

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2024.09.012

有机物对泥膜复合PNA-MBBR挂膜启动的影响

潘凯玲^{1,2}, 魏钰轩¹, 邱晨¹, 郑志强¹, 韩家乐¹, 杜凯³,
刘振⁴, 唐明跃⁴, 毕学军^{1,2}

(1. 青岛理工大学环境与市政工程学院, 山东 青岛 266520; 2. 青岛理工大学城镇污水处理与资源化国家地方联合工程中心, 山东 青岛 266520; 3. 青岛市水务事业发展服务中心, 山东 青岛 266071; 4. 青岛首创瑞海水务有限公司, 山东 青岛 266011)

摘要: 以活性污泥为种泥,投加空白悬浮载体,采用间歇曝气和低溶解氧的运行策略,探究进水有机物(R1的COD=500 mg/L, COD/N=1.25; R2用作对照, COD/N=0)对一体式泥膜复合短程硝化-厌氧氨氧化移动床生物膜反应器(PNA-MBBR)启动性能的影响。138 d的运行结果表明, R1的脱氮性能明显高于R2。R1的氮去除负荷(NRR)为0.23 kg/(m³·d), 厌氧氨氧化的脱氮贡献率高达92.70%, 而R2的NRR仅为0.06 kg/(m³·d)。在整个运行期间R1平均出水NO₂⁻-N浓度为87.42 mg/L, 明显低于R2的154.87 mg/L, 且R1填料中生物膜厚度为(351.76 ± 67.93) μm, 远高于R2的(148.96 ± 44.48) μm。高通量测序结果表明有机物的存在改变了R1的微生物群落结构, 其絮体污泥和生物膜样品的微生物多样性均低于R2。Nitrosomonas在R1中的相对丰度远低于R2, NOB只在R1和R2第一阶段样品中被检出。Thauera在R1中的相对丰度高于R2, 但R2中的反硝化菌属多样性高于R1。可见, 低COD/N进水条件可实现厌氧氨氧化与反硝化的有效耦合, 有利于PNA-MBBR系统的快速启动和总氮去除。

关键词: 厌氧氨氧化; 有机碳源; 移动床生物膜反应器; 短程硝化; 微生物群落结构
中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2024)09-0069-08

Effects of Organic Matter on Start-up of Sludge-Biofilm Hybrid Partial Nitritation Anammox in Moving Bed Biofilm Reactor

PAN Kai-ling^{1,2}, WEI Yu-xuan¹, QIU Chen¹, ZHENG Zhi-qiang¹, HAN Jia-le¹,
DU Kai³, LIU Zhen⁴, TANG Ming-yue⁴, BI Xue-jun^{1,2}

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Qingdao University of Technology, Qingdao 266520, China; 2. National and Local Joint Engineering Center for Urban Sewage Treatment and Resource Recycling, Qingdao University of Technology, Qingdao 266520, China; 3. Qingdao Water Affairs Development Service Center, Qingdao 266071, China; 4. Qingdao Capital Ruihai Water Co. Ltd., Qingdao 266011, China)

Abstract: The effects of organic matter (R1: COD=500 mg/L, COD/N=1.25; R2: control, COD/N=0) on the start-up performance of one-stage sludge-biofilm hybrid partial nitritation anammox moving bed

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52200062); 山东省自然科学基金资助项目(ZR2020QE237); 青岛理工大学开放基金资助项目(QUTSEME201935)

通信作者: 潘凯玲 E-mail: pankailing@qut.edu.cn

biofilm reactor (PNA-MBBR) were investigated by adding blank suspension carrier. The results showed that the nitrogen removal performance of R1 reactor was obviously better than that of R2 reactor. The nitrogen removal rate (NRR) of R1 was $0.23 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, and the nitrogen removal contribution of anammox was up to 92.70%, while the NRR in R2 was just $0.06 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$. During the whole operation period, the average effluent $\text{NO}_2^- \text{-N}$ concentration of R1 was 87.42 mg/L , which was much lower than that of R2 (154.87 mg/L). The biofilm thickness of R1 [$(351.76 \pm 67.93) \mu\text{m}$] was also significantly thicker than that of R2 [$(148.96 \pm 44.48) \mu\text{m}$]. High-throughput sequencing showed that organic matter affected the microbial community structure of R1. The microbial diversity of R2 was higher than in R1, no matter in floc or biofilm samples. The relative abundance of *Nitrosomonas* in R1 was lower than that in R2. NOB was only detected in the samples of R1 and R2 in phase 1. *Thauera* had a higher relative abundance in R1 than in R2, but the diversity of denitrifying bacteria in R1 was lower than in R2. These results indicated that the influent with low COD/N ratio was beneficial for the rapid start-up and nitrogen removal of PNA-MBBR system.

