

谢宇涵,周 鑫,牛冰心.喹啉/微塑料共存对 Anammox 生物膜反应器的影响 [J]. 中国环境科学, 2025,45(6):3037-3045.

Xie Y H, Zhou X, Niu B X. Effects of co-existence of quinoline/microplastics on anammox biofilm reactor [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3037-3045.

喹啉/微塑料共存对 Anammox 生物膜反应器的影响

谢宇涵,周 鑫*,牛冰心 (太原理工大学环境与生态学院,山西 晋中 030600)

摘要: 本文采用厌氧序批式生物膜反应器探究了喹啉(50~200mg/L)和微塑料(PET-MPs)(20~100mg/L)共存条件下对厌氧氨氧化(Anammox)的复合影响机制.结果表明,随着喹啉和PET-MPs浓度增高,Anammox性能先下降,再逐步回升,且可逆性抑制恢复时间与复合污染物浓度呈正相关.厌氧氨氧化活性(SAA)从C1阶段的22.8mg N/(g VSS·h)下降至C3阶段的16.2mg N/(g VSS·h),而相应活性氧(ROS)产生量提高55.7%,表明复合污染下对Anammox抑制程度增强.胞外聚合物(EPS)分析发现喹啉和PET-MPs浓度增加会导致生物膜EPS含量从75.3mg/g VSS快速下降至39.2mg/g VSS,蛋白质(PN)分泌量减少显著进而导致PN/PS显著下降表明Anammox生物膜结构稳定性下降.高通量测序发现喹啉/PET-MPs浓度升高,微生物群落多样性和丰富度指数均下降,*Candidatus_Brocadia*相对丰度从1.73%下降至1.24%,*Denitratisoma*相对丰度变化不大,而厌氧杂环降解菌的相对丰度则显著增加.

关键词: 喹啉; PET-MPs; 厌氧氨氧化; 微生物群落; 影响机制

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)06-3037-09

Effects of co-existence of quinoline/microplastics on anammox biofilm reactor. XIE Yu-han, ZHOU Xin*, NIU Bing-xin (College of Environment and Ecology, Taiyuan University of Technology, Jinzhong 030600, China). *China Environmental Science*, 2025,45(6): 3037-3045

Abstract: An anaerobic sequencing batch biofilm reactor was used to explore the combined effect mechanism of anammox under the co-existence conditions of quinoline (50~200mg/L) and microplastics (PET-MPs) (20~100mg/L). With the increase of the concentrations of quinoline and PET-MPs, the performance of Anammox first decreases and then gradually recovers, and recovery time of reversible inhibition was positively correlated with the concentration of combined pollutants. The specific anammox activity (SAA) decreased from 22.8mg N/(g VSS·h) in stage C1 to 16.2mg N/(g VSS·h) in stage C3, while the corresponding reactive oxygen species (ROS) production increased by 55.7%, indicating that the inhibition of Anammox was enhanced under combined pollution. Extracellular polymer (EPS) analysis revealed that an increase in the concentrations of quinoline and PET-MPs would lead to a rapid decrease in the EPS content of the biofilm from 75.3mg/g VSS to 39.2mg/g VSS. The significant reduction in protein (PN) secretion, which in turn led to a significant decrease in PN/PS, indicates a decline in the structural stability of the Anammox biofilm. High-throughput sequencing revealed that the concentration of quinoline /PET-MPs increased, while the microbial community diversity and richness indices decreased. The relative abundance of *Candidatus_Brocadia* decreased from 1.73% to 1.24%, while the relative abundance of *Denitratisoma* changed little. However, the relative abundance of anaerobic heterocyclic degrading bacteria increased significantly.

Key words: quinoline; PET-microplastics; anammox; microbial community; influencing mechanism

喹啉(C₉H₇N)是一种典型的含氮杂环化合物(NHCs).喹啉及其衍生物由于其具有的杂环结构,在水环境中溶解性高,容易迁移和积累.此外,喹啉还具有较高的遗传毒性和致突变性,已被美国环保署列为优先污染物,对自然生态乃至人类健康具有潜在的巨大危害^[1].微塑料(MPs)一般指直径小于5mm的塑料颗粒物,由于其尺寸小,比表面积大等特点,MPs作为其他持久性有毒有机物的载体,能造成水体的复合污染^[2],是近年来备受关注的新型污染物之一.

厌氧氨氧化(Anammox)是一种新型自养生物脱氮技术,与传统的硝化/反硝化生物脱氮工艺相比,脱氮效率可高达89%,同时降低60%以上曝气能耗,节

省100%有机碳源,减少90%污泥产量,几乎不产生N₂O等温室气体^[3],因而在污水脱氮节能低碳处理潜力巨大.

在一些印染行业排放的废水中,喹啉浓度可高达200mg/L以上^[4],且同时含有高浓度MPs(900个/L以上)^[5].由于MPs通过沉淀和静电吸附很容易在Anammox处理系统中保留^[6],进而导致喹啉和MPs共存下的复合污染^[7].这对于Anammox在该类废水

收稿日期: 2024-11-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(21607111);山西省专利转化计划资助项目(202401011);山西省基础研究计划项目(202403021221049)

* 责任作者, 教授, raymans2006@163.com

实际工程应用提出了很大的挑战.目前喹啉和 MPs 单独作用下对 Anammox 影响已有报道^[8].Chen 等^[9]发现 Anammox 菌群短期条件下,对喹啉的半抑制浓度(IC₅₀)为 13.07mg/L.Hong 等^[10]发现短期投加 1.0g/L 的 PET 使 Anammox 活性降低了 16.2%.这表明单一污染物在特定浓度下对 Anammox 菌群活性具有显著抑制作用,且抑制程度与污染物的种类和浓度密切相关.然而,目前对于喹啉与 MPs 共同胁迫下 Anammox 的脱氮性能及其微生物群落的影响机制尚缺乏明确的认识.

聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)是污水处理系统中被检出的最常见的 MP 类型之一^[11].因此,本研究探究喹啉与 PET 共同胁迫下 Anammox 的脱氮性能及微生物群落特征,旨在了解含杂环芳烃 PET-MPs 对于废水 Anammox 脱氮的影响机制,并为 Anammox 在该类废水工程应用提供参考.

