

AHLs 类信号分子对 IFFAS 工艺影响研究

徐嘉蔚, 刘涛*

(大连理工大学 环境学院, 辽宁 大连 116024)

摘要: 通过在传统载体基料(聚乙烯)中添加聚季铵盐-10 改善载体的亲水性和亲电性,以促进微生物在载体表面的生长,并通过向反应器中添加 N-酰基高丝氨酸内酯(AHLs)类信号分子改良生物膜特性以及微生物结构.实验结果表明,相比于传统载体,改性载体表面生物膜增长速率较快,生物膜生长稳定后载体表面生物膜量较高,且在 AHLs 作用下改性载体表面生物膜含有较多的蛋白质和多糖.实验运行阶段,投加载体反应器的 COD 去除效果优于活性污泥反应器;投加改性载体和 AHLs 的反应器的氨氮和总氮去除效果最优,去除率分别能够达到 94.8%和 65.3%,且各运行阶段出水水质明显优于其他反应器.微生物群落分析表明,AHLs 能够明显提高反应器中与群体感应密切相关的反硝化菌 *Zoogloea* 的相对丰度.

关键词: 信号分子;群体感应;IFFAS;脱氮

中图分类号: X703

文献标识码: A

doi: 10.7511/dllgxb202004006

0 引言

生物膜与活性污泥复合工艺在工业和城市污水处理中的应用已有 20 多年的历史^[1].该工艺兼具生物膜法和活性污泥法的优势,如对污染物处理能力强、抗冲击负荷能力强、传质效率高^[2-3]等,还能克服两种工艺的弊端^[4].生物载体是该工艺的核心部分,其主要特点在于能够维持反应器内较高的生物量浓度^[5].同时,相比固定式生物载体,可移动的悬浮生物载体具有更优越的性能,而基于悬浮生物载体的生物膜与活性污泥复合(integrated floating fixed-film activated sludge, IFFAS)工艺受到了广泛的关注.

但 IFFAS 工艺普遍存在启动周期长的问题,这主要是由于传统载体材料(如聚乙烯(PE)、聚丙烯)的生物亲和性差,使得生物膜在载体表面的形成速度慢,从而导致工艺启动较慢^[6].因此,开发新型载体以促进微生物在载体表面的生长具有重要的现实意义.目前,对载体材料改良的主要方向是改变载体表面的理化性能.如向制备载体的原料中添加具有亲水性的功能料以及具有正电荷性的功能料以改善微生物在载体表面的附着效

果,或向原料中引入功能基团(巯基等)以加速电子传递^[7].本课题组前期对载体亲水亲电性能的改性做了一系列的研究^[7-9],研究表明,改性载体较传统载体具有更快的挂膜速度,其反应器具有较强的污水处理能力,但载体表面的生物膜不稳定、易脱落的现象仍然存在,因此,提高生物膜的稳定性对污水处理有重要意义.

在以往的实验过程中发现,生物膜在某一时间段会有生物膜量突增的现象,而最新的研究表明,微生物的聚集行为不仅取决于环境条件,还取决于微生物间的一种被称为群体感应(quorum sensing, QS)的效应^[10].所谓群体感应,是指微生物向环境中释放某些物质(信号分子),其能够在细胞间进行自由扩散,并随着细胞密度的增加,信号分子浓度也不断积累,当达到一定阈值后,信号分子会进入微生物细胞内诱导相关基因的表达,从而起到调控菌群的生态关系以及生理行为的作用^[11].迄今为止,由 N-酰基高丝氨酸内酯(N-acyl-homoserine-lactones, AHLs)类信号分子介导的 QS 被证明是参与生物膜形成和生长的重要 QS 系统之一^[12-13].随着对 QS 系统更加深入的研究,通过人为干预 QS 来调控细菌生理行为的方

收稿日期: 2020-01-05; 修回日期: 2020-05-21.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51408095);辽宁省科技创新重大专项资助项目(2019JH1/10300001).

作者简介: 徐嘉蔚(1995-),女,硕士,E-mail: wjx410070853@163.com;刘涛*(1987-),男,副教授,E-mail: taoliu@dlut.edu.cn.

法受到了关注. 有研究表明, 向生物膜工艺中添加适量的 AHLs 类信号分子, 不仅能够增加生物膜表面的生物量, 还能够改善系统处理效果^[14-15]. 此外, 硝化细菌、厌氧氨氧化细菌以及反硝化细菌等水处理中重要的脱氮菌都被发现与 QS 密切相关^[16-18].

基于此, 本研究通过向 IFFAS 系统中投加改性载体以及一定量的 AHLs 类信号分子, 与活性污泥系统、投加传统载体的 IFFAS 系统以及添加改性载体的 IFFAS 系统对比, 考察在改性载体和群体感应共同作用下的 IFFAS 工艺的挂膜效果和水处理效果, 以期通过将群体感应作用与改性载体协同, 调控功能菌群, 提高系统的挂膜速度并强化系统的污水处理能力, 为 IFFAS 工艺的推广应用提供理论依据.

1 实验与方法

1.1 改性载体的制备

本研究所使用的改性载体和聚乙烯传统载体均自主生产. 改性载体的改性功能料为聚季铵盐-10(PQAS-10)(2%, 亲水性、亲电性)、斜发沸石(2%, 氨吸附性)和滑石粉(1%, 质量控制). 将经机械搅拌混匀的原料投入单螺杆挤出机, 经模具挤出成型, 该过程中进料阶段、熔融阶段、混合阶段和挤出阶段的筒区温度分别为 125、135、145、120 °C. 两种载体均为中空圆柱体, 表面竖向伸展“鳍”, 内部有十字支撑, 直径和高均为 10 mm, 平均比表面积约为 600 m²/m³.

