

甲烷胁迫下不同填埋场覆盖土的氧化活性及其菌群结构

何若, 姜晨竞, 王静, 高青军, 沈东升

(浙江大学环境工程系, 杭州 310029)

摘要: 对比研究了常规填埋场覆盖材料(粘土)和甲烷胁迫下垃圾生物处理后的材料(垃圾土)的甲烷氧化活性及其菌群结构。结果表明, 粘土由于持水能力弱, 其含水量较低, 随着环境温度、降水等条件的变化, 极易结块, 从而影响其中甲烷氧化菌的生长; 而垃圾土富含有机物, 持水力强, 空隙率高, 有利于甲烷氧化菌的生长和繁殖。暴露于甲烷气流 120 d 后, 垃圾土柱中下层土壤的甲烷氧化潜力达到了 $11.25 \sim 13.48 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$, 是相应粘土层甲烷氧化潜力的 10.4 ~ 24.5 倍。土柱上层土壤由于水分蒸发、变干, 抑制了其甲烷氧化活性。试验结束时, 垃圾土柱甲烷氧化去除率达到了 48.3%, 是粘土柱的 5 ~ 6 倍。甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 的生物标记物 PLFAs 16:1 ω 8c 和 18:1 ω 8c 分析表明, 土样的 PLFA18:1 ω 8c 含量与其甲烷氧化潜力具有很好的线性相关性。

关键词: 甲烷氧化; 填埋场覆盖土; 菌群结构; 磷脂脂肪酸

中图分类号: X705 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)12-3574-06

Effects of Methane Stress on Oxidation Rates and Microbial Community Structures in Different Landfill Cover Soils

HE Ruo, JIANG Chen-jing, WANG Jing, GAO Qing-jun, SHEN Dong-sheng

(Department of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: As compared with the ordinary landfill cover material, clay soil, the effect of methane stress on oxidation rate and microbial community structure was investigated in waste soil (material from biologically treated municipal solid waste). The results showed that the moisture content of the clay soil was low, due to the low water retaining capacity. As environmental temperature and rainfall changed, the clay soil caked and inhibited methanotrophs growth. However, with a high organic matter, water-holding capacity and porosity, the waste soil provided a favor condition for methanotrophs growth and propagation. After exposure to methane flow for 120 days, methane oxidation potential in the middle and bottom layers of the waste soil column increased to $11.25\text{--}13.48 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$, which was 10.4–24.5 times higher than that in clay soil column. The topsoils were both found to be dried and inhibit methane oxidation. Methane oxidation (removal) efficiency by the waste soil column reached 48.3% at the end of the experiment, which was 5–6 times higher than that by the clay soil column. The amounts of the phospholipid fatty acid (PLFA) biomarkers 16:1 ω 8c and 18:1 ω 8c for Type I and II methanotrophs, respectively, showed that a strong linear relationship was observed between methane oxidation potential and PLFA 18:1 ω 8c content in soil samples.

Key words: methane oxidation; landfill cover soil; microbial community structure; phospholipid fatty acids (PLFA)

填埋场是大气甲烷的重要生物源之一, 其每年甲烷排放总量为 20 ~ 70 Tg, 仅次于水稻田的贡献, 在控制全球性气候变暖的过程中是一个不容忽视的方面^[1]。填埋气从填埋场向大气的排放过程中, 一部分甲烷会在填埋场覆盖土层中甲烷氧化菌作用下氧化为 CO_2 和 H_2O 。土壤的甲烷氧化作用是一个甲烷氧化菌介入的复杂的生物学过程。填埋场覆盖土层的结构、土壤颗粒大小、含水率、植被的生长等都影响其中甲烷氧化菌的活性^[2~4]。优化填埋场覆盖土层的结构, 提高其甲烷氧化活性, 以减少填埋场温室气体甲烷的排放问题已引起了科学家们的关注^[5,6]。

