

反硝化除磷菌筛选及其特性研究

安健^{1△} 伏光辉^{1△} 阮记明² 陈百尧^{1*} 龚琪本¹ 唐兴本¹ 杨先乐³

(1. 江苏省连云港市海洋与水产科学研究所 江苏 连云港 222044)

(2. 江西农业大学 动物科学技术学院 江西 南昌 330045)

(3. 上海海洋大学 水产与生命学院 国家水生动物病原库 上海 201306)

摘要: 【目的】研究反硝化除磷菌特性。【方法】通过微生物筛选和生物学特性研究方法, 从对虾养殖池塘中筛选出多株可在有氧条件下同时具有反硝化除磷功能的菌种。

【结果】菌株 LY-1 可在 18 h 内将初始量为 10 mg/L 的亚硝酸盐氮降低至 0.04 mg/L, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 降低至 0.05 mg/L。在 DO 浓度为 5.0–5.9 mg/L 时, 该菌反硝化除磷率近 100%。试验选取具有反硝化除磷功能的枯草芽孢杆菌为阳性对照菌, 大肠杆菌为阴性对照菌, 比较研究了菌株 LY-1 在不同 pH、温度、盐度、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度、亚硝酸盐浓度时反硝化除磷的强弱, 在 pH 为 5–9 范围时, 该菌亚硝酸盐氮去除率近 99%, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率 86%; 温度为 30 °C 时, 该菌反硝化除磷率近 100%; 盐度为 5‰–15‰、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度为 10 mg/L、亚硝酸盐氮浓度为 20 mg/L 时, 该菌亚硝酸盐氮和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率均可达 99%。【结论】菌株 LY-1 反硝化除磷性能显著高于对照菌($P < 0.05$)。通过菌株 LY-1 形态学观察、生理生化及 16S rRNA 基因序列分析, 初步鉴定为蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)。

关键词: 反硝化除磷, 蜡样芽孢杆菌, 亚硝酸盐, 磷

Studies on the screening of denitrifying and phosphorus removal bacteria and its characteristics

AN Jian^{1△} FU Guang-Hui^{1△} RUAN Ji-Ming² CHEN Bai-Yao^{1*}
GONG Qi-Ben¹ TANG Xing-Ben¹ YANG Xian-Le³

基金项目: 国家虾现代产业技术体系(No. nycyt-46); 江苏省水产三项工程基金(No. PJ2010-23); 江苏省科技支撑计划(No. BE2009339); 连云港市科技计划项目(No. CN0829, CG1137)

*通讯作者: 信箱: chengong66@126.com

△共同第一作者

收稿日期: 2011-08-11; 接受日期: 2011-11-30

(1. Marine Fisheries Research Institute of Lianyungang, Lianyungang, Jiangsu 222042, China)

(2. College of Animal Sciences and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, Jiangxi 330045, China)

(3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, State Collection Centre of Aquatic Pathogen, Shanghai 201306, China)

Abstract: [Objective] In order to study on the characteristics of denitrifying and phosphorus removal bacteria. **[Methods]** Many strains with denitrification and phosphorus removal characteristics under aerobic condition were isolated by screening of microorganism and methods of biological characteristics from the water and sediment samples of shrimp culture ponds. **[Results]** Among them strain LY-1 could remove nitrite nitrogen from 10 mg/L to 0.04 mg/L, and the $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ from 10 mg/L to 0.05 mg/L in 18 h, respectively; and approximately to 100% of denitrifying and phosphorus removal rate were reached at the *DO* concentration of 5.0–5.9 mg/L. Furthermore, in comparison with a denitrifying and phosphorus removal bacterium, *Bacillus subtilis* selected as the positive control and *Escherichia coli* as the negative control, strain LY-1 was tested under different pH, temperature, salty, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ and nitrite concentration, its denitrifying removal rate was reached approximately 99%, and phosphorus removal rate reached 86% at the pH of 5–9; the denitrifying and phosphorus removal rate of strain YX-6 reached proximately 100% at 30 °C; The rate almost reached 99% when salty ranged between 5 and 15, phosphorus concentration was 10 mg/L and nitrite nitrogen concentration was 20 mg/L. **[Conclusion]** The results showed that the denitrifying and phosphorus removal of LY-1 was significantly higher than that of the two controls ($P < 0.05$). According to the morphological, physiological and biochemical properties, and the analysis of its 16S rRNA gene sequence, strain LY-1 was identified as *Bacillus cereus* primarily.

