

固定化脱氮菌及 COD 降解菌协同作用对养殖污水处理效果的分析

高星爱¹, 张 颀¹, 王飞虎², 李 明¹, 王 鑫¹, 魏天娇¹, 闫秋良¹, 姜婷婷¹,
徐源浩³, 王正臣⁴, 赵 爽⁵, 李忠和^{1*}, 张淑莹^{6*}

(1. 吉林省农业科学院, 长春 130033; 2. 吉林省通化生态环境监测中心, 吉林 通化 134001; 3. 长春市九台区畜牧总站, 长春 130500; 4. 长春市畜牧总站, 长春 130022; 5. 吉林省松原市乾安县职业教育中心, 吉林 松原 131400; 6. 吉林省动物疫病预防控制中心, 长春 130062)

摘要: 本研究利用从猪场污水中分离、筛选和鉴定的异养硝化细菌(*Acinetobacter bereziniae* Zhi77), 通过氯化钙(CaCl_2)和海藻酸钠($\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$)固定后, 获得固定化硝化细菌, 分析培养温度、菌株添加量和菌株反应时间等因素对固定化菌株脱氮效果的影响。结果表明, 固定化硝化细菌在 30 °C, 菌株添加量 2 mL, 反应培养时间 12 d 条件下, 氨氮去除率达到 95.73%, 总氮去除率达到 80.43%。在 COD 降解菌和固定化异养硝化细菌的协同作用下, 投加微生物且曝气的处理组, 污水中化学需氧量(COD)、氨氮($\text{NH}_4\text{-N}$)、总氮(TN)、悬浮物(SS)和总磷(TP)去除率明显升高, 分别达到 87.90%、96.08%、94.50%、82.70% 和 23.64%。猪场污水中各项污染物浓度明显下降, 该研究结果在畜禽养殖场污水处理领域具有良好的应用前景。

关键词: 污水; 固定化微生物; COD 降解菌; 包埋法

中图分类号: X713

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2024)04-0094-05

Analysis of the Synergistic Effect of Immobilized Denitrification Bacteria and COD Degrading Bacteria on the Treatment of Aquaculture Wastewater

GAO Xing'ai¹, ZHANG Di¹, WANG Feihu², LI Ming¹, WANG Xin¹, WEI Tianjiao¹, YAN Qiuliang¹, JIANG Tingting¹,
XU Yuanhao³, WANG Zhengchen⁴, ZHAO Shuang⁵, LI Zhonghe^{1*}, ZHANG Shuying^{6*}

(1. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; 2. Jilin Tonghua Ecological Environment Monitoring Center, Tonghua 134001; 3. Changchun Jiutai District Animal Husbandry General Station, Jiutai 130500; 4. Changchun animal husbandry main station, Changchun 130022; 5. Qian'an Country Vocational Education Center Songyuan 131400; 6. Jilin Provincial Center for Animal Disease Control and Prevention, Changchun 130062, China)

Abstract: In this paper, heterotrophic nitrifying bacteria (*Acinetobacter bereziniae* Zhi77) was isolated, screened and identified from pig farm sewage. Immobilized nitrifying bacteria were obtained by calcium chloride (CaCl_2) and sodium alginate ($\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$) reagents. The effects of culture temperature, strain addition and strain reaction time on the nitrogen removal efficiency of immobilized strains were analyzed. The results showed that the removal rates of ammonia nitrogen and TN reached 95.73% and 80.43%, respectively, under the condition of 30 °C, 2 mL strain addition and 12 days of culture. Under the synergistic effect of COD degrading bacteria and immobilized heterotrophic nitrifying bacteria, the removal rates of COD, $\text{NH}_4\text{-N}$, TN, SS and TP in the treatment group with microbial addition and aeration were significantly increased, reaching 87.90%, 96.08%, 94.50%, 82.70% and 23.64%, respectively. The concentrations of various pollutants in the pig farm sewage were significantly decreased, which has good application prospects in the field of livestock farm sewage treatment.

