

· 环境生物技术 ·

# 光化反应生物酶系统启动下厌氧-缺氧-好氧工艺活性污泥微生物群落结构响应

金京华<sup>1</sup>, 沈丹丹<sup>1</sup>, 程言君<sup>1</sup>, 赵林<sup>2</sup>, 谢龙飞<sup>3</sup>, 杨艳<sup>1</sup>

1 轻工业环境保护研究所, 北京 100089

2 重庆市水务资产经营有限公司, 重庆 401121

3 泸州市兴泸污水处理有限公司, 四川 泸州 646000

金京华, 沈丹丹, 程言君, 等. 光化反应生物酶系统启动下厌氧-缺氧-好氧工艺活性污泥微生物群落结构响应. 生物工程学报, 2020, 36(12): 2824–2837.

Jin JH, Shen DD, Cheng YJ, et al. Effect of microbial community structure of activated sludge in an Anaerobic-anoxic-oxic Process with Actinic reaction enzyme system start-up. Chin J Biotech, 2020, 36(12): 2824–2837.

**摘要:** 为探究光化反应生物酶系统 (Actinic reaction enzyme system, ARES) 启动下厌氧-缺氧-好氧工艺 (Anaerobic-anoxic-oxic, A<sup>2</sup>/O) 系统中活性污泥微生物群落和功能, 了解 ARES 系统在生活污水处理过程中的影响, 采用 Illumina-HiSeq 2000 高通量测序平台研究 ARES 启动前后 A<sup>2</sup>/O 工艺系统中活性污泥微生物群落结构的演替, 并结合污水处理效果相关主要参数, 进而解析菌群的环境功能。研究发现, ARES 系统启动前后活性污泥微生物群落结构具有明显差异。系统中丰富类群 (平均相对丰度 ≥ 1%) 的细菌门类主要有 9 个, 占整体测序细菌总量的 96%–98%。ARES 系统启动后, 变形菌门的 β-变形菌门 (Betaproteobacteria) 相对丰度提高 3.45%–3.85%, 绿菌门 (Chlorobi) 相对丰度提高 0.45%–2.61%, 在厌氧单元, 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 相对丰度提高 12.97%, 而放线菌门 (Actinobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 的相对丰度分别下降了 9.60% 和 1.45%; 细菌属水平上, *Denitratisoma* 属相对丰度提高 0.80%–3.27%, *Haliangium* 属和弓形杆菌属 (*Arcobacter*) 相对丰度分别下降 3.36%–4.52%、1.48%–3.45%, ARES 启动前后细菌相对丰度差异显著。系统中丰富类群 (平均相对丰度 ≥ 1%) 的真菌门主要有 7 个, 在 ARES 系统启动后罗兹菌门 (Rozelellomycota) 相对丰度下降 42.71%–46.77%, 在厌氧单元子囊菌门 (Ascomycota) 相对丰度下降 13.39%, 而球囊菌门 (Glomeromycota) 相对丰度提高 13.86%; 真菌属水平, 虫霉菌属 (*Entomophthoraceae* sp.) 和球囊菌属 (*Glomeromycota* sp.) 相对丰度分别提高 31.35%–36.50%、6.27%–13.84%, 而罗兹菌属 (*Rozelellomycota* sp.) 和 *Xylochrysis lucida* 相对丰度显著降低, 分别下降 42.71%–46.77%、3.67%–5.54%。结果表明, ARES 系统的启动引起了微生物群落对工艺条件改变的响应, 特别是真菌群落的响应, 同时提升了出水水质, 尤其是对总氮的去除。

**关键词:** 光化反应生物酶系统, A<sup>2</sup>/O 工艺, 活性污泥, 微生物群落结构

**Received:** April 5, 2020; **Accepted:** August 2, 2020

**Supported by:** Beijing Academy of Science and Technology-Reform and Development (No. PY2020HJ33).

**Corresponding author:** Jinghua Jin. Tel: +86-10-68467160; E-mail: 13717929218@139.com

北京市科学技术研究院改革发展培育项目 (No. PY2020HJ33) 资助。

网络出版时间: 2020-08-13

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1998.Q.20200813.1617.009.html>

# Effect of microbial community structure of activated sludge in an Anaerobic-anoxic-oxic process with Actinic reaction enzyme system start-up

Jinghua Jin<sup>1</sup>, Dandan Shen<sup>1</sup>, Yanjun Cheng<sup>1</sup>, Lin Zhao<sup>2</sup>, Longfei Xie<sup>3</sup>, and Yan Yang<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Environmental Protection Research Institute of Light Industry, Beijing 100089, China

<sup>2</sup> Chongqing Water Asset Management Co., LTD, Chongqing 401121, China

<sup>3</sup> Luzhou Xinglu Sewage Treatment Co., LTD, Luzhou 646000, Sichuan, China

**Abstract:** In order to explore the microbial communities and functions of activated sludge in an Anaerobic-anoxic-oxic (A<sup>2</sup>/O) process under the start-up of Actinic reaction enzyme system (ARES) system and to understand the impact of the ARES system in domestic sewage treatment process, the activated sludge microbial community structure in the A<sup>2</sup>/O process system before and after ARES system start-up was analyzed by Illumina-HiSeq 2000 high-throughput sequencing platform. By combining with the main parameters related to the effect of sewage treatment, we analyzed the environmental functions of the microbial communities. The microbial community structure of activated sludge was significantly different before and after the ARES system start-up. There were 9 main bacterial phyla in the system (average relative abundance  $\geq 1\%$ ), accounting for 96%–98% of the total bacteria sequenced. After the ARES system was started, the relative abundance of Betaproteobacteria and Chlorobi increased by 3.45%–3.85% and 0.45%–2.61%, respectively. In the anaerobic unit, the relative abundance of Bacteroidetes increased by 12.97%, while the Actinobacteria and Firmicutes decreased by 9.60% and 1.45%, respectively. At the genus level of bacteria, the relative abundance of *Denitratisoma* increased by 0.80%–3.27%, while the *Haliangium* and *Arcobacter* decreased by 3.36%–4.52% and 1.48%–3.45%, respectively. The relative abundance of bacteria was significantly different before and after the ARES system start-up. There were 7 abundant fungi phyla (average relative abundance  $\geq 1\%$ ) in the system. After the ARES system was started, the relative abundance of Rozellomycota decreased by 42.71%–46.77%. In the anaerobic unit, the relative abundance of Ascomycota decreased by 13.39%, while the relative abundance of Glomeromycota increased by 13.86%. At the genus level of fungi. The relative abundance of *Entomophthoraceae* sp. and *Glomcromycota* sp. increased by 31.35%–36.50% and 6.27%–13.84%, respectively, while the *Rozellomycota* sp. and *Xylochrysis lucida* decreased by 42.71%–46.77% and 3.67%–5.54%, respectively. Our results showed that the application of ARES system caused the response of the microbial community to environmental changes, especially for the fungi communities, in the meanwhile, improved the effluent quality, especially the removal rate of total nitrogen.

