

生物强化 MBR 处理溴氨酸废水实验研究

杨 桦, 曲媛媛*, 王 竞, 邢林林, 李 昂, 关晓燕

(大连理工大学 环境与生命学院, 辽宁 大连 116024)

摘要: 利用高效降解菌株 *Sphingomonas xenophaga* QYY 对 MBR 处理系统进行生物强化处理溴氨酸研究. 对稳定运行的 MBR 体系进行了条件优化实验, 考察了不同运行条件对生物降解性和生理状态指标等宏观功能的影响. 确定了最优化的运行方式: 进水溴氨酸浓度 250 mg/L; 不控温; 曝气量 0.8 L/min; 水力停留时间 14.5 h; pH=7. 同时, 采用现代分子指纹技术——核糖体基因间隔序列分析(RISA)揭示了菌群微观结构随系统操作参数变化而变化的规律. 生物相分析表明, 系统的游离污泥主要以杆状菌为主, 而附着在中空纤维膜丝表面的菌体分为两层, 第一层主要为丝状菌, 第二层为含丝状菌、球状菌和杆状菌等多种形态的菌体.

关键词: 生物强化; 膜生物反应器; 操作参数; 宏观功能; 溴氨酸

中图分类号: X172 **文献标志码:** A

0 引言

染料和印染废水的排放, 不但造成水环境的严重污染, 而且由于渗透或淋溶作用, 会对地下水及地表水造成次生污染, 直接危及人类健康^[1]. 其中, 蒽醌染料结构稳定、可生化性差、难于生物降解, 且生成的中间产物结构复杂, 往往具有毒性或致癌性, 利用传统的生物处理方法效果不佳^[2]. 因此, 寻求一种更安全、更有效、更彻底、更价廉的生物处理法成为当务之急.

溴氨酸是合成蒽醌染料的重要中间体, 大量存在于染料合成废水. 但是关于溴氨酸的降解研究仅仅停留在实验室阶段, 主要是筛选高效菌, 并对菌株降解酶的特性和降解途径进行初步研究.

生物强化(bioaugmentation)是一种新型高效的生物技术, 即通过向自然菌群中投加多种有效微生物, 以加速目标去除物的降解, 改善水质, 提高系统处理效率^[3,4]. 同时, 现代分子指纹技术可以对复杂强化体系中的群落动态进行跟踪^[5]. 然而, 有关强化体系各种参数改变对系统宏观功能的影响, 仍有待于深入研究.

本实验室已成功地利用高效降解菌株 *Sphingomonas xenophaga* QYY 对 MBR 反应器进行强化处理溴氨酸, 处理效果良好, 并采用核糖体基因间隔序列分析(ribosomal intergenic sequence analysis, RISA)技术对体系的群落结构变化进行分析, 揭示了 MBR 宏观功能与微生物群落动态变化之间的内在联系^[6~9]. 而对于稳定运行的 MBR 体系, 其各种参数的改变对系统的宏观功能究竟有何影响, 还需要进一步的实验证明.

为了阐明上述问题, 本文针对稳定运行的 MBR 体系进行条件优化实验, 考察不同运行条件对生物降解性和生理状态指标等宏观功能的影响. 同时, 采用 RISA 技术揭示菌群微观结构随系统宏观参数的变化规律, 旨在为实际处理体系提供必要的理论依据.

1 材料与方法

1.1 实验装置

实验采用一体式膜生物反应器, 如图 1 所示, 容积 10 L, 膜组件为聚乙烯中空纤维微滤膜, 孔径 0.2 μm , 膜面积 0.2 m^2 . 连续进水, 间歇出水(8

收稿日期: 2007-03-06; 修回日期: 2008-01-15.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50608011).

作者简介: 杨 桦(1955-), 女, 工程师, E-mail: yanghua@dl.cn; 曲媛媛*(1976-), 女, 博士, 副教授, E-mail: qyy007@126.com.

min 抽吸, 2 min 停). 运行过程中进水溴氨酸浓度 150~300 mg/L, 溶解氧浓度 4~5 mg/L, 不控温, pH=7, 运行过程不排泥.

