

技术总结

DOI: 10. 19853/j. zgjsps. 1000-4602. 2024. 15. 007

温度影响BAC去除饮用水中氨氮的生物学机理

牛佳¹, 余爽¹, 汤旻旻¹, 黄怡婷¹, 龚琬聪², 王悦²,
陈泽昕¹, 鲁雯琪¹, 陈晓晨³

(1. 福建理工大学生态环境与城市建设学院 福建省水污染阻控与系统智能技术工程研究中心, 福建 福州 350118; 2. 福州市自来水有限公司, 福建 福州 350001; 3. 福州大学环境与安全工程学院, 福建 福州 350108)

摘要: 针对低温时饮用水深度处理工艺生物活性炭(BAC)无法高效去除水中氨氮的问题, 选用实际水厂运行中的BAC搭建滤柱连续培养反应器, 通过室内控制实验, 对比常温和低温下不同层BAC的氨氮去除效果及其硝化潜势, 并运用分子生物学技术解析BAC上氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)的群落丰度和群落结构。结果表明, 尽管低温时BAC各层去除氨氮的效率低于常温, 但在一个反冲洗周期的后段仍能够达到常温时的氨氮去除效果, 且其硝化潜势高于常温。低温下BAC上氨氧化微生物丰度高于常温, 且AOA的数量变化最大(增加2个数量级)。针对功能基因 $amoA$ 的T-RFLP分析发现, A-OTU2和A-OTU3以及B-OTU5分别为低温下主导的AOA和AOB。今后应更加关注低温下AOA及特定菌种在BAC上的定植及活性促进问题。

关键词: 温度; 氨氮; 生物活性炭; 氨氧化古菌; 氨氧化细菌; 群落结构

中图分类号: TU991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2024)15-0044-06

Biological Mechanism of Temperature Affecting the Removal of Ammonia Nitrogen from Drinking Water by Biological Activated Carbon

NIU Jia¹, YU Shuang¹, TANG Yang-yang¹, HUANG Yi-ting¹, GONG Long-cong²,
WANG Yue², CHEN Ze-xin¹, LU Wen-qi¹, CHEN Xiao-chen³

(1. Fujian Engineering Research Center of Water Pollution Control and System Intelligence Technology, School of Ecological Environment and Urban Construction, Fujian University of Technology, Fuzhou 350118, China; 2. Fuzhou Water Supply Co. Ltd., Fuzhou 350001, China; 3. College of Environment and Safety Engineering, Fuzhou University, Fuzhou 350108, China)

Abstract: Aiming at the issue that biological activated carbon (BAC) fails to effectively remove ammonia nitrogen in drinking water during advanced treatment at low temperature, the BAC in an actual operating waterworks was chosen to establish a filter for continuous cultivation. Through indoor control experiments, the ammonia nitrogen removal performance and nitrification potential of different layers of BAC at normal and low temperature were compared. The abundance and community composition of AOA

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52000032); 福建省自然科学基金资助项目(2023J01933); 福州市自来水有限公司合作项目(GY-H-23326); 福建理工大学大学生创新创业训练计划项目(S202110388081)

通信作者: 陈晓晨 E-mail: chenxiaochen@fzu.edu.cn

and AOB communities on BAC were analyzed using molecular biology techniques. Although the removal efficiency of each BAC layer at low temperature was lower than that at normal temperature, the removal efficiency of ammonia nitrogen at normal temperature could still be attained in the latter part of a backwashing cycle, and the nitrification potential was higher than that at normal temperature. The abundance of ammonia-oxidizing microorganisms on BAC at low temperature was greater than that at normal temperature, and the abundance of AOA changed the most (increased by 2 orders of magnitude). The T-RFLP analysis of the functional gene *amoA* demonstrated that A-OTU2 and A-OTU3 were the dominant AOA, and B-OTU5 was the dominant AOB at low temperature. In the future, greater emphasis should be placed on the colonization and activity enhancement of AOA and specific strains on BAC at low temperature.

