研究论文

强化反硝化除磷对 A^2O 工艺微生物种群变化的影响

吴昌永[1]，彭永臻[1,2]，王淑莹[2]，任南琪[1]，万春黎[1]
([1] 哈尔滨工业大学市政环境工程学院城市水资源与水环境国家重点实验室，黑龙江 哈尔滨 150090;
[2] 北京工业大学北京市水质科学与水环境恢复工程重点实验室，北京 100124)

摘要：强化 A^2O 工艺中的反硝化除磷比例，是提高该工艺处理低 C/N 比污水时脱氮除磷效率的有效途径。采用 52.5 L 的 A^2O 反应器处理实际生活污水，研究了系统在不同的反硝化除磷比例情况下微生物的种群变化及关系。试验结果表明，随着水质条件及运行状态的改变，系统反硝化除磷的比例也在变化，同时微生物种群结构表现为一种动态的演替过程，工艺条件与微生物的种群结构具有很强的映射关系。测序结果表明，具有传统除磷功能的 *Acinetobacter* 在系统反硝化除磷得到强化的时候会逐渐被淘汰，而 Uncultured *Chlorobi* bacterium 会逐渐得到增殖，可能是系统中具有反硝化除磷功能的微生物。

关键词：污水处理；脱氮除磷；DGGE；微生物种群演替
中图分类号：X 703.1 文献标识码：A 文章编号：0438-1157 (2010) 01-0186-06

Effect of enhancing denitrifying phosphorus removal on microbial population variation in A^2O process

WU Changyong[1], PENG Yongzhen[1,2], WANG Shuying[2], REN Nanqi[1], WAN Chunli[1]
([1] *State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin* 150090, *Heilongjiang, China*;
[2] *Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing* 100124, *China*)

Abstract: Enhanced denitrifying phosphorus removal in anaerobic-anoxic/oxic (A^2O) process is an effective way to increase the removal efficiency of nitrogen and phosphorus when treating low C/N ratio domestic wastewater. In this study, a 52.5L pilot-scale reactor, based on plug-flow A^2O configuration, was used to treat domestic wastewater. In addition, the microbial population variation was investigated by polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE). The results showed that the microbial community structure and dominant bacteria changed with the variation of wastewater quality and operating parameters. The dynamic change of microbial population was consistent with the variation of operation. Sequence results of DGGE bands showed that the dominant bacterial community in the system was *Proteobacteria*. *Acinetobacter* may be responsible for the traditional biological phosphorus removal in the system, but it disappeared gradually with the enhancement of denitrifying phosphorus removal.

2009-04-20 收到初稿，2009-09-22 收到修改稿。
联系人：彭永臻。第一作者：吴昌永 (1980—)，男，博士研究生。
基金项目：国家“十一五”重大科技专项课题 (2008ZX07314-008-01, 2008ZX07317-007-105)。

Received date: 2009-04-20.
Corresponding author: Prof. PENG Yongzhen, pyz@bjut.edu.cn
Foundation item: supported by the 11th National Key Science and Technology Special Projects (2008ZX07314-008-01, 2008ZX07317-007-105).

Uncultured *Chlorobi* bacterium increased with the enhancement of denitrifying phosphorus removal and it might be the major denitrifying phosphate accumulating organisms (DPAOs) in the system.

Key words: wastewater treatment; biological nitrogen and phosphorus removal; DGGE; microbial population variation

引　言

早在 20 世纪 80 年代中期，Hascoet 等[1] 就发现聚磷菌 (PAOs) 能够在缺氧环境中利用硝酸盐作为电子受体进行吸磷。后来，荷兰 Delft 科技大学的 Kuba 等[2] 在试验中也发现，在厌氧/缺氧交替运行的序批试验中，容易富集一类具有反硝化除磷作用的兼性厌氧微生物，该类微生物能够利用 O_2 或 NO_3^- 作为电子受体进行吸磷，其基于对胞内 PHA (聚羟基脂肪酸酯)、糖原和多聚磷酸盐的代谢模式与传统的厌氧/好氧条件下的聚磷菌类似。人们将这类微生物称为反硝化聚磷菌。同时，由于反硝化除磷过程能够做到一碳 (胞内 PHA) 两用 (吸磷和反硝化)，该除磷脱氮工艺和传统的工艺相比，能够节省 50% 的 COD 消耗量、30% 的曝气量且污泥产生量能够减少 50% 左右[2]。因而该工艺用于低 C/N 比生活污水的同步脱氮除磷将十分具有优势。

