

交变负荷调控法培养好氧颗粒污泥的试验研究

李慧琴¹, 涂响¹, 孔云华¹, 刘虹², 竺建荣^{1*}

(1. 北京师范大学环境学院, 北京 100875; 2. 北京师范大学水环境模拟国家重点实验室, 北京 100875)

摘要 采用 SBR 反应器并以进料负荷交替变化为调控方法, 探讨了好氧颗粒污泥的培养形成过程及形态理化特性。结果表明, 在其它因素固定的情况下, 采取进料 COD 400、800、1 200 mg/L [即进料负荷 0.96、1.92 和 3.84 kg/(m³ · d)] 交替运行时, 可以在 SBR 反应器中快速有效地培养出好氧颗粒污泥, 达到稳定运行的反应器中 MLSS 和 SVI 分别为 20~22 g/L 和 14~16 mL/g, 完全颗粒化时平均粒径为 613.6 μm。颗粒表层微生物相主要是球菌, 颗粒内层以球菌和杆菌为主。成熟颗粒 COD 去除效率在 95% 以上, 氨氮去除率稳定在 97%。FISH 法的分析表明, AOB 基本分布在好氧颗粒污泥的表层, NOB 除了分布于好氧颗粒污泥的表层外, 在内层也有少量 NOB。

关键词 进料交变负荷, 好氧颗粒污泥, SBR, 细菌, FISH

中图分类号 X703.1 文献标识码 A 文章编号 0250-3301(2010)03-0743-07

Cultivation of Aerobic Granules by a Method of Alternative Feed Loading

LI Hui-qin¹, TU Xiang¹, KONG Yun-hua¹, LIU Hong², ZHU Jian-rong¹

(1. School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 2. State Key Laboratory of Water Environment Simulation, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract The formation process and morphological and physicochemical properties of aerobic granules were examined in a SBR system by a method of alternative feed loading. The results showed that the aerobic granules could be quickly and effectively cultivated using the alternative feeding COD 400, 800, 1 200 mg/L [feed loading 0.96, 1.92 and 3.84 kg/(m³ · d)] when other conditions were fixed. The developed granules of the reactor were maintained in MLSS 20-22 g/L and SVI 14-16 mL/g. The average size of completely granular particles was 613.6 μm in diameter. The cocci occupied mainly in outer layer of granules, and both cocci and rods existed in inner layer of particles. The granules reached 95% COD removal and 97% NH₄⁺-N removal simultaneously. The analysis of FISH showed AOB was distributed in outer surface of aerobic granules, and NOB existed in outer and inner layer small amounts of aerobic granules.

Key words alternative feed loading; aerobic granular sludge; SBR; bacteria; FISH

好氧颗粒污泥具有良好的沉降性能、较高的生物量、强抗冲击负荷能力、较小的占地面积及良好的脱氮除磷效果等优点^[1~6]。近年来, 在污水处理领域越来越受到关注。好氧颗粒污泥的形成过程比较复杂,许多运行参数都会影响其形成,如沉降时间、交换比、剪切力、进料负荷、COD/N、微生物生长速率、溶解氧浓度、反应器结构等^[7]。

进料负荷浓度作为影响好氧颗粒污泥形成的重要因子之一,有些学者对其进行了研究。Tay 等^[8]对序批式 SBR 好氧污泥床在不同有机物负荷率下运行时能否形成好氧颗粒污泥进行了研究,结果显示,首先出现好氧颗粒污泥的是有机物负荷率为 4 kg/(m³ · d) 的反应器,有机物负荷率为 8 kg/(m³ · d) 的反应器出现好氧颗粒污泥的时间迟于前者 2d,形成的好氧颗粒污泥与前者相比结构较松散,密度和沉淀速度也相对较小,而有机物负荷率为 1 kg/(m³ · d) 的反应器几乎没有好氧颗粒污泥

出现。Liu 等^[9]研究了序批式(SBR)好氧污泥床在不同 COD 负荷率下运行时对好氧颗粒污泥的形成和稳定性的影响,结果表明,当进水 COD 浓度为 500~3000 mg/L 时形成好氧颗粒污泥的形状和紧密程度相似,随着 COD 负荷率的增加则好氧颗粒污泥的粒径稍有增加但稳定性却有所减小,颗粒污泥表面微生物细胞疏水性与接种污泥相比得到了很大程度的提高。Kim 等^[10]在 SBR 反应器中培养出了好氧颗粒污泥,并指出在 SBR 反应器中培养好氧颗粒的最佳 COD 负荷是 2.52 kg/(m³ · d)。王强等^[6]以高 COD 负荷和短沉降时间作为控制参数培养出粒径为 6~9 mm 的颗粒。史晓慧等^[11]以进料负荷(即进水浓度)作为主要控制参数,研究了好氧颗粒污泥

