

炭膜曝气生物膜反应器硝化作用及其微生物群落结构分析

刘惠军, 杨凤林*, 张捍民, 胡绍伟, 孙翠

(大连理工大学环境与生命学院, 大连 116024)

摘要:采用炭膜曝气生物膜反应器处理无机含氮废水, 通过改变进水氨氮浓度和水力停留时间, 研究了反应器硝化性能、氧利用情况以及氨氮去除负荷, 并对生物膜表面特性和硝化菌优势菌种进行分析。结果表明, 在膜内气压 0.017 MPa, 进水 NH_4^+ -N 50 mg/L, HRT 为 8 h 条件下, NH_4^+ -N 去除率达到 96%, 出水 NO_2^- -N 平均为 17 mg/L, 一定程度上实现了短程硝化, 炭膜所供给氧气被生物膜全部消耗; 系统比表面氨氮最大去除速率为 $9.7 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$, 炭膜表面有限的生物量制约了去除速率的进一步提高; 荧光原位杂交技术分析揭示生物膜内亚硝化单胞菌(*Nitrosomonas*)和亚硝化螺菌(*Nitrosospira*)为亚硝化细菌优势菌种, 分别占细菌总菌数的 19% 和 21%, 硝化螺菌(*Nitrospira*)为硝化细菌优势菌种, 占总菌数的 20%, 未检测到硝化杆菌(*Nitrobacter*)的存在。

关键词:炭膜曝气生物膜反应器; 氧的利用; 氨氮去除速率; 荧光原位杂交(FISH); 群落结构分析

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)09-2123-06

Nitrification Performance and Microbial Community Analysis in Carbon Membrane-Aerated Biofilm Reactor

LIU Hui-jun, YANG Feng-lin, ZHANG Han-min, HU Shao-wei, SUN Cui

(School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: A carbon membrane-aerated biofilm reactor was developed to treat nitrogenous inorganic wastewater. Influent NH_4^+ -N concentrations and HRT were changed to investigate nitrification performance of reactor, oxygen utilization and NH_4^+ -N's removal loading. Biofilm's surface characteristics and dominant bacteria of nitrifier were analyzed. The results show that under the conditions of intra-membrane pressure of 0.017 MPa, influent NH_4^+ -N of 50 mg/L and HRT of 8 h NH_4^+ -N removal efficiency reaches 96% and effluent average nitrite is 17 mg/L, which benefits short-cut nitrification to a certain extent. The bacteria within biofilm consume all oxygen supplied through carbon membrane. The maximum specific removal rate of NH_4^+ -N is $9.7 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$, which is limited by the amount of bacteria grown onto carbon membrane's surface. Fluorescent *in situ* hybridization analysis indicates that within the biofilm *Nitrosomonas* and *Nitrosospira* are main ammonia-oxidizing bacteria and occupy about 19% and 21% of the total bacteria number, respectively. The *Nitrobacter* are not observed and *Nitrospira* are dominant nitrite-oxidizing bacteria, the fraction of which is 20 % of total bacteria.

Key words: carbon membrane-aerated biofilm reactor (CMABR); oxygen utilization; removal rate of NH_4^+ -N; fluorescent *in situ* hybridization (FISH); community analysis

膜曝气生物膜反应器(membrane-aerated biofilm reactor, MABR)是一种近十几年来迅速发展起来的新型生物膜法水处理工艺。其结合了膜技术和生物膜技术, 膜组件既为生物膜提供氧气, 同时又是固着生物膜的载体。适当控制膜内气压使之低于泡点(膜表面起泡情况下的最低膜内气压), 膜内氧气透过膜壁直接向生物膜供氧而不产生气泡, 避免了传统曝气中液相边界层对氧的传质阻力, 氧利用率高^[1~3]。由于氧和底物在生物膜内部传递的异向性, 使MABR与传统污水处理工艺相比, 具有能耗低, 生物膜不易脱落和污泥产量低等优点。

目前国内外对MABR工艺进行了一系列研究, 主要集中在同时脱除有机物和氮以及生物相结构分

层方面^[4~6], 对系统硝化能力和菌落组成报道鲜见。本试验采用化学稳定性好的煤基炭膜作为MABR膜组件对无机含氮废水进行处理, 从氨氮硝化入手研究炭膜曝气生物膜反应器(CMABR)的氧利用情况及其硝化能力, 考察了生物膜内硝化菌群落结构, 以为CMABR的优化运行、降低运行费用提供一些试验依据。

