

活性污泥丝状膨胀早期预警的研究进展*

李彤鲜** 费学宁 池勇志 郝亚超 曹 阳

(天津城市建设学院, 天津, 300384)

摘 要 活性污泥法是目前处理污水的一种有效方法, 在应用过程中, 频频发生的污泥膨胀现象成为影响污水处理效率的难题, 对污泥膨胀进行早期预警调控研究, 已成为该领域关注的热点问题. 本文阐述了丝状菌引起的污泥膨胀预警研究的进展情况, 从污泥常规指标测定、形态观察和分子生态学 3 个方面对丝状污泥膨胀的预警方法进行了综述, 对各种方法的优点与不足展开讨论, 并在此基础上归纳出一些改进的措施, 展望了丝状污泥膨胀预警的应用前景.

关键词 活性污泥, 丝状菌, 丝状菌污泥膨胀, 预警.

自活性污泥法诞生一个多世纪以来, 污泥膨胀问题是困扰污水处理厂正常运行的一个世界性难题. 污泥膨胀是活性污泥沉降性能变差的现象. 污泥膨胀的危害主要表现在: 导致活性污泥流失、出水悬浮物增高、出水水质恶化, 不仅降低了活性污泥系统的处理能力, 甚至导致工艺无法正常运行. 污泥膨胀现象发生周期比较长, 污泥膨胀现象一旦发生则难以控制或者需要相当长的时间才能进行修复^[1]. 污泥膨胀出现的复杂性、区域性和活性污泥微生物多样性, 对污泥膨胀的早期预警和控制造成了极大的困难^[2-4].

活性污泥膨胀分为丝状菌过度生长引起的丝状膨胀和无丝状菌存在的非丝状膨胀两种情况. 丝状膨胀是由于丝状菌繁殖过多, 抑制了菌胶团的生长繁殖, 众多的丝状菌伸出污泥表面之外, 使得絮体松散, 造成污泥体积膨胀, 导致沉淀性能下降; 非丝状菌性污泥膨胀是由于在活性污泥菌体外积蓄高黏性多糖类物质而形成的. 据报道, 约有 90% 的污泥膨胀问题是由活性污泥中丝状菌的大量生长而引起的^[5-7]. 目前, 对于由丝状菌引起污泥膨胀的预警方法, 主要通过以下 3 个方面进行: 一是通过物理、化学手段, 测定活性污泥系统的各种常规指标, 反映出污泥膨胀程度, 实现对其运行进行监控; 其二, 利用显微镜及计算机图像分析技术通过观察污泥膨胀过程中微生物的形态特征, 生长状态来判断废水处理系统的运行状况; 第三, 利用分子生态学方法对引发丝状膨胀的关键菌群行为进行研究, 包括其分离鉴定、生理生态特性表达、以及污泥体系中相关丝状菌群的识别与定量表征等.

1 活性污泥常规指标的检测

活性污泥是微生物群体及它们所依附的有机物质和无机物质的总称. 活性污泥系统中丝状菌与菌胶团细菌互相竞争互相依存. 在正常运行情况下, 丝状菌作为菌胶团的骨架, 与菌胶团共同形成活性污泥的主体, 并对污水的净化起积极作用. 当污泥膨胀的诱导因素如溶解氧、pH 值、温度、营养成分、污泥负荷等超过一定范围时, 丝状菌将在与菌胶团的竞争平衡中占优势, 从而大量繁殖, 影响活性污泥结构构成, 导致污泥膨胀现象, 使得污泥沉降性能下降. 目前, 有关污泥膨胀研究的理论主要有 4 种: 面积/容积比假说; 积累/再生假说; 选择性准则和饥饿假说理论等. 其中面积/容积比 (A/V) 假说是现今最为广泛接受的污泥丝状菌膨胀理论, 该理论中的表面积和容积是指活性污泥中微生物的表面积及其容积. 该假说认为, 伸展于活性污泥絮体之外的丝状菌比表面积 (A/V) 要大大超过菌胶团细菌的比表面积 (A/V). 当微生物处于营养物质限制和控制的状态时, 比表面积大的丝状菌在取得营养物质方面要比菌胶团有利, 使得曝气池内丝状菌变成了优势菌.

通过测量体系中的相关常规指标, 研究其与污泥膨胀的相关性, 可以间接表达出丝状菌的生长状

2011 年 10 月 18 日收稿.

* 国家自然科学基金(51178289)资助.

