

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2021.05.003

# 不同碳源驯化聚糖菌反硝化及 $N_2O$ 释放特性

巩有奎<sup>1,2</sup>, 李剑慧<sup>1</sup>, 李美玲<sup>1</sup>, 彭永臻<sup>2</sup>

(1. 烟台职业学院 建筑工程系, 山东 烟台 264670; 2. 北京工业大学 城镇污水深度处理与资源化利用技术国家工程实验室, 北京 100124)

**摘要:** 为了确定反硝化聚糖菌(DGAOs)的脱氮性能及  $N_2O$  释放特性,采用序批式生物反应器,分别以乙酸钠和葡萄糖为碳源(反应器分别记作  $SBR_{Ac}$  和  $SBR_{Gl}$ ),考察其脱氮过程中的碳源变化以及  $N_2O$  释放特性。结果表明, $SBR_{Ac}$  和  $SBR_{Gl}$  的总氮去除率分别为  $(80.2 \pm 2.8)\%$  和  $(63.4 \pm 3.5)\%$ ,  $N_2O$  产率分别为  $(7.16 \pm 1.43)\%$  和  $(13.35 \pm 2.46)\%$ 。以乙酸钠为碳源时,聚糖菌厌氧阶段吸收的有机物主要以胞内聚- $\beta$ -羟基烷酸(PHA)形式储存;以葡萄糖为碳源时,部分有机物用于胞内糖原(Gly)的积累,PHA 合成量减少。聚糖菌内源反硝化过程中,依次利用胞内 PHA 和 Gly 作为内碳源,且 PHA 提供电子的速率远大于 Gly,导致  $SBR_{Gl}$  内  $NO_2^-$  大量积累、 $N_2O$  释放量增加。 $NO_2^-$  对氧化亚氮还原酶活性的抑制效应是导致聚糖菌内源反硝化过程释放  $N_2O$  的主要因素。与葡萄糖相比,乙酸钠更易被反硝化聚糖菌吸收为易利用的内碳源 PHA,并降低反硝化过程中  $N_2O$  的释放量。

**关键词:** 反硝化聚糖菌; 内源反硝化;  $N_2O$  释放; 聚- $\beta$ -羟基烷酸; 胞内糖原

**中图分类号:** TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2021)05-0017-09

## Characteristics of Denitrification and $N_2O$ Emission of Acclimated Glycogen Accumulating Organisms under Different Carbon Sources

GONG You-kui<sup>1,2</sup>, LI Jian-hui<sup>1</sup>, LI Mei-ling<sup>1</sup>, PENG Yong-zhen<sup>2</sup>

(1. Department of Architecture Engineering, Yantai Vocational College, Yantai 264670, China; 2. National Engineering Laboratory for Advanced Municipal Wastewater Treatment and Reuse Technology, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China)

**Abstract:** In order to investigate the denitrification efficiency and  $N_2O$  emission characteristic of denitrifying glycogen accumulating organisms (DGAOs), variation of the endogenous polymer and  $N_2O$  emission characteristic during endogenous denitrification process were explored in two separated sequencing batch reactors ( $SBR_{Ac}$  and  $SBR_{Gl}$ ) using sodium acetate and glucose as carbon sources respectively. The total nitrogen removal efficiencies of  $SBR_{Ac}$  and  $SBR_{Gl}$  were  $(80.2 \pm 2.8)\%$  and  $(63.4 \pm 3.5)\%$ , and the  $N_2O$  yields were  $(7.16 \pm 1.43)\%$  and  $(13.35 \pm 2.46)\%$ , respectively. When sodium acetate was used as carbon source, organics absorbed by DGAOs in anaerobic stage was stored in the form of endogenous polyhydroxyalkanoate (PHA). When glucose was used as carbon source, part of the organics was used for intracellular glycogen (Gly) accumulation, and PHA synthesis

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(51508008); 烟职博士科研启动基金资助项目(2018002); 烟台职业学院 2021 年度横向课题

decreased. In the endogenous denitrification process of DGAOs, PHA and Gly were successively used as endogenous carbon sources, and the rate of electron supply by PHA was much higher than that of Gly, leading to accumulation of a large amount of  $\text{NO}_2^-$  and increase of  $\text{N}_2\text{O}$  emission in  $\text{SBR}_{\text{Gl}}$ . The inhibitory effect of  $\text{NO}_2^-$  on activity of nitrous oxide reductase was the main factor leading to  $\text{N}_2\text{O}$  emission during the endogenous denitrification of DGAOs. Compared with glucose, sodium acetate was more easily absorbed by DGAOs as an easily used endogenous carbon source PHA, and the emission of  $\text{N}_2\text{O}$  during denitrification was reduced.

**Key words:** denitrifying glycogen accumulating organisms; endogenous denitrification;  $\text{N}_2\text{O}$  emission; polyhydroxyalkanoate; glycogen

反硝化除磷工艺集反硝化生物脱氮和除磷为一体<sup>[1]</sup>,在厌氧段,反硝化聚磷菌(DPAOs)利用糖原(Gly)降解产生能量和还原力,吸收污水中的有机物,并将其转化为聚- $\beta$ -羟基烷酸(PHA)等内碳源储存于微生物细胞内,同时释磷;在缺氧段,DPAOs以PHA为电子供体、以 $\text{NO}_3^-$ 或 $\text{NO}_2^-$ 为电子受体完成吸磷过程,在硝态氮还原酶(Nar)、亚硝态氮还原酶(Nir)、一氧化氮还原酶(Nor)和氧化亚氮还原酶(Nos)的作用下,按 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}$ 、 $\text{N}_2\text{O}$ 的顺序,分步骤还原至 $\text{N}_2$ ,同时合成糖原,以满足下一厌氧阶段所需的能量。

除DPAOs外,强化生物除磷系统内还存在一类与其降解功能类似的微生物——反硝化聚糖菌(DGAOs)。DGAOs能够将外碳源转化为内碳源(PHA和Gly),并在缺氧段完成反硝化过程。两者的主要区别在于DGAOs脱氮过程中无释磷和吸磷现象。利用DGAOs储存内碳源及其反硝化性能,减少缺氧阶段外碳源投加量,是降低脱氮过程运行费用的重要途径<sup>[2-3]</sup>。

