

# 好氧亚硝化颗粒污泥特性的研究

杨洋, 左剑恶\*, 孙寓姣, 鲁颐琼, 卜德华, 顾夏声

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

**摘要:** 对在小试曝气上流式污泥床反应器中成功培养出的好氧亚硝化颗粒污泥的特性进行了研究. 工艺稳定运行时, 亚硝化颗粒污泥的 VSS/SS 稳定在 80% 左右, 粒径大于 1.0 mm 的颗粒污泥约占总数的 70%, 粒径大于 0.8 mm 的颗粒污泥的湿密度约为 1.022 kg/m<sup>3</sup>. 荧光原位杂交结果表明, 亚硝化细菌主要分布在颗粒污泥的表层, 而硝化细菌则分布在表层之下; 最大可能数结果显示, 亚硝化工艺稳定运行时亚硝化细菌的数量远多于硝化细菌, 甚至可高于硝化细菌 4 个数量级以上. 上述结果表明, 硝化细菌 (AOB 和 NOB) 以接种的产甲烷颗粒污泥或其碎片为载体, 通过在其表层附着生长, 最终形成好氧亚硝化颗粒污泥.

**关键词:** 亚硝化; 好氧颗粒污泥; 湿密度; 荧光原位杂交; 最大可能数

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)12-2710-06

## Characteristics of Aerobic Short-cut Nitrification Granular Sludge

YANG Yang, ZUO Jian-e, SUN Yr-jiao, LU Yi-qiong, BU De-hua, GU Xia-sheng

(Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

**Abstract:** The physical properties and microbiological characteristics of aerobic short-cut granular sludge, which was cultivated in a lab scale aerated upflow sludge bed (AUSB) reactor, were investigated. When the short-cut nitrification process was performed stably, the ratios of VSS/SS of short-cut granules were kept at about 80%, the amount of granules with diameter larger than 1.0 mm was about 70% of the total, and the wet density of granules with diameter larger than 0.8mm was about 1.022 kg/m<sup>3</sup>. The fluorescence *in situ* hybridization (FISH) results indicated the ammonia oxidation bacteria (AOB) were mainly located in the surface layer of the granules, and the nitrite oxidation bacteria (NOB) were in the inner layer. The results of most probable number (MPN) showed that, as the short-cut process was operated stably, the amount of AOB was much more than that of NOB, and sometimes the AOB amount was even 10 thousands times more than that of NOB. All these results indicated that, using the seed granules or their debris as the support media, AOB and NOB were attached and grown on the surface of the media, and finally the aerobic short-cut nitrification granules were formed.

**Key words:** short-cut nitrification; aerobic granular sludge; wet density; FISH; MPN

近年来,一些新型生物脱氮工艺成为人们关注的热点,如同时硝化-反硝化工艺(simultaneous nitrification and denitrification, SND)<sup>[1]</sup>、SHARON 工艺(single reactor for high activity ammonia removal over nitrite, SHARON)<sup>[2]</sup>、亚硝化-厌氧氨氧化串联工艺<sup>[3]</sup>、OLAND 工艺(oxygen limited autotrophic nitrification and denitrification, OLAND)<sup>[4]</sup>、CANON 工艺(completely autotrophic nitrogen removal over nitrite, CANON)<sup>[5]</sup>等.这些工艺的共同基础是亚硝化工艺,即只将氨氮氧化为亚硝酸氮,因此,与传统生物脱氮工艺相比,这些新型工艺可以缩短生物脱氮的途径、降低运行费用.

亚硝化工艺主要由一大类统称为氨氧化细菌(ammonia oxidation bacteria, AOB)的自养细菌实现,其生长缓慢,所以通常反应器中 AOB 的生物量不易提高,导致目前多数亚硝化工艺的负荷较低;同时,亚硝酸盐氧化细菌(nitrite oxidation bacteria, NOB)通常会与 AOB 共同生长,导致亚硝化工艺难以长期稳定运行<sup>[2]</sup>.笔者在小试曝气上流式污泥床(AUSB)反应

器中成功实现了亚硝化工艺的高效稳定运行[进水 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 负荷稳定在 2.5 kg/(m<sup>3</sup>·d) 左右时,氨氮去除率和亚硝化率均可达 90% 以上],并成功培养获得了性能良好的好氧亚硝化颗粒污泥<sup>[6]</sup>,而目前有关好氧亚硝化颗粒污泥的报道还较少,因此,本试验从物理特性和微生物特性 2 个方面对亚硝化颗粒污泥的进行了初步研究.

