

环境科学与工程丛书

废水处理生物膜

FEISHUI CHULI SHENGWUMO

温沁雪 陈志强 吴昌永 编著



化学工业出版社

本书主要从生物膜的结构与功能入手,对生物膜的理化性质、膜内的传递理论给予论述;详细介绍了现阶段生物膜研究应用的先进技术并开展了一些新型的生物膜反应器的研究工作。

本书可供环境科学与工程、市政工程等领域的工程技术人员、科研人员参考,也可供高等学校相关专业师生参阅。

图书在版编目(CIP)数据

废水处理生物膜/温沁雪,陈志强,吴昌永等
编著. —北京:化学工业出版社,2011.6
(环境科学与工程丛书)
ISBN 978-7-122-10694-0

I. 废… II. ①温…②陈…③吴… III. 生物
膜(污水处理) IV. X703

中国版本图书馆CIP数据核字(2011)第036293号

责任编辑:刘兴春
责任校对:战河红

文字编辑:汲永臻
装帧设计:杨北

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)
印刷:北京市振南印刷有限责任公司
装订:三河市宇新装订厂
787mm×1092mm 1/16 印张16 字数373千字 2011年8月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:58.00元

版权所有 违者必究

序

微生物聚集生长成生物膜的现象在自然界广泛存在，19世纪人们发明生物滤池就是受到河床中的砾石上长生物膜的启发。1893年诞生于英国曼彻斯特附近的索尔福德的生物滤池是最早的生物膜污水处理装置之一。从19世纪末到20世纪初生物膜污水处理装置曾经在英国及欧美风靡一时，随后由于其功能的局限性和大规模污水处理厂建设的复杂性，生物膜污水处理装置的优势被以微生物悬浮生长为特征的活性污泥法所替代。20世纪末由于脱氮除磷和工业废水处理的特殊需求以及分子生物学技术的发展，以微生物固定生长为特征的生物膜污水处理技术再次引起了环境工程界的关注。

水污染是中国面临的重大环境问题之一，它不仅破坏了生态环境，加剧了水资源短缺，而且严重地危害着社会发展和人类的健康与安全。进入21世纪以来，中国的污水处理设施得到了快速发展，对于城市生活污水脱氮除磷和工业废水严格处理需要有更多的技术支撑。在此机遇下，《废水处理生物膜》一书的诞生将帮助人们加深对生物膜污水处理技术的理解，发挥固定生长微生物的优势，促进此类技术的推广应用。

《废水处理生物膜》从生物膜的结构和功能入手介绍了生物膜的形成与反应机理、生物膜观察的新方法与基础数学模型，然后介绍了生物膜污水处理工艺及其新发展。由于污水水质、生物载体和工艺流程的不同，生物膜污水处理技术种类繁多，但其降解水中污染物的基本原理是相同的。与活性污泥法相比，生物膜中的微生物是在介质表面固定生长的，与污水中基质及氧的交换是从膜表面向膜内部的扩散过程，由于传质方式的不同导致了膜内基质和氧的非均匀分布和微生物种群的差异。只要有适宜的条件微生物就会在生长的同时将污染物去除，人们设计的各种工艺只是为微生物提供一种生态环境，以便在微生物生长的同时实现人们所希望的目的。因此，生物膜污水处理技术的发展历程始终围绕着保持高生物量和提高传质效率这两个核心问题。本书的特点之一是从微生物学的角度分析了生物膜污水处理技术的原理，详细介绍了生物膜的定性定量观察方法，将帮助读者开展观测并深入理解生物膜中的反应过程。

本书汇集了近年国内外生物膜污水处理技术的重要参考文献，将会帮助从事城市污水处理和工业废水处理的科学技术人员认识和了解生物膜污水处理技术的发展动向，学习和掌握生物膜污水处理的新工艺与技术关键，并进一步应用于工程实践。在本书即将出版之际，应作者之邀，写此短序，以向广大读者推荐，并对本书的出版表示祝贺。

施汉昌

2011年2月8日于清华大学

前 言

生物膜是由微生物及其胞外聚合物组成的一种普遍存在的生命形式，在自然界中大部分界面都会旺盛生长。生物膜是固定化了的细胞，在污染控制工程中发挥着重要的作用。早在 20 世纪初人们就开始利用滴滤池氧化处理污水，20 世纪 80 年代后期到 90 年代，人们在新型生物膜反应器系统的研发和应用方面开展了大量工作。在处理系统方面，从小粒径载体的固定床流化床工艺一直到悬浮生长/生物膜复合系统处理工艺，都被应用到传统的废水处理中。然而，由于生物膜自身的复杂性，研究者对生物膜的形成、结构和功能的关系、生物膜微生物之间信息的传递等方面还有许多问题不甚清晰。本书主要从研究者普遍关注的生物膜的结构与功能入手，在介绍了现阶段生物膜研究中应用先进的分析技术的基础上，系统深入地阐述了废水处理领域中生物膜反应器的原理与实际应用。

本书主要聚焦国内外近年来在废水处理生物膜领域内的研究成果，内容共分 4 章。第 1 章为基础理论，介绍了生物膜的结构与功能，包括了生物膜的理化性能、影响其形成的结构要素、附着细胞的基因表达以及生物膜细胞间的质量传递。第 2 章介绍了生物膜研究过程中必需的定性与定量方法与技术，包括生物膜 EPS 的提取及定量分析、微电极及管式反应器、激光共聚焦扫描技术、分子生物学技术以及定量所不能或缺的生物膜数学模型。第 3 章过渡到典型的及新型的废水处理生物膜工艺技术，包括了生物滤池、生物转盘、淹没式生物滤池、生物流化床、移动床生物膜反应器和复合式生物膜反应器等。第 4 章是作者课题组近年来在新型生物膜工艺技术研究 and 开发领域中获得的一些研究成果，主要包括了高效生物流化床反应器、特殊网状生物转盘以及接触氧化生物滤池。

