

# 成熟厌氧颗粒污泥的结构及其特征\*

李宗义<sup>1</sup> 王海磊<sup>1</sup> 程彦伟<sup>2</sup> 王鸿磊<sup>1</sup> 李培睿<sup>1</sup>

(河南师范大学生命科学学院 新乡 453002)<sup>1</sup> (郑州工程学院生物工程系 郑州 450001)<sup>2</sup>

**摘要:** 厌氧序批式反应器 (Anaerobic Sequencing Batch Reactor ASBR) 在处理啤酒废水过程中, 能形成厌氧颗粒污泥。文中采用扫描电子显微镜和荧光显微镜技术对成熟厌氧颗粒污泥的结构及微生物群落等进行跟踪观察, 结果显示, 颗粒污泥结构复杂, 细菌以微群落形式分布, 其中产甲烷菌占一定比例。同时也探讨了厌氧颗粒污泥的形成机制。

**关键词:** 成熟厌氧颗粒污泥, 啤酒废水, 优势菌群

**中图分类号:** Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 03-0056-04

## THE STRUCTURE AND CHARACTER OF MATURE ANAEROBIC GRANULATER SLUDGE\*

LI Zong-Yi<sup>1</sup> WANG Hai-Lei<sup>1</sup> CHENG Yan-Wei<sup>2</sup> WANG Hong-Lei<sup>1</sup> LI Pei-Rui<sup>1</sup>

(Henan Normal University, College of life science, XinXiang 453002)<sup>1</sup>

(Engineering College of Zhengzhou, Department of biological engineering, Zhengzhou 453001)<sup>2</sup>

**Abstract:** In the process of treating the brewery wastewater by using ASBR anaerobic granular sludge could be formed. the structure of the granular sludge and the character of microbe clones were observed and studied by using SEM Scanning electron microscope and fluorescent microscope in this thesis. The result showed that the bacteria existed in anaerobic granular sludge in the form of micro-colony and methanogen was a definite proportion. Also, the mechanism of the formation of anaerobic granular sludge was discussed.

**Key words:** Mature anaerobic granular sludge, Brewery wastewater, Superior flora

90年代初, Richard R. Dague 等创建的新型工业废水处理反应器——ASBR<sup>[1]</sup>是一种以序批间歇操作为主要特征的废水厌氧生物处理装置。在工业废水处理过程中能培养出具有优良理化和生物学特性的厌氧颗粒污泥 (Anaerobic granular sludge)。本研究将分离、筛选并经优化组合的优势菌群与厌氧污泥一同加入 ASBR 反应器中, 对啤酒废水进行处理。结果显示, 这种经强化的厌氧颗粒污泥较普通厌氧污泥驯化成熟时间短, 在反应器内停留时间长。本文主要研究 ASBR 反应器中成熟厌氧颗粒污泥的组成、结构以及形成机制, 为厌氧颗粒污泥的生产性应用提供理论和实践上的指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 样品来源: 啤酒废水: 取自某啤酒厂的糖化车间和排污口废水。水质见下表。

表 1 啤酒废水水质 (单位 mg/L)

废水来源	pH	COD	BOD <sub>5</sub>	TSS	VSS	总 N	P
排污口	5.7 ~ 7.0	750 ~ 2800	338 ~ 1410	375 ~ 950	160 ~ 403	25 ~ 58	15 ~ 25
糖化车间	5.5 ~ 6.5	20,000 ~ 40,000	12,000 ~ 24,000	4,580 ~ 9,875	2,487 ~ 4,258		

\* 河南省科技攻关项目资助 (No. 001200217)

收稿日期: 2002-07-05, 修回日期: 2002-12-15

种泥:分别取自两个啤酒厂沉淀池厌氧污泥和上流式厌氧污泥床(UASB)中污泥。

1.1.2 实验器材: ASBR (厌氧序批式反应器)、722 光栅分光光度计、TL-1A 污水 COD 速测仪、AMRAY-1000BSEM 电子扫描显微镜、OLYBUSBH-2 型荧光显微镜等。

