

常温 ANAMMOX 工艺运行性能及功能菌研究

李 冬^{1*}, 邱文新¹, 张 男², 吴 迪¹, 曾涛涛³, 畅晓燕¹, 曾辉平¹, 张 杰^{1,3} (1.北京工业大学水质科学与水环境恢复工程北京市重点实验室, 北京 100124; 2.国电东北环保产业集团有限公司仙女河污水处理厂, 辽宁 沈阳 110005; 3.哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要: 通过改变进水基质浓度,对以火山岩为填料的常温上向流厌氧氨氧化生物滤池在不同基质浓度下的脱氮性能进行了研究.借助显微镜、电镜(SEM)观察对滤池内的微生物形态进行了分析,利用变性凝胶电泳(DGGE)和克隆测序等微生物方法,对 ANAMMOX 种属进行了鉴定.试验结果表明,常温条件下,厌氧氨氧化滤池在高、低不同基质下都能够保持较高的脱氮效果,其中 TN 去除负荷最高能够达到 2.99kgN/(m³·d),NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 最高去除率分别能够达到 99.4%和 98.8%;显微镜、电镜观察显示:滤池下部的微生物种类更丰富,ANAMMOX 菌在滤池的中部和上部的比例更高;16SrRNA 克隆测序鉴定结果表明:滤池中的 ANAMMOX 菌为 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*,其对温度和基质浓度都有着较宽的适应性.

关键词: 厌氧氨氧化; 自养生物脱氮; 扫描电镜; 变性凝胶电泳

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2013)01-0056-07

Study on performance of ANAMMOX reactor and the functional bacteria at room temperature. LI Dong^{1*}, QIU Wen-xin¹, ZHANG Nan², WU Di¹, ZENG Tao-tao³, CHANG Xiao-yan¹, ZENG Hui-ping¹, ZHANG Jie^{1,3} (1.Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2.Goudian Dongbei Environmental Protection Industry Group Co., Ltd Xiannvhe Wasterwater Treatment Plant, Shengyang 110005, China; 3.State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China). *China Environmental Science*, 2013,33(1): 56~62

Abstract: At room temperature, by changing the substrate concentration of inflow, the biological nitrogen removal of up-flowing ANAMMOX biofilter loading volcanic rock filter at different ammonium concentrations was investigated. techniques of microscope and scanning electron microscopy (SEM) were utilized to analyze microorganisms form, denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), cloning and sequencing were used to identify species of ANAMMOX. The results of operation revealed that, at room temperature, the up-flow ANAMMOX biofilter had the ability to maintain high capacity of biological nitrogen removal under high and low substrate concentrations. The maximum total nitrogen removal load was up to 2.99kgN/(m³·d), and the maximum removal rate of NH₄⁺-N and NO₂⁻-N was 99.4% and 98.8% respectively. Microscope and SEM show that the species of microorganisms is much richer at the bottom of biofilter, however, the proportion of ANAMMOX is much higher in the middle and upper of biofilter. The sequence of ANAMMOX 16SrRNA identification revealed that *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* occurred in the up-flowing ANAMMOX biofilter, which had wide adaptability to different temperature and substrate concentrations.

Key words: anaerobic ammonium oxidation; autotrophic biological nitrogen removal; scanning electron microscopy; denaturing gradient gel electrophoresis

厌氧氨氧化(ANAMMOX)是以 NO₂⁻-N 为电子受体,以 CO₂ 为主要无机碳源,在缺氧情况下,将 NH₄⁺-N 氧化成 N₂ 的生物反应过程^[1].相比较传统工艺,ANAMMOX 工艺具有污泥产量少,无需曝气、无需外加有机碳源等优点.在自然界中,ANAMMOX 菌分布非常广泛,并且对于温度、

收稿日期: 2012-04-18

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-10-0008);国家科技重大专项-水专项(2012ZX07202-005);北京工业大学第九届研究生科技基金项目(ykj-2011-4764)(ykj-2011-4765)(ykj-2011-4766)

