

投放方式对聚氨酯内微生物及其净化效能影响

陈媛, 王立, 马放, 杨基先, 邱珊

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

摘要:为探讨聚氨酯在生物接触氧化池内不同投放方式对污水净化效能的影响,通过3种投放方式(完全悬浮、完全下沉、一半悬浮一半下沉)的比较,分析不同投放方式导致的微生物群落结构差异与系统净化效果之间的关系.结果表明:聚氨酯在生物接触氧化池内一半悬浮一半下沉状态下的净化效果最佳,COD及 NH_4^+-N 的去除率可达90%和94%;在此状态下载体附着的微生物数量最多、多样性最高、活性最强、功能结构最合理.聚氨酯在生物接触氧化池内的投放状态直接影响着生物接触氧化池的净化效果,一半悬浮一半下沉是更有效的投放方式.

关键词:聚氨酯;投放方式;微生物多样性;多聚酶链反应-变性梯度凝胶电泳;群落结构

中图分类号: X703.1

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2012)12-0056-05

The impact of fixed way on polyurethane carrier and purification performance

CHEN Yuan, WANG Li, MA Fang, YANG Ji-xian, QIU Shan

(State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China)

Abstract: The influences of different fixed ways of polyurethane on the purification performance of wastewater treatment in biological contact oxidation were discussed, the polyurethane was put into biological contact oxidation by up-floating, sinking and general up-floating general sinking respectively, the relationship between microbial community structure and purification performance was analyzed. The results showed that polyurethane fixed by general up-floating general sinking could most efficiently remove pollutants, the purification rate of COD and NH_4^+-N were 90% and 94%; the attached microbial populations were with the largest number, the highest diversity, the strongest activity and the most reasonable function in this way. Therefore, the purification performance was affected by the fixed way of polyurethane in biological contact oxidation and the general up-floating general sinking was the most effective fixed way.

Key words: polyurethane; fixed way; microbial diversity; PCR-DGGE; community structure

载体的选择是生物接触氧化法的核心,载体材料的大小、形状、多孔性以及比表面积对微生物的固定和生物膜的形成均有很大影响,直接决定了微生物的活性,因而载体的选择是生物接触氧化工艺净化效率的关键因素^[1]. 聚氨酯泡沫是一种新型生物载体材料,具有独特的多孔结构,微生物更容易在流动状态下“自动”聚集于多孔内,形成三维固

定化生物膜,避免了流体剪切力对微生物冲刷剥离的影响^[2]. 与传统的陶粒和活性炭填料相比,聚氨酯具有孔隙率高、表面积大、吸附能力强^[3-4]、亲水性好、挂膜速度快、纳污量大^[5]、有机物去除效果理想的优点^[2]. 同时,由于载体上生物膜结构和厚度可以自由设计和控制,多孔载体内部可以形成好氧微生物以及厌氧微生物协同共生的环境,使生物膜处理污水的优势能够充分发挥^[6].

聚氨酯载体为轻质悬浮材料,在反应器中需固定投放,由于反应器中不同固定状态下的溶解氧、水流流态、定居的微生物群落结构等环境条件显著不同,都可能对载体的亲/疏水性及其附着的生物活性产生影响,进而导致不同净化效果. 有关

收稿日期: 2012-02-20.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51179041);水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07201003);城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学)基金资助项目(2011TS07).

作者简介: 陈媛(1985—),女,博士研究生;

马放(1963—),男,教授,博士生导师.

通信作者: 王立, wli@hit.edu.cn.

聚氨酯的研究多停留在污水的净化效果上^[6-7], 对于其在反应器内的固定化状态研究却少见报道. 本实验基于聚氨酯新型载体, 设计其在反应器内的不同投放方式, 结合多聚酶链反应-变性梯度凝胶电泳(DGGE-PCR)技术探讨不同投放固定方式下载体附着微生物的群落结构, 及其对净化效果的影响, 以期找到最佳固定方案, 为工程实践提供指导并为相应研究提供理论依据.

