

游离氨和游离亚硝酸对亚硝态氮氧化菌活性的影响

张宇坤,王淑莹*,董怡君,彭永臻 (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: 高浓度游离氨(FA)或游离亚硝酸(FNA)条件下硝化过程常出现亚硝态氮积累,FA、FNA 对亚硝态氮氧化菌(NO_B)的影响并不清楚. 首先用高浓度亚硝态氮污水富集培养 NO_B,对富含 NO_B 的污泥进行荧光原位杂交技术(FISH)分析表明,*Nitrobacter* 占细菌总数比例为(71±5)%.用此污泥考察不同 FA、FNA 浓度对 NO_B 活性的影响.结果表明,NO_B 的活性随着 FA 浓度的增大逐渐减小,当 FA 浓度在 10mgNH₃-N/L 左右时,NO_B 的活性仅为 FA 为 0 时的 50%.低浓度的 FNA(FNA < 0.03mg HNO₂-N/L)对 NO_B 活性具有促进作用;当 FNA≥ 0.2mg/L 时,NO_B 的活性被完全抑制.采用 Aiba 模型计算得到 FNA 对 NO_B 的抑制常数 $K_{i,FNA,NOB}$ 为 0.0968mg/L. FNA 在 0.0968mg/L 左右时 NO_B 活性仅为 FNA 为 0.003mg/L 时的 50%.

关键词: 活性;游离氨;游离亚硝酸;亚硝态氮氧化菌;抑制

中图分类号:X703.1

文献标识码:A

文章编号:1000-6923(2014)05-1242-06

Effect of FA and FNA on activity of nitrite-oxidising bacteria. ZHANG Yu-kun, WANG Shu-ying*, DONG Yi-jun, PENG Yong-zhen (Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environmental Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China). *China Environmental Science*, 2014,34(5): 1242~1247

Abstract: Nitrite accumulation always accompanies with the nitrification process under the conditions of high concentration of free ammonia (FA) or free nitrous acid (FNA). The impact of FA and FNA concentration on nitrite-oxidising bacteria (NO_B) was not clear. In this study, NO_B activated sludge was enriched in a lab-scale SBR system with high concentration of nitrite nitrogen wastewater. The fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis of NO_B-rich sludge showed that *Nitrobacter* accounted for (71 ± 5)% of total bacteria. The effects of different FA, FNA concentrations on NO_B activity were investigated using the sludge. Results showed that NO_B activity decreased gradually with the increase of FA concentration. The NO_B was still oxidizing nitrite at half of the maximum activity (FA=0mgNH₃-N/L) at an FA concentration of 10mgNH₃-N/L. Low FNA concentration (FNA < 0.03 mg HNO₂-N/L) was beneficial to enhance NO_B activity and it was completely restrained when FNA ≥ 0.2mg/L. The inhibition constant of FNA to NO_B ($K_{i,FNA,NOB}$) was 0.0968mg/L with Aiba model. The activity of NO_B decreased 50% as the FNA concentration increased from 0.003mg/L to 0.0968mg/L.

Key words: activity; free ammonia; free nitrous acid; nitrite-oxidising bacteria; inhibition

生物脱氮技术是城市污水处理的常用技术,硝化过程是生物脱氮过程的限速步骤^[1].先由氨氧化菌(AOB)将氨氮氧化为亚硝态氮,再由亚硝态氮氧化菌(NO_B)将亚硝态氮氧化为硝态氮.短程硝化反硝化工艺(PND)就是将硝化过程控制在氨氧化阶段,防止亚硝态氮氧化菌将亚硝态氮氧化为硝态氮.由于其具有节省 25%的曝气能耗、减少 40%的碳源投量等优点,成为污水处理领域的研究热点^[2-4].

