

DOI:10.19431/j.cnki.1673-0062.2019.05.003

介质粒径、形状和生物膜对粪肠球菌在 饱和活性炭柱中迁移的影响

张丹丹,余健*,尚君,任文辉,柳斌

(湖南大学 土木工程学院,湖南 长沙 410082)

摘要:通过室内柱实验,研究了介质粒径、介质形状和生物膜对粪肠球菌在饱和活性炭柱内的迁移的影响。结果表明:介质粒径、形状和生物膜对粪肠球菌在饱和活性炭介质中的沉积与迁移有着重要影响。活性炭介质粒径越小,粪肠球菌在活性炭滤柱中的沉积量越多,流失率越小,在介质粒径为0.8 mm时,出现表面封阻现象;颗粒活性炭比同粒径的柱状活性炭更利于粪肠球菌的沉积;颗粒活性炭表面附着生物膜时,有利于提高粪肠球菌在饱和活性炭内的沉积量,减小其流失率。

关键词:粪肠球菌;饱和活性炭;介质粒径;介质形状;生物膜

中图分类号:X52 **文献标志码:**B **文章编号:**1673-0062(2019)05-0019-05

Effect of Particle Size, Shape and Biofilm on Migration of *Enterococcus faecalis* in Saturated Activated Carbon Column

ZHANG Danan, YU Jian*, SHANG Jun, REN Wenhui, LIU Bin

(College of Civil Engineering, Hunan University, Changsha, Hunan 410082, China)

Abstract: The effects of medium particle size, medium shape and biofilm on the migration of *Enterococcus faecalis* in a saturated activated carbon column were investigated by laboratory experiments. The results show that the particle size, shape and biofilm have an important influence on the deposition and migration of *Enterococcus faecalis* in saturated activated carbon medium. The smaller the particle size of the activated carbon medium, the more the deposition of *Enterococcus faecalis* in the activated carbon filter column, the smaller the loss rate; when the particle size is 0.8 mm, the surface blocking phenomenon occurs; granular activated carbon is more conducive to the deposition of *Enterococcus faecalis* than columnar

收稿日期:2019-04-22

基金项目:湖南省自然科学基金项目(2017JJ2030)

作者简介:张丹丹(1995-),女,硕士研究生,主要从事水质净化与水污染控制方面的研究。E-mail:2295263080@qq.com。
*通信作者:余健(1964-),男,教授,博士,主要从事水质净化与水污染控制方面的研究。E-mail:jianyu@hnu.edu.cn

activated carbon of the same particle size; when the biofilm is attached to the surface of granular activated carbon, it is beneficial to increase the deposition amount of *Enterococcus faecalis* in saturated activated carbon and reduce its loss rate.

key words: *Enterococcus faecalis*; saturated activated carbon; medium particle size; medium shape; biofilm

0 引言

生物活性炭技术(biological activated carbon, BAC)因其去除污染的独特高效性而成为当今世界各国饮用水深度处理的主流工艺^[1]。但随着BAC工艺的广泛使用,越来越多的检测发现,不论是否设置预臭氧(O₃)氧化单元,BAC滤池出水中均含有一定数量的细菌(包括致病菌),存在“生物泄漏”现象^[2]。这些细菌可能随出水中其他微小颗粒一起进入市政供水管网^[2-3],使饮用水产生公共生物安全性问题。

粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)也称为粪链球菌(*Streptococcus faecalis*),是一种革兰氏阳性菌,兼性厌氧^[4],是人和动物胃肠道中的常驻细菌。粪肠球菌在不利条件下可引起严重的疾病^[5],成为医院感染的主要病原体,占到全部危及生命的肠球菌感染病例的90%^[6]。因此,了解粪肠球菌在饮用水处理工艺—活性炭滤柱内的沉积与迁移过程,对保障饮用水安全有着重要的意义。

近20年来,为掌握细菌在地下水中的沉积与迁移规律,许多学者通过实验研究了微生物在多孔介质中的迁移过程。C. V. Chrysikopoulos等^[7]人发现当石英砂粒径越小时,沉积到介质表面的噬菌体量越多。A. Bozorg等^[8]人研究指出在相同的水力条件下,当玻璃柱表面覆有生物膜时,填充床粘附效果增大36%。H. Zhong等^[9]发现细菌表面的EPS均可促进细菌在多孔介质中的沉积行为。这些研究表明,微生物在石英砂、玻璃珠和土壤等多孔介质中的迁移行为受到介质粒径、生物膜的影响。然而,目前关于粪肠球菌在活性炭介质中沉积与迁移的研究,还未见报道。