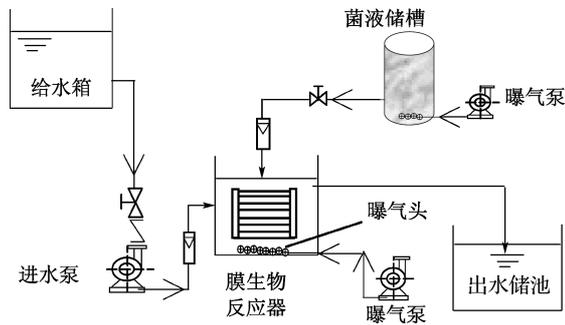


图1 实验装置

Fig. 1 Experimental instruments

1.2 菌种来源及模拟废水

高效降解菌株为鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas xenophaga* QYY), 由本实验室分离保存. 活性污泥取自大连春柳生活污水处理厂.

实验用水为人工模拟废水, 采用溴氨酸、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 Na_2HPO_4 、 KH_2PO_4 作为碳、氮、磷源, 按 $\rho(\text{COD}) : \rho(\text{N}) : \rho(\text{P}) = 100 : 5 : 1$ 配制, 并添加微量 CaCl_2 、 MgSO_4 、 FeCl_3 以满足微生物生长与代谢需要. 其中溴氨酸(1-氨基-4-溴萘醌-2-磺酸, BAA)购于浙江东港工贸集团公司, 相对分子质量为 382.19, 其可见特征吸收波长为 485 nm.

1.3 分析方法

监测 485 nm 处的特征吸收, 通过浓度-吸光度标准曲线得到溴氨酸浓度; COD 采用微波消解法测定; 胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 的提取采用甲醛-NaOH 法^[10], 其中蛋白质测定采用考马斯亮蓝法; 脱氢酶活性采用 TTC-脱氢酶活性法测定^[11].

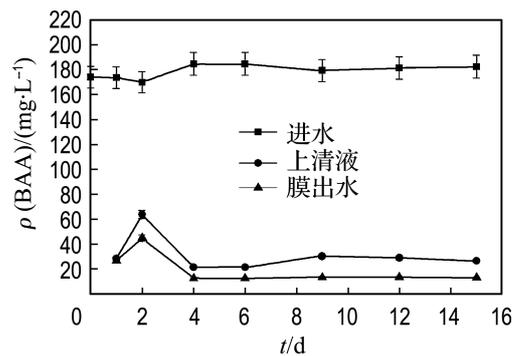
活性污泥样品总 DNA 的提取采用本实验室建立的活性污泥基因组 DNA 提取方法^[12]. RISA 扩增所用的引物及 PCR 反应条件如文献[6]所述. 其中 RISA 指纹 PCR 扩增所用引物为 926F (5'-CTYAAAKGAATTGACGG-3') 和 189R (5'-TACTGAGATGYTTMARTTC-3'). PCR 反应体系为 50 μL 体系, 其中含有 8 μL dNTP (2.5 mmol/L), 5 μL 10 \times Buffer, 0.5 μL LATaq (5 u/

μL), 0.5 μL 926F (20 pmol), 0.5 μL 189R (20 pmol). 反应条件为 94 $^\circ\text{C}$ 预变性 2 min, 94 $^\circ\text{C}$ 变性 1 min, 48 $^\circ\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 1.5 min, 30 个循环, 最后 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 10 min.

