

赵红梅, 牛伟, 刘晓英, 等. 2011. SBR 中缺氧颗粒污泥反硝化过程中 PHB 的存储与利用[J]. 环境科学学报, 31(2):260-267
Zhao H M, Niu W, Liu X Y, et al. 2011. Storage and utilization of poly- β -hydroxybutyrate under denitrification in an anoxic granular sludge SBR[J].
Acta Scientiae Circumstantiae, 31(2):260-267

SBR 中缺氧颗粒污泥反硝化过程中 PHB 的存储与利用

赵红梅^{1,2,*}, 牛伟¹, 刘晓英¹, 彭党聪¹

1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055

2. 长安大学环境科学与工程学院, 西安 700054

收稿日期: 2010-04-27 修回日期: 2010-07-28 录用日期: 2010-08-09

摘要:微生物在非平衡的生长条件(暂态)下, 存储胞内聚合物是去除易生物降解有机物的一种机制, 这种现象对不同微生物种群在暂态下的基质竞争有着重要意义. 本试验采用 SBR 反应器以乙酸为基质, 在缺氧条件下成功培养出颗粒污泥, 在此基础上对乙酸的消耗以及胞内聚合物聚- β -羟基丁酸(PHB)的合成与利用进行研究. 结果表明: 间歇条件下, 颗粒污泥中反硝化菌对基质的利用存在着储存机制. 日常运行周期内当基质较多时, 颗粒污泥中 PHB 含量上升, 基质缺乏时, PHB 含量衰减, 周期末端 PHB 含量为 0.75% ~ 1.0%; PHB 合成阶段, $\Delta\text{PHB}/\Delta\text{COD}$ (即 Y_{STOD}) 为 0.39, 最大合成比速率为 $0.124 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 且 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 的比值可间接反映出 PHB 的变化状态; 进水 $\text{COD}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ (C/N) = 5 提高基质负荷情况下, 周期内 PHB 变化情况与日常运行条件下相似, Y_{STOD} 为 0.35 ~ 0.25; 进水 $\text{C}/\text{N} = 7.5$ 时, 乙酸供给富余, 反硝化过程中缺氧颗粒污泥 PHB 含量不断升高, 直至反应结束, Y_{STOD} 为 0.38 ~ 0.45.

关键词: SBR; 反硝化; 颗粒污泥; PHB

文章编号: 0253-2468(2011)02-260-08 中图分类号: X703.1 文献标识码: A

Storage and utilization of poly- β -hydroxybutyrate under denitrification in an anoxic granular sludge SBR

ZHAO Hongmei^{1,2,*}, NIU Wei¹, LIU Xiaoying¹, PENG Dangcong¹

1. School of Environment & Municipal Engineering, Xi'an University & Technology, Xi'an 710055

2. Department of Environment Science and Engineering, Chang'an University, Xi'an 700054

Received 27 April 2010; received in revised form 28 July 2010; accepted 9 August 2010

Abstract: Storage of internal polymers is considered one mechanism for the removal readily biodegradable organic matter for microorganisms under dynamic (transient) conditions and this phenomenon is very important for substrate competition of different cultures under transient conditions. In this study, anoxic granular sludge was successfully cultivated with acetate as substrate under anoxic conditions in an SBR and the processes of acetate consumption, storage and utilization of the internal polymer, poly- β -hydroxy butyrate (PHB), were studied. Denitrobacteria used the acetate substrate in a storage mechanism process. The PHB content of granular sludge initially increased while substrate was available and then decreased in the following substrate-deficient stage of the daily operation cycle. The PHB content could reach as high as 0.75% ~ 1.0% of the biomass by the end. During the PHB synthesis phase, $\Delta\text{PHB}/\Delta\text{COD}$ (Y_{STOD}) was 0.39, the maximum synthetic rate was $0.124 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and storage or utilization of PHB could be reflected indirectly by the ratio of $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$. When the substrate load was raised such that the $\text{COD}/\text{NO}_3^-\text{-N}$ (C/N) ratio was 5, the PHB content of the biomass showed a trend very similar to that of the typical daily operation cycle and Y_{STOD} was 0.35 ~ 0.25. When C/N ratio was increased to 7.5, concentrations of PHB were raised continually until the end of denitrification and Y_{STOD} was 0.38 ~ 0.45 due to sufficient substrate supply.

Keywords: SBR; denitrification; granular sludge; poly- β -hydroxybutyrate

1 引言 (Introduction)

在污水处理过程中, 微生物在一些情况下会处

于非平衡的生长状态(称为暂态), 如基质浓度梯度较大或高基质浓度与低基质浓度交替的情况(Cech and Chudoba, 1983)以及好氧、厌氧或缺氧多种工艺

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 50478047)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 50478047)

作者简介: 赵红梅(1978—), 女, 讲师(博士), E-mail: zhaohm@chd.edu.cn; * 通讯作者(责任作者)

Biography: ZHAO Hongmei (1978—), female, lecturer (Ph. D.), E-mail: zhaohm@chd.edu.cn; * Corresponding author

