

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2023.09.002

# 城市污水双泥龄复合脱氮工艺的脱氮机理分析

李啸川<sup>1,2</sup>, 闫昊<sup>3</sup>, 苑泉<sup>3</sup>, 钱亮<sup>4</sup>, 贺北平<sup>4</sup>, 王凯军<sup>2</sup>,  
徐恒<sup>1</sup>

(1. 中国矿业大学<北京> 化学与环境工程学院, 北京 100083; 2. 清华大学 环境学院, 北京 100084; 3. 北京工商大学 生态环境学院, 北京 100048; 4. 浦华环保有限公司, 北京 100084)

**摘要:** 基于部分厌氧氨氧化的双泥龄复合脱氮工艺能实现自养脱氮和异养脱氮的耦合,在城市污水低成本高效脱氮方面表现出良好的应用潜力。为进一步探究该工艺的脱氮机理,对运行2年的中试反应器开展了脱氮途径解析与优化、主要脱氮功能菌活性测定以及微生物群落结构分析。结果表明,间歇曝气可以促进短程硝化和厌氧氨氧化过程的耦合,当曝气量为20 mL/min[DO为(0.18±0.03) mg/L]时,脱氮效率最高;厌氧氨氧化菌(AnAOB)主要分布在生物膜上,活性为44.60 mg/(gVSS·d),检测到的AnAOB为*Candidatus Brocadia*,相对丰度为0.28%;氨氧化菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub>-OB)主要分布在悬浮污泥中,活性分别为61.53、86.95 mg/(gVSS·d),检测到的AOB和NO<sub>2</sub>-OB分别为*Nitrosomonas*和*Nitrospira*,相对丰度分别为0.10%、2.10%。

**关键词:** 城市污水; 厌氧氨氧化; 双泥龄; 脱氮机理

**中图分类号:** TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2023)09-0010-08

## Analysis on Denitrification Mechanism of Double-SRT Hybrid Denitrification Process for Municipal Wastewater Treatment

LI Xiao-chuan<sup>1,2</sup>, YAN Hao<sup>3</sup>, YUAN Quan<sup>3</sup>, QIAN Liang<sup>4</sup>, HE Bei-ping<sup>4</sup>,  
WANG Kai-jun<sup>2</sup>, XU Heng<sup>1</sup>

(1. School of Chemical & Environmental Engineering, China University of Mining and Technology <Beijing>, Beijing 100083, China; 2. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. School of Ecology and Environment, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 4. Thunip. Co. Ltd., Beijing 100084, China)

**Abstract:** The double-SRT (sludge retention time) hybrid denitrification process based on partial anaerobic ammonia oxidation (Anammox) can realize the coupling of autotrophic denitrification and heterotrophic denitrification, which shows good application potential in low-cost and high-efficiency denitrification of municipal wastewater. To further explore the denitrification mechanism of this process, analysis and optimization of the denitrification pathway, determination of the main nitrogen-removing functional bacteria activity and analysis of the microbial community structure were carried out in a

基金项目: 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室开放基金资助项目(20K05ESPCT); 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07102-003)

通信作者: 徐恒 E-mail: xuheng@cumtb.edu.cn

pilot-scale reactor that has been operated for 2 years. Intermittent aeration promoted the coupling of short-cut nitrification and Anammox processes, and the nitrogen removal efficiency was the highest when the aeration rate was 20 mL/min [DO of (0.18±0.03) mg/L]. Anaerobic ammonia oxidizing bacteria (AnAOB) were distributed in the biofilm with an activity of 44.60 mg/(gVSS·d), and the detected AnAOB was *Candidatus Brocadia* with relative abundance of 0.28%. Ammonia oxidizing bacteria (AOB) and nitrite oxidizing bacteria (NOB) were mainly distributed in the suspended sludge, and their activities were 61.53 mg/(gVSS·d) and 86.95 mg/(gVSS·d), respectively. The detected genera of AOB and NOB were mainly *Nitrosomonas* (0.10%) and *Nitrospira* (2.10%) respectively.

**Key words:** municipal wastewater; Anammox; double-SRT; denitrification mechanism

厌氧氨氧化(Anammox)是指在缺氧条件下,厌氧氨氧化菌(AnAOB)以 $\text{NO}_2^-$ -N为电子受体,将 $\text{NH}_4^+$ -N直接氧化为 $\text{N}_2$ 的自养反应过程。厌氧氨氧化与短程硝化耦合形成PN/A (partial nitrification and Anammox)工艺,可实现全程自养脱氮。和常规脱氮工艺相比,PN/A工艺可节省60%的曝气能耗和100%的碳源,已成功应用于高氨氮浓度工业废水的处理<sup>[1-2]</sup>。然而,厌氧氨氧化技术在城市主流污水处理工艺中的应用仍面临诸多挑战。AnAOB生长缓慢,倍增时间长(3~14 d),在实际城市污水处理厂中难以富集和持留。此外,城市污水具有较高C/N值、低温、低 $\text{NH}_4^+$ -N浓度等特点,短程硝化过程难以控制<sup>[3-4]</sup>,无法为厌氧氨氧化提供稳定的关键底物 $\text{NO}_2^-$ -N,导致完全的主流厌氧氨氧化工艺至今未实现规模化应用,而部分厌氧氨氧化和异养脱氮结合的复合脱氮技术成为了研究热点<sup>[5-6]</sup>。

