

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第2期

Vol.34 No.2

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

16 届亚运会期间广州城区 PM _{2.5} 化学组分特征及其对霾天气的影响	陶俊, 柴发合, 高健, 曹军骥, 刘随心, 张仁健 (409)
北京地区秋季雾霾天 PM _{2.5} 污染与气溶胶光学特征分析	赵秀娟, 蒲维维, 孟伟, 马志强, 董璠, 何迪 (416)
上海市秋季大气 VOCs 对二次有机气溶胶的生成贡献及来源研究	王倩, 陈长虹, 王红丽, 周敏, 楼晟荣, 乔利平, 黄成, 李莉, 苏雷燕, 牟莹莹, 陈宜然, 陈明华 (424)
杭州市大气超细颗粒物浓度谱季节性特征	谢小芳, 孙在, 付志民, 杨文俊, 林建忠 (434)
保定市大气气溶胶中正构烷烃的污染水平及来源识别	李杏茹, 杜熙强, 王英锋, 王跃思 (441)
春节期间西安城区碳气溶胶污染特征研究	周变红, 张承中, 王格慧 (448)
华东区域高山背景点 PM ₁₀ 和 PM _{2.5} 背景值及污染特征	苏彬彬, 刘心东, 陶俊 (455)
基于电子鼻土壤与地下水污染修复现场 TVOC 和恶臭的评估	田秀英, 蔡强, 刘锐, 张永明 (462)
积融雪控制下土壤大气间汞交换通量特征	张刚, 王宁, 艾建超, 张蕾, 杨净, 刘子琪 (468)
靖海湾重金属污染及铅稳定同位素溯源研究	徐林波, 高勤峰, 董双林, 刘佳, 傅秀娟 (476)
正构烷烃及单体碳同位素记录的石臼湖生态环境演变研究	欧杰, 王延华, 杨浩, 胡建芳, 陈霞, 邹军, 谢云 (484)
干旱区城市昌吉降雪及积雪中 PGEs 含量分布及其影响因素	刘玉燕, 刘浩峰, 张兰 (494)
降尘收集方法对降尘效率的影响	张正偲, 董治宝 (499)
海河流域水生生态功能一级二级分区	孙然好, 汲玉河, 尚林源, 张海萍, 陈利顶 (509)
长江中下游浅水湖泊水下辐照度漫射衰减特征研究	时志强, 张运林, 王明珠, 刘笑茵 (517)
内陆水体叶绿素反演模型普适性及其影响因素研究	黄昌春, 李云梅, 徐良将, 杨浩, 吕恒, 陈霞, 王延华 (525)
溶氧对富集培养的河口湿地表层沉积物氨氧化菌多样性及氨氧化速率的影响	邱昭政, 罗专溪, 赵艳玲, 颜昌宙 (532)
自然条件下盐城海滨湿地土壤水分/盐度空间分异及其与植被关系研究	张华兵, 刘红玉, 李玉凤, 安静, 薛星宇, 侯明行 (540)
淮河流域农业非点源污染空间特征解析及分类控制	周亮, 徐建刚, 孙东琪, 倪天华 (547)
高岚河不同降雨径流类型磷素输出特征	崔玉洁, 刘德富, 宋林旭, 陈玲, 肖尚斌, 向坤, 张涛 (555)
城市雨水径流水质演变过程监测与分析	董雯, 李怀恩, 李家科 (561)
复合人工湿地系统强化处理单元的运行特性与效果	任峰, 陆忆夏, 刘琴, 汤杨杨, 王世和, 高海鹰, 乔红杰, 王为进 (570)
给水管网中耐氯分枝杆菌的灭活特性及机制研究	郑琦, 陈超, 张晓健, 陆品品, 刘源源, 陈雨乔 (576)
1 株溶藻菌的部分生物学特性及溶鱼腥藻作用	李三华, 张奇亚 (583)
水生植物热解生物油中对肋骨藻抗氧化酶活性的影响	姚远, 李锋民, 李媛媛, 单时, 李杰, 王震宇 (589)
TiO ₂ 光催化联合技术降解苯酚机制及动力学	张轶, 黄若男, 王晓敏, 王齐, 丛燕青 (596)
皮革废水有机污染物生物降解特性研究	王勇, 李伟光, 杨力, 宿程远 (604)
链霉菌 FX645 对偶氮染料红 AR30 的降解机制研究	谢练武, 方继前, 郭亚平 (611)
一种负载型生物载体的制备及性能研究	杨基先, 曾红云, 周义, 邱珊, 马放, 王蕾, 肖大伟 (616)
基于污泥资源化利用的蛋白核小球藻 (<i>Chlorella pyrenoidosa</i>) 培养研究	嵇雯雯, 夏会龙, 方治国, 刘惠君 (622)
温和热处理对低有机质污泥厌氧消化性能的影响	陈汉龙, 严媛媛, 何群彪, 戴晓虎, 周琪 (629)
天然和水热合成针铁矿对有机物厌氧分解释放 CH ₄ 的影响	姚敦璠, 陈天虎, 王进, 周飞跃, 岳正波 (635)
蚀刻废液及其回收后生产的铜盐产品中 PCDD/Fs 含量水平及分布特征	青宪, 韩静磊, 温炎桑 (642)
基于特定场地污染概念模型的健康风险评估案例研究	钟茂生, 姜林, 姚珏君, 夏天翔, 朱笑盈, 韩丹, 张丽娜 (647)
区域地下水污染风险评价方法研究	杨彦, 于云江, 王宗庆, 李定龙, 孙宏伟 (653)
地下水有机污染源识别技术体系研究与示范	王晓红, 魏加华, 成志能, 刘培斌, 纪轶群, 张干 (662)
祁连山不同海拔土壤有机碳库及分解特征研究	朱凌宇, 潘剑君, 张威 (668)
黑土有机碳、氮及其活性对长期施肥的响应	骆坤, 胡荣桂, 张文菊, 周宝库, 徐明岗, 张敬业, 夏平 (676)
根茬连续还田对镉污染农田土壤中镉赋存形态和生物有效性的影响	张晶, 于玲玲, 辛木贞, 苏德纯 (685)
长期施肥措施下稻田土壤有机质稳定性研究	罗璐, 周萍, 童成立, 石辉, 吴金水, 黄铁平 (692)
外源 Cr(Ⅲ) 在我国 22 种典型土壤中的老化特征及关键影响因子研究	郑顺安, 郑向群, 李晓辰, 刘书田, 姚秀荣 (698)
某林丹生产企业搬迁遗留场地土壤中六六六的残留特征	潘峰, 王利利, 赵浩, 尤奇中, 刘林 (705)
大型炼锌厂周边土壤及蔬菜的汞污染评价及来源分析	刘芳, 王书肖, 吴清茹, 林海 (712)
天津成人头发指甲中有机氟污染物的残留特征	姚丹, 张鸿, 柴之芳, 沈金灿, 杨波, 王艳萍, 刘国卿 (718)
沉积物中雌激素及壬基酚、辛基酚、双酚 A 的测定	吴唯, 史江红, 陈庆彩, 张晖, 刘晓薇 (724)
动物饲料中砷、铜和锌调查及分析	姚丽贤, 黄连喜, 蒋宗勇, 何兆桓, 周昌敏, 李国良 (732)
氟虫双酰胺在水稻和稻田中的残留动态研究	王点点, 宋宁慧, 吴文铸, 由宗政, 何健, 石利利 (740)
2 株降解菲的植物内生细菌筛选及其降解特性	倪雪, 刘娟, 高彦征, 朱雪竹, 孙凯 (746)
嗜盐拟香味菌 Y6 降解硝基苯的特性研究	厉阗, 钱坤, 肖伟, 王进军, 邓新平 (753)
固定化条件对苯系物细胞传感器检测效果的影响	唐阔, 马安周, 于清, 邓雪梅, 吕迪, 庄国强 (760)
16S rDNA 克隆文库分析高含盐生物脱硫系统细菌多样性	刘卫国, 梁存珍, 杨金生, 王桂萍, 刘苗苗 (767)
氨氮浓度对 CANON 工艺功能微生物丰度和群落结构的影响	刘涛, 李冬, 曾辉平, 畅晓燕, 张杰 (773)
筒青霉 (<i>Penicillium simplicissimum</i>) 对木质纤维素的降解及相关酶活性特征	沈莹, 胡天觉, 曾光明, 黄丹莲, 尹璐, 刘杨, 吴娟娟, 刘晖 (781)
石油污染土壤微生物群落结构与分布特性研究	杨萌青, 李立明, 李川, 李广贺 (789)
土霉素在鸡粪好氧堆肥过程中的降解及其对相关参数的影响	王桂珍, 李兆君, 张树清, 马晓彤, 梁永超 (795)
生活垃圾填埋过程含水率变化研究	李睿, 刘建国, 薛玉伟, 张媛媛, 岳东北, 聂永丰 (804)
动物消化机制用于木质纤维素的厌氧消化	吴昊, 张盼月, 郭建斌, 吴永杰 (810)
《环境科学》征订启事 (447)	《环境科学》征稿简则 (493)
信息 (508, 588, 610, 731)	专辑征稿通知 (788)

