J. Lake Sci.(湖泊科学), 2026, 38(2):000-000
DOI 10.18307/2026.0228
©2026 *by Journal of Lake Sciences*

基于氮气增量的水体脱氮速率测定新方法及其在三峡水库澎溪河的应用*

杨正健[1,2,3]，陈京京[1,2]，鲍昱璇[1,2]，黄亚男[4**]，李浩[1,5]，魏辰宇[1,6]，郭小娟[1,2,3]，刘德富[1]
（1：三峡水库生态系统湖北省野外科学观测研究站， 宜昌 443002）
（2：三峡大学水利与环境学院，宜昌 443002）
（3：三峡库区生态环境教育部工程中心,宜昌 443002）
（4：三峡大学水利工程博士后科研流动站, 宜昌 443002）
（5：三峡大学生物与制药学院，宜昌 443000）
（6.：武汉大学水利水电学院， 武汉 430000）

摘　要：脱氮是水体氮负荷去除的重要途径，准确快速测定水体脱氮速率对于评估湖库、河流等水体的脱氮功能具有重要意义。针对目前常用的乙炔抑制法、^{15}N 同位素示踪法等无法原位快速测定水体脱氮速率，且费用高、耗时长等问题，本研究提出了一种基于氮气增量的水体脱氮速率原位快速测定新方法，可通过原位取水-吹扫-培养-测定，实现水体总脱氮速率野外快速检测。应用新方法于 2024 年 5~6 月在三峡水库支流澎溪河开展脱氮速率定点持续监测及库湾巡测，与乙炔抑制法进行对比，并分析不同环境因子对脱氮速率的影响。结果表明，本方法所测脱氮速率为乙炔抑制法所测反硝化速率的 7 倍左右，二者具有显著相关性。监测期间澎溪河水体脱氮速率表层>底层>中层，表层脱氮速率主要受藻浓度影响，底层水体脱氮速率主要受浊度影响。本研究对于水体脱氮速率原位快速测定，准确认识和评估水体脱氮潜力具有重要意义。
关键词：水体脱氮速率；原位监测；监测方法；方法应用；氮气增量

A New Method for Estimating Denitrification Rate in Water Bodies Based on Nitrogen Increment and Its Application in the Pengxi River of the Three Gorges Reservoir

Yang Zhengjian[1,2,3], Chen Jingjing[1,2], Bao Yuxuan[1,2], Huang Yanan[4**], Li Hao[1,5], Wei Chenyu[1,6], Guo Xiaojuan[1,2,3], Liu Defu[1]
(1: Hubei Field Observation and Scientific Research Stations for Water Ecosystem in Three Gorges Reservoir, Yichang 443002, P.R.China)
(2: College of Water Conservancy and Environment, China Three Gorges University, Yichang 443000, P.R.China)
(3: Engineering Research Center of Eco-environment in Three Gorges Reservoir Region, Yichang 443002, P.R.China)
(4: Post Doctoral Research Station of Hydraulic Engineering of Three Gorges University, Yichang 443002, P.R.China)

---

*2025-01-06 收稿;2025-06-23 收修改稿.
国家自然科学基金项目（52409097，52309095）和高等学校优秀中青年科技创新团队计划项目（T2023003）联合资助。
**通讯作者：E-mail:214080648@qq.com

(5: College of Biology and Pharmacy, China Three Gorges University, Yichang 443000, P.R.China)

(6: College of Water Resources and Hydropower, Wuhan University, Wuhan 430000, P.R.China)

Abstract：Denitrification is an important process for reducing the amount of nitrogen in water. Accurate and rapid measurement of the denitrification rate in water bodies is crucial for assessing the nitrogen removal potential of lakes, reservoirs and rivers. This study proposes a novel method for rapidly measuring denitrification rates in situ in water bodies based on nitrogen gas increment to address the issues of existing methods, such as the acetylene inhibition method and the ^{15}N isotope tracer method, which are unable to provide rapid in situ measurements and are costly and time-consuming. This method involves in situ water sampling, purging, incubation and measurement, enabling the rapid detection of total denitrification rates in the field. In May–June 2024, this method was used to conduct point-based continuous monitoring and bay-wide surveys of denitrification rates in the Pengxi River, a tributary of the Three Gorges Reservoir. A comparison with the acetylene inhibition method was performed and the influence of various environmental factors on denitrification rates was analyzed. The results showed that the denitrification rates measured by this method were approximately seven times higher than those obtained using the acetylene inhibition method, and there was a significant correlation between the two methods. During the monitoring period, denitrification rates in the Pengxi River were highest in the surface layer, followed by the bottom and middle layers. Denitrification rates in the surface layer were mainly influenced by algal concentrations, while rates in the bottom layer were primarily affected by turbidity. This study has significant implications for rapidly measuring denitrification rates in water bodies and for accurately understanding and evaluating their nitrogen removal potential.

Keywords**:** water body denitrification rate; in situ monitoring; monitoring methods; method application; nitrogen gas increment

氮是地球大气中的重要组成部分，也是生物体所需的基本元素之一。然而，过量的氮会造成严重的生态环境问题[1]。近年来，随着人类活动的加剧，工农业的快速发展，人类对生态环境的影响愈发严重[2]，过量排放的氮改变了全球的氮循环[3]。研究表明，人类产生的活性氮约为自然生态系统固氮速率的两倍[4]。过量的氮进入河流、湖泊等水生态系统[5]导致全球大量水体出现富营养化、藻类水华扩张、生态多样性改变、海洋水体缺氧以及温室效应加剧等一系列问题[6-9]。因此，河流湖泊等水体具有的脱氮功能，尤其是反硝化[10]、厌氧氨氧化[11]等产物主要为氮气的永久性脱氮过程，对于控制氮污染、维护生态系统健康至关重要[12]。而脱氮速率的快速检测是研究脱氮的重要基础[13, 14]。了解和精确测量脱氮速率不仅有助于准确评估水体的自净能力，还可为制定氮负荷管理和治理措施提供理论依据。然而，由于脱氮过程的复杂性，准确测定脱氮速率一直是环境科学领域的挑战。

目前测量脱氮速率较为常用的方法有乙炔抑制法、同位素标记法等[15]。乙炔抑制法自 20 世纪 70 年代起被广泛应用于反硝化速率的测定，通过加入乙炔抑制 N_2O 还原酶的活性，测定 N_2O 累积量间接表征水体反硝化脱氮的潜在水平。因大气中 N_2O 含量极低，采用气相色谱法较易准确测定，但其抑制性效应不够专一，可能同时抑制其他相关的生物过程，如硝化和厌氧氨氧化，进而影响测得反硝化脱氮速率的准确性[9]。此外，该方法主要针对反硝化途径，而对于其他潜在的脱氮过程（如厌氧氨氧化）乙炔抑制法无法有效测量，可能低估整体脱氮速率[16-19]。氮同位素（^{15}N）标记法因其在探究氮来源与不同脱氮反应过程测定的研究中具有较高的精确度而广泛应用[20-23]，但同位素的加入可能会增加氮的有效性等，导致实验条件与自然状态之间存在差异，从而影响实验结果的代表性[24, 25]，且操作复杂、成本高，难以广泛应用于大规模或长时间的野外监测。

三峡水库蓄水后，对原水生态系统氮循环产生重大影响，其具有的脱氮效应也引起广泛关注[26]，然而，水库具有的脱氮作用究竟多大尚未有明确结论。已有研究多为反硝化、厌氧氨氧化或厌氧甲烷氧化等不同

脱氮反应中的一种和部分反应速率的特征及其受环境因素的影响机制，受限于监测方法，难以原位快速大量获取的水体总脱氮速率及其连续动态变化规律等。本研究针对常用水体脱氮速率监测费用高、耗时长、难以实现野外快速测定等问题，拟设计一种通过测定氮气增量直接测定脱氮反应产物为氮气（N_2）的总脱氮速率的新方法，并可以实现原位快速测定，在验证方法的可行性之后，应用该方法测定三峡库区支流澎溪河定点的脱氮速率日变化以及库湾不同区域脱氮速率，并同步监测环境因子，探究不同环境因子对总脱氮速率的影响。研究可实现水体总脱氮速率原位快速监测，为深入认识水库脱氮作用，准确评估水库等水生态系统脱氮效应提供重要支撑。

