

有机碳源下废水厌氧氨氧化同步脱氮除碳

陈重军^{1,2}, 朱为静¹, 黄孝肖¹, 吴伟祥¹

1 浙江大学环境与资源学院, 浙江 杭州 310058

2 苏州科技学院环境科学与工程学院, 江苏 苏州 215009

陈重军, 朱为静, 黄孝肖, 等. 有机碳源下废水厌氧氨氧化同步脱氮除碳. 生物工程学报, 2014, 30(12):1835-1844.

Chen CJ, Zhu WJ, Huang XX, et al. Simultaneous removal of carbon and nitrogen from organic-rich wastewater with anammox. Chin J Biotech, 2014, 30(12): 1835-1844.

摘要: 为明确有机碳源胁迫下, 厌氧氨氧化反应器的同步脱氮除碳规律及功能微生物群落结构的动态变化, 采用成功启动的厌氧氨氧化 UASB 反应器, 通过逐步提升进水有机负荷, 探究有机碳源下废水厌氧氨氧化同步脱氮除碳。研究表明, 当进水化学需氧量 (Chemical oxygen demand, COD) 浓度从 172 mg/L 升至 620 mg/L, 反应器维持较高的脱氮效率, 氨氮和总氮去除率均在 85% 以上, 并对 COD 具有平均 56.6% 的去除率, 高浓度 COD 未对 Anammox 菌活性构成显著抑制作用。聚合酶链式反应和变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE) 图谱和割胶测序结果表明, 变形菌门 Proteobacteria、浮霉菌门 Planctomycetes、绿曲挠菌门 Chloroflexi 以及绿菌门 Chlorobi 等微生物共存于同一反应体系中, 推测反应器内存在复杂的脱氮除碳途径。而且, 代表厌氧氨氧化的部分浮霉菌门微生物能耐受高浓度有机碳源, 在高有机负荷下依旧发挥着高效的脱氮作用, 为反应器高效脱氮提供了保障。

关键词: 厌氧氨氧化, 有机碳源, 脱氮除碳, 聚合酶链式反应和变性梯度凝胶电泳

Received: March 13, 2014; **Accepted:** April 25, 2014

Supported by: China National Critical Project for Science and Technology on Water Pollution Prevention and Control (No. 2012ZX07101012), Natural Science Funds of Suzhou University of Science and Technology (No. XKQ201303), Science and Technology Project of Jiangsu Construction Department (No. 2013ZD35).

Corresponding author: Weixiang Wu. Tel/Fax: +86-571-88982020; E-mail: weixiang@zju.edu.cn

国家水体污染控制与治理科技重大专项 (No. 2014ZX07101-012), 苏州科技学院科研基金 (No. XKQ201303), 江苏省建设系统科技项目 (No. 2013ZD35) 资助。

Simultaneous removal of carbon and nitrogen from organic-rich wastewater with Anammox

Chongjun Chen^{1,2}, Weijing Zhu¹, Xiaoxiao Huang¹, and Weixiang Wu¹

¹ College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang, China

² School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, Jiangsu, China

Abstract: In order to simultaneously remove carbon and nitrogen from organic-rich wastewater, we used an up-flow anaerobic sludge bed/blanket (UASB) reactor that was started up with anammox with high concentration of carbon and nitrogen by gradually raising the organic loading of influent. We optimized the removal of nitrogen and carbon when the chemical oxygen demand (COD) concentration varied from 172 to 620 mg/L. During the entire experiment, the ammonium and total nitrogen removal efficiency was higher than 85%, while the average COD removal efficiency was 56.6%. The high concentration of organic matter did not restrain the activity of anammox bacteria. Based on polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) and tapping sequencing analyses, the Planctomycete, Proteobacteria, Chloroflexi, Chlorobi bacteria are detected in the UASB reactor, which indicated complex removal pathway of carbon and nitrogen coexisted in the reactor. However, a part of Planctomycete which referred to anammox bacteria could tolerate a high content of organic carbon, and it provided help for high performance of nitrogen removal in UASB reactor.

