

利用有机废水中硫酸盐厌氧脱除其中氨态氮及相关机理研究

袁林江^{1,2,3}, 赵嘉琪³, 罗大成³, 李鑫曜³, 王 洋³, 严 锋³

(1. 陕西省环境重点实验室, 陕西 西安, 710055; 2. 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 陕西 西安, 710055

3. 西安建筑科技大学 环境与市政工程学院, 陕西 西安, 710055)

摘要: 针对有机废水中硫酸盐及氨态氮的同步脱除现象, 采用了 ASBR 及 UASB 两种试验装置进行机理分析, 并使用分子生物学技术对微生物种群结构进行探究. 结果表明, 从启动 ASBR 反应器历时 100 d 左右、UASB 反应器历时约 80 d 均成功实现了硫酸盐和氨态氮的厌氧同步脱除. 进水 COD 为 2 000 mg/L、氨氮及 SO_4^{2-} -S 浓度分别为 20 mg/L 及 50 mg/L, ASBR 对氨氮及 SO_4^{2-} -S 的去除效率均在 70% 以上; UASB 对两者的去除效率分别达 90% 和 50% 以上; 反应所需最适 pH 为 4.52~5.96. 污泥中的细菌多为硫酸盐还原功能的短杆菌和弧菌, 未发现明确指向的硫酸盐型厌氧氨氧化菌. 通过化学计量分析, 表明去除的部分 SO_4^{2-} 通过异养硫酸盐还原转化为 S^{2-} , 另一部分硫酸盐和氨态氮(SO_4^{2-} -S 与 NH_4^+ -N 之比接近 1:2)通过硫酸盐厌氧氨氧化转化为硫单质和氮气, 单质硫存在于污泥中. 在 ASBR 反应器中硫酸盐型厌氧氨氧化和硫酸盐还原反应对硫酸盐的转化比例约为 0.9:1, 而 UASB 反应器中的比例则约为 1.6:1. 说明反应器中硫酸盐还原反应和硫酸盐型厌氧氨氧化反应之间似乎并不关联. 本研究为实现生活污水直接厌氧氨氧化奠定了基础.

关键词: 生物脱氮; 硫酸盐还原; 硫酸盐型厌氧氨氧化; ASBR; UASB

中图分类号: X703

文献标志码: A

文章编号: 1006-7930(2017)05-0714-08

Study on the removal of ammonia nitrogen with sulfate from organic wastewater by anaerobic fermentation and its mechanism

YUAN Linjiang^{1,2,3}, ZHAO Jiaqi³, LUO Dacheng³, LI Xinyao³, WANG Yang³, YAN Feng³

(1. Key Laboratory of Environmental Engineering of Shaanxi Province, Xi'an 710055, China;

2. Key Laboratory of Northwest Water Resources, Environment and Ecology, Ministry of Education, Xi'an 710055, China;

3. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an Univ of Arch & Tech., Xi'an 710055, China)

Abstract: To explore sulfate and ammonia nitrogen removal phenomenon of synchronization in organic wastewater, an ASBR and a UASB are used in repetitive experiments, and the microbial population structure was investigated by using molecular biology technology. The results show that after 100 days' operation from startup of the ASBR and 80 days' operation from startup of the UASB with high concentration of COD and low pH value, both the ASBR and the UASB successfully accomplished sulfate reducing anaerobic ammonium oxidation. While the concentration of ammonium nitrogen and sulfate of the influent were 20mg/L and 50mg/L, the removal of ammonium nitrogen and sulfate by the ASBR were both 70% and for the UASB, they were 90% and 50%. The optimum pH value was 4.52~5.96. Microorganisms in the sludge were mostly of rod and curved-rod shape. The dominant bacteria were identified as sulfate reducing bacteria in both reactors while no sulfate reducing anaerobic ammonium oxidation bacteria were found. Parts of the removed sulfate were transformed to sulfide. The ratio of the rest part of sulfate and removed ammonia nitrogen was 1:2, and the sulfate removed were transformed to sulfur and found in the sludge. In the ASBR reactor, the ratio of the sulfate removed from sulfate reducing anaerobic ammonium oxidation and sulfate reduction was 0.9:1, while in the UASB reactor the ratio was 1.6:1, which is considered to have no relevance founded between the two reactions. This research has laid foundation for the realization of the direct anaerobic ammonium oxidation of domestic sewage.

Key words: biological nitrogen removal; sulfate reduction; sulfate-reducing anaerobic ammonium oxidation; ASBR; UASB

收稿日期: 2016-04-25

修改稿日期: 2017-08-18

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2009ZX07212-002)

第一作者: 袁林江(1966), 男, 教授, 主要研究方向为城市水污染技术开发与理论, E-mail: yuanlinjiang@xauat.edu.cn

1998年 Kuai^[1]等人首次发现缺氧反应器中亚硝酸氮和氨态氮被去除的全自养的厌氧氨氧化脱氮现象, 厌氧氨氧化 (ANAMMOX) 为生物脱氮开辟了新途径. 在 ANAMMOX 中, 都需要污水中的一半氨态氮先硝化为亚硝酸态氮, 然后与另一半氨态氮反应才能实现脱氮. 因此 ANAMMOX 脱氮仍然不能脱离 (亚) 硝化反应. Fdz Polanco 等^[2-4]在处理甜菜酒糟废水的厌氧流化床中注意到氨态氮和硫酸盐的同时去除, 并提出了硫酸盐型厌氧氨氧化反应; LIU Sitong 等^[5]也在厌氧氨氧化反应器中证实自养同步脱氮除硫现象, 提出厌氧氨氧化与硫酸盐还原具有密切关系. 刘正川等^[6]研究表明亚硝酸盐型厌氧氨氧化菌与硫酸盐型厌氧氨氧化菌不同. 因此, 目前对这两种生化反应之间存在何种关系, 看法并不完全一致.

