

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2023.19.002

AAO+流态化生物载体工艺的菌群结构分析

刘敏, 房阔, 王凯军

(清华大学环境学院 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 为进一步提高脱氮除磷效率,某污水处理厂在好氧池投加填料,将生化段工艺升级为改进型AAO+流态化生物载体工艺(FBC/MBBR)。为考察工艺稳定运行后的微生物菌群结构及功能,采用宏基因组测序方法对缺氧池混合液、好氧池填料和混合液样本进行分析。结果表明,在门水平上,缺氧池混合液、好氧池填料和混合液中的优势类群均为变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)。检测到的聚磷菌(PAO)主要为*Accumulibacter*(0.81%~0.99%)、*Tetrasphaera*(0.35%~0.75%)、*Mycobacterium*(1.00%~1.54%);在好氧池填料上检测到较高丰度的*Nitrosomonas*(2.8%)和*Nitrospira*(2.8%);反硝化功能菌主要包括*Dechloromonas*、*Flavobacterium*等。此外,还量化比较分析了与硝化、反硝化、厌氧氨氧化等脱氮过程相关的功能基因。

关键词: 城市污水; 脱氮除磷; FBC/MBBR工艺; 菌群结构; 宏基因组分析

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2023)19-0011-08

Analysis on Microbial Community Composition of AAO+FBC/MBBR System

LIU Min, FANG Kuo, WANG Kai-jun

(State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: To improve the removal efficiency of nitrogen and phosphorus, the biochemical treatment of a full-scale wastewater treatment plant was renovated into improved AAO and fluidized biological carrier process (FBC/MBBR) by adding fillers to an aerobic tank. In order to investigate the composition and function of the microbial community under stable operation, metagenomic analysis was used to further analyze the samples from anoxic tank, aerobic tank filler and aerobic tank in this wastewater treatment system. Taxonomic analysis showed that the dominant bacterial phyla were *Proteobacteria*, *Actinobacteria* and *Chloroflexi*. The dominant polyphosphate accumulating organism (PAO) found were *Accumulibacter* (0.81%–0.99%), *Tetrasphaera* (0.35%–0.75%) and *Mycobacterium* (1.00%–1.54%). The relative abundance of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and nitrite-oxidizing bacteria (NOB) bacteria were enriched in aerobic biofilm, and the typical AOB and NOB were *Nitrosomonas* (2.8%) and *Nitrospira* (2.8%), respectively. The denitrification functional bacteria detected mainly included *Dechloromonas*, *Flavobacterium* and so on. Otherwise, various key enzymes related to nitrification, denitrification and Anammox during nitrogen removal were annotated and quantified.

Key words: municipal wastewater; removal of nitrogen and phosphorus; FBC/MBBR process;

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07102-003、2017ZX07103-003)

通信作者: 王凯军 E-mail: wkj@mail.tsinghua.edu.cn

community composition; metagenomic analysis

在污水处理中,生物脱氮除磷方法相比物理和化学方法具有更好的经济和环保效益,因此被广泛应用。硝化和反硝化是生物脱氮的主要过程,另外还有厌氧氨氧化过程,这三个过程分别由硝化菌、反硝化菌(DNB)和厌氧氨氧化菌(AMX)完成;生物除磷则是由聚磷菌(PAO)完成。为解决传统活性污泥法的污泥容易流失、剩余污泥多、脱氮效果差等缺点,研究人员提出了生物膜法,其中能够为微生物生长提供载体的填料对系统内部各种物质的传递和微生物的附着起着决定性的作用。前人从微生物的角度证实向厌氧池和缺氧池中投加填料,可提高脱氮除磷效率^[1-2]。本研究中向生物池中投加悬浮填料,提高好氧池的生物量,以此来提高污水处理效果、降低污泥量,同时为低能、高效污染物的去除提供了新方向。因此,研究好氧池填料上微生物群落的组成及功能,对了解污染物的去除路径至关重要。而微生物的研究方法发展经历了3个主要阶段的变迁:从最初简单的“显微镜观察和纯菌培养分离”到“使用分子学手段如荧光原位杂交、变形梯度凝胶电泳及克隆文库”等,最终发展至使用“高通量测序-宏组学分析”^[3]。目前高通量扩增子测序技术已经广泛应用,该技术对分析微生物群落和其相对完整性意义重大;与之相比,宏基因组测序的方法能够更深入了解活性污泥中微生物的菌群组成(特别是对研究低丰度物种更有价值)和功能基因的类别^[4-5],但是目前在水处理中的应用较少。

基于此,笔者选取实际改进型AAO+流态化生物载体工艺(FBC/MBBR)稳定运行阶段缺氧池混合液、好氧池混合液和填料样本,采用宏基因组测序的方法综合分析比较微生物群落组成,同时量化比较分析主要微生物群落的功能、氮磷去除相关功能菌及氮代谢相关酶的基因。研究水处理系统中微生物菌群结构的特征,对于了解其中的优势菌群及核心功能菌属构成,评估脱氮除磷效果及其应用于其他污水处理厂的改造具有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 样本及来源

