

高活性反硝化颗粒污泥的研究

陈忠余 黄 钧 卢世珩 李毅军

(中国科学院成都生物研究所, 成都 610041)

摘要 以上流式厌氧污泥床 (UASB) 反应器中的反硝化颗粒污泥为样品, 研究了颗粒污泥的基本特性。测定出颗粒污泥中的优势无机元素为 Ca、P。颗粒表面以球菌和短杆菌为主。反硝化菌是颗粒中的优势菌群, 数量可达 6.5×10^4 — 1.5×10^{10} 个/ml 颗粒污泥。初步鉴定了两株脱氮菌 *Micrococcus* sp. strain N₁ 和 *Pseudomonas aeruginosa* strain N₂。

关键词 反硝化作用, 颗粒污泥, 反硝化菌

废水的生物脱氮就是模拟自然生态环境中氮的循环, 利用污泥中的专性好氧硝化菌和兼氧反硝化菌的联合作用, 将废水中的含氮化合物(铵态氮、酰胺态氮、硝态氮以及有机氮)变成氮气还原到大气中去。生物脱氮分硝化和反硝化两部分。微生物的反硝化作用是指污水中的硝态氮 (NO_3^- -N) 和亚硝态氮 (NO_2^- -N) 在厌氧或兼氧条件下, 被微生物还原成氮气的过程。

上流式厌氧污泥床 (UASB) 工艺用于 NH_4^+ -N 废水的反硝化处理可以取得良好的效果^[1-3]。反应器中形成的颗粒污泥是一个高效稳定的微生态脱氮系统。本实验对这种颗粒污泥进行了一系列的探讨和研究, 以期反硝化颗粒污泥的生产性应用提供理论基础和指导。

1 材料和方法

1.1 反硝化颗粒污泥

由四川化工总厂研究院生物化工室提供。该污泥能在 10 — $15 \text{ kgN/m}^3 \cdot \text{d}$ 负荷下稳定运行。以酒精废水和黄水作碳源, 当 $\text{COD/N} \geq 6.8$ 时, N 的去除率可达 95% 以上, 而且还能在 $40 \text{ kg-N/m}^3 \cdot \text{d}$ 以上的容积负荷下高效脱氮, 是一种高效稳定的颗粒污泥。样品在 1.4 L 的 UASB 反应器中采用人工配水 (N: CH_3OH :P=1:3:0.3 重量比) 活化, 培养温度 25°C [3]。

1.2 分析方法

1.2.1 颗粒污泥的无机元素分析 采用 TN-5400X 射线能谱仪。

1.2.2 扫描电镜和透射电镜观察 [4,5]。

1.3 颗粒污泥中功能菌的计数

1.3.1 颗粒污泥中反硝化菌的计数: 采用改进的反硝化菌培养基, 进行深层培养, 作 3 管重复。反硝化菌培养基 (以 1000 ml 计): 甲醇 1.05 ml, KNO_3 2g, K_2HPO_4 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g, 蒸馏水 1000ml, pH 7.2—7.4, 甲醇在灭菌后加入。

1.3.2 颗粒污泥中酵母菌的计数: 平板法, 培养基见文献 [6]。

1.3.3 颗粒污泥中产甲烷菌的计数: MPN 法, 3 管重复, 培养基见文献 [7]。

1.4 反硝化菌的分离、纯化及鉴定 [8,9]

2 结果与讨论

2.1 反硝化颗粒污泥的基本性质及表面生物相观察

反硝化颗粒污泥多球形, 直径多在 2—3 mm, 灰色或灰黑色。表面粗糙, 一个大颗粒可以明显分辨出由多个较小的颗粒体组成。

通过扫描电镜观察发现, 颗粒表面以球菌和短杆菌占绝对优势, 菌体密度大。一种球菌直径约 0.4 — $0.5 \mu\text{m}$, 多数成对或排列成链珠状; 短杆菌大小约 0.4 — 0.5×1.0 — $1.2 \mu\text{m}$, 多

