

(HUANJING KEXUE)

# ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第4期

Vol.38 No.4

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办

斜学出版社出版



### ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第4期 2017年4月15日

### 目 次

西宁近郊大气氮干湿沉降研究
2015 年北京城区大气 PM2.5 中 NH4、NO3、SO4- 及前体气体的污染特征————————————————————————————————————
一
超速处理、正元、不可。
畜禽粪便有机肥中重金属在土壤剖面中积累迁移特征及生物有效性差异 何梦媛,董同喜,茹淑华,苏德纯(1576)
山东省农田土壤多环芳烃的污染特征及源解析 ····································
<u> </u>
迟荪琳,徐卫红,熊仕娟,王卫中,秦余丽,赵婉伊,张春来,李彦华,李桃,张进忠,熊治庭,王正银,谢德体(1654) 不同作物对外源硒动态吸收、转运的差异及其机制 …   彭琴,李哲,梁东丽,王梦柯,郭璐(1667) 褪黑素对水稻幼芽镍胁迫的缓解作用 …   刘仕翔,黄益宗,罗泽娇,黄永春,蒋航(1675) 不同形态磺胺类药物在根-土界面的空间分布及毒性评价 … 金彩霞,司晓薇,王万峰,王春峰,王子英,张琴文,王婉(1683) 三峡库区消落带沉积物对鱼体富集汞的影响 …

### 厌氧氨氧化反应器脱氮性能及细菌群落多样性分析

曹雁1,王桐屿1,秦玉洁1,2,3\*,韩彬1,任君怡1

(1. 华南理工大学环境与能源学院,广州 510006; 2. 华南理工大学工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室,广州 510006; 3. 华南理工大学广东省大气环境与污染控制重点实验室,广州 510006)

摘要:采用提高进水NH $_4^+$ -N和NO $_2^-$ -N浓度的方式将上流式厌氧过滤床(UBF)反应器的容积负荷由 0.52 kg·(m $^3$ ·d) $^{-1}$ 增大至 2.75 kg·(m $^3$ ·d) $^{-1}$ ,NH $_4^+$ -N、NO $_2^-$ -N和 TN 的去除率也相应地分别从 76.18%、53.47%、55.66%增大至 94.04%、86.97%、82.96%。同时,采用 Illumina 高通量测序分析技术,对 UBF 厌氧氨氧化反应器内微生物的分布规律进行了研究。结果表明,反应器中的脱氮细菌较为丰富,其中变形菌门、浮霉菌门和硝化螺旋菌门分别占 27.9%~39.9%、1.1%~26.4%和 0.035%~ 0.188%。反应器运行过程中,反应器中的浮霉菌门 Planctomycetes 和变形菌门 Proteobacteria 分别由 1.1%、27.9%增加至 26.4%、39.9%。其中,浮霉菌门的丰度增大最为显著,其包含的 Brocadiacea 科达到了 24.57%,成为优势菌群,Brocadiacea 科主要包含 Candidatus brocadia 属。Alpha 多样性指数和物种相对丰度聚类图分析表明反应器内微生物群落多样性逐渐减小,微生物群落结构产生了显著变化。

关键词:上流式厌氧过滤床反应器;厌氧氨氧化;高通量测序;厌氧氨氧化菌;群落多样性

中图分类号: X172; X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)04-1544-07 DOI: 10.13227/j. hjkx. 201610081

# Nitrogen Removal Characteristics and Diversity of Microbial Community in ANAMMOX Reactor

CAO Yan<sup>1</sup>, WANG Tong-yu<sup>1</sup>, QIN Yu-jie<sup>1,2,3\*</sup>, HAN Bin<sup>1</sup>, REN Jun-yi<sup>1</sup>

(1. College of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China; 2. The Key Laboratory of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, Ministry of Education, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China; 3. Guangdong Provincial Key Laboratory of Atmospheric Environment and Pollution Control, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

**Abstract**: The volume loading of upflow blanket filter increased from 0.52 kg·(m³·d)  $^{-1}$  to 2.75 kg·(m³·d)  $^{-1}$  by improving the influent NH<sub>4</sub>+N and NO<sub>2</sub>-N concentrations. The removal efficiency of NH<sub>4</sub>+N, NO<sub>2</sub>-N and TN increased from 76.18%, 53.47%, 55.66% to 94.04%, 86.97%, 82.96% respectively. Meanwhile, the microbial community of UBF ANAMMOX reactor was analyzed by Illumina high-throughput sequencing during the initial and later operational process. The results indicated that the denitrifying bacteria coexisted in the reactor. The percentages of Planctomycetes, Proteobacteria and Nitrospirae in the sludge were 27.9%-39.9%, 1.1%-26.4% and 0.035%-0.188%, respectively. The proportions of Planctomycetes and Proteobacteria increased from 1.1%, 27.9% in the enrichment stage to 26.4%, 39.9% in the stable operation stage respectively. In addition, Planctomycetes increased significantly. The proportion of Brocadiacea reached 24.57%. Therefore, Brocadiacea became the dominant bacteria in the phylum Planctomycete, which contained *Candidatus brocadia*. The alpha diversity index and relative abundance of clustering figure indicated that the diversity of microbial community decreased gradually and the structure of microbial community changed obviously. **Key words**: upflow blanket filter; ANAMMOX; high-throughput sequencing; ANAMMOX bacteria; microbial community diversity

20世纪90年代,荷兰的 Mulder 等<sup>[1]</sup>在处理工业废水的反硝化流化床中发现了一种新型细菌——厌氧 氨氧 化 细 菌 (anaerobic ammonia oxidation bacteria, AnAOB). 该类细菌可以在缺氧条件下以亚硝酸盐为电子受体将氨氮转化为氮气. 1999年, Strous 等<sup>[2]</sup>采用密度梯度离心法成功分离了 AnAOB 菌株,并通过16S rRNA基因测序,确认了 AnAOB 是浮霉状菌的成员.