Key words: temperature; ammonia nitrogen; biological activated carbon; ammonia-oxidizing archaea; ammonia-oxidizing bacteria; community composition

氨氮污染是微污染源中长期存在的主要问题之一。传统饮用水处理工艺的混凝、沉淀等步骤无法有效去除氨氮,而水中残留的氨氮极可能与消毒剂(如液氯、次氯酸钠)反应,进而产生消毒副产物、三氯胺等,引发的水中嗅味和健康问题备受关注。此外,随着饮用水在管网中输配距离的延长,已形成的氯胺、三氯胺等会释放出部分氨氮。作为氨氧化微生物生长繁殖的底物,氨氮将导致管网硝化作用的发生^[1],从而进一步破坏饮用水的化学和生物稳定性。

近年来,国内外许多城市的自来水厂相继引入了臭氧/生物活性炭(O₃/BAC)工艺,该工艺具有适应面广、降解有机物效率高等特点,已成为微污染源深度处理的重要手段,而氨氮的去除是关注的方向之一。尽管已有报道证实BAC能有效去除水中的氨氮^[2],但在长期的生产实践中也发现冬季低温期可能导致氨氮去除效果显著降低^[3]。

事实上,BAC对氨氮的去除能力主要依靠在其上生长的氨氧化微生物——氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB),并与这些微生物的数量、群落结构和代谢活性等密切相关^[4]。已有研究发现,AOA不仅可以与AOB共存于多种环境介质中,而且其数量高于AOB,同时由于AOA对氨氮较高的亲和性及对环境的适应能力,在一些寡营养环境中AOA对氨氮去除的贡献更为突出^[5-6]。然而,到目前为止,关于温度对BAC去除氨氮影响的相关研究,要么是粗浅地对不同温度下BAC的氨氮去除能力进行比较^[7],要么仅是给出原位BAC上氨氧化微生物群落

的生态快照^[6,8],全然无法系统而深入地阐明BAC上氨氧化微生物群落对温度的响应情况,更无法期待其为相关处理工艺的改进提供有价值的信息。

鉴于此,笔者选用实际水厂运行中的BAC来搭建滤柱连续培养反应器,对比常温(25℃)和低温(5℃)条件下,BAC对进水氨氮的去除效果及硝化潜势,重点分析BAC不同层上的氨氧化微生物AOA和AOB的丰度及多样性,进而从生物学角度探讨温度对BAC去除水中氨氮的影响机理。研究结果有望丰富和发展氨氧化微生物在水处理工艺领域的相关科学理论,并为饮用水深度处理BAC工艺的运行和优化奠定基础。

1 材料与方法

1.1 反应器搭建及运行

BAC来自国内某自来水厂,前期已稳定运行1年。水厂的主要处理工艺为混凝-沉淀-臭氧/生物活性炭-砂滤-次氯酸钠消毒。BAC连续培养反应器如图1所示,滤柱为有机玻璃材质的圆柱体,柱高为2 m,内径为60 mm,底部配水区高200 mm,配水区内设有进水管、反冲洗水管、反冲洗气管和充氧管,进水管和反冲洗水管连接水泵加压装置。反应器采用孔板布水的配水方式,配水孔板上布有两层石英砂将BAC层和配水区隔开,石英砂粒径自上而下分别为8~16和3~10目。为尽可能真实地模拟实际水厂的运行状况,将BAC填充高度设计为1 600 mm,滤柱为上向流。在炭层底部高100 mm处设置第一个取样口,后续每隔150 mm设置一个,共设置11个取样口,用于采集水样和BAC样品。滤柱

运行一年期间用锡箔纸包裹外层,以模拟BAC的实际运行工况,同时避免光照对BAC上微生物的影响。将去除余氯和微生物的实验室龙头水作为滤柱进水,外源添加氨氮使进水的氨氮浓度维持在0.5 mg/L,进水水箱内设有控温和保温装置,从而实现对BAC进水温度的精准调控。

