胡怡杉 孙宝盛,王盛勇.2011. MBR和 CAS 工艺污泥在贫营养培养条件下的微生物群落结构研究[J].环境科学学报 31(9):1900–1907 Hu Y S, Sun B S, Wang S Y. 2011. Microbial community structure of sludge in MBR and CAS under oligotrophic environment [J]. Acta Scientiae Circumstantiae 31(9):1900–1907

MBR 和 CAS 工艺污泥在贫营养培养条件下的微生物 群落结构研究

胡怡杉¹ 孙宝盛^{1,*} 汪盛勇¹²

1. 天津大学环境科学与工程学院,天津 300072
2. 中钢武汉安全环保研究院,武汉 430081
收稿日期: 2010-11-22
修回日期: 2011-03-03
录用日期: 2011-03-11

摘要:采用聚合酶链式-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)技术 研究了膜生物反应器(MBR)和传统活性污泥工艺(CAS)反应器中微生物在贫营养条件下的总细菌群落结构.结果表明,在培养过程中,污泥的微生物种群经历了一个比较明显的变化过程,且以CAS 污泥微生物种群的变化 更为明显 演替过程中既有原始优势种群的消亡,又有新的优势种群的增强,故优势种群的功能地位处于动态变化中.两种污泥的来源、工艺进 水水质和运行条件的不同造成了活性污泥中菌群结构的差异.两种污泥中主要存在的优势菌种大部分为未经培养菌种(uncultured bacterium)、 弓形杆菌属(Arcobacter)、假单胞菌属(Pseudomonas)、芽孢杆菌属(Bacillus)、γ-变形菌纲(gamma proteobacterium)细菌等,此外,亦存在一些病原 性微生物 如Arcobacter属、Serratia 属和 Klebsiella 属等.

关键词: MBR; CAS; 16S rDNA; PCR-DGGE; 微生物群落结构; 克隆测序

文章编号: 0253-2468(2011) 09-1900-08 中图分类号: X172 文献标识码: A

Microbial community structure of sludge in MBR and CAS under oligotrophic environment

HU Yishan¹, SUN Baosheng^{1,*}, WANG Shengyong^{1,2}

1. School of Environmental Science and Engineering , Tianjin University , Tianjin 300072

2. Sinosteel Wuhan Safety & Environmental Protection Research Institute , Wuhan 430081

Received 22 November 2010; received in revised form 3 March 2011; accepted 11 March 2011

Abstract: Total microbial community structure in membrane bio-reactor (MBR) and conventional activated sludge (CAS) processes operated under oligotrophic environment was investigated using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE). Investigation results show that microbial population of the two types of sludge had significant changes during cultivation process, especially for the sludge in CAS process. In the evolvement of microbial population, the original dominant species was replaced by new species gradually and the original dominant species was even died out from the system. The state of the dominant populations was dynamically changing. Different sludge sources, influent water quality and operating conditions of the two systems lead to the differences of microbial community structure in activated sludge. The main dominant bacteria in the two types of sludge are uncultured bacterium, e. g. Arcobacter, Pseudomonas, Bacillus and gamma proteobacterium bacteria. Moreover, there also exist some pathogenic microorganisms, such as Arcobacter, Serratia and Klebsiella species.

Keywords: membrane bio-reactor (MBR); conventional activated sludge (CAS); 16S rDNA; PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE); microbial community structure; clone and sequence

1 引言 (Introduction)

与传统活性污泥工艺(Conventional Activated Sludge, CAS) 相比, 膜生物反应器(Membrane

Bioreactor ,MBR) 的最大特点是能够利用膜的高效 分离作用使微生物和大分子物质等全部截留在反 应器内(迟娟等 2005).但是,随着污泥停留时间的 延长 ,MBR 中污泥浓度会不断升高,在水力停留时

基金项目: 天津市自然科学基金重点项目(No. 07 JCZD JC02100)

Supported by the Key Project of Tianjin Natural Science Foundation (No. 07 JCZD JC02100)