1.2 实验装置与操作方法

设置 1 组活性污泥反应器和 3 组 IFFAS 反应器在相同条件下运行. 对照组为活性污泥反应器 R₁; 实验组为 3 组 IFFAS 反应器, 其中反应器 R₂ 中投加传统载体, 反应器 R₃ 中投加改性载体, 反应器 R₄ 中投加改性载体和 AHLs 类信号分子混合物(60 μg/L). AHLs 类信号分子混合物由 C4-HSL (N-buteryl-L-homoserine lactone)、C8-HSL (N-octanoyl-L-homoserine lactone)、3OHC12-HSL (N-(3-hydroxydodecanoyl)-L-homoserine lactone)、C14-HSL (N-tetradecanoyl-L-homoserine lactone) 组成, 其质量比为 1 : 1 : 1 : 1. 添加的信号分子种类及浓度均由预实验以及文献确定^[19]. 实验装置示意图见图 1: 每组装置包括好氧反应器(圆柱体, 有机玻璃制成, 内径 20 cm, 高 41 cm, 有效容积约为 8 L)和沉淀池. 载

体投加到好氧反应器中, 载体填充率为 30%. 好氧反应器操作模式为连续流进水, 底部进水, 上端出水, 由蠕动泵控制水力停留时间为 6 h. 实验采用人工配制的模拟污水, 进水碳源由葡萄糖提供, 氮源(NH₄⁺-N)由 NH₄Cl 提供, pH 由 NaHCO₃ 调节在 7.5~8.0, 并添加微量元素^[9]. 通过曝气控制溶解氧浓度为 0.5~1.8 mg/L, 系统温度维持在 20 °C 以上. 接种活性污泥取自大连市某污水处理厂, 混合液悬浮固体浓度(MLSS)为 5 000 mg/L, 接种后维持反应器内污泥浓度(以 MLSS 计)在 2 500~3 000 mg/L. 采用密闭循环法进行挂膜^[20].

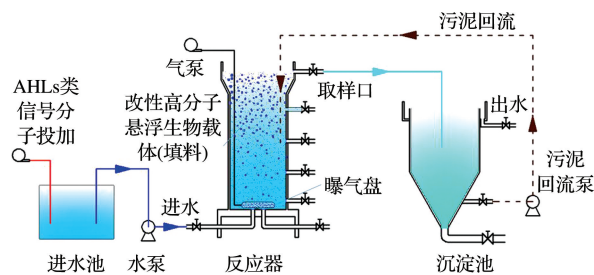


图 1 IFFAS 实验装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of IFFAS in the experiment

1.3 分析方法

化学需氧量(COD)采用微波快速消解法(重铬酸钾法)测定; 氨氮(NH₄⁺-N)、亚硝酸盐氮(NO₂⁻-N)、硝酸盐氮(NO₃⁻-N)采用国家标准方法测定; 总氮(TN)采用总有机碳/总氮分析仪(Aanalytik Jena multi N/C 2100s)测定; 溶解氧(DO)采用 HACH 便携式溶解氧仪(HQ30d)测量; pH 采用 pH 计(Sartorius PB-20 型)测量. 悬浮污泥浓度(MLSS)和载体附着生物膜量采用干重法测定^[21], 测量生物膜量时采取化学-超声法将生物膜从载体表面剥落下来^[22], 并将被剥落的生物膜及溶液抽滤、洗涤, 再烘干至恒重; 胞外聚合物(EPS)的提取参照 Bassin 等^[23]的方法, 使用 1 mol/L NaOH 溶液溶解载体表面的生物膜, 并水浴加热以促进细胞裂解. 活性污泥及生物膜中的蛋白质(PN)采用 Bradford^[24]法测定, 多糖(PS)采用硫酸-蒽酮法测定^[25].

1.4 AHLs 类信号分子的检测

由于体系中 AHLs 的浓度很低, 测试前需要进行浓缩. 参照 Wang 等^[26]的研究, 利用固相萃取技术(SPE)对样品进行 1 000 倍浓缩. SPE 所用仪器为全自动固相萃取仪(AT-280), 固相萃取柱为 HLB(6 mL, Waters Oasis), 活化剂为甲醇

和水,洗脱剂为甲醇。

采用液相色谱-四级杆质谱联用仪(Agilent RRLLC/6410)测量 AHLs,根据胡惠秩^[27]的研究和实际条件,确定超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)的参数,色谱条件为 C18 色谱柱(直径 4.6 mm,长度 150 mm,填料粒径 5 μm),色谱分离流动相:A 为含有 0.1% 甲酸的超纯水,B 为含有 0.1% 甲酸的乙腈,流速 0.25 mL/min 梯度分离(乙腈 30% 开始到 60% 止),进样量为 20 μL ,保持柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。质谱条件为 ESI(+)电喷雾离子源,多反应离子监测模式(MRM),脱溶剂气温度为 300 $^{\circ}\text{C}$,离子源温度为 100 $^{\circ}\text{C}$,去溶剂气氮气流速 8 L/min。

1.5 载体表面生物膜形态表征

将载体切割成条状样品,再对载体表面成熟期生物膜进行固定、清洗、脱水、干燥、镀金等预处理,后采用扫描电子显微镜(Hitachi S4800,日本)观察生物膜形态。

1.6 微生物群落结构分析

采集反应器中污泥和载体表面生物膜样品,参照说明书(OMEGA 试剂盒)提取样品中的 DNA,利用 V4V5 区引物(前端引物 515F-5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3';后端引物 907R-5'-CCGTCAATTCMTTTRAGT-3')对样品中的 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增,采用欧易生物的 Illumina Miseq 测序仪(Illumina 2000)进行高通量测序(high throughput sequencing, HTS),再通过 Trimmomatic、QIIME(split_libraries)等软件进行微生物群落结构分析。

