

研究论文

AAC 反应器好氧菌的筛选及菌株 配伍性能的比较

温树梅¹, 李 春^{1,2}, 付伟超¹, 鲁建江¹, 曹 鹏¹

(¹ 石河子大学食品学院/新疆兵团化工绿色过程重点实验室, 新疆 石河子 832003;

² 北京理工大学生命学院, 北京 100081)

摘要: 针对 AAC 反应器能有效处理番茄酱加工废水和剩余污泥减量化的特点, 分离了 AAC 反应器中的好氧微生物, 并通过配伍实验研究了优势微生物对番茄酱加工废水的处理性能。共分离得到 29 株好氧细菌, 根据 12 h TOC 降解率初步确定了 6 株优势菌。通过配伍比较 TOC 降解率, 得到了两株菌的基础组合, 其 TOC 去除率达到 85.29%, 单位 TOC 降解率的菌体增长量为 1.89。结合菌体沉降性, 最终构建出含有 7 株菌的高效微生物菌群, 单位 TOC 降解率的菌体增长量为 0.94, 单位降解率的污泥产量减少了 50.26%, 沉降性能明显改善, OD₆₀₀ 值仅为 0.347, 出水达到了国家二级标准。

关键词: AAC 反应器; 菌群构建; 番茄酱加工废水; 污泥减量

中图分类号: X 703.1

文献标识码: A

文章编号: 0438-1157 (2009) 08-2067-07

Screening aerobic strains from AAC reactor and comparative study on properties of strains combination

WEN Shumei¹, LI Chun^{1,2}, FU Weichao¹, LU Jianjiang¹, CAO Peng¹

(¹ Food College, Shihezi University/Laboratory for Green Processing of Chemical

Engineering of Xinjiang Bingtuan, Shihezi 832003, Xinjiang, China; ² School of Life Science
and Technology, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: According to the characters of aerobic-anaerobic coupled reactor (AAC) with effective treatment of wastewater and achievement of sludge reduction in tomato catsup processing, aerobic strains were isolated from the aerobic field of AAC, and 29 bacterial strains were obtained. The performances of these strains to tomato processing wastewater treatment were investigated by compatibility test. Six bacterial strains were determined as the dominant ones by TOC removal rate in 12 hours. A fundamental flora including 2 strains was constructed by comparing TOC removal rate, in which the TOC removal rate and the ratio of cell growth increment to TOC removal were 85.29% and 1.89, respectively. On this basis, an efficient flora including 7 strains was constructed by comparing the TOC removal rate, the ratio of cell growth increment to TOC removal and the settling ability. The ratio of cell growth increment to TOC removal of this efficient flora decreased to 0.94, and the ratio of sludge production to TOC removal was reduced by 50.26%. With this efficient flora, the sludge settling property improved obviously and the

2009-03-02 收到初稿, 2009-04-06 收到修改稿。

联系人: 曹鹏, 李春。第一作者: 温树梅 (1983—), 女, 硕士研究生。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20776017); 兵团博士基金项目 (04BSZJ05); 石河子大学高层次人才科研启动项目 (RCZX2004-YS10)。

Received date: 2009-03-02.

Corresponding author: Dr. CAO Peng, caopeng@sohu.com; Prof. LI Chun, lichun@bit.edu.cn

Foundation item: supported by the National Natural Science Foundation of China (20776017), Bingtuan Doctor Foundation (04BSZJ05) and the High-level Talent Start Fund Project of Shihezi University (RCZX2004-YS10).

OD₆₀₀ decreased to 0.347, and the effluent water quality met the second grade criteria of integrated wastewater discharge standard in China.

