

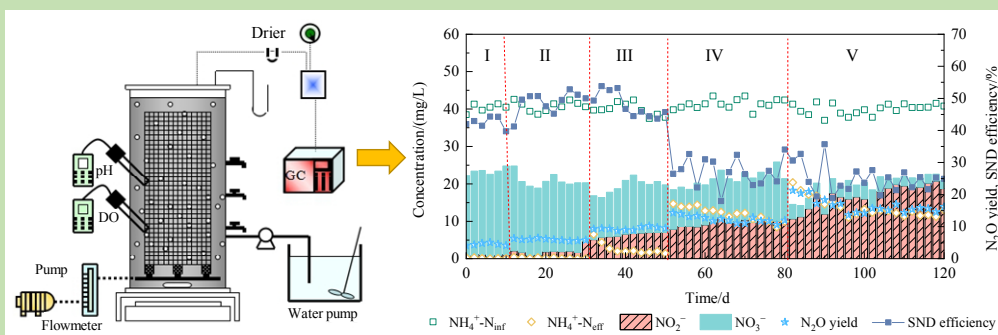
The effects of salinity on microbial activity and N₂O release in anoxic-aerobic sequencing batch biofilm reactor

Youkui GONG^{1,2*}, Yinglong YUE¹, Yongzhen PENG²

1. Department of Architecture Engineering, Yantai Vocational College, Yantai, Shandong 264670, China

2. National Engineering Laboratory for Advanced Municipal Wastewater Treatment and Reuse Technology, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China

Abstract: Accumulation of nitrites is frequently observed in saline wastewater nitrification processes, which often results in the release of the strong greenhouse gas, nitrous oxide (N₂O). This study investigated the



effect of salinity on microbial activity and N₂O release characteristics during the simultaneous nitrification and denitrification processes in a sequencing batch biofilm reactor (SBBR). The result showed that salinity inhibited the microbial activities of each bacterial group in increasing, sequential order as follows: nitrite oxidizing bacteria (NOB)>ammonia oxidizing bacteria (AOB)>carbon oxidizing bacteria. The effluent COD was stable at about 50.0 mg/L in the range of salinity from 0 to 20 g NaCl/L. The average NH₄⁺ removal efficiency reduced from more than 98% to 70.5%, and TN removal efficiency reduced from 42.4% to 16.9% respectively, while the N₂O yield increased from 3.9% to 13.3%. Similar to SND efficiency, the internal concentration of carbon sources (PHA and Gly) first increased and then decreased with increase in salinity. The N₂O release was mainly produced in AOB aerobic and endogenous denitrification processes. The low N₂O release could be ascribed to the anoxic zone deep in the SBBR at low salinity (≤10 g NaCl/L). As the salinity was increased to more than 10 g NaCl/L, there was a decrease in internal carbon source synthesis, which aggravated the electron competition between each bacterial reductases in the denitrification process. Further increase in salinity led to an increase in extracellular polymer substances (EPS) synthesis and the proportion of polysaccharides (PS) in the EPS. A decrease in the anoxic area deep in the membrane led to the inhibition of the N₂O reduction.

Key words: sequencing batch biofilm reactor; salinity; N₂O; aerobic denitrification; endogenous denitrification

收稿: 2019-10-22, 修回: 2019-12-08, 网络发表: 2020-01-04, Received: 2019-10-22, Revised: 2019-12-08, Published online: 2020-01-04
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 51508008); 烟职博士科研启动基金(编号: 2018002)
作者简介: 巩有奎(1977-), 男, 山东省夏津市人, 博士, 副教授, 生活污水生物脱氮过程专业, Email: 260943813@qq.com.

引用格式: 巩有奎, 岳英龙, 彭永臻. 盐度对缺氧-好氧 SBBR 微生物活性及 N₂O 释放的影响. 过程工程学报, 2020, 20(8): 970-978.
Gong Y K, Yue Y L, Peng Y Z. The effects of salinity on microbial activity and N₂O release in anoxic-aerobic sequencing batch biofilm reactor (in Chinese). Chin. J. Process Eng., 2020, 20(8): 970-978, DOI: 10.12034/j.issn.1009-606X.219325.

盐度对缺氧-好氧 SBBR 微生物活性及 N₂O 释放的影响

巩有奎^{1,2*}, 岳英龙¹, 彭永臻²

1. 烟台职业学院建筑工程系, 山东 烟台 264670

2. 北京工业大学城镇污水深度处理与资源化利用技术国家工程实验室, 北京 100124

摘要: 含盐废水硝化过程常常出现亚硝酸盐积累, 从而导致强温室气体 N₂O 的产生。利用序批式生物膜反应器(SBBR), 考察了含盐生活污水同步脱氮过程不同菌群活性变化及 N₂O 释放过程。结果表明, 盐度增加, 各菌群活性受抑制程度依次为亚硝酸盐氧化菌(Nitrite Oxidizing Bacteria, NOB)>氨氧化菌(Ammonia Oxidizing Bacteria, AOB)>碳氧化菌。实验盐度范围内(0~20 g NaCl/L), COD 出水约稳定在 50.0 mg/L, 平均 NH₄⁺去除率由 98%以上降至约 70.5%, TN 去除率由 42.4%降至 16.9%, N₂O 平均产率由 3.9%增至 13.3%。与 SND 变化类似, 微生物体内聚-β-羟基脂肪酸酯(PHA)和糖原(Gly)积累随盐度增加呈先增加后减少趋势。N₂O 主要产生于 AOB 好氧反硝化过程和硝化后期内源反硝化过程。低盐度(≤10 g NaCl/L)下, SBBR 内缺氧区有助于减少 N₂O 释放; 盐度增加, 高盐度耦合低内碳源合成, 加剧了内源反硝化阶段各还原酶之间电子竞争。高盐度导致微生物胞外聚合物(EPS)分泌增加, 多聚糖(PS)比例上升, 膜内缺氧区域减少, 抑制 N₂O 还原过程。

关键词: 序批式生物膜反应器; 盐度; N₂O; 好氧反硝化; 内源反硝化

中图分类号: X703.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-606X(2020)08-0970-09

1 前言

近年来, 为缓解淡水资源紧缺, 许多沿海城市开始推行海水直用工程。然而将海水用于工业冷却水、工业生产用水和城市生活用水(洗厕、道路冲洗和景观)等会对污水生物处理系统产生毒害作用, 影响其脱氮性能^[1]。不同脱氮工艺的耐盐能力有所不同^[1-3]。序批式生物膜反应器(Sequencing Batch Biofilm Reactor, SBBR)常用于生活污水生物硝化/反硝化脱氮过程, 随溶解氧(DO)变化, 在其内部沿物料传质方向存在好氧区-低氧/缺氧过渡区-缺氧区, 各区域分布相应优势菌种。其中, 好氧区增殖的异养菌为其内部硝化菌提供屏障, 可削弱有毒物质冲击对硝化菌的抑制作用, 在成分复杂的污水处理过程中具有明显优势^[1,4]。研究^[5]表明, 进水盐度增至 3%时, SBBR 反应器对 COD 和 NH₄⁺的去除效果不受影响。

