

# 晚期垃圾渗滤液的部分亚硝化

廖小兵<sup>1,2,3,4</sup> 许玫英<sup>1,2</sup> 邓代永<sup>1,2</sup> 孙国萍<sup>1,2</sup>

(1. 广东省微生物研究所, 广州 510650; 2. 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广州 510070;  
3. 中国科学院华南植物园, 广州 510070; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要** 利用实验室小试 SBR 在  $(33 \pm 1)^\circ\text{C}$  的条件下, 通过动态调控溶氧浓度 (DO) ( $2 \sim 7 \text{ mg/L}$ ) 和水力停留时间 ( $2 \sim 5 \text{ d}$ ), 经过 130 d 的运行成功启动了晚期垃圾渗滤液 ( $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量  $1\ 227 \sim 2\ 133 \text{ mg/L}$ ) 的部分亚硝化, 使出水  $\text{NO}_2^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$  稳定维持在 1:1 左右, 为后续的厌氧氨氧化工艺创造了进水条件。利用实时荧光定量 PCR 研究启动过程中的特异微生物氨氧化细菌的含量变化表明, 氨氧化细菌的含量与  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  的生成速率和出水  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  稳定性有着显著相关性。

**关键词** 晚期垃圾渗滤液 部分亚硝化 定量 PCR 氨氧化细菌 (AOB)

中图分类号 X703 文献标识码 A 文章编号 1673-9108(2012)09-2918-05

## Partial nitrification of old landfill leachate

Liao Xiaobing<sup>1,2,3,4</sup> Xu Meiyong<sup>1,2</sup> Deng Daiyong<sup>1,2</sup> Sun Guoping<sup>1,2</sup>

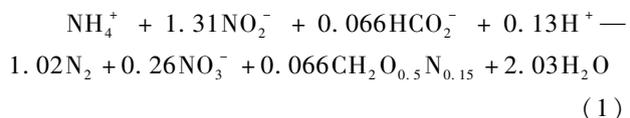
(1. Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510650, China;  
2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangzhou 510070, China;  
3. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510070, China;  
4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract** The partial nitrification process treating old landfill leachate ( $\text{NH}_4^+ - \text{N} : 1\ 227 \sim 2\ 133 \text{ mg/L}$ ) was achieved and maintained stably in a pilot scale SBR at  $(33 \pm 1)^\circ\text{C}$  by controlling the DO ( $2 \sim 7 \text{ mg/L}$ ) and HRT ( $2 \sim 5 \text{ d}$ ) after operation for 130 d. The effluent  $\text{NO}_2^- - \text{N} / \text{NH}_4^+ - \text{N}$  ratio was about 1, which can provide suitable influent substrate for the following anaerobic ammonium oxidation process. Real-time PCR was used to quantify populations of ammonia-oxidizing bacteria in different operational stage active sludge samples, and it was found that the percentage of AOB in total bacteria has direct correlation with the rate of the  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  production and the stability of the effluent composition.

**Key words** old landfill leachate; partial nitrification; real-time PCR; ammonia-oxidizing bacteria (AOB)

垃圾渗滤液是一种高浓度、高毒性和难降解的有机废水, 一般含有 60% ~ 90% 的有机污染物, 3% ~ 18% 的难降解物质和远超生活污水的高浓度氨氮。如何高效去除垃圾渗滤液中的高氨氮, 一直是垃圾渗滤液处理的难题。常用的污水脱氮方法有氨氮吹脱法<sup>[1]</sup>、化学沉降法<sup>[2]</sup>以及硝化反硝化生物脱氮技术。氨氮吹脱法和化学沉降法等物化方法在处理垃圾渗滤液上成本高昂, 传统的硝化和反硝化脱氮技术由于垃圾渗滤液的高氨氮和高腐殖质含量等水质特征, 也使得处理效果不尽人意。近年来兴起的厌氧氨氧化 (ANAMMOX) 脱氮技术, 被公认是目前最具应用前景的污水脱氮技术, 其基本原理是 ANAMMOX 细菌在厌氧条件下以亚硝酸盐为电子受体将氨氮氧化为氮气 (反应式(1))<sup>[3]</sup>, 与传统的生物脱氮技术相比具有节能降耗和环境友好等突出优点。应用该技术的一个关键前提就是使 ANAM-

