

启动炭管膜曝气生物膜反应器实现全程自养脱氮

宫正^{1,2}, 刘思彤¹, 杨凤林^{1*}, 张捍民¹, 孟军¹

(1. 大连理工大学环境与生命学院, 大连 116024; 2. 辽宁科技学院生化系, 本溪 117002)

摘要: 启动包裹无纺布的多微孔炭管为膜组件的膜曝气生物膜反应器(MABR), 实现基于短程硝化和厌氧氨氧化的完全自养脱氮. 首先接种普通硝化污泥启动反应器, 在温度 35℃, pH 为 7.9 条件下, 通过对膜内腔压力的适当控制逐步降低反应器溶解氧浓度, 实现亚硝酸盐的积累. 然后再次接种厌氧氨氧化污泥, 使无纺布上形成好氧氨氧化菌与厌氧氨氧化菌稳定共存的膜曝气生物膜, 从而实现全程自养脱氮. 结果表明, 经过 120 d 连续运行, 在膜内压力为 0.015 MPa, 水力停留时间 6 h, 进水 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为 200 mg/L $\pm$ 10 mg/L 条件下, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 转化率达到 88.7%, 出水总氮平均为 48.65 mg/L, 总氮去除率达到 83.77%. 荧光原位杂交(fluorescent in situ hybridization, FISH)分析表明, 好氧氨氧化菌(AOB)和厌氧氨氧化菌作为主要功能菌群分别控制着靠近炭管膜/生物膜界面区域和靠近生物膜/液体界面区域.

关键词: 膜曝气生物膜反应器; 全程自养脱氮; 厌氧氨氧化; 生物膜; 短程硝化

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)05-1221-06

Start-Up of Carbon Tube Membrane-aerated Biofilm Reactor for Completely Autotrophic Nitrogen Removal

GONG Zheng^{1,2}, LIU Si-tong¹, YANG Feng-lin¹, ZHANG Han-min¹, MENG Jun¹

(1. School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China; 2. Department of Biological and Chemical Science and Technology, Liaoning Institute Science and Technology, Benxi 117002, China)

Abstract: A laboratory-scale membrane-aerated biofilm bioreactor (MABR) equipped with nonwoven fabrics support around the gas-permeable carbon tube was developed for single-stage autotrophic nitrogen removal based on partial nitrification and anaerobic ammonium oxidation. Initially, the reactor was inoculated with nitrifying biomass. By decreasing the air pressure in the lumen of carbon tube step by step, We can obtain stable nitrite accumulation. Subsequently, the reactor was reinoculated with Anammox biomass to construct a quite stable biofilm system for completely autotrophic N removal. After 120 d of operation, 88.7% of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ removal rate, 48.65 mg/L of average TN in the effluent, 83.77% of maximal TN removal efficiency was achieved under the following conditions: air pressure of 0.015 MPa, HRT of 6 h, and influent $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ of 200 mg/L $\pm$ 10 mg/L.

Key words: membrane-aerated biofilm reactor (MABR); completely autotrophic nitrogen removal (CANON); ANAMMOX; biofilm; short-cut nitrification

基于短程硝化和厌氧氨氧化的完全自养脱氮(completely autotrophic nitrogen removal over nitrite, CANON), 作为一种高效低耗的简捷脱氮工艺成为目前国内外高氨氮废水处理领域的研究热点^[1, 2]. 该工艺通过控制溶解氧(DO)浓度分别在生物膜的不同厚度形成好氧区和厌氧区, 使好氧氨氧化菌(AOB)在好氧区将氨氮部分氧化成亚硝酸, 产生的亚硝酸与部分剩余的氨氮在厌氧区发生 ANAMMOX 反应生成氮气^[1, 3-5]. 研究表明, 提高氧传质速率和生物持留能力是提高 CANON 工艺负荷, 维持反应器内 AOB 和厌氧氨氧化菌群动态平衡, 进而保证工艺长期稳定运行的关键^[6].

