



基于群体感应相关菌群分析的 HMBR 膜污染控制研究

李 莹, 刘 强, 项 玮, 李倩因

(徐州工程学院环境工程学院, 江苏徐州 221018)

[摘要] 微生物群体感应现象已经在污水处理中被验证并应用于膜污染控制,但是其在复合式膜生物反应器(HMBR)中的膜污染控制研究鲜有报道。构建了 HMBR 污水处理系统,并在不同污泥龄(SRT=10、20、30 d)下运行 HMBR 设备,通过分析出水水质考察 HMBR 污水处理系统对污染物的去除效能;采用高通量测序检测群体感应相关菌群的群落结构,并结合跨膜压差、信号分子浓度深入解析群体感应调控 HMBR 膜污染的机理。实验结果表明,HMBR 在 SRT=30 d 的工况下出水水质最好,膜组件运行周期最长,为最佳工况;HMBR 内检测到多种群体感应猝灭(QQ)菌,其中从单胞菌科(Comamonas)、黄单胞菌科(Xanthomonadaceae)和厌氧绳菌科(Anaerolineaceae)相对丰度较大;在长 SRT 下 QQ 菌比群体感应(QS)菌相对丰度更具优势,有助于降低 HMBR 内部信号分子的浓度,阻碍 EPS 分泌过程的正常进行,从而优化膜组件运行周期,因此通过延长 SRT 来抑制群体感应强度是一种有效的 HMBR 膜污染调控手段。

[关键词] 污泥龄;膜污染;群体感应;信号分子

[中图分类号] X703 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-829X(2022)11-0122-05

Control of HMBR membrane fouling based on quorum sensing related bacteria analysis

LI Ying, LIU Qiang, XIANG Wei, LI Qiannan

(School of Environmental Engineering, Xuzhou University of Technology, Xuzhou 221018, China)

Abstract: The phenomenon of microbial quorum sensing has been verified in wastewater treatment and applied in membrane fouling control, but it is rarely reported in the hybrid membrane bioreactor (HMBR). The HMBR sewage treatment system was constructed and the HMBR equipment was operated under different sludge retention time (SRT=10, 20, 30 d). The removal effect of pollutants by the HMBR sewage treatment system was investigated by analyzing the effluent quality. The community structure of quorum sensing related bacteria was detected by high-throughput sequencing, and the mechanism of quorum sensing regulating HMBR membrane fouling was analyzed in combination with trans-membrane pressure difference and signal molecule concentration. The results showed that, the optimum working condition appeared under the condition of SRT=30 d, which improved the effluent quality and prolonged the membrane operation cycle. A variety of quorum quenching (QQ) bacteria were detected in HMBR, among them, Comamonas, Xanthomonadaceae and Anaerolineaceae were relatively abundant. QQ bacteria had more obvious advantages than quorum sensing (QS) bacteria under long SRT, which helped to reduce the concentration of signal molecules in HMBR, hinder the progress of EPS secretion and optimize the operating cycles of the membrane module. Therefore, prolonging SRT to inhibit quorum induction was an effective method to regulate HMBR membrane fouling.

Key words: sludge retention time; membrane fouling; quorum sensing; signal molecule

胞外聚合物(EPS)被公认为是造成膜污染的主要物质,研究表明可通过抑制生物膜的形成减少其含量^[1]。目前,研究人员多采取优化反应器系统运行条件、改善膜的性质以及投加各种抗生物等措施防止生物膜的形成

成^[2-3],然而这些措施存在运行管理复杂或易导致抗药性细菌耐药性加强的风险^[4],因此,抑制生物膜形成的便捷、安全的技术方法亟待开发。

微生物群体之间存在群体感应(Quorum sensing,

[基金项目] 江苏省科技副总项目(FZ20210338);江苏省建设系统科技项目(2019ZD001082);徐州市重点研发计划项目(KC19105)

QS),其是指同一物种或者不同物种之间广泛存在由协调群落基因表达和行为的小分子化合物(统称为信号分子)介导的信息交流,从而在环境中使得某一或某一类物种产生竞争优势的现象。已有很多学者从污水处理反应器中筛选出了具有分泌和降解信号分子的菌株^[5-6],按照对信号分子的作用可以将所得菌株分为4大类:群体感应猝灭菌(即信号分子降解菌,QQ菌)、群体感应菌(即信号分子分泌菌,QS菌)、既能降解信号分子又能分泌信号分子的细菌(QQ&QS菌)和既不能分泌信号分子也不能降解信号分子的细菌。

