隆 静,解朝雯,汤皓婷,等.弱酸条件下基于 FNA 抑制的颗粒污泥亚硝化工艺效能研究 [J]. 中国环境科学, 2025,45(11):6128-6136.
Long J, Xie C W, Tang H T, et al. Performance of granular sludge-based nitritation with FNA inhibition under weakly acidic conditions [J]. China Environmental Science, 2025,45(11):6128-6136.

弱酸条件下基于 FNA 抑制的颗粒污泥亚硝化工艺效能研究

隆 静[1],解朝雯[1],汤皓婷[1],李明骏[1],刘文如[1,2*] (1.苏州科技大学环境科学与工程学院,江苏 苏州 215009；2.城市生活污水资源化利用技术国家地方联合工程实验室,江苏省水处理技术与材料协同创新中心,江苏 苏州 215009)

摘要: 采用气提式内循环反应器,在连续流反应器内接种实验室培养的全硝化颗粒污泥,在长期运行中使用基于 pH 2.5 形成的 FNA(游离亚硝酸)抑制浓度为 150mg/L 的抑制策略,探究弱酸条件下超高浓度 FNA 抑制对颗粒污泥亚硝化的影响.结果表明,该抑制策略对好氧氨氧化菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NOB)均抑制强烈,但 AOB 有着强于 NOB 的恢复能力,使得颗粒污泥反应器中亚硝化在 1d 内成功启动;稳定运行过程中氨氮去除负荷(ARR)达到 0.2~0.5kg/(m³·d),亚硝酸盐积累率(NAE)达到 100%.然而,颗粒污泥亚硝化工艺长期运行过程中呈现出周期性恶化规律,需要定期重复实施该抑制策略.弱酸条件下颗粒污泥胞外聚合物分泌逐渐减少,颗粒污泥结构不断恶化.高通量测序结果显示,整个实验过程中颗粒污泥内 AOB 始终以 *Nitrosomonas* 属为主导,NOB 菌属 *Candidatus_Nitrotoga* 的相对丰度从 5.2%降低至约 0%.

关键词: 好氧颗粒污泥；连续流反应器；亚硝化；FNA 抑制；*Nitrosomonas*
中图分类号: X703 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2025)11-6128-09

Performance of granular sludge-based nitritation with FNA inhibition under weakly acidic conditions. LONG Jing[1], XIE Chao-wen[1], TANG Hao-ting[1], LI Ming-jun[1], LIU Wen-ru[1,2*] (1.School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China；2.Jiangsu Collaborative Innovation Center of Technology and Material of Water Treatment, National and Local Joint Engineering Laboratory of Municipal Sewage Resource Utilization Technology, Suzhou 215009, China). *China Environmental Science*, 2025,45(11)：6128~6136

Abstract: An airlift internal circulation reactor was used, and laboratory-cultivated full-nitrification granular sludge was inoculated into a continuous-flow reactor. During long-term operation, a suppression strategy based on a free nitrous acid (FNA) concentration of 150mg/L formed at pH 2.5 was applied to investigate the impact of high FNA concentrations under weak acid conditions on the nitritation of granular sludge. The results showed that this suppression strategy strongly inhibited both aerobic ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and nitrite-oxidizing bacteria (NOB), but AOB exhibited a greater recovery capacity than NOB, enabling the successful initiation of nitritation in the granular sludge reactor within one day. During stable operation, the ammonium removal rate (ARR) reached 0.2~0.5kg/(m^3·d), and the nitrite accumulation efficiency (NAE) reached 100%. However, the granular sludge nitritation process exhibited a cyclical deterioration pattern during long-term operation, necessitating periodic repetition of the suppression strategy. Under weak acid conditions, the secretion of extracellular polymeric substances from granular sludge gradually decreased, leading to the continuous deterioration of its structure. High-throughput sequencing results indicated that throughout the duration of the experiment, the *Nitrosomonas* genus consistently dominated the AOB community in the granular sludge, while the relative abundance of the NOB genus *Candidatus_Nitrotoga* decreased from 5.2% to approximately 0%.

Key words: aerobic granular sludge；continuous flow reactor；nitritation；FNA inhibition；*Nitrosomonas*

与传统的硝化-反硝化过程相比,采用短程硝化反硝化、部分硝化(即亚硝化)-反硝化和部分硝化-厌氧氨氧化(anammox)等新型生物技术,更节能高效且符合可持续发展的目标.这些高效的生物脱氮过程的实现依赖于强有力的亚硝化过程,使氨氧化细菌(AOB)得以富集,并对亚硝酸盐氧化细菌(NOB)进行选择性抑制.迄今为止,已有大量研究通过各种策略来探究有效的 NOB 抑制策略.这些控制策略包括间歇曝气[1]、低溶解氧(DO)[2]、短污泥停留时间(SRT)[3-4]、好氧饥饿[5]、游离氨(FA)、游离亚硝酸(FNA)[6]以及硫化物抑制[7]等方法.这些策略可单独应用,也可以与其他方法结合使用.然而,由于 NOB

收稿日期: 2025-04-14
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52470090);江苏省研究生实践创新计划项目(SJCX23_1706)
* 责任作者, 副教授, liuwenru1987@126.com

的适应性或缺乏经济吸引力,这些控制策略仍存在争议.

微生物好氧氨氧化(NH_4^++1.5O_2→NO_2^-+2H^++H_2O)的过程会产生亚硝酸盐和质子,在处理碱度有限的废水时(如厌氧消化废水、渗滤液和尿液),需要添加大量的碱度以维持中性或弱碱性环境.采用酸性硝化不仅可以显著降低碱度投加的成本[8],而且有利于原位形成高浓度游离亚硝酸 FNA (NO_2^-+H^+→HNO_2)[9-10].高浓度的 FNA 能够显著抑制 NOB 活性,从而促进亚硝化的实现[11].此外,与中性和碱性条件下的亚硝化相比,酸性亚硝化能够减少温室气体 N_2O 的排放[12].

目前,几乎所有关于酸性硝化的研究都集中于絮状和生物膜系统.好氧颗粒污泥(AGS)因其致密的结构、强大的抗冲击能力和良好的沉降性能,而被认为是一种非常有前景的生物废水处理技术[13].本课题组前期的研究表明,在弱酸性条件(pH 5.5~6)下,AGS 可以实现高效亚硝酸盐的积累,系统内原位形成的 FNA 浓度超过了 1mg/L.此外,利用颗粒污泥中硝化细菌的分层结构,并控制较低的 DO(即 1.5mg/L),使得亚硝酸盐累积率(NAE)进一步提升超过了 95%.然而,在未原位形成足够的初始 FNA 以有效抑制 NOB 的颗粒污泥系统中,即使控制低 DO 也无法成功启动亚硝酸盐积累.为探究启动亚硝酸盐积累所需的初始 FNA 抑制浓度,本文开展了大量的批次实验.结果表明,基于 pH 2.5 结合 NO_2^--N 形成的超高 FNA 浓度(150mg/L)可以有效抑制 NOB 从而实现高效的亚硝酸盐积累.然而,该抑制策略在连续运行的弱酸性颗粒污泥反应器中的有效性有待验证.因此,本研究旨在探究该策略在连续运行的弱酸性颗粒污泥反应器中的长期有效性.

