

# 异养菌与自养菌对好氧颗粒污泥稳定性的影响

李志华<sup>a,b</sup>, 张 婷<sup>a,b</sup>, 吴 杰<sup>a,b</sup>, 王晓昌<sup>a,b</sup>

(西安建筑科技大学 a. 环境与市政工程学院; b. 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055)

**摘 要:**研究了异养菌和自养菌颗粒污泥的特性:与异养菌相比,自养菌颗粒污泥粒径小、密度大、胞外多聚物(EPS)含量高但强度小。通过对粒径、EPS 等特性与密度的变化规律分析,研究发现,自养菌颗粒污泥的粒径与密实度呈现出一致性,颗粒趋于稳定;而异养菌颗粒污泥粒径成长同时伴随着密度减小,粒径与密实度呈现不一致性,颗粒容易解体。颗粒强度的分析结果表明:在自养菌系统中 EPS 与孔隙率能够达到动态平衡是其长期维持稳定的主要原因,而异养菌中粒径与孔隙率无法达到平衡,操作条件无法控制高强度丝状菌的繁殖是其不稳定的主要因素。

**关键词:**自养菌; 异养菌; 自凝聚; 胞外聚合物; 颗粒强度; 污水处理

**中图分类号:**X705 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-4764(2010)05-0076-06

## Effects of Heterotrophic and Autotrophic Bacteria on the Stability of Aerobic Granular Sludge

LI Zhi-hua<sup>a,b</sup>, ZHANG Ting<sup>a,b</sup>, WU Jie<sup>a,b</sup>, WANG Xiao-chang<sup>a,b</sup>

(a. Key Laboratory of Northwest Water Resources; b. Environment and Ecology, Ministry of Education, School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, P. R. China)

**Abstract:** The characteristics of granules of heterotrophic and autotrophic bacteria were studied. The autotrophic granules were characterized by smaller granule size, higher density, higher concentration of extracellular polymeric substances (EPS) and weaker strength compared with the heterotrophic ones. The diameter and density of autotrophic granules were changed in the same fashion, resulting in stable granules, and the heterotrophic granule, however, grew up with the increase of diameter and the decrease of density. According to the strength analysis, it is proposed that in the autotrophic system, the balance between EPS and porosity is the main reason for the long term stability. However, the balance could not be obtained in the heterotrophic system and that the operational conditions could not control the overgrowth of filamentous bacteria was the reason for the instability.

**Key words:** autotrophic bacteria; heterotrophic bacteria; self-coagulation; extracellular polymeric substances(EPS); granular strength; wastewater treatment

好氧颗粒污泥作为一种高活性的微生物聚集体,以其密实的颗粒结构、良好的沉淀性能以及在同一颗粒内可以完成硝化反硝化等优点<sup>[1-2]</sup>,受到了国内外学者和工程技术人员的广泛关注。目前,各国

学者对好氧颗粒污泥的产生条件进行了大量的研究。尽管目前认为好氧颗粒污泥的形成主要取决于操作条件,但微生物的种类也决定了颗粒的密实度和稳定性。自养硝化菌与异养菌在生物结构、代谢

收稿日期:2009-11-27

基金项目:国家自然科学基金(50708089);高等学校博士学科点专项科研基金资助课题(200807030001);陕西高校省级重点实验室科研项目计划(09JS027);长江学者和创新团队发展计划资助(PCSIRT、IRT0853)

作者简介:李志华(1976-),男,博士,副教授,主要污水处理理论与技术研究,(E-mail)lizhuhua@gmail.com.

模式等方面有明显的不同。从生长条件来说,自养菌由于增殖速度较慢,因此附着在某以载体上生长有利于其在反应器内的富集,而密实的颗粒结构可以称为自养菌附着生长的天然载体。研究表明,在生物膜和好氧颗粒污泥中慢速增长的自养菌主要存在于外层,而快速增长的异养菌则主要分布在整个生物膜或者颗粒污泥内<sup>[2-3]</sup>,进一步证明颗粒是自养菌附着生长的主要载体,但自养菌在好氧颗粒污泥形成阶段作用也是不能忽视的<sup>[4-5]</sup>,那么自养菌和异养菌是如何相互作用,又是如何影响颗粒的稳定性,目前尚不清楚。为此,研究对比分析了自养硝化颗粒污泥与异养颗粒污泥的成长特性,从颗粒污泥的胞外聚合物含量、内部结构及强度、粒径分布、密度等等方面分析了自养硝化颗粒污泥和异养颗粒污泥的结构差异。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验装置及运行条件

