

$N_2:Ar$ 法直接测定淹水环境反硝化产物 N_2 的产生速率

李晓波^{1,2}, 夏永秋¹, 郎漫³, 颜晓元^{1*}

(1.中国科学院南京土壤研究所土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008; 2.中国科学院大学, 北京 100049; 3.南京信息工程大学应用气象学院, 南京 210044)

摘要:反硝化是活性氮变为惰性氮返回大气的最主要过程, 对于控制生态系统氮平衡至关重要, 然而反硝化速率的测定, 特别是淹水环境的反硝化速率测定一直是一个难题。为深入研究淹水环境反硝化过程及机理, 建立了可以模拟原位淹水环境的培养装置, 结合可以精确测定水体 $N_2:Ar$ (物质的量比) 的膜进样质谱仪(MIMS), 实现了直接对原状沉积物反硝化速率的精确测定。实验结果表明, MIMS 在长时间(10 h)连续测定情况下仍能保持良好的信号稳定性, 水温 12 °C 和 30 °C 标样的 $N_2:Ar$ 变异系数(CV)分别为 0.26% 和 0.08%。整个实验体系(培养装置结合 MIMS)重复性较好, 测得不同 $NO_3^- - N$ 浓度处理的 3 个平行沉积物柱样反硝化速率的 CV<9.05%; 培养实验所取平行水样标准偏差(SD)<0.1 $\mu mol \cdot L^{-1}$, 远小于培养期内 N_2 浓度的实际增加量(4.5 $\mu mol \cdot L^{-1}$), 说明该系统可以满足对淹水环境反硝化速率的测定要求。应用该方法得到的沉积物反硝化速率与 $NO_3^- - N$ 浓度关系符合米氏方程($R^2=0.999\ 2, P<0.000\ 1$); 该方法和 $NO_3^- - N$ 消失法测定的结果具有显著的线性关系($R^2=0.999\ 8, P<0.000\ 1$)。表明通过该实验体系所建立的 $N_2:Ar$ 法在今后深入开展水体氮循环研究中具有良好的应用前景。

关键词: $N_2:Ar$; 膜进样质谱仪(MIMS); 反硝化; 溶解 N_2

中图分类号:X830.2 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)06-1284-05 doi:10.11654/jaes.2013.06.028

$N_2:Ar$ Technique for Direct Determination of Denitrification Rate of Aquatic Ecosystems Using Membrane Inlet Mass Spectrometry

LI Xiao-bo^{1,2}, XIA Yong-qiu¹, LANG Man³, YAN Xiao-yuan^{1*}

(1.State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2.University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3.College of Applied Meteorology, Nanjing University of Information Science & Technology, Nanjing 210044, China)

Abstract: High background concentrations of N_2 and high spatio-temporal heterogeneity of sediments make it difficult to quantify denitrification in aquatic ecosystems. Traditional methods such as C_2H_2 inhibition, ^{15}N tracer and mass balance measure denitrification in an indirect way, which is insufficiently accurate and time-consuming. The development of membrane inlet mass spectrometry (MIMS) makes it possible to measure $N_2:Ar$ ratio precisely. In this study, we developed an undisturbed sediments incubation system combined with MIMS to measure net N_2 fluxes directly and precisely. The incubation and sampling protocol were developed in this paper. Laboratory experiments showed that the instrument yielded high signal stability. The coefficient variations (CVs) of the measured $N_2:Ar$ ratio of two standard solutions (with water temperature of 12 °C and 30 °C) during 10 h continuous measurements were 0.26% and 0.08%. The net N_2 fluxes of three replicate sediment cores also showed high reproducibility of the method (CV<9.05%). The standard deviation of N_2 concentration in triplicate water samples collected from our undisturbed sediments incubation system is less than 0.1 $\mu mol \cdot L^{-1}$, which was far less than the increment of dissolved N_2 ($\mu mol \cdot L^{-1}$) during the incubation (4.5 $\mu mol \cdot L^{-1}$ within 9 h). Denitrification rates obtained from this method showed a Michaelis-Menten relationship with $NO_3^- - N$ concentrations ($R^2=0.999\ 2, P<0.000\ 1$). In addition, there was a significant linear relationship between results of the $N_2:Ar$ method and the $NO_3^- - N$ disappearance method ($R^2=0.999\ 8, P<0.000\ 1$). This study suggests good applicability of the $N_2:Ar$ method combined with our undisturbed sediments incubation system in determining denitrification rate of wetlands.

