

文章编号:1000-582X(2013)03-096-08

# 有机碳源对单级自养脱氮系统脱氮性能及微生物群落结构的影响

贾丽, 郭劲松, 方芳, 魏洪怀, 郭东茹

(重庆大学城市建设与环境工程学院, 重庆 400045)

**摘要:**以不同基质的 2 个反应器为研究对象,考察了有机碳源对单级自养脱氮系统脱氮性能及微生物群落结构的影响,结果表明:在一定的碳氮比范围内,通过控制 DO,可以实现创造适合亚硝化菌和厌氧氨氧化菌代谢的好氧和厌氧并存的微环境,提高系统的脱氮效果;2 个反应器均存在多种脱氮途径,以不含有机碳源为基质时,系统主要通过亚硝化-ANAMMOX 途径去除氨氮,而有机碳源的加入,使得系统自养脱氮途径去除的氨氮比例下降,传统硝化反硝化途径得到强化;DGGE 图谱统计结果表明,有机碳源的加入,使得系统微生物群落结构更加丰富,其中生物膜表现得尤为明显,也表明生物膜结构更有利于形成一个厌氧与好氧共存的微环境,在一个反应器内实现全部脱氮过程。

**关键词:**单级自养脱氮;有机碳源;脱氮性能;PCR-DGGE;微生物群落结构

**中图分类号:**X703.1

**文献标志码:**A

## Effect of organic carbon on nitrogen removal and microbial community in the completely autotrophic nitrogen removal process

JIA Li, GUO Jingsong, FANG Fang, WEI Honghuai, GUO Dongru

(Faculty of Urban Construction and Environmental Engineering, Chongqing University, Chongqing 400045, China)

**Abstract:** Different synthetic wastewaters are used to analyze the effect of organic carbon on the nitrogen removal and microbial community in the completely autotrophic nitrogen removal process. Results show that the nitrogen removal performance is improved by control of DO at a reasonable C/N ratio. The  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  is removed in several ways. When the influent without any organic carbon, the most of ammonium is removed in nitrification-ANAMMOX metabolic pathway; the contribution of nitrification-ANAMMOX decreases, while the conventional nitrification-denitrification process enhanced with the addition of organic carbon. PCR-DGGE and statistical analyses show that the microbial diversity in SBBR reactor fed with organic wastewater is more abundant than it fed with inorganic wastewater, and this exhibits obvious in the biofilm, which also indicate that it helps to format the aerobic-anaerobic microenvironment, so nitrogen can be removed in different ways in one reactor.

**Key words:** organic carbon; the completely autotrophic nitrogen removal process; nitrogen-removal performance; PCR-DGGE; microbial community structure

**收稿日期:**2012-10-23

**基金项目:**国家自然科学基金项目(50608071);教育部重大项目(308020);重庆市重点科技攻关项目(2008AB7133)

**作者简介:**贾丽(1980-),女,重庆大学博士研究生,主要研究方向为废水生物处理理论与技术。

郭劲松(联系人),男,重庆大学教授,博士生导师,(E-mail)guo0768@cqu.edu.cn。

污水生物脱氮是目前水处理领域的重要问题,传统的生物脱氮工艺不能满足低 C/N 高氨氮废水的处理要求,而自养脱氮因其高效低耗,且在整个脱氮过程中不需要有机碳源而备受关注。但该工艺距离废水生物脱氮的实际应用还很远,因为实际废水成分复杂,尤其是有机碳源的存在。尽管有报道表明,有机碳源的存在对 ANAMMOX 细菌极为不利<sup>[1-5]</sup>,但也有研究证实,氨氮、COD 可以在一个反应器中通过亚硝化-ANAMMOX 途径、传统反硝化途径得以去除<sup>[6-7]</sup>。COD 浓度是影响厌氧氨氧化过程和反硝化过程的重要参数之一。但至今,学术界就碳源水平对 ANAMMOX 抑制尚不明晰,Güven 等<sup>[8]</sup>认为当 C/N 比大于 1 时,ANAMMOX 菌将失去与异养反硝化菌竞争的优势,而 Pathak 等<sup>[9]</sup>认为 C/N 在 0.6 左右,异养反硝化菌较 ANAMMOX 菌处于优势地位。另外,对有机碳源条件下,反硝化等异养菌与 ANAMMOX 菌竞争机制观点也不一致。有些学者认为,在一定的 C/N 比范围内,反硝化菌等异养菌和厌氧氨氧化菌共存并形成基质竞争,有机物浓度高时,异养菌大量繁殖,厌氧氨氧化菌不再表现活性<sup>[2,5,10]</sup>。也有学者指出,有机碳源条件下,厌氧氨氧化菌仍然占据重要生态位,和反硝化菌竞争并优先利用有机碳源,代谢途径表现多样化<sup>[1,8,11]</sup>;还有学者认为反硝化能消耗有机物,产生 CO<sub>2</sub> 为厌氧氨氧化解毒,同时提供无机碳源;厌氧氨氧化能产生硝氮,为反硝化提供电子受体,两者可实现协同作用<sup>[12-14]</sup>。甚至有学者指出两者之间并无竞争<sup>[15]</sup>。

