



焦化废水处理中厌氧氨氧化菌的优选

[澳大利亚] S. K. Toh 等

0 前言

在焦化废水中,除含有高浓度的铵、硫氰化物、氰化物、硫化物和酚类等化合物外,还含有少量多环芳烃和杂环烃(表1)。这些致癌的、有毒的化合物和高浓度的铵盐均会对环境产生危害。

表1 焦化废水中的主要污染物

污染指标	堪培拉港*	纽卡斯尔*	美国环保局测值**
氨氮/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	330	650	5 100
氰化物/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	93	10	69
硫氰化物/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	184	400	535
酚/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	333	330	1 040
COD/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	2 200	2 000	-

*6家焦化厂的平均数据;**澳大利亚新南威尔士BHP焦化厂数据。

焦化废水中的大部分氮化物主要用生化法去除,但仍需用物化法进行预处理或深度后处理。由于焦化废水中的有机物和无机物对微生物有毒害和抑制作用,所以焦化废水的生物脱氮难度远大于城市生活污水,而传统的脱氮工艺又很难将废水中的氮化物完全硝化。为降低废水中污染物对微生物的抑制和毒害作用,防止氨氮负荷和温度对生物脱氮工艺的影响,一般采用在调节池中加水稀释的方法。然而,稀释会增加废水和污泥的处理量,使废水的处理成本随废水贮槽的增多、增大和泵功率的增加而提高。

在生物脱氮前,蒸氨工艺是降低废水中氨氮浓度的常用方法。蒸氨时需用石灰乳将废水的pH值提高到10以上,而生物脱氮的有效pH值则应控制在7~8范围内。因此,蒸氨废水中就需另加磷

酸或硫酸来调节pH值。除蒸氨法外,还可采用碱性折点氯化法、臭氧化法和用人造沸石的离子交换法等方法来降低焦化废水的含氮量。但是,若用腐蚀性液体、臭氧或其他化学试剂对废水进行预处理,其处理费用均较高。

由于生物脱氮中的硝化和反硝化过程的最佳反应条件不同,因此焦化废水的生物脱氮一般采用两段或多段生化法。在选择生化处理工艺时,首选一段活性污泥系统,由于该系统取消了中间沉淀池和反应器,使工艺流程更为简单,经济效益显著提高。然而,对一段活性污泥系统进行提高脱氮效率的研究表明,还必须延长污泥泥龄或将废水进行连续预处理。

为了不经昂贵的预处理和后处理,实现一段活性污泥系统直接对高浓度焦化废水进行生物脱氮的目的,必须使微生物群体适应焦化废水中酚、氰化物和高浓度铵的毒性。而且,由自养型厌氧氨氧化(AAAO)菌构成的活性污泥进行废水处理的优点是无需外加碳源。迄今,大部分学者认为,只有在自然界和生活污水处理系统中存在AAAO菌。研究结果表明,铵和氮氧化物在有少量有机碳源的环境中可同时反应。虽然系统中氮氧化物有很多种,但是铵和氮氧化物的反应比在1:1~1:1.5的范围内。此外,在1977年,Broda从热力学角度推算出厌氧条件下,厌氧氨氧化反应的两个化学计量关系式,即铵和氮氧化物的反应摩尔比为1:1和3:5。因此,许多研究均把氨氮和亚硝基氮的反应比作为判断厌氧氨氧化活性的依据。

本课题的研究目的是从生活污水中富集AAAO



菌群来适应人工焦化废水，以考察这种微生物能否用于处理焦化废水。因焦化废水中的主要污染物是酚和氨氮，所以在化学无机自养型 (CLABs) 培养基中慢慢加入高浓度的酚和铵，以驯化和富集生活污水。因酚对铵去除率的影响已有报道，这里不再赘述。为了防止因酚的加入导致 AAAO 菌群中异氧脱氮菌的过度繁殖，在培养初期加入氯霉素抑制其生长。因为本研究的培养基中添加了酚，所以菌群称为厌氧氨氧化 (AAO) 菌，而不是自养型厌氧氨氧化菌，尽管，酚对富集后的厌氧氨氧化菌的生长没有起到作用。

