

## 厌氧反应时间对反硝化聚磷工艺的影响

王亚宜<sup>1</sup>, 王 鸿<sup>1</sup>, 郭 刚<sup>1</sup>, 潘绵立<sup>2</sup>

(1. 同济大学 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092;

2. 上海医药工业研究院, 上海 200040)

**摘要:** 采用厌氧/缺氧/好氧序批式反应器(An/A/O-SBR), 考察了不同厌氧反应时间(分别为 90, 120 和 150 min)长期运行条件下的反硝化除磷效果, 并利用荧光原位杂交(FISH)技术分析了系统内微生物种群的结构变化。结果发现, 厌氧反应时间为 90 min 系统合成的聚羟基烷酸酯(PHA)量最高, 脱氮和除磷平均去除率分别达到 92% 和 93%, 聚磷菌占总菌的(58±2.3)%; 厌氧反应时间为 120 min 的系统脱氮和除磷平均去除率分别达到 97% 和 73%, 聚磷菌占总菌的(50±2.2)%。而厌氧反应时间为 150 min 的系统合成 PHA 最低, 平均脱氮率仅为 79%, 聚磷菌数量也减少至(45±2.7)%。厌氧反应时间过长致使 PHA 含量水平下降, 继而发生游离亚硝酸(FNA)的积累, 这是导致系统脱氮除磷效率降低的主要原因。

**关键词:** 反硝化除磷; 反硝化聚磷菌(DPAOs); 厌氧反应时间; 聚羟基烷酸酯(PHA); 荧光原位杂交技术(FISH)

中图分类号: X 172

文献标志码: A

### Impact of Anaerobic Reaction Time on Denitrifying Phosphorus Removal Performance

WANG Yayi<sup>1</sup>, WANG Hong<sup>1</sup>, GUO Gang<sup>1</sup>, PAN Mianli<sup>2</sup>

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200040, China)

**Abstract:** The long-term impact of the different anaerobic reaction time (i. e. 90, 120 and 150 min) on denitrifying phosphorus removal performance was conducted in an anaerobic/anoxic/aerobic (An/A/O) sequencing batch reactor (SBR). Also, the microbial structure dynamics were analyzed by fluorescence in situ hybridization (FISH) techniques. The results show that the system with the shortest anaerobic time of 90 min produces the highest amount of polyhydroxyalkanoates (PHA) during anaerobic phases, and the average nitrogen and phosphorus removal efficiencies maintain at 92% and 93%, respectively; also, the

corresponding phosphorus accumulating organisms (PAOs) account for (58±2.3)% of the total biomass. The average nitrogen and phosphorus removal efficiencies of the system with the anaerobic time of 120 min maintain at 97% and 73%, respectively; and the corresponding PAOs account for (50±2.3)% of the total biomass. The lowest anaerobically synthesized PHA occurs in the system with the anaerobic reaction time of 150 min, accompanied by the poorest N removal efficiency of 79% (mean value); also, the PAOs percentage reduces to (45±2.7)%. It appears that a too long anaerobic reaction time leads to a decreased level of the PHA content and increased free nitrous acid (FNA) accumulation, which ultimately results in the reduced nitrogen and phosphorus removal efficiencies.

**Key words:** denitrifying phosphorus removal; denitrifying phosphorus accumulating organisms (DPAOs); anaerobic reaction time; polyhydroxyalkanoates (PHA); fluorescence in situ hybridization (FISH)

反硝化聚磷技术是利用一类反硝化聚磷菌(DPAOs)可利用亚硝酸盐/硝酸盐为电子受体, 以胞内储存物聚羟基烷酸酯(PHA)为电子受体, 通过“一碳两用”原则来同步完成反硝化脱氮和过量吸磷目的的<sup>[1]</sup>。因反硝化聚磷技术具备节省碳源和曝气量以及污泥产量低等诸多优势已成为污水处理领域竞相研究的热点技术之一<sup>[2]</sup>。

