

反硝化生物膜对 PBS 表面形态及化学组分的影响

周海红^{1,2}, 王建龙^{1*}, 赵璇¹

(1. 清华大学核能与新能源技术研究院环境技术研究室, 北京 100084; 2. 济南大学化学与环境学院, 济南 250022)

摘要: PBS 是一种新型的可生物降解聚合物(BDPs), 可以用做反硝化碳源和生物膜载体, 去除饮用水源水中的硝酸盐. 利用红外光谱和扫描电子显微镜对反硝化生物膜生长前后 PBS 颗粒表面形态、化学组成的变化进行了分析. 结果表明, PBS 仅在微生物作用下降解并为反硝化菌提供碳源. PBS 颗粒可以在 12 h 内使进水中 $53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硝态氮降低到 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下(我国饮用水水质标准为: $\text{NO}_3^- - \text{N} < 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). 红外光谱表明, 反硝化微生物附着生长后其 PBS 在 2925 cm^{-1} 和 2850 cm^{-1} 附近的吸收带以及 $3200 \text{ cm}^{-1} \sim 3410 \text{ cm}^{-1}$ 处峰值减弱, 说明 PBS 材料中甲基、羟基官能团比例下降, 而其它官能团没有发生明显的变化, PBS 的主要单体组分淀粉和乙烯都可以被反硝化微生物用作碳源. 扫描电子显微镜观察结果表明, 反硝化生物膜附着生长后, PBS 颗粒表面会出现空洞, 扩大了生物膜生物附着生长的表面积, 有利于形成致密的反硝化生物膜, 对反硝化菌形成保护作用.

关键词: 硝酸盐; 生物膜; 可生物降解多聚物; 碳源

中图分类号: X52; TU991.2 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)12-2507-04

Effect of Denitrifying Biofilm Development on the Surface Configuration and Chemical Composition of PBS Polymer

ZHOU Hai-hong^{1,2}, WANG Jian-long¹, ZHAO Xuan¹

(1. Laboratory of Environmental Technology, Institute of Nuclear and New Energy Technology, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 2. College of Chemistry and Environment, Ji'nan University, Ji'nan 250022, China)

Abstract: PBS, a new kind of biodegradable polymers (BDPs), can be used as carbon source and biofilm carrier to remove nitrate from drinking water source. The effect of denitrification on the surface configuration and chemical composition of PBS was analyzed by using IR spectrum and SEM observation. The results showed that PBS could be only decomposed under attack of microbial enzymes and provided the carbon source for biomass. Influent nitrate concentration ($53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) can be reduced to less than $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ within 12 h. The IR spectrum showed that under development of denitrifying biofilm, absorption band at 2925 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} , $3200 \text{ cm}^{-1} \sim 3410 \text{ cm}^{-1}$ became weak, which suggested that the content of methyl or hydroxyl group in PBS decreased slightly, and the other functional groups were not influenced apparently. The main monomer gradients of PBS, such as starch and ethylene, could all be utilized as carbon source by denitrifiers. The SEM observation indicated that the cavity could be formed on the PBS granular surface, which increased the area for denitrifiers to attach. The formation of the cavity structure on the PBS surface was beneficial to further development of compact biofilm, which can protect denitrifiers.

Key words: nitrate; biofilm; biodegradable polymer; carbon source

饮用水源水中硝酸盐污染已引起世界各国的普遍关注. 摄入过量的硝酸盐会影响人体血液氧传输能力, 导致婴幼儿患上高铁血红蛋白症; 硝酸盐和亚硝酸盐在人体内可以转化为亚硝胺, 产生三致作用^[1]. 中国对 118 个大中城市 2~7 a 的水质监测数据表明, 地下水最普遍的水质问题是硬度和硝酸盐超标^[2], 大多数地区地下水中硝酸盐污染呈逐年增加的趋势^[3].

