

反硝化除磷脱氮系统中 DPB 的驯化富集培养

黄荣新^{1,2}, 张杰^{2,3}, 谌建宇¹

(1. 环境保护部华南环境科学研究所, 广州 510655; 2. 北京工业大学环境与能源工程学院, 北京 100022; 3. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090)

摘要:反硝化同时脱氮除磷系统中反硝化除磷菌(DPB)的培养驯化状况,将直接影响污水中氮磷等营养元素的同时去除效率以及系统的高效稳定运行,为此本实验研究设计了一套以实际生活污水为处理对象的双污泥反硝化脱氮除磷工艺流程,采用逐渐过渡的培养方式,为 DPB 创造良好的厌氧/缺氧交替环境,即创造特定的适合 DPB 生存的环境条件让其进行自然选择,以筛选出来需要的 DPB 菌.结果表明,通过 15 d 的间歇曝气的厌氧/好氧(A/O)运行方式可以对 PAOs 进行快速诱导;第二阶段,通过好氧曝气时间的逐渐减少,缺氧段投加硝酸氮的厌氧/好氧/缺氧(A/O/A)运行模式,25 d 左右可达到强化诱导反应器里面的 DPB 占 PAOs 的比例;最后让 DPB 在严格的厌氧/缺氧交替环境下进行富集培养 19 d,通过这种逐渐过渡培养的方式获得了对所需要的 DPB 菌的成功诱导富集,该菌的成功驯化培养为市政生活污水中的氮磷同时高效稳定去除提供了一种新方法.

关键词:反硝化除磷菌(DPB);电子受体;生物脱氮除磷

中图分类号:X703.1 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)05-1252-05

Cultivation and Enrichment of Denitrifying Phosphorus Removal Bacteria (DPB) in Denitrifying Biological Nutrient Removal Process

HUANG Rong-xin^{1,2}, ZHANG Jie^{2,3}, CHEN Jian-yu¹

(1. South China Institute of Environmental Science, Ministry of Environmental Protection, Guangzhou, 510655, China; 2. School of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing, 100022, China; 3. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract:The cultivation of the denitrifying phosphorus removal bacteria (DPB) in biological nutrient removal system will directly affect the removal efficiency of the nutrients in wastewater such as nitrogen and phosphorus, and the stability of the process. For this reason, a new BNR process, which is called double-sludge denitrifying-nitrogen and phosphorus removal process, was designed. In order to create a good anaerobic/anoxic alternating environment for DPB, gradual transition of training methods were used to make DPB natural selection, and then finally, screened the dominated DPB bacteria. The results indicated that the anaerobic/aerobic (A/O) operation mode can induce induction of PAOs rapidly by 15 days intermittent aeration. The proportion of DPB/PAOs in the reactor was aggrandized in the second phase (about 25 days' inducement) by reducing the aeration time in aerobic phase gradually and adding nitrate in anoxic phase, which is called anaerobic/aerobic/anoxic (A/O/A) mode; finally, the strictly alternating environmental anaerobic/anoxic conditions for DPB were used to induce and enrich the target DPB bacteria for 19 days by a gradual transition of enrichment culture. The successful domestication and cultivation of DPB provides a new method to remove nitrogen and phosphorus efficiently and steadily in municipal wastewater.

Key words:denitrifying phosphorus removal bacteria(DPB); electron acceptor; biological nutrient removal

城市污水的生物除磷主要是基于聚磷菌(phosphorus accumulating organisms, PAOs)的生物活性^[1]. PAOs 在厌氧阶段能够吸收易于生物降解的有机碳源作为底物并把它们以多羟基烷酸酯(polyhydroxyalkanoates, PHA)的形式储存在体内,该过程伴随着体内正磷酸盐的释放,从而完成了厌氧的释磷过程;在接下来的好氧或者缺氧阶段,PAOs 利用 PHA 分解产生的能量用于自身的生长、肝糖的合成与磷酸盐的吸收,由于 PAOs 对于水中磷酸盐的吸收远远超过了在厌氧段的释磷,这就是所谓的“超量磷的吸收”^[2,3]. 很多的报道^[4-7]都指

出,PAOs 的一个重要组成部分能够在缺氧的条件下进行磷的摄取,生物除磷微生物至少包括 2 个组分:一是既能利用硝酸氮又能利用氧气作为电子受体的反硝化除磷菌(denitrifying phosphorus removal bacteria, DPB),另一个就是只能在好氧段利用氧气

