

## 两种共混 BDPs 作为生物膜载体 和碳源的脱氮研究比较

朱擎<sup>1,2,3</sup> 杨飞飞<sup>2</sup> 赵兰<sup>2</sup> 吴为中<sup>2,†</sup>

1. 中国地质大学(北京)水资源与环境学院, 北京 100083; 2. 北京大学环境科学与工程学院, 北京 100871; 3. 中国环境监测总站, 北京 100012; †通信作者, E-mail: wzwu@pku.edu.cn

**摘要** 采用 PHBV/PLA 和 PHBV/木纤维素两种可生物降解聚合物作为反硝化碳源和生物膜载体进行序批试验和填充床连续反硝化试验。序批试验结果表明, PHBV/木纤维素固相碳源启动速度快于 PHBV/PLA, 但两者 24 小时脱氮效果并无明显差异; 反硝化速率分别为 0.10 mg N/(L·h·g) 和 0.12 mg N/(L·h·g)。填充床连续反硝化试验结果表明, 两种碳源 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 去除负荷分别为 13.95 mg/(L·h) 和 14.02 mg/(L·h), 去除率均高于 90%, PHBV/PLA 比 PHBV/木纤维素具有更好的碳源控释能力。扫描电镜结果表明, 内部结构特征的差异是共混固相碳源脱氮性能和碳源控释性能产生差异的关键因素。

**关键词** PHBV/PLA; PHBV/木纤维素; 反硝化; 碳源释放; 扫描电镜

中图分类号 X172

## Comparison of Two Biodegradable Polymer Blends as Biofilm Carrier and Carbon Source for Nitrogen Removal

ZHU Qing<sup>1,2,3</sup>, YANG Feifei<sup>2</sup>, ZHAO Lan<sup>2</sup>, WU Weizhong<sup>2,†</sup>

1. School of Water Resources and Environment, China University of Geosciences, Beijing 100083; 2. College of Environmental Science and Engineering, Peking University, Beijing 100871; 3. China National Environmental Centre, Beijing 100012;

† Corresponding author, E-mail: wzwu@pku.edu.cn

**Abstract** Two kinds of biodegradable polymers (BDPs), PHBV/PLA and PHBV/Methyl Cellulose blends, were used as biofilm carrier and carbon source in batch and continuous packed-bed reactors for nitrogen removal. Results of batch test indicated that denitrification with PHBV/Methyl Cellulose blends had a shorter start-up period in comparison to that with PHBV/PLA, but there was no significant difference on the nitrogen removal efficiency after 24 hours and denitrification rates were found to be 0.10 and 0.12 mg N/(L·h·g) respectively. The NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N removal loads of 13.95 and 14.02 mg/(L·h) for PHBV/PLA and PHBV/Methyl Cellulose blends were achieved in the continuous packed-bed reactor while their removal efficiencies exceeded 90%. Further DOC analysis showed that PHBV/PLA had a better profile of controlled carbon release for desired denitrification. Scanning Electron Microscope (SEM) images suggested that difference between internal structures of both blends affected nitrogen removal and controlled carbon release.

**Key words** PHBV/PLA; PHBV/Methyl cellulose; denitrification; carbon release; scanning electron microscope

近年来,中国湖泊污染日益严重,其中湖泊的富营养化是众多突出问题之一<sup>[1]</sup>,其主要原因是大量氮、磷等营养物质输入湖泊导致浮游生物的生长,造成水质恶化<sup>[2]</sup>。从彻底消除硝酸盐污染(将硝酸盐氮还原为氮气)和降低脱氮成本两个方面看,生物反硝化方法都是目前实用的最好方法<sup>[3]</sup>。传统异养反硝化工艺中,通常通过投加液体碳源为反硝化过程提供电子供体,但易造成出水的二次污染,同时在进水水质波动较大的情况下,液体碳源的投加量较难控制。固相碳源由于其仅能在微生物酶作用下分解利用,因而有望解决传统异养反硝化工艺中的碳源控制问题,为微生物创造一个稳定和易于维护的生长环境,进一步提高脱氮效率。

