

ABR 处理大豆蛋白废水的效能及微生物群落动态分析

鲍立新¹, 李建政^{1*}, 昌盛¹, 黄晓飞², 任南琪¹

(1. 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 哈尔滨 150090; 2. 哈尔滨师范大学生命与环境工程学院, 哈尔滨 150080)

摘要:为考察厌氧折流板反应器(ABR)处理大豆蛋白生产废水的效能及其运行特征,采用有效容积为 28 L 的四格室 ABR,通过为期 100 d 的运行,研究了基于进水 COD 浓度提高的有机负荷(OLR)改变对其处理效能的影响,并以真细菌的通用引物 SRV3-2P 和 BSF8/20,通过单链构象多态性(SSCP)和 UPGMA 群落聚类分析,对反应器运行过程中微生物菌落结构的动态变化进行了研究.结果表明,以啤酒厂二沉池排放的好氧剩余污泥为种泥,在污泥接种量 MLVSS 为 $18.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、进水 COD 浓度 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、HRT 39.5 h 、 $(35\pm 1)^\circ\text{C}$ 等条件下,可在 31 d 内成功启动 ABR 并达到初步稳定运行,COD 去除率达到 96% 左右;ABR 具有较强的抗 OLR 冲击能力,当 OLR 由 $1.2\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 逐步提高到 $6.0\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 时,ABR 仍能实现安全稳定运行,其 COD 去除率可以稳定在 98% 左右;OLR 的改变,对 ABR 内微生物群落的结构以及不同微生物类群在各格室中的分布具有显著影响,随着 OLR 的逐步提高,ABR 各格室微生物的遗传距离逐渐拉大,特异性随之增加,表现出显著的生物相分离特征.

关键词:大豆蛋白废水;厌氧处理;厌氧折流板反应器(ABR);有机负荷;微生物群落;单链构象多态性(SSCP)

中图分类号:X792 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2008)08-2206-08

Capability and Bacteria Community Analysis of an Anaerobic Baffled Reactor Treating Soybean Wastewater

BAO Li-xin¹, LI Jian-zheng¹, CHANG Sheng¹, HUANG Xiao-fei², REN Nan-qi¹

(1. State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 2. School of Life and Environmental Science, Harbin Normal University, Harbin 150080, China)

Abstract Capability and process characteristic of anaerobic baffled reactor (ABR) treating soybean wastewater were investigated in a 4-compartment ABR with an effective volume of 28 L. During an operation period of 100 days, the organic loading rate (OLR) increased by stages and its influence on the chemical oxygen demand (COD) removal efficiency was researched. The bacteria community structures in anaerobic activated sludge from different stages were also investigated by single-strand conformation polymorphism (SSCP) with the eubacterium universal primers SRV3-2P and BSF8/20, while the microbial genetic distance being analyzed by UPGMA communities clustering method. With an inoculated aerobic activated sludge of $18.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ in terms of mixed liquor volatile suspend solid (MLVSS), the reactor started up at COD concentration of $2\,000\text{ mg/L}$, hydraulic retention time (HRT) of 39.5 h and temperature of $(35\pm 1)^\circ\text{C}$ for 31 d, the ABR achieved a stable state that resulted in 96% COD removal. When OLR increased stage by stage from $1.2\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ to $6.0\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$, the reactor could performed steadily with a COD removal efficiency as high as 98%, and this indicated that compartmentalized ABR held a good performance during shock loadings. It was found that a step change in OLR had a remarkably effect on the structure and distribution of microbial communities in each compartment. With the organic loading rate increase, the genetic distances among the microbial communities in the compartments extended gradually, indicating that the specificity of microbial communities in each compartment was enhanced.

Key words: soybean wastewater; anaerobic digestion; anaerobic baffled reactor (ABR); organic loading rate; microorganism community; single-strand conformation polymorphism (SSCP)

厌氧折流板反应器(anaerobic baffled reactor, ABR)是一种源于分段多相厌氧反应器(staged multi-phase anaerobic reactor, SMPAR)理论的第 3 代新型厌氧反应器^[1],其工作原理是在反应器内设置一系列垂直的折流挡板,使废水在反应器内沿折流板上下折流运动,依次通过每个格室的污泥床直至出口,在此过程中,废水中的有机物与厌氧活性污泥充分接触而逐步得到去除.ABR 的格室串联结构,使具有

不同营养生态位的功能菌群依次分布在反应器各格室中,这种良好的微生物功能分区,即微生物相分离特性^[2],为针对特定废水的反应器设计及反应器的

收稿日期:2007-08-20;修订日期:2007-11-07

基金项目:国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA05Z109);国家自然科学基金项目(50378025)

作者简介:鲍立新(1960~),男,博士研究生,高级工程师,主要研究方向为有机废水处理与资源化技术, E-mail: jack0688@sina.com

* 通讯联系人, E-mail: ljz6677@163.com

高效运行提供了指导. ABR 具有工艺简单、建设投资费用低、固液分离效果好、运行管理方便、对有毒物质适应性强等优点^[2,3], 对酿酒、造纸、化工、淀粉、焦化、抗生素、垃圾渗滤液、有机农药、豆制品废水^[4~14], 乃至城市污水^[15] 的处理研究与应用, 其优越性已得到了广泛认同, 展现出越来越广泛的应用前景.

