

齐博闻,张冰,庞福静,等.聚苯乙烯纳米塑料对好氧颗粒污泥的影响机制[J].中国环境科学,2025,45(6):3010-3019.

Qi B W, Zhang B, Pang F J, et al. The influencing mechanism of polystyrene nanoplastics on aerobic granular sludge [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3010-3019.

聚苯乙烯纳米塑料对好氧颗粒污泥的影响机制

齐博闻,张冰*,庞福静,陈振威,时文歆(重庆大学环境与生态学院,三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆 400045)

摘要: 探讨了聚苯乙烯纳米塑料(PS-NPs)对好氧颗粒污泥(AGS)系统的影响机制.研究表明:20mg/L 的 PS-NPs 对 AGS 系统的有机物和磷的去除效果几乎没有影响,但对脱氮过程有明显的抑制作用,氨氮去除率和总氮去除率分别下降了 21.98%和 41.31%.并且,PS-NPs 抑制了 AGS 胞外聚合物(EPS)的分泌,改变了 EPS 中蛋白质的二级结构,使其更为松散.PS-NPs 诱导微生物产生过量的活性氧(ROS),引起剧烈的氧化应激反应,使细胞膜的完整性受到破坏,导致乳酸脱氢酶(LDH)的含量增加了 51.27%.PS-NPs 的长期存在改变了微生物的群落结构,抑制了 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)和 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)等脱氮细菌的生长,但促进了黄杆菌纲(Flavobacteria)和噬几丁质菌纲(Chitinophagia)等细菌的生长.KEGG 数据库注释宏基因数据表明,PS-NPs 不仅抑制了 AGS 中与群体感应和代谢活性相关的通路,尤其是芳香族氨基酸的代谢通路,并且降低了编码反硝化功能酶的基因相对丰度,进而对 AGS 系统的脱氮性能和长期稳定性造成负面影响.

关键词: 好氧颗粒污泥; 纳米塑料; 聚苯乙烯; 微生物群落; 代谢途径

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)06-3010-10

The influencing mechanism of polystyrene nanoplastics on aerobic granular sludge. QI Bo-wen, ZHANG Bing, PANG Fu-jing, CHEN Zhen-wei, SHI Wen-xin (Key Laboratory of Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, College of Environment and Ecology, Chongqing University, Chongqing 400045, China). *China Environmental Science*, 2025,45(6): 3010~3019

Abstract: This study aimed to investigate the influencing mechanism of polystyrene nanoplastics (PS-NPs) in aerobic granular sludge (AGS) systems. The addition of 20mg/L PS-NPs had a negligible impact on the removal of organic matter and phosphorus in the AGS systems. However, it exerted a pronounced inhibitory effect on nitrogen removal, with ammonia nitrogen removal and total nitrogen removal exhibiting a reduction of 21.98% and 41.31% compared to the control group, respectively. Additionally, PS-NPs inhibited the secretion of extracellular polymeric substance (EPS) and altered the EPS structure, making it looser by affecting the secondary structure of proteins. Further studies demonstrated that PS-NPs caused intense oxidative stress within microorganisms by inducing excessive reactive oxygen species (ROS) production, which resulted in lactic dehydrogenase (LDH) levels rising to 151.27% and compromised cell membrane integrity. The long-term presence of PS-NPs led to changes in microbial community structure, inhibiting the growth of denitrifying bacteria, such as the classes Gammaproteobacteria and Alphaproteobacteria. In contrast, the proliferation of the classes Flavobacteria and Chitinophagia was promoted by PS-NPs. Moreover, KEGG database analysis indicated that PS-NPs not only significantly inhibited the pathways related to quorum sensing and metabolic activity, particularly the metabolic pathways of aromatic amino acids, but also reduced the relative abundance of genes encoding denitrifying functional enzymes. This ultimately posed a negative impact on the denitrification performance and the long-term stability of AGS systems.

Key words: aerobic granular sludge; nanoplastics; polystyrene; microbial community; metabolic pathway

塑料制品的过度生产、广泛使用与处置不当导致了微米塑料(MPs,尺寸<5mm)与纳米塑料(NPs,尺寸<1000nm)在环境中大量积累^[1].目前,研究者已在海洋^[2]、土壤^[3]、大气^[4]等多种环境中检测出浓度不同、种类繁多的微纳塑料.这些微纳塑料可能会通过生活污水、雨水和地表径流等方式进入污水处理厂(WWTP)中.研究表明,WWTP 进水中检测到的 MPs 浓度和 NPs 浓度范围分别为 6.5~51.8 μ g/L 和 2.82~11.28 μ g/L^[1,5-6].尽管 WWTP 中的一级处理工艺

可去除约 39.65%的微纳塑料^[7],但仍有大量微纳塑料进入二级生物处理工艺.它们会通过污泥絮体的吸附作用被截留并长期积累在污泥絮体中,进而对污泥的结构稳定性产生破坏,最终导致生物处理系统的污染物去除效能下降^[8-10].虽然 NPs 的主要来源是 MPs 的降解碎裂产物,但其表现出与 MPs 不同的

收稿日期: 2024-11-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52370029,52270025)

* 责任作者, 副教授, zhangbing@cqu.edu.cn

胶体稳定性、迁移能力和生物毒性^[11]。相较于 MPs, NPs 的尺寸较小而更易穿透细胞膜,因此对微生物的毒性作用更大^[12-13]。研究表明^[14],10mg/L NPs 导致硝酸盐大量积累,并影响了污泥的絮凝能力,而相同浓度的 MPs 对其没有明显的抑制作用。此外,考虑到 NPs 检测难度更大且误差率较高^[15],NPs 在污水中的实际浓度可能超过现有最大检出值(5.6mg/L)^[16],这会对 WWTP 污染物去除能力造成更为严重的负面影响。研究表明^[17],NPs 会损害活性污泥的结构完整性,加剧活性污泥系统的丝状膨胀,进而影响其处理性能。然而,NPs 对其他污水生物处理工艺的影响尚未可知。

好氧颗粒污泥(AGS)系统因其污泥浓度高、沉降性能好、污染物去除效果优、抗冲击负荷能力强以及占地面积小等优势,目前已在全球 100 余个 WWTP 得到工程应用^[18]。由于氧气传质阻力的限制,AGS 具有表面好氧-内部缺氧-核心厌氧的多层结构,可以同时进行硝化反硝化过程^[19],因而展现出优异的脱氮性能。研究表明^[20],AGS 系统在处理实际生活废水时的总氮(TN)去除效率可高达 98%。此外,AGS 颗粒最外层被致密的胞外聚合物(EPS)所包裹,这有利于增强 AGS 的结构稳定性。然而,EPS 含有多种有机官能团,并具有一定的粘附性^[21],这使得 NPs 容易被吸附并进入 AGS 颗粒内部,进而对其结构和性能造成破坏。聚苯乙烯是一种常见的塑料材料,被广泛应用于食品包装、塑料瓶和塑料餐具等领域。聚苯乙烯纳米塑料(PS-NPs)不仅在环境水体中的检出频率最高,并且是污水中最常见的 NPs 之一。其在珠江流域 WWTP 进水中的含量占据 NPs 总量的 30%以上^[22-23]。研究发现 5g/L PS-NPs 的急性暴露(10h)会导致 AGS 污水处理系统中污泥的 zeta 电位和疏水性降低^[24],进而导致系统稳定性下降。考虑到 PS-NPs 在水体中的累积性、持久性和难降解性,PS-NPs 的长期暴露是否会对 AGS 系统的污染物去除效能及微生物生理特性造成影响亟待探究。

