

对硝基苯酚冲击对 UASB 反应器中污泥活性和微生物种群的影响*

梅 琴 高国庆 虞方伯 刘连成 沈 标**

(南京农业大学农业部环境微生物工程重点开放实验室 南京 210095)

摘要 研究了在稳定运行的上流式厌氧污泥床(Uplow Anaerobic Sludge Blanket, UASB)反应器中,对硝基苯酚(*p*-NP)冲击对反应器活性的影响。采用 PCR-DGGE 技术监测了反应器受对硝基苯酚冲击后微生物种群多样性的变化。实验结果表明,*p*-NP 冲击对污泥的产甲烷活性和 COD 去除活性均有严重的抑制,污泥活性的恢复需要较长时间;高浓度冲击比低浓度冲击产生更严重的影响,20mg/L 和 40mg/L *p*-NP 冲击后污泥活性的恢复期分别为 16d 和 27d。*p*-NP 冲击后,真细菌和古菌的多样性均发生了显著的变化,而且 *p*-NP 冲击对真细菌的影响大于对古菌的影响。*p*-NP 冲击后甲烷产量下降的主要与 *Methanosaeta* sp. 的活性下降以及 *Methanomicrobia* sp. 丰度的下降有关。而冲击后真细菌的主要变化表现为 *Chloroflexi* sp.、*Bacteroides* sp. 和 *Anaerovibrio* sp. 的丰度均下降;*Rheinheimera* sp. 在受到 20mg/L *p*-NP 冲击时丰度下降,继续受到 40mg/L *p*-NP 冲击时该种群消失。*Flavobacteria* sp. 是 *p*-NP 冲击后新出现的细菌种群,可能与 *p*-NP 的降解有关。

关键词 对硝基苯酚冲击,微生物种群多样性,污泥活性

中图分类号:Q939.9 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2007)06-1123-06

Effect of *p*-nitrophenol Shock on Sludge Activity and Microbial Populations and in UASB Reactor*

MEI Qin GAO Guo-Qing YU Fang-Bo LIU Lian-Cheng SHEN Biao**

(Nanjing Agricultural University, Environment Microbiology Key and Open Laboratory of Department of Agriculture, Nanjing 210095)

Abstract Effect of *p*-nitrophenol shock on microbial populations and sludge activity in UASB reactor was studied by DGGE-PCR of 16S rDNA fragments and detection of COD removing and biogas yield. The results showed that *p*-nitrophenol seriously inhibited the sludge activity, resulting in the drop of biogas and COD removing rate. The 40mg/L *p*-nitrophenol had more inhibition than 20mg/L *p*-nitrophenol. It would take 27 and 16 days respectively for reactor to recover after 40mg/L and 20mg/L *p*-nitrophenol shock. The diversity of eubacteria and methanogens were also effected by the *p*-nitrophenol shock. The variation of eubacteria was more than that of methanogens after *p*-nitrophenol shock. The drop of biogas was mainly related to the variation of *Methanosaeta* sp. and *Methanomicrobia* sp. after *p*-nitrophenol shock. Among the eubacteria the population of *Chloroflexi* sp., *Bacteroides* sp. and *Anaerovibrio* sp. decreased greatly after *p*-nitrophenol shock. And more, the *Rheinheimera* sp disappeared after 40mg/L *p*-NP treatment. But the *Flavobacteria* sp. appeared after *p*-nitrophenol shock, which was probably related to the degradation of *p*-NP.

Key words: *p*-nitrophenol shock, Bacteria populations diversity, Sludge activity.

