

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2022.07.009

大型污水厂中填料对A²O系统微生物种群的影响

孙晓¹, 江婕², 王强³, 任军¹, 杨阿明¹, 张亦峰⁴,
赵晓丹², 周振²

(1. 上海复旦水务工程技术有限公司, 上海 200433; 2. 上海电力大学 环境与化学工程学院, 上海 200090; 3. 上海奉贤西部污水处理有限公司, 上海 201424; 4. 上海城投污水处理有限公司 白龙港污水处理厂, 上海 201203)

摘要: 上海某污水处理厂采用移动床生物膜反应器(MBBR)与传统厌氧/缺氧/好氧(A²O)耦合工艺进行提标改造,通过在原有A²O工艺的缺氧池和好氧池中投加悬浮填料,提高脱氮效率,出水水质执行国家一级A标准。填料挂膜半年后,分别测定A²O-MBBR和A²O系统中活性污泥的硝化和反硝化效能,发现前者的硝化速率和反硝化速率分别是后者的1.63和1.65倍,此外,A²O-MBBR系统中好氧池的填料使硝化速率又升高了1倍。采用高通量测序技术分析系统中的微生物群落结构,发现在纲水平上主要富集了 *Acidobacteria* (16.69%)、*Betaproteobacteria* (14.04%)和 *Gammaproteobacteria* (11.61%),在属水平上主要富集了 *Candidatus_Microthrix* (7.30%)、*norank_f__Saprospiraceae* (4.25%)和 *Flavobacterium* (3.01%)。对两种工艺进行微生物种群LEfSe线性判别分析,发现A²O-MBBR系统内富集了大量脱氮功能菌,悬浮填料强化了硝化和反硝化作用。

关键词: 市政污水; 悬浮填料; 移动床生物膜反应器; A²O工艺; 生物脱氮; 微生物种群

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2022)07-0063-06

Effect of Suspended Carrier on Microbial Community in A²O System in a Full-scale Wastewater Treatment Plant

SUN Xiao¹, JIANG Jie², WANG Qiang³, REN Jun¹, YANG A-ming¹,
ZHANG Yi-feng⁴, ZHAO Xiao-dan², ZHOU Zhen²

(1. Shanghai Fudan Water Engineering Technology Co. Ltd., Shanghai 200433, China;
2. College of Environmental and Chemical Engineering, Shanghai University of Electric Power, Shanghai 200090, China; 3. Shanghai Fengxian West Sewage Treatment Co. Ltd., Shanghai 201424, China; 4. Bailonggang Sewage Treatment Plant, Shanghai Chengtong Sewage Treatment Co. Ltd., Shanghai 201203, China)

Abstract: The moving bed biofilm reactor (MBBR) and conventional anaerobic/anoxic/aerobic (A²O) coupling process were applied to upgrade a wastewater treatment plant in Shanghai. The nitrogen removal efficiency was improved by adding suspended carriers in the anoxic and aerobic tanks of the original A²O process, and the effluent quality was required to meet the first level A criteria specified in

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51878403)

通信作者: 赵晓丹 E-mail: zhaoxiaodan@shiep.edu.cn

the national discharge standard. After half a year, the nitrification and denitrification efficiencies of activated sludge in A²O-MBBR system and A²O system were measured respectively, and it was found that the nitrification rate and denitrification rate of the former were 1.63 times and 1.65 times of the latter, respectively. In addition, the suspended carriers of aerobic tank in A²O-MBBR system increased the nitrification rate by one time. The microbial community of the system was analyzed by high-throughput sequencing. The dominant classes were *Acidobacteria* (16.69%), *Betaproteobacteria* (14.04%) and *Gammaproteobacteria* (11.61%), and the dominant genera were *Candidatus_Microthrix* (7.30%), *norank_f__Saprospiraceae* (4.25%) and *Flavobacterium* (3.01%). The microbial communities of the two processes were analyzed by LEfSe linear discriminant analysis. It was found that a large number of functional bacteria with denitrification ability were enriched in the A²O-MBBR system, and the nitrification and denitrification were enhanced by the suspended carriers.