** 通讯联系人, Tel: 15922141362; E-mail: sanlangheiyao@163.com

态,实现对污泥膨胀的预警. 常见的测量指标有溶解氧、pH 值、温度、废水水质成分(有机物、N、P 等的含量)、污泥负荷、污泥容积指数(SVI)等.

据文献报道^[8],污泥负荷偏低易引起中度丝状菌膨胀,有两个参数对于污泥膨胀发生趋势的提前判断非常重要:一是污泥负荷是否连续两周以上时间维持在 $0.1 \text{ kg BOD} \cdot (\text{kg MLSS} \cdot \text{d})^{-1}$ 以下,另一个为污泥指数是否连续两周以上保持上升趋势,两者要同时参考.

通过人工检测各项运行参数来监测活性污泥系统运行具有简单,易操作的优点,可以大致确定各项运行指标的阈值,为实际工程、生产提供了重要参数,对污水处理厂活性污泥膨胀的预警以及及时防范提供了依据. 但是,人工检测工作繁复,耗时大,需要参考多种指标进行综合评价;另外,操作容易受到误差影响而导致结果不准确,并且具有一定的滞后性^[9-11]. 活性污泥中丝状菌的数量突变,空间形态分布是诱导污泥膨胀现象发生的本质所在,因此,可以通过观察活性污泥中丝状菌的数量和形态变化,实现对污泥膨胀进程的评价.

2 丝状菌形态观测

2.1 传统显微镜观察

Eikelboom 在研究丝状菌与污泥沉降性能关系时,根据肉眼观察到的活性污泥中丝状细菌的多少,将丝状菌的数量分成如下 5 个等级^[11-12]:

表 1 活性污泥中丝状菌数量级别

Table 1 Quantitative level of filamentous bacteria in activated sludge

级别	污泥结构	外观
0 级	污泥中几乎无丝状菌存在	仅在个别絮体中发现菌丝
± 级	污泥中存在少量丝状菌	有菌丝存在,但不是所有絮体中都存在菌丝
+ 级	存在中等数量的丝状菌,总量少于菌胶团细菌	所有絮体都有菌丝存在, ≤ 20 个菌丝/个絮体
++ 级	存在大量丝状菌,总量与菌胶团细菌大致相等	所有絮体都有菌丝存在, > 20 个菌丝/个絮体
+++ 级	污泥絮粒以丝状菌为骨架,数量超过菌胶团细菌而占优势	所有絮体都有菌丝存在,菌丝多于絮体

观察证实,污泥中丝状菌数量越多,其沉降性能越差,丝状细菌比表面积与污泥膨胀程度呈正相关趋势. 当活性污泥中丝状菌级别为 0—± 级时,可在二沉池中形成一层致密的网状污泥层,黏附沉降速率较慢的细小泥粒,细小泥粒聚集共同形成较大的絮粒一起下沉,出水清澈,悬浮物极少,出水正常. 当活性污泥中丝状菌达 ++ 级以上时,大量丝状菌从絮粒中向外伸展,往往组成“刺毛球”状的活性污泥骨架. 这些伸向絮粒外部的无数“触手”阻碍了絮粒间的压缩,使污泥 SV 值(SV = 沉降 30 min 时沉降污泥体积/所取混合液体积 $\times 100\%$) 升高,严重时 SV 接近 100%,导致污泥膨胀现象形成. 此外,丝状细菌的形态对沉降亦有一定的影响,长而直的丝状菌对污泥沉降压缩的阻力更大,污泥更难以沉降. 从图 1^[11]可见,丝状菌数量与 SVI 值呈正比关系,当丝状菌数量达到 1×10^4 根 $\cdot \text{g}^{-1}$ MLSS(混合液悬浮固体浓度,表示曝气池单位容积混合液内所含有的活性污泥固体物的总重量)时,SVI 值达到 150 mL $\cdot \text{g}^{-1}$ MLSS,有发生污泥膨胀的趋势.

活性污泥中丝状菌的数量突变是诱导污泥膨胀现象发生的关键所在. 常规指标的监测是通过研究与丝状菌生长相关的因素,间接表达丝状菌的生长状态评价污泥膨胀进程. 传统显微镜法直接观察活性污泥系统中丝状菌的数量形态,可以更准确地反映污泥系统的运行情况.

