

苯胺废水 SBR 工艺生物强化处理效能

王 哲, 魏 利, 马 放, 赵 光, 张 斯

(哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 哈尔滨 150090, wangzhe7013@126.com)

摘 要:应用生物强化技术,将实验室筛选出的高效苯胺降解菌投加到 SBR 反应器中,考察其经生物强化后对苯胺的去除效果,COD、氨氮、亚硝氮、硝氮的变化及微生物群落的演替规律.结果表明,生物强化系统可有效实现对苯胺的降解,系统达到稳定运行后,苯胺降解率为 100%,COD 的去除率为 93%左右,氨氮的浓度随苯胺降解而升高.因水力滞留时间较短,并未驯化出亚硝化、硝化细菌.扫描电镜照片可以看出,系统稳定运行后,苯胺降解菌遍布于活性污泥上.此外,由 PCR-DGGE 图谱及相似性矩阵图可见,经 16 周期的运行,微生物群落种类、数量产生了明显的差异性,系统内微生物优势种群得到强化.

关键词:生物强化;苯胺降解;群落演替;PCR-DGGE

中图分类号:X703.1

文献标志码:A

文章编号:0367-6234(2010)06-0949-05

Treatment effectiveness of bioaugmentation on aniline wastewater with SBR

WANG Zhe, WEI Li, MA Fang, ZHAO Guang, ZHANG Si

(State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology,
Harbin 150090, China, wangzhe7013@126.com)

Abstract: Aniline-degrading bacteria conserved by laboratory were tested in Sequencing Batch Reactor(SBR) to investigate the capability of aniline removal, the variation of interrelated index such as COD, NH_4^+ , NO_2^- and NO_3^- , and the community succession of microorganism. The results showed that SBR started up quickly and degraded aniline effectively. The removal efficiency of aniline reached 100% and the removal efficiency of COD was about 93% when the system reached steady running. The photographs screened by scanning electron microscope(SEM) indicated that the aniline-degrading bacteria spread over the activated sludge. It was found from the PCR-DGGE map and the similarity matrix that the species and the amounts of microorganism changed greatly, and dominant species in the system were strengthened.

Key words: bioaugmentation; aniline-degradation; community succession; PCR-DGGE

苯胺废水来源范围广,污染危害大,化学工业、染料制造业、医药用品业的生产和应用过程中均排放苯胺废水^[1]. 苯胺的大量生产和广泛应用,对环境造成了污染,也给人体带来了危害^[2]. 目前,常用的处理苯胺废水的方法主要有溶剂萃取法、吸附法、湿式氧化法、光催化氧化法、超临界氧化、反渗透法以及生物法等^[3]. 生物法处理苯胺废水具有能耗低、二次污染小、处

理效果好等优点^[4-6]. 为了提高生化法对废水中苯胺的处理效果,分离和筛选高效的降解菌株是十分必要的. 要想使分离和筛选出的菌株能够在系统中稳定存在,并发挥较好作用,生物强化技术得到了国内外研究者的关注^[7-9]. 山丹等^[10]采用生物强化的方法将实验室筛选的高效低温苯胺降解菌 JH-9 投加到 SBR 反应系统中,在低温条件下(12℃)实现了苯胺废水有效降解,针对含有苯胺 174 mg/L 的石化废水,强化系统对苯胺的去除率达到 97.8%.

本研究主要进行了室温条件下苯胺废水 SBR 工艺研究,采用高效苯胺降解菌进行生物强化,考

收稿日期:2010-03-01.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50908063);哈工大优秀青年教师基金资助项目(NQQQ92324547)

作者简介:王 哲(1987—),女,硕士研究生;

马 放(1963—),男,教授,博士生导师.

