

# 横流式生物滤池脱氮性能及微生物群落特征研究

薛婧秋，王晓昌，薛涛，唐嘉陵  
(西安建筑科技大学 环境与市政工程学院，陕西 西安 710055)

**摘要：**采用横流式生物滤池处理低C/N值污水，运行过程中，第Ⅰ、Ⅱ级滤池的VSS逐渐增加，第Ⅲ、Ⅳ级滤池的VSS逐渐减少，滤池运行稳定后，对NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TN、COD、浊度的去除率可分别稳定达到31%、33%、59%、93%以上且无需外加碳源，出水水质达到《污水综合排放标准》(GB 8978—1996)的一级标准。采用Biolog法分析了横流式生物滤池各级微生物群落特征。结果表明，第Ⅲ、Ⅳ级滤池的生物活性整体高于第Ⅰ、Ⅱ级，对碳源利用程度高；各级滤池都存在丰富的微生物群落结构，第Ⅲ级滤池的微生物多样性指数最高，第Ⅰ级最低；滤池所利用碳源分内、外两大类，前两级滤池的外部碳源主要来自原污水，其中第Ⅰ级滤池利用糖类及蛋白质类碳源较多，后两级滤池的内部碳源主要来自上一个运行周期所积累的大量生物。

**关键词：**横流式生物滤池；低C/N值污水；内生碳源；Biolog；生物量；生物群落  
**中图分类号：**TU992.3    **文献标识码：**C    **文章编号：**1000-4602(2018)23-0058-06

## Denitrification Performance and Microbial Community Characteristics of Cross-flow Biofilter

XUE Jing-qiu, WANG Xiao-chang, XUE Tao, TANG Jia-ling  
(School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology,  
Xi'an 710055, China)

**Abstract:** The cross-flow biofilter was utilized in the treatment of low C/N ratio sewage. The VSS gradually increased in the first two levels and decreased in the next two levels. When the filter was running stable, the removal rates of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, TN, COD and turbidity exceeded 31%, 33%, 59% and 93%, respectively, without additional carbon source. The effluent quality satisfied the first class criteria specified in *Integrated Wastewater Discharge Standard* (GB 8978 - 1996). The bioactivity in the latter two levels of the filter was higher than that in the first two levels, and the utilization of the carbon source was high as well. There were abundant microbial community structures in all levels of the filter. The microbial diversity index in the third level was the highest, while that in the first level was the lowest. The carbon source in the filter could be divided into internal carbon source and external carbon source. The first two levels mainly consumed the external carbon source from the sewage, and the utilization of sugar and protein was high; the internal carbon source of the latter two levels mainly consisted of large amount of accumulated biomass from previous levels.

**Key words:** cross-flow biofilter; low C/N ratio sewage; internal carbon source; Biolog; biomass; microbial community

传统生物滤池在处理低碳氮比污水时，需通过投加外部碳源来获得较高的脱氮效率<sup>[1]</sup>，不仅使得

脱氮工艺复杂化,更增加了处理成本。笔者所研究的新型横流式生物滤池,采用四级相同的生物滤池串联,在自然挂膜之后,通过重力流作用实现反应器正向进水,其中前两级滤池的滤料附着并积累较多微生物,正向运行稳定后,于原第Ⅲ级滤池进水处加设增压泵,调转进水方向实现反向进水,从而达到不外加碳源条件下处理低C/N值污水的目的。

生物滤池中的微生物群落及其生物活性对滤池降解污染物起着重要作用<sup>[2,3]</sup>,近年来,对于生物滤池的研究也拓展至池内微生物结构及其功能方面。美国Biolog公司生产的Biolog微生物自动分析系统根据微生物对Biolog-ECO板上的31种碳源利用的特异性,判断出微生物的碳源利用能力<sup>[4]</sup>。向红等<sup>[5]</sup>采用Biolog和PCR-SSCP分析生物滤池中微生物的代谢及其结构,提出了滤池运行效果与微生物群落代谢的相关性。