目前,基于部分厌氧氨氧化的复合脱氮技术已经取得重要进展。西安某污水处理厂通过在 $\text{A}^2/\text{O}$ 工艺缺氧池投加填料以生物膜形式成功富集并持留厌氧氨氧化菌,实现了部分主流厌氧氨氧化,总氮去除率达到了86%<sup>[7]</sup>。该工艺的缺氧池中生物膜和悬浮污泥长期共存,长污泥龄和短污泥龄相结合,实现了自养脱氮和异养脱氮的耦合,称为双泥龄复合脱氮工艺。Yuan等人<sup>[8]</sup>通过高通量测序、批式活性试验、同位素示踪等手段确定了该工艺的自养脱氮贡献率为20%~30%。通常情况下,有机物浓度、 $\text{NH}_4^+$ -N浓度和温度等因素对主流厌氧氨氧化具有重要影响。污水中较高的有机物浓度会引起异养菌大量繁殖,从而与厌氧氨氧化菌竞争基质和生长空间<sup>[9]</sup>;大部分主流脱氮工艺需要在冬季10~15℃的低温条件下运行,而在低温条件下厌氧氨

化菌的活性会大幅降低<sup>[10]</sup>,自养脱氮过程受到抑制,进而导致出水氮浓度升高<sup>[11]</sup>;而且主流工艺中 $\text{NH}_4^+$ -N浓度较低(20~60 mg/L),难以形成高浓度游离氨抑制亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)活性,致使短程硝化过程遭到破坏。

基于当前研究成果,笔者所在课题组开发了双泥龄复合脱氮中试工艺,采用磁分离技术对工艺进水进行碳源预浓缩,以降低有机物对厌氧氨氧化过程的影响,采用间歇曝气为厌氧氨氧化菌供给 $\text{NO}_2^-$ -N。经过长期运行调控,该中试工艺实现了自养脱氮和异养脱氮的耦合,总氮去除率达到了74.4%<sup>[12]</sup>。为进一步探究该中试工艺在主流条件下的厌氧氨氧化现象,利用批式试验考察了厌氧氨氧化过程所需 $\text{NO}_2^-$ -N基质的来源,并优化间歇曝气量,利用高通量测序技术分析了双泥龄系统的微生物群落结构特征,以为双泥龄复合脱氮工艺的稳定运行和优化提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 中试反应器与运行方案

中试反应器由4个不锈钢箱体组成,如图1所示。反应池部分共有3个箱体(1.2 m×1.2 m×2 m),总有效容积为7.8 m<sup>3</sup>,箱体内设有隔板,将反应池分为6个单元,按照1:2:3的体积比依次划分为厌氧池、缺氧池和好氧池。沉淀池箱体的长、宽、高分别为1.2、1.2、1.8 m(溢流高度为1.6 m),中间设有沉淀辅助斜板,斜板间距为3 cm,60°倾斜。

接种污泥包括悬浮污泥和悬浮填料生物膜,其中悬浮污泥取自北京某污水处理厂污泥车间,含水率约为80%,经稀释后污泥浓度约为3~4 g/L。污泥接种后启动 $\text{A}^2/\text{O}$ 工艺,随后在厌氧和缺氧池投加附着有厌氧氨氧化菌的K3型填料,填料取自西安某污

水处理厂缺氧池,填料生物量约为 60 mg/个,填充率约为 20%。

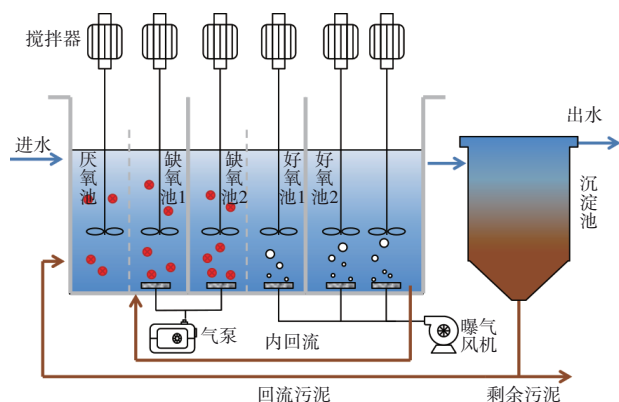


图1 中试反应器示意

Fig.1 Schematics of the pilot-scale reactor

反应器以城市污水磁分离出水为进水,进水量为 12~15.55 m<sup>3</sup>/d, HRT 为 12.0~15.6 h,内回流比为 0~150%,外回流比为 100%,好氧池 1 的 DO 浓度为 0.5~1.0 mg/L,好氧池 2 的 DO 浓度为 1.0~3.0 mg/L,缺氧池曝气和停止曝气时 DO 浓度分别为 0.2~0.3、0.1~0.3 mg/L。整个中试运行周期分为 3 个阶段,各阶段进出水水质和运行工况见表 1。