本书论述范围较广，但无论是基础理论还是实际应用的篇章，都列举了很多研究实例，理论联系实际，使读者读后有的放矢，具有很高的针对性和实用性。本书适用于环境科学与工程市政工程专业研究生教材，以及该领域内工程技术人员、科研人员学习参考。

由于本书涉及面较广，而环境生物技术发展迅速，编著过程中难免有疏漏和不妥之处，敬请同行专家和广大读者不吝赐教。

本书由温沁雪、陈志强、吴昌永编著，同时在本书编著过程中张慧超、赵晔、李云蓓、田婷、连家祥、王晶惠、韩宇弛、李翱飞等参加了资料的翻译、校对与编撰工作；此外河南省科学院微生物所的王亚南研究员给予了帮助和支持，谨此致谢。

编著者

2011 年 1 月于哈尔滨

目 录

第 1 章 生物膜的结构与功能	1
1.1 生物膜的结构与功能	1
1.1.1 生物膜的结构以及非均匀生物膜的概念	2
1.1.2 非均匀生物膜内的底物浓度变化曲线	4
1.1.3 非均相生物膜内的流体动力学	5
1.1.4 非均匀生物膜内的传质	7
1.1.5 生物膜的重现及非均匀性的量化	8
1.2 生物膜的物理化学性质	10
1.2.1 EPS 对生物膜的作用及物理化学性质	10
1.2.2 生物膜的吸附特性	14
1.2.3 生物膜的光学性质	16
1.3 生物膜形成的结构要素	17
1.3.1 生物膜存在的普遍性	17
1.3.2 环境因素对生物膜形成的影响	18
1.3.3 基因表达对生物膜形成和进化的影响	22
1.3.4 环境因素和基因表达的综合影响	23
1.4 附着细胞的基因表达	25
1.4.1 报告基因	25
1.4.2 用 <i>lacZ</i> 作为生物膜活性的报告基因	26
1.4.3 用 <i>lux</i> 基因作为生物膜活性的报告基因	27
1.4.4 用 <i>gfp</i> 基因报告生物膜活性	28
1.5 生物膜细菌间的质粒传递	30
1.5.1 什么是质粒，它们是如何在细菌种群中传播的	30
1.5.2 质粒的保持	31
1.5.3 生物膜中质粒的转移	33
1.5.4 结论	38
参考文献	38
第 2 章 生物膜的定性和定量观察方法与技术	52
2.1 废水生物膜 EPS 的提取及定量	52
2.1.1 EPS 的提取方法	53
2.1.2 EPS 的定量	55
2.1.3 细胞溶解	56
2.1.4 应用举例	57

2.2	微电极及管式反应器	59
2.2.1	Clark 型氧微电极简介	59
2.2.2	生物膜管式反应器简介	61
2.2.3	生物膜管式反应器在生物膜研究中的应用	62
2.3	激光共聚焦扫描显微镜 (CLSM)	66
2.3.1	生物膜的显微观测技术简介	66
2.3.2	激光共聚焦扫描显微镜的发展	67
2.3.3	共聚焦成像	67
2.3.4	激光共聚焦显微镜的优点与缺点	68
2.3.5	激光共聚焦技术	68
2.3.6	激光共聚焦扫描显微镜在生物膜研究中的应用	70
2.4	分子生物学技术	71
2.4.1	荧光原位杂交技术	72
2.4.2	终端限制性片断长度多态性	73
2.5	生物膜数学模型	74
2.5.1	数学和生物学的关系	74
2.5.2	数学模型和数学建模	75
2.5.3	如何将数学模型应用于复杂的生物膜研究	77
2.5.4	生物膜研究的工具	79
2.5.5	早期观察和模型	79
2.5.6	标准扩散-反应模型	81
2.5.7	生物膜模型研究中面临的挑战	82
2.5.8	对结构异质性的建模	84
2.5.9	生物膜模型未来的发展方向	86
	参考文献	86
第3章	废水处理生物膜工艺	98
3.1	废水处理生物膜中的微生物相	98
3.1.1	细菌	98
3.1.2	真菌	99
3.1.3	藻类	99
3.1.4	原生动物	99
3.1.5	后生动物	100
3.2	生物滤池	100
3.2.1	普通生物滤池	101
3.2.2	高负荷生物滤池	105
3.2.3	厌氧生物滤池	109
3.2.4	曝气生物滤池	111
3.3	生物转盘	117
3.3.1	好氧生物转盘	117

3.3.2	厌氧生物转盘 (RBC)	120
3.4	淹没式生物滤池	121
3.4.1	构造与特征	121
3.4.2	设计与计算	123
3.5	生物流化床	125
3.5.1	两相生物流化床	125
3.5.2	三相生物流化床	127
3.6	移动床生物膜反应 (MBBR)	129
3.6.1	构造与特征	130
3.6.2	净化效能	131
3.7	复合式生物膜反应器	132
3.7.1	活性污泥-生物膜反应器	132
3.7.2	序批式生物膜反应器 (SBBR)	133
3.7.3	附着生长污水稳定塘	135
	参考文献	135
第4章	新型生物膜工艺的研究与开发	138
4.1	高效生物流化床反应器	138
4.1.1	高效复合式生物流化床反应器的强化除氨启动研究	139
4.1.2	运行条件对内循环生物流化床运行效果的影响	157
4.1.3	内循环生物流化床同步硝化反硝化动力学分析	163
4.1.4	内循环生物流化床同步硝化反硝化机理探讨	166
4.1.5	内循环生物流化床处理高氨氮废水亚硝化过程研究	167
4.1.6	内循环生物流化床生物膜形态观察	178
4.1.7	流化床反应器硝化微生物分子生物学研究	178
4.2	特殊网状生物转盘	195
4.2.1	转盘的快速启动	195
4.2.2	装置的运行情况	196
4.2.3	网状生物转盘对不同浓度污水的处理	198
4.2.4	网状生物转盘同步除 C 和 N 的研究	204
4.2.5	网状生物转盘动力学分析	212
4.3	接触氧化生物滤池	216
4.3.1	实验用水及来源	216
4.3.2	实验装置与仪器	216
4.3.3	接触氧化组合过滤工艺预处理受污染高浊度河水	219
4.3.4	接触氧化组合过滤工艺对松花江源水的预处理	225
4.3.5	曝气生物滤柱前投加混凝药剂对浊度去除影响	229
4.3.6	实验过程中生物滤池颤蚓增长现象的观测	233
	参考文献	236

