

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第8期

Vol.33 No.8

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

南海北部大气气相多溴联苯醚的含量及来源	李琦路, 李军, 刘向, 徐维海, 张干 (2533)
河北张家口市大气污染观测研究	邵平, 王莉莉, 安俊琳, 周彦丽, 王跃思 (2538)
大气中丙烷光氧化臭氧生成活性的烟雾箱模拟	黄丽华, 莫创荣, 徐永福, 贾龙 (2551)
膜生物反应器处理甲苯性能及机制	叶杞宏, 魏在山, 肖盼, 李华琴, 张再利, 樊青娟 (2558)
厨余垃圾堆肥过程中恶臭物质分析	张红玉, 邹克华, 杨金兵, 李国学, 杨青原, 张锋 (2563)
北京城市生态系统地表水硝酸盐污染空间变化及其来源研究	徐志伟, 张心昱, 任玉芬, 孙晓敏, 王效科, 王升忠 (2569)
枯、平、丰水期长江3条支流表层水中多氯联苯的分布特征及风险评价	李昆, 赵高峰, 周怀东, 曾敏, 廖柏寒, 吴正勇, 张盼伟, 柳敏 (2574)
三峡库区丰水期表层水中酚类的分布特征及潜在风险	吴正勇, 赵高峰, 周怀东, 李科林, 李昆, 张盼伟 (2580)
东湖表层水体中全氟辛酸和全氟辛磺酸空间分布特征	陈静, 王琳玲, 朱湖地, 王贝贝, 刘黄诚, 曹梦华, 苗竹, 胡丽, 陆晓华, 刘光虹 (2586)
三峡库区大宁河与磨刀溪重金属污染特征	安立会, 张艳强, 郑丙辉, 刘玥, 宋双双, 李子成, 陈浩, 赵兴茹, 林进 (2592)
长江水系表层沉积物重金属污染特征及生态风险性评价	王岚, 王亚平, 许春雪, 安子怡 (2599)
江苏如东滩涂贝类养殖区表层沉积物中重金属来源分析及其潜在生物毒性	李磊, 王云龙, 蒋玫, 袁璐, 沈新强 (2607)
扰动强度对太湖沉积物中磷释放及其形态转化的影响	李大鹏, 黄勇 (2614)
干流倒灌异重流对香溪河库湾营养盐的补给作用	张宇, 刘德富, 纪道斌, 杨正健, 陈媛媛 (2621)
常年淹水和干旱对三峡库区消落带菖蒲生长恢复的影响	李强, 高祥, 丁武泉, 朱启红, 欧媛, 刘瑜 (2628)
温州城市降雨径流磷的负荷及其初始冲刷效应	周栋, 陈振楼, 毕春娟 (2634)
沂蒙山区典型小流域降雨径流的磷素输出特征	于兴修, 李振炜, 刘前进, 井光花 (2644)
城郊农业区小流域土地利用结构对氮素输出的影响	杨峰, 王鹏举, 杨珊珊, 吴金水, 胡荣桂 (2652)
基于 AnnAGNPS 模型四岭水库小流域氮磷流失特征的模拟研究	边金云, 王飞儿, 杨佳, 俞洁, 楼莉萍, 俞丹萍 (2659)
基于 GIS 和 L-THIA 模型的深圳市观澜河流域非点源污染负荷变化分析	白凤姣, 李天宏 (2667)
黄土丘陵区坡面水蚀对降雨和下垫面微观格局的响应	卫伟, 贾福岩, 陈利顶, 吴东平, 陈瑾 (2674)
强化混凝对腐殖酸和富里酸去除对比研究	周玲玲, 张永吉, 叶河秀, 张一清 (2680)
九龙江下游水源水中新发病原微生物和抗生素抗性基因的定量 PCR 检测	王青, 林惠荣, 张舒婷, 于鑫 (2685)
布吉河丰水期总细菌和氨氧化细菌的定性和定量研究	孙海美, 白姣姣, 孙卫玲, 邵军 (2691)
曝气生物滤池工艺脱氮性能及反硝化细菌群落结构特征研究	彭晓兰, 刘聪, 陈吕军 (2701)
城市污水处理厂氧化沟工艺微生物种群分析	郭云, 杨殿海, 卢文健 (2709)
IC 反应器处理啤酒废水的效能及其微生物群落动态分析	朱文秀, 黄振兴, 任洪艳, 阮文权 (2715)
原子力显微镜液池成像技术应用于微絮凝过滤工艺过程中的实验条件优化	郑蓓, 葛小鹏, 于志勇, 原盛广, 张文婧, 孙景芳 (2723)
UV/H ₂ O ₂ 法对印染废水生化出水中不同种类有机物的去除效果	李新, 刘勇弟, 孙贤波, 徐宏勇, 钱飞跃, 李欣珏, 李暮 (2728)
蛋白核小球藻 <i>Chlorella pyrenoidosa</i> -15 的异养培养条件优化及污水养殖	王秀锦, 李兆胜, 邢冠岚, 李卓凝, 袁红莉, 杨金水 (2735)
“Fe ⁰ /优势脱氯菌”体系降解 2,4,6-TCP 特性及机制研究	戴友芝, 郭丽丽, 史雷, 刘智勇, 高宝钗 (2741)
树脂 D201 上粗漆酶的固定化及对孔雀石绿的脱色	戚绪亮, 刘翔, 刘波, 王林, 王小春, 方超 (2747)
TiO ₂ /PS/Fe ₃ O ₄ 光催化剂的低温制备及其光催化和磁回收性能	王雪姣, 任学昌, 念娟妮, 肖举强, 王刚, 常青 (2752)
微波加热下苯的催化氧化性能研究	张钰彩, 卜龙利, 王晓晖, 刘海楠, 张浩 (2759)
纳米磁粉协同解偶联剂作用下活性污泥性能的研究	高丽英, 汤兵, 梁玲燕, 黄绍松, 付丰连, 罗建中 (2766)
好氧颗粒污泥沉降选择实验研究与定量描述	苏德足, 邓绣坤, 郑丽, 王畅, 金旺江, 沈俊 (2773)
超声波促进好氧/缺氧污泥消化过程中水解酶活性变化研究	叶运弟, 孙水裕, 郑莉, 刘宝建, 许燕滨, 占星星, 刘敬勇 (2780)
微生物营养剂浓度对生物沥浸法促进城市污泥脱水性能的影响	宋永伟, 刘奋武, 周立祥 (2786)
实验室条件下蓝藻结皮对低温光照胁迫的响应与微结构变化	饶本强, 李华, 熊瑛, 兰书斌, 李敦海, 刘永定 (2793)
西南地区紫色水稻土活性碳库的季节动态	吴艳, 江长胜, 郝庆菊 (2804)
典型设施菜地土壤抗生素污染特征与积累规律研究	尹春艳, 骆永明, 滕应, 章海波, 陈永山, 赵永刚 (2810)
土壤铜硒复合污染中金属形态转化及其对生物有效性的影响	胡斌, 梁东丽, 赵文龙, 缪树寅 (2817)
土壤微生物群落对多环芳烃污染土壤生物修复过程的响应	张晶, 林先贵, 刘魏魏, 尹睿 (2825)
可可毛色二孢菌对焦化厂土壤多环芳烃污染修复	张志远, 王翠苹, 刘海滨, 孙红文 (2832)
广西茶山铈矿尾砂中微量元素的淋滤实验研究	蔡永兵, 李玲, 魏晓飞, 张国平, 李海霞, 付志平 (2840)
北京市近郊区土壤砷累积特征	戚洁, 王美娥, 汪自强, 欧阳志云 (2849)
抗氧化酶基因作为多环麝香污染分子标志物研究	陈春, 周启星, 刘潇威 (2855)
臭气污染对不同品种小麦干物质与生物量碳积累与分配的影响	寇太记, 于伟伟, 朱建国, 朱新开 (2862)
尿素分解共沉淀法中反应时间对 ZnAl 类水滑石结构和磷吸附性能的影响	陆英, 程翔, 邢波, 孙中恩, 孙德智 (2868)
铅和铜离子在纳米羟基磷灰石上的竞争吸附动力学研究	胡田田, 仓龙, 王玉军, 司友斌, 周东美 (2875)
pH 和 Ni ²⁺ 对人工纳米氧化硅吸附菲的影响	罗沛, 孙红文, 张鹏 (2882)
铈在凹凸棒石上的吸附特性与机制研究	刘娟, 陈迪云, 张静, 宋刚, 罗定贵 (2889)
环丙沙星在潮土中的吸附特性	崔皓, 王淑平 (2895)
中高温区水合肼 SNCR 脱硝反应机制和特性研究	洪彦, 陈德珍, 王渡, 黄慷 (2901)
H ₂ S 选择性催化氧化工艺及催化剂研究现状	郝郑平, 冀广玉, 张鑫, 曲思秋 (2909)
《环境科学》征稿简则 (2550) 《环境科学》征订启事 (2568) 信息 (2684, 2714, 2848, 2916)	