## 1 材料与方法

### 1.1 常规测试项目

氨氮:纳氏试剂比色法<sup>[7]</sup>;亚硝酸氮和硝酸氮:DX-100 型离子色谱;COD:TL-1A 型污水 COD 速测仪;溶解氧:Thermo 810A 型溶解氧仪;扫描电镜照片:Quanta 200 型扫描电镜;SS 和 VSS:标准重量法<sup>[7]</sup>;颗粒污泥沉速分布:清水静沉测速法<sup>[8]</sup>.

收稿日期:2007-01-04;修订日期:2007-02-09

基金项目:国家高技术研究发展计划(863)项目(2002AA601190)

作者简介:杨洋(1979-),男,博士后,主要研究方向为废水厌氧生物处理及生物脱氮技术.

\* 通讯联系人, E-mail: jiane.zuo@tsinghua.edu.cn

颗粒污泥粒径分布:取一定量颗粒污泥,用孔径为 0.8、1.0、1.2 和 1.4 mm 的筛网顺序筛选颗粒污泥,将各个筛网上的颗粒污泥进行收集计数,然后计算不同粒径范围的颗粒污泥个数占总量的百分比。

1.2 荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH)

从反应器中取出颗粒污泥后立即用新配制的 4%多聚甲醛溶液固定, PBS 缓冲液洗涤后,用乙醇、水、叔丁醇混合物处理,再用石蜡进行包埋后切片,切片厚度为 8μm,展片之后移入涂有 Vectabound 的载玻片上,干燥后用 TBA、乙醇及二甲苯等进行脱蜡。

采用 ROX 标记的 AOB 探针 NSO190 (5'CGATCCCTGCTTTTCTCC 3')<sup>[9]</sup> 和 FITC 标记的 NOB 探针 NIB3 (5' CCTGTGCTCCATGCTCCG 3')<sup>[9]</sup> 对颗粒污泥切片进行双重杂交,杂交温度 45℃,甲酰胺浓度分别为 55%和 40%,同时利用 DAPI 染色确定污泥中所有微生物的背景,其它参考 Pynaert 等人<sup>[10]</sup> 的试验步骤,最后在激光共聚焦显微镜上扫描成像。

1.3 最大可能数 (most probable number, MPN) 计数

参照 Verhagen 等人<sup>[11]</sup> 的方法分别配制 AOB 和 NOB 的培养基,用若干 10 mL 试管分装培养基,在 121℃下灭菌 20 min 后备用。从反应器中取出污泥样品,充分分散后,按系列稀释法各分别接种 3 支试管。将所有试管置于 30℃生化培养箱中避光培养 28 d 后取出观察,并根据三管 MPN 法检索表计算结果。

2 结果与讨论

2.1 AUSB 反应器的运行概况

笔者利用 AUSB 反应器对亚硝化工艺进行了较长期的研究<sup>[6]</sup>,根据运行条件的不同,中温条件下的工艺研究大致可以分为 3 个阶段:第 1~140 d, AUSB 在 DO 为 3 mg/L 和 pH 值为 7.5 的条件下实现

了硝化工艺到亚硝化工艺的转变,进水 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 负荷为 2.5 kg/(m<sup>3</sup>·d) 时,反应器的亚硝化率(亚硝化率指出水中亚硝酸氮在总硝态氮中的比值)可达 95%,但氨氮去除率只有 70%左右。第 141~171 d,为了提高反应器的氨氮去除效果, AUSB 内的 DO 由 3 mg/L 提高到了 5 mg/L,其它条件维持不变,结果表明反应器的氨氮去除率和亚硝化率可同时稳定在 90%以上。第 209~309 d,通过向进水中添加葡萄糖研究了有机物对亚硝化工艺的影响,在此阶段,进水氨氮浓度维持在 600~700 mg/L,而有机物浓度(COD)维持在 100 mg/L 左右,随着有机物的持续加入,反应器内的 DO 逐渐下降,导致氨氮去除率也随之下降,从第 286d 起,增加反应器曝气量,使得 DO 浓度又恢复至较高水平,结果氨氮去除率也逐渐恢复至 90%左右,在此阶段,反应器的亚硝化率没有受到进水中有机物的影响,一直稳定在 95%以上。

