

连续分级提取法研究春季巢湖沉积物中不同结合态氮的赋存特征

钟立香¹, 王书航^{1,2}, 姜霞¹, 金相灿¹

(1.中国环境科学研究院, 北京 100012; 2.合肥工业大学资源与环境学院, 安徽 合肥 230009)

摘要:为研究沉积物中不同形态氮的释放能力及其生物可利用性大小,为湖泊水环境生态安全评估提供基础依据,以春季巢湖表层沉积物为例,采用连续分级提取法将氮分为游离态氮(FN)、可交换态氮(EN)、酸解态氮(HN)及残渣态氮(RN),并研究了这4种形态的赋存特征。结果表明,沉积物中总凯氏氮含量(TKN)在1 004~2 285 mg·kg⁻¹之间,各形态氮含量大小为HN>EN>RN>FN,占总提取态氮比例分别为78.32%、11.50%、9.76%、0.42%。酸解氨基酸态氮是可矿化态氮最有效贡献者,多元逐步回归方法得到“最优”方程为 $y=0.696 AAN-108.918$ 。连续提取法测得总氮值(TSEN)比用凯氏半微量法测得总氮值(TKN)偏小,但在误差允许范围内,TSEN可替代半微量凯氏法测得的总氮。

关键词:连续提取;氮形态;沉积物;巢湖

中图分类号:X830.2 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)10-2132-06

Speciation Characteristics of Different Combined Nitrogen in the Spring Sediments of Chaohu Lake by Sequential Extraction Methods

ZHONG Li-xiang¹, WANG Shu-hang^{1,2}, JIANG Xia¹, JIN Xiang-can¹

(1.Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 2.Hefei University of Technology, School of Resource and Environment, Hefei 230009, China)

Abstract: In order to study the release capability and bioavailability of nitrogen in the surface sediments of Chaohu Lake, the concentrations of the total Kjeldhal nitrogen (TKN) and its different nitrogen speciations were investigated by the sequential extraction method. By this sequential extraction method, nitrogen speciation was divided as the free nitrogen (FN), the exchangeable nitrogen (EN), the acid hydrolysable nitrogen (HN) and the residual nitrogen (RN). The results showed that the TKN concentrations of surface sediments ranged from 1 004 ~2 285 mg·kg⁻¹, the concentrations of nitrogen speciations followed the order of HN>EN>RN>FN, their proportion to the total extractable N were 78.32%, 11.50%, 9.76% and 0.42% respectively. AAN was the most efficient contributor to the mineral N with the best regression equation of $y=0.696 AAN-108.918$ by multiple stepwise regression method. The total sediment extractable nitrogen (TSEN) was a little smaller than the TKN. However, TSEN could take place of TKN within a certain confidence interval. Sequential extraction methods for nitrogen speciation in sediment provide basic data for the lake water environment ecological security assessment.

Keywords: sequential extraction methods; nitrogen speciation; sediment; Chaohu Lake

氮作为水生生态系统新陈代谢作用中最关键的元素之一,是唯一不能由矿物质风化而得到的元素,其重要的生态学功能很早就被学术界所认识^[1-3]。自从

HABER-BOSCH 固氮法在全世界广泛应用以来,据估算每年大约有 100×10^{12} t 的氮被人为固定^[4],这种人为固定的氮将会随着氮循环不可避免地进入江河湖海以及地下水等各大水体及沉积物中^[5-6],而水体由于接纳过多氮、磷等营养物质导致藻类及其他水生生物过量繁殖,水体透明度下降溶解氧降低,造成水体水质恶化。

沉积物作为上覆水体营养盐的内源,能在风浪、营养盐浓度梯度等因素作用下向上覆水体释放氮营

收稿日期:2009-04-15

基金项目:国家水专项(2008ZX07101-010);国家自然科学基金(200507017)

