李 冬,吕恒康,蔡奕锋,等.短时曝气对反硝化除磷中亚硝酸盐积累的影响 [J]. 中国环境科学, 2025,45(7):3704-3713.
Li D, Lv H K, Cai Y F, et al. The influence of short-term aeration on the accumulation of nitrite in denitrification phosphorus removal [J]. China Environmental Science, 2025,45(7):3704-3713.

短时曝气对反硝化除磷中亚硝酸盐积累的影响

李 冬[1*],吕恒康[1],蔡奕锋[1],郭可欢[1]张 杰[1,2] (1.北京工业大学,水质科学与水环境恢复工程北京市重点实验室,北京 100124；2.哈尔滨工业大学,城市水资源与水环境国家重点实验室,黑龙江 哈尔滨 150090)

摘要：为精确控制反硝化过程中 NO_3^--N 只被还原为 NO_2^--N,而不进一步还原为 N_2,通过短时曝气来提高反硝化聚磷菌(DPAOs)的亚硝酸盐积累率(NTR).结果表明,增加曝气后,反应器的除磷效果有所提升(从 84.62%上升至 88.34%).当曝气时间分别为 5,10 和 15min 时,NTR 分别为 36.09%,89.14%和 91.86%,但当曝气时间延长至 20min,出水硝酸盐浓度升高(10.11mg/L).随着曝气时间的增加,缺氧前电子供体(PHBs)含量逐渐减少,这是亚硝酸盐积累的主要原因.此外,曝气还导致 DPAOs 菌属的丰度上升,而内源反硝化菌(DGAOs)菌属的丰度则有所下降.基于 PDPR 的成果,讨论了 N-PDPR-Anammox 工艺在实际工程中应用的可行性.

关键词：部分反硝化聚磷；曝气；电子供体；内碳源
中图分类号：X703 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)07-3704-10

The influence of short-term aeration on the accumulation of nitrite in denitrification phosphorus removal. LI Dong[1*], LYU Heng-kang[1], CAI Yi-feng[1], GUO Ke-huan[1], ZHANG Jie[1,2] (1.Beijing Key Laboratory of Water Quality Science and Water Environment Restoration Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China；2.State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin University of Technology, Harbin 150090, China). *China Environmental Science*, 2025,45(7)：3704~3713

Abstract：To precisely control the denitrification process such that NO_3^--N is reduced solely to NO_2^--N without further reduction to N_2, short-term aeration was implemented to enhance the nitrate-to-nitrite transformation ratio (NTR) of denitrifying phosphorus-accumulating organisms (DPAOs). The results demonstrated that after aeration intensification, phosphorus removal efficiency in the reactor improved (from 84.62% to 88.34%). When aeration durations were set at 5, 10, and 15minutes, the NTR values reached 36.09%, 89.14%, and 91.86%, respectively. However, extending aeration to 20minutes resulted in elevated effluent nitrate concentrations (10.11mg/L). As aeration duration increased, the content of pre-anoxic electron donors (PHBs) gradually diminished, which was identified as the primary reason for nitrite accumulation. Furthermore, aeration induced an increase in the relative abundance of DPAOs while decreasing that of endogenous denitrifying glycogen-accumulating organisms (DGAOs). Based on the outcomes of the partial denitrification coupled with phosphorus removal (PDPR) process, the feasibility of implementing the N-PDPR-Anammox process in practical engineering applications was discussed.

Key words：partial denitrification-phosphorus removal；short-term aeration；electron donor；internal carbon source

厌氧氨氧化(Anammox)是一种高效的生物脱氮工艺,以亚硝酸盐(NO_2^--N)为电子受体,将氨氮(NH_4^+-N)转为氮气(N_2)[1],有运行成本低,占地面积小,不需要碳源等优点[2],可以解决低 C/N 下污水深度脱氮问题.但是 Anammox 运行需要有稳定的 NO_2^--N 供应,这使得 Anammox 工艺很难直接应用于主流污水处理.部分硝化(PN)工艺与 Anammox 耦合工艺(PN/A)是一个完全自养的脱氮过程[3],通过降低溶解氧(DO)浓度,保持在氨氧化细菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NOB)之间的竞争条件,使得 AOB 占据主导地位,从而抑制 NOB 的生长,实现 NO_2^--N 的积累[4].然而 NOB 会在长期运行中适应低 DO 条件,而导致 PN 性能变差[5].为了解决 PN/A 不稳定这一问题,有学者[6]提出了部分反硝化(PD)与 Anammox 组合工艺(PD/A),与传统反硝化工艺不同,PD 过程以 NO_2^--N 作为最终产物[7],从而为 Anammox 过程提供必要的 NO_2^--N.相比于 PN 工艺中因操作条件波动导致亚硝酸盐积累不稳定[8],PD 为亚硝酸盐的稳定积累提供了一条新途径[9].在城市污水处理中,磷(P)的去除是另一项重要任务,然而

收稿日期：2024-12-13
基金项目：北京高校卓越青年科学家计划项目(BJJWZYJH012019100005019)
* 责任作者, 教授, lidong2006@bjut.edu.cn

P 的生物去除与 Anammox 结合一直是一个难点,大多数 Anammox 工艺中需要额外加入化学试剂来去除 P[10],这增加了污水处理的能耗[11].

反硝化聚磷(DPR)工艺是以反硝化聚磷菌(DPAOs)为基础的同步去除碳、氮、磷的新型工艺[12].在厌氧阶段,DPAOs 吸收胞外有机物,同时降解糖原(Gly),通过一系列酶促反应将胞外有机物转化为聚-β-羟基脂肪酸酯(PHA),在缺氧阶段,DPAOs 以 PHA 为电子供体,以 NO_2^--N 和 NO_3^--N 为电子受体发生反应,同时伴随大量磷被吸收[13].在实验室规模下,Zhang 等[14]和 Wu 等[15]分别将 DPR 工艺与 PNA 和 PDA 工艺结合,均获得了较为理想的处理效果.扩大为中试规模后,Zhao 等[16]也发现 DPAOs 可以为 Anammox 提供稳定的 NO_2^--N.尽管这些研究证实了 DPAOs 在为 Anammox 供应 NO_2^--N 方面起到了不可忽视的作用,但是很少有研究指出,怎样的操作条件可以使 DPAOs 从全程反硝化聚磷转变为部分反硝化聚磷.

在传统反硝化过程中,电子供体(有机物)的不足通常会导致 NO_2^--N 的积累[17].当 C/N≥2 时反硝化过程趋于完全,无 NO_2^--N 残留;但 C/N 降至 1 时则会引发 50%以上 NO_3^--N 转化为 NO_2^--N 的中间积累现象[18].分子机制研究表明,较高 C/N 条件(如 COD/NO_3^--N≥3.5)能激活反硝化基因簇表达[19],促进反硝化反应的完成.而在 DPR 污泥体系中,COD/NO_3^--N 降低至 2.5 时,亚硝酸盐积累率达到峰值 82.18%[20].综上可以看出降低缺氧期电子供体(有机物)与电子受体(NO_3^--N)的比值可以使 DPR 反应实现亚硝酸盐积累.然而,实际在应用中存在两大难点:其一,市政污水水质相对稳定,难以简单调整电子供体(有机物)的含量;其二,DPR 出水需作为 Anammox 的进水,NO_2^--N 与 NH_4^+-N 的比值为固定值(1:1.32),因此不能直接调节 NO_3^--N 浓度来控制比值.

