

水质净化生物滤池工艺的微生物群落特征及运行效果研究

向红^{1,2,3}, 吕锡武^{1*}, 杨飞², 尹立红², 朱光灿¹

(1. 东南大学能源与环境学院, 南京 210096; 2. 东南大学公共卫生学院, 环境医学工程教育部重点实验室, 南京 210009; 3. 贵州省疾病预防控制中心, 贵阳 550004)

摘要:为探讨水质净化生物滤池(生物强化滤池和生物活性炭滤池)工艺的微生物群落特征和运行效果,采用 Biolog 和 PCR-SSCP(单链构象多态性)技术分析生物滤池中的微生物群落代谢功能与结构,测定生物滤池进出水 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、高锰酸盐指数、 UV_{254} 和 BDOC 等指标,考察其净水效果。结果表明,原水经过生物滤池后,出水微生物群落代谢活性显著降低,说明生物滤池截留了原水中的活性微生物。工艺运行 6 个月后,2 个生物强化滤池中微生物群落代谢特征相似,其碳源利用率分别为 73.4% 和 75.5%。2 个生物活性炭滤池中微生物群落代谢特征存在明显差异,颗粒活性炭生物滤池微生物群落碳源利用率 79.6% 高于柱状活性炭生物滤池的 53.8% ($p < 0.01$)。PCR-SSCP 分析表明各生物滤池微生物群落呈多样性,优势菌群基本一致。研究还发现,生物强化滤池中的填料对微生物群落结构和代谢功能的影响较小,2 种生物强化滤池净水能力无统计学差异 ($p > 0.05$);而生物活性炭滤池的颗粒活性炭填料有利于微生物群落生长繁殖,微生物群落有较强的代谢活性,其滤池对 NH_4^+-N 、高锰酸盐指数、BDOC 的去除效果优于柱状活性炭生物滤池 ($p < 0.05$);这也提示生物滤池运行效果与滤池中微生物群落代谢能力有关。

关键词:生物滤池; Biolog; 单链构象多态性; 微生物群落; 群落结构; 代谢功能; 运行效果

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)04-1194-08

Characteristics of Microbial Community and Operation Efficiency in Biofilter Process for Drinking Water Purification

XIANG Hong^{1,2,3}, LÜ Xi-wu¹, YANG Fei², YIN Li-hong², ZHU Guang-can¹

(1. School of Energy and Environment, Southeast University, Nanjing 210096, China; 2. Key Laboratory of Environmental Medicine and Engineering, Ministry of Education, School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009, China; 3. Guizhou Provincial Center for Disease Prevention and Control, Guiyang 550004, China)

Abstract: In order to explore characteristics of microbial community and operation efficiency in biofilter (biologically-enhanced active filter and biological activated carbon filter) process for drinking water purification, Biolog and polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) techniques were applied to analyze the metabolic function and structure of microbial community developing in biofilters. Water quality parameters, such as NH_4^+-N , NO_2^--N , permanganate index, UV_{254} and BDOC etc., were determined in inflow and outflow of biofilters for investigation of operation efficiency of the biofilters. The results show that metabolic capacity of microbial community of the raw water is reduced after the biofilters, which reflect that metabolically active microbial communities in the raw water can be intercepted by biofilters. After 6 months operation of biofilters, the metabolic profiles of microbial communities are similar between two kinds of biologically-enhanced active filters, and utilization of carbon sources of microbial communities in the two filters are 73.4% and 75.5%, respectively. The metabolic profiles of microbial communities in two biological activated carbon filters showed significant difference. The carbon source utilization rate of microbial community in granule-activated carbon filter is 79.6%, which is obviously higher than 53.8% of the rate in the columnar activated carbon filter ($p < 0.01$). The analysis results of PCR-SSCP indicate that microbial communities in each biofilter are variety, but the structure of dominant microorganisms is similar among different biofilters. The results also show that the packing materials had little effect on the structure and metabolic function of microbial community in biologically-enhanced active filters, and the difference between two biofilters for the water purification efficiency was not significant ($p > 0.05$). However, in biological activated carbon filters, granule-activated carbon is conducive to microbial growth and reproduction, and the microbial communities in the biofilter present high metabolic activities, and the removal efficiency for NH_4^+-N , permanganate index and BDOC is better than the columnar activated carbon filter ($p < 0.05$). The results also suggest that operation efficiency of biofilter is related to the metabolic capacity of microbial community in biofilter.

Key words: biofilter; Biolog; single strand conformation polymorphism; microbial community; community structure; metabolic function; operation efficiency

收稿日期: 2010-05-11; 修订日期: 2010-10-26

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2008AA06A412); 江苏省建设厅科技计划项目(JS2007-JH22)

作者简介: 向红(1965~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为饮用水处理与评价, E-mail: xiangrhong@yahoo.cn

* 通讯联系人, E-mail: xiwulu@seu.edu.cn

近年来,许多地区饮用水水源受到不同程度的污染,常规给水处理工艺对水中有机污染物、藻毒素和重金属等去除率低,导致出水安全性下降。与此同时,各种新型的净水工艺迅速发展,其中生物滤池工艺因简单、高效、运行成本低等优点而倍受重视^[1-3]。研究显示,生物滤池工艺中的微生物群落在降解有机污染物、维持工艺性能等方面起重要作用^[4-6]。目前有关生物滤池工艺饮水净化方面的研究主要集中在工艺设计、运行参数和影响因素上^[7-9],而从工艺中微生物群落结构、功能特征着手来探讨净水效果的研究相对缺乏。因此,对生物滤池工艺中的微生物群落结构和功能的研究显得十分必要。