2 结果与分析

2.1 生物膜生长情况

2.1.1 生物膜量的变化 生物膜在载体表面的形成可以看成是载体表面生物膜量的固定过程。微生物在载体表面的固定一般分为 3 个过程:微生物在水力作用下向载体表面迁移过程、可逆附着过程和不可逆附着过程^[28]。每个过程的生物膜增长速率有一定的差异。本实验 R_2 、 R_3 、 R_4 生物膜量 Q 在生物膜形成过程中的变化如图 2 所示。在反应器启动初期(2 周),3 个反应器内载体表面的生物膜量略有增长(2 周内 3 组反应器生物膜量不超过 1 g/m^2),说明该时期的微生物处于对新环境的适应阶段。在第 4 至 10 周生物膜量一直处于增长状态,说明该时期是生物膜快速形成的活跃期。

在第 10 周之后生物膜量基本保持稳定(较第 2 周增加了 300% 以上),说明此时生物膜基本成熟。

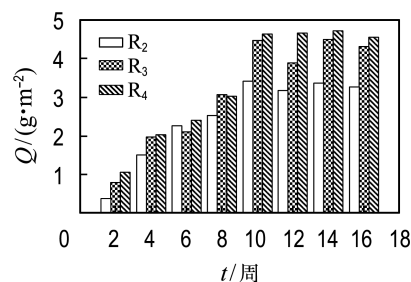


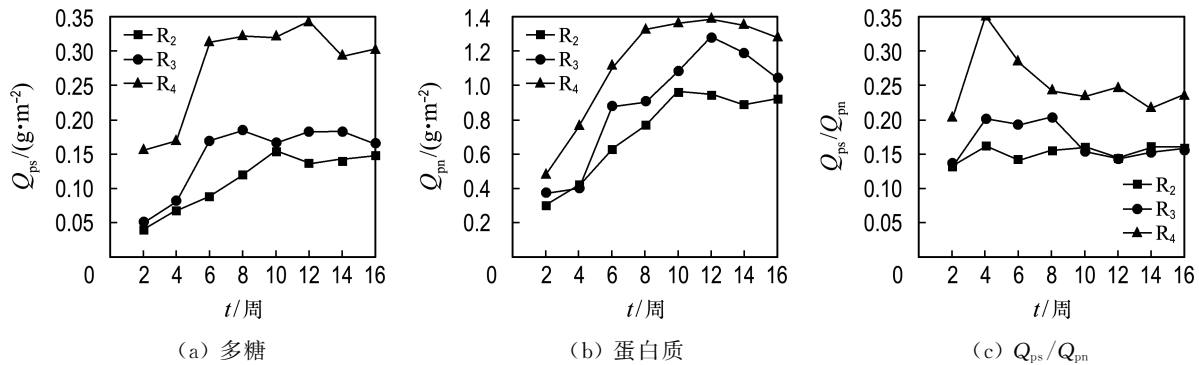
图2 运行过程中 R_2 、 R_3 、 R_4 中载体表面生物膜量的变化

Fig. 2 Changes of biofilm mass on the surface of carrier in R_2 , R_3 and R_4 during the operation

在生物膜的形成过程中,3 组反应器中载体表面生物膜量呈线性增长趋势, R_2 、 R_3 、 R_4 反应器中载体表面的生物膜量平均周增长速率分别为 0.34、0.44、0.46 $\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{周})$ 。显然,改性载体表面生物膜量增长速率明显大于传统载体。当生物膜量稳定时, R_2 的生物膜量为 3.28 g/m^2 ,相比之下,改性载体表面生物膜量分别为 4.33 g/m^2 (R_3) 和 4.57 g/m^2 (R_4),说明改性载体能够显著提高载体表面生物膜量,这主要归因于改性载体表面生物亲和性的改善。而添加 AHLs 类信号分子的 R_4 中载体表面的生物膜量较 R_3 略有提高,说明添加信号分子能够增强微生物在载体上附着生长的能力。

2.1.2 生物膜结构的变化 生物膜中不同种群细菌之间的交联主要和 EPS 有关,因此研究 EPS 在生物膜形成中的变化规律有助于考察生物膜结构^[29]。EPS 组成较复杂,主要为多糖和蛋白质,其比值(Q_{ps}/Q_{pn})能够反映生物膜特性。本实验 R_2 、 R_3 、 R_4 载体表面的 EPS 在生物膜形成过程中变化如图 3 所示。

在挂膜过程中载体表面多糖和蛋白质含量变化规律表现为均在增长一段时间之后趋于平缓。当载体表面的多糖和蛋白质含量达到稳定阶段时, R_3 中载体表面的多糖和蛋白质略高于 R_2 中的,说明改性载体相比传统载体能够增强生物膜的附着性和生物活性。而添加 AHLs 的 R_4 反应器中载体表面的多糖和蛋白质含量明显高于 R_2 、 R_3 中的,能够达到 0.34 g/m^2 (多糖)和 1.38 g/m^2 (蛋白质),分别是 R_2 中载体表面的 2.21 倍和 1.43 倍,是 R_3 中载体表面的 1.85 倍和 1.07 倍。

图3 生物膜形成过程中多糖、蛋白质含量及其比值 Q_{ps}/Q_{pn} 的变化Fig. 3 Variation of polysaccharide, protein content and Q_{ps}/Q_{pn} during the formation of biofilm