表 1 反应器进出水水质和运行工况

Tab.1 Influent and effluent quality and operating conditions of the reactor

项 目	启动阶段	外加亚硝态氮阶段	曝气优化阶段
运行时间/d	1~119	120~171	331~756
外加 NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	无	10	无
间歇曝气	无	无	15 min 好氧/15 min 缺氧
总氮负荷/(mg·L <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )	22.19~50.92	23.77~45.51	25.80~93.70
进水 COD/(mg·L <sup>-1</sup> )	82.84	84.86	81.20
进水 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	12.70~33.03	5.18~17.88	16.50~58.19
出水 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	0~14.92	0~4.18	0~2.09
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N 去除率/%	20~100	77~100	93~100
进水 TIN/(mg·L <sup>-1</sup> )	14.49~33.10	15.45~29.58	16.77~60.91
出水 TIN/(mg·L <sup>-1</sup> )	4.61~20.40	3.74~9.62	5.16~9.20
TIN 去除率/%	16~45	38~85	60~86

## 1.2 批式试验

脱氮功能菌即氨氧化菌(AOB)、NOB、AnAOB、反硝化菌(DNB)的活性测定参照文献[13]和[14]。

模拟缺氧池开关曝气试验:分别取缺氧池悬浮污泥和填料置于 2 个 1 L 锥形瓶中,采用磁力搅拌使泥水充分混合;其中一个通入空气,采用转子流量计调节气体流量为 20 mL/min,模拟曝气时缺氧池的 DO 环境,另一个不通空气模拟关闭曝气时缺氧池的 DO 环境;每隔 15 min 取样,共取 5 个样,测定氨氮、亚硝态氮和硝态氮浓度。

不同曝气量下氮转化率试验:分别取缺氧池悬浮污泥和填料置于 1 L 锥形瓶中,采用磁力搅拌使泥水充分混合;通入空气,采用转子流量计调节气体流量(10、20、40 mL/min);每隔 15 min 取样,共取 5 个样,测定氨氮、亚硝态氮和硝态氮浓度。氮转化率的具体计算方法参照文献[15]。

## 1.3 分析项目与方法

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 COD 等常规水质指标均采用国家标准方法测定。

分别取不同运行阶段中试反应器中的悬浮填料和缺氧池悬浮污泥样品,送往第三方检测机构,开展基于 Illumina HiSeq 测序平台的细菌 16S rRNA 高通量测序分析。具体步骤如下:采用试剂盒(E. Z. N. ATM Mag-Bind Soil DNA Kit)对样本进行 DNA 提取,并按照指定测序区域(细菌 V3-V4 区)对提取后的 DNA 进行扩增与纯化;经 QuantiFluor™-ST 定量后,根据 Illumina HiSeq 测序文库对所得到的数据进行 OTU 聚类统计、物种注释、物种组成分析等。

## 2 结果与分析

### 2.1 中试反应器的运行效果

中试反应器的运行效果如表 1 所示,在间歇曝气(15 min 好氧/15 min 缺氧)阶段,反应器出水 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 TIN 平均浓度分别为(0.75±0.88)、(7.19±1.47) mg/L, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 TIN 平均去除率分别为 97% 和 74%。与启动阶段相比, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 TIN 平均去除率分别提升了 9% 和 39%。反应器的脱氮效果显著提升,可能是由于缺氧池间歇曝气为 AnAOB 提供了 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 基质,强化了自养脱氮过程。

### 2.2 脱氮途径解析及优化

由于间歇曝气作用,初步判断双泥龄系统中发

生了短程硝化耦合厌氧氨氧化脱氮。为验证该判断,取缺氧池悬浮污泥和填料进行模拟缺氧池开关曝气试验。结果显示,无曝气时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和TIN去除速率分别为 $-2.69\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 和 $62.40\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ , $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度没有降低,也没有 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累,说明无曝气时并未发生短程硝化过程和厌氧氨氧化过程; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度的升高可能是缺氧池内悬浮污泥中部分微生物发生解体,释放出一些 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 。曝气(曝气量为 $20\text{ mL}/\text{min}$ )时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和TIN去除速率分别为 $90.53\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 和 $68.61\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ,曝气同时促进了缺氧池 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和TIN的转化,可能发生了短程硝化和厌氧氨氧化耦合的全程自养脱氮过程。相关研究<sup>[16]</sup>表明,AOB具有“饱食-饥饿”特性,缺氧时活性受到抑制,氧气充足时活性迅速恢复并大量增殖,而NOB由缺氧环境重新进入好氧环境后,其活性恢复时间较AOB滞后。本研究结果与其一致,表明间歇曝气可能促进了双泥龄系统中短程硝化和厌氧氨氧化过程的耦合。

