

活性污泥驯化的微生物生态学原理

朱铁群* 李凯慧 张 杰

(华北水利水电学院 郑州 450011)

摘 要: 活性污泥是一种复杂的、具有生物多样性的微生态系统。生物多样性是活性污泥驯化的基础, 驯化条件对微生物进行选择——适者生存增长, 不适者被抑制或淘汰。此外, 活性污泥微生物还能够通过表型适应和进化性适应主动地去适应驯化条件。活性污泥驯化的过程是微生物生态位在生态系统中重新分配和调整的过程, 符合生态学“选择与适应”的原理。依据这种原理, 原污泥、废水水质和处理工艺是影响活性污泥驯化的主要因素。

关键词: 活性污泥驯化, 微生物多样性, 选择与适应, 影响因素

Microbial Ecology Principle of Activated Sludge Acclimation

ZHU Tie-Qun* LI Kai-Hui ZHANG Jie

(North China Institute of Water Conservancy and Hydroelectric Power, Zhengzhou 450011)

Abstract: Activated sludge is a complicated microbial ecosystem that has diversity. Based on the diversity, microorganisms are selected by acclimation condition: the survival of the fittest, otherwise eliminate through selection or contest. Moreover, microorganisms in activated sludge acclimatize themselves to acclimation conditions. In the process the ecosystem distributes and adjusts microbial niche over again. The theory of “selection and acclimatization” may be used to explain the mechanism of activated sludge acclimation. So then, original sludge, wastewater quality and treating process are major influencing factors for activated sludge acclimation.

Keywords: Activated sludge acclimation, Microbial diversity, Selection and acclimatization, Factors of influence

基于活性污泥法的污、废水处理厂是一种遍及世界、规模庞大的生物处理工业^[1], 活性污泥驯化则是污、废水处理厂启动和运行的关键环节。对于那些难以生物处理的工业废水, 活性污泥驯化的意义显得更为重要。通过活性污泥驯化可以有效地处理高盐度废水^[2], 也可以处理富含芳烃和重金属的工业废水^[3-5]。虽然活性污泥驯化已经应用了近百年, 但人们并不十分了解活性污泥驯化的机理, 只是推

测可能涉及到微生物细胞启动诱导酶的合成和微生物群落正向自发突变的积累^[6]。近十几年, 分子生物学技术广泛应用于活性污泥研究^[7], 活性污泥的微生物群落结构和驯化期间的变化被逐渐揭示出来。大量研究结果表明, 活性污泥驯化符合生态学的“选择与适应”原理。依据这种原理, 原污泥、废水水质和处理工艺是影响活性污泥驯化的主要因素。

* 通讯作者: Tel: 0371-66090980; ✉: zhutiekun@ncwu.edu.cn
收稿日期: 2007-08-28; 接受日期: 2007-10-26

1 活性污泥的多样性

活性污泥是由多种微生物种群组成的微生物群落,群落微生物的多样性和微生物种群物质代谢类型的多样性是活性污泥多样性的基础。

1.1 微生物的多样性

微生物的多样性是指微生物群落中物种的数量和每个物种的个体数量的丰富度。应用分子生物学

技术和 16S rRNA 分类方法,分析不同来源的活性污泥,可以比较全面地了解活性污泥群落中的细菌种群结构。表 1^[7]的研究成果显示:活性污泥的细菌类群涵盖 13 个门类,活性污泥的细菌门类构成、每个门类的相对丰富度和每个门类的种的多少与活性污泥的来源有关,细菌种类的变化范围为 16~76 OTUs (操作分类单位)。

表 1 废水处理厂和反应器活性污泥的微生物群落结构
Table 1 The microbial community structures of activated sludge from wastewater treatment plants and reactors

活性污泥的来源 (Source of activated sludge)	每种细菌门类的相对数量(%) (每种细菌门类 OTUs 的数目) Bacterial phyla (%) (Number of OTUs in respective phylum)												
	Proteobacteria					Bacteroidetes	Acidobacteria	Firmicutes	Actinobacteria	Nitrospira	Verrucomicrobia	Planctomycetes	Chlorobi
	α	β	γ	δ	ϵ								
1	3(1)	51(9)	17(7)		15(1)		10(5)			2(1)			2(1)
2	26(15)	31(9)		2(2)				5(3)	1(1)	1(1)	2(1)	3(2)	12(10)
3	13(8)	34(20)	8(4)	3(3)	2(2)	5(5)	3(2)	1(1)	4(3)	3(3)	1(1)	13(9)	4(3)
4	17(15)	26(13)	10(9)	1(1)	7(5)	13(9)	7(5)		2(2)	2(2)	1(1)	9(8)	3(3)
5	16(8)	9(2)	8(3)	4(2)	4(2)	6(1)	2(1)		37(3)			8(4)	2(1)
6	5(1)	14(1)	7(2)	1(1)		50(7)		5(1)	9(2)				6(3)
													9(1)

