吴文婧,曹业启,张 晶,等.冷冲击包埋 ANAMMOX 颗粒低温脱氮性能分析 [J]. 中国环境科学, 2025,45(9):4945-4954.
Wu W J, Cao Y Q, Zhang J, et al. Analysis of the low-temperature nitrogen removal performance of cold-shocked immobilized ANAMMOX granules [J]. China Environmental Science, 2025,45(9):4945-4954.

冷冲击包埋 ANAMMOX 颗粒低温脱氮性能分析

吴文婧[1],曹业启[1],张 晶[1*],张林华[1],贺洁雅[2],王国钊[1],张 佩[1],郑 翔[1],陈建伟[1*] (1.华北理工大学,建筑工程学院,河北省地震工程与防灾重点实验室,河北 唐山 063210；2.沧州师范学院,化学与化工系,河北 沧州 061000)

摘要：针对厌氧氨氧化(ANAMMOX)工艺低温脱氮困难的问题,本研究通过冷冲击成功强化了 ANAMMOX 包埋颗粒污泥在不同低温下的脱氮性能(R3).结果表明:23~6°C 下,R3 颗粒的脱氮效率显著高于未冷冲击的包埋颗粒(R2)和未包埋的 ANAMMOX 污泥(R1);尤其在 12 和 6°C 下,R3 的优势更加显著.R3 颗粒比 ANAMMOX 活性(SAA)和生物量浓度(MLVSS)较高是其维持低温脱氮效率的关键.12 和 6°C 下,R3 的 SAA 是 R1 的 20~22 倍、R2 的 12~14 倍;R3 的 MLVSS 高达 6059~4732mg/L.这与冷冲击改善了功能菌的代谢增殖、胞外聚合物(EPS)调节能力和 EPS 中蛋白质(PN)二级结构有关.值得注意的是,R3 内 *Candidatus Brocadia* 相对丰度显著提高,使其在极端低温下依然能够保持一定的活性,而颗粒内 ANAMMOX 菌属和相关耐冷菌属丰度的增加利于调节 EPS 分泌,提高生物聚集能力.本研究为促进 ANAMMOX 工艺的低温应用提供了有效的方法..

关键词：厌氧氨氧化；凝胶包埋；冷冲击；低温脱氮
中图分类号：X703 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2025)09-4945-10

Analysis of the low-temperature nitrogen removal performance of cold-shocked immobilized ANAMMOX granules.

WU Wen-jing[1], CAO Ye-qi[1], ZHANG Jing[1*], ZHANG Lin-hua[1], HE Jie-ya[2], WANG Guo-zhao[1], ZHANG Pei[1], ZHENG Xiang[1], CHEN Jian-wei[1*] (1.North China University of Science and Technology, College of Civil and Architectural Engineering, Hebei Key Laboratory of Earthquake Engineering and Disaster Prevention, Tangshan 063210, Hebei；2.Department of Chemistry and Chemical Engineering, Cangzhou Normal University, Cangzhou 061000, Hebei Province). *China Environmental Science*, 2025,45(9)：4945~4954

Abstract：This study addresses the challenge of low-temperature nitrogen removal in the anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) process. By using cold shock, the nitrogen removal performance of immobilized ANAMMOX particles (R3) at various low temperatures was successfully improved. The results showed that, at the low temperatures ranging from 23°C to 6°C, the nitrogen removal efficiency of R3 particles was significantly higher than that of non-cold-shocked immobilized particles (R2) and non-immobilized ANAMMOX sludge (R1), with the advantage being especially pronounced at 12 and 6°C. The higher specific ANAMMOX activity (SAA) and biomass concentration (MLVSS) of R3 particles were key factors in maintaining efficient nitrogen removal at low temperatures. At 12 and 6°C, the SAA of R3 was 20~22 times higher than that of R1 and 12~14 times higher than R2; the MLVSS of R3 reached as high as 6059~4732mg/L. This was attributed to the fact that cold shock improved the metabolic proliferation of functional bacteria, extracellular polymeric substance (EPS) regulation, and the secondary structure of proteins (PN) in EPS. Notably, the relative abundance of *Candidatus* Brocadia in R3 was significantly increased, enabling it to maintain activity at extremely low temperatures. Additionally, the increase in the abundance of ANAMMOX genera and cold-tolerant bacterial genera within the particles facilitated the regulation of EPS secretion and improved bioaggregation. This study provides an effective approach for promoting the low-temperature application of the ANAMMOX process.

Key words：anaerobic anmonium oxidation (ANAMMOX)；gel immobilization；cold shock；low-temperature nitrogen removal

作为经济节能的新型生物脱氮技术,厌氧氨氧化(ANAMMOX)相比传统的硝化-反硝化工艺,具有经济性高、能耗低、剩余污泥产量及温室气体排量少的显著优势[1-3].温度是决定 ANAMMOX 工艺能否成功运行的重要环境因素之一[4-5].大部分报道中 ANAMMOX 菌生长的适宜温度为 35℃左右[6-8],但是在北纬地区,实际废水的温度往往明显低于上述适宜温度.在低温环境中,ANAMMOX 菌的活性会被极大抑制[4-5],并且污泥容易解体流失,从而影响反应器的脱氮效率[7].

目前,改善 ANAMMOX 工艺低温脱氮性能和运行稳定性的常见方式为优化工艺运行条件或进行

收稿日期：2025-02-13
基金项目：河北省高等学校科学技术研究项目(QN2024189);大学生创新创业训练计划项目(S202410081095)
* 责任作者，张晶，讲师，Zjbjut2016@126.com; 陈建伟，教授，jwchen@ncst.edu.cn

活性刺激[8-10],如低温下可通过降低容积负荷,投加Fe(III)或利用脉冲电场提高 ANAMMOX 工艺的低温脱氮效率[8,10-11].然而,降低 NLR 虽可缓解低温对菌群的抑制,但需增大反应器体积或延长水力停留时间,导致基建成本增加,难以适应大规模污水处理需求[12].并且,低负荷运行还可能削弱微生物活性.采用脉冲电场则需要持续供能,将导致运行成本升高,且设备稳定性容易受低温环境的不利影响[13].而添加Fe(III)可能引发铁离子富集问题;过量Fe(III)还会与 EPS 结合,改变污泥絮体结构,影响沉降性能.

微生物固定化技术在污水处理领域一直受到研究者的关注.由于固定生物的凝胶载体具有较大比表面积和高生物亲和性,可为生长缓慢的微生物提供附着位点,有效防止生物流失[14].由于海藻酸钠(SA)在交联过程中较高的稳定性和良好的传质性能及聚乙烯醇(PVA)的较高机械强度,PVA 和 SA 混合凝胶剂常被用作生物包埋材料[15-16].研究证实,PVA/SA 包埋技术在缩短 ANAMMOX 工艺启动时间和改善其在不利环境下的处理性能方面具有优势[17].利用 PVA/SA 复合材料固定 ANAMMOX 污泥可有效提高污泥的低温环境的抵抗能力,在23.0~12.5℃低温区间内凝胶层内部污泥脱氮性能良好[6,18].然而,关于 ANAMMOX 凝胶固定化技术仍然需要不断探索,如何进一步强化 ANAMMOX 包埋颗粒的低温脱氮性能(尤其是在极端低温条件下)值得深入研究.