简青霉 (*Penicillium simplicissimum*) 对木质纤维素的降解及相关酶活性特征

沈莹^{1,2}, 胡天觉^{1,2*}, 曾光明^{1,2}, 黄丹莲^{1,2}, 尹璐^{1,2}, 刘杨^{1,2}, 吴娟娟^{1,2}, 刘晖^{1,2}

(1. 湖南大学环境科学与工程学院, 长沙 410082; 2. 环境生物与控制教育部重点实验室(湖南大学), 长沙 410082)

摘要: 简青霉 [*Penicillium simplicissimum* (Oudem.) Thom BGA] 能分泌木质纤维素降解酶, 其中半纤维素酶、纤维素酶、木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶和漆酶的最大酶活分别为 $146.82 \text{ IU} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $2.78 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $47.97 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $34.56 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $17.94 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 。实验结果和 SPSS 统计分析表明, 简青霉产木质纤维素酶的能力与木质纤维素的结构有很大的关系, 其对木质纤维素的降解可能是几种木质纤维素酶之间协同作用的结果。在 30 d 的固态发酵中, 半纤维素含量与发酵天数呈显著负相关 ($r = -0.946$, $P < 0.01$), 纤维素与木质素的降解趋势呈显著负相关 ($r = -0.818$, $P < 0.05$)。木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶在降解木质素的同时对半纤维素和纤维素进行协同降解, 是非选择性的木质素降解酶。木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶与纤维素酶之间呈显著相关 (相关性依次为 $r = 0.922$, $P < 0.01$; $r = 0.807$, $P < 0.05$)。研究还发现生物吸附在简青霉对液态碱木质素的去除中起到了非常重要的作用。

关键词: 简青霉; 木质纤维素降解酶; 生物降解; 生物吸附; 协同作用

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2013)02-0781-08

Biodegradation of Lignocellulose by *Penicillium simplicissimum* and Characters of Lignocellulolytic Enzymes

SHEN Ying^{1,2}, HU Tian-jue^{1,2}, ZENG Guang-ming^{1,2}, HUANG Dan-lian^{1,2}, YIN Lu^{1,2}, LIU Yang^{1,2}, WU Juan-juan^{1,2}, LIU Hui^{1,2}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control (Hunan University), Ministry of Education, Changsha 410082, China)

Abstract: *Penicillium simplicissimum* (Oudem.) Thom BGA can secrete lignocellulolytic enzymes, among these enzymes the highest activities of hemicellulase, cellulase, lignin peroxidase (Lip), manganese peroxidase (Mnp) and laccase are $146.82 \text{ IU} \cdot \text{g}^{-1}$, $2.78 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, $47.97 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$, $34.56 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ and $17.94 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ respectively. According to the results and the statistical analysis of SPSS, the ability of secreting lignocellulolytic enzymes by *Penicillium simplicissimum* significantly correlated with the structure of lignocellulose, and the biodegradation of lignocellulose was probably a kind of synergistic effect of several lignocellulolytic enzymes. In the solid-state fermentation of 30 days, the hemicellulose content has a significantly negative correlation with the fermentation days ($r = -0.946$, $P < 0.01$), there was also a significantly negative correlation between the cellulose-biodegradation and the lignin-biodegradation ($r = -0.818$, $P < 0.05$). As unselected enzymes, Lip and Mnp can degrade hemicellulose and cellulose corporately when biodegrades lignin. The significant correlation is showed between Lip, Mnp and cellulose (correlation parameters are $r = 0.922$, $P < 0.01$; $r = 0.807$, $P < 0.05$ respectively). In addition, the biosorption is found to have a very important effect in the removal of liquid alkali lignin by *Penicillium simplicissimum*.

Key words: *Penicillium simplicissimum*; lignocellulolytic enzymes; biodegradation; biosorption; synergistic effect

木质纤维素主要来源于农业、木材水解工业和造纸工业的固态或液态废弃物, 由于产生量大而且不能被有效利用, 变成了环境污染物, 并且其它领域产生的大量木质纤维素也在各个层次不同程度地污染了环境^[1,2]。木质纤维素主要指半纤维素、纤维素和木质素。木质纤维素具有复杂和稳定的结构, 不易降解, 只有改变木质纤维素的这种稳定结构才能对其进行广泛的降解和利用。研究表明, 利用微生物菌种如真菌, 通过分泌木质纤维素降解酶氧化断裂木质纤维素的化学键可有效降解木质纤维素^[3~5]。

而在这个过程中微生物分泌的木质纤维素降解酶是关键, 木质纤维素降解酶主要指半纤维素酶、纤维素酶、漆酶、木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶, 它们对木质纤维素有高度的催化降解能力, 因此具有重要的研究价值。虽然对木质纤维素降解酶的研究

收稿日期: 2012-05-07; 修订日期: 2012-06-06

基金项目: 湖南省高校创新平台开放基金项目(11K013); 湖南省社会发展科技支撑计划项目(2011SK3216); 国家自然科学基金青年科学基金项目(50808073)

作者简介: 沈莹(1982~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为微生物对有机固体废物的降解作用, E-mail: sy19000@163.com
* 通讯联系人, E-mail: huij66@yahoo.com.cn

报道很多,但对 5 种木质纤维素降解酶之间的协同作用的研究报道还未见到,因此本研究结合 5 种木质纤维素酶之间的协同作用来分析简青霉对木质纤维素的降解能力。

简青霉是一种常见的土壤真菌微生物,已被证实能产生较高的木质素降解酶,且本研究所用简青霉 *Penicillium simplicissimum* (Oudem.) Thom BGA 能在简单的固态发酵培养中同时产生半纤维素酶、纤维素酶、漆酶、木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶,对生态系统中的木质纤维素有较高的转化和降解能力^[6,7]。简青霉作为土壤习居菌,在转化和降解木质素时将消耗比白腐菌等担子菌纲更少的共用底物,减少了与其它有益共生菌的竞争,这对农业植物性废弃物的转化和降解方面有显著的实际应用意义^[8,9]。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

简青霉 *P. simplicissimum* (Oudem.) Thom BGA, 由湖南大学环境科学与工程学院 863 课题研究组提供^[10]。

1.2 培养基

菌种保藏培养基 (PDA 培养基): 去皮马铃薯 200 g, 葡萄糖 20 g, 琼脂 16 g, 蒸馏水 1 000 mL, 121.3℃ 灭菌 20 min。