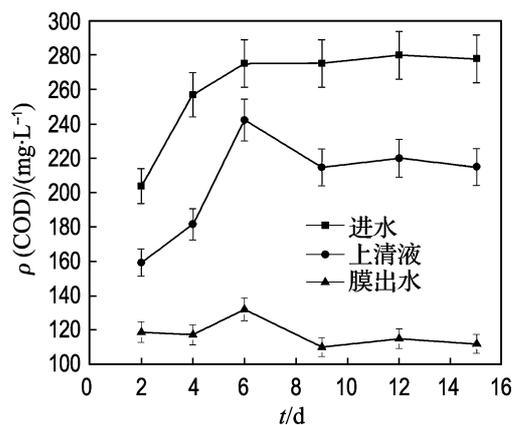
2 结果与讨论

2.1 MBR 中 COD 去除及溴氨酸脱色

强化 MBR 中溴氨酸的脱色如图 2(a) 所示. 结果表明, 投加菌株 QYY 的 MBR 系统, 在最初的 24 h 就可以使 170 mg/L 的溴氨酸脱色率达到 90% 左右. 随后反应器连续运行, 水力停留时间 (t_{hr}) 平均为 13.9 h. 从图中可以看出, 连续运行后第 2 d 出水的溴氨酸浓度略有上升, 而在接下来的运行期内, 膜出水溴氨酸脱色率可达 90% 以上. 可见, 菌株 QYY 的投加可使 MBR 系统在 5 d 内迅速启动, 并稳定运行, 脱色效果好且稳定. 强化 MBR 中 COD 的去除如图 2(b) 所示. 从图中可



(a) 溴氨酸脱色



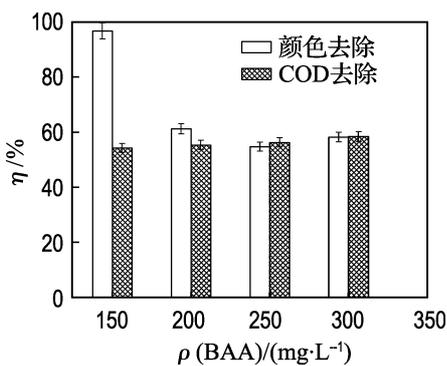
(b) COD 去除

图2 强化 MBR 中溴氨酸脱色及 COD 的去除
Fig. 2 Removal of bromoamine acid (BAA) and COD in enhanced MBR

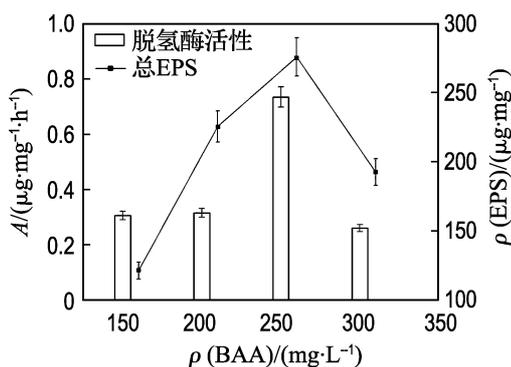
以看出,上清液的 COD 去除率一直维持在 20%~30%,而膜出水 COD 去除率保持在 50%以上。

2.2 参数变化对 MBR 的影响

2.2.1 溴氨酸浓度的影响 由图 3(a)可以看出,当进水溴氨酸浓度为 150 mg/L 左右时,膜出水脱色率约为 95%;当进水溴氨酸浓度增加至 200 mg/L 左右时,膜出水的脱色率降至 60%左右。主要是因为进水浓度增加后,生成的黄色产物无法被微生物进一步降解产生大量的积累,该黄色产物的最大吸收波长为 447 nm,影响了溴氨酸浓度的测定,导致溴氨酸的实测脱色率降低。随着进水浓度进一步增加,产物积累增加,脱色率略有下降。由于溴氨酸降解后形成稳定的终产物结构,COD 的去除在一定范围内受进水浓度的影响不大;但是终产物分子较大,易被膜截留,使得膜出水 COD 去除率相对保持稳定(图 3(a))。