收稿日期:2009-06-11;修订日期:2009-09-09

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务专项项目(zx-200712-21);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07211-004);科技部国际科技合作计划项目(2006DFB91550)

作者简介:黄荣新(1980~),男,博士,高级工程师,主要研究方向为污水生物处理与水污染控制, E-mail: huangrongxinhit@163.com

作为电子受体的聚磷菌 (aerobic PAOs). 一般的城市污水脱氮除磷处理厂中都存在 PAOs 菌, 而 DPB 其实就是 PAOs 中的一个组成部分, 在以 A/O、A²/O 或 UCT 等运行的处理厂的脱氮除磷系统中本身就存在一定数量的 DPB^[8-12], 只是数量有限而已.

反硝化脱氮除磷系统污泥的培养驯化状况, 将直接影响着系统能否高效稳定地进行污水中营养元素的去除^[13-15]. 通过创造特定的生存环境条件进行自然选择, 筛选出需要的 DPB 菌, 在反硝化除磷系统 DPB 污泥的富集培养以及它的污泥特性都需要去探讨与研究. 如何在反应器内大量地诱导并且富集 DPB 是系统稳定运行的关键. 为此, 本试验主要研究在系统的启动初期通过创造 DPB 所需要的厌氧/缺氧交替的环境对其进行诱导驯化, 反硝化除磷菌 (DPB) 的富集培养主要分 3 个阶段进行, 该培养诱导过程采用循序渐进的方式进行, 以期达到反硝化除磷菌的快速成熟启动.

1 材料与方法

1.1 反硝化双污泥工艺流程原理

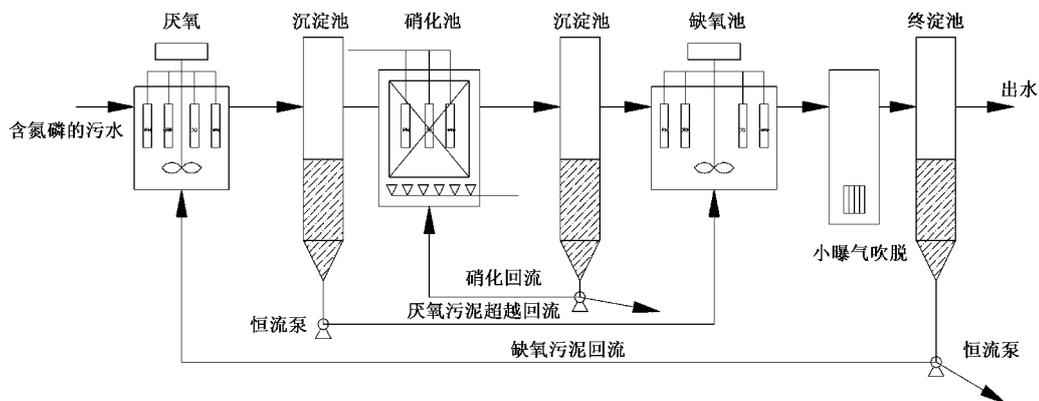


图 1 双污泥反硝化脱氮除磷工艺流程

Fig. 1 Layout of two-sludge denitrifying BNR process

表 1 水质分析项目与方法

Table 1 Analysis parameters and methods of the water quality

分析项目	分析方法
COD	重铬酸钾回流法
TP	过硫酸钾消解
PO ₄ ³⁻ -P	氯化亚锡分光光度法
NO ₂ ⁻ -N	N-(1-萘基)-乙二胺比色法
MLSS	重量法
温度	温度计
pH	pH 电极

反硝化除磷双污泥系统工艺的原理^[16-18]: 含氮磷的生活污水首先利用 DPB 细菌在厌氧状态下吸附污水中大量有机物并以 PHB 的形式贮存在体内, 同时释放出大量的磷; 富含磷和氨氮的上清液进入生物膜法硝化池 (作用有 2 个: 进一步去除部分剩余的 COD; 氨氮的硝化作用, 以便为后续缺氧环境提供连续稳定的硝酸氮电子受体), 缺氧池中 DPB 以硝化池过来的硝酸氮作为电子受体, 以厌氧环境下合成的 PHB 为电子供体完成过量摄磷的同时进行反硝化脱氮, 把硝酸盐转为氮气逸出水体, 而磷酸盐则通过剩余污泥形式排出池外, 达到除磷脱氮目的. 后面设置快速曝气池 (停留时间为 20 min, DO 为 5~6 mg/L), 是用于曝气吹脱以及吸收缺氧磷不完全吸收而剩余的磷. 在出水之前再设置一个最终沉淀池, 保证出水悬浮物达标, 底泥再回流到厌氧池, 以提供厌氧释磷足够的污泥浓度. 本试验的设备均采用有机玻璃特制而成, 其工艺流程见图 1.