近年来,以碳源利用类型为基础的 Biolog 技术和以分子生物学为基础的 PCR-SSCP 技术得到了快速发展,成为当前环境微生物群落特征研究的有效手段^[10-15]。本研究将 Biolog 与 PCR-SSCP 技术相结合,对生物强化(砂滤池中添加活性炭来增加滤池生物量)与生物活性炭滤池工艺中的微生物群落结构与代谢功能进行分析,同时结合水质检测考察工艺的运行效果。这将有助于揭示生物净水机制,以期为提高饮用水生物处理能力提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Biolog 分析采用美国 Biolog 公司生产的 Biolog 读数仪和 Biolog Eco 微平板。DNA 提取试剂采用英国 Axygen 公司生产的 AxyPrep 细菌基因组 DNA 小量制备试剂盒。PCR 扩增实验采用德国 Eppendorf 公司生产的 Mastercycler 梯度 PCR 仪。聚丙烯酰胺凝胶电泳实验选用北京六一仪器厂出产的 ECP3000 型三恒电泳仪。PCR 反应试剂购自大连宝生物工程有限公司。

1.2 净水装置与运行条件

本研究所取样品来源于某市自来水厂净水中试装置,该装置运行 6 个月后净水效果达到稳定,流量为 $1.5 \text{ m}^3/\text{h}$ 。其工艺流程见图 1。其中各生物滤池为内径 25 cm、高 100 cm 的圆柱形有机玻璃管,分别填充柱状活性炭(生物活性炭滤池 1 号, BACF1 号)、颗粒活性炭(生物活性炭滤池 2 号, BACF2 号)、柱状活性炭+砂(生物强化滤池 1 号, BEAF1 号)和颗粒活性炭+砂(生物强化滤池 2 号, BEAF2 号);各滤池设计与运行参数如表 1。在实验期间原水中溶解性有机碳(DOC)、 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、浊度、pH 和温度分别在 $1.2 \sim 3.8 \text{ mg/L}$ 、 $0.02 \sim 1.18 \text{ mg/L}$ 、 $0.024 \sim 0.200 \text{ mg/L}$ 、 $14.0 \sim 258.0 \text{ NTU}$ 、 $7.74 \sim 8.06$ 、 $4.5 \sim 30^\circ\text{C}$ 之间。

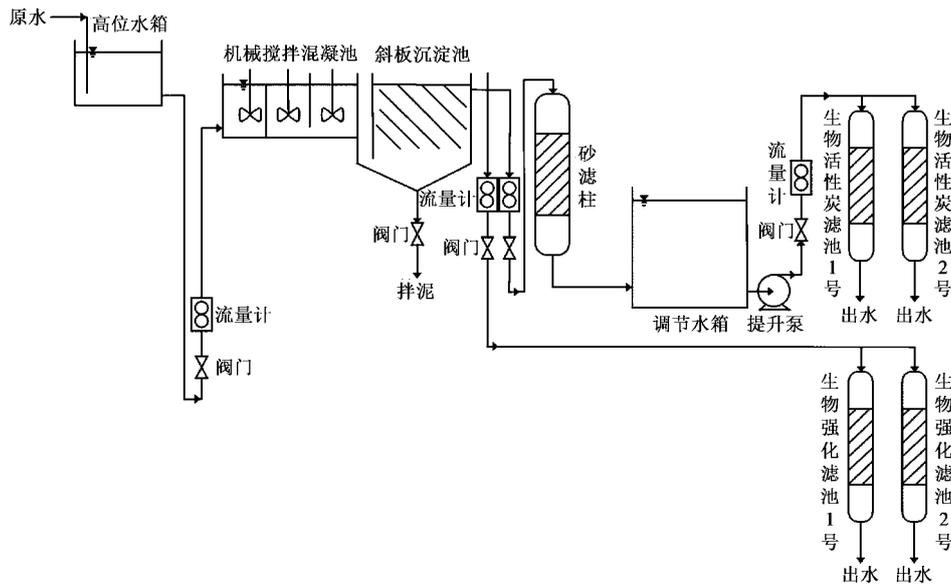


图 1 净水装置示意

Fig. 1 Schematic diagram of drinking water treatment process

1.3 样品采集与处理

在工艺运行过程中,无菌采集生物滤池中的填

料各 250 g,同时分别取工艺各段的水样 500 mL。立即送实验室分析。称取 25 g 填料加入到 225 mL 磷

酸盐缓冲液中 (pH = 7.4) 270 r/min 振荡 2 h; 然后静置 0.5 h. 混悬液用磷酸盐缓冲液稀释至 420 nm

下的光密度 D 为 0.06^[16]. 水样同样用磷酸盐缓冲液稀释至 0.06 ($D_{420\text{ nm}}$), 稀释液用于 Biolog 分析.

