

论述与研究

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2021.05.001

## 自养硝化颗粒污泥的干式储存及恢复

张立楠<sup>1</sup>, 黄思浓<sup>1</sup>, 兰鑫<sup>1</sup>, 曾敏静<sup>1</sup>, 程媛媛<sup>1</sup>, 吴俊峰<sup>2</sup>, 龙焙<sup>1</sup>,  
张斌超<sup>1</sup>, 曾玉<sup>1</sup>

(1. 江西理工大学 土木与测绘工程学院, 江西 赣州 341000; 2. 河南省水体污染防治与  
修复重点实验室, 河南 平顶山 467036)

**摘要:** 在冷藏密闭、冷藏敞开、常温密闭和常温敞开的条件下对琼脂包埋后的自养硝化颗粒污泥(ANGS)进行储存,研究储存环境对ANGS稳定性的影响,考察储存后ANGS的恢复效果。储存40 d后,大部分ANGS的形貌仍饱满光滑,其质量分别减少了32.5%、31.3%、47.5%和39.2%,比耗氧速率(SOUR)分别下降到13.39、16.75、11.87和14.64 mgO<sub>2</sub>/(gMLVSS·h)。恢复期间,颗粒有部分破碎现象,但未发生明显解体;ANGS的活性在第22天恢复到储存前的水平[18.6~28.9 mgO<sub>2</sub>/(gMLVSS·h)];SOUR<sub>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></sub>/SOUR<sub>NO<sub>2</sub><sup>-</sup></sub>在34 d后一直维持在1以下,说明亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)的活性高于氨氧化菌(AOB)的活性;50 d后反应器对氨氮的去除率达到了80%左右,但由于缺乏反硝化碳源,TIN去除率不足5%。储存前的优势菌属*Nitrosomonas*(17.27%)和*Comamonas*(15.2%)等消失,恢复后*Methylobacillus*(40.92%)和*Hyphomicrobium*(11.62%)成为优势菌属。

**关键词:** 自养硝化颗粒污泥; 琼脂包埋; 干式储存; 恢复

**中图分类号:** TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2021)05-0001-09

## Dry Storage and Recovery of Autotrophic Nitrifying Granular Sludge

ZHANG Li-nan<sup>1</sup>, HUANG Si-nong<sup>1</sup>, LAN Xin<sup>1</sup>, ZENG Min-jing<sup>1</sup>,  
CHENG Yuan-yuan<sup>1</sup>, WU Jun-feng<sup>2</sup>, LONG Bei<sup>1</sup>, ZHANG Bin-chao<sup>1</sup>, ZENG Yu<sup>1</sup>  
(1. School of Civil and Surveying & Mapping Engineering, Jiangxi University of Science and Technology,  
Ganzhou 341000, China; 2. Henan Key Laboratory of Water Pollution Prevention and Rehabilitation,  
Pingdingshan 467036, China)

**Abstract:** Autotrophic nitrifying granular sludge (ANGS) was embedded in agar and stored in a closed environment with low temperature, open environment with low temperature, closed environment with room temperature and open environment with room temperature, respectively. The effects of storage environment on the stability of ANG S were explored, and the recovery of the stored ANG S was investigated. After 40 days of storage, the shape of most ANG S was still compact and smooth, their mass

基金项目: 江西省青年科学基金资助项目(20181BAB216026); 国家自然科学基金资助项目(52060007); 江西省教育厅科技项目(GJJ190502); 河南省水体污染防治与修复重点实验室开放基金资助项目(CJSP2018001); 江西理工大学创业实践项目(DC2019-013)

通信作者: 龙焙 E-mail:17770132146@189.cn

were reduced by 32.5%, 31.3%, 47.5% and 39.2%, and the specific oxygen uptake rate (SOUR) decreased to  $13.39 \text{ mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$ ,  $16.75 \text{ mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$ ,  $11.87 \text{ mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$  and  $14.64 \text{ mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$ , respectively. During the recovery period, breakage of some granules was observed, but no obvious disintegration occurred. The activity of ANGS returned to pre-storage levels [ $18.6 - 28.9 \text{ mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$ ] on day 22.  $\text{SOUR}_{\text{NH}_4^+}/\text{SOUR}_{\text{NO}_2^-}$  remained below 1 after 34 days of recovery, indicating that the activity of nitrite oxidizing bacteria (NOB) was higher than that of ammonia oxidizing bacteria (AOB). The removal efficiency of ammonia nitrogen reached about 80% after 50 days of recovery. However, the removal efficiency of total inorganic nitrogen was less than 5% due to lack of available carbon resources. The dominant genera, such as *Nitrosomonas* (17.27%) and *Comamonas* (15.2%), disappeared after storage, while *Methylobacillus* (40.92%) and *Hyphomicrobium* (11.62%) became the dominant genera after recovery.

**Key words:** autotrophic nitrifying granular sludge; agar embedding; dry storage; recovery

好氧颗粒污泥(AGS)是微生物自凝聚形成的生物聚集体,与活性污泥相比,具有沉降速度快、耐毒性强、能够同步脱氮除磷等优点<sup>[1-2]</sup>。目前,以有机废水为处理对象的异养颗粒污泥已实现工程化应用,而自养颗粒污泥的研究成果还十分有限。自养硝化颗粒污泥(ANGS)能够有效富集硝化细菌,在废水自养脱氮领域逐渐受到研究者的重视<sup>[3-4]</sup>。然而,由于硝化细菌较低的细胞产率和增殖速率,导致它们之间的相互凝聚及颗粒化过程十分缓慢<sup>[5]</sup>,从而大大限制了该技术的发展及应用。另外,AGS工艺不可避免地会存在检修、闲置或停运过程,而研究表明,运行条件的改变会对AGS的稳定性造成冲击<sup>[6]</sup>。在这种形势下,AGS的储存及再利用受到了研究者的重视。

