

# 膜曝气生物膜反应器同步硝化反硝化研究

胡绍伟<sup>1</sup>, 杨凤林<sup>1\*</sup>, 刘思彤<sup>1</sup>, 宫正<sup>2</sup>

(1. 大连理工大学环境与生命学院, 工业生态与环境工程教育部重点实验室, 大连 116024; 2. 北京师范大学环境学院, 北京 100875)

**摘要:** 炭膜作为膜曝气生物膜反应器膜组件处理人工合成废水, 在单一反应器内实现了同时去碳脱氮. 结果表明, 当进水 COD 和  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  浓度分别为 338 mg/L 和 75 mg/L, HRT 为 14 h, 炭膜腔内压力为 13.6 kPa 时, COD、 $\text{NH}_4^+-\text{N}$  和 TN 的去除效率分别为 82.5%、95.1% 和 84.2%. 但是在反应器运行的后期 TN 去除效率明显下降, 主要是因为高有机负荷导致无纺布上的微生物过度繁殖, 严重影响了硝化过程的进行. 通过荧光原位杂交和扫描电镜技术观察生物膜微生物结构, 得出厌氧或兼氧菌主要分布在生物膜外层的缺氧区, 而氨氧化菌主要分布在生物膜内层的好氧区. 硝化细菌和反硝化细菌在生物膜内的共存实现了炭膜曝气生物膜反应器的同步硝化反硝化.

**关键词:** 膜曝气生物膜反应器; 同步硝化反硝化; 氨氧化菌; 荧光原位杂交

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)02-0416-05

## Simultaneous Nitrification and Denitrification of Membrane-Aerated Biofilm Reactor

HU Shao-wei<sup>1</sup>, YANG Feng-lin<sup>1</sup>, LIU Si-tong<sup>1</sup>, GONG Zheng<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Industrial Ecology and Environmental Engineering, Ministry of Education, School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China; 2. School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

**Abstract:** A carbon membrane-aerated biofilm reactor was developed to treat municipal wastewater, in which the carbon and nitrogen were removed simultaneously. The results showed that COD removal,  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  removal and TN removal efficiency could reach 82.5%, 95.1% and 84.2%, respectively, under the conditions of intra-membrane pressure of 13.6 kPa, HRT of 14 h, influent COD and  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  concentrations of 338 mg/L and 75 mg/L. However, in the last period during the operation of the reactor, the TN removal efficiency dramatically decreased because of the excessive growth of biomass on the nonwoven fiber, which also had serious negative effect on nitrification course. The microbiological community and spatial profiles were observed by fluorescence *in situ* hybridization and scanning electron microscopy. The anaerobic and anoxic bacteria were mainly located in the outer anaerobic region of the biofilm, while the aerobic ammonium oxidizing bacteria were mainly located in the inner aerobic region of the biofilm. The co-existing and coupling effect of aerobic nitrifying bacteria and anaerobic denitrifying bacteria provided the large biological potential for the simultaneous nitrification and denitrification in the carbon membrane-aerated biofilm reactor.

**Key words:** membrane aerated biofilm reactor (MABR); simultaneous nitrification and denitrification (SND); aerobic ammonium oxidizers (AOB); fluorescence *in situ* hybridization (FISH)

生物脱氮由硝化和反硝化 2 个连续的过程组成, 而硝化过程又是其关键所在<sup>[1]</sup>. 在好氧条件下氨氮通过硝化作用转变为硝态氮, 然后在厌氧条件下通过反硝化作用最终转变为氮气, 所以生物脱氮通常在 2 个反应器内完成<sup>[2]</sup>. 由于硝化过程的产物即为反硝化过程的反应物, 反硝化过程所产生的碱度又是硝化过程所必需的<sup>[3]</sup>, 所以在单一反应器内能够实现上述 2 个过程对于生物脱氮十分有利.