IC 反应器处理啤酒废水的效能及其微生物群落动态分析

朱文秀, 黄振兴, 任洪艳, 阮文权*

(江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122)

摘要: 在 35℃ 下连续运行内循环厌氧反应器(IC), 通过不断提高进水容积负荷, 研究不同运行负荷下反应器处理模拟啤酒废水的运行情况, 并探讨微生物的种群结构与其活性变化之间的相互关系。IC 反应器效能分析表明其最大进水容积负荷(以 COD 计)可达 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$, COD 去除率为 85% 以上, 最大比产甲烷活性(以 VSS 计)可达 $210 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$; 污泥脱氢酶活性与细菌 DGGE 图谱表明反应器中脱氢酶活性的变化趋势与细菌 DGGE 条带总光强度的变化趋势一致, DGGE 图谱中细菌条带的总光密度值可作为厌氧体系中生物量的一个参考指标; 辅酶 F₄₂₀ 与古细菌 DGGE 分析表明, 污泥中辅酶 F₄₂₀ 含量与甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.) 的相对丰度有一定的相互联系, 在低负荷条件下甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina mazei*) 优势地位比较显著, 随着负荷的提高, 甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.) 优势地位逐渐显著, 且辅酶 F₄₂₀ 含量随之升高, 当最大负荷为 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时, 辅酶 F₄₂₀ 的含量(以 VSS 计)达到 $0.16 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$, 而此时甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.) 占据尤为明显的优势地位; 聚类分析(UPGAMA)和 Shannon 指数也表明在不同反应负荷下, 微生物的群落结构变化明显。

关键词: IC 反应器; Shannon 指数; PCR-DGGE; 脱氢酶; 辅酶 F₄₂₀

中图分类号: X797 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)08-2715-08

Performance and Microbial Community Dynamic Characteristics of an Internal Circulation Reactor Treating Brewery Wastewater

ZHU Wen-xiu, HUANG Zhen-xing, REN Hong-yan, RUAN Wen-quan

(School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: A lab-scale internal circulation reactor (IC) fed by artificial brewery wastewater was operated with increasing volumetric loading rate under 35℃ continuously. The reactor performance and the relationship between microbial community structure and bioactivity in the anaerobic sludge were investigated during the operation. The COD removal efficiency was above 85%, furthermore, the maximum volumetric loading rate (VLR) and the maximum specific methanogenic activity (SMA) of the reactor could be up to $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ and $210 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$ respectively. The results from the dehydrogenase and the bacteria DGGE experiments demonstrated that the dehydrogenase variation tendency was positively correlated to total light intensity of the whole bacteria DGGE bands for each sample. The total light intensity of the whole bacteria DGGE bands can use as a referential index for biomass liveweight in anaerobic system. Moreover, the coenzyme F₄₂₀ content related to the relative abundance of *Methanosaeta* based on coenzyme F₄₂₀ and archaeobacteria DGGE analysis. As the volumetric loading rate increased, *Methanosaeta* became significantly dominant, which was accompanied by the coenzyme F₄₂₀ content increasing. The content could be up to $0.16 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$, meanwhile, the superiority of *Methanosaeta* became significantly obvious; UPGAMA analysis and Shannon index also confirmed the dynamic changes of microbial community structure during the operation.

Key words: internal circulation reactor(IC); Shannon index; PCR-DGGE; dehydrogenase; coenzyme F₄₂₀

20 世纪 80 年代以来,我国啤酒工业得到迅速发展,现已成为世界五大啤酒生产国之一。与此同时大量啤酒废水所带来的环境压力也日益严重。据文献报道,每生产 1 t 啤酒需要排放废水 10 ~ 20 m³^[1],如何低能高效地处理发酵废水成为目前啤酒工业亟待解决的关键问题之一。另一方面,厌氧反应器如厌氧序批式反应器(ASBR)^[2]、上流式厌氧污泥床(UASB)^[3]、厌氧流化床(AFB)^[4]等由于其处理效率高、耗能低、产泥少,近年来已被广泛运用到啤酒废水等发酵废水的处置中。但是内循环厌氧

反应器(IC)在处理可生化性好的废水时,由于其停留时间短、抗冲击负荷好、容积负荷高及投资省等优点,能够进一步提高啤酒废水的处理效率,具有更高的技术和应用优越性。

反应器的运行情况可以通过多种方法进行监测,包括观察厌氧污泥的物化变化及生理生化指标

收稿日期: 2011-10-20; 修订日期: 2011-12-06

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2009AA033004)

作者简介: 朱文秀(1986~),女,硕士研究生,主要研究方向为环境生物技术, E-mail: txzhuwenxiu@126.com

* 通讯联系人, E-mail: wqruan@jiangnan.edu.cn

变化.同时,近年来分子生态学技术在环境领域得到广泛应用,其可以用来对反应器中的微生物进行定性、定量研究,从而促进对反应器运行的微观研究. PCR-DGGE 技术具有可靠、方便快捷、重现性好等优点,迅速成为微生物群落多样性和动态分析的强有力的工具^[5],并被广泛用于活性污泥、生物膜、土壤、底泥等环境样品中的微生物多样性检测和种群演替的研究^[6].

本研究采用实验室自行设计的 IC 反应器处理模拟啤酒废水,并对其工艺条件进行了优化.此外基于 PCR-DGGE 及克隆技术分析了不同运行时期反应器中污泥活性和微生物菌群结构的动态变化,确定了反应器运行过程中的主导微生物,探讨了反应器中微生物活性与微生物群落结构变化之间的相互关系,初步获得了反应体系处理负荷对微生物种群结构及其迁移转化的作用效应和规律,并借助脱氢酶活性和辅酶 F_{420} 活性的分析,剖析不同运行负荷下微生物的代谢活性,以期为进一步提高啤酒废水的厌氧处理效率提供理论参考.