目前,AGS的储存方式可分为湿式储存和干式储存两类,其中湿式储存是学者们普遍采用的方法。Xu等<sup>[7]</sup>利用常温湿式储存AGS,3周后发现其理化性质明显下降;Gao等<sup>[8]</sup>在4℃下储存AGS,发现虽然能一定程度保持AGS结构的完整性,但不能避免其代谢活性的下降。由于湿式储存AGS不利于转运且存在气液固三相物质迁移转化<sup>[9-10]</sup>,因而干式储存逐渐受到学者们的青睐。AGS的干式储存具有储存体积小、容易转运等优点,但此类研究仍十分有限。Hu等<sup>[11]</sup>利用7种干燥法对AGS进行脱水,虽然颗粒结构能得到一定保存,但发现大部分AGS活性丧失;Lv等<sup>[12]</sup>利用丙酮梯度法对AGS脱水后储存,操作繁琐,且不能改善其活性下降的问题。赵珏<sup>[13]</sup>、Cheng<sup>[14]</sup>和张立楠<sup>[15]</sup>等采用琼脂包埋法对AGS进行固定后储存,发现该干式储存法操作简

单,且易于观察污泥形貌,并可在一定程度上维持AGS的结构完整性和生物活性。目前异养好氧颗粒污泥是相关研究中的主要储存对象,而有关自养硝化颗粒污泥的储存及恢复研究可谓凤毛麟角。Wang等<sup>[16]</sup>发现ANGS在冷藏储存(4℃)7个月后硝化细菌的衰减速率慢于异养菌,且硝化细菌的活性恢复更快;Yan等<sup>[17]</sup>发现在-20℃条件下储存ANGS,其理化性能下降较慢、结构未被破坏,且可保持良好的硝化性能;郭秀丽等<sup>[18]</sup>对ANGS进行湿式储存25d后发现,ANGS的活性、理化性质和稳定性明显恶化。综上所述,即便储存工艺愈发复杂亦难以有效抑制AGS的稳定性下降。研究表明:与接种活性污泥培养AGS耗时常在一个月以上相比,储存后的AGS一般可在一个月内恢复结构完整性及代谢活性<sup>[19-21]</sup>。这表明储存后的AGS作为接种污泥可明显缩短反应器的启动时间,亦印证了AGS储存技术具有实际应用潜力,这为缩短好氧污泥颗粒化耗时提供了一种新思路。

由于硝化细菌具有较低的细胞产率和增殖速率<sup>[5]</sup>,这一特性对于ANGS的储存及恢复效果的影响值得探究。因此,笔者采用操作条件温和的琼脂包埋法固定ANGS,考察冷藏密闭、冷藏敞开、常温密闭和常温敞开这4种条件对ANGS储存后的理化特性与微生物活性的影响,分析储存前与储存恢复后微生物群落结构的演替规律,旨在为ANGS的实际应用提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 ANG的储存

取曝气状态下中试SBR中的ANGS混合液,待

其完全沉降后去除上清液,用蒸馏水冲洗3次。ANGS的主要特性:SVI在50 mL/g以下,SV<sub>30</sub>/SV<sub>5</sub>值为0.92;MLSS为4.85 g/L,MLVSS/MLSS值为0.73;胞外聚合物(EPS)含量为45 mg/gMLSS;比耗氧速率(SOUR)为25.60 mgO<sub>2</sub>/(gMLVSS·h);平均粒径为2.32 mm。用3%的琼脂溶液分别将ANGS(浓度约为30 g/L)包埋在4个直径为12 cm的培养皿中(命名为B1、B2、B3及B4培养皿),待琼脂冷却固定后,将B1和B2培养皿置于4℃下冷藏,B3和B4培养皿置于16~25℃的常温下;同时,将B1和B3培养皿密封、B2和B4培养皿进行防尘处理,储存40 d。

## 1.2 ANG的恢复

### 1.2.1 试验装置

储存40 d后将4个培养皿中的琼脂块取出,放入40℃水浴锅中恒温加热1.5 h,去琼脂溶液后将ANGS接种至柱状SBR中进行恢复。SBR的有效容积为10.21 L(内径为10.5 cm,有效高度为1.3 m),换水率为50%。使用加热棒维持反应器的温度在30℃左右。由电磁式空气泵对反应器进行曝气,表观上升气速在1.2 cm/s左右。反应器运行周期为6 h(进水2 min,好氧反应240 min,厌氧反应111 min,沉淀5 min,排水2 min),每天运行4个周期。

### 1.2.2 试验用水

试验采用模拟无机高氨氮污水,氨氮为100~120 mg/L,氮负荷为0.4~0.48 kg/(m<sup>3</sup>·d),总磷浓度为3 mg/L,pH值在8~9之间,模拟污水中的氮、磷分别由氯化铵、磷酸二氢钾提供,同时向模拟污水中添加微生物所需的微量元素如铁、镁等,具体成分见Long等<sup>[22]</sup>推荐的配方。

### 1.3 分析测试方法

氨氮、亚硝态氮、SV、SVI采用国家标准方法测定;硝态氮采用麝香草酚分光光度法测定;总无机氮(TIN)为氨氮、亚硝态氮和硝态氮三者之和;MLSS、MLVSS用重量法测定;pH值用酸度计测定;利用数码相机记录污泥形态变化。AGS质量亏损计算方法: $M = M_1 - M_2 - [W_1(M_1 - m_1) - W_2(M_2 - m_1)]$ ,其中, $M_1$ 和 $M_2$ 分别为储存前和储存后系统的总质量, $W_1$ 和 $W_2$ 分别为储存前和储存后的含水率, $m_1$ 为培养皿质量,默认储存过程中琼脂质量不变。SOUR采用Ochoa等<sup>[23]</sup>推荐的方法测定。EPS采用热提取法获得,具体操作见Zeng等<sup>[24]</sup>推荐的方法,

