

进水浓度或 HRT 变化时微好氧处理微生态机制研究

韩蕙¹, 王晓丹², 张燕燕¹, 翟振华², 郑少奎^{1*}, 李艳红²

(1. 北京师范大学环境学院, 水环境模拟国家重点实验室, 北京 100875; 2. 首都师范大学生命科学院, 北京 100037)

摘要:考察改变进水 COD 浓度(11 000、15 000、30 000 mg/L)或水力停留时间(HRT 为 42 h、25 h)对模拟高浓度有机废水微好氧连续小试处理效果的影响, 并采用荧光原位杂交-流式细胞术(FISH-FCM)、聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)等分子生物学技术及 Biolog FF 微孔板法分析了不同处理阶段稳定期曝气柱污泥的微生态变化, 以探讨进水 COD 浓度或 HRT 改变时微好氧处理效果变化的微生态机制。结果表明, 在全部 4 个处理阶段, 曝气柱污泥中酵母含量均保持在 > 99.9% 的水平。随着进水 COD 浓度的上升, 污泥浓度由 2.0 g/L 上升到 7.3 g/L, COD 比去除速度由 2.3 kg/(kg·d)下降到 1.7 kg/(kg·d), 曝气柱污泥真菌群落结构多样性指数由 2.05 上升至 2.19, 代谢多样性指数由 4.42 上升至 4.45; 而随着 HRT 下降, 污泥浓度从 7.3 g/L 下降至 6.0 g/L, COD 比去除速度从 1.7 kg/(kg·d)上升至 2.8 kg/(kg·d), 真菌群落结构多样性指数和代谢多样性指数则分别从 2.19 和 4.45 降至 0.79 和 4.36。作为提高进水有机负荷的主要措施, 提高进水 COD 浓度和缩短 HRT 对于废水处理效果和曝气柱微生态存在截然相反的影响。

关键词:微好氧; FISH-FCM; PCR-DGGE; Biolog; 高浓度有机废水; HRT; 微生态

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)11-3087-06

Micro-ecology Mechanism on Microaerobic Treatment Performance at Various Influent COD Concentrations or HRTs

HAN Hui¹, WANG Xiao-dan², ZHANG Yan-yan¹, ZHAI Zhen-hua², ZHENG Shao-kui¹, LI Yan-hong²

(1. State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China;

2. College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100037, China)

Abstract: A lab-scale continuous experiment was designed to investigate the effect of influent COD concentrations (11 000, 15 000, 30 000 mg/L) or hydraulic retention time (HRT 42, 25 h) on the microaerobic treatment performance of simulated high-strength organic wastewater. The molecular microbiological technologies, including Fluorescent *in-situ* hybridization-Flow Cytometry (FISH-FCM), Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (PCR-DGGE), and Biolog - FF assay method, were used to detect the variation of microbial community in the aerated column during the four pseudo-steady-state periods. The yeast contents remained > 99.9% throughout the overall experimental periods according to FISH-FCM. Increasing influent COD concentration brought on a rising MLSS (2.0-7.3 g/L) and a reduced specific COD removal rate [2.3-1.7 kg/(kg·d)], structural (PCR-DGGE)/metabolic (Biolog FF) diversity index values of fungal community in the aerated column had an increase of (2.05-2.19)/(4.42-4.45). Shortening HRT brought on a reduced MLSS (7.3-6.0 g/L) and a rising specific COD removal rate [1.7-2.8 kg/(kg·d)], structural (PCR-DGGE)/metabolic (Biolog FF) diversity index values of fungal community had a decrease of (2.19-0.79)/(4.45-4.36). Increasing influent COD concentration or shortening HRT has an absolutely adverse effect on the microaerobic treatment performance and micro-ecology in the aeration column although either of them can increase influent COD loading up to a higher level.

