

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第4期

Vol.39 No.4

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

京津冀地区钢铁行业污染物排放清单及对PM _{2.5} 影响	段文娇, 郎建全, 程水源, 贾佳, 王晓琦 (1445)
京津冀内陆平原区PM _{2.5} 浓度时空变化定量模拟	郝静, 孙成, 郭兴宇, 王卫, 刘方田, 党海燕 (1455)
成都市冬季相对湿度对颗粒物浓度和大气能见度的影响	刘凡, 谭钦文, 江霞, 蒋文举, 宋丹林 (1466)
华山地区PM _{2.5} 中无机离子垂直分布特征	曹聪, 王格慧, 吴灿, 李建军, 刘浪, 李瑾, 余兴 (1473)
烟花爆竹集中燃放的大气细颗粒物(PM _{2.5})成分图谱	谢瑞加, 侯红霞, 陈永山 (1484)
长三角地区中小燃煤锅炉PM _{2.5} 成分谱特征	徐健, 黄成, 李莉, 陈勇航, 楼晟荣, 乔利平, 王鸿宇 (1493)
民用燃煤排放分级颗粒物中重金属排放因子	严沁, 孔少飞, 刘海彪, 王伟, 吴剑, 郑明明, 郑淑睿, 杨国威, 吴方琪 (1502)
冬、春季青岛大气气溶胶中乙二酸的分布特征及影响因素	张帅, 石金辉, 姚小红, 高会旺 (1512)
青岛大气降水中微量元素的浓度及溶解度	李茜, 石金辉, 李鹏志, 姚小红, 高会旺 (1520)
辽东湾大气中多环芳烃的含量组成及气粒分配	张玉凤, 宋永刚, 田金, 赵海勃, 杨爽, 吴金浩 (1527)
典型地区大气新型卤代阻燃剂污染特征、来源分析及人体暴露	李琦路, 杨孔, 李军, 张干 (1537)
苏州工业园区室内外颗粒物中多溴联苯醚污染特征及人体暴露水平	王俊霞, 顾海东, 张占恩, 钱飞跃 (1544)
上海市大气污染对感冒疾病相对危险度的影响	杨丝絮, 马玉霞, 周建丁, 周骥 (1552)
城镇化河流溶解性有机质的荧光特性与水质相关性:以宁波市北仑区芦江为例	曹昌丽, 梁梦琦, 何桂英, 纵亚男, 唐剑锋 (1560)
艾比湖区域景观格局与河流水质关系探讨	曹灿, 张飞, 阿依尼格·亚力坤, 朱世丹, 郭苗, 阿丽米热·塔力甫江, Kung Hsiangte (1568)
三峡澎溪河水华期间水体CH ₄ 浓度及其通量变化特征初探	秦宇, 张渝阳, 李哲, 马健荣 (1578)
漓江段地表水体旱季硝酸盐动态变化特征及其来源	苗迎, 章程, 肖琼, 赵海娟, 李成习 (1589)
柳江流域饮用水源地重金属污染与健康风险评价	张清华, 韦永著, 曹建华, 于爽 (1598)
黄柏河流域梯级水库沉积物磷形态特征及磷释放通量分析	刘佳, 雷丹, 李琼, 王亮, 张平, 肖尚斌 (1608)
白洋淀典型持久性有机污染物污染特征与风险评估	高秋生, 焦立新, 杨柳, 田自强, 杨苏文, 安月霞, 贾海斌, 崔志丹 (1616)
典型有机氯农药在珠三角地区多介质环境中的归趋模拟	高梓闻, 徐月, 亦如瀚 (1628)
河道水旁路处理中试工艺中PPCPs的去除效果及机制	李力, 朱楦, 白瑶, 赵健, 曹之淇, 郭泓利, 李凌云, 左剑勇 (1637)
蔡普生在氯消毒过程中的去除、转化与风险评价	樊鑫鑫, 杜尔登, 李佳琦, 赵丽丽, 王聿琳, 彭明国 (1645)
真空紫外/氯处理饮用水典型致嗅物质	孙昕, 张焱, 史路肖, 陈笑涵, 唐晓 (1654)
热活化过硫酸盐降解三氯生	蒋梦迪, 张清越, 季跃飞, 陆鸢鹤 (1661)
水体模拟颗粒物对四环素的吸附特性及基本规律	徐龙凤, 魏群山, 吕强, 唐立朋, 刘亚男, 柳建设 (1668)
海水优化ANAMMOX包埋固定化及其处理含海水污水的脱氮性能	单晓静, 于德爽, 李津, 陈光辉, 冯莉, 吕廷廷, 邵青 (1677)
外源甜菜碱投加增强高盐废水厌氧氨氧化脱氮性能	于德爽, 吴国栋, 李津, 周同, 王晓静 (1688)
硝化污泥富集及其强化高氨氮冲击的中试研究	盛晓琳, 崔灿灿, 王家德, 刘锐, 徐峰, 陈吕军 (1697)
分段进水对改良A ² /O-BAF双污泥系统反硝化除磷脱氮的影响	南彦斌, 彭永臻, 曾立云, 赵智超, 刘宏, 李慧, 陈永志 (1704)
不同温度下应用比值控制实现连续流好氧颗粒污泥短程硝化	梁东博, 卞伟, 阚睿哲, 王文啸, 赵青, 孙艺齐, 李军 (1713)
智能化曝气控制A/O工艺活性污泥特性演化对内源反硝化脱氮的作用机制	徐旻昶, 胡湛波, 张穗生, 李昊航 (1720)
温度对一体式厌氧流化床膜生物反应器运行效能及微生物群落结构的影响	李玥, 胡奇, 高文大 (1731)
污泥臭原位置量工艺中抗生素的去除	汪鲁, 黄伟伟, 李彦刚, 强志民 (1739)
零价铁对污泥厌氧消化过程中四环素抗性基因水平转移的作用影响	杨帆, 徐雯丽, 钱雅洁, 刘振鸿, 薛罡, 高品 (1748)
环境因子对全自养脱氮颗粒污泥功能菌协同效应的影响	陈希, 钱飞跃, 王建芳, 高军军, 沈耀良, 贾珣 (1756)
后置固相反硝化滤池工艺沿程微生物特性	张千, 吉芳英, 徐璇 (1763)
复合菌株YH01+YH02强化SBR好氧反硝化脱氮及菌群结构分析	陈海升, 曹刚, 张迪, 黄郑郑, 莫测辉 (1773)
氮磷失衡下膨胀污泥性能及膨胀菌群落结构变化	贺雪濛, 丁丽丽, 张璐璐, 顾卓江, 任洪强 (1782)
1株铜绿假单胞菌对砷的降解特性及代谢途径	李想, 张雪英, 周俊, 宋军, 王建刚, 雍晓雨, 贾红华 (1794)
铜尾矿库坝面土壤微生物群落动态的驱动因子	李磊, 景炬辉, 刘晋仙, 柴宝峰 (1804)
垦殖对桂林会仙喀斯特湿地土壤养分与微生物活性的影响	黄科朝, 沈育伊, 徐广平, 黄玉清, 张德楠, 孙英杰, 李艳琼, 何文, 周龙武 (1813)
黄土丘陵区退耕还林还草对土壤细菌群落结构的影响	陈孟立, 曾全超, 黄懿梅, 倪银霞 (1824)
河岸带表层土壤的铁氨氧化(Feammox)脱氮机制的探究	丁帮琛, 李正魁, 朱鸿杰, 陈湜, 覃云斌, 杨建华, 胡优优 (1833)
藏猪扰动作用下的高寒草甸土壤退化特征及微生物群落结构变化	展鹏飞, 肖德荣, 闫鹏飞, 刘振亚, 马金成, 陈志明, 格茸, 田伟, 王行 (1840)
深圳湾典型红树植物根表铁膜及其重金属富集特征	沈小雪, 李瑞利, 柴民伟, 邱国玉 (1851)
香港周边海域野生鱼体内DDTs和PCBs的含量分布和食用风险评估	苏杨, 鲍恋君, 曾永平 (1861)
偏远高山湿地土壤中PAHs污染特征:以神农架大九湖为例	胡天鹏, 邢新丽, 柯艳萍, 毛瑶, 黎荧, 郑煌, 喻月, 张家泉, 祁士华 (1872)
西南地区典型森林水库土壤和沉积物汞的迁移转化特征	孙涛, 马明, 王永敏, 安思危, 王定勇 (1880)
广西西江流域土壤镉含量特征及风险评估	宋波, 杨子杰, 张云霞, 王佛鹏, 周浪, 李黎, 钟雪梅 (1888)
长期施肥对旱地红壤及作物中砷累积的影响	张蓉, 余光辉, 李亚青 (1901)
三元土壤调理剂对田间水稻镉累积转运的影响	辜娇峰, 周航, 贾润语, 王倩倩, 李虹呈, 张平, 彭佩钦, 廖柏寒 (1910)
稻田土壤性质与水稻镉含量的定量关系	王梦梦, 何梦媛, 苏德纯 (1918)
钙基膨润土辅助对堆肥及土壤Cu、Zn形态转化和白菜吸收的影响	赵军超, 王权, 任秀娜, 李荣华, Mukesh Kumar Awasthi, Altaf Hussain Lahori, 张增强 (1926)
外源碳和氮输入对降水变化下土壤呼吸的短期影响	贺云龙, 齐玉春, 彭琴, 董云社, 郭树芳, 闫钟清, 李兆林, 王丽芹 (1934)
模拟降水量减少对大豆-冬小麦轮作农田土壤呼吸的影响	王朝辉, 陈书涛, 孙鹭, 胡正华 (1943)
紫色土丘陵区农田源头沟渠一氧化氮排放的季节差异及影响因素	田琳琳, 任光前, 朱波 (1952)
季节非对称升温对喀斯特土壤CO ₂ 释放的影响	唐国勇, 张春华, 刘方炎, 李昆, 马艳 (1962)
《环境科学》征订启事 (1472) 《环境科学》征稿简则 (1511) 信息 (1755, 1839, 1925)	