**Keywords:** actinic reaction enzyme system, A<sup>2</sup>/O process, activated sludge, microbial community structure

随着我国城市建设的发展,城市污水处理面临很多挑战,特别是随着城市化进程加快,污水处理负荷越来越大,污水处理厂提标升级改造任务也十分紧迫。活性污泥法已成为城市生活污水和工业废水处理的主流工艺,而微生物是污水生物处理系统中碳、氮、磷等污染物去除的主体,污泥沉降性能的变化与系统中优势菌群的演替密切相关<sup>[1]</sup>。高通量技术的发展极大地扩充了对活性污泥群落多样性的认识,研究表明,不同类型污水、不同废水处理系统或城市的地理位置及环境条件都能够影响活性污泥微生物群落组成<sup>[2-5]</sup>,同一种废水也可能随

水质变化而发生微生物群落变化,以维持污水处理系统的稳定运行<sup>[6]</sup>,因此,深入了解活性污泥中微生物群落特征是理解生物处理污水本质的关键,同时也可作为污水处理系统的优化及稳定运行提供理论依据、合理建议及技术帮助<sup>[7-8]</sup>。光化反应生物酶系统 (Actinic reaction enzyme system, ARES) 由光合反应器和生物酶构成,可在传统活性污泥法的基础上设置,该系统采用电气石与发热板为污泥中微生物提供适合生长的光线和热能,通过气管和曝气盘为微生物提供充足的氧气,可提高污泥中微生物的活性及稳定性、消减污泥中的臭味等<sup>[9]</sup>。一些

城市因管网雨污分流不彻底,很多污水处理厂在运行过程中因碳氮比的失调无法正常运行,不能满足达标排放要求,因此需通过投加碳源的方式运行,但也增加了污水厂的运行成本。如重庆市某生活污水处理厂运行的 A<sup>2</sup>/O 工艺,总规模为 50 000 m<sup>3</sup>/d,通过外加碳源的方式,基本能满足城镇污水处理厂污染物排放一级 A 标准。而应用 ARES 技术在该污水处理厂升级改造后,在不投加外源碳源情况下,便可稳定运行,污水处理效果明显改善;尤其是与改造前相比,总氮在改造后的出水基本维持在 10 mg/L 以下,满足了《四川省岷江、沱江流域水污染物排放标准》(DB51/2311-2016)<sup>[10]</sup>中对氮的控制标准。

本文依托 Illumina-HiSeq 2000 高通量测序平台,利用细菌的 16S rRNA 基因序列和真菌的内转录间隔区 ITS 序列,分析探讨了重庆某污水处理厂在 ARES 系统启动前后该污水处理厂活性污泥微生物群落结构特征及其与污水处理效果的相关性,以期获得更多更全面的活性污泥微生物群落结构和多样性信息,并为 ARES 技术在污水处理中的规模化推广应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 ARES 启动后的污水处理工艺及运行情况

重庆市某污水处理厂引入 ARES 系统改造后相比在原 A<sup>2</sup>/O 工艺增加了光化生物池,具体为增加污泥回流系统,在外回流检查井安装抽水泵,将 5%的回流污泥引入光化生物池,光化生物池再通过内回流和外回流至 A<sup>2</sup>/O 工艺各单元,改造后的污水处理工艺如图 1 所示。

该污水处理厂引入 ARES 系统前后的进出水质情况如表 1 所示。改造前数据为 2018 年 1 月至 2018 年 8 月污水处理厂进出水水质数据,改造后数据为 2018 年 9 月至 2019 年 5 月污水处理厂进出水水质数据,数据来源由污水处理厂提供。该污水处理厂在 ARES 启动前通过补充外源碳源葡萄糖,维持了系统出水水质达到《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB18918-2002)<sup>[11]</sup>一级 A 标准,而 ARES 启动后能在不外加碳源的条件下,使系统出水水质达到《四川省岷江、沱江流域污染物排放标准》(DB51/2311-2016)<sup>[10]</sup>标准。

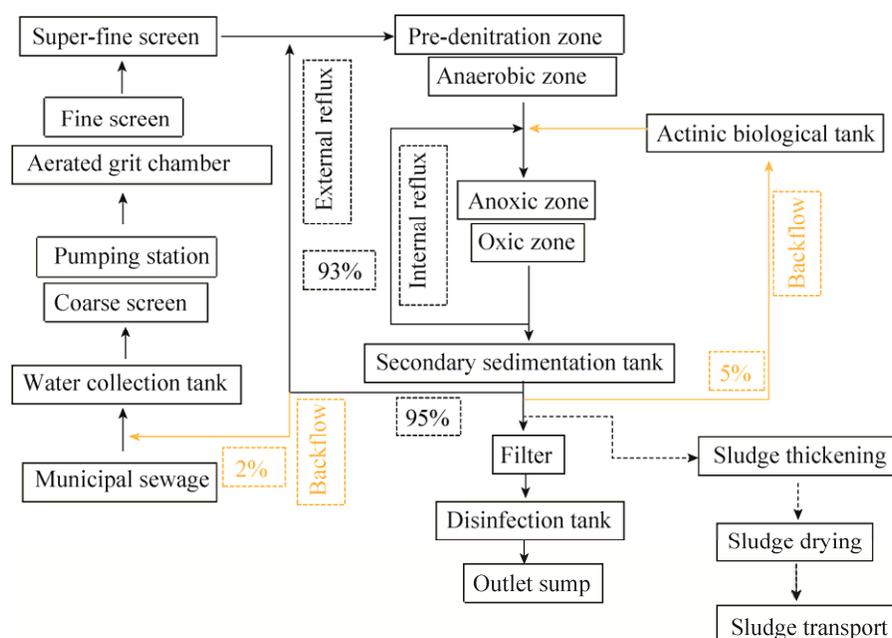


图 1 改造后的污水处理工艺

Fig. 1 The improved process of sewage treatment.

表 1 污水处理厂改造前后进出水浓度及去除率比较

Table 1 Comparison of the inflow/outflow pollutant concentrations and their percent removal rate before and after reform of sewage treatment plant

Water chemical parameters	Before reform			After reform		
	Inflow	Outflow	Removal percent (%)	Inflow	Outflow	Removal percent (%)
COD <sub>Cr</sub> (mg/L)	195.7	23.3	88.1	187.8	21.6	88.5
BOD <sub>5</sub> (mg/L)	96.8	7.1	92.7	82.3	4.2	94.9
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N (mg/L)	27.31	0.74	97.3	26.02	0.61	97.7
TN (mg/L)	32.78	10.1	69.2	33.28	8.96	73.1

## 1.2 样品采集

活性污泥样品采自重庆某污水处理厂 ARES 启动后正常运行期 (2019 年 5 月), 采样点为光化生物池 (N1)、厌氧池 (N2)、缺氧池 (N3)、好氧池 (N4) 4 个功能单元; 该污水处理厂改造前的活性污泥样品采样时间为 2018 年 5 月份, 采样点为厌氧池 (N5)、缺氧池 (N6)、好氧池 (N7) 3 个功能单元。以每个单元多点混合的方式进行采集, 活性污泥样品采集后立即置于冰盒带回放置 -80 °C 条件下保存。

## 1.3 基因组 DNA 的提取及高通量测序

采用 QIAGEN DNeasy PowerSoil Kit(100)试剂盒提取样本 DNA, 采用 Bio-Tek 微孔板分光光度计对 DNA 浓度和质量进行检测。以提取的 DNA 为模板, 分别用 343F (5'-TACGGRAGGCA GCAG-3') 和 798R(5'-AGGGTATCTAATCCT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因片段。用 ITS1F(5'-CTTG GTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2-(5'-GCT GCGTTCTTCATCGATGC-3') 扩增真菌 ITS rRNA 基因片段<sup>[12]</sup>。基于 Illumina-HiSeq 2000 测序平台进行高通量测序。根据测序下机数据, 经过 Trimmomatic 软件<sup>[13]</sup>对原始双端序列进行去杂, 进行质量控制分析, 利用 FLASH 软件对通过质量初筛的双端序列进行拼接, QIIME 软件<sup>[14]</sup>对获得的序列以 97% 的序列相似度进行归并和可操作分类单元 (Operational taxonomic units, OTUs) 划分。

