

活性炭净水工艺微生物安全性研究

张明露^{1,2} 刘文君² 李翠萍² 李玉仙³ 顾军农³

(1 北京工商大学环境科学与工程系, 北京 100048; 2 清华大学环境学院, 北京 100084;
3 北京市自来水集团, 北京 100031)

摘要 采用基于 16S rDNA 的焦磷酸测序法对北京某水厂活性炭净水工艺各单元的细菌群落结构进行分析。结果显示,砂滤对细菌多样性影响较小,活性炭工艺使菌群多样性升高。活性炭颗粒上的细菌群落结构与各工艺出水差异明显。 α 、 β 和 γ 变形菌纲是工艺出水和活性炭上的优势菌,活性炭池可以有效去除 α 变形菌纲和 γ 变形菌,但加氯消毒后的出厂水中 α 变形菌纲比例很高。出厂水中的第一优势菌为嗜氢菌属,含量高达 86.2%。出厂水和活性炭颗粒上发现了 9 种潜在致病菌,如短波单胞菌、黄色单胞菌和鞘氨醇单胞菌等,但相对丰度较低,对饮用水安全影响较小。

关键词 活性炭 微生物安全 潜在致病菌 焦磷酸测序
DOI:10.13789/j.cnki.ww1964.2015.0261

Study of microbial safety in biological activated carbon filtration process

Zhang Minglu^{1,2}, Liu Wenjun², Li Cuiping², Li Yuxian³, Gu Junnong³

(1. Department of Environmental Science and Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 2. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. Beijing Waterworks Group, Beijing 100031, China)

Abstract: Bacterial community composition of effluents from the biological activated carbon (BAC) filtration process in a water treatment plant in Beijing was analyzed by 16S rDNA based pyrosequencing. The results showed that sand filtration had little effect on the bacterial diversity. However, the diversity of bacterial community was increased by the BAC process. Bacterial structure on the carbon particles was remarkably different from the effluents of each processes. Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria and Gammaproteobacteria were the dominate groups in all samples. Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria could be removed by BAC. However, Alphaproteobacteria predominated in the finished water after chlorination. The dominant specie in the finished water was *Hydrogenophaga sp.* and its relative abundance was 86.2%. Nine potential pathogens were detected in the finished water and carbon particles, including *Brevundimonas*, *Flavimonas* and *Sphingomonas*. Due to their relative low abundance, the risk of biological safety of drinking water remained at a low level.

Keywords: Activated carbon; Microbial safety; Potential pathogen; Pyrosequencing

0 前言

饮用水中微生物引起的健康风险一直是公众关

注的焦点,其中病原微生物的存在已成为居民身体健康的潜在威胁。为保证出水水质,很多水厂开始采用活性炭深度处理技术,该工艺可有效去除水中微量有机物和氨氮,已在世界范围内广泛使用^[1,2]。活性炭表面微生物种类繁多,存在微生物泄漏风险,

国家水体污染控制与治理科技重大专项(2012ZX07404-002);
国家自然科学基金资助项目(51408010)。

因此确保活性炭池出水微生物安全性至关重要^[3,4]。另一方面,微生物对于饮用水的生物净化工艺也具有重要作用,其净水效率不仅取决于生物量和生物活性,还与微生物的种类密切相关^[5]。通过研究活性炭工艺微生物特性可为提高生物处理效率以及优化生物滤池的运行管理提供依据和指导。目前有关活性炭工艺在饮水净化方面的研究多集中在工艺设计、运行参数和影响因素上,从工艺的微生物群落特征方面来探讨净水效果的研究较为缺乏。因此,对活性炭净水系统中的微生物群落结构研究显得十分重要。本文以北京某水厂的活性炭净水工艺为研究对象,采用高通量测序法,对原水、砂滤出水、活性炭池出水、炭颗粒及出厂水进行微生物群落的解析,掌握净水工艺各个单元中微生物群落的变化规律和潜在致病菌,为保障活性炭工艺微生物安全性提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

样品采集自北京某水厂,其处理工艺为絮凝、沉淀、煤砂滤池、活性炭池和加氯消毒。使用无菌塑料桶分别采集原水、砂滤出水、活性炭池出水和出厂水 10~30 L,同时采集活性炭池中的炭颗粒。2 h 内返回实验室并立即过滤。将水样通过 0.22 μm 孔径,直径为 90 mm 的滤膜(GSWP, Millipore),用 PBS 缓冲液洗脱滤膜。活性炭颗粒加入 PBS 缓冲液涡旋振荡洗脱。