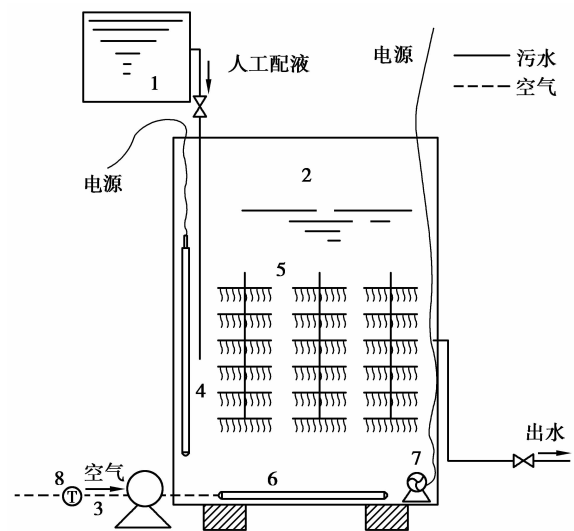
从以上可以看出,有机物在厌氧氨氧化过程中的作用及厌氧氨氧化菌与反硝化菌相互作用机制存在争议。用单级自养脱氮工艺处理含氮有机废水时,厌氧氨氧化菌能否维持优势菌的地位还有待进一步探讨。笔者考察了以不含有有机碳源配水和低 C/N 有机废水为基质的 2 个反应器,对稳定运行的单级自养脱氮反应器脱氮性能及脱氮途径进行对比分析;进一步利用 PCR-DGGE 技术,研究了 2 个反应器中生物膜及悬浮活性污泥微生物群落结构的差异,寻求进水有机质条件的改变对系统微生物层面的影响,以期为该工艺应用于工程实践提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验装置运行及处理效果

本试验是在前期已成功构建的单级自养脱氮系统的基础上进行的,实验装置如图 1 所示。采用 2 组 SBBR 反应器(反应器 A 和反应器 B)分别研究无机废

水和低 C/N 比有机废水对单级自养脱氮系统的脱氮性能和微生物群落结构的影响。反应器采用间歇进出水方式运行,每天换水 2 次,每次换水量为反应器容积的 1/2,出水经沉淀后污泥回流至反应器中,HRT 为 48 h。与连续曝气相比,间歇曝气方式更有益于创造单级自养脱氮所需的环境<sup>[16]</sup>,因此本研究沿用间歇曝气方式。A、B 反应器的进水水质见表 1。A 反应器的 pH 控制在 7.8~8.5、水温控制在(30±2)℃、DO 控制在 2.0~2.5 mg/L(曝气)/0.2~0.4 mg/L(停曝气)、曝/停比为 2 h:2 h。B 反应器 DO 控制 1.4~1.7 mg/L(曝气)/0.2~0.4 mg/L(停曝气),其他控制条件与 A 反应器完全相同。



1—人工配液箱;2—SBR 反应器;3—空气泵;  
4—恒温棒;5—填料;6—曝气砂条;  
7—潜水搅拌泵;8—时间控制器

图 1 试验装置示意

表 1 进水水质 mg/L

反应器	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N	TN	TP	COD
A	155~165	<2	155~165	4~8	<20
B	240~255	<3	240~255	5~7	245~295

### 1.2 测试项目及分析方法

#### 1.2.1 理化指标的测试

pH: 美国 HACH 公司 pH 计; DO: 美国 HACH 公司 LDO<sup>TM</sup> HQ10 溶氧仪; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N: 纳氏试剂分光光度法; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N: N-1-萘乙二胺分光光度法; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N: 紫外分光光度法; TN: 过硫酸钾氧化-紫外分光光度法; COD: 重铬酸钾消解-紫外分光光度法。

### 1.2.2 微生物群落结构分析

1)样品的准备及 DNA 提取参见文献[17]。

2)PCR-DGGE 分析。总细菌的扩增采用 V3 区通用引物进行扩增<sup>[18]</sup>;ANAMMOX 细菌采用巢式 PCR 进行扩增,扩增引物及程序见文献[19]。PCR 扩增产物用 1.5%的琼脂糖电泳检测。

取上述 PCR 产物各 30  $\mu\text{L}$ ,在 The Dcode<sup>TM</sup> Universal Mutation Detection System (U. S. A, Bio-Rad Co.)进行电泳分析。聚丙烯酰胺变性梯度胶浓度为 8% (丙烯酰胺与双丙烯酰胺的质量比为 37.5:1)。其中细菌的变性梯度范围为 35%~55% (100%的变性剂中含有 7 mol/L 的尿素和 40%的去离子甲酰胺);ANAMMOX 菌的变性梯度为:35%~60%。运行条件为:在 1 $\times$ TAE 电泳缓冲液中,60  $^{\circ}\text{C}$ 条件下,200 V 运行 10 min,然后 100 V 运行 13 h,电泳完成后,用 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的溴化乙锭染色 20 min,再用去离子水漂洗 2 次,然后在 BIO-RAD Versa Doc IMAGING SYSTEM 系统内观察电泳结果并照相。