间歇曝气参数主要包括曝气频率和曝气量,较快的间歇曝气频率更有利于NOB的抑制,而过高的DO浓度会抑制反硝化菌和厌氧氨氧化菌的活性<sup>[17]</sup>。课题组的前期试验结果证明间歇曝气频率为 $15\text{ min}$ 好氧/ $15\text{ min}$ 缺氧时,双泥龄系统的脱氮效果较好<sup>[12]</sup>,而小范围内的曝气量( $10\sim40\text{ mL}/\text{min}$ )对双泥龄系统脱氮效果的影响尚未进行研究。为进一步优化双泥龄系统的脱氮效果,利用批式试验考察微曝气量对双泥龄系统脱氮效果的影响。结果显示,当曝气量为 $10\text{ mL}/\text{min}$ 时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化速率为 $25.52\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ,TIN去除速率为 $14.74\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ,

DO浓度为 $(0.08\pm0.01)\text{ mg}/\text{L}$ ;当曝气量提高至 $20\text{ mL}/\text{min}$ 时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化速率升至 $52.70\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ,TIN去除速率升至 $56.88\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ,DO浓度为 $(0.18\pm0.03)\text{ mg}/\text{L}$ ;当曝气量提高至 $40\text{ mL}/\text{min}$ 时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化速率为 $66.45\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ,而TIN去除速率降至 $20.16\text{ mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$ ,DO浓度为 $(0.23\pm0.04)\text{ mg}/\text{L}$ 。综上可知,当曝气量为 $20\text{ mL}/\text{min}$ [DO浓度为 $(0.18\pm0.03)\text{ mg}/\text{L}$ ]时,缺氧池双泥龄系统具有最佳脱氮效率。

2.3 主要脱氮功能菌活性

为进一步明确双泥龄系统中脱氮功能菌分布情况,对主要脱氮功能菌的活性进行了测定。结果显示,缺氧池填料生物膜中未检测到AOB和NOB活性,而悬浮污泥的AOB和NOB活性分别为 $61.53$ 、 $86.95\text{ mg}/(\text{gVSS}\cdot\text{d})$ ;另外,填料生物膜中AnAOB活性为 $44.60\text{ mg}/(\text{gVSS}\cdot\text{d})$ ,悬浮污泥和填料生物膜中DNB活性分别为 $103.66$ 、 $17.35\text{ mg}/(\text{gVSS}\cdot\text{d})$ 。综上所述,在双泥龄系统中,AOB和NOB主要分布在悬浮污泥中,AnAOB分布在填料生物膜上,DNB在悬浮污泥和生物膜中均有分布,在悬浮污泥中发挥主要脱氮作用。

2.4 微生物群落结构分析

为了探究双泥龄复合脱氮反应器中微生物群落结构与脱氮过程的内在关系,分别取第171、620、756天的缺氧池悬浮污泥和填料生物膜样品,采用16S rRNA高通量测序技术对其微生物群落结构进行分析。

2.4.1 微生物多样性分析

微生物Alpha多样性分析结果见表2。

表2 悬浮污泥和填料生物膜的Alpha多样性

Tab.2 Alpha diversity of the suspended sludge and biofilm

项 目		Ace	Chao	Shannon	Simpson	Coverage
悬浮污泥	接种污泥	2 203.732	2 254.406	5.722	0.014	0.989
	171 d	2 109.316	2 063.056	5.451	0.015	0.987
	620 d	2 290.643	2 299.345	5.486	0.019	0.984
	756 d	3 536.879	3 447.398	5.924	0.010	0.997
填料生物膜	171 d	1 864.212	1 856.938	5.447	0.017	0.984
	620 d	2 220.177	2 215.583	4.623	0.038	0.987
	756 d	4 258.756	4 094.318	6.002	0.011	0.997

试验过程中所有微生物测序样品的Coverage指数均大于98%,表明测序结果能代表样本中微生物的真实情况。根据Chao和Ace指数结果可知,悬浮

污泥中的微生物丰度呈现出先降低后升高的趋势,这可能与微生物对进水水质和工艺运行工况的适应性有关。中试反应器经过长期运行优化,微生物



逐渐适应并不断富集,在第756天丰度达到最高。Simpson 和 Shannon 指数均用于反映微生物群落多样性,Simpson 指数值越大,说明微生物群落多样性越低,而 Shannon 指数值越大,说明微生物群落多样性越高。相较于悬浮污泥,填料生物膜中的微生物丰度和多样性均较低,可能是由于生物膜中的部分微生物难以获取生存所需基质而逐渐被淘汰,而与脱氮相关的微生物可能在间歇曝气的作用下能够稳定获取营养基质,从而不断富集。

