溶解氧及曝停比对单级自养脱氮系统微生物群落结构的影响

秦宇, 郭劲松, 方芳*, 杨国红

(重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045)

摘要: 为研究溶解氧及曝停比对单级自养脱氮系统微生物群落结构的影响, 从不同溶解氧水平及曝停比条件下的 SBBR 单级自养脱氮反应器中采集活性污泥及生物膜样品, 进行 PCR-DGGE 及条带统计分析. 结果表明, 经过 1.5 a 稳定运行, 该系统内微生物群落结构与接种污泥相比已变得简单且较稳定. 曝停比为 2 h∶2 h 的条件下, 中高低 3 种溶解氧水平中, 生物膜微生物群落丰富度值均高于活性污泥. DO 在(曝气) 2.0 mg/L(停曝) 0.4 mg/L时系统运行效能最佳, 微生物群落丰富度值最高, 生物膜和活性污泥样品中条带数分别约为 14 条和 10 条, 微生物的多样性及相互协同代谢过程是维持单级自养脱氮系统具有较高运行效能的一个关键因素. 此外, 曝停比对单级自养脱氮系统微生物群落结构有较大影响. 3 h∶5 h 的较长曝停周期下, 活性污泥与生物膜微生物组成接近, 相似性为 100%, 各类细菌虽在活性污泥与生物膜中均能生存但活性较低, 系统运行效能差.

关键词: 单级自养脱氮; DO; 曝停比; PCR-DGGE; 微生物群落结构

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)02-0493-06

Effect of DO and Aeration/Non-aeration Ratio on the Microbial Community Structure in One-Step SBBR Completely Autotrophic Nitrogen Removal Process

QIN Yu, GUO Jin-song, FANG Fang, YANG Guo-hong

(Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China)

Abstract: To analyze the effect of DO and aeration/non-aeration ratio on the microbial community structure, active sludge and biofilm samples were taken from the SBBR one-step completely autotrophic nitrogen removal reactor under different DO concentrations and aeration/non-aeration ratios. By PCR-DGGE and bands statistical analyses, results show that through one and a half year of operation, the microbial community structures in this system has changed a lot compared with the inoculum. The bacterial richness values of biofilm are higher than active sludge in 2 h∶2 h aeration/non-aeration ratio, no matter when moderate, high and low DO concentration. When this system is operated under the most efficient condition: DO= 2.0(aeration) mg/L, 0.4(non-aeration) mg/L, the bacterial richness values are the highest. There are about 14 and 10 bands in the biofilm and active sludge samples respectively. The diversities of bacterium and their co-metabolisms are the key factors of maintaining a high operate efficiency. In addition, the aeration/non-aeration ratio also has the influence on the microbial community structure. Under long aeration/non-aeration ratio of 3 h∶5 h, microbial community structure of biofilm is similar with active sludge. The comparability is 100%. The activities of aerobic and anaerobic bacterium have lost much that makes low efficiency of this system although they could survive both in active sludge and biofilm.

Key words: one-step completely autotrophic nitrogen removal; DO; aeration/non-aeration ratio; PCR-DGGE; microbial community structure

废水生物脱氮、防止水体富营养化是水污染控制领域的一个研究重点. 单级自养脱氮工艺是诸多新型生物脱氮工艺中的一种, 该工艺在一个反应器中完成氨氮至 N_2 的全部转化过程, 且该过程全部由同一微生物体系内的自养菌完成, 在处理高氨氮、低 C/N 废水方面具有简易、高效、低耗等明显优势.

单级自养脱氮现象发现较晚, 学术界有一种观点认为, 单级自养脱氮工艺可通过亚硝化和厌氧氨氧化的工艺组合方式实现, 其技术关键是控制反应器中的溶解氧浓度和氨氮浓度, 以创造一个以亚硝化单胞菌和厌氧氨氧化菌为优势菌种的微环境, 从而推动亚硝化和厌氧氨氧化这 2 个由自养菌完成的过程顺利进行[1]. 因此, 反应器内如何形成一个好氧与厌氧的兼容环境, 将是决定系统脱氮效果的一个关键控制参数, 而溶解氧及曝停比作为单级自养脱氮工艺最重要控制因素受到了国内外研究者的关注并对其进行了探讨研究. Hippen 等[2] 发现, 在 DO 浓度为 0.8~1.0 mg/L, 超过 60% 的氨氮被转化成 N_2 而得到去除. 廖德祥等[3] 的研究中, DO 控制在 0.5

