

文章栏目: 环境生物技术

DOI: 10.12030/j.cjee.201806158 中图分类号 X703.1 文献标识码 A

杨宗玥, 付昆明, 廖敏辉, 等. 短程硝化过程2种亚硝酸盐氧化菌抑制策略探讨[J]. 环境工程学报, 2019, 13(1): 222-231.

YANG Zongyue, FU Kunming, LIAO Minhui, et al. Discussion on inhibition strategies of two nitrite oxidizing bacteria in nitrification [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, 13(1): 222-231.

短程硝化过程2种亚硝酸盐氧化菌抑制策略探讨

杨宗玥, 付昆明*, 廖敏辉, 仇付国, 曹秀芹

北京建筑大学城市雨水系统与水环境教育部重点实验室, 中-荷污水处理技术研发中心, 北京 100044

第一作者: 杨宗玥(1995—), 男, 硕士研究生。研究方向: 水处理技术。E-mail: Yangzongyue_bj@163.com

*通信作者: 付昆明(1981—), 男, 博士, 副教授。研究方向: 污水自养脱氮技术等。E-mail: fukunming@163.com

摘要 为维持短程硝化稳定, 保证亚硝酸盐高效积累, 需要对污水处理系统亚硝酸盐氧化菌(NO_B)的性质进行深入了解。分别对 *Nitrospira* 以及 *Nitrobacter* 的动力学参数, 以及在活性污泥系统、生物膜系统、颗粒污泥系统中2菌属特性进行比较。经分析后认为, *Nitrospira* 相对于 *Nitrobacter* 比增长速率较低, 对 O₂, NO₂⁻ 底物亲和性较好, 适宜生长于低浓度环境中, 是 A²/O₃-短程硝化-厌氧氨氧化工艺中的主要 NO_B 菌属; *Nitrobacter* 则适宜在高浓度环境中生长。在颗粒污泥系统中, NO_B 主要处于污泥内部, 由于缺乏 O₂, NO₂⁻ 更容易被淘汰出反应器。通过对比短程硝化主要控制参数, 认为 NO_B 的抑制策略包括: 在活性污泥系统中维持合理的污泥龄(SRT)以及游离氨(FA)浓度; 在生物膜系统中对溶解氧(DO)以及水力停留时间(HRT)进行联合控制; 在颗粒污泥系统中维持适量剩余 NH₄⁺-N, 并淘洗出掺杂其中的絮状污泥。此外, 利用“饱食饥饿”效应间歇曝气并维持较低的曝停比同样有利于阻止亚硝酸盐被 NO_B 进一步氧化, 保证短程硝化稳定运行。

关键词 短程硝化; 亚硝酸盐氧化菌(NO_B); *Nitrobacter*; *Nitrospira*; 动力学参数; 自养脱氮

相对于传统的硝化/反硝化工艺而言, 全程自养脱氮(completely autotrophic nitrogen removal over nitrite, CANON)工艺为污水脱氮过程提供了一种新思路。CANON工艺几乎无需有机碳源、节省57.5%曝气量的特点可以减少污水处理厂的药剂投加量以及能源消耗^[1], 具有可持续性。我国市政污水C/N比通常难以满足《室外排水设计规范》(GB 50014-2006)推荐值4.0^[2]的要求而导致需要投加外加碳源, CANON工艺可以避免这一点, 故具有广阔的应用前景。然而, 由于亚硝酸盐氧化菌(nitrite-oxidizing bacteria, NO_B)与氨氧化菌(ammonium-oxidizing bacteria, AOB)是共生关系, 两者生长所需的环境条件较为相似, 当系统存在AOB时往往伴有NO_B的生长。若NO_B大量增殖, NO₂⁻被氧化为NO₃⁻, 将制约CANON工艺的实际应用。因此, 如何在保证AOB活性的同时对NO_B的活性进行抑制, 是CANON工艺能够高效脱氮的基础和关键。

很多研究者对短程硝化的实现条件进行了研究, 但除了在中温条件下SHARON(single reactor for high ammonium removal over nitrite)工艺已投入实际工程应用之外, 还没有其他具体应用的工程实例^[3], 部分有关NO_B抑制策略的研究结果也不一致。目前, SHARON工艺经常与ANAMMOX工艺组合成短程硝化-厌氧氨氧化工艺, 但是, 在实际应用过程中, SHARON工艺往往不具备中温条件, 而导致短程硝

收稿日期: 2018-06-28; 录用日期: 2018-11-19

基金项目: 北京市教育委员会科技发展计划项目(SQKM201710016006); 北京建筑大学市属高校基本科研业务费专项基金资助项目(X18214, X18182)

化失效。而短程硝化这一基石若被忽视,厌氧氨氧化将无从谈起。因此,如何实现稳定的短程硝化仍是目前需要深入研究的问题。本研究以NOB为重点对其特性进行介绍,并探讨其抑制策略。

1 NOB的微生物特性

NOB主要包含硝化杆菌属 *Nitrobacter*、硝化螺菌属 *Nitrospira*、硝化球菌属 *Nitrococcus* 以及硝化刺菌属 *Nitrospina*^[4]。其中 *Nitrobacter* 和 *Nitrospira* 在污水处理系统中最为常见。两者能以氧为电子受体,将 NO_2^- 氧化为 NO_3^- 并获得能量。两菌属最适环境条件具有一定差异,可在不同环境条件下交替成为优势菌种。

