

单级序批式生物膜反应器 (SBBR) 多途径生物脱氮研究

徐峥勇, 杨朝晖*, 曾光明, 王荣娟, 肖勇, 许朕

(湖南大学环境科学与工程学院, 长沙 410082)

摘要: 利用传统微生物分析技术与 PCR、变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 等分子生物学技术相结合的方法, 对单级 SBBR 反应器中的主要生物脱氮途径进行分析. 结果表明, 亚硝化-厌氧氨氧化-反硝化途径是主要的脱氮途径, 通过该途径去除的 NH_4^+ -N 占总去除量的 65% 以上; 另外 2 条途径则分别是亚硝化-反硝化途径以及全程硝化-反硝化途径. 所有途径都采取同步和分步 2 种方式完成, 同步方式以曝气阶段的氮素亏损形式予以表现. 分步方式则依靠各种脱氮微生物在曝气阶段和厌氧阶段不同的活性程度完成, 亚硝酸细菌是曝气阶段的主要活性菌种, 完成 NH_4^+ -N 向 NO_2^- -N 的转化, 而厌氧氨氧化细菌和反硝化细菌则在厌氧阶段成为优势菌种, 完成完整的生物脱氮过程.

关键词: 单级 SBBR; 多途径; 亚硝化; 厌氧氨氧化; 系统发育分析

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)10-2326-06

Approaches of Biological Nitrogen Removal in a Single Sequencing Batch Biofilm Reactor

XU Zheng-yong, YANG Zhao-hui, ZENG Guang-ming, WANG Rong-juan, XIAO Yong, XU Zhen

(College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract: The conventional microorganism techniques and the molecule biological techniques such as PCR and DGGE were utilized to study the approaches of biological nitrogen removal in a single sequencing batch biofilm reactor (SBBR). The main approach of biological nitrogen removal, no less than 65% of the total NH_4^+ -N was removed in this approach, was composed of partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification. The second approach included twain processes such as partial nitrification and denitrification, and the third one was conventional nitrogen removal process (nitrification and denitrification). All approaches accomplished simultaneously or asynchronously. When the approach occurred in the simultaneous way, it performed as nitrogen-loss. The accomplisher of asynchronous way depended on the microbe's different activity between aerated phase and anaerobic phase. First, ammonia was converted to nitrite in the aerated phase when the nitrite bacteria performed high activity, and then anaerobic phase was operated in turn when the denitrifying bacteria and the anammox bacteria eliminated the nitrogen form gases.

Key words: single SBBR; approaches; partial nitrification; anaerobic ammonium oxidation; phylogenetic analysis

序批式生物膜反应器 (sequencing batch biofilm reactor, SBBR), 最早由 Gonzale 等于 1990 年提出^[1]. 它是在序批式活性污泥法 (SBR) 的基础上, 遵循序批式活性污泥法的操作方式, 在反应器内装有不同的填料. 如投加活性炭 (粉末或颗粒状) 使污泥颗粒化或在反应器中安装填料使活性污泥在填料上形成生物膜, 是 1 种将生物膜与活性污泥法进行有机结合的新型复合式生物膜反应器^[2,3].

国内外众多的研究表明^[4~8], 序批式生物膜反应器 (SBBR) 兼有活性污泥法和生物膜法的优点, 一方面有利于提高系统的抗冲击负荷能力, 另一方面生物膜对加大反应器内的生物量和生物种类有更优的条件, 有利于世代周期较长的微生物 (如厌氧氨氧化细菌) 滞留和繁衍; 同时生物膜从表面到内部存在溶解氧的浓度梯度现象, 相应有好氧、兼氧和厌氧多

种状态, 为生物膜的同步脱氮提供了良好的环境.

笔者设计的 SBBR 反应器成功实现短程硝化-厌氧氨氧化的协同作用机制^[8], 并稳定运行 2 a 之久. 在此基础上, 深入研究反应器中各种形态的氮素的变化规律, 并利用分子生物学技术对生物膜上的细菌进行系统发育分析, 从而探索反应器内存在的主要生物脱氮途径及其相互之间的关系, 以期为进一步优化反应器结构及其运行方式提供依据.

