

生物滤池中生物量与生物活性分析及其净水效果

向 红¹, 刘武平¹, 李 璇¹, 吕锡武¹, 朱光灿¹, 刘 冉², 尹立红²
(1 东南大学 能源与环境学院, 江苏 南京 210096 2 东南大学 公共卫生学院,
江苏 南京 210009)

摘 要: 通过平板计数法 (HPC)、脂磷法 (Lipid-P) 和脱氢酶法 (TTC-DHA) 对 4 种生物滤池中生物量和生物活性的空间分布进行分析, 并结合出水水质考察各生物滤池的净水效果。结果表明, 4 种生物滤池中的生物量 (HPC、Lipid-P) 呈显著的成层分布, 并随滤层深度的增加而降低; 在同一滤层高度, 球状活性炭滤料的 HPC 和 Lipid-P 生物量均高于柱状活性炭滤料的; 4 种生物滤池的 HPC 和 Lipid-P 生物量均与脱氢酶生物活性有较好的相关性 ($R^2 > 0.706$)。球状活性炭生物滤池和强化球状活性炭生物滤池中的标准化生物活性 (单位生物量的生物活性) 随滤层深度的增加而增加, 且球状活性炭生物滤池的净水效果优于柱状活性炭生物滤池的。因此, 使用活性炭作为生物滤池的滤料时应合理选择炭型。

关键词: 生物滤池; 生物量; 生物活性; 净水效果

中图分类号: TU991 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2011)03-0048-04

Analysis of Biological Filter Biomass and Biological Activity and Its Purification Effect

XIANG Hong¹, LIU Wu-ping¹, LI Xuan¹, LV Xi-wu¹, ZHU Guang-can¹,
LIU Ran², YIN Li-hong²

(1 School of Energy and Environment, Southeast University, Nanjing 210096 China; 2 School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009 China)

Abstract The distribution of biomass and biological activity in four biological filters was analyzed by heterotrophic plate count (HPC), lipid-P and triphenyl tetrazolium chloride-dehydrogenase activity (TTC-DHA), and the water purification effect of the biological filters was investigated based on the quality of treated drinking water. The results show that the biomass in four filters is gradually decreased with increasing depths of the filter beds. In the same depth, the biomass in biological filter filled with spherical activated carbon is more than that in biological filter filled with columnar activated carbon. The biomass and biological activity in every filter are better correlated ($R^2 > 0.706$). However, the normalized biomass activity in biological filter and enhanced biological filter filled with spherical activated carbon is increased with increasing filter depth, and the water purification effect of biological filter filled with spherical activated carbon is better than that of biological filter filled with columnar activated carbon. Thus, the type of carbon should be reasonably selected when the activated carbon is used as materials in biological filters.

Key words biological filter; biomass; biological activity; water purification effect

基金项目: 江苏省建设厅科技计划项目 (JS2007-H22)

随着工农业生产的发展,许多地区的饮用水水源直接或间接受到了污染,其中多环芳烃、多氯联苯、酚类、芳胺、硝基芳烃、有机农药、除草剂和杀虫剂等持久性微量有机污染物最令人担忧。而现阶段普遍采用的常规净水工艺对微量有机污染物的去除显得无能为力,不能确保居民的饮水安全。因此,许多针对微量有机污染物的饮用水深度处理技术应运而生,特别是生物净水技术更是受到普遍关注。生物净水技术是利用生长在载体表面的微生物对水中的污染物进行生化作用,从而达到降解和清除饮用水中污染物的目的,为了较好地利用微生物,对载体上微生物的活性和生物量进行分析是很必要的。

