

# 湖泊水体尿素源汇研究进展

罗笠<sup>1,2</sup>, 王宏青<sup>2</sup>, 肖红伟<sup>1,2</sup>, 朱仁果<sup>1,2</sup>, 梁越<sup>1,2</sup>, 郭威<sup>1,2</sup>, 谢亚军<sup>1,2</sup>, 徐沪峰<sup>2</sup>, 朱文麒<sup>2</sup>, 肖化云<sup>1,2\*</sup>

(1. 东华理工大学江西省大气污染成因与控制重点实验室, 江西南昌 330013; 2. 东华理工大学水资源与环境工程学院, 江西南昌 330013)

**摘要** 概括了尿素浓度分析方法和尿素氮同位素分析技术的发展, 总结了湖泊水体尿素浓度的历史变化特征, 解析了湖泊外源尿素的主要来源和湖泊内源尿素的主要释放机制, 探讨了氮同位素示踪和尿素氮同位素在湖泊水体尿素源汇示踪研究中应用的可能性。

**关键词** 湖泊; 尿素; 源汇; 氮同位素

中图分类号 S181.3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)36-0044-06

## Research Progress of the Source and Sink of Urea in Lake Water

LUO Li<sup>1,2</sup>, WANG Hong-qing<sup>2</sup>, XIAO Hong-wei<sup>1,2</sup>, XIAO Hua-yun<sup>1,2\*</sup> et al (1. Jiangxi Province Key Laboratory of the Causes and Control of Atmospheric Pollution, East China University of Technology, Nanchang, Jiangxi 330013; 2. School of Water Resources and Environmental Engineering, East China University of Technology, Nanchang, Jiangxi 330013)

**Abstract** The developing of analyzing method of urea concentration and nitrogen isotope of urea was reviewed, the history varied characteristics of urea concentration was summarized, the main sources of urea in lake and the main release mechanism of endogenous urea in lake was analyzed, the possibility of the application of nitrogen isotopic tracing and urea nitrogen isotope in lake water source problems in urea was explored.

**Key words** Lake; Urea; Source and sink; Nitrogen isotope

尿素[CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]又名碳酰二胺, 是氮含量最高的氮肥(氮量约为46.7%), 因此被广泛应用于农业生产。据估算, 全球尿素氮肥的使用量将占全球氮肥使用总量的70%<sup>[1]</sup>。我国是农业生产大国, 对尿素的需求量极大。2008年我国农业生产使用的所有形式氮肥总量约3300万t<sup>[2]</sup>; 2014年我国农业尿素氮肥的使用量高达4500万t<sup>[3]</sup>, 比2008年全年氮肥的使用量还要高。显然, 我国已成为农业尿素使用量最大的国家。

尿素并不是严格定义的溶解有机氮, 由于其含有生源元素碳氮等, 并且在天然水体中来源于生物的排泄或有机质的降解, 因此将把尿素划归为溶解有机氮<sup>[4]</sup>。尿素含有2个还原态的可用于合成氨基酸的含氮基团(-NH<sub>2</sub>)和1个可用于光合作用的含碳基团(-C=O), 因此, 水环境中的尿素不仅能被各类浮游植物和微生物吸收和利用, 还能被脲酶水解生成铵盐。尿素在湖泊水体中的浓度通常低于溶解无机氮<sup>[1]</sup>, 但是尿素在湖泊水体中提供的生物可利用氮的比例高达10%~50%<sup>[5]</sup>。尿素已被证实对湖泊水体<sup>[5-6]</sup>和海洋近岸水体<sup>[7-9]</sup>的富营养化有重要贡献。在富含磷的湖泊水体中, 尿素可以引起毒性蓝藻的生长, 恶化水质<sup>[10]</sup>。因此, 尿素可能是研究水体水质安全的重要指标。此外, 尿素还可以直接在氨氧化古菌或细菌细胞内水解并行硝化作用<sup>[11-12]</sup>, 该发现进一步补充了尿素在氮循环过程中的重要性。

前人研究认为, 湖泊水体尿素除了外源的输入外, 湖泊水体尿素自身处于再生与消耗的动态平衡过程<sup>[5,13]</sup>。湖泊水体尿素周转时间较快, 一般为几分钟至几天<sup>[6,14-15]</sup>, 加上其

复杂的源汇过程<sup>[3]</sup>, 使得定量研究尿素在湖泊水体中的循环有一定难度。然而, 由于尿素在湖泊水体中独特的生物地球化学特征, 已逐渐成为研究湖泊氮循环的重要中间物<sup>[5-6,13]</sup>。笔者介绍了尿素浓度和尿素氮同位素的分析方法、湖泊水体尿素浓度历史变化趋势, 着重介绍湖泊水体尿素的源汇, 最后探讨了氮同位素示踪及其在湖泊水体尿素源汇示踪研究中应用的可能性。

## 1 尿素浓度与尿素氮同位素分析方法

### 1.1 尿素浓度分析方法

尿素浓度的分析方法主要有直接测定法和脲酶水解法2种<sup>[16]</sup>。直接测定法又分为液相色谱法和邻苯二甲醛法、二乙酰-肟安替比林分光光度法、二乙酰-肟硫氨脲分光光度法等。由于液相色谱法对仪器要求高, 邻苯二甲醛法容易受到胺类物质干扰, 二乙酰-肟安替比林法在硫酸浓度大于1+1时显色缓慢且显色后溶液遇光褪色, 使得这些方法的使用受到限制。二乙酰-肟硫氨脲分光光度法克服了以上缺点, 已被广泛用于河流、湖泊和海洋水体中尿素浓度的测定<sup>[5-6,10,16]</sup>。二乙酰-肟硫氨脲法的基本原理是二乙酰-肟在酸性条件下发生水解反应生成丁二酮, 随后丁二酮在酸性条件下与尿素化合生成红色的且对520 nm光波有最大吸光值的4,5-二甲咪唑-2-酮。由于上述化学反应在酸性介质和加热条件下进行, 反应试剂浓度、氢离子浓度和反应温度对显示反应可能有较大影响。如, 硫氨脲可以增加反应产物和溶液显色<sup>[17]</sup>, 铁离子能降低羟胺的影响和增加吸光度<sup>[18]</sup>, 高温和氢离子浓度可以增加显色速度和使显色稳定<sup>[19]</sup>。通过对化学试剂和反应温度等进行条件试验测试发现, 海水中二乙酰-肟浓度为1500~2500 mg/L, 硫氨脲浓度为30~70 mg/L, 硫酸铁浓度为2~4 mg/L, 硫酸浓度为体积比15%~25%, 温度在95℃时, 反应30 min, 溶液的吸光值能达到最优<sup>[19]</sup>。而对游泳池水体中尿素浓度测试发现, 二乙酰-肟浓度为1500~3500 mg/L, 硫氨脲浓度为500~1500 mg/L, 煮沸反应10 min即可显色

