

张蕾, 郑平, 胡安辉. 2009 铁离子对厌氧氨氧化反应器性能的影响 [J]. 环境科学学报, 29 (8): 1629–1634

Zhang L, Zheng P, Hu A H. 2009 Effect of ferrous ion on the performance of an anammox reactor [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 29 (8): 1629–1634

铁离子对厌氧氨氧化反应器性能的影响

张蕾, 郑平*, 胡安辉

浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029

收稿日期: 2008-10-25 修回日期: 2009-04-01 录用日期: 2009-06-04

摘要: 考察了铁离子对厌氧氨氧化反应器性能的影响. 研究发现, 经过 205d 的连续培养, 添加铁离子可提高反应器的基质转化能力, 铁离子浓度为 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ 时, 反应器对 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的最大去除速率分别为对照 (铁离子浓度 0.03 mmol L^{-1}) 的 1.8 倍和 1.6 倍; 添加铁离子可促进厌氧氨氧化菌生长, 以 NO_2^--N 产生量和挥发性固体浓度 (VS) 表征厌氧氨氧化菌生长, 铁离子浓度为 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ 时, 细胞生长量为对照 (铁离子浓度为 0.03 mmol L^{-1}) 的 1.36 倍; 试验反应器的 VS 是对照的 2.15 倍. 添加铁离子可引起厌氧氨氧化菌细胞结构改变, 细胞内产生不明灰色区域. 试验还证明, 厌氧氨氧化菌对铁离子的需求量相对较大, 原有厌氧氨氧化菌培养基的铁含量相对不足.

关键词: 生物脱氮; 厌氧氨氧化; 铁离子; 性能

文章编号: 0253-2468 (2009) 08-1629-06 中图分类号: X703 文献标识码: A

Effect of ferrous ion on the performance of an anammox reactor

ZHANG Lei, ZHENG Ping*, HU Anhui

College of Environmental and Resource Sciences of Zhejiang University, Hangzhou 310029

Received 25 October 2008 received in revised form 1 April 2009 accepted 4 June 2009

Abstract The effect of ferrous ion on the performance of an anaerobic ammonium oxidation (anammox) reactor was investigated. The substrate removal rate of the reactor was boosted by addition of ferrous ion within 205 d. The maximum NH_4^+-N and NO_2^--N removal rate with $0.075 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe}^{2+}$ was 1.8-fold and 1.6-fold of the control (Fe^{2+} concentration = 0.03 mmol L^{-1}). Microbial growth denoted by production of nitrate and volatile solids (VS), was also enhanced. The biomass increment at $0.075 \text{ mmol L}^{-1} \text{Fe}^{2+}$ was 1.36-fold over the control and the VS of the test reactor was 2.15-fold of the control. The anammox bacteria varied in cellular structure under iron-replete conditions ($0.075 \text{ mmol L}^{-1}$). An unknown grey area appeared between the light area and the dark area, which was unprecedented in anammox bacteria. Based on this research, anammox bacteria have a large demand for iron and the former medium for the anammox bacteria was iron limited.

Keywords biological nitrogen removal; anaerobic ammonium oxidation (anammox); ferrous ion; performance

1 引言 (Introduction)

厌氧氨氧化 (Anammox) 是指在无氧条件下, 以氨为电子供体、亚硝酸为电子受体的生物反应. 该反应最早由 Mulder 等人 (1995) 发现于三级生物处理系统中, 现已成功应用于废水生物脱氮. Strous 等 (1997; 1998) 采用固定床、流化床和序批式反应器等多种反应器研究了厌氧氨氧化性能. Slikers 等 (2003) 以气升式反应器取得了总氮去除速率为 $8.9 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (以 N 计) 的厌氧氨氧化功效. 2002 年, 厌氧氨氧化首次用于荷兰鹿特丹污水处理厂污泥消化液的脱氮处理中, 总氮去除速率高达 $9.5 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (以 N 计) (van der Star *et al.*, 2007). 近

年来, 我国也对厌氧氨氧化进行了大量研究. 左剑恶等 (2003) 采用 UASB 反应器, 以厌氧消化污泥和清华大学校河底泥作为接种物, 成功启动了厌氧氨氧化. Gong 等 (2007) 采用曝气生物膜反应器, 在微好氧条件下取得的厌氧氨氧化总氮负荷为 $0.77 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (以 N 计). 金仁村等 (2008) 报道的固定床反应器的厌氧氨氧化总氮去除速率为 $6.11 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ (以 N 计), 这是目前国内文献报道的最高水平. 但是, 厌氧氨氧化菌生长慢 (倍增时间 11 d), 启动过程长, 导致工艺应用受到严重限制 (Strous *et al.*, 1998; van der Star *et al.*, 2007; Kartal *et al.*, 2004). 突破这个瓶颈的有效方法是改进反应器构型, 提高对污泥的持留能力; 选择接种污泥, 提高出发菌

