

聚丙烯酰胺对活性污泥特性的影响研究

刘军平 王晓昌 王兴斌

(西安建筑科技大学西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055)

摘要 高分子混凝剂 PAM 投加是强化污泥造粒的有效方法,但 PAM 的投加对活性污泥中微生物群落以及对其生化降解性能的影响尚缺乏系统性研究。为此,通过实验室小型实验,在 SBR 中连续投加 PAM,运用 FISH 等微生物检测技术,研究了 PAM 对活性污泥的影响。在 PAM 投量为 3 mg/L 的条件下,反应器中活性污泥的生长过程与对照反应器没有根本性差别,且 PAM 投加后 MLSS 浓度和单位重量污泥的生物量均有一定增大,污泥的沉降性能也得到改善。FISH 检测的结果表明,与对照反应器相比,总细菌、亚硝化菌、硝化菌的个数分别由 9.1×10^5 、 1.8×10^5 和 1.1×10^5 CFU/mL 增长到 1.0×10^6 、 2.0×10^5 和 1.2×10^5 CFU/mL,说明 PAM 没有对各种菌落的生长产生不利影响。连续运行 80 d 的结果也表明,投加 PAM 的反应器中 COD 和氨氮的去除均有所改善。

关键词 PAM 活性污泥 FISH SBR

中图分类号 X703 文献标识码 A 文章编号 1673-9108(2010)12-2669-04

Study on effect of polyacrylamine on characteristics of activated sludge

Liu Junping Wang Xiaochang Wang Xingbin

(Key Laboratory of Northwest Water Resources, Environment and Ecology, Ministry of Education,
Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract The addition of polymer coagulant PAM is an effective way to enhance particle pelletization. However, it is still unclear whether PAM has influence on the characteristics of activated sludge and its biological degradation process. A laboratory experiment was thus conducted to investigate the effect of continuous PAM addition on the activated sludge using a sets of SBR and application of fluorescence in situ hybridization (FISH) and other microbiological techniques. As a result, no significant difference was noticed in the growth of activated sludge between the two SBR, with PAM dosage of 3 mg/L. Moreover, certain increase in both the MLSS density and the amount of microorganism in the weight of sludge per unit was found by PAM addition. The experiment with FISH also indicates that the numbers of total bacteria, ammonia-oxidizing bacteria and nitrifiers were detected as 1.0×10^6 , 2.0×10^5 and 1.2×10^5 CFU/mL, respectively, in the SBR with PAM addition, comparing with 9.1×10^5 , 1.8×10^5 and 1.1×10^5 CFU/mL, respectively in the SBR with no PAM addition, which shows that PAM addition did not impose negative impacts on microbial growth. Slight improvement was also noticed for the removal of COD and NH_4^+-N in the process of 80 d operation with PAM addition.

Key words polyacrylamine; activated sludge; fluorescence in situ hybridization (FISH); SBR

聚丙烯酰胺 (polyacrylamide) 是一种水溶性聚合物,具有极性基团——酰胺基,易于借其氢键的作用在泥沙颗粒表面吸附,同时还有很长的分子链,在水中具有巨大的吸附表面积,絮凝效果好。长链在颗粒之间架桥,形成大颗粒的絮凝体,具有絮凝、增稠等作用^[1],常被用在纺织、石油生产、农业、养殖等重点行业中,污水处理中常采用阳离子型聚丙烯酰胺与聚合氯化铝作为混凝剂使用^[2]。生物造粒流化床通过 PAM 的投加,促进混凝造粒^[3],同时利用颗粒污泥的生化降解作用^[4],使出水水质优化。活性污泥中的微生物主要由真菌、细菌、原生动物及后

生动物等组成,考察污泥中微生物种群的生活特性,对污水处理效果有着至关重要的意义。

当前,检测微生物种群的方法比较多,如传统的分离培养基法、DGGE 等均可作为检测微生物群落的有效方法。从 20 世纪 80 年代以来,分子生物学技术开始被广泛应用于微生物群落结构分析^[5-7],荧