1 材料与方法

1.1 方法原理及操作步骤

1.1.1 *方法原理* 本方法快速测定水体脱氮速率原理是氮气增量法，即直接测定氮气增量。氮气是衡量水体脱氮速率最直接的指标，脱氮的主要气态氮产物为氮气（N_2）和氧化亚氮（N_2O），其中，N_2 属于惰性、无害气体，占各总气态氮通量的 99%以上[27]，因此可以通过测定一定时间内水体溶解性 N_2 的变化量来衡量水体脱氮速率的大小。由于 N_2 是空气中的主要成分，直接测定法的难点在于密闭的环境和水体溶解性气体浓度的测定，本方法采用密闭柔性水袋采集水体，并将水袋置于水面以下，以保证密闭的培养环境和平衡压强，本方法采用了肖尚斌团队研发的快速响应气体平衡仪 FaRAGE，其原理是基于气泡型和 Weiss 型平衡器，通过气体流量计与蠕动泵将水与气在混合装置中混合，并且通过盘绕软管进一步的水气湍流混合，最后将混合水气通过狭窄的细管以射流形式进入腔室达到脱气效果，实验过程中 FaRAGE 装置将水泵抽出的待测水样和氦气（载气）以恒定流量进入水-气平衡装置内，使得氦气在装置内快速形成小气泡并与水体中溶解的 N_2 进行交换，使得装置内的水、气达到动态顶空平衡。将平衡后的水气同时注入顶空厌氧瓶内，厌氧瓶顶端出口连接质谱仪测定顶空气体。其优点是装置制作简单、成本较低，响应时间短（12~15 s）且不涉及膜系统，可以在泥沙含量较高及藻类浓度较高的湖库水生态系统中进行实时监测。解决水体中溶气组分测定的难题，实现水-气快速分离[28]。在此基础上，本方法利用水气分离装置连接 HIDEN-4.0 质谱仪实现溶解性 N_2 现场快速检测，进而计算得水体的脱氮速率，此脱氮速率是所有脱氮产物为氮气的脱氮速率的总和，能充分反应水体脱氮潜势。

1.1.2 *操作步骤* 操作步骤流程如图 1(a)，首先采集待测水体 3 L 装入柔性水袋中，将袋中气体排除干净后连接氦气瓶吹扫 15 分钟，再次排尽袋中空气，之后使用水气分离装置分离出水中溶解性气体接入质谱仪测得 N_2 浓度初始值 N_1（$nmol \cdot L^{-1}$），将水袋置于原位水体水面以下培养 t 时间后测得袋中水体溶解性氮气浓度 N_2（$nmol \cdot L^{-1}$），则水体脱氮速率 D_{nr}($nmol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$)可采用式 1 计算：

$$Dnr = k\frac{N_2 - N_1}{\mathrm{t}} \quad (1)$$

式中，k 代表水气分离装置的吹扫效率。

1.2 实验设计

1.2.1 *方法可靠性验证实验*

（1）*密闭性实验* 空气中的 N_2 含量很高，占空气含量的 79%，因此在 N_2 的测定过程中密闭环境尤为重要。为了验证新方法的实验过程中没有受到空气干扰，设计多次重复实验验证其密闭性。取相同水体于若干水袋中，其中一部分水袋中加入足量的饱和 $ZnCl_2$ 溶液，将水袋吹扫 15 分钟后测得水体中 N_2 初始值，之后置于同一环境中培养相同的时间后测得水体中溶解性 N_2 终值，比较实验组与对照组的区别。

（2）*时间梯度实验* 脱氮反应时间越长，累积的 N_2 增量越大，但是反应时间过长可能存在底物限制等。设计不同时间梯度实验，用新方法测定水体脱氮量在不同时间段内累积变化，计算不同反应时间水体的脱

氮速率，探究使用新方法的最佳培养时间。取实验基地富营养化水体于若干柔性水袋中，设置培养时间为3、4、5、6、8、12、24 h 共七组实验组，每组三个重复，实验操作步骤与上述方法一致。

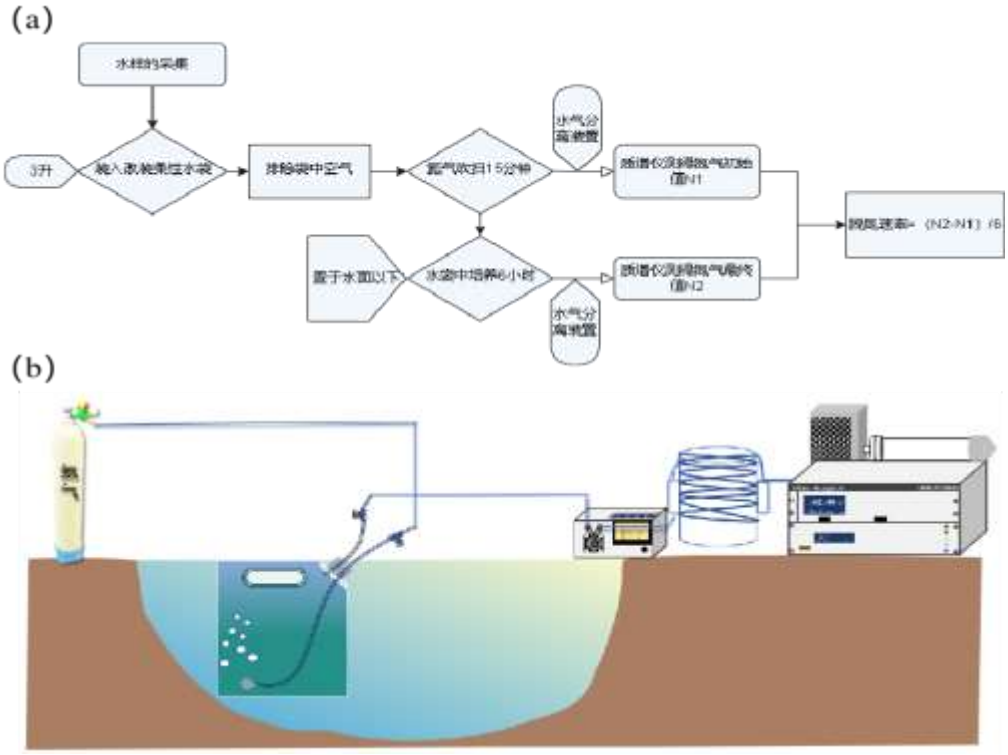

图 1　(a)脱氮速率测定新方法流程图　(b)监测方法及装置示意图

Fig. 1 (a) Flow chart of the new method for nitrogen removal rate determination

(b) Schematic diagram of monitoring method and device

（3）*新方法与乙炔抑制法对比实验*　为了验证新方法的野外原位测定的适用性，用经典脱氮速率测定方法乙炔抑制法与新方法进行比较。野外原位测定地点选择三峡水库典型支流澎溪河，又名小江，澎溪河位于三峡水库中段北岸，是三峡水库最大的支流库湾之一。三峡水库成库运行后，澎溪河生态环境发生较大变化，水库调蓄对澎溪河流域生态环境影响显著，实验所选定点（XJ06）位于高阳镇附近（图 2）。实验设计每天取相同水样用新方法与乙炔抑制法同时测脱氮速率，新方法操作方法同上。乙炔抑制法具体方法为：每日分别采 300 mL 水于 4 个厌氧瓶（规格 500 mL）中，用氦气吹扫 10 分钟后，其中一个厌氧瓶作为对照组立即加入 50%的 $ZnCl_2$ 溶液阻止微生物继续进行反硝化反应，另外的三瓶作为平行组加入乙炔溶液抑制氧化亚氮（N_2O）还原为 N_2，将水瓶培养 6 小时后全部加入 $ZnCl_2$ 溶液终止反应，用饱和 NaCl 溶液加入厌氧瓶中将瓶中气体排进气袋中，使用气相色谱仪测得气袋中 N_2O 浓度，进而计算水体的反硝化脱氮速率。其计算过程如下：