生物处理后的已稳定化垃圾是一种类似腐殖质的颗粒状土壤物质, 它具有良好的多孔性结构, 较大

的比表面积, 较强的阳离子交换容量(0.679 meq/g), 并且干垃圾中细菌数量可达到 10^8 个/g, 接近常规较肥沃壤土^[7,8]。Jokela 等^[9]认为多孔性的已稳定化垃圾具有较好的生物载体性能, 是一种廉价的硝化反应器填料。赵由才等^[10]的研究也表明已稳定化的垃圾是一种性能良好的污水处理介质。目前国内外采用已稳定化垃圾作为填埋场的替代覆盖材料已有了一定的研究^[11,12], 但主要侧重于已稳定化垃圾的渗透系数、抗剪切性能、植被的生长、浸出毒性、膨胀和

收稿日期: 2008-01-05; 修订日期: 2008-04-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(50478083); 浙江省自然科学基金项目(Y5080154); 浙江省教育厅项目(20070055)

作者简介: 何若(1975 ~), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向为废物生物处理与资源化技术, E-mail: heruo@zju.edu.cn

收缩性状等作为填埋场替代覆盖材料的可行性研究, 而对其氧化甲烷及其微生物学特性的研究尚少见报道. 本试验对比研究了常规的填埋场覆盖材料(粘土)和甲烷胁迫下垃圾生物处理后的材料(垃圾土)的甲烷氧化性能及其菌群结构的变化.

1 材料与方法

1.1 材料

本试验采用垃圾土和粘土 2 种土壤, 其中粘土取自杭州市天子岭废弃物处理总场填埋年龄超过 6 a 区域的覆盖系统; 垃圾土取自实验室填埋年龄 3 a 的垃圾填埋场反应器. 土壤剔除掉大颗粒物(如石头、塑料、纤维织物等), 过 4 mm 筛后备用. 供试土壤的主要理化性质见表 1.

表 1 供试土壤的主要理化性

土壤	颗粒组成/%				pH	含水率 /%	有机碳 /mg·kg ⁻¹	生物碳 /mg·kg ⁻¹	总磷/mg·kg ⁻¹	总氮 /mg·kg ⁻¹	总孔隙率 /%
	2~4 mm	0.02~2 mm	0.002~0.02 mm	<0.002 mm							
垃圾土	18.3±3.4 ¹⁾	53.2±2.1	15.9±3.1	12.6±4.7	7.13±0.06	56.2±1.2	3 090.3±33.2	1 520.0±14.9	330.4±12.7	238.7±14.6	63.1±3.4
粘土	9.5±1.2	27.1±2.5	38.7±4.2	24.7±1.3	7.16±0.04	14.0±2.1	600.2±10.4	236.5±7.9	60.3±4.9	51.7±3.7	41.7±2.7

1) 平均值±标准偏差, 余同

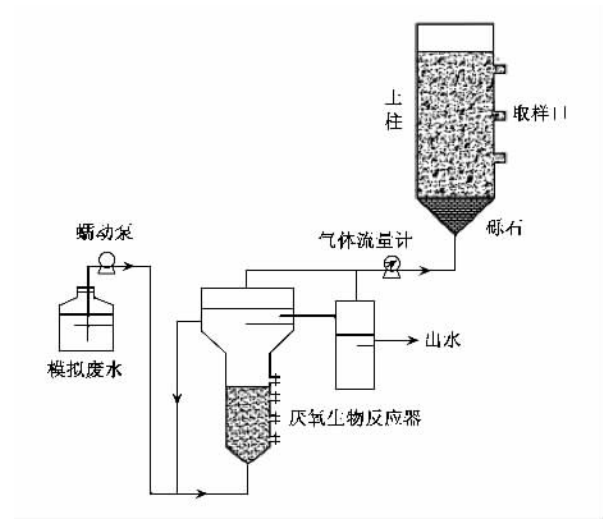


图 1 试验土柱系统示意

1.3 土壤样品处理

试验期间定期从土柱的上、中、下 3 个取样口各取土壤样品约 60 g, 分别放入塑料袋中, 混合均匀, 然后从塑料袋中取出 40 g 土壤样品测定甲烷氧化潜力和磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)含量, 剩余土壤在 105℃ 烘 16 h 至恒重, 测定垃圾的含水量.

