

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第5期

Vol.38 No.5

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

南京工业区分夏季二次有机气溶胶浓度估算及来源解析 刘静达,安俊琳,张玉欣,师远哲,林旭 (1733)

南京北郊大气细粒子在人体呼吸系统沉积特性 梁静舒,安俊琳,王红磊,张玉欣,王俊秀,施双双,王潇 (1743)

广西北海涠洲岛春季大气颗粒物浓度特征及影响因素 高元官,张凯,王体健,陈志明,耿红,孟凡 (1753)

神农架大九湖大气中的多环芳烃 金梦云,邢新丽,柯艳萍,郑煌,胡天鹏,孙焰,丁洋,李绘,张泽洲,祁士华 (1760)

沧州市春季 NMHCs 空间分布特征 段菁春,周雪明,张鹤丰,谭吉华,胡京南,柴发合 (1769)

北京市民用燃煤烟气中气态污染物排放特征 梁云平,张大伟,林安国,马召辉,邹晓东 (1775)

生活垃圾堆肥设施 VOCs 排放特征及臭氧生成潜势分析 邵珠泽,郑国砥,王元刚,高定,朱彦莉,陈同斌,聂二旗 (1783)

低温等离子体对复合 CVOCs 的降解特性 姜理英,张迪,郭海倩,缪晶晶,陈怡伶,李慧 (1792)

运城市道路扬尘化学组成特征及来源分析 武媛媛,李如梅,彭林,端允,王海京,李颖慧,白慧玲,牟玲 (1799)

高架道路周边建筑物灰尘重金属污染风险:以常州市为例 姚静波,王明新,齐今笛,孙向武,张文艺 (1807)

上海降水中氢氧同位素特征及与 ENSO 的关系 董小芳,邓黄月,张杰,朱志鹏,王琳,郑祥民,周立旻 (1817)

DOC + CDPF 对重型柴油车排放特性的影响 张允华,楼狄明,谭丕强,胡志远 (1828)

我国重点城市饮用水中砷健康累积风险评价 张秋秋,潘申龄,刘伟,张昱,安伟 (1835)

基于 Monte Carlo 模拟法对水源水体中微囊藻毒素的健康风险评估 王阳,徐明芳,耿梦梦,黎明,陈耕南 (1842)

北京城区水体中 PPCPs 的分布特征及潜在风险 张盼伟,周怀东,赵高峰,李昆,赵晓辉,刘巧娜,任敏,赵丹丹,李东佼 (1852)

长江口及邻近海域春夏季有色溶解有机物时空分布特征及主要影响因素 孙语嫣,白莹,苏荣国,石晓勇 (1863)

垃圾填埋有色溶解性有机质与铜络合机制 肖骁,何小松,高如泰,席北斗,张慧,黄彩红,李丹,袁志业 (1873)

3 种生物滞留设计对城市地表径流溶解性氮的去除作用 李立青,胡楠,刘雨情,涂声亮,陈华超 (1881)

三峡库区小流域稻田空间格局对氮磷流失影响 陈成龙,高明,倪九派,谢德体,邓华 (1889)

NO₃⁻-N 负荷对树皮填料人工湿地早期反硝化及释碳速率的影响 姜应和,李瑶,张莹,张翔凌 (1898)

湿地基质及阴极面积对人工湿地型微生物燃料电池去除偶氮染料同步产电的影响 李薛晓,程思超,方舟,李先宁 (1904)

阳极材料对 6 L 微生物燃料电池性能及有机废水处理效果的影响 丁为俊,于立亮,陈杰,成少安 (1911)

臭氧-混凝交互作用对水体有机物的影响 刘海龙,付晶森,郭雪峰,柴建恬,张忠民 (1918)

紫外线和次氯酸钠对 *Escherichia coli* 和 Poliovirus 的消毒作用 徐丽梅,张崇森,王晓昌,吉铮,周进宏 (1928)

不同沉淀 pH 值条件下制备的水合氧化铝对水中磷酸盐的吸附作用 王星星,林建伟,詹艳慧,张志斌,邢云青,姜博汇,储鸣 (1936)

树脂基纳米钛铝氧化物复合吸附剂同步去除水中磷和氟 陈家凯,聂广泽,刘志英,姚远,徐炎华 (1947)

灼烧净水污泥投加方式对磷吸附和磷形态的影响 朱培颖,李大鹏,于胜楠 (1957)

城市污水管网中污染物冲刷与沉积规律 桑浪涛,石烜,张彤,付博文,金鹏康 (1965)

11 种邻苯二甲酸酯在好氧污水处理系统中的归趋 周林军,古文,刘济宁,石利利,徐炎华 (1972)

反硝化抑制硫酸盐还原的工艺特性 金鹏康,杨珍瑞,李蓉,李岩,周立辉 (1982)

Fe⁽⁰⁾-活性炭强化短程反硝化脱氮及影响因素 吕永涛,刘婷,曾玉莲,孙婷,张瑶,王磊 (1991)

两种不同抑制策略下部分亚硝化系统运行特性比较 李惠娟,彭党聪,陈国燕,王博,姚倩,卓杨 (1997)

基质比对 ABR 厌氧氨氧化工艺脱氮性能的影响 闰刚,徐乐中,沈耀良,吴鹏,张婷, Samwine Thomas (2006)

温度对 SCSC-S/Fe 复合系统脱氮除磷及微生物群落特性的影响 范军辉,郝瑞霞,朱晓霞,万京京,刘思远,王丽沙 (2012)

SCAR 处理城市生活污水的效能及其微生物群落动态分析 杨波,徐辉,冯修平,李方,田晴,马春燕 (2021)

喹啉降解菌 *Ochrobactrum* sp. 的好氧降解特性及其在焦化废水中的生物强化作用 徐伟超,吴翠平,张玉秀,张琪,张怡鸣 (2030)

锰氧化菌 *Arthrobacter* sp. HW-16 的锰氧化特性和氧化机制 万文结,薛芷筠,张泽文,何冬兰 (2036)

温度对海洋厌氧氨氧化菌脱氮效能的影响 周同,于德爽,李津,吴国栋,王晓静 (2044)

包埋固定化活性污泥脱氮特性与微生物群落分析 许晓毅,尤晓露,吕晨培,王斌,胡碧波 (2052)

强化两相污泥高固厌氧消化系统的微生物群落 曹知平,吴静,左剑恶,王晓璐,王翀,王广启,王凯军,钱易 (2059)

三峡库区城乡消落带人工植被恢复土壤放线菌多样性特征 秦红,任庆水,杨文航,李昌晓 (2065)

川中丘陵区农田源头沟渠玉米季中氧化亚氮排放及其影响因素 田琳琳,朱波,汪涛,赵原,董宏伟,任光前,胡磊 (2074)

双氰胺对冬闲稻田和油菜地 N₂O 排放的影响 伍延正,张苗苗,秦红灵,陈春兰,王娟,魏文学,李勇 (2084)

生物炭介导的不同地表条件下土壤 N₂O 的排放特征 邹娟,胡学玉,张阳阳,张迪,陈威,王向前,陈窈君,刘扬 (2093)

垄作秸秆覆盖下西南地区蚕豆田土壤呼吸与有机碳特征 熊瑛,王龙昌,杜娟,赵琳璐,周泉,张赛 (2102)

广东省土壤 Cd 含量空间分布预测 孙慧,郭治兴,郭颖,袁宇志,柴敏,毕如田,杨静 (2111)

宿鸭湖沉积物重金属空间分布及潜在生态风险评价 张鹏岩,康国华,庞博,郭依,何坚坚,秦明周 (2125)

腐殖酸活性组分及其比例对紫色潮土中铅形态转化和有效性演变动态的影响 王青清,蒋珍茂,王俊,魏世强 (2136)

紫色水稻土颗粒有机质对重金属的富集特征 李秋言,赵秀兰 (2146)

生物炭增强黄绵土对西替利嗪的吸附作用 吴志娟,毕二平 (2154)

