

原水输送管道生物膜的生长及其对硝化作用的影响

周正协¹, 陈卫², 许航², 王月婷², 顾艳梅², 陈桃源², 林晨烁²

(1. 宁波市自来水有限公司, 浙江 宁波 315041; 2. 河海大学 环境学院, 江苏 南京 210098)

摘要: 利用原水输送管道模拟系统,考察了管壁生物膜在自然形成过程中的微生物种群分布和生物多样性变化,探讨了原水管道的运行时间对原水中硝化作用的影响。结果表明,在管壁生物膜自然形成过程中,微生物表现出明显的群落演替现象,微生物的生长经历了适应期、对数生长期、脱落期和稳定期四个阶段,原水中的硝化作用不断趋于彻底。随着运行时间的增加,微生物多样性逐渐降低,生物系统趋于稳定。运行75 d后, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的变化率稳定在-45%左右;125 d后, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度的变化率稳定在-90%左右, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度的变化率稳定在40%左右。

关键词: 原水输送管道; 生物膜; 微生物群落结构; 硝化作用; 宏基因组测序

中图分类号: TU991 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2018)13-0048-06

Biofilm Formation and Its Effect on Nitrification in Raw Water Distribution Pipeline

ZHOU Zheng-xie¹, CHEN Wei², XU Hang², WANG Yue-ting², GU Yan-mei²,
CHEN Tao-yuan², LIN Chen-shuo²

(1. Ningbo Water Supply Co. Ltd., Ningbo 315041, China; 2. College of Environment,
Hohai University, Nanjing 210098, China)

Abstract: A raw water distribution pipeline simulating system was built to study the change of microbial population distribution and diversity during the natural formation of biofilm, and the influence of running time of raw water pipeline on nitrification in raw water was discussed. The results indicated that obvious microbial community succession was observed during the natural formation of the biofilm on the inner pipe wall. The growth of microorganism experienced four stages including adaptive period, exponential period, detachment period and stable period, and the nitrification effect in raw water tended to be thorough. With the increase of the running time, the microbial diversity gradually decreased and the biological system tended to be stable. The change rate of ammonia nitrogen stabilized at around -45% after 75 days' operation, and the change rates of nitrite and nitrate stabilized at about -90% and 40% respectively after 125 days' operation.

Key words: raw water distribution pipeline; biofilm; microbial community structure; nitrification; metagenomic sequencing

长期输送原水的管道内壁上不可避免地会附着许多生物物质,从而形成生物膜,原水在输送过程中伴

随着一系列复杂的物理、化学及生物反应,导致原水中发生硝化反应。然而,有关原水输送管道中硝化反应的研究很少。高炜^[1]对长达45 km的原水输送管道的研究表明,原水在输送过程中存在明显的硝化反应, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度分别下降了75%和60%左右,而 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度升高了20%左右。雒江茵等人^[2]在利用454焦磷酸测序技术研究输送管道生物膜的生长过程中发现,其微生物群落结构存在较大差异,且不同阶段内的微生物对原水中氮素转化的影响具有差异。笔者自行设计原水管道模拟系统,采用宏基因组测序检测生物膜不同生长阶段的微生物群落结构,同时考察了进出水中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度的变化,分析微生物群落结构对原水中硝化作用的影响,以期为原水输送管道及后续水处理单元中微生物对硝化作用的影响提供重要的理论依据。

1 试验材料和方法

1.1 试验模拟系统

输水管道模拟装置如图1所示。装置包括两个水平放置的同心圆柱形管段,外管管材为有机玻璃,管径为400 mm、长度为1 400 mm;内管管材为油漆内衬钢管,管径为200 mm、长度为1 250 mm。外管的左侧盖被水平放置的驱动轴贯穿,驱动轴左端和发动机相连接,右端连接推流器,外管的左右侧盖均可拆卸,以方便取生物膜样品。外管上侧设置有毕托管,毕托管通过塑料软管与数显压差计相连;外管的左上侧壁和右下侧壁分别设置进水口和出水口,分别安装了进水管和出水管,进水管与出水管上均装有电磁阀,电磁阀与时控开关相连。原水箱中放置有潜水泵,连接着进水管,出水管通入出水箱。

