

聚糖菌颗粒污泥基于胞内储存物质的同步硝化反硝化

王景峰^{1,2}, 王暄¹, 季民^{1*}, 刘卫华¹, 杨造燕¹

(1. 天津大学环境科学与工程学院, 天津 300072; 2. 军事医学科学院卫生学环境医学研究所, 天津 300050)

摘要: 采用特殊运行方式的厌氧-好氧 SBR 系统(厌氧后排水), 以乙酸钠为有机基质成功富集了聚糖菌颗粒污泥. 聚糖菌颗粒污泥厌氧-好氧批式实验表明, 聚糖菌颗粒污泥具有较强的 SND 能力, TOC/N 分别为 5.0, 4.0, 2.8 时, SND 效率分别 96.4%、95.3% 及 96.2%, 而周期总氮去除效率随着碳氮比降低而降低, 分别为 66.0%、61.2% 及 56.3%. 通过对周期氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮、TOC 以及胞内糖原、PHB 变化的测定分析, 证明聚糖菌颗粒污泥 SND 过程中, 污泥以厌氧阶段储存于胞内的多聚物 PHB 作为反硝化碳源, 并且反硝化聚糖菌是系统中反硝化能力的来源. 与溶解性基质相比, PHB 的降解速率相对较低, 因此在 SND 过程中, 反硝化可以与硝化保持相近的速率, 从而有助于获得良好的 SND 效果.

关键词: 聚糖菌; 反硝化聚糖菌; 好氧颗粒污泥; 胞内储存物质; 同步硝化反硝化

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)03-0473-05

Intracellular Storage Polymer Driven Simultaneous Nitrification and Denitrification of GAOs Granular Sludge

WANG Jing-feng^{1,2}, WANG Xuan¹, JI Min¹, LIU Wei-hua¹, YANG Zao-yan¹

(1. School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2. Institute of Hygiene and Environmental Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Tianjin 300050, China)

Abstract: Glycogen accumulating organisms (GAOs) granular sludge was cultivated and stably existed in a sequencing batch reactor (SBR), fed with acetate as organic substrate, by means of special alternating anaerobic-aerobic operation mode, i. e. withdrawal after anaerobic period and sludge aeration during aerobic period to suppress the activity of phosphate accumulating organisms (PAOs). Anaerobic-aerobic batch tests of GAOs granular sludge were carried out to investigate its simultaneous nitrification and denitrification (SND) performances under different TOC/N. The results showed GAOs granular sludge had high SND activity, SND efficiencies were 96.4%, 95.3% and 96.2% respectively as TOC/N were 5.0, 4.0 and 2.8, and the total nitrogen removal efficiencies, decreased with TOC/N decreased, were 66.0%, 61.2% and 56.3% respectively. Measuring and analyzing the variation of ammonia, nitrite, nitrate, TOC, intracellular glycogen and PHB in batch tests, it was verified that intracellular PHB was used as carbon source of denitrification and denitrifying glycogen accumulating organisms (DGAOs) were responsible organisms for the denitrification activity. The degradation rate of PHB was slower than that of soluble substrate and therefore throughout the aerobic period the separate processes of nitrification and denitrification can proceed at similar rates, which was help to improve SND efficiency.

Key words: glycogen accumulating organisms (GAOs); denitrifying glycogen accumulating organisms (DGAOs); aerobic granular sludge; intracellular storage polymer; simultaneous nitrification and denitrification (SND)

