



文章栏目：水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.201905091

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

李国令, 徐洪斌, 马浩亮, 等. OAO 和 AO 工艺处理城镇生活污水的微生物群落特征分析[J]. 环境工程学报, 2020, 14(3): 641-651.

LI Guoling, XU Hongbin, MA Haoliang, et al. Analysis of microbial community characteristics of OAO and AO processes for domestic wastewater treatment[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(3): 641-651.

## OAO 和 AO 工艺处理城镇生活污水的微生物群落特征分析

李国令<sup>1</sup>, 徐洪斌<sup>1,\*</sup>, 马浩亮<sup>2</sup>, 杨苗青<sup>2</sup>

1. 郑州大学水利与环境学院, 郑州 450001

2. 河南冠宇环保科技有限公司, 郑州 450001

第一作者: 李国令(1992—), 男, 硕士研究生。研究方向: 水处理与水污染控制技术。E-mail: 446039782@qq.com

\*通信作者: 徐洪斌(1974—), 男, 博士, 教授。研究方向: 水处理与水污染控制技术。E-mail: xuhongbin\_gy@zzu.edu.cn

**摘要** 以模拟城镇生活污水为对象, 采用 AO 和 OAO 2 种工艺进行处理, 通过常规水质检测和高通量测序技术来分析和探究导致 2 种工艺运行效果不同的微生物层面原因。结果表明: OAO 工艺对 COD 和 NH<sub>3</sub>-N 的平均去除率略高于 AO 工艺, 但 OAO 工艺对 TN 和 TP 的去除效果较为显著, 平均去除率分别比 AO 工艺高 6.01% 和 3.44%; 2 种工艺的优势菌门均为 *Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes*, 2 种工艺的优势菌纲也均为  $\beta$ -*Proteobacteria* 和  $\gamma$ -*Proteobacteria*; 2 种工艺间微生物群落差异性较大, OAO 工艺的微生物种群丰度和多样性均大于 AO 工艺; AO 工艺优势菌属为 *Pseudomonas*、*Thiothrix*、*Dechloromonas*, OAO 工艺为 *Thermomonas*、*Dechloromonas*、*Rhodobacter*。此外, *Nitrosomonas*、*Nitrospira* 作为亚硝化和硝化阶段的重要菌属在 AO 工艺好氧池的相对丰度为 0.05% 和 0.02%, 在 OAO 工艺中则显著提高, 为 0.47% 和 0.45%。其原因是 OAO 工艺的好氧池污泥 BOD 负荷较 AO 小, 更适合硝化细菌生长。硝化细菌及其他功能菌在 OAO 工艺中的大量存在是 OAO 工艺的能够高效脱氮的主要原因。以上结果可为 OAO 工艺处理城镇生活污水中优势菌种的筛选及培养提供参考。

**关键词** AO 工艺; OAO 工艺; 城市生活污水处理; 高通量测序; 微生物群落结构

科技的高速发展在提高人类生活水平的同时对环境也会造成极大影响, 近年来, 国内外水体污染问题日益严峻<sup>[1-3]</sup>。2015 年, 中国废水排放总量为  $7.353 \times 10^{10}$  t。其中, 城镇生活污水排放量达到了  $5.352 \times 10^{10}$  t<sup>[4]</sup>。城镇生活污水的处理问题备受关注, 因此, AO、A<sup>2</sup>O、OAO、氧化沟等优良工艺应运而生<sup>[5-6]</sup>。

缺氧好氧工艺即 AO 工艺是我国目前广泛应用的一种生物脱氮工艺, 由于其脱氮效果较好、原理简单被国内外学者和工程师持续研究和改进<sup>[7-9]</sup>。OAO 工艺即是 AO 工艺的一种改良工艺, 其在传统 AO 工艺的缺氧池前端增设一级曝气池, 具有良好的废水处理效果<sup>[10-11]</sup>。

微生物是污水生物处理的核心部分, 利用分子生物学技术对污水处理过程中活性污泥的微生物菌群进行动态跟踪和功能种群鉴定, 有助于筛选并培养出利于污水处理的优势菌种, 构建更加合理的活性污泥生态系统, 提高污水处理效率<sup>[12]</sup>。MATSUDA 等<sup>[13]</sup>对日本大阪 8 个城市污水厂的

收稿日期: 2019-05-16; 录用日期: 2019-09-25

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07602-001-002)

活性污泥微生物组成进行了分析,发现不同工艺在不同时期微生物群落差异很大。DING等<sup>[14]</sup>和YE等<sup>[15]</sup>分别应用AO工艺和A<sup>2</sup>O工艺处理混合废水和酱油废水,发现*Proteobacteria*是污水处理中的第一优势菌门。HAN等<sup>[16]</sup>、曾涛涛等<sup>[17]</sup>研究氧化沟工艺处理生活污水时发现,大部分细菌属于*Proteobacteria*和*Bacteroidetes*这2大门类,其优势菌属有*Pseudomonas*、*Phycisphaera*、*Methylocystis*等。但是,关于OAO工艺处理城镇生活污水过程中活性污泥的微生物特性,目前还少有研究。本研究拟采用16S rDNA高通量测序技术对OAO和AO工艺处理城镇生活污水过程中各反应池的活性污泥中的微生物进行测序分析,为OAO工艺处理城镇生活污水中优势菌种的筛选及培养提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验装置

实验装置如图1所示,AO和OAO工艺所用一体化装置均为有机玻璃制作。AO工艺装置长、宽、高分别为0.78、0.4、0.6 m,其中,缺氧池有效容积为30 L,好氧池有效容积为90 L。OAO工