1 材料和方法

1.1 实验装置

采用有效容积为 6L 的厌氧序批式生物膜反应器,如图 1 所示.反应器由有机玻璃制成,内部填充 50%的聚氨酯海绵填料.反应器密闭,整体用黑布覆盖避免光照产氧.接种污泥取自实验室膨胀颗粒污泥床反应器(EGSB)培养良好的生物量 12g/L 的 Anammox 颗粒污泥.反应器温度控制在(30±1)℃,底部装有推进器,保证搅拌良好.反应器采用间歇进出水,换水比为 1/2,换水周期为 1d.

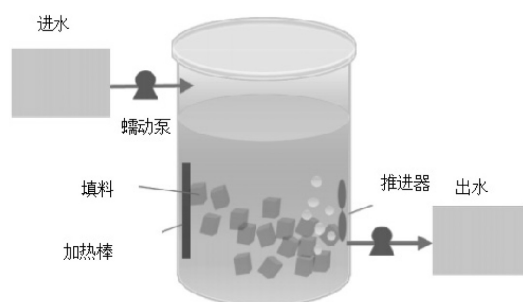


图 1 反应器装置
Fig.1 Reactor device

1.2 运行条件

喹啉(分析纯),购自天津市大茂化学试剂厂;PET,白色颗粒状,粒径约为 300μm,密度为 1.37~1.39g/cm³,购自东莞市樟木头晴天塑胶原料经营部.进水

采用人工配水,添加 100mg/L NH₄Cl(分析纯)和 130mg/L NaNO₂(分析纯),以 N/P 比为 5:1 的浓度比添加 KH₂PO₄(分析纯)以保证厌氧微生物营养需求.进水 pH 值为(7.5±0.2).通入高纯氮气将 DO 浓度控制至 0.2mg/L 以下.待反应器成功启动后,NH₄⁺-N 和 TN 去除率均大于 90%,投加不同浓度喹啉和 PET-MPs,进入运行阶段,运行条件如表 1 所示,共运行 95d.

表 1 运行条件

Table 1 Operating conditions

运行阶段	运行天数(d)	喹啉(mg/L)	PET(mg/L)
C1	1~25	50	20
C2	26~55	100	50
C3	56~95	200	100

1.3 水质分析方法

水样在测定前经过 0.45μm 的滤膜过滤. NH₄⁺-N 采用哈希快速测定法(HACH DR 1900,美国)分析,NO₂⁻-N 采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法(GB 7493-87),NO₃⁻-N 采用紫外分光光度法(GB/T 5750.5-2023).DO 浓度使用 DO 仪(WTW Multi510IDS,WTW,德国)进行测定,pH 值用 pH 计(FE-20,梅特勒,中国)进行测定.喹啉浓度采用紫外分光光度法,以蒸馏水为参比,在 λ=270nm 处进行吸光度测定^[12].

1.4 Anammox 活性测定

第 25d,第 55d,第 95d 进行 Anammox 活性(SAA)测定.通过工作体积为 250mL 的血清瓶进行批次测定.首先将瓶内填充适量的生物膜填料,再注入人工配水至刻度线处.人工配水中以 1:1.32 的物质的量比添加氨氮和亚硝态氮,以 N/P 为 5:1 的比例加入磷酸二氢钾,添加碳酸氢钠将 pH 值控制在(7.6±0.2).进水中通入高纯氮气 20min,使反应器内的 DO 浓度低于 0.2mg/L.之后将血清瓶密封并放置于恒温振荡箱中运行,温度设置为 30℃,转速设为 60r/min.以一定的时间间隔抽取水样,经过 0.45μm 滤膜过滤后测定出水水样氨氮和亚硝态氮的含量.根据式(1)计算 SAA^[13].

$$SAA = \frac{C_{\text{NH}_4^+,\text{in}} + C_{\text{NO}_2^-\text{,in}} - C_{\text{NH}_4^+,\text{eff}} - C_{\text{NO}_2^-\text{,eff}}}{T \cdot \text{MLVSS}} \quad (1)$$

式中: $C_{\text{NH}_4^+,\text{in}}$ 和 $C_{\text{NH}_4^+,\text{eff}}$ 、 $C_{\text{NO}_2^-\text{,in}}$ 和 $C_{\text{NO}_2^-\text{,eff}}$ 分别为进

水和出水氨氮和亚硝酸盐的浓度,mg/L; T 为反应时间,h;MLVSS 为混合液中的挥发性悬浮固体,g/L.

1.5 活性氧水平测试

第 25d,第 55d,第 95d 进行生物膜样品中的活性氧(ROS)含量测定.使用荧光探针 2,7-二氯荧光素二乙酸盐(DCFH-DA)进入细胞,DCFH-DA 可以被细胞内的酯酶水解,形成荧光物质 DCFH,通过测量荧光强度可以得出 ROS 的含量.每份样品测试 3 次.

1.6 EPS 测定

第 25d,第 55d,第 95d,分别从反应器中随机取出一块填料,采用超声法使填料上的生物膜脱落,将脱落的生物膜全部倒入离心管中.加入去离子水至 30mL,在 3600r/min 的转速下离心 5min,加入去离子水对细胞膜沉淀清洗 3 次.保留细胞膜沉淀用来提取胞外聚合物(EPS),随后在污泥沉淀物中加入磷酸缓冲溶液,将其体积补充至 30mL.在 2000g 离心力下离心 15min,之后通过 $0.45\mu\text{m}$ 的滤膜过滤上清液,得到扩散层 EPS(S-EPS).将剩余的污泥沉淀物继续用磷酸缓冲溶液补充至 30mL,并在 5000g 离心力的条件下离心 15min,过滤上清液后得到松散层 EPS(LB-EPS).继续加入磷酸缓冲溶液至 30mL,将离心管放入 70°C 的水浴锅加热 30min,取出后在 5000g 离心力的条件下离心 15min,将上清液过滤后得到紧密层 EPS(TB-EPS)^[14].蛋白质(PN)采用考马斯亮兰比色法测定,多糖(PS)使用蒽酮-硫酸比色法测定.