实验采用两个完全相同的圆柱形有机玻璃柱作为SBR反应器R1和R2,有效容积2L,内径50mm。实验运行周期为3h(依据污泥的沉淀性能,沉淀时间逐步调整,同时调整曝气时间以保证运行周期长度为3h),每个过程的具体运行时间如表1所示。通过蠕动泵从反应器底部进水,由电磁阀控制从中部排水,空压机从反应器底部通过玻璃砂芯均匀曝气,R1、R2的曝气量分别为1.0L/min、0.4L/min。有机负荷分别2.4kgCOD/(m<sup>3</sup>·d)、0.0kgCOD/(m<sup>3</sup>·d)。反应器在(25±1)℃的水浴条件下进行。

表1 SBR反应器操作条件

时间/d	反应器	运行时间/min			
		进水	曝气	沉淀	排水
0~40	R1	5	154~164	5~15	6
	R2	5	154~159	10~15	6
41~160	R1	5	164	5	6
	R2	5	159	10	6

### 1.2 进水水质及接种污泥

接种污泥取自西安市北石桥污水净化中心的DE型氧化沟,MLSS=5500mg/L。采取人工模拟生活污水,组成见表2。微量元素微量元素组分(单位:mg/L):FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.4545, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 0.0455, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.0091, KI 0.0545, MnCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 0.0364, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.0182, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.0364, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.0455, EDTA二钠盐 3.03。

表2 模拟城市污水配水组份

药品名称	用量/(mg·L <sup>-1</sup> )	药品名称	用量/(mg·L <sup>-1</sup> )
NaAc*	769	NH <sub>4</sub> Cl	229.3
NaHCO <sub>3</sub>	1575.5	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	90
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	43.9	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	14

\* 反应器R2无此组分

### 1.3 分析项目及方法

1) EPS的提取及分析。取出污泥后立即用PBS缓冲溶液清洗2次,经超声波破碎后再利用阳离子交换方法<sup>[6]</sup>提取EPS,糖类的测定采用蒽酮-硫酸分光光度法<sup>[6]</sup>,蛋白的测定采用福林酚分光光度法<sup>[6]</sup>,EPS中的中有机碳(TOC)的测定用岛津公司的TOC-V<sub>CPH</sub>。

2) 密度的测定。颗粒污泥密度采用蔗糖溶液浓度梯度法。

3) 粒径及粒径分布测定。在曝气阶段,用50mL离心管从反应器中取出20~30mL泥水混合液,用滴管从中吸取1~2mL,置于载玻片上,用盖玻片固定,然后使用Nikon ECLIPSE 90i显微镜对颗粒形态进行显微镜照相,为避免照相选取视域的人为误差,对所有的视域均进行颗粒粒径照相分析,粒径尺寸小于50μm的细小颗粒忽略不计。

4) 颗粒内部结构的测定。颗粒取出后,立即用多聚甲醛固定,然后采用乙腈脱水进行真空干燥,干燥后颗粒镀金采用日立扫描电镜S3400N进行观察;进行冷冻切片观察时,颗粒取出后立即用PBS进行清洗,然后用OTC在-27℃的条件下包埋,完全冷冻后切片,切片厚度为50μm,采用Nikon ECLIPSE 90i电子显微镜进行观察。

5) 强度试验的方法<sup>[7]</sup>。在曝气时从已知MLSS的反应器中取泥100mL,其污泥干重记为M<sub>0</sub>,置于150mL的烧杯中,沉淀1min,测定未能完全沉淀的体积(V<sub>0</sub>)中所含污泥干重记为M<sub>f1</sub>',然后添加等体积(V<sub>0</sub>)生理盐水,保持试验过程中体积的恒定。在1.0L/min的曝气量下曝气5min,曝气结束后沉淀1min,取未能完全沉淀的体积(V<sub>1</sub>)测污泥干重记为M<sub>f2</sub>',添加等体积(V<sub>1</sub>)生理盐水,此过程循环3次,持续到20min。令M<sub>f</sub>' = M<sub>f1</sub>' + M<sub>f2</sub>' + M<sub>f3</sub>' + M<sub>f4</sub>',则(M<sub>0</sub> - M<sub>f</sub>')/M<sub>0</sub>的比值为颗粒污泥的完整度,即颗粒污泥抵抗水利剪切的能力,一定程度上可反映颗粒污泥强度。

