

生物-电化学耦合系统供氢脱硫效应及微生物学研究

杨姗姗, 张旭, 徐慧纬, 李广贺*

(清华大学环境科学与工程系, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 为研究和评价电化学强化自养硫酸盐还原连续运行工艺, 提高处理能力, 设计三维复合生物阴极, 构建生物-电学耦合系统, 通过促进氢气传质、增大自养微生物量及电场强化的方式, 提高以 H_2 为电子供体的硫酸盐还原速率, 并评价了体系连续运行脱硫效应。结果表明, 当电流为 0.50 mA、系统运行较为稳定时平均硫酸盐去除负荷为 $1.94 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$, 最大去除负荷为 $2.23 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 。相同水力条件下, 改变进水负荷时, 优化传质和电场强化的耦合反应器具更高的系统稳定性。扫描电镜观测发现, 除膜丝外, 石墨纤维毡表面附着大量微生物, 显著提高体系生物量。PCR-DGGE 种群结构分析表明, 与接种菌源相比, 种群丰度略有降低, 群落结构得以优化, 优势菌群为脱硫弧菌属和脱硫微菌属。传质优化、生物量提高、微生物群落结构优化及电场强化是系统具有较高硫酸盐还原能力以及适应能力的关键。

关键词: 生物-电学耦合系统 硫酸盐还原 氢气 PCR-DGGE

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)03-0709-06

Performance of a Combined Bio-chemical Sulfidogenic System and Microbial Characteristics in the Presence of H_2

YANG Shan-shan, ZHANG Xu, XU Hui-wei, LI Guang-he

(State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science & Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: To study and evaluate the performance of the continuously-operated autohydrogenotrophic sulfate reduction technique enhanced with electrochemical method and to improve the sulfate removal efficiency, a combined bio-electrical sulfidogenic system was developed with a three-dimensional bio-cathode. Sulfate reduction rate was elevated markedly owing to H_2 mass transfer enhancement, biomass augmentation and electrical field stimulation. Indeed, when a current of 0.50 mA was applied to the system, the average sulfate removal load was $1.94 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ during the stable running status and the maximum removal load was $2.23 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$. Furthermore, the combined bio-electrical system was comparatively more stable in terms of response to the variation of influx load under the same hydraulic conditions. Results of SEM showed that besides the bacteria attached on the surface of the hollow fiber, large amount of biomass was aggregated on the surface and the inner gridding space of the graphite felt. PCR-DGGE analysis indicated that the diversity of the microbial community structure was slightly reduced resulting in an optimized one. The dominant genera were *Desulfovibrio* and *Desulfomicrobium*. Enhanced H_2 mass transfer, biomass augmentation, optimized microbial community structure and electrical stimulation were the key important factors for the high sulfate reduction efficiency of the system.

Key words: combined bio-chemical system; sulfate reduction; hydrogen; PCR-DGGE

冶金、煤矿开采、烟气 SO_2 洗脱等工业过程产生大量富硫酸盐废水, 此类废水有机物含量低。去除硫酸盐的物理化学方法(如化学沉淀、离子交换、电渗析、反渗透等)成本高, 产生大量污泥或浓缩水需后续处理。生物脱硫工艺(硫酸盐生物还原-硫化物部分氧化回收硫单质)成本低廉, 适宜大规模处理, 但硫酸盐生物还原缺乏电子供体。与投加有机物^[1,2]相比, 以 H_2 为电子供体的硫酸盐生物还原不会产生二次污染, 已引起广泛关注^[3-5]。

由于 H_2 溶解度仅为 $1.6 \text{ mg}/\text{L}$ (20°C , $101.325 \times 10^3 \text{ Pa}$), 作为电子供体的基质浓度很低, 成为工艺限制步骤。为此, 众多研究者通过高压循环扰动(气提式反应器)^[3,6]、疏水性膜无泡曝气^[4,7]等方式

强化 H_2 传质。气提式反应器传质效果较差, 大量 H_2 需压缩回用, 动力费用高。疏水性膜无泡供 H_2 可大大提高传质效率, 但生物量仅限于膜丝表面的附着, 因而还原速率较低。Tabak 等^[4]利用 U 型中空纤维膜组件供 H_2 , 推算其最大 SRR 仅为 $0.57 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 。Fedorovich 等^[7]用方形膜块式膜组件供 H_2 , 水力停留时间为 61 h 时, 最大硫酸盐去除负荷为 $0.90 \text{ g}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 。近年来, 有较多学者报道了微生物在温和电场条件下活性增强的研究^[8,9], 本研究