1.7 EPS 表征

EPS 采用三维荧光光谱(3D-EEM)进行分析,使用荧光分光光度计(CARY Eclipse, VARIAN, 美国)进行扫描测定,以去离子水作为空白样.扫描参数为:激发光波长(Ex)为 200~550nm,步长 2nm,发射光波长(Em)为 200~550nm,步长为 5nm;扫描速度为 12000nm/min,狭缝宽度为 10nm,扫描间隔为 2nm.以上数据结果采用 Origin 2021 进行处理与分析.

1.8 高通量测序

第 25d,第 55d,第 95d 取生物样品,采用美国 OMEGA 公司提供的 M5635-0 型 E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit 试剂盒对 DNA 进行提取,引物为 V3-V4 区域的通用引物 341F(5'-CCTACGGGNG-GCWGCAG-3')和 805R (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3').采用上海生物工程股份有限公司 Illumina 高通量测序^[10](登陆号:PRJNA1095704).

2 结果与讨论

2.1 喹啉去除影响

由图 2 可见,在 1~25d 投加的喹啉浓度为 50mg/L 且 PET-MPs 浓度为 20mg/L,随着反应的进行,反应器内出水喹啉浓度逐渐下降,喹啉去除率从 72.2%逐渐上升至 87.1%.此时,反应器内的微生物处于对杂环芳烃适应期,低浓度喹啉能够作为 $\text{NO}_x\text{-N}$ 反硝化的电子供体,而被降解利用^[15].第 26d 时,添加的喹啉浓度上升至 100mg/L 且 PET-MPs 浓度上升至 50mg/L,出水喹啉浓度达 31.7mg/L,喹啉去除率迅速下降至 68.3%.反应进行到第 55d 时,喹啉去除率再次恢复至 86.5%.这表明,在较低浓度喹啉对于微生物毒性抑制为可逆的;第 56d 时,喹啉的添加浓度继续上升至 200mg/L 且 PET-MPs 浓度上升至 100mg/L 时,在高浓度有毒有机物和 PET-MPs 的冲击下,喹啉去除率仅为 60.5%,且经过 40d 后,喹啉去除率仅部分恢复至 80.3%.分析认为,在高浓度喹啉和 PET-MPs 联合冲击条件下,导致对异养微生物产生叠加毒性抑制,恢复时间延长,抑制难以完全恢复.

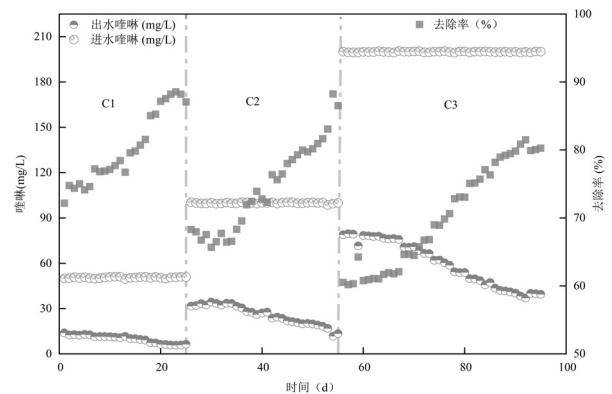


图2 各阶段喹啉去除性能

Fig.2 Removal performance of quinoline at different stages

2.2 脱氮影响

由图 3、表 2 可见,在 C1 初始阶段,反应器内脱氮性能迅速恶化,Anammox 过程受到抑制, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率快速下降至($69.7\%\pm 1.4\%$)、($84.7\%\pm 2.5\%$),而此时出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度较低.有研究报道短期喹啉暴露对 Anammox 的 IC_{50} 仅为 $13\sim 31\text{mg/L}$ ^[9,16].表明低浓度的喹啉即可对 Anammox 微生物产生较强的毒性抑制作用.当进行到 21d 时,反应器脱氮性能恢复,TN 去除率提高至 80.0%以上.25d 时,

Anammox性能彻底恢复,此时 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率分别可达到(82.4%±2.1%)和(90.3%±0.4%)的去除率,TN去除率可达到(85.5%±0.3%).这些说明,低浓度喹啉对Anammox微生物产生的影响是可逆性抑制,且Anammox恢复时间较短.

第C2阶段,随着喹啉和PET-MPs浓度分别升高到100和50mg/L,Anammox明显受到杂环芳烃和PET-MPs毒性抑制, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率很快下降至(57.2%±1.3%)和(81.5%±0.5%),TN去除率仅为(66.7%±0.2%).这可能归因于含氮杂环的加入使得异养菌迅速增殖,而AnAOB的活性受到竞争性抑制,在与兼性反硝化菌竞争 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 过程处于不利位置.经过11d的驯化后, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除率分别达到70.0%和85.0%左右,TN去除率恢复至70.0%以上,Anammox性能开始恢复.反应进行到第55d时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的去除率恢复至(81.7%±1.7%)和(91.4%±1.8%),此时TN去除率达到(86.4%±1.7%).在低浓度杂环芳烃存在下,有机物的存在不会对Anammox产生长期抑制,相反还促进了反硝化菌群的增殖,增强了对系统 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除.因

此,在杂环芳烃存在下,通过同步Anammox反硝化保证了系统较理想的脱氮效果^[17].C3阶段,喹啉浓度和PET-MPs浓度继续升高到200和100mg/L时,此时出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度迅速升高,分别为46.3mg/L和33.9mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率仅为(54.0%±0.4%)和(73.6%±1.4%).出水中残留较高浓度 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,从C1阶段(3.2±1.6)mg/L到C3阶段(8.4±4.0)mg/L.尽管PET-MPs单独存在下,100mg/L对Anammox不足以产生抑制作用.然而,当高浓度的喹啉同时存在下,PET-MPs由于极强的吸附能力,可作为高毒有机物喹啉的载体输送至微生物细胞内^[18],进而加剧了对Anammox及反硝化菌负面影响.

