

悬浮生态岛净化氮污染河水及其微生物种群结构

柏义生^{1,2}, 陈涛^{1,2}, 于鲁冀^{1,2,3}, 李阳阳^{1,2}

(1. 郑州大学环境技术咨询工程有限公司, 河南 郑州 450002; 2. 郑州大学 环境政策规划评价研究中心, 河南 郑州 450002; 3. 郑州大学 水利与环境学院, 河南 郑州 450001)

摘要: 采用一种新型的生物膜载体材料构建复合悬浮生态岛,考察其对氮污染河水的净化效果及载体上的微生物特征,并与普通生态浮岛进行对比。结果表明,在相同条件下,复合悬浮生态岛对河水的净化效果更好,COD、氨氮、TN 平均去除率分别为 26.77%、92.86%、30.83%。对载体生物膜样品的高通量测序发现,与普通的纤维丝载体相比,新型载体生物膜中的菌群种类更多、微生物结构更复杂;另外,其微生物群落多样性更高(Shannon 指数高、Simpson 指数低)。

关键词: 悬浮生态岛; 氮污染河水; 新型载体; 微生物群落

中图分类号: X703 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2018)15-0075-05

Purification of Nitrogen Polluted River Water by Suspended Ecological Island and Its Microbial Population Structure

BO Yi-sheng^{1,2}, CHEN Tao^{1,2}, YU Lu-ji^{1,2,3}, LI Yang-yang^{1,2}

(1. Zhengzhou University Environmental Technology and Consulting Co. Ltd., Zhengzhou 450002, China; 2. Research Center for Environmental Policy Planning and Assessment, Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China; 3. College of Water Conservancy and Environmental Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: A new biofilm carrier material was used to construct a composite suspended ecological island, and its purification effect of nitrogen polluted river water and microbiological characteristics were investigated. The results showed that, compared with a common ecological floating island, the composite suspended ecological island had a better removal effect on pollutants under the same conditions, where average removal rates of COD, NH₃-N and TN were 26.77%, 92.86% and 30.83% respectively. According to high-throughput sequencing results of biofilm samples on the carriers, it was found that the new carrier biofilm had more species and complex microbial structure compared with that of the ordinary fibrous carrier. In addition, microbial community of the new carrier biofilm was more diverse, which had higher Shannon index and lower Simpson index.

Key words: suspended ecological island; nitrogen polluted river water; new carrier; microbial community

河道水体净化方法主要有物理、化学和生物-生态方法,其中,物理、化学方法往往治标不治本,且

成本高、能耗大;而生物-生态方法是河道水体净化和水生态修复的有效方法,例如,生态浮岛技术。目前有关生态浮岛技术的研究较多,也取得了一些应用效果^[1,2],但多数集中在生态浮岛的水生植物对水体的净化效果及景观效应等研究上^[3,4],关于生态浮岛的微生物对水体的净化效果及特征的研究较少。

笔者在生态浮岛研究的基础上对其结构进行改进,开发了一种新型生物膜载体材料,构建复合悬浮生态岛,对比研究了普通生态浮岛和复合悬浮生态岛对氮污染河水的净化效果,并通过分子生物学手段对载体微生物群落特征进行了分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用水为许昌运粮河水,其 COD 为 19.63 ~ 43.47 mg/L,氨氮为 2.56 ~ 16.56 mg/L,总氮为 5.73 ~ 17.24 mg/L,总磷为 0.43 ~ 1.64 mg/L,pH 值为 7 ~ 8。填料挂膜接种泥为许昌运粮河底泥。试验所用挺水植物为黄菖蒲。

普通生态浮岛采用纤维丝载体,其生物膜附着能力较强,如图 1(a)所示;复合悬浮生态岛采用新型生物膜载体,其由 PVC 填料球和基质球两部分组成,基质球放在 PVC 球内部,填充率为 50%,基质球具有质量轻、机械强度高、孔隙度高、能持续释放碳源、生物膜附着能力强的特点,且融合了高效硝化菌,如图 1(b)所示。

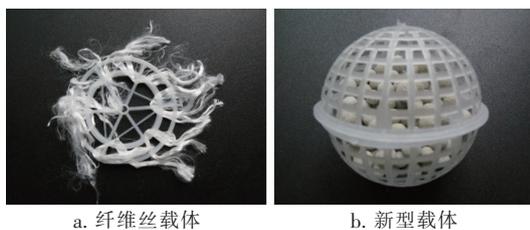


图 1 载体材料

Fig. 1 Schematics of biofilm carrier

1.2 试验装置

复合悬浮生态岛试验装置如图 2 所示,采用 12 mm 厚防腐钢板制成,长×宽×高=1 400 mm×600 mm×600 mm,超高为 100 mm。河水经水泵由上部进入试验装置,流经浮岛区域,经由上部出水口流出。浮岛由植物、生物膜载体和床体三部分组成。普通生态浮岛试验装置除了生物膜载体不同,其他与复合悬浮生态岛试验装置一样。