与传统的硝化反硝化工艺相比, 厌氧氨氧化 (anaerobic ammonia oxidation, ANAMMOX) 工艺具有 无需外加碳源和供氧动力消耗, 反应过程中 CO, 排

放量少和剩余污泥产量少等优点<sup>[3]</sup>.目前该工艺已经用于高氨氮工业废水的处理中,如污泥消化液、垃圾渗滤液和养猪场废水等<sup>[4~6]</sup>.

厌氧氨氧化工艺虽然有诸多优点,但 AnAOB 生长缓慢,倍增时间为7~22 d,导致 ANAMMOX 反应器启动时间长<sup>[7]</sup>,是限制厌氧氨氧化工艺大规模

收稿日期: 2016-10-14; 修订日期: 2016-11-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(51578244);广东省省级科技计划项目(2014A050503025);中央高校基本科研业务费专项基金项目(2014ZM0085)

作者简介:曹雁(1991~),女,硕士研究生,主要研究方向为废水生物处理,E-mail;cy1110@163.com

\* 通信作者,E-mail:qinyujie@scut.edu.cn

应用的最主要因素<sup>[8]</sup>.因此,选择合适的反应器,减少 AnAOB 的流失,是成功应用厌氧氨氧化工艺的关键<sup>[9]</sup>.目前,用于厌氧氨氧化技术的反应器有上流式污泥床反应器(USB)<sup>[10]</sup>、批序式间歇反应器(SBR)<sup>[11]</sup>和厌氧折流板反应器(ABR)<sup>[12]</sup>等.本实验选择上流式厌氧过滤床反应器(upflow blanket filter, UBF),UBF 反应器是由(上流式污泥床)USB和厌氧过滤器(AF)构成的复合式反应器,具有良好的生物截留能力和易形成颗粒污泥等特点.

AnAOB 至今仍未获得人工的纯培养,而高通量测序技术的发展为鉴定环境中的微生物群落的多样性提供了有力的工具<sup>[13~15]</sup>.本研究采用 Illumina Hisep PE250 测序平台对 UBF 厌氧氨氧化反应器内的微生物进行高通量测序,分析了 ANAMMOX 反应器内微生物的分布情况,以期为 ANAMMOX 反应器内微生物群落相对丰度及群落结构变化提供理论依据.

#### 1 材料与方法

#### 1.1 实验装置

反应器为 UBF 厌氧氨氧化反应器,由有机玻璃制成,呈圆柱形,总容积为 3.94 L,有效容积为 2.1 L,直径为 8 cm,总高度为 66 cm,内置 20 cm 高的填料层,外裹黑布,避免光对厌氧氨氧化菌的抑制.废水通过蠕动泵从反应器的底部连续泵入,与污泥混合后,反应生成的气体从反应器顶部的排气孔排出,出水由反应器上部的溢流堰流出.进水 pH 控制在 7.1 ~7.8,在常温条件下启动.实验装置如图 1 所示.

#### 1.2 接种污泥和实验用水

反应器接种污泥来自广州市沥滘污水处理厂缺氧池,接种量为800 mL.

实验采用模拟废水, 主要成分为  $NH_4Cl$  和  $NaNO_2$ , 其浓度按实验需要添加. 其它成分为:  $NaHCO_31000~mg \cdot L^{-1}$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  473  $mg \cdot L^{-1}$ ,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  180  $mg \cdot L^{-1}$ ,  $KH_2PO_4$  27  $mg \cdot L^{-1}$ , 微量元素  $I 1 mg \cdot L^{-1}$  和微量元素  $II 1 mg \cdot L^{-1}$ . 其中微量元素  $II 1 mg \cdot L^{-1}$ . 微量元素  $II 1 mg \cdot L^{-1}$ . 微量元素  $II 1 mg \cdot L^{-1}$ . 微量元素  $II 1 mg \cdot L^{-1}$  和  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  5 000  $mg \cdot L^{-1}$ . 微量元素  $II 1 mg \cdot L^{-1}$  和  $II 1 mg \cdot L^{-1}$  和 II 1

#### 1.3 水样检测方法

氨氮:纳氏试剂分光光度法;亚硝氮: N-(1-萘基)-乙二胺光度法;硝氮:紫外分光光度法<sup>[16]</sup>;总氮

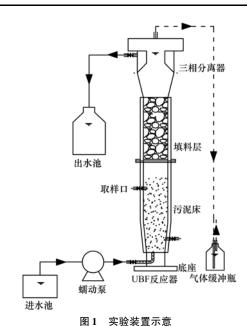


Fig. 1 Schematic diagram of experimental equipment

## 为氨氮、亚硝氮和硝氮之和;pH 值采用 pH 计测定. **1.4** 微生物群落多样性检测方法

#### 1.4.1 DNA 提取

反应器运行至第54 d 时取下层污泥20 mL(标记为CYR110,文中表示富集阶段),此时污泥高度为19.6 cm. 第83 d 时分别取上层污泥(标记为CYR111)和下层污泥(标记为CYR112,文中表示稳定运行阶段)各20 mL,此时污泥高度为24.4 cm.下层污泥的取样口距离底部4.4 cm,上层污泥的取样口距离底部20.7 cm. 采用Powersoil土壤DNA提取试剂盒提取基因组DNA. 提取的DNA使用琼脂糖凝胶电泳检测DNA纯度,使用Nanodrop检测DNA浓度.

