

冯丽娟, 朱亮, 徐京, 等. 2011. 分段配水强化受污染水源水生物膜修复工艺脱氮性能研究 [J]. 环境科学学报, 31(12): 2595–2600

Feng L J, Zhu L, Xu J, et al. 2011. Enhanced denitrification in the biofilm process remedying polluted water source via step-feeding [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 31(12): 2595–2600

分段配水强化受污染水源水生物膜修复工艺脱氮性能研究

冯丽娟¹, 朱亮¹, 徐京⁴, 丁炜¹, 徐剑¹, 徐向阳^{1,2,3,*}

1. 浙江大学环境工程系, 杭州 310058

2. 浙江大学-西澳大学水环境综合管理与保护联合研究中心, 杭州 310058

3. 农业面源污染控制重点开发实验室, 杭州 310058

4. 浙江桐乡市环保局, 桐乡 314500

收稿日期: 2011-03-08

修回日期: 2011-05-12

录用日期: 2011-06-08

摘要: 针对受污染水源水生物脱氮过程可利用碳源不足的突出问题, 研究分段配水强化受污染水源水生物膜修复工艺脱氮性能. 结果表明, 应用分段配水策略后生物膜修复工艺的碳源有效利用率从 $0.199 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ 增至 $0.211 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$, 系统 TN 去除率亦从 $29.5\% \pm 2.2\%$ 增至 $35.0\% \pm 2.7\%$, 且出水高锰酸盐指数 (COD_{Mn}) 和氨氮 ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) 浓度稳定, 均满足 GB3838—2002 中的Ⅲ类水标准. PCR-DGGE 分析发现, 分段配水后修复工艺中、后段生物膜的多样性指数均上升至与工艺前段相仿的水平, 生物膜内优势菌分属 *Hyphomicrobium*、*Pseudomonas*、*Pantoea*、*Synechococcus* 等, 多数与氮素、难降解有机污染物去除有关. 结果揭示在生物膜工艺修复微污染环境水体时, 可采用多点配水策略强化脱氮微生物富集和污染物去除.

关键词: 受污染水源水; 生物膜; 分段配水; 脱氮; 微生物群落

文章编号: 0253-2468(2011)12-2595-06

中图分类号: X703.1

文献标识码: A

Enhanced denitrification in the biofilm process remedying polluted water source via step-feeding

FENG Lijuan¹, ZHU Liang¹, XU Jing⁴, DING Wei¹, XU Jian¹, XU Xiangyang^{1,2,3,*}

1. Department of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310058

2. ZJU-UWA Joint Centre in Integrated Water Management and Protection, Hangzhou 310058

3. Key Laboratory of Non-point Source Pollution Control, Ministry of Agriculture, Hangzhou 310058

4. Tongxiang Environmental Protection Bureau, Tongxiang 314500

Received 8 March 2011;

received in revised form 12 May 2011;

accepted 8 June 2011

Abstract: In view of the carbon deficiency for denitrification in polluted source water, an enhanced biofilm denitrification via step-feeding was studied in this paper. Results showed that the utilization efficiency of carbon source in the remediation system increased from $0.199 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ to $0.211 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ after two step-feeding process was applied, and the removal efficiency of total nitrogen (TN) simultaneously increased from $29.5\% \pm 2.2\%$ to $35.0\% \pm 2.7\%$. Meanwhile, the effluent concentrations of permanganate index (COD_{Mn}) and ammonia nitrogen ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) steadily reached Grade III of 'Environment Quality Standard for Surface Water' (GB3838—2002). The result of PCR-DGGE showed that the bacteria diversities of biofilms in the middle and the end of the remediation system both increased to the same level as that in the front part after two step-feeding process applied. The dominant bacteria in biofilms belonged to *Hyphomicrobium*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Synechococcus*, which was mostly associated with denitrification and refractory organics utilized. The results demonstrated that the biofilm remediation system with step-feeding process favored the denitrification microorganisms enrichment and pollutants removal in the oligotrophic environment.