Keywords: Denitrification and phosphorus removal, *Bacillus cereus*, Nitrite, Phosphorus

反硝化除磷菌是一类以硝酸盐氮为电子受体,同时具有缺氧条件下反硝化脱氮和有氧条件下过量除磷功能的菌种,该类菌自发现以来备受各国学者关注,成为污水处理领域的研究热点之一^[1-4]。随着好氧反硝化细菌的发现与应用,证实该类菌可在有氧条件下完成反硝化,从而拓宽了传统厌氧反硝化现象的认识。此类现象也使好氧条件下同时完成反硝化和除磷两种功能成为可能,有效解决原有反硝化除磷技术不同步的矛盾^[5-8]。

水产养殖中,氧气的充足供给和水质条件的好坏是养殖成败的重要因素。过量的亚硝酸盐氮对水生动物具有相当的毒害作用,并有可能进一步诱发细菌病、病毒病等病害,给水产养殖业造

成巨大的经济损失^[9]。磷积累常促使铜绿微囊藻等有害藻类过度繁殖,破坏养殖水质,引起池塘水体富营养化^[10]。因此,养殖水体中亚硝酸盐氮和可溶性磷的有效去除是水产业亟需解决的关键问题之一,传统反硝化除磷技术显然已无法满足当前水产高密度、集约化养殖的需要,而好氧条件下反硝化除磷菌的筛选与应用恰恰为解决该问题提供了思路和出路。

本实验针对水产养殖亚硝酸盐氮和可溶性磷的有效去除,拟对好氧条件下同时具有反硝化除磷性能的菌种进行筛选,并对其反硝化除磷特性展开研究,为该类菌种在水产养殖领域的应用提供理论基础和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品: 试验所用样品采集于高密度对虾养殖池水与池塘底泥。

1.1.2 对照菌种: 阳性对照菌选用有降氮除磷功能的枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) BYK00318-01-01、阴性对照菌选用大肠杆菌(*Escherichia coli*) BYE00145-01-01 (国家水生动物病原库提供)。

1.1.3 培养基: LB 培养基^[7], BTB 培养基^[11], 限 P 和 P 过量的葡萄糖-MOPS 固体培养基^[12]。反硝化除磷培养基: 琥珀酸钠 0.472%, NaNO₂ 0.005%, KH₂PO₄ 0.009%, MgSO₄·7H₂O 0.100%, pH 7.2; 所有培养基 1×10⁵ Pa 灭菌 20 min。

1.2 方法

1.2.1 反硝化聚磷菌初筛及复筛: 将采集水样与泥样先在 LB 液体培养基中培养 18–24 h, 取少许培养液于 LB 固体平板中稀释涂布, 选取生长良好、单个菌落反复划线分离, 进行纯培养。将分离出的纯菌种分别点接在 BTB 显色平板、限 P 和 P 过量固体平板中, 30 °C 培养 1–2 d, 挑选出能够在以上 3 种平板中均呈蓝斑的菌种为目地初筛菌种。将初筛菌种活化后按 1% (V/V) 接入 100 mL 反硝化除磷培养基中, 30 °C、200 r/min, 摇瓶培养 24 h, 测定溶液中亚硝酸盐氮及 PO₄³⁻-P 含量, 每次测定设 3 个重复, 以下测定均做相同处理。

1.2.2 细菌反硝化除磷特性测定: 依据文献[8]进行试验前处理, 对该菌生长、溶解氧浓度与菌体反硝化除磷性能进行测定。同时试验以枯草芽孢杆菌、大肠杆菌作为阳性、阴性对照菌, 比较研究该试验菌株在不同 pH、温度、盐度、磷及亚硝酸盐浓度下细菌的反硝化除磷特性。

1.3 菌种鉴定

依据文献[7]采用 API 50CH 鉴定系统进行菌种生理生化鉴定, 16S rRNA 序列分析及系统发育

分析。

1.4 分析方法

亚硝酸盐氮测定: 采用 N-1-萘-乙二胺比色法。*OD*₆₀₀: 紫外分光光度法。溶解氧测定: 碘量法(GB 7489-87)。总 P 测定: 钼酸铵分光光度法(GB/T 11893-1989)。多聚磷酸盐颗粒染色: 吕氏美兰染色法。

1.5 试验结果的统计分析

试验结果用平均数±标准方差($\bar{x}\pm s$, $n=3$)表示, 运用软件“SPSS.11.0”, 经 One-Way ANOVA 分析, 采用 Duncan's 多重检验分析试验结果平均数的差异显著性, 设差异水平 $\alpha=0.05$ ($P<0.05$ 为差异显著)。

2 结果与分析

2.1 反硝化除磷菌筛选

对采集水样与泥样进行菌种分离, 初步筛选出 58 株细菌, 将这些细菌通过 BTB 显色平板、限 P 和 P 过量固体平板进行菌种初筛, 从中筛选出 12 株细菌均能够在上述 3 种平板中显蓝斑, 并采用吕氏美兰染色法对这 12 株细菌进行染色, 发现该 12 株菌均含有多聚磷酸盐颗粒 (poly-P)。同时对该 12 株细菌反硝化除磷性能进行比较研究, 最终筛选出一株能够在有氧条件下高效去除亚硝酸盐氮及 PO₄³⁻-P 的菌株, 该菌对亚硝酸盐氮的去除率可达 99%, 对 PO₄³⁻-P 的