在有机物存在无氧环境下, 通常亚硝酸盐会首先被异养菌快速还原, 另一方面高浓度有机物通常会抑制厌氧氨氧化菌活性^[7], 所以厌氧氨氧化通常在缺乏有机物下进行. 董凌霄^[8]和赵庆良^[9]分别在 COD 较高的环境中实现了硫氮同步脱除的硫酸盐厌氧氨氧化反应. 祝静^[10]也在 COD900 ~ 2 700 mg/L 及偏酸 (pH 为 4.2 ~ 4.5) 的产氢系统中, 报道了硫酸盐还原为硫离子及硫单质而氨氮则会被氧化为氮气的氮硫的同时脱除, 表明在有机环境下可以发生硫酸盐型厌氧氨氧化. 因此硫酸盐型厌氧氨氧化的发生机理和过程可能与 ANAMMOX 不同.

厌氧环境中硫酸盐还原菌利用有机物将硫酸

盐还原是较为常见且众所熟知的生化反应, 而此过程中与硫酸盐还原厌氧氨氧化、氨态氮的脱除之间有何联系、硫酸盐还原厌氧氨氧化的启动和发生机理、参与的功能性细菌及污泥菌群结构等, 目前都还尚不清楚. 而有机废水中硫酸盐还原厌氧氨氧化的实现, 可以城市污水厌氧直接脱氮开辟新的路线, 因此对于有机废水中硫酸盐还原厌氧氨氧化的启动及活性调控等亟待研究.

连续流反应器 (UASB) 与间歇式反应器 (ASBR) 是目前最常用的厌氧活性污泥污水处理反应器, 考虑到未来的实用化, 因而本研究采用 UASB 与 ASBR, 对含氨含硫酸盐有机废水的厌氧脱氮脱硫进行了研究.

1 材料与方法

1.1 实验装置

采用 ASBR 与 UASB 两套系统 (图 1 及图 2). ASBR 反应器有效容积为 6.42 L, 实际使用体积为 5 L. 反应器外壁用铝箔包裹避光. 每运行周期 6 h, 包括进/出水 10 min、搅拌 290 min、沉淀 60 min. 为了保持反应器内的压力平衡, 采用同时 (下) 进 (上) 出水方式. 每次进/出水 1.5 L, 换水比为 30%. UASB 反应器柱高 90 cm, 直径 16 cm (其中保温层 5 cm, 反应器 6 cm), 有效容积 2.54 L. 反应器外壁同样采用铝箔包裹以阻隔阳光. 每日进水量 19 L, HRT 为 3.4 h. 两反应器温度均控制在 35 ± 1 °C. 两反应器产生的生物气都经出气口排出, 分别采用湿式气体流量计计量体积.

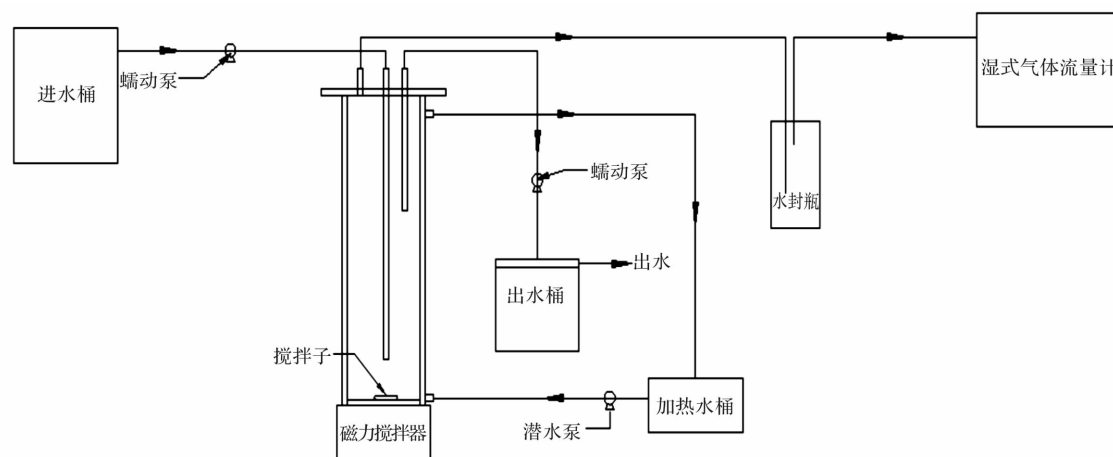


图 1 ASBR 反应系统示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the ASBR reactor