后置固相反硝化滤池工艺沿程微生物特性

张千¹, 吉芳英², 徐璇²

(1. 重庆理工大学化学化工学院, 重庆 400054; 2. 重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045)

摘要:为解决现有低碳源污水处理工艺能耗高、工艺复杂和脱氮效果不佳等问题, 提出一种新型的混凝沉淀/后置固相反硝化滤池工艺。为了从微生物角度来解释该工艺的宏观脱氮效果, 采用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE) 技术研究了工艺中生物滤池沿程微生物群落结构的变化规律及脱氮功能菌的类型。结果表明, 硝化滤池内生物膜中微生物的多样性和丰度沿上向流方向呈逐渐上升的趋势, 且硝化细菌在顶端富集, 而固相反硝化滤池呈先上升后下降的趋势, 反硝化菌在中部富集。硝化滤池中的优势菌株为硝化细菌 *Nitrosomonas* sp. Nm47 和 *Candidatus Nitrospira defluvi*; 固相反硝化滤池中的优势菌株为反硝化菌 *Rubrivivax gelatinosus* 和固体碳源降解反硝化菌 *Myxobacteria*。

关键词:后置固相反硝化; 生物滤池; 固体碳源; PCR-DGGE; 微生物群落

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)04-1763-10 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201709049

Microbiological Characteristics of a Post Solid-Phase Denitrification Biofilter Process

ZHANG Qian¹, JI Fang-ying², XU Xuan²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China; 2. Key Laboratory of Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China)

Abstract: To solve the problems of high energy consumption, complex process, and low nitrogen removal efficiency of the currently available low carbon source wastewater treatment processes, a novel coagulation sedimentation/post solid-phase denitrification biofilter process was proposed. Domestic wastewater with low carbon to nitrogen ratio was treated. The changes in the microbial community structure along the biofilters were studied and the functional bacteria were identified using the polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE). The results showed that the microbial diversity and richness of the microorganisms increased from the bottom to the top along the nitrification filter, while in the denitrification filter, these parameters increased firstly and then decreased from the bottom to the top along the cylinder. A bigger population of nitrifying and denitrifying bacteria was observed at the top and the middle of the nitrification and denitrification biofilter, respectively. Moreover, *Nitrosomonas* sp. Nm47 and *Candidatus Nitrospira defluvi* were the predominant nitrifying bacteria in the nitrification biofilter, and *Myxobacteria* and *Rubrivivax gelatinosus* were the predominant denitrifying bacteria in the solid-phase denitrification biofilter.

Key words: post solid-phase denitrification; biological filter; solid carbon source; PCR-DGGE; microbial community

近年来, 城市生活污水呈现出低碳氮比的趋势, 给污水处理厂的正常运行和达标排放带来一系列的问题。如大量外碳源的投加和高的回流比造成去除单位污染物的能耗高、低有机负荷和低溶解氧条件下污泥的膨胀以及脱氮效率差等问题。为了提高低碳源污水的脱氮效率, 研究人员采取了各种措施, 包括改进传统工艺以充分利用现有碳源, 如取消初沉池、采用分段进水工艺、侧流污泥水解技术和前置反硝化等^[1~3], 或开发新理论^[4,5]和新工艺^[6~9]来降低生物反硝化对碳源的需求量, 如短程硝化反硝化和厌氧氨氧化理论、Sharon-ANAMMOX、Canon 和 Oland 工艺等。但是, 这些措施在解决了低碳源问题的同时又引入了新的问题。例如, 初沉池的取消虽然避免了进水中有机碳源的不有效损耗, 但是系统中泥砂的淤积对污泥的活性以

及系统的运行带来严重的影响; 分段进水工艺在结构设置和运行参数等方面的复杂性, 使得该工艺的运行和优化一直是一个难题; Sharon 和 Oland 工艺的运行条件如限制性溶解氧、高温、高氨氮浓度限制了工艺的发展和应用; 厌氧氨氧化菌的纯培养很困难, 并且由于此种菌的世代时间长, 对环境要求苛刻等很难达到工程应用的要求。鉴于此, 本研究提出了一种新型的混凝沉淀/后置固相反硝化滤池工艺用于低碳源污水的脱氮处理。该工艺的优点在于: 强化了一级生化处理, 既缓解了进水悬浮颗粒

收稿日期: 2017-09-06; 修订日期: 2017-10-16

基金项目: 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项项目 (cstc2015shmsztzx20003); 重庆理工大学科研启动项目 (2016ZD31)

作者简介: 张千 (1986 ~), 男, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为水污染控制理论及技术, E-mail: zhangqianswu2005@163.com

(SS)对后续生物滤池单元的堵塞的问题,同时也缓解了进水中有机物对硝化滤池中硝化作用的抑制;采用固体碳源代替传统的填料和液体碳源.和液体碳源相比,固体碳源的优势在于,其本身在水体中不溶解,只有在微生物酶的作用下才能被降解.因此,固体碳源不仅可以避免液体碳源在有氧条件下的无效消耗,连续稳定地为生物反硝化提供有机碳源,同时也可以避免液体碳源投加过量引起出水有机物超标的问题.并且,前期的研究表明固体碳源具有很高的机械强度和非常长的使用寿命(质量损失为 $0.05\% \cdot d^{-1}$),可使反硝化滤池保持长期稳定的反硝化效果.另外,固体碳源填料的来源广泛,使用可生物降解聚合物(如,聚己内酯,聚乳酸,热塑性淀粉等)作为生产原料的一次性用品,如塑料盘子、刀叉等使

用后作为废弃物回收,经过简单机械加工就可以直接用作固体碳源填料.

本课题组前期研究了工艺的启动情况及运行参数对工艺脱氮效果的影响.在此基础上,本研究采用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)技术,探讨了最佳工况条件下工艺中生物滤池沿程微生物群落结构的变化规律,并对相应的脱氮功能菌进行了鉴定,以期为工艺优化与反应机制的研究提供分子生态学依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

聚己内酯(PCL)和黏土陶粒分别由深圳光华伟业实业有限公司和江西萍乡三河陶瓷有限公司提供,两种填料的理化性质如表1所示.

表1 黏土陶粒和聚己内酯的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of clay ceramicsite and PCL

载体类型	产品型号	外形	密度 / $g \cdot mL^{-1}$	直径 /mm	高度 /mm	相对分子质量
黏土填料	PP-B 3.0	球形	1.67	4~6	—	—
聚己内酯	1400C	圆柱	1.08	3	4	140 000

试验用水取自重庆大学B区学生宿舍的生活污水,试验期间的水质为: ρ (化学需氧量)148~185 $mg \cdot L^{-1}$, ρ (氨氮)26.7~56.8 $mg \cdot L^{-1}$, ρ (总氮)28.6~70.2 $mg \cdot L^{-1}$, ρ (悬浮固体)140.0~152.5 $mg \cdot L^{-1}$.在试验过程中,为了保持进水水质的稳定,通过稀释或投加乙酸钠,氯化铵和磷酸氢二钾的方式来控制进水中化学需氧量、氨氮和磷酸盐的浓度.

硝化滤池和反硝化滤池的接种污泥分别取自重庆市永川污水处理厂A²/O工艺中好氧池和缺氧池,污泥浓度分别为4.2 $g \cdot L^{-1}$ 和5.6 $g \cdot L^{-1}$.

1.2 试验装置

后置固相反硝化滤池工艺主要由混凝沉淀池,硝化滤池和固相反硝化滤池组成,滤池主体采用有机玻璃制作,其结构如图1所示.其中混凝池和沉淀池的体积均为10 L,沉淀池出口处设1个取样口(C);曝气生物滤池的滤柱高度为175 cm,内径为8 cm,滤柱内填充的滤料为黏土陶粒,填充高度为87 cm,从承托层顶部到填料顶部共设4个取样口(B1、B2、B3和B4);固相反硝化滤池的滤柱高度为130 cm,内径为8 cm,滤柱内填充的滤料为聚己内酯,填充的高度为27 cm,从承托层顶部到填料

顶部共设3个取样口(D1、D2和D3).曝气生物滤池和固相反硝化滤池的有效体积(液体体积)分别为4.0 L和3.2 L.工艺进水量通过蠕动泵(BT-1002J)控制.曝气生物滤池由空压机供气,进气量通过气体流量计和阀门控制.温度控制仪严格控制进水水温和滤池内的温度.