作者简介:钟立香(1984—),山东潍坊人,在读硕士,主要从事湖泊水环境方面的研究。E-mail: newlycoco@163.com

通讯作者:姜霞 E-mail: jiangxia@craes.org.cn

养盐,然而并不是沉积物中所有形态氮都能释放到上覆水体中^[7]。沉积物氮的释放能力和释放量的大小不仅能够影响上覆水体的营养状态和初级生产力,还是研究沉积物氮的地球化学循环和沉积物风险评价的前提。因此,系统的提取方法不仅能反映沉积物中氮元素的总量,同时还要反映不同释放能力形态氮的含量。

国内外对沉积物氮形态的研究主要集中在总氮、有机氮、无机氮、沉积物中氮的矿化作用、通量等方面^[8-14],而将沉积物作为一个整体,利用连续提取法研究沉积物不同释放能力氮的结合形态很少。本研究采用连续提取法对春季巢湖沉积物中氮的不同结合形态分布进行细致分析,同时讨论了各形态氮的生物可利用性,旨在为进一步揭示湖泊沉积物氮循环机理及富营养化治理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域

巢湖位于安徽省中部,江淮分水岭南侧,东经 $116^{\circ}24'30''\sim 118^{\circ}00'00''$,北纬 $30^{\circ}58'40''\sim 32^{\circ}06'00''$ 之间,湖面面积为 760 km^2 ,正常水文年平均水深 3 m 左右,主要出入河流有9条,并以姥山岛为界,将巢湖分为东、西两湖区,是一个半封闭的湖泊。湖区富营养化季节性明显,夏季水体富营养状态严重,主要污染物为总氮及总磷。

1.2 样品采集及处理

用柱状采样器(04.23 BEEKER, Eijkelp, NL, $\Phi=12\text{ cm}$),于2008年4月分别在巢湖东、西半湖8个点位采集表层 2 cm 沉积物样品,每个采样点采集8个平行样并现场混匀, 4°C 保存。所有点位均用竹竿标记,并用GPS进行定位导航,采样点位置见图1。取 250 g 新鲜沉积物样品于 $10\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min 获得间隙水,过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 混合纤维滤膜,滤液冷藏保存,待测;离心后的沉积物经 -40°C 冷冻干燥、研磨、过 100 目筛后保存于封口袋中备用;另取 10 g 新鲜沉积物样品测定含水率。

1.3 样品分析

根据各形态氮与沉积物结合的牢固程度,参照并改进国内其他氮形态分级提取方法^[11,15-16],将氮形态分为:游离态氮(FN),即动态释放的氮形态,是水-沉积界面氮释放的主要形态;可交换态氮(EN),即结合能力较弱和易被释放的氮形态,是沉积物氮营养盐比较活跃的一部分;酸解态氮(HN),在矿化作用可被转



图1 巢湖采样点位图

Figure 1 Sampling sites in Chaohu Lake

化而释放的氮形态,主要以有机氮形式存在;残渣态氮(RN),是最不容易释放的氮形态,也称不可转化态氮。分析流程见图2。

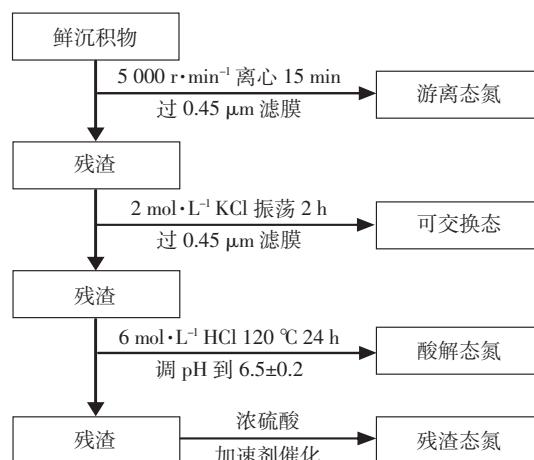


图2 沉积物氮形态分级提取方法

Figure 2 Sequential extractable methods of nitrogen speciation in sediments

沉积物中各指标测定方法参照《湖泊富营养化调查规范》^[17]及《土壤微生物分析方法手册》^[18],具体步骤见表1。TP采用SMT中总磷的测定方法^[19],TN采用凯氏定氮法,烧失量和含水率均采用差减法,沉积物中藻类生物量用同步荧光法测定。