微生物内碳源合成量和类型受污水中碳源种类的影响,从而引起内源反硝化过程脱氮性能的变化。在缺氧反硝化过程中,环境条件(DO、C/N、碳源种类、pH值)的变化,可能导致 $\text{N}_2\text{O}$ 的大量释放<sup>[4-5]</sup>。 $\text{N}_2\text{O}$ 是一种重要的温室气体,其温室效应是 $\text{CO}_2$ 的260~320倍<sup>[4-6]</sup>。已有研究表明,与外碳源反硝化过程相比,内碳源反硝化过程中,内碳源提供电子的速率降低,更易出现不同还原酶之间的电子竞争和 $\text{N}_2\text{O}$ 的积累<sup>[7-8]</sup>。鉴于此,笔者通过控制进水碳磷比(C/P),以厌氧-好氧运行方式成功驯化GAOs后,分别以乙酸钠(Ac)和葡萄糖(Gl)作为驯化碳源,以 $\text{NO}_3^-$ 作为电子受体,采用厌氧-缺氧运行方式驯化DGAOs,并考察了不同碳源驯化DGAOs的

内源反硝化过程及 $\text{N}_2\text{O}$ 释放特性,以期降低DGAOs内源反硝化过程的 $\text{N}_2\text{O}$ 释放提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验装置及运行方式

试验采用序批式生物反应器(SBR)。阶段I的反应器( $\text{SBR}_{\text{G}}$ )有效容积为12 L,充水比为2:5,用于富集GAOs,如图1所示。 $\text{SBR}_{\text{G}}$ 运行方式为:进水(5 min)、厌氧(145 min)、沉淀(25 min)、排水(5 min)、进水(无碳源,5 min)、好氧(85 min)、沉淀(25 min)、排水(5 min)、闲置(60 min),以PLC装置自动控制各过程, $\text{SBR}_{\text{G}}$ 运行周期为360 min,每天运行4个周期。每周运行过程中,厌氧阶段沉淀结束后,排除富含 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的上清液,驯化GAOs。

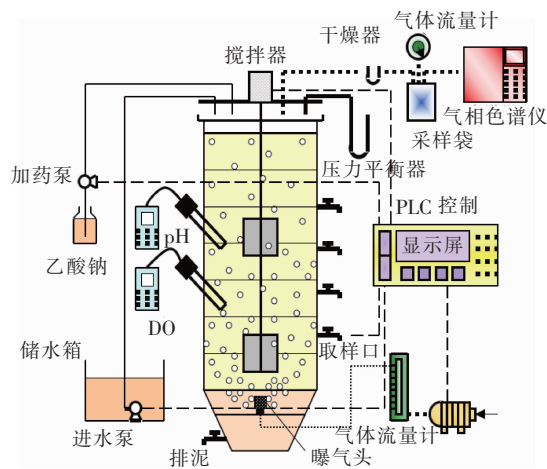


图1 试验装置

Fig. 1 Schematic diagram of sequencing batch reactor

阶段II分别采用乙酸钠和葡萄糖作为初始碳源驯化DGAOs,相应的反应器分别记作 $\text{SBR}_{\text{Ac}}$ 和 $\text{SBR}_{\text{Gl}}$ ,反应器有效容积为2.5 L,设置形式与 $\text{SBR}_{\text{G}}$ 相同,主要考察不同碳源驯化后DGAOs的内源反硝化特性。反应器的运行方式为:进水(5 min)、厌氧

( $N_2$  曝气,  $SBR_{Ac}$ :85 min;  $SBR_{Cl}$ :235 min)、沉淀+排水(30 min)、进水(10 min)、缺氧( $N_2$  曝气, 410 min)、沉淀(20 min)、排水(10 min)、闲置( $SBR_{Ac}$ :150 min;  $SBR_{Cl}$ :0 min)。 $SBR_{Ac}$ 和 $SBR_{Cl}$ 每天运行2个周期。厌氧阶段结束后,沉淀并排除上清液,以防止微生物利用上清液中的外碳源进行反硝化。缺氧阶段反应器内分别加入等量 $NaNO_3$ ,利用厌氧阶段DGAOs储存的内碳源进行反硝化。

表1 模拟废水成分

Tab.1 Composition of simulated wastewater

 $mg \cdot L^{-1}$ 

项目	$C_6H_{12}O_6/CH_3COONa$	$KH_2PO_4$	$NaHCO_3$	$ZnSO_4$	$NH_4Cl$	$MgSO_4$	$FeCl_3$	EDTA	$CaCl_2$	$MnCl_2$	KI
数值	$160 \pm 20$	5.65	0.5	0.1	15	20	2.0	0.2	15	0.1	0.15

### 1.3 测试项目及方法

$SBR_{Ac}$ 和 $SBR_{Cl}$ 反应器均采用密闭方式运行。反应过程中所有气体经气体干燥剂后收集至气体采样袋。试验过程中,每隔30 min更换一次采样袋,同时取10 mL泥水混合液,至反应结束。采用湿式流量计测定采样袋内收集的气体体积,采用气相色谱仪(Agilent, 6890N)测定气相 $N_2O$ 浓度,以顶空法计算溶解态 $N_2O$ 浓度<sup>[9]</sup>。COD、 $NO_3^- - N$ 、 $NO_2^- - N$ 和MLVSS采用国家标准方法测定。用气相色谱仪测定聚- $\beta$ -羟基丁酸(PHB)和聚- $\beta$ -羟基戊酸(PHV),两者之和为PHA;采用蒽酮法测定糖原。

## 2 试验结果与讨论

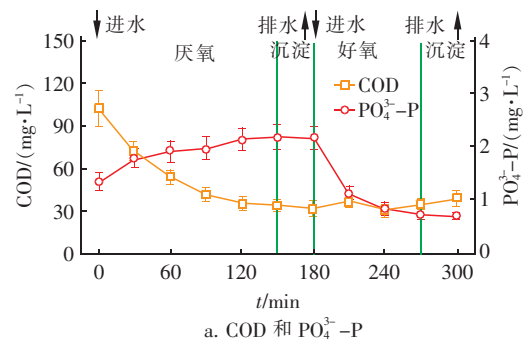
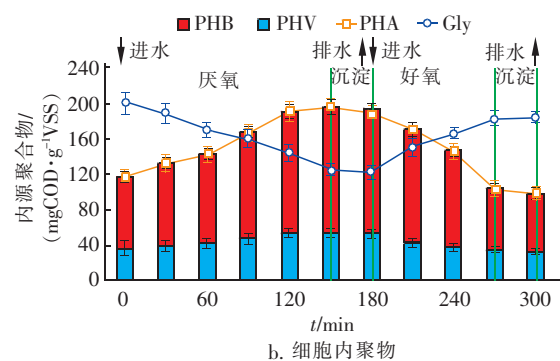
### 2.1 GAOs富集结束后污染物及内源物的变化