本研究通过分析 PS-NPs 对 AGS 系统的污染物去除效能、EPS 含量和组分的影响,以及微生物在 PS-NPs 暴露下的氧化应激系统响应,探究 PS-NPs 的长期暴露对 AGS 系统性能的影响,探究微生物群落结构变化与基因丰度的变化规律,揭示 PS-NPs 对 AGS 的作用机制,旨在为纳米塑料对 AGS 系统的影响机理提供参考,并为 AGS 污水处理技术的实际应

用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料与水质组成

接种的成熟 AGS 来自实验室已稳定运行 100d 的序批式反应器(SBR),其平均粒径为 940 μ m,混合液悬浮固体浓度为 3.36g MLSS/L,且污泥体积指数比(SVI₅/SVI₃₀)大于 0.9。

试验所用 PS-NPs 购自萱萱塑胶科技有限公司(中国东莞)。PS-NPs 为白色粉末,扫描电镜观察下呈现规则的圆球状,平均粒径为 100nm。

本试验采用模拟生活污水作为 SBR 反应器进水,进水水质的组成及浓度如表 1 所示。考虑到污水中 PS-NPs 的实际浓度可能比检出值更高,本试验设定其投加浓度为 20mg/L,投加方式为每次随进水进入反应器中。投加之前将 NPs 溶液超声处理 10min,避免其在水中发生聚集。

表 1 模拟生活污水组成部分

Table 1 Composition of the simulated municipal wastewater

组分	浓度(mg/L)
COD	600
NH ₄ ⁺ -N	60
PO ₄ ³⁻ -P	10
MgSO ₄ ·7H ₂ O	25
FeSO ₄ ·7H ₂ O	30
CaCl ₂	30
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.05
Na ₂ Mo ₇ O ₂₄ ·2H ₂ O	0.06
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.06
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.03
MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.1
HBO ₃	0.05
AlCl ₃	0.05
NiCl ₂	0.04

1.2 试验装置与运行方式

采用两个规格相同的 SBR 反应器进行试验,分别标记为 R1(对照组)与 R2(实验组,投加 20mg/L PS-NPs)。该反应器有效高度 70cm,内径 10cm,有效体积为 5.5L,体积交换比为 50%。反应器采用间歇运行方式,运行周期为 4h,包括进水 10min,厌氧 50min,曝气 175min,沉淀 2min 和排水 3min。在曝气阶段,溶解氧控制在 7.0~7.5mg/L,表观气速为 2.5cm/s。整个试验周期持续 80d,依据反应器出水中 TN 的波动情

况,将其分为 3 个阶段:阶段一(0~10d)、阶段二(11~60d)和阶段三(61~80d)。

1.3 检测指标与方法

反应器进水、出水的 COD、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 TN 浓度等指标按照标准方法进行测定.采用改良的热提取法提取 AGS 中的松散结合型胞外聚合物(LB-EPS)和紧密结合型胞外聚合物(TB-EPS),其中的蛋白质(PN)和多糖(PS)含量分别采用 BCA 试剂盒(Solarbio,中国北京)和苯酚-硫酸法测定^[25].此外,对提取的 EPS 进行 PN 二级结构分析.将 10mL EPS 样品冷冻干燥后,与溴化钾混合并压缩,之后采用 Thermo Scientific Nicolet 670 傅里叶红外光谱仪对处理后样品进行分析,探测波段为 $500\sim 4000\text{cm}^{-1}$.在得到 EPS 样品的红外光谱后,使用 PeakFit 软件对该数据进行 PN 二级结构计算.首先对样品谱图进行基线校正和平滑,再选取酰胺 I 带的谱带范围($1600\sim 1700\text{cm}^{-1}$)进行傅里叶去卷积,最后将处理得到的谱图进行分峰拟合^[26].根据峰中心的波长范围将其分为 β -转角($1680\sim 1660\text{cm}^{-1}$), α -螺旋($1660\sim 1650\text{cm}^{-1}$),无规则卷曲($1650\sim 1640\text{cm}^{-1}$)和 β -折叠($1640\sim 1630\text{cm}^{-1}$).活性氧(ROS)含量、乳酸脱氢酶(LDH)含量、过氧化氢酶(CAT)含量和超氧化物歧化酶(SOD)含量检测分别采用南京建成生物工程研究所(中国南京)的相应试剂盒,在每个阶段末期进行测试。

1.4 宏基因组测序与分析

在试验末期(第 80d),从每个 SBR 反应器中收集 AGS 样品以用于宏基因组分析,所有分析流程在北京诺禾致源科技股份有限公司(中国北京)进行.使用 E.Z.N.A.® Soil DNA Kit 试剂盒提取 DNA.经过浓度检测后,将 DNA 打断并建立文库,在 Illumina NovaSeq-PE150 平台进行宏基因组测序得到原始数据.随后,通过质控、拼接和比对获得基因在相应样品中的丰度.通过与 NR 数据库进行比对,获得物种在分类学水平上的物种注释信息,进而分析微生物群落组成.通过检索 KEGG 数据库进行功能注释,使用 KO, Pathway, EC, Module 对应的基因丰度综合计算对应功能类别的丰度。

2 结果与讨论

2.1 污染物的去除效能

如图 1 所示,R1 和 R2 反应器均实现了对 COD

的稳定高效去除,平均去除率分别为 92.91%和 92.56%,且两者间无显著性差异($P>0.05$),这表明有机物的去除没有受到 PS-NPs 的显著影响.在磷的去除方面,由于磷酸盐主要富集在污泥中,因此其去除率受到反应器排泥周期变化的影响^[27],这导致了两个反应器都展现了出水磷酸盐浓度的波动.但 R1 和 R2 之间的平均磷酸盐去除率(分别为 58.94%和 54.47%)并无显著性差异($P>0.05$),这表明 PS-NPs 对磷去除的影响不明显,与 Zhang 等^[28]的结论一致。

