

短程硝化颗粒污泥的培养与特性分析

李凌云, 彭永臻, 吴蕾, 王淑莹, 马勇

(北京工业大学北京市水质科学与水环境恢复工程重点实验室, 北京 100124)

摘要:在 SBR 反应器中, 接种普通活性污泥, 以沉降时间为选择要素, 逐渐提高氨氮负荷成功培养了以氨氧化细菌(AOB)为优势菌的好氧硝化颗粒污泥, 其形态近似为球形或椭圆形, 平均粒径 1.1 mm, 平均沉降速率为 $1.9 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, SVI 在 $18.2 \sim 31.4 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间, 对氨氮的去除率达 95%, 亚硝酸盐积累率维持在 80%~90%。颗粒污泥形成后, 氨氮负荷达到了 $0.0455 \text{ kgNH}_4^+ - \text{N} (\text{kg MLSS} \cdot \text{d})^{-1}$, 与启动期相比, 提高了 4.55 倍。分子生物学 FISH 技术对颗粒污泥菌群结构的定量分析表明, AOB 占全部菌群的 14.9% 左右, NOB 占 0.89% 左右。反应初期高 FA 和反应后期高 FNA 的共同作用可能是该研究中实现和维持稳定短程硝化的关键。

关键词:好氧颗粒污泥; 短程硝化; 氨氧化细菌; 游离氨; 游离亚硝酸

中图分类号:X703.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-4764(2010)03-0119-05

Cultivation and Characteristics Analysis of Nitrifying Granules in Sequencing Batch Reactor

LI Ling-yun, PENG Yong-zhen, WU Lei, WANG Shu-ying, MA Yong

(Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environmental Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, P. R. China)

Abstract: A SBR inoculated with conventional activated sludge was employed to cultivate aerobic granular sludge. Under the selective pressure of settling time, the formation of nitrifying granules enriched with the ammonia oxidizing bacteria (AOB) was achieved by increasing the nitrogen loading rate (NLR). The nitrifying granule was shaped like a sphere or an ellipsoid with an equivalent diameter of approximate 1.1 mm, an average settling velocity of $1.9 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ and the sludge volume index of $18.2 \sim 31.4 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$. As the aerobic granular system was operated stably, the NLR reached a value of $0.0455 \text{ kgNH}_4^+ - \text{N} \cdot (\text{kg MLSS} \cdot \text{d})^{-1}$ with ammonia removal efficiency above 95% and nitrite accumulation ratio in the range of 80%~90%. The NLR was 4.55 times higher than that of the start-up period. The enrichment of the nitrifying bacteria was quantified by FISH analysis which indicated that AOB was 14.9% of the total bacteria and nitrite oxidizing bacteria (NOB) was 0.89%. It is concluded that the associated inhibition of FA at the start of the reaction and FNA at the end of the reaction would be the key factors to start up and maintain the stable nitrification.

Key words: aerobic granules; nitrification; ammonia oxidizing bacteria; free ammonia; free nitrous

收稿日期:2009-09-10

基金项目:国家自然科学基金(50808128);北京市教委科技创新平台项目(PXM2008_014204_050843);“城市水资源与水环境国家重点实验室”开放基金项目(QAK200802);北京工业大学学生科技创新团队建设——指导教师资助项目(CTD-2009-08)

作者简介:李凌云(1980-),男,博士生,主要从事污水生物脱氮除磷与自动控制的研究,(E-mail)lingyun_li@emails.bjut.edu.cn。