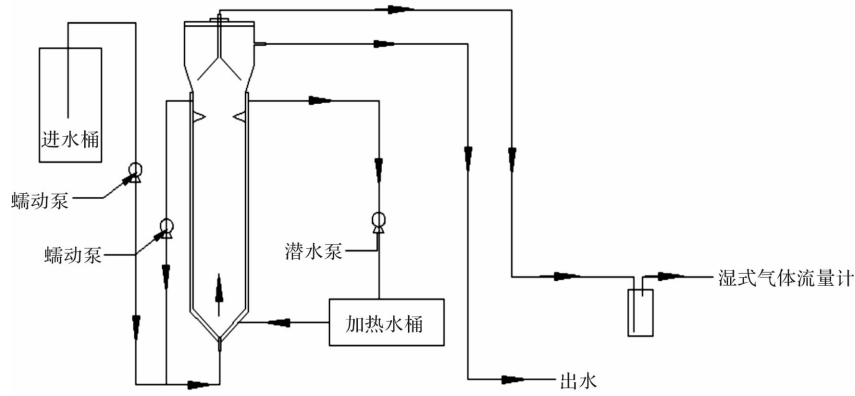


图 2 UASB 反应系统示意图
Fig. 2 Schematic diagram of the UASB reactor

1.2 接种污泥与实验用水

两个反应器内接种污泥取自西安某啤酒厂厌氧甲烷发酵 UASB 中絮状污泥. 接种后两个反应器内污泥浓度均控制在 12 000 mg/L 左右. 实验用水采用人工配水, 以葡萄糖、氯化铵、无水硫酸钠为碳源、氮源和硫源, 其中 COD 2 000 mg/L、 NH_4^+-N 15.7~20 mg/L、 $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$ 20.5~40.5 mg/L. 配水中加入一定量的碳酸氢钠和磷酸二氢钾(根据出水 pH 确定)以便维持反应器内 pH 在 4.5 ± 0.2 . 配制好的原水的 pH 为 7 左右.

1.3 分析方法

1.3.1 常规指标分析

参考《水和废水监测分析方法(第四版)》, 其中, NH_4^+-N : 纳氏试剂光度法; $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$: 铬酸钡光度法; $\text{S}^{2-}-\text{S}$: 对氨基二甲基苯胺光度法;

COD: 重铬酸钾法; TN: 过硫酸钾消解法; pH: 玻璃电极法.

污泥粒径采用激光粒度仪(美国贝克曼 LS230)、硫单质采用 X 射线衍射仪(日本株式会社理学 UltimanIV)、污泥生物相采用扫描电镜(SEM)(日本电子 JSM-6510LV)进行观测.

1.3.2 微生物群落解析

污泥中微生物总 DNA 采用 OMEGA BIO-TEK 的 Soil DNA Kit (50)5625-01 试剂盒提取, PCR 引物及扩增程序如表 1 所示.

DGGE 采用 8% 的电泳凝胶, 其变形梯度为 40%~60%, 60 °C/130 V 预沉 10 min, 然后 80 V 运行 12 h, 完成后进行染色割胶, 再次进行 PCR 及胶回收, 之后将产物进行克隆测序.

表 1 PCR 引物及扩增程序
Tab. 1 Primer and amplification program of PCR

引物		序列	
GC968F		CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGGCA	
		CGGGGGGAACGCGAAGAACCTTAC	
1401R		CGGTGTGTACAAGACCC	
程序	温度/°C	时间	
预变性	95	2min	} 30 个循环
变形	95	30s	
退火	53	30s	
延伸	72	2min	
再延伸	72	10min	

2 结果与讨论

2.1 厌氧硫酸盐还原脱氮系统的启动

进水 COD 浓度 2 000 mg/L, NH_4^+-N 浓度

15.7 mg/L, $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$ 浓度为 20.5 mg/L 左右下启动 ASBR, 反应器对氨态氮和硫酸盐硫的去除都 30% 以下. 在运行至 20 d 左右时, NH_4^+-N 及 $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$ 的去除率达到 30% 和 40% 左右, 出水中

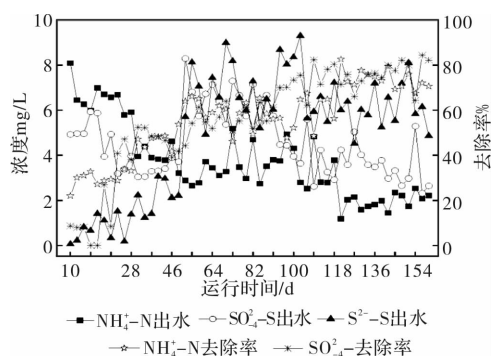


图3 启动过程中ASBR反应器中的氨氮、硫酸盐及硫化物浓度变化情况

Fig. 3 Concentration profiles of ammonium nitrogen, sulfate and sulfide sulfur in the ASBR reactor during its start-up

$\text{S}^{2-}\text{-S}$ 含量开始增加至约 1.5 mg/L, 这证明反应器中开始出现硫酸盐还原反应. 第 50 d 时提高进水的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度至 20 mg/L 左右、 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 浓度至 50 mg/L 左右. 经过 15 d 左右的运行, 氨氮和硫酸盐硫的去除率稳定在 50%~60% 之间. 通过对氮硫去除摩尔比的计算发现, 自反应器运行至第 97 d 起, 以生成的 $\text{S}^{2-}\text{-S}$ 表征通过硫酸盐还原反应去除掉的 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$, 反应器去除掉的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与未经硫酸盐还原反应去除的 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 的摩尔比逐步趋近并稳定在 2~3 之间, 这与 Fdz Polanco^[2-4] 与 Liu Sitong^[5] 等得出的硫酸盐型厌氧氨氧化的氮、硫去除摩尔比为 2 接近, 由此可以推断有部分的 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 与水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的发生了硫酸盐型厌氧氨氧化反应. 100 d 时, ASBR 对氨氮及 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 的去除效率均在 70% 以上.