3)克隆、测序。切下清晰条带,置于 1.5 mL 离心管中,加入无菌水 30  $\mu\text{L}$ ,用灭菌牙签捣碎胶条,-4  $^{\circ}\text{C}$  浸泡过夜,取溶液作为模板,再次进行 PCR 扩增,引物及反应条件同上。二次 PCR 产物用凝胶纯化试剂盒纯化后连接到 pMD18-T 载体上,转化到 *E. coli* JM109 中,克隆经 M13 通用引物检测后,挑取阳性克隆子测序,测序结果于 NCBI 数据库上进行比对分析,寻找同源性高的序列。

4)数据处理。使用软件 Quantity One-1-D 软件分析 DGGE 分离图像。微生物群落多样性采用 Shannon 指数 ( $H$ ) 指数表示<sup>[20]</sup>,公式为  $H = -\sum P_i \lg P_i$ ,其中  $H$  的计算是基于 DGGE 条带的位置和强度。条带相似性系数可以用 Sorenson 配对比较相似性系数  $C_s$ <sup>[21]</sup>,公式为  $C_s = 2L_{AB}/(L_A + L_B) \times 100$ , $L_{AB}$  为泳道 A 与泳道 B 位置相同的条带数, $L_A$  为泳道 A 上的条带数, $L_B$  为泳道 A 上的条带数。经 PAST 软件统计分析得到系统样品的 Shannon 多样性指数( $H$ )数据及相似性系数  $C_s$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 反应器脱氮性能比较

A 反应器内氮转化关系如图 2 所示。在监测的 60 多天内,该反应器  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  出水质量浓度最高值为 10.78 mg/L,最低的几天低于检测限;出水  $\text{NO}_2^--\text{N}$  最高值为 6.8 mg/L,最低则低于检测限;出水  $\text{NO}_3^--\text{N}$  介于 15~25 mg/L;TN 则稳定在

25 mg/L 左右, $\text{NH}_4^+-\text{N}$  转化率稳定在 93% 以上, TN 的去除率则在 81%~87% 之间。

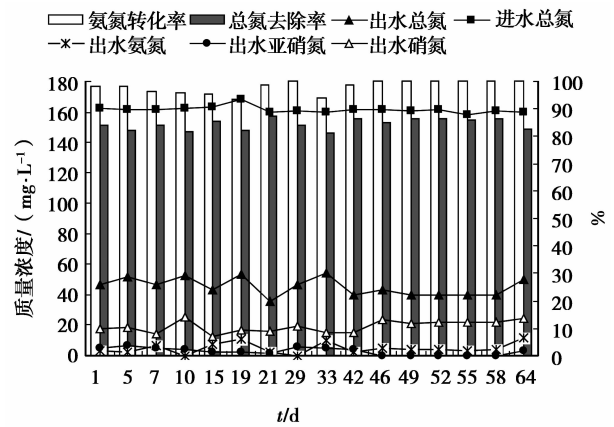


图 2 A 反应器内氮转化关系图

B 反应器内氮转化关系如图 3 所示。在试验过程中,B 反应器  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  出水质量浓度低于 2 mg/L,几乎检测不到  $\text{NO}_2^--\text{N}$ ,出水  $\text{NO}_3^--\text{N}$  介于 12~38 mg/L,出水 TN 稳定在 13~39 mg/L,系统  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  转化率高达 99% 以上, TN 去除率稳定在 84%~95% 范围。

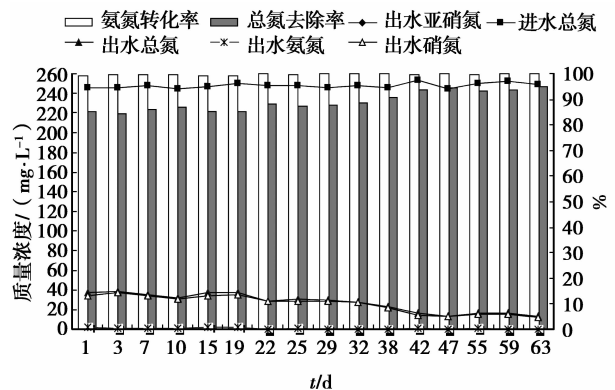


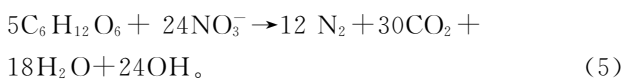
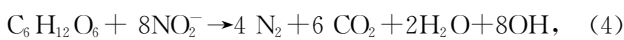
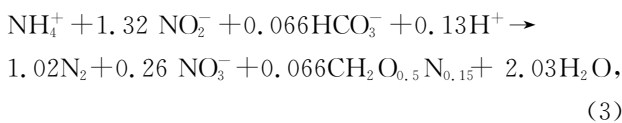
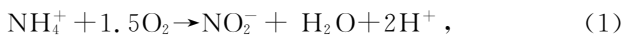
图 3 B 反应器内氮转化关系图