1　材料与方法

1.1　实验装置及运行条件

使用有效高度和有效体积分别为 17cm 和 1L,上升流区与下降流区的横截面积比为 1:1 的气提式内循环反应器,在上升流区的底部配备了一个与外部气体流量计和空气泵连接的曝气砂头,流量计用于调节供气量和溶解氧(DO)浓度,反应器示意图参见本文前期研究[14].整个实验过程中,进水氨氮浓度始终保持在 130~150mg/L 左右,水力停留时间(HRT)根据运行中的 pH 值有所变化,颗粒污泥的生长环境温度控制在 25~26℃.

1.2　FNA 抑制实施方法

根据 FNA 与亚硝酸盐、pH 值的平衡关系[15],当 pH 值调节至 2.5 时,NO_2^--N 浓度达到 50mg/L 时,FNA 浓度可以形成 150mg/L 的超高 FNA.具体操作步骤如下:首先,停止反应器的进水,并向反应器中加入 $NaNO_2$,以使反应器中的 NO_2^--N 浓度达到约 50mg/L.然后,通过滴加 0.1mol/L 的稀 HCl 溶液,调节反应器中的 pH 值至 2.5,使 FNA 浓度达到 150mg/L.抑制作用 0.5h 后,恢复反应器的进水.

1.3　接种污泥与模拟废水

接种污泥来自实验室培养的结构紧密、形状规则的全硝化颗粒污泥,接种后的污泥浓度为 3.09g VSS /L.由于实验后期污泥量减少,在第 89d 重新投加颗粒污泥后,浓度提高至 3.30g VSS/L.使用人工配制的无机含氨氮废水作为进水,氯化铵(NH_4Cl)为唯一氮源,自养微生物生长所需无机碳源以 $NaHCO_3$ 的形式提供,微量元素溶液的具体组成见参考文献[16].

1.4　化学分析

每天采集水样后按标准方法测定 NH_4^+-N、NO_2^--N 和 NO_3^--N 的浓度,污泥浓度(MLSS、MLVSS)及污泥沉降比(SV)、污泥容积指数(SVI)也按照标准方法测定[17].使用梅特勒便携式 pH 计和哈希便携式溶解氧测定仪对运行过程中的 pH 值、DO 以及温度进行测定.污泥形态主要借助荧光倒置显微镜 IX73 进行观察分析.

1.5　批次实验

通过原位批次实验评估好氧颗粒的比氨氧化速率(SAOR)和比亚硝酸盐氧化速率(SNPR)[18].配制一定量氨氮浓度为 50mg/L 左右的模拟废水,并通过 $NaHCO_3$ 和 HCl 调整 pH 值与现阶段反应器内 pH 值环境一致,将反应器内污泥异位润洗 3 次后停止反应器连续运行,保持 DO 浓度、温度与反应器连续运行时一致,间隔一定时间后连续取样(不少于 5 个),测定氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮浓度,在每次实验结束后测量污泥的挥发性悬浮固体浓度(VSS),并根据氨氮下降曲线和硝态氮增加曲线的斜率来确定微生物氨氧化和亚硝酸盐氧化的能力.

1.6 胞外聚合物(EPS)提取与表征

溶解性 EPS(S-EPS)、松散结合 EPS(LB-EPS)和紧密结合 EPS(TB-EPS)均按照改进的加热法提取并定量[19],总污泥 EPS 为这 3 种 EPS 的总和.提取的 EPS 随后通过三维荧光激发-发射矩阵(3D-EEM)光谱法进行表征,以识别 EPS 中的荧光化合物[20].使用荧光分光光度计测试时,以 5nm 为间隔,在激发波长为 200~550nm 的扫描范围对稀释后的样品进行扫描,并在 200~550nm 的范围内每隔 5nm 采集发射光谱,激发和发射狭缝带宽均设置为 5nm.

1.7 微生物群落分析

污泥样本存放在-20℃冰箱中直到分析.DNA 使用 FastDNA® SPIN Kit(QBIOgene Inc., Carlsbad, CA,USA)根据说明书提取,并通过琼脂糖凝胶电泳检查其质量.采用引物 338F 和 806R 对细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域进行扩增,扩增程序按照之前研究中描述的 PCR 扩增程序进行[21].然后使用 Illumina MiSeq PE300 平台(上海美吉生物医药科技有限公司)进行测序.通过 MOTHUR 程序将获得的高质量序列以 97%相似度水平聚类为操作性分类单元(OTUs),然后计算 Simpson 指数和 Chao 1 指数等,以评估细菌的多样性.

2 结果与讨论

2.1 反应器运行性能

第一阶段(0~19d),颗粒污泥接种后在弱酸性条件下(pH 5.4 左右)运行,水力停留时间(HRT)为 3.8h,进水负荷(NLR)为(0.84±0.1) kg/(m^3·d).本阶段氨氮去除负荷(ARR)和去除率(ARE)分别为(0.75±0.06) kg/(m^3·d)和 88.8%(图 1(c)).尽管此时系统内 pH 值低至 5.4,但 FNA 浓度远低于 0.1mg/L,氨氧化产生的 NO_2^-几乎全部被 NOB 氧化为硝态氮(图 1).

第二阶段(20~59d),初步探究超高浓度 FNA 抑制策略对颗粒污泥亚硝化的影响.在反应器运行的第 20d 实施第一次超高浓度 FNA 抑制,这对 AOB 和 NOB 均产生了显著抑制作用.第 21d 时,进水负荷为 0.87kg/(m^3·d),但 ARR 仅为 0.08kg/(m^3·d),此时反应器内 pH 值迅速升高至 8.1(图 1(a)).尽管氨氧化产生的亚硝酸盐浓度仅为 10.4mg/L,但由于系统内剩余氨氮浓度较高,游离氨(FA)浓度高达 11.6mg/L(图 1(d)),这导致 NOB 受到强烈抑制[22],颗粒污泥系统内亚硝酸盐积累成功启动,亚硝酸盐积累率(NAE)达到了 89.8%.随后,为保证颗粒污泥处于弱酸性环境,将 HRT 延长至 5.0h,则进水负荷降低为 0.6kg/(m^3·d).随着 AOB 活性逐渐恢复,剩余氨氮迅速减少,FA 浓度则降低至 1mg/L 以下,而原位形成的 FNA 浓度逐渐升高.第 23d 时,AOB 活性基本恢复正常,ARR 增至 0.46kg/(m^3·d),pH 值降至 6.4,NAE 达到 100%.此后,pH 值继续降低至 6.1,NAE 保持在较高水平,FNA 浓度稳定维持在约 0.4mg/L.直到第 32d 起,硝态氮产生并且浓度迅速增加,亚硝酸盐积累开始崩溃,第 36d 时 NAE 仅为 19.7%(图 1(b),(c)).在第 37d 实施第二次抑制,抑制后的变化过程与第一次抑制相似,亚硝酸盐积累也呈现出周期性恶化.

