

水力停留时间对活性污泥系统的硝化性能及其生物结构的影响

李红岩¹, 张昱¹, 高峰², 余韬¹, 杨敏^{1*}

(1. 中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室, 北京 100085; 2. 中国建筑设计研究院机电院给排水所, 北京 100044)

摘要: 利用微生物呼吸醌指纹谱图结合传统分析方法研究了水力停留时间(HRT 从 30 h 逐步缩短至 5 h)对活性污泥硝化性能及种群结构的影响。结果表明, 对于 NH_4^+-N 浓度为 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的废水, 在 $\text{HRT} \geq 20 \text{ h}$ 时, 氨氮去除率可达 98% 以上。若继续缩短 HRT, 污泥流失严重, 尽管进水 NH_4^+-N 浓度降低, 出水 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 仍明显积累。对微生物呼吸醌谱图的解析表明, 系统中亚硝化细菌是以变形菌纲 β 亚纲微生物为主, 硝酸细菌是以硝化杆菌为主。亚硝化细菌随污泥量的降低而相应减少, 但硝酸细菌数量维持稳定, 保持在 $10^5 \text{ CFU} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水平。

关键词: 水力停留时间; 硝化菌; 硝化; 微生物呼吸醌; 活性污泥法

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)09-1862-04

Effects of Hydraulic Retention Time (HRT) on Nitrification Performance and Microbial Community of Conventional Activated Sludge (CAS)

LI Hong-yan¹, ZHANG Yu¹, GAO Feng², YU Tao¹, YANG Min¹

(1. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. China Architecture Design & Research Group, Mechanical Electrical Plumbing Design & Research Institute Plumbing Design Department, Beijing 100044, China)

Abstract: A conventional activated sludge system was used to treat the ammonium-bearing inorganic wastewater for 260 days under decreased HRTs. When treating $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+-\text{N}$ wastewater, over 98% ammonia removal could be obtained at $\text{HRT} \geq 20 \text{ h}$. Sharp washout of biomass occurred when HRT was further decreased, resulting in the accumulation of ammonium and nitrite. Changes in the community structure were monitored by microbial quinone and conventional analytical methods. Quinone profiles indicated that ammonium-oxidizing bacteria (AOB) in β -Proteobacteria and Nitrobacteria in α -Proteobacteria were the predominant species to oxidize ammonia and nitrite, respectively. The number of AOB decreased with the reduction of biomass in bioreactor, while that of nitrite-oxidizing bacteria (NOB) changed little and fluctuated at $10^5 \text{ CFU} \cdot \text{L}^{-1}$.

Key words: hydraulic retention time (HRT); nitrifiers; nitrification; microbial quinone; conventional activated sludge system

生物硝化-反硝化工艺是废水脱氮处理中应用最多的工艺, 其中硝化是关键性的一步。目前, 传统的活性污泥系统 (conventional activated sludge, CAS) 仍然是国内外最为普遍采用的硝化工艺。尽管微生物是生物处理过程中的主体, 以往的研究大多关注硝化单元的运行性能, 对于硝化过程中操作条件对系统内生物结构的影响涉及不多^[1,2]。其中的一个主要原因是许多环境微生物都不可培养, 依靠培养技术为基础的传统微生物学研究方法(如 MPN 法、平板培养法)不能全面准确地表征生物处理系统中微生物种群的演变动态^[3], 近年来分子生物学技术和现代分析技术的快速发展为研究水处理工艺中的微生物群落结构及其动态变化提供了一个非常有效的手段^[4,5]。

微生物呼吸醌在生物的呼吸作用过程中起着电

子传递作用。每种生物都含有其特定的主导醌种, 复杂种群中的醌成分可作为生物分类的指示^[6]。而且, 作为一种直接的化学分析方法, 相对于传统培养方法(仅有 0.1%~10% 的可培养性)和分子生物学技术(例如 PCR 扩增 16S rRNA 含量等偏差), 醌谱图法具有更高的可重复性、可靠性和分析精度^[7]。

本文研究不同水力停留时间(HRT)条件下 CAS 的硝化性能, 并利用液相色谱-质谱联用(LC-MS)方法分析微生物醌技术来跟踪硝化过程中微生物结构的变化^[8], 为更好地认识运行条件与生物结

收稿日期: 2005-09-24; 修订日期: 2005-11-26

基金项目: 国家自然科学基金国际合作项目(20521140076); 国家杰出青年科学基金项目(50525824)

