

不同膜污染阶段微生物特征与膜污染的关系

李 宝, 高大文, 付 源

(哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 150090 哈尔滨)

摘 要: 为考察微生物特征与膜污染阶段性发展的关系,在常温下运行缺氧/好氧膜生物反应器(A/O-MBR),采用末端限制性片段长度多态性分析(T-RFLP)技术、原子力显微镜(AFM)等技术,获得MBR系统内微生物的种类、数量分布等信息,并采用3阶段模式对一个完整的膜污染周期内膜污染的发展过程进行研究.结果表明:膜丝表面及膜孔内壁的附着物质是膜通量降低的主要原因;好氧段混合液内、凝胶层、膜丝表面的微生物群落结构不相同,并随膜污染的发展而不断演替;随膜压升高,Cake层微生物优势种群演替过程为根瘤菌属→伯克氏菌属→未培养硝化螺菌属→发硫菌属→动胶菌属→β-变形菌纲,其中动胶菌属与膜表面粘性物质积累有较大关系.

关键词: 膜生物反应器;膜污染;末端限制性片段长度多态性;微生物;群落

中图分类号: TH133; TP183 **文献标志码:** A **文章编号:** 0367-6234(2013)02-0031-05

The relationship between microbial characters and membrane fouling
at different stages of membrane fouling

LI Bao, GAO Dawen, FU Yuan

(State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China)

Abstract: To investigate the relationship between microbial properties and membrane fouling, an anoxic-aerobic membrane bioreactor (A/O-MBR) was established and run at room temperature. The techniques of Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) and Atomic Force Microscope (AFM) were used for analyzing the role of microorganisms for membrane fouling in different stages, and the three-stage model was applied to study the development process of membrane fouling in a whole cycle. The results showed that the process of MBR membrane fouling could be divided into three stages. The solid or dissolved materials attached to the membrane wire surface and the membrane pore were the main reason for the lower flux. The microbial community structures were different and changed with the deepening membrane fouling in the Aerobic mixture, the Cake layer and the membrane wire surface. With the increasing of the membrane pressure, the succession of dominant populations of the microbial in the Cake layer is: *Rhizobiales Bacterium* → *Burkholderia* sp. → *Uncultured Nitrospira* sp. → *Thiothrix Eikelboomii* → *ZoogloeaRamigera* → *Betaproteobacterium*, and *ZoogloeaRamigera* is greatly related to the viscous material on the surface of membrane.

Key words: membrane biological reactor (MBR); membrane fouling; Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP); micro-organisms; communities

近年来,膜生物反应器(MBR)广泛地应用于

污水处理行业,膜污染是制约其普遍推广的主要因素^[1].研究膜污染形成机理和影响因素,能够为改进膜材料、膜组件的形状,调整MBR的构型,减缓膜污染速率提供理论支持.目前,膜污染研究主要是对胞外聚合物的成分比例^[2]进行相关性比较^[3-4],对存在于反应器和膜表面的微生物关

收稿日期: 2012-04-25.
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21177033).
作者简介: 李 宝(1987—),男,硕士;
高大文(1967—),男,教授,博士生导师.
通信作者: 高大文,gaodw@hit.edu.cn.

注较少^[5]. 根据膜污染速率变化, MBR 膜污染发展进程可分为不同阶段, 各阶段的膜污染类型不同, 特征各异, 膜污染发展的影响因素也存在差别^[6-7]. 2005 年, Bae 等^[8]提出了膜污染 3 阶段发展模式. 在次临界通量下, 分阶段分析膜污染能更好地理解其发展过程, 发现其跃变的内在原因, 是膜污染研究的新思路. 本文选择常温条件下运行的缺氧/好氧膜生物反应器 (A/O - MBR), 以好氧段混合液、Cake 层和膜丝表面的微生物群落、形态为研究对象, 分析不同膜污染阶段微生物群落、多样性指数、代谢物与膜污染的关系, 以寻求膜污染发展的微生物因素, 并对膜污染机理进行探讨.