在厌氧阶段, DPAOs 将胞内聚磷水解并利用该过程释放的能量三磷酸腺苷(ATP)及糖原提供的还原力来完成碳源的吸收和 PHA 的合成, 以作为后续缺氧反硝化的电子供体; 而缺氧阶段 PHA 降解产生的能量可用于聚磷的合成, 最终实现除磷目标<sup>[3]</sup>。可见, PHA 作为细胞的物质和能量转换中心, 在 DPAOs 的代谢过程扮演重要角色, 其在厌氧阶段的

合成水平直接决定着后续缺氧吸磷的功效以及DPAOs是否可占优势.如果厌氧反应时间过短,则PHA合成可能不充分;相反,厌氧反应时间过长将可能使微生物长期暴露于饥饿状态,并导致PHA的无效损失<sup>[4]</sup>,继而削弱后续反硝化脱氮除磷效果.

因此,考察厌氧反应时间对反硝化除磷代谢特征以及功能微生物的影响对于明晰反硝化除磷科学机理,提高反硝化除磷工艺的稳定性具有重要意义.本研究通过设定三个水平的厌氧反应时间 $t_R$ (90, 120和150 min),考察了不同厌氧反应时间对反硝化除磷效果的长期影响作用,同时探索了微生物种群结构及形态学特性变化.

## 1 材料与方法

### 1.1 试验装置

厌氧反应时间对反硝化除磷效果的影响试验在序批式反应器(sequencing batch reactor, SBR)中进行.如图1所示,SBR为圆柱形有机玻璃容器,有效容积为2.5 L,充水比为0.7.反应器内配有搅拌装置,同时内置pH、氧化还原电位(ORP)及溶解氧(DO)传感器,实现在线监测和控制.

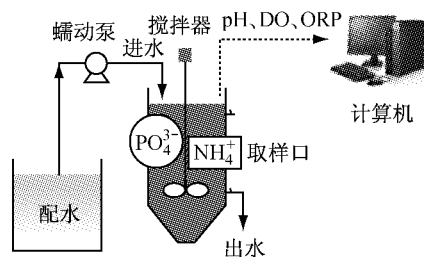


图1 SBR试验装置和控制系统

Fig.1 The schematic diagram of experimental SBR

### 1.2 试验废水

试验采用模拟配水,溶液化学需氧量(COD)为 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其中 $\text{CH}_3\text{COONa}$ 的质量浓度为 $276.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COONa}$ 的质量浓度为 $72 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 的质量浓度为 $21.97 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{CaCl}_2$ 的质量浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的质量浓度为 $85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{NH}_4\text{Cl}$ 的质量浓度为 $38.18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,烯丙基硫脲(ATU)的质量浓度为 $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,微量元素液为 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ .微量元素液的组成及浓度参见文献<sup>[5]</sup>.在厌氧末,即分别为90,120和150 min时,投加 $\text{KNO}_3$ 溶液形成缺氧环境.

### 1.3 SBR运行与试验

接种污泥取自上海某污水处理厂二沉池污泥,

该污泥具有生物脱氮除磷功能.在SBR装置中首先通过An/A/O交替运行,进行DPAOs的富集.该SBR有效容积为7.5 L,充水比为0.7.本试验1 d设定3个周期,一个周期为8 h,其中:进水5 min,厌氧2 h,缺氧3.5 h,好氧30 min,静置60 min,排水5 min,闲置50 min.其他运行参数如下:污泥质量浓度维持在 $4000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右,泥龄控制在20 d左右.经过120 d驯化后,挥发性悬浮固体(VSS)与悬浮固体(SS)的质量浓度比 $\rho_{\text{VSS}}/\rho_{\text{SS}}$ 稳定在0.72~0.75,认为系统已达稳定状态,DPAOs驯化结束.

将驯化好的DPAOs均分三份,接种到2.5 L的SBR中(图1).将厌氧反应时间 $t_R$ 分别设定为90, 120和150 min,相应调整闲置时间,其他运行时间及参数不变.经过115 d的驯化后,三个SBR中污泥的 $\rho_{\text{VSS}}/\rho_{\text{SS}}$ 分别稳定在0.72~0.76、0.7~0.75及0.75~0.80,认为系统已达稳定状态.再比较三个系统的脱氮除磷效果,观察污泥形态变化,并利用荧光原位杂交技术(fluorescence in situ hybridisation, FISH)检测功能菌的数量变化.

