava Residues and Studies on Its Fermentative Characteristics	HE Jiang, MAO Zhong-gui, ZHANG Qing-hua, <i>et al.</i> (1020)
Anaerobic Digestion of Animal Manure Contaminated by Tetracyclines	TONG Zi-lin, LIU Yuan-lu, HU Zhen-hu, <i>et al.</i> (1028)
Continuous Dry Fermentation of Pig Manure Using Up Plug-Flow Type Anaerobic Reactor	CHEN Chuang, DENG Liang-wei, XIN Xin, <i>et al.</i> (1033)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2012年3月15日 33卷 第3期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 3 Mar. 15, 2012

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行