收稿日期: 2024-01-07

基金项目: 吉林省畜牧局畜禽遗传资源开发利用及科技提质增效项目(202406); 吉林省科技厅重点研发项目(20180201017SF); 吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2022DX019-22)

作者简介: 高星爱(1978-), 女, 副研究员, 博士, 主要从事农村废弃物处理与利用研究。

通信作者: 李忠和, 男, 博士, 研究员, E-mail: lizhonghe6@126.com

张淑莹, 女, 副研究员, E-mail: zhangshuying1201@163.com

Key words: Sewage; Immobilized microorganisms; COD degrading bacteria; Embedding method

近年来,畜禽规模化、集约化养殖技术迅速发展,养殖污水排放量不断增加,养殖污水的有效处理是农业生产过程中亟待解决的问题。养殖污水成分复杂,含有多种悬浮颗粒物、有机污染物,色度深,处理难度较大。在众多处理方法中,微生物处理技术具有安全性高,处理效果好,不存在二次污染问题,而且处理量大、成本低、利用率高^[1]。微生物生长条件宽广、繁殖迅速、抗逆能力强,通过有针对性地对菌种进行筛选、培养和驯化,不仅可以去除有毒物质,还能对臭味进行处理、降低色度。养殖污水中有机氮和氨氮等含量较高,污染问题突出,国内外学者研制出多种脱氮菌剂,对解决环境污染问题意义重大^[2-4]。李宇馨等^[5]利用固定化好氧菌处理养鸭场废水,结果表明,固定化菌剂能有效提高硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)去除率,同时使系统内微生物菌群结构得以改善。

本研究通过分离筛选得到功能微生物菌株,并优化菌株培养条件,分析出水污染物浓度变化趋势,分析固定化脱氮菌及COD降解菌协同作用对养殖污水的处理效果。

1 材料与方 法

1.1 培养基制备

试验使用的培养基如下:LB细菌液体/固体培养基、富集培养基、维式盐溶液、异养硝化培养基^[6-8]。试验开始前将使用的培养基置于高压蒸汽灭菌锅中,在121℃、0.1 Mpa条件下灭菌20 min。

1.2 菌种来源

试验所用的菌种包括公主岭某牧业有限公司污水处理池污泥中分离出的异养硝化细菌(*Acinetobacter bereziniae* Zhi77)^[9]和吉林省农业科学院

农村能源与生态研究所筛选出的COD降解菌(*Bacillus* sp. LZ77),在4℃条件下冷藏保存。

1.3 固定化硝化细菌的制备

采用 $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$ (海藻酸钠)- CaCl_2 (氯化钙)固定:称取少量 $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_6$,加热搅拌,使之完全溶解,用注射器滴入到40 g/L的 CaCl_2 溶液中,固化后置于冰箱,4℃冷藏备用。将硝化细菌悬浮液用生理盐水洗涤3次,然后按质量比20:1加入海藻酸钠溶液中,混合均匀后滴入2%的 CaCl_2 溶液,制备出直径约2~3 mm的球形水珠,冷藏保存。

1.4 试验设计

游离态和固定化硝化细菌脱氮性能对比:30℃条件下,在污水中分别加入2 mL的游离和固定化硝化细菌培养液,考察氨氮($\text{NH}_4\text{-N}$)和总氮(TN)去除率的变化趋势。

培养温度对脱氮效果的影响:在15、20、25、30、35、40℃条件下,分别加入1 mL的固定化异养硝化细菌培养液,150 r/min转速条件下振荡3 d,考察 $\text{NH}_4\text{-N}$ 和TN去除率的变化趋势。

菌株添加量对脱氮效果的影响:在30℃条件下,向100 mL污水中分别投加0.5、1、2、4、6、8 mL的固定化异养硝化细菌培养液,考察不同菌株添加量条件下, $\text{NH}_4\text{-N}$ 和TN去除率的变化趋势。

菌株反应时间对脱氮效果的影响:30℃条件下,在污水中加入2 mL的异养硝化细菌培养液,反应1、3、6、9、12 d后,考察 $\text{NH}_4\text{-N}$ 和TN去除率的变化趋势。