先前的报道表明低温驯化可显著提高 ANAMMOX 工艺的低温脱氮效率[7,19].然而冷驯化往往面临实施周期长的问题,极大增加了时间成本与运营成本,难以满足实际工程的迫切需求.如何通过更快捷的低温刺激策略进一步提升 ANAMMOX 凝胶颗粒在更低温度下的脱氮效率具有重要研究价值.

因此,本文采用 PVA/SA 混合凝胶剂制备了 ANAMMOX 包埋颗粒,并首次尝试对包埋颗粒进行短时冷冲击强化处理.考察了不同低温下(23,12 和 6℃),冷冲击后的 ANAMMOX 包埋颗粒(R1)相比未进行冷冲击的包埋颗粒(R2)和未进行包埋的普通 ANAMMOX 颗粒(R1)脱氮性能的差异性.并评估了各组反应器 ANAMMOX 活性和生物量的变化,此外通过 EPS 组成和二级结构变化分析以及生物群落结构解析揭示了冷冲击影响包埋颗粒对低温(尤其是极端低温)适应性的机制.本研究为改善 ANAMMOX 工艺的低温处理性能提供了有价值的途径,利于促进 ANAMMOX 工艺的大规模应用.

1 材料与方法

1.1 冷冲击包埋颗粒的制备

聚乙烯醇(PVA)和海藻酸钠(SA)被用作凝胶材料固定 ANAMMOX 颗粒污泥.研究表明,7wt%(质量分数)的 PVA 能够形成紧密网络结构,赋予凝胶良好机械强度,抵御废水处理中的外界应力[20];1wt%的 SA 生物亲和性良好,可提供附着位点且与 PVA 混合可以保障传质,该浓度配比有助于防止微生物流失,维持 ANAMMOX 微生物活性,确保低温下 ANAMMOX 工艺高效运行[21].因此 PVA 和 SA 的质量浓度分别采用 7wt% 和 1wt%.凝胶剂与 ANAMMOX 污泥的混合体积比为 2:1,采用 $CaCl_2$ 溶液作为交联剂,具体操作步骤和相关化学试剂浓度参见前期研究[22].此外,本研究中,在凝胶剂和污泥混合阶段添加了 0.2g/L 还原氧化石墨烯(RGO)以强化颗粒的低温活性.RGO 购于中国南京鑫富纳米材料科技有限公司.

用于制备凝胶颗粒的 ANAMMOX 污泥取自本实验室在33℃下稳定运行1年左右上向流厌氧污泥床(UASB)反应器.经 16S 高通量测序分析,该接种污泥中优势厌氧氨氧化菌属为 *Candidatus* Kuenenia(相对丰度 32.8%)和 *Candidatus* Brocadia(相对丰度 2.3%).粒径在 1.5~2.3mm 的颗粒所占比例最高(63%),颗粒污泥混合液的挥发性悬浮固体浓度(MLVSS)约为 7.7gVSS/L.

采用冷冲击方式强化上述制备的 ANAMMOX 凝胶颗粒的脱氮性能,具体实施过程如下:冷冲击强化周期为 12d,分别在第 3d、第 7d、第 10d 和第 12d 进行持续时间为 12h 的冷冲击处理(进水温度为 0℃左右),其余时间进水温度为 30℃左右,18d 培养期结束后即可获得冷冲击后的 ANAMMOX 凝胶颗粒.冷冲击培养期间,采用合成废水作为反应器进水,添加适量的氯化铵(NH_4Cl)和亚硝酸钠($NaNO_2$)保证进水主要组分氨氮(NH_4^+–N)和亚硝酸盐氮(NO_2^-–N)的浓度分别为 94.3 和 120.1mg/L.其他进水组分包括 KH_2PO_4(61mg/L),$KHCO_3$(300mg/L),$MgSO_4·7H_2O$

(175mg/L)和 $CaCl_2·2H_2O$(130mg/L);微量元素 I 和 II 的配制参考先前的研究[22],两者添加浓度分别为 1.0mL/L.

1.2　反应器运行条件

为减轻生物量流失,反应器采用本团队设计的折流板 UASB 反应器(7.0L)进行连续流实验,其构造图如图 1 所示.采用合成废水作为进水,进水组成和 1.1 部分冷冲击期间进水一致.进水 pH 值未进行控制,在 7.5~8.0 之间.水力停留时间 HRT 设置为 6.5h,使用氮气冲刷进水和反应器维持厌氧环境.利用恒温低温槽提供循环冷却水保证各运行阶段所需的低温条件.设置 3 组反应器,R1 接种普通 ANAMMOX 颗粒、R2 接种包埋 ANAMMOX 颗粒,R3 接种进行冷冲击强化后的 ANAMMOX 包埋颗粒.其中 R1 的接种颗粒污泥与包埋颗粒中污泥来源一致,R1~R3 内污泥接种量(MLVSS)基本一致.反应器 R1~R3 在 23℃下运行 30d(阶段 I,1~30d),之后运行温度降低至 12℃运行 30d(阶段 II,31~60d),最后温度降低至 6℃,运行 30d(阶段 III,61~90d).定期监测各反应器出水 NH_4^+−N,NO_2^-−N 和 NO_3^-−N 的浓度.

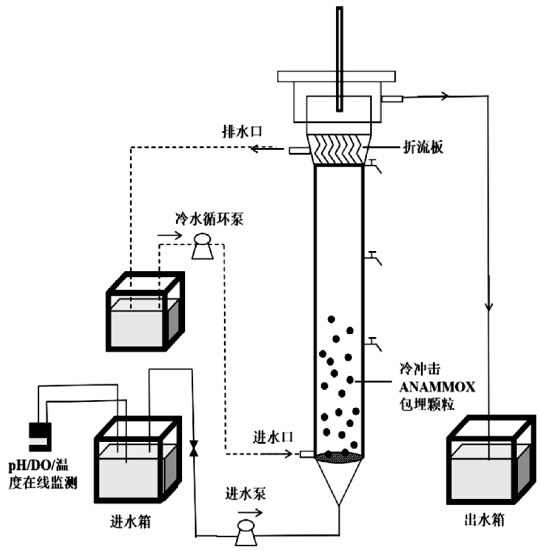


图 1　折流板 UASB 反应器装置

Fig.1　Device diagram of folding plate UASB reactor

1.3　SAA 和生物量(MLVSS 和 MLSS)的测定

在阶段 I(第 3d,16d 和第 30d),阶段 II(第 35d,47d 和第 60d)和阶段 III(第 65d,72d 和 90d),从反应器 R1~R3 中取适量的污泥或凝胶颗粒样品进行批次试验测定 SAA(保证各样品生物量浓度基本一致).每个阶段不同时间取出的样品 SAA 值的均值作为该阶段反应器的平均 SAA 值.

测定 SAA 的批次试验在棕色封口瓶(有效容积为 0.8L)中进行.封口瓶配有螺旋塞,穿孔 2mm 的浸入式塑料软管分别作为进气和排气通道,配有止气阀.使用氮气冲刷以维持缺氧环境.向每个封口瓶中添加 600mL 培养液,批次试验进水成分与连续流实验一致.使用低温槽提供不同低温环境(23,12 和 6℃),试验进行 24h.为确保可靠性,设置 3 组平行试验.每隔 2h 从每个封口瓶中取 3mL 液体样品,用于测定 NH_4^+−N 的浓度.培养结束后,对生物量进行 MLVSS 分析并计算各反应器样品的 SAA 值.

每个运行阶段结束时取适量样品进行 MLVSS 和 MLSS 测定,以评估各反应器生物量浓度变化,同时计算 MLVSS 与 MLSS 的比值($f_{vss/ss}$).

