

白芷瑄,闫业宇,吉建涛,等. EPD 系统对不同类别小分子量 PAHs 的响应分析 [J]. 中国环境科学, 2025,45(3):1241-1250.

Bai Z X, Yan Y Y, Ji J T, et al. Response analysis of endogenous partial denitrification system to different categories of low molecular weight PAHs [J]. China Environmental Science, 2025,45(3):1241-1250.

EPD 系统对不同类别小分子量 PAHs 的响应分析

白芷瑄¹, 闫业宇², 吉建涛^{1*}, 金宝丹^{2**}, 刘叶², 杜京京², 王兰² (1. 郑州大学生态与环境学院, 河南 郑州 450001; 2. 郑州轻工业大学材料与化学工程学院, 河南 郑州 450001)

摘要: 为了探究内源短程反硝化(EPD)系统对不同种类小分子量多环芳烃(PAHs)的耐受性,同时探索提高 EPD 系统抗冲击能力的方法,首先采用 20mg/L PAHs(菲、蒽)分别驯化 EPD 系统,再通过批次实验向驯化的 EPD 系统中加入 0~80mg/L 其他种类的 PAHs(蒽、菲、萘)分析驯化的 EPD 系统对不同种类 PAHs 的耐受性机理.结果表明,EPD 系统在菲和蒽胁迫下,保持了高达 86%的 NO_2^- -N 积累率和 50%的 PO_4^{3-} -P 去除能力.蒽系统中的微生物分泌出更多的胞外聚合物来保护自身,而非系统富集了更多的 *PAH-RHD GNF/R* 和 *PAH-RHD GPF/R* 基因来提高对 PAHs 的耐受性.菲和蒽的引入显著富集了反硝化聚糖菌和反硝化聚磷菌.经菲驯化的 EPD 系统反硝化菌活性为 $(167.429 \pm 2.321)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$,且在萘和蒽的胁迫下仍保持良好的除磷能力,经蒽驯化的 EPD 系统,在萘和菲的胁迫下保持高 NO_2^- -N 积累能力,且反硝化菌活性为 $(220.137 \pm 0.575)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$.本研究为 EPD 系统对于小分子量 PAHs 耐受性以及通过技术手段提高系统抗冲击能力提供理论支持,对于优化 EPD 系统在污水处理中的运行效果具有显著意义.

关键词: 内源短程反硝化; 多环芳烃; 耐受性; 功能基因; 菌群结构; 反硝化菌活性

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)03-1241-10

Response analysis of endogenous partial denitrification system to different categories of low molecular weight PAHs. BAI Zhi-xuan¹, YAN Ye-yu², JI Jian-tao^{1*}, JIN Bao-dan^{2**}, LIU Ye², DU Jing-jing², WANG Lan² (1. School of Ecology and Environment, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 2. School of Materials and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China). *China Environmental Science*, 2025,45(3): 1241~1250

Abstract: In order to investigate the tolerance of endogenous partial denitrification (EPD) system to different types of low molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and to explore methods to enhance the impact resistance of EPD systems, this study first acclimated EPD systems with 20mg/L PAHs (phenanthrene and anthracene), and then added other types of PAHs (anthracene, phenanthrene, and naphthalene) at concentrations of 0~80mg/L to the EPD system to analyze the mechanisms of PAHs tolerance by batch tests. The results indicated that under the stress of phenanthrene and anthracene, the EPD systems maintained a high accumulation rate of 86% for NO_2^- -N and a removal capacity of 50% for PO_4^{3-} -P. In the anthracene system, the microorganisms secreted more extracellular polymeric substances to protect themselves, while a greater enrichment of *PAH-RHD GNF/R* and *PAH-RHD GPF/R* genes was observed to enhance tolerance to PAHs in the phenanthrene system. The introduction of phenanthrene and anthracene significantly enriched denitrifying glycan bacteria and denitrifying phosphorus accumulating bacteria. The denitrifying activity of the EPD system acclimated with phenanthrene was $(167.429 \pm 2.321)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$, and it still maintained a well phosphorus removal capacity under the stress of naphthalene and anthracene. The EPD system acclimated with anthracene maintained high NO_2^- -N accumulation capacity under the stress of naphthalene and phenanthrene, with denitrifying bacterial activity at $(220.137 \pm 0.575)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$. This study provides the theoretical support for the tolerance of EPD systems to low molecular weight PAHs and also proposes insights into enhancing the impact resistance of EPS system through technological interventions, which has significant importance for optimizing the operational effectiveness of EPD in wastewater treatment.

Key words: endogenous partial denitrification; polycyclic aromatic hydrocarbons; tolerance; functional genes; microbial community structure; denitrifying bacteria activity

近年来厌氧氨氧化技术因其高效节能的优点被广泛关注,而稳定的 NO_2^- -N 供给是厌氧氨氧化技术推广的关键^[1].短程硝化系统(PN)(NH_4^+ -N \rightarrow NO_2^- -N)、短程反硝化系统(PD)(NO_3^- -N \rightarrow NO_2^- -N)是目前 NO_2^- -N 供应的主流技术,但是由于亚硝酸盐

氧化菌的生长,使 PN 过程中 NO_2^- -N 的积累缺乏稳定性^[2],而 PD 系统能够更加稳定积累 NO_2^- -N,但是

收稿日期: 2024-08-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(42007340,42377375)

* 责任作者, 教授, jijiantao999@zzu.edu.cn; ** 副教授, 2016024@zzu.edu.cn

PD 系统存在不能有效去除 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的短板.与直接利用外部碳源的 PD 系统相比,以内碳源聚羟基脂肪酸酯(PHAs)为电子供体的内源短程反硝化系统(EPD)最大限度地提高了有机物的利用效率,能够避免有机物对于厌氧氨氧化的影响^[3].同时,EPD 系统通过强化聚糖菌(GAOs)的反硝化性能实现 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的稳定积累,并且通过富集的聚磷菌(PAOs)实现对 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除^[4].同时研究发现,反硝化聚磷菌(DPAOs)能够以 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 为电子受体实现反硝化除磷^[5].而相关研究认为,反硝化聚糖菌(DGAOs)具有较好的脱氮能力,为 EPD 系统与厌氧氨氧化耦合创造良好条件^[6].因此,EPD 系统具有为厌氧氨氧化与反硝化除磷耦合创造生存空间的潜力,可以解决传统厌氧氨氧化工艺在除磷方面的缺陷.