废水生物处理装置中,活性污泥的驯化及生物膜的形成需要一个过程,对难处理有毒废水更是如此。处于正常运行中的废水生物处理装置常常会受到底水成分变化的影响,如由于工厂新建项目,产品更新换代或者生产过程中调试不当造成有毒化合物进入废水处理装置,致使处于正常运行的污水处理反应器造成不同程度的影响,导致污泥活性下降,出

水水质下降,不能达到污水排放标准。因此研究有毒物质的冲击对厌氧处理装置中微生物种群的影响,特别是对产甲烷菌的影响,对改进废水生物处理工艺,指导厌氧处理装置的运行管理,提高废水处理效率具有重要的指导意义。

对硝基酚是有毒、难生物降解的有机化合物,是重要而且用途最广泛的工业化工原料,广泛地用

* 国家自然科学基金资助项目(No. 50308011)

** 通讯作者 Tel: 025-84396348, E-mail: shenbiao@njau.edu.cn

收稿日期:2007-04-04, 修回日期:2007-06-01

作炸药、医药、农药、染料、橡胶等的合成前体。硝基酚能够诱导有机体突变并且有致癌作用,在食物链中不断积累,所以这些化合物对人类的健康存在危险^[1,2]。在硝基酚中 2-NP、4-NP、和 2,4-DNP 的被美国环保署列为“优先污染物质”,并且规定天然水域中他们的浓度必须在 10 ng/L 以下^[3]。

目前国外很多采用厌氧/好氧交替消化的办法对其废水进行处理,在厌氧条件下 *p*-NP 被还原成对氨基苯酚(*p*-AP),其毒性降低 500 倍之多,在好氧条件下 *p*-AP 继续被氧化成 $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$ 。本实验主要研究 *p*-NP 的冲击对 UASB 反应器的影响,在考察 *p*-NP 冲击对反应器中 COD、甲烷产量影响的同时,监测微生物种群的动态变化情况。

1 材料和方法

1.1 实验装置

本实验采用模拟 UASB 反应器,由有机玻璃制成,直径 20cm、高 50cm 圆柱状装置,有效体积为 2L,整个装置安置于 30℃ 恒温室中。

1.2 接种污泥

接种污泥取自南京江心洲污水处理厂沉淀池,沉淀 1d,去掉上清后投入装置中,污泥浓度约 8.2 g/L。

1.3 实验用水

用葡萄糖、氯化铵和磷酸氢二钾配制人工废水,控制 COD:N:P = 200:5:1。在废水中加入适量的微量元素,如 Co、B、Cu、Ni、Fe、Zn、Mg、Mn 以保证微生物细胞合成的需要,另加入一定量碳酸氢钠以补充碱度, pH 控制在 7.2 ~ 8.0。

1.4 分析方法

SS 和 VSS 采用重量法, COD 采用重铬酸钾标准法^[4], 甲烷气体的量采用排水法,用 3% 氢氧化钠溶液收集^[3]。*p*-NP 浓度和 *p*-AP 浓度的测定采用紫外分光光度法^[5,6]。

1.5 试验步骤

1.5.1 反应器运行:采用间歇投加人工配制废水的方式,逐渐提高有机负荷率,对反应器进行驯化,经过 50d 培养后,反应器 COD 去除率 85% 左右,产甲烷活性较好,污泥沉降性能较好,之后保持进水 COD 浓度稳定在 1000mg/L,水力停留时间(HRT)1d。

1.5.2 *p*-NP 冲击过程:冲击过程共进行了 4 次,前

2 次冲击采用的 *p*-NP 浓度为 20mg/L,后 2 次冲击以 40mg/L *p*-NP 冲击,冲击时废水在反应器停留 2d。系统运行稳定后,第 4 天进行 20 mg/L *p*-NP(第 1 次)冲击,第 6 天继续 20mg/L *p*-NP(第 2 次)冲击,第 8 天后进水中 *p*-NP 浓度一直保持在 5mg/L。当系统逐渐恢复稳定运行后,采用 40 mg/L *p*-NP 进行冲击,冲击时间为第 28 天和第 30 天,冲击过程如前 2 次,冲击后进水中 *p*-NP 浓度保持在 5mg/L。*p*-NP 冲击过程中每天定时记录甲烷气体的量。

1.5.3 污泥样品和总 DNA 的提取:*p*-NP 冲击 2d 后取样,每次取污泥(颗粒污泥)约 2mL,于 8000 r/min 离心 5min 弃上清液置 -70℃ 备用。污泥总 DNA 的提取采用间接法^[7]。