1.3 反应器运行与取样方法

工艺在前期研究获得的最佳工况条件下连续运行,具体的运行参数为:混凝池快搅2 min,慢搅12 min,沉淀池静置15 min,硝化滤池进水碳氮比为3:1,气水比为4:1,温度维持在 $28^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$,硝化滤池和固相反硝化滤池的HRT分别为3.5和1.5 h.反冲洗周期为16 d左右,采用气、水联合反冲洗,反冲洗时间为15 min.最佳工况条件下,各取样点的出水水质见表2.在系统稳定运行时,从不同取样点取生长有生物膜的陶粒和固体碳源填料,利用超声波将填料上的生物膜剥离,去掉填料,离心后弃掉上清液,沉淀物即生物膜样品, $-20^{\circ}C$ 保存.另取具有完整生物膜的陶粒和固体碳源填料,经固定、脱水和临界点干燥处理后在环境扫描电镜(Quanta 200 FEG, Holland)下观察微生物的微观形态.

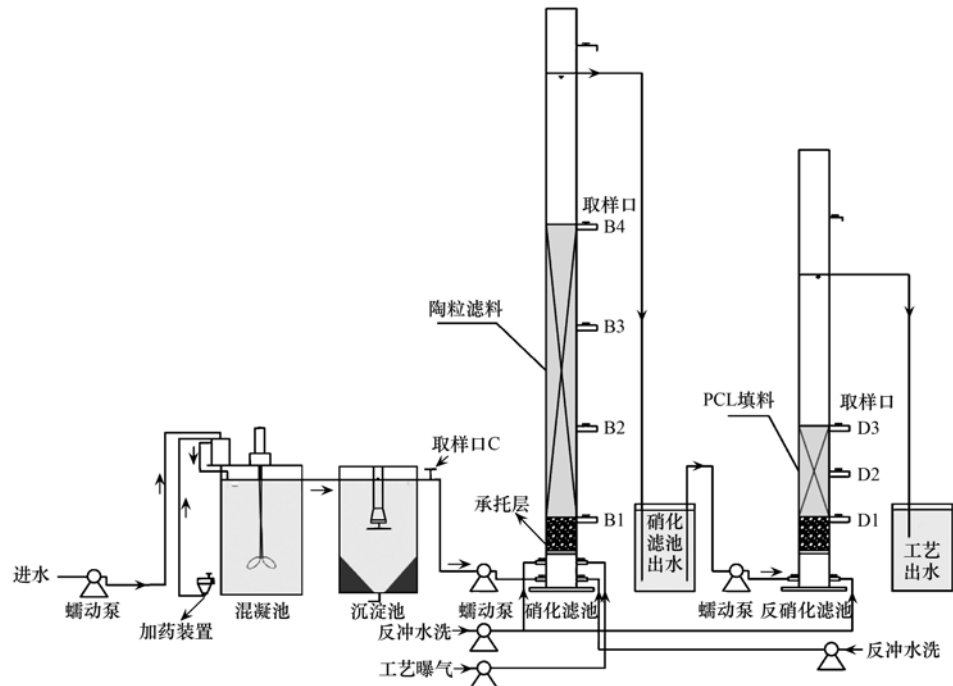


图 1 试验装置示意

Fig. 1 Schematic diagram of the experimental device

表 2 各取样点的出水水质

Table 2 Qualities of effluent collected from the different sampling points						
取样点	氨氮 /mg·L ⁻¹	硝态氮 /mg·L ⁻¹	总氮 /mg·L ⁻¹	COD /mg·L ⁻¹	DO /mg·L ⁻¹	SS /mg·L ⁻¹
C	30.5	0.5	33.5	90.4	6.92	32.6
B1	29.1	1.8	33.2	85.5	3.97	30.6
B2	25.0	4.6	32.8	36.0	3.96	15.8
B3	8.8	20.3	32.6	34.2	4.71	10.2
B4	0.2	29.6	32.2	20.8	6.36	9.8
D1	0.15	19.5	21.9	31.5	2.20	8.8
D2	0.30	3.7	4.8	87.4	0.55	7.4
D3	0.22	0.4	1.5	21.0	0.40	7.0

1.4 DNA 的提取和 PCR 扩增

采用 FastDNA™SPIN Kit For Soil 提取样品基因组 DNA. 以样品基因组 DNA 为模板,采用细菌通用引物 GC-338F 和 518R 扩增样品 16S rDNA 高变区序列. PCR 扩增体系(50 μL)为:10 × PCR buffer 5 μL; dNTP (2.5 mmol·L⁻¹) 3.2 μL; rTaq (5 U·μL⁻¹) 0.4 μL; GC-338F (20 mmol·L⁻¹) 1 μL; 518R (20 mmol·L⁻¹) 1 μL; 模板 DNA 50 ng; 补 ddH₂O 至 50 μL.

PCR 扩增程序为:94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 55℃ 复性 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环; 最终 72℃ 延伸 10 min. PCR 产物采用 OMEGA 公司 DNA Gel Extraction Kit 纯化回收.

PCR 仪为 Biometra 公司生产的 T-gradient, 凝胶成像仪为 Bio-Rad 公司的 Gel-Doc2000 凝胶成像

系统.

1.5 PCR 产物的变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析

取 10 μL PCR 的产物进行变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析. 采用变性梯度为 35% ~ 55%、浓度为 7% 的聚丙烯酰胺凝胶在 1 × TAE 缓冲液中 150V 60℃ 下电泳 5 h.

变性梯度凝胶电泳(DGGE)完毕后、采用银染法染色、步骤如下:固定液(乙醇 50 mL、冰醋酸 2.5 mL、定容 500 mL)固定 15 min; Milli-Q 纯水清洗、20 s 和 2 min 各一次; 银染液(硝酸银 1 g、37% 甲醛 0.75 mL、定容 500 mL)染色 15 min; Milli-Q 纯水清洗、20 s 和 2 min 各一次; 显色液(氢氧化钠 7.5 g、37% 甲醛 2.5 mL、定容 500 mL)显色 5 ~ 7 min; 最后用终止液(乙醇 50 mL、冰醋酸 2.5 mL、定容 500 mL)终止反应. 染色结束后在 Gel-Doc2000

(Bio-Rad, USA)凝胶成像系统上拍照。

1.6 DGGE 图谱中优势条带的回收与测序

用灭菌的手术刀切下待回收 DGGE 条带,采用 OMEGA 公司 Poly-Gel DNA Extraction Kit 回收目的条带。

以 2 μL 回收产物为模板, 338F/518R 为引物进行 PCR 扩增。PCR 扩增体系(50 μL)为: 10 $\times$ PCR buffer 5 μL ; dNTP(2.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 3.2 μL ; *rTaq*(5 $\text{U}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 0.4 μL ; 338F(20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 1 μL ; 518R(20 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 1 μL ; 模板 DNA 1 μL ; 补 ddH₂O 至 50 μL 。PCR 扩增程序为: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 复性 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 30 个循环; 最后, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

将重新扩增的 DNA 片段切胶回收、纯化后, 连接到 Pmd18-T 载体上, 并转化至 DH5 α 感受态细胞中, 筛选阳性克隆, 菌液采用测序仪(ABI 3730, 美国)对插入的细菌 16S rDNA 片段进行序列测定。

1.7 数据分析

细菌多样性指数是研究群落物种数和个体数以及均匀度的综合指标。根据电泳图谱中样品条带数目及每个条带的强度(灰度), 对各样品中细菌香农-威尔多样性指数(H)、均匀度指数(E)和丰度

(S)等指标进行分析。DGGE 图谱采用 Quantity one 软件对每个样品的电泳条带数目、条带密度进行数字化分析, 香农-威尔多样性指数(H)、均匀度指数(E)和丰度(S)等指标被用来比较不同样品的多样性情况。其算法如式(1)和(2):

$$H = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i = - \sum_{i=1}^S (N_i/N) \ln(N_i/N) \quad (1)$$

$$E = H/H_{\max} = H/\ln S \quad (2)$$

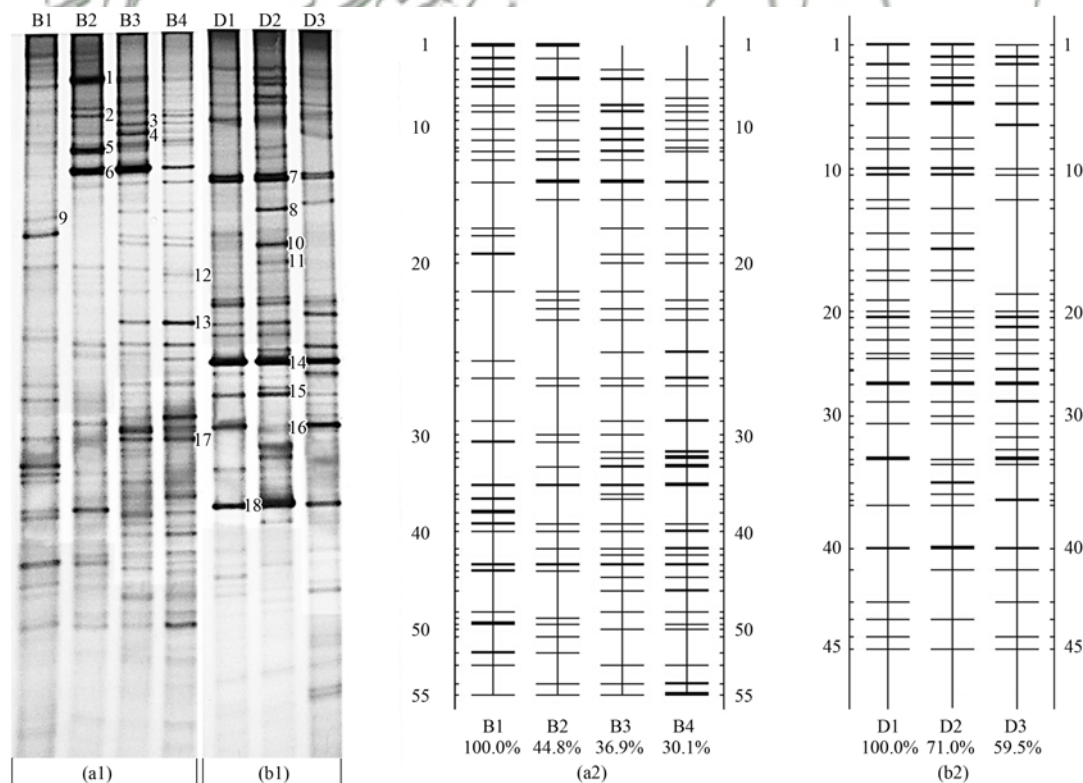
式中, p_i 为样品中单一条带的强度在该样品所有条带总强度中所占的比率, N 为 DGGE 图谱单一泳道上所有条带的丰度, N_i 为第 i 条带的丰度; S 是某样品中所有条带数目总和。