胞内储存是指当微生物的生长速率(即基质消耗速率)慢于基质吸收速率时,细胞便将多余的有机物以多聚物形式储存于细胞内以平衡自身生长的现象.目前,在非稳态条件下活性污泥具有吸收有机物并将之以多聚物形式储存在细胞内的能力已被广泛认可,其中被分辨出的胞内储存物质包括多羟基链烷脂(盐)类(PHAs)、糖原及脂类^[1].但是最初对于胞内储存物质的研究仅仅局限在生物除磷范围内,直到 Cech 等人首次发现同样能累积 PHAs 和糖原的糖原聚集细菌(G 细菌)^[2],研究者们才开始意识到微生物胞内储存代谢的特殊性与重要性,对其的研究不断深入. Zeng 发现与聚磷菌类似,聚糖菌(Glycogen Accumulating Organisms, GAOs)也具有反硝化能力,并且在厌氧-缺氧条件下成功富集了反

硝化聚糖菌(Denitrifying Glycogen Accumulating Organisms, DGAOs)^[3].

近年的多项研究表明,在限制曝气条件下,硝化及反硝化可以在好氧条件下同时发生,即所谓的同步硝化反硝化(Simultaneous Nitrification and Denitrification, SND).目前对于 SND 的研究主要从物理(微环境理论)和生物学(好氧反硝化菌等)角度解释 SND 现象.生物学观点基于好氧反硝化菌和异养硝化菌的发现;而持物理学观点的学者认为,由于氧扩散的限制,在活性污泥絮体或生物膜内部产生

收稿日期: 2005-04-23; 修订日期: 2005-07-11

基金项目: 教育部天津大学-南开大学合作项目

作者简介: 王景峰(1974~),男,博士研究生.主要研究方向为污水生物处理理论与技术.

* 通讯联系人

缺氧微环境^[4]. 而好氧颗粒污泥因其沉降速度快、反应活性高,同时通过利用空间尺寸可以形成具有 SND 功能的微环境而倍受关注.

本研究采用特殊厌氧-好氧运行方式 SBR 反应器,以乙酸钠为有机基质成功富集了聚糖菌颗粒污泥,本文主要采用批式实验,利用聚糖菌颗粒污泥的胞内储存与反硝化能力及空间尺寸,对于聚糖菌颗粒污泥在不同碳氮比下的同步硝化反硝化特性进行研究.

1 材料与方法

1.1 试验装置与运行方式

1.1.1 Parent-SBR 系统

试验采用的 SBR 反应器由双层有机玻璃圆柱制成,有效体积 10 L,径高比 1/4,反应器内外夹层之间采用循环水保温,控制反应器在接近恒温条件下运行. 本研究中反应器采用特殊的厌氧-好氧运行方式(见图 1),即厌氧末排水、好氧污泥曝气,以抑制系统中聚磷菌的生长并富集聚糖菌. SBR 系统由可编程控制器(PLC)控制进水、厌氧搅拌、沉降、排水、污泥曝气及闲置等全过程,并根据需要选定运行周期以及各操作阶段的启闭时间. 进水采用潜水泵进水,厌氧采用电动搅拌机搅拌,排水采用重力排水,好氧采用微孔曝气器曝气,供气量由转子流量计控制. 反应器经近 2 个月的驯化后表现出稳定而良好厌氧有机物吸收效果,且该过程直接与微生物的糖原代谢相关,反应器稳定运行阶段的具体运行参数见表 1.

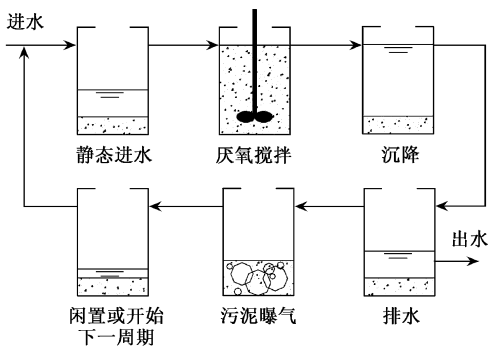


图 1 Parent-SBR 运行程序示意图
Fig. 1 Operation program of parent-SBR

1.1.2 批式实验

批式实验装置有效体积 1.0 L,采用厌氧-好氧运行方式,运行程序为进水、厌氧搅拌、好氧曝气、沉淀、排水,具体运行参数见表 1. 厌氧采用磁力搅拌,

好氧采用微孔曝气器曝气,供气量由转子流量计控制. 批式实验所用污泥均取自 Parent-SBR 稳定运行阶段(周期末),污泥浓度控制在 5g/L 左右.