两种木材生物炭对铜离子的吸附特性及其机制 王彤彤,马江波,曲东,张晓媛,郑纪勇,张兴昌 (2161)

牛粪源粪炭及其生物炭对 Pb²⁺、Cd²⁺ 的吸附特性 杜文慧,朱维琴,潘晓慧,沈旭阳,陈思远,陈可乐,坎吉汗·木沙拉,张杭君,丁颖 (2172)

C₃N₄/BiOBr 复合可见光催化剂的性能及其作用机制 鲍玥,周旻昀,邹骏华,史宇滨,万先凯,史惠祥 (2182)

《环境科学》征稿简则(2020) 《环境科学》征订启事(2035) 信息(1782, 1798, 1827)

紫外线和次氯酸钠对 *Escherichia coli* 和 Poliovirus 的消毒作用

徐丽梅, 张崇森*, 王晓昌*, 吉铮, 周进宏

(西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西北水资源与环境生态重点实验室, 西安 710055)

摘要: 本研究选用大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和脊髓灰质炎病毒 (poliovirus) 分别作为典型的细菌和病毒, 利用培养和定量 PCR 的检测技术, 对比研究紫外线消毒和次氯酸钠消毒对细菌和病毒的作用特点. 结果表明: 脊髓灰质炎病毒比大肠杆菌更难被灭活, 达到 1-log 所需的氯剂量分别为 $19.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}$ 和 $10.14 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}$; 所需的紫外线剂量分别为 $6.37 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ 和 $1.81 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$. 定量 PCR 方法检测大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒达到 1-log 的核酸损伤所需的紫外线剂量和氯剂量要比培养法高出 1~2 数量级, 紫外线消毒对脊髓灰质炎病毒的 RNA 损伤量明显大于对大肠杆菌的 DNA 损伤, 病毒的单链 RNA 对紫外线的敏感性更强, 该结果与培养法正好相反. 达到 1-log 核酸损伤脊髓灰质炎病毒所需的紫外线剂量为 $135 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$, 大肠杆菌所需的剂量为 $270.3 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$, 核酸损伤需要更多的消毒剂量, 可能由于消毒过程微生物进入活性但处于非可培养状态 (VBNC), 以及灭活对微生物其他分子的损伤和微生物死后核酸的持续性.

关键词: 紫外线; 氯消毒; 灭活; 核酸损伤; 定量 PCR; 大肠杆菌 (*Escherichia coli*); 脊髓灰质炎病毒 (poliovirus)

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)05-1928-08 DOI: 10.13227/j.hjks.201611021

Disinfection Action of Ultraviolet Radiation and Chlorination on *Escherichia coli* and Poliovirus

XU Li-mei, ZHANG Chong-miao*, WANG Xiao-chang*, JI Zheng, ZHOU Jin-hong

(Key Laboratory of Northwest Water Resource, Environment and Ecology, School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: We chose *Escherichia coli* (*E. coli*) and poliovirus as a typical pathogenic bacterium and virus, respectively. The effects of two typical disinfectants (chlorine and ultraviolet) on each of them were investigated based on microbial culture and quantitative PCR methods. The results showed that Poliovirus was appreciably more resistant to chlorine (required disinfection dose for 1-log microbial reduction: $10.14 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}$ for *E. coli*; $19.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}$ for poliovirus) and ultraviolet (UV) light (required UV dose for 1-log microbial reduction: $1.81 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ for *E. coli*; $6.37 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ for poliovirus) than *E. coli* for the microbial culture. For PCR, this study revealed that 1-log gene reduction required UV doses and *ct* values of at least one to two orders of magnitude higher than that for the microbial culture. The damage of RNA in Poliovirus was more seriously than that of DNA in *E. coli*. Single-stranded RNA was more sensitive to UV irradiation than DNA. The result evaluated with the quantitative PCR method showed opposite result to that of the traditional culture method in which the Poliovirus was more tolerant. The required UV doses for 1-log nucleic acid reduction were $135 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ and $270.3 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ for *E. coli* and poliovirus, respectively. Nucleic acid damage required a higher dose of disinfectants than microbial inactivation, which was probably attributed to the phenomenon of viable but non-culturable (VBNC) cells, other molecular targets of inactivation and the persistence of nucleic acid after cell death.

Key words: UV; chlorination; inactivation; nucleic acid; quantitative PCR; *E. coli*; poliovirus

在水处理过程中, 消毒过程能灭活水体中的致病菌和微生物, 降低水传播疾病的风险. 水处理过程常采用紫外线消毒和次氯酸钠消毒, 然而其消毒机制存在明显的差异, 紫外线消毒作为典型的物理消毒剂, 主要通过破坏微生物的遗传系统 (DNA、RNA) 而达到消毒的目的^[1,2], 然而次氯酸钠作为一种化学消毒剂, 更多的损害其他的物质 (包括细胞结构、蛋白质、脂质和内部的酶系统)^[3,4].

病原菌和病毒是水传播疾病的主要病原微生物, 它们的形态和核酸结构, 以及对不利环境的抵抗能力有明显差异^[5], 因此消毒方法对它们的作用效

果目前尚存争议. 要阐明消毒效果就必须选用典型的微生物进行对比研究. 大肠杆菌是原核生物的模式生物, 常作为水质卫生学的指示菌^[6], 而脊髓灰质炎病毒则是小 RNA 病毒科肠道病毒属的典型代

收稿日期: 2016-11-03; 修订日期: 2016-12-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51578441); 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2013ZX07310-001); 陕西省污水处理与资源化重点科技创新团队项目 (PIRT 2013KCT-13); 陕西省教育厅科研计划项目 (15JK1442)

作者简介: 徐丽梅 (1987~), 女, 博士研究生, 主要研究方向水中病原微生物的控制, E-mail: xuxu.1228@163.com

* 通信作者, E-mail: zhangchongmiao@163.com; xewang@xauat.edu.cn

表^[7,8]。它们在污水中都广泛存在,可以分别作为水中 DNA 病原菌的代表性细菌^[9]和 RNA 病毒的代表性病毒。

目前,病原微生物常用的检测方法主要包括传统的培养法和定量 PCR 方法,常用于对消毒效果的评价。基于培养的检测方法主要用于微生物活性的检测,其缺点不能用于检测处于活的但不可培养(viable but non-culturable, VBNC)状态的微生物^[10],而定量 PCR 方法具有较高的灵敏度和专一性,是从分子水平(DNA、RNA)对微生物消毒效果进行分析,解决了上述缺点,使快速定量检测无法培养的微生物成为可能^[11]。迄今为止,微生物消毒过程中培养方法和分子生物学检测方法之间的关系是不确定的。一些研究表明两种方法结果是一致的^[12,13],例如 Jin 等^[14]采用全基因组分段 PCR 方法检测肠道病毒消毒过程核酸的损伤,得到 5'NCR 非编码区核酸的损伤与病毒感染性消失是一致的。但也有一些研究者持否定态度。Li 等^[15]研究了氯消毒对轮状病毒的灭活,认为 PCR 方法低估了微生物灭活。因此确定两种检测方法之间的关系,选择合适的评价方法是至关重要的。

本研究选用大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒作为代表性微生物,利用培养法和定量 PCR 检测,对比研究紫外线消毒和次氯酸钠消毒对细菌和病毒的作用特点。

1 材料与方法

1.1 典型微生物

从美国菌种保藏中心购买的大肠杆菌(ATCC25922),接种于液体 LB 培养基中,于 37℃ 摇床中 200 r·min⁻¹ 培养 12~16 h, 8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 得到细胞悬浊液,用磷酸缓冲液(PBS, pH = 7.2)洗脱两次,进行 10 倍稀释得到不同浓度的大肠杆菌菌液,作为后续指示性细菌。