### 1.4 常规指标分析方法

取水样直接过膜(孔径 $4.5 \mu\text{m}$ ),然后测定 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 及混合液悬浮固体MLSS、混合液挥发性悬浮固体MLVSS,测量方法采用中国国家环境保护标准测试方法.COD测定使用Merck COD试剂,糖原测量采用蒽酮试剂法,PHA测定采用气相色谱法<sup>[6]</sup>,胞外聚合物(EPS)测定方法见文献<sup>[7]</sup>.

### 1.5 分子生物学FISH分析方法

取好氧末污泥,采用FISH测定微生物种群.总的微生物群落用EUBMIX探针标记,探针PAOMIX用来标记PAOs中的*Accumulibacter*,探针GAOQ989与探针GBG2结合用来标记GAOs中的*Competibacter*.探针ALF969(甲酰胺浓度为35%)用来标记聚糖菌(GAOs)中的*Alphaproteobacteria*.

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同厌氧反应时间对An/A/O-SBR脱氮除磷效果的影响

#### 2.1.1 不同厌氧反应时间的长期脱氮效果比较

如图2a,2b所示,在运行80 d后,厌氧反应时间为90和120 min的两组SBR系统总氮(TN)去除率均稳定在90%~100%,平均去除率分别为93%与

97%. 在后期, 厌氧反应时间为 120 min 的 SBR 系统 TN 去除率不如厌氧反应时间为 90 min 的 SBR 系统稳定. 而厌氧反应时间为 150 min 的 SBR 脱氮效

果最不稳定, TN 去除率通常在 60%~100% 之间波动(图 2c), 而 80d 后的平均去除率为 81%.