交替运行的情况 (Daigger 和 Grady, 1982). 由于微生物合成胞内聚合物的速度比其自身生长快且对所处环境的适应性要求更低, 一些微生物会在暂态下先吸附或摄入基质形成聚合物存储于细胞内, 之后再用于自身生长 (Daigger 和 Grady, 1982; Beun *et al.*, 2000a), 当所用基质为挥发性脂肪酸 (VFAs) 时, 胞内聚合物以聚羟基烷酸 (PHAs) 为主, 乙酸属于 VFAs, 作为基质时, PHAs 的主要成份为聚- β -羟基丁酸 PHB (Yagci *et al.*, 2003). van Loosdrecht 等、Majone 等和 Beun 等通过研究 (van Loosdrecht *et al.*, 1997; Majone *et al.*, 1999; Beun *et al.*, 2000a) 证明胞内聚合物的存储与消耗是非平衡条件下微生物去除易生物降解有机物过程的一种重要机制. 微生物在暂态下形成胞内聚合物的现象对工程应用也有着重要意义, 主要体现在工艺设计中利用微生物之间对基质竞争力的差别实现对特定菌群的选择, 如强化除磷工艺中通过聚磷菌 (PAOs) 在厌氧状态下对基质的存储实现 PAOs 富集培养 (Mino *et al.*, 1998), 选择池中菌胶团通过存储作用与丝状菌竞争基质, 遏制丝状膨胀 (Majone *et al.*, 1999), 因此不同工艺条件下微生物对基质的存储与利用受到关注. 近年来国内外学者已在好氧状态下 (Dircks *et al.*, 2000; Beccari *et al.*, 2002; Federico *et al.*, 2003)、厌氧-好氧工艺交替的运行状态下 (Smolders *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2008)、好氧-厌氧工艺交替运行状态下 (Lei *et al.*, 2005), 观察到微生物有存储与利用胞内聚合物的现象, 而有关缺氧状态下基质利用方式的研究主要集中于缺氧-好氧工艺交替运行的情况 (Beun *et al.*, 2000b; Avcioglu *et al.*, 2003; Ciggin *et al.*, 2007). 在缺氧工艺末端添加好氧段虽然可使污泥沉淀性能更好、系统更加稳定, 但微生物的生长环境与单纯的缺氧环境存在差异, Ciggin 等 (Ciggin *et al.*, 2007) 试验结果显示在好氧段有胞内聚合物 PHB 的衰减, 并且由于氨氮的氧化使废水中硝酸盐浓度增加; 对于单纯缺氧情况下, Majone 等 (Majone *et al.*, 1998) 研究了在缺氧情况下对乙酸的利用, Donisi 等 (Donisi *et al.*, 2001) 采用连续搅拌槽式反应器 (CSTR) 对乙酸的存储与消耗进行了初探, 由于 Donisi 等 (Donisi *et al.*, 2001) 设定试验系统为乙酸限制型反硝化系统, 因此试验结论更侧重于反硝化过程中基质不足情况下 PHB 的存储, 而有关胞内聚合物的利用情况以及不同 COD/

NO_3^- -N(C/N) 比值下基质的存储利用情况并未涉及, 因此对于缺氧情况下基质存储与利用的状况仍需深入研究.

此外有关颗粒污泥的研究已有多年的历史, 因其极佳的沉淀性能、污泥浓度大以及高活性, 可使处理工艺的处理效率更高、更加紧凑, 至今仍受到国内外研究者的普遍关注 (Jiang *et al.*, 2008; Fang *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2008; Pagacova *et al.*, 2010), 同时大量研究结果表明 (Liu 和 Tay, 2004), 颗粒污泥中微生物的种类、形态与分布以及细胞间距等与普通活性污泥存在差别, 反应特性差别较大, 因此, 一些学者对好氧颗粒污泥在氮、磷等污染物去除过程中基质的存储与利用进行研究 (Lei *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2008). 本试验以乙酸为基质, 在缺氧 SBR 反应器中成功培养出形态稳定、性能良好的缺氧颗粒污泥的基础上, 对缺氧颗粒污泥反硝化过程中 COD 等多个水质指标以及颗粒污泥中 PHB 含量的变化情况进行测定分析, 探讨缺氧颗粒污泥反硝化过程中基质的代谢以及胞内聚合物的存储与利用, 为高效脱氮工艺的设计与研发提供参考.

2 材料与方法 (Materials and methods)

2.1 试验装置

试验采用玻璃材质 SBR 反应器, 高 35cm, 内径 16cm, 上部筒形, 底部为半球形, 顶盖为圆形不锈钢板设预留孔, 具体试验装置图见图 1. 设定 SBR 反应器有效容积为 4L, 每周期进水 2L, 排水比 0.5, 由液位器控制高液位, 出水管控制低液位, 废水为人工配制. SBR 分进水、反应、沉淀、排水、闲置 5 个阶段,

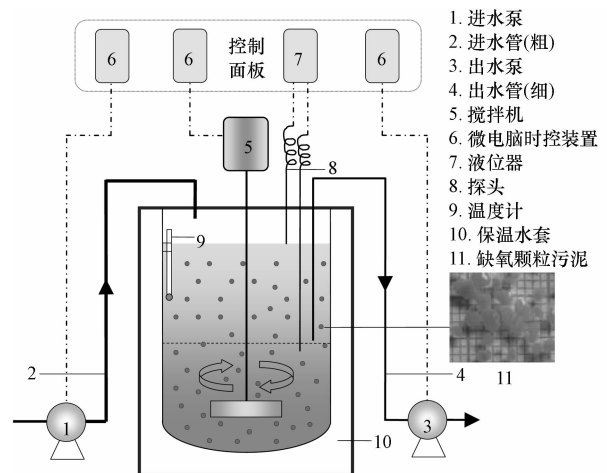


图 1 SBR 试验装置

Fig. 1 Scheme of the experimental SBR reactor

进水及反应阶段采用 JHS-1/60 恒速搅拌机搅拌 (转速 $80\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$), 反应装置由微电脑时控装置控制循环运行. 反应器采用保温水套加热, 使反应器内温度保持在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$.