表 1 反应器及批式实验运行参数

Table 1 Operation parameters of parent-SBR system and batch tests		
运行参数	parent-SBR	批式实验
进水/ min	5	5
厌氧搅拌/ min	90	90
沉降/ min	5	—
排水/ min	10	—
曝气/ min	240	300
闲置/ min	10	—
周期总长/ min	360	395
体积交换率/ %	75	75
控制方式	PLC 自动控制	人工控制
循环次数/ 次 d ⁻¹	4	—
水温/	20 ~ 25	20 ~ 25

1.2 进水水质

试验中 Parent-SBR 反应器及批式实验进水均采用乙酸钠为有机基质,配水主要成分参见表 2. 其中,批式实验进水固定碳源浓度,通过调整氮氮浓度来改变碳氮比(TOC/ N).

表 2 反应器及批式实验进水各组分含量/ mg L⁻¹

Table 2 Composition of synthetic feed of parent-SBR system and batch tests/ mg L ⁻¹		
项目	parent-SBR	批式实验
有机成分	400(乙酸钠)	400(乙酸钠)
NH ₄ Cl-N	30	30 ~ 60(根据实验要求调整)
KH ₂ PO ₄ -P	8 ~ 10	10
其它成分	MgSO ₄ · 7H ₂ O 50, CaCl ₂ 20, KCl 20, MnCl ₂ 0. 1, FeSO ₄ · 7H ₂ O 0. 1, CuSO ₄ · 5H ₂ O 0. 1, ZnSO ₄ 0. 1	

1.3 分析项目及方法

TOC 采用催化氧化法测定(Shimadzu TOC-VCPH). 氨氮采用纳氏试剂法测定,硝酸盐氮、亚硝酸盐氮采用多离子测定仪(Hanna C200)测定. 污泥首先在 80 ℃ 水浴加热 30min,混合离心后弃掉上清液,以剥离胞外聚合物(EPS)排除胞外多糖类物质干扰,然后采用热碱及乙醇提取胞内糖原,污泥胞内糖原采用蒽酮法测定. 胞内聚 β-羟基丁酸(PHB)采用次氯酸钠提取、三氯甲烷固定及有机溶剂清洗后,采用硫酸消解紫外分光光度法测定^[5](Varian Cary100). 磷酸盐、SS 及 SVI 均采用标准方法测定^[6]. 污泥粒径采用激光粒度仪(Malvern Mastersizer S long bed)测定. 污泥结构及生物相的观察采用光学显微镜(江南 XS-18)及环境扫描电镜(Philips XL30). 溶解氧采用溶氧仪测定(Hanna

HF9145)。

2 结果与讨论

2.1 聚糖菌颗粒污泥的富集

本试验中 Parent-SBR 接种污泥取自天津市纪庄子污水处理厂污泥回流泵井,污泥为絮体状,平均粒径约为 $90\ \mu\text{m}$,随着反应器的运行逐渐形成了颗粒污泥。反应器稳定运行阶段颗粒污泥呈灰黑色细砂状外观,粒径为 $0.8\sim 1.5\text{mm}$,最大可达 2.0mm 左右。光学显微镜下观察污泥均呈球形或椭球形、密实且轮廓清晰,环境扫描电镜下污泥多由球菌组成。污泥沉降性能良好,SVI 为 $20\sim 30\text{ mL/g}$ 。