采用顶空平衡-气相色谱法计算水体中实际 N_2O 的浓度(式 2)，通过反应前后 N_2O 浓度最终确定反硝化速率 Den(式 5)。

$$C_L = C_G(K_0RT + V_G/V_L) \qquad (2)$$

式中，C_L是水体样品溶解 N_2O 浓度，单位 $nmol\cdot L^{-1}$；C_G是顶空气体中 N_2O 浓度，单位 $nmol\cdot L^{-1}$；K_0是平衡常数，单位是 $mol\cdot L^{-1}\cdot atm^{-1}$；R 为理想常数，值为 0.082057 $L\cdot atm\cdot mol^{-1}\cdot K^{-1}$；T 为顶空平衡时水样的温

度，单位 K；V_G是顶空平衡后，顶空样品瓶中顶空气体的体积，单位 L；V_L是顶空平衡后，样品瓶中水样顶空的气体体积，单位为 L。

顶空气体中 N_2O 浓度C_G单位换算如(3)式所示：

$$C_G = \frac{PC_g}{1013.25RT} \tag{3}$$

式中，P 为实验室环境气压，单位为 hPa。

平衡常数K_0按照(4)式进行计算:

$$\ln K_0 = \frac{97.3066}{T_K/100} + 24.1406 \ln\left(\frac{T_K}{100}\right) \tag{4}$$

式中：T_K为水体的绝对温度(K)。

反硝化速率计算公式按照（5）进行计算：

$$\mathrm{Den} = \frac{C_{L1} - C_{L12}}{t} \tag{5}$$

式中，Den 为水体反硝化速率($nmol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$)，$C_{L1}$为反应后水体 N_2O 浓度($nmol \cdot L^{-1}$)，C_{L12}为反应前水体 N_2O 浓度($nmol \cdot L^{-1}$)，t 为反应时长(h)。

1.2.2 方法野外应用及监测方案

（1）脱氮速率日变化连续监测 选择澎溪河 XJ06 点位于 2024 年 5 月 10 日-6 月 3 日开展连续原位监测实验，监测频率为两天一次，该点位中央建有实验平台，每次实验根据水深取表中底三个不同水深的水体测量其脱氮速率，因为监测时间处于泄水期，水位变化较大，中层取水控制在 5 m 以下波动，使用 EXO2 多参数水质分析仪（YSI,美国）监测垂向断面水温（WT）、叶绿素 *a*（Chl-*a*）、溶解氧（DO）、电导率（EC）、氧化还原电位（ORP）、浊度（NTU）及水体 pH 等水环境因子。

（2）长江支流澎溪河脱氮速率巡测 选择澎溪河进行全库湾巡测，监测点位布设如图 2 所示，在用新方法测量脱氮速率的同时，同步测量上述环境因子。

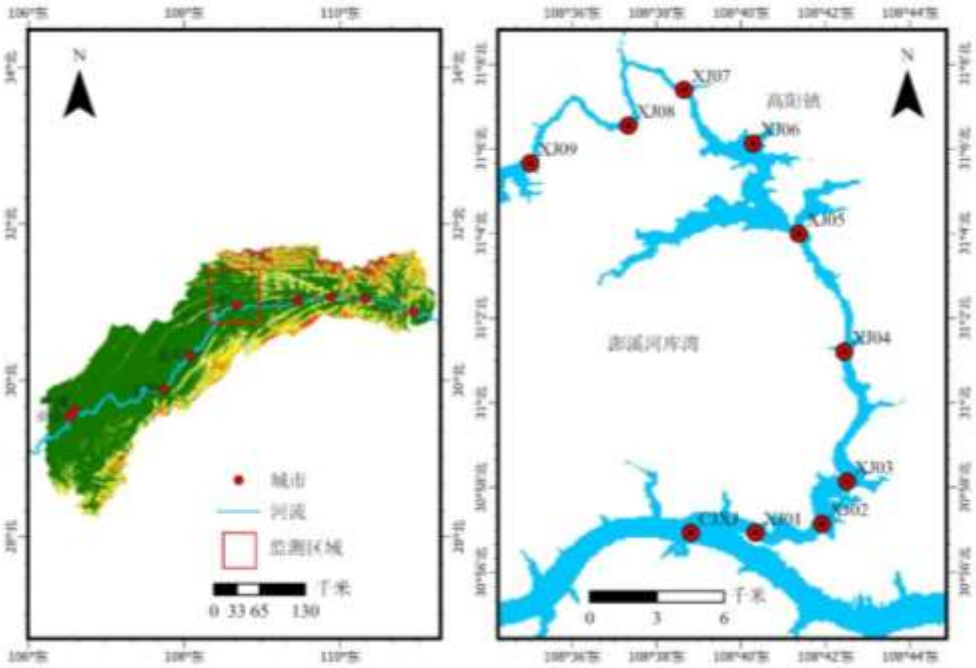

图 2　澎溪河监测点位图

Fig.2　Map of monitoring sites in Pengxi River

2 结果与分析

2.1 方法可靠性验证分析

2.1.1 *密闭性结果分析* 空气中的 N_2 含量高达 79%，氦气吹扫后水体中溶解性 N_2 含量较低，若装置密闭性差，根据亨利定律，水体溶解性 N_2 会迅速升高。相关研究表明 $ZnCl_2$ 对许多生物体具有毒害作用[29-32]，一定浓度的 $ZnCl_2$ 加入水体中会杀死水体中的微生物，从而抑制微生物介导的脱氮过程。密闭性实验结果如图 3(a)所示，新方法的装置在不同培养时间 N_2 增量具有明显梯度，但加入了 $ZnCl_2$ 的组 N_2 增量几乎为 0，表明加入 $ZnCl_2$ 的实验组既没有生物脱氮也没有空气干扰，证实了方法的可靠性。

2.1.2 *时间梯度结果分析* 培养时间太短可能导致 N_2 增量浓度较低而无法精准测量，培养时间太长会增加实验的时间成本，水体自身也会发生较大变化等。时间梯度实验中脱氮速率随时间的变化如图 3(b)所示，脱氮速率在初始 3~5 h 随时间增加呈增加趋势，大约在 5 h 之后各组速率趋于平稳，在 12 h 和 24 h 时表现出较为稳定的脱氮速率。因此，选择 6 h 作为培养时间。

