# 控制游离氨实现单级自养生物脱氮的研究

季丽丽<sup>1,2</sup>,杨朝晖<sup>1,2\*</sup>,徐峥勇<sup>1,2</sup>,李小江<sup>3</sup>,唐志刚<sup>3</sup>,邓久华<sup>1,2</sup>

(1. 湖南大学环境科学与工程学院,长沙 410082;2. 环境生物与控制教育部重点实验室(湖南大学),长沙 410082;3. 株 洲市环境保护研究院,株洲 412000)

**摘要**:通过实时调控 SBR 反应器内的游离氨浓度的控制策略,实现以亚硝化作用和厌氧氨氧化作用协同的单级自养生物脱氮 工艺.实验分成亚硝酸菌富集和厌氧氨氧化菌混合接种 2 个阶段,SBR 内的温度始终保持在(31±2)℃.亚硝酸菌富集阶段, pH 值稳定在 7.8 左右,通过调节进水氨氮浓度(56~446 mg·L<sup>-1</sup>)实现 FA 浓度的变化,从而实现对硝酸菌的抑制和淘汰,污 泥活性检测表明在该阶段的第 55 d,SBR 活性污泥表现出较高的好氧氨氧化活性[2.91 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]和极低的亚硝酸盐氧 化活性[0.03 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]. 厌氧氨氧化菌混合接种阶段,FA 浓度通过同时调整进水氨氮浓度和 pH 进行控制,该阶段由于 厌氧氨氧化菌的接种以及渗滤液带入的丰富细菌菌群和营养成分,使 SBR 的活性污泥不但维持着较高的好氧氨氧化活性 [2.83 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]和一定的亚硝酸盐氧化活性[0.02 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>],并且表现出较高的厌氧氨氧化活性[0.65 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]和一定的异养反硝化活性[0.11 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>].

关键词:游离氨;亚硝化;厌氧氨氧化;自养生物脱氮;微生物群落

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)01-0199-07

# Achieve Single-Stage Autotrophic Biological Nitrogen Removal Process by Controlling the Concentration of Free Ammonia

JI Li-li<sup>1, 2</sup>, YANG Zhao-hui<sup>1, 2</sup>, XU Zheng-yong<sup>1, 2</sup>, LI Xiao-jiang<sup>3</sup>, TANG Zhi-gang<sup>3</sup>, DENG Jiu-hua<sup>1, 2</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China; 2. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control (Hunan University), Ministry of Education, Changsha 410082, China; 3. Environmental Protection Research Institute of Zhuzhou, Zhuzhou 412000, China)

**Abstract**: Through controlling the concentration of free ammonia in the sequencing batch reactor (SBR), the single-stage autotrophic biological nitrogen removal process was achieved, including partial nitrification and anaerobic ammonium oxidation. The experiment was completed via two steps, the enrichment of nitrite bacteria and the inoculation of the mixture of anammox biomass. The operating temperature in the SBR was  $(31 \pm 2)$  °C. During the step of the enrichment of nitrite bacteria, pH was about 7.8. Changes of FA concentration were achieved by controlling the concentration of influent NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N(56-446 mg·L<sup>-1</sup>), in order to inhibit and eliminate the nitrate bacteria. The activity tests of the sludge, 55d after enrichment, showed strong activity of aerobic ammonium oxidation [2.91 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>] and low activity of nitrite oxidation [0.03 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]. During the inoculation of the mixture of anammox biomass, changes of FA concentration were achieved by controlling the content were into the reactor and there kept high activity of aerobic ammonium oxidation of anammox biomass, abundant of bacteria and nutrient content were into the reactor and there kept high activity of aerobic ammonium oxidation [2.83 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>] and a certain activity of nitrite oxidation , at the same time , the activity of anammox and heterotrophic denitrification reached 0.65 kg·(kg·d)<sup>-1</sup> and 0.11 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>, respectively.

