

生物过滤塔中微生物群落的代谢特性

席劲瑛, 胡洪营*, 姜健, 钱易

(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实验室, 北京 100084)

摘要:了解微生物群落结构与代谢功能对于提高生物反应器运行性能具有重要意义。为此,本研究用 Biolog 方法在 160 d 的运行过程中研究了处理甲苯气体的木屑生物过滤塔和活性炭生物过滤塔中微生物群落的代谢特性。研究发现,木屑过滤塔和活性炭过滤塔中微生物群落的平均代谢活性在长期运行时均有下降趋势。主成分分析结果表明,生物过滤塔中微生物群落代谢指纹在运行前期未发生显著变化,但 103 d 后在过滤塔进气端出现显著变化,到 160 d 时整个过滤塔内的微生物群落代谢指纹均发生改变。2 套过滤塔中微生物群落代谢活性与代谢特征指纹未表现出较大差异,表明长期运行时填料对微生物代谢的影响较小。在 Biolog 平板内的 95 种碳源中,羧酸类物质和氨基酸类物质更容易被过滤塔中的微生物群落利用。

关键词: Biolog 方法; 生物过滤塔; 群落代谢特性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)04-0165-06

Metabolic Properties of the Microbial Community in the Biofilters Using Biolog Microplates

XI Jin-ying, HU Hong-ying, JIANG Jian, QIAN Yi

(State Key Laboratory of ESPC, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: It is very important to know the structure and metabolic function of the microbial community in a bioreactor in order to improve its performance. In this study, two biofilters, packed with wood chips and granular activated carbons respectively, were operated for 160 days to treat toluene gas. The metabolic profiles of the microbial communities in the biofilters were monitored using Biolog microplates periodically during the experiments. The metabolic activities of the microorganisms in both biofilters were observed to decrease during long-term operation. According to the results of principle components analysis, the metabolic profiles of the microbial communities did not change much in the former period of the operation, but they changed in the inlet layers on day 103 and changed throughout the filter beds on day 160. The variation of the metabolic profiles in both biofilters showed little difference, which suggested that the packing media had little effect on them during long-term operation. Among the 95 carbon sources in Biolog microplate, carboxylic acids and amino acids were much easier to be utilized by the microorganisms in the biofilters than the other carbon sources.

Key words: Biolog assay; biofilters; metabolic properties of the microbial community

生物过滤塔是一种常用的恶臭与挥发性有机物的生物处理装置,它具有操作简便、能耗小、用水量少、可处理低浓度难溶于水的气态污染物等优点^[1]。在生物过滤塔中,微生物群落结构会随运行条件和塔内微环境的改变而变化,并表现出不同的代谢特性。由于微生物的代谢功能是影响污染物去除过程和过滤塔运行性能的关键因素,所以研究过滤塔中微生物群落及其代谢特性对于揭示生物过滤塔运行的机理和提高过滤塔运行性能具有重要意义^[2]。

Biolog 方法是一种测定微生物对不同单一碳源利用能力的快速、简便方法,最初只应用于纯种微生物的鉴定^[3]。1991 年, Garland 和 Mills 开始将这种方法应用于微生物群落的研究^[4],随后, Biolog 方法被广泛应用于环境微生物群落比较、污染物对微生物

群落影响评价以及环境修复效果评价等方面^[5~7]。在 Biolog 平板(microplate)上有 96 个微孔(well),除对照孔外每个孔内都含有一种各不相同的有机碳源;除了碳源外,所有的微孔中还含有相同含量的四唑盐染料。这种染料在微生物利用碳源过程中会发生还原显色反应,颜色的深浅反映了微生物对相应碳源的利用能力。微生物群落对不同碳源的利用情况形成了微生物群落的代谢特征指纹(metabolic profiles),利用代谢特征指纹可以鉴别和区分不同来源的微生物群落,或者反映微生物群落

收稿日期: 2004-09-06; 修订日期: 2004-12-16

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2002AA601150)