Hu 等[3] 的研究发现，在前置反硝化的同步脱氮除磷工艺中，当回流至缺氧区的 NO_3^- 负荷超过普通的异养反硝化负荷时，则缺氧区容易发生反硝化除磷现象。近年来也陆续有在前置反硝化同步脱氮除磷工艺中存在反硝化除磷现象的报道，比如 UCT、MUCT 等[4-6]。王晓莲等[7] 的研究也发现，在 A^2O 工艺中存在反硝化除磷现象。吴昌永等[8] 的研究发现，强化 A^2O 工艺中的反硝化除磷能显著提高该工艺处理低 C/N 比生活污水时的脱氮除磷效率，并对 A^2O 工艺处理低 C/N 比生活污水时的设计运行参数进行了探讨。

通过现代先进的分子生物学手段检测表明，污水厂中的微生物种群结构受运行方式的影响很大[9-10]。过去污水厂运行控制的特点是将污水反应过程当成是一个化学反应过程而不是生物反应过程，因而对污泥种群的优化问题在污水厂的设计和运行期间得不到应有的重视[9]。事实上，对活性污泥中的微生物进行优化控制，能够保证污水厂在长期运行期间的效果。

分子生物学技术是研究污泥微生物种群的强大工具，可以对活性污泥中的微生物进行定性和定量分析。前期研究表明，强化 A^2O 工艺中的反硝化除磷，能提高该工艺在处理低 C/N 比污水时的脱氮除磷效率[8]。本研究采用 PCR-DGGE 技术，从分子微生物的角度出发，系统研究了 A^2O 工艺在不同阶段、不同处理效果下活性污泥中微生物种群及其演替变化，揭示了控制运行参数对微生物种群结构变化的影响。

1　试验材料与方法

1.1　试验装置与运行工况

试验中采用的 A^2O 反应器如图 1 所示。装置为有机玻璃制成的合建式反应器，反应区有效容积为 52.5 L，二沉池有效容积为 26.0 L。反应器分为 9 个格室，厌氧区、缺氧区和好氧区的容积可通过可活动的隔板灵活调节，隔板中间有小孔，使得泥水混合物从反应器始端到末端形成有效的推流。厌氧区和缺氧区用搅拌桨轻微搅拌使得泥水完全混合，好氧区通过固定在格室底端的曝气头供氧同时促进液体混合。曝气量通过气体流量计进行控制，使得好氧区末端的 DO 在 3.0~4.0 mg·L^{-1} 之间。反应器中混合液温度通过加热装置控制在 21~22℃。

试验进水、污泥回流和硝化液回流均采用蠕动泵控制。主要运行条件如下：进水量为 157.5 L·

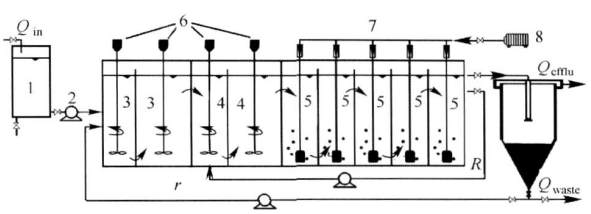

图 1　A^2O 工艺示意图

Fig 1　Schematic diagram of A^2O process

1—feed tank; 2—peristaltic pump; 3—anaerobic zone; 4—anoxic zone; 5—aerobic zone; 6—stirrer; 7—airflow meter; 8—air compressor

d^{-1}，反应区相应 HRT（水力停留时间）为 8 h，SRT（污泥停留时间）通过排泥控制在 15~ 20 d，污泥回流比为 70%，MLSS（混合液悬浮固体浓度）为 3500~ 4000 mg·L^{-1}。试验所用污泥取自哈尔滨某城市污水处理厂，该厂采用 A/O 工艺运行，种泥脱氮效果较好。

1.2 污水及组成

本试验所用污水取自哈尔滨工业大学二校区教工生活区。其平均水质指标为：COD 372.8 mg·L^{-1}，TN 57.80 mg·L^{-1}，TP 4.56 mg·L^{-1}。后期根据试验的需要对原污水进行了稀释调节，降低了 COD 浓度，同时采用 NH_4Cl 和 KH_2PO_4 补充氮源和磷源，采用微量元素浓缩液补充微量元素，微量元素液的配方同文献[11]，使得污水成为典型的低 C/N 比生活污水。调节后的水质指标平均为：COD 243.6 mg·L^{-1}，TN 55.03 mg·L^{-1}，TP 8.75 mg·L^{-1}。