2.2 试验用水

试验用水采用人工配制废水, 以乙酸钠 (NaAc) 为碳源, 硝酸钠 (NaNO_3) 为反硝化氮源, 同时投加少量氨氮、磷作为营养物质供微生物生长利用. SBR 日常运行中, 人工配制废水中含有 NaAc $200\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NaNO_3 $40\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{COD}/\text{NO}_3^- - \text{N} = 5$ (即 $\text{C}/\text{N} = 5$), 营养物质 NH_4Cl $10\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 满足 $\text{C}:\text{N}(\text{NH}_4^+ - \text{N}):\text{P} = 100:5:1$ 的要求, 且每 20L 进水中加 1mL 微量元素浓缩液, 浓缩液组分见表 1, 同时为防止出水 pH 值过高影响反硝化颗粒污泥系统正常运行, 在进水中加 HCl 调节 pH, 通常保持进水 pH 在 $6.0 \sim 6.5$, 使出水 pH 值小于 8.8.

表 1 微量元素浓缩液组分
Table 1 Dosage of trace elements

组分	浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	组分	浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3000	ZnCl_2	24
$\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	50	H_3BO_3	20
EDTA 二钠	50	$\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7
$\text{NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	36	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	21
$\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	26		

高负荷试验中, 改变进水 NaAc , NaNO_3 浓度, 并根据 NaAc 浓度按比例添加 NH_4Cl 、 KH_2PO_4 , 系列实验配制废水主要组份浓度见表 2, 其中 NH_4Cl 、 KH_2PO_4 浓度为反应器内反应初始浓度.

表 2 高负荷试验系列用水组分及浓度

Table 2 Composition and concentration of wastewater used for the series of high load tests

	基质/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)		营养物质/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	
	NaAc	NaNO_3	NH_4Cl	KH_2PO_4
$\text{C}/\text{N} = 5$	400	80	15	8
	600	120	20	10
	800	160	25	12
$\text{C}/\text{N} = 7.5$	600	80	20	10
	900	120	30	14
	1200	160	35	16

2.3 试验方法

试验中 SBR 反应器运行周期为 3h, 进水 30s, 缺氧段 165min, 沉淀、排水及闲置各 5min. 采用啤酒厂厌氧-好氧工艺污泥为接种污泥, 在缺氧状态下稳定运行 420d, 成功培养出密实且形态稳定的缺氧颗粒

污泥. 缺氧颗粒污泥为椭球形状, 淡黄色, 边缘光滑, 反应器颗粒污泥浓度为 $4000 \sim 4500\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, VSS/SS 为 $52\% \sim 64\%$, 颗粒化程度很高, 颗粒污泥占总污泥量 98%, 颗粒污泥粒径 60% 分布于 $1.5 \sim 2.0\text{mm}$ 之间, 15% 以上大于 2.0mm , 25% 小于 1.5mm , 平均沉速 $38\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$.

日常运行中 (容积负荷为 $160\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$) 在 SBR 以及颗粒污泥稳定的情况下, 对周期内各水质指标 (COD 、 NO_3^- 、 NO_2^- 等) 以及缺氧颗粒污泥中 PHB 的含量进行测定分析, 研究反应周期内缺氧颗粒污泥对乙酸的消耗以及 PHB 的合成与利用; 为更深入研究缺氧颗粒污泥对基质的消耗与存储状况, 采用增加进水中 NaAc 、 NaNO_3 等组分浓度, 同时降低污泥量至原污泥量 0.5 倍的方法, 即在 $\text{C}/\text{N} = 5$ 、7.5 情况下, 提高容积负荷分别至 $320\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $480\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $640\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ 的方法在 SBR 反应器中进行静态实验, 并对反应周期内缺氧颗粒污泥 PHB 含量的变化以及 COD 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 进行测定分析.

2.4 分析项目及测试方法

(1) COD 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 MLVSS 、 pH 等均按国家标准法测定 (国家环保局, 2002).

(2) 颗粒污泥沉速的测定采用沉降筒实验法; 颗粒污泥粒径采用投影法, 利用计算机软件计算出颗粒污泥投影面积 s , 根据公式 $d = 2(s/\pi)^{1/2}$ 计算出颗粒污泥直径.

(3) PHB 采用改进的 Braunegg 气相色谱法 (Braunegg *et al.*, 1978), 取反应器中泥水混合液 $25 \sim 30\text{mL}$, 过滤后弃去滤液, 将截留污泥用蒸馏水冲洗 3 次, 定容至 20mL , 进行超声波细胞粉碎 (400W , 30min , 占空比 0.5), 取适量处理后样品于消解瓶中, 并加入 3% 酸化甲醇和氯仿各 2mL 密封, 在 100°C 下消解 4h, 待消解后样品冷却至室温, 剧烈振荡 20min, 之后离心分层, 最后取下层氯仿溶液经 $0.22\mu\text{m}$ 有机滤膜过滤后进行色谱分析; GC (Trace2000) 采用自动进样, 色谱柱为 Agilent 公司生产的 DB-FFAP 聚乙二醇 (PEG) 气相毛细管柱, 载气为高纯氮气.