彭永臻(联系人),男,教授,博士生导师,(E-mail)pyz@bjut.edu.cn。

废水生物脱氮、防治水体富营养化一直都是世界各国面临的主要问题之一,日趋严格的排放标准对生物脱氮工艺提出了更高的要求。但硝化微生物生长缓慢,细胞产率低,导致系统脱氮能力较弱。为此,前人作了一些努力,如采用生物膜和固定化技术等^[1]。好氧颗粒污泥是一种特殊形式的生物膜,具有颗粒直径大、SVI 值低、沉降速度快、生物量高等优点,这些优势使生物反应器可以保持非常高的生物量同时具有非常好的沉降性能,在提高生物脱氮能力方面有巨大潜力^[2-6]。许多学者已经成功地培养出了硝化颗粒污泥,Tsuneda^[7]在氨氮负荷为 $1.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 向上流污泥床中培养出了平均粒径为 $346 \mu\text{m}$ 的硝化颗粒污泥;Kim 和 Seo^[8]培养出的好氧硝化污泥 Nitrosomonasa 占 64.0%,Nitrosospira 占 6.5%且未检出亚硝酸盐氧化菌。Wilén^[9]培养的颗粒污泥 AOB 主要是 Nitrosomonas,亚硝酸盐氧化菌主要是 Nitrobacter。上述报道中,硝化颗粒污泥的培养主要借助连续流反应器,其培养形式主要分为 2 大类:1)模仿厌氧颗粒形成模式来培养硝化颗粒污泥。2)以硝化生物膜反应器培养硝化颗粒。前者存在反应体系复杂,运行要求高,系统达到稳定和颗粒形成所需时间长,氨氮处理能力偏低等不足;而后者的缺陷是颗粒形成所需环节多、时间长,颗粒占总生物量的比例小,需投加载体等^[10]。

研究借助 SBR 工艺,把好氧颗粒污泥工艺与短程硝化技术耦合,将颗粒污泥培养成以氨氧化细菌(AOB)为优势菌的硝化颗粒污泥,实现亚硝酸盐的稳定积累,并采用工艺参数和分子生物学手段双重监测培养过程。富含 AOB 的颗粒污泥兼具生物量高、沉降速度快和短程脱氮两方面的特性,对现有工艺提高脱氮效率具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 SBR 反应器的运行

试验采用 SBR 反应器,高 50 cm,直径 20 cm,总体积 12 L,有效容积为 11 L,由有机玻璃制成,上部为圆柱形,底部泥斗为圆锥形,在反应器壁上的垂直方向设置一排间距 10 cm 的取样口,底部设有排泥管。采用 IKA RW2.0 搅拌器为颗粒污泥提供剪切力,以粘砂块作为微孔曝气器,采用鼓风曝气,转子流量计控制曝气量。由温度控制仪控制反应器内温度。Multi340i 型便携式多功能 pH 值、DO 测定仪在线测定反应过程中的 pH 值和 DO。

SBR 反应器的运行通过时间程序控制器实现对反应过程的自动控制,每天运行 6 个周期,每个周期

4 h,每个周期包含 8 min 进水,3.5 h 好氧曝气,沉淀时间从 15~1 min 递减,5 min 排水和 2 min 闲置时间。曝气量恒定在 $0.3 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$,每个周期排水 7 L,进水 7 L,排水比为 7/11,水力停留时间大约为 6 h,温度保持在 $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 。

1.2 接种污泥与培养方式

实验采用硝化性能和沉淀性能良好的絮状污泥为接种污泥,接种污泥量为 4 L,浓度为 $4\ 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。采用人工配水启动反应器(配水成份如表 1 所示),以乙醇为有机碳源,保持 $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 不变。其中配水所需营养液的微量元素成分为($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (1.5)、 H_3BO_3 (0.15)、KI(0.18)、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.12)、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.06)、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.12)、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.15)、EDTA(10)。 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的浓度从 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 逐渐提升至 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,逐渐提高硝化细菌在全菌中的比例,增强系统的硝化性能,具体运行方式为:阶段 I(1~12 周期)、阶段 II(13~40 周期)、阶段 III(41~64 周期)、阶段 IV(65~186 周期) $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度分别控制为 50、100、150、 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在曝气 30 min 后,投加 NaHCO_3 溶液,目的是维持硝化过程中的碱度和碳源,使 pH 保持在 7.5~8.0 之间。

表 1 配水成份组成

组分	浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
COD	400
$\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$	4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.02
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.01
营养液	0.575

