郭丽莎,宋炳皞,朱 雷,等.单级自养脱氮体系对石墨烯基材料的响应特征 [J]. 中国环境科学, 2026,46(1):178-187.
Guo L S, Song B H, Zhu L, et al. Response characteristics of a single-stage autotrophic nitrogen removal system to graphene-based materials [J]. China Environmental Science, 2026,46(1):178-187.

单级自养脱氮体系对石墨烯基材料的响应特征

郭丽莎[1],宋炳皞[1,2],朱 雷[3],陈 婧[1,4*],吴 莎[1,4],陈 宏[1,4],张 静[1] (1.长沙理工大学水利与海洋工程学院,湖南 长沙 410114；2.福建海峡石墨烯产业技术研究院,福建 晋江 362201；3.湖南省水利水电勘测设计规划研究总院有限公司,湖南 长沙 410007；4.洞庭湖水环境治理与生态修复湖南省重点实验室,湖南 长沙 410114)

摘要：通过水热法制得氧化石墨烯复合材料(GO-CS),构建单级自养脱氮反应器,结合批次试验来验证其浓度响应特征,并利用分子生物学手段揭示微生物群落演替规律,系统探究投加GO-CS对单级自养脱氮性能的影响机制.研究表明:20mg/LGO-CS通过促进电子传递来促进厌氧氨氧化;50mg/L时因电子竞争抑制 AnAOB 活性;而 100mg/L 长期暴露下,AnAOB 通过增加 EPS 分泌和群落结构适应性调整实现适应性恢复.

关键词：壳聚糖；氧化石墨烯；厌氧氨氧化；微生物
中图分类号：X703 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2026)01-0178-10

Response characteristics of a single-stage autotrophic nitrogen removal system to graphene-based materials. GUO Li-sha[1], SONG Bing-hao[1,2], ZHU Lei[3], CHEN Jing[1,4*], WU Sha[1,4], CHEN Hong[1,4], ZHANG Jing[1] (1.School of Hydraulic and Environmental Engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha 410114, China；2.Fujian Strait Graphene Industrial Technology Research Institute, Jinjiang 362201, China；3.Hunan Water Resources and Hydropower Survey, Design, Planning and Research Co. Ltd, Changsha 410007, China；4.Key Laboratory of Dongting Lake Aquatic Eco-environmental Control and Restoration of Hunan Province, Changsha 410114, China). *China Environmental Science*, 2026,46(1)：178~187

Abstract：Graphene oxide-chitosan (GO-CS) composite materials were prepared using the hydrothermal method, and a single-stage autotrophic nitrogen removal reactor was constructed for continuous experiment. Batch experiments were conducted to evaluate its concentration-response characteristics, and molecular biology method was applied to elucidate the succession patterns of microbial communities. The effect of GO-CS addition on the performance of single-stage autotrophic nitrogen removal was systematically investigated. The results showed that 20mg/L GO-CS promoted anaerobic ammonium oxidation by facilitating electron transfer; at a concentration of 50mg/L, the activity of AnAOB was inhibited which might be there were other reactions which competing for the use of GO-CS as an electron transfer; and after long-term exposure to 100mg/L GO-CS, AnAOB achieved adaptive recovery by increasing the secretion of extracellular polymeric substances (EPS) and regulating functional genes.

Key words：chitosan；graphene oxide；anaerobic ammonium oxidation (anammox)；microorganisms

近年来,单级自养脱氮工艺(PNA 工艺)因具有良好的脱氮性能被应用到污水处理中.该工艺通过将部分亚硝化与厌氧氨氧化(Anammox)过程耦合,实现了氨氧化菌(AOB)与厌氧氨氧化菌(AnAOB)的协同作用[1].AnAOB以NO_2^-为电子受体直接将NH_4^+转化为N_2[2],而 AOB 则将部分NH_4^+氧化为NO_2^-[3],两者协同构成高效脱氮路径[4].课题组前期研发的气升式内循环反应器(AIPBR)通过优化溶解氧分区,使总氮去除率稳定在 80%以上.然而,该工艺仍面临亚硝酸盐氧化菌(NOB)竞争抑制、AnAOB 生长缓慢等技术瓶颈[5-6].研究表明,纳米材料强化微生物电子传递(EET)可有效调控功能菌活性[7].

氧化石墨烯(GO)因其独特的理化性质在 PNA 系统中展现出显著调控潜力:其高比表面积和丰富含氧基团可促进电子传递[8-9],亲水表面可加速水分子传输[10],导电特性则促进微生物间电子传递[11].深入研究表明,GO 可提升联氨脱氢酶活性[12],同时选择性富集 *Candidatus Brocadia* 等 AnAOB[13].特别值得关注的是,GO 对功能菌的调控呈现浓度依赖性:低浓度(≤20mg/L)促进 AnAOB 代谢,而高浓度

收稿日期：2025-06-12
基金项目：湖南省水利科技项目(XSKJ2024064-54);长沙市自然科学基金(kq2402028)
* 责任作者，讲师, godlovecj0915@163.com

(≥50mg/L)会竞争电子受体并抑制关键酶活性[14-15].

