

有机碳源及 DO 对好氧反硝化细菌 AD6 脱氮性能的影响

杨新萍, 钟磊, 周立祥*

(南京农业大学资源与环境学院环境工程系, 南京 210095)

摘要:采用摇瓶实验,研究了 C/N 值、培养液 DO 及柠檬酸盐、乙酸盐、葡萄糖 3 种有机碳源对好氧反硝化细菌 *Pseudomonas mendocina* AD6 脱氮性能的影响。C/N 值不仅直接影响好氧反硝化过程中碳源数量,也显著影响培养液 DO 变化。C/N 值为 3 时,因碳源数量不够而导致 AD6 好氧反硝化脱氮效率仅有 42%;当 C/N 值为 23、15、8 时,培养液 DO 先快速下降至缺氧状态然后再升至好氧状态,反应末期 TN 损失率分别为 69%、70%、55%,其中好氧条件下反硝化作用引起的 TN 损失约为 7%、20%、25%。培养液起始 DO 在 7.15~8.08 mg/L, C/N 值为 15 及以下,摇瓶(250 mL 三角瓶)装液量为 25~100 mL,摇床转速为 180 r/min,培养液 DO 先下降至缺氧状态,但可在反硝化反应进行 24 h 后恢复至好氧状态,减少摇瓶装液量的充氧措施提高培养液 DO 效果有限。柠檬酸盐与乙酸盐是 AD6 能够高效利用的碳源,利用率可达 90%、92%,而葡萄糖的利用率仅有 41%。乙酸盐促进了 AD6 的好氧反硝化功能, TN 去除率、好氧反硝化脱氮效率分别比以柠檬酸盐为碳源时高 14%、5%。采用摇瓶试验评估好氧反硝化细菌的好氧反硝化效率应谨慎,因为取决于溶液的 C/N 值和碳源种类,可能相当部分 N 的损失是在缺氧条件下产生。

关键词:好氧反硝化; C/N 值; DO; 碳源; 假单胞菌

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)06-1633-07

Effect of Carbon Source and Dissolved Oxygen on Denitrification by Aerobic Denitrifier *Pseudomonas mendocina* AD6

YANG Xin-ping, ZHONG Lei, ZHOU Li-xiang

(Department of Environmental Engineering, College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: Aerobic denitrifying performances of *P. mendocina* AD6 at various C/N ratios, dissolved oxygen (DO) concentrations and carbon sources including citrate, acetate, and glucose were evaluated through flask experiment. At an insufficient carbon concentration, namely C/N ratio of 3, total nitrogen (TN) removal efficiency was 42% by aerobic denitrification. When the C/N ratio was increased to 8, 15, and 23, the TN removal efficiency by AD6 quickly increased to 55%, 70%, and 69%, in which 7%, 20%, and 25% of TN losses could be contributed to the aerobic denitrification by AD6, respectively. Batch cultures were carried out in a series of 250 mL conical flasks containing 100, 50, and 25 mL of the nitrate-supplemented basal medium with C/N ratio of 15, DO of 7.15-8.08 mg/L and strain AD6. Flasks were shaken in a rotary shaker at 28°C and 180 r/min to allow better gas exchange. DO concentration of culture medium declined rapidly to anoxia condition at the beginning of reaction followed by an aerobic level with above 2 mg/L of DO after 24 h reaction. Different carbon sources had strong influence on the aerobic denitrifying performance of strain AD6. The maximum consumption rates of citrate, acetate, and glucose by strain AD6 were 90%, 92%, and 41%, respectively. In the medium spiked with acetate as carbon source, TN removal efficiency and N losses due to aerobic denitrification increased to 14% and 5%, respectively, with comparison to that spiked with citrate. Evaluation on nitrogen removal performances of aerobic denitrifier should be cautious with flask experiment because aerobic, partial aerobic and total anoxic growing conditions could be changed by C/N ration and carbon source of medium.

Key words: aerobic denitrification; C/N ratio; dissolved oxygen (DO); carbon source; *Pseudomonas mendocina* AD6

普遍认为,生物脱氮作用是去除废水中氮最为经济有效的办法^[1]。传统生物脱氮包括好氧硝化和缺氧反硝化 2 个过程。一直以来,反硝化被看作只有在缺氧条件下才能实现^[2]。但近年来,研究者发现,许多从活性污泥、湿地、土壤等处分离出的反硝化细菌能在好氧条件下进行反硝化作用^[3~8]。好氧反硝化菌的发现为生物脱氮技术提供了崭新的思路。国

内外学者在好氧反硝化细菌的分离筛选、作用机制、应用等方面开展了大量工作,获得了许多有意义的成果^[9~15]。

收稿日期:2009-08-04;修订日期:2009-09-28

基金项目:国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA06Z314)

作者简介:杨新萍(1972~),女,博士,讲师,主要研究方向为水污染控制, E-mail: xpyang@njau.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: lxzhou@njau.edu.cn