**基金项目** 江西省教育厅科技项目(GJJ160580); 东华理工大学博士科研启动基金项目(DHBK2016105); 国家自然科学基金项目(41763001); 东华理工大学校科技创新团队科研启动基金项目(DHKT2015101)。

**作者简介** 罗笠(1982—), 男, 湖北天门人, 讲师, 博士, 从事同位素地球化学研究。\*通讯作者, 教授, 博士, 从事环境地球化学和同位素地球化学研究。

**收稿日期** 2017-10-30

完成<sup>[20]</sup>。海水和淡水在试剂用量和显色时间上的差异可能与水体的盐度和有机质含量的差异等有关<sup>[16]</sup>。

脲酶水解法主要是指尿素被脲酶水解生成铵盐,然后通过分析铵盐浓度来计算尿素浓度。前人对脲酶水解法和二乙酰-脲硫脲法对比研究发现<sup>[16]</sup>,脲酶水解法易受到溶液 pH、温度和盐离子浓度的影响,以及水解不完全等缺点,导致测试结果不理想。此外,脲酶还可以催化其他胺类化合物水解成铵盐和脲酶活性自身的差异等缺点。因此,根据前人的对比研究,认为二乙酰-脲硫脲法是目前分析水体中尿素浓度最为理想的方法<sup>[16,19]</sup>。

**1.2 尿素氮同位素分析方法** 目前,关于天然水体尿素氮同位素的研究尚鲜见报道,但是实验室对<sup>15</sup>N 标记的血液中尿素氮同位素和酵母液中尿素氮同位素进行了分析测试<sup>[21-25]</sup>。早期尿素氮同位素分析技术主要是气相色谱-质谱法(GC-IRMS)<sup>[21]</sup>,但是由于该方法难以精确测定低富集下尿素氮同位素值微小变化的缺点,被气相色谱-燃烧-同位素比值质谱法(GC-C-IRMS)取代<sup>[22]</sup>。GC-C-IRMS 具有测定精度高的优点;但是,不同的前处理方法测定的结果差异较大,这可能与前处理过程中不同的衍生方法有关<sup>[22,24]</sup>。例如, Metges 等<sup>[22]</sup>利用二甲氨基亚甲基为衍生剂,而张天娇等<sup>[24]</sup>等以甲基硅烷化试剂为衍生剂。这 2 种方法的共同缺点是衍生过程复杂、反应过程需加热,并且二甲氨基亚甲基衍生过程还引入外来的氮原子,对分析精度造成影响。Kulik 等<sup>[23]</sup>等利用丙二醛与尿素生成 2-羟基嘧啶,随后 2-羟基嘧啶再与重氮甲烷反应生成稳定性较好的 2-甲氧基嘧啶,然后通过 GC-C-IRMS 法测定尿素的氮同位素值。该方法的优点是反应不需高温高热,反应时间较短,生成 2-甲氧基嘧啶过程中不引入外来的氮原子。李国辉等<sup>[25]</sup>利用该方法,测试了酵母液中尿素氮同位素,发现衍生生成的 2-甲氧基嘧啶至少可以稳定存放 5 d。该方法可为分析天然水体尿素氮同位素提供参考。

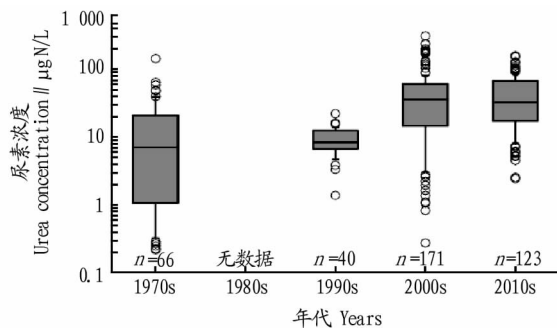
## 2 我国地表水尿素浓度概况

我国对湖泊水体尿素浓度分布及其源汇特征的研究极少,目前只有韩晓霞等<sup>[13,26]</sup>对我国太湖和天目湖河沙水库水体尿素浓度展开过研究。对太湖夏季水体研究显示,太湖水体尿素浓度为 11~161 μg/L,且存在明显的空间分布差异,这种差异主要与太湖流域主要污染源分布有关<sup>[13]</sup>。对天目湖河沙水库不同季节采样分析发现,尿素浓度为 7~29 μg/L,不仅存在空间分布特征,而且还有明显的季节性差异,即在农业施肥期尿素浓度明显偏高<sup>[26]</sup>。对我国长江大同站水体尿素浓度观测也发现类似的变化规律,即在农业施肥季节,长江水体尿素显著高于其他季节<sup>[27]</sup>。但是对广州市城区和周边区域的河涌、河流、人工湖和水库等水体尿素浓度的观测结果发现,尿素浓度为 6.5~625.7 μg/L,在人口密度高和农业化程度高的地区,尿素浓度要显著高于其他研究区域,认为与人为活动和农业生产有关<sup>[28]</sup>。相比而言,对近岸海水尿素浓度的研究则相对较多,且不同海域尿素浓度差异也较大,普遍认为与近岸海洋水体水产养殖和陆源输入等

有关<sup>[29-32]</sup>。

## 3 湖泊水体尿素浓度的时空变化特征

全球尺度来看,1970s—2010s,全球湖泊水体尿素平均浓度从(4.9±22.5) μg/L 增加至(31.0±34.0) μg/L(图 1),增长了近 6 倍。这种增长趋势与全球氮肥使用量的变化趋势一致<sup>[1]</sup>,说明湖泊水体尿素浓度增加可能与农业使用氮肥有关。在天目湖河沙水库观测发现,在农业生产期水库尿素浓度明显升高,韩晓霞等<sup>[26]</sup>研究认为,与该地区农业施肥有关。在长江大通水位站<sup>[27]</sup>和美国切萨皮克海湾<sup>[1]</sup>观测同样发现,在农业施肥期,这些区域水体中尿素浓度明显高于其他季节,说明农业生产过程中的季节性施肥对区域水体中尿素浓度的影响较大。另外,城市化发展也可能是导致湖泊水体尿素浓度升高的另一因素<sup>[5,13]</sup>。研究还发现,湖泊水体尿素浓度还存在水平分布和垂直分布的特征。韩晓霞等<sup>[13]</sup>研究发现,在太湖环湖河道入湖口和靠近工业发达的区域,尿素浓度高要于其他区域,认为这种水平空间上分布的差异主要由外源尿素输入引起。部分研究显示,随着湖泊水体深度的增加,尿素浓度逐渐升高,认为与水体缺氧或者厌氧<sup>[33]</sup>、底栖浮游动物等排泄<sup>[13,34]</sup>和湖底沉积物释放尿素<sup>[35]</sup>有关。但另有研究发现,部分湖泊在低溶解氧、低温度和低脲酶活性条件下,尿素浓度并未随着湖泊水体深度的增加而增加,甚至呈下降趋势<sup>[33,36]</sup>;可能与水体透光度等因素相关<sup>[36]</sup>,具体机理不清楚。