脊髓灰质炎病毒提取于脊髓灰质炎疫苗糖丸(人二倍体细胞)。提取过程:将人喉癌上皮细胞(Hep-2)接种于 5 mL 的 DMEM 低糖培养液(Hyclone, 北美),加入 10% FBS 胎牛血清(GIBCO, 美国)、3.75 g·L⁻¹ 的碳酸氢钠、100 μg·mL⁻¹ 链霉素(生工生物公司,上海)、100 U·mL⁻¹ 青霉素(生工生物公司,上海),放入 5% 的 CO₂ 培养箱中 37℃ 培养至细胞长到 80% 待用。将糖丸经 DMEM 10 倍稀释,接种于长至 80% 的 Hep-2 细胞,出现细胞病变后反复冻融 3 次,800 r·min⁻¹ 离心 10 min, 上清液

即为脊髓灰质炎病毒。

1.2 消毒实验

在 40 mL 的 PBS 缓冲液中分别接种大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒。经次氯酸钠消毒和紫外线消毒后,采用培养法对微生物活性进行分析,采用定量 PCR 方法对核酸损伤进行分析,每个实验重复 3 次。

1.2.1 紫外线消毒

本实验所用紫外灯的功率为 15 W(波长 253.7 nm),实验中紫外线强度为 0.10 mW·cm⁻²。向直径为 90 mm 的培养皿中加入接种微生物的 40 mL PBS 水样,把培养皿放到准平行光紫外线照射器的紫外灯下,培养皿下置磁力搅拌器,轻轻搅拌水样。紫外线剂量(mJ·cm⁻²) = 紫外线强度(mW·cm⁻²) × 照射时间(s),通过调节紫外线照射时间达到不同的紫外线剂量,辐射一定时间后将水样取出,4℃ 保存,用于后续分析。

1.2.2 次氯酸钠消毒

本实验中向接种微生物的 40 mL PBS 水样中分别投加 0.5、1、1.5、2、2.5、5、10、15、20、25 mg·L⁻¹ 次氯酸钠(碘量法测定浓度),接触反应 30 min 后,用 0.1% (质量浓度) 硫代硫酸钠终止反应,保存于 4℃ 用于后续分析。

1.3 培养法检测大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒

采用膜过滤平板计数方法检测大肠杆菌的活性,10 倍稀释水样经直径 50 mm、孔径 0.22 μm 的混合纤维膜过滤后,置于 MFC 培养基上,于 37℃ 培养 24 h 后进行菌落计数分析。

采用半数细胞感染剂量法(TCID₅₀法)确定脊髓灰质炎病毒的感染性,将病毒液或水样采用 DMEM 进行连续 10 倍稀释(10⁻¹ ~ 10⁻¹⁰),接种于长至 100% Hep-2 细胞的 96 孔板中,每个稀释度接种一纵排共 8 个平行样,每孔接种病毒 100 μL。设正常细胞对照组,正常对照组位于最后一排(100 μL DMEM)。接种 1.5 h 后(每隔 30 min 摇晃充分混匀),弃掉病毒液,加入 2% FBS 的 DMEM 细胞维持液,逐日观察细胞病变并记录,采用 Reed-Muench 法计算病毒浓度(TCID₅₀·mL⁻¹)^[16],其中 1 TCID₅₀·mL⁻¹ = 0.693 PFU·mL⁻¹(病毒的空斑形成单位,plaque forming units)。

1.4 定量 PCR 方法检测大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒

1.4.1 DNA 和 cDNA 提取

大肠杆菌的水样经 14 000 r·min⁻¹ 4℃ 离心 20 min,弃上清液,收集菌体,参照细菌基因组 DNA 提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司,DP2001)

说明提取总 DNA 作为模板. 对脊髓灰质炎病毒水样采用 RNA 柱式提取试剂盒 (QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen, CA52906) 提取总 RNA, 并参照 PrimeScript[®] RT reagent Kit with gDNA Eraser (Takara, DRR047A) 进行 RT 反应, 得到 cDNA 作为后续反应模板.

1.4.2 定量 PCR 检测方法

为了确定消毒过程中核酸的损伤程度, 采用 SYBR[®] Primix Dimer Eraser[™] perfect real-time kit (Takara, DRR091A) 试剂对大肠杆菌的 *uidA* 核酸 (表 1) 进行定量分析. 定量 PCR 反应体系为: 12.5 μL 的 SYBR Premix DimerEraser[™] ($2\times$), 0.5 μL 的 ROX Reference Dye II, 400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的上游引物 URL-301 和下游引物 URR-432, 2 μL 的 DNA, 用超纯水补至 25 μL . 定量 PCR 的反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 80 $^{\circ}\text{C}$ 10 s 收集荧光信号, 扩增 40 个循环.

采用 Primix the Ex *Taq*[™] kit (Takara, DRR039)

试剂对脊髓灰质炎病毒的 5'NCR 核酸 (表 1) 进行扩增. 定量 PCR 反应体系为: 12.5 μL Primix Ex *Taq*[™], 0.5 μL 的 ROX Reference Dye II, 400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的上游引物 EV1 和下游引物 EV2, 400 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 TaqMan 探针 EVP, 2 μL 的 cDNA, 用超纯水补至 25 μL . 反应程序: 预变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 34 s, 扩增 40 个循环.

通过质粒标准曲线推测核酸的含量, 定量 PCR 标线的建立: PCR 产物经纯化后连接到 pMD-19T 载体 (TaKaRa) 上, 再将连接产物转化到 DH5 α 感受态细胞中. 经 PCR 鉴定筛选的阳性菌落于 AMP 的 LB 培养基中 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 16 h, 采用质粒提取试剂盒提取重组质粒 (生工生物公司, 上海), 并通过 Nanodrop 2000 (Thermo) 测定质粒浓度, 将含有目的片段的重组质粒进行 10 倍梯度稀释建立标准曲线.

1.5 数据分析

采用线性拟合对微生物的去除进行分析, 并推

表 1 大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒的扩增引物

Table 1 Primers used in this study to amplify *Escherichia coli* and poliovirus

微生物	引物/探针	基因	引物序列(5'-3')	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$	片段长度/bp	文献
大肠杆菌	URL-301	<i>uidA</i>	TGTTACGTCTCTAGAAAAGCCC	60	153	[17]
	URR-432		AAAACCTGCCTGGCACAGCAATT			
脊髓灰质炎病毒	EV1	5'NCR	GATTGTCACCATAAGCAGC	60	146	[18]
	EV2		CCCCTGAATGCGGCTAATC			
	EVP		f-CGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGT-t ¹⁾			

1) f: FAM (6-羟基荧光报告基团); t: TAMRA (6-羧基四甲基罗丹明荧光猝灭基团)

断去除率达到 90% ($1-\log$) 所需的消毒剂量 (紫外线剂量或次氯酸钠浓度):

$$\text{去除率} = \lg(N_0/N) = kC$$

式中, k 为反应常数; N_0 为消毒前微生物的浓度 (培养法: $\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 或 $\text{TCID}_{50}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量 PCR: $\text{copies}\cdot\text{mL}^{-1}$); N 为消毒后微生物的浓度 (培养法: $\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 或 $\text{TCID}_{50}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量 PCR: $\text{copies}\cdot\text{mL}^{-1}$); C 为消毒剂剂量 (次氯酸钠消毒: $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 紫外线消毒: $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$).

采用 SPSS Ver. 20 软件进行单因素方差分析, 比较不同消毒剂量下微生物浓度是否存在显著性影响 ($P < 0.05$).

2 结果与分析

2.1 定量 PCR 检测大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒的敏感性和可靠性

经计算大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒重组质粒标

准品的浓度分别为 1.1×10^{10} $\text{copies}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 和 2.93×10^{10} $\text{copies}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, 将标准品质粒经 10 倍稀释, 进行定量 PCR 反应建立标准曲线如图 1 所示. 重组质粒浓度的对数与对应的 CT 值 (定量 PCR 扩增反应中荧光信号达到设定阈值时所经历的循环数) 存在良好的线性关系. 由图 1 可知, 大肠杆菌质粒相关系数 R^2 为 0.998, PCR 扩增效率 98.5% ($E\% = 10^{-1/S} - 1$, S 为斜率), 脊髓灰质炎病毒质粒相关系数为 $R^2 = 0.994$, PCR 扩增效率 $E\% = 96.9\%$, 得到基因标记物的检测灵敏度分别为 11 $\text{copies}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 和 29.3 $\text{copies}\cdot\mu\text{L}^{-1}$.