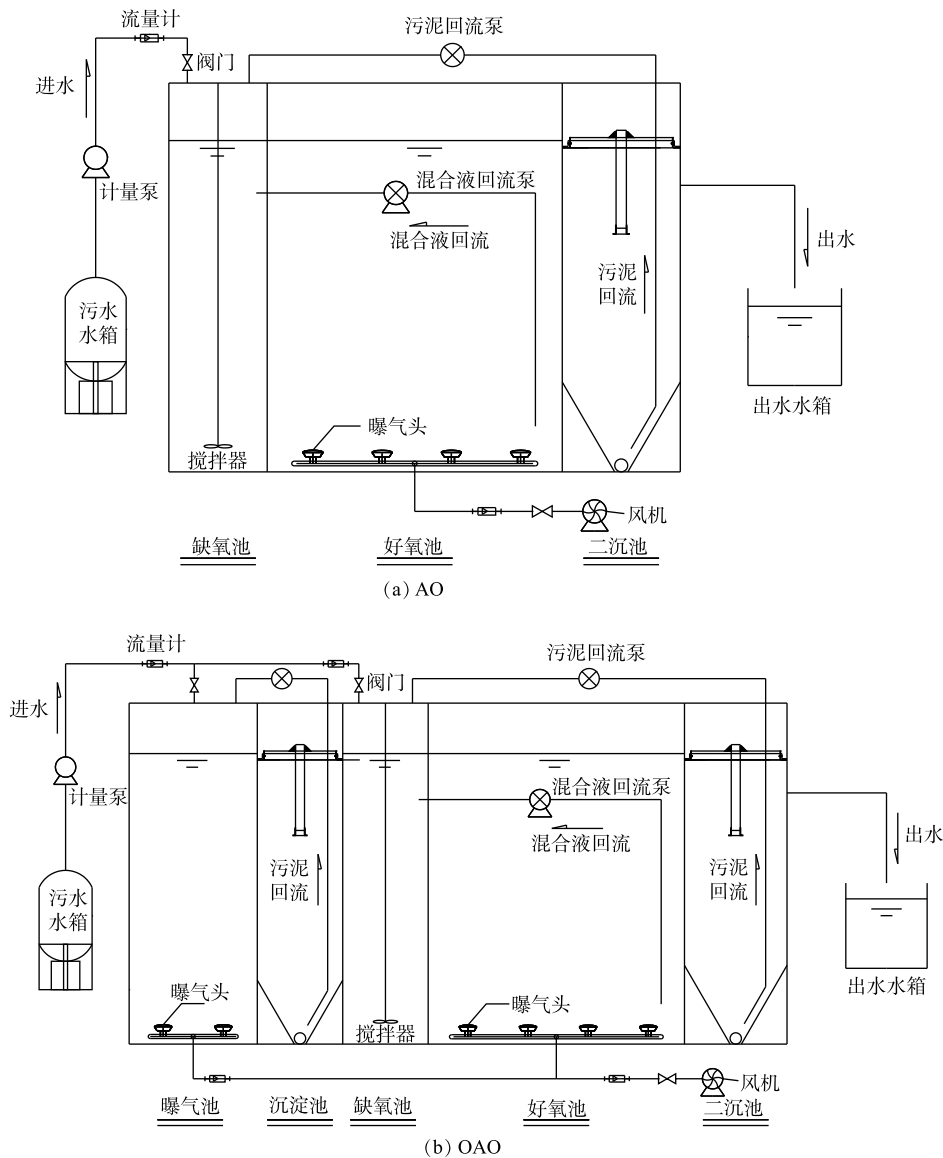


图1 一体化装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the integrated device

艺则在AO工艺基础上,前置1个容积为46 L的曝气池及1个一级沉淀池,装置尺寸为1.16 m×0.4 m×0.6 m。

## 1.2 实验用水

本实验采用实验室配置的模拟城镇生活污水,水质指标如下:COD为340~360 mg·L<sup>-1</sup>、NH<sub>3</sub>-N为50.2~72.3 mg·L<sup>-1</sup>、TN为54.2~75.5 mg·L<sup>-1</sup>、TP为3.3~8.0 mg·L<sup>-1</sup>、pH为7.3~8.0。

## 1.3 污泥的驯化与反应器的运行

本研究从郑州市某生活污水处理厂的污泥脱水机房获取污泥,其含水率约为80%,将反应器平均污泥浓度设为3 500 mg·L<sup>-1</sup>,以此计算出OAO工艺需投加的污泥量为2 905 g, AO工艺为2 100 g。同时,从该污水厂硝化液回流管道中取部分混合液,将混合液与污泥一并加入反应器内。而后,开始进水并搅拌混合液,使泥水混合均匀。同时,开启风机进行闷曝,闷曝2 d后,污泥基本恢复生物活性。

闷曝工作完成后,开始连续不间断地向反应器内进水以驯化污泥, AO工艺进水流量约为12 L·h<sup>-1</sup>, OAO工艺约为16.6 L·h<sup>-1</sup>。AO工艺污泥回流比为100%,混合液回流比为200%, OAO工艺2段污泥和混合液回流比均为100%。AO工艺为单点进水,新鲜污水均进入缺氧池中。考虑到缺氧池碳源问题, OAO工艺采用两点进水, 1/3的污水进入缺氧池, 2/3进入曝气池。驯化期间,每天对进出水水质进行检测, COD采用重铬酸钾法(HJ 828-2017)、NH<sub>3</sub>-N采用纳氏试剂分光光度法(HJ 535-2009)、TN采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(HJ 636-2012)、TP采用钼酸铵分光光度法(GB 11893-1989)、溶解氧采用电化学探头法(HJ 506-2009)、pH采用玻璃电极法(GB 6920-1986)、温度使用水温计法(GB 13195-1991)进行测量<sup>[18-24]</sup>。进水检测大约持续30 d, AO工艺在第9天达到稳定状态, OAO工艺在第12天时达到稳定,稳定后,2种工艺对COD、NH<sub>3</sub>-N、TN、TP的平均去除率见图2。2种工艺稳定后的出水COD、NH<sub>3</sub>-N指标基本符合《城镇污水处理厂污染物排放标准》中的一级A标准<sup>[25]</sup>。

## 1.4 样品的采集与DNA获取

在连续进水第30天时进行取样,此时2种工艺各反应池均已稳定运行。污泥样品取自AO工艺的好氧池、AO工艺的缺氧池、OAO工艺的好氧池、OAO工艺的缺氧池、OAO工艺的曝气池,分别记为AO.H、AO.Q、OAO.H、OAO.Q、OAO.B。每个反应池取100 mL泥水混合液,静置30 min,除去上清液,所得沉淀混合均匀后,分装于瓶中,保存于-30℃环境中,以便后续DNA提取。污泥样品中的DNA采用PowerSoil®DNA提取试剂盒,按照试剂盒使用方法提取。