受市场需求的推动, 我国大豆分离蛋白生产企业发展迅速^[16,17], 生产企业所排放的高浓度大豆蛋白废水量也在迅速增加. 大豆蛋白生产废水具有排放量大、易酸败、有机物浓度高、氮磷含量高等特点^[18], 常规处理工艺很难使其达标排放, 寻求其经济高效的治理方法成为近年来的研究热点^[19]. 本研究采用一个具有 4 格室结构的 ABR, 进行了大豆蛋白废水处理试验, 考察了基于进水 COD 浓度提高的有机负荷改变对其处理效能的影响, 并借助于真细菌的单链构象多态性 (single-strand conformation polymorphism, SSCP) 分析, 对反应器运行过程中的微生物菌落结构的动态变化进行了研究, 以期为其工程应用提供理论指导和技术参考.

1 材料与方法

1.1 ABR 及其控制运行

用于废水处理的 ABR 由有机玻璃制成, 长 62 cm, 高 56 cm, 宽 10 cm, 有效容积为 28 L. 反应器由 4 个格室构成, 每个格室有 1 个下向流室和 1 个上向流室, 下向流室宽度为 2 cm, 上向流室宽度为 8 cm. 在每个格室的上向流室的不同高度, 设有等间距的 4 个取样口, 顶部设有集气管与水封相连, 发酵气产量采用湿式气体流量计计量. ABR 外表面缠有电热丝, 通过温控装置将反应器内部温度控制在 $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$. ABR 实验装置及流程如图 1 所示.

试验用废水是取自当地某大豆分离蛋白生产企

业所排放的废水, 其 COD 浓度平均在 $8\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右, 可生化系数(COD/BOD, 简写为 C/B)约为 0.6, 富含氮、磷, 比较适合采用生物法进行处理. 反应器的接种污泥, 取自当地某啤酒厂废水处理站, 为好氧处理工艺段的二沉池脱水污泥; 新鲜的脱水污泥加水淘洗后进行接种, 每个格室的接种量 MLVSS 为 $18.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. ABR 在水力停留时间(HRT)为 39.5 h、温度 $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、进水 COD 浓度约为 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 等条件下启动运行; 达到运行稳定后, 保持 HRT、温度不变, 通过分阶段提高进水 COD 浓度的方式, 逐步提高反应器的有机负荷(OLR), 以考察反应器对大豆蛋白废水的处理效能和负荷承载能力. 反应器的运行控制, 按照进水 COD 浓度的不同划分为 4 个阶段. 第 1 阶段(前 31 d), 即反应器的启动与污泥驯化期, 进水 COD 浓度为 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, OLR 为 $1.2\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$; 第 2 阶段(32 ~ 64 d), 进水 COD 浓度设定为 $5\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, OLR 为 $3.0\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$; 第 3 阶段(65 ~ 82 d), 进水 COD 浓度设定为 $8\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, OLR 为 $4.8\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$; 第 4 阶段(83 ~ 100 d), 进水 COD 浓度提高至 $10\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, OLR 为 $6.0\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$. 每个阶段的运行, 均达到稳定状态并维持一段时间后方进入下一运行阶段. 所谓稳定状态, 即在相应控制条件下, ABR 各格室的 pH、碱度(ALK)、产气量及成份组成、COD 的浓度及去除率、液相末端发酵产物及其组成等均达到相对稳定. 在整个运行过程中, 未对进水 pH 进行调节, 其值在 4.1 ~ 5.0 之间波动.

1.2 分析项目与方法

COD、pH 以及生物量 MLVSS 的测定, 采用国际标准方法^[20], 其中 ALK 以 CaCO_3 计; 发酵气采用湿式气体流量计计量, 包括乙醇和挥发酸(VFAs)在内的液相发酵产物的分析采用 SP-6890 型气相色谱仪(山东鲁南瑞虹化工仪器有限公司), 氢火焰离子检测器.

1.3 微生物群落的 SSCP 分析

在 ABR 运行各阶段的稳定期, 从各格室采集污泥样品. 采用细菌基因组小量 DNA 提取试剂盒(上海华舜生物工程有限公司), 按产品说明书提取基因组 DNA. PCR(polymerase chain reaction)扩增使用的引物为 SRV3-2P (5'-TTACCGCGGCTGCTGGCA-3') 和 BSF8/20 (5'-AGAGTT TGATCCTGGCTCAG-3')^[21~23], 由 Invitrogen(上海)合成并标记. PCR 扩增采用宝生物工程(大连)有限公司的 PCR 扩增试剂盒, 在 9700 型 PCR 仪(PE 公司)上进行^[24~26]; 凝胶电泳采用

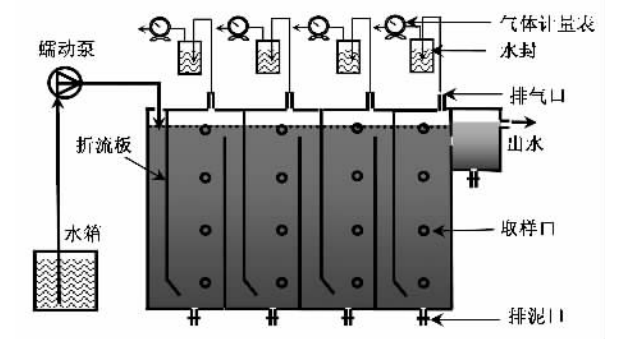


图 1 ABR 反应器结构示意图

Fig.1 Schematic diagram of the anaerobic baffled reactor(ABR)

Power Pac 1000 型电泳仪 (Bio-Rad, CA, USA), 按 Bassam 等^[27] 的方法进行银染; 获得的 SSCP 图谱采用 UMAX Powerlook1000 (TX, USA) 扫描, 以凝胶定量分析软件 Gel-Pro (Media Cybernetics, MD, USA) 分析部分条带的含量, 并以 UPGMA 聚类分析方法比较不同群落图谱的相似性^[28].