实现短程硝化反硝化工艺需要抑制 NO_B,使得 AOB 成为硝化菌群的优势菌种.AOB 和 NO_B

竞争的影响因素有:pH 值^[5]、温度^[3]、溶解氧(DO)浓度^[6]、游离氨(FA)^[7-9]、游离亚硝酸(FNA)^[10-12]等.其中,FA、FNA 是影响 AOB、NO_B 竞争的重要因素,Anthonisen^[13]发现高浓度氨氮和亚硝态氮对硝化菌群存在抑制,但 Van 等^[14-15]认为 FA、FNA 才是抑制硝化菌群活性的真正抑制剂.FNA 对微生物活性和生长速率存在强烈的抑制作用,

收稿日期:2013-09-18

基金项目:高等学校博士学科点专项科研基金(20111103130002);北京市科委科技创新平台项目

* 责任作者,教授,wsy@bjut.edu.cn

对污水处理厂微生物种群结构也存在影响^[16].目前,现有的研究多集中于 FA 或 FNA 对 AOB 和短程硝化效果的影响^[5,7-12],但对 NOB 的影响还研究较少^[17-18].污水处理厂污泥中 NOB 占细菌总数比例一般低于 5%,采用此类污泥研究 NOB 的性质容易影响试验结果的可靠性和稳定性.对 NOB 进行富集培养有利于提高 NOB 占细菌总数比例,从而获得更加准确的实验结论.Vadivelu 等^[17-18]尝试富集培养 NOB,所得到的系统污泥浓度较低(可挥发性固体浓度约为 650mg/L),与实际污水处理设施污泥浓度差别较大.关于采用富集程度高的富含 NOB 污泥研究 FA、FNA 对 NOB 的活性影响还未见报道.本试验拟采用序批式反应器(SBR)装置富集培养 NOB,以富含 NOB 的活性污泥为研究对象,采用批次试验研究 FA、FNA 浓度对 NOB 活性的影响,并对 FA、FNA 影响 NOB 活性的原因进行分析,旨在为短程硝化反硝化技术的应用提供理论支持.

1 材料与方法

1.1 亚硝态氮氧化菌富集装置及运行方式

采用 SBR 装置富集亚硝态氮氧化菌,SBR 有效容积为 8L,排水比为 25%;通过温控装置控制温度为(24±1)℃;曝气量恒定为 0.2m³/h;通过 pH 探头的反馈信息控制蠕动泵,调节 SBR 装置内混合溶液的 pH 值在 7~7.5 之间.每周期运行 6h:进水(3h 20min),曝气(5h,进水开始时即开始曝气),沉淀 0.5h,排水 0.3h,闲置 0.2h;其中进水方式为连续进水,每周期进水总量为 2L.经过 420d 富集培养,NOB 富集装置每周期可处理进水 NO₂⁻-N 浓度为 1000mg/L 的人工配水.

1.2 试验用水水质及污泥来源

采用人工配水富集 NOB,试验用水均为灭菌后的去离子水.以 NaNO₂ 作为唯一的能源,其进水浓度范围为 100~1000mg NO₂⁻-N/L 每升配水中,其他成分如下^[17]:0.4g NaHCO₃, 1g KH₂PO₄, 1.31g K₂HPO₄,以及 2mL 的微量元素溶液.每升微量元素溶液中成分为^[11]:1.25g EDTA, 0.55g ZnSO₄·7H₂O, 0.4g CoCl₂·6H₂O, 1.275g MnCl₂·4H₂O, 0.4g CuSO₄·4H₂O, 0.05g

Na₂MoO₄·2H₂O, 1.375g CaCl₂·2H₂O, 1.25g FeCl₃·6H₂O, 44.4g MgSO₄·7H₂O. 接种污泥取自处理某大学居民区生活污水的中试 SBR,其污泥具有正常的硝化功能.