新型横流式生物滤池相较于传统的滤池在运行过程中有所不同,笔者利用Biolog-ECO板,结合该滤池对低C/N值污水的处理效果,对横流式生物滤池各级微生物群落代谢多样性进行研究,将有助于更深一步了解横流式生物滤池的运行机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验装置及进水水质

试验装置示意见图1。

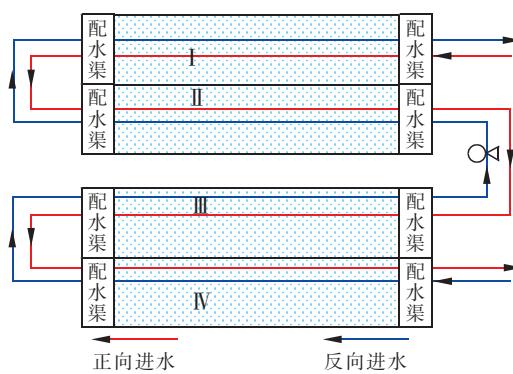


图1 横流式生物滤池示意

Fig. 1 Schematic diagram of cross-flow biofilter

横流式生物滤池由有机玻璃加工而成,各级滤池的长、宽、高均分别为2.2、0.5、3.3 m,超高为0.5 m,每级滤池内滤料层自下而上分别为鹅卵石(粒径为35~45 mm)、火山岩(粒径为25~35 mm)和火山岩(粒径为15~25 mm)。原水经第Ⅰ级滤池侧向流入配水渠后,经穿孔墙呈S形依次流入第Ⅱ、

Ⅲ、Ⅳ级,并于第Ⅳ级滤池侧向流出。本试验以滤池正向进水周期为研究对象,经过上一周期的反向进水,第Ⅲ、Ⅳ级滤池积累VSS较多,第Ⅰ、Ⅱ级滤池相对较少;随着滤池正向运行时间的推移,第Ⅲ、Ⅳ级滤池的VSS浓度逐渐下降,同时第Ⅰ、Ⅱ级滤池的VSS浓度增大,至下一周期变换进水方向为止。

将西安某高校生活污水与污水厂中水按体积比为1:3混合作为原水,其中NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量约占进水TN的70%,且进水NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N<0.1 mg/L,平均水力停留时间约为10 h。具体水质如下:浊度为(7.2±0.5) NTU、COD为(33.28±2.35) mg/L、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N为(12.15±2.24) mg/L、TN为(18.32±2.31) mg/L、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N为(0.08±0.02) mg/L、DO为(5.28±0.22) mg/L。

### 1.2 样品采集与预处理

在滤池正常运行情况下,于每级滤池设三个平行采样点,在无菌条件下取滤料,将其上附着的生物膜用超纯水洗下并置于50 mL灭菌离心管内,在4℃、10 000 r/min下离心15 min,弃上清液;将灭菌生理盐水以1:1的比例加入离心管内,振荡5 min混匀,在10 000 r/min下离心10 min,弃上清液,重复两次;取离心过后沉积物与生理盐水按1:1体积比混合,在2 000 r/min下离心1 min,取上清液稀释,用紫外分光光度计测得其在590 nm波长处的吸光度为0.13±0.02。

### 1.3 Biolog试验

用Biolog专用移液枪取稀释后的菌悬液加入Biolog-ECO平板(150 μL/孔)中,25℃下恒温培养,用Biolog读数仪分别测定其在波长590和750 nm处0、8、24、48、72、96、120、144 h时的吸光度。

### 1.4 数据分析

孔的平均颜色变化率(AWCD)计算参照Garland<sup>[4]</sup>的方法:

$$AWCD = \frac{1}{31} \sum_{i=1}^{31} (R_{it} - R_{0t}) \quad (1)$$

式中: $R_{it}$ 为每个碳源孔在590 nm处光密度值减去750 nm处光密度值的差,并将小于0.06和大于-0.06的值修正为零; $R_{0t}$ 为对照孔的光密度值。

AWCD数值标准化计算参照Kong等人<sup>[6]</sup>的方法:

$$R_{std} = \frac{R_{it} - AWCD}{\sqrt{\frac{1}{31} \sum_{i=1}^{31} (R_{it} - AWCD)^2}} \quad (2)$$

