

黄丹平, 李俐频, 张军, 等. 蠕虫床污泥减量对 A²O-MBR 系统中细菌特性的影响[J]. 环境工程学报, 2020, 14(3): 615-621. HUANG Danping, LI Lipin, ZHANG Jun, et al. Effects of worm predation and sludge reduction on bacterial characteristics of an anaerobic-anoxic-oxic-membrane bioreactor (A²O-MBR)[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(3): 615-621. 621.

蠕虫床污泥减量对 A²O-MBR 系统中细菌特性的 影响

黄丹平1,李俐频1,*,张军1,李慧2,左薇1,李安然1

1. 哈尔滨工业大学环境学院,哈尔滨 150090 2. 河北大学化学与环境科学学院,保定 071002

第一作者:黄丹平(1993—),女,硕士,工程师。研究方向:污泥减量。E-mail: huangdanping1993@163.com *通信作者:李俐频(1989—),女,博士,助理研究员。研究方向:污水处理。E-mail: lipinlee@hit.edu.cn

摘 要 蠕虫捕食是实现污泥减量最有前景的技术之一,具有高效和环保的优点。为了考察蠕虫捕食对污水处 理系统微生物特性的影响,建立了厌氧-缺氧-好氧-膜生物反应器(A²O-MBR)与蠕虫床耦合系统,并以传统的 A²O-MBR、A²O-MBR-空白蠕虫床耦合系统为对照,3组系统同时稳定运行120d,采用16SrRNA高通量测序对 反应器的微生物特性进行对比分析研究。结果表明,A²O-MBR-蠕虫床系统微生物丰度变大,多样性降低,有 效促进了优势菌的富集;耦合系统中脱氮除磷功能菌得到强化,其中反硝化除磷菌比例达12.71%,使脱氮与除 磷过程相互协同,蠕虫床的耦合提高了A²O-MBR系统脱氮除磷效能。以上研究结果为蠕虫捕食技术在污泥减 量与污水处理中的工程应用提供了一条有效途径。

关键词 蠕虫捕食;污泥减量;高通量测序;微生物群落;反硝化除磷

污泥是污水生物处理过程中不可避免的危害副产物,含有难降解有机物、病原菌、重金属等污染物^[1-2]。目前,我国污泥年产量已超过4.5×10⁷ t(含水率80%),成为全球污泥产量最大的国家,然而50%的污泥并没有得到妥善处理,严重威胁我国生态环境安全,开展污泥减量化研究是我国重大战略需求之一。

蠕虫污泥捕食技术与污水处理系统耦合实现污泥减量已取得了广泛的研究^[3-4]。蠕虫捕食污 泥减量技术通过在污水处理过程中加入蠕虫等微型动物,定向延长污水处理系统的食物链,利 用食物链中能量传递的"十分之一定律",实现污泥减量。相对于污泥的隐性生长、解偶联等污泥 减量技术,生物捕食具有无须投加化学物质、处理成本低、副产物少、污泥减量效率高等技术 优势^[5],在学术研究与工程应用中均取得了广泛的关注^[6-7]。然而,蠕虫捕食对污水处理系统微生 物菌群特性的影响研究相对缺乏。污水生物处理过程主要利用不同功能微生物相互间的协同降 解作用,实现污水的高效处理,因此,微生物的群落结构直接影响着污水的处理效能^[8]。污水处

收稿日期: 2019-05-01; 录用日期: 2019-06-20

基金项目:哈尔滨市应用技术研究与开发项目(2017AB4AS035);国家自然科学基金资助项目(51708167)

理过程中不同的工艺操作与水质条件的波动均可引起微生物菌群的改变,无法适应环境改变的 微生物丰度降低,而其他微生物则可能得到富集^[9]。因此,不同的环境条件可促进微生物群落的 筛选过程^[10]。

本研究基于厌氧-缺氧-好氧-膜生物反应器 (A²O-MBR)-蠕虫床耦合系统,利用 Illumina 高通量 16S rRNA 测序技术,从微生物种类、丰度特征、功能菌群分布相似性及差异性等方面,对比分析 蠕虫捕食的耦合对污水处理系统微生物菌群特性的影响,为蠕虫污泥减量技术的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验装置