碳源与 DO 被认为是影响好氧反硝化细菌脱氮性能的最重要因素^[5,6,13,15,16]。然而,已有的这方面研究几乎均是将培养液(废水)起始 DO 或是装置环境起始 O₂ 分压调节至好氧范围考察碳源种类、数量对好氧反硝化细菌脱氮性能的影响^[4,6,9~11,15,17,18],或是仅考察培养期(24 h 或更长时间)始、终培养液 DO 或环境 O₂ 分压是否处在好氧范围^[5,8,12,13,19~21],鲜见研究反硝化进程中培养液 DO 或装置环境中 O₂ 分压的动态变化。众所周知,好氧反硝化现象可能由于微环境缺氧引起,也可能是由好氧生境中具有反硝化功能的好氧反硝化细菌引起。包含有机碳源的培养液或废水,即使起始 DO 很高,并采取了充氧措施,但由于所含碳源的数量及性能影响,可能会造成混合液阶段性处于缺氧状态。因此,研究好氧反硝化现象时,将碳源与 DO 这 2 个关键因子结合起来考察其在反硝化进程中的变化,对正确评价好氧反硝化细菌的好氧脱氮性能具有非常重要的作用。

本研究针对好氧反硝化细菌 AD6,采用摇瓶实验,考察了不同 C/N 值(23、15、8、3)时,AD6 脱氮进程中有机碳源、氮素及 DO 变化;在 C/N 值为 15 时,通过改变摇瓶装液量及摇瓶转速的方法,调节培养液 DO,观测 AD6 脱氮过程及 DO 变化;C/N 值为 15、起始 DO 及充氧措施相同,研究碳源种类对 AD6 脱氮性能及 DO 变化的影响,以期为好氧反硝化现象的科学研究或工程化应用提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

实验菌株来源于活性污泥,为本实验室保藏菌株,在好氧条件下具有良好的反硝化效果,编号为 AD6。通过菌株形态观察、生理生化及 16S rDNA 测序、核酸数据库 GenBank (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 比对,初步鉴定该菌株为 *Pseudomonas mendocina*。

1.2 培养基组成

培养基组成参照文献^[4,22],并有所改动。溶解下列物质于 1 L 去离子水中:KNO₃ 2 g、MgSO₄·7H₂O 0.2 g、K₂HPO₄ 0.5 g、C₆H₅Na₃O₇·2H₂O(柠檬酸三钠)根据实验要求调整,微量元素溶液 2 mL,用 1 mol/L 盐酸调节 pH 至 7.0~7.2。微量元素溶液成分为(g/L):EDTA-2Na 50、ZnSO₄·7H₂O 3.93、CaCl₂·2H₂O 7.28、MnCl₂·4H₂O 5.06、FeSO₄·7H₂O 5.0、(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 1.1、CuSO₄·5H₂O 2.45、

CoCl₂·6H₂O 1.61,pH 为 7.0。

1.3 摇瓶实验

C/N 值实验系列:实验中所指 C/N 值均是以 COD/TN 计算。培养液中 KNO₃ 始终为 2 g/L, C₆H₅Na₃O₇·2H₂O 数量根据实验要求调整,其余成分按 1.2 节所述。配制好培养液后,分装于 250 mL 三角瓶中,每瓶装液量为 100 mL。121℃ 灭菌 30 min,冷却至室温后,无菌操作,每瓶按装液量的 5% 接入已培养 20 h 的 AD6 菌液,28℃、180 r/min 摇床振荡培养。

DO 实验系列:C/N 值固定为 15,即 C₆H₅Na₃O₇·2H₂O 为 10 g,其余成分按 1.2 节所述。按预实验结果,缺氧实验中三角瓶装液量为 150 mL,瓶口除了纱布再用双层报纸扎好,摇床转速为 60 r/min。好氧实验中三角瓶装液量分别为 50 mL、25 mL,摇床转速为 180 r/min。

碳源实验系列:C/N 值固定为 15,培养液中 KNO₃ 始终为 2 g/L,分别选用柠檬酸三钠、乙酸钠(C₂H₃NaO₂)、葡萄糖(C₆H₁₂O₆)做为碳源,根据每种碳源实测 COD 值确定培养液中相应碳源的质量。

各系列实验均是每隔数小时取 1 组平行样,不离心直接测定培养液 DO、pH、COD、TN、NO₃⁻、NO₂⁻、NH₄⁺ 与 D₆₀₀。

1.4 分析方法

培养液 DO 采用 Thermo 公司 Orion 3star 溶氧仪测定,pH 用雷磁 pHs-3C 精密 pH 计测定,COD 采用 COD 测定仪测定(Thermo 公司 AQ4001 系统),TN 采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(GB 11894-1989),NH₄⁺ 采用纳氏试剂比色法(GB 7479-1987),NO₂⁻ 采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法(GB 7493-1987),NO₃⁻ 采用紫外分光光度法(HJ/T 346-2007),TP 采用钼酸铵分光光度法(GB 11893-1989),D₆₀₀ 采用 UV-754 分光光度计测定。

