

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第3期

Vol.39 No.3

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

长三角典型站点冬季大气 $PM_{2.5}$ 中 OC、EC 污染特征	康晖, 朱彬, 王红磊, 施双双 (961)
南京北郊能见度变化中二次无机盐消光的重要作用	于超, 于兴娜, 赵天良, 张蕾, 马国煦, 王咏薇 (972)
常州夏冬季 $PM_{2.5}$ 中无机组分昼夜变化特征与来源解析	刘佳澍, 顾远, 马帅帅, 苏亚兰, 叶招莲 (980)
天津市春季道路降尘 $PM_{2.5}$ 和 PM_{10} 中的元素特征	王士宝, 姬亚芹, 李树立, 张伟, 张蕾 (990)
北京、新乡夏季大气颗粒物中重金属的粒径分布及人体健康风险评价	张鑫, 赵小曼, 孟雪洁, 王小颖, 杨帅, 许晓鹏, 王书亭, 谷超, 王梦蕾, 任浩, 张子洋, 闫广轩, 曹治国, 王跃思 (997)
山西省武乡县城大气 $PM_{2.5}$ 痕量重金属的生态和健康风险分析	郭墨霞, 耿红, 张晋宏, 周欢, 彭妍, 翟帅莹, 李金磊, 陈雨杉 (1004)
隧道中机动车排放颗粒物及无机元素特征	李凤华, 张衍杰, 张静, 袁远, 吴琳, 毛洪钧 (1014)
河南省 2013 年大气氨排放清单建立及分布特征	王琛, 尹沙沙, 于世杰, 卫军华, 谷幸珂, 官密秘, 张瑞芹 (1023)
城市道路行道树池裸地扬尘排放特征	李贝贝, 秦建平, 祁丽荣, 杨涛, 曲松, 石爱军, 黄玉虎 (1031)
DOC 和 CDPF 对柴油公交车颗粒物组分影响	楼狄明, 耿小雨, 宋博, 谭丕强, 胡志远, 刘继跃 (1040)
南水北调中线工程总干渠河南段原水中消毒副产物前体物变化规律	黄飘逸, 徐斌, 郭东良 (1046)
广州市流溪河水体中 6 种内分泌干扰素时空分布特征与环境风险	樊静静, 王赛, 唐金鹏, 戴玉女, 王林, 龙胜兴, 何文祥, 刘帅磊, 王佳希, 杨扬 (1053)
西藏拉萨河流域河水主要离子化学特征及来源	张清华, 孙平安, 何师意, 文化, 刘明隆, 于爽 (1065)
太子河下游河流硝酸盐来源及其迁移转化过程	李艳利, 杨梓睿, 尹希杰, 孙伟 (1076)
海南岛北部海湾沉积物重金属来源、分布主控因素及生态风险评价	曾维特, 杨永鹏, 张东强, 刘兵, 张航飞, 吴多誉, 王晓林 (1085)
天津农田重金属污染特征分析及降雨沥浸影响	许萌萌, 刘爱凤, 师荣光, 蓝靖, 田永, 赵宗山 (1095)
太湖出入湖河道与湖体水质季节差异分析	查慧铭, 朱梦圆, 朱广伟, 杨周生, 许海, 沈睿杰, 钟春妮 (1102)
春季敏感时期三峡水库典型支流沉积物-水界面氮释放特性	李欣, 宋林旭, 纪道斌, 刘德富, 苏青青, 吕林鹏, 王雄, 黄亚男, 吴庆 (1113)
不同湖泊入湖河流沉积物可转化态氮的空间分布及其影响因素	周睿, 袁旭音, Marip Ja Bawk, 于辉辉, 章琪, 唐豆豆 (1122)
水文气象因素对东南山区水库硅藻异常增殖的影响	孙祥, 朱广伟, 笪文怡, 余茂蕾, 杨文斌, 朱梦圆, 许海, 国超旋, 余丽 (1129)
深水型水库热分层诱导水质及真菌种群结构垂向演替	商潘路, 陈胜男, 黄廷林, 张海涵, 康鹏亮, 王跃, 刘珍芳, 刘彤彤 (1141)
太湖竺山湾春季浮游细菌群落结构及影响因素	薛银刚, 刘菲, 孙萌, 江晓栋, 耿金菊, 滕加泉, 谢文理, 张皓, 陈心一 (1151)
分层型水源水库沉积物需氧量特性	苏露, 黄廷林, 李楠, 张海涵, 文刚, 李扬, 陈家炜, 王晓江 (1159)
污水氮浓度和 NH_4^+ / NO_3^- 比对粉绿狐尾藻去氮能力和植物体氮组分的影响	马永飞, 杨小珍, 赵小虎, 胡承孝, 谭启玲, 孙学成, 吴金水 (1167)
水体氮磷营养负荷对苦草净化能力和光合荧光特性的影响	周裔文, 许晓光, 韩睿明, 周晓红, 冯德友, 李致春, 王国祥 (1180)
化学预氧化耦合生物锰氧化对水中有机物的去除	菅之奥, 常洋洋, 王立新, 梁金松, 柏耀辉 (1188)
铜铁氧体法处理模拟染料废水	韩志勇, 韩昆, 郝昊天, 于建伟, 石宝友, 庄媛, 孔岩 (1195)
草酸根对 α -FeOOH 多相 UV-Fenton 催化能力的增效实验	苗笑增, 戴慧旺, 陈建新, 蒋柏泉, 龚炯 (1202)
生物质基纳米 HZO 杂化材料的研制及其除磷特性	邱慧, 秦智峰, 刘凤玲, 梁晨, 宋明霞, 许正文, 管益东 (1212)
铁锰氧化物/生物炭复合材料对水中硝酸根的吸附特性	郑晓青, 韦安磊, 张一璇, 史良干, 张潇 (1220)
PAAm/HACC 半互穿网络水凝胶的制备及其对水中腐殖酸的吸附性能	刘泽琨, 周少奇, 马福臻 (1233)
二氧化钛对地下水砷的吸附及再生回用	马文静, 阎莉, 张建锋 (1241)
一体式絮体-超滤工艺去除腐殖酸效能与机制	李文江, 于莉芳, 苗瑞, 马百文 (1248)
中国城镇污水处理厂温室气体排放时空分布特征	闫旭, 邱德志, 郭东丽, 齐星昊, 郑仕侃, 程轲, 孙剑辉, 刘建伟 (1256)
硝化耦合 CANON 的铁锰氮生物净化工艺启动与运行	李冬, 曹瑞华, 杨航, 王艳菊, 吕赛赛, 张杰 (1264)
纤维载体的生物膜 CANON 反应器的启动特性	顾澄伟, 陈方敏, 李祥, 黄勇, 尤星怡, 金润, 张文静, 董石语 (1272)
DO/ NH_4^+ -N 实现短程硝化过程中生物膜特性	赵青, 卞伟, 李军, 王文啸, 孙艺齐, 梁东博, 张舒燕 (1278)
AUSB 中置曝气对 CANON 颗粒污泥工艺的影响	成朔, 李冬, 张杰, 李帅, 曹瑞华, 吕赛赛 (1286)
有机碳源对启动及运行 CANON 颗粒污泥工艺的影响	李冬, 王艳菊, 吕育锋, 曹瑞华, 李帅, 张杰 (1294)
中试一体式部分亚硝化-厌氧氨氧化反应器的启动与区域特性	周正, 王凡, 林兴, 董石语, 朱强, 李祥, 黄勇 (1301)
硝化液回流比对 ABR-MBR 工艺反硝化除磷效能的影响	吕亮, 尤雯, 张敏, 吴鹏, 沈耀良 (1309)
磁性纳米铁对厌氧颗粒污泥特性及其微生物群落的影响	宿程远, 郑鹏, 卢宇翔, 袁秋红, 赵力剑, 廖黎明, 黄智 (1316)
好氧颗粒污泥系统中溶解性微生物代谢产物的特征及主要组分	杨丹, 刘东方, 杜丽琼, 黄文力 (1325)
环丙沙星对膜生物反应器中微生物群落及抗性基因的影响	戴琦, 刘锐, 梁玉婷, 舒小铭, 徐灿灿, 陈吕军 (1333)
CEM-UF 组合膜-硝化/反硝化系统处理低 C/N 废水及种群结构分析	邢金良, 张岩, 陈昌明, 张博康, 郭威, 马翔山 (1342)
磷对混养反硝化污泥活性和微生物群落结构的影响	王佩琦, 周伟丽, 何圣兵, 黄荣振 (1350)
甲烷厌氧氧化协同硝酸盐还原菌群驯化及其群落特征	薛松, 张梦竹, 李琳, 刘俊新 (1357)
城市尾水排海过程中微生物及主要致病菌扩散规律	徐爱玲, 牛成洁, 宋志文, 郎秀璐, 郭明月 (1365)
氧四环素的微生物燃料电池处理及微生物群落	严伟富, 肖勇, 王淑华, 丁蕊, 赵峰 (1379)
近 30 年干县耕地土壤碳氮比时空变异特征及其影响因素	江叶枫, 钟珊, 李婕, 王澜珂, 卞荣禧 (1386)
中宁枸杞土壤碳组分分布特征及其空间异质性	王幼奇, 赵云鹏, 白一茹, 张兴 (1396)
滨海滩涂围垦区不同围垦年限土壤酶活性变化及其与理化性质关系	解雪峰, 濮励杰, 王琪琪, 朱明, 王小涵 (1404)
青藏高原中东部表层土壤中多环芳烃的分布特征、来源及生态风险评价	周雯雯, 李军, 胡健, 李兆洲 (1413)
基于 UNMIX 模型的矿区周边农田土壤金属源解析	卢鑫, 胡文友, 黄标, 李元, 祖艳群, 湛方栋, 卞荣禧 (1421)
铁锰双金属材料在不同 pH 条件下对土壤 As 和重金属的稳定化作用	费群, 阎秀兰, 李永华 (1430)
我国 3 个城市人体血清中新型溴代阻燃剂水平趋势及分布特征	王庆华, 袁浩东, 金军, 李鹏, 马玉龙, 王英 (1438)
《环境科学》征订启事 (979) 《环境科学》征稿简则 (996) 信息 (1022, 1064, 1293)	