经过长达40d运行后,反应器对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除率分别恢复至(82.5%±0.7%)和(92.9%±2.1%),TN去除率恢复至(85.0%±0.8%).随着抑制性底物浓度的大幅度增加,Anammox脱氮性能的恢复时间也相应延长.对比前人研究,喹啉降至5mg/L不足以恢复颗粒污泥系统厌氧氨氧化性能^[9],本研究Anammox生物膜系统可以耐受更高浓度的喹啉.

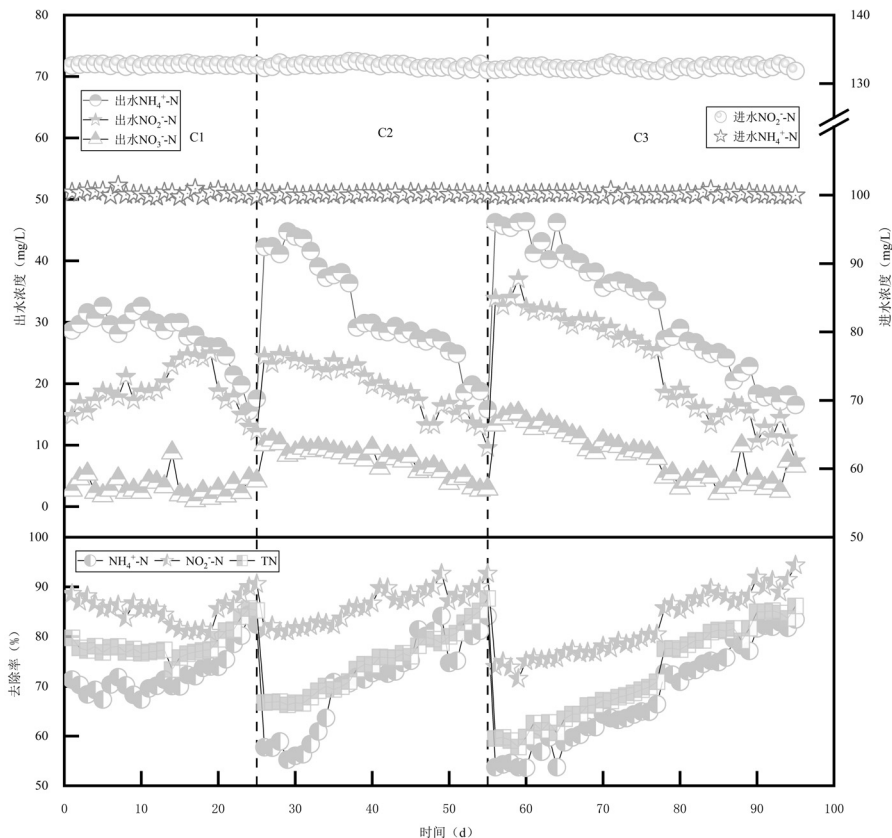


图3 各阶段脱氮性能

Fig.3 Nitrogen removal performance at different stages

表 2 各阶段脱氮性能

Table 2 Nitrogen removal performance at different stages

阶段	运行天数 (d)	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除 (%)	$\text{NO}_2^-\text{-N}$ 去除 (%)	TN 去除 (%)
C1	1~25	69.7~82.4	84.7~90.3	77.2~85.5
C2	26~55	57.2~81.7	81.5~91.4	66.7~86.4
C3	56~95	54.0~82.5	73.6~92.9	59.2~85.0

2.3 SAA 和 ROS 分析

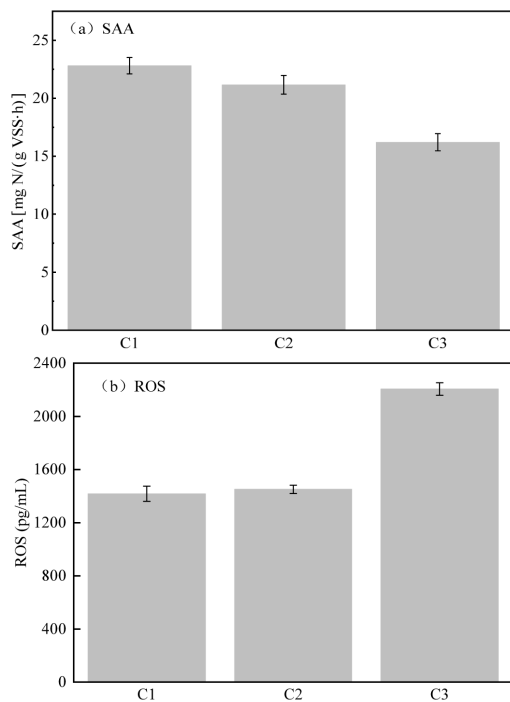


图 4 各阶段 SAA 和 ROS 分析

Fig.4 SAA and ROS analysis at different stages

如图 4(a),C1 阶段,SAA 处于最高,为 22.8mg N/(g VSS·h),随着喹啉和 PET-MPs 浓度的逐步上升,反应器的 Anammox 性能开始下降,导致 C2 阶段 SAA 下降为 21.2mg N/(g VSS·h),而 C3 阶段 SAA 值继续降至 16.2mg N/(g VSS·h),其活性仅为 C1 阶段的 71%.Chen 等^[13]也发现随着喹啉从 0 提高到 100mg/L,Anammox 颗粒污泥 SAA 呈急速下降.图 4b 所示,C1 阶段生物膜 ROS 的水平为(1418.1±57.3) pg/mL,在 100mg/L 喹啉和 50mg/L PET-MPs 的添加量下,细胞内 ROS 的产生量轻微上升至(1451.1±31.6) pg/mL;而随着喹啉和 PET-MPs 浓度继续提高至 200 和 100mg/L,细胞内 ROS 的产生量显著增加至(2205.7±46.9) pg/mL.C2~C3 阶段 ROS 值突然增高,可能原因是 PET-MPs 增加了细胞的通透性,导致喹

啉更容易进入细胞.当 AnAOB 受到高浓度喹啉和 PET-MPs 的复合胁迫时,微生物会产生大量的 ROS 诱发氧化应激,过度高水平的氧化应激会破坏细胞的 DNA 链,并抑制酶的活性,从而降低 AnAOB 的生存能力^[19].