收稿日期 2009-04-21; 修订日期 2009-11-04

基金项目 国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA06Z318)

作者简介 李慧琴(1983~),女,硕士研究生,主要研究方向为水污染控制工程,E-mail:htlihuiqin@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail:zjrtshua@sohu.com

的关键培养技术,通过进料 COD 0~900 mg/L 的负荷调控,可以有效控制反应器内污泥生长,颗粒化转变出现在进料浓度 COD 为 400~500 mg/L.

但是,在已有研究中多数都局限于形成好氧颗粒时最佳负荷范围的探讨,或者进料负荷从较低向较高方向(或反之)渐变对颗粒形成的影响。根据一种好氧颗粒形成机制的解释,好氧颗粒生长的原初动力来自 SBR 特有的贫富基质水平交替^[11]。如果这一理论成立的话,则进料负荷的交替调控可能会有助于进一步促进好氧颗粒污泥的形成。到目前为止,应用这种方法的实验研究鲜见报道。为了更好地探讨好氧颗粒污泥的关键培养技术,本实验采用进料负荷的交替变化作为调控手段,将进料负荷作为关键控制因子,探讨了好氧颗粒污泥的形成生长以及相应的理化和微生物学特性。

1 材料与方法

1.1 实验装置及流程

SBR 反应器由有机玻璃制成,反应器有效高度 90 cm,有效体积 9.8 L。采用空压机和曝气砂头供气,进出水用离心泵来实现,进水由液位控制器控制,排水高度可调节,反应器的进水、曝气、排水、沉淀等各阶段的操作变换通过时间控制器(PLC)自动控制。本实验采用的换水比为 60%,反应周期为 360 min,分别包括进水 3 min,静置厌氧 40 min,好氧 304 min,沉降 10 min,出水 3 min,反应在室温下运行。实验装置如图 1 所示。

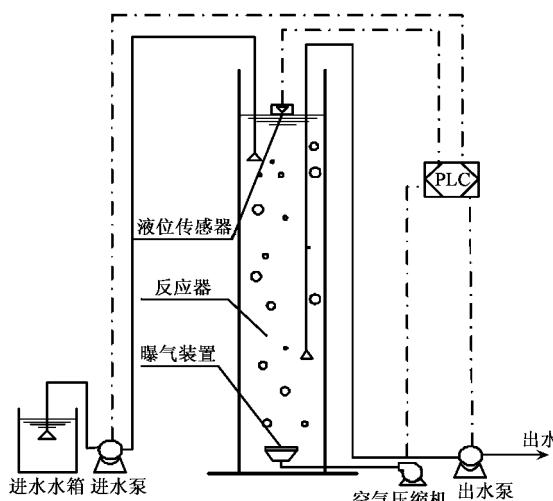


图 1 实验反应器的工艺流程

Fig. 1 Schematic diagram of experimental reactor

1.2 水质条件

实验采取人工模拟废水,进水中含有碳源、氮源、磷源等,按照 COD/TN/TP = 100/5/1 的比例配水。典型的进水组分为:葡萄糖 400 mg·L⁻¹,硫酸铵 94 mg·L⁻¹,磷酸二氢钾 17.6 mg·L⁻¹,碳酸氢钠 94 mg·L⁻¹,氯化钠 64 mg·L⁻¹,硫酸镁 90 mg·L⁻¹,硫酸亚铁 5 mg·L⁻¹。

1.3 接种污泥

接种污泥来自北京市高碑店污水处理厂二沉池回流的好氧絮状污泥,浓度为 5 g/L,接种量为 1 L, SVI 和 VSS/SS 分别为 178 mL/g 及 0.77。

1.4 进料调控

采用“交变负荷调控法”培养好氧颗粒,即以一周为时间单元,进料 COD 分布为 400、800 和 1200 mg·L⁻¹交替变化[相当于进料负荷 0.96、1.92 和 3.84 kg/(m³·d)]。先是由低到高,然后由高到低,依次类推重复周期运行。