甲烷厌氧氧化协同硝酸盐还原菌群驯化及其群落特征

薛松^{1,2}, 张梦竹³, 李琳^{1,2*}, 刘俊新^{1,2}

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 环境水质学国家重点实验室, 北京 100085; 2. 中国科学院大学, 挥发性有机物污染控制材料与技术国家工程实验室, 北京 101408; 3. 中持水务股份有限公司, 北京 100192)

摘要: 伴随硝酸盐还原的甲烷厌氧氧化是协同减少环境中硝酸盐及甲烷的有效途径. 利用实验室废水处理厌氧污泥、污水处理厂厌氧污泥和填埋场覆土驯化富集硝酸盐还原型甲烷厌氧氧化菌群. 考察菌群的甲烷氧化效果, 结果发现接种污水处理厂厌氧污泥体系甲烷转化量最大, 为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$. 微生物群落结构分析显示, 该体系中甲烷微菌和甲烷八叠球菌是甲烷氧化菌, 假单胞菌、梭状芽胞杆菌和热单胞菌参与了硝酸盐的还原反应. 硝酸盐的量影响甲烷的转化率及菌群结构. 当硝酸盐浓度为 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 体系中的硝酸盐还原菌为假单胞菌和梭状芽胞杆菌; 浓度增加至 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 硝酸盐还原菌则是假单胞菌和热单胞菌. 同时, 甲烷转化率增加 34.7%. 研究结果为该菌群应用于含甲烷废气与含硝酸盐废水的协同处理提供科学依据.

关键词: 甲烷厌氧氧化; 硝酸盐还原; 厌氧污泥; 富集; 克隆文库; 群落结构特征

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)03-1357-08 DOI: 10.13227/j.hjks.201706051

Acclimatization and Community Structure Analysis of the Microbial Consortium in Nitrate-Dependent Anaerobic Methane Oxidation

XUE Song^{1,2}, ZHANG Meng-zhu³, LI Lin^{1,2*}, LIU Jun-xin^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. National Engineering Laboratory for VOCs Pollution Control Material & Technology, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China; 3. CSD Water Service Company, Beijing 100192, China)

Abstract: Methane oxidation coupled with denitrification is an effective way to reduce the discharge of nitrate and methane. The anaerobic sludge from a laboratory wastewater treatment facility, anaerobic sludge from a wastewater treatment plant, and soil from a landfill were selected as inoculum to enrich the consortium for anaerobic methane oxidation in cooperation with nitrate reduction. The investigation of methane oxidation was carried out in these systems. The results showed that the maximum methane consumption rate of $0.05 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ was obtained when the anaerobic sludge from a wastewater treatment plant served as inoculum. The population of bacteria and archaea were assayed by the clone library method. The *Methanosarcinales* and *Methanomicrobiales* were present in methane oxidation as methane oxidizing archaea. The *Pseudomonas*, *Clostridia*, and *Thermomonas* were identified as nitrate reducing bacteria in the process of nitrate reduction. Both the methane conversion rate and microbial population varied with the amount of nitrate. The nitrate reduction bacteria were *Pseudomonas* and *Clostridia* when the nitrate concentration was $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The *Pseudomonas* and *Thermomonas* emerged when the nitrate concentration increased to $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the rate of methane conversion was increased by 34.7%. The results provided science evidence for the co-treatment of methane and nitrate.

Key words: anaerobic oxidation of methane; nitrate reduction; anaerobic sludge; enrichment; clone library; microbial community structure

在污水厌氧处理以及垃圾填埋过程中, 有大量的甲烷生成^[1]. 甲烷是重要的温室气体, 其温室效应是二氧化碳的 26 倍^[2]. 甲烷氧化是自然界中甲烷减少的重要途径之一^[3]. 海底沉积物^[4]、水稻田土壤^[5]、湿地底泥^[6]等生境中存在氧化甲烷的微生物. Raghoebarsing 等发现^[7], 甲烷厌氧氧化可以协同硝酸盐还原, 在这个过程中甲烷氧化为二氧化碳, 硝酸盐和亚硝酸盐转化为氮气. 并且获得了甲烷厌氧氧化的微生物菌群. 参与甲烷氧化和硝酸盐还原作用的微生物包括隶属于 NC10 菌门的细菌^[8]和甲烷氧化古菌 (anaerobic methanotrophic archaea,

ANME) ANME-2^[7,9]. 目前发现的甲烷厌氧氧化协同硝酸盐还原主要发生在自然界中.

生活污水和化肥生产等工业排放的废水中含有大量的硝酸盐^[10], 未经处理排放到环境中, 会导致水体富营养化和地下水污染, 从而危害人体的健康^[11]. 在厌氧条件下, 利用硝酸盐作为电子受体,

收稿日期: 2017-06-06; 修订日期: 2017-08-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51478456)

作者简介: 薛松 (1989 ~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为挥发性有机物和恶臭物质生物处理技术的研究及应用, E-mail: xuesongxsyy@126.com

* 通信作者, E-mail: leel@rcees.ac.cn

厌氧氧化甲烷,在处理含硝酸盐废水的同时,有效削减了温室气体甲烷的排放.因此,本研究分别从实验废水处理污泥、污水处理厂厌氧污泥和填埋场覆土中驯化富集甲烷氧化协同硝酸盐还原的菌群,比较了3种菌群的甲烷厌氧氧化效果;考察了硝酸盐的加入量对甲烷氧化效果以及微生物群落结构的影响,以期为含甲烷废气与含硝酸盐废水的协同处理提供技术与方法.