Keywords: contaminated source water; biofilm; step-feeding; denitrification; microbial community

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (No. 2006BAJ08B01); 浙江省教育厅科研项目 (No. Y200909172)

Supported by the National Key Technology R&D Program (No. 2006BAJ08B01) and the Research Projects of Department of Education of Zhejiang Province (No. Y200909172)

作者简介: 冯丽娟 (1986—), 女, 博士研究生, E-mail: flj20045587@zju.edu.cn; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: xuxy@zju.edu.cn

Biography: FENG Lijuan (1986—), female, Ph. D. candidate, E-mail: flj20045587@zju.edu.cn; * **Corresponding author**, E-mail: xuxy@zju.edu.cn

1 引言(Introduction)

由于城镇工业废水、生活污水、农业化肥及畜禽粪污等污染加剧,我国城镇饮用水水源普遍受到氮素污染(中国环境状况公报,2009) . 氮素不仅易造成水体恶臭和富营养化,其达到一定浓度亦会引起生物高铁血红蛋白血症及增加胃癌等风险(Dahab *et al.* ,1994; Shrimali *et al.* ,2001; Camargo *et al.* ,2006) . 为此,近年来环境水体脱氮工艺研究备受关注. 生物膜法因其具有生物群落丰富、水生生态友好、运行成本低、性能稳定等特点,在污(废) 水处理与环境水体原位修复方面得到大量应用(Khatoon *et al.* ,2007; Qin *et al.* ,2008; Wu *et al.* ,2009; 丁炜等,2010) .

目前,针对环境水体生物膜脱氮研究包括自养反硝化和异养反硝化. 其中,自养反硝化法以硫或氢气作为电子供体,在少量或不投加有机碳源的条件下可实现脱氮,多应用于地下水硝酸盐原位去除(Zeng *et al.* ,2005; Ghafari *et al.* ,2008; Zhang *et al.* ,2009) ,但存在启动周期长、出水硫酸盐及氨氮超标等问题(Karanasiosa *et al.* ,2010) . 针对寡营养水体反硝化碳源不足及利用率低的问题,研究者多从碳源补充角度开展异养反硝化研究,以投加水溶性碳源和固体碳源为主,如厌氧上流式生物膜脱氮系统投加甲醇修复地下水(Aslan *et al.* ,2005) ,利用米糠(Shao *et al.* ,2009) 、海草(Ovez *et al.* ,2006) 、麦秆(Aslan *et al.* ,2005) 等廉价材料作为固体碳源与生物膜载体强化环境水体脱氮等,但往往伴随着出水有机物及浊度超标等问题. 本文尝试以分段配水方式补充生物膜修复工艺后段碳源,以提高碳源利用率,强化受污染源水生物膜修复工艺的脱氮性能,为开发新型、经济有效的环境水体原位生物修复工艺提供技术支撑.

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 试验装置

试验装置为课题组自行设计的模拟河道生物膜反应器,由有机玻璃制成,长 150 cm,上底宽 30 cm,下底宽 16 cm,高 30 cm,底部坡降 0.5%,有效容积为 100L,具体反应器构型见图 1. 实验装置内布设 TA-II 型弹性立体填料,购于杭州天宇环保工程有限公司,填料片加工至直径 200mm、比表面积 $200 \sim 300 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$,以 2.33% (V/V) 体积填充率布设

于装置内.

试验用水取自浙江大学华家池水,经长期检测发现华家池水质与杭嘉湖地区典型水源地水质接近,具体进水水质如表 1 所示.

2.2 装置运行工况

反应装置在单点进水(工况 I) 和两点进水(工况 II) 两种条件下运行,研究常规进水与分段配水条件下生物膜修复工艺的脱氮性能与微生物群落结构特征差异,具体反应器装置示意图见图 1. 其中,工况 I 单点进水流量为 $48 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 工况 II 时在反应装置的前段(Z1) 和中段(Z2) 分两点进水,进水流量分别为 $24 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 和 $24 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. 系统运行过程,定期取样检测出水 COD、氨氮($\text{NH}_4^+ \text{-N}$)、总氮(TN) 等常规水质指标. 考虑到分段配水方式对系统中段(Z2) 与后段(Z3) 生物膜影响较大,选取工况 I 和工况 II 时 Z2 和 Z3 区段的生物膜进行微生物群落结构分析,同时选取工况 I 时反应器前段生物膜作为对照. 为保证较好的脱氮条件,装置运行期间未给予曝气,反应器底部活解氧在 $0.06 \sim 0.66 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围,温度控制在 $20 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

