

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2022.01.013

硝化菌在不同载体中的富集效率研究

王伟燕^{1,2,3}, 韩墨菲^{1,2,3}, 王晓磊^{1,2,3}, 安少锋^{1,2,3}, 李兴美^{1,2,3},
押玉荣^{1,2,3}, 张立博^{1,2,3}

(1. 河北粤海水务集团有限公司, 河北 石家庄 050031; 2. 河北省污水处理与资源化技术创新中心, 河北 石家庄 050031; 3. 污水处理与水体修复河北省工程研究中心, 河北 石家庄 050031)

摘要: 利用MBBR型、纤维球、细菌球三种载体在污水厂生化池中进行硝化菌群的富集,通过测定反应活性速率及微生物多样性对载体富集硝化菌群进行研究。结果表明,三种载体均在富集30 d左右时效果最佳。此时,细菌球载体富集硝化菌群中氨氧化菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NO₂-N)的反应比速率分别达到了2.72、1.68 mg/(gVSS·h),通常作为限制性因素的AOB比速率相较于活性污泥提高了42.41%;且载体中富集的AOB/NO₂-N值最高可达2.10,相较于活性污泥(AOB/NO₂-N值约为1),载体选择性富集了更多的AOB。因此,按50%的填充体积投加细菌球挂膜载体,其AOB和NO₂-N的反应比速率可分别提高71.2%和44.7%。高通量测序结果表明,细菌球载体中硝化菌数量占比高达7.40%,为活性污泥中硝化菌含量的2.1倍。另外,菌群种属分析结果表明,载体生物膜中的菌群比活性污泥更加多样化,增加了系统的稳定性和抗冲击性。

关键词: 生化池; 硝化菌; 反应比速率; 高通量测序

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2022)01-0083-05

Enrichment Efficiency of Nitrifying Bacteria in Different Types of Carriers

WANG Wei-yan^{1,2,3}, HAN Mo-fei^{1,2,3}, WANG Xiao-lei^{1,2,3}, AN Shao-feng^{1,2,3},
LI Xing-mei^{1,2,3}, YA Yu-rong^{1,2,3}, ZHANG Li-bo^{1,2,3}

(1. Hebei Yuehai Water Group Co. Ltd., Shijiazhuang 050031, China; 2. Wastewater Treatment and Resource Reusing Technology Innovation Center of Hebei Province, Shijiazhuang 050031, China; 3. Wastewater Treatment and Water Remediation Engineering Research Center of Hebei Province, Shijiazhuang 050031, China)

Abstract: Nitrifying bacteria were enriched in biochemical tanks of a wastewater treatment plant by using carriers of MBBR-type carrier, fiber ball and ceramic ball. The nitrifying bacterial community enriched on the carriers was analyzed by measuring the reaction rate and microbial diversity. The treatment performances of the three carriers were the best after 30 days of enrichment. At this time, the specific reaction rates of ammonia oxidizing bacteria (AOB) and nitrite oxidizing bacteria (NO₂-N) enriched on ceramic ball reached 2.72 mg/(gVSS·h) and 1.68 mg/(gVSS·h), respectively, and the specific reaction rate of AOB, usually a limiting factor, was 42.41% higher than that of activated sludge. In addition, the ratio of AOB to NO₂-N enriched on carriers was up to 2.10. Compared with that of activated sludge (about 1),

the carrier selectively enriched more AOB. Therefore, specific reaction rates of AOB and NOB were increased by 71.2% and 44.7% respectively by adding 50% filling volume of ceramic ball carriers. High-throughput sequencing showed that the proportion of nitrifying bacteria in the ceramic ball was up to 7.40%, which was 2.1 times of that in activated sludge. In addition, the bacterial genus composition showed that the bacterial community in biofilm on the carrier was more diverse than the activated sludge, thus increasing the stability and impact resistance of the system.

Key words: biochemical tank; nitrifying bacteria; specific reaction rate; high-throughput sequencing

城镇污水厂是生活污水和工业废水排入自然水体前至关重要的末端处理环节,特别是在一些饮用水水源地上游地区,对氮排放的要求更加严格。硝化过程是城镇污水厂生物脱氮的第一步,硝化菌是此过程的决定性微生物^[1-2]。当城镇污水厂硝化功能崩溃时,硝化菌的活性会受到抑制,导致出水氨氮升高。目前一般采用降低污泥负荷、延长污泥龄等措施进行恢复,但耗时长达3~6个月,恢复期内污水厂出水水质不能稳定达标。