1.5.4 引物和 PCR 扩增:PCR 扩增对象为古细菌 16S rDNA V3 可变区,上游引物 333-GC-F(5'-CGCCCGCCGCGCGGGCGGGCGGGCGGGGCACGGGGGGTCCAGGCCCTACGGGG-3')和下游引物 533 R(5'-TTACCGCGGCTGCTGGCAC-3')^[8];真细菌 16S rDNA V3 区通用引物为 P2(5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')和 P3(5'-CGCCC GCCGCGCGGGCGGGCGGGCGGGGCACGGGGGGCCTACGGGAGGCAGCAG-3')^[9],PCR 扩增体系和程序参考文献^[8]。扩增产物再经过一次“reconditioning PCR”以及聚丙烯酰胺凝胶电泳去除普通 PCR 过程中的单链 DNA^[9]。

1.5.5 变性梯度凝胶电泳^[10]:PCR-DGGE 在 Bio-rad DCode System 上进行,聚丙烯酰胺凝胶浓度 8%,变性浓度梯度范围 40% ~ 60%(100% 变性剂包含 7mol/L 尿素和 40% 去离子甲酰胺),在 1× TAE 缓冲液(40 mmol/L Tris 碱, 20mmol/L 冰醋酸, 1mmol/L Na_2EDTA)中,于 200V 预电泳 10min 后,控制电压在 80V 左右,60℃ 恒温电泳 14h ~ 15h。银染后 DGGE 凝胶图像采集在 Gel Doc2000 凝胶成像系统(Bio-rad 生命医学产品有限公司)上进行,图像分析采用 Quantity One 一维分析软件。

1.5.6 PCR 产物的纯化和测序:切下 DGGE 图谱上主要目的 DNA 条带,转移至离心管后用 ddH₂O 浸洗 3 次,每次 5min。将凝胶挤碎,加入 30μL ddH₂O,置于 50℃ ~ 60℃ 水浴中 2 h 以上,使胶彻底融化,8000r/min 离心 5min 取上清。取 1μL 回收 DNA 为模板进行 PCR 扩增,真细菌引物为 P2(不带 GC 夹)、P3,古细菌引物为 333F(不带 GC 夹)、533R,扩增产

物经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳检验, 然后克隆到 PMD19-T 载体上, 转化到 *E. coli* DH5 α , 阳性转化子通过质粒提取、酶切验证后送上海英骏生物技术有限公司测序。登陆 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) 将所得序列与数据库中的已知序列进行比较, 提交序列到数据库中, 得到登录号。

2 结果与讨论

2.1 *p*-NP 冲击对反应器 COD 去除率的影响

图 1 表明, 反应器第 4 天, 第 6 天受到 20mg/L *p*-NP 冲击后, 出水 COD 迅速升高, COD 去除率迅速下降, 比冲击前大约下降了 50% 左右, 说明 *p*-NP 对污水处理系统产生了严重的抑制, 影响了 COD 的去除, 虽然第 8 天后 *p*-NP 浓度降为 5 mg/L, 但运行 1

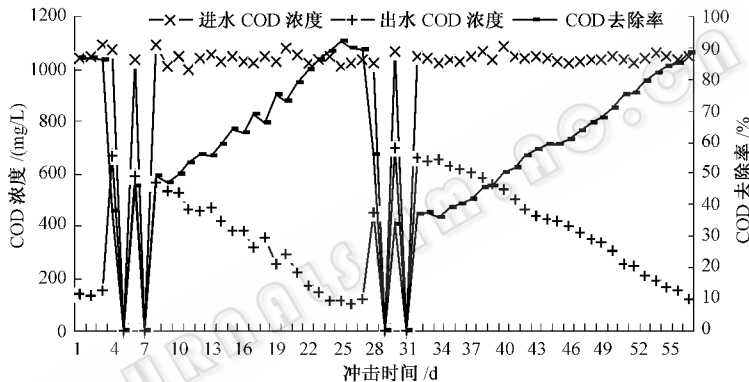


图 1 *p*-NP 冲击对 COD 去除率的影响

2.2 *p*-NP 冲击对甲烷气体产量的影响

从图 2 可看出每次受 *p*-NP 冲击后系统的产甲烷量都迅速下降。虽然停止冲击后产甲烷活性有恢复的趋势, 但是恢复很慢, 而且都没有恢复到冲击前的水平。说明 *p*-NP 对产甲烷菌的影响大于对其他微生物类群的影响。