表 1 各滤池设计与运行参数

Table 1 Designing and operating parameters of biofilters

项目	生物活性炭滤池 1 号	生物活性炭滤池 2 号	生物强化滤池 1 号	生物强化滤池 2 号
滤滤料种类	柱状活性炭	颗粒活性炭	石英砂 + 柱状活性炭	石英砂 + 颗粒活性炭
滤层厚度/mm	1 000	1 000	350 + 650	350 + 650
空床接触时间/min	15	15	15	15
气/水反冲强度/ $L \cdot (s \cdot m^2)^{-1}$	6/15	6/15	6/15	6/15
气/水冲洗历时/min	5/12	5/12	5/12	5/12
反冲周期/次·周 ⁻¹	2	2	2	2

称取各生物滤池填料 200 g, 分别加入 50 mL 无菌磷酸盐缓冲液, 270 r/min 振荡 2 h; 然后静置 0.5 h, 取 25 mL 混悬液 8 000 r/min 离心 5 min, 收集沉淀物用于细菌基因组 DNA 的提取.

1.4 Biolog 分析

微生物群落代谢功能应用 Biolog Eco 微平板评价, Biolog Eco 微平板共有 96 个小孔, 含有 3 个对照和 3 套 31 种不同碳源. 样品中的微生物群落在代谢过程中, 使 Biolog Eco 微平板中的四唑染料变成紫色, 根据反应孔中颜色变化的吸光度值来指示微生物对 31 种不同碳源的利用模式, 从而评价微生物群落的功能特征^[14]. 本研究中, 取样品稀释液分别接种于 Biolog Eco 微平板, 每孔 125 μ L. 将接种的 Biolog Eco 微平板在 25 $^{\circ}$ C 下培养, 分别于 0、24、48、72、96、120、144、168、192、216 和 240 h 在 590 nm 测定吸光度值.

微生物群落代谢强度采用平均颜色变化率 (average well color development, AWCD) 来描述^[17], 计算表达式为: $AWCD = \sum (C - R) / 31$, 式中, C 为各反应孔的吸光度值, R 为对照孔的吸光度值. 选择 Shannon 多样性与均匀度指数^[18]、Simpson 优势指数和 McIntosh 多样性与均匀度指数^[19] 评价生物滤池微生物群落功能多样性. 应用 SPSS13.0 统计软件对微生物代谢特征进行主成分分析 (principal component analysis, PCA), 及利用 NTSYS-pc2.10e 软件对各生物滤池的碳源代谢谱进行聚类分析.

1.5 单链构象多态性图谱分析

1.5.1 DNA 的提取

DNA 的提取按照 AxyPrep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit 试剂盒说明进行. 利用 RNA/DNA 测定仪测定 DNA 含量后, 置于 -20 $^{\circ}$ C 保存备用.

1.5.2 引物选择及 PCR 扩增

PCR 扩增引物为 5'-CAGCAGCCGCGTAATAC-

3' (COM₁) 和 5'-CCGTCAATTCCTTTGAGTTT-3' (COM₂)^[20, 21], 分别对应于 *E. coli* 16S rRNA 基因的 519 ~ 536 bp 和 907 ~ 926 bp. 其中, 反向引物 COM₂ 的 5' 端采用磷酸化标记, 引物均由 Invitrogen 生物技术有限公司合成并标记.

实验采用 50 μ L 的 PCR 反应体系, 其组分包括 5 μ L 10 \times PCR 反应缓冲液、3 μ L 浓度为 25 mmol/L 的镁离子溶液、4 μ L 浓度为 2.5 mmol/L 的 dNTP 混合物、2 μ L 浓度为 10 μ mol/L 的引物、0.5 μ L (5 U/ μ L) 的 *Taq* DNA 聚合酶以及 4 μ L 模板液. 反应程序为: 94 $^{\circ}$ C 变性 5 min 后, 进行 30 个循环, 即 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min. 循环完毕后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min^[20]. 取 5 μ L 扩增产物于 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳, 并与 100 bp DNA 分子量标准比较, 确定分子的大小.

1.5.3 PCR 产物的酶切处理

将 1 μ L λ -核酸外切酶 (10 U)、3 μ L 10 \times 缓冲液及 25 μ L PCR 产物混合, 加双蒸水至 30 μ L, 37 $^{\circ}$ C 保温 2 h. 处理完毕后, 置于 72 $^{\circ}$ C 水浴中 10 min 以灭活 λ 核酸外切酶.

1.5.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析

取 10 μ L 上述酶切产物与等量上样缓冲液 (体积分数为 95% 的甲酰胺、10 mmol/L EDTA 和质量分数为 0.02% 的溴酚蓝) 混合, 95 $^{\circ}$ C 变性 2 min, 取出后置于冰浴中 5 min^[21]. 然后, 将水相全部上样, 在质量分数为 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳. 在温度 20 $^{\circ}$ C、电压为 150 V 的条件下电泳 5 min, 然后在电压为 65 V 的条件下电泳 8 h. 电泳结束后, 取下凝胶. 银染^[22]后, 扫描凝胶并保存图像, 利用 BandScan 5.0 软件对实验结果进行图像处理和分.

1.6 净水效果分析

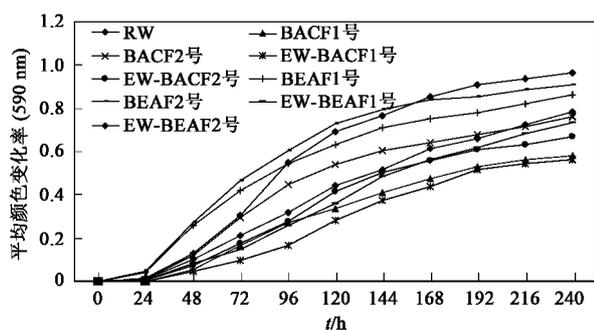
在工艺运行过程中, 通过测定各生物滤池进出

水中 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、高锰酸盐指数、 UV_{254} 和 BDOC 等指标,研究不同工艺的处理效果.