作为三种重要的温室气体(CO₂, CH₄ 和 N₂O)之一, N₂O 增温潜势约为 CO₂ 的 265 倍^[6], 且可破坏臭氧层^[7]。自然界中约 2/3 的 N₂O 来源于微生物反应, 其中, 生物脱氮过程是重要的 N₂O 释放源^[8]。污水生物脱氮过程中 N₂O 主要产于自养菌硝化过程和异养菌反硝化过程: (1) 羟胺(NH₂OH)氧化过程。在氨氧化菌(Ammonia Oxidizing Bacteria, AOB)氧化 NH₂OH 生成 NO₂⁻的过程中, 一些中间产物(如 HNO₂)会产生 N₂O^[9,10]; (2) AOB 好氧反硝化过程。AOB 以 NO₂⁻和 NO 作为其最终的电子受体,

利用 NH₄⁺/NH₂OH 作为电子供体, 将 NO₂⁻还原为 N₂O, 该过程被认为是导致硝化过程 N₂O 释放的主要因素^[11,12]; (3) 异养菌反硝化过程。NO_x⁻还原过程中, 不同氧化还原酶之间存在电子竞争现象, 其中, 氧化亚氮还原酶(Nos)电子竞争能力较弱, 且易受环境因素[(溶解氧(DO), C/N, NO₂⁻/HNO₂, pH 和盐度等有毒物质)影响^[13], 环境条件改变导致反硝化过程 N₂O 积累并释放。SBBR 内同步硝化/反硝化(Simultaneous Nitrification and Denitrification, SND)过程中, 低氧区产生的 N₂O 可扩散至生物膜内部缺氧区域, 完成其还原过程, 降低 N₂O 排放量^[14]。目前, 大量研究集中在考察盐度对反应器生物脱氮性能的影响, 而对不同盐度下 SBBR 系统微生物活性变化及 N₂O 释放特性研究尚不多见。

海水利用产生的污水经市政管网进入污水处理厂, 水量约为污水处理总量的 30%, 含盐生活污水的盐度一般不超过 10 g/L。除此之外, 冬季大量使用的传统融雪剂(NaCl 为主要成分)也会与市政污水混合后进入城市污水处理厂, 对污水生物处理过程产生 NaCl 盐度冲击。两者叠加, 其 NaCl 盐度可达 10~20 g/L。本工作利用 SBBR 反应器, 通过投加不同质量粗盐(NaCl)制成含盐生活污水, 考察了不同盐度(0, 5, 10, 15 和 20 g NaCl/L)下 SBBR 内微生物活性变化和同步脱氮性能, 探讨了 SBBR 内 N₂O 的释放与生物脱氮的过程关系, 提出了不同盐度条件下 SBBR 内 N₂O 的释放过程, 为 SBBR 处

理含盐生活污水过程优化及 N₂O 减量提供参考。

2 实验

2.1 实验接种污泥及水质

接种污泥取自实验室内具有良好脱氮性能的活性污泥。SBBR 启动完毕后,其 NH₄⁺去除率>95%,亚硝态氮积累率(Nitrite Accumulation Rate, NAR=NO₂⁻-N/NO_x⁻-N)<20%。实验所用生活污水取自某高校家属区化粪池出水,其水质 COD 为 165~225 mg/L, NH₄⁺-N 浓度为 45.1~67.5 mg/L, NO_x⁻-N 浓度<1 mg/L, pH 为 7.25~8.15。向各反应阶段的原水中投加不同质量粗盐 NaCl,调节进水 NaCl 浓度至设定值。

2.2 实验装置及运行方式

SBBR 工作容积为 12.0 L,装填瑞琪填料(RCP-5325S,北京神州瑞琪)作为碳纤维膜的支撑,碳纤维膜比表面积为 1000~1300 m²/g,挂膜后 SBBR 反应器内填料填充率为 35%。SBBR 底部均匀分布三个曝气头,运行过程中,以温控磁力搅拌器连续搅拌^[15](图 1)。实验过程中,SBBR 密闭运行,以气体流量计控制曝气量为 30 L/h,所有气体经干燥器后由气体采样袋收集后待用^[15]。SBBR 顶部设带水封 U 型管以平衡 SBBR 内外压力。SBBR 启动完毕后,填充率为 35%。实验阶段 SBBR 充水体积比为 2:3,采用进水(10 min)-缺氧(N₂曝气 50 min)-好氧(空气曝气 380 min)-排水(10 min)-闲置(270 min)共 5 个反应过程(Phase I~V),每天运行两个周期,PLC 在线控制 SBBR 运行阶段的切换。

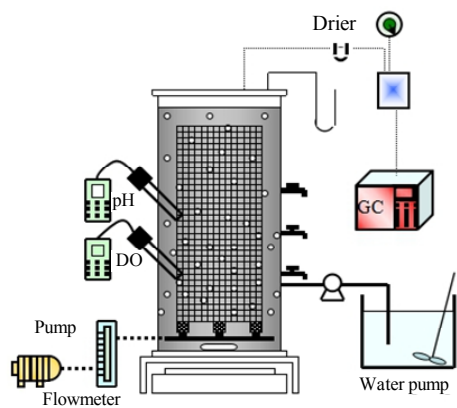


图 1 SBBR 实验装置示意图
Fig.1 Schematic diagram of SBBR experimental device

整个实验过程分为 5 个阶段(Phase I~V),各阶段进水盐度分别为 0,5,10,15 和 20 g NaCl/L, SBBR 稳定运行 4 个周期后梯度增加进水盐度,整个实验过程未设置排泥阶段,排水过程中排除脱落生物膜。

2.3 微生物活性测定实验

比耗氧速率(Specific Oxygen Uptake Rate, SOUR)用于表示微生物污染物降解活性。生物脱氮系统内,丙烯基硫脲(ATU)和氯酸钠(NaClO₃)可分别抑制 AOB 和亚硝态氮氧化菌(Nitrite Oxidizing Bacteria, NOB)的活性^[16]。通过向生物处理污泥中加入不同菌种活性抑制剂,测定相应条件下的 SOUR,表征活性污泥系统内各菌群的活性。不同运行阶段末期,取部分碳纤维膜悬挂填料,经无菌水冲洗后,在 250 mL 无菌生理盐水中用振筛振荡 30 min,测定脱落生物膜微生物 SOUR,测定方案见表 1。碳纤维放回 SBBR 内部,继续挂膜运行。

表 1 不同微生物 SOUR 测定批次试验
Table 1 SOUR determination batch test of different microorganisms