收稿日期: 2008-03-22; 修订日期: 2008-07-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(50608071); 高等学校博士学科点专项科研基金项目(20050611010); 污染控制与资源化研究国家重点实验室开放项目(PCRRF06001); 重庆大学研究生科技创新基金项目(200811A1A0120301)

作者简介: 秦宇(1981~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为为水生物处理理论与技术, E-mail: qinyu54001@163.com

* 通讯联系人, E-mail: xjhe@tom.com

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

~ 0.7 mg/L时, 氨氮转化率达 90%以上, 出水亚硝态氮和硝态氮浓度很低; DO 为 0.2~ 0.3 mg/L时, 氨氮转化率只有 54.6%. 方芳等[4] 在连续与间歇曝气方式的单级自养脱氮工艺中发现, DO 为 0.8~ 1.0 mg/L, 连续曝气系统的氨氮转化率和总氮去除率分别达到 80% 和 70%. DO 为(曝气) 2.0~ 2.5/(停曝) 0.2~ 0.4 mg/L, 曝/停比为 2 h∶2 h 的系统则达到 90% 和 80%以上. Hao 等[5] 对 CANON 建立的数学模型表明, 在氨氮表面负荷(以 N 计)为 2 g/(m^2·d), 温度 30 ℃, DO 浓度 1.3 mg/L, TN 的去除率为 82%. 这些研究虽有助于了解单级自养脱氮工艺宏观控制参数方面信息, 但关于系统内微生物群落结构与反应器宏观控制参数相关性的研究尚显不足, 使得单级自养脱氮的宏观表象仍缺乏必要的微观研究成果佐证, 其脱氮机制仍不明晰.

本研究从不同溶解氧水平及曝停比条件下的 SBBR 单级自养脱氮反应器中采集活性污泥及生物膜样品, 提取基因组总 DNA, 扩增出目标 16S rDNA 片段. 对扩增的 16S rDNA 进行 PCR-DGGE、凝胶染色及条带统计分析, 研究 DO 及曝停比对单级自养脱氮系统内微生物群落结构的影响, 通过比对寻求活性污泥与生物膜样品间的相关性, 探讨 SBBR 反应器中二者微生物组成的差异, 从微生物角度为单级自养脱氮工艺的宏观控制提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 试验装置及接种污泥

单级自养脱氮反应器[6] 接种污泥来自重庆市渝北区城南污水处理厂曝气池和唐家桥污水处理厂浓缩池, 污泥接种浓度(以 VSS 计)为 3.8 g/L. 该反应器内置空心球填料及软性组合填料以强化微生物附着能力. 在温度为 30 ℃、pH 为 8.0 左右的条件下, 加入人工合成氨氮废水进行逐步培养和驯化. 合成氨氮废水中不含有机碳源, NH_4HCO_3 浓度为 100~ 300 mg/L, 以 N∶P 为 10∶1 的比例加入磷酸盐缓冲溶液, 另外加入 Fe、Mg 等微量元素, 以 $NaHCO_3$ 调节溶液 pH 值.

1.2 样品准备

该 SBBR 单级自养脱氮反应器活性污泥样品从反应器中吸取泥水混合物 10 mL, 于 10 000 r/min高速离心 5 min, 将离心污泥置于- 20 ℃冰箱保存, 待 DNA 提取. 生物膜样品取自系统内不同垂直深度及水平位置的空心球填料及软性组合填料, 用无菌刷和无菌剪取下生物膜样品后溶于 100 mL 无菌水中, 同样 10 000 r/min高速离心 5 min, 将离心污泥置于- 20 ℃冰箱保存, 待 DNA 提取. 接种污泥样品于系统接种时同期采取, 将该离心污泥样品于- 70 ℃保存.

1.3 DNA 提取

采用上海博彩生物试剂公司 K717 环境基因组 DNA 提取试剂盒提取样品 DNA. 提取后的 DNA 样品用 0.7% 琼脂糖(含 0.5 μg/mL的溴化乙锭溶液)电泳, BIO-RAD Versa Doc 系统照相.

