

纯种氨氧化细菌 *Comamonas aquatic* LNL₃ 的固定化及短程硝化性能研究

李正魁, 石鲁娜, 杨竹攸, 张晓姣, 王月明, 陈祈春, 吴凯

(南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 采用辐射技术, 以共聚物 Poly(HEA)-Poly(HEMA) 为载体将纯种 AOB-*Comamonas aquatic* LNL₃ 固定化, 研究了固定化纯种 AOB 在不同温度、pH、DO、FA 条件下的短程硝化性能。结果表明, 纯种 AOB-*Comamonas aquatic* LNL₃ 具有短程硝化性能, 固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatic* LNL₃ 的短程硝化反应的最佳温度、pH、DO、FA 分别为 30℃、8.5、4.03 mg/L 和 9 mg/L, 相应的氨氮去除率和亚硝化率分别为 93.52%、94.73%; 79.74%、94.67%; 91.17%、94.66% 和 90%、94.4%, FA 对短程硝化亚硝化率影响不大。

关键词: 水生丛毛单胞菌 LNL₃; 短程硝化; 共聚物载体; 氨氮去除率; 亚硝化率

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)10-2952-06

Immobilized Ammonia-oxidizing Bacteria *Comamonas aquatic* LNL₃ and Its Partial Nitrification Characterization

LI Zheng-kui, SHI Lu-na, YANG Zhu-you, ZHANG Xiao-jiao, WANG Yue-ming, CHEN Qi-chun, WU Kai

(State Key Laboratory of Pollutant Control and Resources Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: A new kind of ammonia-oxidizing bacteria(AOB)-*Comamonas aquatic* LNL₃ was screened out and immobilized by Poly(HEA)-Poly(HEMA) copolymer carrier using irradiation techniques. Four kinds of impact factors on short-cut nitrification, including temperature, pH, DO and free ammonia (FA) concentration had been investigated. The result showed that AOB-*Comamonas aquatic* LNL₃ had short-cut nitrification capability and the optimal temperature, pH, DO and FA concentration were 30℃, 8.5, 4.03 mg/L and 9 mg/L respectively. Corresponding to above results, ammonia nitrogen removal rate and short-cut nitrification efficiency were 93.52%, 94.73%; 79.74%, 94.67%; 91.17%, 94.66% and 90%, 94.4% respectively.

Key words: *Comamonas aquatic* LNL₃; short-cut nitrification; copolymer carrier; ammonia nitrogen removal rate; short-cut nitrification efficiency

近年来,随着新型生物脱氮理论及技术的快速发展,出现了一批新型脱氮工艺,如 SHARON、ANAMMOX、OLAND 和 CANON 等^[1-6],其共同特点是先将氨氮氧化成亚硝酸盐氮,然后进行反硝化或同步反硝化,力图缩短生物脱氮技术中氮素的转化过程,达到节省能源、减少曝气量和碳源消耗的目的,而这一过程的实现有赖于氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)或厌氧氨氧化菌的作用。因此,AOB 的筛选研究已成为采用新型工艺进行脱氮研究的技术关键之一。

AOB 是一类化能自养型的微生物,广泛存在于土壤、湖泊及其底泥及海洋等环境中,目前,已知的 AOB 包括亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)、亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)、亚硝化叶菌属(*Nitrosolobus*)、亚硝化弧菌属(*Nitrosovibrio*)和亚硝化球菌属(*Nitrosococcus*)等^[7,8]。由于 AOB 较难培养,采用传统的方法较难对其进行深入研究。国内外学者大多采

用控制反应条件(温度、DO、pH、游离氨等)^[9-12],逐步淘汰亚硝酸盐氧化细菌,使反应体系中 AOB 形成优势菌。而采用固定化纯种 AOB 进行短程硝化研究除日本 Tanaka^[13]有报道外,国内鲜见报道。

本研究在镇江金山湖水体采集、纯化,采用 16S rRNA 技术结合 GenBank 进行 BLAST 检索对比,鉴定出具有短程硝化功能的纯种 AOB-水生丛毛单胞菌 LNL₃(*Comamonas aquatic* LNL₃),关于水生丛毛单胞菌相关研究目前还鲜见报道。因此,对纯种 AOB-*Comamonas aquatic* LNL₃ 进行固定化,对其性能进行研究,具有理论价值和实际意义。现有研究表明,共聚物载体 poly(HEA)-Poly(HEMA)具有机械强