DPAOs 在缺氧时会利用 NO_3^--N 为电子受体消耗电子供体,在好氧时会利用 O_2 为电子受体消耗电子供体[21],基于此,本研究提出在缺氧前增加短时曝气,以消耗部分电子供体,从而在不改变进水水质的条件下调节缺氧段电子供体与电子受体的比值,实现 NO_2^--N 的可控积累.通过 SBR 反应器在不改变进水水质的前提下富集 DPAOs,探究不同曝气时长对 NTR 和内碳源(PHBs)的影响,并对微生物群落进行分析,以期为主流 DPR-Anammox 工艺提供参考.

1　材料与方法

1.1　接种污泥和合成废水

实验用水为人工合成废水,由自来水,乙酸钠,氯化铵,磷酸二氢钾,碳酸氢钠,无水氯化钙,七水合硫酸镁以及 1ml/L 的微量元素[22]混合配置而成,以碳酸氢钠调节 pH 值稳定并模拟生活污水碱度,具体进水水质见表 1.接种污泥为实验室 A/O 反应器二次沉淀池污泥,接种后 MLSS 约为 3000mg/L.

表 1　人工合成废水水质

Table 1　Synthetic wastewater quality

COD (mg/L)	NH_4^+-N (mg/L)	NO_2^--N (mg/L)	NO_3^--N (mg/L)	PO_4^{3-}-P (mg/L)	pH 值
240~260	51~56	0~1	0~1	8~10	7.5~8.0

1.2　实验装置与反应器运行方式

本实验反应装置与运行周期如图 1 所示.主要有两个反应器,有效容积为 6L,分别为硝化反应器与 DPR 反应器.硝化反应器为 A/O 运行,为 DPR 反应器提供 NO_3^--N,同时去除自身进水中的 P 与 COD,进水在合成废水的基础上增加 NH_4^+-N 浓度,使得出水 NO_3^--N 可稳定达到 95~105mgN/L,在本实验中反应器运行较为稳定,出水水质波动较小,故在本研究中不做讨论.DPR 反应器为本研究的主要研究对象,模拟生活污水先进入进行厌氧反应,随后通入硝化反应器出水,进行缺氧反应.

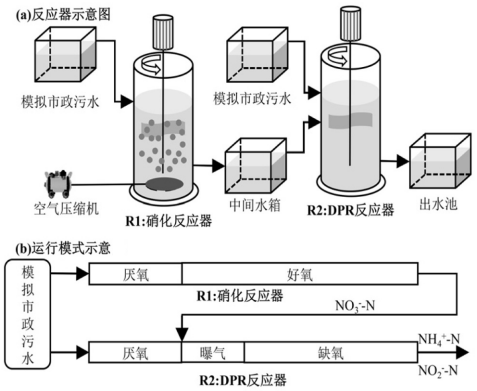


图 1　反应器运行模式示意

Fig.1　Schematic diagram of the reactor operation mode

本实验主要 4 个阶段:第 1 阶段,通过厌氧/好氧

运行方式富集聚磷菌(PAO).第 2 阶段,厌氧阶段通入 4L 合成废水,然后接入 2L 硝化反应器出水进行缺氧反应,实现厌氧/缺氧运行方式富集 DPAOs.第 3 阶段,通过厌氧/缺氧运行方式实现 DPR 反应器的稳定运行.第 4 阶段,在厌氧结束之后加一小段曝气,DO 通过气体流量计控制在 2mg/L 左右,之前研究中发现 DPAOs 可以在 DO 为 2mg/L 时利用 O_2 为电子受体消耗内碳源[23],曝气时间在后续实验中依次设置为 5,10,15 和 20min,来探究不同曝气时长对部分 DPR 的 NO_2^--N 积累率的影响,各阶段具体运行参数详见表 2.

表 2 各阶段 DPR 反应器运行参数

Table 2 The operating parameters of DPR reactor in each stage

阶段		时长(d)	运行模式	时间(min)
阶段 I		1~20	A/O	120/240
阶段 II		21~30	A/A	120/240
阶段 III		31~40	A/A	120/240
阶段 IV	IV(5min)	41~55	A/(O)/A	120/5/235
	IV(10min)	56~70	A/(O)/A	120/10/230
	IV(15min)	70~85	A/(O)/A	120/15/225
	IV(20min)	86~100	A/(O)/A	120/20/220

1.3 分析项目与检测方法

NH_4^+-N,NO_2^--N,NO_3^--N,COD,MLSS,MLVSS 和 SVI 等均采用标准方法进行测定[24],使用 WTW-Multi3430 型便携式多参数测定仪对溶解氧(DO)和 pH 值进行测定.胞外聚合物(EPS)采用改良的热提取方法提取,多糖(PS)采用 Lowry 法测定,蛋白质(PN)采用蒽酮硫酸法测定[25].糖原(Gly)的测定采用紫外分光光度计法[26],污泥中内碳源(PHBs)含量的测定采用气相色谱法(GC 法)[16].

1.4 微生物高通量测序

为了检测 DPR 反应器中微生物群落随时间变化情况,收集 DPR 反应器中 0,20,40 和 80d 污泥样品进行 16s-rRNA 分析.使用土壤 DNA 抽提试剂盒从污泥中提取 DNA,使用正向引物(CCTAC-GGGNGGCWGCAG)和反向引物(GACTACHVG-GGTATCT AATCC)对可变区 V3~V4 区域进行扩增,通过 Sangon Biotech(中国上海)的 Illumina MiSeq 系统(Illumina Miseq2x300bp,USA)进行测序分析.

1.5 计算方法

细胞内碳源储存量(Intra.COD),PAOs 和 GAOs 在厌氧段储存内碳源的贡献率(P_{PAOs} 和 P_{GAOs})和亚硝酸盐转化率(NTR)的计算公式如下所示:

$$\text{Intro.COD} = \Delta\text{COD}_{ana} - 2.86\Delta NO_3^-{}_{ana} - 1.71NO_2^-{}_{ana} \quad (1)$$

$$P_{PAOs} = \frac{2\times \text{PRA}}{\text{Intro.COD}} \times 100\% \quad (2)$$

$$P_{GAOs} = 1 - P_{PAOs} \quad (3)$$

$$\text{NTR} = \frac{\left(NO_2^-{}_{ano2} - NO_2^-{}_{ano1}\right)}{\left(NO_3^-{}_{ano1} - NO_3^-{}_{ano2}\right)} \quad (4)$$

式中:ΔCOD_{ana}, $\Delta NO_3^-{}_{ana}$ 和 $\Delta NO_2^-{}_{ana}$ 分别为 COD,NO_3^--N 和 NO_2^--N 在厌氧段的变化量,mgCOD/L,mgN/L;2.86 与 1.71 分别代表反硝化过程中每单位 NO_3^--N 和 NO_2^--N 所消耗的 COD 的量,mgCOD/mgN;PRA 为厌氧段释磷量,mgP/L;2 为理论计量系数;$NO_2^-{}_{ano1}$ 和 $NO_2^-{}_{ano2}$ 与 $NO_3^-{}_{ano1}$ 和 $NO_3^-{}_{ano2}$ 分别为 NO_2^--N 缺氧段初和末浓度与 NO_3^--N 缺氧段初和末浓度,mgN/L.