固态发酵培养基: 称取约 2 cm 长的烘干稻草 30 g 于 1 000 mL 锥形瓶中, 121.3℃ 灭菌 20 min。

每瓶固态发酵培养基中加浓度为 1×10^6 个·L⁻¹ 菌悬液 10 mL, 对照组不加菌悬液。每隔 5 d 从上述培养基中取样测定木质素、半纤维素和纤维素的含量。同时用 10 g 稻草装瓶, 相同条件接种培养, 中途不取样, 测定始末木质素、半纤维素和纤维素的含量。

液态发酵培养基: 碱木质素 1 g, MgSO₄·7H₂O 0.5 g, K₂HPO₄ 1.0 g、NaH₂PO₄ 0.2 g、MnSO₄ 0.04 g、CuSO₄·5H₂O 0.007 g、FeSO₄·7H₂O 0.007 g, 蒸馏水 1 000 mL, 121.3℃ 灭菌 20 min。

将液态发酵培养基分装于 250 mL 锥形瓶中, 每瓶加 50 mL 液态发酵培养基和 1 mL 浓度为 10^6 个·L⁻¹ 菌悬液, 共分装 20 瓶, 保留 6 瓶不加菌悬液的液态发酵培养基作为对照组。恒温水浴摇床培养 18 d, 每隔 3 d 测产酶情况, 每次拿出 3 瓶测木质素浓度, 取平均值。

1.3 主要试剂和仪器

Azure-B、2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate) diammonium salt (ABTS)、3,4Dimethoxybenzyl alcohol, 96% (藜芦醇) 均购自于 Sigma ALDRICH 公司; 碱木质素 (TOKYO CHE-MICAL INDUSTRY CO. LTD); 紫外-可见分光光度计 (日本岛津公司, UV2550); 光学显微镜 (OLYMPUS BX61); 显微镜照像机 (Pengu-in 600CL, Pixera 公司); 环境扫描电镜 (FEI Q-uantta 200)。

1.4 方法

1.4.1 孢子悬浮液的制备

将浊度管装适当蒸馏水包好灭菌, 冷却后, 置于浊度计上调零, 用无菌湿棉签在简青霉真菌培养皿中粘取适量孢子到浊度管中, 使孢子在无菌水中均匀分散, 形成孢子悬液。结合血球计数板和显微镜计数可知, 当浊度为 30% 时的孢子悬液的孢子浓度为 10^6 个·L⁻¹。

1.4.2 粗酶液制备

固态发酵粗酶液: 从固态发酵培养基中取出约 2.00 g ± 0.05 g 的固体样品, 将取出的样品装入规格相同的 250 mL 锥形瓶中, 并在瓶中加入 20 mL 蒸馏水, 稍作振荡后, 放入 150 r·min⁻¹ 摇床中振荡浸提 1 h。振荡完毕后在 10 000 r·min⁻¹ 转速下离心 10 min, 此时上清液可看作除去孢子的粗酶液, 用于酶活的测定。

液态发酵粗酶液: 将液态发酵培养基经超声波振荡 60 s 和滤纸过滤后, 直接用于酶活和木质素浓度的测定。

1.4.3 酶活测定

木质素过氧化物酶的测定如下。

方法一^[11]: (用于固态发酵培养基) 于 310 nm 测藜芦醇被氧化成藜芦醛的光密度变化。反应体系包括藜芦醇 (10 mmol·L⁻¹)、H₂O₂ (10 mmol·L⁻¹)、0.1 mol·L⁻¹ 酒石酸缓冲液 (pH 3.0) 和粗酶液。定义使 1 μmol·min⁻¹ 的藜芦醇氧化成藜芦醛所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

方法二^[12]: (用于液态发酵培养基) 于 650 nm 测 Azure-B 被氧化的光密度变化。反应体系包括 Azure-B (10 mmol·L⁻¹)、H₂O₂ (10 mmol·L⁻¹)、0.1 mol·L⁻¹ 酒石酸缓冲液 (pH 3.0) 和粗酶液。定义转化 1 μmol·min⁻¹ 的 Azure-B 所需的酶量为一个酶活力单位 (U)。

锰过氧化物酶^[13]: 于 240 nm 测 Mn²⁺ 被氧化成 Mn³⁺ 的光密度变化。反应体系包括 MnSO₄ (15 mmol·L⁻¹)、H₂O₂ (10 mmol·L⁻¹)、0.05 mol·L⁻¹ 琥

珀酸缓冲液 (pH 4.5) 和粗酶液. 定义产生 $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ 的 Mn^{3+} 所需酶量为一个酶活力单位 (U).

漆酶^[14]: 于 420 nm 测 ABTS 被氧化的光密度变化. 反应体系包括 ABTS ($1.0\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、 $100\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液 (pH 5.0) 和粗酶液. 定义转化 $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ 的 ABTS 所需的酶量为一个酶活力单位 (U).

纤维素酶: 采用滤纸法 (GB/T 23881-2009). 定义在 37°C , pH 5.5, 反应 60 min 的条件下, 降解滤纸释放 $1\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ 葡萄糖所需的酶量为一个滤纸纤维素酶活性单位, 以 U 表示.

半纤维素酶^[15]: 采用 DNS 法测定半纤维素酶活力. 定义产生 $1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ 分子木糖所需的木聚糖所需的木聚糖酶酶量, 以 $\text{I}\mu$ 表示.

1.4.4 木质纤维素含量的测定^[16,17]

采用中性洗涤法、酸性洗涤法和 72% 硫酸法来测定固态发酵培养基中的中性洗涤去除物含量、半纤维素含量、纤维素含量和木质素含量.

1.4.5 液态培养基中木质素含量的测定^[18]

取液态发酵粗酶液在 280 nm 下测其吸光度变化值, 从标准曲线上查找对应的浓度.

1.5 数据处理

本研究中的相关数据分析用 SPSS 13.0 软件进

行. 用 K-S 精确检验对各组数据进行正态分布检验发现, 各组数据均呈正态分布. 因此用 Pearson 相关分析对各组数据进行相关分析检验.

2 结果与分析

2.1 简青霉对固态发酵培养基的降解和产酶情况

利用简青霉对固态发酵培养基中的稻草进行降解, 分析降解过程中木质纤维素降解酶的产量、木质纤维素的降解情况及木质纤维素酶之间的协同作用. 本实验所用的固态发酵培养基中仅加入了水稻秸秆和蒸馏水, 未加入任何其它营养物质或者对水稻秸秆进行任何形式的预处理. 利用表 1 中的数据进行 Pearson 相关分析, 所得相关系数见表 2. 由图 1 和图 2 可知, 简青霉在第 5 d 已开始产生木质纤维素降解酶, 并且最大的锰过氧化物酶、纤维素酶和半纤维素酶均出现在第 5 d. 这与稻草的半纤维素、纤维素和木质素结构有关. 通过能量色散 X 射线荧光光谱和环境扫描电镜观察, 发现木质素紧密包裹着杆状的 SiO_2 物质成半球状, 纤维素主要填充在半球状的木质素之间, 半纤维素处在稻草的表层连接并覆盖着纤维素和木质素^[19]. 固态发酵前 5 d 产生的木质纤维素降解酶主要降解处于稻草表层的半纤维素和纤维素, 因此半纤维素酶和纤维素酶的最大酶活产生于固态发酵的初期阶段, 锰过氧化物酶的最

表 1 固态发酵中木质纤维素降解相对含量及其木质纤维素降解酶产量

Table 1 Relative content changes of lignocellulose component and activities of lignocellulolytic enzymes								
发酵天数 /d	半纤维素相对 含量/%	纤维素相对 含量/%	木质素相对 含量/%	半纤维素酶 /Iu·g ⁻¹	纤维素酶 /U·g ⁻¹	木质素过氧 化物酶/U·g ⁻¹	锰过氧化物酶 /U·g ⁻¹	漆酶 /U·g ⁻¹
0	29.98	26	19.84	0	0	0	0	0
5	27.28	22.72	22.39	146.82	2.78	36.78	34.56	0.7
10	27.83	24.73	21.7	118.79	2.13	47.97	10.95	1.22
15	21.75	24.45	25.88	101.86	0.6	15.9	22.75	6.42
20	22.57	17.15	26.58	73.69	0	11.08	0	17.94
25	20.41	31.55	16.73	64.94	0	6.4	0	3.35
30	19.6	24.39	25.37	68.14	0	0	0	0.85