## 2 结果与分析

### 2.1 活性污泥微生物群落多样性

本研究中 A<sup>2</sup>/O 工艺污水处理厂在 ARES 系统启动前后厌氧、缺氧、好氧单元, 包含 ARES 启动后的光化生物池共 7 个单元样品测序下机数据进行质控分析以获得有效序列, 并以 ≥97% 序列相似性为阈值划分 OTUs, 共获得 2 264 个细菌 OTUs、1 630 个真菌 OTUs (表 2), Alpha 多样性指数分析表明, 各单元样品的测序深度指数 (Good's coverage) 覆盖度均高于 98%, 表明满足测序深度。Simpson 为均匀度指数, Shannon 指数同时衡量丰富度和均匀度, 反映群落多样性情况, 分析结果表明, ARES 系统启动前后不同工艺单元样品中细菌群落间和真菌群落间的多样性及均匀度指数 (Shannon/Simpson) 无显著差异, 说明本研究中 ARES 系统启动对 A<sup>2</sup>/O 工艺过程活性污泥中的微生物多样性及均匀度无显著变化。

7 个单元样品中细菌的 Rank-Abundance 曲线在横坐标的宽度和线条陡度走势相近 (图 2A), 进一步说明 ARES 系统启动对各单元物种丰富度和均匀度影响不大, 只是光化生物池和缺氧区单元细菌丰富度与启动前后其他单元的物种丰富度略有区别。7 个单元样品中真菌的 Rank-Abundance 曲线在横坐标的宽度和线条走势呈显著差异, ARES 系统启动后各单元的真菌物种丰富度升高, 均匀度呈更均匀趋势 (图 2B)。

表 2 Alpha 多样性指数

Table 2 The Alpha diversity index

Microbe	Sample	Valid_tags	OTUs	Good's coverage	Chao1	Shannon	Simpson
Bacteria	N1	27 671	1 373	0.988	1 573	8.24	0.992
	N2	34 392	1 451	0.986	1 668	8.17	0.992
	N3	33 152	1 493	0.987	1 687	8.33	0.992
	N4	30 498	1 472	0.987	1 705	8.32	0.992
	N5	31 341	1 485	0.988	1 669	8.47	0.992
	N6	35 205	1 554	0.988	1 741	8.46	0.992
	N7	31 392	1 514	0.988	1 697	8.53	0.993
Fungi	N1	39 154	734	0.998	774	5.29	0.856
	N2	38 405	771	0.998	812	5.42	0.869
	N3	40 190	629	0.999	648	5.58	0.895
	N4	39 832	668	0.999	691	5.63	0.890
	N5	40 656	645	0.998	681	5.28	0.885
	N6	38 439	689	0.998	728	5.09	0.855
	N7	38 852	673	0.998	694	5.34	0.877

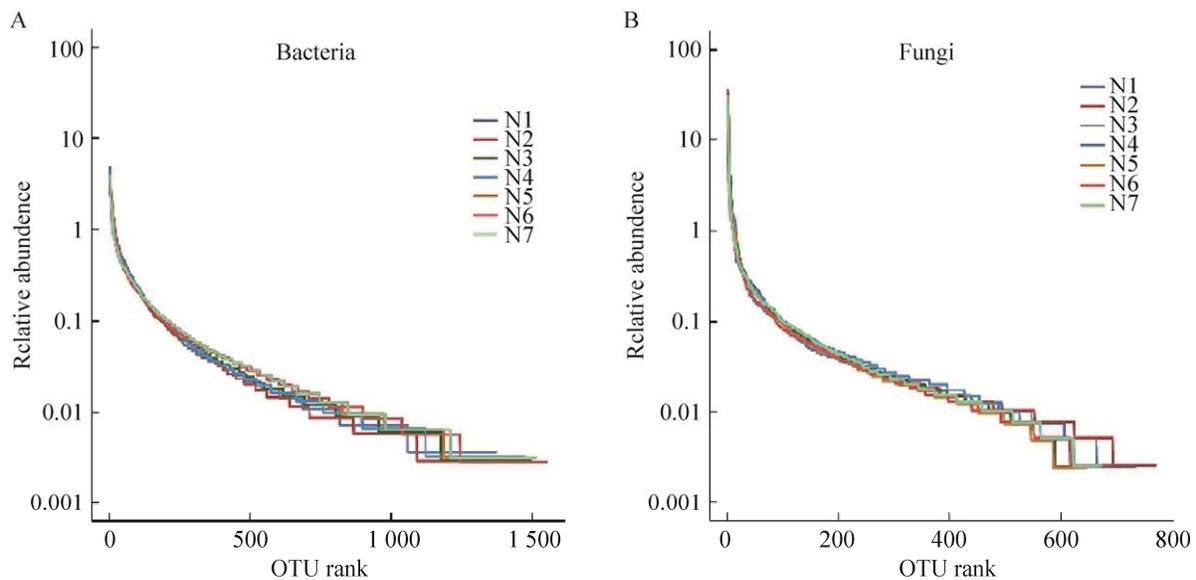


图 2 不同样品的 Rank-Abundance 曲线

Fig. 2 Rank-Abundance curves of different samples. (A) Rank-Abundance curves of Bacteria. (B) Rank-Abundance curves of Fungi.

## 2.2 ARES 启动前后 A<sup>2</sup>/O 工艺各单元细菌群落组成

在 A<sup>2</sup>/O 工艺 ARES 启动前后各工艺单元活性污泥样品中共注释到 36 个门类 364 个属的细菌，

通过堆叠柱形图展示平均相对丰度前 15 的微生物类群，在细菌门水平 (图 3) 上，丰富类群 (平均相对丰度  $\geq 1\%$ ) 的门类主要有 9 个，分别为变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门

(Bacteroidetes)、放线菌门 (Actinobacteria)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae)、厚壁菌门 (Firmicutes)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、绿菌门 (Chlorobi) 和绿弯菌门 (Chloroflexi), 这 9 个门类占整体测序细菌总量的 96%–98%。其中, 变形菌门 (Proteobacteria) 在 ARES 技术启动前后各单元的相对丰度为 45.90%–55.33%, 占主要优势, 变形菌门中与脱氮相关<sup>[15-16]</sup>的  $\beta$ -变性菌纲由启动前的 17.12%–18.09% 上升到启动后 20.57%–21.90%。拟杆菌门 (Bacteroidetes) 在 ARES 启动后厌氧单元的相对丰度由启动前的 19.43% 上升到 32.41%。放线菌门 (Actinobacteria) 在厌氧单元的相对丰度呈现较明显变化由启动前的 13.00% 下降为启动后的 3.40%, 在光化器单元相对丰度为 15.44%, ARES 启动前后其他单元该菌门的相对丰度维持在 12.03%–13.29%。硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 在 ARES 技术启动前后各单元相对丰度无显著差异, 在 2.83%–3.45% 左右。Firmicutes 门在厌氧区单元由启动前的 2.33% 降至 ARES 启动后的 0.88%, ARES 启动前后在其余单元启动前后的相