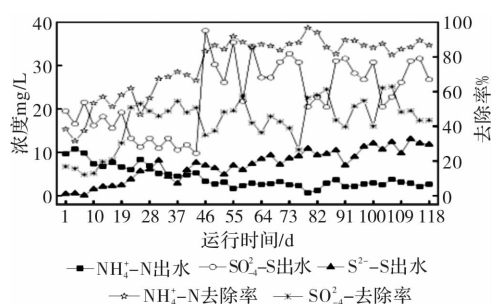


图4 启动过程中UASB反应器中的氨氮、硫酸盐及硫化物浓度变化情况

Fig. 4 Concentration profiles of ammonium nitrogen, sulfate and and sulfide sulfur in the UASB reactor during its start-up

连续流 UASB 反应器启动过程中各物质的变化如图 4 所示. 相比于间歇式 ASBR 反应器, 连续流反应器的效率更高. 在运行至 20 d 时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 去除均趋于稳定, 去除率分别稳定在 60% 和 50% 左右, 继续运行至第 43 d 时, 提高进

水中 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 浓度至约 50 mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度至约 20 mg/L 继续运行, 反应器内的氮硫去除率约为 80% 和 45%, 并逐步提升. 通过物料衡算, 结果发现从第 52 d 开始, 反应器内扣除生成的 $\text{S}^{2-}\text{-S}$ 相当的硫酸盐硫(即通过还原反应减少的硫), 剩余部分的氮硫去除比逐步趋于稳定, 在第 79 d 后稳定在 2 左右, 并且 UASB 对 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效率分别达 90% 和 50% 以上. 与 ASBR 反应器的表现相似, 从反应产物来看, UASB 中硫酸盐还原反应将硫酸盐还原为硫化物, 而硫酸盐厌氧氨氧化反应则是将硫酸盐还原为硫单质, 硫酸盐的转化产物不一致, 因此认为反应器内的硫酸盐去除呈现出两条途径, 即硫酸盐还原途径和硫酸盐型厌氧氨氧化途径.

2.2 厌氧硫酸盐还原脱氮系统启动后的化学计量分析

图 5 所示为 ASBR 反应器的一个典型周期内污染物浓度变化. 由图可见, 刚进水后, 原水中物质就被反应器内存留的水稀释, 随着反应时间延长, 反应器内 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 浓度逐渐降低, $\text{S}^{2-}\text{-S}$ 浓度逐渐增加. 这说明一部分 SO_4^{2-} 应该转化为了 S^{2-} .

对污泥进行 XRD 检测(见图 6). 其中(a)为 ASBR 反应器中污泥 XRD 图, (b)为 UASB 反应器中污泥 XRD 图, 其与硫单质的吸收峰在转角为 22.1、23.2、26.1、27.7 和 36.0 处相符, 表明污泥中有硫单质存在. 已完全混合后的污染物浓度为初始状态进行物料衡算, 其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 由 8.46 mg/L 降低至 2.69 mg/L 共去除 5.77 mg/L, 折合 0.412 mol/L, $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 由 14.88 mg/L 降低至 3.64 mg/L, 共去除 11.24 mg/L, 折合 0.351 mol/L, $\text{S}^{2-}\text{-S}$ 则由 1.32 mg/L 增加至 6.41 mg/L, 多产生 5.09 mg/L, 折合 0.159 mol/L. 对反应器进水和出水中的总硫进行核算与分析结果表明, 出水中的总硫明显低于进水, 而从反应周期中硫酸盐硫($\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$)及硫化物硫($\text{S}^{2-}\text{-S}$)的总量变化上, 可以明显看出其呈现下降趋势, 说明水中的溶解性化合态硫含量降低, 而 S 单质正是难溶于水的物质, 因此认为进出水中溶解性总 S 相差的部分即为所检出的硫单质. 据此再对硫进行衡算, 硫酸盐还原反应仅消耗了 0.159 mol/L 的 S. 反应器中脱除 0.412 mol/L 的氨氮同时要生成 0.192 mol/L 的硫单质, 两者的摩尔比为 2.15, 由此推断反应器

内出现了硫酸盐型的厌氧氨氧化反应,同时也存在硫酸盐还原反应.

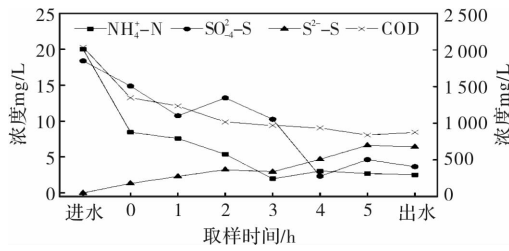
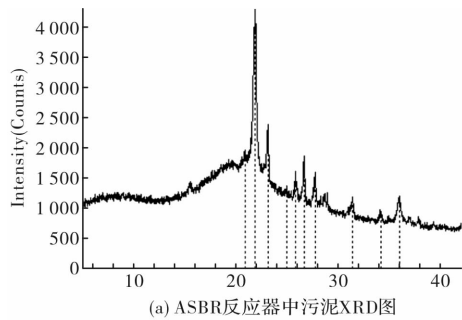
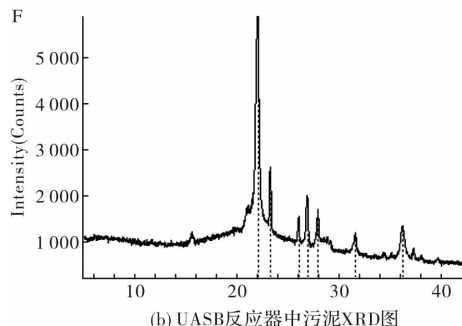