研究分析样本取自我国某城市污水处理厂,该厂升级改造总设计规模为 $10 \times 10^4 \text{ m}^3/\text{d}$,原有生化工

艺为DE氧化沟,后升级为改进型AAO+FBC/MBBR组合工艺^[6]。改造后生物处理环节主要包含推流式缺氧区、回流消氧区、好氧FBC池3个部分。该污水处理系统已经连续稳定运行,出水水质可达到《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)的准Ⅳ类标准。在污水厂稳定运行期间,采集缺氧池混合液(Q)、好氧池填料表面生物膜(HT)及好氧池混合液(HH)样本用于微生物群落分析。采集的样本在提取DNA前一直保存在 -20°C 生物冰箱。

1.2 DNA提取及文库构建

为获取样本的总DNA,根据土壤DNA快速提取试剂盒(QBIgene, Caarlslbad, CA, USA)说明书中的标准操作流程进行提取;DNA质量使用1%的琼脂糖凝胶电泳进行检测;质量合格的DNA采用Covaris M220仪器随机打断成400 bp的片段;构建文库使用的试剂盒为NEXTFLEXTM Rapid DNA-Seq kit;使用Qubit 2.0对文库进行初步定量,精确定量采用实时荧光核酸扩增检测系统(Q-PCR)方法,以保证文库中DNA的有效浓度;最后采用Illumina HiSeq 4000(Illumina, USA)仪器进行测序。

1.3 生物信息分析

获得的序列处理流程如下:首先对测序获得的原始Reads进行优化及质量控制处理,获取有效的序列;接着进行拼接组装及优选有效序列,使用SOAPdenovo软件,并统计基因长度 $>500 \text{ bp}$ 的contigs^[7];最后使用开放性阅读框预测拼接组装获得的contigs,并将基因长度 $\geq 100 \text{ bp}$ 的contigs翻译为氨基酸序列^[8]。为了获得样本的物种注释并统计基因的丰度信息,首先使用CD-HIT软件聚类分析已经获取的有效序列并创建非冗余基因集;然后将获取的基因集采用BLASTP的方法与NR数据库(非冗余蛋白质的氨基酸序列数据库)进行比对^[9]。为获取功能注释信息,同时将上述获得的非冗余基因集与eggNOG数据库和KEGG数据库进行比对。

2 结果与讨论

2.1 FBC/MBBR系统的污染物去除效果

污水处理厂改造完成后,跟踪调研了4个月的运行效果,出水COD、 NH_4^+-N 、TP平均浓度分别为13.16、1.20、0.38 mg/L,去除率分别为94.5%、

98.3%、99.8%，出水水质达到了《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB 18918—2002)的一级A标准。钱亮等对改造前后的污水处理效果进行了详细分析，结果表明，改造后的出水水质可以达到《地表水环境质量标准》(GB 3838—2002)的准Ⅳ类标准^[6]。

2.2 微生物群落多样性及结构

为了更好地了解缺氧池混合液、好氧池填料表面生物膜及混合液样本中微生物群落的结构及组成，基于基因的物种注释结果，分别从门和纲水平上进行分析，并展示了在门、纲水平上含量排名前10的类群，如图1所示。