#### 1.4.2 PCR 扩增

采用16S rRNA V4 区通用引物,引物序列为515F 5′-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3′和806R 5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′,扩增片段大小为300bp 左右. 采用 PCR 仪对细菌16S rRNA基因进行PCR 扩增,扩增反应体系(60  $\mu$ L)为10x Ex *Taq* Buffer 6  $\mu$ L, dNTP 6  $\mu$ L, BSA 0.6  $\mu$ L, Ex *Taq* 0.3  $\mu$ L, Primer F 1.2  $\mu$ L, Primer R 1.2  $\mu$ L, DNA 1  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 43.7  $\mu$ L. 按照 PCR 反应条件(94°C 5 min, 94°C 30 s,52°C 30 s,72°C 45 s,72°C 10 min)进行, 31 Cycles PCR 完成后利用琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物.

#### **1.4.3** Illumina 高通量测序

采用 Illumina Hisep PE250 测序平台对采集的样品进行高通量测序.

#### 1.4.4 数据处理分析方法

采用 Origin 7.5 和 AutoCAD 2007 软件绘制图,并 采用 SPSS 19.0(IBM Inc, USA)软件对数据进行分析.

#### 2 结果与讨论

#### 2.1 反应器的脱氮性能

反应器运行至第54d时,保持HRT为8h不变, 以提高进水NH<sub>4</sub>+N和NO<sub>5</sub>-N浓度的方式增大反应 器的容积负荷,此时NH,+-N、NO,--N和TN的去除 率分别为 76.18%、53.47%和 55.66%,总氮容积 负荷和去除负荷分别为 0.56 kg·(m³·d)<sup>-1</sup>和 0.29 kg·(m³·d)<sup>-1</sup>. 当反应器运行至第83 d 时,NH<sub>4</sub>+-N、 NO<sub>2</sub>-N和 TN 的去除率分别为 99.4%、93.1% 和 82.8%,总氮容积负荷和去除负荷分别为 1.25 kg·(m³·d)<sup>-1</sup>和 1.04 kg·(m³·d)<sup>-1</sup>,说明反应器启 动成功. 由图 2 可以看出, NH4+N、NO5-N浓度和 NLR 呈梯度升高. 当反应器的总氮容积负荷由 0.52 kg·(m³·d) -1 增大至 2.75 kg·(m³·d) -1 时, TN 的去除率由 55.66% 增大至 82.96%. 蒋军等[17] 研究表明, 当反应器的容积负荷由 0.21 kg·(m³·d) -1增大至 0.84 kg·(m³·d) -1时,TN 的去 除率由 67.98% 减小至 50.4%, 与本研究结果有较 大差异,可能与实验装置和反应条件有关. 实验的 前40多天,出水中的NH4+N和NO2-N浓度较稳定, 分别在 0~30 mg·L<sup>-1</sup> 和 4~53 mg·L<sup>-1</sup> 之间波动. 当进水 NH<sub>4</sub>+N 和 NO<sub>2</sub>-N 浓度分别增大至 240

mg·L<sup>-1</sup> 和 300 mg·L<sup>-1</sup> 时, 出水中的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO, -N浓度有所增大,但增大幅度较小,通过降低进 水的 pH 值,出水中的NH<sub>4</sub>+N和NO<sub>5</sub>-N浓度经过 1 d 分别降低至 0~10 mg·L<sup>-1</sup> 和 15~30 mg·L<sup>-1</sup> 之间. 随着进水NH4+N和NO5-N浓度的继续增大,当进水 NH<sub>4</sub> -N 和NO<sub>7</sub> -N 浓度分别达到 330 mg·L<sup>-1</sup> 和 430 mg·L-1 时, 反应器出水水质突然恶化, 出水的 NH<sub>4</sub> -N和NO<sub>2</sub> -N浓度分别增大至 89 mg·L<sup>-1</sup> 和 163  $mg \cdot L^{-1}$ . 此时  $NH_4^+ - N$  和  $NO_5^- - N$  的去除率分别为 73.0%和62.1%,此时厌氧氨氧化菌的活性受到抑 制. Dapena-Mora 等[18]研究发现当NO<sub>2</sub>-N浓度达到 350 mg·L<sup>-1</sup> 时,厌氧氨氧化菌的活性会降低 50%. 在不同研究中,NO;-N对厌氧氨氧化菌的抑制浓度 是不同,这可能与菌种及操作条件有关. 为了较快 地恢复反应器的脱氮性能,将进水NH,<sup>+</sup>-N和NO,<sup>-</sup>-N 浓度分别降低至310 mg·L<sup>-1</sup> 和400 mg·L<sup>-1</sup>. 经过7 d的恢复期,出水中的NH<sub>4</sub>+N和NO<sub>2</sub>-N浓度分别降 低至 16 mg·L<sup>-1</sup> 和 56 mg·L<sup>-1</sup>, NH<sub>4</sub> -N和NO<sub>2</sub> -N的 去除率分别恢复至95.0%和86.6%.研究表明, NO, -N毒性显著强于NH, -N, 在进水NO, -N浓度较 高或进水NO, -N/NH, -N相对较高的条件下,反应 器性能易因基质抑制而失稳[19,20].