察了苯胺的去除效率,并应用分子生物学方法对反应器中的种群演替规律进行了研究,为苯胺废水生物强化技术的工业应用提供重要理论基础。

1 实验装置与方法

1.1 实验材料

1.1.1 菌种来源

实验所用菌株是实验室保存的高效苯胺降解菌^[11]。

1.1.2 污泥来源

实验所用污泥取自哈尔滨太平污水处理厂曝气池。

1.1.3 废水水质

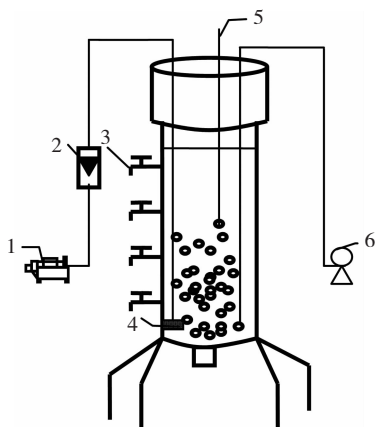
反应器采用人工配水:葡萄糖 0.5 g/L; NH_4Cl 0.025 g/L; KH_2PO_4 、 K_2HPO_4 0.005 g/L; CaCl_2 0.042 g/L; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.06 g/L; NaHCO_3 0.13 g/L;微量元素溶液(1 mL/L);一定比例的苯胺储备液(10 g/L);调 pH 为 7.0。

1.2 水质分析方法

主要参考国家环境保护总局水与废水监测分析方法^[12]。COD:CL-12 型化学需氧量速测仪;苯胺:纳氏试剂分光光度法;硝态氮:麝香草酚分光光度法;亚硝态氮:N-(1-萘基)-乙二胺光度法;pH:pH 计。

1.3 实验装置

本试验 SBR 反应器为圆柱形有机玻璃容器,总体积 2L。装置结构如图 1 所示。



1.曝气泵;2.流量计;3.取样口;4.曝气头;5.加热棒;6.水泵

图 1 试验装置示意图

1.4 反应器运行方式

反应周期 12 h,其中反应 10 h,静止 2 h,25 ℃,每周期排水量为总水量的 4/5,反应器中加入有效体积 1/5 的活性污泥。实验共进行了 16 个周期。分别检测每周期进水和出水中苯胺、氨氮、亚

硝态氮、硝态氮、COD 的质量浓度,计算去除率。

1.5 生物强化方法

采用的生物强化方法为直接投加对目标污染物具有特效降解能力的微生物。生物强化所用菌株为从吉林化工厂污水厂曝气池的活性污泥样品中分离得到的一株能够利用苯胺作为唯一碳源、氮源和能源生长的细菌 JH-9,鉴定为 *Acinetobacter-calcoaceticus*^[11]。将实验室保存的高效苯胺降解菌 JH-9 进行活化,制成菌悬液,再进行离心,然后将离心后的菌悬液固定于活性污泥上,进行生物强化,从而进行 SBR 小试。

1.6 PCR-DGGE 操作方法

污水细菌基因组总 DNA 的提取:将前处理后的样品加入 PBS buffer 充分旋涡,收集沉淀,重复此过程两次,降低 DNA 提取的影响背景。预处理后的样品,通过华舜细菌 DNA 小量提取试剂盒进行提取,提取后低温(-20 ℃)保存。PCR-DGGE 的引物为 F338GC:(5'-CGCCCGC-CGCGCGCGCGGGCGGGCGGGGCACGGGGGACTCCTA CGGGAGGCAGCAG-3'), R518:(5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3')。PCR 反应条件:采用降落式 PCR 扩增策略,95 ℃预变性 5 min,94 ℃变性 30 s,56 ℃退火 45 s,72 ℃延伸 2 min,30 个循环,72 ℃最终延伸 15 min,PCR 反应的产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

