



好氧反硝化细菌及其在微污染水源水修复中的应用研究进展

沈桐¹, 江进¹, 李宁², 罗晓楠^{1*}

1 广东工业大学生态环境与资源学院, 广东 广州 510006

2 珠江水利科学研究院, 广东 广州 510611

沈桐, 江进, 李宁, 罗晓楠. 好氧反硝化细菌及其在微污染水源水修复中的应用研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(2): 465-482.

SHEN Tong, JIANG jin, LI Ning, LUO Xiaonan. Aerobic denitrifiers and the application in remediation of micro-polluted water source[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(2): 465-482.

摘要: 相比于氨氮, 天然水体中的硝酸盐氮通常更稳定, 导致更难将其从水中去除。由于好氧反硝化可以在有氧环境下进行反硝化作用去除硝酸盐氮, 该过程对含有较高溶解氧的天然水体中硝酸盐氮处理有重要作用。本文综述了好氧反硝化菌的分离纯化现状、微生物代谢机制和环境影响因素, 并介绍了功能菌群在微污染饮用水源水生物修复的应用研究进展。与一般的厌氧反硝化类似, 好氧反硝化菌的种属分布较广, 常见的如假单胞菌属(*Pseudomonas*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、副球菌属(*Paracoccus*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)等所属部分微生物均有好氧反硝化能力。大部分好氧反硝化菌株在最佳生长条件下(25–37 °C、溶解氧浓度为 3–5 mg/L、pH 为 7–8、碳氮比为 5–10)具有高效的脱氮效率。但目前好氧反硝化作用在微污染饮用水源水的生物修复方面的应用仍有着脱氮性能不稳定、菌剂流失等不足。此外, 目前较少相关中试及实际工程应用的研究, 需要进一步的深入探究。

关键词: 好氧反硝化菌; 脱氮机制; 微污染水源生物修复

资助项目: 广东省重点领域研发计划(2019B110205004); 国家自然科学基金(52000039, 52100004)

This work was supported by the Guangdong Province Key Field Research and Development Program Project (2019B110205004) and the National Natural Science Foundation of China (52000039, 52100004).

*Corresponding author. E-mail: xiaonanluo_gd@163.com

Received: 2022-06-01; Accepted: 2022-07-11; Published online: 2022-07-15

Aerobic denitrifiers and the application in remediation of micro-polluted water source

SHEN Tong¹, JIANG jin¹, LI Ning², LUO Xiaonan^{1*}

1 School of Ecology, Environment and Resources, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, Guangdong, China

2 Pearl River Water Resources Research Institute, Guangzhou 510611, Guangdong, China

Abstract: Nitrate is more stable in natural water than ammonia and thus is more difficult to be removed. Conventionally, the removal of nitrate relies on anaerobic denitrification, which is hard in natural water containing high concentration of dissolved oxygen. In this sense, aerobic denitrification is of particular importance for nitrate removal in natural water. This study reviewed the isolation, purification, microbial metabolism, and environmental influencing factors of aerobic denitrifiers. Moreover, the application of aerobic denitrification in remediation of micro-polluted drinking water sources is also introduced. Similar to their anaerobic counterparts, aerobic denitrifiers affiliate to a wide range of genera, such as *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Paracoccus*, and *Bacillus*. Most of the aerobic denitrifiers have a satisfactory nitrate removal efficiency under suitable conditions (25–37 °C, DO (dissolved oxygen)=3–5 mg/L, pH 7–8, C/N ratio=5–10). However, aerobic denitrification still has drawbacks of unstable removal efficiency and the loss of microbes. Moreover, little efforts are made in relevant study on pilot-scale and full-scale application and thus further investigation is needed.

Keywords: aerobic denitrification; mechanism of nitrogen removal; micro-polluted water source bioremediation

近年来随着工农业的快速发展以及各种化学品使用的增加,一些水源地水质出现污染问题,根据中国生态环境状况公报^[1]表明,中国的地表水污染情况较为严重,水源地水体的富营养化问题较为突出,劣 V 类湖泊水库比例仍保有 8.1%;2018 年,对全国 906 个在用集中式生活饮用水水源监测断面(点位)的监测中,地表水水源监测断面(点位)的未达标点位有 43 个,地下水水源监测断面(点位)的未达标点位有 49 个,主要超标指标之一为氮元素。氮是一种以多形式自然存在于天然环境中生物生长发育所必需的元素。然而,由于农业生产需要而导致的氮肥和农药过度使用、工业废水和生活污水的排放、养殖业动物粪便的渗透以及化石燃料的燃烧等人为活动影

响,环境中氮元素浓度过度增加,造成了污染。

氮在自然界中有多种存在形式,其中硝酸盐是氮元素在水中存在的最稳定形式,通常情况下较难去除。过量的硝态氮(>10 mg/L NO₃⁻-N)导致人体甲血红蛋白血症、动物硝酸盐中毒和水体富营养化等有害情况出现^[2-4]。针对硝酸盐污染的不利影响和现状,目前主要通过物理、化学和生物方法去除环境中的含氮化合物,其中生物方法因其价格低廉且安全可靠的优势而被广泛研究和应用。传统上,微生物只能在厌氧条件下还原硝酸盐,生成气态产物而从水中去除。根据微生物所用的电子供体和碳源类型,这一厌氧过程可分为异养反硝化和自养反硝化。异养反硝化为兼性厌氧菌利用有机物为电

子供体和碳源还原硝酸盐, 而自养反硝化则以无机碳为碳源, 利用还原态硫、二价铁和氢气等作为电子供体, 将硝酸盐还原为氮气等含氮化合物。然而, 天然水体特别是地表水通常含有较高的溶解氧(5–10 mg/L), 无法创造足够的厌氧环境进行传统的反硝化去除硝酸盐。与厌氧反硝化不同, 好氧反硝化是微生物在溶解氧较高的情况下(>2 mg/L), 消耗有机物还原硝酸盐, 最终生成气态化合物的过程。Robertson 等^[4]于 1984 年从一个反硝化脱硫脱氮反应器中, 筛选分离出一株纯菌 *Thiosphaera pantotropha* (现称为 *Paracoccus pantotrophus*)并在经过一系列实验验证后正式提出好氧反硝化的概念^[5-7]。除了对溶解氧的耐受性, 好氧反硝化使得硝化-反硝化两个过程在一个系统中同时发生^[8], 利用反硝化释放出 OH⁻补偿碱度, 降低天然水体中局部 pH 值变化, 缓解氮元素去除过程对生态系统的影响。

目前国内外学者对好氧反硝化进行了一定的研究, 包括纯化菌株的菌属种类、脱氮性能及影响因素等方面。此外, 也有学者对好氧反硝化的研究进展进行了总结。丁钰等^[9]总结了好氧反硝化菌的分离方法、菌属种类及其来源、影响因素和在污水处理中的应用方法, 并从电子传递瓶颈理论和酶学理论两方面猜想推测了好氧反硝化的反应机理; 郭焱等^[10]研究者综述了好氧反硝化菌株的分离现状及其生化特性、在极端环境下的应用潜力以及微生物作用机理的研究现状; Rajta 等^[2]总结了不同生态位下好氧反硝化的脱氮作用及反应所涉及各类环境参数, 提供了参与好氧反硝化的功能酶的简单介绍, 并提出了好氧反硝化在解决常规脱氮处理问题的作用; Yang 等^[11]针对好氧反硝化的电子转移机制, 总结了反硝化酶的成分和功能酶之间进行电子传递的方式, 讨论了好氧反硝化的生理基础和意义, 从反硝化酶的角度提出提高好氧反硝化效率的策略。然而关于环境因子

对菌株脱氮性能的影响集中在溶解氧浓度、碳源、碳氮比等常规因素上, 对特殊条件如盐度、重金属离子浓度、低温等方面还缺少总结; 相关微生物代谢机制综述主要总结了反硝化作用酶系, 对电子转移机制的解析还不够全面; 应用研究方面局限在水产养殖和污水处理领域, 对微污染天然水体的应用综述还鲜有报道。

因此, 本文总结了近年来好氧反硝化菌的筛选分离情况、脱氮特性以及反应机理的研究进展, 同时介绍好氧反硝化生物脱氮技术的环境影响因素及其在水源水实际应用方面的研究现状, 最后对未来好氧反硝化技术的研究方向提出了科学的展望。

1 好氧反硝化菌代谢机制及相关菌属

关于好氧反硝化菌的研究始于 20 世纪 80 年代, Robertson 等在除硫与反硝化处理系统中首次分离得到 *Thiosphaera pantotropha*^[4,7], 并提出电子传递瓶颈理论解释好氧反硝化的机理。有氧呼吸和好氧反硝化皆以有机物为电子供体, 经过 NADH 脱氢酶、醌池、复合物 bc1 和细胞色素 c 传递电子, 再分别利用末端氧化酶和一系列反硝化酶得到电子进行反应。有氧呼吸和好氧反硝化的电子转移路径有 2 个电子竞争点(即电子转移瓶颈):一个是除了细胞色素和复合物 bc1 外, 电子是否能从醌基转移到硝酸盐还原酶; 另一个是末端氧化酶存在的情况下, 电子是否能从细胞色素 c 转移到其他反硝化酶^[11]。好氧反硝化发生的生理基础是在末端氧化酶存在的前提下, 反硝化酶也能捕获电子。大量报道表明, 在溶解氧浓度可检的情况下发生了反硝化反应。并且有研究报道亚硝酸盐会抑制微生物对氧的摄取, 从而改变细胞色素链的氧化还原水平, 允许电子流向亚硝酸盐还原