作者简介: 胡怡杉(1987—), 女, E-mail: huyishan_2009@163.com; * 通讯作者(责任作者), E-mail: baosheng_sun@sina.com Biography: HU Yishan (1987—), female, E-mail: huyishan_2009@163.com; * Corresponding author, E-mail: baosheng_sun@sina.com 间不变的情况下,过高的污泥浓度会导致食料/微 生物比(F/M)下降,使一部分微生物处于一种营养 相对贫乏的环境中.当贫营养环境长期存在时,反 应器中微生物的正常生长将无法维持,并且由于内 源呼吸作用而不断自我消耗.由于活性污泥微生物 是污水处理的主体,因此,贫营养环境必然会对膜 生物反应器的运行产生极大影响(郝爱玲,2004), 并对 MBR 中降解性胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substances, EPS)、溶解性微生物产物 (Soluble Microbial Products, SMP)和活性污泥微生 物自身都会产生影响(黄兴等,2009).而应用 CAS 处理微污染水时,也容易使微生物处于贫营养环 境.在这种恶劣环境下,MBR 和 CAS 污泥的微生物 代谢产物组分具有一定的差异,并导致活性污泥对 环境的适应能力不同(周东东等,2010).

应用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE)方法对环境微生物进行研究,可以不 经过培养,直接从环境样品中提取细菌的 DNA 或 RNA,进行 PCR-DGGE.利用这一技术所分析出的微 生物群落结构及多样性可使人们能够快速、准确地 鉴定出各种环境中的微生物个体,并进行复杂微生 物群落结构演替规律、微生物种群动态性、重要基 因定位、表达的评价及鉴定分析(van Dijk *et al.*, 1997).研究人员应用 PCR-DGGE 方法进行研究时 发现,在 MBR 培养驯化至正常运行全过程中,总细 菌群落结构有很大的变化(张斌等 2008a; 牟洁等, 2010).

由于污泥特征与膜污染紧密相关,而生物多样 性是表征污泥特性的因素之一.因此,本研究综合 利用 PCR-DGGE 技术,对 MBR 和 CAS 在贫营养条 件下一个完整培养周期内的总细菌群落结构进行 分析比较,对 MBR 微生物多样性结构进行相似分 析,并对二者中的优势菌种进行克隆测序和鉴定. 以期为实际过程中优化系统运行,延缓膜污染提供 理论依据.

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 贫营养体系的构建和取样方法

活性污泥样品分别取自天津市某生活污水处 理厂曝气池和天津某医院污水站 MBR 反应池,分别 表示 CAS 污泥和 MBR 污泥.取上述两种活性污泥 混合液 静沉 30 min,弃去上清液后用蒸馏水清洗, 重复上述操作 3 次,以充分去除混合液中的有机营 养和惰性物质,最后用蒸馏水补足至 1000 mL. 以碳 源作为限制营养,在污泥混合液中加入无机盐营 养,污泥混合液在 130 r•min⁻¹、30 °C 下水浴振荡培 养. 无机盐营养的组成为(mg•L⁻¹):(NH₄)₂SO₄ 220, NaHCO₃ 50, MgSO₄•7H₂ O 50, KH₂ PO₄ 23, FeCl₃•6H₂O 4, CaCl, 10.

MBR 污泥分别于培养的第 0、1、2、3、6、8、9、11、 13、14、16、20、24 d 取样,提取污泥基因组总 DNA, 编号分别为 M₁ ~ M₁₃. CAS 污泥分别于培养的第 0、 1、3、4、6、9、10、11、13、14、16、20、24 d 取样,提取污 泥基因组总 DNA 编号分别为 C₁ ~ C₁₃.