第 1 章 生物膜的结构与功能

1.1 生物膜的结构与功能

传统的生物膜模型认为，微生物是均匀分布在由胞外聚合物组成的连续的基质中的。但在过去的十多年间这一传统认识被颠覆了，因为该观点不能合理的解释很多研究者在生物膜实验中得到的一些结果。由此，非均质生物膜模型应运而生。非均质模型有几个不同的版本，但都阐述了同一个信息，即生物膜是由被间隙分散的微生物群落构成的，其在结构、化学性质和物理性质等许多方面都是不均匀的。事实上，随着人们认识的提高而逐渐意识到，新模型所阐述的生物膜是由微生物群体作为组成单元的这一观点要比预期的含义更加深远。已经报道的关于生物膜内自发的微生物共聚，生物膜细胞间的识别、通信的事实，很容易与新的生物膜模型相关联，并且提出有关微生物群落结构和内部细胞组织在生物膜活性和生存方面起到的作用的假设。《New Scientist》杂志在 1996 年 8 月刊登了一篇文章将上述观点进行了扩展，强调了生物膜是类似于由微生物构建起的城市。总的来讲这些研究生物膜的学者所想表达的观点是，这些微生物构筑的结构是有意义的。然而，认为生物膜能够主动控制这些结构以及它们所生存的环境的看法还是应当谨慎地提出，因为现有的证据还不能有力的支持这一观点。然而，很多研究者还是提出了微生物在表面趋于形成复杂的结构，虽然原因还不明确。在自然以及工程系统中，可以观察到一系列结构迥异的生物膜，从密实无定形、结构相对均匀的生物膜到结构发育良好、粗壮的生物膜。

本章将讨论生物膜结构与功能之间的关系。生物膜结构是指生物膜内生物量的空间分布，或者指孔隙的互补性分布，然而多数时候这种概念是比较模糊的。被较宽的孔隙所分散的生长良好的微生物群落所组成的生物膜被普遍认为“结构不均匀”，生物膜中的绝大部分生物量都包含在微生物群落中。当提及一个不均匀的生物膜，都认为是结构上的不均匀，如果指其他方面的不均匀性，通常都会有详细的说明，如生理的、化学的、生态学上的不均匀。由于研究者对生物膜感兴趣的方面有所不同，不同的人有不同的观点，因此定义生物膜的功能也存在不同的学术观点。为了构建这样一个定义，生物膜可以被看作是只具备某种活性，而功能一词则与生物膜的此种活性对人类产生的主要影响直接相关，生物膜功能则通过这种活性表现出来。例如，对于形成的牙菌斑来说，主要的作用就是使牙齿腐烂，而对于受微生物影响的腐蚀来说，生物膜的主要功能就是加速阳极金属的溶解（自然条件下构成的微电池）。同样，对于用来进行生物修复的生物膜，其主要功能就是将有毒化合物转换为较为稳定的低毒分子形态。生物膜的功能有时也指其表现出的特殊的生理反应，如硝化、反硝化，或硫酸盐还原（表现出的功能分别为对氨、硝酸盐、硫酸盐的去除）。很明显，生物膜的功能是一个模糊的定义，它包含了较为广泛的意义，针对具体的问题都应该有相应的定义。因此，本章中生物膜功能是指其对底物的转化。从此定义出

发，生物膜功能可以通过底物总体或局部转化率进行评价，其功能还可量化地与生物膜结构相关联。

1.1.1 生物膜的结构以及非均匀生物膜的概念

由于许多试验结果采用均匀生物膜模型观点无法解释，因而人们提出了非均匀生物膜模型的概念，下面将通过几个例子对该模型的提出背景及其概念进行具体说明。

Drury 等在生物膜生长过程中曾引入荧光微乳胶颗粒（直径为 $1\mu\text{m}$ ）来研究它们在生物膜中的迁徙规律。实验假设这些颗粒生物膜表面沉淀后，会随着生物膜内细菌的生长而扩散开。从生物膜均匀模型的观点出发来看，这些颗粒的分布将垂直于载体表面。在某种意义上来说，颗粒模拟的是生长速率为零的细菌的状态，随着时间的推移这些颗粒会被生长较快的微生物挤出。但实验结束后对生物膜切片，发现大多数颗粒存在生物膜底部靠近载体的部位。这一结论显然与均匀模型的观点相矛盾。如果生物膜是由连续凝胶状介质组成的，那么这些颗粒将无法到达生物膜的底层。显然，均匀生物膜模型不能给出一个合理的解释。而在另一方面，利用非均匀模型则可以这样解释这一现象：颗粒在生物膜的间隙中迁移并滞留在孔道中，这些孔道通常可以直达生物膜的底部。这项技术现在已被应用于研究生物膜内部的流速：将荧光颗粒注入到生物膜的单一孔隙或孔道，然后利用共聚焦扫描激光显微镜（CSLM）来观察它们的运动情况（图 1-1）。

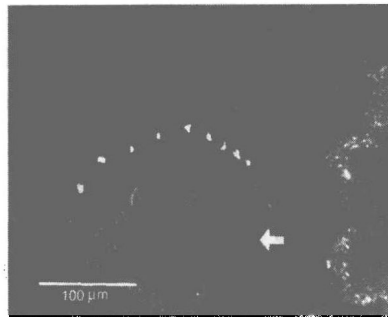


图 1-1 生物膜结构的 CSLM 照片（荧光微乳胶颗粒已被注入生物膜中并会沿着其中的孔道移动，箭头标示的是水流的方向，Stoodley et al, 1994）