收稿日期: 2006-11-09; 修订日期: 2007-01-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(50578023)

作者简介: 刘惠军(1972~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为膜曝气生物膜反应器, E-mail: lbj1130@sina.com

* 通讯联系人, E-mail: yangfl@dlut.edu.cn

1 材料与方法

1.1 试验装置

试验装置及流程如图1所示,原水由蠕动泵打入反应器,在与生物膜作用一段时间后,出水从反应器另一侧的溢流口排出。反应器有效容积2.5 L,通过调节进水蠕动泵转速来控制水力停留时间(HRT)。膜组件由28根孔径为 $3\text{ }\mu\text{m}$ ^[7]的炭管分5层平行错列而成,外径和内径分别为8.9 mm和4.7 mm,表面积为0.18 m²,其比表面积(炭膜表面积/反应器有效容积)为72 m²/m³。反应器底部放置磁力搅拌器,搅拌子快速旋转保证反应器内水体保持全混流状态,上端盖有盖子防止空气和水体之间氧气的传递。加热棒控制水温30℃±2℃,NaHCO₃溶液调节pH在7.5~8.0之间。

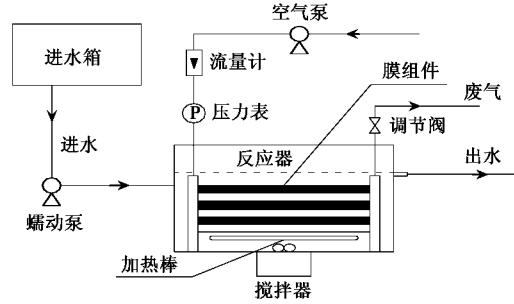


图1 炭膜曝气生物膜反应器系统流程

Fig.1 Schematic diagram of carbon membrane-aerated biofilm reactor

所用炭膜以煤为原材料经高温裂解炭化而成,具有机械强度高、化学稳定性好、成本低廉等特点。由于原料煤的价格较低,每单位面积的炭膜成本是中空纤维成本的1/3~1/2^[8,9]。

1.2 试验用水、分析方法及接种污泥

试验用水为合成无机含氮废水,由氯化铵、氯化钙、磷酸氢二钾和少量微量元素配制而成。其中氯化铵为进水中唯一氮源。 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N、 NO_3^- -N等均采用国家标准方法分析,水中溶氧浓度(DO)和pH分别采用溶解氧分析仪(YSI, USA)和pH计(Sartorius AG)测定。利用扫描电镜(SEM, KYKY-2800B, Beijing)观察生物膜表面结构。试验用种泥取自大连春柳河污水处理厂回流污泥池,其MLVSS/MLSS为0.58。

1.3 试验内容

本试验分为3个部分,首先在CMABR挂膜启动完成且系统稳定运行后,逐步降低炭膜内空压,监测 NH_4^+ -N去除和 NO_x^- -N的生成,目的是考察CMABR

硝化及氧利用情况。本部分为了控制进入系统的空气量采用死端式曝气方式,即气体从一端进入,在压力作用下全部进入反应器。第2部分是通过逐步增加进水 NH_4^+ -N浓度和降低HRT来提高进水氨氮负荷,考察不同进水负荷条件下CMABR对 NH_4^+ -N的去除效果,从而确定反应器最大硝化能力。本部分为了排出炭管内壁冷凝水采用贯通式曝气方式,即空气从膜组件一端进入管内腔,部分气体透过炭膜,剩余部分从另一端排出。最后,利用荧光原位杂交(fluorescent *in situ* hybridization, FISH)技术分析生物膜内部不同硝化菌种群分布情况,SEM镜检观察生物膜表面结构。

1.4 生物膜硝化活性的测定

取1根附着生物膜的炭膜超声波作用15 min,收集脱落的生物膜,磁力搅拌器打散使之均匀悬浮,去离子水清洗污泥3次后,投入预先定量的氯化铵溶液中(NH_4^+ -N约50 mg/L),监测 NH_4^+ -N浓度随时间的变化情况,根据悬浮液体积及炭膜表面积计算炭膜比表面积氨氮去除能力。

