

基于活性污泥微生物冻后再生对废水基质降解效能的研究

肖飞,董文明,王维红*

(新疆农业大学水利与土木工程学院,新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要:采用高径比为12.5的序批式反应器(SBR)对冷冻的成熟好氧颗粒污泥(AGS)解冻驯化,研究母体颗粒冻后富集培养及其在番茄废水基质降解中的循环利用。结果表明:冻后恢复活性的污泥第60天全部颗粒化,平均粒径不小于0.45 mm;高通量测序结果显示,相较母体颗粒,该污泥中与颗粒化相关的变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes)优势菌群富集,微生物丰度呈显著差异($P < 0.05$);复合菌株对COD、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率分别为98.9%、82.1%和82.2%,可实现番茄废水的有效降解。

关键词: 冷冻颗粒;基质降解效能;活性污泥;循环利用;微生物多样性;废水

中图分类号:X703

文献标志码:B

文章编号:1006-2009(2021)04-0057-04

Study on Matrix Degradation Efficiency of Wastewater Based on Regeneration of Frozen Activated Sludge Microbial

XIAO Fei, DONG Wen-ming, WANG Wei-hong*

(College of Water Conservancy and Civil Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China)

Abstract: A sequencing batch reactor (SBR) with 12.5 height-diameter ratio was used to defrost and acclimate the frozen mature aerobic granular sludge (AGS) for studying the enrichment culture of frozen parent particles and its recycling in matrix degradation of tomato wastewater. The results showed that the activated sludge was granulated completely on the 60th day, and the average particle size was not less than 0.45 mm. The results of high-throughput sequencing showed that compared with parent particles, proteobacteria and bacteroidetes related to granulation were dominant bacterial communities and were enriched in the sludge. The microbial abundance was significantly different ($P < 0.05$). The removal rates of COD, $\text{NH}_3\text{-N}$ and $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ by complex strains were 98.9%, 82.1% and 82.2% respectively. It was concluded that tomato wastewater could be effectively degraded.

Key words: Frozen particles; Matrix degradation efficiency; Activated sludge; Recycling; Microbial diversity; Wastewater

新疆作为番茄酱主要生产基地,向国内外输送的番茄酱约占全球总出口量的1/3。番茄酱加工过程产生的残留废水因难降解、易污染地表水等问题,受到社会各界广泛关注。有学者采用高径比为12.5的序批式反应器(SBR)处理高浓度番茄酱废水^[1-2],该反应器对化学需氧量(COD)、氨氮($\text{NH}_3\text{-N}$)和磷酸盐($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$)去除效果较好,同时,在装置中加入黏土可缩短微生物驯化时间,形成的成熟颗粒具有良好的沉降性能。

由于活性污泥培育过程烦琐且周期较长,导致其驯化耗时费力。今将富含微生物菌株的母体颗粒进行冷冻贮存后,通过解冻驯化恢复其活性,旨在探索污泥活性恢复过程中对废水基质的降解性

收稿日期:2020-09-03;修订日期:2021-05-11

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51968071)

作者简介:肖飞(1993—),男,四川绵阳人,在读研究生,研究方向为污水处理。

*通信作者:王维红 E-mail: 2209319288@qq.com

能,以期解决颗粒污泥培育周期长的适应性问题。

1 试验

1.1 主要仪器与试剂

试验培育的接种污泥来源于恒温冷冻 260 d 左右的第一代成熟好氧颗粒污泥(AGS)。AGS 驯化恢复过程采用 SBR 反应器^[1],试剂用量见文献[2]。

1.2 分析项目

水质指标:污泥沉降比(SVI)、混合液悬浮固体浓度(MLSS)、混合液挥发性悬浮固体浓度(MLVSS)、COD、NH₃-N 和 PO₄³⁻-P 等,相关项目采用标准方法^[3]测定。其中,SVI₅、SVI₃₀ 分别为沉降 5 min 和 30 min 时的 SVI 值。

