

好氧颗粒污泥表征技术研究进展

张鉴达¹, 申哲民¹, 马 晶¹, 李善评²
(1. 上海交通大学环境科学与工程学院, 上海 200240; 2. 山东大学环境科学与工程学院, 山东 济南 250100)

摘 要: 随着好氧污泥颗粒化技术的兴起, 好氧颗粒污泥成为研究的热点之一。各国学者对好氧颗粒污泥应用了不同的表征手段, 文章对好氧颗粒污泥的物理性质表征方法、物化性质表征方法、生化性质表征方法、性能参数表征方法以及 PCR、FISH、DGGE 等现代分子生物学技术在好氧颗粒污泥研究中的应用进行了综述。
关键词: 好氧颗粒污泥; 表征; 分子生物学技术; 微生物种群
中图分类号: X-1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-6732(2010)-05-0046-05

The Study Progress of the Characterization for Aerobic Granular Sludge

ZHANG Jian-da¹, SHEN Zhe-min¹, MA Jing¹, LI Shan-ping²
(1. School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China;
2. School of Environmental Science and Engineering, Shandong University, Jinan, Shandong 250100, China)

ABSTRACT: The study of the aerobic granular sludge has become concerned topic along with the emerging of aerobic granulation biotechnology. The researcher had applied different characterization approaches when they studied aerobic granular sludge. In the present study, the physical characterization, physico chemical characterization, biochemical characterization, performance parameter characterization of the aerobic granular sludge and the application of the PCR, FISH, DGGE to the aerobic granular sludge were reviewed.
KEY WORDS: aerobic granular sludge; characterization; molecular biology technology; microbial community

0 引言

污水处理中生物颗粒化技术主要包括厌氧颗粒化技术和好氧颗粒化技术。对于厌氧颗粒化技术, 各国学者已做了大量的研究工作, 用于工业化污水处理的厌氧生化装置也已在世界范围内应用, 如 UASB、EGSB 等^[1-4]。而好氧污泥颗粒化技术的研究起步较晚, 尚处于实验室阶段。好氧颗粒污泥一般通过普通絮状活性污泥接种, 在好氧状态下通过水力剪切力的作用形成颗粒状污泥^[5-8]。好氧颗粒污泥外观为圆形或椭圆形, 具有污泥密度大、生物量高且沉降性能好等优点。在此就各国学者在研究好氧污泥颗粒化过程中所采用的表征手段以及分子生物学技术的应用进行阐述分析, 以期为进一步深入研究好氧颗粒污泥提供一些参考。

测量法, 随机取若干颗粒污泥, 在显微镜下利用刻度尺读出长度 a 和宽度 b , 单个污泥的粒径 $D = (ab)/2$, 平均粒径由单个颗粒算术平均得到, 胡林林等利用此方法测定好氧颗粒污泥的最小粒径为 0.5 mm, 最大粒径接近 4 mm, 70% 以上的粒径于 0.6 ~ 1.4 mm 的范围内^[9]。二是利用激光粒径分析仪, 由于激光粒径分析仪对颗粒粒径测定比较准确, 且能方便得到颗粒的粒径分布, 因此在好氧颗粒污泥粒径的研究过程中该方法被广泛使用。WANG 等利用激光粒径分析仪 (Malvern MasterSizer Series) 测定了 SBR 反应器中不同循环周期后反应器中好氧颗粒污泥的粒径大小, 发现经过 261 个循环后, 颗粒平均直径为 948.36 μm , 但是经过 445 个循环后, 颗粒污泥的平均直径下降为

1 好氧颗粒污泥物理性质表征

1.1 粒径

好氧颗粒污泥需要表征的一个重要参数就是粒径, 粒径的测定主要有以下 3 种方法: 一是直接

收稿日期: 2009-06-10; 修订日期: 2009-06-22
基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项项目 (2008ZX07101-015)。
作者简介: 张鉴达 (1981-), 男, 博士在读, 从事环境污染治理技术研究。

617.29 μm,这主要是因为循环过程中,部分好氧颗粒污泥产生了解离现象^[10]。三是图像分析法,利用图像分析软件分析好氧颗粒污泥的粒径分布。BEUN等通过图像分析法跟踪监测了整个培养过程的粒径变化,好氧污泥粒径在45 d左右时达到最大值3 mm,最后稳定在2.4 mm左右^[11]。

