# 厌氧氨氧化菌的培养与推流式反应器氨厌氧工艺

# 刘寅 杜兵 ,司亚安 ,孙艳玲 ,申立贤

(北京市环境保护科学研究院,北京 100037)

摘要:采用推流式固定化絮体生物反应器培养出高活性的厌氧氨氧化(ANAMMOX)红色颗粒污泥. 在稳定运行后,反应器的 $NH_4^+$ -N和 $NO_2^-$ -N去除率皆大于 98%, TN平均去除率为 86%,  $NO_3^-$ -N的生成率约为 14%, TN去除负荷达 2.56kg/( $m^3$ ·d). 同时考察了进水基质比例对反应器性能的影响,并用扫描电镜观察了颗粒结构.

关键词 厌氧氨氧化 推流式反应器 脱氮 进水基质比例 反应比例

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)02-0137-05

# Cultivation of ANAMMOX Bacteria and the Ammonium Anaerobic Oxidation Technology in the Plug Flow Bio-Reactor

LIU Yin DU Bing SI Ya-an SUN Yan-ling SHEN Li-xian

(Beijing Municipal Research Academy of Environmental Protection Beijing 100037, China)

**Abstract** It is feasible that the ANAMMOX bacteria can be enriched and cultivated to red granular in plug flow immobilized floc bioreactor. Average ammonium and nitrite removal rate are more than 98%, and average total nitrogen removal rate is 86% combined with 14% nitrate production; the removal volumetric total nitrogen load is 2.56kg/(m³·d). The influence of the influent substrate ratio of ammonium to nitrite on reactor's performance has been studied. The granule structure has been observed by the scan electro-microscope.

Key words 'ANAMMOX'; plug flow reactor'; nitrogen removal; influent substrate ratio; reaction ratio

厌氧氨氧化反应(Anaerobic Ammonium Oxidation ,ANAMMOX )过程是当今微生物学和废水处理 领域的一个重大发现 ,该反应是厌氧氨氧化微生物 在厌氧条件下以  $NH_4^+ - N$  作为电子供体、 $NO_2^- - N$  为电子受体的氧化还原反应  $(NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O)$ . 厌氧氨氧化反应突破了传统硝化反硝化反应繁复的电子转移过程 ,由 -3 价和 +3 价态氮直接相互作用生成  $N_2$  ,从而极大地降低了能耗、加药量等消耗.

以厌氧氨氧化反应为基础的脱氮工艺,具有反应速度快、处理效率高、污泥量少、节能降耗等优点,对化肥、焦化、污泥消化液、垃圾渗滤液等高氮低碳废水的脱氮处理尤其有效,为这些目前废水脱氮处理中的难题提供了一种非常好的解决方案,已得到国内外有关学者的广泛认可. 2002 年 6 月世界上第一个工业化 ANAMMOX 反应器已在荷兰建成并投入生产<sup>[2]</sup>. 但目前此技术在国内仍处于理论研究阶段,其首要问题是 ANAMMOX 菌是一种极慢速增长的微生物<sup>3]</sup>. 培养与增殖均较困难. 因此,本研究在实验室条件下对快速富集高活性 ANAMMOX 微生物的方法及进水基质对反应过程的影响进行了试验研究.

# 1 材料与方法

#### 1.1 实验装置与流程

采用 2 套试验装置,装置 1 总有效容积 2.385L,一级反应器  $V_1$ =0.954 L,二级反应器  $V_2$ =1.431L 装置 2 总有效容积 0.6L,一、二级反应器 各 0.3L 流程如图 1 所示.

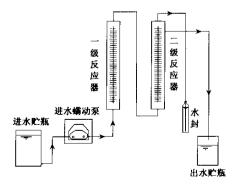


图 1 推流式固定化絮体生物反应器试验流程

Fig. 1 The experimental apparatus of plug flow immobilized floc bioreactor

收稿日期 2004-03-05 修订日期 2004-07-20 基本原品 北京主教系科共原品(1904-07-20

基金项目 北京市科委科技项目( H010510090113 ) 北京市自然科学 基金资助项目( 8042010 )

作者简介:刘寅(1977~),女,硕士研究生.