1.3 FA 和 FNA 对 NOB 活性影响的批次试验
游离氨(FA)一般采用下式计算^[13]:

$$FA = \frac{1.214 \times S_{NH_4^+-N} \times 10^{pH}}{e^{6344/(273+T)} + 10^{pH}} \quad (1)$$

由公式(1)可知,FA 是与氨氮浓度、温度、pH 值三者成正相关的函数.本试验拟采用恒定温度(19℃)、恒定 pH(7.7),改变氨氮浓度来获得不同 FA 浓度.

游离亚硝酸(FNA)一般采用下式计算^[13]:

$$FNA = \frac{S_{NO_2^- - N}}{e^{-2300/(273+T)} \times 10^{pH}} \quad (2)$$

FNA 是与亚硝态氮浓度、温度、pH 值三者相关的函数,且与亚硝态氮浓度正相关,与 pH 值、温度呈负相关.本试验拟采用恒定温度(19℃)、恒定 pH(7.0),改变亚硝态氮浓度获得不同 FNA 浓度.

采用批次试验考察 FA、FNA 浓度对 NOB 活性的影响,批次试验采用体积为 500mL 锥形瓶,每个批次反应时间为 30min,每 5min 取样过滤并测定氨氮、亚硝态氮、硝态氮.反应过程中控制 DO 大于 5mg/L.FA 抑制试验开始前根据试验需要投加一定量的亚硝酸钠、碳酸氢铵,使得混合液中亚硝态氮浓度 20mgNO₂⁻-N/L,氨氮浓度见表 1;FNA 抑制试验采取的亚硝态氮浓度见表 2.批次试验结束时测定污泥浓度(MLSS)、可挥发性固体浓度(MLVSS).

1.4 Aiba 动力学模型

Aiba 动力学模型^[19]为底物抑制动力学模型,本试验中 FNA 既是 NOB 基质底物,同时也是抑制剂,通过指数相来模拟 FNA 对 NOB 活性的影响,动力学模型如公式(3)所示:

$$r = \frac{r_{MAX} \cdot S_{HNO_2}}{S_{HNO_2} + K_S} \cdot e^{\left(\frac{-S_{HNO_2}}{K_{IFNA,NOB}}\right)} \quad (3)$$

其中:r 为 NOB 的比亚硝态氮氧化速率, r_{MAX} 为最大比亚硝态氮氧化速率, S_{HNO₂} 为 FNA 浓度 (mgHNO₂-N/L),K_S 为 NOB 的底物半饱和和常

数, $K_{\text{I,FNA,NOB}}$ 为 FNA 对 NOB 的抑制常数.本试验中 K_{s} 值取 $1.5\text{mg/L}^{[17]}$,在 pH 为 7、温度为 19 度时 FNA 值为 $0.000406\text{mgHNO}_2\text{-N/L}$,远小于本试验所取最小 FNA 浓度($0.003\text{mgHNO}_2\text{-N/L}$),因此方程(3)可以简化为:

$$r=r_{\text{MAX}}\times e^{(-\frac{S_{\text{HNO}_2}}{K_{\text{I,FNA,NOB}}})}$$

(4)

1.5 检测指标及分析方法

氨氮、亚硝态氮、硝态氮、MLSS、MLVSS 均采用标准方法测定^[20].荧光原位杂交技术(FISH)采用 Amann^[21]的操作方法进行,采用 4% PFA, 4℃条件下对污泥样品固定 2~3h.对固定后的污泥样品超声分散 1min,将样品滴加在明胶包被过的载玻片上,干燥后先后浸泡于 50%、80%和 98%的乙醇溶液中脱水 3min.杂交缓冲液组成包括 0.9mol/L NaCl、20mmol/L Tris/HCl, 0.01% SDS 和甲酰胺(甲酰胺 FA 浓度见表 2,pH 为 7.2).将荧光标记的寡核苷酸探针溶解于杂交缓冲液中,在 46℃下与污泥样品杂交 2h.采用的寡核苷酸探针列于表 3.杂交结束后,采用洗脱缓冲液在 48℃下洗脱 20min.在干燥后的样品上滴加抗荧光衰减液,对每个污泥样品随机拍摄 20~25 张照片(OLYMPUS BX61 荧光显微镜)

用于定量分析.

