



文章栏目：水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.201908109

中图分类号 X703

文献标识码 A

刘卫隆, 马志远, 牛艳艳, 等. 高氯酸盐还原颗粒污泥的快速培养及其特性分析[J]. 环境工程学报, 2020, 14(6): 1445-1452.
LIU Weilong, MA Zhiyuan, NIU Yanyan, et al. Rapid cultivation and characteristics of perchlorate reducing granular sludge[J].
Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(6): 1445-1452.

高氯酸盐还原颗粒污泥的快速培养及其特性分析

刘卫隆^{1,2}, 马志远³, 牛艳艳¹, 边永欢¹, 郭延凯¹, 郭建博⁴, 廉静^{1,*}

1. 河北科技大学环境科学与工程学院, 河北省污染防治生物技术研究室, 石家庄 050018
2. 中国核电工程有限公司河北分公司, 石家庄 050019
3. 河北省地质环境监测院, 河北省地质资源环境监测与保护重点实验室, 石家庄 052460
4. 天津城建大学环境与市政工程学院, 天津市水质科学与技术重点实验室, 天津 300384

第一作者: 刘卫隆(1993—), 男, 硕士研究生。研究方向: 水污染控制技术。E-mail: natureliu539@163.com

*通信作者: 廉静(1980—), 女, 硕士, 教授。研究方向: 水污染控制技术等。E-mail: ningjingzhiyuan98@163.com

摘要 为实现高氯酸盐还原颗粒污泥的快速培养, 以反硝化颗粒污泥为接种污泥, 对高氯酸盐还原颗粒污泥的快速培养进行了研究。在降低进水硝酸盐(NO_3^-)浓度的同时, 采用逐步升高进水高氯酸盐(ClO_4^-)浓度的方法, 考察了高氯酸盐还原颗粒污泥培养过程中 ClO_4^- 的去除以及颗粒污泥的特性。结果表明: 以反硝化颗粒污泥为接种污泥, 经过 50 d 快速培养出高氯酸盐还原颗粒污泥, ClO_4^- 去除速率达 96% 以上; 其混合液悬浮固体浓度(MLSS)为 $50.68 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 混合液挥发性固体浓度(MLVSS)为 $40.58 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 主要粒径分布在 $<0.60 \text{ mm}$ 和 $1.00 \sim 2.00 \text{ mm}$ 。 NO_3^- 浓度逐步降低的培养方式可缓解 ClO_4^- 对颗粒污泥中各类微生物的毒性, 为高氯酸盐颗粒污泥的快速培养提供了新的方法, 具有重要的理论和实践意义。

关键词 高氯酸盐; 颗粒污泥; 污泥特性; 菌群结构

高氯酸盐(ClO_4^-)作为一种新型环境污染物, 主要来源于军工企业和火箭推进剂制造厂等^[1]。 ClO_4^- 会抑制人体甲状腺对碘离子的吸收, 干扰甲状腺正常功能、代谢和发育, 严重时会对骨髓和肌肉组织产生病变影响, 诱发甲状腺癌, 危害人类的健康^[1-2]。常见的 ClO_4^- 的去除方法主要包括物化法^[3-4]和生物法^[5-6]。物化法的主要缺点是操作成本高, 选择性低, 处理后产生二次卤水废物。相反, 微生物法可以使 ClO_4^- 完全转化为 Cl^- , 具有对 ClO_4^- 降解速率快、反应条件温和等优点, 因而被认为是具有前景的 ClO_4^- 处理技术。

在微生物处理技术中, 厌氧颗粒污泥已逐步应用到 ClO_4^- 废水处理中^[7-8]。然而, 由于 ClO_4^- 具有强氧化性会抑制厌氧颗粒污泥中微生物的生长^[9], 延长了颗粒污泥的培养周期。因此, 如何快速培养具有去除 ClO_4^- 能力的高氯酸盐还原颗粒污泥, 成为国内外研究的热点。在颗粒污泥驯化过程中, 微生物作为颗粒污泥的主要组成部分, 所选用的接种污泥对高氯酸盐还原颗粒污泥的形成起着至关重要的作用。有研究^[10]表明, 絮状活性污泥中含有少量高氯酸盐还原菌, 具有降解 ClO_4^- 的

收稿日期: 2019-08-19; 录用日期: 2019-12-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51678387); 河北省高等学校科学技术研究重点基金项目(ZD2019038); 河北省高等学校科学技术研究青年基金项目(QN2018062); 天津市教委科技计划项目(2017KJ056); 天津市自然科学基金资助项目(17JCZDJC39300)

