

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2025.09.003

# 进水方式与污泥形态对混合碳源系统DNRA的影响

赵 龙<sup>1</sup>, 张贤庆<sup>1</sup>, 宋 波<sup>2</sup>, 周怡君<sup>1</sup>, 于占洋<sup>1</sup>, 马 娟<sup>1,3,4</sup>

(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:** 异化硝酸盐还原为铵(DNRA)是全球氮循环中不可缺少的部分,但目前关于污水处理系统中DNRA的研究较少。为此,以乙酸钠、葡萄糖和无水乙醇等比例混合碳源为底物,采用两个相同的ASBR反应器(分别代表生物膜系统和活性污泥系统),考察不同污泥形态及进水方式对DNRA菌富集及产铵性能的影响。结果表明,经过145 d的驯化培养,两套反应器均具备一定产铵能力且成功富集出DNRA菌,平均产铵率分别为15.08%和3.34%,属水平上DNRA菌占比分别为4.66%和3.37%,其中优势菌属均为*Desulfohalobium*。对比发现,当进水方式为间歇流时,两个系统的产铵率相当且均低于5%;而将生物膜反应器进水方式改为连续流,运行稳定后系统的产铵率最高可达到16.57%,远远高于活性污泥系统,说明连续流更有利于DNRA菌产铵。

**关键词:** 异化硝酸盐还原为铵; 反硝化; 混合碳源; 进水方式; 污泥形态

**中图分类号:** TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2025)09-0017-09

## Impact of Influent Mode and Sludge Form on Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium in a Mixed Carbon Source System

ZHAO Long<sup>1</sup>, ZHANG Xian-qing<sup>1</sup>, SONG Bo<sup>2</sup>, ZHOU Yi-jun<sup>1</sup>, YU Zhan-yang<sup>1</sup>,  
MA Juan<sup>1,3,4</sup>

(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. Gansu Wastewater Treatment Industry Technology Center, Lanzhou 730070, China; 4. Ministry of Education Engineering Research Center of Water Resource Comprehensive Utilization in Cold and Arid Regions, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) constitutes an essential component of the global nitrogen cycle. However, limited research has been conducted on DNRA within wastewater treatment systems. In this study, sodium acetate, glucose, and anhydrous ethanol were utilized as substrates, and two identical anaerobic sequencing batch reactors (ASBR), biofilm system and activated sludge system, were employed to investigate the effects of different sludge forms and influent modes on the enrichment and ammonium production of DNRA bacteria. Following 145 days of

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(2024CXPT-14); 太石交旅融合项目(524138)

通信作者: 马娟 E-mail: meggyma@163.com

acclimation and cultivation, both reactors achieved certain capability in ammonium production and successfully enriched DNRA bacteria. The average ammonium production rates were 15.08% and 3.34%, respectively. At the genus level, the proportions of DNRA bacteria were 4.66% and 3.37%, respectively. *Desulfobulbus* was identified as the predominant bacterial genus. When the reactors were operated in intermittent flow, the ammonium yield in both systems was comparable and remained below 5%. However, upon switching the inflow mode of the biofilm reactor to continuous flow, the system achieved a maximum ammonium production rate of 16.57% after reaching stable operation, which was significantly higher than that of the activated sludge system, suggesting that continuous flow was more favorable for ammonium production by DNRA bacteria.

**Key words:** dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA); denitrification; mixed carbon sources; influent mode; sludge form

异化硝酸盐还原为铵(DNRA)是在自然界中存在非常广泛但却被忽视的一种氮代谢途径<sup>[1-3]</sup>。同时, DNRA在污水处理设施中也广泛存在,在我国不同地区、采用不同工艺的污水处理厂中均有检测到DNRA的发生<sup>[4-5]</sup>。DNRA过程可分为两步,第一步和反硝化类似,  $\text{NO}_3^--\text{N}$ 在硝酸盐还原酶的作用下,将 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 转化为 $\text{NO}_2^--\text{N}$ ,第二步则是在亚硝酸盐还原酶的作用下,将 $\text{NO}_2^--\text{N}$ 转化为 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ <sup>[6]</sup>。已有的研究发现, DNRA菌更适合在高C/N、较高温度、较长水力停留时间(HRT)、 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 限制(相比碳源供给充足,  $\text{NO}_3^--\text{N}$ 供给受限,即高C/ $\text{NO}_3^--\text{N}$ )的条件下生长<sup>[7-9]</sup>。van den Berg等人2015年首次以污水处理厂活性污泥为种泥,在C/N为7.7、底物为乙酸的恒化器中成功富集出DNRA菌<sup>[10]</sup>。与硝化、反硝化以及厌氧氨氧化不同的是, DNRA将氮素保留在生境中,而其他代谢途径则是将氮素转化为 $\text{N}_2\text{O}$ 、 $\text{NO}$ 、 $\text{N}_2$ 等散逸。反硝化过程的中间产物 $\text{N}_2\text{O}$ 会对环境产生较大的影响,因为 $\text{N}_2\text{O}$ 是主要的臭氧消耗剂,也是一种强效温室气体,而DNRA途径直接将 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 转化为 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ ,从根源上减少了 $\text{N}_2\text{O}$ 的排放<sup>[11]</sup>。因此, DNRA应用前景十分广阔,短程DNRA非常适合与厌氧氨氧化结合,为厌氧氨氧化提供 $\text{NO}_2^--\text{N}$ ,可以解决目前短程反硝化难以控制且容易转化为全程反硝化的问题<sup>[12]</sup>。

尽管在污水处理设施中发现了DNRA菌,但目前关于DNRA的研究大多数停留在自然生境中,针对污水处理设施中异化硝酸盐还原的研究仍然很少。并且,已有的研究均采用单一碳源为底物对DNRA菌进行富集,但实际污水成分十分复杂,采用