* 责任作者, 教授, lidong2006@bjut.edu.cn

盐度以及基质浓度都有着较宽的适应性^[2-4]。但是现阶段 ANAMMOX 成功的工程应用案例还仅限于处理污泥消化上清液、制革废水以及垃圾渗滤液等高温高氨氮废水。ANAMMOX 工艺如果能够在更低的温度和基质浓度下保持高效的脱氮性能,完全可以运用于常温低氨氮污水^[5-6]。

本试验考察了接种 ANAMMOX 菌启动的上向流厌氧氨氧化生物滤池在常温、高、低不同基质下的脱氮性能;对此运行条件下 ANAMMOX 菌数量和活性沿滤池高度的分布情况,微生物形态进行了分析;并对 ANAMMOX 菌种属进行了鉴定,以探索 ANAMMOX 工艺用以处理常温低氨氮污水的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验装置

试验装置如图 1 所示,由有机玻璃制成,内径 185mm,高 2.0m,总容积 45.7L,有效容积 17.4L。底部设有 50mm 的河卵石承托层,柱内装填平均粒径为 2~3mm 火山岩,装填高度 1.8m,滤池壁上每 100mm 设有一个取样口,水流方向为上向流,最上端设有一个出水口。

1.2 实验方案和用水

直接接种在高基质浓度下培养的 ANAMMOX 菌^[7]。接种前,原有的 ANAMMOX 生物滤池总氮去除负荷为 2.44kgN/(m³·d)。实验在

常温 T(18.5~24.4℃),pH7.25~7.70 下,采用高基质低流量的运行方式对其启动,启动成功后按照氨氮:亚硝酸盐=1:1.3 的方式逐步降低进水总氮的浓度,最终由高基质、低流量转为低基质、高流量下运行。

实验用水采用人工配水的方式,用自来水以 1:1.3 配制(NH₄)₂SO₄、NaNO₂,每次配水总体积为 1415L,同时外加 10L 左右的 A/O 二级出水^[8]。实验室测得在 25℃ 下自来水中的溶解氧为 6~8mg/L,且试验过程中没有溶解氧的吹脱,会造成部分 NO₂⁻-N 氧化成 NO₃⁻-N。主要运行状况和进水水质指标如表 1 所示。

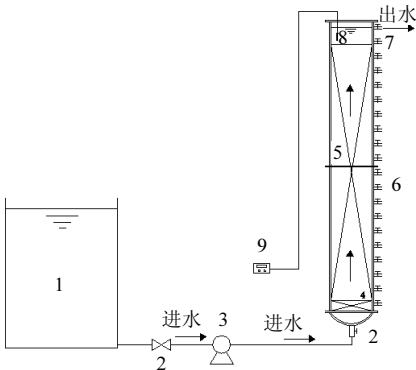


图 1 试验装置

Fig.1 Schematic diagram of the experimental equipment
1.水箱 2.阀门 3.蠕动泵 4.承托层 5.滤料层 6.取样口 7.出水口 8.探头
9.在线监测仪

表 1 主要运行工况和进水水质指标

Table 1 The main run status and the index of influent water characteristics

阶段	时间(d)	HRT(h)	NH ₄ ⁺ -N(mg/L)	NO ₂ ⁻ -N(mg/L)	NO ₃ ⁻ -N (mg/L)
启动阶段	0~58	1.54~1.16	156.8~223.8	204.6~309.0	11.3~24.5
降基质阶段	59~95	1.16~0.59	79.2~170.5	114.6~227.5	4.1~10.6
第一低基质运行阶段	96~140	0.59~0.53	79.1±5.2	106.8±7.5	5.8±1.8
第二低基质运行阶段	141~170	0.53~0.36	45.8±7.9	67.8±6.4	5.8±3.4

1.2 分析方法

1.2.1 常规项目分析方法 水样分析项目测定中 NH₄⁺-N 采用纳氏试剂光度法,NO₂⁻-N 采用 N-(1-萘基)乙二胺光度法,NO₃⁻-N 采用紫外分光光度法^[9];pH 值及水温的测定采用 WTW pH/Oxi 340i 手提式 pH、溶解氧仪。

