

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第5期

Vol.39 No.5

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

餐饮行业细颗粒物(PM_{2.5})排放测算方法:以上海市为例 王红丽, 景盛翱, 楼晟荣, 陶士康, 乔利平, 李莉, 黄成, 林立, 陈长虹 (1971)

上海夏季PM_{2.5}中有机物的组分特征、空间分布和来源 高雅琴, 王红丽, 景盛翱, 乔利平, 李莉, 朱书慧, 楼晟荣, 陶士康, 冯加良, 李想, 陈长虹 (1978)

北京南郊区PM_{2.5}中水溶性无机盐季节变化及来源分析 高韩钰, 魏静, 王跃思 (1987)

基于样方法的天津市春季道路扬尘PM_{2.5}中水溶性离子特征及来源解析 赵静琦, 姬亚芹, 张蕾, 王士宝, 李越洋 (1994)

广州秋季HONO污染特征及夜间来源分析 田智林, 杨闻达, 虞小芳, 张曼曼, 张贺伟, 程丁, 程鹏, 王伯光 (2000)

基于硫氧同位素研究南京北郊夏季大气中硫酸盐来源及氧化途径 韩珣, 任杰, 陈善莉, 王瑾瑾, 沈潇雨, 魏英, 郭照冰, 朱彬 (2010)

区县尺度机动车高分辨率排放清单建立方法及应用 樊守彬, 郭津津, 李雪峰 (2015)

典型工业生物质锅炉多环芳烃排放特征 林玉君, 白莉, 王焕香, 肖文, 刘军, 向运荣, 张春林 (2023)

多时间尺度HSPF模型参数不确定性研究 庞树江, 王晓燕, 马文静 (2030)

氮氧同位素联合稳定同位素模型解析水源地氮源 金赞芳, 张文辽, 郑奇, 朱晨阳, 李非里 (2039)

白洋淀水体挥发性有机物污染特征与风险评价 高秋生, 赵永辉, 焦立新, 田自强, 杨柳, 杨苏文, 崔志丹, 郝子峰 (2048)

太湖颗粒态有机质的荧光特征及环境指示意义 吕伟伟, 姚昕, 张保华, 刘延龙, 李元鹏 (2056)

长江口滩涂表层沉积物中微塑料的分布及沉降特点 朱晓桐, 衣俊, 强丽媛, 程金平 (2067)

桂林五里峡水库丰水期溶解有机碳特征 卢晓漩, 李强, 靳振江, 彭文杰, 房君佳, 黄炳惠, 宋昂 (2075)

青藏高原多年冻土区典型植被下河流溶解性有机碳的生物可利用性 马小亮, 刘桂民, 吴晓东, 徐海燕, 叶琳琳, 张晓兰, 白炜 (2086)

城郊与城镇河流中溶解性有机质与重金属的相关性 梁梦琦, 邵美玲, 曹昌丽, 纵亚男, 唐剑锋 (2095)

溶解性有机质在岩溶水系统中的迁移转化及影响因素分析 张连凯, 刘朋雨, 覃小群, 单晓静, 刘文, 赵振华, 姚昕, 邵明玉 (2104)

三峡库区澎溪河回水区溶解态金属离子来源和时空分布特征分析 赵晓松, 蔚建军, 付莉, 姜伟, 周川, 李波, Douglas Haffner, Christopher Weisener, 张磊 (2117)

澜沧江流域沉积物间隙水-上覆水营养盐特征与交换通量分析 望雪, 程豹, 杨正健, 刘德富, 徐雅倩 (2126)

蓄水期三峡水库香溪河沉积物-水系统营养盐分布特征 苏青青, 刘德富, 纪道斌, 宋林旭, 崔玉洁, 李欣, 陈秀秀, 刘心愿 (2135)

两种水生植物对上覆水和间隙水中各形态磷的影响 杨文斌, 高顺峰, 万锐, 孙祥, 王赢 (2145)

于桥水库沉积物-水界面氮磷剖面特征及交换通量 文帅龙, 龚琬晴, 吴涛, 郑小兰, 江雪, 李鑫, 钟继承 (2154)

岷江干流表层沉积物中磷形态空间分布特征 杨耿, 秦延文, 韩超南, 马迎群, 刘志超, 杨晨晨 (2165)

农业排水沟渠硝态氮吸收动力学特征及相关性分析 李如忠, 殷齐贺, 高苏蒂, 陈广州 (2174)

不同合成条件对ZnAl-LDHs覆膜改性生物陶粒除磷效果的影响 向洋, 张翔凌, 雷雨, 方晨佳, 袁野, 姜应和, 徐舟影 (2184)

真空紫外/过二硫酸盐去除饮用水中嗅味物质 孙昕, 史路肖, 张燧, 杨煜, 唐晓 (2195)

石墨烯负载铁锰氧化物活化过一硫酸盐降解金橙G 夏文君, 刘锋, 郝尚斌, 黄天寅, 王忠明, 陈家斌 (2202)

载镧或铈生物炭吸附水体中As(V)的作用机制 李锦, 祖艳群, 李刚, 孙国新 (2211)

DOM不同相对分子质量组分在无机矿物上的吸附及其对卡马西平吸附的影响实验 梁雨, 何江涛, 张思 (2219)

污水处理厂中有机磷阻燃剂的污染特征 孙佳薇, 丁炜楠, 张占恩, 王俊霞, 顾海东 (2230)

低温污水前置强化混凝 刘海龙, 任宇霞, 张忠民 (2239)

印染废水反渗透脱盐系统运行性能及膜污堵特性 谭玉琚, 张泽田, 吴乾元, 姚颖, 胡洪营, 丘培文 (2249)

生物膜CANON反应器性能的优化:从FBBR到MBBR 付昆明, 李慧, 周厚田, 仇付国 (2256)

两次污泥颗粒化过程中微生物群落的动态变化 高景峰, 张丽芳, 张树军, 高永青, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲 (2265)

铝、铁、钛3种金属盐基混凝剂调理污泥的性能比较 王晓萌, 王鑫, 杨明辉, 张淑娟 (2274)

热、热碱处理对污泥溶胞和溶解性有机物的影响 代勤, 张文哲, 于潘芬, 易皓, 刘俊新, 肖本益 (2283)

曝气时间对比亚硝化颗粒污泥形成的影响 李冬, 郭跃洲, 曹美忠, 劳会妹, 李帅, 张杰 (2289)

中国城市污泥中汞含量的时空分布特征 王宁, 刘清伟, 职音, 程柳, 麻冰涓, 毛宇翔 (2296)

夏季太湖草/藻型湖区N₂O生成与迁移特征及其影响因素 郑小兰, 文帅龙, 李鑫, 龚琬晴, 刘德鸿, 钟继承 (2306)

太湖藻型湖区CH₄、CO₂排放特征及其影响因素分析 贾磊, 蒲旖旎, 杨诗俊, 苏荣明珠, 秦志昊, 张弥 (2316)

内蒙古典型草原季节性冻土区土壤剖面CO₂、N₂O特征 李晋波, 姚楠, 李秀, 赵英, 张阿凤, 兰志龙, 范庭 (2330)

黄土高原成龄苹果园生态系统CO₂通量特征 杨剑锋, 杨小妮, 王俊花, 段宇敏, 祁香宁, 张林森 (2339)

生物炭施用对紫色水稻土温室气体排放的影响 祁乐, 高明, 郭晓敏, 牛海东, 李婷, 孙涛, 曹群玲, 汤稼豪 (2351)

不同施肥处理对东北黑土温室气体排放的短期影响 李平, 郎漫, 李森, 魏玮, 李凯凯 (2360)

ITS高通量测序研究黄海微型真核浮游生物多样性及分布特征 张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 张晓娇 (2368)

不同排海方式城市尾水微生物扩散规律 郎秀璐, 宋志文, 徐爱玲, 牛成洁, 郭明月 (2380)

旅游活动对岩溶洞穴地下水中细菌群落的影响:以重庆丰都两个洞穴为例 吕现福, 贺秋芳, 王凤康, 赵瑞一, 张弘 (2389)

不同沼灌年限稻田土壤微生物群落分析 朱金山, 张慧, 马连杰, 廖敦秀, 杨星勇, 王龙昌, 王定勇 (2400)

生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响 阎海涛, 殷金玉, 丁松爽, 任天宝, 许家来, 宗浩, 高强, 刘国顺 (2412)

铅锌尾矿砂污染下的岩溶土壤微生物群落碳源代谢特征 房君佳, 李强, 刘畅, 靳振江, 梁月明, 黄炳惠, 卢晓漩, 彭文杰 (2420)

湖库沉积物好氧反硝化菌群脱氮特性及种群结构 康鹏亮, 张海涵, 黄廷林, 陈胜男, 商潘路, 冯稷, 贾克宇 (2431)

反硝化菌群的氮代谢与反硝化偶联机制 张泽宇, 王明霞, 程永毅, 周志峰 (2438)

广西西江流域土壤铅空间分布与污染评价 张云霞, 宋波, 陈同斌, 伏凤艳, 黄飞, 庞瑞, 潘惠妹 (2446)

三峡库区消落带农业活动对土壤汞变化的影响 陈秋禹, 孙松, 尹德良, 王永敏, 张成, 王定勇 (2456)

水稻不同生长时期不同组织中抗内生菌的筛选与鉴定 王伯勋, 王学东, 段桂兰 (2464)