1.5 FISH样品制备及检测

在第1部分试验中,CMABR在气压0.025 MPa下稳定运行45 d后,用剃须刀切下部分生物膜FISH分析其种群结构。参照Manz等人提出的杂交程序^[10],采用如下杂交步骤,生物膜加入少许磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH=7.2)后玻璃棒搅拌,超声处理1 min使成悬浮液,8 000 r/min离心2 min去除上清液后,再用PBS溶液清洗2次。加入4%多聚甲醛4℃固定1 h,离心去除固定剂后,加入等体积的PBS和100%乙醇溶液-20℃保存。取适量样品涂于明胶包被的载玻片上,风干后分别用50%、80%及100%乙醇室温脱水3 min,自然风干。杂交缓冲液[0.9 mol/L NaCl, 20 mmol/L Tris-HCl(pH=7.2), 0.01% SDS, 甲酰胺浓度视探针而定]和探针(50 ng/ μL)按体积比9:1混合后与样品46℃湿盒内杂交90 min,所用探针和杂交条件如表1所示。杂交结束后,探针清洗液[20 mmol/L Tris-HCl(pH=7.2), 0.01% SDS, NaCl浓度视甲酰胺而定]48℃洗涤样品10 min,以除去未结合探针,用冰浴的超纯水冲洗后自然风干。利用DAPI(10 mg/L)复染所有微生物,室温下染色5 min,超纯水冲洗,空气风干。封片后用荧光显微镜(Olympus BX51)检测样品杂交信号。取2组生物膜样品,每个杂交试样至少观察20个不同的视野,以荧光面积为表征指标,利用显微镜自带的图象分析软件分析被检菌在全菌中的存在率。

表 1 FISH 试验中所用探针及杂交条件

Table 1 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes used in this study

探针	序列(5'-3')	特异属	甲酰胺 ¹⁾ /%	NaCl ²⁾ /mmol·L ⁻¹	参考文献
Nso190	CGATCCCTGCCTTCCTCC	β-亚纲变型菌中亚硝化细菌	55	20	[11]
Nsm156	TATTAGCACATCTTCGAT	亚硝化单孢菌	5	640	[11]
Nsv443	CCGTGACCGTTCTGTTCCG	亚硝化螺菌	30	112	[11]
NIT3	CCTGTGCTCCATGCTCCG	硝化杆菌	40	56	[12]
CNIT3 ³⁾	CCTGTGCTCCAGGCTCCG		40	56	[12]
Ntspa662	GGAATTCCGCCACGGTGTCC	硝化螺菌	35	80	[13]
CNtspa662 ⁴⁾	CGCCCTCGCCACGGTGTCC		35	80	[13]

1) 杂交缓冲液中甲酰胺浓度; 2) 探针清洗缓冲液中 NaCl 浓度; 3) 探针 NIT3 非标记竞争性探针; 4) 探针 Ntspa662 非标记竞争性探针