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^[7]. 高效的氧传质速率、巨大的生物膜载体比表面积和内外分层的特殊生物膜

结构使该工艺在高浓度废水的处理中具有明显优势^[8]. MABR 特有的好氧菌与厌氧菌群共存的生物膜结构和生物膜内部底物传递的异向性^[9], 使其运行 CANON 工艺成为可能. 多种群生物膜模型模拟结果显示, MABR 运行 CANON 工艺比传统生物膜法拥有更多的优势和更大的应用潜力^[10]. 迄今为止, 关于该方面的实践研究国内外还鲜见报道. 本试验以包裹无纺布的多微孔炭管作为生物膜载体和供氧装置, 对启动炭管膜曝气生物膜反应器实现全程自养脱氮的可行性进行研究.

收稿日期: 2007-05-28; 修订日期: 2007-08-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(50578023)

作者简介: 宫正(1975~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为完全自养生物脱氮, E-mail: papergong@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: yangfl@dlut.edu.cn

1 材料与方法

1.1 模拟废水

模拟废水组成($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.2 ± 0.01 , KHCO_3 1.25, KH_2PO_4 0.025, $\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.3, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, FeSO_4 0.006 25, EDTA 0.006 25. 微量元素溶液 1.25 mL/L.

微量元素溶液组成($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): EDTA 15, $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.43, $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.24, $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.99, $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.25, $\text{NaMoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.22, $\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.19, $\text{NaSeO}_4\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0.21, H_3BO_4 0.014, $\text{NaWO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05.

1.2 试验装置

试验装置及流程如图 1 所示. 反应器由有机玻璃柱制成, 上端加盖, 有效容积 4 L, 试验期间控制水力停留时间(HRT)6 h. 膜组件由 4 根长 25 cm 的多微孔炭管膜等距离垂直排列组成, 空气从膜组件底端的封头进入炭管膜内腔, 部分气体透过膜壁进入反应器, 剩余部分从另一端排除, 空气流量通过进口流量计和出口阀门控制. 所用炭管是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, 其外径和内径分别为 8.9 mm 和 4.7 mm, 孔径为 $0.1\sim 0.3\text{ }\mu\text{m}$. 每根炭管用长 20 cm、宽 2 cm、厚 0.5 cm 的无纺布条包裹以增加反应器对生物的持留能力. 设置机械搅拌系统(旋转速度为 100 r/min)以保证反应器内水体保持全混流状态, 设置水浴保温夹套控制水温在 $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, NaHCO_3 溶液调节 pH 在 7.5~8.0 之间.

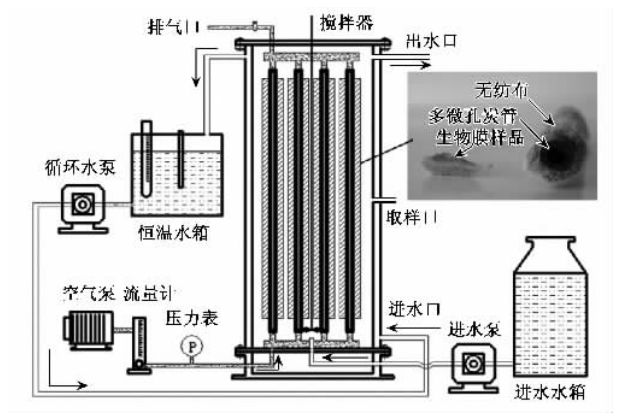


图 1 炭管膜曝气生物膜反应器系统流程示意
Fig.1 Schematic diagram of carbon tube membrane-aerated biofilm reactor

1.3 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, 总氮采用 TOC(TOC-VCPH, Shimadzu)分析仪测定. 水中溶解氧浓度(DO)和 pH 分别采用溶解氧分析仪(YSI, Model 55, USA)和 pH 计(Sartorius AG)测定. 利用扫描电镜(SEM, JEOL JSM-5600LV, Tokyo, Japan)观察生物膜表面结构. 反应器第 1 阶段接种的普通硝化污泥污泥($\text{MLSS} = 5.6\text{ g/L}$)取自一个序批式膜生物反应器^[11]. 第 2 阶段接种的厌氧氨氧化污泥($\text{MLSS} = 3.4\text{ g/L}$)取自一个固定床生物膜反应器^[12].