1.2 形貌参数

好氧颗粒污泥的形貌参数除了粒径外还有面积、形状参数、圆度等。以上参数均可通过图像分析软件得到^[11]。

1.3 沉降速度

沉降速度利用好氧颗粒污泥沉降的距离除以沉降所需的时间测定。王强等培养的好氧颗粒污泥的最小沉降速度为32.7 m/h^[12]。

1.4 强度

好氧颗粒污泥强度测定主要有2种方法:一是利用颗粒强度测定仪。阮文权等利用颗粒强度测定仪测定好氧颗粒污泥所能承受的最大压力为23.236 N,形变距离为1.250 mm^[13]。二是利用机械力对好氧颗粒污泥进行振动,通过测量水样的浊度或者进行间接表征。JIANG等利用该法发现投加Ca²⁺的反应器中好氧颗粒污泥经振动后的水样浊度为330±14 NTU,而未投加Ca²⁺的反应器中的好氧颗粒污泥的水样浊度为67±18 NTU^[14]。

1.5 相对体积质量

污泥相对体积质量是等体积污泥和蒸馏水的质量的比值。用在指定温度下已知体积的均匀的污泥样的质量与在4℃下相同体积蒸馏水的质量做比较来确定。竺建荣等测定的好氧颗粒污泥的相对体积质量为1.006 8~1.007 2^[15]。

2 好氧颗粒污泥物化性质表征

2.1 疏水性

生物颗粒化过程是细胞之间由于疏水性、相互作用和黏附而形成细胞聚集体的过程。在颗粒污泥的形成过程中,污泥的疏水性随着培养过程发生了显著变化。污泥的疏水性的测定方法有2种:一是利用污泥和碳水化合物的结合进行测定^[16],二是利用轴对称液滴形状分析方法(axisymmetric drop shape analysis)^[17]。

第一种方法具体为:取30 mL好氧颗粒污泥样品,在Tris缓冲液(0.05 mmol, pH = 7.1)中进行悬浮,悬浮液在4℃时利用超声波(50 W, 2 min)进

行均质,将絮体打碎成单个细胞和小的微生物群落,超声波的功率不能引起细胞的水解。悬浮物和15 mL十六烷在分液漏斗中搅动5 min, 30 min后当两相完全分离时,将水相转移到其他的玻璃烧杯中。则污泥疏水性为: $H = \left[1 - \left(\frac{MLSS_e}{MLSS_i} \right) \right] \times 100\%$,

式中:MLSS_e——乳化后水相中的MLSS浓度;MLSS_i——乳化前水相中的MLSS浓度;TAY等利用该法测得以葡萄糖和醋酸盐为底物培养的好氧颗粒污泥的疏水性分别为68%和73%,而用于培养的接种污泥的疏水性仅为39%^[18]。

第二种方法具体为:将含有好氧颗粒污泥的混合液通过纤维膜进行过滤,样品利用去离子水洗涤3遍,剩余水通过过滤去除。利用接触角分析仪测定固着在好氧颗粒污泥表面的去离子水的液滴形状。SU等利用该方法测得接种污泥的接触角为(40.5±5.3)°,培养出的好氧颗粒污泥的接触角为(19.3±3.2)°^[17]。

2.2 污泥表面电荷

污泥表面电荷采用胶体滴定法(colloid titration method)测定,方法如下:

利用凝聚胺(Polybrene)和聚乙烯醇硫酸钾(polyvinyl sulfate kalium, PVSK)作为标准阳离子和阴离子聚合体。取一定体积的混合污泥样品,利用去离子水稀释,滴定前加过量的0.002 g/L的凝聚胺(Polybrene),(碱性)甲苯胺蓝(toluidine blue)作为指示剂,使用0.001 g/L的PVSK进行滴定,当指示剂由蓝变红时,达到电中性,结束滴定操作。等体积的凝聚胺被稀释后作为空白样。污泥表面电荷表示为单位污泥中含有负离子等价物(meq/g)^[16]。

3 好氧颗粒污泥生化性质表征

3.1 比耗氧速率(SOUR)