2 结果与讨论

2.1 CMABR 的硝化作用和氧利用效率

本部分进水 NH_4^+ -N 保持 50 mg/L 左右, 固定 HRT 为 8 h, 如图 2 所示逐步降低膜内气压。在膜内气压 0.025 MPa 下, 反应器挂膜启动^[7], 连续运行 7 d 后出水 NH_4^+ -N 降至 2 mg/L 以下, 氨氮转化率达到 95%, 出水硝态氮中大部分为 NO_2^- -N, 这主要是由于亚硝化菌优先在炭膜上生长繁殖, 而硝化细菌则因适应能力较弱, 生长缓慢, 造成了 NO_2^- -N 的初期积累。随着运行时间的增加, 硝化细菌逐渐适应和增殖, NO_3^- -N 浓度开始上升, 到 23 d 时达到 42 mg/L, 所去除氨氮几乎全部转化为硝酸氮, 此后系统进入稳定运行阶段, 溶液 DO 大于 1.8 mg/L。需要指出的是, 反应器进水 DO 为 (0.55 ± 0.12) mg/L, 因此气压 0.025 MPa 下炭膜所供给氧气部分进入了溶液。45 d 后膜内气压降到 0.017 MPa, 出水氨氮浓度保持稳定, 仍在 2 mg/L 左右, NO_2^- -N 开始积累, 积累率为 38%, DO 为 (0.54 ± 0.12) mg/L, 出水氧含量和进水基本持平, 炭膜所供给氧气被生物膜完全消耗掉, 不进入水中随出水带走。61 d 继续降低气压至 0.015 MPa, 平均出水氨氮浓度上升到 7.9 mg/L, NO_2^- -N 积累率同步提高, 出水 DO 为 (0.37 ± 0.09) mg/L, 生物膜除消耗炭膜所供给全部氧量, 还用掉了进水中的部分溶氧。77 d 后膜内气压为 0.012 MPa, NH_4^+ -N 达到 10 mg/L 以上, 溶液 DO 降至 (0.24 ± 0.07) mg/L, 出水 NO_2^- -N 积累率上升到 60%。分析原因, 一方面 2 类硝化菌受低溶解氧限制而硝化速率降低; 另一方面亚硝化菌对有限氧的竞争能力要强于硝化细菌^[14,15]。试验结果表明, 在较高压力下系统具有良好的氨氮去除能力; 可以通过调节膜内气压来控制氧的供给, 保证生物膜需氧的同时避免过量

曝气, 与氧转移效率低于 20% 的传统曝气设备相比较, 极大的降低了曝气所需能耗, 减小了运行费用; 气压低于 0.017 MPa 时, 由于亚硝化菌对有限氧的竞争要强于硝化细菌, 硝态氮大部分停留在 NO_2^- -N 状态, 造成 NO_2^- -N 积累, 一定程度上实现了短程硝化, 对于低碳氮比废水, 通过供氧控制可以实现短程硝化和反硝化同步进行, 达到降低能耗和碳源消耗的目的。

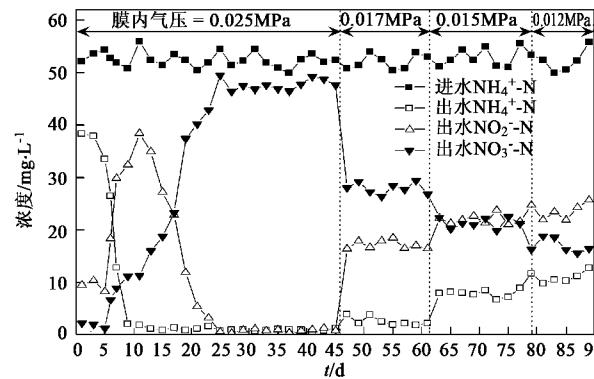


图 2 不同膜内气压下反应器硝化作用

Fig. 2 Nitrification in CMARR under different intra-membrane pressure

2.2 CMABR 氨氮去除负荷

本部分保持管内压力 0.025 MPa, 如表 2 所示逐步增加进水 NH_4^+ -N 浓度和降低 HRT 来提高氨氮进水负荷。

表 2 不同进水负荷下反应器运行条件

Table 2 Operating conditions under different NH_4^+ -N loading rates

项目	阶段			
	1	2	3	4
t/d	1~11	11~21	21~39	39~57
进水 NH_4^+ -N/mg·L ⁻¹	50~55	51~55	102~112	149~159
HRT/h	8	4	4	4