2.2 主要试剂

细胞裂解处理液、TE 缓冲液、1 × TAE、固定/终 止液、染色液和显影液均为自制,TaqDNA 聚合酶、 10 × Buffer、dNTPs、基因组 DNA Maker 和 PCR 扩增 产物 DNA Maker 购自天根生化科技(北京)有限公 司 扩增引物、琼脂糖购自上海生工生物工程技术 服务有限公司,超纯水采用 Millipore 公司的 Simpicity 型纯水机制成,核酸染料购自北京赛百盛 基因技术有限公司.

2.3 实验方法

2.3.1 总 DNA 的提取与纯化 首先取 10 ~ 20 mL 污泥混合液于 50 mL 灭菌离心管内,于 6 ~ 10 ℃、 9000 r•min⁻¹下离心 10 min ,弃上清液; 接着加入 30 mL 灭菌蒸馏水并振荡混匀,离心 10 min ,弃上清液; 然后加入 30 mL 无菌 TE 缓冲液,离心 10 min ,弃上 清液; 最后将沉淀污泥加入 15 mL 蒸馏水并振荡混 匀 取 5 mL 污泥样品提取基因组 DNA.

采用化学裂解、酚/氯仿/异戊醇抽提、试剂盒 纯化的方法提取总基因组 DNA ,具体过程参照文献 (Rosenberger *et al.* 2006)所述.

 性 1 min 65~55 ℃ 退火 1 min 72 ℃延伸 1 min(其 中每个循环后退火温度下降 0.5 ℃);后 10 个循环 为 94 ℃变性 1 min 55 ℃ 退火 1 min 72 ℃延伸 1 min;最后在 72 ℃下延伸 8 min.扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中进行电泳检测(Muyzer *et al.* ,1993).

2.3.3 PCR 扩增产物的 DGGE 分析 将总细菌 PCR 产物在 DGGE 电泳系统(型号 DGGE-2001,C. B.S. SCIENTIFIC 公司)进行变性梯度凝胶电泳分 离,凝胶浓度为 8%,变性剂浓度从 30% ~55%.待 胶完全凝固后 将胶板放入装有电泳缓冲液的装置 中,在每个加样孔加入含有 10% 加样缓冲液的 PCR 样品 25 μL.在 150 V 的电压下,60 ℃电泳 6.5 h (Nicolaisen *et al.*,2002; Murray *et al.*,1996),电泳 完毕后 将凝胶进行硝酸银染色,并将图像在观测 仪中拍照存档.

2.3.4 生物多样性分析 应用凝胶分析软件 Quantity One 对扫描所得的 DGGE 图谱进行分析,并 利用 Shannon 多样性指数(SDI)、Pielou 均匀性指数 (EI) 和 Patrick 丰富度指数(S) 讨论活性污泥中微 生物多样性特征,采用戴斯系数(CS) 讨论污泥样品 之间微生物种群的相似性特性. SDI、EI、CS 计算公 式分别为:

 $SDI = -\sum (P_i \log P_i) = -\sum [(n_i/N) \log(n_i/N)]$ (1) $EI = [-\sum (P_i \log P_i)]/\log S$ (2)

$$CS = 2j/(a+b) \times 100\%$$
 (3)

式中 $P_i = n_i / N n_i$ 为条带 *i* 的峰面积 *N* 为所有峰的 总面积 *j* 为泳道 A 和泳道 B 的共有条带 *a* 和 *b* 分 别为样品 A 和 B 中各自的条带数 *S* 是样品中所有 菌种的总数.

2.3.5 优势菌种 16S rDNA 片段的克隆测序及入库 比对 切取胶上主要的独立 16S rDNA 条带并置于 1.5 mL 离心管中 加入 50 μL 已灭菌的 TE 缓冲液, 于 60~100 ℃下水浴 20 min; 然后将离心管放置在 冰箱中,于4 ℃下静置过夜; 最后将离心管于 5000 r•min⁻¹下低速离心 5 min,取 6 μL 浸出液作为模 板,以 F357 和 R518 为引物进行 PCR 扩增. PCR 扩 增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳检测,并送上海 英骏生物技术有限公司克隆测序,然后入库比对, 得到同源性最近的序列.