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30770039)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30770039)

作者简介: 张蕾 (1981—), 女, 博士研究生, E-mail: lzhang198@zju.edu.cn; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: pzheng@zju.edu.cn

Biography: ZHANG Lei (1981—), female, Ph.D. candidate, E-mail: lzhang198@zju.edu.cn; * Corresponding author, E-mail: pzheng@zju.edu.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

种的质量; 优化营养条件和环境条件, 促进厌氧氨氧化菌的生长 (Zhang *et al.*, 2008).

铁是微生物生长的必需元素之一, 约占细胞干重的 0.02% (Andrews, 1998). 作为许多含铁蛋白 (如血红素、铁硫蛋白和铁镍蛋白等) 的成分, 它几乎参与了所有重要的代谢反应 (Burgess *et al.*, 1999). 铁多以氧化物形态存在, 经常成为微生物生长和代谢的限制因子. Zhu等 (2007)发现, 在一定范围内增加 Fe^{2+} 浓度可大幅度提高 *Rhodobacter phaeooides* 的产氢速率. 而厌氧氨氧化菌富含血红素, 例如, 每个羟氨氧还酶含有 26个血红素, 每个联氨氧化酶含有 8个血红素, 每个细胞色素 $c-552$ 含有 1个血红素; 厌氧氨氧化体内还存在含铁元素颗粒 (Schalk *et al.*, 2000; Shimamura *et al.*, 2007; Cirpus *et al.*, 2005; van Niftrik *et al.*, 2008). 以上种种迹象表明, 厌氧氨氧化菌对铁的需求量较大. 本文通过在试验反应器中添加不同浓度的 Fe^{2+} , 并比较试验反应器与对照反应器氮去除负荷、铁的转化量和微生物形态等方面的不同, 旨在研究铁离子对厌氧氨氧化反应器性能的影响.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 试验装置与工作条件

试验装置和流程如图 1所示. 试验装置为两个有效容积 100 mL的上流式反应器, 采用有机玻璃制作. 内部各装有 80 mL以竹炭为载体的颗粒污泥, 污泥粒径 (4.20 ± 0.07) mm. 装置表面用黑布包裹, 以防光线对混培物的负面影响.

两个反应器置于 30℃恒温室内运行, 进水 pH 控制在 6.7~6.8, 水力停留时间 (HRT) 设定为 4.8 h. 一个反应器 (R1) 用作对照, 控制 Fe^{2+} 浓度为 0.03 mmol L^{-1} ; 另一个 (R2) 用于试验, Fe^{2+} 浓度由

0.03 mmol L^{-1} 逐渐增加至 0.045 、 0.06 和 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$. 通过提高基质 (氨和亚硝酸) 浓度来增加反应器负荷, 比较不同 Fe^{2+} 浓度对两个反应器基质转化速率的影响.

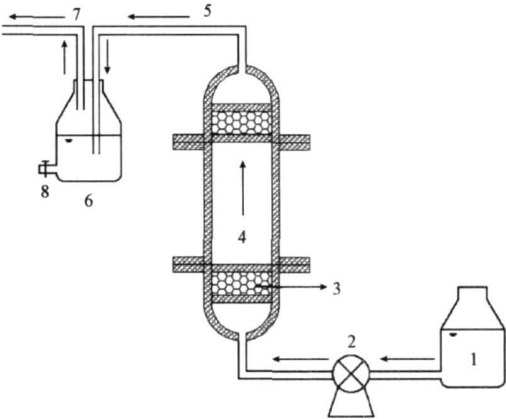


图 1 反应系统 (1 进水; 2 蠕动泵; 3 卵石; 4 反应区; 5 出水; 6 液封瓶; 7 排气; 8 取样口)

Fig. 1 The reactor system (1. inlet; 2. peristaltic pump; 3. stone; 4. reacting region; 5. outlet; 6. liquid seal; 7. vent; 8. sampling port)

2.2 接种污泥与模拟废水

接种污泥来自于一个有效容积为 9 L 的实验室厌氧氨氧化装置, 该反应器已经稳定运行 1 a, 具有较高的厌氧氨氧化活性 (张蕾等, 2008).