动力学参数直接反映了微生物增殖能力以及底物亲和能力,对于 *Nitrobacter* 和 *Nitrospira* 而言,分别为 r 型和 K 型。以 r 型为增殖方式的 *Nitrobacter* 比增长速率 μ 以及半速率常数 K_s 均明显高于 K 型增殖方式的 *Nitrospira*。

不同研究得出部分种属 NOB 的动力学参数见表 1。其中 *Nitrobacter* 增殖更加迅速,但对底物的亲和性较差,该菌属在底物浓度较高的环境当中可以通过快速增长形成竞争优势。相应地, *Nitrospira* 增殖速率明显较低,但其具有更好的底物亲和性,当系统内营养物质较为匮乏时,可以充分利用仅存的底物,完成细胞生长以及细胞维持过程。

姚倩等^[7]对污水厂好氧池污泥培养 120 d,维持混合液 NO_2^- 浓度低于 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,同时将溶解氧(dissolved oxygen, DO)值控制在 $3\sim 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)分析显示, *Nitrospira* 占活性污泥微生物总量的 75%, *Nitrobacter* 仅占微生物总量的 0.1%。FUJITANI 等^[8]控制连续流反应器 NO_2^- 浓度低于 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,在总计 359 d 培养时间中, *Nitrospira* 在全部微生物中最高占 88.3%。KIM 等^[18]在维持 NO_2^- 负荷为 $0.29 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时, *Nitrospira* 占微生物总数的 59%, *Nitrobacter* 仅占 5%;而在 NO_2^- 负荷为 $1.0 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 时,则以 *Nitrobacter* 为优势菌种,占 64%, *Nitrospira* 仅占 3%。NOGUEIRA 等^[19]将 NO_2^- 浓度短时间内由 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高至 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,原先占据优势的 *Nitrospira* 逐渐被 *Nitrobacter* 取代,且该变化不可恢复。上述实验结论表明,环境条件对于 2 种 NOB 菌属具有一定的选择性,当 NO_2^- 浓度较低时, *Nitrospira* 为主要 NOB 菌属。

针对 2 种 NOB 菌属在增殖性能以及底物亲和性能的差异性方面,有研究指出: *Nitrobacter* 处于底物匮乏环境时会形成聚集体以减少合成以及分解代谢过程的能量损失,传质能力随着聚集体的形成相应降低,微生物生命活动以细胞维持为主;而 *Nitrospira* 则是在浓度高峰期时形成聚集体,在低底物环境时生命活动更加旺盛^[9]。USHIKI 等^[20]针对 NOB 的基因组进行分析, *Nitrospira* 含有编码细胞色素氧化酶 *bd* 基因, *Nitrobacter* 则包含编码细胞色素氧化酶 *c* 基因,其中氧化酶 *bd* 在氧浓度低时会被激活,使细菌在限氧环境下得以完成细胞生长过程。据此认为,电子传递链末端氧化酶的差异是 2 种 NOB 存在亲和力和差异的主要原因。

不同的动力学参数导致 2 种 NOB 倾向于不同的生长环境。在天然水体当中, *Nitrobacter* 在土壤或水体沉积物当中的丰度为 *Nitrospira* 的 200~500 倍,而 *Nitrospira* 多存在于径流当中^[21]。针对市政污水厂而言,污水几乎不含 NO_2^- 底物,在常规硝化反硝化工艺当中, NO_2^- 于好氧池内生成之后立刻被转化为 NO_3^- ,因此, NO_2^- 浓度常年维持在极为有限的水平。这也在一定程度上说明了 *Nitrospira* 适合生长在天然水体、污水厂主流系统等低浓度底物环境中。

表 1 *Nitrospira* 与 *Nitrobacter* 动力学参数

Table 1 Kinetic parameters of *Nitrospira* and *Nitrobacter*

菌种	$\mu_{\max} / \text{d}^{-1}$	$K_{s,\text{O}_2} / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$K_{s,\text{NO}_2} / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
<i>Nitrospira</i>	0.75 ^[5]	0.47 ^[6]	0.90 ± 0.07 ^[7]
<i>Nitrospira</i>	0.22 ^[8]	0.26~0.45 ^[9]	0.70 ± 0.10 ^[10]
<i>Nitrospira</i>	0.69 ± 0.10 ^[11]	0.33 ± 0.14 ^[11]	0.52 ± 0.14 ^[11]
<i>Nitrobacter</i>	1.84 ^[12]	0.43 ± 0.08 ^[7]	1.30 ± 0.08 ^[7]
<i>Nitrobacter</i>	0.58 ± 0.19 ^[13]	1.40 ^[14]	1.50 ± 0.09 ^[10]
<i>Nitrobacter</i>	1.85 ^[15]	0.35~0.96 ^[16]	2.25 ± 0.51 ^[15]

2 不同系统中的NOB特性

2.1 活性污泥系统NOB特性

活性污泥系统在污水处理中十分常见,主要通过污泥回流维持系统生物量稳定。微生物在各构筑物间循环流动的过程中所处环境条件各异,其环境适应性的优劣是决定其能否成为优势菌种的重要原因。

部分NOB具有代谢有机物的能力, *Nitrospira* 无论处于好氧还是厌氧环境都能利用甲酸盐生存,其细胞生长过程与 NO_2^- 氧化过程相互独立,不会因 NO_2^- 浓度过低而受到限制,在 O_2 、 NO_2^- 浓度受限环境下具有更好的适应性^[22]。HUANG等^[23]对好氧池污泥进行长时间观察后得知,在好氧池内,当 NO_2^- 在 $0\sim 4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间波动时, *Nitrospira* 丰度没有明显变化,而*Nitrobacter*的丰度呈上升趋势,同样说明*Nitrospira*增殖过程与 NO_2^- 浓度没有直接联系,在 NO_2^- 浓度受限条件下可保持稳定的增殖能力。