1 实 验

1.1 实验装置

实验装置为生物接触氧化装置, 由有机玻璃制

成, 内置卡槽及带孔卡板, 用以固定聚氨酯的投放方式, 反应器内径为 110 mm, 高度为 630 mm, 底部设均匀布置的曝气头, 装置的有效容积为 6 L, 内装聚氨酯分别以悬浮、下沉、一半悬浮一半下沉 3 种投放方式等填充率固定, 其中 1 号反应器为聚氨酯悬浮在反应器上部, 2 号反应器为聚氨酯固定在反应器下部, 3 号反应器为聚氨酯在反应器内一半悬浮一半下沉. 装置采用连续运行的方式, 进水流量为 0.75 m³/h, 水力停留时间(HRT)为 8 h.

1.2 实验用水

实验用水为哈尔滨太平污水处理厂细格栅后出水, 具体水质指标见表 1.

表 1 哈尔滨市太平污水厂水质指标

指标	COD/ (mg · L ⁻¹)	ρ (TN)/ (mg · L ⁻¹)	ρ (NH ₄ ⁺ -N)/ (mg · L ⁻¹)	ρ (TP)/ (mg · L ⁻¹)	ρ (SS)/ (mg · L ⁻¹)	pH	温度/℃
范围	327 ± 5.6	53.6 ± 2.4	51.7 ± 2.1	4.8 ± 0.6	105 ± 4.7	7.1 ± 0.5	24 ± 1.2

1.3 测定方法

1.3.1 COD、NH₄⁺ - N 的测定

COD 的测定采用重铬酸钾标准法; NH₄⁺ - N 的测定采用纳氏试剂分光光度法.

1.3.2 生物量的测定

分别取生物接触氧化池内不同投加方式下的聚氨酯载体及未挂膜的聚氨酯空白样放入 105 ℃ 的烘箱中烘干、冷却和称重, 计算每克填料上生物膜干质量, 即

$$m = (m_i - m_{ck}) / m_{ck} \quad (1)$$

式中: m 为生物膜的干质量; m_i 为已挂膜的聚氨酯质量; m_{ck} 为空白聚氨酯质量.

1.3.3 微生物活性的测定

选用比基质耗氧速率(specific oxygen uptake rate, R_{sou} , mg/(g · h))作为微生物活性的参数指标, 采用配有 YSI-5730 型 DO 探头的溶解氧测定仪(YSI-58 型)测定, 具体步骤见文献[8].

1.4 样品的准备

将稳定运行期 3 种投放方式下的聚氨酯分别置于装有无菌水的离心管中, 然后放到涡旋振荡仪上充分振荡摇匀, 使挂在聚氨酯上的生物膜充分溶解在无菌水中.

1.4.1 细菌总 DNA 的提取

将 1 mL 溶有生物膜的无菌水震荡 5 min, 离心弃上清液, 用 PBS 溶液洗脱 3 遍以去除杂质对 DNA 提取的干扰, 然后将 PBS 清洗过的菌液上试剂盒^[9].

1.4.2 基因组总 DNA 的 16SrDNA V3 区扩增

为了避免 PCR 扩增过程中存在非特异性条

带现象, 选用通用引物对^[10] F338GC 和 R534 对样品 DNA 进行 PCR 片段的扩增, 此反应体系及反应条件见文献[8].

1.4.3 变性梯度凝胶电泳(DGGE)

采用 Bio-Rad 公司生产的 DGGE 装置对基因组总 DNA 的 PCR 反应产物进行分析. 具体过程见文献[8]. 将 DGGE 图谱中优势条带切胶、测序^[8], 采用 BLAST 将目标序列与 Gen Bank 中已登录序列进行比对, 选取同源性最近的序列, 利用 Mega4.0 软件建立系统进化树.

1.4.4 DGGE 统计分析

DGGE 图谱分析用 Bio-Rad 的 QUANTITY ONE4.3.0 软件进行处理, 不同样品间微生物群落相似性系数由系统依据戴斯系数(C_s)自动计算, 即

$$C_s = 2j / (a + b) \text{ .}$$

式中: j 为样品 A 与 B 间的共有条带; a 和 b 分别为各自的条带.

微生物群落多样性采用 Shannon 指数(H)表示, 即

$$H = - \sum P_i \log P_i \text{ .}$$

式中: $P_i = n_i / N$, 其中 n_i 为峰面积, N 为所有峰的总面积.