1.4 甲烷氧化潜力和排放通量测定

1.2 试验装置与方法

试验土柱采用聚乙烯塑料管, 直径 15.8 cm, 高 40 cm (图 1). 塑料管底部设置一个直径 1.2 cm 小管, 作为进气口, 侧面有 3 个取样口, 分别距管口 10、20 和 30 cm. 土柱体底部先垫 1 层 3~4 cm 厚的 1 cm 小石块, 其上再铺设 1~2 cm 厚的 0.4 cm 砾石, 土柱体内土壤高度为 30 cm, 湿密度约为 750 kg/m³. 试验期间每 3 d 添加 2 mL 自来水到土壤表面. 甲烷来源于模拟废水的厌氧生物降解, 每一个土柱各自设置厌氧生物反应器甲烷产生源. 模拟废水组成为 (g/L): 蔗糖, 4.5; NH₄Cl, 0.06; KH₂PO₄, 1.46; K₂HPO₄, 0.5; NaHCO₃, 6.6. 试验期间土柱进气中含甲烷平均体积分数为 70%, 平均速率为 9.4~10.2 L/d. 试验土柱在室内进行, 室温为 24.5~33℃.

取 2 g 土壤样品放入 60 mL 血清瓶中, 塞好橡胶塞, 注入甲烷至浓度为 5%. 在相同条件下以灭菌处理的土样作为对照. 所有土样设 3 个重复. 血清瓶在 30℃±1℃ 恒温室内培养, 每隔 2~3 h 取 0.5 mL 气体样品, 测定其中甲烷浓度. 甲烷浓度的测定采用气相色谱法^[13], 然后根据甲烷浓度的变化计算甲烷氧化潜力^[14].

甲烷排放通量的测定采用改进静态箱法. 一个无底的有机玻璃长方体(5 cm×5 cm×8 cm)挤入土柱土壤 3 cm 深, 第 0、5、10、15、20 min 取静态箱(长方体)内气体和土柱进气样品, 测定甲烷浓度. 甲烷排放通量计算如下式:

$$F = \frac{273Vdc/dt}{22.4ST}$$

式中, F 为甲烷排放通量, mol/(m²·d); V 为静态箱的有效体积, m³; dc/dt 为单位时间静态箱内甲烷浓度的变化, L/(m³·d); S 为静态箱的面积, m²; T 为静态箱内温度, K.

然后再根据土柱体进气甲烷流量和排放通量, 计算土柱体甲烷氧化去除率.

1.5 PLFA 分析

PLFA 的测定参照文献[15, 16]. 称取 1.5 g 冷冻干燥土样于干净的 Teflon 离心管内, 采用修正的 Bligh-Dyer 方法^[17]提取脂类, 通过硅胶柱层析法分离

得到磷脂脂肪酸,经碱性甲酯化后,用气相色谱法测定.总 PLFA 测定参照文献[16].

2 结果与讨论

2.1 土壤水分的动态变化

不同土壤由于质地结构的差异,其持水能力差异很大.在试验 2 种土壤中,垃圾土含水量较大,达到 56.2%,而粘土含水量仅为 14.0%(表 2).试验前 45 d 土柱内不同层间的土壤含水量没有显著的差异,但从第 45 d 开始,土柱体上层土壤的含水率出现急剧下降,到第 83 d 达到最低值.中层土壤含水量也出现下降,但相比上层土壤而言,其含水量下降较少.粘土柱下层土壤的含水量基本不变,在垃圾土柱中,由于模拟降水(自来水的添加),下层土壤含水量有所增加.这表明随着环境温度、降水等条件的变化,填埋场覆土层的含水量处于动态变化,通常上层土壤水分易蒸发,含水量较低.