目前已有许多指标用来评价生物膜、土壤、活性污泥等样品的生物量和生物活性,如细胞计数[总细胞直接计数和异养菌平板计数(HPC)],细胞组分(脂磷)测定、生化代谢指标[脱氢酶(DHA)、FDA水解酶、ATP、生物氧化潜力(BRP)和耗氧速率(OUR)]测定等。笔者通过HPC法、Lipid-P法、TTC-DHA法从活细胞数、细胞成分、生化代谢方面对生物滤池中的生物量和生物活性进行综合分析,旨在为生物净水技术的广泛应用提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 样品采集和预处理

生物膜样品取自某自来水厂4个不同生物滤池中不同高度处的滤料。整个工艺的进水为该厂原水,滤池I、II、III、IV分别为柱状活性炭、球状活性炭、强化(砂)柱状活性炭、强化(砂)球状活性炭生物滤池;I、II滤池进水为砂滤出水,III、IV滤池进水为沉淀池出水(见图1)。无菌采集适量滤料于500 mL灭菌广口瓶中,并立即送实验室分析。

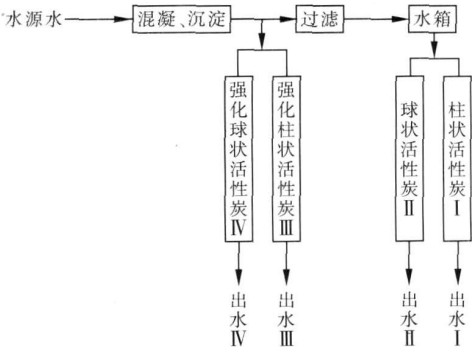


图1 生物净水工艺中试流程

Fig 1 Flow chart of water purification process

每种滤料称取4份(25 g)并分别放入225 mL 无菌生理盐水中,使滤料和生理盐水的体积比为1:10,分别进行浸泡2 h,20 W 低能超声12 min^[1]、40 W 高能超声12 min^[1]和65 r/min下振荡40 min的洗脱处理^[2],然后倍比稀释成(1:100)、(1:1 000)等,通过平板菌落计数选择最佳洗脱方法。

1.2 原水水质和工艺参数

试验期间原水水质如下:水温为4.5~27.7℃、pH值为7.68~8.36,浊度为17.7~77.8 NTU、细菌总数为(3×10⁴)~(8×10⁵) CFU/mL、COD_{Mn}为1.4~5.8 mg/L、氨氮为0.024~0.837 mg/L、亚硝酸盐氮为0.024~0.079 mg/L。

试验期间的工艺参数见表1。取样时,该工艺已运行半年左右,对COD_{Mn}、NH₃-N、NO₂⁻-N、浊度等的去除效果明显且稳定,表明生物膜已经成熟。

表1 各滤池设计与运行条件

Tab 1 Design and operation parameters of filters

项 目	滤池I	滤池II	滤池III	滤池IV
滤柱直径/mm	250	250	250	250
滤层厚度/mm	1 000	1 000	350(砂)+650(炭)	350(砂)+650(炭)
EBCT/min	10	10	10	10
气、水反冲强度/(L·s ⁻¹ ·m ⁻²)	6, 12	6, 12	6, 15	6, 15
气、水反冲洗历时/min	5, 10	5, 10	5, 10	5, 10

1.3 生物量和生物活性测定方法

1.3.1 HPC法

预处理后的稀释样液用R2A琼脂培养基倾注平板,于26℃下培养72 h后测定活细胞数。同时将另一同质量的滤料在105℃烘箱中干烤恒重,换算与每克湿质量相当的干质量,以CFU/gdw表示。

1.3.2 脂磷法

按照文献[3]的方法测定脂磷,测定结果以nmolP/g滤料表示,1 nmolP约为10⁸个与大肠杆菌(E. coli)大小相当的细胞。

1.3.3 TTC-DHA活性测定

分别吸取1 mg/mL的TTC标准溶液(称取0.050 g TTC定容于50 mL棕色容量瓶中,此溶液即为1 mg/mL的TTC标准溶液)1、2、3、4、5、6 mL加入到50 mL棕色容量瓶中,再用纯水分别稀释至50 mL,摇匀后得到20、40、60、80、100、120 μg/mL的TTC系列溶液。取7支带刻度具塞离心管,其中1