#### 2.2 ANAMMOX 反应器微生物群落多样性研究

#### 2.2.1 Alpha 多样性指数分析

由 Observed species 和 Chaol 指数可知(见表

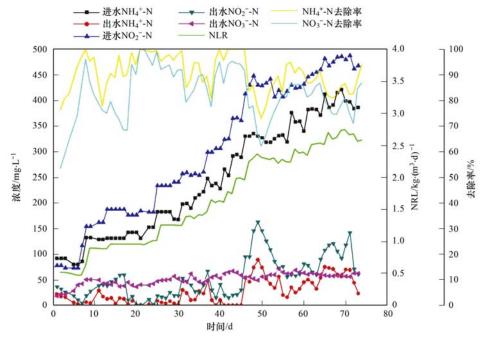


图 2 ANAMMOX 反应器的脱氮性能

Fig. 2 Nitrogen removal performance of ANAMMOX reactor

1),富集阶段反应器内的微生物群落相对丰度要高于稳定运行阶段,而在稳定运行阶段,反应器内的上层微生物群落相对丰度要高于下层,说明反应器内的微生物经过一段时间的驯化后,部分微生物适应不了无机厌氧环境而逐渐死亡,造成微生物的丰度降低.由 PD whole tree、Shannon和 Simpson指数可知(见表1),富集阶段反应器内的微生物群落多样

性要高于稳定运行阶段,而稳定运行阶段反应器内的上层微生物群落多样性要高于下层,说明反应器内的 AnAOB 经过一段时间的驯化后形成了优势种群,导致微生物群落多样性的减少.由于废水是从反应器的底部泵入,因此反应器下层的 AnAOB 最先被驯化成优势种群,因而下层的微生物群落多样性要低于上层.

表 1 生物多样性分析

Table 1 Biodiversity analysis

样品	PD whole tree 指数	Chao1 指数	Observed species 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
CYR110	136	3 849	2 633	8. 89	0. 982 839 628 487 7
CYR111	121	3 332	2 152	8. 10	0. 977 692 421 387 3
CYR112	106	2 531	1 758	7. 14	0. 941 050 849 681

#### 2.2.2 门水平物种相对丰度分析

由图 3 可知,所测得的相对丰度大于等于 1%的门隶属于 14 个门.其中,富集阶段反应器中的微生物主要以变形菌门 Proteobacteria、拟杆菌门Bacteroidetes、绿弯菌门 Chloroflexi、泉古菌门Crenarchaeota和广古菌门 Euryarchaeota为主,稳定运行阶段反应器中的微生物主要以变形菌门Proteobacteria、拟杆菌门 Bacteroidetes、绿弯菌门Chloroflexi和浮霉菌门Planctomycetes为主,反应器中的浮霉菌门和变形菌门有了明显的增加,分别由1.1%、27.9%增加到了 26.4%、39.9%.而拟杆菌门、绿弯菌门、泉古菌门和广古菌门都明显减少.反应器上下层物种相对丰度有明显的差异.底部的浮霉菌门明显比上层多,而上层的拟杆菌门要比底部多.

#### 2.2.3 科水平物种相对丰度分析

由图 4 可知,所测得的相对丰度大于等于 1%的科隶属于 21 个科,其中,富集阶段反应器中的微生物主要以厌氧蝇菌科 Anaerolinaceae、红环菌科Rhodocyclaceae、丛毛单孢菌科 Comamonadaceae 为主.稳定运行阶段反应器中的上层污泥主要以厌氧蝇菌科 Anaerolinaceae、红环菌科 Rhodocyclaceae、丛毛单孢菌科 Comamonadaceae 和 Brocadiaceae 为主,下层污泥主要以厌氧蝇菌科 Anaerolinaceae、红环菌科 Rhodocyclaceae、丛 毛 单 孢 菌 科 Comamonadaceae、黄单胞菌科 Xanthomonadaceae 和 Brocadiaceae 为主.反应器中的厌氧蝇菌科 Anaerolinaceae、和 Brocadiaceae、黄单胞菌科 Xanthomonadaceae 和 Brocadiaceae、甲烷丝状菌科 Methanosaetaceae、WSA2、腐螺旋菌科 Saprospiraceae、热孢菌科 Thermotogaceae 和互营菌科 Syntrophaceae 有明显的

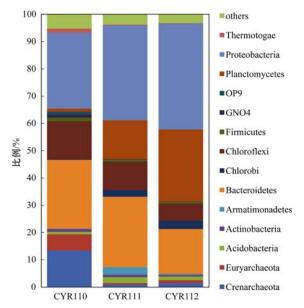


图 3 门水平物种相对丰度分布

Fig. 3 Relative abundance distribution at phylum level

减少,其中 WSA2、腐螺旋菌科 Saprospiraceae、热孢菌科 Thermotogaceae 和互营菌科 Syntrophaceae 在稳定运行阶段几乎看不到。而红环菌科 Rhodocyclaceae、丛毛单孢菌科 Comamonadaceae、黄单胞菌科 Xanthomonadaceae 和 Brocadiaceae 有了明显的增加,其中 Brocadiaceae 增加最为显著,由0.0746%增加到了24.5727%。反应器上层 Brocadiaceae 占12.4869%,下层占24.5727%,下层 Brocadiaceae 的丰度明显比上层高。Brocadiaceae 属于浮霉菌门下的一个科,已出现的厌氧氨氧化菌主要来自于这个科[21]。由此可知,厌氧氨氧化反应器经过一段时间的运行后,反应器中的厌氧氨氧化微生物明显增加了。而反应器下层的厌氧氨氧化微生

