

固定化菌藻共生系统对农村灰水的处理效能

刘元坤¹, 王志维¹, 于海宽²

1. 北京工业大学城市建设学部, 北京 100124

2. 中国人民武装警察部队后勤学院, 天津 300309

摘要 研究了游离态和固定态2种情况下, 菌藻单一和共生处理下小球藻-活性污泥系统的生物活性和污染物去除效果, 分析了不同情况下微生物种群变化规律。试验结果表明, 在无曝气条件下, 小球藻的光合作用能够为系统补充一定的溶解氧, 固定化小球藻-活性污泥系统对模拟农村灰水中污染物的去除效果最好(化学需氧量的去除率为 $87.5\% \pm 2.89\%$; 氨氮为 $65.34\% \pm 2.0\%$; 总磷为 $60.4\% \pm 4.29\%$; 阴离子表面活性剂(linear alkylbenzene sulfonates, LAS)为 $91.07\% \pm 2.04\%$), 处理效果优于菌或藻的单一固定系统和游离态菌藻系统, 生物积累量较其他试验组有显著性增长($p < 0.05$), 活性污泥和小球藻共生效应明显。在半连续运行试验中, 固定化菌藻共生系统表现出了更强的污染物去除稳定性, 固定态的单位细胞叶绿素含量和混合液悬浮固体浓度(mixed liquor suspended solids, MLSS)积累量分别是悬浮态的1.6和1.5倍, 固定态情况下生物生长情况良好。固定态情况下, 门水平的菌群在实验前后保留更多相同门类, 放线菌门(Actinobacteria)在2个试验组中的变化趋势不同; 实验过程中, LAS对菌属有较明显的富集作用, 对硝化菌的活性抑制强烈, 表明水中氮的去除和小球藻的生物活动有较强关联。

关键词 农村灰水; 菌藻共生系统; 固定化; 小球藻

中国农村人口占全国总人口的41%, 以人均每日生活水产生量100 L、排放系数0.8估算, 全国日累计农村生活污水排放量约为4592万t, 约占全国生活污水排放总量的1/3。农村灰水是指农村住

宅中排出的未被粪尿污染的生活污水, 主要包括洗漱和洗涤废水。如果能有效处理并回用这些灰水, 不仅能减少污水排放总量, 还可供给其总用水量的30%~40%。传统的灰水处理方法有膜生物反应器

收稿日期: 2023-05-17; 修回日期: 2024-02-08

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD1100501)

作者简介: 刘元坤, 副教授, 研究方向为水污染控制, 电子信箱: liuyuankun@bjut.edu.cn

引用格式: 刘元坤, 王志维, 于海宽. 固定化菌藻共生系统对农村灰水的处理效能[J]. 科技导报, 2024, 42(24): 115-127;

doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2023.05.00760

(membrane bioreactor, MBR)^[1]、序批式活性污泥反应器(sequencing batch reactor, SBR)^[2]、曝气生物滤池(biological aerated filter, BAF)^[3-5]等,去除效果均能够达到回用标准,但均存在建设和运维成本高的问题。其中,曝气供氧的成本占比较大,而微藻的光合作用产生的氧气作为自然生态环境中氧气的重要来源,将微藻应用于活性污泥处理系统来代替曝气供氧逐渐被广大学者关注。相较于人为曝气,微藻可以通过光合作用自养产生O₂,通过介质可以被细菌利用,减少常规工艺中为细菌供氧过程的能源消耗,可以说菌藻共生系统是一种可持续低碳水的处理办法。近年来,微藻的应用得到了越来越广泛的关注,微藻除了可以通过光合作用将二氧化碳固定为营养丰富的生物质和氧气,还因其高效去除污染物、生长快速且适应性强等优点而被用于处理各种废水^[6-9]。然而,在其应用过程中,藻类由于形态较小,通过一般的静置沉淀无法分离,容易流失^[10],有研究通过包埋方法对藻类进行固定化操作,保证处理系统生物量的稳定^[11]。

采用菌藻共生系统处理农村灰水,具有高效、经济、易维护的特点,适应目前农村经济条件较差,基础设施不完备的现状。现阶段,关于菌藻共生系统处理农村灰水的研究较少,针对灰水中污染物对该系统中菌、藻等微生物的影响还需要进一步探讨。因此,本研究分别采用单独菌藻和菌藻共生系统处理农村灰水,并利用海藻酸钠(sodium alginate, SA)作为固定剂,通过构建固定态菌藻系统,对比研究固定态和游离态下,单独菌藻和菌藻共生系统的处理效果,并探究固定化对菌藻生物活性和处理效能的影响,结合连续运行条件下系统污染物去除效果以及微生物种群变化规律,探究菌藻共生系统处理农村灰水的可行性。

1 材料和方法

1.1 试验处理水体及所用微生物

处理水样模拟农村灰水水质,采用实验室配水,水样中具体成分为:葡萄糖为 313 mg/L, NH₄Cl 为 40 mg/L, KH₂PO₄ 为 38 mg/L, LAS 为 8 mg/L,

CaCl₂ 为 40 mg/L, MgSO₄ 为 60 mg/L, 该灰水水质情况见表 1。

表 1 配置灰水水质

水质指标	含量/(mg/L)
COD	300±25
氨氮	11±5
正磷酸盐	6.5±0.35
LAS	8±0.5
DO	5±2.5

试验中微藻选择蛋白核小球藻(*C. vulgaris*), 藻种 FACHB-8 来自中国科学院水生生物学研究所淡水藻种库。小球藻在 BG11 培养基中培养 7 d^[12], 培养箱环境温度设置为 25℃, 采用 LED 作为光源, 光照/黑暗时间为 12 h/12 h, 光照强度采用 200 μmol·m⁻²·s⁻¹, 所有介质、移液管和装有棉塞的锥形瓶在使用前都经过高压蒸气灭菌。每日早、中、晚各手动摇藻 1 次, 处于对数增长期的藻种进行固定化试验。

活性污泥取自高碑店污水处理厂, 接种于实验室模拟农村灰水中进行驯化培养, 通过分阶段梯度递增添加 LAS, 来达到富集相关菌属的目的。培养周期为 4 h (3 h 曝气、1 h 静置), 待活性污泥出水污染物去除效果稳定且能够达到回用水标准时, 进行固定化试验。

本研究中使用的所有化学品纯度均为分析纯, 购于上海麦克林生化科技股份有限公司或上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.2 菌藻细胞包埋固定化方法

采用包埋法进行菌藻细胞固定化, 菌藻包埋颗粒制作方法如下。利用低温离心机, 将处于对数生长期的蛋白核小球藻在 4000 rpm 条件下进行离心处理, 用去离子水重悬, 形成细胞密度为 10⁸ mL⁻¹ 蛋白核小球藻细胞的浓缩藻悬液, 活性污泥采用同样的方法得到浓缩液。将浓缩的菌藻溶液与 2% SA 混合, 将混合液滴入 2% CaCl₂ 交联剂溶液中成球, 在 4℃ 下反应 24 h, 最终得到固定化菌藻颗粒。颗粒在使用前用去离子水清洗 2 次。有关接种量的选择, 通过前期试验得出, 当蛋白核小球藻: 活性污泥=3:1 (体积比) 时, 去除效果是最佳的, 本试验采