然而,长期的 PS-NPs 暴露却对氨氮的去除产生了负面影响(图 1(b)).尽管在阶段一(0~10d)时 R1 和 R2 的氨氮去除率分别为 99.30%和 98.59%,但随着 PS-NPs 暴露时间的延长(阶段二和阶段三),R2 的氨氮去除率呈现下降趋势.在试验末期(80d),R2 的氨氮去除率相较于 R1 下降了 21.98%.这可能是由于 PS-NPs 的长期存在抑制了反应器内氨氧化细菌的活性,导致氨氧化速率降低^[14].此外,出水 TN 浓度随着 PS-NPs 暴露时间的延长而持续升高(图 1(c)).在阶段一时,R2 的 TN 浓度相较于 R1 增加了 56.74%,主要是因为 R2 中硝酸盐的积累(相比 R1 浓度增长 52.59%, $P<0.05$).这表明即便是 PS-NPs 的短期暴露,也对反硝化过程产生了显著的抑制作用.随后,R2 中出水 TN 浓度持续增加,第 80d 时其 TN 去除率降至 58.69%,其中出水氨氮浓度、亚硝酸盐浓度和硝酸盐浓度分别占据 TN 浓度的 45.60%,1.71%和 52.69%.分析认为,在 PS-NPs 的长期暴露下,TN 去除率的降低是由于氨化过程和反硝化过程受到了显著抑制,这与 Yang 等^[29]关于 PS-NPs 对人工湿地系统脱氮影响的研究结果相一致。

综上所述,长期暴露于 PS-NPs 对 AGS 系统中有机物和磷的去除效果没有产生明显影响,但对系统的脱氮效能造成了负面影响,特别是反硝化过程受到明显抑制作用。

2.2 EPS 的含量与组成

EPS 作为 AGS 颗粒的骨架结构和保护屏障,对其结构稳定性和抗冲击能力具有重要作用^[30].图 2(a)和 2(b)显示, R1 中 EPS 含量变化幅度较小($74.02\sim 85.74\text{mg/g MLSS}$),而 R2 中 EPS 含量随着 NPs 暴露时间的延长,呈现出先增加后减少的趋势.在阶段一末期(第 10d)时,R2 中 EPS 的含量达到峰值 95.18mg/g MLSS ,较同期的 R1 增长了 14.66%,这可

能是微生物的一种自我保护机制,即通过分泌更多的 EPS 以抵抗 PS-NPs 的短期冲击^[31]。随后,R2 中的 EPS 含量持续下降,在试验末期(第 80d)降至 50.50mg/g MLSS。该结果表明 PS-NPs 抑制了 AGS 的 EPS 分泌,这对颗粒的聚集性和沉降性产生了一定的负面影响^[32]。相较于 R1, R2 中 PN 含量显著下

降,但 PS 含量却呈现增加趋势,导致 PN/PS 比值从 5.48 降至 2.49。相关研究表明, PN/PS 比值的变化与污泥的聚集性能呈正相关,较高的 PN/PS 比值有利于 AGS 抵抗外部环境压力^[33]。因此,PS-NPs 降低了 AGS 颗粒的耐受能力,使其难以抵御 NPs 的负面作用。

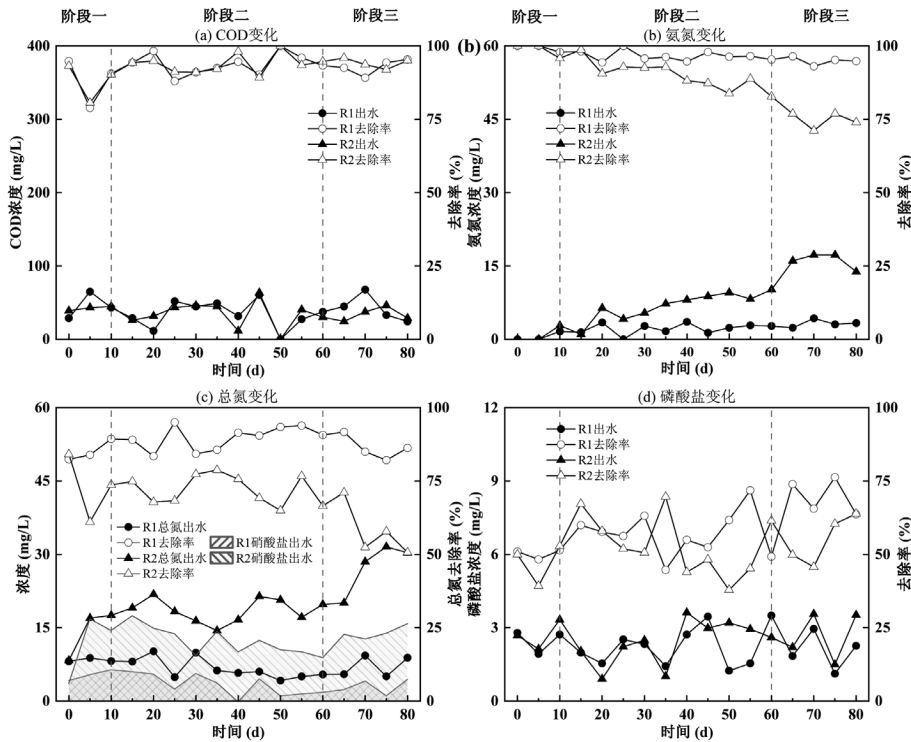


图1 反应器运行期间污染物去除效果

Fig.1 Overall reactor performance during reactor operation

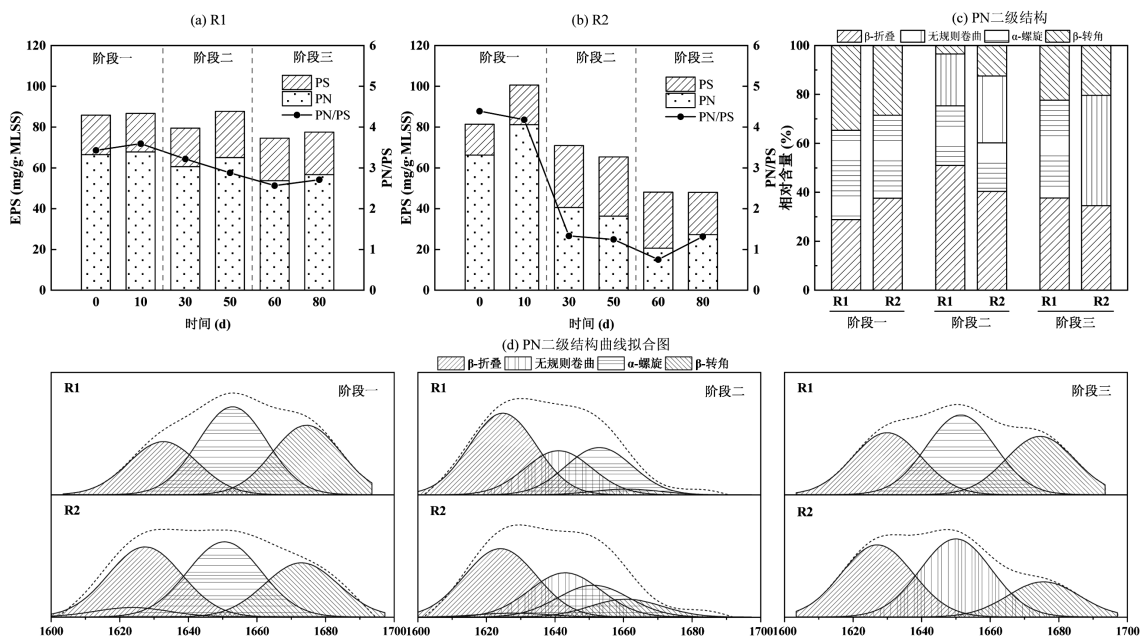


图2 反应器运行期间 EPS 含量及其 PN 二级结构的变化

Fig.2 Changes in EPS contents and their PN secondary structure during reactor operation