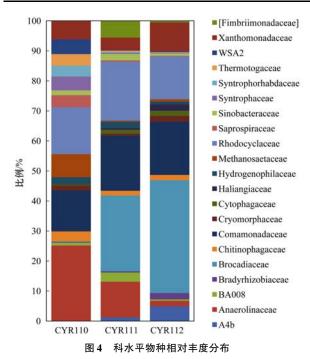


Fig. 4 Relative abundance distribution at family level

物明显比上层高.

#### 2.2.4 物种相对丰度热图分析

由图5可知,稳定运行阶段的下层污泥中的 Brocadiaceae、噬纤维菌科 Cytophagaceae、丛毛单胞 菌科 Comamonadaceae、 SB1、黄单胞菌科 生 根 Xanthomonadaceae 、 慢 瘤 菌 Bradyrhizobiaceae 、 A4b, Haliangiaceae \ Cryomorphaceae、生丝微菌科 Hyphomicrobiaceae 群 落相对丰度要比上层高,其中,上层污泥中的 Brocadiaceae、噬纤维菌科 Cytophagaceae、丛毛单胞 菌科 Comamonadaceae、SB1 群落相对丰度要比富集 阶段高. 相反, 富集阶段反应器中的热袍菌科 Thermotogaceae、互营杆菌科 Syntrophobacteraceae、 Syntrophorhabdaceae、互营菌科 Syntrophaceae、腐螺 旋菌科 Saprospiraceae、WSA2、甲烷丝状菌科 Methanosaetaceae、甲烷杆菌科 Methanobacteriaceae、 厌氧蝇菌科 Anaerolinaceae、 暖蝇菌科 Caldilineaceae、肉杆菌科 Carnobacteriaceae 群落相 对丰度要比稳定运行阶段高. 总体来看,富集阶段 反应器内的微生物群落结构与稳定运行阶段相比相 差很大,而稳定运行阶段反应器上下层的微生物群 落结构也有较大的差异. Chen 等[12]研究表明 ABR 厌氧氨氧化反应器各隔室的微生物群落结构存在较 大的差异,与本研究结果相符.

#### 2.2.5 脱氮细菌多样性分析

通过高通量的扩增子测序,共鉴定出门的细菌

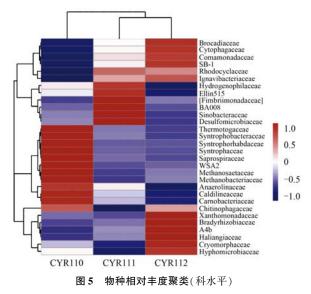


Fig. 5 Clustering of relative abundance

40 种. 其中,涉及到脱氮细菌的有变形菌门、浮霉菌门和硝化螺旋菌门3种,变形菌门丰度最高,与多数厌氧氨氧化反应器微生物群落分布情况相一致[9,22,23].

在变形菌门中,富集阶段的样品中共鉴定出属 的细菌 67 种,占据比例较高的是陶厄氏菌属 Thauera (1. 532%), Dok59 (1. 318%), Thibacillus 硫杆菌属(0.888%)和互营杆菌属 Syntrophobacter (0.650%). 稳定运行阶段的上层污泥样品中共鉴 定出属的细菌 56 种,占据比例较高的是 Dok59 属 (4.644%)、Thauera 属(2.560%)、Thibacillus 属 (1.074%) 和脱硫微菌属 Desulfomicrobium (0.923%),稳定运行阶段的下层污泥样品中共鉴 定出属的细菌 54 种,占据比例较高的是 Dok59 属 (6.014%)、Thauera 属 (1.447%)、Thibacillus 属 (0.638%)和 Thermomonas 属(0.503%). 变形菌门 中属的细菌多样减小. Thauera 属、Dok59 属和 Thibacillus 属丰度最高,其中 Thauera 属和 Thibacillus 属是 $\beta$ -变形菌纲中的反硝化细菌. 此外, 富集阶段的样品中只检测出 Nitrosovibrio 这一种氨 氧化细菌(AOB), 仅占 0.011%, 属于 β-变形菌亚 纲. AOB 属于能够在有氧条件下将氨氧化为亚硝酸 盐的化能无机自养型细菌. 本实验装置没有专门的 除氧设备,因此会伴随有少量的氧气进入反应器中 为 AOB 提供有氧环境. 由图 6 可以看出, $\Delta$ NO, $\bar{}$ -N/  $\Delta NH_4^+$ -N值在最初的 10 d 由 0. 60 增大至 1. 31,然后 在 1.05 ~ 1.41 之间波动. ΔNO<sub>3</sub> -N/ΔNH<sub>4</sub> -N值在 最初的 10 d 由 0.22 增大至 0.44,然后逐渐减小至 0.15. 说明富集阶段部分NH4+N被 AOB 转化为亚

硝酸盐. 而稳定运行阶段的 $\Delta NO_2^-$ -N/ $\Delta NH_4^+$ -N值较接近理论值 1.  $32^{[24]}$ ,说明此时 $NH_4^+$ -N几乎全部由AnAOB 所利用.