2.4 EPS 分析

由图 5(a)可见,C1 阶段总 EPS 含量最高为 94.0mg/g VSS.而 C2 和 C3 阶段总 EPS 含量分别下降了 12.0%和 40.3%,由于喹啉浓度和 PET-MPs 浓度的增加,微生物受到的毒性抑制叠加,导致 EPS 分泌大量减少^[20].这与胡璇等^[21]发现聚酯纤维 MPs 的持续暴露抑制 EPS 的分泌结果相似. EPS 组分方面,在每个阶段,PN 的含量都要远远高于 PS,表明蛋白质类物质的存在对生物膜的形成、结构和维持起着重要作用.本研究中,随着喹啉浓度和 PET-MPs 浓度的增加,EPS 中 PS 含量呈现先增大后减少的趋势,分析认为:在喹啉和 PET-MPs 复合污染下,微生物通过释放大量 PS 来缓解二者对它的影响,但随着复合胁迫浓度持续增加,微生物分泌 EPS 不足以抵抗复合污染冲击,导致 EPS 含量从 75.3mg/g VSS 快速下降至 39.2mg/g VSS.

PN/PS 可评价 EPS 稳定性,PN/PS 越低,表明生物膜凝聚力以及结构的紧密性和稳定性越差^[22].图 5(a)显示,随着喹啉和 PET-MPs 浓度提高,PN/PS 的比值从 4.0 逐渐下降到 2.4、2.3,表明污染物浓度提升导致 Anammox 生物膜结构稳定性下降,进而造成脱氮性能恶化.

图 5(b)为各阶段下生物膜各层 EPS 含量的变化情况.本研究中 TB-EPS 作为 EPS 最主要的成分,TB-EPS 可将细胞连接成簇,促进微生物的粘附和聚集,TB-EPS 的浓度越高,生物膜结构越紧凑,有利于其在脱氮过程中的持续活性和稳定性^[23].TB-EPS 含量从 C1 阶段 41.1mg/g VSS 下降至 C3 阶段 21.5mg/g VSS.LB-EPS 含量的下降与喹啉/PET-MPs 联合冲击有关.LB-EPS 的产生可能与细胞外氧化还原活动有关,有利于微生物耐受和难降解有机物利用^[24].各阶段 LB-EPS 含量分别为 31.4、25.9 和 19.8mg/g VSS,表明微生物对于难降解喹啉耐受性能和利用能力降低.而 S-EPS 的含量呈现先增加后降低,分析认为:C2 阶段增加,意味着细胞膜释放出更多的营养物质和胞外酶,可以被微生物利用.而

C3 阶段,由于高浓度喹啉和 PET-MPs 的联合胁迫, 微生物正常代谢过程受到阻碍.

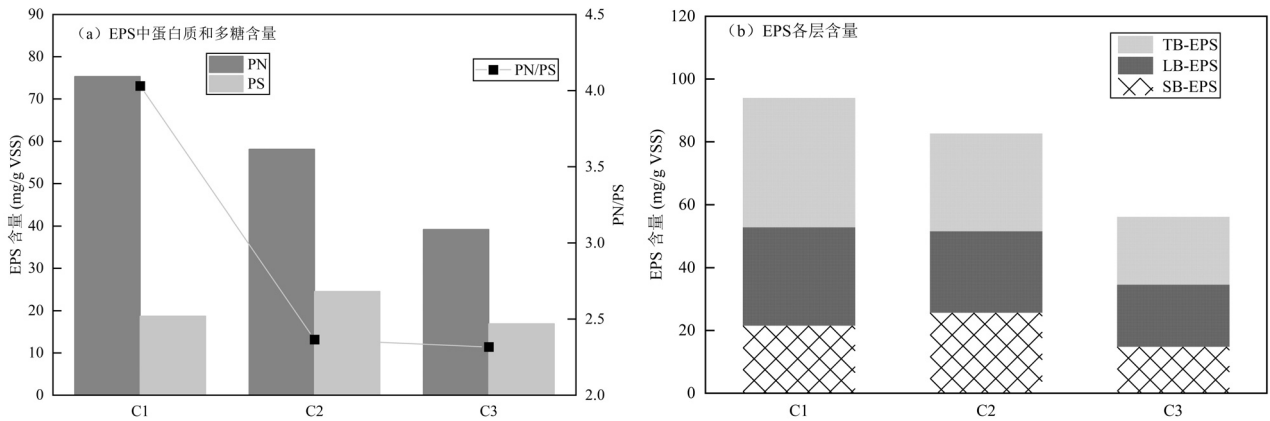


图 5 各阶段 EPS 中蛋白质和多糖含量及 EPS 各层含量

Fig.5 Content of PN and PS in EPS and Content of Each Layer of EPS at different stages

2.5 三维荧光光谱分析

图 6 显示了各阶段下 S-EPS、LB-EPS 和 TB-EPS 的 3D-EEM.共检测到 5 个荧光峰,F1 峰($E_x/E_m=278\sim 285\text{nm}/309\sim 341\text{nm}$) 和 F2 峰 ($E_x/E_m=275\sim 279\text{nm}/327\sim 349\text{nm}$)代表可溶性微生物代谢

产物,F3 峰($E_x/E_m=219\sim 229\text{nm}/330\sim 388\text{nm}$)、F4 峰 ($E_x/E_m=215\sim 219\text{nm}/287\sim 294\text{nm}$)和 F5 峰 ($E_x/E_m=307\sim 317\text{nm}/390\sim 414\text{nm}$)分别属于色氨酸类蛋白、酪氨酸类蛋白^[25]以及腐殖酸类物质的荧光响应区.