1.4 试验方法

本试验共分 2 个阶段: 第 1 阶段, 将 2 L 普通硝化污泥和等体积废水混合后投入反应器, 连续闷曝 2 d 后, 排出悬浮污泥, 然后在温度和 pH 固定的条件下, 通过逐步降低炭管膜内腔压力从而降低反应器内溶解氧, 最终从反应器内将亚硝酸盐氧化细菌洗脱, 实现亚硝酸盐积累, 为可能发生的厌氧氨氧化反应创造条件. 当反应器出水中氨氮和亚硝酸盐氮浓度的比例接近 1:1 时, 反应器进入第 2 阶段; 在第 2 阶段, 先取 4 L 厌氧氨氧化污泥静置 30 min 后, 弃去上清液, 并将沉淀的污泥投入反应器启动 CANON 工艺, 通过进一步调节炭管膜内腔压力控制生物膜内形成好氧层和厌氧层同时存在的分层结构, 使 AOB 菌群和厌氧氨氧化菌群在生物膜内协同共生, 进行短程硝化和厌氧氨氧化, 实现全程自养生物脱氮.

1.5 生物膜样品制备及特性分析

用无菌剃须刀切下一小块附着生物膜的无纺布条, 一部分无纺布样品被固定、脱水、喷金后用于扫描电镜观察; 另一部分用消过毒的毛刷轻轻刷下其上附着的生物膜样品, 并立刻用新鲜配制的 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°C 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°C 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 和 Cy5 结合的探针在杂交缓冲液中的浓度为 $20\text{ ng}/\mu\text{L}$, 而与荧光染料 Fluos 结合的探针在杂交缓冲液中的浓度为 $50\text{ ng}/\mu\text{L}$)按体积比 9:1 混合后点于样品上, 然后与样品在湿盒内 46°C 杂交 90 min, 所用探针和杂交条件如表 1 所示.

表 1 FISH 试验中所用探针及杂交条件
Table 1 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes

探针	特异性	靶位点(<i>E. coli</i>)	甲酰胺/%	NaCl/mmol·L ⁻¹	标记	参考文献
NSO190	AOB in the <i>β-Proteobacteria</i>	190 ~ 208	40	25	Cy3(红色)	[13]
NIT3	<i>Nitrobacter</i> spp.	1 035 ~ 1 048	40	25	Cy5(蓝色)	[14]
NSR1156	<i>Nitrobacter</i> spp.	1 156 ~ 1 173	30	112	Cy5(蓝色)	[15]
PLA46	<i>Planctomycetales</i>	46 ~ 63	30	159	Cy5(蓝色)	[16]
AMX820	<i>Cand. "Brocadia anammoxidans"</i>	820 ~ 841	40	56	Cy5(蓝色)	[17]
	<i>Cand. "Kuenenia stuttgartiensis"</i>					
EUB338 plus	Eubacteria	338 ~ 355	20	170	FITC(绿色)	[18]

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, TCS-SP2, Leica, Germany)观察,图像采用 Image pro Plus 4.0 软件进行统计分析.

2 结果与讨论

2.1 MABR 在限氧条件下实现亚硝酸盐积累阶段

反应器直接接种硝化污泥进行挂膜,随着生物膜生长,炭管膜内腔压力由 0.04 MPa 被逐渐调至 0.015 MPa,从而使反应器 DO 浓度从 8.5 mg/L 逐步降低,最终被控制在 < 0.5 mg/L 范围内,使反应器进入限氧运行状态.通过监测反应器 DO 浓度,出水 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 及 NO₃⁻-N 浓度随时间变化,对系统亚硝酸盐积累阶段的运行情况进行研究.由图 2 可见,在开始启动的 25 d 内,随着 DO 浓度的下降,出水中 NO₃⁻-N 浓度从 79.8 mg/L 降至 20 mg/L,而 NO₂⁻-N 浓度却逐渐增加至 80 mg/L.这说明在高温(35℃ ± 2℃),低溶解氧浓度(0.1 ~ 0.5 mg/L)条件下,亚硝酸氧化细菌受到明显抑制,而 AOB 由于在低溶解氧条件下对氧具有较高的亲和力,活性并不受此影响,数量逐渐增加,最终成为生物膜上的优势菌群,造成了反应器中 NO₂⁻-N 的积累.随后系统稳定运行至第 42 d,出水中 NH₄⁺-N:NO₂⁻-N 的浓度比接近 1.2:1,成功地实现了亚硝酸盐的积累,为进一步可能发生的厌氧氨氧化反应创造了理想的环境.