1 材料与方法

1.1 实验用水

本实验采用模拟啤酒废水.即购买瓶装雪花啤酒,加入适量自来水稀释,使进水浓度始终保持在 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,同时加入适量微量元素: $\text{FeCl}_3\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $80\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NiCl}_2\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $1.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, ZnCl_2 $2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $20\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{CoCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $80\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $3.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. 为了保证体系有足够的 pH 缓冲能力,配水中加入适量的 NaHCO_3 ,使反应器内的 pH 维持在 7.0 左右.

1.2 接种污泥

本实验采用的接种污泥来自无锡市某污水处理厂的颗粒污泥,污泥颗粒性较好,污泥呈黑色,污泥含水率为 86%, $m(\text{VSS})/m(\text{TSS})$ 为 0.76,粒径范围为 0.9~2 mm,在反应器启动前,接入 10 L 的接种污泥,约占反应区总容积的 1/2.

1.3 实验装置与流程

实验装置如图 1 所示,IC 反应器高 180 mm,直径 10 mm,总体积 20 L.进水泵将水槽中的废水泵入循环泵,和回流水混合,部分废水再由循环泵由底部泵入反应器,循环罐中安装有一个立管,厌氧反应器的出水被收集在立管中,部分出水从立管的底部与原废水相混合,其余出水会从立管中溢流排出.产

气经三相分离器后,由气体流量计测量产气量.反应器外部设有保温夹套,通过恒温水浴箱水流循环保持反应器温度在 $(35\pm 1)^\circ\text{C}$.

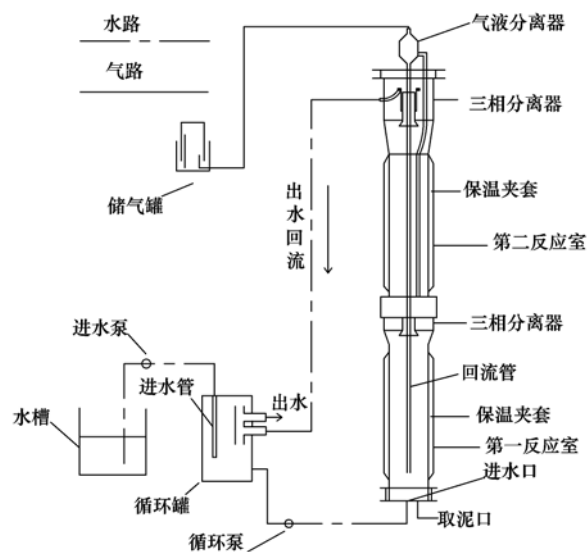


图 1 IC 反应器示意

Fig. 1 Diagram of IC reactor

1.4 分析方法

1.4.1 生化指标

COD、SS、VSS 以及 pH 的测定采用标准方法^[7]; 辅酶 F_{420} : 紫外分光光度法^[8,9]; 脱氢酶: TTC 脱氢酶活性测定法^[10].

1.4.2 PCR-DGGE

采用 MO-BIO 公司的 PowerSoil DNA Isolation Kit 提取总 DNA,PCR 扩增使用 PCR 扩增仪(朗基公司),扩增对象为 16S rDNA 的 V3 可变区.对于细菌,引物采用 Muzyer 等^[11]所用的引物 F341 与 R534; 对于古菌,引物为 PARC109F 与 PRUN518R^[12~14].为提高 DGGE 分辨率,分别在 F341 与 PARC109F 的 5'端加 GC 夹子^[20].PCR 反应采用 25 μL 的反应体系,采用 Fermentas 公司提供的 PCR Master Mix (2 $\times$)进行 PCR 实验.细菌 PCR 运行模式为: 94°C 预变性 4 min, 94°C 变性 1 min, 65°C 退火 1 min,之后每个循环降低 0.5°C , 72°C 延伸 1 min,20 个循环,然后再以 94°C 变性 1 min, 55°C 退火 1 min, 72°C 延伸 1 min,进行 10 个循环,最后 72°C 终延伸 6 min; 古菌 PCR 运行模式为: 94°C 预变性 4 min, 94°C 变性 45 s, 58.5°C 退火 45 s,之后每个循环降低 0.5°C , 72°C 延伸 45 s,21 个循环,然后再以 94°C 变性 45 s, 48.5°C 退火 45 s, 72°C 延伸 45 s,进行 10 个循环,最后 72°C 终延伸 6 min. PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测. DGGE 在 Dcode 系统

(Bio-Rad 公司)上进行,聚丙烯酰胺浓度为 8%,对于细菌,变性剂浓度范围 35%~55%,对于古菌,变性剂浓度范围为 30%~60%。在 $1 \times \text{TAE}$ 缓冲液中,以 80 V 电压 60℃ 恒温电泳 12 h 后,用 SYBR Green I 染色后拍照观察, DGGE 指纹图谱用 Quantity One 软件进行分析。

1.4.3 克隆测序

将细菌和古菌 DGGE 图谱中有代表性的条带切下,分别用不带 GC 夹子的上述引物,按照上述的 PCR 体系和运行模式再次进行扩增。扩增产物进行克隆,每条带选取 5 个克隆进行测序(上海迈浦公司完成)。将得到的序列片段在 GenBank 数据库用 Blast 进行检索与同源性分析。

1.4.4 DGGE 图谱统计分析

微生物种群结构多样性指数可用 Shannon 指数 H' 来表示, H' 的计算是基于 DGGE 胶条带的位置和条带的强度,利用光密度曲线进行计算。Shannon 指数的计算公式为^[15]:

$$H' = - \sum (n_i/N) \lg(n_i/N)$$

式中, n_i 为光密度曲线的峰高; N 为光密度曲线上所有峰高的总和。

2 结果与分析

2.1 高效厌氧反应器连续运行过程及结果

2.1.1 反应器的启动及 COD 的变化

本实验中,高效厌氧反应器共运行 106 d。由于反应器的接种污泥来自无锡市某污水处理厂,其活性较好。启动时直接采用模拟废水,此阶段采取低浓度、低流量方式,控制进水 COD 浓度为 $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,进水容积负荷(以 COD 计,下同)为 $3 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$,水力停留时间为 16 h。负荷提升期采用提高进水流量的方式提高厌氧反应器的负荷,当反应器稳定运行时,提高容积负荷。以这样的运行方式逐渐从 $3 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 提高到 8、10、15、18、20 $\text{kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 左右,进水 COD 浓度保持在 $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右不变, COD 的最大容积负荷为 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$,水力停留时间为 2.4 h。高效厌氧反应器在整个运行阶段的进出水 COD、进水容积负荷以及 COD 去除率如图 2 所示,可以看出:每次提高负荷后,出水 COD 都会有所增加, COD 去除率有所下降,但随着运行时间的增长, COD 去除率就会回升,最后达到 85% 以上。另外,随着反应器的运行,当进水容积负荷从 $15 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 逐渐提高到 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,起初 COD 的去除率虽然也有所下

降,但下降的幅度与之前中低负荷相比较小,且能很快回升,可见运行一段时间后,反应器中微生物已经能承受一定程度的负荷冲击,很快的适应新的负荷条件。但是当负荷提高到 $22 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,出水 COD 浓度一直都比较低,持续一个星期左右都没有下降趋势,所以又将负荷调低至 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$,经过 10 d 左右 COD 出水才有所改善,去除率达到 80% 左右,经过 15 d 后, COD 去除率能稳定在 85% 以上。