1.2 总 DNA 提取和高通量测序

取上述样品洗脱液进行总 DNA 提取,DNA 的提取使用 Soil DNA 提取试剂盒(MO-Bio,美国),操作按照试剂盒的说明进行。将 DNA 溶于 50 μL 缓冲液中。DNA 浓度和纯度采用 Nanodrop 2000 在 260 nm 下测定(Nano-drop Technologies, Wilmington, DE)。应用高通量测序平台 Barcoded 454 GSFLX Titanium 对 DNA 样品进行测序分析。使用带有 8bp 标签的引物扩增 16S rRNA 的 V1-V3 区。上游引物为 28F 5'-TTTGATCNTGGCT-CAG-3',下游引物为 519R 5'-GTNTTAC-NGCGGCKGCTG-3'。PCR 反应采用 Hot Start and HotStar high fidelity taq polymerases 混合酶进行扩增。

1.3 数据处理

测序结果采用 QIIME 软件进行分析^[6]。对 GS-FLX 测序的序列进行测序质量和长度筛选,去掉含有不确定碱基(N)的序列,去掉长度小于 200bp 的序列。与 RDP 数据库中的序列进行比对,以序列相似性 97% 为阈值,将序列分为可操作分类单元(operation taxonomic unit, OTU)。选取相似度在 97% 条件下的 OTU 生成物种稀疏曲线。

1.4 激光共聚焦扫描

使用 LIVE/DEAD Biofilm Viability Kit 对活性炭表面生物膜进行染色,将已染色的活性炭颗粒放置在载物台载玻片上,使用 Zeiss 710 META 激光共聚焦扫描显微镜(Plan-Neofluar 10 $\times$ /0.3)观察;并进行 Z 轴扫描、采集重建三维图片,电动 Z 轴控制器的精度为 10 nm。

2 结果与讨论

2.1 细菌多样性分析

采用焦磷酸测序分析各工艺出水和活性炭颗粒上的细菌群落,通过多样性指数和物种稀疏曲线比较样品的细菌多样性,如图 1 和表 1 所示。结果表明,活性炭颗粒上细菌多样性最高,其次是活性炭池出水,原水和砂滤出水细菌多样性接近,出厂水中的细菌多样性很低。从图 1 中可以看出,出厂水的稀疏曲线从 500 个序列后就趋于平缓,说明测序数量很好地覆盖了样品中的细菌种类,而其余的样品稀疏曲线在 3 500 条序列后仍保持上升趋势,说明测序的数量仍没有覆盖全部的细菌种类,水样中细菌多样性很高。Simpson 指数和 Shannon 香农指数同样反映出活性炭颗粒上的物种多样性最高,出厂水

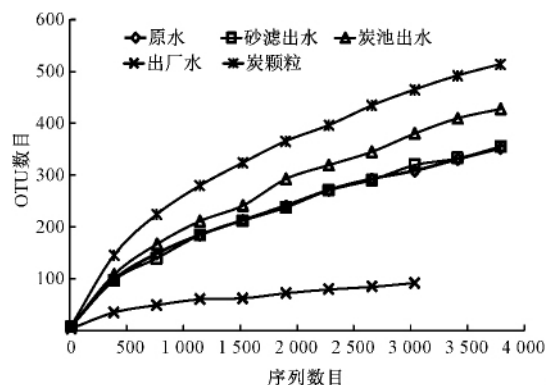


图1 工艺出水及活性炭的物种稀疏曲线

表1 多样性指数

样品	Simpson 指数	Shannon 香农指数	均匀度	OTU 数目
原水	0.92	5.29	0.62	371
砂滤出水	0.92	5.35	0.60	493
炭池出水	0.92	5.62	0.60	629
出厂水	0.56	2.48	0.38	96
炭颗粒	0.97	6.85	0.75	549

中物种多样性最低。均匀度指数 Equitability 显示活性炭颗粒上的细菌群落均匀度最高,出厂水中细菌群落的均匀度最低。根据 Werner 等的研究发现^[7],环境中群落的均匀度越高,其功能越稳定,本文中活性炭上的细菌群落的均匀度高于 4 个水样,表明其代谢功能最稳定。

2.2 细菌群落结构分析

根据 OTU 进行二维等级聚类分析显示,砂滤出水和活性炭池出水的细菌群落相似度最高,其次与出厂水的群落较为相近,原水与各工艺出水的相似度较远,而活性炭颗粒上的细菌群落与各工艺出水相似度最低。