1.5 分析测试方法

(1) COD、NH₄⁺-N、混合液悬浮固体(MLSS)和 SVI 均采用标准方法测定^[12]。

(2) 形态观察 使用 Olympus B41 生物研究显微镜和数码照相机观察和记录颗粒形态。

(3) 微生物观察 采用扫描电子显微镜(Feiquanta 200)观察好氧颗粒表面和剖面微观结构和微生物存在状态。观察样品预处理方法如下:①戊二醛-锇酸双固定;②乙醇脱水;③乙酸异戊脂置换;④二氧化碳临界点干燥(CPD030 Critical Point Dryer);⑤离子溅射金(SCDOO5 Sputter Coater);⑥观察、照相。

(4) 颗粒粒径 采用激光粒度测定仪 Mastersizer 2000(Malvern)对好氧颗粒污泥粒径进行测定。

(5) 荧光原位杂交(FISH) 采用激光共聚焦显微镜(Zeiss LSM510)对好氧颗粒样品进行观察,分析其微生物相的空间分布和种群结构。步骤如下:①载玻片的预处理;②细菌分离;③细菌固定;④细菌脱水;⑤杂交;⑥洗脱;⑦镜检。其中,采用 NSO190 探针(序列 5'-CGATCCCTGCTTTCTCC-3')分析好氧颗粒污泥中的氨氧化菌(ammonia oxidizing bacteria, AOB),采用 NIT3 探针(序列:5'-CCTGTGCTCCATGCTCCG-3')分析好氧颗粒污泥中的硝化菌(nitrite oxidizing bacteria, NOB),荧光引物为 Cy3^[13]。

2 结果与分析

2.1 好氧颗粒污泥的培养与基本形态

试验反应器接种北京市高碑店污水处理厂的厌氧、好氧混合污泥,该污泥呈均匀的分散絮体状态[图2(a)].采取“交变负荷调控法”培养好氧颗粒,24 d时在反应器底部开始出现少量的小颗粒污泥,镜检发现,此时污泥出现了明显的聚集生长趋势,且在小颗粒污泥周围有游动的原后生动物出现[图2(b)],但此时反应器中仍存在着大量的絮状污泥。

随着反应的进行,原来的小颗粒污泥逐渐长大,部分絮状污泥逐渐生成新的小颗粒污泥,50d时反应器内除了形成大小不一的颗粒污泥外,还存在部

分絮体污泥[图2(c)].之后颗粒污泥不断长大且颗粒化进程加快。在55~60d期间,在5d内反应器内的絮状污泥迅速转变为颗粒污泥,此时反应器内残留的絮体污泥极少。100d时,实现完全颗粒化(颗粒化程度达到100%),完全颗粒化污泥周围有类似绒毛结构和游离线虫的出现[图2(d)],此时颗粒呈金黄色,形态接近圆形或椭圆形,结构密实,粒径分布均匀[图2(e)和2(f)].这一结果表明,采用交变负荷调控法可以快速有效地培养出好氧颗粒污泥。

