

厌氧膨胀颗粒污泥床处理冷轧含油废水的微生物相研究*

任大军¹ 王增玉² 田从辉¹ 吴高明³ 张淑琴¹

(1. 武汉科技大学资源与环境工程学院, 湖北 武汉 430081; 2. 武汉华德环保工程技术有限公司, 湖北 武汉 430080;
3. 武汉钢铁(集团)公司, 湖北 武汉 430083)

摘要 以厌氧膨胀颗粒污泥床(EGSB)反应器处理冷轧含油废水过程中所形成的厌氧颗粒污泥的形态和微生物相为研究对象,对颗粒污泥的驯化及微生物相变化进行研究并初步鉴定污泥微生物。结果表明,接种污泥被驯化并稳定运行后,微生物较快适应反应器环境并稳定成长,颗粒污泥粒径出现渐增且有明显分层,且粒径从底部到上部逐渐减小。扫描电镜及微生物相鉴定结果主要显示以甲烷蝇菌属、拟毛甲烷菌属、甲烷八叠球菌属3种菌属为主。

关键词 厌氧膨胀颗粒污泥床反应器 冷轧含油废水 颗粒污泥形态 微生物相

Study on the microbial phase in an anaerobic expanded granular sludge bed reactor for treating cold-rolling oily wastewater REN Dajun¹, WANG Zengyu², TIAN Conghui¹, WU Gaoming³, ZHANG Shuqin¹. (1. College of Resources and Environmental Engineering, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan Hubei 430081; 2. Wuhan Huade Environmental Protection Engineering Technology Co., Ltd., Wuhan Hubei 430080; 3. Wuhan Iron and Steel (Group) Corp., Wuhan Hubei 430083)

Abstract: An anaerobic expanded granular sludge bed (EGSB) reactor was used to treat cold-rolling oily wastewater. The morphology of anaerobic granular sludge formed in EGSB reactor and the microbial phase was investigated, the preliminary identification of microorganisms in granular sludge was also taken. The results showed that microbial adaptability was strengthening and granular sludge particle size was gradually increasing with the time running; the sludge particle size of granular sludge from the bottom to the upper was gradually reduced, and there was a significantly layered phenomenon. Based on the SEM photographs and microorganism identification, three mainly kinds of methane bacteria were found in granular sludge, they were *Methanolinea* spp., *Methanosaeta* spp. and *Methanosarcinales* spp.

Keywords: anaerobic expanded granular sludge bed reactor; cold-rolling oily wastewater; granular sludge morphology; microbial phase

工业生产中产生含油废水的行业较多,主要有石油化工、钢铁冶金、机械轻工、食品饮料等及相关行业^[1-2],油污染是人类面临的继农药污染之后又一大公害。废水由于行业不同,油类成分存在很大的差异^[3-5]。钢铁冶金行业冷轧含油废水,是目前国内外较难处理的高浓度有机废水之一,按照其存在形态通常分为浮油、分散油、乳化油、溶解油和油-固体物。其中乳化油在污水中呈乳浊状,油滴粒径一般为0.1~25.0 μm 。一层带负电荷的水化膜包裹着油滴,在表面活性剂的作用下使其在水体以乳化物状态稳定存在,难以用机械的方法分离开来。

目前国内外钢铁厂冷轧含油废水采用的破乳—气浮法预处理工艺效果良好^[6-8],而二级处理中通常

采用超滤和生物接触氧化法^[9-11]。由于破乳后油类物质易黏附超滤膜表面造成超滤工艺二次造价高,且破乳后的有机物可生化性仍然较差,对生物接触氧化法形成较高的冲击负荷,使得排水中COD和油类经常产生出水不稳或不能达标的问题。随着国家对钢铁企业的环境保护力度加大,冷轧含油废水的达标排放则面临日益严峻的压力。

考虑到大分子有机物-油类的处理特点^[12-13],含油废水中油类能在高负荷厌氧膨胀颗粒污泥床(EGSB)反应器中转化为小分子有机酸,进而被降解为甲烷,同时EGSB反应器可提高废水的可生化性,有利于后续好氧单元的工艺处理。目前EGSB反应器已广泛应用于高浓度有机废水的处理,但在冷轧含