1.3 分析测试方法

1.3.1 常规指标测定方法 试验测定的常规指标有：MLSS、COD、NH_4^+-N、TN、NO_2^--N、NO_3^--N、PO_4^{3-}-P 和 TP 等。这些指标采用国家环保总局颁布的标准分析方法测定，水样在测定前经定量滤纸过滤。试验结果采用的是重现性较好的数据。缺氧吸磷比例，即反硝化除磷百分比的确定按照物料平衡的方法计算，具体计算方法参照文献[8]。确定活性污泥中聚磷菌（PAO）和反硝化除磷菌的比例的方法按照文献[12]中的方法进行。

1.3.2 PCR-DGGE 方法 PCR-DGGE 的操作根据文献[13-15]中所述方法进行，根据实际情况对文献中的方法进行了相关的修正，主要分为以下几个主要步骤：样品准备、DNA 提取、PCR 扩增、变性梯度凝胶电泳以及克隆测序。在反应器运行的不同阶段取一定量（湿重约 0.018 g）的活性污泥混合液[污水厂的原始泥样（A）取自初始阶段，其后运行的各个阶段（B~ F）均取自稳定运行阶段]，采用上海华舜生物公司的细菌 DNA 试剂盒对污泥中的 DNA 进行提取，将获得的 DNA 溶于 50 μl 浓度为 2 mmol·L^{-1}的 Tris-HCl（pH 8.0）中，然后利用 0.8% 的琼脂糖进行 DNA 纯度检测。采用细菌 16S rRNA 通用引物 BSF8（5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'）和 BSR534（5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'）对提取的 DNA 进行 PCR 扩增。50 μl 的扩增体系中依次加入含有镁离子的 10× baffer 5 μl，dNPT 4 μl，引物 BSF8（20 μmol·L^{-1}）2 μl，引物 BSR534（20 μmol·L^{-1}）2 μl，Ex Taq 1.25U，最后用灭菌后的 ddH_2O 补足至 50 μl。PCR 扩增条件为首先 94℃变性 8 min，然后进行 30 个循环（94℃ 40 s，55℃ 40 s，72℃ 40 s），最后进行延伸 72℃ 10 min，将获得的 PCR 产物放于 -20℃冰箱中保存备用。将获得的 PCR 产物进行变性梯度凝胶电泳，丙烯酰胺胶的浓度为 8%，变性剂的梯度为 30%~ 60%，电泳条件为 80 V 电泳 16 h，上样量为 8 μl，采用的仪器为美国 Bio-Rad 公司的 DCode 电泳仪。电泳结束后采用银染的方法进行染色得到 DGGE 图谱。图谱的分析采用生物分析软件 Quantity One（v4.6）和 MEGA（v3.1）。最后对特定条带进行克隆测序，方法见文献[13-14]，得到的序列信息和 GenBank 数据库中的信息进行相似性比对以进一步确定相关微生物。

2 试验结果与讨论

对污水生物处理系统而言，短时期的运行条件或水质的变化对微生物特性的影响不大，长期的变化则会提供一种选择压力，使系统适合一类微生物生长而不适合另一类微生物生长，这样在污泥中微生物的种群会发生逐渐的演替，提高污染物去除效率。

2.1 不同运行条件下的反硝化除磷百分比

正如前面的研究得出的结论[8]，A^2O 工艺的缺氧区存在反硝化除磷现象。本研究采用脱氮良好的城市污水厂污泥进行重新启动，系统研究了不同水质、不同运行条件对反硝化除磷百分比及整体脱氮除磷效率的影响，并采用分子生物学手段，分析了不同阶段污泥中微生物的种群结构及演替关系。表 1 是不同水质和运行条件情况下反硝化除磷在整体除磷中所占的百分比（DPR ratio）。试验共运行 200 d。

表 1 不同水质和运行条件下的缺氧吸磷百分比

Table 1 DPR ratios in different wastewater qualities and operating conditions

Periods	C/N	Volume ratio (anaerobic/ anoxic/ oxic)	Nitrate recycle ratio/ %	DPR ratio/ %
B	6.45	1/ 1/ 2	200	25
C	4.43	1/ 1/ 2	200	45
D	4.43	1/ 1.4/ 1.6	200	55
E	4.43	1/ 1.4/ 1.6	250	60
F	4.43	1/ 1.4/ 1.6	300	53