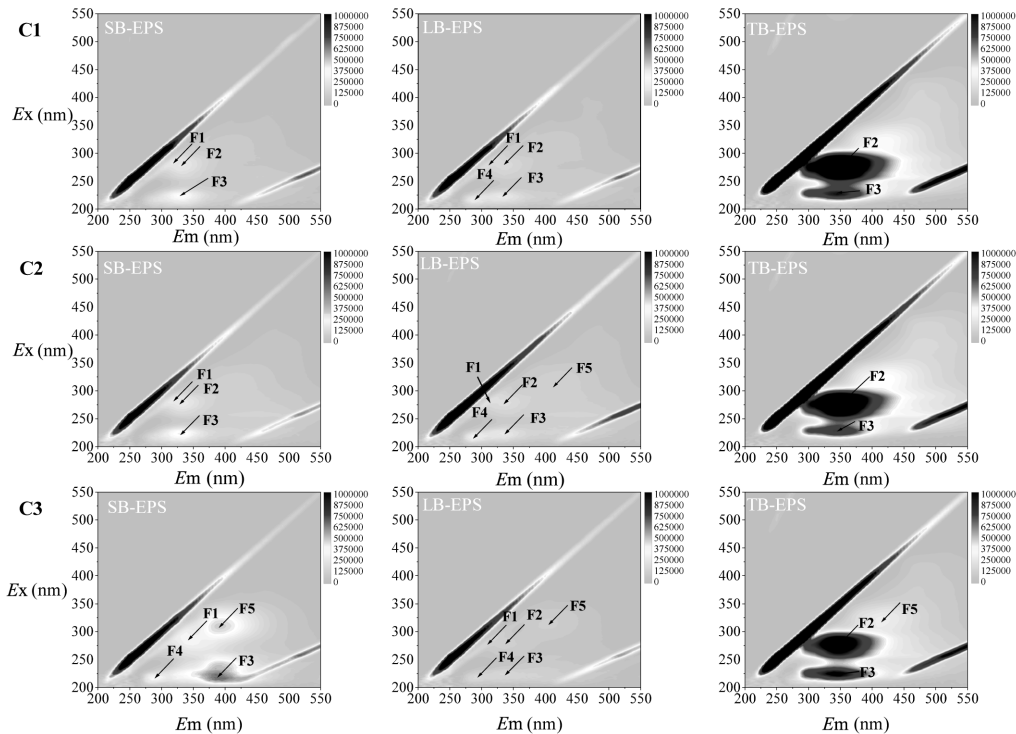


图 6 各阶段 EPS 的 3D-EEM 光谱

Fig.6 3D-EEM spectra of EPS at different stages

在 C1 和 C2 阶段,在生物膜的 SB-EPS 中观察到 F1 峰、F2 峰和 F3 峰,表明 SB-EPS 存在溶解性

微生物代谢产物和色氨酸类蛋白.而在 C3 阶段生物膜 SB-EPS 的 F2 峰消失,出现了新的峰 F4 峰和 F5

峰,代表酪氨酸类蛋白和腐殖酸类物质的产生.C1~C3 阶段生物膜的 LB-EPS 中都观察到 F1 峰、F2 峰、F3 峰和 F4 峰.而在 C3 阶段生物膜 SB-EPS 的 F2 峰消失,出现了新的峰 F5 峰.C1 和 C2 阶段在生物膜的 TB-EPS 中观察到 F2 峰和 F3 峰,表明存在溶解性微生物代谢产物和色氨酸类蛋白.而在 C3 阶段发现 TB-EPS 比 C1 和 C2 阶段具有更弱的荧光强度,而 S-EPS 出现了 F3 峰和 F5 峰荧光强度增加,表明 EPS 分泌了更多的色氨酸和腐殖酸类物质.这说明在喹啉和 PET-MPs 的共存下,生物膜 EPS 不同层通过分泌不同类别蛋白类物质达到适应和抵御毒性胁迫环境的目的^[26].

2.6 微生物群落分析

表 3 显示,随着喹啉和 PET-MPs 浓度增加,操作分类单元(OTUs)数量呈显著降低.Shannon 指数不断减小而 Simpson 指数不断升高,这意味着毒性胁迫之下,群落种类多样性不断减少,系统中一些不能适应环境变化的细菌被淘汰.Chao 指数和 Ace 指数也呈现不断下降趋势,表明微生物物种丰富度降低.可见,喹啉和 PET-MPs 不同浓度添加对微生物群落的多样性和丰富度具有显著影响.

表 3 微生物群落多样性和丰富度指数

Table 3 Microbial community diversity and richness index

样品	OTUs	多样性指数		丰富度指数	
		Shannon	Simpson	Chao	Ace
C1	2862	5.96	0.014	2862	2862
C2	2472	5.508	0.016	2472	2472
C3	897	4.669	0.037	897	897

由图 7(a)可见,所有样品中的优势菌门为 Proteobacteria(22.70%~27.49%)、Chloroflexi(15.68%~18.73%)、Bacteroidota(13.67%~18.95%)、Planctomycetota(8.52%~10.58%)、NB1-j(4.67%~12.73%)和 Acidobacteriota(3.15%~5.44%).其中,Anammox 功能菌属于 Planctomycetota,其相对丰度的下降暗示了反应器中的 Anammox 反应受到了高浓度喹啉和 PET-MPs 的抑制.Proteobacteria 中的微生物可以利用有机碳源进行反硝化^[28].各阶段 Proteobacteria 的相对丰度分别为 27.49%、22.70%和 23.27%,张之钰等^[29]与 Xiao 等^[30]发现单独投加 PET-MPs 或者投加低浓度喹啉导致 Proteobacteria

菌门的相对丰度提高,而本文发现 Proteobacteria 菌门的相对丰度降低,这表明喹啉和 PET-MPs 存在着复合胁迫作用,对 Proteobacteria 产生毒性叠加抑制.而随着喹啉浓度和 PET-MPs 浓度的不断增加,Chloroflexi 的相对丰度则从 15.83%增加到 18.73%.Chloroflexi 通常会在 Anammox 反应器存在,可以降解有机物,对生物膜的形成与稳定发挥着重要的作用^[27].