对丰度变化不显著, 维持在 2.39%–2.65%。芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、绿菌门 (Chlorobi) 和酸杆菌门 (Acidobacteria) 在 ARES 启动后相对丰度均有升高, 芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 由启动前的 1.31%–1.44% 上升到启动后的 2.74%–3.77%, 绿菌门 (Chlorobi) 由启动前的 0.86%–1.12% 上升到启动后的 1.56%–3.52%, 酸杆菌门 (Acidobacteria) 由启动前的 0.86%–0.89% 上升到启动后的 1.95%–2.74%。绿弯菌门 (Chloroflexi) 在 ARES 启动前后各单元相对丰度变化不显著, 基本维持在 0.27%–1.04%。螺旋菌门 (Spirochaetae) 在 ARES 启动后各单元的相对丰度略有下降, 由启动前 0.78%–0.95% 下降为 0.22%–0.38%。

在细菌属水平 (图 4) 上, ARES 启动前后各单元样品相对丰度变化明显, 其中 ARES 启动前的丰富类群 *Haliangium* 属和 *Denitratisoma* 属变化较大, 其中 *Haliangium* 属在 ARES 启动后各单元中的相对丰度呈现显著下降, 由启动前的 8.04%–9.19% 下降到启动后的 3.35%–5.41%。*Denitratisoma* 属在 ARES 启动后各单元相对丰度

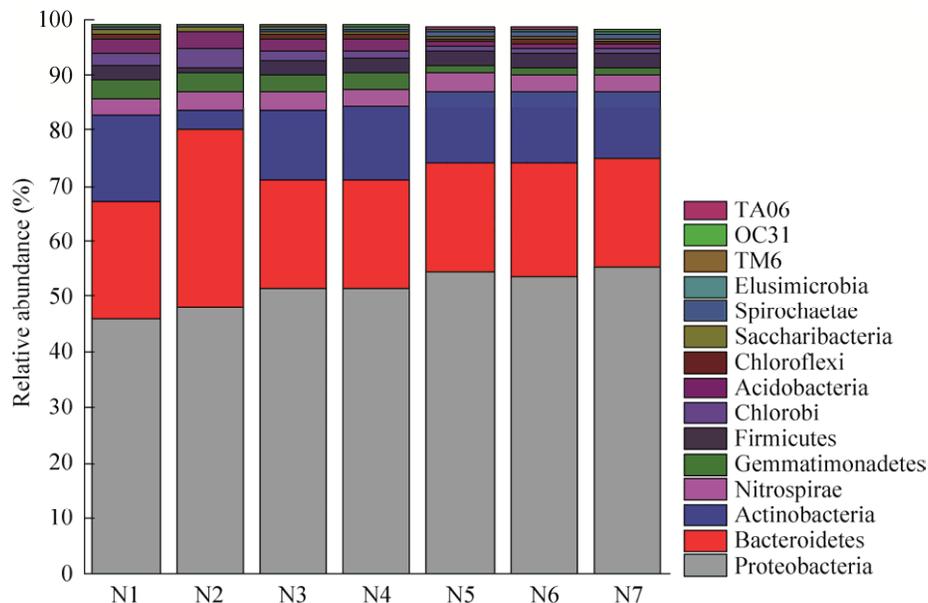


图 3 细菌在门水平的相对丰度 (top15)

Fig. 3 Relative abundance of bacteria at the phylum level (top15).

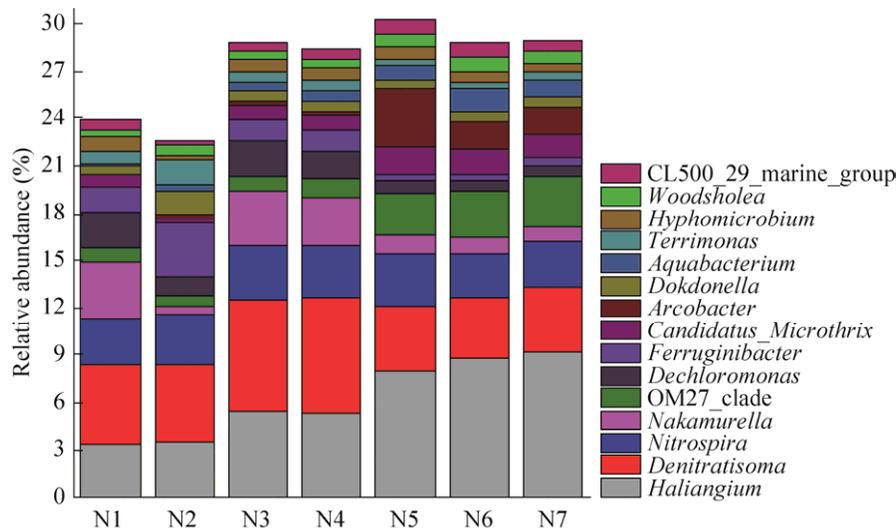


图 4 细菌在属水平的相对丰度 (top15)

Fig. 4 Relative abundance of bacteria at the genus level (top15).

升高, 由启动前的 3.82%–4.09% 上升到启动后的 4.85%–7.27%。脱氮菌属 *Dechloromonas* 在 ARES 启动前相对丰度为 0.67%–0.76%, ARES 启动后光化生物池相对丰度达到 2.18%, 进而使得启动后各功能区相对丰度上升, 尤其是缺氧区和好氧区分别上升至 2.14% 和 1.836%。硝化螺菌属 *Nitrospira* ARES 启动前后相对丰度变化不大, 均在 3% 左右。*Nakamurella* 属在启动前相对丰度为 0.96%–1.11%, ARES 启动运行 10 个月后, 系统中该菌属除了厌氧区相对丰度降为 0.55% 外, 其余各单元的相对丰度上升到 3.14%–3.43%, 其中光化器系统中该菌属的相对丰度为 3.58%。*Ferruginibacter* 属, 启动前相对丰度为 0.36%–0.48%, ARES 启动运行 10 个月后, 该菌属的相对丰度上升到 1.22%–3.49%, 其中光化器中该属的相对丰度为 1.65%。弓形菌属 *Arcobacter*, ARES 启动后各单元相对丰度呈现显著下降, 由启动前的 1.71%–3.67% 下降到 0.02%–0.31%, 其中光化生物池中该菌属的相对丰度仅为 0.02%。

### 2.3 ARES 启动前后 A<sup>2</sup>/O 工艺各单元真菌群落组成

真菌群落是水生生物食物网的重要组成部分, 在淡水湖生态系统中的养分循环和物质转化

过程中发挥着重要作用<sup>[17]</sup>, 也是难降解有机碳的主要分解者<sup>[18]</sup>。对 A<sup>2</sup>/O 工艺 7 个单元活性污泥样品真菌群落 ITS 测序, 以 97% 的序列相似度进行 OTUs 划分聚类, 各样本 OTUs 个数分布在 629–771 之间, 共注释到 9 个门类, 其中丰富类群 (平均相对丰度 ≥ 1%) 有 7 个门类 14 个种, 通过堆叠柱形图展示平均相对丰度前 15 的微生物类群。属于丰富类群的门类为子囊菌门 (Ascomycota)、接合菌门 (Zygomycota)、罗兹菌门 (Rozellomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、球囊菌门 (Glomeromycota)、壶菌门 (Chytridiomycota) 和芽枝霉门 (Blastocladiomycota)。这 7 个门类占整体测序真菌总量的 79%–92%。ARES 启动前后在门水平上的相对丰度差异显著 (图 5), ARES 启动后相对丰度显著下降的门有罗兹菌门 (启动前 45.36%–48.05% 下降到启动后 1.28%–2.65%) 和子囊菌门 (厌氧区启动前 26.66% 下降到启动后 13.27%)。ARES 启动后相对丰度显著升高的门有接合菌门 (缺氧区由启动前 0.49% 上升到启动后的 33.77%) 和球囊菌门 (厌氧区由启动前 0.02% 上升到启动后的 13.88%)。而担子菌门在 ARES 启动前后各单元相对丰度无明显变化, 启动前为 14.66%–17.70%, 启动后为 12.20%–20.95%。