1 实验材料和方法

1.1 菌种培养

培养基的选择和富集方法前已述及，这里不再介绍。如图 1 所示，污泥的酚驯化是在带有固定支承物的 AAO 反应器中进行，反应器中的活性污泥由一半中型焦化废水处理装置的污泥和一半富集的 AAAO 菌 (经 4 个月驯化和富集) 污泥组成。为与酚驯化反应器进行平行试验，AAAO 反应器 (原反应器) 仍继续运行。



1.2 酚驯化

反应器是由 1L 的锥形长颈瓶改装而成。离瓶

底 2.5cm 处设有 4 块挡板，以使污泥充分混合。反应器放在加热的搅拌器上，以控制温度和搅拌状态。所有的连接管采用气密性好、光透过率低的黑色异丁橡胶。靠流量泵进水，重力出水。AAO 反应器运行初期，分批加入化学无机自养型 (CLABs) 培养基，加入量由 550mL 增加到 1L。在营养物质中，亚硝酸盐 (初始浓度为 5mmol) 为电子受体，而不是硝酸盐。运行后期，固定床连续运行时，添加厌氧氨氧化富集培养基 (AEM)。反应器运行过程中，器底物的浓度通过调节进水量来实现。流量从 12mL/L 逐渐增加到 30mL/L，其稀释率则从 0.012 ~ 0.030h⁻¹。

AEM 组成 (g/L): (NH₄)₂SO₄ 0.33, NaNO₂ 0.345, NaHCO₃ 1.25, KH₂PO₄ 0.0272, MgSO₄ · 7H₂O 0.3, CaCl₂ · 2H₂O 0.18, I 号示踪元素 1mL, II 号示踪元素 1mL。整个培养基分成两部分，一部分为 2 倍浓度的 I 号示踪元素溶液，另一部分是不含 I 号示踪元素的酚。实验表明，酚与 I 号示踪元素溶液中的 Fe²⁺ 离子反应使培养基显绿色。因此，Fe²⁺ 和酚通过不同的管道分别加入反应器中。营养物质采用复合养料。反应器每隔 2 ~ 3 天摇匀后出水一次，并检测氨氮、亚硝基氮和酚。

AAO 菌种的培养过程稳定后 (大约 10 周左右)，氨氮和亚硝酸盐的反应比恢复到 1:1，然后向培养基中加入酚。酚的浓度由启动时的 50 mg/L 逐渐增加到焦化废水中的浓度 (约 550mg/L)。根据酚对不同反应器中 AAO 菌种活性的影响和给定的水力停留时间 (3.78d 和 1.38d) 调整流量，从 10mL/h 增加到 30 mL/h。

在驯化初期加入氯霉素 (100 mg/L) 以抑制异养脱氮菌。如果没有氯霉素，反应器中的亚硝酸盐消耗很快，而氨氮反应不明显，异养脱氮菌活性得以显现。

1.3 分析方法

焦化废水和反应器中的酚浓度用高效液相色谱法测定。液相色谱由 HP1050 连续自动采样器、带排气装置的恒流泵和 40℃ 恒温柱组成。流动相配比为：水: 甲醇: 乙酸 = 75: 25: 0.25。在柱压低于 250kPa 的条件下，进样速率为 1.5mL/min。在组列二极管检测器中，酚在 280nm 出现单峰。样品进入色谱仪前，需要在 1.5mL 的微量离心管中振荡和通过 0.45μm 的乙酸纤维膜过滤。其检测限为



每 10 μ L 样品中酚含量为 50 μ mol。氯霉素的分析也可采用高效液相色谱法。

氨氮测定直接采用纳氏比色法。亚硝基氮也采用高效液相色谱法。流动相包括 14% 的乙腈和 86% 的水, 调整 pH 到 8.6。流动相在回压约 200kPa 的条件下, 以 1.5mL/min 流经柱子。间接