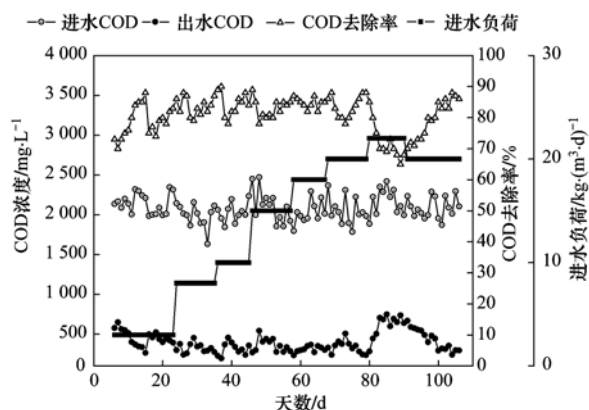


图 2 进出水 COD 浓度及 COD 去除率的变化

Fig. 2 Influent/effluent COD concentration and changes of removal rate

2.1.2 比产甲烷活性的变化

定期从不同负荷下稳定运行的反应器中取出颗粒污泥,准确量取 25 mL,接种到三角瓶中,加入 100 mL 废水,测定其比甲烷活性(SMA)。从图 3 可以看出:随着负荷的增加,比产甲烷活性(以 VSS 计,下同)也随之增加,从接种污泥的 $56 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$ 上升到 $210 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$,比原来增加了 2.75 倍。相对于

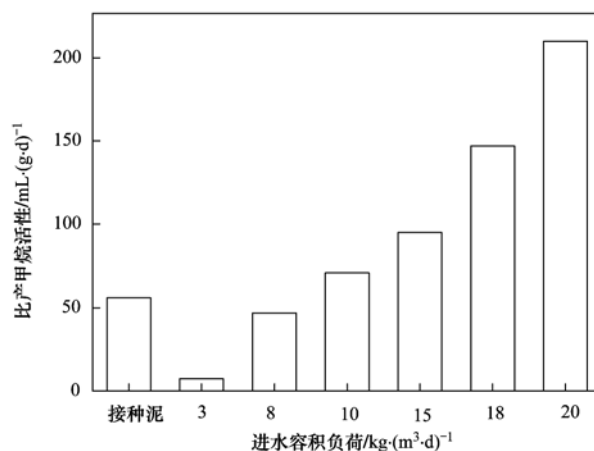


图 3 不同容积负荷下厌氧污泥的比产甲烷活性

Fig. 3 Specific methanogenic activity at different volumetric loading rates

接种污泥,当初始负荷为 $3 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,有机负荷较低,且微生物应对新环境需要一定的适应期,所以污泥的比产甲烷活性较接种污泥有所下降.但随着负荷的增加,污泥对反应器环境的适应,比产甲烷活性逐渐提高,说明污泥的产甲烷活性增强,COD 的去除效果也有所提高.

2.2 脱氢酶活性与细菌 DGGE 条带光密度的变化关系

脱氢酶活性是厌氧体系微生物代谢的重要指标,脱氢酶活性水平直接关系到有机物降解速度,反映处理体系内活性微生物的量以及生物处理设施的运行效果^[16]. 本实验采用脱氢酶来体现反应器中颗粒污泥活性的变化情况. 整个实验过程对污泥接种期、不同负荷下的稳定运行期以及反应器崩溃时的污泥样品的脱氢酶活性进行了测定,同时利用 Quantity One 软件对各污泥样品 DGGE 图谱中条带的光密度值进行分析. 其结果如图 4 所示:当负荷为 $3 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,脱氢酶的浓度(以 TF/SS 计,下同)由接种污泥的 $5.3 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 降低到 $4.1 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$,而随着运行时间的延长,污泥开始适应新的反应环境,污泥中的脱氢酶活性随着负荷的提高也逐渐提高,最大达到 $12.7 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$,最后反应器崩溃时,脱氢酶活性又有所降低. 与此同时细菌 DGGE 图谱中条带的总光密度值也呈现出相似的变化趋势. 可能由于 DGGE 分析是基于细菌 16S rDNA 的 V3 可变区序列的分析,其扩增条带长度一致,所以脱氢酶活性可以反映污泥中活性微生物的量,而且 DGGE 图谱中细菌条带的总光密度值也可以作为厌氧体系中生物量的一个参考指标,用来作为厌氧体系中生物量半定量的一个微生物指标.

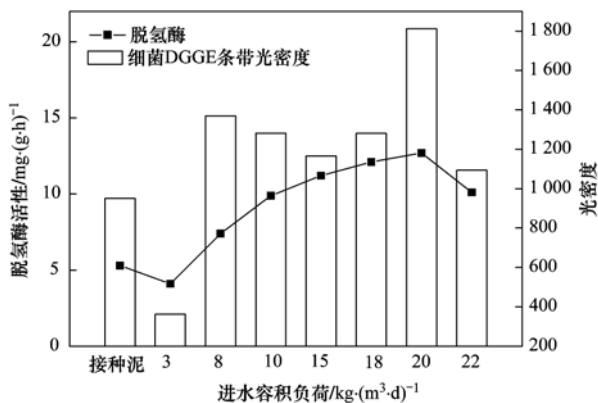


图 4 不同负荷下脱氢酶与细菌 DGGE 条带光密度的关系

Fig. 4 Relation between dehydrogenase and intensity of DGGE band for bacteria at different volumetric loading rates

2.3 辅酶 F_{420} 与古菌种群结构的关系

辅酶 F_{420} 是产甲烷菌所特有的关键因子,其生化作用是低电位电子转移载体,在甲烷的形成过程中起很重要的作用^[8], Delafontaine 等^[17] 首先提出了用厌氧污泥中辅酶 F_{420} 含量来反映产甲烷污泥活性. 图 5 将不同运行负荷下的辅酶 F_{420} 与对应负荷下的古菌种群结构进行比较分析,可以看出随着反应负荷的提高,古菌的种群结构发生了变化,辅酶 F_{420} 的浓度随着负荷的提高而增加. 具体表现为:低负荷下,条带 2、3、4 所代表的微生物占主导地位,但随着负荷的升高,条带 1 所代表微生物的优势地位逐渐显著,而且辅酶 F_{420} 含量也随之升高. 当最大负荷为 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,辅酶 F_{420} 的含量(以 VSS 计,下同)达到 $0.16 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$,而此时条带 1 所代表的微生物占据尤为明显的优势地位. 由此可见,辅酶 F_{420} 含量与负荷的提高以及微生物种群结构的演变存在相应的联系.