酶和其他反硝化酶^[4]。因此可以认为分子氧和硝酸盐可同时作为最终电子受体^[12]，如图 1 所示好氧反硝化菌可以利用醌氢类为电子供体，将电子从被还原的有机基质传递给 O_2 和 NO_3^- 。 NO_x 还原酶可以接受从 NADH 传递的电子流^[13-14]，克服电子传递链瓶颈，使过剩的还原力通过周质硝酸盐还原酶(periplasmic nitrate reductase, Nap)传递给硝酸盐，并通过亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, Nir)、一氧化氮还原酶(nitrite oxide reductase, Nor)和氧化亚氮还原酶(nitrous oxide reductase, Nos)还原硝酸盐为一氧化二氮、亚硝酸盐等产物^[15]。

从热力学角度看，由于分子氧是比氮氧化物更易利用的电子受体，在好氧反硝化过程中存在着较大的电子竞争^[11,15]。在反应过程中，调节电子竞争的方法有 3 种，一是调整电子供体即有机物碳源的投入量，适当的碳氮比有利于实现良好的总氮去除率^[11]；二是调节反硝化酶的酶活性从而减少中间产物的积累量，改变最终产物的反应方向^[16]；三是调节溶解氧浓度^[17]。

然而尚未明确的是氧存在条件下微生物调控电子转移到反硝化酶的机制；高浓度溶解氧可能会使末端氧化酶饱和，而好氧反硝化菌是否会因为末端氧化酶饱和而选择将多余的电子转移到硝

酸盐，最终提高能量获取速率。这一问题需要进一步重点研究，以补充好氧反硝化的作用机制。

由于好氧反硝化功能酶需要与末端氧化酶竞争电子来利用硝酸盐，对溶解氧浓度和电子供体投入量有较严格的要求，而自然界环境复杂多变，无法长时间维持合适的生长条件，此类微生物难以在自然条件下成为优势菌种。因此，研究中在进行好氧反硝化菌的筛选分离时，一般先通过间歇曝气法进行富集培养。其原理是在好氧反硝化过程中，好氧反硝化菌可以同时利用 NO_3^- -N 和 O_2 ，而好氧条件下氧分子抑制了膜质硝酸盐还原酶等的作用，专性厌氧菌和兼性厌氧菌受到抑制，从而使好氧反硝化菌等好氧菌在竞争中取得优势，达到富集驯化的目的^[18]。随后会通过 KCN 选择性培养基或溴百里酚蓝(BTB)培养基选择法进行挑选。前者是通过向培养基进行曝气的同时加入呼吸抑制剂 KCN，终止呼吸链中电子向氧分子的传递，抑制有氧呼吸，从而抑制其他好氧菌的生长发育^[5,19]。而后者是利用 BTB 指示剂在不同 pH 条件下显色不同的特征，在硝酸盐或亚硝酸盐培养基中加入 BTB，酸性条件下指示剂呈黄绿色，而好氧反硝化反应发生释放出 OH^- 后，pH 上升，指示剂显蓝色，筛选平板上的好氧反硝化菌周围会产生一

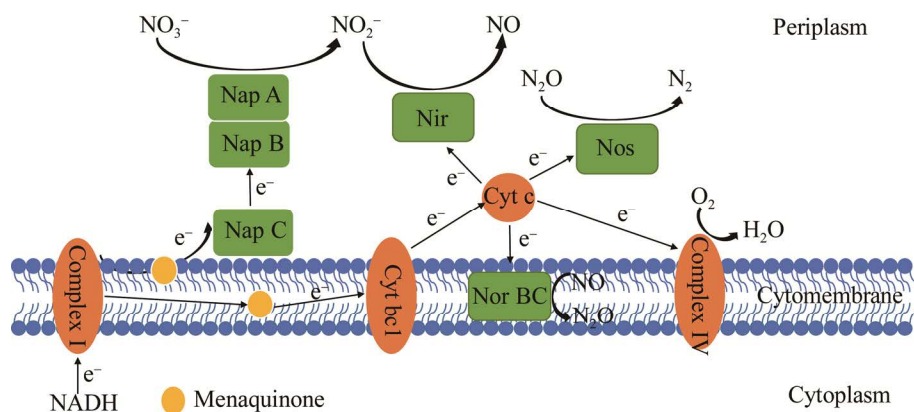


图 1 好氧反硝化可能的电子传递机制^[11]

Figure 1 The possible electron transfer mechanism of aerobic denitrification^[11].

圈蓝色光晕^[20-21], 从而将好氧反硝化菌与其他好氧菌区分开挑选出来, 再进一步进行纯化分离。

目前报道的好氧反硝化菌大部分属于细

菌, 如表 1 所示, 主要分布在假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、产碱杆菌属 (*Alcaligenes*)、副球菌属 (*Paracoccus*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 等常

表 1 近 5 年分离的好氧反硝化菌及其来源

Table 1 The isolated aerobic denitrifiers and their sources from 5 years

Species	Resource	Cultivation condition	Denitrification performance	Year
<i>P. brassicacearum</i> sp. LZ-4	Petrochemical wastewater	18–23 °C DO=4–5 mg/L Glucose	NO ₂ ⁻ -N removal rate=95% Cr(I) removal rate=80% COD removal rate=96%	2016 ^[22]
<i>P. tolaasii</i> sp. Y-11	Paddy soil	15 °C pH 7.2 Sodium acetate	NO ₃ ⁻ -N removal rate=93.5% NO ₂ ⁻ -N removal rate=81.9%	2016 ^[23]
<i>Cupriavidus</i> sp. S1	Coking wastewater	30 °C 120 r/min pH 7.0	NO ₃ ⁻ -N removal rate=98.03% NO ₂ ⁻ -N removal rate=99.81%	2016 ^[24]
<i>Marinobacter</i> sp. NNA5	Biological filter	35 °C pH 7.5 DO=6.08 mg/L C/N=6–8 Sodium succinate/sodium pyruvate	NO ₃ ⁻ -N removal rate=112.8 mg/(L·d)	2016 ^[25]
<i>Diaphorobacter</i> sp. SL-205T	Paddy soil	28 °C 150 r/min pH 7.2 PHBV	NO ₃ ⁻ -N removal rate=95.02% NO ₂ ⁻ -N removal rate=84.13%	2017 ^[26]
<i>Vibrio</i> sp. T1-5	Surface sediments of Jiaozhou bay	25 °C 200 r/min pH 7.0–7.2	NO ₃ ⁻ -N removal rate=98.0% TN removal rate=80.4%	2017 ^[27]
<i>Arthrobacter arilaitensis</i> sp. Y-10	Paddy soil	15 °C 150 r/min pH 7.2 Sodium acetate	NO ₃ ⁻ -N removal rate=73.3%	2017 ^[28]
<i>Paracoccus denitrificans</i> ISTOD1	Activated sludge	30 °C 150 r/min pH 7.2	TN removal rate=84%	2017 ^[29]
<i>Bacillus cereus</i> GS-5	Biofilm reactor	25–35 °C 200 r/min C/N=7.5–10 Sodium acetate	NO ₃ ⁻ -N removal rate=90.0%–97.1%	2017 ^[30]
<i>Enterobacter cloacae</i> CF-S27	Wastewater	30 °C 120 r/min pH 7.0	NO ₃ ⁻ -N removal rate=99.9% NO ₂ ⁻ -N removal rate=92.8%	2017 ^[31]
<i>Janthinobacterium</i> sp. M-11	Songhua river water	2 °C pH 7.0 C/N=5	NO ₃ ⁻ -N removal rate=89%	2018 ^[32]
<i>Cupriavidus</i> sp. PDN31	Paddy soil	10–12 °C 120 r/min Sodium citrate	NO ₃ ⁻ -N removal rate=97.3%	2018 ^[33]
<i>Acinetobacter</i> sp.	Piggery wastewater	pH 8.0 DO=2 mg/L C/N=14	TN removal rate=48%	2018 ^[16]
<i>Pseudomonas putida</i> ZN1	Coking wastewater	30 °C 120 r/min C/N=16 Sodium citrate	NO ₃ ⁻ -N removal rate=86.08%	2019 ^[34]
<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain	SBR system	25–30 °C 170 r/min pH 7.0–7.5	TN removal rate=70% NO ₃ ⁻ -N removal rate=95%	2021 ^[35]

见属^[12]。迄今为止,有许多研究涉及好氧反硝化菌的分离和鉴定,微生物来源既有人工环境比如活性污泥系统和稻田土壤,也有天然环境如海湾表层沉积物和河水。通常,好氧反硝化菌对溶解氧耐受浓度小于 3 mg/L,而从废水处理系统中筛选得到 *Citrobacter diversus*^[13]耐受溶解氧浓度可达到 5 mg/L。从盐碱湖沉积物中筛选获得 *Halomonas campisalis*^[36]能够在碱性条件 (pH 9.0)下生长,耐受 20% (质量体积分数) NaCl,在 4% (质量体积分数) NaCl下有最高的生长速率 0.58/h,脱氮速率为 87.5 mg NO₃⁻-N/(L·h), 68.3 mg NO₂⁻-N/(L·h)。综上所述,虽然好氧反硝化菌无法在自然条件下成为优势菌,但其作为一类好氧或兼性好氧、利用有机碳为能源的异养菌,广泛存在于污水处理厂、湖泊、土壤和废水等生态系统中。这一特性为好氧反硝化菌在天然水体的处理工程应用中奠定了生理生态基础。