Keywords: Anammox, carbon resource, simultaneous carbon and nitrogen removal, polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE)

厌氧氨氧化 (Anaerobic Ammonium Oxidation, Anammox) 反应是指在厌氧或缺氧条件下, Anammox 菌以 NO_2^- -N 为电子受体, 氧化 NH_4^+ -N 为 N_2 的生物过程, 该过程不需有机碳源, 可实现全程自养脱氮, 已成为废水脱氮领域的研究热点^[1-2]。然而, 自养型 Anammox 菌生长速率低, 倍增时间长, 且实际废水中存在的有机物对 Anammox 菌有显著抑制作用^[3-4]。近来研究发现, Anammox 菌与反硝化菌能共存于同一反应体系中, 有机物含量相对较低 (一般 COD 浓度低于 100 mg/L) 时能够有效避免反硝化菌的大量繁殖^[5], 且两者形成一定的协同作用^[6]。但在实际废水中, COD 浓度大多数超过 100 mg/L。存在高浓度有机物时, 厌氧氨氧化反应器能否继续发挥脱氮作用? Anammox 菌是否会受到抑制? 上述问题均有待研究。

本文拟在高有机物浓度下, 明确厌氧氨氧化反应器脱氮除碳性能及污染物去除规律, 并初步探索反应器运行过程中功能性微生物群落结构的变化情况, 以期为厌氧氨氧化反应的工程化应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 反应装置

反应装置采用上流式厌氧污泥床反应器 (Up-flow anaerobic sludge bed/blanket, UASB), 由 PVC 材料制作而成, 上部直径 20 cm, 下部直径 10 cm, 高度 100 cm, 高径比 10 : 1, 有效容积 10.8 L, 上部设三相分离器用于气液固分离, 气孔用水封以保证反应器内部厌氧, 进水采用蠕动泵控制 (图 1)。反应器外部设置厚度为 1 cm 的加热保温层, 维持反应器温度

(30±1)°C, 为 Anammox 菌提供合适的生长环境^[7]。反应器内添加低温制成的竹炭 (Bamboo charcoal) 为填料, 竹炭具有巨大的比表面积 ($2.5 \times 10^8 \text{ m}^2/\text{m}^3$) 和大量的微孔结构 (直径介于 0.001–1 000 μm), 可以为 Anammox 菌的生长提供适宜场所, 接种厌氧污泥后, 经过 65 d 成功启动厌氧氨氧化, 反应器稳定运行后 Anammox 菌占总细菌比例为 43.7%^[8]。

1.2 废水来源与进水浓度

废水取自浙江省杭州市某温室甲鱼养殖公司, 养殖废水水质: pH 值 7.5–8.1, SS 800–1 000 mg/L, COD 529–624 mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 132–140 mg/L, TN 138–145 mg/L, 其中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N} < 2 \text{ mg/L}$, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 是 TN 的主要赋存形式。根据厌氧氨氧化反应式, 实际废水经稀释后添加 NaNO_2 , 使进水 $\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$ 在 0.98–1.10 之间, 并添加微量元素 I 和 II, 进水 C/N 比为 1.76–2.09。随着试验推进, 稀释比逐渐降低, 有机负荷依次升高, 最终进水未经稀释, 根据进水水质差异, 将反应过程分为 5 个阶段, 各阶段进水水质见表 1。反应器运行时间共计 77 d, 水力停留时间 (HRT) 控制为 12 h。

表 1 各阶段反应器进水水质特征

Table 1 Characteristics of influent wastewater in different phase

Parameters	Phase 1 (1–10 d)	Phase 2 (11–24 d)	Phase 3 (25–54 d)	Phase 4 (55–64 d)	Phase 5 (65–77 d)
COD_{cr}	194.8±17.5	319.4±16.6	422.5±25.0	412.3±10.0	578.6±18.5
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	44.8±1.7	79.1±2.7	94.9±3.5	118.0±4.8	135.8±2.7
$\text{NO}_2^-\text{-N}$	47.4±2.2	80.8±6.0	104.6±10.7	115.2±9.2	142.6±3.2
C/N	2.09±0.21	2.00±0.11	2.06±0.14	1.76±0.09	2.03±0.10
$\text{NO}_2^-\text{-N}/\text{NH}_4^+\text{-N}$	1.06±0.07	1.02±0.10	1.10±0.10	0.98±0.06	1.05±0.03
Trace element Solution	1 mL/L I ^[a] and II ^[b]				

^[a] Trace element solution I = EDTA 15 g/L and FeSO_4 5 g/L. ^[b] Trace element solution II = EDTA 15 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.43 g/L, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.24 g/L, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.99 g/L, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.25 g/L, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.22 g/L, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.19 g/L, $\text{Na}_2\text{SeO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0.21 g/L, H_3BO_3 0.014 g/L^[7]。

1.3 分析方法

1.3.1 水质分析

每天采取反应器进出水, 分别测定 COD (重铬酸钾法)、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (纳氏比色法)、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (紫外分光光度法)、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (N-(1-萘基)-乙二胺光度法)、TN (碱性过硫酸钾消解-紫外分光光度法) 等指标, 每个指标测定设 2 个重复, 取平均值^[9]。