Key words: micro-aerobic; FISH-FCM; PCR-DGGE; Biolog; high-strength organic wastewater; HRT; micro-ecology

微好氧处理技术[溶解氧(DO) < 0.5 mg/L]被认为能够有效抑制 SO_4^{2-} 还原菌活性, 从而减少了 SO_4^{2-} 还原产物对微生物的毒害, 近年来已被研究者们应用于厌氧工艺无法直接处理的高硫型高浓度有机废水处理中^[1,2]。为提高高浓度有机废水微好氧处理效果, 必须优化微好氧处理工艺的运行参数, 特别是水力停留时间(hydraulic retention time, HRT)、进水 COD 浓度以及由两者单独或共同影响的进水 COD 负荷。研究表明 HRT 或进水浓度的改变会显著影响不同生物处理工艺的废水处理效果, 有时甚至造成废水处理过程完全失败^[3-5]。微生物是废水生物处

理工艺的主体, 运行参数的变化必然影响生物反应器中微生态构成与效能, 然而, 关于进水浓度和 HRT 变化时反应器中微生态的协同变化规律以及关于废水处理效果变化的微生态机制的研究却极为少见, 从而无法解释进水浓度或 HRT 变化时废水处理效果变化的潜在内因。现代分子微生物学的快速发展使人们有可能更深入地观察反应器中的微生态特

收稿日期: 2007-11-19; 修订日期: 2008-01-21

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2006CB403306)

作者简介: 韩蕙(1984~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: hanhui_bnu@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: zshaokui@yahoo.com.cn

征,目前包括聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳 (polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)、PCR-单链构象多态性 (single strand conformation polymorphism, SSCP) 等技术已被应用于水处理系统微生物群落的结构多样性分析^[6~10],而以 Biolog 微孔板法为代表的微生物群落代谢多样性分析方法也已被广泛应用于水处理研究^[11~14],从而有可能将废水处理效果随 HRT 或进水浓度的变化与反应器中微生态变化联系起来.本研究正是基于这一背景,分析了微好氧条件下运行参数的改变对模拟高浓度有机废水微好氧处理效果和反应器中微生态构成的影响,试图将废水处理效果随 HRT 或进水浓度的变化与反应器中微生态变化联系起来,从微生态变化的角度解释高浓度有机废水微好氧处理效果变化的内在差异.

1 材料与方法

1.1 高浓度有机废水微好氧连续小试

本研究将葡萄糖 (1.1% ~ 3.0%)、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.5%)、 KH_2PO_4 (0.1%) 等溶解在自来水中获得模拟高浓度有机废水 (废水 pH 调至 5.5). 微好氧连续小试装置主体部分为 1 个圆柱形有机玻璃曝气柱 ($\phi 0.2 \text{ m} \times 2 \text{ m}$, 有效容积 15.7 L), 进水桶中的废水采用电磁隔膜泵泵至曝气柱底部, 混合液从曝气柱上部重力自流排放. 在试验之初, 曝气柱中接入经无菌培养获得的酵母 *Candida tropicalis* 纯培养物, 当批量培养达到稳定期时连续通入新配废水, 整个试验过程中每天监测曝气柱中 MLSS、DO 值和进出水 COD、pH、MLSS 值, 并调整曝气量使曝气柱中不同位置 DO 浓度均始终保持在 0.5 mg/L 以下, 本试验通过改变进水 COD 浓度和进水 HRT 获得 4 个工况条件, 其中前 3 个运行阶段 HRT 均为 42 h, 进水 COD 浓度依次为 11 000、15 000、30 000 mg/L, 而第四运行阶段 HRT 改为 25 h, 进水 COD 浓度仍为 30 000 mg/L. 每个试验阶段出水 COD 浓度波动幅度 < 5% 视为稳定期, 连续监测 1 ~ 2 周, 取各测量值平均值用于比较各个工况条件下的处理效果, 在稳定期测试末期从曝气柱中提取微生物样品用于微生态分析, 随即开始下一阶段试验. 试验过程中 DO 采用便携式 DO 仪 (55/12FT 型, 美国 YSI) 测试, pH 值用便携式酸度计 (pHB-4 型, 上海雷磁) 测试, 水样在 4 000 r/min 转速下离心 10 min 后采用标准方法^[15] 分析上清液中 COD 值, 同时将弃去残余上清液的离心管在 105℃ 烘干至恒重以测试 MLSS 浓度.