## 2 结果

当培养至10d时,有机负荷为2.4kgCOD/(m<sup>3</sup>·d)

的 R1 中出现颗粒锥形;19 d 时,出现外形较为规则的颗粒,由于该反应器中主要以异养菌为主,因此其颗粒被称为异养菌颗粒;而在反应器 R2 中由于无有机碳源,主要以自养菌的增殖为主,该反应器在 27 d 时出现了污泥颗粒,具有良好的硝化效果,称之为自养菌颗粒。

## 2.1 颗粒形态及粒径分布

图 1、图 2 分别描述了异养菌颗粒污泥与自养菌颗粒污泥的外部形态及内部结构。就外部形态而言,在颗粒形成初期,二者的形态差别不大(图 1(a)和(d));在 95 d R1 中异养菌颗粒污泥形态既有松散的,也有密实的,而 R2 中自养菌颗粒污泥光滑密实(图 1(b)和(e));在 146 d 时,R1 中颗粒污泥主要以

丝状菌蓬松状结构为主(图 1(c)),而 R2 中颗粒形态仍为光滑密实的(图 1(f))。就内部结构而言,在异养菌颗粒污泥中,其颗粒结构松散(图 2(a)),且有大量的丝状菌存在(图 2(c)),而自养菌颗粒污泥中孔洞较少(图 2(b)),主要以球菌为主(图 2(d))。这可能是由于丝状菌与硝化菌都是生长速率较慢的菌种,它们之间存在着某种相互竞争、相互抑制的关系,自养硝化菌的富集抑制了丝状菌的生长。另有研究发现,在 SBR 反应器中,慢速增长微生物的富集有利于形成更为稳定和密实的颗粒污泥<sup>[8]</sup>,在自养菌占优势系统中,由于其附着生长的特点,硝化细菌主要集中在颗粒物的表面以下 70~100  $\mu\text{m}$  的表层<sup>[9]</sup>,很难出现丝状菌的繁殖。

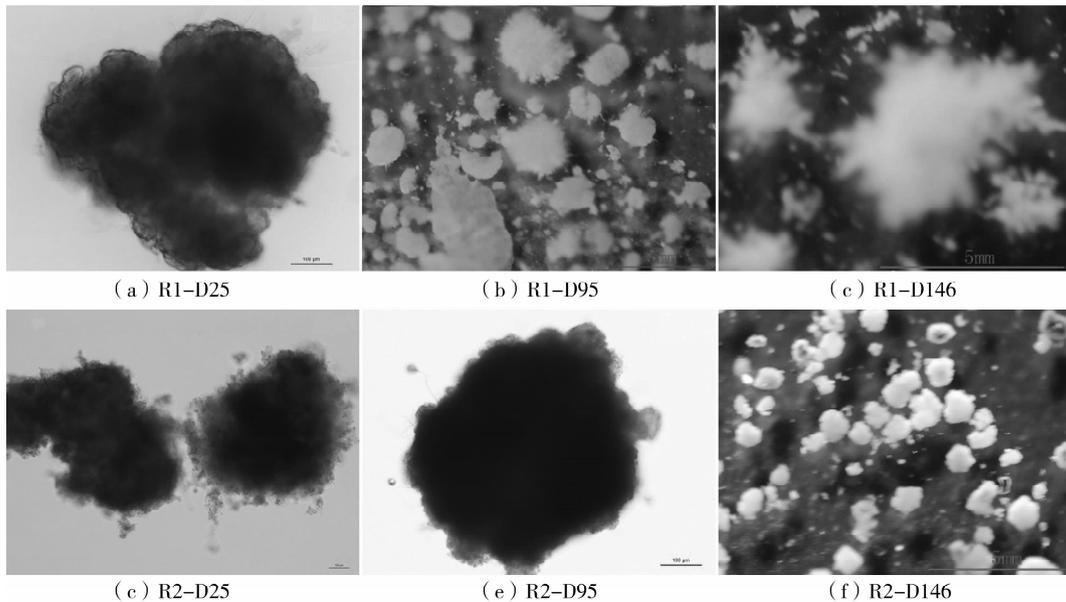


图 1 颗粒污泥形态观察(a、d、e 标尺:100  $\mu\text{m}$ ; b、c、f 标尺:5 mm)