蠕虫床的结构如图 1 所示。反应器的有效 容积为 4 L(长 25 cm×宽 15 cm×高 16 cm),内置 4 块方形多孔填料,用于蠕虫附着。蠕虫床底 部设置双曝气系统,弱曝气系统连续运行,维 持蠕虫床中的溶解氧 (DO)在 0.5~1 mg·L⁻¹;强 曝气系统间歇运行,每 1 h运行 3 min,使污泥 均匀混合。蠕虫床的运行温度为 23~25 ℃,接 种蠕虫量 60 g,空白蠕虫床的结构、运行与蠕 虫床相同,但不接种蠕虫。

为了对比研究蠕虫捕食对污水处理系统微 生物菌群结构的影响,本研究采用 A²O-MBR (Ⅰ号),A²O-MBR-空白蠕虫床(Ⅱ号)为对照系 统,A²O-MBR-蠕虫床(Ⅲ号)为实验组,3组系 统的流程如图2所示。

3 组系统中 A²O-MBR 部分完全一样, A²O-MBR 有效体积为 16.8 L, 其中厌氧池、缺氧 池、好氧池的体积比为 1:2:4, 污水处理量为 32 L·d⁻¹, 水力停留时间 (HRT) 为 12.6 h, 好氧 池污泥浓度维持在 6 000~8 000 mg·L⁻¹。膜组件



放入 A²O 的好氧池中,出水泵抽吸比为工作 8 min/闲置 2 min。每天 1.5 L 好氧池污泥混合 0.5 L 出 水进入蠕虫床,同时蠕虫床中 2 L 污泥混合液回流到好氧池中。

1.2 水质处理效果

实验进水采用小区下水道实际生活污水,进水水质及出水水质如表1所示。采用*t*-检验对3组 系统出水进行统计分析,相对于Ⅰ号系统,Ⅱ号和Ⅲ号系统在出水 COD 方面没有统计学上的显著

性差异(P>0.05);在出水 TN 和 TP 方面, Ⅱ号 和Ⅲ号系统的出水浓度相对于 Ⅰ号系统均显著 降低(P<0.01);同时,相对于 Ⅱ号系统,Ⅲ号 系统的出水 TP 进一步显著降低(P<0.01)。因 此,研究蠕虫床耦合对 A²O-MBR 系统微生物 菌群的影响具有重要意义。

1.3 分析测试方法

为了研究系统长期运行对菌群的影响,

表1 进水及3组系统出水水质 Water quality of the influent and effluent of Table 1 $mg\!\cdot\!L^{-1}$ the three systems 水质 氨氮 总氮 总磷 COD 进水 350~500 40~50 50~70 4.0~6.0 I 号出水 20~40 0.5~2.5 12~20 0.5~3.0 Ⅱ号出水 20~40 0.3~2.0 10~15 0.3~2.0 Ⅲ号出水 15~35 0.5~2.0 $10 \sim 15$ 0.2~0.6

在 3 组系统稳定运行 120 d 时,对菌群进行取样分析。由于各系统中 A²O-MBR 的厌氧池、缺氧池和好氧池相互连通,污泥在几个池体中循环,因此,为了充分反映各系统中菌群情况,按照 A²O-MBR 中厌氧池、缺氧池、好氧池的体积比例,分别取厌氧池、缺氧池、好氧池污泥样品 10、20、40 mL,经过滤网过滤,去除大颗粒杂质后,将所取样品分别混合均匀,形成 3 个污泥样品,于 -20 ℃ 保存,并在 1 周内送样给北京诺和致源测序公司进行测序分析。

本研究样品测序以 Illumina 技术平台为基础,采用双末端测序 (Paired-End) 方法,采用的引物为 515F 和 907R,引物序列 (5'~3')分别为 GTGCCAGCMGCCGCGGTAA 和 CCGTCAATTCCTTT GAGTTT。根据 3 组污泥样品扩增的结果,根据 16S rRNA 基因的 V4~V5 区进行建库,完成建库 后,利用 HiSeq 测序平台测序。

