

固定化反硝化菌强化MBBR处理水产养殖废水的研究

申璐莹, 罗轩阳, 杨旭, 王一涵, 王心怡, 马雯睿, 陈兴都

西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西 西安

收稿日期: 2024年4月10日; 录用日期: 2024年5月13日; 发布日期: 2024年6月26日

摘要

通过将高效脱氮细菌包埋在废旧纺织布表面, 形成高生物量的柔性多孔填料, 投加到移动床生物膜反应器MBBR中, 探究不同HRT和包埋菌量对MBBR处理水产养殖废水的强化处理效能。结果表明: 投加菌量为80 ml, HRT为8h时脱氮处理效果最好, TN去除率达到98.94%, NO_2^- -N的积累量仅为0.11 mg/L; 包埋菌在脱氮过程起着主要作用, 其他硝化和反硝化生物种群丰度随时间逐渐增加。采用该工艺净化水产养殖废水具有可行性和实用性。

关键词

水产养殖, MBBR, 固定化反硝化菌, 废水处理

Research on Enhanced Treatment Efficiency of Aquaculture Wastewater by MBBR Embedding Denitrification Bacteria

Luying Shen, Xuanyang Luo, Xu Yang, Yihan Wang, Xinyi Wang, Wenrui Ma, Xingdu Chen

School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an Shaanxi

Received: Apr. 10th, 2024; accepted: May 13th, 2024; published: Jun. 26th, 2024

Abstract

A flexible porous filler with high biomass was formed by embedding high-efficiency denitrification bacteria on the surface of waste textile cloth, and then added to the moving bed biofilm reactor (MBBR) to investigate the enhanced treatment efficiency of aquaculture wastewater treated by

文章引用: 申璐莹, 罗轩阳, 杨旭, 王一涵, 王心怡, 马雯睿, 陈兴都. 固定化反硝化菌强化 MBBR 处理水产养殖废水的研究[J]. 环境保护前沿, 2024, 14(3): 575-583. DOI: 10.12677/aep.2024.143079

MBBR with different HRT and embedding bacteria. The results showed that the nitrogen removal rate reached 98.94%, and the accumulation of $\text{NO}_2^- \text{-N}$ was only 0.11 mg/L when the bacteria dosage was 80ml and HRT was 8h. The embedded bacteria played a major role in the nitrogen removal process, and the abundance of other nitrifying and denitrifying organisms increased gradually with time. It is feasible and practical to purify aquaculture wastewater by this process.

Keywords

Aquaculture, MBBR, Immobilized Denitrifying Bacteria, Wastewater Treatment

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

全球的水产养殖业正在快速增长,我国作为主产国,2020年水生动物产量在全球总产中占比达到35% [1]。但是,大量的产量背后也存在严峻的环境问题。水产养殖废水中含有有害的含氮废物、悬浮的无机颗粒和大量的细菌絮凝体,由此会造成水质的降低,对养殖的水生物的生长和繁殖产生不利影响[2]。通过废水处理技术对养殖废水进行处理回用或达标排放,对养殖业健康发展和水资源保护具有重要意义。

生物处理技术可实现高效水质净化和循环利用,是资源节约型和环境友好型生产方式,是水产养殖废水处理技术的发展方向。目前,生物处理技术主要包括生物膜法、膜生物反应器、生物过滤器、人工湿地、投加高效微生物菌剂和固定化微生物等[3] [4] [5]。移动床生物膜反应器(moving bed biofilm reactor, MBBR)是在传统活性污泥法和生物膜法的基础上发展起来的一种新型高效的污水处理技术,具有抗冲击负荷能力强、脱氮效率高、无需反冲洗、经济高效等优点[6] [7]。固定化包埋生物强化技术是在传统的生物处理技术中投加具有特定功能的固定化包埋微生物,增强生物处理单元优势菌体的浓度,使系统具备或强化对目标污染物降解能力或去除效率,从而提高系统水处理效果[8] [9]。