## 1.5 16S rDNA高通量测序

采用NanoDrop 1000分光光度法测定样品中提取的DNA的浓度和纯度<sup>[26]</sup>,将符合要求的DNA样品使用无菌水稀释至1 ng·μL<sup>-1</sup>后,用作模板DNA。以上述基因组DNA为模板,在16S rDNA基因的保守区V4区域,通过融合引物515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3')和806R(5'-GGACTAC HVGGGTWTCTAAT-3')进行PCR扩增,扩增反应体系体积为30 μL,扩增流程为:95℃预变性

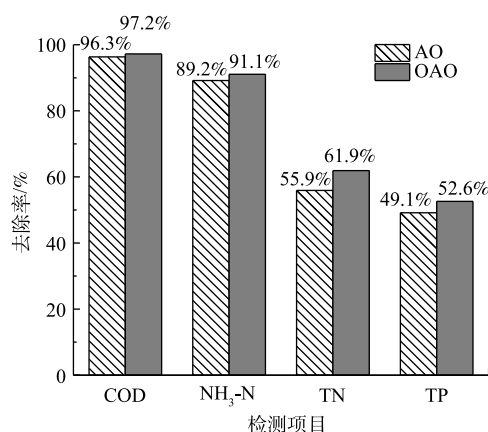


图2 系统稳定运行时COD、NH<sub>3</sub>-N、TN、TP的平均去除率的对比

Fig. 2 Comparison of average removal rates of COD, NH<sub>3</sub>-N, TN and TP by the two systems during stable running period

3 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退温 30 s, 72 °C 延伸 40 s, 进行 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min; 最后将样品保持在 10 °C 恒温环境中。扩增产物采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 选择明亮主条带的样品用于进一步的实验。使用 AxyPrep DNA 凝胶抽提试剂盒 (AXYGEN) 对 PCR 产物切胶纯化。之后, 通过 Illumina 建库试剂盒和相应的质检方案完成文库的构建和质检。将合格的文库送往 Illumina 平台 (Miseq) 进行测序, 用下机得到的数据进行相应的生物信息分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 微生物群落多样性分析

为了反映样品中微生物菌群的丰富度及多样性, 对每个样本分别进行微生物菌群的 Alpha 多样性分析<sup>[27]</sup>, 结果见表 1。覆盖率均在 99% 以上, 证明本次测序数据可靠度极高。在 97% 相似度下, 将样本中的优质 Tags 进行聚类, 共得到 1 237 个 OTUs, 其中 OAO 工艺的 OTUs 为 1 135 个, AO 工艺为 1 063 个。OAO 工艺中的 3 个反应器都比 AO 工艺中的 OTU 数目高, 反映了本实验中 OAO 工艺的细菌数目要大于 AO 工艺。从 Chao 指数和 Ace 指数来看, 2 种工艺各反应器的物种丰富度为 OAO 曝气池 < AO 好氧池 < AO 缺氧池 < OAO 缺氧池 < OAO 好氧池。OAO 工艺独有的曝气池丰富度较低, 初步分析其可能的原因是, 该曝气池的相对进水流量为 AO 工艺和 OAO 工艺后续反应池的 2/3, 污水水量较少, 营养物质浓度较低, 且没有混合液回流, 水源单一, 进水水质的差异造成了其丰富度的差异<sup>[28]</sup>。同时, 曝气池后的初沉池污泥直接内回流于曝气池, 处于一种相对封闭的状态, 故 OAO 工艺的一级曝气池丰度要略低于其他反应器。从 Shannon 和 Simpson 指数来看, OAO 工艺中的微生物群落多样性显著高于 AO 工艺。2 种工艺好氧池物种多样性均大于缺氧池, 其原因可能是, 在缺氧和好氧 2 种不同运行条件下, 微生物的生态系统体系有所差异<sup>[29]</sup>。总体来看, OAO 工艺的微生物物种丰度和多样性均优于 AO 工艺。

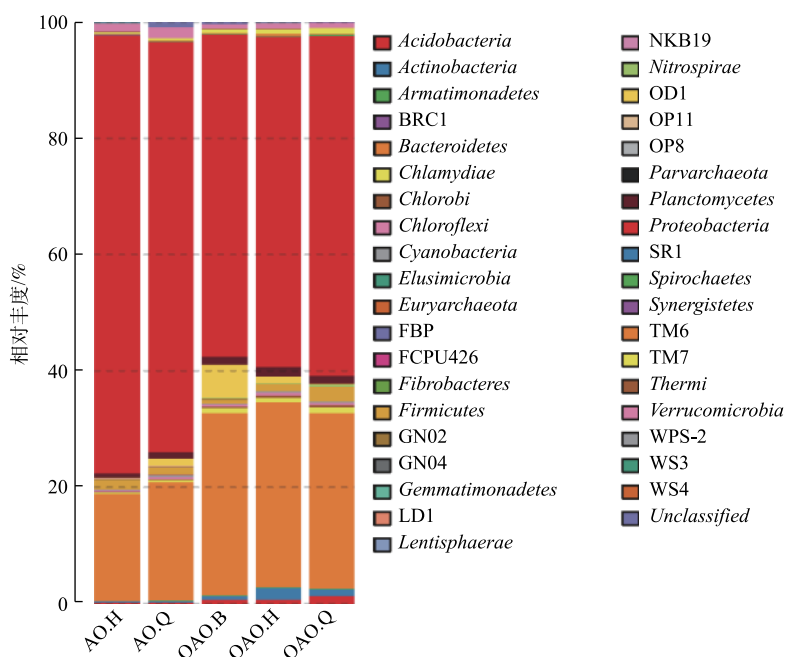
表 1 2 种工艺各反应器中微生物的 Alpha 多样性指数  
Table 1 Alpha diversity index of microorganisms in each tank of the two processes