2 结果与讨论

2.1 长期运行中水体中营养物的去除与亚硝酸盐积累

如图 2 所示,第 I 阶段(1~20d),通过 A/O 模式运行以富集聚磷菌(PAOs).在 20d 的运行中,COD 去除率从最初的 78.76%提升至 91.61%.同时,PAOs 在厌氧阶段的内碳源合成活性显著增强,内碳源贡献率(P_{PAOs})从 1.12%上升至 20.65%.此外,在厌氧阶段,DPR 反应器中的厌氧释磷浓度从 11.85mg/L 增加至 34.21mg/L.这一增加反映了 PAOs 在厌氧条件下的磷释放活性.随后,在好氧阶段,PAOs 通过过量摄磷作用,有效地将 TP 从水中移除,导致反应器中 TP 的去除率从 24.53%提高至 87.49%.这表明在此阶段成功富集了 PAOs.

第 II 阶段(21~30d)DPR 反应器采用 A/A 模式运行,以进一步富集 DPAOs.在厌氧结束后,接入硝化反应器出水,使得反应器中 NO_3^--N 浓度约为 38mg/L.该阶段的 Intra.COD 平均为 222.10mg/L, 在该阶段初期,由于 DPAOs 的丰度较低,导致 NO_3^--N 的利用率不高,进而使得出水中 NO_2^--N 积累较高.随着实验的进行,DPAOs 的丰度逐渐增加,反硝化性能显著

提升,最终出水中的 NO_3^--N 和 NO_2^--N 浓度分别从 6.29,21.18mg/L 下降至 1.85,3.95mg/L.同时随着 DPAOs 逐渐富集,TP 去除率从 48.53%提升至 83.03%,表明微生物对磷的利用效率提高,DPAOs 得到了有效富集.

第III阶段(31~40d)通过继续A/A运行模式探讨无曝气条件下的反应器表现.在这 10d 的运行中,Intra.COD 平均为 220.04mg/L,TP 的平均去除率为 84.62%.缺氧阶段进出水的 NO_3^--N 平均浓度分别为 37.43 和 2.05mg/L,NTR 平均为 6.49%.这些数据表明 DPAOs 在该阶段表现良好,且进行全程 DPR 过程.

第 IV 阶段(41~100d)根据曝气时间的不同分为 4 个小阶段,分别为 5,10,15 和 20min,每个小阶段持续 15d.在第Ⅳ阶段,COD 去除率由前三阶段的平均 91%提升至 95%,TP 去除率从第 III 阶段的 84.62%增加至 88.34%,这是因为短时曝气提高了微生物对 COD 和 TP 的利用率.在曝气时间为 5,10,15 和 20min 时,缺氧阶段的平均 NTR 分别为 36.09%,89.14%, 91.86%和 74.88%.出水中 NO_3^--N 浓度分别为 1.72,1.45,4.02 和 10.11mg/L.这表明,在缺氧前短时曝气(5~15min)有助于通过消耗部分电子供体(内碳源)来控制 DPAOs 的部分反硝化.然而,曝气时间过长(20min)会导致电子供体不足,从而使部分 NO_3^--N 无法完成反硝化,导致硝酸盐残留.

综上所述,成功富集 DPAOs 后,反应器在长期运行中表现出良好的反硝化除磷能力,TP 去除率可达到 84.62%.随着曝气时间的增加,NTR 明显提升,最高可达 91.86%,但过长的曝气时间会导致出水中硝酸盐浓度升高,这是由于缺氧段电子供体不足所致.因此,适度的曝气是调控反应器进行部分 DPR 的关键因素.

2.2　不同短时曝气时间控制下周期内营养物的变化

为了进一步研究不同曝气时间对 DPAOs 亚硝酸盐积累率的影响,绘制了第 40,55,70,85 和 100d(分别对应曝气时间为 0,5,10,15 和 20min)反应器典型周期内营养物的变化情况,并记录了内碳源(PHBs)和糖原(Gly)在关键节点的变化,如图 3 和表 3 所示.

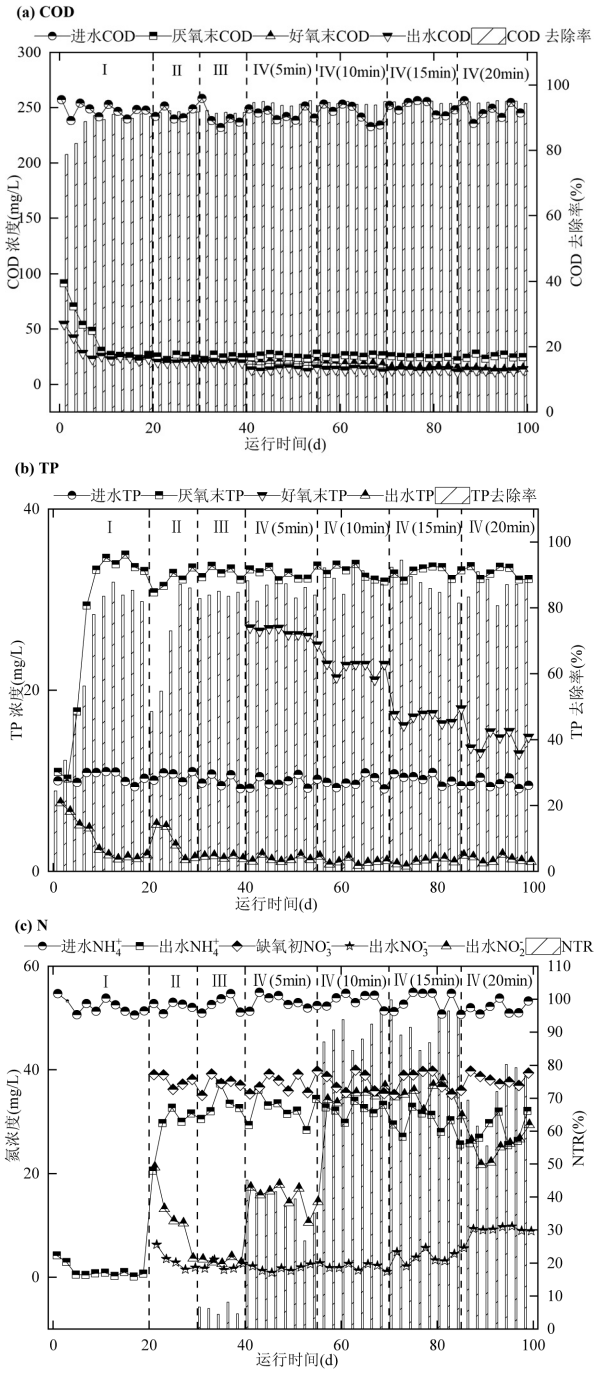


图 2　DPR 反应器长期运行以及营养物去除性能

Fig.2　The long-term operation and nutrient removal performance of the DPR reactor

在曝气时间为 0min 时(图 3(a)), NO_3^--N 和 TP 在缺氧阶段同步被去除, NO_2^--N 积累较少.随着曝气时间延长至 5min 后,PHBs 和 Gly 的含量分别从厌氧末期的 56.80mg/gSS 和 97.73mg/g 变为 45.30mg/gSS 和 106.93mg/g(表 3).这种变化主要是由于在好氧阶段,DPAOs 利用 O_2 作为电子受体进行三羧酸循环(TCA),部分 PHBs 转化为乙酰辅酶 A 参

与 TCA 循环,另一部分则通过糖异生途径转化为糖原.此外,好氧阶段的 TP 和 NH_4^+-N 浓度分别从 32.05 和 39.93mg/L 下降至 25.68 和 35.78mg/L(图 3(b)),这主要是 DPAOs 在好氧段聚磷反应和硝化菌的硝化反应导致.由于好氧阶段消耗了部分电子供体,缺氧段对电子受体(NO_3^--N)的需求减少,导致部分 NO_3^--N 未能完全还原为 N_2,而是还原为 NO_2^--N.因此,缺氧末期 NO_2^--N 积累达 17.16mg/L.