Key words: anaerobic ammonium oxidation; organic carbon; moving bed biofilm reactor; partial nitrification; microbial community structure

污泥消化液含有高浓度 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 和大量难降解有机物,是一种典型低 COD/N 废水。目前污泥消化液常用处理方式是将上清液回流至主流工艺前端与市政污水混合处理,这将会使二级生物处理工艺进水氮负荷提高 15%~25%^[1],从而增加污水厂的处理成本和处理难度。

厌氧氨氧化 (Anammox) 作为一种新型脱氮工艺,与传统工艺相比具有污泥产量少、曝气能耗低、脱氮效率高等优点。以 Anammox 为核心的自养脱氮工艺已成功应用于污泥消化液的处理,但该工艺仍受限于厌氧氨氧化菌 (AnAOB) 易流失以及易受进水有机物影响等问题。目前的研究表明,有机物容易对 Anammox 系统的脱氮性能造成影响。Zhang 等^[2]研究发现当进水 COD 为 800 mg/L (COD/N 为 4) 时,氨氧化细菌 (AOB) 和 AnAOB 的活性与生物多样性受到抑制,进而影响短程硝化-厌氧氨氧化 (PNA) 系统脱氮效果。然而也有研究表明低浓度有机物或低 COD/N 不会对 Anammox 系统的污染物去除造成影响。Chen 等^[3]发现有机物浓度为 $10 \sim 30 \text{ mg/L}$ (COD/N < 1) 时,Anammox 和反硝化互利共生,平均 TN 去除效果提高 3.2%~7.7%。目前,关于有机物对 Anammox 系统影响的研究主要集中在成熟的 Anammox 活性污泥或生物膜系统中,鲜见进水 COD 对一体式泥膜复合短程硝化-厌氧氨氧化生物膜反应器 (PNA-MBBR) 挂膜启动的研究。

因此,模拟青岛某污水处理厂污泥消化液水质,探究进水 COD (500 mg/L , COD/N 为 1.25) 对一体式泥膜复合 PNA-MBBR 系统挂膜启动过程中脱氮性能以及絮体污泥和生物膜中微生物群落的影响,以期为研发以 Anammox 为核心的高氨氮、低 COD/N 废水处理工艺提供理论基础与技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验装置

试验在两个有机玻璃制成的 SBR 反应器中进行。反应器内径为 18 cm ,有效高度为 40 cm ,有效体积为 10 L ;内部填充 K3 型载体,比表面积为 $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$,填充率为 30%;反应器配有 pH、DO 以及温度检测探头,内置电动搅拌器以确保流化效果。

1.2 接种污泥和进水水质

接种污泥取自青岛市某污水处理厂好氧池,反应器 MLSS 设置为 5000 mg/L 。试验采用模拟废水, $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 为 400 mg/L , COD 为 500 mg/L ($\text{CH}_3\text{COONa}:\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6=1:1$), KH_2PO_4 为 0.1 mg/L ,由 NaHCO_3 提供碱度和无机碳源,微量元素 I 和 II^[4]的投量均为 1 mL/L 。COD 只在 R1 进水中投加,R2 用作对照。

1.3 试验方法

R1 和 R2 的排水比为 50%。在反应器进水完成后,以间歇曝气 (搅拌:曝气=30 min:30 min) 模式运行,HRT 视系统性能而定,为 $16 \sim 48 \text{ h}$,运行温度控制在 $(32 \pm 2)^\circ\text{C}$,pH 控制在 7.8 左右。试验共分为启

动、稳定运行、负荷提升三个阶段,具体运行参数见表1。

表1 反应器各阶段主要运行参数

Tab.1 Operation parameters of the reactors in each phase

项目	时间/ d	R1		R2	
		DO/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	HRT/ h	DO/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	HRT/ h
阶段一	1~15	0.2~1.2	48	0.2~1.2	48
阶段二	16~107	0.5~0.8	16	0.5~0.8	16
阶段三	108~138	0.5~0.8	24	0.3~0.5	16

1.4 分析方法

反应器进出水COD、 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、 NO_3^--N 浓度采用国家标准方法进行测定;pH、DO、温度采用便携式多参数分析仪(WTW Multi 3620IDS)测定;生物膜厚度采用电子显微镜(OLYMPUS SZX10)进行观察。

亚硝酸盐积累率(NAR)和氮去除负荷(NRR)根据进出水 NO_2^--N 、 NO_3^--N 、TIN浓度等经计算得到;同步亚硝化-厌氧氨氧化-反硝化系统的氮去除计算方法参考文献[5]。

1.5 16S rRNA高通量测序

1.5.1 样品采集与保存

采集各阶段末期的絮体污泥和生物膜样品,于 -20°C 冰箱保存。絮体污泥和生物膜样品分别用字母S和B表示,数字1、2、3代表R1和R2的三个不同阶段,如S1-1为R1第一阶段结束时的絮体污泥样品。

1.5.2 Illumina MiSeq测序

使用FastDNA® Spin Kit for Soil试剂盒进行样品总DNA提取。利用引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对细菌16S rRNA基因V3-V4区进行PCR扩增。PCR产物经回收、定量检测之后,于MiSeq PE300平台上进行高通量测序。经降噪处理后,利用UPARSE软件,按97%的相似度对高质量序列进行操作分类单元(OTU)聚类,利用RDP Classifier对每条序列进行物种分类。