在真菌属水平上 (图 6) 7 个单元活性污泥样品真菌群落相对丰度大于 1% 的菌包括 14 个属, 这 14 个属占整体测序真菌总量的 80%–91%, 其中罗兹菌属 *Rozellomycota* sp. 在启动前真菌群落

内的相对丰度占绝对优势为 45.36%–48.05%, 而 ARES 启动后相对丰度显著降低为 1.28%–2.65%。虫霉菌属 *Entomophthoraceae* sp. 和球囊菌属 *Glomeromycota* sp. 在启动前不同工艺单元几乎检

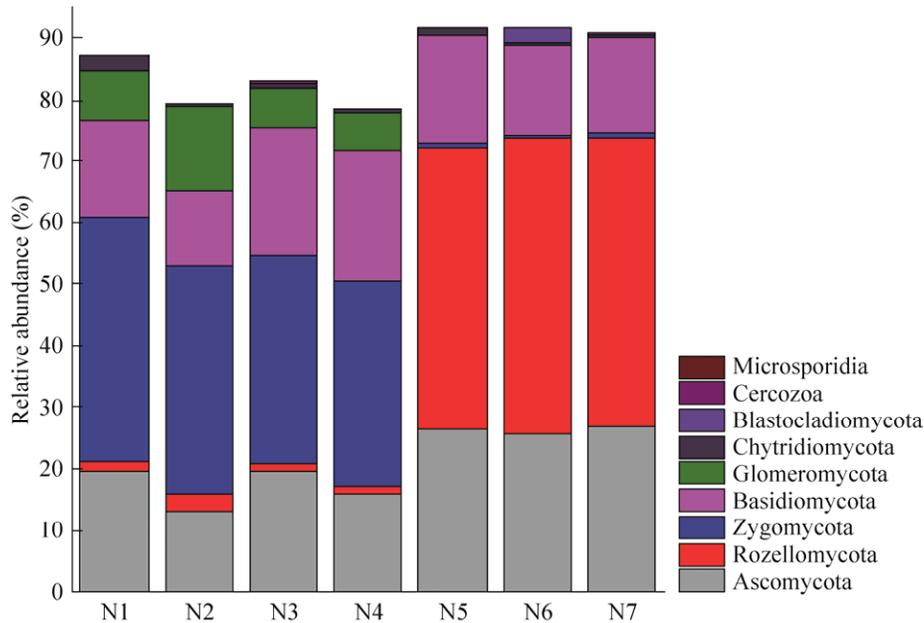


图 5 真菌在门水平的相对丰度 (top15)

Fig. 5 Relative abundance of Fungi at the phylum level (top15).

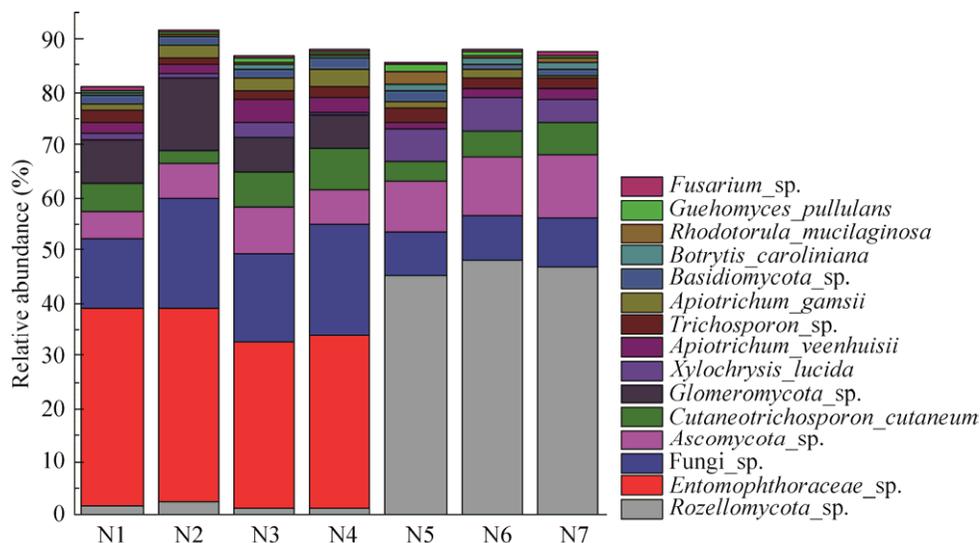


图 6 真菌在属水平的相对丰度 (top15)

Fig. 6 Relative abundance of Fungi at the genus level (top15).

测不到, 相对丰度均 $\leq 0.05\%$ , 但是在 ARES 系统运行 10 个月后, 系统中虫霉菌属 *Entomophthoraceae* sp. 相对丰度上升至 31.39%–37.55% 左右, 占有绝对优势, 球囊菌属 *Glomeromycota* sp. 相对丰度由 ARES 启动前 0.01%–0.02% 上升为启动后的 6.28%–13.85%。*Xylochrysis lucida* 在 ARES 启动后系统中各单元相对丰度呈显著下降, 由启动前的 4.62%–6.43% 下降到 0.36%–2.75%。

#### 2.4 ARES 启动前后 A<sup>2</sup>/O 工艺各单元微生物群落结构差异

基于 Bray-Curtis 相异 (不仅考虑样本中物种的

有无, 而且还考虑不同物种的相对丰度) 和 Jaccard (只考虑样本中物种的有无, 不考虑相对丰度) 相似距离矩阵进行主坐标分析 (Principal coordinates analysis, PCoA), 结果表明, 两种分析在第一主成分上, ARES 启动前和启动后的群落结构均可显著分离 (图 7), 说明 ARES 启动前和启动后的群落结构间存在明显差异。层次聚类可以直观地展示各样本群落结构的相似程度 (图 8), 可见 ARES 启动前明显区别于启动后, ARES 启动后各功能区较为相似, 启动前各功能区更相似, 即 ARES 启动显著影响 A<sup>2</sup>/O 工艺各单元微生物群落结构。