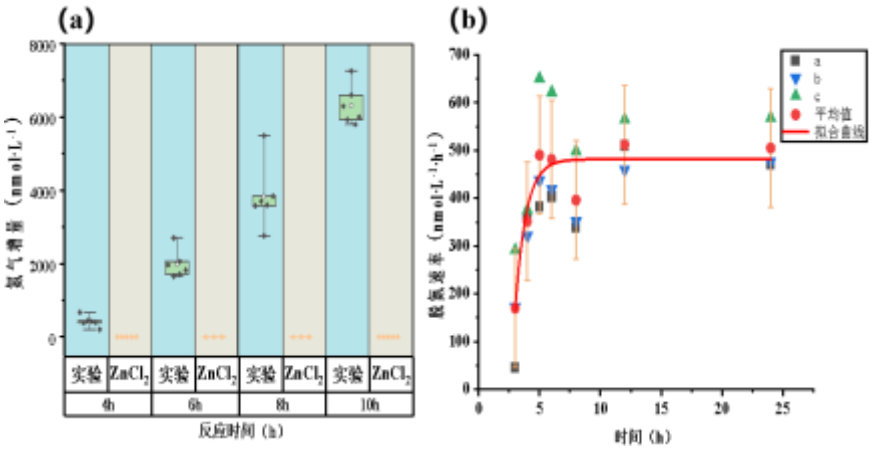

图 3　(a)装置密闭性实验分析图　(b)新方法测量脱氮速率时间梯度变化图

Figure 3 (a) Analysis diagram of device sealing experiment

(b) Time gradient variation of denitrification rate measured by the new method

2.1.3 *新方法与乙炔抑制法对比结果分析* 野外定点监测中，新方法与乙炔抑制法测量脱氮速率对比结果如图 4(a)所示，新方法的测量结果在 126 $nmol·L^{-1}·h^{-1}$ 到 878 $nmol·L^{-1}·h^{-1}$ 之间，数据呈现出较大的范围，表明其在脱氮速率方面能够捕捉到较大幅度的变化，乙炔抑制法的测量结果在 18 $nmol·L^{-1}·h^{-1}$ 到 128 $nmol·L^{-1}·h^{-1}$ 之间，数值相对较低，范围也较小。在澎溪河开展的定点监测对比实验中，新方法的测量值显著高于乙炔抑制法，相差 5~8 倍，总体上，新方法所测得水体脱氮速率平均约为乙炔抑制法的 7 倍。尽管数值存在差异，但两种方法的数值变化呈现出同步趋势，特别是在较高的速率范围内，新方法与乙炔抑制法所测结果之间呈线性显著正相关（R^2=0.96，p<0.05）（图 4(b)），说明新方法能够较好的表征水体脱氮速率和及其变化特征。

2.2 澎溪河脱氮速率监测分析

2.2.1 *澎溪河定点脱氮速率及环境因子日变化特征* 澎溪河定点脱氮速率变化如图 5a 所示，监测期间澎溪河定点脱氮速率表层、中层、底层变化范围分别为 224~1075 $nmol·L^{-1}·h^{-1}$，217~384 $nmol·L^{-1}·h^{-1}$，和 357~589

nmol·L^{-1}·h^{-1}，总体表现为表层＞底层＞中层的规律。表层脱氮速率在 5 月 10 日-5 月 18 日呈上升趋势并在 18 日达到最大值，5 月 20 日开始逐渐减小，而中层与底层脱氮速率从 5 月 10 日-5 月 15 日呈上升趋势，5 月 18 日都有所减小，之后又逐步上升。

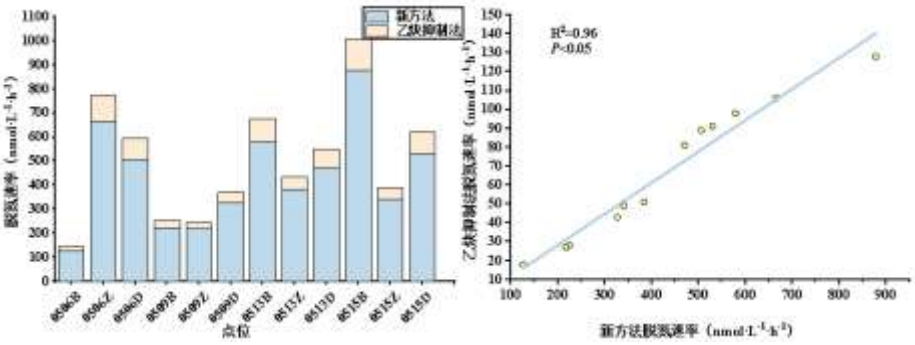

图 4　(a)新方法与乙炔抑制法对比图　(b)新方法与乙炔抑制法线性相关性

Fig. 4 (a) Comparison between the new method and the acetylene inhibition method

(b) Linear correlation between the new method and the acetylene inhibition method

定点监测期间环境因子变化如图 5 所示，5 月-6 月出正处于三峡库区泄水期间，水位变化较大，且在 5 月 18 日后出现连续降雨，导致水体环境因子变化明显。电导率（图 5b）呈现底层＞中层＞表层，水温（图 5c）在 5 月层明显，表层水温在 23.77~27.49 ℃波动，变化幅度较大，整体表现出季节性升温趋势，六月初由于降雨以及泄水，水温分层消失。浊度（图 5d）在 5 月 10 日-5 月 18 日间表层大于中底层，可能是由于表层藻浓度较大，18 日后由于降雨及持续泄水，水体扰动较大，整体浊度升高，底层最大。pH（图 5e）整体呈弱碱性，表层由于藻类及其他水生植物的光合作用吸收二氧化碳导致 pH 升高，使表层＞中层＞底层。表层叶绿素 *a* 浓度（图 5f）在 5 月 10 日-5 月 18 日从 22.92 μg·L^{-1} 上升至最高的 123.53 μg·L^{-1}，之后迅速下降，中层和底层叶绿素 *a* 浓度较低。

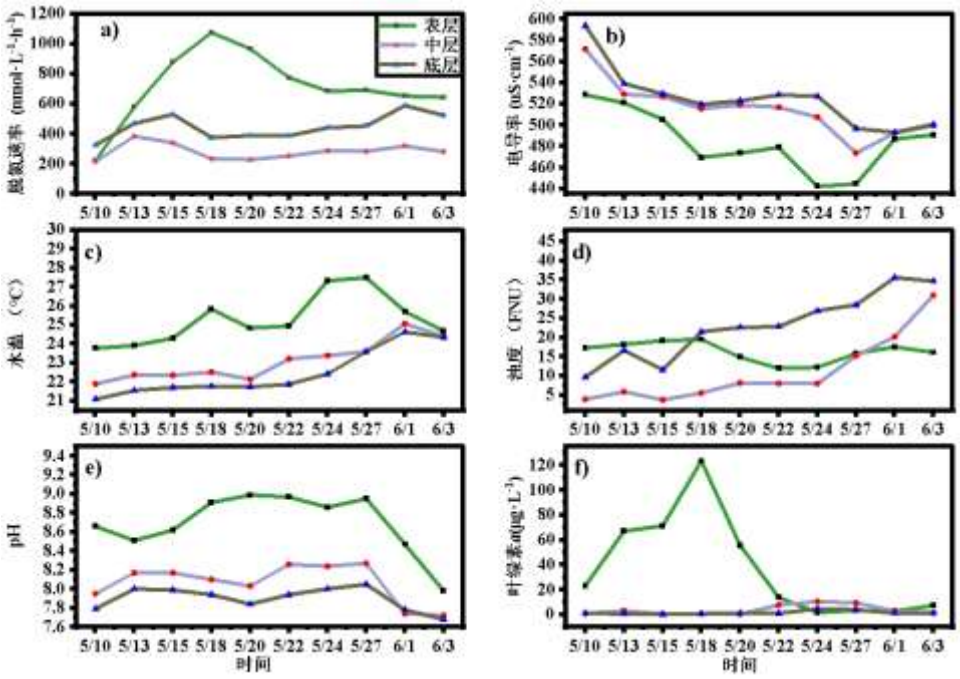

图 5　澎溪河脱氮速率与环境因子日变化图

Fig.5 Diurnal variation of denitrification rate and environmental factors in Pengxi River

2.2.2 *澎溪河库湾巡测脱氮速率及环境因子分布特征* 澎溪河库湾不同点位脱氮速率及环境因子变化如图 6 所示，脱氮速率在澎溪河河口（CJXJ）处最低，最低值为 22 nmol·L^{-1}·h^{-1}，XJ04 表层脱氮速率最高，达到 1313 nmol·L^{-1}·h^{-1}，此外，XJ09 底层脱氮速率较高，仅次于 XJ04 表层。总体澎溪河脱氮速率上游高于下游，表层和底层高于中层，空间分布差异明显。澎溪河库湾 XJ02 和 XJ04 表层叶绿素 *a* 浓度较高，在 XJ04 表层达到最大值 26.39 μg·L^{-1}，其余点位均较低。监测期间澎溪河库湾溶解氧变化范围在 4.75~6.74 mg·L^{-1} 之间，均处于富氧状态。氧化还原电位、电导率垂向差异不大。浊度底层高于表层和中层，中上游和干流略高于中下游。pH 和水温表层略高于中层和底层，整体差异不大。硝氮浓度空间差异较大，XJ02 浓度最低，除 XX04 点外整体上中层高于表层和底层，上游硝氮浓度高于下游。