1.2 微生态分析方法

1.2.1 基于 FISH-FCM 联合检测技术的酵母与细菌含量检测

本研究采用改进的荧光原位杂交-流式细胞术 (fluorescent *in-situ* hybridization-flow cytometry, FISH-FCM) 方法^[16,17] 检测 4 个处理阶段稳定期时曝气柱污泥中细菌或酵母含量, 其中细菌探针采用 EUB338^[18], 核苷酸序列为 5'-GCTGCCTCCCGTAGGAGT-3', 5' 用荧光染料 Cy5 修饰, 而酵母探针采用 PF2^[19], 核苷酸序列为 5'-CTCTGGCTTCACCCTATTC-3', 5' 用荧光染料 Cy3 修饰, 采用双探针杂交使流式细胞检测时一次进样即可同时检测 2 种微生物的含量. 流式细胞分析采用 FACSCalibur 流式细胞仪 (Becton Dickinson, USA), 采用 FL2 通道 (564 ~ 606 nm) 和 FL4 通道 (653 ~ 667 nm) 来检测 Cy3 和 Cy5 发出的荧光, 并测量前向散射光 (FSC-H) 和侧向散射光 (SSC-H). 数据分析采用 CellQuest 软件 (Becton Dickinson, USA).

1.2.2 基于 PCR-DGGE 技术的真菌群落结构多样性分析

将微生物样品置于 Matrix E Tube 中 (Q-Biogene), 采用 Bio101 Fast DNA Spin Kit for Soil 试剂盒 (Q-Biogene) 提取样品的基因组 DNA, 通过 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测提取效果. PCR 过程采用对真菌 18S rDNA 具有特异性扩增的引物 FF390 (5'-CGATAACGAACGAGACCT-3')/FR1 + GC (5'-CCGCCGCCGCGCGCGCGCGGGCGGGCACGGGCCGAICCAT TCAATCGGTAIT-3')^[20]. 25 μL PCR 反应体系为: 2.5 μL 10 $\times$ PCR buffer, 5 mmol/L dNTP, 5 $\mu\text{mol/L}$ FR1 + GC, 5 $\mu\text{mol/L}$ FF390, 50 ng DNA 提取物, 2.5 U *Taq* 酶, 用 ddH₂O 补足至 25 μL 反应体系. PCR 反应程序为: 95℃ 预变性 2 min; 95℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 运行 30 个循环; 最后 72℃ 延伸 30 min. PCR 扩增产物首先采用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 然后采用 Dcode™ 基因突变检测系统 (Bio-Rad) 开展 DGGE 分析. DGGE 过程的变性剂 (甲酰胺) 浓度范围为 40% ~ 55%, 电泳条件为: 1 $\times$ TAE 电泳缓冲液 (pH 约为 8.5), 130 V、60℃ 分离 6.5 h. 电泳结束后的凝胶经银染 (Sigma)^[21] 后采用紫光 100 扫描仪扫描, 并通过 Quantity One 4.31 (Bio-Rad) 软件分析 DGGE 指纹图谱, 计算真菌群落的丰富度指数和结构多样性指数, 其中丰富度指数 (S) 以 DGGE 图谱中每个泳道上的条带数目来表示, 结构多样性指数 (Shannon-Wiener 指数) 表示为:

$H' = - \sum (P_i \times \ln P_i)$, P_i 为第 i 条带灰度占该样品总灰度的比率.

1.2.3 基于 Biolog FF 板的真菌群落代谢多样性分析

采用无菌生理盐水将经洗涤离心后的微生物样品稀释至一定浓度,然后在无菌条件下分别接种至 Biolog FF 微孔板上(每孔接入 150 μ L),25℃培养,每隔 12 h 在 490 nm 处读数记录吸光度值.平均每孔吸光度(AWCD)计算公式为 $AWCD = \sum (C_i - R)/95$,式中, C_i 是除对照孔外各孔吸光度值, R 是对照孔吸光度值,并采用 240 h 时检测数据计算真菌群落的 Biolog 丰富度指数和代谢多样性指数,其中丰富度指数以被利用碳源总孔数来表示(即 $C_i - R$ 值 > 0.25 的孔数^[22]),代谢多样性指数(Shannon-Wiener 指数) $H' = - \sum (P_i \times \ln P_i)$,其中 P_i 为第 i 孔相对吸光值($C_i - R$)与整个平板相对吸光值总和的比率,即 $P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$.