1.4 数据处理

$$\text{游离态氮含量计算公式: } Q = C \frac{\varphi}{1 - \varphi}$$

式中: Q 为沉积物中各游离态氮(NH_4^+ 、 NO_3^- 、DON)的含量, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; C 为间隙水中各形态氮(NH_4^+ 、 NO_3^- 、DON)含量, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; φ 为含水率。

所有样品分析均做3次平行,试验结果均以3次

表 1 沉积物氮形态测定方法
Table 1 Measurement methods of nitrogen speciation in sediments

氮形态		指标	方法
第一步	游离态氮(FN)	NH ₄ ⁺ (游离态氨氮)	取 5 mL 间隙水,用纳氏试剂比色法测定
		NO ₃ ⁻ (游离态硝氮)	取 10 mL 间隙水,用紫外分光光度法测定
		DTN(游离态总氮)	取 2 mL 间隙水,用碱性过硫酸钾氧化法测定
		DON(游离态有机氮)	差减法,DON =DTN- NH ₄ ⁺ - NO ₃ ⁻
第二步	可交换态氮(EN)	NH ₄ ⁺ (可交换态氨氮)	取 5 mL 提取液,用纳氏试剂比色法测定
		NO ₃ ⁻ (可交换态硝氮)	取 10 mL 提取液,用紫外分光光度法测定
		STN(可交换态总氮)	取 2 mL 提取液,用碱性过硫酸钾氧化法测定
		SON(可交换态有机氮)	差减法,SON =STN- NH ₄ ⁺ - NO ₃ ⁻
第三步	酸解态氮(HN)	AN(酸解铵态氮)	取 2 mL 中和过的酸解液,用纳氏试剂比色法测定
		AAN(酸解氨基酸态氮)	取 1 mL 中和过的酸解液,用茚三酮比色法测定
		ASN(酸解氨基糖态氮)	取 2 mL 中和过的酸解液,用 Elson-Morgen 法测定
		THAN(酸解总氮)	取 2 mL 中和过的酸解液,用碱性过硫酸钾氧化法测定
		UN(酸解未鉴定态氮)	差减法,HUN =THAN- AN- AAN - ASN
第四步	残渣氮(RN)	RN(残渣态氮)	取酸解后沉积物 1 g,用凯氏定氮法测定

样品分析的平均值表示,误差<5%。试验数据采用 Excel 2003 以及 SPSS 16.0 软件进行统计检验、相关性 & 多元回归分析,用 Origin 8.0 作图。

2 结果及分析

2.1 沉积物特征

各采样点表层沉积物含水率在 57.57%~77.97% 之间,其中采样点 CX4 最高;总磷呈西高东低分布,全湖平均含量为 779.59 mg·kg⁻¹;有机质在 2.53%~4.40% 之间,最大值出现在采样点 CX4;藻类生物量在西半湖湖心和靠岸处含量较大,同时呈西高东低分布,与巢湖污染状况相符,见表 2。

2.2 沉积物中各连续提取氮形态

2.2.1 游离态氮(FN)

水-沉积物界面营养盐交换主要通过间隙水与上覆水中营养盐交换来实现,当间隙水与上覆水中营养盐存在浓度差异时,存在由高浓度向低浓度方向进行的扩散作用,因此间隙水中营养盐对上覆水水质起到重要的作用。本研究将间隙水中营养盐浓度(mg·L⁻¹)

换算成沉积物中营养盐浓度(mg·kg⁻¹),称为游离态氮(FN),以比较沉积物中不同结合态氮含量高低及对氮循环贡献大小。从图 3(a)可以看出,NH₄⁺-N 是沉积物 FN 的主要成分,占 FN 的比例为 70.79%~88.39%;其次是 DON,占 FN 的比例在 7.28%~20.15%之间;最后是 NO₃⁻-N。FN 存在明显的区域性分布特征,呈西高东低的趋势。南淝河、十五里河等入湖河流使西半湖区容纳了大量工业废水和城市生活污水。

2.2.2 可交换态氮(EN)