2 结果与讨论

2.1 COD对氮去除的影响

2.1.1 氮去除特性

R1和R2各阶段进出水氮浓度的变化见图1。

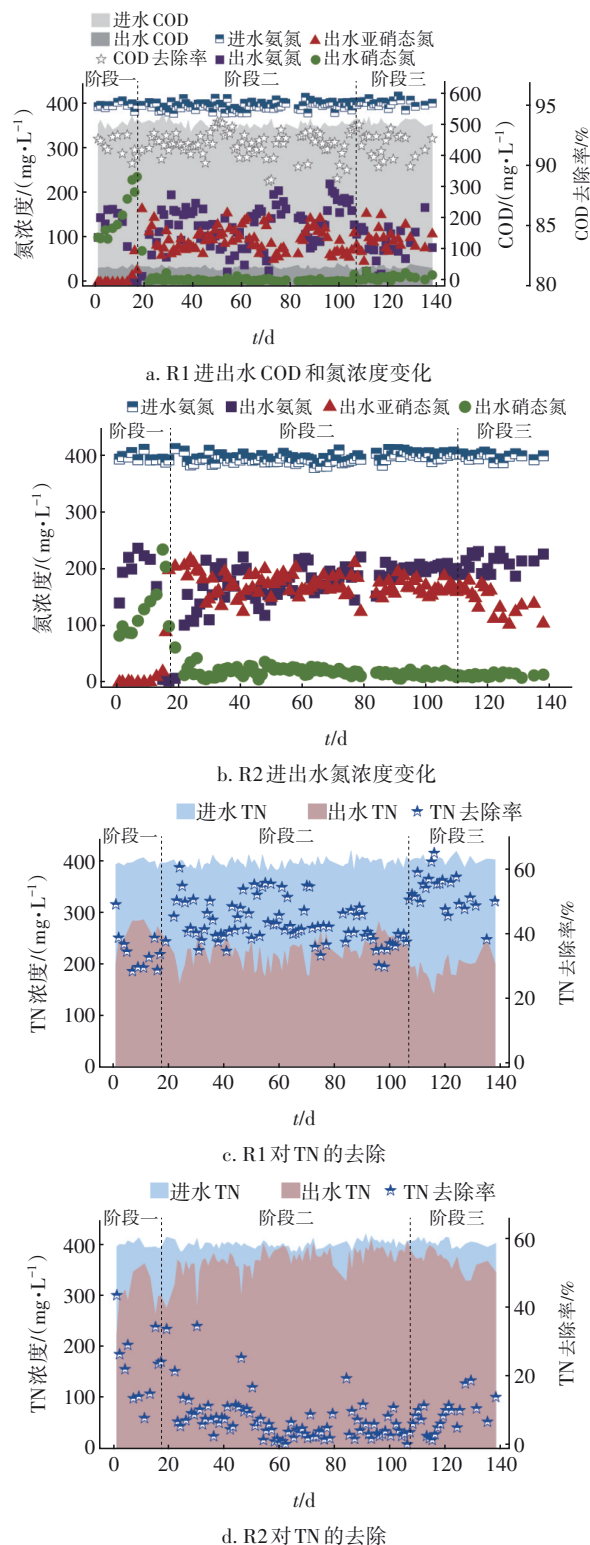


图1 R1和R2对污染物的去除性能

Fig.1 Pollutants removal performance of R1 and R2

在第一阶段前期(1~7 d),R1和R2出水 NH_4^+-N 浓度较高,平均浓度分别为140.52和199.23 mg/L。出水 NH_4^+-N 浓度较高的原因可能是,运行前期采用

低DO(0.2 mg/L)运行模式,在抑制接种污泥中好氧异养菌代谢活性的同时,也影响了氨氧化微生物活性。在第8天将DO调高至1.2 mg/L左右,出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度快速下降。在第一阶段结束时,R1和R2出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度分别为0.43和5.45 mg/L。被降解的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 大多转化为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,R1和R2出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度分别为229.90和235.55 mg/L,表明R1和R2中亚硝酸盐氧化菌(NO_B)的活性较高。

为抑制NO_B活性和实现部分短程硝化,阶段二采用间歇曝气和低DO(0.5 mg/L)的运行策略。在该阶段,R1出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 平均浓度分别为123.05、94.44和9.67 mg/L,R2出水平均浓度分别为173.51、172.83和22.32 mg/L。R1和R2在第二阶段的平均NAR分别为94.11%和89.27%,表明NO_B活性已被充分抑制。有研究表明^[6],NO_B的氧半饱和系数明显高于AOB,在与AOB竞争DO时往往会处于劣势地位,再加上NO_B历经缺氧到好氧环境的活性恢复较AOB滞后,因此缺/好氧交替环境能够有效抑制NO_B活性,进而保证部分短程硝化的稳定运行。在该阶段,R1平均进出水TN分别为397.62、227.16 mg/L,平均去除率为42.87%,其中Anammox途径贡献了90.15%的TN损失,而反硝化途径仅去除9.85%的TN。R2的TN平均去除率为7.64%,仅为R1的17.82%。以上结果表明,低COD/N有助于提高PNA-MBBR系统的脱氮效率。吕永涛等^[7]发现当COD为50 mg/L时,Anammox系统的总氮去除率比不加COD时提高了7.57%。尽管COD的存在有利于提高反硝化菌在与AnAOB竞争底物过程中的优势,不利于Anammox活性的维持,但对于多种脱氮功能菌共存的一体式泥膜复合PNA-MBBR系统来说,反硝化菌可以利用进水COD作为电子供体,将系统中上周期残留的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 还原为氮气,降低了系统中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的浓度(R1平均出水 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度为R2的54.65%),进而缓解高浓度 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 对AnAOB的毒害作用,有利于提高系统的脱氮性能。

