文章编号: 1673 1689(2010)04 0581 08

# MBR 中厌氧氨氧化运行特性及微生态结构

路 青<sup>1</sup>, 华兆哲\*<sup>2</sup>, 李秀芬<sup>1</sup>, 葛富青<sup>1</sup>, 堵国成<sup>2</sup>, 陈 坚<sup>2</sup> (1. 江南大学 环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘 要: 研究了膜生物反应器(MBR)中厌氧氨氧化(Anammox)的运行特性与微生态结构变化。采用含氮模拟废水进行试验,最终获得粒径集中在 $0.2~1~\mathrm{mm}$ 的红褐色 厌氧氨氧化颗粒污泥。运行结果显示,厌氧氨氧化菌能够承受的容积负荷达 $0.245~\mathrm{kgT}\,\mathrm{N/(m^3 \cdot d)};$ 总氮、 $\mathrm{NH_4^+-N}$  和 $\mathrm{NO2-N}$  去除率分别达到80%、81%、91%。水力负荷冲击试验表明,当 $\mathrm{HRT}$  从 $14~\mathrm{h}$  下降到 $7.9~\mathrm{h}$  时, $\mathrm{NH_4^+-N}$ 、 $\mathrm{NO2-N}$  去除率相对稳定,分别保持在75%和85%左右,厌氧氨氧化仍然能够稳定进行。通过末端限制性酶切片断长度多态性(T-RFLP)试验发现,反应器运行完成后微生物呈多态性分布,优势菌突出,其中起Anammox作用的菌属主要为 $\mathrm{planctomyce}$ 、 $\mathrm{pirellula}$ 、 $\mathrm{gemmata}$ 、 $\mathrm{pseudomonas}$ ,这为厌氧氨氧化运行过程中微生物群落结构变化提供理论依据。

关键词: 膜生物反应器; 厌氧氨氧化; 颗粒污泥; 微生物种群分布

中图分类号: X 703.1

文献标识码: A

# Operation Characterictics and Microbial Community Distribution of Anammox in a Membrane Bioreactor

LU Qing<sup>1</sup>, HUA Zhao Zhe<sup>\* 2</sup>, LI Xiu Fen<sup>1</sup>, GE Fu-Qing<sup>1</sup>, DU Guo-Cheng<sup>1</sup>, CH EN Jian<sup>2</sup> (1. School of Environmental & Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Key Laboratory of Industrial Bio technology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The operation characteristics and microbial community distribution of Anammox process in the MBR was studied in this manuscript. Seeding with synthetic media, we found that the granular sludge with 0 2~ 1 mm diameter was obtained successfully. The nitrogen loading rate amounted to 0.245 kgTN/(m³ • d), and the removal efficiency of total nitrogen, NH4+-N and NO2-N was 80%, 81% and 91%, respectively. Experiencing the hydraulic shock text, the HRT of MBR was gradually shorted from 14 to 7.9 h, the NH4+-N and NO2-N removal efficiencies were kept at about 75% and 85%, respectively. Based on terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis, Microbial community diversity was achieved, and the predominant populations of Anammox bacteria found in MBR system were the

收稿日期: 2009 04 15

基金项目: 国家 973 计划项目(2007CB 714036); 江苏省自然科学基金项目(BK 2007022); 江苏省太湖水专项项目 (BS 2007125)。

<sup>\*</sup> 通信作者: 华兆哲(1969-), 男, 江苏无锡人, 工学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事环境生物技术方面研究。

planctomyce, pirellula, gemmata, pseudomonas after enrichment. The results presented here provided a theoretical basis for the change of microbial community during Anammox process.