注:1970s 数据来源于[34,37];1990s 数据来源于[36,38-39];

2000s 数据来源于[5,33];2010s 数据来源于[6,13,26]

Note:The data of 1970s sourced from [34,37];1990s sourced from [36,38-39];2000s sourced from [5,33];2010s sourced from [6,13,26]

图 1 全球湖泊水体尿素浓度的历史变化趋势

Fig. 1 Historical trends of urea concentration in global lakes water

## 4 湖泊水体尿素的源

**4.1 外源尿素** 湖泊水体外源尿素是指通过河流和地表水等途径流入湖泊的尿素。湖泊水体外源尿素的主要来源之一是农业氮肥的使用。仅 2014 年我国农业尿素的使用量高达 4 500 万 t<sup>[3]</sup>,农业生产过程中尿素的大量使用,必然导致地表水尿素浓度的升高。通过对坡地降雨期间尿素的迁移特征研究发现,雨后坡地下端地表水尿素浓度显著升高,成为主要的迁移氮<sup>[40]</sup>。Glibert 等<sup>[1]</sup>对美国切萨皮克湾水体尿素浓度连续 5 年的观测发现,在该区域农业生产期,切萨皮

克湾水体尿素浓度通常高达  $10 \mu\text{mol/L}$ , 比非农业期间尿素浓度高近 50 倍。天目湖河沙水库上游水体尿素浓度研究发现, 尿素浓度在施肥期比非施肥期要高<sup>[26]</sup>。因此, 季节性农业尿素施肥是区域性湖泊水体尿素浓度季节性变化的主要因素。

城市生活污水也是湖泊水体尿素的另一个重要外源。胡章喜等<sup>[28]</sup>通过对广州不同地区地表水尿素浓度分析发现, 在人口居住密集的地方, 地表水尿素浓度高于周边区域人工湖和水库水体尿素的浓度。对北美中部湖泊水体尿素浓度的研究发现, 城市生活污水对湖泊水体尿素浓度的贡献比农业源高 2 倍多, 认为城市生活污水对当地湖泊水体尿素有重要贡献<sup>[5]</sup>。该研究同时还发现, 冬季城市生活污水贡献的尿素比夏季要高出 3 ~ 10 倍, 认为与冬季气温低, 生物活性减弱有关。对太湖环湖水体尿素浓度的调查发现, 城市化程度高的太湖西北部尿素浓度要高于太湖东南部, 认为城市是该湖区水体尿素的来源<sup>[13]</sup>。以上研究都说明城市污水排放是湖泊水体尿素的源。此外, Borgard 等<sup>[5]</sup>研究发现, 不同城市生活污水处理技术对污水中尿素浓度的影响不大, 可能与城市污水中高浓度的嘌呤化合物被微生物分解释放有关。尿素和嘌呤是人体氮素排泄的主要含氮化合物<sup>[41-42]</sup>, 人口密集的城市生活污水中高浓度的尿素和嘌呤必然会引起地表水体尿素浓度的增加。

大气沉降可能是湖泊尿素的来源<sup>[43]</sup>。尽管大气沉降影响区域较大, 但缺乏相关的大气沉降通量的研究数据。从已发表的大气气溶胶和雨水中尿素浓度数据来看, 大气中尿素占 DIN 的比例为万分之几<sup>[44]</sup>。因此, 大气沉降的尿素对湖泊水体尿素的贡献可以忽略。

**4.2 内源尿素** 普遍认为, 湖泊水体内源尿素的主要来源有沉积物或水体中有机物的缺氧或厌氧降解产生、细菌分解有机物过程中释放、浮游动物和鱼等直接排泄以及紫外光分解有机物等<sup>[5, 33, 45]</sup>。然而, 所有的这些湖泊水体内源尿素的来源仍处于描述阶段<sup>[5, 13]</sup>。如, 在受农业和城市等人为活动影响相对弱的太湖东南部, 湖泊尿素浓度范围变化较小。韩晓霞等<sup>[13]</sup>研究认为, 该区域湖泊水体内源尿素补给与消耗处于平衡态。Bogard 等<sup>[5]</sup>对北美中部的多个湖泊研究发现, 死水湖泊尿素浓度的季节性变化不明显, 认为死水湖泊水体内源尿素的产生与消耗达到平衡。通过有限的观测数据与模型模拟, Bogard 等<sup>[5]</sup>研究认为, 死亡藻类在低氧和缺氧环境(沉积物或深水区)中降解产生的尿素是湖泊水体内源尿素的主要来源。通过对深水湖垂直剖面尿素浓度的观测, Berman<sup>[34]</sup>研究发现, 尿素浓度随着水深的增加而增大, 认为湖泊水体低氧和缺氧环境是湖泊内源尿素的主要控制因素。韩晓霞等<sup>[13]</sup>在太湖同样观测到湖泊尿素浓度与溶解氧呈负相关性, 认为一方面低氧和缺氧环境有利于细菌降解有机物生成尿素, 另一方面在低氧和缺氧环境下, 降低微生物对尿素的吸收, 减弱和抑制尿素水解酶对尿素的水解作用。因此, 目前普遍认为, 湖泊低氧和缺氧环境是湖泊内源尿素累积的重要条件。

沉积物会释放大量尿素, 该结论已经从沉积物培养试验<sup>[35]</sup>和原位观测<sup>[46]</sup>得到了验证。例如, 在海藻生产力高的表层沉积物中, 尿素浓度显著高于非海藻生长区, 认为死亡的海藻对沉积物尿素的释放有重要贡献<sup>[46]</sup>。河口研究也发现, 春季和秋季浮游植物大量死亡后, 沉积物中尿素浓度会出现一个极高值, 认为与死亡的浮游植物有关<sup>[47]</sup>。研究还发现, 沉积物中尿素浓度与铵盐的关系也支持沉积物是尿素的源。通过培养试验, 对比沉积物铵盐的产生量与尿素周转时间的关系, Pedersen 等<sup>[35]</sup>研究认为, 沉积物中铵盐全部来源于尿素的水解。原位观测同样发现, 沉积物中尿素浓度与铵盐浓度呈正相关, 认为沉积物中 80% 的铵盐来源于尿素的水解生成<sup>[47-48]</sup>。这些研究说明沉积物中尿素的产生速率决定了沉积物中铵盐循环的快慢。