运用软件 Microbial-XDF,对产生的测序数据进行数据分析,其中包括数据质控模块 Microbial-XDF-QC、操作分类单元 (OTU) 分析模块 Microbial-XDF-OUT、物种注释模块 Microbial-XDF-Profiling、样品内微生物多样性评估模块 Microbial-XDF-Alpha Diversity、样品间微生物多样性评估模块 Microbial-XDF-Clustering。

2 结果与讨论

2.1 微生物种群丰度及多样性分析

根据高通量测序结果,经序列过滤分析后的数据如表2所示。其中3组反应器最终用于分析的优质序列约180211条,平均长度为372bp,优质率约85%,能较好反映3组反应器污泥样品的微生物信息。同时,在97%的相似度下,将可用的优质序列聚类为用于物种标记和分类的OTU条段。3组反应器污泥样品OUT数量逐渐趋于平坦(图3),表明取样基本可反映3组污泥样品的微生物种群信息。

最终 3 组样品产生的 OTU 分别为 1 443、1 364、1 368 个。然而 Ⅲ 号的 Chao1 和 ACE 指数分别

为2649和1839,大于I号(1758,1686)和 II号(1459,1523),表明III号微生物群落的丰 富性最高^[11],且III号中存在大量低丰度的物种。Shannon指数和Simpson指数反映的是微 生物群落的多样性^[12],是衡量物种丰富度与均 匀性的综合指标。3组反应器的2种指数排序 均为III<I<II,由于II号具有最低的物种丰富 度,但多样性最大,表明II号系统中微生物的 均匀性很高。III号丰富度最高但多样性最低, 表明不同物种的丰度差异较大,即优势菌得到 富集,劣势菌丰度不断降低。

实验选用的实际生活污水具有复杂的营养 成分及难降解有机物,可使3组反应器内异养 菌种类大幅增长^[13]。在Ⅲ号反应器中,微氧-好 氧交替环境能富集某些兼性菌;且蠕虫对污泥 的捕食作用加速释放污泥中有机物,营造相对 的富营养环境,使微生物种群的优势菌群得到 富集,同时蠕虫的捕食作用可能进一步影响微 生物的菌群结构^[14-15]。

表 2 3 组反应器 16S rRNA 基因指数

Table 2	2 Inc	lex i	table	of tl	he 1	6S	rRNA	gene	of	three	reactors
---------	-------	-------	-------	-------	------	----	------	------	----	-------	----------

样品	序列数量/条	OUT/个	长度/bp	有效比率/%	
I 号	70 292	1 443	372	85.97	
Ⅱ号	64 287	1 364	372	87.45	
Ⅲ号	45 632	1 368	372	75.64	





2.2 微生物差异性分析

由于3组系统具有不同的运行条件, Ⅱ号和Ⅲ号分别耦合了空白床和蠕虫床, 使得系统 内微生物种类及丰度得到改变, OTU具有较大 差异 (图 4)。

从门、属水平分析3组污泥样品总细菌相 对丰度,分布最广微生物依次为变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、浮 霉菌门(Planctomycetes)^[16],三者丰度之和分别 占各组微生物的83%、80%及85%。其中变形 菌门包含多种固氮的细菌,3组系统中变形菌 门细菌含量分别为63%、52%和64%。拟杆菌



门细菌主要存在于人或动物的肠道内,由于进水使用实际的生活污水,因此,污泥样品中含有大量的拟杆菌门细菌^[17]。浮霉菌门细菌是一门水生细菌,包含多种专性好氧菌,同时也含有一些关系较远的厌氧氨氧化菌,其含量与系统脱氮能力有关。在属水平的相对丰度分布中,3组样品中可能的脱氮功能菌(亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)、浮霉状菌属(*Planctomyces*)等)^[18]总含量分别为5.2%、4.6%、3.4%。可能的除磷功能菌(脱氯单胞菌(*Dechloromonas*)、聚磷菌(*Candidatus Accumulibacter*))^[19]总含量分别为16.6%、12.0%、19.2%。Ⅲ号污泥中属水平含量超过5%的细菌分别为脱氯单胞菌(11.7%)、聚磷菌(7.5%)、聚糖菌(*Candidatus Competibacter*)(7.1%)。其中脱氯单胞菌、聚磷菌等脱氮除磷功能菌^[20-21]含量为3组反应器中最高,可有效提高污水除磷效能。