图2所示为GAOs富集结束后典型周期内污染物及内源物的变化。厌氧阶段,有机物被迅速吸收,150 min内, $SBR_C$ 中COD由 $(102 \pm 13) mg/L$ 降至 $(34 \pm 4) mg/L$ ,磷酸盐含量由 $(1.35 \pm 0.17) mg/L$ 增至 $(2.19 \pm 0.23) mg/L$ ,释磷量仅为 $(0.84 \pm 0.19) mg/L$ ,远小于接种污泥的释磷量 $[(8.52 \pm 2.12) mg/L]$ ,单位COD的释磷量也由 $(0.125 \pm 0.031) mgP/mgCOD$ 降至 $(0.012 \pm 0.003) mgP/mgCOD$ ,表明驯化结束后,厌氧阶段有机物快速吸收所需的能量并非来自于胞内Poly-P的水解,接种污泥的生物除磷性能已破坏,厌氧阶段有机物的去除主要由GAOs完成<sup>[10]</sup>。GAOs驯化过程中,厌氧阶段Gly由 $(199.7 \pm 13.21) mgCOD/gVSS$ 降至 $(124.9 \pm 6.56) mgCOD/gVSS$ ,Gly降解产生有机物吸收所需的能量和还原力,有机物快速被吸收,并以PHA(PHB+PHV)的形式储存在细胞内。厌氧结束时,PHA达最大值,由 $(116.6 \pm 9.0) mgCOD/gVSS$

### 1.2 接种污泥及水质

以实验室具有良好脱氮除磷性能的污泥作为接种污泥。阶段I,采用乙酸钠对接种污泥进行驯化,加入少量磷元素达到磷限制条件,同时加入少量微量元素营养液以促进GAOs的生长(见表1)。阶段II,模拟废水成分和微量元素同阶段I,在厌氧结束后,向 $SBR_{Ac}$ 和 $SBR_{Cl}$ 中分别加入 $NaNO_3$ ,控制初始 $NO_3^- - N$ 浓度为 $30 mg/L$ ,进行缺氧内源反硝化。

增至 $(195.4 \pm 10.6) mgCOD/gVSS$ 。PHB含量约为PHV含量的2.6倍,这与GAOs以乙酸钠作为基质进行代谢的特征有关<sup>[11-12]</sup>。利用乙酸作为唯一碳源,GAOs厌氧过程糖酵解和乙酸活化过程中,主要产生PHB和PHV的前驱物乙酰辅酶A<sup>[13]</sup>。

a. COD和 $PO_4^{3-}-P$ 

b. 细胞内聚物

图2  $SBR_C$ 典型周期内COD、 $PO_4^{3-}-P$ 及细胞内聚物的变化Fig.2 Change of COD,  $PO_4^{3-}-P$  and intracellular polymers in typical cycles of  $SBR_C$ 

厌氧结束后,排除表面高含磷上清液,加入不含磷和有机的模拟废水,好氧曝气,进一步驯化GAOs。在磷限制条件下,好氧阶段微生物吸磷量仅为 $(1.42 \pm 0.11) mg/L$ ,PAOs在好氧时不能在细胞

内充分积累 Poly-P, 导致厌氧时能量不足, 影响 PAOs 吸收 VFAs 合成 PHA 过程。进入好氧阶段, 微生物胞内聚合物进行好氧代谢过程, PHA 含量降至  $(98.3 \pm 7.9) \text{ mgCOD/gVSS}$ , 同时, 胞内合成糖原, Gly 增至  $(183.9 \pm 6.2) \text{ mgCOD/gVSS}$ 。

接种具有生物除磷性能的污泥经长时间驯化后,  $\text{SBR}_\text{C}$  反应周期内, 厌氧阶段快速吸收有机物, 分解 Gly, 合成 PHA 且无磷释放; 好氧阶段, PHA 分解并合成 Gly, 且无聚磷发生, 表明  $\text{SBR}_\text{C}$  内 GAOs 已成为优势微生物<sup>[12,14]</sup>。

## 2.2 不同碳源驯化 DGAOs 的启动及稳定运行

GAOs 驯化结束, 取  $\text{SBR}_\text{C}$  内部分污泥平均分成两份, 分别加入  $\text{SBR}_\text{Ac}$  和  $\text{SBR}_\text{Gl}$  中, 控制反应器内 MLVSS 为  $(2\,500 \pm 300) \text{ mg/L}$ , 采用不同碳源驯化 DGAOs, 内源反硝化及  $\text{N}_2\text{O}$  释放特性见图 3。

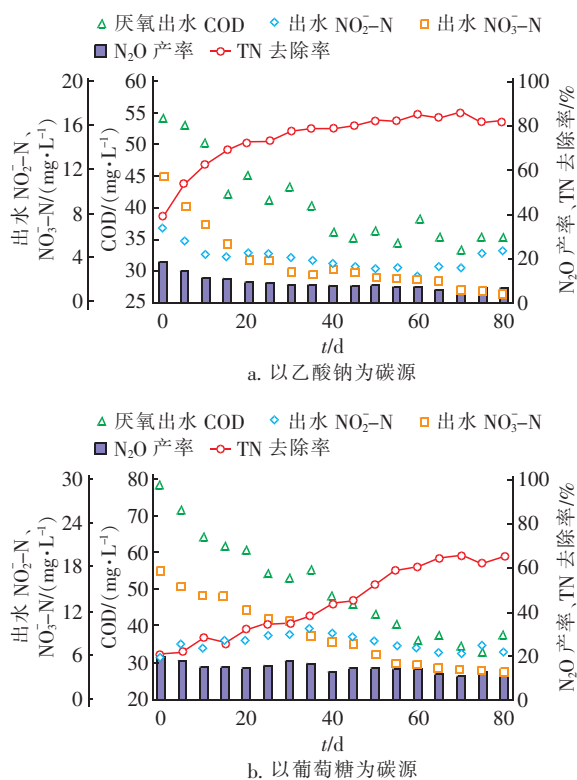


图3 以乙酸钠和葡萄糖为碳源驯化 DGAOs 的内源反硝化及  $\text{N}_2\text{O}$  释放特性

Fig.3 Endogenous denitrification and  $\text{N}_2\text{O}$  emission characteristics during acclimation of DGAOs with sodium acetate and glucose as carbon sources

在  $\text{SBR}_\text{Ac}$  中, 厌氧时间由 145 min 降至 85 min, DGAOs 驯化阶段厌氧出水 COD 增至 55  $\text{mg/L}$  左右, 厌氧阶段有机物去除量降低, 内源聚合物合成量