图 1 细菌 LY-1 革兰氏染色

Fig. 1 Gram staining of strain LY-1

去除率可达 99%。对该菌形态及染色观察后发现该菌为革兰氏阳性菌, 产芽孢(图 1)。经生理生化及 16S rRNA 基因序列分析, 该菌与蜡样芽孢杆菌的亲缘关系最近, 同源性达 99%, 初步鉴定该菌为蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*, 登录号 JN848828, 数据另有文章报道), 试验中以菌株 LY-1 命名, 该菌种保藏于连云港市海洋与水产科学研究所。

2.2 细菌生长与反硝化除磷性能

如图 2 所示, 随着细菌的生长, 4 h 以后细菌 LY-1 得以迅速增值, 进入对数生长期。同时, 菌株 LY-1 能够在 18 h 内将初始量为 10 mg/L 的亚硝酸盐氮降低至 0.04 mg/L, 去除率为 99%, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 降低至 0.05 mg/L, 去除率为 99%。

2.3 溶解氧浓度与菌体反硝化除磷性能

如图 3 所示, 随着摇床转速的增大, 反硝化除磷培养基中的溶解氧浓度不断增高。菌株 LY-1 对亚硝酸盐氮及 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除率也随着溶解氧的增高而增大, 当溶解氧超过 5.9 mg/L 时, 该菌亚硝酸盐氮及 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率逐渐降低。

2.4 不同 pH 条件下细菌反硝化除磷性能

如图 4 所示, 菌株 LY-1 和枯草芽孢杆菌在 pH 为 7 时, 反硝化除磷率最高, 两株细菌亚硝酸盐氮去除率近 100%, 总 P 去除率近 99%。其中, 菌株 LY-1 在 pH 为 5-9 的范围内, 亚硝酸盐氮去除率始终保持近 99%, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率 86% 以上。在 pH 为 3 时, 菌株 LY-1 反硝化除磷活性也相对较高, 其亚硝酸盐氮去除率可达 78%, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率可达 45%。阴性对照大肠杆菌在整个 pH 范围内, 其反硝化除磷率始终较低。

2.5 不同温度条件下细菌反硝化除磷性能

如图 5 所示, 随着温度的升高, 菌株 LY-1 和枯草芽孢杆菌的反硝化除磷效率也逐渐增大。温度为 30 °C 时, 菌株 LY-1 的反硝化除磷效率达到最大, 其亚硝酸盐氮去除率可近 100%, 总 P 去除率近 100%。在 40 °C 高温环境下, 菌株 LY-1 的反硝化除磷效率也较枯草芽孢杆菌的反硝化除磷效率高, 其亚硝酸盐氮去除率可达 90%, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率可达 85%。大肠杆菌反硝化除磷率在整个温度范围内始终较低。

