

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2025.05.003

亚硝酸盐型反硝化除磷系统的快速建立及除磷特性

于占洋¹, 靳海东¹, 宋波², 陈金玉¹, 沈宫琦¹, 袁浩¹,
周园¹, 马娟^{1,3,4}

(1. 兰州交通大学 环境与市政工程学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃新丝路交旅产业开发有限公司, 甘肃 定西 730514; 3. 甘肃省污水处理行业技术中心, 甘肃 兰州 730070;
4. 寒旱地区水资源综合利用教育部工程研究中心, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 亚硝酸盐型反硝化除磷被认为是最节能的强化生物除磷技术。采用SBR反应器,先后经过厌氧/好氧(A/O)(采用乙酸钠和丙酸钠等比例混合碳源)和厌氧/缺氧/好氧(A²O)(以丙酸钠和乙酸钠为单一碳源,分别记作R1和R2)模式运行以实现亚硝酸盐型反硝化除磷。结果表明,在A/O阶段投加亚硝酸盐有利于反硝化除磷的快速构建,A²O运行阶段的第1天两系统的缺氧除磷率即可分别可达48.18%和46.60%;逐步增大亚硝酸盐浓度并改变为批次投加,同时延长缺氧水力停留时间,运行36 d后,R1和R2均实现了高效的亚硝酸盐型反硝化除磷,最高缺氧除磷率分别达到78.38%和77.02%。高通量测序结果显示,经过A²O运行模式驯化后,聚磷菌丰度由5.55%分别提升到27.77%和13.62%,且主要菌属为*Accumulibacter*、*Pseudomonas*、*Dechloromonas*和*Flavobacterium*,其中*Flavobacterium*丰度最高,与A/O运行阶段相比,R1和R2系统中*Flavobacterium*的丰度分别增加了23.35%和8.50%,是实现高效亚硝酸盐型反硝化除磷的主要功能菌属之一。

关键词: 反硝化除磷; 碳源; 运行模式; 聚磷菌; 亚硝酸盐; 菌群结构

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2025)05-0018-09

Rapid Establishment of Nitrite-type Denitrifying Phosphorus Removal System and Its Phosphorus Removal Performance

YU Zhan-yang¹, JIN Hai-dong¹, SONG Bo², CHEN Jin-yu¹, SHEN Gong-qi¹,
YUAN Hao¹, ZHOU Yuan¹, MA Juan^{1,3,4}

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China; 2. Gansu New Silk Road Travel Industry Development Co. Ltd., Dingxi 730514, China; 3. Technical Center of Sewage Treatment Industry in Gansu, Lanzhou 730070, China;
4. Ministry of Education Engineering Research Center of Water Resource Comprehensive Utilization in Cold and Arid Regions, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Nitrite-type denitrifying phosphorus removal process is considered as the most energy-efficient technology for enhanced biological phosphorus removal. In this study, sequencing batch reactor (SBR) was employed to achieve nitrite-type denitrifying phosphorus removal through the operation mode

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52060013); 高校科研创新平台重大培育项目(2020CXPT-14); 太石交旅融合项目(524138)

通信作者: 马娟 E-mail: meggyma@163.com

of anaerobic/aerobic (A/O) (fed with a mixture of sodium acetate and sodium propionate in equal proportions) and anaerobic/anoxic/aerobic (A²O) (with sodium propionate and sodium acetate as the sole carbon sources, labeled as R1 and R2 respectively) successively. The results showed that the addition of nitrite during the period of A/O operation favored the rapid establishment of the denitrifying phosphorus removal. The anoxic phosphorus removal rates of the first day with A²O operation were already 48.18% and 46.60% in both systems, respectively. It was found that after 36 days operation, high-efficient nitrite-type denitrifying phosphorus removal performance was achieved in both systems through increasing nitrite dosage gradually and step-feeding, as well as extending the anoxic hydraulic retention time. The maximum anoxic phosphorus removal rates were 78.38% and 77.02%, respectively. High-throughput sequencing results indicated that the abundance of polyphosphate-accumulating organisms (PAOs) in R1 and R2 systems increased from 5.55% to 27.77% and 13.62%, respectively, after A²O operating mode. The predominant genera were *Accumulibacter*, *Pseudomonas*, *Dechloromonas* and *Flavobacterium*, in which *Flavobacterium* was the most abundant genus. Compared to A/O operation mode, the abundance of *Flavobacterium* in the R1 and R2 systems increased by 23.35% and 8.50%, respectively, indicating that *Flavobacterium* was one of the main functional genera for efficient nitrite-type denitrifying phosphorus removal.

Key words: denitrifying phosphorus removal; carbon source; operation mode; PAOs; nitrite; microbial community structure

强化生物除磷(EBPR)工艺由于其实用性、成本效益和环境效益在污水处理厂得到了广泛应用。该工艺主要通过厌氧/好氧交替运行实现传统聚磷菌(PAOs)的富集,从而达到除磷的目的^[1]。20世纪90年代,Kuba等发现了反硝化聚磷菌(DPAOs),其能够在缺氧条件下以 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 作为电子受体进行反硝化除磷^[2-3]。然而,关于反硝化聚磷菌和传统聚磷菌的功能分类尚未达成共识,根据可利用电子受体的类型可以将聚磷菌分为三类:只能利用 O_2 的为 P_0 ;既能利用 NO_2^- 、 NO_3^- ,又能利用 O_2 的为 P_{ON} ;只能利用 NO_3^- 和 O_2 ,但不能利用 NO_2^- 的为 P_{ONn} ^[4]。综上所述,传统的PAOs不一定具有反硝化除磷功能,而DPAOs可以进行好氧吸磷。有研究发现,运行良好的EBPR系统可实现60%~80%的缺氧除磷率^[5-6],其成功的关键在于DPAOs的高效富集^[7-9]。