2 结果与分析

2.1 ABR 的运行

图 2 反映的是以 COD、产气量和 pH 为特征, 为期 100 d 的 ABR 整体运行情况. 其 4 个运行阶段稳定期的主要运行参数见表 1. ABR 在 OLR 为 1.2

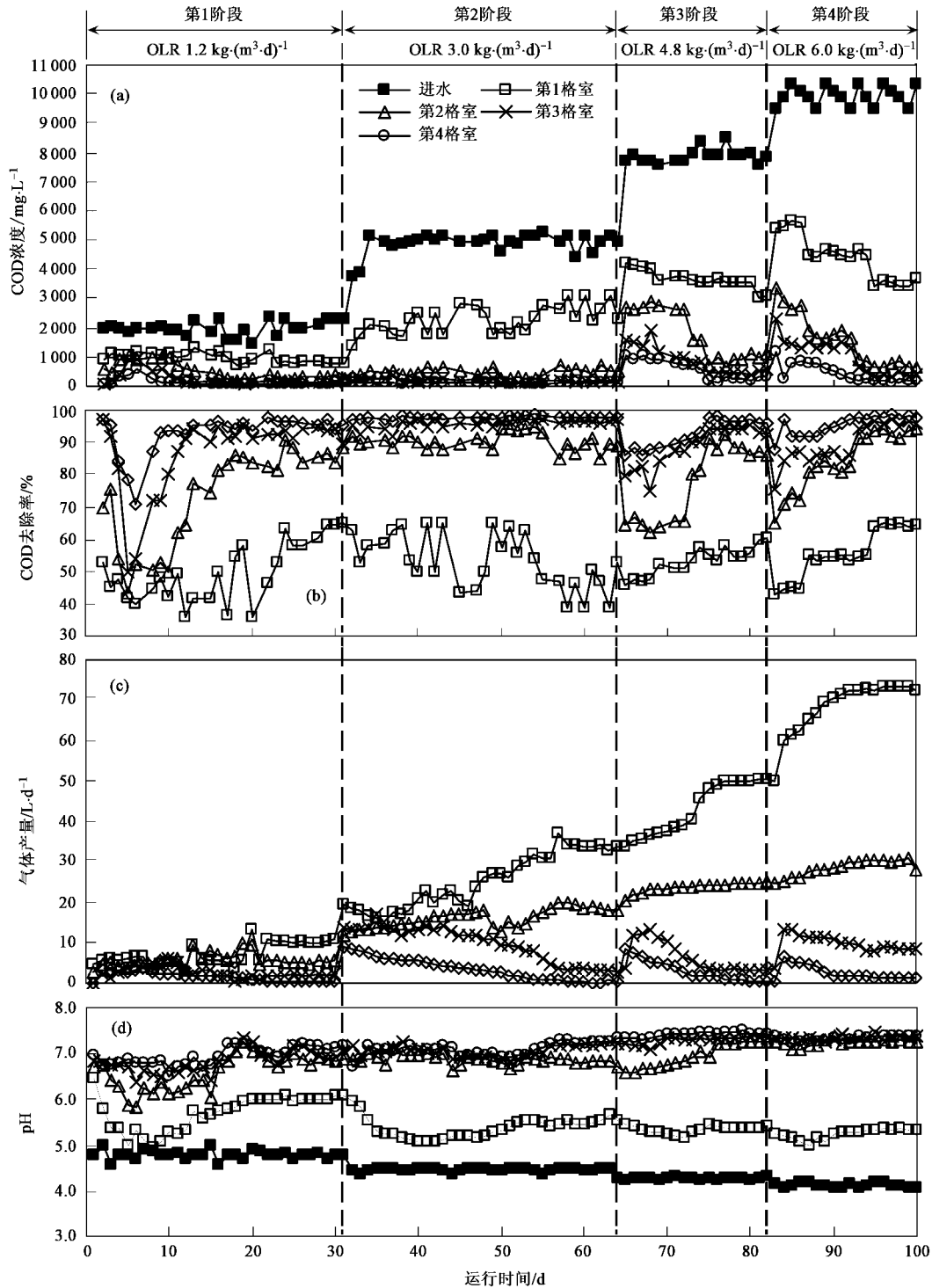


图 2 ABR 运行过程中 COD 浓度、COD 去除率、产气量及 pH 变化情况
Fig.2 COD concentration, COD removal rate, biogas yield and pH of the ABR system during its operation

$\text{kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 的第 1 运行阶段[图 2(a)],接种的好氧污泥在启动初期仍然保持了较高活性,因此各格室对 COD 的去除率[图 2(b)]较高,在进水 COD 浓度保持为 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右时,其出水(第 4 格室)COD 浓度在第 2 d 只有 $61\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, COD 去除率高达 97%. ABR 在密闭运行条件下,反应系统迅速从有氧状态向厌氧状态转变,使接种污泥的活性受到显著影响, COD 去除率迅速降低,第 6 d 出水 COD 浓度升高到了 $572\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, COD 去除率随之下降为 71%. 随着运行的延续,活性污泥的生物活性开始回升, ABR 对 COD 的去除率逐步提高,并在运行到 23 d 时, ABR 第 1 次达到了运行的稳定状态.在 23~31 d

的稳定运行期(表 1), ABR 各格室的出水 COD 浓度平均分别为 820 、 293 、 151 、 $87\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, COD 累计去除率分别达到 61%、86%、93%、96%,出水 pH 分别维持在 6.0、6.8、7.0、7.1,产气量分别保持在 10.4 、 5.4 、 2.1 、 $0.5\text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$,出水中的 VFAs(包括乙醇)分别为 567 、 452 、 180 和 $106\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右.各格室的污泥生物量 MLVSS 较接种时的 $18.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 也有所增加,分别为 20.5 、 22.8 、 22.9 、 $19.8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. ABR 各格室的出水 COD 浓度、VFAs 和产气量的依次递减,以及 COD 累计去除率和 pH 的依次递增,说明反应器各格室微生物群落之间,已初步建立起对有机物降解和转化的营养生态位承继关系.