2 结果与讨论

2.1 碳源平均颜色变化率(AWCD)

AWCD 值反映微生物对不同碳源代谢的总体情况,其变化速率指示微生物群落的代谢活性^[6],并可在一定程度上反映介质中微生物种群的数量和结构特征^[17-23].生物滤池工艺中微生物群落代谢活性分析显示(图2),AWCD 值在 24 h 内变化很小,24 h 后升高较快,168 h 后趋于稳定.这说明微生物群落代谢的 AWCD 值随时间变化曲线符合微生物利用基质的规律,即存在较明显的适应期、对数期和稳定期等阶段^[10-23,24].从生物滤池工艺进、出水 AWCD 曲线升高速率可知,原水(进水)中微生物群落对碳源的利用程度和速率均高于出水,说明原水经生物滤池工艺处理后,出水中微生物种群和数量明显减少,也从另一角度反映原水中的活性微生物被生物滤池截留.在同类型生物滤池 AWCD 曲线的对比中,可见 BACF2 号的 AWCD 值高于 BACF1 号,并且变化速率快,说明 BACF2 号中的微生物群落代谢活性比 BACF1 号强,即颗粒活性炭生物滤池中微生物群落种群与数量相对较多.尽管生物强化滤池 2 号比生物强化滤池 1 号的 AWCD 值大,然而两者 AWCD 值随培养时间变化曲线十分类似;这表明两生物强化滤池中微生物种群相似性高,AWCD 值的差异反映了两者间微生物数量上的不同.



RW 为原水, BACF1 号为生物活性炭滤池 1 号, BACF2 号为生物活性炭滤池 2 号, EW-BACF1 号为生物活性炭滤池 1 号出水, EW-BACF2 号为生物活性炭滤池 2 号出水, BEAF1 号为生物强化滤池 1 号, BEAF2 号为生物强化滤池 2 号, EW-BEAF1 号为生物强化滤池 1 号出水, EW-BEAF2 号为生物强化滤池 2 号出水

图2 生物滤池工艺中微生物群落 AWCD 变化

Fig. 2 AWCD variation of microbial community in biofilter processes

2.2 碳源代谢能力的差异分析

研究各生物滤池中微生物群落对不同碳源利用能力的差异,有助于更全面了解滤池微生物群落代谢功能特征.由图3(a)可以看出, BACF2 号中微生物群落对 31 种碳源的利用率为 79.6%, 明显高于 BACF1 号中微生物群落的利用率 53.8% ($p < 0.01$); 而 BEAF1 号与 BEAF2 号中的微生物群落对碳源的利用率分别是 73.4%、75.5%, 两者间差异无统计学意义 ($p > 0.05$). 有文献报道生活污水砂滤处理系统中的微生物群落对 31 种碳源的利用率超过 80%^[25], 而本研究中, 各生物滤池微生物群落对碳源的利用率低于 80%, 主要原因在于本水质净化处理系统的供水水源水属于贫营养型, 加之微生物之间相互作用如竞争、捕食与抗生等作为微生物群落的选择压力^[25]致使滤池微生物群落多样性和分解代谢能力相对较低. 将不同生物滤池中微生物群落对 Biolog 微平板中胺/氨基化合物类、氨基酸类、糖类、羧酸类、双亲化合物类、聚合物类碳源利用率进行分析[图3(b)], BACF2 号中微生物群落对胺/氨基化合物类化合物的利用率较 BACF1 号中的高 ($p < 0.01$), 而对氨基酸类化合物的利用率较 BACF1 号中的低 ($p < 0.05$); 2 个生物活性炭滤池中微生物群落对糖类、羧酸类、双亲化合物类、聚合物类化合物的利用率无统计学差异 ($p > 0.05$). 在 2 个生物强化滤池的比较中, BEAF1 号中微生物群落对胺/氨基化合物类化合物的利用率比 BEAF2 号中的高, 而对糖类化合物的利用率比 BEAF2 号中的低. 2 个滤池中的微生物群落对氨基酸类、羧酸类、双亲化合物类、聚合物类化合物的利用率一致 ($p > 0.05$), 该结果表明, 各滤池中微生物群落对不同种类碳源利用效率上存在差异, 滤池间微生物群落具有不同的代谢功能.