2.2 亚硝化颗粒污泥的物理特性研究

由于接种污泥中有一定量的厌氧产甲烷颗粒污泥,因此从运行初期开始, AUSB 反应器内部就有少量颗粒污泥。随着反应器在好氧条件下运行时间的增加,部分接种的厌氧颗粒污泥发生了解体,但其中多数一直保持着颗粒形态,只是其外形和颜色均发生了较明显变化,特别是其颜色的变化较为明显,最初的接种厌氧颗粒污泥呈深黑色,逐渐变浅成为灰色、褐色,最终成为棕色,甚至部分呈棕红色,这与典型的厌氧颗粒污泥和好氧颗粒污泥的颜色均有所不同。当 AUSB 反应器内实现稳定的亚硝化工艺(运行至第 165 d)时,其内部颗粒污泥的外观和表面的细菌形态如图 1 所示。

由图 1 可知,在 AUSB 反应器中存在着大量呈良好颗粒状的棕色颗粒污泥,其外形均为较规则的椭球状,多数颗粒的粒径均在 1.0mm 以上。电镜照



图 1 好氧亚硝化颗粒污泥的照片

Fig. 1 Photos of aerobic short-cut nitrification granular sludge

片还显示,亚硝化颗粒污泥表面主要生长着几种大小不同的球菌和少数杆菌或丝菌,多数球菌直径约为  $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$ ,部分细菌被可能是胞外多聚物的物质所包裹。

AUSB 反应器运行至硝化工艺向亚硝化工艺转变后,反应器内颗粒污泥占污泥总重量的比例就一直稳定在 25% 左右,除了颜色发生明显变化外,颗粒污泥的其它物理特性如 VSS/SS、粒径分布和沉降速度等也有不同程度的变化。不同运行阶段反应器内颗粒污泥的平均 VSS/SS 如图 2 所示。由图 2 可知,接种时颗粒污泥的 VSS/SS 约为 85%,随着反应器的运行,颗粒污泥的 VSS/SS 逐渐降低,在反应器运行的阶段 1 和阶段 2,该比值下降至 70% 左右。此后随着亚硝化工艺的高效稳定运行该比值开始回升,在反应器运行的阶段 3,颗粒污泥的 VSS/SS 又恢复至 80% 左右,即稳定的亚硝化颗粒污泥与接种产甲烷颗粒污泥相比较,其 VSS/SS 相差不大。由于 VSS 通常可作为衡量污泥中微生物量的指标,因此,图 2 显示了随着亚硝化工艺的稳定运行,颗粒污泥中微生物的数量经过了先略有减少、随后又逐渐增加的变化过程。

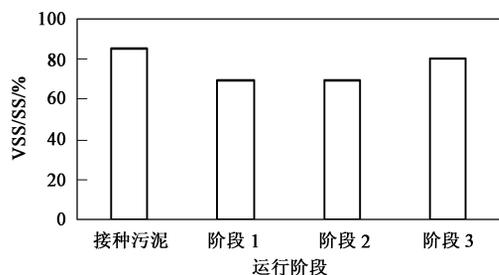


图 2 不同运行阶段 AUSB 内颗粒污泥的 VSS/SS

Fig. 2 Ratios of VSS/SS of granules in different operational stages

接种 AUSB 反应器时,产甲烷颗粒污泥经过了筛选,所有颗粒污泥的粒径都大于  $0.8 \text{ mm}$ ,粒径大于  $1.0 \text{ mm}$  的颗粒污泥约占总数的 53.6%。随着反应器的运行,颗粒污泥的粒径分布发生了变化。对不同运行阶段反应器内颗粒污泥的粒径分布进行比较,结果如图 3 所示。