变性梯度凝胶电泳(DGGE)采用 Bio-Rad 公司 DcodeTM 的基因突变检测系统对 PCR 反应产物进行分离。使用梯度混合装置,制备 6%~12% 的聚丙烯酰胺凝胶,变性剂浓度从 30%~60% 和 40%~60% (100% 的变性剂为 7 mol/L 的尿素和 40% 的去离子甲酰胺的混合物)。纯化后的 PCR 样品 6 μL 和上样缓冲液 6 μL 混合后加入上样孔。仪器温度设定为 60℃,110 V 的电压下,电泳时间 9 h。电泳结束后,将凝胶进行银染。染色后的凝胶用 Image Scanner II 透射扫描仪扫描后保存。

2 结果与讨论

2.1 生物强化系统对苯胺的去除能力

对生物强化系统苯胺的去除能力进行测定,结果如图 2 所示。由图 2 可以看出,由于运行初期的吸附作用,第 1 周期出水中苯胺质量浓度较低;第 2 周期被活性污泥吸附的苯胺被释放,出水中苯胺质量浓度较第 1 周期明显要高。前 5 个周期苯胺去除率基本维持在 30% 左右,主要因为苯胺降解菌作为单一菌种,适应活性污泥稳定系统

新环境的能力较差.从第5周期开始,混合系统运行开始趋于稳定,对苯胺去除率显著上升,在第7周期达到100%的去除率.这说明苯胺降解菌逐渐适应了活性污泥系统的生态环境,能够高效地发挥功能,并完成了系统的启动.随后,除第9周期苯胺去除率有略微波动外,生物强化系统对苯胺的去除率保持在100%,第16周期出水中苯胺质量浓度为零.高效苯胺降解菌很好地固定于活性污泥上,实现了较强的生物强化效能.混合系统内实现了生态位分离,系统内微生物群落在不断适应和调整过程中趋于稳定.

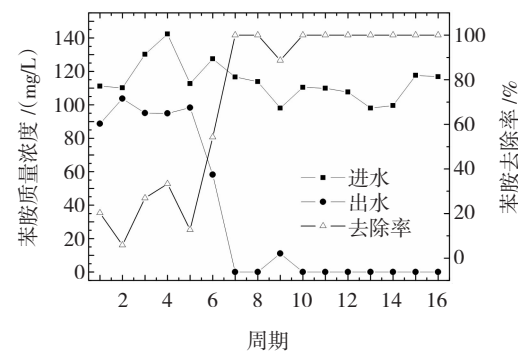


图2 SBR反应器中苯胺质量浓度的变化

2.2 生物强化系统中氨氮、亚硝氮、硝氮的变化情况

对生物强化系统进水和出水中氨氮、亚硝氮、硝氮质量浓度的变化分别进行测定,结果如图3所示.

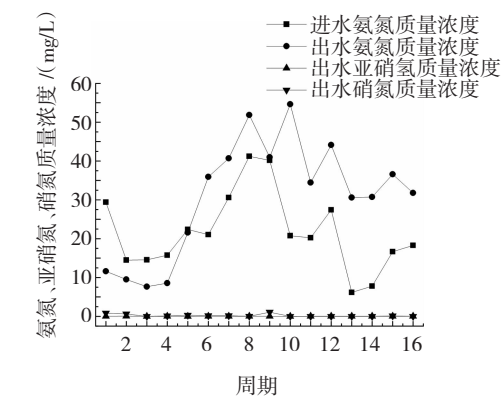


图3 SBR反应器中氨氮、亚硝氮、硝氮质量浓度变化

由图3可以看出,因为实验用水为人工配水,除有少量的 NH_4^+ 存在外,氮源主要来自于苯胺.进水中亚硝氮、硝氮质量浓度均为零,而氨氮则因为其不稳定性,进水质量浓度有一定波动.在前5个周期,出水中氨氮质量浓度均低于进水氨氮质量浓度,这表明苯胺的去除效率不高,而结合前面