1.4　EPS 含量组成和 PN 二级结构分析

采用热处理方法提取 EPS[23].在阶段 I 的第 28d,阶段 II 的第 57d,阶段 III 的第 87d,从反应器 R1~R3 内取出适量污泥或包埋颗粒样品(保证各反应器取出的样品生物量基本一致).样品破碎后添加适量去离子水,使用匀质器进一步混匀后过滤去除大颗粒杂质(凝胶层碎片或大颗粒悬浮物等).滤后的污泥混合液添加一定量的磷酸盐缓冲液(pH7.0)混合均匀.将 20mL 该污泥混合液置于玻璃烧杯内,放置于带有磁力搅拌功能的恒温水浴箱中 65℃加热 15min,通过磁力搅拌确保污泥混合液受热均匀.之后,立即对加热后的污泥混合液进行低速离心处理(4000r/min,18min),分离上清液并通过 0.45μm 滤膜过滤,滤后物即为 EPS 提取物,在 4℃下保存.使用蒽酮比色法和考马斯亮蓝比色法分别测定 EPS 中的胞外多糖(PS)和蛋白质(PN)含量[24].设置 3 个平行样品进行 EPS 提取及分析.

1.5　微生物群落结构分析

每个运行阶段结束时,由 R1~R3 取出适量样品进行 16S 高通量测序分析.首先,采用 Power Soil DNA Isolation Kit 试剂盒对样品进行 DNA 提取.利用 Nano Drop 2000 分光光度计(Thermo Fisher Scientific)测定提取的 DNA 浓度和纯度,确保 DNA 浓度在 50~200ng/μL 之间,以保证 DNA 质量良好.

随后,采用正向引物 341F (5′−CCTACGGGNG−GCWGCAG−3′)和 805R(5′GACTACHVGGGTATC−

TAATCC−3′)扩增细菌的16SrRNA基因的V3−V4区域.扩增后的DNA产物经2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用Gel Red核酸染料染色,在凝胶成像系统下观察条带,确认扩增成功且无杂带.采用凝胶回收试剂盒(Axygen Biosciences)对目的条带进行切胶回收纯化,具体操作按照试剂盒说明书进行,通过离心吸附、洗涤和洗脱等步骤获得高纯度的扩增片段.

纯化后的DNA序列号由Illumina MiSeq平台(Sangon Biotech)进行测序.测序完成后,对原始数据进行质量控制,利用Trimmomatic软件去除低质量碱基和引物序列,使用Flash软件对成对末端测序读段进行拼接.拼接后的序列通过Usearch软件与Silva 16S rRNA基因数据库进行比对,进行物种注释和分类学分析,确定不同菌属的相对丰度,绘制ANAMMOX菌属丰度变化热图.

1.6 其他指标测定方法

NH_4^+−N浓度采用纳氏试剂分光光度法进行测量;NO_2^-−N浓度使用N−(1−萘基)−乙二胺分光光度法测定;NO_3^-−N浓度采用麝香草酚分光光度法测定;MLVSS(混合液挥发性悬浮固体浓度)和MLSS(混合液悬浮固体浓度)按照重量法进行测量[25].pH值,温度和DO浓度由WTW340i多参数仪的pH和DO探头监测,数值显示于多参数仪的电子屏幕中.

2 结果与讨论

2.1 不同低温下反应器R1−R3脱氮性能变化

如图1所示,阶段I(1~30d,23℃),反应器R2出水NH_4^+−N,NO_2^-−N和NO_3^-−N浓度分别为8.2~13.8mg/L,9.6~18.5mg/L和18.9~24.4mg/L,总无机氮(TIN)去除率为80%~86%.反应器R3在该阶段出水“三氮”浓度稳定在1.2~2.9、1.4~3.4和20.2~25.1mg/L,R3的TIN去除率可维持在90%~94%.反应器R1脱氮性能最差,出水NH_4^+−N,NO_2^-−N和NO_3^-−N浓度分别为24.7~30.5mg/L,29.9~35.8mg/L和18.1~23.9mg/L,TIN去除率只有67%~73%.

阶段II(31~60d,12℃),R3脱氮效率依然处于较高水平(88%~92%),出水NH_4^+−N和NO_2^-−N浓度在3.7~4.7mg/L和4.4~6.1mg/L之间,NO_3^-−N浓度为17.6~21.9mg/L.R2脱氮效率则显著下降至61%~68%;出水NH_4^+−N和NO_2^-−N浓度迅速增加至36.8~41.3mg/L和44.1~49.5mg/L,NO_2^-−N浓度为16.9~20.4mg/L.R1脱氮性能恶化更加严重,该阶段其出水NH_4^+−N和NO_2^-−N浓度由39.9和49.6mg/L大幅升高至68.2和77.4,NO_3^-−N在10.7~14.1mg/L,TIN去除率由58%显著降低至50%.该结果表明,温度从23℃降至12℃后,反应器R1脱氮性能显著恶化,反应器R2脱氮效率虽高于R1但明显低于R3,证明冷冲击后包埋颗粒在12℃的低温条件下依然具有较高的脱氮效率.

当反应器运行至阶段III(61~90d),温度进一步降低至6℃.反应器R3出水NH_4^+−N和NO_2^-−N浓度相比阶段II提高至25.1~29.3mg/L和29.8~32.6mg/L,出水NO_3^-−N为20.6~25.1mg/L,其TIN去除率保持在69%~73%.反应器R1则已失去了脱氮能力,其出水NH_4^+−N浓度接近进水,同时上清液浑浊并伴有大量絮体物质,这表明低温已致使ANAMMOX污泥大量解体流失,内部反应体系崩溃.反应器R2的出水NH_4^+−N和NO_2^-−N浓度相比R1没有明显差别.这说明对ANAMMOX颗粒进行包埋固定化,仅对其在12~23℃下的脱氮性能有一定的改善作用;当运行温度降低至6℃时,ANAMMOX包埋颗粒脱氮能力同样显著恶化,与未包埋的ANAMMOX颗粒相差不大.然而,冷冲击强化则有效提高了ANAMMOX包埋颗粒对更低温度的适应性,在6℃的极低温度下冷冲击后的ANAMMOX包埋颗粒也可保持相对较高的脱氮效率和良好的运行稳定性.本团队先前的研究表明,对ANAMMOX污泥进行冷驯化后再进行凝胶包埋相比包埋未冷驯化的污泥可显著提高其低温脱氮性能[22].而本研究发现包埋ANAMMOX污泥后,再进行冷冲击强化,可更有效地提高包埋颗粒在更低温度条件下的脱氮能力.这与冷冲击相比冷驯化低温刺激时间短,且由于凝胶层的保护,强化过程中微生物受到的损伤更轻有关.

Kouba等发现未经强化处理的ANAMMOX污泥脱氮效率仅为55%左右,与本研究中R1情况相近;而采用低温冲击将10℃下ANAMMOX菌的活性提高至0.054kg−Nkg−VSS,这与文献报道的冷富集或冷适应ANAMMOX菌的最高活性(0.080kg−Nkg−VSS)相似[26].这说明冷冲击手段可有效强化ANAMMOX菌的低温活性,这是本研究中R3颗粒可在不同低温下保持较高脱氮效率的重要原因.此外,在6℃极端低温下,过往多数研究表明

ANAMMOX 工艺几乎无法实现有效脱氮[7,27].相比之下,本研究利用冷冲击有效强化了ANAMMOX包埋颗粒的低温适应性,使 R3 颗粒在 6℃下仍具有相对较高的脱氮效率,极大地拓展了ANAMMOX工艺在极端低温环境下的应用潜力.综上所述,冷冲击包埋颗粒在不同低温下均展现出了优异的脱氮性能,尤其是在 6℃的极端低温条件下其优势更为显著.