表 1 中的数据表明，正常运行的 A²O 工艺中存在反硝化除磷现象，约 25% 的磷在缺氧区被吸收去除。郝晓地等[16] 认为，反硝化除磷菌是一种广泛存在于一些强化生物除磷工艺中的聚磷菌，无需特殊培养。本研究和 Hu 等[3] 研究得出的结论也是一致的，在前置反硝化的同步脱氮除磷工艺中，当缺氧区的硝酸盐负荷高于普通异养反硝化的负荷时，可发生反硝化除磷现象。随着原水 C/N 比的降低，在运行条件不变的情况下，反硝化除磷百分比有增大的趋势。这是由于原水中的碳源大部分都用于厌氧区的放磷，进入缺氧区的碳源很少，其 COD 在 33.1~ 60.2 mg • L^{-1}之间，因而普通异养反硝化的比例降低，利用内碳源（PHA）反硝化的比例增加，也就是反硝化除磷的比例增加，Wang 等[17] 在试验中也得出了类似的结论。从表中还可以看出，在 A²O 工艺用于低 C/N 比的生活污水处理时，适当增加缺氧区的容积和维持适当的硝化液回流比，反硝化除磷能得到最大程度的强化。如在厌氧/缺氧/好氧的体积比为 1/1.4/1.6 时，高达 60% 的磷可以在缺氧区被去除，而此时系统总的脱氮除磷效率也是最高的。

2.2　不同运行条件下污泥的 PCR-DGGE 结果及分析

分别取原污水厂污泥和其后 5 个运行条件下的污泥样品进行了 PCR-DGGE 分析，以得出水质和运行条件对污泥中微生物种群变化的影响。各样品对应的通道编号为 A~ F。

2.2.1　污泥种群的变化分析　图 2 是不同时期污泥的 16S rRNA 基因片段的 DGGE 图谱（A 指的是污水厂的原始污泥样）。从图中的条带及变化可以看出，原始污泥的种群丰度最高，其他时期的微生物种群丰度均略低于原始污泥，说明工艺条件的改变对微生物种群丰度的影响较小，但是对微生物种群的结构有所影响。从条带的演替和亮度变化可以知道，不同工艺条件下工艺内部微生物的优势种群是随之变化的，内部的微生物优势种群分为两种：一种是常驻菌群，如条带 W5、W6、W8 和 W13，它们对水质条件的变化具有一定的耐受能力，其生长繁殖并没有受到影响；另一种是动态菌群，如条带 W1~ W4、W7 和 W9 等。随着低 C/N 比污水的引入和系统反硝化除磷比例的增加，W2、W4 和 W7 在系统中逐渐弱化，而 W3 得到强化，丰度显著提高；也有些变化不很规律，如 W9 在系统运行的 E 阶段突然得到强化，由于系统运行及过渡很平稳，因而可能是样品受到污染所致。综合来看，水质和运行条件对其生长繁殖的影响很大，不同的水质和运行条件下，其优势微生物种群不同，表现为动态的演替规律。结合表 1 的数据可知，反应器的处理功能与微生物的种群动态变化体现出了较强的映射关系。可见，污水厂的设计、运行和污水的水质均会对活性污泥系统中的微生物种群的结构造成影响。

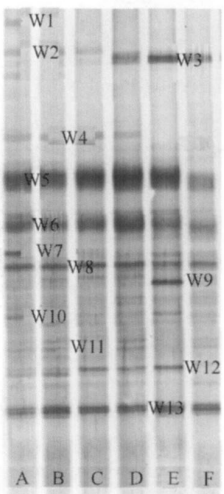

图 2　不同阶段微生物 16S rRNA 的 DGGE 图谱

Fig. 2　DGGE profiles of 16S rRNA gene fragment amplified using sludge samples taken from different periods

采用 MEGA（v3.1）对图 2 中的图谱信息进行分析，得到反映各个阶段污泥微生物种群相关关系的聚类分析图（图 3）。表明，试验运行的 B、C 和 D 时期与采自污水处理厂的原污泥 A 中微生物的种群相似性很高。其中相同工艺条件不同水质（B 和 C）的微生物种群特征几乎不变，聚为一类，结合表 1 的数据，这两种状态下系统反硝化除磷的比例最低；而在系统反硝化除磷得到强化的后期，E 和 F 两种状态类聚在一起，说明他们的微生物种群结构类似。D 时期的反硝化除磷比例虽然较高，但是与原泥和前期运行时系统的微生物结构关系更接近，这也说明，运行条件的变化能使得系统中的微生物种群结构发生变化，但是这种变化是缓慢过渡的，因而不能单纯将污水生物处理系统当成一个化学反应过程来看待。