此外,对 AGS 颗粒中 EPS-PN 的二级结构进行进一步分析.图 2(c)所示,在阶段一时,R2 中具有微生物细胞聚集作用的 β -折叠的含量比 R1 高出 30.43%^[34],表明 PS-NPs 的短期暴露增强了 AGS 颗粒的致密性以抵抗外部压力.然而,随着 PS-NPs 暴露时间的延长,R2 中 β -折叠的相对百分含量降低,且与 AGS 颗粒结构密实正相关的 α -螺旋/(β -折叠+无规则卷曲)的比例下降.这说明长期暴露于 PS-NPs 下会导致 EPS 中的 PN 结构松散,从而影响 AGS 颗粒的结构稳定性^[35].

2.3 氧化应激系统响应

氧化应激系统被认为是污染物引发微生物毒性反应的主要机制.如图 3(a)所示,R2 中 ROS 的相对含量始终超过 R1,其波动范围为 115.38%~118.99%.这种现象的潜在原因是 PS-NPs 会通过自由基及催化反应诱导细胞内产生过量的 ROS,

进而导致细胞内氧化和抗氧化过程之间的动态平衡被破坏^[36].当 PS-NPs 诱导细胞氧化应激后,微生物会分泌多种抗氧化酶以抵御其毒性作用,其中包括 SOD 和 CAT.SOD 是将超氧自由基转化为过氧化氢的关键酶,而 CAT 则有助于清除过氧化氢,将其代谢为氧气和水^[37].如图 3(b)和 3(c)所示,在投加 PS-NPs 后,R2 中 SOD 的含量呈现持续增加趋势,在阶段三时其含量相较于 R1 增长 60.52% ($P<0.05$).这表明 PS-NPs 刺激微生物分泌较多的 SOD 以抵御过量的 ROS.然而,R2 中 CAT 的含量相较于 R1 呈现先减少后增加的趋势,在阶段一和阶段二分别下降了 3.61%和 13.95% ($P<0.05$),随后在阶段三提高至 107.51%.该结果表明尽管 PS-NPs 的短期冲击抑制微生物分泌 CAT,但 AGS 自身的抗氧化调节机制仍有抵抗 PS-NPs 长期暴露带来负面影响的潜力.

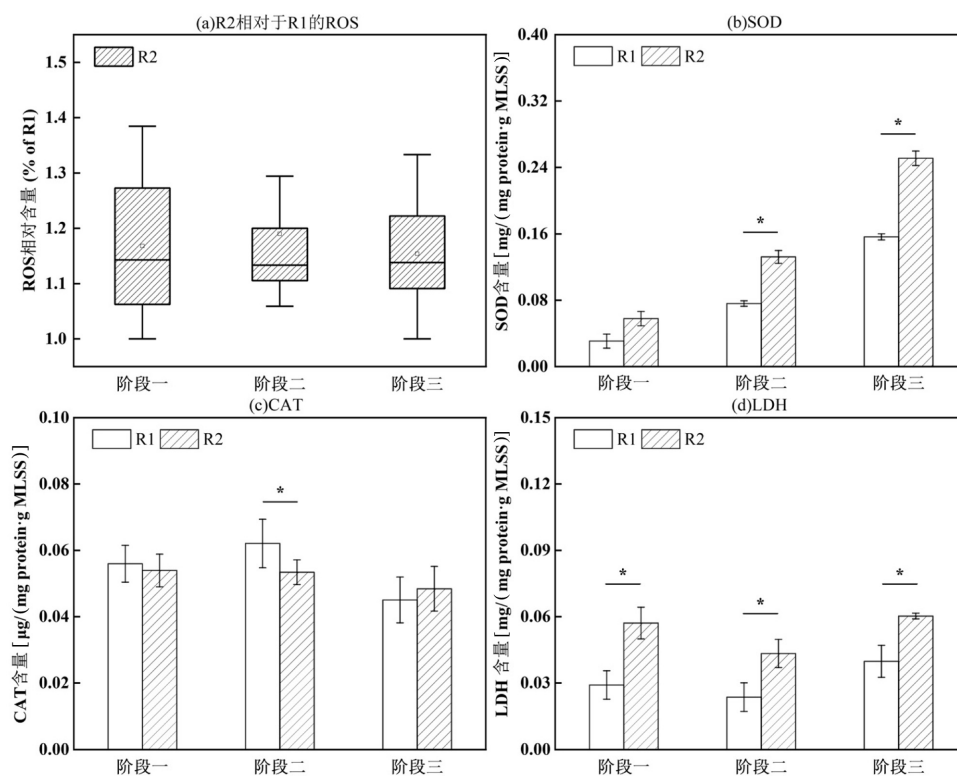


图 3 反应器运行期间 ROS、SOD、CAT 和 LDH 含量的变化

Fig.3 Varied contents of ROS, SOD, CAT, and LDH during reactor operation

微生物通过抗氧化系统清除了部分 ROS,但仍有余的 ROS 扰乱氧化还原平衡,引发炎症反应并损伤细胞膜^[38],这会导致细胞内源酶 LDH 释放到细胞外基质中.图 3(d)展示了 AGS 反应器中 LDH 的泄

露情况.与 R1 相比,R2 的 LDH 含量在阶段一增长了 95.96%,这与 ROS 相对含量增加的结果一致.随着 PS-NPs 暴露时间的延长,LDH 含量呈现波动性增长趋势,在阶段三时 R2 的 LDH 含量较 R1 提高了

51.27% ($P < 0.05$).这意味着细胞膜的完整性受到破坏^[39].分析认为,PS-NPs 对 AGS 微生物造成了不可逆的细胞膜损伤,这可能是导致系统稳定性下降的原因之一.

2.4 微生物群落结构

在门 (Phylum) 分类水平上,变形菌门 (Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidota)是 AGS 反应器中最具有优势的细菌,分别在 R1 反应器中占比 70.34%和 15.36%,在 R2 反应器中占比 64.48%和 18.81%(图 4(a)).其中,作为反应器中的优势菌种,变

形菌门(Proteobacteria)是去除有机物和氮的关键功能菌^[40-41].相较于 R1,R2 中变形菌门(Proteobacteria)的相对丰度有所降低(5.87%),意味着其对 PS-NPs 的毒性作用较为敏感,这导致了 R2 反应器脱氮能力的下降.此外,拟杆菌门(Bacteroidota)不仅对不利环境条件具有较好的耐受性,并在高分子有机物的降解过程中发挥着重要作用^[42].拟杆菌门(Bacteroidota)在 R2 反应器中的相对丰度同比 R1 增长了 22.45%,表明其在 PS-NPs 暴露的环境中仍具有较好的适应能力.