收稿日期 2009-04-26 修订日期 2009-06-04

基金项目 国家自然科学基金项目(40572141)

作者简介 杨姗姗(1984~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水体污染控制与修复, E-mail: ypp03@mails.thu.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: ligh@tsinghua.edu.cn

组采用附加电场强化的方式较大地提高了间歇运行过程中硫酸盐生物还原速率^[10],但该系统间歇运行,且 H₂ 由间歇鼓泡方式提供,从而气相到液相的传质速率有限.

为结合疏水膜无泡供氢的传质优势,从增大生物量及促进 H₂ 生物有效性角度出发,设计中空纤维膜、石墨纤维毡三维复合生物阴极,构建生物-电化学耦合系统,研究微泡供氢、电场强化生物与电化学协同硫酸盐生物还原效应,评价了系统连续运行情况,并分析了微生物特征及群落结构.

1 材料与方法

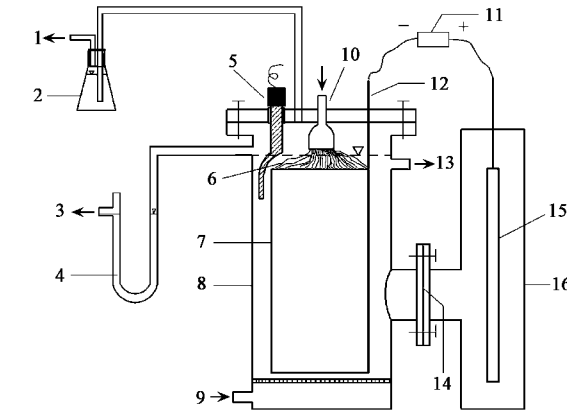
1.1 实验装置

设计有机玻璃材质的两室型反应器. 阴极室与阳极室以质子交换膜 GEFC-105 (北京金能燃料电池有限公司) 分隔,柱状阴极室为主要反应区,有效容积 1.60 L. 阴极采用三维复合生物阴极,设计束状末端封闭式中空纤维膜组件,膜丝均匀包埋在 12 cm × 25 cm 的石墨纤维毡上,包埋完成后将石墨纤维毡闭合成筒状,固定在石墨棒导流棒上,与恒流电源负极连接. 中空纤维膜组件由天津海水淡化研究所研制加工,膜丝为聚丙烯材质,物理参数如下:膜丝外径 0.5 mm、孔径 0.2 ~ 0.5 μm、壁厚 50 μm、开孔率 50% ~ 55%. 采用 40 L 气瓶提供 H₂/CO₂ (90/10) 混合气,膜组件氢气压力为 5 × 10³ Pa. 阴极室液体通过循环泵循环 (4 L/h),染料示踪试验表明,体系接近完全混合状态. 阳极室采用网状钛镀钌 (RuO₂/Ti) 电极 (北京恒力钛工贸有限公司). 恒流电源为 4 节 1.5 V 干电池通过电路板提供 (北京普林拓展科技有限公司),电流可调节,精度取决于电流表,为 0.05 mA. 试验装置如图 1 所示.

1.2 挂膜与启动

取北京某啤酒厂废水处理 UASB 反应器厌氧污泥,于 30℃ 恒温摇床中富集培养数月. 取 200 mL 富集菌源离心后用 60 mL 除氧的 80 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.2) 悬浮,各取 20 mL 加入含乳酸的 WP 培养基^[11] 的反应器中,开启循环泵 4.2 L/h 间歇运行 4 d,微生物附着在阴极石墨纤维毡及中空纤维膜表面,实现挂膜,排出反应器底部未附着的污泥颗粒. 厌氧条件下更换不含有机物的 WP 培养基,通 H₂ 作为电子供体间歇运行 7 d,硫酸盐浓度从 2 700 mg/L 降低到 280 mg/L,形成成熟生物膜,且能利用 H₂ 为电子供体还原硫酸盐,系统启动准备完成.

