

何晓红, 李大平, 陶勇, 等. 2009 硝化菌群强化修复氨氮污染河流水体研究[J]. 环境科学学报, 29(9): 1944– 1950
He X H, Li D P, Tao Y, *et al*. 2009 A preliminary study on enhanced remediation of an ammonia polluted river by nitrifying bacteria[J]. Acta Scientiae Circumstantiae 29(9): 1944– 1950

硝化菌群强化修复氨氮污染河流水体研究

何晓红, 李大平*, 陶勇, 胡杰, 王晓梅, 陈元芬

中国科学院成都生物研究所, 成都 610041
收稿日期: 2008-12-11 修回日期: 2009-04-11 录用日期: 2009-07-06

摘要: 利用已筛选的硝化菌群分别以游离菌和生物膜两种方式对成都市南干堰氨氮污染水体进行生物强化修复初步研究. 结果表明, 当进水氨氮浓度为 23.91~24.27 mg L⁻¹, 在 25℃、150 r min⁻¹ 条件下, 投加游离菌群 36 h 后, 氨氮去除率达 95%, 而在不添加游离菌的对照中, 氨氮浓度没有下降. 采用生物膜法, 室温条件下, 当进水氨氮浓度为 8.00~18.38 mg L⁻¹, 水力停留时间 (HRT) 2~4 h 时, 出水氨氮浓度为 0~1.11 mg L⁻¹, 氨氧化负荷最高可达 0.139 kg m⁻² d⁻¹ (以 N 计, 下同), 氨氮去除率达 90% 以上; 当进水氨氮浓度为 7.84~14.62 mg L⁻¹, HRT 为 0.5~1.0 h 时, 修复后出水氨氮浓度为 1.90~7.47 mg L⁻¹, 氨氧化负荷最高可达 0.261 kg m⁻² d⁻¹; 当进水氨氮浓度稀释到 3 mg L⁻¹ 左右, 氨氮可完全被去除, 修复后水体几乎没有亚硝酸盐残留. 采用 PCR-DGGE 分析生物膜上的微生物菌群, 发现生物膜中不仅有硝化菌群生长, 还包括其它与氮转化相关微生物菌群. 该实验结果表明, 运用硝化菌群进行氨氮污染水体强化修复具有显著的效果, 实际应用中可根据污染水体氨氮浓度以及氨氧化负荷来确定完全修复所需要的水力停留时间.
关键词: 氨氮污染水体; 硝化菌群; 生物膜; 氨氧化负荷; PCR-DGGE

文章编号: 0253-2468(2009)09-1944-07 中图分类号: X171 文献标识码: A

A preliminary study on enhanced remediation of an ammonia polluted river by nitrifying bacteria

HE Xiaohong LIDaping*, TAO Yong HU Jie WANG Xiaomei CHEN Yuanfen
Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041
Received 11 December 2008; **received in revised form** 11 April 2009 **accepted** 6 July 2009

Abstract Recently, ammonia nitrogen pollution is becoming serious increasingly in urban rivers. In this study, bioremediation of polluted Nanganyan river water was performed in the laboratory by two methods: free nitrifying bacteria or biofilms of nitrifying bacteria isolated from activated sludge. The results showed that when the nitrifying bacteria was added into polluted water with 23.91~24.27 mg L⁻¹ ammonia-nitrogen and incubated for 36 h at 25℃ and 150 r min⁻¹, the ammonia-nitrogen removal rate reached 95%. The ammonia-nitrogen concentration did not decrease in the control without the nitrifying bacteria supplements. For bioremediation of the polluted water by biofilms at room temperature when influent ammonia nitrogen was 8.00 to 18.38 mg L⁻¹ and hydraulic retention time (HRT) was 2 to 4 hours, the effluent ammonia nitrogen ranged from 0 to 1.11 mg L⁻¹. The highest ammonia nitrogen loading could reach 0.139 kg m⁻² d⁻¹ and the ammonia-nitrogen removal rate was above 90%. Moreover, when the influent ammonia nitrogen was 7.84 to 14.62 mg L⁻¹ and HRT was 0.5 to 1.0 h, the effluent ammonia nitrogen was 1.90 to 7.47 mg L⁻¹, and the highest ammonia nitrogen loading could reach 0.261 kg m⁻² d⁻¹. Finally, when the influent ammonia nitrogen was diluted to 3 mg L⁻¹, the ammonia nitrogen was completely removed and there was little residual nitrite in the effluent water. The PCR-DGGE analysis revealed that the microbial population in the biofilms included not only nitrifying bacteria but other bacteria involved in the transformation of nitrogen. The isolated nitrifying bacteria considerably enhanced the bioremediation of ammonia polluted water. In practical application, the HRT for bioremediation needs to be adjusted according to the concentration and loading of ammonia nitrogen in the polluted water.
Keywords ammonia polluted water; nitrifying bacteria; biofilms; ammonia nitrogen loading; PCR-DGGE