说明添加适量的 AHLs 类信号分子能够促使微生物分泌蛋白质和多糖,且其对多糖的促进作用高于蛋白质。

除此以外,有研究发现在生物膜的形成过程中,多糖和蛋白质对形成生物膜的作用不同,多糖能够起到黏附更多微生物的作用,而蛋白质则保证了生物膜的抗冲击能力,因此可以 Q_{ps}/Q_{pn} 作为分析生物膜形成阶段的指标^[30]. 在该实验中,3 组反应器中载体的 Q_{ps}/Q_{pn} 随着生物膜的形成先达到峰值,并在第 8 周之后下降到一定水平并保持平缓. R₃ 中载体的 Q_{ps}/Q_{pn} 在前期比 R₂ 的高,在第 10 周与其基本一致,这可能是导致改性载体生物膜较传统载体生物膜生长快的因素之一. 而添加一定量的信号分子后 Q_{ps}/Q_{pn} 发生了明显的变化, R₄ 中载体上的 Q_{ps}/Q_{pn} 在生物膜形成前期(第 4 周)达到了较高水平,分别是 R₂ 和 R₃ 中载体的 2.16 倍和 1.74 倍,在稳定之后的 Q_{ps}/Q_{pn} 仍比 R₂ 和 R₃ 高. 这可能是由于外源信号分子对多糖分泌的影响比对蛋白质分泌的影响更显著,从而影响生物膜结构,该结果与胡慧秩的研究结果一致^[27].

2.1.3 AHLs 浓度的变化 实现群体感应的信号分子种类很丰富,本研究选取了 4 种常见的 AHLs 类信号分子: C4-HSL、C8-HSL、3OHC12-HSL、C14-HSL. 分别在反应器运行第 4 周和第 14 周时对 4 组反应器中的 AHLs 含量进行定量. 各阶段各反应器中信号分子浓度如图 4 所示.

在系统启动的第 1~2 周,微生物尚未适应新环境,活性较低,分泌的信号分子较少,而系统为连续流,使得信号分子难以累积,因此几乎所有 AHLs 信号分子浓度均低于检测线,难以定量. 第 4 周之后,微生物已适应新环境,活性升高,分泌信号分子速率提高,系统中能够检测到 AHLs 并

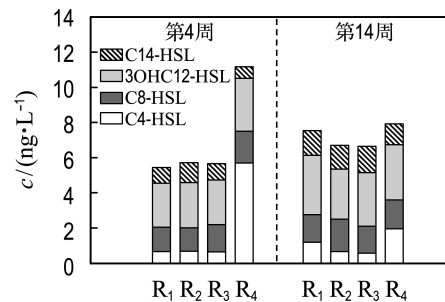


图4 4 组反应器运行过程中信号分子浓度变化

Fig. 4 Changes of signal molecule concentration in four reactors during the operation

对其定量. 第 4 周时,反应器中不同类型的 AHLs 含量有差异,未添加信号分子的反应器分泌的各类 AHLs 差异不大. 第 14 周后未添加信号分子的系统内 AHLs 浓度较第 4 周略有上升,说明此时群体感应细菌活跃度较高,能更快地分泌信号分子;而 R₄ 中的 C4-HSL 浓度却比第 4 周时低,说明这个时期反应器内添加的 C4-HSL 多被细菌接收消耗,结合前文得出的添加信号分子能够改变生物膜结构的结论,被消耗的 C4-HSL 可能是影响生物膜结构的重要因素.

2.1.4 载体表面的微生物群落特征形貌 R₂、R₃、R₄ 中载体表面的生物膜生长稳定后(第 12 周),通过 SEM 观察,结果如图 5 所示. 低倍镜下, R₂ 中传统载体表面附着的生物膜块较小且稀疏, R₃ 中改性载体表面附着的生物膜块较大且密集,而 R₄ 中改性载体表面附着的生物膜块不仅大而密集,且有部分重叠层. 在高倍镜下观察时能够看出, R₂ 中传统载体表面的微生物以杆菌和少量菌丝交联; R₃ 中改性载体表面的微生物联结明显更加紧密,且除了杆菌还有较多球菌;而 R₄ 中改性载体表面的微生物形成的大团簇更加明显,

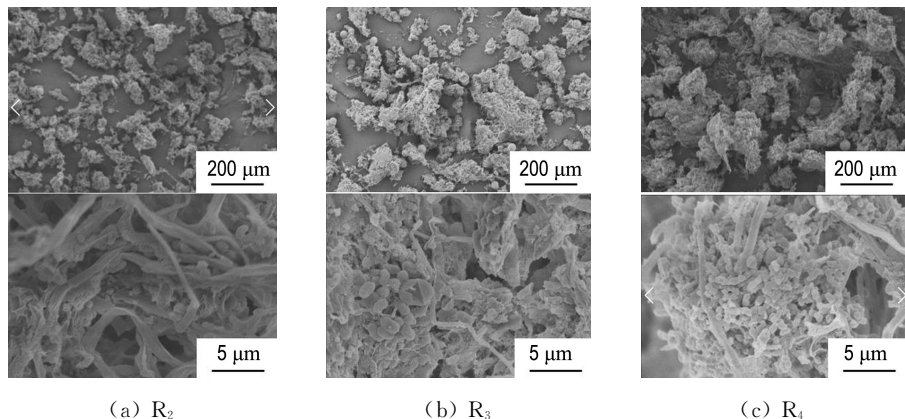


图 5 附着生物膜扫描电子显微镜图

Fig. 5 SEM micrographs of the attached biofilm

细菌之间的联结更加紧密. 以上结果表明, 微生物在 R_4 中的载体表面附着效果最好, 推测可能为添加的信号分子起了较大的作用.

