

碳源变化对降解 2,4-D 的好氧颗粒污泥性能及形态的影响

马景赞, 全向春*, 熊维聪

(北京师范大学环境学院, 水环境模拟国家重点实验室, 北京 100875)

摘要:在长期运行的序批式生物反应器(SBR)中,考察了以葡萄糖和 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)为混合碳源培养的好氧颗粒污泥在转换为 2,4-D 唯一碳源废水后,其形态、结构及对目标污染物去除功能的变化.结果表明,基质转换为 2,4-D 单一碳源后,好氧颗粒污泥仍保持了对目标污染物高效的去除能力.当进水 2,4-D 浓度为 361 ~ 564 mg/L,其去除率为 99.2% ~ 100%, COD 平均去除率达到 85.6%.混合碳源向 2,4-D 单一碳源转换对原好氧颗粒结构产生一定破坏作用,使其发生部分解体,粒径由 513 μm 下降到 302 μm .但好氧颗粒污泥良好的耐负荷冲击使其保持了颗粒主体,通过一段时间适应调整后能够重新聚集生长,最终获得能够利用 2,4-D 为唯一碳源生长并具有良好沉降性(SVI 20 ~ 40 mL/g)的好氧颗粒污泥,粒径为 489 μm .扫描电子显微镜(SEM)观察结果表明,混合碳源转向单一碳源使好氧颗粒生物相丰富度降低.

关键词:2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D);好氧颗粒污泥;单一碳源;混合碳源;生物降解

中图分类号:X703 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)11-2824-05

Effects of Carbon Sources Changes on the Property and Morphology of 2,4-D Degrading Aerobic Sludge Granules

MA Jing-yun, QUAN Xiang-chun, XIONG Wei-cong

(State Key Laboratory of Water Environment Simulation, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: This study investigated the changes of the morphology, structure, and capability of removing the target contamination of the aerobic granules pre-cultured with mixed substrates of glucose and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in a long-time running sequence batch reactor (SBR), when the carbon source transformed into the sole carbon source of 2,4-D. Results showed that when the substrate turned to the sole carbon source of 2,4-D, the aerobic granules still maintained a strong degradation ability to the target contamination; a 2,4-D removal percentage of 99.2% -100% and an average COD removal rate of 85.6% were achieved at the initial 2,4-D concentration of 361-564 mg/L. Carbon source transformation caused certain damages to the original aerobic granule structure, made some parts of granules disintegrated, and led to granule size decline from 513 μm to 302 μm . However, those granules maintained the main body, re-aggregated and grew after a period of adaptation due to their strong resistance to toxicity. Aerobic granules capable of utilizing 2,4-D as the sole carbon source with a good settling ability (SVI 20-40 mL/g) and a mean diameter of 489 μm were finally obtained in this study. Scanning electron microscope (SEM) observation showed that the diversity of granule microbial species was declined when turned to the sole carbon source.

Key words: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D); aerobic granules; sole carbon source; mixed carbon sources; biodegradation

好氧颗粒污泥因其结构致密、生物聚集量大、沉降性能好、耐受有机负荷高而倍受人们关注^[1-3].有研究表明,好氧颗粒污泥对难降解有机物的处理效果也明显优于普通活性污泥^[4].但由于针对难降解有机污染物的好氧颗粒污泥培养难度大,好氧颗粒污泥技术尚未能够广泛应用到难降解有机物废水治理中.目前培养难降解物质的颗粒污泥主要方法有:①利用难降解有机物和易降解碳源作为混合碳源培养;②以易降解碳源为单一碳源培养成颗粒后再用难降解有机物和易降解碳源的混合碳源继续培养;③直接以难降解有机物为唯一碳源培养.如 Zhu 等^[5]以氯苯胺和葡萄糖作为混合碳源培养得到了降解氯苯胺的好氧颗粒污泥. Carucci 等^[6]先以乙酸