浮游动物和鱼等会直接向水体排泄尿素, 已有一些定量排放的研究结果<sup>[49-51]</sup>。早期研究发现, 海洋浮游动物以尿素形式释放的氮占其释放总氮的比例高达 50%<sup>[49]</sup>。Goma 等<sup>[52]</sup>研究发现, 湖泊浮游动物在摄食期间, 湖泊水体尿素浓度显著高于其他时期, 并估算该时期浮游动物排泄尿素速率为  $0.98 \sim 4.20 \mu\text{g urea-N}/(\text{mg DW} \cdot \text{d})$ , 该排泄速率明显高于北冰洋海洋浮游动物排泄尿素的速率  $0.8 \sim 53.0 \text{ ng urea-N}/(\text{mg DW} \cdot \text{d})$ <sup>[50]</sup>。这种区域性差异可能与浮游动物的生理周期、体重和季节变化等相关<sup>[50, 52]</sup>。此外, 鱼类还可以通过鱼鳃直接向水体排泄尿素, 该结论已从实验室培养试验<sup>[51]</sup>和分子生物学机理的角度<sup>[53]</sup>得到了证实。最新研究发现, 海洋浮游无脊椎动物排泄溶解态氮的量与其自身重量和身体的表面积相关<sup>[54]</sup>。上述研究结论说明浮游动物和鱼等排泄产生的尿素可能是湖泊内源尿素的重要来源。

## 5 湖泊水体尿素的汇

**5.1 浮游植物吸收** 尿素是水体初级生产力氮源的重要贡献者<sup>[5-6, 15]</sup>。在氮限的 Neuse 河水中添加<sup>15</sup>N 标记的尿素培养试验显示, 尿素占总生物可吸收利用氮的比例为 37% ~ 45%<sup>[55]</sup>。Mitamura 等<sup>[15]</sup>通过<sup>14</sup>C 标记尿素培养试验, 发现真光层水体中尿素的降解速率与光合速率或者叶绿素 a 的浓度有显著的正相关性, 认为尿素通过光合作用直接进入了浮游植物细胞内。对美国伊利湖水体添加磷和尿素培养试验显示, 添加磷试验没有促进水体叶绿素的累积, 而添加尿素试验则明显增加了水体叶绿素浓度, 说明尿素可以支持湖泊初级生产力<sup>[6]</sup>。胡章喜等<sup>[56]</sup>通过添加尿素培养了我国近海 3 种赤潮藻, 结果发现它们都可以利用尿素作为氮源, 尤其以球形棕囊藻对尿素的亲和力最高。南安普顿大学海洋科学中心培养褐潮藻研究发现, 在光照充足的条件下, 该藻种可以利用尿素作为唯一氮源生长<sup>[8]</sup>。在美国切萨皮克海湾研究发现, 甲藻暴发通常发生在水体尿素浓度大于  $1.5 \mu\text{mol/L}$  的时期<sup>[57]</sup>。这些研究说明尿素是水体中浮游植物的重要氮源。然而, 不同的浮游植物对不同形态氮(如尿素、铵盐和硝酸盐)的喜好不一致, 这可能与水体中生物可利用氮形态的浓度和浮游植物种类的丰度及其生理特征等有关<sup>[55, 58-60]</sup>。此外, 一些浮游植物细胞内可能缺少直接吸收和代谢尿素的

酶,而无法直接利用尿素作为氮源<sup>[46]</sup>;而另一些浮游植物,如毒性蓝藻,则对尿素表现出极强的亲和力<sup>[6]</sup>。

**5.2 微生物消耗** 尿素可以被微生物吸收利用<sup>[61-62]</sup>。早期研究发现,在酸性(pH < 5)土壤中,氨氧化细菌(*Nitrosospira* sp.)在含有尿素的酸性土壤中比含有铵盐的酸性土壤中生长得好<sup>[63]</sup>,认为与尿素分子是中性的,可以自由透过细胞膜进入氨氧化细菌胞内,在胞内进行水解并进行硝化作用<sup>[64]</sup>。随后发现,在含有该细菌的中性土壤中添加<sup>14</sup>C和<sup>15</sup>N标记的尿素培养试验发现了硝酸盐积累和含有<sup>14</sup>C的氨基酸分子,认为该细菌在中性土壤中也可以直接利用尿素进行硝化<sup>[65]</sup>,并且该细菌的基因组序列中含有尿素水解酶基因<sup>[66]</sup>,进一步支持了上述结论。近年来,通过基因组学和碳同位素添加试验研究显示,在海洋<sup>[11]</sup>和土壤<sup>[12]</sup>中还发现了可以利用尿素直接进行硝化作用的氨氧化古菌。然而,类似的研究在湖泊中却鲜见报道。

**5.3 尿素酶水解** 尿素可被脲酶水解生成铵盐。但脲酶的水解效率与pH、温度和盐度等相关<sup>[16]</sup>。对佛罗里达海湾和查普坦河水体中脲酶活性研究发现,水样采集时过滤体积、水体中的生物量和水体中铵盐浓度等会影响对脲酶活性的分析<sup>[60]</sup>。通过分析湖泊水体尿素浓度、脲酶活性和水体温度发现,温度在10~20℃时脲酶活性[(1.25 ± 0.43) μmol/(L·h)]最大,湖泊水体尿素浓度最低;当温度高于20℃时脲酶活性降低[(0.16 ± 0.11) μmol/(L·h)],尿素浓度升高<sup>[6]</sup>,说明湖泊水体温度对脲酶的活性有一定影响。已有研究显示,湖泊水体脲酶活性一般在0~28 μg/h<sup>[6,60]</sup>,而尿素浓度一般在0~200 μg/L(图1)。根据该数据计算可知,湖泊水体中尿素很快被尿素水解成铵盐,加上浮游植物和微生物吸收的影响,湖泊水体中尿素可能在几分钟至几个小时之内就被完全消耗。然而,实际观测显示,在不受外源尿素强烈影响的湖泊水体,尿素浓度变化较小,说明湖泊内源尿素的再生对湖泊水体尿素的贡献较大。