No.	Inhibitor	Aim	SOUR
1	—	Inhibit the activity of all the bacteria	SOUR ₁
2	ATU	Inhibit the activity of AOB	SOUR ₂
3	NaClO ₃	Inhibit the activity of NOB	SOUR ₃
4	ATU+NaClO ₃	Inhibit the activity of AOB and NOB	SOUR ₄

计算不同生物硝化过程 SOUR,确定不同菌群的比好氧速率,表示各菌群的活性^[17]。计算方法为

总比耗氧速率: $SOUR_{total}=SOUR_1$

AOB 比耗氧速率: $SOUR_{AOB}=SOUR_1-SOUR_2$

NOB 比耗氧速率: $SOUR_{NOB}=SOUR_1-SOUR_3$

碳氧化菌比耗氧速率: $SOUR_C=SOUR_1-SOUR_4$

活性系数 AC: $AC=SOUR_i/SOUR_0$

式中, SOUR_i 分别为不同盐度下各菌群相应的 SOUR, SOUR₀ 为未投加 NaCl 时微生物好氧速率。

2.4 测试及分析方法

2.4.1 水质测定方法

用 Multi340i 便携式 DO/pH 测定仪(德国 WTW 公司)测定 SBBR 内 DO 和 pH 值。用标准方法测定处理过程 SBBR 内污水化学需氧量(COD),硝态氮(NO₃⁻-N),亚硝态氮(NO₂⁻-N)和污泥挥发性悬浮固体(MLVSS)等质量浓度^[18]。

2.4.2 内源物测定方法

用 6890N 气相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司]测定聚-β-羟基丁酸(PHB)和聚-β-羟基戊酸(PHV)^[19],两者之和为聚羟基脂肪酸酯(PHA);以蒽酮法测定糖原(Glycogen, Gly)^[20]。

2.4.3 N₂O 测定方法

整个反应过程中,隔天对 SBBR 取样测试。反应过

程中所有气体均经气体干燥器后进入 SBBR 顶部设置的采样袋, 测试周期内每 0.5 h 更换一次采样袋, 直至反应结束。湿式流量计测定气体各采样袋内气体体积, 用气相色谱仪测定气相 N₂O 浓度, 所用色谱柱为 HP-Plot/分子筛(30 m×0.53 mm 内径×25 μm 膜), 色谱测定条件: 进样口温度 110℃, 炉温 180℃, ECD 检测器 300℃。用顶部空气法确定溶解态 N₂O 浓度^[21]。

3 结果与讨论

3.1 不同盐度生物膜表面微生物菌群活性变化

SOUR 是反映生物脱氮过程中各类型微生物活性的重要参数。盐度增加, 水体渗透压升高, 微生物需通过摄入更多的 DO 促进其新陈代谢作用, 克服增大的渗透

压, 以维持其细胞质水分平衡。因此, 造成低盐度(5 g NaCl/L)下各微生物 SOUR 呈不同程度的增加, 见表 2。盐度增至 10 g NaCl/L 以上时, 破坏了微生物细胞膜和菌体内活性酶, 影响微生物正常的生理活动, 其活性迅速降低。盐度由 0 g NaCl/L 增至 20 g NaCl/L 时, SOUR_{AOB} 和 SOUR_{NOB} 由 7.65 和 8.54 mg/(g MLVSS·h) 分别降至 2.43 和 0.82 mg/(g MLVSS·h), 活性系数 AC 分别为 0.32 和 0.10。盐度增加破坏了微生物原有生存环境, 微生物进行代谢调整以适应新的渗透压, 从而影响微生物活性。同时, 盐度增加, 水中 DO 浓度和氧转移速率下降, 与 NOB 相比, AOB 对 DO 具有更强的亲和力, 在低 DO 条件下, 其受高盐度抑制程度小于 NOB, SOUR_{AOB}/SOUR_{NOB} 由 0.90 增至 2.96。

表 2 各盐度条件下 SBBR 内菌群比耗氧速率(SOUR)及其活性系数(AC)
Table 2 Variations of SOUR and activity coefficient (AC) under different salinities in SBBR

Bacteria	0 g NaCl/L		5 g NaCl/L		10 g NaCl/L		15 g NaCl/L		20 g NaCl/L	
	SOUR	AC	SOUR	AC	SOUR	AC	SOUR	AC	SOUR	AC
Carbon oxidizing bacteria	23.5	1	25.6	1.09	21.9	0.93	18.8	0.80	16.8	0.71
AOB	7.65	1	8.09	1.06	7.27	0.95	5.97	0.78	2.43	0.32
NOB	8.54	1	8.98	1.05	6.87	0.80	2.65	0.31	0.82	0.10
SOUR _{AOB} /SOUR _{NOB}	0.90		0.90		1.06		2.25		2.96	

Note: the unit of SOUR is mg/(g MLVSS·h).

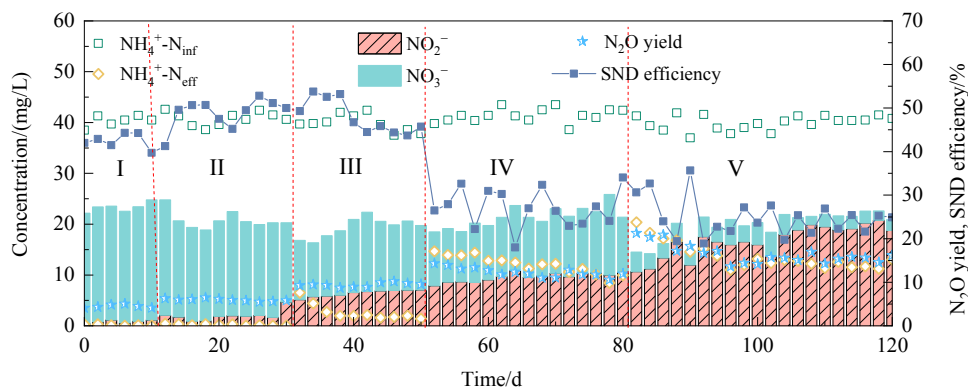
3.2 不同盐度 SBBR 运行性能

SBBR 启动后, 分别投加 0, 5, 10, 15 和 20 g NaCl/L 含盐生活污水(对应阶段 I~V), 盐度梯度增加过程中, 其 COD 去除率均大于 80%。模拟 SBBR 处理含盐污水脱氮过程如图 2 所示。长时间含盐环境运行下, 微生物通过平衡自身渗透压调节生理变化, 保护细胞内原生物质, 恢复其有机物降解性能, 系统内逐渐驯化出部分嗜盐微生物。盐度增加对碳氧化菌的抑制程度最弱^[22]。Campo 等^[22]也发现在盐度为 0.30~38 g NaCl/L 时, SBBR 脱氮系统内总有机碳(TOC)去除率无明显变化。