1 材料与方法

1.1 甲烷厌氧氧化-硝酸盐还原菌群的驯化方法

甲烷厌氧氧化-硝酸盐还原菌群的驯化接种物取自北京某污水处理厂厌氧段污泥、实验室装置厌氧池污泥和垃圾填埋场的覆土.将接种物与营养液按一定比例混合,混合液的污泥浓度分别为3 529 mg·L⁻¹、3 928 mg·L⁻¹(填埋场覆土取10 g加入100 mL水中,振荡20 min后静置,取悬浊液),NaNO₃的浓度为2.5 g·L⁻¹.营养液的成分为: NH₄Cl 1.5 g·L⁻¹, MgSO₄ 0.2 g·L⁻¹, K₂HPO₄ 0.7 g·L⁻¹, FeSO₄·7H₂O 0.1 g·L⁻¹, NaCl 0.7 g·L⁻¹, pH 6.67,所用试剂均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司生产.混合液50 mL加入100 mL血清瓶中,再通入50 mL甲烷(体积分数40%,余气为氦气),将血清瓶密封后放入恒温摇床(30℃,120 r·min⁻¹)中厌氧培养.每周取样1~2次,测定反应瓶中甲烷、硝酸钠及其产物的量,监测反应效果.连续驯化80 d,反应瓶内的甲烷浓度持续减少,驯化完成.为了对比不同来源接种泥的驯化效果,设计了系列驯化实验,驯化条件见表1.选用3个体系中,甲烷氧化效果最好的体系,用驯化好的污水处理厂厌氧污泥在不同条件下进行甲烷厌氧氧化研究.

表1 驯化条件¹⁾

Table 1 Microbial acclimation conditions				
项目	污泥浓度 /mg·L ⁻¹	甲烷体积分数 /%	NaNO ₃ 浓度 /g·L ⁻¹	余气
SS	3 529	40	2.5	氦气
SF	— ²⁾	40	2.5	氦气
SW	3 985	40	2.5	氦气

1) SS:实验室污泥; SF:垃圾填埋场覆土; SW 污水处理厂厌氧池污泥; 2) 10 g 土壤加入100 mL 水,振荡20 min后静置,取悬浊液

1.2 分析方法

采集的样品包括气体,溶液及污泥.气体分析甲烷、二氧化碳、氮气,使用气相色谱仪(安捷伦6890型,美国)检测.外标法计算气相中相应气体

浓度. CH₄ 采用氢火焰离子检测器, N₂ 为载气; HP-5 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, Agilent); 进样口温度、柱温和检测器温度分别为: 50、100 和 250℃. CO₂ 和 N₂ 采用热导检测器, He 为载气; 不锈钢填充柱 Tbx-0(2 m, Φ 2 mm, 60 ~ 80 目); 进样口温度、柱温和检测器温度分别为: 110、100 和 250℃. 溶液分析包括 NO₃⁻ 浓度和总有机碳(TOC), 分别采用 DIONEX ICS1000 离子色谱仪(美国)和 TOC-V CPH 测定仪(日本)测定. 采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)测定污泥中 Cu、Fe、Mn、Ni、Zn 的含量, 所用仪器为 Optima 2000 DV(Perkin Elmer, 美国). 总悬浮固体(TSS)和挥发性悬浮固体(VSS)用重量法测定(国家标准 GB/T 11901-1989).

生物相分析: 分别对不同体系中微生物的总 DNA 进行提取(omega, 美国). 随后选择真细菌通用引物 616F(5'-AGA GTT TGA TYM TGG CTC AG-3') 和 630R (5'-CAK AAA GGA GGT GAT CC-3')^[12]、古细菌通用引物 20F (5'-TTC CCG TTG ATC CYG CCG G-3') 和 958R (5'-YCC GGC GTT GAM TCC AAT T-3')^[13]对细菌 16S rDNA 进行 PCR 扩增. 扩增反应体系(50 μL)包括: DNA 模板 2 μL, 10 × PCR Buffer 5 μL, dNTP 混合物 4 μL, 引物各 0.75 μL, Ex-Taq DNA 聚合酶 0.25 μL, ddH₂O 37.25 μL. PCR 扩增程序为: 94℃ 预变性 3 min, 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 31 个循环, 72℃ 延伸 10 min. 扩增完毕后, 取 5 μL 扩增产物, 在 120 V 电压下, 于 10 g·L⁻¹ 的琼脂糖凝胶中电泳 30 min, 凝胶成像系统(Bio-Rad, 美国)采集图像, 鉴定 PCR 扩增效果.

对 PCR 产物进行进一步纯化(Omega E. Z. N. A. Gel Extraction Kit I, 美国), 将纯化后的 PCR 产物片段与 pMD 18-T 载体连接(Promega, 美国), 转入大肠杆菌感受态细胞(DH5α, 中国)中. 转化后的菌体涂布于预加有氨苄、X-Gal 和 IPTG 的 LB 培养基中, 12h 后进行蓝白斑鉴定. 挑取白色阳性克隆子进行测序分析.

获得的序列经过去载体、拼接、去除嵌合体后, 分析每个样品中所有序列的同源性(DNAMAN), 并根据序列相似度的差异来划分操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU), 相似度大于等于 97% 的归为一个 OTU. 每个 OTU 中选择一条代表序列, 提交美国国家生物技术信息中心(NCBI, National Center of Biotechnology Information)

的 GenBank 数据库进行序列比对, 根据相似序列信息, 构建获得每个样品的克隆文库。

以覆盖度 (coverage, C) 来评估所构建的文库对细菌多样性的体现, 公式为^[14]:

$$C = 1 - n/N \quad (1)$$

式中, N : 阳性克隆子的数目, n : 具有不重复序列的克隆数。

本文所测序列均提交到 NCBI GenBank 数据库中 获得登录号。

以香农威纳指数 (Shannon-Weiner index, H) 来反应每个体系的微生物群落多样性, 计算公式为^[15]:

$$H = - \sum P_i \ln(P_i) \quad (2)$$

式中, H : 香农威纳指数; P_i : 样品中属于第 i 种的个体的比例。

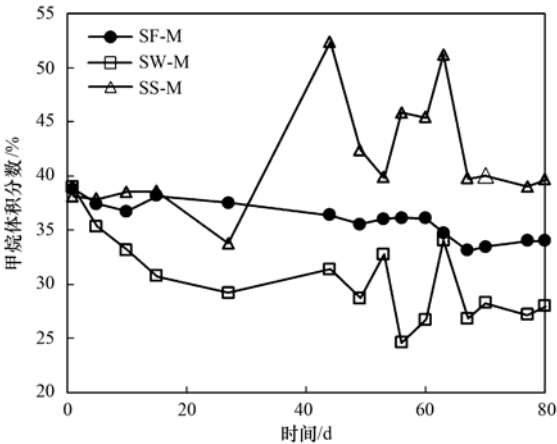
选择每个 OTU 中代表序列和数据库比对获得的相似序列进行细菌系统发育树构建, 系统发育树的构建选用 MEGA 6.1 软件的邻接 (neighbor joining, NJ) 算法。

2 结果与讨论

2.1 甲烷氧化-硝酸盐还原菌群的驯化富集

定期取样, 测定驯化体系中的甲烷量, 监测甲烷体积分数的变化。SS、SF 和 SW 体系的培养时间为 80 d (图 1)。接种垃圾填埋场覆土的 SF 体系中甲烷逐渐减少。培养 80 d 后, 甲烷体积分数从 40% 减少至 34.95%, 甲烷的平均消耗速率为 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 。相似的, SW 体系的甲烷体积分数随着驯化时间延长逐渐降低, 期间呈现波动变化。驯化开始时, 体系中甲烷的体积分数为 40%, 甲烷体积分数逐渐降低至 27.98%, 80 d 内甲烷平均减少速率 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{d}^{-1}$ 。在驯化期间, SS 体系中的甲烷体积分数也呈现波动变化, 但是甲烷体积分数逐渐增加。80 d 后, 甲烷的体积分数增加至 41.05%, 增加了 0.35 mg 。43 d 时, 甲烷的体积分数最大为

52.37%, 增加量为 4.12 mg 。经过 80 d 的培养, 接种污水厂污泥的体系甲烷减少量最多, 氧化效果最好, 接种处理实验室废水装置污泥的驯化体系, 甲烷减少量最少。