#### 2.4.2 微生物群落组成分析

不同运行阶段悬浮污泥和填料生物膜中微生物在门水平上的群落结构变化如图2所示。

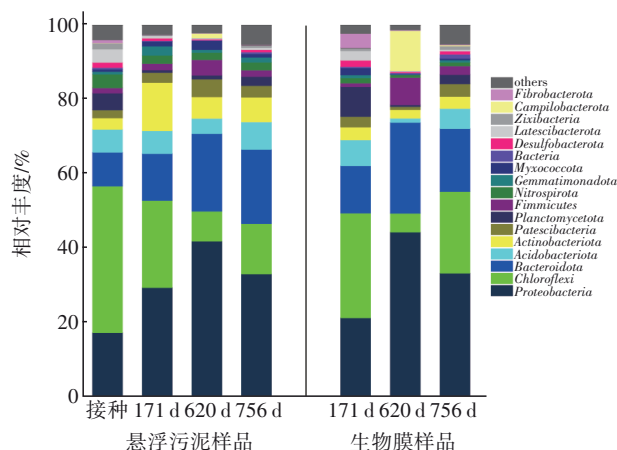


图2 门水平上微生物群落的丰度分布情况

Fig.2 Abundance distribution of bacterial communities at phylum level

中试反应器中的优势菌门为 *Proteobacteria*、*Chloroflexi* 和 *Bacteroidota*, 三者悬浮污泥和填料生物膜中的相对丰度之和均超过60%,且随着反应器的运行,在悬浮污泥和生物膜中呈现相似的变化趋势。*Proteobacteria* 是污水处理系统中的常见菌门,包含了多种反硝化菌<sup>[18]</sup>。*Chloroflexi* 的相对丰度呈现出先降低后升高的趋势,相关研究<sup>[19]</sup>发现,*Chloroflexi* 中含有 NOB,能够参与  $\text{NO}_2^-$ -N 的氧化。据此推断,间歇曝气和  $\text{NO}_2^-$ -N 竞争者 (AnAOB) 导致 NOB 不断被淘汰,降低了 *Chloroflexi* 的相对丰度,而运行 756 d 后其相对丰度升高可能是由于 NOB 已经适应了当前 DO 环境。此外,*Chloroflexi* 的丝状结构有利于生物膜形成,这可能是填料生物膜样品中 *Chloroflexi* 相对丰度较高的原因<sup>[20]</sup>。*Bacteroidota* 是反应器中仅次于 *Proteobacteria* 和 *Chloroflexi* 的优势菌门,其在悬浮污泥和生物膜样品中的相对丰度始

终高于 10.0%,这可能与大分子有机物和含氮物质的水解有关<sup>[21]</sup>。

进一步分析了中试反应器悬浮污泥和填料生物膜在属水平上的微生物群落结构变化,此处仅考虑相对丰度排名前 20 (根据同一物种在不同分组内的相对丰度的均值进行排序) 的主要菌属,结果如图3所示。

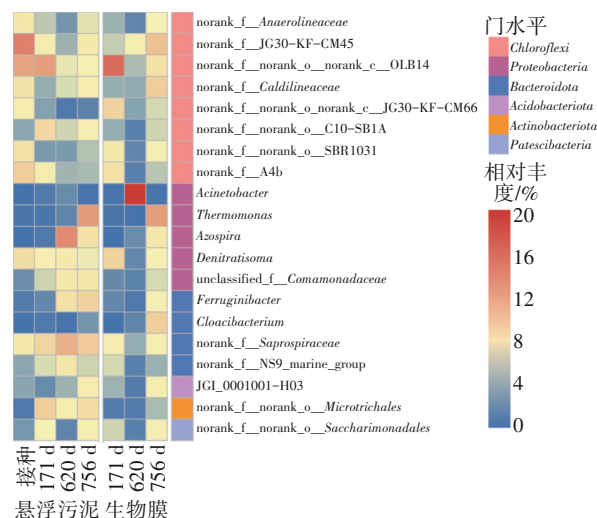


图3 属水平上微生物群落的丰度分布情况

Fig.3 Abundance distribution of bacterial communities at genus level

反应器运行至第171天时,悬浮污泥中的优势菌属主要包括 *norank\_f\_\_norank\_o\_\_norank\_c\_\_OLB14*、*norank\_f\_\_norank\_o\_\_Microtrichales*、*norank\_f\_\_Saprospiraceae*、*norank\_f\_\_norank\_o\_\_C10-SB1A*, 它们均属于异养菌,其相对丰度分别为 8.8%、4.4%、3.6%、3.4%。*norank\_f\_\_norank\_o\_\_norank\_c\_\_OLB14* 为典型反硝化菌属,经常在厌氧氨氧化反应器中出现,被证实可参与厌氧氨氧化反应<sup>[22-23]</sup>;*norank\_f\_\_norank\_o\_\_Microtrichales* 和 *norank\_f\_\_Saprospiraceae* 能够降解大分子有机物并为反硝化菌提供碳源<sup>[24-25]</sup>;*norank\_f\_\_norank\_o\_\_C10-SB1A* 能够参与异化硝酸盐还原为氨反应 (DNRA)<sup>[26-27]</sup>。厌氧氨氧化相关菌属 *norank\_f\_\_norank\_o\_\_norank\_c\_\_OLB14* 的相对丰度较高,表明外加亚硝态氮可以促进厌氧氨氧化菌的富集。中试反应器运行 756 d 以后,悬浮污泥在属水平上的微生物群落结构发生了明显的变化,优势菌属变为 *Thermomonas*、*norank\_f\_\_Saprospiraceae*、*Ferruginibacter*、*norank\_f\_\_norank\_o\_\_Microtrichales*、*Azospira*, 它们的相对丰度分