样本	Chao	Ace	Shannon	Simpson	覆盖率/%
AO.H	928.01	954.09	3.96	0.060	99.79
AO.Q	938.10	967.41	3.42	0.202	99.81
OAO.B	913.39	927.97	4.28	0.030	99.81
OAO.H	959.64	980.46	4.44	0.029	99.85
OAO.Q	943.01	980.01	4.37	0.034	99.82

### 2.2 门、纲水平的微生物物种分布及分析

本次测序共检测出已知门 38 个, 结果见图 3。OAO 工艺中的细菌门类较 AO 多。*Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes* 为 2 种工艺的第 1 和第 2 优势菌门, 这与 HAN 等<sup>[16]</sup>、曾涛涛等<sup>[17]</sup>、郑向阳等<sup>[30]</sup>在氧化沟和 AO 工艺研究中的研究结果一致。*Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes* 是自然界细菌中 2 个较大的门类, 一些反硝化细菌和大多数固氮细菌也属于这 2 种门类<sup>[31]</sup>。康晓荣<sup>[32]</sup>研究发现总氮和总磷的去除率与 *Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes* 的丰度成正相关。本实验中, AO 工艺中的 *Proteobacteria* 丰度要大于 OAO 工艺, 但 OAO 工艺中的 *Bacteroidetes* 丰度要远大于 AO 工艺。

在纲水平下, 对 *Proteobacteria* 门和 *Bacteroidetes* 门的细菌在各反应器中的分布进行统计分析, 结果如表 2 所示。 $\gamma$ -*Proteobacteria* 除在 OAO 的曝气池为第 2 优势菌纲外, 在其他各反应器均为第 1 优势菌纲。在 *Proteobacteria* 门里, 除  $\gamma$ -*Proteobacteria* 外,  $\beta$ -*Proteobacteria*、 $\alpha$ -*Proteobacteria*、 $\delta$ -*Proteobacteria* 也为 2 种工艺的优势菌纲。 $\beta$ -*Proteobacteria* 和  $\gamma$ -*Proteobacteria* 的富集可以大大提高污水中有机物和氮、磷去除率<sup>[33]</sup>;  $\alpha$ -*Proteobacteria* 作为一种成员变异性极大、共通点极少的菌纲<sup>[34]</sup>, 在 OAO 的各反应器内的占比均明显高于 AO 工艺, 其成员有根瘤菌、立克次氏体、光合细菌等, 在某些光生物反应器实验中表现为优势菌种<sup>[33,35]</sup>。在 *Bacteroidetes* 门中, *Saprosirae*、*Sphingobacteria*、*Flavobacteriia*、*Cytophagia* 在 2 种工艺里占比较高。*Cytophagia* 在 AO 工艺中的占比几乎是 OAO 工



注：该图每列从下到上按已知菌门首字母顺序排列。

图 3 门水平下样本间的微生物群落相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of bacterial communities in the samples at phylum-level

表 2 *Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes* 中的各纲在各反应池中的分布

Table 2 Distribution of bacteria classes belonging to *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* in each tank %

菌门	菌纲	AO.H	AO.Q	OAO.B	OAO.H	OAO.Q
<i>Proteobacteria</i>	<i>α-Proteobacteria</i>	3.75	3.04	6.52	7.16	5.24
	<i>β-Proteobacteria</i>	22.30	14.14	26.98	19.24	24.67
	<i>δ-Proteobacteria</i>	2.99	2.58	2.58	2.83	1.86
	<i>γ-Proteobacteria</i>	46.22	50.51	19.28	27.45	25.48
	Other	0.19	0.27	0.16	0.05	1.16
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Sphingobacteria</i>	2.95	4.29	6.65	13.36	11.02
	<i>Cytophagia</i>	4.36	4.15	2.81	1.69	1.71
	<i>Flavobacteriia</i>	1.74	1.18	4.85	3.13	1.10
	<i>Saprospirae</i>	8.83	10.20	16.67	13.42	15.62
	Other	0.53	0.54	0.20	0.33	0.64

艺的 2 倍, *Flavobacteriia* 在 OAO 缺氧池占比较小, 其他该门菌纲在 OAO 工艺中的各反应器占比明显高于 AO 工艺。OGONOWSKI 等<sup>[36]</sup> 研究发现, *Cytophagia* 在天然纤维素基材上富集较多, 该菌纲在 OAO 工艺较少且曝气池>缺氧池>好氧池, 这可能是因为部分纤维素作为部分微生物的碳源在前置曝气池中被转化。*Flavobacteriia* 在许多海洋环境中都很丰富, 可以在极端环境中降解水中不稳定的有机碳<sup>[37]</sup>。*Saprospirae*、*Sphingobacteria* 在一些其他 AO 改良工艺和厌氧、好氧工艺中也表现为优势菌纲<sup>[38-40]</sup>。

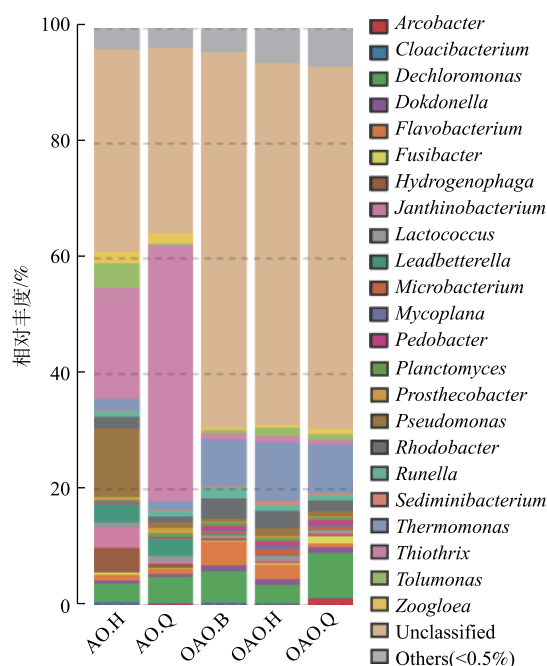
除上述 2 种菌门外, 在 2 种工艺中均存在且丰度较高的菌门还有 *Nitrospirae*、*Planctomycetes*、*Firmicutes*、*Verrucomicrobia*、OD1 等, *Nitrospirae*、*Planctomycetes*、*Firmicutes* 中的某些细菌具有较好的碳氮去除能力, 短程硝化反硝化中的厌氧氨氧化菌就来自 *Planctomycetes*。TM7、*Actinobacteria*、