同时取 1 μL DNA 样品稀释 50 倍后通过 BECKMAN COULTER DU640 系统进行定量测定, 计算公式为[DNA] = 50 × (D_{260} - D_{310}) (ng/μL), 根据公式计算 DNA 的浓度.

1.4 PCR 扩增

采用 PCR 通用引物用于细菌 16S rDNA V3 的片断扩增. 上下游引物分别为 5′-CGCCCGCCGCGCGCGGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGGCCCCATACGGGAGGCAGCAG-3′, 5′-ATTACCGCGGCTGCTGG-3′[7]. 其中"GC 夹"是专为后续 DGGE 添加设计.

PCR 反应采用 30 μL 的反应体系, 各组分终浓度分别为: PCR buffer(不含 Mg^{2+}) 1 ×; Mg^{2+} 2 mmol/L; 4 种脱氧核苷酸(dNTP)的混合物 0.2 mmol/L; 上下游引物各 0.2 μmol/L; *Taq* 酶 0.5 U; 模板 DNA 20~ 50 ng; 最后加 MilliQ 水至 30 μL.

扩增反应在 BIO-RAD 公司的 iCycler Thermal Cycler 中进行, 具体运行条件如下: 94 ℃, 预变性 5 min; 94 ℃, 变性 45 s、60 ℃复性 45 s、2 ℃延伸 90 s, 共 30 个循环; 72 ℃延伸 10 min.

试验中 PCR 引物由英骏公司合成, *Taq* 酶、PCR buffer、Mg^{2+} 及 dNTPs 由天根公司提供. PCR 扩增产物用 2% 的琼脂糖(含 0.5 μg/mL的溴化乙锭溶液)凝胶电泳检查, BIO-RAD Versa Doc 系统观察并照相.

1.5 DGGE 凝胶电泳及多样性分析

DGGE 所用仪器为 Dcode TMU niversal Mutation Detection System (U. S. A, Bio-Rad Co.). DGGE 电泳所用的胶浓度为 8%(质量分数, 丙烯酰胺∶双丙烯酰胺= 37.5∶1). 变性梯度范围为 35%~ 50%(100% 的变性剂中含有 7 mol/L的尿素和 40% 的去离子甲酰胺), 上样量为 30 μL PCR 产物. 运行条件为: 在 0.25 ×TBE 电泳缓冲液中, 60 ℃条件下, 200 V 运行 20 min, 然后 75 V 运行 15 h, 电泳完成后, 用 0.5 μg/mL 的溴化乙锭染色 20 min, 再用去离子水漂洗 2 次, 然后在 BIO-RAD Versa Doc IMAGING SYSTEM 系统内观察电泳结果并照相. 所得图像采用 BIO-RAD

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

QUANTITY ONE 软件进行处理.

为了解细菌种群在单级自养脱氮反应器中的动态变化, 对 DGGE 条带图谱进行了统计分析. 相关性分析主要研究不同 DO 浓度下细菌种群的相似性. 2 条带之间的相似性系数可以用 Sorenson 配对比较相似性系数(C_S) 公式[8~9] 计算:

$$C_{SAB} = 2L_{AB}/(L_A + L_B) \times 100 \quad (1)$$

式中, C_{SAB} 为泳道 A 和泳道 B 之间的相似性系数; L_{AB}为泳道 A 上的与泳道 B 上位置相同的条带数; L_A 为泳道 A 上的条带数; L_B 为泳道 B 上的条带数.

不同样品的细菌种群丰富度值用该样品的条带数除以图谱中的总条带数表示:

$$R_{Si} = L_i/L_T \quad (2)$$

式中, R_{Si} 为第 i 泳道的细菌种群丰富度值; L_i 为第 i 泳道上的条带数; L_T 为图谱中的总条带数(同一位置的条带只计 1 条) .

2　结果与讨论

2.1　SBBR 单级自养脱氮反应器运行情况

本试验为 SBBR 反应器, 采用间歇进出水方式运行, 每周期换水 2 次, 每次换水量为反应器容积的 1/2, 出水经沉淀后污泥回流至反应器中, HRT 为 48 h. 以前的结果显示, 间歇曝气方式与连续曝气相比, 更有益于创造单级自养脱氮所需的反应环境[4]. 本研究在采用间歇曝气方式使系统脱氮效能提高且反应器稳定运行后, 保持反应器内 pH 值 8.0 ±0.2, 水温 30 ℃ ±2 ℃, 以及其它宏观控制参数不变, 通过调节 DO 浓度及曝停比对系统做单因素分析.