第一作者:任大军,男,1978年生,博士,副教授,主要从事工业污水处理技术研究。

* 国家科技支撑计划项目(No. 2012BAC02B04);武汉市重大科技产业化项目(No. 200861113461)。

油废水方面的研究还少有报道。笔者着重研究了EGSB反应器处理冷轧含油废水过程中颗粒污泥的形态及其微生物相,旨在为EGSB反应器应用于高浓度冷轧含油废水的实际工程处理提供一定的理论基础。

1 实验材料与方法

1.1 实验装置

实验采用的EGSB反应器总体积为137.0 L,分为反应区和沉淀区两部分,其中反应区为62.8 L。反应区内径为20.0 cm,净高为2.0 m,高径比为10:1;沉淀区内径为40.0 cm,高为0.3 m。EGSB反应器内温度在31.5~38.0℃,反应区每隔0.4 m设取样口,试验装置如图1所示。

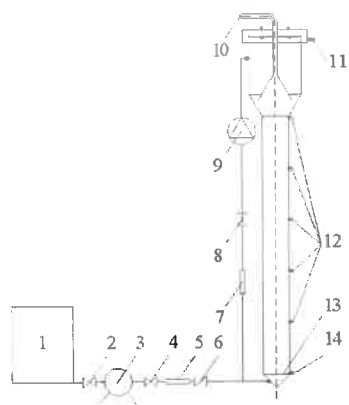


图1 EGSB反应器处理含油废水工艺流程图

Fig. 1 Process flow chart of oily wastewater treated by EGSB reactor

1—水箱;2、4、8—调节阀;3—进水泵;5、7—流量计;6—止回阀;
9—回流泵;10—出气口;11—EGSB出水口;12—取样口;
13—进水布水筛;14—排泥口

1.2 接种污泥

接种污泥取自武汉某啤酒厂处理啤酒废水的厌氧污泥50 L,接种污泥产气明显,其质量浓度为191.3 g/L,污泥挥发性悬浮固体(VSS)/悬浮固体(SS)为0.948。

1.3 实验用水

实验用水取自某冷轧厂经过破乳—气浮法预处理后的含油废水,废水pH为2.0~6.0,呈酸性,其COD为2 000~5 000 mg/L,废水B:C较低(0.10~0.21);含油量为100~400 mg/L。氮、磷含量低,不能满足厌氧消化条件,因此在EGSB反应器进水加入微量元素和无机离子,其比例为COD:N:P:S=200:5:1:0.25,Fe²⁺质量浓度为1.00 mg/L,Co²⁺质量浓度为0.05 mg/L,Ni²⁺质量浓度为0.03 mg/L。实验中使用碳酸氢钠调节维持EGSB反应器内pH在6.5~7.8,进水温度在30~35℃。

1.4 项目测定方法

实验中采用快速重铬酸钾氧化—硫酸亚铁铵滴定法测定COD;采用IPOA-2001型红外测油仪测定含油量;采用标准重量法测定SS和VSS^[14];采用电位滴定法测定碱度;微生物相采用PHILIPS XL30 TMP型扫描电镜观察。

2 EGSB反应器的运行情况

EGSB反应器的运行过程经颗粒污泥微生物相分析主要经过颗粒污泥适应驯化期(第1~24天)、有机负荷上升提高期(第25~60天)、反应器稳定运行期(第61~95天)等3个阶段。EGSB反应器采用低进水负荷的方式启动,启动初期容积负荷约0.8~1.2 kg/(m³·d),第1~13天采用进出全回流水的运行方式,在此期间通过回流泵吸入少量高浓度的含油乳液废水,以维持反应器顶部废水COD在400~500 mg/L。24 d后,将进水COD从500 mg/L逐渐提高到3 500 mg/L,COD容积负荷以约0.4 kg/(m³·d)的幅度上升提高,到第60天,反应器的COD容积负荷提高到15.6 kg/(m³·d),此后进水COD维持在3 500~5 000 mg/L,水力停留时间(HRT)为12 h。

3 结果与讨论

3.1 EGSB反应器中的颗粒污泥形态特征分析

在EGSB反应器运行过程中,由于反应器中接种污泥运行条件的变化,接种的颗粒污泥存在一个适应过渡、驯化转型阶段,在逐渐适应EGSB反应器运行环境的过程中,其理化性质和微生物群落都在不断地适应、调整和改变。因此,在EGSB反应器的运行全过程中,定期取出颗粒污泥进行微生物相考察。