表 1 游离氨批次试验条件

Table 1 Experimental conditions applied in FA batch tests

项目	批次	空白	试验 1	试验 2	试验 3	试验 4	试验 5
$\text{NH}_4^+\text{-N}(\text{mg/L})$	1	0	2.0	3.6	6.5	7.3	9.3
$\text{FA}(\text{mgNH}_3\text{-N/L})$		0	0.05	0.08	0.15	0.17	0.21
$\text{NH}_4^+\text{-N}(\text{mg/L})$	2	0	18.0	26.1	42.1	39.2	51.4
$\text{FA}(\text{mgNH}_3\text{-N/L})$		0	0.41	0.59	0.96	0.89	1.17
$\text{NH}_4^+\text{-N}(\text{mg/L})$	3	0	76.8	132.4	210.8	312.3	355.6
$\text{FA}(\text{mgNH}_3\text{-N/L})$		0	1.74	3.00	4.78	7.08	8.06
$\text{NH}_4^+\text{-N}(\text{mg/L})$	4	0	418.1	626.5	710.2	1988	3685
$\text{FA}(\text{mgNH}_3\text{-N/L})$		0	9.47	14.18	16.11	45.07	83.55

注:pH值均为7.7

表 2 游离亚硝酸批次试验条件

Table 2 Experimental conditions applied in FNA batch tests

项目	批次	试验 1	试验 2	试验 3	试验 4	试验 5	试验 6
$\text{NO}_2^-\text{-N}(\text{mg/L})$	1	11.1	18	25.9	37.0	108.9	185.1
FNA ($\times 10^3\text{mgHNO}_2\text{-N/L}$)		3.0	4.9	7.0	9.9	30.1	48.9
$\text{NO}_2^-\text{-N}(\text{mg/L})$	2	259.1	369.7	739.5	1108	1477	1847
FNA ($\times 10^3\text{mgHNO}_2\text{-N/L}$)		70.2	100.2	200.1	300.0	398.8	500.1

注:pH值均为7

表 3 所用寡核苷酸探针碱基序列

Table 3 Oligonucleotide probes used in this study

探针名称		%FA	碱基序列(5'-3')	荧光染料	目标菌
EUBmix	Eub338	--	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	FITC	<i>Eubacteria</i>
	Eub338II		GCAGCCACCCGTAGGTGT		
	Eub338III		GCTGCCACCCGTAGGTGT		
NIT3		40	CCTGTGCTCCATGCTCCG	Cy3	<i>Nitrobacter</i>
Ntspa662		35	GGAATTCCGCGCTCCTCT	Cy3	<i>Nitrospira</i>

2 结果与讨论

2.1 NOB 富集装置典型周期污染物变化情况
及 FISH 分析

图 1 显示了 NOB 富集成功后某典型周期(第 435d)的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 及参数变化规律.温度一直稳定在 $(24\pm 1)^\circ\text{C}$;在整个反应过程中,尽管以恒定流量向反应器内投加浓度高达

$1000\text{mgNO}_2^-\text{-N/L}$ 的配制污水,但反应器内亚硝态氮浓度一直保持在 25mg/L 以下.这显示出系统具有良好亚硝态氮氧化能力,其污泥比亚硝态氮氧化速率在 $1.1\sim 1.5\text{gNO}_2^-\text{-N}/(\text{gVSS}\cdot\text{d})$ 之间.在 220min 时硝态氮达到最大值,说明亚硝态氮氧化过程结束.在图 1a 的 220min 附近,DO 出现了明显的上升,这是由于 NOB 完成了亚硝态氮的氧化,需氧量大大降低,在曝气量不变的情况下溶解

氧出现突跃点;与此同时 dDO/dt 也出现了峰值,与亚硝态氮氧化过程结束点对应性良好.经多个周期的作图比较,相对于 DO 浓度, dDO/dt 更适合作为亚硝态氮氧化过程结束点的指示参数.当 dDO/dt 在 0.1~0.3 范围内,可视为出现亚硝态氮氧化过程结束点.以 dDO/dt 作为指示参数具有良好的稳定性和重现性.