无 NaCl 投加时, SBBR 出水 NH₄⁺-N_{eff} 浓度小于 0.5 mg/L, 平均去除率大于 98%[NH₄⁺-N 去除率根据图 2 中氨氮进水(NH₄⁺-N_{inf})、出水浓度数据计算得出]。盐度为 5 g NaCl/L 时, NH₄⁺-N 去除率无明显变化。随盐度增加, SBBR 内出水 NH₄⁺-N 均呈先增加后减少的趋势, 初期盐度增加, 导致 SBBR 中 NH₄⁺-N_{eff} 迅速上升。经含盐环境驯化, SBBR 内菌群不断优化, 硝化性能逐渐增强。盐度为 10 g NaCl/L, NH₄⁺-N 去除率达 95%。高盐度会破坏 AOB 生物膜及细菌活性酶, 影响微生物正常生理功能, 硝化性能急剧下降。盐度增至 20 g NaCl/L, SBBR 驯化后 NH₄⁺-N_{eff} 达 12.0 mg/L, 去除率降至约

70.0%, 出水平均 NO₂⁻/NO_x⁻ 由 0.03(0 g NaCl/L) 增至 0.89(20 g NaCl/L), N₂O 平均产率由 3.9% 增至 13.3%, 表明 NOB 对盐度变化更敏感, 盐度增加对 NOB 的抑制作用更强, 从而导致 NH₄⁺-N 氧化过程产生的 NO₂⁻ 未能及时氧化至 NO₃⁻, 与 Cortés-Lorenzo 等^[23]的研究类似。

SBBR 填料表面分布不同菌群微生物。其中, 异养菌对有机物和 DO 的竞争力强于硝化菌, 生长于填料表面外部区域; AOB 和 NOB 的氧饱和常数分别为 0.25~0.50 和 0.72~1.84 mg/L, 生长于异养菌内部低氧区域^[24], 该区域主要进行 NH₄⁺-N 氧化过程。氧化过程产生的 NO₂⁻ 和 NO₃⁻ 以扩散方式进入生物膜内缺氧区域, 以外源有机物或内碳源作为电子供体, 完成同步反硝化。本研究, 原水 C/N 较低, 微生物储存 PHA 和 Gly 含量低, 无 NaCl 投加时, SBBR 平均 SND 效率为 42.6%(根据图 2 阶段 I 内 0~8 d 对应 SND 效率, 计算平均 SND 效率)。随盐度增加, SND 效率呈先增加后减少趋势; 盐度为 5~10 g NaCl/L 时, 平均 SND 效率为 48.0%, 原因可能是低盐度下, NH₄⁺-N 去除率未降低, 部分硝化过程止步于 NO₂⁻, 与 NO₃⁻ 还原过程相比, NO₂⁻ 还原过程所需碳源约减少 40%, SND 效率略增加; 高盐度下, 硝化效率降低, 内碳源合成减少, 反硝化菌活性受到抑制, SND 降

图2 不同盐度下 SBBR 脱氮性能及 N₂O 产率Fig.2 Performance of nitrogen removal and N₂O yield in SBBR under different salinities

至约 23.9%。

低氧区硝化过程产生的 N₂O 扩散至生物膜内缺氧区,可减少脱氮过程 N₂O 产率^[14]。盐度增加,部分硝化过程止步于 NO₂⁻,系统转为短程同步脱氮过程。低氧条件下,即使液相中 NO₂⁻-N 浓度小于 0.5 mg/L, AOB 以污泥絮体内部 NO₂⁻为电子受体,以 NH₄⁺/NH₂OH 为电子供体,进行以 N₂O 为终产物的好氧反硝化过程,是导致 N₂O 释放的重要过程^[25]。盐度由 0 g NaCl/L 增至 20.0 g NaCl/L 时, SBBR 内平均 N₂O 产率由 3.9% 增至 13.3%。其原因可能为 (1) 盐度对 NOB 抑制程度远大于对 AOB 的抑制,导致脱氮系统内 NO₂⁻积累, NH₄⁺和 NO₂⁻共存促进了 AOB 好氧反硝化过程的发生; (2) 与硝态氮还原酶(Nar)和亚硝态氮还原酶(Nir)相比, Nos 受盐度抑制增强,缺氧区域同步发生的反硝化过程 N₂O 去除量减少; (3) 硝化过程后期,碳源不足导致 SBBR 内出现 NO_x⁻的积累,盐度越高, NO₂⁻比例越大,反硝化过程高浓度 NO₂⁻/HNO₂会导致反硝化过程止步于 N₂O,从而导致其释放量迅速增加。

为确定不同盐度脱氮过程与 N₂O 释放之间的关系,对各盐度条件下微生物典型周期内碳源、无机氮元素、N₂O 释放及 EPS 分泌变化进行了分析。

3.3 不同盐度 SBBR 脱氮过程内碳源变化

在缺氧阶段,异养反硝化菌以外碳源作为电子供体,完成上一周期残留的 NO_x⁻还原过程,部分外碳源以聚 PHA 和 Gly 形式储存在微生物体内。好氧反应初期,剩余外碳源继续被利用合成 PHA 和 Gly,见图 3。在盛宴期,生物体内储存 PHA 和 Gly,其合成量与外碳源种类有关^[26-28],其中,以乙酸为碳源有利于 PHA 的合成,以葡萄糖为碳源则有利于 Gly 的合成。Passanha 等^[29]发现低浓度 NaCl 可提高纯菌 *Cupriavidus necator* 的 PHA 合成能力,而高浓度则会抑制。本研究中的含盐生活污水的有机物种类丰富,低盐度(5 g NaCl/L)刺激下,胞内通过合成 PHA 抗逆盐度变化,PHA 和 Gly 合成略有增加,PHA 增量(δ_{PHA} =反应过程 PHA 最大值-初始 PHA)由 0 g NaCl/L 时的 44.8 mg/g MLVSS 增至 51.5 mg/g MLVSS, Gly 增量(δ_{Gly} =反应过程 Gly 最大值-初始 Gly)由 34.9 增至 38.3 mg/g MLVSS,其平均 SND 效率由 43.0% 增至 48.0%(图 2); SBBR 反应后期,外碳源消耗殆尽,PHA 优先作为内碳源被降解,表明 PHA 在反硝化脱氮过程中更易被作为内碳源利用,PHA 降至低水平, Gly 开始降解^[28,30]。