目前,固相碳源主要包括可生物降解聚合物(biodegradable polymers, BDPs)和天然纤维素类。研究较多的 BDPs 主要包括 PCL (polycaprolactone, 聚己内酯)<sup>[4-5]</sup>、PBS (poly(butlenesuccinata), 聚丁二酸丁二醇酯)<sup>[6-7]</sup>、PLA (polylactic acid, 聚乳酸)<sup>[8]</sup>等,有多种已成为商业化产品,如 PLA 在制造可生物降解塑料产品领域已有大规模生产和应用<sup>[9]</sup>,因而这类固相碳源具有较为广阔的应用前景。但是,这些碳源成本较高,在工程规模中的应用受到限制。通过将其与来源广泛和价格低廉的碳源共混(如淀粉/PCL 共混碳源<sup>[10-11]</sup>),能在一定程度上降低成本。PHBV (poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate, 聚羟基丁酸戊酸酯)和 PHB (poly-β-hydroxybutyrate, 聚-β-羟丁酸)具有良好的可生物降解性,作为反硝化碳源和生物膜载体的研究日趋增多<sup>[12-15]</sup>,但其在反硝化试验研究中存在成本高及出水 COD 较高的问题<sup>[16]</sup>。通过将不同降解性能的碳源进行共混(如 PHB/PCL<sup>[17]</sup>, PHBV/PLA<sup>[18-20]</sup>等共混碳源),能够改善释碳性能,避免二次污染。

为了进一步研究共混固相碳源的反硝化脱氮效率和碳源释放性能,并降低成本,本文应用 PHBV/PLA 和 PHBV/木纤维素两种组分不同的共混固相碳源。通过探讨两种固相碳源的反硝化脱氮性能及碳源控释性能上的差异,为我国低有机污染水的脱氮技术的研发以及我国未来国家湖泊营养盐氮素污染控制战略提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

两种固相碳源分别为 PHBV/PLA (PHBV: 50%;

PLA: 50%)共混固相碳源与 PHBV/木纤维素 (PHBV: 50%; 木纤维素: 50%)共混固相碳源,圆柱形颗粒,高度和直径均为 3 mm。接种物为肖家河污水处理厂二沉池回流污泥,经二层纱布淘洗去除大颗粒杂质后使用。

试验废水采用人工配水,按照试验要求,由自来水加入 NaNO<sub>3</sub> 和 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 配制(N:P=5:1),进水中 DOC, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 均为 0 mg/L。

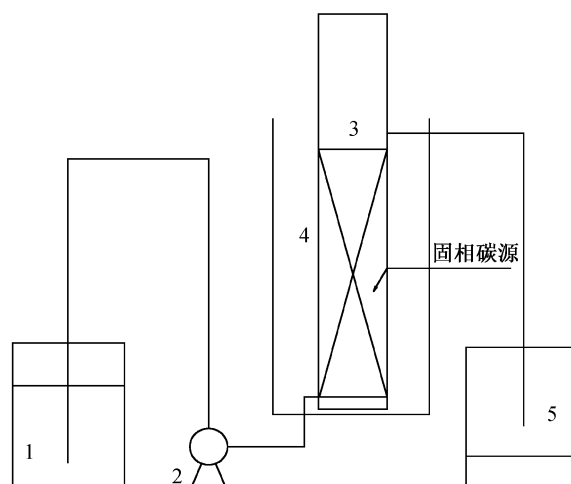
### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 序批试验

在两个 250 mL 锥形瓶中分别加入 40 g PHBV/PLA 和 PHBV/木纤维素固相碳源颗粒,加入 75 mL 污泥与 75 mL 配水(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 为 100 mg/L, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 为 10 mg/L),采用封口膜维持锥形瓶内的缺氧环境,将反应装置置于全温振荡培养箱内,维持恒温 25℃,转速为 100 r/min。以后每 24 小时更换配水,换水量为 150 mL,不再加入污泥。同时监测出水中的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 浓度,当出水 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度稳定低于 2 mg/L 时认为接种驯化完成。每隔 24 小时换水(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 为 50 mg/L, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 为 10 mg/L),换水量为 150 mL。稳定运行一段时间后,进行脱氮动力学试验,计算两种碳源的反硝化速率。