2.2 紫外线消毒和次氯酸钠消毒对大肠杆菌的影响

紫外线和次氯酸钠对大肠杆菌的消毒作用呈明显的剂量反应关系, 如图 2 所示. 培养法结果显示: 当紫外线剂量为 $2 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时, 大肠杆菌的浓度为 $(8.1 \pm 0.71) \times 10^4 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 明显低于起始浓度 $(3.52 \pm 2.08) \times 10^5 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($P < 0.05$), 然而更

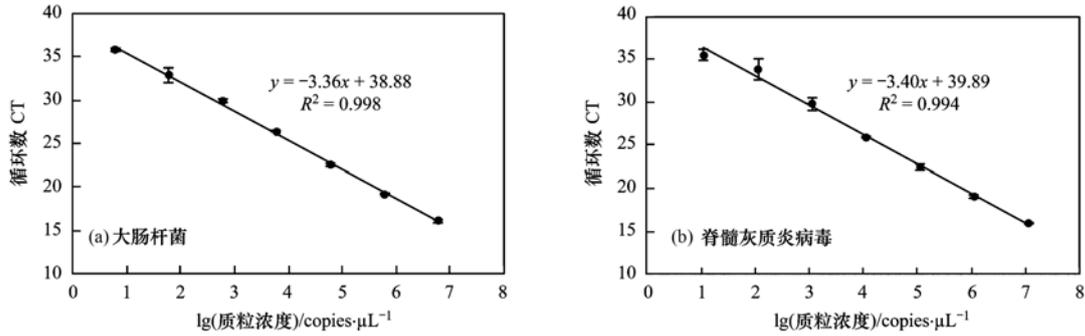


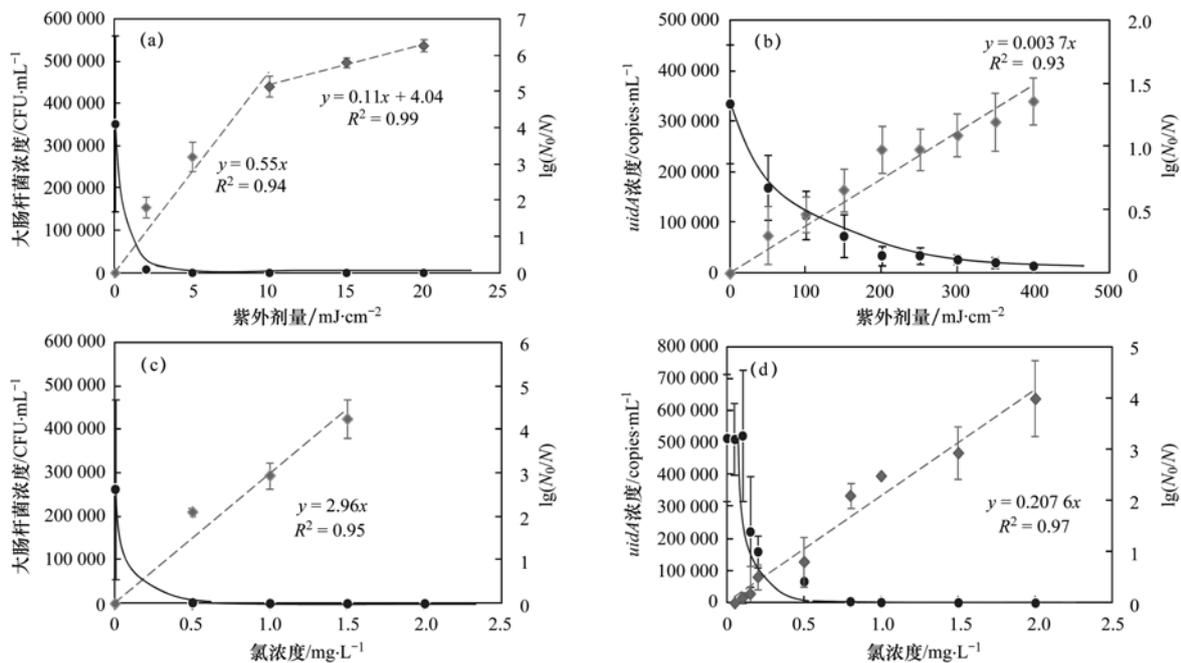
图 1 质粒浓度和循环数 CT 相关关系

Fig. 1 Correlation between CT and plasmid concentration

高的紫外线剂量 ($> 5 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$), 检测大肠杆菌的浓度与 $2 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ 时浓度无显著性差异 ($P > 0.05$) 如图 2(a) 所示, 即紫外线灭活曲线由两阶段构成: 灭活初期低紫外线剂量灭活速率较快 (反应常数 $k = 0.55$, $R^2 = 0.94$), 随反应进行紫外线剂量呈明显的拖尾状态 ($k = 0.11$, $R^2 = 0.99$), 拖尾可能是由于消毒过程微生物表面性质的变化和胞外聚合物的产生导致的微生物聚集引起的^[19]. 当紫外线剂量达到城镇污水处理一级 A 标准的 $20 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$, 大肠杆菌完全被灭活. 如图 2(c) 所示次氯酸钠能迅速灭活大肠杆菌 ($0.025 < P < 0.041$), 且当次氯酸钠剂量达到 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 接触反应 30 min, 大肠杆菌完全灭活. 次氯酸钠消毒过程呈一阶剂量反应关系 ($k = 2.96$, $R^2 = 0.95$).

定量 PCR 结果显示: 当紫外线剂量照射达到 50

$\text{mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ 时, 大肠杆菌的 *uidA* 基因浓度为 $(1.69 \pm 0.64) \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 低于起始浓度 $(3.35 \pm 1.17) \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($P = 0.006$), 然而, 当紫外线剂量达到 $400 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ (远远高于城镇污水处理的一级 A 标准的 $20 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ 和中水回用的紫外线剂量标准 $80 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ 紫外线剂量), 仍能检测 $(1.46 \pm 0.42) \times 10^4 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的基因存在 [图 2(b)]. 当 0.5 、 1.0 、 1.5 、 2.0 、 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 次氯酸钠接触反应 30 min 后, 核酸浓度分别为 $(5.11 \pm 1.3) \times 10^5$ 、 $(5.12 \pm 2.03) \times 10^5$ 、 $(2.22 \pm 1.72) \times 10^5$ 、 $(1.6 \pm 0.49) \times 10^5$ 以及 $(0.67 \pm 0.11) \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$, 较起始的 $(5.14 \pm 2.0) \times 10^5 \text{ copies} \cdot \text{mL}^{-1}$ 低剂量次氯酸钠对大肠杆菌 *uidA* 核酸的损伤很少 (P 为 1.0 、 1.0 、 0.283 、 0.109 、 0.426), 高浓度次氯酸钠 ($8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对大肠杆菌起