汞在酸性紫色水稻土的转化与水稻汞富集特征 李雨琴, 孙涛, 邓晗, 张成, 王永敏, 王定勇 (2472)

华北平原不同生产模式设施蔬菜生命周期环境影响评价 徐强, 胡克林, 李季, 韩卉, 杨合法 (2480)

基于细菌毒性测试与小鼠肺基因转录分析的PM_{2.5}健康效应 宋鹏程, 陆书玉, 魏永杰, 陈倩倩, 罗丽娟 (2489)

中国PM_{2.5}污染空间分布的社会经济影响因素分析 段杰雄, 翟卫欣, 程承旗, 陈波 (2498)

《环境科学》征订启事(2094) 《环境科学》征稿简则(2164) 信息(2183, 2411, 2445)

两次污泥颗粒化过程中微生物群落的动态变化

高景峰¹, 张丽芳¹, 张树军², 高永青², 王时杰¹, 樊晓燕¹, 潘凯玲¹

(1. 北京工业大学环境与能源工程学院, 城镇污水深度处理与资源化利用技术国家工程实验室, 北京 100124; 2. 北京城市排水集团有限责任公司科技研发中心, 北京 100124)

摘要: 利用序批式反应器 (sequencing batch reactor, SBR) 培养好氧颗粒污泥 (aerobic granular sludge, AGS), 在此期间发生了 AGS 破碎现象, 后经培养, 破碎污泥再次变为成熟的 AGS. 因此, 采用 Illumina MiSeq PE300 高通量测序技术研究了两次污泥颗粒化过程中微生物群落结构变化的差异, 以期揭示有利于 AGS 形成的优势菌属; 此外, 利用实时定量聚合酶链式反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 探究了两次污泥颗粒化过程中硝化微生物的动态变化. 结果表明, 在两次污泥颗粒化过程中, 胞外蛋白质和胞外多糖的含量均增加; 氨氧化古菌 (ammonia oxidizing archaea, AOA) 在第一次污泥颗粒化过程以及 AGS 成熟过程丰度增加, 氨氧化细菌 (ammonia oxidizing bacteria, AOB) 虽然在第一次污泥颗粒化过程中丰度降低, 但是在 AGS 培养过程中其丰度都一直高于 AOA; 微生物群落多样性随着 AGS 的形成而降低; 变形菌门 (Proteobacteria) 相对丰度明显增加, 分别增加了 12.29% 和 5.90%; 某些属于变形菌门的属其相对丰度也增加, 其中, *Candidatus Competibacter* 在两次污泥颗粒化过程中相对丰度增加最明显, 并且在成熟的 AGS 中呈现很高的相对丰度, 达到 14.20%. 总的来说, 胞外蛋白质和胞外多糖含量的增加, 可能促进了污泥颗粒化; AOA 和 AOB 可能共同参与了 AGS 的氨氧化作用; *Ca. Competibacter* 的富集可能有利于 AGS 的形成.

关键词: 好氧颗粒污泥; 高通量测序技术; 微生物群落; *Candidatus Competibacter*; 硝化微生物

中图分类号: X172; X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)05-2265-09 DOI: 10.13227/j.hjxk.201709289

Microbial Community Dynamics During Two Sludge Granulation Processes

GAO Jing-feng¹, ZHANG Li-fang¹, ZHANG Shu-jun², GAO Yong-qing², WANG Shi-jie¹, FAN Xiao-yan¹, PAN Kai-ling¹

(1. National Engineering Laboratory for Advanced Municipal Wastewater Treatment and Reuse Technology, College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2. Research and Development Center of Beijing Drainage Group Co., Ltd., Beijing 100124, China)

Abstract: Aerobic granular sludge (AGS) was cultivated in a sequencing batch reactor (SBR). In this study, AGS was broken during the formation process and then mature AGS formed again. The microbial community dynamics during two sludge granulation processes were investigated using high-throughput sequencing to reveal the dominant bacteria beneficial to AGS formation. The abundance dynamics of nitrifying microorganisms were analyzed by a quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The results showed that the amount of extracellular protein and polysaccharides increased during two sludge granulation processes. The abundance of ammonia oxidizing archaea (AOA) increased during the first AGS formation process and during the process of AGS maturation. The abundance of ammonia oxidizing bacteria (AOB) decreased during the first AGS formation process, while it maintained a higher abundance than AOA during AGS cultivation. Microbial diversity decreased with AGS formation. The relative abundance of Proteobacteria increased by 12.29% and 5.90% during two sludge granulation processes, respectively. *Candidatus Competibacter* belonging to Proteobacteria was enriched during two sludge granulation processes, accounting for 14.20% in mature AGS. Overall, extracellular protein and polysaccharides may have contributed to the sludge granulation. Both AOA and AOB might have been involved in ammonia oxidation. This study indicated that *Ca. Competibacter* might contribute to AGS formation.

Key words: aerobic granular sludge; high-throughput sequencing; microbial community; *Candidatus Competibacter*; nitrifying microorganisms

好氧颗粒污泥 (aerobic granular sludge, AGS) 是生物膜的一种特殊形式. 已有研究者在实验室规模的序批式反应器 (sequencing batch reactor, SBR) 中证实了 AGS 用于处理各类废水的可行性^[1]; 除此之外, 研究者也对 AGS 的物理化学特性、影响 AGS 形成的环境因素、操作条件以及形成机制^[2-5] 展开了广泛的探究. 有文献表明, 好氧污泥颗粒化是微

生物自凝聚的一个过程^[2]. AGS 作为一种微生物聚集集体, 研究其微生物特性具有重要的意义.

收稿日期: 2017-09-30; 修订日期: 2017-11-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51378027, 51578015); 北京市自然科学基金项目 (8162010); 国家水体污染控制与治理科技重大专项 (2017ZX07103-003)

作者简介: 高景峰 (1974 ~), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: gao.jingfeng@bjut.edu.cn

有研究者利用传统的分子生物学技术研究了 AGS 的细菌群落特征。Chen 等^[6]在一个连续流完全混合活性污泥系统中培养 AGS, 利用变性梯度凝胶电泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 分析了 AGS 的细菌群落特性。结果表明, 变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 是 AGS 的主要的门。Zhu 等^[7]利用 DGGE 研究了 AGS 中的细菌群落, 结果表明 β -变形菌纲 (β -Proteobacteria), Flavobacteriales 和 Planctomycetales 是 AGS 的优势微生物。Gonzalez-Gil 等^[8]利用克隆测序手段, 研究了不同碳源对 AGS 中细菌群落的影响, 结果表明, 动胶杆菌属 (*Zoogloea*) 是丙酸盐培养的 AGS 的优势种属, 而经乙酸盐培养的 AGS 的优势种属为发硫菌属 (*Thiothrix*)。但是, 这些传统的分子生物学技术由于成本高、通量低等局限性, 不能全面地反映 AGS 的微生物群落组成。

相比于传统的分子生物学技术, 高通量测序技术由于通量大、精确度高以及成本低等优点, 近年来被用于研究污水处理系统中微生物的多样性及群落结构^[9]。但是, 采用高通量测序技术考察 AGS 的细菌群落特征的研究很少。前人利用焦磷酸测序技术, 研究了反硝化除磷 AGS 形成过程中的微生物群落的演变。结果表明, 微生物多样性随着 AGS 的形成而增加^[10]。有研究利用焦磷酸测序技术, 考察了短程硝化 AGS 形成过程中的微生物多样性变化和群落组成。结果表明, 微生物多样性随 AGS 形成减少, 且发现亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas*) 是短程硝化 AGS 中氨氧化细菌的主要种属^[11]。Wang 等^[12]利用焦磷酸测序技术研究了 C/N 比对 AGS 的微生物群落的影响。结果表明, C/N 比明显影响了 AGS 的微生物群落。尽管这些研究利用高通量测序技术考察了 AGS 的细菌群落组成或者 AGS 形成过程中微生物群落变化。但是, 还没有利用高通量测序技术研究两次 AGS 形成过程中微生物群落变化的差异。

本研究利用 SBR 反应器培养 AGS。经 30 d 的培养后实现污泥颗粒化, 但在第 60 d 发生了 AGS 破碎现象, 经过 15 d 的培养, 反应器再次实现了污泥颗粒化, 并且 AGS 经过培养趋于成熟。本研究分析了两次污泥颗粒化过程中胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 的含量变化, 并用 Illumina MiSeq PE300 高通量测序技术和实时定量聚合酶链式反应 (quantitative polymerase

chain reaction, qPCR) 研究了两次污泥颗粒化过程中细菌多样性和丰度的动态变化, 揭示有利于 AGS 形成的优势种属。

1 材料与方法

1.1 实验装置和运行条件

实验所用 SBR 总体积为 85 L, 高 120 cm, 直径 30 cm, 有效容积为 75 L, 排水比 1/2。实验所用接种污泥来自北京市某污水处理厂的曝气池, 接种后混合液污泥浓度 (mixed liquor suspended solids, MLSS) 为 $5\ 300\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。SBR 每天运行 4 个周期, 每个周期包括进水 (10 min)、厌氧搅拌 (120 min)、曝气 (150 min)、沉淀 (5 ~ 15 min)、排水 (5 min) 和闲置 (60 ~ 70 min) 这 6 个阶段。进水阶段, 生活污水以及乙酸钠和丙酸钠的混合碳源通过蠕动泵泵入反应器, 反应器进水混合均匀后, COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 TP 的平均浓度分别为 (300.0 ± 10.3)、(50.0 ± 1.4)、(0.1 ± 0.0)、(1.2 ± 0.2) 和 (7.8 ± 0.5) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。厌氧阶段通过机械搅拌桨搅拌均匀。曝气阶段, 通过空气压缩机输入空气, 利用转子流量计控制溶解氧为 $4 \sim 5\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。沉淀时间根据污泥的沉淀性能进行调整。反应器培养第 0 ~ 30 d 内, 平均温度为 (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 。培养第 30 ~ 60 d 内, 由于环境温度的降低, 平均温度为 (15 ± 3) $^{\circ}\text{C}$ 。本实验在第 60 d 时, 向反应器中加入加热棒, 培养第 60 ~ 110 d 内反应器温度控制在 (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 。本实验共培养 110 d。