随着曝气时间延长至 10 和 15min(图 3(c)和图 3(d)),PHBs 的消耗量分别为 16.00 和 24.90mg/gSS.由于好氧阶段消耗了更多电子供体,缺氧段对 NO_3^--N 的需求进一步减少,导致 NO_3^--N 在缺氧段未能完全还原.在曝气时间为 10 和 15min 时,出水中的 NO_2^--N 浓度分别达到 34.94 和 38.04mg/L, NTR 分别为 84.12%和 93.46%.这些数据表明,通过曝气控制缺氧区的电子供体量,能够有效实现部分 DPR.此外,出水中 NO_2^--N 与 NH_4^+-N 的比值分别为 1.13 和 1.48,与 Anammox 理论值(1.32)相接近,表明此时反应器适合作为 Anammox 的前置处理单元,为其提供营养物.

当曝气时间延长至 20min(图 3(e)),PHBs 在好氧阶段的消耗量进一步增加至 32.00mg/gSS,最终出水中 NO_3^--N 浓度升高至 10.18mg/L.这表明,曝气时间过长导致电子供体(PHBs)过度消耗,缺氧阶段电子供体不足,无法完全还原 NO_3^--N,影响了反硝化效果.然而,出水 TP 浓度始终维持在 1.00mg/L 左右,表明曝气时间的增加并未显著影响反应器的除磷性能.

表 3 不同曝气时长典型周期内 PHBs 与 Gly 的变化情况

Table 3 The changes of PHBs and Gly in typical cycles with different aeration durations

参数	取样点	不同曝气时间(Xmin)PHBs 与 Gly 的变化情况				
		0min	5min	10min	15min	20min
PHBs	0min	27.50	26.60	26.50	24.90	27.60
	120min	53.00	56.80	54.60	55.10	53.90
	(120+*X*)min	53.00	45.30	38.60	30.20	21.90
	360min	14.00	14.00	14.00	14.00	14.00
Gly	0min	112.20	118.60	117.50	114.70	116.80
	120min	91.44	97.73	96.32	94.19	92.30
	(120+*X*)min	91.44	106.93	112.08	119.68	125.30
	360min	135.55	134.35	136.70	130.10	133.20

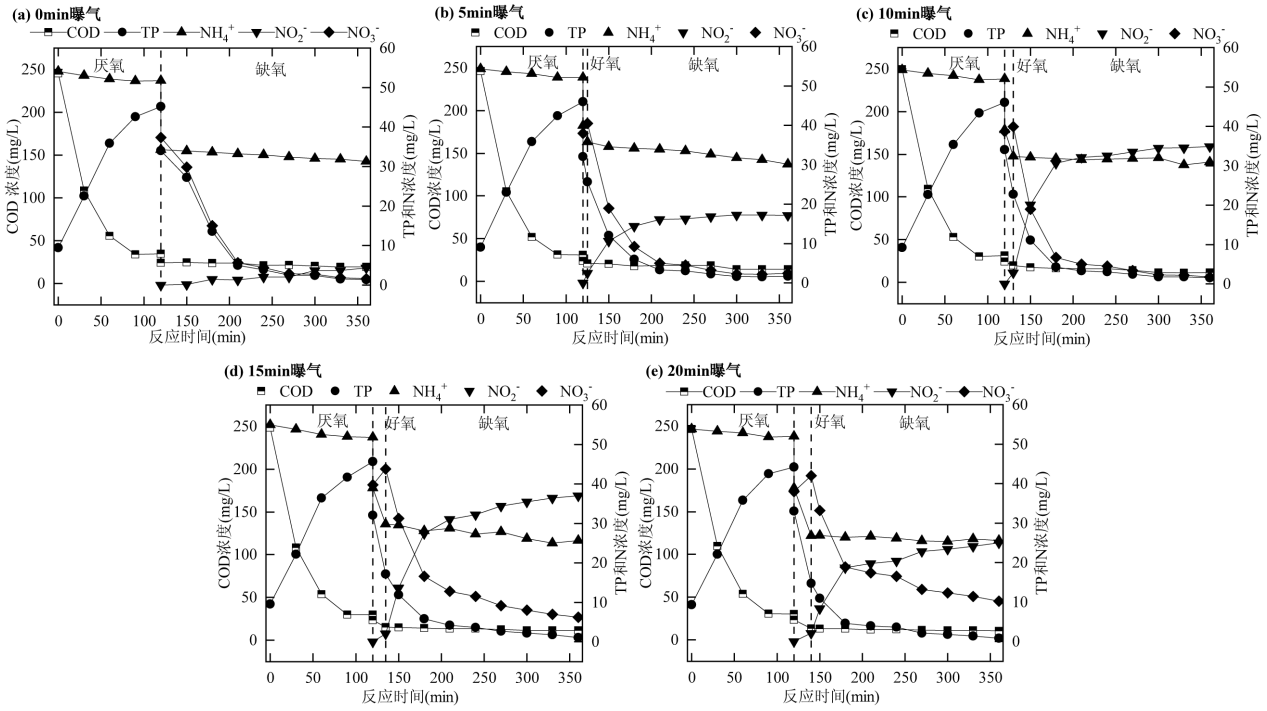


图 3 不同曝气时长周期内营养物变化情况

Fig.3 The changes of nutrients in the typical period of different aeration time

综上所述,随着曝气时间的延长,缺氧前电子供体与电子受体的比值(PHBs/NO_3^--N)分别为 1.42, 1.19, 1.00, 0.76 和 0.58.这一比值逐渐下降,表明随着曝气时间的延长,电子供体逐渐减少.在 Zhang 等[20]

的研究中,降低进水电子供体与电子受体的比值(COD/NO_3^--N)可以有效控制亚硝酸盐积累.本研究通过调控缺氧前的曝气时间,实现了对内碳源和NO_3^--N 比值的调控,尤其是在曝气时间为 10 和 15min 时,亚硝酸盐积累率较高.然而,当曝气时间延长至 20min 时,电子供体不足,导致出水中硝酸盐残留较高.

2.3　短时曝气过程中污泥 EPS 分析

EPS 主要是由细菌分泌包裹在胞外的高分子聚合物,是活性污泥的重要组成部分,主要包含了蛋白质(PN)和多糖(PS)两种成分[27].EPS 在微生物代谢,污染物去除和内碳源储存等方面发挥重要作用[28],图 4 展示了不同曝气时间下,EPS 的疏松结合态(LB-EPS)和紧密结合态(TB-EPS)以及 PN/PS 比值的变化情况.

