

# 温度对 AO - MBR 运行效果及微生物菌群的影响

张 凯<sup>1</sup>, 夏星星<sup>1</sup>, 孙 欣<sup>1</sup>, 张佳奇<sup>1</sup>, 孙建升<sup>1</sup>, 王 萍<sup>2</sup>, 梁金峰<sup>3</sup>

(1. 中国市政工程华北设计研究总院有限公司, 天津 300074; 2. 乐陵市住房与城乡建设局, 山东 乐陵 253600; 3. 乐陵市自然资源局, 山东 乐陵 253600)

**摘 要:** 监测缺氧-好氧膜生物反应器(AO-MBR)长期运行过程中的膜污染特性、脱氮效果和微生物菌群特征变化,以考察温度的影响。结果发现,随着温度的上升,AO-MBR的平均膜清洗周期由冬季低温时的18 d延长至夏季高温时的30 d,这可能与污泥黏度、EPS含量和微生物菌群变化有关。在夏季高温时,虽然AO-MBR的污泥总氮负荷较高,但是仍有出水氨氮和总氮浓度低于冬季低温时。对污泥的微生物菌群进行分析发现,夏季的菌群多样性较高,而且参与脱氮的*Nitrospirae*、*Acidobacteria*和*Planctomycetes*相对丰度较高,这可能是夏季脱氮效果较好的原因之一。

**关键词:** 缺氧-好氧膜生物反应器; 温度; 脱氮; 微生物菌群; 膜污染

**中图分类号:** TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2019)13-0107-05

## Effect of Temperature on Performance and Microbial Community of AO - MBR

ZHANG Kai<sup>1</sup>, XIA Xing-xing<sup>1</sup>, SUN Xin<sup>1</sup>, ZHANG Jia-qi<sup>1</sup>, SUN Jian-sheng<sup>1</sup>,  
WANG Ping<sup>2</sup>, LIANG Jin-feng<sup>3</sup>

(1. North China Municipal Engineering Design & Research Institute Co. Ltd., Tianjin 300074, China;  
2. Laoling Housing and Urban-Rural Development Bureau, Laoling 253600, China; 3. Laoling Natural Resources Bureau, Laoling 253600, China)

**Abstract:** The membrane fouling, nitrogen removal effect and microbial community of an anoxic-oxic membrane bioreactor (AO-MBR) during long-term operation were systematically investigated under different temperatures. The results showed that the average membrane cleaning cycle of the AO-MBR was increased from 18 days to 30 days with the temperature increasing from a low value in the winter to a high value in the summer. This might be related to the change of sludge viscosity, EPS content and microbial community. Although TN load of the sludge in the AO-MBR was higher at high temperature in the summer than that in the winter, the  $\text{NH}_4^+$ -N and TN concentration in the effluent were lower in some days in the summer than that in the winter. It was found that the sludge had higher diversity in summer according to analysis of the microbial community, and the relative abundance of *Nitrospirae*, *Acidobacteria* and *Planctomycetes* which played a key role in nitrogen removal was higher than those in the winter. This might explain why effective removal of nitrogen was obtained in the summer.

**Key words:** AO-MBR; temperature; nitrogen removal; microbial community; membrane fouling

膜生物反应器(MBR)作为一种新型、高效的污水处理技术,具有固液分离效果好、污泥浓度高、对

有机物和氮的去除效率高等优点,得到了越来越广泛的应用。配合其他处理工艺,MBR的出水水质可

达到回用标准,从而可部分缓解淡水资源短缺的问题<sup>[1]</sup>。在MBR实际运行过程中,随着季节的变化,水温变化幅度可达30℃以上,这会对MBR的运行效能产生重要影响。一方面,水温会影响活性污泥的黏性等动力学指标,从而影响膜污染变化;另一方面,水温会影响污泥活性,有研究发现水温对MBR去除有机物的效果影响不显著,但是当水温<13℃时硝化反应会受到抑制<sup>[2]</sup>。因此,非常有必要从膜污染、污染物去除效果和污泥微生物菌群等多方面对温度的影响展开系统研究。