KOCH等^[22]通过实验发现, *Nitrospira* 中的一种*N. moscoviensis*可将污水中的尿素水解为 NH_4^+ 和 CO_2 ,反应过程如式(1)所示:



AOB利用尿素分解产物 NH_4^+ 进而为*Nitrospira*提供底物 NO_2^- ,即两者之间可以形成互利共生的交哺关系。这种间接利用尿素作为能量来源的能力使*Nitrospira*在与其他同样以 NO_2^- 为底物的微生物,如其他种属NOB、反硝化菌以及厌氧氨氧化菌对 NO_2^- 底物的争夺当中具有竞争优势。相对于异养菌而言,NOB生长更为缓慢,在市政污水源源不断进入处理设施的同时也伴有NOB的流入,这种接种与补充过程是污水厂NOB的重要来源。于莉芳等^[24]通过测定 NO_2^- 氧化速率对西安市第二、第三污水厂NOB群落与市政污水所含NOB的关系进行估算,两水厂中NOB的连续接种强度分别为 0.24 、 $0.11\text{ g}\cdot(\text{g}\cdot\text{d})^{-1}$,并认为污水输送过程中存在有跌水或明渠等情况,一定程度上为NOB在管网中增殖创造有利条件。生活污水中有70%的氮元素来自于尿液,新鲜尿液绝大部分的氮元素以尿素形式存在^[25],在*Nitrospira*的代谢作用下可被转化为 NH_4^+ 。排水管网同样含有AOB,接种强度约为 $0.08\text{ g}\cdot(\text{g}\cdot\text{d})^{-1}$ ^[26]。在污水逐渐流向水厂的过程中, *Nitrospira*将污水中的尿素水解为 NH_4^+ ,供给AOB利用。污水流入至水厂后经过4.5 h左右的好氧运行, *Nitrospira*氧气利用速率增至最高水平, NO_2^- 氧化能力得以完全恢复^[27]。市政管网具有一定的尿素浓度,而*Nitrospira*具有尿素代谢能力,将在管网系统中大量增殖, *Nitrospira*得以成为污水厂中 NO_2^- 氧化过程的主要承担者。因此,除了*Nitrospira*最适环境与污水厂运行工况相贴合之外,还与管网的选择作用密不可分。

曾薇等^[28]在采用A²/O工艺的市政污水处理系统当中发现, *Nitrospira*的丰度高于*Nitrobacter*一个数量级,且同样高于AOB或其他种属NOB。此外,由于温度的变化直接导致水中氧含量变化。在夏季,DO含量在全年当中平均较低,此时会出现*Nitrobacter*丰度为0的状况。在冬季,由于DO含量相对回升,会引起*Nitrobacter*逐渐增殖,在全部NOB当中可占4.3%。此外,当DO变化时, *Nitrospira*的群落结构仍可保持稳定,而*Nitrobacter*群落结构随着DO降低发生明显变化^[29]。可见,在DO不断变动的A²/O工艺中, *Nitrospira*菌属在数量上具有优势,同时其群落结构更为稳定。

2.2 生物膜系统NOB特性

生物膜系统当中,存在载体支撑微生物的生长是其相对于活性污泥系统的显著区别。ABZAZOU等^[30]对短程硝化MBBR微生物数量进行研究,DAPI染色显示生物膜中AOB丰度为 $4.16\times 10^8\text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$,高于混合液2个数量级。而NOB不论是处于生物膜或是混合液中,其丰度均较为相近,如*Nitrospira*在生物膜中丰度为 $2.70\times 10^7\text{ cells}\cdot\text{mL}^{-1}$,仅为混合液中丰度的2倍。不难看出,AOB更倾向于生长在有载体的环境中,而NOB则随着出水具有不断流失的可能性。

LEENEN等^[31]分别对低温时*Nitrobacter*悬浮和附着生长状态下的 NO_2^- 消耗速率进行测定,当温度为

10 ℃时,附着态 *Nitrobacter* 的 NO_2^- 消耗速率为 30 ℃时的 70%,而悬浮生长状态下仅为 30 ℃时的 15%。PERSSON 等^[32]针对不同温度下短程硝化-厌氧氨氧化生物膜反应器进行研究,当 MBBR 的 NO_2^- 平均浓度低于 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 且温度为 19 ℃时, NO_3^- 产量与总氮去除量之比为 0.14,而在温度为 10 ℃时,该比值为 0.42,且 *Nitrobacter* 的 16S rRNA 拷贝数均高于 *Nitrospira*。因此,在附着状态下, *Nitrobacter* 对低温环境具有一定耐受能力,加大了低温环境实现短程硝化的难度。

2.3 颗粒污泥系统 NOB 特性

颗粒污泥作为一种无须载体支撑的颗粒状微生物聚集体,与传统生物膜相比一定程度上具有相似的性质。当细菌以颗粒污泥的形式存在于污水处理系统中时,由于不同种细菌之间生长能力的差异,不同细菌处在颗粒污泥中的不同位置,可以观察到污泥中细菌的分层现象。