反应器稳定运行阶段典型周期有机物、磷酸盐、胞内糖原及 PHB 变化曲线如图 2 所示。可以看出,在厌氧阶段,伴随着有机物的快速吸收、胞内多聚物 (PHB) 的储存,没有明显的磷酸盐释放,表明有机物快速吸收及胞内储存所需的能量并非来自于胞内聚磷的水解。而另一方面,伴随着有机物的吸收,胞内糖原则呈现出明显的规律性变化:厌氧阶段降低,好氧阶段升高。因此,结合之前的研究结果^[7,8],可以认为系统中微生物的主导代谢模式为:在厌氧阶段主要利用胞内糖原酵解产生的能量及还原力吸收有机物并以多聚物形式 (PHAs, 主要是 PHB) 储存;进入好氧阶段胞内储存多聚物进行好氧代谢,一方面提供能量用于菌体生长,同时合成糖原为下一周期厌氧阶段提供能量储备。因此,可以认为通过采用特殊的厌氧-好氧运行方式,成功地抑制了聚磷菌的代谢活性,Parent-SBR 稳定运行阶段颗粒污泥中具有存储能力的优势菌群为聚糖菌。

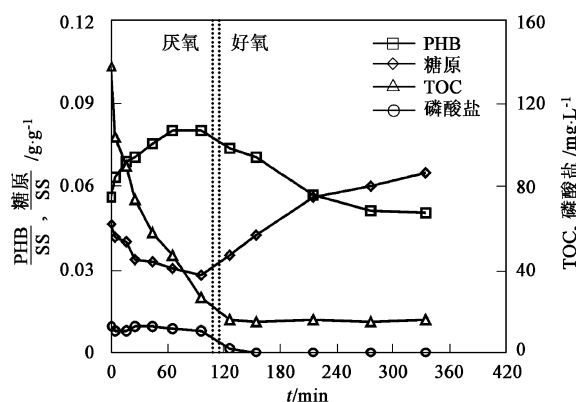


图2 Parent-SBR 稳定运行阶段典型周期有机物、磷酸盐、糖原及 PHB 变化曲线

Fig. 2 Profiles of TOC, phosphate, intracellular glycogen and PHB of parent-SBR under steady-state operation

2.2 不同碳氮比 (TOC/N) 下聚糖菌颗粒污泥 SND 能力

取 Parent-SBR 稳定运行阶段的聚糖菌颗粒污泥进行批式实验,进水固定碳源浓度,通过调整氮氮浓度来改变碳氮比 (TOC/N),使 TOC/N 分别为 $5.0, 4.0, 2.8$ 。批式实验好氧阶段溶解氧浓度均控制在 $2.0\sim 3.0\text{ mg/L}$ 。

图 3 所示为不同碳氮比下批式实验结果。可以看出在不同碳氮比下,聚糖菌颗粒污泥均具有较强的 SND 能力,好氧阶段伴随着氨氮的去除,均没有显著的硝酸盐、亚硝酸盐氮累积。不同碳氮比批式实验中好氧阶段硝化速率、反硝化速率、SND 效率及周期总氮去除效率如表 3 所示。可以看出,随着碳氮比的减小,好氧阶段硝化、反硝化速率均同步增加,而碳氮比对于好氧阶段 SND 效率则没有显著影响,尽管好氧阶段采用了较高的溶解氧,好氧末 $\text{NO}_x\text{-N}$ ($\text{NO}_2\text{-N} + \text{NO}_3\text{-N}$) 浓度均不超过 1.0 mg/L ,表明反硝化能力与反硝化碳源并非好氧阶段 SND 过程的限制性因素。此外,不同碳氮比下周期总氮去除效率具有一定的差异,随着碳氮比的减小,周期总氮去除效率有所降低。在排除了本实验中反硝化过程是 SND 限制性因素的可能后,分析表明这是由于批式实验采用的聚糖菌颗粒污泥硝化能力不足所致。由于 Parent-SBR 采用特殊的运行方式并选用较大的体积交换率 (75%),厌氧排水后好氧阶段反应器中存留的氨氮总量较少,因此除去微生物生长所需 (同化部分),可供亚硝化菌、硝化菌利用的氨氮应该不多,从而导致聚糖菌颗粒污泥中亚硝化菌、硝化菌含量较低。