Keywords: $N_2:Ar$; MIMS; denitrification; dissolved N_2

收稿日期:2012-10-31

基金项目:中国科学院知识创新工程项目(KZCX2-YW-GJ01);国家自然科学基金项目(41071196, 41061140515);国家自然科学基金项目(41001349)

作者简介:李晓波(1984—),男,博士研究生,主要研究方向为氮素循环的农业与环境效应。E-mail:li.xb.sun@gmail.com

*通信作者:颜晓元 E-mail:yanxy@issas.ac.cn

自然湿地、人工湿地、水田等淹水环境是反硝化热点区域^[1]。反硝化作为氮循环的关键环节,一方面导致水田氮肥利用率降低,另一方面是富营养化水体氮素去除的重要途径。然而,大气高 N_2 背景值和反硝化过程高时空异质性使得反硝化定量研究变得十分困难。目前已建立的反硝化测定方法包括乙炔抑制法、 N_2 通量法、质量平衡法、化学计量法和同位素法等,但这些方法大多存在人为扰动大、操作繁琐、误差大的不足,无法精确测定淹水环境反硝化速率^[2]。虽然广泛采用的乙炔抑制法操作简单、成本较低,但是乙炔对硝化-反硝化耦合作用的抑制以及由于乙炔扩散不均匀对 N_2O 还原为 N_2 抑制不完全等因素均会低估反硝化强度,尤其在硝酸盐含量较低的淹水沉积物中比较严重^[3-4]。Kana 等^[5]基于 $N_2:Ar$ 法开发的膜进样质谱仪(MIMS)虽然在测定超饱和水样溶解性气体以及制备与待测水样环境条件完全一致的标准水方面存在困难,但是其可以直接测定水体 N_2/Ar 比值,测定精度 $<0.03\%$,每个样品测定时间 $<2\text{ min}$,相比于其他方法具有明显的优越性。该方法被认为是目前最具潜力的反硝化测定方法^[2,6]。

目前,国内淹水环境反硝化测定仍广泛采用乙炔抑制法,以 N_2O 作为观测指标^[7-11],很少对反硝化主要产物 N_2 进行直接测定和分析^[6,12]。我们在引进目前最新的 MIMS 测定装置基础上,建立起一套模拟原位淹水环境条件的培养装置来准确测定原状沉积物反硝化产物溶解 N_2 产生速率,旨在为深入开展淹水环境反硝化过程和机理研究奠定方法基础。

1 材料与方法

1.1 MIMS 仪器装置

本研究所用 MIMS(Membrane inlet mass spectrometer, Bay Instruments, Easton, MD, USA) 主要由蠕动泵、恒温水浴、液氮冷阱、四级杆质谱管、信号收集器、计算机系统组成^[5]。MIMS 的操作原理很简单:待测水样在蠕动泵作用下进入温度调节水浴装置,经过温度平衡的水样进入真空系统并与半透膜接触,水样中部分气体透过半透膜进入四级杆质谱管,首先在电离装置作用下进行离子化,而后不同质量的离子经过振荡电场分离后进入检测器。蠕动泵可以把水样以均匀一致的速度输入到进样系统中,恒温水浴可以快速调节低温保存的水样至实际取样温度,液氮冷阱可以去除水蒸气、 CO_2 、 CH_4 等低分子有机化合物以防止对待测气体的干扰。