SF-M:SF 体系甲烷体积分数; SW-M:SW 体系甲烷
体积分数; SS-M:SS 体系甲烷体积分数

图 1 SW、SS 和 SF 驯化时甲烷体积分数变化

Fig. 1 Methane concentrations in SW, SS, and SF

菌群结构与底物成分有关, 接种物的成分有差异, 导致不同驯化体系的微生物群落结构各具特色, 甲烷的氧化量相应发生变化。

驯化开始时 SF、SW 和 SS 这 3 个体系的接种物分别为填埋场填埋区覆土、污水处理厂厌氧污泥和实验室废水处理装置污泥, 接种物来源不同, 成分差异明显 (表 2)。实验室废水处理装置污泥和污水处理厂厌氧污泥含有较高的有机质, 其质量浓度分别是填埋场填埋区覆土有机物质量浓度的 4.55 倍和 3.97 倍。SS 和 SW 驯化体系中存在大量的有机质, 在厌氧条件下, 有机质被微生物降解, 产生溶解性的小分子有机物。这些溶解性的小分子有机物能够被产甲烷菌利用, 产生甲烷^[16]。因此, 出现甲烷增加的现象。与其他两个驯化体系相比, 实验室废水处理装置污泥有机质含量最高, 甲烷增加的最多。研究结果显示, 污水厂厌氧污泥适于作为驯化甲烷厌氧氧化协同硝酸盐还原生物体系的接种物。

表 2 接种物成分分析/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

Table 2 Characteristics of the inoculum/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

来源	TOC	重金属				
		Cu	Fe	Mn	Ni	Zn
实验室废水处理装置污泥	507.7	23.3	651.7	11.0	2.3	46.7
污水处理厂厌氧污泥	443.6	0.9	386.3	1.3	0.4	4.3
填埋场填埋区覆土	111.7	0.5	559.3	10.9	0.6	1.2

3 个驯化体系均加有硝酸盐, 硝酸盐会抑制甲烷的生物合成^[17]。首先, 硝酸盐的还原比产甲烷更

容易消耗 H_2 , 减少了产甲烷过程可利用的底物。另外, 硝态氮的存在还会抑制产甲烷菌的活性。由于

在同一个体系中,同时发生产甲烷与甲烷氧化两个反应. 因此, SS 和 SW 的体系中出现甲烷浓度明显波动的现象. 垃圾填埋场覆土的有机质含量低, SF 体系中的甲烷浓度没有明显的波动.

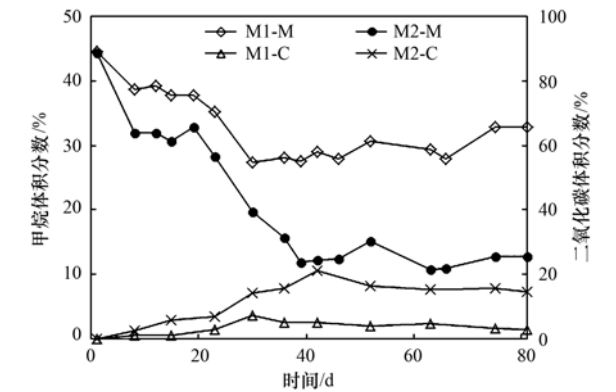
对产甲烷和甲烷氧化过程中微生物的金属酶和微量金属生理学的研究发现,富金属酶途径有多种,包含了产甲烷过程和甲烷氧化过程^[18]. 产甲烷过程需要大量的铁、镍和锌等元素,而甲烷氧化过程需要量较少. 因此驯化体系中的重金属如铁、镍和锌等浓度高时,有利于甲烷的合成. 重金属的量影响微生物的活性,浓度高时,产甲烷酶活性增强,甲烷氧化菌活性受到抑制. 当体系中铜离子和铁离子浓度分别大于 $10\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $20\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,会抑制甲烷氧化菌的活性^[19]. 接种物的重金属含量分析显示,实验室废水处理装置污泥重金属质量浓度均高于污水处理厂厌氧污泥和填埋场填埋区覆土,其中 Fe、Cu、Zn 和 Ni 的质量浓度是污水处理厂厌氧污泥的 1.7、25.9、10.9 和 5.7 倍,是填埋场填埋区覆土的 1.2、46.6、38.9 和 3.8 倍(表 2). 高浓度的 Zn、Ni、Cu 和 Fe 影响了驯化体系中甲烷氧化菌的活性,降低了甲烷氧化效率. 因此,高浓度的重金属是导致 SS 体系甲烷氧化效率低,及甲烷波动明显的原因之一(图 1).

2.2 硝酸盐浓度的影响

利用驯化后得到的污水处理厂厌氧污泥富集产物,分别加入不同浓度的硝酸盐进行甲烷氧化反应(M1 及 M2),研究其对甲烷氧化效果的影响,实验条件如表 3. 体系 M1 和 M2 中的甲烷浓度均随着反应时间的延长而减少(图 2). 在体系 M1 中,甲烷体积分数随时间逐渐降低. 反应 15 d 后,甲烷体积分数从 45% 减少至 37.8%,反应至第 20 d,体系中甲烷体积分数升至 38.8%. 反应 30 d 后,甲烷体积分数降低至 27.4%,然后甲烷体积分数基本不发生变化. 整个反应过程中,甲烷减少了 5.86 mg. M2 体系中甲烷体积分数随时间的变化与之类似,反应 38 d 后,甲烷体积分数降低至 11.8%,甲烷减少了 11.06mg. 之后,甲烷体积分数趋于平稳. M2 体系

表 3 不同 NaNO₃ 浓度实验条件

Table 3 Test conditions for different nitrate concentrations			
编号	CH ₄ (体积比)/%	NaNO ₃ /mg·L ⁻¹	污泥浓度/mg·L ⁻¹
M1	45	200	2 641
M2	45	500	2 579



M1-M; M1 体系甲烷体积分数; M2-M; M2 体系甲烷体积分数;
M1-C; M1 体系二氧化碳体积分数; M2-C; M2 体系二氧化碳体积分数
图 2 不同 NaNO₃ 浓度反应体系甲烷-二氧化碳体积分数变化

Fig. 2 Concentrations of methane and carbon dioxide with different NaNO₃ volume fraction

中甲烷的减少量是 M1 体系中的 1.89 倍.

M1 和 M2 体系中,甲烷体积分数减少的同时检测到二氧化碳的产生. 随着反应的进行, M1 体系中二氧化碳的体积分数随时间逐渐增加(图 2). 当反应至第 23 d 时,体积分数为 2.7%,当反应 30 d 后,二氧化碳的体积分数增加至 7.3%,随后逐渐降低. 反应结束时, M1 中二氧化碳体积分数为 2.75%,二氧化碳产生了 2.29 mg. M2 中二氧化碳的体积分数也呈现先增加后降低的现象,反应至第 42 d 时,体系中二氧化碳体积分数达到最大值 21%,整个反应过程中, M2 体系中二氧化碳增加了 12.08 mg,比 M1 体系多产生了 9.79 mg 二氧化碳.

根据以往的研究(图 3),甲烷厌氧氧化协同硝酸盐还原过程中,硝酸盐经过一系列还原酶的作用转化为 N₂,并同时产生 O₂. 甲烷在甲烷氧化菌的作用下被 O₂ 氧化生成甲醇并最终转化为二氧

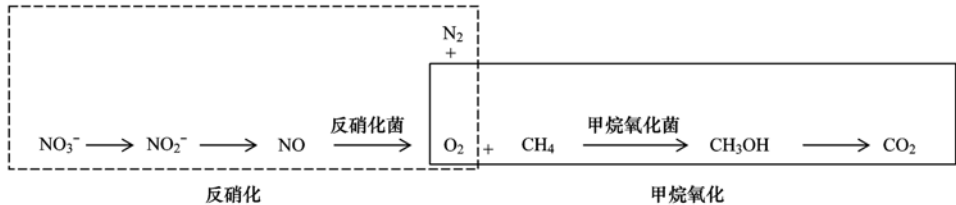


图 3 甲烷厌氧氧化协同硝酸盐还原途径

Fig. 3 Methane oxidation coupled to denitrification with anaerobic conditions

化碳^[2, 20]. 硝酸盐增加时, 有可能促进了氧的生成, 将甲烷氧化为甲醇, 进而转化为二氧化碳. 适当增加硝酸盐, 有利于甲烷转化为二氧化碳.