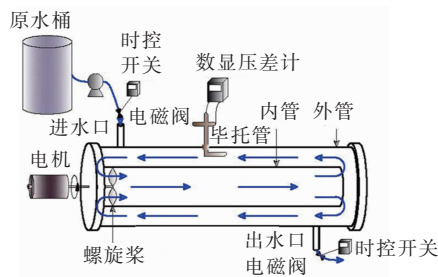


图1 原水输送管道模拟装置示意

Fig.1 Schematic diagram of raw water distribution pipeline simulator

该管道模拟装置需要实现水流的24 h不断循

环,以内管模拟任意长度的原水管道,故该装置采用正态水力模拟系统^[3,4],每隔6 h进水、出水,以模拟实际管径为1 800 mm、流速为1.4 m/s、水力停留时间为6 h的原水输送管道。

1.2 试验水质

将新装置连续运行1年(2015年3月—2016年2月),研究在XJ水源水质条件下,模拟管道中原水硝化作用的发生趋势,试验期间水源水质指标如下:TN为1.71~4.80 mg/L, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为0.42~1.98 mg/L, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 为0~0.09 mg/L, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为0.93~1.83 mg/L, COD_{Mn} 为4.58~7.33 mg/L,TP为0.03~0.39 mg/L,悬浮HPC(异养菌平板计数)为 $4.2 \times 10^4 \sim 3.5 \times 10^5$ CFU/mL,浊度为6.3~18.2 NTU,DO为3.82~7.22 mg/L,温度为5~26℃,pH值为6.84~8.20。

1.3 分析方法

水温:数显温度计;pH值:pH计;浊度:HACH 2100P浊度仪;DO:便携式溶解氧分析仪; COD_{Mn} :高锰酸盐指数法; $\text{NH}_4^+ - \text{N}$:纳氏试剂分光光度法; $\text{NO}_3^- - \text{N}$:紫外分光光度法; $\text{NO}_2^- - \text{N}$:N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法;TN:TOC/TN分析仪;TP:孔雀绿-磷钼杂多酸分光光度法;细菌总数:异养菌平板计数法;微生物群落结构:宏基因组测序法。

2 结果与讨论

2.1 生物膜中生物量的变化

模拟管道装置运行期间管壁生物膜中HPC的变化情况见图2。

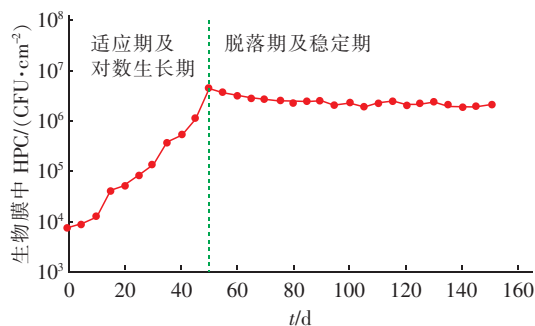


图2 生物膜形成过程中HPC的变化

Fig.2 Change of HPC during biofilm formation

由图2可知,生物膜中微生物的生长经历了适应期、对数生长期、脱落期和稳定期四个阶段。前15 d内,生物膜中的HPC数量缓慢增加,表现出管壁对细菌的吸附特性,也表现了微生物对其新生长

环境的适应过程,第15天,管壁生物膜中的HPC达到 4.22×10^4 CFU/cm²;第15~50天,生物膜中的HPC数量几乎与装置运行时间呈直线变化关系,说明此阶段生物膜中的微生物进入对数生长期,微生物生长速率最快、代谢和酶系旺盛,生物膜中活细菌数和细菌总数大致接近,第50天HPC数量达到最大,为 4.53×10^6 CFU/cm²;第50~75天,生物膜中的HPC数量又有所减少,说明在管道内水流剪切力的作用下,生物膜有所脱落,至第75天,生物膜中的HPC数量降至 2.45×10^6 CFU/cm²;75 d以后,管壁生物膜中的HPC数量开始稳定,表明生物膜进入稳定期,HPC数量维持在 2.20×10^6 CFU/cm²左右。图2中适应期与对数生长期的界限、脱落期与稳定期的界限不明显,故划分时间为大致判断。

2.2 微生物群落结构组成

图3显示了不同生长阶段(30、150和360 d)生物膜中微生物种群的组成情况(在门的水平上)。可知,生物膜生长过程中主要存在以下菌门:变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)、蓝藻菌门(*Cyanobacteria*),此外,还发现大量未经鉴定的菌门。这些微生物表现出了丰富的多样性,根据微生物生存对氧气的需求量,图3中显示的微生物可分为好氧、厌氧和兼性微生物,其中,好氧微生物包括放线菌门、浮霉菌门、硝化螺旋菌门和蓝藻菌门,厌氧微生物包括厚壁菌门和拟杆菌门,兼性微生物包括变形菌门和绿弯菌门。