本试验分 2 部分研究内容, 首先考察相同曝停比条件下不同溶解氧水平对系统微生物群落结构的影响. 再选择不同溶解氧水平下系统运行效能最佳工况为参照, 保持该工况的其他条件不变, 调整曝停比周期, 继续考察相同溶解氧水平不同曝停比条件下单级自养脱氮系统的微生物群落结构变化. 每个工况定期检测反应器进出水水质, 当系统内氨氮转化率及总氮去除率保持一定水平不再波动时可认为系统达到该控制条件下的稳定状态. 此时分别提取反应器中的活性污泥及生物膜样品做 PCR-DGGE 分析. 样品类型及对应 DO 水平和系统运行效能如表 1 所示.

表 1　样品类型及对应 DO、曝停比水平和系统运行效能表[1)]

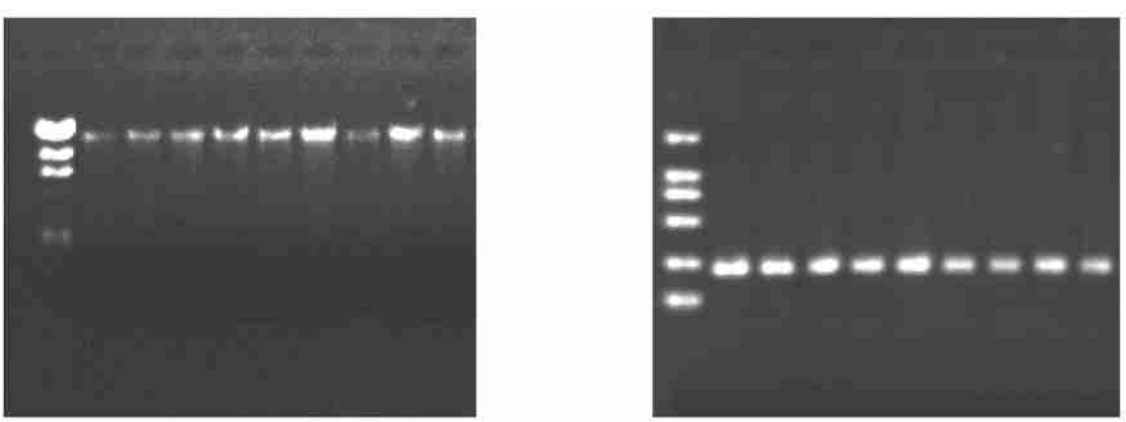
Table 1　Comparison of the different sludge samples

样品编号	样品说明	DO /mg·L^{-1}	曝停比	氨氮转化率/%	总氮去除率/%
A0	接种污泥				
A1	工况 1, 活性污泥样品	2.0/0.4	2 h∶2 h	100	80
A2	工况 1, 生物膜样品				
A3	工况 2, 活性污泥样品	2.5/0.4	2 h∶2 h	90	60
A4	工况 2, 生物膜样品				
A5	工况 3, 活性污泥样品	1.0/0.2	2 h∶2 h	77	56
A6	工况 3, 生物膜样品				
A7	工况 4, 活性污泥样品	2.0/0.4	3 h∶5 h	76	62
A8	工况 4, 生物膜样品				

1) DO 的"/" 前后分别代表曝气时的最高 DO 和停曝时的最低 DO

2.2　DNA 的提取及 PCR 扩增

基因组总 DNA 琼脂糖电泳结果如图 1(a) 所示, 片断大小为 23 kb 左右, D_{260}/D_{280}均在 1.8 附近, 含有的 RNA 及蛋白质杂质较少且样品浓度较高. PCR 扩增结果见图 1(b) , 扩增出的 DNA 片断大小为 230 ~ 240 bp, 证实为 16S rDNA V3 区的特异性片断.