单一碳源富集的DNRA菌可能会在复杂碳源污水中被淘汰,所以采用混合碳源对DNRA菌进行富集十分重要<sup>[13]</sup>。鉴于此,笔者采用两套厌氧序批式生物反应器(ASBR),以葡萄糖、乙酸钠、无水乙醇3种碳源等比例混合为底物,以污水处理厂活性污泥为种泥对DNRA菌进行富集,并考察进水方式、污泥形态等因素对异化硝酸盐还原的影响。

## 1 实验材料与方法

### 1.1 实验装置

实验装置采用两套相同的ASBR反应器,如图1所示。反应器由有机玻璃制作,总容积为12 L,有效容积为8 L,外层设有水浴夹层,通过温控系统控制温度在 $(35\pm 1)^\circ\text{C}$ ,最外部采用铝箔保温棉包裹,避免光照产生光合细菌对实验产生干扰,同时减少热量散失。其中, ASBR1反应器内部周围放置直径为2 cm的正方体聚氨酯海绵填料网,填充率为15%; ASBR2反应器中无填料网。

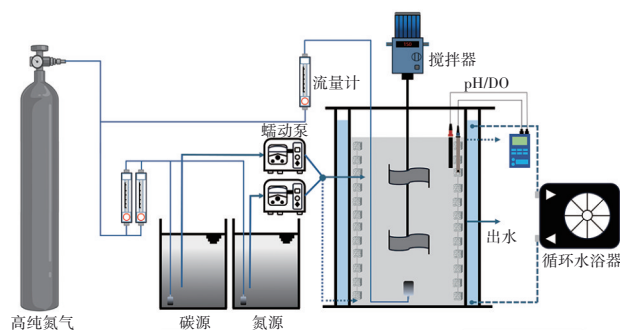


图1 实验装置

Fig.1 Diagram of experimental setup

### 1.2 接种污泥与实验用水

接种污泥取自兰州市榆中县和平污水处理厂

缺氧段活性污泥,该污水处理厂采用氧化沟工艺。ASBR1和ASBR2的污泥接种量均为2 L,MLSS为8 010 mg/L。以葡萄糖、乙酸钠、乙醇按照1:1:1(COD当量比)混合作为碳源,以 $\text{NaNO}_3$ 为唯一氮源,氮源与碳源存放在不同的进水桶,以避免发生反应,采用两台相同的蠕动泵以确保氮源与碳源进水量相同,碳源和氮源进水桶以及反应器主体每天通入30 min氮气以维持厌氧环境。进水氮源按需提供,其他组分包括1.999 g/L的 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、0.02 g/L的 $\text{CaCl}_2$ 、0.197 g/L的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、微量元素I和II各4 mL/L,微量元素I的组分:EDTA为50.96 g/L、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 为1.10 g/L、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 为1.57 g/L、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 为5.54 g/L;微量元素II的组分: $\text{ZnCl}_2$ 为1.04 g/L、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 为5.25 g/L、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 为5 g/L、酵母浸膏为2.5 g/L。此外,使用1 mol/L的HCl和NaOH调节进水pH为 $7.5 \pm 0.2$ 。

### 1.3 反应器运行方法

两个ASBR反应器的运行参数见表1(COD和 $\text{NO}_3^-$ -N浓度为碳源和氮源进水混合后的浓度)。ASBR1前3个阶段的进水方式为间歇流,碳源和氮源进水各2 L,运行方式为:进水5 min→搅拌1 385 min→沉淀45 min→排水5 min;第4阶段改为连续流进水,底部连续进水、顶部连续出水(图1中虚线部分),DO控制在0.1 mg/L以下,4个阶段共运行145 d。ASBR2全程采用间歇流进水,运行方式和ASBR1前3个阶段相同,共运行145 d,分为S1和S2两个阶段。两个反应器的排水比均为50%,HRT为48 h。

表1 ASBR的运行参数

Tab.1 Operating parameters of ASBR

反应器	阶段	时间/d	COD/(mg·L <sup>-1</sup> )	$\text{NO}_3^-$ -N/(mg·L <sup>-1</sup> )	流态
ASBR1	S1	0~30	635.25±23	82.5±3.8	间歇
	S2	31~66	1 270.5±36	165±5.1	间歇
	S3	67~105	2 541±48	330±7.4	间歇
	S4	106~145	635.25±27	82.5±3.6	连续
ASBR2	S1	0~30	635.25±31	82.5±3.6	间歇
	S2	31~145	1 270.5±42	165±6.7	间歇

### 1.4 分析项目与方法

出水水样经0.45 μm针式滤头过滤后进行水质测定,每隔1 d测1次。其中, $\text{NH}_4^+$ -N采用纳氏试剂分光光度法测定, $\text{NO}_2^-$ -N采用N-(1-萘基)-乙二胺

二盐酸盐分光光度法测定, $\text{NO}_3^-$ -N采用麝香草酚分光光度法测定,COD采用快速消解分光光度法测定,MLSS采用标准方法测定。pH、DO、ORP采用WTW Multi 3420便携式多参数水质分析仪测定。

产铵率采用如下公式计算:

$$\text{产铵率} = \frac{C_{\text{NH}_4^+, \text{出}}}{C_{\text{NO}_3^-, \text{进}} - C_{\text{NO}_3^-, \text{出}} - C_{\text{NO}_2^-, \text{出}}} \quad (1)$$

式中: $C_{\text{NH}_4^+, \text{出}}$ 为出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度; $C_{\text{NO}_3^-, \text{进}}$ 为进水 $\text{NO}_3^-$ -N浓度; $C_{\text{NO}_3^-, \text{出}}$ 为出水 $\text{NO}_3^-$ -N浓度; $C_{\text{NO}_2^-, \text{出}}$ 为出水 $\text{NO}_2^-$ -N浓度。