为进一步提高R1和R2的脱氮性能,第三阶段运行期间分别对R1和R2进行延长HRT和降低DO浓度的调整。R1的TN平均损失和平均去除率分别为213.87 mg/L和52.93%,较阶段二分别提高了25.47%和23.47%。R2出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 平均浓度分别为208.21、148.54和12.72

mg/L,TN平均去除率(8.45%)较上一阶段提高了10.60%。此时R1平均NRR为0.23 kg/(m³·d),其中92.70%的TN损失通过Anammox途径去除,R2平均NRR仅为0.06 kg/(m³·d)。

2.1.2 COD去除特性

R1在各阶段的出水COD平均浓度分别为41.56、41.74和42.13 mg/L,平均去除率分别为91.73%、91.68%和91.69%,表明R1在不同阶段均表现出良好的COD去除性能。镜检显示,在第三阶段结束时,R1和R2中生物膜平均厚度分别为(351.76 ± 67.93) μm和(148.96 ± 44.48) μm,表明COD的存在有助于填料迅速挂膜。较厚的生物膜可缓解DO对生物膜内层AnAOB的冲击作用^[8],有利于维持AnAOB的活性。R1和R2出水中均残留有较高浓度的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$,在经过0.5 h缺氧搅拌后,R1中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度<2 mg/L,而R2中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度>50 mg/L(见图2),表明在R1进水和前置缺氧0.5 h过程中,COD可作为反硝化的电子供体,用于去除系统中残留的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 。

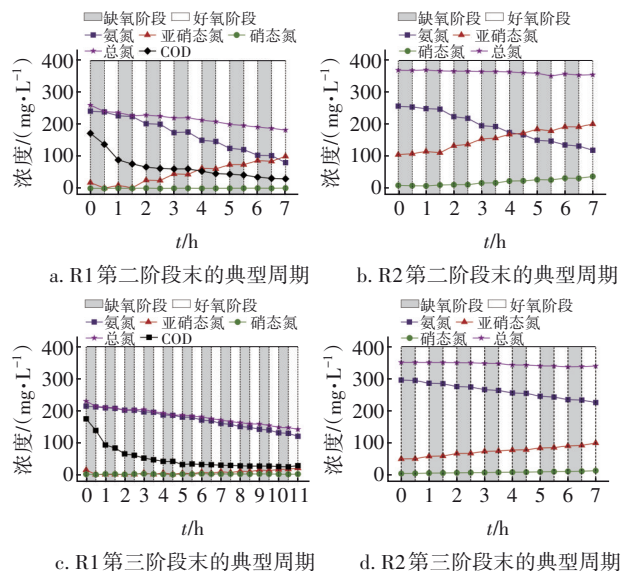


图2 在阶段二和阶段三末期 R1 和 R2 的典型周期

Fig.2 Typical cycles for R1 and R2 at the end of phase 2 and phase 3

此外,在间歇曝气过程中,COD浓度呈逐步降低趋势,且R1在阶段二和阶段三的出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 平均浓度分别为9.67和10.19 mg/L,低于Anammox理论 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 产量(20.07和25.02 mg/L),说明在间歇曝气过程中,存在 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的还原。因此,进水中的COD不仅有利于PNA-MBBR系统快速挂膜,还可有

效去除残余的 NO_2^- -N和Anammox产生的 NO_3^- -N,降低 NO_2^- -N的不利影响,有助于PNA-MBBR系统的启动和深度脱氮。

2.1.3 R1和R2典型周期的氮素转化规律

为进一步研究COD对系统脱氮的影响,对R1和R2在第二和第三阶段末期的典型周期进行分析,结果见图2。对于阶段二,经过0.5 h缺氧搅拌后,R1和R2中 NO_2^- -N浓度分别为1.17、107.90 mg/L。在R1中, NH_4^+ -N浓度从混合后的241.6 mg/L减少至80.75 mg/L,出水 NO_2^- -N和 NO_3^- -N浓度分别为100.59、1.21 mg/L,TN去除率为54.90%。在R2典型周期中,随着 NH_4^+ -N降至118.73 mg/L, NO_2^- -N浓度由107.90 mg/L逐步增至200.98 mg/L,远超R1出水 NO_2^- -N浓度;此时,出水 NO_3^- -N浓度和NAR分别为36.23 mg/L和84.73%,TN去除率仅为11.93%。有研究表明, NO_2^- -N作为一种解偶联剂会增加细胞膜的渗透性,影响胞内电子传递和质子转移相关的酶,进而对ATP的合成产生抑制作用^[8],从而降低AOB和Anammox菌的活性。R2出水 NO_2^- -N浓度远超其对Anammox菌的抑制阈值100 mg/L^[9],推测这是其脱氮性能受到抑制的主要原因。