潜力。WAN等^[11]在硫填充床反应器中接种活性污泥同时去除硝酸盐(NO_3^-)和 ClO_4^- 的过程中发现,部分反硝化细菌可以以 ClO_4^- 为电子受体。同时,WANG等^[12]的研究表明,以颗粒污泥为接种污泥会有利于加速颗粒污泥的形成。YIN等^[8]使用反硝化颗粒污泥为接种污泥,通过直接逐步增加高氯酸盐负荷的方法,经过99 d培养出高氯酸盐还原颗粒污泥,并发现高氯酸盐还原颗粒污泥中高氯酸盐还原菌和反硝化细菌为优势菌群。然而,在逐步增加高氯酸盐负荷的过程中,同时逐步降低硝酸盐进水浓度,能否加快高氯酸盐还原颗粒污泥的培养,目前并未有相关报道。

本研究以反硝化颗粒污泥为接种污泥,通过逐步降低进水 NO_3^- 同时逐步升高进水 ClO_4^- 浓度的方法,开展了高氯酸盐还原颗粒污泥快速培养的研究,考察了高氯酸盐还原颗粒污泥的培养过程中 ClO_4^- 去除性能和颗粒污泥特性(混合液悬浮固体浓度,混合液挥发性固体浓度,粒径分布和胞外聚合物组分),并对反硝化颗粒污泥和高氯酸盐还原颗粒污泥的菌群结构进行了分析,为进一步研究高氯酸盐还原颗粒污泥在 ClO_4^- 废水处理中的实际应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验装置

UASB反应器材料为有机玻璃(图1),内径为80 mm,高为750 mm,有效容积为3.50 L。顶部内设三相分离器,沿反应器不同高度设4个取样口。反应器运行温度保持在 $(30\pm 2)^\circ\text{C}$,水力停留时间(HRT)为3.50 h。

1.2 接种污泥

接种污泥取自实验室UASB反应器成功培养出的反硝化颗粒污泥。其颗粒污泥成熟时间为50 d,硝酸盐去除率稳定在85%以上,混合液悬浮固体浓度(MLSS)为 $42.33\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,混合液挥发性固体浓度(MLVSS)为 $25.84\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,MLVSS/MLSS为0.50,胞外聚合物(EPS)为 $24.62\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,蛋白质(PN)为 $8.47\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,多糖(PS)为 $11.29\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

1.3 废水成分

实验废水为人工配置的硝酸盐和高氯酸盐混合进水,其中硝酸盐主要进水成分为硝酸钠和无水乙酸钠,碳氮比(C:N)为4:1。高氯酸盐主要进水成分为高氯酸钠和无水乙酸钠, $\text{CH}_3\text{COO}^-:\text{ClO}_4^-$ (摩尔比)为1.5:1.0。其他主要成分为 $0.13\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸二氢钾和 $0.52\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫酸铵,微量元素为 $2.00\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 。微量元素溶液组成为 $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ MnSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.01\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ Na}_2\text{WO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.02\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NiCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ EDTA}$ 。

1.4 运行条件

为实现高氯酸盐还原颗粒污泥的快速培养,本实验采用逐步降低 NO_3^- 同时逐步增加 ClO_4^- 浓度的方法,其间 NO_3^- 浓度从 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低至0, ClO_4^- 浓度从 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加至 $250\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,具体的运行参数调控见表1。水样每天取自UASB反应器出水口,每隔10 d,由UASB反应器的取样口取颗粒污泥样品。

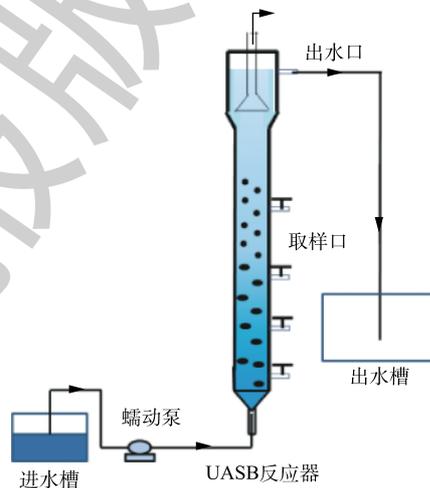


图1 实验装置流程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of experimental equipment

1.5 分析方法

ClO_4^- 采用离子色谱仪(美国戴安 ICS-1100)进行测定, 保护柱为 AG20(4 mm×50 mm), 分析柱为 AS20(4 mm×250 mm)。样品分析前均经 8 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 然后经过 0.22 μm 微孔滤膜过滤。采用梯度淋洗的方式进行, 淋洗液为 KOH 溶液, 流速为 1.00 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 柱温为 30 $^\circ\text{C}$ 。 NO_3^- 采用紫外分光光度法^[13]测定, COD 采用重铬酸钾消解法^[13]测定, 粒径分布采用湿式筛法^[13]测定, MLSS 和 MLVSS 采用重量法^[13]测定。EPS 采用加热法^[14-15]提取。具体实验方法为: 将颗粒污泥加入磷酸盐缓冲液 (pH=7) 中, 进行超声处理, 然后在 80 $^\circ\text{C}$ 水浴中加热; 加入 0.30 mL 甲醛, 放入摇床, 以 300 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡 0.50 h; 再加入 1.00 mL 2.00 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH, 以 300 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 振荡 1 h; 最后经 6 000 $\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ 的转速离心 10 min, 再用 0.22 μm 的滤膜过滤。EPS 用总有机碳测定仪测定, 其中 PN 采用考马斯亮蓝法进行测定, 以牛血清白蛋白作为标准物质; PS 采用蒽酮比色法^[16]进行测定。