(a) 中 Marker 为 λDNAPHind Ⅲ, 上样量 3 μL, DNA 样品上样量 1 μL　(b) 中 Marker 为 DL 2000, 上样量 3 μL, PCR 产物上样量 3 μL

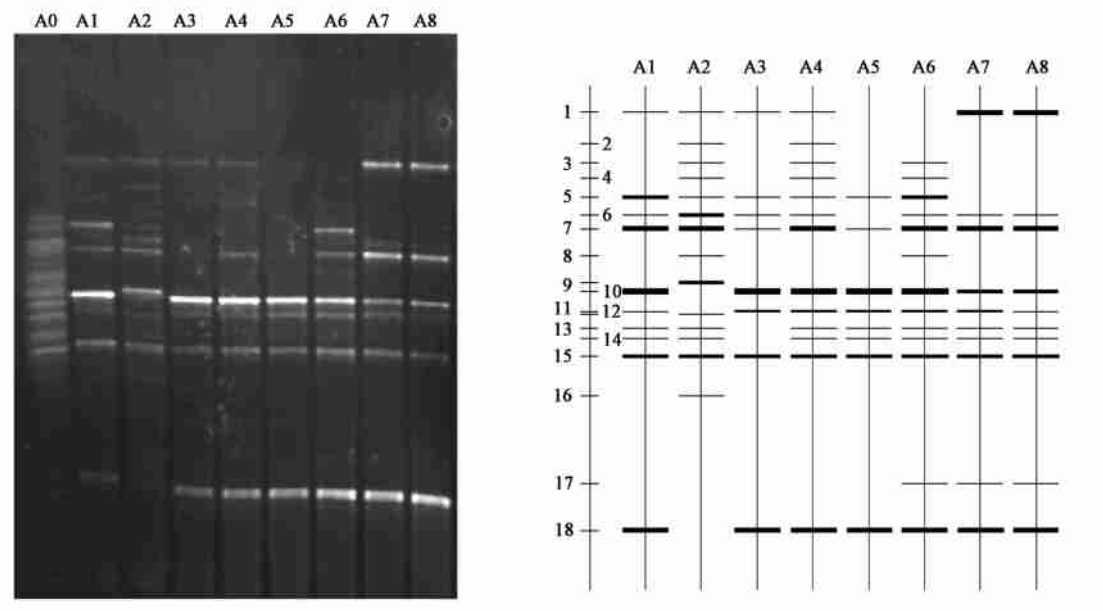
图 1　DNA(a) 及 PCR 扩增产物(b) 琼脂糖凝胶电泳图谱

Fig. 1　Map of DNA (a) and PCR products (b) after agarose gel electrophoresis

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

3 单级自养脱氮系统微生物群落 DGGE 分析

图2(a) 显示了不同工况条件下, 单级自养脱氮系统活性污泥及生物膜样品 DGGE 测试结果. DGGE 图像中, 条带的多寡可以反映系统中微生物种群的多样性程度, 每条条带代表一种不同的微生物, 条带越多, 表明系统中微生物种群结构越复杂, 反之则越单一. 另外, 条带的明亮程度也可以半定性反映该细菌的丰度, 越明亮则表明该细菌数量相对越多. 从图2(a) 中可以看出, A0 中条带数明显多于其它样本. 与接种污泥(A0) 相比, 稳定运行的单级自养脱氮系统内微生物群落结构已经发生了较大变化, 说明该单级自养脱氮反应器中微生物的种群结构已变得较为简单, 系统已建立.



(a) PCR 产物的 DGGE 凝胶电泳图谱(35% ~ 50%, 75 V, 15 h) (b) PCR-DGGE 图谱的条带分布和相对强度示意

图 2 PCR 产物的 DGGE 图谱及其强度分析

Fig. 2 DGGE gel of PCR products and its sketch map

为了解细菌种群在单级自养脱氮反应器中的动态变化, 对 DGGE 条带图谱进行了统计分析, 着重讨论不同 DO 及曝停比控制参数条件下细菌种群的相关性和丰富度. 统计分析结果分别如表 2、表 3 所示.

表 2 不同 DO 及曝停比水平下各样品条带相似性矩阵

Table 2 Comparability index of bacterial population under different DO concentration and aeration/ non-aeration ratio

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
A1	100							
A2	58.3	100						
A3	88.9	54.5	100					
A4	87.0	81.5	76.2	100				
A5	88.9	45.5	75.0	76.2	100			
A6	78.3	66.7	66.7	84.6	76.2	100		
A7	90.0	50.0	77.8	78.3	77.8	78.3	100	
A8	90.0	50.0	77.8	78.3	77.8	78.3	100.0	100

表 3 不同 DO 及曝停比水平下各样品微生物群落丰富度值(R_S)