1.3 分析方法

COD、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、MLSS 等指标均采用国家规定的标准方法测定^[11]。

颗粒形态采用奥林巴斯 BX-51 及 OLYMPUS C24040 ZOOM 数码像机进行微生物相观察。样品预处理后,采用 FEIQuanta 200 型扫描电镜观察。颗粒污泥的评价指标(数量分布、比表面积、平均粒径、沉降速度、密度、含水率、完整率系数)等根据 Beun^[12] 等的方法测定。

按照 Amann 的操作方法进行荧光原位杂交技术(FISH)分析^[13]。首先对污泥样品进行固定。取固定后的污泥样品经超声分解后,将样品滴加在明胶包被过的载玻片上,空气中干燥后先后浸泡于

50%、80%和98%的乙醇溶液中脱水3 min。随后将荧光标记的寡核苷酸探针溶解于杂交缓冲液中,在46℃下与污泥样品杂交2 h。杂交结束后,采用洗脱缓冲液在48℃下洗脱20 min。在干燥后的样品上滴加抗荧光衰减液,对每个污泥样品随机拍摄20~25张照片用于定量分析(IPP6.0 Software)。

2 试验结果与分析讨论

研究由培养好氧颗粒污泥同时富集AOB的思路出发,接种普通絮状活性污泥,从污泥接种到短程硝化颗粒污泥形成,经历启动期、形成期和成熟期3个阶段。

2.1 絮状硝化污泥的颗粒化过程

系统启动时,在SBR反应器中接种絮状污泥,控制进水 NH_4^+-N 浓度为50 mg/L, COD_C 为400 mg/L,沉淀时间设为15 min,运行了12个周期,发现接种污泥的硝化活性良好,曝气结束后 NH_4^+-N 已经全部降解完。随后逐渐提升氨氮负荷,不断强化系统的硝化性能,提高硝化细菌在污泥中的含量。培养初期,污泥结构松散,呈深褐色,污泥指数SVI为136.98 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 。通过降低沉降时间为12、8、5、3和2 min,使沉降性能较差的分散污泥不断洗出,同时保持反应器内污泥浓度在1 600~1 800 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间。

培养过程中,采用机械搅拌,不断增加搅拌速度以提供足够水流剪切力,加速污泥的颗粒化过程。反应器接种114个周期时(19 d),沉淀时间保持为2 min,此时观察到反应器内污泥形态发生重大变化,污泥变为浅黄色,且有细砂状的颗粒污泥出现,平均粒径较小,为0.5 mm,SVI已由136.98 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ 锐减到18.5 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$,颗粒污泥的肉眼照片如图1所示。