POOT 等^[33]对不同运行工况下的短程硝化反硝化工艺颗粒污泥进行原位荧光杂交分析。其结果显示,不论出水 NO_3^- 浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 或是 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, AOB 均处于污泥表层,在紧贴 AOB 层的里侧是多数 NOB 的所在位置;另有少数 NOB 与 AOB 相互混杂,结构较为松散的 ANAMMOX 细菌位于污泥深层。FANG 等^[34]针对硝化颗粒污泥进行 FISH 分析后得出相似结论,并发现 AOB 占硝化菌群 75%~85%。很多研究均表明,NOB 即使活性受到抑制时依旧有能力在污水处理系统当中保持丰度稳定,ISANTA 等^[35]联合使用 FISH 以及共聚焦激光扫描显微技术分析指出,在 CANON 工艺的温度由 20 ℃降低至 12.5 ℃的过程中,NOB 在 AOB、NOB 以及 ANAMMOX 细菌的总体中,稳定占 18%,且全部为 *Nitrobacter*,无 *Nitrospira* 检出。且当温度为 12.5 ℃时,需要 180 d 才可将 NOB 的占比淘洗至 1%。由于 AOB 的比增长速率大于 NOB,同时具有更好的氧亲和性,其占据颗粒污泥表面抢先利用水中的溶解氧,更高的比增长速率使 AOB 占据更大的比表面积从而形成一层结构密实的外壳包裹住 NOB。颗粒内部受传质阻力的影响形成氧浓度梯度,位于颗粒较深层的 NOB 由于氧浓度有限从而活性受到抑制,同时由于 AOB 的保护作用减少了 NOB 受到水流剪切应力而被冲刷至系统外的机会。

对于颗粒污泥反应器而言,不同污泥粒径对 NOB 的抑制程度并不完全相同。有研究指出,颗粒污泥粒径低于 $50 \mu\text{m}$ 时亚硝化率约为 75%,而当粒径超过 $100 \mu\text{m}$ 时该值可增至 90%^[36]。根据斯托克斯公式,当颗粒密度不变时颗粒沉淀速度与粒径平方呈正比。因此,可通过设定一合理的沉淀时间仅针对大颗粒进行截留,将含有高活性 NOB 的小颗粒淘洗至处理系统外,以阻止 NO_2^- 被进一步氧化。因此,颗粒污泥之所以具有较为理想的短程硝化效果,原因之一是 AOB 居于外层,NOB 居于内层的结构形式能够限制 NOB 的生长;同时对于一体化的颗粒污泥而言,大量的 ANAMMOX 菌导致 AOB 产生的 NO_2^- 及时被 ANAMMOX 菌消耗,NOB 既缺乏生长基质 NO_2^- ,也缺乏电子受体 O_2 ,导致最终被淘汰出反应器。此外,通过对粒径等因素的人为控制也起到一定辅助作用。

3 抑制策略研究现状

大量研究人员针对 NOB 与 AOB 的环境适应性差异,通过调节系统运行参数,如维持适量游离氨 (free ammonia, FA) 或游离亚硝酸 (free nitrous acid, FNA) 浓度;或维持较低的污泥停留时间 (sludge retention time, SRT);或对 DO 浓度加以限制;或采用间歇曝气的方法均获得了一定的 NOB 抑制效果,典型研究结果见表 2。

对于活性污泥系统,由于微生物均混杂于泥水混合液中,可通过主动排泥的方式制定合理的 SRT,从而将 NOB 从处理系统中移除。水力旋流器为一种微生物分离设备,由于 AOB 与 ANAMMOX 菌形成的颗粒相对较大,而 NOB 颗粒较小,经离心后将与 AOB 以及 ANAMMOX 菌,这一技术解决了抑制 NOB 需要短 SRT,而有效持留 ANAMMOX 菌需要长 SRT 之间的矛盾。WETT 等^[47]研究发现,应用水力旋流器前后,DEMON (deammonification) 工艺中 AOB 的 SRT 由 28 d 缩短至 9 d,ANAMMOX 菌的 SRT 则由 28 d 延长至 53 d。此外,维持一定的 FA 浓度同样有利于抑制 NOB 的活性。孟婷等^[48]对污水厂活性污泥进行

表2 NOB在不同环境下的主要抑制参数

Table 2 Major inhibition parameters of NOB in different environments

游离亚硝酸/(mg·L ⁻¹) ^[7,37-38]			游离氨/(mg·L ⁻¹) ^[20,39-40]			
环境1	环境2	环境3	环境1	环境2	环境3	
0.08	0.02	0.03	0.85	0.7	6.0	
污泥龄/d ^[41-43]			溶解氧/(mg·L ⁻¹) ^[44-46]			
环境1	环境2	环境3	环境1	环境2 ¹⁾	环境3 ¹⁾	环境4 ¹⁾
3	4.2	10~20	3.0	0.3~0.5	1.8	0.3

注:1)为间歇曝气工况, $t_{(曝气)}:t_{(停曝)}=10\text{ min}:10\text{ min}$ 。

接种,将FA浓度由0.3~3.0 mg·L⁻¹提高至9.4~14.6 mg·L⁻¹后,NO₂⁻-N积累率由11%提升至90%。AL-MEIDA等^[49]将同步短程硝化-反硝化及厌氧氨氧化工艺中FA浓度由3.0 mg·L⁻¹提高至9.0 mg·L⁻¹,NO₃⁻-N产量与NH₄⁺-N去除量之比由0.459降至0.328,NO₃⁻产量相对降低说明NOB的活性受到抑制。FA对NOB部分基因的表达起到调节作用,与C、N同化过程相关的基因所受到的影响尤为显著。当FA浓度处于14.8 mg·L⁻¹时,代谢NO₂⁻、分解糖原基因的表达过程受到抑制,表现上体现为微生物NO₂⁻代谢速率以及运动性下降,活性降低^[50]。