图 5 ASBR 反应器典型周期内氮硫变化情况

Fig. 5 Concentration profiles of ammonium nitrogen and sulfide sulfur in a typical cycle of the ASBR reactor



(a) ASBR反应器中污泥XRD图



(b) UASB反应器中污泥XRD图

图 6 污泥 XRD 图

Fig. 6 XRD atlas of the sludge

UASB 反应器连续 6 h 出水变化情况见图 7, 据此进行化学计量核算. 六个小时中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除量分别为: 1.25、1.25、0.80、0.57、0.85 和 1.11 mol/L; $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 去除量为: 0.70、0.79、0.74、0.43、0.45 和 0.41 mol/L; $\text{S}^{2-}\text{-S}$ 生成量为 0.21、0.21、0.19、0.23、0.20 和 0.14 mol/L. 同样使用 XRD 对污泥进行扫描对比(见图 6b), 发现污泥中含有硫单质存在, 并计算反应器中氨氮去除量与硫单质生成量之间的氮硫去除比分别为 2.51、2.15、1.44、2.88、3.43 和 4.20, 同样与 2 的氮硫摩尔比比较为接近, 表示其也发生了硫酸盐型厌氧氨氧化反应. 即该反应器内也同时出现了硫酸盐还原反应及硫酸盐型厌氧氨氧化反应.

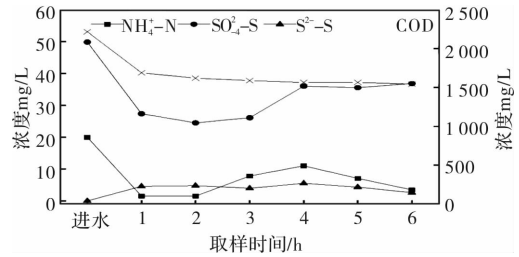


图 7 UASB 反应器连续 6 h 出水变化

Fig. 7 Profiles of water quality of the effluent from the UASB reactor within 6 h

表 2 未投加 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 时反应器的运行效果

Tab. 2 The performances of the reactor without feeding ammonium

污染物	进水	2 h 后出水	5 h 后出水
$\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0	1.045	1.21
$\text{SO}_4^{2-}\text{-S}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	31.88	21.63	23.34
$\text{S}^{2-}\text{-S}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0	10.12	7.93
$\text{COD}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	2 185.92	1 629.44	1 591.92

通过短时间内连续加入未投加 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的进水是反应器内的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 迅速排空, 检测反应器 2 h 及 5 h 时的出水, 结果如表 2 所示. 对进出水的溶解性总硫进行核算, 发现反应过程中的 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 的去除量与 $\text{S}^{2-}\text{-S}$ 的生成量几乎相同, 说明在短时间内停止投加 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 后, 硫酸盐型厌氧氨氧化反应停止, 反应器内的 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 几乎全部通过硫酸盐还原反应去除, 而在恢复投加 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 后, 两反应均恢复正常, 进一步验证了硫酸盐还原反应与硫酸盐型厌氧氨氧化反应同时存在的可能.

2.3 pH 对厌氧硫酸盐还原脱氮系统的影响

有学者提出在 pH 为 5.0~6.0 时硫酸盐还原菌(SRB)可以正常生长^[12], 而且在 pH 降至 2.5~4.5 时, 仍可进行异化硫酸盐还原反应^[13]. 而厌氧反应器中, SRB 会与产甲烷菌在底物利用方面出现竞争.

在厌氧反应器中, 葡萄糖会被发酵为有机酸. 本研究在运行过程中曾尝试在进水中不加碳酸氢钠, 反应器内的 pH 就会下降至 3.6 左右. 随进水向反应器内投加碳酸氢钠, 来控制反应器内的 pH 维持在 4.7 ± 0.2 .

为考察 pH 波动对反应器运行情况的影响, 通过在进水中投加碳酸氢钠及氢氧化钠来改变反应器内的 pH 值, 使其变动范围在 4.52~8.27 之间, 如图 8 所示, 反应器内 pH 由 4.52 逐步升高, 同时出水氨氮含量逐渐降低, 硫化物含量开始增高, 变化较为平缓. 在 pH 为 5.96 时出水氨氮含量到

达最低点, 出水硫化物含量达到最大. 之后随 pH 的继续升高, 出水中氨氮及硫化物含量出现剧烈变化, 出水氨氮含量开始增高、硫化物含量开始降低. 当 pH 到达 7.28 以上时脱氮及除硫反应几乎停止. 该反应器长期在低 pH (4.5 ± 0.2) 环境下运行, 较大的 pH 波动会对反应器运行产生明显的影响. 该系统的最适宜 pH 应在 4.52~5.96 之间.