钠为碳源将活性污泥培养成颗粒污泥后,再用乙酸钠和 4-氯酚的混合碳源进行培养,得到了降解 4-氯酚的好氧颗粒. Jiang 等^[7]则以苯酚为单一碳源通过逐步增加苯酚浓度培养得到了降解苯酚的好氧颗粒污泥.由于降解难降解有机物的好氧颗粒培养难度大,培养过程多添加除目标污染物外的易降解碳源作为主要碳源或辅助碳源.通过这种方式培养得到的颗粒污泥以难降解有机物为唯一碳源时,能否保

收稿日期:2010-01-31;修订日期:2010-04-19

基金项目:国家自然科学基金项目(50878024);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2008ZX07209-009-07)

作者简介:马景赞(1986~),男,硕士研究生,主要研究方向为废水生物处理技术,E-mail:majingyun8996@126.com

* 通讯联系人,E-mail:xchquan@yahoo.com.cn

持其结构与功能的稳定性,形态如何变化,相关研究还很少.

本研究以 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D)作为难降解有机物的模型化合物,探讨了在好氧颗粒污泥培养过程中碳源转化对颗粒污泥形态、结构与功能的影响. 2,4-D($C_8H_6O_3Cl_2$)是世界上广泛使用的除草剂之一,其毒性强,生物可降解性差,分子结构见图 1. 在生产、存储和使用过程中,2,4-D 会通过各种途径进入地表水、地下水,造成环境污染并严重威胁到对人类和水生生物动植物健康^[8~12]. 生物降解是环境中 2,4-D 去除的主要途径之一,目前已经分离到多株能够以 2,4-D 为唯一碳源和能源生长的菌株,并开展了生物反应器处理 2,4-D 废水相关研究^[13~15]. 但利用好氧颗粒污泥技术处理 2,4-D 废水的研究尚鲜见文献报道. 本研究通过长期序批式生物反应器(SBR)实验,考察了以葡萄糖和 2,4-D 为混合碳源培养的好氧颗粒向 2,4-D 唯一碳源转化后,其形态、结构与降解功能变化. 该研究对于认识好氧颗粒反应器处理难降解有机物的运行特性、建立难降解有机物好氧颗粒培养方法具有重要的理论与实践意义.

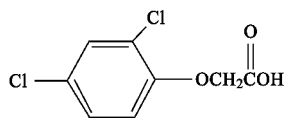


图 1 2,4-二氯苯氧乙酸结构式

Fig. 1 Chemical structure of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid

1 材料与方法

1.1 实验装置及工况

实验采用的装置为圆柱形有机玻璃制成的序批式(SBR)反应器,其高 80 cm,内径 5 cm,有效容积 1.5 L. 空气经由反应器底部微孔曝气头输入反应器,为系统提供溶解氧和搅拌动力,曝气量为 1.5 ~ 2.0 L/min. 反应器的进水、曝气、沉降和排水时间均由时间继电器自动控制,运行初期(0 ~ 15 d)采用 6 h 周期,此后周期调整为 4 h,每个周期包括:进水 10 min,曝气 340 或 220 min,静止 5 min,排水 5 min. 体积交换率为 50%,反应温度为室温.

1.2 实验方案

以葡萄糖为单一碳源培养的好氧颗粒污泥接种,用葡萄糖和 2,4-D(浓度从 10 ~ 500 mg/L 逐渐递增)的混合碳源废水培养 100 多天,形成了对 2,4-D 有高效降解能力且性能稳定的好氧颗粒污泥,粒径

约为 650 μm . 此后,以 2,4-D 为单一碳源对好氧颗粒污泥继续培养,考察混合碳源向唯一碳源转化过程中颗粒污泥功能和形态变化.