比耗氧速率指单位质量的微生物在单位时间内消耗的氧气量,它是评价污泥微生物代谢活性的一个重要指标。具体方法为:将充氧至饱和的污泥混合液倒入装有搅拌棒和溶解氧仪电极的锥形瓶中,每隔一定时间测定瓶中的溶解氧量,当溶解氧降至1 mg/L时停止测定。然后测定反应瓶为好氧颗粒污泥挥发性浓度(MLVSS)。拟合溶解氧读数(mg/L)对时间(min)的直线斜率,斜率即为耗氧速率,利用公式:比耗氧速率 = $\frac{\text{耗氧速率}}{MLVSS}$,得到比

耗氧速率。LIU 等测得的接种污泥的 SOUR 值为 $18.32 \text{ g (MLSS} \cdot \text{h)}^{-1}$, 而形成的好氧颗粒污泥的 SOUR 值为 $41.90 \text{ g (MLSS} \cdot \text{h)}^{-1}$ [19]。

3.2 胞外多聚物(EPS)及其提取与测量

在好氧颗粒污泥形成过程中, 胞外多聚糖起了重要的作用, 它可以促进细胞的黏附和凝聚。因此在好氧颗粒污泥的培养过程中, 测定胞外多聚物的含量是必要的。测量胞外多聚物的含量需要首先提取出胞外多聚物。

胞外多聚物的提取方法为: 将摇匀后的污泥样品 25 mL 放置于离心管中, 在 4°C , $2\,000 \text{ r/min}$ 下, 离心 10 min, 沉淀物溶解于磷酸盐缓冲液, 放置于 80°C 恒温水浴中加热 60 min, 提取 EPS, 然后在 $10\,000 \text{ r/min}$ 下, 离心 30 min, 上清液过滤后用于 EPS 成分分析 [20]。

胞外多聚物的测定方法为: EPS 中多糖的测定采用蒽酮-硫酸法, 以分析纯葡萄糖作为标准品 [20]。

4 好氧颗粒污泥性能参数表征

表征污水处理设施中污泥性能的参数主要包括污泥浓度 (MLSS、MLVSS)、污泥沉降比 (SV)、污泥体积指数 (SVI)、污泥龄等。污泥浓度有 2 种表示方法: MLSS 指曝气池中单位体积混合液中所含悬浮固体的质量, 而 MLVSS 指曝气池中单位体积混合液中所含挥发性悬浮固体的质量。SV 是指曝气池中混合液沉淀 30 min 后, 沉淀污泥体积占混合液中总体积的分数。SVI 是指曝气池混合液经 30 min 沉淀后 1 g 干污泥所占的湿污泥体积。污泥龄称平均细胞停留时间 (MCRT) 或污泥停留时间 (SRT), 指每日新增的污泥平均停留在曝气池中的天数。以上参数的测定可参照标准进行监测 [21]。

5 现代分子生物技术在好氧颗粒污泥研究中的应用

在研究好氧颗粒污泥的过程中, 各国学者应用了分子生物学技术。基于 16S 和 23S rDNA 的聚合酶链式反应 (PCR) 技术、荧光原位杂交技术 (FISH)、变性梯度凝胶电泳技术 (DGGE) 等现代分子生物技术, 为研究好氧颗粒污泥的生态群落提供了突破口。这些分子生物学技术的应用, 更加清楚地揭示了好氧颗粒污泥的生物群落结构和菌种分布。

5.1 聚合酶链式反应 (PCR)

PCR 技术又称无细胞分子克隆或特异性 DNA 序列体外引物定向酶促扩增技术, 是基因扩增技术的一次飞跃, 其原理类似于 DNA 的天然复制过程, 是在模板 DNA、引物、4 种脱氧核糖核苷酸存在的条件下, 体外模板依赖于 DNA 聚合酶的 DNA 酶促反应过程, 其特异性依赖于靶序列两端互补的寡核苷酸引物。PCR 反应由变性、退火、延伸 3 个基本反应步骤构成。PCR 技术可以将极微量的靶 DNA 分子特异性扩增上百万倍, 从而提高了对 DNA 分子的分析 and 检测能力 [22]。