1.2 分析方法

COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TP 和 MLSS 等常规指标均采用国家标准方法测定^[13]。pH 值利用 pH 计 (SenTix[®] 940-3, WTW, Germany) 进行测定, DO 利用 WTW Multi 3420 便携分析仪 (FDO[®] 925, WTW, Germany) 进行测定。污泥形态利用 Olympus BX51/52 光学显微镜 (BX51, OLYMPUS, Tokyo, Japan) 观察。污泥粒径利用 Microtrac S3500 激光粒度仪 (Microtrac Inc, USA) 测定。采用阳离子树脂交换方法提取 EPS^[14]; 采用考马斯亮蓝法^[15]测定胞外蛋白 (extracellular protein, PN); 采用苯酚-硫酸法^[16]测定胞外多糖 (extracellular polysaccharides, PS)。

1.3 样品点选取

由于本实验 AGS 在培养过程中发生破碎现象, 后经培养, 再次形成 AGS 并且趋于成熟。本实验共实现两次污泥颗粒化过程。为了研究两次污泥颗粒

化过程中微生物群落变化的异同, 揭示 AGS 形成的微生物学机制. 本实验共选 8 个样品, 包括: 种泥、第一次形成 AGS (第 30 d 样品)、AGS 明显增长 (第 45 d 样品)、AGS 破碎 (第 60 d 样品)、第二次形成 AGS (第 75 d 样品)、AGS 明显增长 (第 90 d 样品)、AGS 粒径进一步变大 (第 100 d 样品) 和 AGS 变成熟 (第 110 d 样品). 样品经真空冻干后, 存储于 -20°C 用于基因组 DNA 的提取.

1.4 DNA 提取和 Illumina MiSeq 高通量测序

样品的 DNA 根据 FastDNA[®] SPIN kit DNA 提取试剂盒 (Qiagen, CA, USA) 提供的标准步骤进行提取. 采用 Nanodrop-1000 (Thermo Fisher Scientific, USA) 测定其浓度和质量. 提取的 DNA 样品首先利用 ABI GeneAmp[®] 9700 PCR 仪进行扩增. 扩增区域为细菌 16S rRNA V3-V4 区, 所用引物为 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'). 扩增条件如下: 95°C 3 min; 27 个循环包括: 95°C 30 s, 55°C 30 s 和 72°C 45 s, 最终 72°C 延伸 10 min. 扩增后产物经电泳跑胶以及利用 AxyPrep[™] DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences) 纯化后, 产物送至美吉生物 (上海) 医药科技有限公司进行测序, 测序平台为 Illumina MiSeq PE300 (Illumina, USA).

测序得到的原始数据首先经筛选去除低质量的序列, 后利用 USEARCH 软件去除嵌合体得到有效序列, 经均一化处理后得到的序列用于后续分析. 利用 Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME)^[17] 软件划分操作分类单元 (OTUs), 相似度设定为 97%. 得到的代表性序列利用 Silva 数据库进行生物信息分析.

1.5 硝化微生物的定量分析

为了比较两次污泥颗粒化过程中硝化菌变化的异同, 本研究利用 Stratagene Mx3005P Thermocycler (Agilent Technologies, USA) 分别对氨氧化古菌 (ammonia oxidizing archaea, AOA) 和氨氧化细菌 (ammonia oxidizing bacteria, AOB) 以及亚硝酸盐氧化菌 (nitrite oxidizing bacteria, NOB) 进行定量, 所用引物分别为 GenAOAF (5'-ATAGAGCCTCAAGTAG GAAAGTTCTA-3')、GenAOAR (5'-CCAAGCGGCC ATCCAGCTGTATGTCC-3')^[18]、CTO189f [该引物是由 CTO189fA/B (5'-GGAGRAAAGCAGGGGATCG-3') 与 CTO189fC (5'-GGAGGAAAGTAGGGGATCG-3') 以 2:1 的比例混合而成]、CTO654r (5'-CTAGCYTTGTAGTTTCAAACGC-3')^[19]、Nsr1113F

(5'-CCTGCTTTCAGTTGCTACCG-3') 和 Nsr1264R (5'-GTTTGCAGCGCTTTGTACCG-3')^[20]. 标准曲线是通过梯度稀释携带目的基因的质粒得到, 标准曲线和样品均做 3 平行, 并设置阴性对照 (无菌水作为模板). $20\ \mu\text{L}$ 反应体系包括 $10\ \mu\text{L}$ GoTaq[®] qPCR Master Mix (Promega, USA), $0.4\ \mu\text{L}$ 正反向引物 ($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), $7.2\ \mu\text{L}$ 无菌水和 $2\ \mu\text{L}$ DNA 模板. 反应程序为 95°C 5 min, 35 个循环包括 95°C 30 s, 退火 30 s 和 72°C 45 s, 最终 72°C 延伸 7 min. AOA 和 AOB 以及 NOB 的退火温度分别为 55°C 、 57°C 和 65°C . 反应扩增效率分别为 90.0%、97.6% 和 102.0%. 相关系数 (R^2) 分别为 0.999、0.998 以及 0.996.

2 结果与讨论

2.1 AGS 的形成过程和化学特性

图 1 分别为 AGS 培养过程中显微镜拍摄图、粒径分布图以及 EPS 含量变化. 从图 1(a) 和 1(b) 可看出, 种泥经 30 d 培养后形成 AGS, 平均粒径为 $328\ \mu\text{m}$. 培养至第 45 d 时, AGS 粒径变大, 但是 AGS 变得疏松. 培养至第 60 d 时, AGS 破碎, 平均粒径仅为 $147\ \mu\text{m}$. 在培养至第 75 d 时, AGS 再次出现, 并且在培养至第 90 d 时, AGS 占主要比例. 培养至第 100 d 时, AGS 粒径进一步变大, 并且趋于成熟, 培养至第 110 d 时, AGS 的平均粒径为 $500\ \mu\text{m}$. 显微镜照相以及粒径分布分析表明在本实验培养 AGS 过程中, 实现了两次污泥颗粒化过程.

AGS 在培养了 60 d 时发生破碎现象, 可能是受水温降低的影响. AGS 的形成被认为受进水成分、有机负荷和水力剪切力等很多因素的影响^[21~23]. 温度也被认为是 AGS 培养过程中的一个重要因素, 由于温度会影响 EPS 的变化和许多微生物的生理特性^[24]. 大多数研究者在室温 ($20\sim 25^{\circ}\text{C}$) 培养 AGS. 有研究者在低温 (8°C) 条件下培养 AGS, 经 26 d 培养, 形成的颗粒外形不规则, 内部为中空结构^[25]. 本实验中, 在 AGS 培养的第 30~60 d 时, 由于环境温度的降低, 反应器的温度由 (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 降低为 (15 ± 3) $^{\circ}\text{C}$, 因此温度的改变可能是导致 AGS 不稳定甚至破碎的原因.

另外, 温度的变化也影响了反应器的出水水质. AGS 培养第 1~30 d, COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 和 TP 在出水中的平均浓度分别为 (38.2 ± 8.0)、(0.5 ± 0.3)、(27.5 ± 4.3) 和 (3.1 ± 1.0) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. AGS 培养第 30~60 d, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN 和 TP 的去除受到明显

的影响, 出水中平均浓度分别为 (15.4 ± 4.5) 、 (40.4 ± 7.3) 和 (3.9 ± 0.7) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$. AGS 培养第 60 ~ 110 d, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、TN 和 TP 的去除性能逐渐恢复. 在 AGS 成熟阶段, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、TN 和 TP 在出水中的平均浓度分别为 (0.3 ± 0.2) 、 (12.4 ± 3.5) 和 (0.8 ± 0.2) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