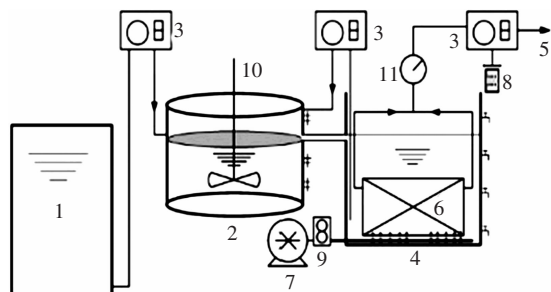
1 实 验

1.1 实验材料

接种污泥取自哈尔滨市文昌污水处理厂, 进水为人工模拟^[9]污水, 进水指标: pH 为 7.34 ~ 7.81, COD 为 316.8 ~ 350.0 mg · L⁻¹, NH₄⁺-N 质量浓度为 39.8 ~ 52.3 mg · L⁻¹.

1.2 反应器装置

采用 A/O - MBR 工艺, 反应器总体由有机玻璃制成. 缺氧池为圆柱体, 半径 140 mm, 高 240 mm, 有效容积 8 L. 好氧池 MBR 为长方体, 尺寸为 400 mm × 100 mm × 400 mm, 有效容积 8 L. 好氧段采用连续微孔曝气, 缺氧段搅拌器连续低速搅拌. 膜组件为中空纤维式微孔膜, 聚乙烯膜材质. 膜面积为 0.11 m², 膜通量为 0.27 m³/(m² · d), 日处理污水量 24 L, 膜丝表面孔径为 0.4 μm, 反应器简图见图 1.



1—进水箱; 2—缺氧段; 3—蠕动泵; 4—好氧段; 5—出水; 6—帘式膜组件; 7—曝气泵; 8—时间继电器; 9—转子流量计; 10—搅拌器; 11—真空膜压力表.

图 1 A/O - MBR 试验装置

1.3 运行条件

反应器起始污泥质量浓度为 3 400 mg · L⁻¹, 水力停留时间为 8 h, 污泥停留时间为 30 d, 溶解氧维持在 2.0 mg · L⁻¹, 控制反应器内水温在

(20 ± 2) °C, 采用连续进水、间歇出水的方式运行, 出水抽吸比为 12 min: 3 min.

1.4 检测方法

1.4.1 常规检测方法

每天测定反应器进水、缺氧池、好氧池和出水的水质, 其中 COD_{Cr}、NH₄⁺-N、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 用国家标准方法检测, pH、DO、温度用 WTW (pH/Oxi340i) 手提式多参数测试仪测定.

1.4.2 微生物种群检测

T - RFLP 已广泛应用于微生物种群检测、群落结构多样性分析^[10-11]及多种环境样品的检测^[12-13]. T - RFLP 操作流程见文献[14]. 本研究所用 PCR 扩增引物为带 FAM 荧光标记的 8F 引物与 1492R 引物, 用 RsaI 作为限制性内切酶纯化. 将 T - RF 片段对照自建文库可知微生物种群信息.

1.4.3 膜表面观察

选取典型膜污染周期内不同污染阶段点, 在膜压分别为 0.003、0.013、0.03 MPa 时取样, 剪下污染后膜丝, 用双面胶粘于载玻片上, 在原子力显微镜 (Bioscope, Veeco Inc) 下扫描, 根据膜丝表面的微观形态获得膜丝表面微细结构和表面附着物形式.

2 结果与讨论

2.1 A/O - MBR 反应器运行效果

A/O - MBR 反应器连续运行 110 d, 出水 NH₄⁺-N 平均质量浓度为 1.3 mg · L⁻¹, 去除率为 97%, COD_{Cr} 出水平均质量浓度为 17.7 mg · L⁻¹, 去除率为 94%. MBR 反应器运行效果良好, 达到了除碳脱氮的目的 (见表 1).