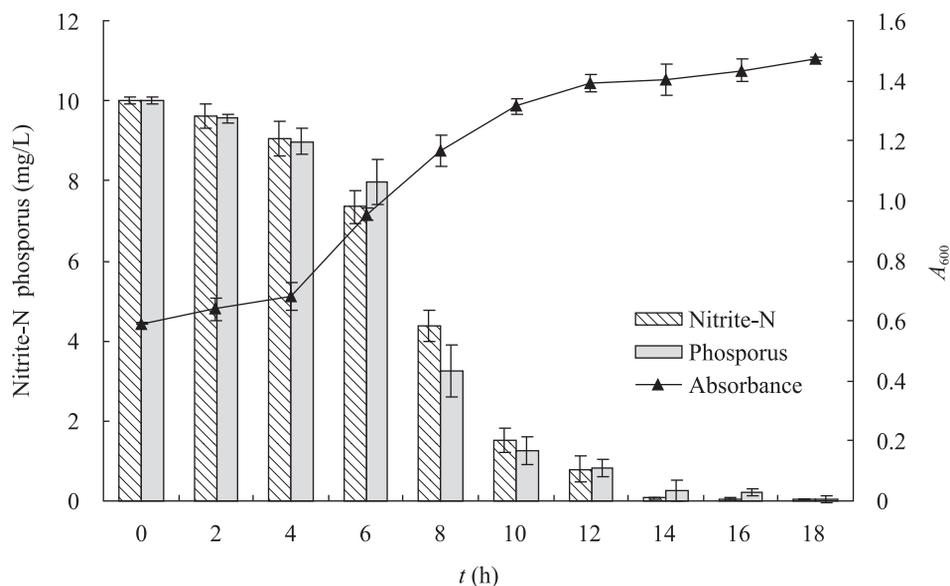


图 2 细菌 LY-1 生长与亚硝酸盐氮、P 的去除

Fig. 2 Dynamics of strain LY-1 growth and removal of nitrite and phosphorus

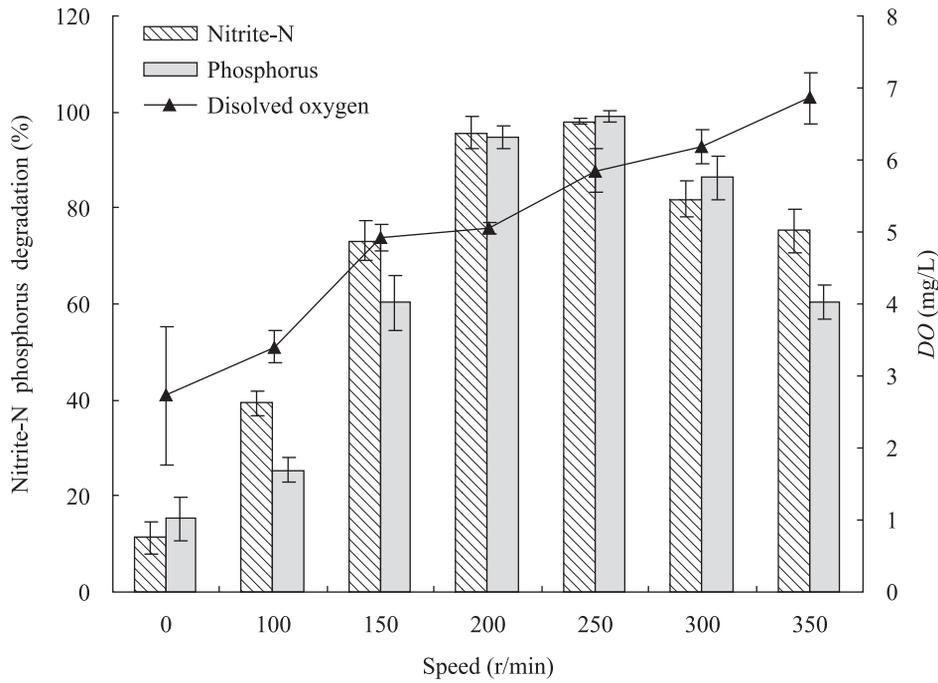


图 3 溶解氧浓度与亚硝酸盐氮、P 的去除

Fig. 3 Concentration of dissolved oxygen and removal of nitrite and phosphorus

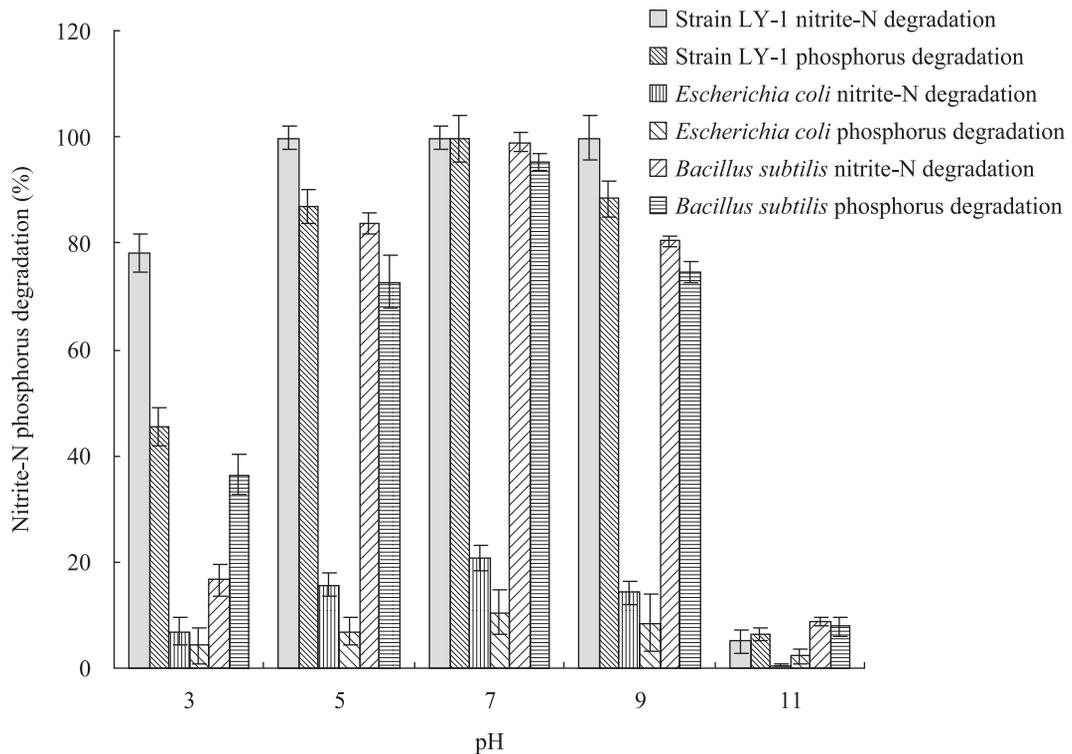


图 4 不同 pH 条件下细菌反硝化除磷的去除

Fig. 4 Removal of denitrifying phosphorus under different pH

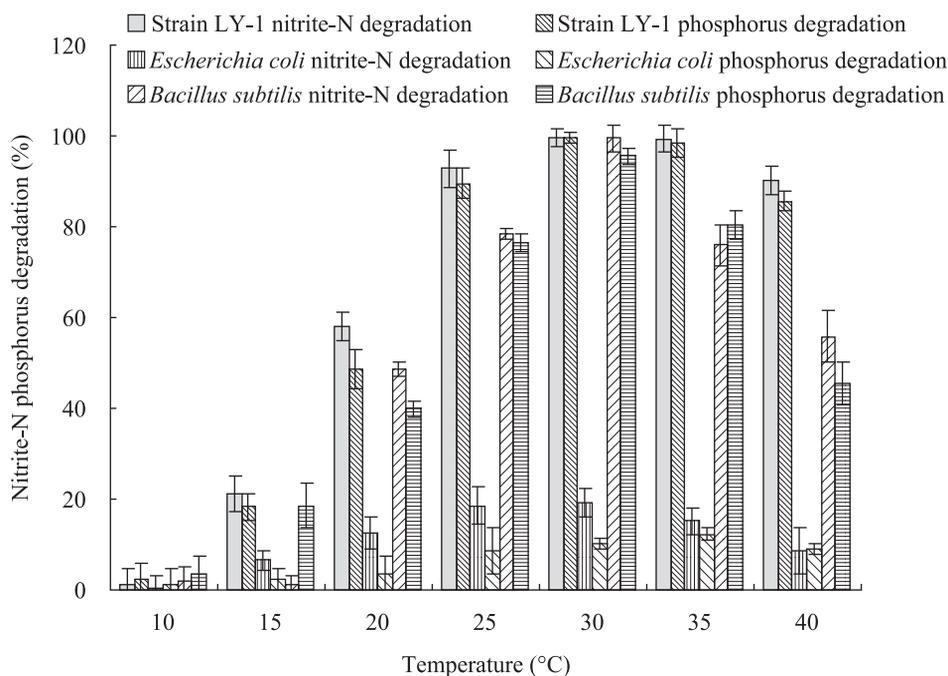


图5 不同温度条件下细菌反硝化除磷的去除

Fig. 5 Removal of denitrifying phosphorus under different temperature

2.6 不同盐度条件下细菌反硝化除磷性能

如图6所示,菌株LY-1和枯草芽孢杆菌在盐度为5‰–15‰范围内,其亚硝酸盐氮和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 始终保持近99%的去除率。随着盐度的增高,其反硝化除磷率也逐渐降低,其中菌株LY-1在高盐条件下的亚硝酸盐氮和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率相对较高,在盐度30‰的环境下,其亚硝酸盐氮去除率仍可达30%, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率可达35%。

2.7 不同 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度对细菌反硝化除磷性能