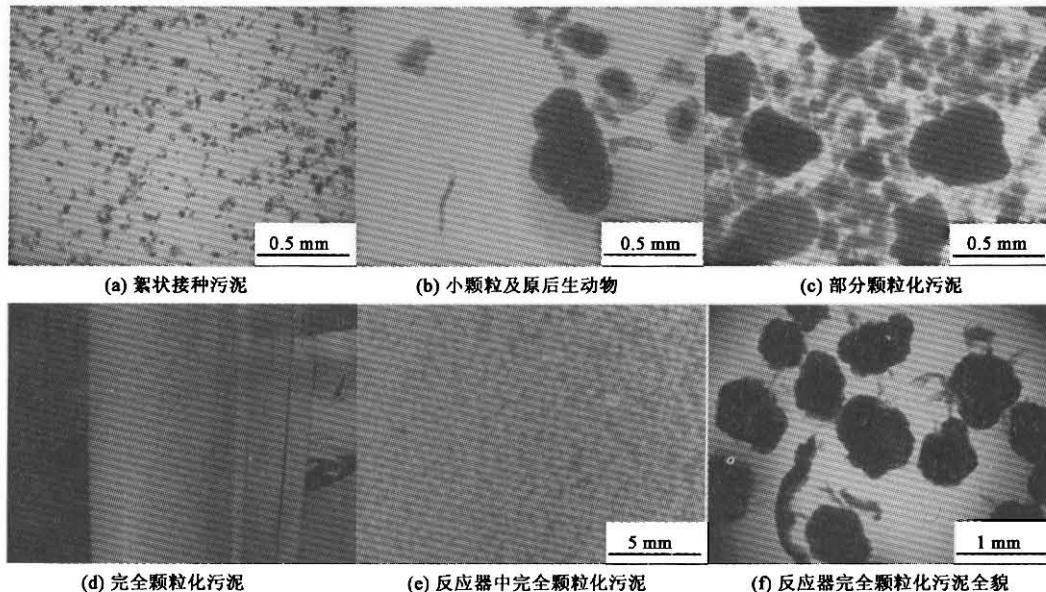


图2 颗粒污泥的形态观察
Fig. 2 Observation of granule morphology

2.2 颗粒污泥的常规理化指标

从接种开始,在不同运行阶段对反应器内MLSS、SVI及颗粒物粒径进行测定,其中,定义粒径300 μm 以上的污泥为好氧颗粒,结果如图3.从图3(a)可以看出,反应器中MLSS值最大达到22.6 g/L,稳定运行时,MLSS和SVI较为稳定,一般维持在20~22 g/L和14~16 mL/g之间。

由图3(b)可以看出,随着反应器的运行,SBR中的污泥絮体便开始显著聚集,平均粒径逐渐较大,颗粒化程度也越来越高。接种污泥的体积平均粒径是65.9 μm ,随着时间增加,颗粒粒径逐渐增大且分布逐渐均匀,颗粒化程度也逐渐加快。在100 d左右时,形成的成熟颗粒的体积平均粒径为613.6 μm ,颗粒化程度达到100%。其中,完全颗粒化即样品中直径>300 μm 的颗粒占样品总数100%。

2.3 颗粒污泥的降解代谢活性

好氧颗粒的COD去除效果和脱氮效果如图3(c)和图3(d).结果表明,好氧颗粒污泥对COD去除效果比较稳定,完全颗粒化的成熟颗粒COD去除效率在95%以上。从图3(d)可以看到,刚开始运行时颗粒污泥氨氮去除率在20%~30%左右,100 d后颗粒成熟长大,反应器内MLSS由10 g/L上升到22 g/L,此时氨氮去除率逐渐上升并稳定在97%左右。由此看出成熟的好氧颗粒污泥具有良好的COD和氨氮去除效果。

2.4 颗粒污泥的电镜(SEM)观察

图4是从实现完全颗粒化的反应器中随机取样污泥颗粒的SEM观察结果。可以看出,完全颗粒化的污泥表面光滑,结构密实,形状规则接近圆形[图4(a)],污泥表面空隙较少,主要是球菌[图4(b)]。