1.2 方法原理

相比于单一测定 N_2 , 质谱可以更加精确测定气体比例(例如 $N_2:Ar$)。MIMS 测定 N_2 、 Ar 的精度分别是 $<0.5\%$ 、 $<0.05\%$,而测定 $N_2:Ar$ (物质的量比)精度 $<0.03\%$ 。另外,测定 $N_2:Ar$ 还可以减少 O_2 浓度变化的影响^[5,13]。水环境中 N_2 源于生物过程(主要是反硝化)和物理过程(水气平衡),而 Ar 溶解度主要受温度、盐度条件控制(纯物理过程)。因此,可通过水样 $N_2:Ar$ 计算其真实 N_2 浓度^[5]。水样 N_2 浓度($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)计算公式如下:

$$[N_2] = Cf \times ([N_2]/[Ar])_{sa} \times [Ar]_T$$

式中: Cf 是校正因子, $Cf = ([N_2]/[Ar])_T / ([N_2]/[Ar])_{st}$; $([N_2]/[Ar])_{sa}$ 、 $([N_2]/[Ar])_{st}$ 分别表示样品、标准水样 $N_2:Ar$ 实测值; $([N_2]/[Ar])_T$ 、 $[Ar]_T$ 分别表示标准水样 $N_2:Ar$ 、 Ar 浓度($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的理论值,由标准水样温度和盐度值代入 Weiss 方程^[14]计算得到。标准水样按照实际取样时的水温、盐度制备(具体见 1.4 节)。

在密闭培养体系中,反硝化主要产物 N_2 浓度随培养时间延长而增加。不同培养时间 N_2 浓度和时间经线性回归得到 $Y = mX + b$, 其中斜率 m 是沉积物柱上覆水中 N_2 浓度变化速率($\mu\text{mol } N_2\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$);结合沉积物柱样横截面积(m^2)与上覆水体积(L),即得反硝化速率($\mu\text{mol } N_2\text{-N}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$)。

1.3 培养取样方法

使用奥地利 Uvitec 无扰动沉积物采样器(PVC, 内径 8 cm, 外径 9 cm, 高 27 cm)采取 0~10 cm 的原状沉积物和上覆水。柱底采用橡胶塞密封,同时采取 20 L 原位上覆水用于培养。柱样带回实验室后,垂直放置于模拟原位淹水环境的培养装置中(图 1)浸没平衡 4~6 h(水要高出柱子约 5 cm)。同时要用通气泵保持培养器中上覆水适度通气,使得培养柱样淹水环境溶解氧含量与原位环境较为一致,房间温度需要调节至取样时实际水温。开始取样前,首先关闭通气泵,然后将柱盖伸到水下拧紧,最后连接进水管和出水管,进水管连接的上覆水要放置于可以在重力作用下流出的较高位置,密闭柱样中需保证无气泡残留。然后,开启并调节可调速电机旋转下部联接的 3 个磁棒,使得沉积物培养柱样顶部的磁转子在磁力感应下随之转动($75\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$)。由此,培养装置不仅可以模拟水体流动,而且可以混匀溶解性气体,有利于提高测定精度。培养体系调试完毕,立即取第一个水样作为 0 h 的样品,然后分别在之后 2、4、6、8 h 取样,样品取 3 个重复。

取样时,首先打开进水管止水夹,而后将出水管插至细长的螺口取样瓶(7 mL, Labco Limited, UK)底部,通过调节出水管止水夹让水样在重力作用下缓慢注入直至溢出,同时将出水管缓慢抽出,最后立即拧紧盖子密封,避免空气污染水样。如果取样瓶中有气泡残留则需要重新取样。如果所取样品不能在2 h内测试,则要在取样瓶注满水样后立即用移液枪加入20 μL 饱和 HgCl_2 , 而后马上密封。移液枪枪头要插入溢满水样的取样瓶约1.5 cm。取好的样品可以放入5 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存1个月左右。每次取样结束后,进水管和出水管都要用止水夹夹住。