复合式膜生物反应器(HMBR)由传统MBR和悬浮填料有机组合而成,兼具活性污泥工艺和MBR工艺的优点,并且由于悬浮填料的添加,反应器拥有数量更多、种群更加丰富的微生物。前期研究结果表明,污泥龄(SRT)能显著影响HMBR内部去除污染物相关菌群的群落结构^[7],由此推测SRT也可能影响与信号分子分泌相关的菌群的分布,从而影响HMBR中的群体感应强度,进而调节膜污染过程,但到目前为止,与此相关的研究尚较为缺乏。

本研究旨在保障污水处理效果的前提下,从SRT对群体感应相关菌群(QQ菌、QS菌、QQ&QS菌)群落结构的影响出发,分析SRT通过干扰群体感应系统抑制EPS生成的机理,以期在HMBR污水处理系统中建立一种新的膜污染控制策略。

1 材料与方法

1.1 试验材料、装置及运行参数

试验原水为某高校学生宿舍区生活污水,接种污泥为某污水厂二沉池的回流污泥。污水原水水质为:水温21.3~29.2℃,pH 7.2~7.8,COD、 NH_4^+-N 、TN、TP分别为(210.1~324.8)、(38.5~78.1)、(35.8~86.7)、(5.5~6.7) mg/L。

HMBR反应器结构如图1所示,其主要由活性污泥混合液、膜组件和悬浮填料3个功能单元组成。原水通过原水泵抽吸进入系统内部,活性污泥混合液和附着在悬浮填料表面的微生物对污染物进行生化降解,之后在蠕动泵的抽吸作用下,经由膜的微滤过程完成系统出水。该反应器主体材质为有机玻璃,有效容积为1.0 m³。悬浮填料投加体积分数为50%。膜组件材料为聚偏氟乙烯,膜孔径为0.2 μm,膜总面积为1.0 m²,膜通量为10.0 L/(m²·h)。安装在底部的曝气头为整个系统提供DO,同时为膜组件

提供切应力以减缓生物膜的附着。系统以间歇交替模式运行,运行4 min暂停2 min,运行过程中实时监测真空表压力变化,在跨膜压差(TMP)达到20 kPa时对膜组件进行清洗更换。试验过程中控制该反应装置内部环境pH为7.5左右,DO为4.0 mg/L,温度为20℃,SRT分别控制在10、20、30 d,水力停留时间控制在10 h。

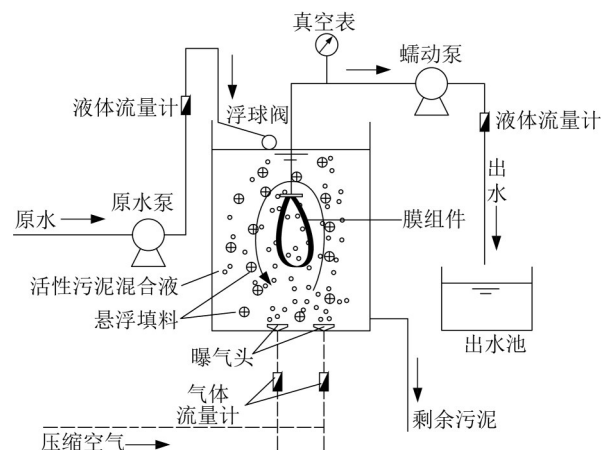


图1 HMBR设备示意

Fig. 1 Schematic diagram of HMBR equipment

1.2 检测项目及方法

1.2.1 常规指标检测方法

采用哈希HQ30 d分析仪测定DO、pH;采用快速消解法测定COD;采用纳氏试剂分光光度法测定 NH_4^+-N ;采用过硫酸钾氧化-紫外分光光度法测定TN;采用过硫酸钾消解-钼锑抗分光光度法测定TP。

1.2.2 高通量测序方法

采集3个工况(SRT=10、20、30 d)下HMBR膜表面、悬浮填料表面及活性污泥混合液中的活性污泥,混匀后置于无菌离心管中于-20℃冰箱内保存。送检时将所有样本置于盛有足够干冰的保温箱中,运送到相关专业机构进行DNA提取和高通量测序,特异引物为16S V4~V5序列。