传统上PCR-DGGE等分子生物学手段可以用来分析微生物菌群的分布,但是活性污泥中的微生物菌群复杂、丰度差异很大,传统的分子生物学方法往往不能有效区分,尤其是对低丰度菌群分辨率较低。454焦磷酸高通量测序具有分析结果准确、快速、测序深度较深等优点,被越来越多地应用于活性污泥微生物菌群结构的研究中<sup>[3]</sup>。笔者在长期监测缺氧-好氧膜生物反应器(AO-MBR)的跨膜压差(TMP)和脱氮效果的基础上,利用454焦磷酸高通量测序方法重点分析了冬季和夏季不同温度时污泥的微生物菌群特征,以期对AO-MBR的运行调控提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验装置

AO-MBR试验装置的缺氧区和好氧区有效容积均为21 L。好氧区中平行设置2片PVDF平板膜,平均膜孔径为0.2 μm,总有效过滤面积为0.48 m<sup>2</sup>。在平板膜下方安装穿孔曝气管,由鼓风机提供活性污泥所需的溶解氧(DO)和膜面气水冲刷,膜区单位投影面积的曝气量为1.2 m<sup>3</sup>/(m<sup>2</sup>·min)。蠕动泵和压力计连接在膜出水管上,通过蠕动泵抽吸出水,并通过压力计监测TMP。

AO-MBR接种污泥为城市生活污水处理厂好氧区污泥,稳定运行3个月后开始记录数据;进水为实际生活污水;膜通量设定为10 L/(m<sup>2</sup>·h);出水蠕动泵抽吸10 min后停歇2 min以控制膜污染;每天排放一定量的剩余污泥,控制污泥龄为30 d;缺氧区和好氧区的水力停留时间(HRT)均为5.2 h,总HRT为10.4 h;回流比为200%;好氧区DO控制在3~6 mg/L,缺氧区DO控制在0.3 mg/L以下;当TMP达到25~30 kPa时使用0.5%(体积分数)的NaClO溶液化学清洗2 h。

## 1.2 分析指标与测试方法

### 1.2.1 常规指标测试

COD、总氮、氨氮、硝酸盐氮、亚硝酸盐氮、MLSS、MLVSS等指标采用国家标准方法测定。其中,进水取样后直接测定各项指标,出水取样后直接测定COD和TN浓度,出水过滤后测定氨氮、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮浓度。

### 1.2.2 微生物菌群测试和分析

在冬季和夏季分别取AO-MBR装置中的污泥样品,使用FastDNA<sup>®</sup> SPIN Kit for Soil试剂盒(MP Biomedicals, Solon, OH, 美国)提取DNA。以16S rRNA的V1-V3区域为目标区域,以27F(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和533R(5'-TTACCGCGCTGCTGGCAG-3')作为引物,采用热循环方法对提取的DNA进行PCR扩增,扩增方法详见文献[4]。扩增后的DNA混合物使用UNIQ-10 PCR Purification试剂盒(Sangon, 中国)进行提纯并使用TBS-380试剂盒(Turner BioSystems, Inc., 美国)进行测定。然后利用Roche 454 GS-FLX Titanium平台(Roche 454 Life Sciences, Branford, CT, 美国)进行焦磷酸测序。去除长度低于200 bp的序列、反向引物不能识别的序列和包含模糊碱基的序列以提高数据的准确性。最终,在silva数据库中对获得的序列进行kmer检索。以97%置信区间或95%置信区间作为判断依据,根据MOTHUR方法,将获得的碱基序列分成不同的操作分类单位(OTU)。以置信度80%为判断依据,根据Naive Bayesian Classifier方法,在生物学分类的门水平上将获得的序列进行分类。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同温度下AO-MBR的运行情况