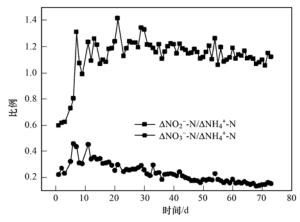


图 6 3 种氮素的比值变化

Fig. 6 Ratio variation of three forms of nitrogen

硝化螺旋菌门是测序得到的三大脱氮细菌门中所占比例最小的,在 0.035% ~ 0.188% 之间,富集阶段的含量最高(0.188%).推测富集阶段的 AOB将部分氨转化为亚硝酸盐,导致剩余亚硝酸盐的积累,而硝化螺旋菌门是亚硝化反应的主要微生物,因此含量高于稳定运行阶段.在硝化螺旋菌门中,共鉴定出 2 种属的细菌,分别为 GOUTA19 和Nitrospira,其中,Nitrospira 为亚硝盐氧化细菌(NOB),所占比例在 0.023% ~ 0.174% 之间,富集阶段的含量最高(0.174%).推测富集阶段的 AOB将部分氨转化为亚硝酸盐,导致剩余亚硝酸盐的积累,而 NOB 可将亚硝酸盐氧化为硝酸盐,因此含量高于稳定运行阶段.

在浮霉菌门中共鉴定出属的细菌 5 种,分别为 Gemmatia、A17、Pirellula、Planctomyces、Candidatus brocadia,其中,Candidatus brocadia 所占的比例最高,在  $0.011\% \sim 1\%$  之间. 稳定运行阶段 Candidatus brocadia 所占的比例(1%)高于富集阶段 (0.011%),与稳定运行阶段的去除负荷 1.04 kg·(m³·d)  $^{-1}$ 高于富集阶段 0.29 kg·(m³·d)  $^{-1}$ 相一致. Candidatus brocadia 属是第一个被富集鉴定的 AnAOB  $^{[25]}$ ,属于 Brocadiaceae 科. 而属于 Brocadiaceae 科的 96%序列通过 BLAST 进行序列比对发现与多条序列同源性相似,因此无法确定是哪种属. 推测未分类菌属中可能含有未鉴定出的 AnAOB 新种.

#### 3 结论

(1)采用提高进水NH<sub>4</sub> -N和NO<sub>2</sub> -N浓度的方式

- 将 ANAMMOX 反应器的容积负荷由 0.52 kg·(m³·d)  $^{-1}$  增大至 2.75 kg·(m³·d)  $^{-1}$ , NH<sub>4</sub>  $^{+}$ -N、NO<sub>2</sub>  $^{-}$ -N和 TN 的去除率分别从 76.18%、53.47%、55.66% 增大至 94.04%、86.97%、82.96%, AnAOB 成功富集.
- (2)由 Alpha 多样性指数分析可知,反应器富集 阶段的微生物群落相对丰度和群落多样性要高于稳 定运行阶段,而在稳定运行阶段,反应器内的上层微 生物群落相对丰度和群落多样性要高于下层.
- (3)由门水平物种相对丰度分析可知,反应器中的浮霉菌门和变形菌门有明显的增加,其中,浮霉菌门的丰度增大最为显著. 反应器底部的浮霉菌门明显比上层多,而上层的拟杆菌门要比底部多. 由科水平物种相对丰度分析可知,反应器富集阶段以厌氧蝇菌科的相对丰度最高,为9.47%. 稳定运行阶段 Brocadiaceae 的相对丰度最高,达到了24.57%,成为优势菌群.
- (4)由物种相对丰度热图分析可知,富集阶段 的微生物群落结构与稳定运行阶段相比相差很大, 而稳定运行阶段反应器上下层微生物群落结构也有 较大的差异.
- (5)由测序结果可知,稳定运行阶段 UBF 厌氧 氨氧化反应器中的脱氮细菌较为丰富,其中变形菌门、浮霉菌门和硝化螺旋菌门分别占 39.9%、26.4%和0.188%.变形菌门中占据比例较高的是 Dok59 属、Thauera 属、Thibacillus 属和 Thermomonas 属. 浮霉菌门主要包含 Candidatus brocadia.

#### 参考文献:

- [1] Mulder A, van de Graaf A A, Robertson L A, et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 16(3): 177-184
- [2] Strous M, Fuerst JA, Kramer E H M, et al. Missing lithotroph identified as new planctomycete [J]. Nature, 1999, 400 (6743): 446-449.
- [ 3 ] Lotti T, van der Star W R L, Kleerebezem R, et al. The effect of nitrite inhibition on the Anammox process [ J ]. Water Research, 2012, 46(8): 2559-2569.
- [4] Liang Z, Liu J X. Landfill leachate treatment with a novel process: anaerobic ammonium oxidation (Anammox) combined with soil infiltration system[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, 151(1): 202-212.
- [5] van Dongen U, Jetten M S M, Van Loosdrecht M C M. The sharon-anammox process for treatment of ammonium rich wastewater[J]. Water Science and Technology, 2001, 44(1): 153-160
- [6] 王欢, 李旭东, 曾抗美. 猪场废水厌氧氨氧化脱氮的短程硝化反硝化预处理研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(1): 114-119.