1.2.2 微生物分析方法 从反应器滤层上、中、下部位的滤料表面取生物膜,进行革兰氏染色,采用普通光学显微镜油镜放大 1000 倍对微生物进行观察。另外,还对生物膜进行扫描电镜观察:取生物膜 0.5g,戊二醛固定 4h(4℃,2.5%,pH7.8),磷酸缓冲溶液(PBS,0.1mol/L)水洗 3 次,每次 10min;

用 30%,50%,70%,90%,无水乙醇脱水,每次 15min;通过无水乙醇、乙酸异戊酯为 1:1 的溶液置换,及乙酸异戊酯再一次置换,每次 15min;真空干燥,喷金,扫描电镜观察。

DGGE、克隆测序试验方法:在反应器滤层上、中、下部位分别取 200mL 含生物膜的水样,12 000×g,4℃ 离心 10min,收集生物膜沉淀,进行细菌总 DNA 提取.PCR 引物采用 Amx368-GC 和 Amx820,特异性扩增 ANAMMOX 菌 16SrDNA 基因.PCR 反应体系的组成为:总细菌 DNA 模板 1.0μL,10×Buffer 2.5μL,dNTPs (2.5mmol/L) 2.0μL,Amx368-GC 引物和 Amx820 引物 (10μmol/L) 各 1.0μL,Ex Taq 酶 (5U/μL) 0.125μL,补水至终体积为 25μL.PCR 扩增条件为:94℃,5 min;94℃,40s, 55℃,40s,72℃,1min,35 个循环;72℃,10min.PCR 纯化回收产物通过 D-Code System(Bio-Rad 公司)进行 DGGE 电泳.电泳条件:8%聚丙烯酰胺凝胶浓度,变性梯度范围为 30%~60%,电泳缓冲液为 1×TAE,温度 60℃,120V 电压下电泳 8h.电泳结束后,凝胶进行银染,通过数码相机获取图像^[10].对厌氧氨氧化 DGGE 凝胶上条带进行切胶溶于 100μL 1×TE 中,4℃,16h.以此为模板,相应不带 GC 夹的 BSF338/BSR518 及 Amx368/Amx820 为引物,扩增细菌及 ANAMMOX 菌 16SrRNA 片段.将纯化回收的 PCR 产物连接到载体 pMD19-T(TaKaRa)上,并转化到感受细胞 Escherichia coli DH5a(TA 天根,中国)中.阳性克隆送交上海生工生物公司(中国)进行测序。

2 结果与讨论

2.1 厌氧氨氧化生物滤池脱氮性能研究

2.1.1 总体运行工况分析 反应器运行可分为 4 个阶段,首先,高基质启动阶段(0~58d),初期为了尽快提高 ANAMMOX 活性,以及防止游离的 ANAMMOX 菌随水流流失,采取高氨氮低流量的启动方式.起初总氮去除负荷并不高,仅 1.49kgN/(m³·d),为装填前的 64%.在第 30d 时总氮去除负荷已达 1.98kgN/(m³·d),为接种前的 81%,说明厌氧氨氧化生物滤池启动成功.在第 38d 时

由于天气降温,温度由原来的 19.2℃突然降为 14.5℃,总氮去除负荷随之降为 1.26kgN/(m³·d),为降温前的 61%.随着气温回升,总氮去除负荷也在稳步提高,在第 49d,总氮去除负荷已恢复到原有水平.由此可见,接种 ANAMMOX 菌是快速启动厌氧氨氧化生物滤池的重要方法,采用高氨氮低流量启动方式能够保证菌种活性的快速提高和减少生物量的流失。