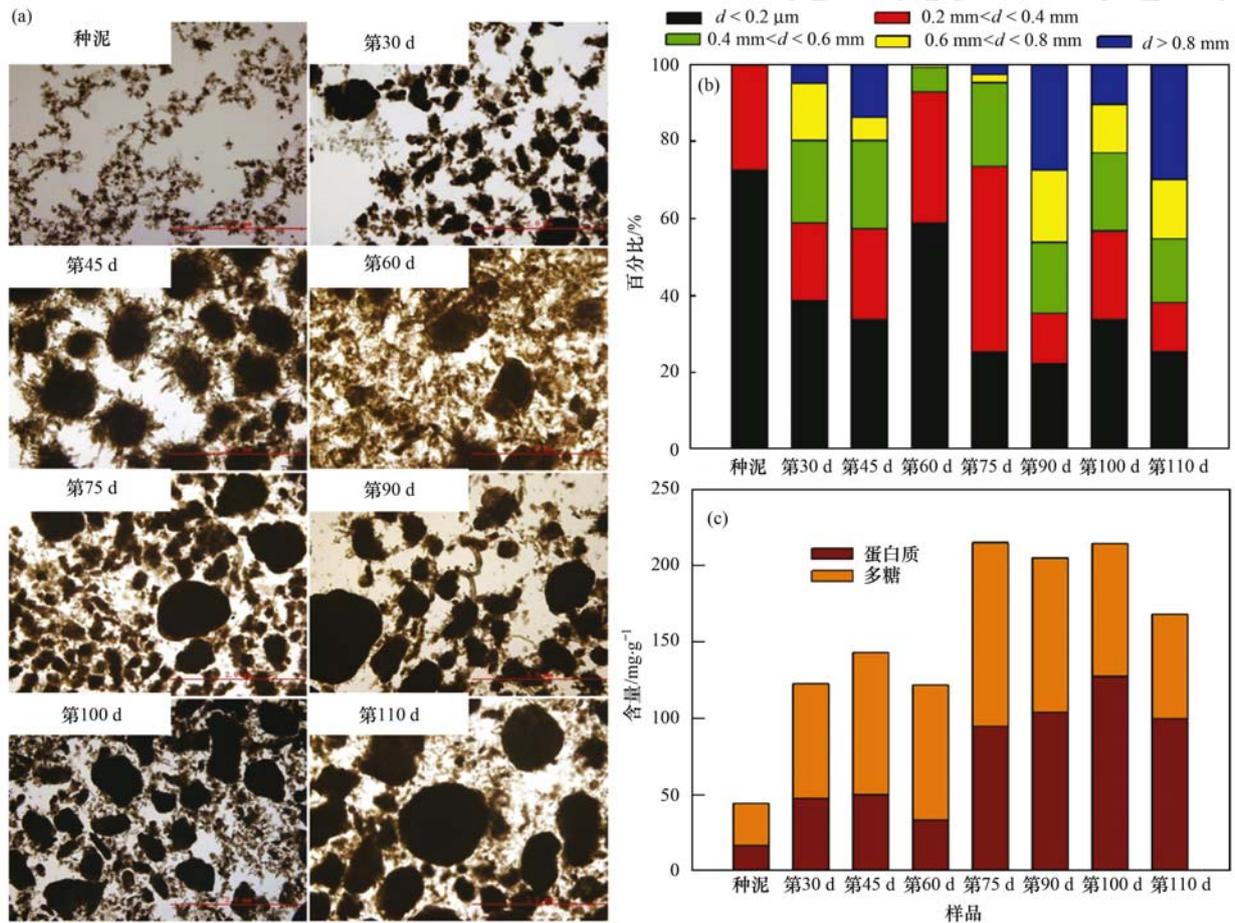
EPS 作为代谢产物的重要组成部分, 可以促进微生物凝聚. EPS 主要是由 PN 以及 PS 组成. 由图 1(c) 可见, 种泥的 PN 和 PS 含量分别为 $17.10 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $27.30 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. 当 AGS 初步形成(种泥培养至第 30 d), PN 和 PS 含量分别增长至 $47.80 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $74.51 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. 但是当 AGS 破碎时(第 45 ~ 60 d), PN 和 PS 含量均减少. 随着 AGS 的再次形成(第 60 ~ 75 d), AGS 的 PN 和 PS 含量逐渐增加, 并且随着 AGS 粒径的变大, PN 和 PS 含量保持稳定. 结果表明, 在两次污泥颗粒化过程中, AGS 的 PN 和 PS 含量均增加. PN 作为一种高分子聚合物, 有利于 AGS 的形成和结构稳定^[26], PS 在 AGS 形成过程中起着重要作用^[27]. 在本研究中, PN 和

PS 含量的增加, 可能促进了 AGS 的形成.

2.2 硝化微生物丰度的动态变化

图 2 为 AGS 培养过程中硝化微生物丰度的动态变化. 在整个培养过程中, 8 个样品的 AOA *amoA* 基因的丰度为 $(1.40 \times 10^6 \pm 9.82 \times 10^4) \sim (1.72 \times 10^7 \pm 3.80 \times 10^6)$ $\text{copies} \cdot \text{g}^{-1}$. AOB 16S rRNA 基因的丰度为 $(8.46 \times 10^8 \pm 2.72 \times 10^7) \sim (6.06 \times 10^9 \pm 7.65 \times 10^8)$ $\text{copies} \cdot \text{g}^{-1}$. NOB 16S rRNA 基因的丰度为 $(1.66 \times 10^9 \pm 1.83 \times 10^8) \sim (2.09 \times 10^{10} \pm 1.59 \times 10^9)$ $\text{copies} \cdot \text{g}^{-1}$.

在第一次污泥颗粒化过程(种泥培养至第 30 d)中, AOA *amoA* 基因丰度增加, 而 AOB 16S rRNA 基因丰度减少. 有文献指出, 由于洗除作用, 随着 AGS 的初步形成, AOB 的丰度随之减少^[28], 与本研究结果一致. 而 AOA 的增加可能是由于 AGS 特殊的椭圆形状, 提供了 AGS 内部溶解氧梯度变化环境, AOA 在低氧条件下更易生存^[29], AGS 内部的低氧环境可能更有利于 AOA 的生存. NOB 在这个过程中, 丰度基本不变.



(a) 显微镜观察; (b) 粒径分布; (c) EPS 含量变化

图 1 AGS 培养过程中外观形态以及特性变化

Fig. 1 Variation in morphology and characteristics during the AGS formation process

AGS 培养第 45 d 时, AOA 的丰度减少, AOB 和 NOB 的丰度增加. 从图 1(a) 中可看出, 第 45 d 的 AGS 变得疏松, 可能增加了 AGS 内部的溶解氧, 从而导致 AOA 丰度减少, AOB 和 NOB 的丰度增加. AGS 破碎过程(第 45 ~ 60 d)中, AOA 和 AOB 的丰度基本不变, NOB 的丰度减少. 污泥形态的变化可能影响了 NOB 的丰度.

在第二次污泥颗粒化过程(第 60 ~ 75 d)中, AOA、AOB 和 NOB 的丰度基本没有变化. 在 AGS 成熟过程(第 90 ~ 110 d)中, AOA 的丰度略有增

加, AOB 的丰度呈下降趋势, NOB 的丰度基本不变. AGS 培养过程对 NOB 的丰度影响较小. AGS 培养第 100 d 时, 有新的絮状污泥产生, 絮状污泥更易接触水中的溶解氧, 这可能使得第 100 d AGS 中 AOB 的丰度较第 90 d 有所增加.

在本研究中, AOA 在第一次污泥颗粒化过程中以及 AGS 成熟过程中丰度增加, AOB 虽然在第一次颗粒化过程中丰度降低, 但是在整个培养过程中, 一直维持很高的丰度, 且一直高于 AOA; AOA 和 AOB 可能共同参与了 AGS 的氨氧化作用.

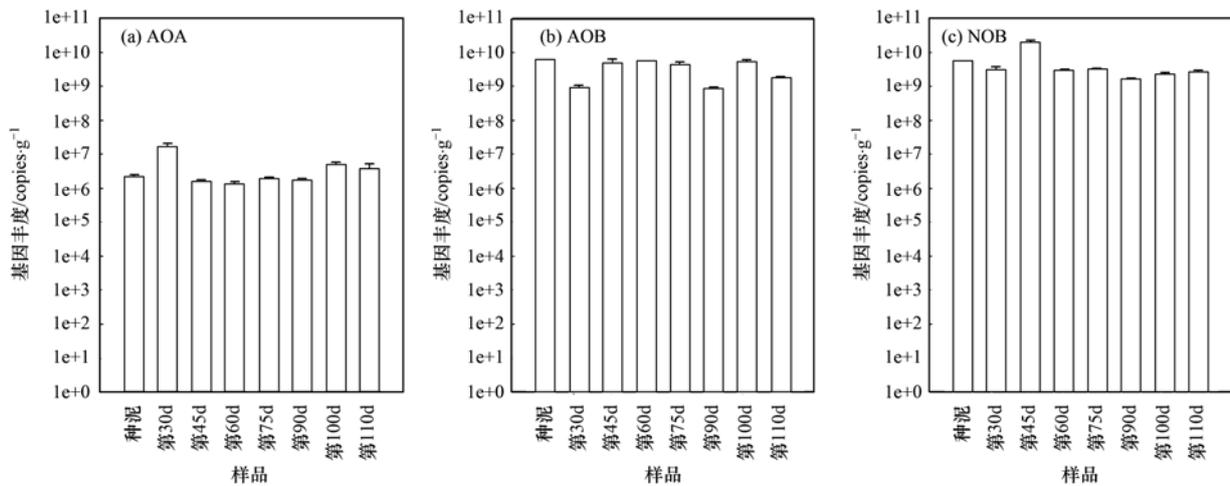


图2 AGS 培养过程中 AOA、AOB 以及 NOB 定量结果

Fig. 2 Abundance of AOA, AOB, and NOB during the AGS formation process

2.3 AGS 形成过程中微生物群落多样性的动态变化

在本研究中, 每个样品产生了 52 349 ~ 64 407 条原始序列, 经均一化处理, 每个样品产生 50 458 条有效序列用于后续分析. 每个样品的 OTUs 数目及多样性指数见表 1. 8 个样品的 OTUs 数目为 1 864 ~ 2 536, 覆盖率均大于 0.98, 说明测序深度可以覆盖样品中绝大多数的细菌信息. 在两次 AGS 形成过程中, 香农指数均降低. 在第一次颗粒化过程中(种泥培养至第 30 d), 香农指数略微降低, 从 8.74 减少为 8.52. 在第二次颗粒化过程中(第 60 ~

75 d), 香农指数明显降低, 从 8.69 减少为 8.28. 此外, 在颗粒成熟的过程中, 香农指数也明显下降, 从 8.14 减少为 7.73. 结果表明, 随着 AGS 的形成, 微生物多样性减少.