收稿日期: 2006-12-18; 修订日期: 2007-03-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50478053); 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2003AA644010); 湖南省自然科学基金项目 (04JJ3004)

作者简介: 徐峥勇 (1981 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境生物技术, E-mail: xuyaze@21cn.com

* 通讯联系人, E-mail: yzh@hnu.cn

1 材料与方法

1.1 进水水质

实验用渗滤液原水取自长沙市某生活垃圾填埋场调节池尾部,其 COD 为 580 ~ 1 500 mg•L⁻¹, BOD₅ 为 150 ~ 420 mg•L⁻¹, NH₄⁺-N 为 440 ~ 590 mg•L⁻¹, NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 浓度低于检测下限, pH 值为 7.8 ~ 8.2. 在 30℃ 的条件下通过向渗滤液原水中投加 NH₄Cl 和蒸馏水调节将 NH₄⁺-N 浓度调节至 450 mg•L⁻¹, 进水氨氮负荷稳定在 300 mg•(L•d)⁻¹, 同时将 pH 调节至 7.8.

1.2 实验装置

实验中所采用的 SBBR 反应器装置如图 1 所示,主体部分为有效容积 3L 的圆柱形有机玻璃容器,内部填充半软性纤维组合填料,填充比为1:3. 外层设恒温水浴夹套,通过温控仪和加热水箱将废水温度控制在 32 ~ 34℃. 通过 PLC 控制系统控制进水、出水以及曝气的时间,同时利用溶解氧控制仪将溶解氧浓度控制在 1.2 ~ 1.4 mg•L⁻¹. 反应器排出的气体用装有 500 mL 0.01 mol•L⁻¹ 的稀硫酸溶液(滴入适量甲基红指示剂)吸收净化.

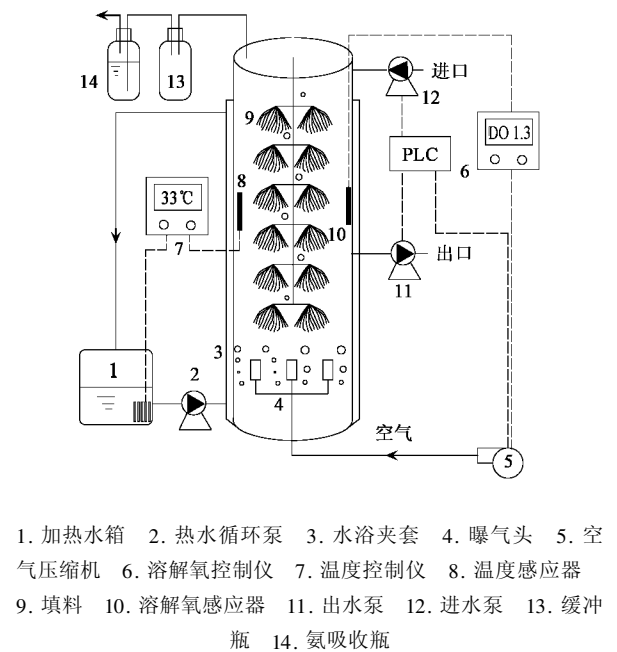


图 1 SBBR 反应器装置示意
Fig.1 Schematic chart of the SBBR reactor

1.3 SBBR 的运行方式

SBBR 的每个运行周期为 12 h, 分成 4 个阶段: ①进水期: 采取瞬间进水方式; ②反应期: 如图 2 所示, 将曝气阶段(O)设为 2 h, 厌氧阶段(A)设为 1 h,

两者交替进行. 同时采取限制性曝气, 将 SBBR 反应器内的溶解氧平均浓度控制在 1.2 ~ 1.4 mg•L⁻¹; ③沉淀期: 沉淀期为反应期的最后 1 个厌氧段; ④滗水期: 按瞬间出水计算, 排水比为 0.5.

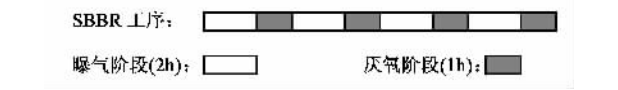


图 2 SBBR 反应期运行工序
Fig.2 Operating schedule of SBBR during reaction phase

1.4 分析项目与方法

(1) 常规检测 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 的浓度用分光光度计法进行检测(ET 99730, Lovibond, 德国); DO 用快速溶解氧测定仪进行检测(HI 9143, Hanna, 意大利); pH 用笔式 pH 测定仪进行检测(Pen pH meter, Lida, 中国).