1.3.2 PCR 扩增

在试验过程中, 采取反应器第 0 天、第 45 天

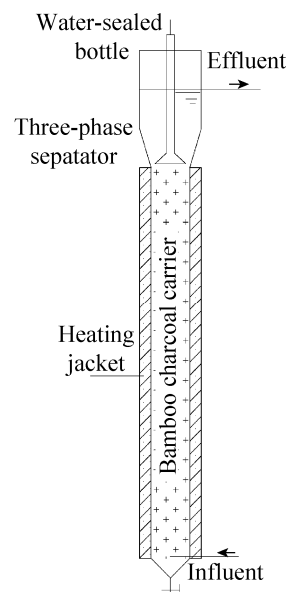


图 1 厌氧氨氧化试验装置

Fig. 1 Experimental Set-up for Anammox.

和第 77 天的生物膜样品, 提取 DNA, 进行 PCR-DGGE 分析。PCR 采用细菌 F357GC (5'-CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GGC CCG CCG CCC CCG CCC CCC TAC GGG AGG CAG CAG -3') 和 R518 (5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG -3') 引物对^[10]。引物一端加上 GC 夹, 保证 DGGE 试验的稳定和片段的分离。

PCR 采用 50 μL 反应体系: 10 \times 反应缓冲液 (0.1 mol/L Tris-HCl (pH 8.3), 0.5 mol/L KCl) 5 μL ; MgCl_2 (25 mmol/L) 6 μL ; F357GC (25 pmol/ μL) 和 R518 (25 pmol/ μL) 各 1 μL ; dNTPs (各 2.5 mmol/L) 4 μL ; *Taq* 酶 (5 U/ μL , TaKaRa) 0.3 μL ; 模板 DNA 2 μL ; ddWater 30.7 μL 。PCR 反应分 6 个步骤: ①预变性 94 $^\circ\text{C}$ 4 min; ②变性 94 $^\circ\text{C}$ 30 s; ③退火 56 $^\circ\text{C}$ 40 s; ④延伸 72 $^\circ\text{C}$ 1 min; 循环第②-④步骤 35 次; ⑤延伸 72 $^\circ\text{C}$ 10 min; ⑥保持 4 $^\circ\text{C}$ 。

1.3.3 变性梯度凝胶电泳 (DGGE)

DGGE 分析采用 8%聚丙烯酰胺凝胶, 变性剂浓度为 30%–60%。待变性胶完全凝固后, 将胶版放入装有电泳缓冲液 (1 \times TAE) 的装置中, 每个加样孔加入含有 15 μL 6 \times 溴酚蓝二甲苯酚溶液的 PCR 样品 40–50 μL 。电泳采用 Dcode DGGE 系统 (BIO-RAD Laboratories, Hercules, CA, USA), 在 60 $^\circ\text{C}$, 85 V 电压下, 电泳 16 h。电泳后, 胶采用生物色素 (SYBR) 染色 (SYBR 3 μL : 1 \times TAE 15 mL) 30 min, 采用凝胶成像系统 (Gel DocTMEQ, Biorad) 成像^[11]。对 DGGE 胶上的条带进行割胶回收, 割得的胶条, 经克隆、连接和转化后, 将阳性克隆的菌液送往华大基因 (杭州) 测序。

1.3.4 Shannon 指数计算

利用 Quantity One 4.4 (BIO-RAD Laboratories,

Hercules, CA, USA) 软件将 DGGE 图谱转化为相应的数字信号, 对试验各阶段的微生物群落多样性指数 Sharon 指数 H' 进行了分析, 公式为^[12]:

$$H' = -\sum (n_i/N) \ln(n_i/N)$$

其中: n_i 为峰高, N 为所有峰的总峰高。

2 结果与讨论

2.1 水质动态变化分析

在不同有机负荷下, 研究了厌氧氨氧化反应器的脱氮性能, 结果表明, 不同浓度 COD 胁迫下反应器的脱氮效率稳定保持在较高水平 (图 2 和图 3)。根据进水浓度及 C/N 比不同, 整个试验过程分为 5 个阶段。在整个过程中, 反应器出水 NO_2^- -N 浓度稳定保持在 1 mg/L 以下。出水氨氮浓度有一定的波动。在第 1 和第 2 阶段, 出水 NH_4^+ -N 浓度较低, 分别为 (3.1 ± 1.3) mg/L 和 (3.4 ± 2.9) mg/L。至第 3 阶段, 出水 NH_4^+ -N 有所升高, 最高达到 31.8 mg/L, 主要原因为进水底物 NO_2^- -N/ NH_4^+ -N 较低 (0.87–0.88), 不足以满足 Anammox 反应对底物化学计量比的需求 (理论值 NO_2^- -N/ NH_4^+ -N 约 1.3), NH_4^+ -N 过量, 导致反应器 NH_4^+ -N 去除率骤降^[7]。从第 29 天开始, 当调整进水 NO_2^- -N 与 NH_4^+ -N 化学计量比为 1.06–1.15, 出水 NH_4^+ -N 浓度逐渐降低至 (4.8 ± 1.6) mg/L。第 4 和第 5 阶段, 当进水 NH_4^+ -N 浓度提升至 108.4–139.8 mg/L, 出水 NH_4^+ -N 浓度骤升至 20.0 mg/L, 经过一段时间驯化, 后逐步稳定至 (13.4 ± 1.1) mg/L。由结果可知, 进水底物浓度和反应化学计量比是影响厌氧氨氧化脱氮效率的重要因素。厌氧氨氧化反应会生成约 10%的 NO_3^- -N, 然而运行过程中, 仅前 8 d 在出水中检测到 NO_3^- -N, 推测在反应器中存在反硝化作用, 即在厌氧条件下, 反硝

化菌以 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 为电子受体, 有机物为电子供体, 生成 N_2 ^[13]。反硝化作用的存在为反应器深度脱氮和除碳作用提供了良好的基础。

反应器对 NO_2^- -N 和 NH_4^+ -N 的稳定高效去除, 使得 TN 去除率稳定保持在 85% 以上 (图 2 和图 3)。在第 1 和 2 阶段, TN 去除率从 79.2%

快速升高至 98.8%, 之后保持稳定且较高的去除率; 在第 3 阶段初期, 受出水 NH_4^+ -N 浓度影响, TN 去除率急剧降低至 82.2%, 后缓慢恢复至 98.1%。进入第 4 和 5 阶段, TN 去除率缓慢降低, 到试验末期去除率降至 88.9%。TN 与 NH_4^+ -N 的去除规律基本一致。

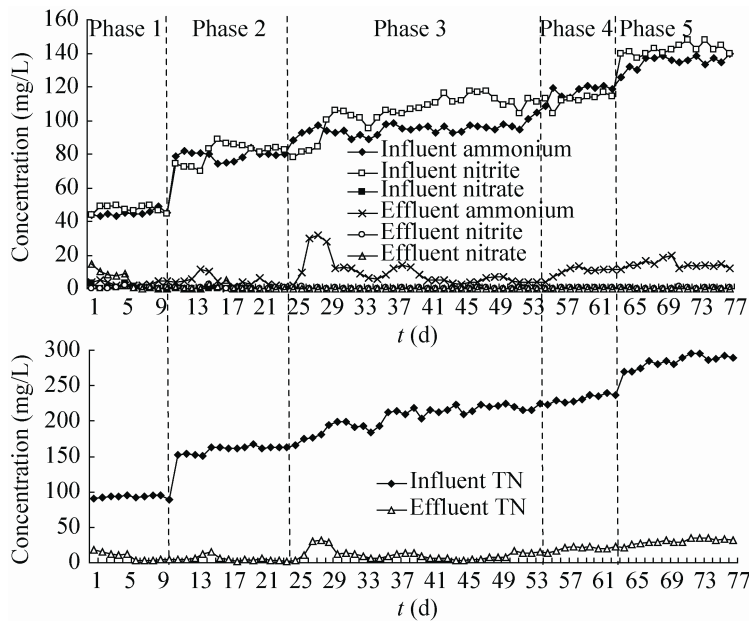


图 2 各阶段反应器进出水氮素的变化趋势

Fig. 2 Time courses of influent and effluent nitrogen concentrations in reactor.

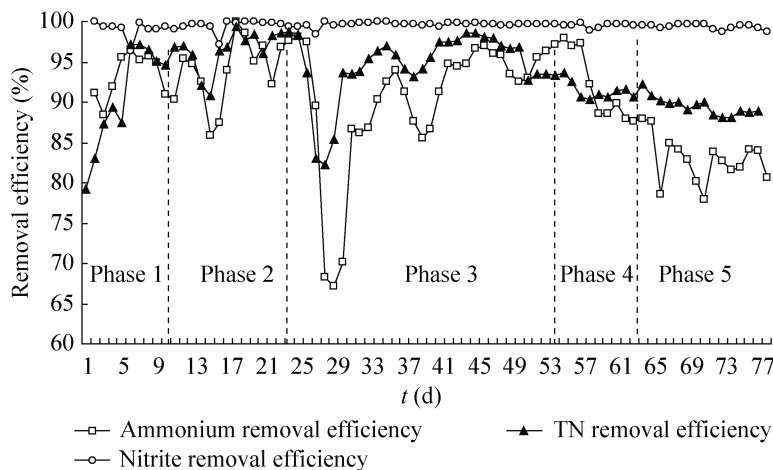


图 3 反应器氮素去除率随时间变化趋势

Fig. 3 Time courses of nitrogen removal efficiency in reactor.