注: 1: 市政污水处理厂高负荷曝气池; 2: 硝化/反硝化工业废水处理厂; 3: 实验室 SBR 法, 生物除磷(补加醋酸盐)工艺; 4: 实验室 SBR 法, 生物除磷(未补加醋酸盐)工艺; 5: 实验室连续水流反应器, 生物除磷工艺; 6: 实验室生物除磷反应器

Note: 1: High-load aeration basin of a full-scale municipal plant; 2: Nitrifying/ denitrifying industrial plant; 3: Lab-scale phosphate-removing sequencing batch reactors (+sodium acetate); 4: Lab-scale phosphate-removing sequencing batch reactors; 5: Lab-scale phosphate-removing continuous flow reactor; 6: Lab-scale phosphate-removing reactor

1.2 同功微生物的多样性

活性污泥的微生物群落通常含有一些不同的菌株,它们执行相同或非常相似的生物学功能。同功微生物现象在活性污泥中普遍存在,如活性污泥中的多种硝化螺菌^[1],厌氧脱氮活性污泥中分离出好氧脱氮细菌^[8],高盐度-脱氮活性污泥中发现 12 种细菌具有耐盐脱氮活性^[9],以及从 2,4-D(2,4-二氯苯氧乙酸)驯化的活性污泥中检测出 4 个属的细菌可以降解 2,4-D 等^[10]。

1.3 种内物质代谢的多样性

细菌也存在种内个体差异,这种差异在代谢组方面表现十分突出。近期一项研究发现:12 株不同来源的大肠杆菌(*Escherichia coli*)在葡萄糖代谢组的 233 个酶斑点中,只有 63 个斑点为 12 个菌株共有,代谢的一致性仅为 27%^[11]。细菌种内个体差异不可能存在于每一个新形成的细胞,但它能够迅速

地在群体中出现。因此,细菌种内的个体差异性增加了微生物多样性的内容,也丰富了活性污泥的多样性。

2 活性污泥驯化的机理

活性污泥驯化时,驯化条件作为选择压力作用于活性污泥,而活性污泥则以其多样性,以及微生物的适应性变化去适应驯化条件。

2.1 驯化期活性污泥的变化

活性污泥在驯化期的表现性状,如色泽、絮凝体的大小、沉降性能等一直在变化着^[2]。与此同时,活性污泥中具有特定代谢功能、更能适应废水环境条件的种群迅速增长为优势种群^[2,9,10,12]。随后,活性污泥的水处理功能达到最佳效果^[2,9,10]。活性污泥优势种群的变化与其水处理功能之间的关系见图 1^[9]。

但是,性能稳定的活性污泥并不是几种优势微生物的简单富集。以含酚废水驯化活性污泥为例:当酚负荷从 $1.0 \text{ g}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 提高到 $1.5 \text{ g}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 时,活性污泥崩溃;因为 $1.0 \text{ g}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 时的优势种群是R6F菌株,它既降酚又絮凝;在 $1.5 \text{ g}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 时,R6T和R10 两菌株转化为优势菌群,它们只降酚不絮凝,破坏了活性污泥絮凝体的结构^[13]。

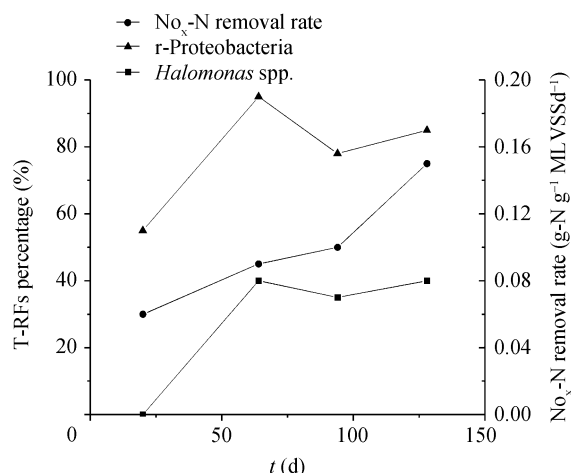


图 1 在 10% 盐度条件下优势种群增长与氮去除率的关系

Fig. 1 The relation of predominant bacterial community and NO_x-N removal rate in 10% salinity