3 结果(Results)

3.1 MBR 污泥总细菌群落结构的比较

3.1.1 总细菌的 DGGE 图谱 图 1 给出了贫营养 培养过程中不同时期 MBR 污泥样品的 DGGE 指纹 图谱.从 DGGE 图谱上可以看到,MBR 污泥中微生 物种群结构和多样性相当丰富,一些优势菌种条纹 之间的差异比较明显,但也有很多条纹之间的间隔 很小,显示了 MBR 污泥中微生物种群结构的复 杂性.



图 1 MBR 污泥样品总细菌的 DGGE 分离图谱 Fig. 1 DGGE patterns of dominant bacteria in sludge samples of MBR

同时,由图1可知,在贫营养条件下,污泥微生 物种群经历了一个比较明显的变化过程,这表明贫 营养环境可能不利于 MBR 工艺的稳定运行. 在演替 过程中 既有原始优势种群的消亡 ,也有新的优势 种群的增强,优势种群的功能地位处于动态变化 中. 微生物种属之间存在着协同作用, 在贫营养条 件下为维持自身的正常生长而发挥不同的功能.一 些菌种在整个贫营养培养过程中一直处于优势地 位 甚至进一步强化,如条带 a、l、n 等,说明这些菌 种对贫营养条件比较适应,基本上维持了数量的稳 定 碳源的缺乏并未对其造成很大影响. 一些菌种 则对碳源匮乏极不适应,在一段时间内即被淘汰, 如条带 c、e、f、i 等. 一些菌种则在贫营养条件下逐渐 显现出优势地位 碳源匮乏的刺激反而促进了其生 长 如条带 d、m 等 ,表明这些菌种对于贫营养环境 的适应能力比较强,具有很强的竞争性,还有一些 菌种在初始阶段并不占优势 ,而在培养过程中逐渐 显现,但并不连续,且很不稳定,如条带 b、g、h、j、k 等 说明这些菌种在对碳源的争夺中处于次级地 位 随着内源呼吸作用的加剧 这些菌种的生存首 先受到冲击.

3.1.2 总细菌种群多样性分析 总细菌多样性指数分析结果见表 1. 由表 1 可知 ,MBR 污泥中多样性指数 SDI、物种丰富度 *S* 和均匀度 EI 均较高 ,这与 MBR 工艺的运行特点是相符合的. 膜的高效截留作 用能够为微生物的成长创造一个长期稳定的环境 , 这有助于污泥微生物的世代繁殖 ,形成更多的优势 菌种 ,促进污泥微生物多样性的增加. 此外 ,微生物 种群的多样性变化也很好地反映了 MBR 污泥中污 泥浓度、污泥活性及微生物代谢产物等的变化过程 ,其变化具有很强的协同性.

由表1可见,第0~2 d,各污泥样品($M_1 ~ M_3$) 的 SDI 呈现先增加后减小的趋势,此阶段 MBR 污泥 的 MLSS 下降量比较大, SMP 浓度急剧上升,上清液 DNA 浓度也有所增加(周东东等,2010).这表明微 生物对于贫营养环境并不适应,处于一种缓冲阶 段,并且通过产出 SMP 和 EPS 来获取有机营养,微 生物并没有大量死亡,反而由于碳源匮乏的刺激, 一些微生物种群一度得到丰富.此后,微生物种群 的 SDI 稳中有升,并在第8 d 达到最大值,丰富度指 数 S 为 13,多样性指数 SDI 为 1.09,这是微生物对 贫营养环境逐渐适应的结果. 第8~14 d, 微生物种 群多样性经历了一个较为稳定的过程,但在第14 d 锐减,丰富度指数 S 降至 6,多样性指数 SDI 降至 0.42.这与这一阶段 MBR 污泥上清液 DNA 浓度的 急剧增加和污泥活性的迅速丧失(周东东等 2010) 是十分吻合的. 此后, 微生物种群在经历了一个恢 复过程后最终由于抵抗能力的逐渐丧失而趋于消 亡.以上分析表明, MBR 污泥的微生物种群结构和 多样性对微生物代谢产物和污泥混合液特性起决 定性作用.