2.2 接种厌氧氨氧化污泥启动 CANON 工艺阶段

反应器在第 43 d 接种厌氧氨氧化污泥以启动 CANON 工艺.由图 3、4 可见,MABR 在第 43 ~ 85 d,随着厌氧氨氧化污泥的投加,反应器出水中 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 和 TN 浓度发生了明显的变化.出水中 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 浓度成比例的不断降低,而 NO₃⁻-N 浓度则略微有上升趋势,同时出水中 TN 浓

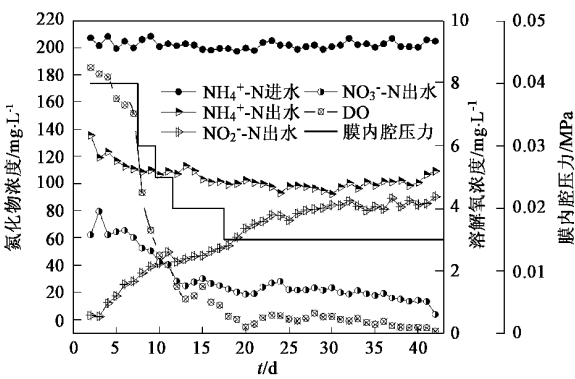


图 2 MABR 在亚硝酸盐积累阶段膜内腔压力、DO 浓度、进水 NH₄⁺-N、出水 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 及 NO₃⁻-N 浓度随时间变化
Fig.2 Time courses of air pressure, DO, NH₄⁺-N in the influent, and water quality of NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N in the effluent

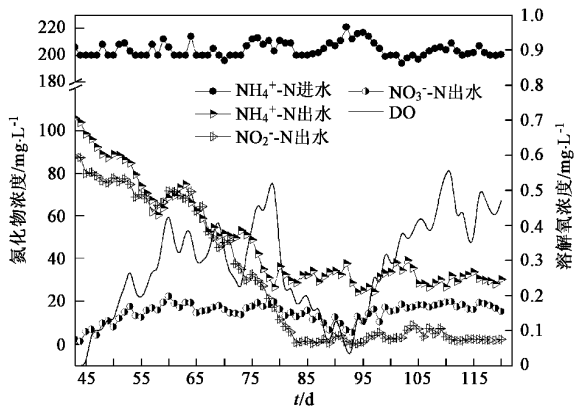


图 3 MABR 在运行 CANON 工艺阶段 DO 浓度、进水 NH₄⁺-N、出水 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 及 NO₃⁻-N 浓度随时间变化
Fig.3 Time courses of NH₄⁺-N in the influent, DO and water quality of NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N in the effluent

度显著降低.这说明接种的厌氧氨氧化污泥在 MABR 系统中仍然保持较高活性,它们能够凭借膜曝气生物膜中好氧层和厌氧层共同存在的特殊结构,在炭管膜外的无纺布上形成与 AOB 菌群稳定共存的膜曝气生物膜,并在厌氧层内利用剩余的

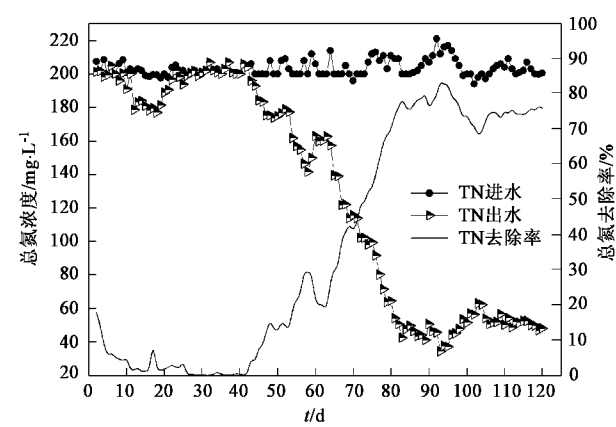


图4 MABR在试验期间总氮去除率、进水和出水总氮浓度随时间变化

Fig.4 Time courses of TN removal rate, TN in the influent and effluent

$\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 AOB 氧化氨氮产生的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 发生厌氧氨氧化反应.在第 85 ~ 120 d,反应器出水中各种氮素浓度基本维持在稳定水平,在膜内压力为 0.015 MPa, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 负荷平均 $0.8 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 的条件下, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 转化率达到 88.7%,出水总氮平均为 48.65 mg/L,总氮去除率达到 83.77%.结果表明,本研究中运行完全自养脱氮工艺的 MABR 被成功启动并实现稳定运行.