2.3 反硝化碳源及反硝化能力来源

不同碳氮比批式实验中 (图 3),有机物大部分均在厌氧阶段去除 (吸收) 并以胞内多聚物形式 (PHB) 储存,好氧阶段残余溶解性有机物很少;而另一方面,在好氧阶段伴随着总氮的去除,胞内储存 PHB 含量规律性降低,因此可以认为好氧阶段反硝化所需的碳源主要来自于胞内储存多聚物 PHB。

在批式实验中可能引起反硝化的微生物主要有:普通 (缺氧) 反硝化菌、好氧反硝化菌、反硝化聚磷菌、反硝化聚糖菌等。其中普通反硝化菌与好氧反硝化菌通常需要利用外源碳源,因此其反硝化作用并非主要作用;而同样具有胞内储存与反硝化能力的反硝化聚磷菌,如 2.1 所述颗粒污泥中其含量应该很低。因此,可以认为批式实验中,颗粒污泥的反硝化能力主要来自于反硝化聚糖菌。在聚糖菌颗粒

污泥不同碳氮比的批式实验中(图 3),在厌氧阶段,反硝化聚糖菌以糖原酵解作为能量及还原力来源,吸收有机物并以 PHAs(主要是 PHB)形式储存;进入好氧阶段,由于氧传质的限制颗粒污泥内形成好氧、缺氧并存的微环境,在颗粒污泥外层亚硝化菌、

硝化菌进行硝化,在颗粒污泥内部缺氧区,反硝化聚糖菌以硝酸盐或亚硝酸盐为电子受体,胞内 PHAs 进行缺氧代谢,一方面提供能量用于菌体生长,同时合成糖原为下一周期厌氧阶段提供能量储备^[3].