Key words: municipal wastewater; suspended carrier; moving bed biofilm reactor; A²O process; biological nitrogen removal; microbial community

为进一步改善水环境质量,2015年国务院颁布了《水污染防治行动计划》(简称“水十条”),对污水处理厂处理等级以及污染物排放提出了更严格的要求。同年12月,《上海市水污染防治行动计划实施方案》提出,杭州湾沿岸城镇污水处理厂执行《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB 18918—2002)的一级A标准。近年来,该区域污水厂进水总量不断增加,高峰时已接近满负荷运行。随着污水厂管辖区域污水管道的建设日益完善,针对污水厂处理能力无法满足现阶段污水处理的需求,对其在原有基建上进行改造^[1-3]。在处理相同污染负荷的条件下,通过投加悬浮填料,在原设计生物池容不变的情况下可使填料与污水充分接触,实现污染物的充分降解,从而满足一级A排放标准^[4]。对于常规的厌氧/缺氧/好氧(A²O)工艺,脱氮效果是衡量其运行状态是否良好的重要指标。在A²O工艺中投加悬浮填料,形成移动床生物膜反应器(MBBR),通过微生物在填料载体上富集形成的生物膜和活性污泥中微生物的双重作用可实现生物系统的有效脱氮^[1,4]。因此,对MBBR系统与常规A²O系统中的微生物群落结构特性进行分析,明确填料对污水处理系统的强化作用,对污水厂的参数调控具有指导意义。鉴于此,笔者在上海某大型污水厂改造工程的稳定运行阶段取污泥混合液和填料,利用Illumina MiSeq高通量测序技术,对填料上及污泥混合液中的微生物种群进行多样性分析和LEfSe多级物种差异判别分析。

1 材料与方法

1.1 污水处理厂简介

上海某大型污水处理厂采用MBBR对常规A²O工艺进行改造,工艺流程见图1,A²O-MBBR系统和A²O系统的处理规模均为5×10⁴ m³/d。污水厂进、出水水质见表1。

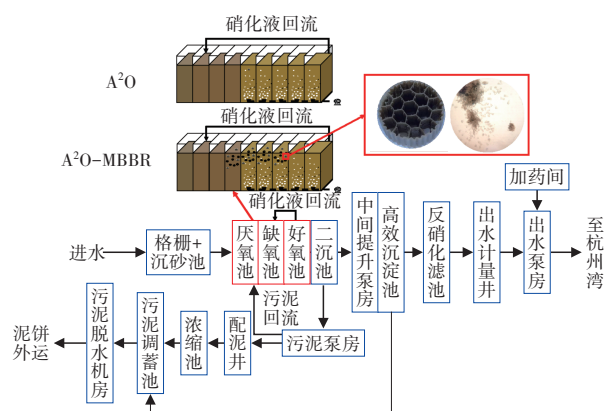


图1 上海某大型污水处理厂的工艺流程

Fig.1 Flow chart of a large WWTP in Shanghai

表1 上海某大型污水处理厂的进、出水水质

Tab.1 Quality of influent and effluent in a large WWTP in Shanghai mg·L⁻¹

项目	COD	BOD ₅	TP	TN	NH ₄ ⁺ -N
进水	336.52	145.62	6.17	47.81	43.95
出水	26.94	6.24	0.40	12.39	4.31

A²O-MBBR和A²O工艺厌氧池的水力停留时间(HRT)分别为1.30和1.50 h,缺氧池的HRT分别为5.50和6.50 h,好氧池的HRT分别为6.69和9.50

h。生物处理单元的污泥回流比和硝化液回流比分别为100%和300%,污泥浓度平均值为4.50 g/L,设计气水比为6:1,厌氧池、缺氧池和好氧池的DO浓度分别为<0.5、0.5~1、4~6 mg/L,pH值在7~8之间。在A²O-MBBR系统的好氧池前三格和缺氧池最后一格投加圆柱形悬浮填料,填充率分别为57%和51%。填料直径为24 mm、高为12 mm,内部为十字形、外部为纵向条纹。

