

淹没式生物膜法除磷微生物特性研究

李 军 孙治荣

(北京工业大学建筑工程学院, 北京 100022)

王 宝 贞

(哈尔滨工业大学市政与环境工程学院, 哈尔滨 150008)

摘 要 除磷微生物特性的研究是探明生物除磷机理的前提。本文通过菌属鉴别试验,分析了除磷生物膜中微生物的特点和其在生物除磷过程中所起的作用,确定出淹没式生物膜法除磷工艺中的优势菌属为假单胞菌属,其次依顺序为气单胞菌属、芽孢杆菌属、微球菌属、硝化杆菌属。

关键词 生物膜, 生物除磷, 假单胞菌属

分类号 TU 992.3

水体的富营养化现象已成为人类所面临的严重的水环境问题之一,降低废水中的氮尤其是磷含量是防止水体富营养化的主要任务。载体上生物膜是处理系统发挥作用的主体,研究淹没式除磷反应器中生物膜的主要微生物组成,探讨究竟是哪些微生物在生物膜除磷过程中起主要作用,是探明淹没式生物膜除磷机理的重要课题。

1 试验材料及方法

1.1 材料

生物膜样品:本试验所用生物膜混合液取自笔者试验中稳态运行的淹没式生物膜反应器中载体上的生物膜^[1]。

检样1为生物膜反应器除磷试验的前期(反应器运行第4个月)样品,检样2为中期(反应器运行第6个月)样品。

培养基:牛肉膏蛋白胨培养基(营养琼脂)。

1.2 方法

1.2.1 检样处理

无菌操作取出生物膜,测量表面积,然后用灭菌剪刀将生物膜剪碎,放入装有灭菌生理盐水玻璃珠的三角烧瓶中,充分振荡,将生物膜上细菌洗下,对此生理盐水悬液作菌落总数的测定,细菌计数按标准平板法进行^[2]。

1.2.2 菌落总数确定

将上述生理盐水悬液进行适当的10倍递增稀释,然后取各稀释度悬液0.1 mL加入营养琼脂平皿上,用灭菌“L”形玻璃棒将其涂布均匀,放入36℃温箱中培养24 h,然后连续观察3 d。

1.2.3 菌相分析

取上述各稀释度菌悬液0.1 mL加入普通营养琼脂平皿上,用“L”玻璃棒将涂布均匀的一组放在36℃

温箱培养,另一组放入厌氧罐中,36℃培养,连续培养72h,取出并观察结果,选30~300个平皿,进行菌相分析,选取菌落形态一致的菌为一组菌,然后进行革兰氏染色,做8项常规试验和10项常规试验确定其为哪个菌属的细菌。其中8项常规试验包括:形态、动力、需氧生长、接触酶、氧化酶、葡萄糖利用试验、OF试验;10项常规试验包括:抗酸染色、形态、芽孢试验、动力、需氧生长、厌氧生长、接触酶、氧化酶、葡萄糖利用试验、OF试验。试验结果根据《伯杰氏系统细菌鉴定手册》所述的方法进行^[3]。

2 试验结果

1) 菌落总数

由表1得出:检样1的菌落总数: 2.52×10^8 个/mL;检样2的菌落总数: 1.56×10^9 个/mL。

2) 菌相分析结果

普通营养琼脂平板在36℃下培养24h。

需氧培养:检样2在 10^{-5} 稀释度平板上长出127株菌落;检样1在 10^{-4} 稀释度平板上长出210株菌落。

厌氧培养:检样1、检样2均无细菌生长。

菌相分析结果见表2。由表2可见优势菌属为假单胞菌属,其次依顺序为气单胞菌属、芽孢杆菌属、微球菌属、硝化杆菌属。

表1 菌落总数

	检样1			检样2		
	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
菌落数	>300	210	17	>300	127	14

表2 菌相构成分析表

菌属	检样1		检样2	
	菌群	构成比/%	菌群	构成比/%
假单胞菌属	98	46.67	64	50.39
气单胞菌属	70	33.33	36	28.35
芽孢杆菌属	34	16.19	18	14.17
微球菌属	6	2.86	5	3.94
硝化杆菌属	2	0.95	4	3.15
合计	210	100	127	100

