

低温生活污水处理系统中耐冷菌的筛选及动力学研究

贲岳, 陈忠林*, 徐贞贞, 齐飞, 叶苗苗, 沈吉敏, 姜安玺

(哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090)

摘要: 对长期在 4℃ 条件下运行的生活污水处理系统中活性污泥的菌群组成进行分析鉴定, 探讨了菌群降解低温污水中有机污染物的动力学过程. 试验分离得到 6 株优势耐冷菌, 分别隶属于动胶菌属、气单胞菌属、黄杆菌属、微球菌属、芽孢杆菌属、假单胞菌属. 4℃ 时混合耐冷菌脱氢酶活性为 25.44 mg/(L·h), 比普通活性污泥高出了 20.5 倍. 耐冷菌在中低温条件下对有机物的降解效果较稳定, COD 的去除率分别为 80.9% 和 73.4%, 而中温菌在低温条件下基本丧失代谢能力. 混合菌群降解 COD 的动力学分析表明: 耐冷菌在中低温条件下和中温菌在中温条件下的 COD 降解过程均符合一级反应动力学模型. 耐冷菌保持了与中温菌基本相同的反应速率, 且具有比中温菌更宽的温度适应范围. 采用固定化技术把高效耐冷菌固定到软性聚氨酯泡沫填料上, 可以使高适应性的耐冷菌更有效地去除低温生活污水中的有机污染物, COD 的去除率比未固定化耐冷菌提高了约 18 个百分点, 其降解过程也符合一级反应动力学模型, 以葡萄糖作为碳源配水时, 固定化耐冷菌的反应速率比未固定菌提高了 2.35 倍. 本实验条件下, 采用固定化耐冷菌处理不同碳源配水时, 其出水 COD 均达到一级 B 排放标准.

关键词: 低温; 耐冷菌; 动力学; 污水处理

中图分类号: X703.1; X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2008)11-3189-05

Selection and Kinetic Mechanism of Psychrotrophs in Low Temperature Wastewater Treatment

BEN Yue, CHEN Zhong-lin, XU Zhen-zhen, QI Fei, YE Miao-miao, SHEN Ji-min, JIANG An-xi

(School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: A study was carried out taking low temperature domestic wastewater as target in laboratory, the composition of bacteria in activated sludge was analyzed and the degradation kinetics of organics was investigated. Six preponderant psychrotrophs were selected out, belonging to *Zoogloea*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus* and *Pseudomonas*, respectively. Results show that TTC-dehydrogenase activity of the psychrotroph is 25.44 mg/(L·h) which is 20.5 times more than that of ordinary activated sludge at 4℃. The efficiency of COD biodegradation by psychrotrophs at low and normal temperature is 80.9% and 73.4%, respectively. Mesophilic bacteria almost lost their activity at low temperature. Kinetic analysis shows that biodegradation of organics by psychrotrophs at low and mesothermal temperature as well as mesophilic bacteria at mesothermal temperature are in accordance with the model of first-order reaction. Psychrotrophs, which assure the removal efficiency of organic pollutants at low and normal temperature, could keep the uniform reaction velocity as the mesophilic bacteria and also adapt wide ecological amplitude of temperature. Efficient psychrotrophs were immobilized on soft polyurethane foams which acted as carriers in the experiment at 4℃, as a result of that, the removal efficiency of COD was increased about 18% higher than that of mobilized ones at low temperature, the biodegradation kinetics of COD by immobilized psychrotrophs also followed the first-order reaction model. With glucose in water as the source of nutriment, the reaction velocity of immobilized bacteria is 2.35 times higher than that of the mobilized ones. By the immobilized psychrotrophs biodegradation of varied nutriment, the effluent could achieve the first-degree B of pollutants discharge standard for municipal wastewater treatment plant.

Key words: low temperature; psychrotrophs; kinetics; wastewater treatment

随着我国城市化率的不断提高, 中小型点源污染的控制是提高水环境质量和解决水资源短缺问题的关键. 寒冷地区冬季漫长, 其生活污水的生物处理一直存在着微生物活性低、生化处理效果差、出水达标困难等问题^[1], 这主要是由于温度的降低对活性污泥的吸附性能、沉降性能、微生物生长发育、种群组成及曝气池中氧转移效率等有显著的影响^[2~6]. 因此, 分离高效优势耐冷菌并用于低温生活污水的处理, 是解决我国北方地区冬季污水厂出水水质难以达标的根本方法.