试验采用模拟废水, 其组成为: KH_2PO_4 10 mg L^{-1} , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 5.6 mg L^{-1} , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 300 mg L^{-1} , KHCO_3 1250 mg L^{-1} , 微量元素浓缩液和 Fe^{2+} -EDTA 储备液浓度为 0.03 mmol L^{-1} (以 Fe^{2+} 计), 其组成见表 1. 两个反应器中微量元素浓缩液均为 1 mL L^{-1} . 对照 (R1) 反应器中 Fe^{2+} 浓度为 $0.030 \text{ mmol L}^{-1}$, R2 反应器根据试验要求, Fe^{2+} 浓度分别为 $0.045 \text{ mmol L}^{-1}$ 、 0.06 mmol L^{-1} 和 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$. NH_4^+-N 和 NO_2^--N 用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 NaNO_2 提供, 浓度按需配制.

表 1 模拟废水中微量元素浓缩液和 Fe^{2+} -EDTA 储备液组成 (van de Graaf, 1996)
Table 1 Composition of trace element solution and Fe^{2+} -EDTA stock solution (van de Graaf, 1996)

Fe^{2+} -EDTA / (g L^{-1})		Trace elements / (g L^{-1})									
EDTA	$\text{FeSO}_4 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	EDTA	H_3BO_3	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	
5	9.14	15	0.014	0.99	0.25	0.24	0.43	0.19	0.22	0.21	

2.3 样品透射电镜观察

从反应器中取样, 置于 2.5% 戊二醛溶液中, 4℃固定过夜. 经 0.1 mmol L^{-1} 、pH 7.0 磷酸缓冲液漂洗后, 再用 1% 锇酸溶液固定 1~2 h, 继续用磷酸

缓冲液漂洗. 经过梯度浓度 (包括 50%、70%、80%、90%、95% 和 100% 6 种浓度) 的乙醇溶液脱水处理后用纯丙酮处理 20 min, 然后分别用体积比为 1:1 和 3:1 的包埋剂与丙酮的混合液处理样品 1 h 和 3

h₁ 最后用包埋剂处理样品过夜. 将渗透处理的样品包埋起来, 70℃加热过夜, 即得到包埋好的样品. 样品在 Reichert 超薄切片机中切片, 获得 70~90 nm 的切片, 用柠檬酸铅溶液和醋酸双氧铀 50% 乙醇饱和溶液各染色 15 min, 再用 JEM-1230 型透射电镜 (日本 JEOL 公司) 观察结果.

2.4 测定项目和方法

NH₄⁺-N 采用水杨酸-次氯酸钠光度法; NO₂⁻-N 采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法; NO₃⁻-N 采用紫外分光光度法; 总铁用邻菲罗啉比色法, 挥发性固体浓度 (VS) 用重量法. 以上所有方法参照《水和废水监测分析方法》(国家环境保护总局, 2005). 所有图表绘制和数据统计学分析均使用 Origin 7.5 进行处理.

3 结果 (Results)

3.1 铁离子对反应器脱氮性能的影响

试验装置接种后, 先适应性运行 10d, 再考察不同铁离子浓度对反应器脱氮性能的影响 (见图 2 和图 3). 根据所投加的铁离子浓度 (0.045、0.06 和 0.075 mmol L⁻¹), 可将 R2 反应器的运行过程分为 3 个阶段. 在每个阶段, 通过逐渐提高基质浓度 (NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N) 来增加反应器负荷. 对照 (R1) 反应器的进水 Fe²⁺ 浓度维持 0.03 mmol L⁻¹, 与提供接种污泥的厌氧氨氧化装置相同. 从图 2 和图 3 可以看出, 进水 Fe²⁺ 浓度为 0.045 mmol L⁻¹ 时, R2 反应器的 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 去除速率与对照没有显著差异; 进水 Fe²⁺ 浓度升高到 0.06 mmol L⁻¹ 和 0.075 mmol L⁻¹ 后, R2 反应器的基质去除速率显著高于对照 (表 2). 总体来看, NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 去除

速率随 Fe²⁺ 浓度的提高而增加, 但值得注意的是, 当 Fe²⁺ 浓度从 0.045 mmol L⁻¹ 提升为 0.06 mmol L⁻¹ 时, R2 反应器对两种基质的去除速率增加较小; 而当 Fe²⁺ 浓度从 0.06 mmol L⁻¹ 提升为 0.075 mmol L⁻¹ 时, R2 反应器对两种基质的去除速率增加显著 (表 2).