2 结果与讨论

2.1 不同进水 COD 浓度或 HRT 条件下高浓度有机废水微好氧处理效果

高浓度有机废水生物微好氧连续小试试验四阶段运行工况与处理效果见表 1 所示.从中可以看出,尽管单一的进水 COD 浓度上升(阶段 1、2、3)或者单一的缩短 HRT(阶段 3、4)都能导致进水 COD 负荷的

上升,但 2 种情况下的有机负荷上升对曝气柱内 MLSS 浓度和污泥 COD 比去除速度的影响截然不同:在同一 HRT(42 h)下,随着进水 COD 浓度从 11 000 mg/L 上升至 30 000 mg/L[此时平均 COD 容积负荷从 6.5 kg/($m^3 \cdot d$) 逐渐上升至 17 kg/($m^3 \cdot d$)],曝气柱平均 MLSS 浓度增加(从 2.0 g/L 增至 7.3 g/L),同时 COD 比去除速度从 2.3 kg/($kg \cdot d$) 降至 1.7 kg/($kg \cdot d$);而在同一进水 COD 浓度(30 000 mg/L)条件下,随着 HRT 从 42 h 降至 25 h[此时平均 COD 容积负荷从 17 kg/($m^3 \cdot d$) 升至 29 kg/($m^3 \cdot d$)],曝气柱平均 MLSS 浓度开始出现下降(从 7.3 g/L 降至 6.0 g/L),同时 COD 比去除速度从 1.7 kg/($kg \cdot d$) 急剧上升至 2.8 kg/($kg \cdot d$).

2.2 四阶段处理过程中曝气柱污泥酵母和细菌含量分析

图 1 是 4 个处理阶段中细菌-酵母的 FL2-FL4 散点图.由于细菌探针 EUB338 所带荧光染料 Cy5 在 FL4 通道有发射光,酵母探针 PF2 所带荧光染料 Cy3 在 FL2 通道有发射光,因而在流式细胞仪双通道散点图 1 中细菌集中左上区域,酵母则集中在右下区域,而左下区域和右上区域分别为双阴性区域和双阳性区域.通过流式细胞仪对样品中的酵母与细菌数量分别计数后,由 CellQuest 统计检验的细菌和酵母比例见表 2 所示.从中可以看出,在全部 4 个阶段反应中细菌含量低于 0.1%,而酵母则处于绝对优势地位,这表明在本研究中酵母降解能力的发挥将占据主导地位.

表 1 不同阶段连续小试运行效果

Table 1 Treatment performance of lab-scale continuous experiment at four phases						
阶段	进水 COD/mg·L ⁻¹	HRT/h	COD 去除率/%	容积负荷/kg·(m ³ ·d) ⁻¹	MLSS/g·L ⁻¹	COD 比去除速度/kg·(kg·d) ⁻¹
1	11 000	42	71 ± 2	6.5 ± 0.1	2.0 ± 0.2	2.3 ± 0.3
2	15 000	42	87 ± 5	8.9 ± 0.1	3.6 ± 0.3	2.1 ± 0.1
3	30 000	42	71 ± 2	17 ± 0.1	7.3 ± 1.0	1.7 ± 0.2
4	30 000	25	59 ± 4	29 ± 0.3	6.0 ± 0.6	2.8 ± 0.2