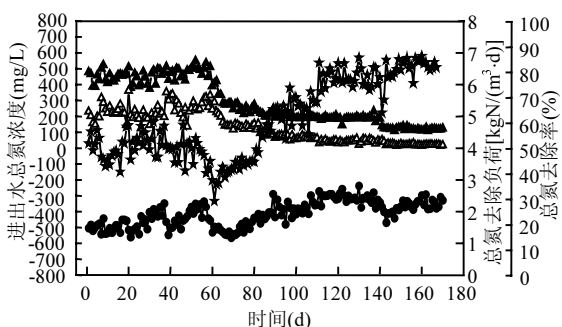


图2 不同阶段下氮素变化

Fig.2 The influent substrate、the removal rate and load of total nitrogen

▲ 进水总氮浓度 △ 出水总氮浓度
● 总氮去除负荷 ★ 总氮去除率

变基质阶段(58~95d),按照氨氮和亚硝酸盐 1:1.3 的比例逐步降低进水总氮的浓度,同时逐步提高进水流量.氨氮浓度从 187.92mg/L 降为 79.04mg/L,进水水力负荷由 2.97m³/(m²·d)提高到 4.95m³/(m²·d).总氮去除负荷经历了由 2.14kgN/(m³·d)降低为 1.26kgN/(m³·d),而后再升高为 2.06kgN/(m³·d)的过程.总氮去除率经历了 47.48%降低为 29.44%,而后增加到 66.52%.在逐步降低浓度的初期总氮去除负荷和总氮去除率同时出现降低的趋势,随着时间的推移以及进水基质浓度趋于稳定,总氮去除负荷和总氮去除率又得到了恢复.说明基质浓度的变化会导致厌氧氨氧化生物活性变化,ANAMMOX 菌对于基质浓度变化表现出逐步适应的过程。

第一低基质运行阶段(96~140d)保持第二阶段降低到的最低浓度(79.1±5.2)mg/L 不变,水力负荷由 4.95m³/(m²·d)提高到 5.65m³/(m²·d).期间

最大总氮去除负荷达到 2.99kgN/(m³·d),最高总氮去除率达到 88.80%.

第二低基质运行阶段(141~170d),在氨氮为(45.8±7.9)mg/L 水平下,水力负荷最高达到 8.22m³/(m²·d),厌氧氨氧化生物滤池仍能够保持高效稳定的去除效果,最大总氮去除

负荷为 2.54kgN/(m³·d),最大总氮去除率达到 82.6%.此阶段 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 最高去除率分别达到 99.4%和 98.8%,与现有的研究水平相当,但是平均总氮去除负荷可达到(2.26±0.28)kgN/(m³·d),显然比现阶段研究水平要高得多(表 2).

表 2 低基质浓度下 ANAMMOX 的不同反应器脱氮性能对比

Table 2 Overview of nitrogen removal performance of different ANAMMOX reactor fed with low strength substrate					
反应器	污泥类型	温度(℃)	$\eta(\text{NH}_4^+\text{-N})(\%)$	$\eta(\text{NO}_2^-\text{-N})(\%)$	LR[kgN/(m ³ ·d)]
SBR ^[11]	颗粒污泥	35	94.5	97.4	LR(NH ₄ ⁺ -N)=0.0114,LR(NO ₂ ⁻ -N)=0.0113
生物滤池	生物膜	18.5~24.4	99.4	98.8	LR(TN)=2.26±0.28
UFB ^[12]	生物膜	30	100	93	LR(TN)=0.17

注: $\eta(\text{NH}_4^+\text{-N})(\%)$ 为NH₄⁺-N去除率; $\eta(\text{NO}_2^-\text{-N})(\%)$ 为NO₂⁻-N去除率;LR为容积去除负荷;LR(NH₄⁺-N)为NH₄⁺-N容积去除负荷;LR(NO₂⁻-N)为NO₂⁻-N容积去除负荷;LR(TN)为总氮容积去除负荷

在保证进水负荷基本不变的条件下, NH₄⁺-N 浓度由(187.9±35.9)mg/L 降低到(45.8±7.9)mg/L、水力负荷由 1.90m³/(m²·d) 提高到 7.95m³/(m²·d),虽然生存环境逐渐对 ANAMMOX 菌不利,总氮容积去除负荷却并没有因此而降低,说明厌氧氨氧化生物滤池具有良好的生物截留能力,能够有效的减少 ANAMMOX 菌的流失,利用厌氧氨氧化生物滤池处理常温、低氨氮城市生活污水存在着可行性.