随着工业化进程的加快,新兴污染物(ECs)在环境中被频繁检出,因其具有环境持久性和生物积累效应对生态稳定和环境健康有较大危害^[7-10],城市污水处理厂不仅是污水集中处理的地点,也是 ECs 发生迁移和转化的核心区域.PAHs 是一种典型的新兴污染物^[11],具有毒性、致畸性和致癌性^[12].研究发现,根据分子量 PAHs 可分为两大类:低分子量 PAHs 和高分子量 PAHs,与高分子量 PAHs 相比,低分子量 PAHs 具有更高的挥发性,在水中的溶解度也更高,更容易在环境中迁移,生物利用率也更高^[13],因此,环境危害性更大.然而,随着工业化和城市化的不断发展,越来越多含 PAHs 的废水排入自然水体,对环境和人类健康构成严重威胁.有研究表明^[14-15],在污水处理厂的进水和出水中均检测到 PAHs 的存在,且 PAHs 对废水传统生物处理过程的脱氮除磷效率均具有影响.研究发现^[16],PAHs 提高了总氮和 COD 的去除率,但降低了 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的去除率,此外,在添加 PAHs 的双污泥系统中富集了 *Nitrospira*、*Hydrogenophaga* 和 *Hyphomicrobium* 等反硝化菌(DNB),有助于提高反硝化性能.目前大多数研究主要关注大分子量 PAHs 对传统污水处理工艺的影响,而关注小分子量 PAHs 对 EPD 系统的影响研究较少,因此,深入研究 EPD 系统对于小分子量 PAHs 耐受性以及通过技术手段提高其抗冲击能力,进而强化 EPD 运行效果,在污水处理过程中具有重要意义.

为了探究 EPD 系统对不同种类小分子量 PAHs 的耐受性,同时探索提高 EPD 系统抗冲击能力的方

法,本研究首先采用单一种类 PAHs(菲:PHE,蒽:ANT)分别驯化 EPD 系统,考察不同种类的 PAHs 对 EPD 系统 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 和 COD 等去除效果的影响.其次,通过评估 EPS 含量、关键酶活性、抗性基因等指标,分析其对不同种类 PAHs 的抗冲击能力.最后,通过批次实验将不同种类不同浓度的 PAHs(萘、菲、蒽:NAP、PHE、ANT)引入经 PAHs 驯化的 EPD 系统,考察 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累率、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 去除率以及反硝化活性,研究驯化 EPD 系统对其他种类 PAHs 的抗冲击能力.研究结果可为 EPD 系统对于小分子量 PAHs 耐受性以及提高 EPD 系统抗冲击能力提供理论基础和技术支持.

1 材料与方法

1.1 接种污泥及试验水质

试验所用活性污泥取自郑州市某城市污水处理厂二沉池回流污泥.进水 C/N 维持在(4.0±0.5).其中,采用无水 CH_3COONa 作为碳源, NaNO_3 作为氮源, KH_2PO_4 作为磷源,试验分 2 次进水,其中进水 I: COD 为 280~320mg/L、PAHs,进水 II: $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 为 68~71mg/L, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 为 9~10.5mg/L.

在每升废水中添加以下微量元素以维持微生物的生长代谢:0.03g $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0.06g $\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.12g $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0.12g $\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.5g H_3BO_3 , 0.15g $\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$,和 0.18g KI; 1.5g $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 10g EDTA.

1.2 试验装置

1.2.1 主反应器装置 本研究采用 3 个 12L 实验室规模的序批式反应器(SBR)来构建 3 个 EPD 系统,分别为 P0、P1 和 P2,其中,P0 作为空白对照组、P1 中加入 PHE、P2 中加入 ANT,PHE 和 ANT 浓度首先在低浓度 1mg/L 进行适应运行 20d,2mg/L 进行适应运行 20d,稳定后增加至 20mg/L 并稳定运行 23d.pH 值不受控制,反应温度为室温.

系统运行方式:厌氧搅拌 2h(包括进水 I)、缺氧搅拌 1h(包括进水 II)、沉淀 0.5h、排水 10min、好氧搅拌 0.5h,每天运行 4 个周期,排水比为 50%.PAHs 随进水 I 进入 EPD 系统.

1.2.2 批次实验装置 为了探究经过某一种类 PAHs 驯化的 EPD 系统对其他种类 PAHs 的抗冲击性,将主反应器中的污泥转移到有效体积为 250mL

的锥形瓶中,并保持各瓶中污泥浓度相同(约 3500mg/L),废水性质与主反应器相同.批次实验分析选择了 3 种类型的多环芳烃 ANT、PHE、NAP,浓度分别控制 0,10,20,40,80mg/L,运行方式与主反应器相同.

1.3 检测方法

所有水样均用定量滤纸过滤,NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 和 PO₄³⁻-P 的测定采用标准法测定^[17].化学需氧量(COD)采用快速消解分光光度法测定.悬浮污泥浓度(MLSS)、可挥发性悬浮污泥浓度(MLVSS)采用重量法测定^[17].胞外聚合物(EPS),采用加热法提取,蛋白质(PN)和多糖(PS)分别采用福林酚试剂法和硫酸蒽酮法^[16]测定,脱氢酶(DH)采用 INT 法^[18]测定.过氧化物酶(POD)采用试剂盒进行检测(南京建成).使用配备 DB-5MS 色谱柱的 Agilent 7890B 色谱系统(GC/MS)以色谱法测定 PAHs^[19].

1.4 高通量测序及功能基因丰度测定

在系统运行末期,分别从 3 组反应器中采集污泥样本记为 P0、P1、P2,使用 Illumina 测序平台进行测序分析.反硝化功能基因和 PAHs 功能基因由上海 Wcgene 生物科技有限公司完成^[20].原始数据已提交至 NCBI(序列号:SRP533955).针对宏基因组数据的处理,本文应用了 RPKM 方法进行归一化,以此校正了基因长度和测序深度对转录丰度估计的影响.

1.5 相关计算公式

NO₂⁻-N 转化率(NTR)^[3]:

$$\text{NTR}(\%) = \frac{\text{NO}_{2\text{eff}}^- \cdot V - \text{NO}_{2\text{inf}}^- \cdot V_i}{\text{NO}_{3\text{inf}}^- \cdot V_i - \text{NO}_{3\text{eff}}^- \cdot V} \times 100\% \quad (1)$$

式中:NO₃⁻_{eff}、NO₂⁻_{eff}是出水中 NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 的浓度,mg/L;NO₃⁻_{inf}、NO₂⁻_{inf}是进水中 NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 的浓度,mg/L;V 是系统的有效体积,L;V_i是每周进水的体积,L.