测序结果采用 DNASTAR 和 Cluster 软件进行序列分析, 下载最相似的菌株序列作为系统发育树的参考序列。然后采用 MEGA 软件, Neighbor-joining 法构建系统发育树, 自展数(bootstrap)为 1000。

2 结果与讨论

2.1 DGGE 图谱分析

生物滤池沿程生物膜样品 16S rDNA PCR 产物的变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析结果如图 2。电泳上不同位置的条带对应不同的细菌种类, 条带越



(a1) 和(a2)硝化滤池; (b1) 和(b2)反硝化滤池

图 2 生物滤池沿程生物膜样品 DGGE 条带

Fig. 2 DGGE-gel showing 16S rDNA community fingerprint of the biofilm samples along the biofilters

多,说明样品中细菌种类多样性越强;条带信号越亮,表示该条带对应的细菌数量越多,为当前条件下的优势菌群^[10,11].

从图 2(a1)和 2(a2)可以看出,在硝化滤池中,沿水流方向,从 B1~B2,取样口生物膜样品的条带数变化较小.但是,从 B2~B3,条带数明显增加(从 B2 时的 32 条增加到 B3 时的 39 条).相应地,代表多样性指数的香农-威尔指数也呈现出类似的规律(见表 3).混凝沉淀工艺虽然去除了低碳源污水中绝对多数的悬浮性有机物,但是仍然有一部分溶解性有机物未被去除.从表 2 也可以看出,B1 处出水中的 COD 浓度仍然保持在比较高的水平($85.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).由于较高的溶解氧和有机物的存在,B1~B2 段的微生物可能以好氧异养菌为主,而硝化菌等自养细菌的数量可能很低,因此这一段的硝化效果很差,进水中氨氮的去除率仅有 14.1%.从图 2(a1)和 2(a2)还可以看出,在这一阶段优势菌群对应的条带主要为条带 1、5 和 6.从 B2~B4,随着进水中的有机物被不断消耗(COD 去除率为 77%),条带 1、5 和 6 信号亮度逐渐变弱,而以条带 13 和 17 为代表的好氧自养菌的数量不断增加,条带信号强度逐渐变强.这一段的硝化效果非常明显,进水中的氨氮几乎被全部去除,B4 处出水中的氨氮浓度只有 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而硝态氮浓度为 $29.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.该现象与文献[12,13]研究曝气生物滤池沿程微生物特性时获得的结果一致.

表 3 硝化滤池沿程微生物群落多样性分析

Table 3 Diversity analysis of the bacterial community along the nitrification biofilter

样品编号	香农-威尔指数(H)	均匀度指数(E)	丰度(S)
B1	3.38	0.98	32
B2	3.27	0.94	32
B3	3.53	0.96	39
B4	3.51	0.97	38

从图 2(b1)和 2(b2)可以看出,在反硝化滤池中,沿水流方向,沿程生物膜样品的条带数呈先上升后下降的趋势(D1 为 32 条,D2 为 35 条,D3 为 29 条).相应地,代表多样性指数的香农-威尔指数也呈现先上升后下降的趋势(见表 4).硝化滤池出水中不仅含有较高浓度的硝态氮,同时也携带一定浓度的溶解氧.虽然 D1 处的固体碳源在生物降解作用下释放出的有机碳源可以消耗一部分溶解氧,但是残留的溶解氧仍然会对反硝化细菌起到一定的抑制作用.从表 2 可以看出,在进水硝态氮浓度为

$29.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,D1 出水的硝态氮浓度仍保持在 $19.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,硝态氮的去除率只有 33.8%.从 D1~D2 的区域,由于残留溶解氧的进一步消耗,在该区域形成了一个缺氧环境.缺氧环境有利于反硝化的进行,因此,D2 出水的硝态氮降低到 $3.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,硝态氮的去除率达到 81.0%.从图 2(b1)和 2(b2)还可以看出,条带 7、14、15 和 18 的信号亮度强,表示这些条带对应的细菌为优势菌群.并且,这些条带在 D2 处的信号亮度最强,表明在 D2 所处的缺氧环境下,细菌的数量达到最大.另外,在 D2 处还出现了 D1 和 D3 处未出现的条带,如条带 8、10 和 11.D3 处出水的硝态氮浓度只有 $0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.由于硝态氮的浓度非常低,无法为反硝化菌提供足够的氮源,造成优势菌群对应的条带 7、14、15 和 18 的信号亮度逐渐变弱.

表 4 反硝化滤池沿程微生物群落多样性分析

Table 4 Diversity analysis of the bacterial community along the denitrification biofilter

样品编号	香农-威尔指数(H)	均匀度指数(E)	丰度(S)
D1	3.28	0.95	32
D2	3.42	0.96	35
D3	3.22	0.95	29

2.2 微生物群落相似性分析

通过 Quantity One 4 软件对生物滤池沿程不同取样点生物膜样品的 DGGE 图谱进行分析,用戴斯系数(Dice coefficient)量化表征 DGGE 图谱中生物膜在沿程不同位置的相似程度(见表 5 和表 6),一般戴斯系数越大,则相似性越高.同时,利用该软件对 DGGE 指纹图谱进行 UPGMA 聚类分析,聚类分析结果见图 3 和图 4.

从图 3 可以看出,硝化滤池沿程生物膜样本中的微生物可以归为两大类.其中 B1 和 B2 划分为一类,B3 和 B4 划分为一类.类群间的相似性为 38%,表明硝化滤池内随着沿程位置的改变,生物膜的菌群组成发生了很大的变化.从 B1~B2,生物膜微生物的菌群组成发生很大的变化,戴斯系数为 44.8%,说明有机物和溶解氧浓度的降低对微生物种群结构产生了影响.从 B2~B3,菌落组成也发生了较大变化,戴斯系数为 52.1%.在这个过程中,由于进水中绝大部分的有机物被消耗,好氧异养菌逐渐被淘汰,而好氧自养菌逐渐成为优势菌群.从 B3~B4,由于底物(氨氮)浓度的不断降低,微生物菌落结构也发生了明显的改变,戴斯系数为 54.3%.

表 5 硝化滤池沿程微生物群落的 PCR-DGGE 相似性分析/%
Table 5 Similarity analysis of the bacterial community along the nitrification biofilter/%

	B1	B2	B3	B4
B1	100	44.8	36.9	30.1
B2	44.8	100	52.1	34.7
B3	36.9	52.1	100	54.3
B4	30.1	34.7	54.3	100

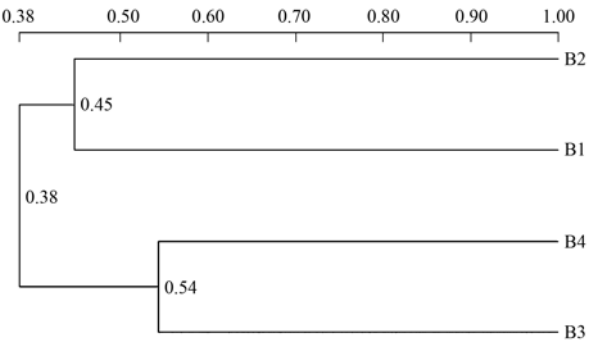


图 3 各生物膜样本 DGGE 图谱的 UPGMA 聚类分析
Fig. 3 UPGMA clusters analysis of the DGGE profiles

从图 4 可以看出,反硝化滤池沿程生物膜样本中的微生物可以归为两大类,其中 D1 和 D2 的样本划分为一类, D3 的样本划分为一类,类群间的相似性为 53%. 表明反硝化滤池内随着沿程位置的变化,生物膜的菌群组成发生了很大的变化. 从 D1 ~ D2,微生物的种群结构没有发生很大的改变,戴斯系数为 71%. 表明 D1 处固体碳源在生物降解作用下释放出的有机碳源消耗了大部分硝化滤池出水中携带的溶解氧,而残留的溶解氧对 D1 处的微生物的影响较小. 从 D2 ~ D3,微生物的菌群组成发生很大的变化,戴斯系数为 47.5%,表明底物(硝态氮)浓度对微生物的种群结构有很大的影响.