(a) 溴氨酸浓度对色度及 COD 去除的影响



(b) 溴氨酸浓度对脱氢酶活性及 EPS 的影响

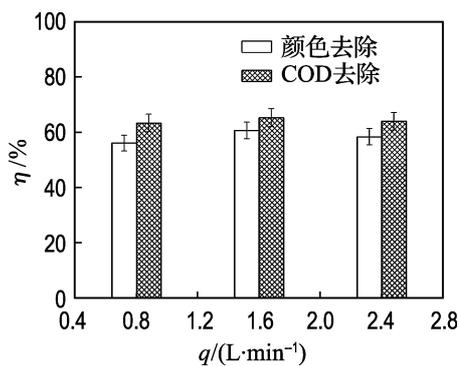
图 3 溴氨酸浓度对 MBR 的影响

Fig. 3 Effects of BAA concentration on MBR

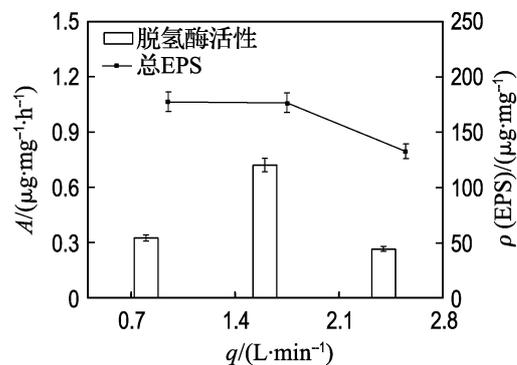
由图 3(b)可以看出,当进水浓度为 250 mg/L 时,脱氢酶活性升高,随着进水浓度的进一步提

高,出现底物抑制现象;当进水浓度达 300 mg/L 时,脱氢酶活性大大降低。溴氨酸浓度对 EPS 也有一定的影响,EPS 浓度随进水浓度的变化呈现出抛物线形状。进水浓度较高和较低时,EPS 浓度均较低,而在适宜的进水浓度下出现峰值。综合以上结果,确定最佳的进水浓度为 250 mg/L。

2.2.2 曝气量的影响 由图 4(a)可以看出,在实验范围内,曝气量 q 对脱色率的影响不大。在较低的曝气量下可达到较好的处理效果。随曝气量的变化,膜出水 COD 的去除率无明显变化。



(a) 曝气量对色度及 COD 去除的影响



(b) 曝气量对脱氢酶活性及 EPS 的影响

图 4 曝气量对 MBR 的影响

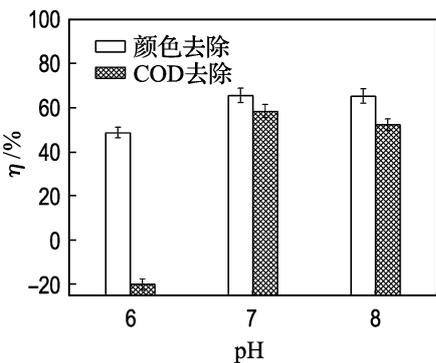
Fig. 4 Effects of aeration amount on MBR

实验表明,脱氢酶比其他指标更为敏感,易受外界因素的影响。图 4(b)表明脱氢酶活性在曝气量 1.6 L/min 时达最大值。这表明尽管在不同曝气量下,COD 及溴氨酸的去除率基本类似,但是对于微生物来说还是存在最佳的活性条件,即适宜的溶解氧浓度。图 4(b)显示,随曝气量的增加 EPS 浓度降低。一般认为,EPS 为微生物分泌和代谢的综合作用。通常,较高的曝气量易于产生较

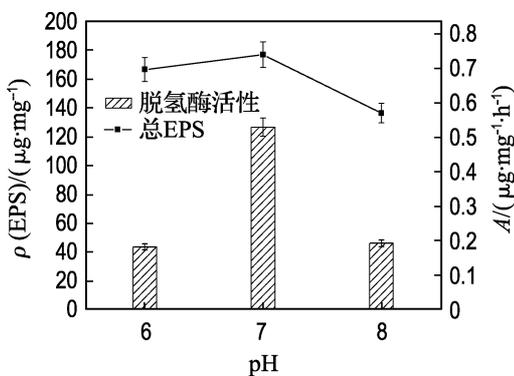
多的 EPS,但同时也使得微生物表面的 EPS 易于剥离,从而被微生物分解,导致 EPS 浓度降低. 综上,曝气量对生理状态指标影响较为显著,而对生物降解性指标影响甚小,因此从节能的角度考虑应采用 0.8 L/min 的曝气量.