2.2.2　DGGE 测序结果及分析　对图 2 中的特定条带进行测序，同时和 GeneBank 数据库中的信息进行对比，结果见表 2。

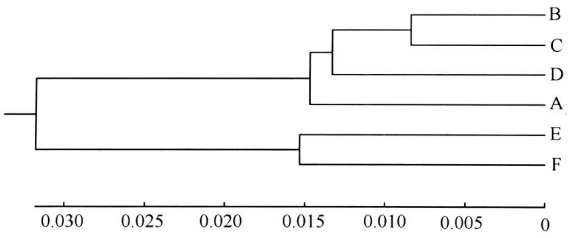

图 3 DGGE 图谱的聚类分析

Fig. 3 UPGMA tree of microbial community profiles

表 2 部分优势菌种 16S rRNA 片段测序分析结果

Table 2 Nearest GenBank relatives of amplified 16S rRNA gene sequences excised from DGGE gels

Band	GenBank accession no.	Nearest GenBank relatives (similarity)
W1	FJ440538	Uncultured *Nitrosococcus* sp. 92%
W2	FJ440539	*Pseudomonas* sp. 99%
W3	FJ440540	Uncultured *Chlorobi* bacterium 98%
W4	FJ440541	*Acinetobacter* sp. 99%
W5	FJ440542	Uncultured α-*Proteobacterium* 93%
W6	FJ440543	*Alcaligenes faecalis* strain 100%
W7	FJ440544	Uncultured γ-*Proteobacterium* clone 99%
W8	FJ440545	Uncultured *Actinobacterium* clone 86%
W9	FJ440546	Uncultured bacterium clone 96%
W10	FJ440547	Uncultured bacterium clone 93%
W11	FJ440548	Uncultured γ-*Proteobacterium* clone 99%
W12	FJ440549	Uncultured *Enterobacteriaceae* bacterium clone 100%
W13	FJ440550	*Nitrosococcus mobilis* 89%

测序结果表明，在已测定的 13 个片段中，10 个和变形菌（*Proteobacteria*）的相似度最高，其中包括 α-*Proteobacteria*（1）、β-*Proteobacteria*（3）和 γ-*Proteobacteria*（6）。剩下的 3 个中 1 种和放线菌（*Actinobacteria*）的相似度较高，另 2 个属于未知的环境细菌。人们对污水处理系统中的微生物进行了大量的研究，表明大部分的硝化细菌、许多降解有机碳的普通异养菌都是 β-*Proteobacteria* 中的种属，一些已知的反硝化菌属于 α-*Proteobacteria*，*Proteobacteria* 和 *Actinobacteria* 是生物除磷系统中的优势菌群，如当前唯一确定的聚磷菌就是属于 β-*Proteobacteria* [9]。而通常活性污泥的某种净化功能都是大量细菌共同作用的结果。

结合本试验的运行和性能进行分析，DGGE 条带反映了部分优势菌群在运行过程中的变化及差异。由于系统污泥取自具有良好脱氮功能的污水处理厂，且运行过程中硝化效果一直很好，因此具有硝化功能的微生物，如 W13（*Nitrosococcus mobilis*，亚硝化单胞菌）在系统中一直存在。随着反硝化除磷的强化，W4（*Acinetobacter*，不动杆菌）在系统中逐渐消失。事实上，*Acinetobacter* 是最早被鉴定且认为具有除磷能力的微生物[18]，因此，*Acinetobacter* 可能更适合存在于传统的除磷工艺中，在反硝化除磷工艺中并不占优。与之相反，属于 β-*Proteobacteria* 的 W3（Uncultured *Chlorobi* bacterium）却随着反硝化除磷的增强得到富集，因而可以认为，在本系统中，Uncultured *Chlorobi* bacterium 是一种反硝化除磷的菌群。事实上，在反硝化除磷占据最大比例的时候，经序批试验证明除磷菌中高达 53% 的菌种具有反硝化除磷的功能。

