

有机化工废水 COD 高效降解菌的分离筛选及应用

张为艳^{1,2}, 刘鹏程¹, 郑凤娟¹, 吴敏², 张文武^{1,2}

(1. 杭州秀川科技有限公司, 浙江杭州 311121; 2. 浙江大学生命科学学院, 浙江杭州 310058)

[摘要] 利用有机化工废水培养基从新疆高海拔盐湖样品中分离筛选到 COD 降解菌 18 株, 对 COD 降解率高的 8 株菌株混合后处理废水, 与其他普通活性污泥相比, COD 去除率更高(86.3%)。经 16S rDNA 初步鉴定, 该 8 株菌分别属于拟杆菌门 Bacteroidetes、厚壁菌门 Firmicutes 和变形菌门 Proteobacteria。将该混合菌群用于生物曝气池试验, 添加尿素 0.75 g/L 作为氮源, 其 COD 降解率可达 82.5%; 添加金枪鱼蛋白胨 0.5 g/L 可使 COD 降解率提高到 92.2%。

[关键词] 有机化工废水; 菌株筛选; COD 降解

[中图分类号] X703

[文献标识码] A

[文章编号] 1005-829X(2016)08-0052-03

Separation, screening and application of efficient degradation microorganisms for improving COD removing rates from organic chemical wastewater

Zhang Weiyan^{1,2}, Liu Pengcheng¹, Zheng Fengjuan¹, Wu Min², Zhang Wenwu^{1,2}

(1. Hangzhou Trend Biotech Co., Ltd., Hangzhou 311121, China;

2. College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: 18 strains of COD degrading bacteria have been separated and screened from high altitude salt lake samples in Xinjiang Province by using organic chemical wastewater medium for treating wastewater, after mixed with 8 strains of bacteria which have high COD degrading rates. Compared to other ordinary activated sludge, the mixed strains show higher COD removing rate (86.3%). Being identified preliminarily by 16S rDNA analysis, it shows that these 8 strains of bacteria belong to the varieties, including Bacteroidetes, Firmicutes and Proteobacteria. The mixed bacterial floras are used in bio-aeration pool tests. The COD removing rate could reach 82.5%, by adding 0.75 g/L of urea as nitrogen sources. The COD degrading rate could be improved to 92.2%, by adding 0.5 g/L of tuna peptone.

Key words: organic chemical wastewater; strain screening; COD degradation

化工行业作为我国经济的支柱产业之一, 带来了巨大的经济效益, 但同时也造成严重的环境污染^[1]。特别是化工产业在生产过程中排放的大量有机废水, 严重危害人类的健康及生态环境的平衡。化工废水种类繁多, 组分复杂, 含有许多有毒、剧毒或致癌物质, 且废水的有机物浓度高, 一旦排进水体, 会在水中氧化分解, 消耗大量溶解氧, 严重的会造成水生生物死亡。此外, 化工行业用水量非常巨大, 排放的污水量也非常大, 水质、水量波动性大, 难以治理, 对生态安全和人体健康造成严重的威胁。

如何处理排放量巨大的化工有机废水是目前面临的一个严峻课题。对于有机化工废水的处理技术也有较多研究^[2-3], 主要包括破坏法(生化法、氧化法

和焚烧法等)和回收法(膜分离法、萃取法和吸附法等)。其中生化法具有经济、环保的优点, 越来越受到关注, 而生化法的核心是菌种, 因此, 菌种的筛选和工艺及相关条件的优化是最关键的因素。笔者用有机化工废水培养基从高海拔盐湖样品中分离筛选 COD 降解菌, 以期获得对化工有机废水 COD 降解率高的菌株及混合菌群, 并将其用于生物曝气试验。

1 材料与方法

1.1 试验废水及水质

试验废水采自湖北省某化工厂, 为强酸性高浓度废水, pH 为 1, 盐度 4%, 废水中含有有机溶剂甲醇、甲苯及正丁醇等, COD 为 16 160 mg/L, TP 为 3.2 mg/L, NH₃-N 未检出。