## 1.2 方法

1.2.1 优势菌群的筛选: 从啤酒厂污水处理池的污泥中分离、纯化细菌, 计数(显微镜直接计数和平板菌落计数)<sup>[2,3]</sup>, 然后通过功能性实验, 筛选出优势菌株, 并将优势菌株鉴定至属<sup>[4]</sup>, 应用正交试验, 进行优化组合, 组成优势菌群。

1.2.2 反应器的接种: 在 2 个 4.5L 的反应器中装入啤酒废水, 分别接种厌氧污泥 15.74 TSS g/L。其中试验组反应器中接入 2% 的优势菌群菌液 70mL, 对照组不接种优势菌群。

1.2.3 厌氧颗粒污泥的驯化: 试验组和对照组反应器在 35℃ 下, 1d 间歇运行 2 次, 每次间歇进放水 1.5L, 定时测量反应器进出水 COD, 以 COD 去除率大于 70% 作为提高啤酒废水进水浓度的依据<sup>[5]</sup>, 逐渐提高反应器废水有机质的浓度。

1.2.4 观察厌氧颗粒污泥的表面特征: 厌氧颗粒污泥驯化成熟后, 取厌氧颗粒污泥样品, 按常规扫描电镜生物样品制备技术制样<sup>[6]</sup>, 观察其表面特征。

## 2 结果与讨论

### 2.1 优势菌群的组成

优化组合所得的优势菌群由假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、丙酸杆菌属 (*Propionibacterium*)、肠细菌属 (*Enterobacter*)、变形菌属 (*Proteus*)、埃希氏菌属 (*Escherichia*)、邻单胞菌属 (*Plesiomonas*)、拟杆菌属 (*Bacteriodes*)、脱硫弧菌属 (*Desulfofibri*)、甲烷球菌属 (*Methanococcus*)、甲烷八叠球菌属 (*Methasarsina*)、甲烷丝菌属 (*Methanothrix*)、梭状芽孢杆菌属 (*Clostridium*) 和志贺氏菌属 (*Shigella*) 组成。

### 2.2 高活性厌氧颗粒污泥的驯化

反应器运行后, 经过 32d 的驯化, 试验组(优势菌群菌液 + 厌氧污泥)反应器内 COD 去除率达 91.1%, 出水 COD 为 255.5mg/L; 对照组(厌氧污泥)反应器 40d 驯化成熟, COD 去除率为 83.6%, 出水 COD 为 470.3mg/L。说明试验组较对照组驯化厌氧颗粒污泥时间短, 运行稳定, COD 去除率高, 出水 COD, BOD<sub>5</sub> 波动也小, 这与优势菌群改善了污泥中菌群组成, 加强了厌氧颗粒污泥的生物强化作用有关(图 1)。

混合液挥发性悬浮固体浓度〈Mixed Liquor Volatile Suspended Solid MLVSS〉是污泥颗粒化形成的一个重要标志<sup>[6]</sup>。反应器启动初, MLVSS 为 6,000 mg/L, 随时间延长, 略有下降后又逐渐升高, 40d 已达到了 13,000 mg/L, 标志污泥已颗粒化。初期 MLVSS 的下降是由于沉降性差的生物团被洗出的原因, MLVSS 的快速上升, 进一步证实了污泥颗粒化的形成, 颗粒污泥驯化成熟。MLVSS 随时间变化(图 2)。