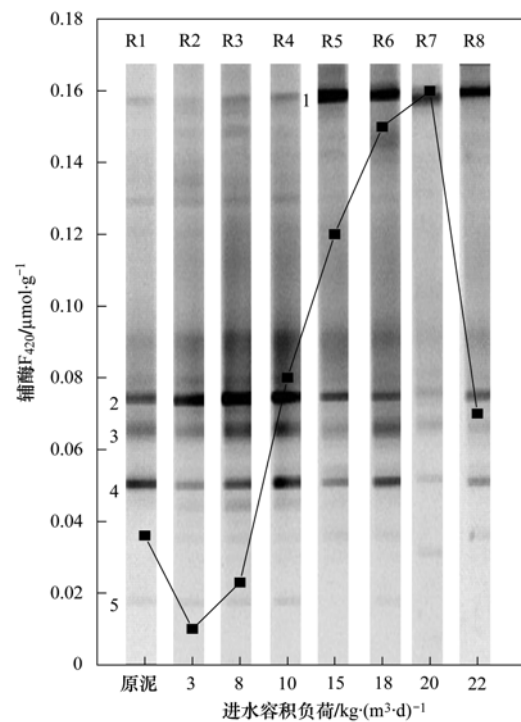


图 5 不同负荷下辅酶 F_{420} 与古菌种群结构的关系

Fig. 5 Relation between F_{420} and archaeal community structure at different volumetric loading rates

2.4 不同负荷条件下污泥微生物群落结构的动态变化

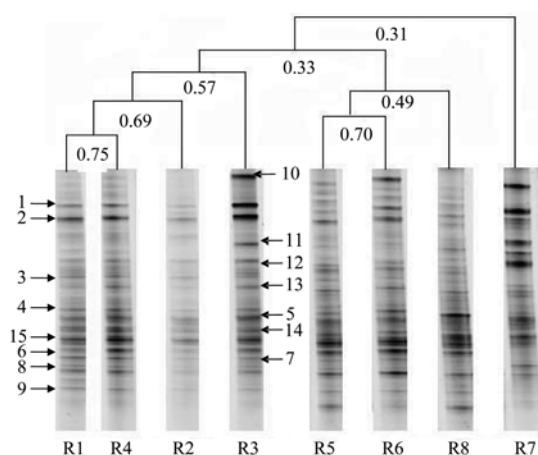
2.4.1 利用 PCR-DGGE 对污泥中细菌种群进行研究

对接种污泥、不同负荷下稳定运行后的污泥样品以及反应器后期处理效率低的污泥样品进行细菌 DGGE 分析,基于得到的 DGGE 图谱,用 Quantity

One 软件进行 UPGAMA 分析,结果如图 6 所示:所有样品中的 DGGE 条带数量并没有明显的差异,但不同负荷下污泥样品中的优势菌种结构发生了改变.在样品 R1 中,条带 1 和 2 是 2 条并不明显的优势菌带,而在 R3 中,这 2 个条带明显变亮,成为 2 条明显的优势菌带,但随着负荷的提高,条带 1 和 2 的亮度又有些减弱,但条带 1、2、3、4、5、6、7、8、9、13 在整个运行过程中均能保持其显著性.样品 R2 中,不管是条带的数量还是样品中条带的亮度都比其他样品要少,这是由于有机负荷较低,营养不充足,反应器中生物量可能有一定程度的降低.当反应器处于低负荷时,出现了条带 14,但随着负荷的提高,条带 14 逐渐消失;相反,条带 6 和 15 随着反应负荷的提高,其亮度逐渐变亮,说明高负荷有利于条带 6 和 15 所代表的菌种的生长,却不利于条带 14 所代表的菌种的生长.而当负荷提高到 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,污泥样品中又出现了新的优势条带.

利用 UPGAMA 算法对样品进行聚类分析,结果如图 6. 从中可见,8 个样品共分成三大族群,样品 1、2、3、4 为一大族群,样品 5、6、8 为一大族群,样品 7 单独成为一族,这就说明随着反应器的运行和负荷的提高,污泥细菌群落结构发生了一定程度的改变.在容积负荷为 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,细菌群落结构与其他负荷下的群落结构有着明显的不同.

2.4.2 利用 PCR-DGGE 对污泥中古菌种群进行研究



R1:接种污泥; R2~R7:负荷分别为 $3、8、10、15、18、20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 下的污泥样品; R8:负荷为

$22 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 条件下出水效果不好时的污泥样品,下同

图 6 不同负荷下细菌的 DGGE 图谱及聚类分析

Fig. 6 DGGE fingerprint of bacteria under different volumetric loading rates

对接种污泥、不同负荷下稳定运行后的污泥样品以及反应器后期处理效率低的污泥样品进行古菌 DGGE 分析,基于得到的古菌 DGGE 图谱,用 Quantity One 软件进行 UPGAMA 分析,结果如图 7 所示.就条带总数而言,古菌并没有细菌那样丰富,比较明显的条带只有图中的 5 个;随着反应器的运行,占优势的古菌种类逐渐减少,且优势菌群随着负荷的改变也发生了变化;条带 2、3、4 在整个运行阶段都处于优势地位,但条带 2 随着负荷的提高,其亮度有所减弱,说明条带 2 代表的古菌更易在低负荷下生长;而条带 1 所代表的菌种在高负荷下生长较好,条带的亮度较亮,而条带 5 亮度相对较弱,说明其代表的菌种在反应器中的生长不占优势.与细菌相比,古菌的种群结构变化较明显,说明古菌更易受到反应时间及运行负荷的影响,这与邢薇^[14]、Roest^[18]等的研究结果相符.

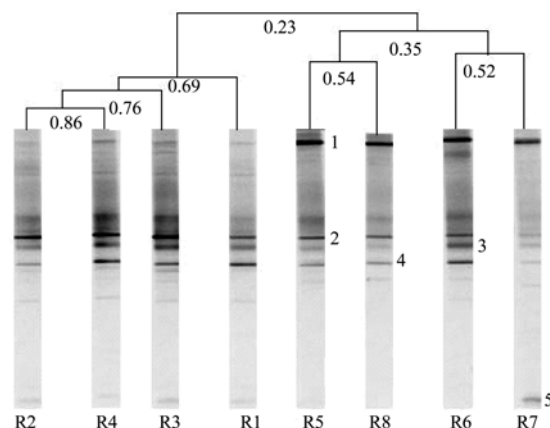


图 7 不同负荷下古菌的 DGGE 图谱及聚类分析

Fig. 7 DGGE fingerprint of archaea under different volumetric loading rates

利用 Quantity One 软件计算出古菌 DGGE 图谱中各样品的相似性矩阵,结果如表 1 所示,可以看出:R2~R8 样品中的古菌与接种污泥中古菌的相似性分别为 71.4%、69.1%、80.5%、47.7%、44.6%、25.9%、22.9%。R3 与接种污泥 R1 的相似性最高,其相似性可达到 80.5%,而 R8 与接种污泥的相似性最低,只有 22.9%,当反应器在较低负荷下运行时,古菌群落结构的相似性差异不大,如当负荷分别为 $3、8 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,反应器中古菌与接种污泥相比,相似性都能保持在 70% 左右,但随着反应器的运行,容积负荷的提高,古菌群落结构的相似性越来越低,甚至降到 22.9%,可见 IC 反应器经过长时间运行后,污泥中古菌的种群结构变化较大,其稳定性不如细菌.

表 1 古菌的相似性矩阵

Table 1 Dice coefficient comparing the similarities of PCR-DGGE fingerprints								
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	100.0	71.4	69.1	80.5	47.7	44.6	25.9	22.9
2	71.4	100.0	75.6	85.6	59.8	46.9	34.1	36.5
3	69.1	75.6	100.0	79.6	53.4	49.0	27.2	31.4
4	80.5	85.6	79.6	100.0	55.1	51.2	26.4	32.1
5	47.7	59.8	53.4	55.1	100.0	50.9	35.3	54.1
6	44.6	46.9	49.0	51.2	50.9	100.0	52.5	47.1
7	25.9	34.1	27.2	26.4	35.3	52.5	100.0	52.6
8	22.9	36.5	31.4	32.1	54.1	47.1	52.6	100.0

通过 Shannon 多样性指数 (H') 来表征污泥古菌群落结构的多样性,结果如图 8 所示. 厌氧反应器中古菌的种群多样性先增加后降低,这与彭剑峰^[19]、张斌^[20]等的研究结果一致. 当容积负荷为 $3\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 时,微生物需适应反应器中的新环境,所以 Shannon 指数略有降低;但随着反应器的继续运行,古菌逐渐适应,其种群多样性有所增高,当负荷达到 $15\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 时,其多样性指数达到最大值;而后 Shannon 指数又有所下降,这可能是由于随着负荷的提高,其上升流速也随着提高,不适应高容积负荷的一些古菌生长受到抑制或者随出水流失,从而使得古菌群落结构多样性指数有所下降.