温度是微生物生命活动中重要的环境因子. 每一种微生物只在一定的温度范围内生长. 根据温度划分其最高生长温度高于 20℃、最适生长温度高于 15℃、在 0~5℃ 可生长繁殖的微生物称为耐冷菌. 国内外学者对于耐冷菌适应低温的机制^[7]、产生的

收稿日期: 2007-11-08; 修订日期: 2008-01-31

基金项目: 哈尔滨市科技攻关计划项目(2003AA4CS122); 黑龙江省自然科学基金项目(E01-22)

作者简介: 贲岳(1980~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为污水处理理论与技术, E-mail: benyue3000@163.com

* 通讯联系人, E-mail: zhonglinchen@hit.edu.cn

冷活性酶^[8]及耐冷菌在环境工程中的运用等方面进行了研究,如 Chevalier^[9]分离得到一种菌株可以在低温条件下去除氮磷,Kanly 等^[10]研究了多环芳烃的低温生物降解,但目前对耐冷菌处理低温生活污水的动力学分析还比较少见.

本试验分析了长期处理低温生活污水的活性污泥菌群组成,以期为进一步探讨活性污泥中微生物所起的作用及其机制的研究奠定基础,同时对试验中筛选出的耐冷菌进行动力学研究,并采用固定化技术将其投加到反应器中,在水温 4℃ 和 25℃ 条件下,进行了菌群处理低温生活污水的试验研究及动力学分析.

1 材料与方法

1.1 菌种分离和鉴定

菌样采自在生化培养箱内 4℃ ± 1℃ 条件下运行 1 a 的生活污水处理系统中的活性污泥,利用 LB 培养基,在 4℃ 条件下进行筛选,富集耐冷菌.对纯化后的耐冷菌株进行革兰氏染色、葡萄糖氧化发酵、接触酶、氧化酶等实验.实验结果根据文献[11]进行检索鉴定.同时在 LB 培养基中配比一定量的生活污水,在 4℃ 条件下对纯化后的耐冷菌进行驯化与扩增.中温菌分离方法同上,菌样采自城镇污水二级

生物处理系统中好氧池内污泥,培养温度为 30℃.对分离得到的各菌株生长温度进行测定,试验中采用平板划线法,培养基为 LB 培养基,并认定 3d 之内不生长的视为不长.

1.2 试验方法

通过静态烧杯试验考察混合菌群及固定化耐冷菌降解有机物的效能,反应器容积为 1 L.混合耐冷菌活性通过脱氢酶活性反应,测定方法采用朱南文等^[12]改进的 TTC 测定方法.试验选用包埋法作为固定化方法,选择聚乙二醇(PVA)作为固定化的包埋剂,交联剂为硼酸(H₃BO₃).采用软性聚氨酯泡沫(边长 4.0 ~ 6.0 mm,堆积密度 0.06 kg/L,孔隙率为 90% ~ 98%)作为本试验的载体用于污水处理,添加量为反应器有效体积的 30%.

1.3 测定方法

COD 采用重铬酸钾法进行测定,电镜扫描照片采用 KYKY-1000B 型电子扫描显微镜拍摄获得.

2 结果与讨论

2.1 耐冷菌的分离

试验分离得到 6 株耐冷菌,分别命名为 H1、H2、H3、H4、H5、H6,其形态及生理学特征分属鉴定结果见表 1.

表 1 菌种生理生化指标测定结果¹⁾
Table 1 Traditional identification of the sieved strains

指标	H1 ²⁾	H2	H3	H4	H5	H6
菌落颜色	乳白色,褶皱	乳白色,润滑	黄色,润滑	乳白色,润滑	乳白色,润滑	乳黄色,润滑
细菌形状	杆状	杆状	杆状	球状	杆状	杆状
菌体大小(μm)	0.23 × 1.03	0.43 × 0.86	0.4 × 0.96	0.67 × 0.71	0.31 × 2.54	0.43 × 1.86
革兰氏染色	-	-	-	+	+	-
接触酶	+	+	+	+	+	+
氧化酶	+	+	+	-	+	+
葡萄糖发酵	+	+	-	+	-	+
V.P 试验	+	-	-	-	-	-
M.R 试验	+	-	-	+	-	-
吲哚试验	-	-	-	-	-	+
产气	+	-	-	-	-	+
淀粉水解试验	+	+	-	-	-	+
属名	动胶菌属 <i>Zoogloea</i>	气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	微球菌属 <i>Micrococcus</i>	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>