*Chlamydiae*、*Acidobacteria* 等菌门在 OAO 工艺中的丰度较高,但在 AO 工艺中则相反。*Actinobacteria* 是 OAO 好氧池中的第 3 优势菌门,具有多样化的次级代谢,在生态环境中有许多潜在用途<sup>[41]</sup>;*Acidobacteria* 是 OAO 缺氧池中的第 4 优势菌门,在土壤生态中占细菌总量的 30%~50%,具有纤维素降解的功能,并且参与土壤中的铁循环和光合作用<sup>[42]</sup>。除 *Verrucomicrobia* 外, AO 工艺中相对丰度大于 0.5% 的菌门在 OAO 中的相对丰度也均在 0.5% 以上。*Verrucomicrobia* 作为一种在氮、磷、钾含量较低的情况下依然能利用碳源生长的菌门<sup>[43-44]</sup>,在 AO 工艺中的平均占比几乎是 OAO 工艺中的 2 倍,这与 OAO 工艺前置曝气池消耗掉部分有机物不无关系。

### 2.3 属水平的微生物物种分布及分析

在本次测序的 5 个样本中,共检出菌属 347 个,丰度大于 0.5% 的已知菌属为 23 个,各池微生物群落相对丰度见图 4。未知菌属 (Unclassified) 在各池的占比为 35.07%~65.13%,在 OAO 工艺内的相对丰度要远大于 AO 工艺。已知属中来自 *Proteobacteria* 门的 *Thiothrix*、*Thermomonas*、*Dechloromonas* 相对丰度较高,三者总丰度占比为 24%。与何嘉鹏<sup>[45]</sup> 的实验结果不同,作为硝化细菌的重要菌属 *Nitrosomonas*、*Nitrospira* 虽均在 2 种工艺中检出,但含量皆小于 0.5%,在本实验中,被归类为其他菌属 (others)。*Thiothrix*、*Pseudomonas*、*Hydrogenophaga* 是 AO 工艺好氧池中的优势菌属;*Thiothrix*、*Dechloromonas*、*Leadbetterella* 是 AO 工艺缺氧池中的优势均属;*Thermomonas*、*Flavobacterium*、*Dechloromonas* 是 OAO 工艺曝气池中的优势菌属;*Thermomonas*、*Dechloromonas* 是 OAO 工艺好氧池中的优势菌属;*Thermomonas*、*Dechloromonas*、*Rhodobacter* 是 OAO 工艺缺氧池中的优势菌属。

WANG 等<sup>[46]</sup> 研究发现, *Thermomonas* 与硝酸盐还原酶基因呈正相关,对同时厌氧氨氧化-反硝化系统中的硝酸盐还原起重要作用;WANG 等<sup>[47]</sup> 研究发现, *Dechloromonas* 在反硝化过程时可以进行磷的去除。在本实验中,上述 2 种菌属在 OAO 工艺各部分的相对丰度均大于 AO 工艺,这可能是 OAO 工艺对 TN 和 TP 去除效果显著优于 AO 工艺的原因之一。OAO 工艺里其他优势菌属中, *Flavobacterium* 为好氧反硝化菌<sup>[48]</sup>, *Rhodobacter* 具有固氮的功能,也属于好氧反硝化菌<sup>[49]</sup>。AO 工艺里, *Pseudomonas* 为第 1 优势菌属,其主要功能为异养硝化-好氧反硝化菌<sup>[50]</sup> 和反硝化聚磷菌<sup>[48]</sup>,其在 AO 工艺和 OAO 工艺好氧池中的大量存在可能是 2 种工艺高效脱氮的重要原因之一。*Thiothrix* 作为一种能以硫化物为唯一能源生长的菌属,被认为是造成活性污泥膨胀的主要原因之一<sup>[51]</sup>。本次实验虽未见明显的污泥膨胀现象,但 2 种工艺在 HRT、温度、水质等条件相同的情况下, *Thiothrix* 在 AO 工艺中的相对丰度要远大于 OAO 工艺,这使得 AO 工艺发生污泥膨胀的可能性要远大于 OAO 工艺。*Nitrosomonas* 在 2 种工艺的好氧池中的相对丰度分别为 AO.H 0.05%、OAO.H 0.47%; *Nitrospira* 则为 AO.H 0.02%、OAO.H 0.45%。MA 等<sup>[52]</sup> 研究发现,污水厂活性污泥中



注: 每列从下到上按已知菌属首字母顺序排列。

图 4 属水平下样本间的微生物群落相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of bacterial communities in the samples at genus-level

的 AOB 和 NOB 相对丰度在 0.1%~1% 时, 脱氮效率依旧很高, 这与本次实验水质检测结果基本相符。2 种硝化菌属在 2 种工艺中好氧池的丰度均为 OAO 好氧池>AO 好氧池, 这可能是因为 OAO 工艺中的第 1 段曝气池的作用使得工艺整体的污泥 BOD 负荷较 AO 工艺小, 从而减轻硝化细菌与其他异养型细菌的竞争压力, 为硝化细菌提供了更佳的生长环境。

#### 2.4 2 种工艺微生物群落的相似性与差异性

图 5 为 2 种工艺各反应池中微生物在属水平下的物种丰度热图, 该图将微生物属水平的聚类结果按照其在该样品中所占相对丰度数值用不同梯度的颜色表示, 用颜色矩阵来直观地表示不同样品中物种的丰度。微生物群落组成在不同反应池间的相似性和差异性由纵向聚类表示, 距离越近, 枝长越短, 说明样品的物种组成及丰度越相似。由于本次测序结果显示不同物种间相对丰度差异较大, 颜色梯度难以满足要求, 因此, 将原始相对丰度以 10 为底进行对数转化, 若某物种相对丰度为 0, 则取样品中物种相对丰度最小(大于 0) 的值除以 2 然后进行对数转化。