收稿日期: 2008-11-21; 修订日期: 2009-01-04

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2008CB418003); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2008ZX07101-012-04-03, 2008ZX07101-004); 国家科技支撑计划项目(2006BAJ08B01-02)

作者简介: 李正魁(1959~),男,博士,教授,主要研究方向为水污染控制和生态修复, E-mail: zhkuili@nju.edu.cn

度高, 固定化微生物效果好等特点^[14]. 本研究以辐射共聚合高分子聚合物为载体, 采用固定化增殖细胞技术将纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 固定, 在以流化床为反应器成功实现短程硝化稳定运行基础上, 分析了温度、pH 值、碱度、DO 值对固定化 *Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化过程的影响, 以期为纯种氨氧化细菌固定化及其应用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 单体

丙烯酸羟乙酯[2-hydroxyethyl acrylate, HEA]、甲基丙烯酸 β -羟乙酯[2-hydroxyethyl methylacrylate, HEMA](瑞典 Fluka 公司产品, 聚合级). 实验所用其它试剂均为国产分析纯.

1.2 氨氧化细菌及其培养基

实验所用 AOB 为课题组专利纯种 AOB-水生丛毛单胞菌(*Comamonas aquatica* LNL₃)于 2008 年 1 月 24 日保藏于“中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心”, 保藏号 CGMCC No. 2 361, 专利申请号 200810020649.4. 该水生丛毛单胞菌属菌株是从镇江金山湖水体水生植物根区、金山湖水体敞水区以及金山湖沉积物中采集、分离得到. AOB-水生丛毛单胞菌(*Comamonas aquatica* LNL₃)的培养基组成为: (NH₄)₂SO₄ 2.0 g、K₂HPO₄ 0.5 g、MgSO₄ 0.5 g、FeSO₄ · 7H₂O 0.4 g、NaCl 0.5 g、Na₂CO₃ 1.0 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 调至 7.2.

1.3 实验仪器

主要实验仪器有 LRH-150 生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)、THZ-82A 恒温振荡器(江苏常州国华电器有限公司)、T52N 紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)、5000A 型 TOC 仪(日本岛津)、PHS-3C 型精密 pH 计(上海今迈仪器仪表有限公司)、JPSJ-605 型溶解氧分析仪(上海精密科学仪器有限公司)、⁶⁰Co - γ 射线辐射源(江苏省农科院原子能研究所)、HITACHI S-3400N 扫描电子显微镜(日本).

1.4 固定化载体制备

采用亲水性玻璃态单体丙烯酸羟乙酯 2-Hydroxyethyl acrylate(HEA)、甲基丙烯酸 β -羟乙酯 2-Hydroxyethyl methylacrylate(HEMA), 在低温条件下, 用 ⁶⁰Co - γ 射线辐照形成生物相容性 Poly(HEA)-Poly(HEMA)共聚物载体^[15].

1.5 氨氧化细菌的富集与固定化

将 AOB-水生丛毛单胞菌 *Comamonas aquatica* LNL₃ 接种至装有富集培养基的锥形瓶中, 在 28℃ 恒温摇床中培养, 经多次富集并测定生物量为 3.8×10^8 MPN/L 后待用; 用 AOB 富集培养基浸泡固定化载体, 在 28℃ 条件下振荡 24h 并交换 3 次, 使培养基进入膨胀后的固定化载体内部, 加入上述 AOB 菌液 500 mL, 使之吸附于固定化载体表面并通过增殖进入具有良好微孔生长环境的共聚物载体内部, 使之被固定化.

1.6 实验废水

实验采用模拟含氨废水, (NH₄)₂SO₄ 按需要加, NaHCO₃ 按 10 g/g NH₄⁺-N 投加, 适量的铁、钙和镁等微量元素和磷酸盐缓存溶液, pH 值约为 8.0 (pH 值影响实验除外).