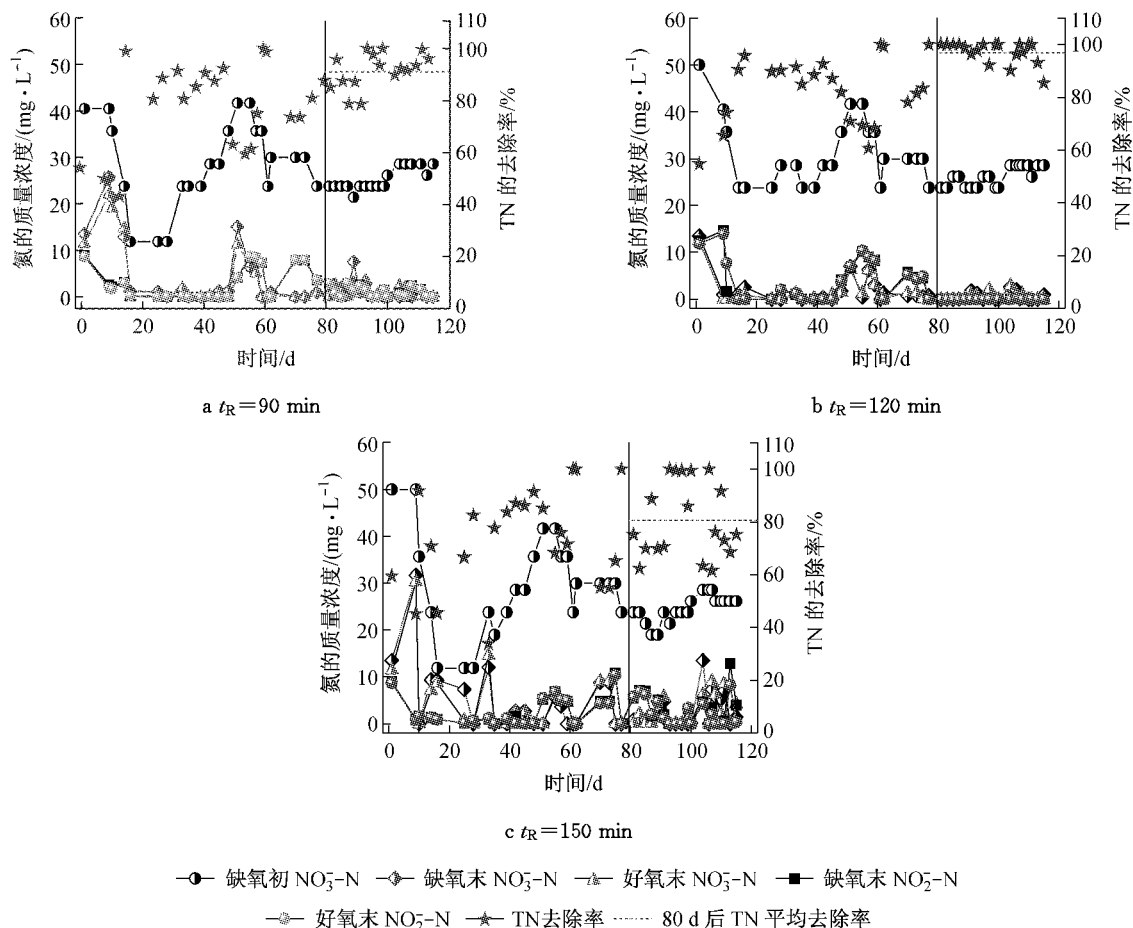


图 2 厌氧反应时间不同的系统长期脱氮效果比较

Fig. 2 Variations in N obtained in the long-term operation of the three systems with different anaerobic time

从 An/A/O SBR 长期的反硝化效果来看, 厌氧反应时间为 150 min 反应器积累的  $\text{NO}_2^-$ -N 较厌氧反应时间为 90 或 120 min 的反应器要多(图 2c), 其缺氧末  $\text{NO}_2^-$ -N 积累有时高达  $12.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 相应的游离亚硝酸(FNA)质量浓度为  $2.9 \times 10^{-4} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 较高的 FNA 往往会抑制反硝化速率, 导致脱氮效果变差<sup>[8-9]</sup>.

### 2.1.2 不同厌氧反应时间的长期除磷效果比较

在运行 80 d 后, 厌氧反应时间为 90 和 120 min 的两组 SBR 厌氧释磷量分别稳定在  $25 \sim 30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $15 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 缺氧除磷效果均稳定在 50% 左右; 在好氧末, 系统除磷效果稳定在 80% 左右, 80 d 后两个 SBR 的磷平均去除率分别为 85% 和 73% (图 3a, 3b). 而厌氧反应时间为 150 min 的系统厌氧释磷及缺氧、好氧除磷效果不稳定, 其厌氧释磷的下降可能是由 FNA 的抑制作用导致的, 因为试验

中厌氧反应时间为 150 min 系统的 FNA 质量浓度有时可达  $2.9 \times 10^{-4} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 而根据文献[10]报导, 当  $\text{HNO}_2$ -N 的质量浓度达到  $5 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, PAOs 厌氧释磷量可降低 50%, 这与本研究结果相符.

FNA 影响生物除磷效果, 可能有两方面的原因. ① FNA 作为解偶联剂, 通过提高质子透过膜的通透性而破坏质子驱动力, 从而在不抑制呼吸链递氢的同时却抑制了 ATP 的合成, 使氧化与磷酸化偶联过程脱离<sup>[11]</sup>; ② 高 FNA 将破坏多聚磷酸激酶 (PPK), 从而破坏 PAOs 的吸磷过程<sup>[9]</sup>. 缺少了 PPK 的参与, PAOs 无法正常合成聚磷.