如果生物膜在金属表面形成连续的层状结构，那么由于它们在近表面处消耗阴极主要反应物质氧，它们对金属的腐蚀将会减慢而非加速，这也是人们在讨论微生物造成的腐蚀（MIC）问题时经常争论的问题。但大量的实验现象表明用均匀生物膜模型时无法对该现象作出合理的解释。而在非均匀生物膜中，氧可自由地通过孔隙穿透生物膜直达基质表面，形成溶氧梯度从而加速对金属的腐蚀。生物膜内存在溶解氧梯度的观点虽然无法解释整个 MIC 过程，但这确是一个已知的现象。另外，溶解氧梯度的作用也在一些实验中得到证实。Lee 等研究发现，由于氧被微生物所消耗会促进硫酸盐还原菌的生长，硫酸盐还原作用直接影响近金属表面的化学及电化学性质，从而会产生更为持久的二次腐蚀作用。

用微电极来测定生物膜内的化学性质可以用来辅助证实生物膜活性模型。微电极的尖端直径约几微米，可以穿透进入生物膜内部进行浓度测定，其结果更加具有空间效果。这些测定结果对观察生物膜内部空间的化学性质来说极具价值。然而，由于在不同位置的测

量结果在一定范围内差别较大，并且不能用试验误差法进行验证，因此无法将微电极法用于生物膜活性数学模型的验证。生物膜活性的数学模型描述的是一定表面面积内生物膜的活性，而不仅仅针对的是单个点。有研究人员尝试通过微电极得出生物膜一定面积内的平均底物消耗速率，但发现这个参数的变化幅度很大。由于没有一个独立的技术来证实微电极的测试结果，因而微电极的测定结果也常常被怀疑不够精确。通过新技术手段得到的生物膜内部空间的共聚焦图受那些致力于开发微电极的学者们的高度关注，如图 1-2 所示。从图中也可以看出生物膜呈现出了明显的非均匀性。该图还可以解释为什么在生物膜的不同位置测出的相关化学指标数据存在如此大的差距。事实上，正如联合微电极测试和共聚焦显微镜分析的结果所揭示的，生物膜的非均匀性会强烈的影响利用微电极测定的化学指标数据。

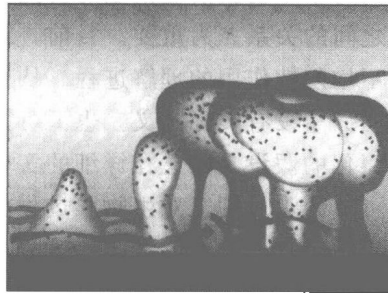


图 1-2 基于 CLSM 照片观察绘出的混合细菌形成的生物膜假设结构示意图
(离散的微生物微群落被孔隙中充满了水的通道网包围着，
图中箭头指示的是水通道中的对流方向)

最初研究生物膜内部的流体流速分布是采用核磁共振成像 (NMRI) 技术来实现的。研究认为，生物膜被导管壁覆盖后，仅仅会降低导管的尺寸。流速会随着与生物膜表面距离的减小而越来越小，并最终在生物膜表面时为零。然而，经过仔细对生物膜内部流速测量发现，流速在导管表面降为零，而不是如预期所想的在生物膜表面减小为零。同样，在非均匀生物膜中也会有这种现象，在非均匀生物膜中水可以在内部孔隙间流动。现在，非均匀生物膜中单个孔穴中的流速已经是常规测定的内容。

上述的几个例子是使生物膜结构的概念模型发生改变的几个实验结果。根据新模型，生物膜是由被间隙分散的微生物群落构成的。微生物群落是由胞外多聚合物及致密的微生物组成的。这些聚集体之间的孔穴充满了水，还可能充满了与单个微生物群落相连接的胞外聚合物。不同的生物膜内微群落的外形也不甚相同，这个事实成为不同研究小组的议题。尽管各个研究小组在微生物群落形态的观点、非均匀性的外延以及研究技术上存在一些不同，但总的结论是生物膜在结构上是不均匀的。图 1-1 所展示的是由被间隙分散的微生物群落构成的生物膜图片，而图 1-2 显示的是一个根据图 1-1 推导出来的理想化的生物膜模型，图 1-2 中微群落的外形呈蘑菇状。

根据图 1-2 所示的内容，非均匀生物膜可以认为是由 4 个部分组成的：a. 致密的底层；b. 圆形的微生物群落；c. 横向条带，用于连接微生物群落的条状胞外聚合物；d. 内部孔穴。底层是不连续的，在某些位置，载体基质是暴露的。在致密的底层的上方是圆形的微生物群落，这些微生物群落中间充斥着胞外多合物及致密的微生物，并由拉长的横向

条带向外延伸。微生物群落被由内部孔穴所形成的内部通道网所分散，由此形成了生物膜多孔性结构的特点，水可以在网状通道中自由流动。

我们知道，当生物膜趋于老化时，半连续的底层变得更加致密，厚重并且积累了系统中获取的各种颗粒。而上层由圆形微生物群落及横向条带组成的生物膜仍保持不变。新的研究表明，随着时间的推移，底层生物膜的孔隙率将明显低于上层。目前还不确定底层孔隙率的降低是否由于生物膜在底层的生长和扩张还是其积累了上层生物膜碎片以及一些残骸所造成的。自由流动的颗粒会滞留于生物膜的孔穴中，就如 Drury 的实验中应用的荧光颗粒一样。