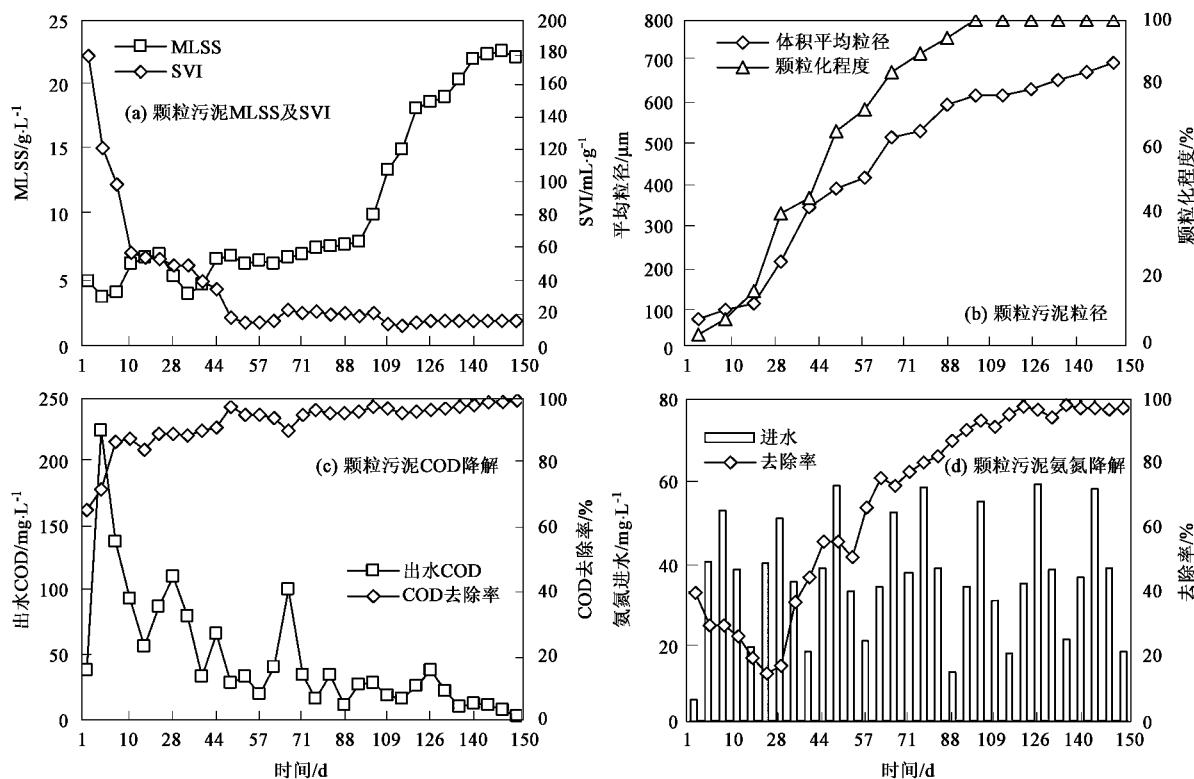


图 3 SBR 系统的运行特性

Fig. 3 Operational properties of SBR system

进一步对颗粒进行剖面观察,发现颗粒内部有球菌[图 4(c)]和杆菌[图 4(d)],这些杆菌为长杆菌。

可以看出,由本实验培养得到的颗粒污泥表面和内部以球菌为主,基本没有观察到丝状微生物的存在。这是由于:一方面 SBR 反应器采取独特的序批式运行模式使得由此引起的基质浓度梯度可有效抑制污泥中丝状微生物的过度生长;另一方面由于本试验采取了对反应器进料 COD 负荷的定量交替调控,使得反应器内的微生物处于规律的营养物贫富状态,所以抑制了丝状微生物的生长。

2.5 颗粒污泥的荧光原位杂交分析

本试验采用 NSO190 探针分析好氧颗粒污泥中的 AOB,采用 NIT3 探针分析好氧颗粒污泥中的 NOB,结果如图 5。完全颗粒化污泥的 AOB 基本分布在颗粒表层,颗粒内层基本没有 AOB[图 5(a)]。这是因为 AOB 为好氧型微生物,颗粒污泥表面含有较高的溶解氧和氨氮,为 AOB 的生长提供了良好条件,在颗粒形成过程中,内层 AOB 由于缺氧而死亡,外部 AOB 则不断向外生长以保持活性。所以 AOB 倾向于生长在颗粒的表层。

与 AOB 的分布相比,NOB 除了分布于颗粒表层外,在内层也有少量 NOB[图 5(b)]。这是因为

NOB 也为好氧型微生物,颗粒内部是缺氧甚至厌氧环境,不适合其生长。然而,NOB 的生长除了需要较高浓度的溶解氧外,同时还需要亚硝氮,因而生长受到了 AOB 的牵制,所以除了表层有 NOB 外,内层也有少量 NOB。

3 讨论

3.1 好氧颗粒培养新技术

本实验采用“交变负荷调控法”培养好氧颗粒,在固定其他运行条件的情况下,通过将反应器进料 COD 负荷交替变化,快速、高效地培养出了好氧颗粒污泥。将反应器进料 COD 负荷控制在 400、800、1 200 mg/L[相当于进料负荷 0.96、1.92 和 3.84 kg/(m³ · d)]之间周期性交替变化来调控污泥生长状态。完全颗粒化后,污泥 MLSS 高达 20~22 g/L,SVI 低至 14~16 mg/L,污染物去除效率高。

在已有的实验研究中,一般的 SBR 好氧颗粒 MLSS 为 4~10 g/L,SVI < 25 mg/L(表 1)。而本研究中 MLSS 远远高于普通水平,SVI 值也远远低于普通水平,培养出的好氧颗粒性能优异,污染物去除效率高。这说明运用“交变负荷调控法”培养好氧颗粒可以成为一种有效的运行控制技术,并能够显示出更