2.2 污染物去除效果

2.2.1 COD 去除效果 由于国内生活污水碳氮比呈不断降低的趋势, 为使出水总氮达标, 通常会在处理过程中投加外加碳源, 从而增加了处理费用. 因此, 本研究采用分阶段降低进水碳氮比的方式运行, 以节省进水的碳源. 第 14 周起, 持续对 4 组反应器中的化学需氧量进出水浓度进行测定, COD 变化情况如图 6 所示.

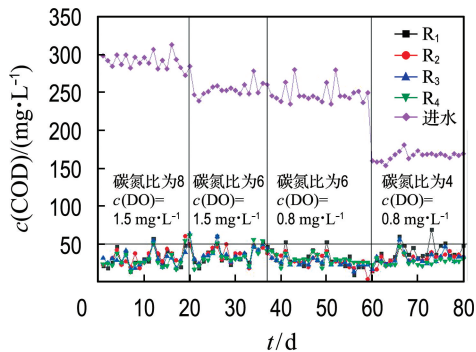


图 6 进出水 COD 浓度

Fig. 6 Influent and effluent concentration of COD

无论是高碳氮比(碳氮比为 8, $c(\text{COD}) = 300 \text{ mg/L}$)还是低碳氮比(碳氮比为 4, $c(\text{COD}) = 160 \text{ mg/L}$)的情况, 溶解氧适中($c(\text{DO}) = (1.5 \pm 0.3) \text{ mg/L}$)或低($c(\text{DO}) = (0.8 \pm 0.3) \text{ mg/L}$)的情况, 4 组反应器的出水 COD 基本能达到国家一级 A 标准(50 mg/L). 随着进水碳氮比的降低, COD 去除率略有降低. 在低碳氮比时, 投加了载

体的反应器的 COD 平均去除率为 $81.2\% \sim 83.6\%$, 高于仅有活性污泥的反应器(R_1)的 COD 平均去除率(76.8%), 说明 IFFAS 工艺相比于活性污泥工艺更有助于去除污水中的 COD, 分析原因是由于载体能够富集较多的异养菌, 异养菌活性较大, 能够利用更多的 COD.

2.2.2 氮污染物去除效果 4 组反应器在不同条件下的氨氮(NH_4^+-N)和总氮(TN)去除效果如图 7 所示. 第 1 阶段(碳氮比为 8, $c(\text{DO}) = (1.5 \pm 0.3) \text{ mg/L}$)时, 4 组反应器的氨氮和总氮出水浓度均能达到国家一级 A 标准($c(\text{NH}_4^+-\text{N}) < 5 \text{ mg/L}$, $c(\text{TN}) < 15 \text{ mg/L}$), R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 的氨氮平均去除率分别为 90.2% 、 96.7% 、 96.6% 、 95.2% . 可见, 相比于 R_1 , 投加载体的反应器具有更好的硝化能力. 这要归因于载体能够富集世代周期较长的硝化细菌, 从而强化硝化反应, 提高氨氮的去除效果.

在第 2 阶段, 保持溶解氧不变, 降低进水 COD 浓度以降低碳氮比到 6, R_4 出水氨氮和总氮仍然很稳定, 而其他反应器均出现了较大的波动, 且 R_2 和 R_3 出水已不能达到国家一级 A 标准. 这说明由于信号分子 AHLs 的加入, IFFAS 系统能够保持较好的稳定性. 与此同时, R_2 和 R_3 反应器内出现了污泥膨胀的现象, 其原因可能是曝气不稳定导致溶解氧在反应器内分布不均, 形成部分区域溶解氧浓度过大, 部分区域溶解氧浓度过小的情况, 从而导致丝状菌大量繁殖引起污泥膨胀. 因此在这个阶段之后降低溶解氧浓度并充分搅拌使反应器内部各个区域均保持在 $(0.8 \pm 0.3) \text{ mg/L}$. 运行一段时间之后污泥膨胀现象消失, R_3 和 R_4 氨氮出水浓度能够达到国家一级 A 标准, R_4 总

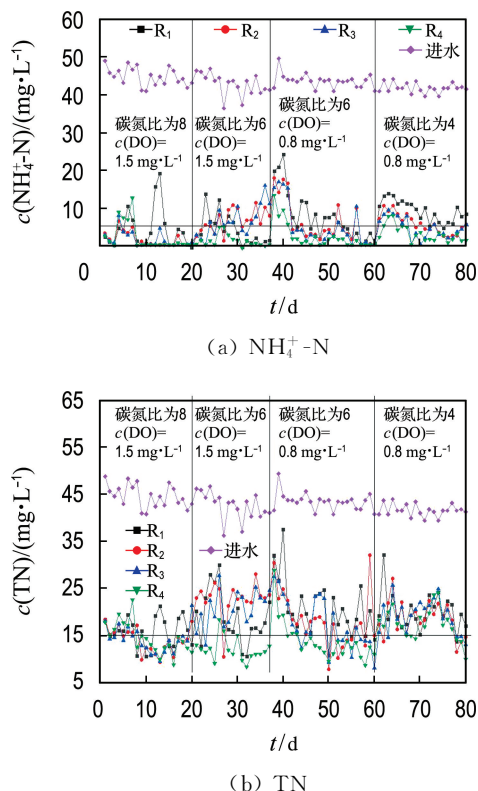


图7 不同条件下进出水氨氮、总氮浓度

Fig. 7 Influent and effluent concentration of NH_4^+-N and TN in different conditions