膜曝气生物膜反应器(MABR)是近 10 年发展起来的一种新型水加工工艺<sup>[4, 5]</sup>, 其膜组件既作为氧传质的通道, 又作为微生物附着的载体. 由于氧气与液相中污染物的逆向传质, 在生物膜内部形成了氧

气浓度梯度, 从而实现了单一反应器内好氧和厌氧环境的共存. MABR 工艺在处理含酚类、二甲苯和醋酸盐等污染物废水中达到了良好的效果<sup>[6-8]</sup>, 但是直接证实在其生物膜内部同时存在硝化反硝化还鲜有报道.

本试验所构建的炭膜曝气生物膜反应器 (CMABR) 传质模型如图 1 所示, 采用外层包裹无纺

收稿日期: 2008-03-19; 修订日期: 2008-06-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(50578023)

作者简介: 胡绍伟(1980-), 男, 博士研究生, 主要研究方向为膜曝气生物膜反应器与厌氧折流板反应器的耦合协同作用机制, E-mail: hushaowei2003@sina.com

\* 通讯联系人, E-mail: yangfl@dlut.edu.cn

布的多微孔炭管作为生物膜载体, 以纯氧为气源, 配合荧光原位杂交 (FISH) 和扫描电镜 (SEM) 技术分析手段, 对 CMABR 实现同步硝化反硝化的可行性以及相应的微生物群落分布进行研究。

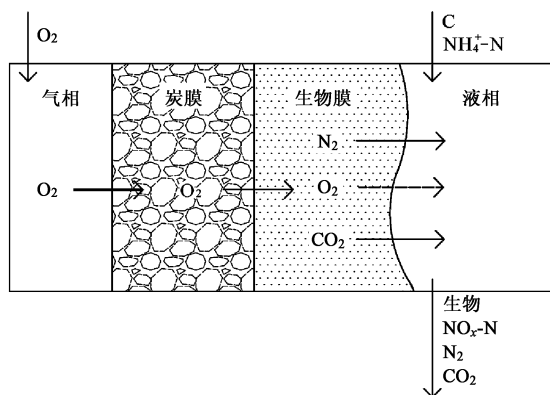


图 1 炭膜曝气生物膜传质模型

Fig. 1 Substance transmission character of CMAB

## 1 材料与方法

### 1.1 模拟废水

试验用水为模拟生活污水, 其中葡萄糖为进水中唯一碳源, 氯化铵为唯一氮源, 微量元素组成 ( $\mu\text{g/L}$ ) 如下:  $\text{CuCl}_2$  30,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  50,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  50,  $\text{ZnCl}_2$  50,  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  50, EDTA 1000,  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  50,  $\text{NaSeO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  100,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  50.  $\text{NaHCO}_3$  溶液调节 pH 在 7.5~ 8.0 之间。

### 1.2 膜组件特性

试验所用炭膜由大连理工大学化工学院提供, 以煤为原材料通过高温热解炭化而成, 具有一定机械强度、化学稳定性<sup>[9]</sup>和氧传质能力<sup>[10]</sup>。膜组件由 16 根炭管  $4 \times 4$  排列组成, 为增强微生物的附着能力和防止生物膜受水力剪切而脱落, 每根炭膜表面包裹一层无纺布, 具体特性如表 1 所示。

表 1 炭膜特性

Table 1 Characteristics of carbon tube

内径 /mm	外径 /mm	壁厚 /mm	长度 /mm	孔径 / $\mu\text{m}$	无纺布厚度 /mm
4.7	8.9	2.1	200	1	2.8

### 1.3 试验装置

试验装置如图 2 所示。反应器由有机玻璃制成, 顶部密封加盖, 有效容积为 2.4 L, 内置的加热装置保持水温在  $32 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 。进水由进水水泵打入反应器, 出水通过反应器上部的溢流口排出, 循环水泵的