DNB 活性^[21]:

$$r\text{NO}_2^- - \text{N} = \frac{\Delta\text{NO}_2^- - \text{N}}{\text{VSS} \cdot \Delta t} \quad (2)$$

式中:ΔNO₂⁻-N 表示从开始反应到 NO₂⁻-N 浓度最高值之间的 NO₂⁻-N 浓度的变化值,mg/L;Δt 表示 NO₂⁻-N 积累达到峰值的时间,h.

2 结果与讨论

2.1 不同种类 PAHs 对于 EPD 系统运行的影响

2.1.1 有机物利用、NO₂⁻-N 积累和 PO₄³⁻-P 去除由表 1 可知,加入 20mg/LPAHs,3 个 EPD 系统均表现出较好的有机物去除能力,出水中的 COD 含量均较低,其中,P2 系统中的 COD 出水浓度最低,为(36.31±5.11)mg/L,P0 系统中的 COD 出水浓度最高,为(42.47±6.19)mg/L,说明 PAHs 并未对 EPD 系统中 COD 的去除效果产生负面影响.这与 Jin 等^[20]的研究结果一致.

表 1 各系统的运行情况

Table 1 Operating conditions and performance of various systems

名称	单位	进水	出水		
			P0	P1	P2
COD		300.14±6.23	42.47±6.19	39.13±4.73	36.31±5.11
NO ₃ ⁻ -N	mg/L	68.27±2.24	1.91±1.74	0.68±0.57	0.39±0.38
NO ₂ ⁻ -N		0.11±0.08	27.41±2.79	27.49±2.32	26.33±2.02
PO ₄ ³⁻ -P		10.04±0.55	5.28±1.24	4.35±1.14	5.06±1.64
NO ₃ ⁻ -N 去除(NRE)		/	97.2±2.25	99.3±0.8	96.4±3.58
NTR	%	/	85.9±8.48	86.49±3.36	86.52±13.74
PO ₄ ³⁻ -P 去除(PRE)		/	47.63±14.23	56.14±13.5	49.53±17.19

由表 1 可知,PAHs 对于 EPD 系统反硝化影响较小,P0、P1 和 P2 系统出水中 NO₃⁻-N 浓度较低,仅为(0.39±0.38)~(1.91±1.74)mg/L,NRE 为(99.3%±0.8%)~(96.40%±3.58%).可见,20mg/LPAHs 的引入未影响 EPD 系统的 NO₃⁻-N 去除能力,这也印证了反硝化菌对 PAHs 具有较强的耐受性^[16].EPD 系统长期暴露在含 PHE 和 ANT 的废水中会对 PAHs 有一定的适应能力,且能够促进 NO₃⁻-N 的还原.研究发现,NO₃⁻是 PAHs 降解的最佳电子受体^[22],有利于 NO₃⁻-N 的去除和 PAHs 的降解.同时由表 1 可知,P0、P1、P2 系统中 NO₂⁻-N 浓度相似,NTR 为(85.9%±8.48%)~(86.52%±13.74%),可见,PAHs 对于 EPD 系统 NO₂⁻-N 积累影响较小.此外,3 个系统中 PO₄³⁻-P 出水浓度基本维持在 4~5mg/L,P1 系统的 PO₄³⁻-P 去除效果最好,P2 次之.有研究发现 PAOs 可以利用 PAHs,将其作为内碳源进行储存用于生物除磷过程^[15],而 DPAOs 能够以 NO₂⁻-N 为电子受体实现反硝化除磷^[5,23],PAOs 和 DPAOs 的存在使 EPD 系统表现出一定的 PO₄³⁻-P 去除能力.

2.1.2 EPD 系统中污泥性质变化 EPS 作为活性

污泥的重要组成部分,不仅为微生物提供了附着和生长的基质,还参与细胞间的信息传递和物质交换.研究表明,恶劣环境下微生物能够分泌较多的 EPS 保护其免受外界环境的影响,增强微生物的存活率和生长速率^[24].因此,EPS 对于活性污泥系统的稳定性具有重要的作用.

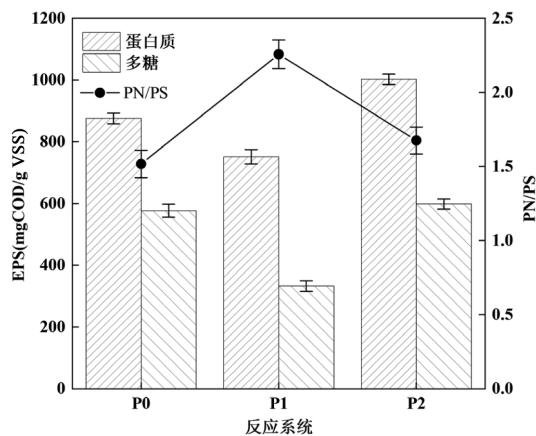


图1 不同系统 EPS 浓度变化

Fig.1 Variation of EPS concentration in different systems

由图1可知,3个系统中的EPS含量具有显著的区别,P2系统中EPS含量最高为1601.05mgCOD/g VSS,P1系统中EPS含量最低为1084.81mgCOD/g VSS,说明ANT对于EPD系统毒性最大,造成微生物分泌丰富的EPS抵抗外界压力.3个系统中的PN含量分别为875.94, 751.80,1002.72mgCOD/g VSS, PS含量分别为577.08, 333.02,598.33mgCOD/g VSS,因此,PAHs对于EPD系统中EPS成分具有显著的影响.在本研究中,P2系统中EPS及PN含量最高,为ANT提供了更多的吸附位点^[25],在较多的ANT包围下,微生物被刺激分泌出更多的EPS来维持微生物的活性,也可说明ANT比PHE具有更大的生物毒性.同时,Zhang等^[26]发现,PN/PS比值与NO₂⁻-N积累呈正相关.P1中的PN/PS比值最高,为2.26,该系统中NO₂⁻-N积累率最大.

2.1.3 PAHs 浓度变化 微生物降解、污泥吸附、光解、氧化以及混凝絮凝等手段均能有效降解PAHs^[27].由表2可知,P1系统中残余的PHE一直处于较低浓度,去除率达到99.68%,而P2系统中的出水ANT浓度则处于较高浓度水平,去除率仅为27.21%.这可能与P2系统中较高的PN含量有关(图1),较高的EPS及PN为ANT提供了更多的吸附位

点,使ANT被吸附至污泥表面,环境变化时发生释放现象,从而导致生物降解效果较差^[25],导致P2系统中ANT残留浓度较高.Jin等^[20]曾报道,PHE对反硝化过程影响最小,且生物去除率最高,ANT次之,这与本实验结果一致,说明PAHs对反硝化细菌的毒性或抑制作用可能与反硝化过程中PAHs去除的效率直接相关.NO₃⁻为PAHs降解提供电子受体,使得P1和P2系统中PHE和ANT出现不同程度的降解.此外,PAHs降解也可能与PNGs相关,相同的功能微生物的抗性基因不同也会导致不同的PAHs去除率^[20].