1.7 测定项目与方法

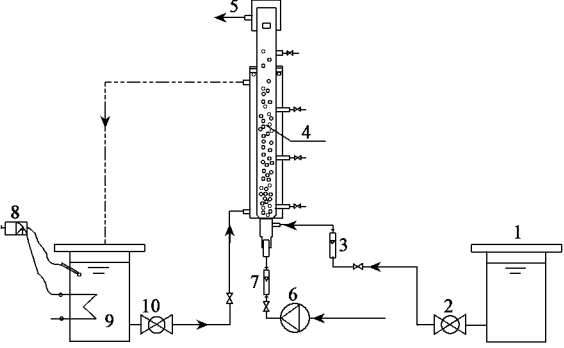
NH₄⁺-N: 纳氏试剂分光光度法, NO₂⁻-N: N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法, NO₃⁻-N: 紫外分光光度法, 碱度: 酸碱指示剂滴定法^[8]; pH 采用 PHS-3C 型精密 pH 计测定, DO 采用 JPSJ-605 型溶解氧分析仪测定.

1.8 实验装置

本实验所用的反应器系统如图 1 所示. 实验在有效容积为 1.7 L (内径 8 cm, 高 50 cm) 并带有保温夹套(夹套内通 30℃ ± 1℃ 的水)的流化床反应器中进行, 模拟废水采用连续式或间歇式进水, 同时进行曝气, 调节空气流量, 反应器内固定化颗粒的填充率为 10%, 定时从反应器取出水样, 分析其中的 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 的浓度. 并按式(1)和(2)计算氨氮去除率和亚硝化率.

$$\text{氨氮去除率} = \frac{\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{进水}} - \text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{出水}}}{\text{NH}_4^+\text{-N}_{\text{进水}}} \times 100\%$$

(1)



1. 进水箱; 2. 剂泵; 3. 反应器; 4. 流量计;
5. 出水; 6. 空压机; 7. 气体流量计; 8. 循环水泵;
9. 循环水箱; 10. 加热元件和温度传感器

图 1 实验反应装置

Fig.1 Schematic diagram of experimental reactor

$$\text{亚硝化率} = \frac{\text{NO}_2^- - \text{N}_{\text{出水}}}{(\text{NO}_2^- - \text{N}_{\text{出水}} + \text{NO}_3^- - \text{N}_{\text{出水}})} \times 100\% \tag{2}$$

2 结果与讨论

2.1 共聚物载体微孔结构对 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 固定化的影响

本研究应用⁶⁰Co-γ射线对单体 HEA 和 HEMA 进行辐射共聚,形成 Poly(HEA)-Poly(HEMA)共聚物载体,采用日本 HITACHI S-3400N 扫描电子显微镜对共聚物载体进行观察并拍照.实验结果表明,制备的共聚物载体具有良好的微孔结构,微孔孔径范围在 5~30 μm 之间(图 2),为通常微生物形状大小的 1~6 倍,适合于微生物生长^[16,17];实验结果还表明,由于选用的单体 HEA 和 HEMA 含有亲水性基团—OH,辐射共聚形成聚合物载体后具有亲水性,对微生物具有亲和能力^[18],有利于纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的生长;另外,通过 SEM 扫描电镜观察,由于采用的 Poly(HEA)-Poly(HEMA)共聚物载体具有良好微孔结构和较高的机械强度,经过为期 1 年以上的连续三项流化床运行,固定有纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的共聚物载体仍保持良好的微孔环境,为其生长、增殖提供了较好的生存环境,使得 AOB 培养基和底物在载体内部扩散容易进行,保障了载体内部纯种 AOB 对培养基、底物的利用,有利于 AOB 细胞生长和增殖(图 3).MPN 法试验也证实,实验水体中依靠固定化微生物释放的 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的数量达到 1.6 × 10⁶ MPN/L.

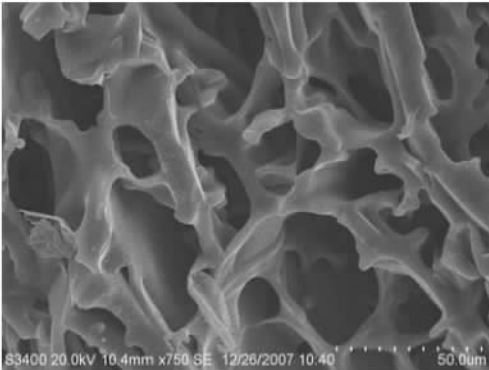


图 2 共聚物载体微孔结构
Fig.2 Structure of copolymer carrier

2.2 温度对固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响

AOB 短程硝化反应中,反应温度是重要条件.