1.2 菌株来源、驯化与分离纯化

菌株分离样品采自新疆高海拔盐湖,其中阿牙克库木湖盐度 4.25%,鲸鱼湖盐度 2.1%,阿其克库勒湖盐度 7.18%,阿其克库勒湖 7.82%,艾比湖盐度 3.5%,伊吾湖盐度 6.94%。

培养基:将试验废水 pH 调节至 7.0 左右,向其添加 1 g/L 酵母粉、1 g/L 蛋白胨,121 ℃灭菌 20 min。若为固体培养基,则向其添加 2%的琼脂粉。

将各盐湖的样品按等比例混合,以 10%的接种量接种于无菌废水培养基中,28 ℃、120 r/min 摇床振荡培养 2 d,取 10%培养物重新接种于无菌废水培养基中继续培养 2 d,如此重复 3 次获得驯化菌群。菌株分离采用梯度稀释涂布法,将驯化后的菌液进行 0、10⁻¹、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵ 稀释,分别取 200 μL 各梯度稀释后的菌液涂布于固体平板上,于 28 ℃恒温培养箱中培养,直至长出明显菌落。用接种环挑取形态不同的单菌落,对其进行划线纯化至新鲜固体平板中,重复纯化 1 次,至获得纯的单菌落。

1.3 分离菌株对试验废水的处理

由于废水 pH 低,故先向废水中加入 5 g/L CaCO₃ (方解石,0.044 mm,325 目)反应 3 h,将废水 pH 调至 7.0 左右,CaCO₃ 处理结束后过滤除去沉淀,加入 0.5 g/L 尿素调节废水的碳氮比约为 200:5,得到处理后的废水。分别将分离的菌株扩大培养至菌浓度 OD₆₀₀ 为 0.5 左右,与处理后的试验废水按体积比 1:2 混合,置于 250 mL 锥形瓶中在 28 ℃、120 r/min 摇床处理,分别取 0、24、48 h 的样品测定其 COD。通过比较 COD 去除率,获得 COD 高效降解菌(48 h COD 去除率>60%)的纯菌株。将获得的 COD 高效降解菌进行等比例混合,用废水对其驯化 1 周。取驯化后的混合菌群对试验废水进行处理,分别测定 0、24、48 h 后的 COD。

同时进行普通活性污泥的废水 COD 降解试验,作为比较。其中普通活性污泥取自杭州市余杭镇污水处理厂好氧段的活性污泥,前期利用试验废水对该污泥进行驯化至稳定状态。

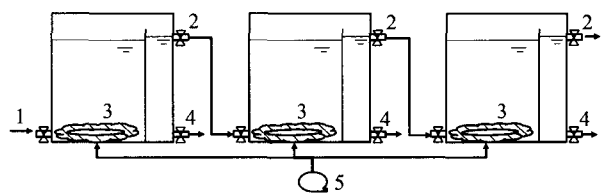
1.4 高 COD 去除率菌株的初步鉴定

选取 48 h COD 去除率>60%的菌株,利用酚/氯仿/异戊醇法提取各菌株 DNA,利用引物 27F 和 1492R 对各 DNA 进行 16S rRNA 基因序列 PCR 扩增^[4],得到的扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,将有条带的扩增产物送往测序公司(杭州铂尚生物测序有限公司)测序,测序结果提交至 NCBI 网站的 blast

在线比对软件(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)进行序列比对,对各菌株进行初步鉴定。

1.5 混合菌群的生物曝气池工艺应用试验

采用图 1 所示简易装置模拟生物曝气池工艺,应用上述 COD 降解混合菌进行污水处理模拟试验。废水已调节 pH 至 7.0 左右,接菌量 20%,容器有效容积 2 L。启动曝气,体系连续出水,控制水力停留时间为 48 h。



1—进水;2—出水;3—曝气器;4—排泥口;5—空压机

图 1 生物曝气池模拟试验

1.6 考察氮源对试验废水 COD 降解情况的影响

由于该试验废水的氮含量特别低,故添加不同量的尿素和金枪鱼蛋白胨(自制),研究适合 COD 降解试验的最优条件。

(1)添加尿素作氮源。尿素添加量分别为 0、0.25、0.5、0.75、1 g/L,处理 48 h 后取样测定 COD,观察尿素最适添加量。

(2)添加金枪鱼蛋白胨作氮源。金枪鱼蛋白胨的添加量分别为 0、0.25、0.5、0.75、1 g/L,处理 48 h 后取样测定 COD,观察金枪鱼蛋白胨最适添加量。