1.5 COD降解菌和固定化异养硝化细菌协同作用处理养殖污水的应用

示范污水来源于公主岭某牧业有限公司污水处理池,污水水质污染物含量如表1所示^[1]。

表1 示范污水各项指标

pH	悬浮物/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	浊度/NTU	化学需氧量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	总磷/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	TN/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{NH}_4\text{-N}/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
7.43	220.12	71.84	1 950	8.80	816.24	780.36

向污水中投加稀释1 000倍的硝化细菌液(有效活菌数 $\geq 2.7\times 10^8$ cfu/mL),搅拌均匀,共投7次,间隔3 d,共21 d。主要考察的水质指标包括:化学需氧量(COD)、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、TN、TP、悬浮物(SS),检测数据由吉林省赢帮环境检测有限公司提供。

2 结果与分析

2.1 硝化细菌 *Acinetobacter bereziniae* Zhi77 特征

本研究采用高星爱等^[9]鉴定的不定杆菌Zhi77

(*Acinetobacter bereziniae* Zhi77),进行了污水脱氮试验。该菌种为异养硝化细菌,其显著特征为高酶活性。针对其脱氮效果进行了研究。图1为不定杆菌Zhi77在培养基上的菌落形态。

2.2 优化培养条件分析固定化菌株脱氮效果

2.2.1 游离态和固定化硝化细菌脱氮性能对比

利用游离态和固定化硝化细菌分别处理养殖污水,脱氮效果如图2所示。处理3 d后,游离态菌株处理的养殖污水中氨氮和总氮浓度分别降至

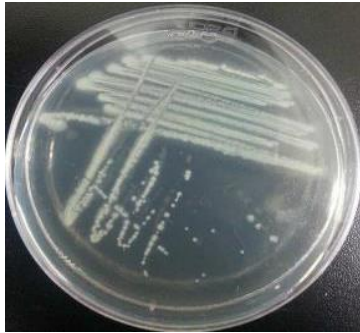


图1 不定杆菌 Zhi77 菌落形态

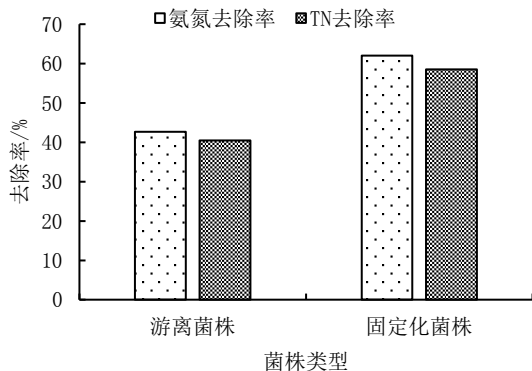


图2 游离菌株和固定化菌株脱氮效果对比

447 mg/L、485.66 mg/L, 去除率分别达到 42.70% 和 40.50%; 固定化硝化细菌处理的污水中氨氮浓度降至 296.53 mg/L, 去除率为 62.02%; 总氮浓度降至 338.74 mg/L, 去除率达到 58.50%。由于固定化硝化细菌是以 $C_6H_7NaO_6$ 为载体包埋的微生物, 生物量较高, 氨氮和总氮去除率分别增加 19.32% 和 18.00%。结果表明, 添加固定化硝化细菌, 脱氮效果明显。

2.2.2 培养温度对脱氮效果的影响

在 15、20、25、30、35、40 °C 条件下, 投加 1 mL 的固定化异养硝化细菌培养液于养殖污水中, 3 d 后测定氨氮和总氮浓度, 去除率如图 3 所示。30 °C 条件下, 污水中氨氮和总氮去除率达到最高值 (62.62%、58.99%)。在低于或高于 30 °C 时, 菌

