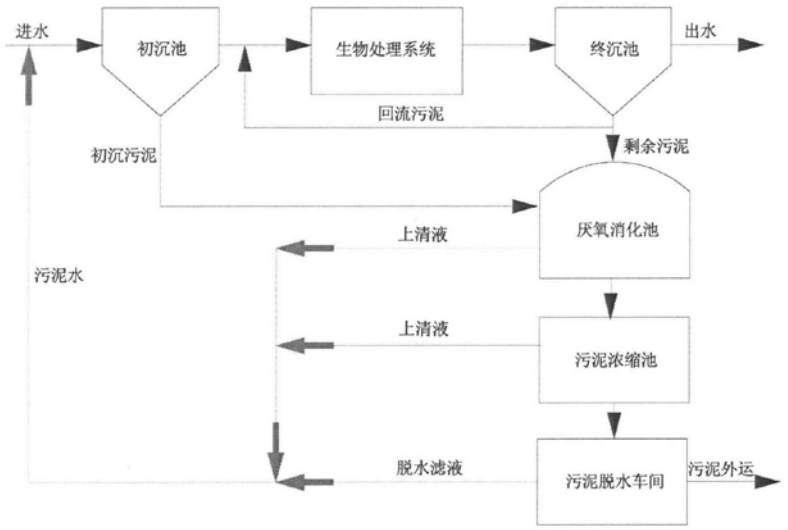


图 1-1　污泥水的来源

由图 1-1 可以看出，污泥水主要包括污泥厌氧消化池排出的上清液、后续浓缩池的上清液和污泥脱水车间排出的脱水滤液。其水量很小，仅占污水处理厂进水量的 1%~2%，但是 NH_4^+-N 负荷却占进水总负荷的 15%~25%[3~5]，这就使得处理系统的实际 NH_4^+-N 负荷高于设计负荷，有可能导致污水处理厂的出水 NH_4^+-N 浓度不能达到相关的排放标准。

1.1.2　污泥水的水质特性

污泥水具有体积小、温度高、NH_4^+-N浓度高和C/N比较低的特点[3、6~7]。不同污水处理厂的消化液性质存在较大的差异，主要取决于污水处理厂的处理工艺、消化池污泥的来源、污泥消化的温度和时间[7]。本试验用污泥水取自西安市邓家村污水处理厂厌氧消化池的上清液，其水质测定结果见表1-1。

表 1-1　污泥水的水质*

	pH	碱度（$CaCO_3$）	SS	VSS	NH_4^+-N	TKN	TCOD	SCOD	PO_4^{3-}-P	TP
mg/L	7.14	3034.7	2461	1385	625.9	812.3	1948.9	455.3	66.6	103.0

*** 表中数据为平均值**

由表 1-1 可以看出，邓家村污水处理厂的污泥水也具有高 NH_4^+-N 浓度和低C/N (SCOD/TKN=0.56)的特性。

1.2 生物脱氮原理

自然界中的氮分为有机氮和无机氮。无机氮是以氨态氮（NH_4^+、NH_3）、亚硝酸氮（NO_2^-）、硝酸氮（NO_3^-）形式存在。氮和磷都是保持微生物正常生理功能所必需的元素，即用于细胞合成。微生物的细胞合成一般可用下式表示：

$$nC_xH_yO_z + nNH_3 + n(x+\frac{y}{4}-\frac{z}{2}-5)O_2 \rightarrow (C_5H_7NO_2)_n + n(x-5)CO_2 + \frac{n}{2}(y-4)H_2O$$

（式 1-1）

按此式可以计算出细胞合成需要的氮量。

1.2.1 氨化与硝化

含氮化合物在微生物的作用下，相继产生下列各项反应。

（1） 氨化反应

有机氮化合物在氨化菌的作用下，分解、转化为氨态氮的过程称之为“氨化反应”，以氨基酸为例，其反应式为：

$$RCHNH_2COOH + O_2 \xrightarrow{\text{氨化菌}} RCOOH + CO_2 + NH_3 \qquad \text{（式 1-2）}$$

氨化是一种普遍存在的生化作用，几乎所有的异养型细菌都具有氨化功能，所以在脱氮工艺中氨化阶段的生化效率很高，通常不作为控制步骤。

（2） 硝化反应

硝化反应是生物脱氮过程中的关键步骤，在硝化菌的作用下，氨态氮进一步氧化分解，这一过程分两个阶段，首先是在氨氧化菌的作用下，氨氮（NH_4^+-N）被转化为亚硝酸氮（NO_2^--N），反应式为：

$$NH_4^+ + \frac{3}{2}O_2 \xrightarrow{\text{氨氧化菌}} NO_2^- + H_2O + 2H^+ - \Delta F \quad (\Delta F = 278.42kJ) \qquad \text{（式 1-3）}$$

继之，亚硝酸氮（NO_2^--N）在亚硝酸盐氧化菌的作用下，进一步转化为硝酸氮（NO_3^--N），其反应式为：

$$NO_2^- + \frac{1}{2}O_2 \xrightarrow{\text{亚硝酸盐氧化菌}} NO_3^- - \Delta F \quad (\Delta F = 72.27kJ) \qquad \text{（式 1-4）}$$

硝化反应的总反应式为：

$$NH_4^+ + 2O_2 \rightarrow NO_3^- + H_2O + 2H^+ - \Delta F \quad (\Delta F = 351kJ) \qquad \text{（式 1-5）}$$

（3） 硝化菌

氨氧化菌和亚硝酸盐氧化菌统称为硝化菌，硝化菌是化能自样型菌，革兰氏染色阴性，不生芽孢的短杆状细菌，广泛存活在土壤中，在自然界的氮循环中起

着重要作用。这类细菌的生理活动不需要有机性营养物质，可利用 CO_2 获取碳源，从无机物的氧化中获取能量。

在《伯杰氏系统细菌学手册》第一版中，氨氧化菌被划分为五个属，即氨氧化单胞菌 *Nitrosomonas*，氨氧化球菌 *Nitrosococcus*，氨氧化螺旋菌 *Nitrosospira*，氨氧化叶菌 *Nitrosolobus* 和氨氧化弧菌 *Nitrosovibrio*[8]，它们的形态特征及其生存环境见表 1-2[9]。

表 1-2　氨氧化菌各种属的形态与生存环境

特征	氨氧化单胞菌 *Nitrosomonas*	氨氧化球菌 *Nitrosococcus*	氨氧化螺旋菌 *Nitrosospira*	氨氧化叶菌 *Nitrosolobus*	氨氧化弧菌 *Nitrosovibrio*
细胞形态	杆状至椭球状	球状至椭球状	紧密螺旋状	多形态	细长弧状
细胞大小 (mm)	(0.7~1.5)×(1.0~2.4)	(1.5~1.8)×(1.7~2.5)	(0.3~0.8)×(1.0~8.0)	(1.0~1.5)×(1.0~2.5)	(0.3~0.4)×(1.0~3.0)
鞭毛	极生至偏极生	丛生或单生	周生	周生	极生至偏极生
细胞内膜的排列方式	呈扁平泡囊分布于四周	呈泡囊分布于四周或堆积于中央	无内膜	使细胞分隔	无内膜
适宜温度 (℃)	5~40	2~35	15~35	15~35	20~35
pH 值	5.8~8.5	6.0~8.0	6.5~8.5	6.0~8.2	7.5~7.8

根据菌体形态和细胞内膜的排列方式，《伯杰氏系统细菌学手册》第一版将参与亚硝酸盐氧化过程的细菌划分为四个属，即硝酸杆菌 *Nitrobacter*，硝酸球菌 *Nitrococcus*，硝酸刺菌 *Nitrospina* 和硝酸螺旋菌 *Nitrospira*[8]。它们的形态特征及生存环境见表 1-3[9]。

表 1-3 亚硝酸盐氧化菌各种属的形态与生存环境

特征	硝酸杆菌 *Nitrobacter*	硝酸球菌 *Nitrococcus*	硝酸螺旋菌 *Nitrospira*	硝酸刺菌 *Nitrospina*
细胞形态	梨状至多形态杆状	球状	疏松螺旋状	细杆状
细胞大小 (mm)	(0.5~0.8)×(1.0~2.0)	(1.5~1.8)	(0.3~0.4)×(0.8~1.0)	(0.3~0.4)×(1.7~6.6)
鞭毛	极生至侧生	极生	未观察到	未观察到
细胞内膜的排列方式	呈扁平泡囊分布于一侧	呈管状随机分布	无内膜	无内膜
温度范围(℃)	5~37	15~30	20~30	20~30
pH 值	6.5~8.5	7.6~8.0	7.5~8.0	7.0~8.0

（4） 影响硝化反应的环境指标

1）溶解氧

氧是硝化反应过程中的电子受体，反应器内溶解氧浓度的高低，必将影响硝化反应进程，据试验结果证实，进行硝化反应的曝气池内，溶解氧含量不能低于1mg/L。

2）温度

硝化反应的适宜温度是 20~30℃，15℃以下，硝化速率下降，5℃时完全停止。

3）pH 值

硝化菌对 pH 值的变化非常敏感，最佳 pH 值是 8.0~8.4，在这一条件下，硝化速率，硝化菌最大的比增殖速率可达最大。

4）污泥停留时间（污泥龄）

为了使硝化菌群能够在连续流反应器系统中存活，微生物在反应器内的停留时间必需大于自养型硝化菌最小的世代时间，否则硝化菌的流失率会大于净增殖率，硝化菌则会从系统中流失殆尽，一般停留时间应取硝化菌最小世代时间的 2 倍以上。

1.2.2 反硝化

（1） 反硝化反应与反硝化菌

反硝化反应是指硝酸氮（NO_3^--N）和亚硝酸氮（NO_2^--N）在反硝化菌的作

用下，被还原为气态氮（N_2）的过程。

反硝化菌属于异样型兼性厌氧菌，在厌氧条件下，营厌氧呼吸，以硝酸氮（NO_3^--N）为电子受体，以有机物（有机碳）为电子供体，在这种条件下，不能释放出更多的 ATP，相应合成的细胞物质也较少。

反硝化是一种普遍存在的生化作用，几乎所有的异养型细菌都具有此功能，在反硝化过程中，硝酸氮（NO_3^--N）通过反硝化菌的代谢活动，可能有两种转化途径，即：同化反硝化（合成），最终形成有机氮化合物，成为菌体的组成部分；另一种为异化反硝化（分解），最终产物是气态氮（N_2）（见式 1-6）。

$$\begin{aligned} &2HNO_3 \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_2OH \rightarrow \text{有机体（同化反硝化）} \\ &2HNO_3 \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O \rightarrow N_2\text{（异化反硝化）} \end{aligned} \qquad \text{（式 1-6）}$$

（2） 影响反硝化反应的环境因素

1）碳源

能为反硝化菌所利用的碳源很多，从污水生物脱氮工艺来考虑，可分为下列几类：

（a）污水中所含碳源

污水自身所含有的有机物是最理想的碳源，一般认为当污水中 BOD_5/TN 值 >3~5 时，即可认为碳源充足，无需外加。

（b）外加碳源

当原污水中碳氮比值过低，如 BOD_5/TN 值<3~5，即需另外投加有机碳源，现多采用甲醇（CH_3OH），因为 CH_3OH 的价格便宜，而且剩余污泥的产率低。

2）pH 值

pH 值是反硝化反应的重要影响因素，对反硝化菌最适宜的 pH 值为 6.5~7.5，在此条件下，反硝化速率最高，当 pH 值高于 8 或者低于 6 时，发生反硝化速率将大为下降。

3）溶解氧

反硝化菌是异养兼性厌氧菌，只有在无分子氧而同时存在硝酸和亚硝酸离子条件下，它们才能够利用这些离子中的氧进行呼吸，使硝酸盐还原。如反应器内溶解氧过高，将使反硝化菌利用氧进行呼吸，抑制其体内硝酸盐还原酶合成，或者氧成为电子受体，阻碍硝酸氮的合成。但是，另一方面，在反硝化菌体内某些酶系统组分只有在有氧条件下，才能合成，这样，反硝化菌以在厌氧、好氧交替的环境中生活为宜，溶解氧应控制在 0.5mg/L 以下。

4）温度

反硝化反应的适宜温度为 20~40℃，低于 15℃，反硝化菌的增殖速率、代谢速率均降低，从而反硝化速率也相应降低。

1.3 污泥水脱氮技术的研究动态

如前所述，污泥水含有高浓度的NH_4^+-N，目前污水处理厂一般将其连续回流至进水口进行再处理，或将其回流至进水口前的均和池，使其在清晨进水NH_4^+-N负荷较低的几个小时内进入污水处理流程[2]，但此处理方式会增加污水处理系统的NH_4^+-N负荷，而生物硝化—反硝化脱氮工艺在处理的过程中又表现出了一定的局限性，使大多数污水处理厂面临出水的NH_4^+-N浓度不能达到相关排放标准的难题，尤其是在冬天温度较低时更容易导致出水NH_4^+-N浓度超标，因此，污泥水的脱氮技术是目前国际水研究方面的重点问题之一。

1.3.1 生物脱氮工艺的局限性

现行的以传统活性污泥法为代表的好氧生物处理法，其功能是去除污水中呈溶解性的有机物。至于氮、磷，则只能去除细菌细胞由于生理上的需要而摄取的数量，二级处理技术对二者的去除率很低，氮的去除率为 20%~40%，磷的去除率仅为 5%~20%。这样的出水排放到封闭水域的河流、水库、湖泊及内海，造成水体的富营养化。

随着国家新排放标准的出台，对水环境的要求也越来越高，尤其是近年来对污水处理厂出水的氮、磷限制力度逐渐加强。我国先后引进了国外的许多新技术、新工艺和新设备，并在全国范围内推广应用。

目前，我国现有城市污水处理厂中 80%以上采用的是活性污泥法。污水处理工艺多种多样，但目前适用于城市污水的二级处理工艺，也是被广为采用的二级工艺，主要有普通曝气工艺及其改良工艺、AB 工艺、A/O 工艺、A^2/O 工艺、氧化沟工艺、SBR 工艺及其改良工艺等。从全国污水处理厂建设总的趋势来看，80 年代建设的市政污水处理厂主要采用普通曝气工艺及改良工艺，随后引人了 AB 工艺作为城市污水处理选择工艺之一；80 年代末 90 年代初随着除磷脱氮要求的提出，A/O 工艺、A^2/O 工艺因其卓越的除磷脱氮效果而逐渐被应用于城市污水处理之中，并且成为主流；90 年代中期氧化沟工艺因其良好的脱氮效果而且无需沉淀池开始被推广，90 年代中后期采用的大型市政污水处理项目基本上采用氧化沟工艺；近些年 SBR 工艺因其占地节省、运行控制高度自动化而开始被广为采用。从技术角度分析，这几种工艺核心机理都是建立在活性污泥理论的基础之上，在处理效果、出水稳定性等方面都是经过了实践的考验，只是在除磷脱氮性能存在一定差异，但在运行管理、维护维修、自控要求等方面存在着较明显差异，而且每种工艺都有自身的弱点。