支加纯水 1 mL, 其他 6 支分别加入上述系列溶液 1 mL。再于每支离心管中加入 0.1% 的葡萄糖溶液 2 mL、Tris-HCl 缓冲溶液 2 mL 及 10% 的 Na₂S 新配溶液 1 mL, 摇匀; 待溶液充分显色后, 准确加入甲苯溶液 5 mL, 振摇, 完全提取三苯基甲酯 (TF)。放置片刻, 于 4 000 r/min 下离心 5 min, 然后取有机相测吸光度 (波长为 492 nm, 1 cm 比色皿) 并绘标准曲线。

将含生物膜的滤料洗脱后取适量制备液于带塞离心管中, 依次加入 Tris-HCl 缓冲液、0.1 mol/L 的葡萄糖溶液、0.5% 的 TTC 各 2 mL, 置入 (37±1)℃ 的恒温箱中培养 6 h 后取出, 加 2 滴浓硫酸终止反应, 用 5 mL 甲苯萃取、振摇, 在 4 000 r/min 下离心 5 min, 取有机溶剂层在 492 nm 处比色, 根据标准曲线计算样品的脱氢酶活性, 以 $\mu\text{gTF}/(\text{gdw}\cdot\text{h})$ 计。

2 结果与讨论

2.1 不同生物膜洗脱方法的比较

测定载体上生物膜中的生物量或生物活性时, 首先需使生物膜上的微生物完全且无损的释放。为此, 选择 4 种生物膜洗脱方法进行比较, 将洗脱液适当稀释后用 R2A 琼脂培养基倾注平板, 于 26℃ 下培养 72 h。洗脱结果表明, 4 种洗脱方法中低能超声处理 (20 W, 12 min) 的效果最好 ($P<0.01$), 其 HPC 数达到 10^8 , 比浸泡 2 h 法高 30 倍左右。Magie-Knezev 和 van der Kooij 的研究表明, 高能超声处理 (40 W, 12 min) 能洗脱下 90% 以上颗粒活性炭 (GAC) 上的生物膜, 且高能超声比低能超声更有效, 但其会降低细胞的可培养性^[1]。本研究也显示超声处理是洗脱滤料上生物膜的较好方法, 但 40 W 超声处理会使 HPC 数变低, 这可能是高能超声损伤细胞造成可生长的细胞数降低的缘故。因此, 生物量和生物活性的测定均采用低能超声处理 (20 W, 12 min) 作为滤料脱膜方法。

2.2 生物量或生物活性分布情况

对 4 种生物滤池中滤料上的生物量和生物活性的空间分布进行检测和分析, 结果见表 2。可知, 在 4 种滤池中, 平板计数法和脂磷法测得的生物量均呈显著成层分布, 自上而下明显下降, 4 种滤池中两种生物量与滤层高度的相关系数分别是 (0.817, 0.985, 0.952, 0.891) 和 (0.926, 0.952, 0.864, 0.998), 这与于鑫等人^[3]的研究结果一致, 他们认为在下流式反应器中, 基质由上而下不断被生物膜氧化分解, 浓度逐渐降低。滤池 II 和 IV 的生物量随

滤池深度的变化比滤池 I 和 II 的明显; 滤池 II 和 IV 的生物量变化类似、滤池 I 和 II 的生物量变化类似, 这可能与滤池中的主要滤料是否一致有关。同一深度处滤池 II 的生物量明显高于滤池 I 的 (平板法和脂磷法测定结果, $P<0.01$)、滤池 IV 的生物量高于滤池 II 的, 可见球状活性炭有利于生物膜的形成与稳定。