作者简介: 席劲瑛(1977~),男,江苏镇江人,博士研究生,主要研究方向为污染物生物处理技术原理与应用。

* 通讯联系人, Tel: 010-62794005, Fax: 010-62771472, E-mail: hyhu@tsinghua.edu.cn

的功能变化^[8]。

为了考察和研究生物过滤塔中微生物群落及其代谢功能的变化与相关影响因素,本研究用 Biolog 方法在 160 d 的运行过程中研究了 2 套处理甲苯气体的生物过滤塔中微生物群落的代谢特性。

1 实验装置与方法

1.1 生物过滤塔装置与运行条件

本研究所取微生物群落来源于 2 套处理甲苯气体的生物过滤塔。生物过滤塔反应器为圆柱形,内径 120mm,填料层分为上下 2 层,每层高 200mm,填料层总容积为 4.5L。2 套生物过滤塔分别以木屑和活性炭为填料,接种微生物为经甲苯驯化的活性污泥。2 套装置连续运行了 160 d,期间运行条件保持一致:环境温度 19 ~ 28 ,甲苯气体流量 0.3 ~ 0.5 m³·h⁻¹,空塔停留时间 32 ~ 54s,流动方向为升流,进口甲苯浓度 430 ~ 1500 mg·m⁻³。运行期间 2 套装置的甲苯去除速率为 30 ~ 50 g·(m³·h)⁻¹,去除率最高可达 95 %。

1.2 微生物样品提取与 Biolog 方法操作

在过滤塔运行的第 44d、57d、73d、103d 和 160d,分别在木屑过滤塔和活性炭过滤塔的上、下层填料中取 2 ~ 3 g 填料,采用超声振荡法提取其中的微生物:将所取填料置于 50 mL 生理盐水中(NaCl 0.9%),对混合液超声振荡(频率 40kHz,功率 100W,每个样品超声 4 次,每次 15s)后使填料表面的生物膜脱落分散到生理盐水中,形成了较均匀的微生物悬液,用生理盐水将微生物悬液稀释至 600nm 下的吸光度为 0.05 cm⁻¹(微生物浓度约为 10 ~ 15 mg·L⁻¹),然后加入 Biolog 平板测定微生物的代谢特性。

本研究选用 Biolog GN2 平板(原 Biolog GN 平板)测定微生物代谢特性,该平板所包含的碳源有 10 大类,共 95 种,如图 1 所示。取稀释后的微生物悬液加入 Biolog GN2 平板,每孔 150 μL 液体。然后将微平板置于 30 培养箱中培养 48 h,培养期间定期用酶标仪(BIO-RAD Model 550)测定 96 个孔在 595nm 下的吸光度,以监测显色反应的进程。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	水(对照)	环湖精	湖精	淀粉	吐温 40	吐温 80	N-乙酰基-D-半乳糖胺	N-乙酰-D-葡萄糖胺	侧金盏花醇	L-阿拉伯糖	D-阿拉伯糖	D-纤维二糖
B	赤藻糖醇	D-果糖	L-果糖	D-半乳糖	龙胆二糖	α-D-葡萄糖	m-肌醇	α-D-乳糖	乳果糖	麦芽糖	D-甘露醇	D-甘露糖
C	D-密二糖	β-甲基-D-葡萄糖苷	阿洛酮糖	D-棉子糖	L-棉子糖	D-山梨醇	蔗糖	D-海藻糖	松二糖	木糖醇	甲基丙酮酸	单甲基琥珀酸
D	乙酸	顺-乌头酸	柠檬酸	甲酸	D-乳糖酸丙酯	D-半乳糖酸	D-葡萄糖酸	D-葡萄糖胺酸	D-葡萄糖醛酸	α-羟基丁酸	β-羟基丁酸	γ-羟基丁酸
E	p-羟基苯乙酸	衣康酸	α-酮丁酸	α-酮戊二酸	α-酮戊二酸	D, L-乳酸	丙二酸	丙酸	奎尼酸	D-葡萄糖二酸	癸二酸	琥珀酸
F	溴丁二酸	琥珀酰胺	葡萄糖醛酰胺	D-丙氨酸胺	D-丙氨酸	L-丙氨酸	L-丙氨酸酰胺	L-天冬酰胺	L-天门冬氨酸	L-谷氨酸	甘氨酸-L-天冬氨酸	甘氨酸-L-谷氨酸
G	L-组氨酸	羟基-L-脯氨酸	L-亮氨酸	L-鸟氨酸	L-苯丙氨酸	L-脯氨酸	L-焦谷氨酸	D-丝氨酸	L-丝氨酸	L-苏氨酸	D, L-肉碱	γ-氨基丁酸
H	尿刊酸	肌苷	尿苷	胸腺嘧啶核苷	苯乙胺	丁二胺	2-氨基乙醇	2,3-丁二醇	丙三醇	D,L-α-磷酸甘油	1-磷酸葡萄糖	6-磷酸葡萄糖