结果显示,接种污泥颗粒形状不规则,但运行初期多为黑色颗粒,随着反应器运行过程的持续进行,颗粒污泥粒径逐渐增大,大多数为球状和椭球状。运行全过程中,颗粒污泥的颜色有所变化:污泥在适应驯化期和负荷提高期主要呈现的颜色有黑色、灰色和少量黄色;进入稳定运行期后,颗粒污泥颜色变淡,以黑、灰色为主,反应器底部还出现较多黄色的颗粒污泥。颗粒污泥颜色在不同运行阶段产生的变化分析可能与加入的微量元素和无机离子浓度等有关。剖开颗粒污泥进行观察,发现中心为黑色内核,外部包裹的浅色胶状物质表现出一定的韧性和黏性,分析这层黏性物质可能是微生物胞外聚合物(EPS),EPS是特定环境条件下微生物分泌于细胞

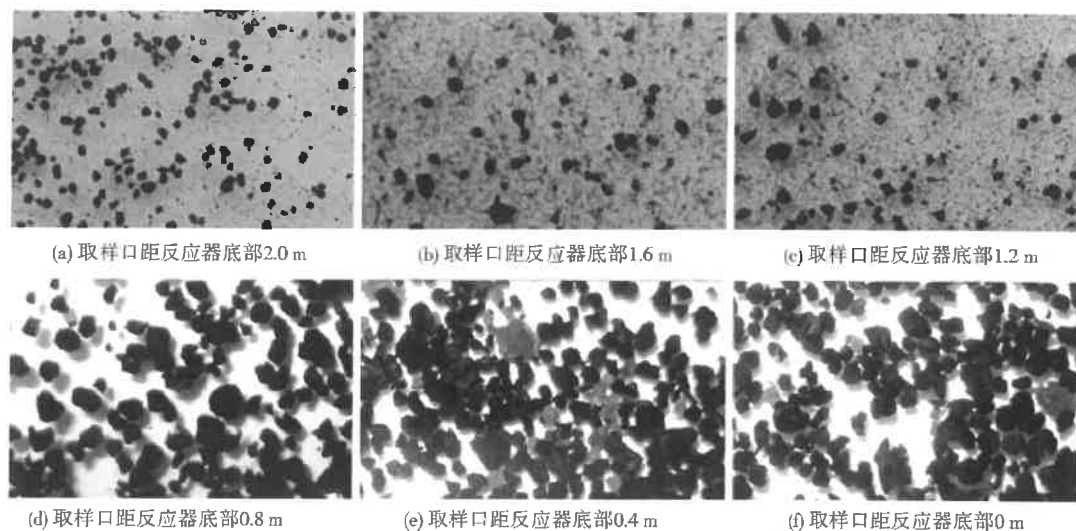


图 2 第 90 天不同高度颗粒污泥大小比较图

Fig. 2 Comparison of sludge granule obtained after 90 days at different depth of reactor

体外的一些不同类型的高分子有机物,是生物絮体的主要组成部分,对颗粒的形成和稳定有重要作用。这些 EPS 易于填充并且占据细菌之间的空间,形成絮凝体结构,通常认为它们有利于微生物细胞凝聚。可见,厌氧颗粒污泥有一定的凝聚能力。同时颗粒污泥的表面逐渐变得规则,应该是在高水力负荷的水流剪切力作用下使得颗粒表面边界清晰,而接种驯化后外表的絮状物质几乎全部脱落,更有利于基质与驯化后颗粒污泥内细菌的接触。

在 EGSB 反应器稳定运行阶段可以明显观察到反应器中的分层现象,且层高逐渐降低。从 EGSB 反应器不同高度的取样口取样分析颗粒污泥特性,见图 2。从图 2(a)到图 2(f)是不同层次颗粒污泥的外观比较,可以明显观察到颗粒污泥的粒径从反应器底部到反应器上部逐渐减小,这应该是由于反应器的上升流速和颗粒沉降共同影响所致。