表2 各系统中PAHs进出水浓度变化

Table 2 Changes in PAHs concentration in influent and effluent for various systems

名称	单位	进水	P1	P2
PHE	mg/L	20	0.064±0.167	/
ANT	mg/L	20	/	14.558±0.184

2.2 生物酶和功能基因分析

2.2.1 PAHs对EPD相关酶活性的影响 过氧化物酶(POD)是一种氧化还原酶,它使用过氧化氢作为电子受体来催化氧化反应^[28],它可以通过与过氧化氢和类似分子反应来催化各种有机和无机底物的氧化.脱氢酶(DH)是普遍存在于微生物中的一种催化底物去掉氢的酶,它在有机物的分解过程中具有关键作用^[29],是微生物降解有机污染物,获取能量的必需酶^[18].可见,POD和DH均是与有机污染物降解有关的酶,是衡量COD与PAHs降解程度的指标,反映了微生物对有机物的降解和利用能力.实验结果可知,P1系统中POD和DH活性最高,分别为25.94U/mgprot和1.02EU/gVSS,P0和P2系统中的POD活性相似,分别为15.22和15.29U/mgprot,与P1系统相比,P0和P2两个系统中的DH活性较低,分别为0.31和0.23EU/gVSS.Sakshi等研究发现,POD和DH在PAHs降解中起着关键作用^[30].可见,PHE的引入能够显著提高POD和DH活性,与P1系统有着较低的PHE残留一致.而P2系统中的POD和DH活性较低,因此ANT残留较多.

2.2.2 PAHs对EPD功能基因的影响 硝酸盐还原酶(*narG*和*napA*)、亚硝酸盐还原酶(*nirK*和*nirS*)、一氧化二氮还原酶(*nosZ*)和一氧化氮还原酶(*norB*)均是氮转化过程中的关键酶,其功能基因的丰度在

一定程度上可以反应微生物的氮转化能力^[31],由图 3 可知,PAHs 对于反硝化功能基因具有显著的影响.

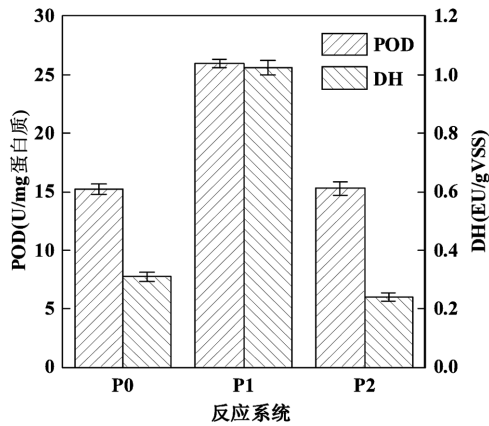


图 2 不同 EPD 系统的酶浓度

Fig.2 Enzyme concentrations in different EPD systems

由图 3(a)可知,P1 系统中,*napA* 和 *narG* 基因的相对丰度最高,分别达到了 0.00381 和 0.00088,相较于对照组 P0(0.00346、0.00040)分别提升了 10%和 120%.这表明,PHE 的存在促进了 P1 系统中硝酸盐还原酶活性的增强,P2 系统 *napA* 和 *narG* 基因的丰度最低,分别为 0.00296 和 0.00023.可见,ANT 的加入对这两种基因的富集产生了抑制作用.*napA* 和 *narG* 丰度的增加提高了 P1 系统中 NO_3^- -N 还原为 NO_2^- -N 的能力,从而促进了 NO_2^- -N 的积累,与实验

中 NO_2^- -N 积累效果一致.然而,ANT 的加入在一定程度上抑制了 *napA* 和 *narG* 的表达,造成 P2 系统中 NO_3^- -N 还原为 NO_2^- -N 能力下降, NO_2^- -N 积累较少.

由图 3(b)可知,不同样品的 *nirS* 和 *nirK* 基因相对丰度表现出显著差异,具体数值分别为 0.04698 和 0.00012(P0)、0.06162 和 0.0000797(P1)和 0.05159 和 0.00010(P2),可见 *nirS* 基因相对丰度显著高于 *nirK* 基因丰度,这一对比揭示出 *nirK* 相较于 *nirS* 基因对 PAHs 更为敏感,且在 PAHs 存在的情况下更易受到抑制.同时发现,3 个系统中的 *nirS* 和 *nirK* 基因的丰度显著高于 *napA* 和 *narG* 基因的丰度,可能是因为在后续的曝气恢复阶段使系统中的 NO_2^- -N 进一步被转化并脱离系统,从而促进了 *nirS* 和 *nirK* 基因的富集,而且 DPAOs 和 DGAOs 中均具有 *nirS* 和 *nirK* 基因,较高的微生物丰度也促进了 *nirS* 和 *nirK* 基因的富集.P0 中较低的 *nirS* 和 *nirK* 基因相对丰度揭示了其具有较好的 NO_2^- -N 积累效果的原因.P1 系统中 *nirS* 基因相对丰度最高,不利于 NO_2^- -N 的积累,但 *nirK* 基因相对丰度最低,在二者的共同作用下 P1 系统表现出较好的 NO_2^- -N 积累效果.对于 P2 系统,虽然 *napA* 和 *narG* 基因相对丰度较低,但该系统 *nirS* 和 *nirK* 基因相对丰度均不高,在二者的作用下,脱氮过程容易被停留在 NO_2^- -N 阶段,系统中的 NO_2^- -N 不易被转化为 N_2O 和 NO ,有利于 NO_2^- -N 的积累.