在对好氧反硝化菌的分离鉴定研究中,研究者们发现多数好氧反硝化菌同时具备异养硝化的能力。异养硝化是指微生物利用有机物作为碳源,通过氨单加氧酶(AMO)、羟胺氧化酶(HAO)和丙酮肟双加氧酶(POD)等功能酶^[37]将 NH₄⁺-N 转化为 NO₂⁻-N 或 NO 的过程。异养硝化功能微生物能拥有比自养硝化微生物更高的生长速率和更高的细胞产量,从而提高对污染物的处理速率^[38]。异养硝化的产物 NH₂OH 和 NO₂⁻-N 可以作为好氧反硝化的反应物,减少有害中间产物的积累,因此异养硝化-好氧反硝化微生物可以将氨态氮、硝态氮等多种形态的氮在好氧条件下直接转化为气态氮从系统中去除,从而降低对反应构筑物和微生物种类多样性的需求。在异养硝化-好氧反硝化功能微生物中发现部分产碱杆菌属拥有直接氨氧化的特性 (direct ammonia oxidation, dirammox),这类菌在

多种形态的氮存在情况下,具有较高的气态产物生成率。除了基本的好氧反硝化作用外,还利用特殊的 dnfT1RT2ABCD 基因编码了二铁氮-加氧酶(diiron N-oxygenase)等 7 种酶,组成了一条新的脱氮途径,即 NH₄⁺-N→NH₂OH→N₂^[39-40]。研究中利用反硝化抑制剂二乙基二硫代氨基甲酸酯^[39]、敲除 *nirK* 和 *nosZ* 基因^[41]等方式对菌株的好氧反硝化作用进行抑制,发现并未削弱菌株将氨氮氧化成氮气的的能力,说明此途径并不需要经过 NH₂OH→NO₂⁻-N→NO→N₂O→N₂ 的反硝化途径,即 dirammox 不依赖于好氧反硝化作用。此类异养硝化-好氧反硝化菌对高氨氮废水处理具有较大的应用潜力,能减少对传统高氨氮废水物化-生物联合处理工艺的要求。此综述主要总结这类微生物在进行好氧反硝化过程中涉及的酶,以及该过程在处理微污染源水硝酸盐污染问题上的应用进展,因此对这类微生物的异养硝化功能不作进一步总结。

2 好氧反硝化涉及的功能酶

了解好氧反硝化过程涉及的电子传递链和功能酶是深入认识好氧反硝化菌和对其进行应用的关键。总的来看,好氧反硝化菌在基本的电子传递链结构(即 NADH 脱氢酶、醌类物质、复合物 bc1 和细胞色素 c^[15])基础上,利用一系列反硝化功能酶来构建完整的电子传递链。

反硝化功能酶包括将 NO₃⁻-N 还原为 NO₂⁻-N 的硝酸盐还原酶(nitrate reductase),将 NO₂⁻-N 转化为 NO 的亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, Nir),NO 还原成 N₂O 的一氧化氮还原酶(nitrite oxide reductase, Nor),以及最终将 N₂O 转化为 N₂ 的氧化亚氮还原酶(nitrous oxide reductase, Nos)^[9,11-12]。而好氧反硝化与传统反硝化过程中电子转移的主要区别在于硝酸盐还原酶是周质硝酸盐还原酶还是膜质硝酸盐还原酶。

2.1 硝酸盐还原酶

硝酸盐还原酶分为膜质硝酸盐还原酶(membrane nitrate reductase, Nar)和周质硝酸盐还原酶(periplasmic nitrate reductase, Nap)两种, Nar 是一种异源三聚酶^[42-43], 由催化亚基、电子转移亚基和喹啉氧化亚基组成。传统的厌氧反硝化菌通常利用 Nar 进行反硝化, 但需要能量先将 NO_3^- 主动转运至细胞质膜以内, 随后进行硝酸盐还原。由于氧气对硝酸盐-亚硝酸盐跨膜转运系统的抑制, Nar 只能在厌氧状态下发挥作用, 是一种与厌氧硝酸盐呼吸和厌氧反硝化有关的复合物。

好氧反硝化菌通常利用 Nap 酶进行硝酸盐还原, 这是好氧反硝化菌和厌氧反硝化菌之间最大的不同。Nap 是一种含有催化亚基和电子转移亚基的异源二聚酶^[43], 包含了 2 个氧化还原活性中心和细胞色素 c 蛋白, 由 *NapFDAGHBC* 操纵子编码。Nap 的催化活性中心存在于细胞质膜外的周质空间, 可以避免氧气对硝酸盐-亚硝酸盐转运系统的抑制^[44], 因而 Nap 在好氧、缺氧和厌氧条件下均可以表达, 好氧条件更适宜其表达^[45], 其表达活性对氧分子的抑制不敏感。NapA 亚基作为 Nap 蛋白的末端还原酶, 其功能基因通常作为标志物被扩增, 用于确定好氧反硝化反应的存在以及评估反硝化微生物的种群多样性^[46]。NapB 亚基含有细胞色素 c, 作为电子传递蛋白, 参与电子和末端还原酶 NapA 亚基之间的转移过程^[44]。微生物将有机底物产生的电子通过 NapC 或 NapGH 亚基转移到 NapAB, 在 NapAB 完成硝酸盐向亚硝酸盐的转化过程, NapA 和 NapB 基因在富含碳源和电子受体较少的有氧条件下具有更高的表达, NapAB 亚基的高活性有助于微生物的反硝化酶在与氧气竞争电子过程中取得优先权^[47]。

2.2 亚硝酸盐还原酶

与厌氧反硝化相似, 好氧反硝化菌的异源性亚硝酸盐还原酶根据辅酶因子可分为 NirS 和 NirK 两类^[11], 两者催化亚硝酸盐还原的活性点均位于周质。两者区别在于: NirS 是一种含血红素 c 和血红素 d 同源二聚体蛋白(cd1Nir)^[48], 电子通过血红素 c 在分子内传递给血红素 d1, 催化亚硝酸盐还原得到 1 个电子, 并使 O_2 得到电子生成 H_2O ^[49], 从而实现亚硝酸盐的还原和 NO 的分离; NirK 则是以含铜为催化中心的可溶性同源三聚体蛋白(CuNir)^[50], 包含 2 个铜结合位点作为电子结合位点和亚硝酸盐的粘附位点^[51], 通过与电子供体蛋白形成复合物接受、转移电子, 催化亚硝酸盐的还原。

2.3 一氧化氮还原酶

一氧化氮还原酶分为 3 种类型, 细胞色素 c 依赖型 Nor (cNor)、喹啉依赖型 Nor (qNor) 和 CuANor。cNor 含有两个亚基(NorC 和 NorB)^[52], NorC 可以接受细胞色素 c 和假蓝蛋白的电子, NorB 为催化亚基, NO 在此被还原成 N_2O ; qNor 是一种单亚基蛋白^[11], 由于其结构内缺少血红素 c, 它只能接受 MQH2 和 UQH2 的电子, 而后通过血红素 b 转移到双核催化中心, 将 NO 还原为 N_2O ; CuANor 有两个亚基^[53], 小亚基含有双铜原子中心 CuA, 与细胞色素氧化酶相似, 而大亚基包含两个血红素 b 和一个非血红素 Fe_B 中心, 结构与 qNor 和 NorB 类似。其 CuA 中心通过血红素 b 向双核催化中心输送细胞色素提供的电子, 将 NO 还原为 N_2O 。好氧反硝化菌的一氧化氮还原酶属于膜结合酶, 其大亚基呈疏水性, 具有跨膜结构, 能与血红素 b 结合, 而小亚基对 NO 亲和力较高, 可以将 NO 的浓度维持在较低水平^[9]。

2.4 氧化亚氮还原酶

氧化亚氮还原酶(Nos)位于膜外周质中, 它

是一种同源二聚体蛋白, 每个单体含有两个由 CuA 和 CuZ 构成的中心, 分别负责催化氧化亚氮还原酶的电子转移和催化氧化亚氮还原为氮气^[54-55]。N₂O 的还原与穿过细胞质膜的质子转移相耦合, 通常细胞色素 c 先附着在 CuA 中心, 与 Nos 形成复合物, 将电子经过细胞色素 c 传递给 CuA 中心, CuA 中心继续将电子转移到 CuZ 中心, 用于将 N₂O 还原为 N₂。

3 环境影响因素

好氧反硝化菌由于独特的作用和优势被研究人员广泛关注, 其细菌群落的多样性、结构和代谢适应度在很大程度上受到碳源、碳氮比和溶解氧浓度等环境因子的影响, 不同因素对于不同菌种的影响程度不同。溶解氧浓度和碳氮比是影响好氧反硝化的主要因素, 温度、pH、盐度及重金属离子浓度也会影响菌落的脱氮速率。

3.1 碳源

作为一种异养菌, 有机碳源是好氧反硝化过程的重要电子供体。此外, 不同种类的碳源具有不同的氧化还原电位。在反硝化的氧化还原反应过程中, 不同碳源的添加会影响好氧反硝化菌可以获得的能量多少, 进而影响其生长发育, 最后决定脱氮效果^[56-57]。目前已对多种碳源进行了好氧反硝化菌脱氮效能的影响研究, 结果表明好氧反硝化菌可利用的主要碳源有葡萄糖、乙酸钠、丁二酸钠、柠檬酸钠、蔗糖和丙酮酸钠等^[57-59], 大多数菌株在利用这一类有机碳源时有着更高的脱氮效率, 这是因为它们的分子结构小且简单从而易于被吸收。除了这些常规碳源外, 还有少数菌种可以利用某些难降解有机物, 例如餐厨垃圾发酵液^[60]和活性污泥^[61]等作为碳源。Zhang 等利用餐厨垃圾发酵液作为碳源^[60], 在 2 h 内总氮去除率达到