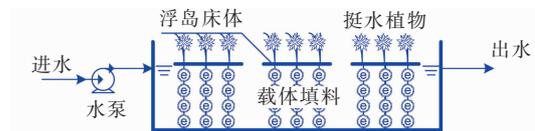


图 2 复合悬浮生态岛试验装置

Fig. 2 Schematic diagram of test equipment

1.3 试验方法

两组试验装置同时运行,控制进水流量为 6 L/h,水力停留时间为 3 d(模拟运粮河接近静水的区域),并在两个试验装置底部曝气,保证装置内 DO 浓度在 4 mg/L 左右,通过曝气进行挂膜启动。待稳定运行后,撤去曝气系统,每隔 2 d 检测一次进、出水水质。同时通过电镜对两个装置载体上附着的生物膜结构进行观察,并通过分子生物学技术对载体微生物群落结构与物种多样性进行分析。

COD:WXJ-III 微波闭式消解仪;氨氮:纳氏试剂分光光度法;总氮:碱性过硫酸钾消解-紫外分光光度法;总磷:钼酸铵分光光度法;DO:碘量法。

1.4 微生物群落多样性检测方法

① DNA 提取

稳定运行至第 67 天时,取纤维丝载体和新型载体上的生物膜,分别标记为 MFI_F、MFI_C,采用 Qubit2.0 DNA 检测试剂盒对回收的 DNA 进行精确定量。

② PCR 扩增

采用 16S rRNA V3-V4 区通用引物即 341F 引物和 805R 引物,扩增片段大小为 300 bp 左右,采用 PCR 仪对微生物的 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增,扩增体系:2×Taq master Mix(15 μL)、Bar-PCR primer F(1 μL,10 μmol/L)、Primer R(1 μL,10 μmol/L)、Genomic DNA(10~20 ng),用无菌水加至 30 μL。按照 PCR 反应条件(94℃、3 min,94℃、30 s,45℃、20 s,65℃、30 s,94℃、20 s,55℃、20 s,72℃、30 s,72℃、5 min)进行。

③ Illumina 高通量测序

采用 Illumina Miseq™ 测序平台对采集的样品进行高通量测序。

2 结果与讨论

2.1 对 COD 的去除效果

城市河道水体的 C/N 值较低,在相同条件下,两组试验装置对水体中 COD 的去除效果见图 3。可以看出,复合悬浮生态岛装置的出水 COD 浓度为

16.38 ~ 23.36 mg/L, 平均去除率为 26.77%; 普通生态浮岛装置的出水 COD 浓度为 17.55 ~ 26.01 mg/L, 平均去除率为 18.52%。可见, 复合悬浮生态岛对 COD 的去除效果更好, 说明新型载体材料对 COD 的去除有促进作用, 主要是由于新型载体具有较强的生物膜附着能力, 在启动过程中, 通过装置底部曝气, 新型载体中的填料球和基质球将气泡剪切, 使氧气充分溶解到水体中, 同时避免了死角, 使得生物膜能够充分利用溶解氧, 加快新陈代谢; 同时, 新型载体在使用过程中会释放水溶性有机物, 供微生物分解吸收, 从而可提高载体表面的生物量。

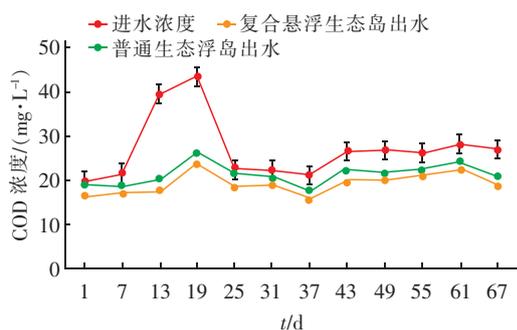


图 3 对 COD 的去除效果

Fig. 3 Removal effect of COD

2.2 对氨氮的去除效果

该河道水体中氨氮浓度较高, 为地表水劣 V 类, 两组试验装置对氨氮的去除效果见图 4。可以看出, 两组装置对氨氮均有很好的去除效果, 复合悬浮生态岛装置的出水氨氮为 0.15 ~ 0.97 mg/L, 平均去除率为 92.86%; 普通生态浮岛的出水氨氮为 0.23 ~ 1.47 mg/L, 平均去除率为 88.05%。可见, 复合悬浮生态岛对氨氮的去除率更高, 这是由于复合悬浮生态岛中新型载体的基质球融合了高效硝化菌, 在保证 DO 浓度的条件下, 可以促进对 $\text{NH}_3 - \text{N}$ 的硝化作用。