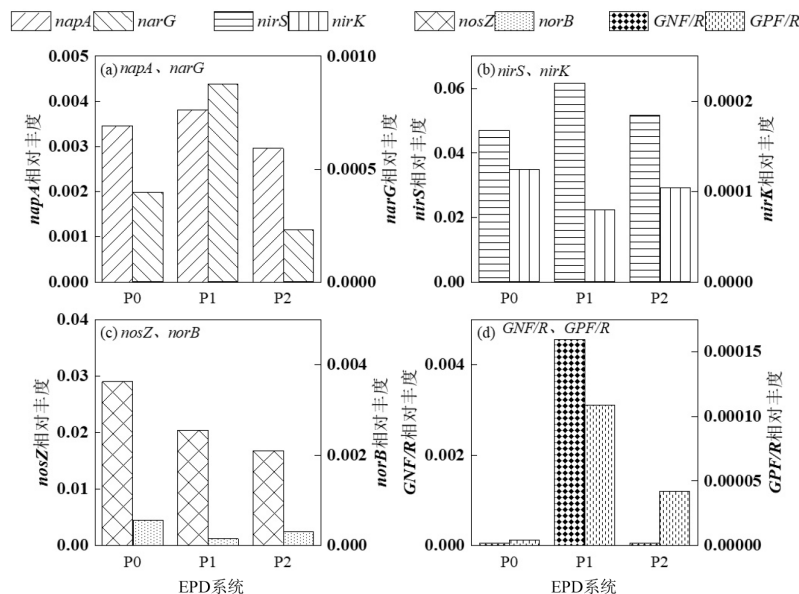


图 3 不同 EPD 系统功能基因的相对丰度

Fig.3 Relative abundance of functional genes in different EPD systems

由图 3(c)可知,在对照组 P0 中,*nosZ*(0.02901)和 *norB*(0.00575)的相对丰度明显高于 P1(0.020403、

Proteobacteria 一致,P1 和 P2 中的丰度较 P0(5.2%) 分别提高至 8.51% 和 8.31%,猜测 *Chloroflexi* 可能也具有 PHE 和 ANT 降解的能力,也证实了 P1 和 P2 系统中 PHE 和 ANT 降解性能差异.试验结果表明,PHE 和 ANT 并未改变 EPD 系统菌群的组成,但改变了反硝化菌群的丰度.

在属水平上,*Unclassified f Candidatus Competibacteraceae* 可以利用自身合成的 PHAs 进行内源性反硝化^[6].实验结果表明,在 P0 系统该菌属中含量较低,其丰度仅为 1.05%,而在 P1 和 P2 系统中,其丰度增长至 8.60% 和 9.06%.说明 PAHs 会促进系统中 *Unclassified f Candidatus Competibacteraceae* 的富集.研究表明,*Candidatus Competibacter* 是典型的 DGAOs,主要为 NO_2^- -N 积累作贡献^[35],可实现内源性反硝化,促进 NO_3^- -N 向 NO_2^- -N 的转化^[36].结果表明,P0 中该菌属的丰度仅为 0.28%,而在 P1 和 P2 系统中的丰度增加至 5.41% 和 6.59%.可见,PAHs 的引入促进了 *Candidatus Competibacter* 的富集,也是 P1 和 P2 系统可以实现 NO_2^- -N 高效积累的主要原因.*Thauera* 是一种与 NO_3^- -N 还原和 NO_2^- -N 积累相关的反硝化菌,*Thauera* 作为 DPAOs 属的一种功能性细菌,被发现能够反硝化除磷从而实现 PO_4^{3-} -P 的去除^[37].*Thauera* 为 P1 系统的优势菌群,丰度为 9.03%,P0 系统中的丰度最低,仅为 1.16%.这表明 PAHs 不会抑制 *Thauera* 的富集,而且对 PHE 的适应性强于 ANT.*Candidatus Contendobacter* 和 *Candidatus Accumulibacter*,也被认为是 DPAOs 的成员,有助于磷酸盐的去除^[38-39].P0 系统中这两种菌属丰度较低(0.47%、0.20%),在 P1 和 P2 系统中分别升高至 5.41%、6.59% 和 2.82%、1.38%.这表明, *Candidatus Contendobacter* 和 *Candidatus Accumulibacter* 对 PAHs 有较高的耐受性.因此,可以推断 *Unclassified f Candidatus Competibacteraceae* 与 *Candidatus Competibacter* 是实现 NO_2^- -N 积累的主要功能属.而 *Thauera*、*Candidatus Contendobacter* 和 *Candidatus Accumulibacter* 主要利用 NO_3^- -N 进行反硝化实现 PO_4^{3-} -P 的去除.可见,PHE 和 ANT 的引入并未影响反硝化性能,同时,显著富集了 DGAOs 和 DPAOs 菌,有利于 NO_2^- -N 的积累和 PO_4^{3-} -P 的去除.

2.4 不同 PAHs 条件驯化的 EPD 系统对于其他种

类 PAHs 的耐受性分析

2.4.1 经 PHE 驯化的 EPD 系统对其他种类 PAHs 的耐受性 从图 5(a)可知,向 P1 系统中加入 0~80mg/L 的 ANT 时,出水中的 NO_3^- -N 浓度维持在 $(0.93 \pm 0.45)\text{mg/L}$,NRE 稳定在 98%左右,说明向 P1 系统中加入 ANT 并未影响 NO_3^- -N 的去除.此外,P1 系统中的 NO_2^- -N 积累情况较好,加入 ANT 后,出水 NO_2^- -N 浓度保持在 $(26.2 \pm 2.39)\sim(29.92 \pm 3.59)\text{mg/L}$,NTR 维持在 $(73.34\% \pm 7.34\%)$ (图 5(c)).可见 ANT 对 P1 系统内源短程反硝化过程影响较小,实现 NO_2^- -N 高效积累.由图 5(e)可知,ANT 对于 P1 系统 PO_4^{3-} -P 的去除效果影响较小, PO_4^{3-} -P 去除率保持在 $(52.08\% \pm 16.62\%)$.由于 P1 系统富集了 DGAOs 和 DPAOs,因此经 PHE 驯化的 EPD 系统暴露在 ANT 环境中同样具有一定的耐受性,同时推测 P1 系统中驯化出的能够降解 PHE 的功能菌群对 ANT 同样具有一定的降解性,因此,P1 系统中 NO_2^- -N 积累和 PO_4^{3-} -P 去除效果均较好.