- Wang H, Li X D, Zeng K M. Nitritation-denitrification process as a pretreatment of ANAMMOX to remove nitrogen from piggery wastewater[J]. Environmental Science, 2009, 30 (1): 114-119.
- [7] Kartal B, de Almeida N M, Maalcke W J, et al. How to make a living from anaerobic ammonium oxidation [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37(3): 428-461.
- [8] 丁爽, 郑平, 唐崇俭, 等. 三种接种物启动 Anammox-EGSB 反应器的性能[J]. 生物工程学报, 2011, 27(4): 629-636. Ding S, Zheng P, Tang C J, et al. Performances of Anammox-EGSB bioreactors started up with three different seeding sludges [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2011, 27(4): 629-636.
- [9] 陈重军,张海芹,汪瑶琪,等. 基于高通量测序的 ABR 厌氧 氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析[J]. 环境科学, 2016, 37(7): 2652-2658. Chen C J, Zhang H Q, Wang Y Q, et al. Characteristics of microbial community in each compartment of ABR ANAMMOX reactor based on high-throughput sequencing[J]. Environmental Science, 2016, 37(7): 2652-2658.
- [10] 秦玉洁,周少奇,朱明石. 厌氧氨氧化反应器微生态的研究 [J]. 环境科学,2008,29(6):1638-1643.
  Qin Y J, Zhou S Q, Zhu M S, et al. Microecology of the anaerobic ammonium oxidation reactor [J]. Environmental Science, 2008,29(6):1638-1643.
- [11] De Lille M V, Berkhout V, Fröba L, et al. Ammonium estimation in an ANAMMOX SBR treating anaerobically digested domestic wastewater[J]. Chemical Engineering Science, 2015, 130: 109-119.
- [12] Chen C J, Sun F Q, Zhang H Q, et al. Evaluation of COD effect on anammox process and microbial communities in the anaerobic baffled reactor (ABR) [J]. Bioresource Technology, 2016, 216: 571-578.

[13]

唐霁旭, 王志伟, 马金星, 等. 454 高通量焦磷酸测序法鉴定

- 膜生物反应器膜污染优势菌种[J]. 微生物学通报, 2014, **41**(2): 391-398.

  Tang J X, Wang Z W, Ma J X, et al. Identifying predominant strains causing membrane biofouling by using 454 high-throughput pyrosequencing[J]. Microbiology China, 2014, **41**(2): 391-
- [14] Isanta E, Bezerra T, Fernández I, et al. Microbial community shifts on an anammox reactor after a temperature shock using 454pyrosequencing analysis [J]. Bioresource Technology, 2015,

- 181 · 207-213.
- [15] Cao S B, Du R, Li B K, et al. High-throughput profiling of microbial community structures in an ANAMMOX-UASB reactor treating high-strength wastewater [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100 (14): 6457-6467.

38 卷

- [16] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京; 中国环境科学出版社, 2002.
- [17] 蒋军,吴立波,付丽霞,等. 容积负荷对厌氧氨氧化反应器运行影响的研究[J]. 环境工程学报,2010,4(2):283-287
  - Jiang J, Wu L B, Fu L X, et al. Study on influence of volume loading on running of ANAMMOX reactor[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2010, 4(2): 283-287.
- [18] Dapena-Mora A, Fernández I, Campos J L, et al. Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 40(4): 859-865.
- [19] Jin R C, Yang G F, Yu J J, et al. The inhibition of the Anammox process: a review[J]. Chemical Engineering Journal, 2012, 197: 67-79.
- [20] Kimura Y, Isaka K, Kazama F, et al. Effects of nitrite inhibition on anaerobic ammonium oxidation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(1): 359-365.
- [21] Krieg N R, Ludwig W, Whitman W, et al. Bergey's manual of systematic bacteriology (2nd ed.) [M]. New York: Springer-Verlag, 2010.
- [22] Bae H, Chung Y C, Jung J Y. Microbial community structure and occurrence of diverse autotrophic ammonium oxidizing microorganisms in the anammox process [J]. Water Science and Technology, 2010, 61(11): 2723-2732.
- [23] 李滨, 赵志瑞, 马斌, 等. 克隆文库方法分析厌氧氨氧化反应器中细菌群落结构[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(12): 159-164, 179.
  Li B, Zhao Z R, Ma B, et al. Analysis on bacterial diversity of an anaerobic ammonium-oxidizing reactor by use of 16S rDNA clone library[J]. Environmental Science & Technology, 2012,
- [24] Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1998, 50(5): 589-596.

**35**(12): 159-164, 179.

[25] Kuenen J G, Jetten M S M. Extraordinary anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. ASM News, 2001, **67**(9): 456-463.