(2) 细菌系统发育分析 分别在每个曝气阶段和厌氧阶段的中间时刻从生物膜上取样, 每次取样量约 0.3 g, 共计 8 个样品, 编号为 S1 ~ S8, 冻存于 -20℃ 备用; 生物膜样品 DNA 的提取采用杨朝晖等人的蛋白酶 K-CTAB 法^[9]. 分离后的 DNA 采用通用引物对 GC-341F 和 907R^[10] (GC-341F: 5'-CCTA CGGGAGGCAGCAG-3'; 907R: 5'-CCGTCAATTCCTTT GAGTTT-3')按照标准扩增程序进行 PCR 反应.

PCR 扩增产物使用 1% 琼脂糖进行凝胶电泳, 目的条带用 QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany)回收, 溶解于 60 μL 无菌 Milli-Q 水中. 取 30 μL 纯化后的 PCR 产物在 DCode System (Bio-Rad, USA) 上进行电泳, 变性梯度范围为 30% ~ 60%, 聚丙烯酰胺凝胶浓度为 6%, 电压为 140 V, 电泳时间为 15 h, 温度恒定为 55℃^[11]. 电泳结束后, 凝胶以 0.5 μg•mL⁻¹ 的溴化乙锭溶液染色, 洗涤数次后于 Gel Doc2000 凝胶成像系统 (BioRad, USA) 上成像检测.

在紫外灯下切下 DGGE 条带, 洗净后浸泡于 60 μL 无菌 Milli-Q 水中 24 h 以上, 取 20 μL 进行 PCR 扩增, 扩增产物经 DGGE 确认为单一条带后, 送交生物公司 (Sangon, 上海) 测序. 使用 GenBank 的 BLAST 对测序结果进行同源性分析, 根据同源性分析结果使用 DNASTar 5.0 分析软件建立系统发育树.

2 结果与分析

2.1 各形态氮素浓度的周期变化规律

在环境有利、营养合适的条件下, 微生物的种类、数量和活性往往决定了营养物质的变化的特征,

同样,营养物质的变化特征也从一个侧面反映了微生物的种类、数量和活性.SBBR 反应器中生物脱氮途径的种类最终取决于参与脱氮过程的细菌种类、数量及其特殊的生理特征.

采用 10 个周期的平均值考察在 1 个周期内 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的浓度变化特征,结果如图 3 所示. $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 浓度随时间的增长而逐渐降低,并且其浓度变化速率在厌氧阶段和曝气阶段非常接近. $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 在曝气阶段逐渐积累,并在曝气结束时出现峰值;一般来说当氧浓度受限时,硝酸细菌在与亚硝酸细菌竞争氧气的过程中失利,活性受到抑制^[12, 13], $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 会逐渐积累. $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 出现与 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 相似的浓度变化,在曝气阶段逐渐积累在厌氧阶段逐渐减少.

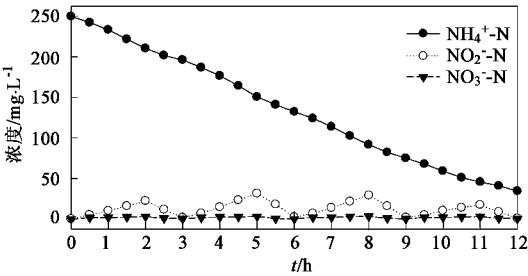
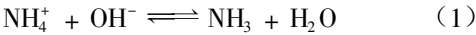


图 3 氮素浓度的周期变化特征

Fig.3 Cycle variation of nitrogen concentration in SBBR

2.2 氨氮的逸散性

氨的水溶液中具有如式(1)所示的平衡.



游离氨的质量浓度计算公式如式(2)所示^[14]:

$$\rho_{\text{FA}} = \frac{17\rho(\text{NH}_4^+ \text{-N} \times 10^{\text{pH}})}{14(K_b/K_w + 10^{\text{pH}})} \quad (2)$$

式中, K_b 为氨的离解常数, $K_b = 10^{-9.24}$ (20℃); K_w 为水的离解常数, $K_w = 0.69 \times 10^{-14}$ (20℃); $K_b/K_w = e^{[6.344/(273 + T)]}$. 由式(1)和(2)可以看出, pH 值和温度是影响游离氨的质量浓度的主要因素,而游离氨的质量浓度越高,则氨氮的逸散性越强.