98%, 但出水有 9.5 mg/L 的亚硝酸盐积累; Bernat 等^[61]在好氧条件下, 利用活性污泥中储存的 PHB 作为唯一碳源, 24 h 内氮处理量达到 4.54 mg TN/L。使用这些废弃物作为碳源可以在获得较好的脱氮效率的同时降低污水厂的能源和资源消耗, 具有更大的经济优势。上述有机碳源均可溶于水, 虽然更容易被微生物利用, 但也存在过量碳源造成二次污染的可能。因此, 目前有研究尝试利用固体碳源进行好氧反硝化脱氮, 例如木屑^[62]、茶渣^[63]、废弃植物等。Yao 等^[62]以 *Penicillium tropicum* strain IS0293 为研究对象, 利用木屑浸出液为唯一碳源, 在水力停留时间为 6 h 的生物强化反应器中实现了 93.99% 的硝酸盐去除率, 且去除了部分浸出的 TOC; Cheng 等^[63]以茶渣作为菌株 *Fusarium solani* RADF-77 的唯一碳源, 培养 72 h 后硝酸盐平均去除速率为 4.50 mg/(L·d), 硝酸盐去除率为 45.38%。固体碳源不仅能充当反硝化过程的电子供体, 还可以作为微生物生长的底物^[2], 并且固体碳源结构和性质等的复杂性容易导致异质系统生态位差异, 使得固体碳源脱氮系统的微生物群落多样性高于液体碳源脱氮系统^[64], 而微生物的多样性增加通常会使整个系统具有更好的稳定性和脱氮性能。Fu 等^[65]用萎缩的植物作为碳源来增强人工湿地的反硝化作用, 其结果显示系统有较高的硝态氮和氨氮去除效率。综上所述, 正确选择便宜又高效的碳源对系统脱氮性能具有重要作用。

3.2 碳氮比

碳氮比(C/N)是生物反硝化脱氮过程中电子供体与电子受体的比值, 好氧反硝化过程需保持足够的碳源的供给以维持细菌的正常生长发育, 当碳源含量较低时, 电子流不能满足细胞生长所需的能量, 从而影响细胞生长和脱氮效果; 而当碳源含量高于最佳浓度时, 反硝化

速率的增加十分有限,导致其他异养菌生长^[66]。因此,保持适当的碳氮比非常关键。据报道,大多数好氧反硝化细菌可利用的 C/N 范围较为宽泛,最佳 C/N 多在 2–20 之间。Prasetyo 等^[67]研究了不同 C/N 比对 *Pseudomonas* sp. 脱氮效果的影响,发现在 C/N 比为 10 时该菌株的硝酸盐去除率为 98%;Zhao 等^[68]和 He 等^[69]研究提出, C/N 比为 15 时, *Bacillus* sp. 和 *Pseudomonas taiwanensis* 菌株对硝酸盐的去除率最高;另有学者筛选分离出一些贫营养好氧反硝化细菌,如 *Janthino bacterium* sp. M-11^[33]、*Acinetobacter junii* ZMF5^[70]、*Pseudomonas stutzeri* ZF31^[71]等,这些菌种在低 C/N 比(1.5–6.8)时仍表现出 >80% 的硝酸盐去除率。以上大多数碳氮比都是在纯培养条件下获得。在工程应用中,当其他异养菌存在时,好氧反硝化对碳氮比要求更高。高碳氮比需求是好氧反硝化技术的最大缺点,也是限制该技术应用的关键点。因此,如何在天然水体等寡营养条件下获得较高脱氮效率一直是研究的重点。

3.3 溶解氧浓度

由于好氧反硝化过程中周质硝酸盐还原酶(Nap)对氧气的需求,过低的溶解氧会抑制微生物的生长发育。但亚硝酸盐还原过程对氧具有高敏感性,高浓度溶解氧会抑制亚硝酸盐还原酶的活性。因此溶解氧浓度对好氧反硝化菌株生长代谢的影响需要重点关注^[72]。溶解氧浓度对好氧反硝化菌脱氮性能的影响存在两种结果。第一种是阈值理论^[5,56],即在一定范围内脱氮速率不受溶解氧浓度的影响,但溶解氧浓度降至阈值以下时,反硝化活性随着溶解氧浓度的降低而增高,这可能是因为当氧浓度较低时,氧气无法与硝酸盐在争夺有机物提供的电子上形成优势,还原的细胞色素 b 会恢复其向细胞色素 c 之间的电子转移,使得硝酸盐作为主要

的电子受体。研究表明,好氧反硝化作用的氧阈值随微生物种类及环境条件的不同而变化,从 0.08 mg/L 至 7.7 mg/L O₂ 不等^[2,5]。Patureau 等^[73]在研究菌株 *Microvirgula aerodenitrificans* 时发现,溶解氧浓度在 0.35–6.30 mg/L 时,该菌株的反硝化速率始终不变,而当溶解氧浓度小于 0.35 mg/L 时,反硝化率随溶解氧浓度的下降而急剧上升。第二种是多数好氧反硝化菌倾向于在一定溶解氧范围或最佳浓度下进行高效反硝化反应,原因可能是高溶解氧浓度下硝酸盐还原酶会逐渐失活,电子略过 Nap 酶途径,直接通过细胞色素 c 和细胞色素 bc₁ 途径传递给氧,导致反硝化作用终止;在低溶解氧浓度下,高活性的 NapC/NapGH 和 NapAB 会比氧气更优先利用有机底物提供的电子^[5]。Huang 等^[13]研究发现 *Citrobacter diversus* 菌株在溶解氧浓度为 5 mg/L 时反硝化速率最高,溶解氧浓度的降低和升高都会导致反硝化性能的下降。

3.4 温度及 pH

温度是生物脱氮工艺的主要影响因素之一。大部分研究报道好氧反硝化的最适温度为 25–37 °C^[2,5],当温度低于 10 °C 时微生物活性被严重削弱,脱氮效果明显降低。研究表明,与 20、30 °C 相比,在 10 °C 培养的 *Pseudomonas mandelii* 表现出更长的滞后期,功能酶的基因表达也出现延迟^[74]。但也有研究发现耐高温和耐低温好氧反硝化菌存在,并对它们的脱氮潜力应用进行了探索。据报道,菌株 T-7-2^[75]能在高达 50 °C 的条件下完全去除硝酸盐;He 等^[69]发现菌种 *P. taiwanensis* 在 15 °C 能达到 100% 脱氮率,在 5 °C 时也能达到 51%–61% 的硝酸盐去除效率。还有学者研究了短期逐渐降温对好氧反硝化菌脱氮性能的影响,结果表明菌群在 25、15、10 和 5 °C 4 个温度下都能实现 95% 的硝酸盐去除率和 80% 的化学需氧量(chemical

oxygen demand, COD)去除率^[76]。通常在严寒地区应用好氧反硝化进行脱氮处理时,需要额外的设备、能源和人工等成本投入维持一定的温度范围来保持好氧反硝化微生物的代谢活性和生长活性。一般来说,人为控制天然水体温度不可能实现,因此对极端温度特别是低温下仍保有良好反硝化能力的菌株的发现,以及通过程序升温或降温来保持微生物群落中耐温品种优势级的研究,有利于实际工程应用实现温度工况调控、稳定的脱氮效果和成本控制。

pH 值的改变会引起微生物细胞膜的电荷变化,从而影响微生物的生长特性、代谢酶的活性以及对营养物质等的吸收转化。反硝化过程中,微生物消耗了硝酸盐导致 pH 值升高^[5]。好氧反硝化的最优范围 pH 为中性到碱性(7.0–8.0),当 pH 偏离这一范围时,好氧反硝化菌的活性降低^[77],不利于反硝化反应的进行。有研究发现, *Pseudomonas* sp. G5 在温度为 20 °C、pH 值 7–9 范围内变化时,出现硝酸盐去除率和亚硝酸盐去除率随着 pH 值升高而降低的趋势,且亚硝酸盐去除率从 98.9%下降至 72.7%,而硝酸盐去除率从 99.9%下降至 91.9%,表明 pH 条件对该菌的亚硝酸盐还原酶的影响大于硝酸盐还原酶^[72],对微生物的生长发育、基因表达和反硝化能力具有负面影响。

3.5 盐度及重金属离子浓度

盐度是指水体中无机盐的质量分数,高盐环境一般是指总含盐量>1%的水质环境,含有高浓度的氯离子、硫酸根离子、钠离子和钙离子等无机离子^[78],会导致水环境渗透压增加及微生物脱氢酶活性减低^[79],对微生物生长发育和生物反应进程有着负面影响。有研究报道从盐碱湖污泥中分离出的 *Halomonas campisalis* ha3 菌株,在 4% NaCl 时达到最大反硝化速率,在 20% NaCl 含量时仍可存活,并且表现出一定

