

HN-AD菌强化生物转盘工艺处理养牛场废水

李宸^{1,2}, 张千¹, 刘向阳¹, 吴恒¹, 陈旺¹, 念海明²,
张丽杰¹, 赵天涛¹, 吉芳英³

(1. 重庆理工大学 化学化工学院, 重庆 400054; 2. 重庆川仪环境科技有限公司, 重庆 401121;
3. 重庆大学 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045)

摘要: 养牛场废水中COD和氨氮浓度高、碳氮比高,且具有一定的生物毒性,处理过程中存在脱氮效果差、工艺流程复杂、启动周期长等问题。为此,采用以三维结构盘片为载体的生物转盘(RBC)反应器,以异养硝化-好氧反硝化(HN-AD)菌为生物强化剂,考察了生物强化RBC工艺对养牛场废水的处理效果。在驯化阶段(进水为模拟废水),当氨氮>400 mg/L时,未经HN-AD菌强化的RBC2反应器对污染物的去除率明显降低,而经过HN-AD菌强化的RBC1反应器对氨氮的耐受浓度可达600 mg/L,对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN和COD的去除率要比RBC2反应器分别高40.75%、32.15%、34.68%和24.25%。运行稳定后,采用RBC1反应器处理实际养牛场废水,对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN和COD的平均去除率分别为81.65%、72.14%、65.79%和80.53%,明显优于传统处理技术。高通量测序结果表明,生物强化后系统的优势HN-AD菌为*Acinetobacter*,其丰度由接种菌剂中的1.34%上升至18.56%,由此推测*Acinetobacter*是起异养硝化-好氧反硝化作用的主要菌属。SEM观察发现,生物强化后,盘片的生物膜表面附着了大量杆状菌和球状菌。

关键词: 养牛场废水; 生物转盘; 异养硝化-好氧反硝化菌; 生物强化

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2019)15-0025-07

Treatment of Cattle Farm Wastewater by Rotating Biological Contactor Enhanced with HN-AD Bacteria

LI Chen^{1,2}, ZHANG Qian¹, LIU Xiang-yang¹, WU Heng¹, CHEN Wang¹,
NIAN Hai-ming², ZHANG Li-jie¹, ZHAO Tian-tao¹, JI Fang-ying³

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University of Technology, Chongqing 400054, China; 2. Chongqing Chuanyi Environmental Technology Co. Ltd., Chongqing 401121, China; 3. Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment <Ministry of Education>, Chongqing University, Chongqing 400045, China)

Abstract: Cattle farm wastewater is characterized by high ammonia nitrogen, high COD, high C/N ratio and even contains certain toxicity. There are several problems when the wastewater is treated, such as poor nitrogen removal, complex process and the long start-up cycle. Therefore, the effect of bio-enhanced rotating biological contactor (RBC) on the treatment of cattle farm wastewater was investigated

基金项目: 重庆市生态环境局科研项目(环科字2018[04]号); 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项
(cstc2018jscx-msybX0134,0005)

通信作者: 张千 E-mail: zhangqianswu2005@163.com

by using three-dimensional structure disks as the carrier and the heterotrophic nitrification – aerobic denitrification (HN-AD) bacteria as bio-fortifier. During domestication stage (the influent was simulated wastewater), the removal rate of pollutants in RBC2 without enhancement of HN-AD bacteria decreased significantly when ammonia nitrogen was more than 400 mg/L, while the RBC1 enhanced with HN-AD bacteria could withstand ammonia nitrogen higher than 600 mg/L, and the removal rates of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, $\text{NO}_3^- - \text{N}$, TN and COD were 40.75%, 32.15%, 34.68% and 24.25% higher than that in RBC2, respectively. Then, the RBC1 enhanced with HN-AD bacteria was used to treat real cattle farm wastewater, and the average removal rates of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, $\text{NO}_3^- - \text{N}$, TN and COD were 81.65%, 72.14%, 65.79% and 80.53%, respectively, which was significantly higher than that of the traditional treatment technology. High-throughput sequencing results showed that *Acinetobacter* was the dominant bacterium in the bio-enhanced system, and its abundance increased from 1.34% to 18.56%. Therefore, it was speculated that *Acinetobacter* was the main bacterium with the function of heterotrophic nitrification – aerobic denitrification. It was found by SEM observation that a large number of rods and coccus attached on the surface of the biofilm.