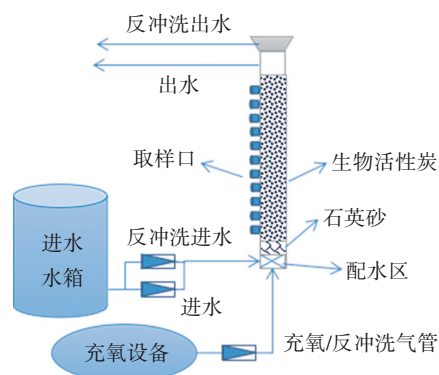


图1 BAC连续培养反应器示意

Fig.1 Schematic diagram of continuous culture BAC reactor

1.2 BAC的氨氮去除效果及硝化潜势测定

根据进水流向,将距炭层底部0~0.55 m的高度定义为低层、0.55~1.1 m为中层、1.1~1.6 m为高层。BAC滤柱在常温和低温培养下分别达到稳定运行(进出水水质稳定)后,每隔24 h监测一个反冲洗周期内(144 h)沿滤柱高度的11个取样口的出水氨氮浓度,以表征BAC对氨氮的去除效果。

BAC硝化潜势测定参考Kasuga等^[5]和Niu等^[6]的方法,将培养第1小时内单位质量BAC去除氨氮速率[单位为mg/(L·h)]除以BAC干质量(单位为g)作为BAC的硝化潜势。

1.3 微生物群落解析

样品的处理及DNA提取:取不同温度下BAC滤柱的低、中、高三层生物活性炭样品进行分子生物学研究。将1×PBS溶液加入BAC样品后振荡,在12 000 r/min下离心2 min,得到的沉淀用E. Z. N. A™ Mag-Bind Soil DNA Kit (Omega, 美国)进行DNA提取,并用琼脂糖凝胶电泳检测提取DNA的完整性。

实时荧光定量PCR分析:采用SYBR荧光染料法对氨氧化微生物功能基因(*amoA*基因)进行实时荧光定量PCR(Q-PCR)分析。引物 Arch-*amoA*F和 Arch-*amoA*R用于对AOA的*amoA*基因进行扩增,引物序列分别为STAATGGTCTGGCTTAGACG和GC-

GGCCATCCATCTGTATGT。PCR扩增程序为95 °C/5 min→95 °C/10 s→53 °C/20 s→72 °C/30 s,共50个循环,然后进行溶解曲线检测。采用*amoA*基因克隆NG-B-081028_K1 (accession No. AB550804)作为古菌的标准基因。引物 *amoA*1F*和*amoA*2R用于对AOB的*amoA*基因进行扩增,引物序列分别为GGGGHTTYTACTGGTGCT和CCCCTCKGSAAAGCC-TTCTTC。PCR扩增程序为95 °C/5 min→95 °C/10 s→54 °C/20 s→72 °C/30 s→80 °C/5 s,共进行50个循环,然后进行溶解曲线检测。*Nitrosomonas europaea* ATCC 19718的*amoA*基因作为细菌的标准基因。

末端限制性片段长度多样性分析:运用末端限制性片段长度多样性技术(T-RFLP)分析BAC上的氨氧化微生物群落结构,使用与Q-PCR相同的引物进行扩增。Arch-*amoA*F和*amoA*1F*的5'端被6-羧基荧光素(6-FAM)标记,并采用10 U Hha I 处理AOA的*amoA*基因,10 U Taq I 处理AOB的*amoA*基因。最后通过测序仪(ABI Verity 96well, 美国)对片段进行测序,用Genemapper软件对T-RFLP数据进行分析。基因片段大于50 bp的用于进行微生物多样性分析。