本研究采用 MBBR + 固定化硝化反硝化菌技术,强化 MBBR 的脱氮效能,旨在解决现有养殖废水生物处理工艺普遍存在的启动速度慢、降解效率低等问题。此外,将高效脱氮菌包埋在废旧纺织品载体表面,形成高生物量的柔性多孔填料,以期探寻一种利用废旧纺织品做填料骨架的“废物资源化利用”的可能途径。

2. 材料与方法

2.1. 不同布料挂膜性能比较

实验选取纯棉、麻布、涤棉布、聚酯纤维(涤纶)、尼龙、牛仔布六种布料作为填料载体,进行挂膜性能测试。挂膜粘合剂选用琼脂,将填料裁成等面积大小(10 * 10 cm, 100 cm²),浸入加热融化的 20 g/L 琼脂溶液中,充分浸润后取出,自然冷却形成挂膜。挂膜后通过挂膜量和耐用性评估不同材质的挂膜性能。

2.2. 实验装置

MBBR 反应器装置的长、宽、高分别为 20 cm、20 cm 和 15 cm,有效容积为 5 L (图 1)。装置通过底部进水口进水,上部出水口出水,进出水流速由蠕动泵控制,保证反应器内水体交换。曝气管安装在装置底部,提供微生物降解污染物所需的溶解氧。在每个反应器内侧卡槽内固定 6 块填料载体,确保其不存在折叠、脱落现象。填料载体为已固定包埋硝化反硝化细菌的布料(尺寸 18 * 15 cm)。

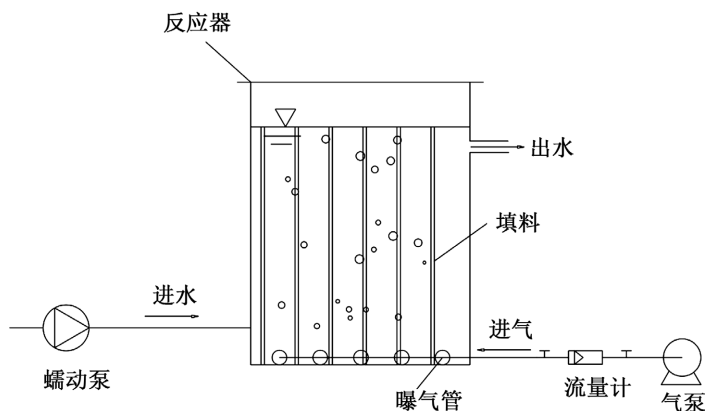


Figure 1. Schematic diagram of MBBR reactor installation
图 1. MBBR 反应器装置示意图

2.3. 实验装置及运行方式

设置 R1、R2、R3 三个反应器。R1、R2 为实验组，R3 作为对照组，固定化包埋载体的菌悬液分别为 40 mL，80 mL，0 mL，每个反应器固定 6 块填料载体。实验进水采用人工模拟水产养殖废水，养殖废水的初始 COD 浓度为 110 mg/L、氨氮浓度为 5 mg/L、硝氮浓度为 5.2 mg/L、总氮浓度为 10.8 mg/L，具体成分见表 1。反应器分三个阶段连续运行 30 d，试验运行工况见表 2。

载体填料上的固定化包埋菌株为具有好氧硝化反硝化能力的不动杆菌属(*Acinetobacter sp.*) S1 菌株和假单胞菌属(*Pseudomonas sp.*) W5 菌株。将 S1 和 W5 菌株分别在牛肉膏蛋白胨培养液中 35℃ 摇床培养 48 h，各取 300 mL 培养液离心，弃去上清液，再加入纯水定容至 100 mL，获得 S1 和 W5 的浓缩菌悬液各 100 mL。取等量 S1 和 W5 浓缩菌悬液搅拌加入融化的 20 g/L 琼脂溶液中，再将裁好的布料放入至布料充分浸润后取出，自然冷却形成挂膜，获得 40 mL 包埋菌量的固定化包埋载体填料。80 mL 菌悬液的固定化包埋载体填料则含有 S1 和 W5 浓缩菌悬液各 40 mL。