#### 1.2 运行方法

接种污泥均为某污泥处理厂的好氧活性污泥,进水基质为人工配制,其组成为:基本无机盐培养基  $^{4\,\mathrm{l}}$ 、碳酸氢铵、亚硝酸钠和碳酸氢钠,其中氮及碱度的含量根据试验需要调整. 反应器在恒温  $30\,\mathrm{C}$  条件下避光培养,进水  $_{\mathrm{pH}}$  =  $8.0\pm0.2$ . 起始进水  $_{\mathrm{NH_4^+-N}}$ 、 $_{\mathrm{NO}_2^--\mathrm{N}}$  浓度各  $_{\mathrm{70mg/L}}$  ,HRT 约 2.77d.

#### 1.3 分析方法

 $NH_4^+$ -N 纳氏试剂光度法 ; $NO_2^-$ -N :N-(1-萘基) 乙二胺光度法 ; $NO_3^-$ -N :紫外分光光度法 ;pH :玻璃电极法 ;碱度 :电位滴定法

每批次分析化验时,每个项目均选取1个样品进行加标回收测定,回收率在90%以上为有效数据.

#### 2 试验结果

装置 1 重点考察了两级推流式 ANAMMOX 反应器的快速启动及 ANAMMOX 微生物的富集培养过程  $^{51}$ .整个实验历时 280d 图 2 ),可分为 4 个阶段 污泥适应与转化期(第  $0\sim39d$  ,未在图中表示);启动期(第  $40\sim76d$ ),负荷提高期(第  $77\sim244d$ )稳定运行期( $245\sim279d$ ).

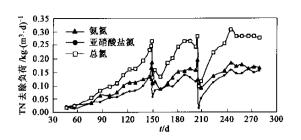


图 2 容积去除负荷历时曲线

Fig. 2 Removal volumetric nitrogen load during the experiment

启动初期,接种普通硝化污泥在厌氧条件下培养,存在一个污泥适应与转化的过程,NH4+-N、NO2-N 去除率波动较大,TN 去除率小于 20%,随后启动期反应器工作性能转好,NH4+-N、NO2-N 去除稳定,去除率均在 85%以上,TN 最大去除率达 68%,因此认为 ANAMMOX 反应器已启动成功.负荷提高期经历了 2 次较严重的抑制,出水水质恶化,但均很快得到恢复.稳定运行期 HRT 约 2d,进水 NH4+-N、NO2-N平均浓度分别为 338.9mg/L、302.7mg/L;平均容积负荷分别为 0.170kg/(m³·d),0.152kg/(m³·d).该装置在第 84d 时出现产气现象,运行至第 120d 时,观察到红色颗粒污泥,表 1).

表 1 装置 1 启动运行情况

Table 1 Startup and operation of the equipment 1

	启动期(平均值)		负荷提高期(最低~最高)		稳定运行期(平均值)	
项目	进水浓度	去除率	进水浓度	去除率	进水浓度	去除率
	$/\text{mg} \cdot L^{-1}$	1%	$/\mathrm{mg} \cdot L^{-1}$	/%	$/\text{mg} \cdot L^{-1}$	/%
NH <sub>4</sub> -N	86.3	88.9	175.7~491.1	67.9~100	338.9	99
$NO_2^-$ -N	103.2	66.8	113.1 - 405.0	$12.1 \sim 100$	302.7	98.3
TN	201.5	42.2	300.8~875.8	33~89.3	651.3	85.9

装置 2 以相同方式启动 ,用于考察进水基质比例对反应器性能的影响  $^6$ 1. 第  $^4$ 5d 即启动成功 ,TN 去除率达  $^6$ 3% . 比例试验前已累计运行  $^1$ 10d ,并实现稳定运行 ,此时平均进水  $^4$ 1,  $^4$ 2,  $^4$ 2,  $^4$ 3,  $^4$ 3,  $^4$ 4,  $^4$ 3,  $^4$ 4,  $^4$ 5,  $^4$ 7,  $^4$ 8,  $^4$ 8,  $^4$ 9,  $^$ 

生成 TN 去除率未能大于 91%.