流量为 3 L/min, 不仅保证反应器内部液相处于混流状态, 同时对生物膜表面产生足够的水力剪切作用。

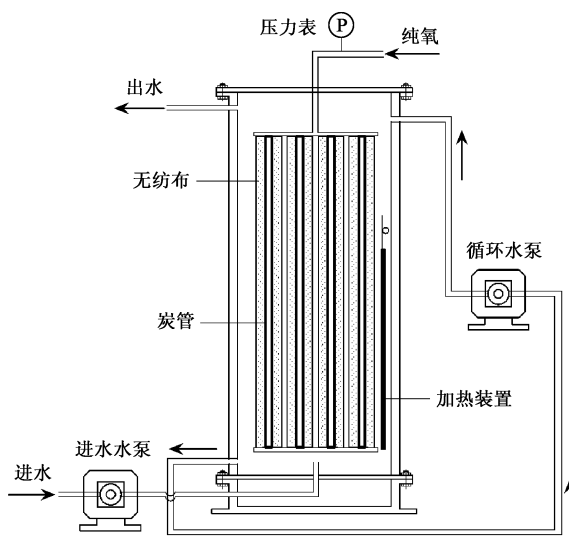


图 2 炭膜曝气生物膜反应器系统流程

Fig. 2 Schematic diagram of carbon membrane-aerated biofilm reactor

为了提高氧传质可操控性和氧在溶液中的饱和浓度, 使用氧气瓶 (纯度为 99.9%, 大连光明特气站) 作为气源<sup>[11]</sup>, 利用精密压力表 (晋制 03000121 型, 阳泉) 读取膜内压力, 底部采用封闭式设计以此提高氧气的利用效率。

### 1.4 分析方法

COD、氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮等均采用国家标准方法分析, 水中 pH 和溶解氧浓度 (DO) 分别采用 pH 计 (Sartorius AG) 和溶解氧分析仪 (YSI, Model 55, USA) 监测, 总氮采用 TOC (TOG-VCPH, Shimadzu) 分析仪测定。生物膜内部微生物群落结构和表面形态结构则分别利用 FISH 和 SEM (JEOL JSM-5600LV, Tokyo, Japan) 进行观察。

### 1.5 氧气供给速率 (OSR) 的测定

OSR 是衡量氧透过膜壁扩散到液相能力的标准, 是反应器运行性能的重要参数之一, 过量的 OSR 会使得生物膜和反应期内的 DO 处于较高的状态, 严重抑制反硝化过程的发生; OSR 过低, 会因为硝化细菌竞争不到足够的氧而无法进行硝化过程。所以反应器运行之前需进行 OSR 的测定<sup>[12]</sup>。首先将溶解氧电极放入注满蒸馏水的反应器内部, 曝氮气至溶解氧为 0。然后启动循环水泵, 流量控制在 6 L/min, 打开膜组件气压调节阀, 使其在不同压力下曝气, 同时记录每个稳态下的溶解氧值, 其随时间变化的直线区域的斜率值就是氧气供给速率。

## 1.6 FISH 样品的制备及特性分析

在附着生物膜无纺布的外侧和内侧分别用无菌剃须刀切下一小块,然后使用消毒的毛刷轻轻刷下其上附着的生物膜样品,并立刻用新鲜配制的 4% 多聚甲醛溶液固定 2 h,后续试验方法参照 Manz 等<sup>[13-15]</sup>人使用的杂交程序.样品制备完毕后用荧光显微镜(Olympus BX51)检测样品杂交信号,所得图像使用 Adobe Photoshop 8.0 软件进行合成.

## 2 结果与讨论

### 2.1 OSR 的确定

控制 OSR 对于 CMABR 的稳定运行十分重要,如果 OSR 不足,生物膜内侧的硝化细菌与异氧菌的竞争处于劣势,影响硝化效果;如果 OSR 过大,不但在生物膜的外侧很难形成压氧层,而且氧有可能超过炭膜泡点以气泡的形式释放.试验中使用氧气压力调节阀调节 OSR,两者的相互关系如图 3 所示.