表 2 不同土柱层土样含水量的变化/%

土样		取样时间/d						
		0	14	29	45	62	83	120
垃圾土	上层	56.2	53.6	49.1	50.6	44.5	15.5	26.1
	中层	56.2	54.7	55.4	50.4	52.8	45.3	46.5
	下层	56.2	55.8	57.1	57.9	59.4	59.2	61.3
粘土	上层	14.0	11.3	10.4	9.7	8.9	5.5	8.4
	中层	14.0	12.2	11.0	11.8	10.6	8.5	9.1
	下层	14.0	14.5	14.3	13.1	13.3	13.0	13.1

2.2 土壤甲烷氧化潜力

试验开始时(0 d)垃圾土和粘土的甲烷氧化潜力都较低,分别为 0.53 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 和 0.36 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$.暴露于甲烷气流 14 d 后,垃圾土的甲烷

氧化潜力迅速增长,达到 2.4 ~ 2.94 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$.在第 14 ~ 45 d 垃圾土的甲烷氧化潜力较为稳定,但从第 45 d 开始,垃圾土的甲烷氧化潜力出现了第 2 次增长趋势,到第 120 d 垃圾土柱的中层和下层土壤的甲烷氧化潜力分别为 13.48 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 和 11.25 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$.上层土壤由于水分蒸发,含水率的下降,在第 83 d 和 120 d 垃圾土的甲烷氧化潜力降至 0.68 ~ 0.69 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$.垃圾土的甲烷氧化潜力与含水率的变化表明,当垃圾土含水率高于 45% 时,其甲烷氧化潜力受含水率的变化影响不大. Hilger 等^[18]研究也发现含水率 45% 的垃圾堆肥具有较高的甲烷氧化活性.

与垃圾土相比,甲烷气流对粘土的氧化潜力影响较小.在第 29 d 粘土的甲烷氧化潜力有稍许提高,此后下层粘土甲烷氧化潜力维持在 1.0 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 左右.在第 62 d 后粘土柱中层土壤甲烷氧化潜力也较低.这主要是由于粘土粘粒($<0.002\text{ mm}$)含量高、有机碳(有机质)含量低,持水能力弱,干湿交替的环境易使粘土结块,致使气流(氧气和甲烷)与粘土中的微生物的接触率降低,甲烷氧化活性低.

当上层土壤变干时,氧气在土柱体中下层扩散量提高.试验垃圾土柱最大甲烷氧化速率发生在中层,10 ~ 20 cm 深处;而粘土柱发生在下层,20 ~ 30 cm 深处. Kightley 等^[14]发现最大甲烷氧化潜力在填埋场覆土层的 20 ~ 30 cm 处. Visvanathan 等^[19]报道最大甲烷氧化速率发生在 15 ~ 40 cm 深处.不同填埋场覆盖材料,其甲烷氧化潜力差异很大.采用高有机物含量和空隙率的生物覆盖物(biocover),如堆肥、垃圾生物处理后材料等,作为填埋场覆盖材料可提供给甲烷氧化菌适宜的生长和营养条件,提高土壤的甲烷氧化活性^[5,6].

表 3 不同土柱层土样的甲烷氧化潜力/ $\mu\text{mol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$

土样		取样时间/d						
		0	14	29	45	62	83	120
垃圾土	上层	0.53 ± 0.11 ¹⁾	2.94 ± 0.24	1.96 ± 0.27	2.61 ± 0.47	2.32 ± 0.51	0.68 ± 0.39	0.69 ± 0.27
	中层	0.53 ± 0.11	2.40 ± 0.78	2.43 ± 0.42	2.42 ± 0.13	5.23 ± 0.87	12.87 ± 0.76	13.48 ± 0.81
	下层	0.53 ± 0.11	2.60 ± 0.21	1.78 ± 0.41	2.37 ± 0.27	4.86 ± 0.54	10.23 ± 0.39	11.25 ± 0.63
粘土	上层	0.36 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.51 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.14 ± 0.04	0.17 ± 0.05	0.20 ± 0.07
	中层	0.36 ± 0.02	0.38 ± 0.02	1.02 ± 0.02	0.98 ± 0.10	0.43 ± 0.07	0.60 ± 0.09	0.55 ± 0.05
	下层	0.36 ± 0.02	0.33 ± 0.02	1.14 ± 0.05	1.09 ± 0.03	1.31 ± 0.08	1.13 ± 0.10	1.08 ± 0.09

1) 平均值 ± 标准偏差,余同

2.3 甲烷氧化去除性能

试验期间土柱体进气甲烷流量约为 16 $\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$ (图 2).在第 7 d 垃圾土和粘土柱对甲烷