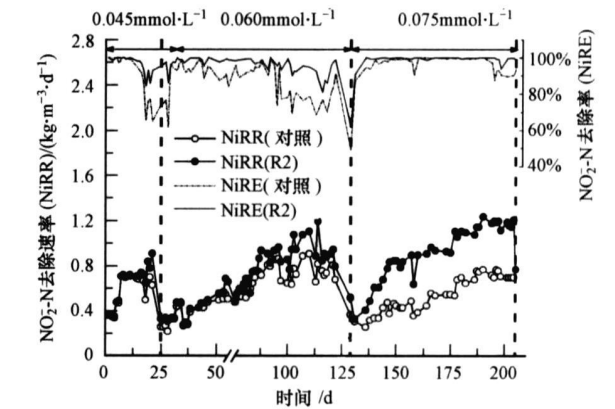


图 3 铁离子对反应器 NO₂-N 去除性能的影响

Fig. 3 Effect of ferrous ion on NO₂-N removal

表 2 两个反应器基质去除情况比较

Fe ²⁺ 浓度 / (mmol L ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N 最大去除速率 /(kg·m ⁻³ ·d ⁻¹)		NO ₂ ⁻ -N 最大去除速率 /(kg·m ⁻³ ·d ⁻¹)	
	R1	R2	R1	R2
0.045	0.79	0.82	0.72	0.91
	0.47 ^a	0.23 ^b	0.38 ^a	0.63 ^b
0.060	0.94	1.05	0.91	1.20
	0.02 ^a	0 ^c	0.03 ^a	0 ^c
0.075	0.77	1.37	0.77	1.24
	0 ^a		0 ^a	

注: a 为 R2 反应器与对照反应器在同一运行阶段各基质去除速率相比后, 采用单因子 ANOVA 的统计值 ($p < 0.05$); b 为 Fe²⁺ 浓度为 0.045 mmol L⁻¹ 和 0.06 mmol L⁻¹ 时, R2 反应器各基质去除速率相比后, 采用单因子 ANOVA 的统计值 ($p < 0.05$); c 为 Fe²⁺ 浓度为 0.06 mmol L⁻¹ 和 0.075 mmol L⁻¹ 时, R2 反应器各基质去除速率相比后, 采用单因子 ANOVA 的统计值 ($p < 0.05$).

NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 是厌氧氨氧化菌的基质, 但过量时也会成为抑制剂, 其中, NO₂⁻-N 的抑制作用强于 NH₄⁺-N. 研究报道, 若亚硝酸浓度高于 98 mg L⁻¹, 厌氧氨氧化活性可被完全抑制 (Strous *et al*, 1999). 在本研究第一和第二阶段末期, 对照反应器的出水 NO₂⁻-N 浓度分别为 68.61 mg L⁻¹ 和 77.39 mg L⁻¹; R2 反应器出水 NO₂⁻-N 浓度分别为 25.83 mg L⁻¹ 和 64.47 mg L⁻¹. 两个反应器对基质的转化效率都显著下降. 提高 Fe²⁺ 浓度后, R2 反应

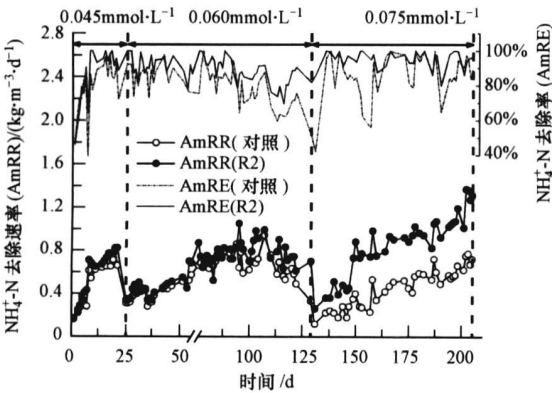


图 2 铁离子对反应器 NH₄⁺-N 去除性能的影响

Fig. 2 Effect of ferrous ion on NH₄⁺-N removal

器的效能迅速恢复,特别是在 Fe^{2+} 浓度为 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ 时, 74 d内 R2反应器的容积总氮去除负荷达到 $2.53 \text{ kg m}^{-3} \text{ d}^{-1}$, 为对照反应器的 2倍多.

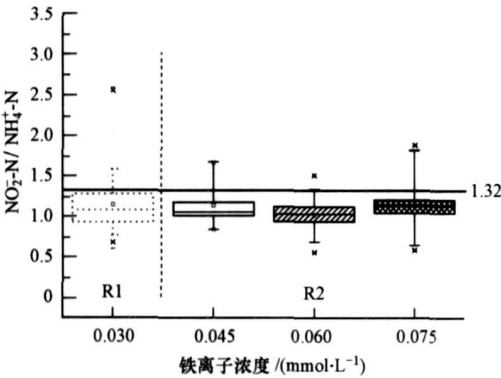


图 4 铁离子对 $\text{NO}_2^- \text{--N} / \text{NH}_4^+ \text{--N}$ 的影响

Fig. 4 Effect of ferrous ion on $\text{NO}_2^- \text{--N} / \text{NH}_4^+ \text{--N}$