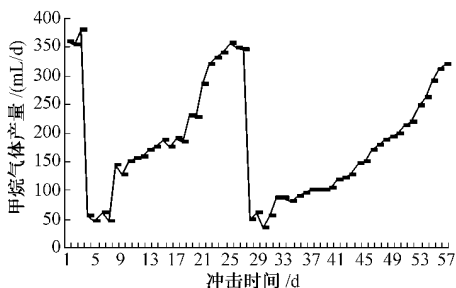


图 2 *p*-NP 冲击对甲烷气体产量的影响

2.3 冲击过程中 *p*-NP 及 *p*-AP 浓度的变化

从图 3, 图 4 看出第 1 次冲击后, 12h 时出水 *p*-

NP 浓度仍小于 50%。随着反应器的运行, 系统的活性慢慢恢复, COD 去除率、产甲烷量逐渐增加, 第 24 天系统就已经基本恢复正常, 恢复期约为 16 天。系统恢复后在第 28 天进行 40 mg/L *p*-NP (第 3 次) 冲击, 冲击后出水 COD 为 448mg/L, COD 去除率 56.2%, 系统的活性同样受到抑制, 但抑制程度没有第一、二两次冲击时大。可能是由于第一、二两次冲击后恢复期间保持进水中 *p*-NP 浓度 5mg/L, 系统中的一些厌氧细菌对 *p*-NP 具有一定的耐受能力。但第 30 天进行第 4 次冲击后, 出水 COD 为 700mg/L, COD 去除率降为 34%, 说明 *p*-NP 负荷率达到 10mg/L/d 时, 系统会受到更严重的抑制, 恢复时间更长, 约经过 25d 后系统才恢复正常运行。

NP 浓度下降到 1.92 mg/L, 在出水中检测到对应的 *p*-AP 浓度为 16.98mg/L, *p*-NP 转化为 *p*-AP 的效率为 84.9%。第 2 次冲击后, 12h 时出水 *p*-NP 浓度下降到 1.34 mg/L, *p*-AP 浓度为 17.3 mg/L, *p*-NP 转化为 *p*-AP 的效率为 86.5%。第 3 次冲击后, 12h 时出水 *p*-NP 浓度下降到 6.43 mg/L, 最终在 48h 时检测到的浓度为 0.37mg/L, *p*-AP 浓度为 32.94 mg/L, 转化率为 82.35%。第 4 次冲击后, 12h 时出水 *p*-NP 浓度下降到 6.28mg/L, 最终在 48h 时检测到的浓度为 0.93mg/L, *p*-AP 浓度为 34.07mg/L, 转化率为 82.35%。冲击后 48h, *p*-AP 的浓度已经很低, 这表明在厌氧条件下, *p*-NP 能够快速、高效地还原为 *p*-AP。这与 Delia Teresa Sponza 的研究结果一致, 在厌氧反应器中一定的 *p*-NP 负荷下, 大约 80% ~ 90% 的 *p*-NP 都能还原为 *p*-AP, 这表明通过 UASB 等厌氧反应器的厌氧脱毒机制来处理高毒硝基酚化合物废水是可行的^[3]。