#### 2.1.1 TMP变化

本研究连续监测了AO-MBR在一年中的运行数据,TMP和水温的变化情况如图1所示。可以看出,在一年中水温变化幅度较大,从冬季最低2℃至夏季最高36℃,变化幅度达到了34℃。相应地,在不同水温条件下TMP的变化情况不同。例如,在2018年1月3日—3月14日,水温变化范围为2~16℃,清洗次数为4次,平均清洗周期为18 d;在2018年3月15日—6月1日,水温变化范围为8~27℃,清洗次数为4次,平均清洗周期为20 d;在2018年6月2日—9月1日,水温变化范围为20~

36 ℃,清洗次数为 3 次,平均清洗周期为 30 d。随着温度上升,清洗周期延长,膜污染减轻。其原因一方面是水温上升,污泥黏度下降<sup>[2]</sup>,曝气冲刷的扰动增强;另一方面,温度较高时污泥活性增强,对胞外聚合物(EPS)的降解能力增强,因此 EPS 浓度下降,减少了膜污染<sup>[5]</sup>。

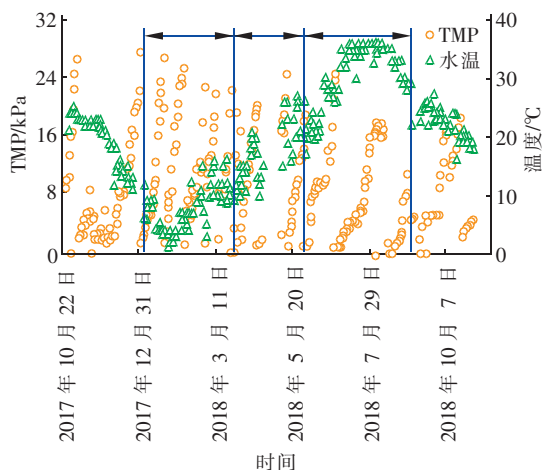


图1 AO-MBR 的 TMP 和水温变化

Fig.1 Change of TMP and temperature in AO-MBR

### 2.1.2 脱氮效果变化

为了明晰不同温度下 AO-MBR 的脱氮效果,首先考察了不同温度下进水污染物浓度和污泥浓度的变化。在 2018 年 1 月 3 日—3 月 14 日的冬季低温和 6 月 2 日—9 月 1 日的夏季高温条件下,进水 COD 平均浓度分别为 446 和 334 mg/L,进水 TN 平均浓度分别为 56.7 和 49.3 mg/L。夏季进水 COD 和 TN 浓度较低可能是因为夏季生活用水量和雨水量增加,进水污染物浓度被稀释。相应地,进水有机负荷的降低导致污泥浓度发生变化,在冬季 MLSS、MLVSS 平均值分别为 7.1、5.2 g/L,而夏季分别为 5.9、3.6 g/L。计算可得冬季和夏季的污泥总氮负荷分别为 25.0、31.5 mg/(gMLVSS·d)。

由于 AO-MBR 对 COD 的去除效果良好,本研究的长期监测显示出水 COD 浓度均满足国家一级 A 标准,因此重点考察 AO-MBR 对氮的去除效果,如图 2 所示。可以看出,AO-MBR 的出水氮浓度随温度而变化。例如,在冬季低温时出水  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  浓度为  $(1.6 \pm 2.5)$  mg/L,夏季高温时降至  $(0.3 \pm 0.2)$  mg/L。这可能是因为在夏季高温时氨氧化细菌和亚硝酸盐氧化细菌的活性均有所上升,因此出水  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  浓度下降。相比传统的 AO 活性污泥工