对微生物生态学者及生物膜活性数学模型的研究者来说，生物膜结构上的不均匀性对他们提出了不同的挑战。对于微生物生态学者来说，弄清微生物如何以及为什么会组成这样的一个结构是十分重要的。而对于生物膜活性模型的研究者来说，确定非均匀结构、传质速率和机理以及微生物活性之间的关系尤为重要。目前，对非均匀生物膜的数学描述仍不充分，从而阻碍了对生物膜不均匀性作用的理解进程。从模拟的角度来看，描述单个微生物群落和单个孔道的活性空间分布没有实际意义，也不可能实现。这需要提出一些简化的假设。关键之处在于，这些简化的假设是建立在详细的实验结果上的而不仅仅是为了计算方便。最终，这些数学模型可从微观尺度上对生物膜过程的关系以及从宏观尺度上生物膜系统的性能进行量化的数学模拟。

1.1.2 非均匀生物膜内的底物浓度变化曲线

溶解性底物按着浓度梯度的方向从液相主体向生物膜传输，并且在生化反应中被消耗。而生化反应产生的废弃物则循着相反的路径回到液相主体。因此，生物膜中底物的利用率可能会受到生物膜活性（速率限制反应）或传递到细胞内的底物浓度（在生物膜表面或通过生物膜主体时传质受限）的影响。大多数的生物膜都是传质受限的，因为底物消耗的速度要比底物传递到生物膜上的速度快。在均匀生物膜中，各个影响底物浓度的因素间复杂的相互作用采用一维的数据就能较好解释，比如氧的浓度变化曲线。在非均匀生物膜中决定底物浓度的机理是相同的，由于微生物群落的结构特点，其在三维方向上都有影响。假设生物膜主体是连续的、均匀的、平坦的，并且在生物膜表面没有底物的消耗，那么主要有三个影响氧浓度曲线的因素，分别是流体动力学、传质以及生物膜活性。系统中氧的传递主要是靠对流及分子扩散作用，这两个过程的传递速率随生物膜内位置的不同而异，且取决于局部流速。在系统中，从液相主体到生物膜底部氧的空间分布表示为氧的浓度曲线。在一个稳定相中，系统中每一点上的氧浓度是恒定的，由从液相主体传递到该点的氧与该点消耗的氧相互平衡。在生物膜表面有两个边界层，一个是流体动力学边界层，另一个是传质边界层，这两者的存在是水黏度和底物扩散的直接结果。由于具有相同的纲量可以在数值上进行比较，水溶液的运动黏度大于氧的扩散系数几个数量级，因此动力学边界层要比传质边界层厚。从而，后者包含在流体动力学边界层内，并且接近生物膜的表面。氧气要穿越这两个边界层才能到达生物膜。在远离流体动力学边界层的液相中，流速较快，对流传质效率高，氧均匀地分布在液体中。而在流体动力学边界层内靠近生物膜表层的的地方，甚至在传质边界层内部，流速降低且对流效果也下降。因此，在这个区域内氧的传递速率下降，这可以通过生物膜表面氧浓度曲线的弯曲得到反映。在生物膜内部存在

另一个作用，即生物对氧的消耗，使得氧浓度曲线由向上弯曲变为向下弯曲。从计算角度出发，这两部分氧浓度曲线可以用满足相同边界条件的不同边界方程来描述，即生物膜表面上的氧通量应该相等。在生物膜表面下的传质则完全依靠分子扩散作用。利用上述条件，氧浓度曲线的形状就可以通过数值分析出来，并且能够建立通过氧浓度曲线计算生物膜反应的动力学参数的相关步骤。

如前所述的一维生物膜概念模型，假设溶解性底物是垂直于膜载体表面传输的，沿着载体表面的传质可以忽略。在非均匀生物膜中则不是这样的。在这里，每个微生物群落作为一个实体，边界层和局部浓度曲线的形状都受到单个微群落的活性、空间分布，以及局部流体动力学的影响。这会使得浓度曲线有回旋的现象，如图 1-3 中氧浓度曲线变化所示。

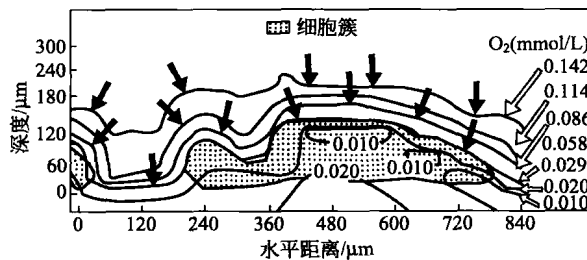


图 1-3 微群落内外的氧分布情况（图中实线为氧等压线，箭头指示的是氧的传递方向，总是和活性表面是垂直的。值得注意的是，虽然在群落中间已经是缺氧状态，可是在底部仍可检测到氧的存在，这也证实了底部的氧是通过孔道传递到的，不是仅仅经过群落内部的扩散作用。DeBeer et al, 1994）

1.1.3 非均相生物膜内的流体动力学

流体动力学在生物膜生长的每个阶段都会对其产生影响。生物膜的累积是细胞附着、脱落和生长等表现出的净增殖效果，而这些过程都受到流体动力学的影响。Bouwer 指出生物膜形成过程中表面不断增加的无规律性可以通过三个方面来影响颗粒的传输速率以及生物膜的附着速率，即：a. 生物膜表面增加的对流传质；b. 对剪切力的掩蔽；c. 增大了可被附着的面积。在成熟的生物膜内，底物的代谢受到传质速率的控制，而传质速率受到流体动力学的影响。同时，生物膜的腐败和脱落也都受到流体动力学的影响。

生物膜活性数学模型也假设了相邻流速分布。通过 NMRI 及直角导管平板生物膜反应器证实了这些假设是非常重要的。试验中的流速都在几厘米/秒的范围内，因为 NMRI 不能在高流速下工作。图 1-4 给出了两个相同反应器中流速的分布，其中一个带有生物膜。

可以认为，如果生物膜的积累会造成表面粗糙度的增加，那会同样延长反应器入口长度（入口长度即流体从反应器入口到流体完全形成的位置所要流经的距离，如对于层流，就是流速的抛物线分布）。在相同的流速下，生物膜反应器的入口长度要比普通的反应器的长。Lewandowski 等研究者在相同距离处测定了两个反应器中的流速。如图 1-4 所示，当没有生物膜的反应器中的液体流速依然在中间部分形成喷射状时，生物膜反应器中的流速已经是抛物线形的了。这个结果告诉我们，在生物膜反应器内流速已经达到稳定状态，