一方面,随着反应器内混合液的 pH 值的增加,式(1)会向右进行反应,当游离氨的浓度超过饱和溶解度,氨氮则以氨气的形式从混合液中逸出,反应器内混合液的 pH 值变化如图 4 所示,在反应周期内, pH 值随着曝气和厌氧的交替而呈现先降低后升高的交替趋势,但在每个曝气和厌氧交替之后, pH 值有轻微下降. 因此在该反应器中, pH 值的变化是降低氨氮的逸散性.

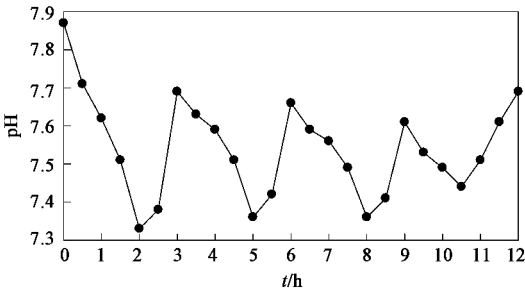


图 4 SBBR 内混合液的 pH 值周期变化特征

Fig.4 Cycle variation of pH in SBBR

但是另一方面,随着温度的升高,游离氨的质量浓度逐渐增加,而其饱和溶解度反而降低,这都将加速氨氮的逸散,并且曝气阶段的曝气过程能够加速氨氮由液相向气相的转移,增加氨氮的逸散速率和逸散量.

2.3 吸收液的 pH 值变化及各阶段逸散量

对缓冲瓶中的稀硫酸溶液的 pH 值变化进行实时监测,并根据吸收液的 pH 值变化值计算各曝气和厌氧阶段的氨氮逸散量,结果如图 5 所示. 可以看出,在曝气阶段吸收液的 pH 值持续升高,而在厌氧阶段吸收液的 pH 值几乎没有变化,在 1 个反应周期后,吸收液的 pH 值最终升高 0.11. 相应的氨氮逸散主要发生在曝气阶段,4 个曝气阶段的氨氮逸散量分别为:5.7、5.4、3.4 及 4.6,而厌氧阶段的氨氮逸散量极小,均接近于 0.

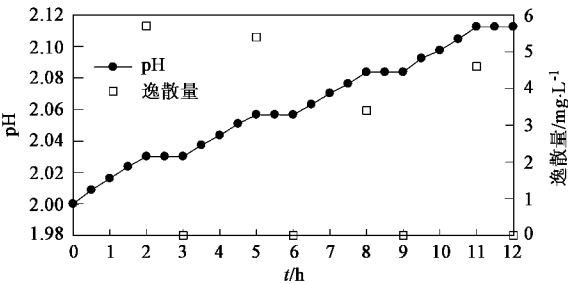


图 5 吸收液的 pH 值周期变化及各阶段逸散量

Fig.5 Cycle variation of pH in absorption liquid and dissipation capacity in each phases

2.4 反应期各阶段各形态氮素变化量分析

$\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 在厌氧条件下被同时去除是厌氧氨氧化的重要特征^[15], 理论上厌氧氨氧化过程中 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的消耗量之比约为 1.3^[16, 17]. 因此,根据图 3 和图 5 计算在反应期各曝气和厌氧阶段内各种形态的氮素的变化值,并分别计算在曝气阶段的氮素亏损值及厌氧阶段的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 与 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$

消耗量的比值,由此判断厌氧氨氧化的活性程度,其结果如表 1 所示.

表 1 各阶段各形态氮素浓度的变化量¹⁾/mg·L⁻¹

Table 1 Variation characteristic of nitrogen concentration in each phase/mg·L ⁻¹								
指标	曝气 1	厌氧 1	曝气 2	厌氧 2	曝气 3	厌氧 3	曝气 4	厌氧 4
NH ₄ ⁺ -N	-39.4	-14.3	-45.7	-18.2	-40.5	-16.8	-29.4	-11
NO ₂ ⁻ -N	22.4	-20.7	29.7	-29.1	27.2	-27.6	15.4	-16.6
NO ₃ ⁻ -N	2.9	-2.7	2.9	-3.1	3.3	-3.1	2.7	-2.6
氨逸散量	5.7	0	5.4	0	3.4	0	4.6	0
氮素亏损 ²⁾	-8.4	—	-7.7	—	-6.6	—	-6.7	—
NO ₂ ⁻ -N/NH ₄ ⁺ -N	—	1.45	—	1.60	—	1.64	—	1.51