由图 3 可知,反应器运行初期,颗粒污泥的粒径有变小的趋势,在反应器运行的第 1 阶段,小于  $0.8 \text{ mm}$  的颗粒污泥约占到总数的 20.5%。随着反应器的运行,颗粒污泥的粒径又逐渐增大,在反应器运行的第 2 和 3 阶段,小于  $0.8 \text{ mm}$  的颗粒污泥分别只占总数的 17.4% 和 8.5%,而且在第 3 阶段,粒径大于  $1.0 \text{ mm}$  的颗粒污泥占到了总数的 70.1%。粒径分布

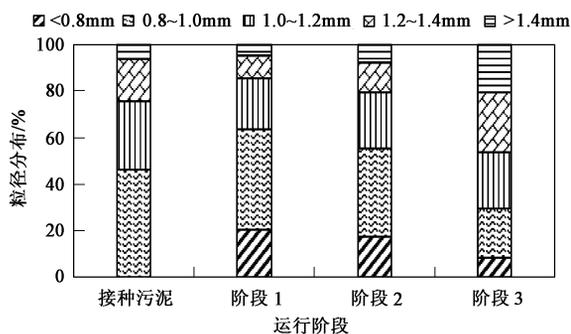


图 3 不同运行阶段 AUSB 内颗粒污泥的粒径分布

Fig. 3 Diameters distribution of granules in different operational stages

的结果表明,由于运行条件从厌氧变为好氧,从处理有机废水到处理高氨氮废水,接种至反应器内的产甲烷颗粒污泥发生了部分解体 and 重新再生长等变化。

在反应器的不同运行阶段,还对不同粒径范围的颗粒污泥的沉速进行了比较,结果如图 4 所示。从中可知,与亚硝化颗粒污泥相比,不同粒径范围的接种颗粒污泥的沉速均较大。在反应器运行的 3 个阶段中,粒径大于  $0.8 \text{ mm}$  的颗粒污泥的沉速变化不大,而粒径小于  $0.8 \text{ mm}$  的颗粒沉速变化较大,这可能是由于产甲烷颗粒污泥在解体的过程中形成一些粒径较小的无机颗粒造成的。

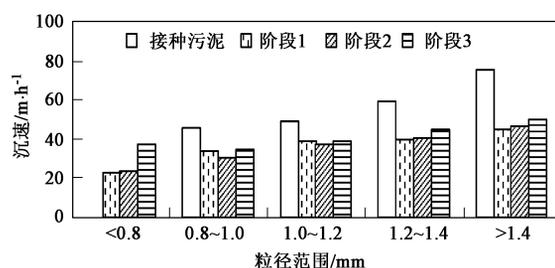


图 4 AUSB 内不同粒径范围的颗粒污泥的沉速变化

Fig. 4 Settling velocities of granules in different operational stages

从图 4 中还可看出,当粒径大于  $0.8 \text{ mm}$  时,亚硝化颗粒污泥的粒径越大,其沉速也越大,而且二者之间呈现较好的线性关系。根据王妍春等人<sup>[12]</sup>的研究,当粒径与沉速之间呈现较好线性关系时,可采用阿兰(Allen)公式对颗粒污泥粒径与沉速的关系进行数学描述。利用该式进行计算后发现,稳定的亚硝化颗粒污泥的湿密度约为  $1022 \text{ kg/m}^3$ ,与普通厌氧产甲烷颗粒污泥的密度相比略轻。

从 VSS/SS、粒径分布和沉降速度等结果可以看出,稳定的亚硝化颗粒污泥的物理特性与普通产甲

烷颗粒污泥相比只是略有差异,更大的差别在于颗粒污泥功能的转变,即通过在 AUSB 反应器内长期的运行培养,接种时的厌氧产甲烷颗粒污泥已逐渐转变成为具有良好亚硝化活性的好氧颗粒污泥,这表明颗粒污泥内微生物的组成发生了显著的变化,因此,本文还对亚硝化颗粒污泥的微生物特性进行了研究。