在整个运行过程中,反应器对 COD 的去除率为 $(56.6 \pm 11.0)\%$ (图 4)。在第 1 阶段初期,随着氮素去除率的提升, COD 去除率也急速上升,从 50.0% 升至 78.7%,之后到第 2 阶段末期, COD 去除率均维持在 60% 以上,而在第 3 阶段初期,急剧降低至 30.6%,与氮素去除“低谷”基本一致;随后去除率缓慢上升,到第 4 和 5 阶段, COD 基本维持在 55%–60% 之间。在整个过程中,虽然进水 COD 浓度从 172 mg/L 上升至 620 mg/L,有机负荷逐步提升,但是 COD 去除率较为稳定,只有在第 3 阶段初期,出现 COD 去除“低谷”。COD 与氮素去除“低谷”的高度一致性,也间接表明 COD 去除与厌氧氨氧化生成的 NO_3^- -N 型反硝化作用存在关联。

研究表明, Anammox 菌是自养菌,生长率低,倍增时间长,在高浓度 COD 环境下,反硝化菌快速增殖,其生长率远高于 Anammox 菌,因此高浓度 COD 会部分抑制或者完全抑制 Anammox 菌活性^[14-15]。但在本研究中,高浓度

COD 并未抑制 Anammox 菌活性,反应器对氮素的去除率一直维持在 85% 以上,且 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 能够同步稳定高效去除。本研究的进水 COD 浓度远高于文献报道的 COD 抑制浓度,一般为 237–300 mg/L^[15];而且进水 C/N 比在 1.81–2.13 之间,也高于文献报道的抑制性 C/N 比 (大于 1)^[16]。有研究表明,亚硝化-厌氧氨氧化工艺可成功用于猪场废水处理,高浓度有机物对厌氧氨氧化效能的影响并不明显^[17]。总之,在研究中,高浓度 COD (高达 620 mg/L) 并未对 Anammox 菌活性产生明显的抑制效应, NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、 NO_2^- -N 和 COD 能稳定同步去除,有关机理有待深入研究。

2.2 生物膜群落结构分析

2.2.1 形态和结构

因富集培养 Anammox 菌超过 1 年,填料表面生物膜与反应液均呈现红色,这是 Anammox 菌含有较高的血红素 c 所致^[7]。在泵入高浓度有机废水后,生物膜颜色逐渐转变为棕色,之后

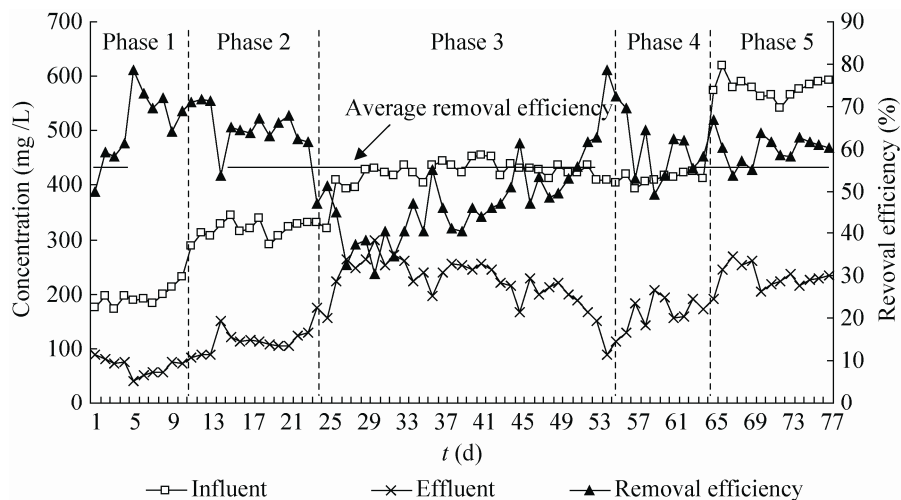
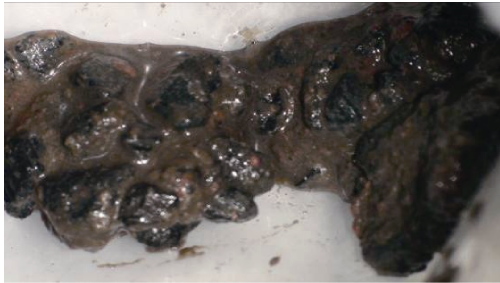


图 4 各阶段反应器进出水 COD 浓度与去除率随时间变化情况

Fig. 4 Time courses of influent and effluent COD concentrations and removal efficiency in reactor.