2 结果与讨论

2.1 颗粒污泥菌种丰度

试验采用 16S rRNA 高通量宏基因组测序技术对 AGS 中微生物多样性及优势菌群进行检测,以期有效降解番茄酱废水的菌种做应用研究。Shannon 指数、Chao1 指数和 ACE 指数分别用来表征群落多样性和物种丰富度的均匀性^[4]。微生物群落的 Alpha 多样性指数见表 1。由表 1 可知,在颗粒污泥连续生长阶段,Chao1 指数和 ACE 指数随丰度不断变化,D1 > D4 > D3 > D2。物种丰富度在 D1 期较高,D2 和 D3 期逐渐下降,D4 期开始恢复,而群落多样性逐渐减少。不同时期的颗粒污泥 OTU 数目共有 13 260 个,共同重叠的 OTU 数为 220 个,占 OTU 总数的 1.66%。其中,D1 和 D2、D1 和 D3、D2 和 D3、D3 和 D4 层叠大小分别为 345、285、324、334。结果表明,随着 AGS 颗粒化过程,微生物群落出现演替改变且存在一定相似性。

利用 Unifrac 距离矩阵热图,验证不同时期样品间的相似性。颜色越蓝,样本间距越远,相似度

越低;颜色越红,样本间距越近,相似度越高。D3 和 D4 期层叠区域为黄色,样本间距介于 0.08 ~ 0.10 之间;D1 和 D2 期层叠区域为白色,样本间距为 0.13;D2 和 D3 期层叠区域为淡蓝色,样本间距为 0.17。结果表明,D3 和 D4 期相似度高;D1 和 D2 期相似度较高;D2 和 D3 期相似度较低,关联性较差。从矩阵热图可知,不同时期的样品间相似程度符合污泥生长规律。

2.2 不同时期的菌种分布

不同时期的 AGS 物种丰度存在差异。D1 期代表反应器启动 60 d 形成的微量 AGS,菌株主要以变形菌门(Proteobacteria)为主,占比 68.83%,拟杆菌门(Bacteroidetes)占比 23.14%。该时期 PO₄³⁻-P 和 NH₃-N 去除效能较低,去除率分别为 58% 和 40%,不利于除磷和硝化反应的发生。此时,新疆正处于低温期,可能受环境温度影响。研究表明^[5-6],随着环境温度的降低,颗粒污泥转为絮状污泥,出水水质变差,这与 Bacteroidetes 菌丰度下降有关;温度上升,Proteobacteria、浮霉菌门(Planctomycetes)相对丰度增加,脱氮性能恢复。

随着絮体污泥向 AGS 的不断演化(D1—D2 期),疣微菌门(Verrucomicrobia)在过渡期的占比增加,从 1.49% 增加至 3.09%;装甲菌门(Armatimonadetes)占比下降为 0.03%。从去除效果看,菌株更替有助于 AGS 对 NH₃-N 和 PO₄³⁻-P 的去除,表明 Armatimonadetes 的锐减有利于降解高浓度废水。敬双怡等^[7]以特异性移动床生物膜反应器(SMBBR)处理城市生活用水,发现 Proteobacteria 和 Armatimonadetes 为优势菌株,并且 Armatimonadetes 是造成脱氮不佳的因素之一,与上述结果相似。虽然 Armatimonadetes 对 NH₃-N 去除具有抑制作用,但在厌氧或好氧反应时,其不仅能去除有机物,而且具有较强的硝化-反硝化功能。

D2 期是驯化 90 d 时含有颗粒状(0.45 mm ~ 1 mm)的污泥样品,该时期半成熟颗粒占比为 68%,虽然占比不高,但污泥内部微生物种群结构及代谢速率相对稳定,活性较高。经分析,D2 期的颗粒状污泥表面富含较高的 Bacteroidetes 和 Proteobacteria,与 D1 类似。由此可见,Proteobacteria 是颗粒污泥最重要的菌门,能特异性去除废水基质中的有机物,具有脱氮除磷作用^[8]。研究表明^[9],Bacteroidetes 菌与蛋白质释放、氨基酸发酵有直接关联,同时,其属于专性厌氧微生物,具有较强的降