1994-11-02 收稿

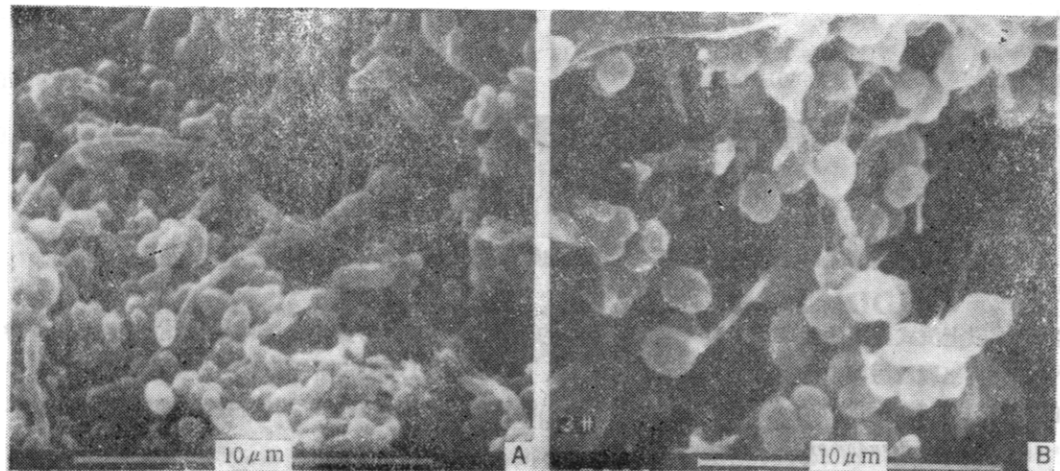


图1 反硝化颗粒污泥表面生物相

A: 示球菌 (ϕ 约 $0.5\mu\text{m}$)、短杆菌和长丝菌 B: 示球菌 (ϕ 约 $1.0\text{--}1.2\mu\text{m}$)

数成对存在(图1-A)。这两种形态的菌群在反硝化颗粒污泥表面分布广泛,数量最多。另外还观察到一种直径约 $1.0\text{--}1.2\mu\text{m}$ 的球菌,多以双聚体或四聚体形式存在(图1-B),但不占优势。同时也观察到长丝菌的存在(图1-A)。

2.2 反硝化颗粒污泥中功能菌群的计数分析

计数结果(个/ml 颗粒): 反硝化菌为 $6.5 \times 10^8\text{--}1.5 \times 10^{10}$, 酵母菌为 2.0×10^2 , 产甲烷菌为 $0.9 \times 10^1\text{--}1.1 \times 10^1$ 。结果表明,反硝化颗粒污泥中以反硝化菌占绝对优势,这是该颗粒污泥能够高效还原 $\text{NO}_3\text{--N}$ 和 $\text{NO}_2\text{--N}$ 成 N_2 的决定因素。同时发现该种颗粒污泥中

产甲烷菌生长不好,这可以解释反硝化 UASB 反应器对废水 COD 去除率极低的原因。如果以含碳废水作为反硝化反应器的碳源,则在反硝化反应器后应再加一级去除 COD 的装置。酵母菌也存在于反硝化颗粒污泥中,但其作用还有待进一步的研究。有文献报道一些酵母或类似酵母的微生物并不直接参与反硝化作用,但它们能增强反硝化菌的生化反应,从而促进反硝化作用的进行^[10]。

2.3 反硝化颗粒污泥的无机元素组成分析(表1)

从表1可以看出颗粒表面无机元素远比颗

表1 反硝化颗粒污泥的无机元素组成(WT%)

元 素	Na	Al	Si	P	S	K	Ca	Fe	Cu
颗粒表面	3.42*	7.21*	11.58*	21.49*	12.42*	5.22	26.41	11.03	1.24
颗粒截面	1.26*	2.29*	Nd	26.93	Nd	Nd	67.72	1.80	Nd

* 高吸收(轻元素对 X-射线吸收强,因此结果可能偏低)

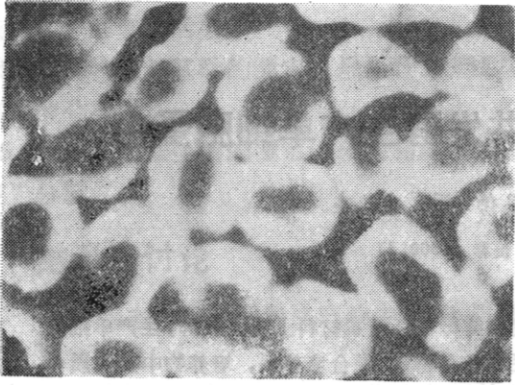
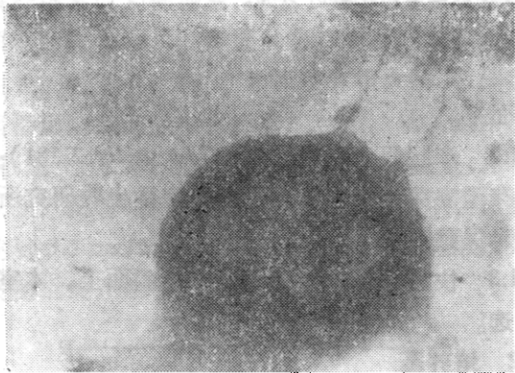
"Nd" 未检测到