#### 1.2.2 填充床试验

填充床连续试验装置如图 1 所示。反应装置为有机玻璃制成的圆柱形反应器,高度为 55 cm,内



1. 进水箱; 2. 蠕动泵; 3. 连续流反应器; 4. 恒温水槽; 5. 出水池

图 1 填充床连续试验装置

Fig. 1 Experimental apparatus for packed-bed continuous tests

径为 5 cm, 内部分别填充两种固相碳源, 填充高度均为 25 cm。将反应装置置于恒温水槽中, 控制水温为 25℃。

将营养液( $\text{NO}_3^-$ -N 为 50 mg/L,  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 为 10 mg/L)与污泥按体积比 1:1 完全混合。分别将 300 mL 该混合液加入两个反应器中, 对填料进行静置挂膜, 并定期更换营养液。静置并定期更换反应器中的营养液 5 天后, 启动填充床连续运行, 空床水力停留时间为 1 小时, 人工配水  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 15 mg/L,  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 3 mg/L。

### 1.3 水质分析方法

采集水样经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤后, 测定  $\text{NO}_3^-$ -N,  $\text{NO}_2^-$ -N 和 DOC 含量, 并对出水 pH 进行监测。 $\text{NO}_3^-$ -N 和  $\text{NO}_2^-$ -N 分别采用紫外分光光度法(HJ/T 346-2007)、N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法(N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法, 使用紫外-可见分光光度计(岛津, UV-Vis 2401)测定, DOC 采用 TOC 仪(HACH, IL530 TOC-TN)测定, pH 采用便携式 pH 计(PHB-4, 上海仪电科学仪器)测定。

### 1.4 扫描电子显微镜观察

对新鲜的 PHBV/PLA 和 PHBV/木纤维素固相碳源进行电子显微镜扫描观察。经微生物利用后的两种固相碳源通过超声振荡(36 kHz, 1 小时)去除生物膜, 60℃ 烘干后利用扫描电子显微镜进行观察。扫描电子显微镜型号为 FEI QUANTA 200。

## 2 结果与讨论

### 2.1 序批试验结果比较

反硝化序批试验结果(如图 2(a))所示)表明, 以 PHBV/PLA 固相碳源进行启动时, 接种驯化时间为

7 天, 稳定期出水平均  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 1.38 mg/L, 平均去除率达到 97.23%。而 PHBV/木纤维素固相碳源的接种驯化时间为 4 天(如图 2(b))所示), 稳定运行期出水平均  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 1.41 mg/L, 平均去除率为 97.19%。范振兴等<sup>[8]</sup>利用固相 PLA 作为反硝化碳源和生物膜载体进行试验时, 驯化时间约为 40 天, 要远长于淀粉/PCL 共混物<sup>[10]</sup> (1 天)和 PCL<sup>[5]</sup>(16 天)等, 表明 PLA 的生物降解性较差。但本实验在相同的试验条件下, PHBV/PLA 的驯化时间明显缩短, 表明通过将生物降解性较好的 PHBV 与 PLA 共混, 能够改善共聚物的生物降解性, 加快微生物对碳源的利用, 进而缩短驯化启动时间。PHBV/木纤维素驯化速度优于 PHBV/PLA 共混碳源, 可能与两种固相碳源内部的不同组分共混形成的内部结构密切相关。脱氮动力学试验结果表明, 两种反硝化速率分别为 0.10 mg N/(L·h·g)和 0.12 mg N/(L·h·g), 明显高于同等试验条件下 PLA 的平均反硝化速率<sup>[16]</sup>, 而与研究较多的 PBS<sup>[6]</sup>相近, 低于 PCL 在相同试验条件下的平均反硝化速率<sup>[15]</sup>。

### 2.2 填充床试验结果比较

由图 3 可知, 两种固相碳源在启动后均能在 2 天后实现高效稳定脱氮, 其  $\text{NO}_3^-$ -N 去除负荷分别为 13.95 mg/(L·h)和 14.02 mg/(L·h),  $\text{NO}_3^-$ -N 去除率均高于 90%, 出水无  $\text{NO}_2^-$ -N 积累, 脱氮效果无明显差异。

由图 4 可以看出, 两种固相碳源在释碳性能上存在显著差异。PHBV/PLA 填充床出水 DOC 浓度在运行初期迅速升高, 但随运行时间的增长, 出水 DOC 浓度逐渐降低, 降至 10 mg/L 以下。PHBV/木纤维素填充床在启动时 DOC 浓度同样存在较快的

