

膜生物反应器亚硝化性能的影响因素研究

薛源, 杨凤林*, 刘思彤, 付志敏, 胡绍伟

(大连理工大学环境与生命学院, 工业生态与环境工程教育部重点实验室, 大连 116024)

摘要: 利用膜生物反应器成功启动了亚硝化工艺处理人工合成废水. 为了确定影响亚硝化工艺效果的因素, 先后对温度和溶解氧浓度进行了研究, 结果表明, 在温度 35℃ 并且 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 负荷平均 $0.45 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 和溶解氧 $< 0.5 \text{ mg/L}$ 的条件下, 可使出水 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的浓度低于 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 而 $\rho(\text{NO}_2^- \text{-N}) : \rho(\text{NH}_4^+ \text{-N})$ 接近 1.0. 同时发现反应器运行期间, 在低溶解氧的情况下, 膜组件的污染并不严重. 荧光原位杂交分析发现, 在膜生物反应器中氨氧化菌成为优势菌种, 亚硝酸盐氧化菌的活性受到了抑制. 微生物群落分析则进一步提供了实现亚硝化工艺所必需的生物信息.

关键词: 亚硝化; 膜生物反应器; 氨氧化菌; 荧光原位杂交

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)09-2630-05

Influence of Controlling Factors on Partial Nitrification Performance in Membrane Bioreactor

XUE Yuan, YANG Feng-lin, LIU Si-tong, FU Zhi-min, HU Shao-wei

(Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering of Ministry of Education, School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: A membrane bioreactor (MBR) was developed successfully to carry out partial nitrification process. Temperature, and dissolved oxygen (DO) were investigated as the factors which may affect the results. It has been proved that the optimal operational parameters were at 35℃, ammonia loading $0.45 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ and $< 0.5 \text{ mg/L}$, respectively, with the effluent $\text{NO}_3^- \text{-N}$ concentration below $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $\rho(\text{NO}_2^- \text{-N}) / \rho(\text{NH}_4^+ \text{-N})$ ratio being close to 1.0. It is not observed severe membrane fouling during all the experiment. Fluorescence *in situ* hybridization analysis indicated that aerobic ammonium oxidizers were the dominant population, and nitrite-oxidizing bacteria were inhibited. The microbiological community analysis further provided the necessary biological information for the realization of partial nitrification.

Key words: partial nitrification; membrane bioreactor (MBR); aerobic ammonium oxidizers (AOB); fluorescence *in situ* hybridization (FISH)

传统的生物脱氮通常采用硝化-反硝化工艺, 该工艺硝化作用阶段进行曝气需要消耗大量的能量, 反硝化作用阶段则需要额外加入有机碳源, 这样就增加了处理费用. 近年来, 随着微生物学研究的迅速发展, 新型的脱氮微生物群被发现, 不同于传统脱氮机制的新型脱氮反应机制被提出, 并由此产生了一批新型生物脱氮技术, 例如: 厌氧氨氧化工艺^[1]、亚硝化-厌氧氨氧化联合工艺^[2]、CANON (completely autotrophic nitrogen removal over nitrite) 工艺^[3]、OLAND (oxygen limited autotrophic nitrification and denitrification) 工艺^[4]等, 而亚硝化往往是这些工艺的限速步骤. 因此, 如何实现将硝化反应稳定地控制在亚硝化阶段已成为废水生物脱氮的一个重要研究方向.

利用膜生物反应器 (membrane bioreactor, MBR) 来实现亚硝化的研究, 国内外鲜有报道. 膜的机械截留可使生长缓慢的氨氧化菌 (AOB) 在反应器内富集, 大大提高了容积负荷.

本研究的主要目的是考察 MBR 启动亚硝化反应并稳定运行, 分析温度和溶解氧浓度对亚硝化效果的影响, 配合扫描电镜 (SEM) 技术和荧光原位杂交 (FISH) 分析手段, 对实现亚硝化反应的可行性以及相应的微生物群落分布进行研究.