分析 FISH 结果,将图 2(A)和(B)进行对比,可以发现硝化杆菌 *Nitrobacter* 是污泥中优势菌属,经 Image-pro-plus 6.0 计数统计发现, *Nitrobacter* 数量占细菌总数比例约为(71±5)%;将图 2(C)和(D)进行对比发现,NOB 的另一种重要的硝化螺旋菌属 *Nitrospira* 含量很少, *Nitrospira* 数量占细菌总数比例约为(2 ± 1)%.这说明在本试验采用的培养方法更适合 *Nitrobacter* 的生长.

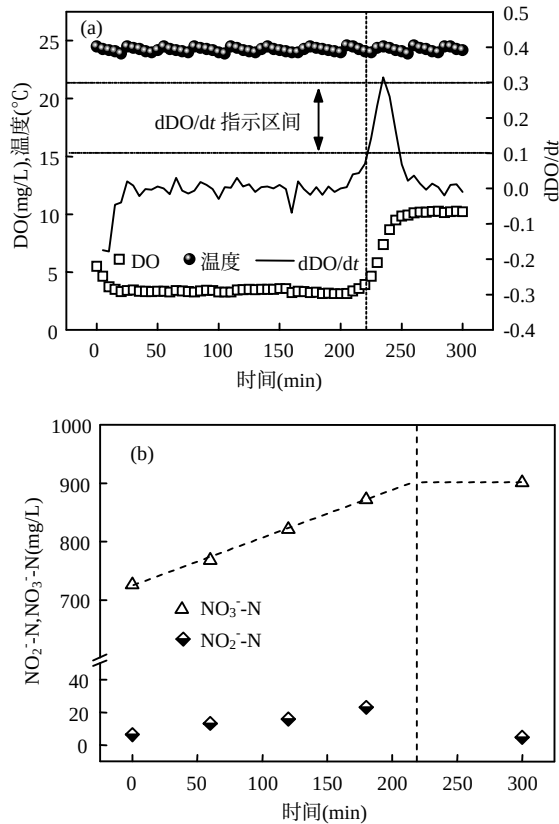


图1 典型周期中 NO_2^- -N, NO_3^- -N 及参数变化规律(第 435d)

Fig.1 Variations of nitrite, nitrate and parameters with time in some typical cycle (435d)

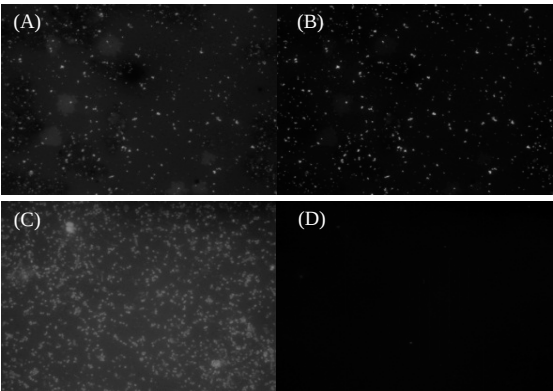


图2 第 422d 的 NOB 的 FISH 图

Fig.2 FISH images for NOB on day 422

(A)(C)全细菌(FITC 标记探针 EUBmix);(B)*Nitrobacter* (Cy3 标记探针 NIT3);(D)*Nitrospira*(Cy3 标记探针 Ntspa662)