### 1.5 高通量测序

取第0天原始污泥样本,第105、145天ASBR1污泥样本,以及第145天ASBR2污泥样本,采用DNA试剂盒(美国,Omega)对污泥样品进行DNA提取,采用16S rRNA引物515F和806R进行扩增,由广东美格基因科技有限公司进行Illumina高通量测序。

## 2 结果与讨论

### 2.1 流态对生物膜系统产铵的影响

ASBR1为添加填料网的生物膜反应器,根据进水底物和流态的不同分为4个运行阶段,各个阶段的运行效果见图2。

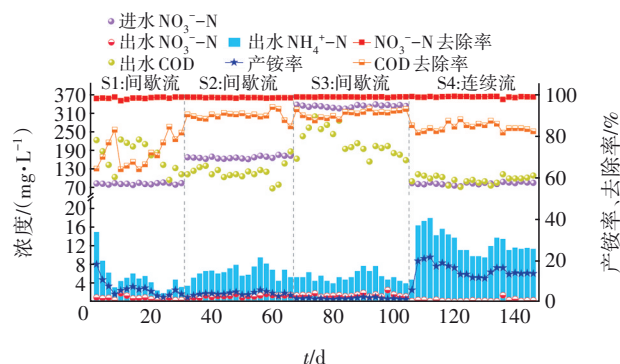


图2 ASBR1反应器的运行效果

Fig.2 Operation effect of ASBR1 reactor

S1阶段为启动阶段,在启动初期,出水检测到高浓度 $\text{NH}_4^+$ -N,这是因为部分微生物无法适应新的环境,从而出现死亡,细胞内物质裂解流出,释放有机氮并转化为 $\text{NH}_4^+$ -N,造成运行初期 $\text{NH}_4^+$ -N浓度升高,与以往研究相同,此阶段的出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度和产铵率都不能表征相关功能微生物真实的产铵情况<sup>[14]</sup>。随着反应器的运行,出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度逐渐降低,并在第24天达到最低值1.82 mg/L,相应的



产铵率为2.2%,此时进水中大部分的 $\text{NO}_3^-$ -N被反硝化菌转化为 $\text{N}_2$ 散逸。随着运行时间的继续增加,出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度逐渐升高,但仍维持在较低水平。此外,初期出水COD浓度也偏高,除了因部分细胞裂解释放出有机物外,因进水底物无法被微生物利用,导致部分COD随出水排出;随着反应器的运行,出水COD逐渐降低,到第8天降至103.85 mg/L, COD去除率达到83.65%;之后出水COD有所回升,然后逐渐降低;运行到第26天时,出水COD浓度降至94.5 mg/L, COD去除率达到85.12%,为S1阶段的最高水平。在S1阶段,出水 $\text{NO}_3^-$ -N浓度一直维持在较低水平,在0.34~1.80 mg/L之间, $\text{NO}_3^-$ -N去除率一直维持在97.7%以上,平均去除率达到99.1%,而出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度亦维持在较低水平,平均为5.17 mg/L,说明本阶段反硝化对 $\text{NO}_3^-$ -N的去除占主要地位。

S2和S3阶段为负荷提升阶段,在这两个阶段,保持HRT和进水C/N值不变,进水 $\text{NO}_3^-$ -N和COD浓度成倍提高,目的是考察负荷提升后混合碳源对产铵的影响。在S2阶段,进水 $\text{NO}_3^-$ -N由82.5 mg/L提升至165 mg/L后,出水 $\text{NH}_4^+$ -N出现小幅度升高,由S1阶段末的3.13 mg/L最高升至9.45 mg/L,但在S3阶段,进水 $\text{NO}_3^-$ -N由165 mg/L提升至330 mg/L时,出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度与S2阶段相当,进水 $\text{NO}_3^-$ -N浓度提升后,对产铵促进不明显。在负荷提升阶段,出水 $\text{NO}_3^-$ -N基本维持在1~2 mg/L, $\text{NO}_3^-$ -N去除率维持在99%以上。随着进水 $\text{NO}_3^-$ -N浓度的提高,出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度变化不明显,说明前3个阶段产铵率不高的原因并非是底物 $\text{NO}_3^-$ -N供应不足。

推测可能是在在间歇流进水方式下,一次性投加底物,虽然C/N值较高,但 $\text{NO}_3^-$ -N浓度在短期内维持较高水平,没有持续的维持 $\text{NO}_3^-$ -N限制条件,对S2阶段进行24 h全周期测定,进水完成并搅拌5 min后取样测得COD浓度为697.94 mg/L、 $\text{NO}_3^-$ -N浓度为52.73 mg/L,此时C/N值维持在13左右,偏离DNRA菌喜好的C/N值(7.7),一方面是因为排水比为50%,系统内残留有上一周期的COD;另一方面是因为在进水完成并搅拌5 min过程中, $\text{NO}_3^-$ -N被反硝化菌优先消耗,由于碳源种类丰富,不同的菌群可以利用不同的碳源,摄取足量的 $\text{NO}_3^-$ -N进行自身生长,导致DNRA菌不占据优势地位,因为同样消耗1 mol  $\text{NO}_3^-$ -N,反硝化过程需要5

个电子,而DNRA过程需要8个电子<sup>[15]</sup>。1 h后,测得系统内 $\text{NO}_3^-$ -N浓度仅为1.33 mg/L、COD浓度为190.86 mg/L,在1 h内 $\text{NO}_3^-$ -N和COD即被大量消耗,其中 $\text{NO}_3^-$ -N几乎被消耗殆尽,说明间歇流阶段 $\text{NH}_4^+$ -N产量不高并非因为间歇流难以持续维持 $\text{NO}_3^-$ -N限制条件,也并非因为底物供应不足,而是底物一次性供应,会迅速被其他菌群消耗,DNRA菌难以持续获得底物 $\text{NO}_3^-$ -N。