DO 对 SBBR 单级自养脱氮系统的脱氮性能和运行稳定性有重要影响。之前的研究结果显示,A 反应器 DO 控制在 2.0~2.5 mg/L (曝气)/0.2~0.4 mg/L (停曝气)时,系统脱氮效果最佳<sup>[16]</sup>。而在相同的 DO 条件下,B 反应器  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  转化率为 77%~90%, TN 去除率仅为 46%~57%,出水  $\text{NO}_3^--\text{N}$  较高;降低 DO 至 1.4~1.7 mg/L (曝气)/0.2~0.4 mg/L (停曝气),经一段时间的培养,B 反应器运行稳定且脱氮性能大幅提高。

## 2.2 反应器脱氮途径分析

A、B反应器均存在多种脱氮途径,笔者重点考虑亚硝化-厌氧氨氧化和传统硝化反硝化2个主要的脱氮途径,结果如表2所示。A反应器以亚硝化-厌氧氨氧化自养脱氮占主导作用,为90.7%,传统反硝化途径仅占3.73%,数据来源于课题组前期对单级自养脱氮系统脱氮途径的研究<sup>[22]</sup>。

B反应器存在的脱氮过程如下<sup>[23]</sup>:



反硝化的C/N( $\eta$ )与微生物的细胞产率系数 $Y_c$ 的关系<sup>[12]</sup>如下:

$$\eta_1 = \text{COD} / \text{NO}_3^- - \text{N} = 2.857 / (1 - 1.628Y_c), \quad (6)$$

$$\eta_2 = \text{COD} / \text{NO}_2^- - \text{N} = 1.714 / (1 - 1.628Y_c). \quad (7)$$

以葡萄糖为电子供体时,异养反硝化菌的细胞产率系数 $Y_c \approx 0.15$ <sup>[24]</sup>。由此可得, $\eta_1 \approx 3.8$ , $\eta_2 \approx 2.3$ 。其中式(2) $\text{NO}_2^-$ 被氧化为 $\text{NO}_3^-$ 的量忽略不计,这是一方面,鉴于好氧氨氧化菌和亚硝酸盐氧化菌的氧饱和系数不同,DO在0.5~1.7 mg/L的范围内有利于亚硝态氮的积累<sup>[25]</sup>;另一方面,间歇曝气也有利于亚硝态氮的积累。Pollice等<sup>[26]</sup>研究了充氧方式对序批式反应器硝化性能影响,结果表明:连续曝气保持DO在2.0 mg/L以上时,亚硝酸盐和硝酸盐同时积累;间歇曝气(每20 min曝气10 min)使DO在曝气时达到2.0 mg/L,停止曝气5 min后降至0.01 mg/L,亚硝酸盐得到积累,而硝酸盐产量很少。Kornaros等<sup>[27]</sup>也证实周期性缺氧对AOB菌没有明显的影响,但严重抑制NOB菌的生长,并且抑制程度与缺氧时间成正比。本研究DO控制在1.4~1.7 mg/L,曝停比为2 h:2 h,实验条件有利于将反应控制在亚硝态阶段。

根据式(1)~式(7),从COD、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和TN之间量的变化关系,结合质量平衡原理,理论推导B系统2种脱氮途径在系统氮去除中所占比例(见表2),其中亚硝化-厌氧氨氧化自养脱氮脱氮途径占50.78%,传统硝化反硝化途径对TN去除率占49.22%。

表2 A、B系统内稳定阶段各脱氮途径所占比例

反应器	亚硝化-厌氧氨氧化/ %	传统反硝化 脱氮/ %	其他/ %
A	87.26	6.02	6.72
B	50.78	49.22	—

单级自养脱氮工艺在不投加有机碳源的条件下利用亚硝酸细菌与厌氧氨氧化菌的协同作用实现 $\text{NH}_4^+$ 的去除,A反应器中不断有细菌死亡,反硝化菌仍然可以利用这些死细菌进行异养反硝化,把单级自养脱氮系统的 $\text{NO}_2^-$ 转化为 $\text{NO}$ 、 $\text{NO}_2$ 和 $\text{N}_2\text{O}$ 等,并从中获得能量使自身得到增殖。与ANANMMOX菌相似,反硝化菌也需要在缺氧的环境下生长。因此,A反应器中部分 $\text{NH}_4^+$ 可能是通过传统硝化反硝化途径去除。B反应器中由于进水含有机碳源,异养菌增殖并与ANANMMOX菌竞争生存空间,使得ANANMMOX对TN去除贡献率降低,反硝化作用得以强化。

## 2.3 反应器微生物群落结构比较

DGGE图像中,每条条带代表一种不同的微生物,条带越多,表明系统中微生物种群结构越复杂,反之则越简单,因此,在一定程度上条带的多寡可以反映系统中微生物种群的多样性程度。Shannon多样性指数( $H$ )是反映丰富度和均匀度的综合指标;相似性系数 $C_s$ 反应了样品间的相似程度。一般而言, $H$ 值越大,物种多样性越丰富; $C_s$ 值越大,2个样品间相似程度越高。DGGE图谱及统计分析结果分别见图4、表3、表4,其中 $A_1$ 、 $A_2$ 分别代表A反应器的活性污泥、生物膜样品, $B_1$ 、 $B_2$ 分别代表B反应器的活性污泥、生物膜样品。