沉积物中的有机质经矿化作用形成大量 NH₄⁺-N,然后在 FN 和 EN 之间分配,因此 EN 是沉积物氮较“活跃”的部分,也是沉积物-水界面交换最频繁的形态^[10]。由图 3(b)可知,沉积物中 EN 主要以 NH₄⁺-N 为主,在 98.90~248.73 mg·kg⁻¹ 之间,其中 CX4 最高;SON 分布呈西高东低趋势,在 12.72~74.46 mg·kg⁻¹ 之间;NO₃⁻-N 明显低于 NH₄⁺-N 含量 1~2 个数量级,在 2.18~18.21 mg·kg⁻¹ 之间。同时可以看出,EN 区域性分布不明显,仅在西半湖湖心含量较高。

表 2 巢湖沉积物基本理化性质
Table 2 Basic characteristics of the sediments in Chaohu Lake

指标	采样点位							
	CX1	CX2	CX3	CX4	CD1	CD2	CD3	CD4
含水率/%	57.87	63.27	64.57	77.97	67.39	65.70	68.06	57.57
总磷/mg·kg ⁻¹	716.99	949.12	974.72	1 170.2	677.57	571.43	551.57	625.11
有机质/%	2.55	2.76	2.82	4.40	3.36	3.34	2.53	2.66
藻类生物量 Chla/mg·kg ⁻¹	15.91	15.64	11.45	16.08	7.88	11.79	8.43	10.51

2.2.3 酸解态氮(HN)

用 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$ 于 $(121 \pm 2)^\circ \text{C}$ 水解土壤 20 h, 将土壤中能酸分解的氮称为酸解态氮, 其中主要可鉴别的有机化合物是氨基酸态氮(AAN)、氨基糖态氮(ASN)、氨态氮(AN), 还有一些未鉴别的含氮化合物(UN)^[15]。沉积物中 HN 含量在 $695.52 \sim 1\,610.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 平均值为 $1\,092.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其中采样点 CX4 最高, 而东半湖采样点 CD4 最低, 见图 3(c)。酸水解产物中 AN 占 THAN 的 $24.09\% \sim 35.60\%$, 平均值为 29.84% 。AN 的来源比较复杂: 部分来源于沉积物中固定态氮 (NH_4^+-N 被镶嵌在 2:1 型黏土矿物晶层中) 的释放, 部分来源于水解过程中蛋白质的降解作用, 部分来源于某些氨基酸, 特别是天门冬氨酸、谷氨酸、含硫氨基酸及氨基糖的脱氨基作用, 另一部分来自酰胺类化合物的分解^[15]。氨基酸态氮(AAN)占 THAN 的 $33.67\% \sim 45.21\%$, 平均值为 38.94% 。AAN 是可交换态氮的重要来源之一, 作为主要可鉴别的含氮有机化合物之一, 大部分存在于有机物质中的蛋白质和多肽中^[20-21]。氨基糖态氮(ASN)占 THAN 的 $7.06\% \sim 10.34\%$, 平均值为 9.39% 。ASN 主要组成是葡萄糖胺, 其次是乳糖胺, 这两种胺之和接近于土壤氨基糖氮量, 研究认为氨基糖很少在高等植物中发现,

而微生物细胞物质是 ASN 的主要来源^[22]。酸解未鉴定态氮(UN)占 THAN 的 $15.59\% \sim 28.71\%$, 平均值为 21.83% 。酸解未鉴定态氮的结构组成相对较为复杂, 主要由非 α -氨基酸、N-苯氧基氨基酸态氮和嘧啶、嘌呤等杂环氮组成^[23]。

2.2.4 残渣态氮(RN)

沉积物中 RN 含量在 $69.47 \sim 253.16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 平均值为 $134.09 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。其中采样点 CX4 含量最高, 而 CX3 含量最低, 见图 3(d)。RN 主要以有机杂环态存在, 或者与杂环或芳香环键结合在一起的有机结合氮。这部分氮主要来源于缩合程度较高的腐殖质结构成分^[24]。