1 引言 (Introduction)

近年来, 随着城市化进程的加快、经济的高速发展、农村集约化养殖以及化肥的大量施用, 水资

源环境面临的压力越来越大, 面源污染日趋严重. 2006 年成都市氨氮排放总量 18989.3 t (国家环境保护总局, 2007), 岷江的水质由成都入境口的 I~II 类标准, 显著下降为出境口的 V~劣 V 类水质 (四

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (No 2006AA05Z103, 2007AA06Z324)
Supported by the National High-Tech Research and Development Program of China (No 2006AA05Z103, 2007AA06Z324)
作者简介: 何晓红 (1968—), 女, 工程师, E-mail: hexh@cib.ac.cn * 通讯作者 (责任作者), E-mail: lilp@cib.ac.cn
Biography: HE Xiaohong (1968—), female, engineer. E-mail: hexh@cib.ac.cn * **Corresponding author:** E-mail: lilp@cib.ac.cn
© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

川省环境检测中心站水质自动站周报统计). 监测与测算数据表明, 目前, 成都市岷江和沱江的 20 多条重点小流域中, 近一半控制单元的 COD 与氨氮剩余环境容量全部丧失.

在污染水体氨氮生物修复领域, 学者们已从高效硝化菌的筛选到氨氮硝化过程中影响因素等各方面进行了探讨 (李娟英等, 2006), 并在天然水体中自养氨氧化细菌与异养细菌的竞争能力方面做了大量工作 (Annette *et al*, 2002). 同时, 针对自然水体氨氮污染, 采用生态修复方法. 如通过添加菌剂可使水体氨氮在 12d 后显著降低 (沈士德, 2004), 或通过添加生物激活剂来提高土著生物自身的修复活性 (李继洲等, 2005; 唐玉斌等, 2003). 相对于自然修复, 生物膜法因具有高效、稳定和修复过程可控等特点而得到广泛应用. 从运用生物膜 SBR 反应器处理中低浓度人工配水的自养脱氮系统 (郭劲松, 2006) 到运用仿生填料对河道水体进行氨氮去除的实际应用 (田伟君, 2006), 硝化细菌在氨氮的去除中都扮演了重要的角色. 但在水体氨氮浓度较低的情况下, 如何提高硝化效率以及氨氧化负荷是水体污染修复亟待解决的关键问题之一.

鉴于此, 本研究利用自行筛选的高效硝化菌群, 采用游离菌群与固定化生物膜方式对成都市江安河支流南干堰氨氮严重污染水体进行强化生物修复, 研究游离菌群生物修复效果和固定化系统在不同水力停留时间下的氨氧化负荷及净化效果, 并通过获得硝化生物膜中氨氧化菌的菌群结构, 以期工程化应用提供技术依据和储备.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 实验材料

2.1.1 硝化菌群特性及培养条件 硝化菌群筛选自成都某污水处理厂活性污泥, 其扫描电镜照片见图 1. 该菌群为自养硝化细菌与异养菌稳定共生形成的黄褐色絮体, 絮体表面包裹粘性物质, 能够在 10~40℃ 条件下生长, 最适条件为温度 30℃、pH = 6.85~7.50. 溶解氧浓度对菌群氨氧化影响较小, 在 0.5~5.5 mg L⁻¹ 浓度范围内均能正常生长.

硝化菌群培养基及培养条件 (g L⁻¹): Na₂HPO₄ 10.55, KH₂PO₄ 1.50, MgSO₄·7H₂O 0.10, NH₄Cl 0.80, NaHCO₃ 0.50, 微量元素液 2.00mL, pH 为 7.3~7.5

微量元素液 (g L⁻¹): EDTA 5.00, ZnSO₄ 2.20,

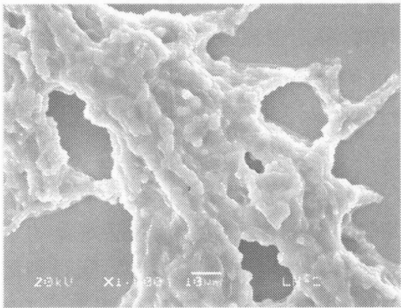


图 1 游离硝化菌群扫描电镜照片
Fig 1 Scanning electron micrographs of the free nitrifying bacteria

CaCl₂ 5.50, MnCl₂·4H₂O 5.06, FeSO₄·7H₂O 5.00, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 1.10, CuSO₄ 1.57, CoCl₂·6H₂O 1.61.