表 1 微生物群落的 Alpha 多样性指数

Table 1 Alpha diversity index of microbial community

项目	污泥样品			
	D1	D2	D3	D4
序列数 <i>n</i> /个	61 385	51 243	45 258	55 074
OTU 数 <i>n</i> /个	3 553	3 311	3 012	3 384
Shannon 指数	4.04	4.00	3.66	3.45
ACE 指数	238 057	152 879	159 908	236 885
Chao1 指数	82 233	54 587	57 688	75 512
相似水平/%	95	94	94	94

解复杂有机物的代谢能力。

D3、D4 样品是同时期不同性状的颗粒污泥,且微生物略有差异。最明显的是厚壁菌门(Firmicutes)、绿弯菌门(Chloroflexi),其在 D3 和 D4 样本中占比分别为 0.11% 和 0.02%、0.52% 和 0。进而发现,Firmicutes 占比变化对废水基质中 PO_4^{3-} -P 去除有重要作用。由此可以推断,Firmicutes 在降解番茄酱生产废水中起着决定作用,这与温树梅等^[10]研究结果类似。与其他竞争细菌相比,Firmicutes 可以更好地保护自己免受有机负荷冲击的影响。因此,Firmicutes 的丰富度随着 COD 梯度进水而呈上升趋势。经 DNA 测序显示,Chloroflexi 未出现在 D1 期,而在 D3 期占 0.02%。随着颗粒粒径的增长,D4 期样品中 Chloroflexi 再次消失,说明其仅存在粒径较小(1 mm ~ 2 mm)的污泥中。丝状菌属于 Chloroflexi 菌门,其在污泥沉降性能等方面起重要作用,这可能与颗粒膨胀期有关,即持续高丰度^[11]。为此,对丹麦污水处理厂(WWTPs)进行 16S rRNA 扩增调查,发现 Chloroflexi 被认为是参与糖发酵的兼性厌氧有机营养体,成丝状型,其形态和空间排列上有所不同,而仅存在活性污泥絮体中,这与上述结果一致。当 D2 过渡到 D3 期时, NH_3 -N 去除率明显提高,这与 AGS 表面增加的 Planctomycetacia 菌株有关,该菌株对氮的脱除有促进作用。由此可以认为,颗粒样品(D1—D4)中微生物菌落数目和类型的变化有利于 AGS 的形成和番茄酱生产废水的降解。

2.3 微生物对水质净化效能

2.3.1 颗粒污泥性能指标

颗粒污泥性能指标 $\text{SVI}_5/\text{SVI}_{30}$ 、MLVSS/MLSS 比值分别为 1.08 ~ 1.26 和 0.884 ~ 0.899。经分析,D3/D4 组污泥的沉淀性能优于 D1 小颗粒污泥(含絮体污泥)。颗粒污泥占比越大,沉淀性能越好,即 D2 与 D3、D4 组沉降性能相仿,颗粒活化性能较差。研究发现,当 $\text{SVI}_5/\text{SVI}_{30}$ 值降低时,反应器内颗粒破碎,污泥发黑,有少许异味溢出,这可能是进水中悬浮颗粒物较多引起污泥轻微膨胀所致。

由 MLVSS/MLSS 值可知,D1 组为 0.884,D2 组为 0.898,D3、D4 组为 0.899,污泥活性较强。当 SVI 值较低时,D3、D4 组颗粒污泥仍具有良好的污泥活性,污泥颗粒化程度越高。可能是因为 D3、D4 组形成了内部空隙大、溶解氧(DO)分布均匀的