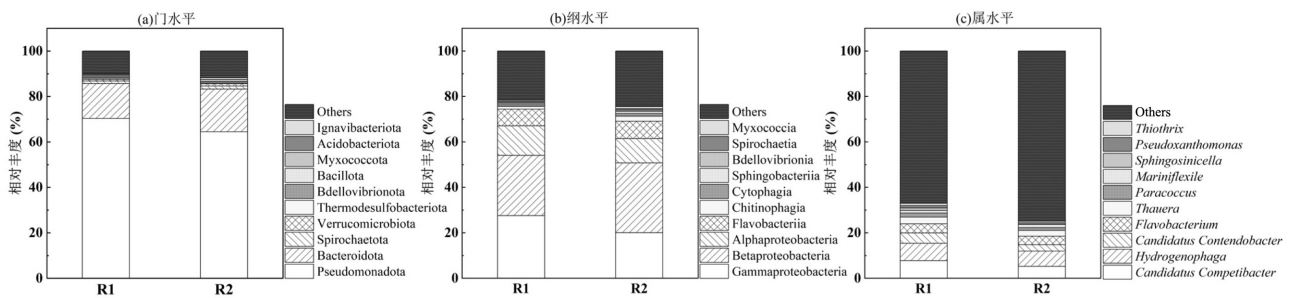


图 4 AGS 中的微生物群落结构组成

Fig.4 Taxonomic classification of the microbial communities in AGS

在纲 (Class) 分类水平上, γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria)、 β -变形菌纲 (Betaproteobacteria)、 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria)、黄杆菌纲(Flavobacteria)和噬几丁质菌纲(Chitinophagia)是 R1 和 R2 中主要的优势菌纲(图 4(b)).其中, γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria)和 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria)是主要的 EPS 产生菌,在维持颗粒结构稳定性方面发挥着重要作用^[43].其在 R2 中的相对丰度相较于 R1 分别下降了 27.17%和 17.58%,与 EPS 含量的下降结果保持一致.同时,这两种菌纲也被认为是反硝化菌纲的主要组成^[44],其相对丰度的降低会导致 AGS 颗粒反硝化能力的下降.此外, β -变形菌纲(Betaproteobacteria)能够积累聚羟基脂肪酸酯(PHA)作为碳源和能源的贮藏物质^[45],其在 R2 反应器中的相对丰度相比 R1 增长了 15.73%,潜在原因是该菌纲可在不利环境条件下储存更多的物质以供细胞内源呼吸,维持自身生长^[46].类似地,R2 中黄杆菌纲(Flavobacteria)的相对丰度比 R1 增加了 3.63%,这是由于该菌纲可利用高分子有机聚合物作为营养来源^[47],具有利用 PS-NPs 作为碳源维持细胞

生长的潜力.而噬几丁质菌纲(Chitinophagia)具有分泌几丁质酶的能力^[48],在微生物生长和非特异性胁迫反应中发挥重要作用^[49],其在 R2 的相对丰度比 R1 高出 85.54%,表明噬几丁质菌纲(Chitinophagia)对 PS-NPs 具有一定的抗性.

在属 (Genus) 分类水平上,*Candidatus Competibacter* 属、氢噬胞菌属(*Hydrogenophaga*)、假丝酵母念珠菌属(*Candidatus Contendobacter*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)和陶厄氏菌属(*Thauera*)是两个反应器中的优势菌纲,相对丰度均大于 2% (图 4(c)).值得注意的是,这 5 种菌属在 R2 反应器中的相对丰度相较于 R1 分别降低了 32.13%、12.02%、6.72%、39.28%和 12.14%.研究发现,氢噬胞菌属(*Hydrogenophaga*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)和陶厄氏菌属(*Thauera*)是关键的反硝化细菌属^[50],且假丝酵母念珠菌属(*Candidatus Contendobacter*)中具有丰富的硝酸盐还原酶 *narG*^[51].因此,这些菌属相对丰度的下降,可能对 AGS 系统的反硝化性能造成负面影响.结合上述分析可以发现,PS-NPs 的长期暴露会改变 AGS 反应器的微生物群落结构,降低了脱氮功能菌的相对丰度,同时富集了可利用高分子有机

物的功能菌。

2.5 微生物代谢途径和氮转化功能基因分析

在阶段三末期(第 80d),将 AGS 微生物宏基因测序结果与 KEGG 数据库进行比对,以获得两个反应器中不同代谢通路的相对丰度(如图 5(a)所示).AGS 颗粒中的微生物一级功能层主要包括细胞过程(4.03%和 3.90%)、环境信息处理(5.23%和 4.99%)、遗传信息处理(4.15%和 4.16%)及代谢(23.76%和 23.14%).在环境信息处理功能层中,R2 中膜运输通路、信号转导通路、信号分子与相互作用通路的相对丰度分别较 R1 降低了 4.85%($P<0.05$),3.92%和 9.03%($P<0.05$),这意味着 R2 中微生物群体感应的能力下降.群体感应可以通过调控微生物分泌 EPS 以

维持 AGS 颗粒的稳定性,进而对其理化性质(例如沉降性和疏水性)产生显著影响^[52].此外,代谢功能层在微生物代谢通路中占比最大,也是受 NPs 影响最显著的通路之一.其中,碳水化合物代谢、辅因子和维生素代谢这两个代谢通路受到较为明显的抑制,在 R2 中这两种代谢通路的相对丰度分别下降了 2.78%和 4.27%($P<0.05$).这意味着在 PS-NPs 长期暴露下,微生物的代谢活性受到损害,不利于 EPS 分泌和 AGS 微生物群落结构稳定.再者,氨基酸作为塑造微生物群落结构的必需营养物质^[53],其代谢通路受到了 PS-NPs 最显著的抑制,R2 中氨基酸代谢通路的相对丰度相比于 R1 下降了 6.13%.进一步分析不同类型氨基酸的代谢途径相对丰度差异(图 5(b)).