试验所用硝化菌群在氨氮初始浓度为 200 mg L⁻¹ 的培养条件下培养 5d 后, 生物量达到 200 mg L⁻¹, 经浓缩 10 倍后作为试验用菌种.

2.1.2 试验水样 试验用污染水体采自成都市江安河支流南干堰, 在实验室内室温保藏不超过 24h, 以保证水质的均匀性, 试验期间水样的水质特性见表 1. 南干堰流经成都市中心城区及部分工厂集中区, 属于生活污水和部分工业废水混合的污染水体.

表 1 试验期间水样水质特征 Table 1 The characteristics of the wastewater in the experiment			
氨氮 / (mg L ⁻¹)	pH	COD _{Cr} / (mg L ⁻¹)	DO / (mg L ⁻¹)
7.84~23.91	7.70~8.01	7.71~17.60	<1.00

2.2 实验方法

2.2.1 游离硝化菌群强化修复实验 在 250mL 三角瓶内装入 100mL 水样, 接入试验菌种 1% (V/V), 在 25℃、150r min⁻¹ 条件下摇床振荡; 同时, 以不接菌作为对照, 实验设 2 个重复, 每天取样检测水样中 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 浓度的变化.

2.2.2 生物膜强化修复实验 强化修复实验用反应器为 1000mL 抽滤瓶, 内装 3 片组合填料, 其有效容积为 1180mL. 进水口在反应器底部, 出水由上部排水口自动溢出. 试验初期首先挂膜, 在反应器中加入南干堰水样约 500mL, 再加入试验菌种 2mL (接种比例 4‰ V/V) 在室温条件下曝气、运行, 以模拟自然状态下的生物修复. 每天检测 NH₄⁺-N, 待 NH₄⁺-N 消耗完后重新换水, 直到膜片上稳定附着大量褐黄色的菌体, 大约经过 25d 后, 完成挂膜. 采用

HL-3恒流泵开始进行连续进水, 根据实验设计的不同停留时间, 确定恒流泵的流量. 每天检测 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 浓度, 定期检测 COD 的变化. 本实验进行时间为 2007 年 3~4 月, 室温在 13~27℃ 间变化.

2 3 分析方法

2 3 1 PCR-DGGE 技术对生物膜菌群结构分析 生物膜样品取自连续生物处理反应器, 通过细菌基因组提取试剂盒 (DP302-2 TIANGEN) 提取总 DNA. 以总 DNA 为模板, 利用氨氧化菌 (Kowalchuk *et al*,

1997)、固氮菌 (Rosch *et al*, 2002)、硝化杆菌 (Wagner *et al*, 1996)、硝化螺菌 (Regan *et al*, 2002) 和反硝化菌 (Shams *et al*, 2007) 的特异性引物进行 PCR 扩增, 确定生物膜中与氮转化相关菌群. 同时, 对其中的氨氧化菌群进行巢式 PCR, 对获得的 PCR 产物进行变性梯度凝胶电泳 (DGGE) (Muyzer *et al*, 1993). 分析目的条带, 并切胶回收, 扩增产物送上海生工测序. 将测序结果上传 NCBI 中进行序列比对, 确定种属. 研究中使用的 PCR 引物见表 2

表 2 研究中使用的 PCR 引物
Table 2 PCR primers used in this study

引物	扩增目标	序列 (5' to 3')	参考文献
CTO189AB CTO189AC CTO653r	Ammonia-oxidizing bacteria 16S rRNA	GGA GRA AAG CAG GGG ATC G, GGA GGA AAG TAG GGG ATC G CTA GCY TTG TAG TTT CAA ACG C	Kowalchuk <i>et al</i> , 1997
P338f P518r	Universal 16S rDNA, V3 region	CCT ACG GGA GGC AGC AG ATT ACC GCG GCT GCT GG	Muyzer <i>et al</i> , 1993
nifH-F nifH-R	Dinitrogen-fixing bacteria nifH gene	AAA GGY GGW ATC GGY AAR TCC ACC AC TTG TTS GCS GCR TAC ATS GCC ATC AT	Rosch <i>et al</i> , 2002
Nit3 P338f	Nitrobacter 16S rRNA	CCT GTG CTC CAT GCT CCG CCT ACG GGA GGC AGC AG	Wagner <i>et al</i> , 1996
Nitrospira0685M P338f	Nitrospira 16S rRNA	CGG GAA TTC CGC GCT C CCT ACG GGA GGC AGC AG	Regan <i>et al</i> , 2002
nosZ2f nosZ3r	Denitrifiers nosZ gene	GTGCCGAAGAA CCC [G/C] CA CGG T [C/G] GCCGGA GATGTCGATCA	Shams <i>et al</i> , 2007
GC 夹子	CGCCCGCCGCGCGCGCGCGCGGGCGGGG GCA CGG GGGG		Muyzer <i>et al</i> , 1993

2 3 2 分析方法 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 测定采用纳氏试剂光度法; $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 测定采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法; $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 测定采用紫外分光光度法; COD_{Cr} 采用重铬酸钾法.

