

耐盐人苍白杆菌发酵培养条件的响应面优化

叶竞灵¹, 高会杰², 陈明翔², 杨文革¹, 周彬³, 胡永红^{1*}

(1. 南京工业大学生物与制药工程学院, 江苏 南京 211816;

2. 中国石油化工股份有限公司大连石油化工研究院, 辽宁 大连 116045;

3. 江苏省原子医学研究所, 江苏 无锡 214151)

摘要:通过单因素试验优化了耐盐人苍白杆菌(*Ochrobactrum anthropi*) N2-2 的脱氮发酵培养条件。利用 Plackett-Burman 试验得出影响菌株 N2-2 氨氮降解效率最显著的 3 个因素为 pH、丁二酸钠质量浓度和温度。通过 Central Composite Design 试验设计对菌株 N2-2 的培养条件进行响应面优化并分析得出最佳脱氮发酵培养条件。结果表明, 在丁二酸钠质量浓度为 9.1 g/L、初始氨氮质量浓度为 300 mg/L、pH 为 8.6、转速为 120 r/min、温度为 30℃、接种量为 4% 的条件下, 氨氮降解率为 84.97%, 比优化前提高了 11.78%。

关键词:生物法脱氮; 响应面; 人苍白杆菌; 氨氮降解; 发酵优化

中图分类号: TQ920.6

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2022)12-0190-06

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.12.035

Response surface optimization of fermentation culture conditions for a salt-tolerant *Ochrobactrum anthropi*

YE Jing-ling¹, GAO Hui-jie², CHEN Ming-xiang², YANG Wen-ge¹, ZHOU Bin³, HU Yong-hong^{1*}

(1. College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, China;

2. Dalian Research Institute of Petroleum and Petrochemicals, Sinopec Corp., Dalian 116045, China;

3. Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214151, China)

Abstract: The denitrification and fermentation conditions for salt-tolerant *Ochrobactrum anthropi* N2-2 are optimized by single factor experiment. Plackett-burman experiment is utilized to determine three most significant factors affecting the degradation efficiency of ammoniacal nitrogen by strain N2-2, including pH, sodium succinate and temperature. Response surface optimization is carried out for the culture conditions of strain N2-2 through Central Composite Design, and the optimal denitrification fermentation culture conditions are obtained as follows: the concentration of sodium succinate is 9.1 g·L⁻¹, the initial mass concentration of ammoniacal nitrogen is 300 mg·L⁻¹, pH=8.6, the rotation speed is 120 r·min⁻¹, the temperature is 30℃, and the inoculation amount is 4%. Under these conditions, the degradation rate of ammoniacal nitrogen reaches 84.97%, 11.78% higher than before optimization.

Key words: biological denitrification; response surface; *Ochrobactrum anthropi*; degradation of ammoniacal nitrogen; optimization of fermentation

石化企业的废水排放量每年达 40 亿 t^[1]。石化废水的水质受原材料和石化加工工艺等因素的影响而有所差异^[2-3], 高浓度氨氮是其中常见的污染物之一。氮素主要有氨氮和有机氮 2 种^[4-5], 有机氮在石油加工过程中加氢脱氮变为氨氮进入水体, 其质量浓度可以达到上千毫克每升。

高质量浓度氨氮进入水体不仅会造成水体富营养化, 而且会导致鱼虾体内血红蛋白变性、抵抗力下降甚至缺氧死亡, 人类误食体内含有浓度高的亚硝酸盐的鱼虾会引起中毒^[6-9]。除此之外, 石化废水含盐度高, 过量的无机盐离子会抑制微生物生长代谢, 导致菌株脱氢酶活性降低等, 这样处理得到的石化废水达不到废水排放标准^[10-12]。

生物法用于废水处理更加绿色环保、高效经济^[13]。微生物能够将 NH₄⁺ 氧化为 NO₂⁻ 和 NO₃⁻ 最终转化为 N₂^[14]。近年来, 研究证明异养硝化细菌能够降解氨氮, 如不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*) 等^[15]。

人苍白杆菌呈短杆状, 是革兰氏阴性菌。目前对于人苍白杆菌的研究主要集中在其致病耐药性^[16]、重金属降解^[17]以及石油烃污染降解^[18]等方面。而人苍白杆菌作为一株高效的异养硝化细菌, 关于其降解氨氮方面的研究报道比较少。笔者选用大连某石油化工院的高盐生化污泥中分离纯化出的一株能耐盐度 3%、高效降解氨氮的人苍白杆菌 N2-2 作为实验菌株。对影响菌株去除氨氮的因素

收稿日期: 2022-01-12; 修回日期: 2022-10-01

基金项目: 中国石油化工股份有限公司大连石油化工研究院项目 (320038)