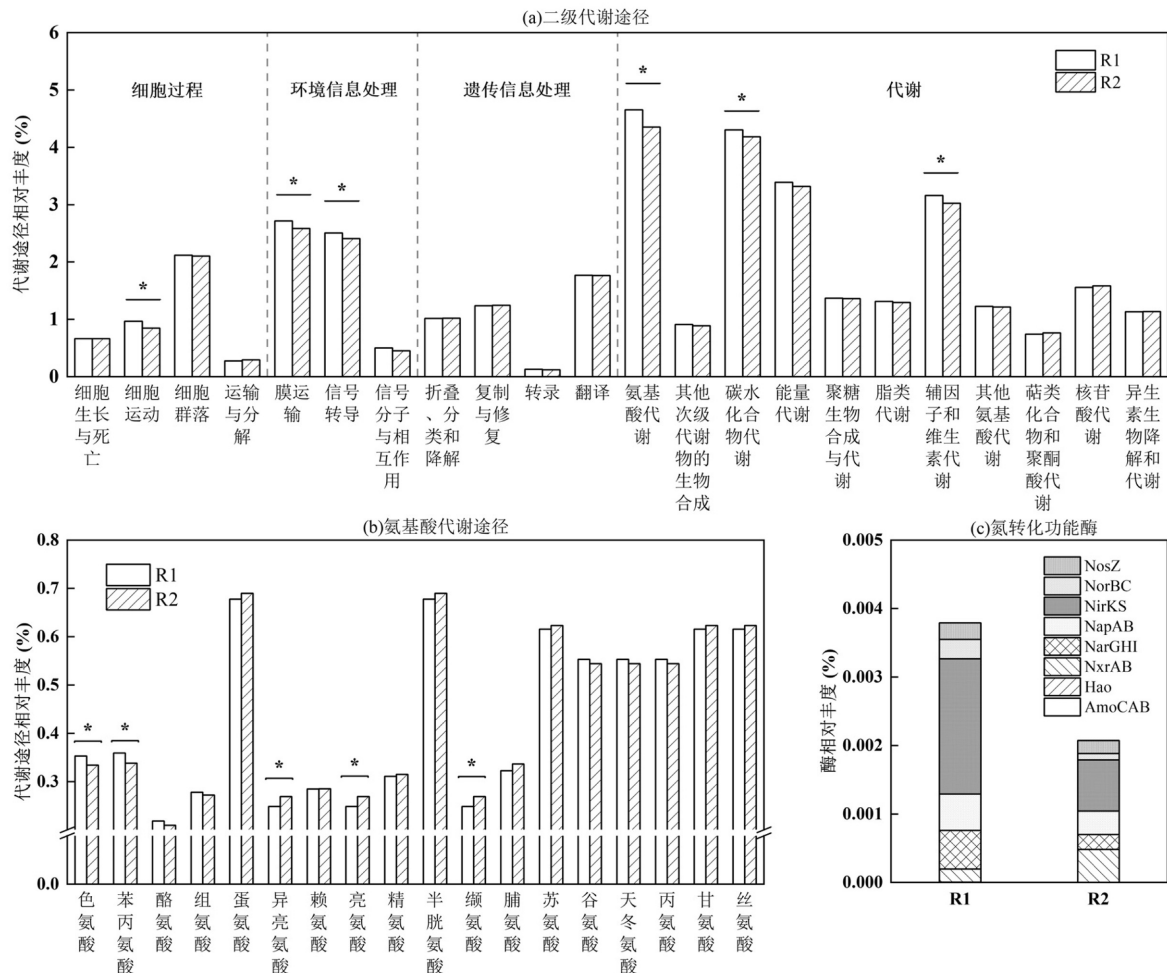


图 5 NPs 影响下的微生物代谢途径和氮转化基因的相对丰度差异

Fig.5 Differences in the relative abundance of microbial metabolic pathways and nitrification transformation functional genes under NPs stress

结果表明,属于芳香族氨基酸类的色氨酸,苯丙氨酸和酪氨酸均受到了不同程度的抑制,在 R2 中分

别下降了 5.34%,5.84%和 4.14%($P<0.05$).Wang 等^[54]指出,芳香族氨基酸具有疏水性特征,其浓度的降低

不利于生物絮体的形成和发育.同时,Liang 等^[55]表明,芳香族氨基酸可以作为反硝化电子传递的电子穿梭体,加速反硝化过程的进行.因此,在 PS-NPs 的长期暴露下,此类氨基酸的合成减少,不仅导致了 AGS 颗粒的松散破损,而且对 AGS 的反硝化过程产生了一定的抑制作用.

为了深入探究 PS-NPs 对脱氮过程的抑制机理,分析了氮转化功能酶的编码基因相对丰度变化,如图 5(c)所示.其中,氨化功能酶 AmoCAB 和 Hao 的编码基因相对丰度占比分别为 0.13%(R1)和 0.10%(R2),硝化功能酶 NxrAB 的占比分别为 5.04%和 23.22%,而反硝化功能酶 NarGHI、NapAB、NirKS、NorBC 和 NosZ 则占了大多数(94.82%和 76.77%),这表明 AGS 微生物的主要组成为反硝化细菌,也与之前王亚军等^[56]的研究一致.进一步分析发现,R2 反应器中硝酸盐还原酶 NarGHI 和 NapAB、亚硝酸盐还原酶 NirKS、一氧化氮还原酶 NorBC 和一氧化二氮还原酶 NosZ 的相对丰度相较于 R1 均有一定程度的下降.其中, NorBC 受到了 PS-NPs 最严重的抑制作用(下降了 66.59%),这表明亚硝酸盐还原为一氧化氮的过程可能是反硝化作用下降的主要限速步骤.综上,PS-NPs 通过影响微生物代谢活性和反硝化基因丰度抑制了微生物的氮代谢过程,这最终导致了 AGS 系统的运行效能和颗粒稳定性降低.

3 结论

3.1 PS-NPs 的长期暴露影响 AGS 系统运行效能,20mg/L 浓度下对有机物和磷酸盐的去除影响不大,但抑制了系统的脱氮过程(氨氮去除率降低 21.98%,TN 去除率降低 41.31%).

3.2 PS-NPs 的长期暴露对 AGS 的 EPS 分泌具有抑制作用,导致 EPS 总量下降 36%,且 PN 的二级结构发生改变,这不利于微生物之间的聚集和 AGS 的结构稳定性.

3.3 PS-NPs 的长期暴露诱导细胞产生氧化应激反应,导致细菌细胞膜结构破损,对 AGS 微生物造成了不可逆的损伤.因此,微生物的群落结构随之改变.PS-NPs 降低了反硝化功能菌和 EPS 产生菌的相对丰度,同时富集了对 PS-NPs 具有一定抗性的菌种.

3.4 PS-NPs 的长期暴露抑制了微生物碳水化合物代谢与辅因子和维生素代谢的活性,特别是对于芳

香类氨基酸的分泌具有负面影响,影响了反硝化的电子传递过程和颗粒结构的稳定性.