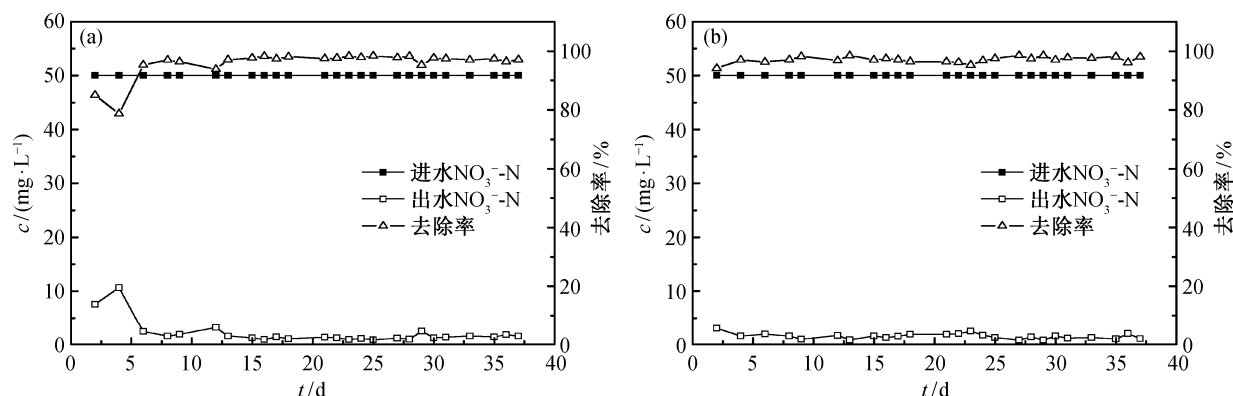


图 2 PHBV/PLA (a)和 PHBV/纤维素(b)固相碳源序批试验反硝化效果

Fig. 2 Denitrification performance of batch reactor with PHBV/PLA (a) and with PHBV/Methyl Cellulose (b)

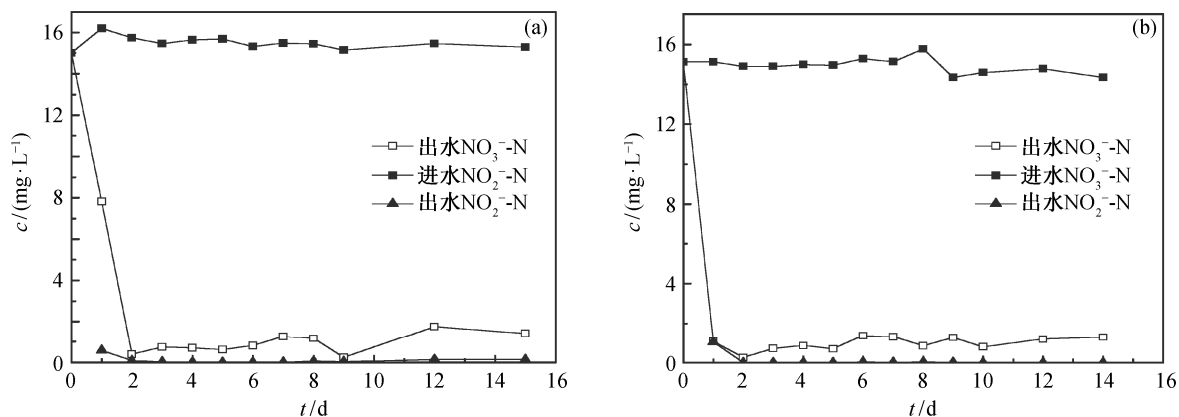


图 3 PHBV/PLA (a)和 PHBV/木纤维素(b)填充床连续试验反硝化效果

Fig. 3 Denitrification performance of packed-bed continuous reactor with PHBV/PLA (a) and with PHBV/Methyl Cellulose (b)