2.2 图像分析法

图像分析主要是通过高倍显微镜获取丝状菌原始图像,然后利用图像采集系统(主要包括 CCD 数码相机和图像采集卡)采集丝状菌的图像,并经过 A/D 转换器将数字信号输入计算机,形成数字图像文件,由计算机对获得的数据进行分析处理,最终得出丝状菌的长度,数量,形态等数据,由所得出的数据判断活性污泥的运行状态.

有研究^[13]利用污泥沉降比图像处理检测系统软件检测污泥沉降进程. 其基本原理是用数码相机随机采集一张污泥沉降的图像,将其输入图像处理系统,系统对图像进行灰度化、直方图处理、特征提取、二值化等一系列图像处理,得到基于原始图像的二值图像. 系统可以自动识别二值图像中的刻度线和液

柱头部位,用标线标出,并读出实际图像的读数.利用计算机图像处理技术,解决了人工检测繁琐、耗时以及读数误差大等问题,提高了检测速度及工作效率.

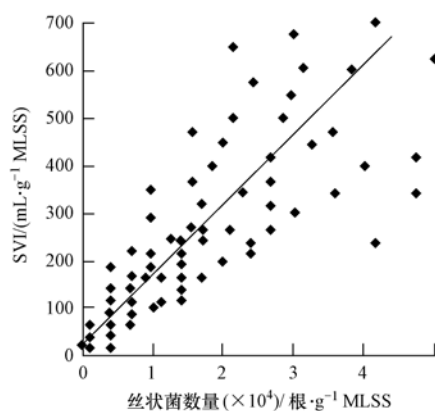


图1 丝状菌数量与 SVI 值关系

Fig. 1 Relationship between number of filamentous bacteria and SVI values

图像分析借助光学、机械、电子、计算机等一体化技术,对观察到的图像进行系统的处理,得到能代表该图像特征的各种参数,是传统显微镜法与现代图像处理技术的完美结合.与传统显微镜观察相比较,图像分析法对丝状菌的生长及形态有更深入地刻画,借助自动分析图像,对活性污泥膨胀过程中丝状菌的形态数量进行定量精确描述,实现对污泥膨胀进程进行评价.然而利用传统形态学观测法观察活性污泥中丝状菌的形态数量即可对污泥膨胀进行早期预警,其简单有效的特点决定了它的优越性.但是由于多数丝状细菌较难分离和纯培养,人们对其代谢和生理生态特性了解较少,而且丝状菌生长繁殖速度快,一些类型丝状菌的形态随条件改变会发生变化,因此在观察时容易导致检测结果的滞后性.而分子生态学的应用使得对丝状菌生理生态特征等微观研究成为可能,增进了对污泥膨胀本质规律的研究;而且分子生态学在分子水平上对微生物进行研究,避免了分离培养的困难,可以更客观、更直接地探讨微生物种群结构、遗传特性及其与环境间的相互关系.因此,将分子生态学应用于丝状菌的研究成为近年来活性污泥膨胀研究的热点之一.

3 分子生态学

分子生态学是近十年才发展起来的,由分子生物学与微生物生态学交叉形成新兴学科,以分析微生物 DNA 和 RNA 的测序为基础^[14].目前,应用最为广泛的技术有荧光原位杂交 (Fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 技术、PCR-变性梯度凝胶电泳 (PCR-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE) 技术和 PCR-单链构象多态性 (PCR-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP) 分析等方法^[15].

3.1 荧光原位杂交 (FISH) 技术

FISH 是将细胞原位杂交技术和荧光技术有机结合而成的新技术,是目前可用于单个细胞水平上分析微生物群落结构的常用分子生态学方法^[14].其基本原理是利用荧光标记的核酸探针,与变形后的 DNA 或 RNA 进行原位杂交^[16],经荧光检测体系在显微镜下对待测 DNA 进行定性、定量及相对定位分析,并通过相关统计软件分析得出检测结果与丝状菌生理生态特征的关系.

Speirs 等^[17]利用 FISH 技术对污水中的丝状菌进行检测,发现污泥膨胀中常出现的 *Eikelboom type* 0092 属 *Chloroflexi* 门,在全面强化除磷系统中,该丝状菌以两种不同的变异体出现,且在大部分情况下是同时存在的.