MOX 反应器进水的亚硝态氮和氨氮的摩尔比例持在 1:1 左右。但是垃圾渗滤液中基本不存在亚硝酸盐, 因此需要一个部分亚硝化工艺<sup>[4-6]</sup>将垃圾渗滤液中的一半左右氨氮氧化成亚硝态氮。其工艺近年来已有研究<sup>[7, 8]</sup>, 但较少涉及到分子水平研究特定微生物的变化情况。



**基金项目:** 国家“水体污染控制与治理”科技重大专项 (2009ZX07211-009); 广东省教育部产学研合作引导项目 (2009B090300300299); 粤港关键领域重点突破招标项目 (2009205200030); 广东省科学院野外工作站基金项目 (syzt2008)

**收稿日期:** 2011-03-02; **修订日期:** 2011-04-05

**作者简介:** 廖小兵 (1985-), 男, 硕士研究生, 主要从事污水处理工程研究工作。E-mail: lxbing1985@126.com

本实验研究结合部分亚硝化工艺运行过程中的出水水质变化,利用实时荧光定量聚合酶链式反应(荧光定量 PCR)研究了特定微生物氨氧化细菌(AOB)的变化情况,以揭示反应器处理效果变化的内在因素,以期探索出适合老龄垃圾渗滤液启动部分亚硝化的操作参数,为垃圾渗滤液的 ANAMMOX 工艺实现实际应用提供理论指导。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验装置与运行

实验采用有机玻璃 SBR 反应器,总体积约为 20 L,有效容积为 15 L,如图 1 所示。以某市政污水厂的二沉池污泥和某垃圾填埋厂厌氧反应器污泥按 1:1 混合接种,污泥浓度约为 4 800 mg/L;污泥容积指数为 62.5 mL/g;通过气量调节阀控制,DO 浓度在 2~7 mg/L。部分亚硝化工艺的水力停留时间(HRT)在 2~5 d,运行温度控制在(33±1)℃。

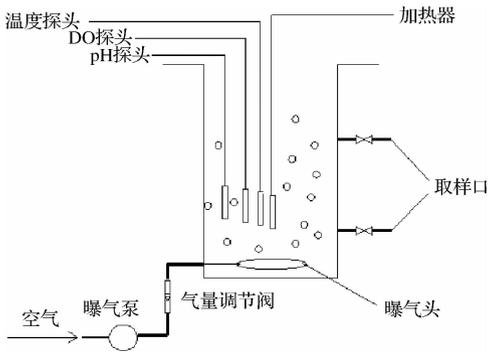


图 1 部分亚硝化工艺反应器示意图

Fig. 1 Schematic diagram of partial nitrification reactor

### 1.2 实验用水及水质

实验用水为广州市某垃圾填埋场经厌氧预处理的垃圾渗滤液,水质如下:COD 为 2 210~5 578 mg/L, BOD<sub>5</sub> 为 162~1 600 mg/L, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 为 1 227~2 133 mg/L, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 为 4~9 mg/L, pH 为 7.8~8.5, 碱度为 7 757~10 510 mg/L(以 CaCO<sub>3</sub> 计)。

### 1.3 分析方法

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N: 纳氏试剂分光光度法<sup>[9]</sup>; NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N: N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法<sup>[9]</sup>; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N: 酚二磺酸分光光度法<sup>[9]</sup>; 总氮(TN): 碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法<sup>[9]</sup>; VSS、MLSS 测试: 重量法<sup>[9]</sup>; pH、温度和 DO 均采用便携式多功能测试分析仪(Multiline P<sub>4</sub> WTW, 德国)进行测试。部分亚硝化效率(PNE)采用 Eq. (1) 进行计算:

Eq. (1):

$$PNE = \frac{C_{(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{off}}}}{C_{(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{off}}} + C_{(\text{NO}_3^- - \text{N})_{\text{off}}}} \times 100\%$$