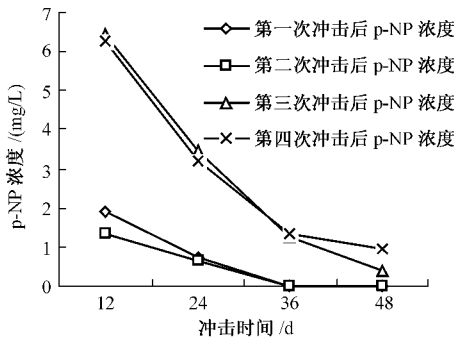


图3 p-NP冲击过程中 p-NP 浓度变化

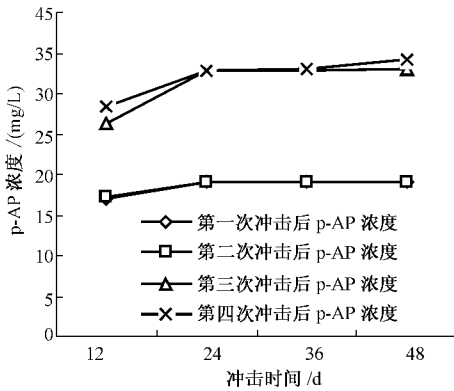


图4 p-NP冲击过程中 p-AP 浓度变化

2.4 p-NP 冲击对古菌种群的影响

从图5中可看出反应器污泥中古菌的种类比较少,其种群结构在 p-NP 冲击后发生了变化。整个 DGGE 图谱包含 9 个条带,其中条带 A (*Methanomicrobia* sp.) 和 B (*Methanosaeta* sp.) 不存在于接种污泥中,随着污泥的驯化而出现的,但是低浓度的 p-NP (20mg/L) 冲击对这两个条带没有明显的影响,因为样品 3、4 和 2 的 A、B 条带的亮度没有差别。而高浓度的 p-NP (40mg/L) 冲击对其有严重抑制。但随着冲击负荷的增大(40mg/L), A、B 条带逐渐变淡。条带 C (*Methanogenium* sp.) 和 F (*Methanospirillum* sp.) 只在接种污泥中存在,随着反应器的运行而消失。C 和 F 条带消失可能是因为驯化反应器时是采用的人工配水,只有葡萄糖,比较单一,不利于这两个属菌群的生长。D、G、H 和 I 存在于所有样品中, E 条带是随着反应器的运行而增加的,并且在受到 p-NP 冲击后基本保持不变。G、H 条带是接种污泥中的优势种群,其变化是随着驯化的进行先变淡,但受到 p-NP 冲击后条带逐渐加深,显然 G、H 所代表的产甲烷菌能耐受 p-NP 的冲击。

应用 Quantity One 软件对 DGGE 图谱分析,以

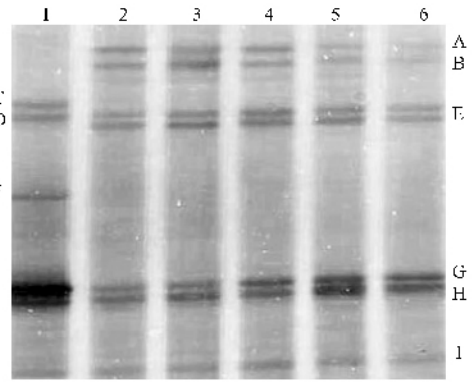


图5 古菌 16S rDNA V3 可变区 DGGE 凝胶电泳图像

注:1 为接种污泥 2 为冲击前污泥样品 3~6 分别表示四次 p-NP 冲击后的污泥样品

Note: 1. inoculated sludge; 2. sludge before shock; 3~6. sludge after four p-NP shock

Dice coefficient (C_s) 量化表征 DGGE 图谱中两个不同样品之间的相似程度, C_s 值越大表明相似性越高^[8]。DGGE 图谱的相似性列于表 1, 对聚类分析结果见图 6。

表 1 古细菌 PCR-DGGE 图谱相似性分析 (C_s)

| 样品编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 100.0 | | | | | |
| 2 | 45.2 | 100.0 | | | | |
| 3 | 40.7 | 89.3 | 100.0 | | | |
| 4 | 46.1 | 52.4 | 46.3 | 100.0 | | |
| 5 | 50.8 | 33.1 | 30.0 | 61.6 | 100.0 | |
| 6 | 55.9 | 35.4 | 32.3 | 56.4 | 85.7 | 100.0 |