的氧化去除率分别为 5.8% 和 4.7%.暴露于甲烷气流后,垃圾土柱对甲烷氧化去除率一直处于增长趋势,到第 115 d 达到 48.3%;而粘土柱虽然在第 32 ~

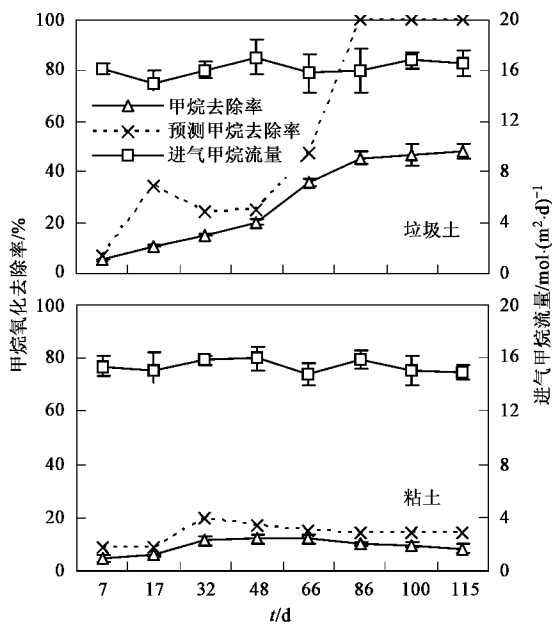


图2 试验期间土柱进气甲烷流量和甲烷氧化去除率
Fig.2 Methane influent flux in the experiment soil columns, methane oxidation (removal) efficiency by the soil columns, as a function of time

86 d 期间有稍许增长,但整体其甲烷活性不高,去除率保持在 8.6% ~ 12.3%.这可能因为粘土取自填埋场覆盖系统,其中的微生物菌群结构已适应了甲烷气流的胁迫,再继续暴露于甲烷气流对其氧化甲烷能力影响不大.相比于粘土,高有机物含量和空隙率的垃圾土有利于甲烷氧化菌的生长,有较高的甲烷氧化活性.

基于甲烷氧化潜力(最大可能甲烷氧化速率),预测无氧限制时土柱体对甲烷氧化去除率如图 2 所示.当甲烷氧化潜力低于 5.2 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 时,预测的甲烷氧化去除率接近于实际值.当甲烷氧化潜力高于 10 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,预测甲烷氧化去除率达到 100%,而实际甲烷氧化去除率仅为 45.6% ~ 48.3%.这主要有两方面原因:一是由于垃圾土中有机物的进一步降解,土柱体内的实际甲烷量高于进气甲烷量;二是持续的甲烷气流,土柱体内的氧气浓度较低,导致低的甲烷氧化去除率.氧气浓度对甲烷氧化的影响可用下式表示,最适的甲烷氧化区域为氧气浓度接近于 K_{O_2} ^[20]:

$$\gamma_{CH_4} = - \left(k_1 \varphi + \frac{V_{\max} \varphi}{K_m + \varphi} \right) \frac{[O_2]}{K_{O_2} + [O_2]}$$

式中, γ_{CH_4} 为甲烷氧化速率, $\text{mL}/(\text{m}^3 \cdot \text{min})$; $V_{\max}$ 为最大甲烷氧化速率, $\text{mL}/(\text{m}^3 \cdot \text{min})$; K_m 为半饱和常数, %; k_1 为一级反应速率常数, min^{-1} ; φ 为甲烷体

积分分数, %; K_{O_2} 为无氧限制时半饱和和常数, %.

2.4 微生物群落结构的变化

PLFA 是微生物细胞的稳定组成成分,其种类及组成比例可以反映环境样品中微生物群落结构的变化^[15].根据甲烷氧化菌的形态、生理生化特性、胞内质膜等的差异,甲烷氧化菌可分为 Type I、Type II 和 Type X 3 种.环境中甲烷氧化菌主要为 Type I 和 Type II, Type X 目前检出的是类似于荚膜甲基球菌 (*Methylococcus capsulatus*) 的甲烷氧化菌,它结合了 Type I 和 Type II 的特征^[21].不同类型的甲烷氧化菌 PLFA 的组成不同.甲烷氧化菌 Type I 和 Type X 以 C16 脂肪酸作为其组成的主要 PLFA,而甲烷氧化菌 Type II 主要以 C18 脂肪酸为主. PLFAs 16:1 ω 8c 和 18:1 ω 8 可作为环境样品中甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 的生物标记物^[21,22].

