

实际重力流排水管道中微生物群落对管道的腐蚀影响

申屠华斌¹,张逸夫²,钱栋³,王浩⁴,柳景青^{2*} (1.上海市水利工程设计研究院有限公司,上海 200061; 2.浙江大学建筑工程学院,浙江 杭州 310058; 3.中国能源建设集团浙江省电力设计院有限公司,浙江 杭州 310012; 4.中国联合工程有限公司,浙江 杭州 310022)

摘要:通过在实际重力流排水管道中选取 10 个典型的腐蚀区域作为研究对象,通过对排水管道对应腐蚀区域的生物膜和水体进行采样,探究实际排水管道不同空间位置上微生物群落分布的差异性以及水质因素对微生物群落多样性分布影响。采用高通量测序方法反映腐蚀区域微生物群落的多样性。结果表明,在排水管道中 10 个典型腐蚀区域中的微生物群落分布结构基本相似,在门水平上主要是变形菌占绝对优势,其次是放线菌门,在纲水平上主要是 α -变形菌纲,其次是 β -变形菌纲两者相对含量之和占到 43.56%,在属水平上的硫酸盐还原菌对管道具有严重的局部腐蚀,包含有 Desulforhabdus, Desulfuromonas, Desulfobacter.RDA 环境影响因子研究发现,在门水平上硫化氢、溶解氧与微生物群落存在一定的相关性,在纲水平上与微生物群落存在相关性的主要是铵根离子、pH 值和 COD。

关键词: 排水管道; 微生物群落; 高通量测序; 管道腐蚀

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2018)11-4284-05

Effect of microbial community on pipe corrosion in the actual gravity flow drainage pipe. SHENTU Hua-bin¹, ZHANG Yi-fu², QIAN Dong³, WANG Hao⁴, LIU Jing-qing^{2*} (1.Shanghai Water Engineering Design & Research Institutue CO.,LTD, Shanghai 210061; 2.College of Civil Engineering and Architecture, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3.China Energy Engineering Group Zhejiang Electric Power Design Institute CO., LTD, Hangzhou 310012, China; 4.China United Engineering Corporation Limited, Hangzhou 310022, China). *China Environmental Science*, 2018,38(11): 4284~4288

Abstract: To explore the differences in microbial community distribution and the influences of water quality on the correlation of microbial community diversity distribution, the biofilms and bulk water in 10 typical corrosive segments in actual gravity flow drainage pipes were sampled as the research objects. The diversities of microbial communities in corroded areas were presented by high-throughput sequencing. The results showed the microbial community structures in these 10typical corrosive parts were basically similar. Proteobacteria were the dominant bacteria in phylum level, followed by Actinobacteria. Alpha-proteobacteria and Beta-proteobacteria account for 43.56% in class level. In genus level, Sulfate reducing bacterium caused severe localized corrosion in pipes, including Desulforhabdus, Desulfuromonas and Desulfobacter. RDA Environmental impact factor analysis pointed out there was certain correlation between sulfuretted hydrogen, dissolve oxygen and microbial community in phylum level. Besides, ammonium ion, pH and COD are the main chemical factors in class level which have correlations with microbial communities.

Key words: drainage pipe; microbial community; high-throughput sequencing; pipe corrosion

排水管网系统是城市重要的基础设施,担负着城市雨水、生活污水以及工业废水的收集与输送的功能^[1-2]。目前,我国城市污水管道都是以混凝土材料为主,排入管道的污水中含有酸性无机物以及有机物的分解对管道的内壁造成了一定程度的腐蚀,在长期运行情况下必将损坏管道结构,造成管道破裂引起污水泄漏^[3]。因此有必要展开对管道腐蚀的研究。

不少学者研究发现,管道中的微生物参与氧化还原反应促使腐蚀过程更加复杂化,同时产生异味气体、腐蚀等危害^[4-5];在大暴雨天气可能导致管道局部塌陷,包含细菌和病毒等大量污染物质将会溢