2 结果与分析

2.1 不同 C/N 值下好氧反硝化细菌 AD6 的脱氮性能

好氧反硝化过程中,细菌利用碳源做为电子供体,NO₃⁻、O₂ 做为电子受体协同呼吸将 NO₃⁻ 还原为 N₂ 或 NO_x 等产物^[4,11,13,15]。C/N 值是好氧反硝化细菌在呼吸过程中获得高效脱氮效率的重要因素。以柠檬酸三钠为碳源,选取 C/N 值为 23、15、8、3,考察 AD6 脱氮性能及培养液 DO 变化规律。

一般认为,污水生物处理中的好氧、缺氧状态分别要求混合液 DO > 2.0 mg/L、DO < 0.5 mg/L。图 1

(a)表明,当混合液初始 DO 为 7.15 ~ 7.62 mg/L, C/N 值为 3 时,培养液处于全程(100 h)好氧状态; C/N 值为 23 时,培养液有近 70 h 处在 0.45 ~ 1.50 mg/L 非好氧状态, C/N 值为 15、8 时,培养液分别有近 20、10 h 处在 0.34 ~ 0.61 mg/L、0.32 ~ 1.19 mg/L 非好氧状态. TN 测定中包含了 AD6 菌体氮, TN 变化可以视做 AD6 反硝化作用所致. 图 1(b) ~ 1(d)可以看出 C/N 为 15 时,对培养液中 COD、TN、 NO_3^- 的降解率最高,其次是 C/N 为 23、8、3. 结合图 1(a)、1(c), C/N 值为 23、15、8、3 时, TN 损失率分别为 69%、70%、55%、42%,其中好氧条件下 TN 损失分别为 7%、20%、25%、42%,其它则为缺氧反硝化作用所致. 图 1(d) ~ 1(f)表达了反硝化过

程中各种形态氮素的转化规律. C/N 值为 23、15、8、3 时,培养液中 NO_2^- 分别为 0.65 ~ 4.75 mg/L、0.21 ~ 9.30 mg/L、0.98 ~ 13.07 mg/L、0.49 ~ 15.01 mg/L, NH_4^+ 分别为 4.76 ~ 67.61 mg/L、2.70 ~ 78.16 mg/L、5.16 ~ 47.84 mg/L、10.36 ~ 26.00 mg/L,随着 C/N 值降低,培养液中 NO_2^- 浓度增加而 NH_4^+ 浓度降低;此时 NO_3^- 去除率分别为 81.8%、93.7%、74.3%、50.6%,高于相应条件下 TN 去除率.