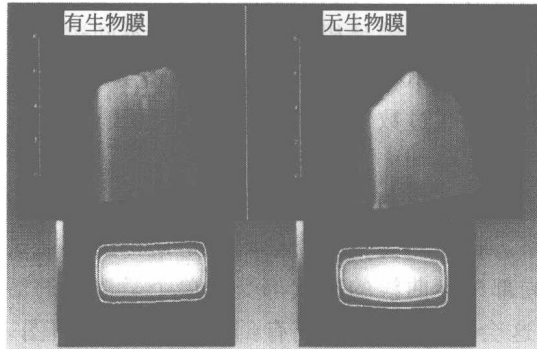


图 1-4 矩形导管在没有和存在生物膜的情况下流速分布的 NMRI 照片
(Lewandowski and Altobeili, 1994)

而在未形成生物膜的反应器中，流速是不稳定的。而这与我们预期的正好相反。这是由于生物膜兼具黏着性。生物膜是镶嵌在黏性的胞外聚合物中的微生物。生物膜会增加表面粗糙度的推测是基于刚性粗糙物质的概念。然而这个概念似乎又不能应用于生物膜，并且具黏着性的聚合物的行为与刚性粗糙物质不同。由于粗糙物质在边界层中是凸出状的，因此生物膜不会驱散动力学能量。相反，由于具有弹性，它们可以在水中运动。我们将这种容易与边界层发生反应的表面称为适应表面，他们的变形可以稳定孔道内的流体。因此，生物膜可以缓解发生在主要孔道内的湍流。

当把图 1-4 进行数字化后，另一个出乎意料的结果产生了：反应器中生物膜的厚度在 $200\sim 250\mu\text{m}$ 之间，而预期的从反应器壁到此距离的流速应该达到零，然而流速在反应器表面才达到了零，这是生物膜表面下 $200\mu\text{m}$ 的地方。由此，研究者得出如下结论：水在生物膜内部流动。这个结论后来通过向生物膜内注入荧光小球并用 CSLM 观察其轨迹的试验所证实。

大多数工业设备中的生物膜都是暴露于紊流流体，而实验室中的生物膜则生长于层流流体中。为了充分了解流体力学对生物膜生长的影响，Lewandowski 和 Stoodley 对几个在高流速条件下的平板反应器进行了研究。随着生物膜的积累，对反应器的压降进行了几天连续的监测。正如预期的，压降随着时间而增加。而在低流速操作条件下的一些反应器的压降要比高流速条件下的高。这同样是由于生物膜具有黏着性与弹性的特点。微生物群落是由镶嵌在凝胶状胞外聚合物中的细菌细胞组成的，它们在外力作用下可以改变形状。在高流速条件下，水力边界层从微生物群落边缘脱离，造成压差阻力，使微生物群落沿流速方向运动。由黏弹性材料构成的微生物群落在张力条件下缓慢流动，形成很长的形状称之为流束（图 1-5）。这种流束通常出现在高流速生长条件下的生物膜中。流速移动速度快并且分散了水流的动力学能量，这由压降来反应。流束有规律的振动会传递给下层的微生物群落。如预期设想的，随着流速的加快，该流束最终会失去稳定性而从母体微生物群落上剥离。正因为如此，研究者认为，高流速下形成流束比低流速下形成的要短。进一步讲，如果压降与流束的长度成正比，就解释了为什么低流速条件下运行的生物膜反应器的压降要高于高流速条件。

总之，当讨论生物膜中的流体动力学时，应该牢记以下两点：一是生物膜是由具有黏

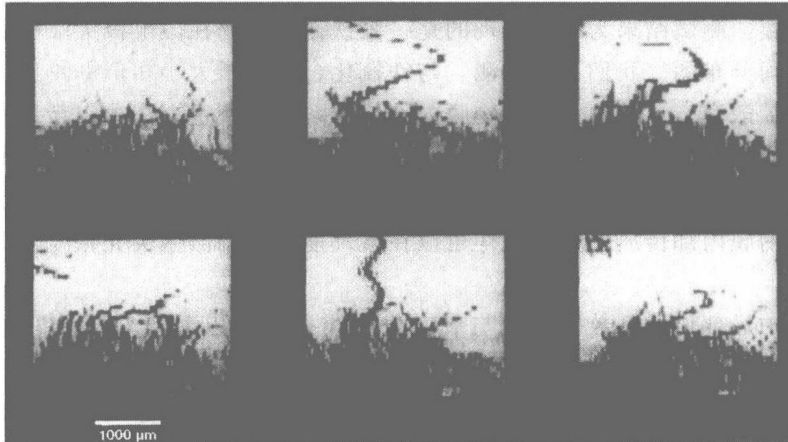


图 1-5 生物膜表面发育良好的流束（图片依次给出的是生物膜黏附在反应器内壁上的正面视图，Lewandowski and Stoodley, 1995）

弹性的聚合物构成的；二是水力学可以改变生物膜结构。就现有研究成果的理解，低流速条件下形成的生物膜应该是适应表面，是水力学上的光滑表面且能够稳定水流。但当生物膜暴露在高流速条件下，他们的振动加快，最终，振动频率不及涡流频率。此时，生物膜的振动是不协调的，生物膜不仅无法控制水流的紊动，反而由于其在不同频率下的无序振动使水流的紊动加剧。此时，压降迅速增加，超出对刚性粗糙元素预期值的几倍。这种现象在得到正确的解释之前已经被一些研究者观察到了。

