



文章栏目：水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.201902051

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

张梦竹, 于磊, 王睿, 等. Orbal 氧化沟工艺污水厂中关键酶活性对污水处理效率的影响[J]. 环境工程学报, 2019, 13(9): 2142-2151.

ZHANG Mengzhu, YU Lei, WANG Rui, et al. Effect of key enzyme activities on the operating efficiency in wastewater treatment plant with Orbal oxidation ditch[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, 13(9): 2142-2151.

Orbal 氧化沟工艺污水厂中关键酶活性对污水处理效率的影响

张梦竹^{1,*}, 于磊², 王睿¹, 李元志¹

1. 北京梅凯尼克环保科技有限公司, 北京 100085

2. 粤丰粤展环境管理(广东)有限公司, 东莞 523000

第一作者: 张梦竹(1987—), 女, 硕士, 工程师。研究方向: 污水及污泥处理技术等。E-mail: zhangmengzhu@bjmkt.net

*通信作者

摘要 针对实际污水处理厂提标改造过程中运行参数变化对运行效果产生影响机制不明确的问题, 选取以 Orbal 氧化沟为核心工艺的某实际污水处理厂, 设置 2 种运行模式, 采用 PCR-DGGE 分析、实时荧光定量 PCR 分析、酶活性分析等方法研究了不同运行模式下活性污泥中微生物种群结构、功能微生物含量、关键酶活性的特征; 分析了微生物种群、关键酶活性与污染物去除率之间的关系; 探讨了 Orbal 氧化沟工艺中运行参数变化对运行效果产生影响的机制。结果表明: 适当减少 Orbal 氧化沟外侧沟道内转刷的开启数量, 其沟道内溶解氧分布将发生明显变化; 沿水流方向, 厌氧或缺氧段将明显延长; 长期运行结果显示, 进水水质稳定时, 减少转刷开启数量没有对生物处理工段内微生物种群结构产生影响。同时, 外侧沟道内硝酸还原酶 (nitrate reductase, NR) 活性 (以羟胺计) 在夏季和冬季却均有显著增加, 分别由模式 I 的 $1.58 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $0.80 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 增加到了模式 II 的 $2.27 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $1.07 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$; 相关分析表明, HAO 和 NR 活性与氨氮和总氮去除率呈显著相关, 斯皮尔曼相关系数 r 分别为 $0.99 (P=0.01)$ 和 $0.88 (P=0.12)$ 。在实际污水处理厂中, 关键酶活性是运行参数改变对运行效率产生影响的根本原因。

关键词 Orbal 氧化沟; 微生物种群; 实时定量 PCR; 关键酶活性; 运行效率

近年来, 随着经济建设的高速发展, 城镇人口急剧增加, 污水排放量和污染负荷不断增大, 从而导致污水处理厂出水排放的受纳水体水质不断恶化^[1-3]。2015 年 4 月, 国务院印发的《水污染防治行动计划》中明确要求, 敏感区域城镇污水处理设施应全面达到一级 A 排放标准^[4]。因此, 提标改造已成为污水处理厂满足愈发严格的出水排放标准的必然选择之一^[5]。然而, 在实际污水处理厂提标改造过程中, 由于对运行参数变化导致的运行效率改变机制认识不清, 盲目选择微生物种群结构作为响应指标, 导致在提标改造关键参数及工艺的选择上也存在一定的盲目性^[6-7]。因此, 明确运行参数变化对运行效率产生影响的根本原因, 对目前污水处理厂提标改造具有重要的理论意义。

从污染物降解途径来看, 限速酶是物质转化最根本的原因之一。如在氮素转化过程中, 氨单

加氧酶 (AMO) 和羟胺氧化还原酶 (HAO) 是硝化反应的限速酶^[8], 硝酸盐原酶 (NR) 和亚硝酸盐还原酶 (NIR) 是反硝化反应的限速酶^[9-11]。一直以来, 关于生物脱氮过程中关键酶的研究主要集中在酶的纯化和反应机理上^[12-14], 近年来, 对于酶活性在污水处理过程中的作用才逐步展开。LI 等^[15]初步分析了与 TN 去除相关的关键酶种类; CALDERON 等^[16]阐述了酶活性水平与运行参数变化之间的关系; PAN 等^[17]探讨了污水处理系统脱氮过程中 NR 和 NIR 的特性。然而, 这些研究主要集中在实验室小试规模。事实上, 实际污水处理厂运行过程比实验室小试装置更加复杂。因此, 有必要对实际污水处理厂关键酶活性与污染物去除率之间的关系进行深入研究。

氧化沟是城市污水处理的 3 大典型工艺之一^[18], 在中国, 从 20 世纪 80 年代以来, 氧化沟工艺一直被广泛采用^[19]。本研究以 Orbal 氧化沟为研究对象, 分析 2 种运行模式下活性污泥中微生物种群结构、功能微生物含量、关键酶活性及污染物去除效率, 并对其相互关系进行了探讨, 目的是揭示影响实际污水处理厂污染物去除率的根本原因, 以为实际污水处理厂提标改造提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验原料