在厌氧氨氧化反应中,消耗的 $\text{NO}_2^- \text{--N}$ 与 $\text{NH}_4^+ \text{--N}$ 理论计量值之比为 1.32 (Strous *et al.*, 1998). 如图 4 所示,在 R2 反应器中,当 Fe^{2+} 浓度为 0.045 , 0.06 和 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ 时, $\text{NO}_2^- \text{--N} / \text{NH}_4^+ \text{--N}$ 的平均值分别为 1.14 ± 0.23 , 1.02 ± 0.18 和 1.15 ± 0.25 . 单边 t 检验表明, R2 反应器的 $\text{NO}_2^- \text{--N} / \text{NH}_4^+ \text{--N}$ 显著低于 1.32 ($p < 0.05$). 添加 Fe^{2+} 之后,反应消耗的氮氮多于理论计量值; 同样根据单边 t 检验, 对照反应器的 $\text{NO}_2^- \text{--N} / \text{NH}_4^+ \text{--N}$ 之比为 1.15 ± 0.34 亦偏离 1.32. 两个反应器的 $\text{NO}_2^- \text{--N} / \text{NH}_4^+ \text{--N}$ 比值小于理论计量值的原因有待进一步研究.

3.2 铁离子对厌氧氨氧化菌混培物生长的影响

在厌氧氨氧化过程中,亚硝酸被氧化成硝酸,所产生的能量被用于 CO_2 还原,合成细胞物质 (van de Graaf *et al.*, 1997; Strous *et al.*, 2006). 因此,硝酸产生量可以用来表示厌氧氨氧化菌的增长量 (Strous *et al.*, 1998). 图 5 为在 Fe^{2+} 浓度为 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ 的条件下, $\text{NO}_3^- \text{--N}$ 产生量随培养时间的变化情况. 由图 5 可见,随着培养时间的延长, $\text{NO}_3^- \text{--N}$ 产生量逐渐增加, R2 反应器的 $\text{NO}_3^- \text{--N}$ 产生量一直高于对照 (R1) 反应器,为对照的 1.36 倍,两者差异显著 ($p < 0.05$). 此外,运行结束后测定两个反应器中污泥的 VS. R2 反应器 1 g 载体污泥的 VS 为 $(97.02 \pm 31.15) \text{ mg}$. 对照反应器 1 g 载体污泥的 VS 为 $(45.02 \pm 17.14) \text{ mg}$. 可见, Fe^{2+} 能够促进厌氧氨氧化菌混培物的生长.

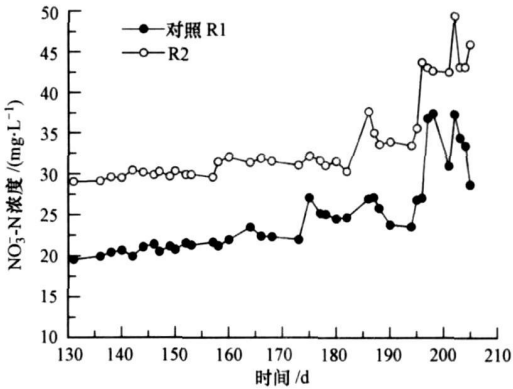


图 5 $\text{NO}_3^- \text{--N}$ 产生量随时间的变化 (铁离子 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$)

Fig. 5 Effect of ferrous ion on $\text{NO}_3^- \text{--N}$ production ($0.075 \text{ mmol L}^{-1}$)

3.3 厌氧氨氧化菌混培物对铁的转化

在添加 $0.075 \text{ mmol L}^{-1} \text{ Fe}^{2+}$ 的条件下 (131~205 d), 考察了 R2 反应器进出水铁离子浓度的变化 (图 6). 由于 Fe^{2+} 容易被氧化成 Fe^{3+} , 因此,以总铁量表征铁离子浓度. 由图 6 可以看出,虽然 R2 反应器出水总铁浓度高于对照,但 R2 反应器对总铁的转化速度大于对照,前者约为后者的 4.5 倍. 这一结果表明,提高铁离子浓度后,厌氧氨氧化菌混培物对总铁的转化速度和转化率均得到提高 (见表 3).