减少, 从而影响 DGAOs 的内源反硝化过程, TN 去除率仅为 39.3%。驯化 40 d 后, 厌氧结束, COD 降至 35  $\text{mg/L}$  左右, 此后不再变化。缺氧阶段主要以微生物胞内聚合物 (PHA) 作为电子供体, 发生内源反硝化。阶段 I 中, GAOs 驯化过程采用乙酸钠作为碳源, 大部分 GAOs 能够对其实现快速吸收并转化为体内 PHA, DGAOs 驯化所需时间较短; 与乙酸钠相比, 葡萄糖碳链较长, 且以 VFAs 驯化出的 GAOs 对葡萄糖冲击存在适应过程<sup>[15]</sup>。因此, 在  $\text{SBR}_\text{Gl}$  中, 尽管厌氧时间由 85 min 增至 235 min, 启动初期,  $\text{SBR}_\text{Gl}$  厌氧结束时, 其剩余 COD 仍达 80  $\text{mg/L}$ , 经过 60 d 的驯化, 厌氧阶段完成葡萄糖的吸收, 其 COD 降至 35  $\text{mg/L}$  左右, 此后 COD 不再下降。

厌氧过程结束, DGAOs 以加入的  $\text{NO}_3^-$  作为电子受体, 以内源聚合物 (PHA 和 Gly) 为电子供体, 进行反硝化过程。微生物种群结构或者微生物体内酶活性发生变化, 系统内逐渐驯化出以  $\text{NO}_3^-$  作为电子受体的 DGAOs,  $\text{SBR}_\text{Ac}$  和  $\text{SBR}_\text{Gl}$  中的 DGAOs 内源反硝化能力均逐渐增强, TN 去除率分别增至  $(80.2 \pm 2.8)\%$  和  $(63.4 \pm 3.5)\%$ 。DGAOs 以胞内 PHA 进行缺氧代谢, 提供能量满足菌体增长并合成 Gly, 为下一周期厌氧阶段提供能量储备。SBR 内以乙酸为碳源时, 有利于胞内 PHA 的积累, 而以葡萄糖为碳源时, 更多碳源用于 Gly 的积累<sup>[16]</sup>。在  $\text{SBR}_\text{Gl}$  中, 由短链 VFAs 调整为葡萄糖, 其内源反硝化过程中 PHA 含量降低, 反硝化过程中的电子提供速率下降<sup>[17]</sup>, 故 TN 去除率小于  $\text{SBR}_\text{Ac}$  中的。

缺氧反硝化阶段反应器内出现了不同程度的  $\text{NO}_2^-$  积累。DGAOs 对  $\text{NO}_3^-$  的还原能力远大于其对  $\text{NO}_2^-$  的还原能力, 当反硝化存在多种电子受体时, Nar 获得电子的能力最强, 从而导致反硝化中间产物积累。DGAOs 反硝化过程中,  $\text{NO}_3^-$  的加入抑制了  $\text{NO}_2^-$  的还原, 导致  $\text{NO}_2^-$  的还原速率迅速降低<sup>[18]</sup>。同时, 部分 GAOs, 如 *Candidatus Competibacter*, 能够将  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  还原至  $\text{N}_2$ , 另一部分 GAOs, 如 *Candidatus Contendobacter odensis*, 只能将  $\text{NO}_3^-$  还原至  $\text{NO}_2^-$ <sup>[19]</sup>, 这也是 DGAOs 内源反硝化过程中  $\text{NO}_2^-$  积累的原因之一。

内碳源降解速率是可溶性外源 COD 的  $1/20 \sim 1/6$ , 内源反硝化过程中, 即使微生物体内储存足够的内碳源, 以保证  $\text{NO}_3^-$  完全还原, 内源聚合物的电子提供速率降低也会导致反硝化过程中间产物的积



累。随着厌氧反应时间的变化,DPAOs内源反硝化过程的 $N_2O$ 产率在4.52%~6.43%之间,远大于以外源有机物为碳源时 $N_2O$ 的释放量<sup>[7]</sup>。除内源物的降解速率外,其积累量也是影响 $N_2O$ 释放的重要因素。内源物含量降低,其提供的电子减少,中间产物的积累量增加。SBR<sub>Ac</sub>驯化阶段,PHA的增量由 $(38.9 \pm 4.8)$  mgCOD/gVSS增加至 $(48.0 \pm 5.2)$  mgCOD/gVSS, $N_2O$ 产率则由 $(16.40 \pm 2.47)\%$ 降至 $(6.63 \pm 1.65)\%$ ;SBR<sub>Cl</sub>驯化结束后,内源物PHA的积累量仅为 $(15.9 \pm 1.12)$  mgCOD/gVSS, $N_2O$ 产率增至 $(12.21 \pm 2.25)\%$ 。Zhao等以 $NO_2^-$ 和 $NO_3^-$ 作为电子受体时发现,C/N值增加, $N_2O$ 释放量降低<sup>[20]</sup>。内源聚合物合成量增加,可提供更多电子以促进 $N_2O$ 的还原,降低其产率。

### 2.3 SBR<sub>Ac</sub>内源反硝化典型周期的运行特性

图4所示为SBR<sub>Ac</sub>稳定运行阶段典型周期内的内源物变化、反硝化过程以及 $N_2O$ 释放特性。

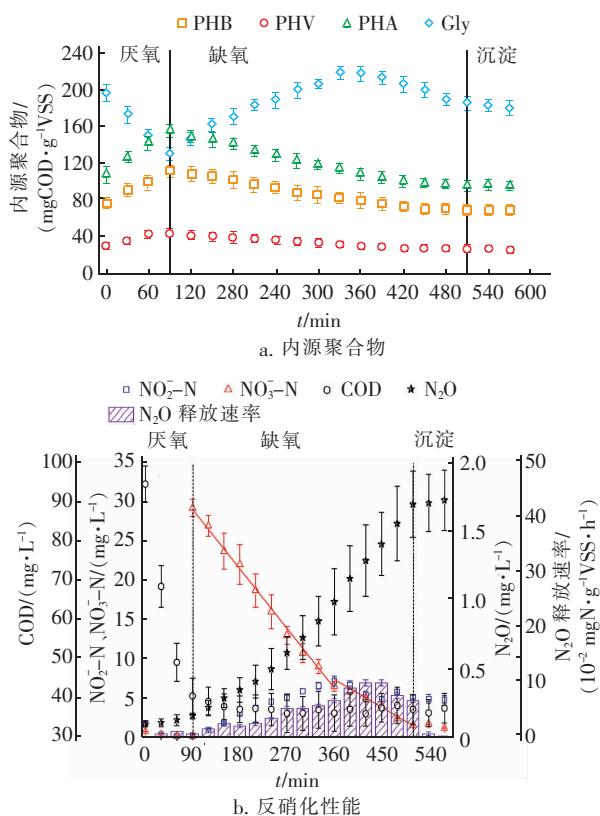


图4 SBR<sub>Ac</sub>典型周期内的内源聚合物变化及反硝化性能

Fig. 4 Variation of intracellular polymers and denitrification performance in typical cycle of SBR<sub>Ac</sub>