1.6 高通量测序

为探究高氯酸盐还原颗粒污泥形成过程中微生物菌群结构的变化, 分别对反硝化颗粒污泥和高氯酸盐还原颗粒污泥进行高通量测序分析。建库和测序工作委托上海美吉医药生物科技有限公司(上海, 中国)完成, 高通量测序是在 Miseq(Illumina, 美国)测序平台上完成的。

2 结果与讨论

2.1 高氯酸盐还原颗粒污泥形成过程中反应器运行性能

通过不断降低进水 NO_3^- 同时逐步升高进水 ClO_4^- 浓度的方法, 培养高氯酸盐还原颗粒污泥, 高氯酸盐还原颗粒污泥形成过程中 ClO_4^- 和 NO_3^- 浓度及去除率的变化如图 2 所示。由图 2 可知, 第 0~10 天(第 I 阶段), 进水 ClO_4^- 浓度为 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 进水 NO_3^- 浓度为 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, ClO_4^- 和 NO_3^- 的去除率都维持在 90% 以上。先前研究表明, 反硝化细菌也具有代谢 ClO_4^- 的能力^[17], 因此, 反应器中反硝化颗粒污泥可以代谢 ClO_4^- 。第 10~30 天(第 II~III 阶段), 当进水 ClO_4^- 和 NO_3^- 浓度为 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, ClO_4^- 的去除率在 90% 以上, 而 NO_3^- 的去除率虽有小幅波动, 但基本维持在 80% 以上; 当进水 ClO_4^- 和 NO_3^- 浓度为 150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, ClO_4^- 的去除率在 90% 以上, 而 NO_3^- 的去除率发生明显波动, 经几天的运行恢复到 90% 以上。这可能是因为 ClO_4^- 对微生物具有毒性, 随着进水 ClO_4^- 浓度的增加, 导致大量反硝化细菌被杀死或抑制。另外, 在 ClO_4^- 还原过程中会产生氧气, 氧气的产生会抑制反应体系中厌氧菌的生长。因此, NO_3^- 的去除率明显降低, 但随着高氯酸盐还原菌的富集, NO_3^- 的去除率又逐渐恢复, 这与先前的研究结果^[18]一致, 高氯酸盐还原菌可以去除 NO_3^- 。第 30~40 天(第 IV 阶段), 进水 ClO_4^- 浓度为 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 进水 NO_3^- 浓度为 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, ClO_4^- 和 NO_3^- 的去除率均可达到 90%

表 1 运行参数

Table 1 Operation parameters

阶段	时间/d	HRT/h	进水流速/($\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$)	ClO_4^- /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NO_3^- /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
I	0~10	3.50	1.00	50	200
II	11~20	3.50	1.00	100	150
III	21~30	3.50	1.00	150	100
IV	31~40	3.50	1.00	200	50
V	41~50	3.50	1.00	250	0

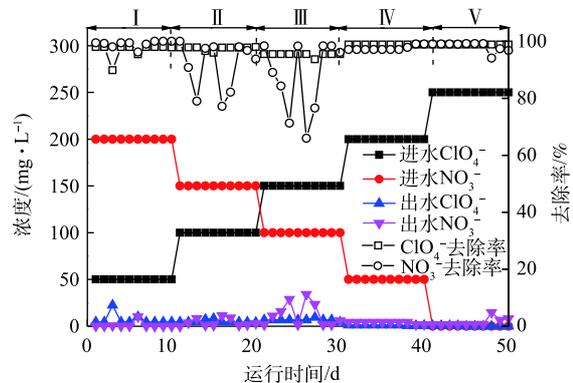


图 2 反应器运行过程中 NO_3^- 和 ClO_4^- 的浓度及去除率的变化

Fig. 2 Changes in the concentration and removal efficiency of NO_3^- and ClO_4^- during operation of reactor

以上。第40~50天(第V阶段),进水 ClO_4^- 浓度为 $250\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,进水中无 NO_3^- 浓度的加入, ClO_4^- 和 NO_3^- 的去除率可以维持在90%以上,这表明经过了50d的培养,反应器中成功培养出了高氯酸盐还原颗粒污泥。与先前99d培养出高氯酸盐还原颗粒污泥^[8]相比,本研究通过逐步降低 NO_3^- 浓度的同时逐步增加 ClO_4^- 浓度的培养方法,较为显著地减少了高氯酸盐还原颗粒污泥的培养时间。这可能是由于 NO_3^- 与 ClO_4^- 共同代谢过程中,反硝化细菌的 NO_3^- 代谢过程中会产生一定量的胞外分泌物,可以在一定程度上减弱 ClO_4^- 对颗粒污泥中各类菌体细胞的毒性,从而减少在高氯酸盐还原细菌不断富集的过程中其他微生物的大量死亡和颗粒污泥的瓦解,进而加快了反硝化颗粒污泥向高氯酸盐还原颗粒污泥的转化。谢宇轩等^[19]的研究中也发现,在 ClO_4^- 和 NO_3^- 的混合体系中, NO_3^- 的存在会促进所有参与 ClO_4^- 降解的细菌(高氯酸盐还原菌和部分反硝化细菌)的生长和发育。

