

序批式生物膜法反硝化除磷特性及其机理

李 军¹, 彭永臻¹, 杨秀山², 王宝贞³, 杨海燕¹ (1.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 100022; 2.首都师范大学生物系, 北京 100037; 3.哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要: 探讨了序批式生物膜法反硝化除磷特性及其机理.采用³¹P-NMR谱图,说明序批式生物膜在缺氧条件下与在好氧条件下相同,无机磷酸盐被转化成聚磷酸盐而贮存,证实了反硝化除磷的机理;在缺氧段反硝化吸磷速率较好氧吸磷速率明显降低,约为好氧吸磷速率的 1/6;优势菌依顺序为假单胞菌属、气单胞菌属、芽孢杆菌属、微球菌属.

关键词: 序批式反应器; 生物膜; 反硝化除磷菌(DPB)

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2004)02-0219-05

Characteristics and mechanism of the phosphorus removal by denitrification with sequencing batch biofilm technique. LI Jun¹, PENG Yong-zhen¹, YANG Xiu-shan², WANG Bao-zhen³, YANG Hai-yan¹ (1.Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environmental Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100022, China; 2.Biological Department, Capital Normal University, Beijing 100037, China; 3.College of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China). *China Environmental Science*, 2004,24(2): 219~223

Abstract: The characteristics and mechanism of phosphorus removal by denitrification with sequencing batch biofilm technique were investigated. The ³¹P-NMR spectrograms were adopted to explain that it was same under anoxic and aerobic conditions of sequencing batch biofilm, the inorganic phosphate was converted to polyphosphate and stored and confirmed its mechanism. In the anoxic phase, the phosphorus uptake rate was obviously lowered to about 1/6 of that in aerobic phase; and the order of the dominant bacterial species was *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*.

Key words: sequencing batch reactor; biofilm; denitrifying phosphorus removing bacteria (DPB)

有文献报道反硝化除磷菌(DPB),具有与常规的A/O法中的聚磷菌相似的生物代谢作用^[1-4].聚磷菌(PAO)反硝化可以用2种假设进行解释,一是两类菌属学说,即生物除磷系统中PAO可分为两类菌属,其中一类PAO只以氧气为电子受体,而另一类则能以氧气又能以硝酸盐作为电子受体,称作反硝化聚磷菌(DPAO即反硝化除磷菌DPB);二是一类菌属学说,即在生物除磷系统中只存在一类PAO^[2].Wanner^[3]于1992年研究出反硝化除磷的DEPHANOX工艺.该工艺发生体外硝化,污水先进入厌氧池再到沉淀池,污泥与富含NH₄⁺的上清液分离.上清液进入一固定膜装置发生硝化反应.被沉淀的污泥通过旁通管与硝化液一起到缺氧池.硝酸盐一方面作为反硝化的电子

受体发生反硝化反应,一方面又作为DPB的电子受体而除磷.反硝化聚磷菌在厌氧池中通过吸收VFA以PHB(聚- α -羟基丁酸)的形式储存起来,同时释放磷.在缺氧池中,反硝化聚磷菌利用储存的PHB参与反硝化反应.同时污水中的反硝化聚磷菌与普通的聚磷菌共同参与了吸磷的过程.1996年Kuba^[4]等人发现,氮的去除率相同时,利用硝化污泥回流系统和反硝化除磷污泥回流系统的除磷脱氮工艺,与常规单污泥系统厌氧-缺氧-好氧交替运行工艺相比,COD消耗节

收稿日期: 2003-08-21

基金项目: 北京市科技新星资助项目(9558100800);国家“863”项目(2003AA601010-01)

* 责任作者, 教授, jgljun@bjut.edu.cn

省 50%,氧消耗节省 30%,污泥产量减少 50%^[4]. 研究表明,DPB 在序批式 A/O 反应器和常规连续式 A/O 脱氮除磷系统中大量存在^[4].

众所周知,生物除磷须使微生物处于厌氧、好氧的交替状态并将过量摄取的磷的剩余污泥及时排出系统.为此,笔者试验研究了序批式生物膜法的除磷工艺特性^[5].试验中发现在缺氧条件下在进行反硝化的同时,仍可继续吸磷.因此,有必要就缺氧段的反硝化及吸磷的特性和机理作进一步的探讨.