2.3 甲烷厌氧氧化硝酸盐还原生物体系微生物群落结构

分别构建 M1 和 M2 体系的 16S rDNA 克隆文库, 分析硝酸盐浓度对群落结构的影响. M1 体系归并细菌 OTU 数目为 34 个, 古菌 OTU 为 12 个, 它们的覆盖度分别为 72.9% 和 92%. M2 体系归并的细菌和古菌的 OTU 数目分别为 28 个和 16 个, 相应的覆盖度为 74.7% 和 78%.

2.3.1 硝酸盐对该富集物微生物群落组成的影响

M1 和 M2 古菌群落(图 4 和表 4)中, OTU-G1-4、OTU-G2-2、OTU-G2-3 和 OTU-G2-5 与甲烷八叠球菌 *Uncultured Methanosarcinales* 的相似度较高. OTU-G1-5、OTU-G1-10 和 OTU-G2-11 与甲烷微菌 *Uncultured Methanomicrobiales* 有较高的相似度. 甲烷八叠球菌和甲烷微菌具有甲烷氧化功能. 甲烷氧化菌(ANME)分为 3 个类群: ANME-1、ANME-2 和 ANME-3^[21, 22]. 其中甲烷八叠球菌与甲烷微菌与 ANME-1 具有亲缘关系, ANME-2 属于甲烷八叠球菌, ANME-3 与拟甲烷球菌进化关系较近^[23, 24]. Meyerdierks 等^[25]对海底甲烷泄漏区的底泥进行富

集培养, 获得了 ANME-1 的富集产物. 通过研究, 他们发现 ANME-1 可利用氨作为无机氮源生长, 并通过氧化甲烷成二氧化碳来获得能量. 与 ANME-1 不同的是, ANME-2 能够利用硝酸盐为电子受体氧化甲烷. Haroon^[9]的研究中指出, 硝酸盐还原型甲烷氧化菌是 ANME-2 型的甲烷厌氧氧化古菌, 这类古菌隶属于甲烷八叠球菌, 它们利用硝酸盐作为电子受体氧化甲烷. ANME-2 型甲烷氧化菌的甲烷氧化速率和硝酸盐还原速率分别能够达到 1.47 mmol·d⁻¹和 1.1 mmol·d⁻¹. M1 和 M2 体系中均含有甲烷微菌和甲烷八叠球菌的相似菌, 甲烷氧化速率分别达到 1.47 mg·(L·d)⁻¹和 2.77 mg·(L·d)⁻¹. 接种物的来源, 反应器的规模以及硝酸盐浓度等因素均会影响到甲烷的转化率.

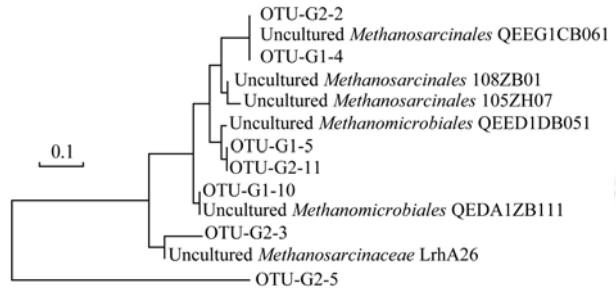


图 4 M1、M2 体系的优势古菌微生物系统进化树
Fig. 4 Phylogenetic tree of the dominant archaea in M1 and M2

表 4 M1、M2 体系中优势古菌的相似菌
Table 4 Similar archaea of the dominant archaea in M1 and M2

体系名称	OTU	相似度/%	相似菌	登录号	克隆文库中比例/%
M1	OTU-G1-4	98	Uncultured <i>Methanosarcinales</i> 108ZB01	KF198725.1	36.00
	OTU-G1-5	98	Uncultured <i>Methanomicrobiales</i> QEED1DB051	CU917177.1	10.00
	OTU-G1-10	96	Uncultured <i>Methanomicrobiales</i> QEDA1ZB111	KF198664.1	2.00
	OTU-G2-2	99	Uncultured <i>Methanosarcinales</i> QEEG1CB061	CU916656.1	10.42
	OTU-G2-3	99	Uncultured <i>Methanosarcinaceae</i> LrhA26	AJ879013.1	20.83
M2	OTU-G2-5	99	Uncultured <i>Methanosarcinales</i> 105ZH07	KF198715.1	6.25
	OTU-G2-11	96	Uncultured <i>Methanomicrobiales</i> QEED1DB051	CU917177.1	4.17

M1 和 M2 体系的细菌群落结构(图 5 和表 5)中, OTU-X1-2、OTU-X2-2 与假单胞菌 *Pseudomonas stutzeri* N2 相似度较高. *Pseudomonas stutzeri* 能够在厌氧条件下利用硝酸盐为电子受体生长, 通过硝酸盐还原作用将硝酸盐逐级转化为氮气, 每毫克微生物的氮转化速率达到 85.6 nmol·min⁻¹^[26]. OTU-X1-3 的相似菌是梭状芽胞杆菌 *Uncultured Clostridia*. 厌氧条件下, 梭状芽胞杆菌能够在 8h 内将 2 mmol·L⁻¹的硝酸盐完全转化. Caskey 在研究土壤中硝酸盐的转化过程时, 发现 *Clostridia* 能够将硝酸盐转化为氨, 并且溶液中 NH₄⁺ 的积累不会抑制硝酸盐的转化过程^[27]. OTU-X2-28 与热单胞菌

Thermomonas 具有较高的相似度. 热单胞菌 *Thermomonas* 具有硝酸盐还原功能, 能够将硝酸盐还原为氮气. Qiu 等^[28]的研究中发现, 在进水硝酸盐浓度为 85 mg·L⁻¹时, 有 92% 的硝酸盐能够被热单胞菌属 *Thermomonas* 降解. 同时, M1 和 M2 中还检出绿弯菌门细菌(OTUs-X1-4、19)和(OTUs-X2-22、23), 互营菌门细菌(OTUs-X1-16、18、21)和(OTUs-X2-21、26、27)(表 5). 在厌氧产甲烷过程中, M1 体系中的绿弯菌门细菌(3.53%)、互营菌门细菌(3.54%)及 M2 体系中的绿弯菌门细菌(2.30%)、互营菌门细菌(3.45%)与产甲烷菌相互依存(表 5). 绿弯菌门细菌将多糖、蛋白质等大

分子有机物分解为乙酸等低分子有机酸^[29], 这些产物能够被产甲烷菌和互营菌门细菌利用进行产甲烷作用^[30]. 同一个反应体系中, 甲烷氧化菌古菌、产甲烷细菌同时存在, 因而出现甲烷氧化过程中的甲烷浓度波动变化现象.

2.3.2 M1 与 M2 微生物群落结构比较

体系 M1 的细菌和古菌的香农指数分别为 2.8 和 1.6; M2 体系中细菌和古菌的香农指数分别为 2.8 和 2.0. 香农指数是表征生物群落多样性程度的一种指标. M1 与 M2 中的细菌多样性类似, 但是 M2 体系古菌多样性略高于 M1 体系.