采用二次扩增的方法提高目标DNA的纯度,PCR扩增体系的方法和参数同参考文献[7]中要求。

1.2.3 信号分子检测方法

鉴于信号分子分子质量较小,能够透过膜孔,故而假定HMBR出水中的信号分子浓度与反应器中的信号分子浓度差异可以忽略。采用文献[8]中的方法对HMBR的出水进行固相萃取(SPE)富集,之后采用Aquity超高效液相色谱(UPLC)串联三重四级杆质谱(Xe-

voTMTD MS,美国)检测反应器对信号分子进行定量分析,三重四级杆质谱需配置电喷雾离子源。

2 结果与讨论

2.1 SRT对HMBR去除污染物的效果及运行周期的影响

试验期间,各工况下系统出水COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN和TP的平均质量浓度如图2所示。

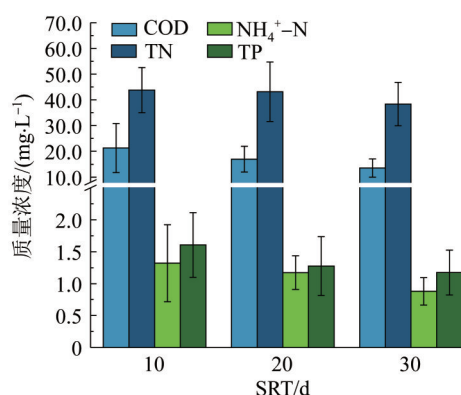


图2 不同SRT下各污染物的去除情况

Fig. 2 Removal of pollutants under different SRT

由图2可知,HMBR在3个工况下均具有良好的污染物降解效果。3个工况下的出水COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 均满足《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB 18918—2002)一级A标准要求($\text{COD} \leq 50$, $\text{NH}_4^+\text{-N} \leq 5$),TN、TP满足二级标准要求(TN不限制, $\text{TP} \leq 5$),且SRT=30 d的工况下出水TN、TP质量浓度最低。综合4个指标来看,SRT为30 d的工况下HMBR出水效果最佳。

不同工况下TMP的变化规律见图3。

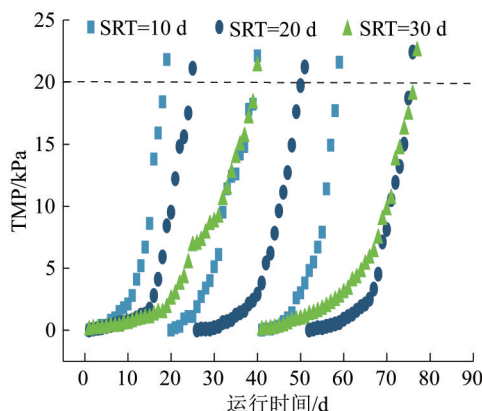


图3 不同SRT下TMP的变化

Fig. 3 Changes of TMP under different SRT

由图3可知,随着SRT的延长,TMP上升到预设值20 kPa的时间逐渐拉长,特别是当SRT为30 d时,TMP

上升到20 kPa的时间较SRT=10 d时增加了1.1倍,表明SRT确实能够调控HMBR内膜组件的污染状况,从而影响运行周期。先前也有研究表明,EPS与SRT紧密相关^[9],适当延长SRT有助于控制EPS的含量及成分组成^[10],从而减轻膜污染,延长运行周期。

2.2 HMBR中群体感应相关菌群对SRT的响应机制

已有研究表明EPS及生物膜的形成受到群体感应的影响,下面将从与群体感应相关的菌群(QQ菌、QS菌、QQ&QS菌)角度对SRT调控膜污染的机理进行分析探讨。

对3个工况下(A工况SRT=10 d,B工况SRT=20 d,C工况SRT=30 d)HMBR反应器内部鉴别出的QQ菌、QS菌和QQ&QS菌的相对丰度进行统计,结果见图4。对图4中的数据进行进一步分析,即将各样品中和群体感应相关的微生物分类和得到总的QQ菌、QS菌和QQ&QS菌的相对丰度及其序列数,结果见图5。