如图 4(a)所示,在曝气时间为 0min 时,LB-EPS 和 TB-EPS 含量较高,其中 LB-EPS 的 PN 和 PS 浓度分别为 13.24 和 9.02mg/gVSS, TB-EPS 的 PN 和 PS 浓度分别为 28.67 和 23.08mg/gVSS.随着曝气时间的延长,EPS 浓度逐渐降低,但在曝气时间达到 20min 时,LB-EPS 和 TB-EPS 含量均有所上升.EPS 含量变化主要受两方面因素影响:一方面,EPS 作为微生物的备用碳源储存于细胞外,为其提供额外的碳源储备[29];另一方面,在较长曝气时间下,EPS 含量随曝气强度的增加而上升,这可能与微生物在高曝气强度下增强 EPS 合成以适环境变化有关[30-31].在本实验中,当曝气时间处于 0~15min 时,由于曝气时间较短,未能充分激发微生物分泌更多 EPS,此时 EPS 含量变化主要受微生物利用 EPS 作为碳源进行代谢的活性所主导,导致 EPS 含量随曝气时间延长而逐渐降低.然而,当曝气时间延长至 20min 时,较长的曝气时间显著刺激了微生物分泌 EPS,使得 EPS 合成速率超过其消耗速率,从而导致 EPS 含量在这一阶段出现上升.

随着曝气时间的延长,PN/PS 的比值略有上升,尤其是 TB-EPS 的变化较为明显.Zhang 等[32]的研究表明,PN/PS 比值的上升增强了细胞表面的疏水性,有利于微生物絮凝,进而提高反应器的稳定性.高浓度 EPS 可能增加微生物表面的传质阻力,影响细菌的活性[33],本研究显示,随着曝气时间的增加,EPS 含量逐渐降低,这减少了微生物表面的传质阻力,有助于提高 DPAOs 的活性.

综上所述,增加曝气时间会减少 EPS 的浓度,降低细胞外储备碳源的含量,同时也减少了微生物表面的传质阻力.但过长的曝气反而会刺激微生物分泌更多的 EPS,增加微生物表面的传质阻力.PN/PS 比值的增加则有利于微生物的絮凝和污泥颗粒的稳定形成,进一步提高了反应器的运行稳定性.

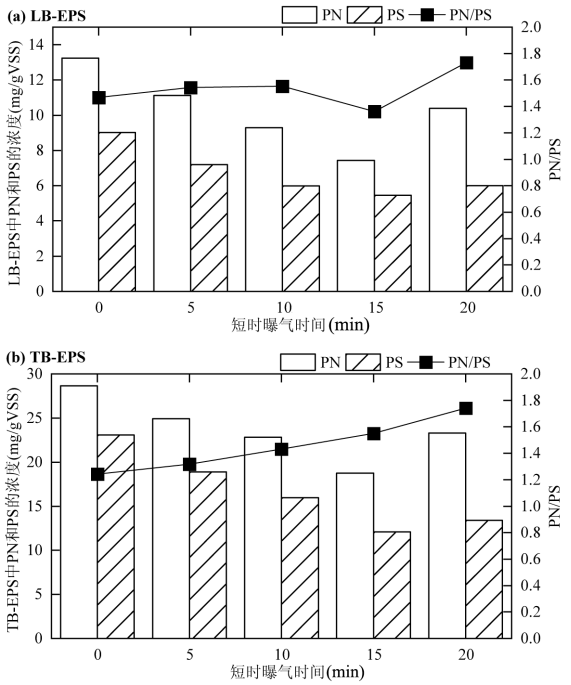


图 4　运行过程中 EPS 变化情况

Fig.4　EPS changes during operation

2.4　微生物群落演替

在门水平上(图 5(a)),4 个阶段的优势菌门差异较小,主要包括变形菌门(Proteobacteria),酸杆菌门(Acidobacteriota),拟杆菌门(Bacteroidota)和绿弯菌门(Chloroflexi),这些都是污水处理厂中常见的主要菌门[34].Proteobacteria 门中包含了多种有机物降解和氮去除的重要功能菌[35],其大量富集有助于反应器抵抗外界环境的变化,并在维持反硝化稳定性方面起到了关键作用[36].在 A/O 模式运行以富集 PAOs 时,Proteobacteria 的丰度在 day20 下降至 52%,随着反应器切换为 A/A 运行以富集 DPAOs, Proteobacteria 的丰度在 day40 回升至 66%左右. Acidobacteriota 门包含具有还原亚硝酸盐能力的功能菌[37],在全程反硝化聚磷阶段(day40), Acidobacteriota 的丰度为 7.5%,在变为部分反硝化

聚磷后(day80),其丰度下降至 6.0%. Bacteroidota 在污水脱氮除磷过程中发挥了重要作用[38],在整个运行过程中,其丰度变化不大. Chloroflexi 主要存在于厌氧消化池中[39],具有降解有机物的功能[36],种泥(day0)中该菌门的丰度较高(7.5%),但随着反应器的运行,丰度逐渐下降,可能是由于好氧阶段抑制了该菌门的活性.这些优势菌门在门水平上共同构成了反应器脱氮除磷的生物学基础.

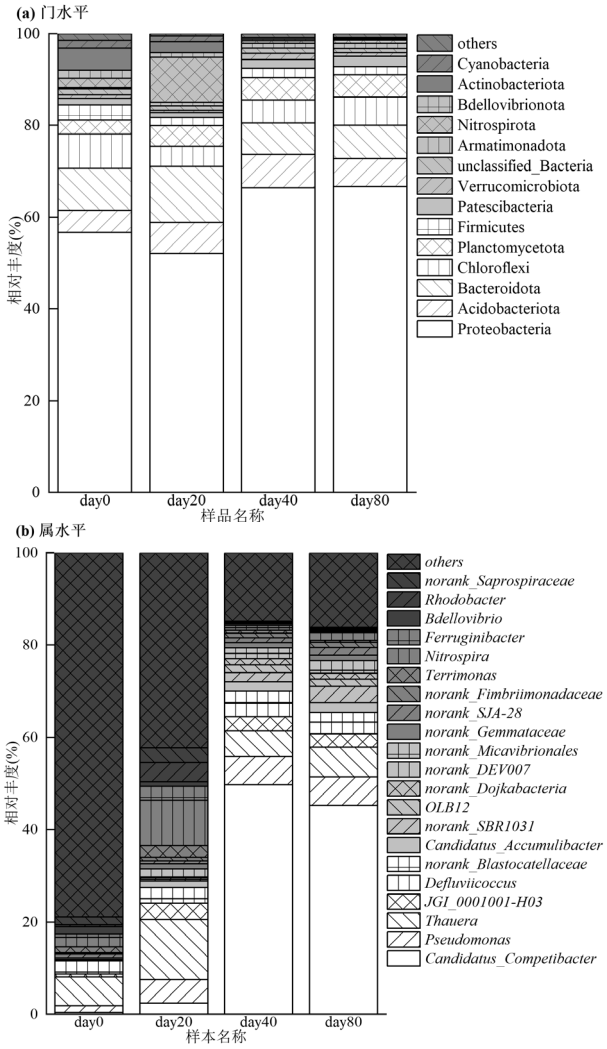


图 5 微生物菌群结构变化

Fig.5 Changes in microbial community structure

图 5(b)展示在 A/O 模式运行 20d 后(day20),具有除磷功能的*Pseudomonas*等菌属[40]丰度从种泥中的 1.53%上升至 5.14%,这解释了第Ⅰ阶段末反应器表现出良好的除磷性能.同时, 由于该阶段好氧时间为 4h,NOB 菌 *Nitrospira*[41]的丰度从种泥中的 2.04%增加至 9.80%,NOB 菌属丰度的增加使得此阶段出水中 NO_3^--N 浓度维持在 40.59mg/L 左右.此外,反硝化菌属 *Defluviimonas*, *Terrimonas* 和 *Rhodobacter*[42-44]的丰度在 0~20d 分别从 0.50%, 1.31%和 0.45%增加至 1.08%,2.54%和 4.18%.这主要是因为 SBR 反应器无法完全排出处理后的水,上一周期产生的 NO_3^--N 残留在反应器内,供反硝化细菌使用,从而促进了其生长.