1.2 分析项目与方法

水样的测定均经过过滤条件下进行. 具体的项目与分析方法见表 1.

2 结果与讨论

2.1 A/O 间歇曝气运行方式对好氧除磷菌 (PAOs) 的快速诱导

在该阶段, 按照单污泥系统的运行方式对系统中的 DPB 进行了诱导, 主要采用的是间歇曝气的 A/O 法, 这是由于好氧吸磷比缺氧吸磷的效率, 开始按照 A/O 法 (厌氧 2 h + 曝气 4 h) 进行培养, 目的是要进行 PAOs 的快速驯化富集以提高 PAOs 在其他微生物中所占的比例. 该过程运行了 25 d, 出水

的磷含量一直很低,进水的流量为 4 L/h,进水总磷一直在 8 ~ 15 mg/L之间,COD 为 200 ~ 250 mg/L,在厌氧 2 h 以及曝气 4 h 结束后马上取样,对其中的进水的总磷、厌氧释磷后的磷含量、好氧最终出水的磷含量进行了跟踪测定,为了使系统的污泥浓度控制在一定的水平,在该运行诱导中,采取较大的污泥龄(SRT = 15 d),对系统进行相应的排泥,具体的数据见图 2.

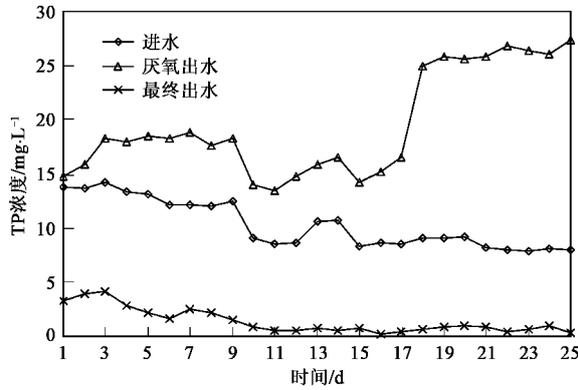


图 2 A/O 运行间歇曝气 4 h 后总磷变化曲线
Fig. 2 TP changes after 4 h intermittent aeration under the A/O operation

从图 2 可以看出,在经过 25 d 的诱导培养后,反应器已经表现出良好的厌氧释磷效果,在前 15 d 的时候最大释磷量仅为 6 mg/L 左右,此后被驯化聚磷菌逐渐在适应按照 A/O 间歇运行的条件,而且释磷量在 18 d 以后有一个较大的提升,最大的释磷量为 20 mg/L 左右,系统的出水 TP 也基本上能在 1 mg/L 左右.此时可以认为系统内的聚磷菌已经大量增值,并且其活性也得到强化.此时好氧 PAOs 数量已经大量存在系统内部,但是试验所需要的 DPB 还没有得到强化,为此有必要进行下一个阶段的驯化诱导.

2.2 A/O/A 运行方式对 PAOs 中 DPB 的强化诱导

经过了第一阶段的快速诱导,对已经大量繁殖并生长于反应器的 PAOs 再进行筛选,因为 DPB 本身就是 PAOs 中的一部分,该阶段主要是按照厌氧/好氧/缺氧(A/O/A)的运行方式进行,A/O 间歇运行有助于好氧 PAOs 的快速富集的话,那么按照 A/O/A 将会对好氧 PAOs 里面的 DPB 菌起到很好的强化作用.这是由于 DPB 污泥本身的特性所决定.试验过程中,每个周期为 6 h,好氧阶段进行曝气,缺氧时间内投加(1.5 mL/min,浓度为 100 mg/L)硝酸氮溶液,通过缺氧结束后排泥,来控制每个周期的

SRT 在 10d 左右,并通过逐渐减少曝气时间来进行过渡,具体的运行方式与水质参数见表 2,相应的试验流程见图 3.