的嗜碱性^[36]。耐盐好氧反硝化菌的发现,可以缓解高盐环境对传统生物反应过程的限制,具有较大的应用价值。

金属元素是微生物生长发育代谢过程中必需的微量元素,但过量的金属离子不仅丧失了对功能酶的促进作用,还会与生物大分子相互作用对微生物造成毒害。微污染源中可能含有的重金属离子包括了铁、锰、铬、镉和铜等^[79–82]。He 等^[83]发现, *Arthrobacter arilaitensis* Y-10 的脱氮能力随着 Mn^{2+} 浓度的提高而降低,在 Mn^{2+} 浓度从 0 增加至 0.5 mg/L 的条件下,菌株的硝酸盐去除率从 61.5%降至 9.1%,并且随着 Mn^{2+} 浓度的进一步添加、其脱氮能力不断下降至停止反应($Mn^{2+}=30$ mg/L)。Gui 等^[84]发现, *Pseudomonas stutzeri* PCN-1 在 Cu^{2+} 浓度大于 0.5 mg/L 的条件下,随着 Cu^{2+} 浓度的提高菌株的生长逐渐受到抑制,反硝化酶基因表达水平明显降低,硝酸盐去除速率低至 2.0 mg/(L·h),并伴随着 16.21–82.82 mg/L 的 N_2O 排放量和高浓度的亚硝酸盐累积(56.9–99.8 mg/L)。该研究推测抑制原因可能在于重金属影响了控制反硝化基因转录调控的核糖,并取代了酶代谢位点的必需金属,从而造成了反硝化基因表达的时滞效应,导致高浓度的亚硝酸盐和 N_2O 排放^[83]。

4 好氧反硝化菌在微污染源水修复的应用

天然水体的水质成分复杂,有机质含量低且生物可利用性低,普通好氧反硝化菌株在贫营养条件下脱氮性能较差,无法发挥其优势。研究人员从水库和湖泊等天然水体采集生物样品进行富集筛选,尝试得到贫营养菌株解决此问题。魏巍等从水库底泥环境中富集筛选得到好氧反硝化菌 PY8^[85]和嗜冷好氧反硝化菌

DW4^[86], 72 h 内达到硝态氮去除率分别为 95% 和 90%, 同时具有异养硝化和好氧反硝化的特性; Zhou 等^[87]筛选得到微污染水库中的土著贫营养好氧反硝化菌株, 并对其脱氮特性、群落代谢和功能基因进行分析发现, 该菌株对水库中表层沉积物的硝酸盐去除率达到 55.81%; Kou 等^[88]从水源水库从富集筛选得到 3 株好氧反硝化菌, 并利用反硝化基础培养基进行混合培养, 得到硝酸盐氮去除率为 70%±2.9%, 其中 20% 的硝酸盐氮转化为气态产物逸散, 证明了菌株改善低温水源水质的应用潜力; Huang 等^[89]研究发现, 在水源水中驯化筛选得到的好氧反硝化菌株 *Zoogloea* sp. N299、*Acinetobacter* sp. G107 和 *Acinetobacter* sp. 81Y, 经过 48 h 驯化可在无亚硝酸盐氮积累的前提下达到 30%±3.5% 的硝酸盐氮去除率。实际水体修复实验结果显示, 在 60 d 的实验期内, 硝酸盐浓度从 1.57 mg/L 降到 0.42 mg/L, 总氮浓度从 2.51 mg/L 降到 1.72 mg/L; 黄廷林等^[90]利用西安黑河水库底泥, 筛选得到好氧反硝化菌 HF3, 该菌株对硝态氮浓度为 2.3 mg/L 的实际水库源水, 24 h 内硝态氮去除效率达到 90% 以上; Guo 等^[91]研究分析了 *Pseudomonas stutzeri* strain T1 在富营养化水体中的脱氮潜力, 该菌株能同时进行异养硝化-好氧反硝化, 利用太湖水样培养时, 在没有 N₂O 释放的情况下, 氨氮去除率为 60%, 硝酸盐氮去除率为 75%, 水样样品的水质从 V 类上升到 II 类; 也有研究^[92]报道在水库中分离到放线菌 XD-11-6-2, 在好氧条件下可以去除 90% 的总有机碳(total organic carbon, TOC)和 94% 的硝酸盐氮。可以看出, 好氧反硝化菌能适应贫营养水源的环境也能在富营养化水源的高氮素浓度环境中生长代谢, 具有修复微污染水源水的潜在应用价值, 而且在实验室中的菌株生理特性研究能为微污染水体的实际应用提

供理论依据。

由于水源水体自然生态环境中好氧反硝化菌不是优势菌种, 且原位富集培养需要消耗较多时间和资源, 因此在实际应用中通常采用外加功能菌剂强化污染水体的生物修复工作过程。然而, 外加液体菌剂存在环境适应性、流失和补充的问题, 限制了在水源水中好氧反硝化生物修复的应用。此外, 好氧反硝化菌如 *Bacillus* 属、*Pseudomonas* 属有较多致病菌, 外加菌剂的流失存在安全性问题。针对上述问题, Gan 等^[93]利用聚氨酯泡沫载体对细菌进行固定化处理, 在 COD/NO₃⁻-N=5.0-5.5 的条件下, NO₃⁻-N 在 5 h 内被完全去除, 且反应过程中没有亚硝酸盐氮累积; 黄廷林等^[94]将筛选得到的好氧反硝化菌 HF3 和 HF7, 以人工挂膜的方式固定在纤维海绵球型悬浮填料上, 在溶解氧浓度为 4 mg/L, TN=2.7 mg/L, NH₄⁺-N=1.3 mg/L 的反应器中运行 19 d, 氨氮去除率达到 100%, 总氮去除率达到 52%。然而, 上述研究没有考虑负载菌剂的载体在长时间使用后是否能保持足够的生物量和好氧反硝化能力。Wang 等^[95]从水库样本中筛选得到混合好氧反硝化菌群, 将菌群固定在填充聚氨酯泡沫的载体球上, 达到去除 75.32% 硝酸盐氮和 63.11% 总氮的脱氮效果, 且可以稳定保持至少 9 个循环重复使用。目前多数固定化方法都是采用微生物附着挂膜的方式, 依据微生物的生长厚度、载体形式、固定方式不同会对氧气转移率作出不同限制, 从而影响好氧反硝化菌群的脱氮效能, 需要更为深入的实验研究。此外, 该挂膜方式仍留有一定的菌群流失风险。为了应对这一问题, 李娜^[96]提出将扬水曝气技术和耐低温好氧反硝化菌剂投加进行结合, 中试反应器中硝态氮去除率达 76.49%、总氮去除率达 77.72% 和 COD 去除率达 51.45%。并且利用高锰酸钾、次氯酸钠、

二氧化氯对菌剂投加系统进行消毒试验,结果表明水厂常规工艺条件下的消毒剂投加量和接触反应时间能有效杀死细菌,消毒效果保证好氧反硝化菌剂的投加不会对水质安全造成威胁。

目前对于好氧反硝化生物修复技术的实际工程应用还缺少深入研究,实验室较多采用人工单一配水,可控性较强。而对于实际水体的研究多数集中在中试规模反应器,例如 Huriado-Martinez 等^[97]利用序批式活性污泥法 (sequencing batch reactor activated sludge process, SBR)好氧反硝化颗粒污泥反应器,对实际硝酸盐污染地下水系统的硝酸盐去除率大于70%,有机物去除率为98%,出水中没有 NO_2^- -N和 NH_4^+ -N, NO_3^- -N符合饮用水的推荐值25 mg/L,但其反应器处理量仅为 $0.66 \text{ m}^3/\text{d}$ 。对于大型的天然水体来说,其水力循环条件和理化性质更复杂多样化,工艺的不可控性大幅增加,对于好氧反硝化菌的竞争性和技术处理效果的稳定性要求要高于实验室研究和中试研究。

5 总结与展望

好氧反硝化作用的发现是对传统生物脱氮技术的补充,近年来关于好氧反硝化菌属的研究取得了许多实质性的进展,不仅加深了对好氧反硝化纯菌菌株的生长特性、脱氮效能及环境影响因素的认识,而且挖掘了其代谢机制和功能基因的表达。目前已获得包括真菌、细菌在内的多个属的好氧反硝化纯培养菌株。大部分纯培养的好氧反硝化菌在最佳生长条件下(25–37 °C、溶解氧浓度为3–5 mg/L、pH为7–8、碳氮比为5–10)具有高效的脱氮效率,部分菌群可以耐受高盐、低温、过量重金属、贫营养等特殊条件,为不同自然环境下天然水体反硝化脱氮提供了新方式。除此之外,研究者以厌氧反硝化和好氧呼吸的微生物代谢机制为基础,

探索好氧反硝化的脱氮机理,一定程度上解释了部分电子转移途径和相关功能酶的作用。

然而要开发高效、稳定和永久性的好氧反硝化脱氮技术还缺少深入研究,对于代谢机制虽提出了电子转移瓶颈的假说,以硝酸盐还原酶的种类区分了传统厌氧反硝化和好氧反硝化,但不能明确分子氧存在的情况下反硝化酶如何赢得与氧气的电子竞争,接受来自醌基和细胞色素的电子进行反硝化反应,也不能明确反硝化酶与末端氧化酶的竞争机制。另一方面,目前好氧反硝化生物脱氮技术主要集中在实验室纯菌的脱氮特性研究以及反应器小试阶段,中试工程和实际工程应用报道较少,引入实际应用仍面临诸多挑战包括:外加液体纯菌菌剂的长期不稳定性和流失安全问题,固定化菌剂载体易干扰微生物活性且传质阻力大,实际天然水体成分复杂和水体其他生物的干扰因素,有机物需求量大,外加碳源的泄露问题,主要脱氮产物 N_2O 温室气体造成二次污染等。

综上所述,未来好氧反硝化脱氮技术可能的拓展研究领域包括以下几方面:

(1) 大部分情况下,好氧反硝化菌同时利用氧气和硝酸盐作为电子受体,是一个耦合过程。并且提高溶解氧浓度会在一定程度上降低硝酸盐还原所占比例,但不会完全抑制硝酸盐还原,目前电子流机理尚不明确,确定好氧反硝化菌中电子在还原氧气和硝酸盐之间的平衡机理能对进一步了解好氧反硝化菌及其工程应用提供基础。因此,后续研究可以利用代谢组、基因组、蛋白质组等多组学测序技术和分子生物学技术,揭示控制好氧反硝化菌电子流变化的核心机理。通过同位素示踪、基因敲除和选择性抑制等技术验证反硝化酶与末端氧化酶的竞争机制,并尝试控制两者之间获得的电子比例,全面解析代谢途径、特征酶以及功能基因,进