Key words: free ammonia; partial nitrification; anaerobic ammonium oxidation; autotrophic biological nitrogen removal; microbial community

垃圾渗滤液是一种氨氮和 COD 浓度高的废水, 因其低 C/N 比、低 pH 值、水质和水量变化大等特 点,而成为水处理研究领域的难点和热点<sup>[1]</sup>.对垃 圾渗滤液可以采用物理化学和生物的方法进行脱 氮.最广泛使用的物理化学方法是氨吹脱法<sup>[2]</sup>和化 学沉淀法<sup>[3]</sup>,而生物脱氮技术则是主要指传统的硝 化反硝化系统<sup>[4,5]</sup>.但是,传统的生物处理并不能 轻易地使垃圾渗滤液脱氮.近年来,众多研究者尝 试通过亚硝化作用和异养反硝化作用<sup>[6]</sup>或厌氧氨 氧化作用的组合<sup>[7]</sup>将水体中的氮转化为氮气,其中 亚硝化-厌氧氨氧化脱氮工艺属自养脱氮工艺,可 克服碳源不足的影响,实现高效生物脱氮处理.

亚硝酸盐氮的积累是实现亚硝化-厌氧氨氧化 脱氮工艺的前提和保障,而游离氨(FA)是影响亚 硝化反应的重要因素之一.氨氮的氧化过程如式

收稿日期:2010-01-26;修订日期:2010-03-24

基金项目:国家自然科学基金项目(30970105);长沙市科技计划重 点项目(K0802151-31);国家水体污染控制与治理科技重 大专项(2009ZX07212-001-02)

作者简介:季丽丽(1985~),女,硕士研究生,主要研究方向为水污 染挖制工程,E-mail:2008. jilili@163.com

<sup>\*</sup> 通讯联系人, E-mail:yzh@hnu.cn

(1) 所示[6]:

$$NH_{4}^{+} - N(NH_{3}) \xrightarrow{AMO} NH_{2}OH \xrightarrow{HAO} NO_{2}^{-} - N \xrightarrow{NOR} NO_{2}^{-} - N$$
(1)

式中, AMO: ammonia monooxygenase (氨单氧化酶); HAO: hydroxylamine oxidoreductase (羟胺氧化还原酶):NOR: nitrite oxidoreductase (亚硝酸氧化还原酶).

在亚硝酸菌中,AMO 催化氨氮氧化成羟胺,羟 胺在 HAO 的作用下被氧化成亚硝态氮,亚硝态氮 再被 NOR 氧化成硝态氮. Shrama 等<sup>[8]</sup>和 Stein 等<sup>[9]</sup> 认为 AMO 的底物似乎更应该是 FA 而不是NH<sub>4</sub><sup>-</sup>-N, 氨氮被氧化成亚硝态氮的反应方程式可以表示为:

$$NH_{3} + 2H^{+} + 2e^{-} + O_{2} \xrightarrow{AMO} NH_{2}OH + H_{2}O (2)$$
$$NH_{2}OH + H_{2}O \xrightarrow{HAO} NH_{2}O + 3H^{-} + O^{2-} + e^{-}$$
(3)

 $2\mathrm{H}^{+} + 0.50_{2} \longrightarrow \mathrm{H}_{2}\mathrm{O}$  (4)

总反应式为:

 $2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2H_2O + 2HNO_2$  (5) 从式(2)~(5)看出, AMO 和 HAO 两者活性的发挥 互相依赖. AMO 需要 HAO 氧化羟胺产生的 H<sup>+</sup>作为 辅因子; HAO 需要 AMO 氧化氨氮生成的羟胺作为 底物.因此 FA 浓度提高有利于反应式(2)的进行, 进而促进反应式(3)的顺利进行.反应式(2)的进行, 进而促进反应式(3)的顺利进行.反应式(3)的产 物对硝酸菌(NOB)有强烈的毒性作用,当系统中溶 解氧的浓度低时,会导致羟胺的累积,从而抑制 NOB 的活性,使氨氧化停留在亚硝化阶段<sup>[10]</sup>.这 说明 FA 对亚硝酸菌(AOB)、NOB 都有抑制作用, 但 NOB 对 FA 更为敏感.

本研究在上述理论基础上通过实时调控 FA 浓度的控制策略实现单级自养生物脱氮,并分析 AOB 富集和厌氧氨氧化菌(AAOB)混合接种 2 个阶段中 FA 对出水氮素浓度的影响以及细菌群落交替的影 响,以期为单级自养生物脱氮工艺处理垃圾渗滤液 等高氨氮废水提供理论依据.