1 试验装置与方法

1.1 试验装置

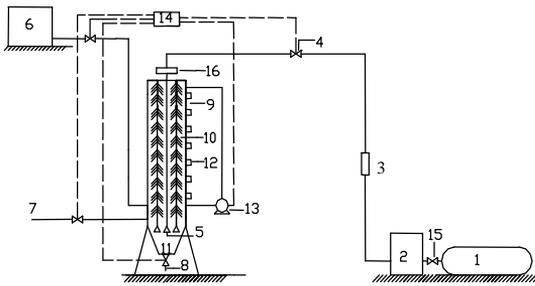


图 1 试验装置

Fig.1 Schematic diagram of experimental equipment

- 1.空压机 2.贮气罐 3.转子流量计 4.电磁阀 5.曝气器
- 6.高位水箱 7.出水管 8.排泥管 9.反应器 10.纤维载体
- 11.沉淀池 12.取样口 13.循环泵 14.自控装置
- 15.减压阀 16.布气管

试验装置如图 1 所示.试验所用反应器由有机玻璃制成,内径 15cm,反应器内有效容积 18L,其中沉淀池 2L.试验进水 TP 平均为 10.0mg/L,TN 平均为 37.7mg/L,COD 为 370.0mg/L,温度为 25℃,好氧状态的 DO 平均为 5.5mg/L.装填密度应是纤维载体上生物膜成熟后,膜与载体所占容积与整个反应器容积之比.分别做了最大装填密度 37.5%、实用装填密度 30%以及较低装填密度 22.5%的对比实验后,确定较适宜的装填密度为 30%.此时,反应器中的纤维载体的比表面积为 2.66m²/L.生物膜培养采用 A/O 交替运行方

式历时 3 个月,菌种取自一般活性污泥工艺^[5].试验稳态运行工况为:

添加半池原生废水

进水 厌氧段 3h 好氧段 6h 缺氧段 3h 出水

1.2 原生污水与分析方法

原生污水用自来水加蛋白胨配制,配制时还投加少量氯化铵、硫酸镁、磷酸二氢钾、氯化钙、氯化钠等,配制后水质如表 1 所示.COD,重铬酸钾法;TN,过硫酸钾-紫外分光光度法;NH₄⁺-N,纳氏试剂光度法;NO₃⁻-N、NO₂⁻-N,离子色谱法;TP,过硫酸钾氯化亚锡还原光度法;以试验条件改变后运行 2 周后的水样为试样.

表 1 原生污水水质

Table 1 The synthetic wastewater quality

水质指标	浓度(mg/L)	水质指标	浓度(mg/L)
COD	250~400	TP	8~10
NH ₄ ⁺ -N	30~60	SP	7~9
TN	10~20	pH 值	7.3
NO ₃ ⁻ -N	0.2	碱度	380~440
NO ₂ ⁻ -N	0.1	BOD ₅	180~300

注:除 pH 值外,其他水质指标的单位均为 mg/L

2 反硝化除磷特性试验

2.1 厌氧、好氧段磷的释放和吸收

在进水 COD 浓度 375.0mg/L 时 TP 的变化,如图 2 所示.由图 2 可见,在厌氧段具有很好的磷释放,厌氧 3h 内的放磷均速为 1.37mg/(L·h);在好氧段具有很好的磷吸收,好氧开始后 3h 内吸磷均速为 4.27mg/(L·h).

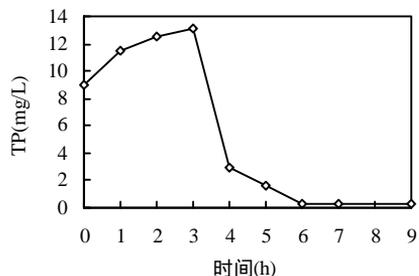


图 2 厌氧与好氧段 TP 变化曲线

Fig.2 Changes in TP concentration during anaerobic phase of 3h and the aerobic phase of 6h

试验表明,细胞内磷代谢受有无分子O₂的影响.实际上,生物除磷法不仅受有无分子氧,而且也受有无硝态氮的影响.为此,进行了有硝态氮(NO_x⁻)存在时的探讨.