出,危害公共健康安全、增加环境污染风险^[6-7];因此,了解排水管道中腐蚀微生物的分布和种群结构特征,对污水系统的安全运行和管理具有重要意义。

研究管道腐蚀部位微生物群落的多样性,尤其是各种环境中都能存活且对管道存在严重腐蚀优势菌种非常重要,可在前期有效预防排水管道破裂、坍塌等事故的发生。以往研究复杂的微生物群落主要针对进入处理厂的微生物种群结构^[8-9]和分布

收稿日期: 2018-07-23

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(51678520);水体污染控与治理国家科技重大专项资助项目(2017ZX07201004)

* 责任作者, 教授, LiuJingqing@zju.edu.cn

对硫循环功能菌群内的排水管道生物膜^[10-11],其中大部分使用的是实验室规模的反应器模拟试验。但是,在实际污水管道中发生的生化反应其实是相当复杂的动态的过程,附着在排水管道内壁上生物膜中的微生物可能处于好氧与厌氧交替演变的生长环境,这种相对的复杂环境对于微生物群落生长影响状况尚未明确。复杂的生长环境条件可能影响微生物群落结构与种类,或将导致具有腐蚀严重功能的微生物群落大量滋生,破坏管道结构,继而引发严重的污水管道问题。

因此,本文将对实际重力流排水管道展开研究,对腐蚀严重的典型区域展开调查,探究不同空间位置微生物群落的差异性分布以及影响微生物群落分布的关键环境影响因子。

1 材料与方法

1.1 排水管道概况

研究的排水管道位于中国长三角某城市的污水总管(如图 1 所示),该管段建设于 20 世纪 90 年代,至今已经 20 余年,管道总长约 20km,混凝土材质,管径为

DN800~DN1500 之间,由于管段出现不同程度的腐蚀、破裂需对其进行非开挖修复,在进行修复前进行 CCTV 检测(即管道闭路电视 Closed Circuit Television),本实验根据检测报告筛选出 10 个典型的腐蚀严重的管段进行分析,部分 CCTV 检测如图 2 所示。



图 1 实际排水管道示意

Fig.1 Schematic diagram of actual drainage pipe



图 2 部分排水管道 CCTV 检测
Fig.2 CCTV report for partial drainage pipeline

1.2 生物膜采样

依次对选取 10 个处于不同空间位置的腐蚀管段进行生物膜采样:使用经过酒精消毒的刮刀对管道腐蚀处周边的生物膜进行取样,对采集的样品进行定容,定容后将样品分成 2 份,1 份保存在 4℃ 冰箱中,用于生物膜理化指标和生物量测定;另 1 份保存在 -20℃ 冰箱中,用于后续分子生物学测定。

1.3 化学指标测定

使用 HACH HQ30D 型单路输入多参数数字化分析仪测定溶解氧(DO)、pH 值和 ORP;使用硫化氢库伦检测仪检测硫化氢气体浓度;使用离子色谱法

检测氯离子、硫酸根离子、铵根离子;使用重铬酸钾标准法检测 COD 含量。

1.4 Illumina 高通量测序

提取的样品 DNA 送往上海派森诺有限公司进行高通量测序,采用 Illumina 测序仪测序。获得原始数据后,首先对原始数据进行质量控制(序列长度 200~1000 个碱基对,连续相同碱基对 N<6;模糊碱基 N<1,Q<25)获得最终用于分析的序列,然后应用 QIME 软件,根据序列相似度将序列归为多个操作单元格(OTU)^[12],根据 OUT 列表中的各个样品物种丰富度情况应用软件 mothur 进行操作。

1.5 环境影响因子 RDA

环境影响因子分析就是用来确定环境变量与微生物种群结构之间的显著相关性。

采用统计分析应用软件 CANOCO 4.5 对 Illumina 高通量测序数据和环境因子数据进行统计分析.DCA 用来表示物种的分布梯度长度,梯度的长度小于 3,并作为一个线性数据分布获得,RDA 进行进一步分析.