已有研究表明, 相比于种泥, AGS 会有更低的多样性^[28]. 在本实验中随着 AGS 形成以及变大, 污泥沉淀性能变好, 沉淀时间也随之缩短. 缩短沉淀时间不仅有利于 AGS 的形成, 并且会洗除出一部分松散不稳定的絮状污泥, 这种选择作用可能会导致在 AGS 形成过程中, 微生物多样性降低.

表 1 细菌群落 α 多样性

Table 1 The α -diversity indices of the bacterial community

阶段	样品	序列数	OTUs 数	Chao 1 指数	覆盖率	香农指数
第一次颗粒化过程	种泥	50458	2503	3128	0.9856	8.74
	第 30 d	50458	2510	3285	0.9843	8.52
AGS 破碎过程	第 45 d	50458	2396	3155	0.9851	8.55
第二次颗粒化过程	第 60 d	50458	2536	3221	0.9851	8.69
	第 75 d	50458	2242	2976	0.9860	8.28
AGS 成熟过程	第 90 d	50458	2133	2860	0.9864	8.14
	第 100 d	50458	2064	2699	0.9876	8.03
	第 110 d	50458	1864	2433	0.9887	7.73

8 个样品的主成分分析 (principal component analysis, PCA) 见图 3. PCA 的两个轴的解釋度分别为 69.24% 和 13.73%. 由结果可看出, 第 45 d 样品和第 60 d 样品 (破碎污泥) 聚在一起, 表明在 AGS 破碎过程中, 细菌群落未发生明显变化. 种泥和第 30 d 样品 (第一次颗粒化过程) 分布较远, 第 60 d 和第 75 d 样品 (第二次颗粒化过程) 也分布较远, 说明在两次污泥颗粒化过程中, 微生物群落发生明显变化. 第 90 d 样品、第 100 d 样品以及第 110 d 样品聚在一起, 说明 AGS 形成后, 随着 AGS 变成熟, 微生物群落变化不明显.

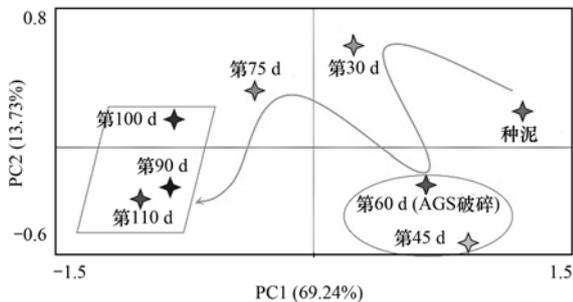


图 3 污泥颗粒化过程中细菌群落的动态变化

Fig. 3 Dynamic variation of bacterial communities during the sludge granulation process

2.4 AGS 形成过程中优势微生物

在本研究中, 8 个样品共得到 47 个门, 646 个属. 图 4 描述了污泥颗粒化过程中门水平细菌的动态变化. 如图 4 所示, 8 个样品所包含的主要门为: 变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、放线菌门 (Actinobacteria)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 和厚壁菌门 (Firmicutes), 占 8 个样品所有序列数的 89.70%.

在第一次污泥颗粒化过程中 (种泥培养至第 30 d), 变形菌门 (Proteobacteria) 的相对丰度增加了 12.29%. 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 相对丰度基本没有变化. 绿弯菌门 (Chloroflexi)、放线菌门 (Actinobacteria) 和硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 的相对丰度都减少. 厚壁菌门 (Firmicutes) 的相对丰度略微增加.

AGS 培养第 45 d 时, 变形菌门 (Proteobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria) 的相对丰度分别减少了 10.41% 和 4.82%. 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和绿弯菌门 (Chloroflexi) 的相对丰度分别增加了 6.35% 和 4.47%. 硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 的相对丰度基本没有变化. AGS 破碎

过程中 (第 45 ~ 60 d), 变形菌门 (Proteobacteria) 的相对丰度增加了 5.83%, 其它主要的门的相对丰度没有发生明显变化.

在第二次污泥颗粒化过程 (第 60 ~ 75 d) 中, 变形菌门 (Proteobacteria) 的相对丰度增加了 5.90%. 在 AGS 成熟过程 (第 90 ~ 110 d), 变形菌门 (Proteobacteria) 仍然在 AGS 中占较高比例, 相对丰度为 45.56% ~ 53.07%.

由于变形菌门 (Proteobacteria) 在两次污泥颗粒化过程中, 相对丰度均增加, 因此某些属于变形菌门 (Proteobacteria) 的细菌可能和活性污泥的颗粒化相关^[30]. 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 在两次污泥颗粒化过程中相对丰度基本没有变化, 但是相对于种泥, 其在成熟 AGS 中占较高比例. 在其他研究中, 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 在成熟 AGS 中占很高比例^[31], 与本研究一致. 放线菌门 (Actinobacteria) 是丝状革兰氏阳性菌, 对絮状污泥的初始凝聚具有重要作用^[32]. 以上结果表明, 某些属于变形菌门 (Proteobacteria) 的细菌可能有利于 AGS 的形成.

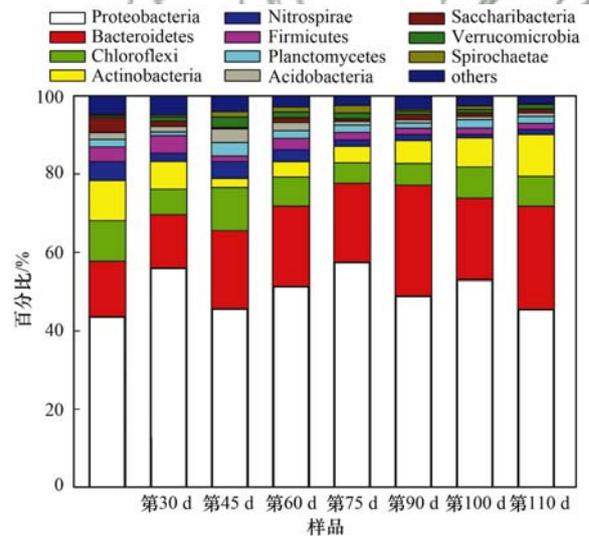


图 4 污泥颗粒化过程中门水平的细菌相对丰度

Fig. 4 Relative abundances of bacteria at the phylum level during the sludge granulation process

活性污泥的初步颗粒化和细菌选择相关^[33]. 因此, 研究活性污泥颗粒化过程中种属的动态变化很有必要. 本文挑选出主要门水平下的属 (在 8 个样品中相对丰度都小于 1% 的属在图中没有显示), 用于后续分析. 图 5 描述了两次污泥颗粒化过程中 (种泥培养至第 30 d 和第 60 ~ 75 d) 主要属的相对丰度变化情况. 从中可知, *Candidatus Competibacter*、*Candidatus Accumulibacter*、*Dechloromonas*、*Defluviicoccus* 和弓形杆菌属

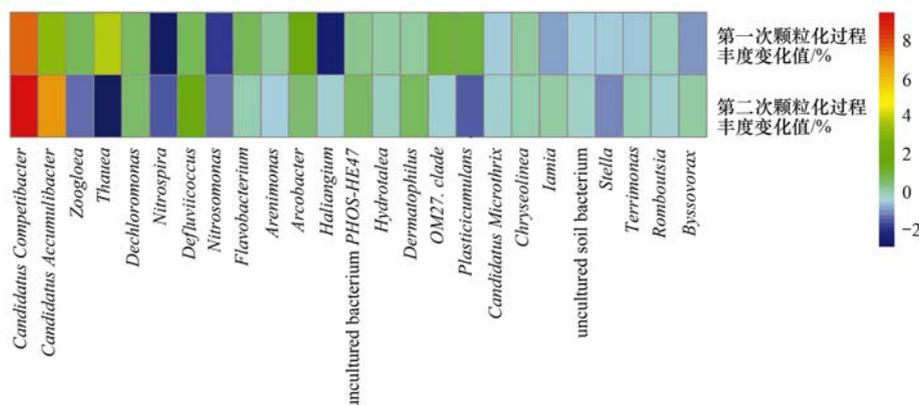
(*Arcobacter*) 在两次污泥颗粒化过程中相对丰度都明显增加, 这些属都属于变形菌门 (Proteobacteria)。