表 2 固态发酵中木质纤维素降解相对含量及其木质纤维素降解酶产量相关性分析¹⁾

Table 2 Correlations of relative lignocellulose component and activities of lignocellulolytic enzymes during the solid fermentation process								
	发酵天数	半纤维素 相对含量	纤维素 相对含量	木质素 相对含量	半纤维素酶	纤维素酶	木质素 过氧化物酶	锰过 氧化物酶
半纤维素相对含量	-0.946 **							
纤维素相对含量	0.095	-0.096						
木质素相对含量	0.218	-0.283	-0.818 *					
半纤维素酶	-0.007	-0.041	-0.240	0.271				
纤维素酶	-0.505	0.514	-0.136	-0.030	0.816 *			
木质素过氧化物酶	-0.405	0.451	-0.174	0.007	0.813 *	0.922 **		
锰过氧化物酶	-0.443	0.264	-0.155	0.182	0.787 *	0.807 *	0.646	
漆酶	0.297	-0.352	-0.658	0.529	0.001	-0.346	-0.151	-0.213

1) ** 表示 $P < 0.01$, * 表示 $P < 0.05$ (2-tailed)

大酶活和木质素过氧化酶的第二大酶活也产生在第 5 d. 结合表 2 可知, 木质素过氧化酶和锰过氧化物酶与半纤维素酶之间呈显著正相关关系 (依次为 $r = 0.813$, $P < 0.05$; $r = 0.787$, $P < 0.05$), 木质素过氧化酶和锰过氧化物酶与纤维素酶之间也呈显著正相关关系 (依次为 $r = 0.922$, $P < 0.01$; $r = 0.807$, $P < 0.05$). 结合实验数据和统计结果表明这两种木质素降解酶对半纤维素和纤维素降解可能有一定的协同降解作用, 对木质素的降解是非选择性的^[20,21].

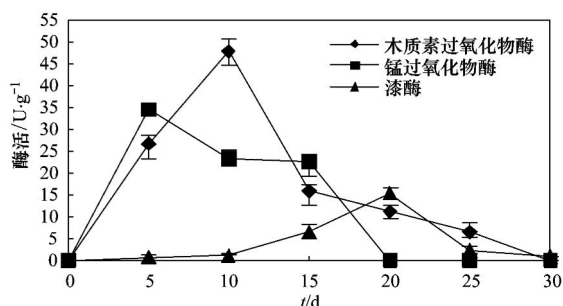


图 1 固态培养下产木质素降解酶曲线

Fig. 1 Activities of ligninolytic enzyme by *P. simplicissimum* in solid cultivation

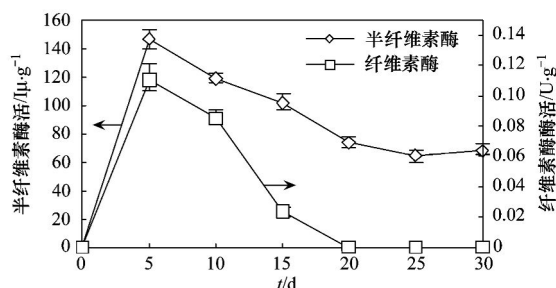


图 2 固态培养下产半纤维素酶和纤维素酶曲线

Fig. 2 Activities of hemicellulase and cellulase by *P. simplicissimum* in solid cultivation

由图 3 可知, 前 5 d 主要是半纤维素和纤维素的降解, 因此木质素的相对含量增加, 这与产酶情况相符. 结合表 2 可知, 在 30 d 的固态发酵中半纤维素的相对含量下降趋势明显, 与发酵天数呈显著负相关 ($r = -0.946$, $P < 0.01$); 纤维素与木质素的降解趋势相反, 呈显著相关 ($r = -0.818$, $P < 0.05$), 这与稻草中的半纤维素、纤维素和木质素的结构有关. 木质素被纤维素和半纤维素包裹着, 只有增加半纤维素与纤维素的降解程度才能更有效地对木质素进行降解. 相对于半纤维素与木质素的相关性 ($r = 0.283$, $P = 0.539$), 纤维素与木质素结合更紧密, 因此纤维素的降解对木质素的降解影响更大.

由图 2 可知, 纤维素酶在固态发酵第 20 d 就不产生了, 但由图 3 中纤维素相对含量的变化可知, 某种木质素降解酶也对纤维素产生一定程度的降解, 结合图 1 和木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶及漆酶与纤维素酶之间的相关系数 (依次为 $r = 0.922$, $P < 0.01$; $r = 0.807$, $P < 0.05$; $r = -0.346$, $P = 0.447$) 可知, 该种木质素降解酶是木质素过氧化物酶, 这与其它文献的实验结果相符^[20,22].

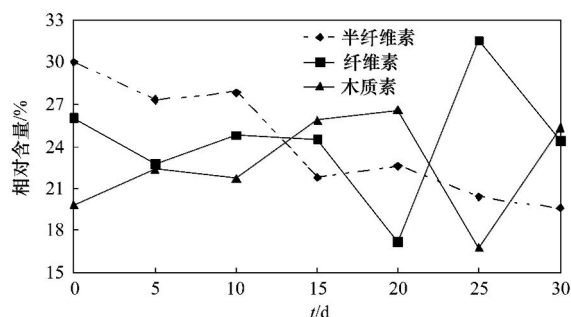


图 3 固态发酵中木质纤维素相对含量变化曲线

Fig. 3 Relative content changes of lignocellulose components during the solid fermentation process

表 3 列出了简青霉对木质纤维素降解前后的绝对量变化, 经过 30 d 的固态发酵, 中性洗涤去除物含量增加了 13.11%, 半纤维素、纤维素和木质素的降解率依次为 43.03%、16.12%、9.96%, 固态发酵培养基质量减少了 9.88%. 由于对照组经过 30 d 并无变化, 与添加菌悬液的固态发酵培养基的 0 d 时各项表征参数是一样的, 因此不再另行表述. 中性洗涤的去除物主要是指用中性洗涤剂 ($pH = 7$) 消化植物细胞后, 溶于中性洗涤剂中的细胞内容物, 包括蛋白质、脂肪和无氮浸出物 (糖类、淀粉和果胶) 等物质. 中性洗涤去除物是结构简单的有机物, 在固态发酵初期应首先被降解, 但经过 30 d 的固态发酵后, 固态发酵培养基中的中性洗涤去除物含量没有减少反而增加, 可能是复杂结构的半纤维素、纤维素及木质素被分解后所形成的产物.

表 3 生物降解前后木质纤维素组分质量变化

Table 3 Quality changes of lignocellulose components before and after biodegradation

项目	0 d/g	30 d/g	降解率/%
中性洗涤去除物	2.049	2.312	-13.1
半纤维素	2.630	1.495	43.0
纤维素	3.743	3.139	16.1
木质素	1.606	1.447	9.9
灰分总量	0.539	1.130	-11.0
固态发酵培养基质量	10.567	9.523	9.9

利用环境扫描电子显微镜对经 30 d 发酵后底物残渣表面结构进行观察. 与未被任何菌株降解过的稻草电镜图[图 4(a)]相比, 经筒青霉降解[图 4(b)]的稻草表面发生了明显的降解. 未被菌株降解的稻草表面光滑, 没有半纤维素、纤维素和木质素的碎片产生. 经筒青霉降解的稻草表面破损明显, 表层几乎被降解完全, 并且不能被生物降

解的杆状的 SiO_2 (即图中白色呈乳突状物质, 该物质经马弗炉 550°C 焚烧 3 h 后, 形态没有变化) 之间的沟壑明显加深, 杆状的 SiO_2 暴露的更多. 经前期实验证实, 木质素以杆状的 SiO_2 为圆心进行包裹, 呈半球型, 纤维素添充于半球体之间. 因此从环境扫描电镜图片上可看出, 筒青霉对稻草的降解程度明显.