2.3 膜曝气生物膜特性及微生物种群结构

尽管多种群生物膜模型模拟结果显示 MABR 运行 CANON 工艺比传统生物膜法拥有更多的优势和更大的应用潜力,但是如何提高 MABR 对微生物的持留能力,保证反应器内生长速率较低的厌氧氨氧化菌群数量,是启动 MABR 运行 CANON 工艺的关键问题.以无纺布包裹微孔炭管作为膜组件的 MABR 在试验中表现出极佳的生物持留能力,当接种污泥投入反应器后,很快吸附在无纺布上,随着反应器的运行逐渐形成生物膜.利用扫描电镜观察第 110 d 的生物膜样品,从图 5A 可以看出,在无纺布纤维间

隙和纤维表面存在大量的生物膜絮体,进一步放大显示这些组成生物膜的絮体主要由 2 种形态特征细菌构成:一种是直径 $1 \mu\text{m}$ 左右球菌(图 5B),这类细菌主要分布在样品中靠近炭管膜一侧,可能是好氧的 AOB;另一种细菌主要分布在远离炭管膜侧,聚集成类似花椰菜状的聚集体(图 5C),这和 Egli 等^[4]发现的厌氧氨氧化细菌的特征极其相似.

为了进一步考察 MABR 不同时期的生物膜上微生物群落结构特性,分别在第 42 d 和第 96 d 采集生物膜样品,固定后用相应的特异性荧光探针(Nso190、NIT3、NSR1156、AMX820、PLA46 和 EUB338 plus)进行杂交.根据 FISH 的显微镜图片(图 6),用 Image pro plus 4.0 分析软件进行分析,得到了 MABR 在启动过程中的 2 个主要时期的微生物菌群分布和组成情况.

应用特异性荧光探针(Nso190、NIT3、NSR1156 和 EUB338 plus)对第 42 d 生物膜进行杂交,FISH 结果(图 6A)显示,曝气生物膜上微生物菌群主要以杂交 Nso190 探针的氨氧化菌(橙红色)为主,极少部分杂交 NIT3 或 NSR1156 探针的亚硝酸盐氧化细菌(青色)也可以被检测到,但菌群比例则远远低于氨氧化菌群.这说明反应器在接种硝化污泥后,经过连续 42 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^[19, 20],因此活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;而亚硝酸盐氧化菌群则对溶解氧变化极为敏感^[20, 21],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.

应用特异性荧光探针(Nso190、AMX820、PLA46 和 EUB338 plus)对第 96 d 生物膜进行杂交,FISH 结果(图 6 B)显示,反应器运行至 96 d 时,曝气生物膜上微生物菌群主要以杂交 Nso190 探针的氨氧化菌(橙红色)和杂交 AMX820 或 PLA46 探针的厌氧氨氧