2.1.2 三氮去除关系研究 现在国际较为认可的经验反应式中亚硝态氮去除量/氨氮去除量 $[\rho_{\Delta}(\text{NO}_2^-\text{-N})/\rho_{\Delta}(\text{NH}_4^+\text{-N})]=1.32$,硝态氮生成量/氨氮去除量 $[\rho_{\Delta}(\text{NO}_3^-\text{-N})/\rho_{\Delta}(\text{NH}_4^+\text{-N})]=0.26$ ^[11], 实验中三氮去除比例分析如图 3,拟合直线的斜率代表了三氮去除比例,其中 $\rho_{\Delta}(\text{NO}_2^-\text{-N})/\rho_{\Delta}(\text{NH}_4^+\text{-N})=1.30$, $\rho_{\Delta}(\text{NO}_3^-\text{-N})/\rho_{\Delta}(\text{NH}_4^+\text{-N})=0.20$.以上两个比值均略低于文献报道,一方面可能是由于进水含有残留溶解氧(溶解氧达到 6~8mg/L),使得厌氧氨氧化生物滤池中含有部分硝化细菌,另一方面 A/O 二级出水中含有的以及菌体自身死亡产生的有机质为反硝化细菌也提供了生存环境,使部分 NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 还原成 N₂,导致了 $\rho_{\Delta}(\text{NO}_2^-\text{-N})/\rho_{\Delta}(\text{NH}_4^+\text{-N})$ 和 $\rho_{\Delta}(\text{NO}_3^-\text{-N})/\rho_{\Delta}(\text{NH}_4^+\text{-N})$ 的降低.

由图 3 可知, $R^2[\rho_{\Delta}(\text{NO}_2^-\text{-N})/\rho_{\Delta}(\text{NH}_4^+\text{-N})]=$

0.99, $R^2[\rho_{\Delta}(\text{NO}_3^-\text{-N})/\rho_{\Delta}(\text{NH}_4^+\text{-N})]=0.98$,说明上述数据离散程度较小.拟合关系直线斜率所代表的三氮去除比例关系以及较高的 R² 值,证明了 ANAMMOX 菌为厌氧氨氧化生物滤池绝对优势菌种以及其活性的稳定.

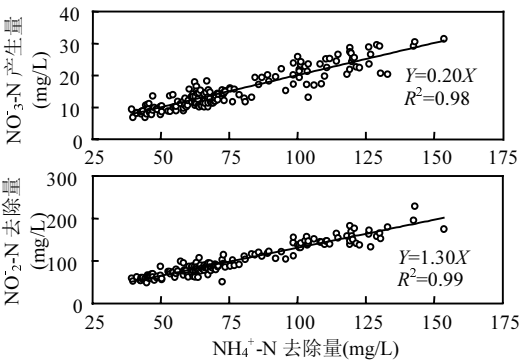


图 3 不同阶段下氮素变化

Fig.3 The influent substrate、the removal rate and load of total nitrogen
○ 比例关系 — 拟合关系

2.1.3 沿程氮素变化研究 在上向流厌氧氨氧化生物滤池中,沿滤池高度 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 不断被消耗,同时伴随着 N₂ 和少量 NO₃⁻-N 的产生.图 4 为 NH₄⁺-N 浓度分别为 77.62mg/L 和 55.85mg/L 下氮素沿滤池高度变化情况.由图 4 可知,当进水经过滤池高度 H=115cm 时,NH₄⁺-N 和

NO_2^- -N 的去除率分别已达到 86.86%、82.09% 和 91.31%、83.26%,TN 去除率分别达到 80.37% 和 71.87%。在进水经过滤池高度 $H=115\text{cm}$ 时,TN 去除量占到整个滤池 TN 去除量的 90.03% 和 89.86%。由此可知,运行一段时间后厌氧氨氧化生物滤池,ANAMMOX 菌的活性和数量沿滤池高度分布是不均匀的,在进水侧滤池中下部分 ($H=0\sim115\text{cm}$)ANAMMOX 的数量和活性较高。