3 结果 (Results)

3 1 游离硝化菌群强化修复对污染水体氨氮的去除

图 2 为游离硝化菌群修复南干堰水体的结果. 从图 2 可以看出, 污染水体中加入硝化菌群 36h 后, 水样中氨氮浓度由初始 $23.91 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低到 $1.14 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 去除率为 95%. 而在 168h 内, 对照组水样氨氮仅有少许下降. 由此可知, 南干堰水质恶化, 已完全失去了自净能力.

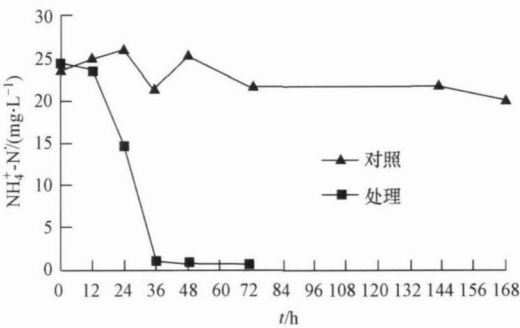


图 2 硝化菌群对南干堰水体氨氮的修复
Fig 2 Bioremediation of ammonia in Nanganyan river water by nitrifying bacteria

3 2 生物膜强化修复对污染水体氨氮的去除

由于南干堰水体污染严重, 水质状况恶劣, 尝试采用生物膜法进行强化修复实验. 试验期间水质不稳定, 氨氮变化幅度大, 进水氨氮浓度在 $7.84 \sim 18.38 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间, 试验过程中考察了不同停留时

间对处理效果的影响, HRT 由初始的 4h 逐渐缩短到 2, 1, 0.5h(图 3). 由图 3 可以看出, 当 HRT = 4h 时, 进水氨氮浓度为 $8.47 \sim 18.38 \text{ mg L}^{-1}$, 出水氨氮浓度为 $0.16 \sim 0.99 \text{ mg L}^{-1}$, 氨氧化负荷最高达到 $0.091 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, 氨氮去除率 95% 以上; 当 HRT 缩短到 2h 进水氨氮浓度为 $8 \sim 14.72 \text{ mg L}^{-1}$, 出水氨氮浓度为 $0 \sim 1.11 \text{ mg L}^{-1}$, 氨氧化负荷最高达到 $0.139 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, 氨氮去除率 90% 以上; 当 HRT 降低为 1h 进水氨氮浓度为 $7.84 \sim 14.62 \text{ mg L}^{-1}$, 出水氨氮浓度明显增高 ($1.90 \sim 4.55 \text{ mg L}^{-1}$), 虽然氨氧化负荷最高可达到 $0.261 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, 氨氮去除率仅 67% ~ 88% 之间; 当 HRT 为 0.5h 进水氨氮浓度为 $8.26 \sim 11.17 \text{ mg L}^{-1}$ 时, 出水氨氮浓度更高

($4.42 \sim 7.47 \text{ mg L}^{-1}$), 氨氮去除率仅 30% ~ 50%. 将水样稀释到氨氮浓度 3 mg L^{-1} 左右, 出水氨氮浓度即可降到 1 mg L^{-1} 以下, 甚至检测不出. 从试验中还可以看出, 由于受到生物膜氨氧化负荷的限制, 在 HRT 高于 2h, 氨氮负荷低但去除率较高, 处理后大部分出水氨氮含量可以达到 1 mg L^{-1} 以下, 基本能达到 II 类水排放标准. HRT 为 0.5~1h 时, 虽然氨氮负荷最高可达到 $0.261 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, 但仅部分出水氨氮浓度达到 1 mg L^{-1} 以下. 南干堰污染水体中初始亚硝酸盐含量很少, 没有硝酸盐积累. 在生物膜连续修复系统中氨氮去除的同时, 水体中亚硝酸盐仅有少量积累 ($[\text{NO}_2^- - \text{N}] < 1 \text{ mg L}^{-1}$), 终产物以硝酸盐为主, 在 $2.17 \sim 19.54 \text{ mg L}^{-1}$ 之间.