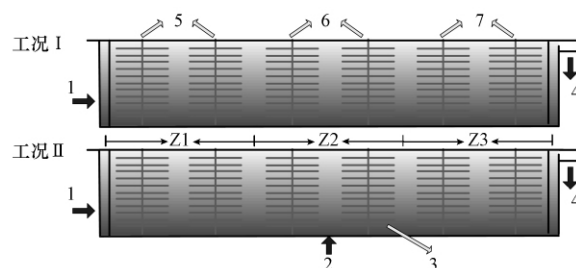


图 1 模拟河道生物膜反应器实验装置示意图(1. 进水 $Q = 48 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 2. 分段进水 $Q = 24 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 3. 弹性填料; 4. 出水; 5. 生物膜样品 B1; 6. 生物膜样品 B2; 7. 生物膜样品 B3; Z1、Z2、Z3 分别代表反应器前段、中段和后段)

Fig. 1 Schematic diagram of the simulated river biofilm reactor (1. Influent $Q = 48 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 2. Step feeding $Q = 24 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 3. Elastic filler; 4. Effluent; 5. Biofilm sample B1; 6. Biofilm sample B2; 7. Biofilm sample B3; Z1, Z2, Z3 refer to the front, middle and back zones of the reactor)

2.3 分析方法

2.3.1 常规指标分析 COD_{Mn} 、 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、TN 等常规指标测定方法参见《水和废水监测分析方法(第 4 版) 》(国家环境保护总局,2002) , 每个指标平行测定 3 次后取均值; DO、温度采用 YSI 550A 溶解氧仪测定.

2.3.2 PCR-DGGE 分析 1) 生物膜基因组 16S

rRNA 提取与 PCR 扩增 每个工况运行稳定时 (40 ~ 50 d) 剪取反应器内附着生物膜的填料至 2 mL 离心管中, 加入 1 mL EDTA 后涡旋振荡 10 min, 于 $1 \times 10^4 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 2 min 后去上清液; 继续加入 1 mL EDTA 振荡、离心, 直至上清液相对澄清. 预处理后的样品采用 E. Z. N. ATM Soil DNA kit (OMEGA) 提取 16s rRNA, 获得的 16S rRNA 样品于 -20°C 保存. PCR 扩增引物为细菌 16S rRNA V3 可变区通用引物: P338f 和 P518r (Lapara *et al.*, 2002). 在 50 μL 反应体系内进行 PCR: 10 $\times$ PCR Buffer (Mg^{2+} 15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 5 μL ; dNTP Mixture (各 2.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 4 μL ; 引物各 0.5 μL ($25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); Taq DNA 聚合酶 (5 $\text{U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), 0.25 μL ; 模版 DNA, 5 μL ; 加 DEPC 处理水定容至 50 μL . PCR 反应程序如下: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 扩增 30 个循环; 72°C 延伸 7 min. 每组 PCR 扩增过程设立阴性对照. PCR 产物经 0.8% 琼脂糖凝胶电泳、GoldView I 型染料染色后, 于 254 nm 下检验 PCR 扩增结果. 2) DGGE 分析

PCR 产物的 DGGE 分析在 Bio Rad 公司 DcodeTM 基因突变检测系统上进行, 采用浓度为 8% 的聚丙烯酰胺凝胶 (Acrylamide/Bis-Acrylamide 37.5:1), 添加 10% APS (过硫酸铵) 80 μL , TEMED (N, N, N', N'-四甲基乙二胺) 溶液 18 μL ; 变性剂浓度梯度范围 30% ~ 60% (100% 变性剂包含 7 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 尿素和 40% (V/V) 去离子甲酰胺). DGGE 电泳上样量 30 μL , 首先在 30 V、 60°C 条件下预电泳 30 min, 然后在 155 V、 60°C 下恒温恒压运行 5 ~ 6 h; 电泳结束后采用 SYBR GREEN I 染料避光染色 30 min, dH_2O 浸洗胶片 5 min 后洗去表面溶液, 通过 GelDoc2000 凝胶成像系统成像, 采用 Quantity One 4.6 一维分析软件分析 DGGE 图谱. 3) 割胶测序 用无菌手术刀