整个反硝化培养装置见图1。

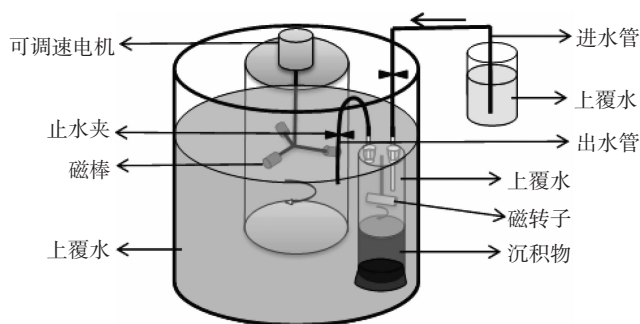


图1 反硝化培养装置

Figure 1 The experimental incubation system used to measure denitrification rate

1.4 测定方法

标准水样制备:用去离子水配制与待测水样一致盐度的溶液约600 mL,装入1 L圆底烧瓶后放入和培养水温一致的恒温水浴中浸没。烧瓶口需用浸过水的海绵塞住以维持100%湿度。调节转子搅拌标准水样使得水流出现明显漩涡且不能产生气泡。水样达到一次气液均衡需10~20 min,一般均衡>30次才可以达到完全气液均衡,需要约3 h。一般搅拌水流速度越大,达到稳定的时间就越短。

测样之前先连续测试标准水样约1 h。目测信号稳定后,通过关/开蠕动泵记录一系列标准水样数据以评估重复性和漂移程度。具体方法如下:首先记录第1组数据,然后关闭-打开蠕动泵,信号稳定后记录第2组数据,同样记录第3组数据,如果3次 $\text{N}_2:\text{Ar}$ 的变异系数<0.03%即可测定样品。测试样品时,需将进样针快速放入取样瓶底部(上部容易被空气污染),打开蠕动泵进行测定。进样同时要避免进样针和沉积物颗粒接触以免堵塞。样品测定过程中要定期用标准水样进行校正,刚开始15 min校正一次,而后视信号

漂移程度适当减少校正频率。

2 结果与讨论

2.1 仪器稳定性

质谱系统长时间运行中通常会产生信号漂移现象。为评估所用MIMS稳定性,连续10 h测定了2组标样(水温分别是12、30 $^{\circ}\text{C}$)。由表1可知,与 N_2 信号值(变异系数CV分别为1.33%和0.46%)相比, $\text{N}_2:\text{Ar}$ 漂移程度大幅降低(CV分别为0.26%和0.08%)。12、30 $^{\circ}\text{C}$ 标准水样 $\text{N}_2:\text{Ar}$ 标准偏差(SD)分别为0.06与0.02,分别对应约1.5、1.1 $\mu\text{mol N}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ 。因此,该MIMS在10 h连续测定下稳定性良好,若样品数量多,测试时间太长,需插做标样校正。

表1 标样连续测定10 h后信号偏移情况

Table 1 Instrument shift in 10-hour continuous measurements of standard samples

时间/h	$\text{P}(\text{N}_2)/\text{torr}$		$\text{P}(\text{Ar})/\text{torr}$		$\text{N}_2:\text{Ar}$ 比值	
	12 $^{\circ}\text{C}$	30 $^{\circ}\text{C}$	12 $^{\circ}\text{C}$	30 $^{\circ}\text{C}$	12 $^{\circ}\text{C}$	30 $^{\circ}\text{C}$
1	1.56E-10	1.77E-10	7.16E-12	7.65E-12	21.86	23.12
2	1.54E-10	1.76E-10	7.08E-12	7.63E-12	21.81	23.11
4	1.53E-10	1.76E-10	7.04E-12	7.60E-12	21.77	23.11
8	1.52E-10	1.75E-10	6.98E-12	7.60E-12	21.73	23.08
10	1.52E-10	1.75E-10	6.98E-12	7.58E-12	21.72	23.08
Mean	1.53E-10	1.76E-10	7.05E-12	7.61E-12	21.78	23.10
SD	2.04E-12	8.05E-13	7.54E-14	2.94E-14	0.06	0.02
CV	1.33%	0.46%	1.07%	0.39%	0.26%	0.08%