颜色加深,最后变为黑色,推测这是有机物导致硫化物(如硫化亚铁)形成所致^[15]。从填料表面生物膜特性看,有机物胁迫之前,生物膜致



密、均匀、颜色鲜亮;有机物胁迫之后,生物膜变得稀疏、膜生物量减少、颜色变淡;最后,生物膜量回升,但颜色变为黑褐色(图5)。



图5 反应器生物膜和污泥外观变化情况(从左到右依次为第1天和第77天样品)

Fig. 5 The appearance of biofilm and sludge in reactor (from left to right the 1st and the 77th days' sample).

2.2.2 微生物群落结构分析

有机物影响下污泥中总细菌多样性的DGGE分析结果见图6。按照每个条带的强度,分析反应器各阶段样品的细菌多样性,在第0天、第45天和第77天的Shannon指数(H')分别为 3.03 ± 0.03 、 3.11 ± 0.03 和 3.02 ± 0.04 。以亮度较高的DGGE条带或各时期存在差异性的条带(只存在于某一个或两个时期)为对象,选择了13个特异性条带。3个时期的条带数量分别为6条、7条和12条,表明各时期微生物多样性存在差异。泵入高浓度有机废水后,条带数目有所增加,但条带位置和亮度发生动态变化,可分为两类情况:1)亮度减弱条带:1、2、3、5、6号条带逐渐减弱,其中1、2号条带“先消失后再现”,3、5、6号条带逐渐减弱,而5号条带最后消失,3和6号条带一直存在;2)亮度增强条带:4、7、8、9、10、11、12、13号条带亮度逐渐增强,且4、9号条带亮度明显增强。各时期DGGE条带数量和位置的变化,表明反应器内微生物群落结构发生了动态变化,但从 H' 指数变化看,微生物群落丰度变化并不明显。虽然在第45天,总细菌多样性有所增高,但之

后降低至初始水平。在高浓度有机物胁迫下,反应器内微生物群落多样性变化不明显,造成该结果的原因可能是竹炭填料在一定程度上缓解了高浓度有机废水对反应器细菌群落结构的冲击^[18]。

在DGGE图谱上选取13条条带进行了割胶回收和16S rRNA基因测序,与NCBI数据库中序列的比对结果见表2。

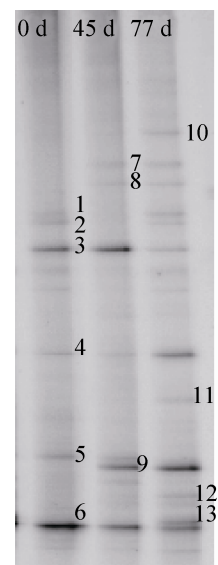


图6 PCR-DGGE图谱分析

Fig. 6 The PCR-DGGE analysis.

表 2 DGGE 条带测序比对结果

Table 2 Results of the best match to known species of the clones

Band	Length	Closest class (Accession No.)	Identity (%)	Phylum
1	189	Uncultured bacterium clone day_180_9-PLA46F (JQ518421)	100	
2	170	Uncultured bacterium clone Pohang_WWTP_August.2006_3877 (HQ501000)	100	Chloroflexi
3	170	Uncultured bacterium partial 16S rRNA gene, clone P22 (HE648194)	97	
4	195	Uncultured delta proteobacterium clone ZLL-E86 (JF807040)	96	Proteobacteria
5	195	<i>Candidatus Brocadia</i> sp. S08-01 (JN205347)	99	Planctomycetes
6	170	Uncultured Planctomycetales bacterium clone DTU1-12 (FJ710638)	99	Planctomycetes
7	194	Uncultured <i>Nitrosomonas</i> sp. clone P93-B4-T7 (GQ255606)	100	Chlorobi
8	194	<i>Denitratisoma</i> sp. enrichment culture clone ANA-RAS-29 (HM769664)	99	Proteobacteria
9	170	Uncultured candidate division OP10 bacterium (AB113611)	100	
10	195	Uncultured bacterium clone T1-35 (JF502880)	99	Chlorobi
11	194	Uncultured prokaryote clone Se4-11 (GU208317)	100	
12	194	Uncultured bacterium clone F1Q32TO05GF7KE (GU496418)	99	
13	194	Uncultured beta proteobacterium clone D57 (JF833777)	97	Proteobacteria