表 2 4 种生物滤池中不同滤层深度处的生物量和生物活性状况

Tab. 2 Biomass and biological activity at different depths of filters

项 目		HPC / (10^7 CFU · g^{-1} dw)	脂磷法 / ($\text{mg O}_2 \cdot \text{P} \cdot$ g^{-1} dw)	DHA 法 / ($\mu\text{gTF} \cdot \text{g}^{-1}$ dw · h^{-1})
滤池 I 中 的填料	顶层 (5 cm)	1.23	8.35	13.08
	高层 (25 cm)	0.78	7.98	10.54
	下层 (45 cm)	0.71	7.74	6.32
	底层 (65 cm)	0.62	6.89	3.21
滤池 II 中 的填料	顶层 (5 cm)	4.10	15.66	31.02
	高层 (25 cm)	3.25	14.45	26.96
	下层 (45 cm)	1.67	10.28	25.33
	底层 (65 cm)	0.78	8.71	20.97
滤池 III 中 的填料	顶层 (5 cm)	0.94	8.71	16.94
	高层 (25 cm)	0.86	6.59	11.35
	下层 (45 cm)	0.73	6.02	7.85
	底层 (65 cm)	0.51	5.54	4.46
滤池 IV 中 的填料	顶层 (5 cm)	3.52	12.62	17.11
	高层 (25 cm)	2.94	10.18	14.58
	下层 (45 cm)	0.82	7.25	14.18
	底层 (65 cm)	0.70	4.45	13.42

脂磷法所萃取的是被测滤料中全体活细胞的脂类物质, 可代表全体微生物的真实生物量, 其所测结果与平板法测定结果的相关系数分别是 0.662, 0.990, 0.705, 0.898。可见两法存在较好的相关性。Olsen 和 Bakken 将土壤中不同大小细菌的总计数和平板计数进行比较, 发现微生物主要是直径在 0.2~0.5 μm 之间的小细菌, 大部分在琼脂平板上不能形成菌落; 然而, 能形成菌落的细菌直径基本都在 0.6 μm 以上, 其构成土壤细菌生物体积的大部分。根据 Olsen 和 Bakken 的研究提示, 滤池中通过培养法测定的生物量可能主要是直径较大的微生物, 占滤料中所有活细胞脂磷的大部分, 因此培养法和脂磷法表现出较好的一致性。

生物过滤中活细胞生物量高不一定意味着生物活性也较高^[4], 不同种类的微生物具有不同的代谢

活性, 即使同一细胞在不同生长阶段也可呈现出不同活性水平^[5]。如同生物量一样, 4 种滤池中的生物活性也均随滤层深度而降低, 其中滤池 IV 变化较平稳。标准化生物活性 (脱氢酶生物活性与对应脂磷的比值, 即单位生物量的生物活性) 显示, 滤池 II 和 IV 中生物活性分布模式的变化不同, 随着滤层深度增加其单位生物量的生物活性也增加, 即位于较低滤层的生物量更具活性, U rfer 和 H uck^[6]也报道过这种现象, 原因目前还不完全清楚。一些研究表明某些生物膜结构不同导致微生物活性及不同生物膜深度的传质条件不同^[7], 本研究中以球状活性炭为滤料的滤池出现了这种现象, 这是否是因为球状活性炭的结构和性质对某些活性较高的微生物具有较强的亲和性还有待进一步研究。

从测定结果可知, 4 种滤池的脱氢酶活性与平板计数法测得的生物量 (简称为 HPC 生物量) 之间的相关系数分别是 0. 757、0. 921、0. 890、0. 706, 而与脂磷法测得的生物量 (简称为 Lipid-P 生物量) 之间的相关系数分别是 0. 910、0. 862、0. 939、0. 830, 均在 0. 830 以上, 可见脱氢酶活性与 Lipid-P 生物量之间的相关性要优于与 HPC 生物量的。