图3给出了反应器不同进水负荷下的运行效果.在前2个阶段,系统出水 NH_4^+ -N浓度低于2 mg/L,减少HRT未影响反应器的处理效果.第3阶段进水 NH_4^+ -N提高到100 mg/L,系统经历短暂的适应过程后出水 NH_4^+ -N仍然保持很低的浓度,平均为2.21 mg/L,水质几乎未随进水负荷的提高而变化,氨氮比表面去除速率达到 $8.55 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$.39 d后进水 NH_4^+ -N提高到150 mg/L后,出水 NH_4^+ -N上升到30 mg/L以上,溶液DO在1.2~1.5 mg/L之间波动.氨氮去除速率随进水负荷的增加而增大,但上升至 $9 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$ 时趋于平缓,最大值为 $9.7 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$.此时,水中较高溶氧表明供氧量不再是氨氮去除速率的限制性条件,为了分析制约氨氮去除速率的主要因素,批试验测定了生物膜硝化活性,计算得到炭膜表面积氨氮氧化能力为 $10.9 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$,可见进水氨氮负荷[$13.03 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$]已经超过了反应器处理能力,造成 NH_4^+ -N的积累.此外,生物膜氨氧化能力还有一小部分未发挥出来,究其原因是由于批试验条件和反应器实际运行条件有所不同,前者微生物处于悬浮状态,能够与 NH_4^+ -N充分接触,后者 NH_4^+ -N经扩散作用与微生物接触,生物膜内较低的底物浓度使实际硝化速率有所下降.因此,炭膜表面附着的有限生物量限制了反应器硝化能力的进一步提高,同时底物扩散作用也对其产生一定的制约作用.另外,前3个阶段出水 NO_2^- -N始终低于1.9 mg/L,氨氮几乎全部转化为 NO_2^- -N,而在第4阶段出水 NO_2^- -N浓度开始积累,这主要归因于高浓度游离氨对系统的硝化作用产生了抑制^[16].应该指出的是,虽然反应器氨氮比表面去除速率较高,但氨氮体积去除负荷[$0.67 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$]与其它MABR相比并不高^[4],主要是因为膜组件比表面积较小,降低了反应器内固液接触面积以及可附着生物量.在进一步研究中应该优化反应器结构,通过减小炭管直径和增加炭管数量来增大反应器比表面积,以提高其有效容积去除负荷.

2.3 生物膜种群结构分析及其表面特性

微生物在污水生化处理中起决定性作用,其种群的组成与数量很大程度上影响着出水质量.因此分析其结构对揭示生物处理机制以及优化运行条件是非常重要的.本研究利用FISH技术结合DAPI背景染色,以荧光面积为表征指标,通过图像分析对生物膜中硝化菌的多样性进行定性和半定量分析.

为考察生物膜内亚硝化菌主要菌属,采用亚硝

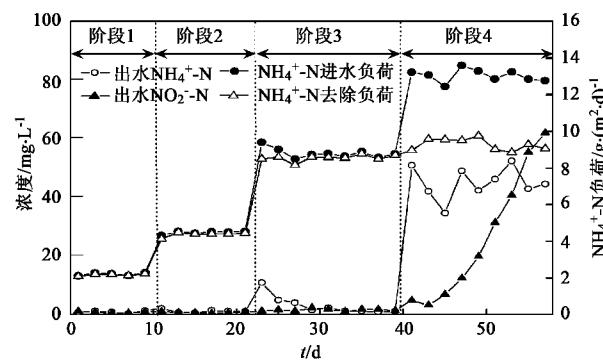


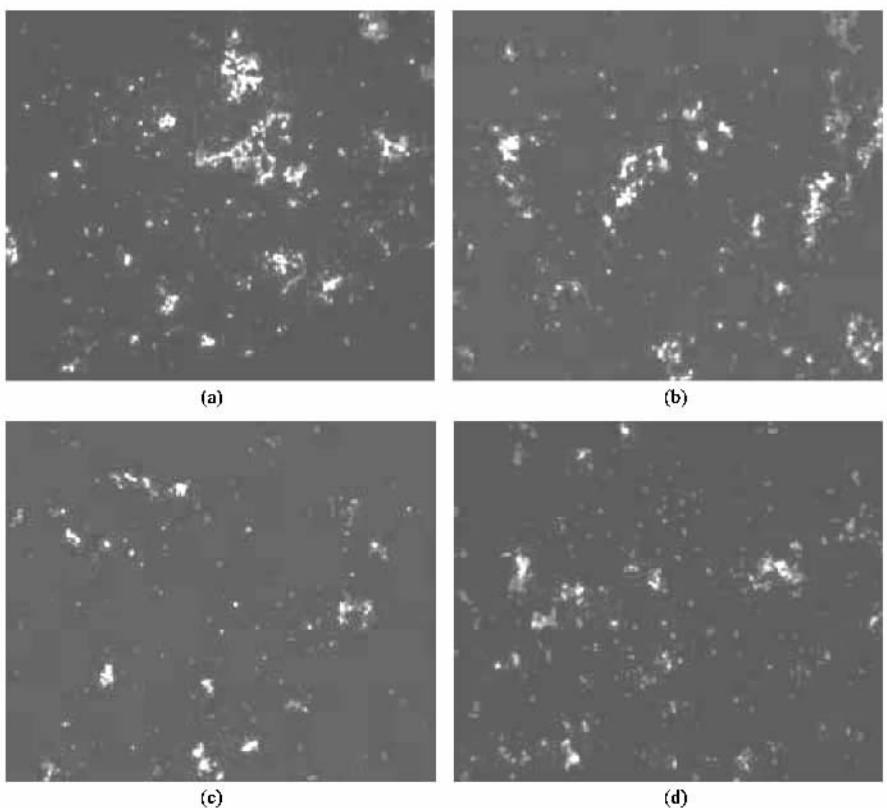
图3 不同 NH_4^+ -N进水负荷下反应器 NH_4^+ -N去除、硝化效果