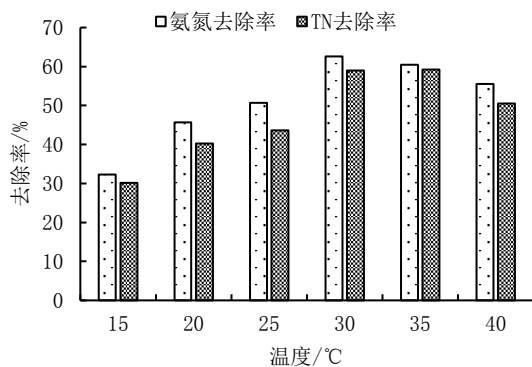


图3 培养温度对脱氮效果的影响

株偏离最适温度, 去除效果降低。结果表明, 固定化硝化细菌在 30 °C 条件下, 脱氮效果最佳, 这与孙雪梅等^[4]研究结果一致。

2.2.3 菌株添加量对脱氮效果的影响

在 30 °C 条件下, 向 100 mL 养殖污水中分别添加 0.5、1、2、4、6、8 mL 的固定化异养硝化细菌培养液, 测定不同菌株添加量对养殖污水中氨氮和总氮浓度的影响。如图 4 所示, 菌株添加量从 0.5 mL 增加至 1 mL 时, 氨氮和总氮去除率上升较为明显, 当添加量上升至 2 mL 时, 氨氮和总氮去除率均达到峰值 (74.56%、61.94%), 趋于一定平衡后, 添加量增至 8 mL 时, 去除率略微下降。结果表明, 固定化硝化细菌菌株添加量为 2 mL 时, 氨氮和总氮去除率最高, 当菌液添加量超出适合范围时, 营养物质不足以供给大量微生物, 导致脱氮效果不理想; 当菌液添加量过低时, 微生物活性受限, 同样降低脱氮效果^[10-11]。

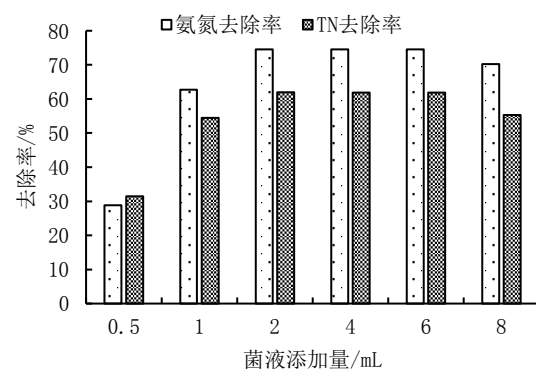


图4 菌液添加量对脱氮效果的影响

2.2.4 反应时间对脱氮效果的影响

在 30 °C 条件下, 将 2 mL 菌液置于养殖污水中, 在 1、3、6、9、12 d 测定氨氮和总氮浓度。从图 5 可以看出, 随着时间的延长去除率呈上升趋势, 培养 12 d 后, 氨氮去除率达到 95.73%, 总氮去除率达到 80.43%。结果表明, 硝化细菌作用时间越

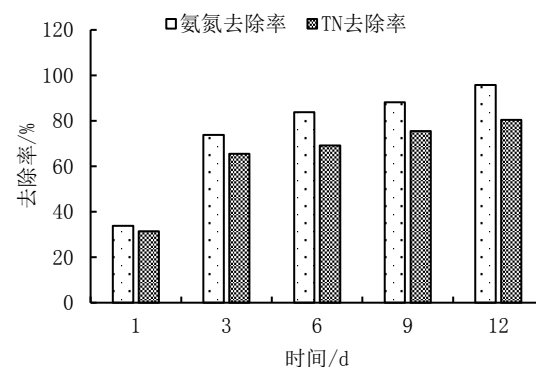


图5 反应时间对脱氮效果的影响

长,脱氮效果越好。

2.3 COD降解菌和固定化异养硝化菌协同作用处理养殖污水的应用

在稳定的生态系统中,各种微生物通过共生增殖方式与其他微生物协同作用^[12]。利用实验室已经筛选出的COD降解菌(*Bacillus* sp. LZ77)和固定化异养硝化菌(*Acinetobacter bereziniae* Zhi77)^[9]协同作用,进一步降低养殖污水中污染物浓度。每间隔3 d向养殖污水中添加1次微生物菌剂,共持续21 d。本试验共设置1个空白对照组T₀(既不添加菌剂也不曝气),两个试验组T₁(添加菌剂但不曝气)、T₂(既添加菌剂也曝气)。