由图 5 可知, OAO 和 AO 工艺间微生物群落具有较大的差异性, OAO 工艺内部的缺氧池、曝气池和好氧池 3 个反应池间的差异性要略大于 AO 工艺内部的 2 个反应池间的差异性。这进一步说明 OAO 工艺中活性污泥微生物生态体系更为复杂, 多样性更高。*Planctomyces*、*Dokdonella*、*Mycoplana* 等在 2 种工艺中的相对丰度相近, 初步推测其受 2 种工艺间差异的影响较小, 采用 OAO 工艺并不能使该类菌属在原 AO 工艺中发挥的作用发生改变。*Thiothrix*、*Pseudomonas*、*Tolumonas*、*Zoogloea*、*Leadbetterella*、*Hydrogenophaga*、*Janthinobacterium* 在 AO 工艺的丰度明显大于 OAO 工艺, 同时, *Thermomonas*、*Runella*、*Flavobacterium*、*Rhodobacter* 在 OAO 工艺中的丰度又显著大于 AO 工艺。采用 OAO 工艺会增加或减少上述菌属在原 AO 工艺反应器内的丰度, 某些具有脱氮除磷功能的菌属的增减使污水处理效果发生变化。

5 个反应池内的优势菌属中部分功能菌属的相对丰度统计分析结果见表 3。*Hydrogenophaga*、

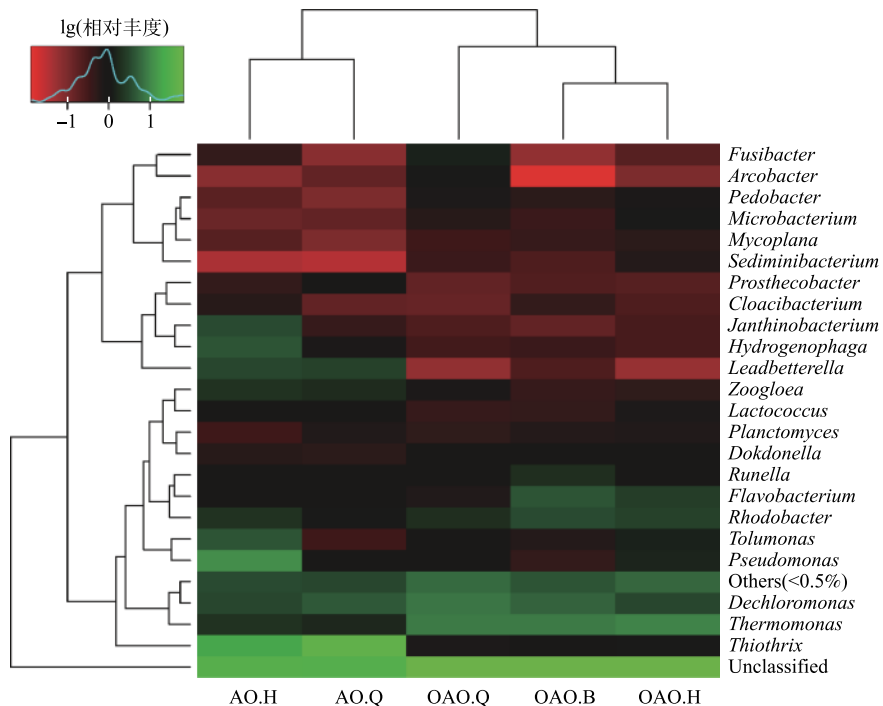


图 5 属水平下物种丰度热图

Fig. 5 Heat map of the abundance of bacterial communities at the genus-level

*Pseudomonas* 作为异养硝化-好氧反硝化菌<sup>[53]</sup>, 在 BOD 负荷较高有机碳源充足的 AO 工艺好氧池中大量存在, 其可在同一个空间内进行硝化和反硝化, 在本次 AO 工艺生物脱氮过程中起到了重要作用。*Dechloromonas*、*Flavobacterium*、*Rhodobacter*、*Thermomonas* 均为具有反硝化功能的菌属, 在 OAO 工艺中的相对丰度大于 AO 工艺, 尤其是 *Thermomonas* 作为一种自养反硝化菌<sup>[54]</sup>, 在 BOD 负荷较小的 OAO 工艺中的相对丰度远高于 AO 工艺。这解释了 OAO 工艺在对 TN 的去除效果上优于 AO 工艺的原因。

表 3 功能菌在各反应池中的分布  
Table 3 Distribution of functional bacteria in each tank %

菌属	主要功能	AO.H	AO.Q	OAO.B	OAO.H	OAO.Q
<i>Dechloromonas</i>	好氧反硝化、氨氧化	3.08	4.57	5.44	3.18	7.78
<i>Flavobacterium</i>	好氧反硝化	0.95	0.85	4.17	2.59	0.67
<i>Hydrogenophaga</i>	异养硝化-好氧反硝化	4.30	0.82	0.38	0.29	0.30
<i>Pseudomonas</i>	异养硝化-好氧反硝化	11.90	0.92	0.46	1.43	0.85
<i>Rhodobacter</i>	好氧反硝化	2.01	1.10	3.53	3.03	1.91
<i>Thermomonas</i>	自养反硝化	2.12	1.60	7.97	10.20	8.48

### 3 结论

1) OAO 和 AO 工艺在稳定运行时对 COD、NH<sub>3</sub>-N、TN、TP 的平均去除率分别为 97.23% 和 96.31%、91.07% 和 89.16%、61.91% 和 55.90%、52.59% 和 49.15%，OAO 工艺对 TN 和 TP 的去除效果要显著优于 AO 工艺。

2) 微生物群落的 Alpha 多样性分析表明, AO 工艺和 OAO 工艺二者间的丰度和多样性有显著差异, OAO 工艺的丰度和多样性皆优于 AO 工艺。

3) 微生物物种结构分析结果表明, 2 种工艺的优势菌门均为 *Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes*, 且 *Proteobacteria* 门中的  $\beta$ -*Proteobacteria* 和  $\gamma$ -*Proteobacteria* 均为 2 种工艺的优势菌纲。2 种工艺在优势菌属上差异较大, OAO 工艺的优势菌属为 *Thermomonas*、*Dechloromonas*、*Rhodobacter*, AO 工艺的优势菌属为 *Pseudomonas*、*Thiothrix*、*Dechloromonas*。