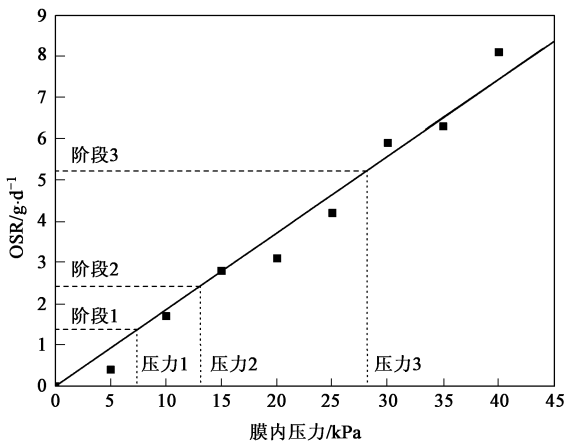


图3 OSR 与膜内压力的关系

Fig.3 Relationship between OSR and intermembrane pressure

根据以前的研究结果<sup>[16]</sup>,本试验分为 3 个连续的阶段运行,具体操作参数如表 2 所示.在每阶段运行时,假设水中的有机碳和氨氮分别被完全转化为  $\text{CO}_2$  和  $\text{NO}_3^--\text{N}$ ;氧气的利用率为 100%,以此计算所需的 OSR,然后在图 3 中确定相应的膜内压力.

表 2 运行条件

Table 2 Operating conditions

运行阶段	HRT /h	进水 COD / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	进水氨氮 / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	所需 OSR / $\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$	操作压力 /kPa
1	18	225	50	1.45	6.9
2	14	338	75	2.49	13.6
3	10	450	100	5.23	28.7

### 2.2 CMABR 运行处理效果

首先将驯化好的硝化活性污泥( $\text{MLSS} = 5000 \text{ mg/L}$ )注满反应器,膜内压力控制在 6.9 kPa,此时容器底部设置曝气管进行适当强度的曝气,防止污泥堆积形成厌氧死角.闷曝 3 d 后排出泥水混合物,发现无纺布上已有明显的微生物附着.之后反应器采用连续进水方式,底部进入人工废水,顶端出水.

反应器对 COD、氨氮和 TN 的去除效果分别如图 4 所示,结果表明 CMABR 在运行期间具有良好的去碳脱氮性能.第 20 d 后,出水 COD 不但趋于稳定,而且没有随着进水 COD 的突然升高而产生波动,表明无纺布所吸附的高浓度微生物群体使得反应器具有较强的抗冲击能力.3 个阶段的 COD 去除效率依次为 77.4%、82.5% 和 83.8%.