1) + 为阳性反应, - 为阴性反应;2) H1 菌株可以形成絮状体沉淀

2.2 生长温度的测定

温度通过影响蛋白质、核酸等生物大分子的结构与功能以及细胞结构如细胞膜的流动性及完整性来影响微生物的生长、繁殖和新陈代谢^[13].过高的

环境温度会导致蛋白质或核酸的变性失活,而过低的温度会使酶活力受到抑制,导致细胞新陈代谢活动减弱.温度是微生物生命活动的重要生态因子,菌种的生长都有其最低、最适、最高生长温度,结果见

表 2.

表 2 各分离菌株生长温度测定结果/℃			
Table 2 Growth temperature of bacteria/℃			
菌种名称	最低温度	最适温度	最高温度
H1	0	30	35
H2	0	20 ~ 25	35
H3	0	30	35
H4	0	20 ~ 30	40
H5	2	25	35
H6	2	25	35

由表 2 可知,菌种在 10℃ 以下均能生长繁殖,属于耐冷菌,而在中温条件下亦可较好地生长繁殖,具有较宽的温度生态幅,这也说明了耐冷菌在冬夏都能够存活而不被淘汰,同时也是系统出水水质稳定的基础.

2.3 动力学机制

2.3.1 混合菌群降解有机物途径

为了解混合菌群在有机污染物降解过程中发挥的作用,对分离得到的混合菌群在低温(4℃)和中温(25℃)时降解有机物的途径进行了分析,如图 1 所示.混合菌群对有机污染物的降解大致经历 3 个时期:快速吸附期、降解期和稳定期.以葡萄糖配水,混合菌群首先经过快速的零级吸附过程,耐冷菌及中温菌在 25℃ 条件下的吸附量约为 80 ~ 100 mg/L,耐冷菌在 4℃ 时吸附量为 75 ~ 90 mg/L,菌群的快速吸附期基本一致,大概为 30 ~ 60 min.随后进入菌群代谢能力最强的有机物降解期,与吸附期相比,这个时期历时较长,有机物的降解量较大.体系中的 COD 降低到较小浓度后基本不再变化,即菌群对有机物的降解进入稳定期.中温条件下,中温菌对有机物的降解能力较强,12 h 后 COD 的去除率可达到 83.6%.由于中温菌在低温时代谢极为缓慢,菌群对有机物吸附饱和后直接进入稳定期,吸附缓慢且吸附量仅为 20 mg/L,符合中温微生物在 10℃ 以下一般不能生长且不能代谢外源物质的机制^[14,15].而低温菌在中低温条件下对有机物的降解代谢能力变化较小,12 h 后 COD 的去除率分别为 80.9% 和 73.4%.

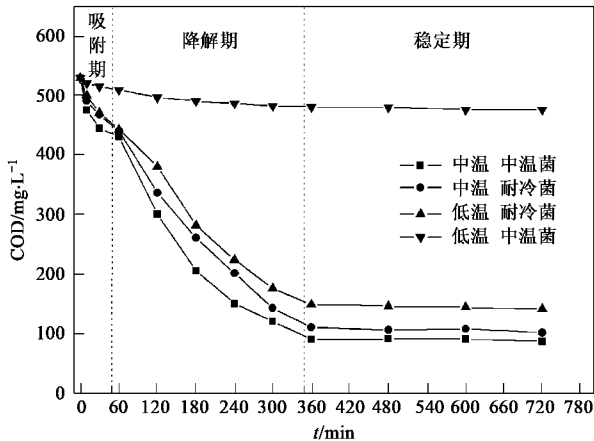
2.3.2 动力学方程的确定

微生物反应体系中,某单一细菌对有机物的降解基本符合 Lawrence McCarty 反应动力学模型:

$$v = \frac{v_{\max} c}{K_c + c}$$

(1)

本实验采用分离得到的混合菌群处理有机废



中温为 25℃,低温为 4℃,碳源为葡萄糖

图 1 混合菌群降解 COD 效果

Fig.1 Biodegradation effect of COD by bacteria

水,整个反应系统中的菌群负荷较低.当有机物浓度 c 相对较低(即 $c \ll K_c$)时,式(1)可以简化为:

$$v = v_{\max} c / K_c$$

(2)

令 $v_{\max} / K_c = K'$,则 $v = K'c$,而 $v = - \frac{dc}{dt} \frac{1}{X}$,所以 $dc/dt = - K'Xc$