Key words: cattle farm wastewater; rotating biological contactor (RBC); heterotrophic nitrification – aerobic denitrification bacteria; biological enhancement

随着我国人民生活质量的不断提高,居民对畜禽养殖产品的需求大量增加,这使得畜禽养殖业更为集中化、规模化。但是,许多养牛场排放了大量未经处理或处理不彻底的粪尿及污、废水,给自然环境造成了严重的影响,现如今养牛场废水已成为农村面源污染的一大来源。养牛场废水中富含有机质、N、P等营养物及致病菌等污染物,并且伴随着恶臭,其污染物浓度一般为生活污水的10~20倍^[1]。养牛场废水为高氨氮($\geq 500 \text{ mg/L}$)、高碳氮比(> 8)废水,其处理难点主要在于:污染物浓度高,且具有高氨氮特性,有一定的生物毒性,抑制微生物生长^[2]。目前针对养牛场废水的处理方法主要有:混凝沉淀法、石灰吹脱法、改性沸石法等物化方法以及厌氧折流板反应器(ABR)、厌氧生物滤池等厌氧处理工艺^[3-4],但这些方法存在工艺复杂且后续处理成本高等问题。部分研究人员采用CANNON等新型脱氮工艺处理养牛场废水,虽然对氨氮有较好的去除效果,但由于启动时间太长(210 d),限制了其工程化应用^[5]。

生物转盘(RBC)工艺具有微生物量大、对高氨氮具有一定的耐受性、抗冲击负荷能力强等特点^[6],被广泛应用于处理畜禽养殖废水等高浓度有机废水,但受 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度过高的影响,脱氮及有机物去除效果不理想^[7]。鉴于此,笔者采用课题组前期筛选的异养硝化–好氧反硝化(HN–AD)菌对

RBC工艺进行生物强化,借助RBC内载体较大的比表面积实现菌剂的固定,并在好氧环境下,通过优化运行条件实现系统内功能菌的富集和优势化构建,强化氨氮和有机物的去除。对比分析了有无生物强化的RBC工艺对养牛场废水的处理效果,同时通过高通量测序技术分析生物强化前后微生物多样性的变化,并结合扫描电镜(SEM)考察了填料表面生物膜的微观形态,以为该技术的优化和实际应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验装置

RBC工艺流程如图1所示。

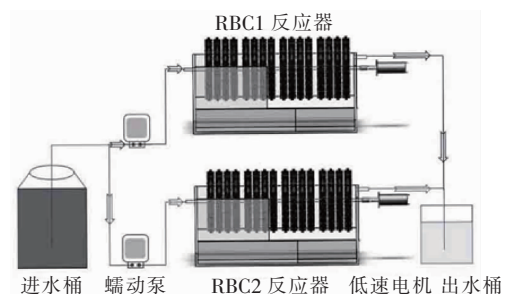


图1 RBC工艺流程示意

Fig.1 Flow chart of RBC process

试验设置两个完全相同的生物转盘反应器,其中一个投加HN–AD菌进行生物强化(记作RBC1)、另一个不投加(RBC2)。反应器均采用有机

玻璃制作,长为 460 mm、宽为 360 mm、高为 220 mm,有效容积为 24 L。生物转盘内的盘片为三维结构^[8],材质为再生塑料,转盘在反应器内分为 4 级,每级 4 片,每张盘片直径为 300 mm。两个反应器均采用接种污泥进行生物挂膜、连续流进水方式运行。

1.2 试验废水和接种污泥

试验用水分为人工模拟废水和某养牛场经固液分离后的实际废水。在启动阶段使用模拟废水,COD 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度分别为 250 ~ 6 000、50 ~ 600 mg/L, $\text{COD} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = (5 \sim 10) : 1$ 。模拟废水以无水乙酸钠为碳源、硫酸铵为氮源、磷酸氢二钾为磷源,同时添加一定微量元素,微量元素成分为 2 g/L 的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.1 g/L 的 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、1.5 g/L 的 CaCl_2 、0.1 g/L 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。实际养牛场废水中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN 和 COD 的平均浓度分别为 603.3、86.5、670.1 和 5 972 mg/L。