2.4 聚糖菌颗粒污泥基于胞内储存物质的 SND 特点

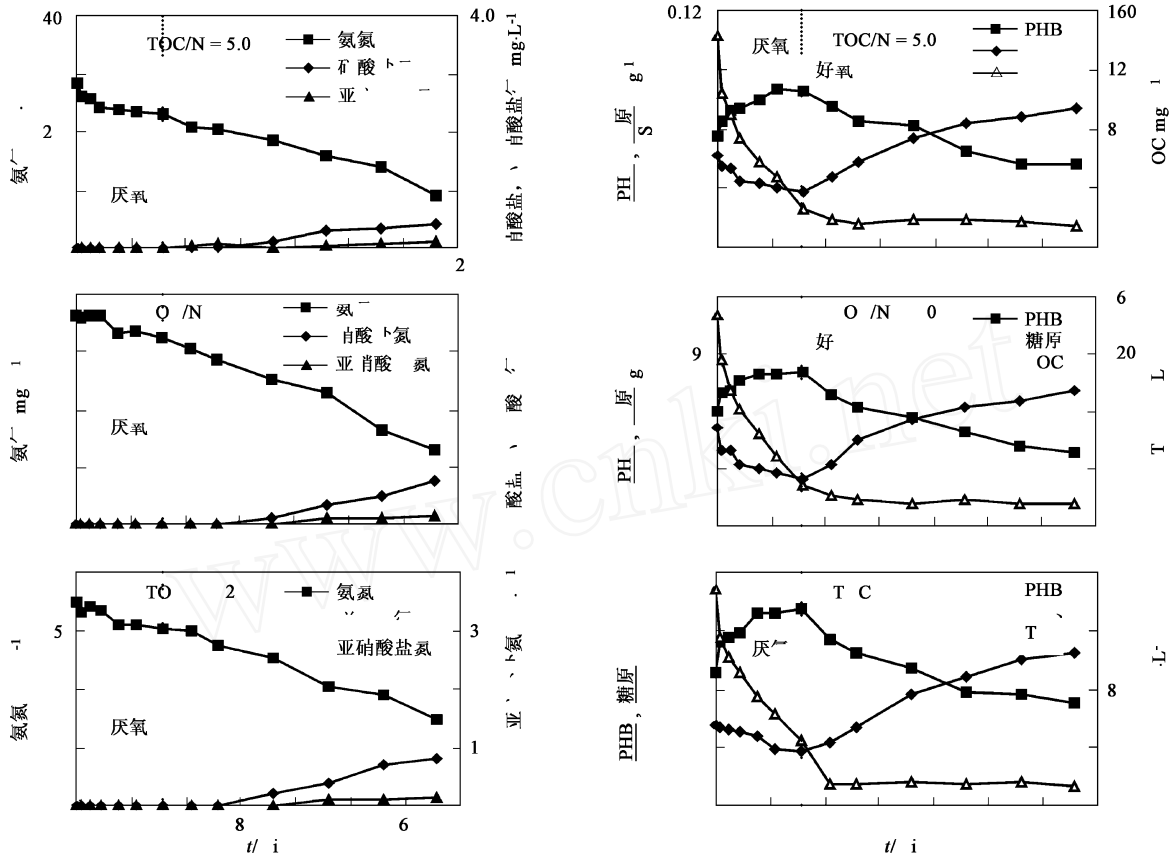


图 3 不同碳氮比批式实验结果
Fig.3 Results of batch tests under different TOC/ N

表 3 不同碳氮比批式实验 SND 特性

项目	TOC/ N		
	5.0	4.0	2.8
硝化速率($\text{NH}_4^+\text{-N}$)/ $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$	2.782	3.840	4.692
反硝化速率($\text{NO}_3^-\text{-N}$)/ $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$	2.682	3.660	4.512
SND 效率 ¹⁾ / %	96.4	95.3	96.2
周期总氮去除效率/ %	66.0	61.2	56.3

1) SND 效率 = (好氧阶段去除氨氮 - 好氧末累计 $\text{NO}_3^-\text{-N}$)/ 好氧阶段去除氨氮

SND 具有与传统生物脱氮相近的效率并且省去了单独的缺氧池,因此近年来在污水生物处理领域得到了广泛的关注.目前尽管众多关于 SND 的研究结果不尽相同,但是通常较低的溶解氧水平(0.5 ~ 1.0 mg/L 左右)有助于获得较高的 SND 效率^[9].

而另一方面,有研究表明,尽管控制较低的溶氧水平更为经济,但在限制溶氧条件下容易造成污泥膨胀,并且容易形成系统中亚硝酸盐的累计,从而造成脱氮气态产物中痕量温室效应气体 N_2O 含量增加^[10,11]. 本研究中颗粒污泥批式实验采用较高的溶氧水平(2.0 ~ 3.0 mg/L) 依然能获得良好的 SND 效果(95 %以上),这是因为活性污泥絮体的粒径通常较小(约为 50 ~ 100 μm),而颗粒污泥的粒径至少是絮体的 10 ~ 20 倍,因此从传质角度看,在颗粒污泥系统中不需要通过严格限制溶氧来实现颗粒内部的缺氧微环境,从而在一定程度上避免了限制溶氧可能带来的问题.

此外,良好的 SND 效果的获得有赖于系统中硝化与反硝化过程以相近的速率进行,而与以外源基质为碳源的异养反硝化相比,自养硝化是一个慢速

过程,因此 SND 过程需要一个慢速降解碳源以保证硝化与反硝化过程同步进行.在本研究好氧阶段的 SND 过程中,污泥利用厌氧阶段储存在胞内的多聚物(PHB)作为反硝化碳源,一方面厌氧有机物的大量吸收促进了好氧阶段硝化的快速到来,另一方面与溶解性基质相比,PHB 的降解速率相对较低^[9,12],因此在 SND 过程中,反硝化可以与硝化保持相近的速率(见表 3),从而有助于获得良好的 SND 效果.

