石油炼化废水对 ANAMMOX 的脱氮性能影响研究

王 猛^{1,2}, 张树德³, 杨雪莹³, 陶慕翔⁴, 高 洋¹, 田玉斌¹, 杨 宏¹ (1.北京工业大学 水质科学与水环境恢复工程北京市重点实验室,北京 100124; 2.中咨华科 交通建设技术有限公司,北京 100195; 3.中国石油集团公司 安全环保技术研究院,北京 102206; 4.北京市市政工程设计研究总院有限公司,北京 100082)

摘 要: 为探究石油炼化废水对 ANAMMOX 过程中脱氮性能的影响,对 AAOB 细菌混培物进行驯化试验,并利用 MPN – PCR 技术对驯化前后的主要菌群进行计数。结果表明,石油炼化废水添加比例为 50% 时,NH $_4^+$ – N 和 NO_2^- – N 的平均去除负荷分别为 3.535、5.442 kg/(m 3 · d),平均理论 COD 差值为 16.67 mg/L;石油炼化废水添加比例为 100% 时,NH $_4^+$ – N 和 NO_2^- – N 的平均去除负荷分别为未添加的 17.4% 和 62.5%。AAOB 细菌混培物对石油炼化废水存在一定的适应性,当废水添加比例为 50% 时增加了系统的稳定性和有效脱氮效果,驯化前后 AAOB 和 DNB 菌群数目变化较大,并且对菌群生化活性的影响方式不同;尽管驯化过程中优势菌群逐渐发生变化,但二者的协同脱氮作用一直存在。

关键词: 石油炼化废水; 厌氧氨氧化; 反硝化; MPN-PCR 中图分类号: X703 文献标识码: C 文章编号: 1000-4602(2017)03-0073-06

Impact of Oil Refining Wastewater on Denitrification Performance during ANAMMOX

WANG Meng^{1,2}, ZHANG Shu-de³, YANG Xue-ying³, TAO Mu-xiang⁴, GAO Yang¹, TIAN Yu-bin¹, YANG Hong¹

 Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China;
 Zhong Zi Hua Ke Traffic Construction Technology Co. Ltd., Beijing 100195, China;
 Research Institute of Safety and Environment Technology, China National Petroleum Corporation, Beijing 102206, China;
 Beijing General Municipal Engineering Design and Research Institute Co. Ltd., Beijing 100082, China)

Abstract: In order to explore the impact of oil refining wastewater with high ammonia nitrogen and refractory organics on denitrification performance during ANAMMOX, a reactor was established using AAOB mixed bacterial culture to conduct domestication experiment, and the MPN-PCR molecular biology techniques were used to count the main bacterial communities before and after domestication. The results showed that when the addition proportion of oil refining wastewater was 50%, the removal loading rates of $NH_4^+ - N$ and $NO_2^- - N$ were 3.535 kg/(m³ · d) and 5.442 kg/(m³ · d), respectively, and the theoretical difference value of COD was 16.67 mg/L during stable operation of the system. The removal loading rates of $NH_4^+ - N$ and $NO_2^- - N$ with an addition proportion of 100% were 17.4% and 62.5% with

通信作者: 杨宏 E-mail:yhong@bjut.edu.cn

no addition, respectively. AAOB mixed bacterial culture had certain adaptability to oil refining wastewater. The stability and denitrification efficiency of the system were enhanced when the addition proportion was 50%, the numbers of AAOB and DNB before and after domestication changed greatly, and the influence on biochemical activities of the bacterial communities was different. The dominant communities changed gradually during domestication, but the synergistic denitrification effect of the both always existed.