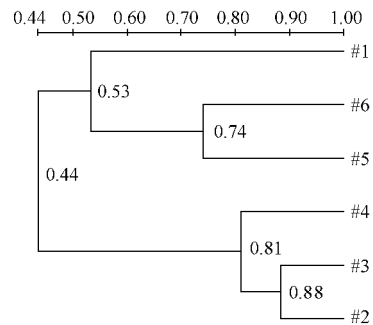


图6 古菌 DGGE 图谱的聚类分析

从图6可以看出, 6 个样品中的古菌可以归为两大族群, 族群间的相似性为 44%, 表明接种污泥和驯化后的污泥中的产甲烷菌发生了很大的变化。系统受到 20mg/L p-NP 冲击后, 虽然产甲烷活性受到严重抑制, 但短时间内, 产甲烷菌的类群没有发生很大的变化。样品 2 和 3 的 C_s 值为 89.3, 相似性最

高,达到88%。继续进行冲击后,样品4的相似性就降低为81%,说明 *p*-NP 冲击对微生物种群结构是有影响的。第2次和第3次冲击之间有16d的间隔,系统中的古菌发生了变化,造成样品4和5分属于两族群。40mg/L *p*-NP 冲击对产甲烷菌的影响明显大于20mg/L *p*-NP 的影响,造成样品5和6之间的相似性下降为0.74。

2.5 古菌 DGGE 回收 DNA 片段序列分析结果

由表2可知产甲烷菌分属于产甲烷亚群 I、II、III^[11],尤其以亚群 II 的种类居多,序列同源性在93%~100%之间。对照图5说明接种污泥中以 *Methanogenium* sp.、*Methanospirillum* sp.、*Methanocorpusculum* sp. 和 *Methanobacterium* sp. 为主要的产甲烷类群,其中 *Methanocorpusculum* sp. 为优势种群。而经过驯化后,产甲烷类群有了明显的变化,出现了 *Methanomicrobia* sp. 和 *Methanosaeta* sp., 而 *Methanogenium* sp. 和 *Methanospirillum* sp. 消失。值得一提的是,甲烷丝菌 *Methanosaeta* sp. 与污泥的颗粒化有关,也是维持污泥稳定性的重要类群。厌氧系统中 *Methanosaeta* sp. 所产甲烷量占甲烷总产量的40%以上,它的产甲烷的主要底物是乙酸。在 *p*-NP 冲击后,虽然 *Methanosaeta* sp. 的丰度没有明显的变化,但反应器出现了跑泥现象,说明 *Methanosaeta* sp. 也受到冲击影响。而 *Methanosaeta* sp. 活性受到影响,势必影响甲烷产量。A、B 条带属于 *Methanomicrobia* sp.。随着冲击负荷的增大两条带逐渐变淡,说明它比其他属的产甲烷菌更易受冲击影响。所以反应器受到 *p*-NP 冲击后,甲烷产量迅速下降很可能与 *Methanosaeta* sp. 活性的降低以及和 *Methanomicrobia* sp. 丰度的降低有关。另外厌氧反应器中,70%的甲烷来自乙酸,反应器受到冲击后产酸菌受到抑制,所产生的乙酸减少,产甲烷菌所能利用的底物量更少,这是甲烷量减少的另一个重要原因。

2.6 *p*-NP 冲击对细菌种群的影响

从图7可以看出,污泥中细菌种群数明显大于古菌,污泥驯化前后微生物的种群结构发生了很大的变化。第一、二两次冲击后,样品3和4与样品2相比 I、II、V 条带减弱,III 为 *p*-NP 冲击后新增条带,并稳定存在于污泥系统中,可能与 *p*-NP 的降解有关。第二次冲击后,样品4与3相比,发生了十分明显的变化,表明 *p*-NP 连续冲击对真细菌类群有