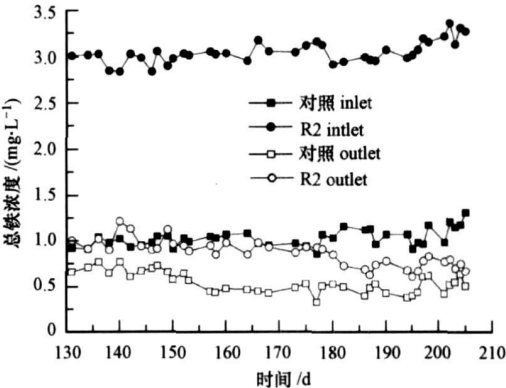


图 6 厌氧氨氧化菌混培物对铁离子的转化 ($0.075 \text{ mmol L}^{-1}$)

Fig. 6 Ferrous ion transformation by anammox bacteria ($0.075 \text{ mmol L}^{-1}$)

表 3 两个反应器中混培物的总铁转化速度和转化率比较 ($0.075 \text{ mmol L}^{-1}$)

反应器	总铁转化速度 / (mg L^{-1}) (以 Fe^{2+} 计)	总铁转化率
R ₁ control	0.49 ± 0.15	$46.53\% \pm 12.45\%$
R ₂ Fe-replete	2.19 ± 0.21	$71.51\% \pm 5.11\%$

3.4 铁离子对厌氧氨氧化菌形态的影响

经过 205d 连续培养, 对照和 R2 反应器中厌氧氨氧化菌混培物的电镜照片如图 7 所示。从图 7 可以看出, 对照反应器中的细菌形态与接种污泥无显著差别, 而 R2 反应器中的细菌形态则与接种污泥有较大差别 (Zhang *et al.*, 2008)。两者之间的主要差别有: ①R2 反应器的细菌细胞表面增厚, 密度变大; ②R2 反应器的细菌细胞内部颜色较浅, 物质密度变低; ③R2 反应器的细菌细胞内部产生灰色区域, 深色区域占整个细胞的比例变小。据文献报道, 厌氧氨氧化菌细胞从里及外可分为 3 个部分: 厌氧氨氧化体 (anammoxosome)、核糖细胞质 (riboplasm) 和外室细胞质 (periplasm) (Lindsay *et al.*, 2001)。在对照反应器的混培物中, 内部深色区域 (D) 占据细胞的大部分空间, 为厌氧氨氧化体 (Schmid *et al.*, 2003)。在 R2 反应器的混培物中, 细胞形态不同于对照反应器, 细胞内部出现灰色区域, 迄今未见相关报道。

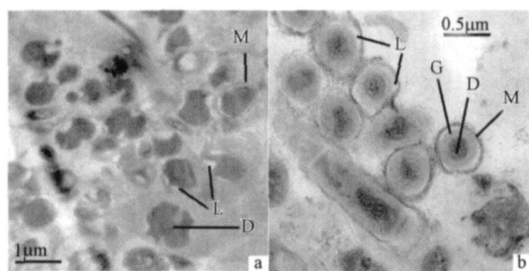


图 7 铁离子对厌氧氨氧化菌细胞结构的影响 (a 对照 R1; b R2 M: 细胞表面; D: 深色区域; G: 灰色区域; L: 浅色区域)

Fig. 7 Effect of ferrous ion on the cellular structure of anammox bacteria (a R1 control; b R2 M: cell surface; D: dark region; G: grey region; L: light region)

4 讨论 (Discussion)

铁的重要功能之一是参与血红素组成。在 “*Bradyrhizobium japonicum*” 中, 亚铁螯合酶催化 Fe^{2+} 与卟啉结合, 并受铁应答调节蛋白 Irr 控制。当环境中铁含量较高时, Irr 蛋白与亚铁螯合酶结合, 促进血红素合成; 而当环境中铁量较低时, Irr 蛋白与亚铁螯合酶解离, 血红素合成停止 (Andrews *et al.*, 2003)。厌氧氨氧化菌富含血红素, 后者是能量代谢和细胞合成中的重要电子载体 (Strous *et al.*, 2006)。若厌氧氨氧化菌中血红素合成的调控机制类似于 *B. japonicum*, 则添加铁可促进血红素合成, 加快电子传递, 刺激细胞生长和代谢。相关

研究报道, $2 \sim 10 \text{ mg L}^{-1}$ 的 Fe^{2+} 对内循环厌氧反应器的颗粒污泥活性有明显促进作用 (卢菊仪等, 2007)。Zhu 等 (2007) 则证明, 铁离子浓度不足时, 光合产氢菌 *Rhodospirillum rubrum* 的活性受到限制, 铁离子浓度为 $3 \sim 2 \text{ mg L}^{-1}$ 时, 其产氢量升至最大值。Wei 等 (2006) 用 Fe^{3+} 充足和缺乏的培养基分别培养氨氧化细菌 *Nitrosomonas europaea*, 结果发现, 在 Fe^{3+} 充足的培养基中细菌量较大, 为 Fe^{3+} 缺乏培养基中细菌量的 1.6 ~ 3.3 倍, 而前者的血红素 c 含量也远远高于后者。