在 A/A 模式下运行 20d 后(day40),*Candidatus Accumulibacter* 和 *Pseudomonas* 等 DPAOs 菌属[45]的丰度分别达到 2.07%和 5.12%, *Pseudomonas* 在之前的研究[46]中鉴定为 DPAOs 菌属, *Candidatus Accumulibacter* 是污水处理厂和实验室反应器中除磷的主要 DPAOs 菌属,在之前的研究中已被证实[47-48],它能够利用氧气或硝酸盐为电子受体实现除磷功能.此外,*Thauera*等其他DPAOs菌属[49] 的丰度也有所增加.同时观察到 *Candidatus Competibacter* 和 *Defluviicoccus* 等 DGAOs 菌属[50-51]在此阶段大量富集,丰度分别从 2.40%和 0.97%上升至 35.79%和 2.88%.先前的研究表明,在 DPR 系统中, *Candidatus Competibacter* 菌属常占据绝对优势[52], 而 DPAOs 与 DGAOs 的共存有助于同步去除氮磷[49].

增加短时曝气后(day80),NOB 菌 *Nitrospira* 的丰度从 3.58%上升至 5.68%,而 *Thauera*, *Pseudomonas* 和 *Candidatus Accumulibacter* 等 DPAOs 菌属的丰度分别上升至 16.42%, 5.71%和 2.65%,与此同时, *Defluviicoccus* 等 DGAOs 菌属的丰度下降至 1.56%.这种变化表明,DPAOs 可以利用氧气作为电子受体进行生化反应,而曝气条件不利于 DGAOs 的生长.

2.5 短时曝气控制的部分反硝化除磷原理以及在工程中应用前景

如图 6(a)所示,在厌氧阶段,乙酸钠被 DPAOs 吸收并转化为乙酰辅酶 A,随后在 PHA 聚合酶的催化下转变为 PHAs(内碳源)[53],这一过程需要消耗能量,一部分能量来源于前一周期产生的 ATP 和聚磷(poly-P)的水解[54],另一部分来源于细胞中储存的糖原(Gly)在厌氧条件下的糖酵解过程[55].在缺氧阶段,厌氧阶段糖酵解产生的丙酮酸进入 TCA 循环.同时,胞内一部分 PHAs 通过酶促反应转化为乙酰辅酶 A[56],参与进入 TCA 循环,另一部分 PHAs 则通过糖

异生过程转化为糖原(Gly)[54].在缺氧阶段,水中的无机磷酸根(PO_4^{3-})离子被细胞吸收,用于 ATP 和聚磷(poly−P)的合成,并维持细胞的生长.缺氧阶段 TCA 循环产生的电子通过电子传递链传递给 NO_3^-−N[54],随后 NO_3^-−N 在硝酸盐还原酶(NAR)等酶的作用下发生反硝化反应[57].

研究发现 O_2 可以代替 NO_3^-−N 作为电子受体接收 TCA 循环产生的电子[58],并且不会影响 DPAOs 的除磷性能[59],因此,在缺氧阶段之前增加曝气可以提前为反应提供电子受体,从而消耗一部分 PHAs 和丙酮酸,进行 TCA 循环.在停止曝气并进入缺氧阶段后,微生物对电子受体的需求减少, NO_3^-−N 的还原过程将从原先直接还原为 N_2 转变为仅还原为 NO_2^-−N,实现亚硝酸盐的可控积累.

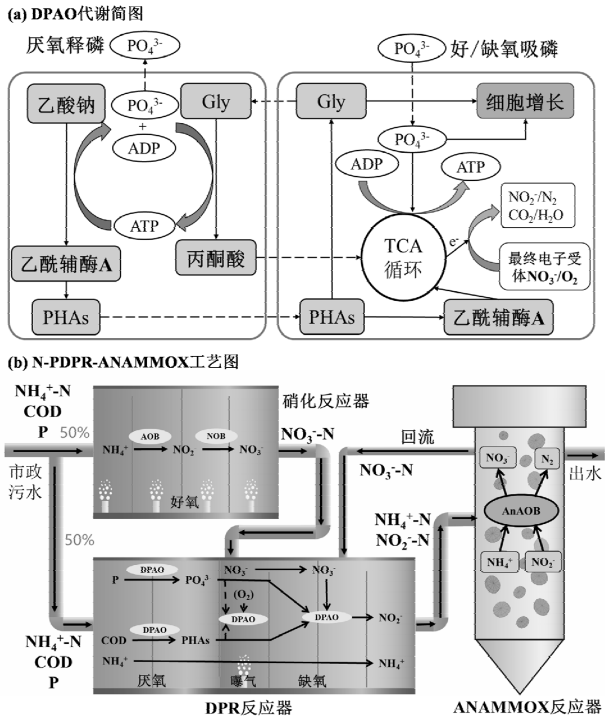


图 6　DPAOs 代谢简图与 N−PDPR−ANAMMOX 工艺

Fig.6　DPAOs metabolic profile and N−PDPR−ANAMMOX process map

实现可控的部分 DPR 为 Anammox 和 NO_2^-−N 相关工艺处理城市污水提供了更多的潜力和可能性.如图 6(b)所示,市政废水一部分进入硝化反应器,在硝化菌以及好氧异养菌的共同作用下,去除这部分水中的 COD,并将 NH_4^+−N 转化为 NO_3^-−N;另一部分市政废水则进入 DPR 反应器,在厌氧阶段将 COD 转化为 PHAs(内碳源),同时释放磷.随后,接入硝化反应器富含 NO_3^-−N 的出水进行缺氧反应,进行部分 DPR,将 NO_3^-−N 还原为 NO_2^-−N.若 NO_2^-−N 的积累率不高,可以在缺氧前增加一段短时曝气;此时,曝气会消耗一部分 DPAOs 中的内碳源,导致缺氧段的电子供体减少,从而提高亚硝酸盐的积累率.最后,将含有 NO_2^-−N 和 NH_4^+−N 的出水泵入 Anammox 系统,进行最终的脱氮处理.

本研究表明,适当的曝气可以实现 NO_3^-−N 的可控积累, Anammox 相关工艺具备处理实际生活废水的潜力.

3　结论

3.1　短时曝气显著提升了 DPR 中的 NTR.当曝气时间分别为 5、10 和 15min 时,NTR 分别为 36.09%、89.14%和 91.86%,PHBs 在好氧段消耗量分别为 11.50、16.00 和 24.90mg/gSS,缺氧段 PHBs/NO_3^-−N 分别为 1.00、0.76 和 0.58.然而,曝气时间延长至 20min 时,NTR 下降至 74.88%,出水 NO_3^-−N 浓度升高至 10.11mg/L.