A2 ~ A6: 聚合物 A7 ~ C10: 糖和糖的衍生物 C11 ~ C12: 甲酯 D1 ~ F1: 羧酸 F2 ~ F4: 氨基化合物 F5 ~ G12: 氨基酸类 H1 ~ H4: 核苷类 H5 ~ H6: 胺类 H7 ~ H9: 醇类 H10 ~ H12: 磷酸糖类

图 1 Biolog GN2 平板碳源种类

Fig. 1 Carbon sources in Biolog GN2 microplate

1.3 数据分析方法

不同时刻微生物对碳源代谢的总体情况用平均色度(Average Well Color Development, AWCD)表示。某时刻微平板内平均色度的计算公式为:

$$AWCD = \frac{\sum_{i=1}^{95} (R_i - R_0)}{95} \quad (1)$$

其中, R_i 是除对照孔外的吸光度值, R_0 是对照孔吸

光度值. AWCD 值反映了微生物对不同碳源代谢的总体情况,其变化速率反映了微生物的代谢活性. AWCD 值增加越快,表明微生物的代谢活性越高.

对微生物代谢特征指纹的分析采用多元统计方法中的主成分分析法(Principal Component Analysis, PCA). 某个时刻 95 种碳源代谢的吸光度形成了描述微生物群落代谢特征的多元向量,通过 PCA 分析可以将碳源代谢的多元向量变换为互不相关的主元向量,并在降维后的主元向量空间中用点的位置直观反映不同微生物群落的代谢特征. 由于微生物的代谢活性差异会影响微生物群落代谢特征的分析结果,因此一般采用标准化吸光度 R_{S_i} 进行统计分析^[9].

$$R_{S_i} = \frac{R_i - R_0}{AWCD} \quad (i = 1, 2, 3, \dots, 95)$$

为了直观地反映微生物群落的代谢特征和代谢功能,本研究中采用与 Biolog 微平板相对应的网格图来表示微生物对不同碳源的利用能力. 对于某个微孔,若 $R_{S_i} > 1$,则微生物利用该孔内碳源的能力较强,代谢呈阳性,在图中用灰色格子表示;若 $R_{S_i} < 1$,则微生物利用该孔内碳源的能力较弱,代谢呈阴性,在图中用白色格子表示. 这种通过网格的位置和颜色来定性表示微生物对不同碳源利用能力的图被定义为 Biolog 代谢谱图.

2 结果与讨论

2.1 吸光度变化曲线

Biolog 平板上不同微孔内的吸光度变化曲线反映了微生物对不同碳源的代谢和利用过程. 图 2 表示了第 44 d 木屑过滤塔中微生物群落代谢的典型吸光度变化曲线与 AWCD 随时间变化曲线. 从图 2 可以看出,微生物对不同碳源的代谢过程可以分为 3 种情况. 第 1 种情况,微生物能够较快地利用该种碳源,显色反应在开始培养后很快发生,如对 L-天冬酰胺酸的代谢;第 2 种情况,微生物对碳源的利用需要经过较长的适应期(约 20h),在培养前期数小时内显色反应不明显,但随后微生物开始利用碳源代谢,如对 D-海藻酸的代谢过程;第 3 种情况,微生物基本不能利用该种碳源,如对葡萄糖胺酸的代谢.