进水采用人工合成废水. 混合碳源由葡萄糖和 2,4-D 组成,单一碳源为 2,4-D. 混合碳源进水:葡萄糖和 2,4-D 浓度分别为 300 mg/L 和 500 mg/L,容积负荷分别为 0.6 $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 和 1.0 $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$;单一碳源进水:2,4-D 浓度为 500 mg/L,周期由 6 h 改为 4 h,2,4-D 浓度不变,负荷由 1.0 $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 提高到 1.5 $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$;其他物质进水浓度保持不变,其成分(mg/L): NH_4Cl 500、 NaCl 100、 CaCl_2 10、 MgCl_2 45、 FeCl_3 40、 KH_2PO_4 1350、 K_2HPO_4 1650. 微量元素(g/L): H_3BO_3 0.05、 ZnCl_2 0.05、 CuCl_2 0.03、 MnSO_4 0.05、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.05、 AlCl_3 0.05、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05、 NiCl 0.05. 单一碳源运行 15 d 后,为提高容积负荷,将运行周期改为 4 h.

1.3 分析方法

COD:重铬酸钾标准法;MLSS 和 SVI:标准重量法.

粒径:采用 Mastersizer 2000(Malvern)测量好氧颗粒污泥颗粒直径.

2,4-D 浓度测定:进出水经 0.45 μm 的混纤维膜过滤后,采用高效液相色谱分析(HPLC)分析. 型号为 Waters 1525;色谱柱为 Kromasil 100-5 C18 柱;紫外检测器,型号为 Waters2487. 波长为 285 nm,流动相为甲醇:水:冰乙酸 = 37.5:12.5:1(体积比),流速为 1.00 mL/min,进样量为 20 μL .

颗粒污泥形态和结构的观察:使用 Olympus B41 光学显微镜和数码照相机观察和记录颗粒形态;使用扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)(Quanta200, FEI 公司)观察颗粒的微观结构和表面微生物多样性.

电镜前处理:取大约 10 mL 混匀的颗粒污泥混合液样品,经戊二醛和锇酸双重固定,乙醇逐级脱水, CO_2 临界点干燥,真空喷金后进行电镜观察.

2 结果与讨论

2.1 单一碳源运行过程污染物去除情况

混合碳源条件下,系统进水 COD 浓度为 763 ~ 893 mg/L,出水 COD 浓度为 85.4 ~ 95.2 mg/L, COD 平均去除率为 88.8%. 系统进水 2,4-D 浓度为 496 ~ 510 mg/L,去除率为 99.8% ~ 100%. 换成单一碳源后 COD 和 2,4-D 的变化情况如图 2 所示.

从图 2 可以看出,单一碳源条件下,进水 COD

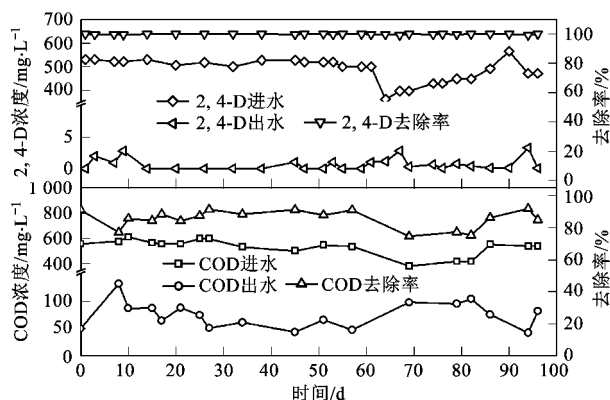


图2 单一碳源下COD和2,4-D的变化过程

Fig. 2 Time profiles of 2,4-D and COD removal under the sole carbon source condition