Key words: aerobic-anaerobic coupled reactor; microbial flora construction; tomato processing wastewater; sludge reduction

引 言

番茄加工业是新疆经济发展中重要的“红、白、黑”产业之一,2008年新疆番茄酱产量达到55万吨,产生废水近1155万吨。由于多数企业污染治理设施不配套,处理工艺不能满足废水达标排放的要求,给企业所在地环境造成了严重污染,同时也加剧了新疆水资源紧缺的状况^[1]。番茄酱加工废水有机物浓度高,污染物以有机酸和糖类为主,可生化降解性高,适合生物处理^[2]。课题组前期针对番茄酱加工废水特性开发的无剩余污泥处理新工艺——好氧-厌氧耦合处理工艺(aerobic-anaerobic coupled reactor, AAC),出水水质达到国家二级排放标准(GB 18918—2002),而且可以回用于番茄酱加工^[3]。但是该工艺在实际应用中还存在以下两个问题未能有效解决:首先是启动速度较慢,不能适应番茄酱加工企业实际生产需要;其次就是稳定性较差,这主要是由于处理过程中优势菌易随废水的排放而流失,以及菌群耐负荷能力相对较弱^[4]。

污水处理过程中微生物群落的多样性、稳定性和可恢复性在处理系统中起着至关重要的作用^[5]。国内外学者运用现代分子生物学的手段和方法对不同污水处理系统中微生物群落进行了研究^[6],用各种图谱反映了微生物群落的结构多样性和动态变化,但是并没有揭示微生物群落的结构与整个微生物群落的功能之间的关系^[7-10],也无法明确微生物群落动态变化与处理效果的内在联系^[11-13]。

本研究从运行稳定的AAC反应器中分离出好氧微生物,对微生物进行有选择性的配伍,构建完全已知的微生物菌群,扩大培养后在反应器运行初期进行添加可以有效提高反应器的启动速度,同时在反应器运行过程中可以实时监测系统种群的种群变化情况,实时添加处理过程中流失的优势菌株,以提高整个系统的处理稳定性,以期解决以上问题。

1 材料和方法

1.1 培养基

牛肉膏蛋白胨培养基(NA培养基)。

1.2 废水来源

实验用水取自石河子市某番茄酱厂出水口废水,COD值为600~1300 mg·L⁻¹^[13]。

1.3 反应器

实验中使用自行设计的25 cm×25 cm×40 cm反应器(图1,图2),实际装液量18 L。反应器中好氧处理区域设计为悬浮式,中心厌氧区域设计为固定式,将二者耦合在同一反应器中,达到好氧、厌氧同时处理的效果。隔板将I区和III区分隔开来,曝气装置安装在I区,使水流按照箭头所示的方向流动,I区和III区均为好氧区,II区为厌氧区。

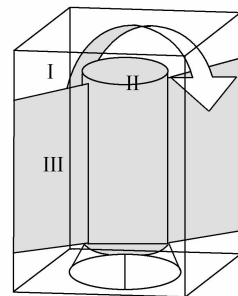


图1 AAC反应器立体图

Fig. 1 Stereogram of AAC reactor

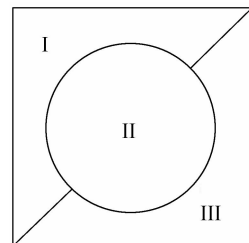


图2 AAC反应器俯视图

Fig. 2 Top view of AAC reactor

1.4 菌株的分离和保存

AAC处理番茄酱加工废水过程中细菌起主要作用^[2],因此本文主要筛选AAC反应器中的细

菌。从 AAC 反应器底部污泥、反应器壁挂膜及水中取样,加入已灭菌的装有适量玻璃珠的三角瓶中剧烈振荡 30 min (将污泥颗粒充分打散),采用稀释涂布法进行分离。待平板长出菌落后选择不同颜色及形态的单菌落连续划线纯化,获得纯菌株^[14]。

菌株保存采用斜面保存法和甘油管保存法^[15]。

1.5 降解效果、单位 TOC 降解率的菌体增长和沉降性能的测定

菌株的降解效果通过测定废水中 TOC 的降解率来表征。TOC 采用日本岛津公司 TOC-V CPN 测定仪测定,取 100 ml 番茄酱加工废水,灭菌后接种 0.15 g (与反应器中比例相当) 菌体 (8000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心), 25℃, 150 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床培养 24 h (敞口), 12 h 和 24 h 取样, 3000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 离心除去菌体后测定 TOC。