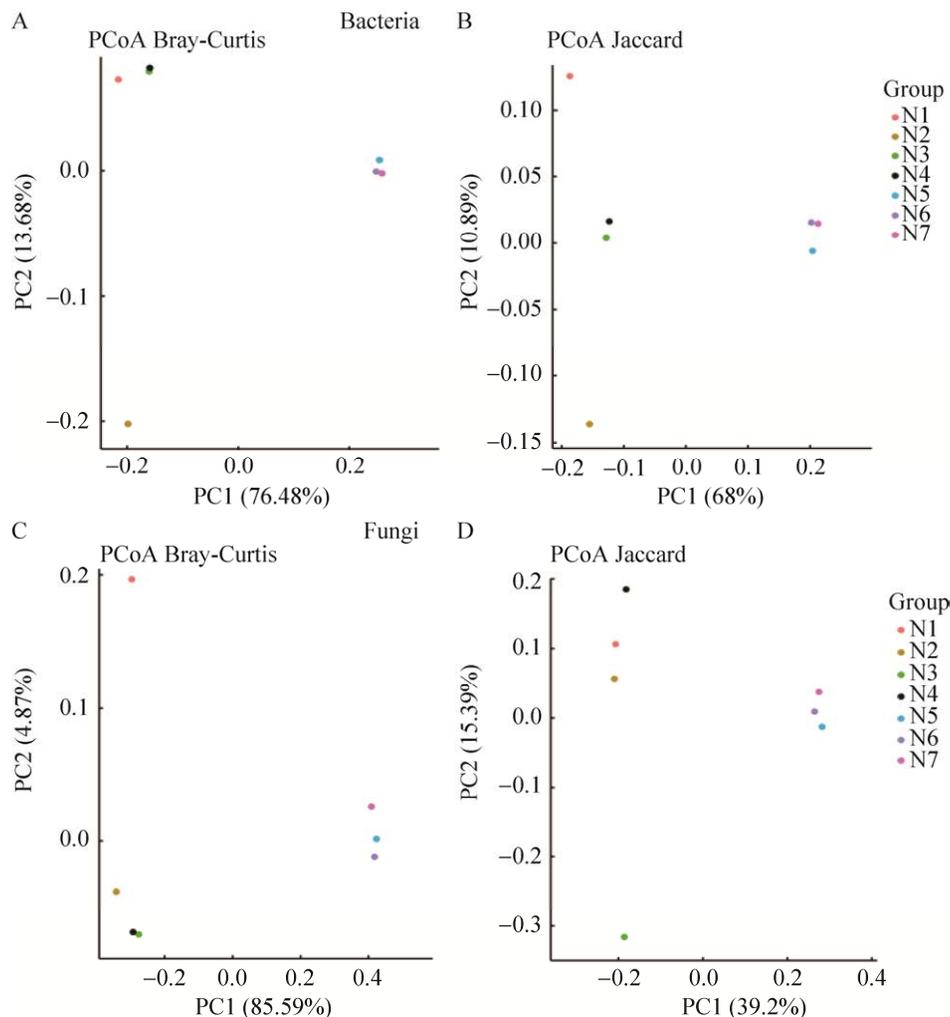


图 7 基于 Bray-Curtis 相异和 Jaccard 相似距离矩阵的主坐标分析 (PCoA)

Fig. 7 Principal coordinates analysis (PCoA) based on Bray-Curtis dissimilarity and Jaccard similarity distance matrices. (A) PCoA based on Bray-Curtis dissimilarity of Bacteria. (B) PCoA based on Jaccard similarity distance matrices of Bacteria. (C) PCoA based on Bray-Curtis dissimilarity of Fungi. (D) PCoA based on Jaccard similarity distance matrices of Fungi.

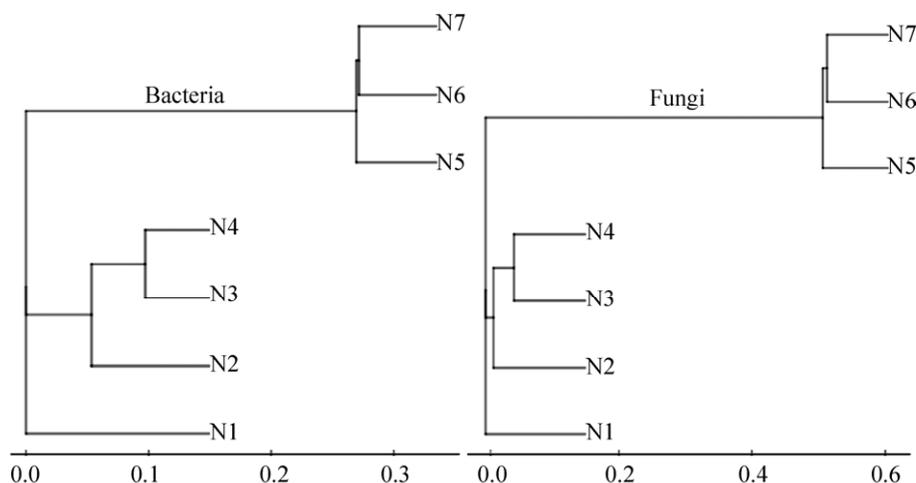


图 8 基于非加权组平均法 (UPGMA) 和 Bray-Curtis 距离矩阵对各样本群落相似性的层次聚类分析  
Fig. 8 Hierarchical clustering based on UPGMA and Bray-Curtis distance matrix.

### 3 讨论

ARES 系统作为新型处理工艺由光化合反应器和生物酶构成,该系统通过电气石和发热板与传统的曝气方式相结合,为污泥中微生物提供适合生长的光线和热能,具有高效能、抗冲击能力强、出水稳定等特点<sup>[9]</sup>。从污水处理厂 ARES 系统改造前后进出水总氮浓度及去除率中可以看出(表 1),出水总氮的去除率由改造前(外加碳源)的 69.2% 上升到 ARES 启动后(无外加碳源)的 73.1%,ARES 系统改造后出水总氮维持在 8.96 mg/L,满足《四川省岷江、沱江流域污染物排放标准》(DB51/2311-2016)<sup>[10]</sup>中出水总氮 10 mg/L 以下的标准。

微生物是污水生物处理系统中碳、氮、磷等污染物去除的主体。通过对 ARES 启动前后系统各单元中群落结构及优势菌群分析表明,变形菌门(Proteobacteria)在 ARES 技术启动前后各单元的相对丰度为 45.90%–55.33%,其中与脱氮相关的  $\beta$ -变性菌纲在 ARES 系统启动后相对丰度升高,有研究表明该菌门在好氧和厌氧环境中均可存活,在元素化学循环中起到重要作用<sup>[19]</sup>。拟杆菌门(Bacteroidetes)在该污水处理厂的相对丰度与已报道的城市污水厂活性污泥处理系统中的

微生物类群的分布规律相一致<sup>[5,20]</sup>。拟杆菌门所含细菌大多可以碳水化合物、蛋白质为底物,代谢生成糖、氨基酸、有机酸等,供聚磷菌吸收<sup>[21]</sup>,同时拟杆菌门数量的增加有利于缓解菌群的代谢紊乱并提升菌群的新陈代谢水平<sup>[22]</sup>,进而强化菌群降解有机污染物的能力<sup>[23]</sup>。绿弯菌门(Chloroflexi)是严格的厌氧微生物,是一类构成污泥菌胶团絮状体的重要菌种,可以将  $\text{CO}_2$  转变为丙酮酸而具有固碳的作用,丝状细菌属于该门类<sup>[24-25]</sup>,有多种代谢功能<sup>[26]</sup>,该菌门在 ARES 启动前后各单元相对丰度变化不显著,基本维持在 0.27%–1.04%。从属水平看, *Denitratisoma* 属归属红环菌科(Rhodocyclaceae),据报道有反硝化功能,但是目前对这类反硝化细菌研究较少<sup>[27]</sup>,其在污泥系统中的功能与活性有待后续研究。亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub>)主要包含硝化杆菌属 *Nitrobacter*、硝化螺菌属 *Nitrospira*、硝化球菌属 *Nitrococcus* 以及硝化刺菌属 *Nitrospina*<sup>[28]</sup>,本研究中发现 ARES 的启动增加了腐螺旋菌科(Saprospiraceae)、亚硝化单胞菌科(Nitrosomonadaceae)、硝化螺旋菌科(Nitrospiraceae)、红环菌科(Rhodocyclaceae)在 A<sup>2</sup>/O 工艺中的相对丰度,推测 ARES 通过上述菌群的响应提升系统总氮和氨氮的去除。*Nakamurella*