图 3 实验后共聚物载体结构和微生物相
Fig.3 Structure of copolymer carrier and AOB after experiment

通常情况下,温度对于细菌生长和代谢具有重要影响,在温度低至一定值时,细菌细胞膜呈凝胶状,营养物质的跨膜运输受阻,细胞停止生长;随着温度的升高,细菌细胞内的生化反应加快,细菌生长加速;当温度升高超过上限温度后,对温度敏感的蛋白质和核酸变性加剧,细菌生长停止,甚至死亡.因此,在其它条件不变情况下,细菌生长有最适生长温度区间.Knowles 等^[19]认为,温度不但影响 AOB 的比增长速率,也影响 AOB 的活性,温度升高会使 AOB 的半饱和系数增大.

本实验结果表明,对于固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的短程硝化反应,当温度从 15℃升高到 30℃时,氨氮去除率和亚硝化率随之增大并逐渐达到最高值,分别为 93.52% 和 94.73%,当反应温度继续升高至 35℃时,固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的氨氮转化率和亚硝化率逐步下降,分别为 91.76% 和 91.07%.因此固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 最适宜温度为 30℃(图 4).

2.3 pH 值对固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响

对于 AOB 短程硝化反应,pH 值是另一重要影响因素.pH 通常对细菌的生长发生以下影响:引起营养物质可给性改变,影响 AOB 摄取利用;引起酶活性改变,影响 AOB 代谢反应;引起细胞膜电位变化,影响 AOB 对营养物质吸收;引起有害物质毒性改变,加重对细菌损害^[20],Gernacy 等^[21]认为 AOB 对 pH 很敏感,AOB 的最适 pH 为 7.0~8.5.本实验结果表明,pH 值对固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化有较为明显的影响,当 pH 值从 6.0 逐步增加时,固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃

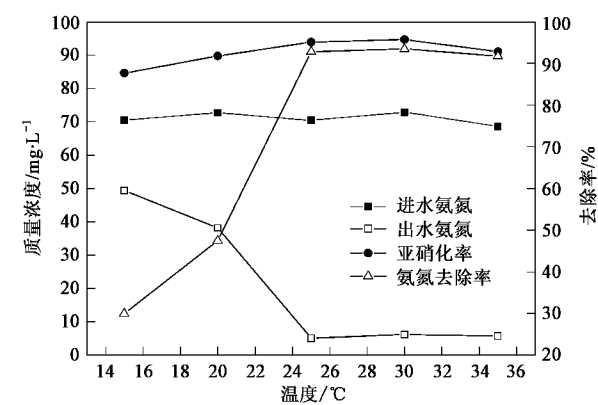


图 4 温度对纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响

Fig.4 Effect of temperature on short-cut nitrification of immobilized AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃

氨氮去除率和亚硝化率随 pH 的增加而逐步增加, pH 为 7.0 时, 氨氮去除率和亚硝化率分别为 39.65% 和 89.24%, 当 pH 值增加至 8.5 时, 氨氮去除率和亚硝化率达到最大值, 分别为 79.74% 和 94.67%, 而当 pH 进一步增加至 9.0 时, 氨氮去除率和亚硝化率又逐步下降, 分别为 58.31% 和 91.98%. 分析氨氮去除率和亚硝化率随 pH 值变化可以看出, 当 pH 值低于 8.5 时, 氨氮去除率和亚硝化率略低于 pH 为 8.5 时, 而当 pH > 8.5 时, 氨氮去除率和亚硝化率下降幅度较大, pH 值为 8.0 和 9.0 时的氨氮去除率和亚硝化率分别为 pH 值为 8.5 时的 99.26%、81.3% 和 97.15%、81.30%. 因此, 固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 适宜的 pH 值范围为 7.0~9.0, 此时 AOB 的活性较高, 氨氮去除率和亚硝化率较高, 最适 pH 值为 8.5, 此时氨氮去除率