进一步将生物滤池中微生物群落碳源代谢 96 h 时 Biolog 数据用主成分分析 (principal component analysis, PCA), 即采取降维的方法, 用少数的相互无关的综合指标反映原统计数据中所包含的大多数信息^[11]. 在 31 种碳源中提取出 2 个主成分因子 PC1 和 PC2, 分别占总变异的 52.5% 和 27.3%, 第一主成分 (PC1) 是变异的主要来源. 从 31 种碳源在 2 个主成分上的载荷值可知, D-纤维二糖 (G1)、D-甘露醇 (D2)、腐胺 (H4)、 β -甲基-D-葡萄糖苷 (A2)、N-乙酰-D-葡萄糖氨 (E2)、L-精氨酸 (A4)、D-苹果酸 (H3) 和吐温 80 (D1) 在第一主成分 (PC1) 上有较高载荷, 说明 PC1 基本反映了这些指标的信息;

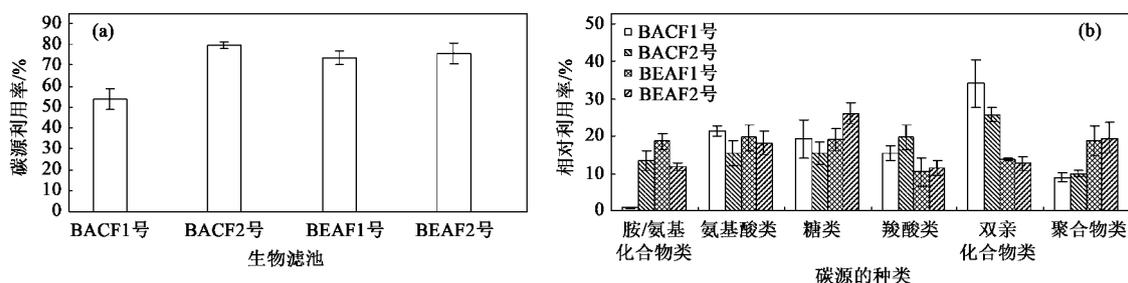


图3 不同生物滤池中微生物群落对碳源的利用情况

Fig. 3 Utilized rate of carbon sources in Biolog Ecoplate by microbial community of biofilters

α -D-乳糖 (H1)、 γ -羟丁酸 (E3) 和苯乙胺 (G4) 在第二主成分 (PC2) 上有较高载荷, 说明 PC2 基本反映这些指标的信息. 取 PC1 和 PC2 表征生物滤池微生物的代谢特征 (图 4), 从图 4 可以看出, BEAF1 号和 BEAF2 号的微生物群落碳代谢特征较为接近, 均聚在 PC1 轴正方向; BEAF1 号稍向 PC2 轴的正端漂移, 虽然漂移的幅度较小, 但这种漂移体现出微生物群落代谢指纹发生了较小的变化, 说明 PC2 有一定的区分作用. BACF2 号的微生物群落对碳源的利用落在 PC1 轴正方向, 而 BACF1 号的微生物群落对碳源的利用落在 PC1 轴负方向, 两者间的微生物群落代谢特征发生了明显变化, 同时说明 PC1 可以区分不同的活性炭填料对生物活性炭滤池中微生物群落代谢特征的影响.

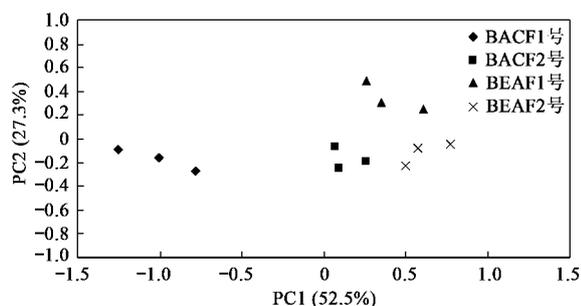


图4 各生物滤池中微生物群落碳源利用谱主成分分析

Fig. 4 Principal component analysis of utilized carbon sources by microbial communities from biofilters

利用 NTSYS-pc2. 10e 软件对各生物滤池中微生物群落碳源代谢特征进行聚类分析 (见图 5), 发现各滤池间微生物群落利用碳源的相似系数变化范围为 0.67 ~ 0.90 之间, 其中 BEAF1 号与 BEAF2 号相似程度较高, 两者间微生物群落种类差异小; BACF1 号与 BACF2 号相似性较低, 说明两滤池中微生物群落种类差异大.

2.3 微生物群落功能多样性分析

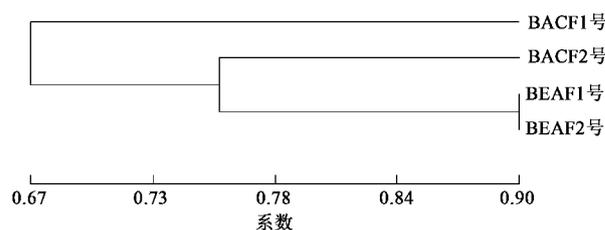


图5 不同生物滤池中微生物群落利用碳源谱的聚类分析

Fig. 5 Cluster analyses of carbon source utilization profiles for microbial communities from biofilters

微生物群落功能多样性是描述微生物群落特征的一个重要指标, 可反映生物滤池中微生态状况. 不同的多样性指数可以从不同角度分析生物滤池微生物群落功能多样性, 如 Shannon 指数可以表征滤池中微生物群落丰富度, Simpson 指数评估滤池中微生物群落优势度, 而 McIntosh 指数反映滤池中微生物群落均匀度^[11]. 本实验中采用 96 h 的数据, 通过 Shannon、Simpson 和 McIntosh 多样性指数模型计算得到各生物滤池微生物群落底物利用多样性指数 (表 2). BACF1 号中的微生物群落丰富度、优势度和均匀性指数均显著低于 BACF2 号 ($p < 0.05$), 这可能是由于 BACF2 号中的填料颗粒活性炭性能参数优于 BACF1 号中的填料柱状活性炭^[22], 使 BACF2 号中微环境利于不同种属的微生物生长, 导致其微生物群落代谢功能多样性较高. BEAF1 号与 BEAF2 号中微生物群落的 Shannon、Simpson 和 McIntosh 多样性指数的差异没有统计学意义, 说明生物强化滤池工艺中的填料对微生物群落功能多样性无明显影响, 与席劲瑛等研究结果相符, 即生物过滤塔长期运行时填料对微生物代谢的影响较小^[6].