### 2.3 亚硝化颗粒污泥的微生物特性研究

AOB 是实现亚硝化工艺的功能微生物,为了证明 AUSB 反应器中的颗粒污泥确实具有亚硝化活性,首先利用 FISH 技术对颗粒污泥中是否存在 AOB 进行了验证。由于 NOB 和 AOB 总是伴生的,而二者的数量关系又决定了氨的氧化过程是停留在亚硝化阶段还是彻底硝化,因此,对颗粒污泥中的 NOB 也进行了研究。本研究选取活性污泥中常见的亚硝化单胞菌和硝化杆菌作为 AOB 和 NOB 的代表,利用 NSO190 和 NIT3 探针,研究了 AUSB 反应器运行至第 1 d、第 35 d、第 81 d 和第 156 d 时颗粒污泥中的 AOB 和 NOB 的空间分布(图略)。结果发现随着反应器的运行,颗粒污泥切片上的荧光信号越来越强。此外,荧光信号的位置显示,在第 35 d 和第 81 d 的颗粒污泥中,AOB 主要分布在颗粒污泥表层,而 NOB 则多分布在表层之下,这可能与 2 种细菌的代谢特性有关:AOB 对溶解氧的亲和能力大于 NOB,所以 AOB 占有优先利用溶解氧的位置;而 NOB 要利用 AOB 的代谢产物亚硝酸盐,所以 NOB 紧挨着 AOB 生长。颗粒污泥上荧光信号的强度和位置表明,在 AUSB 反应器内确实形成了以 AOB 为主的颗粒污泥,这些亚硝化颗粒污泥可能是 AOB 附着在接种的厌氧产甲烷颗粒污泥表面形成的。反应器运行至第 156 d 时,进水  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  负荷为  $2.5 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ ,氨氮去除率为 99%,亚硝化率为 98%,即 AUSB 反应器实现了高效稳定运行。此时,AOB 的荧光信号很强,而 NOB 荧光信号明显减弱,这表明 AOB 已成为颗粒污泥中的优势菌,AOB 在数量上的绝对优势是亚硝化反应器能够高效稳定运行的主要原因。

为了进一步说明 AOB 和 NOB 的数量多少与亚硝化工艺稳定运行之间的关系,利用三管 MPN 方法对污泥中的 AOB 和 NOB 的数量进行了定量研究,结果如图 5 所示。

由图 5 可知,反应器运行初期,AOB 和 NOB 的数量相当,随着亚硝化工艺的稳定运行,到第 1 阶段的中期(第 87 d),污泥中的 AOB 数量已明显多于 NOB。到第 1 阶段即将结束(第 121 d)时,由于没有

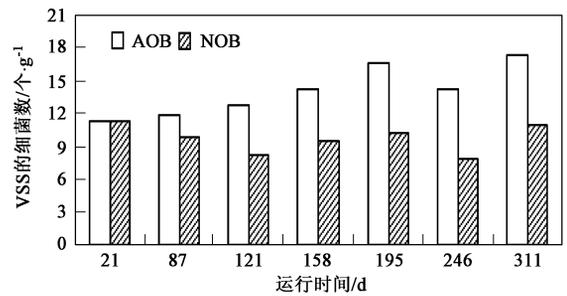


图 5 不同运行时间颗粒污泥的 MPN 结果

Fig. 5 MPN results of granular sludge on different operational days

及时增加反应器的供氧量,导致氨氮的去除率略有下降,较低溶解氧和较高的游离氨对 NOB 的抑制作用明显大于 AOB,因此,AOB 和 NOB 的数量差距进一步加大。反应器运行至第 2 阶段(第 158 d)时,AOB 和 NOB 的数量继续增加,分别达到每 g VSS  $1.6 \times 10^{14}$  和  $3.6 \times 10^9$  个。由于增加了反应器内的溶解氧,NOB 的生长速度明显增加,使得 AOB 和 NOB 的数量差距略有缩小,但 AOB 的数量仍然高于 NOB 4 个数量级,因此,溶解氧的增加对反应器的亚硝化率影响不大,亚硝化率仍保持在 90% 以上。