2.3 脱氮功能菌分析

进一步分析 3 组系统中脱氮功能菌的分布情况 (图 5)。系统中厌氧氨氧化细菌 (AOB) 与硝化细菌 (NOB) 种类较多,说明 3 组系统中脱氮菌群落结构较为丰富^[22]。亚硝化单胞菌属是典型的氨氧 化细菌^[23],主要发生氨氧化作用,在 3 组样品中比例分别为 0.84%、0.71% 和 0.79%,硝化细菌在 3 组样品中分别占 2.24%、1.97% 和 1.60%,由于含量差别不大,3 组系统表现出相似的氨氮去除效 能。同时一些以硫杆菌属 (*Thiobacillus*)、副球菌属 (*Paracoccus*) 为代表的菌属还可以发生自养反硝



图 5 3 组系统脱氮功能菌的分布 Fig. 5 Distribution of denitrifying functional bacteria in the three systems

第14卷

化作用^[24],但此类微生物含量在3组样品中均低于1×10⁻⁵,表明反应器中自养反硝化细菌的种类和 数量都较少,反硝化细菌以异养型为主^[25]。

3 组系统中反硝化细菌的含量分别约为 13.07%、7.03% 和 13.35%, Ⅲ号可能具有最强的反硝化 能力^[26]。脱氮功能菌在 3 组样品中总含量分别为 6.19%、11.80% 和 6.80%,其中红杆菌属 (*Rhodobacter*)、 生丝微菌属 (*Hyphomicrobium*) 为典型的好氧细菌^[27],同时又具备反硝化能力^[28],在 3 组样品中比例 分别为 0.29%、0.21% 和 0.45%,说明 Ⅲ号反应器好氧池中更可能发生短程硝化反硝化。

2.4 除磷功能菌分析

除磷功能菌主要包括好氧除磷菌 (PAOs) 和反硝化除磷菌 (DNPAOs)^[29-30]。本研究将可能具有除 磷功能的菌属按 PAOs 和 DNPAOs 进行分类分析。PAOs 在 3 组样品中的总含量分别为 8.74%、 12.43% 和 10.04%(图 6),表明 Ⅱ号和 Ⅲ号系统中好氧除磷功能均得到了强化,且 Ⅱ号系统具有最强 的好氧除磷潜能。

3 组反应器中 DNPAOs 的总量分别为 11.16%、5.39% 和 12.71%(图 7)。由于蠕虫床的筛选作 用,使得 III 号污泥中含有较丰富的 DNPAOs,表现出较强的缺氧反硝化吸磷能力。3 组样品中 PAOs 与 DNPAOs 的总含量分别为 19.90%、17.82% 与 22.75%。 I 号和 III 号系统中 DNPAOs 相对 PAOs 具有丰度优势,且 III 号系统中,PAOs 和 DNPAOs 均得到了富集。 II 号系统中 DNPAOs 总量 的下降与 II 号系统污泥在空白蠕虫床的停留有关,DNPAOs 菌的存在至少须满足存在硝态氮、磷 酸盐和缺氧环境等条件。在蠕虫床中,由于蠕虫捕食导致污泥中营养物释放的原因,硝态氮和磷 酸盐浓度高于空白蠕虫床^[31],且蠕虫床间歇曝气的控制方式提供了缺氧环境,使得反硝化除磷作 用在蠕虫床中得到强化,因此,DNPAOs 菌在 III 号系统中得到了强化。而空白蠕虫床不能提供反 硝化除磷的必要条件,同时污泥在空白蠕虫床这个微好氧与间歇好氧环境中的停留能强化传统除 磷菌,导致 II 号系统中 PAOs 菌群得到强化而 DNPAOs 菌群减少,使得 PAOs 菌占除磷主导作用。 因此,III 号系统除磷功能菌的强化不仅来自污泥在蠕虫床微氧-好氧交替环境中的停留,更与蠕虫 捕食作用及捕食后导致的蠕虫床环境的改变有关。