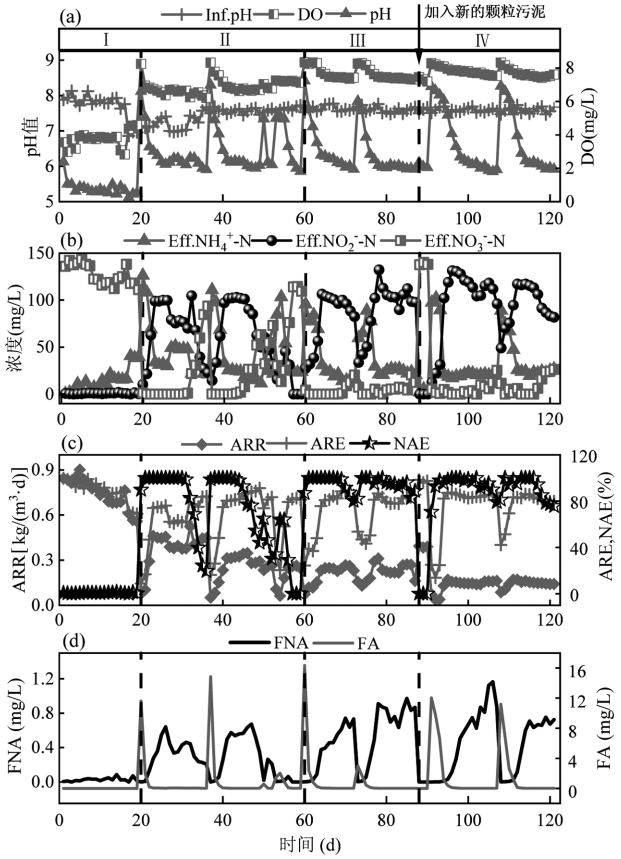


图 1 反应器运行性能

Fig.1 Reactor operating performance

经过 2 次超高浓度 FNA 抑制,可观察到由极低 pH 值(2.5)形成的超高 FNA 对 AOB 和 NOB 均会产生强烈抑制作用,尽管 AOB 对酸性环境敏感,其活性在极低 pH 值下会被完全抑制,H^+从胞内向外的运输受阻,但这仅阻碍氨氧化过程[23].随着反应器运

行,AOB 活性迅速恢复,而 NOB 的恢复需要 10d 左右的时间,此时,NAE 可以稳定在 90%以上,约维持 14d 左右(图 1(c)).然而,一旦系统内硝酸盐氮开始生成,亚硝酸盐积累便会迅速崩溃.在长期运行中,NOB 对不利环境或胁迫因素会表现出不同的抵抗能力,菌属可能会发生变化以适应环境条件[24-25],这会导致 NOB 抑制失败.

第三阶段(60~87d),采用超高浓度 FNA 周期性抑制策略,当 NAE 降低至 80%时,开始实施下一次抑制,从而确保 NOB 长期处于受抑制状态,颗粒污泥系统中维持稳定的亚硝酸盐积累率.第 60d 起,HRT 延长至 10.5h,进水负荷降至 0.29kg/(m^3·d).在 AOB 活性恢复后,反应器内 pH 值逐渐降低至 5.9,ARR 和 ARE 分别维持在(0.24±0.05) kg/(m^3·d)和(82.7%±0.8%),原位形成的 FNA 浓度为(0.65±0.09) mg/L,同时 NAE 稳定维持在 80%以上(图 1(c),(d)).

第四阶段(88~121d),由于污泥量过低,在第 89d 向反应器内投加了部分颗粒污泥,并在酸性条件下适应 3d.第 91~121d 内进行了 2 次超高浓度 FNA 抑制,HRT 进一步延长至 18.0h,进水负荷降至约 0.18kg/(m^3·d).在 AOB 活性恢复正常后,反应器内 pH 值也逐渐降低至 5.9(图 1(a)),ARR 和 ARE 分别维持在 (0.15±0.01) kg/(m^3·d) 和 (83.7%±0.9%)(图 1(c)),FNA 浓度约为 0.60mg/L,NAE 也一直稳定维持在 80%以上,此阶段的结果与第三阶段相似.

2.2　污泥的硝化活性

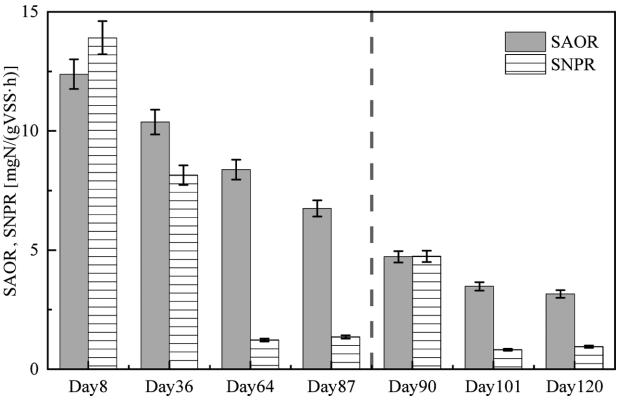


图 2　颗粒污泥活性变化

Fig.2　Changes in granular sludge activity

比氨氧化速率(SAOR)、比硝酸盐氮生成速率(SNPR)

在极低 pH 值条件下形成的超高浓度 FNA 抑制后,待反应器性能稳定后测定污泥的活性,原位批次结果如图 2 所示.颗粒污泥在超高浓度 FNA 抑制下连续运行,AOB 活性受到显著抑制,SAOR 从接种时的 12.38mg/(gVSS·h)逐渐下降至第 87d 的 6.75mg/(gVSS·h).第 89d 投加新泥后,SAOR 也呈现相同的变化趋势,从第 90d 的 4.72mg/(gVSS·h)下降至第 120d 的 3.16mg/(gVSS·h).超高浓度 FNA 抑制策略有效抑制了 NOB,SNOR 从第 8d 的 13.91mg/(gVSS·h)迅速下降至第 64d 的 1.23mg/(gVSS·h)后趋于稳定.重新投加颗粒后,第 101d 的 SNOR 也降低至 0.82mg/(gVSS·h)后保持稳定.超高浓度 FNA 对 AOB 和 NOB 均会产生强烈抑制,但氨氧化速率始终高于硝态氮生成速率,表明 NOB 受抑制程度更为显著,从而实现了高效的亚硝酸盐积累.