在S4阶段,将间歇流进水改为连续流进水,以持续营造 $\text{NO}_3^-$ -N限制环境。改变进水流态以后,反应器出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度出现了非常明显的升高,由S3阶段的4.71 mg/L升至16.28 mg/L,并在此后几天内持续升高,但随后出现了明显的下降。在改变进水方式初期,出水 $\text{NH}_4^+$ -N迅速升高的原因可能是,由于 $\text{NO}_3^-$ -N的限制供应,导致部分细菌无法适应,从而发生细胞自溶,胞内物质裂解导致出水 $\text{NH}_4^+$ -N升高。随着反应器继续运行,出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度变化幅度逐渐缩小,最终稳定维持在11~12 mg/L,稳定以后S4阶段的产铵率最高可达16.57%,平均产铵率为15.08%。对比S1阶段,在进水 $\text{NO}_3^-$ -N浓度相同的条件下,S4阶段的产铵率增加了近5倍,S1阶段末期的比微生物产铵率为0.13 mg $\text{NH}_4^+$ -N/(mgMLVSS·h),而S4阶段末期的为0.47 mg $\text{NH}_4^+$ -N/(mgMLVSS·h),因此可以得出,相比间歇流,连续流进水更有利于DNRA菌进行产铵。

## 2.2 活性污泥系统的产铵性能

ASBR2为活性污泥反应器,根据进水底物的不同分为两个阶段,均为间歇流进水,各个阶段的运行效果见图3。

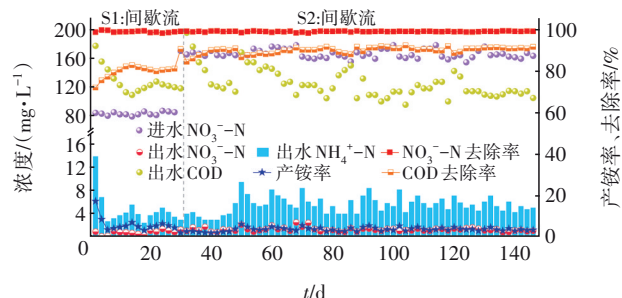


图3 ASBR2反应器的运行效果

Fig.3 Operation effect of ASBR2 reactor

S1阶段为启动阶段,和ASBR1反应器类似,初期部分细菌不适应底物变化,从而出现细胞自溶,导致出水 $\text{NH}_4^+$ -N浓度升高。经过一段时间的适应,

S1阶段的出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度逐渐降低,由最高值13.92 mg/L降至2.61 mg/L,随后逐渐升高。该阶段出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 基本维持在1 mg/L以下, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率在99%左右,而出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度不高,说明该阶段的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 主要通过反硝化去除。随着时间的推移,出水COD浓度呈逐渐下降的趋势,由最高值177.06 mg/L降至最低值108.26 mg/L,该阶段COD去除效果不稳定,COD平均去除率为80.56%。

S2阶段为负荷提升阶段,进水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 由S1阶段的82.5 mg/L升至165 mg/L,在该阶段,出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度最高为9.45 mg/L、最低为2.87 mg/L、平均为5.49 mg/L,产铵率平均为3.34%,出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 最高为2.42 mg/L、最低为0.71 mg/L、平均为1.20 mg/L, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率维持在99%以上,出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度不高,该阶段 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 也主要通过反硝化去除。出水COD除初期波动较大以外,随着运行时间的延长,后期出水COD趋于稳定,维持在 $(110\pm 10)$  mg/L左右,COD去除率维持在90%以上。对比ASBR1和ASBR2反应器的S1、S2阶段,在相同进水浓度下,两反应器出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、COD浓度基本相同,在S2阶段,ASBR1出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均为6.37 mg/L、产铵率平均为3.89%,ASBR2出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 平均为5.49 mg/L、产铵率平均为3.34%,由此可知,在间歇流进水方式下,不同污泥形态(生物膜、絮体污泥)对DNRA菌产铵虽然有一定的影响,但不显著。

值得注意的是,虽然进水C/N值为7.7,但由于反应器内残留有上一阶段的COD,实际的C/N值比进水要高,结合全周期数据,进水完成并搅拌5 min后,测得COD为688.70 mg/L、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为60.97 mg/L,C/N值在11左右;1 h后 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 迅速降至1.33 mg/L。间歇流一次性供给的底物在短期内会被迅速消耗掉,所以ASBR2反应器产铵率不高的原因与ASBR1反应器相同,均是因为间歇流进水难以持续地供应底物 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 。由于两反应器内实际C/N值均超过7.7,但出水中还是能持续检测到 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,因此可以得出,在C/N值超过7.7的环境中,也会发生DNRA。本研究采用活性污泥反应器,在为期145 d的运行中,ASBR2反应器出水中持续检测到一定浓度的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ,说明不管是生物膜还是絮体污泥,只要C/N值维持在较高水平,即 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 限制条件,都会产生DNRA现象。

## 2.3 典型周期内氮素及COD的变化

在S2阶段,由于出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度一直难以保持稳定,遂在第54天对ASBR1和ASBR2反应器进行全周期监测,结果见图4。