2 结果与讨论

2.1 聚氨酯在不同投放方式下的处理效果

以 3 种投放方式构建 3 组反应器, 连续 24 d 测定不同投放状态下聚氨酯的存在对反应器内 COD 和 NH₄⁺ - N 的净化效果. 由图 1 可以看出, 聚

聚酯的投放可显著改善生物接触氧化池的净化效果,但是不同投放方式下的净化效果并不相同。

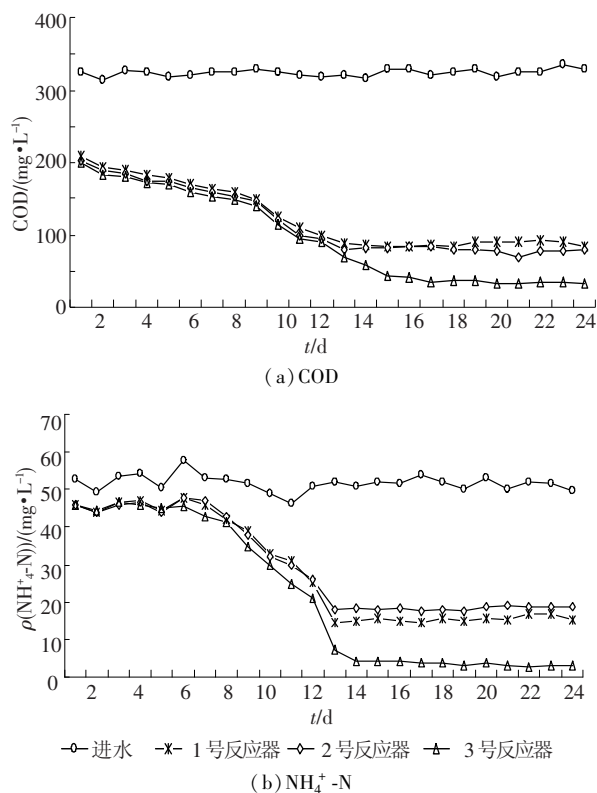


图1 聚酯在不同投放方式下的 COD、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 处理效果

载体投加第1天, COD、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的去除率可达38%和14%。反应器运行12 d后, 聚酯表面以及孔隙内部均包裹着褐色生物膜, 各种投放方式下的 COD、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 去除率均稳定在55%以上, 系统进入稳定状态, 聚酯挂膜成功。

系统稳定运行后, 不同投放方式的聚酯对反应器出水效果的影响差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。1号和2号反应器在进水 COD 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 负荷分别为 (327.0 ± 5.6) 和 $(51.7 \pm 2.1) \text{ mg/L}$ 时, 去除率分别为 74.8%, 67.74% 和 76.1%, 63.81%, 出水质量浓度达 82.84, 16.71 和 78.9, 18.75 mg/L ; 3号反应器 COD、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的去除效果明显好于前两种状态, 当进水 COD 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 负荷在 (327.0 ± 5.6) 和 $(51.7 \pm 2.1) \text{ mg/L}$ 波动时, 去除率高达 90% 和 94%, 出水质量浓度分别稳定在 50 和 5 mg/L 以下, 已经达到 GB18918—2002 中规定的一级 A 标准, 3号反应器即一半悬浮一半下沉是获得最佳处理效果的投放方式。

2.2 聚酯在不同投放方式下的生物指标

固定在反应器内的聚酯对污水中的有机物能够起到净化作用, 一方面取决于聚酯多孔结构的截留作用, 另一方面主要依托于附着生长在聚酯表面的生物膜中微生物的代谢作用。不同投放方式下聚酯载体固着的生物量、附着微生物