一步明确好氧反硝化的电子传递机制。

(2) 在微污染源处理的工程应用中,好氧反硝化菌通常面临生物可降解性有机物较低的情况。筛选能在贫营养、高氮素浓度、高溶解氧浓度等极端环境下生长、具有复杂碳源适应性且环境污染风险小的菌种有利于实际工程中利用水体存在的天然有机物。此外,探究微生物之间的互利共生作用,利用其他异养菌将天然有机物降解,为好氧反硝化菌提供合适的碳源,组成复合菌群体系,进一步辨识好氧反硝化菌与其他脱氮微生物的竞争和融合关系。

(3) 在工程应用中面临的另一个重要问题是外加好氧反硝化菌剂的流失。加大对菌剂固定化方法如包埋法、吸附法和交联法等的研究,结合污染物的特性和目标微生物菌种的生长特点,针对性设计复合固定化方法,开发组合新型载体,解决当前固定化菌剂附着时间长、氧传递效率有限、污染物针对性差和载体对微生物亲和力低等问题。此外,固体碳源可以在微生物和水力的作用下缓慢分解释放有机物,为微生物提供适量的有机碳源。因此可以基于现有外加液体小分子碳源条件下的研究成果,开展好氧反硝化菌在大分子固体碳源环境下的脱氮研究,可以同时解决可利用碳源不足和功能菌群流失的问题。

(4) 由于好氧反硝化作用对氧气需求的特殊性,可以将其与聚磷菌联系起来,而且聚磷菌菌属包括假单胞菌属、芽孢杆菌属、产碱菌属和不动杆菌属等,与好氧反硝化菌的菌属范围有部分重叠,在好氧反硝化的基础上拓展菌群在生物除磷中的作用,以期达到同步脱氮除磷的效果;现报道有在实验室中进行批次摇床实验验证好氧反硝化菌的除磷效果研究,以及在污水中有固定化筛选所得的好氧反硝化聚磷

菌构建小型膜生物反应器(membrane bio-reactor, MBR)处理生活污水的应用,但是在微污染源水处理中尚未见报道。氮和磷均是水体富营养化的影响因素,在水源中实现氮磷同步去除将为控制水体富营养化提供更好的思路。

参考文献

- [1] 中华人民共和国生态环境部. 2018 中国生态环境质量报告. 北京: 中国环境出版集团, 2019.
- [2] RAJTA A, BHATIA R, SETIA H, PATHANIA P. Role of heterotrophic aerobic denitrifying bacteria in nitrate removal from wastewater[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 128(5): 1261-1278.
- [3] WAKIDA FT, LERNER DN. Non-agricultural sources of groundwater nitrate: a review and case study[J]. *Water Research*, 2005, 39(1): 3-16.
- [4] ROBERTSON LA, KUENEN JG. Aerobic denitrification—old wine in new bottles?[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1984, 50(5): 525-544.
- [5] JI B, YANG K, ZHU L, JIANG Y, WANG HY, ZHOU J, ZHANG HN. Aerobic denitrification: a review of important advances of the last 30 years[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2015, 20(4): 643-651.
- [6] 冯亮, 袁春燕, 杨超, 皮姗姗, 马放, 杨基先, 李昂. 好氧反硝化生物脱氮技术的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2020, 47(10): 3342-3354.
FENG L, YUAN CY, YANG C, PI SS, MA F, YANG JX, LIANG. Research progress in nitrogen removal by aerobic denitrification[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(10): 3342-3354 (in Chinese).
- [7] ROBERTSON LA, KUENEN JG. Further evidence for aerobic denitrification by *Thiosphaera pantotropha*[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1985, 51(5): 561.
- [8] JOO HS, HIRAI M, SHODA M. Piggery wastewater treatment using *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 with heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. *Water Research*, 2006, 40(16): 3029-3036.
- [9] 丁钰, 张婷月, 黄民生, 何岩, 曹承进. 好氧反硝化菌及其在污水处理和环境修复中的研究进展[J]. *华东师范大学学报(自然科学版)*, 2018(6): 1-11, 67.
DING Y, ZHANG TY, HUANG MS, HE Y, CAO CJ. Aerobic denitrifiers and the state of research in their

- use for sewage treatment and environmental remediation[J]. *Journal of East China Normal University (Natural Science)*, 2018(6): 1-11, 67 (in Chinese).
- [10] 郭焱, 张召基, 陈少华. 好氧反硝化微生物学机理与应用研究进展[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(11): 2480-2487.
GUO Y, ZHANG ZJ, CHEN SH. Microbiology and potential application of aerobic denitrification: a review[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(11): 2480-2487 (in Chinese).
- [11] YANG JX, FENG L, PI SS, CUI D, MA F, ZHAO HP, LI A. A critical review of aerobic denitrification: insights into the intracellular electron transfer[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 731: 139080.
- [12] 王薇, 蔡祖聪, 钟文辉, 王国祥. 好氧反硝化菌的研究进展[J]. *应用生态学报*, 2007, 18(11): 2618-2625.
WANG W, CAI ZC, ZHONG WH, WANG GX. Research advances in aerobic denitrifiers[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(11): 2618-2625 (in Chinese).
- [13] HUANG HK, TSENG SK. Nitrate reduction by *Citrobacter diversus* under aerobic environment[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, 55(1): 90-94.
- [14] HE D, ZHENG MS, MA T, LI C, NI JR. Interaction of Cr(VI) reduction and denitrification by strain *Pseudomonas aeruginosa* PCN-2 under aerobic conditions[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 185: 346-352.
- [15] CHEN JW, STROUS M. Denitrification and aerobic respiration, hybrid electron transport chains and co-evolution[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2013, 1827(2): 136-144.
- [16] CHEN H, ZHAO XH, CHENG YY, JIANG MJ, LI X, XUE G. Iron robustly stimulates simultaneous nitrification and denitrification under aerobic conditions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(3): 1404-1412.
- [17] SUN YL, FENG L, LI A, ZHANG XN, YANG JX, MA F. Ammonium assimilation: an important accessory during aerobic denitrification of *Pseudomonas stutzeri* T13[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 234: 264-272.
- [18] FRETTE L, GEJLSBJERG B, WESTERMANN P. Aerobic denitrifiers isolated from an alternating activated sludge system[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1997, 24(4): 363-370.
- [19] KONG QX, WANG XW, JIN M, SHEN ZQ, LI JW. Development and application of a novel and effective screening method for aerobic denitrifying bacteria[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, 260(2): 150-155.
- [20] TAKAYA N, CATALAN-SAKAIRI MAB, SAKAGUCHI Y, KATO I, ZHOU ZM, SHOUN H. Aerobic denitrifying bacteria that produce low levels of nitrous oxide[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(6): 3152-3157.
- [21] YAO S, NI JR, MA T, LI C. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification at low temperature by a newly isolated bacterium, *Acinetobacter* sp. HA2[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 139: 80-86.
- [22] YU X, JIANG YM, HUANG HY, SHI JJ, WU KJ, ZHANG PY, LV JG, LI HL, HE H, LIU P, LI XK. Simultaneous aerobic denitrification and Cr(VI) reduction by *Pseudomonas brassicacearum* LZ-4 in wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 221: 121-129.
- [23] HE TX, LI ZL, SUN Q, XU Y, YE Q. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Pseudomonas tolaasii* Y-11 without nitrite accumulation during nitrogen conversion[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 200: 493-499.
- [24] SUN ZY, LV YK, LIU YX, REN RP. Removal of nitrogen by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification of a novel metal resistant bacterium *Cupriavidus* sp. S1[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 220: 142-150.
- [25] LIU Y, AI GM, MIAO LL, LIU ZP. *Marinobacter* strain NNA5, a newly isolated and highly efficient aerobic denitrifier with zero N₂O emission[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 206: 9-15.
- [26] ZHANG SS, SUN XB, FAN YT, QIU TL, GAO M, WANG XM. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Diaphorobacter polyhydroxybutyrativorans* SL-205 using poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) as the sole carbon source[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 500-507.
- [27] LI YT, WANG YR, FU L, GAO YZ, ZHAO HX, ZHOU WZ. Aerobic-heterotrophic nitrogen removal through nitrate reduction and ammonium assimilation by marine bacterium *Vibrio* sp. Y1-5[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 230: 103-111.
- [28] HE TX, XIE DT, LI ZL, NI JP, SUN Q. Ammonium stimulates nitrate reduction during simultaneous nitrification and denitrification process by *Arthrobacter arilaitensis* Y-10[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 239: 66-73.
- [29] MEDHI K, SINGHAL A, CHAUHAN DK, THAKUR IS. Investigating the nitrification and denitrification