属经常出现在许多大型污水处理厂活性污泥中,对有机物和营养物的去除起关键作用,对生物污水处理厂的系统性能直接相关<sup>[29]</sup>,ARES启动前该菌属相对丰度为0.96%–1.11%,ARES启动运行10个月后,系统中该菌属除了厌氧区相对丰度降为0.55%外,其余各单元的相对丰度上升到3.14%–3.43%,其中光化器系统中该菌属的相对丰度为3.58%,呈显著上升,推测ARES启动促进*Nakamurella*菌生长,进而促进系统反硝化功能。脱氯菌属*Dechloromonas*归属红环菌科,其在ARES启动后呈现上升趋势,该菌属为氨氧化和反硝化除磷菌<sup>[30]</sup>,其在活性污泥中的丰度与污水中有机物降解关系密切,在反硝化和生物除磷中有重要作用<sup>[31]</sup>,此外,研究报道脱氯菌属*Dechloromonas*含量与COD去除率呈显著正相关<sup>[32]</sup>。弓形菌属*Arcobacter*是许多城市污水和城市污水化学生物絮凝池活性污泥中的优势菌群,具有致病性<sup>[33-35]</sup>,该属在ARES启动后相对丰度显著降低,推测ARES可以减少污水处理系统中包含该菌属在内的致病菌可能带来的环境风险。

此外,在生物污水处理系统中,真菌也是重要的贡献者,然而针对活性污泥中的真菌群落结构及其功能仍需要进一步探讨,与细菌相比,已知真菌会产生许多用于有机物降解和其他环境应用相关的胞外酶<sup>[36]</sup>,真菌硝化作用比自养硝化细菌的硝化作用高1–4个数量级<sup>[37]</sup>,有些真菌也会在污水处理过程中起反作用,如丝状真菌、致病性真菌。本研究通过真菌群落多样性结构分析表明,A<sup>2</sup>/O各工艺段在ARES启动前和启动后真菌的群落结构间存在显著差异,ARES启动后各功能区较为相似,启动前各功能区更相似;其中ARES启动抑制了活性污泥环境中罗兹菌属(*Rozellomycota* sp.)的相对丰度,由启动前45.36%–48.05%降低为1.28%–2.65%,相对丰度受抑制较明显的还有*Xylochrysis*属,其在ARES启动后系统中各单元相对丰度呈显著下降,由启动前的4.62%–6.43%下降到0.36%–2.75%。启动后

相对丰度显著上升的菌属有虫霉菌属(*Entomophthoraceae* sp.)和球囊菌属(*Glomeromycota* sp.),特别是虫霉菌属(*Entomophthoraceae* sp.)相对丰度上升至31.39%–37.55%左右,每个功能单元相对丰度上升量均达到30%以上,系统中占有绝对优势。但是目前为止对于上述菌属的生理代谢及其在活性污泥中的具体功能研究还非常缺乏,本研究没能进一步展开研究讨论。

这项研究表明,ARES启动通过影响A<sup>2</sup>/O工艺系统中活性污泥微生物群落结构,激活活性污泥中对有机物和营养物质的去除起关键作用的菌群,进而影响了A<sup>2</sup>/O工艺系统性能。

## 4 结论

ARES系统作为污水处理工艺中的新型技术,对A<sup>2</sup>/O工艺系统中活性污泥微生物群落结构具有显著调节作用,特别是真菌群落结构,进而表现出对系统中总氮去除效率的提升。活性污泥环境中复杂的微生物群落与废水中的有机营养物质形成了复杂的食物链,这些微生物之间相互作用,它们的生理代谢和环境功能有待进一步验证。本研究通过高通量测序技术,鉴定了ARES对于A<sup>2</sup>/O工艺系统中活性污泥微生物菌群的影响,解析了ARES通过对污泥微生物结构组成的改变提升污水厂出水水质的理论基础,研究结果为理解ARES在污水处理系统中的作用提供了新的依据。

## REFERENCES

- [1] Lu X, Liu B, Tan YF, et al. Biological causes of sludge bulking in municipal wastewater treatment plant under low-temperature condition. *Chin J Environ Eng*, 2016, 10(7): 3925–3930 (in Chinese). 陆鑫, 刘波, 谭云飞, 等. 低温条件下城市污水厂污泥膨胀的生物学成因. *环境工程学报*, 2016, 10(7): 3925–3930.

- [2] Allievi MJ, Silveira DD, Cantão ME, et al. Bacterial community diversity in a full scale biofilter treating wastewater odor. *Water Sci Technol*, 2018, 77(8): 2014–2022.
- [3] Dunkel T, De León Gallegos EL, Bock C, et al. Illumina sequencing for the identification of filamentous bulking and foaming bacteria in industrial activated sludge plants. *Int J Environ Sci Technol*, 2017, 15(6): 1139–1158.
- [4] Zhao TT, Qiao K, Wang L, et al. Measurements of bacterial community and biodiversity from activated sludge for a wastewater treatment containing starch. *Environ Sci*, 2020, 41(1): 321–329 (in Chinese).  
赵婷婷, 乔凯, 王蕾, 等. 淀粉废水处理系统中活性污泥的微生物群落结构及多样性分析. *环境科学*, 2020, 41(1): 321–329.
- [5] Zhang B, Wu LW, Wen XH. Potential source environments for microbial communities in wastewater treatment plants (WWTPs) in China. *Environ Sci*, 2019, 40(8): 3699–3705 (in Chinese).  
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. *环境科学*, 2019, 40(8): 3699–3705.
- [6] Yuan L, Zhi W, Liu YS, et al. Lead toxicity to the performance, viability, and community composition of activated sludge microorganisms. *Environ Sci Technol*, 2015, 49(2): 824–830.
- [7] Limpiyakorn T, Kurisu F, Sakamoto Y, et al. Effects of ammonium and nitrite on communities and populations of ammonia-oxidizing bacteria in laboratory-scale continuous-flow reactors. *FEMS Microbiol Ecol*, 2007, 60(3): 501–512.
- [8] Limpiyakorn T, Shinohara Y, Kurisu F, et al. Communities of ammonia-oxidizing bacteria in activated sludge of various sewage treatment plants in Tokyo. *FEMS Microbiol Ecol*, 2005, 54(2): 205–217.
- [9] Guo TZ. Ecological energy sewage treatment system: CN, 104058504A. 2014-09-24 (in Chinese).  
郭铁柱. 一种生态能污水处理系统: 中国, 104058504A. 2014-09-24.
- [10] Department of Ecology and Environment of Sichuan Province. DB 51/2311-2016, Discharge standard of water pollutants for Minjiang and Tuojiang river basins of Sichuan Province[S]. Sichuan, 2017 (in Chinese).  
四川省环境保护厅. DB 51/2311-2016, 四川省岷江、沱江流域水污染物排放标准[S]. 四川, 2017.
- [11] Ministry of Ecology and Environment of the People's Republic of China. GB 18918-2002, Discharge standard of pollutants for municipal wastewater treatment plant[S]. Beijing, 2003 (in Chinese).  
中华人民共和国生态环境部. GB 18918-2002, 城镇污水处理厂污染物排放标准[S]. 北京, 2003.
- [12] Mukherjee PK, Chandra J, Retuerto M, et al. Oral mycobiome analysis of HIV-infected patients: identification of *Pichia* as an antagonist of opportunistic fungi. *PLoS Pathog*, 2014, 10(3): e1003996.
- [13] Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 2014, 30(15): 2114–2120.
- [14] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*, 2010, 7(5): 335–336.
- [15] Guo XY, Nian YG, Yan HH, et al. Pollutants degradation characteristics and microbial community structure using cornstarch wastewater as denitrification carbon source. *J Environ Eng Technol*, 2016, 6(5): 427–433 (in Chinese).  
郭晓娅, 年跃刚, 闫海红, 等. 以玉米淀粉废水为反硝化碳源的污染物降解特征与微生物群落结构研究. *环境工程技术学报*, 2016, 6(5): 427–433.
- [16] Chen CJ, Zhang HQ, Wang YQ, et al. Characteristics of microbial community in each compartment of ABR ANAMMOX reactor based on