从 DGGE 胶上小心割下含目标条带的凝胶块, 转移至灭菌离心管中, 经无菌水浸洗 3 次, 每次 5 min; 将凝胶挤碎, 加入 50 μL TE (pH = 8), 4°C 环境温度下放置 16 h; 45°C 水浴 2 h 左右, 置于 4°C 冰水中约 0.5 h, $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 1 min, 取上清; 以回收 DNA 为模板进行 PCR 扩增, 引物为 P338f (不带 GC 发夹)、P518r. 50 μL PCR 反应体系组成: 10 $\times$ PCR Buffer (Mg^{2+} 15 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 5 μL ; dNTP Mixture (各 2.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 4 μL ; 引物各 0.5 μL ($25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$); Taq DNA 聚合酶 (5 $\text{U} \cdot \mu\text{L}^{-1}$), 0.25 μL ; 模版 DNA, 5 μL ; 加 DEPC 处理水至 50 μL . PCR 程序如下: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 60 s, 扩增 35 个循环; 最终 72°C 延伸 7 min.

PCR 扩增产物经 0.8% 琼脂糖电泳检验后, 送 Takara (大连) 测序, 所得序列通过 Blast 程序与 GenBank 中核酸数据进行双序列比对分析 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>).

3 实验结果 (Experimental Results)

3.1 反应器运行效果

生物膜修复系统在单点进水 (工况 I) 和两点进水 (工况 II) 两种条件下运行, COD_{Mn} 、 NH_4^+-N 和 TN 去除情况如表 1 所示. 结果表明, 两种工况下系统 TN 平均去除率分别为 $29.5\% \pm 2.2\%$ 和 $35.0\% \pm 2.7\%$, 相比而言两点进水后生物膜修复工艺的脱氮性能有一定幅度的提升; COD_{Mn} 在两个工况下去除较为稳定, 平均去除率均在 35% 左右, 出水浓度均低于 $6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 稳定达到《地表水环境质量标准》中的 III 类水标准; 不同工况下修复工艺的 NH_4^+-N 去除率波动幅度较大, 主要与实际源水水质波动有关, 但出水浓度均低于 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

表 1 不同工况时生物膜修复工艺的污染物去除性能

Table 1 Pollutant Removal performance of the two biofilm remediation processes

污染物	工况 I			工况 II		
	进水浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	出水浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	去除率	进水浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	出水浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	去除率
COD_{Mn}	8.79 ± 0.84	5.58 ± 0.47	$36.39\% \pm 3.36\%$	8.56 ± 0.97	5.47 ± 0.40	$35.80\% \pm 3.20\%$
NH_4^+-N	0.66 ± 0.14	0.12 ± 0.02	$80.39\% \pm 5.48\%$	0.31 ± 0.09	0.13 ± 0.01	$52.56\% \pm 4.93\%$
TN	1.98 ± 0.06	1.39 ± 0.04	$29.52\% \pm 2.20\%$	1.86 ± 0.14	1.21 ± 0.07	$34.98\% \pm 2.65\%$

为进一步揭示分段配水生物膜修复工艺的强化脱氮性能, 对反应装置不同区段的 NH_4^+-N 和 COD_{Mn} 浓度进行监测, 具体如表 2 所示. 结果表明,

工况 I 时生物膜修复工艺的有机物去除主要发生在 Z1 区, 其出水 COD_{Mn} 浓度达 $(6.1 \pm 0.4) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 与 Z2、Z3 区的出水浓度接近; 而出水 NO_3^--N 浓度

则从 Z1 到 Z3 逐渐上升,表明反应器后段可利用碳源不足、反硝化脱氮效率低;采用两点配水后,修复工艺 Z2 和 Z3 区碳源利用率有所增加,若以 TN 去除负荷与 COD_{Mn} 去除负荷之比表征系统碳源有效利

用率,工况 II 两点配水后平均碳源有效利用率从 0.199 mg•mg⁻¹ 增至 0.211 mg•mg⁻¹,反应装置 Z2 和 Z3 区出水 NO₃⁻-N 浓度相比工况 I 亦有所降低,系统 TN 平均去除率达 35.0%.