的活性都有所不同(图2)。

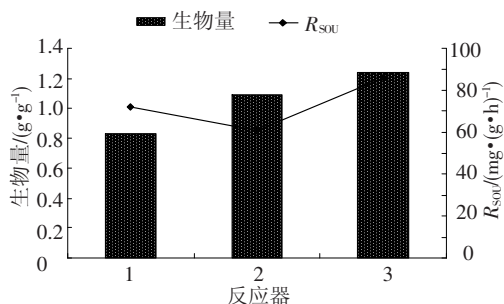


图2 聚酯在不同投放方式下的生物指标

由图2可知: 3号反应器中载体固着的生物量以及 R_{sou} 均好于其他反应器, 这与其净化能力相一致, 证明微生物在系统净化过程中发挥着重要的作用。

在生物接触氧化池内, 由于进水方式是上向流, 微孔曝气装置在反应器底部气水同向均匀持续曝气, 聚酯在反应器底部获得的有机物的基质浓度和溶解氧最为充分, 所以, 聚酯在2号反应器内获得的生物量要比1号多。聚酯在生物接触氧化池顶部的生物膜厚度较小, 大大缩短了营养物质与溶解氧的传质距离, 膜内部和表面的差距小于反应器生物膜, 因此, 聚酯在1号内的微生物活性高于2号。聚酯在3号内获得了充足的营养物质、溶解氧以及接触氧化时间, 因而固定化聚酯的微生物较为活跃, 其生物量及微生物活性均具有明显优势。

2.3 聚酯在不同投放方式下的微生物群落结构

聚酯在3种不同投放方式下的 DGGE 图谱及条带示意图如图3(a)、(b)所示, 为探讨投放方式对微生物群落结构的影响, 对 DGGE 进行了统计分析, 着重研究3种状态下微生物群落间的相关性及多样性。统计分析结果见表2, 图4。

从 DGGE 图谱可以看出, 不同投放方式下的微生物种群数量变化比较明显, 3号反应器的微生物群落结构种群的丰富度最高, 共有42条条带, 其次是2号反应器, 共有39条, 而1号反应器内仅有34条。3种状态下的 DGGE 图谱既有共同的优势菌种, 又有每个状态各自的优势菌种。不同状态下的微生物菌群相似性显著, 其中1号和2号的微生物群落相似性最高为 82.19%, 2号和3号的微生物群落相似性最低为 69.13%。

Shannon 多样性指数 H 越高, 微生物种群多样性越丰富。从图4可以看出: 相对于1号和2号, 3号反应器的微生物群落更加丰富。无论是多样性、丰富度、还是均匀性情况均具有显著性优势, 同时2号反应器的微生物种群多样性要好于1号。由此

可以得出:聚氨酯在一半悬浮一半下沉状态下能够附着最数量和种类的微生物群落. 根据生物多样性导致生态系统功能优化学说推论^[11], 3 号反应器是最稳定、功能最优越的净化系统.

载体不同投放方式下所附着微生物群落类群, 进一步解析投放方式导致的微生物功能群差异与系统净化效能之间的关系.

表 3 DGGE 图谱中不同条带的序列比对结果

条带	登记号	菌种名	同源性/%
P1	GU214819.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100
P2	JF820105.1	<i>Ochrobactrum</i> sp. PG-3-8	100
P3	FM997833.1	Uncultured <i>Nitrosomonas</i> sp.	100
P4	GQ255611.1	Uncultured <i>Nitrosospira</i> sp.	100
P5	JF312737.1	<i>Clostridium</i> sp.	98
P6	FN860068.1	Uncultured <i>Peptostreptococcus</i> sp.	98
P7	AB297410.1	Uncultured bacterium	96

聚氨酯在 3 种不同投放方式下的功能菌群主要是由条带 P1 – P7 序列所指示的菌属: 铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)、苍白杆菌属 (*Ochrobactrum* sp.)、亚硝化螺菌属 (*Nitrosospira* sp.)、消化链球菌属 (Uncultured *Peptostreptococcus* sp.)、亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas* sp.)、梭菌属 (*Clostridium* sp.) 等.

3 种状态下的功能菌群中具有脱氮功能的菌种占主要地位, 其中 P1 条带与铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 的同源性高达 100%, 铜绿假单胞菌是假单胞菌属的代表菌种, 是具有硝化功能的反硝化细菌, 此菌形态、大小不一, 通常没有芽孢和荚膜. O Toshifumi 等^[12] 通过处理高盐污水研究反硝化过程中不同碳源的投加对脱氮效能及微生物群落的影响中发现, 反硝化反应器中存在 Uncultured bacterium(AB297410.1) 细菌, 条带 P7 与其同源性高达 96%, 可以鉴定为同一菌属, 从而推断 P7 可能是反硝化细菌. 同时, 反应器内部还存在大量的对去除水中有机污染物发挥重要作用的化能异养菌如梭菌属 (*Clostridium* sp.)、消化链球菌属 (Uncultured *Peptostreptococcus* sp.), 从序列比对结果可以看出, 聚氨酯在 3 号反应器内净化效果显著的直接原因是固定在聚氨酯上且对污水中有机污染物具有降解作用的功能菌群群落结构比较丰富.