表 2 运行方式与水质参数控制

Table 2 Parameter control of operation mode and water quality

时间/d	水质参数/mg · L ⁻¹		运行控制参数/h	
	COD	TP	曝气时间	缺氧时间
1 ~ 5	230 ~ 270	8 ~ 15	2.0	4.0
6 ~ 10	230 ~ 270	8 ~ 15	1.5	4.5
11 ~ 15	180 ~ 220	8 ~ 15	1.0	5.0
16 ~ 20	130 ~ 170	8 ~ 15	0.5	5.5
21 ~ 25	80 ~ 120	8 ~ 15	0	6.0

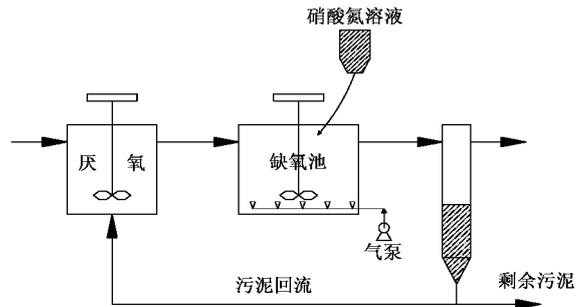


图 3 A/O/A 反硝化诱导试验装置流程

Fig. 3 Lab scale equipment of A/O/A denitrifying inducement

为了创造良好且稳定的缺氧环境,利用医院专用吊瓶在缺氧池里面连续滴加事先配制好的硝酸氮,以提供充足的缺氧 DPB 所需要的电子受体,使得 DPB 能在系统内成为优势菌群.在经过接近 1 个月的培养富集运行以后,对其进水、厌氧出水、最终出水的总磷进行了跟踪检测,具体的结果见图 4.

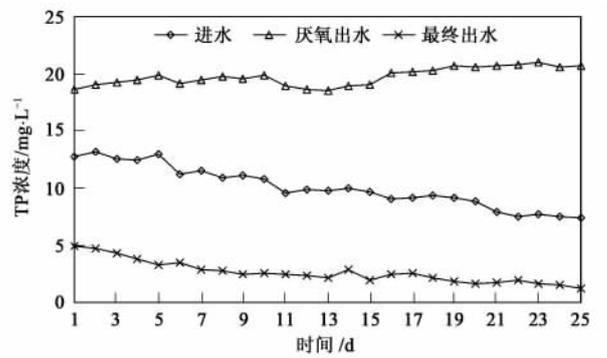


图 4 A/O/A 反硝化诱导的总磷变化曲线

Fig. 4 TP change curves under the A/O/A denitrifying inducement

从图 4 可以看到,在经过第 2 阶段 25 d 的 A/O/A 运行控制,并逐渐减少 O 段的曝气时间以后,系统中已经表现出良好的反硝化除磷现象.厌氧期间的释磷量也是呈现稳步上升的趋势,从开始的

释磷量 $\Delta TP = 5.88 \text{ mg/L}$ 到驯化结束后的 $\Delta TP = 11.94 \text{ mg/L}$; 缺氧期间也相应地进行了磷的过量摄取反应, 但是出水的总磷含量还不是很理想, 这可能是由于随着曝气时间的减少, 好氧的 PAOs 因为电子受体——氧气的供应不足, 导致活性下降. 但是随着硝酸氮不断地加入反应器中, 另一种以硝酸氮作为电子受体的 DPB 逐步得到了强化, 在该培养富集阶段的最后 5 d, 停止曝气, 只往系统里面滴加硝酸氮溶液, 而且为了控制碳源对缺氧反硝化吸磷与反硝化脱氮的竞争, 特意对系统的配水进行了稀释, 控制碳源使之仅能够满足在厌氧段的释磷需求量, 此时系统的厌氧释磷与缺氧过量吸磷一直运行比较稳定. 这个阶段是 DPB 的逐渐适应过程, 它的最大效能还需要进一步的驯化与培养, 为此又进行了第 3 阶段有针对性地培养驯化.