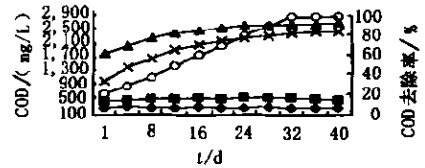


图 1 反应器进出水 COD 及去除率变化

○— 进水 COD, ◆— 试验组出水 COD,  
■— 对照组出水 COD, ▲— 实验组 COD 去除率,  
\*— 对照组 COD 去除率

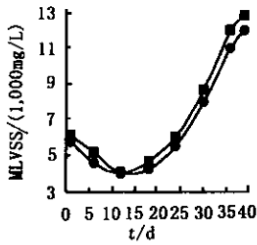


图2 MLVSS随时间变化

■ 优势菌群 + 厌氧污泥, ● 厌氧污泥

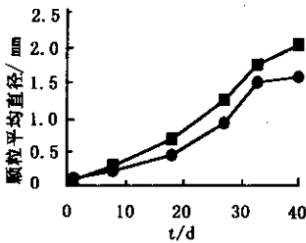


图3 颗粒直径随时间变化

■ 优势菌群 + 厌氧污泥, ● 厌氧污泥

### 2.3 观察厌氧颗粒污泥的驯化过程

通过光学显微镜连续观察,两个反应器内都能形成颗粒污泥,随时间延长,有机容积负荷的提高,厌氧颗粒污泥都逐渐增大,变黑。在显微镜下用测微尺测量,试验组反应器中污泥颗粒粒径较大,对照组反应器中污泥颗粒粒径较小,颗粒污泥驯化成熟,反应器启动成功。颗粒污泥直径大小变化(图3)。

### 2.4 成熟厌氧颗粒污泥的结构及特征

扫描电镜观察发现,成熟厌氧颗粒污泥(图4a)呈相对规则的椭圆形或球形,边界清晰,呈黑灰色,稍泛棕色,颗粒直径为1.5mm~2.5mm,颗粒表面有较多孔穴,这些孔穴是底物与营养物质进入颗粒内部的通道,颗粒内部菌体产生的气体也从该通道逸出。各种不同类型的细菌以微小群落的形式随机地分布在颗粒污泥中。颗粒污泥剖面显示靠近表面部分细胞密度较大,球菌(图4c, d)较多,杆状菌(图4b)和丝状菌(图4e)较少,有些区域呈混栖菌群(图4f)。污泥颗粒内部区域较为松散,以丝状菌为主,丝状菌在颗粒污泥形成过程中起到包埋,缠绕球菌和杆菌的作用。直径较大的颗粒污泥内部往往有空隙,这是因为废水在处理过程中,底物转化首先在颗粒污泥较外层进行,向内部扩散有限,颗粒内部底物

浓度要低的多,浓度低到一定程度,颗粒内部由于细胞自溶,而导致微生物量减少,形成一个大的空腔,大而空的颗粒污泥易于破裂,其碎片可成为新生颗粒污泥的内核。还有一些大的颗粒由于其内部气体不能释放导致密度减小,浮力增大,常浮在反应器表面。

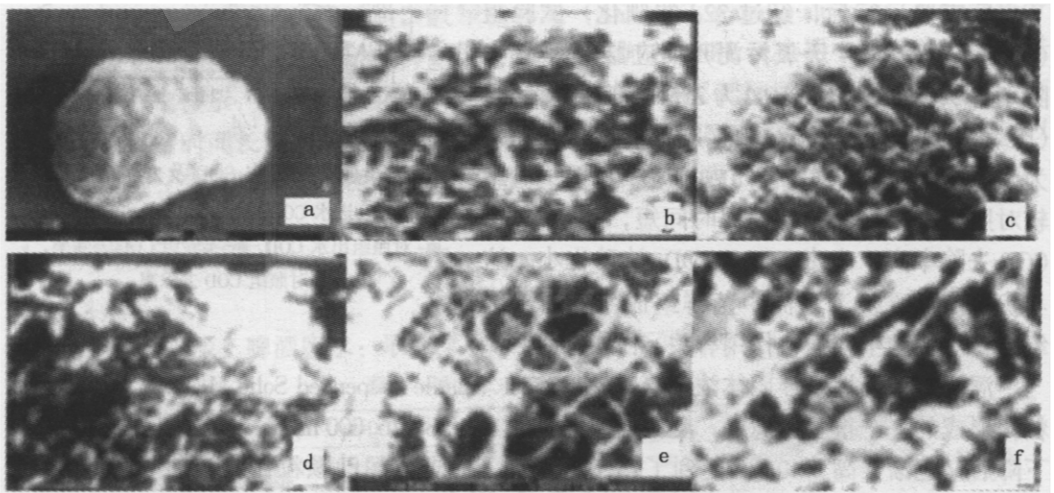


图4 厌氧颗粒污泥的扫描电镜照片

a 颗粒污泥表面观 (×400), b 颗粒污泥表面杆菌 (×8,000), c 颗粒污泥表面球菌 (×8,000)  
d 颗粒污泥表面球菌 (×8,000), e 颗粒污泥表面丝状菌 (×8,000), f 颗粒污泥表面混栖菌群 (×8,000)