2 结果与讨论

2.1 不同空间位置上微生物群落的分布

从数据中可以看到在 10 个典型腐蚀区域管道内壁生物膜中微生物群落在门水平上如图 3(a)所示,Proteobacteria(变形菌门)相对含量在所有菌落中占有绝对优势,在 60.64%~72.69% 范围之间,其中 a₅ 和 a₆ 2 个区域相对含量最高达到 70% 以上,这表明在生物膜中变形菌具有较大的生存能力,适用于在恶劣环境中繁殖生长.其次是 Actinobacteria(放线菌门)相对含量约为 7.48%~12.65%,a₅ 和 a₇ 两个腐蚀区域管道中 Actinobacteria(放线菌门)的数量最高达到 9.0% 以上.而 Acidobacteria(酸杆菌门)相对含量约为 4.12%~6.55%、Bacteroidetes(拟杆菌门)相对含量约为 4.38%~6.74%、Chloroflexi(硫细菌)相对含量 5.11%~6.64%,这 3 种门水平上的菌种相对含量相对于其他菌来说含量几乎差不多,这表明 Acidobacteria(酸杆菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)、Chloroflexi(硫细菌)在腐蚀管道生物膜中生存能力几近类似.Firmicutes(硬壁菌门)在 a₁~a₅ 中 相对含量相对较低约为 1.25%~4.73% 之间,而 a₆~a₁₀ 之间该菌相对含量较高约为 5.11%~6.98%,这表明该类菌门在不同区域,生长繁殖受到影响,可能不同区域上环境影响因子抑制或促进该菌门的生长.

其它门水平微生物群落相对含量则较低.Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)相对含量约为 0.18%~2.12%,Nitospire(硝化螺旋菌)约为 1.03%~3.29%,Cyanobacteria(蓝细菌)约为 0.54%~1.72%,Planctomycetes(浮霉状菌)约为 0.27%~2.29%,这些菌可能相对于 Proteobacteria(变形菌门)、Acidobacteria(酸杆菌门)、Actinobacteria(放线菌)其相对生存能力较弱,不具有较大的生存竞争优势,因此其含量相对较少.