其中,蛋白质(PN)采用考马斯亮蓝法测定,多糖(PS)采用硫酸-苯酚法测定。采用扫描电子显微镜(SEM)和能量分散光谱仪(EDS)分析AGS的微观形貌和元素,样品制备方法见文献[15]。

### 1.4 微生物多样性分析

采用E. Z. N. A. TM DNA试剂盒(Omega, Bio-Tek, Norcross, GA, USA)提取DNA,具体见Chen等<sup>[25]</sup>推荐的方法。使用Qubit 3.0 DNA检测试剂盒对基因组DNA精确定量,以确定聚合酶链式反应(PCR)应加入的DNA量。PCR所用引物是MiSeq测序平台(Illumina, Inc., San Diego, CA, USA)的V3-V4通用引物341F和805R。每个样品DNA量取10 ng,最终上机测序量为20 pmol。

## 2 结果与讨论

### 2.1 ANG的储存

#### 2.1.1 污泥形态的变化

观察发现,储存后的琼脂块表面生长了较多霉菌(见图1),而且所有样本中未被琼脂完全包裹而裸露在空气中的颗粒皆出现了不同程度发黑,但冷藏储存的发黑程度小于常温储存。将颗粒从琼脂中分离后,观察到颗粒大多饱满,相比常温密闭和敞开储存,冷藏储存的ANGS颜色依旧很鲜亮,尤其是冷藏敞开储存的结构变化最小。利用SEM对储存后的ANGS微观结构进行观察,发现污泥表面大部分仍是光滑饱满的,但亦有坍塌形成的缝隙。进一步观察可发现大量存活在颗粒表面无机物质包裹下的球菌和杆菌。

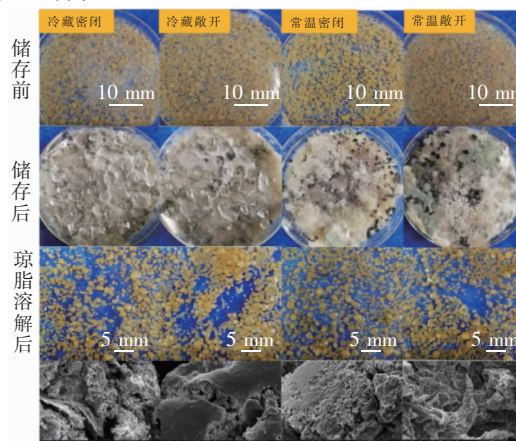


图1 不同方法储存前后ANGS的形态变化

Fig.1 Variation of ANG morphology before and after storage by different methods



## 2.1.2 储存前后 ANGS 理化性质的变化

计算发现,储存后 B1、B2、B3 和 B4 的 ANGS 质量分别减少了 32.5%、31.3%、47.5% 和 39.2%;储存前 SOUR 为  $25.60 \text{ mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$ ,储存后 SOUR 分别下降到 13.39、16.75、11.87 和  $14.64 \text{ mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$ , $\text{SOUR}_{\text{NH}_4^+}/\text{SOUR}_{\text{NO}_2^-}$  值分别为 1.54、1.44、1.40 和 1.41。储存过程中,质量变化主要源于微生物内源呼吸消耗,由于缺少氧气,污泥内部发生一定程度的厌氧呼吸作用,且从储存前后的 SOUR 可以看出,大多数好氧硝化细菌在缺氧和饥饿的环境下因缺乏营养物质而失去活性后死亡,导致储存后 ANGS 质量的减少。冷藏储存的质量减少小于常温储存,因为温度的降低使微生物的代谢速度降低;敞开储存的质量减少小于密闭储存,可能是由于密闭储存的厌氧环境更有利于厌氧菌的呼吸与发酵。冷藏敞开储存最有利于 ANGS 中微生物活性的保持。

## 2.2 ANGS 的恢复

### 2.2.1 污泥形态的变化

观察发现,恢复第 1 天 ANGS 的颜色比储存前更浅,并有部分颗粒变成中空状(见图 2)。第 8 天,观察到少部分颗粒裂解成为碎片状,形状不规则,但未发现颗粒解体成絮状污泥。恢复至第 11 天,颗粒颜色有所加深,变为深黄色。恢复过程中,ANGS 逐渐变得密实。恢复至第 28 天较小粒径的污泥有所增加,破碎的颗粒重新生长,但由于硝化细菌生长速度慢,培养到第 66 天时颗粒粒径仍较小,但形状越来越规则。

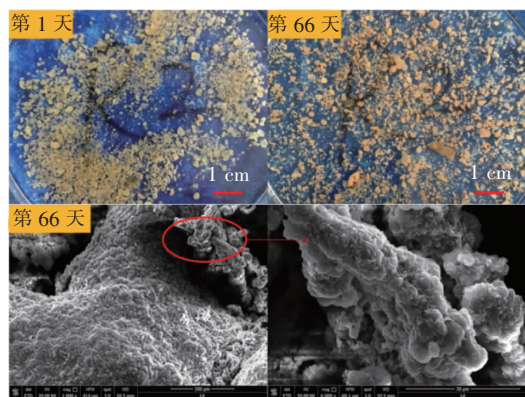


图 2 恢复期间 ANGS 的形态变化

Fig. 2 Variation of ANGS morphology during recovery

### 2.2.2 理化特性变化

#### ① 污泥沉降性能

前 52 d 内 SVI 值整体呈下降趋势,如图 3 所示,这是由于部分颗粒在恢复期间发生破碎重聚的过程,导致 SVI 值的波动;从第 54 天由于污泥量增长而增大了颗粒之间的摩擦,颗粒逐渐变得密实,SVI 值逐渐稳定在  $30 \text{ mL/g}$  以下,已经恢复至储存前的水平,说明恢复期间 ANGS 的沉降性能逐渐提升。恢复期间  $\text{SV}_{30}/\text{SV}_5$  值整体较为稳定 ( $0.8 \sim 0.96$ ),表明恢复过程中 ANGS 有优良的沉降性能。