2.2 缺氧段反硝化和磷的吸收

试验中实行半池出水、半池进水控制,即为上一周期中产生的硝化液与新进原生废水混合,混合后 NO_x⁻平均浓度为 13.4mg/L,COD 平均浓度为 268.5mg/L,TP 平均浓度为 4.8mg/L.此时的厌氧变成了缺氧,除磷菌可利用 NO_x⁻作为电子受体进行缺氧吸磷,因此在缺氧段,在进行反硝化的同时,仍可继续吸磷,见图 3.缺氧开始后 3h 内吸磷均速为 0.70mg/(L·h),约为好氧吸磷均速的 1/6.多次试验表明磷吸收量与硝态氮脱除量具有很好的相关性,见图 4.

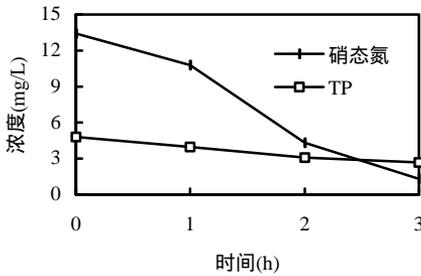


图 3 缺氧段的 NO_x⁻和 TP 变化曲线

Fig.3 Curves of nitrate nitrogen and phosphorus in oxic phase

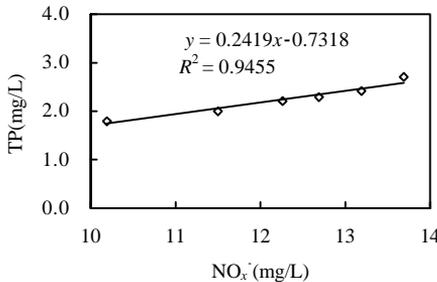


图 4 缺氧段硝态氮脱出量与磷吸收量关系

Fig.4 Relationship between nitrate nitrogen removal and phosphorus uptake

3 反硝化除磷机理

3.1 试验材料与方 法数据

随处理工艺、条件和原废水的不同,生物膜或活性污泥中具有除磷作用的细菌种属、优势菌属也不同.在接下来的试验中,菌种取自 SBR 除磷生物膜反应器中填料上的生物膜,这些菌种都是经过多次厌氧、好氧交替后,放磷和吸磷能力提高了的驯化菌种,以牛肉膏为培养基,采用不含 NO₃⁻的蒸馏水稀释到溶液中的 BOD 为 600mg/L.

采用 ³¹P-NMR 技术研究不同条件下生物膜中微生物的细胞内各形态磷化合物随时间的变化.NMR 采用瑞士 BRUCKER 公司的 AC80 型富里哀变换核磁共振波谱仪,用 36.43MHz 分析,并且为了进行强度比较,加 D₂O(重水)几滴于培养基后(由于质子与氘核交换作用,可消除-OH、-NH₂等的谱峰),再加六甲基磷酸酰胺(HMPA),这种 HMPA 在+25×10⁻⁶m 处有一谱峰,而成为生物学的磷化合物的外部标准,参考样品采用 85%的正磷酸.扫描范围为 6000Hz,捕捉时间为 0.17s,脉冲为 80°,衰减为 6Hz 的指数关系相乘,累计转数从 10000 转到 20000 转,温度为 27℃,化学位移为 10⁻⁶m.取培养菌种污泥 3000mg 经 5min 离心分离后,装入 10mm 样品管^[6].

3.2 结果与讨论

试验开始时,先测定培养基本身的 NMR 谱,但培养基的上清液中没有发现谱峰.据此,可认为本分析中的谱峰全部来自培养菌种的细胞.本研究以此种培养基而增殖的菌种污泥为分析样.

3.2.1 厌氧时的谱峰变化 图 5 为厌氧条件下生物膜菌种污泥 ³¹P-NMR 的谱峰变化图,+25×10⁻⁶m 附近的谱峰是 HMPA 产生的,+2×10⁻⁶m 附近的谱峰是 PO₄³⁻的,-22×10⁻⁶m 处的谱峰为聚磷酸盐产生的.并且在该条件下,随着时间延长,波谱有 2 个大的变化,一个是聚磷酸盐减少了,28h 后其谱峰几乎消失,这说明细胞的聚磷酸盐分解了,另一个是+2×10⁻⁶m 处无机磷酸盐增加了.可以认为聚磷酸的减少部分转换成了无机磷酸盐.

由此可见,在厌氧段聚磷酸盐分解释放出无机磷酸盐,且随着厌氧时间的延长释放的磷量增加,在生物除磷法中厌氧段的重要作用,在本实验中得到了很好证明.