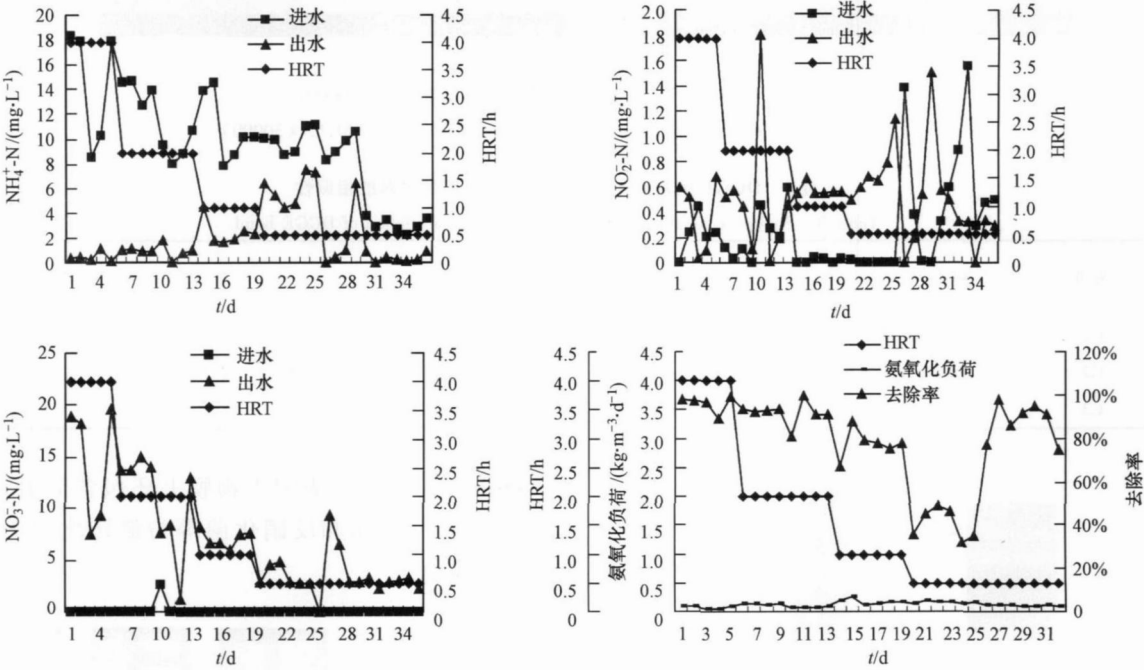


图 3 不同 HRT 下进出水氨氮、亚硝酸盐、硝酸盐和氨氧化负荷及其去除率变化

Fig. 3 Ammonia concentrations, Nitrite concentrations, Nitrate concentrations, Ammonia load and removal percentage at different HRT

3.3 生物膜强化修复对污染水体 COD_{Cr} 的去除

在进行生物膜强化修复污染水体过程中, 考察了该系统对污染水体中 COD_{Cr} 的去除效果(图 4). 从图 4 可以看出, 该系统对 COD_{Cr} 也有一定程度的去除, 随着 HRT 的缩短, COD_{Cr} 去除率也相应下降, COD_{Cr} 去除率在 24% ~ 43% 之间. 当停留时间降低为 0.5h 时, COD_{Cr} 基本没有去除. 该系统 COD_{Cr} 去除率不高可能与生物膜中硝化菌群为优势菌群, 生物膜的主要功能为硝化功能有关.

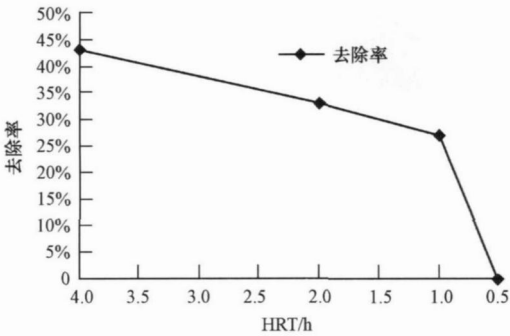


图 4 硝化生物膜对 COD_{Cr} 的去除

Fig. 4 Removal of COD_{Cr} by nitrifying biofilms

3 4 生物膜强化修复系统微生物菌群组成及其 PCR-DGGE 分析结果

生物膜经过长期的驯化与强化修复过程,在填料上形成了稳定的微生物菌群(图 5).提取生物膜上微生物的总 DNA,并进行 16S rDNA 的 PCR-DGGE 分析,发现生物膜样品中微生物多样性相当丰富.