载体富集硝化菌能够使硝化菌群高度集中,并且载体中的硝化菌可以形成生物膜,因此其更加稳定、不易流失。笔者通过考察载体富集硝化菌群的反应比速率、活性比值、挂膜量和微生物多样性等

指标,筛选最优载体,可为缩短污水厂恢复周期、提高污水厂抗冲击能力提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验条件

本实验以MBBR型、纤维球、细菌球三种材料为载体(载体参数见表1),分别放入不锈钢网孔焊筒容器中,在河北省某县城污水处理厂的曝气池进行挂膜,实验过程中保证容器悬浮于生化池内,防止积泥。实验总时长为58 d。该生化池采用百乐克(BIOLAK)工艺,进水氨氮为15~30 mg/L,出水氨氮为0.78~1.42 mg/L;主要运行参数:污泥浓度为3 785~5 773 mg/L,好氧池溶解氧浓度为2~4 mg/L,温度为21~27 ℃。

表1 载体参数及填充情况

Tab.1 Characteristics and filling status of carriers

项目	材质	尺寸/mm	堆积密度/(kg·m ⁻³)	比表面积/(m ² ·m ⁻³)	填充体积/m ³	填充质量/kg
MBBR型	PE	25×10	140.5~143.6	300~700	9.425×10 ⁻³	1.35
纤维球	PP	50	70~85	3 000	9.425×10 ⁻³	0.74
细菌球	陶瓷	15~25	420~450	250~700	9.425×10 ⁻³	4.20

1.2 微生物活性分析实验

每周进行一次微生物活性(反应比速率)实验,分别取1 L(填充体积)载体和活性污泥放入烧杯中,再加入污水厂稳定池出水至3 L。实验开始时加入400 mg/L的碳酸氢钠、30 mg/L的碳酸氢铵和8 mg/L的亚硝酸钠作为反应基质,以硫酸/碳酸氢钠调节pH值为6~8。实验过程中采用曝气头和空气泵进行曝气,使溶解氧≥3 mg/L,每1 h取样一次,经0.45 μm滤膜过滤后测定氨氮、硝酸盐氮、亚硝酸盐氮浓度,并计算氨氧化菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NO₂)的容积速率和反应比速率。

1.3 分析项目及方法

NH₃-N采用纳氏试剂法测定,NO₃⁻-N采用紫外

分光光度法测定,NO₂⁻-N采用分光光度法测定。活性污泥和载体中微生物的多样性采用Illumina高通量测序方法进行测定。活性污泥和载体的MLSS和MLVSS均采用国标法测定。

1.4 微生物种群及多样性分析

实验结束时分别从活性污泥、MBBR型载体、细菌球载体、纤维球载体中提取污泥或生物膜,以8 000 r/min离心10 min,将浓缩的污泥或生物膜保存在-20 ℃的冰箱中进行DNA样品分析。

使用Power Soil DNA提取包从样品中提取微生物总DNA。采用分光光度计测定230 nm、260 nm和280 nm处的吸光度值,然后计算260 nm/280 nm和260 nm/230 nm的吸光度比值来评估DNA,并且在

-80℃下保存DNA。采用通用引物(正向引物:5'-ACTCTACGGGAGGCAGCA-3';反向引物:5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')与衔接子序列和条形码序列进行组合扩增细菌16S rRNA基因的V3-V4区域。

PCR产物通过VAHTSTM DNA Clean Beads进行纯化,然后在反应中进行第二轮PCR,最后用Quant-it™ dsDNA HS试剂对所有PCR产物进行定量,并将其聚合在一起,对纯化的混合样本进行细菌16S rRNA基因的高通量测序分析。