严重的影响。样品5和4相比,细菌多样性变化极其显著,表明不同浓度的 *p*-NP 对真细菌类群的影响是不同的。第三次冲击后,其中 IV 基本消失。

表2 DGGE 回收 DNA 片段序列分析结果

| 条带编号 | 同源微生物 | 序列同源性/% | 登录号 |
|------|-------------------------------|---------|----------|
| A | <i>Methanomicrobia</i> sp. | 93 | EF489006 |
| B | <i>Methanomicrobia</i> sp. | 93 | EF489007 |
| C | <i>Methanogenium</i> sp. | 98 | EF489008 |
| D | <i>Methanoplanus</i> sp. | 96 | EF489009 |
| E | <i>Methanosaeta</i> sp. | 100 | EF489010 |
| F | <i>Methanospirillum</i> sp. | 96 | EF489011 |
| G | <i>Methanocorpusculum</i> sp. | 99 | EF489012 |
| H | <i>Methanocorpusculum</i> sp. | 99 | EF489013 |
| I | <i>Methanobacterium</i> sp. | 98 | EF489014 |

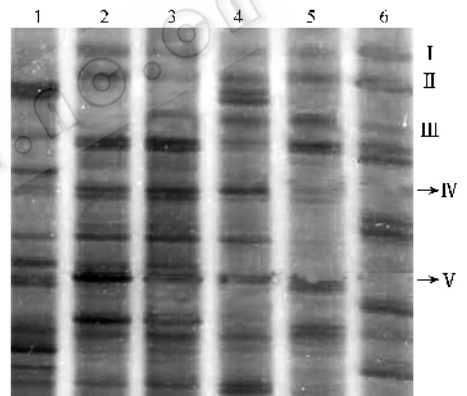


图7 真细菌 16S rDNA V3 可变区 DGGE 凝胶电泳图像
注:1为接种污泥 2为冲击前污泥样品 3~6分别表示四次 *p*-NP 冲击后的污泥样品

表3,图8相似性分析表明,样品2和3的相似性最高,但也只有58%,说明受到20mg/L *p*-NP 冲击的影响,微生物种群发生了很大的改变,连续进行冲击后,样品4和样品3已经不在一个族群内,说明微生物种群结构大大改变。样品4和5分属于两个族

表3 真细菌 PCR-DGGE 图谱相似性分析(C_s)

| 样品编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1 | 100.0 | | | | | |
| 2 | 48.3 | 100.0 | | | | |
| 3 | 45.5 | 57.8 | 100.0 | | | |
| 4 | 47.6 | 51.7 | 54.7 | 100.0 | | |
| 5 | 32.0 | 57.8 | 52.3 | 47.5 | 100.0 | |
| 6 | 42.5 | 31.5 | 40.6 | 30.5 | 24.6 | 100.0 |

群,表明 40mg/L *p*-NP 冲击后,对真细菌的类群产生了很大的影响。更值得关注的是,40mg/L *p*-NP 的连续冲击后,样品 6 已经成为了一个独立族群,与其他样品的相似性最低。

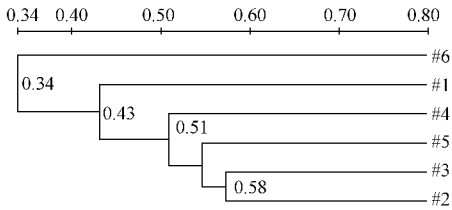


图 8 真细菌 DGGE 图谱的聚类分析

2.7 真细菌 DGGE 回收 DNA 片段序列分析结果

I 条带测序结果表明其与绿色非硫细菌 *Chloroflexi* 的同源性为 97%, *Chloroflexi* 是一种丝状细菌,据文献报道,利用荧光原位杂交 (FISH) 技术对污泥中的丝状菌研究发现,大多数属于 *Chloroflexi*,是污水生物处理系统中丰度最高的丝状菌^[12],丝状菌能影响活性污泥的沉降性能。从图 7 可以看出,当 *p*-NP 冲击后,绿色非硫细菌 (*Chloroflexi*) 受到严重影响,丰度明显减少,这也与冲击负荷试验过程中出现跑泥现象相对应。条带 II 与厌氧弧菌属 (*Anaerovibrio* sp.) 的同源性 100%, *Anaerovibrio* sp. 存在于厌氧的污泥中,分解利用有限几种糖,丙酸、乙酸和琥珀酸是发酵的终产物,说明这是一种典型的产酸菌。*p*-NP 冲击后,厌氧弧菌属条带减弱,说明系统中的厌氧弧菌属数目减少,乙酸等有机酸的产生受到抑制,从而影响到产甲烷菌所能利用的底物的生成,致使 COD 去除率迅速下降,所以第一次冲击后 COD 去除率迅速下降到 38%。III 属于黄杆菌属 (*Flavobacteria* sp.) 是一种兼性厌氧菌,是受到 *p*-NP 冲击后新出现的。王勇胜在《生物强化技术在废水中的应用》指出 *Pseudomonas* sp. 和 *Flavobacteria* sp. 能够通过共代谢的方式降解对硝基苯酚,所以 *Flavobacteria* sp. 可能在 *p*-NP 冲击负荷时成为优势菌群。IV 鉴定为棍着色菌属 (*Rheinheimera* sp.) 属于 *Proteobacteria* 的 γ -亚纲细菌,它有可能是氨氧化菌、硝化细菌、反硝化细菌中的一种功能微生物菌群,使得整个厌氧反应器稳定运行。V 为拟杆菌属 (*Bacteroides* sp.) 严格厌氧菌,具有很强的降解糖的