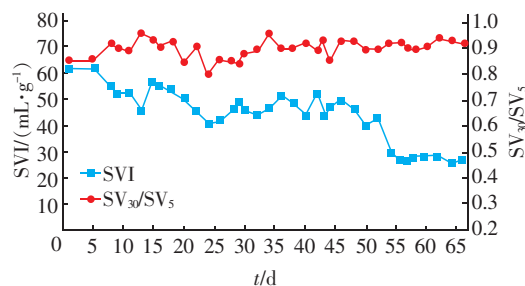


图 3 ANGS 恢复过程中 SVI 值及  $\text{SV}_{30}/\text{SV}_5$  值的变化

Fig. 3 Change of SVI and  $\text{SV}_{30}/\text{SV}_5$  during ANGS recovery

#### ② MLSS 及 MLVSS/MLSS

恢复期间 MLSS 呈先增大后稳定的趋势,如图 4 所示。MLSS 在前 40 d 由恢复初期的  $1110 \text{ mg/L}$  上升到  $1710 \text{ mg/L}$ ,之后稳定维持在  $1710 \sim 2140 \text{ mg/L}$ 。由于进水全部为无机污水,自养微生物生长速度较慢,导致污泥浓度的增长速度亦较慢。40 d 后,MLSS 有较小波动,但整体变化较为平缓。MLVSS/MLSS 值在整个恢复期间的变化较平缓 ( $0.74 \sim 0.83$ )。

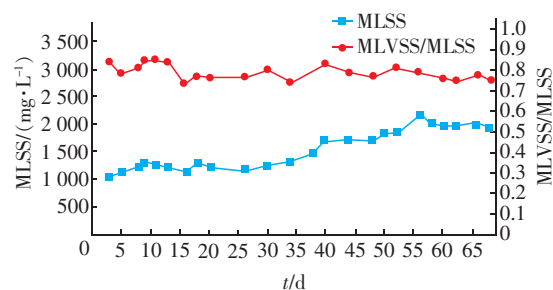


图 4 ANGS 恢复过程中 MLSS 及 MLVSS/MLSS 的变化

Fig. 4 Change of MLSS and MLVSS/MLSS during ANGS recovery

#### ③ EPS 含量及 PN/PS 值

EPS 含量在整个恢复期间波动性较大,如图 5 所示,前 33 d 保持在  $30 \text{ mg/gMLSS}$  以上,第 33 ~ 42 天有所下降 ( $36.4 \sim 20.1 \text{ mg/gMLSS}$ ),第 42 ~ 66 天 EPS 含量变化趋于平缓 ( $20.1 \sim 25.1 \text{ mg/gMLSS}$ )。

恢复前期观察到颗粒有破碎重聚的现象,颗粒结构的不稳定等因素会刺激细菌分泌 EPS 进行自我保护<sup>[26]</sup>,导致前 33 d 的 EPS 含量较后期更高;后期观察到颗粒重新凝聚,稳定性达到了一定的平衡,所以 EPS 含量恢复到正常水平并维持稳定。PN/PS 值在恢复过程中维持在 0.21 ~ 0.87 之间。PS 含量始终高于 PN 含量,表明 PS 对 ANG 的恢复发挥了更重要的作用<sup>[27]</sup>。

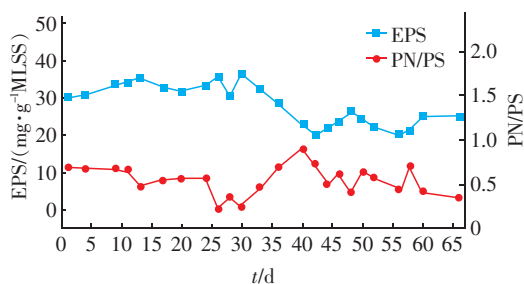


图 5 ANG 恢复过程中 EPS 含量及 PN/PS 的变化

Fig. 5 Change of EPS content and PN/PS during ANG recovery

#### ④ SOUR 及 $\text{SOUR}_{\text{NH}_4^+}/\text{SOUR}_{\text{NO}_2^-}$

ANG 恢复期间, SOUR 在前 22 d 呈上升趋势 [15.5 ~ 26.9  $\text{mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$ ], 此后 SOUR 恢复至储存前的水平 [18.6 ~ 28.9  $\text{mgO}_2/(\text{gMLVSS} \cdot \text{h})$ ], 见图 6, 说明 ANG 经琼脂包埋储存后, 经过 22 d 微生物活性便得以恢复。  $\text{SOUR}_{\text{NH}_4^+}/\text{SOUR}_{\text{NO}_2^-}$  值在前 20 d 由 1.25 上升至 2.17, 第 20 ~ 34 天呈下降趋势 (2.17 ~ 0.63), 34 d 后稳定维持在 1 以下, 表明在 ANG 恢复过程中氨氧化菌 (AOB) 活性高于亚硝酸盐氧化菌 (NOB) 活性, 而在反应器恢复稳定后 NOB 的活性则高于 AOB 的活性。