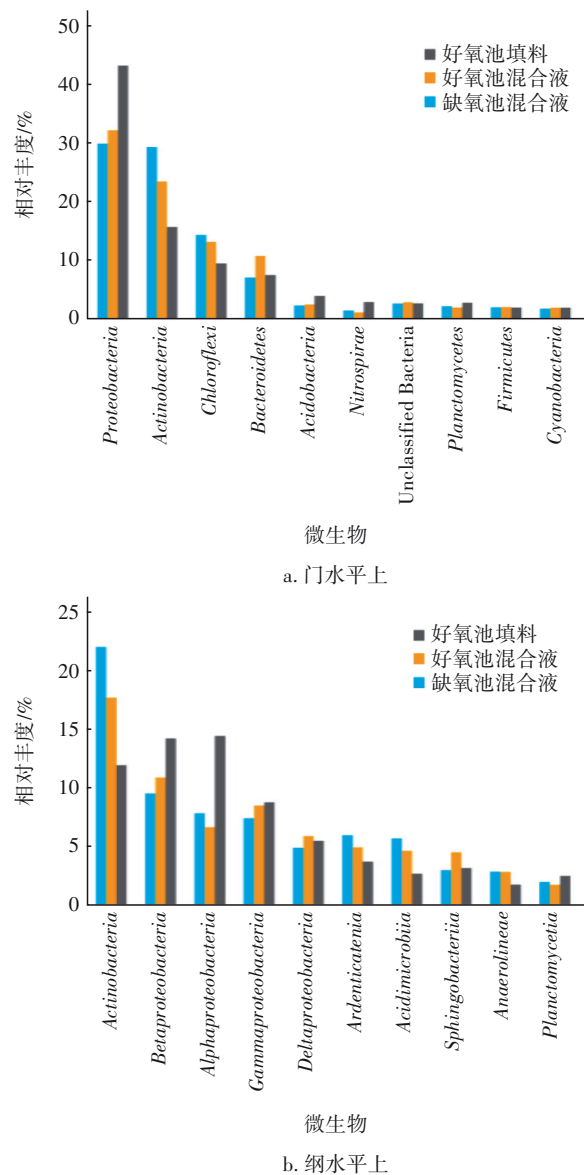


图1 门水平和纲水平上的微生物菌群结构分布

Fig.1 Microbial community composition at phylum level and class level

在缺氧池混合液(Q)、好氧池填料表面生物膜(HT)和混合液(HH)中,物种组成在门水平上大致相同,其中变形菌门(*Proteobacteria*, 35.1%)的相对丰度最高,放线菌门(*Actinobacteria*, 22.8%)次之,然后是绿弯菌门(*Chloroflexi*, 12.4%)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*, 8.5%)。该结果与前人对污水处理厂中微生物群落组成的调研结果大致相同(见表1)。其中,变形菌门因包含与污水处理能力显著相关的功能菌,在污泥微生物中占据主导地位,其他优势门类的丰度在各研究中略有差异,这主要与污水处理厂进水水质、处理工艺流程和操作运行参数等有关。对比3个样本中的微生物类群发现,变形菌门 [*Q*(29.9%)< *HH*(32.2%)< *HT*(43.2%)]和硝化螺旋菌门 [*Nitrospirae*, *HH*(1.2%)< *Q*(1.5%)< *HT*(2.9%)]的相对丰度在好氧池填料上有所增加,进一步说明与污染物去除相关的功能菌在填料上已经得到了有效富集,为强化污染物的去除提供了保证。其中,硝化螺旋菌门相对丰度的增加可促进污泥的硝化性能,有利于系统脱氮效果的提升。

表1 本研究与现有污水处理厂调研微生物群落结果的比较

Tab.1 Comparison of community structure between this study and existing sewage treatment plants

项 目	优势菌门	参考文献
269个污水处理厂(全球)	变形菌门、拟杆菌门、硝化螺旋菌门	[5]
城市污水处理厂(全国)	变形菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、放线菌门	[10]
市政污水处理厂(亚洲)	变形菌门、拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌门	[11]
城市污水处理厂(西安)	变形菌门、拟杆菌门	[1]
城市污水处理厂(北京)	变形菌门、拟杆菌门、硝化螺旋菌门、放线菌门	[12]
本研究	变形菌门、放线菌门、绿弯菌门、拟杆菌门	

通过在纲水平上进一步分析后发现,3个样本中按平均丰度最优势的为*Actinobacteria*(在*Q*、*HH*和*HT*中分别为22.0%、17.7%、11.9%),其次为*Betaproteobacteria*(在*Q*、*HH*和*HT*中分别为9.5%、10.9%、14.2%)、*Alphaproteobacteria*(在*Q*、*HH*和*HT*中分别为7.8%、6.7%、14.4%)、*Gammaproteobacteria*(在*Q*、*HH*和*HT*中分别为7.4%、8.5%、8.8%)和

Deltaproteobacteria (在Q、HH和HT中为4.9%、5.9%、5.5%)。 *Betaproteobacteria* 和 *Alphaproteobacteria* 在好氧池填料上的相对丰度较高,与之前的研究一致^[1],但相对丰度比之前的研究要略低。

2.3 微生物群落功能注释

将非冗余基因集与KEGG数据库进行对比,共得到417条代谢通路,其中发现了23条氨基酸代谢通路(包括苏氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸等代谢途径)、15条碳水化合物代谢通路(包括糖酵解、磷酸戊糖代谢、三羧酸循环等代谢途径)、8条能量代谢通路(包括碳、氮、硫代谢及涉及光合作用的功能)等。碳水化合物代谢情况见图2。