截至目前,反硝化除磷系统的建立仍存在周期长、运行不稳定等问题。因此,笔者通过在PAOs驯化阶段投加亚硝酸盐,在DPAOs驯化阶段调整缺氧时长、改变 NO_2^- 浓度及投加方式等措施,以实现亚硝酸盐型反硝化除磷系统的快速构建。同时,采用16S rRNA技术考察主要除磷功能菌属的富集情况以及系统内微生物群落结构变化,以期亚硝酸盐

型反硝化除磷技术的应用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 实验装置

SBR反应器见图1,主体高度为35 cm,内径为14 cm,容积约为5.4 L。另外,还装备了机械搅拌器和曝气装置,曝气强度由转子流量计调节,好氧阶段的DO控制在2~3 mg/L,pH控制在7.5~8。主体部分设置取样口和电磁阀,沉淀后的上清液由电磁阀自动排出系统。反应器的MLSS维持在3 000~4 500 mg/L,通过周期末排泥实现,计算得出污泥龄(SRT)约为 (24 ± 3) d。实验期间设备的开关由定时器控制。

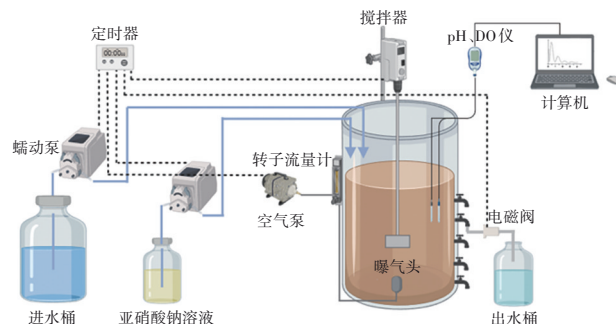


图1 SBR反应器示意

Fig.1 Schematic diagram of SBR reactor

1.2 进水水质和驯化污泥

驯化污泥取自兰州市某污水处理厂。进水采用模拟污水, COD为400 mg/L, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 均为15 mg/L, 烯丙基硫脲(ATU)浓度为2 mg/L, 微量元素和浓缩液各1 mL/L, 具体配方参考靳海东的研究^[10], 缺氧初期投加的 NO_2^- 由亚硝酸钠提供。在PAOs富集阶段, 进水碳源为乙酸钠和丙酸钠等比例混合碳源; 在DPAOs驯化阶段, 进水碳源为单一碳源(其中R1为丙酸钠, R2为乙酸钠)。

1.3 实验方案

实验分两阶段进行, 第一阶段为PAOs的富集, 第二阶段为DPAOs的驯化, 在PAOs富集阶段投加2 mg/L的亚硝酸盐。按时检测系统的除污能力, 计算缺氧吸磷量占总吸磷量的比值, 并根据缺氧除磷率调整运行工况, 以提高缺氧除磷贡献率。在系统稳定运行阶段进行全周期分析, 并对厌氧、缺氧阶段的化学计量学参数进行计算, 具体方法参考文献^[11]。此外, 对微生物菌群结构进行分析, 综合评估DPAOs的富集情况。具体运行方式见表1。

表1 亚硝酸盐型DPAOs的富集方案

Tab.1 Enrichment scheme of nitrite-type DPAOs

阶段	运行方式	运行时间/d	亚硝酸盐/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	周期/h
PAOs富集	厌氧120 min-好氧180 min	31	2	6
DPAOs驯化阶段 I	厌氧90 min-缺氧150 min-好氧60 min	30	10	6
DPAOs驯化阶段 II	厌氧90 min-缺氧240 min-好氧90 min	6	15	8

注: 各阶段亚硝酸盐分别采用好氧初、一次性、分三次投加方式。

1.4 分析指标及方法

水样经0.45 μm 定性滤纸过滤后检测各项参数, COD、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、MLSS、MLVSS等指标均采用国家标准方法测定; 糖原(Gly)采用蒽酮比色法测定; PHA的组分PHB、PHV、PH2MV采用GC-MS(Agilent 7890B-7000C)测定^[12]; 温度、DO、pH通过Multi-3420多参数仪在线监测。

