

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2021.15.012

# D-A<sup>2</sup>O 工艺高效脱氮及有机物降解机理研究

赵 静<sup>1</sup>, 刘 琴<sup>1</sup>, 张晶晶<sup>1</sup>, 王志远<sup>2</sup>, 叶长兵<sup>1</sup>

(1. 玉溪师范学院 化学生物与环境学院, 云南 玉溪 653100; 2. 德宏师范高等专科学校  
农学与生物科学学院, 云南 芒市 678400)

**摘 要:** D-A<sup>2</sup>O 是基于 A<sup>2</sup>O 工艺设计的双系列厌氧/缺氧交替运行污水处理工艺, 具有较为显著的脱氮除磷及有机物去除效果。为了查明 D-A<sup>2</sup>O 工艺高效脱氮及有机物降解的原因, 采用宏基因组学技术, 利用 *amoA* 基因及 *pufM* 基因对 D-A<sup>2</sup>O、A<sup>2</sup>O 两种工艺活性污泥中脱氮及降解有机物的微生物群落结构进行检测分析。结果表明, 在科水平上, 两种工艺共检测到含 *amoA* 基因的微生物有亚硝化单胞菌、变形菌、假单胞菌、莫拉氏菌等 8 种, 其中亚硝化单胞菌科以及  $\beta$ -变形菌为优势菌种。亚硝化单胞菌在 D-A<sup>2</sup>O 好氧池中的比例(3.24%)是 A<sup>2</sup>O(1.48%)的 2.2 倍;  $\beta$ -变形菌在 D-A<sup>2</sup>O 好氧池中的比例(0.21%)是 A<sup>2</sup>O(0.11%)的 2 倍; 而假单胞菌、丛毛单胞菌仅在 D-A<sup>2</sup>O 工艺中被发现。可见, D-A<sup>2</sup>O 系统内具有更为丰富的脱氮微生物种类及更高的种群密度。另外, 两种工艺中共检测到含 *pufM* 基因的微生物为变形菌、慢生根瘤菌、嗜甲基杆菌等 8 种, 其中变形菌及慢生根瘤菌为优势菌种。慢生根瘤菌在 D-A<sup>2</sup>O 好氧池中的比例(8.52%)是 A<sup>2</sup>O(5.51%)的 1.55 倍, 且 D-A<sup>2</sup>O 工艺中的嗜甲基杆菌、鞘脂单胞菌、醋杆菌、伯克霍尔德氏菌、红环菌、着色菌种群数量均高于 A<sup>2</sup>O 工艺中相应工艺单元。此外, 通过对  $\alpha$  多样性及物种丰度热图进行分析, 进一步说明了 D-A<sup>2</sup>O 工艺具有更为丰富的微生物物种多样性, 具有更高的脱氮及有机物降解能力。

**关键词:** D-A<sup>2</sup>O 工艺; *amoA*; *pufM*; 物种多样性; 高效脱氮; 有机物降解

**中图分类号:** TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2021)15-0070-07

## Efficient Denitrification and Organic Matter Degradation Mechanism of D-A<sup>2</sup>O Process

ZHAO Jing<sup>1</sup>, LIU Qin<sup>1</sup>, ZHANG Jing-jing<sup>1</sup>, WANG Zhi-yuan<sup>2</sup>, YE Chang-bing<sup>1</sup>

(1. College of Chemistry, Biology and Environment, Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China;  
2. School of Agriculture and Biological Sciences, Dehong Teachers' College, Mangshi 678400, China)

**Abstract:** D-A<sup>2</sup>O process is a dual-series alternating anaerobic/anoxic sewage treatment process modified by A<sup>2</sup>O process, which has significant effects on nitrogen and phosphorus removal and organic matter degradation. To investigate the reasons for efficient denitrification and organic matter degradation in D-A<sup>2</sup>O process, *amoA* gene and *pufM* gene were employed to detect and analyze community structure of denitrification and organic matter degradation microorganisms in activated sludge of D-A<sup>2</sup>O and A<sup>2</sup>O processes. At family level, 8 species of microorganisms containing *amoA* gene in the two processes were

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51568066); 云南省科技厅地方高校联合专项重点项目(2018FH001-009);  
云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(2018HB106)