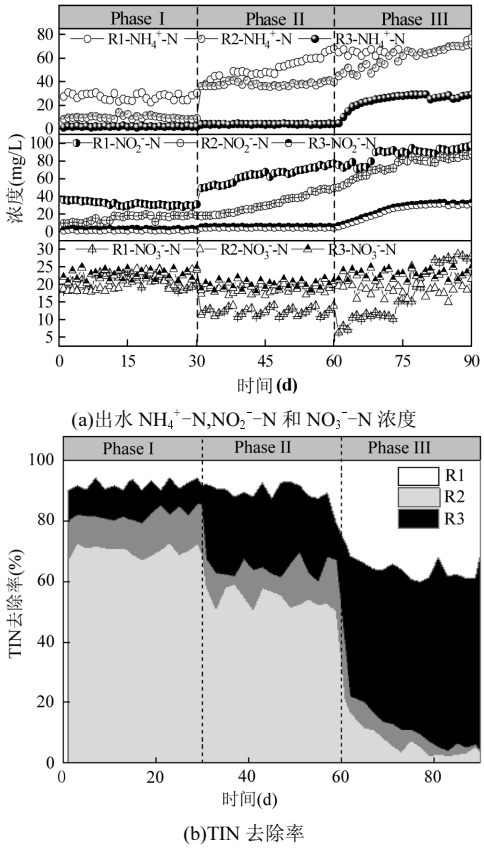


图 2　不同运行阶段反应器 R1~R3 出水氮素浓度和 TIN 去除率变化

Fig.2　Variations in effluent nitrogen concentrations and TIN removal efficiency of the reactors R1, R2 and R3

2.2　反应器 R1~R3 生物活性和生物量浓度分析

如图 3(a)所示,在阶段 I,反应器 R1~R3 内污泥均展现出了较高的活性.R1 污泥平均 SAA 值为 481mgN/(gVSS·d).R2 包埋颗粒的平均 SAA 值为 476mgN/(gVSS·d),稍低于 R1 污泥,这与凝胶层对污泥传质性能产生了一定不利影响有关.R3 包埋颗粒的平均 SAA 值为 490mgN/(gVSS·d),高于 R1 污泥,这是由于冷冲击强化处理改善了包埋颗粒的低温传质性能.

当反应器运行至阶段 II,R1 污泥平均 SAA 值显著降低至 115mgN/(gVSS·d),说明 12℃低温对 ANAMMOX 生物生理生化反应产生了明显不利影响.该低温条件下 R1 内 ANAMMOX 生物细胞内酶分子活性位点的柔性降低,底物与酶的亲和力下降,使得催化反应的速率常数减小,反应速率大幅降低[28].同时,低温导致细胞膜的流动性降低,物质运输效率下降[31],影响了底物向细胞内的转运以及产物的排出,进而干扰了 ANAMMOX 反应的正常进行,导致污泥活性显著下降.R2 颗粒的平均 SAA 值则较 R1 污泥提高了 93%.凝胶层的保温和保护作用使内部 ANAMMOX 微生物在 12℃低温下仍能维持较高活性.包埋材料可在一定程度上减缓温度变化对微生物的直接冲击,维持微生物细胞周围相对稳定的微环境,减少温度波动对酶活性的影响,使得微生物在低温下仍能维持一定的代谢水平.但由于运行温度大幅下降,R2 颗粒活性相比阶段 I 仍有所下降.R3 颗粒的平均 SAA 值最高,达 345mgN/(gVSS·d)).这是由于 R3 颗粒进行了冷冲击强化处理,影响了 ANAMMOX 微生物细胞内的酶结构与功能,改变底物结合位点或酶活性中心微环境,提高了底物催化转化效率,故改善了内部 ANAMMOX 菌的低温活性.

阶段 III,在 6℃极端低温下,R1 污泥活性几乎丧失,平均 SAA 值仅为 13mgN/(gVSS·d).这说明 R1 内微生物细胞遭受严重低温损伤,代谢途径受到极大阻碍,无法进行有效物质转化和能量代谢.R2 颗粒的活性也显著降低,平均SAA值低至17mgN/(gVSS·d).R3 颗粒在 6℃时其平均 SAA 值高达 205mgN/(gVSS·d),是 R1 和 R2 的 12~16 倍.这说明在 6℃极端低温下凝胶层虽能为 ANAMMOX 菌维持一定生存环境,但 ANAMMOX 菌自身对极低温度的适应能力也相当重要.由于未经过冷冲击的强化作用,R2 颗粒内部的 ANAMMOX 微生物受到低温的严重冲击,细胞内的生理生化反应受到极大抑制,酶活性极低,底物转化能力微弱.然而,R3 颗粒由于经过了冷冲击强化培养,促进了低温适应能力更强的 ANAMMOX 菌属在凝胶层内部的增长.因此,R3 包埋颗粒在 6℃低温下依然可以维持较高的活性.

生物量变化分析表明(图 3(b)和(c)),阶段 I 结束时(第 30d),反应器 R1~R3 内 MLSS 差别不大,分别为 8233,8357 和 8379mg/L;MLVSS 分别为 6341,6403

和 6416mg/L;MLVSS 与 MLSS 的比值($f_{VSS/SS}$)分别为 0.83,0.84 和 0.87.阶段 II 结束时(第 60d),反应器 R1 内 MLSS 和 MLVSS 相比阶段 I 显著下降至 4032 和 2388mg/L,$f_{VSS/SS}$ 下降至 0.56.这说明 12℃低温已对未包埋的 ANAMMOX 颗粒的代谢和增殖产生了显著不利影响.低温导致物质合成与分解平衡被打破,能量产生减少,功能微生物生长受抑制,生物量显著降低[29].反应器 R2 内 MLSS 和 MLVSS 虽然相比阶段 I 也有所降低,但是显著高于 R1,分别为 6805 和 5079mg/L,$f_{VSS/SS}$ 为 0.73.这与凝胶材料提供的附着位点和相对稳定微环境利于微生物在低温下的生长与聚集有关.R3 反应器内 MLSS,MLVSS 和 $f_{VSS/SS}$ 值最高,达 8573mg/L,6627mg/L 和 0.86.这说明阶段 IIR3 内的生物量相比阶段 I 不仅没有下降,还有所提高.这与冷冲击刺激了颗粒内部 ANAMMOX 微生物在低温下的代谢活性和增殖速率有关.