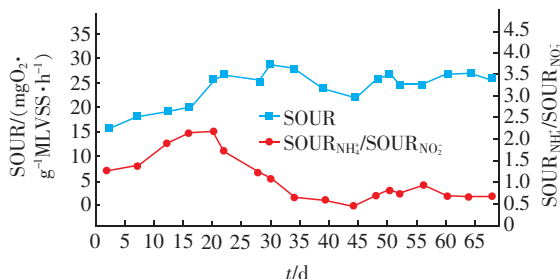


图 6 ANG 恢复过程中 SOUR 及  $\text{SOUR}_{\text{NH}_4^+}/\text{SOUR}_{\text{NO}_2^-}$  的变化

Fig. 6 Change of SOUR and  $\text{SOUR}_{\text{NH}_4^+}/\text{SOUR}_{\text{NO}_2^-}$  during ANG recovery

#### ⑤ 颗粒化率及平均粒径

在 ANG 恢复过程中, 第 26 ~ 38 天颗粒化率在

83% ~ 90% 之间, 其他大部分时间变化比较平缓 (见图 7)。平均粒径的变化趋势亦相似, 前 29 d 呈下降趋势 (1.52 ~ 1.34 mm), 第 29 ~ 68 天平均粒径由 1.34 mm 上升至 1.66 mm, 主要是颗粒经过储存后结构稳定性下降, 在曝气提供的剪切力作用下较大粒径的颗粒裂解、破碎所致。

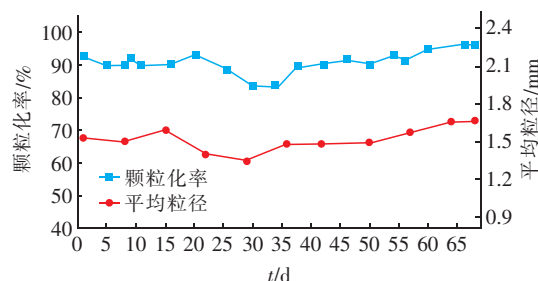
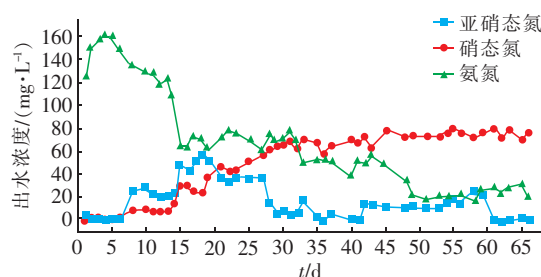


图 7 ANG 恢复过程中颗粒化率和平均粒径的变化

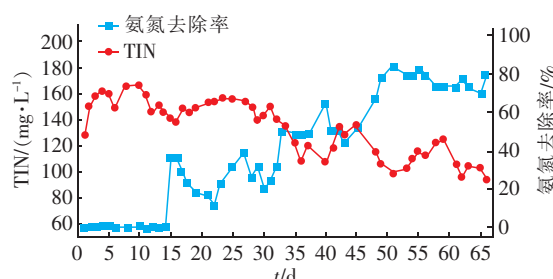
Fig. 7 Change of granulation rate and average particle size during ANG recovery

### 2.2.3 反应器对氮的去除效果

ANG 恢复过程中对氮的去除效果见图 8。



a. 出水亚硝酸盐氮、硝酸盐氮和氨氮浓度



b. 出水 TIN 浓度和氨氮去除率

图 8 ANG 恢复过程中对氮的去除效果

Fig. 8 Removal efficiency of nitrogen during ANG recovery

出水氨氮浓度在前 5 d 持续上升 (124.1 ~ 160.1  $\text{mg/L}$ ), 此后整体呈先下降后逐渐趋于稳定的变化趋势, 50 d 后基本保持在 20 ~ 30  $\text{mg/L}$  之间。出水亚硝酸盐氮浓度整体呈先上升后下降的趋势, 61 d 以后几乎为 0。出水硝酸盐氮浓度则整体呈先增大后逐渐趋于稳定的趋势, 45 d 以后保持在 70  $\text{mg/L}$

左右。前 10 d 内出水 TIN 浓度整体呈增大趋势 (127.9 ~ 165.9 mg/L), 之后整体呈减小趋势。恢复过程中的前 5 d, 由于储存导致微生物呼吸和微生物死亡, 从而释放分解物和胞内物质等污染物, 导致反应器中的氨氮浓度超过进水氨氮浓度; 恢复过程中, 随着微生物活性的恢复, 氨氮浓度逐渐下降, 第 5 ~ 15 天出水氨氮浓度下降最快, 第 15 天时出水氨氮浓度首次低于进水氨氮浓度, 导致去除率突然升高; 此后, 氨氮去除率逐渐上升, 在 50 d 后升高至 80% 左右。由于 NOB 对环境变化更敏感<sup>[28]</sup>, 所以在恢复初期培养环境变化时出现了亚硝酸盐的积累 (最高达到 55.6 mg/L); 18 d 后亚硝酸盐积累现象逐渐消失, 出水硝态氮浓度逐渐升高 (最高达到

79.3 mg/L)。但由于反应器中未投加碳源, 对 TIN 的去除率不足 5%。

## 2.2.4 菌群特性分析

### ① 菌群分布多样性

高通量测序结果表明, 样品序列的覆盖率在 0.96 以上 (见表 1), 表明结果可以真实反映微生物群落组成的情况。储存前 ANGSA (A1) 的 Chao1 与 ACE 群落丰度指数都高于恢复后 (恢复第 57 天) ANGSA (A2) 的群落丰度指数, 说明恢复后 ANGSA 中菌群丰度有所下降。A1 的 Shannon 指数 (3.81) 大于 A2 的 (3.58), Simpson 指数 (0.07) 则小于 A2 的 (0.18), 说明经琼脂包埋储存后恢复的 ANGSA 菌群多样性有所下降。