作者简介: 叶竞灵 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向为微生物法脱除废水氨氮, mujueyaneye@163.com; 胡永红 (1968-), 女, 博士, 教授, 研究方向为发酵工程、生物化工, 通讯联系人, hyh@njtech.edu.cn。

如碳源、初始氨氮质量浓度、温度、接种量、pH、转速进行单因素试验。再通过 Plackett-Burman (PB) 试验找出显著影响因子,采用最陡爬坡试验、响应面设计分析等方法优化显著影响因子,并确定了最佳的菌株培养条件。

1 材料与方

1.1 材料与试剂

1.1.1 菌种

人苍白杆菌 (*Ochrobactrum anthropi*) N2-2; 由本实验室筛选优化并保存。

1.1.2 培养基

基础培养基: NH_4Cl 1.146 g/L、丁二酸钠 9 g/L、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L、 KH_2PO_4 0.5 g/L、 K_2HPO_4 1.25 g/L、 NaCl 30 g/L; 调节 pH 至 8.0。

1.1.3 试剂和仪器

主要试剂:柠檬酸三钠、乙酸钠、丁二酸钠、葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉、 NH_4Cl 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 NaCl , 国药集团化学试剂有限公司生产; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、 K_2HPO_4 , 上海凌峰化学试剂有限公司生产。

主要仪器:灭菌锅 (SN210C 型), 浚和仪器有限公司生产; 超净工作台 (YJ-VS-2 型), 苏州安泰空气技术有限公司生产; 恒温培养箱 (PYX-DHS. 400BS-II 型), 上海跃进医疗器械有限公司生产; 恒温摇床 (ZMY-103B 型), 伊孚森生物技术 (中国) 有限公司生产; 电子天平 (MS105DU 型), 梅特勒-托利多上海公司生产; 多参数水质测定仪 (5B-3B 型), 上海连华实业有限公司生产。

1.2 试验方法

1.2.1 氨氮浓度的测定

利用上海连华实业有限公司生产的多参数水质测定仪 (5B-3B 型) 测量溶液中氨氮浓度。

1.2.2 菌株 N2-2 单因素试验设计

最佳碳源优化: 选择不同的碳源分别加入基础培养基中, 在温度为 30°C 、转速为 120 r/min 的条件下培养 24 h, 测量氨氮质量浓度。

培养条件优化: 分别改变培养条件: 初始氨氮质量浓度为 200~500 mg/L、pH 5~10、转速 50~200 r/min、温度 $10\sim 40^\circ\text{C}$ 及接种量 2%~7%, 培养 24 h, 测量氨氮质量浓度, 考察各因素对菌株氨氮降解率的影响。

1.2.3 Plackett-Burman (PB) 试验设计

根据单因素的试验结果, 选取一些氨氮降解率

较高的因素设计 Plackett-Burman (PB) 试验。

1.2.4 最陡爬坡试验

通过 PB 试验结果得到拟合方程, 以拟合方程中的变量系数和正负值为依据, 确定爬坡间距及变化方向。

1.2.5 Central Composite Design (CCD) 响应面法

通过最陡爬坡试验确定响应面的中心点, 使用 CCD 试验方法优化 PB 试验筛出的显著因素, 运用响应面分析方法进行分析, 验证分析得到的最优培养条件。

2 结果与分析

2.1 菌株 N2-2 单因素试验

2.1.1 不同碳源对菌株 N2-2 降解率的影响

碳源是菌株生长的能量来源, 会影响氨氮降解效率^[19]。不同碳源对菌株 N2-2 降解率的影响如图 1 所示。由图 1 可知, 当菌株 N2-2 以丁二酸钠作为唯一碳源时, 降解率达到最大值 73.91%; 当碳源为葡萄糖、可溶性淀粉、蔗糖时, 菌株 N2-2 的氨氮降解率较低。丁二酸钠质量浓度对菌株 N2-2 降解率的影响如图 2 所示。由图 2 可知, 当丁二酸钠质量浓度为 9 g/L 时, 菌株 N2-2 的氨氮降解率达到最大, 为 75.11%。