第 1 种情况表明,接种进入微孔的群落中包含有相当数量的能够利用该种碳源的微生物种群,而第 2 种情况则表明微生物群落中能够利用相应碳源的种群和数量较少,需要经过一段时间后才能表现出显著的代谢作用,第 3 种情况则表明该群落中基

本不含能够代谢相应碳源的微生物. 在相关的研究报告中也可以发现相似的碳源代谢规律^[9].

AWCD 值反映了微生物代谢的平均状况. 由图 2 可以看出,微生物群落代谢的 AWCD 值随时间变化曲线的形状符合一般微生物利用基质的规律,即存在较明显的适应期、对数期和迟缓期等阶段.

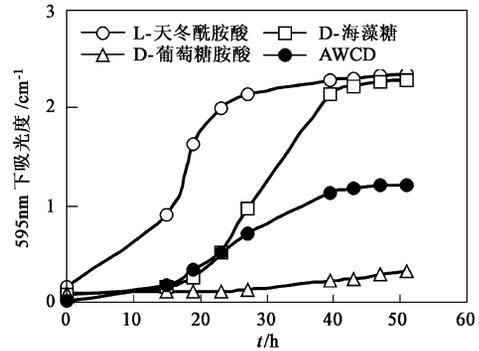


图 2 3 种碳源利用模式与 AWCD 随培养时间变化 (取自运行第 44 d 木屑过滤塔测定结果)

Fig. 2 Variations of absorbance for three different carbon sources and AWCD

(The curves are from the experimental results of wood-chip biofilter on day 44)

2.2 微生物代谢活性

由于每次实验中加入 Biolog 平板的微生物悬液浓度保持一致,并且假设在培养期间微生物浓度没有发生显著变化,因此 AWCD 值随时间的变化速率可以表征微生物好氧代谢的平均活性^[10]. 表 1 列出了根据 AWCD 值计算得到的微生物群落代谢活性. 可以看出,实验期间木屑过滤塔和活性炭过滤塔中微生物群落的平均代谢活性不存在明显差异;而 2 套过滤塔中微生物群落的平均代谢活性却在长期运行过程中均存在下降趋势. 一般认为在生物反应器的启动阶段,装置中的微生物活性会逐渐升高,而本研究取第一个样品时(44d)过滤塔已完成启动,因此得到的微生物活性长期变化规律与启动期的变化规律不同. 在长期运行过程中观察到填料表面的生物膜逐渐增厚,生物量产生积累;因此,微生物平均活性下降的可能原因是:在长期运行过程中积累的生物量主要为不具有代谢活性的惰性微生物,惰性微生物积累导致具有代谢活性的微生物比例下降,从而使测得的微生物平均代谢活性降低. 目前关于生物过滤塔中微生物活性的系统研究尚不多见,因此有必要对此进行深入研究.

2.3 微生物群落的代谢特征指纹

根据对吸光度变化曲线的分析发现,24h 前后的吸光度数据能够最大程度地反映不同微生物群落的代谢特征差异,因此被用于微生物代谢特征的分析.将各阶段测得的 24h 前后的吸光度数据进行标准化处理(式 2)后进行 PCA 分析,得到的主元向量中前 10 个主成分特征值的贡献率与累积贡献率如表 2 所示.可以看出,变换后前 10 个主成分可以表征 85%以上原变量的特征,并且前几个主成分的重要性显著高于其它主成分.取第 1 主成分(PC1)和第 2 主成分(PC2)做图表征微生物的代谢特征,结果如图 3 所示.