Table 1. Formula of artificial aquaculture wastewater
表 1. 人工模拟水产养殖废水配方

主要成分	质量浓度
NH ₄ Cl	5 mg/l
KNO ₃	6 mg/l
KH ₂ PO ₄	3 mg/l
C ₆ H ₁₂ O ₆	122 mg/l
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.03 mg/l
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.12 mg/l
H ₃ BO ₃	0.15 mg/l
FeCl ₃	0.9 mg/l
KI	0.18 mg/l
EDTA	10 mg/l
pH	7.0

Table 2. Reactor operating condition
表 2. 反应器运行工况

运行阶段	运行时间	运行工况
第一阶段	10 d	HRT = 12 h
		膜量 = 0.2 m ³ DO = 6 mg/l
第二阶段	10 d	HRT = 10 h
		膜量 = 0.2 m ³ DO = 6 mg/l
第三阶段	10 d	HRT = 8 h
		膜量 = 0.2 m ³ DO = 6 mg/l

2.4. 微生物群落结构测定

在反应器运行 30d 第三阶段结束时, 刮取填料及附着在填料表面的生物膜, 测定微生物群落结构。本实验采用高通量测序对生物膜中细菌群落进行检测。首先从不同样品中提取 DNA, 利用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测提抽的基因组 DNA。再进行 PCR 扩增, 所有 PCR 反应均使用 TransGen AP221-02: TransStart Fastpfu DNA Polymerase, 20 μ l 反应体系进行。扩增选择区域为 16S rRNA V3-V4 区。341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) 和 806R (GGACTACNNGGGTATTCTAAT) 引物用于进行扩增。每个样本 3 个重复, 将同一样本的 PCR 产物混合后进行电泳检测, 使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 切胶回收 PCR 产物, Tris_HCl 洗脱; 2% 琼脂糖电泳检测。参照电泳初步定量结果, 将 PCR 产物用 QuantiFluorTM-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega 公司) 进行检测定量, 之后按照每个样本的测序量要求, 进行相应比例的混合。随后, 所有 PCR 序列纯化后均使用 illumina 公司的 MiSeq PE300 进行扩增, 试剂采用 TruSeqTM DNA Sample Prep Kit。纯化和测序均由上海美吉生物医药科技有限公司 (Shanghai Majorbio Bio-pharm Technology Co., Ltd) 完成。利用 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) 将纯化的 16S rDNA 基因序列与 GenBank 中现有的 16S rDNA 基因序列进行比较。

2.5. 水质指标测定

在 MBBR 实验装置连续进水的第 1 天开始, 定期对进出水取样, 水样经 0.45 μ m 滤膜过滤后, 测定氨氮 (NH₄⁺-N)、亚硝态氮 (NO₂⁻-N)、硝态氮 (NO₃⁻-N)、总氮 (TN)、化学需氧量 (COD) 等水质参数。水质测定方法参考国家环保总局《水和废水监测分析方法》[10]。

3. 结果与讨论

3.1. 不同布料挂膜的性能

如表 3 所示, 棉布、麻布、涤棉布、牛仔布相对聚酯纤维、尼龙布挂膜量较多, 因其粗糙程度相对较大, 故而挂膜量大, 且孔隙率较大, 缝隙中夹杂的微生物含量大。此外, 涤棉布在干、湿情况下弹性和耐磨性都较好, 伸展性也较好, 尺寸稳定。结合各项性能综合考虑, 最终确定挂膜填料为涤棉, 以此进一步开展后续实验。