Key words: membrane bioreactor, anaerobic ammonia oxidation, granular sludge, microbial community distribution

厌氧氨氧化(Anaerobic ammonia oxidation, Anammox)是在厌氧或缺氧条件下, 厌氧氨氧化微 生物以 NH4+-N 为电子供体, NO2-- N 为电子受 体,生成氮气的生物过程[1]。据报道,实验室规模 处理模拟废水基质氮去除速率最高达 26.0 kg/( m3 • d) [2], 生产性 Anammox 反应器处理污泥压滤液, 基质氮去除速率最高达 9.5 kg/(m³ • d)<sup>[3]</sup>。

然而 Anammox 在实验室规模的反应器中启动 往往要几个月甚至一年[410],在实际应用启动阶段 则需要 3年多[3]。主要是由于 Anammox 菌的生长 速率低、细胞产率低、Anammox 微生物由于大量气 泡的产生易被出水洗出[4]。因此,必须寻求更为有 效的反应系统或操作方式来避免生物量的流 失[510]。

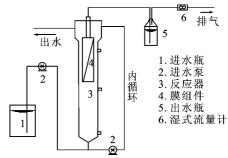
启动阶段获得高的生物保留量十分重要,因为 即使是生物量微小的流失也会造成启动时间的延 迟<sup>[11-13]</sup>。膜生物反应器(Membrane Bioreactor, MBR) 是膜组件与生物反应器的有机结合, 可将几 乎全部的微生物保留在反应器中,较高的污泥浓度 可使污染物去除率提高[14-15]。Wyffels[16]第一次 成功把MBR 运用到Canon(completely autotrophic nitrogen removal over nitrite) 工艺中,接着 Trigo C<sup>[17]</sup>接种驯化好的 Anammox 颗粒污泥, 研究 MBR 的启动过程中发现, 在 MBR 中没有出现 N O2 - N 的积累、微生物以颗粒形式聚集生长。 因此, MBR 有利于增殖缓慢的微生物,如 Anammox 菌的截留 生长。作者在 MBR 中接种普通厌氧颗粒污泥, 研 究反应器中 Anammox 的运行特性和微生物结构变 化, 旨在为建立 Anammox 快速启动的适宜条件提 供理论依据。

# 材料与方法

## 1.1 MBR 反应器及运行条件

MBR 反应器见图 1。该装置由机玻璃制成,有 效容积 1 L, 内径 80 mm, 高 220 mm。 U 型中空纤 维膜组件由杭州浙大凯华公司生产, 孔径为 0.1~ 0 2 µm, 材质为聚丙烯。

℃, 水力停留时间为 1 d。半连续运行, 具体为进水 1 h,循环 22. 5 h,静止 0 2 h,出水 0 3 h。



MBR 反应器装置图 图 1

Sketch of membrane reactor for anammox en Fig. 1 richment

### 1.2 接种污泥及试验用水

反应器接种污泥来自无锡柠檬酸厂污水处理 反应器的厌氧颗粒污泥, 总固体质量浓度(TS) 14.8 g/L, 挥发性固体质量浓度(VS) 9.6 g/L, VS/TS 为 0 65。试验用水为人工模拟废水, 具体成分见 表 1。

表 1 模拟废水组成[17]

Composition of the synthetic media

1 000
10
58 6
5 65
按需投加
按需投加
430
240
250
990
220
14
190
210

http://www.cnki.net

### 1.3 分析测试方法

### 1.3.1 物理性质测定

- 1) 污泥粒径: 从反应器内取一定量污泥, 用水冲洗后使之依次通过 1. 5、1、0 8、0. 5、0 2 mm 的分样, 然后将各个分样筛截留的污泥收集, 在 105 ℃下烘干、称重, 计算不同粒径范围的污泥所占比例(质量比)。
  - 2) 污泥体积指数(SVI)、TS、VS: 质量法。

### 1.3.2 化学分析

- 1) Anammox 污泥活性测定<sup>[18]</sup>: 在 250 mL 摇瓶中加入一定量待测污泥样品, NH4<sup>+</sup>-N 和 NO<sup>2</sup>-N 质量浓度均为 70 mg/L 的模拟废水混合, 用丁基橡胶塞密封, 并用氮气置换摇瓶顶端空气 2~3 min, 避光置于 30 ℃ 恒温水浴中。根据反应进行的程度, 定时测定 NH4<sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 NO<sup>2</sup>-N 的质量浓度。总氮(TN)= NH4<sup>+</sup>-N+ NO<sup>2</sup>-N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N。
  - 2) 氨氮: 水杨酸 次氯酸盐光度法。
  - 3) 亚硝基氮: N-(1-萘基)-乙二胺光度法。
  - 4) 总氮: 紫外分光光度法。
  - 5) pH: DELT A 320 pH 计。