#### 3 分析与讨论

#### 3.1 亚硝酸盐浓度的抑制与恢复

装置 1 运行过程中,负荷提高期经历了 2 次较为严重的抑制,分析试验结果发现(图 3):当进水 $NO_2^-$ -N > 350mg/I[0.14kg/( $m^3 \cdot d$ )]时,反应开始

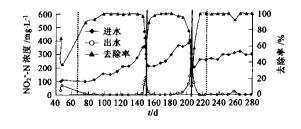


图 3 亚硝酸盐氮浓度变化历时曲线

Fig. 3 Nitrite concentration change during the experiment

受抑制;当进水 NO<sub>2</sub>-N > 400mg/L [ 0.18 kg/( m³·d)] 成应受到强烈抑制,反应趋于停滞;而在第3阶段,控制进水 NO<sub>2</sub>-N < 300mg/I [ 0.16 kg/( m³·d)],NO<sub>2</sub>-N 去除率仍保持在99%以上.这说明2次抑制主要是由亚硝酸盐浓度造成的,而非亚硝酸盐进水负荷过高.亚硝酸盐浓度抑制可在1周内恢复,ANAMMOX 微生物的活性越高,其抗亚硝酸盐浓度抑制的能力越强,反应的恢复越快.由于反应器为推流运行方式,进口处基质浓度得不到稀释,因此进水亚硝酸盐成为反应器负荷提高的主要限制因素.本研究表明,推流式ANAMMOX 反应器应控制进水 NO<sub>2</sub>-N 浓度不大于300mg/L 为宜.

# 3.2 pH、碱度的指示作用

装置 1 考察了 ANAMMOX 反应中 pH 值、碱度的作用. 研究表明 :pH 值对反应有着良好的指示作用. ANAMMOX 反应良好时(图中 TN 去除率保持稳定或上升时),出水 pH 大于进水 pH ;而在反应运行效果不佳时,反映在 pH 变化上则为进水 pH 大于出水 pH 大于出水 pH 时段分别对应于启动期、第 1 次反应受抑制时、第 2 次反应受抑制时和稳定运行时去除率有微小波动时. 碱度消耗率与进出水 pH 值、TN 去除率的变化一致 ,也可起到指示作用. 碱度的消耗一般占进水碱度的40%~50% ,在反应出现异常时 ,碱度的消耗随 TN 去除率的下降而减少.

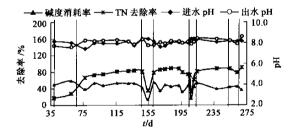


图 4 pH、碱度变化与总氮去除率的关系

Fig. 4 Change of pH, alkalinity and total nitrogen removal rate

#### 3.3 进水基质比例对反应器性能的影响

在装置 2 中进行了进水 TN 浓度分别为 200 mg/L, 300 mg/L, 360 mg/L 的 3 系列实验,每一系列设定  $6 \sim 7$  个不同的进水  $NH_4^+$ -N 与  $NO_2^-$ -N 浓度比例  $0.5 \sim 2$  之间 ),以  $NH_4^+$ -N:  $NO_2^-$ -N 为 1:1、1:1.25、1.25:1、1:1.5、1.5:1、1:1.75、1.75:1 的顺序变化进水基质比例,避免了反应器内微生物长时间处于基质浓度的单向变化而造成反应抑制. 图 5 为全部试验点的分布情况,共进行 21 个点的试验.

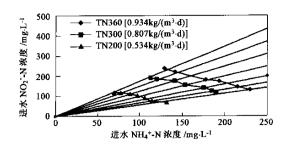


图 5 比例试验点的分布情况

Fig. 5 The ratio experiment distribution

3.3.1 进水基质比例与  $NH_4^+$ -N、 $NO_2^-$ -N 和 TN 去除率之间的关系

试验结果表明 ,进水中 NH4 -N 与 NO2 -N 的比 例  $\sigma(\sigma =$  进水  $NH_4^+ - N$  浓度: 进水  $NO_2^- - N$  浓度)与 反应器效率密切相关. 以 TN=200mg/L 时为例 图 6,TN=300、360mg/L 时与此图类似),对应于每一 个 TN 负荷条件,均存在一个基质不受限制的区域  $[\sigma_1, \sigma_2], \sigma_1, \sigma_2$  为 2 个边界比例值,当  $\sigma \leqslant \sigma_1$  时, NH<sub>4</sub> -N 去除率达到 100% ,当 σ≥σ₂ 时 ,NO₂ -N 去 除率达到 100%. 定义区间  $\sigma_1 \leqslant \sigma \leqslant \sigma_2$  为非基质限 制区间,不在非基质限制区间内的试验点,反应器运 行在部分基质限制条件之下,即2种参与反应的基 质中有一种处于缺乏状态,从而影响另一种基质的 去除效率. 反应器所呈现出的 TN 去除率实际上受 到了某种基质限制,不能完全代表反应器所具有的 处理能力, 当进水比例在非基质限制区间时, 进出水 浓度变化体现了在反应器内发生 ANAMMOX 反应 的真实状况,且在此区间均出现一个 TN 去除率最 大值 此时对应的进水基质比例  $\sigma = \sigma_{TNmax}$  ,为反应 器运行的最佳进水基质比例, 由表 2 还可见, TN 负 荷越低 TN 的最大去除率越高  $\rho_{TNmax}$  越接近 1. TN