如图6所示,对比分析各组COD、NH₄-N、TN、TP、SS浓度的变化。T₁和T₂组COD浓度分别降至1 450 mg/L、235 mg/L,COD去除率分别为25.00%、87.90%;T₁和T₂组NH₄-N浓度分别降至529.08 mg/L、30.58 mg/L,NH₄-N去除率分别为32.20%、96.08%;T₁和T₂组TN浓度分别降至589.33 mg/L、44.89 mg/L,TN去除率分别为27.80%、94.50%;T₁和T₂组TP浓度分别降至7.85 mg/L、6.72 mg/L,TP去除率分别为10.80%、23.64%;T₁和T₂组SS浓度分别降至170 mg/L、38 mg/L,SS去除率分别为22.70%、82.70%。

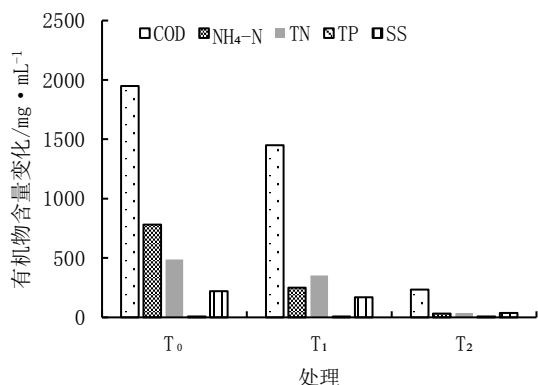


图6 不同处理条件下污染物浓度的变化

T₂和T₁相比,COD去除率提高了62.90%,NH₄-N去除率提高了63.88%,TN去除率提高了66.70%,TP去除率提高了12.84%,SS去除率提高了60.00%。由此得出,固定化细菌与COD降解菌协同作用下,投加微生物且曝气的处理组,提高污水中各项指标的降解率。

3 讨论与结论

包埋法固定化微生物技术具有微生物细胞活性好、浓度高、能有效防止微生物流失、节约成本等优势,对养殖水体等的处理表现出较好的效果^[13-14]。本研究利用C₆H₇NaO₆和CaCl₂制备固定化

菌株,分析不同条件下游离态菌株和固定化菌株对污水的处理效果,固定化菌株的添加,提高了污水处理效率,NH₄-N和TN去除率分别增加19.32%和18.00%,可以得出固定脱氮效果更高。

NH₄-N的去除过程属于好氧过程,异养硝化细菌将NH₄-N氧化为亚硝酸盐氮和硝酸盐氮的过程中同时存在硝化作用和反硝化作用^[15]。不动杆菌*Acinetobacter* sp. YF14^[8]、*Acinetobacter* sp. Y1^[15]、*Acinetobacter* sp. YN3^[16]以及异养硝化-好氧反硝化功能菌*Acinetobacter johnsonii* sp. N26^[17]等均在污水处理中产生了良好的效果。

脱氮效果受温度的影响,本研究的固定化硝化细菌在30℃条件下脱氮效果最佳,固定化菌株处理的污水中NH₄-N和TN去除率分别为62.62%和58.99%;脱氮效果受菌株添加量影响,固定化硝化细菌菌株添加量2 mL时,NH₄-N和TN去除率最高,分别为74.56%和61.94%;脱氮效果受反应时间的影响,硝化细菌作用时间越长,脱氮效果越好,反应12 d后,NH₄-N去除率达到95.73%,TN去除率达到80.43%。

蒙海林等^[18]将已分离筛选的复合硝化菌进行培养基和菌株组合优化后,氨氮去除率达到71.10%;李珍阳等^[19]以柠檬酸钠为碳源,加入固定化异养硝化菌后,氨氮去除率可达95.86%;赵思琪等^[20]利用高效异养硝化-好氧反硝化细菌构建异养硝化复合菌YM,TN去除率达到98.71%。本研究利用固定化异养硝化细菌(*Acinetobacter bereziniae* Zhi77)和实验室之前已分离获得的COD降解菌(*Bacillus* sp. LZ77)协同作用,处理养猪场污水。结果表明,养殖污水中COD、NH₄-N、TN、TP和SS的去除率分别达到87.90%、96.08%、94.50%、23.64%和82.70%。固定化硝化细菌比游离态菌株脱氮效果更高,且在与COD降解菌协同作用下,污水中各项污染物得到有效降解,在处理养猪场污水方面具有较高的应用前景。