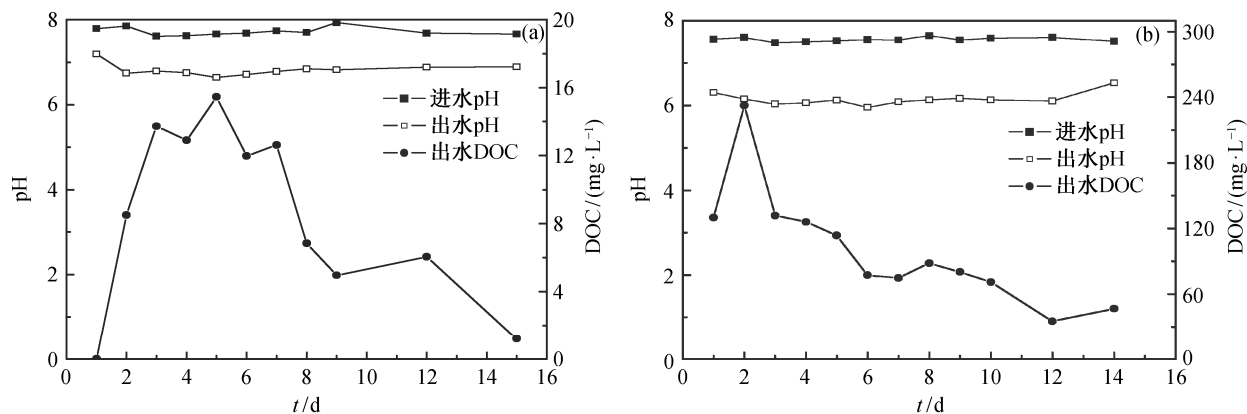


图 4 PHBV/PLA (a)和 PHBV/木纤维素(b)填充床连续试验出水 DOC 与 pH 变化

Fig. 4 Changes of DOC and pH during packed-bed continuous test with PHBV/PLA (a) and with PHBV/Methyl Cellulose (b)

升高现象, 最高可达 200 mg/L 以上, 远高于 PHBV/PLA。随着运行时间的增长, 出水 DOC 浓度逐渐降低, 最终降至 60 mg/L 以下。在进水 pH 为 7.41~7.93 的条件下, PHBV/PLA 与 PHBV/木纤维素填充床出水 pH 分别为 6.78 和 6.14。

在缺氧反硝化条件下, 两种固相碳源通过附着在其表面的生物膜微生物的酶解作用成为可溶性有机物, 进而为反硝化过程提供电子供体。在本试验中, 两种共混固相碳源反硝化系统出水 pH 均低于进水, 而反硝化过程为产碱过程, 这可能是由于两种固相碳源在酶解过程中产生有机酸, 过量中和了反硝化过程产生的碱度的原因, 使出水 pH 降低, 这与其他研究结果<sup>[10-11]</sup>一致。在运行初期, 生物膜中异养微生物对 PHBV/纤维素进行降解利用, 产生大量的溶解性有机物, 超过反硝化微生物对有机物的需求, 未利用的溶解性有机物随出水流出, DOC

浓度较高。而对于 PHBV/PLA, 微生物酶降解作用缓慢, 使得 DOC 释放缓慢, 释放的 DOC 迅速被反硝化微生物利用进行反硝化作用, 因而出水中 DOC 无明显积累, 表现出良好的碳源控释性能。

### 2.3 扫描电子显微镜分析

对两种固相碳源利用前后的表面结构进行扫描电子显微镜观察, 结果如图 5 所示。由图 5 (a)和(c)可以观察到新鲜的两种固相碳源表面均较为光滑, 并无明显的凸起和凹陷。微生物利用后, 两者的表面发生了较为明显的变化, PHBV/PLA 和 PHBV/木纤维素表面出现不同尺寸和形状的坑洼。对于 PHBV/PLA 共混碳源, 微生物利用后的坑洼出现在表面, 深度较浅, 而 PHBV/木纤维素表面形成的坑洼较深且密集, 表明 PHBV/木纤维素比 PHBV/PLA 具有更好的可生物利用性。从图 5(c)和(f)可以明显观察到两种固相碳源利用后显现出的内部结构差