表1 总细菌多样性指数计算结果

Table 1	Diversity index of the dominant bacteria strains			
编号	SDI	EI	S	
M ₁	0.81	0.85	9	
M_2	0.90	0.85	11	
M ₃	0.83	0.92	8	
M_4	0.85	0.94	8	
M_5	0.90	0.90	10	
M_6	1.09	0.98	13	
M ₇	0.91	0.91	10	
M ₈	0.97	0.93	11	
M ₉	1.01	0.97	11	
M_{10}	0.42	0.54	6	
M_{11}	0.92	0.96	9	
M ₁₂	0.89	0.85	11	
M ₁₃	0.36	0.52	5	

3.1.3 总细菌种群相似性分析 以 M_1 为标准做出 各泳道相似性的顺序分布图 结果如图 2 所示. 泳道 中各条带粗细不一,对应其在 DGGE 凝胶上的密度 大小不同 密度越大,条带越粗黑,泳道中根据条带 位置的不同共计条带数 26 条. 由图 2 可知,微生物 种群间的相似性变化较大,微生物群落结构不太稳 定. M_2 、 M_3 泳道的 CS 值只有 20% 左右,试验中期 CS 值基本维持稳定,而试验后期 M_{11} 、 M_{12} 泳道的 CS 值 又高达 60% 以上,到 M_{13} 泳道时,CS 值又锐减到 20% 以下.这表明在贫营养条件下,MBR 污泥微生 物种群经历一个明显的变化过程,即最初对贫营养 环境的缓冲调整,随后对新环境逐渐适应,此后内 源呼吸作用的强化导致微生物种群锐减,最后优势 菌种的短暂自我修复与最终消亡.



图 2 MBR 污泥样品总细菌泳道相似性比较 Fig. 2 Similarity diagram of sample lanes in MBR

3.2 CAS 污泥总细菌群落结构的比较

CAS 污泥样品的 DGGE 指纹图谱由图 3 所示. 从图 3 中可看出,与 MBR 污泥相比,CAS 污泥的微 生物种群略显单一,优势菌种的演替也更加明显. 这主要是由于两种污泥的来源、工艺进水水质和运 行条件不同,因而造成活性污泥中菌群结构的差异 (王峰等,2004).参照 MBR 污泥样品的 DGGE 图谱 (图1)可以看出,CAS 污泥条带的连续性比较差,优 势菌种的数量较少,优势地位也偏弱,DGGE 图谱在 条带的位置和数目上均有一定的差异.将原始污泥 与贫营养培养过程中的污泥进行对比可以发现,由 于环境条件的改变,活性污泥中菌群结构发生了很 大的改变.在贫营养条件下,由于碳源的匮乏,许多 原来在活性污泥中占据优势地位的细菌被淘汰,如



图 3 CAS 反应器污泥样品总细菌的 DGGE 分离图谱 Fig. 3 DGGE patterns of dominant bacteria in sludge samples of CAS

条带 C、E、I 等. 一些细菌则在培养初期经过调整后 又重新占据了优势地位,如条带 H、J、M 等. 另外一 些菌种则比较适应贫营养的恶劣环境,许多原来在 活性污泥中数量不占优势的细菌大量繁殖,在贫营 养条件下逐渐占据优势地位,如条带 F、G 等. 少量 细菌则一直保持了稳定状态,如条带 A 等. 在这期间 也短暂出现了一些新菌种,但并不能长期占据优势地 位 如条带 B、D、K、L、N 等. 随着碳源的持续匮乏 微 生物优势菌群在培养后期锐减 基本都被淘汰. 3.3 部分优势菌种的片段测序分析和菌种鉴定 选取两种污泥 DGGE 指纹图谱上主要的独立 16S rDNA 条带 将凝胶片段进行切胶回收与克隆测

序,初步判断两种污泥在贫营养培养各阶段的优势 菌种,结果如表2所示.