3 结论

1) 蠕虫床的耦合能对 A²O-MBR 系统的菌种结构产生积极影响,微生物菌群丰富度提高但多样 性降低,优势菌得到富集,劣势菌丰度不断降低。

2)A²O-MBR-蠕虫床耦合系统中好氧反硝化菌得到强化,丰富了脱氮途径,耦合系统中反硝化 菌丰度增加,提高脱氮能力。

3)A²O-MBR-蠕虫床耦合系统中好氧除磷菌和反硝化除磷菌均得到了富集,且反硝化除磷菌的 丰度达到了12.71%,有效提高了系统除磷效能。

- [1] 胡维杰. 我国污水处理厂污泥处理处置需关注的若干内容[J]. 给水排水, 2019, 45(3): 35-41.
- [2] 胡春云, 陈鹏, 吴家桦, 等. 城市污泥处理处置技术现状及展望[J]. 东方电气评论, 2018, 32(3): 16-19.
- [3] LOU J Q, SUN P D, GUO M X, et al. Simultaneous sludge reduction and nutrient removal (SSRNR) with interaction between Tubificidae and microorganisms: A full-scale study[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(24): 11132-11136.
- [4] HENDRICKX T L G, ELISSEN H H J, TEMMINK H, et al. Operation of an aquatic worm reactor suitable for sludge reduction at large scale[J]. Water Research, 2011, 45(16): 4923-4929.
- [5] LI L P, TIAN Y, ZHANG J, et al. Insight into the roles of worm reactor on wastewater treatment and sludge reduction in anaerobic-anoxic-oxic membrane bioreactor (A²O-MBR): Performance and mechanism[J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 330: 718-726.
- [6] ZHU X F, YUAN W Y, WANG Z W, et al. Effect of worm predation on changes in waste activated sludge properties[J]. Water Environment Research, 2016, 88(5): 387-393.
- [7] TAMIS J, VAN SCHOUTVENBURG G, KLEEREBEZEM R, et al. A full scale worm reactor for efficient sludge reduction by predation in a wastewater treatment plant[J]. Water Research, 2011, 45(18): 5916-5924.
- [8] 郑向阳. AO工艺处理工业废水微生态特征动态解析[D]. 石家庄: 河北科技大学, 2017.
- [9] 黄健. 间歇曝气条件下河流内源氮转化及微生物机制[D]. 合肥: 安徽大学, 2018.
- [10] 刘文龙, 刘超, 沈琛, 等. 活性污泥长期好氧饥饿下的微生物种群结构演化[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2019, 51(8): 20-27.
- [11] 黄莹娜, 熊小毛, 胡远亮, 等. 基于PCR-DGGE和高通量测序分析白云边酒窖泥细菌群落结构与多样性[J]. 微生物学通报, 2017, 44(2): 375-383.
- [12] 徐颖. 活性污泥在适应不同污水处理过程中微生物群落及功能的进化研究[D]. 新乡: 河南师范大学, 2013.
- [13] 闫来洪, 张振冲, 郗丽君, 等. 不同活性污泥中菌群多样性及差异分析[J]. 化学与生物工程, 2016, 33(8): 57-62.
- [14] NIIU T H, ZHOU Z, SHEN X L, et al. Effects of dissolved oxygen on performance and microbial community structure in a micro-aerobic hydrolysis sludge in situ reduction process[J]. Water Research, 2016, 90: 369-377.
- [15] ZHOU Z, QIAO W M, XING C, et al. A micro-aerobic hydrolysis process for sludge in situ reduction: Performance and microbial community structure[J]. Bioresource Technology, 2014, 173: 452-456.
- [16] MA Q, QU Y Y, ZHANG X W, et al. Identification of the microbial community composition and structure of coal-mine wastewater treatment plants[J]. Microbiological Research, 2015, 175: 1-5.
- [17] WEN Y, JIN Y X, WANG J Y, et al. MiSeq sequencing analysis of bacterial community structures in wastewater treatment plants[J]. Polish Sequencing Analysis of Bacterial Community, 2015, 24(4): 1809-1815.
- [18] KONG Y H, XIA Y, NIELSEN J L, et al. Structure and function of the microbial community in a full-scale enhanced biological phosphorus removal plant[J]. Microbiology, 2007, 153(12): 4061-4073.
- [19] HE Q L, ZHOU J, WANG H Y, et al. Microbial population dynamics during sludge granulation in an A/O/A sequencing batch reactor[J]. Bioresource Technology, 2016, 214: 1-8.
- [20] MA J X, WANG Z W, LI H, et al. Metagenomes reveal microbial structures, functional potentials, and biofouling-related genes in a membrane bioreactor[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(11): 5109-5121.
- [21] KIM J M, LEE H J, LEE D S, et al. Characterization of the denitrification-associated phosphorus uptake properties of "Candidatus Accumulibacter phosphatis" clades in sludge subjected to enhanced biological phosphorus removal[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(6): 1969-1979.
- [22] 庄林杰, 夏超, 田晴, 等. 高通量测序技术研究典型湖泊岸边陆向深层土壤中厌氧氨氧化细菌的群落结构[J]. 环境科学学