在阶段三,R1出水 NO_2^- -N浓度为20.01 mg/L,与阶段二相比大幅度降低;在周期结束时出水COD、 NH_4^+ -N和 NO_3^- -N浓度分别为45.00、119.96和1.54 mg/L,TN去除率由阶段二的54.90%增加至65.19%。R2出水 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N和 NO_3^- -N浓度分别为227.36、100.44和13.83 mg/L,其中出水 NO_2^- -N浓度较阶段二明显下降;此时R2的NRR为0.10 kg/(m³·d),较阶段二提高了12.62%。

2.2 微生物群落结构分析

2.2.1 微生物多样性分析

R1和R2不同阶段絮体污泥和生物膜样品的微生物多样性如图3(a)所示。R1和R2絮体污泥样品的Shannon指数均为先上升后下降,在第二阶段达到了最大值。R1生物膜样品的Shannon指数一直上升,在第三阶段达到了最大值,但仍低于R2生物膜样品的多样性。图3(b)展示了R1和R2絮体污泥和生物膜样品中OTU(数量分别为416、443、570、751)的差异性。4组样品中共有的OTU为239,仅占总OTU(2180)的11%,说明R1和R2两个反应器中微生物群落结构发生明显的变化。无论是絮体污泥还是生物膜样品,R2的总OTU均高于R1。

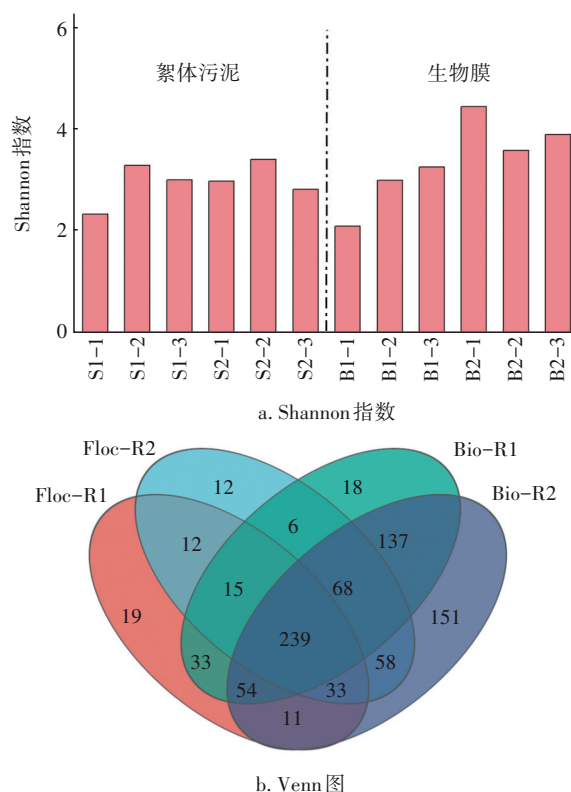


图3 R1和R2不同阶段微生物多样性和基于OTU水平的微生物群落Venn图

Fig.3 Microbial diversity and Venn of microbial community based on OTU level at different phases of R1 and R2

2.2.2 门水平微生物群落结构分析

R1和R2絮体污泥和生物膜样品在门水平上的微生物群落结构见图4。*Proteobacteria*、*Bacteroidota*和*Chloroflexi*是所有样品中的优势菌门,与已报道的PNA系统微生物群落结构相似^[10]。*Proteobacteria*的相对丰度在R1和R2中呈现不同的变化规律。无论是在R1絮体污泥样品还是在生物膜样品中,*Proteobacteria*的相对丰度均呈下降趋势,分别从S1-1、B1-1的67.26%和79.97%下降至S1-3、B1-3的11.16%和37.67%,而在R2中则表现出与R1相反的变化规律,分别从S2-1、B2-1的61.30%和17.06%上升至S2-3、B2-3的74.05%和50.78%。*Bacteroidota*在R1和R2絮体污泥样品中的相对丰度变化不明显,但随着反应器运行,其在生物膜样品中的相对丰度有所增加,在B1-3和B2-3样品中的相对丰度分别为12.56%和17.01%。*Chloroflexi*在R1和R2生物膜样品中的平均相对丰度(23.77%和21.84%)均高于其在絮体污泥样品中的平均相对丰

度(9.53%和8.69%)。目前已报道的 AnAOB 均属于 *Planctomycetota*^[11], 其在 B1-3 和 B2-3 的相对丰度分别为 0.42% 和 0.13%, 均高于同时期在絮体污泥样品中的相对丰度(0.16% 和 0.05%), 且其在 R1 阶段二和阶段三样品中的平均丰度为 0.53%, 高于 R2 中的 0.21%。