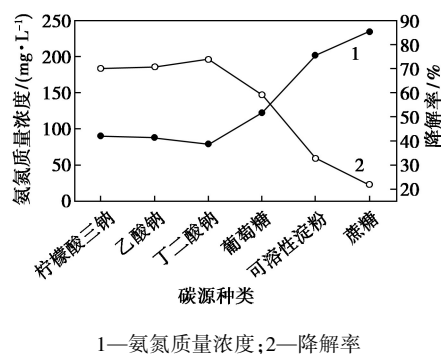


图 1 不同碳源对菌株 N2-2 降解率的影响

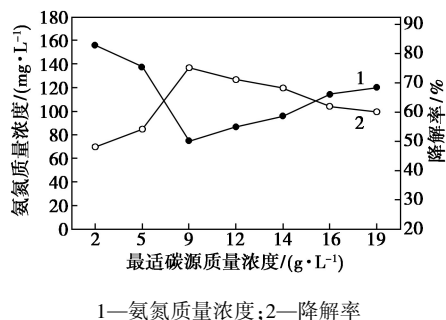


图 2 最适碳源质量浓度对菌株 N2-2 降解率的影响

2.1.2 初始氨氮质量浓度对菌株 N2-2 降解率的影响

初始氨氮质量浓度过高或过低都会影响菌株的

生长代谢,其氨氮降解效率也会受到影响^[20]。初始氨氮质量浓度对菌株 N2-2 降解率的影响如图 3 所示。从图 3 中可以看出,当菌株 N2-2 生长在初始氨氮质量浓度为 200~300 mg/L 的环境时,其降解率均在 70% 以上;当菌株 N2-2 生长在初始氨氮质量浓度大于 300 mg/L 的环境时,其降解率明显下降。因此菌株 N2-2 的最佳初始氨氮质量浓度为 300 mg/L。

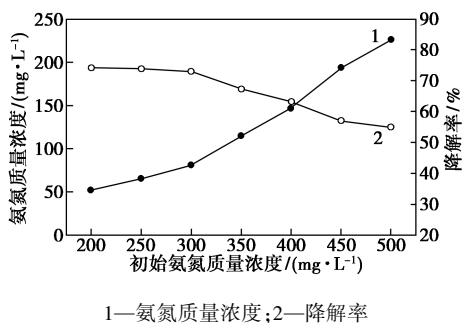


图 3 初始氨氮质量浓度对菌株 N2-2 降解率的影响

2.1.3 pH 对菌株 N2-2 降解率的影响

初始 pH 对菌株 N2-2 降解率的影响如图 4 所示^[21]。由图 4 可知,当 pH 为 5~8 时,菌株 N2-2 的降解率持续升高,在 pH=8 时出现最大值 78.07%;当 pH 超过 8 时,氨氮降解率持续降低。因此,菌株 N2-2 适宜生长在弱碱性的环境中,最适 pH 范围在 7~9 之间。

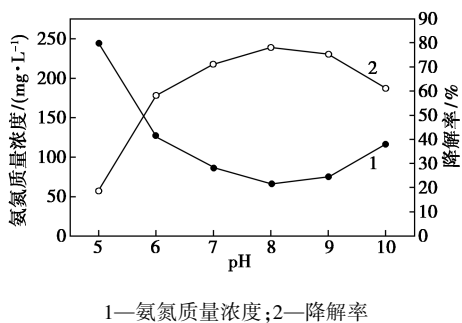
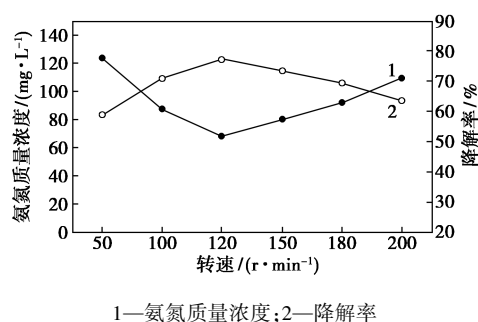


图 4 pH 对菌株 N2-2 降解率的影响

2.1.4 转速对菌株 N2-2 降解率的影响

溶解氧是影响微生物生长的关键因素之一^[22],通常通过转速为培养基提供不同的溶解氧。转速对菌株 N2-2 降解率的影响如图 5 所示。由图 5 可知,当转速为 50~120 r/min 时,菌株 N2-2 的降解率持续提高,转速为 120 r/min 时氨氮降解率达到极大值 77.33%;当转速为 120~200 r/min 时,菌株 N2-2 的降解率持续下降。转速过高导致溶解氧含量偏高,菌体自溶后使得氨氮降解率降低^[20]。

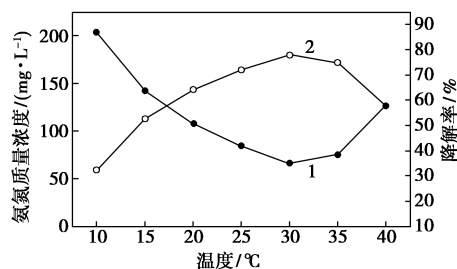


1—氨氮质量浓度;2—降解率

图 5 转速对菌株 N2-2 降解率的影响

2.1.5 温度对菌株 N2-2 降解率的影响

微生物的生长离不开合适的温度,菌体的氨氮降解率受温度控制^[23]。温度对菌株 N2-2 降解率的影响如图 6 所示。由图 6 可知,当温度为 10~30℃ 时,菌株 N2-2 的氨氮降解率从 30.25% 提高至 77.72%,30℃ 时降解率达到最大;当温度升高至 35℃,菌株 N2-2 的氨氮降解率随之下降至 74.86%;当温度继续升高至 40℃ 时,氨氮降解率降至 57.58%。因此,菌株 N2-2 的最适温度范围为 25~35℃。