艺,本研究中 AO-MBR 冬季低温时出水  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  浓度仍能保持在较低水平,这可能与 AO-MBR 污泥龄长、污泥浓度较高以及硝化细菌累积有关<sup>[3]</sup>。在冬季低温时出水 TN 浓度为  $(19.2 \pm 5.8)$  mg/L,仅可以达到一级 B 标准;而在夏季高温时下降至  $(12.8 \pm 5.6)$  mg/L,可以满足一级 A 标准要求。由出水  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  和  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  浓度可知,冬季和夏季的出水 TN 大部分由  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  构成,无  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  累积。这说明,虽然夏季污泥总氮负荷较高,但是仍然具有较好的脱氮效果,反硝化速率较快,这可能与污泥活性以及菌群结构变化有关<sup>[6]</sup>。

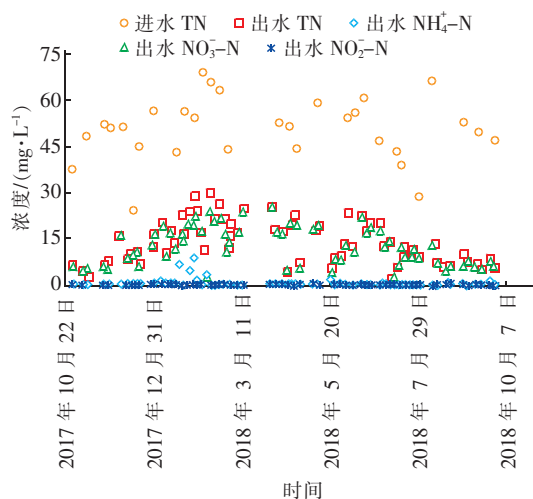


图2 AO-MBR 的进出水氮浓度

Fig.2 Nitrogen concentration of the influent and effluent in AO-MBR

## 2.2 冬季和夏季的微生物菌群变化

### 2.2.1 菌群多样性变化

在 AO-MBR 运行过程中,选择较为典型的两个时段,即冬季低温和夏季高温时段测试污泥的微生物菌群序列。将获得的序列划分成不同的 OTU, 97% 置信区间 ( $\alpha = 0.03$ ) 和 95% 置信区间 ( $\alpha = 0.05$ ) 的稀释性曲线如图 3 所示。在  $\alpha = 0.03$  条件下,随着读取序列数量的增加,OTU 数量也在增加,但是在相同序列数量时,冬季污泥样品生成的 OTU 数量低于夏季污泥样品。在  $\alpha = 0.05$  条件下也有同样的趋势。这说明在相同序列数量的情况下冬季微生物种类低于夏季,即冬季的菌群多样性较低。

根据图 3 的数据,可进一步计算 ACE、Chao1 和 Shannon 指数,结果如表 1 所示。Chao1 指数为读取的序列数量趋向于无穷大时可能生成的 OTU 数量,

ACE 和 Chao1 指数均与样品的菌群丰富程度有关。冬季污泥样品的 ACE 和 Chao1 指数小于夏季污泥样品,说明冬季污泥样品的菌群丰富程度低于夏季。Shannon 指数是反映菌群多样性的指标<sup>[4]</sup>,冬季污泥样品的 Shannon 指数小于夏季污泥样品同样说明前者的菌群多样性低于后者。在  $\alpha = 0.05$  条件下也有相同规律。由此进一步证明了冬季污泥样品的菌群多样性低于夏季。Luo 等人<sup>[7]</sup>的研究也发现了类似规律,当温度由 25 ℃ 上升至 30 ℃ 时,AO 活性污泥工艺中微生物菌群的多样性增加,且硝化和反硝化效果均上升。

表 1 冬季和夏季污泥样品的菌群多样性指标

Tab.1 Richness indicator of sludge samples in winter and summer

项 目	$\alpha = 0.03$			$\alpha = 0.05$		
	Shannon 指数	ACE 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	ACE 指数	Chao1 指数
冬季	14 822	8 045	6.76	10 406	5 888	6.52
夏季	27 614	13 407	7.15	21 316	11 041	7.00