试验中 COD 的检测采用重铬酸钾法^[5]。混合菌群处理试验废水时,其 COD 为 3 次平行试验的测定平均值。

2 结果与讨论

2.1 菌株分离结果及其对试验废水 COD 的去除效果

试验共挑取 18 个单菌落,分别命名为 PAS1~PAS18,分别进行纯化,获得纯培养物。试验废水的初始 COD 为 16 160 mg/L,加入 CaCO₃ 处理 3 h 后 COD 为 11 350 mg/L。取各菌株分别处理试验废水,48 h COD 去除率>60%的菌株有 8 株,分别为 PAS1、PAS5、PAS6、PAS8、PAS11、PAS12、PAS15、PAS17,其具体 COD 去除率见表 1。

表 1 各菌株 48 h 对试验废水 COD 的去除率

菌株编号	48 h COD 去除率/%	菌株编号	48 h COD 去除率/%
PAS1	69.2	PAS11	73.1
PAS5	63.6	PAS12	81.6
PAS6	81.1	PAS15	67.8
PAS8	70.5	PAS17	78.9

将这 8 株菌株混合后对试验废水进行降解, COD 由 11 350 mg/L 降为 1 550 mg/L, 其 COD 去除率比各单菌株的去除效果都好 (COD 去除率高达 86.3%, 见图 2)。与普通活性污泥相比, 混合菌群的 48 h COD 去除率明显高于普通污泥 (62.3%), 见图 3。

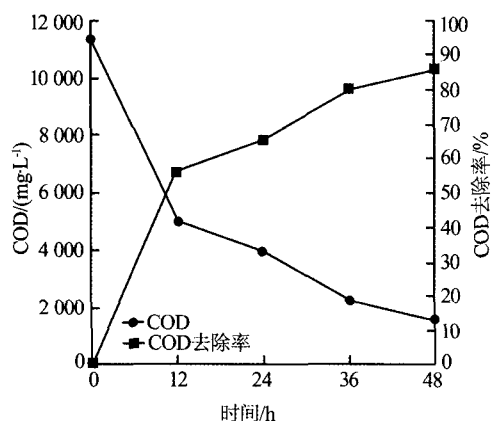


图2 混合菌群对试验废水的COD降解效果

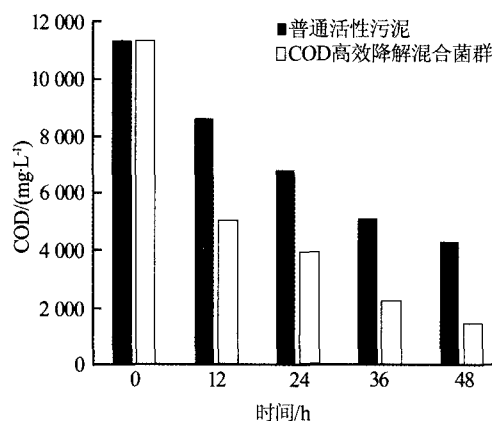


图3 混合菌群与普通活性污泥对COD的降解能力比较

2.2 菌种鉴定结果

对试验废水 COD 去除效果较好的 8 株菌进行 16S rDNA 初步鉴定, 这 8 株菌分别为 *Bacillus* sp. PAS11、*Flavobacterium* sp. PAS5、*Hyphomicrobium* sp. PAS12、*Ochrobactrum* sp. PAS8、*Pseudomonas* sp. PAS1、*Sphingobacterium* sp. PAS17、*Staphylococcus* sp. PAS6 和 *Stappia* sp. PAS15。它们分别属于拟杆菌门 Bacteroidetes (*Flavobacterium* sp. PAS5 和 *Sphingobacterium* sp. PAS17)、厚壁菌门 Firmicutes (*Bacillus* sp. PAS11 和 *Staphylococcus* sp. PAS6) 和变形菌门 Proteobacteria (*Hyphomicrobium* sp. PAS12、*Ochrobactrum* sp. PAS8、*Pseudomonas* sp. PAS1 和 *Stappia* sp. PAS5)。据文献报道^[6-9], 对处理废水的活性污泥进行可培和非培的研究, 表明多数细菌属于拟杆菌门、厚壁菌门和变形菌门, 试验结果与文献报道结果一致。