用该配比进行接种。试验结束后,采用2%同体积柠檬酸钠溶解SA固定化颗粒,从生物反应器中回收SA,并从中分离小球藻。

1.3 试验设计

1.3.1 批次培养条件下灰水处理静态试验

试验在容积为1000 mL的锥形瓶中进行,每个锥形瓶分别添加500 mL水样。试验分别在以下7种条件下进行:(1)含无菌藻包埋的固定化颗粒的灰水(Control Group, CG);(2)含游离活性污泥的灰水(Suspension-Bacterium, SB);(3)含游离蛋白核小球藻的灰水(Suspension-Chlorella, SC);(4)含游离蛋白核小球藻和活性污泥的灰水(Suspension-Bacterium&Chlorella, SBC);(5)含活性污泥固定化颗粒的灰水(Immobilized-Bacterium, IB);(6)含蛋白核小球藻固定化细胞的灰水(Immobilized-Chlorella, IC);(7)含菌藻共固定化颗粒的灰水(Immobilized-Bacterium&Chlorella, IBC)。每个固定化反应容器按照颗粒:污水为1:2分别添加250 mL的菌藻固定化颗粒和500 mL人工配置灰水,游离态反应容器中添加与固定化反应器中等量的生物量。控制试验温度25℃,光暗比为12 h/12 h(每24 h为1个光暗周期),反应时间持续48 h,分别在1、3、6、12、18、24、48 h取样。

1.3.2 半连续培养条件下灰水处理动态试验

在与间歇培养相同的条件下,采用半连续流模式,分别进行共固定态与悬浮态小球藻-活性污泥系统处理灰水。在经过前期培养处理效果稳定后,根据前期试验确认水力停留时间(HRT)为24 h,光暗比为6 h/6 h(每12 h为1个光暗周期),曝气量0.5 L/min,每个光照周期曝气4 h。试验运行14 d,试验过程对每次进出水进行取样检测。

1.4 分析方法

1.4.1 水质指标测定

测定的理化指标包括温度、pH、DO、COD_{Cr}、LAS、TP、NH₄⁺-N。其中,前3项指标直接在取样原水中测量,然后用0.45 μm玻璃纤维滤膜过滤水样,测定其余指标。水温及pH使用pH计(WTW,德国,pH 3210手持式PH/mV测试仪)测定;DO使用便携式溶解氧测定仪(WTW,德国,

WTW Multi3630 IDS在线参数测定仪)测定;COD_{Cr}、氮、磷、LAS指标均使用紫外-可见分光光度计(UV9100,LabTech)测定,其中COD_{Cr}采用快速消解分光光度法(量程范围为5~10000 mg/L;检测限:3 mg/L),氨氮(NH₄⁺-N)采用纳氏试剂分光光度法(量程范围为0.05~80 mg/L;检测限为0.011 mg/L),总磷(TP)采用钼酸铵分光光度法,LAS采用亚甲基蓝分光光度法(GB 7494—87)测定,所有测试和试验均重复3次,试验结果取3次结果的平均值,其波动以标准差表示。最后利用Origin 2023和Excel软件对试验结果进行统计分析、计算和绘制。

1.4.2 微生物生长情况

小球藻的生长情况由藻液特定吸光度(OD₆₈₀)和叶绿素a含量衡量小球藻数量和活性,活性污泥的生长情况以MLSS进行判定。固定化的含藻颗粒首先在2%柠檬酸钠溶液中浸泡4 h,解固定后再进行生长情况测定。利用光学显微镜对含藻溶液进行观察,使用血球计数板进行计数,然后与紫外分光光度计在吸光度波长680 nm(OD₆₈₀)下测定吸光值进行对照并制作标线,而后通过测量单位颗粒或体积中小球藻OD₆₈₀来表征小球藻细胞密度。取10 mL小球藻细胞悬浮液,经适当稀释后在680 nm处测定吸光值,并且以同样稀释倍数在BG11培养基中进行对照,微藻的真实吸光值=稀释倍数×测量吸光值。叶绿素a含量测定采用如下办法。取一定体积水样悬浮液使用0.45 μm水系膜过滤后,将截留的微藻细胞加入10 mL 90%的丙酮和少量碳酸镁粉末,涡旋振荡10 min。混合均匀后用90%丙酮定容。之后,将上述试管用锡箔纸遮住避光放在冰箱4℃条件下保存24 h。随后,将混合液取出在4000 rpm条件下离心10 min(4℃),取上清液测量和计算叶绿素a含量。以90%丙酮作为空白对照组,利用紫外分光光度计分别在630 nm、645 nm、663 nm和750 nm处测量样品的吸光值。叶绿素a含量计算式为

$$Chls = \left\{ \left[11.64 \times (OD_{663} - OD_{750}) - 2.16 \times (OD_{645} - OD_{750}) + 0.1 \times (OD_{630} - OD_{750}) \right] \times \left(\frac{V_1}{V} \right) \right\} \cdot \delta \quad (1)$$

式中, $Chls$ 为小球藻细胞叶绿素 a 含量 (mg/g); V 为水样体积 (L); OD 为对应波长处吸光度; V_1 为提取液定容后体积 (mL); δ 为比色皿光程 (cm)。

1.4.3 微生物种群测定

本研究采用 Miseq Illumina 测序技术在 16S rRNA 细菌水平对半连续流试验中的悬浮态 (XF) 和固定态 (GD) 微生物种群进行分析。通过在试验前后分别取样进行测定, 并对门水平和属水平的种群相对丰度进行分析。

2 结果与分析

2.1 静态试验条件下微生物生长情况

在游离、固定化和共固定化处理下, 小球藻数量均呈指数增长模式, 但存在一定的差别。在小球藻数量的检测中发现 (图 1), 2 组包含 SC、SBC 小球藻的生长不存在滞后期, 而 IBC 和 IC 中小球藻的细胞数量增长分别存在 3~6 h 的滞后期。每个处理的指数生长期持续时间约 24 h, 之后每个处理的细胞浓度保持近似恒定, 直到试验结束。游离状态培养的藻细胞数量整体低于 IC 培养的试验组, 而 IBC 培养又高于单独培养的试验组, 其中 IBC 试验组试验结束最终所得藻细胞数量最多 (1.025×10^7 cells/mL), 小球藻单独固定的试验组次之 (9.75×10^6 cells/mL), 2 个游离处理组相近 (9.12×10^6 和 8.92×10^6 cells/mL)。相关研究发现, 在海藻酸盐或卡拉