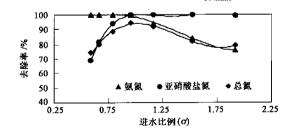


图 6 TN = 200mg/L 时 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 和 TN 随进水基质比例变化关系

Fig. 6 The change of ammonium , nitrite , total nitrogen following with the influent substrate ratio variation (TN = 200 mg/L)

负荷越高 TN 的最高去除率越低  $\sigma_{TNmax}$ 越低 H

#### 表 2 TN 拟合曲线最大值及对应的进水基质比例( $\sigma$ )

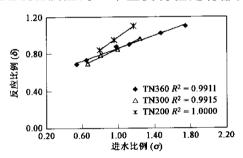
Table 2 The maximum of the total nitrogen regression line and the corresponding influent substrate ratio ( $\sigma$ )

序号	进水 TN 负荷	TN 最高去	对应的进水比例	
	$/\mathrm{mg} \cdot L^{-1}$	除率值/%	$\sigma_{ ext{TN}_{ ext{max}}}$	
1	200[ 0.534 kg/( m <sup>3</sup> ·d )]	95	1.0181 (1.02:1)	
2	$300[0.807 \text{ kg/(m}^3 \cdot \text{d)}]$	93.7	0.8646(1:1.16)	
3	360[0.934 kg/(m <sup>3</sup> ·d)]	87.2	0.8500(1:1.18)	

小于 1 ,即进水  $NH_4^+$  -N 浓度小于  $NO_2^-$ -N 浓度. 反应器的进水 TN 负荷越低 基质之间的反应越完全 ,因此反应器的效率越高. 这一点与生物处理的一般过程是一致的.

#### 3.3.2 进水基质比例与反应比例的关系

ANAMMOX反应的一个重要特征是有部分



 $NO_2^-$ -N 转化为  $NO_3^-$ -N ,为生物体提供能量 ,剩余部分与  $NH_4^+$ -N 发生反应( $NH_4^+$ +  $NO_2^ \rightarrow$   $N_2$ +  $2H_2O$ ) 因此将可能参与上式反应的实际基质比例记为  $\beta$ [( $\beta$  为  $NH_4^+$ -N 去除量与  $NO_2^-$ -N 去除量减去  $NO_3^-$ -N 生成量的差值之比 , $\beta$  =  $\Delta NH_4^+$ -N:( $\Delta NO_2^-$ -N -  $\Delta NO_3^-$ -N )]. 将整个系统内全部反应消耗的基质比例定义为  $\delta$ ( $\delta$  为  $NH_4^+$ -N 去除量与  $NO_2^-$ -N 去除量之比 , $\delta$  =  $\Delta NH_4^+$ -N: $\Delta NO_2^-$ -N ). 实验结果表明(图 7) 随着进水基质比例  $\sigma$  的变化 , $\delta$ 、 $\beta$  并非固定不变 ,而是在非基质限制区间内 ,同一负荷条件下  $\sigma$  与 $\delta$  之间几乎呈线性关系 ; $\beta$ - $\sigma$  和 $\delta$ - $\sigma$  两者的变化规律很相似 ;在低负荷条件下  $\sigma$  较小时 , $\beta$ 基本等于 1.

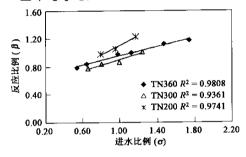


图 7 非基质限制区间内进水基质比例  $\sigma$  与反应比例  $\delta$ 、 $\beta$  的线性拟合

Fig. 7 The regression line of influent substrate ratio  $\sigma$  and reaction ratio  $\delta$  and  $\beta$ 

## 3.4 ANAMMOX 微生物的富集生长

研究发现,推流式 ANAMMOX 反应器内,红色颗粒污泥首先出现在一级反应器底部进水口处,并在此处大量富集生长,红色颗粒污泥一般生长于反应器内液体流道附近,有基质和气体从该处通过,这可能是出现污泥颗粒化的主要条件,整个培养过程