3 结论

(1) 通过采用特殊的厌氧-好氧运行方式,抑制了聚磷菌的代谢活性,成功富集了聚糖菌颗粒污泥.颗粒污泥粒径为 0.8~1.5mm,具有良好的沉降性能,SVI 为 20~30 mL/g.

(2) 不同碳氮比的批式实验表明,聚糖菌颗粒污泥具有较强的 SND 能力,TOC/N 分别为 5.0, 4.0, 2.8 时, SND 效率分别 96.4%、95.3% 及 96.2%,而周期总氮去除效率随着碳氮比降低而降低,分别为 66.0%、61.2%、56.3%.

(3) 分析表明,好氧阶段 SND 过程中,聚糖菌颗粒污泥厌氧阶段储存于胞内的 PHB 为反硝化碳源,并且反硝化聚糖菌是系统中反硝化能力的来源.与溶解性基质相比,PHB 的降解速率相对较低,因此在 SND 过程中,反硝化可以与硝化保持相近的速率,从而有助于获得良好的 SND 效果.

(4) 聚糖菌颗粒污泥 SND 过程中,在厌氧阶段,反硝化聚糖菌以糖原酵解作为能量及还原力来源,吸收有机物并以 PHAs(主要是 PHB)形式储存;进入好氧阶段,在颗粒污泥外层亚硝化菌、硝化菌进行硝化,在颗粒污泥内部缺氧区,反硝化聚糖菌以硝酸盐或亚硝酸盐为电子受体,胞内 PHAs 进行缺氧代谢,一方面提供能量用于菌体生长,同时合成糖原

为下一周期厌氧阶段提供能量储备.

参考文献:

- [1] Van Loosdrecht M C M, Pot M A, Heijnen J J. Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses[J]. Water Science and Technology, 1997, 35(1): 41~47.
- [2] Cech J S, Hartman P. Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphorus removal systems [J]. Water Research, 1993, 27(7): 1219~1225.
- [3] Zeng R J, Yuan Z, Keller J. Enrichment of denitrifying glycogen accumulating organisms in anaerobic/anoxic activated sludge system[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2003, 81(4): 397~404.
- [4] Collivignarelli C, Bertanza G. Simultaneous nitrification-denitrification process in activated sludge plants: performance and applicability[J]. Water Science and Technology, 1999, 40(4-5): 187~194.
- [5] 河野哲郎,佐藤伸. 活性污泥微生物の細胞内蓄積物(PHB)の測定方法[J]. 用水と排水, 1987, 29(3): 32~35.
- [6] 国家环境保护局. 水和废水监测分析方法(第三版)[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1989.
- [7] 杨造燕,刘飒,陈思源. 厌氧快速吸收有机物的两种能量来源研究[J]. 中国给水排水, 1998, 14(5): 1~3.
- [8] 刘壮,杨造燕,王暄. 厌氧快速吸收有机物的启动能源研究[J]. 中国给水排水, 2000, 16(5): 1~4.
- [9] Third K A, Burnett N, Cord-Ruwisch R. Simultaneous nitrification and denitrification using stored substrate (PHB) as the electron donor in an SBR [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2003, 83(6): 706~720.
- [10] Von Schulthess R, Wild D, Gujer W. Nitric and nitrous oxides from denitrifying activated sludge at low oxygen concentration [J]. Water Science and Technology, 1994, 30(6): 123~132.
- [11] Fux C, Siegrist H. Nitrogen removal from sludge digester liquids by nitrification/denitrification or partial nitrification/anammox: environmental and economical considerations[J]. Water Science and Technology, 2004, 50(10): 19~26.
- [12] Beun J J, Heijnen J J, Van Loosdrecht M C M. N-removal in granular sludge sequencing batch airlift reactor [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2001, 75(1): 83~92.