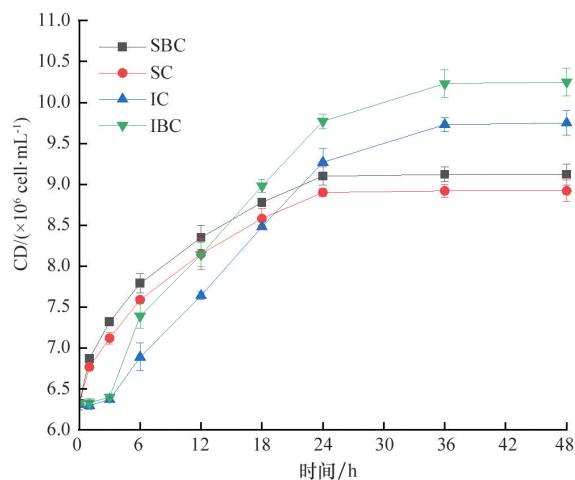


图 1 不同试验组小球藻细胞数量增长情况

胶凝胶基质中, 经过滞后期, 小球藻的生长没有减弱, 固定化和游离态下小球藻均保持了活性和污染物去除能力^[13]。

叶绿素的含量能够代表小球藻的生长及活性情况, 图 2 显示了小球藻中叶绿素 a 的浓度在 48 h 内的变化。最初叶绿素 a 的浓度均为 0.161 pg/cell。48 h 后, IBC 的小球藻的叶绿素 a 浓度为 0.42 pg/cell, 是小球藻 SC 处理组 (0.2 pg/cell) 的 2 倍, 显示出游离态和固定态小球藻叶绿素变化的明显差异。小球藻 IBC&IC 显示出的高浓度叶绿素 a, 可能与自遮蔽效应有关, 这种效应已在其他固定化细胞中被发现^[14]。菌藻 IBC 条件下叶绿素 a 产量比 IC 高 23.5% (0.08 pg/cell), 之前也有研究表明, 与细菌共同培养的小球藻叶绿素积累相较于单独培养的小球藻高 2 倍左右^[15], 但这与 Ruiz-Güereca 和 Sánchez-Saavedra 的研究结果出现分歧^[16], 他们发现共固定化处理和固定化处理的聚球藻叶绿素 a 产量几乎相同。研究情况的不同可能与试验使用的微藻种类不同有关, 这说明不同种类微藻与细菌共生过程中的共生水平是有差异的。

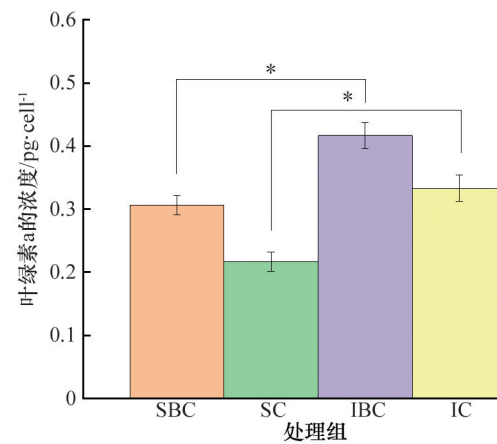


图 2 小球藻叶绿素 a 变化情况 (*表示 $p < 0.05$)

图 3 显示了不同试验组 MLSS 的积累情况, 试验启动时不同组 MLSS 相近 (2 g/L), 整体上看, 48 h 试验结束后, IBC MLSS 的积累量要显著多于 SBC 的试验组, 而菌藻 IBC&SBC 处理要多于 IB&SB, 总的来看, 还是以菌藻 IBC 积累量最多 (5.42 g/L), 叶绿素 a 含量和 MLSS 在 IBC 试验组中积累量增长较

好的表现,显示了处理共固定化和共培养中菌藻之间的协同作用^[17]。

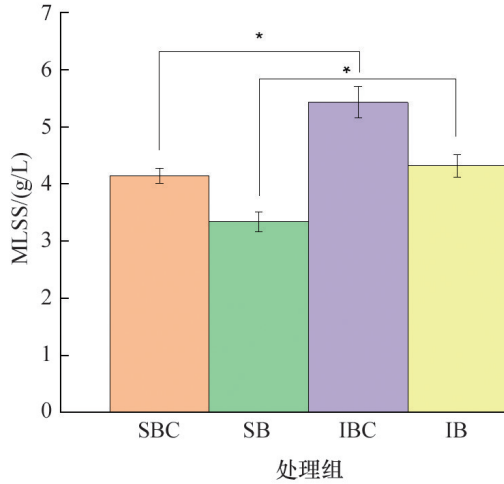


图3 MLSS 积累情况(*表示 $p < 0.05$)

2.2 菌藻不同生长和共生状态下污染物去除效果对比

各试验组 COD 浓度在开始阶段迅速下降,尤其是前 12 h。在 18~24 h,去除率变化减慢,24 h 后趋于稳定,反应基本结束。其中菌藻 IBC 处理 COD 去除率(89%)优于其他试验组,SC 对 COD 的去除效果最差(65%),具体各组对 COD 去除效率见图 4 (a)。总的来说,各试验组均对 COD 有显著的去除效果,说明小球藻和活性污泥均能利用水中的有机碳源。另外,只包含藻的试验组去除率低于包含活性污泥和菌藻共同处理的试验组,细菌主要是通过消耗废水中的 DO 氧化有机碳,经过异养代谢获得能量。当有机碳源和光同时存在或黑暗条件下时,小球藻也可以通过混合营养代谢降低 COD,前人也有对小球藻混合代谢的研究^[18],小球藻可以通过吸收利用磷酸戊糖途径的有机物来进行呼吸作用。