FISH 技术广泛用于分析复杂环境的微生物群落构成,可对活性污泥中未分离培养的丝状菌进行监测和鉴定. FISH 技术实验周期短、定位准确,探针稳定、经济、安全;缺点是探针特异性不足、细胞穿透率较低、低 rRNA 含量、荧光褪色^[18-19].采用变性梯度凝胶电泳 (DGGE) 技术和温度梯度凝胶电泳 (TGGE) 技术则可克服这些不足. DGGE/TGGE 技术直接提取核酸进行分析,得出丝状菌的种类及多样性等信

息,操作简便、快速,重复性好。

3.2 变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术和温度梯度凝胶电泳(TGGE)技术

变性梯度凝胶电泳(DGGE)是一种根据 DNA 片段的溶解性质,使 DNA 片段分离的凝胶系统。DNA 分子双螺旋结构由氢键和碱基的疏水作用构成,温度、有机溶剂和 pH 等因素可以使氢键受到破坏,可实现将双链转变为单链。DGGE 技术检测核酸序列是通过不同序列的 DNA 片段在各自相应的变性剂浓度下变性,发生空间构型的变化,导致电泳速度的急剧下降,最终在其相应的变性剂梯度位置停滞,经过染色后可以在凝胶上呈现为分散的条带。该技术可以分辨具有相同或相近分子量的目的片段序列差异,可以用于检测单一碱基的变化和遗传多样性以及 PCR 扩增 DNA 片段的多态性。TGGE 技术的基本原理与 DGGE 技术相似,TGGE 技术利用温度梯度凝胶分离 PCR 产物及目的片段,与 DGGE 技术相比,梯度形成更加便捷,重现性更强。

相关文献表明^[20],应用 TGGE 指纹图谱技术可以分析活性污泥系统中细菌种群的动态变化及多样性。如图 2 所示,分 8 个时期(每 3 d 进行 1 次)分别对 A 和 B 两个曝气池中的活性污泥样品进行 16S rDNA 扩增后,对扩增产物进行 TGGE 分析,揭示了该系统中主要细菌种群的动态变化。图 2 显示 8 个时期 A 曝气池中活性污泥的 TGGE 指纹图谱基本一致,表现为 12 条条带(图 2A),有 3 条主条带,其余 9 条为弱带。监测时期 B 曝气池中活性污泥的条带数目也基本一致,谱带数目亦为 12 条(图 2B)。对两个曝气池 8 个时期活性污泥的 TGGE 指纹图谱进行配对相似性比较,相似性值均为 100%,说明监测期间系统细菌种群结构基本稳定。

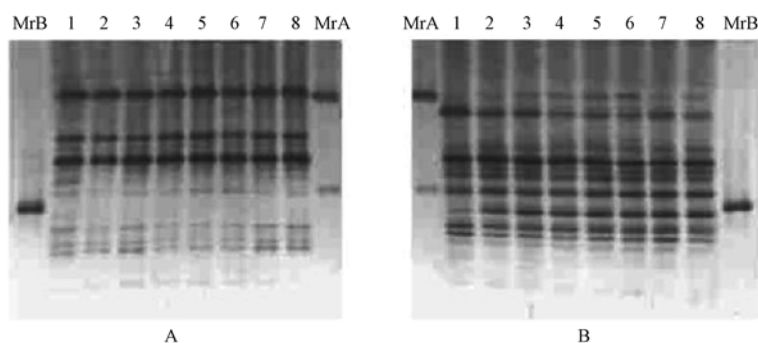


图 2 8 个时期 A 和 B 活性污泥的 TGGE 指纹图谱^[20]

Fig. 2 TGGE profiles generated from the activated sludge samples of the first (A) and the second (B) aeration tank after PCR amplification of the V3 region of the 16S rDNA gene over 8 consecutive sampling days (M1-M8) at 3 days intervals^[20]

3.3 单链构象多态性(SSCP)分析

PCR-SSCP 是一种以 PCR 为基础,基于 DNA 构象差别而进行快速、灵敏、有效检测基因点突变的方法。其基本原理是经 PCR 扩增的 DNA 片段在变性剂或低离子浓度下,经高温处理使之解链并保持在单链状态下,DNA 单链可折叠成一定空间构象,在不含变性剂的中性聚丙烯酰胺凝胶中电泳时,相同长度 DNA 单链因其碱基序列不同,甚至单个碱基不同,导致形成的构象差异,单链 DNA 构象的变化很可能引起了迁移率的改变,每条单链处于一定的位置,靶 DNA 中若发生碱基缺失、插入或单个碱基置换时,就会出现泳动移位,通过显色或显影后在凝胶上就会显示出带型的差别,即多态性^[21]。