别为 9.2%、4.6%、3.7%、3.2%、2.6%。*Thermomonas* 能够参与硫自养反硝化反应<sup>[28]</sup>,*Azospira* 为反硝化聚磷菌<sup>[29]</sup>,两种菌相对丰度的增加为双泥龄系统在低碳源条件下脱氮除磷提供了保障。填料生物膜在属水平上的微生物群落结构和悬浮污泥存在差异,反应器运行 171 d 后,生物膜样品中的优势菌属为 norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_OLB14、*Denitratisoma*、norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_JG30-KF-CM66,其相对丰度分别为 14.4%、3.9%、3.9%。norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_JG30-KF-CM66 为 NOB<sup>[30]</sup>,可能是该阶段提供的充足  $\text{NO}_2^-$ -N 基质被 NOB 利用,导致其大量增殖。反应器运行 756 d 后,生物膜样品中的优势菌属变为 *Thermomonas*、*Caldilineaceae*、*Cloacibacterium*,其相对丰度分别为 8.9%、4.4%、4.3%。*Caldilineaceae* 和 *Cloacibacterium* 能够产生胞外聚合物(EPS),有利于生物膜的生长成熟<sup>[31]</sup>。

#### 2.4.3 脱氮功能菌的分布情况

生物脱氮过程相关功能菌群分析结果如表 3 所示。检测到的 AnAOB 为 *Candidatus Brocadia*,该菌属在填料生物膜中的比例较高,与其他研究结果一致<sup>[32-33]</sup>。反应器运行 171 d 后,厌氧氨氧化菌可以稳定获取  $\text{NO}_2^-$ -N 和  $\text{NH}_4^+$ -N,有利于其生长和富集,在生物膜中的相对丰度为 6.13%;由于中试反应器运行停滞(新冠疫情期间,172~330 d),外加亚硝态氮阶段富集的 AnAOB 无法获得足够的营养基质,因此在反应器运行 620 d 后,生物膜样品中 AnAOB 的相对丰度降至 0.13%;但经过一段时间恢复和运行,在第 756 天,AnAOB 的相对丰度升至 0.28%,说明间歇曝气能够促进 AnAOB 的富集。

双泥龄系统中的 AOB 主要为 *Nitrosomonas*,第 756 天其在悬浮污泥和生物膜中的相对丰度分别为 0.10% 和 0.04%,说明 AOB 主要分布于悬浮污泥中。反应器运行 756 d 后,悬浮污泥中的 NOB 主要为 *Nitrospira*,相对丰度为 2.10%,而生物膜中的 NOB 主要为 norank\_c\_JG30-KF-CM66,其相对丰度为 1.07%。此外,双泥龄系统中还检测到了 25 种已知的反硝化菌,在悬浮污泥和生物膜中均有分布,其相对丰度总和在第 756 天分别为 18.71% 和 21.53%。综上所述,除了 AnAOB 之外,在双泥龄系统的悬浮污泥中 DNB、AOB、NOB 均有所分布,而生物膜中主要含有 AnAOB 和 DNB,这与 2.3 节的主要脱氮功能菌活性测定结果基本一致。

表 3 生物脱氮相关功能菌群

Tab.3 Functional bacteria for biological nitrogen removal

项 目		相对丰度						
		悬浮污泥			生物膜			
		接种	171 d	620 d	756 d	171 d	620 d	756 d
厌氧氨氧化菌	<i>Candidatus Brocadia</i>	2.33	0.01	0.01	0.01	6.13	0.13	0.28
氨氧化菌	<i>Nitrosomonas</i>	0.00	0.04	0.20	0.10	0.00	0.03	0.04
亚硝化菌	<i>Nitrospira</i>	0.01	2.19	1.93	2.10	0.03	0.26	0.22
	norank_c_JG30-KF-CM66	1.76	0.50	0.07	0.18	3.85	0.52	1.07
反硝化菌	<i>Acidovorax</i>	0.00	0.07	0.18	0.01	0.00	0.50	0.05
	<i>Aeromonas</i>	0.00	0.01	0.04	0.02	0.00	9.43	0.06
	<i>Azospira</i>	0.00	0.06	10.89	2.57	0.00	0.30	2.06
	<i>Bacillus</i>	0.32	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.04
	<i>Comamonas</i>	0.11	0.06	0.11	0.45	0.01	0.25	1.13
	<i>Dechloromonas</i>	0.01	0.08	5.31	0.33	0.01	0.35	0.34
	<i>Denitratisoma</i>	2.94	1.65	2.02	1.21	3.89	0.24	1.38
	<i>Dokdonella</i>	0.04	0.10	0.51	0.17	0.03	0.04	0.09
	<i>Flavobacterium</i>	0.00	0.09	0.15	0.06	0.03	3.15	0.91
	<i>Haliangium</i>	0.08	0.24	0.30	0.56	0.11	0.02	0.17
	<i>Halomonas</i>	0.02	0.27	0.34	0.05	0.00	0.02	0.02
	<i>Hyphomicrobium</i>	0.52	0.77	1.04	0.71	0.28	0.10	0.35
	<i>Novosphingobium</i>	0.02	0.12	0.30	0.10	0.03	0.08	0.09
	<i>Ottowia</i>	0.14	3.14	0.71	0.33	0.09	0.04	0.10
	<i>Pedobacter</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04
	<i>Pseudomonas</i>	0.01	0.05	0.05	0.05	0.01	2.00	0.10
	<i>Rhodobacter</i>	0.07	0.12	0.39	0.50	0.12	0.05	1.65
	<i>Rubrivivax</i>	0.11	0.04	0.08	0.03	0.05	0.02	0.01
	<i>Simplicispira</i>	0.00	0.06	0.09	0.03	0.02	0.25	0.20
	<i>Sulfuritalea</i>	0.34	0.13	0.49	0.43	0.27	0.09	0.42
	<i>Terrimonas</i>	0.17	0.49	1.84	0.38	0.15	0.05	0.32
	<i>Thauera</i>	0.01	0.07	0.59	0.19	0.01	0.09	0.55
	<i>Thermomonas</i>	0.04	0.03	0.21	9.19	0.02	0.01	8.93
	<i>Zoogloea</i>	0.00	0.02	0.14	0.00	0.00	0.17	0.00
	norank_c_OLB14	8.25	8.75	1.19	1.31	14.38	0.79	2.52