表 6 反硝化滤池沿程微生物群落的 PCR-DGGE 相似性分析/%
Table 6 Similarity analysis of the bacterial community along the denitrification biofilter/%

	D1	D2	D3
D1	100	71	59.5
D2	71	100	47.5
D3	59.5	47.5	100

2.3 特征条带回收测序和系统发育分析

18 条变化明显的优势条带经过切胶回收、扩增、再回收、纯化和克隆转化后进行序列的测定,并对测序结果进行 Blast 比较鉴定,寻找与序列相似性最高的已知分类地位的菌株,结果见表 7. 对上述条带采用 MEGA 软件, Neighbor-joining 法构建系统发育树,结果如图 5 所示.

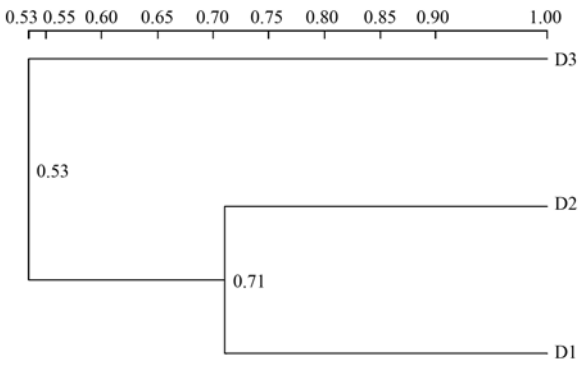


图 4 各生物膜样本 DGGE 图谱的 UPGMA 聚类分析
Fig. 4 UPGMA clusters analysis of the DGGE profiles

在硝化滤池中,条带 1 代表的菌群主要存在于 B1 和 B2 中,与条带 1 最接近的菌株为 *Labilithrix luteola*,该菌株是 Yamamoto 等^[14]从土壤样品中分离到的异养且严格好氧的革兰氏阴性可动性杆菌. 条带 5 对应的菌群也主要存在于 B1 和 B2 中. 与条带 5 最相近的菌株为 *Rubrivivax gelatinosus*,相似性为 99%. 该菌株为反硝化菌,可以将亚硝态氮还原为氮气^[15]. B1 和 B2 处由于有机物含量较高,且有充足的溶解氧,因此异养好氧微生物增殖速度快,在陶粒上形成较厚的生物膜. 生物膜内部,在氧传递受阻以及外部氧大量消耗的情况下,产生缺氧微区,为反硝化菌的生长提供了有利的条件. 条带 13 和 17 对应的菌群主要存在于 B3 和 B4 处,且 B4 处条带信号最强,推测其数量可能在 B4 处达到最大值. 条带 13 和 17 对应的菌株分别与 *Nitrosomonas* sp. Nm4 和 *Candidatus Nitrospira defluvii* 最相似. *Nitrosomonas* sp. Nm47 和 *Candidatus Nitrospira defluvii* 分别是废水生物处理系统中重要的氨氧化菌和亚硝酸盐氧化菌^[16,17].

在反硝化滤池中,条带 3 代表的菌群同时存在于 D1、D2 和 D3 处,但沿水流的方向,细菌的数量在不断降低. 与条带 3 最接近的菌株为 *Dechloromonas agitata*. Ginige 等^[18]的研究表明, *Dechloromonas* 是以甲醇作为碳源驯化的活性污泥中的主要反硝化菌. 条带 7 代表的菌群是反硝化滤池中的优势菌,与条带 7 最接近的菌株为 *Myxobacterium* AT3-03. Manucharova 等^[19]的研究发现, *Myxobacteria* 可以以固体碳源(草生灰化石)作为唯一碳源进行反硝化,并且该菌株在草生灰化石中是最活跃的反硝化菌,表现出最强的反硝化活性. 条带 8 和 11 对应的菌株为不可培养的菌株. 条带 10 对应的菌株与 *Thauera aminoaromatica* 的相似性为 100%. 先前的研究表明, *Thauera*

aminoaromatica 是以乙酸盐作为碳源驯化的活性污泥中的主要反硝化菌^[20]，而以固体碳源作为唯一碳源的系统中并没有发现 *Thauera aminoaromatica* 菌的存在^[21,22]。条带 13 代表的菌群存在于 D1 和 D2 处，但在 D3 处消失。与条带 13 最接近的菌株为 *Nitrosomonas* sp. Nm47。从前面的分析可知，该菌株为硝化菌，硝化菌的存在也进一步证实了前面所述的 D1 和 D2 处残留的溶解氧的存在。与条带 15 最接近的菌株为 *Comamonas granuli*，该菌株属于丛毛单胞菌科，具有将硝态氮还原成亚硝态氮的能力^[23]。Wu 等^[24]的研究结果也表明，以 PCL 作为固体碳源进行反硝化的微生物主要属于丛毛单胞菌科。条带 18 代表的菌群是反硝化滤池中另一优势菌。条带 18 对应的菌株为 *Rubrivivax gelatinosus*，*Rubrivivax gelatinosus* 可以将亚硝态氮还原为氮气，但是不能以硝态氮作为电子受体^[15]。综上所述，通过 DGGE 图谱(图 2)和系统发育树分析(图 5)，可以确定当后置

固相反硝化滤池工艺在最佳工况条件下运行时，在硝化滤池中，在 B1 和 B2 处陶粒上的生物膜主要以异养好氧菌为主，如 *Labilithrix luteola*，同时还有少量的反硝化细菌(*Rubrivivax gelatinosus*)和兼性厌氧菌(*Lactococcus* sp. R. M17)；B3 和 B4 处的微生物则以 *Candidatus Nitrospira defluvii* 和 *Nitrosomonas* sp. Nm47 等硝化菌为主，反硝化滤池的固体碳源表面生物膜的主要微生物组成包括 *Dechloromonas*、*Myxobacterium*、*Thauera*、*Nitrosomonas*、*Comamonas* 和 *Rubrivivax* 这 6 个属的菌株。以上菌属，除 *Nitrosomonas* 外都可以进行反硝化。其中 *Myxobacterium* 和 *Rubrivivas* 为优势菌，且 *Myxobacterium* 可以以固体碳源作为唯一碳源进行反硝化。Wu 等^[22]的研究表明，*Alicycliphilus* 和 *Diaphorobacter* 是以 PCL 作为填料的填充床中的主要反硝化菌。不同研究中采用的 PCL 的理化性质的差异以及进水水质的不同可能是导致微生物差异的主要原因。

表 7 DGGE 凝胶条带回收序列分析结果
Table 7 Results of DGGE-gel bands recovery sequence analysis

条带编号	相似菌	登录号	相似度/%	分类
Band1	<i>Labilithrix luteola</i>	NR_126182	98	Proteobacteria <i>Labilithrix</i>
Band2	uncultured bacterium	KC797661	99	Bacteria environmental samples
Band3	<i>Dechloromonas agitata</i>	KF800710	98	Proteobacteria <i>Dechloromonas</i>
Band4	<i>Lactococcus</i> sp. R. M17	HC937722	100	Firmicutes <i>Lactococcus</i>
Band5	<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	KF911343	99	Proteobacteria <i>Rubrivivax</i>
Band6	<i>Gracilibacteria bacterium oral taxon 872</i>	JX294353	98	Bacteria <i>Gracilibacteria</i>
Band7	<i>Myxobacterium</i> AT3-03	AB246770	96	Proteobacteria <i>Myxococcales</i>
Band8	uncultured bacterium	GQ247107	96	Bacteria environmental samples
Band9	uncultured candidate division TM6 bacterium	GU179759	100	Bacteria candidate division TM6
Band10	<i>Thauera aminoaromatica</i>	FJ609688	100	Proteobacteria <i>Thauera</i>
Band11	uncultured bacterium	FJ229147	96	Bacteria environmental samples
Band12	uncultured bacterium	JX040359	100	Bacteria environmental samples
Band13	<i>Nitrosomonas</i> sp. Nm47	AY123810	95	Proteobacteria <i>Nitrosomonas</i>
Band14	uncultured bacterium	FJ440540	100	Bacteria environmental samples
Band15	<i>Comamonas granuli</i>	NR_114013. 1	98	Proteobacteria <i>Comamonas</i>
Band16	uncultured Bacteroidetes bacterium	GQ354965	99	Bacteria <i>Bacteroidetes</i>
Band17	<i>Candidatus Nitrospira defluvii</i>	NR_074700. 1	99	Nitrospirae <i>Nitrospira</i>
Band18	<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	NR_074794. 1	99	Proteobacteria <i>Rubrivivax</i>

2.4 微生物形态观察

图 6 为生物滤池不同取样口填料表面的生物膜分布情况。从 6(a)可以看出，B1 和 B2 处的填料生物膜厚而致密，填料表面的微生物以球菌，杆菌和丝状菌为主，丝状菌缠绕在球菌和杆菌之间，使球菌和杆菌牢牢地固定在陶粒填料上。从 B2 ~ B4，沿水流方向，填料表面的生物膜明显减少，B4 处填料的生物量很少，微生物零星地分布在填料的表面，也以球菌和杆菌为主，可见少量的丝状菌。这与朱小彪等^[25]的研究结论一致。由于进水端有机底物