图1 好氧颗粒污泥的肉眼照片

经过150个周期(25 d),颗粒污泥已经有细砂粒大小变为0.8~1.2 mm的成熟颗粒。系统颗粒化的过程也是污泥硝化性能强化和种群优化的过

程。

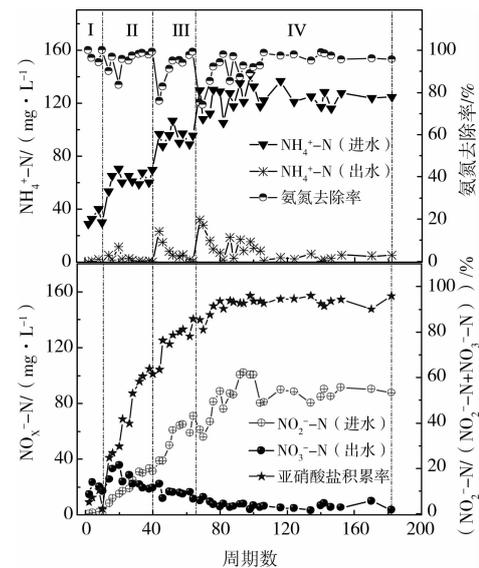


图2 颗粒污泥系统进出水质与亚硝酸盐积累率

从第78个周期开始,系统维持 $\text{NH}_4^+-\text{N}/\text{COD}$ 为200/400的负荷,起初出水氨氮在10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,经过不断驯化,系统硝化能力不断强化,氨氮的去除效率达到95%,与接种初始的絮状活性污泥相比,氨氮负荷由0.01 $\text{kgNH}_4^+-\text{N}\cdot(\text{kg MLSS}\cdot\text{d})^{-1}$ 提高到0.0455 $\text{kgNH}_4^+-\text{N}\cdot(\text{kg MLSS}\cdot\text{d})^{-1}$,增大了4.55倍,最终出水氨氮基本在5.0 mg/L以下。同时亚硝酸盐不断积累,最终亚硝酸盐积累率($\text{NO}_2^--\text{N}\cdot(\text{NO}_2^--\text{N}+\text{NO}_3^--\text{N})^{-1}$)维持在90%以上(见图2)。

为了考察硝化颗粒污泥种群结构变化的过程,本研究运用FISH技术对第1和150个周期的颗粒污泥菌群进行定量分析。统计结果表明,培养初期,NOB在系统中大量存在,AOB与NOB分别约占系统所有活性细菌的1.9%和2.8%,经过150个周期强化富集,污泥中AOB占全部菌群的14.9%,NOB占全部菌群的0.89%。

2.2 硝化颗粒污泥的特性

好氧颗粒污泥与传统的絮状污泥具有完全不同的形态特征。成熟的颗粒污泥呈椭圆形或圆形外观,表面光滑,边界清晰,平均粒径1.1 mm,平均沉降速率为1.9 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$,含水率为96.1%,低于普通活性污泥(含水率99%以上)。另外测得颗粒污泥的比重为0.52 $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,比表面积为 $0.5\times 10^4 \text{m}^2\cdot\text{m}^{-3}$,完整率80.4%由此可见,污泥密度高,机械强度高,生物量大,沉降速率远高于絮状污泥,且活性高,代谢旺盛,硝化过程中的耗氧速率(OUR)达到0.069 $\text{mgO}_2\cdot(\text{g}\cdot\text{min})^{-1}$ 。

图 3 和图 4 是颗粒污泥在培养过程中的光学显微镜照片和扫描电镜照片。可以看出,硝化颗粒污泥是由许多微小聚合体聚集在一起的,这些微小的聚合体带有内在孔隙和无细胞的通道网络结构。细胞聚集体之间,通道和孔隙形成的网络结构相似,而且这种网络结构在以前的一些不同微生物来源和组成的颗粒污泥中也观察得到,并且认为它们有利于营养物质和气体的交换。

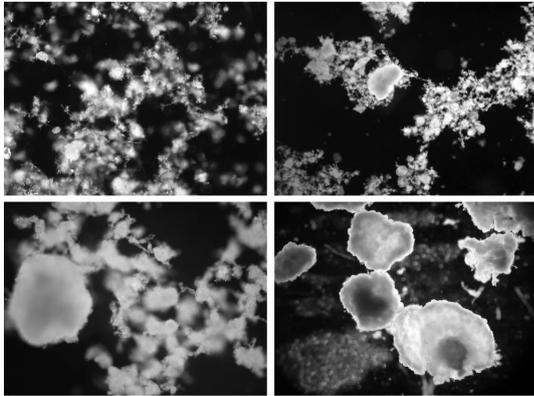


图 3 颗粒污泥培养过程中污泥形态的变化

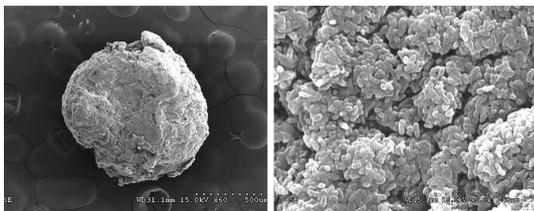


图 4 成熟好氧硝化颗粒污泥的扫描电镜照片 (左)和内部微生物照片(右)