（1）氧化沟工艺

氧化沟是活性污泥法的一种改型，特点是混合液在封闭式的沟渠内连续循环且污泥负荷低，其低负荷和长泥龄非常适合硝化菌生长，因此氧化沟具有对有机物的高去除率和完全硝化的能力。并且运行操作简便，基建和运行费用均低于活性污泥法，是一种经济有效的废水处理技术。

（2）A/O工艺

自 A/O（厌氧/好氧，Anoxic/Oxic）工艺被开发以来，就因其特有的经济技术优势和环境效益，越来越受到人们的广泛重视。通常被称为 A/O 工艺实际上可分为两类，一类是厌氧/好氧工艺，另一类是缺氧/好氧工艺。厌氧状态和缺氧状态之间存在着根本的差别：在厌氧状态下既无分子态氧，也没有化合态氧，而在缺氧状态下则存在着微量的分子态氧（溶解氧浓度 < 0.5mg/L），同时还存在化合态氧，如硝酸盐。A/O 工艺在去除水中碳污染的同时，能有效地去除氮和磷的污染。A/O（Anoxic/Oxic）法脱氮工艺，是在 20 世纪 80 年代初开创的工艺流程，其主要特点是将反硝化反应器放置在系统之前，故又称为前置反硝化生物脱氮系统，这也是目前在城市污水与工业废水处理与回用中采用比较广泛的一种脱氮工艺。一般采用硝化混合液回流，将 BOD 去除与反硝化脱氮在同一池中完成。

A/O 生物脱氮系统具有以下特征：反硝化池在前，硝化池在后；反硝化反应以原废水中的有机物为碳源；硝化池内的含有大量硝酸盐的硝化液回流到反硝化池，进行反硝化脱氮反应；在反硝化反应过程中，产生的碱度可补偿硝化反应碱度的一半左右，对含氮浓度不高的废水可不必另行投加碱；硝化池在后，使反硝化残留的有机污染物得以进一步去除，无需建后曝气池。A/O 生物脱氮系统由于流程简单，无需外加碳源，因此，建设费用与运行费用均较低。

A/O及其变形工艺以其流程简单、运行管理方便、且能同时兼顾除磷脱氮要求等优点成为新建城市污水处理的主流工艺之一，但该工艺不能达到完全脱氮，NH_4^+-N的最高去除率在70%~80%之间。

（3）SBR工艺

SBR 工艺又称序批式活性污泥法(Sequencing Batch Activated Sludge Process)，是污水生物处理法中的一种，在序批式反应器中，SBR 是一种间歇式活性污泥处理工艺，它兼调节、好氧（缺氧）反应、沉淀等多种功能于一体。曝气池和沉淀池合二为一，污水分批次进入反应池，按顺序进行反应、沉淀、排出上清液和闲置过程，完成一个运行操作周期。该工艺采用时间或空间顺序实现厌氧/缺氧/好氧的组合，并控制每一部分合适的时间比例，能得到较好的除磷脱氮

效果，仅作为生物除磷脱氮工艺而言，由于不需要 A/O 系统的污泥回流，运行费用大为降低。

SBR反应器的脱氮原理与连续流反应器的硝化-反硝化脱氮原理相同，只是连续流反应器在空间上实现的硝化和反硝化，SBR是在同一反应器内通过控制好氧反应和缺氧反应的长短在时间上加以实现，其脱氮效率可达90%以上。

尽管这些生物脱氮工艺在废水脱氮方面起到了一定的作用，但仍然存在难以克服的问题，例如：硝化菌群增殖速度慢且难以维持较高生物浓度，尤其是在低温的冬季，因此造成系统总水力停留时间较长，有机负荷较低，增加了基建投资和运行费用；系统为维持较高的生物浓度并获得良好的脱氮效果，必须同时进行污泥回流和硝化液回流，增加了动力消耗和运行费用；硝化过程是在有氧条件下完成的，需要大量的能耗；反硝化过程需要一定的有机物，废水中的 COD 经过曝气有一大部分被去除，因此反硝化时往往要另外加入碳源（如甲醇）；抗冲击能力弱，含高浓度 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 的进水会抑制硝化菌的生长；为中和硝化过程产生的酸度，需要加碱中和，增加了处理费用又可能造成二次污染。

1.3.2 污泥水的单独处理

荷兰应用水研究基金会（Dutch Foundation for applied Water Management Research,STOWA）的研究表明，与污泥水回流至污水处理工艺进行处理的方式相比，将含有高浓度NH_4^+-N且带有余温的污泥水进行单独处理更为经济，且会明显降低污水处理工艺的出水NH_4^+-N浓度[10]。

为克服生物硝化-反硝化脱氮工艺抗冲击负荷能力较弱、操作复杂和运行成本较高，又可能造成二次污染等[11]的弱点，近年来涌现出了一批高效低耗的简捷生物脱氮工艺，典型代表有 SHARON 工艺、OLAND、 ANAM-MOX、SHARON-ANAMMOX 组合工艺、CANON 工艺和 SND 工艺等，这些新型的脱氮方法在处理高 NH_4^+-N 浓度和低 C/N 比的污泥消化液上显示了突出优势。

（1）短程硝化反硝化工艺(SHARON)

SHARON 工艺(Single reactor for High activity Ammonia Removal Over Nitrite)是荷兰 Delft 工业大学开发的一种新型的生物脱氮工艺[12~13] （图 1-2）。该工艺的核心是利用在较高温度(30~40℃)下，硝酸细菌的生长速率明显低于亚硝酸细菌的生长速率这一原理，通过控制温度和污泥龄将硝酸细菌自然淘汰，使反应器中的亚硝酸细菌占绝对优势，从而使 NH_4^+-N 氧化控制在 NO_2^--N 阶段，之后再通过反硝化脱氮。

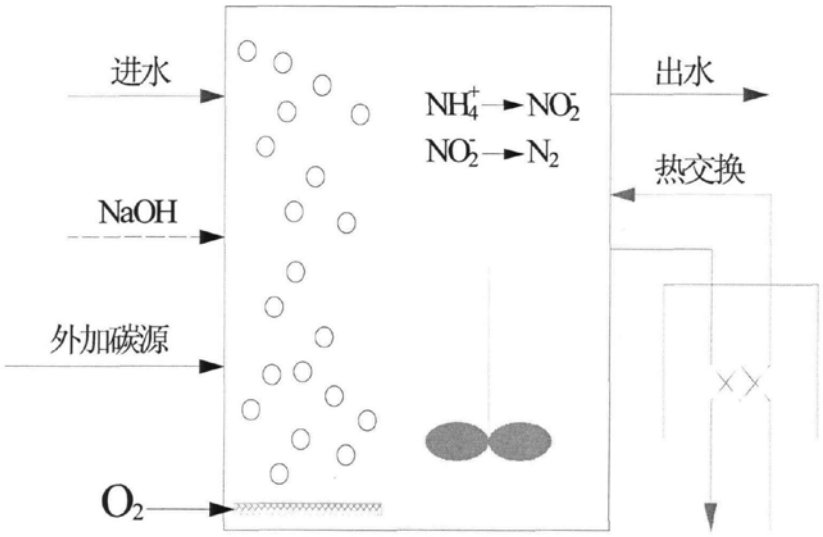


图 1-2 SHARON 工艺装置图

SHARON 工艺利用了温度这一重要因素，提高了亚硝酸菌的竞争能力；并且利用完全混合反应器在无污泥回流条件下污泥停留时间（SRT）与水力停留时间（HRT）的同一性，控制 HRT 大于亚硝酸菌的世代时间，小于硝酸菌的世代时间，实现硝酸菌的“筛选”，使反应器内主要是亚硝化菌，控制较高的 pH 值，不仅抑制了硝酸菌，也消除了游离 NO_2^--N 对亚硝酸菌的抑制。但是，该工艺由于是在较高温度下实现短程硝化反硝化，这对大多数废水的处理不是很现实，尤其是在低温的北方和冬季。

目前 SHARON 工艺在荷兰 Utrecht 市和 Rotterdam 市成功投产并用于处理污泥消化液[14]。

（2）限氧自养硝化-反硝化工艺(OLAND)

Linping Kual 在用 SBR 反应器处理含氮浓度高的污水实验中，在只提供微量氧（DO 在 0.1~0.8mg/l），且不加碳源的情况下，将 NH_4^+-N 一步去除，其反应机理是由亚硝酸菌对 NO_2^--N 进行催化歧化反应。据此发现，比利时 Gent 大学微生物生态实验室于 1998 年开发研制 OLAND(Oxygen Limite Autotrophic Nitrification Denitrification)工艺[15]，该工艺在氧限制条件下，先由亚硝酸细菌将 NH_4^+-N 氧化为 NO_2^--N，再利用已生成的 NO_2^--N 去氧化氨，以达到脱氮的目的。

该生物脱氮系统吸取了 SHARON、ANAMMOX 等先进生物脱氮工艺的优点，实现了生物脱氮在常温（22~30℃）下的稳定运行，并通过限氧调控实现了硝化阶段 NO_2^--N 的稳定积累。该工艺的技术关键是控制溶解氧浓度，使硝化过程仅进行到 NH_4^+-N 氧化为 NO_2^--N 阶段，实现 NO_2^--N 的积累。氧耗量小，比生物硝化—反硝化脱氮工艺节省供氧 62.5% ，而且不需外加碳源，对 TN 的去除效率

相当高。

虽然OLAND生物脱氮系统具有节约能耗、系统稳定性好和易于控制等优点，但是在实际应用中，由于厌氧氨氧化阶段的生物量生长非常缓慢，仍然存在启动时间长的问题（≥100d）。

（3） 厌氧氨氧化工艺（ANAMMOX）

ANAMMOX 工艺(Anaerobic Ammonium Oxidation)于 20 世纪 90 年代由 Delft 技术大学 Mulder 开发。其工作原理是在厌氧条件下以 NO_2^--N 作为电子受体，NH_4^+-N 直接被氧化到 N_2 的过程[16]。

一直以来，人们认为 NH_4^+-N 氧化是在好氧曝气或限制溶解氧的条件下由氨氧化菌完成的。而 1995 年，Mulder 等 [17]在实验室中利用厌氧流化床处理甲烷废水时发现了厌氧氨氧化现象。1997 年，Schmidt 和 Bock[18]报道了在缺氧环境中存在气态 NO_2 时，氨氧化菌也能进行硝化反应。

ANAMMOX 完全突破了传统生物脱氮工艺的基本概念，为利用生物法处理高 NH_4^+-N、低 BOD 的废水找到了一条最优的途径。与传统的硝化一反硝化生物脱氮技术相比，ANAMMOX 脱氮技术在理论上具有以下优点：

1）由于氨可以直接作为反硝化反应的电子供体，因此不需外加有机物作为电子供体，既节省运行费用，又可防止二次污染。

2）由于可以经济有效地利用氧，供氧能耗大幅度下降。因为厌氧氨氧化以氨作为电子供体，所以在短程硝化中只需将一半 NH_4^+-N 氧化成 NO_2^--N。在传统全程硝化反应中，每氧化 1mol NH_4^+-N 需消耗 2molO_2。而在厌氧氨氧化反应中只消耗 0.75molO_2，可比全程硝化节约 62.5%的供氧量和 50%的耗碱量。厌氧氨氧化反应中不需外加碳源，可比传统反硝化节省大量有机碳源。

3）传统的硝化反应氧化 1mol 的 NH_4^+-N 产生 1mol 的 H^+，反硝化还原 1mol 的 NO_2^-或 NO_3^-将产生 1mol 的 H^+，而在 ANAMMOX 反应中（包括提供电子受体的硝化反应），1mol 的 NH_4^+产生 1mol 的 H^+，产酸量大幅下降，产碱量降至为零，可节省中和所需的化学试剂，降低运行费用，也可减轻二次污染。

4）厌氧氨氧化反应产泥量低。由于厌氧氨氧化菌比增殖速率低，生物量生长很慢，产生的污泥量就会很少。

因此，作为一种经济合理、高效节能的废水处理技术，厌氧氨氧化及其工艺技术具有可持续性，有广阔良好的发展前景，具有很好的研究价值和开发前景。

（4）SHARON-ANAMMOX 组合工艺

把 SHARON 和 ANAMMOX 两工艺组合（图 1-3）在一起的设想已经在处理

污泥消化液的实验室试验中得到了成功验证。

进水中大约有50 %的NH_4^+-N在SHARON工艺中被氧化为NO_2^--N。SHARON工艺的出水为NH_4^+-N和NO_2^--N的混合液，恰恰符合后续的ANAMMOX工艺对其进水水质的要求，在该反应器中，NH_4^+-N 和 NO_2^--N 在厌氧条件下被转化为N_2和H_2O。

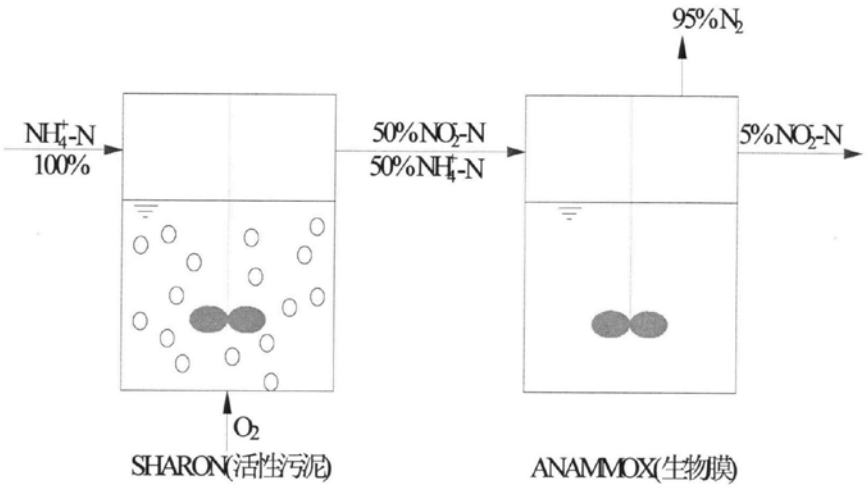


图 1-3 SHARON-ANAMMOX 组合工艺流程图

该工艺相比于生物硝化—反硝化脱氮工艺，节省了约 50 %的需氧量，传统工艺的氧气需要量为 4.65kgO_2/kgN，需要 4~5kgCOD/kgN ；而组合工艺的氧气需要量仅为 1.7 kgO_2/kgN，并且不需要外加碳源，污泥产量少，它是生物脱氮技术研究的一个新突破，可实现NH_4^+-N 的最短途径转化和能源与资源消耗量的最小化。

但是，厌氧氨氧化工艺工艺（ANAMMOX）及其改进工艺还存在着很多问题，例如，厌氧氨氧化菌生长速度慢，世代时间长，生物量难以维持，致使水力停留时间（HRT）比较长，所需反应器的容积很大，废水处理工程的一次投资比较大。另外，虽然 ANAMMOX 过程在微生物的特性和反应机理方面有了广泛的研究，但从目前应用研究的情况来看，ANAMMOX 生物团的培养技术还不能应用于实际废水处理工程的自养硝化和厌氧氨氧化微生物优势种群(菌株)的培养和富集。目前报道的富集培养物多数取自流化床反应器，但实际应用中流化床的动力消耗大，控制要求较高，不易推广使用。