2.3 沉积物中总凯氏氮与总提取态氮分析

巢湖沉积物中总凯氏氮(TKN)在 $1\,004 \sim 2\,285 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 平均值为 $1\,424 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其中采样点 CX4 含量最高, 呈西高东低分布, 见图 3。用连续提取法测得沉积物总提取态氮(TSEN)在 $962 \sim 2\,137 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 平均值为 $1\,329 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。同时发现, 用连续提取法测得 TSEN 含量都比用凯氏半微量法测得 TKN 含量略小, 见图 4。

TSEN 与 TKN 的比值平均为 0.94, 损失可能是由 FN 和 EN 提取步骤中过膜造成的。

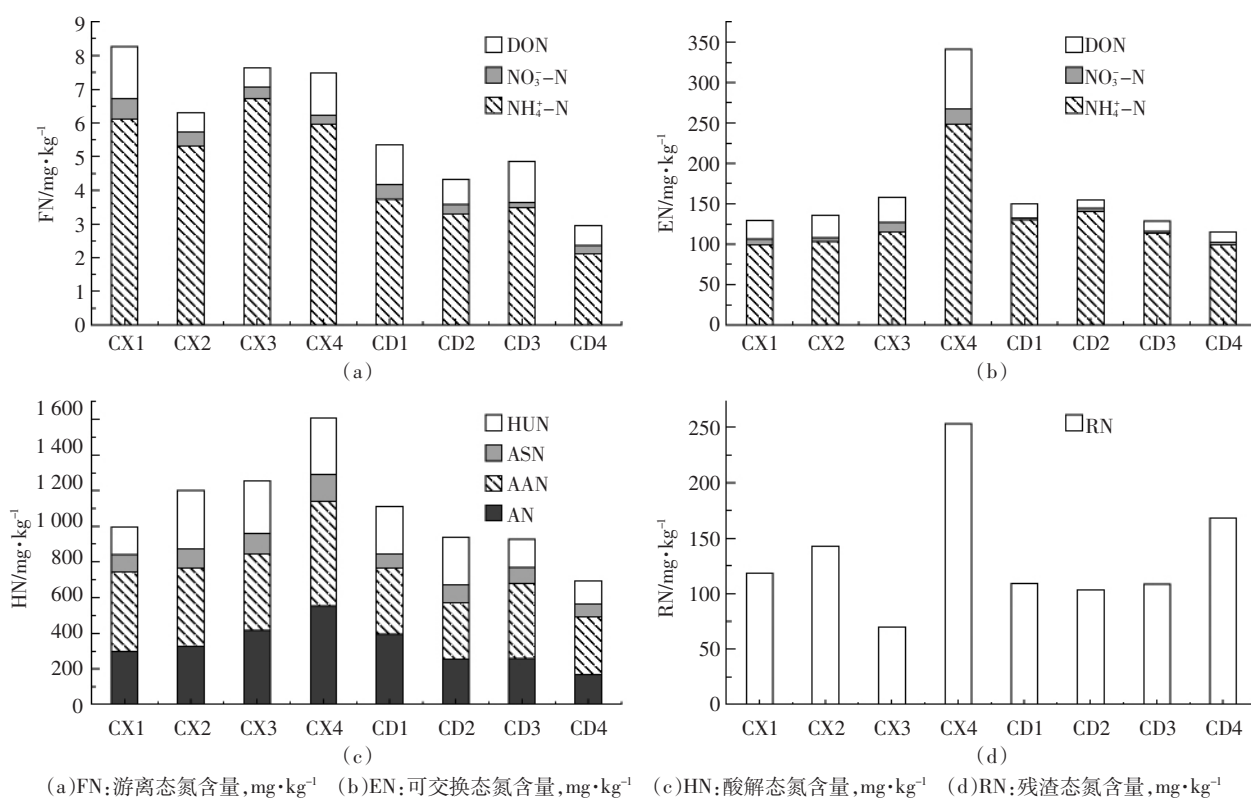


图3 巢湖沉积物中各种形态氮的分布

Figure 3 Distributions of nitrogen speciation in the sediment of Chaohu Lake

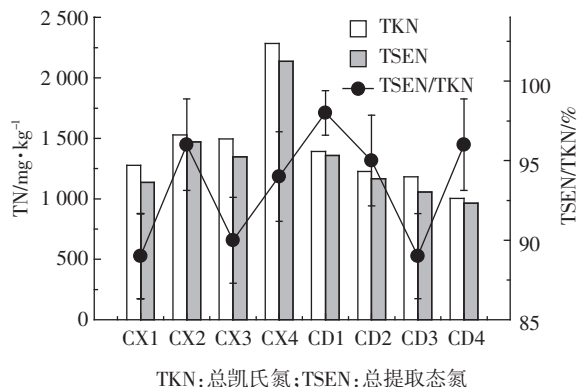


图4 巢湖沉积物中总凯氏氮与总提取态氮的对比

Figure 4 Comparison of TSEN and TKN in Chaohu Lake sediments

3 讨论

有研究认为面源是巢湖氮、磷负荷的主要来源,占全湖输入量的74%和68%,而这其中通过入湖河流进入巢湖水体氮、磷负荷分别为76.9%和69.5%^[25]。巢湖的农业生产中施用的氮、磷通过地表径流进入河流,再经河流进入巢湖水体。从入湖河流污染负荷考虑,巢湖西北合肥区域的主要入湖河流,十五里河、南淝河和派河的水质大多为劣V,氮、磷含量都超标,水量占巢湖入湖水量的15.5%左右^[17,26],这使得西半湖CX1~CX4点的总氮及各形态氮的含量高于东半湖,特别是CX4点。而巢湖西南湖区杭埠河、兆河和白石山河水量为巢湖入湖水量的74.5%,水质为Ⅲ类到Ⅳ类,巢湖东部的柘皋河为Ⅲ类水质^[27],水量约占入湖水量的10%,裕溪河为巢湖唯一的出水河流^[27],因此使巢湖东部湖区为农业面源的主要区域。但由于有大量较为清洁水的冲刷和补给,使得巢湖东半湖水体底泥中总氮及其各形态氮的含量较西湖区低。