2 结果与讨论

2.1 聚磷菌的富集

2.1.1 聚磷菌富集过程中污染物的去除性能

在为期31 d的A/O运行阶段, R1和R2的富集

情况基本一致, 因此以R1为例进行污染物去除性能分析, 结果见图2。

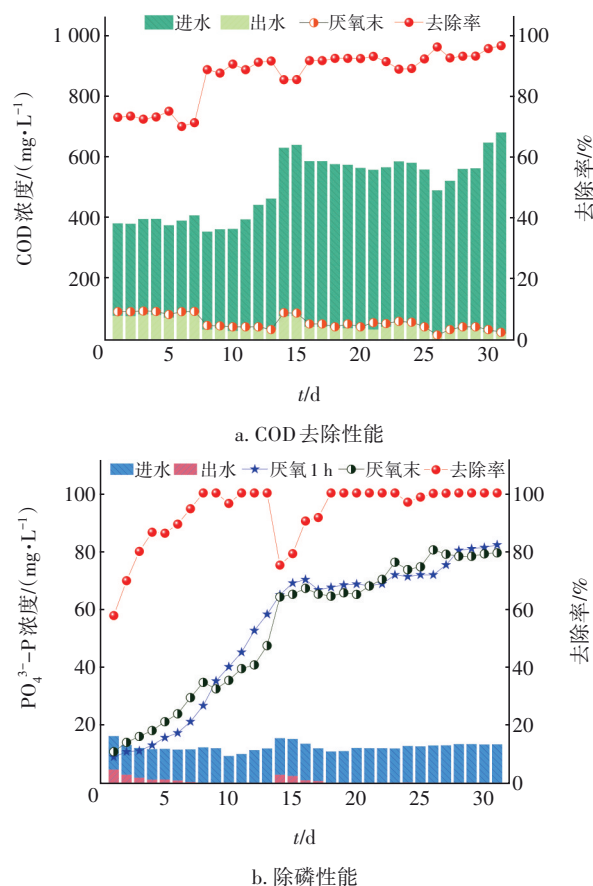


图2 PAOs富集阶段R1系统的污染物去除性能

Fig.2 Pollutants removal performance of R1 system during PAOs enrichment stage

R1系统厌氧末和出水平均COD浓度分别为59.80 mg/L和51.46 mg/L, 即COD主要在厌氧阶段被消耗。如图2(b)所示, 在反应器运行的前16 d厌氧释磷量逐渐升高, 第8天磷的去除率达到100%, 表明接种至反应器的活性污泥可实现磷的高效去除, 系统中的PAOs处于快速增长期。第9天时厌氧末的磷浓度低于厌氧1 h的磷浓度, 随着反应的进行, 厌氧末与厌氧1 h之间磷浓度的差值逐渐变大, 此时, 影响厌氧释磷量的因素或为COD浓度, 于是在第14天提高COD浓度至551.23 mg/L, 厌氧末磷浓度高达64.98 mg/L, 但好氧结束时未能将磷完全去除, 系统除磷率仅为75.20%。运行4 d后磷的去除率便恢复到100%, 表明系统中聚磷菌丰度有所增加。运行至第29天时厌氧释磷量稳定在78 mg/L左右, 磷的去除率仍为100%, 表明系统中聚磷菌丰度已达到较高水平。为验证该结论, 增大COD浓度

到659.19 mg/L,厌氧释磷量最大仅为82.15 mg/L,与第29天时相比并无明显提高,表明经过31 d的运行反应器中已成功富集到聚磷菌,可以进行亚硝酸盐型反硝化聚磷菌的驯化。

2.1.2 典型周期内的代谢特性

在聚磷菌富集阶段的稳定时期进行了全周期分析,以阐明厌氧和好氧阶段底物转化和利用的机制,涉及细胞内碳源的合成与氧化、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的释放和吸收以及 NO_2^- 的还原。如图3所示,在厌氧阶段前30 min, COD 浓度显著降低,随着 COD 的持续消耗,磷浓度大幅上升,前30 min 的释磷量占全部释磷量的87.38%,厌氧结束时,系统中 COD 和磷的浓度分别为27.09、79.42 mg/L,厌氧释磷量为69.22 mg/L,平均释磷速率为11.54 mg/(g·h)。COD 和磷的这种变化被认为是DPAOs/PAOs 的典型释磷过程,并在以前的反硝化除磷系统中得到证实^[9,13]。

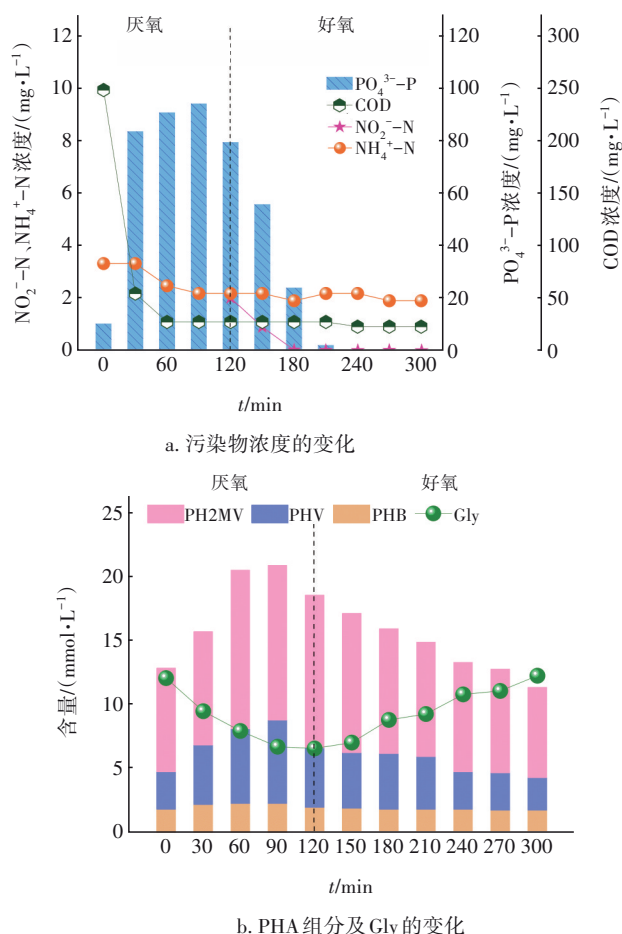


图3 PAOs富集阶段R1系统典型周期代谢规律

Fig.3 Typical periodic metabolism of R1 system during PAOs enrichment stage

另外,在厌氧阶段的后30 min发生了磷吸收和PHA减少,原因可能是在PAOs的驯化过程中系统不仅富集 *Accumulibacter*,还富集了 *Flavobacterium*、*Pseudomonas*、*Dechloromonas* 等微生物,其代谢方式与 *Accumulibacter* 有差异,因而发生了磷的吸收。此外,厌氧阶段开始后,PHA 含量大幅上升,90 min 时达到最高值。同时, Gly 从12.05 mmol/L 逐渐降低至6.55 mmol/L。进入好氧阶段后,PHA 被氧化产生能量进行磷的吸收,磷浓度持续下降,于120 min 内被完全吸收。该过程PHA降解量为7.2 mmol/L,同时 Gly 的含量恢复到12.24 mmol/L。

2.2 亚硝酸盐型反硝化除磷菌的驯化

2.2.1 驯化过程中污染物的去除性能

在驯化的第1天,两系统就有良好的缺氧除磷率, R1 为48.18%, R2 为46.60% (见图4),这与田文清^[14]的研究不同,其在反硝化聚磷菌驯化初期直接投加10 mg/L 的 NO_2^- -N, 系统缺氧除磷率仅为37.8%。这表明PAOs在短时间内无法适应 NO_2^- 的存在,从而导致缺氧除磷效果不理想。本研究在DPAOs 驯化初期取得良好的反硝化除磷效果的原因则是,PAOs 驯化阶段在好氧段初始向系统投加了 NO_2^- , 而 NO_2^- 会与 O_2 争夺 PHA 进行反硝化除磷,这对下一步的反硝化除磷菌驯化起到了促进作用。