Table 3. Packing properties comparison table
表 3. 填料性能对比表

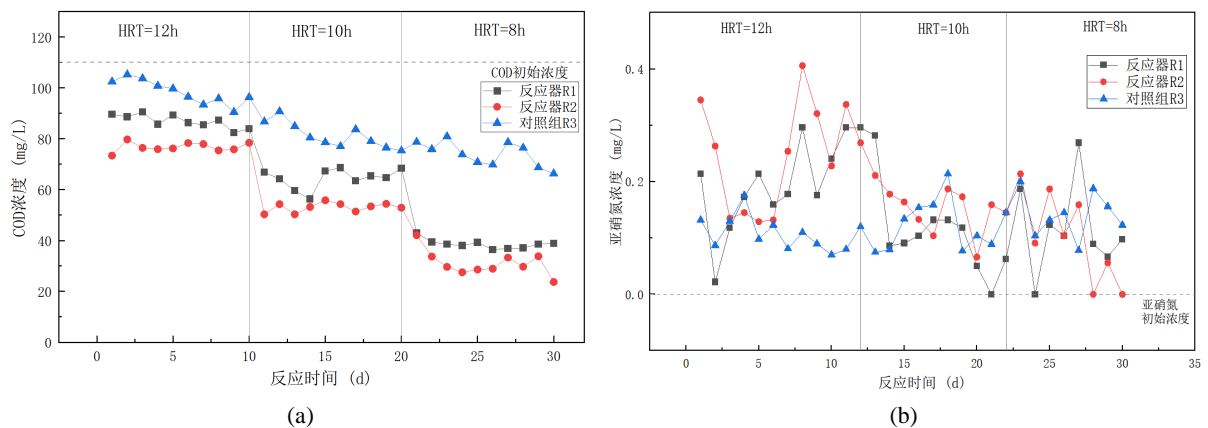
类型	纯棉	麻布	涤棉布	聚酯纤维(涤纶)	尼龙	牛仔布
粗糙度	较大	大	较大	较小	小	较大
挂膜量	较多	较多	较多	较少	较少	较多
耐用性	较差	较差	较好	好	好	较好

3.2. HRT 和包埋菌量对反应器水质指标的变化影响

如图 2(a)所示, HRT 和包埋菌量能够影响 COD 的去除效率。在 HRT 为 12 h 时, 包埋菌实验组 R1、R2 COD 的去除率分别为 21.00%、30.24%; 在 HRT 为 10 h 时, R1、R2 COD 的去除率分别为 41.29%、51.79%; 在 HRT 为 8 h 时, R1、R2 COD 的去除率分别为 64.91%、71.74%。而对照组 R3 在 12 h、10 h、8 h 的 COD 去除率分别为 10.52%、26.11%、32.74%。结果表明, 包埋菌量越多, HTR 越短, COD 去除效果越好。

HRT 和包埋菌量也能够显著影响 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN 去除率和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累量。如图 2(b)~(e)所示, 第一阶段 HRT = 12 h 时, 包埋菌实验组 R1、R2 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均去除率分别为 85.04%、90.12%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的平均去除率分别为 62.81%、71.35%; TN 的平均去除率分别为 73.91%、79.45%; $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的平均积累量分别为 0.18 mg/L、0.24 mg/L。第二阶段 HRT = 10 h 时, 实验组 R1、R2 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均去除率分别为 90.72%、95.16%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的平均去除率分别为 74.33%、83.83%; TN 的平均去除率分别为 81.87%、88.29%; $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的平均积累量分别为 0.16 mg/L、0.18 mg/L; 第三阶段 HRT = 8 h 时, 实验组 R1、R2 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均去除率分别为 96.88%、98.94%, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的平均去除率分别为 88.94%、94.46%; TN 的平均去除率分别为 92.31%、95.81%; $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的平均积累量分别为 0.10 mg/L、0.11 mg/L。与未加固定化硝化反硝化菌对照组相比, 加菌实验组对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN 的去除率更高, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的积累量则没有显著差别。