生物膜系统相对于活性污泥系统而言,由于SRT理论值为无限长,因此,可行的抑制手段更为有限。相较于NOB而言,AOB对O₂的亲性能和更强,可通过对DO进行限制减少NOB利用O₂的可能性,以抑制其对NO₂⁻-N进一步氧化的过程。王会芳等^[51]以陶粒作为填料,维持DO浓度处于1.20~1.75 mg·L⁻¹,当水力停留时间(hydraulic retention time, HRT)由9 h降至7 h时,生物膜CANON反应器总氮去除率由79.16%降至71.68%;而当DO超过1.75 mg·L⁻¹时,短程硝化遭到破坏。也有研究指出,当曝气量超过35.8 m³·(m³·h)⁻¹时,以海绵为载体的CANON工艺, TN去除率稳定在79.4%不再增加;以改性聚乙烯为填料时,当曝气量高于6.3 m³·(m³·h)⁻¹时, TN去除率由77.6%剧烈下降至11.1%^[52]。附着在不同类型的填料的生物膜对O₂的传递性能各异, HRT或DO应控制在合适范围内,以强化生物膜污泥滞留性能,改善脱氮效果。

对于颗粒污泥系统,不同类型微生物生长在颗粒的不同位置。由于NOB处于颗粒内层,维持出水仍保持一定的NH₄⁺-N浓度,可降低颗粒中O₂的渗透深度,可减少其利用O₂的机会以限制其活性。如PÉREZ等^[53]维持颗粒污泥系统DO恒定为1.0 mg·L⁻¹,将出水NH₄⁺-N浓度由3 mg·L⁻¹增至12 mg·L⁻¹,观察到出水NO₃⁻由30 mg·L⁻¹降低至低于10 mg·L⁻¹。POOT等^[53]维持DO为4 mg·L⁻¹,出水NH₄⁺-N浓度在2~5 mg·L⁻¹之间时得到了相似的结果。此外,针对性地将絮状污泥淘洗出颗粒污泥系统同样有利于减少系统中NOB的数量。孙延芳等^[54]研究了同时包含颗粒及絮状污泥的CANON工艺,在不同SRT下微生物的群落结构,定量PCR结果表明:相比于维持絮状污泥SRT为30 d,在不排出絮状污泥时虽然ANAMMOX菌丰度增加了1.5倍,但NOB丰度相比增加了47倍。因此,对于絮状污泥与颗粒污泥混合的系统而言,针对絮状污泥设定合理的SRT有利于短程硝化的稳定。

在短程硝化-厌氧氨氧化系统当中, *Nitrospira* 在全体NOB中占据主要地位^[55],比增长速率为0.22~0.79 d⁻¹^[5,8,11]。相对地, AOB比增长速率为1.30~1.45 d⁻¹^[13,43]。当系统SRT较低时, NOB增殖的数量无法弥补排泥所造成的损失量,久之将从系统中被淘汰; AOB得益于较高的比增长速率仍可为系统所滞留,进而实现NO₂⁻积累。WU等^[43]针对不同SRT下AOB选择器内硝化细菌构成情况进行模拟。其结果显示,无论NH₄⁺浓度在1~15 mg·L⁻¹内取何值,随着SRT高于6 d, NOB均可大量增殖,在硝化细菌中最高占30%。由此不难看出,较低的SRT是短程硝化稳定发生的必要条件。不论是单纯以NO₂⁻积累为目标的短程硝化工艺或是一体式脱氮的CANON工艺,均应对SRT合理控制,为强化CANON工艺ANAMMOX细菌滞留性能而对SRT过量延长将导致NOB丰度增加。

除采用常规限氧曝气方式外,以瞬时增加水中含氧量的方式进行间歇曝气同样具有稳定的NOB抑制效果。在停止曝气的过程中,AOB以及NOB均受到氧浓度的限制,而当曝气恢复时,仅AOB具有氧化更多 NH_4^+ 以获取能量的能力,NOB对该种能力并不具备。于是在恢复曝气之后的一段时间内,AOB的“饱食饥饿”特性使 NH_4^+ 氧化速率高于 NO_2^- 氧化速率,形成 NO_2^- 积累^[56]。付昆明等^[57]采用间歇曝气策略对流量为 $22.0 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ 连续流生物膜反应器的短程硝化过程进行恢复,控制曝气量为 $1.0 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$,连续进气14 h,停曝时间10 h,经过3 d,出水 NO_2^- 积累率由0%增至24.5%,恢复为连续曝气后, NO_2^- 积累率不稳定,并在随后接近为0%。此外,曝停时间比作为间歇曝气的重要控制参数,同样影响到短程硝化效果。实验表明,曝停比在1:1时,经过22 d可将 NO_2^- 积累率由18%稳定至90%以上;而曝停比为3:1及3:2时,分别耗时29 d和23 d才实现上述效果。同时,曝停比在3:2和3:3时,可以在初始DO浓度为 $4.0\sim 4.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下维持短程硝化的稳定性,即缩小曝停比有利于抑制NOB的活性^[57]。间歇曝气已投入到污水厂实际运行之中,如DEMON工艺,就是在SBR中利用短程硝化与厌氧氨氧化过程对碱度的生成与消耗,通过pH信号控制曝气的开启与关闭过程。当混合液pH升至约7.03时,开启曝气并维持DO在 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,此时主要进行短程硝化反应同时消耗碱度;当pH降低0.04后关闭曝气,主要进行ANAMMOX反应同时使混合液碱度升高^[58]。该运行方式一定程度上可保证所产生的 NO_2^- 尽可能用于 NH_4^+ 氧化过程,并在奥地利Strass水厂投入应用。