表 2 前 10 个主成分特征值的贡献率与累积贡献率/%

Table 2 Contribution ratios and accumulated contribution ratios of the characteristic values for the first 10 principal components/%

主成分	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10
贡献率	23.7	14.8	11.5	7.0	6.5	5.4	5.0	4.4	3.8	3.3
累积贡献率	23.7	38.5	50.0	57.0	63.5	68.9	73.9	78.3	82.1	85.4

单一碳源,以甲苯降解微生物为主的微生物群落结构和代谢功能未发生明显变化.第 103d 后在 2 套过滤塔下层(进气端)填料中的微生物群落首先发生了较明显的变化,随后第 160 d 2 套过滤塔上下层填料中的微生物代谢特征与 44 ~ 73 d 的测定结果相比均发生了改变,相应的样本点集中到图中一个新的区域.微生物群落代谢特征的长期变化可能与过滤塔中生物量的积累过程有关.在过滤塔进气端(过滤塔下层填料)由于负荷高生物量的积累速度更快^[11],因此造成过滤塔下层的微生物群落首先发生变化,随着运行时间延长,上层微生物群落的代谢特征也随之改变. Grove 等研究者用 Biolog ECO 平板研究了处理正己烷气体生物过滤塔中的微生物群落,发现微生物群落代谢特征在运行 51 d 后发生了明显变化^[12].目前,关于过滤塔中微生物群落代谢特征变化的机理还尚不清楚,因此需要配合其它分子生物学方法对微生物群落结构做进一步深入研究.

用 Biolog 方法测得的木屑过滤塔与活性炭过滤塔的微生物代谢特征在过滤塔长期运行过程中未表现出较大差异.一般认为填料组成对微生物群落和过滤塔性能会有一些的影响作用,但这种影响可能在长期运行过程中随填料中可降解组分的减少和甲苯对微生物群落的长期驯化而逐渐减弱.本研究在实验初期(40d 前)确实观察到活性炭过滤塔去除性能略高于木屑过滤塔的现象,然而随着运行时间延长,2 套过滤塔的去除性能差异逐渐消失(具体数据

由图 3 可见,运行第 44、57、73d 的过滤塔上、下层以及第 103d 的过滤塔上层中的微生物群落代谢特征均较为接近,这说明过滤塔长期采用甲苯作为

表 1 对数期 AWCD 平均增加速率/ $\text{cm}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

Table 1 Average development rates of AWCD in log-growth

	phase/ $\text{cm}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$					
运行天数/d	44	57	73	103	160	
木屑过滤塔	上层	~	0.028	0.033	0.023	0.026
	下层	0.039	0.031	0.029	0.017	0.023
	平均	0.039	0.029	0.031	0.020	0.025
活性炭过滤塔	上层	~	0.027	0.029	0.022	0.027
	下层	0.032	0.025	0.031	0.018	0.019
	平均	0.032	0.026	0.030	0.020	0.023

未列出).因此,长期运行时填料主要起骨架作用,填料种类对微生物群落的代谢影响不大.为了与过滤塔中微生物群落进行对比,本研究还采集了 2 个处理毛纺废水(主要污染物为有机染料)的微生物群落样本进行 Biolog 测定和 PCA 分析(图 3),结果显示处理毛纺废水的微生物群落与甲苯降解微生物群落之间具有显著差异,这说明所处理的污染物类型对生物处理系统中的微生物群落具有重要影响.

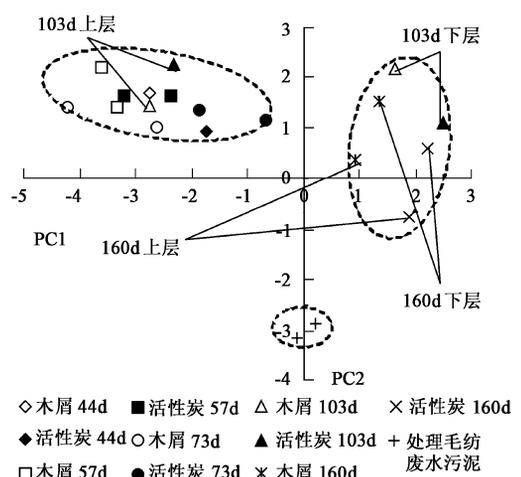


图 3 木屑和活性炭过滤塔微生物群落 PCA 分析结果 (除 103d 和 160 d 外,未标明样本在过滤塔填料层中的位置)

Fig. 3 The PCA analysis results for wood-chip biofilter and GAC biofilter

(The position of the samples were not indicated except for those of day 103 and day 160)

2.4 微生物对不同碳源代谢能力分析

根据 24h 前后的吸光度数据可以绘制出微生物群落的 Biolog 谱图,第 57 d 木屑和活性炭过滤塔中

微生物的代谢谱图如图 4 所示.从图 4 中可以直观地看出微生物对不同碳源的代谢能力以及不同样品的代谢特征差异.