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50778148);国家水体污染与控制重大专项课题(2008ZX07317-004)

收稿日期:2009-10-27; **修订日期:**2009-12-11

作者简介:刘军平(1975~),男,硕士研究生,主要研究方向:水污染控制化学研究方向。E-mail:friendship2020@sina.com

光原位杂交技术 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 由于能迅速、准确地对微生物进行定性、定量,揭示微生物的种类和多样性,已经成为环境微生物检测的有效手段。

目前,微生物利用 PAM 的文章较少,对微生物种群的影响更不为所知,为此,本文通过 SBR,考察在长期投加 PAM 的条件下对污染物降解的影响,并通过运用 FISH 技术,对反应器中的微生物进行检测,揭示微生物群落的变化。

1 实验部分

1.1 实验材料

实验采用 2 个 SBR,由有机玻璃制成,高 40 cm,内径 15 cm,有效容积 6 L,内外夹层为保温层,所用污泥取自西安北石桥污水净化中心氧化沟活性污泥。PAM、葡萄糖、NH₄Cl、KH₂PO₄、浓硫酸、重铬酸钾、4% 多聚甲醛 (paraformaldehyde, PFA) 等均为分析纯。主要仪器有搅拌器:杭州仪表电机有限公司 (85L17)、紫外分光光度计 (SHIMADZU UV-1650PC、HACH DR500)、荧光显微镜 (Nikon 90i)、杂交箱 (UVP HB-1000 Hybridier)、超纯水 (Millipore Biocel)、高压灭菌锅 (SHENAN)、冷冻离心机 (Heraeus-Fresco17) 等。荧光原位杂交实验所取材料如表 1 所示。

表 1 FISH 杂交中的特异寡核苷酸探针
Table 1 Specific oligonucleotide probes used for FISH hybridization

探 针	序列(5' ~ 3')	浓度 (%)	专一性
NSO1225	CGCCATTGTATTACGTGTGA	35	β-亚类氨氧化菌
Nsv443	CCGTGACCGTTTCGTTCCG	30	Nitroso-spira
Ntspa662	GGAATTCGCGCTCCTCT	35	nitrospira
NIT3	CCTGGCTCCATGCTCCG	40	Nitrobacter

浓度 (%):去离子甲酰胺在杂交管中所占的比例。

1.2 实验过程

1.2.1 配 水

采用葡萄糖为碳源, NH₄Cl、KH₂PO₄ 以 COD 300 mg/L、NH₄⁺-N 30 mg/L、TP 10 mg/L 配水。

1.2.2 工艺运行 (SBR 阶段)

在 2 个 SBR 中加入氧化沟活性污泥 4.5 L,设计工况为每一循环 12 h,其中进水 5 min,缺氧 167.5 min,曝气 502.5 min(缺氧:曝气 = 1:3),曝气量 60 L/h,沉淀 30 min,出水 5 min,闲置 10 min,进行培养驯化,在缺氧和曝气期以 60 r/min 进行搅拌,循环水温度为恒温 25℃;反应器每次排水 2.5

L,留 2 L 泥水在反应器底部;观察污泥性状,综合生物镜检和出水水质。污泥驯化成熟后对其中一反应器加 PAM (3 mg/L),多次投加运行。

1.2.3 微生物平板计数实验

用蛋白胨 10 g、牛肉膏 3 g、氯化钠 5 g、琼脂 10 g、蒸馏水 1 000 mL 混合后加热溶解,调 pH 7.5,分装于玻璃锥形瓶中,121℃ 灭菌 20 min,冷却至 45℃,倾倒 15 mL 于培养皿中,与 1 mL 样品混合摇匀,37℃ 培养箱中培养 24 h,进行菌落计数 (GB/T 17999.4-2008)。

1.2.4 FISH 实验

硝化和亚硝化细菌的检测通常都是由分离培养基分离后进行测定,方法繁琐且效果不理想,研究人员^[8-9]最早将 FISH 技术应用于硝化细菌检测,对特异性微生物通过原位杂交进行荧光标的,再用荧光显微镜观测^[10]。