式中:  $C_{(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{off}}}$  和  $C_{(\text{NO}_3^- - \text{N})_{\text{off}}}$  分别表示 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的出水浓度。

### 1.4 DNA 抽提和荧光定量 PCR

取初始接种污泥及 SBR 反应器运行第 25 天、第 55 天、第 85 天和第 130 天的污泥各 0.6 g 利用土壤基因组 DNA 提取试剂盒(BIOMIGA, San Diego, CA)提取基因组 DNA。选用 F338/R518 引物研究总细菌数量;选用 CTO189f/RT1r 引物(其中 CTO189fA/B 和 CTO189fC 按 2:1 混合使用),扩增 AOB 16S rDNA 的 V2 区的 116 bp 长的片段对 AOB 进行定量,引物序列和荧光定量 PCR 反应条件见表 1。以插入 16S rDNA 基因片段的 PCR@ 2.1 (Invitrogen, USA) 载体构建标准曲线,总细菌定量时的稀释度为 10<sup>6</sup>、10<sup>7</sup>、10<sup>8</sup>、10<sup>9</sup> 和 10<sup>10</sup> copies/mL, AOB 定量时的稀释度为 10<sup>4</sup>、10<sup>5</sup>、10<sup>6</sup>、10<sup>7</sup>、10<sup>8</sup> 和 10<sup>9</sup> copies/mL。

定量 PCR 反应为 25 μL 的混合体系,加有 12.5 μL 2 × Power SYBR@ Green PCR Master Mix (Applied Biosystems USA), 1 μL DNA 模板,正反向引物各加 0.25 mmol/L。所用仪器为 Mastercycler ep realplex (Eppendorf, German)。最后通过读取的 Ct 值,参照标准曲线得出拷贝数<sup>[10]</sup>。

表 1 引物序列和荧光定量 PCR 反应条件

Table 1 Summary of the real-time PCR primers and conditions used in the study

引物	序列(5'-3')	位点	目标	运行条件
F338	ACTCCTACGGG	341-357a	16S r	95℃ 10 min;
	AGGCAG <sup>[11]</sup>			95℃ 15 s;
R518	ATTACCGCGGCT	518-534a	通用引物	55℃ 15 s;
	GCTGG			72℃ 30 s;
				50 个循环
CTO189fA/B	GGAGRAAAGCA	189-207a	16S r	95℃ 10 min;
	GGGGATCG <sup>[12]</sup>			95℃ 15 s;
CTO189fC	GGAGGAAAGTA	189-207a	(AOB β- Proteo- bacteria)	DNA 基因 95℃ 15 s;
	GGGGATCG			58℃ 15 s;
RT1r	CGTCTCTCAG	283-304a	50 个循环	72℃ 30 s;
	ACCARCTACTG			

注:a 为大肠杆菌编号。

## 2 结果与讨论

### 2.1 部分亚硝化反应器的启动与运行

SBR 反应器经过 130 d 的运行,其出水 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N

:  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  的浓度基本维持在 1:1 左右。在启动初期(前 40 天),反应器维持较高的 DO 浓度为 4~7 mg/L,以获得较高的硝化速率<sup>[13]</sup>, HRT 维持在 4~5 天,以提高出水的  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  浓度。由图 2 可知,启动初期,由于活性污泥的菌群暂时没有适应实验水质以及 AOB(氨氧化细菌)数量较少,因此  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  积累量较少。在波动期(40~80 d),SBR 出水  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  和  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  浓度波动较大,一方面是因为进水的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  浓度比较大,另一方面是因为操作参数也在不断的调整,以获得较适宜的  $\text{NO}_2^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$  比例,最终得出较适宜的 DO 浓度是 2~4 mg/L 范围, HRT 在 2~4 d。运行稳定期(第 80 天以后),活性污泥经过前面 80 天的驯化,逐渐适应实验水质;操作参数经过波动期的摸索在稳定期逐渐固定下来, DO 控制在 2~3 mg/L, HRT 在 2~3 d,根据进水的氨氮浓度变化在此基础上进行微调。整个过程,  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  一直在 50 mg/L 以下, PNE 平均在 91.8% 以上,在稳定期则平均在 95% 以上,说明 NOB(亚硝酸盐氧化细菌)在反应器的运行过程中被很好地抑制。