表 1 反应器处理效果

检测指标	进水平均值/ (mg · L ⁻¹)	出水平均值/ (mg · L ⁻¹)	平均去除率/ %
NH ₄ ⁺ -N	45.3	1.3	97.2
COD _{Cr}	319.6	17.7	94.2
TN	48.0	10.6	76.9

2.2 膜污染周期

MBR 在稳定运行的基础上连续运行几个膜污染周期, 选取一个典型的膜污染周期做为研究对象, 采用真空膜压力表记录反应器每个工作日的膜压变化. 由图 2 可以看出, 常温下 MBR 的膜污染周期在 27 d 左右. 膜压增长曲线呈现阶段性变化, MBR 运行 0 ~ 1 d 膜污染速率为 5 kPa · d⁻¹, 污染迅速; 1 ~ 15 d 膜污染速率为 0.5 kPa · d⁻¹, 膜污染

缓慢;15 ~27 d 膜污染速率为 2 kPa · d⁻¹.

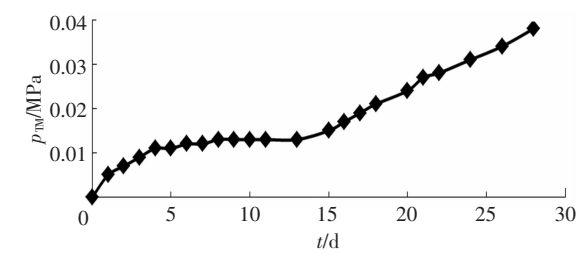
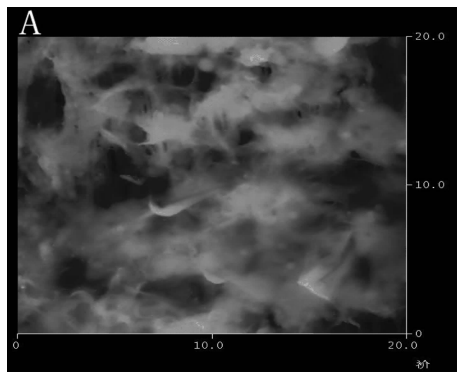
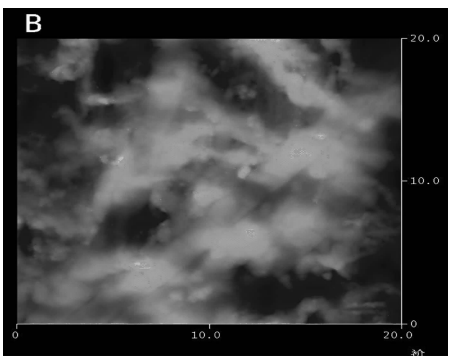