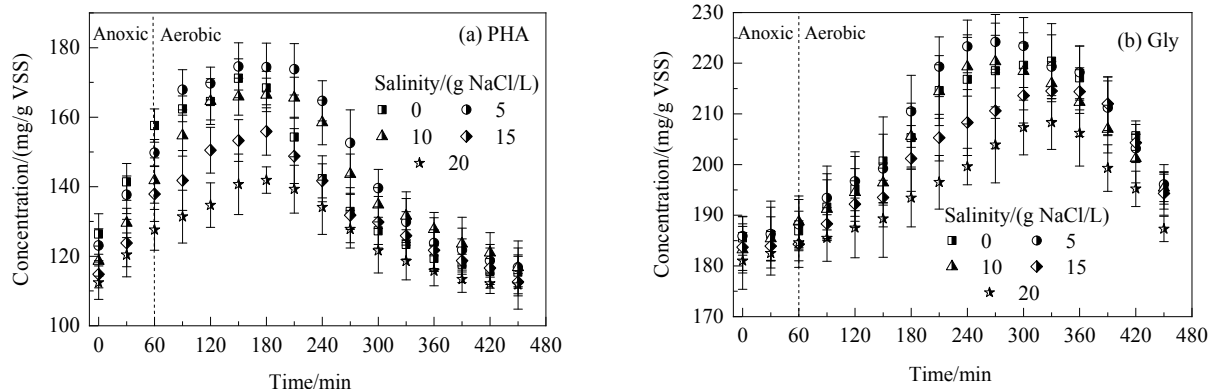


图3 不同盐度 SBBR 典型周期 PHA 和 Gly 的变化

Fig.3 Variations of PHA and Gly in SBBR typical cycles under different salinities

盛宴/饥饿运行模式下,活性污泥系统能够迁移外源有机物并将其转化为内源聚合物,缺氧条件下,微生物体内积累内源物质可作为电子供体用于反硝化脱氮过程,从而实现碳源的有效利用^[28]。高盐度条件下,微生物细胞膜和菌体的活性酶受到破坏,导致微生物细胞质壁分离,抑制微生物正常生理功能,直至其活性完全被抑制,降低微生物储存内碳源能力,PHA和Gly增量迅速降低^[31]。盐度为20 g NaCl/L时, δ_{PHA} 和 δ_{Gly} 分别降至29.5和27.3 mg/g MLVSS,导致SBBR内源反硝化过程可利用电子供体含量降低,SND效率也降至约24.9%(图2)。在氨氮去除率迅速下降的情况下,系统内仍残留大量NO_x⁻,降低了脱氮过程碳源的利用率。

3.4 不同盐度SBBR脱氮性能及N₂O释放

图4为不同盐度的典型周期内NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻和TN的变化曲线。在缺氧阶段,以原水中COD作为电子供体,不同盐度下均可在30 min内完成反硝化过程,NH₄⁺无明显变化。在好氧初始阶段,SBBR内尚存有部分外碳源,异养菌在DO竞争中处于优势地位,少量NH₄⁺用于微生物增殖。随盐度增加,其降解速率逐渐降低。盐度≤10 g NaCl/L时,硝化系统以不耐盐细菌为主,

盐度冲击负荷导致微生物活性受到抑制,经驯化后,亚硝化细菌从不耐盐细菌,如*Nitrosomonas europaea*-lineage和*Nitrosomonas eutropha*转化为具有耐盐特性的菌种,活性逐渐恢复,NH₄⁺去除率增至约95%。盐度为20 g NaCl/L时,适应高盐度微生物菌群减少,微生物代谢活动受阻,生长速率降低;同时,污泥表面Zeta电位随盐度增加而趋于更负,高盐度条件下填料表面污泥絮体不易聚集,无法形成致密的生物膜,水体密度上升,污泥流失增加,进而影响污泥硝化性能。至反应结束时,SBBR内仍残留NH₄⁺-N 15.2 mg/L,氨氮去除率为61.4%[图4(a)]。

硝化过程中,由于SND过程的存在,生成的NO_x⁻被同时发生的反硝化作用去除,初始硝化阶段未出现NO_x⁻的积累。外碳源完全被消耗后,PHA升至最大值,此后同步发生的反硝化过程以微生物体内PHA和Gly为电子供体,反硝化速率下降,NO_x⁻积累,TN去除速率下降。高盐度(20 g NaCl/L)条件导致微生物体内PHA和Gly积累量降低,电子供体减少,至反应结束时,系统内仍残留15.7 mg/L的NO_x⁻-N,平均TN去除率仅为16.9%(无NaCl投加时42.4%)。

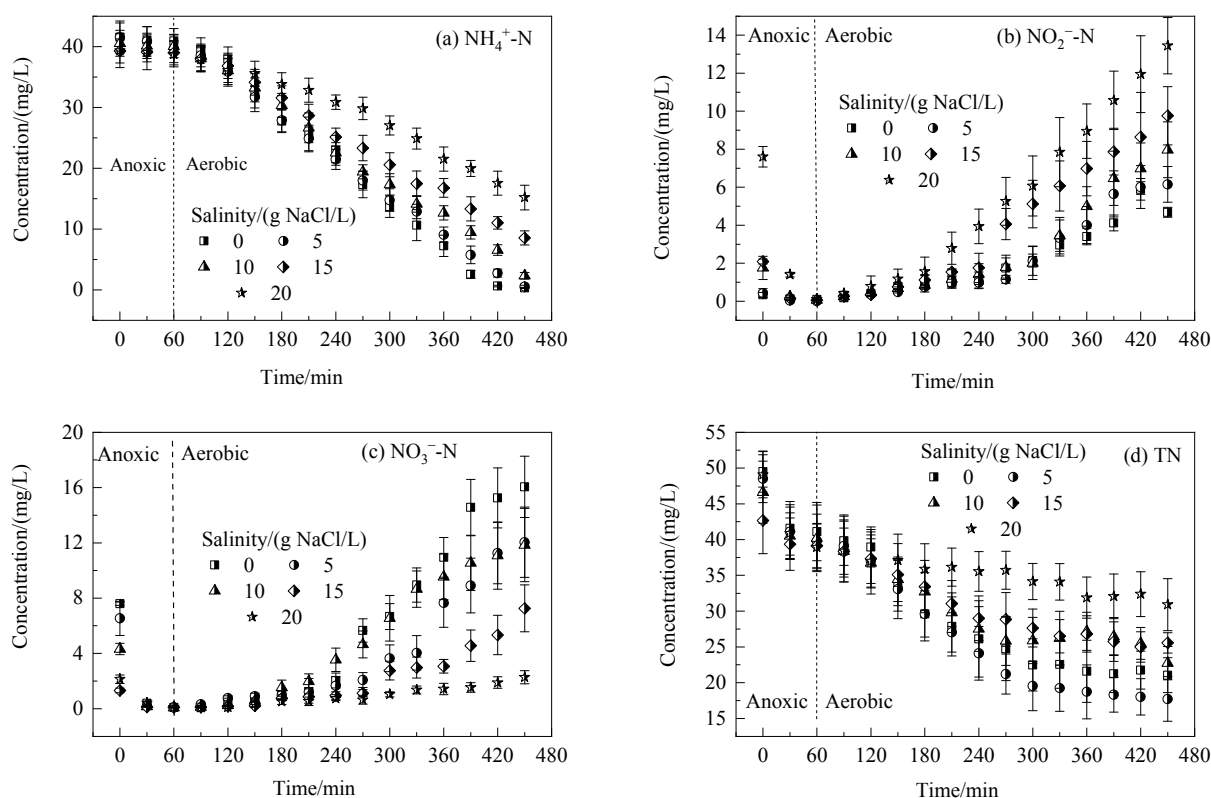


图4 不同盐度典型周期内NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N和TN变化
Fig.4 Variations of NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N and TN in typical cycles under different salinities