### 1.33 微生态结构分析

- 1) DNA 提取、纯化: 采用 3S 柱离心式环境样品 DNA 回收试剂盒法, TaKaRa 纯化试剂盒法对 DNA 纯化。
- 2) PCR 扩增和纯化: 采用总细菌引物 27F/1492R 扩增体系(总体积 50 円): 10× PCR buffer 5 円, MgCl<sub>2</sub> 2 mmol/L, dNTPs 120 叶mol/L, 正反引物各 20 叶mol/L, 模板 1 円, Taq 酶 2 5 円, 加超纯水至终体积为 50 円。扩增条件: 94 ℃预变性 5 min, 94 ℃变性 1 min, 72 ℃退火 1 min, 30 个循环,72 ℃延伸 7min, 最后 4 ℃保存。TaKaRa 纯化试剂 盒法对扩增产物纯化。
- 3) 酶切: PCR 纯化产物用 *M sp I/H haI* 2 种酶分别进行消化, *M sp I* 酶切体系为(总体积为 20 μL): 10 × T aq buffer 2.0 μL, 50~ 100 ng PCR 产物, 0.1% BSA 2 μL, 2.5 μL 酶, 加超纯水至终体积 20 μL。混合液在 37℃停留过夜, 然后在 65℃停留 10 min, 灭活, 12℃保留,终止反应。

消化产物由上海基康生物公司进行检测, 检测数据包含末端片断长度和峰面积, 用威斯康星一麦迪逊大学建立的基于 Web(http://trflp. limnology. wisc. edu/assignment. jsp) 的 T-RFLP 数据分析方法进行分析处理<sup>[19]</sup>。

# 2 结果与讨论

### 2.1 MBR 中厌氧氨氧化过程的物理特征

**2 1. 1** 污泥质量浓度 图 2 显示的是 M BR 中污泥总固体质量浓度(TS)、挥发性固体质量浓度(VS)和 VS/TS 比值随时间的变化。在反应器运行过程的前期, 污泥质量浓度会有所下降, 后期则逐步上升; 而 VS/TS 比值则随时间的增加而增加, 由初始的 0. 66 提高到 0 77, 表明体系中的生物量经历了一个减少到增加的过程。

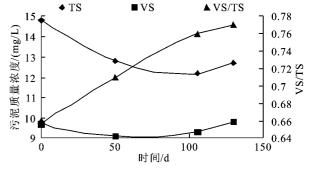


图 2 MBR 中污泥质量浓度随时间的变化

Fig. 2 Time courses of sludge concentration in the MBR

2 1. 2 污泥颜色 接种的厌氧颗粒污泥为黑色, 经过长时间驯化后变成红褐色, 且随运行时间的延长红色逐渐加深。根据相关报道, Anammox 菌含有丰富的细胞色素  $c^{[20]}$ , 成熟的厌氧氨氧化污泥呈浅红色, 污泥颜色越红, Anammox 活性越高 $^{[18,21]}$ 。因此, 从污泥颜色变化看, 本实验中驯化后的微生物已具备了厌氧氨氧化菌的外观特征。

2 1. 3 污泥粒径 反应器运行前后的污泥粒径分布分别见图 3, 4。可以发现, 厌氧氨氧化运行完成后, MBR 内颗粒污泥粒径主要集中在  $0.2 \sim 1.0$  mm 之间。为了确定颗粒污泥对反应器脱氮的贡献, 测定了反应器中颗粒污泥的 Anam mox 活性。经计算颗粒污泥的 Anam mox 活性约为  $106 \text{ mg/kgT N/(m}^3 \cdot d)$ , 据此推断颗粒污泥是 MBR 中 Arram mox 功能的重要承载者。