接种污泥取自重庆市巴南区某生活污水处理厂曝气池中的活性污泥,污泥浓度为 3 408 mg/L。

1.3 试验方法

试验初期,分别向两个 RBC 反应器中接种 15 g/L 的活性污泥,连续闷曝 2 d 后,采用连续流进水并保持 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度在 50 mg/L 左右进行污泥挂膜。经过 25 d 的挂膜后,盘片上有肉眼可见的黄褐色生物膜生成。而后开始提高 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度,梯度分别设为 50、200、400 和 600 mg/L。当通过提高 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度驯化培养的 RBC 系统对有机物和氨氮的去除率大幅下降时,向 RBC1 反应器内接种课题组前期从养猪场废水中分离筛选得到的具有耐高 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和高 COD、生长周期短、易于培养等特性的 HN-AD 菌剂,进行生物强化;RBC2 反应器则维持原状,对比分析两个反应器对污染物的去除效果。待 RBC1 系统稳定运行后,用其处理实际养牛场废水,运行参数保持不变。

在挂膜完成后和生物强化后,分别选取盘片上的生物膜样品提取 DNA 进行多样性测序分析;同时对原始盘片、污泥挂膜完成后和 HN-AD 菌剂生物强化后的盘片进行扫描电镜观察。

1.4 分析项目及方法

COD:重铬酸钾法, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$:纳氏试剂分光光度法, $\text{NO}_3^- - \text{N}$:酚二磺酸分光光度法,TN:碱性过硫酸钾消解-紫外分光光度法,DO:便携式溶氧仪。

电镜扫描:盘片上的生物样品先经冷冻干燥脱

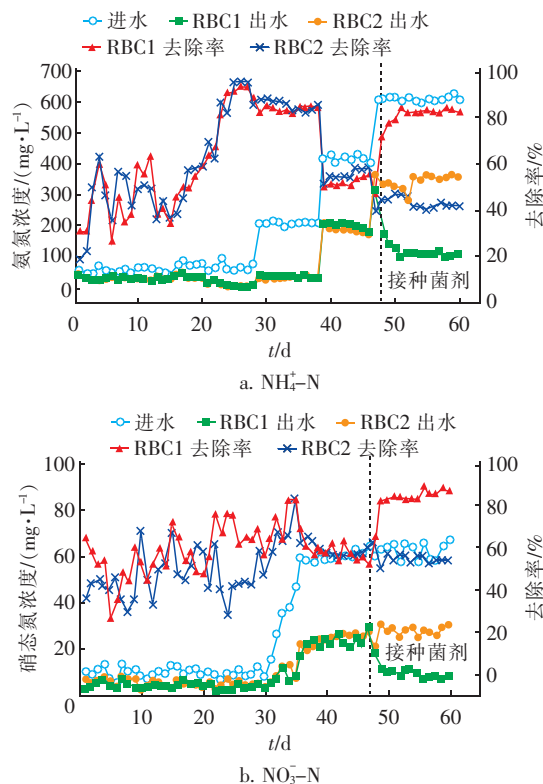
水预处理,然后采用 TESCAN MIRA3 热场发射扫描电镜观察生物膜表面的微观形态结构。

DNA 提取和高通量测序:分别选取污泥挂膜后和 HN-AD 菌剂生物强化后的生物样品,离心弃去上清液,于 -80°C 保藏用于多样性测序分析。用购自天根生化科技(北京)有限公司的细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取样品的基因组 DNA^[9]。采用 MiSeq 平台对 16S rRNA 基因高变区序列进行测序,测序区域选择 V3 + V4 区,测序片段为 468 bp,测序引物为 338F-806R,使用 Trimmomatic、FLASH 软件对 MiSeq 测序数据进行处理获得干净数据。在 Usearch 软件平台中使用 uparse 方法将序列按照彼此相似性为 97% 分组,一个小组为一个 OTU,从而得到 OTU 的代表序列。然后,使用 uchime 检测 PCR 扩增中产生的嵌合体序列并从 OTU 中去除,再用 Usearch_global 方法将优化序列 map 比对回 OTU 代表序列,最终得到 OTU 各样品序列丰度统计表,相关性利用 SPSS Statistics 21 软件分析,多样性数据采用 i-sanger 平台分析^[10]。