2.5 克隆测序

将图 6 和图 7 中做标记的条带进行切胶回收并克隆测序,细菌测序结果如表 2 所示,古菌测序结果

如表 3 所示.

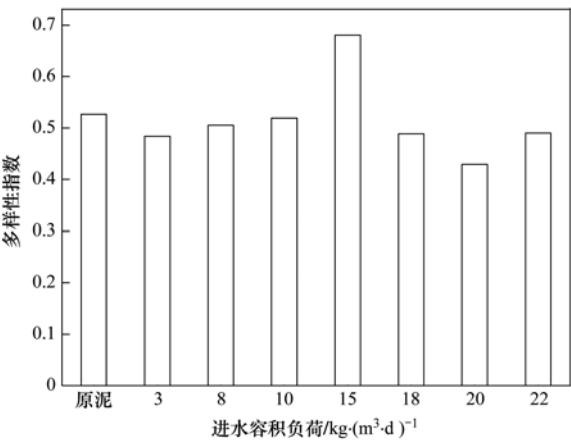


图 8 反应器运行过程中的 Shannon 指数

Fig. 8 Shannon index of granular sludge throughout operational process

表 2 细菌克隆测序序列的种属关系

Table 2 Phylogenetic relationship of different clone sequences of bacteria		
项目	GenBank 中接近的细菌种类(相似性%)	条带
始终处于优势地位的细菌菌群	<i>Streptomyces clavuligerus</i> (98%)、 <i>Vibrio</i> sp. (90%)、 <i>Flavobacterium psychrophilum</i> (98%)、 <i>Serratia</i> sp. (98%)、 <i>Clostridium beijerinckii</i> (98%)、Uncultured <i>Veillonellaceae bacterium</i> (98%)、Uncultured <i>bacterium</i> (98%)、1、2、3、4、5、6、7、8、9、13	
优势减弱的细菌菌群	Uncultured <i>bacterium</i> (98%)、Uncultured <i>Lactococcus</i> sp. (100%)、Uncultured <i>Clostridiales bacterium</i> (98%)	14
优势增加的细菌菌群	Uncultured <i>Lactococcus</i> sp. (100%) Uncultured <i>Veillonellaceae bacterium</i> (98%)、 <i>Lactococcus lactis</i> subsp. (98%)	6、15

表 3 古菌克隆测序序列的种属关系

Table 3 Phylogenetic relationship of different clone sequences of archaea		
项目	GenBank 中接近的古菌种类(相似性%)	条带
始终处于优势地位的古菌菌群	<i>Methanosarcina mazei</i> (98%)、 <i>Methanobacterium</i> sp. (98%)、Uncultured <i>Methanocorpusculum</i> sp. (98%)、	2、3、4
优势减弱的古菌菌群	<i>Methanobacterium</i> sp. (98%)、 <i>Methanoculleus marisnigri</i> (98%)	2、5
优势增加的古菌菌群	Uncultured <i>Methanosaeta</i> sp. (99%)	1

由表 2 可看出:在整个运行阶段,黄杆菌 (*Flavobacterium psychrophilum*)、链酶球菌 (*Streptomyces clavuligerus*)、弧菌 (*Vibrio* sp.)、沙雷氏菌 (*Serratia* sp.)、梭菌 (*Clostridium beijerinckii*)、

韦荣球菌 (*Veillonellaceae bacterium*)、丙酸菌 (*Propionibacterium* sp.) 以及一些不能培养的细菌是优势菌种,无论是提高反应负荷还是延长运行时间,这些菌种都能保持其优势地位;在低负荷下,乳球

菌(*Lactococcus lactis*)能较好地生长;但随着负荷的提高,乳球菌逐渐消失,但却能促进韦荣球菌(*Veillonellaceae bacterium*)的生长.方春玉等^[21]从处理啤酒废水的厌氧流化床的活性污泥中分离纯化到了梭菌属和拟杆菌属等,赵继红等^[22]在分析啤酒废水处理系统的微生物区系时也发现了弧菌属和芽孢杆菌等.

由表 3 可以看出:古菌的优势菌种主要有甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.)、甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina mazei*)、甲烷杆菌属(*Methanobacterium* sp.)、甲烷粒菌属(*Methanocorpusculum* sp.)、甲烷袋菌属(*Methanoculleus marisnigri*);甲烷八叠球菌(*Methanosarcina mazei*)在低负荷下条带较亮,但在高负荷下其亮度有所减弱,这与胡纪萃^[23]等的研究一致,可能是因为高负荷下,反应器的上升流速较大,而甲烷八叠球菌细胞内有气泡,所以当上升流速较大时,甲烷八叠球菌(*Methanosarcina mazei*)易浮而随出水流失;与甲烷八叠球菌相反,甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.)在高负荷下明显比低负荷时生长的好,条带比低负荷时亮很多,可见在高负荷下甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.)的生长较好.因此经过长期的运行,甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.)更适宜高容积负荷下的生长,成为本实验 IC 厌氧反应器中的优势产甲烷菌. Collins 等^[24]也发现:随着有机负荷的增加及运行时间的延长,产甲烷古菌种群结构也发生了变化,乙酸营养型的甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina mazei*)所占比例减少.

3 结论

(1)高效厌氧反应器在 35℃ 下连续运行 106 d,进水容积负荷最高可达 $20 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$, COD 去除率能达到 85% 以上,污泥的比产甲烷活性能达到 $210 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$,比接种污泥的比产甲烷活性提高了 2.75 倍.负荷的提高有助于提高产甲烷活性,从而使污泥去除 COD 的能力也随之加强.

(2)DGGE 图谱中细菌条带的总光密度值也可作为厌氧体系中生物量的一个参考指标.

(3)随着进水容积负荷的提高,辅酶 F₄₂₀ 含量能达到 $0.16 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$,而古菌的种群结构也发生了较明显的变化,在高负荷下起主要作用的古菌主要是甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.).

(4)随着反应器的运行及反应负荷的提高,古菌群落结构的相似性变化较明显,与接种污泥相比,

其相似性仅为 22.9%.就多样性而言,古菌不如细菌那样丰富,种群结构的稳定性也不及细菌.

(5)不同运行负荷下,污泥中的优势菌种发生了改变,运行过程中占主导地位的古菌有甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.)、甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina mazei*)、甲烷杆菌属(*Methanobacterium* sp.)、甲烷粒菌属(*Methanocorpusculum* sp.)、甲烷袋菌属(*Methanoculleus marisnigri*),但随着反应器负荷的提高,甲烷八叠球菌(*Methanosarcina mazei*)的优势逐渐减弱,而甲烷鬃菌属(*Methanosaeta* sp.)逐渐占据主导地位.