表 1 微生物群落的丰度和多样性指数

Tab.1 Abundance and diversity index of microbial communities

项目	优质序列数	OTU	群落丰度指数		群落分布多样性指数		Coverage
			ACE	Chao1	Shannon	Simpson	
A1	59 572	2 873	107 600	36 974.30	3.81	0.07	0.96
A2	52 965	2 816	31 583	15 280.44	3.58	0.18	0.96

### ② 菌群结构分布

A1 的细菌分为 7 门、12 纲、17 目、20 科和 30 属, 经过储存恢复后的 A2 为 10 门、15 纲、21 目、26 科和 30 属。在门水平上, A2 的优势微生物是 *Proteobacteria*, 其相对丰度为 76.84%, 相比 A1 增加了 9.56%; A2 的第二优势菌门是 *Parcubacteria* (2.63%), 相比 A1 的相对丰度增加了 2.62%。同时发现 A1 的第二优势菌门 *Bacteroidetes* 的相对丰度由 18.14% 下降为 A2 的 1.24%。研究表明<sup>[29]</sup>, *Proteobacteria* 在氮源的产能代谢中起到重要作用。

在纲水平上, A1 中的优势微生物为 *Betaproteobacteria* (40.54%)、*Gammaproteobacteria* (13.68%) 和 *Alphaproteobacteria* (12.41%), 如图 9 (a) 所示; A2 的优势菌纲种类与 A1 相同, 但相对丰度发生了变化, 三者分别为 51.74%、18.38% 和 3.85%; 此外, *Betaproteobacteria*、*Alphaproteobacteria*、*Deltaproteobacteria* (由 0.59% 增加到 1.91%) 和 *Clostridia* (由 0.13% 增加到 0.75%) 的相对丰度增大, 而 *Gammaproteobacteria*、*Sphingobacteriia* (由 7.44% 减少到 0.88%)、*Planctomycetia* (由 3.28% 减少到 0.88%) 和 *Actinobacteria* (由 2.6% 减少到 0.72%) 的相对丰度均有所减少。同时发现 *Verrucomicrobiae*、*Cytophagia*、*Spartobacteria* 和

*Gemmatimonadetes* 等菌纲在 ANGSA 恢复后消失, 并出现 *Phycisphaerae* (0.86%)、*Anaerolineae* (0.7%)、*Nitrospira* (0.15%) 等新菌纲。

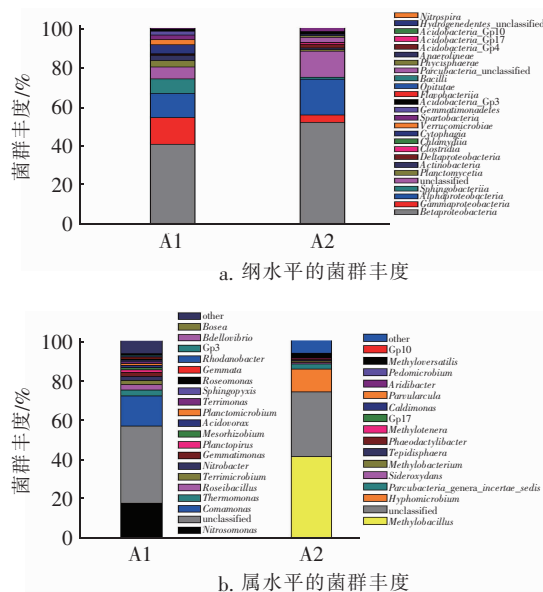


图 9 恢复 57 d 后微生物菌群结构分布

Fig.9 Distribution of microbial community structure after 57 days recovery

经过储存和恢复后, A1 在属水平上的群落结构完全由新的群落结构所代替, 形成了新的微生物生态系统, 如图 9 (b) 所示。A1 的优势菌属是



*Nitrosomonas* (17.27%)、*Comamonas* (15.2%) 和 *Thermomonas* (3.15%)。*Nitrosomonas* 和 *Comamonas* 是 AOB, 可以将氨氮氧化为亚硝态氮, *Comamonas* 同时可以将氨氮转化为氮气, 是实现短程硝化-反硝化的关键菌株。A2 的优势菌属是 *Methylobacillus* 和 *Hyphomicrobium*, 相对丰度分别为 40.92% 和 11.62%, 而硝化细菌 *Nitrospira* 的相对丰度下降至 0.15% (归到 other 中)。*Methylobacillus* 是好氧异养型菌属, 以甲基胺、甲酸盐等作为碳源, 同时以铵盐和硝酸盐作为氮源<sup>[30]</sup>。*Hyphomicrobium* 同样也是好氧异养型菌属, 具有反硝化功能<sup>[31]</sup>。结果表明, 储存前 ANG 的菌群结构受到储存时微氧或厌氧环境的影响而发生变化, 适应微氧环境的 *Methylobacillus* 及 *Hyphomicrobium* 成为优势菌, 推测它们以 ANG 内死细胞或细胞释放物为有机碳源生长, 导致 ANG 的污染物去除能力在 50 d 后才基本恢复, 且硝化能力远低于储存前的水平。

### 3 包埋储存与恢复对 ANG 稳定性的影响

ANG 储存过程中, 微生物细胞水解与内源呼吸作用, 以及缺少氧气的封闭储存环境抑制了硝化细菌活性, 造成 B1、B2、B3 和 B4 中的 ANG 质量不同程度的减少 (32.5%、31.3%、47.5% 和 39.2%), 活性分别下降了 47.70%、34.57%、53.63% 和 42.81%, 同时厌氧微生物的增殖造成 ANG 稳定性均下降, 但污泥结构无明显变化。另外, 低温储存降低了细胞水解与内源呼吸的速度, 敞开的储存环境减少了有害气体对硝化细菌活性的抑制作用。因此, 冷藏敞开的储存方式更有利于维持 ANG 的稳定性。