通信作者: 叶长兵 E-mail: yechangbing@yxnu.edu.cn

detected, including *Nitrosomonas*, *Proteobacteria*, *Pseudomonas* and *Moraxella*, among which *Nitrosomonas* and *Betaproteobacteria* were the dominant species. The proportion of *Nitrosomonadaceae* in the aerobic tank of D-A<sup>2</sup>O process (3.24%) was 1.2 times higher than that of A<sup>2</sup>O process (1.48%), the proportion of *Betaproteobacteria* in the aerobic tank of D-A<sup>2</sup>O process (0.21%) was twice as high as that of A<sup>2</sup>O process (0.11%), and *Pseudomonadaceae* and *Comamonadaceae* were only detected in the D-A<sup>2</sup>O process. Therefore, the D-A<sup>2</sup>O system had more abundant species of denitrifying microorganisms and higher population density. In addition, a total of 8 species of microorganisms containing *pufM* gene in the two processes were detected, such as *Proteobacteria*, *Bradyrhizobiaceae*, *Methylobacteriaceae* and so on, among which *Proteobacteria* and *Bradyrhizobiaceae* were the dominant species. The proportion of *Bradyrhizobiaceae* in the aerobic tank of D-A<sup>2</sup>O process (8.52%) was 1.55 times as high as that of A<sup>2</sup>O process (5.51%), and the number of *Methylobacteriaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Cetobacteraceae*, *Burkholderiales*, *Hodobacteraceae* and *Hromatiaceae* in the D-A<sup>2</sup>O process was higher than that in the corresponding tank of the A<sup>2</sup>O process. Furthermore, analysis of  $\alpha$  diversity and species abundance heatmap further indicated that D-A<sup>2</sup>O process had more abundant microbial species diversity and higher nitrogen removal and organic matter degradation ability.

**Key words:** D-A<sup>2</sup>O process; *amoA*; *pufM*; species diversity; efficient denitrification; organic matter degradation

A<sup>2</sup>O 工艺因其具有较好的脱氮除磷效果而成为应用最广泛的污水处理技术之一<sup>[1]</sup>。但该工艺存在脱氮除磷效率难以进一步显著提高的问题,原因在于泥水混合液以及污泥回流比较低<sup>[2]</sup>。课题组针对 A<sup>2</sup>O 工艺的运行特点和存在的问题,经结构改造和流程革新形成了 D-A<sup>2</sup>O 工艺,该工艺采用独立的双系列厌氧/缺氧结构和特有的交替运行方式,在回流比  $R$  为 200%、 $r$  为 100%、HRT 为 8 h、SRT 为 30 d 条件下(对比 A<sup>2</sup>O 工艺中回流比  $R$  为 150%、 $r$  为 100%、HRT 为 13~14 h、SRT 为 15 d),获得了较为显著的脱氮除磷及 COD 去除效果。常温条件下对 COD、TN、NH<sub>3</sub>-N、TP 的平均去除率分别为 94.13%、80.36%、90.10%、90.12%;低温下,对 COD、TN、NH<sub>3</sub>-N、TP 的去除率分别为 75.36%、80.12%、82.04% 和 51.32%。不同温度条件下, COD、TN、NH<sub>3</sub>-N、TP 的出水浓度分别为(19.12~23.07)、(0.65~1.02)、(0.34~0.68)、(0.21~0.36) mg/L,出水水质优于一级 A 标准<sup>[2]</sup>。

污水脱氮方法主要有物理法、化学法和生物法 3 大类。对于生物脱氮效果的优劣,功能性微生物起决定性作用。因此,对污水处理系统内功能性微生物的检测是从微生物学角度查明其是否高效的有效手段。长期以来,污水处理系统内 99% 以上微生物因未(难)被纯培养而难以进行检测,直至基于新

一代高通量测序技术的宏基因组的出现才使得系统中所有种类微生物的检测得以实现<sup>[3]</sup>。

根据生物脱氮原理,氨氮在有氧条件下可以由氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA)在氨单加氧酶(AMO)作用下被氧化成羟氨,再氧化为亚硝酸,进而由还原酶催化生成硝酸<sup>[4]</sup>。氨单加氧酶是 AOB 特有的胞内酶,也存在于 AOA 中,包含  $\alpha$  亚基(*amoA*)、 $\beta$  亚基(*amoB*)和  $\gamma$  亚基(*amoC*),其中 *amoA* 基因含有氨单加氧酶活性位点,能够以此作为 AOB/AOA 的功能基因用于检测其种群和数量<sup>[5]</sup>。

氨单加氧酶是硝化过程中非常重要的一种酶,在氨氮物质降解中将氨氮催化氧化成羟氨<sup>[6]</sup>。编码氨单加氧酶的基因是 *amoA*,因为氨单加氧酶在氨氧化过程中起到限制性作用,所以在氨氧化菌中普遍存在 *amoA* 基因<sup>[7-8]</sup>。因此,可以将该基因作为污水处理脱氮过程的关键标记性基因。此外,好氧不产氧光合细菌(AAPB)是一类好氧异养细菌,可通过细菌叶绿素捕获光能进行光合作用,但却不释放氧气。依靠溶解性有机物(DOM)作为有机碳的来源维持生长代谢,对有机物的降解具有促进作用。其光合基因 *pufM* 是检测该类菌群和数量的分子手段之一<sup>[9]</sup>。