（5）完全自养脱氮工艺（CANON）

CANON (Completely Autotrophie N Removal Over Nitrite)，即“基于亚硝酸盐途径的完全自养脱氮”，在处理高NH_4^+-N 负荷和低 BOD 浓度废水的过程中人们

发现存在氮损失的现象[19]。基于这一现象，Dijkman and Strous 于 1999 推出了一种新型的生物脱氮工艺—CANON 工艺。

在限制溶解氧的条件下，CANON 工艺依靠好氧氨氧化菌和厌氧氨氧化菌的相互作用来实现污水中氮的去除。好氧氨氧化菌首先将 NH_4^+-N 氧化为 NO_2^--N，然后厌氧氨氧化菌以 NO_2^--N 为电子受体将 NH_4^+-N 转化为 N_2 并产生少量的 NO_3^--N。

CANON 工艺无需碳源，而且利用单个反应器即可实现，曝气量极低，大幅度减少了占地面积和曝气能耗。与硝化—反硝化工艺相比，节省了 63%的氧和 100%的外加碳源[20]。

（6）同时硝化和反硝化工艺（SND）

近年来，好氧反硝化菌和异养硝化菌的发现，打破了传统理论认为硝化反应只能由自养菌完成和反硝化只能在厌氧条件下进行的观点。对于好氧反硝化、异养硝化、自养反硝化的现象，近年来生物学的发展已经可以给出令人比较满意的答案。由于许多好氧反硝化菌同时也是异养硝化菌，能够直接把NH_4^+-N转化为最终气态产物而逸出，因此，同时硝化反硝化生物脱氮也就成为可能。由于好氧反硝化和异养硝化菌的发现，在主流水处理系统中，硝化反硝化细菌在活性污泥中的比例将会提高，不会再与其他异养菌的竞争中处于劣势，这是生物脱氮技术发展的趋势。

同时硝化反硝化又称好氧反硝化（SND），目前，国内外对SND生物脱氮技术现象的研究主要集中在氧化沟、回转升降生物接触工艺（RBC）、序批式活性污泥法（SBR）等反应器中。但国内SND的研究尚在起步阶段，同时硝化反硝化生物脱氮技术不仅克服生物脱氮存在的问题，还具有以下优点：

1）避免了NO_3^--N 、NO_2^--N 的积累对硝化反应的抑制，加速了硝化-反硝化进程，减少占地面积和建设资金。

2）由于反硝化过程产生的碱度可以部分补偿硝化过程中损失的碱度，能使系统中pH值相对稳定。

3）反硝化阶段不需要另外添加碳源，可以降低成本[21~22]。

新型脱氮工艺在处理高 NH_4^+-N 浓度和低 C/N 比的污泥水中起着非常大的作用，但迄今为止，这些工艺在反应器型式、运行性能及稳定性、微生物特性和氨转化途径等的研究都有待进一步加深。

1.3.3 污泥水富集硝化菌强化硝化

在处理污泥水的过程中，除了以将其中的 NH_4^+-N 硝化成 NO_3^--N，降低污水

处理系统的 NH_4^+-N 负荷为目标外，还出现了新的处理概念—强化硝化，即利用污泥水富集硝化菌，并添加到污水处理系统中，以提高污水处理工艺的硝化能力。具有代表性的强化硝化工艺有：美国 Malcolm Pirnie 研究所研发的 InNitri®工艺；瑞典皇家工学院开发的污泥水单独处理—剩余污泥回流生物强化技术；荷兰 Delft 理工大学 Kluwen 实验室开发的 BABE 技术；瑞典斯堪的维亚环保公司开发的选择池污泥水处理生物强化技术（ScanDeNi®工艺）。

（1）InNitri®工艺

图 1-4 为 InNitri®（Inexpensive Nitrification）工艺的流程图。

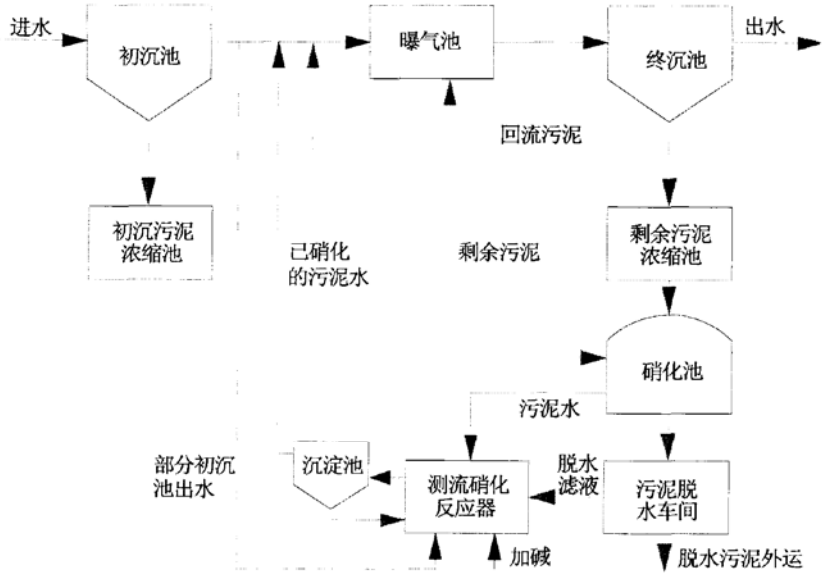


图 1-4　InNitri®工艺流程

InNitri®工艺是最早提出的利用消化液富集硝化菌对污水处理系统进行生物添加的工艺。该工艺的主要思想是，采用一个单独的反应器（测流硝化反应器）处理温度较高（30~35℃）且 NH_4^+-N 浓度也很高（300~900mg/L）的消化液，测流硝化反应器的容积仅占污水处理系统曝气池容积的 3%，另外添加小部分初沉池的出水用于温度调整，反应器的温度为 25℃，污泥停留时间为 4 天，然后将处理后的污泥混合液添加到污水处理系统中。

模拟结果表明，当设计 NH_4^+-N 出水浓度为 2mg/L 时，与生物硝化—反硝化脱氮系统相比，污泥龄可以降低 40%左右，并且采用此工艺的投资成本仅占扩大硝化的曝气池的 10~15%[23]。

（2）污泥水单独处理—剩余污泥回流生物强化技术

20 世纪 90 年代，瑞典皇家工学院开发了将污泥水单独处理后的剩余污泥

回流到污水处理流程的生物强化技术，其工艺流程见图 1-5。

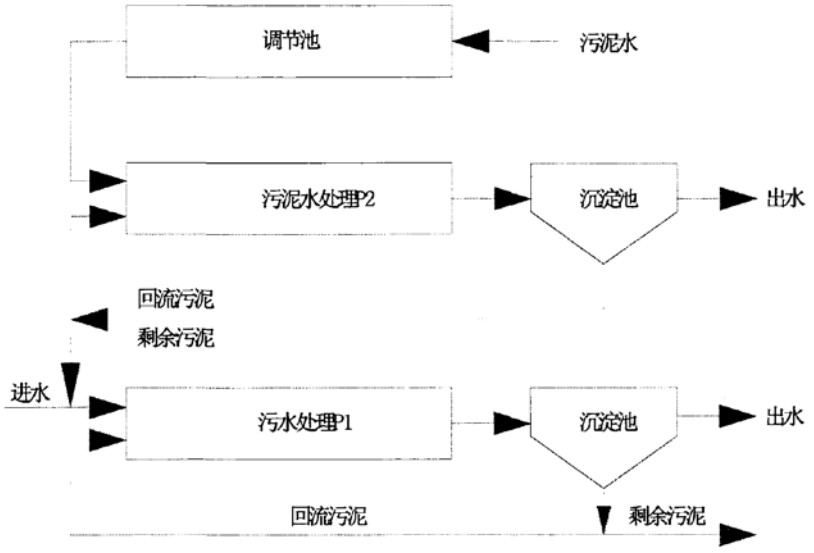


图 1-5　生物添加工艺流程图

该工艺建立了两种不同的处理系统，一种是处理初沉池出水的污水处理系统（P1），另一种是污泥水处理系统（P2），试验结果表明，污泥水处理系统（P2）中污泥的硝化速率是污水处理系统（P1）污泥中硝化速率的 3 倍，而且，硝化菌的含量也比污水处理系统（P1）污泥中的含量多 6%。这说明向污水处理系统添加污泥水处理系统的剩余污泥可以明显缩短污水处理系统的曝气时间[24]。

然而由高温和高浓度 NH_4^+-N 的污泥水所培养出的硝化菌与污水处理系统（P1）中占主导地位的硝化菌种类不一致，二者的生存环境完全不同，实行添加以后，P2 中富集的硝化菌对 P1 系统的温度、基质浓度、原生动物捕食及新环境下的微生物的群落结构等都有可能存在不适应的问题。因此，如何让两类硝化菌共存，使污水处理系统的硝化能力最大限度的发挥至关重要。

（3）BABE 工艺

1999 年，DHV 与荷兰 Delft 理工大学 Kluyver 生物技术实验室共同研发了生物添加/间歇强化 (Biological Augmentation Batch Enhanced，BABE)技术，其流程如图 1-6 所示。

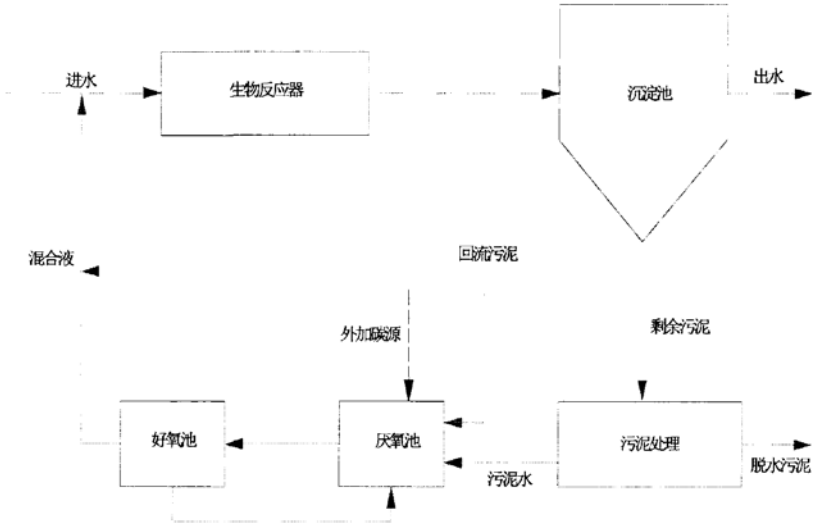


图 1-6 BABE 工艺流程图

BABE技术是以侧流方式用消化液中的NH_4^+-N刺激硝化细菌生长并使之回流至主流污水处理工艺，以强化其硝化能力。BABE技术一个关键特性是要让一部分来自于主流工艺二沉池的回流污泥进入BABE反应器，使硝化细菌以絮凝体形式处于悬浮增长状态。消化液中带有余温的高浓度NH_4^+-N在BABE反应器中能够增强活性污泥的硝化能力，被富集的硝化菌接种到主流工艺后硝化能力会提高，氮的去除效率也会随之提高[25~28]。

BABE工艺在荷兰Garmerwolde污水处理厂的试运行研究表明，嵌入了BABE反应器的流程，相比于没有接纳污泥消化液也没有嵌入该反应器（对比流程1），和接纳了污泥消化液但没有嵌入该反应器（对比流程2）的两个流程，出水中NH_4^+-N的浓度降至10mg/L以下，明显低于两个对比流程出水中NH_4^+-N的浓度，且硝化速率达104mg N/gMLVSS·d，高于对比流程1的65 mg N/gMLVSS·d和对比流程2的87mg N/gMLVSS ·d[29]。

（4）ScanDeNi®工艺

ScanDeNi®工艺由瑞典斯堪的维亚环保公司开发，图1-7为ScanDeNi®工艺的流程图。

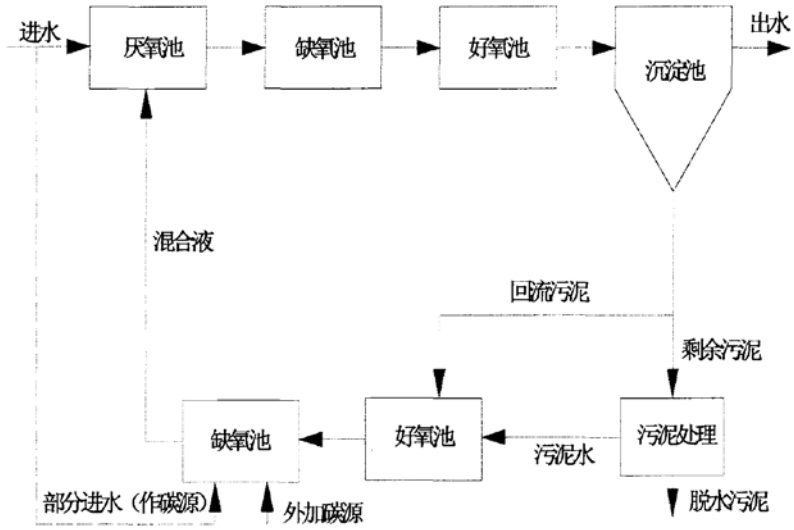


图 1-7 ScanDeNi®工艺流程图

ScanDeNi®工艺也是由好氧硝化和厌氧反硝化两个反应器组成，与 BABE 工艺的不同点在于，全部回流污泥和污泥水混合进入好氧池，进行硝化，再进入缺氧池利用污泥自身的内源碳进行反硝化，当碳源不足时，由污水厂进水部分分流补充。由于污泥水首先进行硝化，然后反硝化，因此不需要内循环。缺氧池出水（混合液）直接添加到污水处理系统的厌氧池内，达到对处理系统脱氮除磷的强化。

实际上，ScanDeNi®和 BABE 均是基于最小限度的改变原有回流污泥的生态系统，由于 ScanDeNi®为全部回流污泥，因此，对回流污泥生态结构的改变相对于 BABE 工艺要小。另外，ScanDeNi®工艺可以去除回流污泥及污泥水中的表面活性物质，明显提高污水处理系统的曝气效率，节省运行费用[30]。

1.4 课题简介

1.4.1 课题来源

本课题来源于国家“863”（国家高技术研究发展计划）项目—“应用 BAWER 技术同步处理城市污水厂污泥水和强化生物脱氮”（No.2006AA06Z335）。

1.4.2 课题研究的基本内容

本研究以西安市邓家村污水处理厂污泥厌氧消化池上清液为进水，采用 SBR 反应器对污泥水进行单独处理，并富集硝化细菌。测定在不同温度（20℃、25℃、

30℃）条件下污泥水处理效果，运用荧光原位杂交（FISH）方法，检测富集的硝化菌种类、数量和群落结构。具体内容如下：

（1）在 20℃、25℃、30℃下单独处理污泥水，测定 COD、NH_4^+-N 和 TN 的处理效果。

（2）在 20℃、25℃、30℃下富集硝化细菌，测定各温度下系统活性污泥的硝化速率，探讨富集的最佳温度条件。

（3）运用 FISH 技术检测硝化菌的数量和种群结构，并分析温度变化对硝化菌群落结构的影响。

2 SBR 工艺对污泥水单独处理的试验研究

2.1 前言

城市污水的集中生化处理对防止日趋严重的水环境污染起了重要作用，但目前所采用的活性污泥处理法会产生大量污泥，需要妥善处置[31]。污泥厌氧消化是污泥处理的主要方法，然而污泥在厌氧消化过程中会产生含有高浓度NH_4^+-N和低BOD的污泥水。由于其水量很小，城市污水处理厂均采用将其回流至进水口的方法进行处理，这样会使得处理系统的实际NH_4^+-N负荷高于设计负荷。研究表明，将污泥水单独处理会明显降低污水处理工艺的出水NH_4^+-N浓度。本课题对西安市邓家村污水处理厂厌氧消化池的上清夜进行了常规检测，并采用SBR反应器对其单独处理，在不同的温度下对污泥水的脱氮效果进行了试验研究。