单位 TOC 降解率的菌体增长 (increment of cell growth/TOC removal rate, 简称 CG/TOC) 是以菌体增长量与 TOC 降解率之比来表示。菌体增长量以质量法计算, 12 h 取样, 10000 $r \cdot \text{min}^{-1}$ 、10 min 离心后弃去上清液, 用滤纸吸取离心管壁残留水分, 测定菌体质量。

菌体的沉降性能以样品在 600 nm 处的吸光度表征。具体操作过程为废水处理 12 h 时取样, 静止 30 min 后测定上清液在 600 nm 处的吸光度。

1.6 复配实验

有选择性地将得到的好氧优势菌株 (总量维持 0.15 g/100 ml, 各菌平均加入) 接入摇瓶中, 12 h 取样测定降解效果、CG/TOC 和沉降性能。

2 结果与讨论

2.1 菌株的分离

经多次划线分离, 最终得到 29 株好氧菌。

2.2 单菌株的降解效果与沉降特性评价

用分离到的 29 株菌摇瓶处理番茄酱加工废水 (TOC 190.23 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 12 h 后 TOC 降解率差别很大, 结果见图 3, 其中 F10、F14、T7、T8、T9 和 T10 的降解效果较好, 最大 TOC 降解率达到了 79.27%。处理 24 h 后, 除 F1 外所有菌株 TOC 降解率均达到了 70% 以上。考虑到缩短水力停留时间, 提高处理效率, 因此以 12 h 为界, 确定 F10、F14、T7、T8、T9 和 T10 为好氧优势降解菌。

对各菌株沉降性能测定后发现其沉降性能相差较大, 其中 F2、F7a、F11 和 F3b 具备较好的沉降性能, 结果见图 3。

2.3 优势菌株复配降解效果研究

将筛选出的好氧优势降解菌 F10、F14、T7、T8、T9、T10 两两组合, 降解番茄酱加工废水 (TOC 199.97 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 考查菌株复配后的降解能力。结果见图 4, 复配组合的 TOC 降解率普遍高于单菌的降解率, 其中 7 个组合的 TOC 降解率达到了 80% 以上, 最大降解率达 85.29%。

CG/TOC 研究表明, 各复配菌 CG/TOC 有较大差异 (如图 4 所示)。CG/TOC 越小, 越有利于实现污泥减量化。要构建高效、稳定的微生物菌群, 需选择降解效率最高、CG/TOC 较低的组合,