前已述及,反应器运行至第 3 阶段时考察了有机物对亚硝化工艺的影响。从图 5 可以看出,此阶段的前期,由于反应器的曝气量保持恒定,随着利用有机物的异养菌逐渐增加,AOB 和 NOB 能利用的溶解氧随之减少,因此 AOB 和 NOB 的生长都受到了影响,二者的数量明显减少;而试验后期,由于增加了反应器的曝气量,异养菌、AOB 和 NOB 都有足够溶解氧可以利用,所以 AOB 和 NOB 又恢复了良好的生长状态,二者的数量明显增加。此外,从图 5 还可以看出,在此阶段,由于 AOB 的数量远多于 NOB,所以反应器保持了良好的亚硝化状态,亚硝化率一直稳定在 95% 以上。

由于 MPN 法是通过富集培养的方法对细菌进行计数的,在自然界中可培养微生物数量只占实际微生物数量的不到 10%<sup>[13]</sup>。而在培养过程中,被富集的微生物可能只是最适合在培养条件下生长的种类,不一定是在环境中起主要作用的微生物。因此,孙寓姣等<sup>[14]</sup>还利用定量 PCR 技术对 AUSB 反应器中不同运行时间的颗粒污泥进行了研究和验证,结果表明,随着反应器亚硝化功能的强化,颗粒污泥中的 AOB 逐渐增加,稳定运行时 AOB 甚至可占到真细菌总数的 48.5%。

综合上述结果可知,AUSB 反应器从硝化工艺向

亚硝化工艺转化时, AOB 逐渐增多; 随着亚硝化工艺的的稳定运行, 反应器内形成了以 AOB 为优势菌的颗粒污泥; 由于亚硝化颗粒污泥的存在, AUSB 反应器内保有较高的生物量, 使得亚硝化工艺能够在高负荷条件下实现高效稳定的运行。

### 3 亚硝化颗粒污泥形成机理分析

从 VSS/SS 和粒径分布的结果可以看出, 在反应器的不同运行阶段, 微生物数量的改变导致颗粒污泥发生了部分解体和重新再生等变化, 这表明本研究中的亚硝化颗粒污泥可能是 AOB 以接种的产甲烷颗粒污泥为载体, 附着生长形成的。而 FISH 结果进一步证实了产甲烷颗粒污泥向亚硝化颗粒污泥的转变, 即运行初期颗粒污泥对于 AOB 的探针没有响应, 而到运行后期荧光标记的探针显示 AOB 越来越多的聚集在颗粒污泥的表层。因此, 可以推测在此研究中, 亚硝化颗粒污泥的形成过程大致分为如下 4 个步骤: AUSB 反应器采用混合污泥接种, 运行初期反应器内就有颗粒污泥, 此时的颗粒污泥与普通的厌氧产甲烷颗粒污泥没有区别, 部分厌氧颗粒污泥在连续曝气条件下会发生解体; 由于进水采用无机自配水, 以及反应器在好氧条件下运行, 因此, 反应器内颗粒污泥中的厌氧异养细菌由于缺乏营养逐渐死亡, 而与此同时, 新生成的 AOB 和 NOB 会逐渐附着到颗粒污泥或颗粒碎块的外层, 形成初始的好氧颗粒污泥; 随着反应器亚硝化性能的提升, AOB 在反应器中得到了进一步富集, 而 NOB 的生长受到了抑制, 因此, 附着在颗粒污泥外层的 AOB 逐渐增加, 而 NOB 的数量则在减少, 因此, 逐渐形成了具有亚硝化功能的好氧颗粒污泥; AOB 不断附着到颗粒外层, 一方面使得颗粒污泥粒径增大, 另一方面也使得营养物质更难以进入颗粒污泥内层, 造成颗粒污泥内部细菌的衰亡, 因此, 随着反应器的长期稳定运行, 最终形成了表层细菌丰富的亚硝化颗粒污泥。

在本实验室利用厌氧产甲烷颗粒污泥培养厌氧氨氧化颗粒污泥<sup>[15]</sup>、厌氧生物产氢颗粒污泥<sup>[16]</sup>的研究中, 也发现了类似的颗粒污泥形成过程, 而 Beun 等人<sup>[17]</sup>也认为污泥颗粒化过程仅是生物膜生长的特殊形式, 这表明, 利用产甲烷颗粒污泥为载体, 通过运行条件的控制, 可以作为一条快速培养其它生化反应所需颗粒污泥的有效途径。