其他反应条件相同时, 硝酸盐加入量的不同, 微生物群落结构有差异(表 6). M1 体系中硝酸盐还原菌数量比为 7.06%, 甲烷氧化菌所占的比例为 48%; M2 体系中硝酸盐还原菌的数量比为 11.49%, 甲烷氧化菌所占的比例为 41.67%. 与 M1 相比, M2 体系的硝酸盐还原菌数量较多, 甲

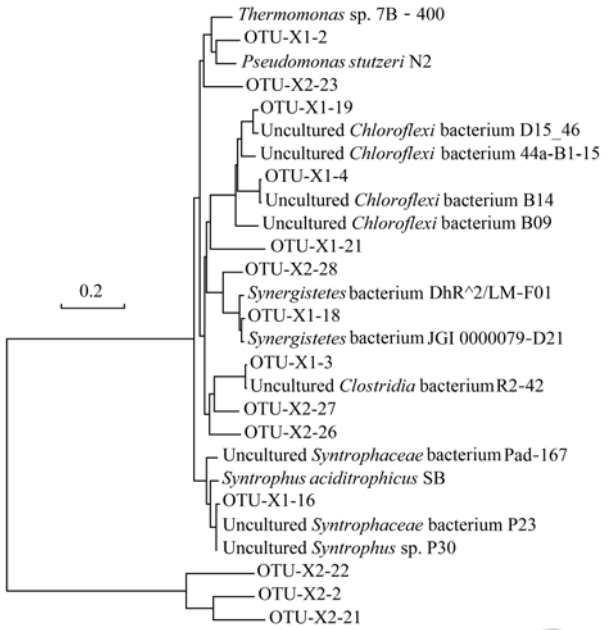


图 5 M1、M2 体系的优势细菌微生物系统进化树
Fig. 5 Phylogenetic tree of the dominant bacteria in M1 and M2

表 5 M1、M2 体系中优势细菌的相似菌
Table 5 Bacteria similar to the dominant bacteria in M1 and M2

体系名称	OTU	相似度/%	相似菌	登录号	克隆文库中比例/%
M1	OTU-X1-2	99	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain N2	KF863235.1	4.71
	OTU-X1-3	99	Uncultured <i>Clostridia</i> bacterium R2-42	KP717478.1	2.35
	OTU-X1-4	99	Uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium B14	AB780901.1	2.35
	OTU-X1-19	97	Uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium D15_46	EU266882.1	1.18
	OTU-X1-16	98	Uncultured <i>Syntrophaceae</i> bacterium P23	HE648195.1	1.18
	OTU-X1-18	98	<i>Synergistetes</i> bacterium JGI 0000079-D21	KJ535405.1	1.18
	OTU-X1-21	98	Uncultured <i>Syntrophus</i> sp. P30	HE648201.1	1.18
M2	OTU-X2-2	99	<i>Pseudomonas stutzeri</i> strain N2	KF863235.1	10.34
	OTU-X2-22	99	Uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium 44a-B1-15	AY082460.1	1.15
	OTU-X2-23	99	Uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium B09	AB780896.1	1.15
	OTU-X2-21	99	<i>Synergistetes</i> bacterium DhR ² /LM-F01	HQ012836.1	1.15
	OTU-X2-26	93	<i>Syntrophus aciditrophicus</i> SB	NR_102776.1	1.15
	OTU-X2-27	95	Uncultured <i>Syntrophaceae</i> bacterium Pad-167	JX505414.1	1.15
	OTU-X2-28	98	<i>Thermomonas</i> sp. 7B-400	KF441678.1	1.15

烷氧化菌的数量较少. 硝酸盐还原菌和甲烷氧化菌的种类在 M1 体系中的占比分别为 5.88% 和 25%; 在 M2 体系中的占比分别为 7.14% 和 25%. 与 M1 相比, M2 体系中硝酸盐还原菌的占比较高, 甲烷氧化菌的占比相同. 由于硝酸盐

还原型甲烷氧化菌是属于 ANME-2 型的甲烷八叠球菌, 硝酸盐浓度高的体系硝酸盐还原细菌的数量多, 甲烷八叠球菌的种类较多, 有利于硝酸盐还原与甲烷氧化. 因此, M2 体系中甲烷的转化较多.

表 6 硝酸盐还原菌、甲烷氧化古菌的数量及种类¹⁾
Table 6 Quantities and species of denitrifying bacteria and methane oxidizing archaea

体系	克隆子数		OTU		R/%		r/%	
	NR	ANME	NR	ANME	NR	ANME	NR	ANME
M1	6	24	2	3	7.06	48	5.88	25
M2	10	20	2	4	11.49	41.67	7.14	25

1) R(数量比) = (克隆子数/总克隆子数) × 100%; r(种类比) = (OTU 数/总 OTU 数) × 100%; NR:硝酸盐还原菌; ANME:甲烷氧化古菌

3 结论

比较了实验室废水处理装置污泥、污水处理厂厌氧污泥和填埋场填埋区覆土作为接种来源驯化培养硝酸盐还原型甲烷厌氧氧化菌群的甲烷氧化效果。经过驯化, 接种污水处理厂厌氧污泥的驯化体系甲烷减少量最多, 甲烷消耗速率是 $1 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$ 。污水处理厂厌氧污泥适合作为驯化富集甲烷氧化-硝酸盐还原菌群的接种物。硝酸盐的量影响甲烷的氧化效果, 并改变微生物菌群结构。

参考文献:

- [1] 席婧茹, 刘素琴, 李琳, 等. 硫酸盐还原型甲烷厌氧氧化菌群驯化及其群落特征[J]. 环境科学, 2014, **35**(12): 4602-4609.
Xi J R, Liu S Q, Li L, *et al.* Acclimatization and characteristics of microbial community in sulphate-dependent anaerobic methane oxidation[J]. Environmental Science, 2014, **35**(12): 4602-4609.
- [2] 张梦竹, 李琳, 刘俊新. 硝酸盐和硫酸盐厌氧氧化甲烷途径及氧化菌群[J]. 微生物学通报, 2012, **39**(5): 702-710.
Zhang M Z, Li L, Liu J X. The parth way and methanotroph of anaerobic methane oxidation driven by nitrate or sulfate[J]. Microbiology China, 2012, **39**(5): 702-710.
- [3] 魏素珍. 甲烷氧化菌及其在环境治理中的应用[J]. 应用生态学报, 2012, **23**(8): 2309-2318.
Wei S Z. Methanotrophs and their applications in environment treatment: A review[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, **23**(8): 2309-2318.
- [4] Martens C S, Berner R A. Methane production in the interstitial waters of sulfate-depleted marine sediments[J]. Science, 1974, **185**(4157): 1167-1169.
- [5] Wang Y, Zhu G B, Harhangi H R, *et al.* Co-occurrence and distribution of nitrite-dependent anaerobic ammonium and methane-oxidizing bacteria in a paddy soil[J]. FEMS Microbiology Letters, 2012, **336**(2): 79-88.
- [6] Hu B L, Shen L D, Lian X, *et al.* Evidence for nitrite-dependent anaerobic methane oxidation as a previously overlooked microbial methane sink in wetlands[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, **111**(12): 4495-4500.
- [7] Raghoebarsing A A, Pol A, Van De Pas-Schoonen K T, *et al.* A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification[J]. Nature, 2006, **440**(7086): 918-921.
- [8] 沈李东. 亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化微生物特性研究进展[J]. 环境科学, 2015, **36**(3): 1133-1140.
Shen L D. Research progress on microbial properties of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidising bacteria[J]. Environmental Science, 2015, **36**(3): 1133-1140.
- [9] Haroon M F, Hu S H, Shi Y, *et al.* Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage[J]. Nature, 2013, **500**(7464): 567-570.
- [10] 赵庆良, 马慧雅, 任玉芬, 等. 利用 $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ 和 $\delta^{18}\text{O}\text{-NO}_3^-$ 示踪北京城区河流硝酸盐来源[J]. 环境科学, 2016, **37**(5): 1692-1698.
Zhao Q L, Ma H Y, Ren Y F, *et al.* $\delta^{15}\text{N}\text{-NO}_3^-$ and $\delta^{18}\text{O}\text{-NO}_3^-$ tracing of nitrate sources in Beijing urban rivers[J]. Environmental Science, 2016, **37**(5): 1692-1698.
- [11] 廖磊, 何江涛, 曾颖, 等. 柳江盆地浅层地下水硝酸盐背景值研究[J]. 中国地质, 2016, **43**(2): 671-682.
Liao L, He J T, Zeng Y, *et al.* A study of nitrate background level of shallow groundwater in the Liujiang Basin[J]. Geology in China, 2016, **43**(2): 671-682.
- [12] Raghoebarsing A A, Smolders A J P, Schmid M C, *et al.* Methanotrophic symbionts provide carbon for photosynthesis in peat bogs[J]. Nature, 2005, **436**(7054): 1153-1156.
- [13] Hinrichs K U, Hayes J M, Sylva S P, *et al.* Methane-consuming archaeobacteria in marine sediments[J]. Nature, 1999, **398**(6730): 802-805.
- [14] Han Y P, Li L, Liu J X, *et al.* Microbial structure and chemical components of aerosols caused by rotating brushes in a wastewater treatment plant[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2012, **19**(9): 4097-4108.
- [15] 孔晓, 崔丙健, 金德才, 等. 农村污水膜生物反应器系统中微生物群落解析[J]. 环境科学, 2015, **36**(9): 3329-3338.
Kong X, Cui B J, Jin D C, *et al.* Analysis of microbial community in the membrane bio-reactor (MBR) rural sewage treatment system[J]. Environmental Science, 2015, **36**(9): 3329-3338.
- [16] 李煜珊, 李耀明, 欧阳志云. 产甲烷微生物研究概况[J]. 环境科学, 2014, **35**(5): 2025-2030.
Li Y S, Li Y M, Ouyang Z Y. A research overview of methanogens[J]. Environmental Science, 2014, **35**(5): 2025-2030.
- [17] Stams A J M, Oude Elferink S J W H, Westermann P. Metabolic interactions between methanogenic consortia and anaerobic respiring bacteria[A]. In: Ahring B K, Angelidaki I, de Macario E C, *et al* (eds.). Biomethanation I[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2003. 31-56.
- [18] Glass J B, Orphan V J. Trace metal requirements for microbial enzymes involved in the production and consumption of methane and nitrous oxide[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, **3**: 61.
- [19] He Z F, Geng S, Pan Y W, *et al.* Improvement of the trace metal composition of medium for nitrite-dependent anaerobic methane oxidation bacteria; Iron(II) and copper(II) make a difference[J]. Water Research, 2015, **85**: 235-243.
- [20] Ettwig K F, Butler M K, Le Paslier D, *et al.* Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria[J]. Nature, 2010, **464**(7288): 543-548.
- [21] Boetius A, Ravensschlag K, Schubert C J, *et al.* A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane[J]. Nature, 2000, **407**(6804): 623-626.
- [22] Knittel K, Lösekann T, Boetius A, *et al.* Diversity and distribution of methanotrophic archaea at cold seeps[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2005, **71**(1): 467-479.
- [23] 蔡朝阳, 何鹏飞, 胡宝兰. 甲烷氧化菌分类及代谢途径研究进展[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2016, **42**(3): 273-281.
Cai C Y, He Z F, Hu B L. Progresses in the classification and mechanism of methane-oxidizing bacteria[J]. Journal of Zhejiang