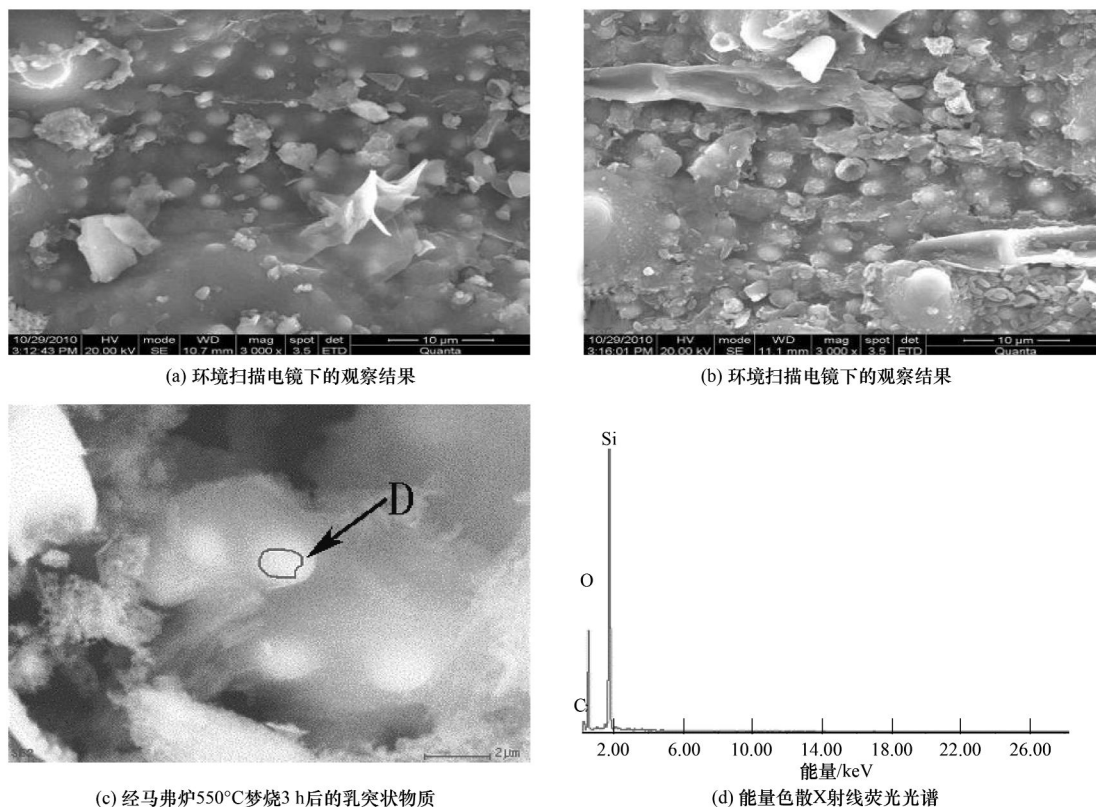


图 4 稻草经环境扫描电镜和能量色散 X 射线荧光光谱观测结果

Fig. 4 Straw as seen with an environmental scanning electron microscope and an energy dispersive X-ray fluorescence spectrometer

2.2 筒青霉对液态发酵培养基的降解和产酶情况

利用筒青霉对液态培养基中的木质素进行降解, 分析降解过程中木质素降解酶的产量、木质素的降解情况及木质素酶之间的协同作用. 利用表 4 中的数据进行 Pearson 相关分析, 所得相关系数见表 5. 由于液态碱木质素培养基的对照组经过 18 d 并无变化, 与添加菌悬液的液态碱木质素培养基的 0 d 时各项表征参数是一样的, 因此不再另行表述. 每个样品有 3 组平行样, 最终用于比较的酶活是 3 组平行样测量值的平均值. 由图 5 可知, 相对固态发酵产生的木质素降解酶酶活, 液态发酵中的锰过氧化酶和漆酶的酶活有很大的提高, 这主要是由于液态培养基中的木质素是粉末状, 在溶液中的溶解完全, 相对于复杂的木质纤维素结构要更易于降解. 液态培

养基中的木质素过氧化物酶酶活要明显小于在固态发酵培养基中的木质素过氧化物酶酶活, 这主要是由于测定的方法和酶活单位不同而造成的. 液态培养基的颜色较深对蒽醇法测定木质素过氧化物酶的干扰太大, 因此改用 Azure-B 法, 测定效果理想. 固态发酵培养基与液态培养基的木质素降解酶的酶活趋势是一致的, 较大木质素过氧化物酶酶活出现在液态发酵培养的前期, 最大漆酶酶活出现在发酵培养的较后时期, 锰过氧化酶出现了两个产酶高峰期. 但应用分析软件 SPSS 分析两种不同培养基所产生的同种木质素降解酶间的相关性可知, 不同培养基产生的同种酶间的相关性不显著. 因此, 筒青霉在两种不同培养基条件下对木质素的降解机制可能并不相同. 液态培养基中漆酶酶活在培养前期就达到

较大的值,产酶的量和时间都要明显优于固态发酵培养基,由此可见木质素的结构对漆酶产生的影响较大.且结合表5可知,液态培养基中的漆酶产量与液态木质素降解呈显著性负相关($r = -0.910$, $P < 0.01$),优于其在固态培养基中对木质素降解的影响($r = 0.529$, $P = 0.222$).结合图5和图1中的漆酶的酶活情况,可知漆酶对木质纤维素的降解是有选择性的,只对木质素有降解能力,自然界中的木质素被半纤维素和纤维素包裹,漆酶不能直接作用于木质素,因此在固态发酵的初期产量很小.

表4 液态发酵中木质素质量变化及其木质素降解酶产量¹⁾

Table 4 Quality changes of lignin and activities of ligninolytic enzymes during the liquid fermentation				
发酵天数 /d	木质素含量 /mg·L ⁻¹	木质素过氧 化物酶/U·g ⁻¹	锰过氧化物酶 /U·g ⁻¹	漆酶 /U·g ⁻¹
0	100.000	0.000	0.000	0.000
3	69.095	0.828	37.353	0.286
6	64.245	0.031	40.642	0.301
9	64.839	0.010	17.141	0.340
12	67.753	0.024	105.019	0.308
15	64.532	0.049	74.926	0.392
18	64.571	0.064	16.043	0.218

1) 表中数值为3个平行样的平均值

表5 液态发酵中木质素质量变化及其木质素降解酶产量相关性分析¹⁾

Table 5 Correlations of lignin quality and activities of ligninolytic enzymes during the liquid fermentation process				
	发酵天数	木质素 含量	木质素 过氧化物酶	锰过氧 化物酶
木质素含量	-0.662			
木质素过氧化物酶	0.306	-0.498		
锰过氧化物酶	0.393	-0.451	0.133	
漆酶	0.528	-0.910 **	0.358	0.610

1) * 表示 $P < 0.01$, * 表示 $P < 0.05$ (2-tailed)

由图6可知,液态木质素的浓度在前3d快速减少,3d之后木质素的含量变化较小,并且3~18d之间的液态发酵木质素质量变化曲线处于动态平衡.第3d对木质素的降解率达30.89%,第18d对木质素的降解率达35.43%.因此推断简青霉对液态培养基中的木质素的主要去除方式是生物吸附.这一推论与文献[23,24]的研究成果相同,他们认为有机物的生物吸附主要是两个阶段:第一个阶段是吸附过程,反应迅速;第二个阶段是代谢过程,反应缓慢.