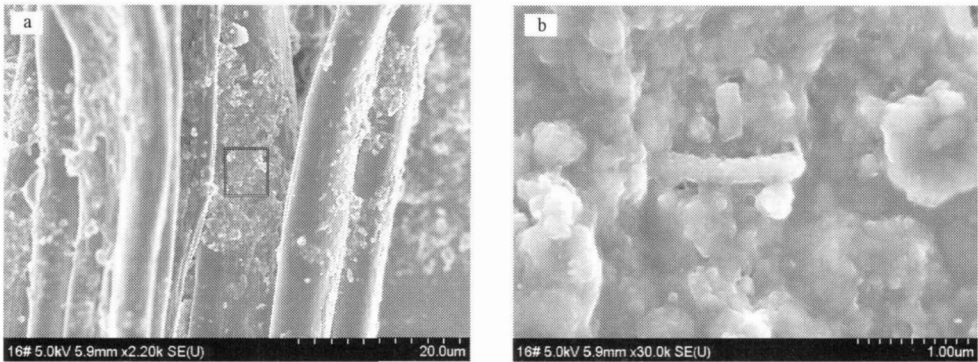


图 5 生物膜上菌群扫描电镜照片 (a × 2200, b × 30000)
Fig 5 Scanning electron micrographs of the biofilms (a × 2200, b × 30000)

表 3 DGGE 条带的序列长度和与已知序列比对的相似性

Table 3 Sequence length and closest phylogenetic affiliation of DGGE band

条带	种类	注册号	相似性
C1	Uncultured <i>Nitrosomonas</i> sp clone 16s-jial	gb AF490627.1	98%
C2	<i>Nitrosomonas eutropha</i> isolate F6	embl AJ011920.1 INSP011920	100%
C3	<i>Nitrosomonas</i> sp WH-2	gb AF338211.1 AF338211	97%

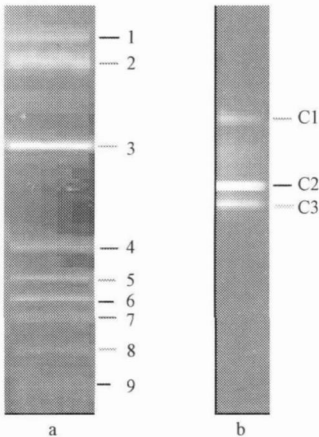


图 6 生物膜总细菌和其中氨氧化菌的 DGGE 图谱 (a 总细菌, b 氨氧化菌)
Fig 6 DGGE fingerprints of bacteria in the biofilms (a total bacteria, b ammonia bacteria)

另外,设计与氮转化相关特异性引物进行 PCR 扩增,并通过电泳检测(图 7).从图 7 可以看出,以

同时,针对其中起硝化作用的功能菌——氨氧化菌设计特异性引物进行 PCR-DGGE 分析,发现共有 3 条条带(图 6).回收条带并测序,测序结果同 NCBI 数据库进行比对,鉴定出 3 株氨氧化菌均为亚硝化单胞菌 (*Nitrosomonas* sp.) (表 3).

总 DNA 为模板分别扩增出了约 400、700、330 和 480bp 的片段,这表明生物膜上还包含固氮菌、硝化杆菌、硝化螺菌和反硝化菌等与氮转化相关的特殊功能菌群.

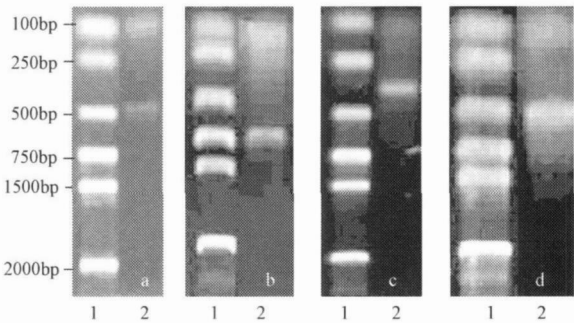


图 7 生物膜上与氮转化有关菌 (a 固氮菌, b 硝化杆菌, c 硝化螺菌, d 反硝化菌)
Fig 7 The bacteria involved in nitrogen transformation by the biofilm (a *Azotobacter*, b *Nitrobacter*, c *Nitrospira*, d denitrifying bacteria)

4 讨论 (Discussion)