环境中缺铁会诱导细菌产生铁蛋白。培养基铁离子浓度为 $2 \sim 3 \text{ mg L}^{-1}$ 时, 只有不到一半铁 ($1 \sim 15 \text{ mg L}^{-1}$) 被利用 (van Niftrik *et al.*, 2008)。在厌氧氨氧化菌 “*Candidatus Brocadia fulgida*” 和 “*Candidatus Kuenenia stuttgartiensis*” 的厌氧氨氧化体中含有大量含铁颗粒, 通过基因序列的比对分析和颗粒元素分析发现, 这些颗粒就是铁蛋白 (van Niftrik *et al.*, 2008)。在本试验中, 当铁离子浓度为 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ (实测 3.05 mg L^{-1}) 时, 被转化的铁达到 2.19 mg L^{-1} 。因此, 常用的培养基并不能满足厌氧氨氧化菌对铁的需要。

5 结论 (Conclusions)

铁离子能够促进反应器对基质的去除, 最大去除速率随铁离子浓度的升高而增加。当铁离子浓度为 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ 时, 反应器对 NH_4^+-N 和 $NO_2^- -N$ 的最大去除速率分别为对照的 1.8 倍和 1.6 倍。

铁离子能够刺激厌氧氨氧化混培物的生长。以 $NO_3^- -N$ 产生量和两个反应器运行终点时的 VS 表示厌氧氨氧化菌的生物量, 添加的铁离子浓度为 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ 时, R2 反应器的 $NO_3^- -N$ 产生量是对照的 1.36 倍, 而 VS 是对照的 2.16 倍。

提高铁离子浓度, 有助于厌氧氨氧化混培物对铁的转化。铁离子浓度为 $0.075 \text{ mmol L}^{-1}$ 时, 混培物对铁的转化量可达到 2.19 mg L^{-1} 。常用的厌氧氨氧化培养基的铁离子含量相对不足。

添加铁离子可引起厌氧氨氧化菌细胞结构改变, 细胞内产生不明灰色区域, 功能有待进一步研究。

责任作者简介: 郑平 (1962—), 男, 教授, 博导, 浙江大学环境工程系主任, 环境科学研究所所长, 主要从事废物生物处理与资源化以及环境微生物学的教学研究。E-mail: zp@zju.edu.cn Tel: 0571-86971709

参考文献 (References):