2.2 不同供氧条件下好氧反硝化细菌 AD6 的脱氮性能

好氧反硝化细菌性能研究中,摇瓶实验或类似批处理实验因无菌操作方便又可振荡充氧,成为最

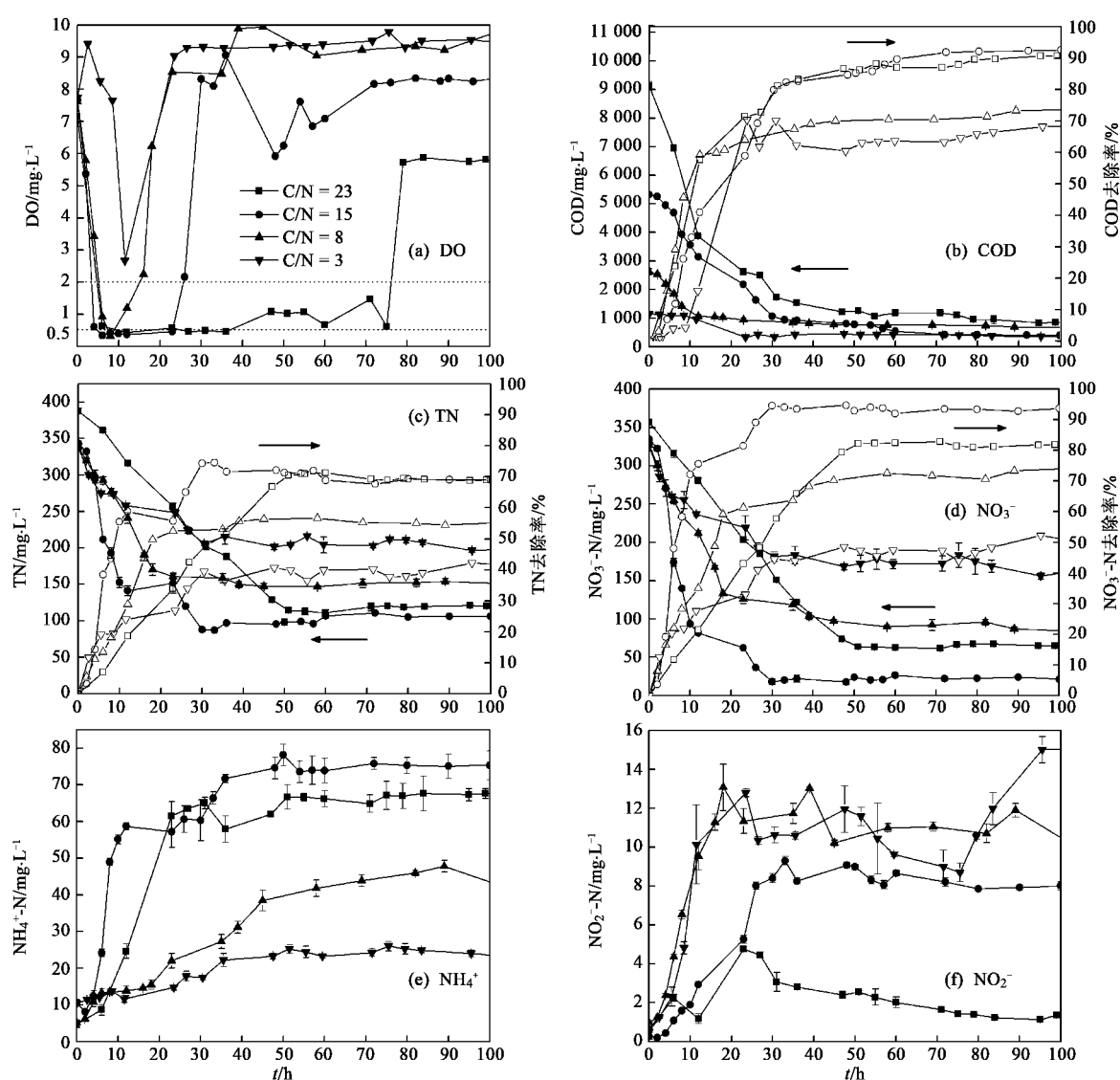


图 1 不同 C/N 值时培养液中 DO、COD、TN、 NO_3^- 、 NH_4^+ 、 NO_2^- 的动态变化

Fig. 1 Dynamics of DO, COD, total nitrogen, nitrate, ammonium, nitrite concentrations in the flask during batch culture of strain AD6 with various C/N ratios

常使用的实验方法. 培养液中 C/N 值为 15, 灭菌后培养液 DO 为 8.05 ~ 8.08 mg/L, 进行不同供氧条件的摇瓶实验. 图 2(a) 表明, 当摇床转速为 60 r/min, 装液量为 150 mL, 实验进行的 40 h 内, 培养液 DO 始终处在 0.15 ~ 0.65 mg/L; 将摇床转速增加至 180 r/min 且装液量减少为 50 mL 时, 培养液 DO 有近 16 h 为 0.41 ~ 0.65 mg/L; 摇床转速为 180 r/min, 装液量减少至 25 mL, 培养液 DO 虽有所升高, 仍有 16 h 为 0.53 ~ 1.05 mg/L, 后 2 种情形下, 反应 24 h 后培养液 DO 分别可上升至 5.31 与 6.45 mg/L. 图 2(c) 表明, 全程缺氧时, AD6 脱氮效率可达 89%; 部分时段缺氧即装液量为 50 mL、25 mL 时, TN 去除率分别

为 66%、65%, 其中好氧状态下的脱氮效率均接近 35%. 图 2(b)、2(d) 看出, 缺氧状态下, COD、TN、 NO_3^- 去除率最高但菌体生长量小且缓慢, 培养液 D_{600} 在反应末期才达 0.672, 而装液量为 50、25 mL 时, 培养液 D_{600} 分别在 25、22 h 达到最大值 1.366、1.341. 图 2(e)、2(f) 表明了反硝化进程中氮素的转化趋势. 培养液中 NH_4^+ 随着 DO 升高而逐渐降低, 分别为 31.28、17.52 和 15.31 mg/L; 而 NO_2^- 随着 DO 升高而逐渐增加, 分别达 5.89、23.82 和 25.87 mg/L.