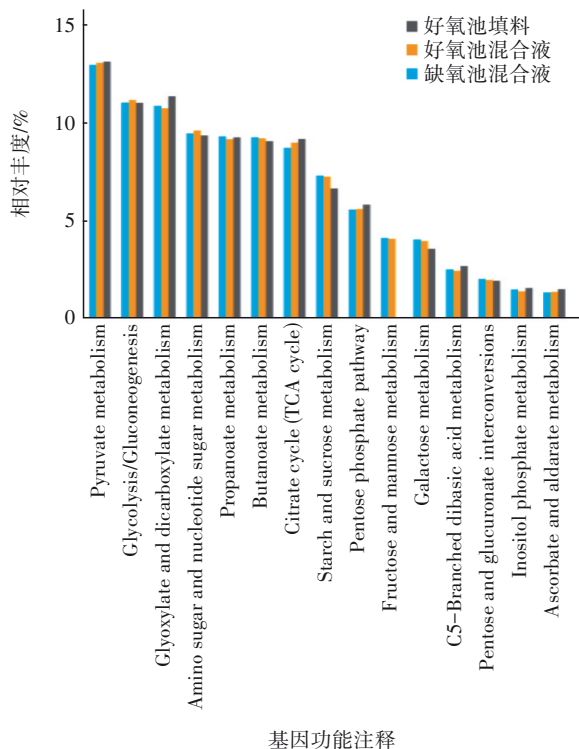


图2 SEED数据库对样本中基因的功能注释

Fig.2 Function annotation of genes in the samples by SEED systems database

对典型高效活性污泥的研究表明^[12],糖酵解、碳水化合物的运输和三羧酸循环是微生物生物合成和能量产生的重要过程。在已经注释到功能的序列中,氨基酸及其派生物、氮素代谢占比分别为14.0%、0.8%。而在缺氧池混合液、好氧池填料和混合液样本中,甲烷的新陈代谢占比分别为1.42%、1.37%、1.30%,其中缺氧池混合液样本中的丰度高于其他两个样本。本研究中较高的代谢

基因占比说明该系统具有较强的新陈代谢能力,是系统脱氮除磷能力的有效保证,这与具有良好去除效果的污水处理厂研究结果一致^[12]。

COG的注释分析结果表明(见图3),注释到的功能中氨基酸运输和代谢(E)的相对丰度最高,其次为复制、重组与修复(L),能源生产和转换(C),细胞壁/膜生物发生(M),信号传导机制(T),无机离子的运输和代谢(P),以及碳水化合物的运输和代谢(G)。L和T总丰度较高,表明该系统中生物活性较高,也保证了系统良好的脱氮除磷能力;而较高的M占比,对生物膜的形成意义重大,说明微生物在EPS形成和降解时会较为活跃。此外,在该系统中的样本中依旧存在大量未知功能的新型代谢基因,该结果与之前基于宏基因组的城市污水处理厂中COG的注释结果大体一致^[12]。

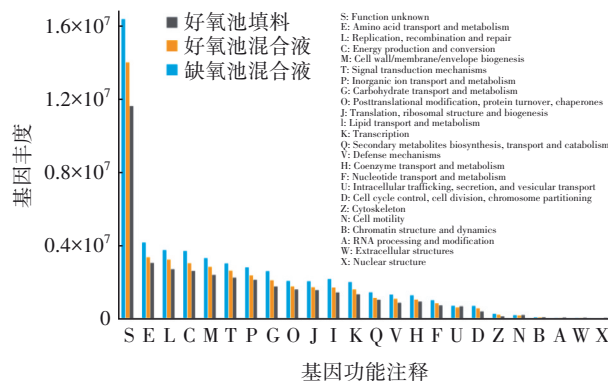


图3 COG数据库对样本中基因的功能注释

Fig.3 Function annotation of genes in the samples by COG systems database

2.4 除磷主要微生物比较

本系统中检测到的常见PAO有 *Accumulibacter* (0.81%~0.99%)、*Tetrasphaera* (0.35%~0.75%)、*Mycobacterium* (1.00%~1.54%)等(见表2),其中 *Accumulibacter* 的相对丰度符合常规范围即0~2.9%,而 *Tetrasphaera* 的相对丰度远低于常规范围即1.3%~11.9%^[13]。对全球范围内污水处理厂中微生物的一项研究表明, *Candidatus Accumulibacter* 是核心物种^[3],这与本研究的结果类似。在本研究中, *Accumulibacter* 的相对丰度明显高于 *Tetrasphaera*。目前对于 *Accumulibacter* (A菌)和 *Tetrasphaera* (T菌)的定量结果表明,在绝大多数的实验中T菌丰度均大于A菌丰度^[12],但是也有少量研究表明两者相差无几^[14],甚至与本研究结果一致^[15]。造成结果差异的

原因主要是微生物检测技术的差异^[13]。*Accumulibacter* 在好氧池填料及混合液样本中的相对丰度(0.93%和0.99%)高于缺氧池混合液样本(0.81%),与之不同,*Tetrasphaera* 在缺氧池混合液中的相对丰度(0.75%)高于好氧池填料和混合液(0.35%和0.51%),这主要是因为深度厌氧环境有利于 *Tetrasphaera* 的生存和代谢^[13]。

表 2 聚磷菌和聚糖菌的相对丰度

Tab.2 Relative abundance of polyphosphate accumulating organism and glycogen accumulating organism %

项 目		缺氧池混 合液	好氧池 填料	好氧池 混合液
PAO	<i>Azospira</i>	0.09	0.09	0.10
	<i>Aeromonas</i>	0.03	0.03	0.03
	<i>Beggiatoa</i>	0.05	0.05	0.06
	<i>Candidatus_Accumulibacter</i>	0.81	0.93	0.99
	<i>Enterobacter</i>	0.01	0.01	0.01
	<i>Gemmatimonas</i>	0.58	0.85	0.71
	<i>Lampropedia</i>	0.00	0.00	0.00
	<i>Mycobacterium</i>	1.54	1.00	1.25
	<i>Nocardia</i>	0.36	0.21	0.31
	<i>Shewanella</i>	0.03	0.03	0.03
	<i>Tetrasphaera</i>	0.75	0.35	0.51
DPAO	<i>Arthrobacter</i>	0.15	0.10	0.12
	<i>Aeromonas</i>	0.03	0.03	0.03
	<i>Thauera</i>	0.30	0.35	0.35
	<i>Klebsiella</i>	0.01	0.02	0.01
	<i>Pseudomonas</i>	0.40	0.52	0.45
	<i>Dechloromonas</i>	0.37	0.51	0.37
GAO	<i>Candidatus_Competibacter</i>	0.30	0.19	0.28