制片:取 1 mL SBR 中混匀泥水样品溶液,在离心力 9 600 xg 下离心 5 min,去除上清液,加 1 × PBS 重复 3 次,加入 1 mL PFA (4%),4℃ 保存 3 h,去除上清液,加 1 × PBS,重复 3 次;将样品稀释 5 倍,在 30 W 超声波处理 5 min,涂片,空气中干燥 2 h,依次用 50%、80% 和 98% (质量比)乙醇脱水,干燥。

杂交、染色:在杂交管中放置浸渍 2 mL 杂交缓冲液的吸水纸,将固定好的玻片放入杂交管,46℃ 杂交箱中杂交 3 h,48℃ 水浴中淋洗 30 min,晾干,用 DAPI 染色,4℃ 避光 10 min,晾干。

镜检:在带有 360 nm 激发波长、460 nm 发射波长滤光片的荧光显微镜观察细胞。

2 结果与分析

2.1 活性污泥的生长及排放

活性污泥的驯化是每个工艺运行成功与否的关键。取自氧化沟的活性污泥经镜检显示,原生动物和后生动物种类较少,污泥絮体形状不规则且较分散,但有少量的细菌。对污泥配以 COD 288.1 mg/L、NH₄⁺-N 31.127 mg/L、TP 10.3 mg/L 的进水负荷,曝气以 60 L/h,按 A/O (1:3) 每天 2 个循环进行驯化,培养期间未出现膨胀现象。

合适的温度可以使微生物大量的繁殖。实验选用自控装置,恒温 25℃ 运行,经过 8 d 的驯化,出水水质改善,清澈透明,感观好;污泥量明显增加;污泥质量得到改善,外观由褐色逐渐转变为土色,生物镜检显示菌胶团密实,豆形虫、滴虫等游离生物逐渐减

少,钟虫数量由少增多,显示污泥已驯化成熟,可以做进一步的实验。

SBR 运行稳定后,污泥量增长缓慢。设定当污泥沉降高度超过 80 mm 后排泥,但运行 80 d 一直没有达到设定的污泥量,所以没有排泥。

2.2 生物量的变化

用微生物平板实验和 MLSS 宏观表征的生物量,结果如图 1 所示。

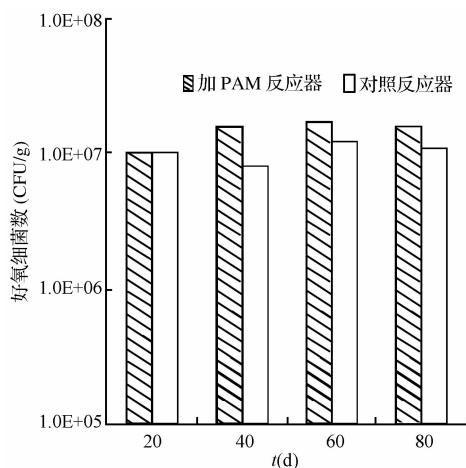


图 1 反应器中微生物数量对比

Fig. 1 Comparison of biomass in the reactor

运行初期,2 个反应器中微生物生长具有相近的环境条件,生物量差别较小,MLSS 分别为 1 700 mg/L 与 1 720 mg/L,沉淀性能较差。随着反应器的运行,投加的 PAM 加强了污泥的沉积,为附着在颗粒上的微生物创造了更好的生活条件,一些细菌在溶解氧存在的条件下,利用部分聚合物生长繁殖,微生物的数量逐渐增加,在运行 20 d 后 MLSS 增长为 4 104 mg/L 和 3 644 mg/L,污泥增长量趋于稳定,沉淀性能也增强,这主要是由于 PAM 对胶体颗粒表面的强烈吸附作用,在胶体颗粒之间形成桥联,使小颗粒形成大颗粒的絮凝体沉淀下来,造成 MLSS 迅速升高,并且微生物平板计数结果也显示,加 PAM 的反应器的微生物数有小幅度的增加,表明 PAM 对微生物的生长有促进作用。