本研究利用自行筛选的硝化菌群挂膜,模拟南干堰水体自然状态下的修复,所用水样由自然环境中采集,水体氨氮波动很大,其浓度在 $7.84 \sim 18.38 \text{ mg L}^{-1}$ 之间。在固定化生物膜系统稳定运行时,通过选择 4 个不同的停留时间对自然水体中氨氮的去除效果进行比较,发现修复效果受到氨氧化负荷的显著影响。结果显示,当 $\text{HRT} > 2\text{h}$ 氨氧化负荷在 $0.046 \sim 0.121 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ 之间,出水氨氮浓度能够达到 1 mg L^{-1} 以下的 III 类水质标准(图 3);而当 $\text{HRT} < 1\text{h}$,由于进水氨氮浓度高,氨氧化负荷达到 $0.126 \sim 0.261 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$,但氨氧化去除率明显降低。牛天新等(2007)研究发现,氨氧化受到负荷直接影响,与本研究结果一致。而对进水进行适当稀释后(进水氨氮浓度 $2.17 \sim 3.71 \text{ mg L}^{-1}$),停留时间保持在 0.5h 去除率显著上升,处理后出水氨氮达到 II 类水质标准。尽管氨氧化负荷降到 $0.100 \sim 0.116 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$,但该负荷显著高于其他微污染水源生物膜处理的氨氧化负荷 $0.03 \sim 0.05 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (进水氨氮浓度 $0.5 \sim 7.0 \text{ mg L}^{-1}$) (肖羽堂等, 2002; 徐瑛, 2002) 以及养殖水体修复的氨氧化负荷 $0.05 \sim 0.10 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (进水氨氮浓度 1.5 mg L^{-1}) (Lekang *et al.* 2000)。这可能是由于氨氮微污染水体中缺乏有机碳源,适应能力较弱或对有机碳源要求较高的异养细菌被大量淘汰(苏峻峰等, 2007),而自养硝化菌群缺乏胞外聚合物等凝聚功能,在水体搅动下,很难在生物膜中维持种群规模,使得氨氧化负荷维持在较低水平。而本研究中应用的是自养-异养共生硝化菌群,其中的异养种群能够在完全自养环境中依靠自养种群提供的碳源和能源繁殖生长,并形成稳定的菌胶团(图 1)。因此,即便在有机碳缺乏的环境中,也能形成氨氧化规模种群,获得较高的氨氧化负荷,表现出较强的适应能力和应用前景。

通过常规 PCR-琼脂糖凝胶电泳结合 PCR-变性梯度凝胶电泳分析发现,生物膜上与氮转化有关的微生物菌群中既有硝化过程中承担主要作用的氨氧化菌(亚硝化单胞菌)和硝化菌(硝化杆菌和硝化螺菌),同时也检测出异养反硝化菌和固氮菌。但在有机碳缺乏的环境中,即便是在生物膜内缺氧环境中异养反硝化菌和固氮菌也难以发挥作用,推测这些具有特征功能基因的异养微生物只是与自养硝

化细菌形成伴生或共生长关系,并没有起相应的反硝化或固氮作用。

5 结论 (Conclusions)

1) 南干堰污染水体自身失去净化氨氮能力,直接投加硝化菌群对氨氮的去除效果的明显,但修复时间较长 (36h)。

2) 利用硝化菌群,采用生物膜工艺可快速有效地去除南干堰水体中的氨氮。当 HRT 大于 2h 氨氮去除率可以达到 90% 以上,氨氧化负荷最高可达到 $0.139 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$,出水氨氮降低到 1 mg L^{-1} 以下,基本达到 III 类水排放标准;当停留时间在 $0.5 \sim 1\text{h}$ 时,氨氮去除率降低,虽然氨氧化负荷最高可达到 $0.261 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$,但要在高氨氧化负荷下使水体氨氮修复达标,需根据水体氨氮污染浓度与系统氨氧化负荷,调整生物膜系统的 HRT 。针对南干堰污染水体氨氮的去除, HRT 以 $1 \sim 2\text{h}$ 为宜。生物膜系统氨氧化产物主要为硝酸盐,氨氧化过程还能够部分去除水体 COD_{Cr} 。

3) 通过对生物膜电镜观察和微生物菌群结构分析发现,生物膜上菌群种类很多,菌群中包括了氨氧化菌、硝化杆菌、硝化螺菌、反硝化菌以及固氮菌。对其中的氨氧化菌 PCR 产物进行 DGGE 分析发现,主要为亚硝化单胞菌。

责任作者简介:李大平(1964—),男,研究员,博士生导师。主要从事环境微生物学及其环境生物技术研究。E-mail: ldp@ch.ac.cn

参考文献 (References):

- Bolmann A, B4r-Gilissen M, J. Laanbroek H. J. 2002. Growth at low ammonium concentrations and starvation response as potential factors involved in niche differentiation among ammonia-oxidizing bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 4751—4757
- 郭劲松, 方芳, 罗本福, 等. 2006. 生物膜 SBR 反应器中低氨氮浓度废水亚硝化启动试验研究 [J]. *环境科学*, 27(4): 686—690
- Guo J S, Fang F, Luo B F, *et al.* 2006. Start-up experiment on nitrification of mild ammonia concentration wastewater in SBR biofilm reactor [J]. *Environmental Science*, 27(4): 686—690 (in Chinese)
- 国家环境保护总局. 2007. 中国环境统计年报(2006) [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 104; 161
- State Environmental Protection Administration. 2007. Annual Statistical Report on Environment in China (2006) [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 104; 161
- Kowalchuk G A, Stephen J R, De Boer W, *et al.* 1997. Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the β subdivision of the class