如图7所示,在初始浓度10、20、30、40、50、60 mg/L浓度的 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 反硝化除磷培养基中 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度在10 mg/L时,菌株LY-1亚硝酸盐氮和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率均可达99%,枯草芽孢杆菌亚硝酸盐氮和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率也相对较高。随着 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度的不断增大,菌株LY-1反硝化除磷率逐渐降低,在 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度为60 mg/L的高P环境下,菌株LY-1仍有近20%的亚硝酸盐氮去除率和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率,而大肠杆菌在高 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 环

境下其亚硝酸盐氮和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率几乎为0。

2.8 不同亚硝酸盐浓度对细菌反硝化除磷性能

如图8所示,亚硝酸盐氮浓度为20 mg/L时,菌株LY-1和枯草芽孢杆菌的亚硝酸盐氮和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率均相对较高,其中菌株LY-1亚硝酸盐氮和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率均可达99%。随着亚硝酸盐氮浓度的不断增大,菌株LY-1和枯草芽孢杆菌反硝化除磷率也逐渐降低,而大肠杆菌在高浓度亚硝酸盐氮环境下,其反硝化除磷效率几乎为零。

3 讨论

反硝化除磷菌在自然界广泛存在,现已分离出多个种属的反硝化除磷菌。当前该类菌种的研究与应用主要集中在污水处理领域,而在水产养殖水质调控方面的研究鲜见报道。试验采用在好氧条件下对同时具有反硝化除磷性能的菌种进行筛选,改进了原有该类菌种先厌氧、后好氧分