1 材料与方法

1.1 模拟废水

试验模拟废水组成 (g/L): KHCO_3 1.25, KH_2PO_4 0.025, $\text{FeSO}_4 \cdot 0.006$ 25, EDTA 0.006 25, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.3, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2. 氮氮浓度 [以 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为氮源] 启动阶段从 0.07 g/L 逐步增加到 0.3 g/L . 微量元素溶液 1.0 ml/L .

收稿日期: 2008-10-06; 修订日期: 2009-02-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50578023)

作者简介: 薛源 (1983 ~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为亚硝化反应器与厌氧氨氧化反应器的耦合协同脱氮作用机制, E-mail: nitritation@yahoo.cn

* 通讯联系人, E-mail: yangfl@dlut.edu.cn

微量元素溶液组成(g/L): EDTA 15, ZnSO₄ · 7H₂O 0.43, CoCl₂ · 6H₂O 0.24, MnCl₂ · 4H₂O 0.99, CuSO₄ · 5H₂O 0.25, NaMoO₄ · 2H₂O 0.22, NiCl₂ · 6H₂O 0.19, NaSeO₄ · 10H₂O 0.21, H₃BO₄ 0.014, NaWO₄ · 2H₂O 0.05.

1.2 膜组件特性

试验所选用的膜组件为平板式聚丙烯(PP)中空纤维膜(凯宏膜技术有限公司,杭州,中国),具体特性如表 1 所示.

表 1 膜组件特性			
Table 1 Characteristics of membrane module			
膜孔径 /μm	膜面积 /m ²	纯水检测压力 /L·h ⁻¹	工作压力 /MPa
0.1	0.2	2.1	≤ 0.2

1.3 试验装置

试验装置如图 1 所示.反应器由有机玻璃制成,有效容积为 14 L,具体尺寸:200 mm × 200 mm × 400 mm,内置的加热装置可以控制水温.进水由进水泵打入反应器,出水通过膜组件由出水水泵排出.空气通过反应器底部的曝气头进入反应器,流量通过流量计控制,能够保证反应器内部液相处于混流状态,同时对膜组件表面产生一定的水力剪切作用,以减轻膜污染.利用真空表(津制 00000578 型,天津)读取过膜压力(TMP),确定膜污染程度以决定是否需要对膜组件进行清洗^[5].KHCO₃ 溶液调节 pH 在 7.5 ~ 8.0 之间.

1.4 分析方法与接种污泥

氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮等均采用国家标准方法分析,水中 pH 和溶解氧浓度(DO)分别采用 pH 计(Sartorius AG)和溶解氧分析仪(YSI, Model 55, USA)监测.反应器内部微生物表面形态结构和群落结构则分别利用 SEM 和 FISH 进行观察.反应器启动阶段接种的污泥(MLSS = 6.25 g/L, 8 L)取自大连

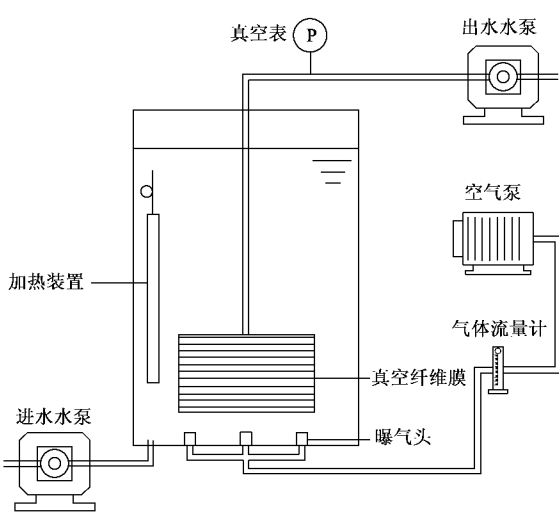


图 1 试验装置及工艺流程示意
Fig.1 Schematic diagram of carbon membrane-aerated biofilm reactor

市春柳河污水处理厂回流污泥池.