1) 各阶段的变化值为阶段结束点与阶段开始点之间的数值之差; 2) 氮素亏损不考虑氮素中间形态及细胞合成

从表 1 可以看出,在曝气阶段,氮素均出现不同程度的亏损,氮素亏损表明部分 NH₄⁺-N 在有氧条件下转化为气态氮,而 NH₄⁺-N 转化为气态氮的途径主要通过厌氧氨氧化作用或异养反硝化作用. 在 0.5%~2.0% 的空气饱和度下,厌氧氨氧化细菌的活性甚至被完全抑制^[18],而大多数反硝化细菌是兼性厌氧细菌,能够利用氧或硝酸盐作为最终电子受体,只有当氧浓度受限时才利用硝酸盐取代氧进行厌氧呼吸^[19];曝气阶段,溶解氧平均浓度为 1.2~1.4 mg·L⁻¹,大部分反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌的活性受到抑制,但是依附于生物膜内层形成的厌氧微环境^[20,21]中的反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌却能够维持较高的活性,这一部分细菌将外层好氧生物膜产生的部分 NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 转化为气态氮.

在厌氧阶段,NO₂⁻-N 和 NH₄⁺-N 均以一定的比例同步去除,且消耗量之比接近理论值.因此厌氧阶段,氮素转化以厌氧氨氧化为主.厌氧氨氧化过程中,每消耗 1 mol NH₄⁺-N 约产生 0.22 mol NO₃⁻-N,但图 3 显示在厌氧阶段 NO₃⁻-N 不但没有产生积累,反而发生消减.亚硝酸细菌和厌氧氨氧化细菌都不能利用 NO₃⁻-N,它的消失只能是异养型反硝化细菌的贡献^[22].

2.5 生物膜细菌系统发育分析

分子生物学技术是鉴定微生物群落特征的有效手段,通过对生物膜上的细菌群落进行系统发育分析可以大致确定生物膜的生物群落特征,从而确定生物膜中可能存在的脱氮菌群种类.通过 PCR-DGGE 技术从 S1~S8 8 个生物膜样品获得 16 个不同的 16S rDNA 样品条带(见图 6),切胶扩增后送交生物公司(Sangon,上海)测序,使用 BLAST 程序将所得序列与 GenBank 数据库中的序列进行比对获得同源性信息,并根据同源性分析结果使用 DNASTar 5.0 分析软件建立如图 7 所示的系统发育树.从系统发