该研究中检测到的反硝化聚磷菌(DPAO)主要有 *Dechloromonas* (0.37%~0.51%)、*Pseudomonas* (0.40%~0.52%) 和 *Thauera* (0.30%~0.35%) 等。*Dechloromonas* 在好氧池填料样本中的相对丰度(0.51%)高于好氧池及缺氧池混合液样本(均为0.37%),表明 *Dechloromonas* 在好氧池填料上得到了一定程度的富集,但其绝对丰度有待采用实时荧光定量方法进一步检测分析。填料中DPAO的富集能够同时进行过量吸磷和反硝化脱氮,在节省污水中碳源的同时也提升了该污水处理系统的脱氮除磷能力。此外,该研究中还检测到了聚糖菌(GAO) *Candidatus_Competibacter*(0.19%~0.30%)。

随着原有生化段工艺升级为好氧FBC/MBBR,

经不断优化运行后系统除磷能力增强。该污水厂在厌氧末端始终存在生物释磷现象(5~10 mg/L),生物除磷一般是通过PAO好氧吸磷并排放含磷污泥来实现。好氧段投加填料后对除磷的贡献推测主要包含以下几点:首先,填料巨大的比表面积为微生物的富集提供了场所;其次,填料表面可形成生物膜,随着生物膜厚度的不断增加,可形成表面好氧、内部缺氧甚至厌氧的微环境,而有研究表明生物膜内部的微氧环境有利于DPAO的富集^[16];此外,改造后系统底部设置了微孔曝气器,也为整个好氧区提供更加充分的缺氧及好氧环境,使DPAO的富集成为可能。反硝化除磷以NO₃⁻为电子受体,通过氧化内碳源进行缺氧吸磷,NO₃⁻被还原为氮气而得以去除,达到“一碳两用”,既可节约曝气量又能减少剩余污泥^[16]。

2.5 氮素的新陈代谢及主要微生物

硝化和反硝化是污水处理系统中传统的脱氮过程,前者包含氨氧化过程及亚硝态氮氧化过程,而后者主要包括以下几个步骤:NO₃⁻-N→NO₂⁻-N→NO→N₂O→N₂,每个过程由与之相关的功能基因控制。总结现有文献对氮素代谢相关的功能基因分析得到微生物氮素的代谢途径,见图4。

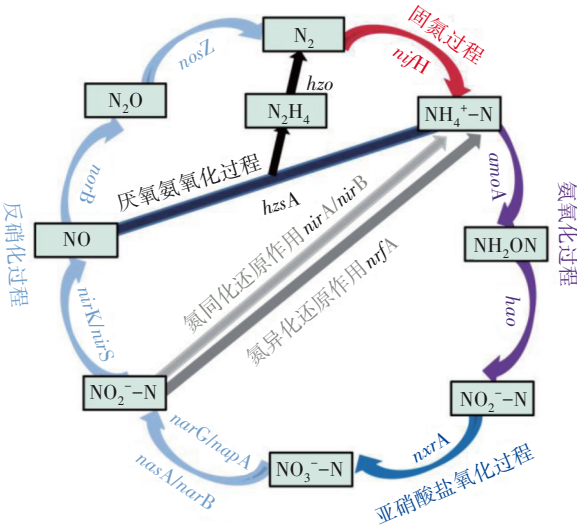


图 4 不同微生物作用下氮元素的转换途径

Fig.4 Nitrogen transformation pathways mediated by various microorganisms

依据氮素的代谢路径,本研究采用宏基因组测序得到氮代谢相关的功能基因丰度结果见图5,在样本中检测到了控制硝化过程的好氧氨氧化菌酶的功能基因 amoA(在Q、HH和HT中的丰度分别为

140、166、532 hits)和 hao (在Q、HH和HT中的丰度分别为868、848、1 656 hits),以及控制反硝化过程的功能基因 $narG/napA/nasA$ 、 $nirK/nirS$ 、 $norB$ 、 $nosZ$ 。其中,控制反硝化过程酶的功能基因丰度高于硝化过程酶的功能基因,这与之前对城市污水处理厂污泥脱氮菌群的功能分析结果一致,其研究表明,硝酸盐还原酶有着很高的丰度(17 012 hits),也间接说明在污水脱氮处理系统中反硝化菌的数量最多^[12]。