TSUMEDA 等在研究好氧颗粒污泥的性质时, 首先利用特定的 pA、pH 等 PCR 引物进行真细菌扩增, 然后再利用特定的 CTO 189f - GC、CTO 654r 等 PCR 引物进行铵氧化菌扩增 [23]。

5.2 荧光原位杂交 (FISH) 技术

FISH 技术是一种非放射性原位杂交方法, 它利用特殊荧光素标记核酸 (DNA) 探针, 在染色体、细胞和组织切片标本上利用荧光标记的探针在细胞内与特异的互补核酸序列杂交, 通过激发杂交探针的荧光监测信号, 从而检测相应的核苷酸序列。FISH 技术的 3 个关键环节是: 荧光染料、杂交、杂交后检测。应用 FISH 技术研究微生物时, 通常采用的染料是荧光素衍生物 (FITC, FluoX)、罗丹明衍生物 (TRITC, Texas Red) 和吖啶二羧菁 (Cy3、Cy5)。杂交步骤包括细胞固定与处理、预杂交、杂交、覆盖标本洗涤、显色等。杂交后的检测方法包括直接检测、间接检测、地高辛标记间接检测、HRP 结合 TSA 的检测。

TAY 等利用 3 个 16S rRNA 寡核苷酸探针研究好氧颗粒污泥的层状结构, 用 Cy2 标记的 Eub 338 探针检测细菌, 用 Cy5 标记的 Bacto 1080 探针检测类杆菌属某些种 (bacteroides spp), 用 tetrachlorofluorescein (TET) 标记的 Nsm 156 探针检测氨氧化细菌 (AOB)。利用氨氧化菌的检测确定好氧层位于距离好氧颗粒污泥边缘 $70 \sim 100 \mu\text{m}$ 的位置, 并且在好氧颗粒污泥中发现了通道和孔隙, 孔隙率值在位于距离好氧颗粒污泥表面 $300 \sim 500 \mu\text{m}$ 时达到最大。通过专性厌氧菌测定了好氧颗粒污泥中的厌氧层位置距离好氧颗粒污泥表面 $800 \sim 1\,000 \mu\text{m}$ 的位置 [24]。

JANG 等用 Cy3 标记的 Nsm 156 探针检测氨氧化细菌 (AOB) 在好氧颗粒污泥的空间分布, 发

现氨氧化细菌并不是均一地分布在好氧颗粒污泥里面,大部分的氨氧化细菌以密实的球状微生物聚集体的形式存在^[25]。

5.3 变性凝胶电泳(DGGE)技术

DNA分子双螺旋结构是由氢键和碱基的疏水作用共同作用的结果。温度、有机溶剂和pH等因素可以使氢键受到破坏,导致双链变性为单链。DGGE技术检测核酸序列是通过不同序列的DNA片段在各自相应的变性剂浓度下变性,发生空间构型的变化,导致电泳速度的急剧下降,最后在其相应的变性剂梯度位置停滞,经过染色后可以在凝胶上呈现为分散的条带。该技术主要包括以下步骤:①样品的采集;②样品总DNA提取及纯化;③样品16S rDNA片段的PCR扩增;④预实验(主要是对扩增出的16S rDNA片段的解链性质及所需的化学变性剂浓度范围进行分析);⑤制胶;⑥样品的DGGE分析^[26]。

TSUNEDA等将样品经PCR扩增后进行DGGE分析。DGGE所用仪器为(D-code Multisystem, U. S. A, Bio-Rad)。DGGE电泳所用的胶体的体积分数为6%,其变性梯度范围为30%~50%(100%的变性剂中含有7 mol/L的尿素和40%的甲酰胺)。上样量为20 μ L的PCR产物(第1轮扩增)。其运行条件是:在 $1.0 \times \text{TAE}$ (40 mmol/L tris, 40 mmol/L 冰乙酸, 1 mmol/L EDTA, pH=8.4)电泳缓冲液中,60℃条件下,130 V运行4 h,电泳完成后,用SYBR Gold核酸凝胶染料染色30 min,然后在紫外照射下观察电泳结果并照相。结果发现亚硝化单胞菌是氨氧化细菌的主要种类^[23]。