注:Mean表示平均值;SD表示标准偏差;CV表示变异系数;1 torr = 133.3 Pa。

2.2 方法的重复性与精密性

水体 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度是影响沉积物反硝化的重要因素之一。我们在江苏句容水库小流域某选定河段使用无扰动沉积物采样器随机采取20个0~10 cm的原状沉积物,放置于洁净塑料桶充分混匀后运回实验室。然后,采用改装后的注射器将混匀的沉积物分装至12根培养柱(沉积物高10 cm),接着将配好的不同浓度的 KNO_3 溶液缓慢注入培养柱,密封并连接进水管后放置于培养器培养取样(具体操作见上文1.3)。实验设置4个 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度处理(0、1、2、5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$),每个处理3个平行柱样,水温设置为22 $^{\circ}\text{C}$,分别于培养后0、3、5、7、9 h采集3个平行水样分析测试。各平行柱样处理的回归曲线斜率,即反硝化速率($\mu\text{mol N}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)的CV变化范围:1.76%~9.05%(表2),表明本方法重复性良好。

表 2 不同 NO₃-N 水平下的反硝化速率(μmol N₂·L⁻¹·h⁻¹)平行性分析
Table 2 Measured denitrification rates(μmol N₂·L⁻¹·h⁻¹) of triplicate samples

重复序号	NO ₃ -N 浓度/mg·L ⁻¹			
	0	1	2	5
1	y=0.13x+515.82 R ² =0.754	y=0.32x+516.48 R ² =0.979	y=0.36x+517.12 R ² =0.998	y=0.47x+516.68 R ² =0.991
2	y=0.12x+515.49 R ² =0.791	y=0.30x+516.44 R ² =0.999	y=0.38x+516.70 R ² =0.992	y=0.46x+516.60 R ² =0.997
3	y=0.14x+515.46 R ² =0.858	y=0.28x+516.27 R ² =0.993	y=0.37x+516.54 R ² =0.991	y=0.47x+516.67 R ² =0.997
Mean	0.13	0.30	0.37	0.47
SD	0.01	0.02	0.01	0.01
CV	9.05%	7.09%	3.65%	1.76%

注:y 为溶解 N₂ 浓度(μmol·L⁻¹),x 为培养时间(h)。

另外,以 5 mg NO₃-N·L⁻¹ 处理下的一个平行柱样为例,5 次取样平行水样的溶解 N₂ 浓度 SD<0.1 μmol·L⁻¹,CV<0.03%(表 3)。而该处理溶解 N₂ 浓度 9 h 内净增加 4.5 μmol·L⁻¹,表明平行误差和精密性可以满足研究要求。

表 3 不同取样时间水样 N₂ 浓度平行性分析
Table 3 Measured dissolved N₂ of triplicate water samples

取样时间/ h	during incubation		
	溶解 N ₂ 平均值/ μmol·L ⁻¹	标准偏差/ μmol·L ⁻¹	变异系数/ %
0	516.68	0.05	0.01
3	518.04	0.03	0.01
5	519.17	0.01	0.00
7	519.86	0.05	0.01
9	521.18	0.08	0.02

注:以 5 mg NO₃-N·L⁻¹ 处理下一个重复柱样为例,n=3。

2.3 方法应用

实验结果表明,该河流沉积物反硝化速率(μmol N₂-N·m⁻²·h⁻¹)在(55.7±8.2)~(173.9±6.9)之间,与差值法所估算的结果(108±79)μmol N₂-N·m⁻²·h⁻¹ 有较好的一致性^[15-16]。另外,反硝化作为微生物过程,与反应底物 NO₃-N 浓度关系符合米氏方程(R²=0.999 2,P<0.000 1)(图 2)。另外,NO₃-N 消失法也是表征反硝化强度的方法之一^[17]。然而,水体 NO₃-N 除了通过反硝化去除,还可能有其他去向,如微生物或藻类同化利用,硝酸盐异化还原为铵,扩散至沉积物^[18]。正因为 NO₃-N 去向的不确定性,NO₃-N 消失法只能用来表征反硝化作用强弱,而不能用来精确定量。N₂:Ar 法则可以精确测定反硝化产物 N₂ 的产生速率,不受 NO₃-N 其他不明去向的影响。对 N₂:Ar 法和 NO₃-N 消失法