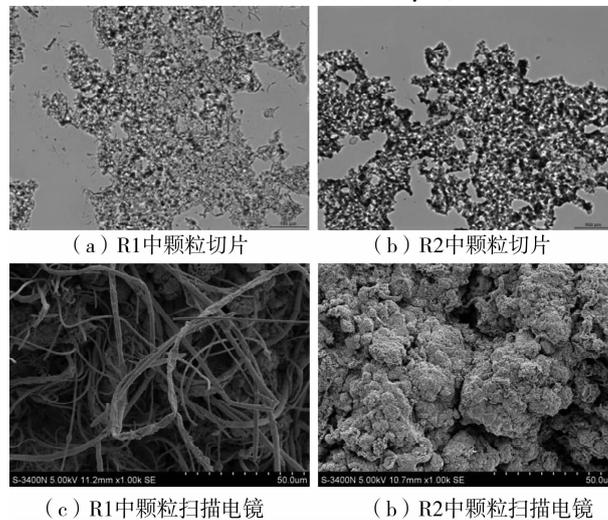


图 2 颗粒污泥切片及扫描电镜观察结果(a、b 标尺:100  $\mu\text{m}$ ; c、d 标尺:50  $\mu\text{m}$ )

图 3(a)描述了在颗粒成熟期(95 d)反应器中的颗粒粒径分布,R1 的粒径分布主要集中在 1.0~

2.0 mm,而 R2 的粒径分布主要集中在 0.3~0.7 mm,图 3(b)为颗粒形成过程中 R1、R2 中密度变化

曲线,R1中从21 d到95 d时颗粒的密度出现下降的趋势,表明异养菌颗粒污泥在颗粒不断增大的过程中,其密度是不断变小即颗粒内部的孔隙率变大,正因为如此异养菌颗粒污泥极容易出现大孔隙率的“颗粒”,实际上反应器中的颗粒已经演变成一种松散的絮体。与此相反,自养硝化颗粒污泥的密度在成熟阶段呈现增长的趋势,但粒径变小。以上2种情况表明,在从絮体污泥演替为颗粒污泥期间,其粒径和密度的增大主要是水力选择作用,异养菌和自养菌颗粒污泥并未表现出太大差异(图1(a)和(d))。但在后期的成熟期间,其微生物的成长及其代谢可能成为主导作用,因此自养菌和异养菌的颗粒污泥在结构上表现出明显的差异和变化趋势。由此也可以看出,从微生物的角度来看,自养菌的成长及其结构是趋于稳定的,而异养菌则是偏离稳定的。这种差异性是否与微生物的聚集特性有一定的联系呢?为此,该文对表征微生物聚集特性的胞外物质及颗粒强度进行了研究。