由图4(a)可知,HMBR反应器中检测到的QQ菌主要有Anaerolineaceae(厌氧螺菌科)、Comamonas(从单胞菌科)、Xanthomonadaceae(黄单胞菌科)、Cloaciobacterium(梭状芽胞杆菌属)、Chryseobacterium(金黄杆菌属)、Flavobacterium(黄杆菌属)、Pedobacter(土壤杆菌属)、Mesorhizobium(中慢生根瘤菌属)等。其中Comamonas、Xanthomonadaceae和Anaerolineaceae相对丰度较大,随着SRT的延长三者的相对丰度呈现出不同的规律。结合图5所示的QQ菌的相对丰度和序列数综合分析后发现,随着SRT的延长,QQ菌总数呈现先降低后上升的规律,即便当SRT=20 d时QQ菌相对丰度达到最低,但也到了10%以上,总序列数达到了55 350,说明HMBR内部含有丰富的QQ菌。QQ菌分泌的qsdA酶可以将N-酰化高丝氨酸内酯类化合物(AHLs)的内酯环水解以实现 AHL的降解,由此可以推测HMBR具有良好的猝灭信号分子能力,即具有良好的膜污染控制潜力。

图4(b)中的数据表明,HMBR反应器内还含有丰富的QS菌群,主要包括Rhodocyclaceae(红环菌属)、Nitrosomonadaceae_unclassified(未分类的亚硝化单胞菌科)和Thermomonas(热单胞菌属)等。随着SRT的延长,Rhodocyclaceae的相对丰度呈现先降低又急剧升高的规律,而Nitrosomonadaceae_unclassified的丰度出现明显下降的趋势。值得注意的是,Thermomonas虽然未被严格证实能够分泌或者降解信号分子,但是其对生物膜的形成亦有重大贡献,相对丰度随着SRT的

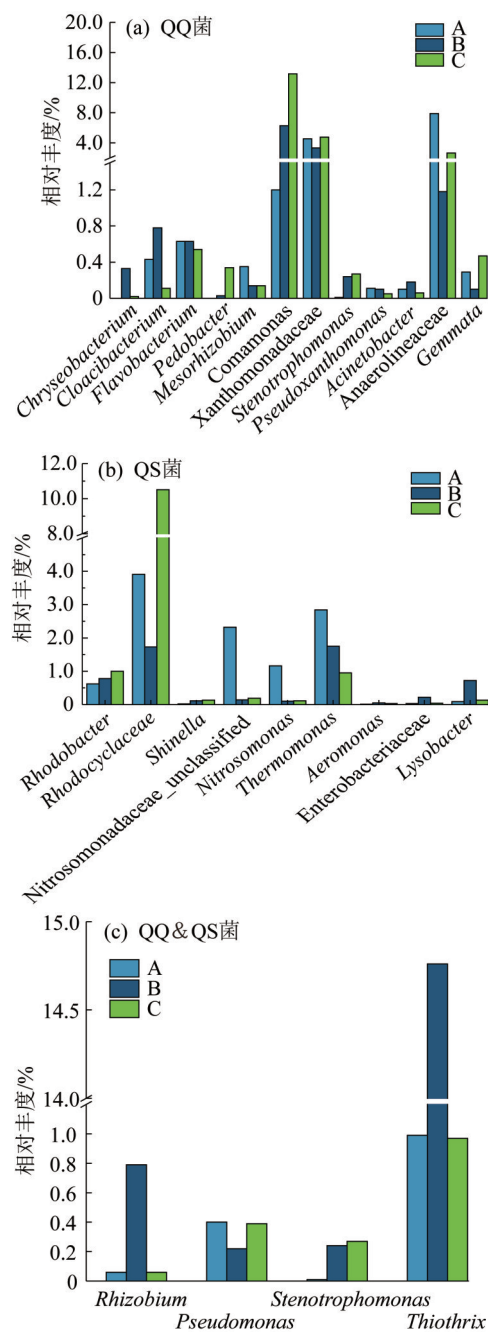


图4 不同SRT下群体感应相关菌群的相对丰度分布

Fig. 4 Relative abundances of quorum sensing related bacteria under different SRT