表2 部	分优势菌群1	6S rDNA	片段的测序结果
------	--------	---------	---------

	NCBI 比对结果		夕世	NCBI 比对结果	
余市	接受号	相似基因及同源性	7.4	接受号	相似基因及同源性
Band a	FJ190415	Bacillus sp. R2A 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(98%)	Band m	EF417600	Uncultured gamma proteobacterium clone HF009 16S ribosomal RNA gene , partial sequence (94%)
	FJ558771	Uncultured bacterium clone DXH2-55 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(98%)		EU571162	Gamma proteobacterium 17–2 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(94%)
	AM113931	Bacterium btn 16j–3 partial 16S rRNA gene , isolate btn 16j–3($98\%)$		DQ451462	Uncultured gamma proteobacterium clone FAC23 16S ribosomal RNA gene , partial sequence (94%)
Band b	AB354655	Uncultured gamma proteobacterium clone HF009 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(99%)	Band n	AF526527	Uncultured <i>gamma proteobacterium</i> clone MB10gamma-k4 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(93%)
	AJ786005	Gamma proteobacterium TH-N59 partial 16S rRNA gene(99%)		AY049941	Gamma proteobacterium A40–1 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(93%)
	AM397459	Gamma proteobacterium PG1–1/37 partial 16S rRNA gene , strain PG1–1/37(98%)			
Band d	EU620069	Pseudomonas putida strain GNA5 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(99%)	Band A	EU620069	Pseudomonas putida strain GNA5 16S ribosomal RNA gene , partial sequence (100%)
	FJ372977	Uncultured <i>Pseudomonas</i> sp. isolate SSCP gel band SSCP6 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(98%)		AM161157	Pseudomonas putida partial 16S rRNA gene , clone K32 (100%)
	FJ755909	c16S ribosomal RNA gene , partial sequence ($98\%)$		AM711879	Uncultured <i>Pseudomonas</i> sp. partial 16S rRNA gene , isolate DGGE band A10(100%)
Band f	EF419216	Uncultured Arcobacter sp. clone P5–5 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(95%)	Band D	EU106662	Arcobacter nitrofigilis strain F2176 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(95%)
	EF092169	Uncultured Arcobacter sp. clone AC3_B6 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(95%)		EF092692	Uncultured Arcobacter sp. clone b1pl1aC10 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(95%)
Band i	EU603509	Bacterium BR115 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(98%)	Band F	EF659054	Uncultured bacterium clone WET-C-E09 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(98%)
	FJ842691	Serratia sp. NII–5a 16S ribosomal RNA gene , partial sequence (98%)		EF659059	Uncultured bacterium clone WET-C-G17 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(98%)
_	FJ266329	Serratia sp. RFNB19 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(98%)			
Band j	AM711884	Uncultured <i>Klebsiella</i> sp. partial 16S rRNA gene , isolate DGGE band A13(91%)	Band G	DQ447478	Uncultured bacterium clone UBbac114 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(98%)
	FJ646633	Pseudomonas sp. IPPW-1 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(89%)		AF531534	Uncultured bacterium isolate DGGE gel band db29 16S ribosomal RNA gene , partial sequence (98%)
Band 1	EF068266	Bacillus sp. YC 16S ribosomal RNA gene , partial sequence ($97\%)$	Band M	EF153928	Bacillus cereus isolate B2_1002 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(96%)
	FJ853176	Bacillus sp. Bz08 16S ribosomal RNA gene , partial sequence ($96\%)$		EF153927	Bacillus cereus isolate A3_0702 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(96%)
	FJ859689	Bacillus pseudomycoides strain BIHB 343 168 ribosomal RNA gene , partial sequence(96%)		FJ715489	Bacillus sp. zl_1 16S ribosomal RNA gene , partial sequence(96%)

由表2可知,两种污泥中主要存在的优势菌种 大部分为未经培养菌种(uncultured bacterium)、弓 形杆菌属(Arcobacter)、假单胞菌属(Pseudomonas)、 芽孢杆菌属(Bacillus)、γ-变形菌纲(gamma proteobacterium)细菌等.这与其他研究结论相吻合, 即自然环境尤其是极端环境中存在着大量不可培 养的微生物,已经被分离并鉴定的微生物仅占估计 数量的极少一部分(Amann et al., 1995).