式中: $R_{si}$ 为标准化后每个孔的吸光度值。

多样性指数的计算参考 Zak 等<sup>[7]</sup>的方法。

Shannon 指数  $H'$  计算如下:

$$H' = -\sum P_i / \ln P_i \quad (3)$$

$$P_i = (R_{ii} - R_{0i}) / \sum (R_{ii} - R_{0i}) \quad (4)$$

式中: $P_i$ 为第  $i$  孔相对吸光度值与整个平板相对吸光度值总和的比值。

McIntosh 多样性指数  $U$  计算如下:

$$U = \sqrt{\sum n_i^2} \quad (5)$$

$$n_i = R_i - R_0 \quad (6)$$

碳源百分比  $f_i$ 、微生物多样性指标 DQ 的计算参照 Kong 等<sup>[6]</sup>的方法:

$$f_i = \frac{R_i}{\sum_{i=1}^{31} R_i} \quad (7)$$

$$DQ = \left( \sum_{i=1}^{31} f_i \right)^2 \quad (8)$$

利用 SPSS 23.0 进行统计学分析,采用 Origin 9.1 绘图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 滤池运行效果

滤池稳定运行约四个月,整个运行过程中对各项指标的去除效果稳定,出水浊度为  $(0.45 \pm 0.18)$  NTU、COD 为  $(13.35 \pm 2.30)$  mg/L、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$  为  $(8.33 \pm 1.15)$  mg/L、TN 为  $(12.15 \pm 1.26)$  mg/L、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$  为  $(0.06 \pm 0.02)$  mg/L,出水水质达到《污水综合排放标准》(GB 8978—1996)的一级标准,去除率分别为 93.75%、59.89%、31.25%、33.68%、25.00%;滤池进水中含有少量溶解氧,出水溶解氧显著降低,为  $(1.78 \pm 0.25)$  mg/L, $\text{NO}_3^- - \text{N}$  在后两级得到有效去除,且滤池运行过程中,无亚硝态氮累积。段跟定等<sup>[8]</sup>通过对比横流式生物滤池和混凝沉淀对沣河水体的处理效果,发现横流式滤池除对 SS 和 COD 有 85% 以上的高去除率之外,对总氮和氨氮的去除率也可达到 33.04% 和 22.86%,较混凝沉淀提高约 20%。滤池进水 pH 值为  $8.0 \pm 0.1$ ,出水 pH 值为  $7.69 \pm 0.03$ 。

### 2.2 微生物对全部碳源的代谢动力学分析

AWCD 值是反映滤池内各级微生物的碳源代谢活性的重要指标, Garland<sup>[4]</sup>认为一般样品的 AWCD 曲线变化幅度越大,其对碳源利用能力越高,微生物丰度也越高。利用式(1)计算本研究中

各级样品的 AWCD 值,绘制滤池各级微生物平均吸光度随时间的变化曲线,如图 2 所示。可以看出,在 0~8 h,各级微生物的 AWCD 曲线增长缓慢,8~48 h 处于快速增长期(对数期),之后增长减缓,最终于 96 h 趋于稳定。从滤池各级 AWCD 曲线升高速率及最大值可知,Ⅲ、Ⅳ 级滤池整体对碳源的代谢能力高于 I、Ⅱ 级,推断是 I、Ⅱ 级滤池中微生物利用进水中简单的糖类及氨基酸完成自身代谢,所利用碳源类型较单一;而Ⅲ、Ⅳ 级滤池有其上一个周期反向进水时积累的大量微生物,碳源类型较 I、Ⅱ 级滤池丰富,微生物代谢活性也相对较高。