Key words: oil refining wastewater; anaerobic ammonia oxidation; denitrification; MPN-PCR

石油炼化废水是污染严重且处理难度较大的一类工业废水,其具有高氨氮、污染物成分复杂、水质和水量波动幅度大、污染物浓度高、生物法难降解等特征[1]。现阶段国内对石油炼化废水的处理主要有 A/O 生物法、曝气生物滤池(BAF)[2]、臭氧一曝气生物滤池[3]、三元微电解一Fenton 试剂氧化法[4]、臭氧一固定化生物活性炭滤池[5]和悬浮填料移动床生物膜法(MBBR)[6]等,但利用厌氧氨氧化单元并结合预处理+短程硝化技术处理石油炼化废水的相关研究较少。因此,笔者利用石油炼化废水进行配水试验,通过增大石油炼化废水的添加比例对高效能 AAOB 细菌混培物进行驯化,并以 MPN - PCR 分子生物学技术进行菌群计数,从而探究石油炼化废水对厌氧氨氧化单元的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验装置如图1所示。

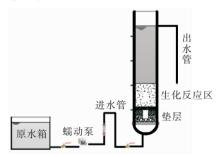


图 1 ANAMMOX 生物滤池工艺流程

Fig. 1 Flow chart of ANAMMOX biofilter process

原水箱容积为20 L。反应器由有机玻璃制成, 内径为42 mm,高为400 mm,总容积为0.5 L,有效 容积为0.11 L,运行方式为上向流,底部为70 mm 厚的承托层。该承托层由粒径为2~20 mm 的砂砾 组成,其上装填80 mm 由 AAOB 混培菌块构成的有 效反应区,所用的 AAOB 细菌混培物来源于已稳定 运行六个月的 ANAMMOX 生物滤池反应器。反应器外表面包裹黑塑料薄膜,以防止光线对细菌混培物的影响^[7]。

1.2 试验原水及运行条件

试验原水由基础配制原水和石油炼化废水组成。石油炼化废水取自天津某石化企业气浮池出水,其氨氮为80 mg/L,pH值为7.45,COD为675 mg/L。按照石油炼化废水的不同投加比例,将试验分为6个阶段,各阶段原水水质及反应条件见表1。

表 1 原水水质及反应器运行条件

Tab. 1 Components of raw water and conditions of reactor operation

项	目	t∕d	$ \begin{array}{c} NH_4^+ - N/\\ (\text{ mg} \cdot L^{-1}) \end{array} $	$\begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$	石油炼化 废水添加 比例/%	温度/ ℃	pH 值
第Ι	阶段	15	201.37	266.48	0	28	7.70
第Ⅱ	阶段	16	198.57	261.92	10	28	7.78
第Ⅲ	阶段	20	205.02	255.03	30	29	7.68
第IV	阶段	23	196.91	259.09	50	30	7.56
第 V	阶段	21	194.07	226.20	70	30	8.16
第 VI	阶段	13	206.38	256.86	100	30	8.26

表 1 中 NH_4^+ – N 和 NO_2^- – N 为该阶段运行稳定时的平均浓度,各阶段均添加了 KH_2PO_4 、 $FeCl_3$ · $6H_2O$ 、 $NaHCO_3$ 、 NH_4Cl 、 $NaNO_2$ (NO_2^- – N/NH_4^+ – N 浓度比约为1.30)。原水的 pH 值采用 2.0 mol/L 的 HCl 进行调节,另需投加 0.17% 的灭菌生活污水以补充微量元素,厌氧氨氧化单元的设计进水流量为 0.4 L/h。

1.3 分析项目及测试方法

 NH_4^+ - N 采用纳氏试剂比色法测定, NO_2^- - N 采用 N - (1 - 萘基) - 乙二胺光度法测定, NO_3^- - N 采用紫外分光光度法测定, VSS 采用重量法测定, COD 采用分光光度法测定^[8], pH 值采用 pH 计测定, 温度采用温度计测定, DO 采用溶解氧仪测定。