图5为不同盐度下SBBR系统内 N_2O 的释放速率。无NaCl投加、缺氧阶段, N_2O 的释放速率不足 $0.01 \text{ mg N}/(\text{L}\cdot\text{h})$,与Zhao等^[2]的研究类似。高C/N下, NO_3^- 还原过程无 N_2O 积累;盐度增至 $20 \text{ g NaCl}/\text{L}$ 时,反硝化初始30 min内,其 N_2O 释放速率达 $0.054 \text{ mg N}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。一方面,盐度增加导致上一周期硝化过程以 NO_2^- 为主,高盐度耦合初始高浓度 NO_2^- ,抑制Nos的活性,反硝化过程出现 N_2O 的积累并释放;另一方面,反硝化初始阶段,Nos的合成速率小于硝态氮还原酶(Nar)和亚硝态氮还原酶(Nir),也引起反硝化初始阶段 N_2O 的积累。60 min时,其释放速率降至 $0.01 \text{ mg N}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 以下。

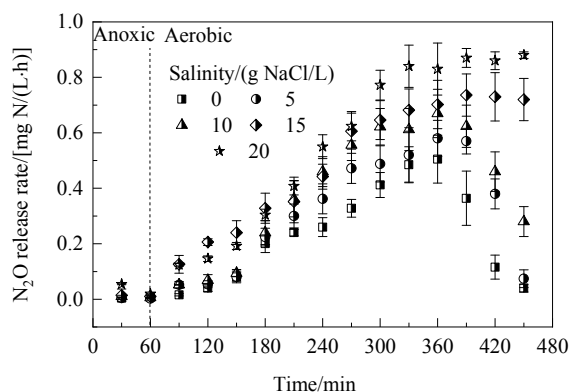


图5 不同盐度下SBBR内脱氮过程的 N_2O 释放速率
Fig.5 N_2O release rates during nitrogen removal process under different salinities in SBBR

盐度小于 $10 \text{ g NaCl}/\text{L}$ 时,硝化初期(150 min内), N_2O 释放速率不足 $0.1 \text{ mg N}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。硝化过程以生成 NO_3^- 为主,反应器内 NO_2^- 积累较少,防止了以 NO_2^- 为电子受体的AOB好氧反硝化大量发生,同时,生物膜底部缺氧环境下发生 N_2O 还原过程,防止了 N_2O 的积累和释放;硝化过程后期(150~360 min),有机物含量降低,DO浓度增加,扩散进入生物膜内部能力增强,生物膜内部缺氧区范围降低,低氧条件下的反硝化过程导致 N_2O 的大量积累并释放^[32];以内碳源作为电子供体时, NO_x^- 还原过程受阻,系统内出现部分 NO_2^- 积累[图4(b)], $\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$ 对Nos具有明显抑制作用,生物膜内部反硝化过程止步于 N_2O , N_2O 释放速率增加。盐度为0,5和 $10 \text{ g NaCl}/\text{L}$ 时,SBBR系统内最大 N_2O 释放速率分别为0.505,0.580和 $0.670 \text{ mg N}/(\text{L}\cdot\text{h})$;360 min后, NH_4^+ 降至 $10.0 \text{ mg}/\text{L}$ 以下,AOB好氧反硝化过程电子供体减少, N_2O 释放速率降低;曝气结束(450 min)时, N_2O 释放速率分别降至0.040,0.074和 $0.280 \text{ mg N}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。

盐度增至15和 $20 \text{ g NaCl}/\text{L}$ 时,NOB活性受阻,硝化过程积累大量的 NO_2^- ,高浓度 NH_4^+ 耦合高浓度

NO_2^- ,促进了低氧条件下AOB好氧反硝化过程的发生^[25]。好氧曝气初始,SBBR内 N_2O 释放速率分别达 0.126 和 $0.124 \text{ mg N}/(\text{L}\cdot\text{h})$;高盐度条件下,微生物合成内碳源减少(图3),内源反硝化过程中,PHA和Gly氧化过程提供电子速率降低,Nar,Nir和Nos之间存在电子分配和竞争机制,其中,Nos和Nir均需在细胞色素氧化体系c550的电子传递过程获得电子,Nos获得电子能力弱于Nir^[33],同步发生的内源反硝化过程中 N_2O 产量迅速增加,反应后期,其最大 N_2O 释放速率分别增至 0.736 和 $0.880 \text{ mg N}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 。

3.5 SBBR脱氮过程EPS变化特性

细菌自身分泌产生的胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substance, EPS)是生物膜形成的基础性物质,主要由蛋白质、多聚糖、腐殖酸等组成^[22]。进水NaCl盐度是影响SBBR生物膜微生物EPS含量的重要因素。进水盐度增加,细胞内外离子浓度差异加大,为平衡细胞膜内外渗透压,细胞在渗透压的胁迫作用下分泌大量的酶和多聚物等辅助物质。EPS增加可以增强微生物主动运输和扩散等生物活动,维持正常的新陈代谢。EPS成分和空间结构的改变,可引起生物膜的亲和性、凝聚性和传质阻力等理化性能的改变,从而导致生物膜反应器内部DO和有机物等反应基质传质性能发生变化,进而影响SBBR内部缺氧区域大小和缺氧区反硝化过程,导致反硝化过程 NO_2^- , N_2O 等中间产物的积累和 N_2O 的释放。

图6为不同盐度生物膜表面EPS变化特性。为防止盐度增加导致的渗透压变化引起微生物裂解或死亡,微生物通过增加EPS分泌方式平衡微生物细胞膜内外渗透压^[34,35]。进水盐度由 $0 \text{ g NaCl}/\text{L}$ 逐渐增至 $20 \text{ g NaCl}/\text{L}$ (对应阶段I~V),“盛宴期”蛋白质(PN_{fe})和多聚糖(PS_{fe})平均含量分别由 26.2 和 $4.8 \text{ mg}/\text{g MLVSS}$ 增至 46.8 和 $12.0 \text{ mg}/\text{g MLVSS}$,“饥饿期” PN_{fa} 和 PS_{fa} 平均含量分别由 21.3 和 $4.2 \text{ mg}/\text{g MLVSS}$ 增至 48.0 和 $13.4 \text{ mg}/\text{g MLVSS}$ 。