2.3 A/A 运行方式对反应器内 DPB 的驯化培养

在本阶段中, 取消了第 2 阶段的间歇曝气诱导, 只往系统内连续滴加一定含量的硝酸氮溶液, 以控制严格的缺氧条件 (低溶解氧, 含有一定量的硝基氮), 也是为 DPB 创造一个良好稳定的缺氧环境, 以此来进一步强化与富集培养反应器内的 DPB. 但是由于进水的 COD 负荷对缺氧条件下的反硝化除磷是一个关键影响因素, 若进水的 COD 负荷太高, 则在厌氧结束以后会存在大量的没被利用碳源, 此时反硝化脱氮将起主导作用, 进而影响并抑制了 DPB 的繁殖与富集; 进水的 COD 负荷太低, 厌氧所需要的有机底物不足, 释磷效果就不会太好, 这对于后续缺氧的超量吸磷也会有影响.

为此在厌氧与缺氧段之间引入了一个独立单元的好氧硝化池, 主要作用就是进行氨氮的硝化与消耗厌氧过剩的 COD. 好氧硝化池与其沉淀池组成一个独立回流系统, 其硝化后富含硝酸氮与少量 COD 的硝化液出水进入缺氧段; 厌氧/缺氧也组成一个系统, 厌氧污泥超越硝化池进入缺氧, 缺氧段吸完磷的污泥再次回流到厌氧池. 形成一个适应 DPB 繁衍与生长的反硝化脱氮除磷工艺的双污泥系统.

在本阶段的诱导驯化工作运行接近 1 个月, 期间对系统中的厌氧出水、最终出水和进水中的总磷含量进行了跟踪取样测定, 具体的数据见图 5.

从图 5 看出, 在进水总磷含量维持在 $8 \sim 14 \text{ mg/L}$ 的情况下, 厌氧的出水总磷浓度一直呈上升趋势, 此时缺氧段磷的吸收效率也很明显, 这种趋势可以从图 6 厌氧出水中磷在缺氧段的吸收效率曲线上看出. 图 5 与图 6 表明: 通过 3 种不同的诱导方式,

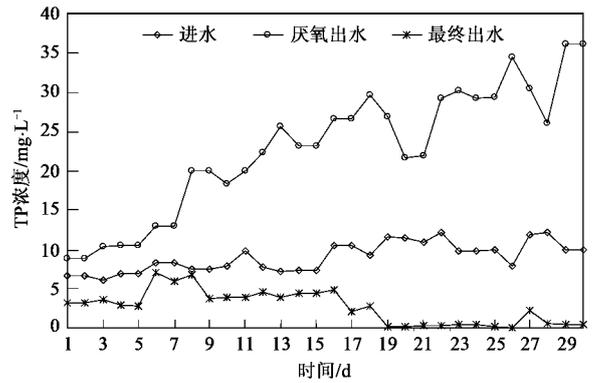


图 5 A/A 反硝化诱导的总磷变化曲线

Fig. 5 TP change curves under the A/A denitrifying inducement

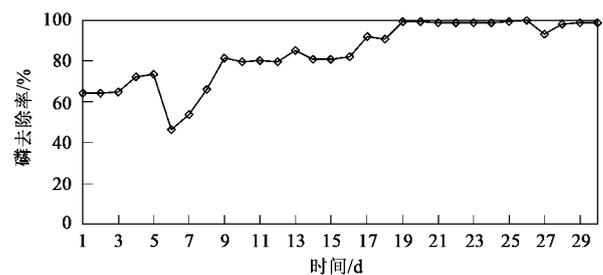


图 6 厌氧出水磷在缺氧段的吸收效率

Fig. 6 Assimilating rate of TP on anoxic phase after anaerobic phase

首先是按照 A/O 运行快速启动培养系统中利用氧气作为电子受体的 PAOs, 接着, 通过减少曝气时间与连续投加硝酸氮相结合的方式, 逐步驯化系统中的 DPB 在 PAOs 中的比例含量, 最后通过引入一个独立的硝化单元提供硝酸氮, 按照 DPB 所需要的厌氧/缺氧交替的环境中进行了进一步的强化诱导与驯化. 从图 6 中可知: 缺氧段的磷吸收率在第 3 阶段的后半段基本上均在 95% 以上. 因此可以说: 在该系统中, DPB 已经大量地生长繁殖于厌氧/缺氧交替运行的系统中, 并已经成为系统中的优势菌群. 此时完成了反硝化脱氮除磷污泥的培养驯化的所有过程.

3 结论

(1) 首先采用从间歇曝气的厌氧/好氧 (A/O) 模式运行 15 d 左右, 可达到对反应器系统内部的好氧 PAOs 的快速诱导.