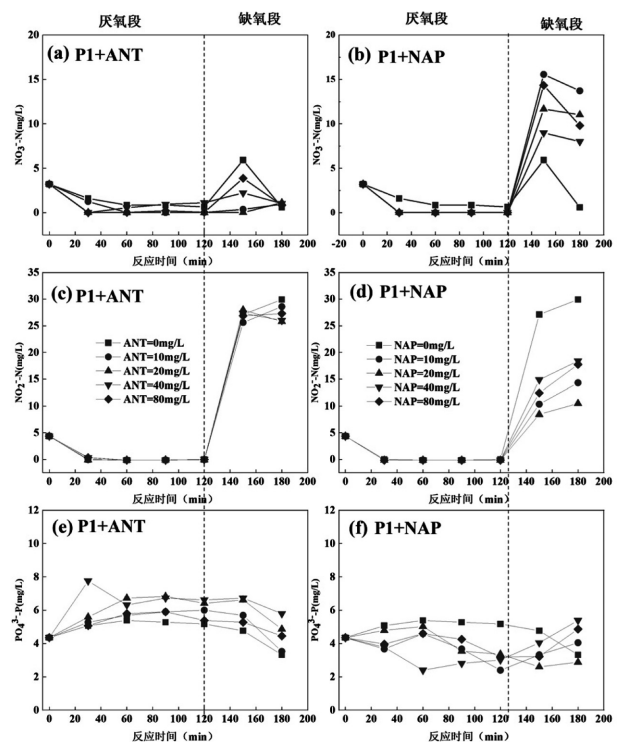


图 5 P1 系统对其他种类 PAHs 的耐受性

Fig.5 Tolerance of system P1 to other types of polycyclic aromatic hydrocarbons

由图 5(b)可知,NAP 对 P1 系统 NO_3^- -N 去除影响较大,NRE 从 98.28%(0mg/LPAHs)降低至(68.98%

±8.16%)。此外,NO₂⁻-N 积累效果变差,从 29.92mg/L (0mg/LPAHs) 下降至(14.12±3.64)mg/L,NTR 仅为 (57.15%±13.39%),说明 NAP 抑制 P1 系统中内源短程反硝化作用.Lu 等的研究中发现,NAP 较容易被生物降解^[40],因此其毒性更容易进入微生物体内,从而干扰了系统中的反硝化过程或微生物群落的平衡.由图 5(f)可知,加入了 NAP 后,在厌氧段 DPAOs 的释磷过程受到抑制,在缺氧段 PO₄³⁻-P 去除率为 (51.11%±9.77%). 研究发现^[23],DPAOs 可以利用 NO₂⁻作为电子受体,对 PO₄³⁻-P 进行去除.结合其较差的 NO₂⁻-N 积累效果,猜测可能是 NAP 促进了 DPAOs 对 NO₂⁻的利用,导致 NO₂⁻-N 积累效果变差.

2.4.2 经 ANT 驯化的 EPD 系统对其他种类 PAHs 的耐受性 P2 系统引入 0~80mg/LPHE 时(图 6(a,c,e)), NO₃⁻-N 出水浓度维持 0.5mg/L 以下,NO₃⁻-N 去除率达到 (98.52%±0.76%),但是 NO₂⁻-N 出水浓度由 27.19mg/L(0mg/LPAHs) 降低至 (20.32±3.48)mg/L, NTR 由 79.33%(0mg/LPAHs) 降低至 (60.26%±10.18%),可见 PHE 对于 NO₃⁻-N 向 NO₂⁻-N 转化的效率有一定影响,但仍可以保持较好的 NO₂⁻-N 积累效果.

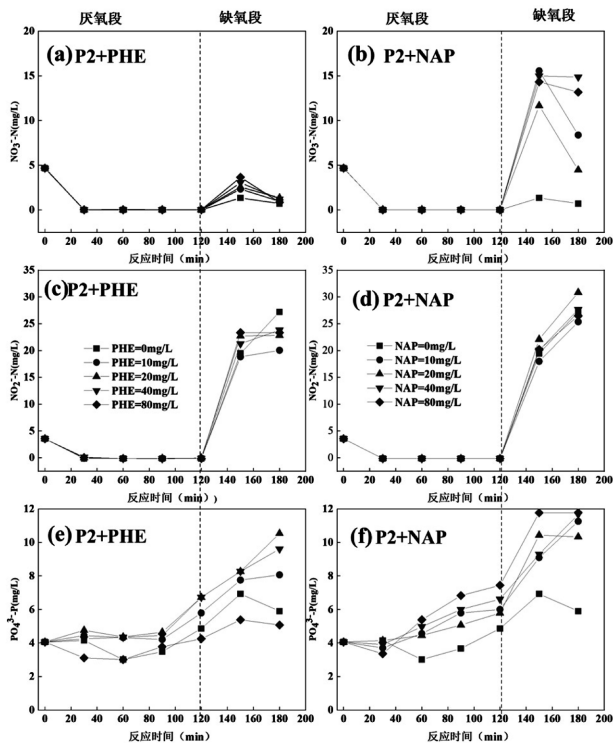


图 6 P2 系统对其他种类 PAHs 的耐受性

Fig.6 Tolerance of system P2 to other types of polycyclic aromatic hydrocarbons

然而,PHE 对 P2 系统 PO₄³⁻-P 去除有较大影响,当加入 20mg/L 的 PHE 时,出水 PO₄³⁻-P 浓度为 10.53mg/L,完全破坏了除磷过程.由图 6(b,d,f)可知,P2 系统中加入 NAP 后,NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 出水浓度分别为(9.67±5.19)mg/L 和(28.1±2.74)mg/L,这表明被消耗的 NO₃⁻-N 几乎全用于转化为 NO₂⁻-N,但 PO₄³⁻-P 去除过程遭到严重的破坏,出水浓度为 (11.04±0.72)mg/L,这可能是由于 DGAOs 和 DPAOs 之间存在电子竞争,使 DPAOs 处于劣势,导致 PO₄³⁻-P 去除效果较差.

2.4.3 反硝化菌活性 为了探究经过 PHE 和 ANT 驯化后的 EPD 活性污泥是否对其他种类的 PAHs 同样具有耐受性,通过 NO₂⁻-N 积累速率(rNO₂⁻-N)表示 DNB 的活性^[21].由图 7 可以看出向经过 PHE 和 ANT 驯化后的活性污泥加入其他种类的 PAHs 后,其 DNB 的活性具有显著差别.