Table 3 Richness value (R_S) of bacterial community under different DO concentration and aeration/ non-aeration ratio

指标	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8
条带数	10	14	8	13	8	13	10	10
R_S	0.556	0.778	0.444	0.722	0.444	0.722	0.556	0.556

3.1 相同曝停比不同 DO 水平条件下系统微生物群落结构分析

工况1、工况2 及工况 3 为相同曝停比条件下(2 h: 2 h) 的 3 种典型工况, 分别代表了中浓度、高浓度

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

和低浓度溶解氧水平. 由表 2 可知, 虽然参数 DO 发生了变化, 但系统内微生物的群落结构仍具有一定相似性(样品 A1~ A6) , 相似性值在 54. 5% ~ 88. 9% 之间. 相同溶解氧浓度下的生物膜样品与活性污泥样品微生物群落结构之间存在部分差异, 3 种工况下的相似性值分别为 58. 3%、76. 2% 和 76. 2% . 从表 3 中也可以进一步看出, 在曝停比为 2 h∶ 2 h 的这 3 种工况下, 生物膜微生物群落丰富度值均明显高于活性污泥.

目前, 关于单级自养脱氮机制的认识尚存争议. 多数观点认为, 在单级自养脱氮系统中, 最终完成氨氮去除的主要微生物为厌氧氨氧化菌, 它以生成的 NO_2^- 为电子受体, 把剩余 NH_4^+ 转化为 N_2[4,10]. 而厌氧氨氧化细菌是一种严格的厌氧菌, 只有在厌氧环境下才能表现出氨氧化的活性[1]. 由于系统内存在厌氧环境, 使得单级自养脱氮反应器中形成了关系复杂的微生物区系, 氨氮的去除正是这个微生物区系中各种微生物相互平衡、协同代谢作用的结果, 通过各种种群间相互利用、相互制约, 构成一个稳定的生态系统, 保证各类微生物代谢过程的正常进行. 本研究 SBBR 反应器, 其生物膜可以构成微小的生态系统, 各类细菌按照对 DO 的适应性不同, 在生物膜膜纵向上有序生长和代谢, 使膜内 DO 逐渐下降, 最终为厌氧氨氧化过程创造适宜的 DO 条件.

工况 1(DO= 2. 0 mg/ L) 具有最高氨氮转化率和总氮去除率, 分别为 100% 和 80% . 对比表 2 数据可以看出, 在工况 1 条件下, 活性污泥与生物膜样品条带相似性最低, 样品差异性最大, 说明在该工况条件下, 活性污泥及生物膜在溶解氧分布上的特性为各类细菌的生长及代谢创造了良好环境. 好氧菌主要分布在活性污泥及生物膜表层, 而兼性厌氧菌和厌氧菌则利用溶解氧在生物膜内的逐层消耗分布在其内层, 分别在各自适应的环境内完成协同代谢过程, 使系统具有较高的运行效能. 从表 3 也可以看出, 微生物群落丰富度值无论是活性污泥样品与活性污泥样品相比, 还是生物膜样品与生物膜样品相比, 都比其他 2 种 DO 水平高, 该工况下系统内微生物种群丰富.

工况 2 具有较高溶解氧浓度(DO= 2. 5 mg/ L) , 有利于好氧氨氧化菌的生存, 因此在该工况条件下氨氮的转化率与工况 1 相比并没有较大差异, 可以达到 90% . 而按照微环境理论的解释, 单级自氧脱氮系统需由好氧菌及厌氧菌协同完成氨氮的代谢过程[1], 较高的 DO 将对系统内部分兼性厌氧菌和厌氧菌产生抑制作用, 影响系统的运行效能, 所以总氮去除率比工况 1 有所下降, 只有 60% . 该工况下, 随着溶解氧的逐步升高, 部分兼性厌氧菌开始死亡, 氧在生物膜内的传质能力也逐渐加强, 当其不足以使生物膜内层维持厌氧状态时, 厌氧氨氧化菌活性尚失, 氨氮的代谢过程中断. 微观层面表现为生物膜内细菌群落丰富度值下降, 宏观上则体现在系统运行效能降低. 所以工况 2 的微生物条带数少于工况 1. 比对图 2 中 PCR-DGGE 图谱的条带分布和相对强弱示意图, 带 13、14 所代表的微生物, 由于在高溶解氧浓度条件下的活性污泥样品中不能存活, 该细菌仅能在较低的溶解氧浓度下或生物膜内生存, 理论上应该为厌氧菌.