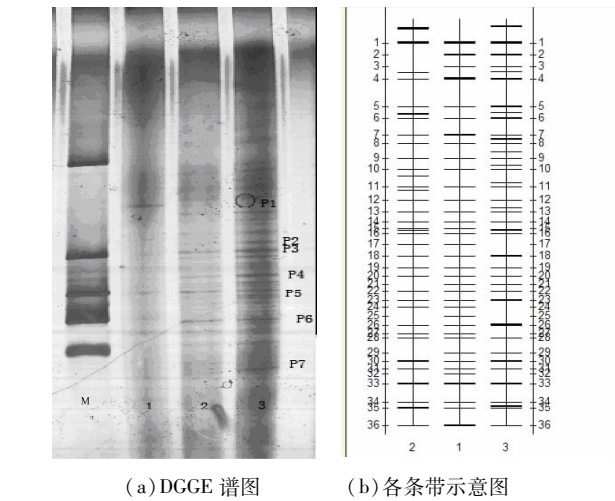


图 3 不同投放方式下微生物群落结构

表 2 不同投放方式下微生物菌群组成的相似性矩阵 %

反应器	1 号	2 号	3 号
1 号	100	82.19	81.57
2 号	82.19	100	69.13
3 号	81.57	69.13	100

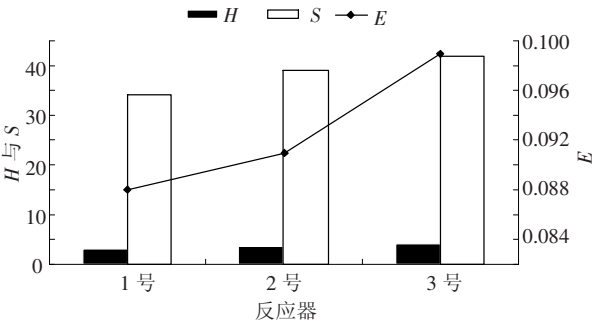


图 4 不同投放方式下的微生物群落 Shonnon 多样性指数 (H)、丰富度 (S) 与均匀性指数 (E)

2.4 聚氨酯在不同投放方式下的功能菌群鉴定及系统发育树

针对不同反应器内的微生物功能菌群进行鉴定分析 (表 3), 建立系统进化树 (图 5), 系统分析

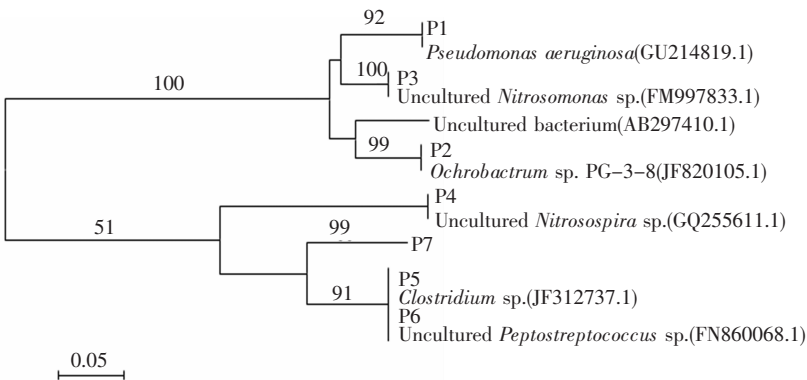


图 5 DNA 序列和 BLAST 结果构建的聚氨酯不同投放方式下功能菌群的系统进化树

投放方式影响微生物群落结构的主要原因是:COD 的去除主要依靠系统中的异养菌,而 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 则主要是硝化细菌的硝化作用,由于硝化细菌是自养微生物,与系统中数量庞大的异养微生物相比属于弱势群体^[13],只有当 COD 被降解到一定程度时,硝化细菌才会将水中的氨氮转化为硝态氮.当聚氨酯在 1 号和 2 号反应器内,水中的污染物质在滤池内因曝气量不足未能与微生物进行充分接触,因而 COD 去除效果不佳,出水有机物浓度较高.而在 3 号反应器中,投放方式使得聚氨酯载体同时占据表层和底层生态位,增大了与不同类型微生物接触的机会以及接触的比表面积,延长了异养及自养型微生物在生物接触氧化池内的停留时间,保证了载体中微生物群落结构的丰富性进而提高了污水的净化效果.