表 2 不同工况时生物膜修复工艺各区段的 NO₃⁻-N、COD_{Mn} 去除性能

Table 2 Removal performances of NO₃⁻-N and COD_{Mn} in different zones of the two biofilm remediation processes

污染物	工况	进水 /(mg•L ⁻¹)	Z1 出水 /(mg•L ⁻¹)	Z2 出水 /(mg•L ⁻¹)	Z3 出水 /(mg•L ⁻¹)
NO ₃ ⁻ -N	工况 I	0.20 ± 0.04	0.58 ± 0.22	0.69 ± 0.25	0.73 ± 0.24
	工况 II	0.23 ± 0.04	0.63 ± 0.07	0.57 ± 0.08	0.62 ± 0.08
COD _{Mn}	工况 I	8.79 ± 0.84	6.08 ± 0.43	5.75 ± 0.47	5.58 ± 0.47
	工况 II	8.56 ± 0.97	5.49 ± 0.46	5.76 ± 0.47	5.47 ± 0.40

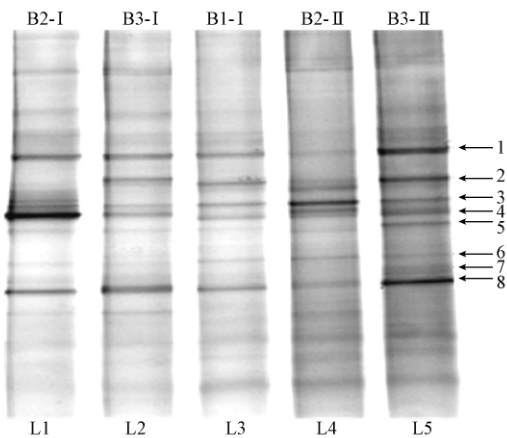


图 2 生物膜样品的 DGGE 图谱(条带标记 1—8,泳道标记 L1—L5,B1、B2 和 B3 分别为反应装置前段、中段和后段生物膜样品,I 和 II 分别代表工况 I 和工况 II)

Fig. 2 The DGGE profiles of 16S rRNA fragments obtained from the biofilms(Band label 1—8; lane label L1—L5; B1, B2 and B3 were biofilm samples from the front, middle and the end of the reactor, respectively; I and II referred to phase I and phase II)

3.2 总细菌 16S rRNA PCR-DGGE 结果

对不同运行工况下特征点生物膜样品进行基因组总细菌 16S rRNA 提取和 PCR-DGGE 试验,并由 Quantity one 软件分析其相似性矩阵及香浓指数变化,具体结果见表 3 和图 3. 结果表明,工况 I 时反应装置中后段生物膜 B2、B3 与前段生物膜 B1 相似性较低,分别为 58.8% 和 69.8%;采用两点进水后(工况 II)相似性分别提高到 83.0% 和 86.6%. 从生物膜微生物多样性指数(香浓指数)分析来看,工况 I 时反应装置前段到后段生物膜的香浓指数分别为 2.29,2.15,2.06,工况 II 时反应装置中、后

段生物膜的香浓指数均提高到 2.29 左右.

表 3 生物膜 DGGE 图谱相似性分析

Table 3 Dice coefficient comparing the similarity of DGGE fingerprints from the biofilms

样品	生物膜 DGGE 图谱相似性					
	泳道	1	2	3	4	5
B2-I	1	100.0%	64.1%	58.8%	63.0%	56.0%
B3-I	2	64.1%	100.0%	69.8%	59.6%	66.0%
B1-II	3	58.8%	69.8%	100.0%	83.0%	86.6%
B2-II	4	63.0%	59.6%	83.0%	100.0%	74.6%
B3-II	5	56.0%	66.0%	86.6%	74.6%	100.0%