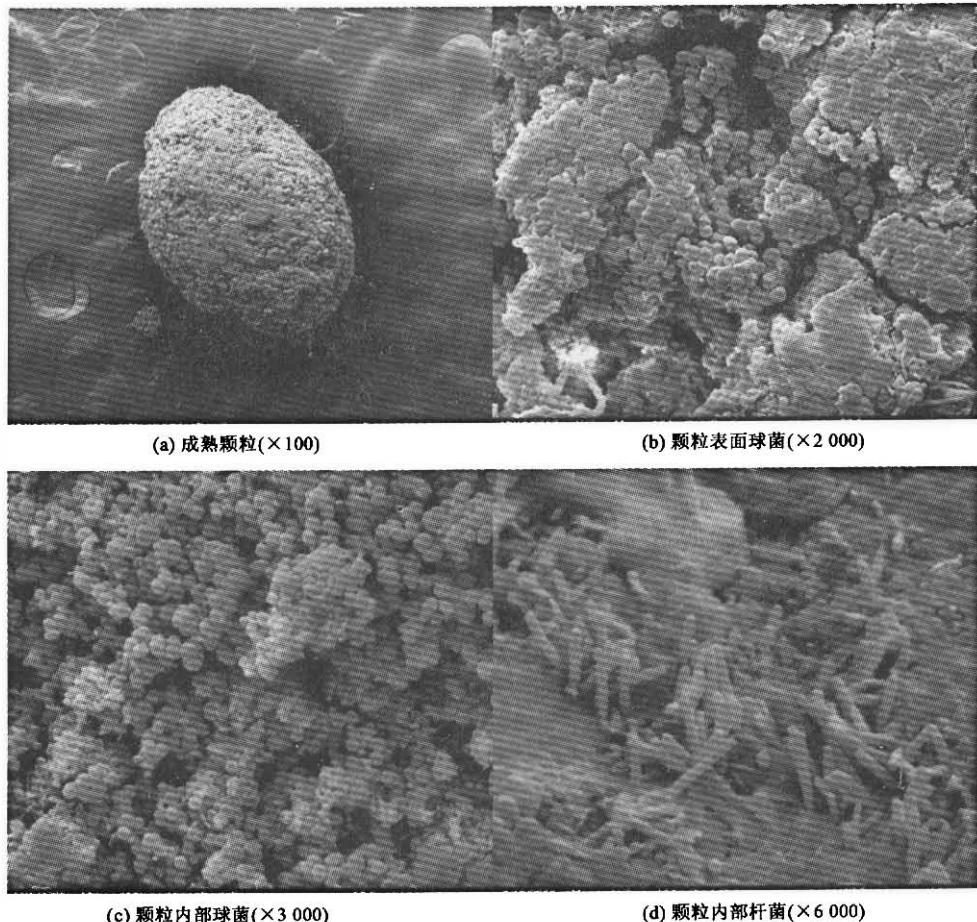


图 4 好氧颗粒污泥的 SEM 观察

Fig. 4 Observation of aerobic granular sludge by scanning electron microscopy (SEM)