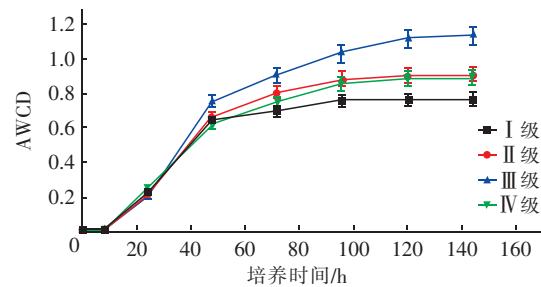


图 2 各级生物滤池的 AWCD 值随培养时间的变化

Fig. 2 Variation of AWCD value with incubation time in biofilters

### 2.3 各级滤池的生物多样性指数分析

Shannon 指数可以表征物种丰富度;McIntosh 指数是基于群落特异多维空间上 Euclidian 距离的多样性指数,可以反映微生物的群落均匀度<sup>[9]</sup>。通过计算运行 96 h 稳定后各级滤池的 Shannon 指数和 McIntosh 指数,可知第 I 级滤池的 Shannon 指数 (3.342) 略小于其他三级滤池 (依次为 3.400、3.396、3.391),而 McIntosh 指数则为第 III 级 (5.974) > 第 II 级 (5.068) > 第 IV 级 (4.930) > 第 I 级 (4.574),表明第 III 级滤池的微生物均匀度最高,II、IV 级滤池的微生物均匀度差异不显著,第 I 级滤池的微生物分布均匀度最小。总体来看,后两级滤池的微生物多样性指数高于前两级,这与 AWCD 值结果相对应。

### 2.4 碳源利用及主成分分析

将各级 AWCD 值标准化后计算滤池各级碳源利用率(见图 3),可以看出,第 I 级滤池对糖类及氨基酸类碳源的利用较其他三级滤池高 2~3 个百分点,推断是因为进水中含有大量多糖及蛋白质类化合物,其中部分简单碳源被第 I 级优先利用,而酯

类、醇类及胺类碳源的利用率无显著差异,说明滤池各级内微生物对这三类碳源的利用较稳定,对于酸类物质,第Ⅲ级及第Ⅳ级滤池显著高于前两级,根据横流式生物滤池工作机理,推断后两级滤池发生了如下反应:在滤池上一周期运行过程中,已经在后两级积累了大量的生物量,包括细胞新陈代谢及分解产物,缺氧条件下微生物以这些生物为底物进行厌氧水解,从而产生大量酸类物质,作为第Ⅲ、Ⅳ级滤池中微生物利用的内部碳源,这也是造成后两级滤池酸类碳源利用率高于前两级的主要原因。鞠花<sup>[10]</sup>以污泥低氧水解酸化产生的短链脂肪酸作为脱氮除磷菌的额外碳源,当污水同酸化液的比例为80:1时对TN和NH<sub>3</sub>-N的去除率达到最高。Min等<sup>[11]</sup>发现在脱氮系统中,以剩余污泥发酵产酸液为碳源与以甲醇为碳源的效果差别不大。