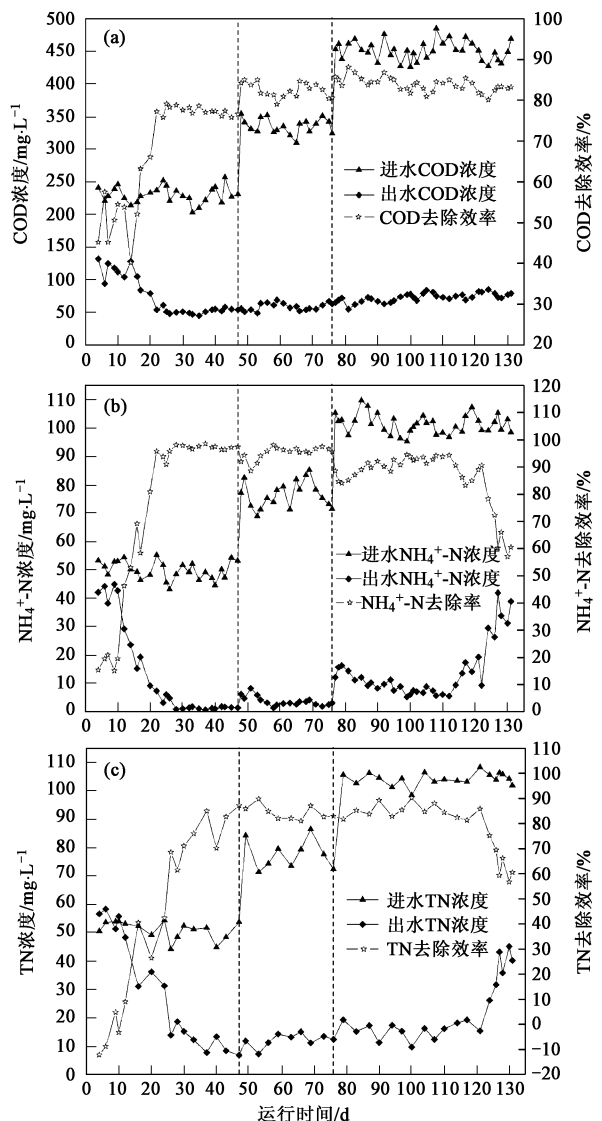


图4 CMABR 对 COD、氨氮和 TN 的去除效果

Fig.4 Evolution of COD,  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  and TN removal during the operation of CMABR

虽然反应器在第 26 d 之后对氨氮的去除具有较高的效率, 3 阶段稳定时期分别为 97.2%、95.1% 和 90.6% [图 4(b)], 但是 TN 的去除效果直至第 43 d 后才趋于稳定[图 4(c)]. 其主要原因为: 无纺布上生物膜形成的初期, 膜的厚度较薄, 过剩的氧很容易将其穿透扩散到液相中, 经测量此阶段 DO 平均浓度 > 1 mg/L, 出水中含有一定浓度的亚硝酸盐和硝酸盐, 并且浓度波动较大(数据未给出). 说明高 DO 浓度严重抑制了反硝化过程的进行, 影响了 TN 的去除效果. 随着生物膜的不断增厚, 逐步形成了内层好氧、外层厌氧的独特结构, 使得反硝化过程在生物膜外侧得到充分的进行, TN 的去除效率始终保持在 80% 以上, 偶尔能够达到 90% 以上. 出水中很难检测到硝酸盐的存在, 仅有少量的亚硝酸存在.

在第 3 阶段的后期, 较高的有机负荷导致了好氧异养菌的过度繁殖, 这样不仅消耗了大量的氧气, 使得本身就不具备竞争优势的硝化菌因无法得到充足的氧而失去活性, 而且使得生物膜过度增厚, 阻碍了氨氮由液相向生物膜内层的传递, 所以氨氮和 TN 的去除效果明显下降, 这与 Terada 等<sup>[12]</sup>的研究结果相一致.

Terada 等<sup>[12]</sup>同时也指出, 当液相中的游离氨浓度 > 150 mg/L 时, 会对氨氧化菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub>-OB)产生活性抑制作用, 影响硝化过程的进行. 在本试验条件下, 溶液中的游离氨浓度均处于 50 mg/L 以下, 所以可以断定是生物膜的过度增厚导致了反应器处理性能的下降, 并非游离氨浓度过高所致. 由此可见, 如何控制生物膜的有效厚度, 是 CMABR 成功运行的关键所在.

### 2.3 生物膜结构特征

由于 AOB 是硝化过程的决定性因素, 所以本试验没有准备 NOB 的特异性荧光探针, 使用 FISH 技术仅观测 AOB 在生物膜内的存在位置. 生物膜样品取自反应器稳定运行的第 60 d, 经过预处理后采用  $\beta$ -亚纲的所有氨氧化细菌的特异探针 NSO190 和所有真细菌的特异性探针 EUB338 进行杂交. NSO190 采用 TRITC 荧光染料 5' 末端标记成红色, EUB338 采用 Cy5 荧光染料 5' 末端标记成蓝色, 杂交结果如图 5 所示.