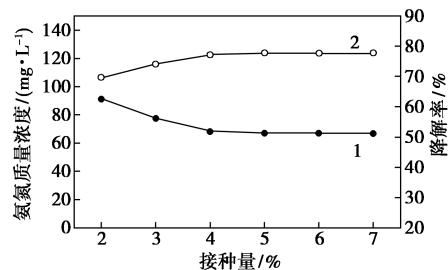


1—氨氮质量浓度;2—降解率

图 6 温度对菌株 N2-2 降解率的影响

2.1.6 接种量对菌株 N2-2 降解率的影响

接种量对菌株的氨氮降解效率有一定的影响,接种量太大会使菌体抢夺营养物质,从而影响氨氮降解率,接种量太小会影响菌体培养速度^[24]。接种量对菌株 N2-2 降解率的影响如图 7 所示。由图 7 可知,当接种量在 2%~4% 时,菌株 N2-2 的氨氮降



1—氨氮质量浓度;2—降解率

图 7 接种量对菌株 N2-2 降解率的影响

解率逐步增加;当接种量大于4%时,菌株 N2-2 的降解率基本不变。因此,菌株 N2-2 的最适接种量为4%。

2.2 Plackett-Burman (PB) 设计试验筛选关键因子

根据单因素优化的结果设计 Plackett-Burman (PB) 试验^[25-26]。以氨氮降解率(Y)为响应值,设计包含乙酸钠(A)、柠檬酸三钠(B)、丁二酸钠(C)、初始氨氮质量浓度(D)、pH(E)、转速(F)、温度(G)、接种量(H)在内的8个因素及3个虚拟变量进行PB试验。各因素水平结果及分析分别如表1、表2、表3所示。

表1 PB 试验设计影响因素及水平

编号	因素	水平	
		低(-1)	高(+1)
A	ρ (乙酸钠)/(g·L ⁻¹)	7	10
B	ρ (柠檬酸三钠)/(g·L ⁻¹)	7	10
C	ρ (丁二酸钠)/(g·L ⁻¹)	7	10
D	ρ (初始氨氮)/(mg·L ⁻¹)	250	300
E	pH	7	9
F	转速/(r·min ⁻¹)	120	150
G	温度/℃	25	35
H	接种量/%	3	5
I	—	—	—
J	—	—	—
K	—	—	—

表2 PB 试验设计方案及结果

序号	因素											氨氮降解率/%
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	
1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	71.59
2	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	78.28
3	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	61.31
4	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	73.05
5	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	71.13
6	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	73.65
7	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	80.73
8	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	75.82
9	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	65.91
10	1	-1	1	1	1	-1	-1	-1	1	-1	1	70.81
11	-1	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	63.74
12	-1	-1	1	-1	1	1	-1	1	1	1	-1	77.44

表3 PB 试验设计方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	重要性
模型	375.38	8	46.92	14.00	0.0264	显著
A	0.63	1	0.63	0.19	0.6928	7
B	26.88	1	26.88	8.02	0.0661	5
C	61.65	1	61.65	18.40	0.0233	2
D	0.13	1	0.13	0.039	0.8552	8
E	198.78	1	198.78	59.33	0.0045	1
F	2.56	1	2.56	0.76	0.4466	6
G	44.85	1	44.85	13.39	0.0353	3
H	39.89	1	39.89	11.91	0.0409	4
残差	10.05	3	3.35	—	—	—
总和	385.44	11	—	—	—	—

由表3可知,该PB试验模型P值为0.0264 ($P < 0.05$),说明模型显著。该试验的回归模型为:

$$Y = 71.95 - 0.23A + 1.50B + 2.27C - 0.10D + 4.07E + 0.46F + 1.93G + 1.83H - 0.73I + 0.18J - 0.52K$$

8个因素对菌株 N2-2 的氨氮降解率影响显著性排序为:pH>丁二酸钠质量浓度>温度>接种量>柠檬酸三钠质量浓度>转速>乙酸钠质量浓度>初始氨氮质量浓度,其中 pH($P=0.0045$)、丁二酸钠质量浓度($P=0.0233$)和温度($P=0.0353$)均影响显著($P < 0.05$),故采用 pH、丁二酸钠质量浓度、温度作为后续最陡爬坡试验的考察因子。其余因素按单因素试验的最佳值用于后续试验。