能力,发酵终产物包括乙酸、琥珀酸、乳酸、甲酸或丙酸,所以它也是一种产酸菌。*p*-NP 冲击后,拟杆菌属条带同样减弱,葡萄糖不能迅速分解,当第四次 40mg/L *p*-NP 冲击后,拟杆菌属条带消失,此时的 COD 去除率在整个系统运行过程中最低,只有 34%,说明拟杆菌的有无以及丰度大小与 COD 的去除密切相关。

3 结论

(1) UASB 反应器受到 *p*-NP 冲击后,厌氧反应器的 COD 去除能力、产甲烷活性均受到影响,高浓度毒物冲击比低浓度毒物冲击对系统的影响大。

(2) 在厌氧系统中, *p*-NP 能迅速还原为 *p*-AP。

(3) *p*-NP 冲击对微生物类群产生明显的影响,连续冲击和不同浓度的冲击对微生物种群的影响是不同的,但对真细菌的影响大于对古菌的影响。其中对丝状菌绿色非硫细菌 (*Chloroflexi*),产酸菌如厌氧弧菌属 (*Anaerovibrio* sp.) 和拟杆菌属 (*Bacteroides* sp.) 的影响最大,其丰度发生很大的变化。黄杆菌属 (*Flavobacteria* sp.) 是 *p*-NP 冲击后新增的种,它可能与 *p*-NP 的降解有关。

参考文献

- [1] Karim K, Gupta SK. *Bioresour Technol* 2001 **80**: 179 ~ 186.
- [2] Donlon B, Razo-Flores EA, Field J, et al. *Biotechnol Bioeng*, 1996, **51**: 439 ~ 449.
- [3] Delia Teresa Sponza, özlem Selçuk Kuşçu. *Process Biochemistry*, 2004 **40** (2005): 1679 ~ 1691.
- [4] 中科院成都生物所. 沼气发酵常规分析. 北京: 北京科技出版社, 1984, pp. 43 ~ 48.
- [5] Melgoza RM, Buitrón G. *Water Sci Technol* 2001 **44** (4): 151 ~ 157.
- [6] Oren A, Garevich P, Henis Y, et al. *Appl Environ Microbiol*, 1991, **57** (11): 3367 ~ 3370.
- [7] 黄婷婷, 曹慧, 崔中利, 等. *土壤* 2004 **36** (6): 662 ~ 666.
- [8] 任艳红, 徐向阳, 唐全. *环境科学学报* 2005 **25** (2): 214 ~ 219.
- [9] 李娜, 赵立平. *雁北师范学院学报*, 2004 **20** (2): 42 ~ 44.
- [10] Muyzer G, De Waal EC, Uitterlinden A G. *Appl Environ Microbiol*, 1993, **59**: 695 ~ 700.
- [11] 东秀珠, 蔡妙英. 常用细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001, pp. 315 ~ 329.
- [12] 叶姜瑜, 罗国源, 吉芳英, 等. *重庆大学学报(自然科学版)*, 2005 **28** (10): 119 ~ 123.