因此,本实验的微生物反应系统中,某种耐冷菌体对有机物的降解动力学方程可以表述为:

$$dc/dt = - K'_i X_i c \quad (i = 1, 2, 3, 4, 5, 6)$$

(3)

整个反应体系的有机物降解是 6 种耐冷菌体作用的综合:

$$dc/dt = - \sum_{i=1}^6 K'_i X_i c$$

(4)

由于有机物浓度相对较低,所以在有机物降解过程中菌群浓度可认为基本保持不变,那么反应体系中细菌对有机物的降解速率决定了有机物的消耗速率,令 $\sum_{i=1}^6 K'_i X_i = K$,式(4)变为:

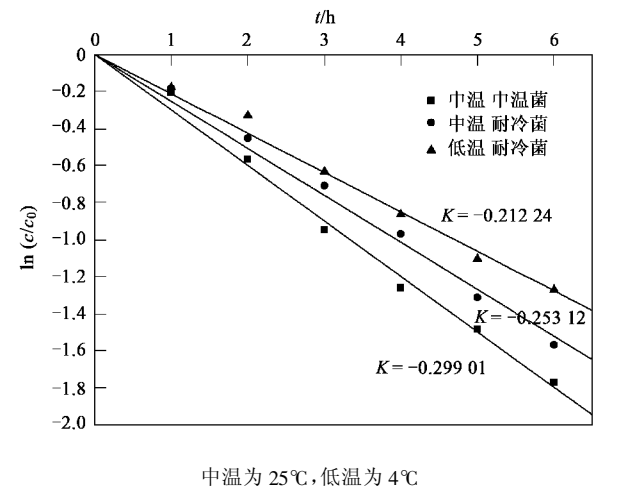
$$dc/c = - K dt$$

(5)

以上式(1) ~ (5)中, v 有机物比去除速度, $g/(g \cdot d)$; $v_{\max}$ 有机物的最大比去除速度, $g/(g \cdot d)$; K_c 饱和常数, mg/L ; c 有机物浓度, mg/L ; X 体系中微生物的浓度, mg/L .

在 4℃、25℃条件下,分析了 3 种情况下菌群对有机物降解的动力学过程:①中温条件下中温菌;②中温条件下耐冷菌;③低温条件下耐冷菌.从图 2 可以看出,3 种条件下菌群对 COD 的降解都较好地符合一级反应动力学模型.中温条件下,耐冷菌对有机物的降解速率稍低于中温菌(约 15.4%).由图 1 的

分析可知,低温条件下中温菌代谢缓慢,而耐冷菌在中低温条件下都保持了相对较高的生物反应活性,低温时耐冷菌对有机物的降解速率常数仅比中温时降低了 16.2% . 尽管耐冷菌在低温条件下对有机物的降解反应速率常数比中温菌在中温条件下低出约 30 个百分点,但耐冷菌具有相对较宽的温度适应范围,在中低温条件下对有机物的降解效果较稳定.



中温为 25℃,低温为 4℃

图 2 菌群降解 COD 的动力学曲线

Fig.2 Biodegradation kinetics of COD by bacteria

2.3.3 耐冷菌生物活性测定

在污水处理过程中,脱氢酶活性水平的高低直接关系到有机物降解速度,以及生物处理设施的运

行效果,已成为评价污水处理能力的重要指标.需氧生物处理反应器中的微生物活性、去除有机物的效能与水温有关.一般认为,为保证微生物的正常生长,水温应为 10~35℃(20~30℃最佳),水温 10℃以下即属低温.低温时需氧生化处理效果不理想,低温运行时,应对反应设施采取加温或保温措施,以维持系统有较高处理效率.试验测定了分离得到的混合耐冷菌的脱氢酶活性,试验结果如表 3,在中低温条件下混合耐冷菌均有较高的活性,而夏季取自城镇二级污水处理厂好氧池的活性污泥在 10℃时的脱氢酶活性试验中测定仅为 2.48 mg/(L·h),耐冷菌脱氢酶活性比其高出了 20.5 倍.