对苯胺去除效果的分析,发现前5个周期苯胺的去除率基本维持在30%左右,这两个结果是相吻合的.而从第5个周期开始,出水中苯胺质量浓度高于进水中苯胺浓度,这是因为随着苯胺的降解,氮元素以氨根离子的形式释放出来.在第10周期,进水氨氮浓度与出水氨氮质量浓度差值最大,相差33.6 mg/L,与之相对应的,第10周期也为苯胺去除率达到100%并稳定不变的时期.而从第11周期开始,进水苯胺质量浓度与出水苯胺质量浓度的差值开始减小,这是因为反应器中所具备的苯胺降解菌降解苯胺所产生的氮源可以被活性污泥的生长所利用.第16周期系统达到稳定运行,出水中氨氮的浓度维持在较低的水平,为31.8 mg/L,这也使得出水可以达标,为后续的脱氮等处理工艺减轻负担.

另外,由图3也可看出,出水中亚硝氮、硝氮的质量浓度几乎保持不变,维持在很低的水平,一直到反应周期的结束.因为亚硝化细菌与硝化细菌的营养类型均为化能自养型,不与其他菌种产生营养的竞争,故可以推测反应器中的亚硝化、硝化细菌没有发挥作用.这是因为反应器的水力停留时间较短,不会驯化出世代时间长的硝化菌群,而且苯胺降解菌已经被证实没有硝化功能,故亚硝氮、硝氮的质量浓度不会明显增加.

2.3 生物强化系统对COD的去除能力

对生物强化系统COD的去除能力进行测定,结果如图4所示.前两个周期SBR反应器对COD的去除效果不显著,出水COD仍达到1000 mg/L左右,这是因为反应器启动初期,活性污泥系统对高质量浓度废水需要一个适应过程,与上面讨论的前两个周期苯胺的去除效果相符合,前两个周期也可理解为对活性污泥的驯化过程.从第3周期开始,反应器中的菌群开始逐渐对COD进行降解,除第5周期COD去除率出现了轻微波动外,去除率整体呈线性增长.到第7周期,反应器实现了对苯胺与COD的稳定降解,出水中COD质量浓度维持在200 mg/L左右,去除率达到80%.随后,出水中COD质量浓度稳步下降,一直维持到第16周期,出水中COD质量浓度保持在100 mg/L左右,生物强化系统对COD的去除率为92.23%.

由此可见,活性污泥能够经过短时间的驯化,实现对COD的快速降解.因为活性污泥取自城市污水处理厂的曝气池,本身对COD就有较强的去除能力,将苯胺降解菌固定在活性污泥上后,活性污泥能够实现对COD的快速降解,这充分说明了这种生物强化的方法是可行的.可以推测,对于较高质量浓度的含苯胺工业废水,采用此生物强化

方法能够同时实现对苯胺及 COD 的同时降解,这也为今后此方法在工程中的应用奠定了基础.

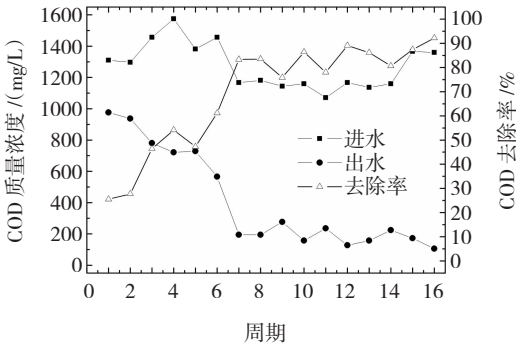


图 4 SBR 反应器中 COD 质量浓度的变化

2.4 活性污泥菌群内部形态的变化

取代表性阶段的活性污泥样品于扫描电子显微镜下观察其内部形态结构,结果如图 5(放大倍数为 5000 倍)所示.