1.5 微生物样品制备及特性分析

首先从反应器中取出微生物样品,一部分样品被固定、脱水、喷金后用于扫描电镜观察;另一部用新鲜配制的 4% 多聚甲醛溶液固定.再以磷酸盐缓冲溶液(PBS)洗脱 2 次,悬浮于等体积 PBS 与 100% 乙醇的混合液中,储存于 - 20℃ 备用.

取 2 ~ 10 mL 固定后的样品,均匀点于明胶包被的载玻片上,45℃ 条件下干燥,使样品固定在载玻片上,然后分别用 50%、80% 及 100% 乙醇室温脱水 3 min,自然风干.进行杂交前配制新鲜的杂交缓冲液 [20 mmol/L Tris-HCl (pH = 7.2), 0.01% SDS, 氯化钠和甲酰胺浓度视探针而定],将杂交缓冲液和探针(与荧光染料 Cy3 杂交缓冲液中的浓度为 50 ng/μL,而与荧光染料 Fluos 结合的探针在杂交缓冲液中的浓度为 50 ng/μL)按体积比 9:1 混合后点于样品上,然后与样品在湿盒内 46℃ 杂交 90 min,所用探针和杂交条件如表 2 所示.

表 2 FISH 试验中所用探针及杂交条件						
Table 2 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes and hybridizing conditions in this study						
探针	序列(5' - 3')	特异性	靶位点(<i>E. coli</i>)	甲酰胺/%	NaCl/mmol · L ⁻¹	标记
NSM156	TATTAGCACATCTTTTCGAT	亚硝化单孢菌	156 ~ 174	5	25	Cy3(红色)
NSV443	CCGTGACCGTTTCGTTCCG	亚硝化螺菌	174-191	30	25	Cy3(红色)
EUB338	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	细菌类	338-355	20	170	FITC(绿色)

杂交结束后,用洗脱缓冲液(含相应浓度的氯化钠)洗脱载玻片,以除去未杂交的探针和杂交缓冲液,并在 48℃ 水浴中温育 10 min,然后用冰冷的超纯水冲洗后自然风干.杂交后样品采用共聚焦激光

扫描电镜 (CSLM, TCS2SP2, Leica, Germany) 观察, 所得图像使用 Adobe Photoshop 8.0 软件进行合成.

2 结果与讨论

2.1 MBR 在限氧条件下启动亚硝化反应

以前的研究表明, 合适的 pH 值 (8.0 左右)^[6]、较高的温度 (高于 30℃)^[7] 以及较低的溶解氧 (低于 0.5)^[8, 9] 利于 AOB 的富集, 同时能够抑制亚硝酸盐氧化菌 (NOB) 的生长. 因此, 为了加快反应器的启动时间, 将反应器的 pH 值、温度和溶解氧浓度分别控制在 7.5 ~ 8.0、30℃ ± 2℃ 和 < 0.5 mg/L. 在反应器接种污泥 24 h 之后, 将水力停留时间设定为 16 h.

随着试验的进行, 进水中氨氮的浓度逐步从 0.07 g/L 增加到 0.3 g/L. 通过监测反应器出水中 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 浓度随时间的变化, 以分析系统中亚硝酸盐积累阶段的运行情况. 从图 2 中可以看出, 反应器启动初期, 出水中 NO₃⁻-N 浓度先出现小幅增加, 后来随着进水中氨氮浓度的增加而逐渐降低, 而 NO₂⁻-N 浓度却稳步增加. 这说明 NOB 的活性在高温 (30℃ ± 2℃)、低溶解氧浓度 (< 0.5 mg/L) 条件下受到明显抑制. 而 AOB 由于其活性并没有受到影响, 数量逐渐增加, 最终成为反应器中的优势菌群, 造成了反应器中 NO₂⁻-N 的积累. 随后系统稳定运行至第 41 d, 出水中 ρ(NO₂⁻-N):ρ(NH₄⁺-N) 比接近 1.2:1^[10], 成功地实现了 NO₂⁻-N 的积累, 亚硝化启动成功.