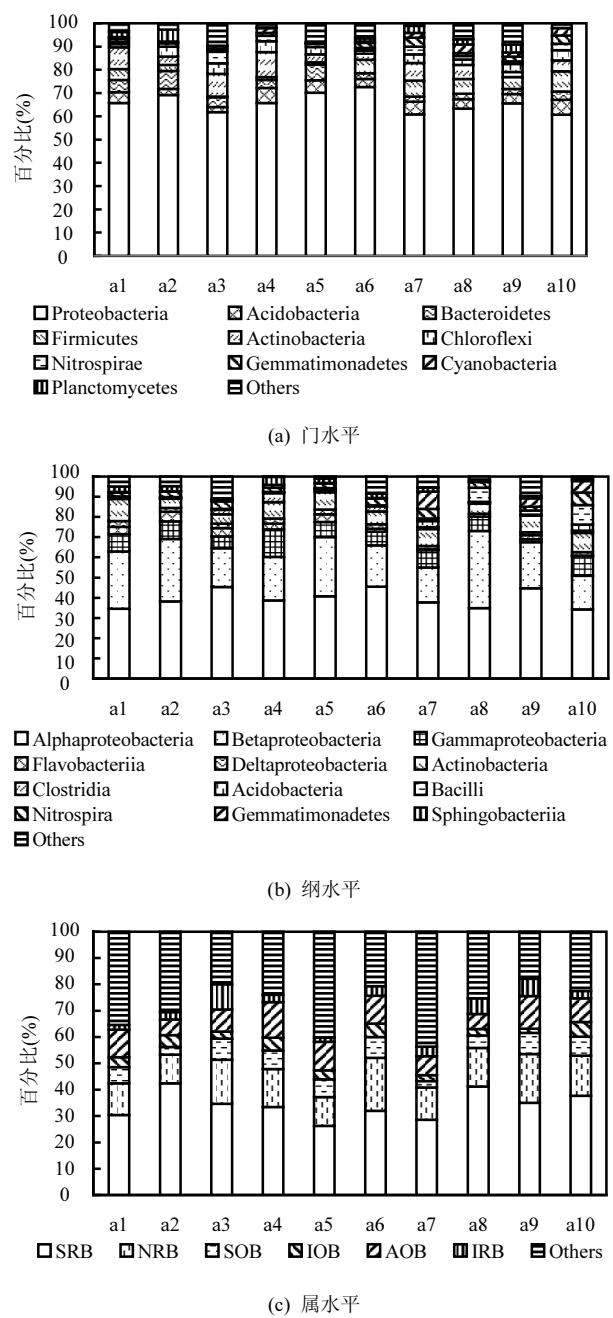


图 3 10 个典型腐蚀区域微生物群落结构组成
Fig.3 Microbial of community structure of 10typical corrosion regions

分析纲水平上的数据如图 3(b)可以发现在纲水平上的微生物群落相对含量最高的是 Alphaproteobacteria(α -变形菌纲),占到 34.31%~45.26%,其次是 Betaproteobacteria(β -变形菌纲),相对含量占到 19.25%~30.97%,这两类菌在所有纲水平上的菌中具有较强的生存优势,两者相对含量之和占到 43.56%.而 Gammaproteobacteria(γ -变形菌纲)和 Actinobacteria(放线菌纲)的相对含量相差不大,分

别为 6.94%~9.87% 和 6.44%~10.92%, 值得注意点是 Alphaproteobacteria(α-变形菌纲)、 Betaproteobacteria(β-变形菌纲) Gammaproteobacteria(γ-变形菌纲) 和 Actinobacteria(放线菌纲) 这 4 种菌在 10 个典型腐蚀区域含量基本相似, 分布较为均匀由此可见在一定程度上空间差异并未造成这几种菌含量的差异。

Flavobacteriia(黄杆菌纲)、 Deltaproteobacteria(Δ-变形菌)、 Sphingobacteriia(鞘氨醇杆菌) 这 3 种菌在 $a_1 \sim a_5$ 之间相对含量较高, 分别是 3.94%~4.73%, 2.01%~2.54% 和 8.12%~10.92%; 而在 $a_6 \sim a_{10}$ 之间相对含量则较低, 分别为 0.56%~2.07%, 1.55%~2.19% 和 1.04%~2.35%。与之形成对比的是 Acidobacteria(酸杆菌门)、 Bacilli(杆菌纲)、 Gemmatimonadetes(芽单胞菌纲) 在 $a_1 \sim a_5$ 之间相对含量较低, 分别是 0.32%~0.59%、 0.23%~0.45% 和 0.17%~1.54%, 而在 $a_6 \sim a_{10}$ 之间相对含量分别为 1.33%~3.15%, 2.01%~7.02% 和 4.15%~8.65%, 这些数据表明这些菌在不同空间上分布差异性较大, 易受环境因素的影响。