4) 属水平下物种丰度热图表明, OAO 和 AO 工艺间微生物群落具有较大的差异性, *Thiothrix*、*Pseudomonas*、*Thermomonas* 等受 2 工艺间差异的影响, 相对丰度差异性较大。

5) 由于 OAO 工艺前置曝气池的设置, OAO 工艺污泥 BOD 负荷较 AO 工艺小, 导致 *Verrucomicrobia* 门、*Cytophagia* 纲等对碳源需求较高的微生物在 OAO 中丰度较小, *Thermomonas* 属、*Dechloromonas* 属、*Nitrospira* 属、*Nitrosomonas* 属等具有脱氮除磷功能的细菌有了合适的生长环境, 其在 OAO 的丰度明显高于 AO 工艺。据此推测, 若将 OAO 工艺用于处理中高浓度的污水, 其脱氮效率要远大于 AO 工艺。

### 参考文献

- [1] 中华人民共和国生态环境部. 2018年中国生态环境状况公报[R]. 北京, 2019.
- [2] BARLETTA M, LIMA A R A, COSTA M F. Distribution, sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in South American estuaries[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 651: 1199-1218.
- [3] WEN Y, SCHOUPS G, VAN DE GIESEN N. Organic pollution of rivers: Combined threats of urbanization, livestock farming and global climate change[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 43289.



- [4] 中华人民共和国环境保护部. 中国环境统计年报·(2015)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2016.
- [5] JIN L, ZHANG G, TIAN H. Current state of sewage treatment in China[J]. *Water Research*, 2014, 66: 85-98.
- [6] ZHANG Q H, YANG W N, NGO H H, et al. Current status of urban wastewater treatment plants in China[J]. *Environment International*, 2016, 92-93: 11-22.
- [7] 张健. A/O-MBR+O<sub>3</sub>溶胞组合工艺污泥减量及强化脱氮效能与机制研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018.
- [8] XU Y, FANG Y, WANG Z, et al. In-situ sludge reduction and carbon reuse in an anoxic/oxic process coupled with hydrocyclone breakage[J]. *Water Research*, 2018, 141: 135-144.
- [9] 邹胜萍, 洪平. 一种四内循环改良A/O一体化污水处理装置: CN207645902U[P]. 2018-07-24.
- [10] 汤清泉, 魏宏斌, 陈良才. AAO与OAO工艺处理焦化废水的对比研究[J]. *工业用水与废水*, 2016, 47(3): 31-35.
- [11] 岳培恒, 王宝强, 夏辉, 等. OAO工艺在非熔渣-熔渣气化废水处理中的应用[J]. *中国给水排水*, 2016, 32(10): 116-119.
- [12] 彭永臻, 高守有. 分子生物学技术在污水处理微生物检测中的应用[J]. *环境科学学报*, 2005, 25(9): 1143-1147.
- [13] MATSUDA M, INOUE D, ANAMI Y, et al. Comparative analysis of DNA-based microbial community composition and substrate utilisation patterns of activated sludge microorganisms from wastewater treatment plants operated under different conditions[J]. *Water Science & Technology*, 2010, 61(11): 2843-2851.
- [14] DING L, ZHOU Q, WANG L, et al. Dynamics of bacterial community structure in a full-scale wastewater treatment plant with anoxic-oxic configuration using 16S rDNA PCR-DGGE fingerprints[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 10(4): 589-600.
- [15] YE D, LIANG H, ZHOU W, et al. Total and active microbial communities in a full-scale system treating wastewater from soy sauce production[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 123: 206-215.
- [16] HAN Y P, LI L, LIU J X. Characterization of the airborne bacteria community at different distances from the rotating brushes in a wastewater treatment plant by 16S rRNA gene clone libraries[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2013, 25(1): 5-15.
- [17] 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.
- [18] 国家环境保护局. 水质pH值的测定玻璃电极法: GB 6920-1986[S]. 北京: 中国标准出版社, 1986.
- [19] 中华人民共和国环境保护部. 水质氨氮的测定纳氏试剂分光光度法: HJ 535-2009[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [20] 中华人民共和国环境保护部. 水质化学需氧量的测定重铬酸盐法: HJ 828-2017[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2017.
- [21] 中华人民共和国环境保护部. 水质溶解氧的测定电化学探头法: HJ 506-2009[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2009.
- [22] 国家环境保护局. 水质水温的测定温度计或颠倒温度计测定法: GB 13195-1991[S]. 北京: 中国标准出版社, 1991.
- [23] 中华人民共和国环境保护部. 水质总氮的测定碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法: HJ 636-2012[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2012.
- [24] 国家环境保护总局. 水质总磷的测定钼酸铵分光光度法: GB 11893-1989[S]. 北京: 中国标准出版社, 1989.
- [25] 国家环境保护总局, 国家质量监督检验检疫总局. 城镇污水处理厂污染物排放标准: GB 18918-2002[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2003.
- [26] LI Y, HE J, HE Z, et al. Phylogenetic and functional gene structure shifts of the oral microbiomes in periodontitis patients[J]. *ISME Journal*, 2014, 8(9): 1879-1891.
- [27] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, et al. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009,