ANG 恢复过程中, 在好氧和基质充足的条件下, 微生物逐渐恢复活性, 同时曝气提供的水力剪切力和污泥之间相互碰撞产生的摩擦力, 使得微生物以碎片污泥为核心重新聚集而形成了新颗粒, SVI 值稳定在 30 mL/g 以下,  $SV_{30}/SV_5$  值稳定在 0.8 ~ 0.96 之间, SOUR 在 22 d 后恢复到 18.6 ~ 28.9  $mgO_2/(gMLVSS \cdot h)$ 。40 d 后 MLSS 稳定在 1 710 ~ 2 140 mg/L, EPS 含量稳定在 20.1 ~ 25.1 mg/gMLSS 之间, 在第 50 天 ANG 的氨氮去除率达到 80% 左右, 污染物去除能力基本恢复。储存及恢复过程中 *Nitrosomonas* (17.27%)、*Comamonas* (15.2%) 和 *Thermomonas* (3.15%) 消失, 新形成的优势菌属为 *Methylobacillus* (40.92%) 和 *Hyphomicrobium*

(11.62%)。由于储存前菌群完全被新生的群落所代替并形成了新的微生物菌群结构, 导致恢复时间较长, 比储存前的优势菌属 *Nitrosomonas* 的氨氮去除能力差, 导致氨氮去除率未能恢复到储存前的水平。

### 4 结论

① 四种不同储存方法中, 常温干式储存的琼脂块表面发黑的现象明显, 但琼脂包埋的 ANG 形态大部分仍然光滑饱满, SEM 观察发现在无机物层下仍有大量杆菌和球菌。对比四种储存条件下 ANG 的理化性质发现, 冷藏敞开储存条件下 ANG 的质量和 SOUR 下降相对最少, 分别下降了 31.3% 和 34.57%, 故认为该方法更有利于 ANG 的储存。

② 恢复过程中 ANG 经历了破碎再重聚的过程, 但未发现颗粒大范围解体成絮状污泥。在恢复期间 ANG 始终具有较好的沉降性能, 反应器对氨氮的去除效果在 50 d 后上升至 80% 左右。储存再恢复过程对微生物菌群结构分布的影响较大, 尤其在属水平上, 经过恢复后形成了新的群落结构, *Methylobacillus* (40.92%) 和 *Hyphomicrobium* (11.62%) 代替 *Nitrosomonas* (17.27%) 和 *Comamonas* (15.2%) 成为优势菌属。

### 参考文献:

- [1] 董晶晶, 吴迪, 马柯, 等. 好氧颗粒污泥工艺强化脱氮研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2018, 24(1): 177-186.  
DONG Jingjing, WU Di, MA Ke, et al. Review on enhanced denitrification of aerobic granular sludge technology [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2018, 24(1): 177-186 (in Chinese).
- [2] SHOW K Y, LEE D J, TAY J H. Aerobic granulation: advances and challenges[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 167(6): 1622-1640.
- [3] LIANG Y, LI D, ZENG H, et al. Rapid start-up and microbial characteristics of partial nitrification granular sludge treating domestic sewage at room temperature [J]. Bioresource Technology, 2015, 196: 741-745.
- [4] 李冬, 郭跃洲, 曹美忠, 等. 曝气时间比对亚硝化颗粒污泥形成的影响[J]. 环境科学, 2018, 39(5): 2289-2295.  
LI Dong, GUO Yuezhou, CAO Meizhong, et al. Effect of different ratios of anaerobic time and aeration time on the formation of partial nitrification granules [J].