- kinetics under aerobic and anaerobic conditions by *Paracoccus denitrificans* ISTOD1[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 242: 334-343.
- [30] ROUT PR, BHUNIA P, DASH RR. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorous from domestic wastewater using *Bacillus cereus* GS-5 strain exhibiting heterotrophic nitrification, aerobic denitrification and denitrifying phosphorous removal[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 244: 484-495.
- [31] PADHI SK, TRIPATHY S, MOHANTY S, MAITI NK. Aerobic and heterotrophic nitrogen removal by *Enterobacter cloacae* CF-S27 with efficient utilization of hydroxylamine[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 232: 285-296.
- [32] YANG M, LU DW, QIN BD, LIU QL, ZHAO YM, LIU HL, MA J. Highly efficient nitrogen removal of a coldness-resistant and low nutrient needed bacterium, *Janthinobacterium* sp. M-11[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 256: 366-373.
- [33] SRIVASTAVA M, MISHRA AK. Nitrogen removal and metabolic profiling of a cold-adaptive and biofilm producing paddy soil bacterium *Cupriavidus* sp. PDN₃₁[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2018, 64(11): 1608-1621.
- [34] ZHANG N, CHEN H, LYU YK, WANG Y. Nitrogen removal by a metal-resistant bacterium, *Pseudomonas putida* ZN1, capable of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification[J]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2019, 94(4): 1165-1175.
- [35] 李娜, 刘来胜, 张泽中. 2株好氧反硝化菌株的分离鉴定与脱氮特性研究[J]. *环境科学与技术*, 2021, 44(6): 98-102.
- LI N, LIU LS, ZHANG ZZ. Isolation, identification and nitrogen removal characteristics of two aerobic denitrifying bacteria[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 44(6): 98-102 (in Chinese).
- [36] GUO Y, ZHOU XM, LI YG, LI K, WANG CX, LIU JF, YAN DJ, LIU YL, YANG DH, XING JM. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Halomonas campisalis*[J]. *Biotechnology Letters*, 2013, 35(12): 2045-2049.
- [37] XIA L, LI XM, FAN WH, WANG JL. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by a novel *Acinetobacter* sp. ND7 isolated from municipal activated sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 301: 122749.
- [38] 袁建华, 赵天涛, 彭绪亚. 极端条件下异养硝化-好氧反硝化菌脱氮的研究进展[J]. *生物工程学报*, 2019, 35(6): 942-955.
- YUAN JH, ZHAO TT, PENG XY. Advances in heterotrophic nitrification-aerobic denitrifying bacteria for nitrogen removal under extreme conditions[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2019, 35(6): 942-955 (in Chinese).
- [39] WU MR, HOU TT, LIU Y, MIAO LL, AI GM, MA L, ZHU HZ, ZHU YX, GAO XY, HERBOLD CW, WAGNER M, LI DF, LIU ZP, LIU SJ. Novel *Alcaligenes ammonioxydans* sp. nov. from wastewater treatment sludge oxidizes ammonia to N₂ with a previously unknown pathway[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(11): 6965-6980.
- [40] HOU TT, MIAO LL, PENG JS, MA L, HUANG Q, LIU Y, WU MR, AI GM, LIU SJ, LIU ZP. Dirammox is widely distributed and dependently evolved in *Alcaligenes* and is important to nitrogen cycle[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 864053.
- [41] XU SQ, QIAN XX, JIANG YH, QIN YL, ZHANG FY, ZHANG KY, HONG Q, HE J, MIAO LL, LIU ZP, LI DF, LIU SJ, QIU JG. Genetic foundations of direct ammonia oxidation (dirammox) to N₂ and MocR-like transcriptional regulator DnfR in *Alcaligenes faecalis* strain JQ135[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2022, 88(6): e0226121.
- [42] COELHO C, ROMÃO MJ. Structural and mechanistic insights on nitrate reductases[J]. *Protein Science: a Publication of the Protein Society*, 2015, 24(12): 1901-1911.
- [43] COELHO C, GONZÁLEZ PJ, MOURA JG, MOURA I, TRINCÃO J, JOÃO ROMÃO M. The crystal structure of *Cupriavidus necator* nitrate reductase in oxidized and partially reduced states[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2011, 408(5): 932-948.
- [44] SPARACINO-WATKINS C, STOLZ JF, BASU P. Nitrate and periplasmic nitrate reductases[J]. *Chemical Society Reviews*, 2014, 43(2): 676-706.
- [45] KUMAR M, LIN JG. Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal—strategies and issues[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 178(1/2/3): 1-9.
- [46] FENG WW, LIU JF, GU JD, MU BZ. Nitrate-reducing community in production water of three oil reservoirs and their responses to different carbon sources revealed by nitrate-reductase encoding gene (*napA*)[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2011, 65(7): 1081-1086.
- [47] GUPTA SK, GUPTA RC, GUPTA AB, SETH AK, BASSIN JK, GUPTA A. Recurrent acute respiratory

- tract infections in areas with high nitrate concentrations in drinking water[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2000, 108(4): 363-366.
- [48] NAGAO S, UEDA M, OSUKA H, KOMORI H, KAMIKUBO H, KATAOKA M, HIGUCHI Y, HIROTA S. Domain-swapped dimer of *Pseudomonas aeruginosa* cytochrome c551: structural insights into domain swapping of cytochrome c family proteins[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123653.
- [49] FÜLÖP V, MOIR JWB, FERGUSON SJ, HAJDU J. The anatomy of a bifunctional enzyme: structural basis for reduction of oxygen to water and synthesis of nitric oxide by cytochrome *cd₁*[J]. *Cell*, 1995, 81(3): 369-377.
- [50] GODDEN JW, TURLEY S, TELLER DC, ADMAN ET, LIU MY, PAYNE WJ, LeGALL J. The 2.3 angstrom X-ray structure of nitrite reductase from *Achromobacter cycloclastes*[J]. *Science*, 1991, 253(5018): 438-442.
- [51] LINTULUOTO M, LINTULUOTO JM. Intra-electron transfer induced by protonation in copper-containing nitrite reductase[J]. *Metallomics*, 2018, 10(4): 565-578.
- [52] MATSUMOTO Y, TOSHA T, PISLIAKOV AV, HINO T, SUGIMOTO H, NAGANO S, SUGITA Y, SHIRO Y. Crystal structure of quinol-dependent nitric oxide reductase from *Geobacillus stearothermophilus*[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2012, 19(2): 238-245.
- [53] Suharti, de VRIES S. Membrane-bound denitrification in the gram-positive bacterium *Bacillus azotoformans*[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2005, 33(Pt 1): 130-133.
- [54] BROWN K, DJINOVIC-CARUGO K, HALTIA T, CABRITO I, SARASTE M, MOURA JJ, MOURA I, TEGONI M, CABBILLAU C. Revisiting the catalytic CuZ cluster of nitrous oxide (N₂O) reductase. Evidence of a bridging inorganic sulfur[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(52): 41133-41136.
- [55] BROWN K, TEGONI M, PRUDÊNCIO M, PEREIRA AS, BESSON S, MOURA JJ, MOURA I, CABBILLAU C. A novel type of catalytic copper cluster in nitrous oxide reductase[J]. *Nature Structural Biology*, 2000, 7(3): 191-195.
- [56] 梁书诚, 赵敏, 卢磊, 赵丽艳. 好氧反硝化菌脱氮特性研究进展[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(6): 1581-1588.
- LIANG SC, ZHAO M, LU L, ZHAO LY. Research advances in denitrogenation characteristics of aerobic denitrifiers[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(6): 1581-1588 (in Chinese).
- [57] 杨新萍, 钟磊, 周立祥. 有机碳源及 DO 对好氧反硝化细菌 AD6 脱氮性能的影响[J]. *环境科学*, 2010, 31(6): 1633-1639.
- YANG XP, ZHONG L, ZHOU LX. Effect of carbon source and dissolved oxygen on denitrification by aerobic denitrifier *Pseudomonas mendocina* AD6[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(6): 1633-1639 (in Chinese).
- [58] HU B, WANG T, YE JH, ZHAO JQ, YANG LW, WU P, DUAN JL, YE GQ. Effects of carbon sources and operation modes on the performances of aerobic denitrification process and its microbial community shifts[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 239: 299-305.
- [59] YANG T, WU pei ying, ZHAO zhan sheng, XU hua wei, LV gao zhi. Study on biological nitrogen removal performance of aerobic denitrification treating power plant wastewater[J]. *Advanced Materials Research*, 2013, 726/727/728/729/730/731: 2589-2593.
- [60] ZHANG YM, WANG XC, CHENG Z, LI YY, TANG JL. Effect of fermentation liquid from food waste as a carbon source for enhancing denitrification in wastewater treatment[J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 689-696.
- [61] BERNAT K, WOJNOWSKA-BARYŁA I. Carbon source in aerobic denitrification[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2007, 36(2): 116-122.
- [62] YAO ZB, YANG L, WANG F, TIAN LQ, SONG N, JIANG HL. Enhanced nitrate removal from surface water in a denitrifying woodchip bioreactor with a heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying fungus[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 303: 122948.
- [63] CHENG HY, XU AN, KUMAR AWASTHI M, KONG DD, CHEN JS, WANG YF, XU P. Aerobic denitrification performance and nitrate removal pathway analysis of a novel fungus *Fusarium solani* RADF-77[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 295: 122250.
- [64] DENG YL, RUAN YJ, MA B, TIMMONS MB, LU HF, XU XY, ZHAO HP, YIN XW. Multi-omics analysis reveals niche and fitness differences in typical denitrification microbial aggregations[J]. *Environment International*, 2019, 132: 105085.
- [65] FU GP, HUANGSHEN LK, GUO ZP, ZHOU QH, WU ZB. Effect of plant-based carbon sources on denitrifying microorganisms in a vertical flow