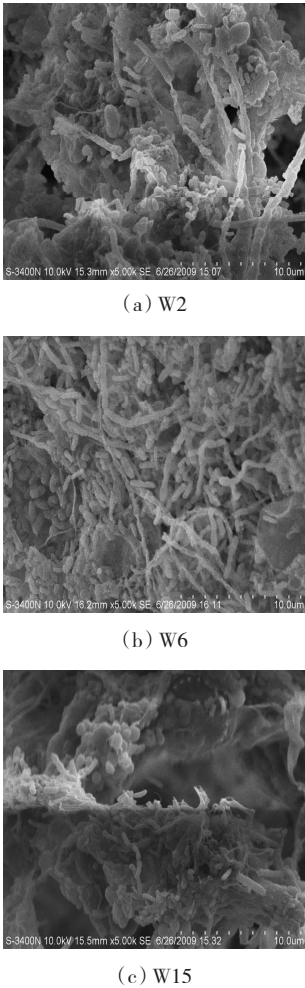


图 5 活性污泥内部形态变化情况的扫描电子显微镜照片

由图 5 可以看出,苯胺降解菌能够很好的固定于活性污泥中形成经生物强化的活性污泥. W2 为第 2 周期的扫描电镜照片,由于苯胺降解菌还

未完全适应活性污泥这个复杂的环境,故形状为短杆菌的苯胺降解菌只有较少数量固定在活性污泥的结构中. W6 为第 6 周期的扫描电镜照片,此时,苯胺的去除率已达到 80% 以上,由照片也可以看出,固定于活性污泥上的苯胺降解菌明显增多. W15 为第 15 周期的扫描电镜照片,此时苯胺的去除率稳定在 100%,可以看出,虽然苯胺降解菌菌量没有前几周多,但苯胺降解菌遍布于活性污泥上,达到了一种稳定的状态,并且活性污泥中的菌群种类比较丰富,除了杆菌、球菌,最后几个周期还发现了弧菌,这可能为种泥所带入.

2.5 活性污泥内部种群动态演替研究

对生物强化处理过程活性污泥内部种群进行 PCR - DGGE 种群动态演替及生物强化优势种群变化规律研究,从而确定生物强化处理系统中所含有的微生物的种类和数量关系,直接获得微生物多样性的信息.

在为期近一周的时间内,分别选取代表性的样本进行种群的动态演替分析, W2、W4、W6、W8、W15 分别为处理过程中活性污泥的第二周期、第四周期、第六周期、第八周期以及第十五周期的代表性样品. 活性污泥内部的微生物生物群落多样性变化如图 6 所示.

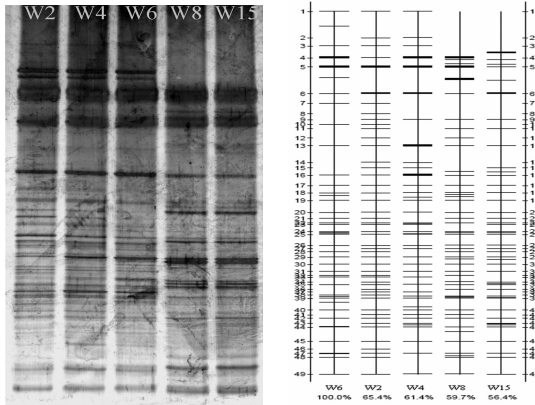


图 6 活性污泥内部种群不同阶段 PCR - DGGE 图谱和条带识别图谱

由图 6 可以看出,微生物群落多样性丰富,优势种群较为明显. 为进一步分析污泥载体微生物群落变化的规律,采用 Quantity One 软件包对不同生物强化运行时段的微生物群落结构进行相似性分析,利用该软件包的泳道/条带识别功能,识别 DGGE 图谱,根据戴斯系数(Dice coefficient)计算出各泳道间相似性的矩阵图,分析样品间的相似性. 图 6 是以 W6 为标准做出的条带泳道识别图,根据戴斯系数计算出各泳道简间的相似性结果见表 1.