- University (Agriculture & Life Sciences), 2016, **42**(3): 273-281.
- [24] Niemann H, Lösekann T, De Beer D, *et al.* Novel microbial communities of the Haakon Mosby mud volcano and their role as a methane sink[J]. *Nature*, 2006, **443**(7113): 854-858.
- [25] Meyerdierks A, Kube M, Kostadinov I, *et al.* Metagenome and mRNA expression analyses of anaerobic methanotrophic archaea of the ANME-1 group[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, **12**(2): 422-439.
- [26] Carlson C A, Ingraham J L. Comparison of denitrification by *pseudomonas stutzeri*, *pseudomonas aeruginosa*, and *paracoccus denitrificans* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1983, **45**(4): 1247-1253.
- [27] Caskey W H, Tiedje J M. Evidence for clostridia as agents of dissimilatory reduction of nitrate to ammonium in soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1979, **43**(5): 931-936.
- [28] Qiu T L, Xu Y, Gao M, *et al.* Bacterial community dynamics in a biodenitrification reactor packed with polylactic acid/poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) blend as the carbon source and biofilm carrier [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2017, **123**(5): 606-612.
- [29] Liang B, Wang L Y, Mbadinga S M, *et al.* *Anaerolineaceae* and *Methanoseta* turned to be the dominant microorganisms in alkanes-dependent methanogenic culture after long-term of incubation[J]. *Amb Express*, 2015, **5**: 37.
- [30] 张小元, 李香真, 李家宝. 微生物互营产甲烷研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2016, **22**(1): 156-166.
- Zhang X Y, Li X Z, Li J B. Microbial syntrophic methanogenesis: a review[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2016, **22**(1): 156-166.