### 2.2.2 菌群结构变化

为了进一步明确冬季低温和夏季高温时 AO - MBR 中的具体菌群信息,本研究对比了门水平上的相对丰度,结果如图 4 所示。相对丰度指该菌群序列数量在总序列数量中所占比例,No\_Rank 指没有明确的生物学分类的序列,others 为相对丰度低于 0.1% 的菌群的序列数量在总序列数量中所占比例。

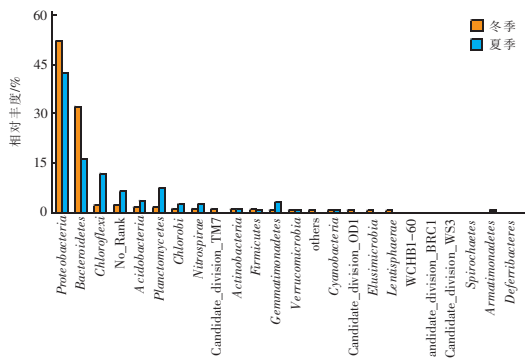


图 4 冬季和夏季污泥样品的菌群结构对比

Fig.4 Comparison of microbial community of sludge samples in winter and summer

从图 4 可以看出,在冬季和夏季均是变形菌门 *Proteobacteria* 和拟杆菌门 *Bacteroidetes* 占据优势。有文献认为 *Bacteroidetes* 能够降解有机物、同时释放蛋白质类 EPS<sup>[8]</sup>,冬季时 *Bacteroidetes* 相对丰度为 32.2%,高于夏季的相对丰度,这可能也是冬季膜污染较为严重的原因之一。*Chloroflexi* 被认为与污泥

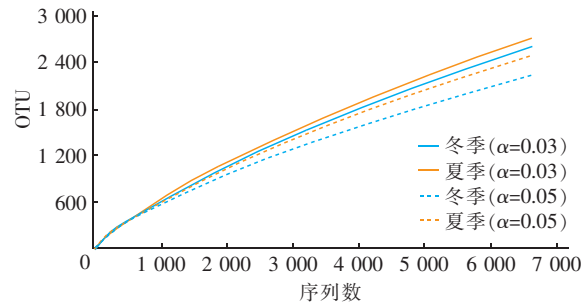


图 3 冬季和夏季污泥样品的菌群稀释性曲线

Fig.3 Rarefaction curve of the sludge samples in winter and summer

颗粒化有关<sup>[9]</sup>,夏季 *Chloroflexi* 相对丰度为 11.8%,高于冬季的 2.2%,这可能造成污泥絮体结构变化,从而使 AO - MBR 的运行状况不同。*Nitrospirae* 是一类亚硝酸盐氧化菌<sup>[10]</sup>,其在夏季的相对丰度较高可能与夏季硝化效果较好、出水  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  浓度较低有关。*Acidobacteria* 和 *Planctomycetes* 在污水系统中被广泛检出,并且与氮的去除过程有关<sup>[7,11]</sup>,其相对丰度在夏季分别为 3.6% 和 7.4%,高于冬季的 1.5% 和 1.3%,这可能使得 AO - MBR 在夏季的脱氮效果更好。

### 3 结论

长期监测发现,随着温度的上升,AO - MBR 平均膜清洗周期由冬季低温时的 18 d 延长至夏季高温时的 30 d,这可能与污泥黏度、EPS 含量和微生物菌群变化有关。在夏季高温时,虽然 AO - MBR 的污泥总氮负荷较高,但是仍有出水氨氮和总氮浓度低于冬季低温时。对污泥的微生物菌群进行分析发现,夏季的菌群多样性较高,而且参与脱氮的 *Nitrospirae*、*Acidobacteria* 和 *Planctomycetes* 菌门相对丰度较高,这可能是夏季脱氮效果较高的原因之一。

### 参考文献:

- [1] 李国东. AO 生物膜 - MBR - 炭滤用于煤矿生活污水处理工程改造[J]. 中国给水排水,2018,34(16): 106 - 110.