2.2.3 pH 的影响 由图 5(a)可以看出,进水 pH 为中性和偏碱性情况下,系统的脱色率较高. 而在酸性条件下,膜出水和上清液的脱色率均有较大幅度的下降. 说明 MBR 系统可以在中性和偏碱性条件下稳定运行并达到较好的处理效果,而不适合在酸性条件下运行. 同样,COD 的去除效果也较好,并且中性条件下要好于碱性条件下. 而酸性条件下去除效果变差,上清液的 COD 去除率甚至出现负值,说明溴氨酸在酸性条件下不易被微生物降解.

pH 对脱氢酶活性的影响如图 5(b)所示,在中性条件下出现最高值,而在酸性和碱性条件下均较低,酸性条件下最低. 中性条件下的 EPS 浓



(a) pH 对色度及 COD 去除的影响



(b) pH 对脱氢酶活性及 EPS 的影响

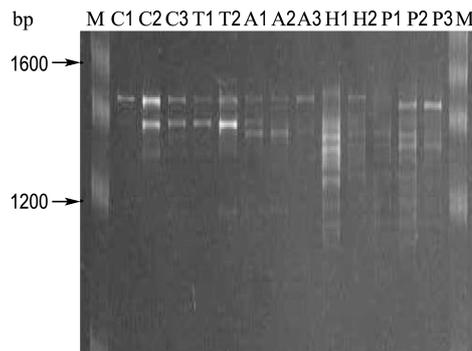
图 5 pH 对 MBR 的影响

Fig. 5 Effects of pH on MBR

度高于酸性和碱性条件下,碱性条件下最低. 造成这种现象的原因是中性条件下微生物活性高,分泌的 EPS 也相应增加. 而酸性情况下由于菌体自溶,胞内物质可能被吸附在 EPS 层, EPS 浓度也较高. 综上,生理状态指标受 pH 影响较大,而生物降解性在偏酸性时较低,在中性和偏碱性情况下基本保持一致. 因此从经济角度考虑,选择 pH=7 的运行条件.

2.3 参数变化对群落结构的影响

本实验采用 RISA 指纹揭示强化系统的操作参数变化对群落的动态影响,如图 6 所示. 结果表明,进水浓度、温度的变化对菌群微观结构的影响不明显,从 C1、C2、C3 三条泳带可以看出,系统形成了较为稳定的群落结构. 从图中还可以发现,曝气量的改变使得菌群结构有着相应的变化(A1、A2、A3),较低的曝气量不利于菌群的生长. 但是,菌群结构大体没有改变,因此其相应的功能不会随之变化,即降解特性受曝气量的影响也较小. 水力停留时间及 pH 对群落的微观结构影响较为显著,如图 6 所示,第 1 条带所代表的菌种是优势菌种. 因此,在本实验参数变化范围内可得出如下结论:参数变化对系统的微观结构有一定的影响,群落组成发生了相应的改变,但是这些变化不足以引起系统宏观功能大的改变. 同时还可以证明,



M:200bp ladder DNA Marker; C1、C2、C3:进水溴氨酸浓度 150、250、350 mg/L; T1、T2:温度 30 °C 及不控温; A1、A2、A3:曝气量 2.4、1.6、0.8 L/min; H1、H2:水力停留时间 22.0、14.5 h; P1、P2、P3:pH=7、pH=8、pH=6