以纲为分类单元分析 5 个样品的细菌群落发现优势细菌均为变形菌纲,包括 α 、 β 和 γ 变形菌纲,优势菌群在工艺流程中的丰度变化如图 2 所示。从图 2 可以看出,原水中的第一优势细菌为 α 变形菌纲,其次是 β 变形菌纲, γ 变形菌纲所占比例最小。砂滤出水和活性炭池出水中的第一优势细菌均为 β 变形菌纲,而且活性炭池出水中 β 变形菌纲的相对丰

度高达 90% 以上, α 变形菌纲经过砂滤和活性炭工艺后比例明显降低,说明砂滤和活性炭工艺能够有效去除 α 变形菌纲的细菌,且该菌也易吸附定植于活性炭颗粒表面。尽管活性炭出水中 α 变形菌的比例很低,但其丰度在出水中显著升高,其相对丰度接近 70% 以上,说明加氯消毒并不能有效灭活这类细菌,此类细菌具有一定抗氯性。 γ 变形菌纲经过砂滤后比例有所下降,且活性炭颗粒表面上该菌比例也较高,说明活性炭工艺对 γ 变形菌的去除效果较好,而且在出厂水中也能维持较低的水平。

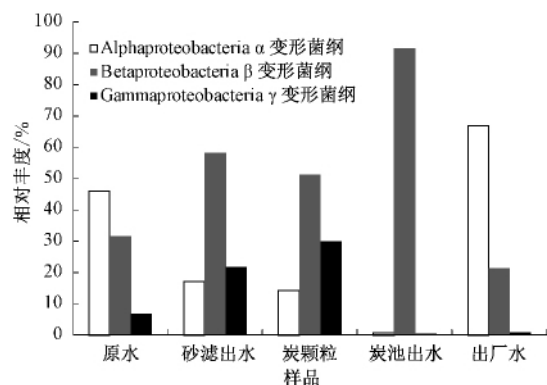


图2 样品中优势细菌的丰度变化

以属为分类单元分析 5 个样品细菌群落如图 3 所示,结果表明活性炭颗粒上的优势细菌包括苯基杆菌属和鞘氨醇单胞菌,4 个工艺出水中的优势细菌为嗜氢菌属,该菌在出厂水中的相对丰度高达 86.2%。该菌属于 β 变形菌纲,有的种(类黄氢噬胞菌 *H.*

pseudoflava 和 螺 纹 氢 噬 胞 菌 *H. taeniospiralis*) 具有厌氧硝酸盐呼吸,具反硝化作用,能在含有机酸、氨基酸或蛋白胨的培养基上良好生长,但很少利用碳水化合物。Magic-Knezev 等在多个水厂的颗粒活性炭上培养出嗜氢菌,而且是优势菌群^[8]。Lee 等报道嗜氢菌属能够穿过 0.2 μm 的滤膜^[9],这可能是该菌能经过混凝沉淀、砂滤和活性炭仍无法去除的原因。此外,该类细菌被发现具有降解萘、苯以及多羟基链烷酸的性质^[10~11]。目前尚未有对该细菌致病性方面的报道文献。

从图 3 中可以看出,活性炭颗粒上的未知细菌比例最高,达 70% 以上,这些序列无法

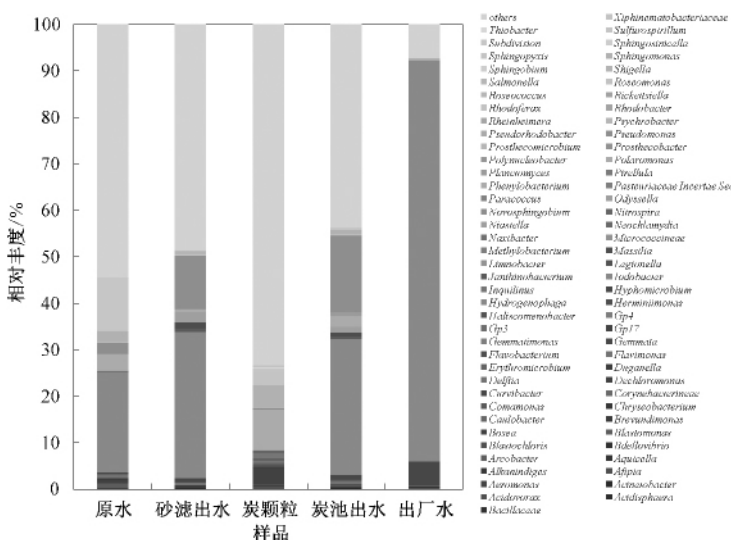


图3 样品中细菌群落结构分析(以属为分类单元)