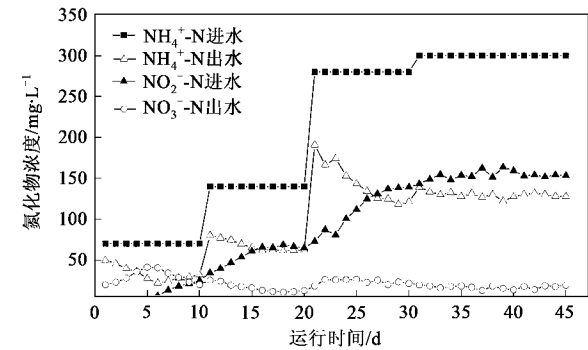


图 2 亚硝化启动阶段进水 NH₄⁺-N、出水 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 及 NO₃⁻-N 浓度随时间变化

Fig. 2 Time courses of NH₄⁺-N in the influent, and water quality of NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N in the effluent

2.2 温度对运行效果的影响

在反应器运行至第 46 d 开始研究温度对系统亚硝化效果的影响. 反应器的 pH 值维持在 8.0 左右, DO < 0.5 mg/L, 分别研究低温 (15 ~ 25℃, 不控

温) 和高温 (35℃ ± 1℃) 对出水结果的影响. 由图 3 可见, 反应器在第 46 ~ 68 d (低温阶段), 出水中 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 浓度发生了明显变化. 出水中 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 的浓度比例不断降低, 而 NO₃⁻-N 浓度则明显上升. 这说明在低温条件下, NOB 活性较强, 反应器中发生了完全硝化反应, 而 AOB 的活性较弱进而使亚硝化反应受到了一定抑制. 这表明, 仅仅控制 pH 值而不对温度控制是不能够实现 NO₂⁻-N 的积累, 这与 Ruiz 等^[11] 的研究结果相一致. 因此, 从第 69 d 开始将反应器的温度维持在 35℃ ± 1℃. 在 75 ~ 85 d, 反应器出水中各种氮化物浓度基本维持在稳定水平, 在高温, NH₄⁺-N 负荷平均 0.45 kg · (m³ · d)⁻¹ 的条件下, 出水中 NO₃⁻-N 的浓度低于 20 mg · L⁻¹, 利于 NO₂⁻-N 的积累.

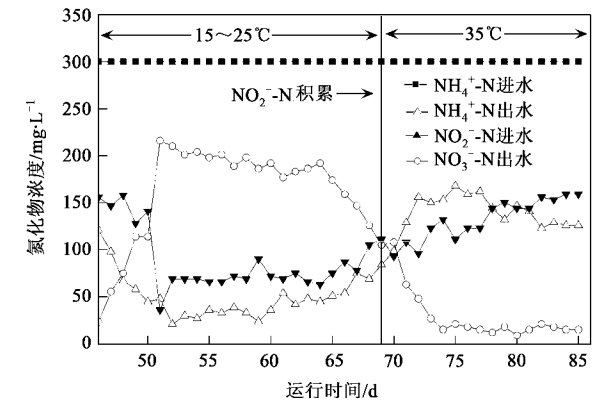


图 3 温度对出水 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 浓度的影响
Fig. 3 Effect of temperature on NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N concentration in the effluent

Balmelle 等^[12] 指出, 当温度高于 35℃ 时, NO₂⁻-N 的累积速度明显加快而 NO₃⁻-N 的形成却受到抑制, 表明在高温时 (≥ 35℃), AOB 的生长速率高于 NOB^[13]. 因此, 这些都说明将温度控制在 35℃ ± 1℃ 时, AOB 将会成为系统中的优势菌种, 在这种情况下, 能够实现 NO₂⁻-N 的积累并抑制 NO₃⁻-N 的形成. 同时也证明了温度是控制亚硝化反应的关键因素.