作者简介: 李红岩(1976~), 女, 博士, 主要研究方向为废水生物脱氮技术, E-mail: sdwhly@yahoo.com.cn

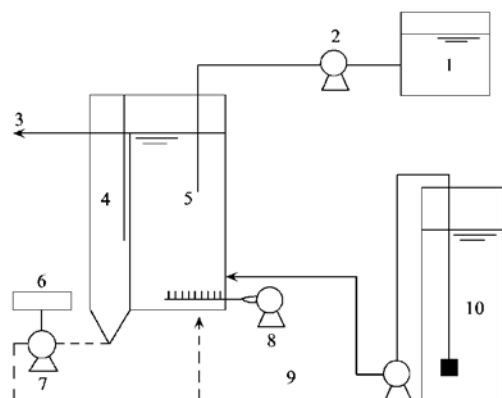
* 通讯联系人, E-mail: yangmin@rcees.ac.cn

构的关系进而建立高效稳定的硝化工艺奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验装置与材料

CAS 由曝气池、二次沉淀池及 pH 调节系统组成。曝气池的有效容积为 13L, 二次沉淀池的有效容积为 6L。曝气池采用微孔曝气, 溶解氧(DO)浓度维持在 4mg/L 左右。废水由计量泵打入曝气池, 混合液从曝气池溢流到二次沉淀池进行固液分离, 沉淀污泥采用间歇工作方式由污泥泵回流到曝气池(见图 1)。



1. 碳酸氢钠溶液池; 2. pH 自动调节泵; 3. 出水;
4. 污泥沉淀池; 5. 曝气池; 6. 时间控制器; 7. 污泥回流泵;
8. 曝气泵; 9. 进水泵; 10. 进水池

图 1 试验装置示意

Fig. 1 Schematic of the experimental setting

试验用水为人工无机配水, 包括 NH_4HCO_3 , NaHCO_3 及其它微量元素。pH 值 7.5~8.0, 系统温度控制在 20℃。实验在 6 个工况(HRT 分别为 30h, 30d; 20h, 90d; 15h, 30d; 10h, 30d; 7h, 40d; 5h, 40d) 下进行。整个实验过程中除污泥抽样检测外无排泥。

1.2 分析方法

NH_4^+-N , NO_x^--N , MLSS 等均按照国标方法进行检测。各个 HRT 下稳定时期采集污泥样品进行生物种群结构分析。微生物醌分析方法: 活性污泥于 7000 r/min 下离心 10min 后按文献[6]方法进行提取。分析采用 LC-MS 技术, 分析条件见文献[8]。标样采用泛醌-6(UQ-6)、UQ-10 及维生素 K1。细菌计数采用最大约计数法(MPN), 分别于各工况稳定时期抽样检测。

2 结果与讨论

2.1 CAS 的运行情况

图 2 反映了不同 HRT 条件下 CAS 的硝化性能, 图 3 反映了不同 HRT 条件下 CAS 的 MLSS 和污泥负荷。在 $\text{HRT} \geq 15\text{ h}$ 的条件下, 反应器采用 500 mg/L 进水 NH_4^+-N 浓度。随着 HRT 的缩短, 反应器内的氨氮容积负荷逐步升高, 如图 2 所示, 从周期 1 的 $0.38\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 上升到周期 3 的 $0.72\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 。在周期 1、2 的实验过程中, 曝气池内的生物量较高(在 $\text{HRT} = 20\text{ h}$ 时约 3.5 g/L), 污泥负荷(sludge loading rate, SLR)稳定在 $0.2\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$ 以下, 整个体系可维持稳定的硝化过程, 氨氮去除率达到 98% 以上。但当 $\text{HRT} = 15\text{ h}$ 时, 污泥负荷超过 $0.3\text{ kg}\cdot(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$, 导致出水 NH_4^+-N ($16.7\text{ mg/L} \pm 6.8\text{ mg/L}$) 和 NO_2^--N ($27.8\text{ mg/L} \pm 1.4\text{ mg/L}$) 的积累。同时, 随着 HRT 的缩短, 反应器内活性污泥也出现流失(如图 3)。因此, 在进一步降低 HRT 时, 也降低了进水 NH_4^+-N 浓度($\text{HRT} = 10\text{ h}$ 时为 185 mg/L; $\text{HRT} = 7\text{ h}$ 时为 140 mg/L, $\text{HRT} = 5\text{ h}$ 时为 90 mg/L)以维持一定的进水负荷 [$0.45\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$]。