综上所述, 反应器在投加菌量为 80 ml, HRT 为 8 h 时脱氮处理效果最好。水力停留时间 HRT 是影响生物脱氮的一个重要操作参数[11]。适宜的 HRT 能让微生物更好地适应营养物质和环境条件, 但过高的水力停留时间虽能为复合菌群与养殖废水提供更长的接触时间, 提高反应器脱氮效率, 但长时间的停留会使有机碳源得不到及时补充, 且造成底物浓度过高, 从而使反应系统中的微生物产生竞争作用, 且过高底物浓度对脱氮菌有抑制作用, 从而导致 HN-AD 复合菌处于劣势地位, 造成脱氮效果不佳的结果[12]。此外, 提高投加硝化反硝化菌量使得反应器获得了更多的脱氮菌群细胞数量, 从而提高反应器脱氮效率。



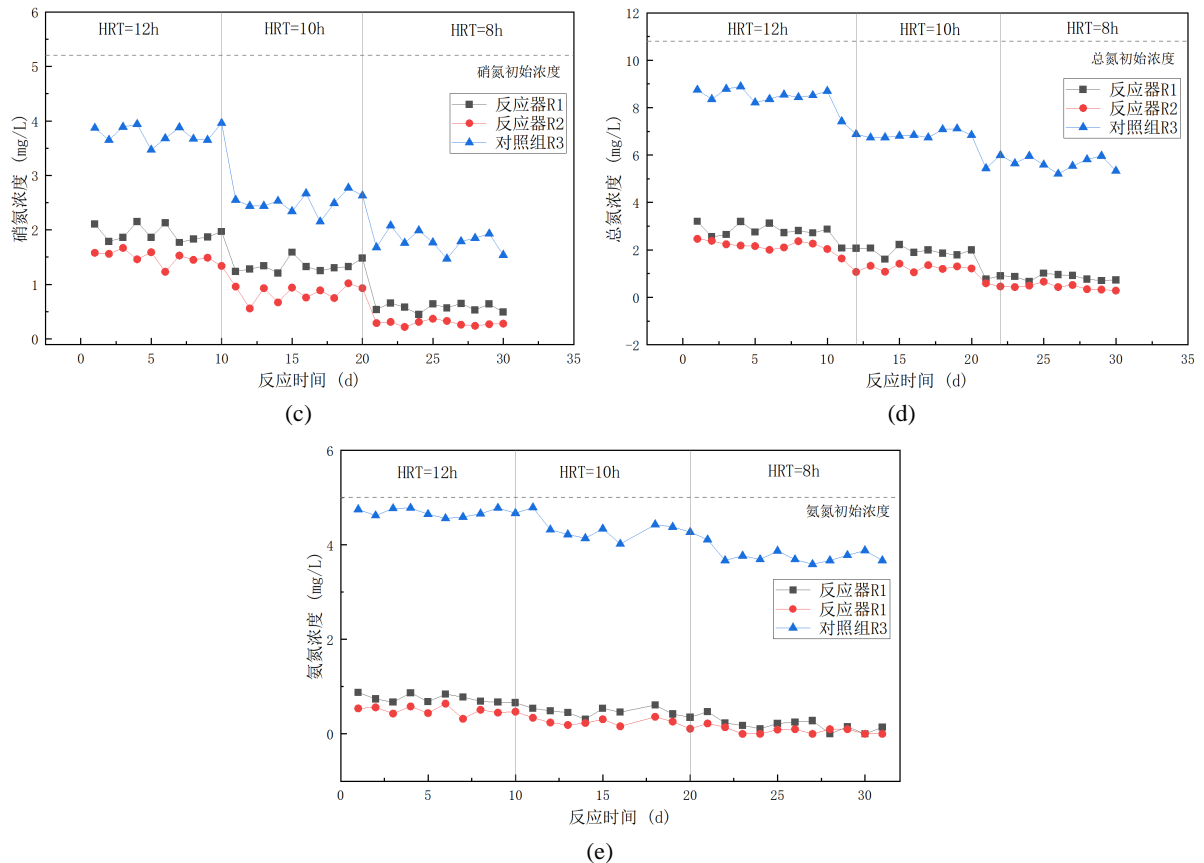


Figure 2. Removal rates of COD (a), $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (b), $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (c), TN (d) and accumulation of $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (e) under different HRT and embedded bacteria quantity