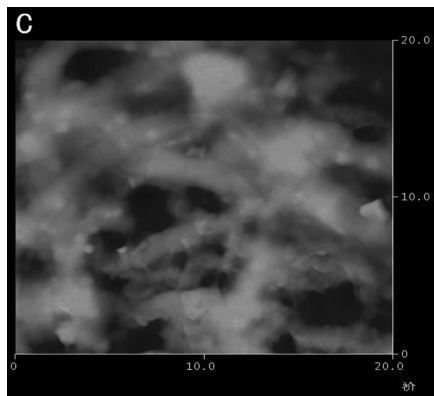
图 2 膜压力变化



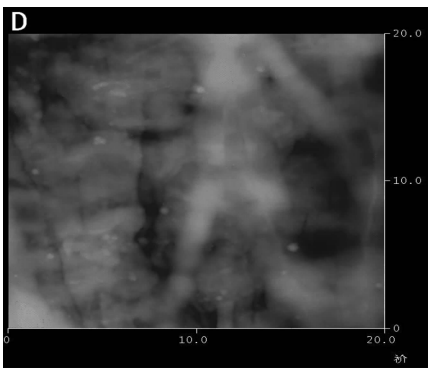
(a) $p_{TM} = 0$ MPa



(b) $p_{TM} = 0.003$ MPa



(c) $p_{TM} = 0.013$ MPa



(d) $p_{TM} = 0.03$ MPa

图 3 原子力显微镜膜丝表面形态观察

未污染膜丝在原子力显微镜下膜孔清晰,表面无覆盖物(图 3(a));初始污染阶段,半透明条状物质(胞外聚合物或者菌体)出现,约占图片 1/4(图 3(b));缓慢污染阶段,半透明状物质横竖交叠成网状,约占图片的 1/2,部分膜孔被完全覆盖(图 3(c));膜压跃升污染阶段,半透明状物质交错伸展,多层密集堆叠,完全占据整个图面,大部分膜孔被完全覆盖,膜孔内壁被堵塞(图 3(d)).图 3 膜丝污染类型包括了错流死端过滤中的 4 种膜污染机理^[17]图像.

由图 3 可以看出,膜丝被胞外聚合物或者微生物菌体紧密黏附,阻塞了膜孔,导致膜通量降低,即膜污染.初始阶段,混合液中少量胞外聚合物迅速吸附在膜丝表面;缓慢污染阶段,覆盖在膜丝表面上的胞外聚合物增多,相互黏连成片状,大

量膜孔被完全或者部分阻塞,膜丝过水通量下降.膜丝表面黏性物质积累,导致紧贴在膜丝周围的混合液黏滞阻力增大,传质过程受限,进而使浓差极化现象加剧,膜出水量降低.为维持原有出水通量必须增大出水抽吸压力,此时膜污染已过渡到膜压跃升阶段,增大出水抽吸压力导致膜丝相互紧贴吸附,膜丝表面的滤饼层压缩,进而膜通量降低,形成恶性循环直至膜孔被完全堵塞,至此,膜污染周期结束.

2.3 膜丝表面原子力显微镜形态观察

在此膜污染周期内选取空白膜丝和 3 个阶段内稳定点作为样品,采用原子力显微镜(视野 20 × 20 μm)观察膜丝表面的微形态,如图 3.

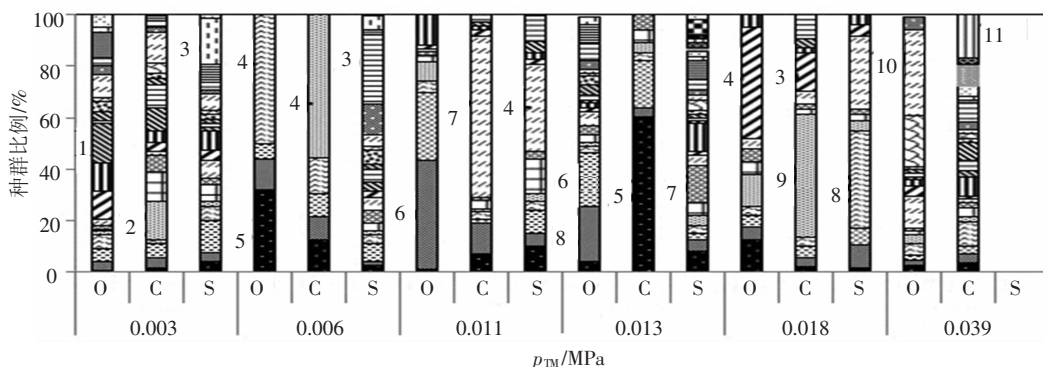
缓慢污染阶段,胞外聚合物在膜组件积累导致膜孔阻塞是膜污染加剧的重要原因.由此,控制膜污染可以从生物手段入手,比如向反应器内投加生物调节剂改变环境条件,使产生胞外聚合物的微生物种群处于劣势,降低其在系统中种群的数量,从而达到减少胞外聚合物的积累、延缓膜污

染的效果.

2.4 微生物群落与膜污染的关系

微生物群落结构决定其系统功能的特性和强弱,多样性表示其稳定程度,稳定的群落是其发挥

功能的基础.在 MBR 膜污染过程中,每隔一段时间对好氧池混合液、Cake 层和膜丝表面取样,测定 MBR 系统内微生物群落结构,见图 4.