在回收测序的 13 个克隆子中, 其中第 5 和 6 号条带对应的克隆子属于浮霉菌门 Planctomycetes; 第 4、8 和 13 号条带对应的克隆子属于变形菌门 Proteobacteria; 第 7 和 10 号条带对应的克隆子属于绿菌门 Chlorobi; 第 2 号条带对应的克隆子属于绿曲挠菌门 Chloroflexi; 其余的 5 个克隆在 NCBI 数据库中没有找到相近的已知物种, 未得到详细分类信息。在已知分类信息的克隆中, 变形菌门占 37.5%, 浮霉菌门占 25.0%, 绿曲挠菌门 12.5%, 绿菌门占 25.0%。反应器内微生物种群的分布与其他报道基本一致, Bae 等研究了厌氧氨氧化 UASB 反应器中的微生物群落组成, 发现主要为变形菌门 (42%), 浮霉菌门 (20%), 绿曲挠菌门 (22%), 其他菌 (9%)^[19]。

在浮霉菌门中, 第 5 号条带属于“*Candidatus Brocadia*”属, 最早发现于荷兰污水处理厂污泥中^[20-21], 是第一个被富集鉴定的 Anammox 菌种。第 6 号条带未指向特定的种。第 8 号条带

为反硝化菌属, 推测与反硝化作用有关。第 4 和 13 号条带未指向特定的种。第 2 号条带为绿曲挠菌门, 该菌在富集程度较高的 Anammox 污泥中较为普遍, 如厌氧氨氧化序批式生物膜反应器 (SBBR)、上升式厌氧颗粒床反应器、全程自养脱氮反应器 (CANON) 等^[22-24], 其作用是固碳, 将 CO₂ 固定为最终产物丙酮酸。绿菌门是一类进行不产氧光合作用的细菌, 常在 Anammox 反应器中被检测到^[25]。但其在厌氧氨氧化反应中起什么作用还不得而知。

在整个试验过程中, 已知分类地位的变形菌门和浮霉菌门占 62.5%, 这两类菌分别代表了反硝化微生物和厌氧氨氧化微生物, 可知在有机废水处理系统中, 反硝化菌和 Anammox 菌可共存于反应体系中, 这也是废水中碳氮能够同步被去除的重要佐证。但是, 随着有机物的胁迫, 反硝化菌和 Anammox 菌存在动态变化, 其中 4、8 和 13 号条带代表的反硝化菌逐渐增强, 而 5 和 6 号条带代表的 Anammox 菌逐渐减弱,

5号条带一度消失。值得一提的是,当进水COD浓度从172 mg/L升至620 mg/L,部分Anammox菌如条带6,虽然条带浓度有所减弱,但一直存在于反应体系中,可以耐受高浓度的有机碳源,为厌氧氨氧化反应维持主导作用起到关键作用,但其耐受高浓度有机碳源的具体原因和机制还有待分析。

3 结论

采用成功启动厌氧氨氧化的UASB反应器处理高浓度有机碳源的废水,COD浓度从172 mg/L升至620 mg/L,在较高有机负荷胁迫下反应器依旧表现出良好的碳氮去除能力,对 NH_4^+ -N和TN去除率均在85%以上,COD平均去除率56.6%,表明高浓度COD未对Anammox菌活性构成显著性抑制作用。通过PCR-DGGE和割胶测序分析技术表明,反应器中的微生物主要属于变形菌门Proteobacteria、浮霉菌门Planctomycetes、绿曲挠菌门Chloroflexi以及绿菌门Chlorobi,同时发现部分浮霉菌门微生物能耐受高浓度有机碳源,具体原因值得进一步研究证实。