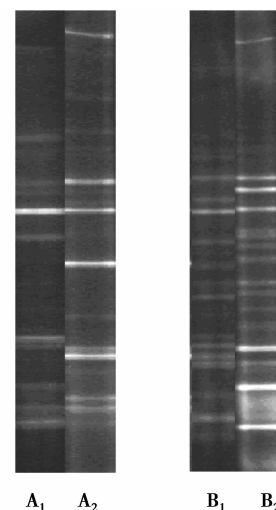


图4 PCR产物的DGGE图谱

表 3 基于 Shannon 指数( $H$ )的微生物多样性

样品	活性污泥		生物膜	
	条带数	Shannon index ( $H$ )	条带数	Shannon index ( $H$ )
A(无机废水)	14	2.374	18	2.513
B(人工合成有机废水)	16	2.449	24	2.928

表 4 DGGE 图谱的相似性矩阵

样品	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>
A <sub>1</sub>	100%			
A <sub>2</sub>	50.0%	100%		
B <sub>1</sub>	46.7%	52.9%	100%	
B <sub>2</sub>	42.15%	61.9%	70%	100%

从图 4 可以看出,与 A 反应器相比,B 反应器微生物群落结构发生了较大变化。A 反应器中活性污泥样品和生物膜样品条带数分别为 14 和 18 条,Shannon 多样性指数( $H$ )分别为 2.374、2.513;B 反应器分别为 16 和 24 条,Shannon 多样性指数( $H$ )分别为 2.449、2.928。这一结果表明有机碳源使得 B 反应器微生物更加丰富,尤其是生物膜。由于 A 反应器进水不含有有机碳源,系统中异养菌在与自养菌竞争中处于劣势,其微生物结构相对简单。B 反应器 COD 的去除率稳定在 90%左右,传统反硝化途径所占比例较 A 反应器大幅提高,但亚硝化-厌氧氨氧化途径仍占主导地位,表明有机碳源的存在,使得系统中异养菌大量增殖,形成一个好氧硝化菌、厌氧氨氧化菌和异养反硝化菌共存的系统,微生物群落结构变得复杂。而生物膜结构使得反应基质和 DO 在其内部纵向分层分布,有利于形成好氧与厌氧共存的微环境,为微生物的生长提供有利的条件,使得膜系统内的微生物种类和种群数量都大大提高。

A 反应器内活性污泥(A<sub>1</sub>)和生物膜(A<sub>2</sub>)间相似性系数 Cs 值为 50%,而 B 反应器内二者(B<sub>1</sub>和 B<sub>2</sub>)的 Cs 值更高,为 70%。生物膜结构有利于基质和 DO 在生物膜内梯度分布,形成不同的微环境,使得活性污泥和生物膜之间微生物种群结构存在差异。A 反应器为无机系统,微生物群落结构相对简单,在活性污泥和生物膜外部以 AOB 菌为主,内部 ANAMMOX 菌占优,表现为群落结构差异明显。B 反应器有机碳源的存在,异养菌增殖,AOB 菌、好氧反硝化菌、异养反硝化菌及 ANAMMOX 菌在活

性污泥和生物膜内按各自的生态位竞争生存空间,两者表现为较高的相似性。A、B 反应器活性污泥(A<sub>1</sub>和 B<sub>1</sub>)间的 Cs 为 46.6%,生物膜(A<sub>2</sub>和 B<sub>2</sub>)间的 Cs 指数为 61.9%。有机碳源的加入使得 B 反应器异养菌增殖,活性污泥中部分自养菌被“淘洗”;而由于生物膜分层结构形成不同的微环境,在生物膜表面以好氧异养菌、好氧亚硝化菌为主,生物膜内部的厌氧区 ANAMMOX 菌占主导地位,因此,尽管与 A 反应器相比,B 反应器生物膜微生物种类增加最为明显,但与活性污泥相比,Cs 值较高。

## 2.4 ANAMMOX 菌的验证

为验证单级自养脱氮系统在有机碳源条件下,ANAMMOX 菌可以和异养菌竞争,并占据一定的生态位,采用巢式 PCR-DGGE 技术对反应器中与 ANAMMOX 菌亲缘关系较近的 *planctomycetes* 进行研究,实验结果见图 5。从图上可以看出,与 A 反应器相比,B 反应器菌群结构发生了变化,多样性增加,表明有机碳源的存在有利于与 *planctomycete*.sp 相似性较高的 ANAMMOX 菌群的富集;条带 a 和 b 位置为 A、B 反应器所共有,但亮度有所不同;经 TA-克隆,测序比对,发现条带 a、b 均为 *planctomycetes* 属的 ANAMMOX 细菌,其中条带 a 与 Uncultured *planctomycete* clone Amx-PO55-10 (GQ356057) 相似性达 98%,与 *Candidatus Brocadia sp* (HM769652) 相似性达 97%;条带 b 与 Uncultured anaerobic ammonium-oxidizing bacterium (AB164477) 相似性达 100%。