1.4 数据处理及分析方法

由于 NO_2^- – N 在测定时可被氧化剂氧化,因此实际 COD 采用式(1)计算 $^{[9,10]}$ 。

实际 COD = 测定 COD
$$-\frac{16}{14} \times NO_2^- - N$$
 浓度

计算细菌数量时,统计出现扩增条带的最后 3 个连续的稀释度(10*、10*+1、10*+2),以这 3 个稀释度平行样中条带的个数作为数量指标,从"每毫升稀释液的细菌近似值"MPN表[11]中查询对应的数值,计算细菌数量。每克菌块中的细菌数量 = 条带数量指标对应的数值×最后 3 个稀释度中第 1 个稀释度的稀释倍数×提取的 DNA 总量/菌块质量。

2 结果分析

2.1 不同阶段的ANAMMOX 脱氮性能

2.1.1 对 NH₄ - N 和 NO₂ - N 的去除

不同阶段对 $NH_4^+ - N$ 和 $NO_2^- - N$ 的去除效果 如图 2 所示。

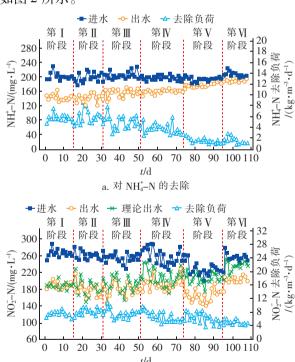


图 2 不同阶段对 $NH_4^+ - N$ 和 $NO_2^- - N$ 的去除效果

b. 对 NO2-N 的去除

Fig. 2 Removal effect of NH_4^+ – N and NO_2^- – N in

different stages 第 I 阶段为 AAOB 细菌混培:

第 I 阶段为 AAOB 细菌混培物的活性恢复和适应期,采用与原生物滤池相同的运行工况以缩短适应时间、保障活性恢复效果。由图 2 可知,第 0~

8 天脱氮系统不稳定;第 9~15 天进出水 NH_4^+ - N 和 NO_2^- - N 浓度相对稳定, NH_4^+ - N、 NO_2^- - N 的去除负荷分别达到5.609、7.400 kg/(m^3 · d), 说明细菌混培物活性已恢复并可稳定适应。

从第 II 阶段开始进入驯化阶段。第 $II \sim IV$ 阶段进出水的 $NH_4^+ - N$ 浓度范围分别为 178. 28 ~ 229. 93、121. $10 \sim 170.50$ mg/L,各阶段 $NH_4^+ - N$ 的平均去除负荷分别为 5. 325、4. 737、3. 535 kg/($m^3 \cdot d$); $NO_2^- - N$ 的进出水浓度范围分别为 228. 94 ~ 287. 23、149. 24 ~ 229. 90 mg/L,各阶段 $NO_2^- - N$ 的平均去除负荷分别为 8. 012、7. 891(稳定时)和 5. 442 kg/($m^3 \cdot d$)(稳定时),可见随着石油炼化废水添加比例的增加, $NH_4^+ - N$ 和 $NO_2^- - N$ 的去除负荷逐渐减小,第 II、III 阶段的 $NO_2^- - N$ 去除负荷与第 II 阶段稳定时接近。由图 2(b) 可知, $NO_2^- - N$ 实际出水浓度与其理论出水浓度存在差异,说明去除 $NO_2^- - N$ 过程中既有厌氧氨氧化作用又存在反硝化作用,石油炼化废水并未对脱氮系统造成明显影响或者脱氮系统由于驯化过程出现了适应性。

第 V 阶段进水 NH_4^+ - N 浓度波动较小,出水 NH_4^+ - N 浓度缓慢增大,平均 NH_4^+ - N 去除量为第 I 阶段的 35.8% , NH_4^+ - N 去除负荷稳定在 1.365 kg/(m^3 · d) ,分别为第 I 和第 IV 阶段去除负荷的 24.3% 和 38.6% ,说明此时石油炼化废水对厌氧氨氧化的脱氮能力相比第 II、III 阶段产生了明显的抑制作用;该阶段进出水 NO_2^- - N 浓度波动较大,且 NO_2^- - N 出水浓度和理论 NO_2^- - N 出水浓度存在明显差异, NO_2^- - N 去除负荷稳定在 4.935 kg/(m^3 · d) ,相比上一阶段出现了小幅降低,平均 NO_2^- - N 去除量为第 I 阶段的 79.2% ,说明此时反硝化细菌的富集效应显著,反硝化脱氮作用开始逐渐占据优势,但由于毒性物质等其他影响造成 NO_2^- - N 去除负荷减小的现象。