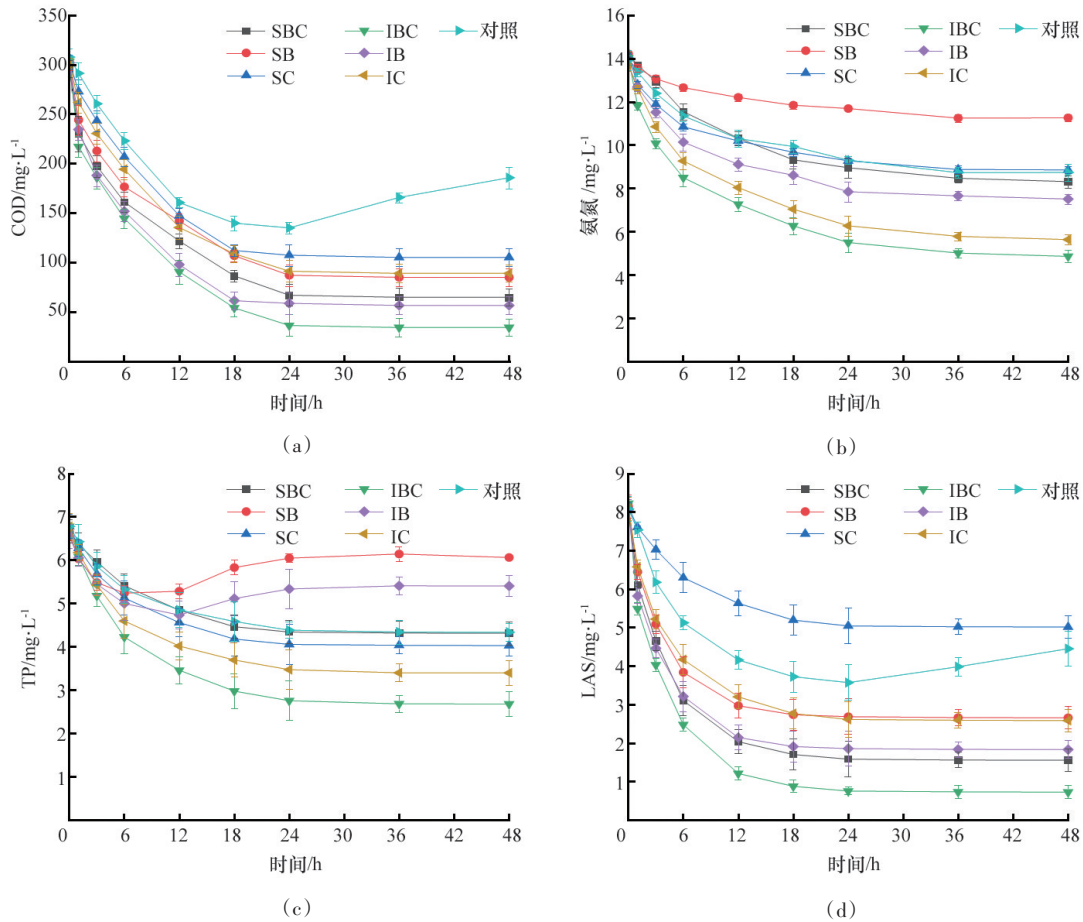


图4 序批试验各污染物去除效果

小球藻这种可以利用有机碳源的特性是其应用在废水处理中的一大优势,因为一般来说,大多数藻类只能进行光合自养利用无机碳源。与游离态试验组相比,各固定化试验组均表现出更好的处理效果,这表明固定化可明显提升COD的去除率。值得注意的是,空白凝胶对照组的试验结果反映了SA作为固定化材料,其也有一定的COD去除效果(39.57%),这说明固定化材料对污染物的吸附作用是固定化试验组提升去除效果的一个重要因素^[19]。对不同生物种类的COD去除效率进行比较,细菌和小球藻共同培养的试验组能够消耗更多的有机碳。Zeng等^[20]研究了微藻-细菌系统中的藻类和细菌通过混合营养或异养代谢共同消耗有机碳,这与本试验反映的在菌藻共培养中获得了更显著的COD去除率相印证。在所有试验组中,IBC的COD去除率最高(89%)。在此前Shen等^[21]的试验表明共固定试验组COD去除效率最高,能够达到97%,与本试验结果相符。共固定化处理的COD去除率较单固定菌试验组高,这除了固定化材料对COD的吸附作用外,还可能与小球藻在光照下进行光合作用补充了系统的氧气有关,有足够的氧气可进一步提升细菌去除有机物活性,这从图5有关溶解氧的测定中可以反映出来。这些结果与Song等的研究一致^[22],研究表明,与仅添加活性污泥的反应器相比,共同添加活性污泥和小球藻的反应器去除了更多的COD,这表明细菌污泥和小球藻之间存在协同作用。

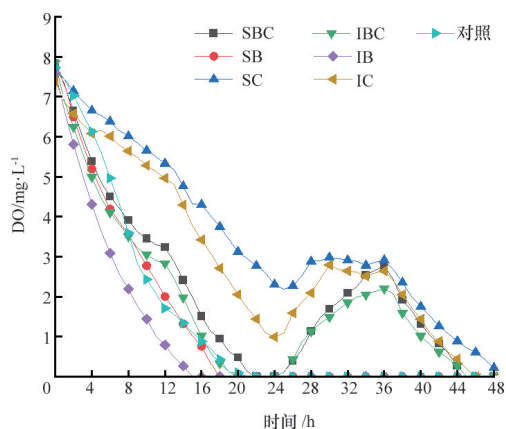


图5 DO连续监测

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除方面,游离态的试验组中SC(去除率为38.03%)和SBC(41.15%) $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除效果好于SB(20.55%),同样的固定化试验组中也反映了这一规律,这表明,小球藻对氨氮去除效果较好。de-Bashan等^[23]也指出,小球藻对氨氮的去除可以达到75%。细菌对氨氮去除效果较差的原因可能是硝化反应受到了抑制^[24],从图5中可以反映出SB在16h时DO几乎已经消耗殆尽,对图4(b)中对氨氮的去除过程也基本在16h结束,细菌对氨氮去除效果较差的原因可能是硝化反应受到了抑制^[24],而SBC则相较SB或SC均显示出了更高的去除率,这表明不仅小球藻发挥了去除氨氮的效果,两者混合后对细菌去除氨氮效果也有所提升,这可以通过小球藻的光合作用补充DO来解释。在所有试验组中,大部分氨氮在第1天就被还原了。IBC处理去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的效率最好(66.33%)。试验结果还表明,固定化材料可更有效地从废水中去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 。CG在试验结束时吸附了37.23%的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,高于SB,这体现了固定化材料SA的良好吸附性能。相同接种状态下固定态试验组对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率大于游离态试验组,说明处于固定化状态的化学或物理环境对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除有积极影响^[25],海藻酸钠表面存在大量-OH,可以在试验过程中首先吸附 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 于材料表面^[26],然后随着试验进行渗透到细胞分泌的充满基质空隙的EPS中,并不断被附着在基质上的细胞同化,这种方式相较于悬浮状态下微生物通过EPS的吸附同化效率有所提高^[27]。

有关TP的去除效果见图4(c),单独包含SB&IB对TP几乎没有去除作用。这可能是在DO消耗完毕后,由于聚磷菌在厌氧环境中释放磷导致水中磷含量升高。包含小球藻的试验组对于磷的去除则显示出了较为稳定的表现,这和小球藻在生长过程中对磷的利用有关^[28],也就是生物同化作用。黄静依等^[29]观察到小球藻所去除的磷(1.73 mg/L)大部分(1.65 mg/L)转化为生物质,表明小球藻对磷的生物同化作用是水中溶解态磷转化的最主要作用。共固定化处理是去除磷酸盐最有效的方法,可在24h小时内去除约4 mg/L的 PO_4^{3-}P 。从DO的监测中推断是小球藻对DO的补充作用延缓

了聚磷菌磷的释放作用,叠加固定化材料对磷的吸附作用,使其达到了一个较好的去除效果。Gonçalves 等^[30]进行的一项研究也报道了使用共培养的普通小球藻和活性污泥从废水中完全去除磷酸盐。

有关阴离子表面活性剂(LAS)的去除可从图4(d)中得到,所有试验组均对LAS有一定的去除效果,由于LAS的结构更容易被微生物利用,因此它们通常更具有可生物降解性^[31],试验数据也证明了这一点。单独包含小球藻的试验组对LAS的去除效果均不理想(游离态去除率为38.35%,固定态为67.92%),Pandey 等^[17]的研究结果表明,单独小球藻对含LAS的废水进行处理时,处理效果较菌藻共生和单独包含菌的试验组去除效果差,小球藻对表面活性剂的去除途径主要是生物吸附作用,目前很少有文献研究小球藻对表面活性剂的利用和同化效果。但针对表面活性剂对小球藻的毒性有一定的研究,Nikonova 等^[32]发现小球藻在10 ug/L LAS下,48 h内发生大量破裂,其对应的是大量的胞内有机物外溢,但本试验通过检测出水COD,并没有发现存在相关现象。还有研究显示,小球藻可以在高LAS条件下生长^[17,32],本试验倾向于后一种结果,即小球藻对LAS有一定的适应抵抗能力,有关叶绿素a的积累(图2)也证明了小球藻在灰水条件下可以进行叶绿素的积累。考虑到固定化材料对所包埋生物的保护作用,有关游离态和固定态叶绿素a积累量的区别也可能和固定化条件减缓了LAS对小球藻的毒性作用有关。活性污泥组能够去除67%~80%的LAS(游离态去除率为67%,固定态去除率为80%)。过往研究中,Collivignarelli 等^[33]利用好氧生物膜系统(TAMR)得到了LAS 49.5%(去除量9.9 mg/L)的去除率,孙燕^[34]采用SBR法处理浴池废水,最终阴离子表面活性剂出水0.42 mg/L,达到了回用水水质标准。以上研究和本实验结果表明,细菌对LAS的去除有一定作用,但LAS的去除是一个好氧过程,生物去除作用的本质是细菌对LAS氧化利用的过程,DO是LAS去除的一个限制因素,这也能够解释在小球藻本身对LAS去除效果不好的前提下,本试验中小球藻和活性污泥结合后有对LAS