将驯化的成熟厌氧颗粒污泥粉碎后分离、记数、鉴定,发现试验组细菌的总数及种类均较对照组多,所加的优势菌群在总细菌中占比例较大,这说明优势菌群的加入改善了厌氧颗粒污泥中菌群的数量和组成。

采用荧光显微镜观察发现:这些微小群落中产甲烷菌占一定的比例。作者从厌氧颗粒污泥中分离出3株产甲烷菌,其中产甲烷球菌属(*Methanococcus*)和甲烷八叠球菌属(*Methasarsina*)较多(图5),证明了颗粒污泥中确有产甲烷球菌,这与文献[7,8]报道相同。

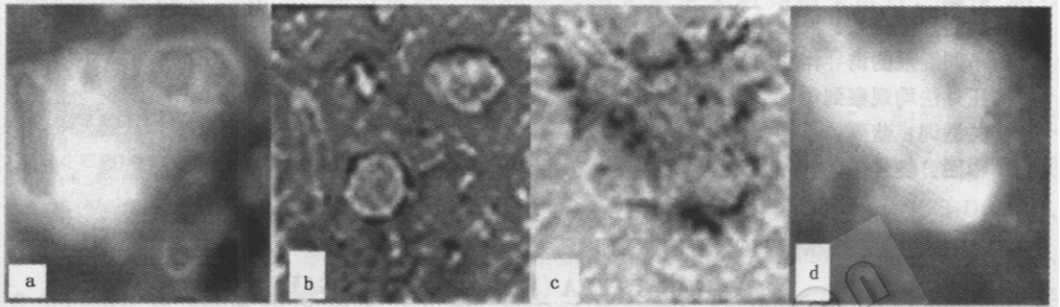


图5 产甲烷菌在荧光显微镜和光学显微镜下对照片(×1,000)

a 产甲烷菌在卡那霉素液体培养基上的荧光显微镜照片, b 产甲烷菌在卡那霉素液体培养基上的光学显微镜照片, c 产甲烷菌在青霉素钠液体培养基上的光学显微镜照片, d 产甲烷菌在青霉素钠液体培养基上的荧光显微镜照片

颗粒污泥的形成机制已引起学者关注,据作者多次观察发现,污泥颗粒的形成主要与以下因素有关:(1)细菌粘附作用,1986年,Alibhai和Forster的研究已证明胞外多聚体对促进污泥颗粒长期稳定有一定的影响。(2)厌氧产甲烷菌本身的附着作用,尤其是甲烷丝状菌对基质的较高亲和力,对形成良好性状的颗粒污泥起主导作用。本实验分离出3株产甲烷菌,其中甲烷球菌(*Methanococcus* sp.)2株,甲烷八叠球菌属(*Methasarsina* sp.)1株。(3)较高的有机负荷:尤其是厌氧菌群更需要一个营养丰富的环境,才能够大量生长,并产生胞外多聚物,进而形成颗粒污泥。如果长期处于低有机负荷,则很难形成颗粒污泥。当然,除以上生物因素以外,尚有诸如物理,化学等因素,有待进一步探讨。

### 参考文献

- [1] Dague R R. J Water Poll Control Fed, 1996, 38 (2): 220 ~ 226.
- [2] 李宗义. 微生物学实验技术, 北京: 气象出版社, 1997. 191 ~ 196.
- [3] Philipp Gerhardt 主编, 苏文金等译. 普通细菌学方法手册. 厦门: 厦门大学出版社, 1989. 234 ~ 240.
- [4] Buchanan R E, Gibbons N E 编, 战立克译. 伯杰氏鉴定细菌学手册(第八版). 北京: 科学出版社, 1974. 274 ~ 658.
- [5] Wirtz R A, R Richard. Dague. Advanced Filtr Sep Techno, 1995, 9: 654 ~ 671.
- [6] 贺延龄. 废水的厌氧生物处理. 北京: 中国轻工业出版社, 1998. 156 ~ 157.
- [7] Robinson R W. Appl Environ Microbiol, 1984, 48: 127 ~ 136.
- [8] Alibhai K R K. Froeter Environ Tech Lett, 1989, 7: 193 ~ 136.