延长急剧下降。结合图5可知反应器内部检测到的QS菌总体相对丰度在SRT=20 d时达到最低值5.6%,继续延长SRT至30 d时恢复到13.09%,但也低于同工况下QQ菌的相对丰度(22.64%),同时,其与QQ菌的序列数比也从0.707降到0.579。这表明SRT的延长虽然能同时促进QQ菌和QS菌的富集,但对于QQ菌的富集更具优势,因此可以认为延长SRT有利于

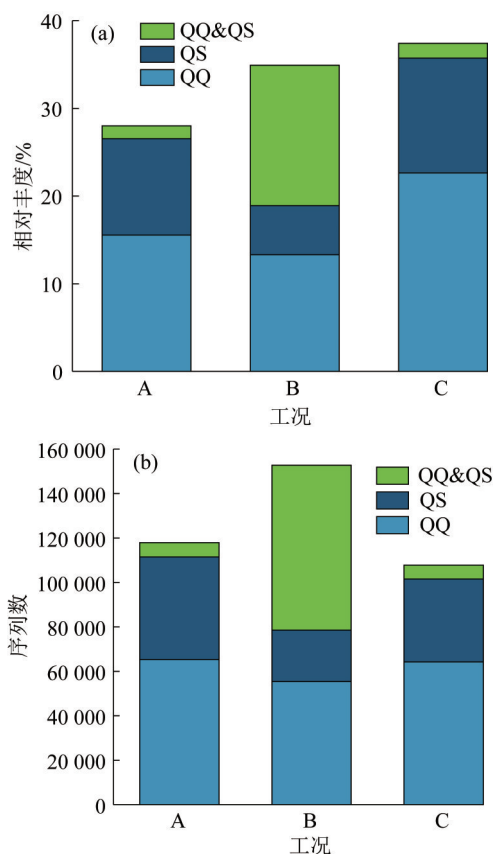


图5 不同SRT下QQ菌、QS菌、QQ&QS菌的相对丰度分布及序列数

Fig. 5 Relative abundances and numbers of QQ bacteria, QS bacteria, QQ&QS bacteria under different SRT

缓解膜污染。

图4(c)给出了同时具有分泌和降解信号分子作用的菌群及其相对丰度的变化。由图4(c)可知,在HMBR反应器内 *Thiothrix* (发硫菌属) 占据QQ&QS菌的绝对优势,其相对丰度的变化决定了QQ&QS菌的多寡。*Thiothrix* 相对丰度在SRT=20 d时达到了峰值14.76%,此时,其序列数为61 388,远远高于A、C工况下的值,可知SRT对QQ&QS菌的数量亦能够产生显著影响。

对图5作进一步分析可知,QQ菌和QS菌的相对丰度及序列数均随着SRT的延长先降低后增加,但QQ菌的相对丰度始终高于QS菌的相对丰度,特别是SRT=30 d时二者的差值高达9.5%,QQ菌与QS菌的序列数差值在SRT为20 d时最大,为32 134。因此,可以得知在HMBR中,SRT对这3类细菌均能够产生显著影响,且在较长的SRT下,QQ菌的相对优势更加明显。

2.3 HMBR中信号分子浓度对SRT的响应机制

对各工况下处于稳定运行的HMBR中的信号

分子质量浓度进行测定,结果见图6。

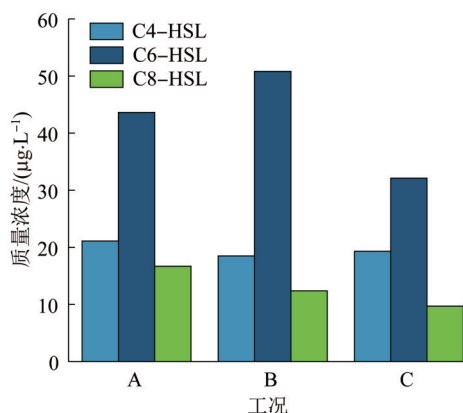


图6 不同SRT下HMBR中信号分子的浓度

Fig. 6 Concentrations of signal molecules in HMBR under different SRT

由图6可知,各工况下反应器中仅检测到C4-HSL、C6-HSL和C8-HSL这3种短链信号分子,而长链信号分子由于比较容易被活性污泥降解,在HMBR内未被检出。这3种信号分子中,C4-HSL和C8-HSL 2种信号分子的质量浓度明显低于C6-HSL的质量浓度,C8-HSL信号分子质量浓度最低,而且C4-HSL和C8-HSL浓度均呈现随着SRT的延长逐渐降低的趋势,与QQ菌相对丰度的变化规律一致;而C6-HSL则随SRT的延长呈现先升高后降低的趋势,与QQ&QS菌变化规律一致。因此可以认为,SRT可以显著影响HMBR反应器内QQ菌、QS菌和QQ&QS菌的群落结构,以此促进对C8-HSL的降解,进而减缓生物膜的形成,最终达到控制膜污染、延长膜组件运行周期的目的。