### 2.1.3 不同厌氧反应时间 An/A/O-SBR 系统 PHA、糖原合成及脱氮除磷效果

基于三个 SBR 的长期运行效果, 开展了典型周期各生化指标的检测. 图 4 给出了三个 SBR 第 345

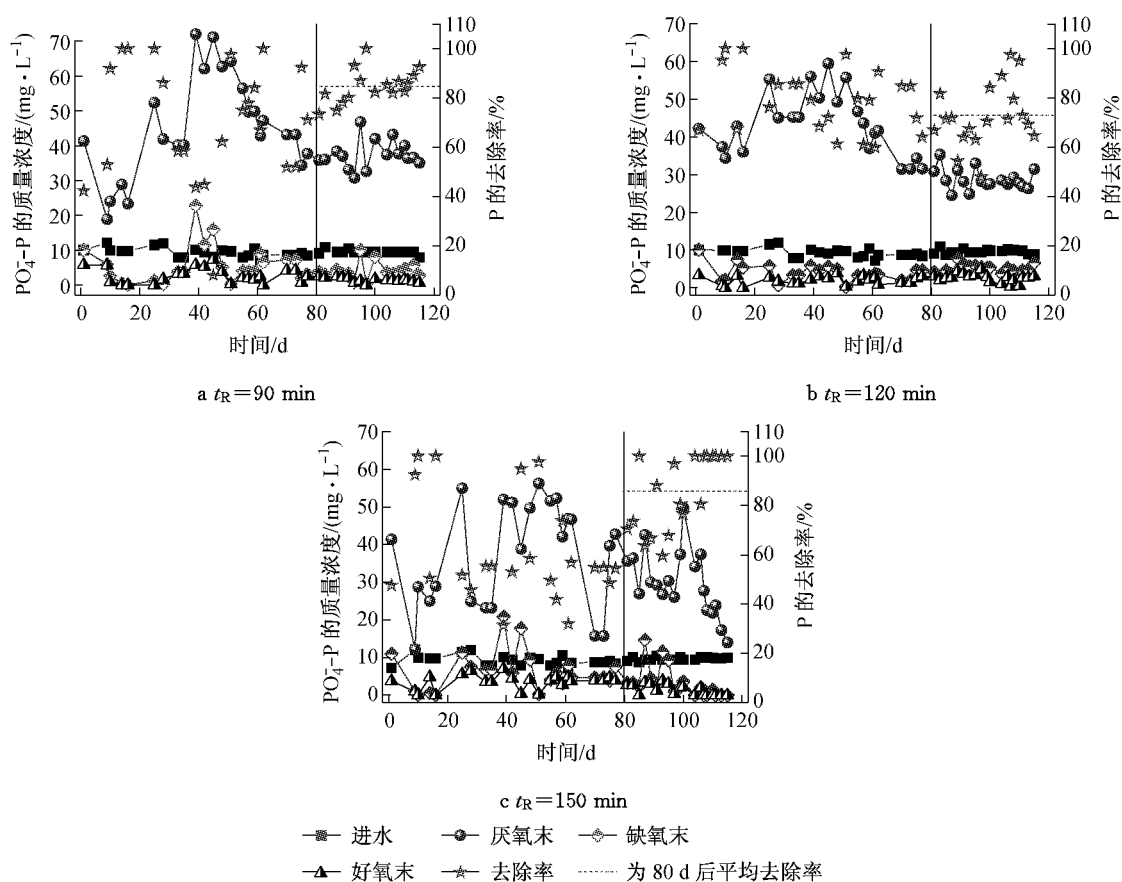


图3 厌氧反应时间不同的系统长期除磷效果比较

Fig.3 Variations in P obtained in the long-term operation of the three systems with different anaerobic time

个周期胞内物质(PHA 和糖原)的变化情况. 随着厌氧反应时间从 90 min 延长为 150 min, PHA 在厌氧段的含量水平降低, 其中聚羟基丁酸酯(PHB)减少量尤为明显. 厌氧反应时间为 150 min 较厌氧反应时间为 90 min 的 PHB 合成量减少了近 20%. 在缺氧段, 厌氧反应时间为 120 和 150 min 的 PHA 消耗量分别为厌氧反应时间为 90 min 反应器合成 PHA 量的 92% 和 77%. 对应图 3 中脱氮除磷效果随厌氧反应时间的延长而下降, 可得出结论: 厌氧反应时间延长造成脱氮除磷效果的变差, 主要是由 PHA 厌氧段的含量水平低以及在缺氧段的降解效率低造成的.