(a) 和 (c) 采用平板培养法检测大肠杆菌; (b) 和 (d) 采用定量 PCR 法检测大肠杆菌

图 2 大肠杆菌的紫外线和次氯酸钠剂量反应曲线

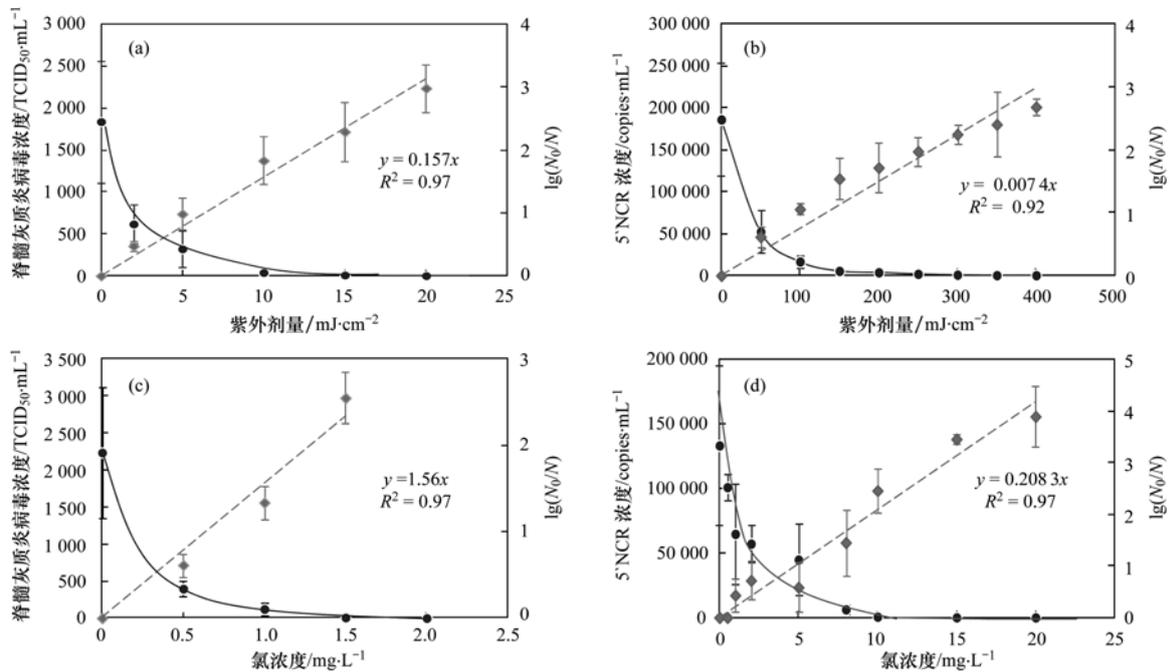
Fig. 2 UV and sodium hypochlorite dose-response curves for *Escherichia coli*

始拷贝数有明显的减少,为 $(4.59 \pm 1.8) \times 10^3$ copies·mL⁻¹ ($P = 0.006$).

2.3 紫外线消毒和次氯酸钠消毒对脊髓灰质炎病毒的影响

紫外线(TCID₅₀方法: $k = 0.157$, $R^2 = 0.97$; 定量 PCR: $k = 0.0074$, $R^2 = 0.92$)和次氯酸钠(TCID₅₀方法: $k = 1.56$, $R^2 = 0.97$; 定量 PCR: $k = 0.2083$, $R^2 = 0.97$)对脊髓灰质炎病毒呈一阶剂量反应关系(图3). 随消毒剂量的增加脊髓灰质炎病毒迅速被灭活,当紫外线剂量超过 20 mJ·cm⁻²,起始次氯酸钠量为 2 mg·L⁻¹时接触反应 30 min,脊髓灰质炎病毒被完全灭活. 定量 PCR 结果显示,随紫

外线剂量增加 50 mJ·cm⁻²,脊髓灰质炎病毒的 5' NCR 基因拷贝数从起始的 $(1.86 \pm 0.67) \times 10^5$ copies·mL⁻¹ 减少到 $(5.24 \pm 2.6) \times 10^4$ copies·mL⁻¹,发生明显的核酸损伤 ($P < 0.05$) [图 3(b)],然而低剂量次氯酸钠含量 0.5、1.0、2.0 mg·L⁻¹对 5' NCR 区产生轻微的影响 ($P = 0.963$ 、0.139、0.061) [图 3(d)],当次氯酸钠浓度达到 5 mg·L⁻¹以上时,脊髓灰质炎病毒的 5' NCR 拷贝数较起始时有明显降低 ($P = 0.001 \sim 0.025$),当紫外线剂量达到 400 mJ·cm⁻²、次氯酸钠量达到 20 mg·L⁻¹时,脊髓灰质炎病毒的基因拷贝数低于检出水平.



(a)和(c)采用 TCID₅₀法检测脊髓灰质炎病毒;(b)和(d)采用定量 PCR 法检测脊髓灰质炎病毒

图3 脊髓灰质炎病毒的紫外线消毒和次氯酸钠消毒剂量反应曲线

Fig. 3 UV and sodium hypochlorite dose-response curves for Poliovirus

3 讨论

通过线性拟合剂量反应关系,推算微生物去除率达到 1-log 所需的紫外线剂量和接触 30 min 时的氯消毒 ct 值(氯浓度 × 接触时间, mg·L⁻¹·min),培养法检测结果显示:紫外线消毒过程中,在较低的紫外线辐射剂量下(1.81 mJ·cm⁻²)大肠杆菌活性即可达到 1-log 去除率,而脊髓灰质炎病毒丢失感染性所需的剂量为 6.37 mJ·cm⁻²,为前者的 3.5 倍,说明病毒的灭活比细菌的灭活需要更多紫外线剂量(图4),氯消毒过程,培养法检测达到 1-log 减少时,脊髓灰质炎病毒和大肠杆菌所需氯剂量分别为

4.82 mg·L⁻¹和 0.338 mg·L⁻¹, ct 值分别为 19.2 mg·L⁻¹·min和 10.14 mg·L⁻¹·min,与紫外线消毒结果一致,即病毒比细菌更难被灭活. 因此采用大肠杆菌作为水质卫生学指标存在一定的健康风险. 而定量 PCR 检测结果显示:紫外线消毒过程,基因拷贝数减少 1-log,脊髓灰质炎病毒和大肠杆菌所需的紫外线辐射剂量分别为 135 mJ·cm⁻²和 270.3 mJ·cm⁻²,氯消毒所需的次氯酸钠浓度也大幅度提高分别为 4.8 mg·L⁻¹和 4.82 mg·L⁻¹, ct 值为 144 mg·L⁻¹·min和 144.6 mg·L⁻¹·min. 定量 PCR 方法检测大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒达到 1-log 的去除率所需的紫外线剂量和 ct 值要比培养法高出 1~2

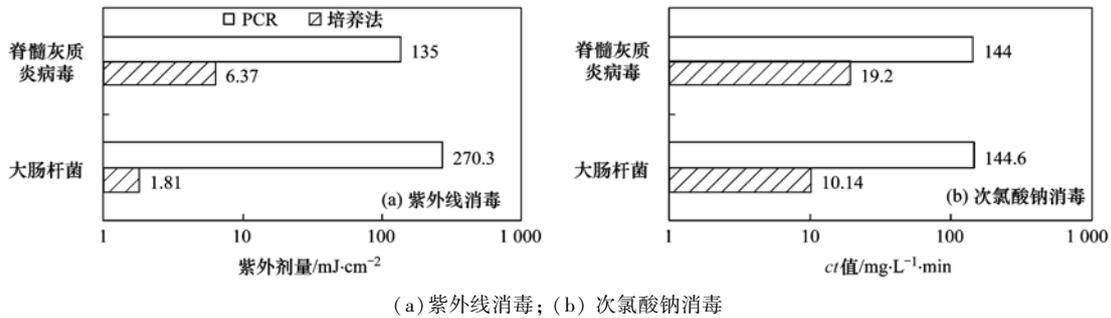


图 4 达到 1-log 大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒去除所需的紫外线剂量和 ct 值

Fig. 4 Comparison of UV dose and ct values of chlorination for 1-log removal of *Escherichia coli* and Poliovirus reduction

数量级, 特别是对于大肠杆菌, 紫外线剂量高达 $270.3 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 时基因的损伤才达到 1-log, 是培养法 $1.81 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 的 149 倍. 因此常规的消毒技术无法有效地去除病原微生物的核酸, 而剩余的核酸进入下游水域, 微生物间能通过水平基因转移的方式获得相应的基因^[20], 可能导致致病基因的传播和扩散, 引发严重的健康风险.