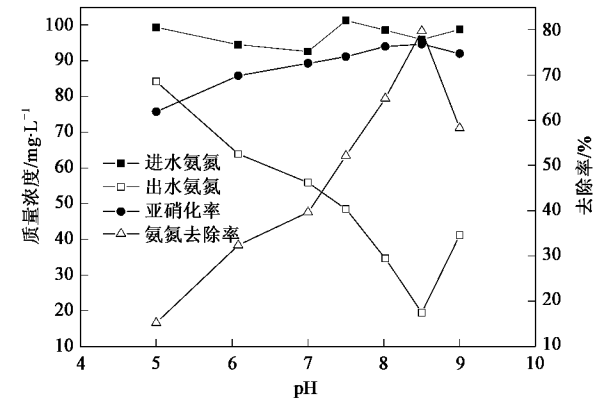


图 5 pH 对纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响

Fig.5 Effect of pH on short-cut nitrification of immobilized AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃

和亚硝化率均达到最大值(图 5).

2.4 溶解氧浓度对固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响

AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 是好氧细菌, 短程硝化反应是需氧性反应. AOB 在短程硝化反应中, 将氨氮氧化为亚硝酸盐, 需要氧的有效供给. 因此, 溶解氧浓度也是影响短程硝化反应的关键因素之一. Keisuke 等^[22] 研究结果表明, 低溶解氧 (DO < 0.5 mg/L) 有利于增加 AOB 的亚硝化速率, Laanbroek 等^[23] 认为在 AOB 与亚硝酸盐氧化菌混合系统中低溶解氧条件下亚硝酸盐积累是由于 AOB 对溶解氧亲和力和较亚硝酸盐氧化菌强所致.

本实验结果表明, 溶解氧浓度对固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的氨氮去除率和亚硝化率有重要影响. DO < 4.03 mg/L 时, 氨氮去除率和亚硝化率较低, 当 DO = 2.38 mg/L 时, 固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的氨氮去除率和亚硝化率较低, 分别为 71.63% 和 94.05%, 当 DO 上升至 3.05 mg/L 时, 氨氮去除率和亚硝化率分别为 77.57% 和 94.5%, 当 DO = 4.03 mg/L 时, 氨氮去除率和亚硝化率达到最大值, 分别为 91.17% 和 94.66%, 继续增大曝气量提高溶解氧浓度, 但氨氮去除率和亚硝化率增加甚微. 因此, 固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 适宜的溶解氧浓度为 4.03 mg/L (图 6). 结果表明, 相对于复合有 AOB 和亚硝酸盐氧化菌反应体系而言, 在固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 反应体系中, 由于没有其它微生物种群对溶解氧竞争, 反应体系的溶解氧主要供给纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃, 当曝气量较小时, 反应器中 DO 浓度低, 不能维持 AOB-*Comamonas*

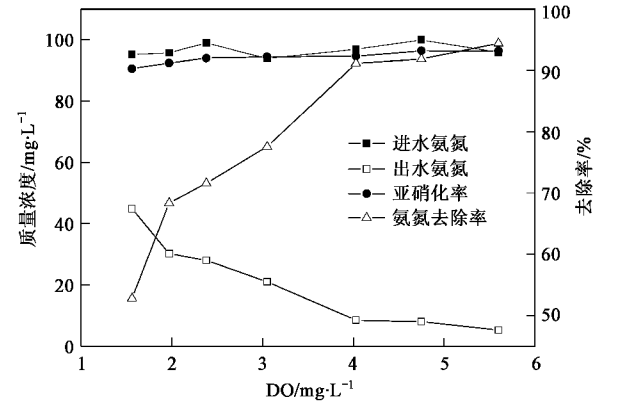


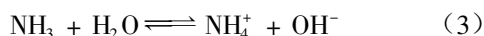
图 6 溶解氧浓度对固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响

Fig.6 Effect of DO on short-cut nitrification of immobilized AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃

aquatica LNL₃ 的需要;当曝气量增加时,提高了氧的转移速率,使得氨氮去除率和亚硝化率增加,而当氧转移速率与 AOB 的需氧速率平衡时,继续增加曝气量,能耗增大,而氨氮去除率和亚硝化率增加很小.因此,固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的最适 DO 值为 4.03 mg/L,这是由纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的生理特性所导致.