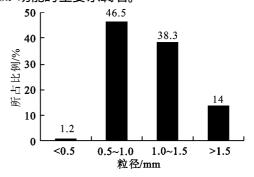


图 3 驯化前污泥粒径分布

Fig. 3 Diameter distribution of the inoculated sludge

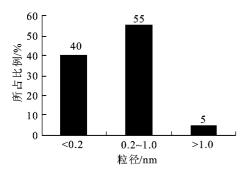


图 4 驯化后污泥粒径分布

Fig. 4 Diameter Distribution of the incubated sludge

# 2 2 MBR中厌氧氨氧化过程的化学特征

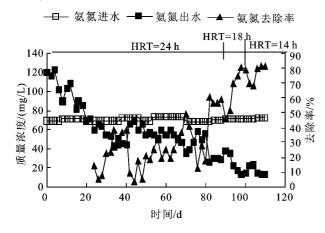


图 5 MBR 中氨氮变化曲线

Fig. 5 Profiles of NH<sub>4</sub>+- N removal in the MBR

第 28 天, 出水 N  $O_2^2$  - N 上升为 21 mg/L, 为了防止基质抑制作用, 降低进水 N $O_2^2$  - N 质量浓度。之后出水 N $O_2^2$  - N 稳定。NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - N 去除率有所升高, 但是提高幅度不大且不稳定, 在  $10\% \sim 30\%$  间波动。随着 Anammox 菌的富集, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - N 和 N $O_2^2$  - N 去除率进一步升高, 出水 N $O_3^-$  - N 浓度逐步升高。Anammox 菌从 N $O_2^2$  - N 转化为 N $O_3^-$  - N 过程中获得还原力用于同化 C $O_2$ , N $O_3^-$  - N 的增长代表了微生物的增长。—般以 N,H<sub>4</sub><sup>+</sup> - N,和 N $O_2^2$  - N

按一定比值( $NH_4^+/NO_2^-N: 0.25\sim 2$ ) 去除, 标志 Anammox 反应的达成<sup>[22]</sup>。86 d 时, 去除的  $NH_4^+-N$ ,  $NO_2^-N$  和生成的  $NO_3^--N$  的比值为 1:1.14:0.13, 表明 Anammox 反应已经成为主导反应。

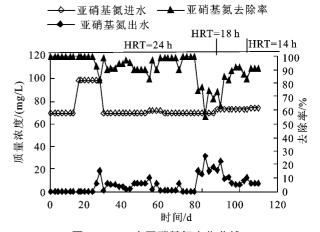


图 6 MBR 中亚硝基氮变化曲线

Fig. 6 Profiles of NO<sub>2</sub>-N removal in the MBR

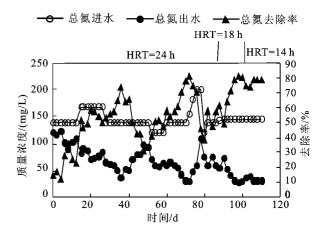


图 7 MBR 中总氮变化曲线

Fig. 7 Profiles of nitrogen removal in the MBR

第 87 天,逐步缩短 HRT 至 14 h,经过 23 d 的运行,最终 Anammox 反应器的容积总氮负荷达 0 245 kg/( $m^3 \cdot d$ ),去除率为 80%,出水 N H<sub>4</sub> +- N 和 NO<sub>2</sub>-N 去除率分别为 81 %、91 %。

2.2. 2 抗负荷冲击能力 保持进水  $NH_4^+$ -N、 $NO_2^-$ -N 质量浓度分别为 70~mg/L, 以每两天增加 10% 进水量的方式, 研究反应器的抗水力负荷能力, 以进水量提升前后的基质去除速率的变化情况作为效能指标评价反应器运行的稳定性。由图 8 可知, 当水力停留时间(HRT) 由 14~h 缩短至 7.~9~h 时, 反应器表现出较好的抗冲击能力, MBR 中  $NH_4^+$ -N、 $NO_2^-$ -N 去除率分别是 75~%、85~%,而继续缩短至 5.~4~h 时,  $NH_4^+$ -N、 $NO_2^-$ -N 去除率分别

hlis是 50%、61%。说明当 HRT 缩短到一定程度时。

**2 2 3** pH 值的变化 反应器运行过程中的 pH 值变化见图 9。在运行初期,出水 pH 值远高于进水,最高达到了 8. 81,这是由于启动初期,微生物反硝化产碱所致。随着  $NO_2^2$  - N 去除率的下降,反应器内微生物产碱作用减弱,pH 值开始逐渐下降。由于 A nammox 过程是一个耗酸的过程[1],随着 A nammox 菌的富集,55 d 后出水 pH 值开始升高,最终稳定在 8 4 左右。