第 VI 阶段的进水全部由石油炼化废水组成,进出水的 NH_4^+ - N 浓度范围分别为 195. 22 ~ 222. 43、184. 11 ~ 195. 50 mg/L,进出水 NO_2^- - N 浓度范围分别为 245. 63 ~ 275. 04、197. 54 ~ 212. 57 mg/L, NH_4^+ - N、 NO_2^- - N 的去除负荷分别稳定在 0. 975、4. 623 kg/(m^3 · d),稳定后的 NH_4^+ - N、 NO_2^- - N 去除负荷分别为第 I 阶段的 17. 4% 和 62. 5%,说明未稀释的石油炼化废水对脱氮体系造成了巨大冲击。

由于反硝化细菌可以利用水中的 COD 进行富集和生化反应,因此对细菌生化活性并未出现明显的抑制作用,但厌氧氨氧化细菌则需要面对进水 COD、毒性物质等的冲击以及细菌间的竞争作用和菌体的死亡等问题,因而导致活性严重降低。

2.1.2 三氮计量比变化规律

三氮计量比是判断反应器脱氮体系中 AAOB 是否成为优势菌群的重要指标之一。Strous 等人研究发现, ANAMMOX 反应过程中消耗的 $NH_4^+ - N$ 、 $NO_2^- - N$ 与生成的 $NO_3^- - N$ 的物质的量之比为 1:1.32:0.26。针对本试验计算不同驯化阶段的三氮计量比($NH_4^+ - N:NO_2^- - N:NO_3^- - N$),结果 如图 3 所示。

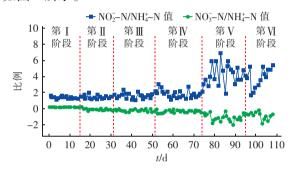


图 3 不同阶段三氮计量比的变化情况

Fig. 3 Variation of nitrogen stoichiometric ratio in different stages

由图 3 可知,试验的活性恢复期(第 I 阶段)和 驯化前期(第Ⅱ、Ⅲ阶段)中的 NO₂ - N/NH₄ - N 值和 NO₃ - N/NH₄ - N 值相对稳定,3 个阶段三氮 计量比分别为 1:1.34:0.20、1:1.45:-0.10、 1:1.60: -0.21。而在有机环境下, ANAMMOX 生 物滤池中极有可能同时存在厌氧氨氧化和反硝化两 种厌氧脱氮反应[12],由于实际转化的 NO_2^--N 物质 的量之比均大于1.32,NO3-N物质的量之比均小 于 0.26 甚至出现负数的现象,说明在脱氮体系中存 在着厌氧氨氧化和反硝化反应,并且这3个阶段中 两种反应的比例分别为1:0.08、1:0.49、1:0.75, 此时在脱氮体系中厌氧氨氧化仍为优势反应,但反 硝化反应的脱氮比例随着 COD 的不断添加而逐渐 增大。第 \mathbb{N} 阶段 \mathbb{N} 0 $_3^- - \mathbb{N}/\mathbb{N}$ H $_4^+ - \mathbb{N}$ 值相对稳定,而 $NO_{2}^{-} - N/NH_{4}^{+} - N$ 值出现了细微波动,三氮计量比 为1:1.83: -0.35,脱氮体系中厌氧氨氧化和反 硝化反应的脱氮比例为1:1.11,此时反硝化反应 的脱氮物质的量 > 1 mol,说明此时反硝化反应的脱 氮能力与厌氧氨氧化接近,并逐渐成为优势脱氮反应。由于第V、VI阶段添加石油炼化废水的比例显著增大, NO_2^- - N/NH_4^+ - N 值和 NO_3^- - N/NH_4^+ - N 值均出现了明显波动,且绝对值相比上一阶段增大明显,说明当添加的 COD 浓度过高时,厌氧氨氧化反应的脱氮能力逐渐降低,而反硝化反应不断得到加强,石油炼化废水的大量添加对脱氮体系造成了冲击,使得整个脱氮体系运行不稳定,三氮计量比出现明显波动,此时脱氮体系中反硝化成为优势脱氮反应,不过厌氧氨氧化反应对 NH_4^+ - N 的去除仍发挥重要作用。