O—好氧池; C—Cake 层; S—膜丝表面; 1—*Oribacterium* sp.; 2—*Rhizobiales Bacterium*; 3—bp419; 4—*Burkholderia* sp.; 5—*Thiothrix Eikelboomii*; 6—*Denitratisoma*; 7—*Uncultured Nitrospira* sp.; 8—*Gamma Proteobacterium*; 9—*ZoogloeaRamigera*; 10—*Aquabacterium* sp.; 11—*Betaproteobacterium*.

图 4 不同膜污染阶段 T-RFLP 群落结构图谱

由图 4 可以看出,膜初始污染阶段,膜压 0.003 MPa 时,好氧段混合液内优势种群是根瘤菌目 *Rhizobiales Bacterium*, Cake 层优势种群是 *Oribacterium* sp., 膜丝表面优势种群是 T-RFLP 片段长度为 419 bp 的微生物(记 bp419). 由此可见,在 MBR 运行初期膜丝表面、Cake 层和好氧段混合液中微生物的优势种群并不一样. 每种微生物种群都有其适宜的生态位,表明这些部位都存在各自的局部微环境.

缓慢污染阶段,反应器运行至膜压 0.006 MPa 时,伯克氏菌属 *Burkholderia* sp. 成为好氧段混合液内和 Cake 层上优势种群. Cake 层的微环境在水力和气流的搅动下被打破,与混合液环境融合,形成相同的优势种群;膜丝表面优势种群仍是 bp419,因为这部分微生物与膜丝接触紧密,还未受到混合液的冲击,优势种群没有发生变化. 膜压 0.011 MPa 时,膜丝表面的优势种群转变成伯克氏菌属 *Burkholderia* sp., 同样,膜压 0.013 MPa 时膜丝表面优势种群和 0.011 MPa 时, Cake 层的优势种群同为未培养的硝化菌群 *Uncultured Nitrospira* sp., 膜压 0.018 MPa 时膜丝表面的优势种群与 0.013 MPa 时混合液内优势种群同为 γ -变性菌纲 *Gamma Proteobacterium*. 这说明膜丝表面微生物群落与混合液和 Cake 层上微生物群落存在着演替关系,其优势种群的演替步调滞后于混合液和 Cake 层,而且缓慢污染阶段中 MBR 体系内凝胶层是不断与混合液和膜丝交流变化的. 通过进行曝气或者水力冲刷,使 Cake 层不断处于变动状态,可以延缓膜污染速率,延长膜污染

周期. 膜压 0.018 MPa 时 Cake 层上优势种群是动胶菌属 *ZoogloeaRamigera*, 动胶菌属细菌是胞外聚合物等黏性胶体物质的释放主体,对 Cake 层黏性物质的增加具有重要的作用.

膜压跃升阶段,膜压为 0.039 MPa 时,混合液内优势种群是 *Aquabacterium* sp., Cake 层优势种群是 β -变性菌纲 *Betaproteobacterium*, 送检途中膜丝样品丢失. 随着运行天数的增加, Cake 层厚度增加,在抽吸压力作用下,被紧密压缩吸附在膜丝上,膜组件内部与混合液交流受阻,混合液和 Cake 层上优势种群不同.

通过对膜污染阶段研究发现,初始膜污染是不可逆的,膜压跃升阶段是膜孔阻塞、Cake 层压缩造成的连锁反应,控制这两个周期的可操作性很低,而缓慢污染期是一个可操作性强的阶段,对膜污染控制具有重要的作用.

3 结 论

1) 常温下, A/O-MBR 对 NH_4^+-N 、 COD_{Cr} 去除率在 94% 以上, TN 去除率达 76%, 脱碳除氮效果良好.

2) 膜丝表面、膜孔内壁附着的固体或者溶解性物质是导致膜污染的主要原因之一.