1.3 各运行阶段工况条件



1. 气体出口 2. 洗气瓶 3. 出水口 4. 水封 5. 参比电极
6. 膜丝 7. 复合生物阴极 8. 阴极室 9. 进水口/循环入
口水口 10. H₂/CO₂ 混合气入口 11. 恒流电源 12. 石
墨导流棒 13. 采样口/循环出水口 14. 质子交换膜
15. 阳极 16. 阳极室

图 1 耦合反应系统示意

Fig. 1 Combined bio-chemical sulfidogenic system

共运行 3 个反应器,编号 A、B 和 C,其中 A 和 B 反应器采用中空纤维膜无泡供氢方式,且 B 反应器通电运行,C 反应器装置同 A、B,气体经由曝气头进入反应器. 连续运行阶段温度为 25 ~ 28℃,进水负荷为 750 ~ 3 000 mg/(L · d),水力循环流量为 4.2 L/h. 为避免空气对体系的影响,进水储罐上方始终保持 N₂ 的正压状态. 模拟水样硫酸盐浓度为 800 ~ 1 600 mg/L,添加 16 mmol/L NaHCO₃ 作为碳源,同时补充必要的微量元素及无机营养物质. 连续运行期间,逐步提高各反应器的进水负荷,同时,B 反应器的电流强度逐步增大. 反应系统于第 51 d 进入间歇运行阶段,期间以乳酸培养基提供电子供体,同时将 B 反应器断电. 第 76 d 开始通氢气重新连续运行,并逐步提高 B 反应器电流强度. 运行共分为 6 个阶段,阶段详细的运行工况条件如表 1 所示.

表 1 反应系统连续运行工况条件

Table 1 Experimental conditions for continuous operation

阶段	时间 /d	R-B 电流 /mA	气流量 mL/min	
			A、B	C
1	0 ~ 7	0.00	20	20
2	8 ~ 12	0.25	20	20
3	13 ~ 18	0.50	20	40
	19 ~ 35 ¹⁾		20	40
4	36 ~ 50	0.75	20	40
	51 ~ 75 ²⁾		0	0
5	76 ~ 83 ³⁾	0.25	20	40
	84 ~ 93		20	40

1) 21 ~ 23 B 反应器进水管漏,故 24 ~ 25 d 提高气流量恢复 2) 培养基含乳酸 3) 以 H₂ 为电子供体,间歇运行

1.4 分析方法

硫酸盐浓度采用比浊法^[12]测定,总硫化物浓度采用碘量法^[13],pH 采用德国 WTW 公司 pH340i 测定,pH 电极每周校准 1 次.微生物样品采用 SIRION 200 扫描电子显微镜观测.电流测定和调控采用上海良标 C31/1-A 型电流表,精度为 0.05 mA.

微生物 DNA 用 Takara 公司的 DV810A 基因组 DNA 小量纯化试剂盒提取.将阴极石墨纤维毡在频率 40 kHz 下超声 10 min,用中速定量滤纸过滤,滤液 12 000 r/min 离心 (Himac CR22G, Hitachi, 日本) 10 min 得到菌样,取 50 ~ 100 mg 样品按照试剂盒说明书步骤操作.提取 DNA 纯度用 0.8% 的琼脂糖凝胶进行检验,确保满足 PCR 试验条件要求.

PCR 扩增使用 PTC2200 扩增仪 (MJ 公司),引物针对真菌 16S rDNA V6 ~ V8 区的通用引物 BAC968 F-GC 和 BAC1401R^[14].采用 Dcode 系统 (Bio-Rad 公司) 对 PCR 反应产物进行分离.聚丙烯酰胺凝胶浓度 8%,变性剂浓度 30% ~ 70%.在 80 V 的电压下,60℃ 电泳 15 h,以 1 × SYBRGold (Invitrogen 公司) 染色,用 GSD8000 成像系统 (UVP 公司) 进行结果观察和照相.以 QuantityOne 软件对 DGGE 图谱进行分析,根据条带的强度 (用吸光度表示) 和位置,计算各个样品的多样性指数 (Shannon 指数, H')^[15],相似性的计算参考 Magurran^[16] 的研究.