2 结果与讨论

2.1 驯化阶段 RBC 工艺对污染物的去除效果

启动和驯化阶段两个 RBC 反应器对污染物的去除效果如图 2 所示。



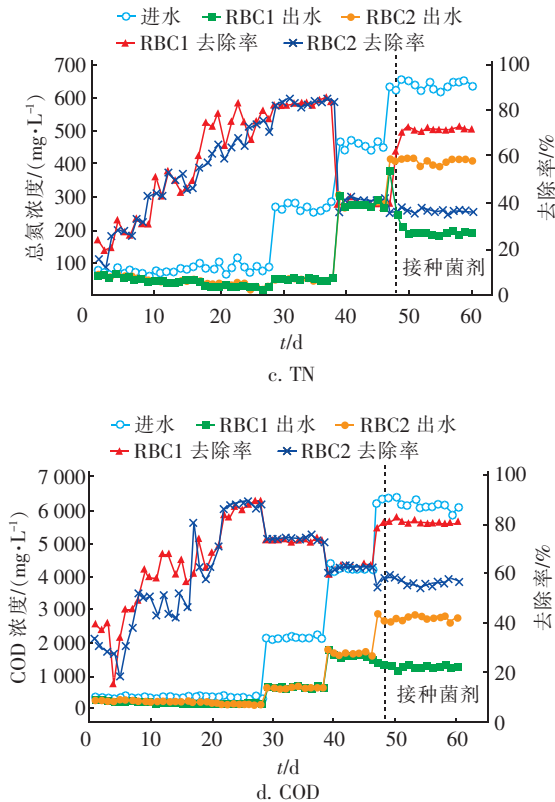


图2 启动和驯化阶段RBC反应器对污染物的去除效果

Fig.2 Removal effect of pollutants by RBC reactors during start-up and domestication period

启动初期,分别向两个RBC反应器内接种等量污泥进行生物挂膜,保持C/N值为5、水力停留时间(HRT)为24 h、转盘线速度为7.5 m/min。由图2可知,挂膜阶段两个RBC反应器对污染物的去除效果基本相当,整个挂膜周期为25 d。在前15 d,RBC反应器对有机物和含氮污染物的去除效果并不理想,均只有50%左右,此时转盘上只有一层黄褐色的污泥,主要是吸附的活性污泥在起降解作用;随后污泥逐渐变厚,盘片上附着一层黏性的薄膜,对污染物的去除率逐渐升高;到第25天时,整个生物转盘对污染物的去除效果趋于稳定,RBC1和RBC2反应器对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN和COD的去除率分别稳定在90.76%、69.81%、73.28%、87.30%和89.68%、48.05%、75%、90.54%,此时认为两个反应器挂膜完成。

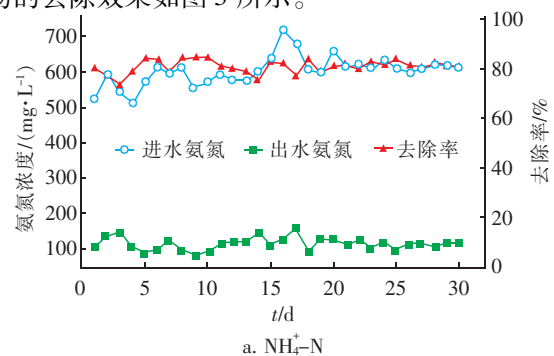
反应器挂膜完成后,逐渐提高进水COD和氨氮浓度,在此过程中保持C/N值为10、HRT为24 h、转盘线速度为7.5 m/min,进水氨氮浓度从50 mg/L逐渐升至600 mg/L。当进水氨氮浓度由50 mg/L升至200 mg/L时,RBC反应器对污染物仍能保持