浓度为385~613 mg/L,出水COD浓度平均为73.8 mg/L,COD平均去除率为85.6%.与混合碳源相比,COD平均去除率略有下降但仍保持在85%之上,碳源转换对COD去除率没有产生明显影响.进水2,4-D浓度为361~564 mg/L,其出水浓度为0~2.8 mg/L,去除率维持在99.2%~100%,与混合碳源下的去除水平相当.可见,以2,4-D和葡萄糖为混合碳源培养的颗粒污泥在2,4-D唯一碳源下仍然保持了稳定的降解功能和去除效率.因为长期混合碳源的培养,已经培养出对2,4-D具有高效降解性的混合菌群.虽然颗粒污泥对2,4-D具有一定吸附去除作用,但由于其水溶性强、疏水性差,吸附量较低^[13,16].此外,虽然在运行初期颗粒污泥对2,4-D具有一定的吸附作用,但当吸附达到饱和后不再具有吸附效应.因此,在长期运行过程中2,4-D的去除主要是依靠颗粒污泥的生物降解作用.

2.2 生物量和污泥沉降性能的变化

好氧颗粒污泥的沉降性通常用SVI来评价,沉降性良好的好氧颗粒其SVI通常低于50 mL/g^[17,18].混合碳源期间,反应器的生物量(以MLSS计,下同)维持在3.5~4.4 g/L,SVI维持在35 mL/g左右.以2,4-D为唯一碳源运行过程中系统生物量和SVI的变化如图3所示.

以2,4-D为唯一碳源运行后,好氧颗粒污泥沉降性变差,SVI值迅速升到50 mL/g,生物量迅速下降到2.5 g/L以下.一方面可能是由于好氧颗粒中存在某些不能够利用2,4-D为唯一碳源的微生物因碳源改变而大量死亡;另一方面可能是由于系统有机负荷降低,微生物处于碳源不足的饥饿状态.为此,运行15 d后,将运行周期由6 h调整为4 h,使2,4-

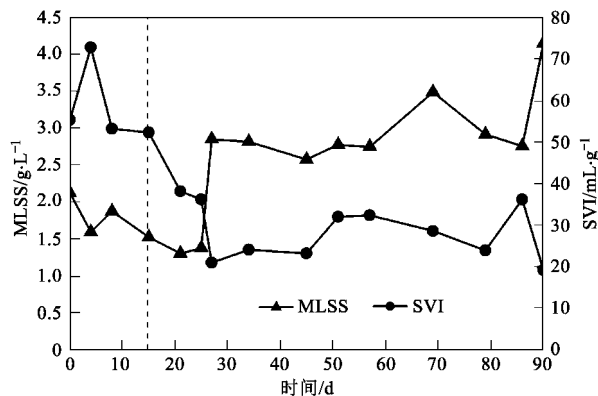


图3 MLSS和SVI随时间变化情况

Fig. 3 Changes of MLSS and SVI with operation time

D容积负荷由原来1.0 kg/(m³·d)提高到1.5 kg/(m³·d).25~27 d,生物量由1.38 g/L迅速增加到2.85 g/L,随后稳定在2.78 g/L左右.说明反应器中的颗粒污泥已经适应了2,4-D为单一碳源的环境,并能够利用其为碳源和能源生长.负荷调整后,SVI值开始降低,运行45 d后,SVI值稳定在20~40 mL/g,颗粒污泥重新获得了良好的沉降性能.

2.3 颗粒污泥大小及形态变化

2.3.1 颗粒直径的变化

混合碳源向单一碳源转换后,长期运行过程中好氧颗粒污泥粒径变化如图4所示.颗粒粒径出现先下降后上升的趋势.