Ca. Competibacter 和 *Ca. Accumulibacter* 的相对丰度变化最明显, 增加了 3.29% ~ 9.54%。这些属可能和活性污泥的颗粒化有密切关系。*Ca. Competibacter* 和 *Ca. Accumulibacter* 分别属于聚糖菌和聚磷菌, 这两个属在去除磷的过程中竞争碳源。*Ca. Competibacter* 在厌氧条件下将挥发性脂肪酸转化成聚羟基脂肪酸, 随后在好氧条件下可以将聚羟基脂肪酸氧化成二氧化碳或转化成糖原。Seviour 等^[30] 发现在一个 *Ca. Competibacter* 被富集的 AGS 反应器中, 一种胶状 PS 被合成并增加, 并且随着这种 PS 含量的增加, 导致 EPS 含量增加, 引起 AGS 的粒径增大。有研究表明, 随着活性絮状污泥转化成 AGS, EPS 含量增加^[4], EPS 含量的增加会加速 AGS 的形成^[34]。在本研究中, 由种泥初步形成 AGS (种泥培养第 30 d) 以及二次颗粒化 (第 60 ~ 75 d) 过程, EPS 的总量均增加 [图 1(c)], 伴随着 *Ca. Competibacter* 相对丰度的明显增加, 并且在成熟 AGS 中也维持很高的相对丰度, 说明 *Ca. Competibacter* 的富集可能有利于活性污泥形成 AGS。*Ca. Accumulibacter* 在两次污泥颗粒化过程中相对丰度也增加明显, 但是在成熟 AGS 中占有很小的比例。有文献表明, 在一定温度范围 (20 ~ 30°C) 时, *Ca. Competibacter* 相对于 *Ca. Accumulibacter* 更占优势^[35]。在本研究中, 在 AGS 成熟阶段, 反应器温度为 (25 ± 2) °C, 这可能导致

Ca. Accumulibacter 在成熟 AGS 中失去生长优势, 占较小比例。以上结果表明, 属于变形菌门 (Proteobacteria) 的 *Ca. Competibacter* 的富集可能有利于 AGS 的形成。

硝化螺菌属 (*Nitrospira*)、亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas*)、*Haliangium* 和 *Candidatus Microthrix* 的相对丰度在两次污泥颗粒化过程中都明显减少, 亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas*) 的高通量测序结果和 qPCR 结果一致。动胶杆菌属 (*Zoogloea*)、陶厄氏菌属 (*Thauera*)、OM27 clade 和 *Plasticicumulans* 在由种泥初步变为 AGS 过程中相对丰度明显增加, 由破碎污泥再次聚集为 AGS 过程中相对丰度反而减少, 这些属的变化情况可能是由于种泥和破碎污泥间不同的生物特性导致, 和活性污泥的颗粒化没有密切关系。

陶厄氏菌属 (*Thauera*) 的一个菌株 *Thauera* sp. MZ1T 被证明可以产生 PS 并且可以促进细胞的絮凝^[36], 然而, 陶厄氏菌属 (*Thauera*) 的其他菌株并未被发现能够产生 PS。本文陶厄氏菌属 (*Thauera*) 约 94.77% ~ 98.04% 的序列同属于一个 OTU, 经 NCBI 16S rRNA 细菌/古菌数据库比对, 此 OTU 属于 *Thauera aminoaromatica* strain S2 (NR_027211.1, 相似度 99%), 并且其他序列也不属于 *Thauera* sp. MZ1T。因此本研究的陶厄氏菌属 (*Thauera*) 和活性污泥的颗粒化没有密切关系。动胶杆菌属 (*Zoogloea*) 在许多其他颗粒化研究中被检测到, 但是并未证明其在颗粒化过程中是否起到关键作用^[37]。



第一次颗粒化过程丰度变化值为第 30 d 样品在属水平的相对丰度减去种泥的相对丰度; 第二次颗粒化过程丰度变化值为第 75 d 样品在属水平的相对丰度减去第 60 d 样品的相对丰度

图 5 两次污泥颗粒化过程中细菌相对丰度变化

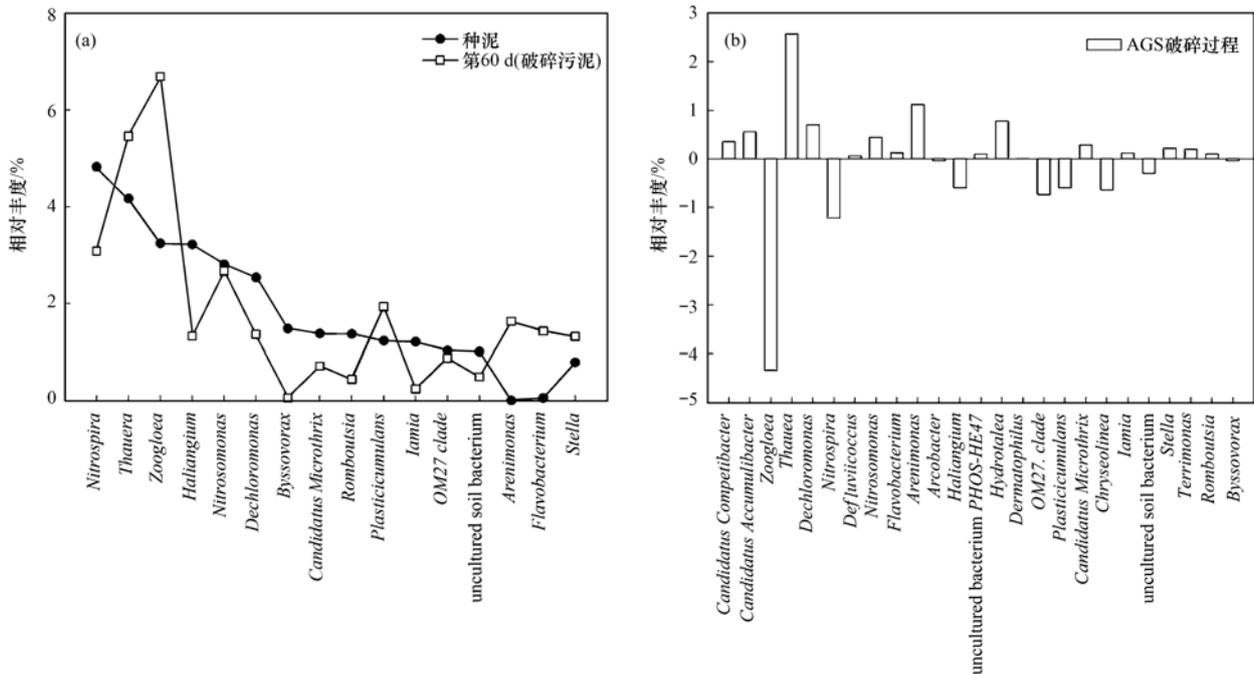
Fig. 5 Relative abundance variations during two sludge granulation processes

图 6(a) 比较了种泥主要属的相对丰度值和第 60 d 样品 (破碎污泥) 主要属的相对丰度值, 以揭示

种泥和破碎污泥两个样品在属水平的微生物群落结构差异。图 6(b) 描述了破碎过程中主要属相对丰

度的变化情况,以揭示破碎过程中颗粒污泥的微生物群落结构变化情况.和种泥相比,动胶杆菌属(*Zoogloea*)在破碎污泥(第60 d样品)中相对丰度更高,高达6.70%.除此之外,陶厄氏菌属(*Thauera*)、*Haliangium*、*Byssovorax*、*Arenimonas*和*Flavobacterium*在种泥和破碎污泥两个样品中相对丰度差异均明显[图6(a)].种泥和破碎污泥间主

要属差异明显,其原因可能是因为破碎污泥是由AGS破碎形成,在破碎过程中一些属的相对丰度并未明显变化[图6(b)],并且PCA分析(图3)也表明第45 d样品和第60 d样品(破碎污泥)间的微生物群落组成相似,而种泥和AGS的微生物群落组成有明显的差异,因此,种泥和第60 d破碎污泥的主要属的组成差异明显.



图中 AGS 破碎过程相对丰度变化值为第 60 d 样品的相对丰度减去第 45 d 样品的相对丰度

图 6 种泥和第 60 d 样品的主要属的相对丰度比较以及破碎过程中主要属的相对丰度变化

Fig. 6 Comparison of the relative abundance of dominant genera between seed sludge and the sample on day 60 and variations in relative abundance for dominant genera during the process of AGS disintegration

3 结论

(1)在本实验培养 AGS 过程中,实现了两次污泥颗粒化过程,并且在此过程中 AGS 的 PN 和 PS 含量均增加,PN 和 PS 含量的增加,可能促进了 AGS 的形成.

(2)AOA 在第一次污泥颗粒化过程中以及 AGS 成熟过程丰度增加,AOB 虽然在第一次颗粒化过程中丰度降低,但是在整个培养过程中,一直维持很高的丰度,且一直高于 AOA;AOA 和 AOB 可能共同参与了 AGS 的氨氧化作用.

(3)在两次污泥颗粒化过程中,AGS 的微生物多样性均降低,部分微生物被洗除,细菌群落组成发生明显变化.变形菌门(Proteobacteria)的相对丰度在两次污泥颗粒化过程中均明显增加,并且属于变形菌门的 *Ca. Competibacter* 被富集,其可能有利于 AGS 的形成.