2 结果与讨论

2.1 不同温度下BAC的氨氮去除效果和硝化潜势

一个反冲洗周期内,BAC不同层的氨氮浓度如图2所示。可知,在进水氨氮浓度为0.5 mg/L时,常温下,在低层即可完全去除水中氨氮。但在低温条件下,第一天的氨氮去除效果低于常温,在中层取样口(0.7 m)仍能检出一定量的氨氮(0.01 mg/L),表明此时低层已无法完全去除水中氨氮,需要中层发挥作用。常温下BAC的平均降解速率为1.16 g/(h·m³),而低温下第一天的降解速率仅为0.79 g/(h·m³),随着运行时间的延长,BAC的氨氮去除率逐渐增强,到第5天已达到1.08 g/(h·m³)。这与Han等^[9]观察到曝气生物滤池(BAF)在低温期氨氮去除效果随着培养时间的增加而增强的现象一致,考虑与滤料上所附着生长的氨氧化微生物群落多样性增加有关。此外,从各层水中氨氮降解结果来看,低温确实降低了BAC对氨氮的降解速率,这与上海市某给水厂^[10]和土耳其Pasakoy污水厂^[11]在低温枯水期运行时的现象相近。但从最终的出水氨氮浓度结果来看,模拟实际水厂滤池高度及运行条

件等参数而设计的反应器在低温条件下仍能成功实现对水中氨氮的完全去除。

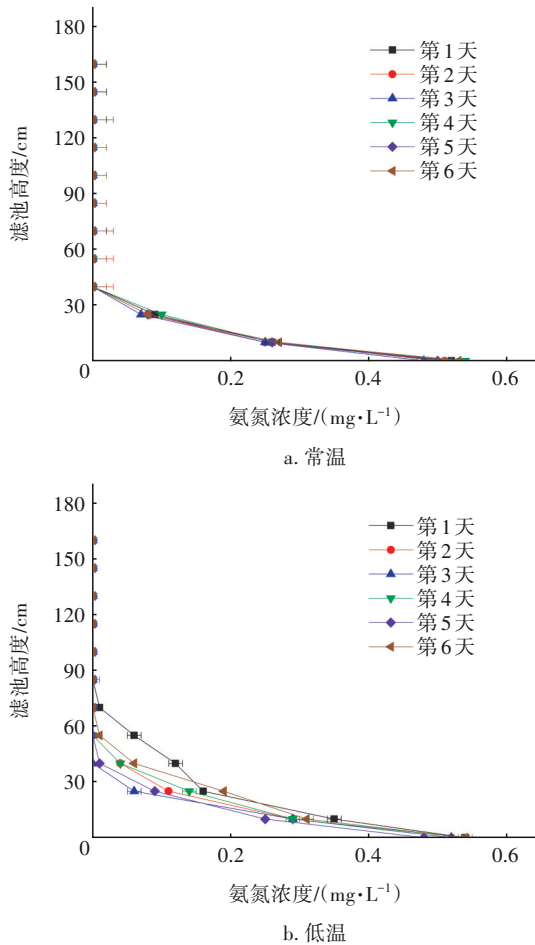


图2 一个反冲洗周期内BAC不同层的氨氮浓度

Fig.2 Ammonia nitrogen concentrations in different layers of BAC column during a backwashing cycle
BAC各层的硝化潜势如图3所示。

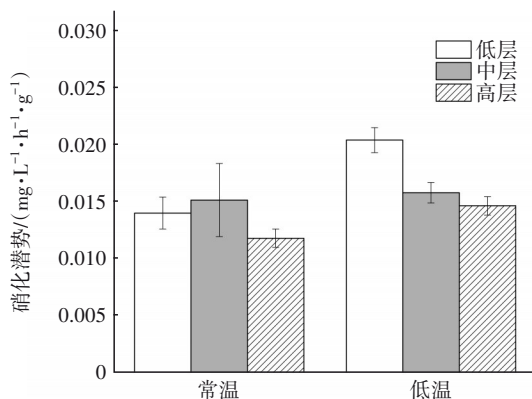


图3 BAC各层的硝化潜势

Fig.3 Nitrification potential of different layers of BAC column

由图3可知,低、中、高各层的硝化潜势范围为

0.012~0.020 mg/(L·h·g),与已经报道的日本水厂BAC硝化潜势相当^[6]。常温下,BAC各层的硝化潜势无显著差异($p>0.05$)。而低温下,BAC的硝化潜势呈现出低层显著高于中层和高层的现象($p<0.05$),且除中层外,其余各层的硝化潜势均显著高于常温情况($p<0.05$)。尽管BAC在低温时对氨氮的去除效果不如常温,但在实验室内相对最适宜的培养条件下却展现出了更高的硝化潜能,这一看似“矛盾”的现象进一步说明BAC对氨氮的去除能力受到了低温的抑制。此外,低温下各层硝化潜势差异较大,对于上向流BAC来说,低层硝化潜势最高,是去除氨氮的主要场所。