的 UV 测定波长在 360nm 处, 而又吸收峰的波长为 266nm。

1.4 化学试剂

酚为试剂级, 购买于澳大利亚 Sigma; 甲醇、乙腈和乙酸均为 HPLC 级试剂, 购买于澳大利亚 Merck。

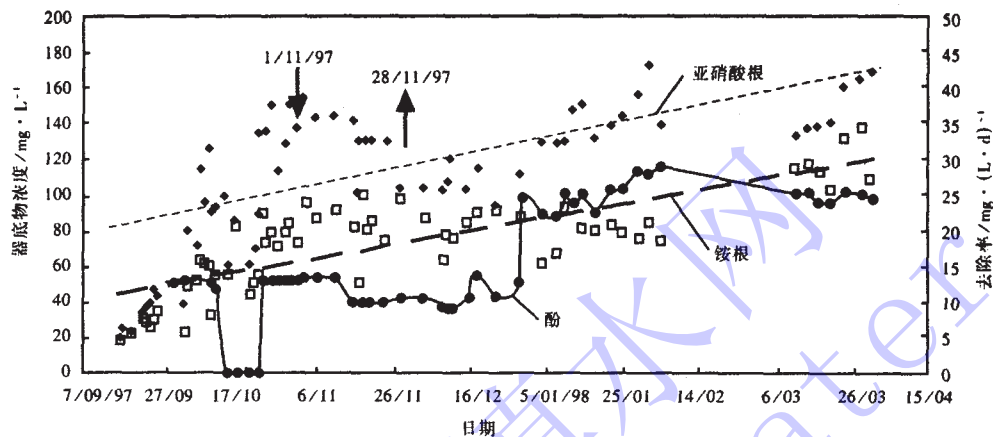


图 2A 酚对铵根和亚硝酸盐消耗的影响

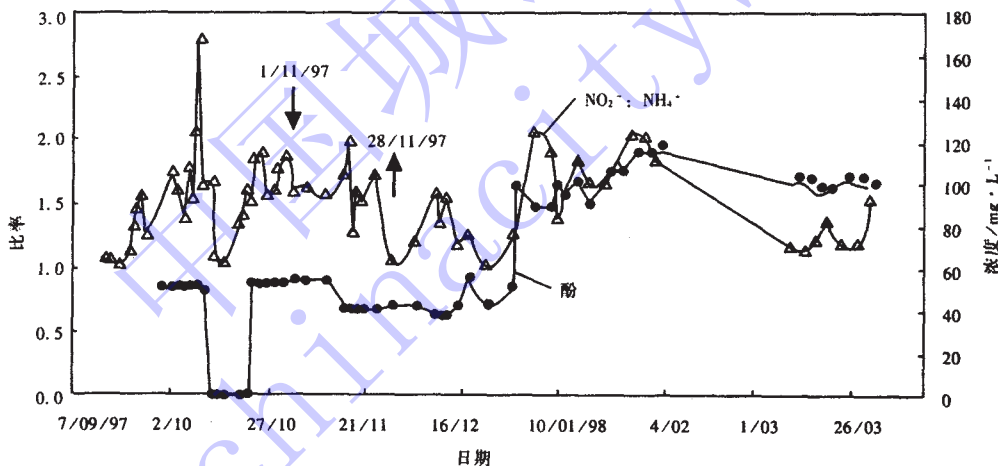


图 2B 酚对铵根和亚硝酸盐消耗比的影响

2 试验结果

2.1 酚对富集后 AAAO 菌的初步驯化

如图 2A 所示, 一旦酚加入原反应器后, 亚硝酸盐的耗量立刻增加。原反应器中的铵根和亚硝酸根消耗的比例稳定在 1:1 ~ 1:1.3 范围内, 这与文献介绍的 AAAO 反应器的数据相一致。然而, 在驯化的各个阶段, 原反应器中的氨氮和亚硝基氮的反应并不成比例, 铵盐的消耗量降低且变化不稳定。

但是, 即使刚加入酚的浓度为 50mg/L, 厌氧氨氧化 (AAO) 菌的活性立刻受到明显影响, 同时刺激了其它微生物群的生长。

为了考察 AAO 菌的活性是否可以恢复, 在 1997 年 10 月 22 日的培养基中将酚去除。结果亚硝酸盐的消耗量从 24mg/L · d 降到了 15mg/L · d, 然而氨氮的去除速率却增长了 5 ± 2 mg/L · d。在酚驯化过程中, 为防止异养型脱氮菌的生长, 用加入氯霉素的方法加以抑制。从 11 月 1 日到 28