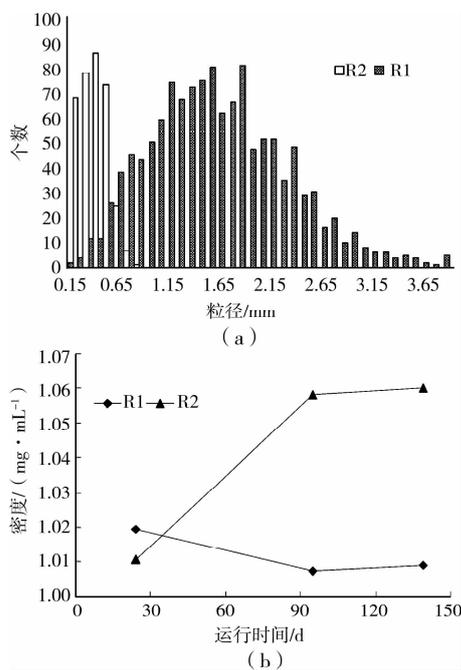


图3 R1和R2粒径分布及颗粒污泥密度变化曲线

## 2.2 EPS

目前普遍认为,自养菌形成生物膜的过程要比异养菌慢得多,其主要原因是自养菌本身的生长速度较慢和EPS的分泌量不够,因此有研究甚至采用异养菌分泌EPS以协助自养菌的固定<sup>[10]</sup>。在研究中,对成熟的颗粒中的EPS进行分析发现,自养菌颗粒污泥(R2)的EPS各组分含量明显大于异养菌颗粒污泥(R1)(图4(a)和(b))。出现这种与以前报道不一致的现象主要原因可能在于密实的结构有利于微

生物分泌更多的胞外物质。如图4(c)所示,自养菌密度不断增大的过程伴随着EPS总量的不断提高,表明EPS的含量与颗粒的密实度有密切的相关性。在研究含盐量对颗粒污泥孔隙率的影响过程中亦有相似的报告,即颗粒越密实,其EPS含量尤其是糖组分的含量越高<sup>[11-13]</sup>。事实上,在好氧颗粒污泥的研究中,对EPS的含量随着颗粒化过程的变化有完全相反的现象和结论<sup>[14-16]</sup>,其主要原因除采用的EPS提取方法千差万别之外,还与颗粒在粒径不断扩大的过程中并不总是伴随着其密实度的提高(即孔隙率减小)有直接的关系。研究中自养菌颗粒污泥所呈现的小孔隙率和较高的EPS含量是微生物在颗粒化条件下两者相互作用的结果,Zheng等<sup>[17]</sup>采用阻排色谱技术也证实较小的孔隙率主要是由于较高含量的EPS所导致。EPS对颗粒形成的重要作用还在于其为细菌的相互聚集提供胶联和缠绕,是微生物聚集体在水力剪切力的条件下保持良好的聚集状态,正是因为如此,有学者甚至提议将颗粒污泥过程从EPS形成“水凝胶”的过程来考虑<sup>[18]</sup>。

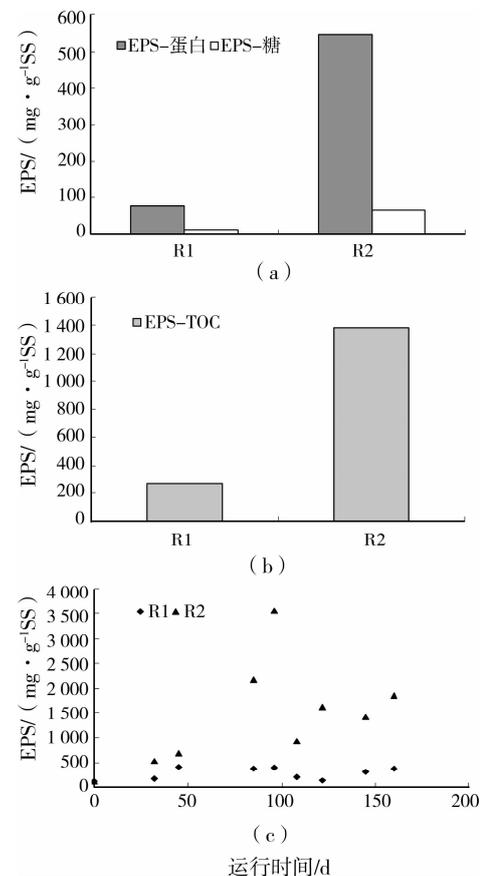


图4 颗粒污泥EPS含量

## 2.3 强度

目前认为好氧颗粒污泥的形成有2种模型,一种模型认为丝状菌相互缠绕形成颗粒污泥的骨架结

构;另一种模型认为细菌分泌的胞外聚合物(EPS)由于其架桥使生物聚集成密实的颗粒<sup>[19]</sup>,如前所述的水凝胶理论。在该研究中,自养菌颗粒污泥 EPS 含量远高于异养菌颗粒污泥(图 4),且前者内部结构中无丝状菌,因此自养硝化菌主要是通过 EPS 相互聚集并密实化,而异养菌颗粒污泥则主要是通过丝状菌相互缠绕的骨架结构实现聚集和密实化。