3.2　适度曝气(≤15min)可以减少 EPS 含量(曝气时间由 0 延长至 15min 时 LB−EPS 蛋白质浓度降至由 28.67 降低至 9.02mg/gVSS),降低传质阻力,增强 DPAOs 活性;而曝气 20min 时,LB−EPS 蛋白质浓度回升至 13.24mg/gVSS.

3.3　DPAOs 菌属(如 *Candidatus Accumulibacter* 和 *Pseudomonas*)丰度在增加短时曝气后略有上升(分别由 2.07%和 5.12%上升至 2.65%和 5.71%),而 DGAOs 菌属(如 *Defluviicoccus*)丰度从 2.88%降至 1.56%.

参考文献:

[1] Kartal B, Kuenen J G, Van Loosdrecht M C M. Sewage Treatment with Anammox [J]. Science, 2010,328(5979):702−703.

[2] Hou Z, Dong W, Li Y, et al. Achieving efficient anammox contribution and the enrichment of functional bacteria in partial denitrification /anammox system: Performance, microbial evolution and correlation analysis [J]. Bioresource Technology, 2025,416:131792.

[3] Li Q, Zhao W, Cui S, et al. Synergetic association of hydroxyapatite−mediated biofilm and suspended sludge enhances resilience of partial nitrification/anammox (PN/A) system treating high−strength anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) permeate [J]. Bioresource Technology, 2024,412:131391.

[4] Dan Q, Wang T, Li J, et al. Enhanced anammox performance under lower nitrite accumulation in modified partial nitritation−anammox

(PN/A) process [J]. Bioresource Technology, 2024,406:131018.

[5] Dan Q, Du R, Wang T, et al. Endogenous partial denitritation as an efficient remediation to unstable partial nitritation-anammox (PNA) process: Bacteria enrichment and superior robustness [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,454:140481.

[6] Guo H, Yao Y, Gao M, et al. Starvation resilience in anammox-based bioreactors: A stable nitrogen removal route on partial denitrification/anammox (PD/A) [J]. Bioresource Technology, 2024,413:131366.

[7] Eng Nkonogumo P L, Zhu Z, Emmanuel N, et al. Novel and innovative approaches to partial denitrification coupled with anammox: A critical review [J]. Chemosphere, 2024,358:142066.

[8] Zhang Y, Deng J, Xiao X, et al. Insights on pretreatment technologies for partial nitrification /anammox processes: A critical review and future perspectives [J]. Bioresource Technology, 2023,384:129351.

[9] Izadi P, Sinha P, Andalib M, et al. Coupling fundamental mechanisms and operational controls in mainstream partial denitrification for partial denitrification anammox applications: A review [J]. J Clean Prod, 2023,400:136741.

[10] Chen J, Cheng B, Xie M, et al. Enhancing simultaneous nitrogen and phosphorus removal using partial nitritation/anammox with an airlift inner-circulation partition bioreactor [J]. Chemical Engineering Journal, 2024:157625.

[11] Taboada-Santos A, Rivadulla E, Paredes L, et al. Comprehensive comparison of chemically enhanced primary treatment and high-rate activated sludge in novel wastewater treatment plant configurations [J]. Water Research, 2020,169:115258.

[12] Su Y, Li X, Wang J, et al. Effect of anaerobic duration on nitrogen and phosphorus removal and carbon source utilization in integrated denitrifying phosphorus removal and partial denitrification coupled with anammox system [J]. J. Clean Prod., 2024,474:143591.

[13] Mandel A, Zekker I, Jaagura M, et al. Enhancement of anoxic phosphorus uptake of denitrifying phosphorus removal process by biomass adaption [J]. Int. J. Environ. Sci. Technol., 2019,16(10):5965-5978.

[14] Zhang X, Wang C, Wu P, et al. A novel denitrifying phosphorus removal and partial nitrification, anammox (DPR-PNA) process for advanced nutrients removal from high-strength wastewater [J]. Chemosphere, 2021,265:129165.

[15] Wu P, Zhang X, Wang Y, et al. Development of a novel denitrifying phosphorus removal and partial denitrification anammox (DPR+PDA) process for advanced nitrogen and phosphorus removal from domestic and nitrate wastewaters [J]. Bioresource Technology, 2021,327:124795.

[16] Zhao Q, Li X, Zhang L, et al. Partial denitrifying phosphorus removal coupling with anammox (PDPRA) enables synergistic removal of C, N, and P nutrients from municipal wastewater: A year-round pilot-scale evaluation [J]. Water Research, 2024,253:121321.

[17] Kalyuzhnyi S V, Gladchenko M A, Kang H, et al. Development and optimisation of VFA driven DEAMOX process for treatment of strong nitrogenous anaerobic effluents [J]. Water Sci. Technol., 2008,57(3):323-328.

[18] Oh J, Silverstein J. Acetate Limitation and Nitrite Accumulation during Denitrification [J]. Journal of Environmental Engineering, 1999,125(3):234-242.

[19] Wu H, Zeng W, Wu L, et al. Mechanisms of endogenous and exogenous partial denitrification in response to different carbon/nitrogen ratios: Transcript levels, nitrous oxide production, electron transport [J]. Bioresource Technology, 2024,399:130558.

[20] Zhang M, Gao J, Liu Q, et al. Nitrite accumulation and microbial behavior by seeding denitrifying phosphorus removal sludge for partial denitrification (PD): The effect of COD/NO_3^- ratio [J]. Bioresource Technology, 2021,323:124524.

[21] 狄 斐,隋倩雯,高超龙,等.反硝化除磷工艺实现亚硝酸盐积累的参数优化 [J]. 中国环境科学, 2022,42(6):2647-2655.
Di F, Sui Q W, Gao C L, et al. Parameter optimization for the achievement of nitrite accumulation by denitrifying phosphorus removal process [J]. Chinese Environmental Science, 2022,42(6):2647-2655.

[22] Li X, Huang Y, Yuan Y, et al. Startup and operating characteristics of an external air-lift reflux partial nitritation-ANAMMOX integrative reactor [J]. Bioresource Technology, 2017,238:657-665.

[23] Li Z, Li X, Wang H, et al. Achieving synchronous and highly efficient removal of nitrogen and phosphorus by rapid enrichment and cultivation denitrifying phosphorus accumulating organisms in anaerobic-oxic-anoxic operation mode [J]. Bioresource Technology, 2024,396:130426.

[24] Wang C, Qi W K, Zhang S J, et al. Innovation for continuous aerobic granular sludge process in actual municipal sewage treatment: Self-circulating up-flow fluidized bed process [J]. Water Research, 2024,260:121862.

[25] Yu G H, He P J, Shao L M, et al. Toward understanding the mechanism of improving the production of volatile fatty acids from activated sludge at pH 10.0 [J]. Water Research, 2008,42(18):4637-4644.

[26] Dan Q, Du R, Wang T, et al. Endogenous partial denitritation as an efficient remediation to unstable partial nitritation-anammox (PNA) process: Bacteria enrichment and superior robustness [J]. Chemical Engineering Journal, 2023,454:140481.

[27] Lv L, Wei Z, Li W, et al. Regulation of extracellular polymers based on quorum sensing in wastewater biological treatment from mechanisms to applications: A critical review [J]. Water Research, 2024,250:121057.