较好的去除效果,对氨氮、硝态氮、TN和COD的平均去除率分别为83.36%、66.89%、82.69%和74.03%。但是当继续提高进水氨氮浓度至400 mg/L时,由于活性污泥中的微生物耐受氨氮能力较差,且高氨氮废水对活性污泥具有一定毒性,系统中微生物生长和代谢活动受到严重抑制,从而导致污染物去除率迅速下降(如图2所示),此时RBC系统对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN和COD的平均去除率分别为54.43%、58.82%、40.36%和62.68%。在此情况下,对RBC1反应器进行生物强化,而RBC2反应器维持原条件不变。

当 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度提升至400 mg/L并运行8 d后,开始每天向RBC1反应器内接种5% (体积分数)的HN-AD菌剂,反应器对污染物的去除率逐渐提升。在接种菌剂时继续提升氨氮浓度,系统在120 h内对污染物的去除率逐渐上升并最终趋于稳定。当氨氮浓度提升至600 mg/L、系统对有机物和含氮污染物的去除效果稳定时,停止接种菌剂,整个接种菌剂的周期为12 d,停止接种菌剂后系统对污染物仍保持较高且稳定的去除效果,对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN和COD的平均去除率分别为82.07%、86.92%、70.79%和80.52%。而RBC2反应器对污染物的去除率随着氨氮浓度的提升而不断下降。当氨氮浓度提升至600 mg/L时,RBC2反应器对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN和COD的平均去除率分别为41.32%、54.77%、36.11%和56.27%,比RBC1反应器分别降低了40.75%、32.15%、34.68%和24.25%。

2.2 生物强化RBC对实际养牛场废水的处理效果

在经过污泥挂膜和生物强化阶段后,向RBC1反应器中通入养牛场经固液分离后的废水,运行条件与生物强化阶段相同,连续观察30 d,其对各污染物的去除效果如图3所示。



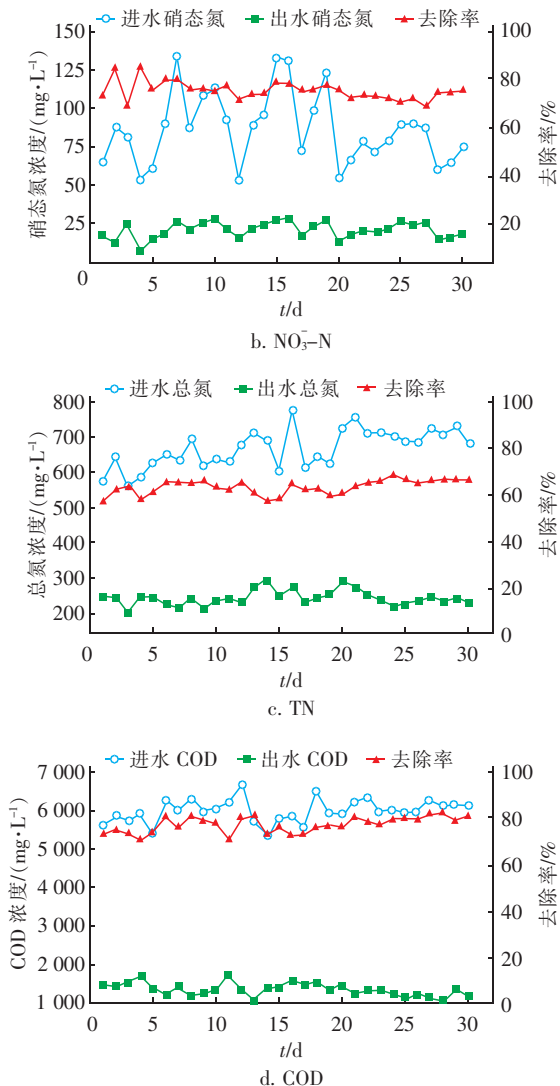


图3 生物强化 RBC 工艺对养牛场废水的处理效果

Fig. 3 Treatment effect of cattle farm wastewater by bio-enhanced RBC process

从图3可以看出,RBC1反应器出水 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN 和 COD 的平均浓度分别为 116.4、21.1、247.1、1 354.6 mg/L, 平均去除率分别为 81.65%、72.14%、65.79% 和 80.53%。而王艳芹等^[11]在采用生物巢厌氧反应器处理养牛场废水时,对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的去除率仅为 50.5%。因此,本研究中的生物强化 RBC 工艺对养牛场废水的处理效果明显优于传统处理技术。