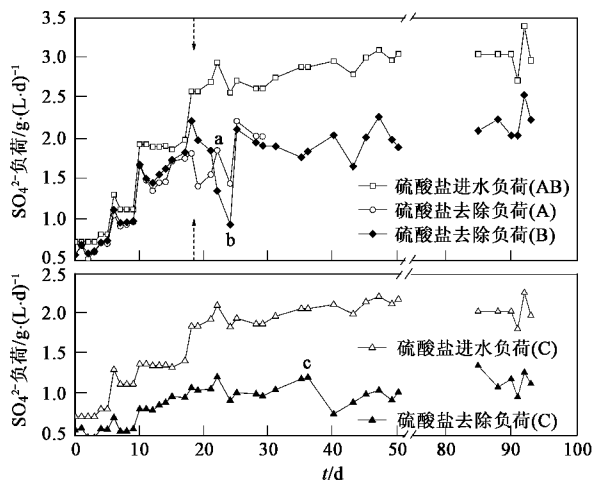
2 结果与讨论

2.1 反应系统运行效果

经过挂膜及启动准备之后,SRB 具有较高的活性,连续运行阶段伊始,体系即发生硫酸盐还原过程.根据进水及出水硫酸盐浓度计算处理负荷,90 d 的连续运行过程中体系硫酸盐进水负荷及处理负荷变化如图 2 所示.

阶段 1 及阶段 2 初始系统低负荷运行,B 反应器中微生物逐步适应电流的刺激,但处理负荷相对不通电的 A 反应器并无太大改变,A、B 反应器的出水为 150 mg/L 左右.C 反应器按照同样的进水负荷运行,但出水浓度在 400 mg/L 左右,硫酸盐去除负荷较小.

阶段 3、4 为较高进水负荷运行,且反应器 B 电流分别调整为 0.50 和 0.75 mA.在不改变进水负荷的条件下,混合气体流量增大使得 A、B 反应器处理能力得以提高,分别从 1.36 和 1.46 g/(L·d) (第 12 d) 提高到了 1.85 和 2.22 g/(L·d) (第 18 d),



a 点 B 进水管漏,氧气进入;b 点调大 R-B 气体流量至 40 mL/min;c 点 R-C 进气量降低为 8.8 mL/min)

图 2 不同运行阶段耦合反应器硫酸盐进水及去除负荷变化

Fig. 2 Influent and removal sulfate load of the combined bio-chemical sulfidogenic system during different operation phases

比较可知,附加电场的 B 反应器处理能力提高幅度较大.当混合气体流量恢复到 20 mL/min, A、B 反应器处理能力均有所下降,但 B 反应器仍维持较高的去除负荷,推断微生物在电场的作用下活性提高.系统运行至 21 d 时,反应器 B 的进水管被蠕虫泵磨损 (图 2, a 点),去除负荷大幅下降,因而在第 24 d 调控体系 ORP、并将气体流量提高到 50 mL/min,经过 1 d 的运行,去除负荷迅速恢复,达到 2.12 g/(L·d),可知耦合反应器具有较强的抗冲击能力.工况 4, B 反应器电流增大到 0.75 mA,硫酸盐去除能力与 0.50 mA 时相当,但能耗相对较大.

C 反应器混合气体流量第 12 d 提高之后,去除负荷略有提高,之后运行过程中维持 40 mL/min 的流量不变,去除负荷基本保持 1.0 g/(L·d) 的水平.第 19 d 进水负荷提高后,出水在 600 ~ 850 mg/L 之间波动,因此,在工艺条件不变的情况下,鼓泡曝气反应器 C 的去除负荷进一步提高的潜力较小.

综上,与疏水膜供气的 A、B 反应器相比,鼓泡曝气的 C 反应器在上述各阶段的硫酸盐去除负荷均较低,系统运行较为稳定时 (18 ~ 36 d) 硫酸盐平均最大去除负荷为 1.19 g/(L·d),这是由于 H_2 由气相到水相的传质速率较低导致的.而电流为 0.50 mA 的 B 反应器在同样工况条件下 (25 ~ 36 d) 平均去除负荷为 1.94 g/(L·d),最大去除负荷为 2.23

g/(L·d). 高于其他同类以 H₂ 为电子供体的反应器的处理能力 [0.90^[7]、0.57 g/(L·d)^[4]]. 促进传质、提高生物量和电化学强化是耦合反应器具有较高处理能力和稳定性的重要因素.