(2) 通过逐渐减少好氧曝气时间, 且在缺氧段投加硝酸氮来实现第 2 阶段的厌氧/好氧/缺氧 (A/O/A) 的模式运行, 大约 25 d 左右可达到进一步强化诱导培养 PAOs 在整个微生物中所占比例, 为

下一步筛选 DPB 提供前期基础.

(3)按照 DPB 所需厌氧/缺氧交替环境进行富集培养的慢慢过渡方式,经过大约 19 d 获得了 DPB 菌的成功诱导与富集,从而实现了双污泥系统的快速启动与稳定运行,为该工程菌在以后的工程化应用推广提供良好的前期基础研究.

参考文献:

- [1] 郑兴灿,李亚新. 污水除磷脱氮技术[M]. 北京:中国建筑工业出版社,1998.
- [2] 王亚宜,彭永臻,王淑莹,等. 碳源和硝态氮浓度对反硝化聚磷的影响及 ORP 的变化规律[J]. 环境科学,2004,25(4):54-58.
- [3] 郭海娟,马放,沈耀良. C/N 比对反硝化除磷效果的影响[J]. 环境科学学报,2005,25(3):367-371.
- [4] 张杰,鲍林林,李相昆,等. 连续流双污泥同步除磷脱氮系统的微生物学研究[J]. 沈阳建筑大学学报,2005,21(4):243-249.
- [5] 张杰,李相昆,黄荣新,等. 连续流双污泥系统反硝化除磷实验研究[J]. 现代化工,2005,25(S1):115-118.
- [6] 李相昆,张杰,鲍林林,等. 反硝化聚磷菌的分离鉴定及各单菌的反硝化吸磷特性[J]. 中国给水排水,2006,22(S):52-57.
- [7] 李相昆,张杰,黄荣新,等. 反硝化聚磷菌的脱氮除磷特性研究[J]. 中国给水排水,2006,22(3):35-39.
- [8] Meinhold J, Arnold E, Isaacs S. Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorus removal activated sludge [J]. Water Res, 1999, 33(8):1871-1883.
- [9] Naohiro K, Juhyun K, Satoshi T, et al. Anaerobic/oxic/anoxic granular sludge process as an effective nutrient removal process utilizing denitrifying polyphosphate-accumulating organisms [J]. Water Res, 2006, 40:2303-2310.
- [10] Merzouki M, Bernet N. Biological denitrifying phosphorus removal in SBR: effect of added nitrate concentration and sludge retention Time [J]. Water Sci Technol, 2001, 43(3):191-194.
- [11] Hu J Y, Ong S L, Ng W J, et al. A new method for characterizing denitrifying phosphorus removal bacteria by using three different types of electron acceptors [J]. Water Res, 2003, 37:3463-3471.
- [12] Meinhold J, Carlos D M F, Daigger T G, et al. Characterization of the denitrifying fraction of phosphate accumulating organisms in biological phosphate removal [J]. Water Sci Technol, 1999, 39(1):31-42.
- [13] Filipe C D M, Daigger G T, Grady C P L. pH as a Key Factor in the competition between glycogen-accumulating organisms and phosphorus-accumulating organisms [J]. Water Environ Res, 2001, 73(2):223-232.
- [14] Filipe C D M, Daigger G T, Grady C P L. Effect of pH on the rates of aerobic metabolism of phosphate-accumulating and glycogen-accumulating organisms [J]. Water Environ Res, 2001, 73(2):213-222.
- [15] Jeon C O, Lee D S, Lee M W, et al. Enhanced biological phosphorus removal in an aerobic-aerobic sequencing batch reactor: effect of pH [J]. Water Environ Res, 2001, 73(3):301-306.
- [16] Filipe C D M, Daigger G T, Grady C P L. A metabolic model of acetate uptake under anaerobic conditions by glycogen accumulating organisms: stoichiometry, kinetics and the effect of pH [J]. Biotechnol Bioeng, 2001, 76(1):17-31.
- [17] Li X K, Huang R X, Bao L L, et al. Simultaneous phosphorus and nitrogen removal in a continuous-flow two-sludge system [J]. J Environ Sci, 2006, 18(1):52-57.
- [18] Huang R X, Zhang J, Ma L, et al. Positive role of nitrite as electron acceptor on anoxic denitrifying phosphorus removal process [J]. Chinese Sci Bull, 2007, 52(16):2179-2183.