笔者采集了 A<sup>2</sup>O 和 D-A<sup>2</sup>O 两种工艺中的活性污泥样本,利用宏基因组学技术,通过 *amoA* 基因以

及 *pufM* 基因的功能基因组测定,分析了两种工艺活性污泥生物脱氮、DOM 降解微生物种群和密度的差异,考察了 D-A<sup>2</sup>O 工艺高效脱氮以及有机物降解的功能微生物群落,旨在从微生物学角度阐释 D-A<sup>2</sup>O 高效脱氮及有机物去除机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品的采集

A<sup>2</sup>O 工艺活性污泥样品的采集(A):污泥取自采用 A<sup>2</sup>O 工艺的某污水处理厂,其进水为生活污水,持续稳定运行。采集好氧池及厌氧池上部和中部的泥水混合物进行混合,然后于 4℃ 环境中保存,并于 3 d 内提取 DNA。

D-A<sup>2</sup>O 工艺活性污泥样品的采集(B):D-A<sup>2</sup>O 工艺为中试反应器,试验用水为生活污水。待反应器运行稳定后,分别采集反应器好氧池及厌氧池上部和中部的泥水混合物,于 4℃ 环境中保存,并于 3 d 内提取 DNA。

### 1.2 活性污泥 DNA 的提取

将活性污泥离心后提取样品中的 DNA,将提取的 DNA 置于 -20℃ 下保存。吸取 1 μL 的 DNA,用 Nano-100 检测核酸浓度,并以 DNA 提取试剂盒中 C6 溶液为空白,检测 DNA 浓度。

### 1.3 功能基因组的测定

将提取到的 DNA 样品送至上海生物工程有限公司进行高通量宏基因组微生物测序。提供 *amoA* 基因引物序列,正向引物 1F: 5' - GGGGTTTCTACTGCTGGT - 3'; 反向引物 2R: 5' - CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC - 3'。提供 *pufM* 基因引物序列,正向引物 *pufMF*: 5' - GGNAAYYTGTITYTAYAACC - 3'; 反向引物 *pufMR*: 5' - CCCATSGTCCANCKCCARAA - 3'。

## 2 结果与讨论

### 2.1 数据分析

样品中 *amoA* 基因及 *pufM* 基因测序数据见表 1。使用 USEARCH 去除预处理后序列中非扩增区域序列,而后对序列进行测序错误校正,并调用 uchime 鉴定嵌合体。随后,再将去除嵌合体的序列与数据库代表性序列进行 Blastn 比对,低于阈值的比对结果认为是靶区域外序列,并剔除掉该部分序列后获得目标序列 (Filtered num)。为了便于分析,本研究将 Filtered num 聚类为 OTU。相似性低于 97% 的序列划分为一个 OTU,每一个 OTU 可视为一

个微生物物种。

表 1 序列与 OTU 信息

Tab. 1 Information of sequence and OTU

样品名称	序列数量	目标序列	OTU 数量
Aerobic A <i>amoA</i>	24 202	24 071	1 784
Aerobic B <i>amoA</i>	26 244	26 157	1 393
Anaerobic A <i>amoA</i>	12 918	12 905	1 059
Anaerobic B <i>amoA</i>	30 419	30 300	1 849
Aerobic A <i>pufM</i>	81 068	80 595	1 582
Aerobic B <i>pufM</i>	75 033	74 939	1 313

采用对测序序列进行随机抽样的方法,以抽到的序列数与它们所能代表的 OTU 数目构建曲线,即稀释曲线。它可以用来比较测序数据量不同的样本中物种的丰富度,也可以来说明样本的测序数据量是否合理。当曲线趋向平坦时,说明测序数据量合理。样品中 *amoA* 基因及 *pufM* 基因测序的稀释曲线均趋于平坦(见图 1),说明本次测序结果能够较好地表现样本的多样性。

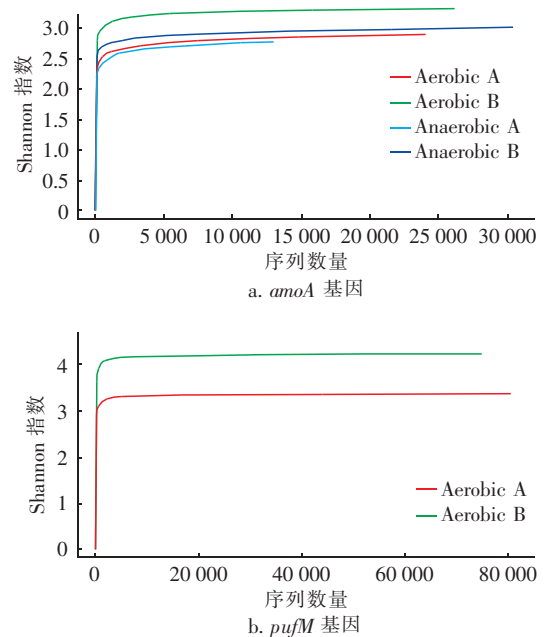


图 1 *amoA* 基因和 *pufM* 基因稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction curve of *amoA* gene and *pufM* gene