低盐度条件下,“盛宴期”SBBR内含大量外源有机物,微生物利用外源有机物合成内源物质,EPS($\text{PN}+\text{PS}$)含量增加,“饥饿期”微生物逐渐进入内源呼吸阶段,“盛宴期”积累的EPS_{fe}等大分子物质可充当细菌的碳源和能源而被消耗,EPS_{fe}含量降低。因此,“饥饿期”EPS_{fa}小于“盛宴期”EPS_{fe}含量(图6)。盐度增加,大量不能适应高盐环境的细胞解体,导致蛋白质和多糖等大分子物质释放,EPS迅速增加,而高盐度对微生物活性产生抑制作用,代谢能力降低,导致高盐条件下EPS_{fa}大于EPS_{fe}(图6)。

随盐度增加, 微生物 PN/PS 呈逐渐减小趋势。盐度为 0 g NaCl/L, SBBR 内微生物“盛宴期” PN_{fe}/PS_{fe} 和“饥饿期” PN_{fa}/PS_{fa} 平均值分别为 5.11 和 5.48; 盐度增至 20 g NaCl/L, PN_{fe}/PS_{fe} 和 PN_{fa}/PS_{fa} 分别降至 3.62 和 3.94。随盐度增加, EPS 中 PS 比例增加。PS 中含大量极性基团, 与水分子结合能力较强, 当环境渗透压增加时, PS 增加可防止生物体内水分流失, 盐度增加刺激微

生物分泌更多 PS, 以防御渗透压增加对细胞的破坏, 这也是细菌抵御盐度增加的保护机制。PN/PS 降低, 污泥絮体疏水性能降低, 生物膜结构变疏松, DO 扩散进入膜内阻力减小, 膜内缺氧区域减少, Nos 对 DO 浓度变化敏感, DO 增加, Nos 获得电子能力减弱, 抑制了 N_2O 的还原过程, 这也是导致高盐度下反硝化过程 N_2O 释放增加的因素之一。

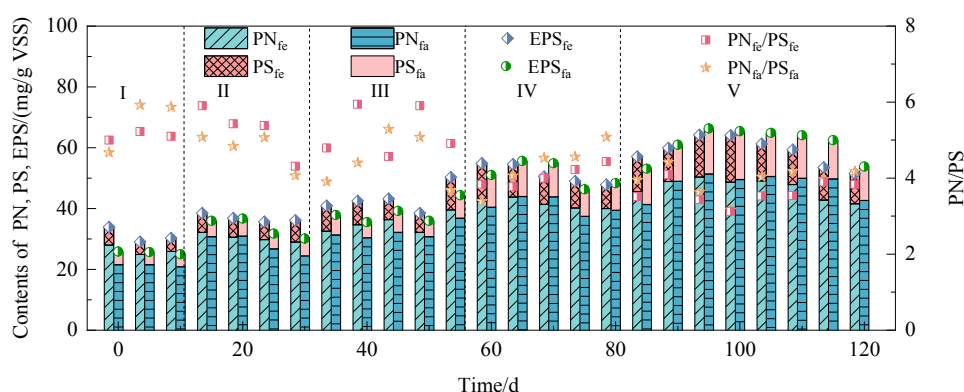


图6 SBBR 盛宴期和饥饿期 PN, PS, EPS 和 PN/PS 的变化

Fig.6 Variations of PN, PS, EPS and PN/PS in feast and famine phases during the whole process

4 结论

本工作通过在污水中投加粗盐以模拟含盐污水, 研究了 SBBR 反应器处理不同盐度生活污水脱氮过程 N_2O 释放及内聚物变化特性, 得到以下结论:

(1) 在实验盐度范围内, 盐度增加对 COD 去除影响较小。随盐度增加, SBBR 内平均 NH_4^+ 去除率由 98% 以上降至约 70.5%, TN 去除率由 42.4% 降至 16.9%, N_2O 产率由 3.9% 增至 13.3%。盐度增加对菌群抑制程度依次为: 亚硝态氮氧化菌(NO_B)>氨氧化菌(AOB)>碳氧化菌。盐度由 0 g NaCl/L 增至 20 g NaCl/L, $SOUR_{AOB}/SOUR_{NOB}$ 由 0.90 增至 2.96, 系统出水平均 NO_2^-/NO_3^- 由 0.03 增至 0.89。

(2) 低盐度下(≤ 10 g NaCl/L), N_2O 主要产生于 AOB 好氧反硝化过程, N_2O 扩散至 SBBR 底部缺氧区域, 有助于 N_2O 还原; 高盐度下(>10 g NaCl/L), PHA 和 Gly 合成量减少, 硝化过程高浓度 NO_2^- 积累耦合高剩余 NH_4^+ , AOB 好氧反硝化过程增强, 硝化过程后期, 同步反硝化过程内碳源电子供体减少, 高盐度加剧不同还原酶之间电子竞争, N_2O 还原受阻, 释放量增加。

(3) 细胞 EPS 释放随盐度增加而增加, 低盐度下, EPS 可作为“饥饿期”碳源被微生物利用, EPS_{fa} 小于 EPS_{fe} ; 高盐度下, EPS 释放增加, 微生物活性受到高盐

度抑制, 代谢能力降低, EPS_{fa} 大于 EPS_{fe} 。盐度增加, PN/PS 降低, 生物膜结构变得疏松, DO 扩散能力增强, 膜内缺氧区域减少, N_2O 还原受阻。

参考文献

- [1] He H J, Chen Y J, Li X, et al. Influence of salinity on microorganisms in activated sludge processes: a review [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, 119: 520–527.
- [2] Zhao W, Wang Y Y, Liu S H, et al. Denitrification activities and N_2O production under salt stress with varying COD/N ratios and terminal electron acceptors [J]. Chemical Engineering Journal, 2013, 215/216(15): 252–260.
- [3] 郭姿璇, 王群, 余宗莲. 盐度对未驯化微生物活性的影响 [J]. 中国环境科学, 2017, 37(1): 181–187.
Guo Z X, Wang Q, She Z L. Effects of salinity on the activity of non-acclimated biomass [J]. China Environmental Science, 2017, 37(1): 181–187.
- [4] Zhao Y Y, Park H D, Park J H, et al. Effect of different salinity adaptation on the performance and microbial community in a sequencing batch reactor [J]. Bioresource Technology, 2016, 216: 808–816.
- [5] Wang J L, Gong B Z, Huang W, et al. Bacterial community structure in simultaneous nitrification, denitrification and organic matter removal process treating saline mustard tuber wastewater as revealed by 16S rRNA sequencing [J]. Bioresource Technology, 2017, 228: 31–38.
- [6] Stocker T F, Qin D, Plattner G K, et al. IPCC fifth assessment report, climate change 2013: the physical science basis [R]. Stockholm: Cambridge University Press, 2013: 8–10