2.2 不同驯化阶段对COD 的去除效果

当进水中 COD 浓度过高时,由于对厌氧氨氧化和反硝化的影响程度不同,脱氮体系运行不稳定,因此考察脱氮体系随着石油炼化废水比例的增加对COD 去除效果的变化(见图 4)。理论 COD 差值根据反硝化反应计算得到,理论 COD 消耗值包括直接利用原有 NO₂ - N、NO₃ - N 和产生的 NO₃ - N 进行反应的三部分 COD 消耗值之和。

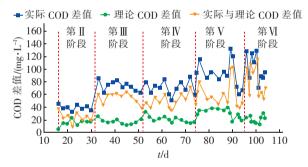


图 4 不同阶段对 COD 的去除效果

Fig. 4 Removal effect of COD in different stages

由图 4 可知,第 II 阶段低浓度的石油炼化废水并未对脱氮体系造成明显影响,实际与理论 COD 差值稳定在 21.82 mg/L。由于脱氮体系中反硝化细菌数目少、反应能力弱,对于 COD 的初期去除以吸附为主,而 COD 也可被反硝化细菌少量利用,从而使反硝化作用增强,但此时反应仍以厌氧氨氧化作用为主。第 III、IV 阶段中实际 COD 差值相比于上一阶段出现了较大增幅且波动明显,但理论 COD 差值相对稳定,第 IV 阶段后期的理论 COD 差值稳定在16.67 mg/L,说明石油炼化废水添加比例的增大对脱氮体系造成了冲击,使脱氮体系运行不稳定,同时体系中还有其他厌氧反应消耗 COD。第 V、VI 阶段中实际 COD 差值和理论 COD 差值均增大,目波动

明显。第V阶段后期的实际 COD 差值出现了明显 的减小,仅为66.55 mg/L,理论COD 差值稳定到 22.53 mg/L。第VI阶段实际 COD 差值波动幅度明 显增大目没有规律性,而理论 COD 差值却相对稳 定,说明脱氮体系经过前阶段驯化出现了一定的适 应性,同时富集的反硝化细菌去除 COD 的能力明显 提高。但随着石油废水添加比例的进一步增加,仍 对脱氮系统造成了严重冲击,使得脱氮体系运行极 不稳定。Ni 等人[13]的研究表明,低浓度的有机物 不仅不会影响厌氧氨氧化,反而会增加总氮的去除 率,但当进水 COD 超过 400 mg/L 时则影响反应速 率:李亚峰等人[14]的研究表明,在实际应用中当 COD浓度低于30 mg/L 时可以不考虑有机碳源对 厌氧氨氧化的影响,而 COD 浓度超过 30 mg/L 时有 机碳源的存在对厌氧氨氧化产生抑制作用,COD浓 度超过60 mg/L 时反应器表现出反硝化特性,这表 明反硝化过程与厌氧氨氧化过程之间存在着基质竞 争。