Fig.3 Ammonia removal and nitrification performance of CMABR under different influent NH_4^+ -N loading rates

化菌特异探针 Nso190、亚硝化单胞菌群 (*Nitrosomonas*)特异探针 Nsm156 和亚硝化螺菌群 (*Nitrosospira*)特异探针 Nsv443 对微生物进行杂交,杂交结果分别如图4(a)、4(b)、4(c)所示.可以看出3种探针检测结果均呈荧光阳性,图像分析得到亚硝化菌占 DAPI 染色总菌数的($44 \pm 11\%$),亚硝化单胞菌 (*Nitrosomonas*)和亚硝化螺菌 (*Nitrosospira*)在数量上是不相上下的,分别占细胞总数的($19 \pm 6\%$)和($21 \pm 8\%$),表明亚硝化菌中至少有3种菌种存在,其中亚硝化单胞菌和亚硝化螺菌共同对氨氧化起主要作用.

为考察生物膜内硝化细菌主要菌属,采用硝化杆菌 (*Nitrobacter*)特异探针 NIT 3 和硝化螺菌 (*Nitrospira*)特异探针 Ntspa 662 对微生物进行杂交.图4(d)中红色信号揭示了硝化螺菌 (*Nitrospira*)的存在,分析得到该菌占细胞总数的($20 \pm 5\%$),而硝化杆菌 (*Nitrobacter*)几乎检测不到,丰度很低(图略),表明生物膜内起主要亚硝酸氧化作用的硝化细菌为硝化螺菌 (*Nitrospira*),是硝化细菌中优势菌属,笔者推测硝化杆菌仅在 DO 和 NO_2^- -N 浓度都较高的情况下才具有良好的活性.综上所述,亚硝化单胞菌、亚硝化螺菌和硝化螺菌共同作用完成系统的硝化过程,3者数量占总菌数 60% 以上,这为 CMABR 良好的硝化能力提供了微生物基础.

利用扫描电镜观察生物膜表面,结果如图5所示.生物膜表面细菌密度大,数量多,以球菌和杆菌为主,同时也存在着部分丝状菌,螺菌较少.而杂交实验显示螺菌为生物膜优势菌种,由此推断螺菌大多集中在 DO 相对较高的生物膜内部.此外,普通光学显微镜镜检发现较少数量的钟虫、线虫等原生动物,不含有机碳源的进水使系统生物食物链较短,生



图中蓝色: DAPI 复染; (a)绿色: 亚硝化菌探针 NSO190 杂交结果; (b)绿色: 亚硝化单胞菌探针 Nsm156 杂交结果;
(c)绿色: 亚硝化螺菌探针 Nsv443 杂交结果; (d)红色: 硝化螺菌探针 Ntspa662 杂交结果

图 4 生物膜悬浮液 FISH 照片

Fig. 4 FISH micrographs of suspension samples of biofilm

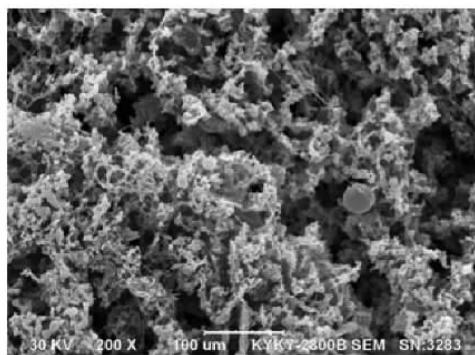


图 5 生物膜表面扫描电镜照片

Fig.5 SEM photos of the surface of biofilm

物相的结构相对简单。

3 结论

(1) 在膜内气压 0.017 MPa 下, CMABR 中生物膜消耗掉炭膜所供给全部氧气, 保证氨氮良好去除的同时又能避免氧的浪费, NO_2^- -N 发生了积累, 一

定程度上实现了短程硝化.