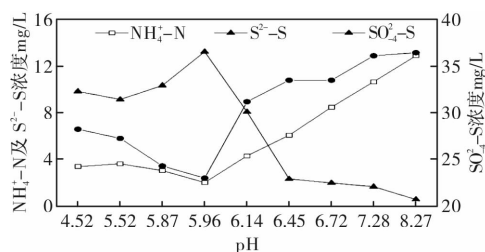


图8 pH对脱硫及脱氮的影响

Fig. 8 Effect of pH value on desulfuration and denitrification

2.4 污泥及微生物的形态与污泥微生物群落结构

采用扫描电镜(SEM)对污泥中形态进行观察, 结果如图9及图10所示. 可见UASB反应器内污泥中的微生物主要为短杆菌、少量为弧菌, 其长度约为2~3 μm; ASBR反应器内污泥中的细菌以短杆菌为主、个别弧菌, 细菌长度2~3 μm. 两反应器中主要为杆菌, 这与刘正川^[6]及蔡靖^[14]等发现的脱氮除硫菌在外形上相似.

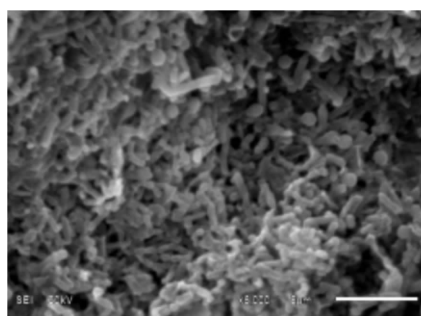


图9 扫描电镜下ASBR反应器中污泥形态

Fig. 9 Sludge morphology of scanning electron microscope in the

采用PCR-DGGE技术分别对ASBR反应器及UASB反应器中的菌群进行解析, 如图11所示, A、B分别为ASBR污泥和UASB污泥.

将测得的16S rDNA序列输入Gene Bank数据库, 进行BLASTN比对, 从比对结果中可以看到: ①ASBR反应器中, band1与已知菌属*Citrobacter*(柠檬酸杆菌属)相似度100%, band2、band4、band6与*Desulfovibrio*(脱硫弧菌属)相似度97%, band3与*Desulfuromonadales*(脱硫单胞菌属)相似度94%, band5与*Delta proteobacteria*

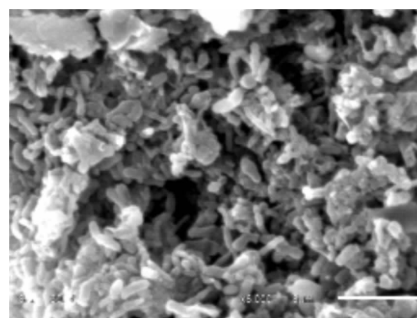


图10 扫描电镜下UASB反应器中污泥形态

Fig. 10 Sludge morphology of scanning electron microscope in the UASBASBR

(δ -变形菌)相似度100%, band7与*Propionibacterium*(丙酸杆菌属)相似度97%; ②UASB反应器中, band1与*Citrobacter*(柠檬酸杆菌属)相似度100%, band2与*Desulfuromonadales*(脱硫单胞菌属)相似度94%, band3与*Nitrospinaceae*(脱硫杆菌属)相似度94%, band4、band6、band8与*Desulfovibrio*(脱硫弧菌属)相似度97%, band5与*Delta proteobacteria* (δ -变形菌)相似度98%, band7与*Anaerolineaceae*(厌氧绳菌科)相似度95%.

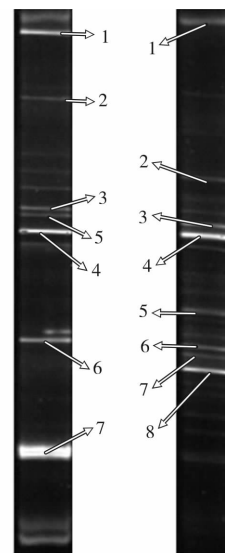


图11 PCR-DGGE图谱

Fig. 11 PCR-DGGE fingerprint

通过对比结果可以看出, 各条条带与已知菌属序列都表现出较高的相似度, 两反应器中均发现了较多的硫酸盐还原菌, 且条带较亮, 说明反应器中确实在进行硫酸盐还原反应. 但两反应器中均未发现明确指向的硫酸盐厌氧氨氧化菌.

目前报道的硫酸盐型厌氧氨氧化菌, 主要是蔡靖发现的ASR^[12]菌株及刘正川发现的Uncultured bacillus sp. clone YLJ-2^[6]菌株. 他们二人在自养及中性偏碱性的环境中培养出的硫酸盐型厌

氧氨氧化菌,本研究是在高 COD 及 pH 在 4.7 左右的酸性环境中驯化出的硫酸盐型厌氧氨氧化反应,反应条件的不同可能导致了反应器内功能菌的不同;而在 PCR-DGGE 中,为了确保目标 DNA 都能被提取并扩增出,本实验参考刘正川^[6]的选择,采用 OMEGA BIO-TEK 的 Soil DNA Kit (50)5625-01 试剂盒提取细菌总 DNA;在引物的选择上,LIU Sitong 等发现的 *Anammoxoglobus sulfate* 菌种^[5]、蔡靖发现的 ASR 菌株^[12]以及刘正川发现的 Uncultured *bacillus* sp. clone YLJ-2 菌种^[6]等硫酸盐型厌氧氨氧化菌,其在扩增过程中均选择使用的是细菌的通用引物,而通用引物是一般和载体多克隆点两旁的序列匹配,或者是与载体里面的一些启动、终止原件匹配,这样不管载体插入什么 DNA 片段,都可以用通用引物扩出来测序。因此本实验所采用的引物可以确保能将硫酸盐还原菌及硫酸盐型厌氧氨氧化菌的 DNA 片段扩增出。