2.2 试验材料与方法

2.2.1 试验装置

试验装置见图 2-1。采用 SBR 反应器，反应器内径 20cm，高 45cm，有效容积 5L，柱壁为双层，中间为 1cm 厚的水浴加热层。 反应器每天工作 4 个周期，每周期 6h，其中，进水 5min、缺氧搅拌 50 min、好氧曝气 250 min、沉淀 40 min、排水 5 min、闲置 10 min。

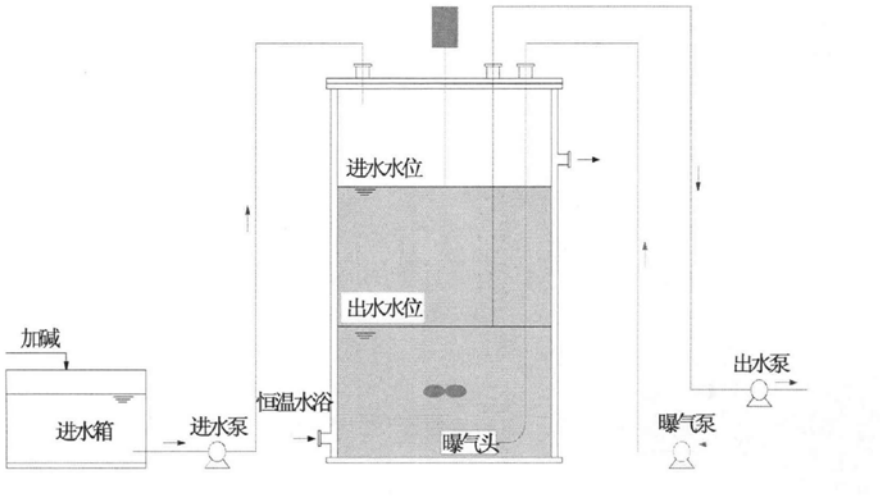


图 2.1 试验装置图

2.2.2 试验的启动与运行

试验所用污泥水为西安市邓家村污水处理厂的厌氧消化液。反应器接种污泥取自该污水处理厂 A^2/O 工艺的曝气池。

启动初期，污泥水用自来水稀释 4 倍作为进水，当出水 NH_4^+-N 浓度小于 5mg/L 时，减少稀释比，直至进水全部为污泥水，此时的 NH_4^+-N 负荷为 0.4~0.6kg/m^3·d。曝气量为 1.5~2L/min，保证好氧阶段混合液的 DO 浓度为 2mg/L。运行过程中，随着硝化的进行，混合液 pH 将会降低，通过投加 $NaHCO_3$ 维持混合液 pH 值在 7~8 之间。

试验共进行 210d，分 3 个阶段，第 I 阶段历时 46d，系统运行温度为 30℃；第 II 阶段历时 56d，系统运行温度为 25℃；第III阶段历时 108d，系统运行温度为 20℃。三个阶段的水力停留时间（HRT）为 2.5d；平均污泥龄为 7.9d；进水量均为 2L/d；A/O 为 1/5。

对温度的调节由 SBR 反应器柱壁 1cm 厚的水浴加热层控制，调整至各温度后，反应器试运行 1 个星期左右，待运行稳定后，再进行数据测定。

2.2.3 常规指标测定及方法

试验过程中 COD、NH_4^+-N、NO_2^--N、NO_3^--N、TKN、PO_4^{3-}-P、TSS、碱度、MLSS 和 MLVSS 标准方法进行测定[32]，TN 采用 TN=TKN+NO_2^--N+NO_3^--N 这一公式计算得出。pH 采用 pH/ORP 测定仪测定。具体方法见表 2-1。

表 2-1 常规分析方法

监测项目	分析方法
COD	重铬酸钾法
NH_4^--N	纳氏试剂光度法
TKN	纳氏试剂光度法
NO_2^--N	磺胺－奈乙二胺分光光度法
NO_3^--N	紫外分光光度法
TP、PO_4^{3-}-P	钼锑抗分光光度法
MLSS(mg/L)	重量法
MLVSS(mg/L)	重量法
pH 值	玻璃电极法
生物相	光学显微镜

2.2.4 主要设备和仪器

试验过程常用的检测设备和仪器见表 2-2。

表 2-2 主要检测设备与仪器一览表

设备名称	型号
分光光度计	XINMAO752N 紫外可见分光光度计
电子数显滴定仪	Bürette Digital Ⅲ
消解仪	HACH DRB200
pH 计	HANNA
气体流量计	LZB 型玻璃转子流量计
电热恒温鼓风干燥箱	YIHENG DHG-9070A 型
电动搅拌机	JHS-1/60
精密天平	赛多利斯
恒温培养箱	DH4000 AB
超声波细胞破碎机	JY92-9070A 型
马弗炉	WRN-130 型
水浴锅	DK-98-1 型
冷冻离心机	HERMLE Z-36HK
荧光显微镜	OLYMPUS BX51
显微成像系统	DP71

2.3 试验结果与分析

2.3.1 COD 的去除

试验过程中，三个阶段进出水 COD 的变化如图 2-2 所示。

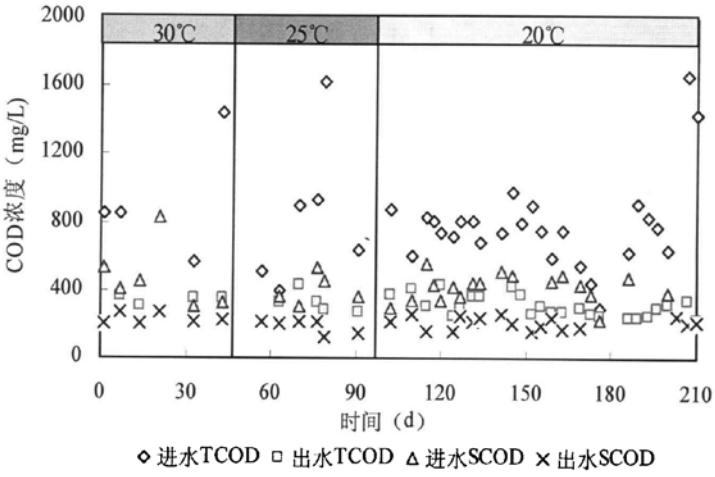


图 2-2　进出水 COD 的历时变化

由图 2-2 可以看出，由于进水采用的是邓家村污水处理厂的实际污泥水，所以其中 COD 的浓度波动范围很大，进水 TCOD 在 294.8mg/L~1627.7mg/L 之间，进水 SCOD 在 219.3 mg/L~835.1mg/L 之间。而出水中的二者的浓度比较稳定，平均值分别为 317.5mg/L 和 207.5mg/L。

表 2-3 所示为三个阶段进出水 TCOD 和 SCOD 的平均浓度与去除率。

表 2-3　各阶段进出水 COD 的浓度和去除率*

	30℃	25℃	20℃
进水TCOD（mg/L）	925.6	870.7	785.3
出水TCOD（mg/L）	343.4	302.0	307.1
进水SCOD（mg/L）	478.4	376.9	420.8
出水SCOD（mg/L）	233.0	180.0	209.6
TCOD去除率（%）	62.9	65.3	60.9
SCOD去除率（%）	51.3	52.3	50.2

*** 表中数据为平均值**

整个试验过程中 TCOD 和 SCOD 的平均去除率分别为 63.0%和 51.3%，去除率不高。这是因为污泥水中易降解有机物，如蛋白质、多糖类、脂类在消化池内经过厌氧消化，已经转化为以甲烷为主的生物气，剩下的都是一些不易降解的有机物，所以微生物利用率低，致使 COD 的去除率相对较低。

2.3.2　NH_4^+-N 的去除

试验过程中，三个阶段进出水 NH_4^+-N 的变化如图 2-3 所示。

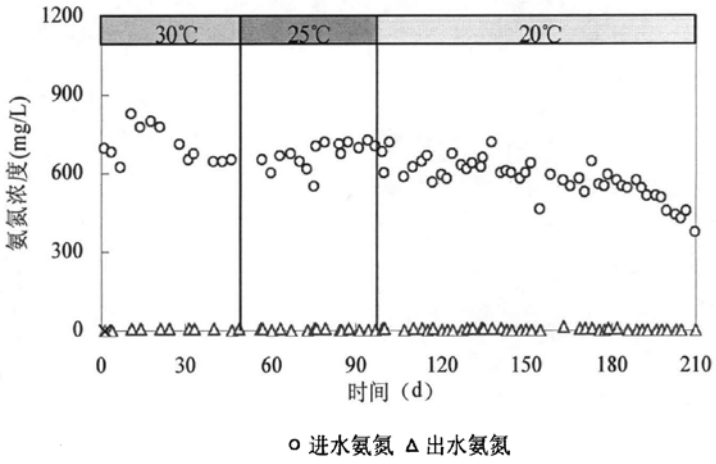


图 2-3 进出水 NH_4^+-N 的历时变化

由图 2-3 可以看出，进水的 NH_4^+-N 的浓度波动范围较大，在 392.5mg/L~825.8mg/L 之间，但出水的浓度比较稳定，平均值为 4.3mg/L，反应器系统对污泥水中 NH_4^+-N 的去除效率很高。

表 2-4 所示为三个阶段进出水 NH_4^+-N 的平均浓度及去除率，各阶段 NH_4^+-N 的去除率均高达 99%以上，系统硝化作用彻底。污泥水经过单独处理，能大幅度降低其中的 NH_4^+-N 负荷。

表 2-4 各阶段进出水 NH_4^+-N 的浓度和去除率*

	30℃	25℃	20℃
进水NH_4^+-N（mg/L）	681.4	688.7	565.4
出水NH_4^+-N（mg/L）	5.2	3.8	3.8
NH_4^+-N去除率（%）	99.2	99.4	99.3

* 表中数据为平均值

2.3.3 TN 的去除

试验过程中，三个阶段进出水 TN 的变化如图 2-4 所示。

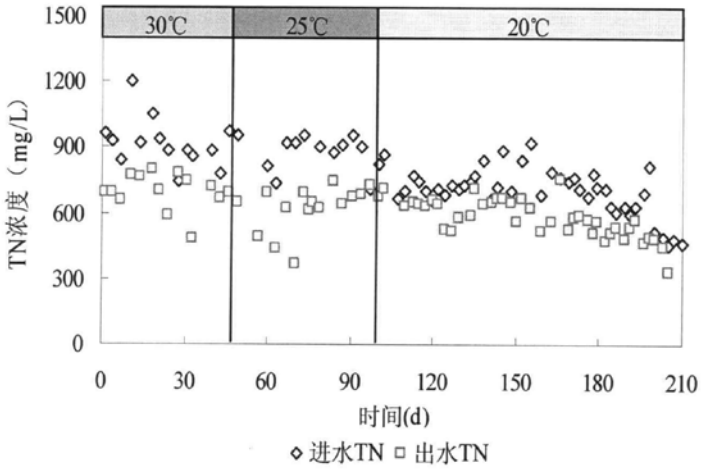


图 2-4　进出水 TN 的历时变化

由图 2-4 可知，由于系统硝化性能很好，NH_4^+-N 几乎完全被氧化成 NO_3^--N，出水中 NO_3^--N 的含量很高，平均值达到 620mg/L 左右，所以出水中 TN 的浓度较高。表 2-5 所示为三个阶段进出水 TN 的平均浓度和去除率。

表 2-5　各阶段进出水 TN 的浓度和去除率*

	30℃	25℃	20℃
进水TN（mg/L）	918.5	862.8	697.6
出水TN（mg/L）	692.5	632.4	547.4
TN去除率（%）	24.6	26.7	21.5

*** 表中数据为平均值**

由表中可以看出，系统的反硝化性能欠佳，TN 的平均去除率仅为 24.3%，这是因为当废水中含有足够的有机碳源，BOD_5/TN>3~5 时，才无需外加碳源[33]，而污泥水的 C/N 比仅为 0.56，且碳源较难利用，试验过程中也没有给系统外加碳源，因此不能保证反硝化顺利进行。

2.3.4　PO_4^{3-}-P 的去除

试验过程中，三个阶段进出水 PO_4^{3-}-P 的变化如图 2-5 所示。

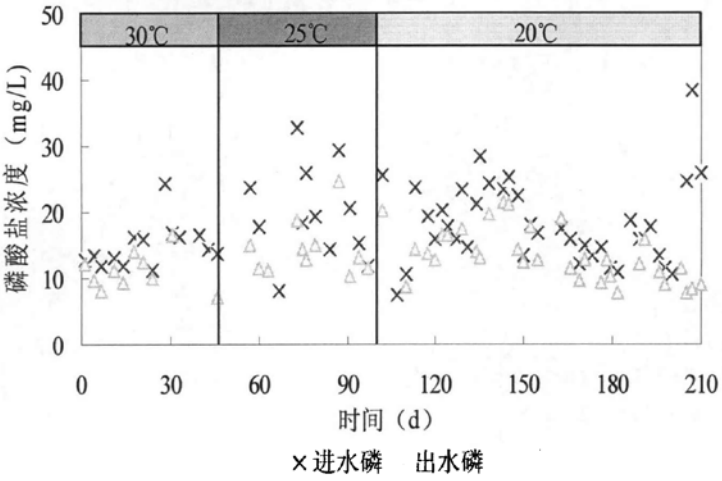


图 2-5　进出水 PO_4^{3-}-P 的历时变化

表 2-6 所示为三个阶段进出水 PO_4^{3-}-P 的平均浓度和去除效率。

表 2-6　各阶段进出水 PO_4^{3-}-P 的浓度和去除率*

	30℃	25℃	20℃
进水PO_4^{3-}-P（mg/L）	14.92	19.24	18.04
出水PO_4^{3-}-P（mg/L）	11.11	14.46	13.29
磷酸盐去除率（%）	25.5	24.8	26.3