2.2 多样性是活性污泥驯化的基础

活性污泥微生物种群的多样性是驯化的基础。在驯化过程中,随着驯化条件不断强化,活性污泥微生物的多样性表现出递减趋势^[9,10];驯化条件越极端,微生物的多样性越小。因此,活性污泥驯化是驯化条件对微生物种群进行选择,适应驯化条件的微生物生存并增长,不适应者被抑制或淘汰,原污泥为驯化条件提供了备选“原料”。

活性污泥在驯化过程中还会出现微生物群落的演替,低浓度条件下的优势种群,在高浓度时会被另一种群取代^[12,14]。这应该是功能微生物的丰余性造成的,在多种微生物具有同一物质代谢功能时,由于种间生理的差异,使它们适应不同的驯化条件,便出现优势种群取代的现象。

2.3 驯化条件下微生物的适应性变化

表型适应是不改变种群的基因类型,仅依靠细胞形态或生理变化去适应驯化条件。例如:活性污泥中的丝状细菌在纯培养时可以转化为单细胞球状或杆状^[15];难降解有机化合物对微生物酶的诱导效应^[16];以及驯化污泥对重金属的抗性^[17]和抗性酶诱

导机制。这些事例均说明活性污泥在驯化过程中存在表型适应方式。

进化性适应是在驯化压力下,微生物的基因类型发生改变,出现新的基因类型。较为经典的实验是用 2,4,5-T(2,4,5-三氯苯氧乙酸)作为培养基质,培育出 2,4,5-T降解菌株。近期一些研究表明,在工业废水处理系统中,由于其特殊的水质条件,往往可以发现一些新基因类型。Bramucci M等从工业水处理污泥中分离出一株能将对二甲苯氧化成对苯二酸的新型代谢途径的菌株^[18,19];还分离到一株假单胞菌CT14(*Pseudomonas* sp. CT14),它的质粒结构含有不同来源的基因,可能是一种新型代谢途径的过渡阶段^[20]。

3 影响活性污泥驯化的因素

活性污泥驯化的过程是驯化条件与微生物群落之间相互作用的过程。驯化条件是外因,污泥中的微生物群落是内因,外因通过内因发生作用。因此,接种污泥、废水水质和驯化工艺是影响活性污泥驯化的主要因素。

3.1 接种污泥对驯化的影响

接种污泥的性状直接影响活性污泥驯化的结果^[21],从性质相同或者相近的污水处理站取接种污泥是提高驯化效率的捷径,因为其中含有能够适应待处理废水的功能菌群。当接种污泥缺乏功能菌群时,可以采用投加的方法补充。方法之一是投加长期与污染物接触的废水或者沉积物^[22,23],其中含有较多的功能菌群。方法之二是大量添加(一般是 1 l)纯培养菌株^[24-26]。投加功能菌株驯化活性污泥面临两个问题:一是功能菌株能否嫁接到活性污泥上;二是嫁接后能否长期保持优势种群的地位。虽然采取某些措施(如适当饥饿)可以增强补加菌株的疏水性,使其容易与活性污泥嫁接^[27],但投加功能菌株失败的事例是很多的^[28,29]。

3.2 废水水质对驯化的影响

废水水质是接种污泥直接接触的外部环境,改变废水水质,必然引起接种污泥微生物群落变化,进而影响驯化污泥的性质和功能。驯化活性污泥时,通常是逐渐地增大废水的比例,逐步地强化驯化条件,直至接种污泥完全适应废水水质^[2,22,23,30]。废水的水质条件非常复杂,目前的一些研究仅见于碳

源。例如：易降解碳源促进除磷污泥的驯化；醋酸盐使活性污泥沉降性能变差；不溶性淀粉延长接种污泥的驯化时间^[31]。研究还发现：低浓度葡萄糖有利于硝化细菌富集，驯化污泥的硝化活性高；高浓度葡萄糖加快了异养细菌繁殖，会对硝化细菌产生抑制作用，降低驯化污泥的硝化功能^[32]。

3.3 工艺条件对驯化的影响

处理工艺不同时，活性污泥的生物群落是不同的^[33]。以废水的脱氮、除磷工艺为例，在其它条件完全一致的情况下，分别从脱氮处理段和除磷处理段取活性污泥样品检验微生物群落，结果显示这两种工艺的细菌种类总体上是类似的，但在BPR(生物除磷)工艺中分离到3种放线菌，non-BPR工艺却没有^[34]。在处理工艺相同工况条件不同时，活性污泥的微生物群落也会发生变化。如改变HRT(水力停留时间)和SRT(固体停留时间)，同步脱氮除磷工艺活性污泥中的优势菌群虽然没有明显改变，但是细菌的形态和微型动物发生了明显变化，而且它们在水处理效果上也有明显的差别^[35]。