测序结果充分反映了两种污泥中的优势菌群, 并且与各自来源的工艺运行特点相适应. 两种污泥 各自的微生物群落在不同的进水水质和工艺运行 条件下经过长期演替而来,如 Pseudomonas 属是活 性污泥的优势菌之一,而 Pseudomonas putida 对酚 类、苯乙酸、水杨酸、甲苯等芳香族化合物具有很好 的降解作用,并且还参与共代谢.在 CAS 污泥中发 现了硝化细菌 Arcobacter nitrofigilis 等,表明其中很 可能存在比较丰富的脱氮种群 这也正好反映了污 泥来源工艺采用 A/O 法脱氮除磷的目的. Proteobacterium 属和 Bacillus 属细菌已在多种不同的 污水生物处理工程中被发现和鉴定为对污染物的 去除具有主要作用的优势菌群. 经这些细菌的胞外 酶作用,可以将大分子有机物降解成水溶性分子的 氨基酸、单糖和无机酸等,从而使污染物得到降解 (张斌等 2008b).

此外,两种污泥中很可能存在 Arcobacter 属等病 原菌.研究表明,近似 Arcobacter 属的细菌是城市污 水中的主要优势菌群,其比例高达 74.2%(吴春笃 等 2008).在 MBR 污泥中还发现了克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*)和沙雷氏菌属(*Serratia*)等病原菌,这与 医疗废水的性质正好对应,这一发现也为城市污水 和医疗废水生物性污染的治理提供了一定的科学 依据.

4 结论(Conclusions)

1) MBR 污泥中微生物种群结构和多样性相当 丰富,而 CAS 污泥中微生物种群结构和多样性则略 显单一.在整个试验中,两种污泥的微生物种群经 历了一个比较明显的变化过程,尤其以 CAS 污泥更 为明显.在演替过程中,既有原始优势种群的消亡, 也有新的优势种群的增强,优势种群的功能地位处 于动态变化中.

2) 对 MBR 污泥微生物的多样性、相似性进行 了分析 结果表明 ,MBR 污泥的微生物种群结构和 多样性对微生物代谢产物和污泥混合液特性起决 定性作用.

3)不同工艺的进水水质和运行条件对污泥微 生物群落的影响非常大.两种污泥中主要存在的优 势菌种大部分为未经培养菌种(uncultured bacterium)、弓形杆菌属(Arcobacter)、假单胞菌属 (Pseudomonas)、芽孢杆菌属(gamma proteobacterium)细菌等,这些优势微生物在贫营养 条件下起了关键作用.此外,还存在一些病原性微 生物,如Arcobacter属、Serratia 属和 Klebsiella 属等.

责任作者简介: 孙宝盛(1957—), 男, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向: 工业废水处理、中水回用技术和条件; 膜电化 学反应器、膜化学反应器、工业循环冷却水技术; 环境监测和 环境质量评价. E-mail: baosheng_sun@ sina. com.