4 结论

1) NOB的2类主要菌群为*Nitrospira*和*Nitrobacter*,其中*Nitrospira*增殖方式为K式,其比增长速率较低,同时对 O_2 、 NO_2^- 亲和性较高,适于生长在低底物浓度环境。而*Nitrobacter*增殖方式为r式,对底物亲和性较差,比增长速率相对较高,适于在沉积物或高浓度环境下生存。

2) *Nitrospira*是市政污水处理系统中的主要NOB菌属,可通过水解尿素的能力与AOB形成交哺关系,同时具有利用甲酸盐代谢的能力。在生物膜系统中,NOB多处于混合液当中,相比于附着在填料上生长的AOB而言更容易随水流流出。在颗粒污泥系统中,NOB居于AOB的内层,由于传质阻力作用导致 O_2 无法全部进入生物膜内层,同时由于大量ANAMMOX细菌存在,使 NO_2^- 及时被ANAMMOX细菌消耗,NOB在颗粒污泥中可利用的底物较为有限。

3) NOB抑制策略包括:通过SRT对NOB进行筛分;维持合理的FA以及DO浓度;维持出水一定的 NH_4^+-N 浓度;适当排出颗粒污泥系统中的絮状污泥;采用间歇曝气并维持较低的曝停比。

参 考 文 献

- [1] 付昆明,张杰,曹相生,等.曝气量对不同填料CANON反应器运行效率的影响[J].化工学报,2010,61(2):496-503.
- [2] 熊鸿斌,夏晓宇,王玉芳,等.低C/N值城市污水处理厂出水达标的运行条件优化[J].中国给水排水,2013,29(1):92-96.
- [3] 付昆明,付国,左早荣.厌氧氨氧化技术应用于市政污水处理的前景分析[J].中国给水排水,2015,31(4):8-13.
- [4] ISHII K, FUJITANI H, SOH K, et al. Enrichment and physiological characterization of a cold-adapted nitrite-oxidizing *Nitrospira* sp. from an eelgrass sediment[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(14): 1-14.
- [5] MAIXNER F, NOGUERA D R, ANNESER B, et al. Nitrite concentration influences the population structure of *Nitrospira*-like bacteria[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(8):1487-1495.
- [6] MANSER R, GUJER W, SIEGRIST H. Consequences of mass transfer effects on the kinetics of nitrifiers[J]. Water Research, 2005, 39(19): 4633-4642.
- [7] BLACKBURNE R, VADIVELU V M, YUAN Z, et al. Kinetic characterization of an enriched *Nitrospira* culture with compari-

- son to *Nitrobacter*[J]. Water Research, 2007, 41(14): 3033-3042.
- [8] FUJITANI H, AOI Y, TSUNEDA S. Selective enrichment of two different types of *Nitrospira*-like nitrite-oxidizing bacteria from a wastewater treatment plant[J]. Microbes and Environments, 2013, 28(2): 236-243.
- [9] WU J, ZHANG Y, ZHANG M, et al. Effect of nitrifiers enrichment and diffusion on their oxygen half-saturation value measurements[J]. Biochemical Engineering Journal, 2017, 123: 110-116.
- [10] COURTENS E N P, DE CLIPPELEIR H, VLAEMINCK S E, et al. Nitric oxide preferentially inhibits nitrite oxidizing communities with high affinity for nitrite[J]. Journal of Biotechnology, 2015, 193: 120-122.
- [11] PARK M, PARK H, CHANDRAN K. Molecular and kinetic characterization of planktonic *Nitrospira* spp. selectively enriched from activated sludge[J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(5): 2720-2728.
- [12] LEYVA-DÍAZ J C, CALDERÓN K, RODRÍGUEZ F A, et al. Comparative kinetic study between moving bed biofilm reactor-membrane bioreactor and membrane bioreactor systems and their influence on organic matter and nutrients removal[J]. Biochemical Engineering Journal, 2013, 77: 28-40.
- [13] CRUVELLIER N, POUGHON L, CREULY C, et al. Growth modelling of *Nitrosomonas europaea* ATCC® 19718 and *Nitrobacter winogradskyi* ATCC® 25391: A new online indicator of the partial nitrification[J]. Bioresource Technology, 2016, 220: 369-377.
- [14] CIUDAD G, WERNER A, BORNHARDT C, et al. Differential kinetics of ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria: A simple kinetic study based on oxygen affinity and proton release during nitrification[J]. Process Biochemistry, 2006, 41(8): 1764-1772.
- [15] NOWKA B, DAIMS H, SPIECK E. Comparison of oxidation kinetics of nitrite-oxidizing bacteria: Nitrite availability as a key factor in niche differentiation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(2): 745-753.
- [16] RONGSAYAMANONT C, LIMPIYAKORN T, LAW B, et al. Relationship between respirometric activity and community of entrapped nitrifying bacteria: Implications for partial nitrification[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2010, 46(3/4): 229-236.
- [17] 姚倩, 彭党聪, 赵俏迪, 等. 活性污泥中硝化螺菌(*Nitrospira*)的富集及其动力学参数[J]. 环境科学, 2017, 38(12): 5201-5207.
- [18] KIM D, KIM S. Effect of nitrite concentration on the distribution and competition of nitrite-oxidizing bacteria in nitrification reactor systems and their kinetic characteristics[J]. Water Research, 2006, 40(5): 887-894.
- [19] NOGUEIRA R, MELO L F. Competition between *Nitrospira* spp. and *Nitrobacter* spp. in nitrite-oxidizing bioreactors[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2006, 95(1): 169-175.
- [20] USHIKI N, JINNO M, FUJITANI H, et al. Nitrite oxidation kinetics of two *Nitrospira* strains: The quest for competition and ecological niche differentiation[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2017, 123(5): 581-589.
- [21] CÉBRON A, GARNIER J. *Nitrobacter* and *Nitrospira* genera as representatives of nitrite-oxidizing bacteria: Detection, quantification and growth along the lower Seine River (France) [J]. Water Research, 2005, 39(20): 4979-4992.
- [22] KOCH H, LÜCKER S, ALBERTSEN M, et al. Expanded metabolic versatility of ubiquitous nitrite-oxidizing bacteria from the genus *Nitrospira*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2015, 112(36): 11371-11376.
- [23] HUANG Z, GEDALANGA P B, ASVAPATHANAGUL P, et al. Influence of physicochemical and operational parameters on