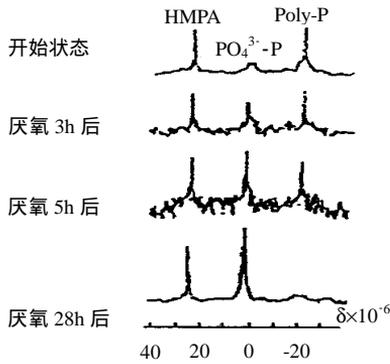


图 5 厌氧条件下的 ³¹P-NMR 谱图

Fig.5 ³¹P-NMR spectrogram of biofilm in anaerobic phase

3.2.2 缺氧条件时的谱峰变化 图 6 为菌种污泥缺氧时的初期状态,缺氧条件下维持 5h 时的状态,以及之后开始曝气并维持好氧条件 5h 的谱图.在此,应注意的是,在缺氧条件下无机磷酸盐的谱峰减少、聚磷酸盐的谱峰增加,减少的部分相当于聚磷酸盐谱峰的增加;在之后的好氧条件下无机磷酸盐的谱峰继续减少、聚磷酸盐的谱峰继续增加.说明缺氧条件下无机磷酸盐转化为聚磷酸盐而贮存,意味着缺氧状态下不仅不会从细胞内释放出无机磷酸盐,而且要吸收胞外的无机磷酸盐,从而证明了缺氧反硝化除磷的观点.

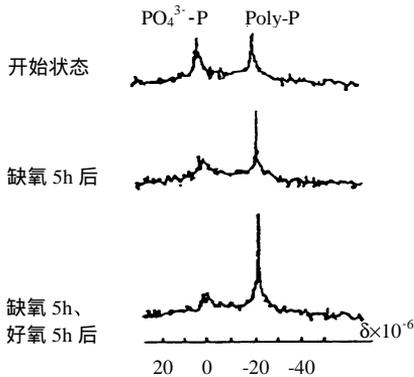


图 6 缺氧条件下的 ³¹P-NMR 谱图

Fig.6 ³¹P-NMR spectrogram of biofilm in anoxic phase

3.3 缺氧反硝化除磷的生化模式

万方数据

如上所述,在生物除磷系统中,存在着反硝化除磷菌(DPB)和好氧聚磷菌(APAO).因此缺氧状态下的效应(净吸收或净释放)取决于这两类聚磷菌所占的比例、活性和基质的组成、数量.

DPB 在厌氧条件下经过有效释放磷酸盐、累积了大量 PHB,进入缺氧状态后(有硝酸盐存在),将分解体内的 PHB 以产生能量(也可能同时吸收碳).PHB(或基质)通过酵解(EMP)和三羧酸循环(TCA)作用产生 NADH+H⁺(辅酶 I),并以 NADH+H⁺作为电子运输链的载体以排除质子,从而形成质子推动力(Pmf),质子推动力一方面用来运输磷酸盐,另一方面可在三磷酸腺苷酶的位置形成 ATP(三磷酸腺苷),并从溶液中吸收溶解性磷酸盐,从而在聚磷酸盐激酶作用下利用 ATP 生成聚磷酸盐,同时 DPB 得以生长.其过程见图 7.

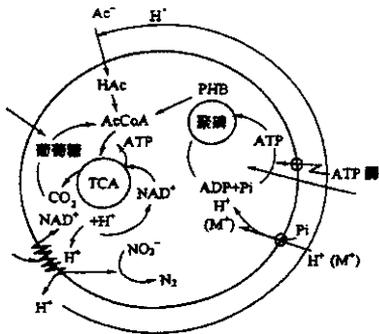


图 7 DPB 新陈代谢模式

Fig.7 Model of biological metabolism of denitrifying polyphosphate accumulating organisms

由以上分析可以得出,DPB 与好氧聚磷菌有相似的除磷机理,都是利用了除磷菌的呼吸作用,但由于硝酸盐呼吸(无氧呼吸)的代谢速率和产能要远远低于有氧呼吸,因此缺氧反硝化吸磷速率低于好氧吸磷速率,本试验中缺氧吸磷均速约为好氧吸磷均速的 1/6,较好地验证了这一点;同时,硝酸盐呼吸的代谢速率和产能关系到缺氧反硝化的吸磷速率和吸磷量,本试验也表明,缺氧段硝态氮脱出量与磷吸收量具有很好的相关性.