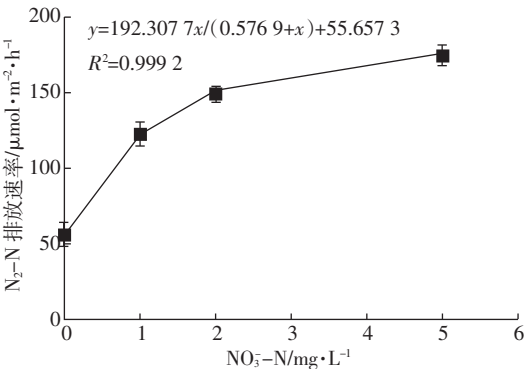


图 2 NO₃-N 浓度对 N₂-N 产生速率的影响
Figure 2 Relationship between net N₂-N fluxes and concentrations of NO₃-N

测定结果进行回归分析发现:两种方法存在极显著的线性关系(R²=0.999 8,P<0.000 1),反硝化产生 N₂ 量可以解释高达 68%的 NO₃-N 消失量(图 3)。

上述结果说明该方法有很好的测定精度。

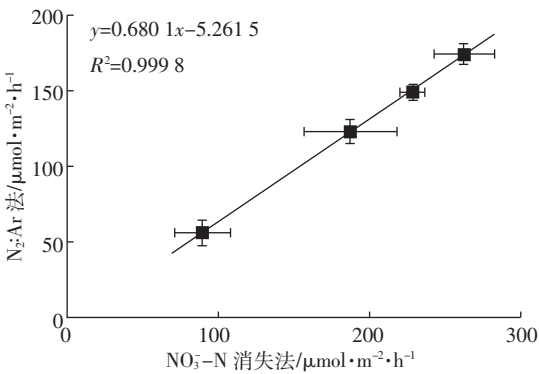


图 3 两种反硝化速率测定方法所获得的结果的相关性
Figure 3 Relationship between denitrification rates obtained by N₂:Ar method(y) and NO₃-N disappearance method(x)