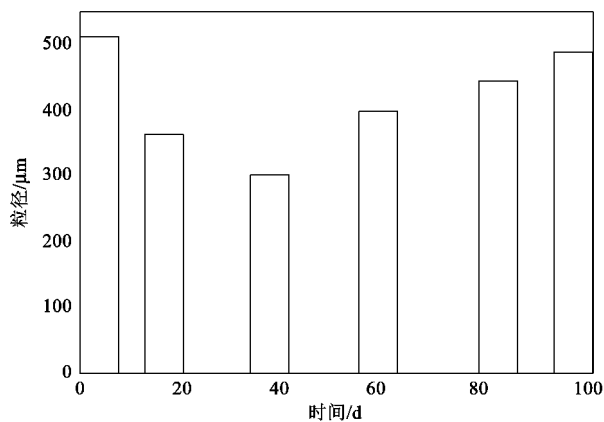


图4 好氧颗粒直径的变化

Fig. 4 Variations of the aerobic granule diameter

运行前40 d,粒径从513 μm下降到302 μm,这主要是由于好氧颗粒中的部分微生物因不能够利用2,4-D为唯一碳源和能源生长而死亡,原颗粒结构遭到破坏,颗粒发生部分解体.此后粒径开始持续增长,99 d时达到了489 μm,颗粒污泥进入了稳定生

长阶段. 但此粒径要比混合碳源时颗粒粒径 (618 ~ 670 μm) 小. 许多文献表明, 以难降解有机物为唯一碳源培养好氧颗粒污泥往往具有难度大、时间长, 颗粒粒径小等特点^[7,19]. 如 Jiang 等^[7] 直接以苯酚为唯一碳源培养得到的好氧颗粒污泥的粒径约为 520 μm , 与本研究接近. Tay 等^[19] 以四丁基乙醇为唯一碳源培养的好氧颗粒粒径最大约 200 μm . Liu 等^[20,21] 研究表明粒径的大小取决于微生物生长和水力剪切力之间的平衡. 以 2,4-D 为唯一碳源运行初始阶段, 颗粒的结构稳定性下降, 较低的有机负荷使微生物增长缓慢, 而水力剪切力保持不变, 也可能

是导致粒径的下降原因之一. 但 H_2O_2 看来, 在整个运行过程中, 好氧颗粒粒径始终高于 300 μm , 说明混合碳源向唯一碳源转换虽然对原好氧颗粒结构产生一定冲击和破坏作用, 但并未使其发生彻底解体, 颗粒中的微生物通过适应与调整能够重新聚集生长.

2.3.2 颗粒形态变化

在运行过程中, 定期取样对好氧颗粒进行了显微镜及扫描电镜观察, 结果见图 5 和图 6. 通过显微照片可以看出颗粒污泥的实际变化情况: 与混合碳源时相比, 单一碳源运行 44 d 后, 颗粒直径减小、表面覆盖了大量的黑色物质 (死亡的微生物残体) 并

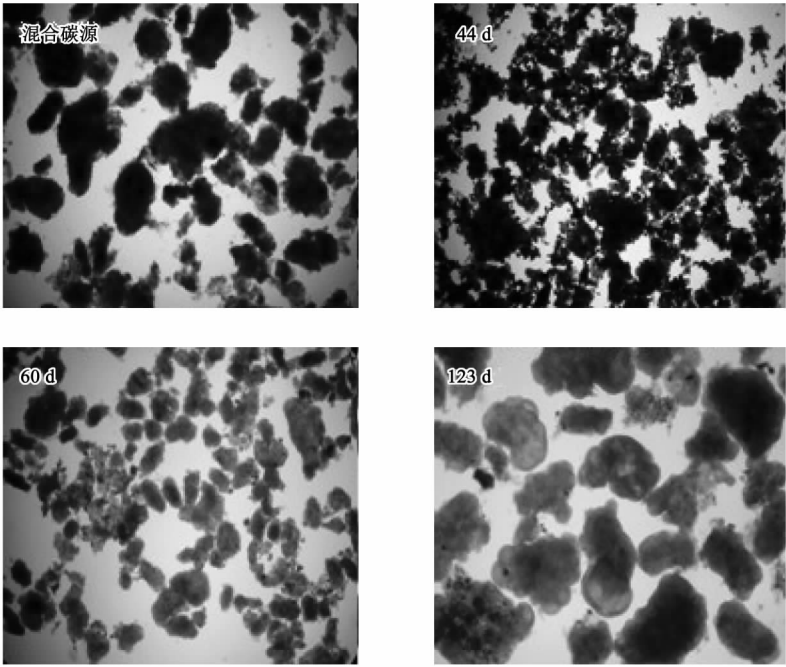


图 5 颗粒污泥的显微照片 (×40)
Fig. 5 Microscope photos of granular sludge (×40)