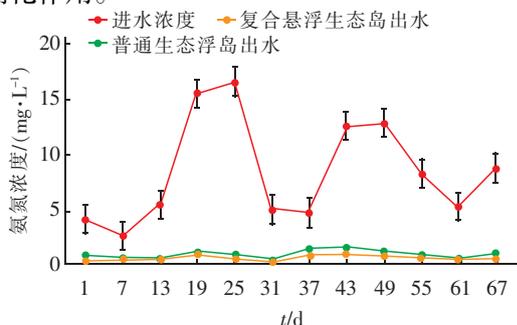


图 4 对氨氮的去除效果

Fig. 4 Removal effect of $\text{NH}_3 - \text{N}$

2.3 对 TN 的去除效果

两组试验装置对 TN 的去除效果见图 5。可以看出, 复合悬浮生态岛装置的出水 TN 为 4.35 ~ 10.66 mg/L, 平均去除率为 30.83%; 普通生态浮岛装置的出水 TN 为 5.24 ~ 12.91 mg/L, 平均去除率为 19.79%。可见, 复合悬浮生态岛对 TN 的去除效果更高。这主要是由于复合悬浮生态岛中新型载体的基质球内层是氧无法穿透区域, 适合厌氧菌生长, 同时新型载体所释放的水溶性有机物质能作为碳源被微生物利用, 保证了新型载体上微生物的反硝化过程, 从而使得复合悬浮生态岛反应器具有同步硝化反硝化作用。

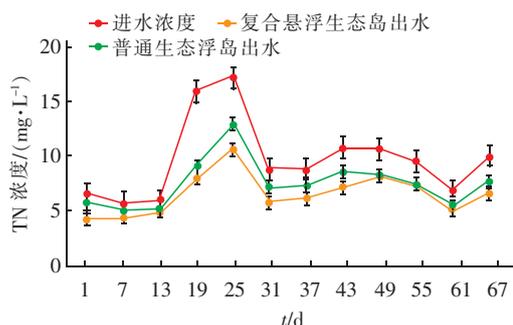


图 5 对 TN 的去除效果

Fig. 5 Removal effect of TN

2.4 载体微生物特征

① 载体微生物群落结构对比

通过高通量测序, 两种载体样品属水平微生物群落结构分布见图 6。新型载体微生物样品中共鉴定出属水平的微生物 42 种, 而纤维丝载体中鉴定出 33 种, 说明新型载体上的微生物种类更为丰富。