异养反硝化需要外加有机碳源作为电子供体, 硝酸盐为最终电子受体, 在合适的碳氮比下把硝酸盐还原为气体, 常用的有机碳源包括甲醇、乙醇、葡萄糖等. Muller 等于 1991 年提出使用 PHB (poly-3-hydroxybutyrate) 作为反硝化碳源的设想. 随后 Muller

等^[4]采用 PHA (poly- ϵ -hydroxybutyric acid) 作为生物膜载体与反硝化碳源来去除饮用水中的硝酸盐, 取得了良好的反硝化效果. 目前应用到异养反硝化中的可生物降解多聚物(BDPs)材料种类很少, 主要是 PHA 类多聚物. 不同聚合物的生物降解性能差别很大. 即使对于同一种多聚物, 其晶体结构、添加剂成分、多聚物的表面结构等因素也都对多聚物的生物降解性能有影响, 从而影响到反硝化的速率^[5].

收稿日期: 2005-11-11; 修订日期: 2005-12-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(59978020); 高等学校博士学科点专项科研基金项目

作者简介: 周海红(1973~), 男, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为污水生物处理及资源化.

* 通讯联系人, E-mail: wangjl@tsinghua.edu.cn

poly (3-hydroxybutyrate) (PHB)、poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHBV)、poly(ϵ -caprolactone) 等 BDPs 材料都可以作为生物膜载体和碳源去除水中的硝酸盐,并且在去除水产养殖业废水中的硝酸盐时取得了成功^[6].但是,这些 BDPs 材料价格昂贵.本研究所采用的 PBS 为改性后的 BDPs 材料(市售),价格可以降低至 4 200 元/t 以下.在用作反硝化碳源与生物膜载体去除饮用水源水中硝酸盐时效果良好^[7,8].

本研究目的是利用红外光谱和扫描电子显微镜研究反硝化生物膜对 PBS 颗粒表面形态及其化学组分的影响.

1 材料与方法

1.1 实验材料

商用 PBS 产品(长方体:1 mm×2 mm×3 mm)为淀粉与聚烯烃材料相溶后形成的共聚物,PBS 生物降解产品中的淀粉与聚烯烃材料不是简单的共混,而是经过处理、反应后的最终相溶,所以产品不溶于水,长时间浸泡在水中,不会失去强度.表 1 为 PBS 可生物降解产品的主要性能参数.

表 1 PBS 可生物降解产品的主要性能参数

Table 1 Character of PBS		
项目	PBS	测试方法
外观	淡黄色	
密度/kg·m ⁻³	1 100~1 150	GB1033
水分/%	0.6~1.2	
拉伸强度/MPa	≥12	GB1040
断裂伸长率/%	≥300	GB1040
淀粉含量/%	≥80	
可生物降解物质的含量/%	≥98	

试验用水的制备方法:在地下水加入硝酸钠和磷酸二氢钾,使硝态氮与磷的浓度分别保持在(50±3) mg/L 与(10±1) mg/L.

本实验中所用的污泥取自于北京市高碑店污水处理厂曝气池.

1.2 实验方法与装置

(1) 实验装置 本研究采用的实验装置为带有取样口的磨口锥形瓶,反应器的总有效容积为 250 mL,瓶口用橡胶塞密封,上有排气管通过橡胶管导入水中,排除氮气的同时保持反应器内缺氧环境.

(2) PBS 颗粒挂膜与反硝化生物膜培养 在反应器中加入 PBS 颗粒 30 g(干重)和配水 200 mL,污泥浓度控制在 1 500 mg/L 左右,放入恒温振荡器,对反硝化细菌进行驯化.每天换水.直到挂膜成

功后洗去反应器中的悬浮污泥,只保留生长有生物膜的 PBS 颗粒,每天换水,继续培养反硝化生物膜.运行 100 d 后对 PBS 颗粒进行测试.试验期间,温度为 15~30 ℃,振荡速度为 70 r·min⁻¹.

(3) 实验方法 从反应器中取生长有生物膜的 PBS 颗粒,用蒸馏水轻微冲洗,放入密闭试管,用蒸馏水淹没后,超声波剥离生物膜,然后用蒸馏水冲洗干净,50 ℃下烘干 10 min.

将 PBS 原材料、脱膜后的 PBS 颗粒分别制作切片,在扫描电镜下观察其表面形态.用刀片切取 PBS 原材料、脱膜后 PBS 颗粒的表面薄层,采用薄膜法,进行红外光谱分析.

(4) 实验仪器 傅立叶变换红外光谱仪 NICOLET 560;扫描电镜 JSM-6460LV.