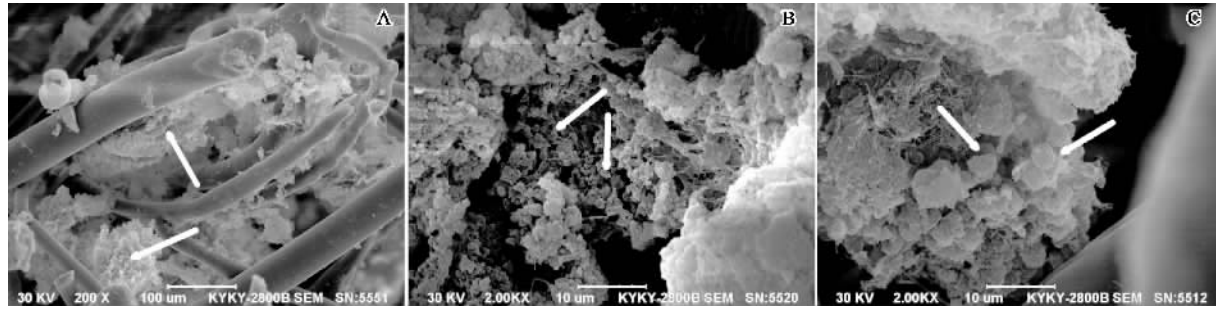


图5 无纺布上生物膜扫描电镜照片

Fig.5 SEM photos of the biofilm cultured on the nonwoven fabrics

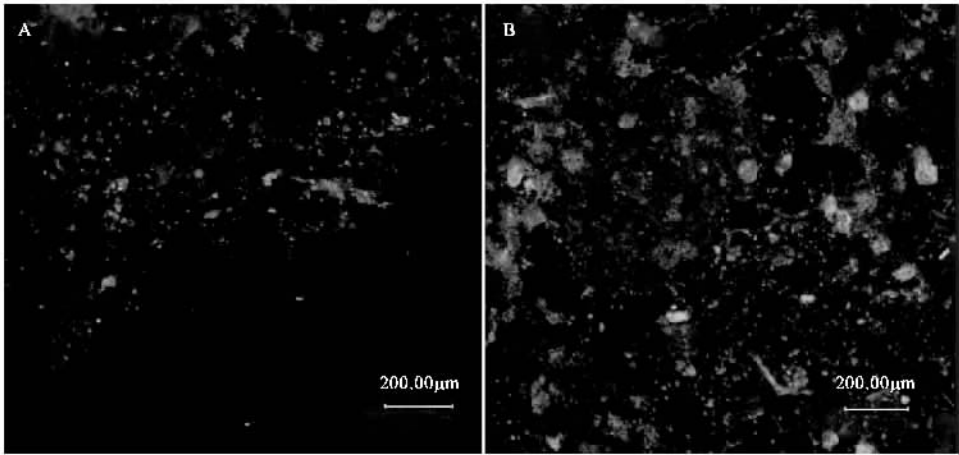


图6 膜曝气生物膜 FISH 照片

Fig.6 FISH micrographs of biofilm samples obtained from MABR

化菌(青色)为主,而且 2 类细菌在生物膜内呈分层结构排列,这说明 MABR 在第 43 d 再次接种厌氧氨氧化污泥后,在炭管膜外包裹的无纺布上形成了好氧氨氧化菌与厌氧氨氧化菌稳定共存的膜曝气生物膜.根据膜曝气生物膜同时存在好氧层(膜/生物膜交界面)和厌氧层(生物膜/液体交界面)这一特性^[22],可以推断,好氧氨氧化菌群应该主要分布在靠近炭管膜/生物膜交界面的好氧层,负责将部分 NH_4^+ -N 氧化成 NO_2^- -N,而厌氧氨氧化菌群在靠近生物膜/液体交界面的厌氧层,利用好氧氨氧化菌产生的 NO_2^- -N 和部分剩余的 NH_4^+ -N 发生厌氧氨氧化反应,从而使 MABR 实现基于短程硝化和厌氧氨氧化的 CANON 工艺.

3 结论

(1)MABR 运行过程中可以通过调节膜内气压控制氧气的供给,在连续低溶解氧条件下,由于氨氧化细菌对有限氧的竞争要强于亚硝酸盐细菌,使后者活性受到明显抑制,从而使硝化反应部分停留在亚硝化阶段, NO_2^- -N 发生了积累,一定程度上实现了短程硝化.

(2)利用膜曝气生物膜独特的好氧层和厌氧层共存的分层结构,通过在实现亚硝酸盐积累的 MABR 系统中接种厌氧氨氧化污泥,可以使好氧氨氧化细菌和厌氧氨氧化细菌共存于同一个生物膜系统,发生基于短程硝化和厌氧氨氧化的全程自养脱氮.

(3)采用包裹无纺布的多微孔炭管为膜组件的膜曝气生物膜反应器(MABR),可以有效的提高反

应器对生物的持留能力,使生长缓慢的厌氧氨氧化细菌得到有效的富集,从而保证 CANON 工艺的稳定运行.

(4)膜曝气生物膜对氧质极高的利用效率,使 MABR 系统具有较强的自养脱氮能力,在膜内压力为 0.015 MPa,水力停留时间 6 h,进水 NH_4^+ -N 为 200 mg/L $\pm$ 10 mg/L 条件下, NH_4^+ -N 转化率达到 88.7%,出水总氮平均为 48.65 mg/L,总氮去除率达到 83.77%.