1.2 硝化速率和反硝化速率的测定

硝化速率的测定:取1 L好氧池活性污泥(活性污泥+填料)于广口瓶中,投加NH₄Cl作为氮源,保证NH₄⁺-N初始浓度在50 mg/L左右,加入NaHCO₃作为缓冲剂,在20℃下进行充分曝气,每隔0.5 h取样测定NH₄⁺-N浓度,并与时间进行线性拟合,所得直线斜率除以污泥浓度即为硝化速率^[5]。

反硝化速率的测定:取1 L缺氧池活性污泥(活性污泥+填料)于广口瓶中,加入硝酸钾和乙酸钠使碳氮比在3:1左右,并保证足够的硝酸盐浓度(55 mg/L),在20℃下控制DO<0.50 mg/L,每隔10 min取样测定NO₃⁻-N浓度,并与时间进行线性拟合,所得直线斜率除以污泥浓度即为反硝化速率^[6]。

所有指标均采用国家标准方法测定。

1.3 微生物群落结构分析

A²O-MBBR系统中缺氧池、好氧池的活性污泥及活性污泥+填料样品分别标记为A²O-MBBR_A、A²O-MBBR_{AP}、A²O-MBBR_O、A²O-MBBR_{OP},A²O系统中缺氧池、好氧池的活性污泥样品标记为A²O_A和A²O_O,分别对样品进行Illumina MiSeq高通量测序,明确悬浮填料对系统中相关功能菌物种丰富度和多样性的强化效果。根据文献[7]中的方法进行基因组DNA的提取、设计并合成引物接头、聚合酶链扩增和产物纯化,然后委托上海美吉生物医药科技有限公司对样品进行扩增子测序。通过设定3%的序列长度限制,最终归一化为相同序列深度。对均一化后的数据进行OTU聚类分析和LEfSe线性判别分析^[8]。

2 结果与讨论

2.1 两个系统的硝化及反硝化能力

在系统稳定运行期间,分别测定A²O-MBBR和A²O系统的硝化和反硝化速率,结果见图2。A²O-MBBR系统活性污泥、活性污泥+填料和A²O系统活

性污泥的硝化速率分别为1.76、3.51和1.08 mg/(gMLSS·h),对应的硝化能力分别为84.70、169.00和46.20 mg/L,A²O-MBBR系统的硝化能力显著提升,同时填料也强化了污泥混合液的硝化作用。A²O-MBBR系统活性污泥、活性污泥+填料和A²O系统活性污泥的反硝化速率分别为2.67、2.13和1.62 mg/(gMLSS·h),对应的反硝化能力分别为66.10、52.70和47.40 mg/L,A²O-MBBR系统的反硝化速率高于A²O系统,说明填料的投加可以有效促进活性污泥的反硝化能力,但是A²O-MBBR系统中活性污泥+填料的反硝化速率低于活性污泥,这可能与填料投加在缺氧池末端,反硝化菌未能很好地在填料上富集有关。