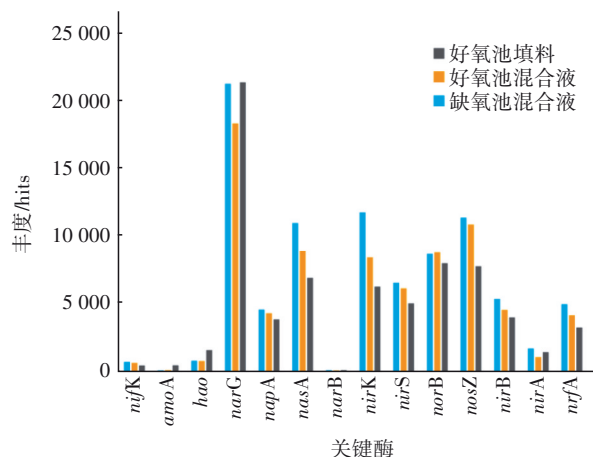


图5 宏基因组分析与氮代谢相关的关键酶的丰度

Fig.5 Abundance of key enzymes for nitrogen metabolism using metagenomic sequencing analysis

本研究中还发现控制硝化过程酶的功能基因丰度在好氧填料上最高;而反硝化过程酶的功能基因在缺氧池混合液中拥有最高的丰度、好氧池混合液中的丰度次之。该结果进一步说明了系统具有良好的硝化能力;而反硝化过程虽然主要在缺氧池中完成,但是好氧池填料中也检测到了与反硝化过程相关的功能基因,推测好氧池填料上由于生物量的增加形成了生物膜,在生物膜内部也存在着反硝化脱氮现象。虽然样本中检测到了与氮代谢相关的功能基因,但是填料及活性污泥的硝化及反硝化能力则需要批次实验进一步证实。此外,经测试该系统好氧FBC段溶解氧浓度在1.2 mg/L左右波动,该段对总氮的去除率为5%~10%^[6],也说明了好氧段对总氮的去除能力。不同于本研究,已有的研究在厌氧池和缺氧池投加填料,通过富集厌氧氨氧化细菌,利用厌氧氨氧化作用强化系统的脱氮能力^[1-2,13]。另外,宏基因组测序还检测到控制其他氮循环过程的酶的功能基因,如固氮基因 $nifK$,包括同化还原作用($nirA$ 和 $nirB$)以及异化还原作用($nrfA$)

的功能基因。

在属的级别分析与氮代谢相关的微生物种类,结果见图6,同上述与硝化过程相关的功能基因的检测结果类似,本研究中*Nitrosomonas*和*Nitrospira*这两种污水处理系统中常见的氨氧化菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NO_B),在好氧池填料上拥有较高的相对丰度(2.8%),而在缺氧池和好氧池混合液中的相对丰度较低(0.4%~1.4%)。样本中检测到的主要反硝化菌除之前研究中报道的*Dechloromonas*、*Flavobacterium*、*Pedobacter*、*Pseudomonas*、*Rubrivivax*和*Terrimonas*外^[11],还包含*Hyphomicrobium*、*Sulfuritalea*、*Sorangium*和*Steroidobacter*等。不同于控制反硝化过程的酶的功能基因在缺氧段增加的现象,反硝化菌的相对丰度有些在缺氧池混合液中较高,而有些在好氧池填料中较高。产生该现象的可能原因如下:首先,反硝化菌中很多属于兼性微生物,其不仅能在缺氧条件下进行反硝化脱氮,同时也能在好氧条件下降解碳源;其次,生物膜内部的微氧环境可为反硝化菌提供有利的生长条件;最后,好氧区改造后的微孔曝气也为反硝化菌的生长代谢提供了有利条件。

除了与传统硝化和反硝化的脱氮方式相关的功能微生物之外,本研究中也发现了厌氧氨氧化菌。目前已报道的厌氧氨氧化菌隶属于浮霉菌门(*Planctomycetes*)、*Planctomycetales*纲、*Brocadiales*目、*Planctomycetaceae*和*Brocadiaceae*科,其下目前共发现*Candidatus_Anammoxoglobus*、*Candidatus_Brocadia*、*Candidatus_Jettenia*、*Candidatus_Kuenenia*、*Candidatus_Scalindua* 5个属。该研究中的厌氧氨氧化菌主要属于后4种,与主流厌氧氨氧化系统中检测到的常见菌群一致^[2,17]。这些物种在缺氧池混合液、好氧池混合液及填料样本中的相对丰度均差异不大(0.02%~0.07%),远远低于之前缺氧移动床生物膜系统内缺氧膜上的厌氧氨氧化菌的相对丰度(0.11%)^[17],而与悬浮污泥中的相对丰度基本一致(0.01%~0.02%)^[1]。说明在该系统中厌氧氨氧化菌在填料上并未得到有效的富集,对污水中氮的去除贡献较小。总的来讲,好氧段填料的投加,使得与硝化及反硝化作用相关的功能细菌得到富集,可通过强化硝化/反硝化及短程硝化/反硝化作用,进一步提升整个系统的脱氮能力。