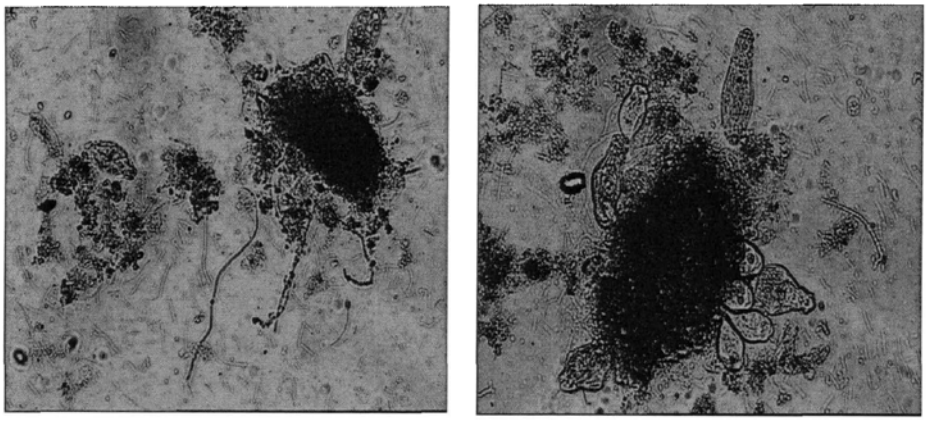
*** 表中数据为平均值**

由图 2-5 和表 2-6 可以看出，进水 PO_4^{3-}-P 的平均浓度为 17.4mg/L，出水 PO_4^{3}-P 的平均浓度为 13.0mg/L 左右。SBR 系统附带有 25.5%的 PO_4^{3-}-P 去除效率。

生物除磷要求系统必须有厌氧、好氧两个独立环境，且厌氧段 NO_2^--N、NO_3^--N 浓度极低，溶解氧在 0.2mg/L 以下[34]，而 SBR 反应器不具备这一条件，所以 PO_4^{3-}-P 主要是用于细胞合成，即维持微生物正常生理功能[35]。另外，PO_4^{3-}-P 能与 Ca^{2+}形成络合沉淀物[$Ca_5(OH)(PO_4)_3$]，但是这一化学作用与 pH 值有关。PO_4^{3-}-P 的浓度也会随反应器中 pH 的变化发生改变[36]。

2.3.5　污泥的性能指标

（1）生物相



a 污泥絮体　　b 原生动物

图 2-6 活性污泥的生物相

微生物是活性污泥处理系统的核心，在混合液内保持一点数量的活性污泥微生物是保证系统运行正常的必要条件。试验期间对活性污泥生物相进行了检测。图 2-6a 表明活性污泥的絮体呈黑褐色，结构密实，图 2-6b 表明污泥中的原生动物活动活跃。

（2）混合液悬浮固体

各阶段 MLSS 和 MLVSS 的浓度如表 2-7 所示。可以看出，试验期间，混合液 MLVSS/MLSS 的平均比值为 0.65，低于以生活污水为主体的城市污水的这一比值（0.75 左右）。这是因为污泥水中无机物的含量较高造成的，污泥水的 VSS/SS 的比值仅为 0.56。

（3）沉降性能

良好的沉降性能是发育正常的活性污泥应具备的特征之一。试验期间，混合液 SV 的值在 13%~38%之间，SVI 值在 27.8 mL/g~96.1 mL/g 之间，活性污泥的沉降性能较好。

表 2-7 各阶段混合液浓度及沉降性能指标*

	30℃	25℃	20℃
MLSS(mg/L)	2695	3509	4340
MLVSS(mg/L)	1684	2483	2700
MLVSS/MLSS	0.62	0.71	0.62
SV(%)	17.3	33.5	22.3
SVI（mL/g)	64	95	52

* 表中数据为平均值

2.4 小结

（1）污泥水中的 COD 较难降解，试验过程中 TCOD 和 SCOD 的平均去除率为 63.0%和 51.3%。

（2）反应器系统的硝化性能力良好，NH_4^+-N 的平均去除率在 99%以上。但是反硝化性能欠佳，TN 的平均去除率仅为 24.3%。

（3）系统附带有 25.5%的 PO_4^{3-}-P 去除率，PO_4^{3-}-P 主要是用于微生物的生理功能，且能与污泥水中的 Ca^{2+}结合生成络合物沉淀 $Ca_5(OH)(PO_4)_3$。

（4）活性污泥沉结构致密，原生动物活动活跃，污泥沉降性能好，SV 的平均值为 24%，但污泥水中无机物含量较高，混合液 MLVSS/MLSS 的平均值为 0.65，低于以生活污水为主体的城市污水的这一比值（0.75 左右）。

3 温度对硝化菌富集效果的影响

3.1 前言

作为硝化过程主体的硝化细菌属自养型专性好氧菌，由于繁殖速度慢，世代时间普遍比异养菌的世代时间长[37]，对环境因子的变化比较敏感，因此，目前大多数污水处理厂都面临硝化不完全的困境，而城市污水处理厂的剩余污泥在厌氧消化过程中又会产生含有高NH_4^+-N的污泥水，它与进水混合，进一步增加了污水处理系统的NH_4^+-N负荷，使得污水处理厂的硝化不完全问题更加严重。如果采用污泥水富集硝化菌并对城市污水处理系统进行生物添加，就可以同时达到降低污泥水的NH_4^+-N负荷和增加活性污泥系统中硝化菌数量，强化系统硝化效率的目的[38]。

在污泥水富集硝化菌的过程中，温度、A/O比、污泥龄等，都会对硝化菌的富集效率和种群结构产生影响，目前对污泥水富集硝化菌的最佳工艺条件尚缺乏系统的研究，本研究主要是在不同温度条件（30℃、25℃、20℃）下，利用污泥水富集硝化菌，并运用FISH技术检测所富集的硝化菌的形态和数量，分析温度的变化对其种群结构所产生的影响。

3.2 试验材料与方法

3.2.1 试验装置

同 2.2.1。

3.2.2 试验的启动与运行

同 2.2.2。

3.2.3 检测项目与方法

（1）常规指标测定

同 2.2.3。

（2）硝化速率

采用间歇实验法，取反应器中活性污泥，温度调整至室温， 并将 pH 控制在硝化菌适宜活动的范围内，调整 DO 含量和基质的初始浓度，定时取样分析。氨氧化速率测定的是 NH_4^+-N 的消耗速率；亚硝酸盐氧化速率测定的是 NO_2^--N 的消耗速率。具体操作条件见表 3-1。

表 3-1 硝化速率测定条件

	NH_4^+-N 氧化速率	NO_2^--N 氧化速率
基质	NH_4Cl	$Na NO_2$
污泥量	200 mL	
温度	20±0.5℃	
pH 值	7.8~8.0	
DO	2~4 mg/L	
基质浓度	50 mg/L	
取样间隔时间	20 min	

（3） 荧光原位杂交（FISH）

荧光原位杂交（Fluorescence In – Situ Hybridization） 技术问世于20 世纪70年代后期，是在原来的同位素原位杂交技术基础上发展起来的。其基本原理[39-40]是，按照两个核酸的碱基序列互补原则，用特殊修饰的核苷酸分子标记DNA探针，然后将标记的探针直接原位杂交到染色体或DNA 纤维切片上，荧光素分子偶联的单克隆抗体和探针分子特异性结合，经荧光检测系统和图形分析技术对染色体或DNA 纤维上的DNA 序列定位、定性和相对定量。

FISH技术在医学领域已经是一门比较成熟的检测技术，近年来也逐渐在水处理研究中得到应用，主要用来检测处理工艺中脱氮除磷细菌的形态、数量和群落结构。具体试验方法如下：

1）玻片处理

（a）清洗：玻片用热肥皂水刷洗，1%盐酸浸泡 24h，再在 0.1%焦炭酸二乙酯（DEPC—Diethyl Pyrocarbonate）中浸泡 24h。

（b）硅化：玻片和盖玻片用 1%（质量分数）的盐酸煮 10min，烘干，用锡纸包好，4℃保存备用。

（c）明胶涂片制备：将烘干的玻片放入明胶中 10min，然后 60℃烘干过夜备用。

（d）试剂瓶、塑料器皿及组织匀浆器的处理：试剂瓶、组织匀浆器先清洗干净，用 1 mL/LDEPC 水溶液浸泡处理(37 ℃、2 h ，室温过夜) ，然后高压消毒去除 DEPC ，再在 250 ℃下烘干 4 h 以上或 200 ℃过夜。称量试剂勺用同样方法处理。塑料器皿最好用灭菌的一次性塑料用品，使用前进行高压消毒，为保证质量，凡使用的枪头、试管等均要经过 0. 5mL/L DEPC 水溶液处理 3 h 以上，然后再高压灭菌，烘干。若为进口已处理的无 RNase 和 DNase 的枪头、试管可不必处理，直接使用。

（e）各种溶液的配制：凡是水溶性液体均用 1 mL/L DEPC 水配制。

2）样品制备及其所涉及的试剂：

（a）缓冲溶液

1×PBS 缓冲溶液：NaCl 8g，Na_2HPO_4 2.9g，KCl 0.2g，KH_2PO_4 0.2g，溶入 1000mL 超纯水；

3×PBS 缓冲溶液：NaCl 24g，Na_2HPO_4 8.7g，KCl 0.6g，KH_2PO_4 0.6g，溶入 1000mL 超纯水；

通常配制成 10×PBS 的储备液，3×PBS 和 1×PBS 可用 DEPC 水稀释获得。

（b） 4%多聚甲醛（Paraformaldehyde, PFA）

称取 2g PFA 加入 30ml 约 60℃的热水，滴几滴 20%NaOH 放在磁力搅拌器搅拌至完全溶解。然后向其中加入 16.5 ml 3×PBS 缓冲液，在冰浴中充分混匀冷却后，用 HCl 将 pH 值调整至中性（7.2 左右）。向 PFA 溶液中加入超纯水，定容在 50ml，0.45 微米的膜过滤后使用（室温或 4℃保存备用）。

（c）配制 50%，80%，98%无水乙醇溶液，每个总量 20mL。

（d）DAPI 溶液

用 1 ml ddH_2O 将 DAPI 溶解，制得 2.9 mM 的 DAPI 溶液 （1 mg DAPI/1 mL H_2O）。（DAPI 不能直接用 PBS 等缓冲液溶解，需要先用水将其溶解）。取适量 DAPI 水溶液加到 PBS 中，制备成 10~50 μM 的 DAPI 溶液。

3）取样及保存方法

反应器沉淀前取样 2~5mL 至离心管。离心（2000r/min）5min，去上清液（加蒸馏水重复两次）。样品加入 1mL 多聚甲醛，摇匀，4℃下放置 3h。样品离心(12000r/min)5min， 去上清夜。加入 1×PBS，摇匀，离心(10000r/min)5min， 去上清夜（重复 3 次）。加 0.5mL 1×PBS，0.5mL 无水乙醇，摇匀，-20℃保存。

4）样品固定

稀释样品 3~5 倍，对样品进行超声处理（3W 超声 2~3min，沉降 1min，去沉淀物，5W 超声 5min）。然后取 3μL 样品涂于包埋明胶的玻片上（检查样片本底），37℃的热烘箱固定 2h（或者在空气中干燥 2h 或者过夜）。依次用 50%、80%、98%（质量比）乙醇浸渍 3min，对细胞进行脱水后，立放，并进行干燥。

5）样品杂交

试验所用缓冲液包括杂交缓冲液（Hybridization Buffer, HB）和淋洗缓冲液（Washing Buffer, WB），其组分如表 3-2 和表 3-3。

表 3-2 杂交缓冲液的配制

	10%	20%	30%	35%	40%
0.05%SDS（μL）	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
50mMTri-HCl（μL）	24	24	24	24	24
5mol NaCl（mL）	4.32	4.32	4.32	4.32	4.32
甲酰胺（mL）	2.4	4.8	7.2	8.4	9.6
蒸馏水（mL）	17.2548	14.8548	12.4548	11.2548	10.0548
探针	Ntcoc206	Ntspn693	Nsv443	Ntspa662 NSO1225 Nmv	NIT3

表 3-3 淋洗缓冲液的配制

组分	体积
0.05%SDS	0.6μL
50m MTri-HCl	12μL
5mol NaCl	2.16mL
蒸馏水	42.8274mL

（a）吸取 2mL 杂交缓冲液遍布在杂交盒内折好的吸水纸上，将已固定好样品的载玻片放入杂交管中，然后在 46℃杂交炉中放置数分钟。

（b）吸取 10μL 探针贮存液和 80μL 杂交缓冲液混合，用箔纸包好放入 46℃杂交炉中预热数分钟，试验用的探针序列及杂交条件见表 3-4 所示，各探针所标记的细菌种类见图 3-1。

表 3-4 用于检测样品中硝化菌种属的寡核苷酸探针及杂交条件

探针	探针序列(5'~3')	标记细菌种属	浓度[a]	参考文献
NSO1225	CGCCATTGTATTACGTGTGA	Ammonia oxidizing beta-proteobacteria	35	[41]
Nsv443	CCGTGACCGTTTCGTTCCG	Nitrosospira	30	[41]
Nmv	TCCTCAGAGACTACGCGG	Nitrosococcus	35	[42]
Ntspa662	GGAATTCCGCGCTCCTCT	Nitrospira	35	[43]
NIT3	CCTGGCTCCATGCTCCG	Nitrobacter	40	[44]
Ntcoc206	CGGTGCGAGCTTGCAAGC	Nitrococcus mobilis	10	[45]
Ntspn693	TTCCCAATATCAACGCATT	Nitrospina gracilis	20	[45]

[a] 表示杂交缓冲液中去离子甲酰胺浓度（%）

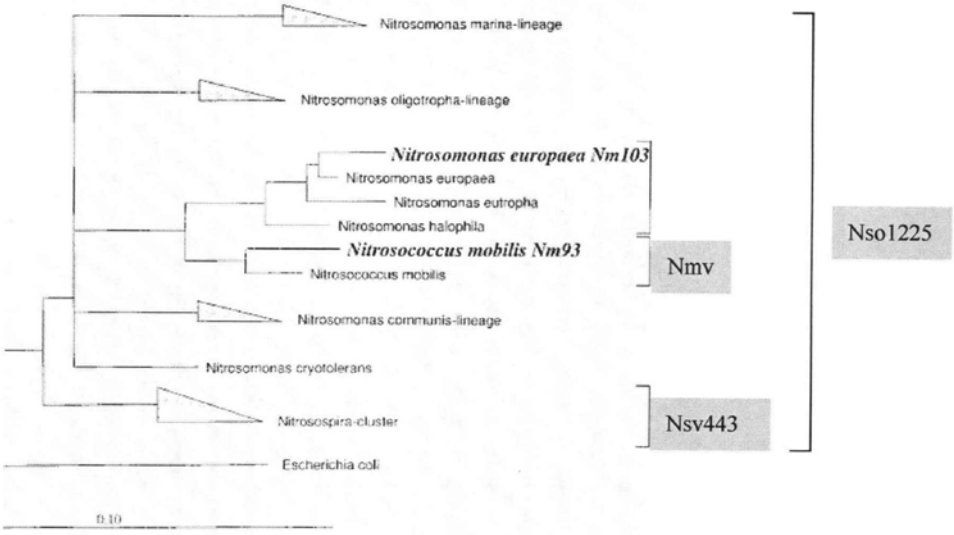


图 3-1a　AOB 的发育树及标记探针

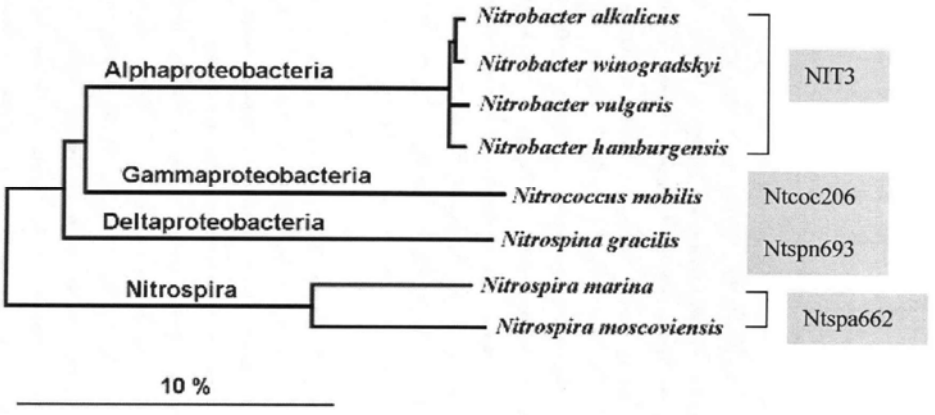


图 3-1b　NOB 的发育树及标记探针

（c）吸取 9μL 预热后的探针稀释液涂于载玻片待测样品上，然后将载玻片迅速地移回杂交管中于 46℃下进行杂交（黑暗中进行），杂交时间为 2~3h；

（d）杂交后的洗脱：打开恒温水浴槽，加热到 48℃，对杂交缓冲液、淋洗缓冲液进行预热。杂交盒中取出载玻片用杂交缓冲液冲洗样品后， 快速放入淋洗缓冲液，48℃水浴 20min 后用 4℃冰水，冲洗样品，样品洁净台中挥干。