表 2 不同阶段曝气柱污泥中酵母和细菌含量/%

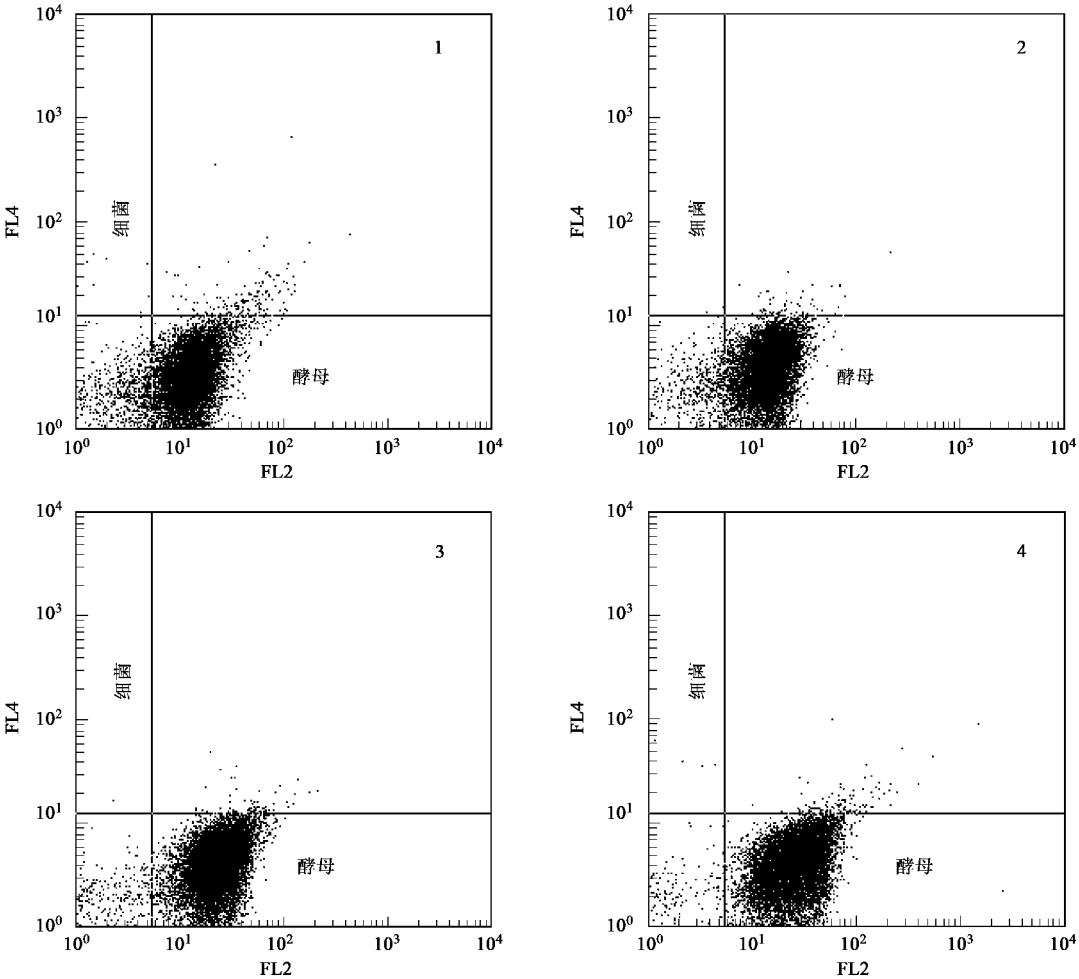
Table 2 Contents of yeast and bacterium cells in aerated column at four experimental phases / %		
阶段	酵母	细菌
1	99.94	0.06
2	99.99	0.01
3	99.99	0.01
4	99.98	0.02

2.3 四阶段稳定期内曝气柱污泥真菌群落的结构多样性与代谢多样性分析

FISH-FCM 结果表明在全部 4 个处理阶段酵母

在曝气柱污泥中均占绝对主导地位,因此,本研究分别采用 PCR-DGGE 技术和 Biolog FF 微孔板法分析 4 个处理阶段曝气柱污泥真菌群落的结构多样性和代谢多样性特征,DGGE 分析条带见图 2 所示,Biolog 平均每孔吸光度变化率见图 3 所示,真菌群落多样性分析结果见表 3 所示.

4 个处理阶段稳定期的曝气柱微生物样品 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测获得了高数量和高特异性的 PCR 产物(390 bp 片段),其 DGGE 指纹图谱见图 2 所示(其中 W0 为 *C. tropicalis* 纯培养物的