中微生物性状发生了较大转变 从图 8 可以看出 ,菌胶团由松散、不规则变成致密、规则圆形 ,最终形成肉眼可见的红色颗粒污泥.图 8(c)中直径为  $1\sim6$ mm 的颗粒占总个数的 24.6% ,直径小于 0.5mm 的颗粒占 75.4%

运行至300d时,推流式固定化絮体反应器内具



启动期(光学电镜、400倍)



第 200d (光学电镜、 200 倍)



第 300d 肉眼观察

图 8 颗粒污泥的生长变化

Fig. 8 The growth variation of the granular sludge

有 ANAMMOX 活性的污泥有 2 种形态:红色颗粒污泥(图 9a) 棕褐色絮状悬浮污泥.整个系统中絮状污泥占多数 结构松散、易上浮流失:颗粒化污泥

相对较少,但颗粒密实,集中生长,主要分布在高负荷区.在扫描电镜下观察发现二者都具有至少3种形态相同的微生物(图9b,c,d):球状、丝状、短杆状

微生物. 但颗粒污泥结构紧凑、球菌聚集体数量多, 形态清晰可辨;而悬浮污泥结构松散;球菌聚集体数 量少、结构不明显、个体不易辨认.

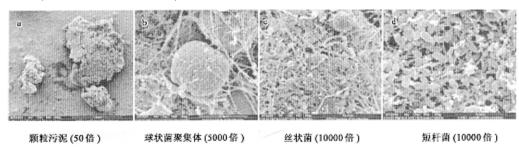


图 9 扫描电镜下观察到的颗粒污泥

Fig. 9 The granular sludge observed by the scan electro-microscope

#### 4 结论

- (1)采用两级推流式 ANAMMOX 反应器可快速实现 ANAMMOX 反应 ,并能长期稳定运行. 最大 TN 进水负荷可达 2.87 kg/( $m^3 \cdot d$ ),最大 TN 去除负荷达 2.56kg/( $m^3 \cdot d$ );平均  $NH_4^+$ -N、 $NO_2^-$ -N、TN 去除率分别为 99%、98%、85%.
- (2)亚硝酸盐对 ANAMMOX 微生物有抑制 ,对于推流式 ANAMMOX 反应器 ,应控制进水  $NO_2^-$ -N 浓度不大于 300 mg/L 为宜. 进出水 pH、碱度可有效反映反应器的运行状况 ,出水 pH 大于进水 pH、碱度的消耗稳定时 ,说明反应器运行良好.
- (3)推流式 ANAMMOX 反应器进水中的  $NH_4^+$ -N与  $NO_2^-$ -N 比值( $\sigma$ )对反应器的性能有重要 影响 ,该比例与  $NH_4^+$ -N、 $NO_2^-$ -N、TN 的去除率以及  $NH_4^+$ -N 与  $NO_2^-$ -N 的反应比例( $\delta$ 、 $\beta$ )等参数呈良好的相关性. 在非基质限制区间内存在一个最佳的进水比值( $\sigma_{TNmax}$ ),使 TN 去除率最大.
  - (4)推流式固定化絮体反应器内有2种形态的

具有 ANAMMOX 活性的污泥:红色颗粒污泥、棕褐色絮状悬浮污泥.2 种污泥中均含有3种特殊形态的微生物:球状、丝状、短杆状微生物.颗粒污泥结构紧凑、球菌聚集体数量多,形态清晰可辨.红色颗粒污泥一般生长于反应器内有基质和气体通过的液体流道附近,这可能是出现污泥颗粒化的主要条件.

## 参考文献:

- [1] Mulder, et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor J. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 16:177~184.
- [2] 郝晓地 汪慧贞 筹. 欧洲城市污水处理技术新概念——可持续生物除磷脱氮工艺[] 给水排水 2002 **28**(6) 5~11.
- [ 3 ] Strous M, Heijnen JJ, Kuenen JG. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms [ J ]. Applied Microbiol Biotechnol, 1998, 50, 589 ~ 596.
- [4] Astrid A Van de graaf, Peter de Bruijn, Lesley A Robertson, Mike S M Jetten, J Gijs Kuenen. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. Microbiological 1996, 142, 2187~2196.
- [5] 杜兵,司亚安,等. 推流固定化生物反应器培养 ANAMMOX 菌. 中国给水排水,2003,19(17)62~65.