工况 3 中溶解氧浓度较低(DO= 1. 0 mg/ L) . 由于单级自养脱氮系统中氨氮的第一步转化为一个好氧过程, 所以在该低溶解氧浓度水平下, 氨氮的转化率与前 2 种工况相比不高, 只有 77%, 部分好氧菌在该溶解氧浓度下不能表现出较好活性, 所以微生物的细菌丰富度值同样低于最佳工况(工况 1) . 尽管如此, 工况 3 与工况 2 相比, 总氮去除率差别不大, 分别为 56% 和 60% . 说明在 DO= 1. 0 mg/ L的低溶解氧条件下, 虽然好氧氨氧化菌的活性受到抑制, 但厌氧氨氧化菌的活性仍较强, 可以将已被氧化的 NO_2^- 作为电子受体, 把剩余 NH_4^+ 转化为 N_2. 图谱中带 1 代表的微生物仅能在氧气充足的环境里完成氨氮的氧化过程, 应为一种好氧氨氧化菌.

3. 2　相同 DO 水平不同曝停比下系统微生物群落结构分析

选择系统运行效能最佳工况(工况 1) 为参照, 保持该工况的其他条件不变, 继续考察在相同溶解氧水平、不同曝停比条件下单级自养脱氮系统的微生物群落结构变化(工况 4, 样品 A7、A8) .

由表 2 可见, 工况 4 条件下(曝停比 3 h∶ 5 h) , 生物膜样品与活性污泥样品微生物群落结构之间差异性与工况 1(曝停比 2 h∶ 2 h) 相比相对较小, 样品 A7 和 A8 之间除了部分条带的明暗程度稍有不同外, 条带的位置和数量几乎完全一致, 相似性值为 100. 0% . 从表 3 可以进一步看出, 生物膜微生物群落丰富度值除工况 4 外, 其余几种 DO 水平条件下均明显高于活性污泥. 说明曝停比对单级自养脱氮系的微生物群落结构组成存在较大影响, 尤其体现在系统内活性污泥样品与生物膜样品的相似性上. 相同溶解氧水平不同曝停比造成单级自养脱氮系统微生物群落结构变化的原因笔者认为主要有以下 2

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

点: ① 工况 4 条件下, 曝气、停曝时间均较长, 每一周期分别为 3 h 和 5 h. 在该条件下, 曝气时段内溶解氧可以突破生物膜对其的传质阻力, 渗透到生物膜内层, 为好氧菌在生物膜内的生存创造了好氧环境; 而在停曝时段中, 由于好氧微生物的氧代谢过程再加上 5 h 的停曝, 也使活性污泥及生物膜表层均可处于厌氧状态, 部分厌氧菌或兼性厌氧菌可以在活性污泥中生存, 不需要依赖生物膜内微生物的 DO 代谢来为其创造厌氧环境. 这一原因造成了活性污泥样品与生物膜样品之间微生物群落结构相似, 无论好氧菌或厌氧菌均能在 2 种不同的污泥形式下生存; ② 工况 4 条件下, 活性污泥中存在部分厌氧状态, 生物膜内也可达到较高的溶解氧浓度, 不利于活性污泥中的好氧菌及生物膜中的厌氧菌生存. 但较长的曝气、停曝周期, 同样给了各类细菌一个足够长的缓冲时间, 使好氧菌在曝气时段恢复部分好氧活性、完成其好氧代谢过程, 厌氧菌则在停曝时间恢复部分厌氧活性从而进行厌氧氨氧化. 所以表 3 显示该工况的微生物群落丰富度值并不低, 活性污泥及生物膜样品中均有 10 种优势菌种.