#### 1 材料与方法

#### 1.1 实验装置

本实验所采用的 SBR 反应装置(图 1)为有效 容积 3 L 的圆柱形有机玻璃容器,内部直径为 10 cm,高40 cm. SBR 内的温度控制在(31 ±2)℃. 内部设机械搅拌器为系统内部提供良好的流体条 件.曝气系统由空气压缩机和 3 个微孔曝气头组 成,进出水分别利用蠕动泵和计量泵在反应器顶部 实现.电气设备的开关采用可编程的时间控制器进 行控制.



 1. 时间控制器 2. 进水泵. 3. 出水泵 4. 搅拌器 5. 水浴夹套 6. 空 压机 7. 空气控制阀 8. 水浴循环泵 9. 水浴储水槽 10. 加热器

图1 SBR 反应器装置示意

Fig. 1 Schematic representation of the 3L lab-scale SBR

#### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 亚硝酸菌富集阶段(阶段I)

该阶段在反应器中接种取自长沙市黑麋峰垃圾 渗滤液处理厂 SBR 中的好氧活性污泥,主要通过控 制反应器中的溶解氧浓度和 FA 浓度对硝酸盐细菌 进行抑制,使硝化反应阶段的产物以亚硝酸盐为主; 该阶段内, SBR 的周期时间为 8 h,曝气反应时间为 7 h,搅拌器同时开启,进水在前 6 h 内均匀完成,沉 淀时间为 1 h,滗水视为瞬间完成,每个周期的换水 率为 30%.曝气反应时的溶解氧浓度控制在 1.2 ~ 2.0 mg·L<sup>-1[9]</sup>.反应器内部的 pH 值控制在 7.8 左 右<sup>[11]</sup>.

1.2.2 厌氧氨氧化菌混合接种阶段(阶段Ⅱ)

阶段 Ⅱ 开始前将 SBR 在进水氨氮浓度为 336 mg·L<sup>-1</sup>的条件下稳定运行,2周后在泥水混合 状态下排出50% 泥水混合液,然后接种厌氧氨氧化 反应器<sup>[12]</sup>泥水混合液1.5 L. 阶段 Ⅱ 初期,SBR 反 应器中加入氨氮浓度为56 mg·L<sup>-1</sup>模拟废水和取自 长沙市黑糜峰垃圾渗滤液处理厂的原生渗滤液的混 合液,然后根据氨氮的去除率逐步增加进水中垃圾 渗滤液体积比(20%~100%),使得进水氨氮浓度 从317 mg·L<sup>-1</sup>提高到1454 mg·L<sup>-1</sup>.阶段 Ⅱ,SBR 的周期时间调整为12 h,曝气方式由连续性曝气调 整为间歇式曝气方式,曝气时间和停曝时间按2 h 和1 h进行交替,曝气时的溶解氧浓度调整至1.0~ 1.8 mg·L<sup>-1[13]</sup>.搅拌器除最后1次停曝的1h外一 直开启,进水在前9h内均匀完成,最后1次停曝 视为沉淀阶段,滗水视为瞬间完成.

1.3 实验用水

阶段 I 的实验用水采用如表 1 所示的模拟废水. 阶段 II 的实验用水采用模拟废水和原生垃圾渗 滤液的混合液,原生垃圾渗滤液水质如表 2 所示.

表1 实验所用模拟废水组成/mg・L<sup>-1</sup>

Table 1 Composition of the synthetic wastewater used in this study/mg  $\cdot$  L  $^{-1}$ 

成分	含量	成分	含量
$(NH_4)_2SO_4$	264 ~ 2 112	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	10
$\mathrm{KH}_{2}\mathrm{PO}_{4}$	25	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	4.4
KHCO3	125	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	3.2
$\mathrm{CaCl}_2\!\cdot\! 2\mathrm{H}_2\mathrm{O}$	300	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	10.2
$MgSO_4$	200	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	3.2
$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	19	EDTA	6.25
$H_3 BO_3$	6	рН	7.2~7.8

表2 垃圾渗滤液原水水质/mg·L<sup>-1</sup>

Table 2 Characteristics of the raw leachate/mg  $\cdot$  L  $^{-1}$ 

组分	均值 ± 标准差	组分	均值 ± 标准差
COD	3 800 ± 289	$NO_2^ N$	0
$BOD_5$	$498 \pm 150$	TKN	$2\ 125\ \pm\ 365$
$\mathrm{NH}_4^+$ -N	$1\ 529\ \pm\ 312$	碱度	8 954 ± 2 586
$NO_3^-$ -N	0	pН	$7.62 \pm 0.35$