图 2. 不同 HRT 和包埋菌量下的 COD (a)、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (b)、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (c)、TN (d)去除率和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ (e)积累量

3.3. 生物种群结构分析

对生物膜和处理水样的宏基因组序列分析结果见图 3 和图 4。由图 3 可知, 各反应器中鉴定出的门细菌主要有变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)、疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)和厚壁菌门(*Firmicutes*)。 *Proteobacteria* 为各反应器中检测出的优势菌门, 其相对丰度范围为 87.32%~93.60%, *Bacteroidota* 相对丰度仅次于 *Proteobacteria*, 占比为 2.77%~8.00%。 *Proteobacteria* 和 *Bacteroidota* 广泛存在于城市污水处理系统中, 在有机物降解和反硝化过程中起重要作用[13] [14] [15]。 *Bacteroidota* 是一种化能异养细菌, 有利于促进含氮物质的利用、类固醇生物转化及水解大分子物质[16]。 *Actinobacteriota* 和 *Firmicutes*, 分别占 0.35%~1.51%和 0.067%~1.86%。 *Actinobacteriota* 分泌的细胞外酶, 如几丁质酶、木质素酶、木聚糖和果胶酶等, 能够有利于水体中有机物的降解[17]。

图 4 是各样品微生物群落在属水平上的相对丰度变化。由图 4 可知, 在属水平上, 样品中相对丰度较高的属有固氮螺旋菌属(*Azospirillum*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、鞘脂菌属(*Sphingobium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、戴尔福特菌属(*Delftia*)、未分类肠杆菌(*unclassified_f_Enterobacteriaceae*)、丛毛单胞菌属(*Comamonas*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、申氏杆菌属(*Shinella*)、*Variovorax* (贪噬菌属)等。 *Acinetobacter* 和 *Pseudomonas* 丰度最高, *Pseudomonas* 和 *Acinetobacter* 属典型 HN-AD 菌, 具有较强异相硝化和好氧反硝化能力[18] [19]。

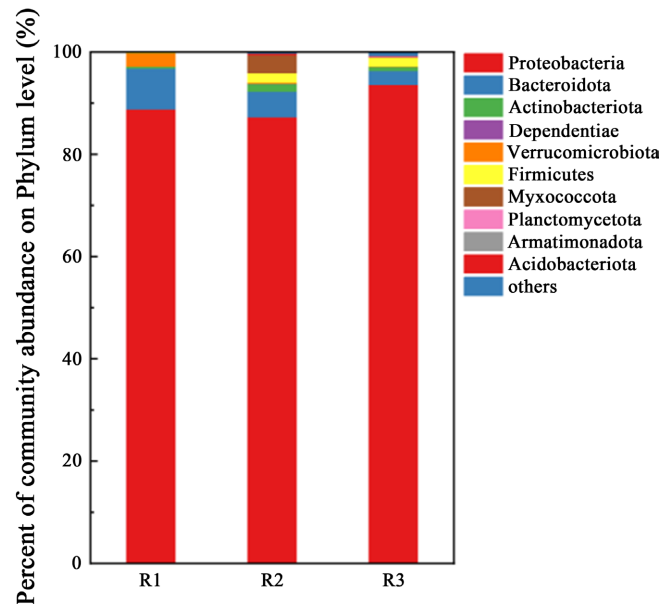


Figure 3. Changes in the relative abundance of microbial communities at gate level
图 3. 微生物群落在门水平上相对丰度的变化