2.3　污泥的物理化学性质

在超高浓度 FNA 抑制条件下,颗粒污泥在运行过程中的形态变化如图 3 所示.接种污泥呈球形或椭球形,结构较为紧密,颗粒边缘附着有松散的絮体污泥(图 3(a1)).在第 23~83d 期间,污泥颜色逐渐变浅,颗粒变小,颗粒之间的界限变模糊,这可能是由于酸性条件和超高浓度 FNA 的抑制作用导致活性较差的细菌被冲刷出去(图 3(a2)~(a4)).由于后期污泥量显著减少,至第 89d,反应器内再次投加了部分颗粒污泥(图 3(a5)),并在酸性条件下运行了 3d 后实施超高浓度 FNA 抑制.一个月后,污泥颜色变浅,但颗粒之间界限仍保持清晰,结构较为稳定(图 3(a6)).总体而言,本研究表明超高浓度 FNA 抑制会导致颗粒污泥在长期运行中形态发生恶化.以往的研究也指出,颗粒污泥在长期运行中存在破碎风险,即使是富集了硝化细菌的硝化颗粒污泥也未能避免颗粒解体的情况[26-27].

通过测定 SVI_3 和 SVI_{30} 来评估颗粒污泥的沉降性能(图 3(b)).在第 1~89d 内,SV_3(从 23%下降至 10%以下)和 MLSS (从 4.0g/L 降至 1.5g/L)均呈现下降趋势,SVI_3 和 SVI_{30} 的比值从最初的 1.06 逐渐接近 1.0(图 3(b)),表明整个实验过程中颗粒污泥维持了较好的沉降性能.随着实验进行,超高浓度 FNA 的抑制作用导致部分结构松散的颗粒被排出,进而导致污泥量减少.因此,在第 89d 向反应器内新投加了部分颗粒污泥,使 MLSS 回升至 2.8g/L.运行至第 120d 时,SV_3 从 20%降低至 14%,MLSS 从 2.8g/L 降低至 1.9g/L,变化趋势与前 88d 一致.

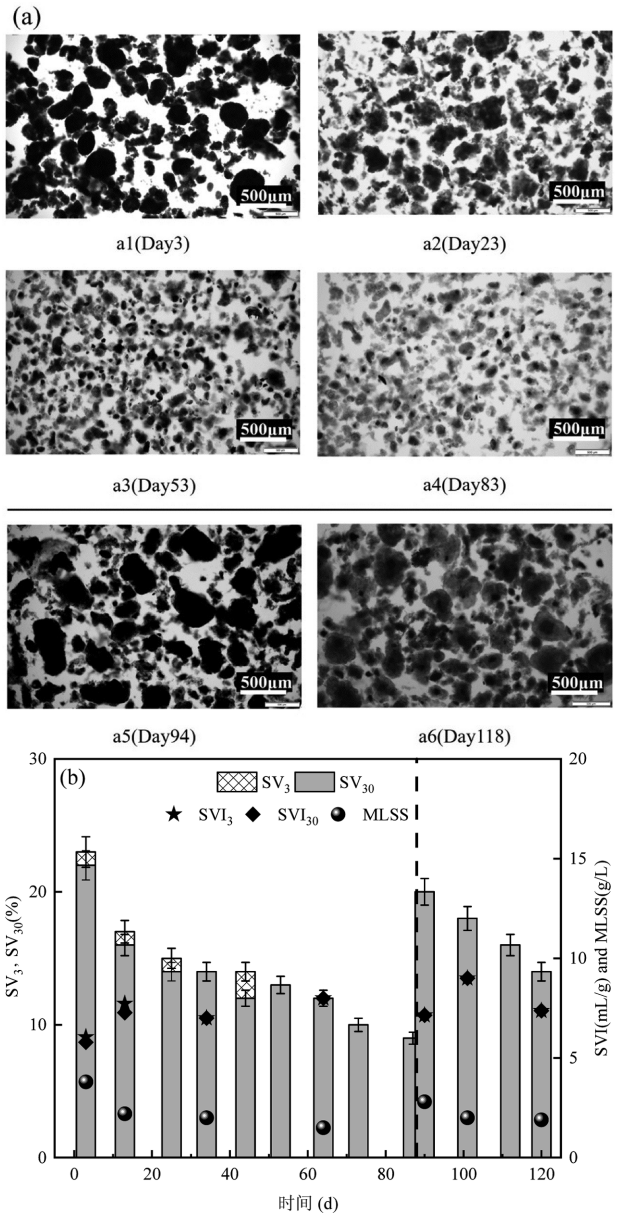


图 3 颗粒污泥形态及沉降性能变化

Fig.3 Changes in the morphology and settling characteristics of granular sludge

(a)在运行第 3, 23, 53, 83, 94, 118d 采集的颗粒样品表面的显微镜图像; (b)污泥沉降比(SV)、污泥容积指数(SVI)及污泥浓度(MLSS)

2.4 污泥中 EPS 含量变化

EPS 是维持颗粒污泥稳定性的关键物质[28],主要由蛋白质(PN)和多糖(PS)组成,此外还含有少量的核酸、腐殖酸、氨基酸等有机成分.颗粒污泥在超高浓度 FNA 抑制下 EPS 含量的变化如图 4 所示.与接种污泥相比,各层 EPS 和 PN 的含量均显著下降,其中 TB-EPS 始终占据各层 EPS 中最高的比例,且 PN 在 EPS 的组成中占主导地位.这一结果与以往的研究一致,表明 TB-EPS 和 PN 在微生物聚集、颗粒化及颗粒污泥稳定性中发挥着重要作用[29-30].在运行过程中,TB-EPS 和 PN 含量显著下降(图 4(a)),这些原始 EPS 可能已被微生物作为能量源消耗.此外,超高 FNA 抑制使得微生物的 EPS 合成代谢速率减缓,从而导致 EPS 的总量显著减少.尽管 TB-EPS 和 PN 的下降未导致颗粒结构完全破坏,但由于 PS 含量相对稳定,这使得 PN/PS 显著降低(图 4(b)),较低的 PN/PS,而非 PN 含量本身,在维持颗粒污泥稳定性方面起到了关键作用[28,31].然而,在第 89d 新投加颗粒后,随着反应器运行,PN 含量从 100.7mg/g 下降至 21.3mg/g,同时 PS 含量从 19.8mg/g 下降至 1.0mg/g (图 4(b)),这一变化可能与新加入的颗粒污泥在酸性条件下适应时间较短有关,部分微生物未能适应酸性和高浓度 FNA 抑制,从而导致 EPS 含量减少,PS 含量本身较低且逐渐减少,PN/PS 比值增大,致使颗粒污泥形态变得松散.