PCR 产物回收纯化试剂盒、实时荧光定量 PCR 反应试剂盒; 磷酸钾 (K_3PO_4)、硫酸铵 ($(NH_4)_2SO_4$)、细胞色素 C ($C_{42}H_{52}FeN_8O_6S_2$)、醋酸钠 (CH_3COONa)、羟胺 (NH_2OH)、甲基紫 ($C_{24}H_{28}N_3$)、硝酸钠 ($NaNO_3$)、双对氯苯基三氯乙烷 ($(ClC_6H_4)_2CH(CCl_3)$) 均为分析纯。

核酸自动提取仪 (Tanbead, 北京九宇金泰生物技术有限公司); 聚丙烯酰胺凝胶电泳仪 (Bio-Rad, 伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司); 凝胶成像系统 (Bio-Rad, 伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司); 测序仪 (ABI 3730XL, 爱普拜斯应用生物系统贸易 (上海) 有限公司); 实时荧光定量 PCR 仪 (SteponePlus, 爱普拜斯应用生物系统贸易 (上海) 有限公司); 冷冻离心机 (Biofuge Stratos, 赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司); 溶氧仪 (CellOx325, 德国 WTW 中国技术服务中心); pH 计 (SenTix 41-3, 德国 WTW 中国技术服务中心); 温度计 (WTW-Multi 340i, 德国 WTW 中国技术服务中心); 紫外可见分光光度计 (UV-1700, 岛津企业管理 (中国) 有限公司)。

1.2 实验方法

本实验在河南省某市的一个实际污水处理厂进行, 该污水厂主体采用 Orbal 氧化沟工艺, 污水处理量为 $4 \times 10^4 \text{ m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$, 水力停留时间为 10 h, 污泥龄为 12 d。实验分别在 2 种模式下进行, 每种模式的运行周期为 1 年, 进水水质如表 1 所示。2 种运行模式的主要区别在于沟道内转刷开启数量不同, 模式 I 的外、中、内沟道转刷开启数量分别为 6、4、4 个; 模式 II 的沟道转刷开启数量分别为 4、4、4 个。2 种模式下的污泥浓度、污泥负荷、COD 负荷及 NH_4^+-N 负荷均相近, 模式 I 的污泥浓度、污泥负荷、COD 负荷及 NH_4^+-N 负荷分别为 $3\ 015 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.13 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 、 $0.35 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 和 $3.80 \times 10^{-2} \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$; 模式 II 的污泥浓度、污泥负荷、COD 负荷及 NH_4^+-N 负荷分别为 $2\ 965 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.13 \text{ kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$ 、 $0.34 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 和 $3.80 \times 10^{-2} \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 。每周监测不同模式下进出水水质及沟道内溶解氧变化, 测试位置如图 1 所示 (包括转刷后 1 m 和下一个转刷前 1 m)。同时, 在每年 6 月和 12 月, 分别采集沟道内活性污泥样品, 用于微生物种群、功能微生物含量及关键酶活性分析。

表 1 Orbal 氧化沟的进水水质

Table 1 Influent quality of Orbal oxidation ditch

模式	COD/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NH_4^+-N /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	TN/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	TP/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	SS/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	pH
I	492~734	35.25~48.52	42.56~61.25	2.25~4.15	100~325	6.80~7.20
II	490~684	36.75~47.56	45.75~60.25	2.65~4.75	120~280	6.70~7.20

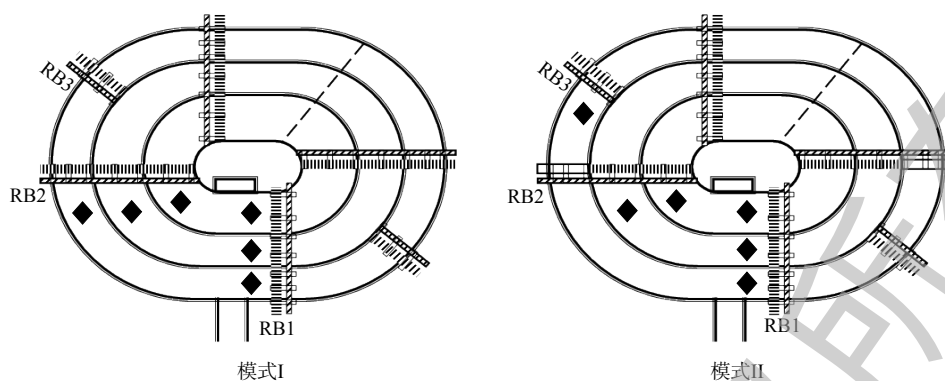


图1 采集及测试位点示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sites for sampling and testing in Orbal oxidation ditch

1.3 分析方法

分别采用PCR-DGGE技术、实时荧光定量PCR技术定性、定量分析不同运行模式下活性污泥微生物种群结构及功能微生物含量^[20-23]；采用分光光度法测定不同运行模式下关键酶活性，一个单位的酶活性(U)定义为：1 g活性污泥中，1 h转化1 mg催化底物所需酶的量^[24-26]；采用文献中的方法^[27]测定不同运行模式下污水厂的进出水水质^[27]。