在实验的整个过程中,采用的碳源都是易于降解的葡萄糖,配水水源为自来水,几乎无颗粒物加入,细菌总数变化不大。在反应器运行平稳后 MLSS 基本没有增长,污泥量所占体积较小,整个过程无污泥膨胀现象,也无污泥排出。

2.3 投加 PAM 对微生物群落的影响

2.3.1 FISH 计数方法

细菌的数量,可以通过公式:细菌数 = $(1\ 000/3) \times A \times (S/SA)$ 计算得到,式中: A —每孔平均菌数, S —孔面积, SA —视野面积。具体是:每个载玻片上涂 10 个样点,选取 10 个视野,平行做 3 个玻片,在 30 个视野中计数细菌数,然后求平均值,得到每一视野的平均细菌数;每视野 0.650 mm × 0.520 mm,每孔直径 5 mm,加样 3 μL ,带入公式即可得到细菌总数^[11]。

2.3.2 FISH 计数结果

(1) 对照反应器中亚硝化菌浓度为 1.8×10^5 CFU/mL,硝化菌浓度为 1.1×10^5 CFU/mL,全菌浓度为 9.1×10^5 CFU/mL,亚硝化菌、硝化菌在全菌中所占的比例分别为 19.6% 和 11.8%。

(2) 加 PAM 反应器中亚硝化菌浓度为 2.0×10^5 CFU/mL,硝化菌浓度为 1.2×10^5 CFU/mL,全菌浓度为 1.0×10^6 CFU/mL,亚硝化菌、硝化菌在全菌中所占的比例分别为 20.2% 和 11.9%。

2.3.3 FISH 实验结果解析

荧光原位杂交 (FISH) 技术能很好地识别含氮污水中的硝化和亚硝化细菌,在环境微生物的群落分析中得到了广泛应用。本研究运用 FISH 技术对 2 个运行 80 d 的反应器中污泥样品进行检测,亚硝化菌的数量明显多于硝化菌,分别占到全菌的 19.6%、11.8% 和 20.2%、11.9%。可以看出,该生物脱氮群落中亚硝化菌为优势菌群,所占比例较高,硝化菌所占比例较低;PAM 投加的反应器中微生物总量、硝化、亚硝化菌的绝对数量均高于未加药反应器,说明 PAM 对微生物以及硝化菌、亚硝化菌的生长有较为明显的促进作用。

2.4 对反应器中污染物的去除影响

2.4.1 COD 的去除效果

反应器的原进水平均 COD 为 288.1 mg/L,在污泥驯化结束稳定运行 80 d 的平均出水 COD 为 12.4 mg/L,COD 的去除整体呈下降趋势,如图 2 所示,加 PAM 12 d 后趋于稳定,相对于未加药反应器,COD 去除率较高,这是由于反应器运行初期,投加 PAM 的量较少,PAM 对胶体颗粒表面的强烈吸附作用,在胶体颗粒之间形成桥联,使小颗粒形成大颗粒的絮凝体,加速了粒子的沉降性能,聚丙烯酰胺主要起吸附和交联作用,较高的污泥浓度提高了生物降解能力,出水中的有机物迅速降低,COD 下降;随着