有研究者^[22]采用 PCR-SSCP 技术对脱臭生物滤池中填料生物膜微生物群落结构进行了研究。生物滤池对臭气中的污染物随驯化时间逐渐增强,去除率从 50% 升高到 89%。

分子生态学通过研究丝状菌的遗传特性、生理生态特性,从本质上揭示污泥膨胀的关键控制因素,确定活性污泥膨胀与微丝菌间的定量关系。分子生态学作为新兴技术,本身具有一定的局限性:如 FISH 技术不能检测出污泥样品中的未知种属,在应用的过程中易受到污泥样品中微生物生理状态的影响;DGGE 技术检测的 DNA 片段最适长度为 200—900 bp(碱基对),超出此范围的片段难以检测;SSCP 技术不能对 DNA 序列变异进行精确的定位,而只能对其进行初筛,在实际操作中可能会遇到相当比例的假阴性结果。

4 对活性污泥丝状膨胀预警的展望

由于引起污泥膨胀的原因是多方面的,而这些因素又是相互影响,相互联系,相互制约的,在一定程度上对污泥膨胀的研究造成困难.虽然污泥膨胀的预警研究已经取得了很大的成果,但是对于污泥膨胀的机理,丝状菌的作用过程等研究还不够深入.通过对当前污泥膨胀预警方法的研究、讨论,对今后污泥膨胀预警方法的研究得出如下几点建议:

(1) 常规预警指标方面

进一步研究 SVI 等污泥膨胀指标与引起污泥膨胀菌群数量的关系,建立活性污泥系统中生物与生物、生物与非生物因子之间的相互作用的数学模型,获取污泥丝状膨胀发生时丝状菌的特征临界值,确定污泥丝状膨胀发生与发展过程的规律,建立污泥丝状膨胀的预警模型,实现早期预警的科学化、自动化.

(2) 分子生态学方面

①针对引起污泥膨胀的具体菌群,研究其代谢机制,结构特征等,找出其代谢途径中的关键因素,分析研究此种关键性物质的结构.如利用微生物酶专一性的特点,选择丝状菌呼吸代谢过程中的特征酶,选取合适的染料对其标记,研究微丝菌的代谢和生理生态特性与污泥膨胀现象的内在作用规律.

②研究设计新型探针,提高探针灵敏度.如量子点荧光标记探针与传统荧光探针相比,荧光强度高,穿透细胞过程中化学稳定性好,抗光漂白性能强,可实现对细胞的多色标记. Mitchell^[23]等利用量子点表面的 Zn 原子与巯基之间的配位作用实现了对目标 DNA 分子的检测.

③将分子生态学技术转移在细胞膜表面,减少内部组织带来的影响.可以通过研究丝状菌群膜结构或膜上特定物质的结构,通过特定膜物质结构与染料标记物结构中的化学键的结合,实现标记;研究丝状菌的代谢途径、特定结构特征或摄食专一性,找到与细胞膜有关的特定物质,实现靶点标记.

④分子生态学技术与其它技术的联用.与共聚焦激光扫描显微镜,荧光显微镜联用,可获得较好的景深和清晰的图像;结合流式细胞计可以用来分析丝状菌群的种群结构及其动态学^[19].

5 结语

近几十年来,污泥膨胀的早期预警研究已经有了一定的发展,尤其是引起污泥膨胀的特定菌种的鉴定、对特定菌群的生理生态分析等方面.但是由于活性污泥系统以及微生物的复杂性,对于污泥膨胀的早期预警仍存在一系列亟待解决的问题,如经济有效地识别定量活性污泥系统中的丝状菌,污泥膨胀早期行为特征及关键控制因素的定量定性等.计算机技术,数学模型,自动分子技术等多种技术联用,多学科交叉,在分子水平上对活性污泥膨胀规律进行研究成为近年来关注的热点问题.随着分子生态学等微观技术的快速发展,污泥膨胀预警的发展前景将越来越广阔.