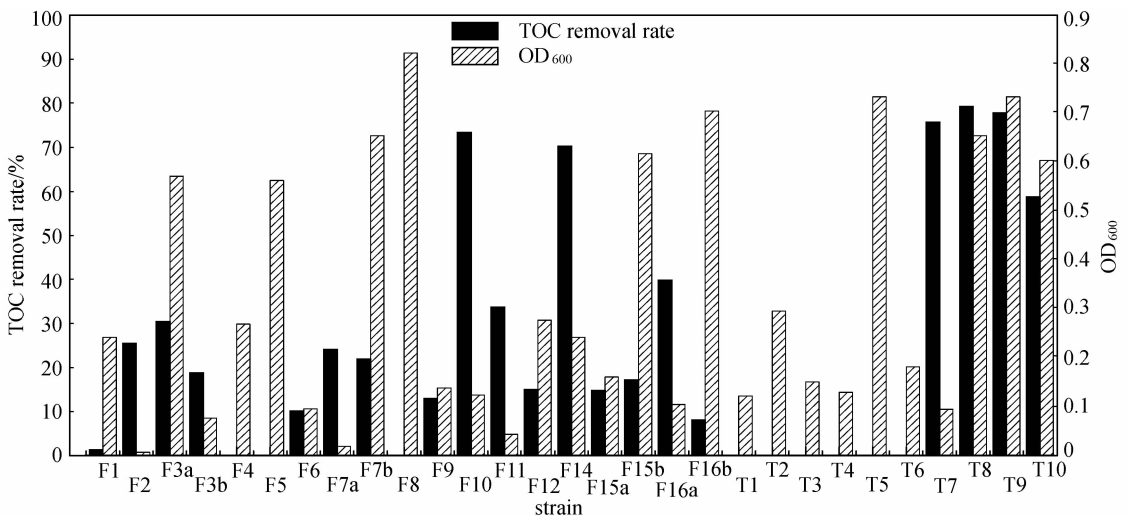


图3 单菌处理 12h TOC 降解率和菌体吸光度值

Fig. 3 TOC removal rate of aerobic strains and absorbance of cell at 600nm after 12 h of treatment

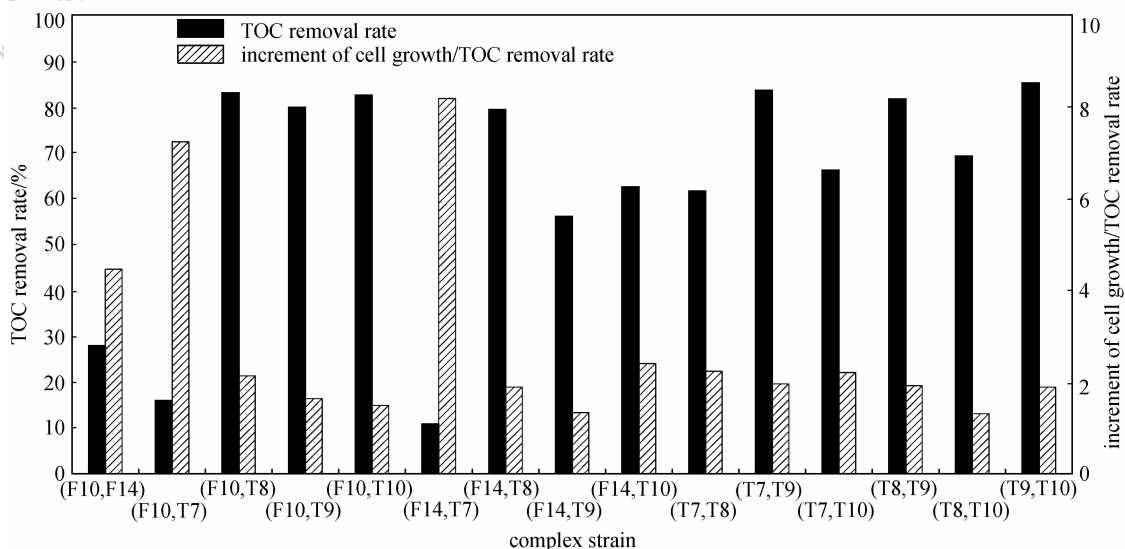


图 4 两菌复配 TOC 降解率和单位 TOC 降解率的菌体增长量

Fig. 4 TOC removal rate and increment of cell growth/TOC removal rate of two complex strains

因而选择 (T9, T10) 组合作为菌群的基础组合。

为了进一步提高菌群的稳定性, 在基础组合中分别添加剩余的 4 株优势菌, 降解番茄酱加工废水 (TOC 194.00 mg · L⁻¹), 测定降解率和 CG/TOC。

图 5 表明, 三菌组合的降解率与 (T9, T10) 相差不多, 而 CG/TOC 却呈现不同的趋势。其中 (T7, T9, T10) 和 (T8, T9, T10) 两个组合的 CG/TOC 分别为 1.38 和 1.58, 污泥产量较少, 因而选取这两个组合作为进一步优化的组合。