厌氧段 PHA 随厌氧反应时间的延长而降低有两方面的原因: (1) 厌氧反应时间为 150 min 的反应器在厌氧段初期, 普通异养反硝化菌(OHB)利用进水中的一部分 COD 迅速将溶液中上一周期滞留下来的  $\text{NO}_3^-$ -N 和  $\text{NO}_2^-$ -N 反硝化, 而因三个反应器初始的 COD 相同, 这就造成了厌氧反应时间为 150 min SBR 系统 PHA 合成量的降低; (2) 由于厌氧反应时间的过长造成了 PHA 在厌氧段的无效损失. 在厌氧阶段, 当系统缺少外碳源时, 微生物通过内源代谢消耗 PHA 来提供自身所必须的能量, 因此从图 4

(图中  $\text{PHA} = \text{PHB} + \text{PHV}$ , 其中 PHV 为聚羟基戊酸酯)中可以看出, 厌氧反应时间为 150 min 时, 厌氧反应时间已经过长, 造成厌氧段 PHA 含量水平的降低.

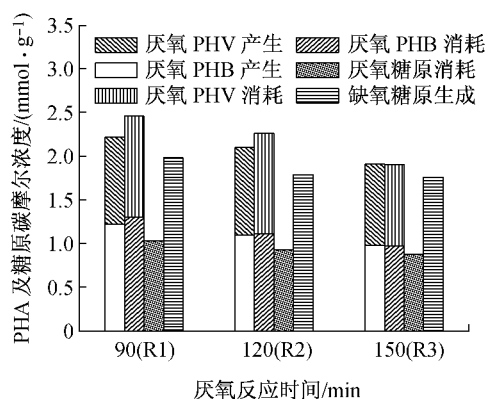


图4 典型周期(第345个周期)中 PHA 与糖原的变化比较  
Fig.4 Variations of PHA and glycogen during one cycle (the 345th cycle) in the three batch reactors

对比三个不同厌氧反应时间系统的脱氮效果(表1), 表中厌氧反应时间为 150 min 的反应器在缺氧初,  $\text{NO}_3^-$ -N 少投加了  $2.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 是为了避免

其在缺氧末亚硝酸盐或 FNA 的大量积累,发现厌氧反应时间设定越长,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 与 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 比还原速率越低,导致脱氮效果下降(去除率分别为 100%、92%和 79%)。厌氧末 PHA 水平低同时也造成反硝化过程各种酶对电子的竞争<sup>[12]</sup>,由于硝酸盐还原酶(Nar)对电子的捕捉能力较亚硝酸盐还原酶(Nir)强,这种不平衡性造成了 FNA 的积累,继而产生一系列对反硝化及除磷的抑制作用。

表 1 不同厌氧反应时间对反硝化效率的影响  
(第 345 个周期)

Tab.1 Comparison of the N and P removal during one cycle(the 345th cycle)in batch experiments

测试项目	R1	R2	R3
缺氧初 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	28.6	28.6	26.2
缺氧末 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	0	0.91	1.45
缺氧末 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	0	1.31	3.97
单位 VSS 中 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N 还原速率/(mg·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	53.4	53.0	13.2
单位 VSS 中 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N 还原速率/(mg·g <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	12.4	14.7	0.9

分析第 345 个典型周期,厌氧反应时间为 90 min 的反应器除磷效果可达 93%;厌氧反应时间为 120 min 的反应器除磷效果降为 65%。而厌氧反应时间为 150 min 的反应器经过长期运行,其厌氧释磷量仅为 4.1 mg·L<sup>-1</sup>(图 5),这主要是因为 PHA 水平及其在缺氧段降解效率的降低,造成反硝化效率的降低,继而造成的亚硝酸盐或 FNA 的积累抑制了多聚磷酸激酶(PPK 酶)或 PHA 氧化时能量的产生,最终导致除磷效率的下降<sup>[13]</sup>。

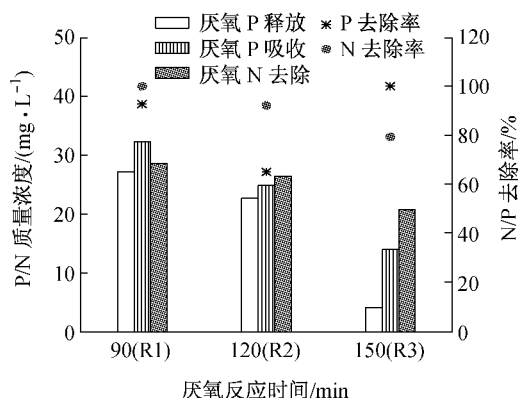


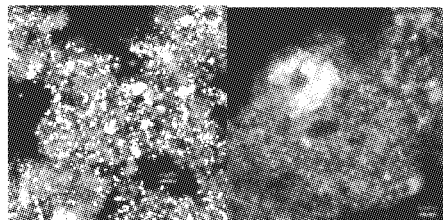
图 5 典型周期中(第 345 个周期)P/N 去除特性比较

Fig.5 Variations of P/N during one cycle(the 345th cycle) in the three batch reactors