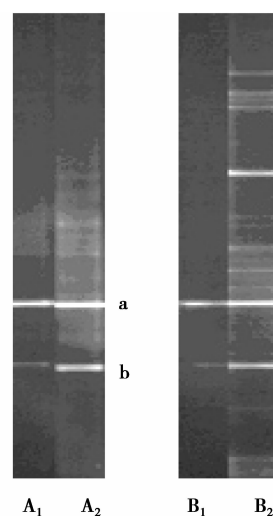


图 5 巢式 PCR 产物的 DGGE 图谱

### 3 讨论

目前,尽管已有单级自养脱氮工艺应用于废水处理实际工程的尝试<sup>[28]</sup>,但完全意义上应用于废水生物脱氮还存在许多问题,特别是有机物对ANAMMOX菌的干扰。到目前为止,针对厌氧氨氧化工艺的研究大多是在无机碳源条件下进行的。有关ANAMMOX与反硝化协同脱氮作用研究还较少,因反应器类型、进水条件等的不同,研究结论也不尽一致。

理论上,有机碳源的加入,对自养脱氮系统厌氧氨氧化菌存在两方面的制约作用。一方面,有机碳源存在,使得系统好氧异养菌繁殖,抑制亚硝化菌的活性。Mosquera-Corral等<sup>[29]</sup>在对SHARON工艺的研究中发现,当C/N从0.2增加到0.3时, $\text{NO}_2^-$ -N的积累率从60%降至20%。另一方面,从热动力学角度看,与厌氧氨氧化相比,反硝化反应更利于进行,并且厌氧氨氧化菌因其产率低、生长速率慢等特点,缺乏竞争力;同时反硝化菌与ANAMMOX菌竞争底物——亚硝酸盐,导致厌氧氨氧化菌活性降低。Chamchoi等<sup>[10]</sup>发现当UASB反应器进水C/N比为0.9,COD为100~200 mg/L时,ANAMMOX菌在与异养反硝化菌竞争中占优,随着COD质量浓度的增加,异养菌大量增殖,当反应器进水COD为300 mg/L时ANAMMOX菌失活,甚至消失。Molinuevo等<sup>[5]</sup>用半连续UASB反应器处理猪场粪便废水,发现有机物的存在会导致ANAMMOX性能下降;当进水COD大于292 mg/L时,ANAMMOX菌完全受到抑制。本研究采用SBBR反应器,进水COD质量浓度245~295 mg/L, $\text{NH}_4^+$ -N质量浓度240~255 mg/L,C/N比为1.2时,控制DO为1.5 mg/L左右进行间歇曝气时,可达到同时脱氮除碳的效果,此时通过亚硝化-ANAMMOX途径去除的 $\text{NH}_4^+$ 仍占主导地位。因此,COD对ANAMMOX菌抑制的质量浓度应该更高,有关COD对厌氧氨氧化菌的抑制水平有待进一步研究。

目前反硝化与厌氧氨氧化耦合脱氮的研究多是基于简单的计量学模型或质量平衡法估算的,但是该系统微生物复杂,代谢类型多样,计量学模型结果往往偏差较大;Wang等<sup>[30]</sup>在处理垃圾渗滤液时,发现在进水COD平均值554 mg/L, $\text{NH}_4^+$ -N质量浓度634 mg/L,C/N比为0.87时,可实现同步亚硝化、厌氧氨氧化与反硝化,此时氨氮去除率为80%,COD去除率仅为28%,其中TN通过亚硝化-厌氧

氨氧化去除的占68%,8%的TN通过异养反硝化去除的,异养反硝化对COD的去除占COD去除的23%,5%通过其他异养菌去除的。吕永涛等<sup>[31]</sup>研究了不同有机物浓度对厌氧氨氧化活性及脱氮性能的影响,结果表明:当有机物浓度过高时,ANAMMOX对TN去除贡献率持续降低,反硝化不断得到强化。本研究关于B反应器脱氮途径研究中,异养反硝化脱氮途径结果可能略偏大,自养脱氮途径所占比例可能偏小,这是由于一方面COD的去除除异养反硝化途径外,还可能还存在其他异养菌的作用;另一方面系统中存在亚硝化氧化反应,传统硝化反硝化较亚硝化-反硝化所消耗的碳源较多。不过通过A、B反应器脱氮途径对比,可以发现:B反应器ANAMMOX途径对总氮去除的贡献率有所降低,但仍占主导地位。Güven等<sup>[8]</sup>认为当C/N比大于1时,ANAMMOX菌将失去其与异养反硝化菌竞争的优势。本研究C/N比为1.2,此时具有ANAMMOX功能的 *planctomycete*. sp 菌得到富集,与异养反硝化菌既竞争中仍占优势地位。反硝化异养菌以厌氧氨氧化副产物 $\text{NO}_3^-$ -N为电子受体,两者协同作用,使B反应器变现出优越的脱氮除碳性能。