2.3 不同碳源对好氧反硝化细菌 AD6 的脱氮性能

有机碳源不仅在数量上而且其种类不同对好

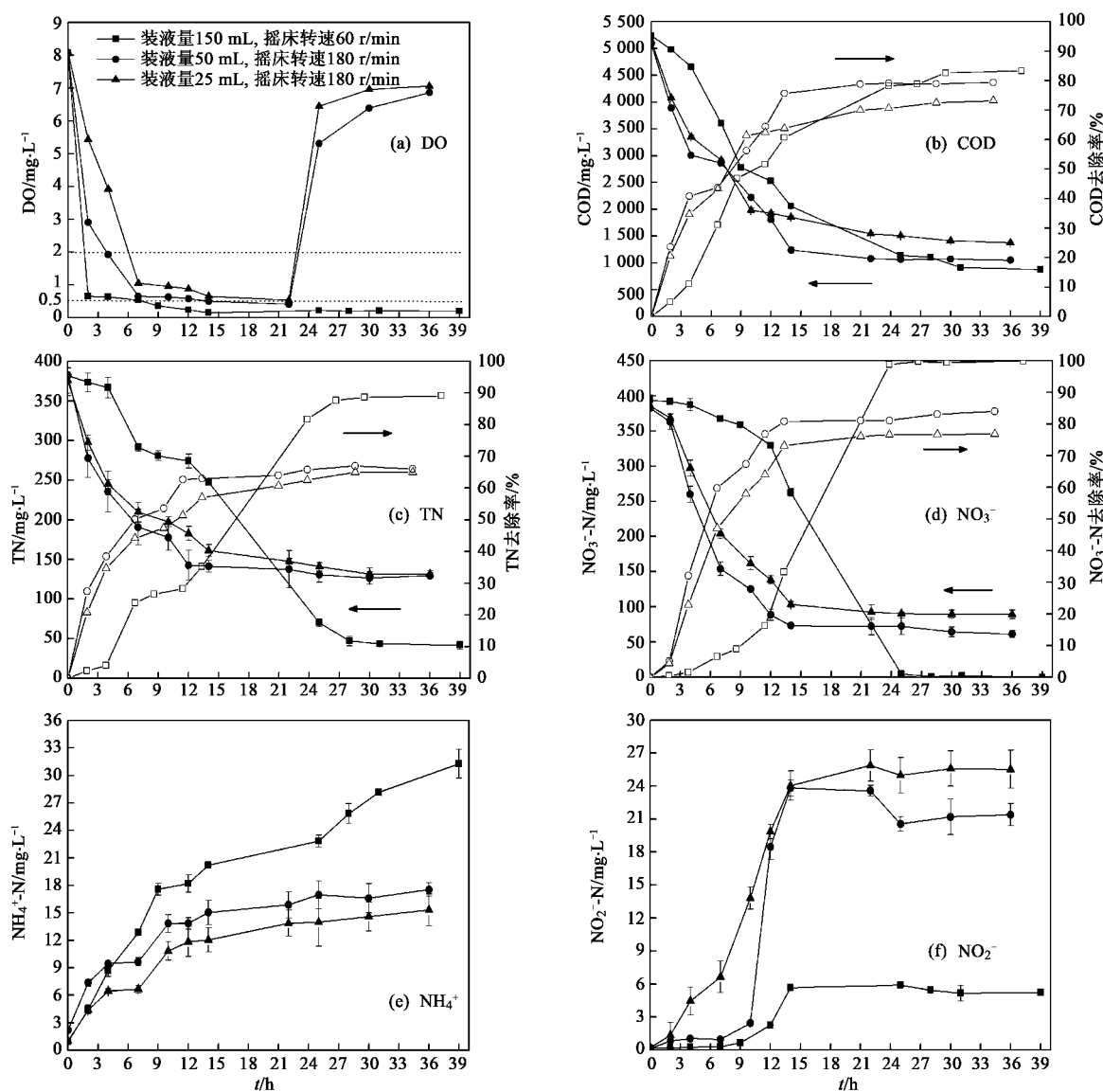


图 2 不同供氧条件下培养液中 DO、COD、TN、 NO_3^- 、 NH_4^+ 、 NO_2^- 的动态变化

Fig. 2 Dynamics of DO, COD, total nitrogen, nitrate, ammonium, nitrite concentrations during anoxic, partial aerobic, and total anoxic growth conditions of AD6

氧反硝化细菌的脱氮性能也有显著影响. 从图 3(a) 看出, 以柠檬酸三钠、乙酸钠为碳源时, 约有 20 h 培养液 DO 分别为 0.34 ~ 0.61 mg/L、0.27 ~ 0.51 mg/L; 以葡萄糖为碳源时, 在 60 h 内培养液均处于好氧状态. 图 3(b)、3(c) 表明, AD6 可以高效利用柠檬酸三钠、乙酸钠, 对其去除率分别达到 90%、92%, 而以葡萄糖为碳源时, AD6 对其利用率仅有 41%. 培养液中碳源为柠檬酸三钠、葡萄糖、乙酸钠时, TN 去除率最高可以达到 69%、34%、83%, 其中好氧反硝化作用导致的 TN 去除率分别为 27%、

34%、32%. 从图 3(d) ~ 3(f) 看出, 以柠檬酸钠、葡萄糖、乙酸钠为碳源, NO_3^- 去除率分别达到 92%、42%、95%, NH_4^+ 浓度最高分别为 78.16、3.10 和 22.03 mg/L, NO_2^- 浓度最高分别为 12.60、9.30 和 20.98 mg/L. 以柠檬酸三钠、乙酸钠为碳源时, AD6 对 NO_3^- 去除率相近, 但对 TN 去除率却相差 14%. AD6 对葡萄糖的利用率较低, 导致其生长缓慢(培养液 D_{600} 在 52 h 达到最大值 0.696), 好氧反硝化性能不佳, 脱氮过程中 NH_4^+ 、 NO_2^- 浓度明显低于另外 2 种碳源.