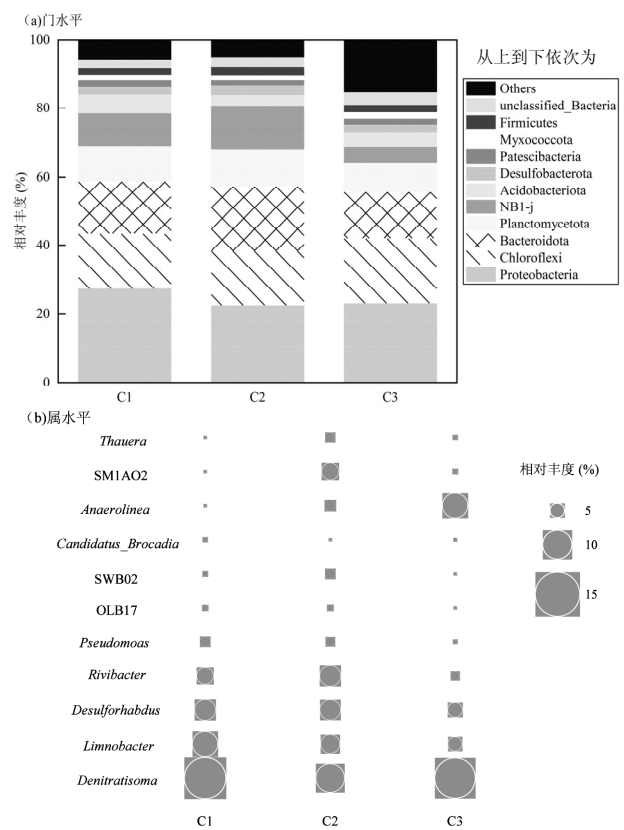


图 7 各阶段微生物菌群组成

Fig.7 Compositions of microbial community at different stages

由图 7(b)可见,Candidatus_Brocadia 是本研究中唯一检测到的 AnAOB.Candidatus_Brocadia 相对丰度从 1.73%下降至 1.24%,与 SAA 变化趋势一致,其中,对比上个工况,C2~C3 阶段中,ROS 值提高 51.9%,以及 SAA 快速降低 23.6%,表明在高浓度喹啉和 PET-MPs 协同作用下加大了对 Anammox 菌属的不利影响.此外,Denitratisoma 是相对丰度最高的菌属,是一种可以利用 NO₃⁻-N 为电子受体的异养反硝化菌^[31],其相对丰度受喹啉和 PET 浓度影响不大.表明该菌属能够耐受高浓度的复合胁迫并在系统

同步 Anammox 反硝化脱氮中发挥至关重要的作用。而 *Limnobacter*、*Desulforhabdus*、*Rivibacter*、*Pseudomonas* 等菌属的相对丰度均呈现先变化不大再到急剧下降的趋势,这些菌属均与反硝化过程有关^[32]。而 *Anaerolinea* 具有厌氧降解喹啉功能^[33],其相对丰度则显著增加。因此,进水底物中喹啉和 PET-MPs 浓度将会直接决定微生物群落中各功能菌的数量占比和优势水平,进而影响系统脱氮除碳性能。

3 结论

3.1 Anammox 生物膜系统对喹啉和 PET-MPs 的耐受浓度分别为 100 和 50mg/L。当这两种污染物的浓度分别升至 200 和 100mg/L 时,Anammox 脱氮效率将难以恢复至正常水平。

3.2 随着喹啉和 PET-MPs 浓度增高,SAA 从 22.8mg N/(g VSS·h)下降至 16.2mg N/(g VSS·h),而相应 ROS 产量提高了 55.7%。

3.3 随着喹啉和 PET-MPs 浓度增高,生物膜 EPS 含量从 75.3mg/g VSS 快速下降至 39.2mg/g VSS,PN/PS 从 4.0 显著下降到 2.3,降低了生物膜稳定性。

3.4 随着喹啉和 PET-MPs 浓度增高,微生物群落的多样性和丰富度均出现下降,*Candidatus_Brocadia* 相对丰度从 1.73%下降至 1.24%。

参考文献:

- [1] Luo Y H, Yue X P, Wei P, et al. A state-of-the-art review of quinoline degradation and technical bottlenecks [J]. *Science of the Total Environment*, 2020,747:141136.
- [2] An X J, Li N J, Zhang L Z, et al. New insights into the typical nitrogen-containing heterocyclic compound-quinoline degradation and detoxification by microbial consortium: Integrated pathways, meta-transcriptomic analysis and toxicological evaluation [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024,465:133158.
- [3] Wu P, Chen J J, Garlapati V K, et al. Novel insights into Anammox-based processes: A critical review [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022,444:136534.
- [4] Akyildiz S H, Bellopede R, Sezgin H, et al. Detection and analysis of microfibers and microplastics in wastewater from a textile company [J]. *Microplastics*, 2022,1(4):572-586.
- [5] Liu J, Yu Y, Chang Y, et al. Enhancing quinoline and phenol removal by adding *Comamonas testosteroni* bdq06 in treatment of an accidental dye wastewater [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2016,115:74-82.
- [6] Ramsperger A F, Stellwag A C, Caspari A, et al. Structural diversity in early-stage biofilm formation on microplastics depends on environmental medium and polymer properties [J]. *Water*, 2020,12(11), 3216.
- [7] Vivekanand A C, Mohapatra S, Tyagi V K. Microplastics in aquatic environment: Challenges and perspectives [J]. *Chemosphere*, 2021, 282:131151.
- [8] 洪先韬,周鑫,聚对苯二甲酸乙二醇酯微塑料对 Anammox 颗粒污泥的尺寸影响效应 [J]. *中国环境科学*, 2023,43(12):6406-6412.
Hong X T, Zhou X, size effect of polyethylene terephthalate microplastics on Anammox granular sludge [J]. *China Environmental Science*, 2023,43(12):6406-6412.
- [9] Chen Q Q, Xu L Z J, Zhang Z Z, et al. Insight into the short- and long-term effects of quinoline on anammox granules: inhibition and acclimatization [J]. *Science of the Total Environment*, 2019,651: 1294-1301.
- [10] Hong X T, Niu B X, Sun H W, et al. insight into response characteristics and inhibition mechanisms of anammox granular sludge to polyethylene terephthalate microplastics exposure [J]. *Bioresource Technology*, 2023,385:129355.
- [11] Lee I, Khujaniyoz S, Oh H, et al. The removal of microplastics from reverse osmosis wastewater by coagulation [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2024,12(4):113198.
- [12] 李亚新,赵晨红.紫外分光光度法同时定量测定多组分混合物——喹啉、吡啶、吡咯、苯酚 [J]. *环境工程*, 1999,17(2):58-60.
Li Y X, Zhao C H, UV spectrophotometry simultaneously quantifies multi-component mixtures - quinoline, pyridine, indole, phenol [J]. *Environmental Engineering*, 1999,17(2):58-60.
- [13] Chen H, Zhang Z C, Jin R C, et al. Deciphering the short-term deactivation mechanism of the anammox performance under calcium stress [J]. *Separation and Purification Technology*, 2022,292:120988.
- [14] Zhang P, Fang F, Chen Y P, et al. Composition of EPS fractions from suspended sludge and biofilm and their roles in microbial cell aggregation [J]. *Chemosphere*, 2014,117:59-65.
- [15] Tan C, Chen S Y, Zhang H Y, et al. The roles of *Rhodococcus ruber* in denitrification with quinoline as the electron donor [J]. *Science of the Total Environment*, 2023,902:166128.
- [16] Ramos C, Fernandez I, Suarez-Ojeda M E, et al. Inhibition of the anammox activity by aromatic compounds [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015,279:681-688.
- [17] Niu B X, Xie Y H, Sun H W, et al. Removal behavior, inhibition kinetics, microbial community and metabolic pathways in simultaneous anammox and denitrification under indole exposure [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2024,12:112296.
- [18] Kinigopoulou V, Pashalidis I, Kalderis D, et al. Microplastics as carriers of inorganic and organic contaminants in the environment: A review of recent progress [J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2022, 350:118580.
- [19] Wang X, Wu Q, Wang Z Z, et al. Biotransformation-mediated detoxification of roxarsone in the anammox process: Gene regulation mechanism [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023,467:143449.
- [20] Su Y, Yang H, Wang X T, et al. Successful enhancement and related characteristics of anammox bacterial activity by hydraulic supply strategy under limited inoculum [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021,41:102005.
- [21] 胡璇,陈滢.聚酯纤维 PET-MPs 胁迫下活性污泥系统性能及微

- 生物群落的变化情况 [J]. 化工进展, 2023,42(2):1051-1060.
- Hu X, Chen Y. Changes in the performance and microbial community of activated sludge system under polyester fiber microplastic stress [J]. Chemical Progress, 2023,42(2):1051-1060.
- [22] Zhang J W, Peng Y Z, LI X C, et al. Feasibility of partial-denitrification/ anammox for pharmaceutical wastewater treatment in a hybrid biofilm reactor [J]. Water Research, 2022,208:117856.
- [23] Zhao J, Zhang B W, Zuo J N, Response of anammox granules to ZnO nanoparticles at ambient temperature [J]. Environmental Technology & Innovation, 2019,13:146-152.
- [24] Liu L J, Ji M, Wang F, et al. Response of nitrogen removal performance, functional genes abundances and N-acyl-homoserine lactones release to carminic acid of anammox biomass [J]. Bioresource Technology, 2020,299:122567.
- [25] Huang Y, Peng Y Z, Huang D H, et al. Enhanced nitrogen removal from domestic wastewater by partial-denitrification/anammox in an anoxic/oxic biofilm reactor [J]. Processes, 2022,10(1):109.
- [26] Hou Z L, Zhou X, Dong W Y, et al. Insight into correlation of advanced nitrogen removal with extracellular polymeric substances characterization in a step-feed three-stage integrated anoxic/oxic biofilter system [J]. Science of The Total Environment, 2022,806: 151418.
- [27] Cheng Y F, Zhang Z Z, Ma W J, et al. Response of the mainstream anammox process to the biodegradable carbon sources in the granule-based systems: The difference in self-stratification of the microbial community [J]. Science of The Total Environment, 2022,851: 158191.
- [28] Zhao D T, Xiong H, Shan X C, et al. Response of nitrogen removal and microbial community to high concentration of humic acid in the anammox biofilm system [J]. Journal of Water Process Engineering, 2023,53:103706.
- [29] 张之钰,武海涛,刘吉平,等.PET-MPs 对稻田土壤温室气体排放和微生物群落的影响 [J]. 生态学报, 2024,44(10):4308-4318.
- Zhang Z Z, Wu H T, Liu J P, et al. Effects of microplastics on soil greenhouse gas emissions and microbial communities in paddy fields [J]. Acta Ecologica Sinica, 2024,44(10):4308-4318.
- [30] Xiao H H, Wang K N, Wang Y L, et al. Inhibition of denitrification and enhancement of microbial interactions in the AGS system by high concentrations of quinoline [J]. Journal of Environmental Management, 2024,370:122837.
- [31] Wang D P, Li T, Huang K L, et al. Roles and correlations of functional bacteria and genes in the start-up of simultaneous anammox and denitrification system for enhanced nitrogen removal [J]. Science of the Total Environment, 2019,655:1355-1363.
- [32] 闫冰,聂含冰,付嘉琦,等.长期运行厌氧氨氧化系统沿程不同形态污泥微生物群落结构及功能解析 [J]. 中国环境科学, 2025,45(2): 1052-1062.
- Yan B, Nie H B, Fu J Q, et al. Deciphering the microbial community structure and function of sludge with different morphologies along the ANAMMOX reactor under long-term operation [J]. China Environmental Science, 2025,45(2):1052-1062.
- [33] Wang Y, Tian H, Huang F, et al Time-resolved analysis of a denitrifying bacterial community revealed a core microbiome responsible for the anaerobic degradation of quinoline [J]. Scientific reports, 2017,7(1):147.

作者简介: 谢宇涵(2000-),男,江西宜春人,太原理工大学环境工程硕士研究生.发表论文 2 篇.401135596@qq.com.