参 考 文 献

- [1] 周利,彭东臻,黄志,等.丝状菌污泥膨胀的影响因素与控制[J].环境科学进展,1999,7(1):88-93
- [2] Blackbeard J R, Ekama G A, Marais GvR. A survey of bulking and foaming in activated-sludge plants in South Africa[J]. Water Pollutant Control, 1986,85(1):90-100
- [3] 吴昌永,彭永臻,彭轶. A²O 工艺中的污泥膨胀问题及恢复研究[J]. 中国环境科学, 2008,28(12):1074-1078
- [4] António M P. Martins, Krishna Pagilla, et al. Filamentous bulking sludge—a critical review[J]. Water Research, 2004,38(4):793-817
- [5] 王淑莹,高春娣,彭永臻,等. SBR 法处理工业废水中有机负荷对污泥膨胀的影响[J]. 环境科学学报, 2000,20(2):129-133
- [6] 郝晓地,朱景义,曹秀芹. 污泥膨胀形成机理及控制措施研究现状和进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2006,7(5):1-9
- [7] 王凯军. 活性污泥膨胀的机理与控制[M]. 北京:中国环境科学出版社,1992:1-6
- [8] 张建新,王洪臣. 北京市高碑店污水处理厂污泥膨胀的研究及控制对策[J]. 给水排水,2003,29(7):8-12
- [9] You S J, Sue W M. Filamentous bacteria in a foaming membrane bioreactor[J]. Journal of Membrane Science, 2009, 342 (1-2):42-49
- [10] Caroline Kragelund, Jeppe Lund Nielsen, Trine Rolighed Thomsen, et al. Ecophysiology of the filamentous alphaproteobacterium meganema perideroedes in activated sludge[J]. FEMS Microbiology Ecology,2005,54(1):111-122
- [11] 李亚新. 活性污泥法理论与技术[M]. 北京:中国建筑工业出版社, 2007:543-566
- [12] Eikelboom D H. Filamentous organisms observed in activated sludge plants[J]. Water Res, 1975,9(4):365-388
- [13] 杨大明,李娟. 利用计算机图像处理系统测量污泥沉降比[J]. 工业水处理, 2010,30 (6):66-68

- [14] 钟鸣,周启星. 微生物分子生态学技术及其在环境污染研究中的应用[J]. 应用生态学报, 2002,13(2):247-251
- [15] 夏恩思,周利,李鹏,等. 丝状菌污泥膨胀的微观研究方法进展[J]. 工业水处理,2009,29(1):10-12
- [16] 李冰冰,肖波,李蓓. FISH 技术及其在环境微生物监测中的应用[J]. 生物技术,2007,17(5):94-97
- [17] Speirs L, Nittami T, McIlroy S, et al. Filamentous bacterium eikelboom type 0092 in activated sludge plants in Australia is a member of the phylum chloroflexi [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009,75(8): 2446-2452
- [18] 罗思音,张可方,张立秋. 荧光原位杂交技术检测污水处理中微生物的生理生态[J]. 水科学与工程技术,2009(2):27-29
- [19] 费学宁,曹阳,郝亚超,等. 荧光原位杂交技术在活性污泥菌群识别中的研究进展[J]. 化学通报,2011, 74(6):520-527
- [20] 高平平,晁群芳,张学礼,等. TGGE 分析焦化废水处理系统活性污泥细种群动态变化及多样性[J]. 生态学报,2003,23(10): 1963-1969
- [21] 李玉梅,姚纪元,吴静,等. PCR-SSCP 技术的研究及应用进展[J]. 生物技术通报,2007,(6):71-74
- [22] 米文秀,谢冰,徐亚同. PCR-SSCP 技术用于脱臭微生物群落结构的研究[J]. 环境科学, 2008,29(7): 1992-1997
- [23] Mitchell G P, Mirkin C A, Letsinger R L. Programmed assembly of DNA functionalized quantum dots[J]. Journal of the American Chemical Society, 1999,121(35):8122-8123

The research advance on early warning of filamentous sludge bulking

*LI Tongxian** *FEI Xuening* *CHI Yongzhi* *HAO Yachao* *CAO Yang*

(Tianjin Institute of Urban Construction, Tianjin, 300384, China)

ABSTRACT

Activated sludge method is effective method in the treatment of wastewater, but the sludge bulking in the application of this method will affect the efficiency of wastewater treatment. The pre-warning and controlling of sludge bulking have been a hot topic in this field. In this paper, the latest developments in the pre-warning of sludge bulking are represented, and pre-warning methods of sludge bulking through the determination of the conventional sludge indicators, observation of morphologic and molecular ecology are comprehensively described. The advantage and disadvantage of various methods are discussed. Based on the discussion, some modified methods are concluded. Moreover, the application prospects of the sludge bulking pre-warning methods are previewed.

Keywords: activated sludge, filamentous bacteria, filamentous sludge bulking, early warning.