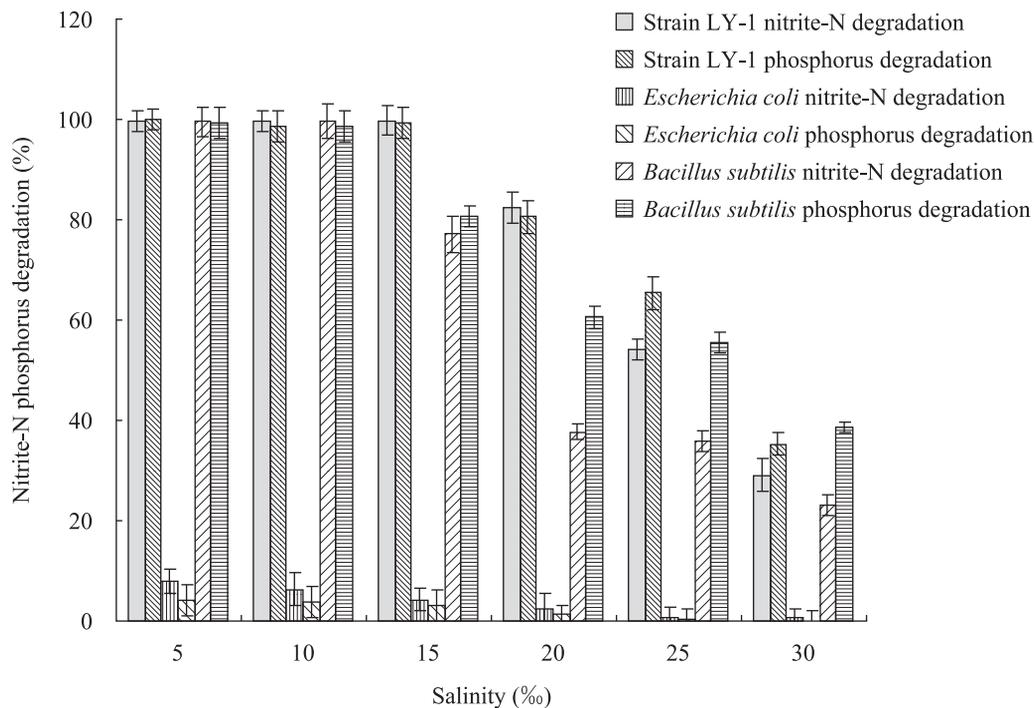
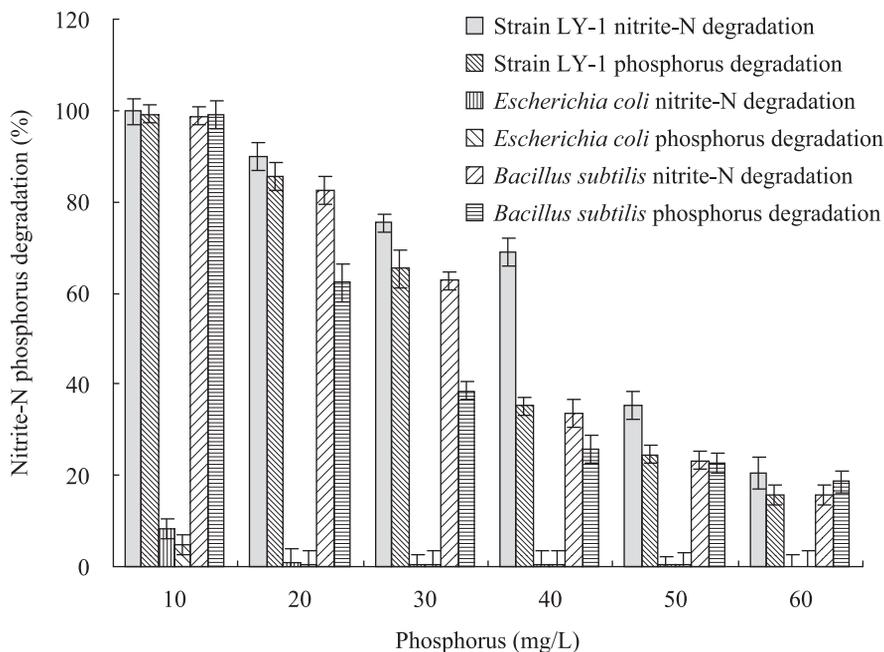


图 6 不同盐度条件下细菌反硝化除磷的去除

Fig. 6 Removal of denitrifying phosphorus under different salinity

图 7 不同 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度条件下细菌反硝化除磷的去除Fig. 7 Removal of denitrifying phosphorus under different $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$

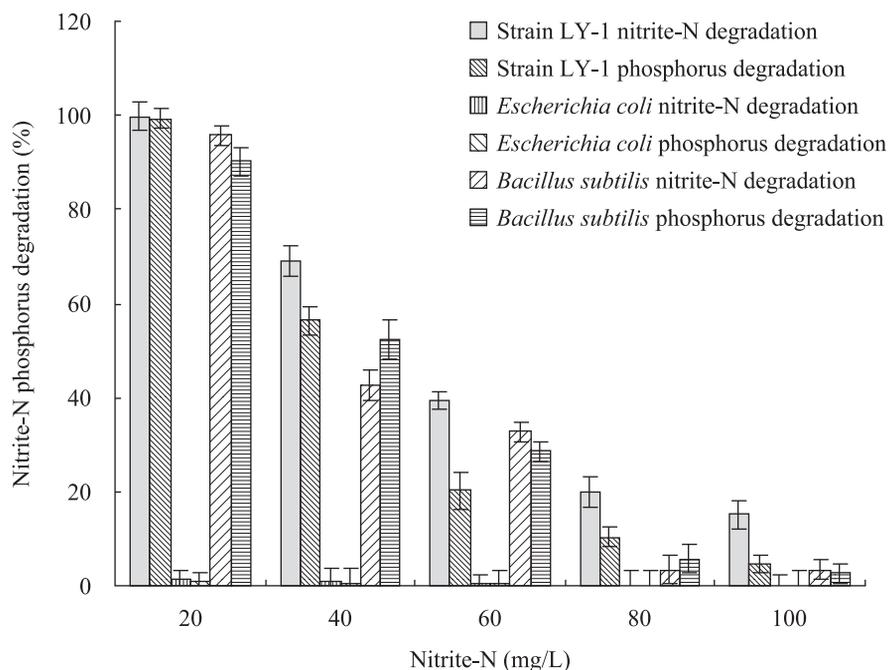


图 8 不同亚硝酸盐氮浓度条件下细菌反硝化除磷的去除
Fig. 8 Removal of denitrifying phosphorus under different nitrite