1.1.4 非均匀生物膜内的传质

大多数生物膜活性数学模型都假设溶解性底物在液相主体中的传递受到对流的控制，而在生物膜内受到分子扩散的控制。这个假设反映了这样一个事实，就是接近表面处流速降低，使得近生物膜处的对流作用可以被忽略。我们也同样用此假说解释微电极在生物膜内部测得的化学指标浓度梯度。然而，这个假设与试验结果或者非均匀生物膜模型不一致。考虑到生物膜内部传质与微生物活性间的关系，有两个重要因素来区分非均匀生物膜和均匀生物膜，即：a. 非均匀生物膜的活性表面积要远远大于它们覆盖住的面积；b. 水可以在非均匀生物膜内流动，并将营养物质运送到生物膜更深的地方。有研究者也试图对此类生物膜内的传质动力学进行量化。

在现有的有限技术的基础上，微电极被开发用于研究生物膜内部的传质机理，测定局部传质系数以及局部有效扩散率。局部的定义是指微电极尖端附近的传质效率。为了评价局部扩散率，研究者们采用尖端直径为 $10\mu\text{m}$ 的阴极极化微电极来测定加入生物膜反应器内的铁氰化物在局部的消耗。将铁氰化物 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 溶解在适当的电解质中代替营养物质，使铁氰化物与生物物质平衡，即，检测不到生物物质对铁氰化物的还原作用。然后将阴极极化的微电极穿入生物膜内，在微电极尖端，铁氰化物被转化为氰亚铁酸盐 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ 并产生电流。产生的电流与铁氰化物的还原速率成正比，同样也与微电极尖端附近的传质速率成正比。通过上述测定就可以计算出局部传质系数。通过对微电极在含有已知浓度及扩散率的铁氰化物的琼脂层中进行校正，还可以建立局部限制电流密度与局部扩散率的直

接关联。微电极技术比微注射荧光染料这项早期用来评价生物膜内局部传质速率的技术要更方便、更快捷。测试结果为我们呈现的是一张铁氰化合物在微电极尖端探测范围内的有效扩散率的空间分布图。我们可以预测，与铁氰化合物分子大小相似的物质，在生物膜内应该有相近的扩散率。这种独立的生物膜内部传质系数的测定方法可以帮助我们了解生物膜内的化学物质浓度梯度。同样，这些测定也让我们了解到生物膜对杀菌剂的强烈抵抗力并非是由于生物膜的高扩散阻力造成的；也没有迹象表明非常低的扩散能力是这种现象的原因。决定生物膜内部传质的参数同样可以在微尺度上利用漂白荧光恢复及共聚焦显微镜技术获得。

将生物膜中局部传质系数变化图与氧变化曲线相比可以看到（图 1-6），在薄生物膜内，靠近生物膜表面处氧浓度降低速度与传质系数降低速度不一致。由于生物膜对氧的消耗，生物膜表面处氧浓度降低得更快，而由于传质边界层及生物膜内水体的流动，传质系数相对稳定。对于厚生物膜来讲，这些变化曲线要更为复杂，但总的来说，在生物膜表面处的传质系数变化曲线与氧变化曲线的相关性较差。

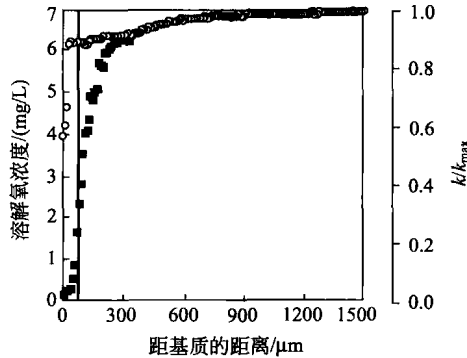


图 1-6 薄层生物膜中溶解氧 (■) 和局部传质系数 (○) 数据
 (纵轴表示的是生物膜的观察厚度。在距基质 $30\mu\text{m}$ 内由于壁效应使得局部传质系数降低。 k/k_{max} 在 $30\mu\text{m}$ 内受生物膜的影响很小。Rasmussen and Lewandowski, 1998)

与其他测定局部传质速率的工具一样，微电极也被校正用于测定非均匀生物膜内孔隙的流速。这是一项特别实用而且有前景的技术手段，而之前用于生物膜内流速分布的研究手段或者十分昂贵 (NMRI) 或者十分烦琐 (用共聚焦显微镜测定荧光颗粒的运动速度)。利用微电极对水体流动的敏感，我们可以看到生物膜孔道中的流速由于受到主导管中水流方向的影响而不同。

1.1.5 生物膜的重现及非均匀性的量化

底物的传输，流体动力学以及微生物的活性均与生物膜的结构有着密切的关系。为了研究这些关系，有些研究者们在三维方向上，依据共聚焦图像、化学物质浓度梯度以及局部扩散率变化曲线来重现生物膜。在电脑的帮助下，收集了大量的与载体基质距离不同的生物膜共聚焦图像（图 1-7）。

这些图像可以被旋转并进行数字切片以提供生物膜内部空间的图像，并用以理解微电

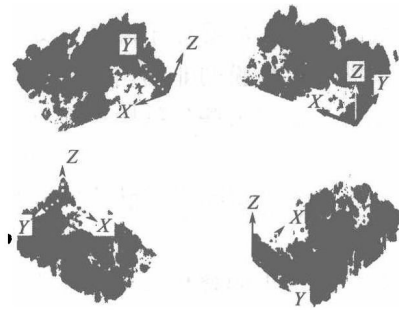


图 1-7 生物膜的 3-D 数字构建图像（可以在 X、Y 和 Z 轴旋转以获得多角度的图像信息）

极测量获得的化学指标在生物膜中的浓度梯度。图 1-8 显示了如何参考生物膜结构来解释生物膜内部扩散率变化的曲线。如果没有生物膜结构的信息，这样的一张曲线图是没有实际意义的。