本文以活性炭作为多孔介质,通过粪肠球菌在饱和活性炭柱中的穿透实验,分析不同介质粒径、介质形状和生物膜对粪肠球菌在饱和多孔介质中迁移过程的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 粪肠球菌的培养和菌液制备

采用粪肠球菌(购自中国工业微生物菌种保藏管理中心)作为研究菌株。从-80℃冰箱中取出粪肠球菌保存管,于37℃恒温水浴锅中水浴30 min,转移至新鲜LB(Luria-bertani, LB)液体培养基中进行活化24 h后,按体积比1%比例进行转接,连续操作3次,以200 r/min的转速在37℃下振荡培养至对数生长后期(5 h)。

停止培养后以3 000 r/min离心15 min,倒掉上清液并加入等量的无菌背景溶液,再次离心,如此洗涤、离心3次,使得粪肠球菌和培养基全部分离。粪肠球菌的计数采用平板菌落计数法和光密度法^[10],并且建立菌悬液浓度与吸光度之间的关系^[11],采用连续稀释法^[12]使粪肠球菌的菌液浓度为 4.0×10^7 CFU/mL。

1.1.2 多孔介质

实验中选用两种活性炭介质:一是普通活性炭(购自绿之原活性炭有限公司),分为颗粒活性炭以及柱状活性炭。实验中选用粒径为0.6~1.0 mm(中值粒径为0.8 mm)、1.0~2.0 mm(中值粒径为1.5 mm)、2.0~4.0 mm(中值粒径为3.0 mm)的颗粒活性炭以及粒径为1.0~2.0 mm(中值粒径为1.5 mm)的柱状活性炭作为多孔介质。使用时需先用纯水清洗数次,以除去微小颗粒,再于121℃蒸汽灭菌锅中灭菌20 min,取出备用。二是粒径为1.0~2.0 mm(中值粒径为1.5 mm)的生物颗粒活性炭。其制备过程如下:在1 000 mL灭菌锥形瓶中加入20 mL浓度为 1.0×10^8 CFU/mL的粪肠球菌悬液,再加入500 mL新鲜LB液体培养基于37℃培养箱中振荡培养,每24 h更换一次新鲜培养基,如此培养72 h即可得到生物颗粒活性炭。

1.1.3 背景溶液

实验采用离子强度为10 mmol/L的NaCl溶液作为背景溶液。制备方法为:称取14.625 g分析纯NaCl(国药集团化学试剂有限公司)溶于

500 mL 纯水中,摇匀后备用。

1.2 柱实验

采用内径为 4 cm、高度 30 cm 的有机玻璃柱作为填充柱,柱的下端放置有 0.075 mm 的尼龙网,以避免活性炭的流失。采用湿式填充活性炭,使得活性炭在柱中均匀紧实。通过重力法测得三

种不同粒径颗粒活性炭的孔隙率为 58.36%、33.16%、38.73%,柱状活性炭的孔隙率为 45.09%。实验装置如图 1 所示,采用上端进水的方式。背景溶液和粪肠球菌悬液均通过蠕动泵注入,玻璃柱和蠕动泵之间通过软管相连。实验中采用蠕动泵控制水流流速为 1 m/h。