图 5A 和 5C 分别为生物膜外侧和内侧的微生物显微照片, 而图 5B 和 5D 则分别是同视野下经过合成的荧光显微照片. 可以看出 AOB 在生物膜中的分布情况, 生物膜外层仅有少量的 AOB 存在(图 5B), 推断主要以厌氧菌或兼氧菌为主; 而大量

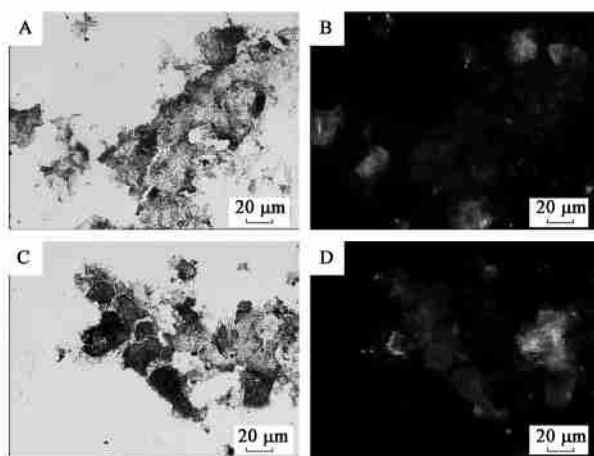


图 5 CMABR 的生物膜 FISH 照片

Fig. 5 FISH micrographs of the biofilm in the CMABR

的 AOB 和其它真细菌共存于生物膜的内层(图 5D), 说明炭膜表面较高的溶解氧浓度为 AOB 的生长提供了良好的环境. 图 6A 和 6B 分别为生物膜外层和内层的扫描电镜照片, 可以明显看出, 微生物的形态存在明显的差异, 外层主要以椭圆菌和球杆菌聚集成的细菌簇为主, 带有少量的丝状细菌, 而内层主要以个体的杆菌和球菌为主.

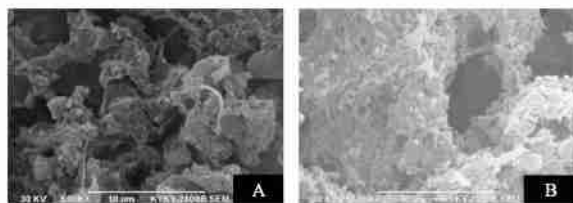


图 6 CMABR 的生物膜扫描电镜照片

Fig. 6 SEM photos of the biofilm in the CMABR

近些年的相关研究均表明<sup>[17, 18]</sup>, MABR 的独特结构使得生长在供氧膜表面的好氧自养菌能够得到充足的氧, 避免了与好氧异养菌对氧气竞争的劣势, 同时在生物膜的外层为厌氧、兼氧反硝化菌提供了适宜的生长环境. 上述研究结果证明 CMABR 的脱氮过程由生物膜内层的硝化过程和外层的反硝化过程共同完成, 硝化菌与反硝化菌在生物膜内的共存实现了在单一反应器内的同步硝化反硝化.

### 3 结论

(1) CMABR 能够有效地去除人工合成废水中的 C 和 N, 当进水 COD 和氨氮浓度分别为 338 mg/L 和 75 mg/L, HRT 为 14 h, 炭膜腔内压力为 13.6 kPa 时, COD、氨氮和 TN 的去除效率分别为 82.5%、

95.1%和84.2%.

(2) 通过 FISH 和 SEM 对生物膜的观察表明, CMABR 的生物膜存在外层厌氧和内层好氧的分层结构, 硝化菌和反硝化菌在膜内的共生实现了同步硝化反硝化的过程.

(3) 为了 CMABR 能够长期稳定的运行, 一方面要保证生物膜与废水的高效接触, 另一方面要严格控制生物膜的厚度, 所以反应器的运行操作条件需要进一步地优化研究.