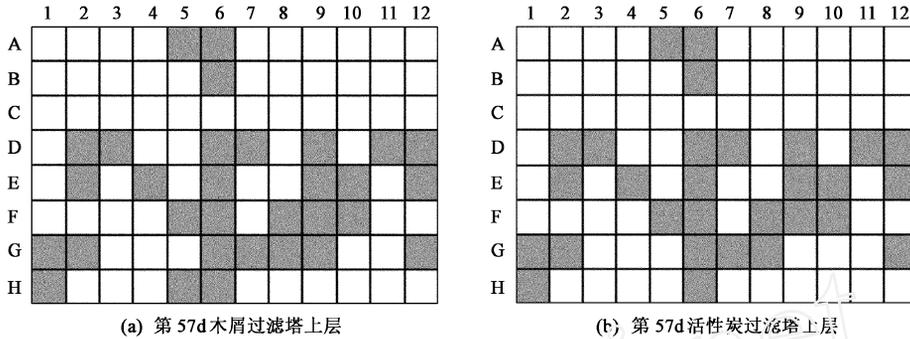


图 4 微生物群落代谢的 Biolog 谱图

(“ ”代表碳源易被利用,“ ”代表碳源不易被利用)

Fig.4 Metabolic Biolog Profiles of the microbial communities

(“ ” represents easy to be utilized, “ ” represents not easy to be utilized)

根据 Biolog 代谢谱图统计不同碳源在所有微生物样本中出现阳性的频率,阳性出现频率高代表该碳源容易被微生物群落利用,阳性出现频率低代表该碳源不易被微生物群落利用,统计结果如表 3 所

示.由表 3 可以看出,较易被微生物群落利用的碳源主要为部分羧酸类有机物和氨基酸类有机物,而多数糖类碳源则相对不易被微生物代谢.

表 3 不同碳源代谢呈阳性结果统计

Table 3 Statistics of the metabolic results for different carbon sources

呈阳性次数 ¹⁾	碳源		
	羧酸类	氨基酸类	其它
10~18	顺-乌头酸,柠檬酸,-酮戊二酸,D-半乳糖醛酸,D,L-乳酸,D-葡萄糖酸,D-葡萄糖醛酸,奎尼酸,D-葡萄糖二酸,琥珀酸,-羟基丁酸,-羟基丁酸,溴丁二酸	L-焦谷氨酸,L-天冬酰胺酸,L-天门冬氨酸,L-谷氨酸,L-丙氨酸,L-脯氨酸,D-丝氨酸,-氨基丁酸,羟基-L-脯氨酸,D-丙氨酸,L-组氨酸,L-丝氨酸	吐温 80,-D-葡萄糖,丁二胺,吐温 40,尿刊酸
2~9	衣康酸,丙二酸 乙酸		D-半乳糖,蔗糖,N-乙酰-D-葡萄糖胺,D-果糖,糊精,D-山梨醇,D-纤维二糖,-甲基-D-葡萄糖苷,肌苷,淀粉,m-肌醇,木糖醇,D-阿拉伯糖,单甲基琥珀酸,6-磷酸葡萄糖
0~1	p-羟基苯乙酸,丙酸,-酮丁酸,甲酸,D-乳糖酸内酯,-酮戊酸,-羟基丁酸,D-葡萄糖胺酸,癸二酸	L-亮氨酸,L-鸟氨酸,L-苯丙氨酸,L-丙氨酰甘氨酸,L-苏氨酸,甘氨酸-L-天冬氨酸,D,L-肉碱,甘氨酸-L-谷氨酸	赤藻糖醇,尿苷,D-海藻糖,2,3-丁二醇,侧金盏花醇,丙三醇,D-甘露糖,D-蜜二糖,环糊精,琥珀酰胺酸,L-果糖,阿洛酮糖,D-棉子糖,L-丙氨酸胺,胸腺嘧啶核苷,龙胆二糖,L-棉子糖,N-乙酰基-D 半乳糖胺,2-氨基乙醇,-D-乳糖,乳果糖,松二糖,L-阿拉伯糖,麦芽糖,D,L-磷酸甘油,1-磷酸葡萄糖