浓度较高，异养菌有充足的养料得以大量繁殖^[26]，生物量较高，而在出水口附近，水中有机污染物经过填料吸附和生物降解已经到达比较低的水平，微生物缺少营养物质，自身增殖缓慢，导致生物量迅速降低。Dniel 等^[27]也指出，靠近出水口的填料上的生物膜特别薄，但生物膜内外层生物活性较高，具有较高的底物去除能力。

从图 6(b)可以看出，D1 和 D2 处的填料表面生物膜较厚且分布连续。D1 填料表面的微生物以杆菌为主，同时也有少量的球菌，细菌的分泌物将

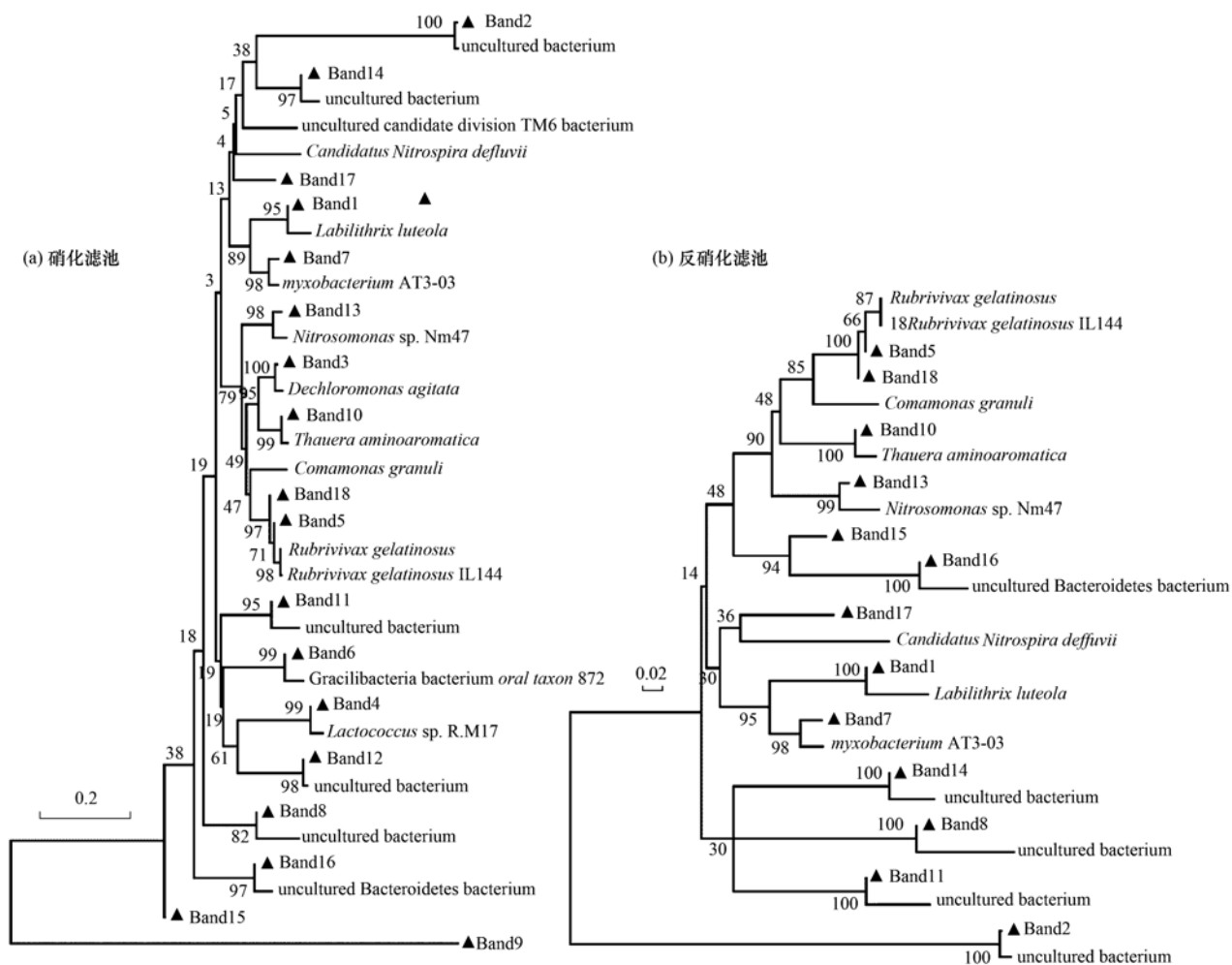
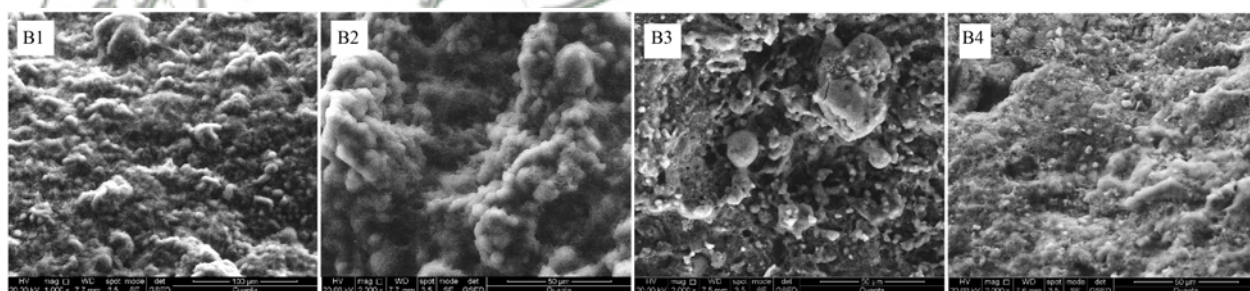
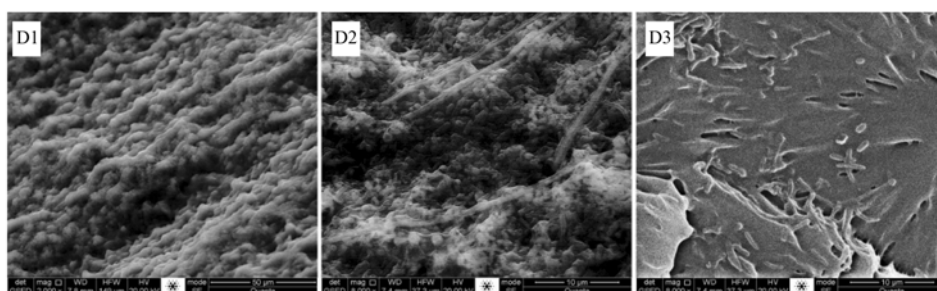


图5 基于16S rDNA序列的生物膜中主要菌落的系统发育树

Fig. 5 A phylogenetic tree showing the microbial community on biofilm based on 16S rDNA sequence



(a) 硝化滤池



(b) 反硝化滤池

图6 生物滤池填料表面生物膜的扫描电镜图

Fig. 6 SEM photos of the biofilm coating the surfaces of the carriers in the biofilters

它们交织在一起, 致密地覆盖在固体碳源填料的表面; D2 填料表面以杆菌, 球菌和丝状菌为主. 丝状菌作为骨架, 通过其分泌物将球菌和杆菌裹成网状生物膜, 致密地覆盖在固体碳源填料的表面. D3 填料生物膜以杆菌为主, 可见少量的球菌, 杆菌重叠在一起, 在填料表面形成不连续的且厚度很薄的生物膜. 生物量减少的原因可能和沿程硝态氮浓度逐渐降低有关, 反硝化细菌营养物质不足, 生长速率减慢^[28].

3 结论

(1) 硝化滤池中 COD 浓度从 B1 ~ B4 沿水流方向逐渐降低, 滤池近进水端 (B1 ~ B2 段) 对 COD 的去除量较大, 但对氨氮几乎没有去除, 其中微生物以异养菌为主. 污水流经 B3 ~ B4 段 (近出水端) 时, 氨氮浓度明显降低, 该段滤层中有机物浓度较低, 硝化菌为优势菌群, 数量较多. 反硝化滤池中微生物的多样性和丰度在滤池中部 (D2 处) 达到最大, 绝大部分的硝态氮在 D1 ~ D2 段被去除, 该段滤层中反硝化菌为优势菌.

(2) 对生物膜特征条带进行测序, 证实硝化滤池中 B1 ~ B2 段优势菌为异养菌 *Labilithrix luteola*, B3 ~ B4 段生物膜中最优势菌为氨氧化菌 *Candidatus Nitrospira defluvi* 和亚硝酸盐氧化菌 *Nitrosomonas* sp. Nm47. 反硝化滤池中 D1 ~ D2 段的优势菌为固体碳源降解反硝化菌 *Myxobacteria* 和反硝化菌 *Rubrivivas gelatinosus*.