沉积物中各形态氮差异性明显:从平均含量上看,HN含量最高,其次是EN,再次是RN, FN最小,分别占TSEN的78.32%、11.50%、9.76%以及0.42%。从组成成分上看, FN、EN以无机氮为主,分别占其总量的85.14%和85.06%; HN、RN除少量被固定在2:1型黏土矿物晶层中的 NH_4^+-N ,基本上是有机氮。为了探讨巢湖表层沉积物中各形态氮之间是否存在必然联系,采用统计分析方法对沉积物中各形态氮的含量进行了相关性研究,结果见表3。从表3可以看出, FN与其他各形态氮均无显著相关,但均为正值,说明沉积物中FN的含量并不仅由沉积物中其他氮形态控制,尤其不仅是受EN支配,还与其他因素有关,如上覆水营养盐浓度、营养盐在水-沉积物界面的交换通量等。EN与HN呈极显著相关性,主要跟沉积物中

EN的来源有关, EN除少量来源于沉积物中有机、无机组分对 NH_4^+-N 的吸附作用,大部分来源于沉积物中有机质(即HN)的矿化作用。TSEN与EN、HN呈极显著相关,说明EN、HN是TSEN的重要组成部分,结合EN、HN占TSEN的比重可以看出, EN、HN是支配TSEN分布的主要因素。TSEN与TKN极显著相关,相关性系数为0.993,同时TSEN与TKN的比值平均为0.940,说明连续提取法得到的总氮在误差允许的范围内可替代半微量凯氏法测得的总氮。

表3 不同形态氮之间的相关关系($n=8$, Pearson)Table 3 Correlations between different nitrogen speciation ($n=8$, Pearson)

	FN	EN	HN	RN	TSEN	TKN
FN	1					
EN	0.403	1				
HN	0.704	0.840**	1			
RN	0.048	0.725	0.451	1		
TSEN	0.528	0.928**	0.953**	0.679	1	
TKN	0.598	0.936**	0.967**	0.656	0.993**	1