2.4 微生物群落结构的 SSCP 解析

SSCP 上的每个条带可以认为代表一种微生物, 它反映样品中数量上占优势的微生物类群^[26]. 由

表 2 生物滤池中微生物群落功能多样性指数¹⁾

Table 2 Functional diversity index of microbial communities in biofilters

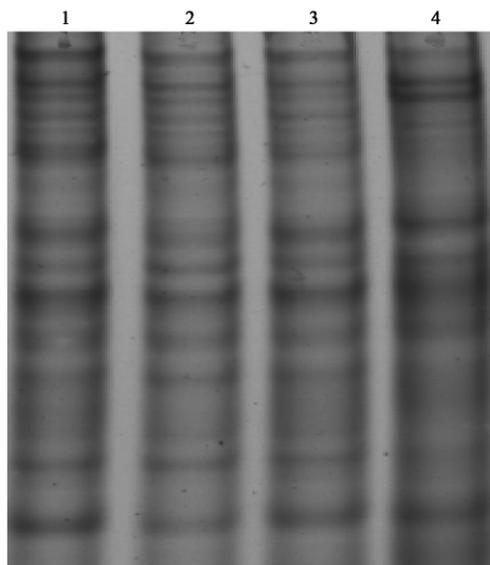
生物滤池	Shannon 指数	Shannon 均匀度	Simpson 指数	McIntosh 指数	McIntosh 均匀度
BACF1 号	2.41 ± 0.13 ^a	0.85 ± 0.09 ^a	0.89 ± 0.07 ^a	1.96 ± 0.11 ^a	0.88 ± 0.09 ^a
BACF2 号	2.88 ± 0.04 ^b	0.89 ± 0.07 ^b	0.94 ± 0.02 ^b	3.98 ± 0.08 ^b	0.95 ± 0.01 ^b
BEAF1 号	3.05 ± 0.06 ^b	0.96 ± 0.04 ^b	0.95 ± 0.05 ^b	4.52 ± 0.13 ^b	0.97 ± 0.05 ^b
BEAF2 号	3.04 ± 0.15 ^b	0.94 ± 0.01 ^b	0.95 ± 0.10 ^b	4.97 ± 0.19 ^b	0.98 ± 0.03 ^b

1) 表中数据为均值 ± 标准差, $n = 3$, 表中同一列中不同字母表示差异具有统计学意义 ($p < 0.05$)

图 6 可知,各生物滤池可分辨条带约十余条,且差异较小(根据条带数量、位置与灰度),这表明了各生物滤池中微生物种群丰富,优势菌群组成十分相似。这与王振宇等^[27]的研究结果一致,他们认为生物活性炭上微生物群落结构随着运行时间的延长,其多样性和相似程度增加,生物系统具有良好的稳定性。Chabaud 等^[25]认为,不论生物反应器运行起始阶段中的微生物群落如何,随着运行时间延长,反应器中微生物群落结构能达到一致性,同时工艺运行条件对反应器中微生物群落结构无明显影响。本研究各生物滤池运行过程中,初始定植的微生物与原水中的微生物通过竞争、协同、互惠共生等作用,逐渐形成相对稳定的微生物群落。各生物滤池 SSCP 图谱的高度相似性,从分子水平反映了生物滤池运行 6 个月后微生物系统达到稳定状态。有研究表明,生长在生物活性炭表面的微生物是以长 1~3 μm 的杆菌为主^[28],它们是环境水体和土壤中常见菌,如对环境中有毒物质的起降解作用的假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)和芽胞杆菌(*Bacillus* sp.)^[15]。笔者在这方面也曾作过一些工作,生物滤池中主要为巨大芽胞杆菌、短小芽胞杆菌、弗劳地枸橼酸杆菌、豚鼠气单胞菌、恶臭假单胞菌等微生物^[22]。

2.5 净水效果分析

各滤池对水中污染物的处理效果如表 3 所示,与同类研究结果相符^[29]。4 个生物滤池对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、



泳道 1~4 分别为 BEAF2 号、BEAF1 号、BACF2 号和 BACF1 号的样品

图 6 各滤池中微生物群落 SSCP 图谱

Fig. 6 SSCP profiles of microbial community in biofilters

$\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、高锰酸盐指数、 UV_{254} 和 BDOC 这 5 种水质污染指标的去除效果高于砂滤池,显示生物滤池的性能明显优于砂滤池。各生物滤池对污染物 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的去除率 > 80% 以上,具有良好的去除作用,表明各生物滤池中存在大量硝化细菌。