## **HUANJING KEXUE**

Environmental Science (monthly)

Vol. 38 No. 4 Apr. 15, 2017

### **CONTENTS**

CONTENTS	
Dry and Bulk Nitrogen Deposition in Suburbs of Xining City	
Day-Night Variation and Source Apportionment of Carbonaceous Aerosols in PM <sub>10</sub> During Spring and Summer of Lanzhou	
Characteristics of the Size Distribution of Water Soluble Inorganic Ions in Sanya, Hainan	
Pollution Characteristics of NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> in PM <sub>2,5</sub> and Their Precursor Gases During 2015 in an Urban Area of Beijing	
Pollution Characteristics of PCDD/Fs in Ambient Air and Exposure Risk Assessment Around a Municipal Solid Waste Incinerator i	
Community Characteristics of Cultivable Bacteria in Fine Particles(PM <sub>2.5</sub> ) of Beijing and Baoding	
Emission Characteristics of Vehicle Exhaust in Artery and Collector Roads in Nanjing Based on Real-time Traffic Data	
Catalytic Combustion of Soot Particulates over Rare Earth Pyrochlore Oxides Doped with Transition Metals	
Water Quality Analysis of Beijing Segment of South-to-North Water Diversion Middle Route Project	
Hanfeng Pre-reservoir Commissioning Time Variation Feature of the Hydrology and Water Quality in Three Gorges Reservoir	
Modeling of Water Quality Response to Land-use Patterns in Taizi River Basin Based on Partial Least Squares · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
Distribution Characteristics of Water Temperature and Water Quality of Fuxian Lake During Thermal Stratification Period in Summe	
Vertical Stratification Characteristics of Dissolved Oxygen and Phytoplankton in Thousand-Island Lake and Their Influencing Factor	
Community Structure Characteristics of Eukaryotic Planktonic Algae in Liaohe River Through High-throughput Sequencing	
Effects of Coastal Organic Pollution on Bacterioplankton Community in Sanmen Bay	
Nitrate Source Identification and Nitrification-denitrification at the Sediment-water Interface	9.
Residues of Organochlorine Pesticides (OCPs) in Water and Sediments from Nansha Mangrove Wetland	
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metals from River Network Sediment in Western Area of Taihu Lake	
Efficacy of Phoslock® on the Reduction of Sediment Phosphorus Release in West Lake, Hangzhou, China	
Identification and PAC Adsorption of Foulants Responsible for Irreversible Fouling During Ultrafiltration of Dongjiang River Water	
Efficiency and Kinetics of Triclosan Degradation in Aqueous Solution by UV/Sodium Persulfate	
Influencing Factors on the Degradation of PFOS Through VUV-SO <sub>3</sub> <sup>2</sup> -	
Simultaneous Photocatalytic Reduction of Cr( VI) and Oxidation of SSA by Carbon Nitride	
Modification of Diatomite by Zirconium and Its Performance in Phosphate Removal from Water	
Reducing Effect of Three Disinfection Technologies for Sulfonamides Resistance Genes	
Removal of Estrogenic Effect by Typical Domestic Wastewater Treatment Processes	
Effect of SRT on Stability of Yeast-SBR in Treating Oil-containing Wastewater	
Degradation of the Disperse Dye Neocron Black(NB) by Biological Treatment	
Function of Polyphosphate Kinase Gene in Biological Phosphate Removal During the Wastewater Treatment Process	
Short-cut Nitrification Recovery and Its Transformation into CANON Process in a Biofilm Reactor	
Nitrogen Removal Characteristics and Diversity of Microbial Community in ANAMMOX Reactor	
Effect of Environment Adjustment Layers on Nitrogen Transformation in Anaerobic Bioreactor Landfills	
Characteristics of Anaerobic Methane Removal Coupled to Fe( ■ ) Reduction in Aged Refuse	
Assessment of Heavy Metal Pollution and Tracing Sources by Pb & Sr Isotope in the Soil Profile of Woodland in Quanzhou  Accumulation and Migration Characteristics in Soil Profiles and Bioavailability of Heavy Metals from Livestock Manure	
Pollution Characteristics and Source Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Agricultural Soils from Shandong	•
Distribution Characteristics and Influencing Factors of Organophosphorus Pesticides in Typical Soil Environment of Jianghan Plain	WANG lian wai 7HANG Cai niong DAN 7han shop at al. (1507)
Characteristics and Influencing Factors of Biologically-based Phosphorus Fractions in the Farmland Soil	
Effect of Straw Application on the Dynamics of Exogenous Nitrogen and Microbial Activity in Paddy Soil	
Effects of Biochar on Surface Albedo and Soil Respiration in Suburban Agricultural Soil	
N <sub>2</sub> O Consumption Ability of Submerged Paddy Soil and the Regulatory Mechanism	
Non-CO <sub>2</sub> Greenhouse Gas Release from Different Biological Wastewater Treatment Processes	
Effect of Application of Sewage Sludge Composts on Greenhouse Gas Emissions in Soil	
Effect of Nano Zeolites on pH, CEC in Soil and Cd Fractions in Plant and Soil at Different Cadmium Levels	
Dynamic Differences of Uptake and Translocation of Exogenous Selenium by Different Crops and Its Mechanism	•
Alleviation Effects of Exogenous Melatonin on Ni Toxicity in Rice Seedings	
Forms Distribution and Ecotoxicity of Three Forms of Sulfonamides in Root-Soil Interface of Maize	
Effect of Sediments on Bioaccumulation of Mercury in Fish Body in the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	
Bioaccumulation and Correlation of Heavy Metals in Human Hairs From Urban and Rural Areas of Chongqing	
Microbial Community Structure and Diversity in Cellar Water by 16S rRNA High-throughput Sequencing	
Performance Improvement of Microbial Fuel Cell with Polyaniline Dopped Graphene Anode	
Brief Introduction of Pollution Sites Remediation and Risk Assessment and Its Policy Making in United States	
DEAL IMPORTAGE OF LOURISH SHOP REPRESENTED AND ASSESSMENT AND ITS LOURS MAKING III CHIRCU STATES	Nono rue (1/20)