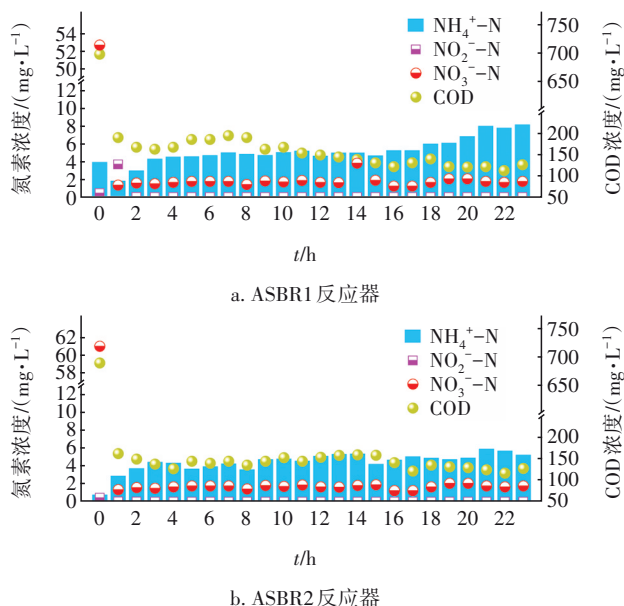


图4 两个系统典型周期中氮素及COD的变化

Fig.4 Nitrogen and COD changes in typical cycle of two systems

在ASBR1反应器中,第0 h时刻的数据是在进水完成后取样测得,因为排水比为50%,进水进入反应器后有一定稀释,且5 min进水阶段以及2 min搅拌阶段,会消耗一定 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ,所以测得 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度为52.73 mg/L,与其理论值82.5 mg/L具有一定偏差,是稀释和微生物消耗共同作用的结果;同时,测得COD浓度为697.94 mg/L,比理论值635.25 mg/L要高,这是因为在上一阶段COD并未被完全去除。在1 h后,COD和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 被迅速消耗,COD浓度由697.94 mg/L降至190.82 mg/L,前期COD和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 同步降低,这是因为反硝化菌消耗了大量COD,在 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 被基本消耗殆尽后,COD消耗也逐渐减缓; $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 由52.73 mg/L降至1.33 mg/L,并观察到有 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 生成, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 由第0 h时刻的0.43 mg/L增至3.67 mg/L,这可能是因为发生了短程反硝化或短程DNRA, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 被转化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 由3.92 mg/L降至1.81 mg/L,推测是因为进水完成后,反应器内基质未混合均匀,搅拌1 h后 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 出现下降。但在1 h后发现有 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累,在随后的1 h, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 被消耗,而 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 升高,推测可能是因为DNRA菌

利用 $\text{NO}_2^-$ -N进一步生成 $\text{NH}_4^+$ -N。而在后续过程中, $\text{NO}_3^-$ -N几乎被消耗殆尽,但 $\text{NH}_4^+$ -N仍然持续升高,推测可能是因为在长时间厌氧环境下,微生物水解产生的 $\text{NH}_4^+$ -N累积。而在后续的16S rRNA测序中发现了具有DNRA功能的细菌,同时因为在S1阶段末期以及S2阶段初期,出水 $\text{NH}_4^+$ -N低于4 mg/L,而全周期数据中最终出水 $\text{NH}_4^+$ -N在8 mg/L左右,所以全周期数据中 $\text{NH}_4^+$ -N浓度逐渐升高并非完全是因为水解作用,可能是在进水后一段时间内,DNRA菌利用进水 $\text{NO}_3^-$ -N和碳源进行产 $\text{NH}_4^+$ -N,而后续 $\text{NO}_3^-$ -N被大量消耗,随着厌氧时间的延长,部分微生物水解产生 $\text{NH}_4^+$ -N,即微生物水解和DNRA同时进行。

ASBR2的取样时间和ASBR1相同,在第0 h时刻,测得 $\text{NO}_3^-$ -N浓度为60.97 mg/L,与理论值82.5 mg/L具有一定偏差,测得COD浓度为688.70 mg/L,比理论值635.25 mg/L要高,原因同ASBR1。在1 h后,COD和 $\text{NO}_3^-$ -N被迅速消耗,COD由688.70 mg/L降至162.84 mg/L,原因亦同ASBR1。第0 h时刻测得 $\text{NH}_4^+$ -N浓度为0.76 mg/L,1 h后升至2.86 mg/L,增加了2.1 mg/L,而最终出水 $\text{NH}_4^+$ -N为5.21 mg/L,增加了2.35 mg/L。结合后续16S rRNA测序中发现了具有DNRA功能的菌属,以及S1阶段末期和S2阶段初期出水 $\text{NH}_4^+$ -N平均为2.5 mg/L,低于最终出水 $\text{NH}_4^+$ -N,可以说明ASBR2反应器内 $\text{NH}_4^+$ -N升高并非完全因为微生物水解,和ASBR1相同,是因为DNRA和微生物水解共同发生。

与ASBR1不同的是,ASBR2测得的 $\text{NH}_4^+$ -N浓度更低,这是因为采用活性污泥,搅拌后基质混合得更均匀,DNRA进行到中间 $\text{NO}_2^-$ -N步骤后,更容易被反硝化菌利用,所以在ASBR2系统全周期数据中未检测到 $\text{NO}_2^-$ -N。而采用生物膜,膜载体从内而外生长着不同的功能菌,进行到中间 $\text{NO}_2^-$ -N步骤后,更容易被DNRA菌利用进行产铵。因为DNRA和反硝化都会竞争底物 $\text{NO}_2^-$ -N,所以DNRA与反硝化共存看起来像是一个相悖的结论,但以往研究发现,即使在较广的C/N值范围内,DNRA和反硝化也可以同时发生<sup>[16]</sup>。结合全周期数据以及两个反应器的出水水质数据可以得出,间歇流阶段DNRA菌的产铵率不高主要是因为间歇流一次性投加底物,在短期内 $\text{NO}_3^-$ -N就被消耗殆尽,难以持续供应底物 $\text{NO}_3^-$ -N。

## 2.4 流态及污泥形态对功能微生物群落的影响

### 2.4.1 微生物群落的多样性

原始污泥与不同时期污泥样品的微生物多样性指数见表2。Chao1指数常用来估计物种总数,其值越大代表物种总数越多;Simpson指数是用来估算样品中微生物多样性的指数之一,反映了当随机取样时,取样得到的微生物属于不同物种的概率大小,其值越大,说明群落多样性越低;Shannon指数用来描述个体出现的紊乱和不确定性,其值越大,群落多样性也就越高。