经分析,采取厌氧/好氧运行模式并在好氧段投加一定量的 NO_2^- 有利于 DPAOs 的富集,并能缩短 DPAOs 的驯化周期。为此,提出如下驯化策略:采用厌氧/缺氧/好氧运行模式富集 DPAOs,不断调整各阶段时间占比,驯化初期好氧时间远大于缺氧时间,并在好氧段和缺氧段初始分别投加少量 NO_2^- , 继而根据系统的 EBPR 能力,逐步延长缺氧时长,同时提高缺氧段 NO_2^- 的投加量并取消好氧段 NO_2^- 的投加,直至获得良好的缺氧吸磷效果。该方案有望进一步加快亚硝酸盐型反硝化除磷系统的构建。

由图4可见, R1 系统的平均厌氧释磷量和平均除磷率分别为43.83 mg/L 和96.71%, R2 系统的分别为61.42 mg/L 和94.49%。可以看出,尽管以乙酸钠为碳源的R2系统除磷率略低,但其具有更高的厌氧释磷量与缺氧吸磷能力,这与前人的研究结果一致^[15-16]。此外,有研究发现,与吸收丙酸相比,聚磷菌吸收乙酸需要更多的能量^[17],为此,R2系统中PAOs 水解大量的 poly-P 并释放更多的 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$,因此,R2 比 R1 系统具有更高的厌氧释磷量。然而在

DPAOs的驯化过程中,尽管两系统的缺氧除磷率相差不大(R1、R2的缺氧除磷率最高分别为78.38%、77.02%),但R2系统的缺氧吸磷能力明显强于R1。

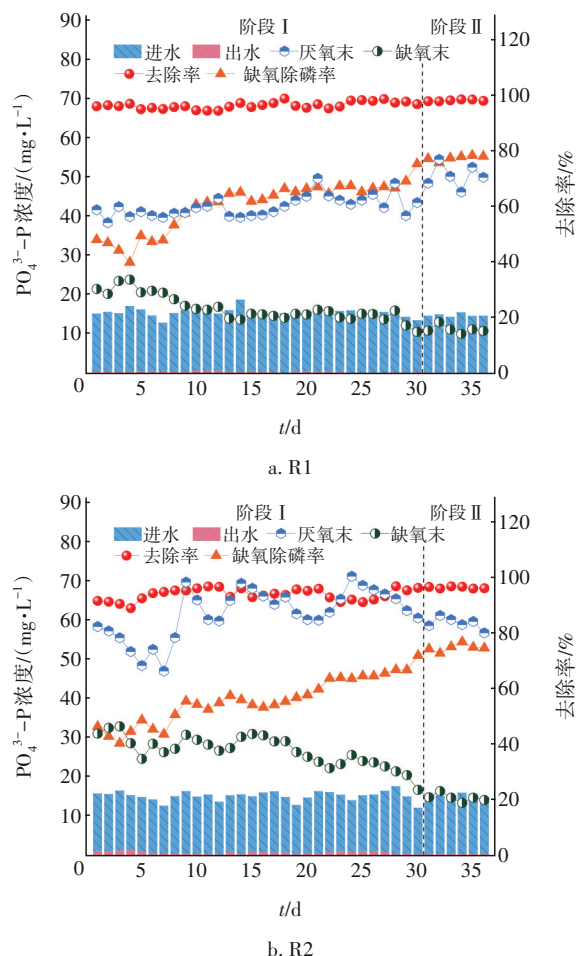


图4 DPAOs驯化阶段 R1 和 R2 系统的除磷性能

Fig.4 Phosphorus removal performance of R1 and R2 systems during DPAOs acclimation stage

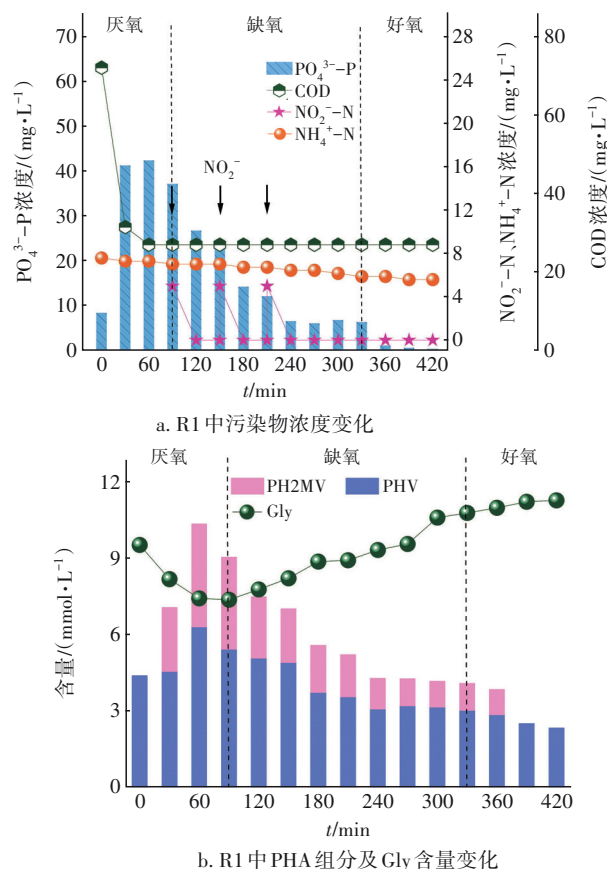
缺氧除磷率是衡量 DPAOs 驯化程度的关键,其与 NO_2^- 浓度、DPAOs 丰度、缺氧时间占比等因素相关。要获得理想的缺氧除磷率,需根据 EBPR 性能对上述条件进行调节。本研究在反硝化聚磷菌驯化初始阶段直接投加 10 mg/L 的 NO_2^- ,随着反应的进行,第4天 R1 系统的缺氧除磷率下降到 40.05%,说明反应初期 DPAOs 对高浓度的 NO_2^- 不适应,为了缓解 NO_2^- 的毒害,DPAOs 启动了仅还原 NO_2^- 而不吸收 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的应激代谢模式,这可以由 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 吸收量降低而 NO_2^- 消耗量不变得到证实,待 NO_2^- 含量下降至 DPAOs 的可接受程度,便可作为电子受体进行吸磷。随着反应的进行,反硝化除磷率逐步回升至原有水平但没有进一步升高的趋势,说明 DPAOs 逐