2.2 高氯酸盐还原颗粒污泥形成过程中颗粒污泥特性

颗粒污泥特性(MLSS、MLVSS、粒径分布和EPS组分)直接影响着反应器运行以及污染物的去除效果。因此,本研究对高氯酸盐还原颗粒污泥形成过程中的颗粒污泥特性进行了研究。

MLSS和MLVSS可以代表反应器中颗粒污泥浓度,在高氯酸盐还原颗粒污泥培养的过程中,MLSS和MLVSS的变化如图3所示。由图3可知,第0~20天(第I~II阶段),MLSS的含量由 $42.33\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到 $30.64\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,MLVSS的含量由 $25.84\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到 $21.28\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,反应器内的生物量呈现下降的趋势。这可能是因为 ClO_4^- 的加入对微生物产生毒害作用,并且随着 ClO_4^- 浓度的增加,其毒害作用有所加强,从而抑制了反硝化细菌的生长,且与高氯酸盐还原代谢相关的菌种还未形成优势菌种。第20~50天(第III~V阶段),MLSS的含量由 $30.64\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $50.68\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,MLVSS的含量由 $21.28\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $40.58\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。反应器内生物量呈现上升的趋势,这可能是因为随着反应器的运行,反应器中逐渐富集了大量的高氯酸盐还原菌,因此,MLSS和MLVSS开始逐步升高。另外,在整个实验过程中,MLVSS/MLSS的变化趋势呈逐步上升的趋势,MLVSS/MLSS由0.61增加到0.80,本研究结果与先前的研究结果^[20-21]相似。在颗粒污泥的驯化初期,反应体系内MLSS、MLVSS和MLVSS/MLSS均呈现下降的趋势,但随着运行时间的延长,污泥对污染物去除能力不断增强,MLSS、MLVSS和MLVSS/MLSS逐渐增加。TANG等^[22]的研究发现,UASB反应器经过450d培养出颗粒化较好的厌氧氨氧化颗粒污泥,其具有较高的脱氮能力,反应器内MLVSS为 $42.00\sim 57.70\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。本研究经过50d所得到的高氯酸盐还原颗粒污泥,其MLSS和MLVSS分别为 $50.68\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $40.58\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,MLVSS/MLSS为0.80,考虑到去除不同污染物的颗粒污泥其性能上会稍有差异,且 ClO_4^- 去除率维持在90%以上,因此,确认高氯酸盐颗粒污泥培养成功。