- [7] Ravishankara A R, Daniel J S, Portmann R W. Nitrous oxide (N_2O): the dominant zone-depleting substance emitted in the 21st century [J]. *Science*, 2009, 326(5949): 123–125.
- [8] Wunderlin P, Mohn J, Joss A, et al. N_2O emission from biological WWT-Global relevance and pathway identification with isotopes [C]//Proceedings of 7th IWA Leading-Edge Conference on Water and Wastewater Technologies. USA, 2010: 265–270.
- [9] Hink L, Lycus P, Gubry-Rangin C, et al. Kinetics of NH_3 -oxidation, NO -turnover, N_2O -production and electron flow during oxygen depletion in model bacterial and archaeal ammonia oxidisers [J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(12): 4882–4896.
- [10] White C J, Lehnert N. Is there a pathway for N_2O production from hydroxylamine oxidoreductase in ammonia-oxidizing bacteria [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016, 113(51): 14474–14476.
- [11] Stuvén R, Bock E. Nitrification and denitrification as a source for NO and NO_2 production in high-strength wastewater [J]. *Water Research*, 2001, 35(8): 1905–1914.
- [12] Shi X, Hu H W, Zhu X, et al. Nitrifier-induced denitrification is an important source of soil nitrous oxide and can be inhibited by a nitrification inhibitor 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) [J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(12): 4851–4865.
- [13] Kampschreur M J, Temmink H, Kleerebezem R, et al. Nitrous oxide emission during wastewater treatment [J]. *Water Research*, 2009, 43(17): 4093–4103.
- [14] Sabba F, Terada A, Wells G, et al. Nitrous oxide emissions from biofilm processes for wastewater treatment [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(22): 9815–9829.
- [15] 巩有奎, 任丽芳, 彭永臻. 不同 DO 下 SBBR 亚硝酸型同步脱氮及 N_2O 释放特性 [J]. *化工学报*, 2019, 70(4): 1550–1558.
- Gong Y K, Ren L F, Peng Y Z. Characteristics of simultaneous nitrification and denitrification via nitrite and N_2O emission in SBBR under different DO concentrations [J]. *CIESC Journal*, 2019, 70(4): 1550–1558.
- [16] 王建龙, 吴立波, 齐星, 等. 用氧吸收速率(OUR)表征活性污泥硝化活性的研究 [J]. *环境科学学报*, 1999, 19(3): 225–229.
- Wang J L, Wu L B, Qi X, et al. Characterization of nitrification activity of activated sludge by oxygen uptake rate (OUR) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1999, 19(3): 225–229.
- [17] 巩有奎, 苗志加, 彭永臻. 生物脱氮好氧阶段不同反应过程 N_2O 产量 [J]. *环境工程学报*, 2016, 12(12): 6963–6968.
- Gong Y K, Miao Z J, Peng Y Z. Nitrous oxide production from sequencing batch reactor sludge under nitrifying conditions of different process [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2016, 12(12): 6963–6968.
- [18] American Public Health Association (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater [M]. 21th Ed. Washington DC: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, 2005: 9–72.
- [19] Oehmen A, Keller-Lehmann B, Zeng R J, et al. Optimisation of poly- β -hydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1070(1/2): 131–136.
- [20] Zeng R J, Van Loosdrecht M C M, Yuan Z G, et al. Metabolic model for glycogen-accumulating organisms in anaerobic/aerobic activated sludge systems [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2003, 81(1): 92–105.
- [21] Yang Q, Liu X H, Peng C Y, et al. N_2O production during nitrogen removal via nitrite from domestic wastewater: main sources and control method [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(24): 9400–9406.
- [22] Campo R, Corsino S, Torregrossa M, et al. The role of extracellular polymeric substances on aerobic granulation with stepwise increase of salinity [J]. *Separation and Purification Technology*, 2018, 195(29): 12–20.
- [23] Cortés-Lorenzo C, Rodríguez-Díaz M, Sipkema D, et al. Effect of salinity on nitrification efficiency and structure of ammonia oxidizing bacterial communities in a submerged fixed bed bioreactor [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 266: 233–240.
- [24] Soliman M, Eldyasti A. Ammonia-Oxidizing Bacteria (AOB): opportunities and applications—a review [J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2018, 17(2): 285–321.
- [25] Chen X, Yuan Z, Ni B J. Nitrite accumulation inside sludge flocs significantly influencing nitrous oxide production by ammonium-oxidizing bacteria [J]. *Water Research*, 2018, 143(15): 99–108.
- [26] Shimada T, Zilles J, Raskin L, et al. Carbohydrate storage in anaerobic sequencing batch reactors [J]. *Water Research*, 2007, 41(20): 4721–4729.
- [27] Pittmann T, Steinmetz H. Influence of operating conditions for volatile fatty acids enrichment as a first step for polyhydroxyalkanoate production on a municipal waste water treatment plant [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 148: 270–276.
- [28] 崔有为, 金常林, 王好韩, 等. 碳源对 O/A-F/F 模式积累内源聚合物及反硝化的影响 [J]. *环境科学*, 2019, 40(1): 336–342.
- Cui Y W, Jin C L, Wang H H, et al. Effect of carbon sources on the accumulation of endogenous polymers and denitrification in the O/A-F/F mode [J]. *Environmental Science*, 2019, 40(1): 336–342.
- [29] Passanha P, Kedia G, Dinsdale R M, et al. The use of NaCl addition for the improvement of poly-hydroxyalkanoate production by *Cupriavidus necator* [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 163: 287–294.
- [30] Zhu R L, Wang S Y, Li J, et al. Biological nitrogen removal from landfill leachate using anaerobic-aerobic process: denitrification via organics in raw leachate and intracellular storage polymers of microorganisms [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 128: 401–408.
- [31] Palmeiro S T, Fra V A, Rey M N, et al. Transient concentrations of NaCl affect the PHA accumulation in mixed microbial culture [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 306: 332–339.
- [32] Gong Y K, Peng Y Z, Yang Q, et al. Formation of nitrous oxide in a gradient of oxygenation and nitrogen loading rate during denitrification of nitrite and nitrate [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 227/228: 453–460.
- [33] Pan Y T, Ni B J, Yuan Z G, et al. Electron competition among nitrogen oxides reduction during methanol-utilizing denitrification in wastewater treatment [J]. *Water Research*, 2013, 47(10): 3273–3281.
- [34] Corsino S F, Campo R, Bella D G, et al. Cultivation of granular sludge with hypersaline oily wastewater [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, 105: 192–202.
- [35] Wan C, Yang X, Lee D J, et al. Partial nitrification of wastewaters with high NaCl concentrations by aerobic granules in continuous flow reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 152: 1–6.