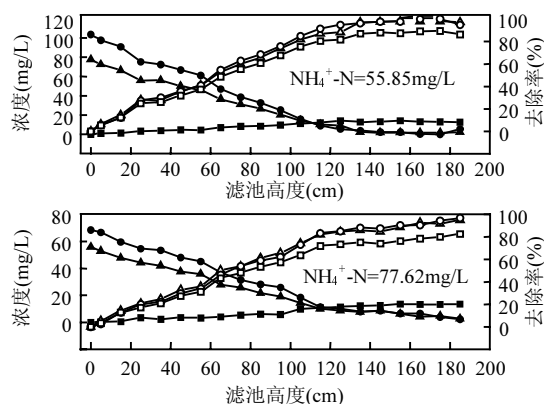


图4 不同基质下氮素沿滤池高度变化

Fig.4 Changes of nitrogen compounds along biofilter layer

—▲—出水 NH_4^+ -N —■—出水 TN —▲— NH_4^+ -N 去除率
—●—出水 NO_2^- -N —□—TN 去除率 —○— NO_2^- -N 去除率

另外,ANAMMOX 菌富含血红素-C,成熟的 ANAMMOX 污泥呈胭脂红,不同运行阶段的 ANAMMOX 污泥颜色会存在差异,因此污泥颜色的差异可以作为判断 ANAMMOX 菌数量和活性的重要手段^[13-15]。随着反应器的运行,厌氧氨氧化生物滤池逐步呈现出下层暗红褐色,中层桃红色,上层暗红色的颜色梯度。结合图 4 中的氮素沿滤层变化情况,可以判断中部 ($H=40\sim115\text{cm}$) ANAMMOX 菌的数量和活性是最高的。ANAMMOX 菌沿滤池高度分布不均滤池长期运行作用的结果。由于进水没有进行去氧处理,下部虽然有着较高的总氮去除效果,但这应该是多种细菌共同作用的结果。溶解氧的存在一方面使 ANAMMOX 细菌的活性受到了可逆性抑制,另一方面为 AOB 等其他好氧细菌提供了生存条件,与 ANAMMOX 菌竞争基质。上部 ANAMMOX 菌

数量和活性不高的原因主要是受到氮负荷较低的影响。

2.2 微生物形态分析和 ANAMMOX 种属鉴定

2.2.1 微生物形态分析 试验进行到 150 天,从反应器滤层上 ($H=165\text{cm}$)、中 ($H=85\text{cm}$)、下 ($H=20\text{cm}$) 部位的滤料表面取生物膜,进行革兰氏染色,用普通光学显微镜和电镜观察。图 5a、5b、5c 分别为从滤层上、中、下取生物膜样品,通过油镜放大 1000 倍的结果,图 5d、5e、5f 为上、中、下生物膜样品扫描电镜放大 10000 倍的照片。

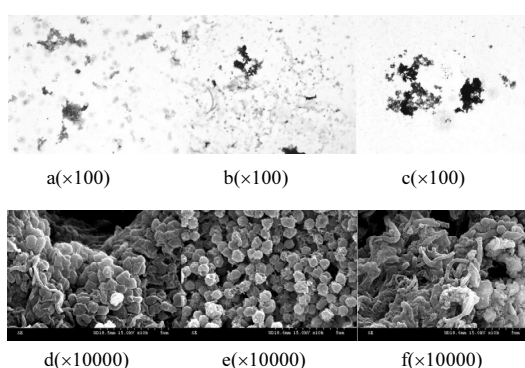


图5 厌氧氨氧化滤池 ANAMMOX 菌显微镜(a、b、c)及电镜(d、e、f)照片

Fig.5 The microscopic (a、b、c) and electron microscopic (d、e、f) photo of the ANAMMOX of ANAMMOX biofilter reactor

由图 5 可以观察到,图 5a、5b、5c 中都存在着革兰氏阴性菌和阳性菌,但是所占比例有所不同。图 5a 中多为革兰氏阴性细菌,只有零星的阳性菌的存在,图 5c 中革兰氏阳性菌的数量占到了大多数,而图 5b 中革兰氏阴性菌的比例明显要高于阳性菌。为了更清楚观察反应器中生物膜微生物性状,对滤层上、中、下生物膜样品通过扫描电镜放大 10000 倍。图 5d、5e、5f 均可以看到球形细菌的存在,而国内外已报道的典型厌氧氨氧化细菌多为革兰氏阴性、直径约 $1\mu\text{m}$ 的球形细菌^[16],可以推测图中所观察到的革兰氏阴性、球形细菌为 ANAMMOX 菌。图 5d 中厌氧氨氧化细菌的排列较图 5e 更致密,这是由于长期受到低基质浓度限制影响的结果。图 5f 中的微生物种类明显高于图 5d、5e,而且图 5d、5e 中单位面积的