通过比对已知菌种鉴定其分类位置,说明对活性炭上的微生物认识仍有待加强,这些微生物可能对活性炭活性和降解性能具有重要作用。

2.3 活性炭颗粒及出厂水中潜在致病菌分析

活性炭颗粒及出厂水中含有的潜在致病菌种类和相对丰度见表2。共发现致病菌9种,其中3种致病菌在活性炭颗粒和出厂水中同时存在,分别是短波单胞菌(*Brevundimonas*),黄色单胞菌(*Flavimonas*)和鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)。相对丰度最高的潜在致病菌为鞘氨醇单胞菌,在活性炭颗粒上比例为4.78%,但在出厂水中比例仅为0.18%。出厂水中发现6种潜在致病菌,包括不动杆菌(*Acinetobacter*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、志贺氏菌(*Shigella*)、短波单胞菌、黄色单胞菌和鞘氨醇单胞菌,但相对丰度均较低。

表2 活性炭颗粒和出厂水中潜在致病菌种类及相对丰度

致病菌种类	炭颗粒	出厂水
<i>Acinetobacter</i>	0	0.24
<i>Afipia</i>	0.65	0
<i>Bdellovibrio</i>	0.05	0
<i>Brevundimonas</i>	0.32	0.06
<i>Flavimonas</i>	0.05	0.09
<i>Gemmatimonas</i>	0.09	0
<i>Pseudomonas</i>	0	0.06
<i>Shigella</i>	0	0.09
<i>Sphingomonas</i>	4.78	0.18

2.4 活性炭生物膜的三维成像分析

将活性炭用SYTO 9和PI染色后进行激光共聚焦扫描,其正交图见图4。从图4中可以看出活性炭表面有大量微生物,因此能够很好地进行污染物的降解和代谢。从活性炭表面到内部进行分层扫描,扫描的厚度从0~75 μm ,结果发现在活性炭的表面和基底细菌分布很少,特别是生物膜的表面,几乎没有细菌。当扫描至20 μm 厚度时,细菌数量明显增加,而扫描至40 μm 时,细菌数量开始逐渐减少。

3 结论

(1)活性炭颗粒上细菌多样性最高,其次是活性炭池出水,原水和砂滤出水细菌多样性接近,出厂水中的细菌多样性很低。出厂水、砂滤出水和活性炭

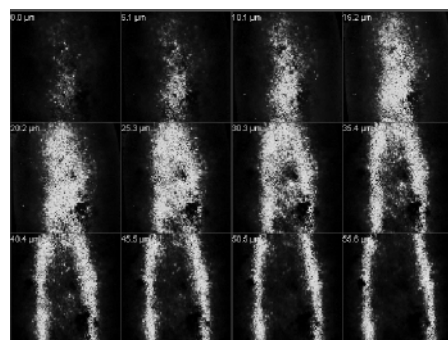


图4 活性炭生物膜的三维成像

池出水的细菌群落相似度较高,活性炭颗粒上的细菌与各工艺出水相似度较低。

(2)各工艺出水中的优势细菌均为变形菌纲(以纲为分类单元),包括 α 、 β 和 γ 变形菌纲。活性炭颗粒上易吸附 α 变形菌纲和 γ 变形菌纲,而 β 变形菌纲不易被活性炭吸附。 α 变形菌纲具有一定抗氯性,在出厂水中比例很高。

(3)以属为单元分析4个工艺出水中的优势细菌发现,第一优势细菌为嗜氢菌属,在出厂水中的相对丰度高达86.2%,该菌菌体较小,可能是净水工艺难以去除的原因。活性炭颗粒和出厂水中发现一些潜在致病菌,如不动杆菌、短波单胞菌、假单胞菌等,但相对丰度均较低。