分子生物学研究表明,含有机碳源的系统内微生物群落结构更加丰富,生物膜尤为明显。从DGGE图谱上,可以看到某些条带是A、B反应器共有的,某些仅出现在A或B反应器中,它们在系统中的作用如何,还有待进一步研究。目前关于ANAMMOX与反硝化协同脱氮反应器内微生物种群变化研究还很少。Chen等<sup>[7]</sup>采用FISH技术对NRBC反应器功能性微生物的分析表明,AOB及好氧异养菌分布在生物膜表面,ANAMMOX菌和反硝化菌分布在SNAD生物膜内部。Xiao等<sup>[32]</sup>采用SBBR反应器处理垃圾渗滤液时,采用PCR-DGGE技术对微生物群落研究结果表明,AOB、NOB,好氧反硝化菌、异养反硝化菌及ANAMMOX菌在生物膜内共存。诸多研究结果均表明,相比于活性污泥絮体,生物膜结构有利于实现ANAMMOX及与反硝化协同脱氮。COD浓度是影响ANAMMOX菌与反硝化菌竞争基质的重要因素之一,对不同COD浓度下微生物种群演替的研究或许可为ANAMMOX与反硝化协同脱氮反应器启动及运行提供理论依据。

目前,关于ANAMMOX与反硝化的协同脱氮研究多见于理论研究、序批式实验,对有机环境下自养脱氮系统的稳定性、反硝化存在对脱氮性能的影响

响,以及反硝化菌与厌氧氨氧化菌之间竞争、协同关系,还有待于进一步研究。

## 4 结 论

1) 单级自养脱氮系统在进水  $\text{NH}_4^+$ -N 质量浓度为 160 mg/L, DO 控制为 2.0~2.5 mg/L (曝气)/0.2~0.4 mg/L (停曝气) 条件下, 氨氮转化率稳定在 93% 以上, 总氮的去除率则在 81%~87% 之间; 当进水 COD 质量浓度 245~295 mg/L,  $\text{NH}_4^+$ -N 质量浓度 240~255 mg/L, C/N 比为 1.2 时, 控制 DO 为 1.4~1.7 mg/L (曝气)/0.2~0.4 mg/L (停曝气), 这时  $\text{NH}_4^+$ -N 转化率高达 99% 以上, TN 去除率介于 84%~95%, COD 去除率达 90% 以上, 可达到同时脱氮除碳的效果。

2) 当进水不含有有机碳源时, 系统主要通过亚硝化-ANAMMOX 途径去除氨氮; 而低碳氮比的进水, 使得系统自养脱氮途径去除氨氮的比例下降, 传统硝化反硝化途径得到强化, 异养反硝化菌与 ANAMMOX 菌为竞争协作关系。

3) 与无机系统相比, 含有有机碳源的系统内微生物群落结构更为复杂, 其中生物膜表现得尤为明显, 这也表明生物膜结构更有利于形成一个厌氧与好氧共存的微环境, 在一个反应器内实现全部脱氮过程。

### 参 考 文 献:

- [1] Jetten M S M, Strous M, van de Pas-Schoonen K T, et al. The anaerobic oxidation of ammonium[J]. FEMS Microbiology Review, 1999, 22(5): 421-437.
- [2] Dong X, Tollner E W. Evaluation of anammox and denitrification during anaerobic digestion of poultry manure[J]. Bioresource Technology, 2003, 86(2): 139-145.
- [3] Sabumon P C. Anaerobic ammonia removal in presence of organic matter: a novel route [J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, 149(1): 49-59.
- [4] Isaka K, Date Y, Sumino T, et al. Growth characteristic of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria in an anaerobic biological filtrated reactor[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 70(1): 47-52.
- [5] Molinuevo B, García M C, Karakashev D, et al. Anammox for ammonia removal from pig manure effluents; Effect of organic matter content on process performance [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(7): 2171-2175.
- [6] Slijkers A O, Derwort N, Gomez J L C, et al. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor[J]. Water Research, 2002, 36(10): 2475-2482.
- [7] Chen H H, Liu S T, Yang F L, et al. The development of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process in a single reactor for nitrogen removal [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(4): 1548-1554.
- [8] Güven D, Dapena A, Kartal B, et al. Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria [J]. Applied Environmental Microbiology, 2005, 71(2): 1066-1071.
- [9] Pathak B K, Kazama F, Saiki Y, et al. Presence and activity of anammox and denitrification process in low ammonium-fed bioreactors [J]. Bioresource Technology, 2007, 98(11): 2201-2206.
- [10] Chamchoi N, Nitorisavut S, Schmidt J E. Inactivation of ANAMMOX communities under concurrent operation of anaerobic ammonium oxidation and denitrification [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(9): 3331-3336.
- [11] Kartal B, Rattray J, van Niftrik L A, et al. *Candidatus "Anammoxoglobus propionicus"* a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2007, 30(1): 39-49.
- [12] 周少奇. 厌氧氨氧化与反硝化协同作用化学计量学分析[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2006, 34(5): 1-4.  
ZHOU Shaoqi. Stoichiometric analysis of combined reaction of anaerobic ammonia oxidation with denitrification[J]. Journal of South China University of Technology: Natural Science Edition, 2006, 34(5): 1-4.
- [13] 周少奇, 张鸿郭. 垃圾渗滤液厌氧氨氧化与反硝化的协同作用[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2008, 36(3): 73-76.  
ZHOU Shaoqi, ZHANG Hongguo. Synergistic effect of anaerobic ammonium oxidation and denitrification of landfill leachate [J]. South China University of Technology: Natural Science Edition, 2008, 36(3): 73-76.
- [14] 李伙生, 周少奇, 孙艳波. 2 种 UASB 的 ANAMMOX 与反硝化协同作用对比研究[J]. 环境工程学报, 2010, 4(2): 247-251.  
LI Huosheng, ZHOU Shaoqi, SUN Yanbo. Comparative study of ANAMMOX-denitrification synergism in two UASB-reactors [J]. South China University of Technology: Natural Science Edition, 2010, 4(2): 247-251.
- [15] Ahn Y H, Hwang I S, Min K S. ANAMMOX and partial denitrification in anaerobic nitrogen removal from piggery waste[J]. Water Science and Technology,