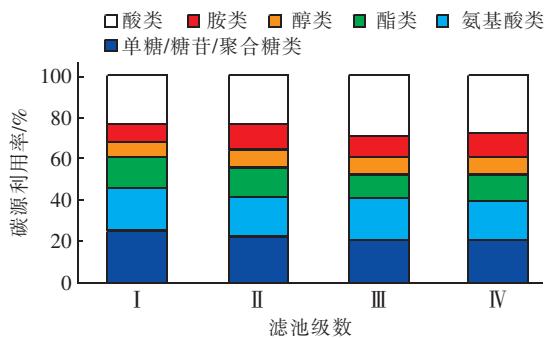


图3 各级滤池的碳源利用率

Fig.3 Carbon utilization of each biofilter

DQ- $f_d$ 图可用来定量分析微生物多样性的变化,同时反映更多的微生物群落结构信息<sup>[6]</sup>。其中,  $f_d$ 为显性底物的物质的量分数。第Ⅰ级滤池中的显性底物为糖类物质,位于坐标轴左下角,其DQ值较低,表明第Ⅰ级滤池整体对碳源利用活性不高;第Ⅱ级滤池中的显性底物变为酸类物质,DQ值升高,推断是因为第Ⅰ级微生物利用了部分简单糖类及氨基酸后,易利用碳源减少,第Ⅱ级滤池存有少量上一周期运行过程中积累的生物量,在低DO条件下厌氧发酵产酸,但因同时存在少部分未被第Ⅰ级滤池利用的简单糖类及蛋白质,所以 $f_d$ 值小于后两级;第Ⅲ级滤池中的显性底物为酸类物质,DQ及 $f_d$ 值最高,表明第Ⅲ级滤池对酸类碳源利用活性高;第Ⅳ级滤池中显性底物仍为酸类,但可利用碳源种类少于第Ⅲ级滤池,微生物多样性指数较低,微生物代谢活性不高,DQ及 $f_d$ 值均有所下降(见图4)。

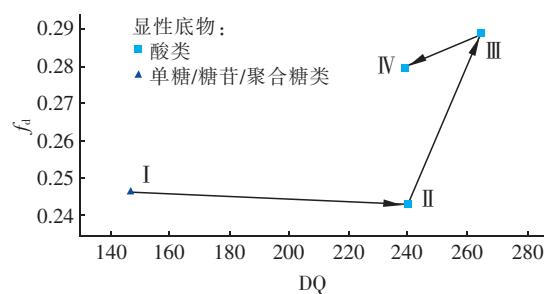
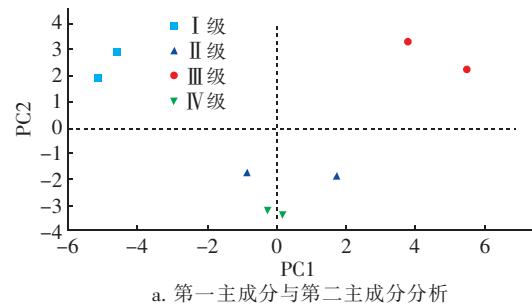


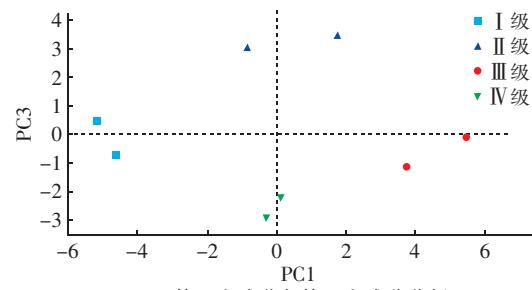
图4 滤池的微生物群落变化

Fig.4 Change of microbial community in biofilter

取96 h变化趋于稳定后<sup>[12]</sup>标准化的AWCD值进行主成分分析,按照累计贡献率>85%以及特征根>1提取出三个主成分,依次为PC1(50.558%)、PC2(30.556%)和PC3(18.886%),分别将第一主成分与第二主成分、第三主成分作图,表征各级微生物碳源代谢特征,其中各点间距离越近,其代谢特征相似程度越高<sup>[13~15]</sup>,结果见图5。



a. 第一主成分与第二主成分分析



b. 第一主成分与第三主成分分析

图5 各级生物滤池微生物群落利用碳源的主成分分析

Fig.5 Principal component analysis of carbon sources by microbial communities from each biofilter

由图5(a)可知,四级滤池代谢特征存在较明显的空间分布差异:第Ⅲ级滤池与第一主成分和第二主成分均呈正相关且相关性较高;第Ⅰ级滤池与第一主成分呈负相关,与第二主成分呈正相关;第Ⅱ级、第Ⅳ级滤池均与第二主成分呈负相关,且与第一主成分相关性较小。比较31种碳源在第一主成分和第二主成分上的荷载值,得出与PC1相关系数较

高的碳源按贡献值大小依次为:甘氨酰-L-谷氨酸、I-赤藻糖醇、N-乙酰基-D-葡萄胺、D-半乳糖醛酸、腐胺、 $\alpha$ -丁酮酸、D-纤维二糖、 $\beta$ -甲基-D-葡萄糖苷、D,L- $\alpha$ -甘油、D-氨基葡萄糖酸、吐温80、 $\gamma$ -羟基丁酸。其中,酸类占33.33%,糖类、醇、胺类各占16.67%,氨基酸类、酯类各占8.33%。与PC2相关系数较高的碳源贡献值大小依次为: $\alpha$ -环状糊精、丙酮酸甲酯、2-羟苯甲酸、L-丝氨酸、4-羟基苯甲酸、肝糖、L-苏氨酸,其中糖类、氨基酸类、酸类各占28.57%,酯类占14.29%。