3.2 EGSB 反应器内颗粒污泥的微生物相解析

通过电镜观察颗粒污泥的变化情况及其微生物菌群的分布状况,接种颗粒污泥与 EGSB 反应器稳定运行厌氧活性颗粒污泥表面和内部微生物相分布见图 3(a)至图 3(l),接种颗粒污泥表面比较粗糙,随着反应器的启动运行,颗粒污泥得到驯化,污泥表面附着 EPS 而逐渐光滑、结构松散,与贾璇等^[15]通过扫描电镜观察其表面和内部微生物相分布结果基本一致,接种污泥表面和内部的微生物均以甲烷丝菌属为主,第 90 天的颗粒污泥表面和内部都可以观察到相当丰富的甲烷丝菌,颗粒污泥表面优势菌群为甲烷杆菌属,而内部则是甲烷杆菌、球菌和丝菌等

混栖;颗粒污泥表面凹凸不平,起伏错落的峰峦和低谷构成的山峦状表面使微生物更有利于接触、吸附、降解污水基质,并和这些基质进行物质交换。同时颗粒污泥剖面观察图可知,颗粒污泥的微生物相多样化,菌种类型丰富,但并未因分层现象而分区生长;甲烷丝菌上交联生长着甲烷杆菌、丝菌、球菌和反刍产甲烷球菌等菌种,菌体饱满,这也使得颗粒污泥微生物生态系统的结构和功能比较稳定,能有效提高 COD 容积负荷,为微生物提供充足的碳源和能源,更有利于颗粒污泥内微生物的生长与筛选,形成稳定高效的微生物群落结构。颗粒污泥表面(见图 3(g))还可以观察到许多形状多样的孔洞,这可能是颗粒污泥释放气体和向内输送营养的通道,与颜智勇等^[16]和王强等^[17]的研究结果相一致。此时,颗粒污泥表面的甲烷球菌逐渐增多,内部微生物形态也多种多样,这反映了颗粒污泥微生物生态系统的结构和功能较稳定,此时适当地提高有机负荷更有利于培养高效、稳定的产甲烷优势菌群,从而提高 EGSB 反应器处理高浓度有机废水的能力。观察还发现,靠近表面部分细胞密度较大,而内部区域则略为松散。分析是由于在废水处理过程中,颗粒污泥外层微生物获得了足够的营养,得到了充分生长的原因。相比之下,有机物向内部扩散有限,内部微生物生长繁殖受到了一定程度的限制,导致微生物量偏少。

由此可见,随着反应器运行参数的调整,颗粒污泥微生物菌群发生了规律性的变化。最终在水质、水力条件的综合作用下形成产甲烷微生物相当丰富的颗粒污泥,大大提高了系统的处理负荷,增强了其