表2 不同时期微生物多样性指数

Tab.2 Microbial diversity index at different periods

样本来源	Chao1	Simpson	Shannon
原始污泥	2 583	0.007 2	8.96
ASBR1 间歇流	3 116	0.007 0	9.01
ASBR1 连续流	1 396	0.037 3	6.14
ASBR2 间歇流	1 555	0.076 4	5.96

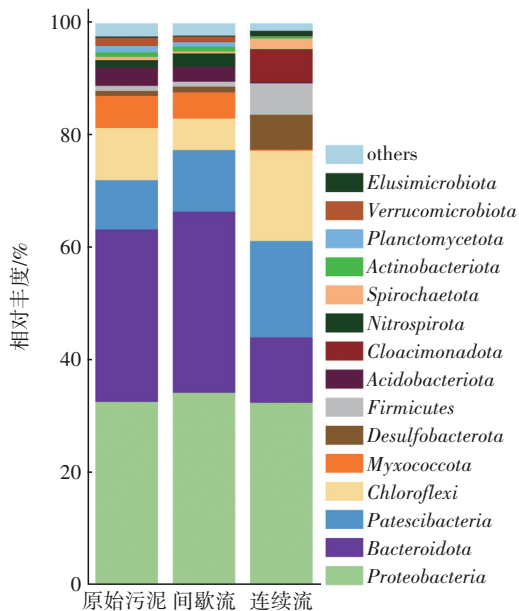
由表2可知,对于间歇流时期的物种总数指标Chao1,生物膜反应器(ASBR1)的物种总数大于活性污泥反应器(ASBR2)的物种总数以及原始污泥的物种总数,说明加入膜载体更有利于多种不同微生物进行生长繁衍;对比ASBR1反应器的间歇流与连续流时期的Chao1指数,间歇流一次性投加底物的方式更有利于多种微生物生长繁衍,进水流态由间歇流转变为连续流后,营造出 $\text{NO}_3^-$ -N限制环境,导致部分微生物无法适应,因此连续流导致群落物种总数降低。此外,Simpson、Shannon指数也反映出,相比于连续流进水,间歇流进水的群落多样性更高;相比于悬浮生长,挂膜生长的物种多样性更高。

### 2.4.2 门水平上的微生物群落结构

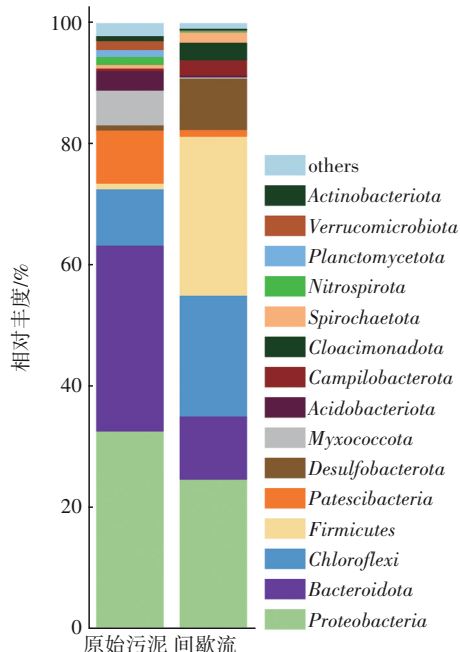
对生物膜反应器ASBR1的第0天(原始污泥)、第105天(间歇流阶段末)、第145天(连续流阶段末)及活性污泥反应器ASBR2第0天(原始污泥)、第145天(长期运行阶段末)的污泥样本进行16S rRNA测序分析,观察功能微生物群落结构的变化,两个反应器在门水平上的微生物群落结构见图5。原始污泥中主要DNRA菌属所在的门有Proteobacteria(变形菌门,32.50%)、Chloroflexi(绿弯菌门,9.27%)和Desulfobacterota(脱硫杆菌门,0.84%),其中,Proteobacteria中的DNRA菌属为Thiobacillus和Acidovorax,Chloroflexi中的DNRA菌属为Anaerolinea和Caldilinea,Desulfobacterota中的DNRA菌属为



*Desulfobulbus*、*Trichlorobacter* 和 *Desulfovibrio*。



a. ASBR1 反应器



b. ASBR2 反应器

图5 两个系统在门水平上的微生物群落结构

Fig.5 Microbial community structure at phylum level in two systems

在生物膜反应器 ASBR1 中,相比原始污泥,间歇流培养末期污泥中 *Proteobacteria*、*Desulfobacterota* 的相对丰度分别增加了 1.61% 和 0.15%,但是 *Chloroflexi* (绿弯菌门) 的相对丰度减少了 3.65%。ASBR1 由间歇流进水改为连续流进水后, *Chloroflexi*

和 *Desulfobacterota* 的相对丰度分别增加了 10.42% 和 5.16%,其中, *Chloroflexi* 的相对丰度增幅较大,这是因为其主要为发酵型细菌,而流态转变营造出的持续性高 C/N 环境有利于发酵型细菌的生长繁殖,故 *Chloroflexi* 丰度迅速增加。

在活性污泥反应器 ASBR2 中,相比原始污泥,经过长期的间歇流运行, *Chloroflexi* 的相对丰度提高了 10.63%,与 ASBR1 间歇流阶段的增加量相当;同时, *Desulfobacterota* 的相对丰度增加了 7.59%;而 *Bacteroidota* (拟杆菌门) 的相对丰度降低 20.22%,降幅较大,该菌门中包括多种菌属,各菌属的执行功能不同,最适底物和环境也不同,相比污水处理厂中的复杂环境,反应器内的环境相对较为单一,所以导致拟杆菌门丰度下降。