由图5(b)可知,四级滤池之间依然存在明显的微生物种群多样性差异,第Ⅱ级滤池与第三主成分呈正相关且相关性较高,第Ⅳ级滤池与第三主成分呈负相关且相关性较高,第Ⅰ级和第Ⅲ级滤池与第三主成分相关性较小。比较31种碳源在第三主成分上的荷载值,得出与PC3相关系数较高的碳源按贡献值大小依次为L-苯基丙氨酸、D-半乳糖酸- $\gamma$ -内酯、 $\alpha$ -D-乳糖、D-木糖。其中糖类占50%,氨基酸类及酯类各占25%。

### 3 结论

① 横流式生物滤池在未投加碳源的条件下,对低C/N值污水中的NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TN、COD、浊度的去除率可分别稳定达到31%、33%、59%、93%以上。

② 从AWCD曲线特征来看,各级滤池之间的碳源代谢活性存在一定差异,第Ⅲ、Ⅳ级滤池的微生物活性整体高于第Ⅰ、Ⅱ级滤池,对碳源的利用程度较高。

③ 各级滤池都存在丰富的微生物群落结构,其中第Ⅲ级滤池的微生物多样性指数最高,第Ⅰ级滤池最低。

④ 横流式生物滤池在利用外部和内部碳源对原水进行反硝化脱氮的过程中,微生物碳源代谢差异较大,第Ⅰ、Ⅱ级滤池的外部碳源主要来自原污水,尤其第Ⅰ级滤池对糖类及蛋白质类利用率较高;第Ⅲ、Ⅳ级的内部碳源主要来自滤池上一个周期所积累的大量生物,使得第Ⅲ、Ⅳ级滤池对酸类的利用率高。

### 参考文献:

- [1] 龙向宇,谢军,唐然,等.珊瑚砂和陶粒填料曝气生物滤池处理生活污水的对比[J].中国给水排水,2017,33(15):20-24.
- [2] Long Xiangyu, Xie Jun, Tang Ran, et al. Comparative study on coral sand and ceramsite BAF for treating domestic wastewater [J]. China Water & Wastewater, 2017,33(15):20-24(in Chinese).
- [3] Xiao P Y, Lu P L, Zhang D J, et al. Effect of trace hydrazine addition on the functional bacterial community of a sequencing batch reactor performing completely autotrophic nitrogen removal over nitrite [J]. Bioresour Technol, 2015,175:216-223.
- [4] Kim D, Sorial G A. Role of biological activity and biomass distribution in air biofilter performance[J]. Chemosphere, 2007,66(9):1758-1764.
- [5] Garland J L. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology [J]. FEMS Microbiol Ecol, 1997,24(4):289-300.
- [6] 向红,吕锡武,杨飞,等.水质净化生物滤池工艺的微生物群落特征及运行效果研究[J].环境科学,2011,32(4):1194-1201.
- [7] Xiang Hong, Lu Xiwu, Yang Fei, et al. Characteristics of microbial community and operation efficiency in biofilter process for drinking water purification[J]. Environmental Science, 2011,32(4):1194-1201(in Chinese).
- [8] Kong X, Wang C, Ji M. Analysis of microbial metabolic characteristics in mesophilic and thermophilic biofilters using Biolog plate technique[J]. Chem Eng J, 2013,230(16):415-421.
- [9] Zak J C, Willing M R, Moorhead D L, et al. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach[J]. Soil Biol Biochem, 1994, 26 (9): 1101-1108.
- [10] 段跟定,王先宝,金鹏康,等.横流式滤池处理地表水作为景观用水的应用研究[J].中国给水排水,2015,31(17):78-81.
- [11] Duan Gending, Wang Xianbao, Jin Pengkang, et al. Application of cross flow filter to treatment of surface water as landscape water [J]. China Water & Wastewater, 2015,31(17):78-81(in Chinese).
- [12] De Fede K L, Sexstone A J. Differential response of size-fractionated soil bacteria in BIOLOG® microtitre plates [J]. Soil Biol Biochem, 2001,33(11):1547-1554.
- [13] 鞠花.以污泥低氧水解酸化产酸作为碳源的研究[D].西安:长安大学,2015.
- [14] Ju Hua. Research on Anaerobic Hydrolysis-acidification of Sludge as a Carbon Source[D]. Xi'an: Chang'an University, 2015(in Chinese).
- [15] Min K S, Park K S, Jung Y J, et al. Acidogenic ferment-