表1 不同条带相似性的矩阵图

条带	1	2	3	4	5
1	100.0	64.6	65.4	57.8	57.5
2	64.6	100.0	61.4	61.6	56.4
3	65.4	61.4	100.0	59.7	56.4
4	57.8	61.6	59.7	100.0	75.1
5	57.5	56.4	56.4	75.1	100.0

由表1可以看出,条带4(W8)和条带5(W15)相似性最高,相似度为75.1%,分析认为系统进入后期稳定运行,系统内微生物优势菌株得到强化.

3 结 论

1) 应用于SBR的生物强化小试研究能够实现对苯胺的有效去除,72 h后苯胺的去除率达到80%以上,120 h后苯胺的去除率为100%,苯胺出水质量浓度几乎为零.同时,生物强化系统能够实现对COD的有效去除,系统稳定运行后出水中COD质量浓度保持在100 mg/L左右,去除率为92.23%.生物强化技术实现了系统的快速启动,并能连续稳定运行.

2) 随着苯胺的降解,氮元素以氨根离子的形式释放出来,出水中氨氮质量浓度不断升高,但从第10周期(120 h)开始,反应器中所具备的苯胺降解菌降解苯胺所产生的氮源被活性污泥的生长所利用,出水氨氮维持在较低的水平.同时,出水中亚硝氮、硝氮质量浓度一直维持在较低的水平,生物强化系统由于水力停留时间较短,没有驯化出世代时间长的硝化菌群.

3) 苯胺降解菌能够很好的固定于活性污泥上形成经生物强化的活性污泥,系统达到稳定时苯胺降解菌遍布于活性污泥之上.微生物群落多样性丰富,优势种群较为明显.经过一段时期的运行,群落结构产生了明显的差异性,系统内微生物优势菌株得到强化.

参考文献:

[1] 吕永梅.我国苯胺生产现状与市场分析[J].中国石

油和化工经济分析,2006,(10):26-30.

[2] ITOH N,NAOKI M.TOYOKO K. Oxidation of aniline to nitrobenzene by nonheme bromoperoxidase. Biochem [J]. Mol Biol Intl,1993,29:785-791.

[3] GÓMEZ J L, LEÓN G, HIDALGO A M, *et al.* Application of reverse osmosis to remove aniline from wastewater [J]. Desalination,2009,245:687-693.

[4] CHEN Sheng, SUN Dezhi, CHUNG Jong-shik. Anaerobic treatment of highly concentrated aniline wastewater using packed-bed biofilm reactor[J]. Process Biochemistry,2007,42:1666-1670.

[5] CHEN Sheng,SUN Dezhi, CHUNG Jong-shik. Simultaneous methanogenesis and denitrification of aniline wastewater by using anaerobic-aerobic biofilm system with recirculation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009,169:575-580.

[6] LEI Caihong,JIN Zanfeng,PAN Zhiyan. Study on treatment of aniline wastewater by pressurized activated sludge process [J]. Journal of Zhejiang University of Technology,2008,36(4):423-6.

[7] HUBAN C. Metal bioaugmentation put microbes to work [J]. Chemical Engineering, 1997, 104(3): 74-84.

[8] 马放,郭静波,赵立军,等.生物强化工程菌的构建及其在石化废水处理中的应用[J].环境科学报,2008,28(5):885-891.

[9] YU Fangbo, ALI S W,GUAN Libo, *et al.* Bioaugmentation of a sequencing batch reactor with pseudomonas putida ONBA-17, and its impact on reactor bacterial communities[J]. Journal Of Hazardous Materials,2010,176(1-3):20-26.

[10] 山丹,马放,王金生,等.生物强化技术提高SBR系统对低温苯胺废水处理能力的研究[J].环境工程学报,2009,3(4):577-580.

[11] 山丹,马放,王晨.高效低温苯胺降解菌的分离鉴定及特性研究[J].江苏大学学报:自然科学版,2007,28(3):241-245.

[12] 国家环保局水和废水检测分析方法编委会.水和废水检测分析方法[M].第三版.北京.中国环境科学出版社.1989.

(编辑 赵丽莹)