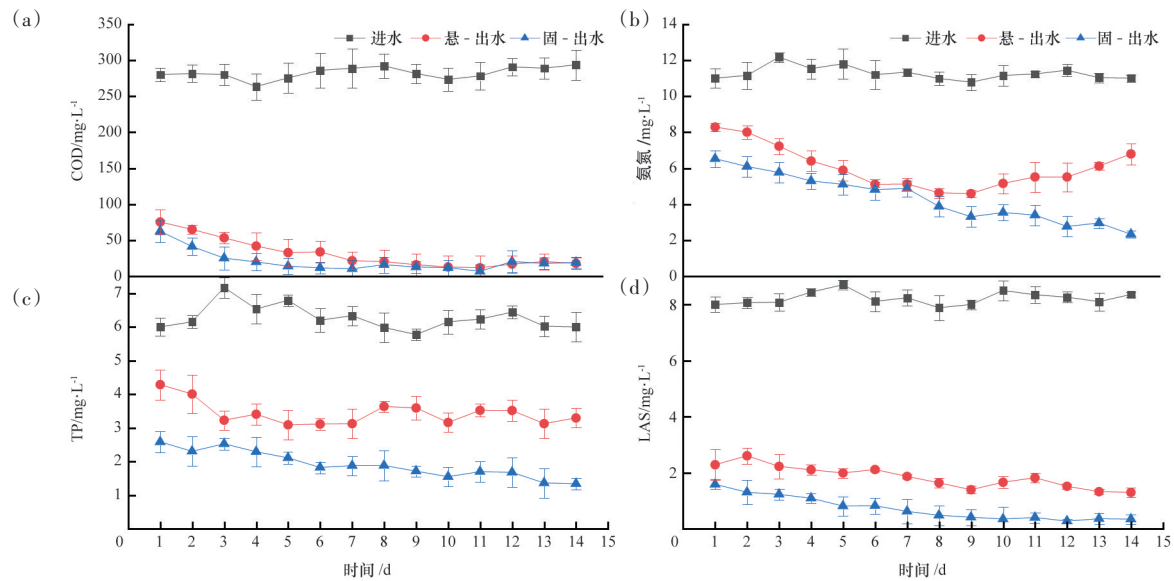
的去除效果提升的现象(游离态去除率为80.84%,固定态去除率为91.07%),说明小球藻的供氧能力提高了活性污泥对LAS的去除效果,小球藻也在LAS去除效果提升中受益,获得了更适宜的生存环境,进而提高了自身生物活性,这可以说是通过试验结果分析得到的菌藻共生系统深层次的联系。另外,固定化材料对LAS有一定的吸附作用(最大吸附量4.43 mg/L),但结果显示,这种吸附关系并不牢固,在24 h后,对照组的LAS显示出了增长的趋势,这可能与固定化材料的解离有关,在试验运行期间,小球藻之间的碰撞和某些化学作用会导致SA的部分剥离,进而导致与其吸附的LAS共同析出,总的来说,固定化材料对LAS的吸附与COD结果类似^[19]。

综上,在无曝气的试验环境下,通过添加小球藻,与活性污泥形成共生系统能够提升污染物的去除效果,小球藻通过为细菌供氧保障了有氧环境,来达到协同去除污染物的效果。通过对菌藻共生系统进行固定化,为微生物提供附着介质和保护的同时,固定化材料的吸附作用对污染物去除效果的提升有显著帮助。

2.3 半连续流反应器污染物去除效果

在半连续流运行模式下,悬浮态和固定态菌藻共生系统对COD的去除效果均在静态试验基础上有所提升,2个系统在经过适应期后,进入稳定期,出水均保持在20 mg/L以下,最好可以达到10 mg/L以下,具体COD去除情况见图6(a)。该结果表明,在试验过程中,菌藻共生系统的生物活动十分活跃,对有机物质能够进行充分地利用,能够在连续运行条件下,保持较稳定的COD去除效果,尤其是悬浮态菌藻共生系统,经过前期的适应期之后,去除效果能够和固定化菌藻共生系统基本一致,但前期悬浮态菌藻系统的适应期(7 d)较固定态菌藻系统(3 d)长,这表明固定化能够提升整个菌藻系统的稳定性。

针对无机盐的去除,悬浮态菌藻系统和固定化菌藻系统产生了分化,总体来看,随着试验的进行,在进水基本保持稳定的基础上,2个系统的 NH_4^+-N 和TP的出水指标均为下降的趋势,固定态系统最



注:悬-出水即悬浮态菌藻共生系统出水;固-出水即固定态菌藻共生系统出水

图6 半连续运行下主要污染物去除效果

终出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 可以达到 1.5 mg/L 以下, TP 则是在 2 mg/L 左右, 均比静态试验中去除率有明显提升。根据《城市污水再生利用 城市杂用水水质》(GB/T 18920—2020) 标准进行判定, 出水已达到回用标准。但悬浮态系统在试验过程中无机盐出水指标则出现较大反复, 出水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 有着先下降后上升的变化特点, 而 TP 则是在 $3\sim 4 \text{ mg/L}$ 的出水浓度内上下波动, 这进一步证明了固定态菌藻系统对污染物去除具有较好的稳定性。悬浮态系统对无机盐去除效果偏低的原因可以从生物生长情况分析, 图 7 是 2 个系统在试验过程中单位细胞叶绿素 a 含量和 MLSS 积累量的情况, 在试验结束时, 固定化试验组的单位细胞叶绿素 a 含量和 MLSS 积累量分别是悬浮态试验组的 1.6 和 1.5 倍, 这显示了固定化试验组的生物生长情况优于悬浮态试验组, 生物量的增多, 代表着其生长从环境中摄取的营养物质 (N、P 元素等) 增加, 反映到污染物含量上是 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 TP 去除率的上升。

悬浮态菌藻系统和固定化菌藻系统对 LAS 的去除效果也有较明显的分化。在图 6(d) 中可以看出, 固定化试验组在稳定后实现对 LAS 的高效去除, 出水 LAS 浓度在 0.5 mg/L 以下, 处理效果满足回用水水质要求。而悬浮态系统虽然在试验运行