表 1 ABR 在 4 个不同运行稳定期的主要参数

Table 1 Influent COD, COD removal, biogas yield, pH, VFAs and biomass in each compartment of the ABR system during its operation hours								
运行阶段	格室 序号	稳定期 /d	出水 COD / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	COD 去除 率/%	产气量 / $\text{L}\cdot\text{d}^{-1}$	pH	VFAs / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	生物量 MLVSS / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
第 1 阶段(1~31 d) OLR $1.2\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$	1	23~31	820 ± 15	61 ± 4.38	10.4 ± 0.26	6.0 ± 0.05	567 ± 61	20.5
	2	23~31	293 ± 49	86 ± 2.91	5.4 ± 0.22	6.8 ± 0.08	452 ± 47	22.8
	3	23~31	151 ± 40	93 ± 1.75	2.1 ± 0.03	7.0 ± 0.14	180 ± 38	22.9
	4	23~31	87 ± 22	96 ± 0.84	0.5 ± 0.03	7.1 ± 0.09	106 ± 28	19.8
第 2 阶段(32~64 d) OLR $3.0\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$	1	58~64	$2\,698\pm 405$	45 ± 5.92	33.8 ± 0.48	5.5 ± 0.06	$1\,417\pm 155$	27.1
	2	58~64	559 ± 105	88 ± 2.15	18.9 ± 0.73	6.8 ± 0.05	930 ± 82	25.3
	3	57~64	180 ± 21	96 ± 0.36	3.4 ± 0.38	7.2 ± 0.02	204 ± 33	25.2
	4	54~64	116 ± 21	97 ± 0.44	0.7 ± 0.31	7.2 ± 0.06	109 ± 24	20.6
第 3 阶段(65~82 d) OLR $4.8\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$	1	77~82	$3\,390\pm 246$	57 ± 2.57	50.2 ± 0.08	5.4 ± 0.01	$2\,040\pm 148$	29.5
	2	76~82	947 ± 153	88 ± 2.14	21.0 ± 0.33	7.2 ± 0.02	$1\,277\pm 63$	26.6
	3	75~82	479 ± 63	94 ± 0.87	3.5 ± 0.08	7.3 ± 0.03	206 ± 34	27.9
	4	75~82	259 ± 65	97 ± 0.83	1.0 ± 0.12	7.4 ± 0.03	108 ± 28	22.8
第 4 阶段(83~100 d) OLR $6.0\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$	1	95~100	$3\,525\pm 116$	64 ± 0.61	72.9 ± 0.44	5.3 ± 0.01	$2\,550\pm 98$	33.6
	2	94~100	727 ± 126	93 ± 1.28	30.1 ± 0.86	7.2 ± 0.03	$1\,484\pm 67$	30.6
	3	94~100	408 ± 99	96 ± 0.97	8.6 ± 0.28	7.3 ± 0.06	192 ± 16	32.0
	4	92~100	224 ± 53	98 ± 0.55	1.6 ± 0.26	7.3 ± 0.02	99 ± 19	23.8

第 33 d 开始, ABR 进入 OLR 为 $3.0\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 的第 2 运行阶段.当进水 COD 浓度从 $2\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提高到 $5\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后,各格室的出水 COD 浓度、COD 去除率、产气量以及出水 pH 都首先经历了一个波动过程,之后逐渐趋于稳定,整个系统在第 58 d 达到第 2 次稳定运行状态(图 2).综合 COD 去除率、产气量、pH 以及 VFAs 分析,各格室达到第 2 次稳定运行状态的时间存在显著差异(表 1).其中第 4 格室在 54 d 最先达到稳定状态,在 54~64 d 的稳定运行期,其出水 COD 浓度、COD 去除率、产气量、出水 pH 和 VFAs 分别维持在 $116\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、97%、 $0.7\text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$ 、7.2 和 $109\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右.随后,第 3、第 2 和第 1 格室也先后在第 57、58、58 d 达到了稳定运行状态.第 3 格室在 57~64 d 的稳定运

行期,其出水 COD 浓度、COD 去除率、产气量、出水 pH 和 VFAs 分别维持在 $180\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、96%、 $3.4\text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$ 、7.2 和 $204\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右;第 2 格室在 58~64 d 的稳定运行期,其出水 COD 浓度、COD 去除率、产气量、出水 pH 和 VFAs 分别维持在 $559\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、88%、 $18.9\text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$ 、6.8 和 $930\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右;第 1 格室在 58~64 d 的稳定运行期,其出水 COD 浓度、COD 去除率、产气量、出水 pH 和 VFAs 分别维持在 $2\,698\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、45%、 $33.8\text{ L}\cdot\text{d}^{-1}$ 、5.5 和 $1\,417\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右. ABR 在 OLR 为 $3.0\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 条件下达到稳定运行状态后,各格室的生物量又有明显增长,第 1~4 格室分别为 27.1、25.3、25.2、 $20.6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

第 65 d 开始, ABR 进入 OLR 为 $4.8\text{ kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 的第 3 运行阶段(图 2),进水 COD 浓度从第 2 阶段的

5 000 mg•L⁻¹ 提高到 8 000 mg•L⁻¹ 左右, 与第 2 阶段的运行特征相似, ABR 在新的负荷条件下, 各格室从后端到前段依次达到稳定运行状态, 第 3 和第 4 格室几乎同时于第 75 d 率先达到运行的稳定状态, 第 2 格室随之在第 76 d 达到稳定, 而第 1 格室的稳定状态于第 77 d 最后出现. 各格室的稳定运行期持续到第 82 d, 在此期间, ABR 最终的(即第 4 格室)出水 COD 浓度、COD 去除率、pH 分别为保持在 259 mg•L⁻¹、97%、7.4 左右, 各格室的产气量和生物量也都有不同程度的增长(表 1).