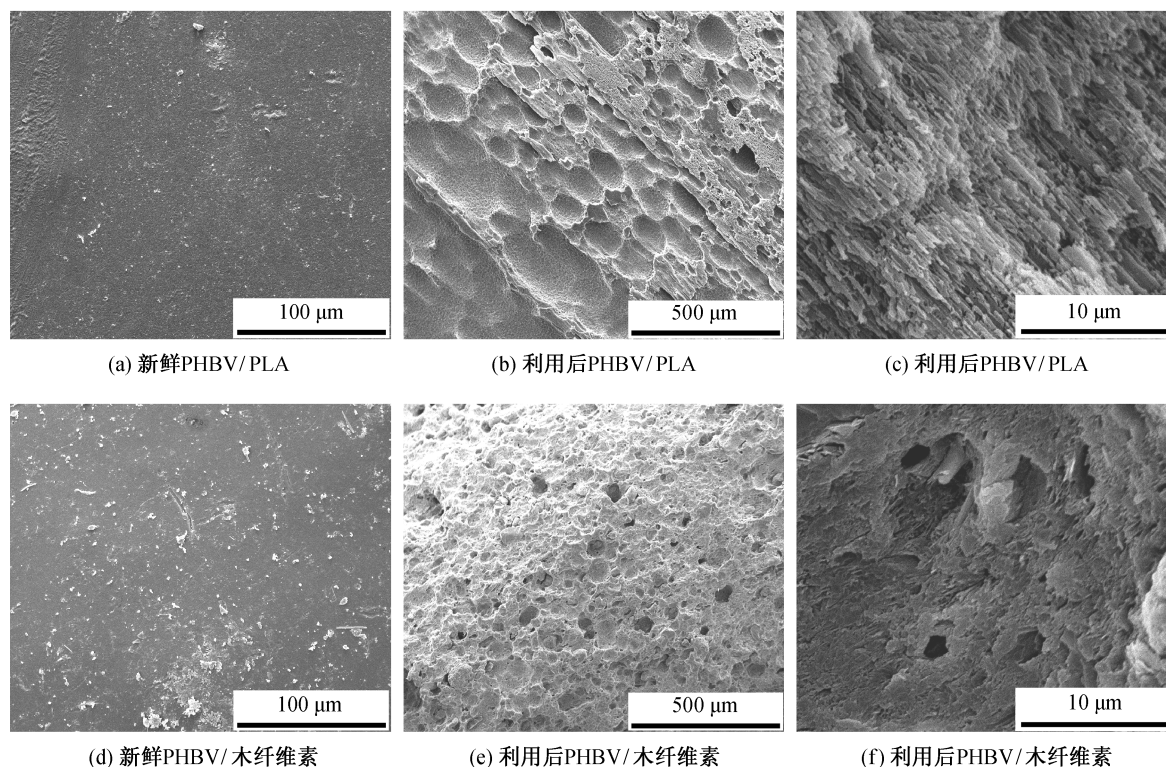


图 5 新鲜与利用后两种固相碳源扫描电子显微镜图像  
Fig. 5 SEM images of fresh and used solid carbon sources

异。PHBV/PLA 内部呈现较为规则的束状结构，而 PHBV/木纤维素内部没有明显的规则结构。

诸多研究表明，对于多聚物的生物降解往往先发生在松散、无定形的非晶体区，而后发生在结构规则、密度较大的结晶区<sup>[21-23]</sup>。由于 PHBV 和 PLA 均具有晶体结构，使得其熔融共混物有较为明显的结晶区。而木纤维素为由天然木材加工处理得到的絮状有机多聚物，其结构松散、无定形，因而其与 PHBV 的熔融共混物也呈现出较为明显的松散无序的内部结构特征。由这一结果可以推测，两种共混聚合物固相碳源形成的不同内部结构是影响固相碳源的生物利用性能的关键因素，进一步导致两者在驯化时间和反硝化速率上的明显差异。

### 3 结论

1) 序批试验结果表明两者在接种驯化时间上存在明显差异，但在稳定运行时反硝化效果差异并不明显，脱氮率均能达到 90%以上，其反硝化速率分别为 0.10 mg N/(L·h·g)和 0.12 mg N/(L·h·g)。

2) 在连续流运行条件下，两种固相碳源  $\text{NO}_3^-$ -N 去除负荷分别为 13.95 mg/(L·h)和 14.02 mg/(L·h)，

脱氮效果良好，但碳源控释能力存在较明显差异，PHBV/PLA 碳源控释性能较好，有望在实际中推广应用。

3) 扫描电子显微镜结果显示，两种固相碳源经生物膜利用而形成坑洼和凹陷，内部结构的差异是导致两种共混固相碳源生物降解性能差异的主要原因。

### 参考文献

- [1] 江曙光. 中国水污染现状及防治对策. 现代农业科技, 2010(7): 313-315
- [2] 王国祥, 成小英, 濮培民. 湖泊藻型富营养化控制: 技术、理论与应用. 湖泊科学, 2002, 14(3): 273-282
- [3] Sun S P, Nacher N P I, Merkey B, et al. Effective biological nitrogen removal treatment processes for domestic wastewaters with low C/N ratios: a review. Environmental Engineering Science, 2010, 27(2): 111-126
- [4] Honda Y, Osawa Z. Microbial denitrification of waste water using biodegradable polycaprolactone. Polymer Degradation and Stability, 2002, 76: 321-327