6）DAPI 染色

每孔滴 9uLDAPI， 4℃暗处 5min，4℃冰水（BPS 缓冲溶液）冲洗，挥干。用带有 360 nm 激发波长，460 nm 发射波长的滤光片的荧光显微镜观察细胞。DAPI（4，6-diamido-2-phenylindole）染色用于全细胞计数。

7）封片

涂封片剂，盖盖玻片，无气泡后指甲油封装。

8）观察计数

在荧光显微镜下观察制作好的样品，每个样品及每个探针取 10~20 个视野。每个视野下的细胞个数要超过 1000 个，然后进行平均以获得各探针对于相应样品的杂交结果。细菌丰度或细菌数目（cells/g 或 cells/L）为 AS_1/S_2V，其中 A 为视野中细菌平均数；S_1 为样品涂抹面积；S_2 为视野涂抹面积；V 为样品体积。

3.3 试验结果与分析

3.3.1 反应器运行状况

表 3-5 列出的是 3 个阶段反应器的运行条件、处理效果及硝化速率。

表 3-5 各阶段反应器运行状况

	参数/指标	I	II	III
运行条件	温度(℃)	30	25	20
	水力停留时间(d)	2.5	2.5	2.5
	平均污泥龄 (d)	6.9	9.3	7.4
	A/O(d)	1/5	1/5	1/5
	进水量 Q（L/d）	2	2	2
COD的去除	进水TCOD（mg/L）	925.6	870.7	785.3
	出水TCOD（mg/L）	343.4	302.0	307.1
	去除率	62.9	65.3	60.9
	进水SCOD（mg/L）	478.4	376.9	420.8
	出水SCOD（mg/L）	233.0	180.0	209.6
	去除率	51.3	52.3	50.2
N 的去除	进水 NH_4^+-N（mg/L）	681.4	688.7	565.4
	出水 NH_4^+-N（mg/L）	5.2	3.8	3.8
	去除率	99.2	99.4	99.3
	进水 TN（mg/L）	918.5	862.8	697.6
	出水 TN（mg/L）	692.5	632.4	547.4
	去除率	24.6	26.7	21.5

PO_4^{3-}-P 的去除	进水 PO_4^{3-}-P（mg/L）	14.9	19.2	18.0
	出水 PO_4^{3-}-P（mg/L）	11.1	14.5	13.3
	去除率	25.5	24.8	26.3
污泥性能	MLSS（mg/L）	2695	3509	4340
	MLVSS（mg/L）	1684	2483	2700
	MLVSS/MLSS	0.62	0.71	0.62
	SV（%）	17.3	33.5	22.3
	SVI(mL/g)	64	95	52
硝化速率	最大氨氧化速率（mgNH_4^+-N/L·h）	41.9	103	89.6
	最大氨氧化速率（mgNH_4^+-N/gVSS·h）	25.7	40.7	33.4
	最大亚硝酸盐氧化速率（mgNO_2^--N/L·h）	18.6	51.6	34.4
	最大亚硝酸盐氧化速率（mgNO_2^--N/gVSS·h）	11.4	20.4	12.8

反应器各阶段常规指标的去除在上章已作分析，这里不再赘述。由表 3-5 可以看出，在 30℃、25℃和 20℃条件下培养出的硝化污泥的最大氨氧化速率分别为 25.7 mgNH_4^+-N/gVSS·h、40.7 mgNH_4^+-N/gVSS·h 和 33.4mgNH_4^+-N/gVSS·h；最大亚硝酸盐氧化速率分别为 11.4 mgNO_2^--N/ gVSS·h、20.4 mgNO_2^--N/ gVSS·h 和 12.8 mgNO_2^--N/ gVSS·h。

在一定范围内，随温度升高，活性污泥的硝化速率增大，达最大值后，继续升高温度，速率反而减小。

3.3.2 硝化菌的含量

反应器内活性污泥中硝化菌含量计算根据公式：

$$X_A^s = \frac{\theta_X}{\theta}\left[\frac{Y(N_0 - N)}{1 + b\theta_X}\right] \qquad \text{（式3-1）}$$

式中：

X_A^s—— 硝化菌浓度，g nitrifiers/L；

Y —— 硝化菌的产率系数，g nitrifiers/g N；X_A^s

b —— 硝化菌的衰减系数，1/d；

θ_X —— 平均污泥龄，d；

θ —— 水力停留时间，d；

N_0—— 进水 TKN， mg/L；

N —— 出水 TKN， mg/L。

产率系数Y不随温度变化而变化，取0.24[46]，计算中采用的假设系数及计算结果见表3-6。

表 3-6 各阶段反应器活性污泥的产率系数

参数	30℃	25℃	20℃
水力停留时间 θ（d）	2.5	2.5	2.5
污泥龄 θ_X（d）	6.9	9.3	7.4
进水 TKN（mg/L）	931	866	701
出水 TKN（mg/L）	31.8	19.2	21.2
衰减系数 b（1/d）	0.23	0.15	0.1
产率系数 Y（g nitrifiers/g N）	0.24	0.24	0.24
硝化菌浓度 X_A^s（g nitrifiers/L）	0.230	0.316	0.278
Yobs（mg nitrifiers /mgN）	0.093	0.100	0.138
Xas/MLVSS（mg nitrifiers/g VSS）	141.1	124.9	103.7
比硝化速率（mgN/gnitrifiers·h）	182	326	322

在 30℃、25℃和 20℃条件下，硝化菌产率分别为 0.093、0.100 和 0.138 mg nitrifiers /mgN。可以看出，低温更有利于硝化菌的富集。随温度降低，硝化菌的表观产率系数逐渐增加，这是因为当温度越高，硝化菌内源呼吸速率越大，衰减系数也增加，所以导致高温下系统中硝化菌浓度降低。

3.3.3 硝化菌的群落结构

利用 FISH 技术对 25℃和 20℃这两个工况下反应器污泥中的硝化菌种类、数量进行检测。NSO1225 探针标记的细菌数量表示氨氧化细菌总数量，Ntspa662、NIT3、Ntcoc206 和 Ntspn693 所标记细菌数量的总和表示亚硝酸盐氧化细菌的总数。各探针所对应的 DAPI 染色标记的是该视野下的总细菌数。硝化菌各菌属的荧光检测图像及对应的总细菌图像见图 3-2~图 3-8。