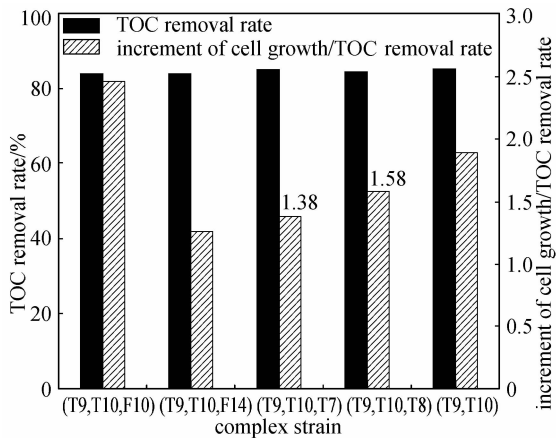


图 5 三菌复配 TOC 降解率和 CG/TOC

Fig. 5 Increment of cell growth/TOC removal rate and TOC removal rates of three complex strains

在上述组合中分别添加优势降解菌 F10 和 F14, 结果如图 6 所示, 复配菌组合的 CG/TOC 都有显著下降, 最低达到 0.38, 而降解率几乎不变,

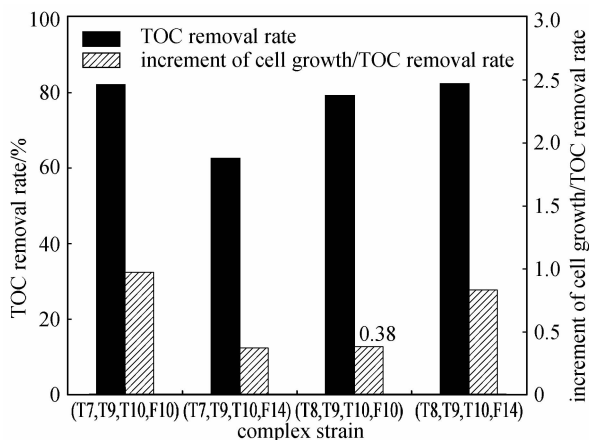


图 6 四菌复配 TOC 降解率和 CG/TOC

Fig. 6 Increment of cell growth/TOC removal rate and TOC removal rates of four complex strains

体现了优势降解菌株组合对污泥减量化的影响。综合考虑降解率和 CG/TOC, 最终确定 (T7, T9, T10, F10), (T8, T9, T10, F10) 和 (T8, T9, T10, F14) 为优势降解组合。

2.4 优势降解组合沉降性能强化研究

将好氧菌群运用到实际的废水处理工艺中, 不仅要求具有较高的处理效率和较低的污泥生长量, 而且要求具有良好的絮凝性和沉降性。因此, 以上述优势降解组合为基础, 分别通过单独添加和组合添加沉降性好的 F2、F7a 和 F11 菌株来强化其沉降性能。单独添加设计如表 1 所示。

由图 7 可知, 单独添加一株沉降性好的菌并不都能显著提高复配菌群的沉降性能。与 (T7, T9,

表 1 组合菌群设计

Table 1 Design of complex strains

Serial number	Different compatibility	Serial number	Different compatibility
1	(T7, T9, T10, F10), F2	7	(T8, T9, T10, F14), F2
2	(T7, T9, T10, F10), F7a	8	(T8, T9, T10, F14), F7a
3	(T7, T9, T10, F10), F11	9	(T8, T9, T10, F14), F11
4	(T8, T9, T10, F10), F2	10	(T7, T9, T10, F10)
5	(T8, T9, T10, F10), F7a	11	(T8, T9, T10, F10)
6	(T8, T9, T10, F10), F11	12	(T8, T9, T10, F14)