2.2.3 *脱氮速率与环境因子之间的关系*　脱氮速率与环境因子相关性如图 7 所示，总体上水体脱氮速率主要受叶绿素 a 浓度（r=0.68，p<0.05）、水温（r=0.61，p<0.05）、pH（r=0.65，p<0.05）的影响。其中，表层脱氮速率与叶绿素 *a* 相关性较好，中层水体没有显著影响脱氮速率的环境因子，由各项因子共同构成，相对于表层和中层，底层脱氮速率与水温和浊度具有较好的相关性。

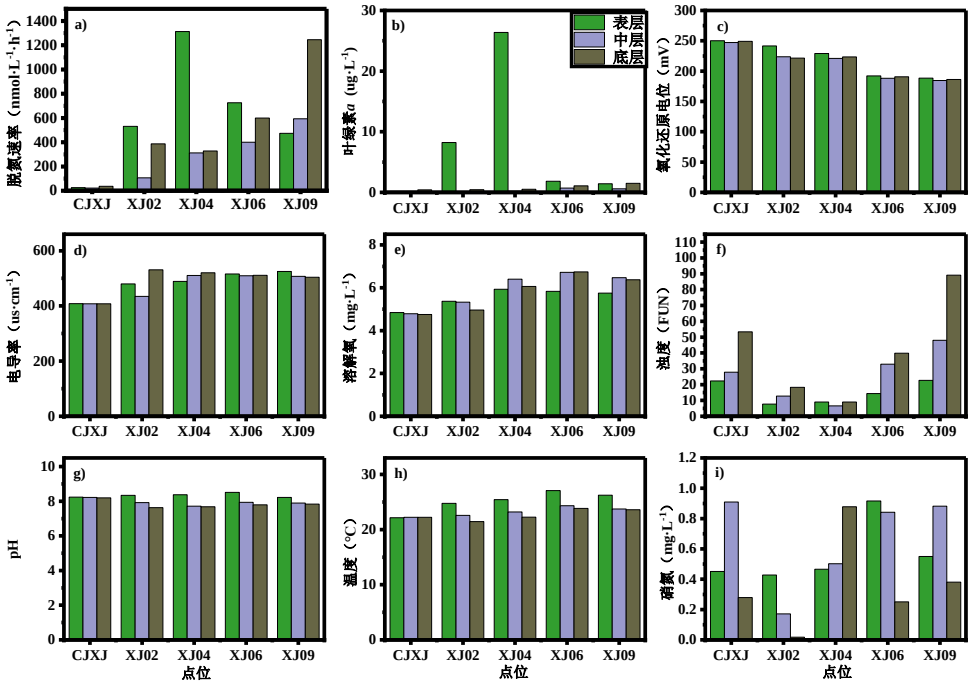

图 6　澎溪河库湾不同点位脱氮速率与环境因子图

Fig. 6　Denitrification rate and environmental factors at different sites in Pengxi River Bay

3 讨论

3.1 新方法较传统方法的突破

氮循环过程中，一般认为通过硝化、反硝化、厌氧氨氧化等作用将水体中有机或无机态氮转化为惰性无害氮气（N_2），最终排入大气的过程是有效脱氮过程，因此，理论上脱氮反应产物 N_2 改变量是脱氮速率最直接的表征指标。但因空气中的 N_2 含量极高导致水体溶解性 N_2 浓度很难准确测定，难以用 N_2 改变量直接测定水体脱氮速率[33]。因此多采用间接方法测定水体潜在的脱氮能力，主要包括乙炔抑制法、氮同位素标记法等。研究表明，乙炔抑制法可能低估反硝化速率[9]，且仅能表征反硝化速率；氮同位素标记法的优势在于能够准确测定不同反应脱氮过程的速率，并评估不同脱氮途径的贡献。但在实验过程中，需要用到同位素质谱仪等贵重仪器，对科研人员操作能力和研究平台实验条件有一定限制[34]。目前常用的方法均无法实现基于 N_2 增量直接测定水体脱氮速率，更不能开展野外现场的水体脱氮速率测定，导致脱氮作用的快速评估与现实条件有很大差异。

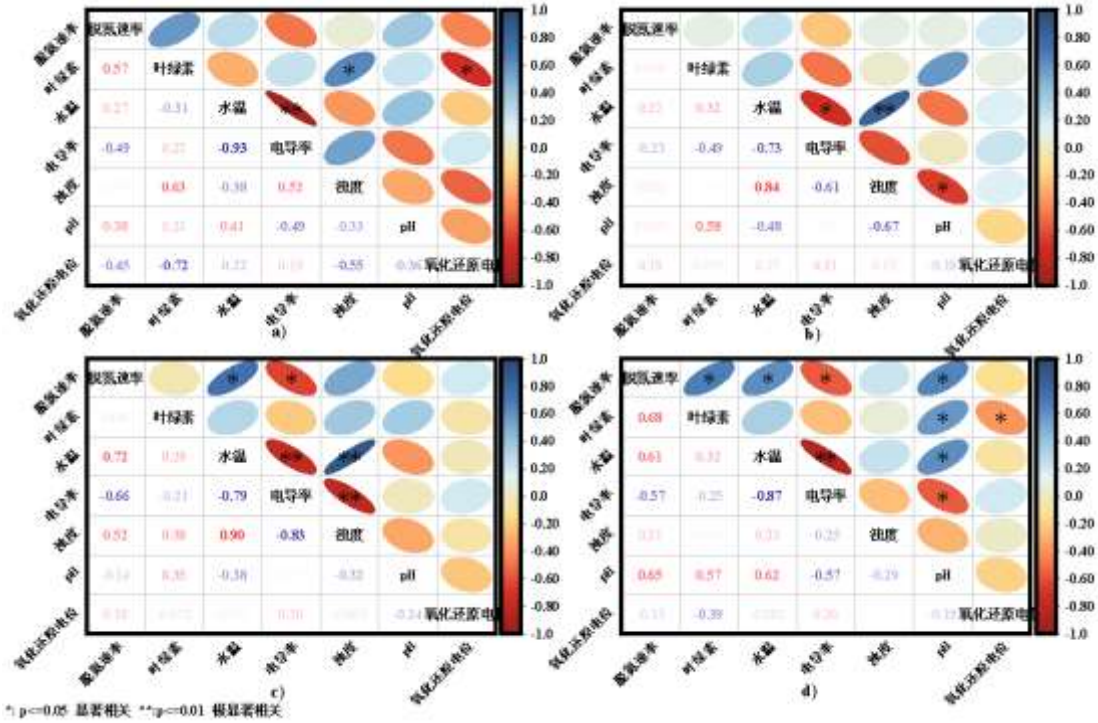

图 7　脱氮速率与环境因子相关性分析图

(a)表层脱氮速率；(b)中层脱氮速率；(c)底层脱氮速率；(d)整体水体脱氮速率

Figure 7　Correlation analysis between denitrification rate and environmental factors

(a) Water denitrification rate of surface layer(b) water denitrification rate of middle layer

(c) Water denitrification rate of bottom layer (d) water column denitrification rate