#### 2.4.3 属水平上的微生物群落结构

两个反应器在属水平上的微生物群落结构及其主要功能菌属分类见图6。ASBR1 和 ASBR2 反应器中的功能菌属主要为 DNRA 菌、反硝化菌、水解发酵细菌三类。Wang 等人<sup>[5]</sup>研究指出,在我国各地区的城市污水处理厂中均含有具备 DNRA 功能的菌属,主要包括 *Desulfobulbus* 和 *Desulfovibrio* 等,其中 *Desulfobulbus* 为本研究中的优势 DNRA 菌属。Fang 等人<sup>[17]</sup>在降解复杂污染物的人工湿地中检测到了 DNRA 菌属 *Caldilinea* 和 *Anaerolinea*,本研究在原始污泥和两个反应器中也检测到了这两种菌属。Shao 等人<sup>[18]</sup>在处理豆腐加工废水的厌氧生物膜反应器中检测到了具备 DNRA 功能的菌属 *Thiobacillus* 和 *Acidovorax*。另外, *Trichlorobacte* 近期也被报道为具备 DNRA 功能的细菌<sup>[19]</sup>。

在原始污泥中, DNRA 功能菌属占比为 1.16%,包括 *Desulfobulbus*、*Trichlorobacter*、*Desulfovibrio*、*Thiobacillus*、*Anaerolinea*、*Caldilinea*、*Acidovorax*。在 ASBR1 反应器的间歇流阶段, DNRA 功能菌属的占比升至 1.42%,当转变为连续流进水后,该占比升至 4.66%,进一步证明了连续流更有利于 DNRA 菌产铵。而在 ASBR2 反应器中, DNRA 功能菌属的占比为 3.37%,比 ASBR1 反应器间歇流阶段高 1.95%,这是因为 ASBR1 反应器中生物膜载体的存在为多种菌属创造了适宜的生态位,多种细菌与 DNRA 菌争夺底物,所以导致生物膜反应器 ASBR1 中的 DNRA 菌丰度低于同时期的活性污泥反应器 ASBR2,与表2中的多样性指数结果一致。此外,对

于生物膜反应器 ASBR1,在间歇流阶段,*Caldilinea* 为优势 DNRA 菌属,占比为 0.66%;当转变为连续流进水后,*Desulfobulbus* 成为优势 DNRA 菌属,占比为 3.55%。对于活性污泥反应器 ASBR2,*Desulfobulbus* 为优势 DNRA 菌属,占比为 1.22%。

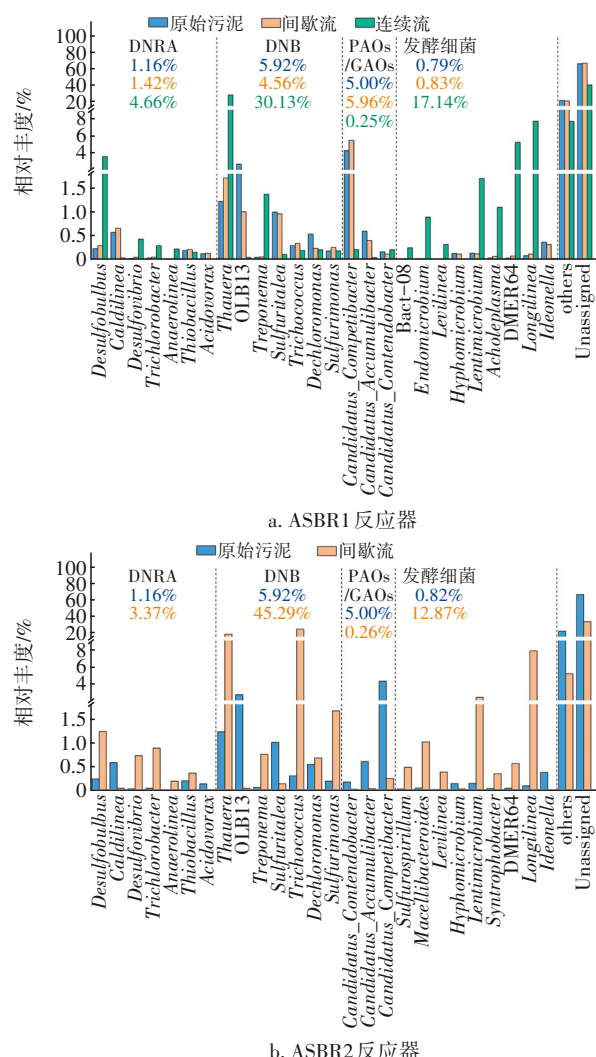


图6 两个系统在属水平上的微生物群落结构

Fig.6 Microbial community structure at genus level in two systems

流态转变后,不仅 DNRA 菌属的丰度增加,发酵细菌的丰度也随之增加,以往关于 DNRA 菌的培养研究中均检测到高丰度的发酵细菌,表明 DNRA 伴随着发酵过程<sup>[13,20-22]</sup>。另外,在不同反应器的不同阶段均检测到高丰度的反硝化菌,一方面是因为原始污泥中就存在丰富的反硝化菌,另一方面是因为进水底物氮源仅有  $\text{NO}_3^-$ -N,同时又有充足和不同种类的碳源,为反硝化菌提供了十分适宜的生长环

境,这也解释了系统产铵率不高的原因,是因为大部分底物  $\text{NO}_3^-$ -N 被反硝化菌转变为  $\text{N}_2$  散逸。

### 3 结论

① 采用污水处理厂中氧化沟缺氧段活性污泥作为接种污泥,在温度为  $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、HRT 为 48 h 的条件下,以乙酸钠、葡萄糖、无水乙醇等比例混合作为碳源,在生物膜反应器和活性污泥反应器中均成功富集到 DNRA 菌,其中生物膜反应器在连续流阶段运行稳定后产铵率最高可达 16.57%。