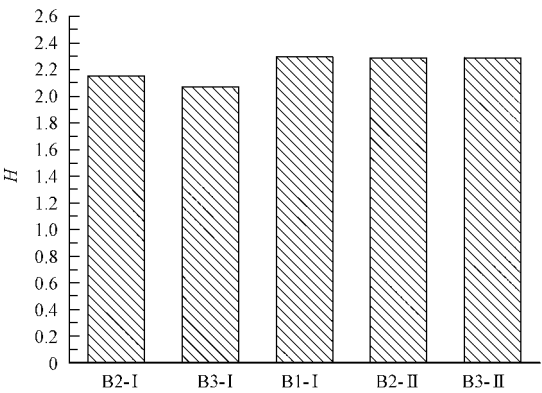


图 3 生物膜总细菌 DGGE 条带的 Shannon 指数

Fig. 3 Shannon index of the DGGE fingerprints from the biofilms

选取 DGGE 图谱主要优势条带进行割胶测序与序列比对发现(表 4),生物膜优势菌属于 α -proteobacteria、 γ -proteobacteria、Cyanobacteria 和 Chloroflexi,相似性均在 99% 以上.

表 4 生物膜内部分优势菌 16S rRNA DGGE 片段测序分析结果

Table 4 Sequences of 16S rRNA DGGE fragments from the biofilms

条带	序列比对结果	同源性	系统发育种群
1	Uncultured <i>Pseudomonas</i> sp. [AM711878. 1]	100%	γ -proteobacteria
2	<i>Synechococcus</i> sp. ACT9807 [GQ422959. 1]	100%	Cyanobacteria
3	<i>Pantoea</i> sp. I-Bh20-21 [FN555402. 1]	100%	γ -proteobacteria
4	Uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium [FJ916310. 1]	100%	<i>Chloroflexi</i>
5	Uncultured <i>Hyphomicrobium</i> sp. [GU257860. 1]	100%	α -proteobacteria
6	<i>Pseudomonas putida</i> strain d92 [FJ950674. 1]	99%	γ -proteobacteria
7	<i>Hyphomicrobium</i> sp. [AM502926. 1]	100%	α -proteobacteria
8	Uncultured <i>Pantoea</i> sp. [GU569157. 1]	100%	γ -proteobacteria

4 讨论(Discussion)

采用分段配水后,生物膜修复工艺的 TN 去除率从 $29.5\% \pm 2.2\%$ 增至 $35.0\% \pm 2.7\%$,系统脱氮性能有所提高.从生物膜修复工艺不同区段有机物和硝态氮出水变化情况来看(表 2),工况 I 有机物去除主要发生在 Z1 区,Z2 和 Z3 区碳源利用率较低,而 Z2 和 Z3 硝态氮出水也相应升高;Z2 补充进水后(工况 II)克服了反应器后段碳源不足、脱氮效率低的问题,碳源有效利用率从 $0.199 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ 增至 $0.211 \text{ mg} \cdot \text{mg}^{-1}$,有利于生物膜修复工艺后段反硝化脱氮.有文献报道微污染水体碳源相对缺乏且碳源利用率不高,不利于异养型脱氮菌生长与富集,是目前微污染水体脱氮效果较低的主要原因(Aslan *et al.*, 2005; Shao *et al.*, 2009).为此,有研究者通过外加碳源的方式强化污水处理系统脱氮能力,但对于微污染水体原位修复而言,直接投加碳源的方式较难应用,且易造成水质有机物超标等问题(Aslan *et al.*, 2005).本实验采用分段配水方式进行生物膜修复工艺强化脱氮研究,系统碳源有效利用率与 TN 去除率均得到增强,出水有机物亦稳定达到《地表水环境质量标准》中的Ⅲ类水标准.结果揭示,采用生物膜工艺修复环境水体时,可采用分段配水方式提高系统的碳源利用率,强化修复工艺脱氮性能.有关最佳补水位置与流量配比等研究有必要进一步开展,以获得优化的环境水体生物膜修复工艺性能.

在微污染环境水体原位生物修复过程中,由于修复对象有机物浓度偏低,导致工艺后段异氧微生物可利用碳源不足,进而影响后段填料对功能微生物富集与脱氮性能.本实验反应装置采用两点进水后,中、后段生物膜内微生物多样性提高到与反应装置前段基本一致,其相似性也得到相应提高,TN

去除率亦随之提升.结果表明,应用分段配水策略可为生物膜修复工艺后段提供补充碳源,利于脱氮功能微生物的富集,整个工艺均可获得较丰富的生物多样性.