由图5、图6可知,虽然简青霉在降解液态碱木质素时产生了较高的木质素降解酶酶活,但其对液

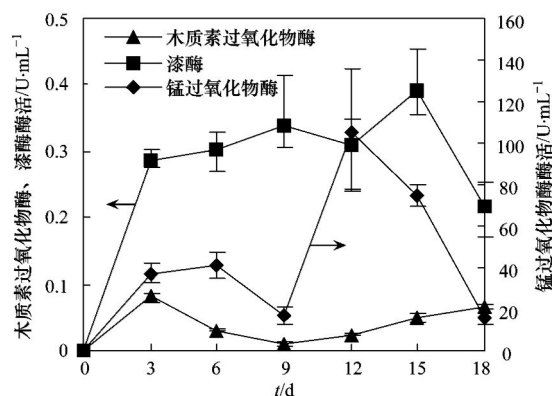


图5 液态培养下产木质素降解酶曲线

Fig. 5 Activities of ligninolytic enzyme by *P. simplicissimum* in liquid cultivation

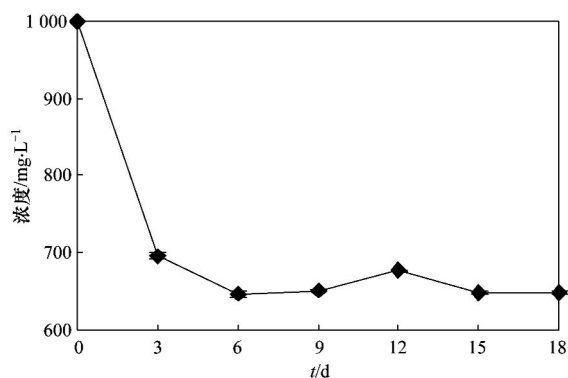


图6 液态发酵木质素质量变化

Fig. 6 Quality changes of lignin in liquid fermentation

态碱木质素的主要去除方式是通过生物吸附来进行的,这主要是因为液态碱木质素中并不具备产过氧化氢的体系,使需要过氧化氢作为氧化剂的木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶不能发挥其对木质素的降解能力.由相关文献可知,含氧量及发酵底物的结构对体系中的过氧化氢浓度产生有很大影响,当培养基中含氧量较高或底物是葡萄糖及与其结构相似的其他简单有机物时微生物才能有效地催化相应的酶分泌过氧化氢^[25].本研究中的液态发酵培养基中的底物是碱木质素,其结构非常复杂,而且液态培养基中的溶解氧含量明显少于固态发酵培养基,因此不能诱导过氧化氢的产生.固态发酵培养基中含有单糖类结构的半纤维素并且含氧量较大,有利于过氧化氢的产生,因此能对固态发酵培养基中的木质纤维素进行有效降解.虽然漆酶不需要过氧化物作为氧化剂,但单由漆酶来氧化降解木质素的效果要明显弱于3种酶共同氧化降解木质素的效果,因此3种木质素降解酶之间的协同作用对木质素的生物降解起到重要作用.

3 结论

(1) 简青霉 *P. simplicissimum* (Oudem.) Thom BGA 能分泌半纤维素酶、纤维素酶、木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶和漆酶,且产酶活性高。

(2) 由实验结果和统计分析可知,简青霉对自然界中木质纤维素的降解主要是依靠木质纤维素降解酶之间的协同作用。在对固态发酵培养基的初期降解中,简青霉分泌的木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶、半纤维素酶和纤维素酶之间通过协同作用对包裹木质素的半纤维素和纤维素进行降解,使木质素降解酶能更好地与木质素接触及降解。固态发酵第 20 d,简青霉不再产生纤维素酶和锰过氧化物酶,但依然对纤维素存在降解,这更进一步证实了木质素过氧化物酶对纤维素有降解能力。经过 30 d 发酵,固态发酵培养基中的中性洗涤去除物增加了 13.11%,有利于其他的土壤微生物的协同降解作用,形成腐殖质,提高土壤的养分。

(3) 由实验结果和统计分析发现,简青霉对液态培养基中的纯木质素(碱木质素)的一个主要步骤是生物吸附。简青霉能通过吸附作用很快地降低液态培养基中的纯木质素浓度,可被考虑作为造纸等行业的木质素吸附剂。并且,简青霉能分泌较高的木质素降解酶,可以通过改良培养方式(如添加过氧化氢、葡萄糖等简单结构的有机物或增加氧含量等方法)使被其吸附的木质素得到降解,不会对环境造成二次污染。

参考文献:

- [1] Sanderson K. Lignocellulose: a chewy problem [J]. *Nature*, 2011, **474**(7352): S12-S14.
- [2] Novaes E, Kirst M, Chiang V, *et al.* Lignin and biomass: a negative correlation for wood formation and lignin content in trees [J]. *Plant Physiology*, 2010, **154**(2): 555-561.
- [3] Liew C Y, Husaini A, Husaini H, *et al.* Lignin biodegradation and ligninolytic enzyme studies during biopulping of *Acacia mangium* wood chips by tropical white rot fungi [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, **27**(6): 1457-1468.
- [4] Yang Y S, Zhou J T, Lu H, *et al.* Isolation and characterization of a fungus *Aspergillus* sp. strain F-3 capable of degrading alkali lignin [J]. *Biodegradation*, 2011, **22**(5): 1017-1027.
- [5] Zeng G M, Yu H Y, Huang H L, *et al.* Laccase activities of a soil fungus *Penicillium simplicissimum* in relation to lignin degradation [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2006, **22**(4): 317-324.
- [6] Gutarra M L E, Godoy M G, Maugeri F, *et al.* Production of an acidic and thermostable lipase of the mesophilic fungus *Penicillium simplicissimum* by solid-state fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2009, **100**(21): 5249-5254.
- [7] Godoy M G, Gutarra M L E, Castro A M, *et al.* Adding value to a toxic residue from the biodiesel industry: production of two distinct pool of lipases from *Penicillium simplicissimum* in castor bean waste [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2011, **38**(8): 945-953.
- [8] Rodríguez A, Carnicero A, Perestelo F, *et al.* Effect of *Penicillium chrysogenum* on lignin transformation [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, **60**(8): 2971-2976.
- [9] Yuan L, Chen Z H, Zhu Y H, *et al.* One step conversion of wheat straw to sugars by simultaneous ball milling, mild acid, and fungus *Penicillium simplicissimum* treatment [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, **167**(1): 39-51.
- [10] 郁红艳, 曾光明, 黄国和, 等. 简青霉 *Penicillium simplicissimum* 木质素降解能力 [J]. *环境科学*, 2005, **26**(2): 167-171.
- [11] Tien M, Kirk T K. Lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium* [J]. *Methods in Enzymology*, 1988, **161**(6): 238-249.
- [12] Archibald F S. A new assay for lignin-type peroxidases employing the dye azure B [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, **58**(9): 3110-3116.
- [13] Datta A, Bettermann A, Kirk T K. Identification of a specific manganese peroxidase among ligninolytic enzymes secreted by *Phanerochaete chrysosporium* during wood decay [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, **57**(5): 1453-1460.
- [14] Buswell J A, Cai Y J, Chang S T. Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and laccase production by *Lentinula (Lentinus) edodes* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1995, **128**(1): 81-87.
- [15] 董国强, 张孟白, 林开江. 半纤维素酶的 DNS 液显色法测定 [J]. *浙江农业科学*, 1989, (2): 88-89.
- [16] Van S, Wine R H. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin [J]. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 1963, (46): 829-835.
- [17] Van S. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents [J]. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 1967, (50): 50-55.
- [18] Ulmer D C, Leisola M S, Schmidt B H, *et al.* Rapid degradation of isolated lignin by *Phanerochaete chrysosporium* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1983, **45**(6): 1795-1801.
- [19] 汤圣祥, 张文绪. 三种原产中国的野生稻和栽培稻外稃表面乳突结构的比较观察研究 [J]. *中国水稻科学*, 1996, **10**(1): 19-22.
- [20] Blanchette R A. Delignification by wood-decay fungi [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1991, **29**(1): 381-403.
- [21] 池玉杰, 伊洪伟. 木材白腐菌分解木质素的酶系统——锰过氧化物酶、漆酶和木质素过氧化物酶催化分解木质素的机制

- [J]. 菌物学报, 2007, **26**(1): 153-160.
- [22] Blanchette R A. Degradation of the lignocellulose complex in wood[J]. Canadian Journal of Botany, 1995, **73**(S1): 999-1010.
- [23] Zhou J L, Banks C J. Removal of humic acid fractions by *Rhizopus arrhizus*: uptake and kinetic studies[J]. Environmental Technology, 1991, **12**(10): 859-869.
- [24] Calace N, Nardi E, Petronio B M, *et al.* Adsorption of phenols by papermill sludges[J]. Environmental Pollution, 2002, **118**(3): 315-319.
- [25] Kersten P J, Kirk T K. Involvement of a new enzyme, glyoxal oxidase, in extracellular H_2O_2 production by *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Journal of Bacteriology, 1987, **169**(5): 2195-2201.