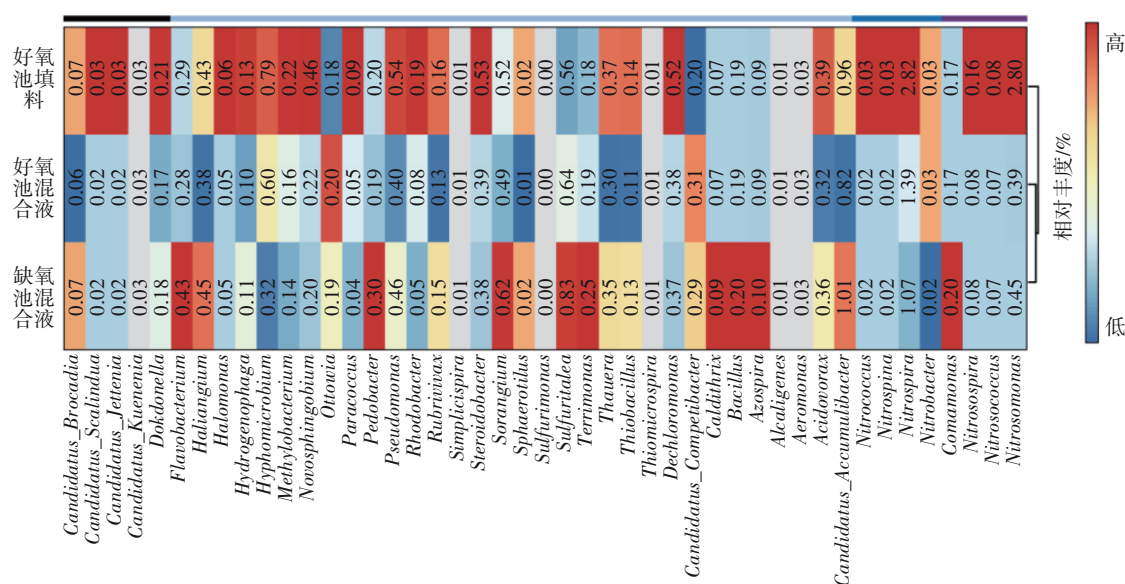


图6 功能菌AOB、NOB、DNB和AMX在样本中的分布

Fig.6 Distribution of ammonia-oxidizing bacteria (AOB), nitrite-oxidizing bacteria (NOB), denitrifying bacteria (DNB) and anaerobic ammonium oxidation bacteria (AMX) in samples

3 结论

① 在本研究的改进型AAO+FBC/MBBR组合工艺系统中,缺氧池混合液、好氧池填料和混合液样本中占比较高的微生物菌群均为变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*),3个菌群在各样本中的相对丰度略有差异。

② 系统检测到的PAO主要有*Accumulibacter* (0.81%~0.99%)、*Tetrasphaera* (0.35%~0.75%)、*Mycobacterium* (1.00%~1.54%),且*Accumulibacter*和反硝化聚磷菌*Dechloromonas*在好氧池填料上得到一定程度的富集,很好地解释了该系统较好的除磷效果。

③ 在好氧池填料上检测出较高丰度(2.8%)的*Nitrosomonas*(AOB)和*Nitrospira*(NOB)。检出的反硝化菌主要包括*Dechloromonas*、*Flavobacterium*、*Pedobacter*、*Pseudomonas*、*Rubrivivax*和*Terrimonas*。检测到的硝化菌和反硝化菌较好地解释了系统良好的脱氮性能。与生物脱氮过程相关酶相关的功能基因(*amoA*、*hao*、*narG/napA/nasA*、*nirK/nirS*、*norB*、*nosZ*)在缺氧池混合液、好氧池填料及混合液中均有发现。其中控制好氧氨氧化菌酶的功能基因在好氧池填料上丰度较高,而控制反硝化过程的酶的功能基因在缺氧池混合液中拥有较高的丰度。这些功能基因的发现为系统脱氮机理的理解提供

了数据支撑,但其表达与否有待进一步研究。

④ 本研究不仅探讨了FBC/MBBR系统中缺氧池混合液、好氧池填料及混合液样本中微生物菌群的整体组成,同时分析比较了与氮、磷去除相关的功能菌的种类及丰度,并定量分析了氮代谢过程中的功能基因,从微观角度揭示了污水处理系统中微生物的组成及功能代谢,可为污水处理厂脱氮除磷效果的提升提供理论和数据支撑,同时为系统改造优化运行提供技术支持。

参考文献:

- [1] 肖可可,周律,贺北平,等.城市污水A²/O移动床生物膜工艺菌群结构分析[J].中国给水排水,2016,32(9):20-24,29.
XIAO Keke, ZHOU Lü, HE Beiping, et al. Analysis of microbial community structure in A²/O-MBBR system for treatment of municipal wastewater[J]. China Water & Wastewater, 2016, 32(9): 20-24, 29 (in Chinese).
- [2] 苑泉,贺北平,钱亮,等.某污水厂主流Anammox现象产生的原因探讨[J].中国给水排水,2020,26(11):1-8.
YUAN Quan, HE Beiping, QIAN Liang, et al. Discussion on reasons of mainstream Anammox phenomenon in a wastewater treatment plant[J]. China Water & Wastewater, 2020, 26(11): 1-8 (in Chinese).