- [5] Chu L B, Wang J L. Nitrogen removal using biodegradable polymers as carbon source and biofilm carriers in a moving bed biofilm reactor. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 170: 220–225
- [6] 周海红, 赵璇, 王建龙. 利用可生物降解聚合物去除饮用水源水中硝酸盐. *清华大学学报: 自然科学版*, 2006, 46(3): 434–436
- [7] 赖才胜, 谭洪新, 罗国芝, 等. 利用可生物降解聚合物为碳源和生物膜载体脱氮及其动力学特征研究. *环境科学*, 2010, 31(8): 1839–1845
- [8] 范振兴, 王建龙. 利用聚乳酸作为反硝化固相碳源的研究. *环境科学*, 2009, 30(8): 2315–2319
- [9] 沈生奇. 聚乳酸在可生物降解材料中应用前景. *四川化工与腐蚀控制*, 2002, 5(1): 38–39
- [10] Shen Z Q, Wang J L. Biological denitrification using cross-linked starch/PCL blends as solid carbon source and biofilm carrier. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 8835–8838
- [11] 沈志强, 吴为中, 杨春平, 等. 利用淀粉基共混物作为反硝化固相碳源的研究. *环境科学*, 2012, 33(5): 1609–1613
- [12] Biedermann J, Owen A J, Schloe K T, et al. Interaction between poly-3-hydroxyvalerate-co-3-hydroxyvalerate and a denitrifying *Pseudomonas* strain. *Canadian Journal of Microbiology*, 1997, 43: 561–568
- [13] Khan S T, Horiba Y, Takahashi N, et al. Activity and community composition of denitrifying bacteria in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-using solid-phase denitrification processes. *Microbes and Environments*, 2007, 22(1): 20–31
- [14] 张兰河, 孙立娇, 仇天雷, 等. 固相碳源填充床反应器脱除污水硝态氮效能的预测模型. *农业工程学报*, 2013, 29(6): 209–213
- [15] Boley A, Muller W R, Haider G. Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 2000, 22: 75–85
- [16] 吴伟龙, 杨璐华, 杨飞飞, 等. 低温条件下 BAF+SPD 组合工艺对滇池入湖河水的脱氮效果. *环境工程学报*, 2013, 7(12): 4597–4602
- [17] Walters E, Hille A, Mei H, et al. Simultaneous nitrification/denitrification in a biofilm airlift suspension (BAS) reactor with biodegradable carrier material. *Water Research*, 2009, 43: 4461–4468
- [18] 李军, 徐影, 王秀玲, 等. 固相碳源填充床反应器反硝化性能研究. *农业环境科学学报*, 2012, 31(6): 1230–1235
- [19] 徐影, 仇天雷, 韩梅琳, 等. 响应曲面法优化固相反硝化的工艺条件. *环境工程学报*, 2013, 7(2): 489–493
- [20] Wu W Z, Yang F F, Yang L H. Biological denitrification using a novel biodegradable polymer as carbon source and biofilm carrier. *Bioresource Technology*, 2012, 118: 136–140
- [21] 陈珊, 刘东波, 夏红梅, 等. 聚  $\beta$ -羟基丁酸酯(PHB) 生物降解过程的研究. *生物化学与生物物理进展*, 2002, 29(1): 111–112
- [22] Fukuzaki H, Yoshida M, Asano M, et al. Synthesis of copoly(D,L-lactic acid) with relatively low-molecular weight and in vitro degradation. *European Polymer Journal*, 1989, 25(10): 1019–1026
- [23] Liu L J, Li S M, Garreau H, et al. Selective enzymatic degradations of poly(L-lactide) and poly(epsilon-caprolactone) blend films. *Biomacromolecules*, 2000, 1(3): 350–359