- tation: utilization of wasted sludge as a carbon source in the denitrification process [J]. Environ Technol, 2002, 23(3):293–302.
- [12] 贾夏,董岁明,周春娟. 微生物生态研究中 Biolog Eco 微平板培养时间对分析结果的影响[J]. 应用基础与工程科学学报,2013,21(1):10–19.  
Jia Xia, Dong Suiming, Zhou Chunjuan. Effects of Biolog Eco-plates incubation time on analysis results in microbial ecology researches [J]. Journal of Basic Science and Engineering, 2013, 21(1):10–19 (in Chinese).
- [13] Arimoto R, Duce R A, Savoie D L, et al. Relationships among aerosol constituents from Asia and the North Pacific during Pem – West [J]. J Geophys Res, 1996, 101 (D1):2011–2023.
- [14] 明星,姚建,程欢,等. 基于主成分分析与聚类分析的水污染排放分布研究[J]. 绿色科技,2016,(10):36–38.  
Ming Xing, Yao Jian, Cheng Huan, et al. Research on distribution of water pollution emission based on principal component analysis and cluster analysis [J]. Journal of Green Science and Technology, 2016, (10):36–38 (in Chinese).
- [15] 桑慧茹,王丽学,陈韶明,等. 基于主成分分析的 RBF

神经网络在需水预测中的应用[J]. 水电能源科学, 2017,35(7):58–61.

Sang Huiru, Wang Lixue, Chen Shaoming, et al. Water demand forecast model of RBF neural networks based on principal component analysis [J]. Water Resources and Power, 2017,35(7):58–61 (in Chinese).



**作者简介:**薛婧秋(1993–),女,陕西咸阳人,硕士研究生,主要研究方向为水处理理论与技术。

**E-mail:**xuejingqiuajz@163.com

**收稿日期:**2018–05–12

(上接第 57 页)

- [J]. Environ Geochem Health, 2012,34(1):141–150.
- [5] Nahar M S, Zhang J. Impact of natural water chemistry on public drinking water in Japan [J]. Environ Earth Sci, 2013,69(1):127–140.
- [6] Whelton A J, Dietrich A M, Burlingame G A, et al. Minerals in drinking water: impacts on taste and importance to consumer health [J]. Water Sci Technol, 2007, 55 (5): 283–291.
- [7] Hashimoto S, Fujita M, Furukawa K, et al. Indices of drinking water concerned with taste and health [J]. J Ferment Technol, 1987,65(2):185–192.
- [8] 袁东,陈仁杰,钱海雷,等. 城市生活饮用水综合指数评价方法建立及其应用[J]. 环境与职业医学,2010, 27(5):257–260.  
Yuan Dong, Chen Renjie, Qian Hailei, et al. An integrated index approach established and its application to evaluate drinking water quality in Shanghai [J]. Journal of Environmental & Occupational Medicine, 2010, 27 (5):257–260 (in Chinese).

- [9] WHO. Guidelines for Drinking-water Quality: Fourth Edition, Incorporating the First Addendum [M]. Geneva: World Health Organization, 2017.



**作者简介:**李洁(1988–),女,河北保定人,硕士,工程师,主要从事水中污染物质分析及膜法水处理技术相关研究。

**E-mail:**lijie@rcees.ac.cn

**收稿日期:**2018–05–12