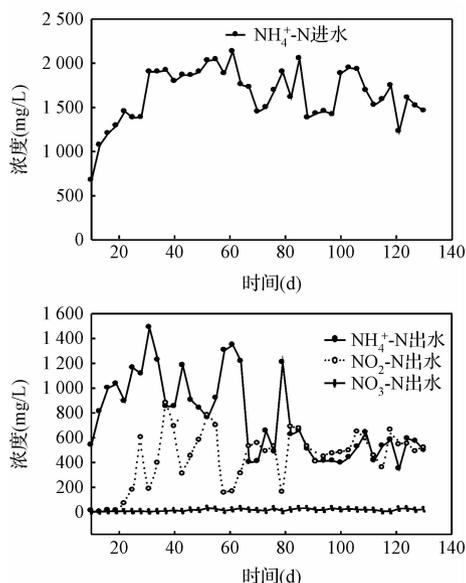


图 2 部分亚硝化工艺的启动及运行

Fig. 2 Start-up and operating of partial nitrification process

在稳定期,进水氨氮在 1 227~2 053 mg/L 范围内波动, SBR 出水  $\text{NO}_2^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$  维持在 1:1 左右, 适合下一阶段 ANAMMOX 工艺的运行。

## 2.2 总氮的去除

本实验所用垃圾渗滤液氨氮和总氮含量非常接

近,说明该垃圾渗滤液的总氮主要由氨氮组成。反应器的总氮去除情况如图 3 所示,平均去除率为 30.39%,而理想状态下的部分亚硝化工艺是一半左右的氨氮转化为亚硝态氮,总氮含量不变,由此可知反应器中存在一定程度的反硝化作用,反硝化所需的有机物主要来源于垃圾渗滤液中的可降解有机物。

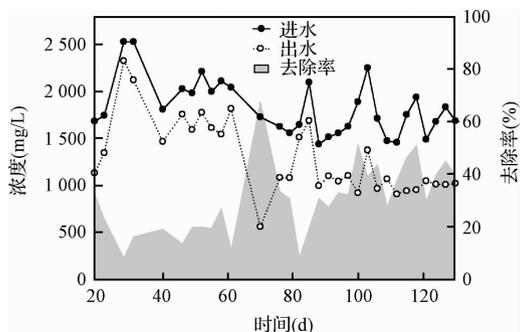


图 3 部分亚硝化反应器的 TN 变化

Fig. 3 Changes of TN in partial nitrification reactor

## 2.3 SBR 稳定期一个运行周期内的各项水质数据

SBR 稳定期一个 HRT 内水质数据变化如图 4 所示。经过一个 HRT 时间的运行后,总氮的去除率为 20%。运行到第 60 小时  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  浓度已经超过  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ,说明 HRT 时间在 60 h 左右即可。整个过程  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的浓度都低于 20 mg/L,表明在稳定期的操作条件下 NOB 被很好地抑制,该操作参数比较适合老龄垃圾渗滤液的部分亚硝化工艺。