#### 参考文献:

- [ 1 ] Zhang T C, Fu Y C, Bishop P L. Competition for substrate and space in biofilms [ J ]. *Water Environ Res*, 1995, **67**(6): 992-1003.
- [ 2 ] Hong W Z, Donald S M, William K O, *et al.* Controlling factors for simultaneous nitrification and denitrification in a two-stage intermittent aeration process treating domestic sewage [ J ]. *Water Res*, 1999, **33**(4): 961-970.
- [ 3 ] Menoud P, Wong C H, Robinson H A, *et al.* Simultaneous nitrification and denitrification using siporax<sup>TM</sup> packing [ J ]. *Water Sci Technol*, 1999, **40**(4-5): 153-160.
- [ 4 ] Timberlake D L, Strand S E, Williamson K J. Combined aerobic heterotrophic oxidation, nitrification and denitrification in a permeable support biofilm [ J ]. *Water Res*, 1988, **22**(12): 1513-1517.
- [ 5 ] Casey E, Glennon B, Hamer G. Biofilm development in a membrane-aerated biofilm reactor: effect of intramembrane oxygen pressure on performance [ J ]. *Bioprocess Eng*, 2000, **23**: 457-465.
- [ 6 ] Debus O, Baumgaert H, Sekoulov I. Influence of fluid velocities on the degradation of volatile aromatic compounds in membrane bound biofilms [ J ]. *Water Sci Technol*, 1994, **29**(10-11): 253-262.
- [ 7 ] Debus O. Transport and reaction of aromatics, O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> within a membrane bound biofilm in competition with suspended biomass [ J ]. *Water Sci Technol*, 1995, **31**(1): 129-141.
- [ 8 ] Casey F, Glennon B, Hamer G. Oxygen mass transfer characteristics in a membrane-aerated biofilm reactor [ J ]. *Biotechnol Bioeng*, 1999, **62**(2): 183-192.
- [ 9 ] 王同华, 刘淑琴, 尤隆渤. 煤基管状炭膜支撑体的研究(1) 原料性质对支撑体孔结构性能的影响 [ J ]. *煤炭转化*, 1998, **21**(3): 73-76.
- [ 10 ] 刘惠军, 杨凤林, 胡绍伟, 等. 炭膜曝气生物膜反应器处理生活污水运行特性研究 [ J ]. *环境科学*, 2007, **28**(3): 522-527.
- [ 11 ] Brinde K, Stepherson T, Semmens M. Nitrification and oxygen utilization in a membrane aeration bioreactor [ J ]. *J Membr Sci*, 1998, **144**: 197-209.
- [ 12 ] Terada A, Hibiya K, Nagai J, *et al.* Nitrogen removal characteristics and biofilm analysis of a membrane-aerated biofilm reactor applicable to high strength nitrogenous wastewater treatment [ J ]. *J Biosci Bioeng*, 2003, **95**: 170-178.
- [ 13 ] Marz W, Amann R, Ludwig W, *et al.* Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of proteobacteria: problems and solutions [ J ]. *Syst Appl Microbiol*, 1992, **15**(44): 593-600.
- [ 14 ] 刘惠军, 杨凤林, 张捍民, 等. 炭膜曝气生物膜反应器硝化作用及其微生物群落结构分析 [ J ]. *环境科学*, 2007, **28**(9): 2123-2128.
- [ 15 ] Hibiya K, Terada A, Tsuneda S, *et al.* Simultaneous nitrification and denitrification by controlling vertical and horizontal microenvironment in a membrane-aerated biofilm reactor [ J ]. *J Biotechnol*, 2003, **100**: 23-32.
- [ 16 ] Hu S W, Yang F L, Sun C, *et al.* Simultaneous removal of COD and nitrogen using a novel carbon-membrane aerated biofilm reactor [ J ]. *J Environ Sci*, 2008, **20**(2): 142-148.
- [ 17 ] Hibiya K, Terada A, Tsuneda S, *et al.* Simultaneous nitrification and denitrification by controlling vertical and horizontal microenvironment in a membrane-aerated biofilm reactor [ J ]. *J Biotechnol*, 2003, **100**(1): 23-32.
- [ 18 ] Suzuki Y, Hatano N, Ito S, *et al.* Performance of nitrogen removal and biofilm structure of porous gas permeable membrane reactor [ J ]. *Water Sci Technol*, 2000, **41**: 211-217.