### 2.2 D-A<sup>2</sup>O 与 A<sup>2</sup>O 工艺中 *amoA* 基因分析

为查明 D-A<sup>2</sup>O 与 A<sup>2</sup>O 两种工艺中活性污泥含有 *amoA* 基因微生物的菌群结构特征,对所有样本在科水平上进行分析。结果表明,两种工艺中,亚硝化单胞菌及 β-变形菌均为优势菌种。亚硝化单胞菌是一类好氧性细菌,生活在有氧环境下,在氮循环水质净化过程中扮演着重要角色<sup>[10]</sup>。并且该菌为

专性能自养型,不能在有机培养基上生长。其中,D-A<sup>2</sup>O 工艺中亚硝化单胞菌科在好氧池中占 3.24%,在厌氧池中占 2.07% (见表 2);而 A<sup>2</sup>O 工艺中含 *amoA* 基因的亚硝化单胞菌科在好氧池中占 1.48%,在厌氧池中占 1.22%。可见,D-A<sup>2</sup>O 工艺中亚硝化单胞菌科菌群数量高于 A<sup>2</sup>O。 $\beta$ -变形菌属于氨氧化细菌,D-A<sup>2</sup>O 工艺中  $\beta$ -变形菌在好氧

池、厌氧池中的占比分别为 0.21%、0.17%;而在 A<sup>2</sup>O 工艺中的占比为 0.11%、0.10%。可见,D-A<sup>2</sup>O 工艺中  $\beta$ -变形菌种群密度更高。此外,D-A<sup>2</sup>O 工艺中的菌群数量高于 A<sup>2</sup>O 工艺,如具有良好脱氮功能的假单胞菌、兼具脱氮除磷功能的丛毛单胞菌仅在 D-A<sup>2</sup>O 工艺的好氧池出现,而肠杆菌仅在厌氧池出现,占比分别为 0.11%、0.02%、0.04%。

表 2 D-A<sup>2</sup>O、A<sup>2</sup>O 工艺中 *amoA* 基因微生物群落结构组成

Tab.2 The *amoA* gene microbial composition in D-A<sup>2</sup>O and A<sup>2</sup>O processes %

项 目	Aerobic A	Aerobic B	Anaerobic A	Anaerobic B
未命名 <i>Bacteria_noname</i>	90.44	63.22	82.43	75.21
未分类 <i>Unclassified</i>	6.07	32.79	14.55	22.33
亚硝化单胞菌 <i>Nitrosomonadaceae</i>	1.48	3.24	1.22	2.07
$\beta$ -变形菌 <i>Betaproteobacteria</i>	0.11	0.21	0.10	0.17
假单胞菌 <i>Pseudomonadaceae</i>	0	0.11	0	0
莫拉氏菌 <i>Moraxellaceae</i>	0.01	0.05	0	0.02
肠杆菌 <i>Enterobacteriaceae</i>	0	0	0	0.04
丛毛单胞菌 <i>Comamonadaceae</i>	0	0.02	0	0
外硫红螺菌 <i>Ectothiorhodospiraceae</i>	0	0	0.03	0
酸微菌 <i>Acidimicrobiaceae</i>	0	0	0	0

以往的研究表明,丛毛单胞菌能够以氨氮为唯一氮源,通过异养硝化-好氧反硝化作用把氨氮直接转化为气体从而达到脱氮的目的,并能在好氧条件下将无机磷摄入体内转化为自身组分从而实现除磷;据刘杰凤等报道,外硫红螺菌对富营养化的养殖水体有较好的净化作用<sup>[11]</sup>。这里需要说明的是,目前对微生物的研究主要是建立在纯培养基础上,通过纯培养方法估计的环境微生物多样性只占总量的 0.1%~1%,本研究亦然。4 个样本中,未分类及未命名的微生物数量均超过了 95%。其中,A<sup>2</sup>O 好氧池为 96.51%,厌氧池为 96.98%;D-A<sup>2</sup>O 好氧池为 96.01%,厌氧池为 97.54%。

2.3 D-A<sup>2</sup>O 与 A<sup>2</sup>O 工艺中 *pufM* 基因分析

好氧不产氧光合细菌是以细菌叶绿素为介导进行光合作用的专性好氧微生物。作为好氧异养细菌,其在碳及氮素循环中扮演重要角色。本研究以 *pufM* 基因作为标记基因检测了 D-A<sup>2</sup>O 与 A<sup>2</sup>O 两种工艺中 AAPB 细菌的群落结构及数量,结果见表 3。可以看出,共检测到可分类的 AAPB 细菌为变形菌、慢生根瘤菌、嗜甲基杆菌、鞘脂单胞菌、醋杆菌、伯克霍尔德氏菌、红环菌、着色菌等。两种工艺中的优势菌种均为变形菌,在 D-A<sup>2</sup>O 和 A<sup>2</sup>O 中的占比分别为 14.91%、18.08%。而 D-A<sup>2</sup>O 工艺好氧池中的慢生