- constructed wetland[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 224: 214-221.
- [66] PAN ZL, ZHOU J, LIN ZY, WANG YM, ZHAO PC, ZHOU J, LIU SH, HE XJ. Effects of COD/TN ratio on nitrogen removal efficiency, microbial community for high saline wastewater treatment based on heterotrophic nitrification-aerobic denitrification process[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 301: 122726.
- [67] PRASETYO RA, PERTIWININGRUM A, ERWANTO Y, YUSIATI LM, FITRIYANTO NA. Characterization of *Pseudomonas* sp. LS3K as nitrate removal agent at different C/N ratios under aerobic condition[A]//Proceeding of the 2nd International Conference on Tropical Agriculture[M]. Cham: Springer International Publishing, 2018: 185-194.
- [68] ZHAO B, HE YL, ZHANG XF. Nitrogen removal capability through simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Bacillus* sp. LY[J]. *Environmental Technology*, 2010, 31(4): 409-416.
- [69] HE TX, YE Q, SUN Q, CAI X, NI JP, LI ZL, XIE DT. Removal of nitrate in simulated water at low temperature by a novel psychrotrophic and aerobic bacterium, *Pseudomonas taiwanensis* strain J[J]. *BioMed Research International*, 2018, 2018: 4984087.
- [70] 文刚, 王彤, 黄廷林, 万琪琪, 曹瑞华, 寇莉青, 杨尚业. 贫营养好氧反硝化菌株的脱氮特性及氮/碳平衡分析[J]. *环境科学*, 2020, 41(5): 2339-2348.
WEN G, WANG T, HUANG TL, WAN QQ, CAO RH, KOU LQ, YANG SY. Nitrogen removal performance and nitrogen/carbon balance of oligotrophic aerobic denitrifiers[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(5): 2339-2348 (in Chinese).
- [71] HUANG TL, GUO L, ZHANG HH, SU JF, WEN G, ZHANG K. Nitrogen-removal efficiency of a novel aerobic denitrifying bacterium, *Pseudomonas stutzeri* strain ZF31, isolated from a drinking-water reservoir[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 196: 209-216.
- [72] 杜立刚, 张聪琳, 陈宝玉. 好氧反硝化生物脱氮技术研究进展[J]. *能源与环境*, 2015(4): 66-68.
DU LG, ZHANG CL, CHEN BY. Research progress of aerobic denitrification biological denitrification technology[J]. *Energy and Environment*, 2015(4): 66-68 (in Chinese).
- [73] PATUREAU D, BERNET N, DELGENÈS JP, MOLETTA R. Effect of dissolved oxygen and carbon-nitrogen loads on denitrification by an aerobic consortium[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000, 54(4): 535-542.
- [74] SALEH-LAKHA S, SHANNON KE, HENDERSON SL, GOYER C, TREVORS JT, ZEBARTH BJ, BURTON DL. Effect of pH and temperature on denitrification gene expression and activity in *Pseudomonas mandelii*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(12): 3903-3911.
- [75] TAKENAKA S, ZHOU Q, KUNTIYA A, SEESURIYACHAN P, MURAKAMI S, AOKI K. Isolation and characterization of thermotolerant bacterium utilizing ammonium and nitrate ions under aerobic conditions[J]. *Biotechnology Letters*, 2007, 29(3): 385-390.
- [76] WANG YY, ZHANG ZJ, QIU L, GUO Y, WANG XJ, XIONG XJ, CHEN SH. Effect of temperature downshifts on biological nitrogen removal and community structure of a lab-scale aerobic denitrification process[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2015, 101: 200-208.
- [77] 高珊珊. 好氧反硝化菌的筛选及反硝化性能研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学硕士学位论文, 2007.
GAO SS. Isolation, identification and characteristics of aerobic denitrifying bacteria[D]. Harbin: Master's Thesis of Harbin Institute of Technology, 2007 (in Chinese).
- [78] LEE KY, KIM KW, PARK M, KIM J, OH M, LEE EH, CHUNG DY, MOON JK. Novel application of nanozeolite for radioactive cesium removal from high-salt wastewater[J]. *Water Research*, 2016, 95: 134-141.
- [79] LUO XN, SHEN T, GUAN CT, LI N, JIANG J. Ammonia-oxidizing microbes and biological ammonia removal in drinking water treatment[J]. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 2022, 8(6): 1152-1172.
- [80] LONG XX, CHEN HY, HUANG TJ, ZHANG YJ, LU YF, TAN JH, CHEN RZ. Removal of Cd(II) from micro-polluted water by magnetic core-shell Fe₃O₄@Prussian blue[J]. *Molecules* (Basel, Switzerland), 2021, 26(9): 2497.
- [81] 赵璇, 吴天宝, 叶裕才. 我国饮用水源的重金属污染及治理技术深化问题[J]. *给水排水*, 1998, 24(10): 22-25.
ZHAO X, WU TB, YE YC. Heavy metal pollution of drinking water sources in China and deepening treatment technology[J]. *Water & Wastewater Engineering*, 1998, 24(10): 22-25 (in Chinese).
- [82] CAO J, LI N, JIANG J, XU YB, ZHANG BP, LUO XN, HU YB. Activated carbon as an insoluble electron shuttle to enhance the anaerobic ammonium oxidation

- coupled with Fe(III) reduction process[J]. *Environmental Research*, 2022, 204: 111972.
- [83] HE TX, XIE DT, NI JP, LI Z, LI ZL. Effect of cobalt, cadmium and Manganese on nitrogen removal capacity of *Arthrobacter arilaitensis* Y-10[J]. *Water*, 2020, 12(6): 1701.
- [84] GUI MY, CHEN Q, MA T, ZHENG MS, NI JR. Effects of heavy metals on aerobic denitrification by strain *Pseudomonas stutzeri* PCN-1[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(4): 1717-1727.
- [85] 魏巍, 黄廷林, 苏俊峰, 王春燕, 黄卓, 李娜. 1株贫营养好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮特性[J]. *生态环境学报*, 2010, 19(9): 2166-2171.
WEI W, HUANG TL, SU JF, WANG CY, HUANG Z, LI N. Isolation and identification of an oligotrophic and aerobic denitrification and its denitrification characteristics[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(9): 2166-2171 (in Chinese).
- [86] 魏巍, 黄廷林. 低温好氧反硝化菌的分离鉴定及脱氮特性研究[J]. *供水技术*, 2012, 6(6): 12-16.
WEI W, HUANG TL. Isolation and identification of a low temperature and aerobic denitrifier and its denitrification characteristics[J]. *Water Technology*, 2012, 6(6): 12-16 (in Chinese).
- [87] ZHOU SL, HUANG TL, ZHANG HH, ZENG MZ, LIU F, BAI SY, SHI JC, QIU XP, YANG X. Nitrogen removal characteristics of enhanced *in situ* indigenous aerobic denitrification bacteria for micro-polluted reservoir source water[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 201: 195-207.
- [88] KOU LQ, HUANG TL, ZHANG HH, WEN G, LI N, WANG CX, LU LC. Mix-cultured aerobic denitrifying bacterial communities reduce nitrate: novel insights in micro-polluted water treatment at lower temperature[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 796: 148910.
- [89] HUANG TL, ZHOU SL, ZHANG HH, ZHOU N, GUO L, DI SY, ZHOU ZZ. Nitrogen removal from micro-polluted reservoir water by indigenous aerobic denitrifiers[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(4): 8008-8026.
- [90] 黄廷林, 苏俊峰, 李倩. 好氧反硝化菌株的筛选培养及其反硝化性能研究[J]. *西安建筑科技大学学报(自然科学版)*, 2009, 41(5): 704-707.
HUANG TL, SU JF, LI Q. Isolation, identification and denitrifying characteristics of aerobic denitrifying bacteria[J]. *Journal of Xi'an University of Architecture & Technology (Natural Science Edition)*, 2009, 41(5): 704-707 (in Chinese).
- [91] GUO LY, CHEN QK, FANG F, HU ZX, WU J, MIAO AJ, XIAO L, CHEN XF, YANG LY. Application potential of a newly isolated indigenous aerobic denitrifier for nitrate and ammonium removal of eutrophic lake water[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 142: 45-51.
- [92] ZHANG HH, MA B, HUANG TL, SHI YJ. Nitrate reduction by the aerobic denitrifying actinomycete *Streptomyces* sp. XD-11-6-2: performance, metabolic activity, and micro-polluted water treatment[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 326: 124779.
- [93] GAN YL, ZHAO QL, YE ZF. Denitrification performance and microbial diversity of immobilized bacterial consortium treating nitrate micro-polluted water[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 281: 351-358.
- [94] 黄廷林, 刘燕, 苏俊峰, 李倩, 叶羨婧, 焦菲. 微生物固定化技术对微污染源水脱氮的试验研究[J]. *环境污染与防治*, 2009, 31(12): 32-34.
HUANG TL, LIU Y, SU JF, LI Q, YE XJ, JIAO F. Experimental study on nitrogen removal in micro-polluted water by immobilized microbe technique[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2009, 31(12): 32-34 (in Chinese).
- [95] WANG HY, WANG T, YANG SY, LIU XQ, KOU LQ, HUANG TL, WEN G. Nitrogen removal in oligotrophic reservoir water by a mixed aerobic denitrifying consortium: influencing factors and immobilization effects[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2019, 16(4): 583.
- [96] 李娜. 扬水曝气—原位投菌组合技术净化微污染源水实验研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学硕士学位论文, 2012.
LI N. Onsite dosing bacteria treatment of micro-polluted source water under conditions of lifting water and aeration[D]. Xi'an: Master's Thesis of Xi'an University of Architecture and Technology, 2012 (in Chinese).
- [97] HURTADO-MARTINEZ M, MUÑOZ-PALAZON B, ROBLES-ARENAS VM, GONZALEZ-MARTINEZ A, GONZALEZ-LOPEZ J. Biological nitrate removal from groundwater by an aerobic granular technology to supply drinking water at pilot-scale[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 40: 101786.