相比之下，新方法通过测定水体中 N_2 浓度的变化实现对脱氮速率的直接测定，无需添加任何外源化学物质，从而最大限度地减少了对自然环境的干扰。能够通过原位取水、培养和测定，实现脱氮速率野外现场快速监测，且新方法所测定的脱氮速率包括反硝化、厌氧氨氧化、铁氨氧化等多种以氮气为产物的脱氮反应过程，因此新方法测得脱氮速率的值理论上更高。而乙炔抑制法只能反映水体的反硝化速率，且乙炔本身对于反硝化速率测定结果存在影响，如乙炔可能抑制硝化过程减少硝酸盐的补给从而抑制反硝化过程，导致低估反硝化速率。在澎溪河的野外监测应用研究表明，新方法测得的脱氮速率约为乙炔抑制法的 7 倍，能够更全面地反映水体的总脱氮潜力。许多研究认为，反硝化是水生态系统主要的脱氮过程[35]。同时，近期有研究在全球尺度上对反硝化和厌氧氨氧化过程在土壤、沉积物和水体氮损失中的相对重要性的评估发现，反硝化的相对贡献分别达 86.5%、80.4%和 59.9%[36]，但也表明水体中反硝化的贡献低于沉积物和土壤。关于太湖的氮去除的研究表明，反硝化作用在沉积物脱氮中起着关键作用，而厌氧氨氧化则是水体脱氮的主要机制[37]。因此，本研究采用新方法所测结果为乙炔抑制法的 7 倍，说明研究期间反硝化可能不是三峡水库水体脱氮的主要过程，具体的脱氮途径和贡献有待进一步探究，仅测量水体反硝化速率将严重低估三峡水库的脱氮总量，新方法测定水体总脱氮速率对于准确评估脱氮能力具有重要意义。

此外，数据分析显示，新方法与乙炔抑制法所测脱氮速率之间存在显著的线性相关性（R^2=0.96，p<0.05）（图 4），这种线性关系表明，尽管乙炔抑制法在测量绝对值上低于新方法，但两者在描述脱氮速率变化

趋势上仍具有一致性。这一发现与 Seitzinger 等人的研究相符，他们指出，即使乙炔抑制法存在低估问题，但其在描述水体化趋势上仍具可靠性[38]。因此，新方法能够更加真实的反应水体的总脱氮速率和氮去除能力，具有更高的检测上限，且能够实现野外快速检测，操作简单，成本更低。

3.2 环境因子对水体脱氮速率的影响

环境因子对水体脱氮速率具有重要影响，已有研究表明环境因子通过影响微生物活性等进而影响脱氮速率[39-43]。相关性分析表明，水体的脱氮速率与叶绿素 *a* 浓度、温度和 pH 值呈显著正相关。研究表明，温度会影响微生物活性，在一定范围内反硝化速率随温度的升高而增强[44]，这与监测结果一致。适宜反硝化脱氮的 pH 为 7~8，而 pH 值高于 9 后将会抑制反硝化的发生[45]，监测发现澎溪河 pH 值一般在 8 左右，尽管由于表层藻类进行光合作用吸收二氧化碳使表层 pH 值略高于中层和底层，最高值为 8.99，总体上 pH 值范围比较适宜脱氮反应。监测期间澎溪河水体溶解氧均处于富氧状态，在 4~8mg·L^{-1} 之间。脱氮速率的高低一般随着硝酸盐浓度的增加而提高[46]，监测期间澎溪河硝氮平均浓度在 0.4~1.0 mg·L^{-1} 之间，总体浓度较高，因此 pH、溶解氧、硝氮不是脱氮速率的主要限制因子。

本研究采用新方法监测脱氮速率发现，不同深度水体的脱氮速率主要受不同环境条件的影响（图 7）。其中，表层水体脱氮速率与叶绿素 *a* 浓度相关性最好，如 XJ04 表层具有较高的叶绿素 *a* 浓度，对应脱氮速率也处于较高水平。监测期间发现表层水体的蓝藻聚集成团，研究表明，富氧水体中的悬浮颗粒因其由外到内可形成好氧-厌氧微环境进而能促进水体发生反硝化、厌氧氨氧化等脱氮反应[26]，Klawonn 等[47]提出悬浮物内部厌氧空间有利于发生反硝化作用等生成 N_2，因此，藻类水华等悬浮颗粒对脱氮的促进作用可能是表层水体脱氮速率最大的重要原因。底层水体的脱氮速率受到浊度的影响较大，监测期间正处于三峡水库泄水期间，水位较低，澎溪河库湾上游来水主要以底部顺坡异重流的形式从底部流入库湾，易导致底部沉积物再悬浮，监测发现 XJ09 底部浊度达到最大值 89.1 FUN，许多研究表明底层悬浮颗粒增多为微生物脱氮提供了更多的厌氧微环境，从而促进脱氮速率的增加[48-51]。此外藻类死亡沉降、底层有机物分解释放小颗粒等都会使底层水体悬浮物浓度增加，悬浮物与水体接触面积增大，水体中硝酸盐供给几率升高，反硝化菌利用率增加，脱氮速率升高[52]。中层水体的脱氮速率相对稳定，未表现出显著的单一环境因子影响。这可能是由于中层水体受上下水层混合作用的影响较小，从而表现出脱氮速率的多因素综合作用。在富营养化水体中，脱氮速率主要受温度、叶绿素、浊度、pH 等的影响，澎溪河持续监测结果发现，表层水体受藻类的影响较大，呈显著正相关，而底层水体则受浊度的影响较大，中层水体没有显著限制因子，脱氮速率由各环境因子共同影响。

研究表明，尽管反硝化和厌氧氨氧化之间存在协同作用，但是单一速率的影响因子可能不完全相同[37]。水体相较于土壤的脱氮易受到多种环境因子影响，环境的改变直接改变了脱氮过程，反硝化需要更多的碳源[53]，而厌氧氨氧化对厌氧和温度的要求更高[54]，因此单一的探究环境因子对反硝化或厌氧氨氧化的影响可能不完全代表对脱氮总能力的影响。本研究中新方法测量以 N_2 为产物的总脱氮速率，脱氮速率呈现表层>底层>中层，表层脱氮速率受藻类浓度影响较大，底层主要受到浊度的影响，能够较为真实的揭示总脱氮速率的垂向和空间分布特征及影响因素。同时说明对于水体脱氮总量，除考虑空间差异外，还需要考虑垂向差异，特别是深水水库水体在垂向上的差异可能更加明显[55]。采用总脱氮速率有助于揭示环境因素对总脱氮能力的影响，并为准确评估湖库水体脱氮总量和科学制定氮削减措施提供基础。

3.3 新方法不确定性分析

尽管新方法在实验中表现出较大的优势，但仍存在一定的不确定性。在验证新方法的过程中，研究主要集中在澎溪河的固定点位，与乙炔抑制法进行了对比。考虑到环境因子和人为干扰的复杂性，仅通过单一河流的验证可能不足以全面说明新方法的普适性，监测结果中新方法所测脱氮速率为乙炔抑制法

7 倍的结果也具有时空特异性，这取决于监测水体的性质，以及脱氮过程中反硝化、厌氧氨氧化等不同脱氮反应的比例。为了提高研究的可靠性，未来应在不同水体环境中，结合多种测定方法，如同位素标记法、化学示踪法等进行综合对比，以全面评估新方法的有效性。

此外，长期监测数据的积累对于理解水体脱氮过程的季节性变化和多尺度影响至关重要。在未来研究中，可以引入自动化监测技术和大数据分析手段，通过高频数据采集和多维度数据分析，揭示更多复杂水体环境中的脱氮机制和规律。

4 结论

本研究采用以 N_2 增量计算水体脱氮速率的原理，并利用水气分离装置构建了一种原位快速测定水体脱氮速率的新方法，并将该方法应用于三峡水库澎溪河库湾的脱氮速率监测分析。主要结论如下：

(1)本方法可实现水体脱氮速率的野外原位监测，所测结果为包括反硝化速率、厌氧氨氧化等所有以 N_2 为产物的水体总脱氮速率。监测范围较广，可确保数据的时效性和准确性。

(2)澎溪河库湾水体脱氮速率变化范围为 22 $nmol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$~1313 $nmol \cdot L^{-1} \cdot h^{-1}$。不同区域和水深均具有明显的时空异质性，新方法能够较好的应用于水体脱氮速率大范围的连续监测。

(3)表层水体脱氮速率受藻类浓度影响较大，底层水体脱氮速率受浊度影响较大。

本研究为水体脱氮速率现场快速监测提供了新方法，未来研究应继续探索新方法在在不同类型水体和不同环境条件下的适用性，为准确认识水生态系统的氮去除潜力和评估其脱氮效益提供重要支撑。

5 参考文献

[1] Zhang X, Davidson EA, Mauzerall DL *et al*. Managing nitrogen for sustainable development. Nature, 2015, 528(7580): 51-59.DOI:10.1038/nature15743.