3 结果 (Results)

3.1 日常运行周期内水质以及缺氧颗粒污泥中 PHB 的变化

本试验中 SBR 缺氧颗粒污泥系统长期在 C/N

= 5、进水 $\text{NaAC} = 200\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NaNO}_3 = 40\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下稳定运行. 日常运行中, SBR 缺氧颗粒污泥系统对硝态氮的去除效率为 100%, COD 去除率为 83%, 经计算系统每脱除 $1\text{mgNO}_x\text{-N}$ 需消耗 4.20mg COD , 周期内各水质指标以及缺氧颗粒污泥中 PHB 含量的变化情况见图 2. 由图 2 可知, 反硝化过程大约历时 60min, 在此过程中, 硝酸氮 ($\text{NO}_3^- \text{-N}$)、COD 和营养物质氨氮 ($\text{NH}_4^+ \text{-N}$)、磷酸盐浓度迅速降低, 亚硝酸氮 ($\text{NO}_2^- \text{-N}$) 浓度、及缺氧颗粒污泥内 PHB 含量存在明显先升高后衰减的趋势, 60min 后各指标几乎不发生变化. 即, 在 3h 的循环周期内, 反硝化反应时间大约为 60min, 缺氧颗粒物污泥的生长也主要集中在在这段时间, 之后大约 120min 时间, 反应器处于闲置状态, 缺氧颗粒污泥处于维持状态. 由于 SBR 反应器采用间歇且快速的进水方式, 使得周期初始及末端对微生物基质供给差异较大, 因此这是缺氧颗粒污泥中微生物在反应初始阶段消耗乙酸同时合成 PHB 的主要原因之一, 而存储的 PHB 可用于 SBR 闲置期微生物自身生长或维持. Ciggin 等 (Ciggin *et al.*, 2007) 在缺氧-好氧交替运行条件下发现, SBR 进水时间长对 PHB 的存储量有很大影响, 进水时间短 PHB 含量增加 1 倍.

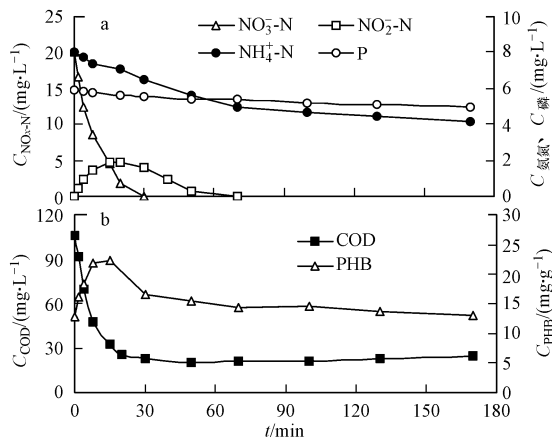


图 2 SBR 日常运行中周期内水质及颗粒污泥中 PHB 的历时变化

Fig. 2 Water quality and the PHB of granular sludge during daily operation cycle in SBR

对图 2 中各水质指标进行分析, 在反应周期内最初 15min 随着 COD 迅速由 $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至 $33\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 浓度也快速降至 $4.63\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 而此时 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度为 $4.66\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 接近积累峰值; 0~15min 内 COD、 $\text{NO}_x \text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 最大比降解速率依次为 $0.206\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (以 VSS 计, 下同)、 0.032

$\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 、 $0.047\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; 15min 后, 亚硝酸盐浓度升至峰值后与硝酸盐共同被降解, 但反硝化速率降低, $\text{NO}_x \text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 最大比降解速率为 $0.013\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 、 $0.004\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, COD 变化不大, 最大浓度差为 $13\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 可以明显看到, 反应过程中降解单位浓度的硝态氮所消耗的 COD 并不均衡, 整个反应过程中 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x \text{-N}$ 不断变化, 最大比值为 8.35, 最小比值为 0.88, 均值 4.20, 其中:

$$\frac{\Delta\text{COD}}{\Delta\text{NO}_x \text{-N}} = \frac{\text{消耗水中 COD 的量 (mg)}}{\text{废水中 NO}_x \text{-N 的去除量 (mg)}}$$

表明 SBR 缺氧颗粒污泥在反硝化过程中存在储能物质的形成与利用, 因此 PHB 作为乙酸为碳源时细胞内的主要储能物质, 它的变化有着重要的意义.

图 2 中 PHB 的含量变化情况显示, 整个反应周期内缺氧颗粒污泥中 PHB 含量存在先升后降的过程. 在反应最初 10min 内 PHB 含量迅速上升, 最大合成比速率为 $0.124\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ (PHB 以 COD 计, 下同), $\Delta\text{PHB}/\Delta\text{COD}$ 即 Y_{STOD} 为 0.39, 其中:

$$Y_{\text{STOD}} = \frac{\Delta\text{PHB}}{\Delta\text{COD}} = \frac{\text{颗粒污泥中合成 PHB 的量 (mgCOD)}}{\text{消耗废水中 COD 的量 (mg)}}$$

Y_{STOD} 为微生物消耗基质同时生成胞内聚合物的比例, 间接反映出微生物在暂态下对基质的争夺能力. 该值与 Majone 等、Dionisi 等分别在以乙酸为基质在缺氧条件下得到的 0.35~0.40 (Majone *et al.*, 1998)、0.4 (Dionisi *et al.*, 2001) 以及刘小英等在反硝化除磷颗粒污泥系统中厌氧段所得到的 0.5 (Liu *et al.*, 2008) 较接近; 小于 Avcioglu 等的估值 0.66 (Avcioglu *et al.*, 2003), 以及 Beun 等、Ciggin 等分别在缺氧-好氧活性污泥系统试验得到的 0.62 (Beun *et al.*, 2000b)、0.58 (Ciggin *et al.*, 2007); 与 Smolder 等在强化除磷系统中厌氧段所得到的 0.89 (Smolder *et al.*, 2001) 相差较大. 反应进行 10min 后虽然 COD 仍在快速下降, 但微生物中 PHB 含量变化不大, PHB 含量在 $22.3\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 左右维持了一段时间, 反应进行 15min 后迅速下降, PHB 最大比降解速率为 $0.024\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, 反硝化结束, $\Delta\text{PHB}/\Delta\text{NO}_x \text{-N}$ 均值为 2.19, 其中:

$$\frac{\Delta\text{PHB}}{\Delta\text{NO}_x \text{-N}} = \frac{\text{颗粒污泥中 PHB 的变化量 (mgCOD)}}{\text{脱除废水中 NO}_x \text{-N 的量 (mg)}}$$