试验土样中甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 的生物标记物 PLFAs 16:1 ω 8c 和 18:1 ω 8c 含量如图 3 所示.初始时(0 d)垃圾土样中 PLFAs 16:1 ω 8c 和 18:1 ω 8c 含量都较低,暴露于甲烷气流 29 d 和 120 d 后,除上层土壤外,垃圾土样中 PLFAs 16:1 ω 8c 和 18:1 ω 8c 都出现了增长,这表明甲烷气流胁迫下垃圾土中甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 都出现了增长.相比垃圾土,试验粘土中甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 增长较小,尤其是上中层土壤,由于土壤变干,其中甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 的生长受到了抑制.

甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 出现在不同的土壤环境中.不同类型的甲烷氧化菌其甲烷氧化活性差异很大,土样间甲烷氧化菌的总数量与其甲烷氧化潜力没有相关性^[8].统计分析试验甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 的生物标记物 PLFAs 16:1 ω 8c 和 18:1 ω 8c 含量和甲烷氧化潜力,发现土样甲烷氧化潜力与 PLFA 18:1 ω 8c 具有很好的线性相关性,而与 PLFA 16:1 ω 8c 的线性相关性较差(图 4).这主要是因为试验土壤暴露于高浓度甲烷下,即使其表层,甲烷排放通量也大于 8 $\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$,甚至达到 14 $\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$,而一般甲烷氧化菌 Type II 对甲烷的亲合力低但对氧的亲合力高,甲烷氧化菌 Type I 只有在较高氧分压下才能氧化甲烷,大气甲烷的氧化主要由甲烷氧化菌 Type I 来完成^[23,24].

3 结论

(1)甲烷气流胁迫下垃圾土的甲烷氧化潜力出现了增长,到第 120 d 垃圾土柱中下层的甲烷氧化潜力达到了 11.25 ~ 13.48 $\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$,是相应粘土