渐适应 10 mg/L 的 NO_2^- 浓度,且 NO_2^- 浓度已不能满足反硝化除磷过程对电子受体的需求。于是在第8天将 NO_2^- 浓度增加到 12 mg/L,待反应器运行至第24天时平均缺氧除磷率升高到 63.48%,继续提高 NO_2^- 浓度至 13 mg/L,运行至第30天时缺氧除磷率升高到 75.41%,表明电子受体浓度是限制缺氧除磷效率的主要原因。进入 DPAOs 驯化阶段 II, NO_2^- 改为批次投加,每隔 1 h 投加 5 mg/L (共 15 mg/L),如此不但提高了 NO_2^- 浓度,还可以避免高浓度的 NO_2^- 对 DPAOs 的抑制作用,最终平均缺氧除磷率升高到 77.48%。

其间,为了验证缺氧时长对缺氧除磷率的影响,取一定量的 R1 系统污泥并均分至两个血清瓶中,分别投加 15 mg/L 的 NO_2^- 并设置缺氧时长为 2.5 h 和 4 h,结果显示缺氧除磷率分别为 70.23% 和 82.76%,说明缺氧时长也会影响缺氧除磷效率。因此,两个反应器在阶段 II 的缺氧时长均设置为 4 h。

2.2.2 典型周期内的代谢特性分析

在反硝化聚磷菌驯化阶段的稳定时期进行全周期分析,以阐明厌氧、缺氧和好氧阶段底物转化和利用的机制,结果见图5。



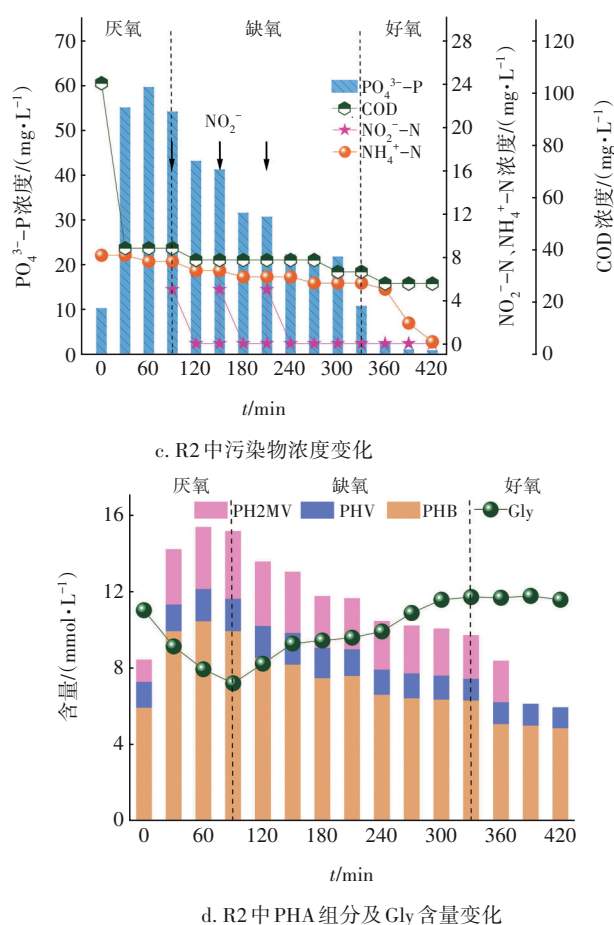


图5 DPAOs驯化阶段 R1 和 R2 系统的典型周期代谢规律
Fig.5 Typical periodic metabolism of R1 and R2 systems during DPAOs acclimation stage

由图 5(a)可知,在厌氧阶段的前 60 min, R1 系统的 COD 浓度显著降低,之后基本保持不变。COD 被大量消耗的同时,磷浓度显著上升,厌氧末期磷浓度达到 37.27 mg/L,厌氧阶段的释磷量为 28.79 mg/L,平均释磷速率为 6.40 mg/(g·h)。同时,如图 5(b)所示,以丙酸钠为碳源的 R1 系统污泥胞内 PHA 以 PHV 和 PH2MV 为主,未检测到 PHB,这与 Zhang 等人^[18]的研究结果一致。PHA 在厌氧 60 min 时含量最高,为 10.33 mmol/L。值得关注的是,PH2MV 在好氧末期未被检测到,分析原因可能是其合成和利用比 PHV 更加容易,在好氧阶段被完全氧化。同时,厌氧阶段发生了糖酵解, Gly 含量由厌氧初的 9.512 mmol/L 下降到 60 min 时的 7.413 mmol/L。进入缺氧阶段后 PHA 开始下降,与此同时磷浓度降至 6.46 mg/L,平均缺氧吸磷速率为 2.57 mg/(g·h),分批次投加的 NO_2^- 在 30 min 内均被消耗,总缺氧磷去除率达到 82.67%。至好氧结束后系统磷浓度为

0.51 mg/L,平均好氧吸磷速率为 1.33 mg/(g·h)。此外,经过缺氧和好氧阶段, Gly 含量恢复到 11.26 mmol/L,高于厌氧初期,这可能是因为沉淀和闲置阶段也发生了 Gly 的酵解。另外,由于系统中投加了 ATU,好氧过程没有发现明显的 NH_4^+ 消耗,说明 ATU 对 AOB/NOB 的抑制效果良好。