2.2 反应系统硫平衡分析

附加电场条件下,SO₄²⁻ 可能会发生以 H₂ 为还原剂的电化学硫酸盐还原过程,产物较为复杂,可能含多种中间价态的含硫化合物. 而研究表明硫酸盐生物还原过程全部在硫酸盐还原菌体内完成,且菌体在代谢过程中无中间产物排除体外,生物还原的终产物只有硫化物^[17]. 为探讨系统硫酸盐还原过程,对系统的硫元素平衡进行核算. 在反应系统稳定运行期间(第 30 d),测定运行 3 h 前后及过程中进、出水 SO₄²⁻ 浓度,出水总硫化物及气相 H₂S 的量(二级洗气瓶吸收). 各组分硫元素含量分别记为 SO₄²⁻-S、HS-S 和 H₂S(g)-S, S 元素核算结果如表 2 所示.

表 2 各反应器硫元素平衡核算 /mg
Table 2 Sulfur balance of the combined bio-chemical sulfidogenic system/mg

反应器	总输入硫 SO ₄ ²⁻ -S	输出的各组分硫			总输出硫
		SO ₄ ²⁻ -S	HS-S	H ₂ S(g)-S	
A	182.10	82.21	73.46	22.49	178.16
B	182.10	61.57	88.51	27.71	177.79
C	148.82	60.04	43.04	35.87	138.95

测定结果表明,按如上组分核算硫元素输入输

出差仅为 2.16%、2.37% 和 6.63%,出水总硫低于进水的总硫,可能是由于反应器内部微生物自身生长的硫素摄取以及石墨纤维毡的吸附作用导致. 平衡测定过程 H₂S 气体的不完全吸收(二级 NaOH 碱液洗气瓶)也是原因之一.

此外,有研究表明,以 H₂ 为还原剂的电化学硫酸盐还原过程需在较高的电流和较低的电势才能发生^[10],本研究中,耦合反应系统运行过程中控制较小的电流,结合上述硫元素平衡核算,推断体系未发生电化学还原过程.

2.3 微生物特性研究

生物-电化学耦合系统连续运行试验表明,体系去除负荷为鼓泡曝气反应器 C 的 2 倍,附加电场条件下去除负荷增强,且运行更稳定,这表明附加电场耦合系统微生物具有更高的活性及适应能力. 分别对反应系统的微生物空间分布及种群结构进行分析.

2.3.1 复合生物阴极微生物分布

复合生物阴极的中空纤维膜及石墨纤维毡表面附着的生物的扫描电镜图片如图 3 所示. 中空纤维膜表面单层附着微生物,从形态判断菌种以弧菌为主,由于氢气在膜丝表面以微泡形式溢出,附着在膜丝表面的微生物可以直接利用微孔提供的 H₂ 作为电子供体. 由图 3 可见,膜孔堵塞现象不明显,利于维持 H₂ 的传质效率.

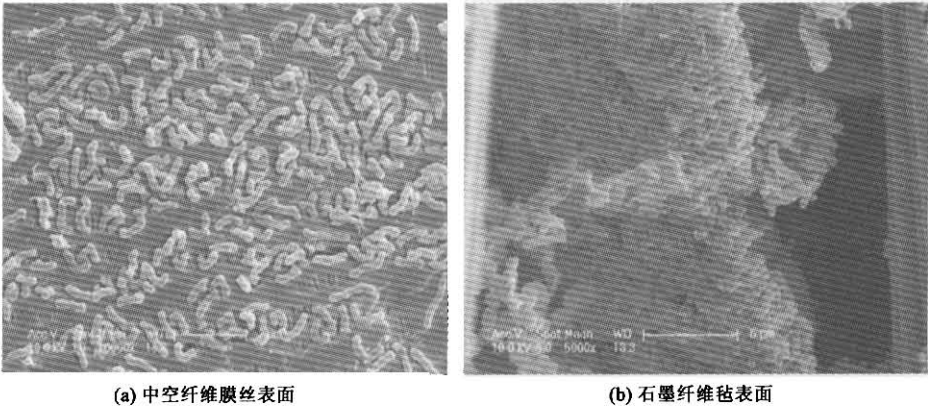


图 3 复合生物阴极微生物 SEM 图片
Fig. 3 SEM photographs of the microorganism on three-dimensional bio-cathode

由图 3(b)可见,在石墨纤维毡表面及空隙中有大量菌团附着. 与膜丝表面微生物的单层牢固附着不同,菌团与石墨纤维毡附着相对松弛,这可能与石墨纤维毡良好的导电性有关,微生物本身的电负性与阴极表面所带的负电荷有微弱排斥作用. 然而石

墨纤维毡由大量不规则排布的纤维丝构成,比表面积巨大且空隙多,为微生物菌团提供了有利的寄居场所,增大了系统持菌能力.