注: * 为显著相关 $P<0.05$; ** 为极显著相关 $P<0.01$; 全部采用双尾检验。

沉积物中生物可利用性氮主要有两个来源:沉积物中无机氮(NH_4^+-N 、 NO_3^--N)、溶解性有机氮和可矿化有机氮(主要为酸解态氮)。本研究中FN、EN都是生物可利用性氮,为了表明沉积物有机氮(主要为酸解态氮和残渣氮)各组分的生物可利用性,对巢湖沉积物进行了40℃水淹一周培养,结果表明,沉积物可矿化氮与AN、AAN、ASN、UN呈正相关,其中与AN、AAN显著相关,相关性系数(Pearson, $P<0.05$)分别为0.734、0.787,而与RN不相关。上述相关性系数是在两个变量之间相互独立的情况下得到的,而在多个变量之间往往存在相关关系,为了找到酸解态氮各组分对可矿化氮贡献最大的变量,本研究采用多元逐步回归分析法,以期建立酸解态氮各组分对可矿化氮的“最优”回归方程,结果为:

$$y=0.696\text{AAN}-108.918$$

式中: y 为可矿化态氮, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; AAN 为酸解氨基酸态氮, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

可以看出,酸解氨基酸态氮是可矿化态的稳定和最有效贡献者。

4 结论

根据沉积物中氮的释放能力大小,利用改进的连续提取法对巢湖沉积物中氮形态进行了分级提取,将

巢湖沉积物中氮形态分为游离态氮、可交换态氮、酸解态氮和残渣态氮,各形态氮含量大小为酸解态氮>可交换态氮>残渣态氮>游离态氮。游离态氮和可交换态氮为直接可被生物利用态的氮,是巢湖表层沉积物中总提取态氮的主要组成;酸解态氮是可矿化态(间接生物可利用态)氮的主要来源,而氨基酸态氮是酸解态氮中稳定和最有效的贡献者。

参考文献:

- [1] Howarth R W, Roxanne M. Nitrogen as the limiting nutrient for eutrophication in coastal marine ecosystems: Evolving views over three decades [J]. *Limnology and Oceanography*, 2006, 51:364–376.
- [2] Kakinuma M, Coury D A, Nakamoto C, et al. Kakinuma Molecular analysis of physiological responses to changes in nitrogen in a marine macroalga, *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta)[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2008, 24: 629–639.
- [3] Schulten H R, Schnitzer M. The chemistry of soil organic nitrogen: a review[J]. *Biol Fertil Soils*, 1998, 26:1–15.
- [4] Field S. Global nitrogen cycling out of control[J]. *Environmental Health Perspective*, 2004, 112(10):556–563.
- [5] Smil V. Global population and the nitrogen cycle[J]. *Scientific American*, 1997, 277(1):76–81.
- [6] National Research Council. Soil and water quality: an Agenda for agriculture[M]. Washington (DC): National Academy Press, 1993.
- [7] 马红波, 宋金明, 吕晓霞, 等. 渤海沉积物中氮的形态及其在循环中的作用[J]. *地球化学*, 2003, 32(1):48–54.
MA Hong-bo, SONG Jin-ming, LV Xiao-xia, et al. Nitrogen forms and their functions in recycling of the Bohai Sea sediments[J]. *Geochimica*, 2003, 32(1):48–54.
- [8] Kemp A L W, Mudrochova A. Distribution and forms of nitrogen in a Lake Ontario sediment core[J]. *Limnology and Oceanography*, 1972, 17 (6):855–867.
- [9] Kemp A L W. Organic carbon and nitrogen in the surface sediments of Lake Ontario, Erie and Huron[J]. *Journal of Sedimentary Petrology*, 1970, 41: 537–548.
- [10] De Lange G J. Distribution of exchangeable, fixed, organic and total nitrogen in interbedded turbiditic/pelagic sediments of the Madeira Abyssal plain, eastern North Atlantic[J]. *Marine Geology*, 1992, 109: 95–114.
- [11] 吴丰昌, 万国江, 蔡玉蓉. 沉积物-水界面的生物地球化学作用[J]. *地球科学进展*, 1996, 11(2):191–197.
WU Feng-chang, WAN Guo-jiang, CAI Yu-rong. Biogeochemical progresses at the sediment-water interface[J]. *Advance in Earth Sciences*, 1996, 11(2):191–197.
- [12] 侯立军, 刘敏, 蒋海燕, 等. 河口潮滩沉积物对氨氮的等温吸附特性[J]. *环境化学*, 2003, 22 (6):18–24.
HOU Li-jun, LIU Min, JIANG Hai-yan, et al. Ammonia nitrogen adsorption isotherm of tidal flat surface sediments from the Yangze Estuary [J]. *Environmental Chemistry*, 2003, 22 (6):18–24.
- [13] 金相灿, 姜霞, 徐玉慧, 等. 太湖东北部沉积物可溶性氮、磷的季节性变化[J]. *中国环境科学*, 2006, 26 (4): 409–413.
JIN Xiang-can, JIANG Xia, XU Yu-hui, et al. Seasonal variation of dissolved nitrogen and phosphorus in sediments in northeast part of Lake Taihu[J]. *China Environmental Sciences*, 2006, 26 (4): 409–413.
- [14] 何桐, 谢健, 余汉生, 等. 大亚湾表层沉积物间隙水与上覆水中营养盐分布特征[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(11): 2361–2368.
HE Tong, XIE Jian, YU Han-sheng, et al. The distribution of nutrients in the interstitial water and overlying water in Daya Bay[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(11): 2361–2368.
- [15] Bremner J M. Organic forms of soil nitrogen[C]. Black CA et al (eds). *Methods of Soil Analysis*. USA: Madison, American Society of Agronomy, 1965, 1148–1178.
- [16] Stevenson F J. Organic forms of soil nitrogen[M]. *Humus Chemistry*, Wiley, New York: 55–119.
- [17] 金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990.
JIN Xiang-can, TU Qing-ying. Norms of lake eutrophication investigations[M]. Beijing: Chinese Environmental Sciences Express, 1990.
- [18] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986.
XU Guang-hui, ZHENG Hong-yuan. Manual for soil microorganism analysis methods[M]. Beijing: Chinese Agriculture Express, 1986.
- [19] Ruban V, Brigau S, Demare D, et al. An investigation of the origin and mobility of phosphorus in freshwater sediments from Bort-Les-Orgues Reservoir, France[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 1999, 1(4): 403–407.
- [20] Griffiths S M, Warden F J, Schnitzer M. The alkaline hydrolysis of acid-resistant soil and humic residues[J]. *Soil Bio Chem*, 1976, 8: 529–531.
- [21] Sowden F J, Chen Y, Schnitzer M. The nitrogen distribution in soils formed under widely differing climatic conditions[J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 1997, 41:1524–1526.
- [22] Stevenson F J. *Humus chemistry*[M]. Wiley, New York: 1994:496.
- [23] Schulten H R. The three-dimensional structure of humic substances and soil organic matter studied by computational analytical chemistry [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1995, 351:62–73.
- [24] Schulten H R, Schnitzer M. Chemical model structures for soil organic matter and soils[J]. *Soil Sci*, 1997, 162:115–130.
- [25] 屠清瑛, 顾丁锡, 徐卓然, 等. 巢湖富营养化的研究[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1991: 82–114.
TU Qing-ying, GU Ding-xi, XU Zhuo-ran, et al. Research on eutrophication of Chaohu Lake[M]. Hefei: Science and Technology University of China Press, 1991: 82–114.
- [26] 王绪伟, 王心源, 史杜芳. 巢湖污染现状与水质恢复措施[J]. *环境保护科学*, 2007, 33: (4)13–15.
WANG Xu-wei, WANG Xin-yuan, SHI Du-fang. Present situation of pollution in Chaohu Lake and its remediation[J]. *Environment Protection Sciences*, 2007, 33: (4)13–15.
- [27] 谢平. 翻阅巢湖的历史-蓝藻、富营养化及地质演化[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 154–157.
XIE ping. Reading about the histories of cyanobacteria, eutrophication and geological evolution in Chaohu[M]. Beijing: Science Press, 2009: 154–157.