2.3 最陡爬坡试验

根据2.2中试验模型系数可知,丁二酸钠质量浓度、pH和温度3个因素均具有正效应,试验结果如表4所示。由表4可知,当丁二酸钠质量浓度为9 g/L、pH为8.5、温度为30℃时,菌株 N2-2 的氨氮降解率最高为82.65%。因此,选择第4组的数据作为后续 CCD 试验设计的中心值。

表4 最陡爬坡试验设计及结果

序号	ρ (丁二酸钠)/(g·L ⁻¹)	pH	温度/℃	氨氮降解率/%
1	6	7.0	27	73.82
2	7	7.5	28	75.92
3	8	8.0	29	79.42
4	9	8.5	30	82.65
5	10	9.0	31	79.26
6	11	9.5	32	70.33

2.4 CCD 响应面试验设计及结果

2.4.1 Central Composite Design (CCD) 试验设计

在前期的实验基础上确定 CCD 试验的3个显

著因素,以氨氮降解率(Y)为响应值,设计 CCD 试验。各因素水平结果如表 5、表 6 所示。

表 5 CCD 试验设计因素及水平

水平	因素		
	ρ (丁二酸钠, X_1)/(g·L ⁻¹)	pH(X_2)	温度(X_3)/°C
-1.68	7.32	7.66	28.32
-1	8.00	8.00	29.00
0	9.00	8.50	30.00
+1.00	10.00	9.00	31.00
+1.68	10.68	9.34	31.68

表 6 CCD 试验设计方案及结果

序号	X_1	X_2	X_3	氨氮降解率/%
1	-1.000	-1.000	-1.000	65.73
2	1.000	-1.000	-1.000	69.43
3	-1.000	1.000	-1.000	72.76
4	1.000	1.000	-1.000	75.19
5	-1.000	-1.000	1.000	69.82
6	1.000	-1.000	1.000	73.41
7	-1.000	1.000	1.000	71.74
8	1.000	1.000	1.000	72.58
9	-1.682	0.000	0.000	66.30
10	1.682	0.000	0.000	68.11
11	0.000	-1.682	0.000	68.97
12	0.000	1.682	0.000	73.77
13	0.000	0.000	-1.682	78.16
14	0.000	0.000	1.682	79.41
15	0.000	0.000	0.000	83.41
16	0.000	0.000	0.000	84.22
17	0.000	0.000	0.000	84.74
18	0.000	0.000	0.000	83.91
19	0.000	0.000	0.000	84.30
20	0.000	0.000	0.000	83.96

根据表 6 的结果进行响应面分析,结果如表 7 所示。丁二酸钠质量浓度、pH、温度 3 个因素对氨氮降解率的影响用二次回归方程表示:

$$Y = 84.10 + 1.00X_1 + 1.61X_2 + 0.48X_3 - 0.50X_1X_2 - 0.21X_1X_3 - 1.46X_2X_3 - 6.06X_1^2 - 4.58X_2^2 - 1.96X_3^2$$

表 7 CCD 试验设计方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	$P(Pro>F)$
模型	845.90	9	93.99	220.09	<0.0001
X_1	13.55	1	13.55	31.73	0.0002
X_2	35.29	1	35.29	82.63	<0.0001
X_3	3.13	1	3.13	7.34	0.0220
X_1X_2	2.02	1	2.02	4.73	0.0547

X_1X_3	0.36	1	0.36	0.85	0.3794
X_2X_3	17.11	1	17.11	40.07	<0.0001
X_1^2	528.77	1	528.77	1238.21	<0.0001
X_2^2	302.93	1	302.93	709.36	<0.0001
X_3^2	55.54	1	55.54	130.06	<0.0001
残差	4.27	10	0.43	—	—
失拟项	3.28	5	0.66	3.29	0.1085
纯误差	1.00	5	0.20	—	—
总和	850.17	19	—	—	—

由表 7 中可以看出,该模型的 P 值<0.000 1,具备极显著性;模型失拟项的 P 值为 0.108 5 (P >0.05),不显著,表明该模型具有优异的拟合性,没有失拟因子存在。综上,该模型可以有效预测实际实验值。