在运行参数相同的条件下,2 种生物强化滤池的除污效能差异无统计学意义 ($p > 0.05$),表现一

表 3 各滤池的运行效果¹⁾

Table 3 Operation efficiency of biofilters

监测指标	砂滤	BEAF1 号	BEAF2 号	BACF1 号	BACF2 号
	进水/出水(去除率)	进水/出水(去除率)	进水/出水(去除率)	进水/出水(去除率)	进水/出水(去除率)
$\text{NH}_4^+ - \text{N}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.25/0.19(24.0%)	0.25/0.05(80.0%)	0.250/0.037(85.2%)	0.19/0.03(84.2%)	0.19/0.02(89.4%)*
$\text{NO}_2^- - \text{N}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.022/0.022(0)	0.022/0.001(95.4%)	0.022/0.001(95.4%)	0.022/0.001(95.4%)	0.022/0.001(95.4%)
高锰酸盐指数/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	1.60/1.25(21.8%)	1.60/1.20(25.0%)	1.60/1.18(26.2%)	1.25/0.95(24.0%)	1.25/0.86(31.2%)*
$\text{UV}_{254}/\text{cm}^{-1}$	0.025/0.025(0)	0.025/0.022(12.0%)	0.025/0.022(12.0%)	0.025/0.021(16.0%)	0.025/0.021(16.0%)
$\text{BDOC}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.537/0.486(9.5%)	0.537/0.170(68.3%)	0.537/0.161(70.0%)	0.486/0.156(67.9%)	0.486/0.136(72.0%)*

1) 表中数据均为 3 次测定的平均值, BEAF1 号与 BEAF2 号、BACF1 号与 BACF2 号比较,* 表示它们之间差异有统计学意义 ($p < 0.05$)

致的去除规律. 2 个生物活性炭滤池有良好的除污效果, 它们对 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、高锰酸盐指数、 UV_{254} 和 BDOC 指标的去除率分别达到 84.2%、95.4%、24.0%、16.0% 和 67.9%, 其中两者对 NH_4^+-N 、高锰酸盐指数、BDOC 的去除率存在差异且有统计学意义 ($p < 0.05$), 即 BACF2 号高于 BACF1 号, 这表明颗粒炭生物滤池的净水效果要优于柱状炭生物滤池. 通过比较两类活性炭填料可知^[22], 颗粒活性炭的性能参数中糖蜜值、单宁酸值、碘值大于柱状活性炭, 反映颗粒活性炭空隙结构中大孔、中孔的比例高, 微孔结构发达^[30], 它们为微生物提供良好栖息场所, 有利于微生物群落生长繁殖. 同时, 颗粒活性炭粒径小, 均匀度高, 过滤过程的水力剪切力小, 滤床上优势群落受到的外部影响小, 滤池净水效果显著.

一些研究显示生物滤池净水能力取决于滤池中微生物的生物活性^[31, 32]. 由本研究中可知, 相同条件下, 2 种生物强化滤池中的微生物群落功能多样性和代谢能力无明显差异, 2 个滤池的运行效果基本一致; 而在生物活性炭滤池中, BACF2 号中的微生物群落功能多样性高, 代谢能力强, 对污染物的去除率明显优于 BACF1 号; 这也提示生物滤池的运行效果与滤池中微生物群落代谢能力有关. 尽管 4 个生物滤池的 SSCP 图谱相似程度较高, 但它们之间仍存在着差异, 这些差异是否导致群落功能多样性和代谢能力的不同, 进而表现在净水效果上, 有待于进一步研究.

3 结论

(1) 从 AWCD 曲线特征来看, 原水经过生物活性炭或生物强化过滤工艺后, 出水微生物群落代谢活性明显降低, 说明生物滤池截留了原水中的活性微生物. 2 个生物强化滤池中微生物群落的 AWCD 值随培养时间变化曲线十分类似, 反映两者代谢活性基本一致; 而在 2 个生物活性炭滤池中, 颗粒活性炭滤池中微生物群落的代谢活性比柱状活性炭滤池中的强.

(2) 4 种生物滤池有丰富的微生物群落结构, 优势菌群组成相似. 2 个生物强化滤池中微生物群落碳代谢特征较为接近, 而 2 种生物活性炭滤池中微生物群落碳代谢特征存在明显的差异. 在运行参数相同的条件下, 生物强化滤池中的填料对微生物群落结构和代谢功能的影响较小, 而生物活性炭滤池中的颗粒活性炭填料有利于微生物群落生长繁

殖, 其微生物群落功能多样性较高.

(3) 各生物滤池对 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、高锰酸盐指数、 UV_{254} 和 BDOC 的去除率分别达到 80.0%、95.4%、24.0%、12.0% 和 67.9%. 2 个生物强化滤池的净水效果无统计学差异 ($p > 0.05$), 而颗粒活性炭生物滤池对 NH_4^+-N 、高锰酸盐指数、BDOC 的去除率高于柱状活性炭生物滤池 ($p < 0.05$). 不同生物滤池微生物群落代谢能力与滤池运行效果的对比分析提示, 它们之间存在着一定的相关性.

参考文献:

- [1] Van der Hoek J P, Hofman J A M H, Graveland A. The use of biological activated carbon filtration for the removal of natural organic mater and organic micropollutants from water [J]. *Water Science and Technology*, 1999, **40**(9): 257-264.
- [2] 鄢玉楠, 李伟光, 白宇, 等. 生物活性滤池强化过滤去除饮用水中嗅味 [J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2008, **40**(12): 1932-1936.
- [3] Seređyńska-Sobecka B, Tomaszewska M, Janus M, et al. Biological activation of carbon filters [J]. *Water Research*, 2006, **40**(2): 355-363.
- [4] Merae B M, Lapara T M, Hozalski R M. Biodegradation of haloacetic acids by bacterial enrichment cultures [J]. *Chemosphere*, 2004, **55**(6): 915-925.
- [5] Olaniran A, Babalola G O, Okoh A I. Aerobic dehalogenation potentials of four bacterial species isolated from soil and sewage sludge [J]. *Chemosphere*, 2001, **45**: 45-50.
- [6] 席琼瑛, 胡洪营, 姜健, 等. 生物过滤塔中微生物群落的代谢特性 [J]. *环境科学*, 2005, **26**(4): 165-170.
- [7] Liu X B, Huck P M, Slawson R M. Factors affecting drinking water biofiltration [J]. *Journal of American Water Works Association*, 2001, **93**(12): 90-101.
- [8] Nugroho W A, Reungoat J, Keller J. The performance of biological activated carbon in removing pharmaceuticals in drinking water treatment [J]. *Journal of Applied Sciences in Environmental Sanitation*, 2010, **5**(2): 131-141.
- [9] Laurent P, Kihn A, Andersson A, et al. Impact of backwashing on nitrification in the biological activated carbon filters used in drinking water treatment [J]. *Environmental Technology*, 2003, **24**(3): 277-287.
- [10] 孔滨, 孙波, 郑宪清, 等. 水热条件和施肥对黑土中微生物群落代谢特征的影响 [J]. *土壤学报*, 2009, **46**(1): 100-106.
- [11] 申卫收, 林先贵, 张华勇, 等. 不同施肥处理下蔬菜塑料大棚土壤微生物活性及功能多样性 [J]. *生态学报*, 2008, **28**(6): 2682-2689.
- [12] Chen J, Xie H J, Zhuang X L, et al. Substrate-induced changes in microbial community-level physiological profiles and their application to discriminate soil microbial communities [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, **20**(6): 725-731.
- [13] 郑华, 陈法霖, 欧阳志云, 等. 不同森林土壤微生物群落对

- Biolog-GN 板碳源的利用 [J]. 环境科学, 2007, **28**(5): 1126-1130.
- [14] Leflaive J, Danger M, Lacroix G, *et al.* Nutrient effects on the genetic and functional diversity of aquatic bacterial communities [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, **66**(2): 379-390.
- [15] 刘小琳, 刘文君. 生物陶粒与生物活性炭上微生物群落结构的 PCR-SSCP 技术解析 [J]. 环境科学, 2007, **28**(4): 924-928.
- [16] Grove J A, Anderson W A, Moo-Young M, *et al.* Changes in the potential functional diversity of the bacterial community in biofilters [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, **77**(3): 741-747.
- [17] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, **57**(8): 2351-2359.
- [18] Zhou J, Guo W H, Wang R Q, *et al.* Microbial community diversity in the profile of an agricultural soil in northern China [J]. Journal of Environmental Sciences, 2008, **20**(8): 981-988.
- [19] 林瑞余, 戎红, 周军建, 等. 苗期化感水稻对根际土壤微生物群落及其功能多样性的影响 [J]. 生态学报, 2007, **27**(9): 3644-3654.
- [20] Eichler S, Christen R, Höltje C, *et al.* Composition and dynamics of bacterial communities of a drinking water supply system as assessed by RNA- and DNA-based 16S rRNA gene fingerprinting [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**(3): 1858-1872.
- [21] Schwieger F, Tebbe C C. A new approach to utilize PCR-single-strand-conformation polymorphism for 16S rRNA gene-based microbial community analysis [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, **64**(12): 4870-4876.
- [22] 向红, 吕锡武, 尹立红, 等. 净水工艺中微生物群落结构与优势菌 [J]. 东南大学学报(自然科学版), 2010, **40**(3): 630-635.
- [23] 孟庆杰, 许艳丽, 李春杰, 等. 不同植被覆盖对黑土微生物功能多样性的影响 [J]. 生态学杂志, 2008, **27**(7): 1134-1140.
- [24] Choi K, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities [J]. Journal of Microbiological Methods, 1999, **36**(3): 203-213.
- [25] Chabaud S, Martin-Laurent F, Andres Y, *et al.* Evolution of bacterial community in experimental sand filters: physiological and molecular fingerprints [J]. Water, Air and Soil Pollution, 2008, **195**(1-4): 233-241.
- [26] 赵阳国, 王爱杰, 任南琪, 等. SSCP 技术分析不同废水处理系统中微生物群落结构 [J]. 环境科学, 2006, **27**(7): 1429-1433.
- [27] 王振宇, 张昱, 刘新春, 等. O₃-BAC 工艺的微生物群落结构解析 [J]. 中国给水排水, 2006, **22**(1): 1-4.
- [28] 马放. 固定化生物活性炭除微量有机物的微生物学机制及净化效能研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 1998.
- [29] 黄晓东, 李德生, 吴为中, 等. 生物活性滤池的强化过滤研究 [J]. 中国给水排水, 2001, **17**(8): 10-13.
- [30] 王广智, 李伟光, 何文杰, 等. 活性炭性质对固定化生物活性炭净水效果的影响研究 [J]. 环境科学, 2006, **27**(10): 2040-2044.
- [31] Song J, Kinney K. Effect of vapor-phase bioreactor operation on biomass accumulation, distribution, and activity: linking biofilm properties to bioreactor performance [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2000, **68**(5): 508-516.
- [32] Kim D, Sorial G A. Role of biological activity and biomass distribution in air biofilter performance [J]. Chemosphere, 2007, **66**(9): 1758-1764.