厌氧阶段,DGAOs胞内糖原由195.7 mgCOD/gVSS下降至129.5 mgCOD/gVSS,PHA则由106.6

mgCOD/gVSS增至154.6 mgCOD/gVSS。乙酸作为唯一碳源时,GAOs利用胞内糖原降解产生的能量和还原力,通过主动运输方式将有机物吸收,并以PHA(PHB+PHV)的形式储存在细胞内。

缺氧阶段,反应器内发生内源反硝化过程。根据内源聚合物和 $NO_3^- - N$ 的变化特性,可将其分为两个阶段。阶段1(90~360 min),PHA迅速降低,为 $NO_3^- - N$ 还原提供电子供体,其中,PHB由110.9 mgCOD/gVSS降至78.6 mgCOD/gVSS,PHV由43.7 mgCOD/gVSS降至29.5 mgCOD/gVSS,DGAOs主要利用PHB进行内源反硝化。同时, $NO_3^- - N$ 由29.1 mg/L降至6.4 mg/L,线性拟合其还原速率为5.04 mgN/(gVSS·h), $NO_2^- - N$ 由0.07 mg/L增至3.87 mg/L。该阶段,Gly含量由125.9 mgCOD/gVSS增至216.9 mgCOD/gVSS,为接下来DGAOs吸收并储存内碳源提供能量和还原力。阶段2(360~510 min),PHA变化不大,少量PHA的降解用来维持微生物活性,阶段1积累的Gly降至179.9 mgCOD/gVSS。该阶段内源反硝化电子供体来自于胞内Gly的降解,该过程中, $NO_3^- - N$ 还原速率降至2.28 mgN/(gVSS·h),电子提供速率的降低也导致反硝化过程中 $NO_2^- - N$ 积累量由3.87 mg/L(360 min)增至7.68 mg/L(450 min)。此后,Gly提供电子的速率不变, $NO_3^- - N$ 浓度降低,流向 $NO_2^- - N$ 的电子增加,其浓度降至3.69 mg/L。Miao等<sup>[17]</sup>也发现,GAOs内源反硝化还原 $NO_2^- - N$ 的过程中,PHA和Gly均可作为电子供体,且PHA优先于Gly被降解。崔有为等人则指出,以乙酸钠为碳源,采用好氧盛宴/缺氧饥饿模式驯化DGAOs,反硝化阶段Gly并没有参与内源反硝化过程<sup>[16]</sup>。其主要原因可能是驯化过程中进水有机物浓度为500 mg/L,微生物体内积累了大量PHA,反硝化过程优先利用PHA作为电子供体,缺氧段末期未发生Gly的降解过程。

在SBR<sub>Ac</sub>内源反硝化过程中, $N_2O$ 的释放量为 $(1.72 \pm 0.32)$  mg/L,产率为 $(7.16 \pm 1.43)\%$ 。传统反硝化过程中,提供充足的反硝化外碳源,并保证缺氧条件,反硝化过程不会产生 $N_2O$ 的积累<sup>[21]</sup>。以内碳源作为电子供体,电子提供速率下降,反硝化初期即出现 $N_2O$ 积累并释放现象。反硝化阶段, $NO_2^- - N$ 积累量由0.07 mg/L(90 min)先增至7.68 mg/L(450 min)后降至3.78 mg/L(540 min), $N_2O$ 释放速率也呈先增大后减小的趋势,最大释放速率

为  $(9.78 \pm 0.67) \times 10^{-2} \text{ mgN}/(\text{gVSS} \cdot \text{h})$  (450 min), 且与  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  积累存在明显正相关性。反硝化后期, PHA 降至最低, 此后以 Gly 为内碳源, 电子提供速率降低, 并未导致  $\text{N}_2\text{O}$  释放速率迅速增加, 表明电子提供速率下降并不是导致  $\text{N}_2\text{O}$  释放速率增加的唯一因素。内源反硝化过程中, 溶解态  $\text{N}_2\text{O}$  和  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  在同一时间达到最大值, 当  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  降至最低值时, 溶解态  $\text{N}_2\text{O}$  降至 0<sup>[22-23]</sup>。Pan 等认为, 反硝化过程中, Nos 对电子的亲合力弱于 Nir, 加入  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  会导致  $\text{N}_2\text{O}$  积累和释放量迅速增加<sup>[8]</sup>。DGAOs 脱氮过程中  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  和  $\text{N}_2\text{O}$  的同时积累表明,  $\text{NO}_2^- - \text{N}/\text{HNO}_2$  对 Nos 具有抑制作用。

## 2.4 SBR<sub>Gl</sub> 内源反硝化典型周期的运行特性

以葡萄糖为碳源驯化 DGAOs, 其内源物质变化、反硝化过程及  $\text{N}_2\text{O}$  释放特性如图 5 所示。

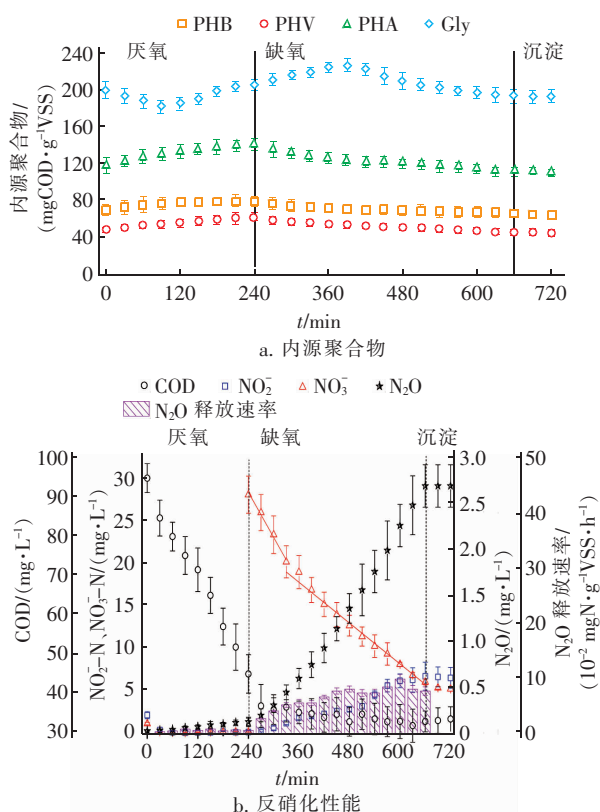


图5 SBR<sub>Gl</sub> 典型周期内的内源聚合物变化及反硝化性能  
Fig.5 Variation of intracellular polymers and denitrification performance in typical cycles of SBR<sub>Gl</sub>