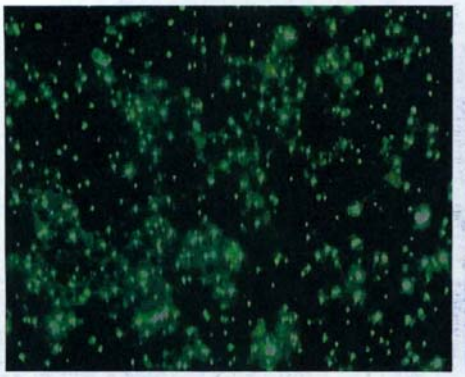


图 3-2a Nso1225 探针标记 AOB

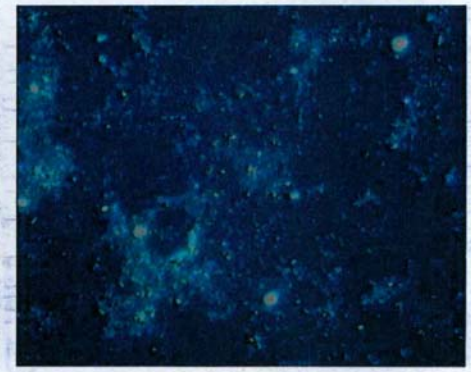


图 3-2b Nso1225 探针对应的 DAPI 染色

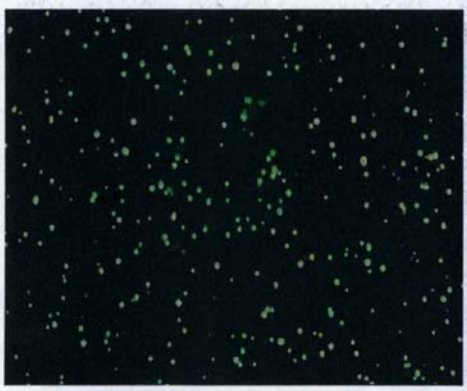


图 3-3a Nmv 探针标记 *Nitrosococcus mobilis*

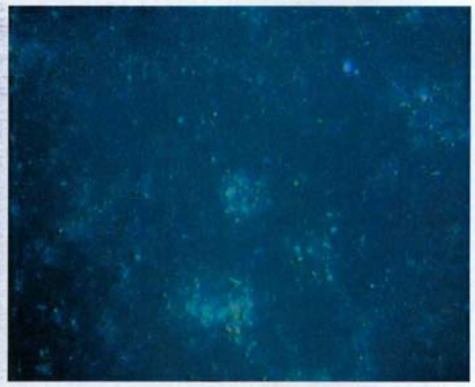


图 3-3b Nmv 探针对应的 DAPI 染色

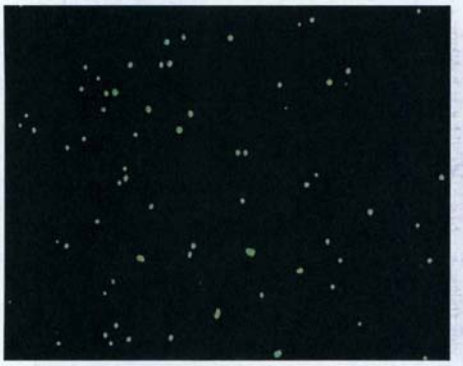


图 3-4a Nsv443 探针标记 *Nitrosospira*

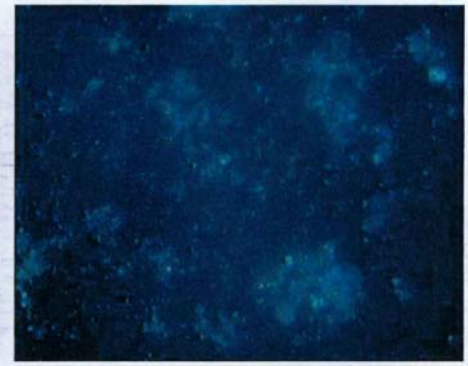


图 3-4b Nsv443 探针对应的 DAPI 染色

图 3-5a NIT3 探针标记 *Nitrobacter*

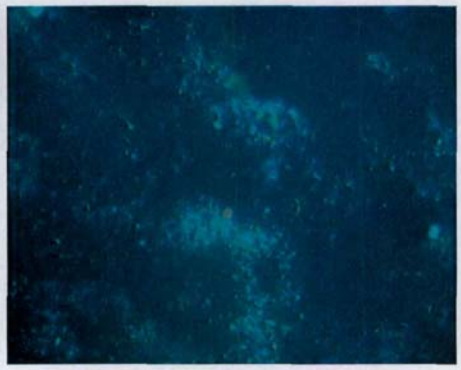


图 3-5b NIT3 探针对应的 DAPI 染色

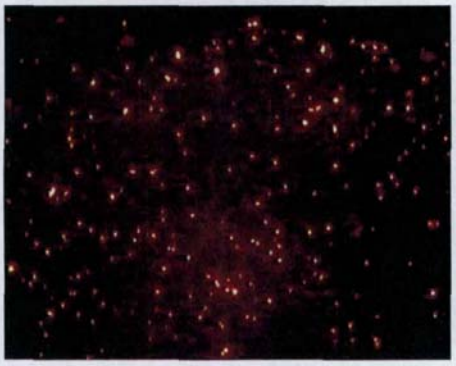


图 3-6a Ntspa662 探针标记 *Nitrospira*

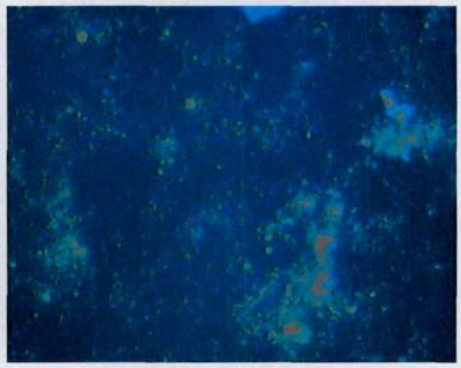


图 3-6b Ntspa662 探针对应的 DAPI 染色

图 3-7a Ntcoc206 探针标记 *Nitrococcus*

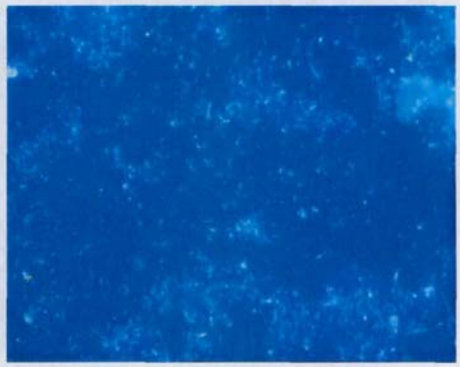


图 3-7b Ntcoc206 探针对应的 DAPI 染色

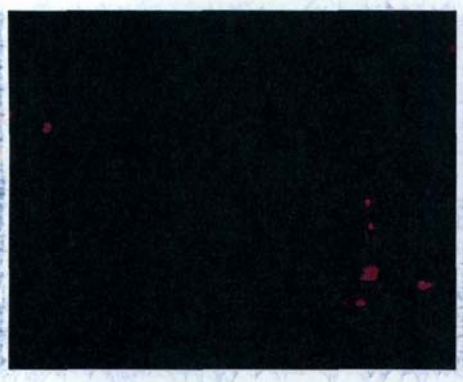


图 3-8a Ntspn693 探针标记 *Nitrospina*

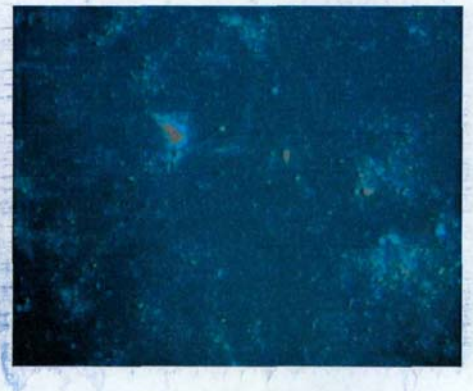


图 3-8b Ntspn693 探针对应的 DAPI 染色

（1）氨氧化菌（AOB）的群落结构

图 3-9 为两种温度条件下反应器活性污泥中 AOB 的种群结构。

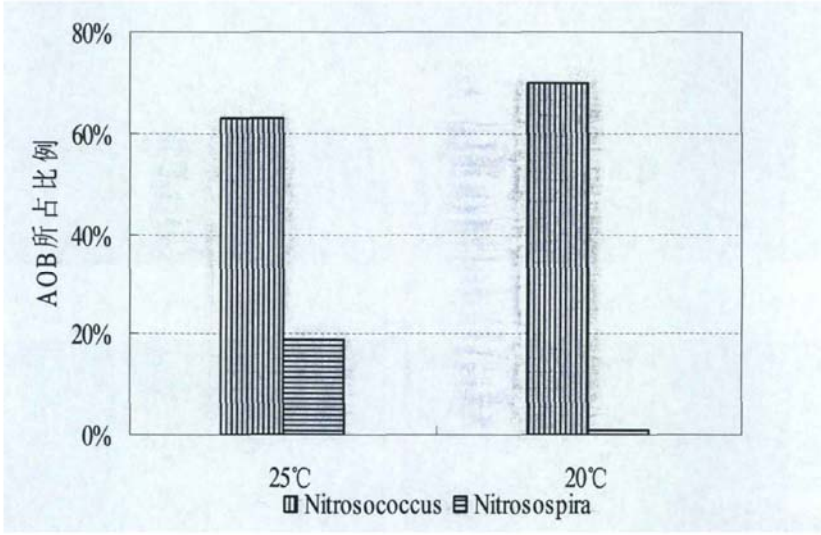


图 3-9 性污泥中氨氧化菌（AOB）的种群结构

两种温度下检测到的 AOB 的种类有氨氧化球菌属（*Nitrosococcus mobilis*）和氨氧化螺旋菌属（*Nitrosospira*），优势菌属均为氨氧化球菌属，这与 Salem 在 2002 年测定的 BABE 工艺测流反应器中污泥水所富集的 AOB 的优势菌种为 *Nitrosococcus mobilis* 相同[26]。这一测定结果符合 K/r 假说，即氨氧化螺旋菌属为 K-strategists，属生态学上的慢生长型菌属，它在基质（NH_4^+-N）浓度低的条件下可以比氨氧化球菌属更有效地利用基质进行生长，而氨氧化球菌属为 r-strategists，为快生长型菌属，它在基质（NH_4^+-N）浓度高的条件下可以快速生长并在数量上远远超过氨氧化螺旋菌属[47~49]，本研究是利用含高浓度 NH_4^+-N 的污泥水富集硝化菌，因此，在这种基质条件下，使得氨氧化球菌属成为 AOB 的优势菌属。

25℃下，氨氧化球菌属占 AOB 总数量的 63%，氨氧化螺旋菌属约占 19%；20℃下，氨氧化球菌属占 AOB 总数量的 70%，而氨氧化螺旋菌属仅为 1%。温度降低，属于慢生长型（K-strategists）的氨氧化螺旋菌属份额减少了 18%。

（2）亚硝酸盐氧化菌（NOB）的群落结构

图 3-10 为两种温度条件下反应器活性污泥 NOB 的种群结构。

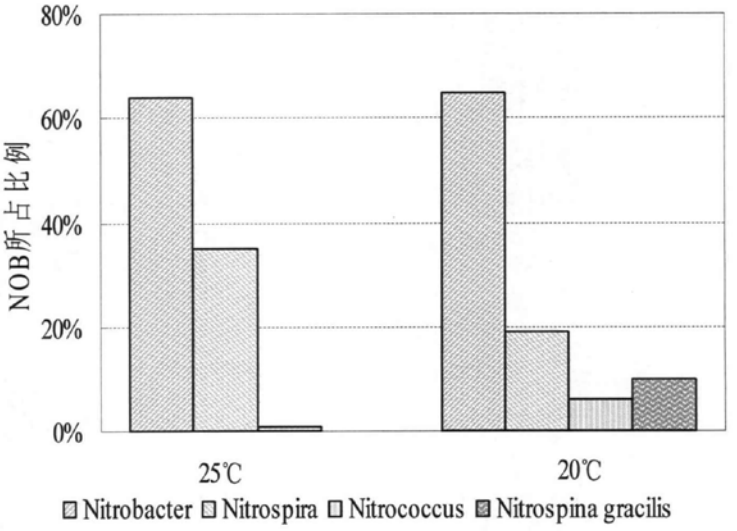


表 3-10　活性污泥中亚硝酸盐氧化菌（NOB）的种群结构

两种温度下检测到的NOB的种类有硝酸杆菌属(*Nitrobacter*)、硝酸螺旋菌属(*Nitrospira*)、硝酸球菌属（*Nitrococcus*）和硝酸刺菌属（*Nitrospina gracilis*）。其中，优势菌属为硝酸杆菌属。同AOB的群落结构相似，这一测定结果也可用K/r假说解释，即硝酸螺旋菌属为慢生长型的K-strategists，它在基质（NO_2^-）浓度较低时可以有效地利用基质生长，而硝酸杆菌属为快生长型，它在基质（NO_2^-）浓度高的条件下可以快速生长。

25℃下，硝酸杆菌属占NOB总数量的64%，硝酸螺旋菌属占35%，硝酸球菌属仅占1%，没有检测到硝酸刺菌属；20℃下，硝酸杆菌属占NOB总数量的65%，硝酸螺旋菌属占19%，硝酸球菌属占6%，硝酸刺菌属则占10%。

温度降低也使属于慢生长型（K-strategists）的硝酸螺旋菌属在 NOB 中的份额由 35%减少至 19%。另外，试验中检测出，温度降低，硝酸球菌属和硝酸刺菌属在 NOB 中的份额都呈现增加趋势，硝酸球菌属增加了 5%，硝酸刺菌属增加 10%。

（3）氨氧化菌（AOB）与亚硝酸盐氧化菌（NOB）在总细菌数中的比例

图 3-11 所示为 AOB 和 NOB 占总细菌数的平均份额。

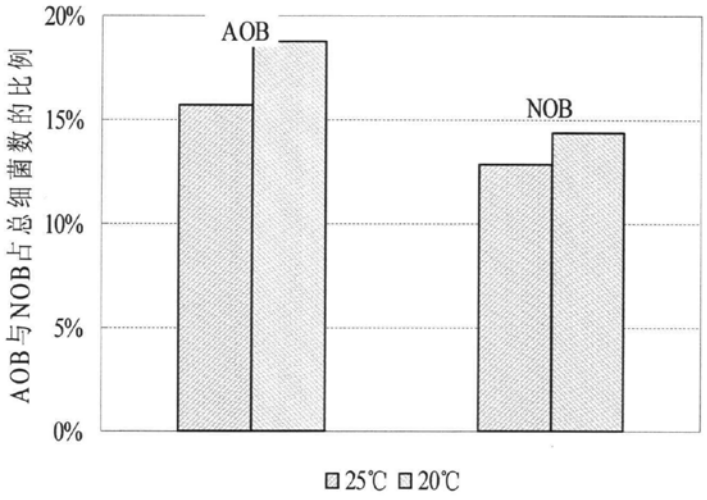


图 3-11 AOB 与 NOB 的数量

由图 3-11 可以看出，25℃和 20℃下，反应器污泥中 AOB 占总细菌数的平均比例分别为 15.7%（±3.7%）和 18.8%（±2.7%）；NOB 占总细菌数的平均比例分别为 12.9%（±3.2%）和 14.4%（±2.8%）。

可见，随温度降低，AOB 和 NOB 的份额均有所增加，这也从另一方面说明了低温更有利于硝化菌的富集。

3.4 小结

（1）硝化速率达最大值与温度相关，在一定范围内，温度升高，活性污泥硝化速率增大，达最大值后，温度继续升高，速率反而降低。25℃时氨氧化速率和亚硝酸盐氧化速率最大，分别 40.7mgNH_4^+-N/gVSS·h 和 20.4mgNO_2^--N/gVSS·h。

（2）随温度降低，系统活性污泥硝化菌的表观产率逐渐增大，20℃硝化菌产率达最大值 0.138 mg nitrifiers /mgN，这说明低温更有利于硝化菌的富集。

（3）氨氧化球菌属（*Nitrosococcus mobilis*）和硝酸杆菌属（*Nitrobacter*）均为两种温度下氨氧化菌和亚硝酸盐氧化菌的优势菌属。25℃和 20℃下，氨氧化球菌属分别占氨氧化细菌总数量的 63%和 70%，硝酸杆菌属分别占亚硝酸盐氧化细菌总数量 64%和 65%。

（4）温度对硝化菌群落结构有很大影响。温度降低使氨氧化球菌属在氨氧化菌中的数量增加了7%，氨氧化螺旋菌属（*Nitrosospira*）却由19%降至1%；同时也会使硝酸螺旋菌属（*Nitrospira*）在亚硝酸盐氧化菌中的份额降低16%；而硝

酸球菌属（*Nitrococcus*）与硝酸刺菌属（*Nitrospina gracilis*）的数量有所增加，硝酸球菌属增加了5%，硝酸刺菌属增加10%左右。

（5）25℃和 20℃下，氨氧化菌分别占细菌总数的 15.7%和 18.8%，亚硝酸盐氧化菌分别占细菌总数的 12.9%和 14.4%，温度降低氨氧化菌和亚硝酸盐氧化菌的数量均增加。

4 结论

采用 SBR 反应器处理城市污水处理厂的实际污泥水，在三个温度（20℃、25℃、30℃）下研究其硝化性能、富集效果，并利用 FISH 技术检测所富集的硝化菌的种类和数量，分析温度变化对其微生物群落结构的影响。研究结果如下：

（1）由于污泥水中的有机碳源较难降解，整个试验过程中 TCOD 和 SCOD 的平均去除率分别为 63.0%和 51.3%。SBR 系统的硝化性能好，NH_4^+-N 的平均去除率为 99.3%，但是由于污泥水 C/N 比较低，试验过程中也没有外加碳源，所以系统 TN 的平均去除率仅为 24.3%。系统附带有 25.5%的 PO_4^{3-}-P 去除效率，且 PO_4^{3-}-P 主要用于微生物的生理活动，并能与污泥水中的 Ca^{2+}结合生成络合物沉淀 $Ca_5(OH)(PO_4)_3$ 的形式去除。活性污泥结构致密，原生动物活动活跃，污泥沉降性能好，SVI 的平均值为 70mL/g。

（2）在一定范围内，随温度升高，活性污泥的硝化速率增大，达最大值后，继续升高温度，速率反而减小。25℃条件下培养出的污泥的硝化速率最大，氨氧化速率和亚硝酸盐氧化速率分别为 40.7mgNH_4^+-N/gVSS·h 和 20.4mgNO_2^--N/gVSS·h。低温更有利于硝化菌的富集，随温度降低，活性污泥的内源呼吸作用减弱，硝化细菌的表观产率增加，20℃时出现最大值 0.138 mg nitrifiers /mgN。

（3）活性污泥中检测到的氨氧化菌（AOB）的种类有氨氧化球菌属（*Nitrosococcus mobilis*）和氨氧化螺旋菌属（*Nitrosospira*）；其中，优势菌属为氨氧化球菌属，在 25℃和 20℃下，分别占 AOB 总数量的 63%和 70%；检测到的亚硝酸盐氧化菌（NOB）的种类有硝酸杆菌属（*Nitrobacter*）、酸螺旋菌属（*Nitrospira*）、硝酸球菌属（*Nitrococcus*）与硝酸刺菌属（*Nitrospina gracilis*）。其中，优势菌属为硝酸杆菌属，25℃下和 20℃下，分别占 NOB 总数量 64%和 65%。温度由 25℃降至 20℃，属于慢生长型（K-strategists）的氨氧化螺旋菌属在 AOB 中的份额减少 18%，同样，硝酸螺旋菌属在 NOB 中的份额也减少了 16%；另外，试验检测到，温度降低硝酸球菌属和硝酸刺菌属在 NOB 中的份额分别增加 5%和 10%左右。

（4）在 25℃和 20℃条件下，活性污泥中 AOB 的含量分别占细菌总含量的 15.7%和 18.8%， NOB 的含量分别占细菌总含量的 12.9%和 14.4%。温度降低，AOB 与 NOB 在总细菌数中的份额均有所增加，这也从另一方面说明了低温更有利于硝化菌的富集。

致谢

在论文即将完成之际，感谢我的导师彭党聪教授，他一丝不苟的工作作风，严谨求实的科研态度，一直是我工作、学习中的榜样。本课题在选题及研究过程中得到老师的悉心指导，帮助我了解课题的基本内容，开拓了研究思路。彭老师不仅授与我专业知识，而且教我做人的道理，研究生学习的三年里，使我受益匪浅。

感谢我的师姐博士研究生于莉芳，在一年的试验期间，以身作则，对我严格要求，严谨认真的科研精神值得学习，由于她的悉心督促，我完成了试验，并取得了一定的成绩。

最后感谢我的同门杨晋，在共同做试验研究的这一年里，对我生活和学习上的照顾和帮助。在此，谨向曾经给与我帮助的老师，同学，朋友表示最诚挚的敬意和谢忱。

参考文献

[1] 张自杰，林荣忱等. 排水工程（下册）[M]. 北京：中国建筑工业出版社，2000.

[2] Metcalf & Eddy. Wastewater engineering treatment and reuse (Fourth Edition) 废水工程处理与回用[M]. 北京：清华大学出版社，2003：1505-1510, 1465-1467.

[3] Berends D, Salem S, van der Roest H, et al. Boosting nitrification with the BABE technology[J]. Wat. Sci. Tech., 2005, 52 (4):63-70.

[4] Gil K., Choi E. Nitrogen removal by recycle water nitritation as an attractive alternative for retrofit technologies in municipal wastewater treatment plants [J]. Wat. Sci. Tech., 2004, 49(5-6): 39-46.

[5] Head M, Melanie A, Oleszkiewicz J. Nitrifying bacteria addition into reactors operating near washout conditions for nitrification[J]. J. Environ. Eng. Sci., 2005, 4(4): 257 -264.

[6] Fux C, Boehler M, Huber P *et al.* Biological treatment of ammonium-rich wastewater by partial nitritation and subsequent anaerobic ammonium oxidation (anammox) in a pilot plant [J]. J Biotechnol, 2002, 99(3): 295-306.

[7] Johansson P, Nyberg A, Beier M. Cost efficient sludge liquor treatment[C]. Proceedings of a Polish-Swedish seminar, Nowy Targ, October 1-2, 1998.