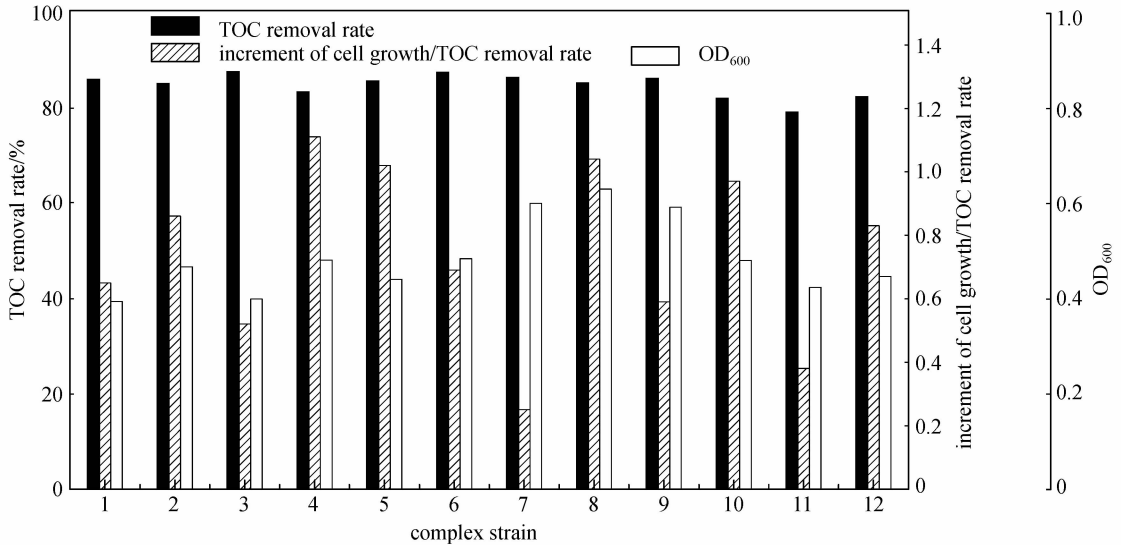


图 7 添加一株沉降性好的菌后各组合的降解率、CG/TOC 和 OD₆₀₀

Fig. 7 TOC removal rate, increment of cell growth/TOC removal rate and OD₆₀₀ of complex strains adding one strain with good hesludge settling property

表 2 组合菌群设计

Table 2 Design of complex strains

Serial number	Different compatibility	Serial number	Different compatibility
1	[(T7, T9, T10, F10), F2, F3b]	7	[(T7, T9, T10, F10), F2, F3b, F7a]
2	[(T7, T9, T10, F10), F2, F7a]	8	[(T7, T9, T10, F10), F2, F3b, F11]
3	[(T7, T9, T10, F10), F2, F11]	9	[(T7, T9, T10, F10), F2, F7a, F11]
4	[(T7, T9, T10, F10), F3b, F7a]	10	[(T7, T9, T10, F10), F3b, F7a, F11]
5	[(T7, T9, T10, F10), F3b, F11]	11	(T7, T9, T10, F10) the control group
6	[(T7, T9, T10, F10), F7a, F11]		

T10, F10) 复配构成的新组合的 TOC 降解率均在 80% 以上, 且 CG/TOC 也比原组合小, 沉降性能提高了 17.92%。因此后续实验以 (T7, T9, T10, F10) 组合为基础, 通过添加多株沉降性好的 F2, F7a, F11 和 F3b 菌株进行组合添加, 来提高整个菌群的沉降性能。各组合设计如表 2 所示。

由于菌群的沉降性直接关系到出水水质及菌群的稳定性, 较好的沉降性能能够有效地减少后续处理环节、维持菌群数量和有利于出水回用, 因此在不

显著影响降解效果和菌体增长量的前提下应选择沉降性较好的组合。如图 8 所示, 添加多株沉降性好的菌后各组合的沉降性能均有一定的改善, 其中 10 号组合的 OD₆₀₀ 值仅为 0.347, 比对照降低了 27.71%。同时 10 号组合的 TOC 降解率变化不大, 出水可以达到国家二级排放标准; 10 号组合的单位 TOC 降解率的菌体增长量为 0.94, 与基础组合相比污泥产量减少了 50.26%。因此选择 10 号组合作为构建的复合微生物菌群, 可同时满足较优的