(4)通过激光共聚焦电镜观察活性炭颗粒发现,活性炭上存在大量微生物,这对生物活性炭效能的发挥具有积极作用。

参考文献

- 刘文君,杨宏伟,张丽萍,等.高臭味、高溴离子引黄水库水臭氧—生物活性炭处理技术与示范.给水排水,2012,38(12):9~14
- Gibert O, Lefèvre B, Fernández M, et al. Characterising bio-film development on granular activated carbon used for drinking water production. Water Research, 2013, 47 (3):1101~1110
- 王敏,尚海涛,顾军农,等.饮用水处理中活性炭池微生物风险评估.给水排水,2014,40(5):120~124
- 郭建宁,陈磊,张锡辉,等.臭氧/陶瓷膜对生物活性炭工艺性能和微生物群落结构影响.中国环境科学,2014,(3):697~704
- Han L N, Liu W J, Chen M, et al. Comparison of NOM removal and microbial properties in up-flow/down-flow BAC filter. Water Research, 2013, 47 (14):4861~4868
- Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nat Methods, 2010, 7 (5):335~336

乌鲁木齐某净水厂处理工艺技改与运行效果

王 慧 娟

(新疆大学建筑工程学院, 乌鲁木齐 830047)

摘要 乌鲁木齐某净水厂处理工艺存在混合絮凝效果差、投药量大,澄清池出水水质不稳定,滤池出水浊度不达标、反冲洗水量大等问题,通过选择合适的混合方式、改选混凝剂、改造澄清池和滤池来改善处理效果,对工艺进行优化技改。结果表明,技改后,混凝剂单耗由优化前平均 16.3 mg/L,下降为优化后的 12.7 mg/L,澄清池出水浊度 <3 NTU,滤池出水水质满足要求,反冲洗水量节省 70%。

关键词 净水厂 处理工艺 技术改造 乌鲁木齐

DOI:10.13789/j.cnki.ww1964.2015.0262

0 前言

乌鲁木齐市某净水厂以乌拉泊水库水为原水,原水水质特点主要表现为平时低温低浊(冬季水温约 4℃,夏季水温约 10℃),夏季和汛期存在浊度突变性上升的现象。夏季乌拉泊水库在汛期前需要腾出库容,使库底的积泥和其他杂质泛起,导致原水浊度高达几万 NTU,一般每次持续时间在 2~3 d。另外,山区降雨也容易造成水库水含泥砂量大,造成浊度的突然升高,一般会高达几千 NTU,每次持续时间 1~2 d。

该水厂设计处理能力为 8 万 m³/d,技改前采用的净水工艺流程见图 1。

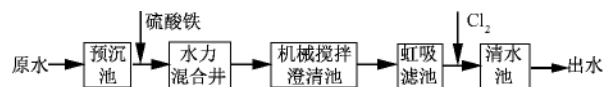


图 1 改造前工艺流程

1 技改前存在的问题

1.1 混合投药系统

(1)混合不均匀。原水与混凝药剂在混合井内旋流运动,二者之间没有充分的相对速度差,因此混合效果不好,很难形成矾花。

(2)混凝投药自动化水平低。水厂原水浊度变化较大,但由于原投药系统的缺陷,无法实现自动控制,且原有 3 台投药计量泵属同一型号,也难适应浊度的变化需要。

(3)药剂耗量大且混凝效果差。技改前投加的混凝剂为液体聚硫酸铁,长期运行后对出厂水色度

新疆自治区高等学校科学研究计划项目(XJEDU2014S010);
新疆大学本科生科研实践训练项目(XJU-SRT-14123)。

- 7 Werner J J, Knights D, Garcia M L, et al. Bacterial community structures are unique and resilient in full-scale bioenergy systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108 (10):4158~4163
- 8 Magic-Knezev A, Wullings B, Van der Kooij D. *Polaromonas* and *Hydrogenophaga* species are the predominant bacteria cultured from granular activated carbon filters in water treatment. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 107 (5):1457~1467
- 9 Lee A, McVey J, Faustino P, et al. Use of *Hydrogenophaga pseudoflava* penetration to quantitatively assess the impact of filtration parameters for 0.2-μm pore-size filters. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76 (3):695~700
- 10 Lambo A J, Patel T R. Isolation and characterization of a bi-

- phenyl-utilizing psychrotrophic bacterium, *Hydrogenophaga taeniospiralis* IA3-A, that cometabolize dichlorobiphenyls and polychlorinated biphenyl congeners in Aroclor 1221. *Journal of Basic Microbiology*, 2006, 46 (2):94~107
- 11 Yoon S C, Choi M H. Local sequence dependence of polyhydroxyalkanoic acid degradation in *Hydrogenophaga pseudoflava*. *Journal of Biological Chemistry*, 1999, 274 (53):37800~37808

○ 通讯作者:刘文君

电话:(010)62782196

E-mail:wjliu@tsinghua.edu.cn

收稿日期:2015-02-11

修回日期:2015-06-17