日,培养基中加入 100mg/L 氯霉素,氨氮和亚硝酸盐的消耗比慢慢地接近 1:1~1:1.3,同目前的研究结果和对比一致。Van de Graaf 等研究表明,对于厌氧氨氧化菌,加氯霉素后可使氨氮的去除率降低 $68\% \pm 10\%$ 。考虑到这种情况,对异养型脱氮菌抑制一个月后,将氯霉素从培养基中被去除。这不仅避免了多余的氯霉素对 AAO 菌富集过程的抑制,也可防止其他负效应的产生。然而,去除氯霉素后,亚硝酸盐的消耗量增加了 $5 \pm 2\text{mg/L} \cdot \text{d}$ 。

如图 2B 所示,从 NO_2^- 消耗的波动来看,酚

浓度的增加对 AAO 菌培养有明显的影 响,亚硝酸盐的反应量的波动要强于铵盐。也就是说,即使没有氯霉素的抑制,AAO 菌对酚也能渐渐适应。在酚浓度 $50 \pm 10\text{mg/L}$ 的培养基中,驯化 3~4 个月后,若将酚浓度加倍,即调整到 $100 \pm 10\text{mg/L}$,又会出现氨氮消耗的下降,也引起了亚硝酸盐的消耗量的增长。然而,在含酚 $100 \pm 10\text{mg/L}$ 的 CLABs 培养基中培养 3 个月,氨氮和亚硝酸盐氮的消耗比渐渐回复到 1:1~1:1.3,铵盐和亚硝酸盐的消耗量逐渐增加,直到耗尽。

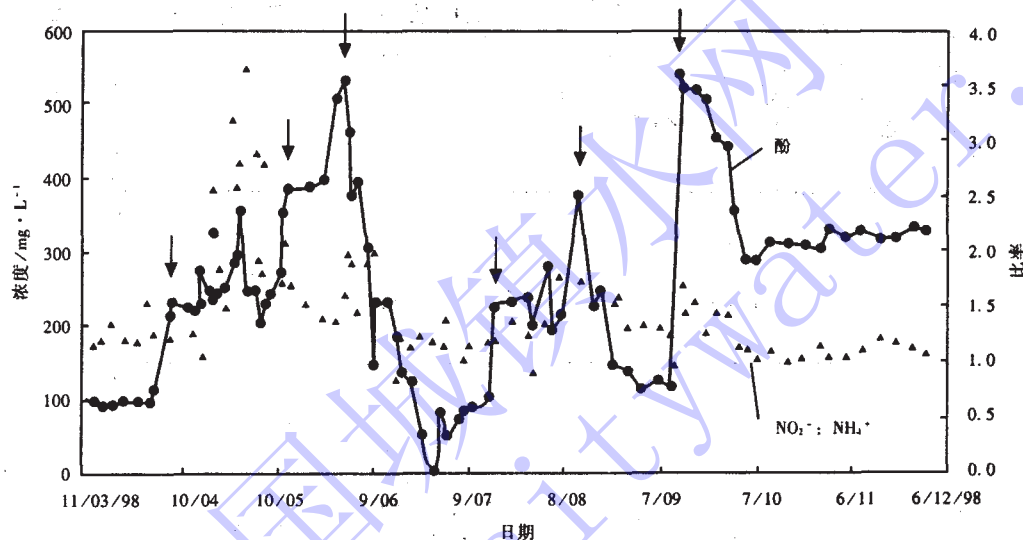


图 3 酚浓度对铵根和亚硝酸根消耗比的影响
(箭头为酚的冲击负荷)

经过 6 个多月的培养,AAO 反应器中铵盐的平均去除量从 $12\text{mg/L} \cdot \text{d}$ 提高到 $31\text{mg/L} \cdot \text{d}$,即增加了 $19\text{mg/L} \cdot \text{d}$ 。而对于原反应器,在相同的期间内,铵盐的去除量仅增加了 $7.5\text{mg/L} \cdot \text{d}$ 。结果表明,虽然酚对铵盐反应产生了波动,但厌氧氨氧化(AAO)菌的富集速率更快,或者说氨氮去除率更高。