2.5 氨氮(NH₄⁺-N)对固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响

含氮废水中的氨随 pH 值不同分别以分子态 NH₃(FA)和离子态 NH₄⁺-N 形式存在. NH₄⁺-N 与 FA 在溶液中存在式(3)的电离平衡.



FA 在溶液的浓度中受 pH 值和 NH₄⁺-N 浓度的影响,可以采用 Anthonisen 和 Joanna 等学者给出的方程计算^[24].

$$\text{FA} = \frac{17}{14} \times \frac{\text{NH}_4^+ - \text{N} \times 10^{\text{pH}}}{\exp\left(\frac{6334}{(273 + T)}\right) + 10^{\text{pH}}} \quad (4)$$

本实验研究了初始游离氨(FA)对固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响:当温度为(30 ± 1)℃,进水氨氮浓度为 85.21 ~ 518.9 mg/L,调节进水 pH 值,始终控制 pH 值为 7.5 左右.因此根据式(4)计算出此条件下游离氨(FA)的浓度为 2.66 ~ 16.2 mg/L.实验结果如图 7 所示,氨氮去除率随游离氨(FA)浓度的增加先上升,在 FA = 9 mg/L 时达到最大值,为 90%,然后随着 FA 的增加逐步下降.结果表明,在短程硝化过程中,纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化反应利用的真正底物是 NH₃ 而不是 NH₄⁺,NH₃ 具有两方面的作用,既

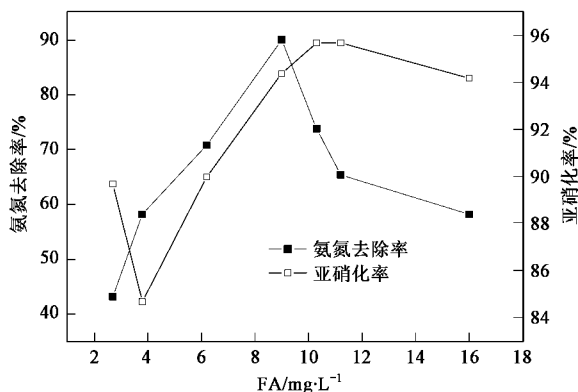


图 7 游离氨(FA)对固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化的影响

Fig.7 Effect of FA on short-cut nitrification of immobilized AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃

能作为基质加快氨氧化反应,在高浓度条件下也可作为抑制剂抑制氨氧化细菌的活性^[6].从图 5 可知,当游离氨(FA) > 9 mg/L 时会对固定化 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 产生抑制作用.另外,游离氨(FA)浓度对亚硝化率的影响不大,当游离氨浓度为 2.66 ~ 16.2 mg/L 时,亚硝化率在 85% ~ 95% 之间波动,变化不大.因此,采用固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 实现短程硝化,即使在高游离氨(FA)浓度条件下当氨氧化细菌活性受到抑制情况下,仍能保证出水亚硝酸盐的高比例.

3 结论

(1)共聚物 Poly(HEA)-Poly(HEMA)载体适合于纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 的固定化, AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 可以很好地固定在共聚物载体上.载体微孔结构保障了纯种 AOB 对培养基、底物的利用,有利于 AOB 细胞生长和增殖.

(2)纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 具有短程硝化性能.采用固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 进行含氮废水短程硝化反应时,最适宜的温度、pH 值分别为 30℃ 和 8.5,可以在常规温度条件和较宽的 pH 范围内实现亚硝酸盐积累;相应的氨氮去除率和亚硝化率分别为 93.52%、94.73% 和 79.74%、94.67%.

(3)采用固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 进行含氮废水短程硝化反应时,DO 影响氨氮去除率和亚硝化率,系统适宜的溶解氧浓度为 4.03 mg/L,相应的氨氮去除率和亚硝化率为 91.17% 和 94.66%.

(4)FA 浓度对固定化纯种 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 短程硝化效果有影响,主要影响氨氮去除率,当 FA = 9 mg/L 时,氨氮去除率达到最大值,为 90%;FA 对短程硝化亚硝化率影响不大,即使在高 FA 浓度条件下当 AOB-*Comamonas aquatica* LNL₃ 活性受到抑制情况下,仍能保证出水亚硝酸盐的高比例.