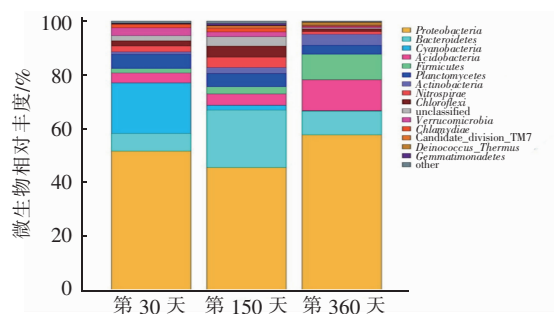


图3 不同阶段生物膜中微生物种群的组成(门的水平)

Fig.3 Microbial communities of biofilms in different growth stages (phylum)

变形菌门是细菌中最大的一个菌门。已有研究表明,贫营养水环境下生物膜中的优势微生物种群

均为 α -变形菌^[5];富营养水域中微生物的相关研究显示,优势种群为 β -变形菌和 γ -变形菌^[6];废水处理系统活性污泥-生物膜复合工艺中 β -变形菌为优势种群^[7]。硝化螺旋菌门属于革兰氏阴性菌,可将 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 氧化为 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ^[8],这类微生物在原水输送系统中可促进硝化作用。厚壁菌门能在厌氧环境中利用 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 进行反硝化作用,同时还和水中有机物的降解有关^[9]。浮霉菌门也在水环境氮循环中扮演重要角色,浮霉菌门内有一类细菌能在厌氧环境下进行厌氧氨氧化反应^[10]。由此可见,原水输送管道中,不同菌门的细菌在含氮污染物的转化过程中发挥着不同的作用,导致管道中氮素不同组分间发生变化。

对不同生长阶段生物膜中细菌种群的鉴定结果显示,模拟管道内壁生物膜中的微生物群落结构随装置运行时间的变化而演替。在每个阶段的生物膜中,变形菌门均是最优势菌门,拟杆菌门的丰度从30 d的6.77%上升到150 d的21.35%,而后降低到360 d的7.90%,导致该变化的原因可能是150 d的生物膜样品取自于夏季,此时水源水中的有机物浓度较高,拟杆菌的丰度与水中有机物浓度有关^[11]。150 d的生物膜样品中硝化螺旋菌门的丰度较高(4.50%),原因是该季节水源水中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和DO浓度较高,促进了硝化螺旋菌的生长繁殖^[12]。厚壁菌门的丰度从30 d的0.45%上升到150 d的1.02%,再上升到360 d的5.21%。而酸杆菌门和蓝藻菌门随着模拟管道运行时间的延长,含量不断降低乃至消失,可见这些细菌因不适宜原水管道的环境而逐渐被淘汰。变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、硝化螺旋菌门、厚壁菌门等均稳定存在于不同阶段的生物膜中,说明这些细菌对原水输送管道的生物稳定性起了重要作用。

根据3个生物膜样品的OTUs丰度信息,利用稀疏曲线来评估样品中微生物群落的多样性^[13],结果见图4。可以看出,生物膜样品越成熟,其稀疏曲线就越低,表现出越低的生物多样性,即随着模拟装置运行时间的增加,管壁生物膜中微生物的多样性逐渐降低,这与模拟供水管道内生物膜中微生物的多样性呈现出相似的规律性^[14]。分析原因在于,随着该生物系统不断趋于稳定,优势菌种不断富集,不适应环境的劣势菌种逐渐被淘汰。此外,30 d和150 d两个生物膜样品的稀疏曲线的末端未接近水