3 结 论

（1）强化 A^2O 工艺中的反硝化除磷是提高该工艺处理低 C/N 比污水脱氮除磷效率的有效途径。当原水 C/N 为 4.43，厌氧/缺氧/好氧的体积比为 1/1.4/1.6，硝化液回流比为 250% 时，反硝化除磷可得到最大强化，高达 60% 的磷可在缺氧区被去除。

（2）强化反硝化除磷影响到 A^2O 工艺中的微生物种群结构及变化。反应器的处理功能与微生物的种群动态变化体现出了较强的映射关系。随着系统中缺氧吸磷比例的提高，具有传统除磷功能的 *Acinetobacter* 在系统中逐渐被淘汰，而Uncultured *Chlorobi* bacterium（可能是一种新的具有反硝化除磷功能的微生物）在系统中得到富集。

References

[1] Hascoet M C, Florentz M. Influence of nitrates on biological phosphorus removal nutrient wastewater. *Water SA.*, 1985, 11 (1): 23-26

[2] Kuba T, van Loosdrecht M C M, Heijnen J J. Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of nitrification in a two-sludge system. *Water Res.*, 1996, 42 (1/2): 1702-1710

[3] Hu Z, Wentzel M C, Ekama G A. Anoxic growth of phosphate-accumulating organisms (PAOs) in biological nutrient removal activated sludge systems. *Water Res.*, 2002, 36: 4927-4937

[4] Kuba T, van Loosdrecht M C M, Brandse F A, *et al*. Occurrence of denitrifying phosphorus removing bacteria in modified UCT-type wastewater treatment plants. *Water Res.*, 1997, 31 (4): 777-786

[5] Østgaard K, Christensson M, Lie E, *et al*. Anoxic

biological phosphorus removal in a full-scale UCT process. *Water Res.*, 1997, 31 (11): 2719-2726

[6] Barat R, van Loosdrecht M C M. Potential phosphorus recovery in a WWTP with the BCFS process: interactions with the biological process. *Water Res.*, 2006, 40: 3507-3516

[7] Wang Xiaolian (王晓莲), Wang Shuying (王淑莹), Ma Yong (马勇), Peng Yongzhen (彭永臻). Anoxic biological phosphorus removal and effect of excessive aeration on biological phosphorus removal in A^2O process. *Journal of Chemical Industry and Engineering* (*China*) (化工学报), 2005, 56 (8): 1565-1570

[8] Wu Changyong (吴昌永), Peng Yongzhen (彭永臻), Peng Yi (彭轶). Biological nutrient removal in A^2O process when treating low C/N ratio domestic wastewater. *Journal of Chemical Industry and Engineering* (*China*) (化工学报), 2008, 59 (12): 3126-3131

[9] Yuan Z, Blackall L L. Sludge population optimisation: a new dimension for the control of biological wastewater treatment systems. *Water Res.*, 2002, 36: 482-490

[10] Yuan Z, Oehmen A, Peng Y, *et al*. Sludge population optimisation in biological nutrient removal wastewater treatment systems through on-line process control: a review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 2008, 7: 243-254

[11] Smolders G J F, van der Meij J, van Loosdrecht M C M, *et al*. Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: stoichiometry and pH influence. *Biotechnol. Bioeng.*, 1994, 43: 461-470

[12] Wachtmeister A, Kuba T, van Loosdrecht M C M. A sludge characterization assay for aerobic and denitrifying phosphorus removing sludge. *Water Res.*, 1997, 31 (3): 471-478

[13] Guan L L, Hagen K E, Tannock G W, *et al*. Detection and identification of *Lactobacillus* species in crops of broilers of different ages by using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and amplified ribosomal DNA restriction analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69 (11): 6750-6757

[14] Freitag T E, Prosser J I. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria within anoxic marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69 (3): 1359-1371

[15] Ahn J, Daidou T, Tsuneda S, *et al*. Characterization of denitrifying phosphate-accumulating organisms cultivated under different electron acceptor conditions using polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis assay. *Water Res.*, 2002, 36: 403-412

[16] Hao Xiaodi (郝晓地), Zhang Xiangping (张向平), Cao Yali (曹亚莉). Misunderstanding in mechanisms and processes of enhanced biological phosphorus removal. *China Water Wastewater* (中国给水排水), 2008, 24 (6): 1-5

[17] Wang X, Peng Y, Wang S, *et al*. Influence of wastewater composition on nitrogen and phosphorus removal and process control in A^2O process. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 2006, 28: 397-404

[18] Fuhs G W, Chen M. Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater. *Microb. Ecol.*, 1975, 2 (2): 119-138