### 3 结论

① 双泥龄系统中厌氧氨氧化发生在填料生物膜上,活性为 44.60 mg/(gVSS·d),检测到的 AnAOB 为 *Candidatus Brocadia*,相对丰度为 0.28%;而氨氧化菌和亚硝酸盐氧化菌主要分布在悬浮污泥中,活性分别为 61.53、86.95 mg/(gVSS·d),AOB 和 NOB 的相对丰度分别为 0.10% 和 2.10%。

② 间歇曝气促进了短程硝化和厌氧氨氧化过程的耦合。当间歇曝气量为 20 mL/min 时,双泥

龄系统的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化速率和TIN去除速率分别为52.70 mg/(L·d)和56.88 mg/(L·d),脱氮效率达到最高,此过程中厌氧氨氧化菌的相对丰度由0.13%提高至0.28%。

### 参考文献:

- [1] LACKNER S, GILBERT E M, VLAEMINCK S E, *et al.* Full-scale partial nitrification/anammox experiences—an application survey [J]. *Water Research*, 2014, 55: 292–303.
- [2] LI J W, LI J L, GAO R T, *et al.* A critical review of one-stage anammox processes for treating industrial wastewater: optimization strategies based on key functional microorganisms [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 265: 498–505.
- [3] LI X, KLAUS S, BOTT C, *et al.* Status, challenges, and perspectives of mainstream nitrification–Anammox for wastewater treatment [J]. *Water Environment Research*, 2018, 90(7): 634–649.
- [4] PEETERS S H, VAN NIFTRIK L. Trending topics and open questions in anaerobic ammonium oxidation [J]. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2019, 49: 45–52.
- [5] DU Y, YU D, WANG X, *et al.* Achieving simultaneous nitrification, anammox and denitrification (SNAD) in an integrated fixed-biofilm activated sludge (IFAS) reactor: quickly culturing self-generated anammox bacteria [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 768: 144446.
- [6] WANG C, LIU S, XU X, *et al.* Achieving mainstream nitrogen removal through simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification process in an integrated fixed film activated sludge reactor [J]. *Chemosphere*, 2018, 203: 457–466.
- [7] 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, 36 (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, 36 (11): 1–8 (in Chinese).
- [8] YUAN Q, WANG K J, HE B P, *et al.* Spontaneous mainstream anammox in a full-scale wastewater treatment plant with hybrid sludge retention time in a temperate zone of China [J]. *Water Environment Research*, 2021, 93(6): 854–864.
- [9] 宫徽. 基于“碳源浓缩–氮源回收”的新型污水资源化工艺研究 [D]. 北京: 清华大学, 2017.  
GONG Hui. Novel Sustainable Sewage Treatment by “Organics Concentrating–Nitrogens Recovery” Process [D]. Beijing: Tsinghua University, 2017 (in Chinese).
- [10] DOSTA J, FERNÁNDEZ I, VÁZQUEZ-PADÍN J, *et al.* Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 154(1/3): 688–693.
- [11] CAO Y, VAN LOOSDRECHT M, DAIGGER G T. Mainstream partial nitrification–anammox in municipal wastewater treatment: status, bottlenecks, and further studies [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(4): 1365–1383.
- [12] 苑泉. 基于部分厌氧氨氧化的城市污水复合脱氮工艺研究 [D]. 北京: 清华大学, 2020.  
YUAN Quan. Research on a Partial Anammox-based Hybrid Nitrogen Removal Process Treating Municipal Wastewater [D]. Beijing: Tsinghua University, 2020 (in Chinese).
- [13] HUO T, ZHAO Y, TANG X, *et al.* Metabolic acclimation of anammox consortia to decreased temperature [J]. *Environment International*, 2020, 143: 105915.
- [14] BAE H, PAUL T, KIM D, *et al.* Specific ANAMMOX activity (SAA) in a sequencing batch reactor: optimization test with statistical comparison [J]. *Environmental Earth Sciences*, 2016, 75(22): 1–9.
- [15] LITTLETON H X, DAIGGER G T, STROM P F, *et al.* Simultaneous biological nutrient removal: evaluation of autotrophic denitrification, heterotrophic nitrification, and biological phosphorus removal in full-scale systems [J]. *Water Environment Research*, 2003, 75 (2): 138–150.
- [16] 李冬, 郭跃洲, 劳会妹, 等. 基于部分硝化的不同曝停频率下脱氮性能的比较 [J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2019, 51(8): 8–13.  
LI Dong, GUO Yuezhou, LAO Huimei, *et al.* Comparison of nitrogen removal performance based on partial nitrification at different frequencies of alternating aerobic/anoxic [J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2019, 51(8): 8–13 (in Chinese).
- [17] CEMA G, PŁAZA E, TRELA J, *et al.* Dissolved oxygen as a factor influencing nitrogen removal rates in a