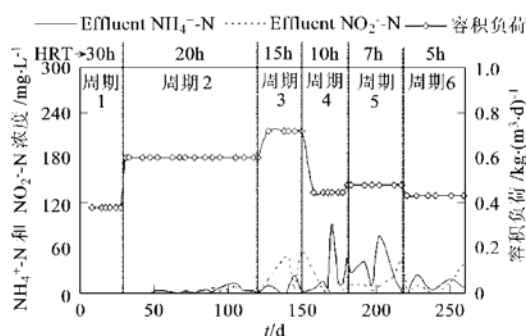


图 2 不同 HRT 时反应器的运行效果以及容积负荷的变化

Fig. 2 Nitrification performance and volume loading rates in CAS at various HRTs

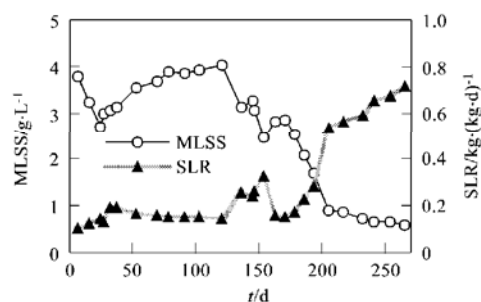


图 3 水同水力停留时间下污泥浓度和污泥负荷随运行时间的变化

Fig. 3 MLSS and sludge loading rate vs time at different HRTs

然而, 进水 NH_4^+-N 浓度的降低并不能改变污

泥在较短 HRT 下随水流的流失,在后 2 个周期反应器内污泥量分别降低至 1.38 g/L 和 0.66 g/L. 污泥的严重流失导致 SLR 的急剧上升,从初期的 $0.1 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 升至第 6 运行周期的 $0.71 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$,所以即使维持反应器中稳定的进水容积负荷,过高的 SLR 仍使反应器出水 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 积累. 然而,即使在 $\text{HRT} = 5 \text{ h}$ 、反应器中 MLSS 仅为 0.66 g/L 而 SLR 达到 $0.71 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 时, CAS 仍然具有 70% 的氨氧化和硝化能力.

2.2 不同工况硝化细菌数的变化

很多文献报道在实际处理工艺中硝化细菌通常只占生物量的 0.2% ~ 2%, 即使在高氨氮废水时也仅占 20% 的总生物量^[13]. 硝化细菌数量的多少直接地影响着反应器的硝化性能以及污泥的活性, 因此调查 CAS 在不同 HRT 条件下亚硝化菌和硝化菌的数量变化是非常重要的. 本文采用最大约计数法 (MPN 法), 结果如图 4 所示. 从图 4 可以看出, 开始时 CAS 反应器中的氨氧化菌与亚硝酸盐氧化菌数量相差近 2 个数量级, 随后两者均呈现了先上升后下降的趋势, 并在最后一个周期 ($\text{HRT} = 5 \text{ h}$) 处于相当水平 (10^5 个/L). 尽管硝酸菌的倍增时间 (约 60 h) 远高于氨氧化细菌的倍增时间 (约 26 h)^[13], 硝酸菌的数量并没有随着污泥流失而与氨氧化菌的差距拉大, 反而自第 3 运行周期 ($\text{HRT} = 15 \text{ h}$) 起就一直维持在 $10^5/\text{L}$ 的水平. 此结果可以解释整个反应体系一直维持较低的出水 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 水平的状况.

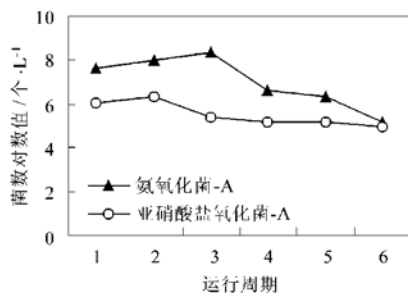


图 4 不同水力停留周期时反应器中的硝化细菌数

Fig. 4 Nitrifiers number in CAS at various HRTs

图 4 还表明反应器中的氨氧化菌 (AOB) 数量从最初的 10^7 上升到 15h HRT 时的最高值 10^8 后, 在 10 h HRT (150 d 以后) 出现大幅度下降, 与此时污泥量变化相符, 所以此时进水氨氮浓度必须大幅度调节, 但是过低的细菌产率仍不能弥补污泥随水流的流失.