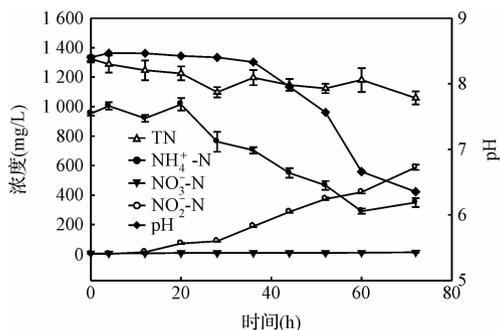


图 4 稳定期一个 HRT 内水质数据变化

Fig. 4 Changes of water quality parameters in an HRT during stable period

## 2.4 AOB 定量分析

总细菌数量随运行时间的变化如图 5 所示,初始接种污泥的总细菌数量含量较少,可能是因为所

取的种泥部分来源于垃圾填埋场厌氧反应池的缘故。经过 20 d 左右的运行总细菌数量上升到  $5.5 \times 10^{10}$  左右,之后一直在  $5 \times 10^{10} \times 6 \times 10^{10}$  之间小范围波动,说明经过一段时间的运行后,反应器内总细菌的数量总体比较稳定。AOB 的数量变化如图 6 所示,在初始接种污泥里,AOB 数量极少;在运行的前 25 天里,AOB 数量缓慢上升,到第 25 天时上升到  $1 \times 10^9$  左右,上升缓慢可能由于 AOB 对水质有个适应过程;在运行的第 25 天至第 55 天期间,AOB 数量呈指数上升,在第 55 天时数量上升到  $4 \times 10^9$ ,说明污泥中的 AOB 逐渐适应水质;在运行的 55 ~ 130 d 期间 AOB 总体数量变化不大在  $4 \times 10^9$  至  $5 \times 10^9$  之间,说明 AOB 数量已趋于稳定。AOB 占总细菌的百分含量(图 6)变化曲线与 AOB 数量变化曲线趋势类似,在运行的前 25 天里,AOB 在总细菌中的比例缓慢上升,在运行的第 25 天至第 55 天期间 AOB 的比例快速上升,55 d 以后增长较为缓慢,第 80 天至运行结束,AOB 比例维持 10% 左右。

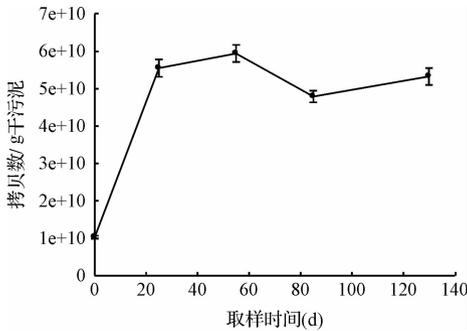


图 5 部分亚硝化反应器中总细菌数量

Fig. 5 Total bacteria amount in partial nitrification reactor

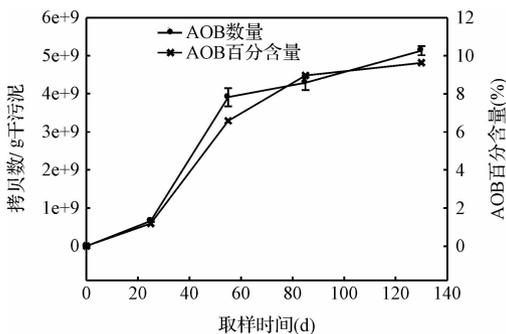


图 6 部分亚硝化反应器中 AOB 数量和百分含量

Fig. 6 Total AOB amount and percent in partial nitrification reactor

结合水质数据和运行参数分析,在前 25 天,反应器内 AOB 的数量较少,为提高出水  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  的比例需要较长的 HRT,故 HRT 选择为 4 ~ 5 d;在第 25 天至第 55 天期间 AOB 数量增加明显,到第 80 天后 AOB 数量已达  $4 \sim 5 \times 10^9$ /克干污泥,在总细菌中的比例上升到 8% ~ 10%,AOB 的比例趋于稳定,氨氮转化速率加快,HRT 在 2 d 左右,就有一半左右的  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  转化为  $\text{NO}_2^- \text{-N}$ ,可以缩短 HRT,提高反应器的运行效率。因此,AOB 的含量与  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  的生成速率和出水  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  稳定性显著相关,快速启动部分亚硝化工艺的需要是获得一个稳定的高 AOB 含量的微生物群落。

### 3 结 论

(1)在温度为  $(33 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,动态调控 DO 和 HRT 的条件下,经过 130 d 的运行成功启动了晚期垃圾渗滤液(COD 为 2 210 ~ 5 578 mg/L,BOD<sub>5</sub> 为 162 ~ 1 600 mg/L, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  为 1 227 ~ 2 133 mg/L)的部分亚硝化,使出水  $\text{NO}_2^- \text{-N}:\text{NH}_4^+ \text{-N}$  稳定维持在 1:1 左右,为后续的 ANAMMOX 工艺创造合适的进水条件。