2.3 DO 对运行效果的影响

在反应器运行至第 86 d 开始研究 DO 对系统亚硝化效果的影响. 将反应器的 pH 值和温度分别控制在 7.9 ~ 8.1 和 35℃ ± 1℃. 由图 4 中可见, 随着 DO 浓度的升高, NH₄⁺-N 的去除率逐渐增加, 当 DO 浓度接近 1 mg/L 时, NH₄⁺-N 的去除率为 80% ~ 90%, 而其中 70% ~ 85% 转化为 NO₂⁻-N. 出水中 NO₂⁻-N: NH₄⁺-N 的浓度比在 1.2 ~ 9.6 范围内波动, 而 NO₃⁻-N

的浓度则略有上升趋势,说明在反应器中 AOB 始终是优势菌种.但试验的出水是另一厌氧氨氧化试验的进水,所以 $\text{NO}_2^- \text{-N}:\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的浓度比应接近 1.0. 上述的试验结果表明, $\text{NO}_2^- \text{-N}:\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的浓度比随着 DO 浓度的升高而变大,所以在第 110 d, 又将 DO 的浓度降到 0.3 ~ 0.5 mg/L. 随后当系统稳定运行, $\rho(\text{NO}_2^- \text{-N}):\rho(\text{NH}_4^+ \text{-N})$ 在 1.12 ~ 1.37 变化, 这一结果与 Strous 等^[14]和 Helmer 等^[10]所报道的结果接近. 这说明在低溶解氧条件下 (0.3 ~ 0.5 mg/L), NOB 受到明显抑制, 而 AOB 由于对氧具有较高的亲和力, 在低溶解氧条件下活性并没有受到抑制, 因而能够实现 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的积累. 同时也证明低 DO 浓度是能否实现亚硝化出水 $\rho(\text{NO}_2^- \text{-N}):\rho(\text{NH}_4^+ \text{-N})$ 接近 1.0 的关键控制因素.

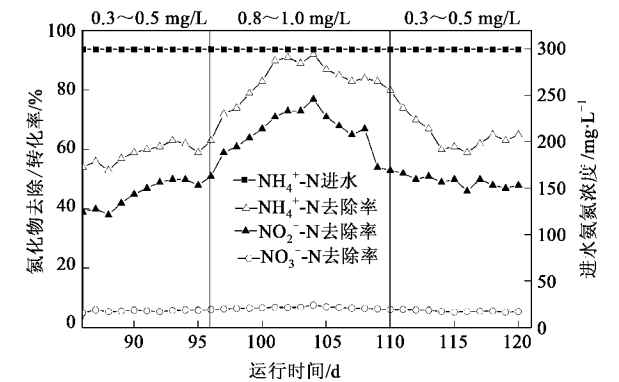


图 4 DO 对 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 去除率、出水 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 转化率的影响
Fig.4 Effect of DO on $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ removal efficiency, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ and $\text{NO}_3^- \text{-N}$ conversion efficiencies in the effluent

2.4 膜组件污染情况

通常,过膜阻力(trans-membrane pressure, TMP)会随着膜污染的加重而增加^[5],因此 TMP 可以作为指示膜污染的重要参数研究.在整个试验期间,TMP 的增长速度是缓慢的,基本每 70 ~ 72 d 对膜组件进行一次化学清洗即可(使用 1‰ ~ 2‰ 的次氯酸钠溶液浸泡 24 h),这说明较低的曝气量并没有引起严重的膜污染.

显然引起膜污染的因素不仅仅只是试验操作条件,可能同活性污泥的性质也有关,例如:粒径分布(sludge particle size distribution, PSD)、胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)、溶解性微生物产物(soluble microbial products, SMP)等^[15].尽管如此低的曝气量对膜的通透性有不利影响,但是试验所研究的自养型亚硝化污泥仅产生少量的膜污染物,说明自养型亚硝化污泥的性质不同于其它类型

的污泥,因而膜污染情况并不严重.