另外, R1 和 R2 系统的最高厌氧释磷量分别为 42.53、59.70 mg/L, R2 系统释磷多是因为需要更多的能量,同时 R2 系统的 COD 浓度也高于 R1,此外, R2 系统的平均释磷速率为 9.76 mg/(g·h)。需要注意的是, R2 系统在缺氧和好氧阶段也出现了 COD 的消耗,说明 R2 中除了反硝化除磷现象外,还可能存在异养反硝化菌进行脱氮,其平均缺氧和好氧吸磷速率分别为 3.62、2.20 mg/(g·h)。另外,好氧阶段 NH_4^+-N 被完全消耗,表明氨氧化过程未被 ATU 抑制。如图 5(d)所示, R2 系统的 PHA 由 PHB、PHV 和 PH2MV 组成, PH2MV 在好氧末被完全消耗。 Gly 含量由厌氧初的 11.06 mmol/L 下降到 7.24 mmol/L,再经过缺氧和好氧阶段后 Gly 含量又恢复至 11.60 mmol/L。

2.3 驯化过程中的化学计量学分析

为了进一步阐明反硝化除磷系统中 DPAOs 的代谢特征,在 DPAOs 驯化阶段 II 的稳定期进行了营养物质和胞内碳转化的化学计量学分析。在厌氧阶段, R1 和 R2 系统的 $\text{P}_{\text{释放}}/\text{COD}_{\text{吸收}}$ 分别为 0.30、0.32 mol/mol, 低于报道的典型聚磷代谢模型值 (0.50 mol/mol)^[19], 这意味着两系统中与聚磷菌竞争碳源的聚糖菌 (GAOs) 也参与了细胞内碳源储存。另外, R1 和 R2 系统的 $\text{Gly}_{\text{降解}}/\text{COD}_{\text{吸收}}$ 分别为 0.57、0.73 mol/mol, R2 系统高于 R1, 即 R2 系统吸收单位 COD 降解的 Gly 量比 R1 多, 且 Gly 的酵解除了为 PAOs 进行聚磷代谢提供部分能量外, 还是 GAOs 进行聚糖代谢的主要能量来源, 因此, R2 系统中 GAOs 的丰度高于 R1, 这与微生物测序结果一致。

在缺氧阶段, R1 和 R2 系统的 $\text{P}_{\text{吸收}}/\text{PHA}_{\text{降解}}$ 分别为 0.20、0.26 mol/mol, 说明消耗同样的 PHA, R2 的吸磷能力更强, 产生的能量更多。R1 和 R2 系统的 $\text{P}_{\text{吸收}}/\text{NO}_2^--\text{N}_{\text{还原}}$ 分别为 0.93、1.31 mol/mol, 说明 R2 系统在消耗同等亚硝酸盐的条件下可以吸收更多的磷。此外, R1 和 R2 系统的 $\text{Gly}_{\text{合成}}/\text{PHA}_{\text{降解}}$ 分别为 0.69、0.83 mol/mol, 也证实了 R2 系统的 GAOs 丰度较高。

2.4 DPAOs驯化过程中的菌群结构分析

为了了解不同阶段菌群结构的变化,进行了高通量测序分析。分别标记PAOs富集阶段的样品为M1,DPAOs驯化阶段的样品为M2(R1)和M3(R2)。如图6所示,两个阶段的优势菌门均为 *Bacteroidetes* (50%~55.18%) 和 *Proteobacteria* (28.86%~37.61%), 它们都与生物除磷密切相关^[20]。经亚硝酸盐驯化后M2和M3中 *Proteobacteria* 的占比均有所升高,推断能以亚硝酸盐为电子受体的DPAOs更多属于 *Proteobacteria*。相反,经亚硝酸盐驯化后 *Chloroflexi* 占比大幅下降,说明能以 NO_2^- 为电子受体的DPAOs属于 *Chloroflexi* 的较少。

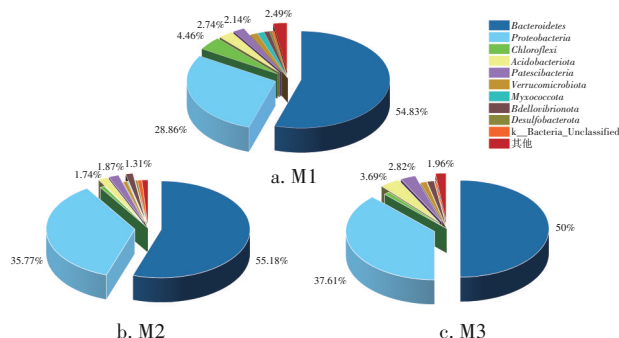


图6 DPAOs驯化前后门水平微生物群落结构

Fig.6 Microbial community structure at phylum level before and after DPAOs acclimation

驯化前后属水平上的微生物群落结构分布如图7所示。*Accumulibacter*、*Pseudomonas*、*Dechloromonas* 和 *Flavobacterium* 是负责除磷的主要微生物^[7-9]。*Dechloromonas* 是利用 O_2 、 NO_3^- 、 NO_2^- 作为电子受体进行生物除磷的关键物种^[21-22],其相对丰度由M1的0.2%分别提高至M2和M3的0.32%和0.6%。此外,*Accumulibacter* 也是广泛分布的聚磷菌^[23],与其他聚磷菌不同的是它具有丰富的支系结构,且不同支系具有不同的代谢机制,本研究中两系统的 *Accumulibacter* 丰度均有所下降,表明在DPAOs的驯化过程中不能利用 NO_2^- 的进化枝被淘汰。经过亚硝酸盐驯化后 *Flavobacterium* 的占比大幅提升,分别由1.36%提高到24.71%和9.86%。有研究表明, *Flavobacterium* 是一种典型的DPAOs,这也是本系统取得高效除磷的原因之一。然而到目前为止,关于 *Flavobacterium* 的脱氮除磷功能尚未达成共识,一些研究者将其划分为反硝化菌^[24-25],有的研究者则得到了不同的结论,认为 *Flavobacterium* 具备同步反硝