[2] Deng DL, Pan YT, Liu GH *et al*. Seeking the hotspots of nitrogen removal: A comparison of sediment denitrification rate and denitrifier abundance among wetland types with different hydrological conditions. Sci Total Environ, 2020, 737: 140253. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.140253.

[3] Gruber N, Galloway JN. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle. Nature, 2008, 451(7176): 293-296. DOI: 10.1038/nature06592.

[4] Canfield DE, Glazer AN, Falkowski PG. The Evolution and Future of Earth's Nitrogen science, 2010, 330(6001): 192-196. DOI:10.1126/science.1186120.

[5] Mulholland PJ, Helton AM, Poole GC *et al*. Stream denitrification across biomes and its response to anthropogenic nitrate loading. Nature, 2008, 452(7184): 202-205. DOI: 10.1038/nature06686.

[6] Glibert PM, Burford MA. Globally changing nutrient loads and harmful algal blooms: recent advances, new paradigms, and continuing challenges. Oceanography, 2017, 30(1): 58-69. DOI: 10.5670/oceanog.2017.110.

[7] Jane SF, Hansen GJA, Kraemer BM *et al*. Widespread deoxygenation of temperate lakes. Nature, 2021, 594(7861): 66-70. DOI: 10.1038/s41586-021-03550-y.

[8] Galloway JN, Dentener FJ, Capone DG . Nitrogen cycles: past, present, and future. Biogeochemistry, 2004, 70: 153-226. DOI: 10.1007/s10533-004-0370-0.

[9] Knowles R. Acetylene inhibition technique: development, advantages, and potential problems[M]//Denitrification in soil and sediment. Boston, MA: Springer US, 1990: 151-166.

[10] Knowles R. Denitrification. Microbiological reviews, 1982, 46(1): 43-70.

[11] Kuenen JG. Anammox bacteria: from discovery to application. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6(4): 320-326. DOI:10.1038/nrmicro1857.

[12] Gomez-Velez JD, Harvey JW, Cardenas MB *et al*. Denitrification in the Mississippi River network controlled by flow through river bedforms. Nature Geoscience, 2015, 8(12): 941-945. DOI: 10.1038/ngeo2567.

[13] Kuypers MMM, Marchant HK, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(5): 263-276. DOI: 10.1038/nrmicro.2018.9.

[14] Xia XH, Wang JF, Zhang L *et al*. Effects of sediment on nitrogen migration and transformation inthe Yellow River and its environmental effects[J]. Journal of Hydraulic Engineering, 2020, 51(9):1138-1148. DOI:10.1 323/j. cnki.slxb.20200587.[夏星辉, 王君峰, 张翎等. 黄河泥沙对氮迁移转化的影响及环境效应. 水利学报, 2020, 51(9): 1138-1148.]

[15] Lin W, Ding J, Li Y *et al*. Partitioning of sources of N_2O from soil treated with different types of fertilizers by the acetylene inhibition method and stable isotope analysis. European Journal of Soil Science, 2019, 70(5): 1037-1048. DOI:10.1111/ejss.12782.

[16] Qin SP, Hu CS, Oenema O. Quantifying the underestimation of soil denitrification potential as determined by the acetylene inhibition method. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 47: 14-17. DOI: 10.1016/j.soilbio.2011.12.019.

[17] Kerr RA. Global Warming Continues in 1989. Science, 1990, 247(4942): 521-521. DOI: 10.1126/science.247.4942.521.

[18] Seitzinger SP, Nielsen LP, Caffrey J *et al*. Denitrification measurements in aquatic sediments: a comparison of three methods. Biogeochemistry, 1993, 23: 147-167. DOI: 10.1007/BF00023750.

[19] Bollmann A, Conrad R. Acetylene blockage technique leads to underestimation of denitrification rates in oxic soils due to scavenging of intermediate nitric oxide. Soil Biology and Biochemistry, 1997, 29(7): 1067-1077. DOI: 10.1016/S0038-0717(97)00007-2.

[20] Li SY, Hou QY, Yang ZF *et al*. Nitrogen isotope fractionation mechanism, analytical testing and tracer technology and its application in ecological environment. Geology in China, 2024, 51(5): 1617-1643. DOI: 10.12029/gc20230910002[李思远, 侯青叶, 杨忠芳等. 氮同位素分馏机制、分析测试与示踪技术及其在生态环境中的应用. 中国地质, 2024, 51: 1617-1643.]

[21] Ren CB, Wang L, Zhang QQ. Research progress on the source and cycle process of nitrogen in aquatic environment biogens traced by isotope technology. Journal of Water Ecology, 2024, 45(4): 1-8. DOI: 10.15928/j.1674-3075.202404120126.[任朝斌, 王龙, 张千千. 同位素技术示踪水环境生源要素氮的来源及循环过程研究进展. 水生态学杂志, 2024, 45(4): 1-8.]

[22] Li T, Zhou Y, Yang F *et al*. Impact of environmental factors on the diversity of nitrogen-removal bacteria in wetlands in the Sanmenxia Reservoir of the Yellow River. Journal of Soils and Sediments, 2022, 23(1): 512-525. DOI: 10.1007/s11368-022-03405-7.

[23] Ma Q, Pang M, Huang Z *et al*. Derivation and application of a parameter for denitrification rates in the Taihu Lake model based on an isotope-labeled denitrification experiment. Environ Sci Pollut Res Int, 2024, 31(10): 15559-15570. DOI: 10.1007/s11356-024-32227-y.

[24] Cao WC, Wang YJ, Li YQ *et al*. Quantification of the uncertainty of soil denitrification potential by acetylene inhibition method. China Environmental Science, 2024, 44(10): 5733-5742. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6923.2024.10.042.[曹文超 王娅静, 李艳青等. 乙炔抑制法对农田土壤反硝化潜势不确定性的量化. 中国环境科学, 2024, 44(10): 5733-5742.]

[25] Xu J, Cao YC, Wen T *et al*. Methods, techniques and prospects for isotope tracing soil N_(2)O. Soil, 2022, 54(3): 425-436. DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2022.03.001.[徐锦, 曹亚澄, 温腾等. 同位素异位体溯源土壤 N_(2)O 的方法、技术和展望. 土壤, 2022, 54(3): 425-436.]

[26] Yang ZJ, WEI CY, Liu DF *et al*. Journal of Hydraulic Engineering, 2021, 52(2): 194-202,214. DOI:10.13243/j.cnki.slxb.20200319.[杨正健, 魏辰宇, 刘德富等. 开放水体脱氮过程及其影响因素研究进展. 水利学报, 2021, 52(2): 194-202.]

[27] Chen N, Chen Z, Wu Y *et al*. Understanding gaseous nitrogen removal through direct measurement of dissolved N2 and N2O in a subtropical river-reservoir system. Ecological Engineering, 2014, 70: 56-67. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2014.04.017.

[28] Xiao SB, Liu L, Wang W *et al*. A Fast-Response Automated Gas Equilibrator (FaRAGE) for continuous in situ measurement of CH4 and CO2 dissolved in water. Hydrology and Earth System Sciences, 2020, 24(7): 3871-3880. DOI: 10.5194/hess-24-3871-2020.

[29] Sakson G, Brzezinska A, Zawilski M. Emission of heavy metals from an urban catchment into receiving water and possibility of its limitation on the example of Lodz city. Environ Monit Assess, 2018, 190(5): 281. DOI: 10.1007/s10661-018-6648-9.

[30] Perez JL, Chu T. Effect of Zinc on Microcystis aeruginosa UTEX LB 2385 and Its Toxin Production. Toxins (Basel), 2020, 12(2). DOI: 10.3390/toxins12020092.

[31] Salvaggio A, Marino F, Albano M *et al*. Toxic Effects of Zinc Chloride on the Bone Development in Danio rerio (Hamilton, 1822). Front Physiol, 2016, 7: 153. DOI: 10.3389/fphys.2016.00153.