[28] Li W W, Zhang H L, Sheng G P, et al. Roles of extracellular polymeric substances in enhanced biological phosphorus removal process [J]. Water Research, 2015,86:85-95.

[29] Feng Z T, Ma X, Sun Y J, et al. Promotion of nitrogen removal in a denitrification process elevated by zero-valent iron under low carbon-to-nitrogen ratio [J]. Bioresource Technology, 2023,386:129566.

[30] Feng Q, Tai X, Sun Y, et al. Influence of turbulent mixing on the composition of extracellular polymeric substances (EPS) and aggregate size of aerated activated sludge [J]. Chemical Engineering Journal, 2019,378:122123.

[31] Wang J, Jiang Z, Wang W, et al. The connection between aeration regimes and EPS composition in nitritation biofilm [J]. Chemosphere, 2021,265:129141.

[32] Zhang M, Zhu C, Pan T, et al. Elucidating sludge characteristic, substrate transformation and microbial evolution in a two-sludge denitrifying phosphorus removal system under the impact of HRT [J]. J. Environ. Manage., 2020,262:110391.

[33] Wang Y, Geng J, Ren Z, et al. Effect of anaerobic reaction time on denitrifying phosphorus removal and N_2O production [J]. Bioresource Technology, 2011,102(10):5674-5684.

[34] Zhang T, Shao M F, Ye L. 454Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14sewage treatment plants [J]. The ISME Journal, 2012,6(6):1137-1147.

[35] Qi C, Wang J, Lin Y. New insight into influence of mechanical stirring on membrane fouling of membrane bioreactor: Mixed liquor properties and hydrodynamic conditions [J]. Bioresource Technology, 2016,211:654-663.

[36] Miura Y, Watanabe Y, Okabe S. Significance of Chloroflexi in Performance of Submerged Membrane Bioreactors (MBR) Treating Municipal Wastewater [J]. Environmental Science & Technology, 2007,41(22):7787-7794.

[37] Crits-Christoph A, Diamond S, Al-Shayeb B, et al. A widely distributed genus of soil Acidobacteria genomically enriched in biosynthetic gene clusters [J]. ISME Communications, 2022,2(1):70.

[38] Othman I, Halim M H A, Anuar A N, et al. Identification and role of microbial species developed in aerobic granular sludge bioreactor for livestock wastewater treatment [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2020,479(1):012026.

[39] Petriglieri F, Nierychlo M, Nielsen P H, et al. In situ visualisation of the abundant Chloroflexi populations in full-scale anaerobic digesters and the fate of immigrating species [J]. Plos One, 2018,13(11): e0206255.

[40] Li B, Jing F, Wu D, et al. Simultaneous removal of nitrogen and phosphorus by a novel aerobic denitrifying phosphorus-accumulating bacterium, Pseudomonas stutzeri ADP-19 [J]. Bioresource Technology, 2021,321:124445.

[41] Hou J, Zhu Y, Liu J, et al. Competitive enrichment of comammox Nitrospira in floccular sludge [J]. Water Research, 2024,251:121151.

[42] Lei L, Yao J C, Liu Y D, et al. Performance, sludge characteristics and microbial community in a salt-tolerant aerobic granular SBR by seeding anaerobic granular sludge [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2021,163:105258.

[43] Li Y, Pan Z, Liao J, et al. Micro-aeration and low influent C/N are key environmental factors for achieving ANAMMOX in livestock farming wastewater treatment plants [J]. Water Research, 2024,253:120141.

[44] Tan C, Chen S, Zhang H, et al. The roles of Rhodococcus ruber in denitrification with quinoline as the electron donor [J]. Science of The Total Environment, 2023,902:166128.

[45] Yang Y, Zhu Y, Gan D, et al. Enhancing biofilm formation with powder carriers for efficient nitrogen and phosphorus removal [J]. Science of The Total Environment, 2024,951:175812.

[46] Li W, Liu N, Wang H, et al. Enhancement of denitrifying phosphorus removal and DPAOs identification in the anaerobic/anoxic sequencing batch reactor system [J]. Desalination and Water Treatment, 2022, 253:88-99.

[47] Rubio-Rincón F J, Weissbrodt D G, Lopez-Vazquez C M, et al. "Candidatus Accumulibacter delftensis": A clade IC novel polyphosphate-accumulating organism without denitrifying activity on nitrate [J]. Water Research, 2019,161:136-151.

[48] Zhao W, Bi X, Peng Y, et al. Research advances of the phosphorus-accumulating organisms of Candidatus Accumulibacter, Dechloromonas and Tetrasphaera: Metabolic mechanisms, applications and influencing factors [J]. Chemosphere, 2022,307:135675.

[49] Zhang C, Zhang L, Liu J, et al. Achieving ultra-high nitrogen and phosphorus removal from real municipal wastewater in a novel continuous-flow anaerobic/aerobic/anoxic process via partial nitrification, endogenous denitrification and nitrite-type denitrifying phosphorus removal [J]. Water Research, 2024,250:121046.

[50] Maszenan A M, Bessarab I, Williams R B H, et al. The phylogeny, ecology and ecophysiology of the glycogen accumulating organism (GAO) Defluviicoccus in wastewater treatment plants [J]. Water Research, 2022,221:118729.

[51] Zhen J, Wang Z B, Ni B J, et al. Synergistic integration of anammox and endogenous denitrification processes for the simultaneous carbon, nitrogen, and phosphorus removal [J]. Environmental Science & Technology, 2024,58(24):10632-10643.

[52] Ma J, Ji Y, Fu Z, et al. Performance of anaerobic/oxic/anoxic simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal system overwhelmingly dominated by Candidatus Competibacter: Effect of aeration time [J]. Bioresource Technology, 2023,384:129312.

[53] Ruiz-Haddad L, Ali M, Pronk M, et al. Demystifying polyphosphate-accumulating organisms relevant to wastewater treatment: A review of their phylogeny, metabolism, and detection [J]. Environmental Science and Ecotechnology, 2024,21:100387.

[54] Dai H, Han T, Sun T, et al. Nitrous oxide emission during denitrifying phosphorus removal process: A review on the mechanisms and influencing factors [J]. J. Environ. Manage., 2021,278:111561.

[55] Smolders G J, Van DER MEIJ J, Van Loosdrecht M C, et al. Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: Stoichiometry and pH influence [J]. Biotechnol. Bioeng., 1994,43(6):461-470.

[56] Comeau Y, Hall K J, Hancock R E W, et al. Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal [J]. Water Research, 1986,20(12):1511-1521.

[57] Wang Y, Zhou S, Wang H, et al. Comparison of endogenous metabolism during long-term anaerobic starvation of nitrite/nitrate cultivated denitrifying phosphorus removal sludges [J]. Water Research, 2015,68:374-386.

[58] Kerrn-Jespersen J P, Henze M. Biological phosphorus uptake under anoxic and aerobic conditions [J]. Water Research, 1993,27(4):617-624.

[59] Diaz R, Mackey B, Chadalavada S, et al. Enhanced Bio-P removal: Past, present, and future – A comprehensive review [J]. Chemosphere, 2022,309:136518.

作者简介：李　冬(1976-),女,辽宁丹东人,教授,博士,主要研究方向为水环境恢复及关键技术.发表论文 200 余篇.lidong2006@bjut.edu.cn.