3 结 论

1) 轻质载体聚氨酯在生物接触氧化池内的不同投放方式对污水的净化效果影响显著,其中载体在反应器内一半悬浮一半下沉时出水净化效果达到最佳状态.当进水 COD 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 质量浓度在 (327.0 ± 5.6) 和 $(51.7 \pm 2.1) \text{ mg/L}$ 时,出水质量浓度分别稳定在 50 和 5 mg/L 以下,均已达到 GB18918—2002 中规定的一级 A 标准.

2) 固定化聚氨酯的微生物状态是污水净化效果显著的主要原因,聚氨酯在生物接触氧化池内一半悬浮一半下沉的投放方式下,载体能够同时占据表层和底层生态位,附着的微生物种类、数量均明显高于其他两种投放方式,并且附着的微生物群落结构更合理,更有利于污染物的有效降解.

3) 本文的研究结果对于聚氨酯在工程中的实际应用具有指导意义,使高效大规模处理高浓度废水成为可能.

参考文献:

[1] XU Zhi, FEI Qingzhi, LIU Xiaoxu. Study on the effects of three kinds of bio-media on bio-contact oxidation reactor[C]//Advances in Chemical Technologies for Water and Wastewater Treatment. Xi'an: State Key Laboratory of Architecture and Construction Science and Technology in West China(XAUAT), 2008: 611–615.

[2] 贲岳, 陈忠林, 徐贞贞, 等. 聚氨酯固定高效优势耐冷菌处理低温生活污水[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2009, 41 (2): 76–80.

[3] BRANYIK T, KUNCOVAG G, PACA J. The use of silica gel prepared by sol – gel method and polyurethane foam as microbial carriers in the continuous degradation of phenol [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2000, 54 (2): 168–172.

[4] ORY I, ROMERO L E. Optimization of immobilization conditions for vinegar production, Siran, wood chips and polyurethane foam as carriers for *Acetobacter aceti* [J]. Proc Biochem, 2004, 39 (5): 547–555.

[5] 周璐. 新型聚氨酯载体在生物接触氧化工艺中应用条件的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 2011.

[6] 李亚峰, 姚敬博, 郝滢, 等. 投加聚氨酯泡沫微生物固定化载体的 SBBR 脱氮除磷实验研究[J]. 环境工程学报, 2011, 5 (1): 38–42.

[7] DONG Yamei, ZHANG Zhenjia, JIN Yongwei. Nitrification performance of nitrifying bacteria immobilized in waterborne polyurethane at low ammonia nitrogen concentrations [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, 23 (3): 366–371.

[8] 陈媛. 固定化聚氨酯载体的净化效果及微生物的群落结构解析[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 2011.

[9] 崔迪, 李昂, 王继华, 等. 非培养技术解析生化系统微生物群落结构[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2011, 43 (10): 45–49.

[10] LIU Zhixiao, ZHAO Zhiwei, CUI Fuyi. Application of multi-stage bio-filtration system for sewage treatment and analysis of the microbial community[J]. Journal of Harbin Institute of Technology (New Series), 2010, 17 (6): 750–746.

[11] TILMAN D, DOWNING J A. Biodiversity and stability in grassland[J]. Nature, 1994, 367: 363–365.

[12] TOSHIFUMI O, KOSUKE S. Effects of carbon source on denitrification efficiency and microbial community structure in a saline wastewater treatment process [J]. Water Research, 2008, 42: 3709–3718.

[13] 刘文君, 贺北平, 王占生, 等. 生物陶粒反应器中硝化自养菌与异养菌生长关系的研究[J]. 中国给水排水, 1998, 14 (1): 18–20.

(编辑 刘 彤)