3) 好氧段混合液、Cake 层、膜丝表面的微生物群落结构各不相同,并随膜污染的发展不断演替;随膜压升高, Cake 层微生物优势种群演替过程为:根瘤菌属→伯克氏菌属→未培养硝化螺菌属→发硫菌属→动胶菌属→ β -变性菌纲,其中动胶菌属与膜表面黏性物质积累有较大关系.

4)相比初始污染和膜压跃升阶段,缓慢污染阶段周期长,膜污染速率低,具有较强的可操作性,是控制膜污染的重要时期. 可通过改变运行参数影响系统生境来调节膜污染速率.

参考文献

- [1] LEE S, LEE E, ELIMELECH M, *et al.* Membrane characterization by dynamic hysteresis: measurements, mechanisms, and implications for membrane fouling [J]. *Journal of Membrane Science*, 2011, 366: 17 – 24.
- [2] SPONZA D T. The impact of different operating conditions on membrane fouling and EPS production [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 6870 – 6875.
- [3] 李绍峰,崔崇威,黄君礼. 胞外聚合物 EPS 对 MBR 膜污染的影响[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2007, 39 (2): 266 – 269.
- [4] SWEITY A, WANG Ying, ALI-SHTAYEH M S, *et al.* Relation between EPS adherence, viscoelastic properties, and MBR operation: biofouling study with QCM – D [J]. *Water Research*, 2011, 45: 6430 – 6440.
- [5] 张斌,孙宝盛,季民,等. MBR 中微生物群落结构的演变与分析[J]. 环境科学学报, 2008, 28 (11): 2192 – 2199.
- [6] PIERRE L C, VICKI C, TONY A G. Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment [J]. *Journal of Membrane Science*, 2006, 284: 17 – 53.
- [7] BROOKES A, JEFFERSON B, GUGLIELMI G, *et al.* Sustainable flux fouling in a membrane bioreactor: impact of flux and MLSS [J]. *Sep Sci Technol*, 2006, 41(3): 1279 – 1291.
- [8] BAE T H, TAK T M. Interpretation of fouling characteristics of ultrafiltration membranes during the filtration of membrane bioreactor mixed liquor [J]. *Journal of Membrane Science*, 2005, 264 (1/2): 151 – 160.
- [9] 邢敏. MBR 中微生物代谢产物与膜污染的关系研究 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 2010.
- [10] OSBRONE C A, REES G N, JANSSEN P H, *et al.* New threshold and confidence estimates for terminal restriction fragment length polymorphism analysis of complex bacterial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72 (2): 1270 – 1278.
- [11] 王晓慧,文湘华,等. T – RFLP 方法分析城市污水处理厂中细菌群落的动态变化[J]. 环境科学, 2010, 31(5): 1307 – 1312.
- [12] 董萍,孙寓姣,王红旗,等. 利用 T – RFLP 技术对温榆河微生物群落结构研究[J]. 中国环境科学, 2011, 31(4): 631 – 636.
- [13] 史青,柏耀辉,李宗逊,等. 应用 T – RFLP 技术分析滇池污染水体的细菌群落 [J]. 环境科学, 2011, 6: 1786 – 1792.
- [14] OSBOM A M, MOORE R B, TIMMIS K N. An evaluation of terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis for the study of microbial community structure and dynamics [J]. *Environ Microbiol*, 2000, 2(1): 39 – 50.
- [15] ZHANG J, CHUA H C, ZHOU J, *et al.* Factors affecting the membrane performance in submerged membrane bioreactors [J]. *Journal of Membrane Science*, 2006, 284(1/2): 54 – 66.
- [16] ALBERT T C, HOW Y. Characterisation of initial fouling in aerobic submerged membrane bioreactors in relation to physicochemical characteristics under different flux conditions [J]. *Water Research*, 2010, 44 (13): 2336 – 2348.
- [17] SCOTT K, HUGHES R. Mass transport and the design of membrane systems [C]//*Industrial Membrane Separation Technology*. London: [s. n.], 1996: 67 – 113.

(编辑 刘 彤)