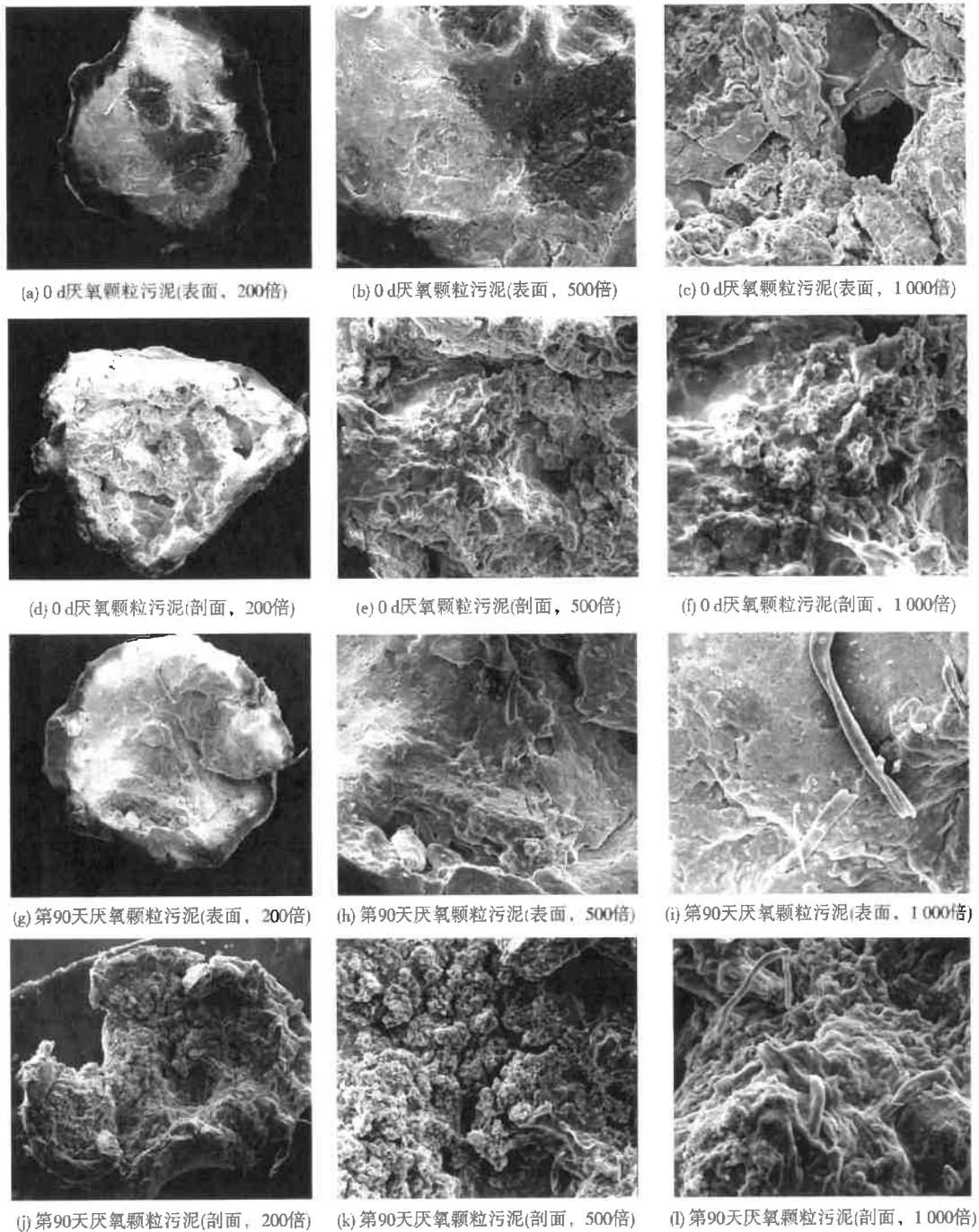


图3 颗粒污泥微生物相扫描电镜图

Fig. 3 SEM photographs of granular sludge microbial phase

耐冲击的能力。

3.3 厌氧颗粒污泥中微生物鉴定

3.3.1 鉴定方法

采用厌氧增菌后 16S rRNA 基因扩增及测序分析法鉴定分析 EGSB 反应器厌氧颗粒污泥的微生物相, 鉴定基本流程如下:

(1) 取样并接种颗粒污泥于厌氧培养基中, 随

后置于厌氧罐进行厌氧培养过夜。

(2) 进行细菌全基因组的提取。

(3) 利用特异性引物进行增菌后, 16S rDNA 基因扩增。

(4) 利用扩增得到的产物, 构建细菌 16S rDNA 克隆文库。

(5) 对限制性内切酶进行分型。

(6) 分别对每个特异的酶切型进行测序。

(7) 结合并利用生物学软件对测序结果进行分析和比对,最终分析确定微生物的种属。

3.3.2 鉴定结果

从EGSB反应器颗粒污泥中可鉴定出以下菌种:

(1) 甲烷蝇菌属(*Methanolinea*),属于广古菌门,甲烷微菌纲;属于氢营养型产甲烷菌,可利用 H_2 和甲酸。

(2) 鬃毛甲烷菌(*Methanosaeta*),属于乙酸营养型产甲烷菌。

(3) 甲烷八叠球菌属(*Methanosarcinales*),其学名为*Methanosarcina Kluyver and van Niel*,为不规则的球状聚集体,直径在 $1\sim 1\,000\ \mu m$,属于单生或典型的细胞聚集体。

4 结语和讨论

(1) 经过接种驯化过程后,污泥的形态和性质都发生了较大改变。随着EGSB反应器运行时间的逐渐延长,颗粒污泥颜色由接种时的黑色逐渐变为浅灰色和黑色,外表边界逐渐清晰。颗粒污泥粒径逐渐增大,污泥结构也更加致密,以球状和椭球状颗粒居多,反应器出现明显分层现象,底部的颗粒污泥粒径明显大于反应器上部的颗粒污泥粒径。