根瘤菌、嗜甲基杆菌、变形菌、醋杆菌、伯克霍尔德氏菌、着色菌占比均高于 A<sup>2</sup>O 工艺中的。据 Itakura 等人<sup>[12]</sup>报道,慢生根瘤菌可以在重金属污染土壤中进行生物修复,对重金属具有吸附转化作用。嗜甲基杆菌是一类兼有甲基营养和甲烷营养特性的微生物,在有机物降解过程中起重要作用,还能够以铵盐和硝酸盐作为氮源维持生长<sup>[13]</sup>。

表 3 D-A<sup>2</sup>O、A<sup>2</sup>O 工艺中好氧池 *pufM* 基因微生物群落结构组成

Tab.3 The *pufM* gene microbial composition in the aerobic tank of D-A<sup>2</sup>O and A<sup>2</sup>O processes %

项 目	Aerobic A	Aerobic B
未命名 <i>Bacteria_noname</i>	64.11	39.94
未分类 <i>Unclassified</i>	13.85	32.10
变形菌 <i>Proteobacteria</i>	14.91	18.08
慢生根瘤菌 <i>Bradyrhizobiaceae</i>	5.51	8.52
嗜甲基杆菌 <i>Methylobacteriaceae</i>	0.54	0.82
鞘脂单胞菌 <i>Sphingomonadaceae</i>	0.78	0.07
醋杆菌 <i>Cetobacteraceae</i>	0.24	0.25
伯克霍尔德氏菌 <i>Burkholderiales</i>	0	0.12
红环菌 <i>Hodobacteraceae</i>	0.04	0.04
着色菌 <i>Hromatiaceae</i>	0.01	0.04

鞘脂单胞菌能够以芳烃类物质作为其生长的唯一碳源和能源,故此菌对多环芳烃类物质也具有较



好的降解能力。据 Niharika 等人报道,该菌能够从六氯环己烷污染的土壤中分离获得,对六氯环己烷具有较好的降解作用<sup>[14]</sup>。而伯克霍尔德氏菌对菲、喹啉具有高效的降解作用,常应用于工业污水处理领域。宋秀兰等人<sup>[15]</sup>的研究表明,红环菌在微氧条件下可将焦化废水中典型的难降解物质吡啶中的氮大部分转化为氨氮,从而有效降解吡啶。根据 Jing 等人<sup>[16]</sup>的报道,着色菌能以亚硝态氮为唯一氮源生长,从而很好地去除水体中的高浓度无机氮,并且对亚硝态氮具有很高的耐受能力和去除能力。

#### 2.4 D-A<sup>2</sup>O 与 A<sup>2</sup>O 工艺中微生物菌群多样性分析

常用的表征微生物  $\alpha$  多样性的指数有 Shannon 指数和 Simpson 指数等。Shannon 指数越高、Simpson 指数越低,说明微生物群落越丰富。本实验中,*amoA* 基因的  $\alpha$  多样性丰富度见表 4。

表 4 样品中 *amoA* 基因的  $\alpha$  多样性丰富度

Tab. 4 The  $\alpha$  diversity of *amoA* gene in the samples

项 目	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE 指数	Chao 指数
Aerobic A	2.89	0.20	22 302.87	9 725.50
Aerobic B	3.33	0.10	28 936.68	12 235.63
Anaerobic A	2.78	0.29	17 903.57	8 991.26
Anaerobic B	3.01	0.14	43 508.82	18 013.84

从表 4 可以看出,D-A<sup>2</sup>O 工艺中好氧池及厌氧池的 Shannon 指数均高于 A<sup>2</sup>O 工艺,而 Simpson 指数低于 A<sup>2</sup>O 工艺。由此可见,D-A<sup>2</sup>O 工艺中好氧池及厌氧池的微生物群落结构多样性优于 A<sup>2</sup>O 工艺,D-A<sup>2</sup>O 工艺具有更有利于形成脱氮微生物群落结构多样性的环境。另外,ACE 指数、Chao 指数也反映出同样的结果。

对样品中 *pufM* 基因进行  $\alpha$  多样性分析,结果如表 5 所示。从表 5 可以看出,D-A<sup>2</sup>O 工艺更有利于提高 AAPB 微生物群落结构的多样性,其样品中的物种较丰富。

表 5 样品中 *pufM* 基因的  $\alpha$  多样性丰富度

Tab. 5 The  $\alpha$  diversity of *pufM* gene in the samples

项 目	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE 指数	Chao 指数
Aerobic A	3.37	0.11	5 141.10	3 322.13
Aerobic B	4.23	0.04	6 580.43	4 134.60