大颗粒污泥,有助于微生物进行氧的交替。

从粒径占比变化发现,D1—D4 阶段的颗粒化程度随着菌种的演替而不断蜕化。在 D1 期驯化少量颗粒污泥时,受 Chloroflexi 菌株影响,蜕变成絮体污泥,传质颗粒多糖(Ps)大量堆积,形成绒毛状固体物。该时期,沉降性能较差,污泥膨胀明显。污泥膨胀会促使 Proteobacteria、Bacteroidetes 菌群分泌胞外聚合物(EPS)的比例增加,富集环境中的营养成分,通过胞外酶降解成小分子后吸收到细胞内,延缓颗粒化形成,增大颗粒粒径。在 D2 时期,0.45 mm ~ 2 mm 的颗粒污泥占总污泥量的 68%,主要以 1 mm ~ 1.6 mm 为主。该阶段的颗粒污泥对基质降解性能良好,Li 等^[12]认为,污泥粒径 > 1 mm 时,其对 DO 的扩散限制明显,出现缺氧区与好氧区共存,强化了同步硝化-反硝化作用,且颗粒粒径增大时其强化作用更加显著。李志华等^[13]研究发现,硝化过程中 NH_3 -N、 NO_2^- -N、 NO_3^- -N 等变化与颗粒粒径和微生物数量有很大关系,粒径越大,菌门数越多,转化率越高。由此推断,1.6 mm ~ 2 mm 和 1 mm ~ 1.6 mm 的颗粒污泥,微生物活性高,代谢旺盛,在团聚过程中消耗大量 NH_3 -N,有利于提高系统脱氮效率,且以 Firmicutes 菌为主。

在 D3、D4 阶段处理番茄酱废水时,1 mm ~ 1.6 mm、1.6 mm ~ 2 mm、2 mm ~ 4 mm 的颗粒污泥对 PO_4^{3-} -P 去除率均在 74% 以上,具有卓越的除磷效果。这是由于 AGS 形成独特的分层布局,颗粒内部到外表面依次存在厌氧层、缺氧层和好氧层,这种分层结构适宜厌氧菌、兼性厌氧菌和好氧菌的生存,使 AGS 具有潜在的反硝化除磷功能,这与宋昀达等^[14]探究 AGS 脱氮除磷的结果类似。研究显示,较大的颗粒污泥(> 4 mm)不利于 PO_4^{3-} -P 去除,这是由于 AGS 内部传质阻力大,阻碍了较高 DO 的传质,使其难以渗入颗粒内部,细菌长期进行内源呼吸,造成活性减弱,形成空洞,降解能力下降。

综上所述,处理番茄酱废水时,不同粒径对 PO_4^{3-} -P 降解性能由高到低依次为 1 mm ~ 4 mm 颗粒污泥 > 4 mm 颗粒污泥 > 0.45 mm ~ 1 mm 颗粒污泥,且试验中应控制 $\text{SVI}_5/\text{SVI}_{30}$ 值维持在 1.10,MLVSS/MLSS 值维持在 0.89。

2.3.2 微生物对基质去除效能的影响

基于冷冻恢复活性的成熟颗粒污泥与母体颗

粒在目水平上存在显著差异,如图1所示。由图1可知,母体 AGS 长期静置冷冻贮存后,重新启动微生物群落活性,发现其微生物在目水平上存在较大变化。其中,最优势微生物发生了变化,启动前 SBR 反应器(母体)中 β -变形菌(Betaproteobacteria)丰度高达 42.99%,贮存后优势微生物转化为红环菌(Rhodocyclales)38.18%,待反应器恢复运行后,虽然仍以 Rhodocyclales 为最优势微生物,但其含量锐减至 D3 期,占比为 37.08%;伯克氏菌(Burkholderiales)占比从启动增至 12.3%,而鞘脂杆菌目(Sphingobacteriales)开始为 2.43%,经过 60 d 的周期驯化,增加到 6.3%,最终恢复至 12.11%。在冷冻前,黄杆菌目(Flavobacteriales)为 1.47%,经过静置和重新启动,其含量先上升后降低。嗜甲基菌(Methylophilales)、梭菌目(Clostridiales)、红细菌目(Rhodobacteriales)和 Betaproteobacteria 是两代污泥样品中发生显著变化的主要类群。这是由于在厌氧和缺乏基质的环境下,有助于厌氧、兼性微生物的快速恢复,并且也为颗粒污泥长期静置提供了必备条件。

当进水有机负荷率一定时,反应器内含氮物质浓度随 Sphingobacteriales 菌株的增加而降低,有利于含氮化合物的去除。Sphingobacteriales 菌能较好地适应高有机负荷和生长环境的改变,是降解番茄酱加工废水的主要功能菌。研究表明^[15],Sphingobacteriales、Rhodocyclales 对高氮利用率有显著的响应。复合菌株的生长特性与 COD 去除率之间存在线性关系。