而 15min 至反硝化结束 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x \text{-N}$ 均值为 1.40 < 2.19, 因此这阶段反硝化所需碳源主要由胞内聚合物 PHB 提供.

另外, 由试验可知, PHB 的合成与消耗过程中,

$\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 比值可间接反映出 PHB 含量的增减状况. 周期 0 ~ 15min, 各时段 $\Delta\text{PHB}/\Delta t > 0$, 相对应 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 最小值为 5.08, 均大于均值 4.20, 显示反应初期基质充足时, 缺氧颗粒污泥内微生物在反应中摄取过量的乙酸, 一部分提供反硝化所需能量, 富余的基质转化成为 PHB 积攒于细胞内部; 15min 后, 伴随反应进行乙酸不断被消耗, COD 快速下降, 废水中仅存少量乙酸可供反硝化使用, 各时段 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 比值由 2.62 降至 1.15, 均小于 4.20, 同时 $\Delta\text{PHB}/\Delta t < 0$, 表明反应初期乙酸的迅速消耗使得残余量已无法满足反硝化反应, PHB 作为细胞备用能源被消耗. 此外, 试验中发现反硝化结束后, 仍有微量 PHB 被消耗, 最终周期末端, 微生物细胞内 PHB 含量维持在 0.75% ~ 1.0% 左右.

在对反应器运行状态监测过程中, 多个周期内反硝化过程试验结果中发现, COD 最低点与出水 COD 相差 3 ~ 6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 同时检测到废水中总糖含量有微量 (0.5 ~ 2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 变化, 推测部分剩余的 PHB 用于合成胞外聚合物, 而部分胞外聚合物尤其是水溶性较好的糖类会因水的剪切作用被剥离并溶于废水中, 具体过程还有待于进一步研究.

3.2 C/N = 5 提高基质浓度, 周期内水质及 PHB 的变化

在系统进水 C/N = 5 不变的条件下, 提高进水基质浓度进行对比试验, 试验结果见图 3. 从图中可以看出, 基质浓度增加 2 ~ 4 倍, 反硝化速度加快, 硝酸盐降解速率增加尤为明显, $\text{NO}_x\text{-N}$ 平均降解速率随基质浓度提高而加快, 依次为 0.034、0.037、0.046 $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, 而亚硝酸盐仍有积累; COD 去除率为 84% ~ 90%, 系统每脱除 1 $\text{mgNO}_x\text{-N}$ 需消耗 4.20 ~ 4.30 mgCOD , 不同条件下 COD 以及 PHB 的变化趋势较相似, PHB 由快速合成-慢速合成-快速消耗-慢速消耗的变化过程更为清晰. 从图 3 中可以看出, 3 种情况下, PHB 达到峰值时 COD 均残余约 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 之后出现 PHB 与 COD 共降解现象, 比

日常运行周期中更加明显, 而 Dionisi 等 (Dionisi *et al.*, 2001) 在 CSTR 反应器中发现在乙酸浓度为 0 时 PHB 才开始降解.

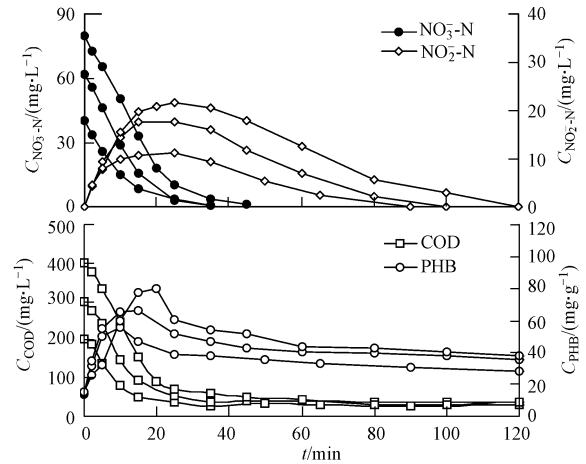


图 3 C/N = 5 时不同负荷下周期内水质及颗粒污泥中 PHB 的历时变化

Fig. 3 Water quality and the PHB of granular sludge during a cycle under different loadings with C/N = 5

根据试验结果, 系列试验中, 在 PHB 存储阶段 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 最大值为 14.89, 最小值为 4.47, 大于均值; PHB 降解阶段 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 最大为 3.69, 最小为 1.34, 小于均值, 与典型周期内试验结果一致. 以 C/N = 400:80 为例, 在反硝化过程 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 以及 $\Delta\text{PHB}/\Delta t$ 比值见表 3, 由表 3 可知从反应进行 20min 后乙酸和 PHB 同时为反硝化提供能量, (结合图 3 看) 此时反硝化速率开始逐渐降低, 表明本试验中微生物利用乙酸更有利于反硝化进行, 而胞内聚合物 PHB 由于含量较低等因素, 作为反硝化碳源时, 反硝化速率较小. 对比试验中, 周期末端颗粒污泥中 PHB 含量增至 1.90% ~ 2.50%, 因此可知周期末端颗粒污泥中 PHB 的含量与有机负荷有很大关系, 负荷高周期末端颗粒污泥中 PHB 含量大. Ciggin 等测定在 $\text{COD}/\text{NO}_3\text{-N} = 192:52$ 时缺氧-好氧工艺交替运行条件下活性污泥中 PHB 含量为 4.3% (Ciggin *et al.*, 2007).