[8] Statey J T, Bryant M P, Pfenning N *et al.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Vol. 3) [M]. Williams & Wilkins, 1989. 1807-1835.

[9] Holt J G, Krieg N R and Sneath P H A *et al.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (9^{th} edition) [M]. Williams & Wilkins, 1984. 427-455.

[10] Janus H, van der Roest H. Don't reject the idea of treating reject water [J]. Wat Sci Tech, 1997, 35(10): 27-34.

[11] 郭劲松，罗本福等.生物脱氮研究的新进展—全程自养脱氮工艺. [J]环境科学与技术.2005，28（6）：102-105.

[12] Hellinga C, Schellen A, Mulder J W,et al. The Sharon process: an innovative method for nitrogen removal from ammoniumrich waste water [J].Water Science and Technology, 1998, 37 (9): 135-142.

[13] Van Kempen R, Mulder J W, Uijterlinde C A,et al. Overview: full scale experience of the SHARON process for treatment of rejection water of digested sludge dewatering [J].Water Science and Technology, 2001, 44(1): 145-152.

[14] Kempen Van R, Uljterlinde C A Muler JW, Loosdrecht Van C M Mark.

Overview: full scale experience of the SHARON○Rprocess for treatment of rejection water of digested sludge dewatering[J]. Wat.Sc.i Tech., 2001, 44 (1): 145-152.

[15] Verstraete W, Philips S. Nitrification-denitrification processes and technologies in new contexts [J] . Environmental Pollution, 1998, 102:717-726.

[16] Van de Graaf, A A Mulder, et al. Anoxic ammonium oxidation[R]. Proceedings of the 5thEuropean Congress onBiotechnology, Volume I, Copenhagen, Danmark:1990,7:8-13.

[17] Mulder A, van de Graaf AA, Robertson LA, Kuenen JG.Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifyingfluidized bed reactor. FEMSMicrobiol Ecol1995;16:177-84

[18] Schmidt I, Bock E. Anaerobic ammonia oxidationwith nitrogen dioxide by Nitrosomonas eutropha. Arch Microbiol 199 7;167:106-11

[19] 张华,张善峰等.污水生物脱氮技术研究新进展. [J] 辽宁化工.2006, 9（35）:257-530.

[20] van de Graaf AA, Mulder A, de Bruijn P, Jetten MSM,Rbertson LA, Kuenen JG. Anaerobic oxidation of ammoni-um is a biologically mediated process. ApplEnviron Micro-biol 1995; 61:1246-51

[21] 杨麒,李小明,曾光明等. 同步硝化反硝化机理的研究进展,[J]. 微生物学通报, 2003,30（4）:88-91.

[22] YooH,AhnK.H.et al. Nitrogen removal from synthetic wastewater by simultaneous nitrification and dennitrification（SND） via nitrate in an intermittently-aerated reactor.Water Res,1999:33（1）:145-154

[23] Kos P. Short SRT (solids retention time) nitrification process/flowsheet[J]. Wat Sci Tech, 1998, 38(1): 23-29.

[24] Plaza E, Trela J, Hultman B. Impact of seeding with nitrifying bacteria on nitrification process efficiency[J]. Wat Sci Tech, 2001, 43 (1):155-164.

[25] Berends D, Salem S, van der Roest H *et al.* Boosting nitrification with the BABE technology[J]. Wat Sci Tech, 2005, 52 (4):63-70.

[26] Salem S, Berends D, Heijnen J. Model-based evaluation of a new upgrading concept for N-removal[J]. Wat Sci Tech, 2002, 45(6): 169-176.

[27] Salem S, Berends D, van der Roest H. Full-scale application of the BABE technology [J]. Wat Sci Tech, 2004, 50(7): 87-96.

[28] Salem S, Berends D, Heijnen J. Bio-augmentation by nitrification with return

sludge [J]. Wat Res, 2003, 37(8): 1794-1804.

[29] 赵义,郝晓地,朱景义等.测流富集/主流强化硝化（BABE）升级工艺[J].中国给水排水,2006,(22)2:5-8..

[30] Rosen S, Huijbregsen C. The ScanDeNi process could turn an existing under-performing activated sludge plant into an asset [J]. Wat Sci Tech, 2003, 47(11):31-36.

[31] 杭世珺, 陈吉宁, 郑兴灿等. 污泥处理处置的认识误区与控制对策[J]. 中国环保产业, 2005, (3): 11-14.

[32] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M] . 第 4 版. 北京:中国环境科学出版社,2002.

[33] 姜亚敏，邢磊等. 城市污水处理厂改良氧化沟工艺除磷效果影响因素分析[J]. 水处理技术，2007, 33(7): 53-56.

[34] 周群英，高廷耀. 环境工程微生物学[M]. 北京：高等教育出版社，2004.

[35] 张希衡. 水污染控制工程[M] . 北京：冶金工业出版社，2004.

[36] 于莉芳, 刘小英等. SBR 工艺处理城市污水厂污泥水的研究 [J]. 中国给水排水, 2007, 23(17): 6-10.

[37] 郑兴灿等. 污水除磷脱氮技术[M]. 中国建筑工业出版社, 1998.

[38] 于莉芳, 王圣伟, 郭天赐等. 污泥水富集硝化菌和强化城市污水低污泥龄硝化[J]. 环境科学, 2008, 29(2): 61-66.

[39] 马莉贞. 荧光原位杂交技术及其应用[J] . 青海大学学报,2001,19(1): 18~21.

[40] 林汝仙. 荧光原位杂交技术及其应用[J] . 国外医学临床生物化学与检验学分册,1994 ,15 (3) :122-124.

[41] Mobarry B. K., Wagner M. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1996, 62(6): 2156-2162.

[42] Pommerening R. A., Rath G. and Koops H. P. Phylogenetic diversity within the genus Nitrosomonas [J]. Syst. Appl. Microbiol., 1996, 19(3), 344-351.

[43] Daims H., Nielsen J. L., Nielsen P. H. et al. In situ characterization of Nitrospira-like nitrite oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants [J]. Appl. Environ. Microbiol., 2001, 67(11), 5273-5284.

[44] Wagner M., Rath G., Koops H. P., et al. In situ analysis of nitrifying bacteria in sewage treatment plants [J]. Wat. Sci. Tech., 1996, 34(1): 237-244.

[45] Juretschko, S. 2000. Ph. D. thesis. Technische Universitat München.

[46] Abeysinghe D,De Silva D,Stahl D. The effectiveness of bioaugmentation in

nitrifying systems stressed by a washout condition and cold temperature[J]. Wat Environ Res,2002,74(2):187-199

[47] Blackburnea R., Vel M. Vadivelu, Zhiguo Yuan, et al. Kinetic characterisation of an enriched Nitrospira culture with comparison to Nitrobacter [J]. Wat. Res. 2007, 41(14): 3033-3042.

[48] Kim D, Kim S. Effect of nitrite concentration on the distribution and competition of nitrite-oxidizing bacteria in nitratation reactor systems and their kinetic characteristics [J]. Wat. Res., 2006, 40(3): 887-894.

[49] Schramm A., De Beer D., Gieseke A.et al. Microenvironments and distribution of nitrifying bacteria in a membrane-bound biofilm [J]. Environ. Microbiol. 2000, 2(6): 680-686.

研究生期间发表论文

[1] 温度对污泥水脱氮效果的试验研究　水处理技术　已录用

声　明

本人郑重声明我所呈交的学位论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中已经标明引用的内容外，本论文不包含其他个人或集体已经发表或撰写过的研究成果，也不包含本人或其他人在其它单位已申请学位或为其它用途使用过的成果。与我一同工作的同志对本研究所做的所有贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了致谢。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

论文作者签名：陈青青　　日期：2009.5.26

关于学位论文使用授权的说明

本人完全了解西安建筑科技大学有关保留、使用学位论文的规定，即：学校有权保留并向国家有关部门或机构送交学位论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅；学校可以公布学位论文的全部或部分内容，可以采用影印、缩印或者其它复制手段保存学位论文。

（保密的论文在论文解密后应遵守此规定）

论文作者签名：陈青青　导师签名：[illegible]　日期：2009.5.26

本人授权中国科学技术信息研究所、中国学术期刊（光盘版）杂志社等单位将本学位论文收录到有关“学位论文数据库”之中，并通过网络向社会公众提供信息服务。同意论文提交后滞后：□半年；□一年；□二年发布。

论文作者签名：陈青青　导师签名：[illegible]　日期：2009.5.26

注：请将此页附在论文首页。

温度对污泥水单独处理及富集硝化菌效果的影响

专　　业：环境工程
研 究 生：陈青青
指导老师：彭党聪　教授

摘要

城市污水处理厂的污泥水包括污泥厌氧消化池排出的上清液、后续浓缩池的上清液和污泥脱水车间排出的脱水滤液，由于其 NH_4^+-N 浓度较高，因此，尽管水量仅占污水处理厂总水量的 1%~2%，但 NH_4^+-N 负荷却占总负荷的 15%~25%。通常污泥水被回流至进水口进行再处理，这就造成处理系统的实际 NH_4^+-N 负荷高于设计负荷，致使污水厂出水的 NH_4^+-N 浓度不能达到相关的排放标准。通过对污泥水单独处理，并富集硝化菌，投加到污水处理系统中，可大大强化污水处理厂的脱氮效率。本研究采用 SBR 反应器，探讨不同温度（30℃、25℃、20℃）条件下污泥水的硝化效果和硝化菌产率，并运用荧光原位杂交（FISH）技术对所富集的硝化菌的种类和数量进行检测，分析温度变化对其微生物群落结构的影响。主要研究结果如下：

（1）污泥水中的 COD 较难降解，整个试验过程中 TCOD 和 SCOD 的平均去除率分别为 63.0%和 51.3%。系统的硝化性能良好，NH_4^+-N 的平均去除率为 99.3%，但是反硝化效率欠佳， TN 的平均去除率仅为 24.3%，同时获得了 25.5% 的 PO_4^{3-}-P 去除效率。反应器运行稳定后，活性污泥结构致密，原生动物活动活跃。污泥沉降性能好，SVI 的平均值为 70.0mL/g。

（2）30℃、25℃和 20℃下培养的活性污泥的最大氨氧化速率分别为 25.7、40.7、33.4 mgNH_4^+-N/gVSS·h；最大亚硝酸盐氧化速率分别 11.4、20.4、11.8 mgNO_2^--N/gVSS·h，25℃时，硝化速率达最大值。随温度降低，硝化菌的内源呼吸速率逐渐减小，表观产率增大，20℃时达最大值 0.138 mg nitrifiers /mgN。

（3）活性污泥中检测到的氨氧化菌种类有氨氧化球菌属（*Nitrosococcus*

mobilis）和氨氧化螺旋菌属（*Nitrosospira*）；25℃和20℃下，氨氧化球菌属分别占氨氧化菌总数量的63%和70%，为优势菌属；氨氧化螺旋菌属分别占19%和1%。检测到的亚硝酸盐氧化菌种类有硝酸杆菌属（*Nitrobacter*）、硝酸螺旋菌属（*Nitrospira*）、硝酸球菌属（*Nitrococcus*）与硝酸刺菌属（*Nitrospina gracilis*）。25℃和20℃下，硝酸杆菌属分别占亚硝酸盐氧化菌总数量的64%和65%，为优势菌属；硝酸螺旋菌属分别占35%和19%；硝酸球菌属分别占1%和6%；25℃下没有检测到硝酸刺菌属，而在20℃，数量占10%。随温度降低，氨氧化菌和亚硝酸盐氧化菌在总细菌数中所占份额均有所增加，25℃和20℃下污泥中氨氧化菌的含量分别占总细菌含量的15.7%和18.8%，亚硝酸氧化菌分别为12.9%和14.4%。

关 键 词：温度；污泥水；生物脱氮；硝化菌；硝化性能；生物群落结构；

论文类型：应用研究型

Effects of temperature on separate treatment and nitrifiers accumulation with reject water

Specialty: Environmental Engineering

Name: Chen Qingqing

Instructor: Professor Peng Dangcong

Abstract

Reject water from municipal wastewater treatment plant(WWTP) is composed of supernatant discharged from the anaerobic digester,sludge thickener tank and sludge dewatering filtrate from sludge dewatering devices.Although the volume of reject water is small(olny 1%~2% of the flow rate),the nitrogen load is high(15%~25% of total load). WWTPs in China adopt the methond of recirculating reject water to the influent inlet,which causes the actual nitrogen load of the treatment system higher than the design load,so that there is an incomplete nitrification in WWTP. The reject water could be treated separately to produce a nitrifying biomass for bioaugmentation.nitrifiers would be treated separately in sequencing batch reactor(SBR), the nitrification performance and nitrifying biomass accumulation at different temperatures(20℃,25℃,30℃)were investigated respectively.Then the type and quantity of nitrifiers cultivated with reject water were investigated by fluorescent in situ hybridization (FISH),the effect of various temperatures on microbial community was analyzed. The results obtained showed that:

(1) There was a low organic curbon removal rate, the everage removal efficiencies of TCOD, SCOD were 63.0% and 55.6%.The conventional activated sludg can achieve a excellent nitrification performance, the average remoal efficiencice of NH_4^+-N was 99.3%. However there was a bad anti- nitrification ability ,the average removal efficiencice of TN was only 24.3% during the experiment. And there was a remove rate of 25.5% with PO_4^{3-}-P. When SBR operated steadily,the

activated sludge had a compact structure, there were so many active protozoa that filamentous bacteria were not found. The settleability of sludge is very well and the average SVI was 70mg/L.

(2) When temperature was cotrolled as 30℃, 25℃ and 20℃ , The maximum ammonia utilized rate (AUR) of activated sludg were 25.7,40.7,33.4 mgNH_4^+-N/gVSS·h respectively, and the maximum nitrite utilized rate (NUR) were 11.4、20.4、11.8 mgNO_2^--N/gVSS·h respectively.The nitrification rate was 326.0 mgN/gnitrifiers·h.Observed yield coefficieny (Y_{obs}) of nitrifiers would increase with temperature drop,there was a maximum as 0.138mg nitrifiers/mgN at 20℃.

(3) Ammonia oxidizing bacteria(AOB) includes Nitrosococcus mobilis and Nitrosospira in activated sludge, At 25℃, the percentage of Nitrosococcus mobilis and Nitrosospira in AOB were 63% and 19%,while 70% and 1% at 20℃. Nitrite oxidizing bacteria(NOB) includes Nitrobacter, Nitrospira, Nitrococcus and Nitrospina gracilis. At 25℃, the percentage of Nitrobacter, Nitrospira and Nitrococcus in NOB were 64%,35% and1% while Nitrospina gracilis were not found.Then the percentage of Nitrobacter, Nitrospira,Nitrococcus and Nitrospina gracilis in NOB were 65%,19%,6% and 10% respectively.The percentage of AOB and NOB in total bacteria would increase when the temperature decreases,, at 25℃and 20℃,the percentage of ammonia oxidizing bacteria(AOB/DAPI) in activated sludge were 15.7% and 18.8% respectively, then the percentage of nitrite oxidizing bacteria (NOB/DAPI) were 12.9% and 14.4% respectively.

Keywords: temperature, reject water, biological nitrogen removal, nitrifier, nitrification performance, microbial community.

Paper type: applied research