4 结束语

活性污泥是一种复杂的微生物生态系统，它的主体结构由细菌组成，主要优势菌群是变形杆菌。来源不同的活性污泥具有不同的种群结构，少者十几种，多者近百种。此外，活性污泥还具有同功微生物多样性和个体差异的特性。活性污泥的多样性与微生物的适应性一起构成了活性污泥驯化的潜力。

首先，微生物种群的多样性是活性污泥驯化一级调整的基础。在驯化条件的压力下，依据生态学“适者生存”的原理，适应驯化条件的微生物生存并增长，不适应者受到抑制或者淘汰。驯化的过程也是活性污泥微生物生态位不断分配和调整的过程，最终形成一种具有新功能、性质稳定的生态系统。

其次，同功微生物的多样性是活性污泥驯化二级调整的基础。功能相同但种类不同的微生物，能够分别适应不同的驯化因素，甚至同一因素的不同水平。因此，在驯化条件不同时，驯化污泥的功能细菌可能不同，但其水处理功能可能相同。这不仅有利于活性污泥驯化，而且在一定程度上提高了活性污泥某种功能的稳定性。

第三，微生物的表型适应和进化性适应是活性

污泥驯化三级调整的基础。在驯化时，活性污泥除了通过调整菌群的种类去适应驯化条件以外，还可以通过微生物的表型适应和进化型适应去适应驯化条件。表型适应对驯化条件反应迅速，进化型适应则反应缓慢，二者共同形成活性污泥适应驯化条件的一种调节机制。

综上所述，用“选择与适应”的理论可以解释目前有关活性污泥驯化的实验结果，也可以解释生产中活性污泥驯化的实践经验。根据这种理论，原污泥提供了菌种选择的基础，废水水质和处理工艺形成了选择的环境条件。原污泥微生物的多样性、复杂的废水水质和千变万化的处理工艺共同创造了能够处理各种废水水质的驯化污泥。

参 考 文 献

- [1] Keller J, Yuan Zhiguo, Blackall LL. Integrating process engineering and microbiology tools to advance activated sludge wastewater treatment research and development. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2002, **1**(1): 83-97.
- [2] 何健, 李顺鹏, 崔中利, 等. 含盐工业废水生化处理耐盐污泥驯化及其机制. *中国环境科学*, 2002, **22**(6): 546-550.
- [3] 李文兰, 杨玉楠, 季宇彬, 等. 驯化活性污泥对邻苯二甲酸丁基苄酯的降解. *环境科学*, 2005, **26**(4): 156-159.
- [4] Moreno-Andrade I, Buitron G. Variation of the microbial activity during the acclimation phase of a SBR system degrading 4-chlorophenol. *Water Science and Technology*, 2004, **50**(10): 251-258.
- [5] Xie B, Kang KS. Uptake of copper ion by activated sludge and its bacterial community variation analyzed by 16S rDNA. *Journal of Environmental Science (China)*, 2003, **15**(3): 328-333.
- [6] 顾夏声, 胡洪营, 文湘华, 等. *水处理生物学*. 第四版. 北京: 中国建筑工业出版社, 2006, pp.156-157.
- [7] Wagner M, Loy A, Nogueira R, et al. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, **81**(1-4): 665-680.
- [8] Patureau D, Zumstein E, Delgenes JP, et al. Aerobic denitrifiers isolated from diverse natural and managed ecosystems. *Microbial Ecology*, 2000, **39**(2): 145-152.
- [9] Yoshie S, Makino H, Hirosawa H, et al. Molecular analysis of halophilic bacterial community for high-rate denitrification of saline industrial wastewater. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, **72**(1): 182-189.