2.2 AAO 菌对高负荷酚的适应

从图 3 可看出,当 AAO 菌适应了 100mg/L 浓度的酚后,继续加入不同浓度的酚,以考察 AAO 菌对酚的承受能力。在一个半月时间内,第一阶段酚的浓度从 $100 \pm 10\text{mg/L}$ 缓慢增加到 $350 \pm 10\text{mg/L}$,然后降到 $250 \pm 10\text{mg/L}$ 。此阶段中铵根和亚硝酸根消耗比逐渐从 1:1~1:1.5 变为 1:2.5~1:3.6。在酚浓度为 250mg/L 时,当铵根和亚硝酸根

消耗比回复到 1:1.5 后,又逐渐将酚浓度增加到 $440 \pm 10\text{mg/L}$ 和 550mg/L ,并再次降到 $250 \pm 10\text{mg/L}$ 直至到零。在酚负荷变化过程中,铵根和亚硝酸根的消耗比先增加到 1:1.9~1:2,然后随着酚浓度降低降回到 1:1.5。然而,在酚浓度逐渐减少到零的过程中,消耗比的波动并不大。

从 7 月 20 日到 10 月 7 日,相同培养条件下进行了第二阶段的酚负荷试验。培养基中酚的浓度梯度增大,依次为 $100 \pm 10 \sim 250 \pm 10\text{mg/L}$ 、 $180 \pm 10 \sim 400 \pm 10\text{mg/L}$ 和 $100 \pm 10 \sim 550 \pm 10\text{mg/L}$ 。然而,铵根和亚硝酸根的消耗量没有受到大的抑制,平均消耗比仍达到 1:1.4~1:1.7。结果表明,污泥经过第一阶段的驯化,AAO 菌已经对酚的负荷产生了抵抗力。在酚浓度 $330 \pm 10\text{mg/L}$ 下培养 2 个月,铵根和亚硝酸根消耗比一直维持在 1:1~1:

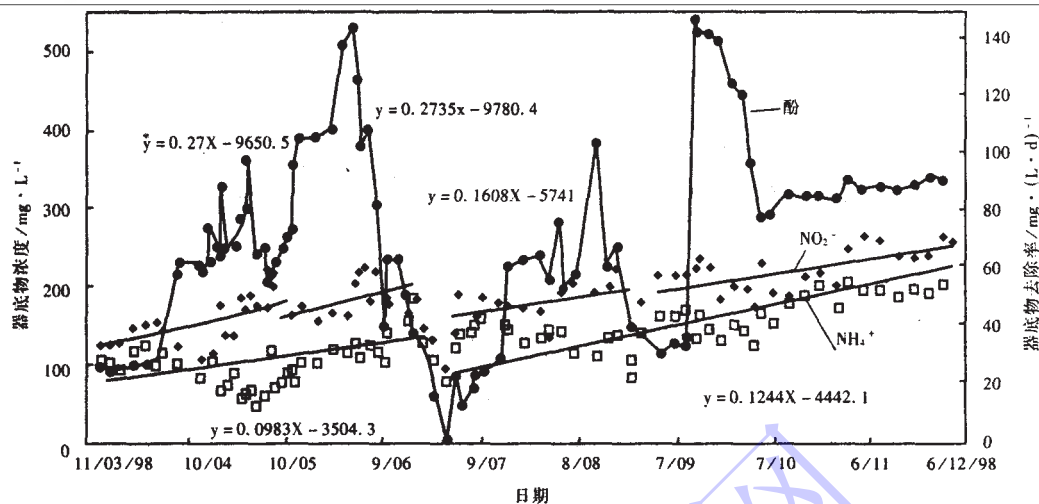


图 4A 不同的酚浓度下器底物的降解趋势曲线

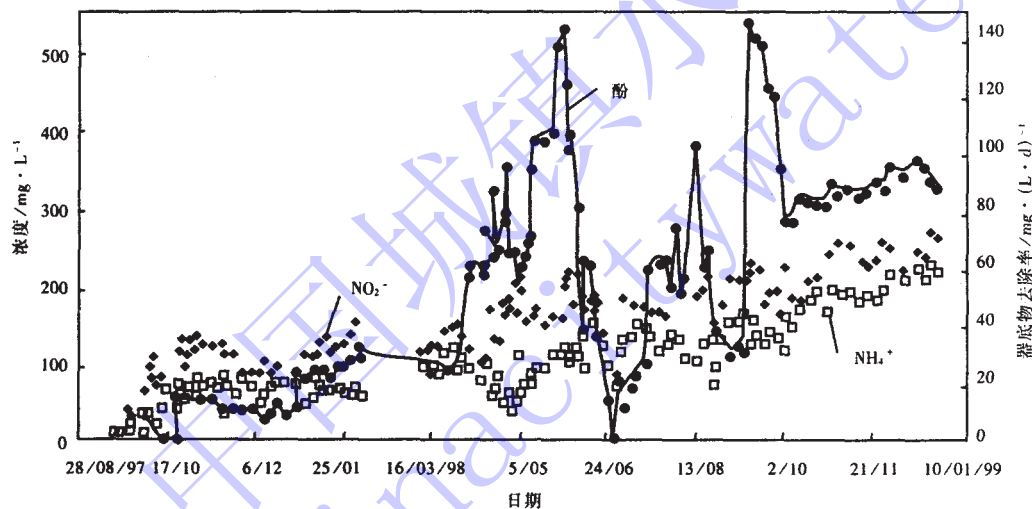


图 4B 驯化过程中的铵根与亚硝酸根的去除速率

1.3。说明 AAO 菌在高浓度酚环境下活性不易受到影响。即使酚浓度达到 550mg/L, AAO 的活性仍然可恢复。

从图 4A 可知,经过两个阶段的高浓度酚的驯化,AAO 菌的活性一直很稳定,氨氮的去除量达到了 $52 \pm 2 \text{ mg/L} \cdot \text{d}$ 。可以清晰地看到,随着酚浓度的每次增加,氨氮的消耗量也逐渐增加。

图 4A 表示的是两段驯化过程中器底物降解的趋势线。器底物去除速率的增长量和趋势线的斜率均已标出。通过对氨氮反应的曲线比较可知,在酚连续加入的两个阶段内,氨氮降解增长的曲线斜率发生了偏移。长时间在相同的酚负荷环境中,亚硝基氮反应的曲线斜率下降了。在酚负荷为 200 ~

$360 \pm 10 \text{ mg/L}$ 的两个阶段中,亚硝基氮反应的曲线斜率第一阶段是 0.270 0,第二阶段是 0.1608。同样,在酚负荷达到 550 mg/L 时,酚在 $180 \sim 550 \pm 10 \text{ mg/L}$ 范围内的亚硝基氮的反应曲线斜率是 0.273 5,酚加入 $100 \sim 550 \pm 10 \text{ mg/L}$ 的斜率是 0.175 5。相反,氨氮的反应曲线的斜率出现了增长,即从酚第一次加入的 0.098 3 到酚第二次加入的 0.1244。从图 4B 可以清晰地看出,在对 AAO 菌的酚驯化培养过程中,氨氮的去除量一直增长。氨氮的去除速率达到了 $62 \pm 2 \text{ mg/L}$,相应的亚硝基氮的去除速率达到了 $78 \pm 2 \text{ mg/L}$ 。