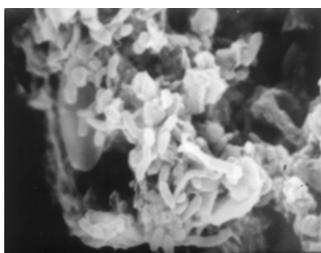
图 6 群落结构 RISA 指纹图

Fig. 6 RISA of microbial community structure

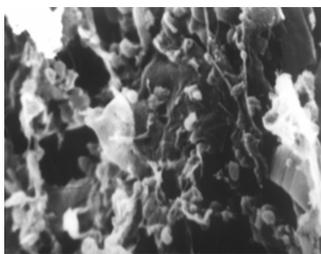
生物强化体系中,只要投加的高效菌种处于优势状态,即可保证系统的宏观处理功能。

2.4 强化体系的生物相分析

对稳定运行期反应器内的污泥样品进行扫描电镜分析,如图 7(a)所示.可以看出,具有溴氨酸降解能力的污泥中存在大量的杆状菌.而 RISA 显示的优势菌鞘氨醇单胞菌也呈杆状,与此结果相对应.图 7(b)为膜丝表面的扫描电镜图,由图可见,膜表面菌体形态更加复杂,不仅含有杆状菌,而且还存在丝状菌和球状菌,并且也有大量的胞外聚合物.丝状菌更容易附着在膜表面,而其主要降解作用的优势菌则主要游离在反应器内。



(a) 游离活性污泥扫描电镜



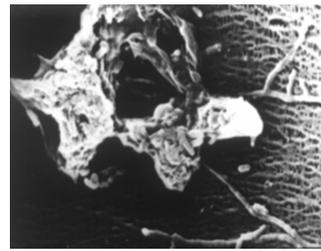
(b) 膜表面扫描电镜

图 7 强化体系中活性污泥形态

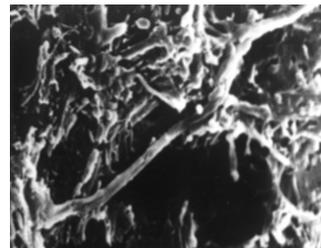
Fig. 7 Morphology of activated sludge in augmented systems

为了进一步分析膜表面污泥的性状,对膜表面进行了相应的考察,如图 8(a)所示,体积较大的污泥絮体松散地结合在膜外部.用清水冲洗后膜的扫描电镜见图 8(b),清水冲洗后,污泥絮体被冲洗掉,而一层较致密的以丝状菌为主的菌体附着在膜表面.丝状菌互相交叉呈网状,缠绕在膜丝表面.可见附着在膜丝表面的污染物分为两层,膜表面首先形成 1 层由丝状菌构成的网状结构,第 2 层絮状污泥附着其上.第 1 层污染物对第 2 层污染物起到支撑作用,清水清洗只能洗掉第 2

层污染物,而对第 1 层污染物没有效果。



(a) 清洗前膜表面形态



(b) 清洗后膜表面形态

图 8 膜表面扫描电镜

Fig. 8 SEM of membrane surface

3 结 论

(1) 通过对进水溴氨酸浓度、温度、曝气量、水力停留时间、pH 对生物降解性和生理状态指标等宏观特性的影响,确定了最优化运行方式:进水溴氨酸浓度 250 mg/L;不控温;曝气量 0.8 L/min;水力停留时间 14.5 h;pH=7.