参考文献:

- [1] 方春玉,周健,张会展. 啤酒废水厌氧生物处理技术研究进展[J]. 四川理工学院学报(自然科学版), 2006, 19(1): 88-92.
- [2] Shao X W, Peng D C, Teng Z H, et al. Treatment of brewery wastewater using anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(8): 3182-3186.
- [3] Parawira W, Kudita I, Yandoroh M G, et al. A study of industrial anaerobic treatment of opaque beer brewery wastewater in a tropical climate using a full-scale UASB reactor seeded with activated sludge[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(2): 593-599.
- [4] Ochieng A, Ogada T, Sisenda W, et al. Brewery wastewater treatment in a fluidised bed bioreactor[J]. Journal of Hazardous Materials, 2002, 90(3): 311-321.
- [5] 卢永,陈秉娟,申世峰,等. PCR-DGGE 在水处理微生物群落多样性分析中的应用[J]. 化学与生物工程, 2009, 26(5): 55-59.
- [6] 李怀,关卫省,欧阳二明,等. DGGE 技术及其在环境微生物中的应用[J]. 环境科学与管理, 2008, 33(10): 93-96, 99.
- [7] 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.
- [8] 俞毓馨,吴国庆,孟宪庭,等. 环境工程微生物检验手册[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990.
- [9] 唐一,胡纪萃. 辅酶 F₄₂₀ 作为厌氧污泥活性指标的研究[J]. 中国沼气, 1990, 8(2): 11-15.
- [10] 周春生,尹军,孟琳,等. TTC-脱氢酶活性检测方法的研究[J]. 吉林建筑工程学院学报, 1995, 3(1): 1-13.
- [11] Muyzer R, Smalla K. Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 1998, 73(1): 127-141.
- [12] Großkopf R, Janssen P H, Liesack W. Diversity and structure of the methanogenic community in anoxic rice paddy soil microcosms as examined by cultivation and direct 16S rRNA gene sequence retrieval[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(3): 960-969.

- [13] Ovreås L, Forney L, Daae F L, *et al.* Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Saelenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(9): 3367-3373.
- [14] 邢薇, 左剑恶, 孙寓姣, 等. 利用 FISH 和 DGGE 对产甲烷颗粒污泥中微生物种群的研究[J]. *环境科学*, 2006, **27**(11): 2268-2272.
- [15] Boon N, De Windt W, Verstraete W, *et al.* Evaluation of nested PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) with group-specific 16S rRNA primers for the analysis of bacterial communities from different wastewater treatment plants [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, **39**(2): 101-112.
- [16] 马欢. 脱氢酶在生物质发酵产氢过程中的规律与作用研究[D]. 云南: 云南师范大学, 2006. 17-18.
- [17] Delafontaine M J, Naveau H P, Nyns E J. Fluorimetric monitoring of methanogenesis in anaerobic digestors [J]. *Biotechnology Letters*, 1979, **1**(2): 71-74.
- [18] Roest K, Heilig H G H J, Smidt H, *et al.* Community analysis of a full-scale anaerobic bioreactor treating paper mill wastewater [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2005, **28**(2): 175-185.
- [19] 彭剑峰, 宋永会, 刘然, 等. 厌氧污泥颗粒化中微生态形成过程表征[J]. *环境科学*, 2011, **32**(7): 2013-2018.
- [20] 张斌, 孙宝盛, 季民, 等. MBfR 中微生物群落结构的演变与分析[J]. *环境科学学报*, 2008, **28**(11): 2192-2199.
- [21] 方春玉, 周健, 杨晓芳等. AFB 的活性污泥中发酵细菌的分离及其初步鉴定[J]. *环境工程学报*, 2008, **2**(12): 1651-1654.
- [22] 赵继红, 何淑英, 李继香, 等. PCR-DGGE 分析啤酒废水生物处理工艺的微生物区系[J]. *环境科学*, 2008, **29**(10): 2950-2955.
- [23] 胡纪萃. 废水厌氧生物处理理论与技术[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2003. 34.
- [24] Collins G, Mchugh S, Connaughton S, *et al.* New low-temperature applications of anaerobic wastewater treatment[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2006, **41**(5): 881-895.