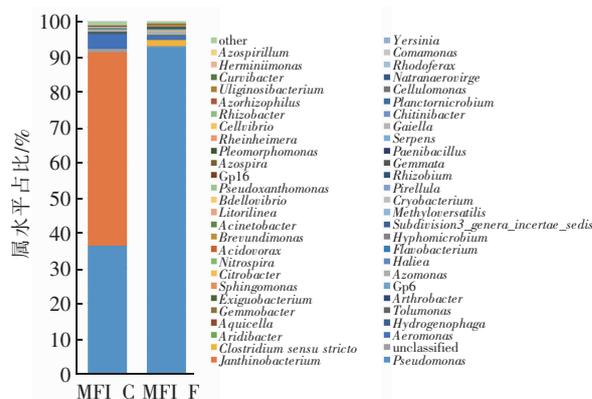


图 6 属水平微生物群落结构分布

Fig. 6 Distribution of microbial community structure at genus level

MFI_C 中所占比例较高的是紫色杆菌属 *Jan-*

thinobacterium (54.99%)、假单胞菌属 *Pseudomonas* (36.3%)、气单胞菌属 *Aeromonas* (4.1%)，其中紫色杆菌属和假单胞菌属都是异养型好氧菌，具有硝化能力，同时具有一定的反硝化能力。气单胞菌属为需氧或兼性厌氧菌属，可将氨氮氧化为硝酸盐或亚硝酸盐，同时它又是一种潜在的致病菌，经常存在于一些饮用水的过滤系统中^[5]。在 MFI_C 还存在一些占比较低的硝化反硝化菌群，如氢噬胞菌属 *Hydrogenophaga* (0.09%)、*Tolumonas* 菌属 (0.1%)、黄杆菌属 *Flavobacterium* (0.26%)，都具有脱氮作用，其中，黄杆菌属常存在于好氧颗粒污泥中，而在好氧生物膜上的比例很低，更多被发现存在于脱氮生物膜上^[6]，在此载体上出现可能与载体基质球的结构有关。硝化螺旋菌属 *Nitrospira* (0.04%) 可将亚硝酸盐氧化为硝酸盐，这与 MFI_C 的内部结构有关，在 MFI_C 表面为好氧菌，进行硝化和亚硝化作用，而内部大部分为厌氧或兼性厌氧菌，可进行反硝化作用。

MFI_F 中所占比例较高的是假单胞菌属 *Pseudomonas* (92.78%)、狭义梭菌属 *Clostridium sensu stricto* (1.55%)、气单胞菌属 *Aeromonas* (1.28%)、氮单胞菌属 *Azomonas* (1.22%)，其中，狭义梭菌属为严格厌氧菌、具有反硝化作用，氮单胞菌属为固氮

菌。在 MFI_F 中还存在着一些占比较低的固氮菌，属于植物根系固氮菌，对水体中的氮也有一定的去除作用，如根瘤菌 *Rhizobium* (0.4%)、固氮弓菌属 *Azospira* (0.35%)、根瘤杆菌属 *Rhizobacter* (0.04%) 等，但是在 MFI_C 样品中并没有检测出来，这可能与下面悬挂的载体填料有关。

综上所述，MFI_F 中的菌群种类相对较少，结构相对单一，这也解释了普通生态浮岛对水体中氮的去除效果较复合悬浮生态岛要差的原因。

② 载体微生物群落多样性

MFI_F 和 MFI_C 的 Alpha 多样性指数见表 1。ACE 指数和 Chao 指数用来估计物种的总数，表明物种的丰富度，MFI_F 的 ACE 指数和 Chao 指数较高，说明 MFI_F 中的物种数量比 MFI_C 的要多。Shannon 指数和 Simpson 指数用来表示微生物群落的多样性，其中，Shannon 指数越高，群落多样性越高；Simpson 指数越高，群落多样性越低。MFI_C 的 Shannon 指数较高，MFI_F 的 Simpson 指数较高，表明 MFI_C 中的微生物群落多样性要高于 MFI_F。这与前文的研究结果一致。覆盖率表示样品文库的覆盖率，其值越高表明样品中没有被测出的序列概率越低，两个样品的覆盖率均超过 0.94，说明测序结果可以反映出样品的真实情况。

表 1 Alpha 多样性指数

Tab. 1 Alpha diversity index

项目	Shannon 指数	ACE 指数	Chao 指数	Coverage(覆盖率)	Simpson 指数
MFI_C	1.621	45 396	17 822	0.961	0.406
MFI_F	0.866	64 188	21 747	0.973	0.806

3 结论

① 复合悬浮生态岛对水体中 COD、NH₃-N 和 TN 的去除效果明显优于普通生态浮岛，这主要是由于新型载体材料能释放出水溶性有机碳源，促进了生物膜中微生物的生长繁殖，同时可以弥补反硝化过程中缺乏的碳源；另外新型载体的基质球融合了高效硝化菌，并且基质球内层是氧无法穿透区域，有利于厌氧菌的生长，使得复合悬浮生态岛具有同步硝化反硝化作用。

② 高通量测序结果表明，与普通的纤维丝载体相比，新型载体上的生物膜中菌群种类相对较多、结构相对复杂，同时，微生物群落多样性更高 (Shannon 指数高、Simpson 指数低)。

参考文献:

- [1] 李海英, 杨海华, 柯凡, 等. 微曝气生态浮床的净化效果与生物膜特性研究[J]. 中国给水排水, 2009, 25(7): 35-40.
Li Haiying, Yang Haihua, Ke Fan, et al. Purification effect and biofilm characteristics of micro-aerated ecological floating bed[J]. China Water & Wastewater, 2009, 25(7): 35-40 (in Chinese).
- [2] Li X N, Song H L, Li W, et al. An integrated ecological floating-bed employing plant, freshwater clam and biofilm carrier for purification of eutrophic water[J]. Ecol Eng, 2010, 36(4): 382-390.
- [3] Zhou X, Wang G. Nutrient concentration variations during *Oenanthe javanica* growth and decay in the ecological flo-

(下转第 84 页)