## 6 尿素氮同位素在湖泊氮循环中的潜在应用

由于尿素直接参与了湖泊水体氮循环过程,仅从尿素浓度、水化学参数和环境参数等角度,解释湖泊尿素的源汇过程存在一些盲点。因此,必须借助其他的研究技术和手段,如尿素氮同位素示踪等来展开研究。氮稳定同位素已被广泛用于示踪湖泊水体和沉积物中各种形态N的来源和相互转化过程。在湖泊水体中,铵盐氮同位素( $\delta^{15}\text{N} - \text{NH}_4^+$ )、悬浮颗粒有机氮同位素值( $\delta^{15}\text{N} - \text{PON}$ )、表层沉积物有机氮同位素值( $\delta^{15}\text{N} - \text{SON}$ )、浮游动物氮同位素值( $\delta^{15}\text{N} - \text{Zoo}$ )和鱼类氮同位素值( $\delta^{15}\text{N} - \text{Fish}$ )都有其特定的氮同位素值(图2)。而湖泊水体尿素源汇过程与上述各种有机体紧密相连(图3)。因此,通过分析尿素的氮同位素值,有助于理解尿素在湖泊水体氮循环过程中的角色。

部分外源尿素的 $\delta^{15}\text{N} - \text{urea}$ 已被研究报道,如作为肥料使用的尿素,其 $\delta^{15}\text{N} - \text{urea}$ 在-1.1‰~1.9‰<sup>[67-68]</sup>,指示了人类工业氮肥的来源。人畜等排泄的尿素主要是通过鸟氨酸循环产生,然后通过尿液排出体外。对健康人群食用<sup>15</sup>N

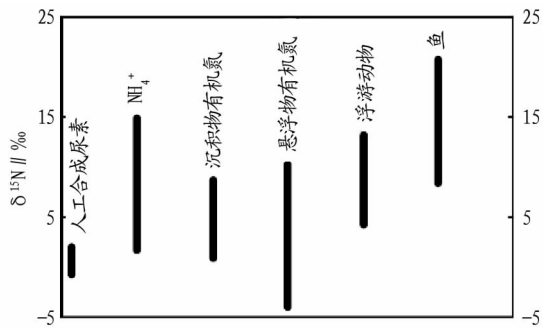


图2 人工尿素肥料和湖泊水体中各种形态氮同位素分布特征<sup>[67-75]</sup>

Fig. 2 Values of nitrogen isotope in urea fertilizer, and ammonium, sediment organic nitrogen, suspended organic nitrogen, zooplankton and fishes in lake water<sup>[67-75]</sup>

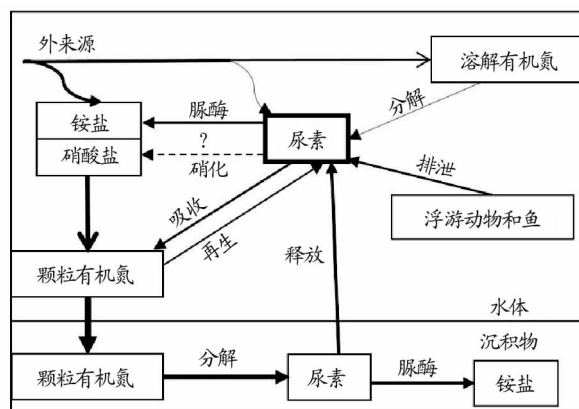


图3 湖泊水体尿素源汇示意<sup>[5]</sup>

Fig. 3 The diagram of source and sink of urea in lake water bodies<sup>[5]</sup>

标记的不同食物研究发现,通过尿液排泄的尿素与食物来源无关,而与食物中蛋白质的含量相关<sup>[76]</sup>,说明人体排泄的尿素应该有其特定的 $\delta^{15}\text{N} - \text{urea}$ 。依据尿素浓度和 $\delta^{15}\text{N} - \text{urea}$ 季节性差异,可以推断湖泊外源尿素的来源及其对湖泊尿素的贡献。而湖泊内源尿素几乎全部来源于有机氮的再生,根据氮同位素的分馏机制,湖泊内源 $\delta^{15}\text{N} - \text{urea}$ 应该与湖泊内源尿素的生成途径有一定关系。前人研究显示,PON在降解过程中会优先释放<sup>14</sup>N,使得残留的PON中富集<sup>15</sup>N,从而导致 $\delta^{15}\text{N} - \text{PON}$ 升高<sup>[77]</sup>。浮游动物在氮代谢过程中也会优先排泄<sup>14</sup>N,使得其体内富集<sup>15</sup>N,并且发现浮游动物体内的 $\delta^{15}\text{N} - \text{PON}$ 与排泄物产生的 $\delta^{15}\text{N} - \text{NH}_4^+$ 有较好的线性关系( $\delta^{15}\text{N} - \text{NH}_4^+ = 0.96 \times \delta^{15}\text{N} - \text{PON} - 2.7, R = 0.96$ )<sup>[78]</sup>。因此,可以推测有机氮降解过程中释放尿素的 $\delta^{15}\text{N} - \text{urea}$ 应该低于有机氮的 $\delta^{15}\text{N}$ 。鉴于湖泊水体中有机氮同位素值(图2)存在明显的区间差异,那么其降解产生的内源尿素的 $\delta^{15}\text{N} - \text{urea}$ 应该有与之对应的氮同位素值区间。此外,当水体缺氧时,有机氮分解速率下降且不完全,导致氮同位素分馏严重,此时释放的尿素可能更加贫<sup>15</sup>N。因此,结合 $\delta^{15}\text{N} - \text{urea}$ ,水体溶氧浓度和各种有机氮的 $\delta^{15}\text{N}$ ,将有助于判断湖泊内源尿素的释放机制。

## 7 认识与展望

从历史数据来看,全球湖泊水体尿素浓度显著升高,并且湖泊水体尿素与 DIN 显示相同的变化趋势。一方面与湖泊外源输入的人为源尿素通量增加有关,另一方面与湖泊水体内源尿素的释放量有关。研究湖泊水体尿素的源汇,不仅可以对湖泊水体富营养化程度和藻类暴发的机制提供参考,还可以探索尿素在湖泊氮循环过程中的角色。随着湖泊水体尿素浓度的升高,尿素对湖泊不同藻类的生长和对湖泊水体硝化过程的影响值得关注。

我国湖泊多,分布广,类型多样,且大部分存在富营养化现象<sup>[79]</sup>。近年来,越来越多的研究显示湖泊水体尿素在湖泊生物可利用态氮中的重要地位,预示着湖泊水体尿素在湖泊氮循环过程将起到重要作用。然而,与国外研究相比,我国对湖泊水体尿素的研究工作仍处于萌芽阶段,在湖泊尿素源汇问题的研究上仍非常匮乏。以下几个方面是我国以及全球湖泊水体尿素研究还需要考虑的:①湖泊水体外源尿素的通量估算及其对湖泊生态影响的评估;②湖泊水体内源尿素的释放机制;③发展新的研究手段(如同位素技术)在湖泊水体尿素源汇中的应用。