表 3 耐冷菌在不同温度时的脱氢酶活性

Table 3 Examination of TTC-dehydrogenase activity at low temperature

项目	温度/℃			
	4	10	20	35
耐冷菌脱氢酶活性/ mg•(L•h) ⁻¹	25.44	53.35	106.19	120.51

2.4 固定化耐冷菌处理低温生活污水

图 3 为固定化初期和稳定运行时的电镜扫描照片.可见在污水处理系统中稳定运行 44 d 后,载体表面生物量有大幅度的增殖,丰富生物相构成的空间结构维持了系统功能的正常运行,为取得稳定的污水处理效果提供了有效的保证.

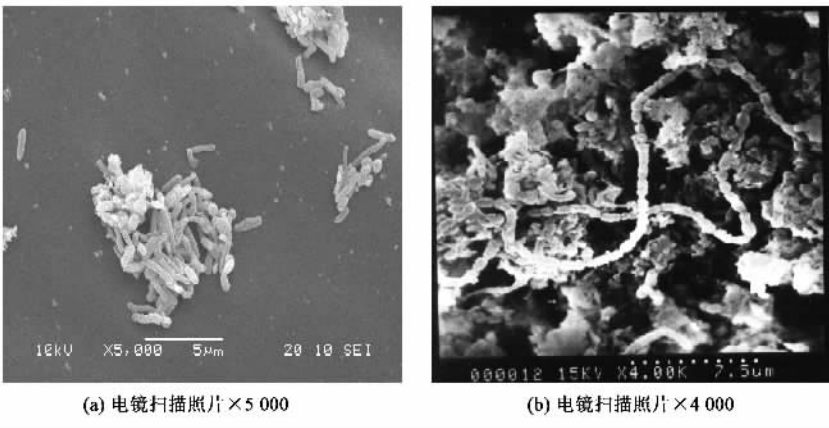


图 3 交联固定化后(a)和稳定运行期(b)载体表面特征

Fig.3 Character of bacteria and carrier's surface in earlier period (a) and in steady period (b)

高效菌固定化后能否保持其生物活性及有机物降解特性,是固定化细胞技术能否在生物强化中应用的关键.本实验将菌体湿重 2 g/L 高效耐冷菌固定化到占系统有效体积 30% 的软性聚氨酯泡沫填料上,在水温 4℃ 时,首先考察了同样以葡萄糖配水时

固定化耐冷菌降解 COD 的活性,然后研究了不同碳源时的 COD 降解情况(见图 4).在相同的实验条件下,固定化耐冷菌对有机物的吸附量和降解量都有明显提高.结合图 1 和图 4 可知,耐冷菌经固定化后,对 COD 的去除率提高了约 18 个百分点.不同碳

源时的 COD 降解同样经历快速吸附、降解代谢和稳定 3 个时期,利用固定化耐冷菌处理后,不同碳源的 COD 降解效果有一定的差别,其中,乙酸钠效果最好,10 h 后 COD 去除率可达到 95.4%,葡萄糖和生活污水略低,COD 的最终去除率约为 87%~92%,但不同碳源配水的降解出水 COD 都在 60 mg/L 以下,达到一级 B 排放标准。

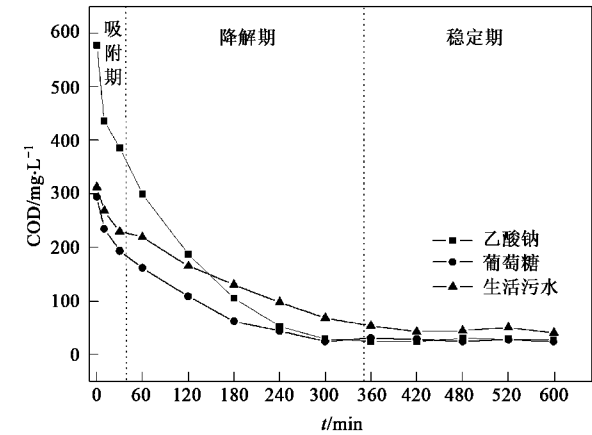


图 4 固定化耐冷菌对不同碳源的降解效果

Fig.4 Biodegradation several carbons by immobilized psychrotrophs

对不同碳源时的 COD 降解过程进行了动力学模拟和分析,结果如图 5 所示,耐冷菌经固定化后对不同碳源的 COD 降解均满足一级反应动力学模型,3 种碳源的反应速率从大到小依次为乙酸钠、葡萄糖和生活污水.结合图 2 和图 5 可以看出,以葡萄糖为碳源,固定化耐冷菌的生物降解活性明显提高,其一级反应速率常数比未固定菌提高了 2.35 倍.所以,固定化技术可以使高适应性的耐冷菌具有更高的处理效率。