2 结果与讨论

2.1 不同载体对AOB和NOB活性的影响

不同载体对AOB和NOB活性的影响见图1。

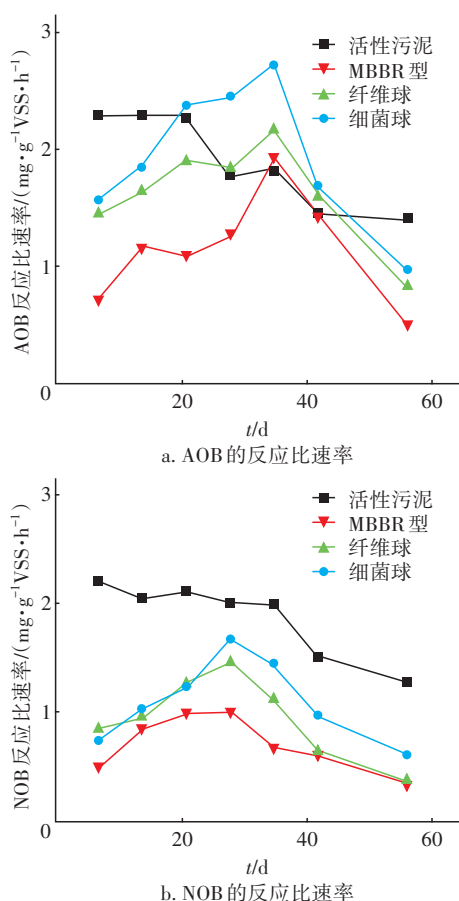


图1 不同载体对AOB和NOB活性的影响

Fig.1 Effect of different carriers on AOB and NOB activity

由图1可知,MBBR型、纤维球、细菌球三种载体随着挂膜时间的延长,AOB的反应比速率在35 d左右达到峰值,NOB的反应比速率在28 d左右达到峰值,而后呈现下降的趋势。这是由于载体结构相

对固化,生物膜不断生长、老化且不易脱落,而新的生物膜难以形成。挂膜35 d时,MBBR型、纤维球、细菌球载体的AOB反应比速率分别为1.93、2.18、2.72 mg/(gVSS·h),活性污泥中AOB的比速率为1.91 mg/(gVSS·h),三种载体分别比活性污泥提高了0.1%、14.1%、42.41%,说明载体比活性污泥具有更高的AOB比速率,其中细菌球挂膜载体的AOB比速率最高。理论上,按50%的填充体积投加实验挂膜载体,其AOB反应比速率可分别提高50.5%、57.1%、71.2%。

挂膜28 d时,MBBR型、纤维球、细菌球的NOB反应比速率分别为1.00、1.46、1.68 mg/(gVSS·h),与AOB一样,细菌球载体的NOB反应比速率在三种载体中最高。经计算活性污泥中NOB的反应比速率为1.88 mg/(gVSS·h)。载体上NOB的反应比速率均比活性污泥的低,主要是由于载体具有一定程度的选择性,且在生物膜中NOB处于更靠近载体的空间,溶解氧扩散至NOB要通过外层的AOB,因此导致生物膜中NOB的活性比没有传质阻碍的活性污泥絮体中的低。另外,可能是由于该污水处理厂生化池中溶解氧有一定的波动,而NOB对环境较为敏感,其生长受到抑制^[1-2]。理论上,按50%的填充体积投加实验挂膜载体,其NOB的反应比速率可分别提高26.6%、38.8%、44.7%。

挂膜35 d时,MBBR型、纤维球、细菌球载体中AOB的容积速率分别为0.46、0.75、1.18 mg/(L·h),可见细菌球富集AOB的效果更好。挂膜28 d时,MBBR型、纤维球、细菌球载体中NOB的容积速率分别为0.22、0.88、0.55 mg/(L·h),纤维球的NOB富集量最多。由于三种载体的挂膜生物量均比活性污泥低,因此,实验期间三种填料的容积速率均比活性污泥低。

2.2 不同载体对AOB/NOB值的影响

AOB作用于生物脱氮中硝化反应的第一步,是脱氮效率的限制因素,而通常系统中的NOB不论是在数量上,还是多样性上都比AOB更好。因此,系统中AOB与NOB的比值越高,证明AOB活性越好,脱氮率越高。经计算,活性污泥AOB/NOB值接近于1,这与王正富^[3]和卞伟等^[4]的研究一致。关于载体生物膜,王荣昌等^[5]和Noda等^[6]研究发现,生物膜厚度为80~120 μm时,AOB和NOB主要分布在生物膜表面25~35 μm范围内,可以更好地利用水体中的营

养物质进行生长繁殖。同时,当AOB/NOB值大于2时,可以较好地提高系统中的好氧速率^[3-4],有利于系统中硝化反应的进行;MBBR型、纤维球、细菌球载体AOB/NOB值分别为1.71、1.70、2.10,可见三种载体均可大幅度提高系统的硝化反应比速率。通常情况下,生化池中无法监测到亚硝酸盐的积累,由此说明在活性污泥系统中NOB的活性大于AOB的活性,因此可以验证AOB确实是系统中的限制性因素,适当提高系统中AOB的比例有助于提高硝化菌的处理效率。综上可知,细菌球挂膜载体有较高的AOB/NOB值,因此在硝化反应中更有优势。