- Environmental Science, 2018, 39 (5): 2289 – 2295 (in Chinese).
- [5] BERRELLEZA-VALDEZ F, PARADES-AGUILAR J, PEÑA-LIMON C E, *et al.* A novel process of the isolation of nitrifying bacteria and their development in two different natural lab-scale packed-bed bioreactors for trichloroethylene bioremediation [J]. Journal of Environmental Management, 2019, 241: 211 – 218.
- [6] 龙焙, 程媛媛, 朱易春, 等. 好氧颗粒污泥的快速培养研究进展[J]. 中国给水排水, 2018, 34(2): 31 – 36.  
LONG Bei, CHENG Yuanyuan, ZHU Yichun, *et al.* Research progress on rapid cultivation of aerobic granular sludge[J]. China Water & Wastewater, 2018, 34(2): 31 – 36 (in Chinese).
- [7] XU H C, HE P J, WANG G Z, *et al.* Enhanced storage stability of aerobic granules seeded with pellets [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(21): 8031 – 8037.
- [8] GAO D, YUAN X, LIANG H. Reactivation performance of aerobic granules under different storage strategies[J]. Water Research, 2012, 46(10): 3315 – 3322.
- [9] 赵珏, 程媛媛, 宣鑫鹏, 等. 好氧颗粒污泥的常温湿式储存及恢复[J]. 化工进展, 2018, 37(1): 381 – 388.  
ZHAO Jue, CHENG Yuanyuan, XUAN Xinpeng, *et al.* Room-temperature wet storage of aerobic granular sludge and its reactivation [J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2018, 37(1): 381 – 388 (in Chinese).
- [10] HE Q, ZHANG W, ZHANG S, *et al.* Performance and microbial population dynamics during stable operation and reactivation after extended idle conditions in an aerobic granular sequencing batch reactor [J]. Bioresource Technology, 2017, 238: 116 – 121.
- [11] HU J, ZHANG Q, CHEN Y Y, *et al.* Drying and recovery of aerobic granules [J]. Bioresource Technology, 2016, 218: 397 – 401.
- [12] LV Y, WAN C, LIU X, *et al.* Drying and re-cultivation of aerobic granules[J]. Bioresource Technology, 2013, 129: 700 – 703.
- [13] 赵珏, 宣鑫鹏, 程媛媛, 等. 琼脂包埋好氧颗粒污泥的储存及恢复[J]. 中国给水排水, 2018, 34(3): 23 – 29.  
ZHAO Jue, XUAN Xinpeng, CHENG Yuanyuan, *et al.* Storage and reactivation of aerobic granular sludge embedded in agar [J]. China Water & Wastewater, 2018, 34(3): 23 – 29 (in Chinese).
- [14] CHENG Y, XUAN X, ZHANG L, *et al.* Storage of aerobic granular sludge embedded in agar and its reactivation by real wastewater[J]. Journal of Water and Health, 2018, 16(6): 958 – 969.
- [15] 张立楠, 张斌超, 刘祖文, 等. 粒径对好氧颗粒污泥储存稳定性的影响[J]. 化工进展, 2019, 38(7): 3450 – 3457.  
ZHANG Linan, ZHANG Binchao, LIU Zuwen, *et al.* Effect of particle size on storage stability of aerobic granular sludge[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2019, 38(7): 3450 – 3457 (in Chinese).
- [16] WANG X, ZHANG H, YANG F, *et al.* Long-term storage and subsequent reactivation of aerobic granules [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(17): 8304 – 8309.
- [17] YAN L, GUO Y, ZHANG X, *et al.* Influence of storage strategies on the reactivation characteristics of shortcut nitrification aerobic granular sludge [J]. Chemical & Biochemical Engineering Quarterly, 2017, 31(1): 115 – 121.
- [18] 郭秀丽, 高大文, 卢健聪. 不同恢复方式对硝化颗粒污泥活性的影响[J]. 环境科学, 2013, 34(10): 3981 – 3985.  
GUO Xiuli, GAO Dawen, LU Jiancong. Influence of different recovery methods on the activity of nitrification granular sludge [J]. Environmental Science, 2013, 34(10): 3981 – 3985 (in Chinese).
- [19] 龙焙, 程媛媛, 赵珏, 等. 培养过程中投加部分好氧颗粒对颗粒化的影响[J]. 中国给水排水, 2017, 33(15): 13 – 19.  
LONG Bei, CHENG Yuanyuan, ZHAO Jue, *et al.* Impact of inoculating with part of mature aerobic granule on aerobic granulation during cultivation[J]. China Water & Wastewater, 2017, 33(15): 13 – 19 (in Chinese).
- [20] ZOU J, PAN J, WU S, *et al.* Rapid control of activated sludge bulking and simultaneous acceleration of aerobic granulation by adding intact aerobic granular sludge[J]. Science of the Total Environment, 2019, 674: 105 – 113.
- [21] 徐颖, 邵文华, 王惠卿. 曝气量和曝气时长对好氧颗粒污泥活性恢复的影响[J]. 环境工程学报, 2012, 6(6): 1975 – 1979.  
XU Ying, SHAO Wenhua, WANG Huiqing. Effects of aeration rate and aeration time on activity recovery of aerobic granular sludge [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2012, 6(6): 1975 – 1979 (in Chinese).
- [22] LONG B, YANG C Z, PU W H, *et al.* Rapid cultivation of aerobic granular sludge in a continuous flow reactor



- [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2015,3(4):2966-2973.
- [23] OCHOA J C, COLPRIN J, PALACIOS B, *et al.* Active heterotrophic and autotrophic biomass distribution between fixed and suspended systems in a hybrid biological reactor[J]. Water Science and Technology, 2002,46:397-404.
- [24] ZENG P, ZHUANG W Q, TAY S T L, *et al.* The influence of storage on the morphology and physiology of phthalic acid-degrading aerobic granules [J]. Chemosphere, 2007,69(11):1751-1757.
- [25] CHEN C, BIN L, TANG B, *et al.* Cultivating granular sludge directly in a continuous-flow membrane bioreactor with internal circulation [J]. Chemical Engineering Journal, 2017,309:108-117.
- [26] XU X, LIU J, SUN H. Improving granular sludge stability via stimulation of extracellular polymeric substance production by adding layered double hydroxides[J]. International Journal of Environmental Science & Technology, 2019,16:987-994.
- [27] WANG B B, LIU X T, CHEN J M, *et al.* Composition and functional group characterization of extracellular polymeric substances (EPS) in activated sludge; the impacts of polymerization degree of proteinaceous substrates[J]. Water Research, 2018,129:133-142.
- [28] QIAN W, PENG Y, LI X, *et al.* The inhibitory effects of free ammonia on ammonia oxidizing bacteria and nitrite oxidizing bacteria under anaerobic condition [J]. Bioresource Technology, 2017,243:1247-1250.
- [29] JIA W, CHEN Y, ZHANG J, *et al.* Response of greenhouse gas emissions and microbial community dynamics to temperature variation during partial nitrification [J]. Bioresource Technology, 2018, 261: 19-27.
- [30] DORONINA N V, TROTSSENKO Y A, KOLGANOVA T V, *et al.* *Methylobacillus pratensis* sp. nov., a novel non-pigmented, aerobic, obligately methylotrophic bacterium isolated from meadow grass[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2004,54(5): 1453-1457.
- [31] ZHOU A X, ZHANG Y L, DANG J Y, *et al.* Relationships between microbial compositions and hydrochemical factors in nitrate contaminated groundwater of Hun River alluvial proluvial fan, China [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2018,17(3):735-746.
- 
- 作者简介:张立楠(1994-),女,河北承德人,硕士研究生,研究方向为高效废水生物处理技术。  
E-mail:253148918@qq.com  
收稿日期:2019-12-13  
修回日期:2020-02-20

(编辑:刘贵春)

加强湖泊管理保护

改善湖泊生态环境

维护湖泊健康生命