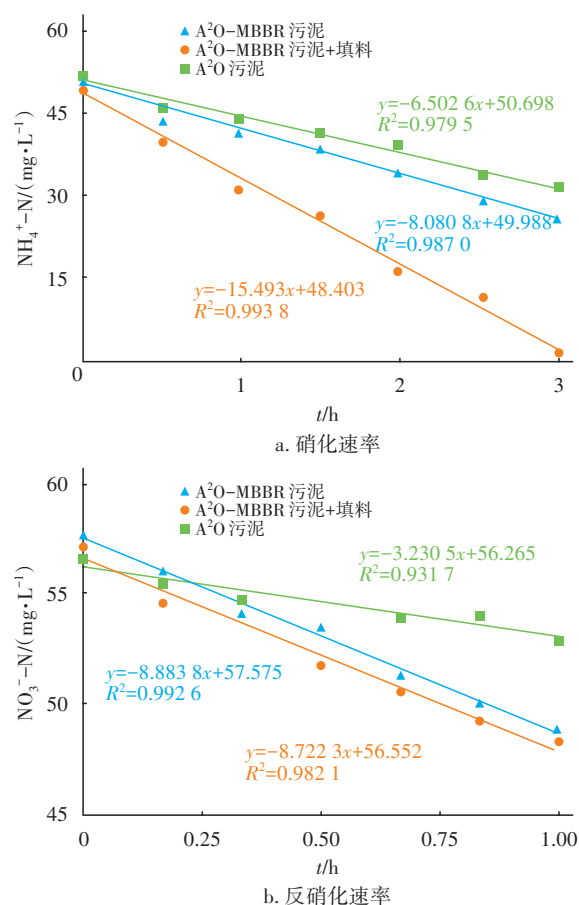


图2 A²O-MBBR和A²O工艺的硝化速率和反硝化速率

Fig.2 Ammonia uptake rate and nitrate uptake rate of A²O-MBBR and A²O process

2.2 两个系统中的微生物种群分布

A²O-MBBR和A²O系统分析所得的23 266个序列在纲水平和属水平上的微生物种群分布见图3。由图3(a)可知,酸杆菌纲(*Acidobacteria*)是最主要的

纲(16.69%),可参与单碳化合物的代谢过程,在微氧和缺氧条件下降解纤维素,产生醋酸和氢^[9]。变形菌门主要包括 β -变形菌纲(*Betaproteobacteria*, 14.04%)、 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*, 11.61%)、 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*, 6.37%)和 δ -变形菌纲(*Deltaproteobacteria*, 6.34%),是降解有机物的重要菌种,其中 γ -变形菌纲能够代谢葡萄糖产酸,利用氨氮作为氮源、葡萄糖作为碳源,将硝酸盐氮还原为亚硝酸盐氮^[10],在好氧池的寡营养环境中,诱导细胞裂解并释放细胞内的物质; α -变形菌纲属于自养微生物,在硝化过程中发挥着重要的作用^[11]。

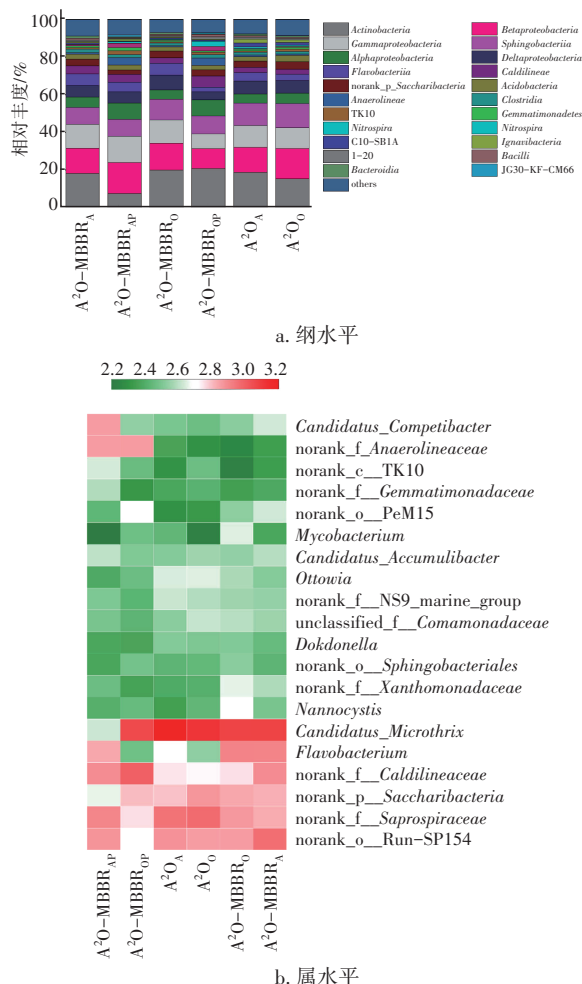


图3 A²O和A²O-MBBR系统在纲水平和属水平上的微生物种群分布

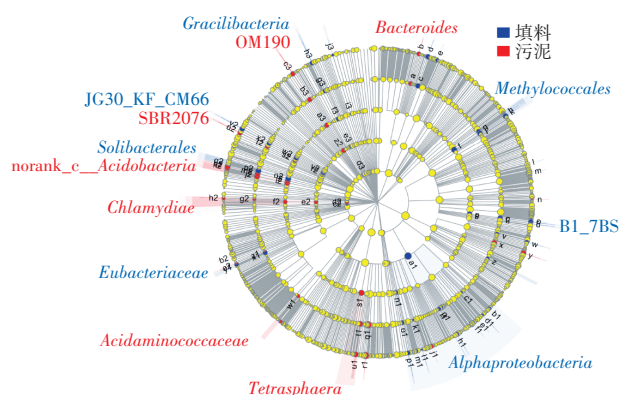
Fig.3 Distribution of microbial community in A²O and A²O-MBBR at class level and genus level