[32] Gasperi J, Garnaud S, Rocher V *et al*. Priority pollutants in wastewater and combined sewer overflow. Sci Total Environ, 2008, 407(1): 263-272. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.08.015.

[33] Loeks BM, Cotner JB. Upper Midwest lakes are supersaturated with N2. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020, 117(29): 17063-17067. DOI:10.1073/pnas.1921689117.

[34] Yang F, Sun XL, Wang X *et al*. Calculation method for accurate determination of high-abundance $^{15}N_2$ by mass spectrometry. Journel of Chinese Mass Spectrometry, 2017, 38(6): 664-670. DOI:10.7538/zpxb.2016.0139.[杨帆，孙晓丽，王曦等. 质谱准确测定高丰度 $^{15}N_2$ 的计算方法. 质谱学报, 2017, 38(6): 664-670.

[35] Han HJ, Lu XX, Burger DF *et al.* Nitrogen dynamics at the sediment–water interface in a tropical reservoir. Ecological Engineering, 2014, 73(146-153. DOI:10.1016/j.ecoleng.2014.09.016.

[36] He G, Deng DL, Delgado-Baquerizo M *et al.* Global Relative Importance of Denitrification and Anammox in Microbial Nitrogen Loss Across Terrestrial and Aquatic Ecosystems. Advanced Science, 2024, 12(8): DOI:10.1002/advs.202406857.

[37] Ji YY, Shi WQ, Qin BQ. An indispensable role of overlying water in nitrogen removal in shallow lakes. Science of The Total Environment, 2024, 923(DOI:10.1016/j.scitotenv.2024.171487.

[38] Seitzinger S, Harrison JA, Böhlke JK *et al.* Denitrification across Landscapes and Waterscapes: A Synthesis. Ecological Applications, 2006, 16(6): 2064-2090. DOI: 10.1890/1051-0761(2006)016[2064:Dalawa]2.0.Co;2.

[39] Chen X, Qian FY, Wang JF *et al*. Effect of environmental factors on the synergistic effect of functional bacteria in fully autotrophic denitrification granular sludge. Environmental Science, 2018, 39(4): 1756-1762. DOI:10.13227/j.hjkx.201708251.[陈希，钱飞跃，王建芳等. 环境因子对全自养脱氮颗粒污泥功能菌协同效应的影响. 环境科学, 2018, 39(4): 1756-1762.

[40] Wang Y, Cheng Y, Li QF *et al*. Effects of different nitrogen sources and environmental factors on the denitrification performance of Bacillus huajintan SLWX_2. Advances in Fishery Science, 2019, 40(1): 133-140. DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.201180102001.[王越，成钰，李秋芬等. 不同氮源和环境因子对花津滩芽孢杆菌 SLWX_2 脱氮性能的影响. 渔业科学进展, 2019, 40(1): 133-140.: 10.19663/j.issn2095-9869.201180102001.]

[41] Xian SS, Chen MX, Xiong R *et al*. Research progress on influencing factors of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification. Water Treatment Technology, 2016, 42(1): 1-6. DOI:10.16796/j.cnki.1000-3770.2016.01.001.[鲜思淑，陈茂霞，熊蓉等. 异养硝化-好氧反硝化影响因素研究进展. 水处理技术, 2016, 42(1): 1-6.

[42] Zheng H, Liu Y, Sun G *et al*. Denitrification characteristics of a marine origin psychrophilic aerobic denitrifying bacterium. Journal of Environmental Sciences, 2011, 23(11): 1888-1893. DOI: 10.1016/S1001-0742(10)60615-8.

[43] Wang L, Hong Y, Gu J-D *et al.* Influence of critical factors on nitrogen removal contribution by anammox and denitrification in an anammox-inoculated wastewater treatment system. Journal of Water Process Engineering, 2021, 40. DOI: 10.1016/j.jwpe.2020.101868.

[44] Li X, Hu RT, Chen GL *et al*. Effect of temperature and pH value on denitrification process of low lignin broken wood. Environmental Science and Technology, 2024, 47(1): 102-110. DOI: 10.19672/j.cnki.1003-6504.1861.23.338.[李鑫 胡容庭, 陈广林等. 温度和 pH 值对低木质素碎木反硝化过程的影响. 环境科学与技术, 2024, 47(1): 102-110.]

[45] Zhao L, Ni WM, Jia XY *et al*. Effect of initial pH on denitrification and denitrification of wastewater. Journal of Hangzhou Normal University (Natural Science Edition), 2014, 13(6): 616-622. DOI:10.3969/j.issn.1674-232X.2014.06.011.[赵樑, 倪伟敏, 贾秀英等. 初始 pH 值对废水反硝化脱氮的影响. 杭州师范大学学报(自然科学版), 2014, 13(6): 616-622.]

[46] Kang L, Zhu M, Zhu G *et al.* Decreasing denitrification rates poses a challenge to further decline of nitrogen concentration in Lake Taihu, China. Water Research, 2024, 256:121565. DOI: 10.1016/j.watres.2024.121565.

[47] Klawonn I, Bonaglia S, Bruchert V *et al*. Aerobic and anaerobic nitrogen transformation processes in N2-fixing cyanobacterial aggregates. ISME J, 2015, 9(6): 1456-1466. DOI: 10.1038/ismej.2014.232.

[48] Zhang L, Zhao XM, Yan X *et al*. Improving denitrification estimation by joint inclusion of suspended particles and chlorophyll a in aquaculture ponds. Journal Of Environmental Management, 2024, 365: 121681. DOI:10.1016/j.jenvman.2024.121681.

[49] Senbati YK, Lu L, MD, Kang S *et al*. Effect and microbial mechanism of suspended sediments particle size on nitrous oxide emission in eutrophic lakes. Environmental Pollution, 2023, 334. DOI: 10.1016/j.envpol.2023.122180.

[50] Xing H, Xia TL, Yang ZF *et al*. Enhanced nitrogen loss from rivers through coupled nitrification-denitrification caused by suspended sediment,. Science of The Total Environment,, 2017, 579: 47-59. DOI: 10.1016/j.envpol.2023.122180.

[51] Zhou YW, Xu XG, Han RM *et al*. Suspended particles potentially enhance nitrous oxide (N2O) emissions in the oxic estuarine waters of eutrophic lakes: Field and experimental evidence. Environment Pollution, 2019, 252(PartB): 1225-1234. DOI:10.1016/j.envpol.2019.06.076.

[52] Zhang L, Xia YQ, Liu XM *et al*. Research progress on the impact of suspended solids in natural water bodies on denitrification Lake Science, 2023, 35(1): 32-42. DOI: 10.18307/2023.0101. [张鹂, 夏永秋, 刘雪梅等. 自然水体中悬浮物对反硝化影响的研究进展. 湖泊科学, 2023, 35(1): 32-42.]

[53] Li WF, Zheng JJ, Zhang XP *et al*. Research progress on denitrification enzymes and their environmental factors. Chinese Journal of Hydrobiology, 2014, 38(1): 166-170. DOI: 10.7541/2014.22.[李卫芬, 郑佳佳, 张小平等. 反硝化酶及其环境影响因子的研究进展. 水生生物学报, 2014, 38(1): 166-170.]

[54] Chen CJ, Feng Y, Wang YQ *et al*. Research Progress on Influencing Factors of Anaerobic Ammonia Oxidation Reaction Chinese Journal of Ecology and Environmental Sciences, 2016, 25(2): 346. DOI: 10.16258/j.cnki.1674-5906.2016.02.024.[陈重军, 冯宇, 汪瑶琪等. 厌氧氨氧化反应影响因素研究进展. 生态环境学报, 2016, 25(2): 346.]

[55] Ehrenfels B, Baumann KL, Niederdorfer R *et al*. Hydrodynamic regimes modulate nitrogen fixation and the mode of diazotrophy in Lake Tanganyika. Nature Communications, 2023, 14(1): 6591. DOI:10.1038/s41467-023-42391-3.