### 4 结论

(1) 以少量好氧硝化污泥与厌氧颗粒污泥混合

接种小试 AUSB 反应器, 处理高含氨氮废水, 硝化细菌(AOB 和 NOB) 可附着在厌氧颗粒污泥或其解体后的碎块表面, 可较快形成好氧颗粒污泥, 通过工艺条件的改变, 最终可获得性能良好的好氧亚硝化颗粒污泥, 其外形较规则, 颜色多呈棕色, 颗粒表面主要生长着几种不同大小的球菌和少量杆菌或丝菌。

(2) AUSB 反应器稳定运行时, 亚硝化颗粒污泥占污泥总量的比例基本稳定在 25 % 左右, 其 VSS/SS 比约为 80 %; 粒径大于 1.0 mm 的颗粒污泥约占总数的 70 %; 粒径大于 0.8 mm 的颗粒污泥的沉速与粒径之间有良好的线性关系; 亚硝化颗粒污泥的湿密度约为 1.022 kg/m<sup>3</sup>。

(3) 对颗粒污泥中的 AOB 和 NOB 的空间分布和相对数量关系进行了研究, FISH 结果表明, AOB 主要分布在颗粒污泥的表层, 而 NOB 则分布在表层之下, 且随着反应器的氨氮负荷和亚硝化率逐渐提高, AOB 逐渐成为颗粒污泥中的优势菌, 而 NOB 的数量则相对减少。MPN 结果也表明, 随着亚硝化工艺的的稳定运行, 颗粒污泥中 AOB 的数量逐渐增加, 其数量可比 NOB 高 4 个数量级以上。

#### 参考文献:

- [1] Elisabeth V M, Paul L, Jurg K. Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactor [J]. *Wat Res*, 1996, **30** (2): 277 ~ 284.
- [2] Hellings C, Schellen A A J C, Mulder J W, *et al.* The Sharon process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium rich wastewater [J]. *Wat Sci Tech*, 1998, **37** (9): 135 ~ 142.
- [3] Van Dongen U, Jetten M S M, van Loosdrecht M C M. The Sharon-anammox process for the treatment of ammonium rich wastewater [J]. *Wat Sci Tech*, 2001, **44** (1): 153 ~ 160.
- [4] Kuai L, Verstraete W. Ammonium removal by the oxygen limited autotrophic nitrification denitrification (OLAND) system [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64** (11): 4500 ~ 4506.
- [5] Slickers A O, Derwort N. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor [J]. *Wat Res*, 2002, **36** (10): 2475 ~ 2482.
- [6] 杨洋, 左剑恶, 卜德华, 等. 好氧颗粒污泥亚硝化工艺的启动与运行特性研究 [J]. *环境科学*, 2007, **28** (11): 2462 ~ 2466.
- [7] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 276 ~ 279.
- [8] 王妍春. EGSB 反应器处理含氯苯有机废水的试验研究 [D]. 北京: 清华大学环境科学与工程系, 2001.
- [9] Mbbary B K, Wagner M, Urbain V, *et al.* Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacterial [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62** (7): 2156 ~ 2162.
- [10] Pynaert K, Smets B F, Wyffels S, *et al.* Characterization of an autotrophic nitrogen-removing biofilm from a highly loaded lab-scale rotating biological contactor [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69** (6): 3626 ~ 3635.