厌氧初期, 胞内糖原减少量为  $(18.4 \pm 4.6) \text{ mgCOD/gVSS}$ , 随后逐渐上升至  $(204.9 \pm 6.1) \text{ mgCOD/gVSS}$ 。基质内含有葡萄糖时, 聚糖菌可同时利用糖类基质和胞内糖原酵解产能。厌氧阶段细

胞所需能量除由糖原酵解产生外, 一部分葡萄糖通过酵解产能将以主动运输方式将剩余葡萄糖运输进入细胞并合成糖原。厌氧反应后期, SBR<sub>Gl</sub> 内仍存在部分剩余葡萄糖, GAOs 可直接对其吸收利用为合成 PHAs 提供还原力, 剩余还原力用于合成糖原, 导致胞内糖原随厌氧有机物的吸收而逐渐增加。Pijuan 等<sup>[15]</sup> 在考察乙酸和丙酸长期驯化生物除磷系统对葡萄糖代谢时, 也出现了厌氧后期糖原含量升高的现象。胞内糖原或葡萄糖酵解产生的能量及还原力将酵解产物合成为 PHA, 其 PHA 增量仅为  $(22.9 \pm 2.7) \text{ mgCOD/gVSS}$ , 表明以葡萄糖作为有机底物时, 聚糖菌合成储存的胞内多聚物主要组分并非 PHB 和 PHV。

与 SBR<sub>Ac</sub> 类似, 在 SBR<sub>Gl</sub> 内, 厌氧阶段积累的 PHA 和 Gly 在缺氧段先后被消耗。PHA 在缺氧前 90 min 内被消耗降至最低水平, 该过程去除了 28.2% 的  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ,  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  还原速率为  $5.28 \text{ mgN}/(\text{gVSS} \cdot \text{h})$ 。以葡萄糖作为碳源驯化 DGAOs, 胞内积累大量 Gly, 而后胞内 Gly 继续降解提供电子, 用于后续反硝化脱氮过程, 其反硝化速率为  $2.40 \text{ mgN}/(\text{gVSS} \cdot \text{h})$ 。至反应结束时, 其  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  去除率为  $(81.6 \pm 4.2)\%$ , TN 去除率为  $(58.5 \pm 3.6)\%$ 。对比 SBR<sub>Ac</sub>, SBR<sub>Gl</sub> 内 PHA 积累量由  $(48.0 \pm 5.2) \text{ mgCOD/gVSS}$  降至  $(22.9 \pm 2.7) \text{ mgCOD/gVSS}$ , 且厌氧后期出现了 Gly 的合成。与 PHA 相比, Gly 较难作为反硝化碳源被微生物所利用, 从而导致相同反硝化时间内, SBR<sub>Gl</sub> 内的 TN 去除率较低。SBR<sub>Gl</sub> 内  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  最大积累量为  $(6.65 \pm 1.65) \text{ mg/L}$ , 且反应末期未出现  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  的还原现象。以乙酸和葡萄糖驯化的活性污泥系统内, 其内源反硝化过程均会出现  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  的积累, 且乙酸驯化 SBR 系统内的  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  积累量更大, 其原因是 Nar 对电子的亲合力大于 Nir, 微生物表现出更强的  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  还原速率<sup>[16]</sup>。活性污泥系统内源反硝化过程中, 只要系统内存在  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ , Nar 上的电子分布率始终最大, 表明内源反硝化阶段产生的电子较多地流向了 Nar, Nar 在有限的电子竞争过程中占有明显优势<sup>[24]</sup>。在本研究中, SBR<sub>Gl</sub> 内部 PHA 含量降低, 提供电子的能力下降, 导致反硝化过程中  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  的积累。反应后期, 系统内仍存在  $6 \text{ mg/L}$  以上的  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  未被还原, 其获得电子的能力大于  $\text{NO}_2^- - \text{N}$ , SBR<sub>Gl</sub> 内未

出现如 $SBR_{Ac}$ 内部反硝化后期 $NO_2^- - N$ 浓度降低的现象。

在 $SBR_{Cl}$ 内 $N_2O$ 产生速率与 $NO_2^- - N$ 积累量存在正相关关系,如图5(b)所示。在缺氧阶段末期, $NO_2^- - N$ 积累量增至 $(6.57 \pm 1.17) \text{ mg/L}$ , $N_2O$ 增至 $(2.68 \pm 0.23) \text{ mg/L}$ , $N_2O$ 产率为 $(13.35 \pm 2.46)\%$ , $N_2O$ 释放速率由 $(0.22 \pm 0.05) \times 10^{-2} \text{ mgN/(gVSS} \cdot \text{h)}$ 逐渐增至 $(9.71 \pm 0.87) \times 10^{-2} \text{ mgN/(gVSS} \cdot \text{h)}$ ,高 $NO_2^- - N$ 导致高 $N_2O$ 释放速率。在 $SBR_{Cl}$ 内,PHA在缺氧开始后的90 min内即达到最低值,与PHA降解相比,Gly降解提供电子的速率下降,反硝化过程中 $NO_2^- - N$ 积累量增加。在反硝化电子传递中,Nar从 $UQ/UQH_2$ 体系电子传递过程中直接获得电子,Nir和Nos则均从细胞色素氧化体系(c550)电子传递过程中获得电子。细胞色素氧化酶作为末端作用过程,其电子同样来自于 $UO/UQH_2$ ,这可能是电子传递过程中Nar捕获电子的能力大于Nir的主要原因<sup>[8]</sup>。 $SBR_{Cl}$ 的反硝化过程末期,未出现 $NO_2^- - N$ 还原现象,也未出现 $N_2O$ 释放速率下降现象。因此,在本研究的 $NO_3^- - N$ 内源反硝化过程中,电子提供速率降低导致反硝化过程出现高浓度 $NO_2^- - N$ 的积累,从而抑制Nos活性,导致 $N_2O$ 释放速率增加。

$NO_2^- - N$ 对 $N_2O$ 的还原具有抑制作用,但其抑制机理尚不明确。部分研究认为, $NO_2^- - N$ 和 $N_2O$ 还原过程中,Nir和Nos同时从c550电子传递中获得电子,两者之间存在明显的电子竞争,作为反硝化阶段的最末端, $N_2O$ 还原处于劣势,导致其积累<sup>[8]</sup>。以外碳源作为电子供体时,在Nir和Nos之间存在电子竞争现象,而以内碳源作为电子供体,在