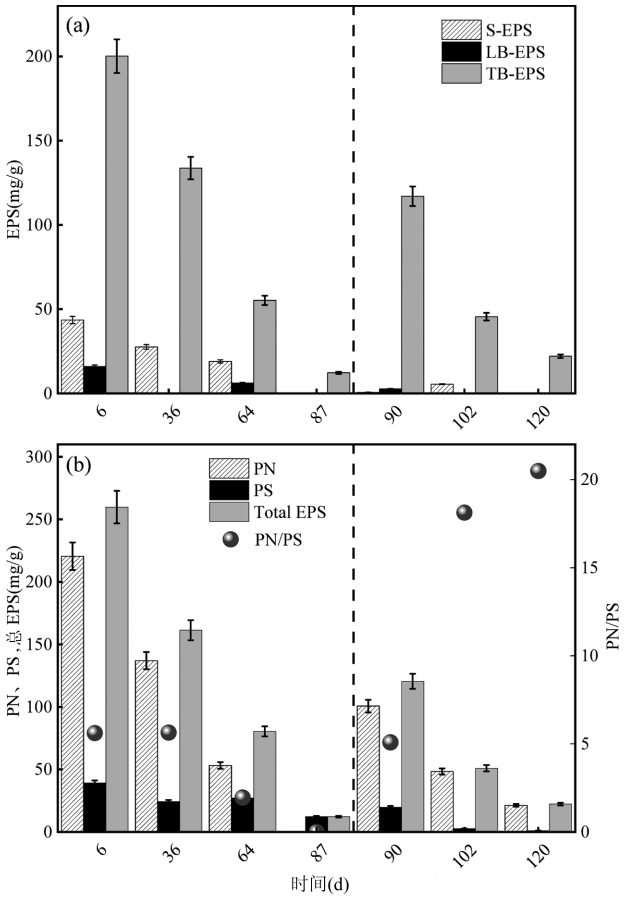


图 4 颗粒污泥中 EPS 含量变化

Fig.4 Changes in EPS content in granular sludge

可溶性 EPS(S-EPS)、松散结合 EPS(LB-EPS)及紧密结合 EPS(TB-EPS)

对提取的 TB-EPS 进行 3D-EEM 荧光光谱分析

后发现,颗粒污泥中 EPS 的荧光类物质成分和结构发生了变化,结果如图 5 所示.可溶性有机化合物和芳香族蛋白质在 TB-EPS 中占据重要部分,芳香族蛋白质为 EPS 中蛋白质的主要成分,主要包括色氨酸和酪氨酸类蛋白[32].在运行的第 6d,观察到 3 个特征峰(图 5(a)),分别对应色氨酸类物质(峰 A, *E*x/*E*m=250~300/290~380nm)、聚羧酸盐型腐殖酸类物质(峰 C, *E*x/*E*m = 340/430nm)和多环芳族腐植酸类物质(峰 D, *E*x/*E*m=280/430nm)[33-35]随着超高浓度 FNA 抑制,运行至第 36d,峰 A 的荧光强度明显降低,峰 C 和峰 D 消失,同时出现了 2 个新的特征峰,分别是多糖(峰 E, *E*x/*E*m=310/390nm)和黄腐酸类物质(峰 F, *E*x/*E*m=220~240/410~450nm) (图 5(b)).到第 87d 时,峰 A 的荧光强度略微减弱,而峰 E 和峰 F 显著减弱甚至消失(图 5(c),(d)).在新投加颗粒污泥后,第 90d 出现了峰 A 和峰 C(图 5(e))但在超高 FNA 抑制下运行至第 120d 时,峰 A 荧光强度显著减弱,峰 C 也显著降低后消失(图 5(f),(g)).在整个运行过程中,大多数颗粒污泥在运行后期形态变差,但仍有部分颗粒污泥保持稳定结构,这可能与色氨酸类物质持续存在有关,色氨酸作为疏水性蛋白质,对于维持颗粒污泥结构具有重要作用.