在驯化过程中,相对于原反应器,AAO 反应器氨氮去除速率的增长要更大。从图 5A 可知,在

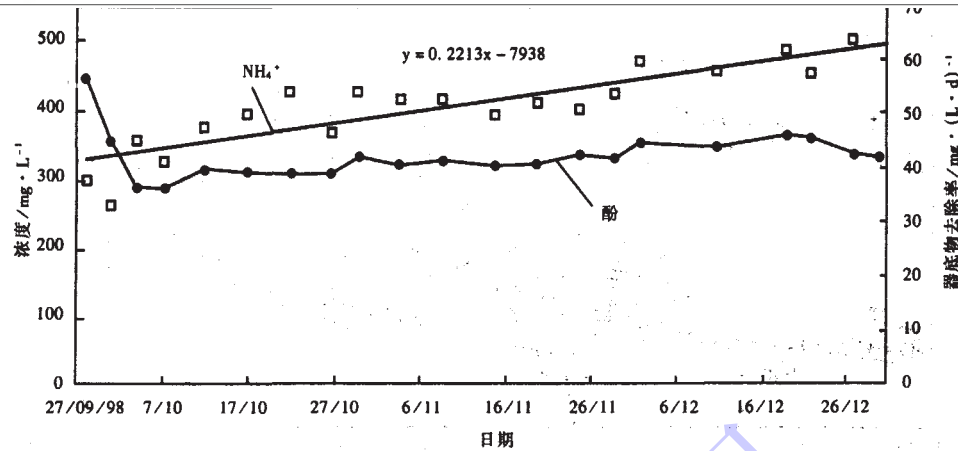


图 5A 驯化阶段，AAO 反应器中菌的富集情况

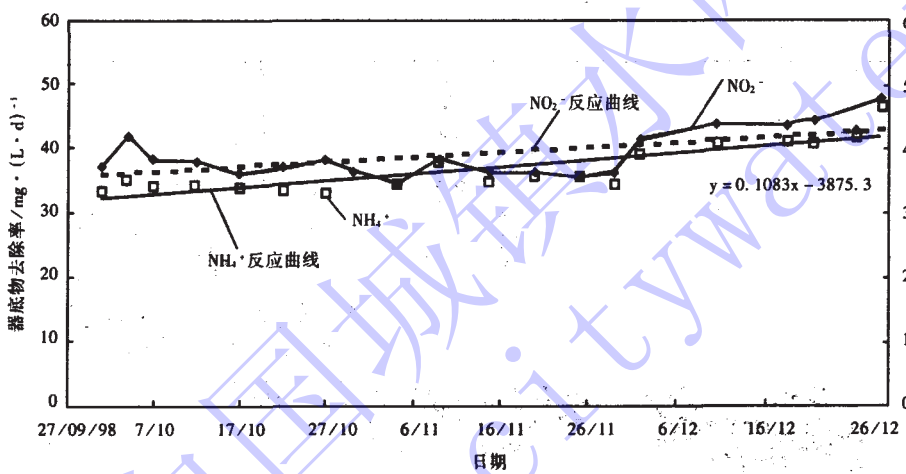


图 5B 驯化阶段，AAAO 反应器中菌的富集情况

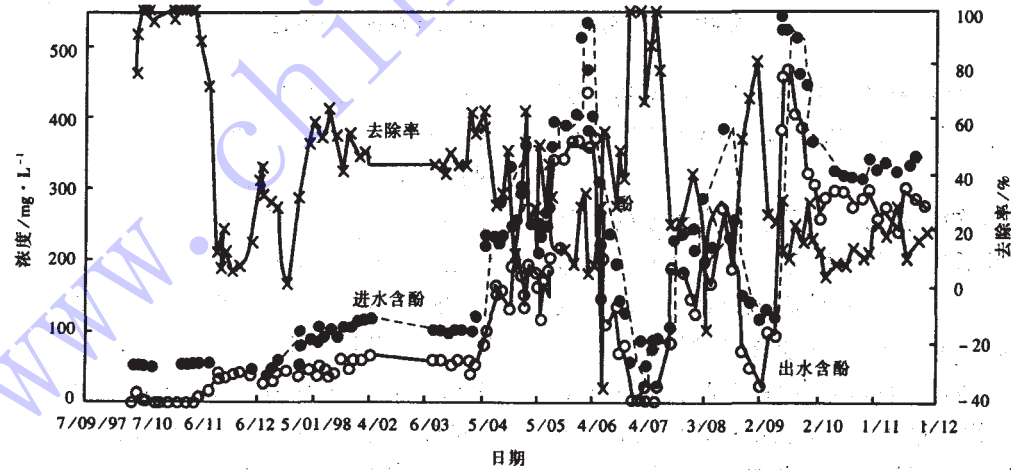


图 6 AAO 反应器中进出水酚的浓度变化

酚浓度 $330 \pm 10 \text{ mg/L}$ 时，不同反应器中氨氮反应 的增长趋势曲线的斜率是不同的。在相同的培养时



间内, AAO 反应器中的氨氮反应速率曲线斜率是 0.221, 原反应器中仅为 0.108(见图 5B)。由此表明, 在 15 个月的驯化过程中, AAO 反应器中富集的菌群具有比原反应器中更高的脱氮效率。