不管是 EPS 还是丝状菌形成的颗粒污泥骨架,其主要功能在于微生物在搅拌、水力剪切等条件下能够保持较大的体积和密度。为此,对颗粒污泥的强度进行了分析。图 5 描述了曝气腐蚀对颗粒污泥强度影响的测试结果,表明在没有机械搅拌的条件下,曝气表面腐蚀对以丝状菌为骨架的异养菌颗粒的影响要小于以 EPS 为骨架的自养菌颗粒污泥 R2,即 R1 的强度大。汪善全等<sup>[20]</sup>在摇床试验中培养颗粒污泥出现丝状菌膨胀,试图增大振荡频率和加大曝气量来控制丝状菌的生长,但丝状菌仍过度生长。丝状菌相互缠绕之间的力可以抵抗曝气的腐蚀,而 EPS 架桥形成的颗粒抵抗剥蚀的能力较弱。由此可以看出,丝状菌的强度要远大于 EPS 的强度,这就为以丝状菌为骨架的颗粒污泥在粒径上进一步增大提供了基本的保障。事实上,颗粒污泥的不稳定因素主要来自丝状菌所导致的粒径范围无法控制、颗粒孔隙率不断增大<sup>[21-22]</sup>。而以 EPS 为骨架的自养菌颗粒污泥由于粒径在水力剪切力条件下被腐蚀而得到控制,且 EPS 和孔隙率之间在 EPS 水凝胶特性(伸缩溶胀)的基础上能够维持较好的动态平衡,因此其颗粒就粒径而言相对稳定。

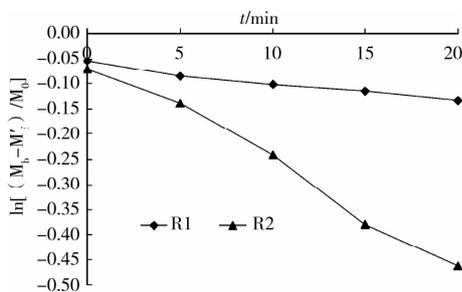


图 5 颗粒强度实验结果

### 3 结论

通过对比异养菌和自养菌颗粒污泥的形态、密度、EPS 等特性,就颗粒污泥形成过程方面可得到如下结论:

- 1) 与异养菌相比,自养菌颗粒污泥粒径小,密度大, EPS 含量高。
- 2) 在颗粒成熟期,自养菌颗粒污泥的粒径成长

与密度增大呈现出一致性;而异养菌颗粒污泥粒径成长同时伴随着密度减小,粒径与密实度呈现不一致性,因此前者的成长趋于是稳定的,而后者是趋于不稳定的。

3) 以 EPS 为骨架的自养菌颗粒污泥与以丝状菌为骨架的异养菌颗粒污泥两者在稳定性上的差异主要为外部操作条件对其粒径和密度的控制的差异,前者由于强度较低,且 EPS 与孔隙率能够达到动态平衡,因此能够长期维持稳定。

### 参考文献:

- [1] ZHU J R, LIU C X, WILDERER P A. Bio-P removal profile of aerobic granular activated sludge (AGAS) from an anaerobic/aerobic SBR system[C]//In: IWA. 1st International Symposium on Aerobic Granule Sludge Workshop Munich, Germany, 2004.
- [2] MERLEK K, HEIJNEN J J, VAN L, et al. Simultaneous COD, Nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2005, 90(6): 761-769.
- [3] NI B J, YU H Q, SUN Y J. Modeling simultaneous autotrophic and heterotrophic growth in aerobic granules [J]. Water Research, 2008, 42 (6/7): 1583-1594.
- [4] TSUNEDA S, PARK S, HAYASHI H, et al. Enhancement of nitrifying biofilm formation using selected eps produced by heterotrophic bacteria [J]. Water Sci Technol, 2001, 43(6): 197-204.
- [5] WANG J F, MATHIEU S. Role of nitrate concentration on aerobic Biological Biofilm Technologies [C]//Conference, 8-10 January 2008, Singapore
- [6] FROLUND B, PALMGREN R, KEIDING K, et al. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin [J]. Water Rescher, 1996, 30: 1749-1758.
- [7] 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.
- [8] LIU Y, WANG Z W, TAY J H. A unified theory for up scaling aerobic granular sludge sequencing batch reactors [J]. Biotechnology Advances, 2005, 23 (5): 335-334.
- [9] TAY J H, IVANOV V, PAN S, et al. Specific layers in aerobically grown microbial granules [J]. Lett Appl Microbiol, 2002, 34: 254-257.
- [10] TSUNEDA S, EJIRI Y, NAGANO T, et al. Formation mechanism of nitrifying granules observed in