2.3.2 微生物种群结构

为研究电场胁迫条件下微生物群落结构的变

化,利用 PCR-DGGE 指纹图谱技术对于接种菌源 (S) 以及 3 组反应器稳定连续运行阶段 (A :第 32 d ; B, C :第 93 d) 的微生物进行群落结构分析.

图 4 为接种菌源 S 及 A、B、C 反应器的 DGGE 指纹图谱. 一般而言, DGGE 图谱的每个条带都代表微生物的一个种, 同一泳道中不同条带的亮度及粗细表征该微生物的相对丰度, 而不同泳道的条带数量可以表征微生物种群相对数量. 与接种菌源相比较可知, 连续运行反应器微生物的 DGGE 图谱中部分条带亮度变浅或消失 (如条带 6 等). 这表明, 随着反应器的运行, 3 组反应器中微生物多样性均有不同程度的下降, 部分种群的数量减少甚至消失. 而部分条带 (如条带 5、7、8、9 等) 的亮度有所增强, 从不易识别的条带转变为较明显的条带. 同时, 3 组反应器中出现了相似的优势菌种, 即条带 5、7 和 8. 测序和比较序列分析结果表明, 条带 5 与 *Desulfomicrobium norvegicum* 的相似度为 99%, 条带 7 与 *Desulfovibrio sulfodismutans* 的相似度为 99%, 条带 8 与目前可培养的硫酸盐还原菌相似度均低于 98%, 但可判断其为 *Desulfovibrio* 属. 脱硫微菌属 (*Desulfomicrobium*) 和脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*) 是研究报道的能利用 H_2 为电子供体的 2 个主要的硫酸盐还原菌属^[17]. C 反应器微生物群落结构丰度有较大幅度降低, 体系 H_2 传质效果较差是主要原因之一.

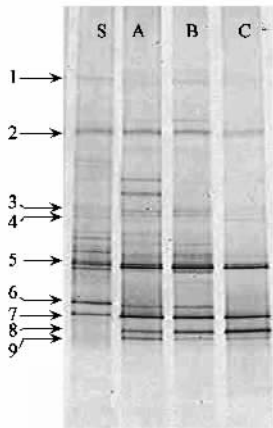


图 4 各反应器微生物 PCR-DGGE 指纹图谱
Fig.4 DGGE fingerprint of the microorganism from the combined bio-chemical sulfidogenic system

根据 DGGE 指纹图谱分析结果 (图 4), 计算各反应器真菌种群的 Shannon-Wiener 多样性指数, 结果如表 3 所示.

计算各反应器真菌种群的相似性指数, 结果如

表 4 所示.

表 3 真菌种群的 Shannon-Wiener 多样性指数				
Table 3 Shannon index of eubacteria population in the combined bio-chemical sulfidogenic system				
S	A	B	C	
3. 71	3. 65	3. 25	2. 67	

表 4 耦合反应系统真菌种群相似性指数				
Table 4 Comparability index of eubacteria population in the combined bio-chemical sulfidogenic system				
	S	A	B	C
S	100			
A	56. 5	100		
B	44. 0	45. 0	100	
C	31. 0	54. 8	64. 7	100

与接种菌源 S 相比, A、B 和 C 反应器的真菌种群相似性指数分别为 56. 5%、44. 0% 和 31. 0%. 而条带数量分别为 13、10 和 7. 鼓泡曝气反应器 C 群落结构相对单一, 可能是传质不佳, 从而使硫酸盐还原菌代谢繁殖较慢所致. A 运行时间较短且无电场的胁迫作用, 因而表现出与接种菌源更高的种群相似性. B 反应器经过较长时间电场胁迫作用, 相对接种菌源, 多样性指数略有降低, 推断菌源中不能有效利用 H_2 的种群数量逐渐降低甚至消失, 而能有效利用 H_2 的硫酸盐还原菌优势地位逐步得以确立, 这可能是耦合反应系统具有更高适应性的主要原因.

3 结论

(1) 设计了中空纤维膜、石墨纤维毡三维复合生物阴极及耦合反应器, 通过强化氢气传质、增大自养微生物附着量及电场强化的方式, 提高以 H_2 为电子供体的硫酸盐还原, 并评价了体系连续运行脱硫效应.