2.3 醌谱图分析微生物种群结构

图 5 为 HRT 变化过程中的醌指纹谱图, 由此表明生物群落结构的变化. 由于泛醌 (UQ) 和甲基萘醌 (MK) 分别参与微生物的好氧呼吸和厌氧/缺氧呼吸过程, 通常将二者看作好氧生物和厌氧生物的指示物, 以揭示水处理工艺中溶解氧的真正供应状态^[11]. 从图 5 可以看出, 总醌谱图没有明显变化, 泛醌占主导地位, 说明反应器中主体是好氧生物 (硝化细菌是一类严格好氧微生物), 符合曝气池中高溶解氧 ($\text{DO} = 4 \text{ mg/L}$) 条件. 醌组分中含有少量甲基萘醌 (约占 6% ~ 7%), 表明反应器中存在部分厌氧/缺氧微生物. 这部分生物可能存在于溶解氧较低的污泥絮团内部, 且以硝化细菌代谢过程中分泌物和细菌解体所产生的有机物为碳源进行繁殖. 对整个试验过程中体系内异养细菌的监测发现其数量基本维持在 $10^3 \sim 10^2$ 个/L 的范围内, 且随 HRT 的缩短而略有下降, 氨氧化菌和亚硝酸盐氧化菌以绝对的优势存在于曝气池中. 在周期 6 (5 h HRT) 甲基萘醌含量下降, 仅占总醌的 2%. 分析原因为此阶段污泥量太低, 反应器中 DO 传质阻力降低造成.

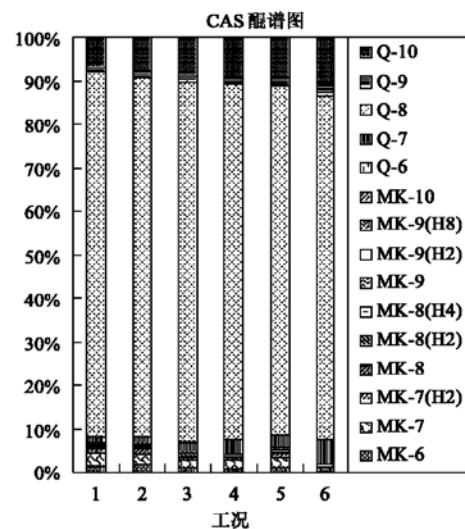


图 5 不同水力停留阶段的醌谱图分析

Fig. 5 Quinone profile at various HRTs

图 3 表明所有工况中 Q-8 均占总醌量的 80% 以上, 含 Q-8 为主要醌种的代表性微生物是变形菌纲 β 亚纲微生物 (β -Proteobacteria). 文献[9]表明已有 16 种自养氨氧化菌被分离出来, 从基因同源性角度分析, 除 2 种氨氧化球菌 (*Nitrosococcus oceans*; *N. halophilus*) 属于变形菌纲 γ 亚纲 (以 Q-9 为主导醌种) 外, 其余均属于变形菌纲 β 亚纲. 因而, 本

系统在完全无机氮配水的条件下硝化细菌为主体可以解释 Q-8 在总醌中占优势的现象. 但对比图 4 中氨氧化细菌数量的减少, 图 5 中 Q-8 含量的相对稳定表明体系中还存在以此类醌为主导醌种的其它生物.

另外的几种泛醌分别是 Q-10(占总量的 7%~10%), Q-7(占总量的 1%~6%), Q-9(占总量的 1%~3%). Q-10 和 Q-9 作为主要醌分别参与变形菌纲 α 亚纲和 γ 亚纲的微生物呼吸过程. 结合本试验的反应体系, 氧化亚硝酸盐的硝化杆菌 (*Nitrobacter*) 属于 α Proteobacteria, 说明硝化杆菌可能是此体系中的主要硝酸菌. 然而醌谱图分析表明各种醌的摩尔分数基本平衡, Q-10(被认为是硝化杆菌指示物)摩尔分数只是略有上升, 并不符合单位容积内硝酸细菌稳定的绝对量这一计数结果. 说明其它种属(同样以这几种醌为主导醌种的微生物)硝酸细菌存在于反应器中, 或者已存在于反应器中的微生物在运行后期表现出了氧化亚硝酸盐的能力, 但此结论还需进一步认证. Q-9 的存在可能表明体系中存在部分的 *Nitrosococcus oceans* 和 *N. halophilus*. 虽然有报道指出部分光作用自养菌主要包含 Q-7^[12], 其存在仍有待于进一步探讨.