氮出水浓度也能达到国家一级 A 标准。R₁、R₂、R₃、R₄ 的氨氮平均去除率分别为 83.0%、85.7%、86.6%、94.8%，总氮平均去除率分别为 48.0%、54.2%、55.9%、65.3%。显然，R₄ 的氨氮和总氮去除效果明显优于其他 3 组反应器。分析原因，投加的改性载体较传统载体有更好的亲水性和亲电性，更有利于富集硝化菌和反硝化菌，且改性载体中的功能料天然沸石能够吸附氨氮，从而促进硝化菌快速生长^[9]；而添加 AHLs 不仅能够改变载体表面生物膜结构，使其更有利于微生物的生长，同时，AHLs 还能促进硝化和反硝化效果。因此，R₄ 表现出更强的脱氮能力。

在第 4 阶段继续降低碳氮比为 4。此时除 R₁ 外的 3 组反应器的出水氨氮浓度均能满足国家一级 A 标准，但出水总氮浓度有所上升。值得注意的是，R₄ 的总氮去除效果较其他反应器好，去除率为 58.8%，但较前三阶段有所下降。可能由于该条件下碳源较少，不能为反硝化提供足够的电子受体，从而导致了硝态氮和亚态氮的积累。

2.3 细菌群落分析

2.3.1 多样性 在研究不同条件下污染物去除

效果的实验第 4 阶段结束后，对 R₁、R₂、R₃ 和 R₄ 中的悬浮污泥以及 R₂、R₃ 和 R₄ 中载体表面的生物膜进行 16S rRNA 高通量测序后分析样本内细菌群落结构特征。其群落结构多样性以及丰富度指数如表 1 所示。本次测序覆盖率均达到 99% 以上，说明本次测序结果可靠。从每个样本中获得至少 31 701 个有效序列，7 个样本可分别获得 432~523 个操作分类单元。Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数均能估算群落分布多样性。

表 1 不同反应器中悬浮污泥和载体表面的微生物丰富度指数

Tab. 1 Richness and α -diversity of microorganisms in suspended sludge and biofilm in different reactors

样品	有效序列	操作分类单元	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao1 指数	覆盖率/%
R ₂ -C	33 131	517	6.13	0.04	570.94	99.64
R ₃ -C	31 701	523	6.08	0.04	592.69	99.60
R ₄ -C	34 051	467	5.41	0.06	523.51	99.61
R ₁ -S	32 513	520	5.60	0.07	580.40	99.58
R ₂ -S	33 280	480	5.72	0.06	543.25	99.58
R ₃ -S	33 749	432	4.96	0.09	534.66	99.58
R ₄ -S	32 127	481	5.53	0.06	565.67	99.58

注：C 为载体表面的生物膜，S 为悬浮污泥。

由表 1 可得，R₂、R₃ 和 R₄ 中载体表面的微生物群落多样性均大于其反应器中悬浮污泥的，说明载体不仅能够富集更多的生物量，还能吸引更多的微生物种类在其上生长。传统载体和改性载体表面的微生物群落多样性差别不大，但添加 AHLs 后载体表面的细菌多样性却相对下降，结合其生物活性和污染物降解效果较强的结果，分析出现该现象的原因是受 AHLs 类群体感应调控作用的影响，载体表面某些功能菌的含量相对增加，而有一些细菌在实验过程中被淘汰。

2.3.2 细菌群落 从门水平分析，4 组反应器中的悬浮污泥样品和载体表面生物膜样品中的优势菌门均为变形菌门 (*Proteobacteria*) 和拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)，添加了 AHLs 的 R₄ 生物膜中的拟杆菌门比例比其他反应器中的高，但硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*) 却较低，分析原因可能是 AHLs 对拟杆菌门的影响比对硝化螺旋菌门的影响大。

从目水平下进一步分析细菌群落，将系统中的功能菌目分为 6 种类型，分类结果如表 2 所示。R₃ 中的聚磷菌总占比明显高于 R₂，而 R₄ 中反硝

化菌和聚磷菌的优势更加明显,这能够解释前文硝化速率变化与反硝化速率变化有差异的原因.说明改性载体的投加对反硝化菌的富集更有效果,而添加 AHLs 类信号分子能够强化反硝化菌的生长能力.且 R_4 中的硝化菌比 R_3 占比低,但污染物降解效果却仍有提升,说明添加 AHLs 类信号分子也能提高硝化菌的硝化效率.

在属水平下,有一类叫动胶菌(*Zoogloea*)的功能菌值得关注.这类菌一直被认为是形成菌胶

团聚体的代表性细菌,对降解 COD 有着明显优势,且能够在无氧环境下利用 NO_3^- -N 作为电子受体,起到脱氮的作用^[31]. 该种菌在各反应器中均属于优势菌,在 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 悬浮污泥中的含量分别为 8.83%、4.19%、7.72%、19.36%. 在 R_2 、 R_3 、 R_4 生物膜中的含量分别为 3.18%、4.15%、16.90%. 说明添加 AHLs 对动胶菌的生长有极大的促进作用,这类菌属于群体感应细菌,这也是 R_4 的反硝化效果最优的原因.