(2) 随着COD容积负荷和水力负荷的不断提高,颗粒污泥的表面形态从接种时的粗糙逐步变光滑,污泥表面形态和微生物相的分布规律与其反应器环境、水力条件等多种因素有关;稳定运行期,颗粒污泥表面形成凸凹不平的山峦、沟壑和空洞,使颗粒污泥的结构和生物活性更加稳定。接种颗粒污泥驯化后优势菌群由甲烷丝菌为主,转变成混栖生长的甲烷杆菌、丝菌、球菌和反刍产甲烷球菌等,此时不再出现明显分区或分层生长,一些细菌还以成簇、成团的方式出现,微生物生态系统的结构和功能变得较稳定,不同负荷运转时期颗粒污泥中微生物形态也有所不同。

(3) 适当地提高有机负荷更有利于培养出高效稳定的产甲烷优势菌群,从而提高EGSB反应器处理高浓度有机废水的能力。

(4) 在EGSB反应器不同高度下,颗粒污泥形态和微生物相的分布呈现出规律性变化,这与其生活环境、水力条件等多种因素有关。

(5) 接种污泥在EGSB反应器被驯化并稳定运

行后,微生物对反应器环境的适应性加强,反应器中稳定成长的颗粒污泥粒径逐渐增大,且出现明显分层,污泥粒径从底部到上部逐渐减小。通过扫描电镜仔细观察第90天颗粒污泥的微生物相发现,颗粒污泥中的优势菌群为甲烷丝菌;污泥包含的菌群类型丰富,尤其是在甲烷杆菌和甲烷丝菌上还附着有部分球菌。16S rRNA基因扩增及测序分析法进行鉴定结果表明,颗粒污泥中的微生物菌属主要为甲烷蝇菌属(*Methanolinea*)、鬃毛甲烷菌属(*Methanosaeta*)和甲烷八叠球菌属(*Methanosarcinales*)。

参考文献:

- [1] 王静荣,吴光夏,吴开芬.中空纤维超滤膜处理油田含油污水的研究[J].膜科学技术,1998,18(2):25-27.
- [2] 王涛.用气浮法提高污水沉降除油效率[J].油气田地面工程,2007,26(7):26-27.
- [3] 桑义敏,李发生,何绪文,等.含油废水性质及其处理技术[J].化工环保,2004(S1),24:94-97.
- [4] 张翼,于婷,毕永慧,等.含油废水处理方法研究进展[J].化工进展,2008,27(8):1155-1161.
- [5] 戴军,袁惠新,俞建峰.膜技术在含油废水处理中的应用[J].膜科学与技术,2002,22(1):59-64.
- [6] 吴晓根,韩永忠,李俊,等.含油废水处理技术进展[J].环境科技,2010,23(2):64-67.
- [7] SHAMRANI A, JAMES A, XIAO H. Separation of oil from water by dissolved air flotation[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2002, 209(1): 15-26.
- [8] HUA F L, TSANG Y F, WANG Y J, et al. Performance study of ceramic microfiltration membrane for oily wastewater treatment[J]. Chemical Engineering, 2007, 128(2/3): 169-175.
- [9] 任凤萍.陶瓷膜超滤/生物接触氧化法处理冷轧含油废水[J].中国给水排水,2008,24(18):80-82.
- [10] 胡纪萃,周孟津,左剑恶.废水厌氧生物处理理论与技术[M].北京:中国建筑工业出版社,2002.
- [11] 斯皮思 R E.工业废水的厌氧生物技术[M].北京:中国建筑工业出版社,2001.
- [12] 田从辉,梁键,舒纯,等.EGSB反应器内厌氧颗粒污泥的特性研究[J].环境科学与技术,2010,33(6):37-39.
- [13] 沈齐英.含油废水处理概况[J].北京石油化工学院学报,2006,14(3):34-38.
- [14] 吴唯民,胡纪萃,顾夏声.厌氧污泥中的辅酶 F_{420} 及其紫外一可见光分光光度法测定[J].中国环境科学,1986,6(1):65-68.
- [15] 贾璇,王路光,徐建中,等.EGSB反应器运行过程中颗粒污泥微生物相解析[J].化学工程师,2008,151(4):48-50.
- [16] 颜智勇,胡勇有,谢磊.EGSB处理高浓度有机废水的启动与微生物相[J].工业用水与废水,2007,38(3):20-23.
- [17] 王强,王路光,王靖飞,等.膨胀颗粒污泥床反应器启动过程中颗粒污泥性质变化研究[J].环境污染与防治,2009,31(8):28-32.

编辑:贺锋萍 (修改稿收到日期:2013-06-19)