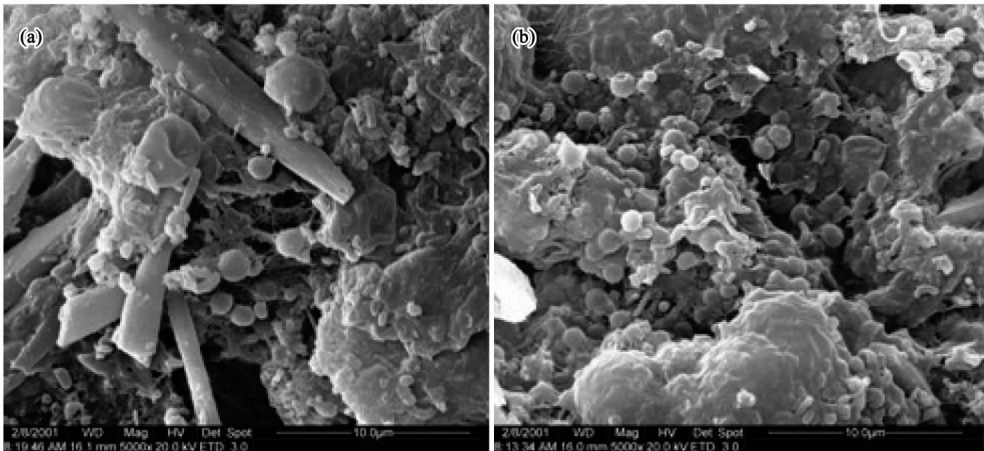


图 6 颗粒污泥的扫描电镜照片 (×5 000)
Fig. 6 SEM micrographs of the granular sludge (×5 000)

且出现了较多的絮体,运行 60 d 时,黑色物质消失、絮体明显减少,颗粒污泥正处于初始生长阶段. 运行 123 d 时,颗粒直径明显增大,絮体已经消失,颗粒污泥已经成熟. 显微照片直观地反映出整个过程中颗粒污泥粒径和形态的变化. 整个变化过程表明颗粒中的微生物经过一系列的自我调整,最终适应了 2,4-D 单一碳源的环境,同时体现出颗粒污泥适应能力强特点.

扫描电镜照片可以显示出颗粒表面的情况,图 6(a)是颗粒在混合碳源条件下的情形:颗粒表面生物相丰富,杆状菌和球状菌等镶嵌在胞外聚合物的主体之上;图 6(b)是单一碳源运行 60 d 后的颗粒表面观察结果,生物相种类较少,主要以球状菌为主,说明经过单一碳源的培养,颗粒污泥中的生物种群数量减少.

3 结论

(1) 以葡萄糖和 2,4-D 为混合碳源培养的好氧颗粒转换为 2,4-D 唯一碳源废水后,保持了对目标污染物 2,4-D 的高效去除能力.

(2) 混合碳源向 2,4-D 唯一碳源转换对原好氧颗粒结构产生一定的冲击和破坏作用,使其部分解体,粒径减小,但好氧颗粒污泥良好的耐负荷冲击能力能够使其保持颗粒主体,并重新聚集生长.

(3) 混合碳源转换为 2,4-D 唯一碳源后,颗粒污泥粒径有所减小,组成的微生物种群数量减少.