离的方法,极大地缩短了菌种分离周期。在该试验条件下,通过反硝化除磷菌种的初筛及复筛,最终筛选出一株可在好氧条件下具有较高反硝化除磷性能的菌种,暂命名为 LY-1,该菌能在 18 h 内将初始量为 10 mg/L 的亚硝酸盐氮降低至 0.04 mg/L,去除率 99%; $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 含量降低至 0.05 mg/L,去除率 99%。实践证明该方法是一种简便、高效、实用的反硝化除磷菌筛选方法,同时也为其它领域相关细菌的筛选提供了一种很好的筛选思路。

不同反硝化除磷菌对 DO 的耐受机制也不尽相同。方茜等^[13]考察了 SBR 系统内 DO 浓度对反硝化除磷的影响,发现在有氧条件下,更有利于反硝化除磷效率的发挥。张超等^[14]对 A/O/A/O 废水处理系统中, DO 浓度对反硝化除磷性能影响进行测定,认为当 $\rho(\text{DO})$ 为 2.5 mg/L 时,该体系内反硝化除磷率最高。该试验研究表明,随着 DO 浓度的增高,菌株 LY-1 的反硝化除磷活性也会不

断增大,当 $\rho(\text{DO})$ 为 5.0–5.9 mg/L 时,该菌反硝化除磷效率近 100%,可见溶解氧浓度对反硝化除磷菌活性至关重要,同时,该反硝化除磷菌耐 DO 机制也与传统反硝化除磷菌厌氧反硝化、好氧除磷耐 DO 机制不同,需进一步研究。

pH 对细菌反硝化除磷性能的发挥有较大影响,pH 过高过低均会抑制反硝化除磷菌相关酶系的活性。张超等^[15]在 pH 为 6.4–7.6 范围内对聚磷酸盐激酶活性与除磷性能关系进行测定,发现随着 pH 的不断升高,聚磷酸盐激酶活性与除磷效率正相关。Timmermans 等^[16]研究表明细菌反硝化还原酶活性与氮素去除率极其相关,当环境 pH 偏离最适范围时,细菌反硝化活性就会相应降低。该研究表明,菌株 LY-1 酸碱度适应范围较广,在 pH 为 5–9 时,菌株 LY-1 反硝化除磷率均显著高于对照菌,此研究结果也远比文献中曾报道过的反硝化除磷菌 pH 适应范围要广^[3–4],这可能是由于该菌反硝化除磷酶系对 pH 耐受性

较强等原因引起。

温度是影响细菌反硝化除磷的重要因素之一, 张小玲^[17]、马放等^[18]认为温度在 25 °C–35 °C 范围内, 最适于细菌反硝化除磷性能的发挥。该实验结果也与其研究结果相似, 实验表明, 该菌在温度为 25 °C–40 °C 范围内, 均适于反硝化除磷性能的发挥, 此外, 该菌可耐受 40 °C 高温, 其亚硝酸盐氮去除率可达 90%, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率可达 85%, 可见该菌反硝化除磷酶系对温度有较高耐受性, 这可能也与该菌菌种特性有关, 需进一步研究。

盐度对菌体反硝化除磷活性也有较大影响, 而有关该方面的研究鲜见报道。李玲玲等^[19]认为, 盐度对细菌反硝化除磷性能有重要影响。安健等^[7]研究盐度对凝结芽孢杆菌反硝化活性时发现, 高盐度对菌体反硝化性能有抑制作用。该试验研究表明, 在盐度为 5‰–15‰ 的高盐环境下, 菌株 LY-1 均可保持近 99% 反硝化除磷活性, 随着盐度的继续增大, 盐度逐渐成为抑制菌体反硝化除磷活性的重要因素。该实验研究结果也与上述研究结果相近, 由此可见, 水体环境中盐度也是影响细菌反硝化除磷性能的重要因素之一。

$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度对细菌反硝化除磷效率影响研究国内鲜有报道。该实验表明, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度在 10–20 mg/L 范围内, 该菌可保持近 90% 以上的反硝化除磷率, 高浓度 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 会抑制细菌反硝化除磷活性, 可能是由于高浓度的 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 会影响反硝化除磷相关酶系的活性, 可见细菌对 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 浓度具有一定的耐受性。

多数研究者认为亚硝酸盐氮对菌体有毒性作用, 不适于作为电子受体进行反硝化除磷^[20–21]。也有学者认为, 低浓度的亚硝酸盐氮有利于缩短脱氮除磷周期, 加快反硝化除磷效率^[22–23]。该实验研究表明, 菌株 LY-1 能够在亚硝酸盐氮 20 mg/L 范围内, 反硝化除磷率保持较高水平, 当亚硝酸盐氮超过这一数值时, 细菌反硝化除磷