2.3 混合菌群生物曝气池工艺应用试验结果及氮源试验结果

混合菌群对废水的生物曝气池工艺应用试验结果表明, 48 h COD 去除率较低 (67.0%), 这是由于废水含氮量低, 而试验中未额外添加氮源。故需进一步研究氮源对 COD 降解率的影响。此外试验还发现该混合菌群的沉降性不佳, 难以形成菌胶团。

氮源对 COD 降解率的影响如图 4 所示。

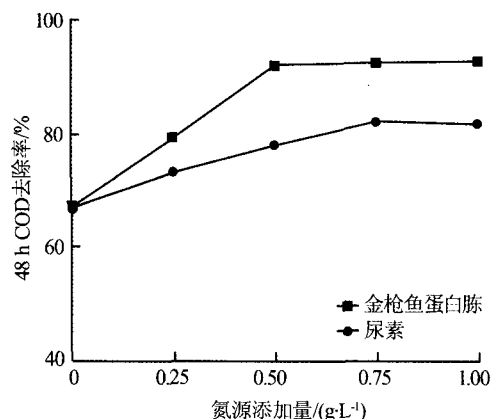


图4 氮源对COD降解率的影响

从图 4 可以看出, 未添加氮源的空白对照组其 48 h COD 去除率为 67.0%, 添加尿素可以促进混合菌株降解 COD, 最适尿素添加量为 0.75 g/L, 其 48 h COD 降解率可达到 82.5%。添加金枪鱼蛋白胨的效果更加明显, 最适金枪鱼蛋白胨添加量为 0.5 g/L, 其 48 h COD 降解率可达到 92.2%。

3 结论

(1) 试验废水为有机化工废水, pH 为 1 左右, 加入 NaOH 调节 pH 后废水中会出现絮状物, 改加 CaCO₃ 不但成本降低, 其处理效果也较好, 同时对 COD 也有一定的去除效果。(2) 向有机化工废水中加入适量蛋白胨和酵母粉作为培养基, 从盐湖样品中驯化、分离筛选出 18 株对该废水 COD 有降解能力的菌株, 其中有 8 株菌对废水 COD 48 h 去除率 > 60%, 效果最好的菌株为 PAS6, 其去除率高达 81.6%。经 16S rRNA 初步鉴定, 这 8 株菌分别属于拟杆菌门 Bacteroidetes (*Flavobacterium* sp. PAS5 和 *Sphingobacterium* sp. PAS17)、厚壁菌门 Firmicutes (*Bacillus* sp. PAS11 和 *Staphylococcus* sp. PAS6) 和变形菌门 Proteobacteria (*Hyphomicrobium* sp. PAS12、*Ochrobactrum* sp. PAS8、*Pseudomonas* sp. PAS1 和 *St-*

(下转第 112 页)

17、29 日完成 168 h 满负荷试运后转入商业运行,2015 年 4 月 5 日华能长兴电厂废水零排放系统调试完毕投产,顺利产出结晶盐,淡水分离后全部回用。

该系统对脱硫废水的零排放处理达到预期效果:(1)系统设备安全稳定。总处理水量 22 t/h,MBIC 及预处理系统按照近零排放系统水质最小 TDS 进行建设,结晶器按照近零排放系统水质最大 TDS 进行建设,保证系统在最小 TDS 和最大 TDS 时均能满足 80%~120%的设计负荷,最大处理量可达 26.4 m³/h。(2)产品技术节能环保。废水处理两大产品全部回用,一是形成的结晶盐,其中 NaCl 和 Na₂SO₄>95%,含水率<0.5%,外运结晶盐产量 418~711 kg/h;二是产出的纯净水全部回用于电厂锅炉补给水系统,每年节省淡水使用量约 10 万 t。(3)响应落实国家政策。通过膜浓缩结晶技术在电厂废水处理中的运用,避免了电厂高浓度脱硫废水的外排,做到真正的脱硫废水“零排放”。

参考文献

- [1] 辜涛,陈春华,韩宝军.燃煤电厂脱硫废水的零排放处理工艺[J].