ABR 的运行从第 83 d 进入 OLR 为 6.0 kg•(m³•d)⁻¹ 的第 4 阶段(图 2). 由于进水 COD 浓度提高造成的负荷冲击, ABR 各格室的各项参数再次出现波动, 但很快在 12 d(第 95 d)后达到了整体运行稳定. 在这一变化过程中, 第 4 格室于运行的第 92 d 首先达到稳定的运行状态, 第 2 和第 3 格室于第 94 d 达到稳定, 第 1 格室的稳定状态出现于第 95 d, 这也是 ABR 整体达到最终稳定运行状态的时间. 此时, ABR 进水 COD 浓度平均为 9 941 mg•L⁻¹, 第 1~4 格室的出水 COD 浓度分别为 3 525、727、408、224 mg•L⁻¹, COD 累计去除率分别为 64%、93%、96%、98%, 出水 pH 分别为 5.3、7.2、7.3、7.3, 产气量分别为 72.9、30.1、8.6、1.6 L•d⁻¹, 生物量分别为 33.6、30.6、32.0、23.8 g•L⁻¹.

2.2 微生物群落的 SSCP 分析

在 ABR 运行的各阶段的稳定期, 从各格室采集污泥样品, 采用真细菌通用引物进行了微生物群落

的 SSCP 分析. 因为当某一种群的基因组 DNA 在群落总 DNA 中的含量少于 1.5% 时, SSCP 将无法检测到该种群的存在^[29], 因此 SSCP 图谱所反映的是各格室优势细菌类群的总体状况.

图 3(a) 是反应器运行到 28 d 时的污泥样品的 SSCP 图谱. 从中可以看到, 第 1 格室中 SSCP 条带明显多于后 3 个格室, 而第 2、第 3 和第 4 格室中 SSCP 条带比较相似, 说明第 1 格室中微生物群落结构比后 3 个格室中微生物群落结构复杂, 而后续 3 个格室的微生物群落结构比较相似. 分析认为, 在 ABR 的第 1 运行阶段(1~31 d), 进水 COD 浓度仅为 2 000 mg•L⁻¹, 相对于反应器内的生物量而言, 营养物质含量较少, 在流经第 1 格室时就被其中的微生物大量降解和转化, 稳定期(23~31 d)出水 COD 浓度降为 820 mg•L⁻¹, COD 去除率达到 61%. 进入后续各格室时的废水, 其中所含有有机物主要是第 1 格室微生物菌群的代谢产物和较难转化的物质, 营养物质的不足和种类的贫乏, 成为后续各格室多种微生物生长的限制性因素, 因而表现出第 1 格室中的微生物类群比较丰富, 而后 3 个格室中微生物数量较少甚至低于检测范围的现象. UPGMA 群落聚类分析表明[图 4(a)], 第 1 格室中微生物群落和后 3 个格室中微生物群落之间的遗传距离相差很大, 而后 3 个格室的微生物群落之间的遗传距离比较相近, 说明 ABR 后 3 格室的微生物种类比较接近, 不具备明显的生物相分离特征.

ABR 运行到第 58 d 后, 在 OLR 为 3 kg•(m³•d)⁻¹ 的

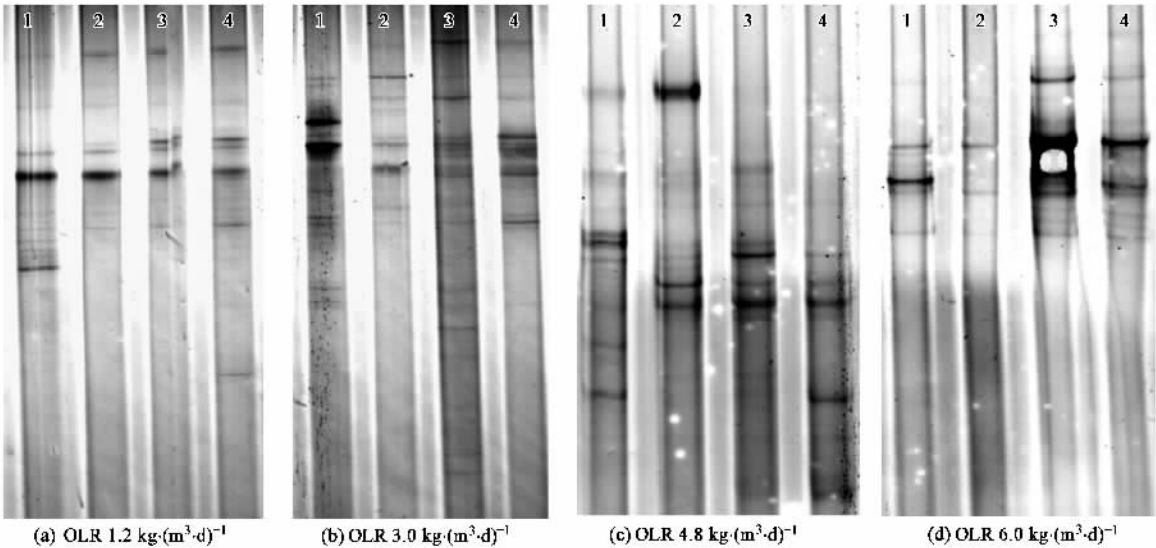


图 3 ABR 4 个运行阶段稳定期的污泥 SSCP 图谱(图中数字表示 ABR 的格室序号)