2 结果与讨论

2.1 PBS 作为生物膜载体和反硝化碳源去除硝酸盐

分别在 PBS 颗粒挂膜过程中和生物膜成熟后,对饮用水源水进行反硝化实验,其中,pH 7.5,温度为 30 ℃下,结果见图 1.

配水中的 DOC 为 2.05 mg/L,加入活性污泥对 PBS 进行挂膜.24 h 后,溶液中 DOC 上升为 6.52 mg/L. PBS 颗粒表面形成稳定的生物膜后,溶液中的 DOC 为 4.32~5.73 mg/L.硝酸盐的去除情况如图 1(a) 所示.可以看出,活性污泥中的反硝化菌易于附着在 PBS 颗粒表面,在微生物代谢下 PBS 分解出小分子有机物,溶解进入溶液,然后被反硝化细菌用作碳源进行反硝化,去除水体中的硝酸盐.在 9 h 内,进水中 60 mg/L 的硝酸盐降低到 3.83 mg/L.在没有投入 PBS 颗粒的对照实验中,进水中的硝酸盐基本没有降低,说明挂膜期间正是 PBS 在微生物作用下分解成小分子,为反硝化菌提供了碳源.图 1(b) 表明,当 PBS 颗粒表面的生物膜成熟后, PBS 表面分解的小分子有机物被生物膜内反硝化菌利用,致密的生物膜阻碍了 PBS 分解形成的小分子有机物进入溶液,反硝化仅在生物膜内部进行,反硝化速率比挂膜期间低. PBS 表面的反硝化生物膜可以在 12 h 内将进水中 53 mg/L 的硝态氮降低到 10 mg/L 以下(我国饮用水水质标准为: NO₃-N < 15 mg/L),采用 PBS 作为生物膜载体和反硝化碳源能够满足去除饮用水源水中硝酸盐的需要.

2.2 反硝化微生物对 PBS 表面官能团的影响

PBS 颗粒以及脱去表面生物膜的 PBS 颗粒红外光谱见图 2.