3 结论

通过实验研究和实际应用,建立起可以模拟原位淹水环境的反硝化培养装置,结合 MIMS 精确测定 $N_2:Ar$, 实现了直接对原状沉积物反硝化速率的精确测定。所用 MIMS 稳定性良好,水温 12 °C 和 30 °C 标样连续测定 10 h 的 $N_2:Ar$ 变异系数分别为 0.26% 和 0.08%; 整个实验体系重复性好,不同 $NO_3^- - N$ 浓度处理 3 个平行沉积物柱样反硝化速率 $CV < 9.05\%$; 精密性高,培养实验所取平行水样 $SD < 0.1 \mu mol \cdot L^{-1}$, $CV < 0.03\%$ 。应用该方法测得沉积物反硝化速率与 $NO_3^- - N$ 浓度关系符合米氏方程 ($R^2 = 0.999\ 2$, $P < 0.000\ 1$)。另外该方法和 $NO_3^- - N$ 消失法测定结果具有极显著的线性关系 ($R^2 = 0.999\ 8$, $P < 0.000\ 1$)。表明本文所建 $N_2:Ar$ 法具有与真实环境接近、测定直接、精度高等优点,适用于淹水环境反硝化研究,在今后深入开展水体氮循环研究中具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] Seitzinger S P, Harrison J A, Böhlke J K, et al. Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis[J]. *Ecological Applications*, 2006, 16(6): 2064–2090.
- [2] Groffman P M, Altabet M A, Böhlke J K, et al. Methods for measuring denitrification: Diverse approaches to a difficult problem[J]. *Ecological Applications*, 2006, 16(6): 2091–2122.
- [3] Rudolph J, Frenzel P, Pfennig N. Acetylene inhibition technique underestimates insitu denitrification rates in intact cores of fresh-water sediment[J]. *Fems Microbiology Ecology*, 1991, 85(2): 101–106.
- [4] Seitzinger S P, Nielsen L P, Caffrey J, et al. Denitrification measurements in aquatic sediments: A comparison of three methods[J]. *Biogeochemistry*, 1993, 23(3): 147–167.
- [5] Kana T M, Darkangelo C, Hunt M D, et al. Membrane inlet mass spectrometer for rapid high-precision determination of N_2 , O_2 , and Ar in environmental water samples [J]. *Analytical Chemistry*, 1994, 66(23): 4166–4170.
- [6] 陈能汪, 吴杰忠, 段恒轶, 等. $N_2:Ar$ 法直接测定水体反硝化产物溶解 N_2 [J]. 环境科学学报, 2010, 30(12): 2479–2483.
CHEN Neng-wang, WU Jie-zhong, DUAN Heng-yi, et al. $N_2:Ar$ method for direct measurement of denitrification product (dissolved N_2) using membrane inlet mass spectrometry (MIMS) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(12): 2479–2483.
- [7] 徐继荣, 王友绍, 殷建平, 等. 珠江口入海河段 DIN 形态转化与硝化和反硝化作用[J]. 环境科学学报, 2005, 25(5): 686–692.
XU Ji-rong, WANG You-shao, YIN Jian-ping, et al. Transformation of dissolved inorganic nitrogen species and nitrification and denitrification processes in the near sea section of Zhujiang River [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25(5): 686–692.
- [8] 王东启, 陈振楼, 许世远, 等. 长江口潮滩沉积物反硝化作用及其时空变化特征[J]. 中国科学 B 辑(化学), 2007, 37(6): 604–611.
WANG Dong-qi, CHEN Zhen-lou, XU Shi-yuan, et al. Denitrification and its spatio-temporal characteristics of sediments in Yangtze Estuary [J]. *Science in China(Chemistry)*, 2007, 37(6): 604–611.
- [9] 李飞跃, 杨 绒, 逄超普, 等. 秦淮河流域句容水库农业流域水体沉积物的反硝化作用[J]. 环境科学学报, 2009, 29(4): 854–860.
LI Fei-yue, YANG Rong, TI Chao-pu, et al. Denitrification of river and reservoir sediments in the Jurong reservoir agricultural watershed, Qinhuai River basin [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(4): 854–860.
- [10] 钟继承, 刘国锋, 范成新, 等. 湖泊底泥疏浚环境效应: III. 对沉积物反硝化作用的影响[J]. 湖泊科学, 2009, 21(4): 465–473.
ZHONG Ji-cheng, LIU Guo-feng, FAN Cheng-xin, et al. Environmental effect of sediment dredging in lake: III. Influence of dredging on denitrification in sediments [J]. *Journal of Lake Science*, 2009, 21(4): 465–473.
- [11] Hou L J, Liu M, Xu S Y, et al. The effects of semi-lunar spring and neap tidal change on nitrification, denitrification and N_2O vertical distribution in the intertidal sediments of the Yangtze estuary, China [J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2007, 73(3–4): 607–616.
- [12] Yan W, Laursen A E, Wang F, et al. Measurement of denitrification in the Yangtze River [J]. *Environmental Chemistry*, 2004, 1(2): 95–98.
- [13] Kana T M, Weiss D L. Comment on "Comparison of isotope pairing and $N_2:Ar$ methods for measuring sediment denitrification" by B. D. Eyre, S. Rysgaard, T. Daisgaard, and P. Bondo Christensen. 2002. *Estuaries* 25: 1077–1087 [J]. *Estuaries*, 2004, 27(1): 173–176.
- [14] Weiss R F. Solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater [J]. *Deep-Sea Research*, 1970, 17(4): 721–724.
- [15] Yan X Y, Cai Z C, Yang R, et al. Nitrogen budget and riverine nitrogen output in a rice paddy dominated agricultural watershed in Eastern China [J]. *Biogeochemistry*, 2011, 106(3): 489–501.
- [16] Li X B, Xia Y Q, Li Y F, et al. Sediment denitrification in waterways in a rice-paddy-dominated watershed in eastern China [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(4): 783–792.
- [17] Yu K, Struwe S, Kjeller A, et al. Denitrification rate determined by nitrate disappearance is higher than determined by nitrous oxide production with acetylene blockage [J]. *Ecological Engineering*, 2008, 32(1): 90–96.
- [18] Veraart A J, de Bruijne W J J, de Klein J J M, et al. Effects of aquatic vegetation type on denitrification [J]. *Biogeochemistry*, 2011, 104(1–3): 267–274.