DGAOs反硝化过程中,电子在Nir和Nos之间的分配不随电子提供速率的降低而改变,DPAOs内源反硝化过程中,PHA降解速率的减少并不会加剧Nir和Nos之间的电子竞争, $NO_2^-$ 的还原速率始终是 $N_2O$ 还原速率的1.6倍,高浓度 $NO_2^- - N$ 的积累抑制Nos的活性,才是导致 $N_2O$ 释放的主要原因<sup>[22]</sup>。也有研究指出, $NO_2^- - N$ 还原过程中,真正抑制 $N_2O$ 还原的物质是游离亚硝酸(FNA)。FNA与含 $Cu^+$ 的 $N_2OR$ 的金属中心发生反应,从而破坏Nos催化活性,导致电子传递过程受阻,引起 $N_2O$ 积累<sup>[24]</sup>。

表2所示为不同基质驯化厌氧结束后有机物吸收及胞内聚合物的变化情况。在 $SBR_{Ac}$ 内,厌氧阶段伴随有机物吸收,胞内糖原降低。厌氧结束后,其单位污泥吸收有机物量为 $25.1 \text{ mgCOD/gVSS}$ ,单位污泥合成PHA量为 $(48.0 \pm 5.2) \text{ mgCOD/gVSS}$ ,消耗糖原量为 $(66.2 \pm 5.6) \text{ mgCOD/gVSS}$ ;吸收单位基质的糖原消耗量为 $(2.63 \pm 0.21) \text{ mg/mg}$ ,单位基质PHA合成量为 $(1.91 \pm 0.23) \text{ mg/mg}$ 。以乙酸钠为唯一基质时,聚糖菌主要利用胞内糖原降解产生能量和还原力,以主动运输形式将有机基质吸收到胞内并以PHA形式储存。以葡萄糖为基质时,厌氧阶段吸收有机基质,单位污泥吸收有机物量下降至 $(18.1 \pm 3.2) \text{ mgCOD/gVSS}$ ,胞内糖原增加 $(5.1 \pm 1.8) \text{ mgCOD/gVSS}$ ,表明厌氧阶段葡萄糖吸收所需能量和还原力并非全部来自Gly的酵解过程。厌氧阶段后期,一部分外源有机物可直接进入胞内合成糖原并用于产能,以葡萄糖为唯一碳源,其PHA合成量仅为 $(1.27 \pm 0.12) \text{ mg/mg}$ ,其产生的内碳源不易被后续内源反硝化过程所利用<sup>[7,17]</sup>,从而导致反硝化过程副产物不同程度的积累和释放。

表2 不同基质厌氧有机物吸收及胞内物质储存特性

Tab.2 Anaerobic organillar polymer storage in two DGAOs SBR

项 目	COD 同化量/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{VSS}$ )	糖原消耗量/ ( $\text{mgCOD} \cdot \text{g}^{-1} \text{VSS}$ )	PHA 合成量/ ( $\text{mgCOD} \cdot \text{g}^{-1} \text{VSS}$ )	糖原消耗量/ COD 同化量	PHA 合成量/ COD 同化量
乙酸钠	$25.1 \pm 4.3$	$66.2 \pm 5.6$	$48.0 \pm 5.2$	$2.63 \pm 0.21$	$1.91 \pm 0.23$
葡萄糖	$18.1 \pm 3.2$	$-5.1 \pm 1.8$	$22.9 \pm 2.7$	$-0.28 \pm 0.07$	$1.27 \pm 0.12$

### 3 结论

① 通过厌氧-好氧(厌氧后排水)运行方式驯化GAOs,在限磷条件下,成功抑制了PAOs生长,厌氧释磷量和好氧吸磷量分别为 $(0.84 \pm 0.19) \text{ mg/L}$ 和 $(1.42 \pm 0.11) \text{ mg/L}$ 。在厌氧-缺氧条件下,分别以乙酸钠和葡萄糖为碳源,驯化出DGAOs。

乙酸钠驯化内聚物以PHA为主,PHB约为PHV的2.6倍;葡萄糖驯化内聚物以Gly为主。在 $SBR_{Ac}$ 和 $SBR_{Cl}$ 内,内源反硝化过程对TN的去除率分别为 $(80.2 \pm 2.8)\%$ 和 $(63.4 \pm 3.5)\%$ , $N_2O$ 产率分别为 $(7.16 \pm 1.43)\%$ 和 $(13.35 \pm 2.46)\%$ 。

② 采用不同碳源驯化,DGAOs反硝化过程均



出现了  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  积累和  $\text{N}_2\text{O}$  释放现象。DGAOs 驯化过程中,随着内聚物积累量增加,不同碳源驯化内源反硝化过程的  $\text{N}_2\text{O}$  产率逐渐降低。 $\text{N}_2\text{O}$  释放速率与反硝化过程中  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  积累呈正相关。PHA 和 Gly 依次作为内碳源被 DGAOs 利用,以葡萄糖为碳源时,DGAOs 内 PHA 合成量降低,反硝化后期以 Gly 作为电子供体,提供电子速率下降。DGAOs 内源反硝化过程中,电子提供速率降低耦合高浓度  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  对 Nos 活性的抑制作用,是导致  $\text{N}_2\text{O}$  产率增加的主要原因。