三个反应器的 *Pseudomonas* 和 *Acinetobacter* 丰度均较高，原因是自来水中这些菌本身属于优势菌，在含氮较高水中会大量繁殖的结果。此外，包埋假单胞菌属 *Pseudomonas* sp. W5 和不动杆菌属 *Acinetobacter* sp. S1 的琼脂载体表面出现一定程度的腐蚀水化，导致部分包埋细菌的脱落进入到反应器中繁殖是其另外一个来源。

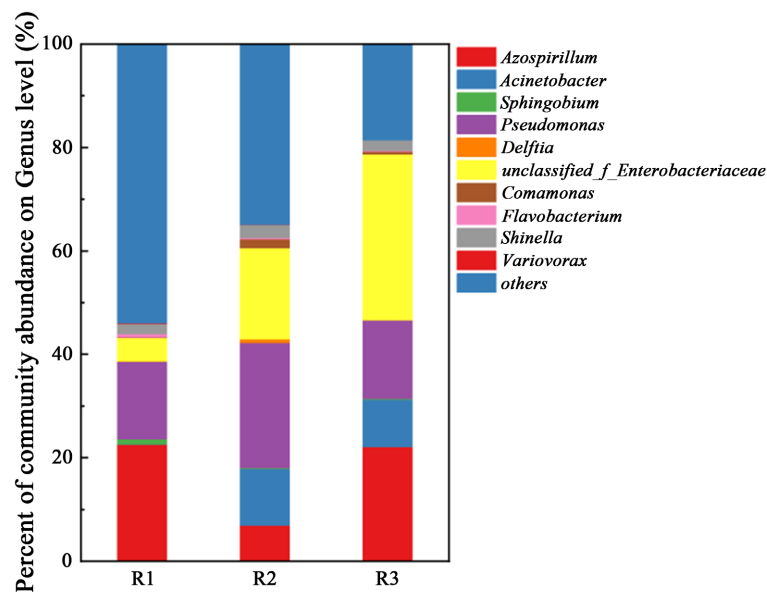


Figure 4. Changes in relative abundance of microbial communities at genus level
图 4. 微生物群落在属水平上相对丰度的变化

4. 结论

本文主要研究了固定化反硝化菌强化 MBBR 处理水产养殖废水的影响因素和效果，主要结论如下：

- 1) HRT 和投加菌量对反应系统的脱氮效率具有显著影响, 投加菌量为 80 mL, HRT 为 8 h 条件下, 脱氮效果最好。
- 2) 固定化硝化反硝化菌对脱氮过程起主要作用, 随着时间延长, 微生物多样性增加, 其他硝化和反硝化菌大量繁殖并参与脱氮过程。
- 3) 布料为填料的固定化硝化反硝化菌生物反应器长时间运行条件下, 布料耐用性较好, 反应器脱氮性能稳定, 为养殖废水脱氮提供一种新的处理工艺。

基金项目

国家自然科学基金面上项目(项目编号: 52170051) ——污泥颗粒化中基于共凝集介导的功能菌群选择性滞留及菌群结构定向调控。国家级大学生创新创业训练计划(SSRT)项目(项目编号: 202310703008) ——固定化复合菌强化 MBBR 同步去除水产养殖废水中抗生素和氮素的应用研究。