参考文献:

- [1] Gao D W, Liu L, Liang H, *et al.* Aerobic granular sludge: characterization, mechanism of granulation and application to wastewater treatment [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2011, **31**(2): 137-152.
- [2] Tay J H, Liu Q S, Liu Y. Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2001, **91**(1): 168-175.
- [3] Adav S S, Lee D J, Lai J Y. Effects of aeration intensity on formation of phenol-fed aerobic granules and extracellular polymeric substances [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, **77**(1): 175-182.
- [4] Deng S, Wang L X, Su H J. Role and influence of extracellular polymeric substances on the preparation of aerobic granular sludge [J]. *Journal of Environmental Management*, 2016, **173**: 49-54.
- [5] Adav S S, Lee D J, Show K Y, *et al.* Aerobic granular sludge: recent advances [J]. *Biotechnology Advances*, 2008, **26**(5): 411-423.
- [6] Chen X, Yuan L J, Lu W J, *et al.* Cultivation of aerobic granular sludge in a conventional, continuous flow, completely mixed activated sludge system [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2015, **9**(2): 324-333.

- [7] Zhu L, Dai X, Xu X, *et al.* Microbial community analysis for aerobic granular sludge reactor treating high-level 4-chloroaniline wastewater[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2014, **11**(7): 1845-1854.
- [8] Gonzalez-Gil G, Holliger C. Dynamics of microbial community structure of and enhanced biological phosphorus removal by aerobic granules cultivated on propionate or acetate[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, **77**(22): 8041-8051.
- [9] Zhang B, Ji M, Qiu Z G, *et al.* Microbial population dynamics during sludge granulation in an anaerobic-aerobic biological phosphorus removal system[J]. *Bioresource Technology*, 2011, **102**(3): 2474-2480.
- [10] He Q L, Zhou J, Wang H Y, *et al.* Microbial population dynamics during sludge granulation in an A/O/A sequencing batch reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2016, **214**: 1-8.
- [11] Liang Y H, Li D, Zeng H P, *et al.* Rapid start-up and microbial characteristics of partial nitrification granular sludge treating domestic sewage at room temperature [J]. *Bioresource Technology*, 2015, **196**: 741-745.
- [12] Wang J F, Qian F Y, Liu X P, *et al.* Cultivation and characteristics of partial nitrification granular sludge in a sequencing batch reactor inoculated with heterotrophic granules [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, **100**(21): 9381-9391.
- [13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [14] Frølund B, Palmgren R, Keiding K, *et al.* Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin [J]. *Water Research*, 1996, **30**(8): 1749-1758.
- [15] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, **72**(1-2): 248-254.
- [16] DuBois M, Gilles K A, Hamilton J K, *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. *Analytical Chemistry*, 1956, **28**(3): 350-356.
- [17] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. *Nature Methods*, 2010, **7**(5): 335-336.
- [18] Meinhardt K A, Bertagnolli A, Pannu M W, *et al.* Evaluation of revised polymerase chain reaction primers for more inclusive quantification of ammonia-oxidizing archaea and bacteria [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2015, **7**(2): 354-363.
- [19] Kowalchuk G A, Bodelier P L E, Heilig G H J, *et al.* Community analysis of ammonia-oxidising bacteria, in relation to oxygen availability in soils and root-oxygenated sediments, using PCR, DGGE and oligonucleotide probe hybridisation[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1998, **27**(4): 339-350.
- [20] Dionisi H M, Layton A C, Harms G, *et al.* Quantification of *Nitrosomonas oligotropha*-like ammonia-oxidizing bacteria and *Nitrospira* spp. from full-scale wastewater treatment plants by competitive PCR[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(1): 245-253.
- [21] Moy B Y P, Tay J H, Toh S K, *et al.* High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2002, **34**(6): 407-412.
- [22] McSwain B S, Irvine R L, Wilderer P A. The influence of settling time on the formation of aerobic granules [J]. *Water Science & Technology*, 2004, **50**(10): 195-202.
- [23] Liu Y, Tay J H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge [J]. *Water Research*, 2002, **36**(7): 1653-1665.
- [24] Wan C L, Yang X, Lee D J, *et al.* Partial nitrification using aerobic granule continuous-flow reactor: operations and microbial community [J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2014, **45**(5): 2681-2687.
- [25] de Kreuk M K, Pronk M, van Loosdrecht M C M. Formation of aerobic granules and conversion processes in an aerobic granular sludge reactor at moderate and low temperatures [J]. *Water Research*, 2005, **39**(18): 4476-4484.
- [26] Zhu L, Zhou J H, Lv M L, *et al.* Specific component comparison of extracellular polymeric substances (EPS) in flocs and granular sludge using EEM and SDS-PAGE [J]. *Chemosphere*, 2015, **121**: 26-32.
- [27] Adav S S, Lee D J, Tay J H. Extracellular polymeric substances and structural stability of aerobic granule [J]. *Water Research*, 2008, **42**(6-7): 1644-1650.
- [28] Szabó E, Hermansson M, Modin O, *et al.* Effects of wash-out dynamics on nitrifying bacteria in aerobic granular sludge during start-up at gradually decreased settling time [J]. *Water*, 2016, **8**(5): 172.
- [29] Limpiyakorn T, Fürhacker M, Haberl R, *et al.* *amoA*-encoding archaea in wastewater treatment plants: a review [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(4): 1425-1439.
- [30] Seviour T W, Lambert L K, Pijuan M, *et al.* Selectively inducing the synthesis of a key structural exopolysaccharide in aerobic granules by enriching for *Candidatus "Competibacter phosphatis"* [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, **92**(6): 1297-1305.
- [31] Lv Y, Wan C L, Lee D J, *et al.* Microbial communities of aerobic granules: granulation mechanisms [J]. *Bioresource Technology*, 2014, **169**: 344-351.
- [32] Liu Y, Liu Q S. Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors [J]. *Biotechnology Advances*, 2006, **24**(1): 115-127.
- [33] Weissbrodt D G, Lochmatter S, Ebrahimi S, *et al.* Bacterial selection during the formation of early-stage aerobic granules in wastewater treatment systems operated under wash-out dynamics [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, **3**: 332.
- [34] Tay J H, Liu Q S, Liu Y. The role of cellular polysaccharides in the formation and stability of aerobic granules [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2001, **33**(3): 222-226.
- [35] Erdal U G, Erdal Z K, Randall C W. The competition between PAOs (phosphorus accumulating organisms) and GAOs (glycogen accumulating organisms) in EBPR (enhanced biological phosphorus removal) systems at different temperatures and the effects on system performance [J]. *Water Science & Technology*, 2003, **47**(11): 1-8.
- [36] Allen M S, Welch K T, Prebyl B S, *et al.* Analysis and glycosyl composition of the exopolysaccharide isolated from the floc-forming wastewater bacterium *Thauera* sp. MZ1T [J]. *Environmental Microbiology*, 2004, **6**(8): 780-790.
- [37] Etterer T J. Formation, structure and function of aerobic granular sludge [D]. Munich: Technische Universität München, 2006.