表 3 C/N = 400:80 时, 周期内相关参数的历时变化

Table 3 Parameters during a cycle under load of C/N = 400:80

时段/min	$\frac{\Delta\text{COD}}{\Delta\text{NO}_x\text{-N}} / (\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$	$\frac{\Delta\text{COD}}{\Delta t} / (\text{mg}\cdot\text{h}^{-1})$	时段/min	$\frac{\Delta\text{COD}}{\Delta\text{NO}_x\text{-N}} / (\text{g}\cdot\text{g}^{-1})$	$\frac{\Delta\text{COD}}{\Delta t} / (\text{mg}\cdot\text{h}^{-1})$
0 ~ 2	7.89	320.2	25 ~ 35	1.34	-34.4
2 ~ 5	13.30	263.4	35 ~ 45	1.91	-18.4
5 ~ 10	10.79	242.2	45 ~ 60	1.48	-31.3
10 ~ 15	7.05	215.9	60 ~ 100	1.66	-4.9
15 ~ 20	4.47	28.10	100 ~ 120	—	-4.1
20 ~ 25	2.97	-234.9	120 ~ 180	—	-3.1

在 $C/N = 5$, 反硝化初始反应物浓度不同情况下, 与颗粒污泥中 PHB 含量相关的一些参数见表 4. 数据显示, 在不同负荷下 PHB 的最大合成速率随基质浓度提高而下降, 表明乙酸浓度较高时, 颗粒污泥中微生物会优先利用乙酸进行反硝化, 因而相对合成 PHB 的速度降低, 同时表 4 中 Y_{STOD} 值(合成 PHB 的量占反应中消耗 COD 的比例)也随之递减, 这表明在基质浓度提高的情况下, 虽然更有利于

基质在颗粒污泥中的扩散以及微生物对基质的摄入, 但这使得微生物对 $NO_3^- - N$ 、 $NO_2^- - N$ 的反硝化速率大幅提高, 而 PHB 的最大合成速率受此影响则逐渐降低, 相对应微生物直接用于进行反硝化的质量增加, 同时用于合成 PHB 的基质总量下降; 另外, PHB 的消耗比速率随基质浓度增加而提高, 这与 PHB 积累峰值及合成量相关, 随基质浓度增大积累峰值越高, 相对存储 PHB 的量越多, 利用速率也越快.

表 4 $C/N = 5$ 时不同基质浓度下与 PHB 相关参数

Table 4 Parameters of PHB under different loading with $C/N = 5$

初始浓度 $C/N = 5$	最大合成 V_{PHB} $/(g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1})$	最大消耗 V_{PHB} $/(g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1})$	PHB 峰值 P_{PHB} $/(mg \cdot g^{-1})$	Y_{STOD}	$\frac{\Delta PHB}{\Delta NO_x - N}$	
					合成段	降解段
200:40	0.438	0.019	55.4	0.35	-2.71	1.29
300:60	0.396	0.025	66.2	0.32	-2.65	0.87
400:80	0.366	0.029	79.6	0.25	-2.27	0.74

3.3 $C/N = 7.5$, 不同基质浓度下周期内水质及 PHB 变化

提高系统进水 C/N 比值, 可使反硝化可利用基质更为充足, 对相关水质指标以及颗粒污泥中 PHB 的含量进行监测, 结果见图 4. 由图可知, $C/N = 7.5$ 系列试验中, $NO_3^- - N$ 和 $NO_2^- - N$ 几乎同时降解完全, 反硝化速率与 $C/N = 5$ 、硝酸盐浓度相同的情况比较, 明显提高, $NO_x - N$ 平均降解比速率随基质浓度增加依次为 0.058 、 0.066 、 $0.082 g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$, 均高于 $C/N = 5$ 、 $NO_3^- - N$ 初始浓度相同情况下对应值; COD 去除率为 $82\% \sim 84\%$, 反应中每脱除 $1mgNO_x - N$ 消

耗 $6.10 \sim 6.20mgCOD$, 高于 $C/N = 5$ 系列试验中均值 $4.20 \sim 4.30$.

反应过程中 PHB 含量的变化趋势与 $C/N = 5$ 的试验结果也有所不同, 无明显的先升后降的过程, 而是随反硝化进行微生物持续合成 PHB, 直至反硝化结束. 这表明 $C/N = 7.5$ 基质富余, 缺氧颗粒污泥中反硝化细菌优先利用外界基质进行反硝化同时不断将过量摄取的乙酸转化为 PHB 储于胞内, 3 种情况下, 各时段 $\Delta COD/\Delta NO_x - N$ 最大值为 21.39 , 最小值为 4.79 , 始终大于系统进行完全反硝化的最低要求, 微生物会在反应过程中单向合成 PHB, 这也解释了基质过剩但 COD 去除率仍达 84% 以及反应中脱除 $1mgN$ 消耗 COD 有增长的原因. 以 $C/N = 450:60$ 为例, 由反硝化开始至结束, 各时段 $\Delta COD/\Delta NO_x - N$ 比值依次为 21.39 、 15.70 、 6.26 、 6.15 、 5.34 、 4.79 , 摄入乙酸始终有余量, 被转化为胞内存储物; 在图 4 还可观察到, 反硝化结束后有 PHB 的消耗现象, 这仍与胞外聚合物的生成有很大关系, 试验结束后, 颗粒污泥放置 $1h$ 左右, 原本分散的颗粒污泥出现成片的粘连现象, 废水中总糖含量上升.