2 结果与讨论

2.1 不同模式下污水处理厂运行效果

在2种运行模式下，该厂进出水中COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和TN的监测结果见图2。从图2可以看出，在模式I和模式II下，COD的平均去除率分别为 $(94.28\pm 2.19)\%$ 和 $(91.79\pm 2.77)\%$ ； $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的平均去除率分别为 $(72.80\pm 7.07)\%$ 和 $(69.36\pm 8.45)\%$ ；TN的平均去除率分别为 $(25.50\pm 6.83)\%$ 和 $(44.67\pm 10.96)\%$ 。同时，图2中结果表明，除冬季外，其余季节在模式II运行条件下，COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和TN的去除率均明显高于模式I。在4—10月，模式I和模式II的COD的平均去除率分别为 $(96.08\pm 0.87)\%$ 和 $(94.17\pm 0.73)\%$ ； $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的平均去除率分别为 $(81.38\pm 3.47)\%$ 和 $(80.59\pm 1.39)\%$ ，TN的平均去除率分别为 $(31.77\pm 5.41)\%$ 和 $(59.81\pm 5.33)\%$ 。

2.2 2种模式下不同沟道DO浓度变化特征

在2种运行模式下，分别对Orbal氧化沟3个沟道不同位置处DO浓度进行测定，结果见图3。可以看出，DO浓度在转刷前和转刷后有明显不同，特别是在外侧沟道。模式I条件下，转刷后1 m处，外渠道的DO浓度为 $(2.28\pm 0.3)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，在下一个转刷前1 m处，外渠道的DO浓度为 $(0.80\pm 0.1)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在模式II条件下，转刷后1 m处外渠道的DO浓度为 $(2.03\pm 0.4)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，在下一个转刷前1 m处，外渠道的DO浓度为 $(0.16\pm 0.1)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3 功能微生物特征

在2种运行模式下，DGGE图谱见图4。可以看出，各沟道内的微生物种群结构基本类似(图4(a))。夏季时，模式I外、中、内沟道香农指数分别为3.76、3.79和3.83，模式II外、中、内沟道香农指数分别为3.81、3.97和3.97。冬季时，模式I外、中、内沟道香农指数分别为3.01、3.11和3.15，模式II外、中、内沟道香农指数分别为3.05、3.02和3.11。并且，在2种模式下各个沟道中均有主条带W4~W19存在。比对结果显示，所有测得序列97%~100%程度上均与先前确定的16S rRNA基因序列具有同源性，分别隶属于拟杆菌门、变形杆菌门、绿弯菌门和厚壁菌门^[28-30](图4(b))。