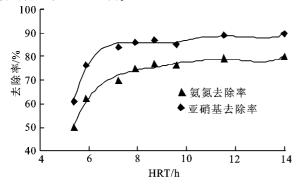


图 8 HRT对 MBR 中 NH4+-N和 NO5-N 去除率的影响 Fig. 8 Effects of HRT on ammonium and nitrite removals in the MBR

# 2 3 MBR中厌氧氨氧化过程的微生物种群特征

图 10 是用遗传分析仪 AB13700 扫描微生物 16S rDNA PCP 扩增产物的 Hha I 和 M sp I 双酶 切片段的图谱。酶切图谱上每一个末端限制性酶 切片段(TRFs)至少代表一种类型的微生物,峰的

面积反映出该种类的相对数量。从图中可以直接 地反映出 MBR 启动前后污泥中微生物种类和相对 数量的变化

作者对 MBR 系统中微生物的研究过程共 100 多天。在长时间的富集培养过程中, 微生物种群变 化十分明显。利用 Sorenson's 法计算多样性指数 (H')。 计算公式:  $H' = -\sum (n/N) \ln(n/N)$ , 式中 n为每个波峰的面积, N 为所有波峰的面积, 算出富 集前后微生物多样性指数分别 2.0、2.5、说明污泥 种群数量出现小幅度增加,污泥中细菌种群数量变 化趋势与 VS/TS 变化及氮素去除情况相吻合。由 图 10 可以看出, MBR 启动后, 污泥中优势菌群突 出。反应器中优势菌群的种类、数量可能直接关系 到反应器功能的强弱, 因为即使在水力冲击(HRT 由 14 h 缩短至 7.9 h) 的情况下, 也有助于系统的稳 定运行。根据生态学中的"多样性导致稳定性原 理", 物种多样化具有稳定生态系统的功能特征[23]。 因此、MBR中微生物菌群呈现多样性分布有利干 稳定的厌氧氨氧化。MBR 反应器运行前后微生物 种群结构对比见图 11。

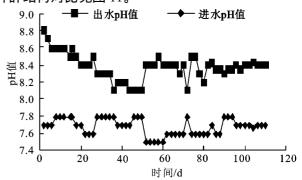
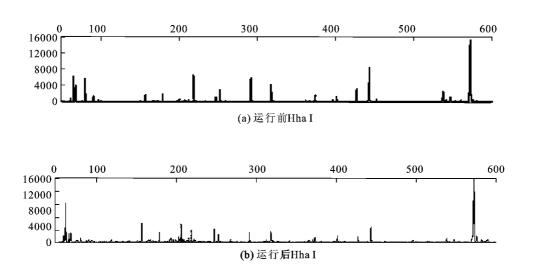


图 9 MBR 中 pH 值变化曲线

Fig. 9 The changes of pH in the MBR



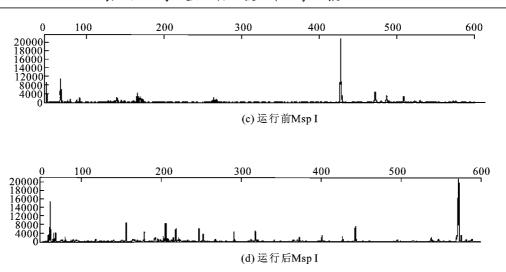
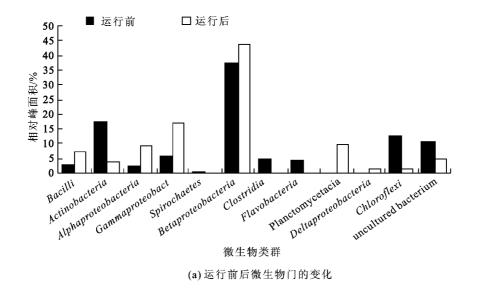
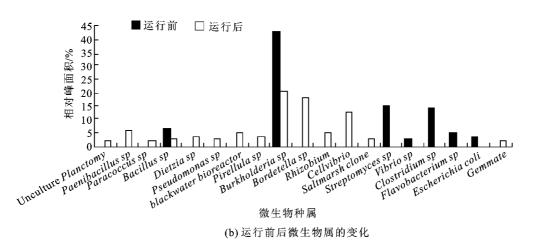