第二届挥发性有机污染物(VOCs)检测分析、减排控制、 环境政策研究专辑征稿通知

挥发性有机物污染对生态、环境、健康产生了重要的影响,从国家层面上 VOCs 已经被列为重点控制的污染物,对挥发性有机污染物的减排与控制有着迫切的需求,有关挥发性有机污染的研究已经引起政府、地方、企业和科研人员密切的关注。

为了支持国家挥发性有机污染减排与控制,更好地促进与提高有关我国挥发性有机污染的科学研究的,《环境科学》2011 年出版“挥发性有机污染物(VOCs)检测分析、减排控制、环境政策研究”专辑(中国科学院生态环境研究中心郝郑平研究员为专辑的特邀主编)。专辑出版后,引起了极大地反响和关注。

这一年多以来,我国挥发性有机污染的科学研究的取得了一定进步与发展,不断有作者和相关部门希望能继续此专辑的编辑。为了继续支持我国未来 VOCs 减排和控制,进一步促进我国挥发性有机污染 VOCs 研究的发展和深入,《环境科学》计划 2013 年出版第二届挥发性有机污染物(VOCs)检测分析、减排控制、环境政策研究专辑(非增刊),邀请中国科学院生态环境研究中心郝郑平研究员为本专辑特邀主编,并开展挥发性有机污染 VOCs 研究优秀论文评选。现诚挚邀请国内外挥发性有机污染 VOCs 研究领域的专家、学者、技术人员踊跃投稿。

征文范围

- 1) 挥发性有机污染(VOCs)的监测与分析
- 2) 挥发性有机污染(VOCs)的排放与特征
- 3) 挥发性有机污染(VOCs)的控制与过程
- 4) 挥发性有机污染(VOCs)的控制技术与设备
- 5) 挥发性有机污染(VOCs)的反应与转化
- 6) 挥发性有机污染(VOCs)的减排模式与政策
- 7) 挥发性有机污染(VOCs)的其它研究内容

征文要求

1) 稿件参考《环境科学》已发表论文格式,文章以 Word 文档为附件发送至:hjcx@rcees.ac.cn,电子邮件主题为“VOCs 专辑+文章题目”。《环境科学》已发表文章范文可在网站 www.hjcx.ac.cn 首页点击下载。