当各组反应器运行至阶段 III 结束时(第 90d),反应器 R1 内 MLSS、MLVSS 已大幅降低至 1049mg/L 和 487mg/L($f_{VSS/SS}$ 0.46).反应器 R2 内 MLSS 和 MLVSS 为 3022 和 1519mg/L($f_{VSS/SS}$ 0.50),显著高于 R1.值得注意的是反应器 R3 内 MLSS 和 MLVSS 在该阶段仍可高达 6059 和 4732mg/L($f_{VSS/SS}$0.78).根据上述研究结果可知,6℃极低温度下,对于反应器 R2,由于凝胶层为生物提供了大量附着位点,并且缓冲了低温的不利影响,因此 R2 内生物量浓度显著高于 R1.但是,相比生物量差异,R2 包埋颗粒的 SAA 值与 R1 差异较小,这可能是由于 R2 包埋颗粒没有经过冷冲击强化,其内的 ANMMOX 菌在该低温下生理代谢停滞甚至细胞衰亡,因此 SAA 很低;但是低温适应性较强的其他微生物(如嗜冷微生物)在凝胶材料的保护下仍可增殖,因此 R2 内生物量显著高于 R1.本研究的一个重要发现是经过冷冲击强化后的 R3 包埋颗粒在 6℃下不仅维持了较高 ANAMMOX 活性,而且保持了较高的生物量浓度.这被归因于冷冲击强化了低温适应性更强的 ANAMMOX 菌属在凝胶层内部的物质代谢与增殖过程.因此,R3 包埋颗粒能够在极端低温下继续进行 ANAMMOX 反应,虽然反应速率和增殖速率相比适宜温度显著降低,但相比 R1 和 R2 仍可保持较高水平.

综上所述,冷冲击强化的凝胶 ANAMMOX 颗粒在 12~6℃低温下,表现出较高的脱氮活性和生物量持留能力,这与其内部功能微生物低温适应性的改善以及凝胶材料为微生物增殖提供的稳定微环境和保护作用密切相关.

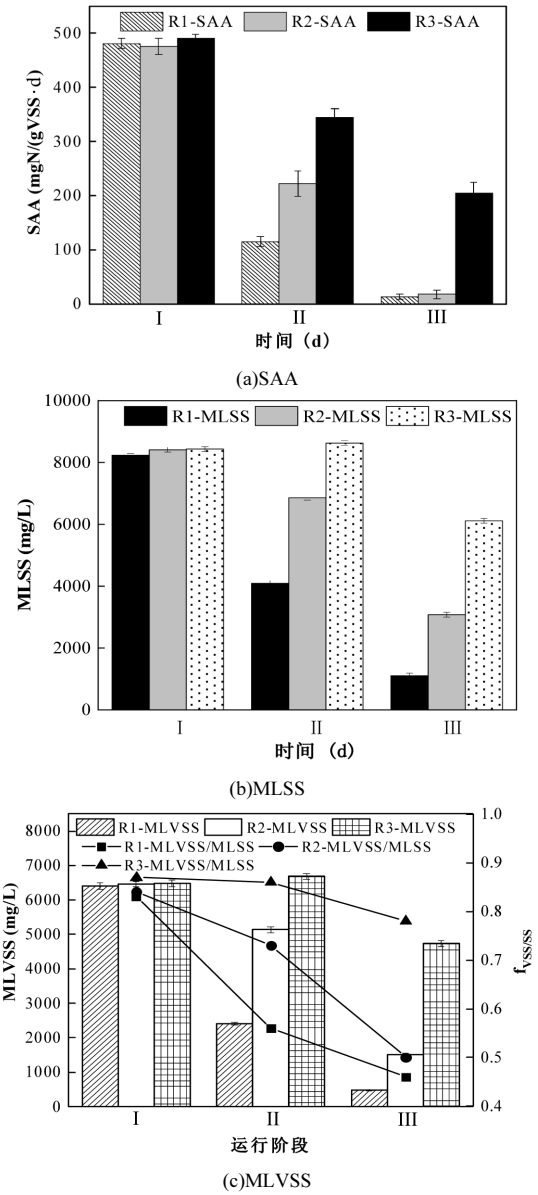


图 3 各运行阶段反应器 R1−R3 污泥 SAA 和生物量浓度变化

Fig.3 Changes in SAA and biomass concentration in reactors R1−R3 at different operational phases

误差限<±5%

2.3 反应器 R1−R3 内 EPS 组成和 PN 二级结构分析

2.3.1 EPS 含量和组成 如图 4 所示,阶段 I,R1~R3 污泥 EPS 中 PN 含量为 71~78mg/gVSS,PS 含量在 43~48mg/gVSS 之间,PN/PS 值在 2.69~2.83 之间.在阶段 I,R1~R3 污泥分泌的 EPS 含量高于适宜温度条件下[7],这是因为运行温度偏低时污泥会在短时间

内释放更多 EPS 以保护微生物在不利温度条件下的活性[7].该阶段,R3 颗粒 EPS 分泌量略低于 R1 和 R2,这与 23℃的低温对 R1 和 R2 内生物 EPS 分泌的刺激作用更强有关.Lin 等人研究表明,瞬时低温或逐步降温等刺激会促进活性污泥 EPS 的分泌,增强生物对不利环境的抵御能力[30].较高含量的 EPS 利于改善污泥自凝聚能力[30-31],这是因为 EPS 中 PN 和 PS 可以作为连接介质,增加微生物细胞之间的相互作用,使污泥颗粒更容易聚集[32].同时,R3 较高的 EPS 分泌量可能意味着其内部微生物对低温环境的响应更为积极[28],通过分泌更多 EPS 来增强自身的保护机制.这也在一定程度上促进了 R3 内污泥的聚集性能,相比 R1 和 R2,其污泥颗粒间的结合更为紧密,利于维持污泥结构的稳定性.

阶段 II,R1 颗粒 EPS 内 PN 含量相比阶段 I 分别大幅提高至 117mg/gVSS,PS 释放量降低至 25mg/gVSS,PN/PS 值随之提高至 4.75.结合阶段 IIR1 污泥严重解体,大量流失的现象,推测运行温度由 23℃下降至 12℃导致 ANAMMOX 污泥 EPS 内 PN 过量释放从而致使颗粒结构松散,解体流失.相关研究表明,ANAMMOX 颗粒 EPS 内 PN 含量显著超出正常范围,导致 PN/PS 值过高,将引起颗粒内部出现空洞,导致污泥松散甚至解体[25].而 R2 颗粒 EPS 内 PN 含量虽然较阶段 I 也明显增加,但明显低于 R1,为 92mg/gVSS(PN/PS 值为 2.85).这说明在 12℃低温下,固定化有利于控制 ANAMMOX 污泥 EPS 内 PN 的过量释放,有助于凝胶材料内部的生物聚集和生物量维持.值得注意的是,该阶段,R3 颗粒 EPS 内 PN 含量则维持正常水平,为 74mg/gVSS,显著低于 R2,PN/PS 值为 2.71.这表明冷冲击结合凝胶固定化技术有助于维持 12℃低温下 EPS 内 PN 的正常释放水平,增强凝胶材料内部污泥结构的稳定性.在低于适宜温度或寒冷的环境中微生物拥有调节 EPS 合成与分泌的潜能,以最大程度降低不利环境带来的损害作用,但是该潜能有时需要外部刺激来激发[30].