- Li Guodong. Application of AO biofilm, MBR, and activated carbon filtration process in coal mine domestic sewage reconstruction project [J]. China Water & Wastewater, 2018, 34(16): 106–110 (in Chinese).
- [2] 王贺, 周瑜, 李秀芬, 等. 温度对浸没式 MBR 运行及污泥性质的影响 [J]. 水处理技术, 2018, 44(10): 66–70.  
Wang He, Zhou Yu, Li Xiufen, *et al.* Effect of operating temperature on submerged MBR operation and sludge properties [J]. Technology of Water Treatment, 2018, 44(10): 66–70 (in Chinese).
- [3] 黄菲, 梅晓洁, 王志伟, 等. 冬季低温下 MBR 与 CAS 工艺运行及微生物群落特征 [J]. 环境科学, 2014, 35(3): 1002–1008.  
Huang Fei, Mei Xiaojie, Wang Zhiwei, *et al.* Diversity of operation performance and microbial community structures in MBR and CAS processes at low temperature [J]. Environmental Science, 2014, 35(3): 1002–1008 (in Chinese).
- [4] Ma J X, Wang Z W, Yang Y, *et al.* Correlating microbial community structure and composition with aeration intensity in submerged membrane bioreactors by 454 high-throughput pyrosequencing [J]. Water Res, 2013, 47(2): 859–869.
- [5] Nevot M, Deroncelé V, Montes M J, *et al.* Effect of incubation temperature on growth parameters of *Pseudoalteromonas antarctica* NF and its production of extracellular polymeric substances [J]. J Appl Microbiol, 2008, 105(1): 255–263.
- [6] 陈翠忠, 高宇学, 王文迪, 等. 温度对 SBR 生物脱氮效能的长期影响 [J]. 环境工程, 2018, 36(6): 68–72.  
Chen Cuizhong, Gao Yuxue, Wang Wendi, *et al.* Long-term effect of temperature on the performance of nitrogen removal in sequencing batch reactor (SBR) [J]. Environmental Engineering, 2018, 36(6): 68–72 (in Chinese).
- [7] Luo H L, Song Y D, Zhou Y X, *et al.* Effects of rapid temperature rising on nitrogen removal and microbial community variation of anoxic/aerobic process for ABS resin wastewater treatment [J]. Environ Sci Pollut Res, 2017, 24(6): 5509–5520.
- [8] Wang Z, Zhang X X, Huang K L, *et al.* Metagenomic profiling of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in a tannery wastewater treatment plant [J]. Plos One, 2013, 8(10): e76079.
- [9] 王晗, 李瀚翔, 陈猷鹏, 等. 盐度条件下 ANAMMOX-EGSB 反应器颗粒污泥微生物群落 [J]. 环境科学, 2019, 40(4): 1906–1913.  
Wang Han, Li Hanxiang, Chen Youpeng, *et al.* Microbial community of granular sludge in an ANAMMOX-EGSB reactor under saline conditions [J]. Environmental Science, 2019, 40(4): 1906–1913 (in Chinese).
- [10] Wang P, Yu Z, Qi R, *et al.* Detailed comparison of bacterial communities during seasonal sludge bulking in a municipal wastewater treatment plant [J]. Water Res, 2016, 105: 157–166.
- [11] Cheng C, Zhou Z, Pang H J, *et al.* Correlation of microbial community structure with pollutants removal, sludge reduction and sludge characteristics in micro-aerobic side-stream reactor coupled membrane bioreactors under different hydraulic retention times [J]. Bioresour Technol, 2018, 260: 177–185.



作者简介: 张凯 (1968 – ), 男, 湖北赤壁人, 大学本科, 高级工程师, 主要从事城市给水排水、污水处理、海绵城市、水环境的规划、设计与研究工作。

E-mail: zk-zhang@163.com

收稿日期: 2019-04-21