- an aerobic upflow fluidized bed(AUFB) reactor [J]. Water Science and Technology, 2004, 49(11/12): 27-34.
- [11] LI Z H, WANG X C. Thermogravimetric characteristics of aerobic granules developed at different salinities [J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2008, 83(3): 359-364.
- [12] 王立东, 李志华, 王晓昌, 等. 含盐量对好氧颗粒污泥结构及处理效能的影响[J]. 中国给水排水, 2008, 24(11): 19-22.  
WANG LI-DONG, LI ZHI-HUA, WANG XIAO-CHANG, et al. Effect of salinity on aerobic granular sludge structure and treatment efficiency [J]. China Water & Wastewater, 2008, 24(11): 19-22.
- [13] 王春, 李志华, 王晓昌. 负荷及盐度对好氧颗粒污泥EPS的影响[J]. 环境工程学报, 2009, 3(6): 95-98.  
WANG C, LI Z H, WANG X C. Effects of organic loading rate and salinity on characteristics of extracellular polymeric substances (EPS) of aerobic granules [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2009, 3(6): 95-98.
- [14] LI Z H, KUBA T, KUSUDA T. Aerobic granular sludge: A promising technology for decentralised wastewater treatment [J]. Water Science and Technology, 2006, 53(9): 79-85.
- [15] 李延军, 李秀芬, 华兆哲, 等. 好氧颗粒污泥胞外聚合物的产生及其分布[J]. 环境化学, 2006, 25(4): 439-443.  
LI YAN-JUN, LI XIU-FEN, HUA ZHAO-ZHE, et al. Production of extracellular polymeric substances from aerobic granular sludge and its distribution [J]. Environmental Chemistry, 2006, 25(4): 439-443.
- [16] 张丽丽, 陈效, 陈建孟, 等. 胞外多聚物在好氧颗粒污泥形成中的作用机制[J]. 环境科学, 2007, 28(4): 795-799.  
ZHANG LI-LI, CHEN XIAO, WANG JIAN-MENG, et al. Role mechanism of extracellular polymeric substances in the formation of aerobic granular sludge [J]. Environmental Science, 2007, 28(4): 795-799.
- [17] ZHENG Y M, YU H Q, LIU S J, et al. Formation and instability of aerobic granules under high organic loading conditions [J]. Chemosphere, 2006, 63(10): 1791-1800.
- [18] SEVIOUR T, PIJUAN M, NICHOLAON T, et al. Understanding the properties of aerobic sludge granules as hydrogels [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2009, 102(5): 1483-1493.
- [19] 王耀东, 李志华, 王晓昌. 盐胁迫条件下好氧颗粒污泥生长模式研究[J]. 环境科学, 2008, 29(10): 2804-2808.  
WANG YAO-DONG, LI ZHI-HUA, WANG XIAO-CHANG. Growth model of aerobic granule under different salinities [J]. Environmental Science, 2008, 29(10): 2804-2808.
- [20] 汪善全, 孔云华, 原媛, 等. 好氧颗粒污泥中丝状微生物生长研究[J]. 环境科学, 2008, 29(30): 696-702.  
WANG SHAN-QUAN, KONG YUN-HUA, YUAN YUAN, et al. Filamentous overgrowth in aerobic granules [J]. Environmental Science, 2008, 29(30): 696-702.
- [21] LI Z H, KUBA T, KUSUDA T. The influence of starvation phase on the properties and the development of aerobic granules [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 38(5): 670-674.
- [22] ZHENG Y M, YU H Q. Determination of the pore size distribution and porosity of aerobic granules using size-exclusion chromatography [J]. Water Research, 2007, 41(1): 39-46.

(编辑 王秀玲)