② 在生物膜系统中,相比间歇流进水方式,连续流进水方式可以持续营造  $\text{NO}_3^-$ -N 限制环境,更有利于 DNRA 菌进行产铵。

③ 在活性污泥系统中,优势 DNRA 菌属为 *Desulfobulbus*,占比为 1.22%;在生物膜系统中,当进水流态为间歇流时,优势 DNRA 菌属为 *Caldilinea*,占比为 0.66%,当进水流态转变为连续流后,*Desulfobulbus* 成为优势 DNRA 菌属,占比为 3.55%。

### 参考文献:

- [1] XU S, WU X, LU H. Overlooked nitrogen-cycling microorganisms in biological wastewater treatment [J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2021, 15(6): 187-199.
- [2] ZHOU Z, GE L, HUANG Y, et al. Coupled relationships among anammox, denitrification, and dissimilatory nitrate reduction to ammonium along salinity gradients in a Chinese estuarine wetland [J]. Journal of Environmental Sciences, 2021, 106: 39-46.
- [3] YUAN H, JIA B, ZENG Q, et al. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) potentially facilitates the accumulation of phosphorus in lake water from sediment [J]. Chemosphere, 2022, 303: 134664.
- [4] WANG Z, AHMAD H A, TENG Z, et al. Widespread but overlooked DNRA process in a full-scale simultaneous partial nitrification, Anammox, and denitrification plant [J]. ACS ES&T Water, 2022, 2(8): 1360-1369.
- [5] WANG S, LIU C, WANG X, et al. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in traditional municipal wastewater treatment plants in China: widespread but low contribution [J]. Water Research, 2020, 179: 115877.
- [6] ZHOU L, ZHAO B, ZHUANG W. Double-edged sword effects of dissimilatory nitrate reduction to ammonium



- (DNRA) bacteria on anammox bacteria performance in an MBR reactor [J]. *Water Research*, 2023, 233: 119754.
- [7] WANG Z, BU C, DOU J, *et al.* Enrichment of DNRA bacteria: shift of microbial community and its combination with anammox to promote TN removal [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(6): 108867.
- [8] VAN DEN BERG E M, ELISÁRIO M P, KUENEN J G, *et al.* Fermentative bacteria influence the competition between denitrifiers and DNRA bacteria [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1684.
- [9] VAN DEN BERG E M, ROMBOUTS J L, KUENEN J G, *et al.* Role of nitrite in the competition between denitrification and DNRA in a chemostat enrichment culture [J]. *AMB Express*, 2017, 7: 91.
- [10] VAN DEN BERG E M, VAN DONGEN U, ABBAS B, *et al.* Enrichment of DNRA bacteria in a continuous culture [J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(10): 2153–2161.
- [11] RAVISHANKARA A R, DANIEL J S, PORTMANN R W. Nitrous oxide ( $N_2O$ ): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century [J]. *Science*, 2009, 326(5949): 123–125.
- [12] AHMAD H A, GUO B, ZHUANG X, *et al.* A twilight for the complete nitrogen removal via synergistic partial-denitrification, anammox, and DNRA process [J]. *npj Clean Water*, 2021, 4: 31.
- [13] ZHAO Y, LI Q, CUI Q, *et al.* Nitrogen recovery through fermentative dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA): carbon source comparison and metabolic pathway [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 441: 135938.
- [14] SEMBLANTE G U, PHAN H V, HAI F I, *et al.* The role of microbial diversity and composition in minimizing sludge production in the oxic-settling-anoxic process [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 607/608: 558–567.
- [15] TIEDJE J M, SEXSTONE A J, MYROLD D D, *et al.* Denitrification: ecological niches, competition and survival [J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1983, 48: 569–583.
- [16] VAN DEN BERG E M, BOLEIJ M, KUENEN J G, *et al.* DNRA and denitrification coexist over a broad range of acetate/ $N-NO_3^-$  ratios, in a chemostat enrichment culture [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1842.
- [17] FANG Y, SUN Q, FANG P, *et al.* Integrated constructed wetland and bioelectrochemistry system approach for simultaneous enhancement of *p*-chloronitrobenzene and nitrogen transformations performance [J]. *Water Research*, 2022, 217: 118433.
- [18] SHAO Z, SHEN Y, ZENG Z, *et al.* Nitrogen removal crash of denitrification in anaerobic biofilm reactor due to dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) for tofu processing wastewater treatment: based on microbial community and functional genes [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2023, 51: 103408.
- [19] SOROKIN D Y, TIKHONOVA T V, KOCH H, *et al.* *Trichlorobacter ammonificans*, a dedicated acetate-dependent ammonifier with a novel module for dissimilatory nitrate reduction to ammonia [J]. *The ISME Journal*, 2023, 17: 1639–1648.
- [20] 卜翠娜. 异化硝酸盐还原菌(DNRA)的环境分布及富集培养研究[D]. 济南: 山东大学, 2018.
- BU Cuina. Study on Environmental Distribution and Enrichment Culture of Dissimilatory Nitrate Reduction to Ammonium (DNRA) Bacteria [D]. Jinan: Shandong University, 2018 (in Chinese).
- [21] 李倩霞. 异化硝酸盐还原菌(DNRA)对不同碳源的适应性及其在自然环境中的分布研究[D]. 济南: 山东大学, 2020.
- LI Qianxia. Study on the Adaptability of DNRA to Different Carbon Sources and Distribution in Natural Environment [D]. Jinan: Shandong University, 2020 (in Chinese).
- [22] 高嘉欣. DNRA 过程的纯培养及混合培养特性研究 [D]. 大连: 大连理工大学, 2021.
- GAO Jiaxin. Study on Characteristics of Pure Culture and Mixed Culture of DNRA Process [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2021 (in Chinese).

作者简介: 赵龙(2000–), 男, 陕西安康人, 硕士研究生, 主要研究方向为污水生物脱氮技术。

E-mail: zhaolong61@163.com

收稿日期: 2024-06-12

修回日期: 2024-08-07

(编辑: 刘贵春)