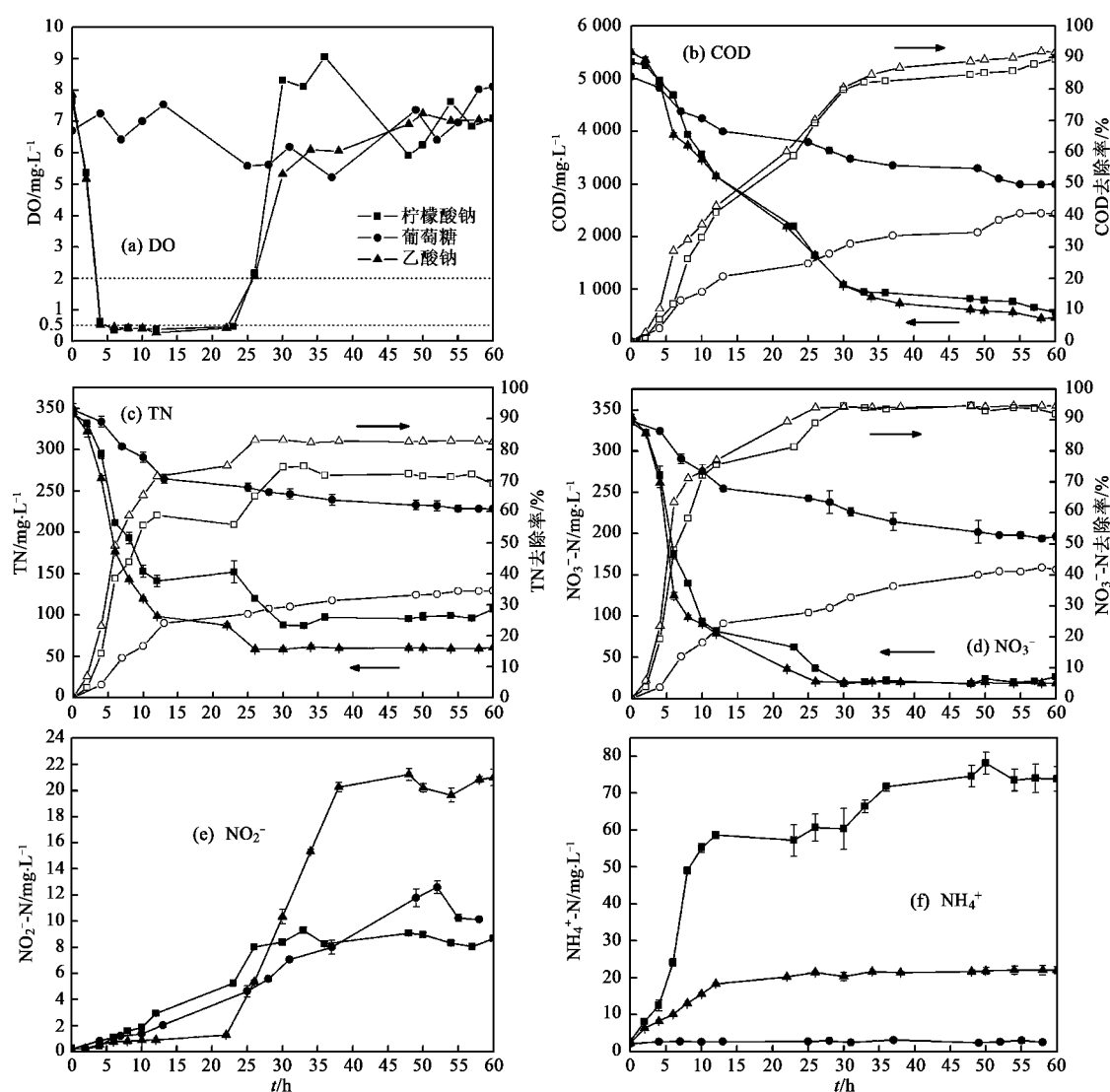


图3 不同碳源时培养液中 DO、COD、TN、 NO_3^- 、 NH_4^+ 、 NO_2^- 的动态变化

Fig. 3 Effects of combined supply of carbon source and of strain AD6 on dynamics of DO, COD, total nitrogen, nitrate, ammonium, nitrite concentrations

3 讨论

C/N 值对 AD6 反硝化性能有显著影响. C/N 值

为 3、8、15、23 时, 反应至 100 h, 培养液 C/N 值分别为 1.8、4.6、3.9、7.1, C/N 值为 3 时, 菌体生长量小且脱氮效率最低, 碳源供应不足, 阻碍了 AD6