进一步在属水平上进行分析可知,最主要的属包括 *Candidatus_Microthrix* (7.30%)、*norank_f__*

Saprospiraceae (4.25%) 和 *norank_o__Run-SP154* (3.96%)。在硝化方面,*norank_f__Saprospiraceae* 和氨氧化菌 *Nitrospira* (1.00%) 可以促进含氮物质的降解^[6],两者在A²O-MBBR系统中的相对丰度高于A²O系统,说明悬浮填料上富集了一些氮功能菌有利于氮的转化,促进了硝化作用。在反硝化脱氮方面,*Candidatus_Microthrix* 对水体中氨氮及硝酸盐氮具有较好的去除作用^[12],其在A²O-MBBR系统缺氧池填料中的相对丰度低于A²O系统,说明填料上没有富集相关的脱氮功能菌,这与2.1节中反硝化速率结果一致。黄杆菌属(*Flavobacterium*, 3.01%)、*unclassified_f__Comamonadaceae* (1.50%) 也属于反硝化优势功能菌^[13-14],它们在A²O-MBBR缺氧池污泥中的相对丰度高于A²O,这可能是因为硝化作用的增强使大量的氨氮转化成硝酸盐氮,给反硝化作用补充了充足的基质,促进了反硝化菌的富集,在A²O-MBBR系统形成交替的同步硝化反硝化,使其反硝化效能有所提高。因此,填料富集了大量硝化菌有利于硝化效能的提高,同时产生大量的硝酸盐氮也促进了污泥中反硝化菌的富集,强化了反硝化能力。

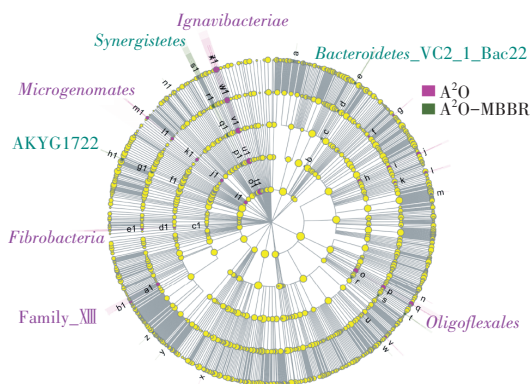
2.3 填料与污泥中微生物种群的差异性

图4为A²O-MBBR系统中微生物的LEfSe多级物种层级树图,不同颜色节点表示在对应组别中显著富集,且对组间差异性存在显著影响的微生物种群。LDA值越大,代表物种丰度对差异效果影响越大。填料上的差异性物种有51个,而污泥中只有38个,填料上富集了更多的差异微生物种群。污泥中的差异性微生物物种主要有 *Candidatus_Microthrix* 属(4.94)、*Acidimicrobiales_Incertae_Sedis* 科(4.94)、*Micrococcales* 目(4.07)和 *Tetrasphaera* 属(3.86)。填料上的差异性微生物物种有 *Alphaproteobacteria* 纲(4.96)、*Methylococcales* 目(显性甲烷氧化菌^[15], 4.05)和 *Crenothrix* 属(3.95)。 *Alphaproteobacteria* 对组间差异有显著影响,具有良好的脱氮能力,在硝化过程中发挥着重要作用^[13];其次是 *Methylococcales* 目,由于填料表面的氧传递效率降低,在生物膜表面的内部形成缺氧环境,有利于 *Methylococcales* 的富集。此外,在污泥中的 *Tetrasphaera* 属,是一种可以直接利用葡萄糖及氨基酸进行发酵并释磷的新型PAO菌属,可使得污水厂出水的磷浓度满足一级A排放标准^[16]。