- [3] 刘永鑫, 秦媛, 郭晓璇, 等. 微生物组数据分析方法与应用[J]. 遗传, 2019, 41(9): 845-862.
LIU Yongxin, QIN Yuan, GUO Xiaoxuan, *et al.* Methods and applications for microbiome data analysis [J]. Hereditas, 2019, 41(9): 845-862 (in Chinese).
- [4] 鞠峰, 张彤. 活性污泥微生物群落宏组学研究进展[J]. 微生物学通报, 2019, 46(8): 2038-2052.
JU Feng, ZHANG Tong. Advances in meta-omics research on activated sludge microbial community [J]. Microbiology China, 2019, 46(8): 2038-2052 (in Chinese).
- [5] WU L, NING D, ZHANG B, *et al.* Global diversity and biogeography of bacterial communities in wastewater treatment plants [J]. Nature Microbiology, 2019, 4: 1183-1195.
- [6] 钱亮, 贺北平, 刘瑞东, 等. 低碳氮比污水提标改造工程设计与运行效果分析[J]. 中国给水排水, 2019, 35(14): 81-87.
QIAN Liang, HE Beiping, LIU Ruidong, *et al.* Design and operation effect analysis of low C/N ratio sewage upgrading and reconstruction project [J]. China Water & Wastewater, 2019, 35(14): 81-87 (in Chinese).
- [7] LUO R B, LIU B H, XIE Y L, *et al.* SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read *de novo* assembler [J]. Gigascience, 2012, 1: 18.
- [8] NOGUCHI H, PARK J, TAKAGI T. MetaGene: prokaryotic gene finding from environmental genome shotgun sequences [J]. Nucleic Acids Research, 2006, 34(19): 5623-5630.
- [9] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHAFER A A, *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs [J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(17): 3389-3402.
- [10] 张冰, 吴林蔚, 文湘华. 全国城市污水处理厂中微生物群落的溯源分析[J]. 环境科学, 2019, 40(8): 3699-3705.
ZHANG Bing, WU Linwei, WEN Xianghua. Potential source environments for microbial communities in wastewater treatment plants (WWTPs) in China [J]. Environmental Science, 2019, 40(8): 3699-3705 (in Chinese).
- [11] ZHANG T, SHAO M F, YE L. 454 pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants [J]. ISME Journal, 2012, 6(6): 1137-1147.
- [12] 彭永臻, 钱雯婷, 王琦, 等. 基于宏基因组的城市污水处理厂生物脱氮污泥菌群结构分析[J]. 北京工业大学学报, 2019, 45(1): 95-102.
PENG Yongzhen, QIAN Wenting, WANG Qi, *et al.* Unraveling microbial structure of activated sludge in a full-scale nitrogen removal plant using metagenomic sequencing [J]. Journal of Beijing University of Technology, 2019, 45(1): 95-102 (in Chinese).
- [13] 郝晓地, 陈峤, 刘然彬. *Tetrasphaera* 聚磷菌研究进展及其除磷能力辨析[J]. 环境科学学报, 2020, 40(3): 741-753.
HAO Xiaodi, CHEN Qiao, LIU Ranbin. Research advances of *Tetrasphaera* as polyphosphate accumulating organisms and analysis on their P-removal potential [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020, 40(3): 741-753 (in Chinese).
- [14] BEER M, STRATTON H M, GRIFFITHS P C, *et al.* Which are the polyphosphate accumulating organisms in full-scale activated sludge enhanced biological phosphate removal systems in Australia [J]. Journal of Applied Microbiology, 2006, 100(2): 233-243.
- [15] RUBIO-RINCON F J, WELLES L, LOPEZ-VAZQUEZ C M, *et al.* Effect of lactate on the microbial community and process performance of an EBPR system [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 125.
- [16] 赵一宁, 汤兵, 张忠华. 序批式移动床生物膜反应器富集反硝化聚磷菌及其在单污泥系统中的应用[J]. 安全与环境工程, 2012, 19(1): 23-27.
ZHAO Yining, TANG Bing, ZHANG Zhonghua. Accumulation of denitrifying phosphorus removal bacteria in sequencing batch moving bed biofilm reactor and its application to single sludge system [J]. Safety and Environmental Engineering, 2012, 19(1): 23-27 (in Chinese).
- [17] LI J W, PENG Y Z, ZHANG L, *et al.* Quantify the contribution of anammox for enhanced nitrogen removal through metagenomic analysis and mass balance in an anoxic moving bed biofilm reactor [J]. Water Research, 2019, 160: 178-187.

作者简介: 刘敏(1990-), 女, 山东德州人, 博士, 主要从事污水处理技术研究。

E-mail: xiaohai.good@163.com

收稿日期: 2021-06-23

修回日期: 2021-10-25

(编辑: 刘贵春)