- High-throughput Sequencing. *Environ Sci*, 2016, 37(7): 2652–2658 (in Chinese).
- 陈重军, 张海芹, 汪瑶琪, 等. 基于高通量测序的 ABR 厌氧氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析. *环境科学*, 2016, 37(7): 2652–2658.
- [17] Ma YT, Li JQ, Wu J, et al. Bacterial and fungal community composition and functional activity associated with lake wetland water level gradients. *Sci Rep*, 2018, 8: 760.
- [18] Shang PL, Chen SN, Huang TL, et al. Vertical distribution of fungal community composition and water quality during the deep reservoir thermal stratification. *Environ Sci*, 2018, 39(3): 1141–1150 (in Chinese).
- 商潘路, 陈胜男, 黄廷林, 等. 深水型水库热分层诱导水质及真菌种群结构垂向演替. *环境科学*, 2018, 39(3): 1141–1150.
- [19] Li Y, Hu Q, Gao DW. Effect of temperature on the performance and microbial community structure in an integrated anaerobic fluidized-bed membrane bioreactor treating benzothiazole wastewater. *Environ Sci*, 2018, 39(4): 1731–1738 (in Chinese).
- 李玥, 胡奇, 高大文. 温度对一体式厌氧流化床膜生物反应器运行效能及微生物群落结构的影响. *环境科学*, 2018, 39(4): 1731–1738.
- [20] Guo JH, Ni BJ, Han XY, et al. Unraveling microbial structure and diversity of activated sludge in a full-scale simultaneous nitrogen and phosphorus removal plant using metagenomic sequencing. *Enzyme Microb Technol*, 2017, 102: 16–25.
- [21] Han XM, Wang ZW, Ma JX, et al. Membrane bioreactors fed with different COD/N ratio wastewater: impacts on microbial community, microbial products, and membrane fouling. *Environ Sci Pollut Res*, 2015, 22(15): 11436–11445.
- [22] Barczynska R, Slizewska K, Litwin M, et al. The effect of dietary fibre preparations from potato starch on the growth and activity of bacterial strains belonging to the phyla *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, and *Actinobacteria*. *J Funct Foods*, 2015, 19: 661–668.
- [23] Kong YH, Xia Y, Nielsen JL, et al. Structure and function of the microbial community in a full-scale enhanced biological phosphorus removal plant. *Microbiology*, 2008, 153(12): 4061–4073.
- [24] Miura Y, Watanabe Y, Okabe S. Significance of *Chloroflexi* in performance of submerged membrane Bioreactors (MBR) treating municipal wastewater. *Environ Sci Technol*, 2007, 41(22): 7787–7794.
- [25] Nierychlo M, Miłobędzka A, Petriglieri F, et al. The morphology and metabolic potential of the *Chloroflexi* in full-scale activated sludge wastewater treatment plants. *FEMS Microbiol Ecol*, 2018, 95(2), doi: 10.1093/femsec/fiy228.
- [26] Fullerton H, Moyer CL. Comparative single-cell genomics of *Chloroflexi* from the Okinawa trough deep-subsurface biosphere. *Appl Environ Microbiol*, 2016, 82(10): 3000–3008.
- [27] Wang YQ, Zhang M, Jiang Y, et al. Start-up and characteristics of the microbial community structure of ANAMMOX. *Environ Sci*, 2017, 38(12): 5184–5191 (in Chinese).
- 汪瑶琪, 张敏, 姜滢, 等. 厌氧氨氧化启动过程及微生物群落结构特征. *环境科学*, 2017, 38(12): 5184–5191.
- [28] Ishii K, Fujitani H, Soh K, et al. Enrichment and physiological characterization of a cold-adapted nitrite-oxidizing *Nitrotoga* sp. from an eelgrass sediments. *Appl Environ Microbiol*, 2017, 83(14): e00549-17.
- [29] Kim D, Nguyen LN, Oh S. Ecological impact of the antibiotic ciprofloxacin on microbial community of aerobic activated sludge. *Environ Geochem Health*, 2019, doi: 10.1007/s10653-019-00392-6.
- [30] Zhou L, Li G, Shin HS, et al. Characteristics of nitrogen and phosphorus removal and microbial community structure in hybrid biofilm system. *Acta Sci Circumst*, 2012, 32(6): 1312–1318 (in Chinese).

- 周律, 李芻, Shin HS, 等. 生物膜复合系统脱氮除磷的特征及微生物群落结构分析. 环境科学学报, 2012, 32(6): 1312-1318.
- [31] He QL, Song Q, Zhang SL, et al. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sequencing batch reactor with mixed carbon sources: reactor performance, extracellular polymeric substances and microbial successions. Chem Eng J, 2018, 331(1): 841-849.
- [32] Ma SJ, Gu ZJ, Ding LL, et al. Effects of carbon sources on cell membrane properties and microbial community of activated sludge. Microbiol China, 2017, 44(3): 561-573 (in Chinese).  
马思佳, 顾卓江, 丁丽丽, 等. 碳源对活性污泥微生物细胞膜特性和群落结构影响. 微生物学通报, 2017, 44(3): 561-573.
- [33] Bi SL, Meng HC. Biological characteristics and diagnoses of pathogenic *Arcobacter* species. Mod Food Sci Technol, 2013, 29(1): 211-214 (in Chinese).  
毕水莲, 孟赫诚. 致病性弓形杆菌属生物学特性及诊断研究进展. 现代食品科技, 2013, 29(1): 211-214.
- [34] Wang F, Fu YG, Xia SQ, et al. Characteristics of municipal sewage Chem-Bioflocculation treatment process by using PCR-DGGE technology. Environ Sci, 2004, 25(6): 74-79 (in Chinese).  
王峰, 傅以钢, 夏四清, 等. PCR-DGGE 技术在城市污水化学生物絮凝处理中的特点. 环境科学, 2004, 25(6): 74-79.
- [35] Wu CD, Xu XH, Ning DG, et al. Study on bacterial diversity and biological safety of municipal sewage. China Saf Sci J, 2008, 18(1): 119-122 (in Chinese).  
吴春笃, 许小红, 宁德刚, 等. 城市污水细菌多样性及其生物安全性研究. 中国安全科学学报, 2008, 18(1): 119-122.
- [36] Kűes U. Fungal enzymes for environmental management. Curr Opin Biotechnol, 2015, 33(6): 268-278.
- [37] Guest RK, Smith DW. A potential new role for fungi in a wastewater MBR biological nitrogen reduction system. J Environ Eng Sci, 2002, 1(6): 433-437.

(本文责编 郝丽芳)