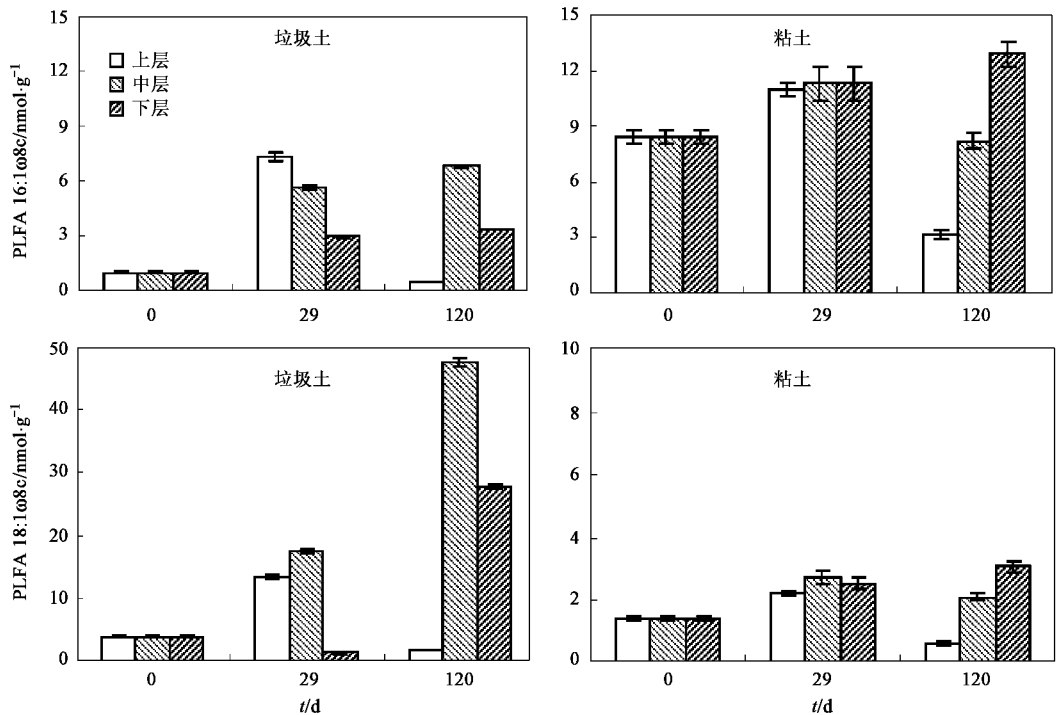


图 3 土样中甲烷氧化菌 I 和 II PLFAs 生物标记物 16:1ω8c 和 18:1ω8c 的含量

Fig.3 Abundance of PLFAs biomarkers 16:1ω8c and 18:1ω8c for type I and II methanotrophs in soil samples

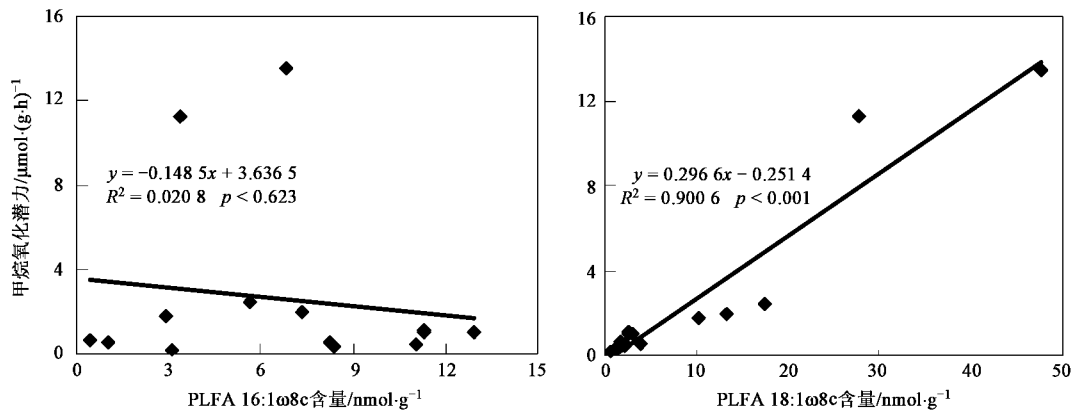


图 4 土样的甲烷氧化潜力与 PLFAs 16:1ω8c 和 18:1ω8c 含量的关系

Fig.4 Methane oxidation potential as a function of PLFAs 16:1ω8c and 18:1ω8c in soil samples

层甲烷氧化潜力的 10.4 ~ 24.5 倍. 土柱上层土壤由于水分蒸发、变干, 抑制了其甲烷氧化活性. 试验垃圾土柱最大甲烷氧化速率出现在中层, 10 ~ 20 cm 深处, 而粘土柱出现在下层, 20 ~ 30 cm 深处.

(2) 甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 的生物标记物 PLFA 16:1ω8c 和 18:1ω8c 分析表明, 甲烷气流胁迫下垃圾土和粘土中甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 都出现了增长. 相比垃圾土, 粘土中甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 增长较小, 尤其是上中层土壤, 由于土壤变干, 其中甲烷氧化菌 Type I 和 Type II 的生长受

到了抑制. 土样 PLFA 18:1ω8c 与其甲烷氧化潜力具有很好的线性相关性.

(3) 垃圾土富含有机物, 持水力强、空隙率高, 有利于甲烷氧化菌的生长和繁殖, 甲烷氧化活性高. 试验垃圾土柱甲烷氧化去除率可高达 48.3%, 是粘土柱的 5 ~ 6 倍. 这表明生物处理后的垃圾材料(垃圾土)是一种良好的减少填埋场温室气体甲烷排放的替代覆盖材料.