图4 A²O-MBBR系统中微生物的LEfSe多级物种层级树图Fig.4 Hierarchical tree diagram of LEfSe multi-level species in A²O-MBBR

2.4 填料对活性污泥中微生物种群的影响

对A²O-MBBR和A²O系统中污泥的微生物种群进行差异性分析,得到LEfSe多级物种层级树图,如图5所示。

图5 A²O-MBBR和A²O系统中污泥的微生物种群比较Fig.5 Comparison of microbial community in A²O-MBBR and A²O systems

A²O系统的差异性物种主要有 *Ignavibacteriae* 门(3.48)、0319_6G20 科(2.87)、unclassified_c__*Gammaproteobacteria* 科(2.71)。A²O-MBBR系统的差异性物种主要有 *Synergistetes* 门(2.44)、*Lactivibrio* 门(2.15)、AKYG1722 目(2.08)、*Singulisphaera* 属(2.00)。*Singulisphaera* 属于 *Planctomycetes* 门,其在A²O-MBBR系统内显著富集,对水体中的氨氮和亚硝酸盐氮有较好的去除效果^[9];此外,*Bacteroidetes* 门的 U29_B03 属和 *Firmicute* 门的 *Hespellia* 属在A²O-MBBR系统的污泥中富集,可促进含氮物质的利用,在有氧或缺氧的环境中进行代谢,参与硝化和反硝化过程^[14]。以上表明,投加悬浮填料后,使得一些脱氮功能菌在污泥中富集,强化了活性污泥

的硝化和反硝化作用。

3 结论

① A²O-MBBR和A²O系统的硝化能力分别为169.00和46.20 mg/L,表明投加悬浮填料后硝化能力显著提高。

② 污水处理厂的生物系统中富集的微生物种群在纲水平上主要有 *Acidobacteria* (16.69%)、*Betaproteobacteria* (14.04%) 和 *Gammaproteobacteria* (11.61%),在属水平上有 *Candidatus_Microthrix* (7.30%)、*norank_f__Saprospiraceae* (4.25%) 和 *Flavobacterium* (3.01%),系统内富集了大量脱氮功能菌,有利于硝化和反硝化作用。

③ A²O-MBBR系统的悬浮填料上富集的大量 *Alphaproteobacteria* 具有良好的脱氮能力,在硝化过程中发挥着重要作用。相比A²O系统,A²O-MBBR的污泥中脱氮功能菌 *Planctomycetes*、*Bacteroidetes* 和 *Firmicutes* 显著富集,它们对水体中含氮物质有较好的去除效果,表明投加悬浮填料后强化了污泥的硝化和反硝化作用。

④ 综合A²O-MBBR和A²O系统的硝化、反硝化速率及微生物群落分布可知,填料的投加富集了大量硝化菌,促进了系统的硝化作用,硝化作用的强化使大量氨氮被转化为硝酸盐氮,从而有利于反硝化菌的富集,硝化菌与反硝化菌的共同作用使系统的脱氮功能得到强化。

参考文献:

- [1] 韩萍,许斌,宋美芹,等. 团岛污水厂MBBR工艺的升级改造及运行效果[J]. 中国给水排水,2014,30(12): 110-114.
HAN Ping, XU Bin, SONG Meiqin, et al. Design features and operational effect of Tuandao WWTP upgrading by MBBR in Qingdao [J]. China Water & Wastewater, 2014, 30(12): 110-114 (in Chinese).
- [2] 许敏,刘梦楠. 改良型氧化沟扩容改造AAO-MBR工艺工程设计[J]. 中国给水排水, 2020, 36(2): 48-52.
XU Min, LIU Mengnan. Design of AAO-MBR process for modified oxidation ditch expansion [J]. China Water & Wastewater, 2020, 36(2): 48-52 (in Chinese).
- [3] 周祯领,吴迪,韩文杰,等. MBBR镶嵌氧化沟在某污水处理厂的提升效果分析[J]. 中国给水排水, 2019, 35(17): 1-6.