3 结论

本研究对比分析了SRT分别为10、20、30 d条件下HMBR对某高校学生宿舍区生活污水的处理效果,并探究了SRT对群体感应相关菌群结构以及信号分子浓度的影响,得出以下结论:

(1)当SRT分别为10、20、30 d时,HMBR均具有良好的污染物去除能力,且在SRT=30 d的条件下HMBR运行效果最佳。

(2)SRT不仅影响污染物的去除效果,也能显著影响膜组件的运行周期,在研究范围内,较长SRT(30 d)工况下膜组件更替周期较长,具有更优良的操作潜力。

(3)SRT能够显著影响QQ菌、QS菌和QQ&QS

菌的相对丰度,从而调控HMBR系统内部信号分子的浓度,特别是较长的SRT条件下,系统菌群能够有效降解C8-HSL信号分子,进而降低生物膜的形成速率,通过非杀菌机制有效控制膜污染。

参考文献

- [1] PARK D, YUN Y M, KIM H, et al. Mechanism of biofouling mitigation on nanofiltration membrane by non-oxidizing biocide [J]. Desalination and Water Treatment, 2017, 99: 102-106.
- [2] BELLI T J, BASSIN J P, COSTA R E, et al. Evaluating the effect of air flow rate on hybrid and conventional membrane bioreactors: Implications on performance, microbial activity and membrane fouling [J]. Science of the Total Environment, 2021, 755: 142563.
- [3] BURMAN I, SINHA A. A review on membrane fouling in membrane bioreactors: Control and mitigation [J]. Environmental Contaminants, 2018: 281-315.
- [4] LEMOS M, BORGES A, TEODÓSIO J, et al. The effects of ferulic and salicylic acids on *Bacillus cereus* and *Pseudomonas fluorescens* single- and dual-species biofilms [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 86: 42-51.
- [5] 郑甜甜, 黄丹, 班允赫, 等. 群体感应抑制控制膜生物污染的研究进展 [J]. 辽宁化工, 2013, 42(10): 1181-1184.
- [6] DU Yanfen, LI Tian, WAN Yafang, et al. Signal molecule-dependent quorum-sensing and quorum-quenching enzymes in bacteria [J]. Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression, 2014, 24(2): 117-132.
- [7] LI Ying, CHEN Wei, ZHENG Xiaoying, et al. Microbial community structure analysis in a hybrid membrane bioreactor via high-throughput sequencing [J]. Chemosphere, 2021, 282: 130989.
- [8] LI Xiaojing, FEKETE A, ENGLMANN M, et al. Development and application of a method for the analysis of *N*-acylhomoserine lactones by solid-phase extraction and ultra high pressure liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1134(1/2): 186-193.
- [9] 李莹, 刘强, 陈卫, 等. 胞外聚合物响应污泥龄的傅里叶变换红外研究 [J]. 工业水处理, 2020, 40(11): 28-32.
- [10] LI Ying, CHEN Wei, LIU Qiang, et al. The FTIR study on the response of extracellular polymer substances to sludge retention time [J]. Industrial Water Treatment, 2020, 40(11): 28-32.
- [11] LI Ying, CHEN Wei, LIU Qiang, et al. Effect on composition and quantity of extracellular polymeric substances in an innovative hybrid membrane bioreactor under different sludge retention times [J]. Environmental Pollutants and Bioavailability, 2019, 31(1): 103-111.

[作者简介] 李莹(1988—),在读博士,讲师。E-mail: ly131015@163.com。通讯作者: 刘强,博士,教授,高级工程师。E-mail: liuqiang_1207@163.com。

[收稿日期] 2022-08-13(修改稿)