Fig.3 Single-strand conformation polymorphism (SSCP) of anaerobic activated sludge from the ABR during the four steady-states

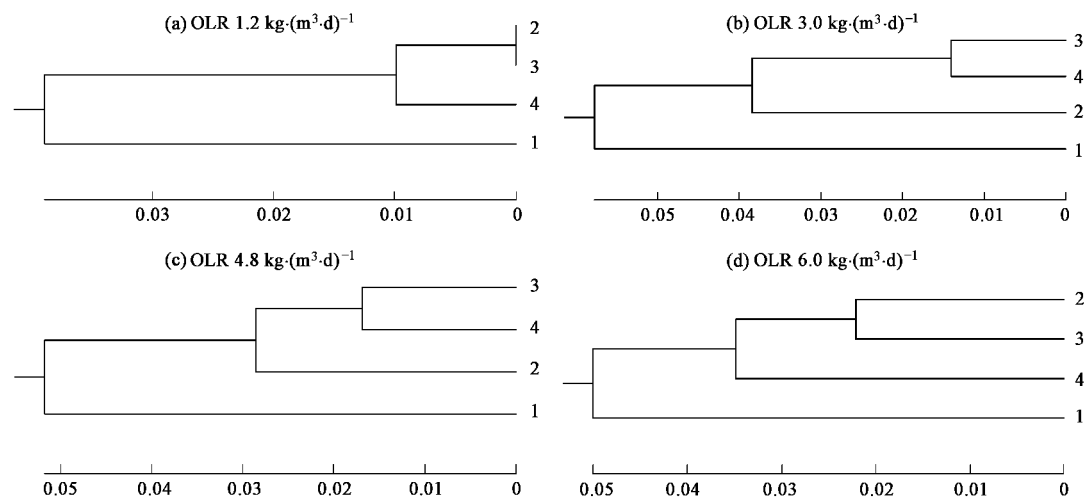


图 4 ABR 4 个运行阶段稳定期的污泥 SSCP 条带聚类分析(图中数字表示 ABR 的格室序号)
Fig.4 SSCP clustering analysis of anaerobic activated sludge from the ABR during the four steady-states

条件下重新达到稳定状态.图 3(b)是反应器运行到 60 d 时的污泥样品的 SSCP 图谱,从中可以看到,各格室中 SSCP 条带数量均比第 1 阶段[图 3(a)]有明显增加,尤其是第 2、第 3 格室的增加最为明显,群落结构趋于复杂.分析认为,进水 COD 浓度由 2 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提高到 5 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后,尽管第 1 格室对 COD 的去除率达到 45%,但废水中仍有较多的残留有机物,使后续格室中的优势菌群获得了较多的营养底物,增殖显著(表 1).UPGMA 群落聚类分析结果[图 4(b)]表明,与第 1 阶段的稳定运行期相比,第 2 格室中微生物群落与第 1 格室中微生物群落之间的遗传距离在减小,与后 2 个格室中微生物群落之间的遗传距离在增加,而第 3、第 4 格室中微生物群落之间的遗传距离比较相近,两者之间的生物相分离不够显著.

对各格室的污泥样品(第 79 d)的 SSCP 分析结果表明[图 3(c)],ABR 在第 3 运行阶段[OLR 4.8 $\text{kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$]达到稳定以后(58~64 d),各格室优势微生物类群的 SSCP 条带得到了进一步加强,并表现出显著差异.UPGMA 群落聚类分析[图 4(c)]表明,第 2 格室和第 3 格室的微生物遗传距离虽然较第 2 运行阶段有所拉大,但仍比较接近,说明存在继续分化的潜力,预示 ABR 具有承载更高有机负荷的能力.

在 OLR 由 4.8 $\text{kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 提高到 6.0 $\text{kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 之后(第 4 运行阶段),ABR 在运行 12 d 以后再一次达到了稳定运行状态(95~100 d).图 3(d)是反应器运行到 97 d 时的污泥样品的 SSCP 图

谱,可以看到各格室污泥样品的 SSCP 条带数量较前 3 个运行阶段的[图 3(a)~3(c)]明显减少,而各格室的微生物遗传距离进一步增大[图 4(d)],证明各格室的微生物在反应器经过长期运行后得到了充分驯化,表现出高度的特异性,生物相分离特征显著.

3 讨论

在为期 100 d 的运行中,通过提高进水 COD 浓度的方法,先后将 ABR 的 OLR 由 1.2 $\text{kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$ 逐级提高到 3.0、4.8 和 6.0 $\text{kg}\cdot(\text{m}^3\cdot\text{d})^{-1}$.每一次有机负荷的提高,均给 ABR 各格室造成了不同程度的冲击,使得各项特征参数出现波动性变化,之后又在新的 OLR 条件下达到新的运行稳定状态.