对工况 I 和工况 II 时反应装置中后段生物膜内共有优势菌分析发现,主要分属 *Pseudomonas*、*Synechococcus*、*Chloroflexi*、*Pantoea* 等.其中,*Pseudomonas* 在生物处理系统经常被检测到,主要参与有机物降解及脱氮除磷,也有报道显示该类微生物具有异养硝化和好氧反硝化功能(Su *et al.*, 2006);*Synechococcus* 是海洋蓝细菌代表性类群之一,属超微型光合自养原核生物,其不仅能利用水体氮磷等营养物质,还可通过光合作用为生物膜提供氧气,利于生物膜内硝化菌及其他好氧微生物生长(马英等,2004);有研究表明,*Chloroflexi* bacterium 对水溶性碳水化合物具有较强的吸附作用(Yuki *et al.*, 2007),并出现在处理高浓度有机废水的好氧颗粒污泥系统中(Yamada *et al.*, 2005),可见其对有机物稳定去除具有一定作用;*Pantoea* 作为常见的脱氮菌(Braker *et al.*, 2010),在本试验中作为生物膜内优势菌存在.

研究还发现,工况 I 和工况 II 时反应装置中、后段的生物膜内菌群结构亦存在一定差异.应用分段配水策略后,装置中后段(B2-II 和 B3-II)的生物膜样品 DGGE 条带 5、条带 6 和条带 7 亮度均有所增强,其中条带 5 和条带 7 均与 *Hyphomicrobium* 有 100% 同源性,条带 6 与 *Pseudomonas putida* 有 100% 同源性.有资料显示, *Hyphomicrobium* 和 *Pseudomonas putida* 均与有机物(包括有毒难降解有机物)及氮磷去除相关,是脱氮系统常检测到的优势菌(Labbe *et al.*, 2007; Green *et al.*, 2010).可见,分段配水生物膜修复技术可强化与氮素、有机物去除有关功能菌的富集,确保工艺高效稳定运行.

5 结论(Conclusions)

1) 在生物膜法原位修复受污染环境水体过程中,应用分段配水策略可有效提高系统的碳源利用率,解决生物膜修复工艺后段碳源不足、脱氮效率低的问题,系统 TN 平均去除率可从 $29.5\% \pm 2.2\%$ 提高到 $35.0\% \pm 2.7\%$ 。

2) PCR-DGGE 分析发现,分段配水后生物膜修复工艺中后段填料附着的生物膜内微生物种群多样性有所提高, *Hyphomicrobium*、*Pseudomonas*、*Pantoea* 等与氮素、难降解有机物去除有关的贫营养功能菌得到富集。结果揭示在生物膜工艺修复微污染环境水体时,可采用多点配水策略强化脱氮微生物富集和污染物去除。

责任作者简介:徐向阳(1964—),男,教授,博士生导师。主要从事有毒难降解工业废水处理工艺技术与工业化应用、有机毒物污染环境的生物修复、新型生物脱氮技术及其应用、废水生物处理微生物分子生态学等方面研究。通讯地址:杭州市余杭塘路 866 号,浙江大学环境工程系,邮编:310058,E-mail: xuxy@zju.edu.cn。

参考文献(References):