(2) 反应器最大比表面积氨氮去除负荷可以达到 $9.7 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$, 单位面积炭膜上有限的生物量以及生物膜内底物扩散作用限制了其进一步的提高.

(3) FISH 分析表明生物膜内起主要氨氧化作用的是亚硝化单胞菌群 (*Nitrosomonas*) 和亚硝化螺菌群 (*Nitrosospira*), 分别占细菌总菌数的 19% 和 21%; 起主要亚硝酸氧化作用的硝化菌为硝化螺菌 (*Nitrospira*), 占总菌数的 20%, 未检测到硝化杆菌 (*Nitrobacter*) 的存在.

参考文献:

- [1] Brindle K, Stephenson T, Semmens M J. Nitrification and oxygen utilization in membrane aeration bioreactor [J]. *J Membr Sci*, 1998, **144**: 197 ~ 209.
- [2] Terada A, Hibiya K, Nagai J, et al. Nitrogen removal characteristics and biofilm analysis of a membrane aerated biofilm reactor applicable to high strength nitrogenous wastewater treatment [J]. *J Biosci Bioeng*, 2003, **95**(2): 170 ~ 178.

- [3] Terada A, Yamamoto Y, Igarashi R, et al. Feasibility of a membrane aerated biofilm reactor to achieve controllable nitrification [J]. Biochem Eng J, 2006, **28**(2): 123~130.
- [4] Semmens M J, Dahm K, Shanahan J, et al. COD and nitrogen removal by biofilms growing on gas permeable membranes [J]. Water Res, 2003, **37**(18): 4343~4350.
- [5] Satoh H, Ono H, Rulin B, et al. Macroscale and microscale analyses of nitrification and denitrification in biofilms attached on membrane aerated biofilm reactors [J]. Water Res, 2004, **38**(6): 1633~1641.
- [6] Hibiya K, Terada A, Tsuneda S, et al. Simultaneous nitrification and denitrification by controlling vertical and horizontal microenvironment in a membrane-aerated biofilm reactor [J]. J Biotechnol, 2003, **100**(1): 23~32.
- [7] 刘惠军, 杨凤林, 胡绍伟, 等. 炭膜曝气生物膜反应器处理生活污水运行特性研究[J]. 环境科学, 2007, **28**(3): 522~527.
- [8] Ismail A F, David L I B. A review on the latest development of carbon membranes for gas separation [J]. J Membr Sci, 2001, **193**(1): 1~18.
- [9] 王同华, 刘淑琴, 尤隆渤. 煤基管状炭膜支撑体的研究(1)原料性质对支撑体孔结构性能的影响 [J]. 煤炭转化, 1998, **21**(3): 73~76.
- [10] Manz W, Amann R, Ludwig W, et al. Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of proteobacteria: problems and solutions [J]. Syst Appl Microbiol, 1992, **15**(44): 593~600.
- [11] Mobarry B K, Wagner M, Urbain V, et al. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria [J]. Appl Environ Microbiol, 1996, **62**(7): 2156~2162.
- [12] Wagner M, Rath G, Koops H P, et al. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants [J]. Water Sci Technol, 1996, **34**(1/2): 237~244.
- [13] Daims H, Nielsen P H, Nielsen J L, et al. Novel Nitrospira-like bacteria as dominant nitrite oxidizers in biofilms from wastewater treatment plants: diversity and in situ physiology [J]. Water Sci Technol, 2000, **41**: 85~90.
- [14] Hanaki K, Wantawin C, Ohgaki S. Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended growth reactor [J]. Water Res, 1990, **24**(3): 279~302.
- [15] Laanbroek H J, Gerards S. Competition for limiting amounts of oxygen between *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter winogradskyi* grown in mixed continuous cultures [J]. Arch Microbiol, 1993, **159**: 453~459.
- [16] Anthonisen A C, Loehr R C, Prakasam T B S, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid [J]. J Water Pollut Control Fed, 1976, **48**: 35~52.