报, 2017, 37(1): 261-271.

- [23] ZIELINSKA M, RUSANOWSKA P, JARZABEK J, et al. Community dynamics of denitrifying bacteria in full-scale wastewater treatment plants[J]. Environmental Technology, 2016, 37(18): 2358-2367.
- [24] SHU D T, HE Y L, YUE H, et al. Microbial structures and community functions of anaerobic sludge in six full-scale wastewater treatment plants as revealed by 454 high-throughput pyrosequencing[J]. Bioresource Technology, 2015, 186: 163-172.
- [25] YE L, ZHANG T, WANG T T, et al. Microbial structures, functions, and metabolic pathways in wastewater treatment bioreactors revealed using high-throughput sequencing[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46: 13244-13252.
- [26] KONG Q, WANG Z B, NIU P F, et al. Greenhouse gas emission and microbial community dynamics during simultaneous nitrification and denitrification process[J]. Bioresource Technology, 2016, 210: 94-100.
- [27] 曾妮. 污水处理厂微生物群落结构及胞外聚合物组分分析[D]. 重庆: 重庆大学, 2015.
- [28] 刘竹寒, 岳秀, 于广平, 等. CANON在SBAF中的快速启动及其微生物特征[J]. 环境科学, 2017, 38(1): 253-259.
- [29] 吕志堂, 纪翠平, 苏强, 等. 3株反硝化聚磷菌的分离与鉴定[J]. 环境工程学报, 2009, 3(8): 1405-1408.
- [30] 熊付娟. 反硝化除磷污泥除磷脱氮特性及菌群结构研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2012.
- [31] LI L P, TIAN Y, ZHANG J, et al. Enhanced denitrifying phosphorus removal and mass balance in a worm reactor[J]. Chemosphere, 2019, 226: 883-890.
- (本文编辑:杨晓芳,郑晓梅,张利田)

Effects of worm predation and sludge reduction on bacterial characteristics of an anaerobic-anoxic-oxic-membrane bioreactor (A²O-MBR)

HUANG Danping¹, LI Lipin^{1,*}, ZHANG Jun¹, LI Hui², ZUO Wei¹, LI Anran¹

1. School of Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China

2. School of Chemistry and Environmental Science, Hebei University, Baoding 071002, China

*Corresponding author, E-mail: lipinlee@hit.edu.cn

Abstract Worm predation is one of the most promising sludge reduction technologies, with the advantages of high efficiency and environmental friendliness. In order to investigate the effects of worm predation on the bacterial characteristics of the wastewater treatment process, a combined system of an anaerobic-anoxic-oxic-membrane bioreactor (A²O-MBR) and worm reactor was established. A conventional A²O-MBR and a combined system of A²O-MBR and blank worm reactor were established as two control systems. The bacterial characteristics of three systems were analyzed by high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene after 120 days stable operation. The results showed that the microbe richness increased while the diversity decreased in the A²O-MBR-worm reactor system, which promoted the enrichment of the dominant bacteria. In the combined system, the functional bacteria for nitrogen and phosphorus removal were enriched, of which the abundance of denitrifying phosphorus removal bacteria reached 12.71%, and the synergistic removal of nitrogen and phosphorus in A²O-MBR system. This study provided an efficient approach for practical application of worm predation for sludge reduction and wastewater treatment.

Keywords worm predation; sludge reduction; high-throughput sequencing; microbial community; denitrifying phosphorus removal