2.3 时间对挂膜量的影响

时间对挂膜量的影响见图2。可知,随着挂膜时间的延长,单位填充体积载体的挂膜量逐渐增多。0~35 d时,纤维球、细菌球挂膜量先增加后趋于稳定,挂膜量分别为1.87、2.38 g/L;而该阶段MBBR型载体的挂膜量处于稳步增长阶段。结合图1中AOB和NOB反应比速率先升后降可知,纤维球、细菌球挂膜量的增长趋势减缓可以进一步验证载体在系统中无法形成流态,造成生物膜产生一定程度的老化且不易脱落,新的生物膜难以形成;而MBBR型载体生物膜中AOB和NOB的反应比速率均较低,其挂膜量虽然在增长,但硝化菌群的反应比速率并未明显提高。35~56 d时,三种载体的挂膜量虽有不同程度的增加,但结合图1的反应比速率可知,继续增加的生物膜无法进一步提高硝化反应效率。该挂膜阶段说明细菌球载体的生物膜最有效。

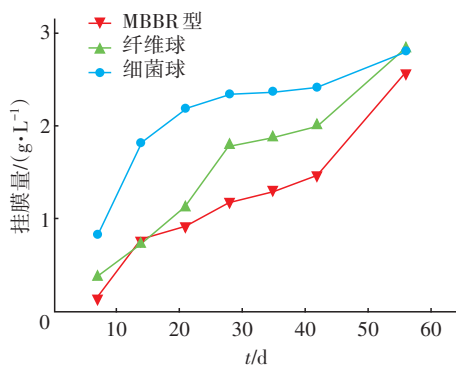


图2 时间对挂膜量的影响

Fig.2 Effect of biofilm formation time on biomass

2.4 微生物种类及数量分析

通过高通量测序结果可知,活性污泥和不同载体的多样性指数有一定的差别(见表2)。三种载体的Shannon指数均高于活性污泥,表明载体中微生

物的物种多样性更高,群落的复杂程度更高^[7]。细菌球的物种多样性最高,可由最高的Shannon指数和最低的Simpson指数证明。因此,当向污水厂生化系统中投加细菌球载体时,可以明显增加系统的生物多样性,主要原因是载体的污泥龄更长(一般30 d左右),可为微生物的进化提供时间和空间。

表2 载体和污泥中的微生物多样性

Tab.2 Diversity indexes of microorganisms in carriers and sludge

项目	OTU	ACE	Chao1	Simpson	Shannon	Coverage
活性污泥	1 053	1 090.24	1 090.17	0.009 3	5.626 5	0.997 5
细菌球	1 113	1 139.11	1 145.65	0.006 8	5.824 6	0.997 6
MBBR型	1 102	1 121.44	1 129.23	0.007 3	5.795 5	0.998 4
纤维球	1 110	1 151.22	1 164.22	0.007 1	5.757 1	0.996 7

通过高通量测序,在科水平上对活性污泥及不同载体生物膜进行分析,发现2种硝化螺旋菌科,即*Nitrosomonadaceae*、*Nitrospiraceae*。*Nitrosomonadaceae*作为主要的AOB菌科,其在活性污泥、MBBR型、细菌球、纤维球上的相对丰度分别为1.39%、2.23%、2.53%、1.92%;*Nitrospiraceae*作为主要的NOB菌科,在活性污泥、细菌球、MBBR型、纤维球上的相对丰度分别为2.08%、4.87%、2.97%、3.10%。属水平上的分析表明,*Nitrospira*作为最主要的硝化菌属,在活性污泥、MBBR型载体、细菌球载体、纤维球载体中的相对丰度分别为2.47%、4.07%、2.83%、3.02%,表明载体在挂膜过程中富集了更多的硝化菌,且在三种载体中MBBR型载体上的*Nitrospira*相对丰度最高(见图3)。

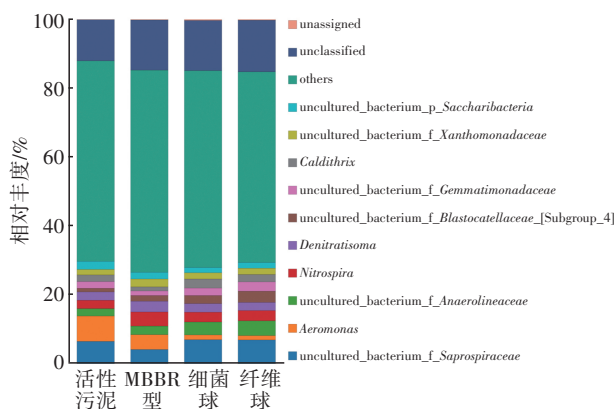


图3 活性污泥及不同载体生物膜菌群在属水平上的分析

Fig.3 Analysis of microorganisms in activated sludge and biofilm in different carriers on genus level