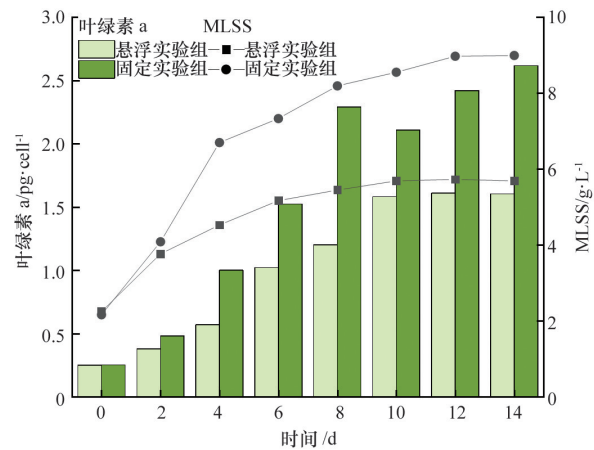


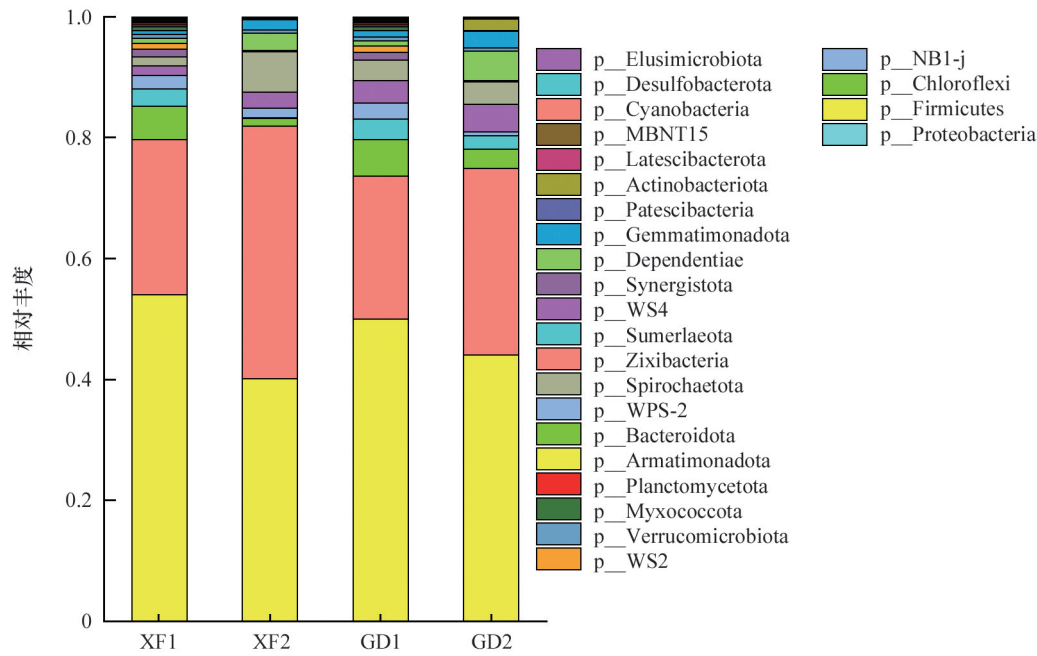
图7 半连续运行下生物量积累情况

结束后期的出水 LAS 浓度较静态试验时下降了约 0.5 mg/L , 但与固定化试验组的去除效率有一定的差距, 这与 LAS 对微生物的毒性有一定关系, 暴露在 LAS 环境中的微生物, 会导致其代谢的基因表达水平下降^[35]。固定化条件下的菌藻系统, 本身在固定化材料提供的附着区域中有了更稳定的生长环境, 另外固定化材料富含的丰富的活性位点也能对 LAS 进行相关吸附作用^[36], 来降低菌藻与有毒物质的直接接触, 保持较高的生物活性, 进一步达到了对 LAS 较好的去除效果。

2.4 微生物种群变化特征

图8为门水平的微生物物种组成的相对丰度,共检测出34个菌门,可以看出在动态运行试验进行前后微生物物种都有所不同。2个试验组中共有的优势菌门主要有 Armatimonadete、Zixibacteria、拟杆菌门(Bacteroidetes)、螺旋菌门(Spirochaetota)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和疣状芽孢菌门(Verrucomicrobia),其中, Armatimonadete、Zixibacteria的相对丰度最高。 Armatimonadete、Zixibacteria、螺旋菌门是活性污泥中常见的菌类,主要参与碳源和氮的代谢过程,是污水处理中最主要的菌门^[37];拟杆菌门主要参与硝化过程^[38]。放线菌门为好氧菌,对水中的氨氮有较好

的去除效果^[39]。固定态较游离态,在实验结束后保留了更多的原有门类,这说明固定态下微生物种群演进速度减慢,从另一方面也证明了固定态环境能够为细菌提供更适宜的生存空间以至于减少了菌群的消减。在试验前后,悬浮态试验组的放线菌门的相对丰度降低,而固定态试验组的放线菌门占比上升,放线菌门的减少可能导致 $\text{NH}_4\text{-N}$ 去除率降低,这可能是导致试验中悬浮态和固定态试验组在试验后期 $\text{NH}_4\text{-N}$ 去除率发生差异的原因之一。另外,在试验中也发现了对反硝化有至关重要作用的厚壁菌门(Firmicutes)^[40],但含量较少,不足0.1%,这说明反应过程中的反硝化过程仍需得到加强,这可能会影响TN的去除。

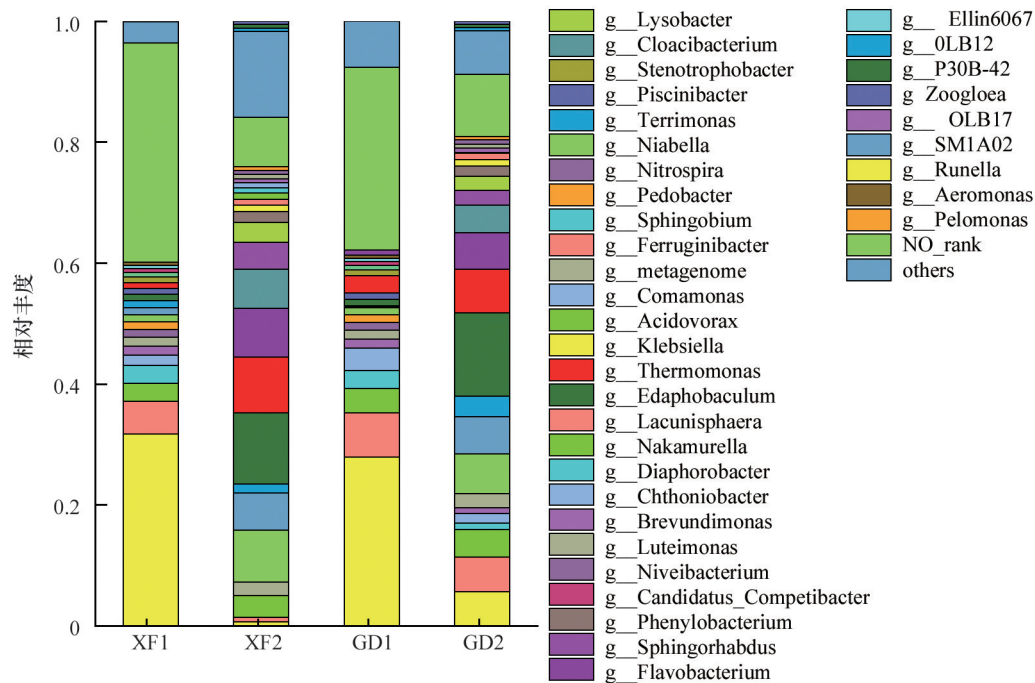


XF—悬浮态,GD—固定态;1—试验前,2—试验后

图8 微生物物种的相对丰度(门水平)

基质样品中的主要菌属如图9所示,共鉴定出256个菌属,相对丰度最高的分别是克雷伯菌(*Klebsiella*)、*Ferruginibacter*、SM1A02、黄杆菌(*Flavobacterium*)、阿巴菌(*Niabella*)、嗜酸菌属(*Acidovorax*)、高温单孢菌属(*Thermomonospora*)、管道菌(*Cloacibacterium*)和动胶菌属(*Zoogloea*)等。克雷伯菌(*Klebsiella*)和*Ferruginibacter*属于兼性厌氧

菌,主要在厌氧氨氧化中发挥作用^[41],在悬浮态试验组中,试验结束后完全消失,固定态试验组在反应结束后还有部分保留,说明在悬浮态系统中氧含量较充分,不适宜厌氧菌的生长,而固定化态内部空结构可以形成一定的厌氧环境,来维持相关菌属的生长。SM1A02属于硝化菌,在两组试验之后占比均有所增加,阿巴菌属(*Niabella*)和高温单孢菌