2.3 短程硝化颗粒污泥的成因分析

培养过程中颗粒污泥的 SVI 变化见图 2 所示。沉降时间和容积交换率是颗粒污泥形成的两个重要的选择要素。培养初期沉降时间初设为 15 min,随着颗粒污泥的形成逐渐降低为 1 min,容积交换率为 64%。较短的沉降时间和较高的容积交换率使得接种的沉降性能差的污泥被淘汰出去,第 1~36 周期的 SRT 为 5~7 d,随着污泥浓度的增加和颗粒污泥的形成,SRT 保持在 18~20 d,通过排泥保持反应器内污泥浓度在 $1\ 700\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。

研究表明,游离氨(FA)和游离亚硝酸(FNA)对硝化过程有抑制作用,尤其是亚硝酸盐到硝酸盐的氧化,当 FA 在 $0.1 \sim 1.0\ \text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,NOB 的活性受到抑制^[8]。Chang^[14] 研究表明,当 FA 为 $0.2\ \text{mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,系统中出现亚硝酸盐积累。Anthonisen^[15] 和 Hellinga^[16] 报道 FNA 抑制亚硝酸盐氧化的浓度分别为 0.22 和 $0.2\ \text{mg HNO}_2\text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Vadivelu^[17] 报道 FNA 在 $0.01\ \text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$ 时开始抑制 Nitrobacter 的生长,当浓度达到 $0.02\ \text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,会完全停止生长。因此,在连续操作模式和特定 FNA 浓度下,Nitrobacter 可以停止生长并从反应器中淘洗出去。

图 5 是硝化颗粒污泥系统中游离氨(FA)、游离亚硝酸(FNA)和亚硝酸盐积累率的变化。本试验中第 1 周期反应初期的游离氨浓度为 $2.17\ \text{mg N} \cdot \text{L}^{-1}$,足以抑制 NOB 的活性,随着氨氮的氧化,FA 逐渐变为零,FA 不再抑制 NOB 和颗粒污泥的形成,同时,FNA 的浓度随着亚硝酸盐的积累而增加,到曝气结束时 FNA 增加到 $0.003\ \text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在第 14 和 50 周期时,FA 的初始浓度为 3.75 和 $6.97\ \text{mg N} \cdot \text{L}^{-1}$,反应后阶段 FNA 为 $0.017\ 5$ 和 $0.023\ \text{mgN} \cdot \text{L}^{-1}$,与文献中报道的 FNA 抑制亚硝酸盐氧化的浓度 $0.02\ \text{mg N} \cdot \text{L}^{-1}$ 基本一致。FNA 和 FA 对 NOB 的共同抑制作用是硝化颗粒污泥系统亚硝酸盐积累的关键因素。本研究中 DO 为 $3.0 \sim 5.6\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,不是限制因素。

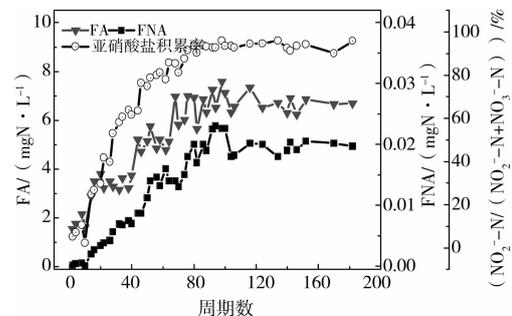


图 5 运行过程中好氧始 FA 和好氧末 FNA 浓度

3 结论

1) 在 SBR 反应器中接种普通絮状活性污泥,采用乙醇为碳源,以机械搅拌和曝气冲刷提供水流剪切力,通过不断缩短沉淀时间,实现了好氧活性污泥的颗粒化。成熟的颗粒污泥表面光滑,边界清晰,结构密实,机械强度高,生物量大,沉降速率远高于絮状污泥,且活性高,代谢旺盛。