功能微生物氨氧化菌AOB和硝化细菌NOB定量检测结果见图5。可以看出，无论夏季还是冬

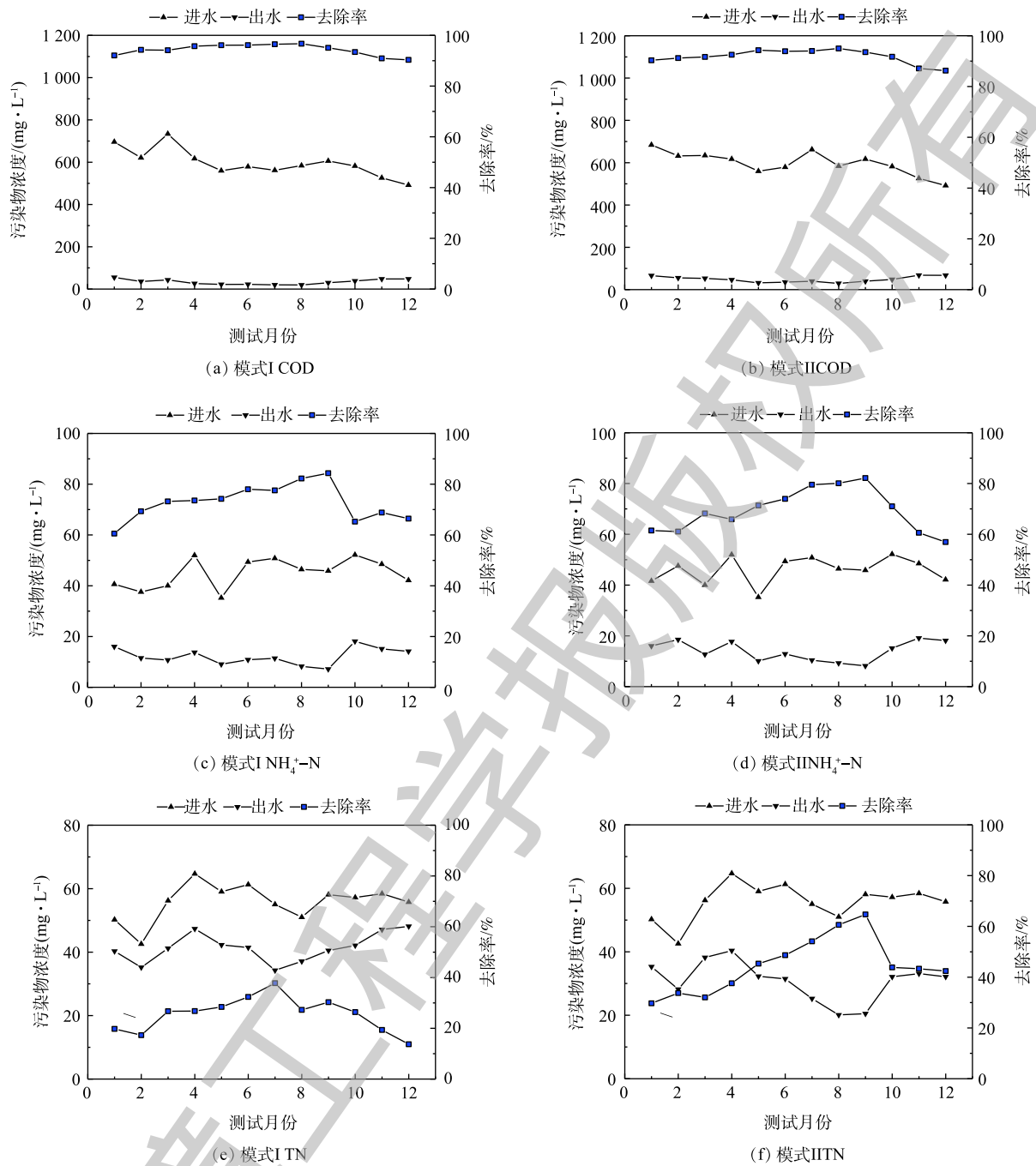


图 2 2 种模式下污水处理厂 COD、NH₄⁺-N 和 TN 的去除率

Fig. 2 Removal efficiencies of COD, NH₄⁺-N and TN under two modes

季, 总细菌、AOB 和 NOB 的含量在模式 I 和模式 II 下均呈现相似趋势。夏季时, 在模式 I 下, Orbal 氧化沟外、中、内沟道中总细菌含量分别为 6.70×10^{10} 、 5.80×10^{10} 、 5.96×10^{10} cells·g⁻¹(以干污泥含量计), AOB 含量分别为 8.98×10^5 、 1.02×10^6 、 2.52×10^6 cells·g⁻¹(以干污泥含量计), NOB 含量分别为 4.89×10^2 、 8.88×10^2 、 1.02×10^3 cells·g⁻¹(以干污泥含量计); 而在模式 II 下, 外、中、内沟道中总细菌含量分别为 5.84×10^{10} 、 6.19×10^{10} 、 5.88×10^{10} cells·g⁻¹(以干污泥含量计), AOB 含量分别为 6.25×10^5 、 9.88×10^5 、 1.80×10^6 cells·g⁻¹(以干污泥含量计), NOB 含量分别为 3.96×10^2 、 7.69×10^2 、 1.66×10^3 cells·g⁻¹(以干污泥含量计)。冬季时, Orbal 氧化沟 3 个沟道内总细菌、AOB、NOB 含量均略低于夏季。在

模式 I 下, 外、中、内沟道中总细菌含量分别为 5.58×10^{10} 、 5.21×10^{10} 、 5.07×10^{10} cells·g⁻¹(以干污泥含量计), AOB 含量分别为 4.25×10^5 、 8.85×10^5 、 9.26×10^5 cells·g⁻¹(以干污泥含量计), NOB 含量分别为 3.10×10^2 、 3.23×10^2 、 4.15×10^2 cells·g⁻¹(以干污泥含量计); 而在模式 II 下, 外、中、内沟道中总细菌含量分别为 5.26×10^{10} 、 5.61×10^{10} 、 5.12×10^{10} cells·g⁻¹(以干污泥含量计), AOB 含量分别为 4.23×10^5 、 5.26×10^5 、 7.68×10^5 cells·g⁻¹(以干污泥含量计), NOB 含量分别为 2.26×10^2 、 4.21×10^2 、 8.52×10^2 cells·g⁻¹(以干污泥含量计)。从 AOB 和 NOB 在总细菌中所占的相对比例来看, 模式 I 和模式 II 条件下也呈现相似结果。在模式 I 下, AOB 和 NOB 的比例分别是 $7.62 \times 10^{-6} \sim 4.23 \times 10^{-5}$ 和 $8.19 \times 10^{-9} \sim 1.71 \times 10^{-8}$; 在模式 II 下, AOB 和 NOB 的比例分别是 $9.38 \times 10^{-6} \sim 3.06 \times 10^{-5}$ 和 $7.50 \times 10^{-9} \sim 2.82 \times 10^{-8}$ 。

理论上, 活性污泥中的微生物种群会随着污水处理运行参数的变化而发生变化。因此, 微生物种群结构变化常用来解释运行参数调节后污水处理效果发生变化这一现象^[31]。本实验是在一个实际污水处理厂展开, 水质监测结果发现, 当外沟道转刷开启数量减少后, 污水处理厂 TN 去除效率明显提升。然而, 2 种运行模式下微生物种群结构和功能微生物含量却呈现高度相似现象。这与 HASHIMOTO 等^[32]提出的活性污泥中细菌群落结构在实际污水处理系统中是相对稳定的这一结论是相符的。当然, 本实验在同一污水处理厂展开, 进水水质的稳定也是 2 种运行模式下细菌种群结构未发生明显改变的重要原因之一, 而这一结论也与 ZHOU 等^[33]在实际污水处理厂的研究结果相符。因此, 在实际污水处理厂中, 仅选取微生物种群来解释运行参数变化引起运行效率提升的原因是远远不够的。