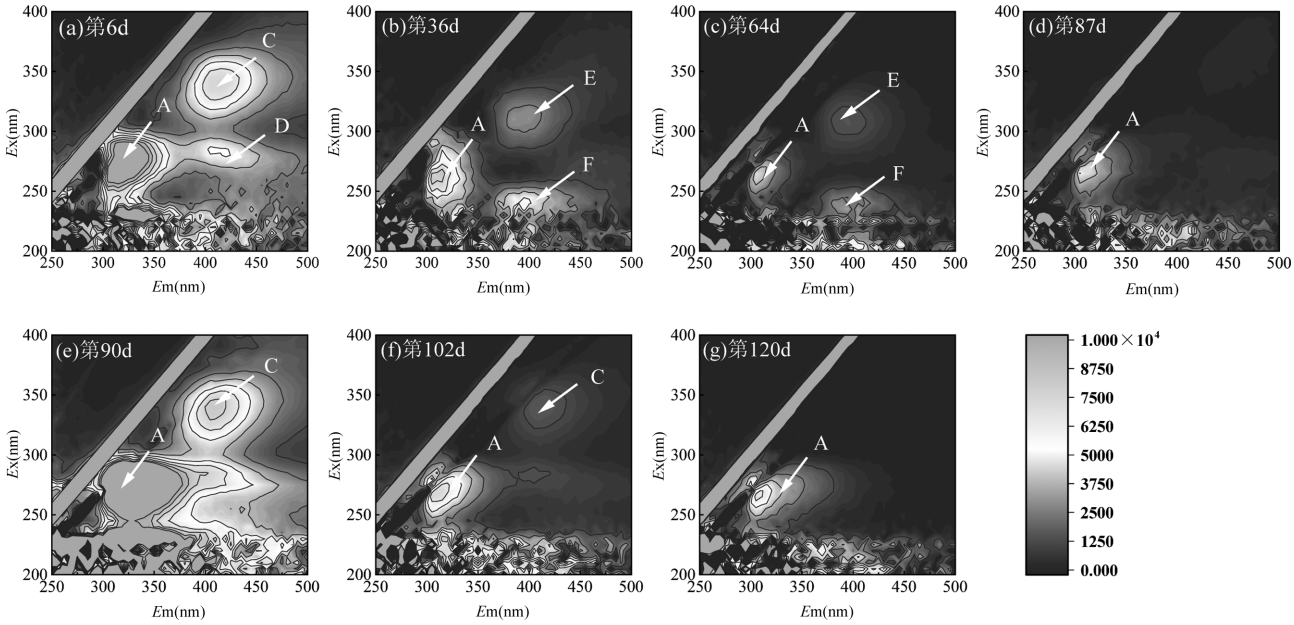


图 5　TB-EPS 的 3D-EEM 光谱分析

Fig.5　3D-EEM spectral analysis of TB-EPS

2.5　微生物群落结构分析

微生物样品采集自反应器长期运行中各阶段达到稳定状态后的时间段,通过高通量 16S rRNA 基因测序分析了运行过程中微生物群落的动态变化,Good's Coverage 超过 99%(表 1).结果表明,在弱酸条件下超高浓度 FNA 抑制下,微生物的丰富度和多样性显著下降.具体表现为,Chao1 指数从初始的 500.6 下降至第 87d 的 280.3;同样,作为微生物多样性指标的 Shannon 指数也从 4.20 下降至 2.98.然而,在投加新泥后,微生物多样性指数出现了显著下降后回升的趋势,这表明生物量得到补充后,部分微生物可能会逐渐适应超高浓度 FNA 抑制.

微生物在门水平上的相对丰度变化如图 6(a)所示. Pseudomonadota(原变形菌门 Proteobacteria)、Bacteroidota(拟杆菌门)和 Chloroflexota(绿弯菌门)在污泥接种时占主导地位,这与先前关于硝化颗粒污泥系统的研究结果一致[26,36].在第 41d 时,经过 2 次超高浓度 FNA 抑制处理,Bacteroidota 和 Chloroflexota 的丰度显著下降,甚至完全消失.与此同时,Pseudomonadota 和 Bacillota(厚壁菌门)成为系统中占主导地位的微生物,且直到第 87d,其丰度保持稳定.Pseudomonadota(约 40%)在整个实验过程中一直占据主导地位,而厚壁菌门对恶劣环境具有良好的抗力[37],在超高浓度 FNA 抑制后丰度从接种时的 0.8%迅速增加至 45%.这表明,Pseudomonadota 和 Bacillota 在弱酸性颗粒污泥的亚硝化过程中发挥了

重要作用.随后,投加新的颗粒污泥后,微生物群落结构在超高 FNA 抑制下呈现出相似的变化趋势.

表 1 微生物群落的丰富度和多样性

Table 1 Microbial community richness and diversity

样品时间	Chao 1	Simpson	shannon	ace	sobs	Coverage
接种污泥	500.6	0.031	4.20	508.91	483	0.9989
Day 41	360.3	0.123	3.14	351.39	310	0.9987
Day 87	280.3	0.152	2.98	281.88	240	0.9989
投加新泥	457.1	0.046	3.85	469.01	400	0.9982
Day 102	299.1	0.108	3.18	311.29	268	0.9988
Day 121	329.2	0.118	3.04	346.44	272	0.9984

属水平上的微生物相对丰度变化如图 6(b)所示.*Mesobacillus* (芽孢杆菌)属于厚壁菌门,其丰度在第 41d 时与厚壁菌门丰度变化一致,超高浓度 FNA 抑制后迅速增加至 30%,成为本研究中的优势菌属.与此同时,*Thermomonas* 、*Chitinophagaceae* 和 *Flavobacterium* 的丰度也在超高 FNA 抑制后大幅度增加(图 6(b)),这可能与它们较高的 EPS 分泌潜力有关[38-39].EPS 分泌能够增强菌体在环境压力(如高盐、冲击负荷)下的存活率,维持颗粒污泥的生物量和结构稳定性.然而,随着超高 FNA 周期性抑制,到第 87d 时,这些微生物的丰度明显降低,这与反应器运行后期生物量较低有关.在属水平上检测到了 3 种常见的硝化细菌:亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)、硝化螺旋菌(*Nitrospira*)和 *Candidatus_Nitrotoga*(图 6(c)).*Nitrosomonas* 属于变形菌门,在超高 FNA 抑制后,相对丰度从接种污泥时的 6.7%下降至第 41d 的 1.2%,但在超高浓度 FNA 周期性抑制下,其丰度逐渐回升至第 87d 的 2.64%,这表明 *Nitrosomonas* 对超高浓度 FNA 环境具有适应性,这种适应现象在先前的研究中已有报道[40-41].在整个实验过程中,AOB 属始终以 *Nitrosomonas* 主导,确保了颗粒污泥反应器稳定运行过程中氨氮去除负荷为 0.2~0.5kg/(m^3·d),且其较快的恢复能力驱动了亚硝化的实现.*Candidatus_Nitrotoga* 是本研究中主要的 NOB 属,超高浓度 FNA 抑制实施后,其相对丰度从接种时 5.2%迅速降低至 0%,并保持至第 87d.尽管 NOB 属在第 47d 后丰度为 0%,但亚硝化过程在反应器运行中呈现周期性恶化,这可能与其他含有亚硝酸盐氧化还原酶(*nxr*)的细菌有关.研究表明,硝酸盐的产生不仅依赖专性的 NOB,还与其他含有 *nxr* 的细菌有关[42].*Comamonas* 属于 Commonadaceae 科,含有 *nxr A* 酶[43].在超高浓度 FNA 抑制后,*Comamonas* 的丰度从接种时的 0.1%增加至第 41d 的 2.8%,并持续增加至第 87d 的 4.0%.