## 参考文献

- [1] GLIBERT P M, HARRISON J, HEIL C, et al. Escalating worldwide use of urea: A global change contributing to coastal eutrophication [J]. *Biogeochemistry*, 2006, 77: 441 - 463.
- [2] 于飞, 施卫明. 近 10 年中国大陆主要粮食作物氮肥利用率分析 [J]. *土壤学报*, 2015, 52(6): 1311 - 1324.
- [3] 王红润. 2014 年中国尿素市场分析及前景展望 [J]. *中国石油和化工经济分析*, 2015(10): 54 - 56.
- [4] SIPLER R E, BRONK D A. *Biogeochemistry of dissolved organic matter* [M]. Nederland: Elsevier, 2014: 144.
- [5] BOGARD M J, DONALD D B, FINLAY K, et al. Distribution and regulation of urea in lakes of central North America [J]. *Freshwater biology*, 2012, 57(6): 1277 - 1292.
- [6] BELISLE B S, STEFFEN M M, POUND H L, et al. Urea in Lake Erie: Organic nutrient sources as potentially important drivers of phytoplankton biomass [J]. *Journal of great lakes research*, 2016, 42(3): 599 - 607.
- [7] FAN C L, GLIBERT P M, BURKHOLDER J M. Characterization of the affinity for nitrogen, uptake kinetics, and environmental relationships for *Proocentrum minimum* in natural blooms and laboratory cultures [J]. *Harmful algae*, 2003, 2(4): 283 - 299.
- [8] KANA T M, LOMAS M W, MACINTYRE H L, et al. Stimulation of the brown tide organism, *Aureococcus anophagefferens*, by selective nutrient additions to in situ mesocosms [J]. *Harmful algae*, 2004, 3(4): 377 - 388.
- [9] LI J, GLIBERT P M, ZHOU M J. Temporal and spatial variability in nitrogen uptake kinetics during harmful dinoflagellate blooms in the East China Sea [J]. *Harmful algae*, 2010, 9(6): 531 - 539.
- [10] FINLAY K, PATOINE A, DONALD D B, et al. Experimental evidence that pollution with urea can degrade water quality in phosphorus-rich lakes of the Northern Great Plains [J]. *Limnology and oceanography*, 2010, 55(3): 1213 - 1230.
- [11] ALONSO-SÁEZ L, WALLER A S, MENDE D R, et al. Role for urea in nitrification by polar marine Archaea [J]. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 2012, 109(44): 17989 - 17994.
- [12] LU L, JIA Z J. Urease gene-containing Archaea dominate autotrophic ammonia oxidation in two acid soils [J]. *Environmental microbiology*, 2013, 15(6): 1795 - 1809.
- [13] 韩晓霞, 朱广伟, 许海, 等. 太湖夏季水体中尿素的来源探析 [J]. *环境科学*, 2014, 35(7): 2547 - 2556.
- [14] BRONK D A, GLIBERT P M, MALONE T C, et al. Inorganic and organic nitrogen cycling in Chesapeake Bay: Autotrophic versus heterotrophic processes and relationships to carbon flux [J]. *Aquatic microbial ecology*, 1998, 15(2): 177 - 189.
- [15] MITAMURA O, NAKAMOTO N, IBÁÑEZ M S R, et al. Biogeochemical cycling of urea in the aquatic systems of Pindaré and Turia çu River basins, a pre-Amazonian floodplain, Baixada Maranhense, Brazil [J]. *Acta limnologia brasiliensis*, 2012, 24(2): 167 - 180.
- [16] REVILLA M, ALEXANDER J, GLIBERT P M. Urea analysis in coastal waters: Comparison of enzymatic and direct methods [J]. *Limnology & oceanography methods*, 2005, 3(7): 290 - 299.
- [17] FRANCIS P S, LEWIS S W, LIM K F. Analytical methodology for the determination of urea: Current practice and future trends [J]. *Trends in analytical chemistry*, 2002, 21(5): 389 - 400.
- [18] 纪建伟, 马献琪, 张彩娟. 二乙酰一肟 - 硫脲法测定游泳水中尿素 [J]. *中国卫生检验杂志*, 1993, 3(2): 116 - 117.
- [19] CHEN L, MA J, HUANG Y, et al. Optimization of a colorimetric method to determine trace urea in seawater. *Limnology and Oceanography* [J]. *Methods*, 2015, 13(6): 303 - 311.
- [20] 相开幕, 孙剑, 才玉亮. 硫脲二乙酰一肟联合显色测定游泳池水中尿素 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2005, 15(8): 945, 988.
- [21] WOLTERS B G, TEPPER T, WITHAG A, et al. GC-MS determination of ratios of stable - isotope labelled to natural urea using [<sup>13</sup>C<sup>15</sup>N<sub>2</sub>] urea for studying urea kinetics in serum and as a means to validate routine methods for the quantitative assay of urea in dialysate [J]. *Clinica chimica acta*, 1994, 225(1): 29 - 42.
- [22] METGES C C, DAENZER M, PETZKE K J, et al. Low-abundance plasma and urinary [<sup>15</sup>N] urea enrichments analyzed by gas chromatography/combustion/isotope ratio mass spectrometry [J]. *Journal of mass spectrometry*, 2002, 37(5): 489 - 494.
- [23] KULIK W, OOSTERVELD M J, KOK R M, et al. Determination of <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N enrichments of urea in plasma by gas chromatography-combustion isotope ratio mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry using the 2 - methoxypyrimidine derivative [J]. *Journal of chromatography B*, 2003, 791(1/2): 399 - 405.
- [24] 张天娇, 张江涛, 张传宝, 等. 血清尿素同位素稀释气相色谱质谱法的建立和研究 [J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 31(5): 536 - 539.
- [25] 李国辉, 钟其顶, 王道兵, 等. 气相色谱 - 燃烧 - 同位素比值质谱法测定发酵液中尿素 δ<sup>13</sup>C 和 δ<sup>15</sup>N [J]. *质谱学报*, 2016, 37(1): 60 - 67.
- [26] 韩晓霞, 朱广伟, 李兆富, 等. 天目湖沙河水库尿素含量及其时空分布特征 [J]. *环境化学*, 2015, 34(2): 377 - 383.
- [27] 石晓勇, 张桂成, 梁生康, 等. 长江大通站溶解有机氮生物可利用性潜力及输入通量 [J]. *中国环境科学*, 2015, 35(12): 3698 - 3706.
- [28] 胡章喜, 徐宁, 李爱芬, 等. 广州地区淡水水体尿素的分布特征 [J]. *生态科学*, 2008, 27(5): 418 - 420.
- [29] 黄凯旋, 张云, 欧林坚, 等. 海南岛南北近岸海湾浮游生物对尿素的生物可利用性比较研究 [J]. *海洋科学*, 2014, 38(10): 76 - 82.
- [30] 李志林, 石晓勇, 张传松. 春季黄渤海海水中尿素分布特征及溶解态氮的组成 [J]. *环境科学*, 2015, 36(11): 3999 - 4004.
- [31] 黄爽, 石晓勇, 张传松, 等. 2010 年春季杭州湾邻近海域尿素含量及平面分布 [J]. *海洋环境科学*, 2012, 31(1): 58 - 61.
- [32] 王雪景, 石晓勇, 赵玉庭, 等. 2011 年春季东海赤潮高发区尿素分布特征及影响因素 [J]. *海洋学报*, 2015, 37(2): 65 - 74.
- [33] SIUDA W, CHRÓST R J. Urea and ureolytic activity in lakes of different trophic status [J]. *Polish journal of microbiology*, 2006, 55(3): 211 - 225.
- [34] BERMAN T. Urea in the waters of Lake Kinneret (Sea of Galilee) [J]. *Limnology & oceanography*, 1974, 19(6): 977 - 980.
- [35] PEDERSEN H, LOMSTEIN B A, BLACKBURN T H. Evidence for bacterial urea production in marine sediments [J]. *Microbiology ecology*, 1993, 12(1): 51 - 59.
- [36] MITAMURA O, KAWASHIMA M, MAEDA H. Urea degradation by picoplankton in the euphotic zone of Lake Biwa [J]. *Limnology*, 2000, 1(1): 19 - 26.
- [37] SATOH Y, HANYA T. The distribution of urea in Lake Yunoko [J]. *Japanese journal of limnology*, 1981, 42(4): 254 - 258.
- [38] BERMAN T, BÉCHEMIN C, MAESTRINI S Y. Release of ammonium and urea from dissolved organic nitrogen in aquatic ecosystems [J]. *Aquatic microbial ecology*, 1999, 16(3): 295 - 302.
- [39] MITAMURA O, ISHIDA N, SEIKE Y, et al. Diel variation in urea decomposing activity in the euphotic zone of brackish Lake Nakaumi [J]. *Limnology*, 2000, 1(3): 151 - 157.
- [40] 黎坤, 江涛, 卓慕宁, 等. 华南坡地单场降雨氮素的迁移特征及来源分析 [J]. *湖泊科学*, 2011, 23(6): 888 - 892.
- [41] WOLFE R R, GOODENOUGH R D, WOLFE M H, et al. Isotopic analysis of leucine and urea metabolism in exercising humans [J]. *Journal of applied physiology respiratory environmental & exercise physiology*, 1982, 52(2): 458 - 466.
- [42] IZASA T, MIYAMOTO T. Major determinants of purine excretion from human lymphoblasts [J]. *Biochemical medicine & metabolic biology*, 1988, 38(3): 292 - 299.
- [43] CAPE J N, CORNELL S E, JICKELLS T D, et al. Organic nitrogen in the atmosphere - Where does it come from? A review of sources and meth-