3 讨论

3.1 淹没式生物膜反应器不同运行期生物比较

3.1.1 细菌总数

在除磷试验的中期生物膜中细菌数量远超过初期,约为初期的5倍,这是因为生物膜不断驯化培养后,逐步成熟。

3.1.2 菌相组成

由表2知,在运行中期假单胞菌的构成比例超过初期。同时,气单胞菌属、芽孢杆菌属的构成比却低于初期。这说明,假单胞菌属为本系统的优势菌属,且随着运行时间的延长,而更加稳定。另外,硝化杆菌的比例在运行中期也高于初期,说明随着运行时间的延长,本系统的硝化功能趋于提高。

3.2 与除磷工艺中活性污泥混合液菌相构成比较

以往人们认为,动杆菌属在活性污泥除磷过程中起着最主要的作用。但是,在本试验中却没有发现不动杆菌属。Hascoet^[4]发现,运行良好的间歇式(SBR)生物脱氮除磷试验装置的污泥混合液中几乎找不到不动杆菌,清华大学周溪岳^[5]、华东师范大学朱怀兰^[6]的间歇式污泥除磷试验装置中,也没有找到不动杆菌。此外,即使在一些装置中,不动杆菌属相当多,但它在除磷过程中所起的作用都不大。当然由于所采取工艺、原水水质、运行条件不同,活性污泥混合液内微生物组成和数量会有差异,但是这说明了以往的废水生物除磷主要是由不动杆菌属完成的观点是不够全面的。

另外,同样是间歇式除磷工艺,本试验采用的淹没式生物膜与间歇式活性污泥的菌相构成有相似也有不同,两者最大的不同是在淹没式生物膜除磷系统中有硝化杆菌属,而间歇式活性污泥系统中没有(见表3)。

3.3 主要菌群的功能

Cloete等人^[7]的研究认为,假单胞菌属、气单胞菌属、不动杆菌属等都不仅能有效地降解有机物,而

且能过量摄取废水中的磷以聚磷酸盐颗粒的形式贮存于细胞内,同时还能还原硝酸盐进行反硝化脱氮,另外芽孢杆菌属、微球菌属、肠杆菌属等,也具备上述功能,这与本试验研究基本一致。气单胞菌的另一主要功能是发酵产酸作用,即在厌氧段将合成废水中的蛋白质之类的大分子物质发酵成小分子的挥发性脂肪酸,而一般硝化杆菌的作用是进行硝化。本试验在稳定运行期有很好的硝化以及去除 COD、氮和磷的效果^[1],从而进一步验证了上述观点。

表3 淹没式生物膜与间歇式活性污泥菌相构成比较表

菌属	生物膜构成比/%	菌属	活性污泥 ^[5,6] 构成比/%	
			1	2
假单胞菌属	50.39	假单胞菌属	51.3	44.6
气单胞菌属	28.35	气单胞菌属	25.1	21.5
芽孢杆菌属	14.17	棒杆菌属	18.4	27.7
微球菌属	1.94	不动杆菌属	1.1	
硝化杆菌属	23.15	肠杆菌属	—	6.2
合计	100	合计	100	100

3.4 细菌总数比较

本试验稳定运行期细菌总数为 1.56×10^9 个/mL,是稳定运行期 SBR 活性污泥系统^[5]细菌总数的 3 倍多,从而使得淹没式生物膜除磷系统从除磷菌数上更有利于除磷。

4 除磷生物膜生物相

4.1 原生动物和后生动物的特征

淹没式生物膜反应器从进水到出水,有机物浓度变化很大,而其中的微生物相却比较稳定,在数量上也没有出现大起大落的情况。原生动物主要为纤毛虫类,其中出现频率最多的是固着型纤毛虫类,有钟虫、累枝虫和盖虫;其次是游泳型纤毛虫,有草履虫(主要在进水时出现)、肾形虫和漫游虫。另外,生物膜中也有少量的绿眼虫和变形虫。生物膜中出现的后生动物有线虫类、轮虫类、甲壳虫类等。甲壳虫动物主要为水蚤类。