阶段 III,随着运行温度降低至 6℃,R1 污泥的 EPS 含量大幅下降至 42mg/gVSS,其中 PN 含量下降至 25mg/gVSS,PS 含量变化不大(28mg/gVSS),PN/PS 值显著降低至 0.89.这是因为 6℃的极端低温环境导致污泥生理代谢受到严重干扰,EPS 分泌功能被破坏,EPS 含量的大幅降低导致 R1 污泥丧失了凝聚能力,因此生物量严重流失.而 R2 颗粒 EPS 和 PN 含量虽然明显高于 R1,但显著低于 R3,分别为 67 和 44mg/gVSS,尽管凝胶层利于生物附着生长和持留,但是过低的运行温度依然对凝胶层内污泥 EPS 合成与分泌产生了明显的不利影响.需要指出的是,该阶段 R3 颗粒的 EPS 和 PN 分泌量高达 83 和 62mg/gVSS,PN/PS 值为 2.95,接近正常水平.该结果表明,冷冲击显著增强了包埋颗粒的 EPS 调节能力,由于冷冲击使得微生物细胞内积累了更多的相容性溶质,这些物质不仅能调节细胞的渗透压,还可能参与了 EPS 合成与分泌的调控过程[7],利于促进生物在极端低温下的生长聚集.这使 R3 颗粒在极端低温下仍能保持良好的污泥聚集性能,保持稳定的生物量,为 ANAMMOX 反应的持续进行提供了有利条件.

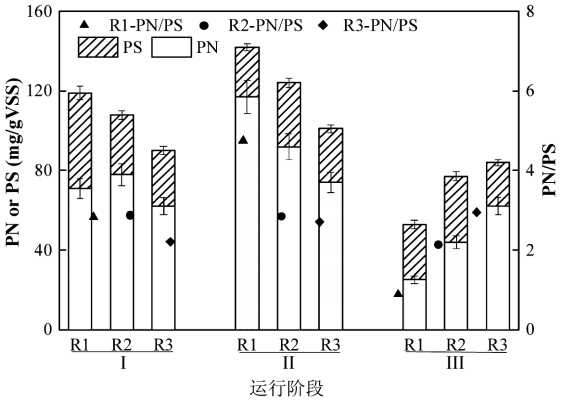


图 4　三组反应器内颗粒不同类型 EPS 含量及组成分析

Fig.4　The contents and composition of different types of EPS in the reactors R1, R2 and R3

误差限<±5%

2.3.2　EPS 二级结构分析　相关研究表明 EPS 中 PN 的二级结构特征显著影响污泥聚集性能[33-34].通过红外光谱(1600~1700cm^{-1})测试对 R1~R3 内颗粒进行了 EPS 中 PN 的酰胺 I 区分析,利用二阶导数解析明确了各反应器内生物 EPS 的 PN 二级结构占比的差异.如表 1 所示,阶段 I,反应器 R1 和 R2 中 PN 二级结构中 α-螺旋(1648~1657cm^{-1}),β-折叠(1630~1640cm^{-1})和无规卷曲(1640~1645cm^{-1})的占比分别为 9.6%,20.3%,15.9%和 9.3%,20.7%,15.5%.可见,R1 和 R2 的 PN 二级结构占比没有明显差异.然而,R3 的 PN 二级结构中 α-螺旋占比较 R1 和 R2 颗粒低 13%~16%,β-折叠和无规卷曲占比之和较 R1 和 R2

颗粒高出 19%左右.R1 污泥和 R2 颗粒 PN 的 α-螺旋/(β-折叠+无规卷曲)的比值均为 0.24~0.26.而 R3 颗粒 PN 的 α-螺旋/(β-折叠+无规卷曲)值则为 0.19.阶段 II 和阶段 III,R3 颗粒的 α-螺旋占比和 α-螺旋/(β-折叠+无规卷曲)值可继续维持在较低水平,分别为 8.9%和 11.1%(阶段 II),0.22 和 0.31(阶段 III).阶段 II 和 III,R3 颗粒的 α-螺旋占比较 R1 和 R2 颗粒低 20%~26%和 26%~30%.阶段 II,R3 内 α-螺旋/(β-折叠+无规卷曲)的比值较 R1 和 R2 内污泥低 24%~37%;阶段 III,较 R1 和 R2 低 38%.α-螺旋/(β-折叠+无规卷曲)比值可用于评估 PN 的结构特性.当 α-螺旋占比较低,β-折叠与无规卷曲占比之和较高时表明 PN 分子结构较松散,因此 PN 内部疏水性官能团易于暴露,从而增强生物表面强疏水性,进一步增强生物凝聚性能[35-36].

表 1 反应器 R1~R3 中 EPS 中蛋白质不同二级结构的占比

Table 1 Proportion of secondary structures of proteins in EPS of reactors R1-R3

阶段	样品	α-螺旋 (1650~1660cm^{-1})	β-折叠 (1618~1640cm^{-1} 和 1670~1690cm^{-1})	无规卷曲 (1640~1650cm^{-1})	α-螺旋/(β-折叠+无规卷曲)
I	R1	9.6%	20.3%	15.9%	0.24
	R2	9.3%	20.7%	15.5%	0.26
	R3	8.1%	23.2%	19.7%	0.19
II	R1	12.1%	19.4%	15.1%	0.35
	R2	11.2%	21.9%	16.9%	0.29
	R3	8.9%	22.2%	18.1%	0.22
III	R1	15.8%	16.3%	13.3%	0.53
	R2	15.1%	16.7%	13.8%	0.50
	R3	11.1%	18.8%	16.6%	0.31

因此,阶段 I-III,R3 包埋颗粒内 PN 较低的 α-螺旋占比和 α-螺旋/(β-折叠+无规卷曲)比值表明反应器 R3 凝胶层内部污泥的聚集能力强于 R1 和 R2 内的污泥.这意味着冷冲击改变了包埋颗粒内污泥 EPS 中蛋白质的二级结构,利于污泥在较低温度下的聚集和污泥稳定结构的保持.随着运行温度降低,R1 和 R2 内污泥的 α-螺旋占比相对增加,使得其 PN 分子结构相对紧密,疏水性官能团不易暴露,生物凝聚性能下降.然而 R3 颗粒通过维持较低的 α-螺旋占比和 α-螺旋/(β-折叠+无规卷曲)比值,保持了良好的聚集性能,能够更好地适应低温环境,保障了 ANAMMOX 反应的稳定进行.该结果说明冷冲击手段改善了包埋颗粒内污泥 EPS 中 PN 的二级结构,使其相对松散,利于污泥在 6~12℃的较低温度下保持良好的聚集性能.

2.4 不同运行阶段反应器 R1~R3 功能菌群演替分析

采用 16S 高通量测序技术解析了重要功能菌群的相对丰度,并绘制了菌属丰度热图.由图 5 可知,阶段 I (第 30d),反应器 R1~R3 内 *Candidatus* Kuenenia 相对丰度均维持在较高水平,分别为 32.8%,35.5%和 36.1%.R1 和 R2 内 *Candidatus Brocadia* 的相对丰度为 2.3%和 2.7%,R3 内 *Candidatus* Brocadia 的相对丰度为 3.2%.但是,当反应器运行至阶段 II(第 60d),R1 内 *Candidatus* Kuenenia 的相对丰度显著下降至 14.9%,同时 *Candidatus* Brocadia 的相对丰度下降至 1.3%.虽然 R2 和 R3 内 *Candidatus* Kuenenia 的相对丰度相比阶段 I 均有所降低;但 R2 和 R3 内 *Candidatus* Kuenenia 的相对丰度分别达 20.6%和 26.7%.此外,R2 内 *Candidatus* Brocadia 的相对丰度增加至 3.3%,而 R3 内 *Candidatus* Brocadia 的相对丰度则大幅提高至 10.3%.阶段 III,随着运行温度进一步降低,R1 内 *Candidatus* Kuenenia 相对丰度急剧下降至 0.7%,并且未检测出 *Candidatus* Brocadia.该阶段,R2 和 R3 内 *Candidatus* Kuenenia 相对丰度分别为 3.6%和 8.3%,显著高于 R1.R2 内 *Candidatus* Brocadia 相对丰度则为 4.1%,值得注意的是,R3 内 *Candidatus* Brocadia 相对丰度高达 22.7%.以上研究结果表明,在运行温度由 23℃下降至 6℃过程中,未包埋的 R1 污泥由于低温的冲击,R1 反应器内原本的优势 ANAMMOX 菌属 *Candidatus* Kuenenia 相对丰度不断下降;对于反应器 R2,由于凝胶材料为生物提供了附着位点且有助于缓冲低温的不利影响,因此相比 R1 有助于维持 *Candidatus* Kuenenia 的丰度,并且利于 *Candidatus* Brocadia 的增长.然而,经过冷冲击强化后,R3 颗粒内 *Candidatus* Kuenenia 的低温适应性被改善;尤其是低温适应性更强的 *Candidatus* Brocadia 的增殖更是被大幅促进.