4 微生物特性

菌种取自稳态运行的淹没式生物膜反应器中载体上的生物膜,培养基采用牛肉膏蛋白胨培养基,细菌计数按标准平板法进行^[7],细菌总数为 1.56×10^9 个/mL;菌属确定根据《伯杰氏系统细菌鉴定手册》所述的方法进行^[8],假单胞菌,气单胞菌,芽孢杆菌,微球菌,硝化杆菌等的菌相构成比分别为50.39%,28.35%,14.17%,3.94%,3.15%。

由此可见,本系统的优势菌属为假单胞菌属(*Pseudomonas*),其次为气单胞菌属(*Aeromonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、微球菌属(*Micrococcus*)、硝化杆菌(*Nitrobacter*)等。Cloete 等人^[9]的研究认为,假单胞菌属、气单胞菌属、不动杆菌属(*Acinetobacter*)等均不仅具有降解有机物,摄取废水中的有机物合成 PHB 贮存于细胞内的功能,而且还具有还原硝酸盐进行反硝化脱氮以及积累聚磷酸盐的能力。另外芽孢杆菌属、微球菌属等,也具备上述功能,这与本试验研究基本一致。

5 结论

5.1 序批式生物膜工艺在缺氧段仍可继续实现反硝化生物吸磷,只是缺氧反硝化吸磷速度较好,好氧吸磷速度明显降低,约为好氧吸磷速度的 1/6,磷吸收量与硝态氮脱出量具有较好的相关性。

5.2 采用 ^{31}P -NMR 谱图,说明序批式生物膜在厌氧条件下聚磷酸盐分解并转化成无机磷酸盐,而在缺氧条件下如同在好氧条件下一样,无机磷酸盐被转化成聚磷酸盐而贮存。从而证明了缺氧反硝化吸磷的生物除磷观点。

5.3 序批式生物膜工艺中优势菌属为假单胞菌属,其次依顺序为气单胞菌属、芽孢杆菌属、微球菌属等。

参考文献:

- [1] Bortone G, Marsili Libelli S. Anoxic phosphate uptake in the dephanox process [J]. Water Sci. and Tech., 1999,40(4-5):177-185.
- [2] Ekama A George, Wenzel C Mark. Difficulties and developments in biological nutrient removal technology and modelling [J].

Water Sci. And Tech., 1999,39(6):1-11.

- [3] Wanner J. New process design for biological nutrient removal [J]. Water Sci. and Tech., 1992,25(4-5):445-448.
- [4] Kuba T, Van Loosdrecht M C M, Heijnen J J. Phosphorus and nitrogen with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two sludge system [J]. Water Res., 1996,30(7):1702-1710.
- [5] 李 军,王宝贞,聂梅生. 淹没序批式生物膜法除磷工艺特性研究 [J]. 中国给水排水,2001,17(7):1-5.
- [6] 李 军,王宝贞,聂梅生. 序批式生物膜法除磷机理研究 [J]. 中国给水排水,2002,18(1):1-4.
- [7] 罗雪云. 食品卫生微生物检验标准手册 [M]. 北京:中国标准出版社,1995.
- [8] Krige N R, Holt J G. Bergey's manual of systematic bacteriology [M]. Vol.1. London: Williams and Wilkins Baltimore, 1986.
- [9] Cloete T E, Steyn P L. The role of acinetobacter as a phosphorus removing agent in activated sludge [J]. Water Res., 1988,22(8): 971-976.

作者简介: 李 军(1964-),男,山东淄博人,教授,博士后,主要从事污水生物处理技术研究,发表论文 60 余篇。

环 保 信 息

专家建议防治沙尘暴要天地结合 中国科学院沙尘暴研究专家建议,我国在沙尘暴研究方面存在气象条件研究与地面生态环境研究脱节的问题,防治沙尘暴应该天地结合。

我国沙尘暴问题专家、中国科学院寒区旱区环境与工程研究所杨根生教授介绍说,我国目前已经对沙尘暴的成因有了比较明确的认识,沙尘暴的监测和预报体系也已经初步形成。但真正要做到有风无沙,还需将天空的预报和地面治理结合起来,采取有针对性的措施,并加大生态建设的力度。

摘自《中国环境报》

2004-03-03