ABR 在每一次 OLR 提高后,总是第 4 格室最先达到稳定,然后第 3、第 2 和第 1 格室依次达到稳定(表 1).后端格室总是先于前端格室达到稳定的原因是,ABR 经过第 1 阶段的运行,各格室已经形成相对稳定的内环境,并建立起与之相适应的微生物群落,由它们构成的生态系统,同任何平衡生态系统一样,具有自平衡特征,对环境因子改变造成的冲击具有一定的调节和适应能力.在提高了的 OLR 以及由此引起的 pH 等环境因子的改变和持续作用下,迫使业已建立的微生物群落结构发生改变,即出现群落演替.如果 OLR 保持恒定,微生物群落将在一定时期内通过与内环境的协同进化,达到新的平衡状态,这时 ABR 的运行状态也即达到稳定,具体表现在 COD 去除率、产气量、pH 及液相末端发酵产物的相对稳定.由 OLR 提高造成的对 ABR 的冲击作用,

前端格室首当其冲,受到的影响最大,但在各格室微生物系统为维持自身平衡而发生的自我调节作用下,这种冲击作用逐格被依次削弱.前段格室的“屏障”作用,使后端格室受到 OLR 冲击的影响变得比较缓和,在程度上也有显著下降,其微生物群落对环境变化作出的调整也就相对较小,因此比较容易达到结构的再次稳定.而前段格室,尤其是第 1 格室,由于受到的冲击作用比较强烈,再次建立系统生态平衡所需要的群落结构调整就比较大,费时较长,因此比后端格室要晚些达到稳定.在一定运行条件下,ABR 可实现微生物相的分离^[2],在各格室形成相对独立且稳定的微生物群落,而各格室的微生物群落又通过营养生态位的前后承继关系紧密联系在一起,这一特征使 ABR 表现出很强的抗负荷冲击能力和运行稳定性.

OLR 从 $1.2 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 提高到 $3.0 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 后,ABR 重新达到运行的稳定状态用了 26 d,而从 $3.0 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 提高到 $4.8 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 以及从 $4.8 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 提高到 $6.0 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 2 次 OLR 改变后,ABR 只用了 12 d 即达到了再次稳定.在较高 OLR 条件下,ABR 系统在遭受负荷冲击后更容易重新建立平衡的原因,可能与厌氧活性污泥的驯化程度、生物相分离程度以及优势微生物类群的数量等多方面的因素有关.第 1 阶段运行结束时,ABR 的运行时间仅为 31 d,污泥的驯化期比较短,其微生物的群落演替可能并没有进行完全,只是在较低的 OLR 条件下,较多的生物量及其代谢活性保证了微生物群落演替过程中对废水有机物的降解转化率,因此在 23~31 d 的运行期间,ABR 及各格室的出水 COD 浓度、COD 去除率、产气量、pH 以及 VFAs 等指标表现出相对稳定性.对一个结构尚未达到稳定的微生物群落而言,OLR 或其他因素改变而对其造成的影响是非常显著的.因此,OLR 在 32 d 由 $1.2 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 提高到 $3.0 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 后,ABR 内的微生物群落就需要较长的时间进行结构调整,并培育相应的优势菌群,以适应改变了的环境.在第 2 阶段运行结束时,ABR 已经运行了 64 d,此时的厌氧活性污泥已经得到了充分驯化,而且,从 UPGMA 群落聚类分析结果(图 4)来看,此时 ABR 各格室的微生物群落之间的遗传距离[图 4(b)],相对于第 1 运行阶段[图 4(a)]已经比较显著,也就是说 ABR 各格室的微生物相在生态位上开始显著分离,分别形成了自身的优势微生物类群,并在营养生态位上建立了类似于“食物链”的承继关系.当 ABR 运行到第 3

阶段,各格室之间的这种生物相分离[图 4(c)]和营养生态位的承继关系更加显著.微生物相的分离以及前后格室顺次的营养生态位承继关系,使 ABR 建立起更加复杂和完善的生态系统,自我调节能力得到了较大幅度的提升,因而对环境条件改变造成的冲击具有更强的调整适应能力.所以,OLR 再次提高时,ABR 可以在较短的时间内重新达到运行的稳定状态.值得注意的是,ABR 各格室的微生物群落如果高度分化,它们在生长和代谢等方面将表现出高度的特异性,群落结构也相对简单,因此对水质变化的敏感性则会显著提高,系统的稳定性将更多地依赖于各格室微生物群落之间建立起来的营养生态位承继关系.各格室的微生物生态系统,因群落结构的简单化和代谢的特异性而变得比较脆弱,在更高 OLR 冲击下很容易遭到破坏,甚至导致 ABR 整个系统的运行失败.因此,对于在某一特定水质下长期运行的 ABR,在高负荷条件下运行时,应当特别注意提高运行管理质量,以保证系统的安全稳定运行.在本试验条件下,ABR 完全可以承受 $6.0 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 的有机负荷,实现安全稳定运行.在 ABR 运行过程中,可以通过对污泥样品的 SSCP 图谱分析和 UPGMA 群落聚类分析,了解各格室微生物群落的遗传分化情况,对 ABR 的安全稳定运行具有重要的指导意义.

4 结论

(1)以 ABR 处理高浓度大豆蛋白生产废水时,以啤酒厂二沉池排放的剩余污泥为种泥,在污泥接种量 MLVSS 为每个格室 $18.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、进水 COD 浓度 $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、HRT 39.5 h、 $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ 等条件下,可在 31 d 内成功启动反应器并达到初步稳定运行.

(2)通过固定 HRT,分阶段提高 COD 浓度的方法,可以逐步将 ABR 处理大豆蛋白废水的有机负荷提高到 $6.0 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$,并实现安全稳定运行,其 COD 去除率可以稳定在 97% 以上.

(3)ABR 在遭受 OLR 冲击后,前端格室对后端格室起到了“屏障”保护作用,使后端格室总是先于前端格室达到新的稳定运行状态,充分体现了 ABR 生物相分离特征对于保证 ABR 运行稳定性的重要意义.

(4)污泥样品的 SSCP 图谱分析表明,OLR 的改变,不仅会影响 ABR 内各微生物类群的生长,同时也会改变微生物群落的结构和不同微生物类群在各格室的分布.随着 OLR 的逐步提高,ABR 各格室微生物的遗传距离逐渐拉大,特异性随之增加.