表 2 目水平功能微生物菌群及比例

Tab. 2 The proportions of functional microorganisms in the orders

菌目	功能菌种类	比例/%						
		R_2 -C	R_3 -C	R_4 -C	R_1 -S	R_2 -S	R_3 -S	R_4 -S
<i>Nitrospirales</i>	自养硝化菌	4.94	8.24	5.45	1.72	2.37	1.21	2.40
<i>Nitrosomonadales</i>		1.38	1.37	1.28	0.92	1.17	0.49	0.73
<i>Sphingobacteriales</i>	厌氧反硝化菌	9.01	6.79	5.79	6.33	7.39	6.01	7.70
<i>Rhodocyclales</i>		4.26	5.40	17.96	8.76	5.17	20.43	10.07
<i>Rhizobiales</i>		3.66	2.70	1.70	3.01	3.11	1.40	1.42
<i>Rhodobacterales</i>	异养硝化菌	7.11	5.19	2.91	5.35	7.77	2.66	3.08
<i>Sphingomonadales</i>	好氧反硝化菌	1.00	2.09	0.72	0.26	0.29	0.17	0.30
<i>Frankiales</i>	好氧异养菌	1.21	0.97	0.64	0.98	0.69	0.49	0.58
<i>Burkholderiales</i>		24.84	19.45	18.08	29.77	32.93	23.18	26.31
<i>Myxococcales</i>		0.76	1.75	3.76	2.11	0.78	4.00	2.40
<i>Xanthomonadales</i>	聚磷菌	6.68	6.79	6.06	6.25	7.45	4.24	11.35
<i>Flavobacteriales</i>		3.17	12.73	15.94	12.20	3.09	18.43	16.98

从污染物降解的角度看,投加载体能够为不同细菌提供生长环境,改性载体能够促进微生物的挂膜生长,而添加 AHLs 类信号分子能够极大地提高一些反硝化菌的生长与活性.这对于 IFAS 工艺利用改性载体和群体感应现象提高处理能力提供了新的思路.

3 结 语

相比于传统载体,添加改性材料的载体生物亲和性较好,载体表面生物膜量增长速率较快,生物膜生长稳定后载体表面生物膜量较高,在 AHLs 作用下的改性载体具有较高的蛋白质和多糖含量.改性载体和 AHLs 的共同作用,使得反应器具有更高的 COD、氨氮和总氮去除效果,且对低碳氮比水质具有更好的适应性.此外,AHLs 能够明显提高反硝化菌 *Zoogloea* 的相对丰度.

参考文献:

[1] SU J L, OUYANG C F. Nutrient removal using a

combined process with activated sludge and fixed biofilm [J]. **Water Science and Technology**, 1996, **34**(1-2-2 pt 1): 477-486.

[2] 张 涛. 活性污泥法在污水处理中的应用 [J]. 科技资讯, 2011(18): 145.

ZHANG Tao. Application of activated sludge process in sewage treatment [J]. **Science and Technology Information**, 2011 (18): 145. (in Chinese)

[3] 曾升泰,许志斌,胡卫东,等. 生物膜技术在生活污水处理中的应用 [J]. 油气田环境保护, 2012, **22**(4): 20-22.

ZENG Shengtai, XU Zhibin, HU Weidong, *et al.* Application of biofilm technology in domestic sewage treatment [J]. **Environmental Protection of Oil & Gas Fields**, 2012, **22** (4): 20-22. (in Chinese)

[4] 郑 新,王 平. 生物膜-活性污泥处理城市污水的中试研究 [J]. 资源节约与环保, 2014(3): 125.

ZHENG Xin, WANG Ping. Pilot study on the treatment of municipal wastewater by biofilm

- activated sludge process [J]. **Resources Economization & Environmental Protection**, 2014(3): 125. (in Chinese)
- [5] FALÅS P, BAILLON-DHUMEZ A, ANDERSEN H R, *et al.* Suspended biofilm carrier and activated sludge removal of acidic pharmaceuticals [J]. **Water Research**, 2012, **46**(4): 1167-1175.
- [6] MCQUARRIE J P, BOLTZ J P. Moving bed biofilm reactor technology: process applications, design, and performance [J]. **Water Environment Research**, 2011, **83**(6): 560-575.
- [7] MAO Yanjun, QUAN Xie, ZHAO Huimin, *et al.* Accelerated startup of moving bed biofilm process with novel electrophilic suspended biofilm carriers [J]. **Chemical Engineering Journal**, 2017, **315**: 364-372.
- [8] LIU Tao, JIA Guangyue, QUAN Xie. Accelerated start-up and microbial community structures of simultaneous nitrification and denitrification using novel suspended carriers [J]. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 2018, **93**(2): 577-584.
- [9] JING Aoshuang, LIU Tao, QUAN Xie, *et al.* Enhanced nitrification in integrated floating fixed-film activated sludge (IFFAS) system using novel clinoptilolite composite carrier [J]. **Frontiers of Environmental Science & Engineering**, 2019, **13**(5): 69.
- [10] RAINA S, ODELL M, KESHAVARZ T. Quorum sensing as a method for improving sclerotiorin production in *Penicillium sclerotiorum* [J]. **Journal of Biotechnology**, 2010, **148**(2/3): 91-98.
- [11] FUQUAW C, WINANS S C, GREENBERG P. Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators [J]. **Journal of Biotechnology**, 1994, **176**(2): 269-275.
- [12] CHONG G, KIMYON O, RICE S A, *et al.* The presence and role of bacterial quorum sensing in activated sludge [J]. **Microbial Biotechnology**, 2012, **5**(5): 621-633.
- [13] REN Tingting, LI Xiaoyan, YU Hanqing. Effect of N-acyl-L-homoserine lactones-like molecules from aerobic granules on biofilm formation by *Escherichia coli* K12 [J]. **Bioresource Technology**, 2013, **129**: 655-658.
- [14] 孙 颀. 生物膜法养殖污水处理中群体感应现象的初步研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- SUN Jie. Study on quorum sensing of biofilm treatment in aquaculture wastewater [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012. (in Chinese)
- [15] VALLE A, BAILEY M J, WHITELEY A S, *et al.* N-acyl-L-homoserine lactones (AHLs) affect microbial community composition and function in activated sludge [J]. **Environmental Microbiology**, 2004, **6**(4): 424-433.
- [16] BATCHELOR S E, COOPER M, CHHABRA S R, *et al.* Cell density-regulated recovery of starved biofilm populations of ammonia-oxidizing bacteria [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 1997, **63**(6): 2281-2286.
- [17] BURTON E O, READ H W, PELLITTERI M C, *et al.* Identification of acyl-homoserine lactone signal molecules produced by *Nitrosomonas europaea* strain schmidt [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2005, **71**(8): 4906-4909.
- [18] STARKENBURG S R, CHAIN P S G, SAYAVEDRA-SOTO L A, *et al.* Genome sequence of the chemolithoautotrophic nitrite-oxidizing bacterium *Nitrobacter winogradskyi* Nb-255 [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2006, **72**(3): 2050-2063.
- [19] HU Huizhi, HE Junguo, YU Huarong, *et al.* A strategy to speed up formation and strengthen activity of biofilms at low temperature [J]. **RSC Advances**, 2017, **7**(37): 22788-22796.
- [20] 徐亚同, 谢 冰. 活性污泥的培养、驯化和生物膜挂膜 [J]. 上海化工, 2007, **32**(1): 33-35.
- XU Yatong, XIE Bing. Cultivation and acclimation of activated sludge and biofilm colonization [J]. **Shanghai Chemical Industry**, 2007, **32**(1): 33-35. (in Chinese)
- [21] 赵庆良, 刘淑彦, 王 琨. 复合式生物膜反应器中生物膜量、厚度及活性 [J]. 哈尔滨建筑大学学报, 1999, **32**(6): 39-43.
- ZHAO Qingliang, LIU Shuyan, WANG Kun. Biomass, thickness and activity of biofilm in hybrid biofilm reactor [J]. **Journal of Harbin University of Civil Engineering and Architecture**, 1999, **32**(6): 39-43. (in Chinese)
- [22] 刘 雨, 赵庆良, 郑兴灿. 生物膜法污水处理技术 [M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 2000.
- LIU Yu, ZHAO Qingliang, ZHENG Xingcan. **Biofilm Wastewater Treatment Technology** [M]. Beijing: China Architecture & Building Press, 2000. (in Chinese)