2.5 微生物群落结构特征

尽管已有很多报道 MBR 具有高效的持留作用,使微生物能够完全截流在反应器内,但是如何保证生长速率较低的氨氧化菌群成为反应器内的优势菌群,是启动 MBR 运行亚硝化工艺的关键问题.利用扫描电镜观察第 115 d 的微生物样品,从图 5A 可以看出,样品中存在大量的微生物絮体,进一步放大显示组成絮体的主要由几种大小不同的球菌和少数杆菌或丝菌组成,多数球菌直径约为 0.5 ~ 1 μm (图 5B),推测这类细菌可能是好氧的 AOB^[16].

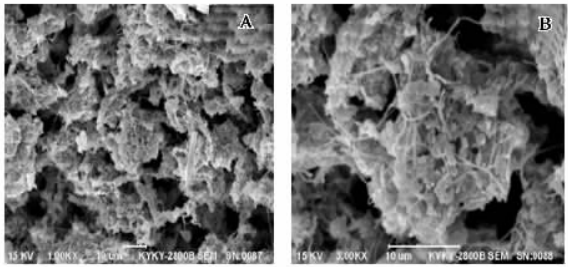


图 5 膜生物反应器中微生物扫描电镜照片
Fig.5 SEM photos of the microorganisms cultured in MBR

为了进一步考察 MBR 不同时期的微生物群落结构特性,分别在第 21 d 和第 105 d 采集微生物样品,固定后用相应的特异性荧光探针(NSM156、NSV443 和 EUB338)进行杂交.由于 AOB 是亚硝化过程的决定性因素,所以本试验没有准备 NOB 的特异性荧光探针,使用 FISH 技术仅观测 AOB 在反应器内的存在数量.

图 6A 和图 6B 分别为反应器运行至第 21 d 和第 105 d 的微生物样品 FISH 照片.可以看出,当反应器运行至第 105 d 时,杂交了 NSM156 和 NSV443 探针的氨氧化菌(红色)已经成为整个反应器中的优势菌种,而且其数量明显多于第 21 d.这说明反应器在经过连续 105 d 的低溶解氧条件运行,氨氧化菌群由于对溶解氧具有较高的亲和力^[17,18],因此活

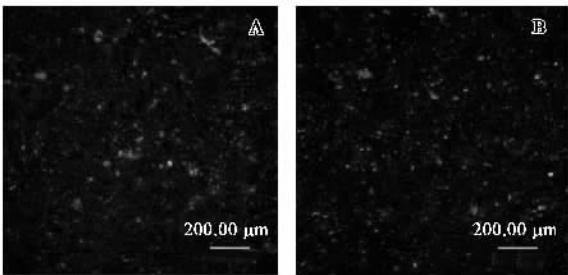


图 6 膜生物反应器微生物 FISH 照片
Fig.6 FISH micrographs of microorganisms obtained from MBR

性并没有受到明显影响,能够在低溶解氧条件下较好的生存,进而成为反应器中的优势菌种.而亚硝酸盐氧化菌群则对溶解氧变化极为敏感^[18,19],随着溶解氧浓度降低活性受到明显抑制,菌群数量逐渐降低,并进一步导致氧化成硝酸盐的过程受到抑制,造成亚硝酸盐的积累.

3 结论

(1) MBR 在运行过程中可以通过控制反应器 pH 值、温度和溶解氧浓度使亚硝酸盐氧化菌的活性受到抑制,从而使硝化反应部分停留在亚硝化阶段,NO₂⁻-N 发生了积累,实现了亚硝化工艺的启动.

(2) 控制反应器温度、NH₄⁺-N 负荷、溶解氧浓度分别在 35℃、0.45 kg·(m³·d)⁻¹ 和 <0.5 mg/L,可使反应器出水 ρ(NO₂⁻-N):ρ(NH₄⁺-N) 比接近 1.0,而 NO₃⁻-N 浓度低于 20 mg·L⁻¹.

(3) 在如此低的溶解氧浓度条件下,并没有出现严重的膜污染,说明自养型亚硝化污泥的性质不同于其它类型的污泥,因而膜污染情况并不严重.