参考文献:

[1] Lettinga G, Field J, Lier J V, *et al.* Advanced anaerobic wastewater treatment in the near future [J]. *Wat Sci Technol*, 1999, **35** (10): 5-12.

[2] Wang J L, Huang Y H, Zhao X. Performance and characteristics of an anaerobic baffled reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2004, **93**: 205-208.

[3] 戴友芝,施汉昌,冀静平,等. 厌氧折流板反应器处理有毒废水及其污泥特性的研究[J]. *环境科学学报*, 2000, **20** (3): 284-289.

[4] Akunna J C, Clark M. Performance of a granular-bed anaerobic baffled reactor (GRABBR) treating whisky distillery wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2000, **74**: 257-261.

[5] 雷中方,陆雍森,徐庆平. 用厌氧折流板反应器处理碱法草浆黑液[J]. *上海环境科学*, 2002, **5** (3): 19-20.

[6] 孙剑辉,张波,彭云辉. 厌氧折流板反应器处理玉米秆纤维浆粕废水的研究[J]. *环境污染治理技术与设备*, 2002, **3** (9): 83-85.

[7] Holt C J, Matthew R G S, Terzis E. A comparative study using the anaerobic baffled reactor to treat a phenolic wastewater [A]. In: *Proceedings of the 8th International Conference on Anaerobic Digestion* [C]. Sendi, Japan, 1997, **2**: 40-47.

[8] 沈耀良,赵丹,王惠民. ABR 处理高浓度淀粉制品加工废水运行特性的研究[J]. *给水排水*, 2002, **28** (9): 33-37.

[9] 胡小兵,钟梅英. 过滤式厌氧折流反应器处理焦化废水研究[J]. *工业水处理*, 2002, **22** (1): 31-33.

[10] 买文宁,杨明,曾令斌. 抗生素废水处理工程的设计与运行[J]. *给水排水*, 2002, **28** (4): 42-47.

[11] 沈耀良,王宝贞,杨铨大,等. 厌氧折流板反应器处理垃圾渗滤混合废水[J]. *中国给水排水*, 1999, **15** (5): 10-13.

[12] 贺嵩邠,易辰俞,戴友芝. 厌氧折流板反应器处理有机磷农药废水的研究[J]. *工业用水与废水*, 2002, **33** (4): 26-28.

[13] 陈洪斌,张国政,高廷耀. 厌氧折流板反应器处理豆制品废水的研究[J]. *中国沼气*, 1999, **17** (1): 12-16.

[14] 王亮,李风亭,刘华,等. ASBR 反应器处理豆制品废水[J]. *水处理技术*, 2005, **31** (9): 56-59.

[15] 苏鸿洋,夏雪芬,董发开. 复合式折流板厌氧反应器处理城市污水[J]. *福州大学学报(自然科学版)*, 2002, **30** (6): 908-912.

[16] 郭雪松,黄晓杰,王烁,等. 醇法大豆浓缩蛋白提取工艺的优化[J]. *食品工业科技*, 2007, **28** (5): 181-183.

[17] 左进华,董海洲,侯汉学. 大豆蛋白生产与应用现状[J]. *粮食与油脂*, 2007, **5**: 12~15.

[18] 赵冬梅. 豆制品生产中高浓度废水的检测与分析[J]. *食品与发酵工业*, 2006, **32** (1): 68-71.

[19] 曾科,宋宏杰,孟凡超,等. 大豆蛋白和屠宰废水处理工艺研究[J]. *环境污染治理技术与设备*, 2006, **7** (7): 141-144.

[20] APHA. Standard methods for the examination of water and wastewater [M]. Washington: American Public Health Association, 1995.

[21] Tebbe C C, Schmalenberger A, Peters S, *et al.* Single-strand conformation polymorphism (SSCP) for microbial community analysis [A]. In: *Environmental Molecular Microbiology-Protocols and Applications* [C]. UK Wymondham: Horizon Scientific Press, 2001. 161-175.

[22] Crocetti G R, Hugenholtz P, Bond P, *et al.* Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantitation[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**: 1175-1182.

[23] Stahl D A, Amann R. Development and application of nucleic acid probes in bacterial systematic [A]. In: *Sequencing and Hybridization Techniques in Bacterial systematics* [C]. England Chichester: John wiley & Sons, 1991. 205-248.

[24] 赵阳国,王爱杰,任南琪,等. SSCP 技术分析不同废水处理系统中微生物群落结构[J]. *环境科学*, 2006, **27** (7): 1429-1433.

[25] 赵阳国,任南琪,王爱杰,等. SSCP 技术解析硫酸盐还原反应器中微生物的群落结构[J]. *环境科学*, 2005, **26** (4): 171-176.

[26] Ren N Q, Zhao Y G, Wang A J, *et al.* The effect of decreasing alkalinity on microbial community dynamics in a sulfate-reducing bioreactor as analyzed by PCR-SSCP [J]. *Science in China (C)*, 2006, **49** (4): 370-378.

[27] Bassam B J, Caetano-Anolles G, Gresshoff P M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels[J]. *Anal Biochem*, 1991, **196** (1): 80-83.

[28] Kostanjšek R, Lapanje A, Drobne D, *et al.* Bacterial community structure analyses to assess pollution of water and sediments in the Lake Shkodra/Skadar, Balkan Peninsula[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2005, **12** (6): 361-368.

[29] Lee D H, Zo Y G, Kim S J. Nonradioactive method to study genetic profiles of natural bacterial communities by PCR-single-strand-conformation polymorphism [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62** (9): 3112-3120.