### 参考文献:

- [1] AHN J, SCHROEDER S, BEER M, *et al.* Ecology of the microbial community removing phosphate from wastewater under continuously aerobic conditions in a sequencing batch reactor [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73 (7): 2257 – 2270.
- [2] HOSSAIN M I, CHENGL, CORD-RUWISCH R. Energy efficient COD and N-removal from high-strength wastewater by a passively aerated GAO dominated biofilm [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 283: 148 – 158.
- [3] JI J T, PENG Y Z, WANG B, *et al.* Achievement of high nitrite accumulation via endogenous partial denitrification (EPD) [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 224: 140 – 146.
- [4] SABBA F, TERADA A, WELLS G, *et al.* Nitrous oxide emissions from biofilm processes for wastewater treatment [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102: 9815 – 9829.
- [5] DOMINGO-FÉLEZ C, SMETSB F. Regulation of key  $\text{N}_2\text{O}$  production mechanisms during biological water treatment [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 57: 119 – 126.
- [6] RAVISHA A R, DANIEL J S, PORTMANN R W. Nitrous oxide ( $\text{N}_2\text{O}$ ): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century [J]. *Science*, 2009, 326 (5949): 123 – 125.
- [7] WANG Y Y, ZHOU S, YE L, *et al.* Nitrite survival and nitrous oxide production of denitrifying phosphorus removal sludges in long-term nitrite/nitrate-fed sequencing batch reactors [J]. *Water Research*, 2014, 67: 33 – 45.
- [8] PAN Y T, NI B J, BOND P L, *et al.* Electron competition among nitrogen oxides reduction during methanol-utilizing denitrification in wastewater treatment [J]. *Water Research*, 2013, 47(10): 3273 – 3281.
- [9] GONG Y, PENG Y, YANG Q, *et al.* Formation of nitrous oxide in a gradient of oxygenation and nitrogen loading rate during denitrification of nitrite and nitrate [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 227/228: 453 – 460.
- [10] CECH J S, HARTMAN P. Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphate removal systems [J]. *Water Research*, 1993, 27(7): 1219 – 1225.
- [11] JIANG Y, CHEN Y. The effects of the ratio of propionate to acetate on the transformation and composition of polyhydroxyalkanoates with enriched cultures of glycogen-accumulating organisms [J]. *Environmental Technology*, 2009, 30(3): 241 – 249.
- [12] BEGUM S A, BATISTA J R. Microbial selection on enhanced biological phosphorus removal systems fed exclusively with glucose [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28: 2181 – 2193.
- [13] LIU W T, MINO T, NAKAMURA K, *et al.* Glycogen accumulating population and its anaerobic substrate uptake in anaerobic-aerobic activated sludge without biological phosphorus removal [J]. *Water Research*, 1996, 30(1): 75 – 82.
- [14] 贾淑媛, 王淑莹, 赵骥, 等. 驯化后的聚糖菌对  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  和  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  内源反硝化速率的影响 [J]. *化工学报*, 2017, 68(12): 4731 – 4738.  
JIA Shuyuan, WANG Shuying, ZHAO Ji, *et al.* Effect of endogenous denitrification rate of domesticated GAOs on  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  and  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  [J]. *CIESC Journal*, 2017, 68 (12): 4731 – 4738 (in Chinese).
- [15] PIJUAN M, CASAS C, BAEZA J A. Polyhydroxyalkanoate synthesis using different carbon sources by two enhanced biological phosphorus removal microbial communities [J]. *Process Biochemistry*, 2009, 44(1): 97 – 105.
- [16] 崔有为, 金常林, 王好韩, 等. 碳源对 O/A – F/F 模式积累内源聚合物及反硝化的影响 [J]. *环境科学*, 2019, 40(1): 336 – 342.  
CUI Youwei, JIN Changlin, WANG Haohan, *et al.* Effect of carbon sources on the accumulation of endogenous polymers and denitrification in the O/A-F/F mode [J]. *Environmental Science*, 2019, 40 (1): 336 – 342 (in Chinese).



- [17] MIAO L, WANG S, LI B, *et al.* Effect of carbon source type on intracellular stored polymers during endogenous denitrification (ED) treating landfill leachate[J]. *Water Research*, 2016, 100: 405 – 412.
- [18] RIBERA-GUARDIA A, MARQUES R, ARANGIO C, *et al.* Distinctive denitrifying capabilities lead to differences in  $N_2O$  production by denitrifying polyphosphate accumulating organisms and denitrifying glycogen accumulating organisms [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 219: 106 – 113.
- [19] MCILROY S J, ALBERTSEN M, ANDRESEN E K, *et al.* “*Candidatus* Competibacter”-lineage genomes retrieved from metagenomes reveal functional metabolic diversity[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8: 613 – 624.
- [20] ZHAO W, WANG Y, LIU S, *et al.* Denitrification activities and  $N_2O$  production under salt stress with varying COD/N ratios and terminal electron acceptors [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2013, 215/216: 252 – 260.
- [21] YANG Q, LIU X H, PENG C Y, *et al.*  $N_2O$  production during nitrogen removal via nitrite from domestic wastewater: main sources and control method [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43 (24): 9400 – 9406.
- [22] WEI Y, WANG S, MA B, *et al.* The effect of poly- $\beta$ -hydroxyalkanoates degradation rate on nitrous oxide production in a denitrifying phosphorus removal system [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 170: 175 – 182.
- [23] WANG Y, LI P, ZUO J. Inhibition by free nitrous acid (FNA) and the electron competition of nitrite in nitrous oxide ( $N_2O$ ) reduction during hydrogenotrophic denitrification[J]. *Chemosphere*, 2018, 213: 1 – 10.
- [24] ZHOU Y, PIJUAN M, ZENG R J, *et al.* Free nitrous acid inhibition on nitrous oxide reduction by a denitrifying-enhanced biological phosphorus removal sludge [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42 (22): 8260 – 8265.

作者简介: 巩有奎 (1977 – ), 男, 山东夏津人, 博士, 教授, 主要从事生活污水生物脱氮过程中温室气体排放控制研究。

E-mail: 260943813@qq.com

收稿日期: 2019 – 11 – 16

修回日期: 2020 – 01 – 30

(编辑: 刘贵春)

(上接第16页)

- combined copper/perfluorooctane sulfonate on sequencing batch reactor process and microbial community in activated sludge [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 238: 407 – 415.
- [25] LIU X W, SHENG G P, YU H Q. Physicochemical characteristics of microbial granules [J]. *Biotechnology Advances*, 2009, 27: 1061 – 1070.
- [26] SEPEHRI A, SARRAFZADEH M. Effect of nitrifiers community on fouling mitigation and nitrification efficiency in a membrane bioreactor [J]. *Chemical Engineering and Processing*, 2018, 128: 10 – 18.
- [27] WANG Y, JI M, ZHAO Y X, *et al.* Recovery of nitrification in cadmium-inhibited activated sludge system by bio-accelerators [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 200: 812 – 819.
- [28] XU L Z J, WU J, XIA W J, *et al.* Adaption and restoration of anammox biomass to Cd (II) stress: performance, extracellular polymeric substance and microbial community [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 290: 121766.
- [29] 张星星, 王超超, 王垚, 等. 基于不同废污泥的短程反硝化快速启动及稳定性 [J]. *环境科学*, 2020, 41 (8): 270 – 279.
- ZHANG Xingxing, WANG Chaochao, WANG Yao, *et al.* Rapid start-up and stability of partial denitrification based on different waste sludge sources [J]. *Environmental Science*, 2020, 41 (8): 270 – 279 (in Chinese).
- [30] MENG X Z, NIU G L, YANG W M, *et al.* Di (2-ethylhexyl) phthalate biodegradation and denitrification by a *Pseudoxanthomonas* sp. strain [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 180: 356 – 359.

作者简介: 李鸿 (1996 – ), 男, 湖南益阳人, 硕士研究生, 研究方向为污水生物处理技术。

E-mail: 343383967@qq.com

收稿日期: 2020 – 06 – 02

修回日期: 2020 – 07 – 05

(编辑: 李德强)