(4) 通过 SEM 和 FISH 对微生物样品的观察表明,在低溶解氧条件下,氨氧化菌群成为反应器中的优势菌群.

参考文献:

- [1] Jetten M S M, Strous M, van de Pas-Schoonen K T, *et al.* The anaerobic oxidation of ammonium [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 1999, **22** (5): 421-437.
- [2] 廖德祥, 吴永明, 李小明, 等. 亚硝化-厌氧氨氧化联合工艺处理高含氮废水的研究 [J]. *环境科学*, 2006, **27**(9): 1776-1780.
- [3] Third K A, Kuenen J G, Kuenen J G. The CANON system (completely autotrophic nitrogen removal over nitrite) under ammonia limitation: Interaction and competition between three groups of bacteria [J]. *Syst Appl Microbiol*, 2001, **24**: 588-596.
- [4] Kuai L, Verstraete W. Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system [J]. *Appl Environ Microb*, 1998, **64**(11): 4500-4506.
- [5] Kumar S M, Madhu G M, Roy S. Fouling behaviour, regeneration options and on-line control of biomass-based power plant effluents using microporous ceramic membranes [J]. *Sep Purif Technol*, 2007, **57**(1): 25-36.
- [6] Anthonisen A C, Loehr R C, Prakasam T B S, *et al.* Inhibition of

- nitrification by ammonia and nitrous acid [J]. *J WPCF*, 1976, **48** (5): 835-852.
- [7] Van Dongen U, Jetten M S M, van Loosdrecht M C M. The SHARON-ANAMMOX process for treatment of ammonium rich wastewater [J]. *Water Sci Technol*, 2001, **44**: 153-160.
- [8] Bae W, Baek S C, Chung J W, *et al.* Nitrite accumulation in batch reactor under various operational conditions [J]. *Biodegradation*, 2002, **12**: 359-366.
- [9] Wang J L, Yang N. Partial nitrification under limited dissolved oxygen conditions [J]. *Process Biochem*, 2004, **39**: 1223-1229.
- [10] Helmer C, Tromm C, Hippen A, *et al.* Single stage biological nitrogen removal by nitrification and anaerobic ammonium oxidation in biofilm systems [J]. *Water Sci Technol*, 2001, **43**: 311-320.
- [11] Ruiz G, Jeison D, Chamy R. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration [J]. *Water Res*, 2003, **37**: 1371-1377.
- [12] Balmelle B, Nguyen K M, Capdeville B, *et al.* Study of factors controlling nitrite build-up in biological processes for water nitrification [J]. *Water Sci Technol*, 1992, **26** (5-6): 1017-1025.
- [13] Hellinga C, Schellen A A J C, Mulder J W, *et al.* The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich wastewater [J]. *Water Sci Technol*, 1998, **37**: 135-42.
- [14] Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, *et al.* The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [J]. *Appl Microbiol Biot*, 1998, **50**: 589-596.
- [15] Meng F G, Yang F L, Shi B Q, *et al.* A comprehensive study on membrane fouling in submerged membrane bioreactors operated under different aeration intensities [J]. *Sep Purif Technol*, 2008, **59**(1): 91-100.
- [16] Gong Z, Liu S T, Yang F L, *et al.* Characterization of functional microbial community in a membrane-aerated biofilm reactor operated for completely autotrophic nitrogen removal [J]. *Bioresour Technol*, **99**(8): 2749-2756.
- [17] Hao X, Heijnen J J, Van Loosdrecht M C M. Sensitivity analysis of a biofilm model describing a one-stage completely autotrophic nitrogen removal (CANON) process [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2002, **77**(3): 266-277.
- [18] Park H D, Noguera D R. Evaluating the effect of dissolved oxygen on ammonia-oxidizing bacterial communities in activated sludge [J]. *Water Res*, 2004, **38**(14-15): 3275-3286.
- [19] Zhang D, Xu H, Li X, *et al.* Oxygen-limited autotrophic nitrification and denitrification-A novel technology for biological nitrogen removal [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, **14** (12): 2333-2336.