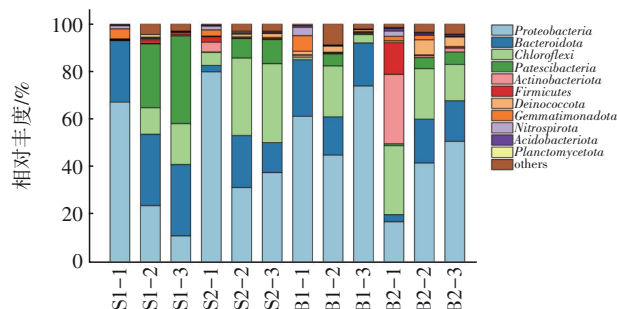


图4 R1和R2活性污泥和生物膜在门水平上的群落组成

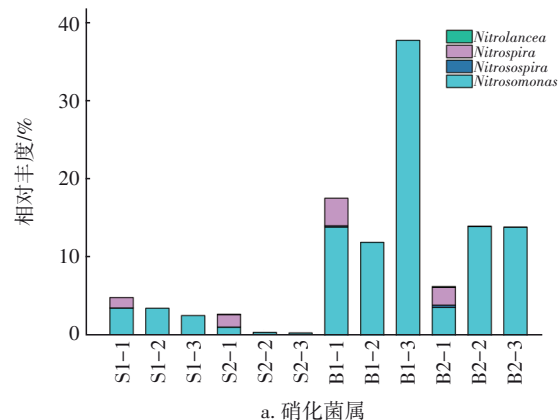
Fig.4 The composition of microbial community at phyla level in R1 and R2

2.2.3 属水平微生物群落结构分析

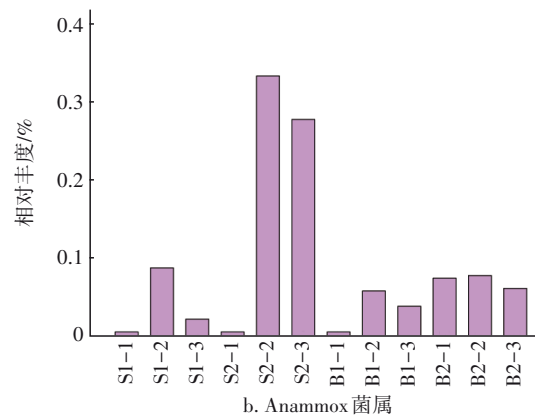
为进一步探究 COD 对脱氮功能微生物群落结构的影响,对 R1 和 R2 絮体污泥和生物膜样品的硝化菌属、Anammox 菌属和反硝化菌属进行分析,结果见图 5。 *Nitrosomonas* 是 R1 和 R2 中主要的 AOB 菌属。在 R1 絮体污泥和生物膜样品中, *Nitrosomonas* 的相对丰度均呈下降趋势,从 S1-1、B1-1 的 3.61% 和 1.15% 分别下降至 S1-3、B1-3 的 2.64% 和 0.42%。而在 R2 中, *Nitrosomonas* 的相对丰度从 S2-1、B2-1 的 13.94% 和 3.67% 分别增长至 S2-3、B2-3 的 37.81% 和 13.91%。在 R1 和 R2 中均是絮体污泥样品的 *Nitrosomonas* 平均丰度(3.28% 和 21.25%)大于生物膜样品的平均丰度(0.69% 和 10.53%), 这可能是由于 AOB 在填料生态位竞争中处于劣势所导致,王智辉^[12]在泥膜复合 PNA 系统启动研究中发现了同样现象。 *Nitrospira* 和 *Nitrolancea* 为 NOB 菌属,只在第一阶段检测到。随着反应器运行, NOB 逐渐被淘洗出系统,这与 R1 和 R2 在阶段二和阶段三表现出较好的短程硝化效果相对应。

在高通量测序中,没有在属水平检测到 Anammox 相关菌属序列,可能是 R1 和 R2 中 AnAOB 丰度较低和高通量测序灵敏度不足所致, Wang 等^[13]也报道了类似情况。此外, SM1A02 菌属属于 *Planctomycetes* 菌门,与 AnAOB 密切相关,在一些研究中被认为是“潜在的新型 AnAOB”^[14]。因此,分析了 SM1A02 菌

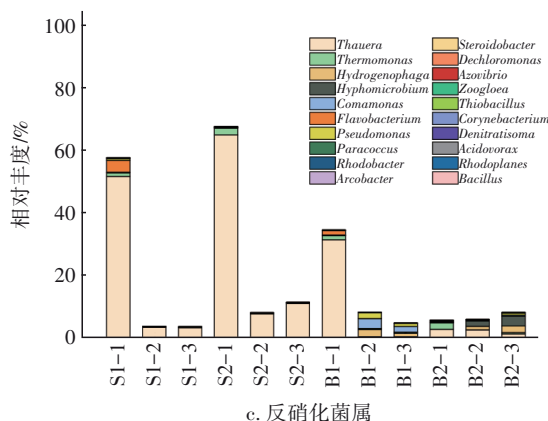
属在各样品中的变化。由图 5(b)可知, SM1A02 在 R1 和 R2 絮体污泥样品中的相对丰度相当,分别为 0.04% 和 0.03%。但 SM1A02 在 R1 生物膜样品中的相对丰度远高于 R2,尤其在阶段二和三中,其在 R1 中的相对丰度分别为 0.33% 和 0.28%,而在 R2 中仅为 0.08% 和 0.06%,说明载体生物膜有利于持留 AnAOB 这类生长缓慢的微生物,且低 COD/N 条件有利于其富集生长,为氮的稳定去除提供保障。