在高氯酸盐还原颗粒污泥培养过程中,污泥颗粒粒径分布的变化如图4所示。由图4可知,

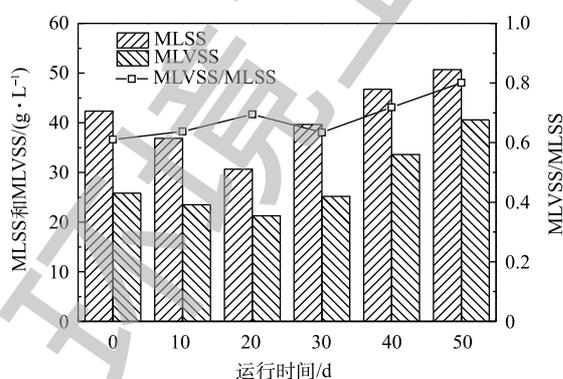


图3 反应器运行过程中MLSS和MLVSS的变化

Fig. 3 Variations of MLSS and MLVSS during operation of reactor

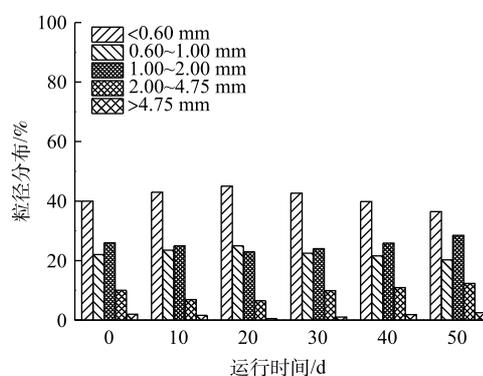


图4 反应器运行过程中粒径分布的变化

Fig. 4 Variations of particle size distribution during operation of reactor

在整个反应器运行期间(第 I~V 阶段), 颗粒污泥粒径呈先减小后增大的趋势。第 0~20 天(第 I~II 阶段), 粒径范围在 <0.60 mm 和 0.60~1.00 mm 的颗粒有所增加, 分别由 40.00% 和 22.00% 增加到 45.00% 和 25.00%; 粒径为 1.00~2.00、2.00~4.75 和 >4.75 mm 的颗粒有所减少, 分别由 26.00%、10.00% 和 2.00% 降低到 23.00%、6.50% 和 0.50%。这可能是因为随着 ClO_4^- 浓度的增加, 对微生物的毒害作用增强, 容易造成颗粒解体, 进而形成较小的颗粒。第 21~50 天(第 III~V 阶段), 粒径范围在 <0.60 mm 和 0.60~1.00 mm 的颗粒逐步减少, 所占百分比分别降低到 36.49% 和 20.27%; 粒径范围为 1.00~2.00、2.00~4.75 和 >4.75 mm 的颗粒增加, 其对应的占比分别增加到 28.46%、12.30% 和 2.48%。这可能是因为随培养时间的延长, 微生物群落中能代谢 ClO_4^- 的细菌大量富集, 从而促进了反应器内颗粒污泥的颗粒化。有研究^[23-24]表明, 颗粒粒径也是表征颗粒污泥是否培养成功的重要指标。唐鹏等^[23]的研究发现, UASB 反应器连续运行 127 d 便可成功培养出厌氧氨氧化颗粒污泥, 其脱氮能力高且颗粒粒径为 1.00~3.00 mm。丛岩等^[24]经过 80 d 培养出脱氮能力较高的厌氧氨氧化颗粒污泥, 其平均直径为 0.556 mm。本研究经过 50 d 的培养得到的高氯酸盐还原颗粒污泥, 其主要粒径范围在 <0.60 mm 和 1.00~2.00 mm, 且 ClO_4^- 去除率维持在 90% 以上, 高氯酸盐颗粒污泥培养成功。

EPS 是由 PN、PS 和其他物质构成的高分子聚合物, 其在颗粒污泥团聚和保护细菌在不利条件下生成中起着重要作用^[25-26]。高氯酸盐还原颗粒污泥培养过程中 EPS 及其组分变化如图 5 所示。由图 5 可知, 在整个反应器运行期间(第 I~V 阶段), EPS、PN 和 PS 呈先下降后上升的趋势。第 0~20 天(第 I~II 阶段), EPS 从开始时的 $24.62 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 下降到 $20.66 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, PN 从开始时的 $8.47 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 下降到 $6.85 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, PS 从开始时的 $11.29 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 下降到 $9.48 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。这可能是因为 ClO_4^- 的加入对细菌具有毒性, 导

致部分微生物死亡脱落, 因此, EPS 及其组分的含量有所下降。第 20~50 天(第 III~V 阶段), EPS 从 $20.66 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 上升到 $26.40 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, PN 从 $6.85 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 上升到 $10.02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, PS 从 $9.48 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 上升到 $13.48 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。这可能是因为随着高氯酸盐还原菌的富集, 促进了 EPS 及其组分的分泌。然而, 在高氯酸盐还原颗粒污泥培养的过程中, 虽然 EPS, PN 和 PS 均呈先下降后上升的趋势, 但其数值变化幅度较小, 且 PN/PS 基本维持在 0.75 左右。以上结果表明, 在还原颗粒污泥培养过程中, 当有 NO_3^- 存在时, ClO_4^- 浓度的增加并不会导致 EPS 及其组分的明显改变, 推测该现象是由于反硝化细菌代谢 NO_3^- 过程中, 其产生的 EPS 及其组分可减少在高氯酸盐还原细菌富集过程中其他细菌的大量死亡和颗粒污泥的瓦解, 从而加快了反硝化颗粒污泥向高氯酸盐还原颗粒污泥的转化。

2.3 菌群结构分析

微生物群落对颗粒污泥的形成及特性具有重要影响, 不同微生物有不同的功能。有些细菌具有促进颗粒污泥形成的作用, 有些细菌可以代谢污染物。因此, 为了进一步解读高氯酸盐还原颗粒污泥的形成过程, 对反硝化颗粒污泥和高氯酸盐还原颗粒污泥的菌群结构进行了研究。

α 多样性可以反映微生物群落中物种的数目, 其中用 Chao1 和 ACE 指数评估群落的物种丰度, 用 Shannon 和 Simpson 指数评估群落的物种多样性。反硝化颗粒污泥和高氯酸盐还原颗粒污泥的 α 多样性参数如表 2 所示。由表 2 可知, 反硝化颗粒污泥和高氯酸盐还原颗粒污泥的覆盖率