- ods[J]. Atmospheric research,2011,102(1/2):30-48.
- [44] CORNELL S E, JICKELLS T D, CAPE J N, et al. Organic nitrogen deposition on land and coastal environments: A review of methods and data[J]. Atmospheric environment, 2003, 37(16): 2173-2191.
- [45] SOLOMON C M, COLLIER J L, BERG G M, et al. Role of urea in microbial metabolism in aquatic systems: A biochemical and molecular review[J]. Aquatic microbial ecology, 2010, 59(1): 67-88.
- [46] CRANDALL J B, TEECE M A. Urea is a dynamic pool of bioavailable nitrogen in coral reefs[J]. Coral reefs, 2012, 31(1): 207-214.
- [47] THERKILDSEN M, LOMSTEIN B. Seasonal variation in sediment urea turnover in a shallow estuary[J]. Marine ecology progress, 1994, 111(1): 77-82.
- [48] LOMSTEIN B, BLACKBURN T H, HENRIKSEN K. Aspects of nitrogen and carbon cycling in the northern Bering Shelf sediment. I. The significance of urea turnover in the mineralization of  $\text{NH}_4^+$  [J]. Marine ecology progress, 1989, 57(3): 237-247.
- [49] EPPLEY R W, RENGGER E H, VENRICK E L, et al. A study of plankton dynamics and nutrient cycling in the central gyre of the North Pacific Ocean[J]. Limnology & oceanography, 1973, 18(4): 534-551.
- [50] CONOVER R J, GUSTAVSON K R. Sources of urea in arctic seas: Zooplankton metabolism[J]. Marine ecology progress, 1999, 179(3): 41-54.
- [51] WALSH P J, GROSELL M, GOSS G G, et al. Physiological and molecular characterization of urea transport by the gills of the Lake Magadi tilapia (*Alcolapia grahami*) [J]. Journal of experimental biology, 2001, 204(3): 509-520.
- [52] GOMA R H, AIZAKI M, FUKUSHIMA T, et al. Significance of zooplankton grazing activity as a source of dissolved organic nitrogen, urea and dissolved free amino acids in a eutrophic shallow lake: Experiments using outdoor continuous flow pond systems[J]. Japanese journal of limnology, 1996, 57(1): 1-13.
- [53] RODELA T M, ESBAUGH A J, MCDONALD M D, et al. Evidence for transcriptional regulation of the urea transporter in the gill of the Gulf toadfish, *Opsanus beta* [J]. Comparative biochemistry & physiology part B, 2011, 160(2): 72-80.
- [54] HIRST A G, LILLEY M K S, GLAZIER D S, et al. Ontogenetic body-mass scaling of nitrogen excretion relates to body surface area in diverse pelagic invertebrates[J]. Limnology and oceanography, 2017, 62(1): 311-319.
- [55] TWOMEY L, PIEHLER M, PAERL H. Phytoplankton uptake of ammonium, nitrate and urea in the Neuse River Estuary, NC, USA [J]. Hydrobiologia, 2005, 533(1/2/3): 123-134.
- [56] 胡章喜, 徐宁, 段舜山, 等. 尿素对中国近海 3 种典型赤潮藻生长的影响[J]. 环境科学学报, 2010, 30(6): 1265-1270.
- [57] GLIBERT P M, TERLIZZI D E. Cooccurrence of elevated urea levels and dinoflagellate blooms in temperate estuarine aquaculture ponds [J]. Applied & environmental microbiology, 1999, 65: 5594-5596.
- [58] DONALD D B, BOGARD M J, FINLAY K, et al. Comparative effects of urea, ammonium, and nitrate on phytoplankton abundance, community composition, and toxicity in hypertrophic freshwaters [J]. Limnology and oceanography, 2011, 56(6): 2161-2175.
- [59] 杨柳, 章铭, 刘正文. 太湖春季浮游植物群落对不同形态氮的吸收[J]. 湖泊科学, 2011, 23(4): 605-611.
- [60] SOLOMON C M, ALEXANDER J A, GLIBERT P M. Measuring urease activity in aquatic environmental samples [J]. Limnology & oceanography methods, 2007, 5(9): 280-288.
- [61] SATOH Y, OKINO T, AOYAMA K. Correlation between urea and other chemical and biological parameters in waters of Lake Suwa, Japan [J]. Internationale revue der gesamten hydrobiologie und hydrographie, 1980, 65(3): 445-454.
- [62] JØRGENSEN N O G. Uptake of urea by estuarine bacteria [J]. Aquatic microbial ecology, 2006, 42(3): 227-242.
- [63] BOER W D, LAANBROEK H J. Ureolytic nitrification at low pH by *Nitrospira*, spec [J]. Archives of microbiology, 1989, 152(2): 178-181.
- [64] BURTON S A, PROSSER J I. Autotrophic ammonia oxidation at low pH through urea hydrolysis [J]. Applied and environmental microbiology, 2001, 67(7): 2952-2957.
- [65] MARSH K L, SIMS G K, MULVANEY R L. Availability of urea to autotrophic ammonia-oxidizing bacteria as related to the fate of  $^{14}\text{C}$ - and  $^{15}\text{N}$ -labeled urea added to soil [J]. Biology and fertility of soils, 2005, 42(2): 137-145.
- [66] KOPER T E, EL-SHEIKH A F, NORTON J M, et al. Urease-encoding genes in ammonia-oxidizing bacteria [J]. Applied and environmental microbiology, 2004, 70(4): 2342-2348.
- [67] VITÒRIA L, OTERO N, SOLER A, et al. Fertilizer characterization: Isotopic data ( $\text{N}$ ,  $\text{S}$ ,  $\text{O}$ ,  $\text{C}$ , and  $\text{Sr}$ ) [J]. Environmental science & technology, 2004, 38(12): 3254-3262.
- [68] CHOI W J, ARSHAD M A, CHANG S X, et al. Grain  $^{15}\text{N}$  of crops applied with organic and chemical fertilizers in a four-year rotation [J]. Plant and soil, 2006, 284(1): 165-174.
- [69] 宁加佳, 刘辉, 古滨河, 等. 流溪河水库颗粒有机物及浮游动物碳、氮稳定同位素特征[J]. 生态学报, 2012, 32(5): 1502-1509.
- [70] LEHMANN M F, BERNASCONI S M, MCKENZIE J A, et al. Seasonal Variation of the  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of particulate and dissolved carbon and nitrogen in Lake Lugano: Constraints on biogeochemical cycling in a eutrophic lake [J]. Limnology & oceanography, 2004, 49(2): 415-429.
- [71] XU J, LI S, XIE P. Differences in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of particulate organic matter from the deep oligotrophic Lake Fuxian connected with the shallow eutrophic Lake Xingyun, People's Republic of China [J]. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 2005, 74(2): 281-285.
- [72] TORRES I, INGLETT P, BRENNER M, et al. Stable isotope ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) values of sediment organic matter in subtropical lakes of different trophic status [J]. Journal of paleolimnology, 2012, 47(4): 693-706.
- [73] MAO Z G, GU X H, ZENG Q F, et al. Seasonal and spatial variations of the food web structure in a shallow eutrophic lake assessed by stable isotope analysis [J]. Fisheries science, 2014, 80(5): 1045-1056.
- [74] LEE J, KIM J, OWEN J S, et al. Variation in carbon and nitrogen stable isotopes in POM and zooplankton in a deep reservoir and relationship to hydrological characteristics [J]. Journal of freshwater ecology, 2013, 28(1): 47-62.
- [75] KUMAR S, FINLAY J C, STERNER R W. Isotopic composition of nitrogen in suspended particulate matter of Lake Superior: Implications for nutrient cycling and organic matter transformation [J]. Biogeochemistry, 2011, 103(1): 1-14.
- [76] FOUILLET H, JUILLET B, BOS C, et al. Urea-nitrogen production and salvage are modulated by protein intake in fed humans: Results of an oral stable-isotope-tracer protocol and compartmental modeling [J]. American journal of clinical nutrition, 2008, 87(6): 1702-1714.
- [77] NAKATSUKA T, HANDA N, WADA E, et al. The dynamic changes of stable isotopic ratios of carbon and nitrogen in suspended and sedimented particulate organic matter during a phytoplankton bloom [J]. Journal of marine research, 1992, 50(2): 267-296.
- [78] CHECKLEY D M JR, MILLER C A. Nitrogen isotope fractionation by oceanic zooplankton [J]. Deep sea research part A, 1989, 36(10): 1449-1456.
- [79] 金相灿. 湖泊富营养化控制和管理技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 24.