- Andrews S C. Iron storage in bacteria [J]. 1998 Advances in Microbial Physiology 40: 281—351
- Andrews S C, Robinson A K, Rodriguez-Quir6nes F. 2003. Bacterial iron homeostasis [J]. FEMS Microbiology Reviews 27 (2-3): 215—237
- Bj6rn M J, Sokol P A, Iglewski B H. 1979. Influence of Iron on yields of extracellular products in *Pseudomonas aeruginosa* cultures [J]. Journal of Bacteriology 138(1): 193—200
- Burgess J E, Quamby J, Stephenson T. 1999. Role of micronutrients in activated sludge-based biotreatment of industrial effluents [J]. Biotechnology Advances 17(1): 49—70
- 国家环境保护总局. 2005 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, 105—370
- China Bureau of Environmental Protection. 2005. Methods for monitor and analysis of water and wastewater (4th ed) [M]. Beijing: China Press of Environmental Science, 105—370 (in Chinese)
- Cipus I E Y, de Been M, Op den Camp H J M, *et al*. 2005. A new soluble 10 kDa monoheme cytochrome *c* 552 from the anammox bacterium *Candidatus "Kuenenia stuttgartiensis"* [J]. FEMS Microbiology Letters 252(2): 273—278
- Gong Z, Yang F, Liu S, *et al*. 2007. Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve single-stage autotrophic nitrogen removal based on Anammox [J]. Chemosphere 69(5): 776—784
- 金仁村, 郑平, 唐崇俭. 2008. 厌氧氨氧化固定床反应器脱氮性能和过程动力学特性 [J]. 化工学报, 59(10): 2518—2525
- Jin R C, Zheng P, Tang C J. 2008. Performance and process kinetics characteristics of ANAMMOX fixed-bed reactor [J]. Journal of Chemical Industry and Engineering (China), 59(10): 2518—2525 (in Chinese)
- Hardie L P, Balkwill D L, Stevens S E. 1983. Effects of Iron starvation of the Ultrastructure of the cyanobacterium *Agmenellum quadruplicatum* [J]. Applied and Environmental Microbiology 45(3): 1007—1017
- Kartal B, van Niftrik L, Slikkers O, *et al*. 2004. Application, eco-physiology and biodiversity of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria [J]. Reviews in Environmental Science & Biotechnology 3(3): 255—264
- Lindsay M R, Webb R J, Strous M, *et al*. 2001. Cell compartmentalisation in planktonic novel types of structural organisation for the bacterial cell [J]. Archives of Microbiology 175(6): 413—429
- 卢菊仪, 高郁, 常滨. 2007. 铁离子对内循环厌氧反应器运行效能的影响 [J]. 黑龙江科技学院学报, 17(2): 123—126
- Lu J Y, Gao Y, Chang P. 2007. Iron effect on efficiency of internal circulation anaerobic reactor [J]. Journal of Heilongjiang Institute of Science & Technology 17(2): 123—126
- Mu6tler A, van de Graaf A A, Robertson L A, *et al*. 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor [J]. FEMS Microbiology Ecology 16(3): 177—184
- Schalk J, de Vries S, Kuenen J G, *et al*. 2000. Involvement of a novel hydroxylamine oxidoreductase in anaerobic ammonium oxidation [J]. Biochemistry 9(18): 5405—5412
- Schmidt M, Walsh K, Webb R, *et al*. 2003. *Candidatus "Scalindua brodae"*, sp. nov., *Candidatus "Scalindua wagneri"*, sp. nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. Systematic and Applied Microbiology 26(4): 529—538
- 沈平, 左剑恶, 杨洋. 2004. 接种不同污泥的厌氧氨氧化反应器的启动与运行 [J]. 中国沼气, 22(3): 3—7
- Sheng P, Zuo J E, Yang Y. 2004. A study on start-up and operation of anaerobic ammonia oxidation reactors inoculated with different seed sludge [J]. China Biogas 22(3): 3—7 (in Chinese)
- Shimamura M, Nishiyama T, Shigetomo H, *et al*. 2007. Isolation of a multiheme protein with features of a hydrazine-oxidizing enzyme from an anaerobic ammonium-oxidizing enrichment culture [J]. Applied and Environmental Microbiology 73(4): 1065—1072
- Slikkers A O, Third K A, Ahmaw, *et al*. 2003. CANON and anammox in a gas-lift reactor [J]. FEMS Microbiological Letters 218(2): 330—344
- Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, *et al*. 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [J]. Applied and Microbiological Biotechnology 50(5): 589—596
- Strous M, Kuenen J G, Jetten M S M. 1999. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation [J]. Applied and Environmental Microbiology 65(7): 3248—3250
- Strous M, Pelletier E, Manganot S, *et al*. 2006. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome [J]. Nature 440(7085): 790—794
- Strous M, van Gerwen E, Zheng P, *et al*. 1997. Ammonium removal from concentrated waste streams with the anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) process in different reactor configurations [J]. Water Research 31(8): 1955—1962
- van de Graaf A A, de Bruijn P, Robertson L A, *et al*. 1996. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor [J]. Microbiology 142(88): 2187—2198
- van de Graaf A A, de Bruijn P, Robertson L A, *et al*. 1997. Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of ¹⁵N studies in a fluidized bed reactor [J]. Microbiology (UK), 143(7): 2415—2421
- van der Star W R L, Ahmaw R, Blommestein D, *et al*. 2007. Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam [J]. Water Research 41(18): 4149—4163
- van Niftrik L A, Geerts W J C, van Donselaar E G, *et al*. 2008. Combined structural and chemical analysis of the anammoxosome: a membrane-bounded intracytoplasmic compartment in anammox bacteria [J]. Journal of Structural Biology 161(3): 401—410
- Wei X, Vajda N, Hauser L, *et al*. 2006. Iron nutrition and physiological responses to iron stress in *Nitrosomonas europaea* [J]. Archives of Microbiology 186(2): 107—118
- 张蕾, 郑平. 2008. 厌氧氨氧化膨胀床反应器的运行性能 [J]. 生物工程学报, 24(7): 1240—1247
- Zhang L, Zheng P. 2008. Performance of ANAMMOX attached microbial film expanded bed reactor [J]. Chinese Journal of Biotechnology 24(7): 1240—1247 (in Chinese)
- Zhang L, Zheng P, Tang C J, *et al*. 2008. Anaerobic ammonium oxidation for treatment of ammonium-rich wastewaters [J]. Journal of Zhejiang University-Science B 9(5): 416—426
- Zhu H, Fang H H P, Zhang T, *et al*. 2007. Effect of ferrous ion on photo heterotrophic hydrogen production by *Rhodobacter rubrum* [J]. International Journal of Hydrogen Energy 32(17): 4112—4118
- 左剑恶, 杨洋, 蒙爱红. 2003. 厌氧氨氧化工艺在 UASB 反应器中的启动运行研究 [J]. 上海环境科学, 22(10): 665—669
- Zuo J E, Yang Y, Meng A H. 2003. Study on start-up of anaerobic ammonia oxidation process in UASB reactor [J]. Shanghai Environmental Science 22(10): 665—669 (in Chinese)