(2) 通过 RISA 指纹考察了参数变化对微观群落结构的影响,证明菌群微观结构随着参数的变化而变化。

(3) 扫描电镜照片显示游离污泥主要以杆状菌为主,而附着在中空纤维膜丝表面的菌体分为两层:第 1 层主要为丝状菌,第 2 层为含丝状菌、球状菌和杆状菌等多种形态的菌体。

参考文献:

- [1] 杨希川, 吴祖望. 蒽醌型酸性、分散和活性染料及其中间体生产技术的进展 [J]. 化工进展, 2002, 21(6):386-391
- [2] PEARCE C I, LLOYD J R, GUTHRIE J T. The removal of color from textile wastewater using whole bacterial cells: a review [J]. *Dyes and Pigments*, 2003, 58(3):179-196

- [3] VAN L H, TOP E M, VERSTRATE W. Bioaugmentation in activated sludge: current features and future perspectives [J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 1998, **50**(1): 16-23
- [4] BOUCHEZ T, PATUREAU D, DABERT P, *et al.* Ecological study of a bioaugmentation failure [J]. **Environmental Microbiology**, 2000, **2**(2):179-190
- [5] GONZALEZ N, ROMERO J, ESPEJO R T. Comprehensive detection of bacterial populations by PCR amplification of the 16S-23S rRNA spacer region [J]. **Journal of Microbiological Methods**, 2003, **55**(1): 91-97
- [6] QU Yuan-yuan, ZHOU Ji-ti, WANG Jing, *et al.* Microbial community dynamics in augmented sequencing batch reactors for bromoamine acid removal [J]. **FEMS Microbiology Letters**, 2005, **246**(1):143-149
- [7] 邢林林,王 竞,曲媛媛,等. 生物强化 MBR 系统处理溴氨酸的启动期特性研究 [J]. 大连理工大学学报, 2007, **47**(5):647-651
(XING Lin-lin, WANG Jing, QU Yuan-yuan, *et al.* Research on characteristics of bioaugmented MBR treating bromamine acid during startup phase [J]. **Journal of Dalian University of Technology**, 2007, **47**(5):647-651)
- [8] 邢林林,王 竞,曲媛媛,等. 驯化活性污泥处理溴氨酸废水的实验研究 [J]. 工业水处理, 2007, **27**(6): 49-51
- [9] QU Yuan-yuan, ZHOU Ji-ti, WANG Jing, *et al.* Bioaugmentation of bromoamine acid degradation with *Sphingomonas xenophaga* QYY and DNA fingerprint analysis of augmented systems [J]. **Biodegradation**, 2006, **17**(1):83-91
- [10] LIU H F, HERBERT H P. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludge [J]. **Journal of Biotechnology**, 2002, **95**(3): 249-256
- [11] 李 今,吴振斌,贺 锋. 生物膜活性测定中 TTC-脱氢酶活性测定法的改进 [J]. 吉首大学学报(自然科学版), 2005, **26**(1):37-39
- [12] 曲媛媛,周集体,王 竞,等. 一种活性污泥基因组 DNA 快速提取的新方法及其指纹分析 [J]. 大连理工大学学报, 2006, **46**(3): 335-339
(QU Yuan-yuan, ZHOU Ji-ti, WANG Jing, *et al.* Novel approach for rapid extraction of genomic DNA from activated sludge and its fingerprinting analysis [J]. **Journal of Dalian University of Technology**, 2006, **46**(3):335-339)

Study of bioaugmented membrane bioreactor treating bromoamine acid wastewater

YANG Hua, QU Yuan-yuan*, WANG Jing, XING Lin-lin, LI Ang, GUAN Xiao-yan

(School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: The membrane bioreactor (MBR) bioaugmented by *Sphingomonas xenophaga* QYY with high degradability was used for treating bromoamine acid (BAA) wastewater. The optimal operation conditions were BAA concentration 250 mg/L, without temperature control, aeration amount 0.8 L/min, hydraulic retention time 14.5 h, pH = 7. Ribosomal intergenic sequence analysis (RISA) was used to reveal that the community structure changed with the operational parameters. It suggests that the dominant species are *Bacillus sp.* in the suspended sludge, and microorganisms clicked on the hollow fibrous membrane contain two layers, the first is *Filamentous sp.*, and the second one contains many species such as *Filamentous sp.*, *Coccuss sp.*, *Bacillus sp.* and so on.

Key words: bioaugmentation; membrane bioreactor; operation conditions; macro-performance; bromoamine acid