2.2 不同温度下BAC各层的氨氧化微生物丰度

BAC各层AOA和AOB的*amoA*基因数量如图4所示。可知,常温和低温下两种氨氧化微生物在BAC各层呈现出全然不同的数量分布特征。已有的研究表明,AOA比AOB更倾向于极低的氨氮浓度环境^[12],并且在低氨氮浓度下,AOA具有更强的竞争力^[13]。Kasuga等^[5]和Niu等^[6]也都曾报道AOA是大多数BAC上的主要氨氧化微生物。然而本研究却发现,常温条件下仅在低层检测到AOA,而AOB则在各层均有分布;同时低层BAC上AOA和AOB的*amoA*基因数量没有显著差异($p>0.05$)。可见,AOB是常温下BAC上的主要氨氧化微生物类型。Niu等^[6]认为,当BAC反冲洗间隔在120 h以上时,BAC上主要氨氧化微生物为AOB。本研究的反冲洗时间(144 h)恰好符合条件,可能是造成AOB占主导的原因。此外,常温下中层和高层中并未检测到AOA,与这些层的水中未检测到氨氮,从而缺少生长底物有关。与AOA不同,AOB的部分菌属为混合营养型氨氧化微生物^[14],即便在缺少氨氮的中、高层仍可通过利用有机物中的氮素进行生长代谢。

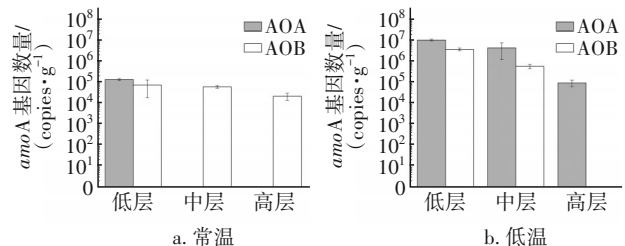


图4 BAC各层AOA和AOB的*amoA*基因数量

Fig.4 *amoA* gene abundance of AOA and AOB in different layers of BAC column

由图4(b)可知,低温下,BAC上各层均有AOA

检出,且AOA在低层的数量显著高于常温($p < 0.05$),这与Niu等^[6]在冬季开展BAC研究所发现的现象一致。AOB仅分布在低层和中层,且低层AOA的数量显著高于AOB($p < 0.05$)。可见,AOA是低温下BAC上的主要氨氧化微生物。不同于Niu等^[6]报道的AOB在冬季数量降低的现象,本研究在能够于低温下测得AOB的低层和中层,其数量仍然较常温显著增加($p < 0.05$)。Jantarakasem等^[8]在BAC小试研究中也获得了类似结果,其进水氨氮浓度为1 mg/L,与本研究的0.5 mg/L相当,远高于Niu等^[6]报道的0~0.06 mg/L。综上所述,推断低温下AOB数量的变化可能与进水氨氮浓度有关,即当氨氮浓度较高时,AOB数量增加;当氨氮浓度较低时,AOB数量减少。此外,AOA和AOB在低温下的数量更高也在一定程度上解释了BAC在低温下硝化效率逐渐增强和具有更高硝化潜能的原因。如何于低温下尽可能地发挥BAC上氨氧化微生物,尤其是AOA的硝化能力,应成为今后研究的重点。