#### 2.5 *amoA* 基因、*pufM* 基因物种丰度分析

物种丰度热图可以用颜色变化来反映群落分布丰度信息,能够直观地将群落分布丰度值用定义的

颜色深浅表示出来。同时将样品和群落分布信息进行聚类并重新排布,将聚类后的结果显示在热图中,从而可以很好地反映各分类水平上群落分布的差异。图 2 为 *amoA* 基因物种丰度热图。

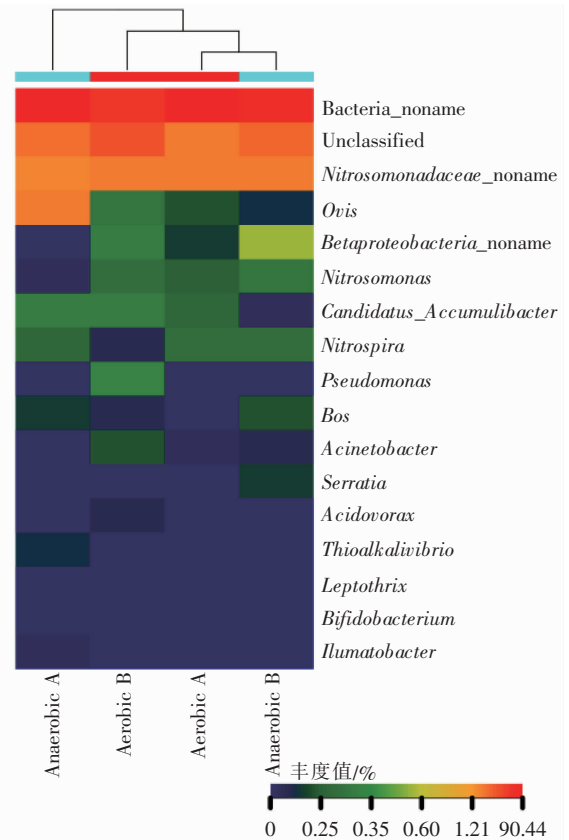
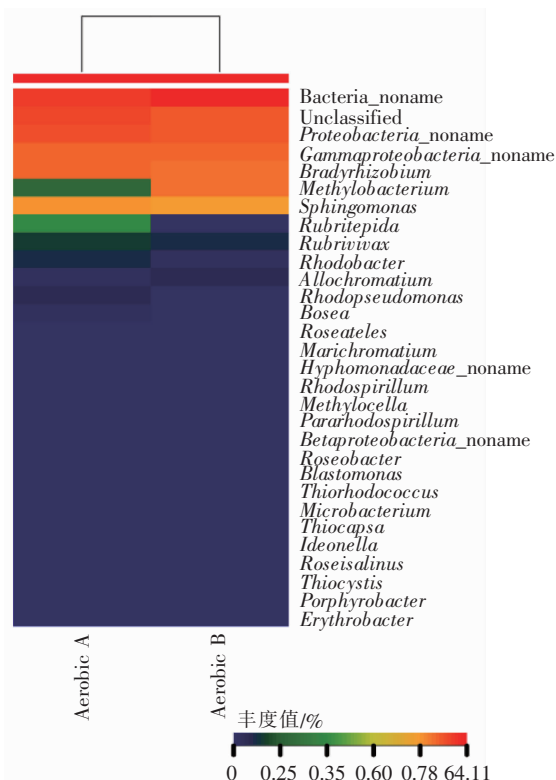


图 2 *amoA* 基因物种丰度热图

Fig. 2 Heatmap of *amoA* gene

从图 2 可以看出,在 D-A<sup>2</sup>O、A<sup>2</sup>O 工艺 4 个样本中,*amoA* 微生物群落结构丰度最高的是未命名及未分类种群,其热度颜色呈现红色。其次,亚硝化单胞菌科及变形菌为优势菌种,其中亚硝化单胞菌科颜色为橙色。在亚硝化单胞菌科一行, D-A<sup>2</sup>O 工艺颜色略微红于 A<sup>2</sup>O 工艺,说明 D-A<sup>2</sup>O 工艺中亚硝化单胞菌科丰度较高。另外, $\beta$ -变形杆菌在 D-A<sup>2</sup>O 工艺厌氧池中的丰度最高,而假单胞杆菌在 D-A<sup>2</sup>O 工艺好氧池中的丰度最高,这一结果也与表 2 相吻合。

对 *pufM* 基因物种丰度进行分析,结果如图 3 所示。可以看出,变形菌、慢生根瘤菌及鞘脂单胞菌为优势菌种,其热度颜色为橙色至红色。其中,变形菌在 A<sup>2</sup>O 工艺中的丰度高于 D-A<sup>2</sup>O 工艺,而慢生根瘤菌及鞘脂单胞菌的丰度则相反,这一结果也与表 3 相符。