2.3 生物强化对 RBC 微生物群落结构的影响

对系统挂膜后和 HN-AD 菌生物强化后的微生物群落结构进行多样性分析,结果见图4。污泥挂膜完成后,系统中也含有一部分 HN-AD 菌,分别为 *Thauera* (4.03%)、*Flavobacterium* (4.72%) 和

Acinetobacter (0.01%)。而接种的 HN-AD 菌剂中主要为 *Alcaligenes* (54.21%)、*Myroides* (6.5%)、*Acholeplasma* (6.09%)、*Acinetobacter* (1.34%) 和 *Comamonadaceae* (0.01%)^[12-13]。经 HN-AD 菌剂生物强化后,系统内主要的 HN-AD 菌为 *Acinetobacter* (18.56%)、*Thauera* (1.75%) 和 *Flavobacterium* (0.19%)^[14]。生物强化后系统的优势 HN-AD 菌由接种菌剂中的 *Alcaligenes* 变为 *Acinetobacter* 和 *Thauera*, *Acinetobacter* 的相对丰度由 1.34% 升至 18.56%, 据此推测 *Acinetobacter* 是起异养硝化-好氧反硝化作用的主要菌属。

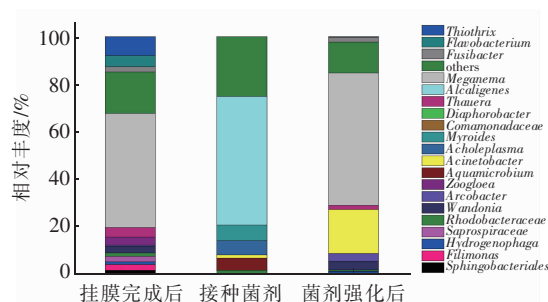


图4 HN-AD 菌生物强化前后系统中微生物群落结构的变化

Fig. 4 Change of microbial community structure before and after biological enhancement of HN-AD bacteria

2.4 盘片表面的 SEM 分析

原始盘片以及挂膜后和生物强化后盘片表面的 SEM 分析如图5所示。可知,在原始盘片上规则排列着凸起的条纹,增大了比表面积,有利于附着更多的微生物;挂膜完成后,盘片表面附着了大量的污泥,构成了比表面积较大的生物膜层;经过生物强化后,盘片的生物膜上附着了大量的杆状菌和球状菌,以丝状蛋白杆菌为骨架与污泥牢牢地结合在一起。结合图4可推断,生物强化后盘片表面的杆状菌和球状菌为 *Acinetobacter* 和 *Thauera* 菌属。

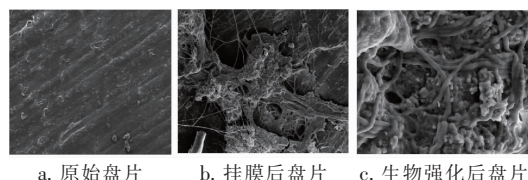


图5 不同状态下盘片表面的 SEM 照片

Fig. 5 SEM picture of disks surface under different conditions

3 结论

① 高氨氮 (>400 mg/L) 养牛场废水对经接

种污泥挂膜的 RBC 系统具有抑制作用,而通过投加 HN-AD 菌进行生物强化,可显著提高 RBC 系统的耐高氨氮性能及除污效果,在相同的运行条件下,经生物强化的 RBC 反应器对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN 和 COD 的去除率比未经生物强化的 RBC 反应器分别高 40.75%、32.15%、34.68% 和 24.25%。

② 采用稳定运行的生物强化 RBC 反应器处理实际养牛场废水,在 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN、COD 的平均浓度分别为 603.3、86.5、670.1、5 972 mg/L 的条件下,对这些污染物的去除率分别可达到 81.65%、72.14%、65.79% 和 80.53%,明显优于传统生物处理技术。