化除磷功能,是典型的DPAOs^[26-28]。同样地,本研究中也检测到了 *Flavobacterium* 的存在,并且经过 A^2O 运行模式驯化后其丰度大幅升高并取得了良好的反硝化除磷性能。因此,本研究认为高丰度的 *Flavobacterium* 参与了反硝化除磷过程。然而,它是否像我们熟知的 *Accumulibacter* 那样具有丰富的支系结构,且不同的支系具有不同的代谢机制,执行不同的代谢过程仍需进一步研究。

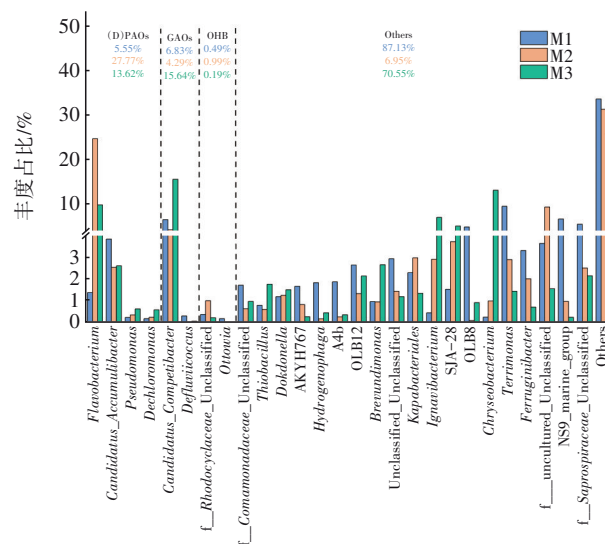


图7 DPAOs驯化前后属水平微生物群落结构

Fig.7 Microbial community structure at genus level before and after DPAOs acclimation

此外,系统中还检测到了与GAOs相关的细菌:*Candidatus_Competibacter* 和 *Defluviicoccus*。其中, *Candidatus_Competibacter* 在R2系统中的丰度为15.61%,远高于R1系统的4.28%,这与前人的研究结果一致^[29],即该细菌在以乙酸为碳源的系统中更容易生存。但两系统中 *Defluviicoccus* 的占比却大幅下降,经亚硝酸盐驯化后其在两系统中的占比分别仅为0.01%和0.03%,分析原因, *Defluviicoccus* 在 NO_2^- 含量较高的环境下似乎会受到抑制。虽然聚糖菌在R2系统中的占比达到了15.64%,但是R2系统的除磷率依然高达94.49%,这表明在除磷系统中聚糖菌的存在并不会影响除磷,除非聚磷菌的丰度过低。

3 结论

① 通过在PAOs富集过程的好氧初投加亚硝酸盐,使DPAOs在驯化初期就获得了良好的反硝化除磷性能,R1和R2的缺氧除磷率分别为48.18%和

46.60%,实现了亚硝酸盐型反硝化除磷系统的快速构建。

② 通过调节电子受体浓度及投加方式、缺氧时长等可进一步提高反硝化除磷贡献率。R1和R2的缺氧除磷率最高分别达到了78.38%和77.02%。

③ 维持稳定反硝化除磷效能的功能菌属包括 *Flavobacterium*、*Accumulibacter*、*Pseudomonas* 和 *Dechloromonas*,其中丰度最高的是 *Flavobacterium*,是系统取得高效除磷效果的原因之一,R1和R2的平均除磷率分别为96.71%和94.49%。

参考文献:

- [1] LI C, LIU S, MA T, *et al.* Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in a sequencing batch reactor (SBR) under low temperature [J]. *Chemosphere*, 2019, 229: 132-141.
- [2] FAN Z, ZENG W, MENG Q, *et al.* Achieving enhanced biological phosphorus removal utilizing waste activated sludge as sole carbon source and simultaneous sludge reduction in sequencing batch reactor [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 799: 149291.
- [3] ZHAO Y, ZHU Z, CHEN X, *et al.* Discovery of a novel potential polyphosphate accumulating organism without denitrifying phosphorus uptake function in an enhanced biological phosphorus removal process [J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 912: 168952.
- [4] 李冬,刘博,王文琪,等. 除磷颗粒诱导的同步短程硝化反硝化除磷颗粒污泥工艺 [J]. *环境科学*, 2020, 41(2): 867-875.
LI Dong, LIU Bo, WANG Wenqi, *et al.* Simultaneous short-cut nitrification-denitrification phosphorus removal granules induced by phosphorus removal granules [J]. *Environmental Science*, 2020, 41(2): 867-875 (in Chinese).
- [5] 李成,郭之晗,黄慧敏,等. 反硝化除磷的启动特性及亚硝酸盐浓度的影响 [J]. *中国给水排水*, 2023, 39(11): 8-14.
LI Cheng, GUO Zhihan, HUANG Huimin, *et al.* Start-up characteristics of denitrifying phosphorus removal process and effect of nitrite concentration [J]. *China Water & Wastewater*, 2023, 39(11): 8-14 (in Chinese).
- [6] ZEKKER I, MANDEL A, RIKMANN E, *et al.* Ameliorating effect of nitrate on nitrite inhibition for denitrifying P-accumulating organisms [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 797: 149133.
- [7] 黄健平,闫阁,卞晓峥,等. 反硝化除磷污水处理工艺影响因素分析 [J]. *华北水利水电大学学报(自然科学版)*. 2021, 42(6): 100-106.
HUANG Jianping, YAN Ge, BIAN Xiaozheng, *et al.* Analysis of the influencing factors of denitrification and phosphorus removal in wastewater treatment process [J]. *Journal of North China University of Water Resources and Electric Power (Natural Science Edition)*, 2021, 42(6): 100-106 (in Chinese).
- [8] CHEN P, WU J, LU X, *et al.* Denitrifying phosphorus removal and microbial community characteristics of two-sludge DEPHANOX system: effects of COD/TP ratio [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2021, 172: 108059.
- [9] XU X, QIU L, WANG C, *et al.* Achieving mainstream nitrogen and phosphorus removal through simultaneous partial nitrification, Anammox, denitrification, and denitrifying phosphorus removal (SNADPR) process in a single-tank integrative reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 284: 80-89.
- [10] 靳海东. 以亚硝酸盐为电子受体的反硝化除磷菌的抑制机理研究 [D]. 兰州: 兰州交通大学, 2023.
JIN Haidong. Inhibition Mechanism Research of Denitrifying Phosphorus Accumulating Organisms Based on Nitrite as Electron Acceptor [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2023 (in Chinese).
- [11] KOLAKOVIC S, FREITAS E B, REIS M A M, *et al.* *Accumulibacter* diversity at the sub-clade level impacts enhanced biological phosphorus removal performance [J]. *Water Research*, 2021, 199: 117210.
- [12] OEHMEN A, KELLER-LEHMANN B, ZENG R J, *et al.* Optimisation of poly- β -hydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1070(1/2): 131-136.
- [13] ZHANG X, WANG C, WU P, *et al.* New insights on biological nutrient removal by coupling biofilm-based CANON and denitrifying phosphorus removal (CANDPR) process: long-term stability assessment and microbial community evolution [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 730: 138952.
- [14] 田文清. 环境压力胁迫下亚硝酸盐型反硝化除磷菌的应激代谢机制研究 [D]. 兰州: 兰州交通大学, 2022.
TIAN Wenqing. Metabolism Mechanism of Denitrifying