2.4 关键酶活性

在夏季和冬季, 分别采集 2 种运行模式下 3 个沟道内活性污泥样品, 进行关键酶 HAO 和 NR 的活性分析。结果显示, 在同一运行模式下, 与中、内沟道相比, HAO 活性在外沟道中最低。相反, NR 活性在外沟道中最高。并且, HAO 和 NR 的酶活性在夏季都高于冬季。外沟道中, 在模式 II 条件下 NR 活性明显高于模式 I。在模式 I 下, 夏季和冬季的 NR 活性(以羟胺计)分别为 $1.58 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $0.80 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$; 而模式 II 下, 夏季和冬季的 NR 活性分别为 $2.27 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $1.07 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 。内沟道中, 模式 I 和模式 II 条件下的 HAO 活性并无明显区别。在模式 I 下, 夏季和冬季的 HAO 活性(以羟胺计)分别为 $2.17 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $1.56 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$; 而在模式 II 下, 夏季和冬季的 HAO 活性分别为 $2.05 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $1.42 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 。分析结果表明, 外侧沟道转刷开启数量的减少, 直接对其中关键酶 NR 的活性产生了影响。在模式 II 下, 冬季和夏季外侧沟道内 NR 活性分别比模式 I 下提高了 25% 和 30%。与此同时, 该水厂出水中 TN 的去除率也由模式 I 的 $(25.50 \pm 6.83)\%$ 提高到了模式 II 的 $(44.67 \pm 10.96)\%$ 。综合分析关键限速酶 HAO、NR 与 TN、NH₄⁺-N 去除的关系, 结果表明, HAO 和 NR 活性与 NH₄⁺-N 和 TN 的去除均呈正相关关系, 斯皮尔曼相关系数 r 分别为 $0.99(P=0.01)$ 和 $0.88(P=0.12)$ (图 6)。也就是说, 改变污水厂运行参数, 生物处理单位中关键酶活性随之发生变化, 进而改变污染物的去除率。进一步深入分析发现, 减少 Orbal 氧化沟外侧沟道转刷

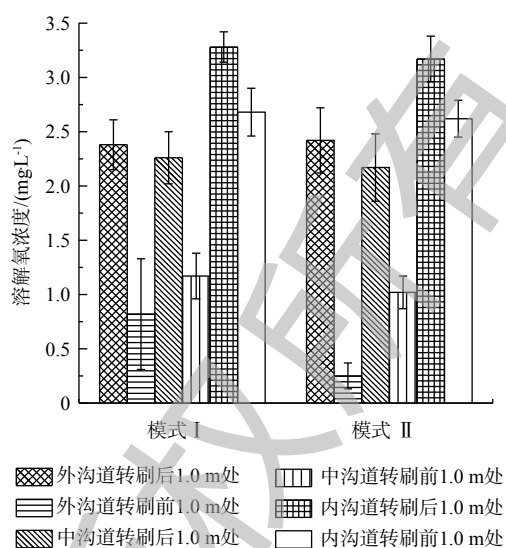
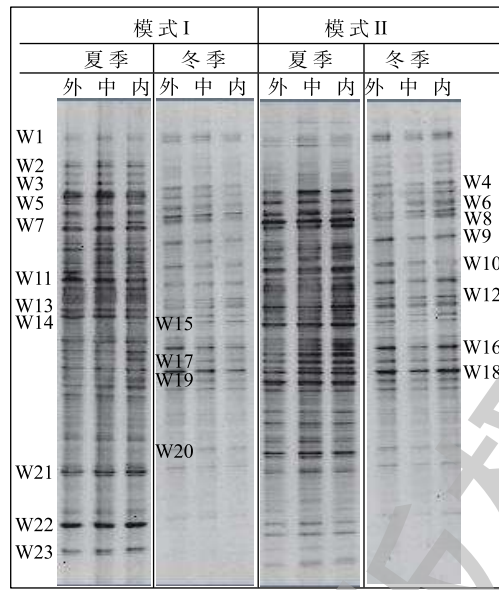
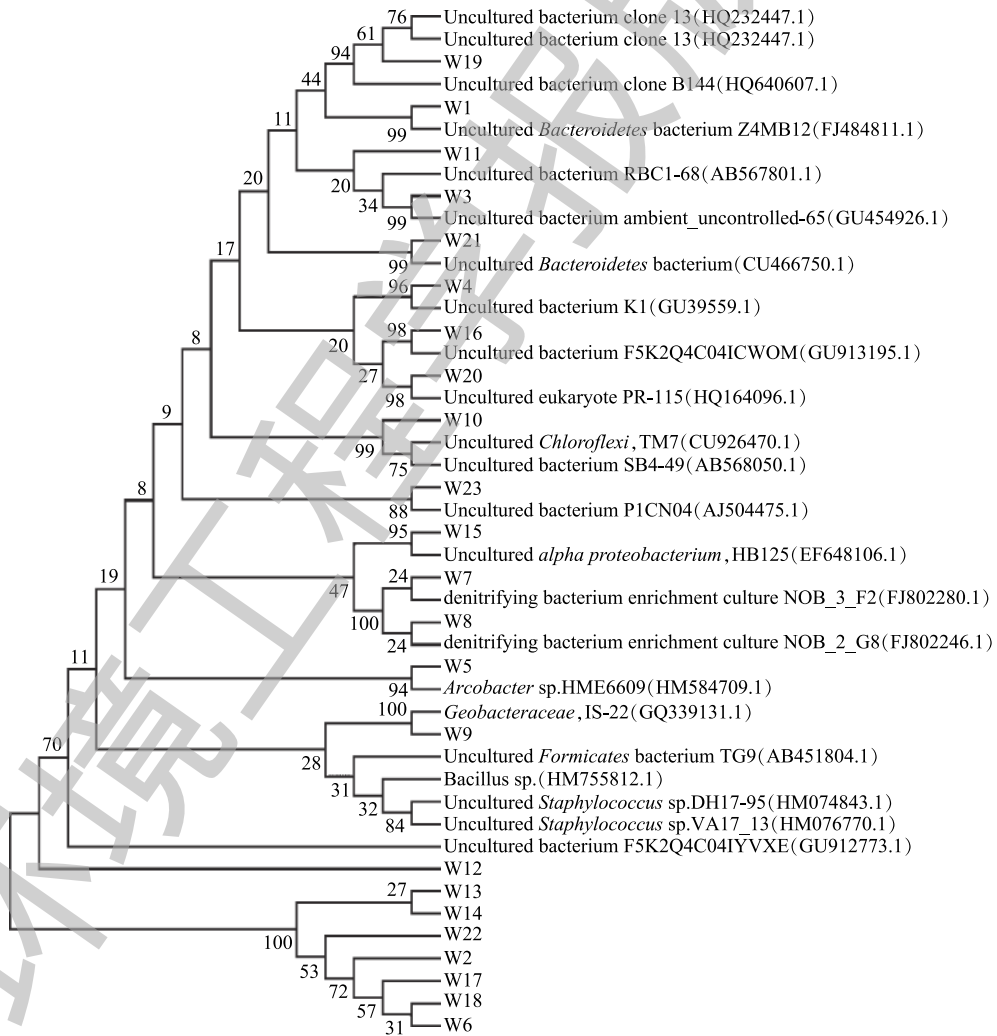