参考文献:

[1] Nielsen M, Bollmann A, Sliekers O, *et al.* Kinetics, diffusional limitation and microscale distribution of chemistry and organisms in a CANON reactor [J]. FEMS Microb Ecol, 2005, **51**(2): 247-256.

[2] Thirld K A, Sliekers A O, Kuenen J G, *et al.* The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: Interaction and competition between three groups of bacteria [J]. Syst Appl Microbiol. 2001, **24**(4): 588-596.

[3] Hao X, Heijnen J J, Van Loosdrecht M C. Sensitivity analysis of a biofilm model describing a one-stage completely autotrophic nitrogen removal (CANON) process [J]. Biotechnol Bioeng, 2002, **77**(3): 266-277.

[4] Egli K, Bosshard F, Werlen C, *et al.* Microbial composition and structure of a rotating biological contactor biofilm treating ammonium-rich wastewater without organic carbon [J]. Microb Ecol, 2003, **45** (4): 419-432.

[5] Strous M, Van Gerven E, Kuenen J G, *et al.* Effects of Aerobic and Microaerobic Conditions on Anaerobic Ammonium-Oxidizing (Anammox) Sludge [J]. Appl Environ Microbiol, 1997, **63**(6): 2446-2448.

[6] Sliekers A O, Thirld K A, Abma W, *et al.* CANON and Anammox in a gas-lift reactor [J]. FEMS Microbiol Lett, 2003, **218**(2): 339-344.

- [7] Casey E, Glennon B, Hamer G. Review of membrane aerated biofilm reactors [J]. Resources, Conservation and Recycling, 1999, **27**(1-2): 203-215.
- [8] Terada A, Yamamoto T, Igarashi R, *et al.* Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve controllable nitrification [J]. Biochem Eng J, 2006, **28**(2): 123-130.
- [9] 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.
- [10] Terada A, Lackner S, Tsuneda S, *et al.* Redox-stratification controlled biofilm (ReSCoBi) for completely autotrophic nitrogen removal: The effect of coversus counter-diffusion on reactor performance [J]. Biotechnol Bioeng, 2006, **97**(1):40-51.
- [11] Zhang H M, Xiao J N, Cheng Y J, *et al.* Comparison between a sequencing batch membrane bioreactor and a conventional membrane bioreactor [J]. Process Biochem, 2006, **41**(1): 87-95.
- [12] Furukawa K, Rouse J D, Bhatti Z I, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in continuous flow treatment with non-woven biomass carrier. In: Proceedings of the ISEB Fifth International Symposium on Environmental Biotechnology, Kyoto, Japan. The International Society for Environmental Biotechnology, Waterloo, ON, Canada, 2000.
- [13] Biesterfeld S, Figueroa L, Hernandez M, *et al.* Quantification of nitrifying bacterial populations in a full-scale nitrifying trickling filter using fluorescent in situ hybridization [J]. Water Environ Res, 2001, **73**(3): 329-338.
- [14] Kim D J, Seo D. Selective enrichment and granulation of ammonia oxidizers in a sequencing batch airlift reactor [J]. Process Biochem, 2006, **41**(5): 1055-1062.
- [15] Kim D J, Kim T K, Choi E J, *et al.* Fluorescence *in situ* hybridization analysis of nitrifiers in piggery wastewater treatment reactors [J]. Water Sci Technol, 2004, **49**(5-6): 333-340.
- [16] Neef A, Amann R, Schlesner H, *et al.* Monitoring a widespread bacterial group: In situ detection of planctomycetes with 16S rRNA-targeted probes [J]. Microbiology, 1998, **144**(12): 3257-3266.
- [17] Schmid M C, Maas B, Dapena A, *et al.* Biomarkers for in situ detection of anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) bacteria [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, **71**(4): 1677-1684.
- [18] Christensen H, Hansen M, Sensen J. Counting and size classification of active soil bacteria by fluorescence in situ hybridization with an rRNA oligonucleotide probe [J]. Appl Environ Microbiol, 1999, **65**(4): 1753-1761.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 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.