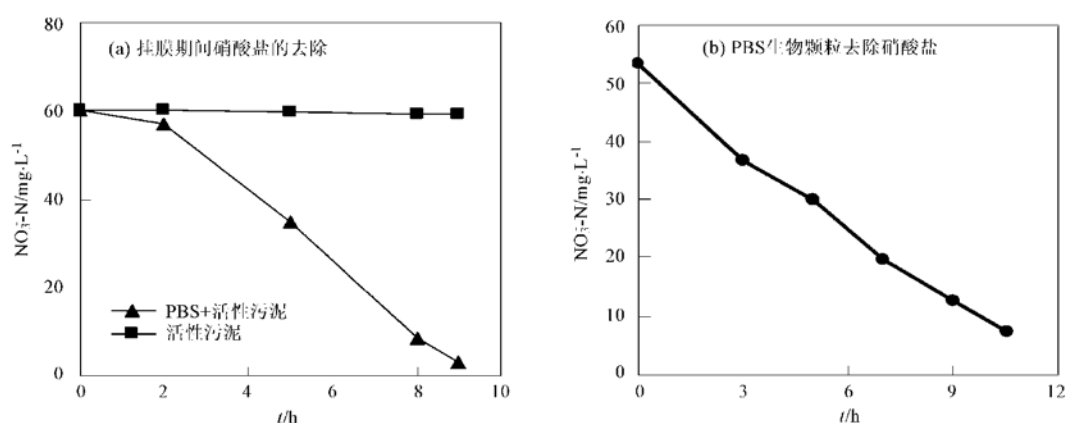


图 1 PBS 颗粒作为生物膜载体与碳源去除进水中硝酸盐

Fig. 1 Nitrate removal using PBS as biofilm supporter and carbon source

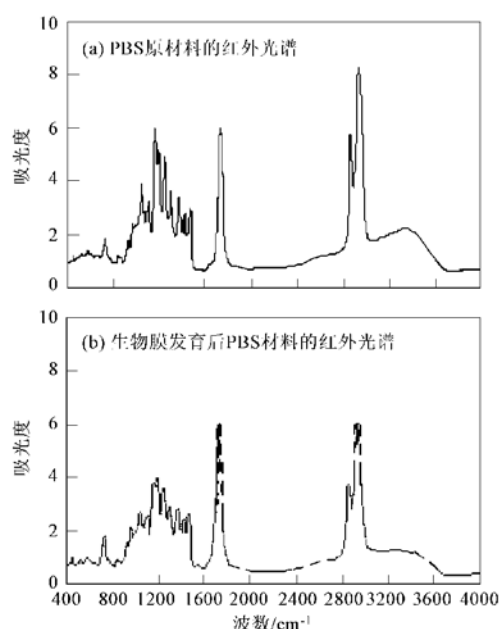


图 2 PBS 原材料与生物膜发育后 PBS 的红外光谱

Fig. 2 Infrared spectrum of raw PBS and PBS with denitrification biofilm development

1 700 cm⁻¹处吸收峰为羰基(—C=O—)的贡献,以此为参照,对生物膜发育前后 PBS 颗粒的红外图谱进行分析. 2 925 cm⁻¹和2 850 cm⁻¹附近的 2 个尖锐吸收带可归属为 CH₃, CH₂, CH 基团的贡献,反映了 C—H 的面内对称和反对称伸缩振动,表明甲基(—CH₂—)为 PBS 的优势官能团之一,这些基团处在脂链或者饱和脂环中^[7]. 经过生物膜生长后,2 850 cm⁻¹, 2 925 cm⁻¹处吸收峰出现较大比例的下降,说明在反硝化生物膜的生长过程中, PBS 内部甲基中的碳被用作碳源,大量消耗利用.

波数 3 200~ 3 410 cm⁻¹存在的宽峰表明,在

PBS 中存在不同形式的羟基,羟基谱带的位置由 3 200 cm⁻¹移至 3 410 cm⁻¹,表明羟基是以多聚的缔合结构形式存在^[7],而经过生物膜生长后,波数 3 200~ 3 410 cm⁻¹范围内吸收峰下降,结合波数 400 cm⁻¹、1 108 cm⁻¹附近吸收峰的下降,表明羟基官能团在 PBS 中的比例出现了一定的下降. 应该是 PBS 单体淀粉被反硝化微生物用做反硝化碳源的结果. 在其它波数范围内,生物膜生长前后, PBS 材料的吸收峰变化甚微.

可见,在 PBS 反硝化系统中, PBS 在生物膜生物体内酶的作用下分解,其主要单体组分淀粉(含醇类官能团和甲基)和烯烃都可以充当反硝化碳源,而其它成分则不易被反硝化微生物利用. 经过反硝化微生物的长期作用, PBS 材料中的淀粉和烯烃将会被大量消耗.

2.3 反硝化微生物对 PBS 表面性能的影响

反硝化细菌很容易在 PBS 颗粒表面附着生长,并发展出致密、结构良好的生物膜,对其内部的反硝化微生物形成非常好的保护作用^[8,9]. 利用电子扫描显微镜观察了 PBS 颗粒原材料和剥离生物膜后的 PBS 颗粒表面形态,结果见图 3.

在 PBS 颗粒的挂膜过程中,溶液中 DOC 始终维持在很低的水平,这表明 PBS 难溶于水,只有在微生物体内酶作用下, PBS 才会得到分解并为反硝化菌提供碳源. PBS 原材料表面光滑,基本没有孔隙,而经过生物膜生长后,其表面出现密集的空洞以及丝状构造(图 3),表明 PBS 颗粒表面的可生物降解部分被生物膜生物大量分解充当反硝化碳源.