CONTENTS

Characterization and Variation of Organic Carbon (OC) and Elemental Carbon (EC) in PM _{2.5} During the Winter in the Yangtze River Delta Region, China	KANG Hui, ZHU Bin, WANG Hong-lei, <i>et al.</i> (961)
Important Effect of Secondary Inorganic Salt Extinction on Visibility Impairment in the Northern Suburb of Nanjing	YU Chao, YU Xing-na, ZHAO Tian-liang, <i>et al.</i> (972)
Day-Night Differences and Source Apportionment of Inorganic Components of PM _{2.5} During Summer-Winter in Changzhou City	LIU Jia-shu, GU Yuan, MA Shuai-shuai, <i>et al.</i> (980)
Characteristics of Elements in PM _{2.5} and PM ₁₀ in Road Dust Fall During Spring in Tianjin	WANG Shi-bao, JI Ya-qin, LI Shu-li, <i>et al.</i> (990)
Particle Size Distribution and Human Health Risk Assessment of Heavy Metals in Atmospheric Particles from Beijing and Xinxiang During Summer	ZHANG Xin, ZHAO Xiao-man, MENG Xue-jie, <i>et al.</i> (997)
Ecological and Health Risks of Trace Heavy Metals in Atmospheric PM _{2.5} Collected in Wuxiang Town, Shanxi Province	GUO Zhao-xia, GENG Hong, ZHANG Jin-hong, <i>et al.</i> (1004)
Characteristics of Particulate and Inorganic Elements of Motor Vehicles Based on a Tunnel Environment	LI Feng-hua, ZHANG Yan-jie, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (1014)
A 2013-based Atmospheric Ammonia Emission Inventory and Its Characteristic of Spatial Distribution in Henan Province	WANG Chen, YIN Sha-sha, YU Shi-jie, <i>et al.</i> (1023)
Emission Characteristics of Wind Erosion Dust from Topsoil of Urban Roadside-Tree Pool	LI Bei-bei, QIN Jian-ping, QI Li-rong, <i>et al.</i> (1031)
Particulate Component Emission Characteristic from a Diesel Bus with DOC and CDPF	LOU Di-ming, GENG Xiao-yu, SONG Bo, <i>et al.</i> (1040)
Water Quality in the Henan Intake Area of the South-to-North Water Diversion Project	HUANG Piao-yi, XU Bin, GUO Dong-liang (1046)
Spatio-Temporal Patterns and Environmental Risk of Endocrine Disrupting Chemicals in the Liuxi River	FAN Jing-jing, WANG Sai, TANG Jin-peng, <i>et al.</i> (1053)
Fate and Origin of Major Ions in River Water in the Lhasa River Basin, Tibet	ZHANG Qing-hua, SUN Ping-an, HE Shi-yi, <i>et al.</i> (1065)
Identification of Nitrate Sources and the Fate of Nitrate in Downstream Areas: A Case Study in the Taizi River Basin	LI Yan-li, YANG Zi-rui, YIN Xi-jie, <i>et al.</i> (1076)
Sources, Distribution of Main Controlling Factors, and Potential Ecological Risk Assessment for Heavy Metals in the Surface Sediment of Hainan Island North Bay, South China	ZENG Wei-te, YANG Yong-peng, ZHANG Dong-qiang, <i>et al.</i> (1085)
Characteristics of Heavy Metals Pollution of Farmland and the Leaching Effect of Rainfall in Tianjin	XU Meng-meng, LIU Ai-feng, SHI Rong-guang, <i>et al.</i> (1095)
Seasonal Difference in Water Quality Between Lake and Inflow/Outflow Rivers of Lake Taihu, China	ZHA Hui-ming, ZHU Meng-yuan, ZHU Guang-wei, <i>et al.</i> (1102)
Characteristics of Nitrogen Release at the Sediment-Water Interface in the Typical Tributaries of the Three Gorges Reservoir During the Sensitive Period in Spring	LI Xin, SONG Lin-xu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (1113)
Spatial Distributions of Transferable Nitrogen Forms and Influencing Factors in Sediments from Inflow Rivers in Different Lake Basins	ZHOU Rui, YUAN Xu-yin, Marip Ja Bawk, <i>et al.</i> (1122)
Effects of Hydrological and Meteorological Conditions on Diatom Proliferation in Reservoirs	SUN Xiang, ZHU Guang-wei, DA Wen-yi, <i>et al.</i> (1129)
Vertical Distribution of Fungal Community Composition and Water Quality During the Deep Reservoir Thermal Stratification	SHANG Pan-lu, CHEN Sheng-nan, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (1141)
Community Structure and Influencing Factors of Bacterioplankton in Spring in Zhushan Bay, Lake Taihu	XUE Yin-gang, LIU Fei, SUN Meng, <i>et al.</i> (1151)
Characteristics of Sediment Oxygen Demand in a Drinking Water Reservoir	SU Lu, HUANG Ting-lin, LI Nan, <i>et al.</i> (1159)
Effects of Wastewater Nitrogen Concentrations and NH ₄ ⁺ /NO ₃ ⁻ on Nitrogen Removal Ability and the Nitrogen Component of <i>Myriophyllum aquaticum</i> (Vell.) Verde	MA Yong-fei, YANG Xiao-zhen, ZHAO Xiao-hu, <i>et al.</i> (1167)
Effect of Nutrient Loadings on the Regulation of Water Nitrogen and Phosphorus by <i>Vallisneria natans</i> and Its Photosynthetic Fluorescence Characteristics	ZHOU Yi-wen, XU Xiao-guang, HAN Rui-ming, <i>et al.</i> (1180)
Removal of Organic Matter from Water by Chemical Preoxidation Coupled with Biogenic Manganese Oxidation	JIAN Zhi-yu, CHANG Yang-yang, WANG Li-xin, <i>et al.</i> (1188)
Treating Simulated Dye Wastewater by an <i>In Situ</i> Copper Ferrite Process	HAN Zhi-yong, HAN Kun, HAO Hao-tian, <i>et al.</i> (1195)
Experiment to Enhance Catalytic Activity of α -FeOOH in Heterogeneous UV-Fenton System by Addition of Oxalate	MIAO Xiao-zeng, DAI Hui-wang, CHEN Jian-xin, <i>et al.</i> (1202)
Fabrication of a Biomass-Based Hydrous Zirconium Oxide Nanocomposite for Advanced Phosphate Removal	QIU Hui, QIN Zhi-feng, LIU Feng-ling, <i>et al.</i> (1212)
Characteristic of Nitrate Adsorption in Aqueous Solution by Iron and Manganese Oxide/Biochar Composites	ZHENG Xiao-qing, WEI An-lei, ZHANG Yi-xuan, <i>et al.</i> (1220)
Preparation of PAAm/HACC Semi-Interpenetrate Network Hydrogel and Its Adsorption Properties for Humic Acid from Aqueous Solution	LIU Ze-jun, ZHOU Shao-qi, MA Fu-zhen (1233)
Groundwater Arsenic and Silicate Adsorption on TiO ₂ and the Regeneration of TiO ₂	MA Wen-jing, YAN Li, ZHANG Jian-feng (1241)
Removal Efficiency and Mechanism of Removal by Humic Acid of the Integrated Floc-ultrafiltration Process	LI Wen-jiang, YU Li-fang, MIAO Rui, <i>et al.</i> (1248)
Emission Inventory of Greenhouse Gas from Urban Wastewater Treatment Plants and Its Temporal and Spatial Distribution in China	YAN Xu, QIU De-zhi, GUO Dong-li, <i>et al.</i> (1256)
Start-up and Operation of Biofilter Coupled Nitrification and CANON for the Removal of Iron, Manganese and Ammonia Nitrogen	LI Dong, CAO Rui-hua, YANG Hang, <i>et al.</i> (1264)
Analysis of CANON Process Start-up with Fiber Carrier	GU Cheng-wei, CHEN Fang-min, LI Xiang, <i>et al.</i> (1272)
Characteristics of Biofilm During the Transition Process of Complete Nitrification and Partial Nitrification	ZHAO Qing, BIAN Wei, LI Jun, <i>et al.</i> (1278)
Effect of Intermediate-Setting Aeration on the CANON Granular Sludge Process in the AUSB Reactor	CHENG Shuo, LI Dong, ZHANG Jie, <i>et al.</i> (1286)
Effect of Organic Carbon Source on Start-up and Operation of the CANON Granular Sludge Process	LI Dong, WANG Yan-ju, LÜ Yu-feng, <i>et al.</i> (1294)
Start-Up and Regional Characteristics of a Pilot-scale Integrated PN-ANAMMOX Reactor	ZHOU Zheng, WANG Fan, LIN Xing, <i>et al.</i> (1301)
Effect of NO _x ⁻ -N Recycling Ratio on Denitrifying Phosphorus Removal Efficiency in the ABR-MBR Combined Process	LÜ Liang, YOU Wen, ZHANG Min, <i>et al.</i> (1309)
Effects of Magnetic Fe ₃ O ₄ Nanoparticles on the Characteristics of Anaerobic Granular Sludge and Its Interior Microbial Community	SU Cheng-yuan, ZHENG Peng, LU Yu-xiang, <i>et al.</i> (1316)
Characterization Composition of Soluble Microbial Products in an Aerobic Granular Sludge System	YANG Dan, LIU Dong-fang, DU Li-qiong, <i>et al.</i> (1325)
Influence of Ciprofloxacin on the Microbial Community and Antibiotics Resistance Genes in a Membrane Bioreactor	DAI Qi, LIU Rui, LIANG Yu-ting, <i>et al.</i> (1333)
Analysis of Low C/N Wastewater Treatment and Structure by the CEM-UF Combined Membrane-Nitrification/Denitrification System	XING Jin-liang, ZHANG Yan, CHEN Chang-ming, <i>et al.</i> (1342)
Effects of Phosphorus on the Activity and Bacterial Community in Mixotrophic Denitrification Sludge	WANG Pei-qi, ZHOU Wei-li, HE Sheng-bing, <i>et al.</i> (1350)
Acclimatization and Community Structure Analysis of the Microbial Consortium in Nitrate-Dependent Anaerobic Methane Oxidation	XUE Song, ZHANG Meng-zhu, LI Lin, <i>et al.</i> (1357)
Diffusion of Microorganism and Main Pathogenic Bacteria During Municipal Treated Wastewater Discharged into Sea	XU Ai-ling, NIU Cheng-jie, SONG Zhi-wen, <i>et al.</i> (1365)
Oxytetracycline Wastewater Treatment in Microbial Fuel Cells and the Analysis of Microbial Communities	YAN Wei-fu, XIAO Yong, WANG Shu-hua, <i>et al.</i> (1379)
Spatial and Temporal Variability of Soil C-to-N Ratio of Yugan County and Its Influencing Factors in the Past 30 Years	JIANG Ye-feng, ZHONG Shan, LI Jie, <i>et al.</i> (1386)
Spatial Heterogeneity of Soil Carbon and its Fractions in the Wolfberry Field of Zhongning County	WANG You-qi, ZHAO Yun-peng, BAI Yi-ru, <i>et al.</i> (1396)
Response of Soil Enzyme Activities and Their Relationships with Physicochemical Properties to Different Aged Coastal Reclamation Areas, Eastern China	XIE Xue-feng, PU Li-jie, WANG Qi-qi, <i>et al.</i> (1404)
Distribution, Sources, and Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Soils of the Central and Eastern Areas of the Qinghai-Tibetan Plateau	ZHOU Wen-wen, LI Jun, HU Jian, <i>et al.</i> (1413)
Source Apportionment of Heavy Metals in Farmland Soils Around Mining Area Based on UNMIX Model	LU Xin, HU Wen-you, HUANG Biao, <i>et al.</i> (1421)
Stabilization Effects of Fe-Mn Binary Oxide on Arsenic and Heavy Metal Co-contaminated Soils Under Different pH Conditions	FEI Yang, YAN Xiu-lan, LI Yong-hua (1430)
Concentration and Distribution of Novel Brominated Flame Retardants in Human Serum from Three Chinese Cities	WANG Qing-hua, YUAN Hao-dong, JIN Jun, <i>et al.</i> (1438)