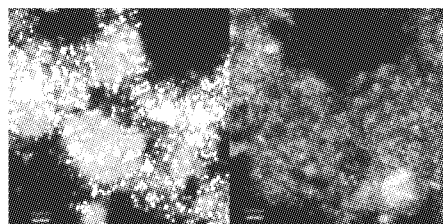
## 2.2 不同厌氧反应时间对 An/A/O-SBR 微生物种群结构的影响

本试验中,随着厌氧反应时间设定值的增高,PAOs 含量递减,分别为(58±2.3)%、(50±2.2)%

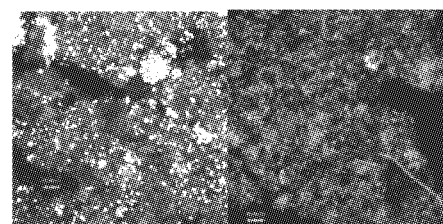
与(45±2.7)%;而 GAOs(*Competibacter*)含量递增,即分别为(28±2.3)%、(30±2.2)%和(42±2.7)% (图 6)。



a  $t_R=90$  min(PAO: (58±2.3)%; *Competibacter*-GAOs: (28±2.3)%;



b  $t_R=120$  min(PAO: (50±2.2)%; *Competibacter*-GAOs: (30±2.2)%)



c  $t_R=150$  min(PAO: (45±2.7)%; *Competibacter*-GAOs: (42±2.7)%)

图 6 不同厌氧反应时间的微生物种群结构比较  
Fig.6 FISH images from the three reactors in typical cycle tests

Filipe 等<sup>[14]</sup>通过对 GAOs 和 PAOs 在厌氧条件下热力学参数的理论研究发现,若厌氧区的固体停留时间超过吸收挥发性脂肪酸所需时间时,将迫使 GAOs 和 PAOs 分解胞内聚合物以满足细胞的维持生长,本试验结果表明,过长的厌氧反应时间将使 PAOs 逐渐从系统中淘洗出去,影响系统脱氮除磷效果。

## 2.3 厌氧反应时间对 An/A/O-SBR 系统微生物形态学的长期影响

检测了各反应器好氧末污泥的胞外聚合物,其蛋白质与糖含量见表 2。可见,各反应器蛋白质含量基本相同,而随着厌氧反应时间设定值的延长,胞外糖含量减少明显,即厌氧反应时间为 120 和 150 min 的系统污泥的胞外糖含量均比厌氧反应时间为 90 min 的系统减少约 20%。由此可以推测,厌氧反应时间过长或外碳源不足时,将迫使微生物消耗胞外糖类来

提供能量. 而通过检测污泥絮体粒径分布(表2),也证实了厌氧反应时间为150 min的粒径要明显小于较短厌氧反应时间的污泥粒径.

表2 不同厌氧反应时间下微生物胞外聚合物比较  
Tab.2 Chemical composition of EPS extracted from the three sludges

胞外聚合物	R1	R2	R3
蛋白质在VSS中含量/( $10^{-2}\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	4.43	4.46	4.37
糖在VSS中含量/( $10^{-3}\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	6.36	6.38	5.39
粒径分布(大于10 $\mu\text{m}$ )/%	45	49	35

对于厌氧反应时间为150 min的系统,由于厌氧反应时间过长,在无外碳源情况下,微生物需要消耗自身物质(包括其细胞膜外表面的糖类等物质)来获得维持生存所需的能量,长此以往,使污泥黏性变差,絮体形成效果差,最终影响系统的脱氮除磷效果. 另外,在排泥量相同的情况下,厌氧反应时间为150 min的反应器 $\rho_{\text{ss}}$ 略低,为 $3\ 600\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,这也是由于厌氧反应时间过长,微生物消耗自身物质所致.