a. 硝化菌属



b. Anammox 菌属



c. 反硝化菌属

图5 R1和R2活性污泥和生物膜在属水平上的功能微生物

Fig.5 Functional microorganisms at genus level in R1 and R2

R1 和 R2 分别检测出 9 种和 17 种反硝化菌属,

且 *Thauera* 的平均相对丰度最高,其在 R1 和 R2 中分别占总反硝化菌属的 93.31% 和 58.28%,这与其他文献中结果类似^[15]。对于 R1 的絮体污泥和生物膜样品, *Thauera* 的相对丰度分别从 S1-1、B1-1 的 52.01% 和 65.29% 下降至 S1-3、B1-3 的 3.52% 和 11.27%,在 R2 中的相对丰度则从 S2-1、B2-1 的 31.71% 和 3.03% 下降至 S2-3、B2-3 的 0.53% 和 1.56%。值得注意的是, R1 中 *Thauera* 在反硝化菌属中始终占据主导地位,而 *Hydrogenophaga*、*Hyphomicrobium* 和 *Comamonas* 等在 R2 中反硝化菌的占比有所上升。有研究表明,当分别以葡萄糖和乙酸钠为碳源时,系统中的优势反硝化菌属均为 *Thauera*,其相对丰度分别高达 58.69% 和 70.62%^[16]。因此,推测 R1 进水中的葡萄糖和乙酸钠有利于 *Thauera* 的专属富集,使其成为 R1 中的绝对优势反硝化菌属,进而降低 R1 反硝化菌属多样性。

2.2.4 属水平上差异物种分析

为研究 R1 和 R2 中絮体污泥和生物膜的微生物种群结构差异,在属水平对 R1 和 R2 第二、三阶段的絮体污泥和生物膜样品进行差异分析。结果表明, R1 和 R2 总微生物群落共有 28 个菌属存在显著差异,其中在 R1 中仅有 8 个菌属的丰度显著高于 R2,而 R2 显著富集了 20 个菌属。如 *Thauera* 菌属在 R1 中的相对丰度是 R2 的 4.8 倍, *OLB8*、*Dokdonella* 和 *Hydrogenophaga* 等菌属在 R2 中的相对丰度远高于 R1。分别对比 R1 和 R2 的絮体污泥群落以及生物膜群落发现,无论是絮体污泥还是生物膜,均是 R2 中显著富集的菌属多于 R1,这与总微生物群落分布相对应。*Arenibacter*、*Paludibaculum* 和 *Aeromonas* 等菌属在 R1 絮体污泥中的相对丰度较高,而 R2 絮体污泥中富集的菌属为 *Hyphomicrobium*、*Bosea* 和 *Rhodobacter* 等。对于生物膜样品, R1 中富集的菌属均与脱氮密切相关,分别为 *Defluviicoccus*、*SM1A02*、*OLB13* 和 *Thauera*,其中 *Defluviicoccus* 作为一种常见的聚糖菌(GAOs),具有内碳源反硝化作用^[17]。研究表明 GAOs 偏好于以乙酸作为碳源^[18], R1 进水中的乙酸盐可能是 *Defluviicoccus* 得以富集的主要原因。宏基因组学研究表明, *OLB13* 含有编码呼吸氨化、 NO_2^- -N 解毒以及 CO_2 固定途径所需关键酶的基因,这些途径可与 AnAOB 相互作用^[19],进而有助于 AnAOB 在 R1 中生长。此外, *OLB13* 还具有短程反硝化作用。*Nitrosomonas* 在 R2 生物膜样品中被显著

富集。对比同一反应器中絮体污泥样品和生物膜样品可以发现,均是生物膜中显著富集的菌属数量高于絮体污泥,这得益于填料上分层的生物膜结构,可为多种微生物提供合适的生存环境。

3 结论

① R1 进水中的有机物可有效降低系统 NO_2^- -N 浓度和促进填料快速挂膜,有助于 PNA-MBBR 工艺的启动。

② R1 和 R2 在负荷提升阶段的平均总氮损失分别为 0.23、0.06 kg/(m³·d)。R1 中 Anammox 和反硝化两种脱氮途径对总氮的去除贡献分别为 92.70% 和 7.30%。

③ 一体式泥膜复合 PNA-MBBR 系统中的优势 AOB 为 *Nitrosomonas*,主要分布在絮体污泥中, *SM1A02* 主要分布在填料生物膜中,且其在 R1 生物膜样品中的相对丰度远高于同时期 R2 生物膜样品。*Thauera* 是 R1 絮体污泥和生物膜中具有绝对优势的反硝化菌属。

④ R2 中总微生物群落多样性高于 R1。R1 和 R2 中的生物膜显著富集菌属数量高于絮体污泥。

参考文献:

- [1] VAN LOOSDRECHT M C M, SALEM S. Biological treatment of sludge digester liquids [J]. Water Science & Technology, 2006, 53(12): 11-20.
- [2] ZHANG X, ZHANG H, YE C, et al. Effect of COD/N ratio on nitrogen removal and microbial communities of CANON process in membrane bioreactors [J]. Bioresource Technology, 2015, 189: 302-308.
- [3] CHEN J, LU Y, HUANG W, et al. Effect of organic matter on the anammox performance of constructed rapid infiltration systems [J]. Environmental Technology, 2022, 43(12): 1770-1782.
- [4] GRAAF A A V D, BRUIJN P D, ROBERTSON L A, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor [J]. Microbiology, 1996, 142(8): 2187-2196.
- [5] LAN C J, KUMAR M, WANG C C, et al. Development of simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process in a sequential batch reactor [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(9): 5514-5519.
- [6] KORNABOS M, DOKIANAKIS S N, LYBERATOS G.

- Partial nitrification/denitrification can be attributed to the slow response of nitrite oxidizing bacteria to periodic anoxic disturbances [J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(19): 7245–7253.
- [7] 吕永涛, 陈桢, 吴红亚, 等. 有机物浓度对厌氧氨氧化脱氮性能影响试验研究 [J]. *环境工程学报*, 2009, 3(7): 1189–1192.
- LÜ Yongtao, CHEN Zhen, WU Hongya, *et al.* Effect of organic substrate on nitrogen removal of ANAMMOX [J]. *Chinese Journal of Environment Engineering*, 2009, 3(7): 1189–1192 (in Chinese).
- [8] ZHOU Y, OEHMEN A, LIM M, *et al.* The role of nitrite and free nitrous acid (FNA) in wastewater treatment plants [J]. *Water Research*, 2011, 45(15): 4672–4682.
- [9] STROUS M, KUENEN J G, JETTEN M S M. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation [J]. *American Society for Microbiology*, 1999, 65(7): 3248–3250.
- [10] 姚丽婷, 陈启智, 赖勇州, 等. 泥膜混合 MBBR 系统自养脱氮工艺的启动研究 [J]. *环境科学研究*, 2022, 35(4): 999–1006.
- YAO Liting, CHEN Qizhi, LAI Yongzhou, *et al.* Start-up of autotrophic nitrogen removal process in a sludge-biofilm hybrid MBBR system [J]. *Research of Environment Science*, 2022, 35(4): 999–1066 (in Chinese).
- [11] ALI M, OKABE S. Anammox-based technologies for nitrogen removal: advances in process start-up and remaining issues [J]. *Chemosphere*, 2015, 141: 144–153.
- [12] 王智辉. 泥膜复合自养脱氮工艺效能分析及其菌群分离机制 [D]. 广州: 广州大学, 2023.
- WANG Zhihui. *Mud Film Composite Autotrophic Nitrogen Removl Process: Reactor Performance and Microbial Community Separation Mechanism* [D]. Guangzhou: Gangzhou University, 2023 (in Chinese).
- [13] WANG B, PENG Y, GUO Y, *et al.* Illumina MiSeq sequencing reveals the key microorganisms involved in partial nitrification followed by simultaneous sludge fermentation, denitrification and anammox process [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 207: 118–125.
- [14] TIAN S, ZHE T, HONG Y, *et al.* Detection of viable bacteria during sludge ozonation by the combination of ATP assay with PMA-MiSeq sequencing [J]. *Water*, 2017, 9(3): 166.
- [15] 高超龙, 狄斐, 宋舒兴, 等. 一体式膜曝气生物膜反应器实现部分亚硝化-厌氧氨氧化耦合生物除磷 [J]. *环境科学学报*, 2022, 42(9): 18–29.
- GAO Chaolong, DI Fei, SONG Shuxing, *et al.* Integrated partial nitrification-anammox with biological phosphorus removal process in a one-stage membrane aerated biofilm reactor [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2022, 42(9): 18–29 (in Chinese).
- [16] 王义英, 李玲玲. 不同碳源对反硝化过程中亚硝酸盐积累的影响 [J]. *青岛科技大学学报*, 2023, 44(1): 35–43.
- WANG Yiyi, LI Lingling. Effects of different carbon sources on nitrite accumulation during denitrification [J]. *Journal of Qingdao University of Science and Technology (Natural Science)*, 2023, 44(1): 35–43 (in Chinese).
- [17] JI J, PENG Y, WANG B, *et al.* A novel SNPR process for advanced nitrogen and phosphorus removal from mainstream wastewater based on anammox, endogenous partial-denitrification and denitrifying dephosphatation [J]. *Water Research*, 2020, 170: 115363.
- [18] TU Y, SCHULER A J. Low acetate concentrations favor polyphosphate-accumulating organisms over glycogen-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal from wastewater [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(8): 3816–3824.
- [19] XU J, LI C, ZHU N, *et al.* Particle size-dependent behavior of redox-active biochar to promote anaerobic ammonium oxidation (anammox) [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 410: 127925.

作者简介: 潘凯玲(1990–), 女, 广东茂名, 博士, 副教授, 主要研究方向为污水生物处理与资源化利用。

E-mail: pankailing@qut.edu.cn

收稿日期: 2023-12-28

修回日期: 2024-01-26

(编辑: 李德强)