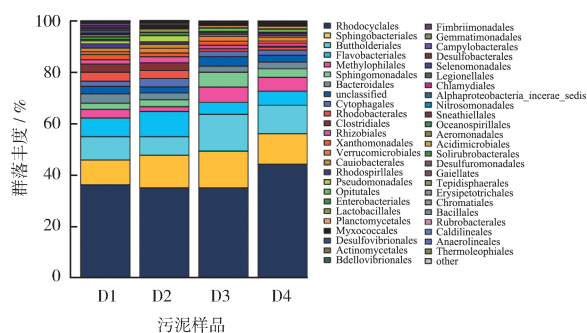


图1 微生物在目水平上的分布

Fig.1 Distribution of microorganisms at order level

3 结语

采用连续曝气 SBR 反应器,恢复 260 d 冷冻的 AGS,污泥第 60 天全部颗粒化,平均粒径至少为

0.45 mm,占比 45%,形成颗粒污泥对 COD、 $\text{NH}_3 - \text{N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-} - \text{P}$ 去除率分别为 98.9%、82.1% 和 82.2%。虽然对 COD 的降解性能低于母粒,但冷冻恢复活性的 AGS 具有不同功能菌群的优势富集,实现了氮磷的有效去除。综上所述,冷冻母体颗粒不仅实现了颗粒污泥的循环利用,还能提高氮磷的良好去除,在污水处理领域具有一定实用价值。

[参考文献]

- [1] 王燕杉,王维红,董星辽,等. SBR 反应器处理番茄酱生产废水的污泥颗粒化过程[J]. 中国给水排水,2019,35(1):25-30.
- [2] 冯殿宝. 处理番茄酱加工废水的好氧颗粒污泥快速培养及特性研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2018.
- [3] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 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.
- [4] 潘江,肖芃颖,姚源,等. 连续曝气 SBR 快速培养 AGS 及同步脱氮除磷特性分析[J]. 环境监测管理与技术,2021,33(3):60-63.
- [5] 张凯,夏星星,孙欣,等. 温度对 AO-MBR 运行效果及微生物菌群的影响[J]. 中国给水排水,2019,35(13):107-111.
- [6] 程艳茹,龚继文,封丽,等. 水处理中微生物絮凝剂产生菌的选育及应用[J]. 环境监测管理与技术,2019,31(2):6-10.
- [7] 敬双怡,李岩,于玲红,等. SMBBR 工艺处理生活污水脱氮效能及其微生物多样性[J]. 应用与环境生物学报,2019,25(1):206-214.
- [8] 刘文龙,刘超,沈琛,等. 活性污泥长期好氧饥饿下的微生物种群结构演化[J]. 哈尔滨工业大学学报,2019,51(8):20-27.
- [9] AMY K, TRISHA J, DONGHYUN H, et al. Evaluation of an ultrafiltration-based procedure for simultaneous recovery of diverse microbes in source waters[J]. Water,2015,7(3):1202-1216.
- [10] 温树梅,李春,付伟超,等. AAC 反应器好氧菌的筛选及菌株配伍性能的比较[J]. 化工学报,2009,60(8):2067-2073.
- [11] NIERYCHLO M, MIOBDZKA A, PETRIGLIERI F, et al. The morphology and metabolic potential of the Chloroflexi in full-scale activated sludge wastewater treatment plants[J]. FEMS Microbiology Ecology,2019,95(2):228-240.
- [12] LI Y, LIU Y. Diffusion of substrate and oxygen in aerobic granule[J]. Biochemical Engineering Journal,2005,27(1):45-52.
- [13] 李志华,曾金锋,李胜,等. 颗粒粒径与数量对硝化与反硝化过程的影响[J]. 环境科学,2012,33(3):903-909.
- [14] 宋昀达,张丽丽,苏本生,等. 好氧颗粒污泥处理低碳氮比实际生活污水的运行效能[J]. 环境工程学报,2020,14(11):2999-3006.
- [15] HESTER E R, HARPENSLAGER S F, VAN D, et al. Linking nitrogen load to the structure and function of wetland soil and rhizosphere microbial communities[J]. Msystems,2018,3(1):214-228.

本栏目编辑 吴珊