在属水平如图 3(c) 上的微生物群落按功能进行归类发现生物膜中含有腐蚀细菌有 SRB(硫酸盐还原菌)、 SOB(硫氧化菌)、 AOB(氨氧化菌)、 NRB(反硝化细菌)、 IOB(铁氧化菌)、 IRB(铁还原菌) 等。通过统计分析发现 SRB 在总的菌属中占有较大相对含量, 达到 28.54%~42.43% 之间, 有的学者有研究表明 SRB 的存在将会对管道局部造成严重腐蚀, SRB 包含有 *Desulforhabdus*(热硫还原杆菌属), *Desulfuromonas*, *Desulfobacter*(脱硫单胞菌属), *Desulfobulbus*(脱硫球菌属), *Desulfovibrio*(脱硫弧菌), *Desulfosarcina*(脱硫叠球菌属), *Desulforegula*(脱硫杆菌属), 这些细菌会将硫酸根还原成硫化氢气体, 进而氧化成硫酸, 对管道顶部造成严重腐蚀。NRB 菌和 AOB 菌种相对含量分别约为 12.35%~18.54% 和 7.15%~10.88%, NRB 菌和 AOB 菌的存在影响着污水管道中氮的循环。在管道内壁表面遭到腐蚀, 水泥脱落, 其中的钢筋逐渐裸露出来, 此时, IOB 菌的存在将会促进金属的腐蚀, 对于管道内壁腐蚀严重, 损坏比较大的管道腐蚀区域点如 a_2 、 a_4 、 a_6 和 a_{10} 区域的 IOB 相对含量较高, 约为 4.54%~5.64% 之间, 较好验证 IOB 菌含量越多, 腐蚀越严重的观点。

3.2 微生物群落与环境因子之间的关联性

研究表明排水管道中的微生物群落受环境因

素的影响, 为了更清楚了解排水管道中的 DO、 ORP、 COD、 铵根离子、 硫酸根离子对微生物群落的影响作用, 采用 RDA 对环境因素和微生物群落进行分析, 如下图所示(a) 表示在门水平上微生物群落与环境因子之间的关系, 分析数据表明 H_2S 气体与 Bacteroidetes(拟杆菌门)、 Acidobacteria(酸杆菌门)、 Proteobacteria(变形菌门) 存在显著正相关性, 与 Actinobacteria(放线菌门) 和 Gemmatimonadetes(芽单胞菌门) 为显著负相关关系。而与溶解氧 DO 存在显著相关性的微生物群落为 Cyanobacteria(蓝细菌门) 和 Proteobacteria(变形菌门), 与 Actinobacteria(放线菌门) 和 Gemmatimonadetes(芽单胞菌门) 同样为显著负相关关系。

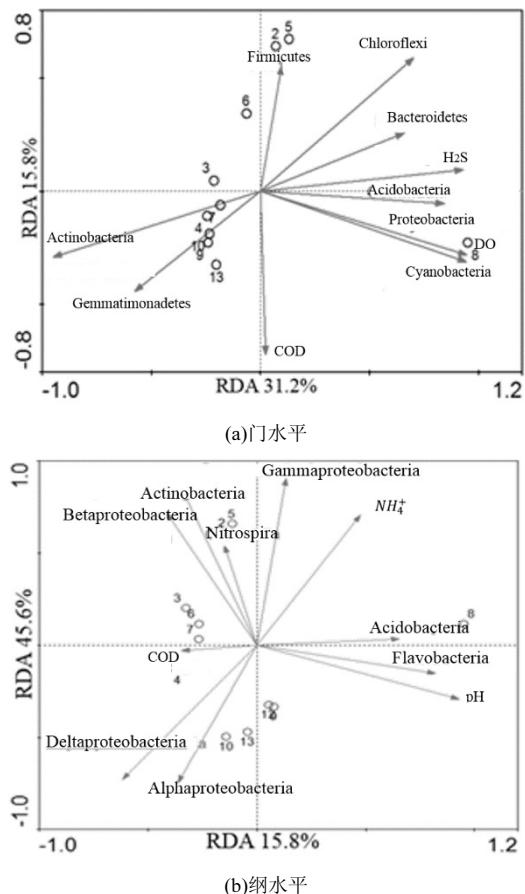


图 4 水质与微生物群落之间的 RDA

Fig.4 Redundancy analysis of between bacteria community and water quality

在纲水平上发现与微生物群落存在显著相关性的主要环境因素是铵根离子、 pH 值和 COD。从图 4(b) 中可以看出 pH 值与 Flavobacteriia(黄杆菌纲)、 Acidobacteria(酸杆菌门) 之间为显著正相关关系, 而与