参考文献:

- [1] Verstraete W, Philips S. Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts[J]. Environmental Pollution, 1998, **102** (S1): 717-726.
- [2] Mulder A, Van de Graaf A A, Robertson L A, et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor [J]. FEMS Microbiol Ecol, 1995, **16**: 177-184.

- [3] Ven de Graaf A A, Mulder A, de Bruijn P, *et al.* Anaerobic oxidation of ammonia is a biologically mediated process[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, **61**(4): 1246-1251.
- [4] Slikers A O, Derwort N, Gomez J L C, *et al.* Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor[J]. *Water Research*, 2002, **36**: 2475-2482.
- [5] Slikers A O, Third K, Abma W, *et al.* CANON and Anammox in a gas-lift reactor[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2003, **218**: 339-344.
- [6] Kuai L, Verstraete W. Ammonia removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, **64**(11): 4500-4506.
- [7] 郝永俊, 吴松雄, 吴伟祥, 等. 好氧氨氧化菌的种群生态学研究进展[J]. *生态学报*, 2007, **27**(3): 1573-1582.
- [8] Koops H P, Pommerening-Röser A. Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, **37**: 1-9.
- [9] 袁林江, 彭党聪, 王志盈. 短程硝化-反硝化生物脱氮 [J]. *中国给水排水*, 2000, **16**(2): 29-31.
- [10] 张小玲, 李斌, 杨永哲, 等. 低 DO 下的短程硝化及同步硝化反硝化[J]. *中国给水排水*, 2004, **20**(5): 13-16.
- [11] 徐冬梅, 聂梅生, 金承基. 亚硝酸型硝化试验研究[J]. *给水排水*, 1999, **25**(7): 37-39.
- [12] 左剑恶, 杨洋, 蒙爱红. 高氨氮浓度下的亚硝化过程及其影响研究[J]. *环境污染与防治*, 2003, **25**(6): 332-335.
- [13] Tanaka K. Application of nitrification by cells immobilized in polyethylene glycol [J]. *Prog Biotech*, 1996, **11**: 622-632.
- [14] 李正魁, 赖鼎东, 杨竹攸, 等. 固定化氨氧化细菌短程硝化稳定性研究[J]. *环境科学*, 2008, **29**(10): 2835-2840.
- [15] 李正魁, 濮培民. 固定化增殖氮循环细菌群 SBR 法净化富营养化湖水[J]. *核技术*, 2001, **24**(8): 674-679.
- [16] Messing R A, Oppermann R A. Pore dimensions for accumulating biomass: I. Microbes that reproduce by fission or by budding [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1979, **21**: 48-58.
- [17] Wang S D, Wang D I C. Pore dimension effects in the cell loading of a porous carrier [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1989, **33**: 915-917.
- [18] Li Z K, Pu P M, Hu W P, *et al.* Improvement of Taihu water quality by the technology of immobilized nitrogen cycle bacteria [J]. *Nuclear Science and Techniques*, 2002, **13**(2): 115-120.
- [19] Knowles G, Downing A L. Determination of kinetic constants for nitrifying bacteria in mixed culture with the aid of an electronic computer[J]. *Journal of General Microbiology*, 1995, **38**: 263-276.
- [20] 郑平, 徐向阳, 胡宝兰. 新型生物脱氮理论和技术[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [21] Gemacy K. Fast and sensitive acute toxicity detection with an enrichment nitrifying culture[J]. *Wat Environ Res*, 1997, **69**(6): 1163-1169.
- [22] Hanaki K, Wantawin C, Ohgaki S. Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in suspended-growth reactor[J]. *Wat Res*, 1990, **24**(3): 297-301.
- [23] Laanbroek H J, Bodelier P L E, Gerards S. Oxygen consumption kinetics of *Nitrosomonas europaea* and *Nitrobacter hamburgensis* grown in mixed continuous cultures at different oxygen concentrations[J]. *Arch Microbiol*, 1994, **161**: 156-162.
- [24] 叶建锋. 废水生物脱氮处理新技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.