1、2、3、4:阶段 1、2、3、4 样品,下同

图 1 细菌-酵母二元体系的流式细胞仪 FL4-FL2 双通道散点图

Fig.1 FCM dot plot (FL2 vs. FL4 channel) for four bacterium-yeast binary samples

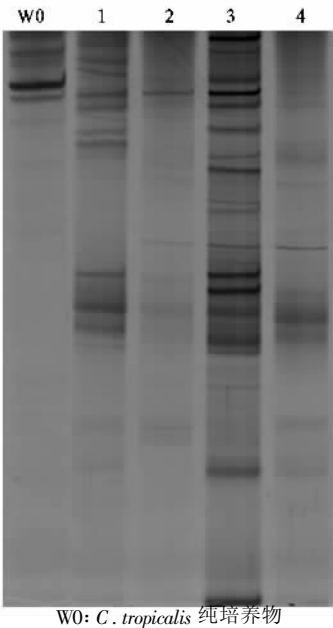


图 2 曝气柱真菌群落 PCR-DGGE 结果

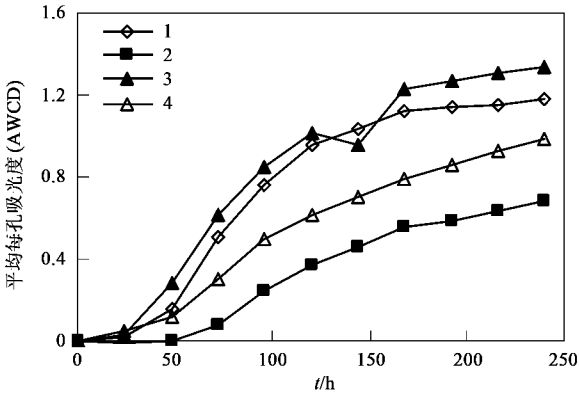


图 3 不同反应阶段 AWCD 随时间的变化

Fig.3 Change in AWCD with duration of incubation for four phases

DGGE 图谱). 从中可以看出, 在各阶段稳定期微生物样品的结构多样性存在显著差异, 并在 DGGE 图谱上呈现了数量不同的复杂条带, 条带数最多的是阶段 3 样品, 其条带数与亮度均大于其它 3 个阶段,

Fig.2 PCR-DGGE result for fungal community in aerated column

而阶段 2 和 4 样品中真菌的丰富度和多样性指数均较低,有些带型较弱,甚至模糊,由 *C. tropicalis* 纯培养物所获得的条带数目最少,条带数的变化也可以从表 3 中 PCR-DGGE 丰富度指数值得到验证.从 DGGE 图谱还可以看出, *C. tropicalis* 纯培养物表现出 3 个条带,表明 *C. tropicalis* 纯培养物的 18S rDNA 中可能存在异质性现象,导致 DGGE 图谱上并非 1 个条带即代表微生物的 1 个种属;另外根据谱带的位置可以看出,反应初接种的纯培养酵母 *C. tropicalis* 在后面几个阶段中可能一直存在,但在不同的阶段其所占的比例可能有所不同,并且随着微生物培养系统从无菌状态转入开放状态(连续小试),其它种类的真菌也可能进入了曝气柱污泥.从表 3 可以看出,4 个处理阶段的 Shannon-Wiener 多样性指数的大小顺序为 $3 > 1 > 2 > 4$,表明随着进水 COD 浓度的上升,曝气柱污泥真菌群落的结构多样性指数总体上呈上升趋势,而随着 HRT 的缩短,曝气柱污泥真菌群落的结构多样性指数则呈下降趋势.

环境样品的真菌群落代谢多样性检测常用 Biolog FF 微孔板^[23].由图 3 可以看出 4 个微生物样品在 Biolog FF 微孔板上均形成 S 型增长曲线,在快速增长期($24\text{ h} < t < 72\text{ h}$)内各阶段 AWCD 值变化速率为 $3 > 1 > 4 > 2$,这一变化规律与表 3 中 Biolog 丰富度指数值的变化规律相一致.通常 AWCD 值反映了微生物利用单一碳源的能力,其变化速率反映了 Biolog 代谢活性,AWCD 值增加越快表示 Biolog 代谢活性越高^[24-25],由此可见,随着进水 COD 浓度或者 HRT 的上升微好氧曝气柱污泥的真菌群落 Biolog 代谢活性呈上升趋势.这可以从真菌群落结构多样性指数随 HRT 或进水 COD 浓度变化得到解释.曝气柱污泥真菌群落的结构多样性指数随进水 COD 浓度的上升或 HRT 的缩短呈上升趋势,此时真菌群落中微生物种类随之增加,由于不同种类酵母在碳源利用上存在差异,酵母种类的增加意味着 Biolog 微孔板上更多种类的碳源能够被新的真菌群落所利用,并在 Biolog FF 微孔板上形成更多的阳性反应,从而在同一时间点上相比酵母种类较少的微生物样品获得更高的 AWCD 值,由图 3 看来即形成了更高的 Biolog 代谢活性.由此可见,本研究中 Biolog 代谢活性的变化其实体现了不同工况条件下真菌群落结构多样性的变化,而与种群构成相同时真菌群落的生长活性差异无关.由表 3 可以看出,4 个处理阶段的 Biolog 多样性指数值大小顺序为 $3 > 1 > 4 > 2$,表明获得更高的进水有机负荷时,随着进水 COD 浓度