- Aslan S. 2005. Combined removal of pesticides and nitrates in drinking waters using biodenitrification and sand filter system [J]. *Process Biochemistry*, 40(1): 417-424
- Aslan S, Turkman A E. 2005. Combined biological removal of nitrate and pesticides using wheat straw as substrates [J]. *Process Biochemistry*, 40(2): 935-943
- Braker G, Schwarz J, Conrad R. 2010. Influence of temperature on the composition and activity of denitrifying soil communities [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 73: 134-148
- Camargo J, Alonso A. 2006. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment [J]. *Environment International*, 32(6): 831-849
- Dahab M F, Lee Y W, Bogardi I. 1994. A rule-based fuzzy-set approach to risk analysis of nitrate-contaminated groundwater [J]. *Water Science Technology*, 30(7): 45-52
- 丁炜,朱亮,徐京,等. 2010. 不同生物载体模拟河道反应器的微污染水源水修复研究 [J]. *环境科学*, 31(11): 2639-2644
- Ding W, Zhu L, Xu J, et al. 2010. Bioremediation of micro-polluted source water by simulated river bioreactor with different carriers [J]. *Environmental Science*, 31(11): 2639-2644 (in Chinese)
- Ghafari S, Hasan M, Aroua MK. 2008. Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater — a review [J]. *Bioresource Technology*, 99(10): 3965-3974
- Green S J, Prakash O, Gihring T M, et al. 2010. Denitrifying bacteria isolated from terrestrial subsurface sediments exposed to mixed-waste contamination [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 76(10): 3244-3254
- Karanasios K A, Vasiliadou I A, Pavlou S, et al. 2010. Hydrogenotrophic denitrification of potable water: A review [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 180(1/3): 20-37
- Labbe N, Laurin V, Juteau P, et al. 2007. Microbiological community structure of the biofilm of a methanol-fed, marine denitrification system, and identification of the methanol-utilizing microorganisms [J]. *Microbial Ecology*, 53(4): 621-630
- Lapara T M, Nakatsu C H, Pantea L M. 2002. Stability of the bacterial communities supported by a seven-stage biological process treating pharmaceutical wastewater as revealed by PCR-DGGE [J]. *Water Research*, 36(3): 638-646
- 马英,焦念志. 2004. 聚球藻(*Synechococcus*) 分子生态学研究进展 [J]. *自然科学进展*, 14(9): 967-972
- Ma Y, Jiao N Z. 2004. Molecular ecology research progress on *Synechococcus* [J]. *Natural Science Progress*, 14(9): 967-972 (in Chinese)
- Ovez B, Mergaert J, Saglam M. 2006. Biological denitrification in drinking water treatment using the seaweed *Gracilaria verrucosa* as carbon source and biofilm carrier [J]. *Water Environment Research*, 78(4): 430-434
- Qin Y T, Zhang X W, Ren H Q, et al. 2008. Population dynamics of ammonia oxidizing bacteria in an aerated submerged biofilm reactor for micro-polluted raw water pretreatment [J]. *Environmental Biotechnology*, 79(1): 135-145
- Shao L, Xu Z X, Jin W, et al. 2009. Rice husk as carbon source and biofilm carrier for water denitrification [J]. *Pokish Journal of Environmental Studies*, 18(4): 693-699
- Shrimali M, Singh K P. 2001. New methods of nitrate removal from water [J]. *Environ Pollut*, 112(3): 351-359.
- 国家环保部. 2009. 中国环境状况公报 [R]. 北京: 国家环保部. 4-17
- State Environmental Protection Administration. 2009. Report on the Environment state in China in 2009 [R]. Beijing: State Environmental Protection Administration. 4-17
- 国家环保部. 2002. 水和废水监测分析方法(第4版) [M]. 北京: 中国环境科学出版社. 200-281
- State Environmental Protection Administration. 2002. Chinese Standard Methods for the Examination of Water (The fourth edition) [M]. Beijing: China Environmental Science Press. 200-281 (in Chinese)
- Su J J, Yeh K S, Tseng P W. 2006. A strain of *Pseudomonas* sp isolated from piggery wastewater treatment systems with heterotrophic nitrification capability in Taiwan [J]. *Current Microbiology*, 53(1): 77-81
- Wu W Z, Liu Y, Zhu Q, et al. 2009. Remediation of polluted river water by biological contact oxidation process using two types of carriers [J]. *International Journal of Environment and Pollution*, 38(3): 223-234
- Yamada T, Sekiguchi Y, Imachi H, et al. 2005. Diversity, localization, and physiological properties of filamentous microbes belonging to *Chloroflexi* subphylum I in mesophilic and thermophilic methanogenic sludge granules [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 71(11): 7493-7503
- Yuki M, Yoshimasa W, Sathshi O. 2007. Significance of chloroflexi in performance of submerged membrane bioreactors (MBR) treating municipal wastewater [J]. *Environmental Science Technology*, 41(22): 7787-7794
- Zeng H, Zhang T C. 2005. Evaluation of kinetic parameters of a sulfur-limestone autotrophic denitrification biofilm process [J]. *Water Research*, 39(20): 4941-4952
- Zhang Y H, Zhong F H, Xia S Q, et al. 2009. Autohydrogenotrophic denitrification of drinking water using a polyvinyl chloride hollow fiber membrane biofilm reactor [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 170(1): 203-209