#### 1.4 分析项目与方法

#### 1.4.1 常规检测

NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N、NO<sup>2</sup><sub>2</sub>-N、NO<sup>3</sup><sub>3</sub>-N、TKN、COD、MLSS、 MLVSS 和 SVI 的测定方法参照文献[15]. BOD<sub>5</sub>, DO 和 pH 值分别采用 BOD 仪(HI99724A, Lovbond,德国),溶解氧仪(HI9143, Hanna,意大 利)和 pH 计(pH meter pen, Lida,中国)进行测定. **1.4.2** 脱氮活性

活性污泥脱氮活性的测定采用 Third 的方法<sup>[16]</sup>:在好氧条件下,测定活性污泥的最大好氧氨氧化活性(单位干污泥样品在单位时间消耗的NH<sup>4</sup><sub>4</sub>-N质量,下同)和最大亚硝酸盐氧化活性:从反应器中取出活性污泥将其装入锥形瓶中,30℃条件下在旋转振荡器中振荡培养.每隔1~2h测定硝酸盐氮和亚硝酸盐氮量.微生物的最大厌氧氨氧化活性测定方法如下:从反应器中取出活性污泥,将其装入带有紧密橡皮塞的烧瓶中,利用氩气使烧瓶形成厌氧环境. 亚硝酸盐量最大加入量为100 mg/L.同时,将过量的氨氮加入到该活性污泥的悬浮液中.在2h的检测周期内,实时检测亚硝

酸盐和氨的消耗量以及硝酸盐的产生量.活性污泥 的最大反硝化活性测定在顶部充满氩气的带紧密橡 皮塞的瓶子中进行,培养物采用1g/L的酵母膏培 养液,实时检测培养液中总氮含量.

#### 1.4.3 PCR-DGGE 分析

DNA 提取采用蛋白酶 K-CTAB 法<sup>[17]</sup>. PCR 扩 增采用的 Bio-RadMycycler PCR 扩增仪的标准扩增 程序,引物对采用 GC-341F 和 907R<sup>[18]</sup> 细菌通用引 物对,采用 Bio-Rad 公司 Dcode<sup>™</sup>的基因突变检测 系统对 PCR 反应产物进行 DGGE 分析,电泳条件: 凝胶变性梯度 30% ~60%,电压 140 V,缓冲液为 1×TAE,温度 60℃,时间 16 h.电泳结束后用溴乙 锭(EB)染色 3 min,清水中退染 20 min 后用 Bio-Rad Gel Doc2000 凝胶成像系统观察结果.所有污 泥样品在 – 24℃下保存.

### 2 结果与分析

#### 2.1 亚硝酸菌的富集(阶段 I)

阶段 I,模拟废水的初始氨氮浓度为 56 mg·L<sup>-1</sup>,并根据反应器出水水质状况对其进行 调整,调整幅度为56 mg·L<sup>-1</sup>.图2显示了阶段 I 中的进水氨氮浓度、出水氨氮浓度、亚硝酸盐氮浓 度、硝酸盐氮浓度和氨氮转化率的变化情况[图2 (a)]以及出水中氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐的质量分 数的变化[图2(b)].如图2所示,经过大约1周的 驯化富集之后,SBR的氨氮转化效率就超过了70%; 尽管在每次进水氨氮浓度增加的初期,氨氮转化效 率会有一定程度的下降,但是在 SBR 运行2 d后就基



图 2 SBR 在阶段 I 的性能表现 Fig. 2 Evolution of the SBR during period I

本得到恢复;即使当氨氮浓度增加至448 mg·L<sup>-1</sup>时, 转化效率依然维持在 80% 左右.

出水亚硝酸盐氮浓度先随着进水氨氮浓度的增加而逐渐增大,但是当进水氨氮浓度反而下降.当进 448 mg·L<sup>-1</sup>时出水亚硝酸盐氮浓度反而下降.当进 水氨氮浓度维持在 168~392 mg·L<sup>-1</sup>时,出水亚硝 酸盐氮的质量分数基本维持在 40%~60%之间,而 当进水氨氮浓度为 56、112 和 448 mg·L<sup>-1</sup>时,出水 亚硝酸盐氮的质量分数基本低于 40%.