REFERENCES

- [1] Ni SQ, Ni JY, Hu DL, et al. Effect of organic matter on the performance of granular anammox process. *Bioresour Technol*, 2012, 110: 701–705.
- [2] Huang XX, Chen CJ, Zhang R, et al. Research progress in anammox/denitrification coupling process. *Chin J Appl Ecol*, 2012, 23(3): 849–856 (in Chinese).
黄孝肖, 陈重军, 张蕊, 等. 厌氧氨氧化与反硝化耦合反应研究进展. *应用生态学报*, 2012, 23(3): 849–856.
- [3] Tang CJ, Zheng P, Wang CH, et al. Suppression of anaerobic ammonium oxidizers under high organic content in high rate anammox UASB reactor. *Bioresour Technol*, 2010, 101(6): 1762–1768.
- [4] Chamchoi N, Nitisravut S, Schmidt JE. Inactivation of anammox communities under concurrent operation of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) and denitrification. *Bioresour Technol*, 2008, 99(9): 3331–3336.
- [5] Rusalleda M, López H, Ganigue R, et al. Heterotrophic denitrification on granular anammox SBR treating urban landfill leachate. *Water Sci Technol*, 2008, 58(9): 1749–1755.
- [6] Pathak BK, Kazama F, Saiki Y, et al. Presence and activity of anammox and denitrification process in low ammonium-fed bioreactors. *Bioresour Technol*, 2007, 98(11): 2201–2206.
- [7] Van de Graaf AA, de Bruijn P, Robertson LA, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology*, 1996, 142(8): 2187–2196.
- [8] Chen CJ, Huang XX, Lei CX, et al. Improving anammox start-up with Bamboo Charcoal. *Chemosphere*, 2012, 89(10): 1224–1229.
- [9] State Environmental Protection Administration. Determination Methods for Examination of Water and Wastewater. 4th Ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002 (in Chinese).
国家环境保护总局水与废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [10] Florez AB, Mayo B. PCR–DGGE as a tool for characterizing dominant microbial populations in the Spanish blue-veined Cabrales cheese. *Int Dairy J*, 2006, 16: 1205–1210.
- [11] Liu W, Lu HH, Wu WX, et al. Transgenic Bt rice does not affect enzyme activities and microbial composition in the rhizosphere during crop development. *Soil Biol Biochem*, 2008, 40(2): 475–486.
- [12] Dong X, Reddy GB. Soil bacterial communities in

- constructed wetlands treated with swine wastewater using PCR-DGGE technique. *Bioresour Technol*, 2010, 101(4): 1175–1182.
- [13] Kindaichi T, Tsushima I, Ogasawara Y, et al. In situ activity and spatial organization of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria in biofilms. *Appl Environ Microbiol*, 2007, 73(15): 4931–4939.
- [14] Jetten MSM, Strous M, van de Pas-Schoonen KT, et al. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiol Rev*, 1998, 22(5): 421–437.
- [15] Molinuevo B, Garcia MC, Karakashev D, et al. Anammox for ammonia removal from pig manure effluents: effect of organic matter content on process performance. *Bioresour Technol*, 2009, 100(7): 2171–2175.
- [16] Güven D, Dapena A, Kartal B, et al. Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 2005, 71(2): 1066–1071.
- [17] Ahn YH, Hwang IS, Min KS. Anammox and partial denitrification in anaerobic nitrogen removal from piggery waste. *Water Sci Technol*, 2004, 49(5/6): 145–153.
- [18] Lehmann J, Rillig M, Thies J, et al. Biochar effects on soil biota—a review. *Soil Biol Biochem*, 2011, 43(9): 1812–1836.
- [19] Bae H, Chung Y, Jung J. Microbial community structure and occurrence of diverse autotrophic ammonium oxidizing microorganisms in the anammox process. *Water Sci Technol*, 2010, 61: 2723.
- [20] Kuenen J, Jetten M. Extraordinary anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *ASM News*, 2001, 67: 456–463.
- [21] Puyol D, Carvajal-Arroyo JM, Garcia B, et al. Kinetic characterization of *Brocadia* spp.-dominated anammox cultures. *Bioresour Technol*, 2013, 139: 94–100.
- [22] Xiao Y, Zeng G, Yang Z, et al. Coexistence of nitrifiers, denitrifiers and anammox bacteria in a sequencing batch biofilm reactor as revealed by PCR-DGGE. *J Appl Microbiol*, 2009, 106(2): 496–505.
- [23] Park H, Rosenthal A, Jezek R, et al. Impact of inocula and growth mode on the molecular microbial ecology of anaerobic ammonia oxidation (anammox) bioreactor communities. *Water Res*, 2010, 44(17): 5005–5013.
- [24] Cho S, Takahashi Y, Fujii N, et al. Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor. *Chemosphere*, 2010, 78(9): 1129–1135.
- [25] Zhang L, Yang J, Hira D, et al. High-rate nitrogen removal from anaerobic digester liquor using an up-flow anammox reactor with polyethylene sponge as a biomass carrier. *J Biosci Bioeng*, 2011, 111(3): 306–311.

(本文责编 陈宏宇)