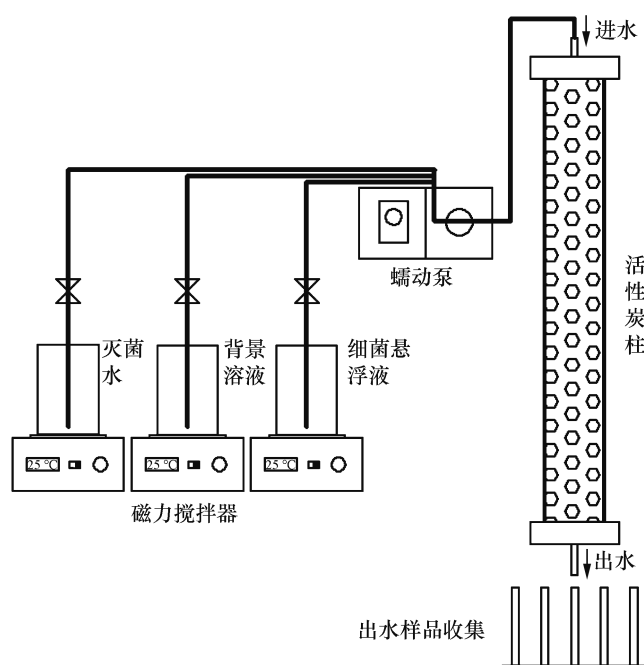


图 1 实验装置图

Fig. 1 Experimental device diagram

实验首先分别采用不同粒径的颗粒活性炭、柱状活性炭以及生物颗粒活性炭装填有机玻璃柱,然后注入 10PV (pore volume, PV) 的背景溶液,去除微小杂质并稳定实验条件,其次以相同水流流速通入 6PV 的粪肠球菌悬液,最后再通入 6PV 的不含粪肠球菌的背景盐溶液。使用 10 mL 的无菌离心管以每 0.5PV 于出口处收集流出液,并用紫外分光光度计于 600 nm 下测定吸光度,得到粪肠球菌的穿透曲线。

1.3 实验指标

采用沉积速率常数 (k_d) 和流失率 (mass recoveries, MR) 作为实验指标。沉积速率常数 (k_d) 按式(1)计算^[13]:

$$k_d = -\frac{v}{\theta_L} \ln \frac{C}{C_0} \quad (1)$$

式中: v 为水流流速; θ 活性炭的孔隙率; L 为活性炭柱长度; C/C_0 为穿透曲线的穿透峰值。

Br^- 具有性质稳定且难反应的特点,因此被广

泛用做柱迁移实验的示踪剂^[14]。在注入一定 PV 后, Br^- 的出流比 C/C_0 达到 1, 因此认为其在柱实验中的 MR 为 100%, 借助 Origin8.0 对 Br^- 的穿透曲线进行面积积分, 为 5.761。粪肠球菌穿透曲线的面积积分值与示踪剂 Br^- 的穿透面积积分值的比值即为粪肠球菌的流失率 (MR)^[15]。

2 结果与讨论

2.1 介质粒径对粪肠球菌迁移的影响

由图 2 可知, 在不同介质粒径条件下, 粪肠球菌的出流比 C/C_0 在 0.29 ~ 0.42 之间。当介质粒径为 0.8 mm、1.5 mm、3.0 mm 时, MR 分别为 21.85%、30.46%、36.78%, 同时胶体沉积速率依次为 1.96×10^{-3} 、 3.01×10^{-3} 、 2.07×10^{-3} , 沉积速率常数未随粒径的减小而增加的原因可能是因为在一定水流流速下不仅与孔隙率有关, 还与出流比 C/C_0 有关。L. Bennacer 等^[16] 人用三种不同粒径的砂介质进行实验, 结果表明砂粒径越小, 胶体

的沉积量也就越多,与本实验结果一致。

根据不同粒径下粪肠球菌穿透曲线图 2 可知,随着介质粒径的增加,穿透曲线的平台值不断增大。这是因为随着介质粒径的减小,介质的比表面积相对增加,从而能够给粪肠球菌提供更多的吸附空间。同时胶体的形变应力是胶体沉积于多孔介质内的重要原因,随着多孔介质粒径的减小,胶体的形变应力增大,减弱了胶体在多孔介质中的迁移能力^[17-19]。由图 2 可知,当活性炭粒径为 0.8 mm 时,粪肠球菌穿透曲线的平台值不断增大,此时出现了表面封阻(blocking)现象^[20]。表面封阻现象表示已经沉积的粪肠球菌胶体占据固相收集器表面的有效吸附位,进而阻碍胶体沉积的进一步产生。

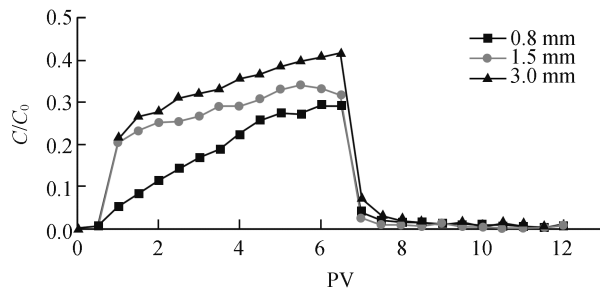


图 2 粪肠球菌在不同粒径下的穿透曲线图

Fig. 2 The penetration curve of *Enterococcus faecalis* under different particle sizes