平,说明还有更多的 OTUs 未被检测出,即该样品对应的微生物多样性比图中所显示的更加广泛。

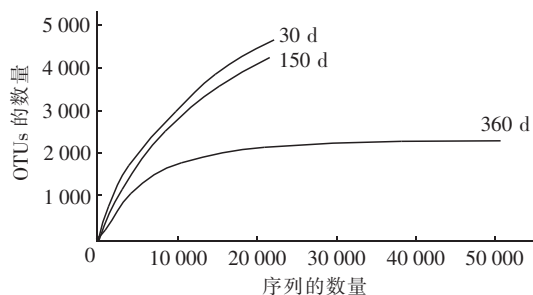


图4 不同生长阶段生物膜中微生物稀疏曲线

Fig. 4 Rarefaction curves of biofilms microorganism in different growth stages

2.3 进出水中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的变化

图5为模拟管道系统生物膜形成过程中进出水中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的变化情况。

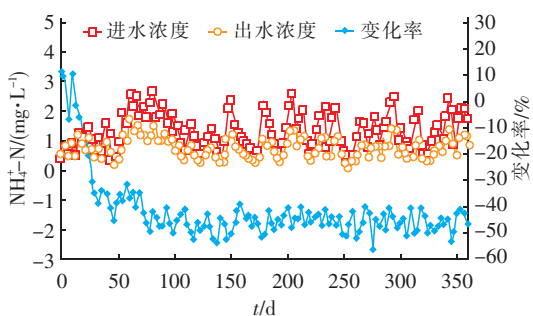


图5 生物膜形成过程中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的变化

Fig. 5 Change of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ concentration during biofilm formation

由图5可见,在模拟管道运行初期(前15 d),管道中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度没有降低,甚至有时出水 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度反而比进水浓度要高;15 d以后, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度变化率的绝对值稳定上升;50 d以后, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度变化率的绝对值又有所下降;75 d以后, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度变化率趋于稳定,在-45%左右。结合图2可知,前15 d,生物膜中的HPC数量缓慢增加,管道中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的变化率不稳定;在HPC对数生长期末(50 d左右),模拟管道中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的变化率也达到最大;在生物膜生长处于脱落期时, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度变化率的绝对值也有所降低;75 d以后,生物膜处于稳定期, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的变化率也稳定在-45%左右。生物膜中微生物的生长与原水中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的浓度变化密切相关。

原水中 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的降解主要依靠生物膜中的

氨氧化细菌来完成,氨氧化细菌属于革兰氏阴性化能自养型细菌,以氧化 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 来满足其能量需求。氨氧化细菌普遍分布在海洋、土壤和淡水环境中,但是其占总细菌的比例极小,且不同种类的氨氧化细菌也分布在不同的种属之中。生物膜中HPC的生长与氨氧化细菌的生长基本一致,随着HPC的大量生长,生物膜中氨氧化细菌的数量也逐渐增多,且在DO值为3.82~7.22 mg/L的范围内不断实现了对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的氧化过程。

2.4 进出水中 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度的变化

图6为模拟管道系统生物膜形成过程中进出水 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度的变化情况。50 d以前, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 出水浓度均高于进水浓度,在第18天, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 出水浓度比进水浓度增加了35.4%,达到了最大值,说明此阶段 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 被不完全氧化而发生亚硝化反应,导致 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 不断累积;50 d以后, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 出水浓度均低于进水浓度,且浓度变化率绝对值逐渐提高,说明在装置运行50 d左右时,生物膜中出现大量硝化细菌,将 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 氧化为 $\text{NO}_3^- - \text{N}$;直到125 d以后, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度的变化率稳定在-90%左右,原水中的 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 几乎全被转化,此阶段生物膜处于稳定状态, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 累积现象不再存在。

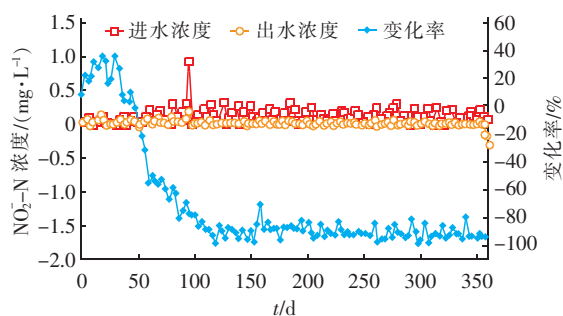


图6 生物膜形成过程中 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度的变化

Fig. 6 Change of $\text{NO}_2^- - \text{N}$ concentration during biofilm formation

$\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的转化与生物膜中硝化细菌的数量息息相关。硝化细菌属于硝化螺旋菌门,是一类好氧性自养型细菌,由图3可知,硝化螺旋菌门在生物膜的整个生长过程以及稳定期所占比例很可观,且本试验条件满足了硝化细菌对DO浓度的要求(3.82~7.22 mg/L),因此在底物浓度充足的条件下,模拟原水输送管道中的硝化反应不断趋于彻底。另外,在运行初期出现了 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的大量累积,50 d

以后 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的出水浓度开始低于进水浓度,这是因为硝化细菌的生长世代周期较亚硝化细菌要长,从而导致运行初期 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 的累积。