ANAMMOX 菌相对数量远多于图 5f 中,这说明下部的微生物种类更丰富,而中部、上部的 ANAMMOX 菌的相对数量在生物膜中占有的比例较下部更高,这与显微镜观察结果一致.通过电镜图 5d、5e、5f 还可以看到胞外多聚物和一定量的丝状菌存在,推测丝状菌在生物膜的形成中起到了骨架和架桥的作用,微生物产生的胞外多聚物起到了粘结作用,在二者的联合作用下,ANAMMOX 菌和其他菌种与丝状菌共生在一起,形成了电镜中的微观结构.

2.2.2 ANAMMOX 种属鉴定 对 150d 取得 ANAMMOX 菌进行了 PCR-DGGE 分析如图 6.

实验中 PCR 引物采用 Amx368-GC 和 Amx820,特异性扩增 ANAMMOX 菌 16SrDNA 基因.可以得出,厌氧氨氧化生物滤池上、中、下部可能均存在着 2 种 ANAMMOX 优势菌种.

对条带 1,2 进行切胶、PCR 扩增、克隆测序鉴定结果如表 3.由表 3 可以得出,条带 1,2 均与 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* 最相似,相似度分别为 97%和 99%.另外,有研究表明,在不同

的生存环境中,ANAMMOX 菌的群落结构有一定的不同,在某种特定的生存环境中,通常只有一个种属的 ANAMMOX 菌占优势^[17].因此,推测厌氧氨氧化生物滤池中只存在一种 ANAMMOX 菌属-*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*,该菌最早也是发现于生物滤池中,呈球状,1μm 左右,具有典型的厌氧氨氧化细菌结构特征,与本实验观察到的结果一致.



图 6 厌氧氨氧化生物滤池 ANAMMOX 菌 DGGE 图谱
Fig.6 The upper、middle、lower DGGE Chart of ANAMMOX Biofilter Reactior

表 3 ANAMMOX 菌 16SrRNA 克隆测序结果

Table 3 The results of cloning and sequencing of 16SrRNA gene of ANAMMOX

条带(基因号)	最相似序列(登录号)	相似度(%)
1(JQ796376)	<i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i> (AF375995.1)	97
2(JQ796377)	<i>Candidatus Kuenenia stuttgartiensis</i> (AF375995.1)	99

另外,为了保持高效的 ANAMMOX 活性,大部分研究者将 ANAMMOX 反应器温度控制在 30 或 35℃,而在本试验中,反应器一直处于常温状态(18.5~24.4℃),并经历了高、低不同基质浓度,但都能够保持高效稳定的脱氮效果.说明 *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* 对温度和基质浓度有着更广泛的适应性,能够在常温和高、低不同基质浓度下保持较高的活性.

3 结论

3.1 在常温 (18.5~24.4℃) 条件下,接种 ANAMMOX 菌启动的厌氧氨氧化生物滤池在高、低不同基质浓度下均能保持较高的脱氮效果,

最高总氮容积去除负荷达到 2.99kgN/(m³·d),最高总氮去除率达到 88.8%,利用厌氧氨氧化生物滤池对常温低氨氮污水进行深度处理存在着可行性.

3.2 通过三氮去除比例拟合直线以及 R² 值,表明 ANAMMOX 菌为厌氧氨氧化生物滤池绝对优势菌种以及其活性的稳定.通过沿程氮素研究以及表观观察,表明厌氧氨氧化生物滤池中 ANAMMOX 菌活性和数量要高于下部和上部.