CONTENTS

Estimation of Fine Particle (PM _{2.5}) Emission Inventory from Cooking: Case Study for Shanghai	WANG Hong-li, JING Sheng-ao, LOU Sheng-rong, <i>et al.</i> (1971)
Chemical Characterization, Spatial Distribution, and Source Identification of Organic Matter in PM _{2.5} in summertime Shanghai, China	GAO Ya-qin, WANG Hong-li, JING Sheng-ao, <i>et al.</i> (1978)
Seasonal Variation and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Salts in PM _{2.5} in the Southern Suburbs of Beijing	GAO Han-yu, WEI Jing, WANG Yue-si (1987)
Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Inorganic Ions in Road Dust PM _{2.5} During Spring in Tianjin Using the Quadrat Sampling Method	ZHAO Jing-qi, JI Ya-qin, ZHANG Lei, <i>et al.</i> (1994)
HONO Pollution Characteristics and Nighttime Sources During Autumn in Guangzhou, China	TIAN Zhi-lin, YANG Wen-da, YU Xiao-fang, <i>et al.</i> (2000)
Sulfur Sources and Oxidation Pathways in Summer Aerosols from Nanjing Northern Suburbs Using S and O Isotopes	HAN Xun, REN Jie, CHEN Shan-li, <i>et al.</i> (2010)
Methods for Determining and Applications of High-Resolution Vehicle Emission Inventory at County Scale	FAN Shou-bin, GUO Jin-jin, LI Xue-feng (2015)
Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Emitted from Typical Industrial Biomass Boilers	LIN Yu-jun, BAI Li, WANG Huan-xiang, <i>et al.</i> (2023)
Research of Parameter Uncertainty for the HSPF Model Under Different Temporal Scales	PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, MA Wen-jing (2030)
Contribution of Nitrogen Sources in Water Sources by Combining Nitrogen and Oxygen Isotopes and SIAR	JIN Zan-fang, ZHANG Wen-liao, ZHENG Qi, <i>et al.</i> (2039)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Volatile Organic Compounds in Baiyangdian Lake	GAO Qiu-sheng, ZHAO Yong-hui, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (2048)
Fluorescent Characteristics and Environmental Significance of Particulate Organic Matter in Lake Taihu, China	LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua, <i>et al.</i> (2056)
Distribution and Settlement of Microplastics in the Surface Sediment of Yangtze Estuary	ZHU Xiao-tong, YI Jun, QIANG Li-yuan, <i>et al.</i> (2067)
Water Chemistry and Characteristics of Dissolved Organic Carbon During the Wet Season in Wulixia Reservoir, SW China	LU Xiao-xuan, LI Qiang, JIN Zhen-jiang, <i>et al.</i> (2075)
Bioavailability of Dissolved Organic Carbon in Rivers for Typical Vegetation Types in the Permafrost Regions on the Qinghai-Tibet Plateau	MA Xiao-liang, LIU Gui-min, WU Xiao-dong, <i>et al.</i> (2086)
Characteristics of Dissolved Organic Matter (DOM) and Relationship with Dissolved Heavy Metals in a Peri-urban and an Urban River	LIANG Meng-qi, SHAO Mei-ling, CAO Chang-li, <i>et al.</i> (2095)
Migration and Transformation of Dissolved Organic Matter in Karst Water Systems and an Analysis of Their Influencing Factors	ZHANG Lian-kai, LIU Peng-yu, QIN Xiao-qun, <i>et al.</i> (2104)
Source and Distribution of Dissolved Metal Ions in the Backwater Area of Pengxi River in Three Gorges Reservoir	ZHAO Xiao-song, YU Jian-jun, FU Li, <i>et al.</i> (2117)
Differences in Diffusive Fluxes of Nutrients from Sediment Between the Natural River Areas and Reservoirs in the Lancang River Basin	WANG Xue, CHENG Bao, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (2126)
Nutrient Distribution Characteristics of the Sediment-water System in the Xiangxi River During the Impoundment of TGR	SU Qing-qing, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2135)
Effects of Submerged Macrophytes on Different Phosphorus Fractions in Overlying Water and Interstitial Water	YANG Wen-bin, GAO Shun-feng, WAN Rui, <i>et al.</i> (2145)
Distribution Characteristics and Fluxes of Nitrogen and Phosphorus at the Sediment-water Interface of Yuqiao Reservoir	WEN Shuai-long, GONG Wan-qing, WU Tao, <i>et al.</i> (2154)
Distribution of Phosphorus Fractions in Surface Sediments of Minjiang Mainstreams	YANG Geng, QIN Yan-wen, HAN Chao-nan, <i>et al.</i> (2165)
Nitrate Uptake Kinetics and Correlation Analysis in an Agricultural Drainage Ditch	LI Ru-zhong, YIN Qi-he, GAO Su-di, <i>et al.</i> (2174)
Influencing Factors for Phosphorus Removal by Modified Bio-ceramic Substrates Coated with ZnAl-LDHs Synthesized by Different Modification Conditions	XIANG Yang, ZHANG Xiang-ling, LEI Yu, <i>et al.</i> (2184)
Removal of Odorants in Drinking Water Using VUV/Persulfate	SUN Xin, SHI Lu-xiao, ZHANG Yi, <i>et al.</i> (2195)
Degradation of OG with Peroxymonosulfate Activated by a MnFe ₂ O ₄ -graphene Hybrid	XIA Wen-jun, LIU Feng, HAO Shang-bin, <i>et al.</i> (2202)
Mechanism of As(V) Removal from Water by Lanthanum and Cerium Modified Biochars	LI Jin, ZU Yan-qun, LI Gang, <i>et al.</i> (2211)
Adsorption of Dissolved Organic Matter with Different Relative Molecular Masses on Inorganic Minerals and Its Influence on Carbamazepine Adsorption Behavior	LIANG Yu, HE Jiang-tao, ZHANG Si (2219)
Pollution Characteristics of Organophosphorus Flame Retardants in a Wastewater Treatment Plant	SUN Jia-wei, DING Wei-nan, ZHANG Zhan-en, <i>et al.</i> (2230)
Enhanced Coagulation as a Pretreatment for Low Temperature Wastewater	LIU Hai-long, REN Yu-xia, ZHANG Zhong-min (2239)
Operating Characteristics and Fouling Characteristics of a RO Membrane System for Desalination of Dyeing Wastewater	TAN Yu-jun, ZHANG Ze-tian, WU Qian-yuan, <i>et al.</i> (2249)
Optimization of the Nitrogen Removal Performance on the CANON Process in a Biofilm Reactor: From FBBR to MBBR	FU Kun-ming, LI Hui, ZHOU Hou-tian, <i>et al.</i> (2256)
Microbial Community Dynamics During Two Sludge Granulation Processes	GAO Jing-feng, ZHANG Li-fang, ZHANG Shu-jun, <i>et al.</i> (2265)
Sludge Conditioning Performance of Polyaluminum, Polyferric, and Titanium Xerogel Coagulants	WANG Xiao-meng, WANG Xin, YANG Ming-hui, <i>et al.</i> (2274)
Effects of Heat and Heat-alkaline Treatments on Disintegration and Dissolved Organic Matter in Sludge	DAI Qin, ZHANG Wen-zhe, YU Pan-fen, <i>et al.</i> (2283)
Effect of Different Ratios of Anaerobic Time and Aeration Time on the Formation of Partial Nitrification Granules	LI Dong, GUO Yue-zhou, CAO Mei-zhong, <i>et al.</i> (2289)
Spatial and Temporal Variation of Mercury in Municipal Sewage Sludge in China	WANG Ning, LIU Qing-wei, ZHI Yin, <i>et al.</i> (2296)
Characteristics of N ₂ O Release and Influencing Factors in Grass-type and Algae-type Zones of Taihu Lake During Summer	ZHENG Xiao-lan, WEN Shuai-long, LI Xin, <i>et al.</i> (2306)
Analysis of Greenhouse Gas Emission Characteristics and Their Influencing Factors in the Algae Zone of Lake Taihu	JIA Lei, PU Yi-ni, YANG Shi-jun, <i>et al.</i> (2316)
Dynamics of CO ₂ and N ₂ O in Seasonal Frozen Soil Profiles for a Typical Steppe in Inner Mongolia	LI Jin-bo, YAO Nan, LI Xiu, <i>et al.</i> (2330)
Characteristics of CO ₂ Flux in a Mature Apple (<i>Malus domestica</i>) Orchard Ecosystem on the Loess Plateau	YANG Jian-feng, YANG Xiao-ni, WANG Jun-hua, <i>et al.</i> (2339)
Effects of Biochar Application Rates on Greenhouse Gas Emissions in the Purple Paddy Soil	QI Le, GAO Ming, GUO Xiao-min, <i>et al.</i> (2351)
Short-Term Effects of Different Fertilization Treatments on Greenhouse Gas Emissions from Northeast Black Soil	LI Ping, LANG Man, LI Miao, <i>et al.</i> (2360)
Eukaryotic Micro-plankton Community Diversity and Characteristics of Regional Distribution in the Yellow Sea by ITS High-throughput Sequencing	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (2368)
Influence of Different Patterns of Discharge on Microbial Diffusion in Municipal Treated Wastewater	LANG Xiu-lu, SONG Zhi-wen, XU Ai-ling, <i>et al.</i> (2380)
Impact of Tourism on Bacterial Communities of Karst Underground River: A Case Study from Two Caves in Fengdu, Chongqing	LÜ Xian-fu, HE Qiu-fang, WANG Feng-kang, <i>et al.</i> (2389)
Diversity of the Microbial Community in Rice Paddy Soil with Biogas Slurry Irrigation Analyzed by Illumina Sequencing Technology	ZHU Jin-shan, ZHANG Hui, MA Lian-jie, <i>et al.</i> (2400)
Effect of Biochar Amendment on Physicochemical Properties and Fungal Community Structures of Cinnamon Soil	YAN Hai-tao, YIN Quan-yu, DING Song-shuang, <i>et al.</i> (2412)
Carbon Metabolism Characteristics of the Karst Soil Microbial Community for Pb-Zn Mine Tailings	FANG Jun-jia, LI Qiang, LIU Chang, <i>et al.</i> (2420)
Denitrification Characteristics and Community Structure of Aerobic Denitrifiers from Lake and Reservoir Sediments	KANG Peng-liang, ZHANG Hai-han, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (2431)
Investigation of the Coupling Mechanism Between Naphthalene Degradation and Denitrification of a Naphthalene Degraded Bacterial Consortium Under Denitrification	ZHANG Ze-yu, WANG Ming-xia, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2438)
Spatial Distribution Study and Pollution Assessment of Pb in Soils in the Xijiang River Drainage of Guangxi	ZHANG Yun-xia, SONG Bo, CHEN Tong-bin, <i>et al.</i> (2446)
Effects of Agricultural Activities on Soil Mercury Changes in the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	CHEN Qiu-yu, SUN Song, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2456)
Screening and Identification of Arsenic-resistant Endophytic Bacteria from Different Rice Tissues (<i>Oryza sativa</i> L.) in Different Growth Stages	WANG Bo-xun, WANG Xue-dong, DUAN Gui-lan (2464)
Characteristics of Mercury Transformation in Soil and Accumulation in Rice Plants in an Acidic Purple Paddy Soil Area	LI Yu-qin, SUN Tao, DENG Han, <i>et al.</i> (2472)
Life Cycle Environmental Impact Assessment on Different Modes of Greenhouse Vegetable Production in the North China Plain	XU Qiang, HU Ke-lin, LI Ji, <i>et al.</i> (2480)
Health Effects of PM _{2.5} Based on Bacterial Toxicity Test and Transcriptional Analysis in Lungs of Mice	SONG Peng-cheng, LU Shu-yu, WEI Yong-jie, <i>et al.</i> (2489)
Socio-economic Factors Influencing the Spatial Distribution of PM _{2.5} Concentrations in China: An Exploratory Analysis	DUAN Jie-xiong, ZHAI Wei-xin, CHENG Cheng-qi, <i>et al.</i> (2498)