2.4.2 CCD 响应面结果及分析

根据 2.4.1 得到的回归方程绘制响应面图谱,结果如图 8、图 9 和图 10 所示。

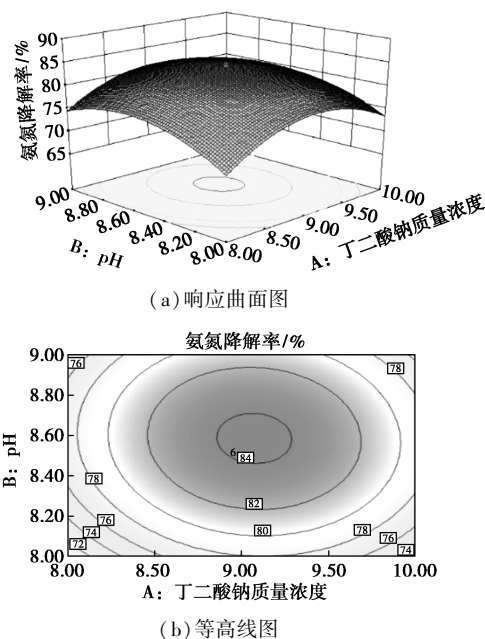
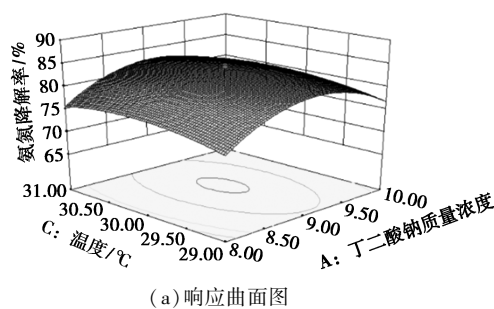


图 8 丁二酸钠质量浓度和 pH 交互作用的响应曲面图和等高线图



(a) 响应曲面图

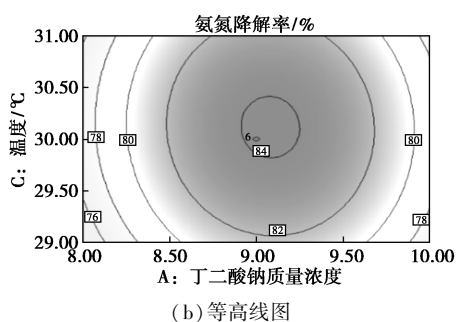


图 9 丁二酸钠质量浓度和温度交互作用的响应曲面图和等高线图

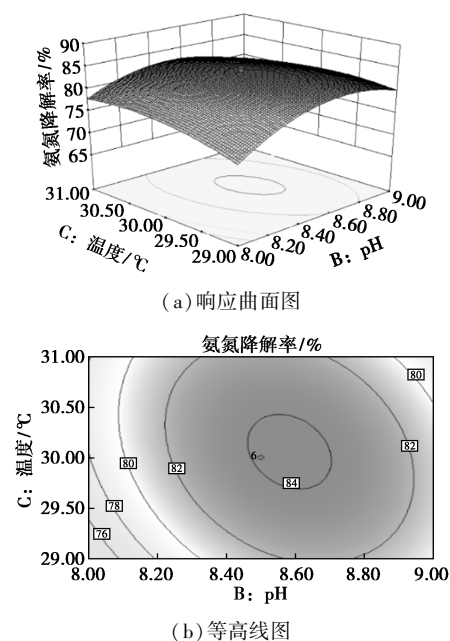


图 10 pH 和温度交互作用的响应曲面和等高线图

由图 8 中可以看出,当温度固定为 30℃ 时,氨氮降解率随着丁二酸钠质量浓度和 pH 的增加而呈先增加后减少的趋势。由图 9 可以看出,当 pH 固定为 8.5 时,保持丁二酸钠质量浓度不变,随着温度的增大,氨氮降解率先提高后降低,变化幅度较缓;保持温度不变,随着丁二酸钠质量浓度的增加,氨氮降解率也是先提高后降低。由图 10 可以看出,当丁二酸钠质量浓度固定为 9 g/L 时,氨氮降解率随着 pH 和温度的增加而先上升后下降。

2.5 模型预测及验证实验

当丁二酸钠质量浓度为 9.07 g/L、pH 为 8.58、温度为 30.06℃ 时,模型预测的最大氨氮降解率为 84.29%。经过重复验证实验,实际结果为 85.04%,较理论的氨氮降解率高,但结果基本一致,表明该模型拟合的准确性高。为了提高实际应用时的可操作性,对优化的培养条件进行修正,改为丁二酸钠质量浓度为 9.1 g/L、pH 为 8.6 和温度为 30℃,进行 3 次

平行试验,平均氨氮降解率为 84.97%,与预测基本吻合,表明该修正有效。

3 结论

优化了耐盐人苍白杆菌 N2-2 的脱氮发酵培养条件,以提高其脱氮性能。在单因素试验的基础上,通过 PB 试验确定了影响菌株 N2-2 氨氮降解效率的 3 个关键因素:pH、丁二酸钠质量浓度和温度。利用 CCD 试验模型对 3 个关键因素进行响应面优化,通过验证表明模型拟合度良好,能准确预测实际实验结果。优化后的最终培养条件为:丁二酸钠质量浓度为 9.1 g/L、初始氨氮质量浓度为 300 mg/L、pH 为 8.6、转速为 120 r/min、温度为 30℃、接种量为 4%,此时,菌株 N2-2 的氨氮降解率为 84.97%,比优化前的氨氮降解率(73.19%)提高了 11.78%。