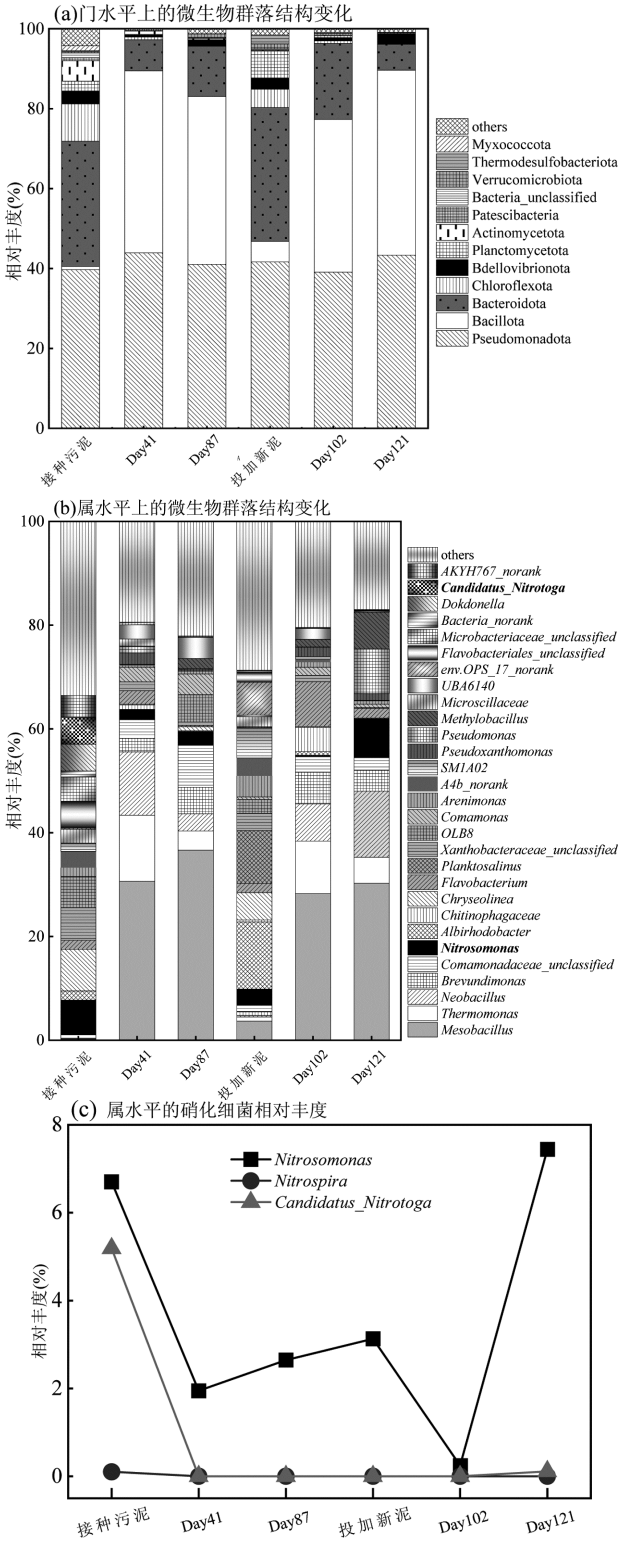


图 6 微生物群落结构变化

Fig.6 Changes in microbial community structure

此外,本研究中还检测到 *Comamonadaceae_unclassified*,其相对丰度在整个实验过程中也呈现增加趋势,极有可能含有 *nxr* 酶.此类微生物的存在与本研究中亚硝化工艺在长期运行中出现的周期性恶化密切相关.

3　结论

3.1　在弱酸性颗粒污泥系统中采用基于极低 pH 2.5 形成的超高浓度 FNA(150mg/L)抑制策略,亚硝化在 1d 内成功启动,亚硝酸盐积累迅速达到 100%,稳定运行过程中氨氮去除负荷为 0.2~0.5kg/(m^3·d).

3.2　随着 NOB 活性恢复,亚硝酸盐积累会快速崩溃,超高浓度 FNA 抑制一次后,稳定的亚硝化效果能够维持 14d 左右.因此,为保证长期运行中稳定的亚硝酸盐积累,需要定期重复实施超高浓度 FNA 抑制.

3.3　超高浓度 FNA 对 NOB 抑制强烈, *Candidatus_Nitrotoga* 丰度从接种时的 5.2%迅速降低至 0%, NOB 菌属(*Nitrospira* 和 *Candidatus_Nitrotoga*)在运行中被淘汰.高效的亚硝酸盐积累由常见的 AOB 属 *Nitrosomonas* 驱动,其丰度表现出先下降后升高的变化趋势,表明其在长期操作过程中具有适应弱酸性高浓度 FNA 条件的能力.

参考文献：

[1] Li H S, Zhou S Q, Huang G T, et al. Partial nitritation of landfill leachate with varying influent composition under intermittent aeration conditions [J]. Process Safety and Environmental Protection, 2013,91(4):285−294.

[2] Blackburne R, Yuan Z G, Keller J. Partial nitrification to nitrite using low dissolved oxygen concentration as the main selection factor [J]. Biodegradation, 2008,19(2):303−312.

[3] Regmi P, Miller M W, Holgate B, et al. Control of aeration, aerobic SRT and COD input for mainstream nitritation/denitritation [J]. Water Research, 2014,57:162−171.

[4] Wang Z H, Peng Y Z, Li J W, et al. Rapid initiation and stable maintenance of municipal wastewater nitritation during the continuous flow anaerobic/oxic process with an ultra−low sludge retention time [J]. Water Research, 2021,197:117091.

[5] Liu W L, Yang Q, Ma B, et al. Rapid achievement of nitritation using aerobic starvation [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(7):4001−4008.

[6] Duan H, Ye L, Lu X Y, et al. Overcoming nitrite oxidizing bacteria adaptation through alternating sludge treatment with free nitrous acid and free ammonia [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 53(4):1937−1946.

[7] Vela J D, Dick G J, Love N G. Sulfide inhibition of nitrite oxidation in activated sludge depends on microbial community composition [J]. Water Research, 2018,138:241−249.

[8] Duan H, Ye L, Lu X Y, et al. Self−sustained nitrite accumulation at low pH greatly enhances volatile solids destruction and nitrogen removal in aerobic sludge digestion [J]. Environmental Science & Technology, 2019,53(3):1225−1234.

[9] Wang Z Y, Zheng M, Meng J, et al. Robust nitritation sustained by acid−tolerant ammonia−oxidizing bacteria [J]. Environmental Science & Technology, 2021,55(3):2048−2056.

[10] Su Z C, Liu T, Guo J H, et al. Nitrite oxidation in wastewater treatment: Microbial adaptation and suppression challenges [J]. Environmental Science & Technology, 2023,57(34):12557−12570.

[11] Vadivelu V M, Yuan Z G, Fux C, et al. The inhibitory effects of free nitrous acid on the energy generation and growth processes of an enriched nitrobacter culture [J]. Environmental Science & Technology, 2006,40(14):4442−4448.

[12] Li D Y, Fang F, Liu G Q. Efficient nitrification and low−level N_2O emission in a weakly acidic bioreactor at low dissolved−oxygen levels are due to comammox [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021,87(11):e00154−21.

[13] Purba L D A, Ibiyeye H T, Yuzir A, et al. Various applications of aerobic granular sludge: A review [J]. Environmental Technology & Innovation, 2020,20:101045.

[14] Liu W R, Yin F F, Yang D H. Granules abrasion cause deterioration of nitritation in a mainstream granular sludge reactor with high loading rate [J]. Chemosphere, 2020,243:125433.

[15] Anthonisen A C, Loehr R C, Prakasam T B S, et al. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid [J]. Water Pollution Control Federation, 1976,48(5):835−852.