参考文献:

- [1] Liu Y, Tay J H. State of the art of biogranulation technology for waste water treatment [J]. *Biotechnology Advances*, 2004, **22**: 533-563.
- [2] Jang A, Yoon Y H, Kim I S, *et al.* Characterization and evaluation of aerobic granules in sequencing batch reactor [J]. *Journal of Biotechnology*, 2003, **105**: 71-82.
- [3] Tsuneda S, Nagano T, Hoshino T, *et al.* Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor [J]. *Water Research*, 2003, **37**: 4965-4973.
- [4] Tay S T L, Moy B Y P, Maszenan A M, *et al.* Comparing activated sludge and aerobic granules as microbial inocula for phenol biodegradation [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, **67**: 708-713.
- [5] Zhu L, Xu X, Luo W, *et al.* Formation and microbial community analysis of chloroanilines-degrading aerobic granules in the sequencing airlift bioreactor [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, **104**: 152-160.
- [6] Carucci A, Milia S, Gioannis G D, *et al.* Acetate-fed aerobic granular sludge for the degradation of 4-chlorophenol [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **166**: 483-490.
- [7] Jiang H L, Tay J H, Tay S T L. Aggregation of immobilized activated sludge cells into aerobically grown microbial granules for the aerobic biodegradation of phenol [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2002, **35**: 439-445.
- [8] Galiulin R V, Bashkin V N, Galiulina R R. Behaviour of 2,4-D herbicide in coastal area of Oka river, Russia [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2001, **129**: 1-12.
- [9] Obendorf S K, Lemley A T, Hedge A, *et al.* Distribution of pesticide residues within homes in central New York State [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2006, **50**: 31-44.
- [10] Siemering G S, Hayworth J D, Greenfield B K. Assessment of potential aquatic herbicide impacts to California aquatic ecosystems [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, **55**: 415-431.
- [11] Uyanikgil Y, Ates U, Baka M, *et al.* Immunohistochemical and histopathological evaluation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid-induced changes in rat kidney cortex [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2009, **82**: 749-755.
- [12] Fairchild J F, Feltz K P, Allert A L, *et al.* An ecological risk assessment of the exposure and effects of 2,4-D acid to rainbow trout [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2009, **56**: 754-760.
- [13] Grotzschel S, Koster J, De Beer D. Degradation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) by a hypersaline microbial mat and related functional changes in the mat community [J]. *Microbial Ecology*, 2004, **48**: 254-262.
- [14] Zipper C, Bolliger C, Fleischmann T, *et al.* Fate of the herbicides mecoprop, diclorprop, and 2,4-D in aerobic and anaerobic sewage sludge as determined by laboratory batch studies and enantiomer-specific analysis [J]. *Biodegradation*, 1999, **10**: 271-278.
- [15] Lee T H, Kurata S, Nakatsu C H, *et al.* Molecular analysis of bacterial community based on 16S rDNA and functional genes in activated sludge enriched with 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) under different cultural conditions [J]. *Microbial Ecology*, 2005, **49**: 151-162.
- [16] Hiller E, Krascenits Z, Cernansky S. Sorption of acetochlor, atrazine, 2,4-D, chlorotoluron, MCPA, and trifluralin in six soils from Slovakia [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, **80**: 412-416.
- [17] Qin L, Tay J H, Liu Y. Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors [J]. *Process Biochemistry*, 2004, **39**: 579-584.
- [18] Liu Y, Yang S F, Tay J H. Elemental compositions and characteristics of aerobic granules cultivated at different substrate N/C ratios [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2003, **61**: 556-561.
- [19] Tay S T L, Zhuang W Q, Tay J H. Start-Up, microbial community analysis and formation of aerobic granules in a *tert*-butyl alcohol degrading sequencing batch reactor [J]. *Environmental Science and Technology*, 2005, **39**: 5774-5780.
- [20] Liu Y, Lin Y M, Yang S F, *et al.* A balanced model for biofilms developed at different growth and detachment forces [J]. *Process Biochemistry*, 2003, **38**: 1761-1765.
- [21] Liu Y, Tay J H. The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge [J]. *Water Research*, 2002, **36**: 1653-1665.