- 2004, 49(56): 145-153.
- [16] 方芳, 杨国红, 郭劲松, 等. DO 和曝停比对单级自养脱氮工艺影响试验研究[J]. 环境科学, 2007, 28(9): 1975-1980.
- FANG Fang, YANG Guohong, GUO Jingsong, et al. Influence of DO and aeration/non-aeration ratio on one-step SBBR completely autotrophic nitrogen removal process [J]. Environmental Science, 2007, 28(9): 1975-1980.
- [17] 秦宇, 郭劲松, 方芳, 等. 溶解氧及曝停比对单级自养脱氮系统微生物群落结构的影响[J]. 环境科学, 2009, 30(2): 493-498.
- QIN Yu, GUO Jingsong, FANG Fang, et al. Effect of DO and aeration/non-aeration ratio on the microbial community structure in one-step SBBR completely autotrophic nitrogen removal process [J]. Environmental Science, 2009, 30(2): 493-498.
- [18] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3): 695-700.
- [19] Pynaert K, Smets B F, Beheydt D, et al. Start-up of autotrophic nitrogen removal Reactors via sequential biocatalyst addition [J]. Environmental Science and Technology, 2004, 38(4): 1228-1235.
- [20] Vivas A, Moreno B, Garcia-Rodriguez S, et al. Assessing the impact of composting and vermicomposting on bacterial community size and structure, and microbial functional diversity of an olive-mill waste[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(3): 1319-1326.
- [21] Gillian D, Speksnijder A G C L, Zwart G J M, et al. Genetic diversity of the biofilm covering *Montacuta ferruginosa* (Mollusca, Bivalvia) as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis and cloning of PCR amplified gene fragment coding for 16S rDNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(9): 3464-3472.
- [22] 杨国红, 方芳, 郭劲松, 等. 单级自养脱氮工艺氨氮去除途径研究[J]. 环境科学, 2009, 30(1):102-107.
- YANG Guohong, FANG Fang, GUO Jingsong, et al. Mechanism of ammonium removal in the completely Autotrophic nitrogen removal in one reactor process[J]. Environmental Science, 2009, 30(1):102-107.
- [23] 朱静平, 胡勇有, 闫佳. 有机碳源条件下厌氧氨氧化 ASBR 反应器中的主要反应[J]. 环境科学, 2006, 27(7): 1353-1357.
- ZHU Jingping, HU Yongyou, YAN Jia. Main reactions in anaerobic ammonium oxidation reactor under organic carbon condition [J]. Environmental Science, 2006, 27(7): 1353-1357.
- [24] Zhou S Q. Stoichiometry of biological nitrogen transformations in wetlands and other ecosystems [J]. Biotechnology Journal, 2007, 2(4):497-507.
- [25] Ruiz G, Jeison D, Chamy R. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration[J]. Water Research, 2003, 37(6): 1371-1377.
- [26] Pollice A, Tandoi V, Lestingi C. Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate[J]. Water Research, 2002, 36(10): 2541-2546.
- [27] Kornaros M, Dokianakis S N, Lybeatos G. Partial nitrification / denitrification can be attributed to the slow response of nitrite oxidizing bacteria to periodic anoxic disturbances [J]. Environmental Science and Technology, 2010, 44(19): 7245-7253.
- [28] Innerebner G, Insam H, Franke-whittle I H, et al. Identification of anammox bacteria in a full-scale deammonification plant making use of anaerobic ammonia exudation [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2007, 30(5): 408-412.
- [29] Mosquera-Corral A, González F, Campos J L, et al. Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(9): 3109-3188.
- [30] Wang C C, Lee P H, Kumar M, et al. Simultaneous partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification (SNAD) in a full-scale landfill-leachate treatment plant[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 175(1/2/3): 622-628.
- [31] 吕永涛, 陈祯, 吴红亚, 等. 有机物浓度对厌氧氨氧化脱氮性能影响试验研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(7): 1189-1192.
- Lü Yongtao, CHEN Zhen, WU Hongya, et al. Effect of organic substrate on nitrogen removal of ANAMMOX [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2009, 3(7): 1189-1192.
- [32] Xiao Y, Zeng G M, Yang Z Y, et al. Coexistence of nitrifiers, denitrifiers and Anammox bacteria in a sequencing batch biofilm reactor as revealed by PCR-DGGE[J]. Journal of Applied Microbiology, 2009, 106(2): 496-505.