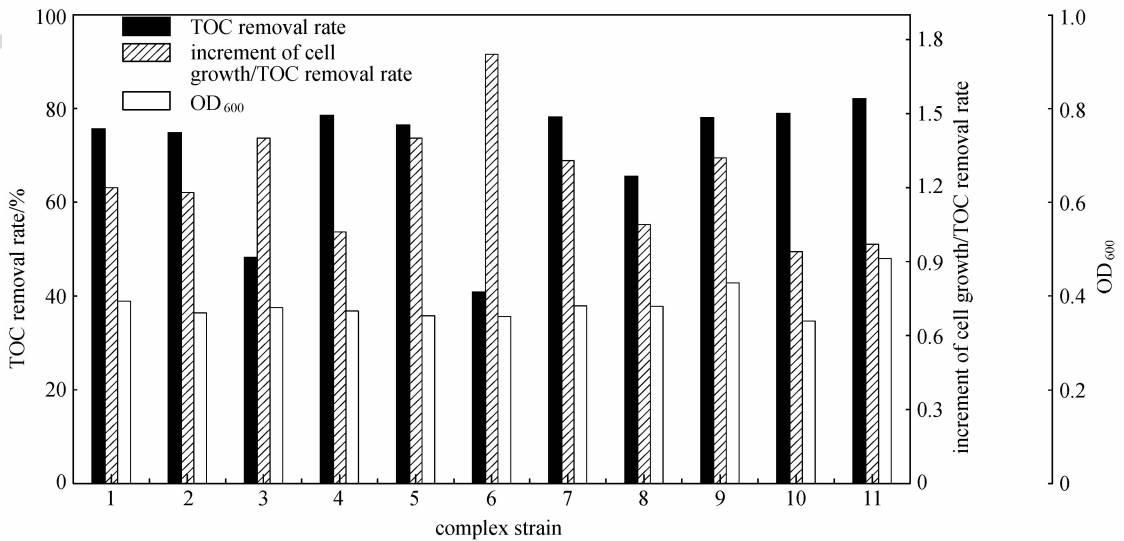


图 8 添加多株沉降性好的菌后各组合的降解率、CG/TOC 和 OD₆₀₀

Fig. 8 TOC removal rate, increment of cell growth/TOC removal rate and OD₆₀₀ of complex strains adding multi-strains with good hesludge settling property

降解效果、较少的污泥产量和优良沉降性的要求。确定 10 号组合为所构建的高效优势菌群。

3 结 论

从好氧-厌氧耦合法处理番茄酱加工废水反应器的好氧区中分离得到 29 株单菌，经摇瓶降解实验确定 6 株好氧降解优势菌和 4 株沉降性能好的菌。经过配伍最终得到一组降解率较高、污泥产量少、沉降性较好的复配菌群 (T7, T9, T10, F10, F3a, F7b, F11)，TOC 降解率达到 78.92%，CG/TOC 为 0.94，污泥产量减少了 50.26%，沉降性能明显提高，OD₆₀₀ 值仅为 0.347。构建的菌群能够满足番茄酱加工废水处理的基本要求，将来通过摇瓶、发酵罐大批量的培养已知微生物接种至反应器中，可以解决污泥培养、驯化时间长等问题，有效地降低处理费用。同时在处理过程中可以根据外界条件和处理效果等因素的变化，适时地选择添加不同的优势微生物，保持处理工艺的高效性和稳定性。通过实时监测处理过程中各菌的动态变化，从微观上控制各个单菌实现宏观上的功能调节，实现处理过程的优化控制。