出水硝酸盐氮浓度随进水氨氮浓度上升而下降,当进水氨氮浓度增加至224 mg·L<sup>-1</sup>时接近于0;但是当进水氨氮浓度增加至448 mg·L<sup>-1</sup>后,出水 硝酸盐氮浓度再次升高到42.7 mg·L<sup>-1</sup>.出水硝酸 盐氮的质量分数则在进水氨氮浓度为56、 112 mg·L<sup>-1</sup>时维持在20%~40%,在进水氨氮浓度 为168 mg·L<sup>-1</sup>时逐渐下降,当进水氨氮浓度提高至 224 mg·L<sup>-1</sup>时趋近于0,但是当进水氨氮浓度进一 步增加到448 mg·L<sup>-1</sup>时,出水硝酸盐氮的质量分数 逐渐恢复到较高的水平,最高达到了22.7%.

2.2 厌氧氨氧化菌的混合接种(阶段 II)

阶段 Ⅱ, SBR 中的 pH 值根据适合短程硝化的 游离氨理论浓度(3.5~10 mg·L<sup>-1</sup>)<sup>[13, 19]</sup>、进水氨氮 浓度和影响短程硝化及厌氧氨氧化的出水亚硝酸盐 氮浓度(≤100 mg·L<sup>-1</sup>)<sup>[20]</sup>进行确定,根据计算和 时间检测,阶段Ⅱ的 pH 值分别控制在 7.8、7.5 和 7.2.图 3 为阶段Ⅱ中各类型氮浓度的变化、氨氮转 化效率曲线.如图 3 所示,氨氮的转化率始终保持 在 80% ~ 90% 之间,即使在氨氮浓度达到 1 450 mg·L<sup>-1</sup>时反应器依然能够稳定运行.在整个 阶段Ⅱ中,SBR 出水中的亚硝酸盐氮始终保持在非 常低的水平,硝酸盐氮则随着进水氨氮浓度的变化 而出现相似的波动性变化,但是其浓度始终维持在 14.1~43.8 mg·L<sup>-1</sup>之间.

2.3 不同阶段的污泥脱氮活性

分别测定 SBR 活性污泥在阶段 I 和阶段 Ⅱ 的 最大好氧氨氧化活性、最大亚硝酸盐氧化活性、最大 厌氧氨氧化活性和最大反硝化活性,测定结果如表 3 所示.尽管阶段 I 和阶段 Ⅱ 的氨氮负荷具有较大 的差异,阶段 Ⅱ 所消耗的氨氮高达阶段 I 的 3 倍之 多,但是 2 个阶段的活性污泥所具有的最大好氧氨 氧化活性是相近的,即两者将氨氮转化为亚硝酸盐 氮的能力基本一致.尽管阶段 I 的出水中基本没有 硝酸盐氮的产生,但是 2 个阶段的最大亚硝酸盐 氧化活性却非常接近,说明亚硝酸盐氧化作用在阶段 I 被较为彻底的抑制. 厌氧氨氧化反应是阶段 Ⅲ 的 主要预期目标之一,污泥的厌氧氨氧化活性测定证 实了预期目标的实现,然而意外的是,在阶段 Ⅱ 的 活性污泥中检测到较高的异养反硝化活性,异养反



图 3 SBR 在阶段 II 的性能表现 Fig. 3 Evolution of the SBR during period II

硝化细菌可能来自垃圾渗滤液.