另外,对比阶段 I~III 反应器 R1~R3 内丰度发生显著变化的其他菌属发现,随着运行温度的降低,R1-R3 内 *Pseudomonas* 和 *Flavobacterium* 菌属的丰度均呈增加趋势.其中,R3 内这两类菌属相对丰度的增加尤为显著,由阶段 I 的 1.5%和 0.9%,增加至阶段 II 的 7.2%和 5.3%,进一步增加至阶段 III 的 6.5%

和 8.4%.这是由于 *Pseudomonas* 和 *Flavobacterium* 菌属包含了相当数量的耐冷或者嗜冷菌[37-38],这些细菌能够在较低的温度下保持较高的增殖速率,附着在凝胶层大量孔状位点表面可以快速富集.但是,*Pseudomonas* 和 *Flavobacterium* 菌属一般为异养菌,需要摄取有机物质才能更好地生长繁殖[37-38].相比 R2,R3 内污泥具有更高的生物活性和生物量,生物代谢及增殖衰亡更替速度更快,因此产生的有机质含量相对较高,利于 *Pseudomonas* 和 *Flavobacterium* 的增殖.需要指出的是,*Pseudomonas* 和 *Flavobacterium* 菌属在极低温环境下可分泌大量 EPS 以形成保护屏障[37-38].此外,ANAMMOX 污泥相比曝气池内活性污泥、缺氧池内反硝化污泥等也可分泌更多的 EPS.据此推断,阶段 II 和 III,R3 包埋颗粒 EPS 含量较高与 ANAMMOX 菌属,*Pseudomonas* 和 *Flavobacterium* 菌属相对丰度较高具有密切关系.

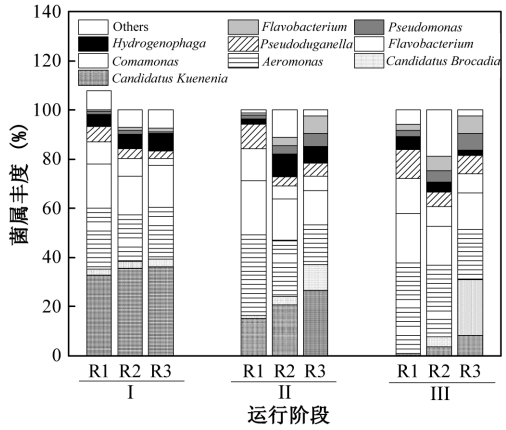


图 5　重要功能菌属的相对丰度

Fig.5　The relative abundances of important functional bacteria at genus level

上述研究结果表明,R3 凝胶颗粒可维持较高 *Candidatus* Brocadia 和 *Candidatus* Kuenenia 菌属的丰度是其在 12 和 6℃下具有较高活性的重要原因;同时 R3 颗粒内 ANAMMOX 菌属和耐冷菌属(*Pseudomonas* 和 *Flavobacterium*)的丰度较高,利于调节颗粒 EPS 的低温分泌,有助于生物凝聚和生物量的维持.Huo 等指出,耐冷菌在低温下通过分泌大量 EPS 形成保护屏障[39],结合 ANAMMOX 菌自身分泌的 EPS,这种双重高浓度 EPS 分泌机制利于减缓低温对细胞膜的损伤,维持颗粒内部水分和营养物质.此外,由于生物代谢与衰亡,较低温度下 R3 反应器内有机质含量有所提高,而耐冷菌 *Pseudomonas* 和 *Flavobacterium* 为异养型细菌,消耗了碳源,从而促进了 ANAMMOX 菌的无机氮素代谢[40].

3　结论

3.1　冷冲击显著提高了 ANAMMOX 包埋颗粒的低温脱氮性能.在 23、12 和 6℃时,冷冲击包埋颗粒(R3)的总无机氮(TIN)去除率分别为 90%~94%、88%~92%和 69%~73%,显著高于未冷冲击包埋颗粒(R2)和未包埋的颗粒污泥(R1).

3.2　R3 颗粒在低温下可保持更高的 SAA 值和生物量浓度是其脱氮效率较高的主要原因.6℃下,R3 的 SAA 值是 R2 的 12 倍;MLVSS 达 4732mg/L.冷冲击强化了包埋颗粒 EPS 调节能力,并且改善了 EPS 中 PN 的二级结构,利于促进极端低温下内部生物聚集生长和生物量持留.

3.3　冷冲击包埋颗粒可维持较高 *Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Kuenenia* 菌属的相对丰度,6℃下其相对丰度分别高达 22.7%和 8.3%.同时颗粒内 ANAMMOX 菌属和耐冷菌属丰度的增加利于 EPS 在极端低温下的分泌,进而增强了生物的自凝聚性能.

参考文献:

[1] Huang D Q, Yang J H, Han N N, et al. Microbial coadaptation drives the dynamic stability of microecology in mainstream and sidestream anammox systems under exposure of progesterone [J]. Water Research, 2025,268:122694.

[2] Guo M L, Jiang Y, Xie J W, et al. Bamboo charcoal addition enhanced the nitrogen removal of anammox granular sludge with COD: performance, physicochemical characteristics and microbial community [J]. Journal of Environmental Sciences, 2022,115:55−64.

[3] Lu H Y, Peng Y Z, Wang J H, et al. Metagenomic insights into nitrite accumulation in sulfur−based denitrification systems utilizing different electron donors: Functional microbial communities and metabolic mechanisms [J]. Water Research, 2025,270:122805.

[4] Mabruk A, Xie J X, Arthur J K, et al. Research advances in anammox granular sludge: a review [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2022,52(5):631−674.

[5] Ding Z X, Wang S K, Zhang J, et al. The effects of graphene on low−temperature anammox process: The insights from short−term tests and long−term operation [J]. Science of the Total Environment, 2024, 949:174658.

[6] Peng L R, Shi R, Tao Y Q, et al. Starting up anammox system with high efficiency nitrogen removal at low temperatures: Performance optimization, sludge characterization and microbial community analysis [J]. Journal of Environmental Management, 2023,325: 116542.