3.5 PS-NPs 的长期暴露导致编码反硝化功能酶的基因相对丰度降低,其中亚硝酸盐还原为一氧化氮步骤受影响最为明显,影响了微生物的氮代谢过程.

参考文献:

- [1] Liu S, Chen Q, Ding H, et al. Differences of microplastics and nanoplastics in urban waters: Environmental behaviors, hazards, and removal [J]. *Water Research*, 2024,260:121895.
- [2] Aashlesha C, Sanjeeb M, Vinay K. Microplastics in aquatic environment: Challenges and perspectives [J]. *Chemosphere*, 2021, 282:131151.
- [3] Li X, Chen L, Ji Y, et al. Effects of chemical pretreatments on microplastic extraction in sewage sludge and their physicochemical characteristics [J]. *Water Research*, 2020,171:115379.
- [4] Li C, Gan D, Zhang C, et al. "Microplastic communities" in different environments: Differences, links, and role of diversity index in source analysis [J]. *Water Research*, 2021,188:116574.
- [5] Xu Y, Ou Q, Wang X, et al. Assessing the mass concentration of microplastics and nanoplastics in wastewater treatment plants by pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023,57(8):3114-3123.
- [6] Zhou X, He S, Gao Y, et al. Protein corona-mediated extraction for quantitative analysis of nanoplastics in environmental waters by pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2021,93(17):6698-6705.
- [7] 米家辉,卢俊平,刘廷玺,等.城镇污水厂微塑料赋存形态、组分及去除效率全流程分析与归趋行为 [J]. *环境科学*, 2024,45(7):4052-4062.
- [8] Mi J, Lu J, Liu T, et al. Whole process analysis and fate behavior of microplastics in urban wastewater treatment plants, including their occurrence forms, components, and removal efficiency [J]. *Environmental Science*, 2024,45(7):4052-4062.
- [9] Lasse A, Lucian I, Susanne T, et al. A complete mass balance for plastics in a wastewater treatment plant - Microplastics contributes more than microplastics [J]. *Water Research*, 2021,201:117307.
- [10] 齐杰,王伟,刘旭光,等.传统氧化沟工艺城市污水厂微塑料形态、分布特征及去除效能研究 [J]. *中国环境科学*, 2024,44(11): 6156-6163.
- [11] Qi J, Wang W, Liu X, et al. Morphology, distribution and removal of microplastics in municipal wastewater plants by traditional oxidation ditch technology [J]. *China Environmental Science*, 2024,44(11): 6156-6163.
- [12] Huang S, Zhang B, Liu Y, et al. Revealing the influencing mechanisms of polystyrene microplastics (MPs) on the performance and stability of the algal-bacterial granular sludge [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 354:127202.
- [13] 周鑫,万可维,倪安煜,等.聚丙烯纳米塑料与有机磷阻燃剂联合暴露对斑马鱼发育和神经毒性的影响 [J]. *中国环境科学*, 2024, 44(11):6484-6494.

- Zhou X, Wan K, Ni A, et al. Combined effects of polypropylene nanoplastics and organophosphorus flame retardants on zebrafish development and neurotoxicity. *Environmental Science*, 2024,44(11): 6484–6494.
- [12] Zheng P, Li Y, Cheng Y, et al. Mechanism involved in polyvinyl chloride nanoplastics induced anaerobic granular sludge disintegration: microbial interaction energy, EPS molecular structure, and metabolism functions [J]. *Environmental Science & Technology*, 2024,58(26): 11542–11553.
- [13] Lin S, Zhang H, Wang C, et al. Metabolomics reveal nanoplastic-induced mitochondrial damage in human liver and lung cells [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022,56(17):12483–12493.
- [14] Wang H, Qiu C, Bian S, et al. The effects of microplastics and nanoplastics on nitrogen removal, extracellular polymeric substances and microbial community in sequencing batch reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2023:129001.
- [15] Marie E, Ludovic F, Judy L. Nano/microplastics in water and wastewater treatment processes – Origin, impact and potential solutions [J]. *Water Research*, 2019,161:621–638.
- [16] 黄健,徐军帅,张华,等.聚丙烯纳塑料影响生物脱氮和功能基因的机制 [J]. *中国环境科学*, 2024,44(10):5461–5471.
Huang J, Xu J, Zhang H, et al. Effects and mechanisms of polypropylene nanoplastics on biologic denitrification and functional genes [J]. *China Environmental Science*, 2024,44(10):5461–5471.
- [17] Huang S, Zhang B, Zhao Z, et al. Metagenomic analysis reveals the responses of microbial communities and nitrogen metabolic pathways to polystyrene micro(nano)plastics in activated sludge systems [J]. *Water Research*, 2023,241:120161.
- [18] Feng Z, Schmitt H, Van Loosdrecht MCM, et al. Sludge size affects sorption of organic micropollutants in full-scale aerobic granular sludge systems [J]. *Water Research*, 2024,267:122513.
- [19] 吴志明,陈学春,赵欣,等. Nereda 好氧颗粒污泥工艺配置及运行性能 [J]. *中国给水排水*, 2023,39(14):10–18.
Wu Z, Chen X, Zhao X, et al. Process configuration and operational performance of nereda aerobic granular sludge technology [J]. *China Water & Wastewater*, 2023,39(14):10–18.
- [20] Liu S, Zhou M, Daigger G T, et al. Granule formation mechanism, key influencing factors, and resource recycling in aerobic granular sludge (AGS) wastewater treatment: A review [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023,338:117771.
- [21] Hou X, Liu S, Zhang Z. Role of extracellular polymeric substance in determining the high aggregation ability of anammox sludge [J]. *Water Research*, 2015,75:51–62.
- [22] 徐航,张冰,时文歆.聚苯乙烯微塑料对菌-藻颗粒污泥的影响机制研究 [J]. *中国环境科学*, 2023,43(10):5562–5573.
Xu H, Zhang B, Shi W. Unravelling the influencing mechanism of polystyrene microplastics on the algal-bacterial granular sludge systems [J]. *China Environmental Science*, 2023,43(10):5562–5573.
- [23] Junaid M, Liu S, Liao H, et al. Environmental nanoplastics quantification by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry in the Pearl River, China: First insights into spatiotemporal distributions, compositions, sources and risks [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024,476:135055.
- [24] Li H, Xu S, Fu L, et al. Revealing the effects of acute exposure of polystyrene nanoplastics on the performance of Anammox granular sludge [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2022,50:103241.
- [25] Dubois M, Gilles K, Hamilton J, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Analytical Chemistry*, 1956,28(3):350–356.
- [26] 陈宁,刘崇,李玉光,等.硝化颗粒污泥胞外聚合物及信号分子功能分析 [J]. *中国环境科学*, 2023,43(9):4666–4675.
Chen N, Liu C, Li Y, et al. Characteristics of extracellular polymer substances and signal molecule function in autotrophic nitrifying granular sludge [J]. *China Environmental Science*, 2023,43(9):4666–4675.
- [27] 郝瑞霞,李瞳,刘峰,等. A/A/O 工艺运行过程中磷的迁移与积累规律 [J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2011,43(10):129–133.
Hao R, Li T, Liu F, et al. Analysis on removing and accumulating approach of phosphorus in A/A/O technology [J]. *Journal of Harbin Institute of Technology*, 2011,43(10):129–133.
- [28] Zhang B, Huang S, Wu L, et al. Micro(nano)plastic size and concentration co-differentiate the treatment performance and toxicity mechanism in aerobic granular sludge systems [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023,457:141212.
- [29] Yang X, He Q, Guo F, et al. Nanoplastics disturb nitrogen removal in constructed wetlands: responses of microbes and macrophytes [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020,54(21):14007–14016.
- [30] Zhang B, He Y, Shi W, et al. Biotransformation of sulfamethoxazole (SMX) by aerobic granular sludge: Removal performance, degradation mechanism and microbial response [J]. *Science of The Total Environment*, 2023,858:159771.
- [31] Chen W, Wei W, Zhang Y, et al. Different sizes of polystyrene microplastics induced distinct microbial responses of anaerobic granular sludge [J]. *Water Research*, 2022,220:118607.
- [32] 王景华,袁林江,贺向峰,等. EPS 对细菌凝聚和絮状污泥颗粒化的作用 [J]. *中国环境科学*, 2024,44(9):4893–4900.
Wang J, Yuan L, He X, et al. Research on the effect of EPS on bacterial coagulation and granulation of flocculated sludge [J]. *China Environmental Science*, 2024,44(9):4893–4900.
- [33] Wang H, Song Q, Wang J, et al. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor with high dissolved oxygen: Effects of carbon to nitrogen ratios [J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 642:1145–1152.
- [34] Feng L, Mu H, Gao Z, et al. Comprehensive insights into the impact of magnetic biochar on protein hydrolysis in sludge anaerobic digestion: Protein structures, microbial activities and syntrophic metabolisms [J]. *Water Research*, 2024,260:121963.
- [35] Shi H, Wang J, Liu S, et al. New insight into filamentous sludge bulking: Potential role of AHL-mediated quorum sensing in deteriorating sludge floc stability and structure [J]. *Water Research*, 2022,212:118096.
- [36] 殷牧辰,李军,吴耀东,等.氧化石墨烯对活性污泥脱氮性能影响的机制 [J]. *中国环境科学*, 2024,44(7):3759–3766.
Ying M, Li J, Wu Y, et al. Mechanism of the effect of graphene oxide on nitrogen removal performance of activated sludge [J]. *China*