参考文献(References):

- Amann R I , Ludwig W , Schleifer K H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation [J]. Microbiological Reviews , 59(1): 143–169
- 迟娟,张国照,李敏哲,等. 2005. 膜生物反应器处理生活污水的实验研究和工程设计[J]. 水处理技术,31(10): 76-78
- Chi J, Zhang G Z, Li M Z, et al. 2005. Experimental research on domestic sewage treatment by MBR and project design [J]. Technology of Water Treatment, 31(10): 76–78(in Chinese)
- 郝爱玲. 2004. 用于微污染地表水处理的膜生物反应器的中试研究 [D]. 天津: 天津大学. 24-37
- Hao A L. 2004. A pilot-scale experiment on micro-polluted surface water treatment by MBR process [D]. Tianjin: Tianjin University. 24–37 (in Chinese)
- 黄兴,孙宝盛,孙井梅,等. 2009. 贫营养条件下 EPS、SMP 和微生物多样性的研究[J]. 环境科学,30(5): 1468-1474
- Huang X , Sun B S , Sun J M , et al. 2009. EPS , SMP and microbial biodiversity under the oligotrophic environment [J]. Environment Science , 30(5): 1468–1474(in Chinese)
- 牟洁,孙宝盛,陈谊. 2010. 利用 PCR-DGGE 研究膜生物反应器中 微生物的群落结构[J]. 环境科学学报,30(4): 729-734
- Mou J , Sun B S , Chen Y. 2010. Microbial community structure in a membrane bioreactor determined using PCR-DGGE [J]. Acta Scientiae Circumstantiae , 30(4): 729–734(in Chinese)
- Murray A E , Hollibaugh J T , Orrego C. 1996. Phylogenetic composition of bacterioplankton from two california estuaries compared by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rDNA fragments [J]. Applied and Environmental Microbiology ,62(7): 2676–2680
- Muyzer G , Waal E C , Uiterlinden A G. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoersis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology ,59(3): 695– 700

- Nicolaisen M H, Ramsing N B. 2002. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) approaches to study the diversity of ammonia-oxidizing bacteria [J]. Journal of Microbiological Methods , 50(2): 189–203
- Rosenberger S , Laabs C , Lesjean B , et al. 2006. Impact of colloidal and soluble organic material on membrane performance in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment [J]. Water Research , 40(4): 710–720
- van Dijk L , Roncken G C G. 1997. Membrane bioreactor for wastewater treatment: the state of the art and new developments [J]. Water Science and Technology , 35(10): 35–41
- 王峰,傅以钢,夏四清,等. 2004. PCR-DGGE 技术在城市污水化学 生物絮凝处理中的特点[J].环境科学,25(6):74-79
- Wang F , Fu Y G , Xia S Q , et al. 2004. Characteristics of municipal sewage chem. -bioflocculation treatment process by using PCR– DGGE technology [J]. Environmental Science , 25(6): 74–79(in Chinese)
- 吴春笃,许小红,宁德刚,等.2008.城市污水细菌多样性及其生物 安全性研究[J].中国安全科学学报,18(1):119-122
- Wu C D , Xu X H , Ning D G , et al. 2008. Study on bacterial diversity

and biological safety of municipal sewage [J]. China Safety Science Journal , 18(1): 119-122(in Chinese)

- 张斌,孙宝盛,季民,等. 2008a. MBR 中微生物群落结构的演变与 分析[J].环境科学学报,28(11):2192-2199
- Zhang B , Sun B S , Ji M , et al. 2008a. Analysis and succession of microbial community structure in a membrane bioreactor [J]. Acta Scientiae Circumstantiae , 28(11): 2192–2199(in Chinese)
- 张斌,孙宝盛,刘慧娜,等. 2008b. 处理不同废水 MBR 系统中微生物群落结构的比较[J]. 环境科学,29(10): 2944-2949
- Zhang B , Sun B S , Liu H N , et al. 2008b. Comparison of microbial community structure in MBRs treating different wastewater [J]. Chinese Journal of Environmental Science ,29(10) : 2944-2949(in Chinese)
- 周东东,孙宝盛,王盛勇. 2010. CAS和 MBR 工艺污泥微生物在贫 营养环境中代谢产物的研究[J].环境工程学报,4(8): 127-131
- Zhou D D, Sun B S, Wang S Y. 2010. Research on microbial metabolites of CAS and MBR processes under the oligotrophic environment[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering ,4 (8): 127–131(in Chinese)