(上接第 43 页)

- [25] 刘丽丽, 付伟. 试论我国城市生活垃圾处理现状及对策 [J]. 中国商界, 2009(9): 211.
- [26] 张玉海. 二恶英类物质去除降解研究 [D]. 保定: 华北电力大学, 2007.
- [27] 杨锋. 关于城市生活垃圾处理的论述 [J]. 科技促进发展, 2010(S1): 252.
- [28] 江志坚. 果蔬与餐厨垃圾混合两相厌氧消化性能的试验研究 [D]. 北京: 北京化工大学, 2013.
- [29] 刘荣厚, 王远远. 以蔬菜废弃物为原料发酵制备沼气的办法: 200710046930 [P]. 2008-04-02.
- [30] RAO M S, SINGH S P, SINGH A K, et al. Bioenergy conversion studies of the organic fraction of MSW: Assessment of ultimate bioenergy production potential of municipal garbage [J]. Applied energy, 2000, 66(1): 75-87.
- [31] 秦蓉. 利用苹果渣发酵生产奶牛蛋白饲料及应用的研究 [D]. 西安: 西北大学, 2004.
- [32] 董晓丽, 张乃锋, 穆立田, 等. 生物技术在养猪生产中的应用: 现代生物技术在饲料资源开发中的应用进展 [J]. 猪业科学, 2011, 28(8): 28-30.
- [33] 张继, 武光朋, 高义霞, 等. 蔬菜废弃物固体发酵生产饲料蛋白 [J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2007, 43(4): 85-89.
- [34] 武光明. 蔬菜废弃物的开发利用研究 [D]. 兰州: 西北师范大学, 2007.
- [35] 徐抗震, 宋纪容, 黄洁, 等. 苹果渣混合菌发酵生产饲料蛋白的研究 [J]. 饲料工业, 2003, 24(7): 35-37.
- [36] 陈皎皎. 苹果渣发酵饲料不同形态蛋白质、氨基酸及酶活性影响研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014.