参考文献:

- [1] Cao G H, Wang S Y, Peng Y Z, *et al.* Biological nutrient removal by applying modified four step-feed technology to treat weak wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2013, **128**: 604-611.
- [2] Kim T H, Nam Y K, Park C, *et al.* Carbon source recovery from waste activated sludge by alkaline hydrolysis and gamma-ray irradiation for biological denitrification [J]. *Bioresource Technology*, 2009, **100**(23): 5694-5699.
- [3] Kim S, Bae W, Kim M, *et al.* Evaluation of denitrification-nitrification biofilter systems in treating wastewater with low carbon; nitrogen ratios[J]. *Environmental Technology*, 2015, **36**(5-8): 1035-1043.
- [4] Wang S M, Sun X J. Progress of biological nitrogen removal via shortcut nitrification-denitrification [J]. *Advanced Materials Research*, 2014, **838-841**: 2685-2688.
- [5] Strous M, van Gerven E, Zheng P, *et al.* Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (Anammox) process in different reactor configurations [J]. *Water Research*, 1997, **31**(8): 1955-1962.
- [6] Ma Y, Peng Y Z, Wang S Y, *et al.* Achieving nitrogen removal via nitrite in a pilot-scale continuous pre-denitrification plant[J]. *Water Research*, 2009, **43**(3): 563-572.
- [7] Kim D, Kim T S, Ryu H D, *et al.* Treatment of low carbon-to-nitrogen wastewater using two-stage sequencing batch reactor with independent nitrification [J]. *Process Biochemistry*, 2008, **43**(4): 406-413.
- [8] Van Dongen U, Jetten M S M, Van Loosdrecht M C M. The SHARON-Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater[J]. *Water Science and Technology*, 2001, **44**(1): 153-160.
- [9] Feng Y, Yu Y Z, Duan Q N, *et al.* The characteristic research of ammonium removal in grain-slag biological aerated filter (BAF)[J]. *Desalination*, 2010, **263**(1-3): 146-150.
- [10] Konstantinov S R, Zhu W Y, Williams B A, *et al.* Effect of fermentable carbohydrates on piglet faecal bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **43**(2): 225-235.
- [11] Mohseni-Bandpi A, Elliot D J. Groundwater denitrification with alternative carbon sources[J]. *Water Science and Technology*, 1998, **38**(6): 237-243.
- [12] 王琳, 窦娜莎. Biostyr 曝气生物滤池处理城市污水的沿程生化特性[J]. *环境工程学报*, 2013, **7**(8): 2942-2946.
Wang L, Dou N S. Biochemical characteristic along biostyr biological aerated filter for municipal wastewater treatment [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2013, **7**(8): 2942-2946.
- [13] 付少彬. 曝气生物滤池脱氮性能及微生物分布特征研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2014.
Fu S B. Study on the nitrogen removal performance and microorganism distribution of biological aerated filter [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014.
- [14] Yamamoto E, Muramatsu H, Nagai K. *Vulgatibacter incompustus* gen. nov., sp. nov. and *Labilithrix luteola* gen. nov., sp. nov., two myxobacteria isolated from soil in Yakushima Island, and the description of *Vulgatibacteraceae* fam. nov., *Labilithricaceae* fam. Nov. and *Anaeromyxobacteraceae* fam. Nov. [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, **64**(10): 3360-3368.
- [15] Nagashima S, Kamimura A, Shimizu T, *et al.* Complete genome sequence of phototrophic betaproteobacterium *Rubrivivax gelatinosus* IL144[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, **194**(13): 3541-3542.
- [16] Okabe S, Satoh H, Watanabe Y. In situ analysis of nitrifying biofilms as determined by in situ hybridization and the use of microelectrodes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(7): 3182-3191.
- [17] Kostan J, Sjöblom B, Maixner F, *et al.* Structural and functional characterisation of the chlorite dismutase from the nitrite-oxidizing bacterium "Candidatus *Nitrospira defluvi*"; identification of a catalytically important amino acid residue [J]. *Journal of Structural Biology*, 2010, **172**(3): 331-342.
- [18] Ginige M P, Hugenholtz P, Daims H, *et al.* Use of stable-isotope probing, full-cycle rRNA analysis, and fluorescence in situ hybridization-microautoradiography to study a methanol-fed denitrifying microbial community [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**(1): 588-596.
- [19] Manucharova N A, Dobrovolskaia T G, Stepanov A L.

- Taxonomy of denitrifying bacteria in soddy podzolic soil [J]. *Mikrobiologiya*, 2000, **69**(2): 286-289.
- [20] Ginige M P, Keller J, Blackall L L. Investigation of an acetate-fed denitrifying microbial community by stable isotope probing, full-cycle rRNA analysis, and fluorescent in situ hybridization-microautoradiography [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(2): 8683-8691.
- [21] Wu W Z, Yang L H, Wang J L. Denitrification using PBS as carbon source and biofilm support in a packed-bed bioreactor [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, **20**(1): 333-339.
- [22] 徐影, 仇天雷, 韩梅琳, 等. PCR-DGGE 技术解析固体碳源表面生物膜的微生物群落结构[J]. *环境科学*, 2013, **34**(8): 3257-3263.
- Xu Y, Qiu T L, Han M L, *et al.* Analysis on microbial community in biofilm coating onto solid carbon source using the PCR-DGGE technique [J]. *Environmental Science*, 2013, **34**(8): 3257-3263.
- [23] Kim K H, Ten L N, Liu Q M, *et al.* *Comamonas granuli* sp. nov., isolated from granules used in a wastewater treatment plant [J]. *Journal of Microbiology*, 2008, **46**(4): 390-395.
- [24] Wu W Z, Yang L H, Wang J L. Denitrification performance and microbial diversity in a packed-bed bioreactor using PCL as carbon source and biofilm carrier[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(6): 2725-2733.
- [25] 朱小彪, 许春华, 高宝玉, 等. 曝气生物滤池生物量和生物活性的试验研究[J]. *环境科学学报*, 2007, **27**(7): 1135-1140.
- Zhu X B, Xu C H, Gao B Y, *et al.* Studies of biomass and microbial activity in a biological aerated filter[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, **27**(7): 1135-1140.
- [26] Chen J J, MaCarty D, Slack D, *et al.* Full scale case studies of a simplified aerated filter (BAF) for organics and nitrogen removal[J]. *Water Science and Technology*, 2000, **38**(1): 79-86.
- [27] Urfer D, Huck P M. Measurement of biomass activity in drinking water biofilters using a respirometric method [J]. *Water Research*, 2001, **35**(6): 1469-1477.
- [28] 吉芳英, 白婷婷, 张千, 等. 固体碳源反硝化滤池脱氮效果及沿程生化特性[J]. *环境工程学报*, 2017, **11**(3): 1347-1354.
- Ji F Y, Bai T T, Zhang Q, *et al.* Denitrification performance of solid-phase denitrification biofilter and biochemical characteristics along its height [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2017, **11**(3): 1347-1354.