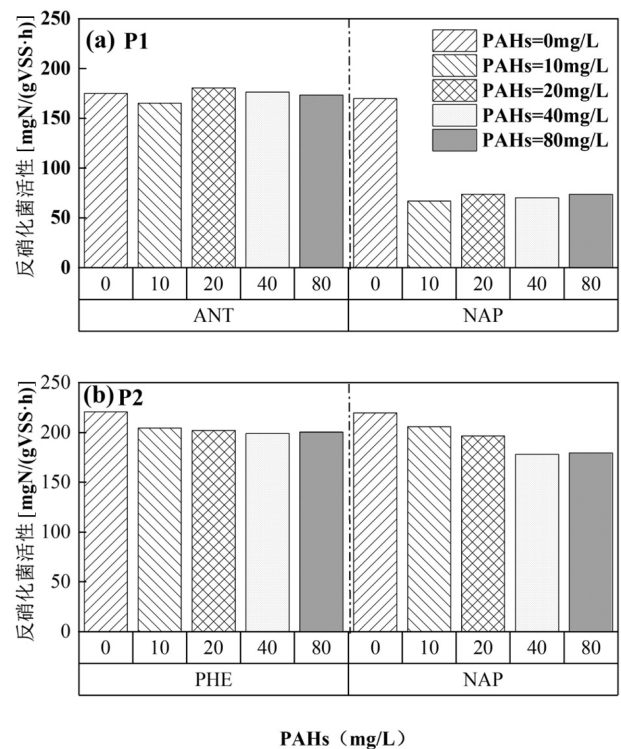


图 7 反硝化菌活性

Fig.7 Denitrifying bacteria activity

从图 7(a)可知,经过 PHE 驯化的 EPD 活性污泥可以较好的抵抗投加 ANT 带来的有毒环境,其 DNB 的活性未受到抑制,仍保持在 165.108~180.458mgN/(gVSS·h).然而,向 P1 系统投加 NAP 后,其 DNB 活性明显受到抑制,其活性从 169.75mgN/(gVSS·h)

(0mg/LPAHs)降低至 $(70.236 \pm 3.483)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$ 。可见,PHE 的驯化使 DNB 不仅对 ANT 产生了耐受性,同时增加了对 ANT 毒性的抵抗能力,而 PHE 驯化的 DNB 对于 NAP 耐受性较差。由图 7(b)可知,ANT 驯化后污泥中的 DNB 活性最高,为 $(196.89 \pm 23.82)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})(0\text{mg/LPAHs})$,说明 DNB 可以较好地适应被 ANT 胁迫的环境。向 P2 系统中加入 PHE 后,DNB 活性略有下降,从 $220.711\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})(0\text{mg/LPAHs})$ 下降至 $(201.716 \pm 2.737)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$,说明经过 ANT 驯化的 DNB 在面对 PHE 胁迫的环境下依然有较高的活性,向 P2 系统中加入 NAP 后 DNB 的活性出现降低,从 $219.562\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})(0\text{mg/LPAHs})$ 下降至 $(191.87 \pm 13.826)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$,说明经 ANT 驯化后的 DNB 对 PHE 的耐受性强于 NAP。

3 结论

3.1 EPD 系统对 PHE 有着较好的耐受性,在 PHE 胁迫的环境中依然可以保持 86.49%的 NTR 和 56.14%的 PRE.PAHs 的存在促进了 PAHs 抗性基因的富集,ANT 刺激微生物分泌更多的 EPS 来保护自身,这种现象增强了 EPD 系统对 PAHs 的耐受能力。

3.2 PHE 和 ANT 的引入还显著富集了 DGAOs 和 DPAOs。这些菌群的富集有利于 NO_2^- -N 的积累和 PO_4^{3-} -P 的去除,进一步提升了 EPD 系统的处理性能。

3.3 经 PHE 驯化的 EPD 系统,DNB 活性为 $(167.429 \pm 2.321)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$,且在萘和葱的胁迫下仍保持良好的 PO_4^{3-} -P 去除能力,在葱胁迫的环境下可以保持良好的 NO_2^- -N 积累能力,但是在萘胁迫的环境下 NO_2^- -N 积累能力下降。

3.4 经 ANT 驯化的 EPD 系统, DNB 活性为 $(220.137 \pm 0.575)\text{mgN}/(\text{gVSS}\cdot\text{h})$,在萘和菲的胁迫下均保持高 NO_2^- -N 积累能力,但 PO_4^{3-} -P 去除能力恶化。

参考文献:

- [1] 刘文龙,王佳铭,李 军.耦合内源反硝化实现厌氧氨氧化工艺深度脱氮 [J]. 中国环境科学, 2023,43(4):1735-1743.
Liu W L, Wang J M, Li J. Achieving advanced nitrogen removal via anammox coupled with endogenous denitrification [J]. China Environmental Science, 2023,43(4):1735-1743.
- [2] 张小玲,张 萌,陈紫薇,等.内碳源短程反硝化启动及 EPD-ANAMMOX 耦合工艺性能 [J]. 中国环境科学, 2022,42(2):601-611.
Zhang X L, Zhang M, Chen Z W, et al. Start-up of endogenous partial denitrification and performance of EPD-ANAMMOX coupling process [J]. China Environmental Science, 2022,42(2):601-611.
- [3] Ji J, Peng Y, Mai W, et al. Achieving advanced nitrogen removal from low C/N wastewater by combining endogenous partial denitrification with anammox in mainstream treatment [J]. Bioresource Technology, 2018,270:570-579.
- [4] Ji J, Peng Y, Wang B, et al. Achievement of high nitrite accumulation via endogenous partial denitrification (EPD) [J]. Bioresource Technology, 2017,224:140-146.
- [5] Peng Z, Zhang Q, Li X, et al. Achieving rapid endogenous partial denitrification by regulating competition and cooperation between glycogen accumulating organisms and phosphorus accumulating organisms from conventional activated sludge [J]. Bioresource Technology, 2024,393:130031.
- [6] Ji J, Peng Y, Wang B, et al. A novel SNPR process for advanced nitrogen and phosphorus removal from mainstream wastewater based on anammox, endogenous partial-denitrification and denitrifying dephosphatation [J]. Water Research, 2020,170:115363.
- [7] Gao P. Chasing “Emerging” Contaminants: An Endless Journey toward Environmental Health [J]. Environmental Science & Technology, 2024,58(4):1790-1792.
- [8] Goswami P, Ohura T, Subasinghe S, et al. Voyaging of halogenated polycyclic aromatic hydrocarbons, an emerging group of pollutants, on micro-mesoplastics in the marine environment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,460:132502.
- [9] Vasilachi I C, Asimicicsei D M, Fertu D I, et al. Occurrence and Fate of Emerging Pollutants in Water Environment and Options for Their Removal [J]. Water, 2021,13(2):181-214.
- [10] Salamanca M, Lopez-Serna R, Palacio L, et al. Study of the rejection of contaminants of emerging concern by a biomimetic aquaporin hollow fiber forward osmosis membrane [J]. Journal of Water Process Engineering, 2021,40:101914.
- [11] Lu J, Zhang J, Xie H, et al. Transformation and toxicity dynamics of polycyclic aromatic hydrocarbons in a novel biological-constructed wetland-microbial wastewater treatment process [J]. Water Research, 2022,223:119023.
- [12] Bansal V, Kim K-H. Review of PAH contamination in food products and their health hazards [J]. Environment International, 2015,84: 26-38.
- [13] Kumar M, Bolan N S, Hoang S A, et al. Remediation of soils and sediments polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons: To immobilize, mobilize, or degrade? [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,420:126534.
- [14] Grandclement C, Seyssiecq I, Piram A, et al. From the conventional biological wastewater treatment to hybrid processes, the evaluation of organic micropollutant removal: A review [J]. Water Research, 2017, 111:297-317.
- [15] Jin B, Niu J, Liu Y, et al. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on sludge performance for denitrification and phosphorus removal [J]. Chemical Engineering Journal, 2020,397:125552.