(2)部分亚硝化启动过程中的特异微生物 AOB 动态变化表明, $\text{NO}_2^- \text{-N}$  的生成速率和出水  $\text{NO}_2^- \text{-N}$  稳定性与 AOB 含量有着显著相关性。

### 参 考 文 献

[1] Cheung K. C., Chu L. M., Wong M. H. Ammonia stripping as a pretreatment for landfill leachate. *Water, Air and Soil Pollution*, **1997**, 94(1-2): 209-221

[2] Valix M., Cheung W. H., McKay G. Sulfur fixation on bagasse activated carbon by chemical treatment and its effect on acid dye adsorption. *Adsorption Journal of the International Adsorption Society*, **2009**, 15(5-6): 453-459

[3] Strous M., Van Gerven E., Kuenen J. G., et al. Effects of aerobic and microaerobic conditions on anaerobic ammonium-oxidizing (Anammox) sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, **1997**, 63(6): 2446-2448

[4] 张树军,马富国,曹相生,等.低 c/N 高氨氮消化污泥脱水液部分亚硝化研究. *环境科学*, **2009**, 30(6): 1695-1611

Zhang S. J., Ma F. G., Cao X. S., et al. Partial nitrification of digested sludge liquor with low C/N and high-concentration ammonia. *Environmental Science*, **2009**, 30(6):1695-1611 (in Chinese)

- [5] 田智勇,李冬,曹相生,等. 常温限氧条件下 SBR 反应器中的部分亚硝化研究. 环境科学, **2008**, 29(4):931-936  
Tian Z. Y., Li D., Cao X. S., et al. Partial nitrification in SBR under normal temperature and limited oxygen condition. Environmental Science, **2008**, 29(4): 931-936 (in Chinese)
- [6] 单明军,胡筱敏,王旭等. 提高焦化污水生物脱氮率的研究. 燃料与化工, **2008**, 39(1):54-57  
Shan M. J., Hu X. M., Wang X., et al. Study on increasing biological de-nitrification rate of coking waste water. Fuel & Chemical Processes, **2008**, 39(1): 54-57 (in Chinese)
- [7] Ganigue R., Lopez H., Balaguer M. D., et al. Partial ammonium oxidation to nitrite of high ammonium content urban land fill leachates. Water Research, **2007**, 41(15): 3317-3326
- [8] Ganigue R., Lopez H., Ruscalleda M., et al., Operational strategy for a partial nitrification-sequencing batch reactor treating urban landfill leachate to achieve a stable influent for an anammox reactor. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, **2008**, 83(3): 365-371
- [9] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法(第4版). 北京: 中国环境科学出版社, **2002**
- [10] Zhang B., Sun B., Ji M., et al. Population dynamic succession and quantification of ammonia-oxidizing bacteria in a membrane bioreactor treating municipal wastewater. Journal of Hazardous Materials, **2009**, 165(1-3): 796-803
- [11] Muyzer G., Dewaal E. C., Uitterlinden A. G. Profiling of complex microbial-populations by denaturing gradient gel-electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes-coding for 16s ribosomal RNA. Applied and Environmental Microbiology, **1993**, 59(3): 695-700
- [12] Hermansson A., Lindgren P. E. Quantification of ammonia-oxidizing bacteria in arable soil by real-time PCR. Appl. Environ. Microbiol., **2001**, 67(2): 972-976
- [13] 马富国,张树军,曹相生,等. 部分亚硝化-厌氧氨氧化耦合工艺处理污泥脱水液. 中国环境科学, **2009**, 29(2):219-224  
Ma F. G., Zhang S. J., Cao X. S., et al. Coupling process of partial nitrification and ANAMMOX for treatment of sludge liquor. China Environmental Science, **2009**, 29(2): 219-224 (in Chinese)