经过 15 个月的富集驯化, AAO 菌已经适应了高浓度酚, AAO 反应器的培养基中出现了与原反应器中一样的浅红色。

2.3 酚的降解

从图 6 可知, 从 1997 年 9 月 30 日到 11 月 7 日, 加入 AAO 反应器的酚浓度为 50 mg/L 时, 出水中未检出酚。在一个月, 氯霉素以 100mg/L 的浓度加入到反应器中(1997 年 11 月 1 日~28 日), 出水中酚的浓度几乎与加入的浓度相同, 大约 50mg/L。去除氯霉素后, 继续观察酚的降解情况, 发现酚的反应速率较低。只有当浓度低于 100mg/L 时, 酚在水力停留时间 3.2 ± 0.5 天内才可完全降解。如果酚的浓度大于 200 ± 50 mg/L, 酚的去除率低于 $40 \pm 10\%$ 。在系统稳定情况下, 进水酚的浓度保持在 330mg/L 或更高, AAO 反应器的酚去除率小于 20%。而且无论是增加酚浓度还是经过长达 15 个月的驯化, 酚的去除率都没有提高。因此进一步证明, 异养脱酚微生物在 AAO 共生菌落中不占优势。

3 讨论

许多学者已成功地从废水处理厂的污泥中富集了 AAO 菌群, 并证实了 AAO 菌处理高氨氮废水的可行性。但其研究仅局限于城市生活污水的处理。至今仍没有资料报道应用 AAO 菌处理有毒工业废水。因此, 有必要对 AAO 菌是否可应用于工业废水处理的可行性进行介绍。本文第一次介绍了采用 AAO 菌进行高氨氮有毒工业废水的处理的研究, 尤其是焦化废水的处理。这一发现对高氨氮废水的处理有重要意义。采用 AAO 菌不仅可以降低较高的废水预处理和后处理费用, 而且在不曝气和不外加碳源的情况下, 硝化反硝化可以在单一反应器中完成。

研究初期表明, 脉冲式加酚方式激活了其他亚硝酸盐菌的活性, 同时对 AAO 菌活性产生了抑制。但酚去除后, AAO 菌的活性是可恢复的。因此, 酚并不能对厌氧氨氧化反应产生永久性的影

响。

试验证实, 在缺氧条件下, 异养脱氮菌可以利用亚硝酸盐作为电子受体降解酚。这种现象可以用脱氮菌的存在来解释 AAO 菌群对酚的最初驯化。氯霉素的应用已经被证明能有效抑制反硝化反应。因此, 加入对厌氧氨氧化反应影响较小的氯霉素, 抑制了降解酚的异养型脱氮菌的活性。最终, 抑制异养型脱氮菌的富集, 保证 AAO 菌群不过度生长繁殖。

酚负荷的波动, 对氮的去除速率增加影响很小。这也表明, 即使增加酚的浓度或者延长反应时间, 厌氧脱氮反应器中的异养脱氮菌并没有参与主体反应。因此, 氨氮的去除绝大部分应归功于 AAO 菌群的作用, 而不是微生物繁殖过程中氮的同化作用。原因可能有两方面: 一是在酚驯化过程中, 出现其他的可降解酚的微生物或脱氮菌并没有被富集。然而仍有少量存在, 它们并不影响亚硝基氮和氨氮的总体反应, 而可能以其他的代谢途径降解酚。二是酚被 AAO 菌利用。Keener 和 Arp 研究表明, 在缺氧条件下, *Nitrosomonas europaea* 菌在同时硝化反硝化过程中能够利用它的转氨单氧酶 (AMO) 降解酚。实际上, AMO 可以氧化多种器底物, 也能够利用 NO、NO₂ 和 N₂O₄ 等氮氧化物作为氧化剂氧化铵。

综上所述, AAO 菌经过高浓度酚的驯化后, 其活性提高仍在继续考察。进一步驯化后, 富集后的 AAO 菌胶团对酚有较强的承受能力, 比原反应器具有更高的活性。因此, 在外加酚的条件下, 富集培养后的 AAO 菌群中可能含有微量其它的微生物或酚驯化过程中激活了反应器中不同的 AAO 反应。

总之, 焦化废水中的高浓度的酚并不能对 AAO 菌产生永久性地抑制, 其活性是可恢复的。因此, 在 BNR 工艺处理焦化废水时, 采用原反应器纯化并富集的 AAO 菌有巨大潜力。同时, AAO 菌对焦化废水中氰化物和其它有毒物质的适应性还需要继续研究。

冯卫强 单明军 吕艳丽 译自《Appl Microbiol
Biotechnol》2002, 59: 344~352.

谢兴衍 校