或者 HRT 的单一上升,曝气柱污泥真菌群落的代谢多样性指数总体上呈上升趋势,此外表 3 结果还表明当进水 COD 浓度(或者 HRT)变化时,曝气柱污泥真菌群落的结构多样性和代谢多样性表现出同步变化的显著特征.

表 3 不同阶段微生物群落多样性分析

项目	丰富度指数(S)		Shannon-Wiener 多样性指数(H)	
	PCR-DGGE	Biolog FF	PCR-DGGE	Biolog FF
W0	3		0.527	
1	12	82	2.051 5	4.415
2	6	71	1.079 1	4.129
3	22	84	2.190 4	4.445
4	10	78	0.790 8	4.361

2.4 进水 COD 浓度和 HRT 变化时废水处理效果的微生态机制分析

尽管都可以作为提高微好氧处理进水 COD 负荷的重要手段,但研究表明,缩短 HRT 和提高进水 COD 浓度对于曝气柱中 MLSS 浓度和 COD 比去除速度存在明显相反的影响,而这一差异的出现存在可归结为微生态机制作用:①随着进水 COD 浓度的单一上升(HRT 恒定),曝气柱污泥中微生物种类增加(表 3 中 PCR-DGGE 丰富度指数和结构多样性指数),污泥能够代谢的碳源类型增加(表 3 中 Biolog 丰富度指数和代谢多样性指数),Biolog 代谢活性增强,在更丰富的营养条件下形成更高的曝气柱 MLSS 浓度,与此同时 COD 比去除速度呈下降趋势,这可以解释为在低进水 COD 浓度、低有机负荷条件下获得的微生物群落具有更高的 COD 比去除速度,随着进水 COD 浓度的上升以及进水有机负荷的相应上升,反应器中污泥浓度增加的同时 COD 比去除速度开始降低;②随着 HRT 的单一下降(进水 COD 浓度不变),尽管曝气柱污泥能够获得更多的营养,但由于 HRT 过低导致因水力负荷过大,生长速度慢的微生物因被急剧冲出曝气柱而流失,这可从曝气柱污泥真菌群落的结构多样性指数和代谢多样性指数均呈下降趋势得到验证(在其它研究中也已发现这一现象^[26]),而在曝气柱 MLSS 浓度下降的同时形成了更高的 COD 比去除速度则可以解释为在低 HRT、高有机负荷条件下获得的微生物群落具有更高的 COD 比去除速度,通过降低 HRT 可以淘汰低效降解菌.然而,尽管低效降解菌被淘汰后能够获得更高 COD 比去除速度,但是 COD 去除率会大幅度下降,出水 COD 浓度偏高(表 1),这表明低效降解菌在曝气柱中的存在对于获得更高的 COD 去除率和更低

的出水 COD 浓度是非常必要的。

3 结论

在微好氧条件下处理模拟高浓度有机废水,曝气柱污泥以酵母为优势菌群,进水 COD 浓度及 HRT 的改变并不影响酵母的优势地位。尽管能够使进水有机负荷获得同样趋势的改变,但 HRT 和进水 COD 浓度的改变对曝气柱污泥微生物群落的结构多样性和代谢多样性、Biolog 代谢活性存在截然相反的影响,进而直接影响了曝气柱中污泥浓度、污泥比去除速度和 COD 去除率。

参考文献:

- [1] 祁佩时,丁雷,刘云芝.微氧水解酸化工艺处理高浓度抗生素废水[J].环境科学,2005,26(3):106-111.
- [2] Khanal S K, Huang J C. ORP-based oxygenation for sulfide control in anaerobic treatment of high-sulfate wastewater [J]. Water Research, 2003, 37(9): 2053-2062.
- [3] 江瀚,王凯军,倪文,等.有机负荷及水力条件对 EGSB 运行效果影响的研究[J].环境污染治理技术与设备,2005,6(1):40-43.
- [4] Ren N Q, Chen Z B, Wang A J, et al. Removal of organic pollutants and analysis of MLSS-COD removal relationship at different HRTs in a submerged membrane bioreactor [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2005, 55(4): 279-284.
- [5] 袁丽梅,张传义,张雁秋,等.水力停留时间对膜生物反应器复合工艺污水处理特性的影响[J].环境污染与防治,2007,29(5):363-366.
- [6] Choi J H, Lee S H, Fukushi K, et al. Comparison of sludge characteristics and PCR-DGGE based microbial diversity of nanofiltration and microfiltration membrane bioreactors [J]. Chemosphere, 2007, 67(8): 1543-1550.
- [7] Boon N, Windt W D, Verstraete W, et al. Evaluation of nested PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) with group-specific 16S rRNA primers for the analysis of bacterial communities from different wastewater treatment plants [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 39(2): 101-112.
- [8] Stamper D M, Walch M, Jacobs R N. Bacterial population changes in a membrane bioreactor for gray-water treatment monitored by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA gene fragments [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(2): 852-860.
- [9] LaPara T M, Nakatsu C H, Pantea L M, et al. Stability of the bacterial communities supported by a seven-stage biological process treating pharmaceutical wastewater as revealed by PCR-DGGE [J]. Water Research, 2002, 36(3): 638-646.
- [10] 任南琪,赵阳国,王爱杰,等. PCR-SSCP 技术分析碱度影响下硫酸盐还原反应器中微生物群落动态 [J]. 中国科学 C 辑, 2006, 36(1): 51-58.
- [11] 邓欢欢,葛利云,顾国泉,等.垂直流人工湿地基质微生物群

- 落的代谢特征和功能多样性研究 [J]. 水处理技术, 2007, 33(6): 18-21.
- [12] Oliver L, Zakharova T, Konopka A, et al. Sodium hypochlorite perturbation of a graywater treatment system [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2000, 24(3): 191-197.
- [13] van Heerden J, Ehlers M M, Cloete T E. Biolog for the determination of microbial diversity in activated sludge systems [J]. Water Science and Technology, 2001, 43(1): 83-90.
- [14] van der Merwe T, Riedel K-H, Wolfaardt F. Analysis of the functional diversity of the microbial communities in a paper-mill water system [J]. Water SA, 2002, 28(4): 407-411.
- [15] 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,2002.210-213.
- [16] Wallner G, Erhart R, Amann R. Flow cytometric analysis of activated sludge with rRNA-targeted probes [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(5): 1859-1866.
- [17] Zoetendal E G, Ben-Amor K, Hamsen H J M, et al. Quantification of uncultured *Ruminococcus obeum*-like bacteria in Human fecal samples by fluorescent *in-situ* hybridization and flow cytometry using 16S rRNA-targeted probes [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(9): 4225-4232.
- [18] Amann R I, Krumholz L, Stahl D A. Fluorescent-oligo-nucleotide probing of whole cells for determinative, phylogenetic, and environmental studies in microbiology [J]. Journal of Bacteriology, 1990, 172(2): 762-770.
- [19] Kempf V A J, Trebesius K, Autenrieth I B. Fluorescent *in situ* Hybridization Allows Rapid Identification of Microorganisms in Blood Cultures [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, 38(2): 830-838.
- [20] Vainio E J, Hantula J. Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA [J]. Mycological Research, 2000, 104(8): 927-936.
- [21] Cairns M J, Murray V. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels [J]. Biotechniques, 1994, 17(7): 915-919.
- [22] Rogers B F, Tate R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001, 33(10): 1389-1401.
- [23] Preston-Mafham J, Boddy L, Randerson P F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilization profiles-a critique [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 42(1): 1-14.
- [24] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities [J]. Environmental Management, 1997, 21(2): 233-238.
- [25] 郑华,陈法霖,欧阳志云,等.不同森林土壤微生物群落对 Biolog-GN 板碳源的利用 [J]. 环境科学, 2007, 28(5): 1126-1130.
- [26] Zheng S K, Yang M, Yang Z F, et al. Washout of a yeast population during continuous treatment of salad oil wastewater [J]. Bioresource Technology, 2002, 86(3): 235-237.