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NO₂-N去除率皆大于98%,TN平均去除率为86%,NO₃-N的生成率约为14%,TN去除负荷达2.56kg/(m³·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 $2.56 \text{kg/(}\text{m}^3 \cdot \text{d}\text{)}$. 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¹¹($NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 +$ $2H_2O$). 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^[2].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^{3]}.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 浅置 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]、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℃条 件下避光培养,进水 $_{\rm pH} = 8.0 \pm 0.2$. 起始进水 ${\rm NH}_4^+ - {\rm N}, {\rm NO}_5^- {\rm N}$ 浓度各 70mg/L, HRT 约 2.77d.

1.3 分析方法

NH4⁺-N 纳氏试剂光度法 ;NO2⁻-N :N-(1-萘基) 乙二胺光度法 ;NO3⁻-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^[5].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 0~39d,未在图中表示); 启动期(第 40~76d);负荷提高期(第 77~244d)稳 定运行期(245~279d).



图 2 容积去除负荷历时曲线



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,NH⁴₄-N、NO⁻₂-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,NH⁴₄-N、NO⁻₂-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 NH⁴₄-N、NO⁻₂-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).

衣」	え 直 」	后动运行情况	

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
	$/{\rm mg} \cdot {\rm L}^{-1}$	/%	$/\text{mg} \cdot L^{-1}$	/%	$/\text{mg} \cdot L^{-1}$	1%
NH ₄ ⁺ -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 - 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⁶¹.第 45d 即启动成功,TN 去除率达 63%.比例试验前已累计运行 110d,并实 现稳定运行,此时平均进水 NH⁴₄-N、NO²₂-N 浓度分 别为 204.0mg/L、172.5mg/L;平均 TN 进水负荷为 0.954kg(m³·d),平均 TN 去除负荷为 0.863 kg/(m³·d).NH⁴₄-N、NO²₂-N、TN 平均去除率分别 为 98.4%、97.6%、90.5%.比例实验后继续提高负 荷,至第 463d 时,平均进水 NH⁴₄-N、NO²₂-N 浓度分 别为 274.6mg/L、264.3mg/L;平均 NH⁴₄-N、NO²₂-N、TN 去除率分别为 99%、98%、85%;TN 进水负 荷与去除负荷分别为 2.87 kg/(m³·d), 2.56 kg/(m³·d).因 ANAMMOX 微生物利用 NO²₂-N 转 化为 NO³₃-N 过程中获得的还原力用于同化 CO₂, 实现微生物增殖,所以出水中总有一定量的 NO³₃-N 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/(m³·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 $NO_2^-N > 400mg/L[0.18$ kg/(m³·d)时,反应受到强烈抑制,反应趋于停滞; 而在第3阶段,控制进水 $NO_2^-N < 300mg/I[0.16$ kg/(m³·d)], NO_2^-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_2^-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.图 4 中 4 处进水 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.





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 200mg/L、300mg/L、360mg/L 的 3 系列实验,每一 系列设定 6~7 个不同的进水 NH⁺₄-N 与 NO⁻₂-N 浓 度比例(0.5~2 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



3.3.1 进水基质比例与 NH₄⁺-N、NO₂⁻-N 和 TN 去 除率之间的关系

试验结果表明,进水中 NH_4^+ -N 与 NO_2^- -N 的比 例 $\sigma =$ 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 $\sigma \leq \sigma_1$ 时, NH_4^+ -N 去除率达到 100% ,当 $\sigma \ge \sigma_2$ 时 , NO_2^- -N 去 除率达到 100%. 定义区间 $\sigma_1 \leq \sigma \leq \sigma_2$ 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 σ_{TNmax} 越接近 1. TN



图 6 TN = 200mg/L 时 NH[↓]₄ - N₂ NO₂ - N 和 TN 随进水基质比例变化关系



负荷越高 ,TN 的最高去除率越低 ,oTNmax 越低 ,并且

表 2 TN 拟合曲线最大值及对应的进水基质比例(σ)

Table 2	The maximum of the total nitrogen regression line an
	the corresponding influent substrate ratio (σ)

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



NO₂⁻-N转化为 NO₃⁻-N,为生物体提供能量,剩余部 分与 NH₄⁺-N 发生反应(NH₄⁺ + NO₂⁻ → N₂ + 2H₂O) 因此将可能参与上式反应的实际基质比例 记为 β (β 为 NH₄⁺-N 去除量与 NO₂⁻-N 去除量减 去 NO₃⁻-N 生成量的差值之比, $\beta = \Delta$ NH₄⁺-N : (Δ NO₂⁻-N - Δ NO₃⁻-N)].将整个系统内全部反应 消耗的基质比例定义为 δ (δ 为 NH₄⁺-N 去除量与 NO₂⁻-N 去除量之比, $\delta = \Delta$ NH₄⁺-N : Δ NO₂⁻-N).实 验结果表明(图 7),随着进水基质比例 σ 的变化, δ 、 β 并非固定不变,而是在非基质限制区间内,同一负 荷条件下, σ 与 δ 之间几乎呈线性关系; β - σ 和 δ - σ 两 者的变化规律很相似, 在低负荷条件下, σ 较小时, β 基本等于 1.



图 7 非基质限制区间内进水基质比例 σ 与反应比例 δ 、 β 的线性拟合 Fig. 7 The regression line of influent substrate ratio σ and reaction ratio δ and β

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~ 6mm 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





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.



颗粒污泥(50倍)

球状菌聚集体 (5000倍)

短杆菌(10000倍)

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

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/(m³·d),最大 TN 去除 负荷达 2.56kg/(m³·d);平均 NH⁴-N、NO⁻-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 NO7-N 浓度不大于 300mg/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 NO₂⁻-N 比值(σ)对反应器的性能有重要 影响,该比例与NH4+N、NO2-N、TN的去除率以及 NH₄⁺-N 与 NO₂⁻-N 的反应比例(δ 、 β)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(σ_{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,等. 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):6~11.
- [3] Strous M, Heijnen JJ, Kuenen JG. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammomium-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.