- [11] Verhagen F J M, Laandbroek H J. Competition for ammonium between nitrifying and heterotrophic bacteria in dual energy-limited chemostats[J]. Appl Environ Microbiol, 1991, 57(11): 3255 ~ 3263.
- [12] 王妍春,左剑恶,肖晶华. EGSB 反应器内厌氧颗粒污泥性质的研究[J]. 中国沼气, 2002, 20(4): 3 ~ 7.
- [13] 谢冰,徐亚同. 环境微生物的分子生物学研究方法[J]. 世界科技研究与发展, 2003, 25(2): 48 ~ 53.
- [14] 孙寓姣,左剑恶,杨洋,等. 好氧亚硝化颗粒污泥中硝化细菌群落结构分析[J]. 环境科学, 2006, 27(9): 1858 ~ 1861.
- [15] 杨洋. 亚硝化及厌氧氨氧化的工艺与机理研究[D]. 北京:清华大学, 2006.
- [16] 张薇,左剑恶,崔龙涛,等. 中温和高温厌氧生物产氢反应器连续运行的研究[J]. 环境科学, 2006, 27(1): 63 ~ 68.
- [17] Beun J J, van Loosdrecht M C, Heijnen J J. Aerobic granulation[J]. Wat Sci Tech. 2000, 41(4 ~ 5): 41 ~ 48.

## 《环境科学》征稿简则

1. 来稿报道成果要有创新性,论点明确,文字精炼,数据可靠.全文不超过 8000 字(含图、表、中英文摘要及参考文献).国家自然科学基金项目、国家科技攻关项目、国际合作项目或其它项目请在来稿中注明(在首页以脚注表示).作者投稿时请先登陆我刊网站([www.hjxx.ac.cn](http://www.hjxx.ac.cn))进行注册,注册完毕后以作者身份登录,按照页面给出的提示信息投稿即可.

2. 稿件请按 GB 7713-87《科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式》中学术论文的规范撰写.论文各部分的排列顺序为:题目;作者姓名;作者工作单位、地址、邮政编码;中文摘要;关键词;中图分类号;英文题目;作者姓名及单位的英译名;英文摘要;关键词;正文;致谢;参考文献.

3. 论文题目应简练并准确反映论文内容,一般不超过 20 字,少用副标题.

4. 中文摘要不少于 300 字,以第三人称写.摘要内容包括研究工作的目的、方法、结果(包括主要数据)和结论,重点是结果和结论.英文摘要与中文对应,注意人称、时态和语言习惯,以便准确表达内容.

5. 前言包括国内外前人相关工作(引文即可)和本工作的目的、特点和意义等.科普知识不必赘述.

6. 文中图表应力求精简,同一内容不得用图表重复表达,要有中英文对照题目.图应大小一致,曲线粗于图框,图中所有字母、文字字号大小要统一.表用三线表.图表中术语、符号、单位等应与正文一致.

7. 计量单位使用《中华人民共和国法定计量单位》(SI).论文中物理计量单位用字母符号表示,如 mg(毫克),m(米),h(小时)等.科技名词术语用国内通用写法,作者译的新名词术语,文中第一次出现时需注明原文.

8. 文中各级标题采用 1, 1.1, 1.1.1 的形式,左起顶格书写,3 级以下标题可用(1), (2) .....表示,后缩 2 格书写.

9. 文中外文字母、符号应标明其大小写,正斜体.生物的拉丁学名为斜体.缩略语首次出现时应给出中文全称,括号内给出英文全称和缩略语.

10. 未公开发表资料不列入参考文献,可在出现页以脚注表示.文献按文中出现的先后次序编排.常见文献书写格式为:

期刊:作者(外文也要姓列名前).论文名[J].期刊名,年,卷(期):起页~止页.

图书:作者.书名[M].出版地:出版社,年.起页~止页.

会议文集:作者.论文名[A].见(In):编者.文集名[C].出版地:出版社(单位),年.起页~止页.

学位论文:作者.论文名[D].保存地:保存单位,年份.

报告:作者.论文名[R].出版地.出版单位,出版年.

专利:专利所有者.专利题名[P].专利国别:专利号,出版日期.

11. 来稿文责自负,切勿一稿多投.编辑对来稿可作文字上和编辑技术上的修改和删节.在 3 个月内未收到本刊选用通知,可来电询问.对未刊稿件一般不退,请作者自留底稿.

12. 投稿请附作者单位详细地址,邮编,电话号码,电子邮箱等.编辑部邮政地址:北京市 2871 信箱;邮编:100085;电话:010-62941102,010-62849343;传真:010-62849343;E-mail: [hjxx@rcees.ac.cn](mailto:hjxx@rcees.ac.cn);网址:[www.hjxx.ac.cn](http://www.hjxx.ac.cn)