3 讨论

从目前已报到的文献可以看到,一般认为硫酸盐型厌氧氨氧化菌为自养型细菌而硫酸盐还原菌为异养型细菌,那么在高 COD 环境中,硫酸盐还原菌应该更具有生长优势。因此反应器启动初期, COD 及硫酸盐含量充足, pH 较为适宜,硫酸盐还原菌快速增长,在反应器启动初期就出现了硫酸盐还原反应,而通过热力学分析,由硫酸盐型厌氧氨氧化的总反应式($2\text{NH}_4^+ + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{N}_2 + \text{S} + 4\text{H}_2\text{O}$)可计算得出,硫酸盐型厌氧氨氧化反应的吉布斯自由能为 -45.35 kJ/mol ^[15],反应可以进行但相对缓慢,而且硫酸盐型厌氧氨氧化菌增值缓慢,因此在经过两个月以上的培养才能启动成功。

本研究中 COD 主要是被发酵产酸细菌和异养硫酸盐还原菌所利用。按照厌氧发酵通常污泥产率(0.03 kgVSS/kgCOD)估算,全部进水 $2\,000 \text{ mg/L}$ 的 COD 所能同化的最大氨氮量为 7.4 mg/L 左右(污泥 $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ 含氮 12.38% 计),因此反应器中 20 mg/L 的氨氮中至少 60% 以上是被生化反应脱除掉的。

基于菌群结构解析结果来看,由于反应器内控制的较低的 pH,使得大部分细菌难以在反应器内生长,因此所发现的细菌种类较少,反应器内的异养菌以硫酸盐还原菌为主,而从所发生的反应来看,硫酸盐型厌氧氨氧化菌以氨态氮为供氢

体将硫酸盐还原为硫单质,硫酸盐还原菌则是以有机酸及氢为供氢体将硫酸盐还原为硫化物,从基质上来看两者重叠部分只有硫酸盐,那么在硫酸盐充足的情况下,两反应各自独立进行,不存在明显的竞争关系,由此也使得硫酸盐还原菌和硫酸盐型厌氧氨氧化菌可以在该反应器中共同生长。另外,从本研究两个反应器启动过程看,也没有出现报道的 ANAMMOX 功能菌,反应器启动也不是先建立厌氧氨氧化而后转化为硫酸盐型厌氧氨氧化,这说明硫酸盐还原厌氧氨氧化可能是某些硫酸盐还原菌所为。这与现有的对硫酸盐还原厌氧氨氧化做出的微生物学机理和认识有所不同。

如表 3 所示,由数据核算可知,在 ASBR 反应器中硫酸盐型厌氧氨氧化和硫酸盐还原反应对硫酸盐的转化比例约为 $0.9:1$,而 UASB 反应器中的比例则约为 $1.6:1$ 。其中硫酸盐还原部分去除的硫酸盐与反应器生成的硫化物相对应,而硫酸盐型厌氧氨氧化部分去除的硫酸盐则与去除掉的氨氮相对应,按各自途径进行。两反应本身之间并不存在关联,在停止投加氨氮是硫酸盐型厌氧氨氧化反应停止进行时,硫酸盐还原反应仍然正常进行,在恢复投加氨氮后,硫酸盐型厌氧氨氧化反应也随即恢复。

表 3 反应器内硫转化途径及比例

Tab. 3 Proportions of sulfate transformation in the reactor

硫酸盐转化途径	供氢体	硫酸盐转化比例/%	
		UASB	ASBR
硫酸盐还原途径(S^{2-})	有机物	38.5	47.4
硫酸盐型厌氧氨氧化途径(S^0)	氨氮	61.5	52.6

反应器中未发现明确指向的硫酸盐型厌氧氨氧化菌,一方面是由于具有硫酸盐型厌氧氨氧化功能的菌种尚未被分离出,无法通过对比识别;另一方面也可能是硫酸盐型厌氧氨氧化功能存在于以检测出的某种菌属但尚未被认识及研究。蔡靖所发现的硫酸盐型厌氧氨氧化菌的鉴定均是在单菌系统中通过所出现的硫酸盐型厌氧氨氧化现象以及系统中所出现的菌进行对应来确定,因此对于本实验的多反应及多菌种系统,仍需进一步将系统中的微生物进行分离纯化,以确定其功能。

4 结论

(1)ASBR 与 UASB 均可成功实现有机物存在下硫酸盐和氨态氮的同步脱除,其中 ASBR 反应器用时 100 d 左右, UASB 反应器相对较快,用时

80 d 左右;在进水 NH_4^+-N 及 $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$ 浓度分别为 20 mg/L 及 50 mg/L 时,ASBR 反应器可实现去除效率在 70%,而 UASB 反应器的去除效率在 90%和 50%。

(2)反应器内同时出现了硫酸盐还原反应和硫酸盐型厌氧氨氧化反应。去除的 $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$ 一部分转化为 $\text{S}^{2-}-\text{S}$,剩余的 $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$ 与去除掉的 NH_4^+-N 之比接近 1:2,且这部分硫酸盐硫转化为硫单质存在于污泥中。在 ASBR 反应器中硫酸盐型厌氧氨氧化和硫酸盐还原反应对硫酸盐的转化比例约为 0.9:1,而 UASB 反应器中的比例则约为 1.6:1。硫酸盐还原反应和硫酸盐型厌氧氨氧化反应之间不存在关联。