挂膜期间在 PBS 颗粒表面反硝化菌密集附着的位点, PBS 被反硝化微生物迅速利用后会形成部

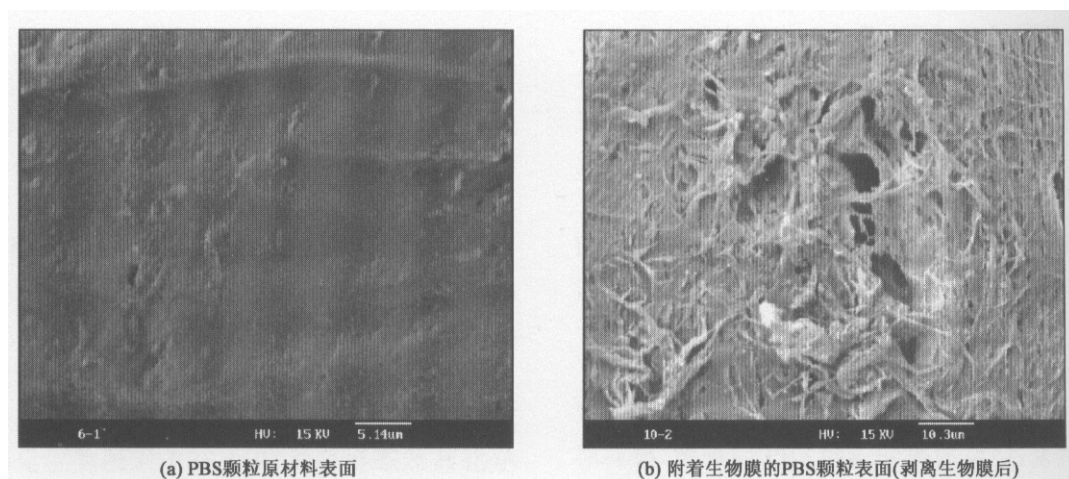


图3 PBS颗粒原材料及生物膜发育后PBS颗粒的表面形态

Fig. 3 Surface of raw PBS granule and PBS granule after biofilm development

分空隙,而这些空隙会增大反硝化微生物的附着面积,使得反硝化微生物更加容易附着生长,PBS的消耗速率会更高,最终导致这些空隙不断扩大,在PBS颗粒表面形成空洞结构.利于形成更加致密,发育良好的生物膜,对其内部的反硝化微生物形成很好的保护作用.与传统填料表面形成的反硝化生物膜相比,PBS表面形成的生物膜能够承受进水中更大的溶解氧和pH冲击负荷^[8,9],保证在不利环境条件下反硝化过程的顺利进行.

3 结论

(1) PBS仅在微生物作用下分解,可以作为生物膜载体和反硝化碳源去除饮用水源水中的硝酸盐.在12 h内可以将进水中的硝酸盐氮从 $53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低到我国饮用水水质标准之下.

(2) PBS的主要单体成分淀粉和烯烃都可以被反硝化微生物当作碳源,由于PBS中可生物降解成分高于98%,并且相对于PHA类多聚物,其成本低廉,因此,以PBS作为生物膜载体和反硝化碳源去除饮用水源水中的硝酸盐经济可行.

(3) 随着反硝化反应的进行,PBS颗粒表面会形成大量空洞结构,这会进一步扩大微生物的附着面积,有利于反硝化菌的附着生长,在PBS表面形

成更加稳定致密的生物膜.

参考文献:

- [1] 朱南文,高廷耀,周增炎. 饮用水生物脱氮技术现状[J]. 水处理技术, 1999, 25(4): 214~219.
- [2] 徐芳香,陆雍森. 我国地下水中硝酸盐污染防治及水源保护区划分[J]. 污染防治技术, 1999, 12(1): 20~23.
- [3] 王海燕,曲久辉,雷鹏举. 电化学氢自养与硫自养集成去除饮用水中的硝酸盐[J]. 环境科学学报, 2002, 22(6): 711~715.
- [4] Muller W R, Heinemann A, Schafer C, *et al.* Aspects of PHA (poly- ϵ -hydroxybutyric acid) as an H-donor for denitrification in water treatment processes[J]. Water Supply, 1992, 10: 79~90.
- [5] Hiraishi A, Khan S T. Application of polyhydroxyalkanoates for denitrification in water and wastewater treatment[J]. Appl. Microbiol. Biotech., 2003, 61: 103~109.
- [6] Boley A, Muller W R, Haider G. Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems[J]. Aqual. Eng., 2000, 22(1-2): 75~85.
- [7] 冯杰,李文英,谢克昌. 傅立叶红外光谱法对煤结构的研究[J]. 中国矿业大学学报, 2002, 31(5): 362~366.
- [8] 周海红,王建龙,赵璇. pH对以PBS为反硝化碳源和生物膜载体去除饮用水源水中硝酸盐的影响[J]. 环境科学, 2006, 27(2): 290~293.
- [9] 周海红,赵璇,王建龙. 利用可生物降解聚合物去除饮用水源水中硝酸盐[J]. 清华大学学报(自然科学版), 2006, 46(3): 434~436.