图 10 16S rDNA PCR 扩增产物两种酶切片段图谱 Fig. 10 The 16S rDNA PCR amplified production after enzyme digestion





A: 运行前后微生物门的变化 B: 运行前后微生物属的变化

图 11 MBR 反应器运行前后微生物种群结构对比

Fig. 11 Comprison of microbial communities between before and after Anammox process in the MBR

由图 11 可以看出, 运行前后微生物类群发生 了显著的变化。运行后系统中部分菌属如 Clostridia, Flavobacteria 等基本消失, 出现 planctomyce、pirellula、gemmata、pseudomonas 等新的种 属。每种类群的丰富度是其相对面积与总物种群 落面积的比值。启动成功后污泥中 Betaproteobacteria(从 37% 到 44 5%)、Gammaproteobacteria(从 6 % 到 17.1 %) 出现了不同程度的增加, Chlorof lexi(10.7% 到 4.8%)、Actinobacteria(17.8% 到 4 %)、Planctomy cetacia(从 0 % 到 9.5 %)得到 富集,浮霉状菌的低生长率使其只有少量富集。迄 今为止已确认的 Anammox 菌属都归于浮霉菌门。 对于启动后出现的 planctomyce、pirellula、gemmata、 p seudomonas 等菌属, 相关文献已证明[24 25] 其 Anammox 活性。而对于启动后出现的其他优势菌属是否 具有 Anammox 活性,还需进一步研究。

# mox 菌, 容积总氮负荷达 $0.14 \text{ kg/} (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 。通过缩短 HRT 加快 Anammox 菌生长, 当 HRT 缩短至 14 h, 容积总氮负荷达 $0.245 \text{ kg/} (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ , 总氮去除率约 80%, 出水 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 去除率分别为 81%、91%。水力冲击试验证明, MBR 有良好的耐水力冲击能力, 是一种较好的富集 A nammox 菌的装置。

- 2) 在 MBR 中, 普通厌氧颗粒污泥经过 100 多天驯化, 变为粒径集中在 0 2~ 1 mm 的 A nammox 颗粒污泥。通过分批培养试验证明, 颗粒污泥是MBR 中起 A nammox 功能的重要承载者。
- 3) T-RFLP 试验证明, 微生物群落结构运行前后发生明显变化, 运行后整个反应器中适应厌氧氨氧化运行方式的菌种增殖较多, 包括 p lanct omy ce、pirellula、gem mata、p seud omonas 等。

# 3 结 语

1) 经运行, 在 MBR 中成功富集得到 Anam-

# 参考文献(References):

- [1] Strous M, Heijnen JJ, Kuenen JG, et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium oxidizing microorganisms[J]. **Applied and Microbiological Biotechnology**, 1998, 50: 589-596.
- [2] Tsushima I, Ogasawara Y, Kindaichi T, et al. Development of highr rate anaerobic ammonium oxidizing (Anammox) biσ film reactors[J]. Water Research, 2007, 41: 1623-1634.
- [3] Van der Star W R L, Abma W R, Blommers D, et al. Start up of reactors for anoxic ammonium oxidation: experiences from the first full scale anammox reactor in *Rotterdam*[J]. Water Research, 2007, 41: 4149-4163.
- [4] Dapenar Mora A, Campos JL, Mosquerar Corral A, et al. Stability of the anammox process in a gas-lift reactor and a SBR [J]. **Biotechnology**, 2004, 110: 159-170.
- [5] Chamchoi N, Nitisoravut S. Anammox enrichment from different conventional sludges[J]. Chemosphere, 2007, 66: 2225
  2232.
- [6] WANG Jing long, KANG Jing. The characteristics of anaerobic ammonium oxidation (Anammox) by granular sludge from an EGSB reactor [J]. **Process Biochemistry**, 2005, 40: 1973-1978.
- [7] LIU Sittong, YANG Feng lin, MENG Farr gang, et al. Enhanced anammox consortium activity for nitrogen removal: impacts of static magnetic field [J]. **Biotechnology**, 2008, 138: 96-102.
- [8] Dapena Mora A, Arrojo B, Campos J L, et al. Improvement of the settling properties of anammox sludge in an SBR[J]. Chemical Technology Biotechnology, 2004, 79: 1417-1420.
- [9] JIN Rencun, ZHENG Ping, HU Anhui, et al. Performance comparison of two anammox reactors: SBR and UBF[J]. Chemical Engineering, 2008, 138: 224-230.
- [10] Isaka K, Date Y, Sumino T, et al. Ammonium removal performance of anaerobic ammonium oxidizing bacteria immobilized in polyethylene glycol gel carrier[J]. **Applied and Microbiological Biotechnology**, 2007, 76: 1457-1465.
- [11] Dirlei DK, Valeria R, Willibaldo S, et al. Sludge washrout as strategy for anammox process start up[J]. **Process Bio** chemistry, 2007, 42: 1579–1585.
- [12] Fern' andez I, V' azquez Pad in J R, Mosquera Corral A, et al. Biofilm and granular systems to improve anammox biomass retention[J]. **Biochemical Engineering Journal**, 2008, 42: 308-313.
- [13] Toh S.K. Ashbolt N.J. Adaptation of anaerobic ammonium oxidising consortium to synthetic coke ovens wastew ater. J. 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