Betaproteobacteria(β -变形菌纲)、Actinobacteria(放线菌纲)为显著负相关关系。铵根离子与Gammaproteobacteria(γ -变形菌纲)、Acidobacteria(酸杆菌门)存在显著正相关关系,与Alphaproteobacteria(α -变形菌纲)和 Deltaproteobacteria(Δ -变形菌)为显著负相关关系.COD 与 Betaproteobacteria(β -变形菌纲)和 Deltaproteobacteria(Δ -变形菌)之间为显著正相关关系,与 Actinobacteria(放线菌纲)和 Flavobacteriia(黄杆菌纲)则为显著负相关关系。

3 结论

3.1 排水管道中微生物群落在门水平上主要是变形菌占绝对优势,其次是放线菌门,在纲水平上主要是 α -变形菌纲,其次是 β -变形菌纲两者相对含量之和占到43.56%,在属水平上的SRB对管道具有严重的局部腐蚀,包含有 *Desulforhabdus*(热硫还原杆菌属), *Desulfuromonas*, *Desulfobacter*(脱硫单胞菌属).

3.2 通过RDA环境影响因子研究发现在门水平上H₂S、DO与微生物群落存在一定的相关性,在纲水平上与微生物群落存在相关性的主要是铵根离子、pH值和COD.

参考文献:

- [1] Hong H P. Inspection and maintenance planning of pipeline under external corrosion considering generation of new defects [J]. Structural Safety, 1999,21(3):1123–1131.
- [2] Vlyssides A, Barampouti E M, Mai S, et al. Degradation of methylparathion in aqueous solution by electrochemical oxidation [J]. Environmental Science and Technology, 2004,22(38):6125–6131.
- [3] Whobbsa M G. Nature of the thaumasite sulfate attack mechanism in field concrete [J]. Cement and Concrete Research, 2000,4(30):529–533.
- [4] Wang H, Hu C, Zhang L, et al. Effects of microbial redox cycling of iron on cast iron pipe corrosion in drinking water distribution systems [J]. Water Research, 2014,65:362–370.
- [5] Fabbricino M, Korshin G V. Changes of the corrosion potential of iron in stagnation and flow conditions and their relationship with metal release [J]. Water Research, 2014,62:136–146.
- [6] Zhang X, Mi Z, Wang Y, et al. A red water occurrence in drinking water distribution systems caused by changes in water source in Beijing, China: mechanism analysis and control measures [J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2014,8(3):417–426.
- [7] Sun H, Shi B, Bai Y, et al. Bacterial community of biofilms developed under different water supply conditions in a distribution systems [J]. Science of the Total Environment, 2014,472(1):99–107.
- [8] Chen L, Jia R, Li L. Bacterial community of iron tubercles from a drinking water distribution system and its occurrence in stagnant tap water [J]. Environmental Science: Processes & Impacts, 2013,15(7):1332–1339.
- [9] Shamsaei H, Jaafar I O, Basri N. Effects Velocity Changes on the Water Quality in Water Distribution Systems [J]. Research Journal of Applied Sciences Engineeri, 2013,(12):678–685.
- [10] Ren H X, Wang W, Liu Y. Pyrosequencing analysis of bacteria communities in biofilm from different pipe materials in a city drinking water distribution systems of East China [J]. Environmental Biotechnology, 2015,99:10713–10724.
- [11] Gerke T L, Maynard J B, Schock M R, et al. Physiochemical characterization of five iron tubercles from a single drinking water distribution system: Possible new insights on their formation and growth [J]. Corrosion Science, 2008,50(7):2030–2039.
- [12] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nat. Methods, 2010,7(5):335–336.

作者简介:申屠华斌(1991-),浙江金华人,男,浙江大学硕士研究生.主要从事给排水设计与研究工作.发表论文3篇.