为了研究有机负荷冲击对于好氧颗粒污泥微生物群落的影响,SUNIL等将不同有机负荷下生长的好氧颗粒污泥提取DNA后,经过PCR扩增。采用DGGE技术对不同有机负荷下的微生物种群进行分析,实验发现:随着有机负荷的提高,好氧颗粒污泥的微生物多样性减少,最后只剩余 *Zoogloea-resiniphila*, *Chryseo-bacterium gleum strain 2-1-9a*, *Rhodocyclales bacterium TP411*, 以及 *Acinetobacter sp. TDWCW6* 4种微生物,其中 *Zoogloea sp.* 为主要微生物^[27]。

6 结语

在研究好氧颗粒污泥的过程中,应用表征技术的目的是为了说明好氧颗粒污泥的形态、地貌、性

质和微生物群落分布。虽然人们对于好氧颗粒污泥的形成机理尚未明确,但人们正在借助先进的表征技术逐步探讨好氧颗粒污泥形成的机理、影响因素等,尤其是现代分子生物技术在环境工程领域的应用,为人们探讨好氧颗粒污泥形成的机理以及微生物群落的演变分布提供了有力的技术保障,为人们研究好氧颗粒污泥开辟了一个新方向。

[参考文献]

- [1] 陈志强,干利川,杨巧利,等. UASB/生物接触氧化工艺处理玉米酒精废水[J]. 中国给水排水,2008,24(24):65-68.
- [2] 孙佳伟,谢丽,周琪,等. 高温厌氧EGSB反应器处理木薯酒精废水的启动与运行[J]. 水处理技术,2008,34(11):68-71.
- [3] SUBRAMANYAM R, MISHA I M. Treatment of catechol bearing wastewater in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor: Sludge characteristics[J]. Bioresource Technology,2008,99(18):8917-8925.
- [4] ZHANG Y, YAN L, CHI L, et al. Startup and operation of anaerobic EGSB reactor treating palm oil mill effluent[J]. Journal of Environmental Sciences,2008,20(6):658-663.
- [5] MORGENEROTH E, SHERDED T, HEIJNEN, et al. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor [J]. Water Research, 1997,31(12):3191-3194.
- [6] WICHEN M, LÜBKEN M, HORN H. Optimizing sequencing batch reactor (SBR) reactor operation for treatment of dairy wastewater with aerobic granular sludge[J]. Water Science and Technology,2008,56(6):1199-1206.
- [7] GANESAN M V, SARAVANAN V, SREEKRISHNAN T R. Formation and hydrodynamic characteristics of aerobic granules in an activated sludge system[J]. Environmental Technology,2007,28(2):217-224.
- [8] TAY J H, LIU Q S, LIU Y. Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor[J]. Journal of Applied Microbiology,2001,91(1):168-175.
- [9] 胡林林,王建龙,文湘华,等. SBR中厌氧颗粒污泥向好氧颗粒污泥的转化[J]. 环境科学,2004,25(4):76-79.
- [10] WANG F, LU S, WEI Y, et al. Characteristics of aerobic granule and nitrogen and phosphorus removal in a SBR[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009,164(2-3):1223-1227.
- [11] BEUN J J, LOOSDRECHT M C M, HEIJNEN J J. Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor[J]. Water Research, 2002,36(3):702-712.
- [12] 王强,陈坚,堵国成. 选择压法培育好氧颗粒污泥的试验[J]. 环境科学,2003,24(4):101-106.
- [13] 阮文权,陈坚. 同步脱氮好氧颗粒污泥的特性及其反应过程[J]. 中国环境科学,2003,23(4):45-49.
- [14] JIANG H L, TAY J H, LIU Y, et al. Ca^{2+} augmentation for enhancement of aerobically grown microbial granules in sludge blanket reactors[J]. Biotechnology Letters,2003,25(2):95-99.