菌株 N2-2 筛选自石化废水的活性污泥中,在盐度 3% 的条件下氨氮降解率能达到 84.97%,相比其他渠道来源的脱氮菌株更能适应石化废水的环境。因此,菌株 N2-2 的脱氮发酵培养条件优化研究可以为后续的生产放大乃至工业化提供理论参考。

参考文献

- [1] 黄英才,周沁宇,陈立明,等.微生物石油废水处理技术综述[J].内江科技,2021,42(1):39,15.
- [2] 石利军.摇动床技术和厌氧氨氧化石化废水生物脱氮[D].大连:大连理工大学,2006.
- [3] 王猛.石油炼化废水厌氧氨氧化脱氮技术研究[D].北京:北京工业大学,2016.
- [4] 郑丽侠.污水脱氮微生物的诱变及筛选[D].济南:齐鲁工业大学,2014.
- [5] 刘芳,赵鑫,潘玉瑾,等.高效异养硝化细菌富集与强化脱氮[J].东南大学学报(自然科学版),2016,46(4):807-811.
- [6] 李慧.硝化细菌固定化材料的筛选及应用[D].青岛:青岛理工大学,2019.
- [7] Guo L Y, Chen Q K, Fang F, et al. Application potential of a newly isolated indigenous aerobic denitrifier for nitrate and ammonium removal of eutrophic lake water[J]. Bioresource Technol, 2013, 142: 45-51.
- [8] 蔡尽忠,张慧美,邱彩玲,等.氨氮降解菌的筛选及降解氨氮条件研究[J].广州化工,2020,48(21):69-71.
- [9] 李珍阳,姜润,刘琳,等.低温异养硝化菌的筛选、鉴定及降解特性研究[J].生物技术通报,2021,37(10):45-56.
- [10] 雷中方.高浓度钠盐对废水生物处理系统的失稳影响综述[J].工业水处理,2000,(4):6-10.
- [11] 杨静,金晓莉,郑甜甜.高盐废水生物处理研究现状及进展[J].辽宁化工,2013,42(1):18-22.

(下转第 202 页)