2) 稿件参考文献后须注明通讯联系人和第一作者详细邮政地址,邮编,电话,手机,电子信箱等。

3) 只接受中文投稿文章;综述类文章,导师应为第一作者,不接受第一作者为学生的综述类投稿。

4) 特别说明:本专辑不是增刊,而是在《环境科学》2013 年下半年正刊上刊出。

重要日期

论文投稿截止日期:2013 年 7 月 1 日

联系方式

联系人:李老师

地址:北京市海淀区双清路 18 号生态中心《环境科学》编辑部

邮编:100085

电话:010-62941102

传真:010-62849343

E-mail:hjcx@rcees.ac.cn

CONTENTS

Characterization of Chemical Compositions in PM _{2.5} and Its Impact on Hazy Weather During 16 th Asian Games in Guangzhou	TAO Jun, CHAI Fa-he, GAO Jian, <i>et al.</i>	(409)
PM _{2.5} Pollution and Aerosol Optical Properties in Fog and Haze Days During Autumn and Winter in Beijing Area	ZHAO Xiu-juan, PU Wei-wei, MENG Wei, <i>et al.</i>	(416)
Forming Potential of Secondary Organic Aerosols and Sources Apportionment of VOCs in Autumn of Shanghai, China	WANG Qian, CHEN Chang-hong, WANG Hong-li, <i>et al.</i>	(424)
Study on Number Concentration Distribution of Atmospheric Ultrafine Particles in Hangzhou	XIE Xiao-fang, SUN Zai, FU Zhi-min, <i>et al.</i>	(434)
Pollution Characteristics and Source Identification of Atmospheric Particulate Matters <i>n</i> -Alkanes in Baoding City	LI Xing-ru, DU Xi-qiang, WANG Ying-feng, <i>et al.</i>	(441)
Study on Pollution Characteristics of Carbonaceous Aerosols in Xi'an City During the Spring Festival	ZHOU Bian-hong, ZHANG Cheng-zhong, WANG Ge-hui	(448)
Characteristics of PM ₁₀ and PM _{2.5} Concentrations in Mountain Background Region of East China	SU Bin-bin, LIU Xin-dong, TAO Jun	(455)
Assessment of TVOC and Odor in the Remediation Site of Contaminated Soil and Groundwater Using Electronic Nose	TIAN Xiu-ying, CAI Qiang, LIU Rui, <i>et al.</i>	(462)
Characteristics of Mercury Exchange Flux Between Soil and Atmosphere Under the Snow Retention and Snow Melting Control	ZHANG Gang, WANG Ning, AI Jian-chao, <i>et al.</i>	(468)
Study on Heavy Metal Contaminations and the Sources of Pb Pollution in Jinghai Bay Using the Stable Isotope Technique	XU Lin-bo, GAO Qin-feng, DONG Shuang-lin, <i>et al.</i>	(476)
Eco-environmental Evolution Inferred from <i>n</i> -Alkanes and $\delta^{13}\text{C}$ Records in the Sediments of Shijiu Lake	OU Jie, WANG Yan-hua, YANG Hao, <i>et al.</i>	(484)
Distribution of PGEs Contents and Its Factors in Snowfall and Snow Cover over the Arid Region in Changji City	LIU Yu-yan, LIU Hao-feng, ZHANG Lan	(494)
Effect of Dust Deposition Collection Methods on Collection Efficiency	ZHANG Zheng-cai, DONG Zhi-bao	(499)
Regionalization of the Freshwater Eco-regions in the Haihe River Basin of China	SUN Ran-hao, JI Yu-he, SHANG Lin-yuan, <i>et al.</i>	(509)
Characteristics of Diffuse Attenuation Coefficient of Underwater Irradiance in the Lakes in the Middle and Lower Reaches of Yangtze River	SHI Zhi-qiang, ZHANG Yun-lin, WANG Ming-zhu, <i>et al.</i>	(517)
Study on Influencing Factors and Universality of Chlorophyll- <i>a</i> Retrieval Model in Inland Water Body	HUANG Chang-chun, LI Yun-mei, XU Liang-jiao, <i>et al.</i>	(525)
Effect of Dissolved Oxygen on Diversity of Ammonia-Oxidizing Microorganisms in Enrichment Culture from Estuarine Wetland Surface Sediments and Ammonia-oxidizing Rate	QIU Zhao-zheng, LUO Zhuan-xi, ZHAO Yan-ling, <i>et al.</i>	(532)
Spatial Variation of Soil Moisture/Salinity and the Relationship with Vegetation Under Natural Conditions in Yancheng Coastal Wetland	ZHANG Hua-bing, LIU Hong-yu, LI Yu-feng, <i>et al.</i>	(540)
Spatial Heterogeneity and Classified Control of Agricultural Non-Point Source Pollution in Huaihe River Basin	ZHOU Liang, XU Jian-gang, SUN Dong-qi, <i>et al.</i>	(547)
Phosphorus Output Characteristics Under Different Rainfall-Runoffs in Gaolan River	CUI Yu-jie, LIU De-fu, SONG Lin-xu, <i>et al.</i>	(555)
Monitoring and Analysis on Evolution Process of Rainfall Runoff Water Quality in Urban Area	DONG Wen, LI Huai-en, LI Jia-ke	(561)
Characteristics and Contribution of the Strengthening Units of Composite Constructed Wetland for Treating Urban Sewage	REN Feng, LU Yi-xia, LIU Qin, <i>et al.</i>	(570)
Inactivation of <i>Mycobacteria mucogenicum</i> in Drinking Water: Chlorine Resistance and Mechanism Analysis	ZHENG Qi, CHEN Chao, ZHANG Xiao-jian, <i>et al.</i>	(576)
Partial Biological Characteristics and Algicidal Activity of an Algicidal Bacterium	LI San-hua, ZHANG Qi-ya	(583)
Effects of Macrophytes Pyrolysis Bio-oil on <i>Skeletonema costatum</i> Antioxidant Enzyme Activities	YAO Yuan, LI Feng-min, LI Yuan-yuan, <i>et al.</i>	(589)
Mechanism and Kinetics of Phenol Degradation by TiO ₂ Photocatalytic Combined Technologies	ZHANG Yi, HUANG Ruo-nan, WANG Xiao-min, <i>et al.</i>	(596)
Biodegradation Characteristics of Organic Pollutants Contained in Tannery Wastewater	WANG Yong, LI Wei-guang, YANG Li, <i>et al.</i>	(604)
Microbial Degradation Mechanism of Disperse Azo Dye Red 30 by <i>Streptomyces</i> sp. FX645	XIE Lian-wu, FANG Ji-qian, GUO Ya-ping	(611)
Study on Preparation and Performance of a Biological Carrier with Tourmaline	YANG Ji-xian, ZENG Hong-yun, ZHOU Yi, <i>et al.</i>	(616)
Study on the <i>Chlorella pyrenoidosa</i> Cultivation Technology Based on the Excess Sludge Utilization	JI Wen-wen, XIA Hui-long, FANG Zhi-guo, <i>et al.</i>	(622)
Effects of Mild Thermal Pretreatment on Anaerobic Digestibility of Sludge with Low Organic Content	CHEN Han-long, YAN Yuan-yuan, HE Qun-biao, <i>et al.</i>	(629)
Effect of Natural and Hydrothermal Synthetic Goethite on the Release of Methane in the Anaerobic Decomposition Process of Organic Matter	YAO Dun-fan, CHEN Tian-hu, WANG Jin, <i>et al.</i>	(635)
Concentrations and Distribution Characteristics of PCDD/Fs in Spent Etching Solution and Its Copper Salt Recycling Products	QING Xian, HAN Jing-lei, WEN Yan-shen	(642)
Case Study on Health Risk Assessment Based on Site-Specific Conceptual Model	ZHONG Mao-sheng, JIANG Lin, YAO Jue-jun, <i>et al.</i>	(647)
Study on the Risk Assessment Method of Regional Groundwater Pollution	YANG Yan, YU Yun-jiang, WANG Zong-qing, <i>et al.</i>	(653)
Groundwater Organic Pollution Source Identification Technology System Research and Application	WANG Xiao-hong, WEI Jia-hua, CHENG Zhi-neng, <i>et al.</i>	(662)
Study on Soil Organic Carbon Pools and Turnover Characteristics Along an Elevation Gradient in Qilian Mountain	ZHU Ling-yu, PAN Jian-jun, ZHANG Wei	(668)
Response of Black Soil Organic Carbon, Nitrogen and Its Availability to Long-term Fertilization	LUO Kun, HU Rong-gui, ZHANG Wen-ju, <i>et al.</i>	(676)
Phytoavailability and Chemical Speciation of Cadmium in Different Cd-Contaminated Soils with Crop Root Return	ZHANG Jing, YU Ling-ling, XIN Shu-zhen, <i>et al.</i>	(685)
Study on Mechanism of SOM Stabilization of Paddy Soils Under Long-term Fertilizations	LUO Lu, ZHOU Ping, TONG Cheng-li, <i>et al.</i>	(692)
Aging Process of Cr(III) in 22 Typical Soils of China and Influence Factors Analysis	ZHENG Shun-an, ZHENG Xiang-qun, LI Xiao-zheng, <i>et al.</i>	(698)
Residual Characteristics of HCHs in Soils of a Former Lindane Production Enterprise	PAN Feng, WANG Li-li, ZHAO Hao, <i>et al.</i>	(705)
Evaluation and Source Analysis of the Mercury Pollution in Soils and Vegetables Around a Large-scale Zinc Smelting Plant	LIU Fang, WANG Shu-xiao, WU Qing-ru, <i>et al.</i>	(712)
Residue of Organic Fluorine Pollutants in Hair and Nails Collected from Tianjin	YAO Dan, ZHANG Hong, CHAI Zhi-fang, <i>et al.</i>	(718)
Analysis of Estrogens, Nonylphenol, 4-tert-Octylphenol and Bisphenol A in the Sediments	WU Wei, SHI Jiang-hong, CHEN Qing-cai, <i>et al.</i>	(724)
Investigation of As, Cu and Zn Species and Concentrations in Animal Feeds	YAO Li-xian, HUANG Lian-xi, JIANG Zong-yong, <i>et al.</i>	(732)
Residue Dynamics of Flubendiamide in Paddy Field	WANG Dian-dian, SONG Ning-hui, WU Wen-zhu, <i>et al.</i>	(740)
Isolation of Two Endophytic Phenanthrene-Degrading Strains and Their Degradation Capacity	NI Xue, LIU Juan, GAO Yan-zheng, <i>et al.</i>	(746)
Biodegradation of Nitrobenzene by a Halophilic <i>Myroides odoratimimus</i> Strain Y6	LI Tian, QIAN Kun, XIAO Wei, <i>et al.</i>	(753)
Effect of Immobilization on Biosensor for Benzene Derivates Detection	TANG Kuo, MA An-zhou, YU Qing, <i>et al.</i>	(760)
Investigation of Bacterial Diversity in the Biological Desulfurization Reactor for Treating High Salinity Wastewater by the 16S rDNA Cloning Method	LIU Wei-guo, LIANG Cun-zhen, YANG Jin-sheng, <i>et al.</i>	(767)
Assessment of the Effect of Influent NH ₄ ⁺ -N Concentration on the Abundance and Community Structure of Functional Bacteria in CANON Process	LIU Tao, LI Dong, ZENG Hui-ping, <i>et al.</i>	(773)
Biodegradation of Lignocellulose by <i>Penicillium simplicissimum</i> and Characters of Lignocellulolytic Enzymes	SHEN Ying, HU Tian-jue, ZENG Guang-ming, <i>et al.</i>	(781)
Microbial Community Structure and Distribution Characteristics in Oil Contaminated Soil	YANG Meng-qing, LI Li-ming, LI Chuan, <i>et al.</i>	(789)
Degradation of Oxytetracycline in Chicken Feces Aerobic-Composting and Its Effects on Their Related Parameters	WANG Gui-zhen, LI Zhao-jun, ZHANG Shu-qing, <i>et al.</i>	(795)
Research of Moisture Content Variation in MSW Landfill	LI Rui, LIU Jian-guo, XUE Yu-wei, <i>et al.</i>	(804)
Anaerobic Digestion of Lignocellulosic Biomass with Animal Digestion Mechanisms	WU Hao, ZHANG Pan-yue, GUO Jian-ben, <i>et al.</i>	(810)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2013年2月15日 34卷 第2期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 2 Feb. 15, 2013

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel: 010-62941102, 010-62849343; Fax: 010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科学出版社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印刷装订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科学出版社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel: 010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行