参考文献:

- [1] 巩彧玄. 磁分离与生物耦合技术在污水处理中的应用[D]. 长春: 长春理工大学, 2020.
- [2] Chen M X, Wang W C, Feng Y, et al. Impact resistance of different factors on ammonia removal by heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium *Aeromonas* sp. HN-02[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 167: 456-461.
- [3] 巩彧玄, 高星爱, 王鑫, 等. 分离、筛选和鉴定猪场污水污染物降解微生物及应用效果分析[J]. *东北农业科学*, 2020, 45(1): 99-103.

- [4] 孙雪梅,李秋芬,张艳,等.一株海水异养硝化-好氧反硝化菌系统发育及脱氮特性[J].微生物学报,2012,52(6):687-695.
- [5] 李宇馨,陈鹏程,廖劲松,等.固定化好氧脱氮菌及其在低C/N鸭场废水处理中的应用[J].环境科学研究,2021,34(2):328-336.
- [6] 梁贤,任勇翔,杨垒,等.异养硝化-好氧反硝化菌YL的脱氮特性[J].环境科学,2015,36(5):240-247.
- [7] 窦赫喆,侯超,高鹏,等.高效净水异养硝化细菌的筛选鉴定及固定化应用研究[J].工业微生物,2014,44(6):49-53.
- [8] 辛玉峰,曲晓华,袁梦冬,等.一株异养硝化-反硝化不动杆菌的分离鉴定及脱氮活性[J].微生物学报,2011,51(12):1646-1654.
- [9] 高星爱,李莉,赵新颖,等.纤维素分解微生物复合菌剂降解固态物料特性研究[J].东北农业大学学报,2014,45(12):71-76.
- [10] 魏巍,张文军,黄乐.异养硝化细菌的筛分及处理黑臭水体研究[J].供水技术,2018,12(1):52-55.
- [11] 刘淳,李永红,刘颖颖,等.一株高效异养硝化细菌的分离鉴定及硝化特性[J].环境科学与技术,2019,42(3):158-163.
- [12] 汪旭晖,杨垒,任勇翔,等.异养硝化细菌 *Pseudomonas putida* YH的脱氮特性及降解动力学[J].环境科学,2019,40(4):374-381.
- [13] 滕晓芸,胡春义,石瑶瑶.包埋法固定化微生物技术的载体选择[J].工业微生物,2023,53(2):73-75.
- [14] 张龙颜,李保珍,李丹.海藻酸钠包埋啤酒酵母絮凝剂的制备研究[J].山西大学学报,2015,38(3):540-547.
- [15] 范宝芸,杨杰勇,吕永康,等.一株异养硝化细菌的分离鉴定及最佳固定化条件的选择[J].太原理工大学学报,2014,45(4):468-472.
- [16] 颜薇芝,张汉强,余从田,等.1株异养硝化好氧反硝化不动杆菌的分离及脱氮性能[J].环境工程学报,2017,11(7):4419-4428.
- [17] 夏远舰,杨小丽,李海华,等.异养硝化-好氧反硝化菌 *Acinetobacter johnsonii* sp. N26的脱氮性能及代谢途径[J].微生物学通报,2023,50(4):1374-1395.
- [18] 蒙海林,刘复荣,何敬愉,等.异养硝化细菌的分离鉴定及组合菌群硝化性能分析[J].华南理工大学学报(自然科学版),2019,47(9):113-120.
- [19] 李珍阳,姜润,刘琳,等.低温异养硝化菌的筛选、鉴定及降解特性研究[J].生物技术通报,2021,37(10):45-56.
- [20] 赵思琪,任勇翔,杨垒,等.异养硝化复合菌强化处理含氮废水脱氮性能研究[J].工业微生物,2018,48(1):22-29.

(责任编辑:范杰英)