- [3] 徐保明,许庆博,唐强,等.钴盐催化甲苯液相选择氧化反应研究进展[J].应用化工,2017,46(12):2451-2454.
- [4] 徐秋霞.苯乙酮的合成工艺研究[D].南京:南京理工大学,2015.
- [5] Chen S,Wu Y J,Jie S S, et al. Nitrogen and sulfur co-doped cobalt carbon catalysts for ethylbenzene oxidation with synergistically enhanced performance[J]. RSC Advances, 2019, 9(17): 9462-9467.
- [6] Wei D H,Zhu X J,Niu J L, et al. High-valent-cobalt-catalyzed C—H functionalization based on concerted metalation-deprotonation and single-electron-transfer mechanisms[J]. ChemCatChem, 2016, 8(7): 1242-1263.
- [7] Liu X F,Gao S Y,Yang F, et al. High promoting of selective oxidation of ethylbenzene by Mn-ZSM-5 synthesized without organic template and calcination[J]. Research on Chemical Intermediates, 2020, 46(5): 2817-2832.
- [8] 颜久娟.温和条件下甲苯选择性氧化制备苯甲醛[D].南京:南京大学,2014.
- [9] Fu L L,Lu Y J,Liu Z G, et al. Influence of the metal sites of M-N-C (M=Co,Fe,Mn) catalysts derived from metalloporphyrins in ethylbenzene oxidation[J]. Chinese Journal of Catalysis, 2016, 37(3): 398-404.
- [10] Xu J M,He L,Liu H, et al. Controlled synthesis of porous anhydrous cobalt oxalate nanorods with high reversible capacity and excellent cycling stability[J]. Electrochimica Acta, 2015, 170: 85-91.
- [11] Yang Y,He L,Lu J F, et al. Rapid assemble of MnC₂O₄ microtubes using a microchannel reactor and their use as an anode material for Lithium-ion batteries[J]. Electrochimica Acta, 2019, 321: 134673.
- [12] 丁巍,郝元川,孙宇,等. Co/Cu-USY 分子筛制备及催化乙苯氧化性能[J]. 化工进展, 2018, 37(6): 2249-2255.
- [13] Li M,Jiang H Y,Xu D. Preparation of sponge-reinforced silica aerogels from tetraethoxysilane and methyltrimethoxysilane for oil/water separation[J]. Materials Research Express, 2018, 5(4): 45003-45003.
- [14] 左海清.基于改性凹凸棒石的低温 SCR 脱硝催化剂研制[D].北京:中国矿业大学(北京),2018.
- [15] Gutmann B,Elsner P,Roberge D, et al. Homogeneous liquid-phase oxidation of ethylbenzene to acetophenone in continuous flow mode[J]. ACS Catalysis, 2016, 3(12): 2669-2676.
- [16] Tong L,Cheng H Y,Sun L S, et al. Synthesis of acetophenone from aerobic catalytic oxidation of ethylbenzene over Ti-Zr-Co alloy catalyst: Influence of annealing conditions[J]. Applied Catalysis A: General, 2016, 512: 9-14.
- [17] Meng L,Niu F,Busch D H, et al. Kinetic Investigations of *p*-xylene oxidation to terephthalic acid with a Co/Mn/Br catalyst in a homogeneous liquid phase[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2015, 53(22): 9017-9026.
- [18] Selvaraj M,Bhaumik A,Assiri M A, et al. Green oxidation of alkylaromatics using molecular oxygen over mesoporous manganese silicate catalysts[J]. Dalton Transactions, 2020, 49(28): 9710-9718.
- [19] 唐盛伟.甲苯液相空气氧化反应过程研究[D].成都:四川大学,2005.
- [20] 陆琛.甲苯液相氧化高选择性制备苯甲醛的研究[D].南京:南京大学,2018.
- [21] 魏世明,胡家明,薛艺,等.对氯甲苯选择性氧化制备对氯苯甲醛[J]. 化学反应工程与工艺, 2020, 36(1): 60-67.
- [22] Cao Y H,Li Y H,Chen Z C, et al. New understanding of selective aerobic oxidation of ethylbenzene catalyzed by nitrogen-doped carbon nanotubes[J]. ChemCatChem, 2020, 13(2): 645-655. ■
-
- (上接第 195 页)
- [12] 张培玉,曲洋,杨瑞霞,等.耐盐异养硝化菌驯化方法及分离菌株鉴定[J].应用与环境生物学报,2011,17(1):121-125.
- [13] Yao J C,Mei Y,Xia G H, et al. Process optimization of electrochemical oxidation of ammonia to nitrogen for actual dyeing wastewater treatment[J]. Int J Env Res Pub He, 2019, 16(16): 2931.
- [14] 牛晓倩,周胜虎,邓禹.脱氮微生物及脱氮工艺研究进展[J].生物工程学报,2021,37(10):3505-3519.
- [15] 戚文静,李怀京,葛惟晨,等.高效氨氮降解菌株的筛选及其降解条件优化[J].德州学院学报,2020,36(6):16-21.
- [16] 吴朝霞,方寅飞,邵丽佳.医院获得性感染人苍白杆菌的临床分布、危险因素与耐药性分析[J].中国卫生检验杂志,2020,30(23):2851-2854.
- [17] Villagrasa E,Palet C,Lopez-Gomez I, et al. Cellular strategies against metal exposure and metal localization patterns linked to phosphorus pathways in *Ochrobactrum anthropi* DE2010 [J]. J Hazard Mater, 2021, 402: 123-808.
- [18] Sun W Y,Ali I,Liu J W, et al. Isolation, identification, and characterization of diesel-oil-degrading bacterial strains indigenous to Changqing oil field, China[J]. J Basic Microb, 2019, 59(7): 723-734.
- [19] 何伟,李菁菁,包可翔,等.高效表达淀粉酶 *Bacillus koreensis* 的培养基响应面优化[J].天然产物研究与开发,2019,31(8):1425-1433.
- [20] 吴建江,王兆阳,许培雅.一株高效异养硝化菌的分离、鉴定及其氨氮去除特性[J].中国环境科学,2013,33(7):1309-1315.
- [21] 徐彬.异养硝化-好氧反硝化菌 *Zobellia sp.* XH5 的分离鉴定及脱氮特性研究[D].芜湖:安徽师范大学,2019.
- [22] 张峰峰,周可,谢凤行,等.一株异养硝化菌 AD-28 氨氮去除特性研究[J].水产科学,2019,38(1):92-97.
- [23] 刘少敏,储磊,朱敬林.固定化硝化细菌去除生活污水中的氨氮[J].环境工程学报,2014,8(10):4261-4266.
- [24] Lananan F,Hamid S H A,Din W N S, et al. Symbiotic bioremediation of aquaculture wastewater in reducing ammonia and phosphorus utilizing Effective Microorganism (EM-1) and microalgae (*Chlorella sp.*) [J]. Int Biodeter Biodegr, 2014, 95: 127-134.
- [25] 姜春宇,张媛,孙燕飞,等.产低温蛋白酶酵母菌株的筛选及发酵培养基优化[J].中国酿造,2018,37(11):45-50.
- [26] 蒋冬花,郭鑫,马静静,等.拮抗水稻白叶枯病菌菌株曲霉 As-68 菌株培养基配方和发酵条件的响应面优化[J].浙江师范大学学报(自然科学版),2021,44(2):188-196. ■