迄今为止所做的微生物灭活研究, 但大多数集中在微生物的灭活动力学研究方面, 而有关消毒过程中核酸的损伤则鲜见报道. 定量 PCR 方法能用于检测核酸的损伤包括核酸链的破坏、碱基的氧化以及形成嘧啶二聚体^[21, 22]. 本研究采用定量 PCR 检测消毒过程中核酸损伤, 结果发现: 核酸损伤达到 1-log 所需的消毒剂量比用培养法检测的 1-log 微生物数量减少所需的剂量要高出 1~2 数量级(图 4). 造成这种显著差异的原因可能包括以下两个方面: 首先是培养法检测的局限性. 在消毒过程中, 微生物常处于有活性但不可培养 (VBNC) 状态^[10], 其仍保持新陈代谢能力, 在适当的环境条件下还能恢复感染性和致病性^[23, 24], 而这些微生物是无法通过培养法检测到的. PCR 则是针对核酸片段的检测方法, 完全脱离了培养条件的束缚, 是从遗传信息破坏的角度来评价微生物的灭活. 显然, 能够被 PCR 方法检测到的微生物数量高于培养法的. 其次, PCR

结果对微生物灭活的低估可能与检测片段的长度和位置有关^[7]. 待测核酸片段越长, 越易检测到消毒的影响. 本研究中, 大肠杆菌待测核酸片段长度为 153 bp, 达到 1-log 核酸损伤所需的紫外线剂量为 $270.3 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$, 而 McKinney 等^[25] 针对 1 kb 片段进行研究, 仅需 $50 \sim 100 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ 就造成了 1-log 核酸损伤.

如图 5 所示, 细菌长度为 $1 \mu\text{m}$ 明显大于病毒的直径 $20 \sim 30 \text{ nm}$, 其与消毒剂接触反应的几率更大, 且细菌的结构较复杂包括胶囊、细胞壁、细胞膜、细胞质、酶系统、DNA 等复杂结构对消毒剂更敏感, 因此病毒对消毒剂的耐性强于细菌. 紫外线消毒主要与微生物的核酸发生光化学反应, 引起磷酸二酯键和氢键的断裂、形成嘧啶二聚体 (例如: DNA 损伤 T-T CPDs 和 6-4PPS; RNA 损伤形成尿嘧啶环丁烷二聚体、尿嘧啶水合物、胞嘧啶水合物) 导致病毒的复制能力的消失^[1, 26], 并引起少量细菌的细胞膜蛋白以及内部酶系统或病毒衣壳的损伤 (图 5), 其共同作用导致微生物的灭活, 因此与活性相比核酸损伤需要更多的紫外线剂量. 值得注意的是, 紫外线消毒过程中脊髓灰质炎病毒的 RNA 损伤比大肠杆菌的 DNA 损伤更严重 (图 4), 该结果与培养法病毒对紫外线的耐性更强的结果正好相反. 这主要与两种微生物的结构有关, 大肠杆菌作为代表

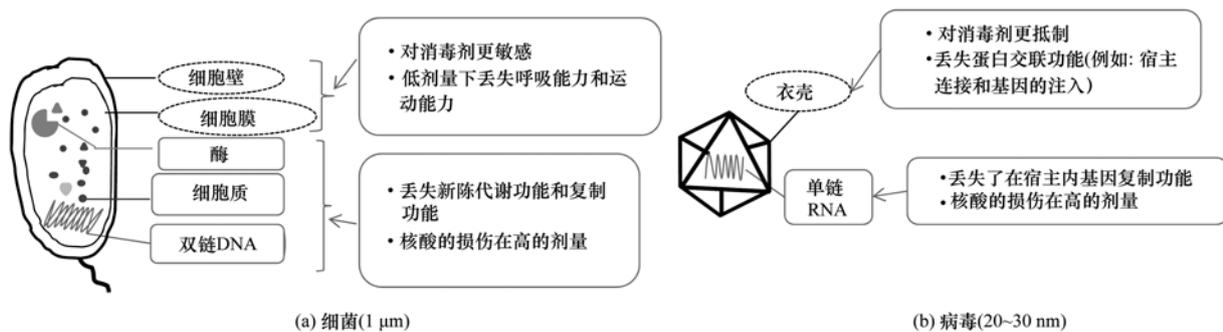


图 5 细菌和病毒的损伤机制示意

Fig. 5 Scheme for the killing and destruction of the bacteria and virus

性细菌,是原核生物存在明显的细胞结构,而脊髓灰质炎病毒由核酸和衣壳蛋白组成,无明显的细胞结构(图5),因此紫外线进入细菌内比进入病毒更难。其次,细菌的DNA核酸不容易被损伤,主要由于其二维结构^[27],PCR检测方法的原理是利用单链的碱基配原则进行体外复制的过程,即使DNA二维结构氢键断裂损伤发生解链过程,然而采用定量PCR方法无法检测,另外研究表明RNA的磷酸二酯键更容易受到损伤^[28],因此单链线性RNA对紫外线更敏感。

次氯酸钠消毒过程形成HOCl作为一种强氧化剂,具有较强的细胞渗透力,首先损伤细胞膜使其通透性增强,从而使其呼吸作用和运动功能受阻失去可培养能力,然后进入内部干扰酶系统,导致细胞内容物泄漏,最后导致蛋白质和核酸的损伤,使细菌的新陈代谢和复制功能丧失使细菌完全死亡^[29]。次氯酸钠消毒对病毒的灭活过程,首先损害病毒的衣壳蛋白,使其蛋白交联作用丢失(病毒丢失了宿主连接以及基因的注入的能力)感染性消失,病毒的完整性被破坏丢失保护核酸的能力,然后进一步氧化核酸形成5-氯胞嘧啶(5-chlorocytidine)及较少的8-氯鸟嘌呤(8-chloroguanosine)和8-氯腺嘌呤(8-chloroadenosine)^[30],使病毒丢失复制功能。因此,次氯酸钠消毒过程中,低浓度的氯在影响核酸之前使微生物失去了活性,微生物完全灭活时核酸仍保持一定完整性,核酸损伤需要更多的次氯酸钠剂量。

4 结论

(1)紫外线消毒和次氯酸钠对大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒呈明显的剂量反应关系,当紫外线剂量达到 $20 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ 时, $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 次氯酸钠接触反应30 min,大肠杆菌和脊髓灰质炎病毒丢失可培养性,然而脊髓灰质炎病毒对消毒剂的耐性强于大肠杆菌。

(2)紫外线消毒对RNA的损伤明显高于DNA,由于RNA的磷酸二酯键更容易受到损伤。常规的消毒技术无法有效地去除微生物的核酸。

(3)定量结果显示核酸损伤需要更多的消毒剂量,达到 1-log 的核酸损伤所需的消毒剂量高于培养法的 $1\sim 2$ 个数量级,这可能由于紫外线和次氯酸钠能使微生物处于有活性但不可培养(VBNC)状态,另一方面消毒过程存在除核酸损伤外的其他的机制,紫外线消毒通过破坏微生物的核酸(DNA/RNA)达到灭活的目的,然而仍能引起少量蛋白、膜

的损伤。而次氯酸钠消毒更多的损害细菌的细胞膜和病毒的衣壳蛋白,使其失去活性。

参考文献:

- [1] Rastogi R P, Richa, Kumar A, et al. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair[J]. *Journal of Nucleic Acids*, 2010, **2010**: 592980.
- [2] 李静,王大宁,曲红梅,等. 紫外线对大肠杆菌的损伤机制研究[J]. *军事医学*, 2016, **40**(9): 725-728.
Li J, Wang D N, Qu H M, et al. Mechanism of *Escherichia coli* injury under UV disinfection [J]. *Military Medical Sciences*, 2016, **40**(9): 725-728.
- [3] Virto R, Mañas P, Álvarez I, et al. Membrane damage and microbial inactivation by chlorine in the absence and presence of a chlorine-demanding substrate[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(9): 5022-5028.
- [4] Cho M, Kim J, Kim J Y, et al. Mechanisms of *Escherichia coli* inactivation by several disinfectants[J]. *Water Research*, 2010, **44**(11): 3410-3418.
- [5] Sinton L W, Hall C H, Lynch P A, et al. Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(3): 1122-1131.
- [6] Edberg S C, Rice E W, Karlin R J, et al. *Escherichia coli*: the best biological drinking water indicator for public health protection[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2000, **88**(S1): 106S-116S.
- [7] Simonet J, Gantzer C. Degradation of the Poliovirus 1 genome by chlorine dioxide [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, **100**(4): 862-870.
- [8] Simonet J, Gantzer C. Inactivation of Poliovirus 1 and F-specific RNA phages and degradation of their genomes by UV irradiation at 254 nanometers [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(12): 7671-7677.
- [9] Cho M, Chung H, Choi W, et al. Different inactivation behaviors of MS-2 phage and *Escherichia coli* in TiO₂ photocatalytic disinfection [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(1): 270-275.
- [10] Oliver J D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2010, **34**(4): 415-425.
- [11] Wong K, Fong T T, Bibby K, et al. Application of enteric viruses for fecal pollution source tracking in environmental waters [J]. *Environment International*, 2012, **45**: 151-164.
- [12] 刘艳芝,薛斌,陈照立,等. 二氧化氯灭活水中肠道腺病毒及其分子机制研究[J]. *环境与健康杂志*, 2013, **30**(2): 95-98.
Liu Y Z, Xue B, Chen Z L, et al. Mechanism and regularity of inactivation of adenovirus by chlorine dioxide in water [J]. *Journal of Environment and Health*, 2013, **30**(2): 95-98.
- [13] Trombert A, Irazoqui H, Martín C, et al. Evaluation of UV-C induced changes in *Escherichia coli* DNA using repetitive extragenic palindromic-polymerase chain reaction (REP-PCR) [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2007, **89**(1): 44-49.
- [14] Jin M, Shan J Y, Chen Z L, et al. Chlorine dioxide inactivation

- of enterovirus 71 in water and its impact on genomic targets[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **47**(9): 4590-4597.
- [15] Li D, Gu A Z, Zeng S, *et al.* Evaluation of the infectivity, gene and antigenicity persistence of rotaviruses by free chlorine disinfection[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, **23**(10): 1691-1698.
- [16] Reed L J, Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints[J]. *American Journal of Epidemiology*, 1938, **27**(3): 493-497.
- [17] Maheux A F, Picard F J, Boissinot M, *et al.* Analytical comparison of nine PCR primer sets designed to detect the presence of *Escherichia coli/Shigella* in water samples[J]. *Water Research*, 2009, **43**(12): 3019-3028.
- [18] Monpoeho S, Dehé A, Mignotte B, *et al.* Quantification of enterovirus RNA in sludge samples using single tube real-time RT-PCR[J]. *Biotechniques*, 2000, **29**(1): 88-93.
- [19] Kollu K, Örmeci B. UV-induced self-aggregation of *E. coli* after low and medium pressure ultraviolet irradiation [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2015, **148**: 310-321.
- [20] Rodriguez-Mozaz S, Chamorro S, Marti E, *et al.* Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in hospital and urban wastewaters and their impact on the receiving river[J]. *Water Research*, 2015, **69**: 234-242.
- [21] Sikorsky J A, Primerano D A, Fenger T W, *et al.* DNA damage reduces *Taq* DNA polymerase fidelity and PCR amplification efficiency [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2007, **355**(2): 431-437.
- [22] Chatzisyemon E, Droumpali A, Mantzavinos D, *et al.* Disinfection of water and wastewater by UV-A and UV-C irradiation: application of real-time PCR method [J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2011, **10**(3): 389-395.
- [23] 景明, 王磊. 污水回用中主要病原菌解析及其紫外消毒效应[J]. *环境科学*, 2016, **37**(2): 622-629.
- Jing M, Wang L. Analysis of pathogenic bacteria in reclaimed water and impact of UV disinfection on the removal of pathogenic bacteria[J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(2): 622-629.
- [24] Sinha R P, Häder D P. UV-induced DNA damage and repair: a review[J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2002, **1**(4): 225-236.
- [25] McKinney C W, Pruden A. Ultraviolet disinfection of antibiotic resistant bacteria and their antibiotic resistance genes in water and wastewater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(24): 13393-13400.
- [26] Sikorsky J A, Primerano D A, Fenger T W, *et al.* Effect of DNA damage on PCR amplification efficiency with the relative threshold cycle method [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2004, **323**(3): 823-830.
- [27] McKillip J, Jaykus L A, Drake M. rRNA Stability in Heat-Killed and UV-Irradiated *Enterotoxigenic Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157: H7 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**(11): 4264-4268.
- [28] Ceuppens S, Li D, Uyttendaele M, *et al.* Molecular methods in food safety microbiology: interpretation and implications of nucleic acid detection [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, **13**(4): 551-577.
- [29] Suquet C, Warren J J, Seth N, *et al.* Comparative study of HOCl-inflicted damage to bacterial DNA *ex vivo* and within cells [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2010, **493**(2): 135-142.
- [30] Sigstam T, Gannon G, Cascella M, *et al.* Subtle Differences in virus composition affect disinfection kinetics and mechanisms [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, **79**(11): 3455-3467.