(下转第56页)

于新建企业和执行特别排放限值的企业从严控制。

4.5.3 关于总磷

在硫磺制酸、硫铁矿制酸和普通石膏制酸工艺中,废水中总磷的浓度较低,经过处理可以达到较低排放限值。但是在以磷石膏为原料制取硫酸的工艺中,由于工艺本身属于废物的循环综合利用,原料中含磷较高,且含磷废水处理难度较大,因此考虑对于磷石膏制酸工艺中总磷的排放限值予以适当放宽。

4.5.4 间接排放限值

根据《中华人民共和国水污染防治法》的有关规定,2009年环境保护部印发了《国家排放标准中水污染物监控方案》,对于排污单位向公共污水处理系统(含各种规模和类型的城镇污水处理厂、区域废水处理厂等)排放污染物的行为进行了规定。此后,在各行业型污染物排放标准中均开始规定间接排放限值。间接排放限值的确定应综合考虑行业污染物排放的特点、公共污水处理系统的处理能力以及现行的相关标准,如《污水综合排放标准》三级标准等,对于公共污水处理系统容易处理的污染物(如氨氮、总氮等),间接排放限值可较直接排放限值放宽较多;不易处理的污染物(如硫化物、氟化物等),则放宽较少或不予放宽。

4.6 实施与监督

在标准执行过程中,应充分考虑新标准与旧标

准、各行业排放标准之间适用范围的区分、衔接、达标判别等方面的应用问题。由于硫酸工业与磷肥工业多相互依存,因此应特别注意与磷肥工业污染物排放标准之间的应用关联。

5 结语

以2010年硫铁矿制酸(含石膏制酸)和硫磺制酸的产量估算,如果各企业仍执行现行的《大气污染物综合排放标准》,其SO₂年排放量可达12万t。在不考虑增量的情况下,当所有企业均按照本标准新建企业排放标准执行时,SO₂年排放量可削减近7万t,削减率达55%。因此,国家《硫酸工业污染物排放标准》的制定与发布实施,将在SO₂等污染物的排放控制和总量减排工作中发挥较大作用,同时对于促进硫酸工业生产工艺和污染治理技术的进步具有重要意义。

[参考文献]

- [1] 杨波,谢辉,赵传峰. 硫酸工业污染物排放标准研究[J]. 硫酸工业,2009(3):8-12.
- [2] 修光利. 国家涂料工业污染物排放标准制订的思考[J]. 涂料技术与文摘,2006,27(4):8-12.
- [3] 尹卫萍,常卫民,唐松林. 污染物排放总量监测存在问题和对策[J]. 环境监测管理与技术,2009,21(6):5-7.
- [4] (本栏目编辑 陆敏)
- [5] (上接第49页)
- [15] 竺建荣,刘纯新. 好氧颗粒活性污泥的培养及理化特性研究[J]. 环境科学,1999,20(2):39-42.
- [16] WILEN B M, JIN B, LANT P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties[J]. Water Research, 2003,37(9):2127-2139.
- [17] SU K Z, YU H Q. Formation and characterization of aerobic granules in a sequencing batch reactor treating soybean-processing wastewater[J]. Environmental Science and Technology, 2005, 39(8):2818-2827.
- [18] TAY J H, LIU Q S, Liu Y. Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors[J]. Environmental Science and Technology, 2002,23(8):931-936.
- [19] LIU L L, Wang Z P, YAO J, et al. Investigation on the properties and kinetics of glucose-fed aerobic granular sludge[J]. Enzyme And Microbial Technology, 2005,36(2-3):307-313.
- [20] 蔡春光,刘军深,蔡伟民. 胞外多聚物在好氧颗粒化中的作用机理[J]. 中国环境科学,2004,24(6):623-626.
- [21] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京:中国环境科学出版社,2002.
- [22] 王爱杰,任南琪. 环境中的分子生物学诊断技术[M]. 北京:化学工业出版社,2004.
- [23] TSUNEDA S, NAGANO T, HOSHINO T, et al. Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor[J]. Water Research, 2003,37(20):4965-4973.
- [24] TAY J H, IVANOV V, PAN S, et al. Specific layers in aerobically grown microbial granules[J]. Letters in Applied Microbiology, 2002,34(4):254-257.
- [25] JIANG A, YOON Y H, KIM I S, et al. Characterization and evaluation of aerobic granules in sequencing batch reactor[J]. Journal of Biotechnology, 2003,105(1-2):71-82.
- [26] 宫曼丽,任南琪,邢德峰. DGG/ETGGE 技术及其在微生物分子生态学中的应用[J]. 微生物学报,2004,44(6):845-848.
- [27] ADAV S S, LEE D J, LAI J Y. Functional consortium from aerobic granules under high organic loading rates[J]. Bioresource Technology, 2009,100(14):3465-3470.