References

- [1] Han Qin (韩芹芹), Yan Yuehui (杨越辉), Jiang Fengqing (姜逢清). Disposal and utilization measures of the wastewater produced in the tomato paste production in Xinjiang. *Arid Environmental Monitoring* (干旱环境检测), 2006, **20** (2): 97-98
- [2] Li Weijun (李维军). Treatment of organic wastewater from tomato paste processing by aerobic-anaerobic coupled of microbe [D]. Xinjiang: Shihezi University, 2007
- [3] Li Weijun (李维军), Cao Peng (曹鹏), Li Chun (李春), Lu Jianjiang (鲁建江). Treatment of organic wastewater from tomato paste processing by coupled aerobic-anaerobic process. *Journal of Chemical Industry and Engineering (China)* (化工学报), 2006, **57** (12): 2971-2975
- [4] Whiteley A S, Bailey M J. Bacterial community structure and physiological state within an industrial phenol bioremediation system. *Applied Environmental Microbiology*, 2000, **66** (6): 2400-2407
- [5] Ma Xiping (马溪平), Qiu Yuan (邱媛), Xu Chengbin (徐成斌), Li Fayun (李法云), Fu Baorong (付保荣), Hui Xiujuan (惠秀娟), Guan Chongbin (关崇斌). Analysis of the microbial community of activated sludge in a treatment system of medicine wastewater from pharmaceuticals production by ERIC-PCR fingerprinting. *Journal of Liaoning University* (辽宁大学学报), 2008, **35** (2): 158-161
- [6] Ma Lihua (马丽华), Zhang Daofang (张道方), Huang Minsheng (黄民生), Xie Bing (谢冰). Research and application advancements on activated sludge microbial molecular ecology. *Water Purification Technology* (净水技术), 2005, **24** (1): 33-35
- [7] Arlene K Rowan, Jason R Snape, David Fearnside. Composition and diversity of ammonia-oxidizing bacterial communities in wastewater treatment reactors of different design treating identical wastewater. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, **43** (2): 195-206
- [8] Nico Boon, Wim De Windt, Willy Verstraete, Eva M

- Top. Evaluation of nested PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) with group-specific 16S rRNA primers for the analysis of bacterial communities from different wastewater treatment plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, **39**: 101-112
- [9] Zhao Jihong (赵继红), Li Jixiang (李继香), He Shuying (何淑英), Hu Zongtai (胡宗泰), Wang Yingge (王英阁). Bacterial community of intermittent aeration sulfate wastewater treatment system. *Chinese Journal of Environmental Engineering* (环境工程学报), 2008, **2** (7): 916-921
- [10] Yuki Mirian, Mirian Noriko Hiraiwa, Tsukasa Ito, Takanori Itonaga, Yoshimasa Watanabe, Satoshi Okabe. Bacterial community structures in MBRs treating municipal wastewater: relationship between community stability and reactor performance. *Water Research*, 2007, **41** (3): 627-637
- [11] Chang Lee, Jaai Kim, Hyojin Do, Seokhwan Hwang. Monitoring thiocyanate-degrading microbial community in relation to changes in process performance in mixed culture systems near washout. *Water Research*, 2008, **42** (4/5): 1254-1262
- [12] Liu Xinchun (刘新春), Wu Chengqiang (吴成强), Zhang Yu (张昱), Yang Min (杨敏), Li Hongyan (李红岩). Application of polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE) to the analysis of changes of microbial ecological communities in activated sludge systems. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2005, **25** (4): 842-847
- [13] Li Huazhi (李华芝), Li Xiuyan (李秀艳), Liu Jun (刘军), Huang Minsheng (黄民生), Yu Xuezhen (于学珍), Xu Yatong (徐亚同). Analysis of biofilm microbial community structure dynamics by ERIC-PCR fingerprinting for eutrophication water purification. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* (应用与环境生物学报), 2007, **13** (2): 248-252
- [14] State Environmental Protection Administration and Editorial Board of Water and Exhausted Water Monitoring Analysis Method (国家环保总局水和废水检测分析方法编委会). *Water and Exhausted Water Monitoring Analysis Method (水和废水分析监测方法)*. 4th ed. Beijing: China Environmental Science Press, 2002: 211
- [15] Xiao Lin (肖琳), Yang Liuyan (杨柳燕), Yin Daqiang (尹大强), Zhang Minyue (张敏跃). *Environmental Microbiology Experimental Technique (环境微生物实验技术)*. Beijing: China Environmental Science Press, 2004: 31-33