- [16] Jin B D, Liu Y, Li X, et al. New insights into denitrification and phosphorus removal with degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in two-sludge system [J]. *Bioresource Technology*, 2022,346:126610.
- [17] Gilcreas F W. Standard methods for the examination of water and waste water [J]. *American journal of public health and the nation's health*, 1966,56(3):387-388.
- [18] 顿咪娜,胡文容,裴海燕,等.脱氢酶活性检测方法及应用 [J]. *工业水处理*, 2008,(10):1-4.
Dun M N, Hu W R, Pei H Y, et al. Determination of dehydrogenase activity and its application [J]. *Industrial Water Treatment*, 2008, (10):1-4.
- [19] Ofman P, Struk-Sokolowska J, Skoczko I, et al. Alternated biodegradation of naphthalene (NAP), acenaphthylene (ACY) and acenaphthene (ACE) in an aerobic granular sludge reactor (GSBR) [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020,383:121184.
- [20] Jin B, Liu Y, Liu G, et al. Toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on the two-sludge system: Combined functional gene, resistance gene and microbial community assessment [J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2024,185:53-63.
- [21] Xu D, Du R, Gao S, et al. Selective genes expression and metabolites transformation drive a robust nitrite accumulation during nitrate reduction under alternating feast-famine condition [J]. *Water Research*, 2024,255:121520.
- [22] Yang X, Li E, Liu F, et al. Interactions of PAH-degradation and nitrate-/sulfate-reducing assemblages in anaerobic sediment microbial community [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020,388:122068.
- [23] Jabari P, Munz G, Oleszkiewicz J A. Selection of denitrifying phosphorous accumulating organisms in IFAS systems: Comparison of nitrite with nitrate as an electron acceptor [J]. *Chemosphere*, 2014, 109:20-27.
- [24] Li S, Duan G, Xi Y, et al. Insights into the role of extracellular polymeric substances (EPS) in the spread of antibiotic resistance genes [J]. *Environmental Pollution*, 2024,343:123285.
- [25] Shi Y, Xue H, Li J, et al. Response of methanogenic system to long-term polycyclic aromatic hydrocarbon exposure: Adsorption and biodegradation, performance variation, and microbial function assessment [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023,329: 117010.
- [26] Zhang M, Liu J, Liang J, et al. Response of nitrite accumulation, sludge characteristic and microbial transition to carbon source during the partial denitrification (PD) process [J]. *Science of The Total Environment*, 2023,894:165043.
- [27] Liu Y, Liu J, Zhang A, et al. Treatment effects and genotoxicity relevance of the toxic organic pollutants in semi-coking wastewater by combined treatment process [J]. *Environmental Pollution*, 2017, 220:13-19.
- [28] Svetozarević M, Šekuljica N, Knežević-Jugović Z, et al. Agricultural waste as a source of peroxidase for wastewater treatment: Insight in kinetics and process parameters optimization for anthraquinone dye removal [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021,21: 101289.
- [29] 曹宇佳,林海龙,王锐.活性污泥主要微生物酶在废水处理中的研究概况 [J]. *哈尔滨师范大学自然科学学报*, 2012,28(5):79-81.
Cao Y J, Lin H L, Wang R. An overview of the role of key microbial enzymes in activated sludge for wastewater treatment [J]. *Natural Science Journal of Harbin Normal University*, 2012,28(5):79-81.
- [30] Sakshi, Haritash A K. A comprehensive review of metabolic and genomic aspects of PAH-degradation [J]. *Archives of Microbiology*, 2020,202(8):2033-2058.
- [31] Xu Z, Dai X, Chai X. Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes [J]. *Science of The Total Environment*, 2018,634: 195-204.
- [32] Yang Z, Zhou Q, Sun H, et al. Metagenomic analyses of microbial structure and metabolic pathway in solid-phase denitrification systems for advanced nitrogen removal of wastewater treatment plant effluent: A pilot-scale study [J]. *Water Research*, 2021,196:117067.
- [33] Xie X, Yuan K, Yao Y, et al. Identification of suspended particulate matters as the hotspot of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation-related bacteria and genes in the Pearl River Estuary using metagenomic approaches [J]. *Chemosphere*, 2022,286:131668.
- [34] Ma S J, Ding L L, Huang H, et al. Effects of DO levels on surface force, cell membrane properties and microbial community dynamics of activated sludge [J]. *Bioresource Technology*, 2016,214:645-652.
- [35] Song X, Yu D, Qiu Y, et al. Unexpected phosphorous removal in a Candidatus_Cometibacter and Deffluvicoccus dominated reactor [J]. *Bioresource Technology*, 2022,345:126540.
- [36] Fan Z, Zeng W, Meng Q, et al. Achieving partial nitrification, enhanced biological phosphorus removal and in-situ fermentation (PNPRF) in continuous-flow system and mechanism analysis at transcriptional level [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022,428: 131098.
- [37] Hou R, Yuan R, Chen R, et al. Metagenomic analysis of denitrifying phosphorus removal in SBR system: Comparison of nitrate and nitrite as electron acceptors [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022,446: 137225.
- [38] Ni M, Chen Y, Pan Y, et al. Study on community structure and metabolic mechanism of dominant polyphosphate-accumulating organisms (PAOs) and glycogen-accumulating organisms (GAOs) in suspended biofilm based on phosphate recovery [J]. *Science of The Total Environment*, 2022,815:152678.
- [39] Zhu Z, Zhang Y, Hu L, et al. Phosphorus recovery from municipal wastewater with improvement of denitrifying phosphorus uptake based on a novel AAO-SBSPR process [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021,417:127907.
- [40] Lu J, Zhang J, Xie H, et al. Transformation and toxicity dynamics of polycyclic aromatic hydrocarbons in a novel biological-constructed wetland-microbial wastewater treatment process [J]. *Water Research*, 2022,223:119023.

作者简介: 白芷瑄(2000-),女,河南郑州人,郑州大学硕士研究生,研究方向为污水生物处理技术.baizhixuan0221@gs.zzu.edu.cn.