2.3 不同温度下BAC上氨氧化微生物的群落分析

BAC上AOA的群落多样性如图5所示。

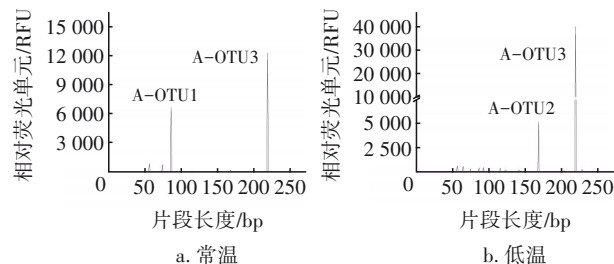


图5 BAC上AOA的群落多样性

Fig.5 Community diversity of AOA on BAC

由图5可知,从低层BAC上获得了AOA的PCR产物。不同温度下的BAC上共检出3种AOA,分别命名为A-OTU1、A-OTU2和A-OTU3。根据T-RFLP半定量的特点,比较不同峰的相对荧光单元可以得出不同温度下BAC上的优势AOA。常温下,A-OTU1和A-OTU3为优势菌种;低温下,A-OTU2和A-OTU3为优势菌种。可见,A-OTU3在低温和常温下都是优势菌种。此外,将本研究中T-RFLP片段长度与Zhang等^[15]和Niu等^[6]已报道的T-RFLP片段长度进行对比发现,A-OTU2和A-OTU3的*amoA*基因序列在系统发育树上被鉴定为水系AOA (group I. 1a),与淡水系统、自来水厂及脱氮污水厂中得到的AOA序列相似,而这些序列与第一株发现

的AOA(*Nitrosopumilus maritimus*)同源性较高。

BAC上AOB的群落多样性如图6所示。可知,从低层BAC上获得了AOB的PCR产物。不同温度下的BAC上共检出6种AOB,种类较AOA更为丰富。其中仅B-OTU3在常温 and 低温下都存在。Sundberg等^[16]发现了AOB的群落组成及优势菌种易随温度变化的特点。同时AOB在低温下多样性的改变也可能是BAC在低温运行时最终能够保持与常温下相当的硝化效率的原因之一。本研究BAC上的AOB序列与*Nitrosomonas* sp. 最为相似,*Nitrosomonas*属的AOB已被证实含有尿素酶基因^[14],可以利用有机氮作为氮源。从T-RFLP峰的相对荧光单元可以看出,常温下AOB中B-OTU1和B-OTU3占优势,而低温下则为B-OTU5占优势。

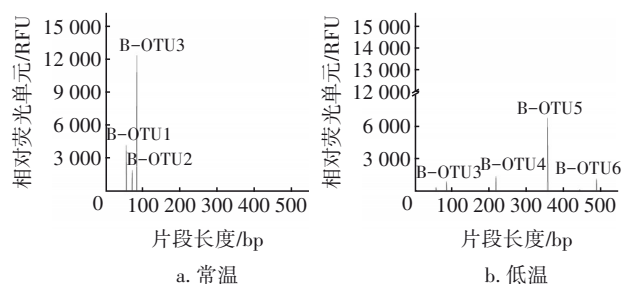


图6 BAC上AOB的群落多样性

Fig.6 Community diversity of AOB on BAC

3 结论

① 尽管BAC在低温时的氨氮去除效果低于常温,但在一个反冲洗周期内,随着运行时间的延长,也能达到常温时的氨氮去除效果。此外,低温下BAC具有更高的硝化潜能,且低层最高。

② 低温下BAC具有更高的氨氧化微生物数量,以AOA的变化为甚,高出常温两个数量级。如何于低温下尽可能地发挥氨氧化微生物,尤其是AOA的硝化能力,应成为今后研究工作的重点。

③ 针对功能基因*amoA*的T-RFLP分析发现,A-OTU2、A-OTU3和B-OTU5是低温下的优势氨氧化微生物菌种,与水系AOA和混合营养型AOB *Nitrosomonas*的序列相似性较高。今后应重点开展分离、培养鉴定及促进其对BAC氨氧化的贡献等方面的研究,助力BAC工艺的平稳运行和优化升级。

参考文献:

- [1] 周正协,陈卫,许航,等. 原水输送管道生物膜的生长及其对硝化作用的影响[J]. 中国给水排水, 2018, 34

- (13): 48–52, 57.
- ZHOU Zhengxie, CHEN Wei, XU Hang, *et al.* Biofilm formation and its effect on nitrification in raw water distribution pipeline [J]. *China Water & Wastewater*, 2018, 34(13): 48–52, 57(in Chinese).
- [2] DOS SANTOS P R, DANIEL L A. A review: organic matter and ammonia removal by biological activated carbon filtration for water and wastewater treatment [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2020, 17(1): 591–606.
- [3] LIU Z, LOMPE K M, MOHSENI M, *et al.* Biological ion exchange as an alternative to biological activated carbon for drinking water treatment [J]. *Water Research*, 2020, 168: 115148.
- [4] YIN Z X, BI X J, XU C L. Ammonia-oxidizing archaea (AOA) play with ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in nitrogen removal from wastewater [J]. *Archaea*, 2018. DOI:10.1155/2018/8429145.
- [5] KASUGA I, NAKAGAKI H, KURISU F, *et al.* Predominance of ammonia-oxidizing archaea on granular activated carbon used in a full-scale advanced drinking water treatment plant [J]. *Water Research*, 2010, 44(17): 5039–5049.
- [6] NIU J, KASUGA I, KURISU F, *et al.* Abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria on granular activated carbon and their fates during drinking water purification process [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(2): 729–742.
- [7] 刘建广, 张晓健, 王占生. 温度对生物炭滤池处理高氨氮原水硝化的影响 [J]. *中国环境科学*, 2004, 24(2): 233–236.
- LIU Jianguang, ZHANG Xiaojian, WANG Zhansheng. Influence of temperature on treating nitrification of high ammonia nitrogen source water in biological carbon filter [J]. *China Environmental Science*, 2004, 24(2): 233–236(in Chinese).
- [8] JANTARAKASEM C, KASUGA I, KURISU F, *et al.* Temperature-dependent ammonium removal capacity of biological activated carbon used in a full-scale drinking water treatment plant [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(20): 13257–13263.
- [9] HAN M, ZHAO Z W, GAO W, *et al.* Study on the factors affecting simultaneous removal of ammonia and manganese by pilot-scale biological aerated filter (BAF) for drinking water pre-treatment [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 145: 17–24.
- [10] 李建勇, 朱斌, 段冬. 季节变化对O₃—BAC工艺氨氮处理效果影响的研究 [J]. *给水排水*, 2013, 39(8): 32–35.
- LI Jianyong, ZHU Bin, DUAN Dong. Impacts of the changes of season on the treatment effect of ammonia nitrogen by O₃—BAC [J]. *Water & Wastewater Engineering*, 2013, 39(8): 32–35(in Chinese).
- [11] KALKAN C, YAPSAKLI K, MERTOGLU B, *et al.* Evaluation of biological activated carbon (BAC) process in wastewater treatment secondary effluent for reclamation purposes [J]. *Desalination*, 2011, 265(1/3): 266–273.
- [12] MARTENS-HABBENA W, BERUBE P M, URAKAWA H, *et al.* Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying archaea and bacteria [J]. *Nature*, 2009, 461(7266): 976–981.
- [13] NIU J, KASUGA I, KURISU F, *et al.* Evaluation of autotrophic growth of ammonia-oxidizers associated with granular activated carbon used for drinking water purification by DNA-stable isotope probing [J]. *Water Research*, 47(19): 7053–7065.
- [14] XIANG X J, HE D, HE J S, *et al.* Ammonia-oxidizing bacteria rather than archaea respond to short-term urea amendment in an alpine grassland [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 107: 218–225.
- [15] ZHANG T, JIN T, YAN Q. Characterization and quantification of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and bacteria (AOB) in a nitrogen-removing reactor using T-RFLP and qPCR [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 87(3): 1167–1176.
- [16] SUNDBERG C, STENDAHL J S K, TONDERSKI K, *et al.* Overland flow systems for treatment of landfill leachates: potential nitrification and structure of the ammonia-oxidising bacterial community during a growing season [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(1): 127–138.

作者简介: 牛佳(1985–), 女, 山西太原人, 博士, 副教授, 主要研究方向为水处理生物学过程、氮循环及氨氧化微生物多样性、水质安全保障等。

E-mail: niujia2221@126.com

收稿日期: 2022-06-22

修回日期: 2022-09-19

(编辑: 任莹莹)