- [10] Lee TH, Kurata S, Nakatsu CH, *et al.* Molecular analysis of bacterial community based on 16S rDNA and functional genes in activated sludge enriched with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) under different cultural conditions. *Microbial Ecology*, 2005, **49**(1): 151–162.
- [11] Maharjan RP, Ferenci T. Metabolomic diversity in the species *Escherichia coli* and its relationship to genetic population structure. *Metabolomics*, 2005, **1**(3): 235–242.
- [12] Khan ST, Horiba Y, Yamamoto M, *et al.* Members of the family *Comamonadaceae* as Primary poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-degrading denitrifiers in activated sludge as revealed by a polyphasic approach. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(7): 3206–3214.
- [13] Watanabe K, Teramoto M, Harayama S. An outbreak of nonflocculating catabolic populations caused the breakdown of a phenol-digesting activated sludge process. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(7): 2813–2819.
- [14] 傅以钢, 王 峰, 赵建夫, 等. 高浓度硝酸盐对城市污水活性污泥中微生物种群结构的影响. *环境科学学报*, 2005, **25**(3): 372–378.
- [15] Ramothokang TR, Naidoo D, Bux F. 'Morphological shifts' in filamentous bacteria isolated from activated sludge processes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2006, **22**(8): 845–850.
- [16] Ingerslev F, Halling-Soerensen B. Biodegradability Properties of sulfonamides in Activated Sludge. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2000, **19**(10): 2467–2473.
- [17] 谢 冰, 姜京顺. 铜离子冲击下活性污泥微生物多样性的分子生态学分析. *环境科学学报*, 2002, **22**(6): 721–725.
- [18] Bramucci M, Singh M, Nagarajan V. Biotransformation of p-xylene and 2,6-dimethylnaphthalene by xylene monooxygenase cloned from a *Sphingomonas* isolate. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, **59**(6): 679–684.
- [19] Bramucci MG, McCutchen CM, Singh M, *et al.* Pure bacterial isolates that convert p-xylene to terephthalic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2002, **58**(2): 255–259.
- [20] Bramucci M, Chen M, Nagarajan V. Genetic organization of a plasmid from an industrial wastewater bioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, **71**(1): 67–74.
- [21] Ye FX, Shen DS. Acclimation of anaerobic sludge degrading chlorophenols and the biodegradation kinetics during acclimation period. *Chemosphere*, 2004, **54**(10): 1573–1580.
- [22] 管秀琼. SBR 处理制浆中段废水活性污泥的培养驯化. *纸和造纸*, 2006, **25**(2): 76–78.
- [23] 牛新征, 盛定合. 化纤污水场开车前活性污泥的驯化. *工业用水与废水*, 2001, **32**(1): 48–51.
- [24] Kargi F. Enhanced biological treatment of saline wastewater by using halophilic bacteria. *Biotechnology Letters*, 2002, **24**(19): 1569–1572.
- [25] Kargi F, Ozmeh S. Improved biological treatment of nitrogen-deficient wastewater by incorporation of N₂-fixing bacteria. *Biotechnology Letters*, 2002, **24**(15): 1281–1284.
- [26] Bieszkiewicz E, Boszczyk-Maleszak H, Włodarczyk A, *et al.* Studies on the effect of inoculation of activated sludge with bacteria actively degrading hydrocarbons on the biodegradation of petroleum products. *Acta Microbiologica Polonica*, 2002, **51**(3): 285–292.
- [27] Watanabe K, Miyashita M, Harayama S. Starvation improves survival of bacteria introduced into activated sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(9): 3905–3910.
- [28] Bouchez T, Patureau D, Dabert P, *et al.* Ecological study of bioaugmentation failure. *Environmental Microbiology*, 2000, **2**(2): 179–190.
- [29] Bouchez T, Patureau D, Dabert P, *et al.* Successful and unsuccessful bioaugmentation experiments monitored by fluorescent *in situ* hybridization. *Water Science and Technology*, 2000, **41**(12): 61–68.
- [30] Mohanty S, Dafale N, Rao NN. Microbial decolorization of reactive black-5 in a two-stage anaerobic-aerobic reactor using acclimatized activated textile sludge. *Biodegradation*, 2006, **17**(5): 403–413.
- [31] Canizares P, Rodriguez ML, Villaseñor J, *et al.* Effect of wastewater composition on the development of an activated sludge biological phosphorus removal system. *Environmental Technology*, 1999, **20**(2): 159–169.
- [32] 丁原红, 洪华生, 栾胜基. 膜生物反应器中有机营养物对污泥活性的影响特性. *水处理技术*, 2005, **31**(2): 37–40, 46.
- [33] 金若菲, 周集体, 王 竞, 等. 膜生物反应器中的生物学特征. *微生物学通报*, 2004, **31**(2): 121–125.
- [34] Melasniemi H, Hernesmaa A, Pauli ASL, *et al.* Comparative analysis of biological phosphate removal (BPR) and non-BPR activated sludge bacterial communities with particular reference to *Acinetobacter*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 1998, **21**(6): 300–306.
- [35] 柴延丽, 周岳溪, 王海燕, 等. 内循环式 A/O/IAT—IAT 工艺处理效果与微生物群落结构关系. *环境科学研究*, 2006, **19**(1): 22–25.