表 5 为 $C/N = 7.5$ 时, 反硝化过程中与 PHB 相关的一些参数. 可以看出, $C/N = 7.5$ 时, 不同负荷下 PHB 的平均合成速率、PHB 最大积累量随基质浓度增加有升高趋势, 这与 $C/N = 5$ 条件下的试验结果相似, PHB 最大合成速率变化不大, 无明显

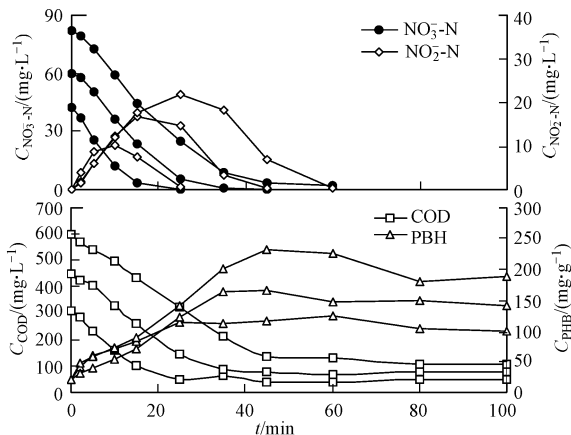


图 4 $C/N = 7.5$ 时不同负荷下周期内水质及颗粒污泥中 PHB 的历时变化

Fig. 4 Water quality and the PHB of granular sludge during a cycle under different loading with $C/N = 7.5$

规律,同时与 C/N = 5 系列试验相比也无明显提高,增加基质浓度对 PHB 合成速率影响并不显著,但从图 4 中可以看出对 $\text{NO}_x\text{-N}$ 降解速率有明显提升;此外表 5 中 Y_{STOD} 值随负荷提高递增,表明合成 PHB 的总量占反应 COD 消耗量的比例逐渐上升,这与 C/N = 5 时情况相反,表明试验中 C/N 较高时基质

充裕,可同时满足微生物进行高速反硝化以及胞内聚合物,微生物在反硝化过程中会尽可能多摄取乙酸,部分用于供给反硝化反应,部分转化为 PHB 储于胞内,并且这已经成为微生物应对长期盛食-贫食交替的一种本能反应,形成一种惯性,即使基质充足,胞内聚合物的储备仍会发生。

表 5 C/N = 7.5 时不同负荷下 PHB 的相关参数

Table 5 PHB parameters under different loading with C/N = 7.5

初始浓度 C/N = 7.5	平均合成 V_{PHB} /($\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	最大合成 V_{PHB} /($\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	PHB 峰值 P_{PHB} /($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	Y_{STOD}	$\frac{\Delta\text{PHB}}{\Delta\text{NO}_x\text{-N}}$
300:40	0.228	0.363	125.1	0.38	2.29
450:60	0.245	0.346	166.5	0.43	2.42
600:80	0.281	0.359	232.0	0.45	2.93

4 结论 (Conclusions)

1) 本试验中 SBR 在 C/N = 5, 容积负荷为 $160 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 的条件下长期运行, 周期内缺氧颗粒污泥中 PHB 存在先增长后衰减的过程, 周期末端缺氧颗粒污泥中 PHB 含量为 0.75% ~ 1.0%, 反硝化过程中 PHB 合成阶段, 微生物每消耗 1gCOD 可合成 PHB 390mg。

2) 当 C/N = 5, 容积负荷分别为 320、480、640 $\text{g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 时, 周期内颗粒污泥 PHB 含量变化规律与日常运行周期相似, PHB 的平均合成、消耗速率随基质浓度提高而加快, 表明基质浓度高有利于 PHB 合成; Y_{STOD} 为 0.25 ~ 0.35 与 $\Delta\text{PHB-COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 比值随负荷增加呈递减趋势, 表明缺氧颗粒污泥中微生物在乙酸充足时, 反硝化过程中优先利用乙酸进行反硝化。

3) C/N = 5 不同负荷情况下, 均出现乙酸与 PHB 的共同降解现象, 并且 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 的比值可间接指示缺氧颗粒污泥中 PHB 含量处于增加或削减状态。

4) 当 C/N = 7.5 乙酸供给过剩时, $\Delta\text{COD}/\Delta\text{NO}_x\text{-N}$ 为 6.10 ~ 6.20 明显高于 C/N = 5 情况下对应值 4.20, 反硝化过程中缺氧颗粒污泥 PHB 含量不断上升, 反硝化无需利用 PHB, Y_{STOD} 为 0.38 ~ 0.45 随负荷提高而增大, 缺氧颗粒污泥中微生物在乙酸富余的情况下会尽可能多摄入乙酸并以 PHB 的形式储存于细胞内。

mail: zhaohm@chd.edu.cn.