粒截面的无机元素丰富,但两者都以 Ca 和 P 占优势。Ca 元素主要来自培养颗粒时人为添加在废水中的 Ca^{2+} , 实验证明 Ca^{2+} 有促进污泥颗粒化的作用^[1]。P 元素主要来自补充入废水的 PO_4^{3-} , 但它在颗粒中的具体作用还需进一步研究。从颗粒表面元素种类丰富、含量差异不太大,到颗粒截面元素种类减少、含量相对集中,可以推测颗粒对无机元素有一个主动选

择作用。

2.4 反硝化菌的初步鉴定

从反硝化颗粒污泥中分离到两株能把 $\text{NO}_3\text{--N}$ 还原为 $\text{NO}_2\text{--N}$ 并继续还原到 N_2 的细菌。纯化后经鉴定^[11],一株属微球菌属,定名为微球菌属 N_1 菌株 (*Micrococcus* sp. Strain N_1), 该菌株细胞球形,单个或成堆,细胞直径 $0.4\text{--}0.5\mu\text{m}$, 无鞭毛(图2);另一株菌定名为铜

图2 *Micrococcus* sp. strain N₁ 的透射电镜照片图3 *P. aeruginosa* strain N₂ 的透射电镜照片

绿假单胞菌 N₂ 菌株 (*P. aeruginosa* strain N₂)，该菌株细胞短杆形，大小 $0.4-0.5 \times 1.0-1.2 \mu\text{m}$ ，单个或成对，以极生鞭毛运动(图3)。这两株菌利用碳源范围广，在含 7% NaCl 的

培养基中能生长。pH 6.0—9.0，温度 20—40℃ 范围内生长良好。在含 0.1% KNO₃ 的培养液中，30℃ 培养，N₁ 菌株 15h 脱氮完毕，N₂ 菌株 21h 脱氮完毕；在 35℃ 温度下，两菌株均可在 11h 脱氮完毕，测定气体含量 N₂ 达 90% 以上。

致谢 四川化工总厂研究院生物化工室王德诚先生为本研究提供了高活性的颗粒污泥样品及部分资料，在此表示诚挚的感谢。

参 考 文 献

- [1] 江本袖子. 用水和废水(日文), 1988, 30(2): 133—139.
- [2] 友泽 孝. Water and Waste (in Japanese), 1989, 31(1):35—41.
- [3] 王德诚, 贺诗毅, 杨格, 等. 第五届全国生物化工学术会议论文集, 北京: 化学工业出版社, 1993, 89—94.
- [4] Dolfing J, A Griffioen, A R W Van Neerven, et al. Can J Microbiol, 1985, 31:744—750.
- [5] 朱丽霞, 程乃乾, 高信曾编著. 《生物学中的电子显微镜技术》, 北京: 北京大学出版社, 1983, 73—79.
- [6] 中科院微生物所《菌种保藏手册》编著组. 《菌种保藏手册》, 北京: 科学出版社, 1980, 162.
- [7] 钱泽澍, 闵航编著. 《沼气发酵微生物学》, 杭州: 浙江科学技术出版社, 1986, 260.
- [8] 中国科学院微生物所细菌分类组. 《一般细菌常用鉴定方法》, 北京: 科学出版社, 1978, 22—46.
- [9] 中国科学院微生物所译. 《伯杰细菌鉴定手册》(第八版), 北京: 科学出版社, 1984, 279, 661.
- [10] A Grabińska-Loniewska. Wat Res, 1991, 25(12):1565—1573.

STUDY ON ACTIVATED DENITRIFYING GRANULAR SLUDGE

Chen Zhongyu Huang Jun Lu Shiheng Li Yijun
(Chengdu Institute of Biology, Academia Sinica, Chengdu 610041)

Abstract The basic features of the granular sludges from a denitrification UASB reactor were studied. The dominating inorganic elements were Ca and P. On the surface of the sludge, coccus and shortrod bacteria spread widely. Denitrifying bacteria played the most important and decisive role in this kind of granular sludge. The population of which can reach $5.5 \times 10^4 - 1.5 \times 10^{10}/\text{ml}$ (granular sludge). In addition, two bacteria strains of denitrifiers had been isolated and identified.

Key words Denitrification, Granular Sludge, Denitrifying Bacteria