2.2 游离氨(FA)对 NOB 活性影响

图 3 显示了 NOB 活性随 FA 浓度的变化.将批次试验的比亚硝态氮氧化速率与对照实验 (FA=0)的比亚硝态氮氧化速率相除,采用百分数比值来表征 NOB 的活性.可以看出,当 FA 浓度小于 0.2mgNH₃-N/L 时,FA 对 NOB 的活性影响不大(NO₂⁻活性大于 90%);当 0.2<FA<83mgNH₃-N/L 时,NOB 的活性随 FA 浓度增大而显著减小,当 FA 浓度为 83mgNH₃-N/L 时,NOB 活性仅为 FA 为 0 时的 20%.对抑制曲线的结果进行拟合分析,结果显示随着 FA 浓度的增大,NOB 的活性逐渐减小,拟合方程为:

$$Y = 76.2 - 10.9 \times \ln X \tag{5}$$

式中:Y 为 NOB 活性(%),X 为 FA 浓度(mgNH₃-N/L),相关性 $R^2 = 0.96$.FA 对 NOB 的抑制效果明显,当 FA 浓度为 10mgNH₃-N/L 时,NOB 的活性仅为 FA 为 0 时的 50%.与 NOB 相比,FA 对 AOB 的影响更小,Vadivelu 等^[22]认为,FA 浓度达到 16mgNH₃-N/L 时对 AOB 的活性几乎没有影响.刘牡^[11]采用两级 UASB-A/O 工艺处理垃圾渗滤液,在 FA >20mgNH₃-N/L 的条件下即可实现短程硝化的启动;吴丽娜等^[9]发现适当的 FA 浓度 (40~70mgNH₃-N/L)可以实现稳定的短程硝化.高浓度的 FA 条件更有利于 AOB,进而实现淘洗 NOB 实现短程硝化.但 FA 浓度对 NOB 活性抑制研究并没有形成一致的结论,Blackburne 等^[18]报

道当 FA 为 100mgNH₃-N/L 时,Nitrobacter 的活性还高达 70%,这可能是由于所用富含 NOB 的污泥生长环境、污泥浓度等存在差异.

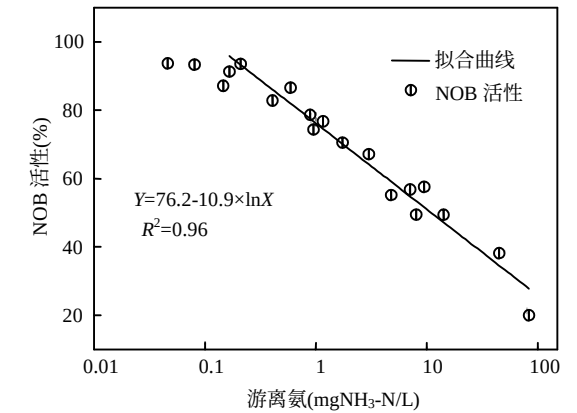


图3 游离氨(FA)浓度对 NOB 活性的影响
Fig.3 Effect of free ammonia inhibition on NOB activity

2.3 游离亚硝酸(FNA)对 NOB 活性的影响

图 4 显示了 FNA 浓度对 NOB 活性的影响.结果显示低浓度的 FNA(FNA < 0.03mg HNO₂-N/L)对 NOB 活性具有促进作用:与 FNA 为 0.003mg/L 相比, FNA 为 0.005mg/L 时 NOB 的活性提高了 20%;但随着 FNA 浓度的增大 (FNA≥0.03mg/L),NOB 的活性也随之降低,当 FNA≥0.2mg/L 时,NOB 的活性被完全抑制.采用 Aiba 等^[19]的产物抑制动力学模型(公式 4)对 NOB 活性与 FNA 浓度的结果进行拟合,并计算 FNA 对 NOB 的动力学抑制常数 K_{I,FNA,NOB}.获得的拟合方程为:

$$Y = 124.88 \times e^{-10.33X} \tag{6}$$

其中 Y 为 NOB 的活性(%),X 为 FNA 浓度 (mgHNO₂-N/L),相关性 R²=0.96.由拟合结果可计算得到 K_{I,FNA,NOB}= 1/10.33= 0.0968mgHNO₂-N/L. Vadivelu^[22]认为 AOB 的 FNA 抑制常数 K_{I,FNA,AOB} 在 0.50~0.63mgHNO₂-N/L 之间.因此,FNA 对 NOB 活性的抑制大于对 AOB 的抑制.韩晓宇^[12]采用 A/O 工艺处理消化污泥脱水液,发现维持 FNA > 0.6mgHNO₂-N/L 可获得 80%以上的亚硝积累率,但当撤去 FNA 抑制后 3d,短程硝化迅速

破坏;傅金祥等^[10]、刘牡等^[11]认为,当 FA 抑制作用随着氨氮的氧化而减弱时, FNA 的抑制作用 (0.09~ 0.4mgHNO₂-N/L)是维持短程硝化的重要影响因素.以上结果支持了高 FNA 浓度下有利于实现短程硝化的结论.

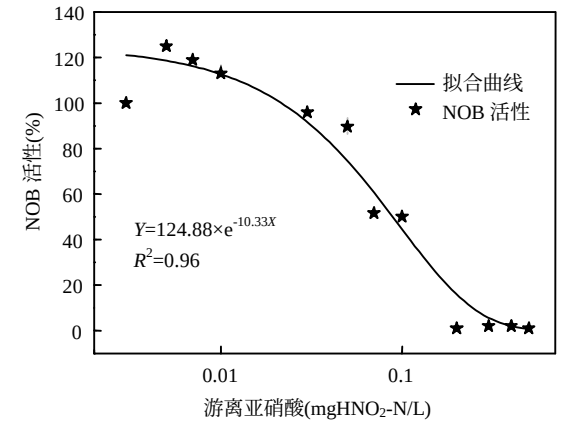


图4 游离亚硝酸浓度(FNA)对 NOB 活性的影响
Fig.4 Effect of free nitrous acid inhibition on NOB activity

3 结论

3.1 经过 420d 的富集培养,NOB 富集装置的污泥中 NOB 成为优势菌种.FISH 分析结果显示 Nitrobacter 占细菌总数比例为 (71±5)%, Nitrospira 占细菌总数比例为(2 ± 1)%.

3.2 富集成功的 NOB 系统可处理 NO₂⁻-N 高达 1000mg/L 的污水,比亚硝态氮氧化速率为 1.1~ 1.5gNO₂⁻-N/(gVSS·d).dDO/dt 适合作为亚硝态氮氧化过程的指示参数,当 dDO/dt 在 0.1~0.3 范围内,溶解氧上升,亚硝态氮氧化过程结束.

3.3 FA 对 NOB 活性具有强烈的抑制作用,NOB 的活性随着 FA 浓度的增大逐渐减小,当 FA 浓度在 10mgNH₃-N/L 附近时,NOB 的活性仅为 FA 为 0 时的 50%.

3.4 低浓度的 FNA(FNA < 0.03mgHNO₂-N/L)对 NOB 活性具有促进作用;当 FNA≥ 0.2mgHNO₂-N/L 时,NOB 的活性被完全抑制; FNA 对 NOB 的抑制常数 K_{I,FNA,NOB} 为 0.0968mgHNO₂-N/L.