表 3 2 个阶段的脱氮特性

Table 3 Characteristics of nitrogen removal in both periods

序号	参数	阶段 I	阶段Ⅱ
1	测定时间	第 55d	第 123 d
2	进水氨氮浓度/mg·L <sup>-1</sup>	336	1 442
3	出水氨氮浓度/mg·L <sup>-1</sup>	55.2	48
4	氨氮负荷/kg·(m <sup>3</sup> ·d) <sup>-1</sup>	0.112	0.32
5	氨氮的消耗/kg·(m <sup>3</sup> ·d) <sup>-1</sup>	0.094	0.31
6	产生的亚硝酸盐氮/kg·(m <sup>3</sup> ·d) <sup>-1</sup>	0.031	0
7	产生的硝酸盐氮/kg·(m <sup>3</sup> ·d) <sup>-1</sup>	0	0.015
8	氮去除/kg⋅(m <sup>3</sup> ⋅d) <sup>-1</sup>	0	0.450
9	污泥样品干重/g·L <sup>-1</sup>	1.7	1.5
10	最大好氧氨氧化活性/kg·(kg·d) <sup>-1</sup>	2.91	2.83
11	最大亚硝酸盐氧化活性/kg·(kg·d) <sup>-1</sup>	0.03	0.02
12	最大厌氧氨氧化活性/kg·(kg·d) <sup>-1</sup>	0	0.65
13	最大异养反硝化活性/kg·(kg·d) <sup>-1</sup>	0	0.11

### 2.4 活性污泥的微生物群落变化

活性污泥的 PCR 产物经 DGGE 分离出数目、强 度和迁移位置都不同的条带,这些不同位置的条带 代表着不同的细菌种群<sup>[21]</sup>;电泳条带越多,说明细 菌种群越多,条带信号越强,表示该条带代表的相应 细菌数量越多<sup>[22]</sup>.对接种前的好氧活性污泥、阶段I 和阶段II的活性污泥以及垃圾渗滤液中的沉淀物分别 进行 PCR-DGGE 分析,其 DGGE 图谱如图 4 所示. 好氧活性污泥、阶段I和阶段II的活性污泥、垃圾渗滤 液沉淀物的 DGGE 条带数分别为 12、3、6 和 9.



A. 好氧活性污泥; B. 阶段 I; C. 阶段 II; D. 垃圾渗滤液 图 4 DGGE 图谱 Fig. 4 DGGE patterns

### 3 讨论

#### 3.1 FA 对出水氮素的影响

对于污水处理系统而言,基质浓度、pH、温度等 条件是影响活性污泥中微生物多样性及种群类型的 主要因素,而在脱氮系统中,总氨氮浓度(TAN)、 pH、温度对脱氮菌群的影响通常通过游离氨浓度 (FA)进行综合考虑,FA的计算如式(6)和式(7)所 示<sup>[19]</sup>.

FA(mg · L<sup>-1</sup>) = 
$$\frac{\text{TAN}}{1 + (10^{-\text{pH}}/K_{\text{e}}^{\text{NH}})}$$
 (6)  
 $K_{\text{e}}^{\text{NH}}$  = e<sup>-6 344/(273+t)</sup> (7)

图 5 为根据式(6)和式(7)计算得到的阶段 I 和阶段 II 中 FA 的浓度值, Anthonisen 等<sup>[19]</sup>认为 FA 对 NOB 的有效抑制范围为  $3.5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,对 AOB 的抑制范围为 10~150 mg·L<sup>-1</sup>. 在阶段 I 中, 当进水氨氮浓度为 56 和 112 mg·L<sup>-1</sup>时,由于反应 器中的 FA 浓度均低于 3.5 mg·L<sup>-1</sup>, AOB 和 NOB 均未受到抑制,所以出水中的硝酸盐氮浓度出现不 断增高的趋势,但是随着 FA 浓度的增加,出水中 的亚硝酸盐氮浓度也随之出现一定程度的上升:当 进水氨氮浓度在 168~392 mg·L<sup>-1</sup>时,反应器中的 FA浓度基本维持在 3.4~9.36 mg·L<sup>-1</sup>之间,此时 NOB 受到了有效的抑制, 在较长时间的 FA 抑制条 件下,出水中的硝酸盐氮逐渐消失,亚硝酸盐氮出 现大量累积:但是硝酸盐氮的消失并不意味着 NOB 的消失<sup>[23]</sup>, 部分 NOB 在长时间的运行过程中对 FA 逐渐适应,因此当进水氨氮浓度升至448 mg·L<sup>-1</sup> 时,出水中的硝酸盐氮浓度出现较高的回升.即当 FA 浓度超过 10 mg·L<sup>-1</sup>的抑制上限后, FA 对 NOB 的抑制作用减弱,原本受到抑制的亚硝酸盐氧化得 到一定程度的恢复. 在阶段 Ⅱ中, FA 的浓度通过 调整 pH 控制在  $3.5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,从而保证反 应器中 NOB 的亚硝酸盐氧化作用受到有效抑制. 在曝气段过程中积累足够的亚硝酸盐,为 AAOB 提 供充足的反应底物,促进氮素污染物的有效去除, 降低出水中各类氮素的浓度.