图 3 2 种模式下不同沟道转刷前后溶解氧浓度变化
Fig. 3 Variation of DO concentration before and after RB in different channels under two modes



(a) DGGE图谱



(b) 系统发育树

图 4 不同沟道活性污泥中细菌种群

Fig. 4 Bacterial population of activated sludge in different channels

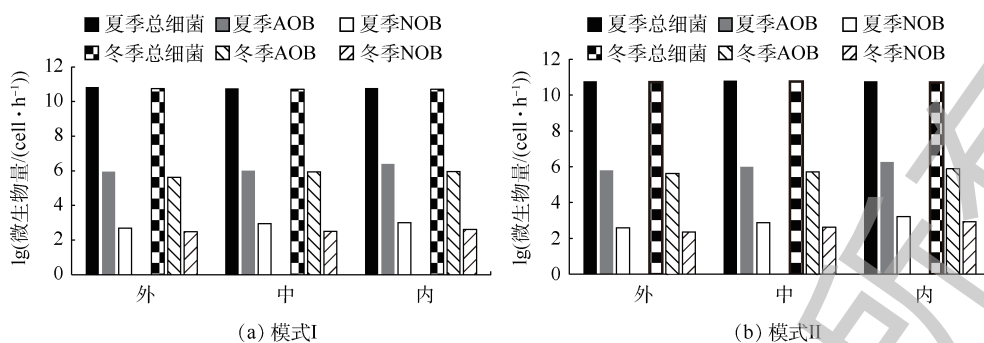
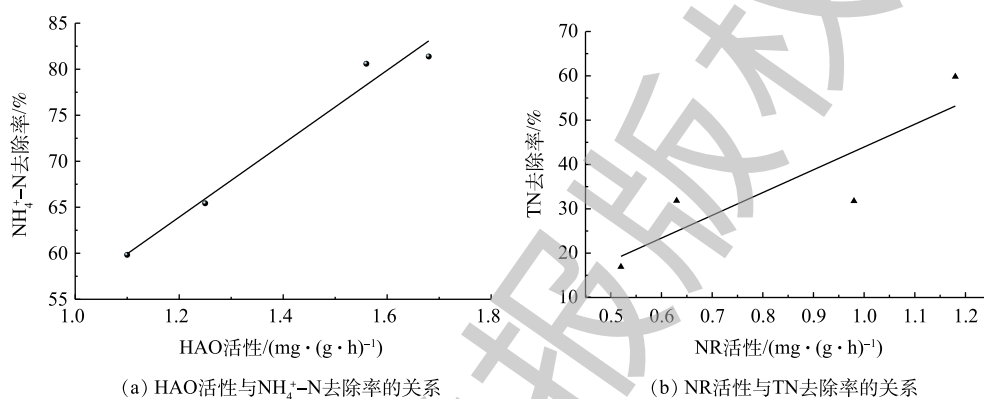


图5 2种模式下不同沟道内总细菌、AOB和NOB的含量

Fig. 5 Quantity of total bacteria, AOB and NOB in different channels under two modes

图6 HAO、NR活性与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN去除率之间的关系Fig. 6 Relationship between HAO and NR activities and removal rates of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and TN