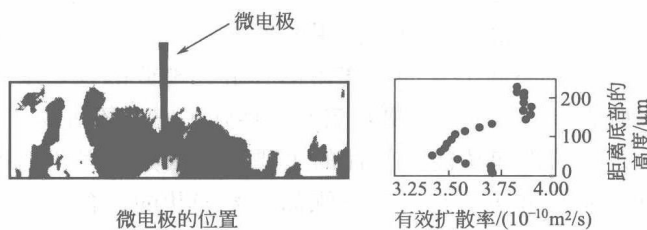


图 1-8 通过和生物膜的内部构造图像（左）信息并排对比得出的有效扩散曲线（右）（生物膜的内部构造可以通过对图 1-7 中的图片从任何角度切片获得。这个结果证明了当群落内部密度增加的时候，有效扩散是降低的）

研究局部生物膜活性与生物膜非均匀性之间的关系，必须将生物膜的非均匀性量化，并将非均匀性作为一个可以与其他变量，如传质速率和流速等相关联的变量。有些研究者们已经尝试用生物膜的密度、空隙率、孔道结构、曲率和分形维数结构来量化非均匀生物膜。同样也尝试将其中的一些参数引入生物膜活性数学模型中。

生物膜的非均匀性最好是通过共聚焦显微镜与图像分析技术的结合以及 3-D 重现得以形象化（图 1-7）。电脑程序已经被设计出来用于从共聚焦图像中获取量化的参数。应用这些参数，我们就可以从数字尺度上分析生物膜的非均匀性，并使之与如传质速率等参数相关联。一些表征生物膜内微生物群落形状及孔隙的参数已经被计算出来，其中的 4 个参数最有意义，即单位面积孔隙率、扩散距离、碎片尺寸以及构造熵。单位面积孔隙率是指孔隙面积占总面积的比，这个值在 0~1 之间，值越小说明膜越密实。扩散距离是图形上的实体点与离它最近的孔隙图像点的最小距离。对于给定的图像，可以计算出平均扩散距离和最大扩散距离。碎片尺寸反映的是生物膜细胞簇边缘的粗糙度，在二维尺度上这个值得的范围为 1~2，数值越大说明其边缘越粗糙。构造熵测定的是生物膜的均匀度，其最小值为零且无理论最大值，其值越大，生物膜越不均匀。我们假设存在有限个特征参数可以描述生物膜的结构，并且这些参数所包含的信息足够反映生长动力学中的变量并且预

测生物膜的功能特征。要找到这些参数，生物膜必须处于稳定的状态。此时其物理结构在分子水平上是动态的，而在显微镜视野中却要处于静态。如果参数接近稳定状态，表现的如预期设想的那样，就可以用来描述生物膜的非均匀性了。最初的试验表明，孔隙率、碎片尺寸、扩散距离就是这类参数，它们在某些生物膜中能够达到稳定的状态。

1.2 生物膜的物理化学性质

以絮体、膜、污泥等形式存在的微生物聚集体不仅具有生化和生物性质，还具有物理和物化性质。这些性质包括机械稳定性、水合特性、扩散、吸附、传质及光学性质，还有摩擦阻力。这些性质主要是由存在于细胞之间并占生物膜有机碳相当一部分比例的胞外聚合物（EPS）所导致的。胞外聚合物的组成有聚糖、蛋白质、核酸和脂类。因此，在 EPS 的支撑作用下生物膜形成了一定的形态和内在结构，包括其表面内在的孔隙和通道。相比于细胞悬浮存在方式，EPS 为细胞在各自的位置上维持较长的停留时间提供了基础和支撑，这促进了底物降解过程中不同的协同微生物种群的形成。生物膜的机械稳定性，例如生物膜的脱落，起到了与上述过程相反的作用。另一方面，当生物膜需要被去除时，则需要克服黏着力和吸附力。三种较弱的相互作用要加以考虑，即氢键、静电作用、范德华力。由于 EPS 中包含了具有不同形式相互作用的种群，种群的数量增加了大分子间的相互作用。胞外酶和聚糖的相互作用使酶更稳定并且增强了它们的活性。

由此来看，EPS 是膜结构和功能完整性的主要决定因素，因此也被认为是决定膜的理化性质的关键组分。EPS 可认为是一个三维的、凝胶状的、含水的局部带电的生物膜基质，微生物镶嵌其中或在一定程度上被固定在里面。在技术系统中，不仅膜的生物性质而且膜的理化性质也很具重要性。比如，如果要将生物膜从固体表面清除，就要克服那些由 EPS 组成的基质聚在一起黏附在表面上的力。换言之，在清洗过程中，不管生物量如何变化，生物聚集体的机械稳定性扮演了重要作用。与生物膜的生物和生化性质相比，关于生物膜的理化性质的研究较少，但理化性质却包括了一些重要的方面，如摩擦阻力（在船身和水管中）、机械稳定性（在清洗和生物膜脱落的预测中）、传质阻力和扩散（在生物膜反应器中）、热交换阻力（在热交换器中）、氢键阻力（在分离膜中）、吸附特性、机理和处理能力（污水池和污染源）、与水的结合力（污泥脱水及表面性质的改变）、光学性质（表面的色度）、对杀虫剂的抵抗力（表面消毒）。

由于生物膜是由微生物所组成，EPS 和其他微生物产物产生的调节是生物所决定的。但是，一旦生物膜形式，不管它的形式是膜、絮体还是污泥，这些聚集体是物理上的团体，并且它们所显示的特性会影响人工和自然的过程。本节以 EPS 为基础，详细讲述了 EPS 的特性以及和生物膜之间的关系。

1.2.1 EPS 对生物膜的作用及物理化学性质

EPS 是生物膜的构建物质，其主要构成为聚糖和蛋白质，但在废水生物膜和活性污泥中，还发现另外一些大分子诸如 DNA、脂肪、腐殖质也是 EPS 的组成成分。很多细菌都能产生 EPS，无论它们以悬浮态还是附着态生存在生物膜中。细胞表面的聚合物和 EPS 对絮体和生物膜的发展及结构的完整性起到了重要作用。它们为微生物之间的相互