③ 高通量测序结果表明,生物强化措施实现了 RBC 系统内 HN-AD 菌的富集,且 HN-AD 菌优势化构建明显,优势菌属为 *Acinetobacter*,相对丰度由接种菌剂中的 1.34% 升至 18.56%,据此推测 *Acinetobacter* 是起异养硝化-好氧反硝化作用的主要菌属。SEM 观察结果也进一步证实,RBC 系统经生物强化后,盘片生物膜上的优势菌主要以杆状和球状的 HN-AD 菌为主。

参考文献:

- [1] 操奕. USR-两级 A/O 组合工艺处理奶牛场废水应用研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2014.
Cao Yi. Applied Research on the Combined of USR + Two-stage A/O Process in Treatment of Dairy Farm Wastewater[D]. Hefei:Hefei University of Technology, 2014(in Chinese).
- [2] Seluy L G, Isla M A. A process to treat high-strength brewery wastewater via ethanol recovery and vinasse fermentation[J]. Ind Eng Chem Res, 2014, 53(44): 17043-17050.
- [3] Sánchez E, Borja R, Travieso L, et al. Effect of influent substrate concentration and hydraulic retention time on the performance of down-flow anaerobic fixed bed reactors treating piggery wastewater in a tropical climate [J]. Process Biochemistry, 2005, 40(2): 817-829.
- [4] 梁文婷,颜丽,郝长红,等. 氧化镁改性沸石处理猪场废水的研究[J]. 中国给水排水, 2009, 25(11): 73-75.
Liang Wenting, Yan Li, Hao Changhong, et al. Treatment of piggery wastewater by MgO modified zeolite [J]. China Water & Wastewater, 2009, 25(11): 73-75 (in Chinese).
- [5] 彭新红,吴立波,宫玥. CANON 工艺研究的新进展[J]. 水处理技术, 2008, 34(2): 9-11.
Peng Xinhong, Wu Libo, Gong Yue. Research advances in the study of CANON process [J]. Technology of Water Treatment, 2008, 34(2): 9-11 (in Chinese).
- [6] 刘富军,郭福生,曾华,等. 生物转盘在污水生物处理中的研究进展[J]. 工业安全与环保, 2007, 33(9): 32-34.
Liu Fujun, Guo Fusheng, Zeng Hua, et al. Study and progress for RBC in biological wastewater treatment [J]. Industrial Safety and Environmental Protection, 2007, 33(9): 32-34 (in Chinese).
- [7] Meng J, Li J L, Li J Z, et al. Efficiency and bacterial populations related to pollutant removal in an upflow microaerobic sludge reactor treating manure-free piggery wastewater with low COD/TN ratio [J]. Bioresour Technol, 2016, 201: 166-173.
- [8] 林丽,念海明,杨建华,等. TDS 三维结构生物转盘技术在乡镇生活污水处理中的调试运行优势[J]. 自动化与仪器仪表, 2016(5): 221-222, 225.
Lin Li, Nian Haiming, Yang Jianhua, et al. TDS three-dimensional structures of biological rotating disc technology in villages and towns sewage treatment operation advantages [J]. Automation & Instrumentation, 2016(5): 221-222, 225 (in Chinese).
- [9] 高艳辉,赵天涛,邢志林,等. 铜离子对混合菌群降解三氯乙烯的影响与机制分析[J]. 生物工程学报, 2016, 32(5): 621-634.
Gao Yanhui, Zhao Tiantao, Xing Zhilin, et al. Effects of copper on biodegradation mechanism of trichloroethylene by mixed microorganisms [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2016, 32(5): 621-634 (in Chinese).
- [10] 赵天涛,邢志林,张丽杰,等. 氯代烯烃胁迫下菌群 SWA1 的降解活性及群落结构[J]. 中国环境科学, 2017, 37(12): 4637-4648.
Zhao Tiantao, Xing Zhilin, Zhang Lijie, et al. Degradation activity and community structure of bacterial community SWA1 under chlorinated olefin stress [J]. China Environmental Science, 2017, 37(12): 4637-4648 (in Chinese).
- [11] 王艳芹,袁长波,姚利,等. 生物巢厌氧反应器处理奶牛养殖废水效果研究[J]. 中国农业大学学报, 2013, 18(5): 109-114.
Wang Yanqin, Yuan Changbo, Yao Li, et al. Studies on

(下转第 36 页)