3.2 显微镜与电镜观察表明,滤池下部的微生物种类更丰富,而中部、上部的 ANAMMOX 菌相对数量占生物膜占有的比例较下部更高.通过对 ANAMMOX 菌 DGGE 条带和 16SrRNA 克隆

测序,鉴定反应器中功能微生物为 ANAMMOX 菌属-*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*,其对于温度和基质有着广泛的适应性,在常温、高、低不同基质下均保持较高的活性。

参考文献:

- [1] Jetten M, Strous M, van de Pas-Schoonen K T, et al. The anaerobic oxidation of ammonium B-8834-2011 B-2738-2009 [J]. Fems Microbiology Reviews, 1998,22(5):421-437.
- [2] 李 祥,黄 勇,朱 莉,等.蚀刻液废水厌氧氨氧化脱氮性能研究 [J]. 中国环境科学,2012,32(12):2199-2204.
- [3] Hu B L, Shen L D, Xu X Y, et al. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in different natural ecosystems [J]. Biochemical Society Transactions, 2011,39(6):1811-1816.
- [4] 于英翠,高大文,陶 彧.利用序批式生物膜反应器启动厌氧氨氧化研究 [J]. 中国环境科学,2012,32(5):843-849.
- [5] Winkler M, Kleerebezem R, van Loosdrecht M. Integration of anammox into the aerobic granular sludge process for main stream wastewater treatment at ambient temperatures [J]. Water Research, 2012,46(1):136-144.
- [6] Jetten M, Horn S J, Vanloosdrecht M. Towards a more sustainable municipal wastewater treatment system B-8834-2011 C-6258-2008 B-2738-2009 [J]. Water Science and Technology, 1997,35(9):171-180.
- [7] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法 [M]. 3 版.北京:中国环境科学出版社,1989.
- [8] 曾涛涛,李 冬,邱文新,等.低温厌氧氨氧化生物滤池群落结构分析 [J]. 哈尔滨工业大学学报,2012,44(06):6-10.
- [9] 马金明,李 冬,吴 迪,等.低温城市生活污水再生全流程中 A/O 高效除磷研究 [J]. 水处理技术,2011,37(12):103-108.
- [10] 周 凌,操家顺,蔡 娟,等.低浓度氨氮条件下厌氧氨氧化反应器的启动研究 [J]. 给水排水,2006,32(11):34-37.
- [11] 付丽霞,吴立波,张怡然,等.低含量氨氮污水厌氧氨氧化影响因素研究 [J]. 水处理技术,2010,36(04):50-55.
- [12] Strous M. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [Z]. 1998: 589-596.
- [13] Chen T T, Zheng P, Tang C J, et al. Performance of ANAMMOX-EGSB reactor [J]. Desalination, 2011,278:281-287.
- [14] Tang C J, Zheng P, Wang C H, et al. performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge [J]. Water Research, 2011,45:135-144.
- [15] 李 祥,郑宇慧,黄 勇,等.保存温度及时间对厌氧氨氧化污泥活性的影响 [J]. 中国环境科学,2011,31(1):56-61.
- [16] van Niftrik L, Geerts W, van Donselaar E G, et al. Combined structural and chemical analysis of the anammoxosome: A membrane-bounded intracytoplasmic compartment in anammox bacteria C-3269-2011 B-7640-2011 B-8834-2011 [J]. Journal of Structural Biology, 2008,161(3):401-410.
- [17] Kartal B, Rattray J, van Niftrik L A, et al. Candidatus "Anammoxoglobus propionicus" a new propionate oxidizing species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria C-3269-2011 B-8834-2011 [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2007,30(1):39-49.

作者简介: 李 冬(1976-),女,辽宁丹东人,教授,博士,主要从事水质科学与水环境恢复关键技术研究.发表论文 100 余篇.

《中国环境科学》获评“2012 中国最具国际影响力学术期刊”

2012 年 12 月,《中国环境科学》被评为“2012 中国最具国际影响力学术期刊”。

“中国最具国际影响力学术期刊”是中国科学文献计量研究中心、清华大学图书馆依据《CAJ 国际引证报告》,按 2011 年度中国学术期刊被 SCI 期刊、SSCI 期刊引用的总被引频次排序并经 40 多位期刊界专家审议,遴选出的 TOP5%期刊.获评“中国最具国际影响力学术期刊”的科技类期刊共 156 种.统计分析结果表明,从定量分析的角度看,“中国最具国际影响力学术期刊”的国际影响力已经达到国际中等以上水平,跨入了国际品牌学术期刊行列。