2. 3 滤池出水水质比较

表 3 为 4 种生物滤池的净水效果。

表 3 4 种生物滤池的净水效果比较

Tab 3 Comparison of water purification effect in four biological filters

项 目	滤池 I		滤池 II		滤池 III		滤池 IV	
	进水	出水	进水	出水	进水	出水	进水	出水
浊度 / NTU	0. 83	0. 22 (74%)	0. 83	0. 19 (77%)	7. 97	0. 22 (97%)	7. 97	0. 20 (97%)
氨氮 / (mg·L ⁻¹)	0. 19	0. 03 (84%)	0. 19	0. 02 (90%)	0. 25	0. 05 (81%)	0. 25	0. 037 (86%)
NO ₃ ⁻ -N / (mg·L ⁻¹)	0. 024	0. 001 (96%)	0. 024	0. 001 (96%)	0. 022	0. 001 (96%)	0. 022	0. 001 (96%)
COD _{Mn} / (mg·L ⁻¹)	1. 25	0. 95 (24%)	1. 25	0. 86 (31%)	1. 6	1. 2 (25%)	1. 6	1. 18 (27%)
UV ₂₅₄ / cm ⁻¹	0. 025	0. 021 (16%)	0. 025	0. 021 (16%)	0. 025	0. 022 (12%)	0. 025	0. 022 (12%)
注: 括号内数值为相应指标的去除率。								

由表 3 可知, 滤池 II 对污染物的去除率比滤池 I 高、滤池 IV 对污染物的去除率比滤池 III 高, 即球状炭的净水效果要优于柱状炭的, 滤池的净水效果与

其生物量和生物活性的高低相一致, 这可能与活性炭自身的性能有关。因此, 在应用生物净水技术时滤料的选择至关重要。

3 结论

① 分别使用浸泡 2 h、20 W 低能超声 12 min、40 W 高能超声 12 min 和 65 r/min 下振荡 40 min 的方法洗脱载体上的生物膜, 其中 20 W 低能超声 12 min 的洗脱效果最佳。

② 4 种生物滤池中的生物量 (HPC、Lipid-P) 呈显著的成层分布, 且随滤层深度的增加而降低; 但生物量高不代表生物活性也较高。因此, 不同生物量和生物活性测定方法的结合使用更能准确揭示生物滤池的生物特征。

③ 球状活性炭生物滤池或强化 (砂) 球状活性炭生物滤池比柱状活性炭生物滤池或强化 (砂) 柱状活性炭生物滤池的净水效果好, 这与滤池生物量和生物活性的高低相对应。

参考文献:

[1] Magir-Knezev A, van der Kooij D. Optimisation and significance of ATP analysis for measuring active biomass in granular activated carbon filters used in water treatment [J]. Water Res. 2004, 38(18): 3971-3979.

[2] 魏谷, 于鑫, 叶林, 等. 脂磷生物量作为活性生物量指标的研究 [J]. 中国给水排水, 2007, 23(9): 1-4.

[3] 于鑫, 张晓健, 王占生. 饮用水生物处理中生物量的脂磷法测定 [J]. 给水排水, 2002, 28(5): 1-5.

[4] Moll D M, Summers R S, Fonseca A C, et al. Impact of temperature on drinking water biofilter performance and microbial community structure [J]. Environ Sci Technol. 1999, 33(14): 2377-2382.

[5] Cristina F A, Scott S, Hernandez M T. Comparative measurements of microbial activity in drinking water biofilters [J]. Water Res. 2001, 35(16): 3817-3824.

[6] Urfer D, Huck P M. Measurement of biomass activity in drinking water biofilters using a respirometric method [J]. Water Res. 2001, 35(6): 1469-1477.

[7] Yang S N, Lewandowski Z. Measurement of local mass transfer coefficient in biofilms [J]. Biotechnol Bioeng. 1995, 48(6): 737-744.

E-mail: xiwuk@seu.edu.cn

通讯作者: 吕锡武

收稿日期: 2010-08-11