(2) 当电流为 0. 50 mA、系统运行较为稳定时平均硫酸盐去除负荷为 1. 94 g/(L · d), 最大去除负荷为 2. 23 g/(L · d), 而鼓泡曝气反应器 C 的平均最大去除负荷仅为 1. 19 g/(L · d). 相同水力条件下, 改变进水负荷时, 优化传质和电场强化的耦合反应器具有更高的系统稳定性.

(3) 微生物群落分布及种群结构的鉴定表明, 体系微生物量显著增大, 种群结构得以优化, 优势菌群为脱硫弧菌属和脱硫微菌属, 是系统具有较高硫酸盐还原能力以及适应能力的关键因素.

参考文献：

- [1] 宋秀兰, 李亚新. 乙酸、丙酸和丁酸为 SRB 碳源时的利用率 [J]. 中国矿业大学学报, 2007, 36(4) : 527-530.
- [2] Celis-Garcia L B, Gonzalez-Blanco G, Meraz M, *et al.* Removal of sulfur inorganic compounds by a biofilm of sulfate reducing and sulfide oxidizing bacteria in a down-flow fluidized bed reactor [J]. J Chem Technol Biot, 2008, 83(3) : 260-268.
- [3] Van Houten R T, Hulshoff Pol L W, Lettinga G, *et al.* Biological sulphate reduction using gas-lift reactors fed with hydrogen and carbon dioxide as energy and carbon Source [J]. Biotechnol Bioeng, 1994, 44(5) : 586-594.
- [4] Tabak H H, Govind R. Advances in biotreatment of acid mine drainage and biorecovery of metals : 2. Membrane bioreactor system for sulfate reduction [J]. Biodegradation, 2003, 14(6) : 437-452.
- [5] Van Houten B H G W, Roest K, Tzeneva V A, *et al.* Occurrence of methanogenesis during start-up of a full-scale synthesis gas-fed reactor treating sulfate and metal-rich wastewater [J]. Water Res, 2006, 40(3) : 553-560.
- [6] Du Preez L A, Maree J P. Pilot-scale biological sulphate and nitrate removal utilizing producer gas as energy source [J]. Water Sci Technol, 1994, 30(12) : 275-285.
- [7] Fedorovich V V. Hydro-mass-transfer in a biochemical reactor with inserted membrane elements for biosynthesis on gaseous substrates [D]. Moscow : All-Soviet Research Institute of Biotechniques, 1991.
- [8] She P, Song B, Xing X H, *et al.* Electrolytic stimulation of bacteria *Enterobacter dissolvens* by a direct current [J]. Biochem Eng J, 2006, 28(1) : 23-29.
- [9] Beschkov V, Velizarov S, Agathos S N, *et al.* Bacterial denitrification of waste water stimulated by constant electric field [J]. Biochem Eng J, 2004, 17(2) : 141-145.
- [10] 徐慧纬, 张旭, 杨姗姗, 等. 常压供氢体系电场强化硫酸盐还原生物-电化学效应研究 [J]. 环境科学, 2009, 30(7) : 1931-1936.
- [11] Widdel F, Bak F. Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria [A]. In : Balows H G T A, Dworkin M, Harder W, *et al.* (eds), The prokaryotes [M]. New York : Springer, 1992. 3353-3378.
- [12] 美国公共卫生协会, 美国水工程协会, 水环境联盟. 宋仁元等, 译. 水和废水标准检验手册 [M]. (第 15 版). 北京 : 中国建筑工业出版社, 1985. 404-415.
- [13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京 : 中国环境科学出版社, 2002. 133-136.
- [14] Watanabe K, Kodama Y, Harayamas S. Design and evaluation of PCR primers to amplify bacterial 16S ribosomal DNA fragments used for community fingerprinting [J]. J Microbiol Meth, 2001, 44(3) : 253-262.
- [15] Shannon C E, Weaver W. The mathematical theory of communication [M]. Urbana : University of Illinois Press, 1964.
- [16] Magurran A E. Ecological Diversity and Its Measurement [M]. New Jersey : Princeton University Press, 1988.
- [17] Rabus R, Hansen T A, Widdel F. Dissimilatory Sulfate-and Sulfur-Reducing Prokaryotes [A]. In : Prokaryotes [M]. New York : Springer, 2006. 659-768.