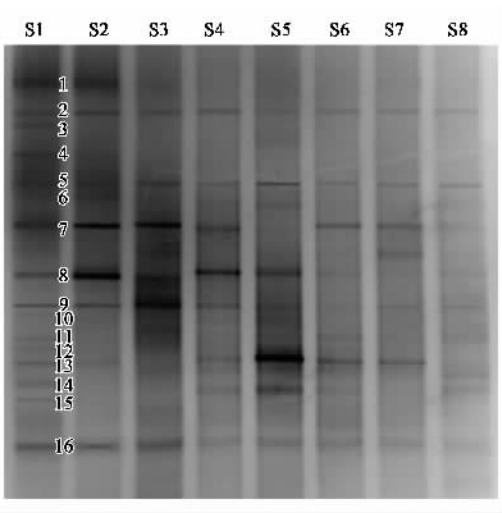


图 6 生物膜样品 DGGE 结果
Fig.6 DGGE results of biofilm samples

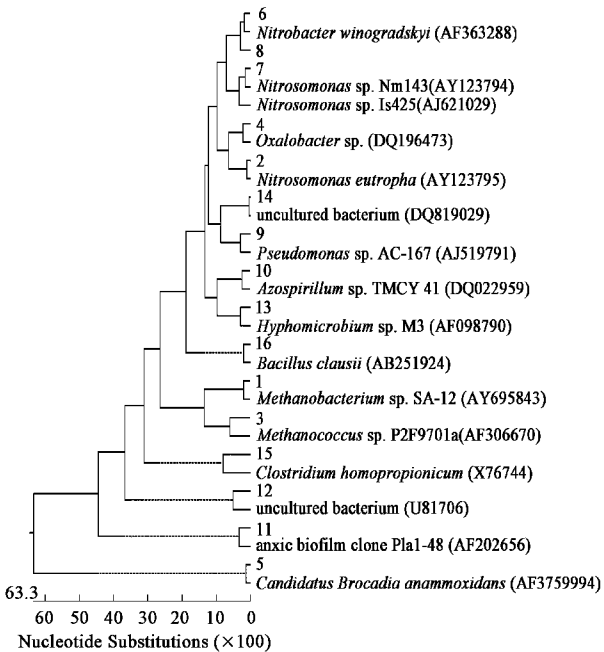
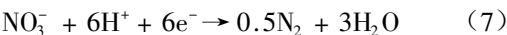
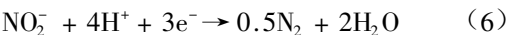
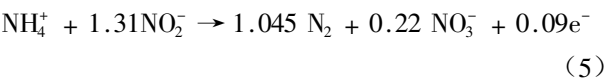
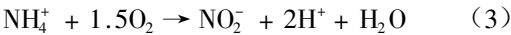


图 7 生物膜细菌的系统进化树分析
Fig.7 Phylogenetic tree based on the sequences of bacteria in the biofilm

育树可以看出反应器中存在着比较丰富的脱氮种群：厌氧氨氧化细菌如 *Candidatus Brocadia anammoxidans* (5)，亚硝酸细菌如 *Nitrosomonas eutropha*(2)、*Nitrosomonas* sp. Nm143(7)、*Nitrosomonas* sp. Is425(8)，硝酸细菌如 *Nitrobacter winogradskyi* (6)，反硝化细菌如 *Hyphomicrobium* (13)、*Bacillus clausii* (16)。

3 讨论

通过微生物作用将氨氮转化为气态氮的过程定义为一个完整的生物脱氮途径，那么亚硝化、硝酸盐硝化、厌氧氨氧化及反硝化都只是组成某种生物脱氮途径的一个部分，它们完成的过程分别如式(3)~(7)所示。



在曝气阶段，只有氮素亏损部分的 NH_4^+ -N 被最终转化成为气态氮(见表 1)，也只有这一部分的 NH_4^+ -N 才能被认为通过了完整的生物脱氮途径，其它的 NH_4^+ -N 只是转变为 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N 等形态。另外，在该 SBBR 反应器中 NO_3^- -N 的积累只能由厌氧氨氧化或硝酸盐硝化引起；而根据式(5)可以知道，如果氮素亏损由单纯的厌氧氨氧化所产生，那么 4 个曝气段 NO_3^- -N 最大产量分别为：0.8、0.73、0.63 和 0.64 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因此可以说明硝酸细菌对 NO_3^- -N 的积累产生了一定的作用。

在厌氧阶段，并无其它强氧化剂参与的情形下 NH_4^+ -N 只能通过厌氧氨氧化作用而去除(不考虑细胞合成作用)。据表 1 所示，每个厌氧阶段 NO_2^- -N/ NH_4^+ -N 的实际比值均大于理论比值，即在厌氧阶段同时还有其它的细菌如反硝化细菌在同时利用 NO_2^- -N。在无机环境中，反硝化细菌一般优先利用 NO_3^- -N， NO_3^- -N 被完全耗尽后 NO_2^- -N 才开始被还原，但是在有机环境中，则平衡地进行 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 的还原反应^[23]。因此，无论在曝气阶段还是厌氧阶段，当反硝化细菌利用厌氧氨氧化产生的 NO_3^- -N 进行硝酸盐呼吸的同时， NO_2^- -N 也被反硝化细菌用作电子受体。

综上所述，曝气阶段由于气体反应相的参与，使其有相对厌氧阶段更复杂的微生态环境。一方面曝气系统自身结构因素形成了反应器内部溶解氧浓度差异，溶解氧平均浓度为 1.2~1.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，而载体底部接近曝气头的部分溶解氧浓度却能达到 3.2~4.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。另一方面氧扩散限制因素导致生物膜由外到内形成好氧和厌氧 2 种微生态环境^[24]。曝气阶段既有适合硝酸细菌和亚硝酸细菌生存的好氧微生态环境，也有适合反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌生长的厌氧微生态环境。厌氧阶段，生存环境相对简单，依靠氧气作为电子受体的亚硝酸细菌和硝酸细菌活性受到抑制，反硝化细菌和厌氧氨氧化细菌成为主要的活性菌群。