2.2 介质形状对粪肠球菌迁移的影响

根据图 3 可知,当介质粒径为 1.5 mm 时,柱状活性炭实验组于 0.5PV 处检测到流出液中含有粪肠球菌,颗粒活性炭实验组于 1PV 处检测到流出液中含有粪肠球菌。且柱状活性炭实验组的粪肠球菌出流量 C/C_0 高于颗粒活性炭组分别为 0.52、0.34,MR 为 53.24%、30.46%,沉积速率常数 k_d 分别为 1.34×10^{-3} 、 3.01×10^{-3} , k_d 增加,颗粒活性炭更有利于粪肠球菌的沉积。这是因为粒径为 1.5 mm 的柱状活性炭的比表面积为 $800 \text{ m}^2/\text{g}$,颗粒活性炭的为 $1000 \text{ m}^2/\text{g}$,柱状活性炭的比表面积小于颗粒活性炭比表面积,颗粒活性炭表面能够提供更多的吸附点位,沉积更多的细菌胶体^[21]。

2.3 生物膜对粪肠球菌迁移的影响

由图 4 可知,当柱内填充多孔介质分别为颗粒活性炭与生物颗粒活性炭时,粪肠球菌穿透曲线的平台值分别为 0.34、0.27。根据胶体沉积动

力学得到的沉积速率常数 k_d 分别为 3.01×10^{-3} 、 3.66×10^{-3} ,MR 依次为 30.46%、21.70%,表明粪肠球菌在生物颗粒活性炭中的迁移能力小于颗粒活性炭,生物膜的存在增大了粪肠球菌的沉积量。出现这一结果的原因可能是由于生物膜表面存在胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)的缘故^[8]。有研究指出^[22-24],EPS 与粪肠球菌间的相互作用以及 EPS 的表面特性可以克服经典胶体稳定理论(DLVO)的排斥势垒,且生物颗粒活性炭由粪肠球菌制备,使得其更容易被自身产生的 EPS 所吸附。

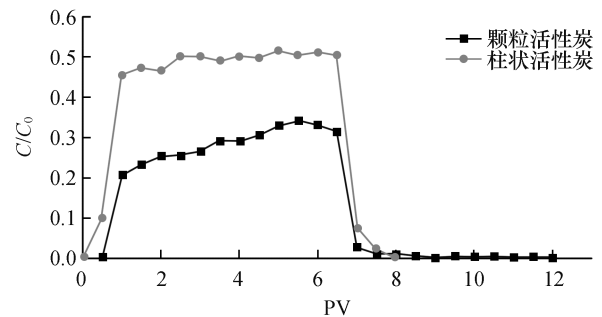


图 3 粪肠球菌在不同形状活性炭柱中的穿透曲线

Fig. 3 The penetration curve of *Enterococcus faecalis* in different shapes of activated carbon column

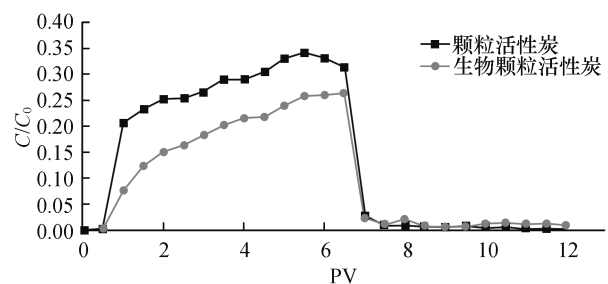


图 4 粪肠球菌在颗粒活性炭与生物颗粒活性炭柱中的穿透曲线

Fig. 4 The penetration curve of *Enterococcus faecalis* in granular activated carbon and bioparticle activated carbon column

3 结 论

1)随着介质粒径的不断增大,粪肠球菌在饱和和颗粒活性炭内的流失率不断增大,泄漏增加。当采用粒径为 0.6 ~ 1.0 mm 的颗粒活性炭作为多孔介质时,产生表面封阻现象。

2)当采用粒径相同但形状不同的活性炭作

为多孔介质时,粪肠球菌在颗粒活性炭柱中的泄漏量小于柱状活性炭。

3)当颗粒活性炭上附着生物膜时,粪肠球菌在活性炭柱内的沉积增加,泄漏减少。

参考文献:

- [1] 胡静,张林生.生物活性炭技术在欧洲水处理中的应用研究与发展[J].环境技术,2002,20(3):33-37.
- [2] 刘燕男.BAC微生物泄漏特征及快速物理评价技术研究[D].太原:太原理工大学,2014:2-8.
- [3] CAMPER A K, LECHEVALLIER M W, BROADAWAY S C, et al. Bacteria associated with granular activated carbon particles in drinking water. [J]. Appl environ microbiol, 1986, 52(3):434-438.
- [4] WHEELER A L, HARTEL P G, GODFREY D G, et al. Potential of *Enterococcus faecalis*, as a human fecal indicator for microbial source tracking[J]. Journal of environmental quality, 2015, 31(4):1286-1293.
- [5] GIARD J C, LAPLACE J M, RINCÉ A, et al. The stress proteome of *Enterococcus faecalis* [J]. Electrophoresis, 2001, 22(14):2947-2954.
- [6] SURIYANARAYANAN T, QINGSONG L, KWANG L T, et al. Quantitative proteomics of strong and weak biofilm formers of *Enterococcus faecalis* reveals novel regulators of biofilm formation [J]. Molecular & cellular proteomics, 2018, 17(4):643-654.
- [7] CHRYSIKOPOULOS C V, ARAVANTINOU A F. Virus attachment onto quartz sand: role of grain size and temperature [J]. Journal of environmental chemical engineering, 2014, 2(2):796-801.
- [8] BOZORG A, GATES I D, SEN A. Impact of biofilm on bacterial transport and deposition in porous media[J]. Journal of contaminant hydrology, 2015, 183:109-120.
- [9] ZHONG H, LIU G, JIANG Y, et al. Transport of bacteria in porous media and its enhancement by surfactants for bioaugmentation: a review [J]. Biotechnology advances, 2017, 35(4):490-504.
- [10] 姚舜译,袁雪梅,杨新瑶,等.粒径和流速对大肠杆菌在饱和多孔介质中迁移的影响[J].农业环境科学学报,2016,33(2):353-357.
- [11] 王蒙蒙,张莉,李慧,等.粪肠球菌生长曲线的测定及其对小鼠脑组织的影响[J].中国畜牧兽医,2018,45(4):1041-1049.
- [12] NIRWANA I, RIANTI D, SOEKARTONO R H, et al. Antibacterial activity of fig leaf (*Ficus carica* Linn.) extract against *Enterococcus faecalis* and its cytotoxicity effects on fibroblast cells [J]. Veterinary world, 2018, 11(3):342-347.
- [13] WANG C, BOBBA A D, ATTINTI R, et al. Retention and transport of silica nanoparticles in saturated porous media: effect of concentration and particle size [J]. Environmental science & technology, 2012, 46(13):7151-7158.
- [14] 贾晓玉,李海明,王博,等.不同酸碱条件下胶体迁移对含水介质渗透性的影响[J].环境科学与技术,2009,32(5):45-47.
- [15] 许端平,刘渚白,谷长建,等.不同离子对黑土胶体在土壤中运移的影响[J].地球与环境,2014,42(3):333-339.
- [16] BENNACER L, AHFIR N, ALEM A, et al. Coupled effects of ionic strength, particle size, and flow velocity on transport and deposition of suspended particles in saturated porous media [J]. Transport in porous media, 2017, 118(2):251-269.
- [17] LV X, GAO B, SUN Y, et al. Effects of grain size and structural heterogeneity on the transport and retention of nano-TiO₂ in saturated porous media [J]. Science of the total environment, 2016, 563:987-995.
- [18] BRADFORD S A, YATES S R, BETTAHAR M, et al. Physical factors affecting the transport and fate of colloids in saturated porous media [J]. Water resources research, 2002, 38(12):1-63.
- [19] LI J, RAJAJAYAVEL S R C, GHOSH S. Transport of carboxymethyl cellulose-coated zerovalent iron nanoparticles in a sand tank: effects of sand grain size, nanoparticle concentration and injection velocity [J]. Chemosphere, 2016, 150:8-16.
- [20] 于喜鹏.人工回灌条件下病毒在饱和多孔介质中的迁移规律研究[D].长春:吉林大学,2016:44-45.
- [21] 谢冰怡.不同类型胶体对铅、镉在饱和多孔介质中运移的影响研究[D].咸阳:西北农林科技大学,2017:20-21.
- [22] COOK R D. Concepts and applications of finite element analysis [M]. New York: John Wiley & Sons, 2007: 1-736.
- [23] ABU-LAIL N I, CAMESANO T A. Role of lipopolysaccharides in the adhesion, retention, and transport of *Escherichia coli* JM109 [J]. Environmental science & technology, 2003, 37(10):2173-2183.
- [24] CAMESANO T A, LOGAN B E. Probing bacterial electrostatic interactions using atomic force microscopy [J]. Environmental science & technology, 2000, 34(16):3354-3362.

(责任编辑:扶文静)