[16] van de Graaf A A, de Bruijn P, Robertson L A, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium−oxidizing micro−organisms in a fluidized bed reactor [J]. Microbiology, 1996,142(8):2187−2196.

[17] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法−第 4 版 [M]. 北京:中国环境科学出版社, 2002.
State Environmental Protection Administration. Analysis and detection methods of water and wastewater [M]. 4th ed. BeiJing: China Environmental Science Press, 2002.

[18] 李　冬,毛中新,李明润,等.序批式与连续流交替运行的短程硝化启动研究 [J]. 中国环境科学, 2023,43(7):3438−3446.
Li D, Mao Z X, Li M R, et al. Initiation of short−range nitrification by alternating sequential batch and continuous flow [J]. China Environmental Science, 2023,43(7):3438−3446.

[19] Li X Y, Yang S F. Influence of loosely bound extracellular polymeric substances (EPS) on the flocculation, sedimentation and dewaterability of activated sludge [J]. Water Research, 2007,41(5):1022−1030.

[20] 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.

[21] Liu W R, Ji X M, Wang J F, et al. Microbial community response to influent shift and lowering temperature in a two−stage mainstream deammonification process [J]. Bioresource Technology, 2018,262: 132−140.

[22] Kent T R, Sun Y W, An Z H, et al. Mechanistic understanding of the

NOB suppression by free ammonia inhibition in continuous flow aerobic granulation bioreactors [J]. Environment International, 2019, 131:105005.

[23] Yue X H, Liu H, Wei H T, et al. Reactive and microbial inhibitory mechanisms depicting the panoramic view of pH stress effect on common biological nitrification [J]. Water Research, 2023,231: 119660.

[24] Cao Y S, Kwok B H, van Loosdrecht M C M, et al. The influence of dissolved oxygen on partial nitritation/anammox performance and microbial community of the 200,000m^3/d activated sludge process at the changi water reclamation plant (2011 to 2016) [J]. Water Science and Technology, 2018,78(3):634-643.

[25] Ma B, Yang L, Wang Q L, et al. Inactivation and adaptation of ammonia-oxidizing bacteria and nitrite-oxidizing bacteria when exposed to free nitrous acid [J]. Bioresource Technology, 2017,245: 1266-1270.

[26] Liu W R, Song J J, Wang J F, et al. Achieving robust nitritation in a modified continuous-flow reactor: From micro-granule cultivation to nitrite-oxidizing bacteria elimination [J]. Journal of Environmental Sciences, 2023,124:117-129.

[27] Liu W R, Wang C X, Chen J, et al. Cold temperature drives the re-granulation of disintegrated partial nitritation granules in a continuous-flow reactor [J]. Journal of Cleaner Production, 2022,378: 134530.

[28] Liu X Y, Liu J, Deng D K, et al. Investigation of extracellular polymeric substances (EPS) in four types of sludge: Factors influencing EPS properties and sludge granulation [J]. Journal of Water Process Engineering, 2021,40:101924.

[29] 支丽玲,马鑫欣,刘奇欣,等.好氧颗粒污泥形成过程中群感效应的作用研究 [J]. 中国环境科学, 2020,40(5):2148-2156.
Zhi L L, Ma X X, Liu Q X, et al. Study on the role of group sensing effect in the formation process of aerobic granular sludge [J]. China Environmental Science, 2020,40(5):2148-2156.

[30] Shi Y J, Xing S F, Wang X H. Changes of the reactor performance and the properties of granular sludge under tetracycline (TC) stress [J]. Bioresource Technology, 2013,139:170-175.

[31] Zhu L, Lv M L, Dai X. Role and significance of extracellular polymeric substances on the property of aerobic granule [J]. Bioresource Technology, 2012,107:46-54.

[32] 叶丽慧,刘欣灵,林思慧,等.原水生物膜预处理工艺脱氮性能与菌群结构对有机碳源的响应特征研究 [J]. 中国环境科学, 2024,44(7): 3800-3809.
Ye L H, Liu X L, Lin S H, et al. Response characteristics of nitrogen removal performance and bacterial community structure to organic carbon sources in biofilm processes for polluted raw water pretreatment [J]. China Environmental Science, 2024,44(7):3800-3809.

[33] Wang Z P, Zhang T. Characterization of soluble microbial products (SMP) under stressful conditions [J]. Water Research, 2010,44(18): 5499-5509.

[34] Wei D, Zhang K Y, Wang S Y, et al. Characterization of dissolved organic matter released from activated sludge and aerobic granular sludge biosorption processes for heavy metal treatment via a fluorescence approach [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017,124:326-333.

[35] Yang S S, Guo W Q, Meng Z H, et al. Characterizing the fluorescent products of waste activated sludge in dissolved organic matter following ultrasound assisted ozone pretreatments [J]. Bioresource Technology, 2013,131:560-563.

[36] Zhou H, Long J, Qin M Y, et al. Successful operation of nitrifying granules at low pH in a continuous-flow reactor: Nitrification performance, granule stability, and microbial community [J]. Journal of Environmental Management, 2024,366:121793.

[37] Yue X, Xiao X T, Liang J J, et al. Firmicutes and bacteroidetes as the dominant microorganisms for ammonium nitrogen wastewater treatment with a low C/N ratio in BCOR [J]. Journal of Water Process Engineering, 2024,65:105851.

[38] Zhang J H, Miao Y Y, Zhang Q, et al. Mechanism of stable sewage nitrogen removal in a partial nitrification-anammox biofilm system at low temperatures: Microbial community and EPS analysis [J]. Bioresource Technology, 2020,297:122459.

[39] Lv Y, Wan C L, Lee D J, et al. Microbial communities of aerobic granules: Granulation mechanisms [J]. Bioresource Technology, 2014,169:344-351.

[40] Tarre S, Green M. High-rate nitrification at low pH in suspended- and attached-biomass reactors [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004,70(11):6481-6487.

[41] Gieseke A, Tarre S, Green M, et al. Nitrification in a biofilm at low pH values: Role of in situ microenvironments and acid tolerance [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006,72(6):4283-4292.

[42] Li W, Zhuang J L, Zhou Y Y, et al. Metagenomics reveals microbial community differences lead to differential nitrate production in anammox reactors with differing nitrogen loading rates [J]. Water Research, 2020,169:115279.

[43] Zhao H J, Guo Y, Zhang Z, et al. The stable operation of nitritation process with the continuous granular sludge-type reactor and microbial community analysis [J]. Chemosphere, 2023,345:140527.

作者简介：隆 静(2000-),女,陕西宝鸡人,苏州科技大学硕士研究生,研究方向为废水处理及其资源化.发表论文 4 篇.longjing1009@163.com.