### 3 结论

通过考察不同厌氧反应时间下反硝化除磷系统的长期运行,结果表明:

(1) 厌氧运行时间过长会降低 $\text{PAOs}/\text{DPAOs}$ 厌氧末的PHA含量,导致后续缺氧阶段FNA的积累,继而影响反硝化除磷和脱氮效果;

(2) 随着厌氧反应时间的延长,各反应器中PAOs的比例呈下降趋势,GAOs的比例呈上升趋势,表明在本试验条件下,厌氧反应时间过长,对PAOs的富集不利,长期运行将导致系统的恶化甚至崩溃.

(3) 从微生物形态来看,由于厌氧反应时间过长,微生物消耗了其体外糖类等物质来提供能量以维持生存,使得絮体黏性变差,最终导致厌氧反应时间为150 min的反应器中微生物絮体较小,絮体形成效果较差.

### 参考文献:

[1] Mino T. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process [J]. Water Research, 1998, 32(11): 3193.

[2] WANG Yayi, GENG Junjun, GUO Gang, et al.  $\text{N}_2\text{O}$  production in anaerobic/anoxic denitrifying phosphorus removal process: The effects of carbon sources shock [J]. Chemical Engineering Journal, 2011, 172(2): 999.

[3] Tsuneda S, Ohno T, Soejima K, et al. Simultaneous nitrogen and phosphorus removal using denitrifying phosphate accumulating organisms in a sequencing batch reactor [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, 27(3): 191.

[4] WANG Yayi, GENG Junjun, REN Zhongjia, et al. Effect of anaerobic reaction time on denitrifying phosphorus removal and  $\text{N}_2\text{O}$  production [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(10): 5674.

[5] WANG Yayi, JIANG Fun, ZHANG Zhaoxiang, et al. The long term effect of carbon source on the competition between polyphosphorus accumulating organisms and glycogen accumulating organism in a continuous plug flow anaerobic/aerobic(A/O)process [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(1): 98.

[6] Oehmen A, Keller-Lehmann B, Zeng R J, et al. Optimisation of poly- $\beta$ -hydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems [J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1070(1/2): 131.

[7] 吴昌永. 实时控制下短程生物脱氮的实现及其稳定性研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 2006.

WU Changyong. Achievement and stability of shortcut biological nitrogen removal under real-time control [D]. Harbin: Municipal and Environmental Engineering of Harbin Institute of Technology, 2006.

[8] Zhou Yan, Pijuan M, Yuan Zhiguo. Free nitrous acid inhibition on anoxic phosphorus uptake and denitrification by polyphosphate accumulating organisms [J]. Biotechnol Bioengineering, 2007, 98(4): 903.

[9] Sijbesma W F H, Almeida J S, Reis M A M, et al. Uncoupling effect of nitrite during denitrification by Pseudomonas fluorescens: An in vivo P-31-NMR study [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1996, 52(1): 176.

[10] Reddy D, Lancaster J R, Cornforth D P. Nitrite inhibition of clostridium-botulinum-electron-spin resonance detection of iron-nitric oxide complexes [J]. Science, 1983, 221: 769.

[11] Kampschreur M J, Temmink H, Kleerebezem R, et al. Nitrous oxide emission during wastewater treatment [J]. Water Research, 2009, 43(17), 4093.

[12] Zhou Yan, Pijuan M, Yuan Zhiguo. Development of a 2-sludge, 3-stage system for nitrogen and phosphorous removal from nutrient-rich wastewater using granular sludge and biofilms [J]. Water Research, 2008, 42(12), 3207.

[13] Zhou Yan, Pijuan M, Oehmen A, et al. The source of reducing power in the anaerobic metabolism of polyphosphate accumulating organisms (PAOs)—a mini-review [J]. Water Science & Technology, 2010, 61(7): 1653.

[14] Filipe C D M, Grady Jr C P L. Ecological engineering of bioreactors for wastewater treatment [J]. Water Air Soil Pollution, 2000, 123(1): 117.