参考文献 (References):

- Avcioglu E, Karahan-Gul O, Orhon D. 2003. Estimation of stoichiometric and kinetic coefficients of ASM3 under aerobic and anoxic conditions via respirometry [J]. *Water Science and Technology*, 48 (8): 185-194
- Beccari M, Dionisi D, Giuliani A, et al. 2002. Effect of different carbon sources on aerobic storage by activated sludge [J]. *Water Science and Technology*, 45 (6): 157-168
- Beun J J, Paletta F, van Loosdrecht M C M, et al. 2000a. Stoichiometry and kinetics of poly-b-hydroxybutyrate metabolism in aerobic, slow growing, activated sludge cultures [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 67 (4): 379-389
- Beun J J, Verhoef E V, van Loosdrecht M C M, et al. 2000b. Stoichiometry and kinetics of poly-b-hydroxybutyrate metabolism under denitrifying conditions in activated sludge cultures [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 68 (5): 496-507
- Braunegg G, Sonnleitner B, Lafferty R M A. 1978. Rapid gas chromatographic method for the determination of poly- β -hydroxybutyric acid in microbial biomass [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 6(1): 29-37
- Cech J S, Chudoba J. 1983. Influence of accumulation capacity of activated sludge microorganisms on kinetics of glucose removal [J]. *Water Research*, 17(6): 659-666
- Ciggin A S, Karahan O, Orhon D. 2007. Effect of feeding pattern on biochemical storage by activated sludge under anoxic conditions [J]. *Water Research*, 41(4): 924-934
- Daigger G T, Grady C P L. 1982. The dynamic of microbial growth on soluble substrates: A unifying theory [J]. *Water Research*, 16(4): 368-382
- Dircks K, Beun J J, van Loosdrecht M C M, et al. 2000. Glycogen metabolism in aerobic mixed cultures [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 73 (2): 85-94
- Donisi D, Majone M, Ramadori R, et al. 2001. The storage of acetate

- under anoxic conditions [J]. *Water Research*, 35(11):2661-2668
- 方芳, 朱润晔, 张丽丽, 等. 2008. 好氧颗粒污泥共代谢降解 MTBE 及微生物群落研究 [J]. *环境科学学报*, 28(11):2206-2212
- Fang F, Zhu R Y, Zhang L L, *et al.* 2008. Biodegradation of MTBE under a Co-substrate condition by and microbial community structure [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 28 (11):2206-2212 (in Chinese)
- Federico A D D, Mauro M A P, Roberto R V T. 2003. Effect of periodic feeding in sequencing batch reactor on substrate uptake and storage rates by a pure culture of *amaricoccus kaplicensis* [J]. *Water Research*, 37(3):2764-2772
- 姜潇, 王毅力, 张桐, 等. 2008. 厌氧折流板反应器 (ABR) 中成熟颗粒污泥的分形分析 [J]. *环境科学学报*, 28 (4):647-658
- Jiang X, Wang Y L, Zhang T, *et al.* 2008. Fractal analysis on mature granular sludge in an anaerobic baffled reactor (ABR) [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 28 (4):647-658 (in Chinese)
- Karahan O, van Loosdrecht M C M, Orhon D. 2003. Modification of activated sludge model no. 3 considering direct growth on primary substrate [J]. *Water Science and Technology*, 47 (11):219-225
- 刘小英, 赵红梅, 彭党聪. 2008. SBR 中生物除磷颗粒污泥的反硝化聚磷研究 [J]. *环境科学*, 29(8):2255-2259
- Liu X Y, Zhao H M, Peng D C. 2008. Denitrifying Phosphate uptake of biological phosphorous removal granular sludge in SBR [J]. *Environmental Science*, 29(8):2255-2259 (in Chinese)
- Liu Y, Tay J H. 2004. State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment [J]. *Biotechnology Advances*, 22(7):533-563
- Majone M, Massaniso P, Ramadori R. 1998. Comparison of carbon storage under aerobic and anoxic conditions [J]. *Water Science and Technology*, 38 (8-9): 77-84
- Majone M, Dircks K, Beun J. 1999. Aerobic storage under dynamic conditions in the activated sludge processes. The state of the art [J]. *Water Science and Technology*, 39(1):61-73
- Mino T, van Loosdrecht M C M, Heijnen J. 1998. Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process [J]. *Water Research*, 32(11):3193-3207
- Pagacova P, Galbova K, Drtil M, *et al.* 2010. Denitrification in USB reactor with granulated biomass [J]. *Bioresource Technology*, 101 (1): 150-156
- Qin L, Liu Y, Tay J H. 2005. Denitrification on poly- β -hydroxybutyrate in microbial granular sludge sequencing batch reactor [J]. *Water Research*, 39(8):1503-1510
- Smolders G J F, Vander M J, Van Loosdrecht M C M, *et al.* 2001. Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: Stoichiometry and pH influence [J]. *Bioeng Biotech*, 76 (1):32-43
- van Loosdrecht M C M, Pot M A, Heijnen J J. 1997. Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses [J]. *Water Science and Technology*, 35 (1):41-47
- Yagci N, Artan N, Cokgor E U, *et al.* 2003. Metabolic model for acetate uptake by a mixed culture of phosphate- and glycogen-accumulating organisms under anaerobic conditions [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 84 (3):359-373
- 国家环保局. 2002. 水和废水监测分析方法 (第 4 版) [M]. 北京: 中国环境科学出版社
- Environmental Protection Agency. 2002. *Water and Wastewater Monitoring and Analysis Method (Fourth edition)* [M]. Beijing: China Environmental Science Press (in Chinese)
- Pagacova P, Galbova K, Drtil M, *et al.* 2010. Denitrification in USB reactor with granulated biomass [J]. *Bioresource Technology*, 101 (1): 150-156