- Nitrobacter* and *Nitrospira* communities in an aerobic activated sludge bioreactor[J]. *Water Research*, 2010, 44(15): 4351-4358.
- [24] 于莉芳, 杜倩倩, 傅学焘, 等. 城市污水中硝化菌群落结构与性能分析[J]. *环境科学*, 2016, 37(11): 4366-4371.
- [25] 任武昂. 城市污水输送、处理过程中氮组分的迁变特性及转化规律研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2015.
- [26] YU L, LI R, DELATOLLA R, et al. Natural continuous influent nitrifier immigration effects on nitrification and the microbial community of activated sludge systems[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 74: 159-167.
- [27] JAUFFUR S, ISAZADEH S, FRIGON D. Should activated sludge models consider influent seeding of nitrifiers? Field characterization of nitrifying bacteria[J]. *Water Science & Technology*, 2014, 70(9): 1526-1532.
- [28] 曾薇, 张丽敏, 王安其, 等. 污水处理系统中硝化菌的菌群结构和动态变化[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(11): 3257-3265.
- [29] 刘国华, 陈燕, 范强, 等. 溶解氧对活性污泥系统的脱氮效果和硝化细菌群落结构的影响[J]. *环境科学学报*, 2016, 36(6): 1971-1978.
- [30] ABZAZOU T, ARAUJO R M, AUSET M, et al. Tracking and quantification of nitrifying bacteria in biofilm and mixed liquor of a partial nitrification MBBR pilot plant using fluorescence in situ hybridization[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 541: 1115-1123.
- [31] LEENEN E J T M, VAN BOXTEL A M G A, ENGLUND G, et al. Reduced temperature sensitivity of immobilized *Nitrobacter agilis* cells caused by diffusion limitation[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 1997, 20(8): 573-580.
- [32] PERSSON F, SULTANA R, SUAREZ M, et al. Structure and composition of biofilm communities in a moving bed biofilm reactor for nitrification-anammox at low temperatures[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 154: 267-273.
- [33] POOT V, HOEKSTRA M, GELEIJNSE M A A, et al. Effects of the residual ammonium concentration on NOB repression during partial nitrification with granular sludge[J]. *Water Research*, 2016, 106: 518-530.
- [34] FANG F, NI B, LI X, et al. Kinetic analysis on the two-step processes of AOB and NOB in aerobic nitrifying granules[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 83(6): 1159-1169.
- [35] ISANTA E, REINO C, CARRERA J, et al. Stable partial nitrification for low-strength wastewater at low temperature in an aerobic granular reactor[J]. *Water Research*, 2015, 80: 149-158.
- [36] ZHU T, XU B, WU J. Experimental and mathematical simulation study on the effect of granule particle size distribution on partial nitrification in aerobic granular reactor[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2018, 134: 22-29.
- [37] PARK S, BAE W. Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid[J]. *Process Biochemistry*, 2009, 44(6): 631-640.
- [38] PEDROUSO A, VAL DEL RÍO Á, MORALES N, et al. Nitrite oxidizing bacteria suppression based on in-situ free nitrous acid production at mainstream conditions[J]. *Separation and Purification Technology*, 2017, 186: 55-62.
- [39] KIM D, LEE D, KELLER J. Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH[J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97(3): 459-468.
- [40] VADIVELU V M, KELLER J, YUAN Z. Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture[J]. *Water Research*, 2007, 41(4): 826-834.
- [41] POLLICE A, TANDOI V, LESTINGI C. Influence of aeration and sludge retention time on ammonium oxidation to nitrite and nitrate[J]. *Water Research*, 2002, 36(10): 2541-2546.