- Proteobacteria in coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments[J]. *Appl Environ Microbiol* 63: 1489—1497
- 李娟英, 赵庆祥. 2006. 低浓度氨氮硝化过程中影响因素的研究[J]. *环境污染与防治*, 28(1): 11—13
- Li J Y, Zhao Q X. 2006. Effects of factors affecting nitrification at low ammonia concentration[J]. *Environmental Pollution Control* 28(1): 11—13(in Chinese)
- 李继洲, 胡磊. 2005. 污染水体的原位生物修复研究初探[J]. *四川环境*, 24(1): 1—3, 26
- Li J Z, Hu L. 2005. Preliminary study on in-situ bioremediation for polluted water[J]. *Sichuan Environment* 24(1): 1—3, 26(in Chinese)
- Lekang O I, Klepper H. 2000. Efficiency of nitrification in trickling filters using different filter media[J]. *Aqu Engin*, 21: 181—199
- Muyzer G, De Waal E C, Uitterlinden A G. 1993. Profiling complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J]. *Appl Environ Microbiol* 59: 695—700
- 牛天新, 张永明, 朱奇亮. 2007. 利用生物膜去除城市河道水中氨氮的影响因素[J]. *上海师范大学学报(自然科学版)*, 36(1): 102—106
- Niu T X, Zhang Y M, Zhu Q L. 2007. The study on the factors influencing the removal of ammonia nitrogen in urban riverwater by biofilm[J]. *Journal of Shanghai Normal University(Natural Sciences)*, 36(1): 102—106(in Chinese)
- Regan J M, Harrington G W, Noguera D R. 2002. Ammonia- and nitrite-oxidizing bacterial communities in a pilot-scale chloraminated drinking water distribution system[J]. *Appl Environ Microbiol* 68: 73—81
- Rosch C, Mergel A, Bothe H. 2002. Biodiversity of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in an acid forest soil[J]. *Appl Environ Microbiol* 68(8): 3818—3829
- Shams T K, Yoko H, Naob T, *et al*. 2007. Activity and community composition of denitrifying bacteria in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-using solid-phase denitrification processes[J]. *Microbes Environ*, 22(1): 20—31
- 苏俊峰, 马放, 王弘宇, 等. 2007. 利用 PCR-DGGE 技术分析生物陶粒硝化反应器中微生物群落动态[J]. *环境科学学报*, 27(3): 386—390
- Su J F, Ma F, Wang H Y, *et al*. 2007. Application of PCR-DGGE to resolve microbial diversity in bio-ceramic reactor[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 27(3): 386—390
- 沈士德. 2004. 富营养化水体景观的微生物修复研究[J]. *江苏环境科技*, 17(4): 14—15, 18
- Shen S D. 2004. Study on treatment eutrophication waters using microorganism bioremediation method[J]. *Jiangsu Environmental Science and Technology*, 17(4): 14—15, 18(in Chinese)
- 唐玉斌, 刘宏伟, 郝永胜, 等. 2003. 外加碳源和生物激活剂对生物膜修复污染河水效果的影响[J]. *华东理工大学学报*, 29(5): 489—492
- Tang Y B, Liu H W, Hao Y S, *et al*. 2003. Effects of bioavailable carbon and biostimulant on the bioremediation of polluted river water by biofilms[J]. *Journal of East China University of Science and Technology*, 29(5): 489—492(in Chinese)
- 田伟君, 郝芳华, 王超, 等. 2006. 太湖典型入湖河道中氨氮去除研究[J]. *生态环境*, 15(6): 1138—1141
- Tian W J, Hao F H, Wang C, *et al*. 2006. Ammonia-nitrogen degradation in the typical streams entering Taihu Lake[J]. *Ecology and Environment* 15(6): 1138—1141(in Chinese)
- Wagner M, Rath G, Koops H P, *et al*. 1996. In Situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants[J]. *Water Sci Technol* 34: 237—244
- 徐琰. 2002. 微污染源水生物硝化处理影响因素[J]. *工业安全与环保*, 28(6): 20—22
- Xu Y. 2002. The influence factors of biological process of treatment of slightly polluted[J]. *Industrial Safety and Environmental Protection* 28(6): 20—22(in Chinese)
- 肖羽堂, 许建华, 吴鸣. 2002. 天然水温对生物修复污染源 NH_4^+-N 除效果的影响研究[J]. *水科学进展*, 13(2): 201—205
- Xiao Y T, Xu J H, Wu M. 2002. Study on effect of waterbody temperature on removal of NH_4^+-N in polluted water sources by bioremediation process[J]. *Advances in Water Science*, 13(2): 201—205(in Chinese)