因此，在曝气阶段参与氮素生物转化的菌种主要是亚硝酸细菌，其次是厌氧氨氧化细菌、硝酸细菌及反硝化细菌；在厌氧阶段，氮素的转化则主要依靠厌氧氨氧化细菌和反硝化细菌。本反应器中的氮素生物转化过程如图 8 所示，完整的生物脱氮途径实际上是由几种不同的微生物种类共同参与、相互协作完成的。在该 SBBR 反应器中主要的生物脱氮途径有以下 3 条：亚硝化-厌氧氨氧化-反硝化途径(简称途径 I)，亚硝化-反硝化途径(简称途径 II)，全程硝化-反硝化途径(简称途径 III)。

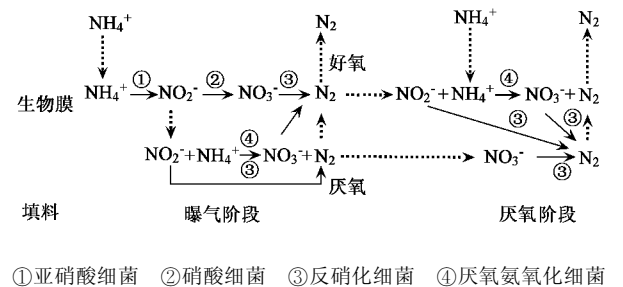


图 8 氮素生物转化示意
Fig.8 Schematic chart of nitrogen bio-conversion

在该 SBBR 反应器内，初始的氮素以 NH_4^+ -N 为主要存在形式，因此 3 条脱氮途径的建立事实上都是以亚硝酸细菌的亚硝化作用为基础的。3 条途径之间另一个共同的特点在于它们都采取同步和分步 2 种方式完成，同步的方式是指曝气阶段以氮素亏损的形式实现对氮素的去除，分步方式则指亚硝化部分在曝气阶段完成，而厌氧氨氧化和反硝化等部分在厌氧阶段完成。

以同步方式实现氮素亏损的过程中， NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 一边产生一边消耗，因此无法确定 3 种途径在同步过程中所转化的 NH_4^+ -N 的具体数量，但是能

够确定在曝气阶段因氮素亏损而去除的氮素占整个反应周期中去除的氮素总量的 13.7%。

在厌氧阶段, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的唯一去除方式是通过途径 I, 但是途径 I 并不能完全去除在曝气阶段所产生的 $\text{NO}_2^- - \text{N}$, 过剩的 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 则通过途径 II 去除。表 2 为途径 I 和途径 II 分别在厌氧阶段消耗的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的量。由此可知, 途径 I 对生物脱氮的贡献至少占 65%, 途径 II 至少占 7%。

表 2 厌氧阶段途径 I 和途径 II 的氮素消耗量¹⁾/mg·L⁻¹

Table 2 Nitrogen consumed by approach I and II/mg·L⁻¹

途径	氮素种类	厌氧 1	厌氧 2	厌氧 3	厌氧 4	总量
途径 I	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$	14.30	18.20	16.80	11.00	60.30
	$\text{NO}_2^- - \text{N}$	18.73	23.84	22.01	14.41	78.99
途径 II	$\text{NO}_2^- - \text{N}$	1.97	5.26	5.59	2.19	15.01

1) 途径 I 中 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 消耗量计算基于 3.1 中的式(5)

4 结论

(1)SBBR 反应器在结构和运行方式上的特点为其实现单级多途径的生物脱氮提供了良好的条件, 该反应器以亚硝化-厌氧氨氧化-反硝化为主流的生物脱氮途径, 通过该途径去除的氮素占氮素总去除量的 65% 以上。

(2)脱氮微生物的种类和相对活性决定了氮素在反应器内的动态变化特征, 也决定了生物脱氮的具体途径。

(3)PCR-DGGE 技术很好地对 SBBR 反应器生物膜上的细菌群落结构和动态变化进行了监测, 结合 DNA 测序、序列同源性分析和系统发育分析对 SBBR 反应器生物膜上的细菌做出了种属鉴定。该鉴定结果更加真实地反映了 SBBR 反应器内生物脱氮途径的具体过程。

参考文献:

[1] Gonzales S, Wilderer P A. Phosphate removal in a biofilm reactor [J]. Water Science and Technology, 1990, **23**(7-9): 1405 ~ 1416.