- Phosphate Accumulating Organisms via Nitrite Pathway Subjected to Environmental Stress [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2022 (in Chinese).
- [15] 吉茸,王少坡,赵乐丹,等. 碳源类型对AOA-SBR系统的除磷特性和菌群组成的影响[J]. 高技术通讯, 2017, 27(4): 381-388.
- JI Rong, WANG Shaopo, ZHAO Ledan, *et al.* Effects of carbon sources on phosphorus removal characteristics of anaerobic-oxic-anoxic (AOA) -SBR systems [J]. Chinese High Technology Letters, 2017, 27(4): 381-388 (in Chinese).
- [16] 鲍林林,李相昆,张杰. 碳源类型对反硝化除磷系统的影响[J]. 环境工程学报, 2011, 5(7): 1567-1571.
- BAO Linlin, LI Xiangkun, ZHANG Jie. Effect of carbon sources on denitrifying phosphorus removal system [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2011, 5(7): 1567-1571 (in Chinese).
- [17] CARVALHEIRA M, OEHMEN A, CARVALHO G, *et al.* The effect of substrate competition on the metabolism of polyphosphate accumulating organisms (PAOs) [J]. Water Research, 2014, 64: 149-159.
- [18] ZHANG M, WANG Y, FAN Y, *et al.* Bioaugmentation of low C/N ratio wastewater: effect of acetate and propionate on nutrient removal, substrate transformation, and microbial community behavior [J]. Bioresource Technology, 2020, 306: 122465.
- [19] WANG X, ZHAO J, YU D, *et al.* Stable nitrite accumulation and phosphorous removal from nitrate and municipal wastewaters in a combined process of endogenous partial denitrification and denitrifying phosphorus removal (EPDPR)[J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 355: 560-571.
- [20] HE Q, LIU J, PENG Y, *et al.* Realization of partial nitrification and in-situ anammox in continuous-flow anaerobic/aerobic/anoxic process with side-stream sludge fermentation for real sewage [J]. Bioresource Technology, 2022, 346: 126520.
- [21] FENG Y, LUO S, ZHANG Y, *et al.* Enhanced nutrient removal from mainstream sewage via denitrifying dephosphatation, endogenous denitrification and anammox in a novel continuous flow process [J]. Bioresource Technology, 2022, 351: 127003.
- [22] WANG H, DAN Q, DU R, *et al.* Enhanced nitrogen removal in partial nitrification-anammox (PNA) suspended sludge system for real municipal wastewater treatment at extremely low carbon to nitrogen ratio [J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 452: 139256.
- [23] ZHAO W, BI X, PENG Y, *et al.* Research advances of the phosphorus-accumulating organisms of *Candidatus Accumulibacter*, *Dechloromonas* and *Tetrasphaera*: metabolic mechanisms, applications and influencing factors [J]. Chemosphere, 2022, 307: 135675.
- [24] HE Q, SONG Q, ZHANG S, *et al.* Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sequencing batch reactor with mixed carbon sources: reactor performance, extracellular polymeric substances and microbial successions [J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 331: 841-849.
- [25] TAVANA A, PISHGAR R, TAY J H. Impact of hydraulic retention time and organic matter concentration on side-stream aerobic granular membrane bioreactor [J]. Science of the Total Environment, 2019, 693: 133525.
- [26] MA Y, JIANG W, NIE Z, *et al.* Study on the mechanisms of enhanced biological nitrogen and phosphorus removal by denitrifying phosphorus removal in a micro-pressure swirl reactor [J]. Bioresource Technology, 2022, 364: 128093.
- [27] ZHANG X, WANG C, WU P, *et al.* A novel denitrifying phosphorus removal and partial nitrification, anammox (DPR-PNA) process for advanced nutrients removal from high-strength wastewater[J]. Chemosphere, 2021, 265: 129165.
- [28] XU J, PANG H, HE J, *et al.* The effect of supporting matrix on sludge granulation under low hydraulic shear force: performance, microbial community dynamics and microorganisms migration [J]. Science of the Total Environment, 2020, 712: 136562.
- [29] SHEN N, ZHOU Y. Enhanced biological phosphorus removal with different carbon sources [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100: 4735-4745.

作者简介:于占洋(1997-),男,河北承德人,硕士研究生,研究方向为水污染控制。

E-mail:1844731502@qq.com

收稿日期:2024-08-11

修回日期:2024-08-25

(编辑:李德强)