CONTENTS

Estimating the Secondary Organic Aerosol Concentration and Source Apportionment During the Summer and Winter in the Nanjing Industrial District	LIU Jing-da, AN Jun-lin, ZHANG Yu-xin, <i>et al.</i> (1733)
Modeled Deposition of Fine Particles in Human Airway in Northern Suburb of Nanjing	LIANG Jing-shu, AN Jun-lin, WANG Hong-lei, <i>et al.</i> (1743)
Concentration Characteristics and Influencing Factors of Atmospheric Particulate Matters in Spring on Weizhou Island, Beihai, Guangxi Province	GAO Yuan-guan, ZHANG Kai, WANG Ti-jian, <i>et al.</i> (1753)
Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Atmosphere of Dajiuhe, Shennongjia, China	JIN Meng-yun, XING Xin-li, KE Yan-ping, <i>et al.</i> (1760)
Spatial Distribution Characteristics of NMHCs in Spring in Cangzhou City	DUAN Jing-chun, ZHOU Xue-ming, ZHANG He-feng, <i>et al.</i> (1769)
Emission Characteristics of Residential Coal Combustion Flue Gas in Beijing	LIANG Yun-ping, ZHANG Da-wei, LIN An-guo, <i>et al.</i> (1775)
Emission Characteristics and Ozone Formation Potential of VOCs from a Municipal Solid Waste Composting Plant	SHAO Zhu-ze, ZHENG Guo-di, WANG Yuan-gang, <i>et al.</i> (1783)
Degradation Characteristics of Composite CVOCs by Non-thermal Plasma	JIANG Li-ying, ZHANG Di, GUO Hai-qian, <i>et al.</i> (1792)
Chemical Compositions and Source Apportionment of Road Dust in Yuncheng	WU Yuan-yuan, LI Ru-mei, PENG Lin, <i>et al.</i> (1799)
Pollution Risk of Heavy Metals in Dust from the Building Along Elevated Road; A Case Study in Changzhou	YAO Jing-bo, WANG Ming-xin, QI Jin-di, <i>et al.</i> (1807)
Characteristics of Stable Isotope in Precipitation and Its Relationship with ENSO in Shanghai	DONG Xiao-fang, DENG Huang-yue, ZHANG Luan, <i>et al.</i> (1817)
Effects of DOC + CDPF on Emission Characteristics of Heavy-duty Diesel Vehicle	ZHANG Yun-hua, LOU Di-ming, TAN Pi-qiang, <i>et al.</i> (1828)
Accumulated Health Risk Assessment of Arsenic in Drinking Water of Major Cities of China	ZHANG Qiu-qiu, PAN Shen-ling, LIU Wei, <i>et al.</i> (1835)
Health Risk Assessment of Microcystins from Drinking Water Source by Monte Carlo Simulation Method	WANG Yang, XU Ming-fang, GENG Meng-meng, <i>et al.</i> (1842)
Potential Risk and Distribution Characteristics of PPCPs in Surface Water and Sediment from Rivers and Lakes in Beijing, China	ZHANG Pan-wei, ZHOU Huai-dong, ZHAO Gao-feng, <i>et al.</i> (1852)
Assessment of the Spatial-temporal Distribution Characteristics and Main Affecting Factors of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Spring and Summer at the Changjiang Estuary and Adjacent Areas	SUN Yu-yan, BAI Ying, SU Rong-guo, <i>et al.</i> (1863)
Complexation Between Copper(II) and Colored Dissolved Organic Matter from Municipal Solid Waste Landfill	XIAO Xiao, HE Xiao-song, GAO Ru-tai, <i>et al.</i> (1873)
Effects of Three Bioretention Configurations on Dissolved Nitrogen Removal from Urban Stormwater	LI Li-qing, HU Nan, LIU Yu-qing, <i>et al.</i> (1881)
Influence of Spatial Pattern of Paddy Field on the Losses of Nitrogen and Phosphorus in Three Gorges Reservoir Area	CHEN Cheng-long, GAO Ming, NI Jiu-pai, <i>et al.</i> (1889)
Effects of NO ₃ ⁻ -N Loading on the Early-Period Efficiency of Denitrification and Carbon Releasing in Constructed Wetland Filled with Bark	JIANG Ying-be, LI Yao, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (1898)
Effects of Microbial Fuel Cell Coupled Constructed Wetland with Different Support Matrix and Cathode Areas on the Degradation of Azo Dye and Electricity Production	LI Xue-xiao, CHENG Si-chao, FANG Zhou, <i>et al.</i> (1904)
Effects of Anode Materials on Electricity Generation and Organic Wastewater Treatment of 6 L Microbial Fuel Cells	DING Wei-jun, YU Li-liang, CHEN Jie, <i>et al.</i> (1911)
Effects of Joint-reaction Combined by Ozonation and Coagulation on Aquatic Organic Matters	LIU Hai-long, FU Jing-miao, GUO Xue-feng, <i>et al.</i> (1918)
Disinfection Action of Ultraviolet Radiation and Chlorination on <i>Escherichia coli</i> and Poliovirus	XU Li-mei, ZHANG Chong-miao, WANG Xiao-chang, <i>et al.</i> (1928)
Adsorption of Phosphate from Aqueous Solution on Hydrous Zirconium Oxides Precipitated at Different pH Values	WANG Xing-xing, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (1936)
Performance of Polymer-based Titanium and Zirconium Oxides Composite Adsorbent for Simultaneous Removal of Phosphorus and Fluorine from Water	CHEN Jia-kai, NIE Guang-ze, LIU Zhi-ying, <i>et al.</i> (1947)
Effect of Different Adding Means of Ignited Water Purification Sludge on Phosphorus Adsorption and Forms	ZHU Pei-ying, LI Da-peng, YU Sheng-nan (1957)
Law of Pollutant Erosion and Deposition in Urban Sewage Network	SANG Lang-tao, SHI Xuan, ZHANG Tong, <i>et al.</i> (1965)
Fate of Eleven Phthalic Acid Esters in Aerobic Sewage Treatment System	ZHOU Lin-jun, GU Wen, LIU Ji-ning, <i>et al.</i> (1972)
Characteristics of Denitrification Inhibiting Sulfate Reducing Process	JIN Peng-kang, YANG Zhen-rui, LI Rong, <i>et al.</i> (1982)
Enhanced Short-cut Denitrification by Fe ⁽⁰⁾ -activated Carbon and Its Influencing Factors	LÜ Yong-tao, LIU Ting, ZENG Yu-lian, <i>et al.</i> (1991)
Comparison of Operating Performance of Partial Nitritation Systems with Two Different Inhibition Strategies	LI Hui-juan, PENG Dang-cong, CHEN Guo-yan, <i>et al.</i> (1997)
Effect of Substrate Ratio on Nitrogen Removal Performance of ANAMMOX in ABR	LÜ Gang, XU Le-zhong, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (2006)
Effects of Temperature on the Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Removal and Microbial Community in SCSC-S/Fe	FAN Jun-hui, HAO Rui-xia, ZHU Xiao-xia, <i>et al.</i> (2012)
Analysis on Performance and Microbial Community Dynamics of a Strengthened Circulation Anaerobic Reactor Treating Municipal Wastewater	YANG Bo, XU Hui, FENG Xiu-ping, <i>et al.</i> (2021)
Aerobic Degradation Characteristics of the Quinoline-Degrading strain <i>Ochrobactrum</i> sp. and Its Bioaugmentation in Coking Wastewater	XU Wei-chao, WU Cui-ping, ZHANG Yu-xiu, <i>et al.</i> (2030)
Manganese Oxidation Characteristics and Oxidation Mechanism of a Manganese-Oxidizing Bacterium <i>Arthrobacter</i> sp. HW-16	WAN Wen-jie, XUE Zhi-jun, ZHANG Ze-wen, <i>et al.</i> (2036)
Effect of Temperature on Nitrogen Removal Performance of Marine Anaerobic Ammonium Oxidizing Bacteria	ZHOU Tong, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (2044)
Nitrogen Removal Performance and Microbial Community Analysis of Activated Sludge Immobilization	XU Xiao-yi, YOU Xiao-lu, LÜ Chen-pei, <i>et al.</i> (2052)
Microbial Structure of an Enhanced Two-phase High-solid Anaerobic Digestion System Treating Sludge	CAO Zhi-ping, WU Jing, ZUO Jian-e, <i>et al.</i> (2059)
Comparative Studies on Soil Actinobacterial Biodiversity After Re-vegetation in the Urban and Rural Hydro-fluctuation Zone of the Three Gorges Reservoir Region	QIN Hong, REN Qing-shui, YANG Wen-hang, <i>et al.</i> (2065)
Nitrous Oxide Emissions and Its Influencing Factors from an Agricultural Headwater Ditch During a Maize Season in the Hilly Area of Central Sichuan Basin	TIAN Lin-lin, ZHU Bo, WANG Tao, <i>et al.</i> (2074)
Effect of Dicyandiamide on N ₂ O Emission in Fallow Paddy Field and Rape Cropping	WU Yan-zheng, ZHANG Miao-miao, QIN Hong-ling, <i>et al.</i> (2084)
Characteristics of Biochar-mediated N ₂ O Emissions from Soils of Different Surface Conditions	ZOU Juan, HU Xue-yu, ZHANG Yang-yang, <i>et al.</i> (2093)
Characteristics of Soil Respiration and Soil Organic Carbon in Fava Bean Farmland Under Ridge Tillage and Straw Mulching in Southwest China	XIONG Ying, WANG Long-chang, DU Juan, <i>et al.</i> (2102)
Prediction of Distribution of Soil Cd Concentrations in Guangdong Province, China	SUN Hui, GUO Zhi-xing, GUO Ying, <i>et al.</i> (2111)
Spatial Distribution and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Sediments of Suya Lake	ZHANG Peng-yan, KANG Guo-hua, PANG Bo, <i>et al.</i> (2125)
Effects of the Active Components of Humic Acids and Their Proportions on the Dynamics of Lead Transformation and Availability in Purple Alluvial Soil	WANG Qing-qing, JIANG Zhen-mao, WANG Jun, <i>et al.</i> (2136)
Enrichment Characteristics of Heavy Metals in Particulate Organic Matter of Purple Paddy Soil	LI Qiu-yan, ZHAO Xiu-lan (2146)
Enhanced Sorption of Cetrizine to Loessial Soil Amended with Biochar	WU Zhi-juan, BI Er-ping (2154)
Characteristics and Mechanism of Copper Adsorption from Aqueous Solutions on Biochar Produced from Sawdust and Apple Branch	WANG Tong-tong, MA Jiang-bo, QU Dong, <i>et al.</i> (2161)
Adsorption of Pb ²⁺ and Cd ²⁺ from Aqueous Solution Using Vermicompost Derived from Cow Manure and Its Biochar	DU Wen-hui, ZHU Wei-qin, PAN Xiao-hui, <i>et al.</i> (2172)
Performance and Mechanism Study of Visible Light-driven C ₃ N ₄ /BiOBr Composite Photocatalyst	BAO Yue, ZHOU Min-yun, ZOU Jun-hua, <i>et al.</i> (2182)