### Applied and Microbiological Biotechnology, 2002, 59: 344-352.

- [14] M ENG Farr gang, YANG Feng lin, SHIBao qiang, et al. Comprehensive study on membrane fouling in submerged membrane bioreactors operated under different aeration intensities [J]. **Separation and Purification Technology**, 2008, 59: 91–100.
- [15] 高方述, 李秀芬, 堵国成,等. MBR 中 SMP 与污泥特性之间的相关性[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(5), 25-29. GAO Fang shu, LI Xirr fen, DU Guσ cheng, et al. Relation of soluble microbial product versus sludge properties in membrane bioreactor [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2005, 24(5), 25-29. (in Chinese)
- [ 16] Wyffels, S Boeckx, P Pynaert, et al. Nitrogen removal from sludge reject water by a tw σ stage oxygen limited autotrophic nitrification denitrification process [ J]. Water Science and Technology, 2004, 49: 57-64.
- [17] Trigo C, Campos J L, Garrido J M, et al. Start up of the anammox process in a membrane bioreactor [J]. **Biotechnology**, 2006, 126: 475-487.
- [18] 张蕾, 郑平. 厌氧氨氧化膨胀床反应器的运行性能[J]. 生物工程学报,2008,24(7): 1240-1247. ZHANG Lei, ZHENG Ping. Performance of anammox attached microbial film expanded bed reactor[J]. **Journal of Bio technology**, 2008,24(7): 1240-1247. (in Chinese)
- [19] Kent A D, Smith D J, Benson B J, et al. Web based phylogenetic assignment tool for analysis of terminal restriction fragment length polymorphism profiles of microbial communities [J]. **Applied Environment and Microbiology**, 2003, 69: 6776–6768.
- [20] Van de Graaf A A, Mulder A, Bruijin P, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium oxidation microorganism in a fluidized bed reactor [J]. Microbiology, 1996, 142: 2187-2196.
- [21] Strous M, Kuenen J G, Jetten M SM. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation [J]. Applied Environment and Microbiology, 1999, 65: 3248-3250.
- [22] Strous M, Kuenen JG, Fuerst JA, et al. The anammox case a new experimental manifesto for microbiological ecσ physiology [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2002, 81: 693–702.
- [23] Schlegel HG 著. 普通微生物学[M]. 陆卫平, 周德庆, 郭杰炎, 等译. 上海: 复旦大学出版社, 1990.
- [24] 胡宝兰, 厌氧氨氧化微生物学研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005:98-120.
- [25] YANG Qing xiang, JIA Zherr jie, LIU Rur yin, et al. Molecular diversity and anammox activity of novel planctomycete like bacteria in the wastewater treatment system of a full scale alcohol manufacturing plant[J]. **Process Biochemistry**, 2007, 42: 180-187.

(责任编辑:李春丽)