2.3 MPN - PCR 技术分析菌群变化

采用 MPN - PCR 技术分析试验中 AAOB 细菌混培物的菌群变化,同时以蛋白酶 K - SDS 法^[15,16] 提取混培物 DNA,而 PCR 扩增采用的是降落 PCR (TD - PCR)技术^[17]。结果表明,驯化前后厌氧氨氧化细菌数量分别为 7.549×10¹⁴、8.212×10⁸ 个/g,反硝化细菌数量分别为 3.523×10⁶、4.693×10¹⁶ 个/g。可以看出,COD 和毒性物质等对 AAOB 细菌数目和生化活性产生了不利影响,所以厌氧氨氧化细菌的数量明显减少,且整体生化活性降低;对于反硝化细菌来说,整体生化活性出现先升高后降低的原因可能是 COD 和毒性物质等相互作用,虽然 COD可以促进反硝化菌群(DNB)的富集,但高 COD 和毒性物质等对细菌生化活性产生的不利影响要强于COD 的有利影响,所以反硝化细菌虽然数量增加但整体生化活性仍降低。

3 结论

- ① AAOB 细菌混培物经过驯化后对石油炼化 废水产生了一定的适应性。
- ② 石油炼化废水的添加对脱氮体系的影响明显,添加比例为 50% 时系统运行稳定,对 $NH_4^+ N$ 和 $NO_2^- N$ 的去除负荷影响较小, AAOB 细菌和 DNB 细菌的脱氮能力相近,同时 DNB 细菌还可以减

弱进水中 COD、毒性物质等对 AAOB 细菌的不利影响,增强脱氮系统的稳定性和脱氮效果。

- ③ 驯化过程中由于 COD、毒性物质等的影响,细菌混培物中的优势菌群逐渐由 AAOB 细菌演变为 DNB 细菌,但二者的协同脱氮作用一直存在,并且在第 VI 阶段 AAOB 细菌仍可发挥脱氮作用。
- ④ 石油炼化废水对两类主要细菌的影响不同:对于厌氧氨氧化细菌以影响数量为主;对于反硝化细菌主要影响其生化活性。

参考文献:

- [1] 冷东梅. 石油化工废水处理技术应用研究进展[J]. 化学工程与装备,2009,(12):129-134.
- [2] 胡保安,连立国,倪福功,等. 曝气生物滤池深度处理 石化废水的试验研究[J]. 中国给水排水,2007,23 (7):66-69.
- [3] 杜白雨,付存库,徐继峥,等. 臭氧-BAF 组合工艺对石化行业废水深度处理的中试研究[J]. 环境工程学报,2013,7(12):4861-4865.
- [4] 曹雨平,刘亚凯,吴妍. 三元微电解—Fenton 试剂氧 化法深度处理石化废水[J]. 化工环保,2011,31(6):519-523.
- [5] 姚宏,马放,田盛,等. 臭氧-固定化生物活性炭滤池 深度处理石化废水的试验研究[J]. 环境工程学报, 2005,6(5):83-86.
- [6] 王学江,夏四清,张全兴. 用移动床生物膜反应器处理石化废水[J]. 化工环保,2001,21(6):333-336.
- [7] van der Star W R L, Miclea A I, van Dongen U G J M, et al. The membrane bioreactor: A novel tool to grow anammox bacteria as free cells [J]. Biotechnol Bioeng, 2008, 101(2):286-294.
- [8] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法(第4版)[M]. 北京:中国环境科学出版社,2002.
- [9] Liang Z, Liu J X. Control factors of partial nitrification for landfill leachate treatment[J]. J Environ Sci, 2007, 19(5):523-529.
- [10] Schalk J, de Vries S, Kuenen J G, et al. Involvement of a novel hydroxylamine oxidoreductase in anaerobic ammonium oxidation [J]. Biochem, 2000, 39 (18): 5405 5412.
- [11] Chamchoi N, Nitisoravut S. Anammox enrichment from different conventional sludges[J]. Chemosphere, 2007, 66(11);2225-2232.
- [12] 周少奇. 厌氧氨氧化与反硝化协同作用化学计量学分析[J]. 华南理工大学学报:自然科学版,2006,34 (下转第81页)