CONTENTS

Levels and Sources of Gaseous Polybrominated Diphenyl Ethers in Air over the Northern South China Sea	LI Qi-lu, LI Jun, LIU Xiang, <i>et al.</i> (2533)
Observation and Analysis of Air Pollution in Zhangjiakou, Hebei	SHAO Ping, WANG Li-li, AN Jun-lin, <i>et al.</i> (2538)
Smog Chamber Simulation of Ozone Formation from Atmospheric Photooxidation of Propane	HUANG Li-hua, MO Chuang-rong, XU Yong-fu, <i>et al.</i> (2551)
Mechanism and Performance of a Membrane Bioreactor for Treatment of Toluene Vapors	YE Qi-hong, WEI Zai-shan, XIAO Pan, <i>et al.</i> (2558)
Analysis of Odor Pollutants in Kitchen Waste Composting	ZHANG Hong-yu, ZOU Ke-hua, YANG Jin-bing, <i>et al.</i> (2563)
Spatial Changes and Sources of Nitrate in Beijing Urban Ecosystem Surface Water	XU Zhi-wei, ZHANG Xin-yu, REN Yu-fen, <i>et al.</i> (2569)
Distribution Characteristics and Potential Risk of PCBs in Surface Water from Three Tributaries of Yangtze River in Different Periods	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (2574)
Distribution Characteristics and Potential Risks of Phenols in the Rainy Season Surface Water from Three Gorges Reservoir	WU Zheng-yong, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (2580)
Spatial Distribution of Perfluorooctanoic Acids and Perfluorinate Sulphonates in Surface Water of East Lake	CHEN Jing, WANG Lin-ling, ZHU Hu-di, <i>et al.</i> (2586)
Characteristics of Heavy Metal Pollution in Daninghe River and Modaoxi River of Three Gorges Reservoir Areas	AN Li-hui, ZHANG Yan-qiang, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (2592)
Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Surface Sediments of the Yangtze River	WANG Lan, WANG Ya-ping, XU Chun-xue, <i>et al.</i> (2599)
Analysis of the Source, Potential Biological Toxicity of Heavy Metals in the Surface Sediments from Shellfish Culture Mudflats of Rudong Country, Jiangsu Province	LI Lei, WANG Yun-long, JIANG Mei, <i>et al.</i> (2607)
Effect of Disturbance Intensity on Phosphorus Release and Its Transformation in the Sediment from Taihu Lake	LI Da-peng, HUANG Yong (2614)
Effects of Intrusions from Three Gorges Reservoir on Nutrient Supply to Xiangxi Bay	ZHANG Yu, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2621)
Influence of Perennial Flooding and Drought on Growth Restoration of <i>Acorus calamus</i> in Water-level-fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir	LI Qiang, GAO Xiang, DING Wu-quan, <i>et al.</i> (2628)
Pollution Load and the First Flush Effect of Phosphorus in Urban Runoff of Wenzhou City	ZHOU Dong, CHEN Zhen-lou, BI Chun-juan (2634)
Output Characteristics of Rainfall Runoff Phosphorus Pollution from a Typical Small Watershed in Yimeng Mountainous Area	YU Xing-xiu, LI Zhen-wei, LIU Qian-jin, <i>et al.</i> (2644)
Influence of Land Use Structure on Nitrogen Output in the Watershed of Suburban Agriculture Regions	YANG Feng, WANG Peng-ju, YANG Shan-shan, <i>et al.</i> (2652)
Simulation of Nitrogen and Phosphorus Loss in Siling Reservoir Watershed with AnnAGNPS	BIAN Jin-yun, WANG Fei-er, YANG Jia, <i>et al.</i> (2659)
GIS and L-THIA Based Analysis on Variations of Non-point Pollution in the Guanlan River Watershed, Shenzhen	BAI Feng-jiao, LI Tian-hong (2667)
Response of Sloping Water Erosion to Rainfall and Micro-earth Pattern in the Loess Hilly Area	WEI Wei, JIA Fu-yan, CHEN Li-ding, <i>et al.</i> (2674)
Comparison Study of Enhanced Coagulation on Humic Acid and Fulvic Acid Removal	ZHOU Ling-ling, ZHANG Yong-ji, YE He-xiu, <i>et al.</i> (2680)
Real-time PCR Detection and Quantification of Emerging Waterborne Pathogens (EWPs) and Antibiotic Resistance Genes (ARGs) in the Downstream Area of Jiulong River	WANG Qing, LIN Hui-rong, ZHANG Shu-ting, <i>et al.</i> (2685)
Quantitative and Qualitative Analysis of Total Bacteria and Ammonia-oxidizing Bacteria in Buji River in Wet Season	SUN Hai-mei, BAI Jiao-jiao, SUN Wei-ling, <i>et al.</i> (2691)
Study on the Nitrogen Removal Performance and the Characteristics of Denitrification Bacterial Community Structure of Biological Aerated Filter	PENG Xiao-lan, LIU Cong, CHEN Li-jun (2701)
Analysis of Microbial Community Structure at Full-scale Wastewater Treatment Plants by Oxidation Ditch	GUO Yun, YANG Dian-hai, LU Wen-jian (2709)
Performance and Microbial Community Dynamic Characteristics of an Internal Circulation Reactor Treating Brewery Wastewater	ZHU Wen-xiu, HUANG Zhen-xing, REN Hong-yan, <i>et al.</i> (2715)
Coupling AFM Fluid Imaging with Micro-Flocculation Filtration Process for the Technological Optimization	ZHENG Bei, GE Xiao-peng, YU Zhi-yong, <i>et al.</i> (2723)
Study on Removal Effect of Different Organic Fractions from Bio-treated Effluent of Dye Wastewater by UV/H ₂ O ₂ Process	LI Xin, LIU Yong-di, SUN Xian-bo, <i>et al.</i> (2728)
Optimization of <i>Chlorella pyrenoidosa</i> -15 Photoheterotrophic Culture and Its Use in Wastewater Treatment	WANG Xiu-jin, LI Zhao-sheng, XING Guan-lan, <i>et al.</i> (2735)
Characteristics and Mechanism of 2,4,6-TCP Degradation by the "Fe ⁰ /Enriched-Bacteria" System	DAI You-zhi, GUO Li-li, SHI Lei, <i>et al.</i> (2741)
Immobilization of Crude Laccase onto Anion Exchange Resin and Its Application in Decoloration of Malachite Green	QI Xu-liang, LIU Xiang, LIU Bo, <i>et al.</i> (2747)
Low-Temperature Preparation of TiO ₂ /PS/Fe ₃ O ₄ and Its Photocatalytic Activity and Magnetic Recovery	WANG Xue-jiao, REN Xue-chang, NIAN Juan-ni, <i>et al.</i> (2752)
Study on Catalytic Oxidation of Benzene by Microwave Heating	ZHANG Yu-cai, BO Long-li, WANG Xiao-hui, <i>et al.</i> (2759)
Synergistic Effects of Nano-sized Magnetic Particles and Uncoupler to the Characteristics of Activated Sludge	GAO Li-ying, TANG Bing, LIANG Ling-yan, <i>et al.</i> (2766)
Experimental and Modeling Research on the Settlement of Aerobic Granular Sludge	SU Kui-zu, DENG Xiu-kun, ZHENG Li, <i>et al.</i> (2773)
Analysis of Hydrolytic Enzyme Activities on Sludge Aerobic/Anoxic Digestion After Ultrasonic Pretreatment	YE Yun-di, SUN Shui-yu, ZHENG Li, <i>et al.</i> (2780)
Effect of Microbial Nutrient Concentration on Improvement of Municipal Sewage Sludge Dewaterability Through Bioleaching	SONG Yong-wei, LIU Fen-wu, ZHOU Li-xiang (2786)
Response of the Artificial Cyanobacterial Crusts to Low Temperature and Light Stress and the Micro-structure Changes Under Laboratory Conditions	RAO Ben-jiang, LI Hua, XIONG Ying, <i>et al.</i> (2793)
Seasonal Dynamics of Soil Active Carbon Pool in a Purple Paddy Soil in Southwest China	WU Yan, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju (2804)
Pollution Characteristics and Accumulation of Antibiotics in Typical Protected Vegetable Soils	YIN Chun-yan, LUO Yong-ming, TENG Ying, <i>et al.</i> (2810)
Transformation and Influences of Copper and Selenium Fractions on Heavy Metals Bioavailability in Co-contaminated Soil	HU Bin, LIANG Dong-li, ZHAO Wen-long, <i>et al.</i> (2817)
Response of Soil Microbial Community to the Bioremediation of Soil Contaminated with PAHs	ZHANG, Jing, LIN Xian-gui, LIU Wei-wei, <i>et al.</i> (2825)
Bioremediation of PAHs Contaminated Soil from Beijing Coking Plant by <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	ZHANG Zhi-yuan, WANG Cui-ping, LIU Hai-bin, <i>et al.</i> (2832)
Leaching Experiments on the Release of Trace Elements from Tailings of Chashan Antimony Mine, Guangxi, China	CAI Yong-bing, LI Ling, WEI Xiao-fei, <i>et al.</i> (2840)
Accumulation Characteristics of Arsenic in Suburban Soils of Beijing	QI Jie, WANG Mei-e, WANG Zi-qiang, <i>et al.</i> (2849)
Antioxidant Enzyme Gene Expression as Molecular Biomarkers of Exposure to Polycyclic Musks	CHEN Chun, ZHOU Qi-xing, LIU Xiao-wei (2855)
Effects of Ozone Pollution on the Accumulation and Distribution of Dry Matter and Biomass Carbon of Different Varieties of Wheat	KOU Tai-ji, YU Wei-wei, ZHU Jian-guo, <i>et al.</i> (2862)
Influence of Reaction Time of Urea Hydrolysis-Based Co-precipitation on the Structure of ZnAl Layered Double Hydroxides and the Phosphate Adsorption	LU Ying, CHENG Xiang, XING Bo, <i>et al.</i> (2868)
Competitive Adsorption Kinetics of Aqueous Pb ²⁺ and Cu ²⁺ on Nano-HAP Surfaces	HU Tian-tian, CANG Long, WANG Yu-jun, <i>et al.</i> (2875)
Effects of pH and Ni ²⁺ on Sorption Behavior of Phenanthrene on Engineered Nano-Silica	LUO Pei, SUN Hong-wen, ZHANG Peng (2882)
Adsorption Characteristics and Mechanism of Uranium on Attapulgite	LIU Juan, CHEN Di-yun, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (2889)
Adsorption Characteristics of Ciprofloxacin in Ustic Cambosols	CUI Hao, WANG Shu-ping (2895)
Kinetic Mechanism and Characteristics Researches for Hydrazine-based NO _x Removal at Moderate to High Temperatures	HONG Liu, CHEN De-zhen, WANG Du, <i>et al.</i> (2901)
Current Research Situation of H ₂ S Selective Catalytic Oxidation Technologies and Catalysts	HAO Zheng-ping, DOU Guang-yu, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (2909)

《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8月15日 33卷 第8期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 8 Aug. 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