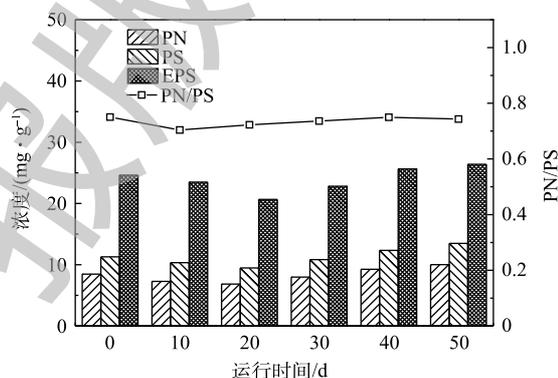


图 5 反应器运行过程中 EPS 及其组分的变化

Fig. 5 Variations of EPS and its components during operation of reactor

(coverage) 均大于 95%，表明样品中未被检测出来的序列的概率较低。在高氯酸盐还原颗粒污泥培养的过程中，Chao1 和 ACE 指数从 1 446.26 和 1 507.87 降低到 831.47 和 868.04，这表明颗粒污泥中的物种丰度降低。另外，在高氯酸盐还原颗粒污泥培养的过程中，Shannon 指数从 4.71 降低到 3.18，Simpson 指数从 0.04 上升到 0.12，这表明颗粒污泥中的物种多样性降低。以上结果表明，随着 ClO_4^- 浓度的增加， ClO_4^- 对菌的抑制作用增强，导致菌群的丰度和多样性均有所降低。

将微生物检测相对丰度 >1% 的菌门作为主要菌门，反硝化颗粒污泥和高氯酸盐还原颗粒污泥在门水平的群落结构分析如图 6 所示。由图 6 可知，反硝化颗粒污泥和高氯酸盐还原颗粒污泥中共发现 4 个主要菌门，分别为 *Proteobacteria*、*Bacteroidetes*、*Chloroflexi* 和 *Firmicutes*。LIAN 等^[27] 的研究表明，大部分高氯酸盐还原菌和反硝化细菌属于 *Proteobacteria* 和 *Chloroflexi*。在本实验中，*Proteobacteria* 和 *Chloroflexi* 在反硝化颗粒污泥中为主要的优势菌，所占的比例分别为 82.66% 和 3.82%；*Proteobacteria* 和 *Chloroflexi* 在高氯酸盐还原颗粒污泥中也主要的优势菌，所占的比例分别为 45.47% 和 26.15%。

表 2 α 多样性参数

Table 2 Alpha diversity parameters

样品	OTU	Shannon	Simpson	ACE	Chao1	覆盖率
反硝化颗粒污泥	1 306	4.71	0.04	1 507.87	1 446.26	0.99
高氯酸盐还原颗粒污泥	656	3.18	0.12	868.04	831.47	0.99

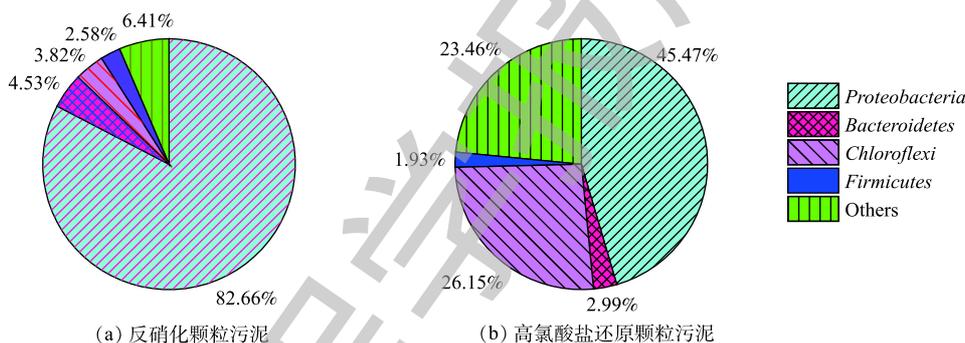


图 6 不同颗粒污泥在门水平的分布

Fig. 6 Distribution of bacteria in different granular sludge at level of phylum

为了进一步分析群落结构的变化，反硝化颗粒污泥和高氯酸盐还原颗粒污泥在属水平的群落结构分析结果如图 7 所示。有研究表明：*Methyloversatilis*^[17]、*Thauera*^[8] 和 *Hydrogenophaga*^[8] 为反硝