2) 反应初期高 FA 和反应后期高 FNA 的共同作用可能是本研究中实现亚硝酸盐的积累获得短程硝化的关键因素。FISH 结果表明,AOB 已成为硝化菌群的优势菌种,占全菌的 14.9%,而 NOB 仅占 0.89%。

3) 富含 AOB 的硝化颗粒污泥对氨氮有非常强的去除能力,该试验中在负荷为 $0.045\ 5\ \text{kgNH}_4^+ - \text{N} / (\text{kg MLSS} \cdot \text{d})$ 的情况下,出水氨氮低于 $5.0\ \text{mg/L}$,去

除率达95%以上,与颗粒化之前的絮状活性污泥相比,处理能力提高了4.55倍。

参考文献:

- [1] XIUFEN L, JIAN C, YANJUN L, et al. Characteristics of aerobic biogranules from membrane bioreactor system[J]. *Journal of Membrane Science*, 2007, 287(2): 294-299.
- [2] THANH B X, VISVANATHAN C, AIM R B. Characterization of aerobic granular sludge at various organic loading rates[J]. *Process Biochemistry*, 2009, 44(2): 242-245.
- [3] ZHU L, XU X, LUO W, et al. Formation and microbial community analysis of chloroanilines-degrading aerobic granules in the sequencing airlift bioreactor[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, 104(1): 152-160.
- [4] YU H Q. Formation and characteristics of aerobic granules for wastewater treatment[C]//In International Conference on Advances in Chemical Technologies for Water and Wastewater Treatment, 2008. Xian, P. R. China: Shaanxi Sci & Tech Publ House.
- [5] XIAO F, YANG S F, LI X Y. Physical and hydrodynamic properties of aerobic granules produced in sequencing batch reactors [J]. *Separation and Purification Technology*, 2008, 63(3): 634-641.
- [6] ADAV S S, LEE D J, SHOW K Y, et al. Aerobic granular sludge: Recent advances [J]. *Biotechnology Advances*, 2008, 26(5): 411-423.
- [7] TSUNEDA S, NAGANO T, HOSHINO T, et al. Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor [J]. *Water Research*, 2003, 37(20): 4965-4973.
- [8] KIM D J, SEO D. Selective enrichment and granulation of ammonia oxidizers in a sequencing batch airlift reactor[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41(5): 1055-1062.
- [9] WILEN B M, GAPES D, BLACKALL L L, et al. Structure and microbial composition of nitrifying microbial aggregates and their relation to internal mass transfer effects [C]//In 3rd IWA Conference on Sequencing Batch Reactor Technology, 2004. Noosa, Australia: IWA Publishing.
- [10] 王建龙, 张子健, 吴伟伟. 好氧颗粒污泥的研究进展[J]. *环境科学学报*, 2009, 29(3): 449-473.
WANG JIAN-LONG, ZHANG ZI-JIAN, WU WEI-WEI. Research advances in aerobic granular sludge [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2009, 29(3): 449-473.
- [11] 国家环境保护局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [12] BEUN J J, M C M, VAN LOOSDRECHTAND J J, et al. Aerobic granulation [J]. *Water Science and Technology*, 2000, 41(4/5): 41-48.
- [13] IAR. In situ identification of micro-organisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes-Molecular microbial ecology manual [M]. Netherland: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- [14] CHANG J S, C G, KIM D J. Nitrite accumulation characteristics in the nitrification of high strength ammonia wastewater with biofilm airlift suspension reactor[J]. *Hwahak Konghak*, 2002, 40: 114-120.
- [15] ANTHONISEN A C, L R, PRAKASAM T B S, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitric acid [J]. *J WPCF*, 1976, 48: 835-52.
- [16] HELLINGA C, SCHELLEN A, MULDER J W, et al. The Sharon process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water [C]//In International Conference on Upgrading of Water and Wastewater Systems. 1997. Kalmar, Sweden.
- [17] VADIVELU V M, KELLER J, YUAN Z G. Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched nitrosomonas culture[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, 95(5): 830-839.

(编辑 王秀玲)