参考文献

- [1] Food and Agriculture Organization of the United Nations (2022) The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation, Rome.
- [2] Shitu, A., Zhu, S., Qi, W., Tadda, M.A., Liu, D. and Ye, Z. (2020) Performance of Novel Sponge Biocarrier in MBBR Treating Recirculating Aquaculture Systems Wastewater: Microbial Community and Kinetic Study. *Journal of Environmental Management*, **275**, Article 111264. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111264>
- [3] 韩炳泉, 郭志涛, 蒋磊. 移动床生物膜变形工艺原位处理水产养殖废水的研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(12): 7270-7271+7277.
- [4] 陈相林. 人工湿地对水产养殖废水中氮磷的去除效能分析[J]. 江西水产科技, 2020(2): 37-38.
- [5] 王晓瞳, 杨宏, 苏杨, 等. 包埋厌氧氨氧化菌的环境因子影响特性及群落结构分析[J]. 环境科学, 2020, 41(2): 839-848.
- [6] 贾倩, 胡亚伟, 靳晓辉. 一体化生活污水处理设备 A2/O-MBBR 新工艺处理效果分析[J]. 人民黄河, 2022, 44(S2): 136-138.
- [7] Gapes, D.J. and Keller, J. (2009) Impact of Oxygen Mass Transfer on Nitrification Reactions in Suspended Carrier Reactor Biofilms. *Process Biochemistry*, **44**, 43-53. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.09.004>
- [8] Herrero, M. and Stuckey, D.C. (2015) Bioaugmentation and Its Application in Wastewater Treatment: A Review. *Chemosphere*, **140**, 119-128. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.033>
- [9] 张玮. HN-AD 复合菌强化 MBBR 去除水产养殖废水中氮素的效果研究[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 重庆工商大学, 2022.
- [10] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 第 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 227-281.
- [11] Torno, J., Naas, C., Schroeder, J.P. and Schulz, C. (2018) Impact of Hydraulic Retention Time, Backflushing Intervals, and C/N Ratio on the Sid-Reactor Denitrification Performance in Marine RAS. *Aquaculture*, **496**, 112-122. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.07.004>
- [12] Jiang, Q., Ngo, H.H., Nghiem, L.D., Hai, F.I., Price, W.E., Zhang, J., et al. (2018) Effect of Hydraulic Retention Time on the Performance of a Hybrid Moving Bed Biofilm Reactor-Membrane Bioreactor System for Micropollutants Removal from Municipal Wastewater. *Bioresour Technol*, **247**, 1228-1232. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.114>
- [13] Luján-Facundo, M.J., Fernández-Navarro, J., Alonso-Molina, J.L., Amorós-Muñoz, I., Moreno, Y., Mendoza-Roca, J.A., et al. (2018) The Role of Salinity on the Changes of the Biomass Characteristics and on the Performance of an OMBR Treating Tannery Wastewater. *Water Research*, **142**, 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.046>
- [14] Yuan, Y., Yang, B., Wang, H., Lai, X., Li, F., Salam, M.M.A., et al. (2020) The Simultaneous Antibiotics and Nitrogen Removal in Vertical Flow Constructed Wetlands: Effects of Substrates and Responses of Microbial Functions. *Bioresour Technol*, **310**, Article 123419. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123419>
- [15] Karanasios, K.A., Vasilidou, I.A., Pavlou, S. and Vayenas, D.V. (2010) Hydrogenotrophic Denitrification of Potable Water: A Review. *Journal of Hazardous Materials*, **180**, 20-37. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.04.090>
- [16] Lee, I., Parameswaran, P. and Rittmann, B.E. (2011) Effects of Solids Retention Time on Methanogenesis in Anaerob-

-
- ic Digestion of Thickened Mixed Sludge. *Bioresource Technology*, **102**, 10266-10272.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.079>
- [17] Hamdan, A.M., Abd-El-Mageed, H. and Ghanem, N. (2021) Biological Treatment of Hazardous Heavy Metals by *Streptomyces Rochei* ANH for Sustainable Water Management in Agriculture. *Scientific Reports*, **11**, Article No. 9314.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-88843-y>
- [18] 王加龙, 刘驰, 雷丽, 李香真, 姚敏杰. 非共生固氮菌及其固氮作用[J]. 微生物学报, 2022, 62(8): 2861-2878.
- [19] Zhang, J., Wu, P., Hao, B. and Yu, Z. (2011) Heterotrophic Nitrification and Aerobic Denitrification by the Bacterium *Pseudomonas Stutzeri* Yzn-001. *Bioresource Technology*, **102**, 9866-9869.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.118>