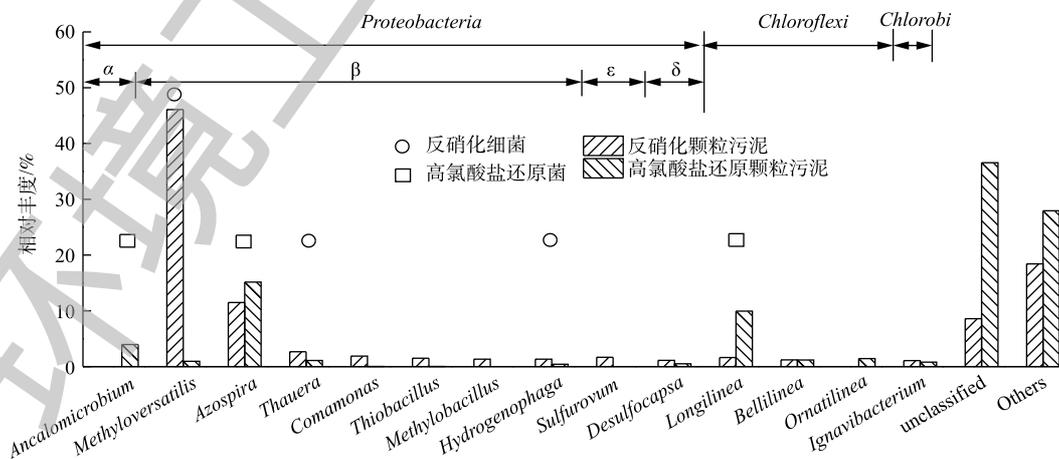


图 7 不同颗粒污泥在属水平的分布情况

Fig. 7 Distribution of bacteria in different granular sludge at level of genus

化细菌; *Azospira*^[8]、*Longilinea*^[17]和*Ancalomicrobium*^[8]为高氯酸盐还原菌。在高氯酸盐还原颗粒污泥培养过程中, *Methyloversatilis*、*Thauera*和*Hydrogenophaga*在颗粒污泥中所占的比例由46.07%、2.67%和1.33%下降到0.96%、1.11%和0.42%, 这表明在培养过程中反硝化细菌数量有所减少; 而*Azospira*、*Longilinea*和*Ancalomicrobium*在颗粒污泥中所占的比例由11.50%、1.62%和0.01%升高到15.15%、9.95%和3.95%, 这表明在培养过程中高氯酸盐还原颗粒污泥数量有所增加。此外, *Ornatilinea*在高氯酸盐还原颗粒污泥培养过程中所占的比例由0.01%升高到1.43%, 这表明*Ornatilinea*可能为高氯酸盐还原菌。

3 结论

1) 以反硝化颗粒污泥为接种污泥, 通过逐步降低 NO_3^- 浓度的同时逐步增加 ClO_4^- 浓度的方法, 可在50 d快速培养出高氯酸盐还原颗粒污泥。 NO_3^- 浓度的逐步降低, 可缓解 ClO_4^- 对颗粒污泥中各类生物的毒性, 是本研究利用反硝化颗粒污泥快速培养高氯酸盐还原颗粒污泥的技术关键之一。

2) 高氯酸盐还原颗粒污泥培养成功后, 颗粒污泥特性良好, MLSS和MLVSS分别为 $50.68 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $40.58 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 主要粒径分布在 $<0.60 \text{ mm}$ 和 $1.00\sim 2.00 \text{ mm}$ 。培养过程中EPS及其组分变化幅度较小, 这说明逐步降低进水 NO_3^- 浓度, 对促进高氯酸盐颗粒污泥快速培养具有重要作用。

参考文献

- [1] 郑雯静, 闻自强, 沈昊宇, 等. 高氯酸盐的来源、危害及其检测方法研究进展[J]. 环境科学与技术, 2018, 41(S1): 103-108.
- [2] 闻自强, 郑雯静, 沈昊宇, 等. 高氯酸盐的来源、水污染现状与去除技术研究进展[J]. 环境化学, 2019, 38(1): 209-216.
- [3] AHN C H, OH H, KI D, et al. Bacterial biofilm-community selection during autohydrogenotrophic reduction of nitrate and perchlorate in ion-exchange brine[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 81: 1169-1177.
- [4] HOU P, YAN Z, CANNON F S, et al. Enhancement of perchlorate removal from groundwater by cationic granular activated carbon: Effect of preparation protocol and surface properties[J]. *Chemosphere*, 2018, 201: 756-763.
- [5] 万东锦, 刘永德, 樊荣, 等. 硫自养填充床生物反应器去除水中的高氯酸盐[J]. 环境工程学报, 2015, 9(11): 5267-5272.
- [6] 刘颖男, 陶华强, 宋圆圆, 等. “异养-硫自养”组合工艺去除高浓度高氯酸盐特性[J]. 环境科学, 2018, 39(12): 5558-5564.
- [7] HAN Y, GUO J B, ZHANG Y Y, et al. Anaerobic granule sludge formation and perchlorate reduction in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor[J]. *Bioresour Technol*, 2018, 4: 123-128.
- [8] YIN P N, GUO J B, XIAO S M, et al. Rapid of cultivation dissimilatory perchlorate reducing granular sludge and characterization of the granulation process[J]. *Bioresour Technol*, 2019, 276: 260-268.
- [9] NOR S J, LEE S H, CHO K S, et al. Microbial treatment of high-strength perchlorate wastewater[J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102: 835-841.
- [10] 谢宇轩, 关翔宇, 王阳, 等. 异养条件下高氯酸盐降解细菌群落变化研究[J]. 安全与环境学报, 2014, 14(2): 143-148.
- [11] WAN D J, LIU Y D, WANG Y Y, et al. Simultaneous bio-autotrophic reduction of perchlorate and nitrate in a sulfur packed bed reactor: Kinetics and bacterial community structure[J]. *Water Research*, 2017, 108: 280-292.
- [12] WANG S H, GUO J B, LIAN J, et al. Rapid start-up of the anammox process by denitrifying granular sludge and the mechanism of the anammox electron transport chain[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2016, 115: 101-107.
- [13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [14] 倪正. 活性污泥胞外聚合物提取条件优化及对 Pb^{2+} 吸附性能和机理的研究[D]. 芜湖: 安徽工程大学, 2012.
- [15] 薛耀琦. 反硝化颗粒污泥反应器稳定运行特性研究[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2016.
- [16] GUO J B, ZHANG C, LIAN J, et al. Effect of thiosulfate on rapid start-up of sulfur-based reduction of high concentrated perchlorate: A study of kinetics, extracellular polymeric substances (EPS) and bacterial community structure[J]. *Bioresour Technol*, 2017, 243: 932-940.