(3)在高 COD、低 pH 的条件下可以共同实现硫酸盐还原反应和硫酸盐型厌氧氨氧化反应,pH 最适范围为 4.52~5.96,超出范围会明显影响反应进行。

(4)两反应器中主要是硫酸盐还原菌,推测由这些硫酸盐还原菌完成了硫酸盐型厌氧氨氧化。这方面还有待今后进一步的深入研究。

参考文献 References

- [1] KUAI L, VERSTRAETE W. Ammonium removal by the oxygen limited autotrophic nitrification denitrification system[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1998, 64(11):4500-4506.
- [2] FDZPOLANCO F, FDZPOLANCO M, FERNANDEZ N, et al. New process for simultaneous removal of nitrogen and sulphur under anaerobic conditions. [J]. *Water Research*, 2001, 35(4):1111-4.
- [3] Fdz-Polanco F, Fdz-Polanco M, Fernandez N, et al. Simultaneous organic nitrogen and sulfate removal in an anaerobic GAC fluidised bed reactor[J]. *Water Science & Technology A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 2001, 44(4):15.
- [4] FDZPOLANCO F, FDZPOLANCO M, FERNÁNDEZ N, et al. Combining the biological nitrogen and sulfur cycles in anaerobic conditions. [J]. *Water Science & Technology A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 2001, 44(8):77.
- [5] LIU S, Y F, G Z. Application of anaerobic ammonium-oxidizing consortium to achieve completely autotrophic ammonium and sulfate removal. [J]. *Biore-source Technology*, 2008, 99(15):6817-6825.
- [6] 刘正川,袁林江,周国标,等.从亚硝酸还原厌氧氨氧化转变为硫酸盐型厌氧氨氧化[J]. *环境科学*, 2015(9):3345-3351.
LIU Z C, YUAN L J, ZHOU G B, et al. Achievement of sulfate reducing anaerobic ammonium oxidation reactor started with nitrate reducing anaerobic ammonium oxidation. [J]. *Huan Jing Ke Xue*, 2015(9):3345-3351.
- [7] 杨洋,左剑恶,沈平,等.温度、pH 值和有机物对厌氧氨氧化污泥活性的影响[J]. *环境科学*, 2006, 27(4):691-695.
YANG Yang, ZUO Jiane, SHEN Ping, et al. The affect of temperature pH and organic on anaerobic ammonia oxidation sludge activity[J]. *Environment Science*, 2006, 27(4):691-695.
- [8] 董凌霄,吕永涛,韩勤有,等.硫酸盐还原对氨氧化的影响及其抑制特性研究[J]. *西安建筑科技大学学报(自然科学版)*, 2006, 38(3):425-428.
DONG Lingxiao, LV Yongtao, WANG Zhiying, et al. Sulfate reducing effect on ammonia oxidation and its suppression characteristics[J]. *J. Xi'an Univ. of Arch. & Tech. (Natural Science Edition)*, 2006, 38(3):425-428.
- [9] 赵庆良,李巍,徐永波,等.厌氧附着生长反应器处理氨氮和硫酸盐废水的研究[J]. *黑龙江大学自然科学学报*, 2007, 24(4):421-426.
ZHAO Q, LI W, XU Y, et al. Treatment of ammonium and sulfate wastewater by using an anaerobic attached-growth bioreactor[J]. *Journal of Natural Science of Heilongjiang University*, 2007, 24(4):421-426.
- [10] 祝静,袁林江,魏勃.厌氧产氢 ASBR 对氮的脱除[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(4):1273-1277.
ZHU Jing, YUAN Linjiang, WEI Bo. Nitrogen removal in an anaerobic sequencing batch reactor with hydrogen producing[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, 8(4):1273-1277.
- [11] KRISHNAKUMAR B, MANILAL V B. Bacterial oxidation of sulphide under denitrifying conditions[J]. *Biotechnology Letters*, 1999, 21(5):437-440.
- [12] LI A Y. Method for sulfide toxicity reduction: US, US4614588[P]. 1986-09-30.
- [13] 任南琪,王爱杰,甄卫东.厌氧处理构筑物中 SRB 的生态学[J]. *哈尔滨建筑大学学报*, 2001, 34(1):39-44.
REN Nanqi, WANG Aijie, ZHEN Weidong, et al. Ecology of SRB in anaerobic biotreatment reactor[J]. *Journal of Harbin University of C. E. & Architecture*, 2001, 34(1):39-44.
- [14] 蔡靖,蒋坚祥,郑平.一株硫酸盐型厌氧氨氧化菌的分离和鉴定[J]. *中国科学:化学*, 2010(4):421-426.
CAI Jing, JIANG Jianxiang, ZHENG Ping. Isolation and identification of bacteria responsible for simultaneous anaerobic ammonium and sulfate removal[J]. *Scientia Sinica (Chemica)*, 2010(4):421-426.
- [15] 张蕾,郑平,何玉辉,等.硫酸盐型厌氧氨氧化性能的研究[J]. *中国科学:2008(12):1113-1119*.
ZHANG Lei, ZHENG Ping, HE Yuhui, et al. Study on sulfatetyped anammox performance [J]. *Science in China, Series B (Chemistry)*, 2008(12):1113-1119.

(编辑 沈波)