同时,研究发现部分细菌兼具AOB和NOB作用,可以将底物由氨氮直接转化为硝酸盐,适宜生

存在低氨氮环境中,可作为出水指示性微生物。具备该功能的微生物一部分隶属于*Nitrospira*属,但是与庞大的*Nitrospira*属相比,已发现的硝化菌种类较少,因此出于简化模型考虑,此处假设该菌属为NOB的一种,且在活性污泥和生物膜中均为优势菌种。在活性污泥和载体生物膜中的优势AOB菌种为*Nitrosomonas*,且在载体中的相对丰度较高,因此可以得出,载体在选择性富集硝化菌方面起到了良好的作用。

在污水厂生化池驯化挂膜情况下,细菌球载体相对更易于硝化菌群的附着,细菌球载体和活性污泥中硝化菌群总占比分别为7.40%和3.47%,富集效率高达2.1倍。因此通过以上结果可以得出,载体可以选择性地有效富集硝化菌群,且细菌球载体的富集效率最高。

3 结论

① 细菌球载体对硝化菌群富集效果最好,最佳挂膜时间在30 d左右。

② 细菌球载体的AOB/NOB值最高可达2.10,相比活性污泥的AOB/NOB值(1左右),载体选择性富集了更多的AOB。

③ 细菌球挂膜载体的AOB和NOB反应速率分别达到2.72和1.68 mg/(gVSS·h),作为限制性因素的AOB比活性污泥提高了42.41%。理论上,按50%的填充体积投加细菌球挂膜载体时,活性污泥中AOB的反应速率可提高71.2%,NOB的反应速率可提高44.7%。

④ 高通量测序结果表明,细菌球载体中硝化菌数量占比高达7.40%,与活性污泥中的硝化菌含量相比富集效率高达2.1倍。相比活性污泥,载体生物膜中的菌群更加多样化,因此增加了系统的稳定性和抗冲击性。

参考文献:

- [1] 尹子华. 高活性硝化污泥的高效富集和生物强化效果研究[D]. 上海:上海师范大学,2016.
YIN Zihua. Efficient Enrichment and Biological Enhancement of Highly Activated Nitrifying Sludge [D]. Shanghai:Shanghai Normal University,2016(in Chinese).
- [2] CHO K H, KIM J O, KANG S, *et al.* Achieving

enhanced nitrification in communities of nitrifying bacteria in full-scale wastewater treatment plants via optimal temperature and pH [J]. Separation and Purification Technology,2014,132(8): 697-703.

- [3] 王正富. 污泥水富集硝化菌群强化城市污水处理系统生物硝化研究[D]. 西安:西安建筑科技大学,2013.
WANG Zhengfu. Enrichment of Nitrifying Bacteria in Sludge Water to Enhance Biological Nitrification in Municipal Sewage Treatment System [D]. Xi'an:Xi'an University of Architecture and Technology, 2013 (in Chinese).
- [4] 卞伟,李军,赵白航,等. 硝化污泥中AOB/NOB对硝化特性的影响[J]. 中国环境科学,2016,36(8):2395-2401.
BIAN Wei, LI Jun, ZHAO Baihang, *et al.* The effect of AOB/NOB in nitrifying sludge on nitrification characteristics [J]. China Environmental Science, 2016, 36(8):2395-2401(in Chinese).
- [5] 王荣昌,文湘华,钱易. 悬浮载体生物膜内硝化菌群空间分布规律[J]. 环境科学,2006,27(11):2358-2362.
WANG Rongchang, WEN Xianghua, QIAN Yi. Spatial distribution of nitrifying bacteria communities in suspended carrier biofilm [J]. Environmental Science, 2006,27(11):2358-2362(in Chinese).
- [6] NODA N, EBIE Y, MATSUMURA M, *et al.* Comparison of detection specificity of nitrifying bacteria in biofilm using fluorescence in situ hybridization and in situ fluorescent antibody methods [J]. Water Science and Technology,2003,47(5):129-132.
- [7] 吴迪,周家中,郑志佳,等. MBBR用于山西某污水厂提标改造效果分析[J]. 中国给水排水,2018,34(15):6-11.
WU Di, ZHOU Jiazhong, ZHENG Zhijia, *et al.* Application of MBBR process to upgrading and reconstruction of WWTP in Shanxi Province [J]. China Water & Wastewater,2018,34(15):6-11(in Chinese).

作者简介:王伟燕(1987-),女,河北石家庄人,硕士,工程师,研究方向为水污染治理技术及应用。

E-mail:jchbyf@126.com

收稿日期:2021-08-13

修回日期:2021-09-30

(编辑:任莹莹)