参考文献:

[1] Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Emissions

- scenarios, special report of the intergovernmental panel on climate change[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2000.
- [2] Börjesson G, Sundh I, Tunlid A, *et al.* Methane oxidation in landfill cover soil, as revealed by potential oxidation measurements and phospholipid fatty acid analyses [J]. *Soil Biol Biochem*, 1998, **30**: 1423-1433.
- [3] Mandemack K W, Kinney C A, Coleman D, *et al.* The biogeochemical controls of N_2O production and emission in landfill cover soils: The role of methanotrophs in the nitrogen cycle [J]. *Environ Microbiol*, 2002, **2**: 298-309.
- [4] Börjesson G, Sundh I, Svensson B. Microbial oxidation of CH_4 at different temperatures in landfill cover soils [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2004, **48**(3): 305-312.
- [5] Einola J M, Karhu A E, Rintala J A. Mechanically-biologically treated municipal solid waste as a support medium for microbial methane oxidation to mitigate landfill greenhouse emissions [J]. *Waste Manage*, 2008, **28**(1): 97-111.
- [6] Stern J C, Chanton J, Abichou T, *et al.* Use of a biologically active cover to reduce landfill methane emissions and enhance methane oxidation [J]. *Waste Manage*, 2007, **27**(9): 1248-1258.
- [7] 郭亚丽, 赵由才, 徐迪民. 上海老港生活垃圾填埋场陈垃圾的基本特性研究 [J]. *上海环境科学*, 2002, **21**(11): 669-671, 679.
- [8] Ruo H, Ruan A D, Shen D S. Effects of methane on the microbial populations and oxidation rates in different landfill cover soil columns [J]. *J Environ Sci Health, Part A*, 2007, **42**(6): 785-793.
- [9] Jokela J P Y, Kettunen R H, Sormunen K M. Biological nitrogen removal from municipal landfill leachate: low-cost nitrification in biofilters and laboratory scale in-situ denitrification [J]. *Wat Res*, 2002, **36**(16): 4079-4087.
- [10] Zhao Y C, Li H, Wu J, *et al.* Treatment of leachate by aged-refuse-based biofilter [J]. *J Environ Eng*, 2002, **128**: 662-668.
- [11] 沈英娃, 高吉喜, 舒俭民, 等. 城市垃圾填埋场生态恢复工程表面覆盖材料的研究 [J]. *环境科学研究*, 1997, **10**(6): 10-14.
- [12] Mohan R K, Herlich J B, Hossner L R, *et al.* Reclamation of solid waste landfills by capping with dredged material [J]. *J Hazard Mater*, 1997, **53**: 141-164.
- [13] 钱泽澍, 闵航. 沼气发酵微生物学 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1986. 210-230.
- [14] Kightley D, Nedwell D B, Cooper M. Capacity for methane oxidation in landfill cover soils measured in laboratory-scale soil microcosms [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, **61**: 592-601.
- [15] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review [J]. *Biol Fert Soils*, 1999, **29**: 111-129.
- [16] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2006. 148-170.
- [17] Petersen S O, Klug M J. Effect of sieving, storage, and incubation temperature on the phospholipid fatty acid profile [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, **60**: 2421-2430.
- [18] Hilger H, Humer M. Biotic landfill cover treatments for mitigating methane emissions [J]. *Environ Monitor Assess*, 2003, **84**: 71-84.
- [19] Visvanathan C, Pokhrel D, Cheimchaisri W, *et al.* Methanotrophic activities in tropical landfill cover soils: effects of temperature, moisture content and methane concentration [J]. *Waste Manage Res*, 1999, **17**: 313-323.
- [20] Visscher A D, Thomas D, Boeckx P, *et al.* Methane oxidation in simulated landfill cover soil environments [J]. *Environ Sci Technol*, 1999, **33**: 1854-1859.
- [21] Hanson R S, Hanson T E. Methanotrophic bacteria [J]. *Microbiol Rev*, 1996, **60**: 439-471.
- [22] Gebert J, Gröngöft A, Schlöter M, *et al.* Community structure in a methanotroph biofilter as revealed by phospholipid fatty acid analysis [J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2004, **240**: 61-68.
- [23] Whalen S C, Reeburgh W S, Sandbeck K A. Rapid methane oxidation in a landfill cover soil [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1990, **56**: 3405-3411.
- [24] Mancinelli R L. The regulation of methane oxidation in soil [J]. *Annu Rev Microbiol*, 1995, **49**: 581-605.