- [23] BASSIN J P, KLEEREBEZEM R, ROSADO A S, *et al.* Effect of different operational conditions on biofilm development, nitrification, and nitrifying microbial population in moving-bed biofilm reactors [J]. **Environmental Science and Technology**, 2012, **46**(3): 1546-1555.
- [24] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. **Analytical Biochemistry**, 1976, **72**(1/2): 248-254.
- [25] GERHARDT P. **Manual of Methods for General Bacteriology** [M]. Washington D C: American Society for Microbiology, 1981.
- [26] WANG Jinfeng, DING Lili, LI Kan, *et al.* Development of an extraction method and LC - MS analysis for N-acylated-L-homoserine lactones (AHLs) in wastewater treatment biofilms [J]. **Journal of Chromatography B**, 2017, **1041-1042**: 37-44.
- [27] 胡惠秩. 常/低温下 AHLs 类群体感应信号分子对 SBBR 系统影响的研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2017.
- HU Huizhi. Research on effect of AHLs class quorum sensing signal molecules on SBBR at room or low temperature [D]. Harbin: Harbin Industrial University, 2017. (in Chinese)
- [28] OLIVEIRA N M, MARTINEZ-GARCIA E, XAVIER J, *et al.* Correction: biofilm formation as a response to ecological competition [J]. **PLoS Biology**, 2015, **13**(8): e1002232.
- [29] YU Hongguang, WANG Zhiwei, WU Zhichao, *et al.* Dynamic membrane formation in anaerobic dynamic membrane bioreactors: role of extracellular polymeric substances [J]. **PLoS One**, 2015, **10**(10): e0139703.
- [30] TAN C H, KOH K S, XIE C, *et al.* The role of quorum sensing signalling in EPS production and the assembly of a sludge community into aerobic granules [J]. **The ISME Journal**, 2014, **8**(6): 1186-1197.
- [31] XIE Chenghui, YOKOTA A. *Zoogloea oryzae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from rice paddy soil, and reclassification of the strain ATCC 19623 as *Crabtreeella saccharophila* gen. nov., sp. nov [J]. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 2006, **56**(3): 619-624.

Research on effects of N-acyl-homoserine-lactones (AHLs) signal molecules on IFFAS technology

XU Jiawei, LIU Tao*

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

Abstract: The hydrophilicity and electrophilicity of the carrier were enhanced by adding polyquaternium-10 to the conventional carrier material (polyethylene) to promote the growth of microorganisms on the carrier surface. The properties of biofilm and microbial structure were changed by adding N-acyl-homoserine-lactones (AHLs) signal molecules into the reactors. The experimental results show that the growth rate of biofilm on the surface of the modified carriers is higher than that of the conventional carriers, and the attached biomass increases after biofilm growing mature. The protein and polysaccharide contents in the biofilm of the modified carriers under the effects of AHLs can reach a higher level. During the experiment, the COD removal performance of the reactor with carrier is better than that of activated sludge reactor. The ammonium and total nitrogen removal performance of the reactor with modified carrier and AHLs is the best, which can reach to 94.8% and 65.3% respectively. The effluent quality of the reactor with modified carrier and AHLs is higher than that of other reactors throughout the experiment. Besides, the microbial community analysis shows that AHLs can improve the relative abundance of denitrifying bacteria *Zoogloea* known as a quorum sensing bacteria in the reactor.

Key words: signal molecules; quorum sensing; IFFAS; denitrification