CONTENTS

Air Pollutant Emission Inventory from Iron and Steel Industry in the Beijing-Tianjin-Hebei Region and Its Impact on PM _{2.5}	DUAN Wen-jiao, LANG Jian-lei, CHENG Shui-yuan, <i>et al.</i> (1445)
Simulation of the Spatio-temporally Resolved PM _{2.5} Aerosol Mass Concentration over the Inland Plain of the Beijing-Tianjin-Hebei Region	HAO Jing, SUN Cheng, GUO Xing-yu, <i>et al.</i> (1455)
Effect of Relative Humidity on Particulate Matter Concentration and Visibility During Winter in Chengdu	LIU Fan, TAN Qin-wen, JIANG Xia, <i>et al.</i> (1466)
Vertical Distributional Characteristics of Inorganic Ions of PM _{2.5} at Mt. Huashan, Inland China	CAO Cong, WANG Ge-hui, WU Can, <i>et al.</i> (1473)
Analysis of the Composition of Atmospheric Fine Particles (PM _{2.5}) Produced by Burning Fireworks	XIE Rui-jia, HOU Hong-xia, CHEN Yong-shan (1484)
Chemical Composition Characteristics of PM _{2.5} Emitted by Medium and Small Capacity Coal-fired Boilers in the Yangtze River Delta Region	XU Jian, HUANG Cheng, LI Li, <i>et al.</i> (1493)
Emission Factors of Heavy Metals in Size-resolved Particles Emitted from Residential Coal Combustion	YAN Qin, KONG Shao-fei, LIU Hai-biao, <i>et al.</i> (1502)
Distribution of Oxalate in Atmospheric Aerosols and the Related Influencing Factors in Qingdao, During Winter and Spring	ZHANG Shuai, SHI Jin-hui, YAO Xiao-hong, <i>et al.</i> (1512)
Concentrations and Solubility of Trace Elements in Atmospheric Precipitation in Qingdao	LI Qian, SHI Jin-hui, LI Peng-zhi, <i>et al.</i> (1520)
Occurrence and Gas-particle Partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Air of Liaodong Bay	ZHANG Yu-feng, SONG Yong-gang, TIAN Jin, <i>et al.</i> (1527)
Analysis of Sources, Pollution Characteristics, and Human Exposure to Atmospheric New Halogenated Flame Retardants in Selected Areas	LI Qi-lu, YANG Kong, LI Jun, <i>et al.</i> (1537)
Contamination Characterization and Human Exposure Levels to Polybrominated Diphenyl Ethers in Indoor and Outdoor Air in Industrial Park of Suzhou City	WANG Jun-xia, GU Hai-dong, ZHANG Zhan-en, <i>et al.</i> (1544)
Effect of Air Pollution on the Cold Disease in Shanghai	YANG Si-xu, MA Yu-xia, ZHOU Jian-ding, <i>et al.</i> (1552)
Fluorescent Dissolved Organic Matter and Its Correlation with Water Quality in a Urban River: A Case Study of the Lujiang River in Beilun, Ningbo	CAO Chang-li, LIANG Meng-qi, HE Gui-ying, <i>et al.</i> (1560)
Relationship Between Landscape Pattern and Water Quality in the Ebinur Lake Region	CAO Can, ZHANG Fei, Ayinigeer·Yalikun, <i>et al.</i> (1568)
CH ₄ Fluxes During the Algal Bloom in the Pengxi River	QIN Yu, ZHANG Yu-yang, LI Zhe, <i>et al.</i> (1578)
Dynamic Variations and Sources of Nitrate During Dry Season in the Lijiang River	MIAO Ying, ZHANG Cheng, XIAO Qiong, <i>et al.</i> (1589)
Heavy Metal Pollution of the Drinking Water Sources in the Lujiang River Basin, and Related Health Risk Assessments	ZHANG Qing-hua, WEI Yong-zhu, CAO Jian-hua, <i>et al.</i> (1598)
Characteristics of Phosphorus Fractions and Phosphate Diffusion Fluxes of Sediments in Cascade Reservoirs of the Huangbai River	LIU Jia, LEI Dan, LI Qiong, <i>et al.</i> (1608)
Occurrence and Ecological Risk Assessment of Typical Persistent Organic Pollutants in Baiyangdian Lake	GAO Qiu-sheng, JIAO Li-xin, YANG Liu, <i>et al.</i> (1616)
Simulating the Fate of Typical Organochlorine Pesticides in the Multimedia Environment of the Pearl River Delta	GAO Zi-wen, XU Yue, YI Ru-han (1628)
Mechanisms and Efficiencies of Removal of PPCPs by Pilot River Water Bypass Treatment Process	LI Li, ZHU Bing, BAI Yao, <i>et al.</i> (1637)
Chlorination of Naproxen: Removal, Transformation and Risk Assessment	FAN Xin-xin, DU Er-deng, LI Jia-qi, <i>et al.</i> (1645)
Removing Typical Odorants in Drinking Water by Vacuum Ultraviolet Combined with Chlorine	SUN Xin, ZHANG Yi, SHI Lu-xiao, <i>et al.</i> (1654)
Degradation of Triclosan by Heat Activated Persulfate Oxidation	JIANG Meng-di, ZHANG Qing-yue, JI Yue-fei, <i>et al.</i> (1661)
Adsorption of Tetracycline on Simulated Suspended Particles in Water	XU Long-feng, WEI Qun-shan, LÜ Qiang, <i>et al.</i> (1668)
Characteristics and Performance of Embedded ANAMMOX Bacteria in Treating Saline Wastewater	SHAN Xiao-jing, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> (1677)
Enhanced Nitrogen Removal of ANAMMOX Treating Saline Wastewater With Betaine Addition	YU De-shuang, WU Guo-dong, LI Jin, <i>et al.</i> (1688)
Pilot-scale Experiment on Enrichment of Nitrifying Activated Sludge and Its Application in Enhancing a Wastewater Biological Treatment System Against Ammonia Shocking Loads	SHENG Xiao-lin, CUI Can-can, WANG Jia-de, <i>et al.</i> (1697)
Effect of Step Feed on Denitrifying Phosphorus and Nitrate Removal in a Modification of the Two Sludge A ² /O-BAF System	NAN Yan-bin, PENG Yong-zhen, ZENG Li-yun, <i>et al.</i> (1704)
Achieving Partial Nitrification in a Continuous-flow Aerobic Granular Sludge Reactor at Different Temperatures Through Ratio Control	LIANG Dong-bo, BIAN Wei, KAN Rui-zhe, <i>et al.</i> (1713)
Mechanism of Action of Activated Sludge Properties in Nitrogen Removal by Endogenous Denitrification Through an Intelligent Aeration-controlled A/O Process	XU Min-yang, HU Zhan-bo, ZHANG Sui-sheng, <i>et al.</i> (1720)
Effect of Temperature on the Performance and Microbial Community Structure in an Integrated Anaerobic Fluidized-bed Membrane Bioreactor Treating Benzothiazole Wastewater	LI Yue, HU Qi, GAO Da-wen (1731)
Removal of Antibiotics During In-situ Sludge Ozone-reduction Process	WANG Lu, BEN Wei-wei, LI Yan-gang, <i>et al.</i> (1739)
Effect of Zero Valent Iron on the Horizontal Gene Transfer of Tetracycline Resistance Genes During Anaerobic Sludge Digestion Process	YANG Fan, XU Wen-li, QIAN Ya-jie, <i>et al.</i> (1748)
Effects of Environmental Factors on the Synergy of Functional Bacteria in Completely Autotrophic Granular Sludge	CHEN Xi, QIAN Fei-yue, WANG Jian-fang, <i>et al.</i> (1756)
Microbiological Characteristics of a Post Solid-Phase Denitrification Biofilter Process	ZHANG Qian, JI Fang-ying, XU Xuan (1763)
Aerobic Denitrification and Microbial Community Shift in SBR Bioaugmented with Strains YH01 and YH02	CHEN Hai-sheng, CAO Gang, ZHANG Di, <i>et al.</i> (1773)
Performance, Sludge Characteristics, and the Microbial Community Dynamics of Bulking Sludge Under Different Nitrogen and Phosphorus Imbalances	HE Xue-meng, DING Li-li, ZHANG Lu-lu, <i>et al.</i> (1782)
Degradation Characteristics and Metabolic Pathway of a Pyrene-Degrading <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Strain	LI Xiang, ZHANG Xue-ying, ZHOU Jun, <i>et al.</i> (1794)
Driving Factors of the Dynamics of Microbial Community in a Dam of Copper Mine Tailings	LI Cui, JING Ju-hui, LIU Jin-xian, <i>et al.</i> (1804)
Effects of Reclamation on Soil Nutrients and Microbial Activities in the Huixian Karst Wetland in Guilin	HUANG Ke-chao, SHEN Yu-yi, XU Guang-ping, <i>et al.</i> (1813)
Effects of the Farmland-to-Forest/Grassland Conversion Program on the Soil Bacterial Community in the Loess Hilly Region	CHEN Meng-li, ZENG Quan-chao, HUANG Yi-mei, <i>et al.</i> (1824)
Insight into the Mechanism of Feammox in the Surface Soils of a Riparian Zone	DING Bang-jing, LI Zheng-kui, ZHU Hong-jie, <i>et al.</i> (1833)
Soil Degradation-Associated Microbial Community Structure Changes in an Alpine Meadow Under Tibetan Pig Herding	ZHAN Peng-fei, XIAO De-rong, YAN Peng-fei, <i>et al.</i> (1840)
Characteristics of Iron Plaque and Its Heavy Metal Enrichment in Typical Mangrove Plants in Shenzhen Bay, China	SHEN Xiao-xue, LI Rui-li, CHAI Min-wei, <i>et al.</i> (1851)
Spatial Distribution of DDTs and PCBs in Wild Fish from Hong Kong Coastal Areas and Potential Human Health Risk Assessment	SU Yang, BAO Lian-jun, ZENG Eddy Y (1861)
Pollution Characteristics of PAHs in Soil from a Remote Mountain Wetland-Dajiu Lake, Shengnongjia	HU Tian-peng, XING Xin-li, KE Yan-ping, <i>et al.</i> (1872)
Migration and Transformation of Mercury in Unsubmerged Soil and Sediment at One Typical Forest Reservoir in Southwest China	SUN Tao, MA Ming, WANG Yong-min, <i>et al.</i> (1880)
Accumulation of Cd and Its Risks in the Soils of the Xijiang River Drainage Basin in Guangxi	SONG Bo, YANG Zi-jie, ZHANG Yun-xia, <i>et al.</i> (1888)
Effects of Long-term Fertilization Regimes on As Accumulation in Upland Red Earth and the Crops Growing on It	ZHANG Rong, YU Guang-hui, LI Ya-qing (1901)
Effects of a Tribasic Amendment on Cadmium and Arsenic Accumulation and Translocation in Rice in a Field Experiment	GU Jiao-feng, ZHOU Hang, JIA Run-yu, <i>et al.</i> (1910)
Quantitative Relationship Between Paddy Soil Properties and Cadmium Content in Rice Grains	WANG Meng-meng, HE Meng-yuan, SU De-chun (1918)
Effect of Ca-bentonite on Cu and Zn Forms in Compost and Soil, and Their Absorption by Chinese Cabbage	ZHAO Jun-chao, WANG Quan, REN Xiu-na, <i>et al.</i> (1926)
Effects of Short-term Exogenous Nitrogen and Carbon Input on Soil Respiration Under Changing Precipitation Pattern	HE Yun-long, QI Yu-chun, PENG Qin, <i>et al.</i> (1934)
Effects of Simulated Precipitation Reduction on Soil Respiration in a Soybean-Winter Wheat Rotation Cropland	WANG Zhao-hui, CHEN Shu-tao, SUN Lu, <i>et al.</i> (1943)
Seasonal Variation in Nitric Oxide Emission from an Agricultural Headwater Ditch in the Hilly Purple Soil Area and the Factors Influencing Emission	TIAN Lin-lin, REN Guang-qian, ZHU Bo (1952)
Effects of Seasonal Asymmetric Warming on Soil CO ₂ Release in Karst Region	TANG Guo-yong, ZHANG Chun-hua, LIU Fang-yan, <i>et al.</i> (1962)