开启数量，其沟道中缺氧或厌氧区段明显延长。供氧量的减少直接改变了外侧沟道局部的微环境条件。而这种微环境条件的改变，在不影响其微生物种群结构的前提下，直接提升了沟道内关键酶活性，进而提升了污水出水水质。这与赵群英等^[34]关于DO含量变化对污水出水水质具有明显影响的研究结论是一致的。也就是说，在实际污水处理厂中，改变运行参数后，相对于微生物种群结构和功能微生物含量而言，关键酶活性的响应更为快速灵敏。然而，本研究对关键酶活性的分析仅仅是酶粗提取物的分析，并且仅在一家污水处理厂进行。如要将该研究结果用于解析实际污水处理厂运行参数变化对处理效率影响的机制时，需要进行更为精准且全面的研究。例如，结合更多实际污水处理厂的研究，综合分析多种运行参数变化后其关键酶的响应过程；同时，设计小型批量研究实验，对提取的关键酶进行纯化，进而分析不同运行参数条件下关键酶的响应关系。

3 结论

- 1) 减少Orbal氧化沟外侧沟道转刷开启数量，可有效地提高实际污水处理厂TN的去除率。
- 2) 转刷开启数量减少后，Orbal氧化沟外侧沟道内溶解氧含量降低，缺氧或厌氧区明显延长，局部微环境发生改变。
- 3) 在此过程中，微生物种群及功能微生物含量保持稳定，未发生明显变化。关键酶NR活性随转刷开启数量的减少而升高。并且关键酶NR活性与TN去除效率呈正相关关系。本研究为实际污水处理厂提标改造参数及工艺选择提供了参考。

参 考 文 献

- [1] 李斌, 柏杨巍, 刘丹妮, 等. 全国地级及以上城市建成区黑臭水体的分布、存在问题及对策建议[J]. *环境工程学报*, 2019, 13(3): 511-518.
- [2] 王洪臣. 城镇污水处理的发展方向与技术需求[J]. *给水排水*, 2013, 39(5): 1-3.
- [3] SCHLUTER-VORBERG L, KNOPP G, CORNEL P, et al. Survival, reproduction, growth, and parasite resistance of aquatic organisms exposed on-site to wastewater treated by advanced treatment processes[J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 186: 171-179.
- [4] 中华人民共和国国务院. 水污染防治行动计划[EB/OL]. [2019-02-01]. http://www.gov.cn/zhengce/content/2015-04/16/content_9613.htm.
- [5] 苏俊新. 城镇污水处理厂一级A提标改造的关键因素及工艺选择[J]. *中国资源综合利用*, 2018, 36(6): 45-48.
- [6] 文建华, 王莎莎, 原建光. 我国城市污水处理现状及污水处理厂提标改造研究[J]. *焦作大学学报*, 2018, 21(2): 76-80.
- [7] 张岩, 李闯, 宋超, 等. 城市污水处理厂一级A提标改造工程进展[J]. *广东化工*, 2019, 46(6): 173-174.
- [8] GATES A J, RICHARDSON D J, BUTT J N. Voltammetric characterization of the aerobic energy-dissipating nitrate reductase of *Paracoccus pantotrophus*: Exploring the activity of a redox-balancing enzyme as a function of electrochemical potential[J]. *Biochemical Journal*, 2008, 409(1): 159-168.
- [9] FOURMOND V, BURLAT B, DEMENTIN S, et al. Dependence of catalytic activity on driving force in solution assays and protein film voltammetry: Insights from the comparison of nitrate reductase mutants[J]. *Biochemistry*, 2010, 49(11): 2424-2432.
- [10] PANG J, MATSUDA M, KURODA M, et al. Characterization of the genes involved in nitrogen cycling in wastewater treatment plants using DNA microarray and most probable number-PCR[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2016, 10(4): 1-7.
- [11] HOPPERT M, MAHONY T J, MAYER F, et al. Quaternary structure of the hydroxylamine oxidoreductase from *Nitrosomonas europaea*[J]. *Archives of Microbiology*, 1995, 163(4): 300-306.
- [12] LI M, LIANG Z, CALLIER M D, et al. Nitrogen and organic matter removal and enzyme activities in constructed wetlands operated under different hydraulic operating regimes[J]. *Aquaculture*, 2018, 496: 247-254.
- [13] LI B, YAN W, WANG Y, et al. Effects of key enzyme activities and microbial communities in a flocculent-granular hybrid complete autotrophic nitrogen removal over nitrite reactor under mainstream conditions[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 280: 136-142.
- [14] NAJMUDIN S, GONZALEZ P J, TRINCO J, et al. Periplasmic nitrate reductase revisited: A sulfur atom completes the sixth coordination of the catalytic molybdenum[J]. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2008, 13(5): 737-753.
- [15] LI Y H, LI H B, WANG X, et al. Changes in microbial populations and enzyme activities during nitrogen biodegradation of domestic sewage treatment in the subsurface wastewater infiltration system[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2011, 87(4): 431-435.
- [16] CALDERON K, GONZALEZ-MARTINEZ A, MONTERO-PUENTE C, et al. Bacterial community structure and enzyme activities in a membrane bioreactor (MBR) using pure oxygen as an aeration source[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 103: 87-94.