- Environmental Science, 2024,44(7):3759–3766.
- [37] Wang Q, Zhao Y, Zhang C, et al. New insights into hexavalent chromium exposure in electron donor limited denitrification: bio-electron behavior [J]. *Bioresource Technology*, 2023:129088.
- [38] Wei W, Chen X, Peng L, et al. The entering of polyethylene terephthalate microplastics into biological wastewater treatment system affects aerobic sludge digestion differently from their direct entering into sludge treatment system [J]. *Water Research*, 2021,190: 116731.
- [39] Wu T, Zhong L, Ding J, et al. Microplastics perturb nitrogen removal, microbial community and metabolism mechanism in biofilm system [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023,458:131971.
- [40] 牛凤霞,吉芳英,赵 良,等.龙景湖沉积物的细菌群落垂直分布特征 [J]. *中国环境科学*, 2017,37(6):2322–2331.
- Niu F, Ji F, Zhao G, et al. Vertical distribution of bacterial communities in sediments of Longjing Lake [J]. *China Environmental Science*, 2017,37(6):2322–2331.
- [41] Hung C, Huang C, Hsieh S, et al. Exposure of *Goniopora columna* to polyethylene microplastics (PE-MPs): Effects of PE-MP concentration on extracellular polymeric substances and microbial community [J]. *Chemosphere*, 2022,297:134113.
- [42] Lv L, Feng C, Li W, et al. Accelerated performance recovery of anaerobic granular sludge after temperature shock: Rapid construction of protective barriers (EPS) to optimize microbial community composition base on quorum sensing [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2023,392:136243.
- [43] Pan D, Shao S, Zhong J, et al. Performance and mechanism of simultaneous nitrification-denitrification and denitrifying phosphorus removal in long-term moving bed biofilm reactor (MBBR) [J]. *Bioresource Technology*, 2022,348:126726.
- [44] Heylen K, Vanparys B, Wittebolle L, et al. Cultivation of denitrifying bacteria: Optimization of isolation conditions and diversity study [J]. *Applied And Environmental Microbiology*, 2006,72(4):2637–2643.
- [45] Sruamsiri D, Thayanukul P, Suwannasilp BB. In situ identification of polyhydroxyalkanoate (PHA)-accumulating microorganisms in mixed microbial cultures under feast/famine conditions [J]. *Scientific Reports*, 2020,10(1):3752.
- [46] Feng L, Wang J, Liu S, et al. Role of extracellular polymeric substances in the acute inhibition of activated sludge by polystyrene nanoparticles [J]. *Environmental Pollution*, 2018,238:859–865.
- [47] Buchan A, LeCleir GR, Gulvik CA, et al. Master recyclers: features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014,12(10):686–698.
- [48] 梁 幸,孔令露.噬几丁质菌属及其天然产物研究进展 [J]. *工业微生物*, 2023,53(1):22–25.
- Liang X, Kong L. On the research progress of *chitinophaga* species and its natural products [J]. *Industrial Microbiology*, 2023,53(1):22–25.
- [49] 马赛买,李同源,马燕军,等.几丁质酶在农作物病虫害生物防治中的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2023,39(10):29–40.
- Ma S, Li T, Ma Y, et al. Research progress in chitinase involving in the biocontrol of crop diseases and pests [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023,39(10):29–40.
- [50] Yu J. Pyrosequencing analysis reveals abundance and community composition of denitrifying bacteria in xilin river sludge [J]. *Advances in Microbiology*, 2014,3(3):70–78.
- [51] Huang W, Gong B, He L, et al. Intensified nutrients removal in a modified sequencing batch reactor at low temperature: Metagenomic approach reveals the microbial community structure and mechanisms [J]. *Chemosphere*, 2020,244:125513.
- [52] Lv L, Chen J, Liu X, et al. Roles and regulation of quorum sensing in anaerobic granular sludge: Research status, challenges, and perspectives [J]. *Bioresource Technology*, 2023,387:129644.
- [53] Ziesack M, Gibson T, Oliver JKW, et al. Engineered interspecies amino acid cross-feeding increases population evenness in a synthetic bacterial consortium [J]. *mSystems*, 2019,4(4):00352–19.
- [54] Wang H, Wu P, Zheng D, et al. N-acyl-homoserine lactone (AHL)-mediated microalgal-bacterial communication driving *Chlorella*-activated sludge bacterial biofloc formation [J]. *Environmental Science & Technology*, 2022,56(17):12645–12655.
- [55] Liang Z, Shi J, Yang W, et al. Coupling anammox and feammox via polymeric ferric sulfate: An efficient and aeration-saving way for nitrogen removal [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022,355:131788.
- [56] 王亚军,秦楚桐,李肇隆,等.好氧颗粒污泥结构稳定强化策略研究评述 [J]. *生态环境学报*, 2024,33(3):478–486.
- Wang Y, Qin C, Li Z, et al. Anticipating formation characteristics and stability strengthening of aerobic granular sludge [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2024,33(3):478–486.

作者简介: 齐博闻(2000-),女,河南洛阳人,重庆大学硕士研究生,主要从事污水生物处理技术方面研究.发表论文 1 篇.qibowen07@163.com.