率也随之降低。可见, 亚硝酸盐氮是可以作为电子受体参与生物反硝化除磷反应的, 但因菌种不同其对亚硝酸盐氮的耐受性也不尽相同, 需进一步探讨研究。

参 考 文 献

- [1] Kuba T, Smolder G, Van Loosdrecht MCM, et al. Biological phosphorus removal from waste-water by anaerobic-anoxic sequencing batch reactor[J]. Water Science Technology, 1993, 27(5/6): 241–252.
- [2] 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[J]. Water Research, 2002, 36(2): 403–412.
- [3] Kuba T, Van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ. Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two-sludge system[J]. Water Research, 1996, 30(7): 1702–1710.
- [4] Merzouki M, Bernet N, Delgenès JP, et al. Biological denitrifying phosphorus removal in SBR: effect of added nitrate concentration and sludge retention time[J]. Water Science and Technology, 2001, 43(3): 191–194.
- [5] Robertson LA, Kuenen JG. Aerobic denitrification: a controversy revived[J]. Archives of Microbiology, 1984, 139(4): 351–354.
- [6] Su JJ, Liu BY, Liu CY. Comparison of aerobic denitrification under high oxygen atmosphere by *Thiostphaera pantotropha* ATCC 35512 and *Pseudomonas stutzeri* SU2 newly isolated from the activated sludge of a piggery wastewater treatment system[J]. Journal of Applied Microbiology, 2001, 90(3): 457–462.
- [7] 安健, 宋增幅, 杨先乐, 等. 好氧反硝化细菌 YX-6 特性及鉴定分析[J]. 中国水产科学, 2010, 17(3): 561–568.
- [8] 安健, 宋增幅, 杨先乐, 等. 好氧反硝化芽孢杆菌筛选及其反硝化特性[J]. 环境科学研究, 2010, 23(1): 100–105.

- [9] 王鸿泰, 胡德高. 池塘中亚硝酸盐对草鱼种的毒害及防治[J]. 水产学报, 1989, 13(3): 207-214
- [10] 黄志华, 曹海鹏, 杨先乐, 等. 一株可溶性有机磷去除菌的分离及其生物学特性[J]. 微生物学通报, 2010, 37(7): 969-974.
- [11] Takaya N, Catalan-Sakairi MAB, Sakaguchi Y, et al. Aerobic denitrifying bacteria that produce low levels of nitrous oxide[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(6): 3152-3157.
- [12] Merzouki M, Delgenès JP, Bernet N, et al. Polyphosphate-accumulating and denitrifying bacteria isolated from anaerobic-anoxic and anaerobic-aerobic sequencing batch reactors[J]. Current Microbiology, 1999, 38(1): 9-17.
- [13] 方茜, 张朝升, 张可方, 等. 溶解氧对反硝化聚磷菌的影响研究[J]. 中国给水排水, 2008, 24(1): 35-39.
- [14] 张超, 王罗春. 溶解氧对反硝化除磷的影响[J]. 水处理技术, 2009, 35(12): 27-30.
- [15] 张超, 陈银广, 刘燕. pH 对增强生物除磷系统酶活性的影响[J]. 高等学校化学学报, 2008, 29(9): 1797-1800.
- [16] Timmermans P, Van Haute A. Denitrification with methanol: fundamental study of the growth and denitrification capacity of *Hyphomicrobium* sp.[J]. Water Research, 1983, 17(10): 1249-1255.
- [17] 张小玲, 王志盈. 短程反硝化聚磷的反硝化特征研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7(3): 68-71.
- [18] 马放, 王春丽, 王立立. 高效反硝化聚磷菌株的筛选及其生物学特性[J]. 哈尔滨工程大学学报, 2007, 28(6): 631-635.
- [19] 李玲玲, 周鹏. 活性污泥中功能性菌群抗盐度冲击性能研究[J]. 环境工程学报, 2010, 4(1): 105-109.
- [20] Keren-Jespersen JP, Henze M. Biological phosphorus uptake under anoxic and aerobic conditions[J]. Water Research, 1993, 27(4): 617-624.
- [21] Mno T, Van Loosdrecht MCM, Heijnen JJ. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process[J]. Water Research, 1998, 32(11): 3193-3207.
- [22] 王爱杰, 吴丽红, 任南琪, 等. 亚硝酸盐为电子受体反硝化除磷工艺的可行性[J]. 中国环境科学, 2005, 25(5): 515-518.
- [23] Meinhold J, Arnold E, Isaacs S. Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorus removal activated sludge[J]. Water Research, 1999, 33(8): 1871-1883.

论文中阿拉伯数字的使用

凡是可以使用阿拉伯数字且很得体的地方均应使用阿拉伯数字。世纪、年代、年、月、日、时刻必须使用阿拉伯数字, 年份必须用全称。对科技期刊来说, 凡处在计量单位和计数单位前面的数字, 包括 9 以下的各位数字, 除个别特例外, 均应使用阿拉伯数字。不是表示科学计量和有统计意义数字的一位数可以用汉字, 例如: 一本教材、两种商品等。