[2] 李军, 杨秀山, 聂梅生, 等. 序批式生物膜法的脱氮特性及机理研究[J]. 环境科学学报, 2002, **22**(3): 320 ~ 323.

[3] 纪树兰, 任海燕, 崔成武, 等. 改进序批式生物膜法处理青霉素废水的初探[J]. 环境科学, 2004, **25**(增刊): 74 ~ 77.

[4] Sarti A, Pozzi E, Chinalia F A, *et al.* The performance of an anaerobic sequencing batch biofilm reactor treating domestic sewage colonized by anoxygenic phototrophic bacteria [J]. Chemosphere, 2006, **62**(9): 1437 ~ 1443.

[5] Sari L, Sami L, Lara V, *et al.* Nitrogen removal from on-site treated anaerobic effluents using intermittently aerated moving bed biofilm reactors at low temperatures [J]. Water Research, 2006, **40**(8): 1607 ~ 1615.

[6] Joshi H. SBR and SBBR systems: New approach to biological treatment [J]. Chemical Engineering World, 2001, **36**(7): 79 ~ 83.

[7] 李伟光, 赵庆良. 序批式生物膜反应器处理屠宰废水[J]. 中国给水排水, 2000, **16**(10): 59 ~ 60.

[8] 徐峥勇, 杨朝晖, 曾光明, 等. 序批式生物膜反应器(SBBR)处理高氨氮渗滤液的脱氮机理研究[J]. 环境科学学报, 2006, **26**(1): 55 ~ 60.

[9] 杨朝晖, 肖勇, 曾光明, 等. 用于分子生态研究的堆肥 DNA 提取方法[J]. 环境科学, 2006, **27**(8): 1613 ~ 1617.

[10] Amann R I, Stromley J, Devereux R, *et al.* Molecular and microscopic identification of sulfate-reducing bacteria in multispecies biofilms [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, **58**(2): 614 ~ 623.

[11] Nicolaisen M H, Ramsing N B. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) approaches to study the diversity of ammonia-oxidizing bacteria [J]. Microbiology Methods, 2002, **50**(2): 189 ~ 203.

[12] Garrido J M, van Benthum W A J, van Loosdrecht M C M, *et al.* Influence of oxygen concentration on nitrite accumulation in a biofilm airlift suspension reactor [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1997, **53**(2): 168 ~ 178.

[13] Pollice A, Tandoi V, Lestingi C. Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite [J]. Water Research, 2002, **36**(10): 2541 ~ 2546.

[14] 魏琛, 罗固源. FA 和 pH 值对低 C/N 污水生物亚硝化的影响 [J]. 重庆大学学报(自然科学版), 2006, **29**(3): 124 ~ 127.

[15] 刘寅, 杜兵, 司亚安, 等. 厌氧氨氧化菌的培养与推流式反应器氨厌氧工艺[J]. 环境科学, 2005, **26**(2): 137 ~ 141.

[16] Verstraete W, Philips S. Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts [J]. Environmental Pollution, 1998, **102**(31): 717 ~ 726.

[17] Strous M, Kuenen J G, Jetten M S M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, **65**(7): 3248 ~ 3250.

[18] Strous M, van Gerven E, Kuenen J G, *et al.* Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) sludge [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, **63**(6): 2446 ~ 2448.

[19] 郑平, 徐向阳, 胡宝兰. 新型生物脱氮理论与技术[M]. 北京: 科学出版社, 2004. 55 ~ 75.

[20] Hisashi S, Hideki O, Bian R, *et al.* Macroscale and microscale analyses of nitrification and denitrification in biofilms attached on membrane aerated biofilm reactors [J]. Water Research, 2004, **38**(6): 1633 ~ 1641.

[21] 李军, 彭永臻, 顾国维, 等. SBBR 同步硝化反硝化处理生活污水的影响因素[J]. 环境科学学报, 2006, **26**(5): 728 ~ 733.

[22] 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.

[23] Blaszczyk M. Effect of medium composition on the denitrification of nitrate by *Paracoccus denitrificans* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, **59**(11): 3951 ~ 3953.

[24] Kock G, van der Meer J R, Siegrist H. Mathematical modeling of autotrophic denitrification in a nitrifying biofilm of a rotating biological contactor [J]. Water Science and Technology, 2000, **41**(4-5): 191 ~ 198.