虽然工况 4 条件下, 系统内微生物群落丰富度值与工况 1 相比差别不大, 系统内仍有较多功能菌, 但由于该工况下活性污泥及生物膜中均有部分时段不利于好氧菌和厌氧菌的代谢, 所以微生物的活性并不高, 因此在系统的宏观运行效能上差异明显. 从表 1 中可以看出, 在相同溶解氧水品不同曝停比条件下, 工况 1 氨氮转化率和总氮去除率分别可以达到为 100% 和 80%, 而工况 4 只有 76% 和 62%. 带 1 代表的好氧菌在工况 4 条件下有较高活性, 而带 2 ~ 5 代表的微生物无论在活性污泥还是生物膜样品中均没有发现. 其中由于带 2~ 4 只有在前 3 种工况的生物膜样品中出现, 这 3 种细菌很有可能为系统中负责完成厌氧氨氧化的主要功能菌, 待进一步做序列分析以确定其种属关系. 因此这种曝停比对微生物群落结构的改变, 使得系统的运行效能也发生了较大变化.

3 结论

(1) 经过成功启动并稳定运行 1.5 a 后, SBBR 单级自养脱氮系统内微生物群落结构与接种污泥相比已变得简单且较稳定. 不同溶解氧水平下及曝停比条件下系统内微生物群落结构具有一定相似性, 样品间的相似性值在 54.5% ~ 100.0% 范围.

(2) 在曝停比为 2 h: 2 h 的条件下, 中高低 3 种溶解氧水平中, 生物膜微生物群落丰富度值均高于活性污泥, 各类细菌在生物膜膜纵向上有序生长和代谢, 为厌氧氨氧化过程创造适宜环境. 系统运行效能最佳工况下, 微生物群落丰富度值最高, 较高溶解氧会对厌氧菌的代谢产生抑制, 而低溶解氧将影响好氧菌的活性. 微生物的多样性及相互协同代谢过程是维持单级自养脱氮系统具有较高运行效能的一个关键因素.

(3) 曝停比对单级自养脱氮系统微生物群落结构有较大影响. 在相同溶解氧水平下, 曝停比为 2 h: 2 h 时系统具有较高运行效能, 微生物种类丰富, 活性污泥与生物膜样品差异性大, 各类微生物在各自适应的环境内协同完成系统的脱氮过程. 而 3 h: 5 h 的较长曝停周期下, 活性污泥与生物膜微生物组成接近, 虽使各类细菌在活性污泥与生物膜中均能生存, 且有足够缓冲时间恢复部分活性, 但好氧氨氧化菌及厌氧氨氧化菌的活性仍有下降, 使系统运行效能降低.

参考文献:

[1] Kuenen J G, Jetten M S M. Extraordinary anaerobia ammonium-oxidizing bacteria [J]. ASM News, 2001, **67**: 456-463.

[2] Hippen A, Rosenwinkel K H, Baumgarten G, *et al*. Aerobic deammonification: a new experience in the treatment of wastewater [J]. Wat Sci Tech, 1997, **35**: 111-120.

[3] 廖德祥, 李小明, 曾光明, 等. 单级 SBR 生物膜中全程自养脱氮的研究[J]. 中国环境科学, 2005, **25**(2): 222-225.

[4] 方芳, 杨国红, 郭劲松, 等. DO 和曝停比对单级自养脱氮工艺影响试验研究[J]. 环境科学, 2007, **28**(9): 1975-1980.

[5] Hao X D, Heijnen J J, Van Loosdrecht M C M. Sensitivity analysis of a biofilm model describing a one-stage completely autotrophic nitrogen removal (CANON) process [J]. Biotech Bioeng, 2002, **77**(3): 266-277.

[6] 方芳, 郭劲松, 秦宇, 等. 单级自养脱氮生物膜SBR 工艺的启动研究[J]. 中国给水排水, 2006, **22**(1): 58-61.

[7] 傅以钢, 王峰, 赵建夫, 等. 高浓度硝酸盐对城市污水活性污泥中微生态种群结构的影响[J]. 环境科学学报, 2005, **25**(3): 372-378.

[8] Gillian D, Speksnijder A G C L, Zwart G J M, *et al*. Genetic diversity of the biofilm covering Montacuta ferruginosa (Mollusca, Bivalvia) as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis and cloning of PCR amplified gene fragment coding for 16S rDNA [J]. Appl Environm Microbiol, 1998, **64**(9): 3464-3472.

[9] Murray A E, Hollibaugh J T, Orrego C. Phylogenetic composition of bacterioplankton from two California estuaries compared by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments [J]. Appl Environm Microbiol, 1996, **62**(7): 2676-2680.

[10] Sliekers A O, Derworth N, Gomez J L C, *et al*. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor [J]. Water Research, 2002, **36**: 2475-2482.

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net