XF—悬浮态, GD—固定态; 1—试验前, 2—试验后

图9 微生物物种的相对丰度(属水平)

属(*Thermomonospora*)均为好氧菌,与有机物质的去除有关,在系统中还发现少量的丛毛单胞菌属(*Comamonas*)和固氮螺菌属(*Azospirillum*),这两种均为好氧反硝化菌。在试验开始时检测到少量的硝化螺菌属(*Nitrospira*)和亚硝化螺菌属(*Nitrosomonas*),而在实验结束后没有检测到这些菌属,有研究表明阴离子表面活性剂对生物活性存在抑制作用^[35]。

在系统中发现的与阴离子表面活性剂降解有关的菌属有嗜酸菌属(*Acidovorax*)、动胶菌属(*Zoogloea*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)。从图中可以看出在试验结束后几种微生物相对丰度明显增加;嗜酸菌属(*Acidovorax*)的比例与芳香族化合物的降解有关^[42],由图9可知,嗜酸菌属在投加阴离子表面活性剂后相对丰度大幅增加。动胶菌属(*Zoogloea*)是常见的反硝化微生物,与菌胶团的形成有密切关系,对生物膜的形成有促进作用,同时也与阴离子表面活性剂的降解有关^[43-44]。黄杆菌属(*Flavobacterium*)属于革兰氏阴性菌,能够将硝酸盐还原为亚硝酸盐,并能够利用单糖来促进细胞

生长,对阴离子表面活性剂有良好的去除作用^[45],其相对丰度在系统运行结束后有所增加。

还有,作为生物除磷常见的聚磷菌(*Candidatus Accumulibacter*)在属水平中并没有发现,有研究表明在长期缺氧/好氧交替运行的环境下,*Candidatus Accumulibacter*几乎不能生存,而只有严格的厌氧/好氧交替环境才能维持其代谢^[46]。但是在反应结束后,科水平发现了疑似有聚磷效果的*Rhodocyclus*菌群^[47],说明该系统中微生物群落正在朝着除磷菌方向演化,但是程度不够。

3 结论

通过构建不同菌、藻及菌藻共生体系,探究各体系对农村灰水的处理性能,结果表明,小球藻可以凭借其独特的混合营养利用方式,将农村灰水中的COD和无机盐类作为自身营养物质,进而去除水中的污染物。在悬浮态下,菌、藻单独作用去除污染效果均不理想,将小球藻和活性污泥混合培养后,对污染物去除率有所上升,而将菌藻共固定化

后对农村灰水中所含污染物的去除效果最好(COD去除率为 $87.5\% \pm 2.89\%$;氨氮为 $65.34\% \pm 2.0\%$;TP为 $60.4\% \pm 4.29\%$;LAS为 $91.07\% \pm 2.04\%$)。菌藻共生系统中的固定化材料,提供了微生物附着生长场所和一定的吸附作用,有助于提高污染物的去除效果。在本试验条件下,固定化菌藻共生系统对2类微生物的生长均有促进作用,系统中叶绿素a和MLSS的增长说明蛋白核小球藻和活性污泥之间存在共生关系。经过14 d的连续培养,固定态系统中生物量积累多于悬浮态系统,且微生物种群得到了更好的维持,表明固定化能够提供更好的微生物生长环境。在动态试验连续运行条件下,固定化菌藻共生系统体现了较好的污染物去除稳定性,可达到回用标准。研究表明固定化菌藻共生系统在农村灰水处理中具有较大的研究价值和应用前景。

参考文献(References)

- [1] Kobeyev S, Tokbolat S, Nazipov F, et al. Design and modeling of an on-site greywater treatment system for a hotel building[J]. *International Journal of Building Pathology and Adaptation*, 2023, 41(1): 201-224.
- [2] 郝晓地, 宋虹苇. 生态卫生: 可持续、分散式污水处理新概念[J]. *给水排水*, 2005, 31(6): 42-45.
- [3] 刘玲花, 张盼伟, 李昆, 等. 灰水处理及回用技术研究综述[J]. *水利水电技术*, 2019, 50(8): 146-153.
- [4] 张燕燕, 程拥, 陈洪斌. MBR和BAF用于以家庭回用为目的的灰水净化研究[J]. *环境工程学报*, 2016, 10(2): 623-630.
- [5] 于凤. 半集中式处理系统灰水处理技术研究[D]. 上海: 同济大学, 2007.
- [6] Foladori P, Petrini S, Andreottola G. Evolution of real municipal wastewater treatment in photobioreactors and microalgae-bacteria consortia using real-time parameters [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 345: 507-516.
- [7] Hernández D, Riaño B, Coca M, et al. Microalgae cultivation in high rate algal ponds using slaughterhouse wastewater for biofuel applications[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 285: 449-458.
- [8] Rada-Ariza A M, Lopez-Vazquez C M, van der Steen N P, et al. Nitrification by microalgal-bacterial consortia for ammonium removal in flat panel sequencing batch photobioreactors[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245(Pt A): 81-89.
- [9] 樊婷婷, 李娜, 郭天鹏, 等. 不同废水培养小球藻提取生物柴油的营养优化研究[J]. *中国给水排水*, 2017, 33(5): 76-79.
- [10] Yin Z H, Zhu L D, Li S X, et al. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 301: 122804.
- [11] de-Bashan L E, Bashan Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(6): 1611-1627.
- [12] Andersen R A. *Algal culturing techniques*[M]. Burlington, Mass: Elsevier/Academic Press, 2005.
- [13] Covarrubias S A, de-Bashan L E, Moreno M, et al. Alginate beads provide a beneficial physical barrier against native microorganisms in wastewater treated with immobilized bacteria and microalgae[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 93(6): 2669-2680.
- [14] Lau P S, Tam N F Y, Wong Y S. Effect of carrageenan immobilization on the physiological activities of *Chlorella vulgaris*[J]. *Bioresource Technology*, 1998, 63(2): 115-121.
- [15] Ji X Y, Jiang M Q, Zhang J B, et al. The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients removal from synthetic wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 247: 44-50.
- [16] Ruiz-Güereca D A, del Pilar Sánchez-Saavedra M. Growth and phosphorus removal by *Synechococcus elongatus* co-immobilized in alginate beads with *Azospirillum brasilense*[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2016, 28(3): 1501-1507.
- [17] Pandey A, Katam K, Joseph P, et al. Micropollutant removal from laundry wastewater in algal-activated sludge systems: Microbial studies[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2020, 231(7): 374.
- [18] Su Y Y. Revisiting carbon, nitrogen, and phosphorus metabolisms in microalgae for wastewater treatment[J]. *The Science of the Total Environment*, 2021, 762: 144590.
- [19] Tam N F, Wong Y S. Effect of immobilized microalgal bead concentrations on wastewater nutrient removal[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 107(1): 145-151.
- [20] Zeng X H, Guo X Y, Su G M, et al. Bioprocess considerations for microalgal-based wastewater treatment and biomass production[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015, 42: 1385-1392.