- 75(23): 7537-7541.
- [28] 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.
- [29] WELLS G F, PARK H, EGGLESTON B, et al. Fine-scale bacterial community dynamics and the taxa-time relationship within a full-scale activated sludge bioreactor[J]. *Water Research*, 2011, 45(17): 5476-5488.
- [30] 郑向阳, 罗晓, 袁立霞, 等. AO工艺处理淀粉污水效能及微生物群落解析[J]. *环境工程学报*, 2018, 12(3): 804-814.
- [31] MADIGAN M A J M. Brock Biology of Microorganisms[M]. 11th Ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2005.
- [32] 康晓荣. 超声联合碱促进剩余污泥水解酸化及产物研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.
- [33] ZHANG B, LENS P N L, SHI W, et al. Enhancement of aerobic granulation and nutrient removal by an algal-bacterial consortium in a lab-scale photobioreactor[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 334: 2373-2382.
- [34] WILLIAMS K P, SOBRAL B W, DICKERMAN A W. A robust species tree for the *Alphaproteobacteria*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(13): 4578-4586.
- [35] BEROUAL W, BIONDI E G. A new factor controlling cell envelope integrity in *Alphaproteobacteria* in the context of cell cycle, stress response and infection[J]. *Molecular Microbiology*, 2019, 111(3): 553-555.
- [36] OGONOWSKI M, MOTIEI A, ININBERGS K, et al. Evidence for selective bacterial community structuring on microplastics[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(8): 2796-2808.
- [37] LIU J, XUE C, SUN H, et al. Carbohydrate catabolic capability of a *Flavobacteriia* bacterium isolated from hadal water[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2019, 42(3): 263-274.
- [38] 宁欣强. A+OSA污泥减量工艺微生物群落结构及代谢特征研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2015.
- [39] 戴昕. 好氧颗粒污泥工艺运行过程重要功能菌群研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [40] 胡健. 混凝-两级A/O组合工艺处理高浓度聚酯树脂废水技术研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [41] VAN DER MEIJ A, WORSLEY S F, HUTCHINGS M I, et al. Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2017, 41(3): 392-416.
- [42] 刘彩霞, 董玉红, 焦如珍. 森林土壤中酸杆菌门多样性研究进展[J]. *世界林业研究*, 2016, 29(6): 17-22.
- [43] AGUIRRE-VON-WOBESER E, ROCHA-ESTRADA J, SHAPIRO L R, et al. Enrichment of *Verrucomicrobia*, *Actinobacteria* and *Burkholderiales* drives selection of bacterial community from soil by maize roots in a traditional milpa agroecosystem[J]. *Plos One*, 2018, 13(12): e0208852.
- [44] NAVARRETE A A, SOARES T, ROSSETTO R, et al. Verrucomicrobial community structure and abundance as indicators for changes in chemical factors linked to soil fertility[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2015, 108(3): 741-752.
- [45] 何嘉鹏. 多点进水OAO工艺模拟城镇生活污水处理的生物特性研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2018.
- [46] WANG D, LI T, HUANG K, et al. Roles and correlations of functional bacteria and genes in the start-up of simultaneous anammox and denitrification system for enhanced nitrogen removal[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 655: 1355-1363.
- [47] WANG X, ZHAO J, YU D, et al. Evaluating the potential for sustaining mainstream anammox by endogenous partial denitrification and phosphorus removal for energy-efficient wastewater treatment[J]. *Bioresour Technol*, 2019, 284: 302-314.
- [48] 肖晶晶, 郭萍, 霍炜洁, 等. 反硝化微生物在污水脱氮中的研究及应用进展[J]. *环境科学与技术*, 2009, 32(12): 97-102.

- [49] 李小义, 王丽萍, 杜雅萍, 等. 好氧反硝化微生物多样性及其反硝化功能初步研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2016, 38(2): 37-45.
- [50] 孙庆花, 于德爽, 张培玉, 等. 1株海洋异养硝化-好氧反硝化菌的分离鉴定及其脱氮特性[J]. 环境科学, 2016, 37(2): 647-654.
- [51] MAESTRE J P, ROVIRA R, ÁLVAREZ-HORNOS F J, et al. Bacterial community analysis of a gas-phase biotrickling filter for biogas mimics desulfurization through the rRNA approach[J]. *Chemosphere*, 2010, 80(8): 872-880.
- [52] MA Q, QU Y, SHEN W, et al. Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 179: 436-443.
- [53] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 等. 16S rRNA高通量测序研究集雨窖水中微生物群落结构及多样性[J]. 环境科学, 2017, 38(4): 1704-1716.
- [54] XING W, LI J, LI D, et al. Stable-isotope probing reveals the activity and function of autotrophic and heterotrophic denitrifiers in nitrate removal from organic-limited wastewater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(14): 7867-7875.

(本文编辑: 曲娜, 郑晓梅, 张利田)

## Analysis of microbial community characteristics of OAO and AO processes for domestic wastewater treatment

LI Guoling<sup>1</sup>, XU Hongbin<sup>1,\*</sup>, MA Haoliang<sup>2</sup>, YANG Miaoqing<sup>2</sup>

1. School of Water Conservancy and Environment, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

2. Henan Guanyu Environmental Protection Technology Company, Zhengzhou 450001, China

\*Corresponding author, E-mail: xuhongbin\_gy@zzu.edu.cn

**Abstract** To reveal the reason for the different domestic wastewater treatment effects of OAO(oxic-anoxic-oxic) and AO(anoxic-oxic) process at the perspective of microorganism, the ordinary wastewater quality test and high-throughput sequencing technique were used to analyze the different bacterial community in the activated sludge. The results showed that the average removal rates of COD and NH<sub>3</sub>-N in OAO process were slightly higher than those in AO process, while TN and TP removal effect by OAO process were significant, and its average removal rates were 6.01% and 3.44% higher than in AO process, respectively. *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* were the dominant phyla in the two processes, and  $\beta$ -*Proteobacteria* and  $\gamma$ -*Proteobacteria* were the dominant classes. A significant difference in the bacteria community occurred in these two systems, the abundance and diversity of species in OAO process were greater than AO process. *Pseudomonas*, *Thiothrix*, *Dechloromonas* were the dominant genus in AO process. *Thermomonas*, *Dechloromonas*, *Rhodobacter* were the dominant genus in OAO process. *Nitrosomonas* and *Nitrospira*, as important genus of nitrosation and nitrification stages, had a relative abundance of 0.05% and 0.02% in AO process and 0.47% and 0.45% in OAO process, respectively. The higher abundance of these two bacteria in OAO process might correspond to its lower BOD loading of the activated sludge, which was suitable for the growth of nitrifying bacteria. The high abundances of nitrifying bacteria and other functional bacteria in the OAO process ultimately resulted in high nitrogen removal efficiency. The above results can be used as the theoretical basis for the screening and culture of the dominant bacterial in domestic wastewater treatment using OAO process.

**Keywords** AO process; OAO process; domestic wastewater treatment; high-throughput sequencing; microbial community structure