值得指出的是淹没式反应器生物膜上的生物相并没有像传统的生物膜法那样,随着从进水到出水而改变,相反,在整个处理过程中,钟虫、累枝虫、线虫等一致生长良好,而且在数量上没有出现大起大落,这些适于在低污染度条件下生活的微生物仍能存活,只是随环境条件的改变,原生动物的形态也随之变化,因此,在同一周期内,淹没式生物膜反应器中的原生动物和后生动物种属不宜用来指示水质,而只能从原生动物的形态来指示水质。

4.2 原生动物和后生动物的作用

原生动物可直接利用水中有机物质,对水中有机物的净化起一定的积极作用,更主要是原生动物是以吃细菌为主,而后生生物是以细菌、小的原生动物和有机颗粒等为食物,从而形成食物链和不同营养级的消费者生物,与反应器环境形成一个生态系统。

细菌、原生动物和后生动物的活性在好氧条件下要比无氧条件下大大提高,所以淹没式生物膜除磷反应器在从厌氧条件转为好氧时,除磷菌的繁殖速度将大大加快,而原生动物、后生动物的捕食能力也逐渐增强,而这时被吞食的除磷菌大都是过量摄取了磷的细菌,因此,原生动物、后生动物在体内富集了磷,而这些磷将随同其死亡尸体转入污泥,从而有利于提高淹没式生物膜反应器中脱落污泥的磷含量;其次,在好氧段由于原生动物、后生动物的活动可软化生物膜,促使生物膜松动、脱落,并提高氧转移率,从而能使生物膜保持经常活性和良好的净化功能,既有利于去除有机物也有利于除磷。

5 结论

1) 淹没式生物膜除磷反应器中,生物量大,细菌总数多,为 1.56×10^9 个/mL,从而为生物除磷在菌数上奠定了基础. 淹没式生物膜反应器中细菌总数比 SBR 活性污泥反应器中的细菌总数多,前者是后者的 3 倍.

2) 生物相稳定,对淹没式生物膜除磷工艺而言,原生动物和后生动物的种属不宜用来指示水质,而只能从原生动物的形态指示水质.

3) 淹没式生物膜除磷工艺中优势菌属为假单胞菌属,其次依顺序为气单胞菌属、芽孢杆菌属、微球菌属、硝化杆菌属.

参 考 文 献

- 1 Wang Baozhen, Li Jun. Mechanism of Phosphorus Removal by SBR Submerged Biofilm System. *Wat Res*, 1998, 32(9): 2633~2638
- 2 顾夏声主编. 水处理微生物学基础. 北京: 中国建筑工业出版社, 1987. 105~112
- 3 Krieger N R, Holt J G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* Vol.1. London: Williams & Wilkins Baltimore, 1986
- 4 Hascoet M C. Biochemical Aspects of Enhanced Biological Phosphorus Removal from Wastewaters. *Wat Sci Tech*, 1985, 17(11/12): 23~41
- 5 周溪岳. 废水生物除磷机理及间歇式生物处理工艺的研究: [学位论文]. 北京: 清华大学环境工程系, 1990
- 6 朱怀兰. SBR 除磷系统中的积磷细菌. *给水排水技术动态*, 1994(2): 31~35
- 7 Cloete T E, Steyn P L. The Role of *Acinetobacter* as a Phosphorus Removing agent in Activated Sludge. *Wat Res*, 1988, 22(8): 971~976

A Study on the Characteristics of Microorganism for Phosphorus Removal in Submerged Biofilm Process

Li Jun Sun Zhirong

(College of Architecture and Civil Engineering, Beijing Polytechnic University, Beijing 100022)

Wang Baozhen

(College of Municipal & Environmental Engineering, Harbin University of Technology, Harbin 150008)

Abstract A Study on the characteristics of microorganism for phosphorus removal is the premise of ascertaining the mechanism of biological phosphorus removal. Through the bacterial species identification test, the article analyzes the microorganism characteristics in phosphorus removal biofilm and the function in biological phosphorus removal process. Moreover, it is certain that the dominant phosphorus removal bacterial species is *Pseudomonas* and then *Aeromonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Nitrobacter* in the submerged biofilm process.

Keywords biofilm, biological phosphorus removal, *pseudomonas*