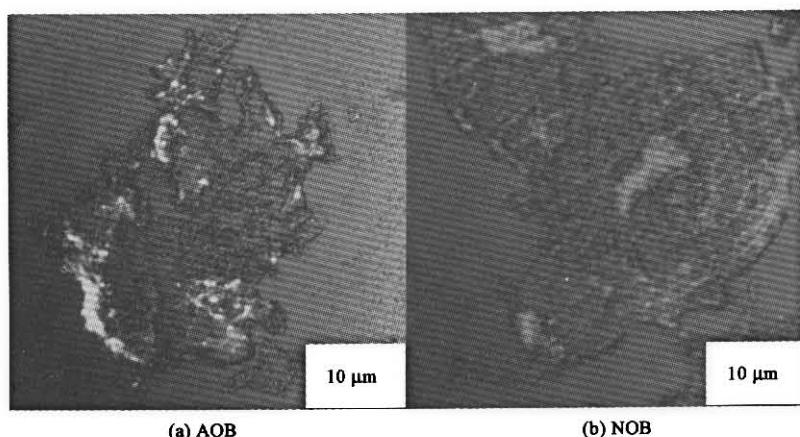


图 5 好氧颗粒污泥的 AOB 和 NOB 分布

Fig. 5 Distribution of AOB and NOB in aerobic granular sludge

加优越的污泥特性。这种新的“交变负荷调控法”作为一种好氧颗粒培养调控技术，不仅简单易行，易于

掌握,还可以使 SBR 反应器的优异性能得到强化,有利于 SBR 好氧颗粒污泥技术的推广。

表 1 与文献报道的好氧颗粒性能比较

Table 1 Comparison of aerobic granules' properties in literature

进水 COD/mg · L ⁻¹	COD 去除/%	MLSS/g · L ⁻¹	SVI/mL · g ⁻¹	文献
400	56 ~ 87	0.88	—	[1]
600	95	4 ~ 4.5	80 ~ 100	[2]
830	—	11.9	—	[3]
2 000	95	—	50	[5]
1 000 ~ 1 400	88.8	7.8	40	[6]
437 ~ 780	95 ~ 98	6.4 ~ 9.5	83 ~ 138	[10]
0 ~ 900	95	8 ~ 10	25 ~ 35	[11]
1 000 ~ 7 000	95	6.7 ~ 6.9	40 ~ 130	[14]
400 ~ 1 200	95	20 ~ 22	14 ~ 16	本研究

3.2 进料负荷交替变化对好氧颗粒形成的影响分析

在本试验研究中,将进料负荷做为唯一的变化因子可以培养出性能优异的好氧颗粒,这说明进料负荷是影响好氧颗粒形成的关键因子。另外,目前对于好氧颗粒污泥的生长机制仍然没有形成定论^[15~20]。史晓慧等^[11]认为,SBR 的独特运行方式及基质浓度变化是形成颗粒化污泥的前提条件,SBR 的周期性间歇运行,使反应器内基质浓度存在一个贫富交替,这种贫富营养的交替对微生物的生长产生一个选择压力,而负荷的变化又能强化这种选择压力,最终形成颗粒污泥。笔者认为,在本研究中,进料负荷的固定交替变化可以将这种选择压力强化。

与分散的絮状活性污泥相比,颗粒污泥存在较大的传质阻力^[21,22]。为了克服这种传质阻力,可以采取较高的进料负荷。在 SBR 中,当其他因素固定时,如果进料负荷较高,则基质浓度较高,这样微生物生长处于活跃状态从而大量繁殖,污泥量就会逐渐增多^[23]。但是,在实际运行中,较高的进料负荷往往会引起丝状微生物的大量生长,从而容易引起污泥膨胀,使得污泥沉降性能恶化,出水水质变差。为了抑制这种现象的发生,可以使反应器在较高进料负荷运行一段时间后,将进料负荷降低。从热力学角度来看,如果进料负荷较低,则基质浓度较低,这样微生物生长处于低能级状态从而生长缓慢,污泥量也逐渐得到控制,相应丝状微生物也得到了抑制,从而污泥沉降性能转好,出水水质变好。然而,在 SBR 的实际运行当中,为了防止微生物由于进料浓度的突然增高或降低导致异常的生长现象,往往会在较高的进料负荷值和较低的进料负荷值之间选择一个中间平均值作为过渡,从而使微生物会在一个平缓的外界基质浓度转变之间实现其生长状态的改变。

综上所述,在本研究中,“交变负荷调控法”就是将进料负荷作为关键因子,不仅将 SBR 的高负

荷、中间负荷及低负荷运行结合起来,而且采取周期性的交替变化。一方面保证了反应器内较高的污泥量和较好的污泥沉降性,另一方面又使得 SBR 反应器固有的基质浓度交替得到了强化,微生物生长的选择压力更大,更加有利于好氧颗粒的形成。

总之,进料负荷作为一个影响好氧颗粒生长的关键因子,可以强化 SBR 独有的基质浓度交替,强化微生物生长驱动力,在这种驱动力的推动下可以成功培养出完全颗粒化的好氧颗粒污泥。

4 结论

(1)采用“交变负荷调控法”即 COD 负荷为 400、800、1 200 mg/L 交替运行时,在 SBR 反应器中可以快速有效地培养出好氧颗粒污泥。

(2)采取“交变进料负荷调控”运行的反应器中 MLSS 和 SVI 分别为 20 ~ 22 g/L 和 14 ~ 16 mL/g;完全颗粒化时平均粒径为 613.6 μm,颗粒化程度 100%。颗粒污泥呈金黄色,表层微生物相主要是球菌,颗粒内层以球菌和杆菌为主。

(3)完全颗粒化后的成熟颗粒污泥 COD 去除效率在 95% 以上,氨氮去除率稳定在 97%。实现完全颗粒化后的 AOB 基本分布在好氧颗粒污泥的表层,NOB 除了分布于好氧颗粒表层外,在内层也有少量 NOB。

参考文献:

- [1] Morgenroth E, Sherden T, Loosdrecht M C M, et al. Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor [J]. Wat Res, 1997, 31(12):3191-3194.
- [2] Peng D C, Bernet N, Delgenes J P, et al. Aerobic granular sludge-a case report [J]. Wat Res, 1999, 33(3):890-893.
- [3] Beun J J, Hendriks A, van Loosdrecht M C M, et al. Aerobic granulation in a sequencing batch reactor [J]. Wat Res, 1999, 33(10):2283-2290.
- [4] 竺建荣,刘纯新.好氧颗粒活性污泥的培养及理化特性研究 [J].环境科学,1999,20(2):38-41.
- [5] Tay J H, Liu Q S, Liu Y. Aerobic granulation in sequential

- sludge blanket reactor [J]. Water Sci Technol , 2002 , **14**(4) : 13-18.
- [6] 王强,陈坚,堵国成. 选择压法培育好氧颗粒污泥的试验 [J]. 环境科学 , 2003 , **4**(24) : 99-104.
- [7] Adav S , Lee D J , Show K Y , et al. Aerobic granular sludge : recent advances [J]. Biotechnology Advances , 2008 , **26** : 411-423.
- [8] Tay J H , Pan S , Tay S T L , et al. The effect of organic loading rate on the aerobic granulation : the development of shear force theory [J]. Water Sci Technol , 2003 , **47**(11) : 235-240.
- [9] Liu Q S , Tay J H , Liu Y. Substrate concentration-independent aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor [J]. Environ Technol , 2003 , **24**(10) : 1235-1242.
- [10] Kim S , Kim S M , Jang A. Characterization of aerobic granules by microbial density at different COD loading rates [J]. Bioresource Technology , 2008 , **99** : 18-25.
- [11] 史晓慧,刘芳,刘虹,等. 进料负荷调控培养好氧颗粒污泥的试验研究 [J]. 环境科学 , 2007 , **28**(5) : 1026-1032.
- [12] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M] (第四版). 北京 :中国环境科学出版社 , 2002.
- [13] Juretschko S , Timmermann G , Schmid M , et al. Combined molecular and conventional analyses of nitrifying bacterium diversity in activated sludge : *Nitrosococcus mobilis* and *Nitrospira*-like bacteria as dominant populations [J]. Appl Environ Micro , 1998 , **64**(8) : 3042-3051.
- [14] Liu L , Wang Z , Yao J , et al. Investigation on the formation and kinetics of glucose-fed aerobic granular sludge [J]. Enzyme Microb Technol , 2005 , **36** : 712-716.
- [15] 杨洋,左剑恶,卜德华,等. 好氧颗粒污泥亚硝化工艺的启动与运行特性研究 [J]. 环境科学 , 2007 , **28**(11) : 2462-2466.
- [16] Liu Y Q , Tay J H. Characteristics and stability of aerobic granules cultivated with different starvation time [J]. Appl Microbiol Biotechnol , 2007 , **75** : 205-210.
- [17] 由阳,彭轶,袁志国,等. 富含聚磷菌的好氧颗粒污泥的培养与特性 [J]. 环境科学 , 2008 , **29**(8) : 2242-2248.
- [18] Romain L , Yuan Z G , Blackall L L , et al. Microbial distribution of *Accumulibacter* spp. and *Competibacter* spp. in aerobic granules from a lab-scale biological nutrient removal system [J]. Environmental Microbiology , 2008 , **102** : 354-363.
- [19] 王永飞,张捍民,王新华,等. 曝气量对 SBAR 中好氧颗粒污泥特性的影响 [J]. 环境科学 , 2008 , **29**(6) : 1598-1603.
- [20] Wang S G , Gai L H , Zhao L J , et al. Aerobic granules for low-strength wastewater treatment : formation , structure , and microbial community [J]. Journal of Chemical Technology Biotechnology , 2009 , **84** (7) : 1015-1020.
- [21] Fang F , Liu X W , Xu J , et al. Formation of aerobic granules and their PHB production at various substrate and ammonium concentrations [J]. Bioresource Technology , 2009 , **100**(1) : 59-63.
- [22] Liu S Y , Chen Y P , Fang F , et al. Measurement of dissolved oxygen and its diffusivity in aerobic granules using a lithographically-fabricated microelectrode array [J]. Environmental Science Technology , 2009 , **43**(4) : 1160-1165.
- [23] Adav S S , Lee D J , Lai J Y. Functional consortium from aerobic granules under high organic loading rates [J]. Bioresource Technology , 2009 , **100**(14) : 3465-3470.