图 3 *pufM* 基因物种丰度热图Fig. 3 Heatmap of *pufM* gene

### 3 讨论

#### 3.1 脱氮微生物种群差异分析

本研究利用 *amoA* 基因分析了 D-A<sup>2</sup>O、A<sup>2</sup>O 工艺中对氨氮具有降解功能的微生物种群及数量的差异性,以期查明 D-A<sup>2</sup>O 高效脱氮及去除有机物的原因。因 D-A<sup>2</sup>O 是在 A<sup>2</sup>O 基础上形成的,故从污水处理技术的发展沿革来看,D-A<sup>2</sup>O 污水处理技术隶属于 A<sup>2</sup>O 工艺领域。因此,本研究检测到的 D-A<sup>2</sup>O 与 A<sup>2</sup>O 工艺微生物种群大致相同。但其种群丰度却存在较为显著的差异,D-A<sup>2</sup>O 工艺中亚硝化单胞菌、变形菌、假单胞菌、肠杆菌等重要脱氮微生物的丰度均高于 A<sup>2</sup>O 工艺。究其原因是因为 D-A<sup>2</sup>O 采用双系列厌氧/缺氧单元交替运行方式,创造了更有利于脱氮微生物的生长环境。

#### 3.2 降解有机物过程中微生物种群差异分析

D-A<sup>2</sup>O 工艺中进水依次流经厌氧池、缺氧池,与好氧池和沉淀池回流的泥水混合液及污泥在搅拌器的连续搅拌作用下完全混合,使活性污泥中的微生物与污水中的污染物充分接触,为降解有机物的微生物提供了充足的营养物质,从而使有机物充分降解,同时意味着微生物增殖的速率得以提升,且该类

微生物的种群数量也增加。本研究中,D-A<sup>2</sup>O 工艺的 AAPB 微生物种群数量明显高于 A<sup>2</sup>O 工艺。另外,该工艺以分区进水的方式按一定比例分别从厌氧池、缺氧池进水,从而有效解决了微生物碳源不足的问题。D-A<sup>2</sup>O 反应器运行状态下双系列单元在厌氧、缺氧单元能够形成更为均衡的碳源分配,也为这一类微生物创造了更有利的生存环境。

### 4 结论

① 相同条件下,D-A<sup>2</sup>O 及 A<sup>2</sup>O 工艺中脱氮微生物的优势菌群为亚硝化单胞菌及  $\beta$ -变形菌;此外二者中还含有莫拉氏菌、外硫红螺菌及其他未分类及未命名的微生物种群;而假单胞菌、肠杆菌、丛毛单胞菌仅在 D-A<sup>2</sup>O 工艺中检测到。研究结果表明,D-A<sup>2</sup>O 比 A<sup>2</sup>O 具备更多的脱氮微生物种类。

② 相同条件下,D-A<sup>2</sup>O 及 A<sup>2</sup>O 工艺中降解有机物的微生物优势菌群为变形菌及慢生根瘤菌;此外二者中还含有嗜甲基杆菌、鞘脂单胞菌、醋杆菌、红环菌、着色菌及其他未分类及未命名的微生物种群;而伯克霍尔德氏菌仅在 D-A<sup>2</sup>O 工艺中检测到。研究结果表明,D-A<sup>2</sup>O 工艺具有更多的微生物种群。

③ 基于多样性指数分析,D-A<sup>2</sup>O 工艺比 A<sup>2</sup>O 工艺具有更多的脱氮及降解有机物的微生物种群。物种丰度热图表明,在检测到的微生物种群中,D-A<sup>2</sup>O 工艺比 A<sup>2</sup>O 工艺具有更高的种群密度(数量)。

### 参考文献:

- [1] 高洋,程洁红,戴界红. 城镇污水处理厂 A<sup>2</sup>/O 工艺脱氮除磷潜力的研究[J]. 中国给水排水,2017,33(7): 89-93.  
GAO Yang, CHENG Jiehong, DAI Jiehong. Potentiality of nitrogen and phosphorus removal in A<sup>2</sup>/O process of WWTP[J]. China Water & Wastewater, 2017, 33(7): 89-93 (in Chinese).
- [2] 叶长兵,周志明,吕伟,等. A<sup>2</sup>O 污水处理工艺研究进展[J]. 中国给水排水,2014,30(15): 135-138.  
YE Changbing, ZHOU Zhiming, LÜ Wei, et al. Research progress on A<sup>2</sup>O process for sewage treatment[J]. China Water & Wastewater, 2014, 30(15): 135-138 (in Chinese).
- [3] 田美,刘汉湖,申欣. 基于新一代测序技术的 A<sup>2</sup>O 与 BIOLAK 活性污泥宏基因组比较分析[J]. 环境科学,2016,37(2): 638-646.  
TIAN Mei, LIU Hanhu, SHEN Xin. Comparative