- ZHOU Zhenling, WU Di, HAN Wenjie, *et al.* Retrofitting effect of oxidation ditch embedded with MBBR in a wastewater treatment plant[J]. *China Water & Wastewater*, 2019, 35(17):1-6(in Chinese).
- [4] 孟涛, 刘杰, 杨超, 等. MBBR工艺用于青岛李村河污水处理厂升级改造[J]. *中国给水排水*, 2013, 29(2): 59-61.
- MENG Tao, LIU Jie, YANG Chao, *et al.* Application of MBBR process in upgrading and reconstruction of Licunhe WWTP in Qingdao City[J]. *China Water & Wastewater*, 2013, 29(2):59-61(in Chinese).
- [5] 裴湛. 污水处理厂冬季硝化强化与微生物种群分析[J]. *中国环境科学*, 2017, 37(9):3549-3555.
- QIU Zhan. Nitrification enhancement and microbial community structure analysis for a full-scale wastewater treatment plant in winter [J]. *China Environmental Science*, 2017, 37(9):3549-3555(in Chinese).
- [6] HUANG J, ZHOU Z, ZHENG Y, *et al.* Biological nutrient removal in the anaerobic side-stream reactor coupled membrane bioreactors for sludge reduction[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 295: 12241.
- [7] CHENG C, ZHOU Z, NIU T H, *et al.* Effects of side-stream ratio on sludge reduction and microbial structures of anaerobic side-stream reactor coupled membrane bioreactors [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 234:380-388.
- [8] ZHENG Y, ZHOU Z, YE X, *et al.* Identifying microbial community evolution in membrane bioreactors coupled with anaerobic side-stream reactor, packing carriers and ultrasonication for sludge reduction by linear discriminant analysis [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 291: 121920.
- [9] 曾涛涛, 蒋小梅, 韩科昌, 等. 生活污水处理厂微生物群落结构解析[J]. *安全与环境学报*, 2018, 18(2): 697-703.
- ZENG Taotao, JIANG Xiaomei, HAN Kechang, *et al.* Analysis of microbial community constituent composition of some sewage treatment and processing plant [J]. *Journal of Safety and Environment*, 2018, 18(2): 697-703(in Chinese).
- [10] 辛晓东. 运行条件对MBR膜污染调控的微生物学研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.
- XIN Xiaodong. Study on the Microbiological of Controlling Effect to MBR Membrane Bio-fouling of Operational Conditions [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2013(in Chinese).
- [11] CHEN Y, WANG L, MA F, *et al.* Tracking composition of microbial communities for simultaneous nitrification and denitrification in polyurethane foam[J]. *Water Science and Technology*, 2014, 69(9): 1788-1797.
- [12] 邓德波. 鳗鲡养殖循环水处理系统中细菌群落结构及动态变化[D]. 厦门: 集美大学, 2010.
- DENG Debo. Community Structure and Dynamics of Bacteria in a Water Recirculating System for Culturing European Eel [D]. Xiamen: Jimei University, 2010 (in Chinese).
- [13] CHEN J H, HAN Y, WANG Y M, *et al.* Start-up and microbial communities of a simultaneous nitrogen removal system for high salinity and high nitrogen organic wastewater via heterotrophic nitrification [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 216:196-202.
- [14] LI T T, LIU C, LU J, *et al.* Determination of how tetracycline influences nitrogen removal performance, community structure, and functional genes of biofilm systems[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2020, 106:99-109.
- [15] RISSANEN A J, SAARENHEIMO J, TIROLA M, *et al.* Gammaproteobacterial methanotrophs dominate methanotrophy in aerobic and anaerobic layers of boreal lake waters [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2018, 81(3):257-276.
- [16] 刘智晓. 生物除磷理论及实践新突破——从主流EBPR到侧流EBPR[J]. *中国给水排水*, 2018, 34(24):19-25.
- LIU Zhixiao. A new breakthrough in the theory and practice of biological phosphorus removal: from mainstream EBPR to side-stream EBPR[J]. *China Water & Wastewater*, 2018, 34(24):19-25(in Chinese).

作者简介: 孙晓(1979-), 男, 山东青岛人, 博士, 高级工程师, 主要从事污水、污泥、垃圾等环境污染防治相关工作。

E-mail: sunxiao@siicenv-fd.com

收稿日期: 2020-01-18

修回日期: 2020-04-02

(编辑: 刘贵春)