[7] Kouba V, Vejmelkov D, Zwolsman E, et al. Adaptation of anammox bacteria to low temperature via gradual acclimation and cold shocks:

Distinctions in protein expression, membrane composition and activities [J]. Water Research, 2022,209:117822.
[8] He S L, Chen Y, Qin M, et al. Effects of temperature on anammox performance and community structure [J]. Bioresource Technology, 2018,260:186−195.
[9] Li M C, Song Y, Shen W, et al. The performance of an anaerobic ammonium oxidation upflow anaerobic sludge blanket reactor during natural periodic temperature variations [J]. Bioresource Technology, 2019,293:122039.
[10] Zhang C, Li L, Wang Y J, et al. Enhancement of the ANAMMOX bacteria activity and granule stability through pulsed electric field at a lower temperature (16±1°C) [J]. Bioresource Technology, 2019,292: 121960.
[11] Li J, Feng L, Biswal B K, et al. Bioaugmentation of marine anammox bacteria (MAB)−based anaerobic ammonia oxidation by adding Fe(III) in saline wastewater treatment under low temperature [J]. Bioresource Technology, 2020,295:122292.
[12] 李 祥,林 兴,杨朋兵,等.活性污泥厌氧 Fe(Ⅲ)还原氨氧化现象初探 [J]. 环境科学, 2016,37(8):3114−3119.
Li X, Lin X, Yang P B, et al. Study on the phenomenon of ammonia oxidation by anaerobic Fe(III) reduction in activated sludge [J]. Environmental Sciences, 2016,37(8):3114−3119.
[13] 向希一.脉冲电场对厌氧氨化氧氨化脱氨效果的影响 [D]. 沈阳:东北大学, 2021.
Xiang X Y. Effect of pulsed electric field on anaerobic ammonium oxidation and denitrification [D]. Shenyang: Northeastern University, 2021.
[14] Lin X Y, Li B L, Tian M Y, et al. Denitrification effect and strengthening mechanism of SAD/A system at low temperature by gel−immobilization technology [J]. Science of the Total Environment, 2023,900:165599.
[15] Banach−Wiśniewska A, Ćwiertniewicz−Wojciechowska M, Ziembińska−Buczyńska A. Effect of temperature shifts and anammox biomass immobilization on sequencing batch reactor performance and bacterial genes abundance [J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2021,18:1719−1730.
[16] Chen W H, Lin J G, Wei Y L, et al. Mass transfer efficiency inside the polyvinyl alcohol−sodium alginate carriers: kinetic changes of immobilized anammox bacteria [J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2020,95:3126−3133.
[17] Ahmad H A, Ni S Q, Ahmad S, et al. Gel immobilization: A strategy to improve the performance of anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria for nitrogen−rich wastewater Treatment [J]. Bioresource Technology, 2020,313:123642.
[18] Wang X T, Yang H, Su Y, et al. Effect of the form of granular sludge and temperature on anammox immobilized fillers: From performance to microbial community analysis [J]. Science of the Total Environment, 2021,803:149754.
[19] De C P, Bessiere Y, Hernandez−Raquet G, et al. Enrichment and adaptation yield high anammox conversion rates under low temperatures [J]. Bioresource Technology, 2018,250:505−512.
[20] 徐梦洁,张秀梅,胡银春,等.双交联聚乙烯醇/海藻酸钠水凝胶的制备与表征 [J]. 高分子材料科学与工程, 2020,36(4):55−60.
Xu M J, Zhang X M, Hu Y C, et al. Preparation and characterization of double crosslinked polyvinyl alcohol/sodium alginate hydrogel [J]. Polymer materials science and engineering, 2020,36(4):55−60.
[21] Wang J, Fan Y C, Chen Y P. Nitrogen removal performance and characteristics of gel beads immobilized anammox bacteria under different PVA: SA ratios [J]. Water environment research, 2021,93(9): 1627−1639.
[22] Zhang L H, Zhang J, Hu X, et al. Analyzing the nitrogen removal performance and cold adaptation mechanism of immobilized cold−acclimation ANAMMOX granules at low temperatures [J]. Water Environment Research, 2024,96:10985.
[23] Ren T, Zhou Y, Cui X C, et al. Differentiation and quantification of extracellular polymeric substances from microalgae and bacteria in the mixed culture [J]. Water Research, 2024,256:121641.
[24] Wang W G, Yan Y, Zhao Y H, et al. Characterization of stratified EPS and their role in the initial adhesion of anammox consortia [J]. Water Research, 2020,169:115223.
[25] American P H, Association, American W W A, et al. Standard methods for the examination of water and wastewater (23rd ed) [M]. Washington, DC: American Public Health Association, 2017.
[26] Kouba V, Darmal R, Vejmelkova D, et al. Cold shocks of Anammox biofilm stimulate nitrogen removal at low temperatures [J]. Biotechnology Progress, 2017,34(1):277−281.
[27] Xiong Y T, Li S Y, Liu S Y, et al. Enhancing the adaptation of anammox bacteria at low temperature: Alleviating the oxidative damage to anammoxosome membrane by ascorbic acid [J]. Chemical Engineering Journal, 2025,505:159180.
[28] Ya T, Liu J Y, Zhang M L, et al. Metagenomic insights into the symbiotic relationship in anammox consortia at reduced temperature [J]. Water Research, 2022,225:119184.
[29] Seongjoon M, Soojeong H, Juwon J, et al. Temperature Matters: Bacterial Response to Temperature Change [J]. Journal of Microbiology, 2023,61:343−357.
[30] Lin Y T, Wang Y C, Xue Y M, et al. Decoding the influence of low temperature on biofilm development: The hidden roles of c−di−GMP [J]. Science of the Total Environment, 2024,927:172376.
[31] Yuan C Y, Sun F Y, Zhang J J, et al. Low−temperature−resistance granulation of activated sludge and the microbial responses to the granular structural stabilization [J]. Chemosphere, 2023,311:137146.
[32] Sam S B, Ward B J, Niederdorfer R, et al. Elucidating the role of extracellular polymeric substances (EPS) in dewaterability of fecal sludge from onsite sanitation systems, and changes during anaerobic storage [J]. Water Research, 2022,222:118915.
[33] Liu X, Pei Q, Han H, et al. Functional analysis of extracellular polymeric substances (EPS) during the granulation of aerobic sludge: Relationship among EPS, granulation, and nutrient removal [J]. Environmental Research, 2022,208:112692.
[34] Peng T, Wang Y, Wang J, et al. Effect of different forms and components of EPS on sludge aggregation during granulation process of aerobic granular sludge [J]. Chemosphere, 2022,303:135116.
[35] Ou Z X, Chen X D, Wu X M, et al. N−acyl homoserine lactone mediating initial adhesion of microalgal biofilm formation [J]. Environmental Research, 2023,233:116446.
[36] Wang J Y, Zhao B, An Q, et al. The acceleration of aerobic sludge granulation by alternating organic loading rate: Performance and mechanism [J]. Journal of Environmental Management, 2023,347: 119047.
[37] Liu S, Li H, Wang Y Z. Research on microbial community structure and treatment of dye wastewater with the enhancement of activated sludge by magnetic field at low temperature [J]. RSC Advances, 2023, 13:16471−16479.
[38] Brenes M, De L S B, Aguado A, et al. Assessment of the antimicrobial and fertilizing activity of table olive concentrated waste streams during their shelf life [J]. Waste Biomass Valor, 2022,13:2083−2093.
[39] Huo T R, Zhao Y P, Tang X, et al. Metabolic acclimation of anammox consortia to decreased temperature [J]. Environment International, 2020,143:105915.
[40] Bhatia R K, Ullah S, Hoque M Z, et al. Psychrophiles: a source of cold−adapted enzymes for energy efficient biotechnological industrial processes [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2021,9:104607.

作者简介: 吴文婧(2004−),女,福建泉州人,学士,主要研究方向为污水生物脱氮技术领域.发表论文 1 篇.1257991735@qq.com.