- [42] WU J, HE C, VAN LOOSDRECHT M C M, et al. Selection of ammonium oxidizing bacteria (AOB) over nitrite oxidizing bacteria (NOB) based on conversion rates[J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 304: 953-961.
- [43] WU C, PENG Y, WANG S, et al. Effect of sludge retention time on nitrite accumulation in real-time control biological nitrogen removal sequencing batch reactor[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2011, 19(3): 512-517.
- [44] RONGSAYAMANONT C, LIMPIYAKORN T, KHAN E. Effects of inoculum type and bulk dissolved oxygen concentration on achieving partial nitrification by entrapped-cell-based reactors[J]. Bioresource Technology, 2014, 164: 254-263.
- [45] CHEN Z, WANG X, YANG Y, et al. Partial nitrification and denitrification of mature landfill leachate using a pilot-scale continuous activated sludge process at low dissolved oxygen[J]. Bioresource Technology, 2016, 218: 580-588.
- [46] BAO P, WANG S, MA B, et al. Achieving partial nitrification by inhibiting the activity of *Nitrospira*-like bacteria under high-DO conditions in an intermittent aeration reactor[J]. Journal of Environmental Sciences, 2017, 56: 71-78.
- [47] WETT B, HELL M, NYHUIS G, et al. Syntrophy of aerobic and anaerobic ammonia oxidisers[J]. Water Science & Technology, 2010, 61(8): 1915-1922.
- [48] 孟婷, 杨宏. 活性污泥快速实现短程硝化及稳定高效运行[J]. 中国给水排水, 2017, 33(15): 1-5.
- [49] ALMEIDA R G B D, SANTOS C E D D, LÜDERS T C, et al. Nitrogen removal by simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) in a structured-bed reactor treating animal feed processing wastewater: Inhibitory effects and bacterial community[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2018, 133: 108-115.
- [50] SAYAVEDRA-SOTO L, FERRELL R, DOBIE M, et al. *Nitrobacter winogradskyi* transcriptomic response to low and high ammonium concentrations[J]. FEMS Microbiology Letters, 2015, 362(3): 1-7.
- [51] 王会芳, 付昆明, 左早荣, 等. 水力停留时间和溶解氧对陶粒 CANON 反应器的影响[J]. 环境科学, 2015, 36(11): 4161-4167.
- [52] 付昆明, 张杰, 曹相生, 等. 曝气量对不同填料 CANON 反应器运行效率的影响[J]. 化工学报, 2010, 61(2): 496-503.
- [53] PÉREZ J, LOTTI T, KLEEREBEZEM R, et al. Outcompeting nitrite-oxidizing bacteria in single-stage nitrogen removal in sewage treatment plants: A model-based study[J]. Water Research, 2014, 66: 208-218.
- [54] 孙延芳, 韩晓宇, 张树军, 等. 颗粒+絮体污泥 CANON 工艺的启动与 SRT 影响研究[J]. 环境科学, 2017, 38(2): 672-678.
- [55] AKABOCI T R V, GICH F, RUSCALLEDA M, et al. Assessment of operational conditions towards mainstream partial nitrification-anammox stability at moderate to low temperature: Reactor performance and bacterial community[J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 350: 192-200.
- [56] 李冬, 张杰. 城市污水自养脱氮工艺研究[M]. 中国建筑工业出版社, 2017.
- [57] 付昆明, 周厚田, 苏雪莹, 等. 生物膜短程硝化系统的恢复及其转化为 CANON 工艺的过程[J]. 环境科学, 2017, 38(4): 1536-1543.
- [58] WETT B, MURTHY S, TAKÁCS I, et al. Key parameters for control of DEMON deammonification process[J]. Water Practice, 2007, 1(5): 1-11.

(本文编辑:金曙光,郑晓梅,张利田)

Discussion on inhibition strategies of two nitrite oxidizing bacteria in nitrification

YANG Zongyue, FU Kunming*, LIAO Minhui, QIU Fuguo, CAO Xiuqin

Sino-Dutch R&D Center for Future Wastewater Treatment Technologies, Key Laboratory of Urban Storm Water System and Water Environment, Ministry of Education, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing 100044, China

* Corresponding author, E-mail: fukunming@163.com

Abstract For purpose of maintaining the stability of nitrification, ensuring the efficiency of nitrite accumulation, it's essential to have insight into the properties of ordinary nitrite oxidizing bacteria (NOB) species in wastewater treatment systems. The kinetic parameters of *Nitrospira* and *Nitrobacter*, and the characteristics of the two genus bacteria in the activated sludge system, biofilm system, and granular sludge system were compared. *Nitrospira* had a lower specific growth rate and a better affinity for O_2 and NO_2^- substrates than *Nitrobacter*. The former bacteria were suitable for growth in low concentration of substrates, which was considered as the main NOB genus in A^2/O and nitrification-anammox process, while the latter ones were suitable for growth in high concentration of substrates. In granular sludge system, NOB mainly existed in the interior of the sludge, and were easy to be eliminated from the reactor due to the lack of O_2 , NO_2^- substrates. Through comparing the main control parameters for nitrification, the NOB inhibition strategies were proposed as: maintaining a reasonable sludge retention time (SRT) and free ammonia (FA) concentration in activated sludge system, adjusting dissolved oxygen (DO) and hydraulic retention time (HRT) systematically in biofilm system, sustaining an appropriate amount of residual NH_4^+-N , and washing out the flocculation from granular sludge. Furthermore, using intermittent aeration based on "cyclic feeding" and maintaining lower ratio of aeration and anaerobic time were propitious to prevent further oxidation of nitrite by NOB, trigger the stability of nitrification.

Keywords nitrification; nitrite oxidizing bacteria (NOB); *Nitrobacter*; *Nitrospira*; kinetic parameter; autotrophic nitrogen removal