2.5 进出水中 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度的变化

随着装置运行时间的延长,管壁生物膜中的亚硝化细菌和硝化细菌不断生长,装置中不断发生亚硝化和硝化反应,出水 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度逐渐降低, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 不断累积,导致出水 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度始终高于进水浓度,即其浓度变化率一直为正值,且不断增大至 40% 左右趋于稳定(125 d 以后)。

3 结论

① 原水输送管道模拟系统生物膜中微生物的生长经历了适应期(1~15 d)、对数生长期(15~50 d)、脱落期(50~75 d)和稳定期(75 d 以后)四个阶段。

② 原水输送管道生物膜的生长过程中主要存在以下菌门:变形菌门、厚壁菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、放线菌门、浮霉菌门、绿弯菌门、硝化螺旋菌门、蓝藻菌门。随着模拟装置的运行,优势菌种不断富集,管壁生物膜中的微生物多样性逐渐降低,生物系统逐渐趋于稳定。

③ 管壁生物膜形成过程中,硝化反应不断趋于彻底,模拟装置运行 75 d 以后, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的变化率稳定在 -45% 左右;125 d 以后, $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 浓度的变化率稳定在 -90% 左右, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度的变化率稳定在 40% 左右。

参考文献:

- [1] 高伟. 原水长距离输水管道对典型水质指标的影响[J]. 中国给水排水,2013,29(19):62-65.
Gao Wei. Effect of long-distance raw water pipeline on typical water quality indicators [J]. China Water & Wastewater,2013,29(19):62-65 (in Chinese).
- [2] 雒江菡,贾瑞宝,于瑞洪,等. 输水管道生物膜的生长过程及其对水质的影响[J]. 中国给水排水,2016,32(9):39-44.
Luo Jianghan, Jia Ruibao, Yu Ruihong, et al. Development of biofilm and its effect on water quality in raw water distribution pipeline [J]. China Water & Wastewater,2016,32(9):39-44 (in Chinese).
- [3] Tzuyi P, Chen C L, Chung H, et al. Monitoring and assessing variation of sewage quality and microbial functional groups in a trunk sewer line[J]. Environ Monit Assess,2010,171(1/4):551-560.
- [4] 岳琳,张宏伟,汪震,等. 基于变态相似理论的供水管网试验模型研究[J]. 中国给水排水,2009,25(1):45-48.
Yue Lin, Zhang Hongwei, Wang Zhen, et al. Research on experimental model for water distribution network based on distorted similarity theory [J]. China Water & Wastewater,2009,25(1):45-48 (in Chinese).
- [5] 王敏,尚海涛,郝春博,等. 饮用水深度处理活性炭池中微生物群落分布研究[J]. 环境科学,2011,32(5):1497-1504.
Wang Min, Shang Haitao, Hao Chunbo, et al. Diversity and bacteria community structure of activated carbon used in advanced drinking water treatment [J]. Environmental Science, 2011, 32(5): 1497-1504 (in Chinese).
- [6] 吴兰,葛刚,龚世杰,等. 鄱阳湖老爷庙水域细菌群落组成分析[J]. 长江流域资源与环境,2011,20(8):963-969.
Wu Lan, Ge Gang, Gong Shijie, et al. Composition of bacterial community in the Lao Ye Miao area of Lake Poyang [J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin,2011,20(8):963-969 (in Chinese).
- [7] 李超. GSB 和 HBR 处理城市污水的效能与微生物群落结构分析[D]. 天津:天津大学,2011.
Li Chao. Performance and Microbial Community of GSB and HBR Treating Municipal Wastewater [D]. Tianjin: Tianjin University, 2011 (in Chinese).
- [8] Ni B J, Rittmann B E, Yu H Q. Soluble microbial products and their implications in mixed culture biotechnology [J]. Trends Biotechnol,2011,29(9):454-463.
- [9] 赵林林,王海燕,杨慧芬,等. PCR-DGGE 研究臭氧耦合 ASBR/SBR 控氮磷污泥减量化工艺中的细菌多样性[J]. 环境工程技术学报,2011,1(2):123-130.
Zhao Linlin, Wang Haiyan, Yang Huifen, et al. Bacterial diversity of the combined ozonation-ASBR/SBR sludge reduction with simultaneous nitrogen and phosphorus removal process using PCR-DGGE [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2011, 1(2): 123-130 (in Chinese).
- [10] Jetten M S, Lv N, Strous M, et al. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol,2009,44(2/3):65-84.
- [11] Kirchman D L. The ecology of *Cytophaga-Flavobacteria*

(下转第 57 页)