3.2 细菌群落变化分析

根据图 4 的 DGGE 图谱对各种活性污泥的细菌 种群丰富度按式(8)进行计算.

$$R_{\rm si} = L_i / L_{\rm T} \tag{8}$$

式中,  $R_{si}$ 为第 i 泳道的细菌种群丰富度值;  $L_i$ 为第 i 泳道上的条带数;  $L_r$  为图谱中的总条带数.

结果如表4所示,好氧活性污泥的种群丰富度



Fig. 5 Evolution of FA concentration during different periods

最高,其次为垃圾渗滤液的沉淀物,阶段 I 的活性 泥污种群丰富度最低.细菌的群落变化特征是反映 其所在生长环境变迁的重要依据,好氧活性污泥取 自运行良好的 SBR 反应池中,其生长环境复杂,各 类营养基质丰富,污泥活性高,因此表现出更高的 种群丰富度.好氧活性污泥接种至 SBR 实验装置 后,由于补充的模拟废水为无机废水,异养细菌由 于不能得到营养补充而被淘汰,只有以氨氮为生长 底物的 AOB 和以 AOB 的反应产物为生长底物的 NOB 能够得以生长,并且在 FA 的抑制作用下, NOB 的生长也受到限制,因此阶段 I 表现出非常低 的种群丰富度.污泥脱氮特性检测也验证了以上推 论,阶段 I 仅表现出较高的好氧氨氧化活性 [2.91 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]和极低的亚硝酸盐氧化活性 [0.03 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>].

表 4 各阶段活性污泥的细菌群落丰富度值(R<sub>s</sub>)

Table 4 Richness value  $(R_s)$  of bacterial community in different periods

		1		
项目	А	В	С	D
条带数	12	3	6	9
$R_{s}$	0.6	0.15	0.3	0.45

阶段 II,由于接种了 AOB 并以具有丰富的细菌种群的原生垃圾渗滤液(种群丰富度仅次于好氧活性污泥)为进水成分,垃圾渗滤液的进入极大地 丰富了 SBR 中的基质成分,因此阶段 II 的活性污泥 的种群丰富度相对阶段 I 出现大幅度的提高.但 是,由于限制性溶解氧浓度条件以及较高的 FA 值 依然抑制了大部分随渗滤液而进入 SBR 中的细菌 菌群的生长,因此阶段 II 的活性污泥的细菌丰富度 依然低于渗滤液沉淀物和好氧活性污泥.污泥脱氮 特性检测也表明,在阶段 II 不但维持着较高的好氧 氨氧化活性[2.83 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]和一定的亚硝酸盐 氧化活性[0.02 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>],并且表现出较高的 厌氧氨氧化活性[0.65 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>])和一定的异 养反硝化活性[0.11 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>].

## 4 结论

(1) 亚硝酸菌的富集阶段,对 FA 控制成功实 现了 NOB 的抑制,即将氨氧化作用停留在亚硝酸 盐阶段.当 SBR 的 pH 被控制在 7.8,温度被控制 在(31 ± 2)℃时,进水氨氮浓度在 168 ~ 392 mg·L<sup>-1</sup>之间时, FA 浓度主要对 NOB 产生抑制.在 第 55 d,进水氨氮浓度为 336 mg·L<sup>-1</sup>, SBR 活性污 泥的最大好氧氨氧化活性和最大亚硝酸盐氧化活性 分别为 2.91 kg·(kg·d)<sup>-1</sup> 和 0.03 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>.

(2) 厌氧氨氧化菌的混合接种阶段, FA 浓度通 过同时调整进水氨氮浓度和 pH 进行控制, 该阶段 由于厌氧氨氧化菌的接种以及渗滤液带入的丰富的 细菌菌群和营养成分, SBR 的活性污泥被检测到不 但 维 持 着 较 高 的 好 氧 氨 氧 化 活 性 [2.83 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]和一定的亚硝酸盐氧化活性[0.02 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>],并且表现出较高的厌氧氨氧化活性 [0.65 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>]和一定的异养反硝化活性 [0.11 kg·(kg·d)<sup>-1</sup>].