文献[10]中 PCR-DGGE 的测序结果表明亚硝化单胞菌 (*Nitrosomonas*) 和硝化螺旋菌 (*Nitrospira*) 存在于反应器内. 从微生物醌谱图分析可以看出, 亚硝化细菌是以变形菌纲 β 亚纲的微生物为主, 如亚硝化螺旋菌 (*Nitrospira*) 和最常见的模式菌属——亚硝化单胞菌 (*Nitrosomonas*); 硝酸细菌以硝化杆菌 (*Nitrobacter*) 为主.

3 结论

(1) HRT 是影响传统活性污泥系统稳定运行的重要参数之一. 处理 500 mg/L 的 NH_4^+-N 配水时, 在 20 h HRT 下此系统获得最佳硝化效果. 若继续缩短水力停留时间, 二沉池的污泥随水流流失严重, SLR 大幅度上升, 导致反应体系的硝化性能恶化;

(2) HRT 的缩短导致氨氧化细菌的大量流失, 但并未对硝酸细菌产生重要影响;

(3) 微生物醌谱图中 Q-8、Q-10、Q-9 和 Q-7 依次为此系统中的主要醌种. 变形菌纲中的 β 亚纲、 α 亚纲、 γ 亚纲及部分光合作用菌分别是这几类醌的代表性菌属; 亚硝化细菌是以变形菌纲 β 亚纲的微生物为主, 如亚硝化螺旋菌 (*Nitrospira*) 和最常见的模式菌属——亚硝化单胞菌 (*Nitrosomonas*); 硝

酸细菌以硝化杆菌 (*Nitrobacter*) 为主.

参考文献:

- [1] Carrera J, Baeza J A, Vicent T, *et al.* Biological nitrogen removal of high strength ammonium industrial wastewater with two sludge system [J]. *Wat. Res.*, 2003, **37**: 4211~4221.
- [2] Campos J L, Garrido-Fernandez J M, Mendez R, *et al.* Nitrification at high ammonia loading rates in an activated sludge unit [J]. *Biores. Tech.*, 1999, **68**: 141~148.
- [3] Hu H Y, Lim B R, Goto N, *et al.* Characterization of microbial community in an activated sludge process treating domestic wastewater using quinone profiles [J]. *Wat. Sci. Tech.*, 2001, **43**(1), 99~106.
- [4] Rittmann B E. The role of molecular methods in evaluating biological treatment processes. [J]. *Water Environ. Res.*, 2002, **74**: 421~427.
- [5] Akira Hiraishi. Isoprenoid quinone as biomarkers of microbial populations in the environment [J]. *J. Biosci. Bioenviron.*, 1999, **88**(5): 449~460.
- [6] Hu H Y, Fujie K, Urano K. Development of a novel solid phase extraction method for the analysis of bacterial quinones in activated sludge with a higher reliability [J]. *J. Biosci. Bioeng.*, 1999, **87**(3): 378~382.
- [7] Che O J, Lee D S, Jong M P. Microbial communities in activated sludge performing enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor [J]. *Wat. Res.*, 2003, **37**: 2195~2205.
- [8] Gao Meng-Chun, Yang Min, Hu Jiar-Ying, *et al.* Identification of ubiquinones and menaquinones in activated sludge by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. *J. Chrom. A*, 2003, **1007**(1-2): 31~37.
- [9] Stefan J, Gabriele T, Markus S, *et al.* Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge: *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations [J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64**(8): 3042~3051.
- [10] Li H Y, Yang M, Zhang Y, *et al.* Comparison of nitrification performance and microbial community between submerged membrane bioreactor and conventional activated sludge system [J]. *Wat. Sci. Tech.*, **51**(6-7), 535~543.
- [11] Hedrick D B, White D C. Microbial respiratory quinones in the environment: a sensitive liquid chromatographic method [J]. *J. Microbiol. Methods*, 1986, **5**: 243~254.
- [12] Takamiya K-I, Nishimura Mitsuo. Nature of photochemical reactions in chromatophores of *Chromatium D III*. Heterogeneity of the photosynthetic units [J]. *Biochi. Biophys. Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1975, **396**(1): 93~103.
- [13] Shilo M, Rimon A. Factors which affect the intensification of fish breeding in Israel. 2. Ammonia transformation in intensive fish ponds [J]. *J. Aquaculture Bamidgah*, 1982, **34**(3): 101~114.