- one-stage system with partial nitrification and Anammox process [J]. *Water Science and Technology*, 2011, 64 (5): 1009–1015.
- [18] GONZALEZ-GIL G, SOUGRAT R, BEHZAD A R, *et al.* Microbial community composition and ultrastructure of granules from a full-scale anammox reactor [J]. *Microbial Ecology*, 2015, 70(1): 118–131.
- [19] SOROKIN D Y, LÜCKER S, VEJMEJKOVA D, *et al.* Nitrification expanded: discovery, physiology and genomics of a nitrite-oxidizing bacterium from the phylum *Chloroflexi* [J]. *The ISME Journal*, 2012, 6 (12): 2245–2256.
- [20] KINDAICHI T, YURI S, OZAKI N, *et al.* Ecophysiological role and function of uncultured *Chloroflexi* in an anammox reactor [J]. *Water Science and Technology*, 2012, 66(12): 2556–2561.
- [21] FERNÁNDEZ-GOMEZ B, RICHTER M, SCHÜLER M, *et al.* Ecology of marine *Bacteroidetes*: a comparative genomics approach [J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(5): 1026–1037.
- [22] SHENG H, WENG R, ZHU J, *et al.* Calcium nitrate as a bio-stimulant for anaerobic ammonium oxidation process [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 760: 143331.
- [23] ZHAO Q, CHEN K, LI J, *et al.* Pilot-scale evaluation of partial denitrification/anammox on nitrogen removal from low COD/N real sewage based on a modified process [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 338: 125580.
- [24] CAO J, ZHANG T, WU Y, *et al.* Correlations of nitrogen removal and core functional genera in full-scale wastewater treatment plants: influences of different treatment processes and influent characteristics [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 297: 122455.
- [25] GAO R, PENG Y, LI J, *et al.* Improving performance and efficiency of partial anammox by coupling partial nitrification and partial denitrification (PN/A–PD/A) to treat municipal sewage in a step-feed reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 341: 125804.
- [26] SPEIRS L B, RICE D T, PETROVSKI S, *et al.* The phylogeny, biodiversity, and ecology of the *Chloroflexi* in activated sludge [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2015.
- [27] DEMIRKAYA E, CIFTCIOGLU B, OZYILDIZ G, *et al.* Comprehensive evaluation of starter culture impact on the bioreactor performance and microbial kinetics [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2022, 177: 108233.
- [28] UCAR D, YILMAZ T, DI CAPUA F, *et al.* Comparison of biogenic and chemical sulfur as electron donors for autotrophic denitrification in sulfur-fed membrane bioreactor (SMBR) [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 299: 122574.
- [29] LI S, LI D, YE X, *et al.* Effect of different operational modes on the performance of granular sludge in continuous-flow systems and the successions of microbial communities [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 299: 122573.
- [30] MORI J F, CHEN L X, JESSEN G L, *et al.* Putative mixotrophic nitrifying-denitrifying *Gammaproteobacteria* implicated in nitrogen cycling within the ammonia/oxygen transition zone of an oil sands pit lake [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2435.
- [31] NOUHA K. Characterization of extracellular polymeric substances (EPS) produced by *Cloacibacterium normanense* isolated from wastewater sludge for sludge settling and dewatering [J]. *Journal of Civil & Environmental Engineering*, 2016, 5(6): 1000191.
- [32] MA W J, LI G F, HUANG B C, *et al.* Advances and challenges of mainstream nitrogen removal from municipal wastewater with anammox-based processes [J]. *Water Environment Research*, 2020, 92 (11): 1899–1909.
- [33] WANG Z, ZHENG M, HU Z, *et al.* Unravelling adaptation of nitrite-oxidizing bacteria in mainstream PN/A process: mechanisms and counter-strategies [J]. *Water Research*, 2021, 200: 117239.

作者简介:李啸川(1998–),男,山东德州人,硕士研究生,主要研究方向为污水脱氮处理。

E-mail:ZQT2000302061@CUMTB.edu.cn

收稿日期:2022-04-10

修回日期:2022-09-29

(编辑:刘贵春)