#### 参考文献:

- [1] 徐峥勇,杨朝晖,曾光明,等.序批式生物膜反应器(SBBR) 处理高氨氮渗滤液的脱氮机理研究[J].环境科学学报, 2006,26(1):55-60.
- [2] Cheung K C, Chu L M, Wong M H. Ammonium stripping as a pretreatment for landfill leachate [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 1997, 94: 209-221.
- [3] Ozturk I, Altinbas M, Koyuncu I, et al. Advanced physico chemical treatment experiences on young municipal landfill leachates[J]. Waste Management, 2003, 23: 441-446.
- [4] Horan N J, Gohar H, Hill B. Application of a granular activated carbon - biological fluidized bed for the treatment of landfill leachates containing high concentrations of ammonium [J]. Water Science and Technology, 1997, 36(2-3): 369-375.
- [5] Laitinen N, Luonsi A, Vilen J. Landfill leachate treatment with sequencing batch reactor and membrane bioreactor [J]. Desalination, 2006, 191: 86-91.
- [6] Hellinga C, Schellen A A J C, Mulder J W, et al. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium rich wastewater [J]. Water Science and Technology, 1998, 37: 135-142.
- [7] Strous M, Gerven E, Kuenen J G, et al. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (ANAMMOX) sludge [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63: 2446-2448.
- $[ \ 8 \ ] \quad Sharma \ B \,, \ Ahlert \ R \ C. \ Nitrification \ and \ nitrogen \ removal [ \ J \ ] \,.$

Water Research, 1977, 10(11):897-925.

- [9] Stein L, Arp D J. Less of ammonia monooxygenase activity in nitrosomonas europaea upon exposure to nitrite[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(10): 4098-4102.
- [10] Ganigué R, Lópeza H, Balaguer M D, et al. Partial ammonium oxidation to nitrite of high ammonium content urban landfill leachates[J]. Water Research, 2007, 41: 3317-3326.
- [11] Feng Y J, Tseng S K, Hsia T H, et al. Partial nitrification of ammonium-rich wastewater as pretreatment for anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) using membrane aeration bioreactor[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2007, 104: 182-187.
- [12] 杨朝晖,徐峥勇,曾光明,等.不同的低温驯化策略下厌氧氨氧 化活性分析[J].中国环境科学,2007,27(3):300-305.
- [13] Vúzquez-Padín J R, Pozo M J, Jarpa M, et al. Treatment of anaerobic sludge digester effluents by the CANON process in an air pulsing SBR[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009,166 (1): 336-341.
- [14] Trigo C, Campos J L, Garrido J M, et al. Start-up of the ANAMMOX process in a membrane bioreactor [J]. Journal of Biotechnology, 2006, 126: 475-487
- [15] 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.
- [16] Third K A, Sliekers A O, Kuenen J G, et al. The CANON system (completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite) under ammonium limitation: interaction and competition between

three groups of bacteria [ J ]. Systematic and Applied Microbiology, 2001, **24**(4): 588-596.

- [17] 杨朝晖,肖勇,曾光明,等.用于分子生态学研究的堆肥 DNA提取方法[J].环境科学,2006,27(8):1613-1617.
- [18] Amann R I, Stromley J, Devereux R, et al. Molecular and microscopic identification of sulfate-reducing bacteria in multispecies biofilms [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1992, 58(2): 614-623.
- [19] Anthonisen A C, Loehr R C, Prakasam T B S, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid [J]. Water Environment Federation, 1976, 48(5): 835-852.
- [20] Strous M, Kunen J G, Jetten M S M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(7):3248-3250.
- [21] Konstantinov S R, Zhu W Y, Williams B A, et al. Effect of fermentable carbohydrates on piglet faecal bacterial communities as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of 16S ribosomal DNA [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43: 225-235.
- [22] Muyzer G, Brinkhoff T, Nubel U, et al. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology [J]. Molecular Microbial Ecology Manual, 1998, 134(4): 1-27.
- [23] Yan J, Hu Y Y. Partial nitrification to nitrite for treating ammonium-rich organic wastewater by immobilized biomass system [J]. Bioresource Technology, 2009, 100: 2341-2347.