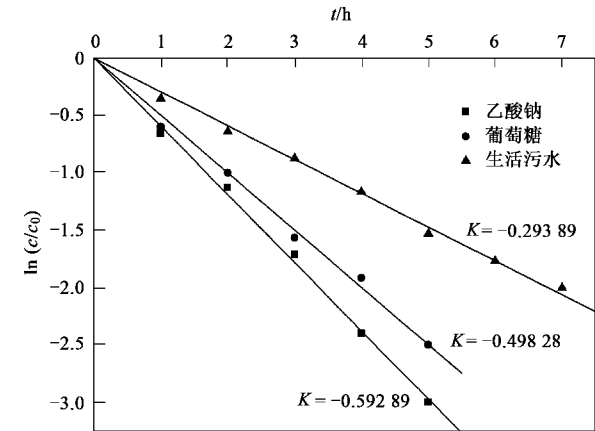


图 5 固定化耐冷菌对不同碳源降解的动力学曲线

Fig.5 Biodegradation kinetics of several carbons by immobilizing psychrotrophs

3 结论

(1)通过实验研究确定了低温污水中的主要菌群构成,试验分离得到 6 株耐冷优势菌,分别属于动胶菌属、气单胞菌属、黄杆菌属、微球菌属、芽孢杆菌属、假单胞菌属,耐冷菌在低温条件下也具有较高的生物活性。

(2)6 种耐冷菌温度适应范围广,最低温度为 0~2℃,致死温度在 35℃或 35℃以上,最适温度为 20~30℃.混合菌群降解有机物的过程分为吸附期、降解期和稳定期 3 个阶段.4℃时耐冷菌脱氢酶活性比普通活性污泥高出了 20.5 倍。

(3)耐冷菌在中低温条件下和中温菌在中温条件下的 COD 降解过程符合一级反应动力学模型,采用固定化技术把高效耐冷菌固定化到软性聚氨酯泡沫填料上,可以使高适应性的耐冷菌更有效地去除低温生活污水中的有机污染物,其 COD 的降解也符合一级反应动力学模型。

参考文献:

[1] 白晓慧,李刚,仲朝辉. 寒冷地区城市污水厂的设计与运行管理[J]. 城市给排水, 1999,25(7):1-3.

[2] 吴成强,杨金翠,杨敏,等. 运行温度对活性污泥特性的影响[J]. 中国给水排水,2003,19(9):5-7.

[3] 桑军强,王占生. 低温条件下生物陶粒反应器运行特性研究[J]. 环境科学,2003,24(2):112-115.

[4] Knoop S, Kunst S. Influence of temperature and sludge loading on activated sludge setting, especially on microthrix parvicella[J]. Wat Sci Tech, 1998,37(4-5):27-35.

[5] Liao B Q, Allen D G, Droppo I G, et al. Surface property of sludge and their role in biofloculation and settle ability[J]. Wat Res, 2001,35(2):339-350.

[6] 白晓慧,王宝贞. 寒冷地区城市污水处理厂改进工艺的运行效果[J]. 中国环境科学,2001,21(1):70-73.

[7] 唐兵,唐晓峰,彭珍荣. 嗜冷菌研究进展[J]. 微生物学杂志, 2002,22(1):51-53.

[8] 辛明秀,周培瑾. 温度对嗜冷酵母糖代谢途径某些关键酶的活性效应[J]. 微生物学报,2000,40(5):518-522.

[9] Chevalier P. Nitrogen and Phosphorus Removal by High Latitude Mat-Forming Cyano-Bacteria for Potential Use in Tertiary Wastewater Treatment[J]. J Appl Phycology,2002,12(2):105-113.

[10] Kanly R A, Harayama S. Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria[J]. J Bacteriol, 2000,182(10):2059-2067.

[11] Buchanan R E, Gibbons N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,1984.

[12] 朱南文,闵航,陈美慈,等. TTC-脱氢酶测定方法的探讨[J]. 中国沼气,1996,14(2):3-5.

[13] 朱非,王珊,周培瑾. 低温酶冷适应的分子机制及其在生物技术中的应用[J]. 微生物学报,2002,42(5):640-644.

[14] 任南琪,马放,杨基先,等. 污染控制微生物学[M]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学出版社,2002. 155-157.

[15] 辛明秀,周培瑾. 低温微生物研究进展[J]. 微生物学报,1998,38(5):401-403.