- [17] ZHANG C, GUO J B, LIAN J, et al. Bio-mixotrophic perchlorate reduction to control sulfate production in a step-feed sulfur-based reactor: A study of kinetics, ORP and bacterial community structure[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 269: 40-49.
- [18] LIEBENSTEINER M G, OOSTERKAMP M J, STAMS A J. Microbial respiration with chlorine oxyanions: Diversity and physiological and biochemical properties of chlorate- and perchlorate-reducing microorganisms[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2016, 1365: 59-72.
- [19] 谢宇轩, 刘菲, 关翔宇, 等. 基于功能基因表达的高氯酸盐与硝酸盐氮修复[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(4): 1423-1428.
- [20] 刘晓宇, 郭延凯, 马志远, 等. 硝酸盐反硝化颗粒污泥的快速培养与理化特性[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(3): 1300-1304.
- [21] 刘晓宇, 王思慧, 薛耀琦, 等. 厌氧氨氧化颗粒污泥的快速培养与形成机理[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(3): 1223-1227.
- [22] TANG C J, ZHENG P, WANG C H, et al. Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge[J]. *Water Research*, 2011, 45: 135-144.
- [23] 唐鹏, 于德爽, 陈光辉, 等. 厌氧氨氧化颗粒污泥快速培养及其抑制动力学[J]. *环境科学*, 2019, 40(9): 4152-4159.
- [24] 丛岩, 黄晓丽, 王小龙, 等. 厌氧氨氧化颗粒污泥的快速形成[J]. *化工学报*, 2014, 65(2): 664-671.
- [25] WANG Z C, GAO M C, WEI J F, et al. Extracellular polymeric substances, microbial activity and microbial community of biofilm and suspended sludge at different divalent cadmium concentrations[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 205: 213-221.
- [26] LU X Q, ZHEN G Y, ESTRADA A L, et al. Operation performance and granule characterization of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor treating wastewater with starch as the sole carbon source[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 180: 264-273.
- [27] LIAN J, TIAN X L, GUO J B, et al. Effects of resazurin on perchlorate reduction and bioelectricity generation in microbial fuel cells and its catalysing mechanism[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2016, 114: 164-172.

(本文编辑: 曲娜, 郑晓梅, 张利田)

Rapid cultivation and characteristics of perchlorate reducing granular sludge

LIU Weilong^{1,2}, MA Zhiyuan³, NIU Yanyan¹, BIAN Yonghuan¹, GUO Yankai¹, GUO Jianbo⁴, LIAN Jing^{1,*}

1. Pollution Prevention Biotechnology Laboratory of Hebei Province, School of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China

2. China Nuclear Power Engineering Co. Ltd. Hebei Branch, Shijiazhuang 050019, China

3. Hebei Key Laboratory of Geological Resources and Environment for Detection and Protection, Hebei Geological Environmental Monitoring Institute, Shijiazhuang 052460, China

4. Tianjin Key Laboratory of Aquatic Science and Technology, School of Environmental and Municipal Engineering, Tianjin Chengjian University, Tianjin 300384, China

*Corresponding author, E-mail: ningjingzhiyuan98@163.com

Abstract For the rapid cultivation of perchlorate reducing granular sludge, denitrifying granular sludge were used as the inoculating sludge. Through gradually reducing nitrate concentration and elevating perchlorate concentration in the influent, the perchlorate (ClO_4^-) removal and granular sludge characteristics were investigated during the cultivation of perchlorate reducing granular sludge. The results showed that the well-formed perchlorate reducing granular sludge was successfully and rapidly obtained within 50 days, and the removal efficiency of ClO_4^- was over 96%. The mixed liquid suspended solids concentration (MLSS) and the volatile solid concentration (MLVSS) were $50.68 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ and $40.58 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. And the main diameter distributed at $<0.60 \text{ mm}$ and $1.00\sim 2.00 \text{ mm}$. The gradual reduction of nitrate concentration in the influent could alleviate the toxicity of perchlorate to the microorganisms in granular sludge. This study provides a new method for the rapid cultivation of perchlorate reducing granular sludge, and the theoretical and practical reference for the future researches.

Keywords perchlorate; granular sludge; sludge characteristics; microbial community