- [17] PAN J, YU L, LI G Z, et al. Characteristics of microbial populations and enzyme activities in non-shunt and shunt subsurface wastewater infiltration systems during nitrogen removal[J]. *Ecological Engineering*, 2013, 61: 127-132.
- [18] 张扬, 陈豪, 宋英豪, 等. Orbal氧化沟的应用及发展趋势[J]. *环境工程*, 2009, 27(4): 62-64.
- [19] 张小燕, 王刚, 郭华, 等. Orbal氧化沟+深度处理在城镇污水处理厂中的应用[J]. *中国给水排水*, 2017, 33(4): 56-58.
- [20] HAN Y, LIU J, GUO X, et al. Micro-environment characteristics and microbial communities in activated sludge flocs of different particle size[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 124: 252-258.
- [21] HARMS G, LAYTON A C, DIONISI H M, et al. Real-time PCR quantification of nitrifying bacteria in a municipal wastewater treatment plant[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(2): 343-351.
- [22] LIMPIYAKORN T, SHINOHARA Y, KURISU F, et al. Communities of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge of various sewage treatment plants in Tokyo[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 54: 205-217.
- [23] ZHAO B, HE Y L, HUGHES J, et al. Heterotrophic nitrogen removal by a newly isolated *Acinetobacter calcoaceticus* HNR[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 5194-5200.
- [24] ZHANG S M, LI W G, ZHANG D Y, et al. Purification and characterization of a low-temperature hydroxylamine oxidase from heterotrophic nitrifier *Acinetobacter* sp. Y16[J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2014, 24(7): 515-522.
- [25] SINGH D K, KUMAR S. Nitrate reductase, arginine deaminase, urease and dehydrogenase activities in natural soil (ridges with forest) and in cotton soil after acetamiprid treatments[J]. *Chemosphere*, 2008, 71(3): 412-418.
- [26] SACHDEVA V, HOODA V. Effect of changing the nanoscale environment on activity and stability of nitrate reductase[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2016, 89: 52-62.
- [27] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [28] ZHANG B, SUN B, JI M, et al. Quantification and comparison of ammonia-oxidizing bacterial communities in MBRs treating various types of wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 3054-3059.
- [29] LU H J, CHANDRAN K. Diagnosis and quantification of glycerol assimilating denitrifying bacteria in an integrated fixed-film activated sludge reactor via ^{13}C DNA stable-isotope probing[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(23): 8943-8949.
- [30] KONDO T, TSUNEDA S, EBIE Y. Characterization of the microbial community in the anaerobic/oxic/anoxic process combined with sludge ozonation and phosphorus adsorption[J]. *Journal of Water Environmental Technology*, 2009, 7(2): 135-142.
- [31] GRAHAM D W, SMITH V H. Designed ecosystem services: application of ecological principles in wastewater treatment engineering[J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2004, 2(4): 199-206.
- [32] HASHIMOTO K, MATSUDA M, INOUE D, et al. Bacterial community dynamics in a full-scale municipal wastewater treatment plant employing conventional activated sludge process[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, 118(1): 64-71.
- [33] ZHOU X, HAN Y, GUO X. Enhanced total nitrogen removal performance in a modified Orbal oxidation ditch system with internal nitrate recycle[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2013, 228: 124-131.
- [34] 赵群英, 田敏, 李侃. DO浓度及其空间分布对Orbal氧化沟去除污染物效果[J]. *净水技术*, 2018, 37(8): 87-89.
- (本文编辑: 金曙光, 王萌萌, 郑晓梅)

Effect of key enzyme activities on the operating efficiency in wastewater treatment plant with Orbal oxidation ditch

ZHANG Mengzhu^{1,*}, YU Lei², WANG Rui¹, LI Yuanzhi¹

1. Beijing Mechanical-Biological Treatment Engineer Co. Ltd., Beijing 100085, China

2. Yuefeng Yuezhan Environmental Management (Guangdong) Co. Ltd., Dongguan 523000, China

*Corresponding author, E-mail: zhangmengzhu@bjmbt.net

Abstract During the upgrade processes of full-scale wastewater treatment plant (WWTP), the effect mechanism of operation parameters variations on WWTP performance is still unclear. A WWTP with Orbal oxidation ditch was selected and two operation modes were set up. Molecular biological methods e.g. polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE), real-time quantitative PCR and enzyme activity analysis were used to study the microbial population, functional microbial content and key enzyme activity in activated sludge under different operation modes, and the relationships between the microbial population, key enzyme activity and pollutant removal efficiency were analyzed. The effect mechanism of the parameters on the Orbal oxidation ditch performance was also discussed. The results showed that an obvious change in the dissolved oxygen (DO) distribution in the outer channel occurred when properly reducing the number of operating brushes in Orbal oxidation ditch. As a result, the anaerobic or anoxic zone extended significantly along the direction of water flow. The results of long-term operation indicated that the number reduction of operating brushes did not affect the microbial population structure in the biological treatment section when the water quality of influent was stable. At the same time, the nitrate reductase (NR) activities in outer channel (calculated by hydroxylamine) in summer and winter increased significantly from $1.58 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ and $0.80 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ under mode I to $2.27 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ and $1.07 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ under mode II, respectively. Correlation analysis indicated that the activities of hydroxylamine oxidoreductase (HAO) and NR had positive relationship with removal efficiencies of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and TN, and the corresponding correlation coefficients were $0.99(P=0.01)$ and $0.88(P=0.12)$, respectively. In the full-scale WWTP, the key enzyme activity was the fundamental reason of parameters variations on the operating efficiency.

Keywords Orbal oxidation ditch; bacterial population; real-time quantitative PCR; key enzyme activities; operating efficiency