参考文献：

- [1] Prosser J I. Autotrophic nitrification in bacteria [J]. *Advances in Microbial Physiology*, 1990,30:125-181.
- [2] Gu S B, Wang S Y, Yang Q, et al. Start up partial nitrification at low temperature with a real-time control strategy based on blower frequency and pH [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 112(5):34-41.
- [3] Guo J H, Peng Y Z, Huang H J, et al. Short- and long-term effects of temperature on partial nitrification in a sequencing batch reactor treating domestic wastewater [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010,179(1-3):471-479.
- [4] Yang Q, Peng Y Z, Liu X H, et al. Nitrogen removal via nitrite from municipal wastewater at low temperatures using real-time control to optimize nitrifying communities [J]. *Environmental Science and Technology*, 2007,41(23):8159-8164.
- [5] 魏 琛,罗固源.FA 和 pH 值对低 C/N 污水生物亚硝化的影响 [J]. *重庆大学学报*, 2006,29(3):124-127.
- [6] Guo J H, Peng Y Z, Wang S Y, et al. Long-term effect of dissolved oxygen on partial nitrification performance and microbial community structure [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(11):2796-2802.
- [7] 于德爽,殷金兰,王晓霞,等.控制 DO 及 FA 条件下短程硝化过程系统稳定性研究 [J]. *环境工程学报*, 2011,5(12):2677-2680.
- [8] 张 亮,张树军,彭永臻.污水处理中游离氨对硝化作用抑制影响研究 [J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2012,44(2):75-79.
- [9] 吴莉娜,彭永臻,王淑莹,等.游离氨对城市生活垃圾渗滤液短程硝化的影响 [J]. *环境科学*, 2008,29(12):3428-3432.
- [10] 傅金祥,汪 洋,杨 勇.FA 与 FNA 对 A/O 工艺短程硝化处理垃圾渗滤液的影响 [J]. *工业水处理*, 2012,32(5):48-51.
- [11] 刘 牡,彭永臻,吴莉娜,等.FA 与 FNA 对两级 UASB-A/O 处理垃圾渗滤液短程硝化的影响 [J]. *化工学报*, 2010,61(1):172-179.
- [12] 韩晓宇,张树军,甘一萍,等.以 FA 与 FNA 为控制因子的短程硝化启动与维持 [J]. *环境科学*, 2009,30(3):809-814.
- [13] Anthonisen A, Loehr R, Prakasam T, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous-Acid [J]. *Journal Water Pollution Control Federation*, 1976,48(5):835-852.
- [14] Van H, Volcke E, Teruel J, et al. Influence of temperature and pH on the kinetics of the sharon nitrification Process [J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2007,82(5):471-480.
- [15] Prakasam T, Loehr R. Microbial nitrification and denitrification in concentrated wastes [J]. *Water Research*, 1972,6(7):859-869.
- [16] Zhou Y, Adrian O, Melvin L, et al. The role of nitrite and free nitrous acid (FNA) in wastewater treatment plants [J]. *Water Research*. 2011,45(15):4672-4682.
- [17] Vadivelu V M, Yuan Z G, Fux C, et al. Stoichiometric and kinetic characterisation of *Nitrobacter* in mixed culture by decoupling the growth and energy generation processes [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006,94(6):1176-1188.
- [18] Blackburne R, Vadivelu V M, Yuan Z G, et al. Kinetic characterisation of an enriched *Nitrospira* culture with comparison to *Nitrobacter* [J]. *Water Research*, 2007,41(14): 3033-304.
- [19] Abia S, Sohoda M, Nagatani M. Kinetics of product inhibition in alcohol fermentation [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1968,10(6):242-248.
- [20] APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater [D]. American Public Health Association Washington, DC, 1995.
- [21] Amann R I, Krumholz L, Stahl D A. Fluorescent- oligonucleotide probing of whole cells for determinative phylogenetic, and environmental-studies in microbiology [J]. *Journal of bacteriology*, 1990,172(2):762-770.
- [22] Vadivelu V M, Keller J, Yuan Z G. Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched *Nitrosomonas* culture [J]. *Biotechnology and bioengineering*, 2006,95(5):830-839.

致谢：感谢刘丽、董怡君在论文修订、试验方面给予的帮助和支持。

作者简介：张宇坤(1987-),男,黑龙江哈尔滨人,北京工业大学博士研究生,主要从事污水生物处理方面的研究.发表论文 12 篇。