- metagenomics of BIOLAK and A<sup>2</sup>O activated sludge based on next-generation sequencing technology [J]. Environmental Science, 2016, 37 (2): 638 – 646 (in Chinese).
- [4] 蒋鹏,赵春贵,贾雅琼,等. 亚硝氮对海洋着色菌亚硝氮和氨氮去除以及光合色素合成的影响[J]. 微生物学通报,2015,42(7):1216 – 1223.
- JIANG Peng,ZHAO Chungui,JIA Yaqiong,et al. Effects of nitrite on ammonia-nitrogen removal and nitrite-nitrogen as well as photopigment biosynthesis of *Marichromatium gracile* YL28 [J]. Microbiology, 2015, 42(7):1216 – 1223 (in Chinese).
- [5] 沈怡雯. 基于脱氮功能基因分析的渗滤液氮去除机理及优化[D]. 上海:华东师范大学,2016.
- SHEN Yiwen. Mechanism and Optimization of Nitrogen Removal Treating Landfill Leachate Based on Denitrification Functional Gene [D]. Shanghai: East China Normal University, 2016 (in Chinese).
- [6] CHEN J, GU J D. Faunal burrows alter the diversity, abundance, and structure of AOA, AOB, Anammox and *n*-damo communities in coastal mangrove sediments [J]. Microbial Ecology, 2017, 74(1):140 – 156.
- [7] PJEVAC P, SCHAUBERGER C, POGHOSYAN L, et al. *AmoA*-targeted polymerase chain reaction primers for the specific detection and quantification of comammox *Nitrospira* in the environment [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8:1508 – 1518.
- [8] ALVES R J E, MINH B Q, URICH T, et al. Unifying the global phylogeny and environmental distribution of ammonia-oxidising archaea based on *amoA* genes [J]. Nature Communications, 2018. DOI:10.1038/s41467-018-03861-1.
- [9] ZENG Y X, DONG P Y, QIAO Z Y, et al. Diversity of the aerobic anoxygenic phototrophy gene *pufM* in Arctic and Antarctic coastal seawaters [J]. Acta Oceanologica Sinica, 2016, 35(6):68 – 77.
- [10] 梁沪莲,郭小雅,刘洋,等. 基于高通量测序的4种硝化细菌富集培养物微生物群落结构分析[J]. 微生物学通报,2017,44(9):2112 – 2119.
- LIANG Hulan, GUO Xiaoya, LIU Yang, et al. Microbial community of four nitrobacteria enrichments by high-throughput sequencing [J]. Microbiology, 2017, 44(9):2112 – 2119 (in Chinese).
- [11] 刘杰凤,黄瑶,刘正辉,等. 1株红树林外疏红螺菌的分离鉴定及其特性[J]. 环境科学与技术,2018,41(2):8 – 12.
- LIU Jiefeng, HUANG Yao, LIU Zhenghui, et al. Isolation, identification and characterization of a *Ectothiorhodospira* sp. from mangrove [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 41(2):8 – 12 (in Chinese).
- [12] ITAKURA M, SAEKI K, OMORI H, et al. Genomic comparison of *Bradyrhizobium japonicum* strains with different symbiotic nitrogen-fixing capabilities and other *Bradyrhizobiaceae* members [J]. The ISME Journal, 2009, 3(3):326 – 339.
- [13] DE MEYER S E, COOREVIST A, WILLEMS A. *Tardiphaga robiniae* gen. nov., sp. nov., a new genus in the family *Bradyrhizobiaceae* isolated from *Robinia pseudoacacia* in Flanders (Belgium) [J]. Systematic & Applied Microbiology, 2012, 35(4):205 – 214.
- [14] NIHARIKA N, MOSKALIKOVA H, KAUR J, et al. *Novosphingobium barchaimii* sp. nov., isolated from hexachlorocyclohexane-contaminated soil [J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2013, 63(2):667 – 672.
- [15] 宋秀兰,田建民,康静文. 固定化胶质红环菌在好氧条件下降解吡啶的研究[J]. 环境科学学报,2001,21(4):510 – 512.
- SONG Xiulan, TIAN Jianmin, KANG Jingwen. Aerobic biodegradation of indole by immobilized *Rhodocyclus gelatinosus* [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2001, 21(4):510 – 512 (in Chinese).
- [16] JING P, RODGERS P J, AMEMIYA S. High lipophilicity of perfluoroalkyl carboxylate and sulfonate: implications for their membrane permeability [J]. Journal of the American Chemical Society, 2009, 131(6):2290 – 2296.

作者简介:赵静(1983 – ),女,云南通海人,博士,副教授,主要研究方向为环境微生物。

E-mail:645541994@qq.com

收稿日期:2020 – 10 – 03

修回日期:2020 – 11 – 23

(编辑:任莹莹)