反应器的长期运行,污泥中的 PAM 富集及生物降解达到稳定状态(加药后第 15 天),部分未被利用的 PAM 随出水流出,COD 值有所升高。

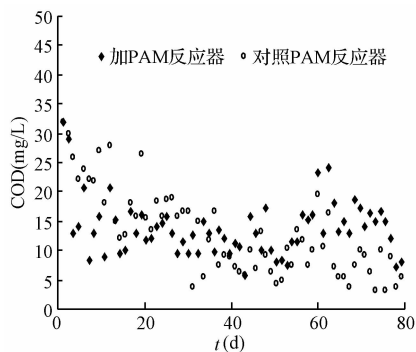


图2 COD去除效果对比

Fig. 2 Comparison of COD removal efficiency

2.4.2 氮的形态转变

由图3看出,氨氮去除主要发生在20 d以后,在原进水氨氮平均31.127 mg/L的情况下,出水氨氮浓度分别为0.179 (加PAM反应器)与0.165 mg/L,去除率达99.4%和99.5%,这是由于活性污泥中存在大量的亚硝化菌和硝化菌等自养微生物,经消化过程将氨氮转化为亚硝氮、硝氮,而且在整个循环中有近3 h的缺氧环境,反硝化细菌在此序列中完成了反硝化过程,部分硝氮亚硝氮、硝氮被转化为气态氮释放,硝氮、亚硝氮去除率很高,在第18 d开始趋于稳定。氨氮去除率开始提高。从2种泥样的氮形态对比中我们发现,添加有机高分子混凝剂PAM,对反应器中的氨氮、亚硝氮、硝氮的去除影响较小,氮的形态转变主要是在好氧和缺氧状态下,一些异氧和自养的微生物降解的结果。

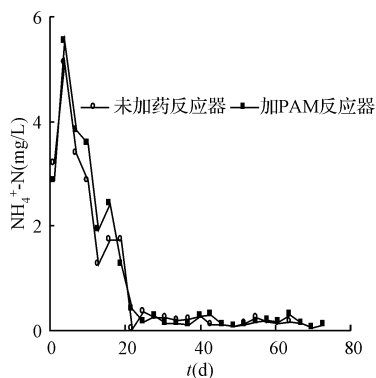


图3 氨氮去除效果的对比

Fig. 3 Comparison of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal efficiency

3 结论

(1)以自行配制负荷的原污水为进水,以氧化沟活性污泥为种泥,在温度为25℃、好氧/缺氧(3:1)、无回流污泥的条件下长期运行,结果显示,PAM对活性污泥中微生物的生长有促进作用。

(2)一定浓度的PAM增强了污泥的沉降性能,对污水中COD和氨氮的去除均有所改善。

(3)在进水COD负荷稳定时,微生物种群比较稳定,亚硝化菌的数量明显多于硝化菌,为优势菌群;在投加PAM的状况下,细菌总数、硝化菌、亚硝化菌数量均有增多,PAM促进了硝化、亚硝化细菌的聚集与生长。

参考文献

- [1] 刘志军,肖勇,李志芳. 聚丙烯酰胺的现状及发展的思考. 江西化工,2003,6(2):44-45
- [2] 李圭白,张杰. 水质工程学. 北京:中国建筑工业出版社,2005. 64-68
- [3] Liu Y. L., Wang X. C., Yuan H. L. Characterization of microbial communities in a fluidized-pellet-bed bioreactor for wastewater treatment. Desalination,2009,249(1):445-452
- [4] Wang X. C., Yuan H. L., Liu Y. L., et al. Fluidised pellet bed bioreactor, a promising technology for onsite wastewater treatment and reuse. Water Sci. Technol., 2007,55(1-2):59-67
- [5] 李冰冰,肖波,李蓓. FISH技术及其在环境微生物监测中的应用. 生物技术,2007,17(5):94-95
- [6] 王爱杰,任南琪. 环境中的分子生物学诊断技术. 北京:化学工业出版社,2004
- [7] 杜连祥,路福平,等. 微生物实验技术. 北京:中国轻工业出版社,2009
- [8] Perry-O'Keefe H., S. Rigby, K. Oliveira, et al. Identification of indicator micro-organisms using a standardized PNA FISH method. J. Microbiol. Methods,2006,47(3):281-292
- [9] Bruce E. Rittmann, Perry L. McCarty. Environmental biotechnology: Principles and applications. Boston Burr Ridge, ILDubuque, IA Madison, WI New York,1999
- [10] Perry-O'Keefe H., S. Rigby, K. Oliveira, et al. Identification of indicator micro-organisms using a standardized PNA FISH method. J. Microbiol. Methods,2006,47(9):281-292
- [11] 朱彤,张洪军,刘建峰,等. 应用FISH法对生物处理系统中细菌数量的计数. 环境保护科学,2007,33(1):22-25