1) 样本总数为 18 个

3 结论

(1)平均色度 AWCD 的增加速率表明,木屑过滤塔与活性炭过滤塔中微生物群落的代谢活性在长

期运行过程中均存在下降趋势.

(2)用主成分分析法对微生物的代谢特征的分析结果表明,木屑过滤塔与活性炭过滤塔中微生物群落的代谢特征在运行前期均未发生显著变化,103

d后过滤塔下层微生物群落的代谢特征出现明显变化,到160 d时整个过滤塔内微生物群落的代谢指纹均发生改变.

(3)木屑过滤塔与活性炭过滤塔中的微生物群落代谢活性和代谢特征未表现出较大差异,长期运行时填料对微生物群落代谢特性的影响较小.

(4)对微生物群落代谢的 Biolog 谱图的分析表明,过滤塔中微生物优先利用的碳源主要为部分羧酸类物质和氨基酸类物质.

参考文献:

- [1] Leson G, Winer A M. Biofiltration: an innovative air pollution control technology for VOC emissions[J]. J. Air Waste Manage. Assoc. , 1991, **41**: 1045 ~ 1054.
- [2] 钟鸣,周启星. 微生物分子生态学技术及其在环境污染研究中的应用[J]. 应用生态学报, 2002, **13** (2): 247 ~ 251.
- [3] 冯瑞华,樊蕙,李力,葛诚. Biolog 细菌自动鉴定系统应用初探[J]. 微生物学杂志, 2000, **20** (2): 36 ~ 38.
- [4] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon source utilization[J]. Appl. Environ. Microbiol. , 1991, **57** (8): 2351 ~ 2359.
- [5] Hackett C A, Griffiths B S. Statistical analysis of the time-course of Biolog substrate utilization[J]. Journal of Microbiological Methods, 1997, **30** (1): 63 ~ 69.
- [6] Kaiser S K, Guckert J B, Gledhill D W. Comparison of activated sludge microbial communities using BIOLOG microplates[J]. Water Science and Technology, 1998, **37** (4-5): 57 ~ 63.
- [7] De Fede, *et al.* Characterization of dilution enrichment cultures obtained from size-fractionated soil bacteria by BIOLOG community-level physiological profiles and restriction analysis of 16S rRNA genes [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, **33** (11): 1555 ~ 1562.
- [8] 席劲璞, 胡洪营, 钱易. Biolog 方法在环境微生物群落研究中的应用[J]. 微生物学报, 2003, **43** (1): 138 ~ 141.
- [9] Haack S K, Garchow H, Klug M J, Forney L J. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns[J]. Appl. Environ. Microbiol. , 1995, **61**: 1458 ~ 1468.
- [10] 杨永华, 姚健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 微生物学杂志, 2000, **20** (2): 23 ~ 25, 47.
- [11] Okkerse W J H, Ottengraf S P P, Osinga Kuipers B, Okkerse M. Biomass accumulation and clogging in biotrickling filters for waste gas treatment. Evaluation of a dynamic model using dichloromethane as a model pollutant [J], Biotechnol. Bioeng. , 1999, **63**: 418 ~ 430.
- [12] Grove J A, Kautola H, Javadpour S, Moor-Young M, Anderson W A. Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter[J]. Biochemical Engineering Journal, 2004, **18**: 111 ~ 114.