科技资讯,2014,12(7):117.

- [2] 沈荣涛,代厚兵,杨韦.脱硫废水常规处理及零排放技术综述[J]. 锅炉制造,2013(2):44-47.
[3] 王治安,林卫,李冰.脱硫废水零排放处理工艺[J]. 电力科技与环保,2012,28(6):37-38.
[4] 禾志强,祁利明.火力发电厂烟气脱硫废水处理工艺[J]. 水处理技术,2010,36(3):133-135.
[5] 莫建松,夏纯洁,周冕,等.电石渣-石膏湿法烟气脱硫废水处理工艺研究[J]. 环境工程,2012,30(增刊):168-170.
[6] 全晓泉.浅谈火电厂脱硫废水的处理技术[J]. 科技创新与应用,2014(19):155.
[7] 聂鹏飞.600MW 机组湿法脱硫废水处理系统的优化改造[J]. 热力发电,2011,40(10):62-65.
[8] 张广文,孙墨杰,张蒲璇,等.燃煤火力电厂脱硫废水零排放可行性研究[J]. 东北电力大学学报,2014,34(5):87-91.
[9] 马越,刘宪斌.脱硫废水零排放深度处理的工艺分析[J]. 科技与创新,2015(18):12-13.
[10] 刘秋生.烟气脱硫废水“零排放”技术应用[J]. 热力发电,2014,12(12):114-117.

[作者简介] 邵国华(1971—),工程师。E-mail:shao9919@163.com。

[收稿日期] 2016-07-21(修改稿)

(上接第 54 页)

appia sp. PAS5)。将此 8 株菌混合后对试验废水进行处理,其 48 h COD 的去除率达到 86.3%。(3)由于试验废水氮含量特别低,故需向其补充氮源,研究了尿素和金枪鱼蛋白胨对废水处理效果的影响,结果表明,在未添加氮源的条件下,48 h COD 去除率为 67.0%;添加 0.75 g/L 尿素可使 48 h COD 降解率达到 82.5%;添加 0.5 g/L 金枪鱼蛋白胨后废水 48 h COD 去除率可达 92.2%,表明金枪鱼蛋白胨为最适氮源。(4)生物曝气池工艺试验发现混合菌群的沉降性不佳,难以形成菌胶团。工程应用中可以考虑结合 MBR 工艺来增加曝气池中菌体的浓度。

参考文献

- [1] 赵福灵.微电解+ABR+SBR 处理有机化工废水[J]. 广东化工,2012,39(6):141-142.
[2] 孟凡伟,朱元洪,萧勇,等.树脂吸附法在有机化工废水处理领域中的应用及进展[J]. 江苏环境科技,2006,19(1):97-99.
[3] 张全兴,陈金龙,许昭怡,等.树脂吸附法处理有毒有机化工废水及其资源化研究[J]. 高分子通报,2005(4):116-121.

- [4] 霍颖异,许学伟,王春生,等.浙江苍南近海沉积物细菌物种多样性[J]. 生态学报,2008,28(10):5166-5172.
[5] 国家环保总局.水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京:中国环境科学出版社,2002:88.
[6] Kwon S, Kim T S, Yu G H, et al. Bacterial community composition and diversity of a full-scale integrated fixed-film activated sludge system as investigated by pyrosequencing[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2010,20(12):1717-1723.
[7] Wagner M, Loy A. Bacterial community composition and function in sewage treatment systems[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002,13(3):218-227.
[8] 金浩,李柏林,欧杰,等.污水处理活性污泥微生物群落多样性研究[J]. 微生物学杂志,2012,32(4):1-5.
[9] 刘珂,肖慧慧,段明君,等.城镇污水处理厂 A²O 工艺细菌群落结构特征分析[J]. 广西大学学报:自然科学版,2012,37(5):1018-1026.

[作者简介] 张为艳(1987—),博士。电话:0571-88579916,E-mail:zhangweiyan13@126.com。通讯作者:张文武,博士,电话:0571-88579916,E-mail:wenwu.zhang@trendbiotech.com。

[收稿日期] 2016-06-21(修改稿)