生长与好氧反硝化作用的发挥。值得注意的是,随着 C/N 值增加, TN 损失率逐渐增加,似乎是一定范围内 C/N 值越高,好氧反硝化作用越强而实际上是因为碳源数量增加导致培养液处于缺氧状态,反硝化效率的提高是因为缺氧反硝化作用所致而不是好氧反硝化作用的贡献,如本实验中随着 C/N 值增加,缺氧反硝化脱氮率从 0 增至 30%、50%、62%。对 AD6 而言, C/N 值降低,好氧反硝化作用增强,培养液中 NO_2^- -N 相应增加; C/N 值升高,缺氧反硝化作用增强,培养液中 NH_4^+ -N 也随之增加。

研究好氧反硝化作用常采用的摇瓶实验或类似的批处理实验中, DO 不易控制在理想的好氧范围。尽管采用了增加摇床转速、减少装液量等措施,但 C/N 值较高的培养液要满足反应过程中,特别是反应开始时的 24 h 内 $\text{DO} > 2 \text{ mg/L}$ 并不容易。当 C/N 值在 15 及以下时,混合液可以在 24 h 后保持好氧状态,并且达到较高 DO。因此,研究好氧反硝化现象时仅监测反应时间段起、始 DO 数值高于 2 mg/L ,不能说明该反应过程始终维持好氧状态。培养液组成相同时,全程缺氧反硝化导致的脱氮效率最高可以达到 89%,部分好氧反硝化作用部分缺氧反硝化作用的脱氮效率约为 70%,不过前者反硝化速率较慢,约在 25 h 后达到最大 TN 去除效率, AD6 生长速率也较慢;后者情形下, AD6 可在 24 h 内达到最大生物量以及在 12~14 h 内达到最大脱氮效率。课题组与其他研究者也发现,这些好氧反硝化细菌上多为兼性菌,缺氧条件下反硝化效率往往比完全好氧条件下更高^[7,19,23]。

相同培养条件下,柠檬酸三钠、乙酸钠是 AD6 的良好碳源,而葡萄糖则不能为 AD6 高效利用。培养液中各种碳源数量是根据其 COD 值确定以使 COD/TN 值为 15,实验结果表明,不同种类碳源引起 DO 的下降水平与持续时间不一样,培养液中呈现完全好氧或部分时段缺氧、部分时段好氧状态。乙酸钠与柠檬酸盐具有较强的还原性能,而葡萄糖还原能力相对较弱^[24],而且乙酸钠与柠檬酸盐是三羧酸循环中间产物,更容易为 AD6 利用。3 种碳源中,乙酸钠促进了 AD6 的好氧反硝化功能,不仅在脱氮效率中好氧反硝化作用的贡献增加,而且消失的 NO_3^- 中有部分还原为 NO_2^- ,这可能是低分子有机酸如乙酸能够增强好氧反硝化细菌所特有的周质硝酸盐还原酶的活性,有助于反硝化细菌耐受 DO,同时可进行反硝化作用^[16,25]。

4 结论

(1) C/N 值不仅直接影响好氧反硝化过程中碳源的数量,也显著影响培养液的 DO。C/N 值为 3 时,因碳源数量不够而导致 AD6 好氧反硝化脱氮效率仅有 42%;当 C/N 值为 23、15、8 时,培养液中 DO 先快速下降至缺氧状态然后再升至好氧状态,反应末期 TN 损失率为 69%、70%、55%,其中好氧条件下反硝化作用引起的 TN 损失约为 7%、20%、25%。

(2) 培养液起始 DO 在 $7.15 \sim 8.08 \text{ mg/L}$, C/N 值为 15 及以下,摇瓶装液量为 $25 \sim 100 \text{ mL}$,摇床转速为 180 r/min ,培养液 DO 先下降至缺氧状态,但可在反硝化反应进行 24 h 后恢复至好氧状态并且达到较高 DO,减少摇瓶装液量的充氧措施提高培养液 DO 效果有限。

(3) 不同种类碳源对好氧反硝化细菌 AD6 的脱氮性能影响不同。柠檬酸盐与乙酸钠是 AD6 能够高效利用的碳源,利用率可达 90%、92%,而 AD6 对葡萄糖的利用率仅 41%。乙酸钠促进了 AD6 的好氧反硝化功能, TN 去除率、好氧反硝化脱氮效率分别比以柠檬酸盐为碳源时高 14%、5%。

参考文献:

- [1] Gupta A B, Gupta S K. Simultaneous carbon and nitrogen removal from high strength domestic wastewater in an aerobic RBC biofilm[J]. Water Res, 2001, 35(7): 1714-1722.
- [2] 郑平,徐向阳,胡宝兰. 新型生物脱氮理论与技术[M]. 北京: 科学出版社, 2004. 10-11.
- [3] 周立祥,黄峰源,王世梅. 好氧反硝化菌株的分离及其在土壤氮素转化过程中的作用[J]. 土壤学报, 2006, 43(3): 430-435.
- [4] Robertson L A, van Niel E W J, Torremans R A M, et al. Simultaneous nitrification and denitrification in aerobic chemostat cultures of *Thiosphaera pantotropha* [J]. Appl Environ Microb, 1988, 54(11): 2812-2818.
- [5] Su J J, Liu B Y, Liu C Y. Comparison of aerobic denitrification under high oxygen atmosphere by *Thiosphaera pantotropha* ATCC 35512 and *Pseudomonas stutzeri* SU2 newly isolated from the activated sludge of a piggery wastewater treatment system[J]. J Appl Microbiol, 2001, 90(3): 457-462.
- [6] Kim M, Jeong S, Yoon S J, et al. Aerobic denitrification of *Pseudomonas putida* AD-21 at different C/N rations[J]. J Biosci Bioeng, 2008, 106(5): 498-502.
- [7] 朱晓宇. 两株高效好氧反硝化细菌的分离鉴定及其好氧反硝化特性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2008. 38-40.
- [8] 王弘宇,马放,苏俊峰,等. 好氧反硝化菌株的鉴定及其反硝化特性研究[J]. 环境科学, 2007, 28(7): 1548-1552.
- [9] Van Niel E W J, Braber K J, Robertson L A, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in

- Alcaligenes faecalis* strain TUD[J]. Anton Leeuw Int J G, 1992, **62**:231-237.
- [10] Arts P A M, Robertson L A, Kuenen J G. Nitrification and denitrification by *Thiosphaea pantotropha* in aerobic chemostat cultures[J]. FEMS Microbiol Ecol, 1995, **18**(4):305-315.
- [11] Patureau D, Bernet N, Moletta R. Study of the denitrifying enzymatic system of *Comamonas* sp. strain SGLY2 under various aeration conditions with a particular view on nitrate and nitrite reductases[J]. Curr Microbiol, 1996, **32**:25-32.
- [12] 孔庆鑫,李君文,王新为,等. 一种新的好氧反硝化细菌筛选方法的建立及新菌株的发现 [J]. 应用与环境生物学报, 2005, **11**(2):222-225.
- [13] 马放,周丹丹,王弘宇,等. 一株好氧反硝化细菌生理生态特征的研究 [J]. 哈尔滨工业大学学报,2006, **38**(4):575-577.
- [14] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Improvement in ammonium removal efficiency in wastewater treatment by mixed culture of *Alcaligenes faecalis* no. 4 and L1 [J]. J Biosci Bioeng, 2007, **103**(1):66-73.
- [15] Patureau D, Bernet N, Delgenes J P, *et al.* Effect of dissolved oxygen and carbon-nitrogen loads on denitrification by an aerobic consortium[J]. Appl Microbiol Biot, 2000, **54**(4):535-542.
- [16] Oguz M T, Robinson K G, Layton A C, *et al.* Volatile fatty acid impacts on nitrite oxidation and carbon dioxide fixation in activated sludge[J]. Water Res, 2006, **40**(4):665-674.
- [17] 刘晶晶,汪苹,王欢. 一株异养硝化-好氧反硝化菌的脱氮性能研究[J]. 环境科学研究, 2008, **21**(3):121-125.
- [18] Hwang S, Hanaki K. Effects of oxygen concentration and moisture content of refuse on nitrification, denitrification and nitrous oxide production [J]. Bioresource Technol, 2000, **71**(2):159-165.
- [19] Kim J K, Park K J, Cho K S, *et al.* Aerobic nitrification-denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains[J]. Bioresource Technol, 2005, **96**(17):1897-1906.
- [20] Holman J B, Wareham D G. COD, ammonia and dissolved oxygen time profiles in the simultaneous nitrification/denitrification process[J]. Biochem Eng J, 2005, **22**(2):125-133.
- [21] Katarzyna B, Wojnowska-Baryta I. Carbon source in aerobic denitrification[J]. Biochem Eng J, 2007, **36**(2):116-122.
- [22] 李阜棣,喻子牛,何绍江. 农业微生物学实验技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996. 308.
- [23] Thomas K L, Lloyd D, Boddy L. Effects of oxygen, pH and nitrate concentration on denitrification by *Pseudomonas species* [J]. FEMS Microbiol Lett, 1994, **118**(1-2):181-186.
- [24] 许保玖,龙腾锐. 当代给水与废水处理原理 [M]. (第二版). 北京: 高等教育出版社, 2000. 350.
- [25] Sears H J, Sawers G, Berks B C. Control of periplasmic nitrate reductase gene expression (*napEDABC*) from *Paracoccus pantotrophus* in response to oxygen and carbon substrates. [J]. Micro, 2000, **146**(11):2977-2985.