- [21] Shen Y, Gao J Q, Li L S. Municipal wastewater treatment via co-immobilized microalgal-bacterial symbiosis: Microorganism growth and nutrients removal[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 243: 905-913.
- [22] Song W C, Ding S X, Zhou L Q, et al. The performance of co-immobilized strains isolated from activated sludge combined with *Scenedesmus quadricauda* to remove nutrients and organics in black odorous water[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 345: 126571.
- [23] de-Bashan L E, Hernandez J P, Morey T, et al. Microalgae growth-promoting bacteria as "helpers" for microalgae: A novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater[J]. *Water Research*, 2004, 38(2): 466-474.
- [24] Nishi K, Akizuki S, Toda T, et al. Advanced light-tolerant microalgae-nitrifying bacteria consortia for stable ammonia removal under strong light irradiation using light-shielding hydrogel[J]. *Chemosphere*, 2022, 297: 134252.
- [25] Cai T, Park S Y, Li Y B. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2013, 19: 360-369.
- [26] Mujtaba G, Rizwan M, Lee K. Removal of nutrients and COD from wastewater using symbiotic co-culture of bacterium *Pseudomonas putida* and immobilized microalga *Chlorella vulgaris*[J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2017, 49: 145-151.
- [27] Han M N, Zhang C F, Ho S H. Immobilized microalgal system: An achievable idea for upgrading current microalgal wastewater treatment[J]. *Environmental Science and Ecotechnology*, 2023, 14: 100227.
- [28] 章楚卓, 詹健. 固定化菌藻共生体去除污水染物的机理及进展[J]. *应用化工*, 2022, 51(12): 3707-3711.
- [29] 黄静依, 张皓驰, 李先宁. 水产养殖废水处理的菌藻共生系统中藻种优选及氮、磷转化特性[J]. *净水技术*, 2020, 39(9): 57-66.
- [30] Gonçalves A L, Pires J C M, Simões M. Wastewater polishing by consortia of *Chlorella vulgaris* and activated sludge native bacteria[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2016, 133: 348-357.
- [31] Ran Z L, Zhu J, Li K, et al. Study on the membrane bioreactor for treating surfactant wastewater[J]. *Journal of Water and Climate Change*, 2018, 9(2): 240-248.
- [32] Nikonova A A, Mizandrontsev I B, Bazhenov B N, et al. Toxic effect of anionic surfactants on freshwater sponge *Lubomirskia baikalensis* and its endosymbiotic microalgae *Chlorella* sp[J]. *Diversity*, 2023, 15(1): 77.
- [33] Collivignarelli M C, Carnevale Miino M, Baldi M, et al. Removal of non-ionic and anionic surfactants from real laundry wastewater by means of a full-scale treatment system[J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2019, 132: 105-115.
- [34] 孙燕. SBR法处理浴池废水的试验研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2012.
- [35] Wu L J, Yang Y, Guo W, et al. Deterioration of biological pollutants removal induced by linear alkylbenzene sulphonates in sequencing batch reactors: Insight of sludge characteristics, microbial community and metabolic activity[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 315: 123843.
- [36] Banerjee S, Tiwade P B, Sambhav K, et al. Effect of alginate concentration in wastewater nutrient removal using alginate-immobilized microalgae beads: Uptake kinetics and adsorption studies[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2019, 149: 107241.
- [37] Dereszewska A, Cytawa S, Tomczak-Wandzel R, et al. The effect of anionic surfactant concentration on activated sludge condition and phosphate release in biological treatment plant[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2015, 24: 83-91.
- [38] Hou L F, Zhou Q, Wu Q P, et al. Spatiotemporal changes in bacterial community and microbial activity in a full-scale drinking water treatment plant[J]. *The Science of the Total Environment*, 2018, 625: 449-459.
- [39] Wu D, Zhang Z M, Yu Z D, et al. Optimization of F/M ratio for stability of aerobic granular process via quantitative sludge discharge[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 252: 150-156.
- [40] 王梦亮, 王京伟, 苏小睿. 脱氮微生物对养殖水体有机氮去除作用的研究[J]. *水处理技术*, 2007, 33(6): 45-48.
- [41] Chen R, Luo Y H, Chen J X, et al. Evolution of the microbial community of the biofilm in a methane-based membrane biofilm reactor reducing multiple electron acceptors[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2016, 23(10): 9540-9548.
- [42] 李红梅, 陶高峰, 徐凌, 等. 植物功能群多样性对人工湿地微生物生物量和营养滞留的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17(6): 1365-1371.
- [43] Singleton D R, Lee J, Dickey A N, et al. Polyphasic characterization of four soil-derived phenanthrene-de-

- grading *Acidovorax* strains and proposal of *Acidovorax carolinensis* sp. nov[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2018, 41(5): 460–472.
- [44] Okada D Y, Delforno T P, Etchebehere C, et al. Evaluation of the microbial community of upflow anaerobic sludge blanket reactors used for the removal and degradation of linear alkylbenzene sulfonate by pyrosequencing[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 96: 63–70.
- [45] Braga J K, Motteran F, Macedo T Z, et al. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in commercial laundry wastewater by an anaerobic fluidized bed reactor[J]. Journal of Environmental Science and Health Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering, 2015, 50(9): 946–957.
- [46] Andrade M V F, Delforno T P, Sakamoto I K, et al. Dynamics and response of microbial diversity to nutritional conditions in denitrifying bioreactor for linear alkylbenzene sulfonate removal[J]. Journal of Environmental Management, 2020, 263: 110387.
- [47] 常功法. 基于厌氧环境的倒置 A²/O 工艺生物除磷机理研究[D]. 济南: 山东大学, 2013.

Treatment efficiency of immobilized algal-bacterial symbiotic system on rural gray water

LIU Yuankun¹, WANG Zhiwei¹, YU Haikuan²

1. Faculty of Urban Construction, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China

2. Logistics University of People's Armed Police Force, Tianjin 300309, China

Abstract Gray water is a kind of domestic sewage with light extent of pollution, and rural grey water accounts for 60%~70% of rural domestic sewage. If it is properly used, the situation of rural water shortage will be greatly improved. algal-bacterial symbiosis system is a potentially efficient and economical treatment for rural gray water. In this study, the feasibility of practical application of this method was demonstrated by studying the biological activity and pollutant removal effect of single or symbiotic *Chlorella*-activated sludge system under free and immobilized states, and the variation rule of microbial growth under different conditions was analyzed. The experimental results show that, in the condition of no aeration, the photosynthesis of *Chlorella* can supply a certain amount of Dissolved Oxygen (DO) to the system, and the immobilized *Chlorella*-activated sludge system showed the best removal effect on the pollutants in simulated rural gray water (the removal rate of chemical oxygen demand 87.5%±2.89%; Ammonia nitrogen 65.34%±2.0%; Total Phosphorus (TP) 60.4%±4.29%; Linear Alkylbenzene Sulfonates (LAS) 91.07%±2.04%). The treatment effect was better than that of single fixed system and free system of bacteria or algae, and the biomass increased significantly compared with other experimental groups ($p<0.05$). The symbiotic effect between activated sludge and *Chlorella* was obvious. In the semi-continuous operation test, the immobilized algal-bacterial symbiosis system showed better pollutant removal stability. The unit cell chlorophyll content and Mixed Liquor Suspended Solids (MLSS) accumulation in the immobilized state were 1.6 and 1.5 times of that in the suspended state, respectively, and the biological growth was good in the immobilized state. In the immobilized state, the phylum flora retained more of the same category before and after the experiment, while the changing trend of *Actinobacteria* in the two experimental groups was different. During the experiment, LAS showed obvious enrichment of bacteria and strong inhibition of nitrobacteria activity, indicating that nitrogen removal in water was closely related to the biological activities of *Chlorella*.

Keywords rural gray water; algal-bacterial symbiotic system; immobilization; *Chlorella* ●



(责任编辑 赵庆圆)