通过壳聚糖改性构建的 GO-CS 复合材料,在保留 GO 导电特性的同时显著降低了生物毒性[16].然而,随着石墨烯基材料的工业化应用,其残留物可能通过干扰电子传递等途径影响微生物活性[14].当前研究存在两个主要局限:一是 GO-CS 浓度阈值缺乏定量解析;二是对 AnAOB 长期适应性的认识不足[15].本研究突破性地采用气升式反应器,通过 114d 连续实验揭示GO-CS对PNA系统的长期影响机制,并首次利用电子传递活性(ETSA)量化代谢通路变化,为材料精准调控提供理论依据.

综上所述,本研究旨在阐明 GO-CS 浓度-微生物活性-脱氮效率的定量关系,为石墨烯基材料在单级自养脱氮工艺中的安全应用提供重要技术支撑.

1　材料与方法

1.1　壳聚糖改性氧化石墨烯的制备

壳聚糖改性氧化石墨烯(GO-CS)通过水热法制备[16],本研究所用的 GO 来自北京石墨烯研究院.首先,将一定量的 GO 超声分散于去离子水中,配制 1mg/mL 的 GO 悬浮液;同时将一定量的壳聚糖溶解在 pH 值为 2.0 的醋酸溶液中,充分搅拌,形成浓度为 1mg/mL 的壳聚糖溶液.将壳聚糖溶液缓慢滴加到 GO 溶液中,按 10:1(体积比)混合并不断搅拌均匀.再将上述混合溶液 60℃水浴搅拌回流反应 1h,之后室温下静置 2h.将溶液进行抽滤,之后留取沉淀物,用去离子水将沉淀物洗涤 3 次后冷冻干燥 2d 即可得到 GO-CS.将样品送至上海零号湾进行扫描电镜(SEM)、傅立叶红外光谱(FTIR)以及 X 射线衍射(XRD)检测.

1.2　试验装置

1.2.1　反应器装置　本研究反应器容积为 9L,使用恒温水浴锅连接反应器水浴层,维持反应器的运行温度为(35±1)℃.模拟废水通过蠕动泵进入反应器底部,并通过控制泵速调节水力停留时间(HRT);反应器外壁采用锡箔纸遮光处理,装置示意图见图 1.

1.2.2　试验种泥及用水本实验　种泥为晋江经济开发区安东园综合污水处理厂与实验室的 AIPBR 反应器中的厌氧氨氧化污泥混合后的污泥.污水厂取回来的污泥在实验室加入基质并间歇曝气一周后,将沉淀的污泥与 AIPBR 反应器中的污泥按比例 5:1 混合后大约共 3L,将混合液加入反应器中,种泥的混合液悬浮固体浓度(MLSS)为 3485mg/L,混合液挥发性悬浮固体浓度(MLVSS)为 1770mg/L.

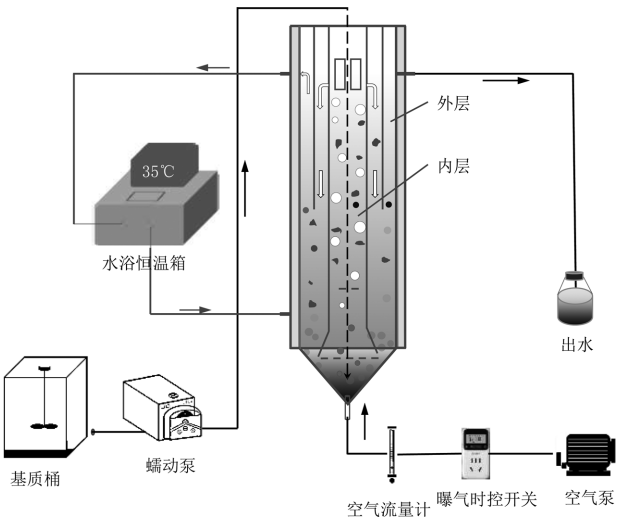


图 1　添加石墨烯基材料的 PNA 系统实验装置

Fig.1　Experimental setup of PNA system with graphene-based materials addition

本实验采用人工配制的模拟废水作为进水基质,将碳酸氢氨(NH_4HCO_3)作为唯一氮源,磷酸二氢钾(KH_2PO_4)提供磷元素,进水 pH 值由碳酸氢钠($NaHCO_3$)调节,同时添加微量元素维持反应体系中微生物的生长[17].模拟废水组分和微量元素溶液组分见表 1 和表 2.

1.2.3　运行参数　反应器设置为 24h/周期,采用连续进水.具体操作参数如表 3 所示.

本实验启动阶段为 45d,为未投加 GO-CS 的空白对照阶段.在第 1~43d 为第 I 阶段,反应器中 GO-CS 浓度为 20mg/L,第 44~73d 为第 II 阶段,GO-CS 浓度为 50mg/L,第 74~114d 为第 III 阶段,GO-CS 浓度为 100mg/L.各个阶段其他条件相同.

表 1　模拟废水组分

Table 1　Simulated wastewater components

试剂名称	化学式	浓度(mg/L)
二水合氯化钙	$CaCl_2·2H_2O$	28
六水合氯化镁	$MgCl_2·6H_2O$	40
磷酸二氢钾	KH_2PO_4	40.6
碳酸氢钠	$NaHCO_3$	根据 pH 值调整
碳酸氢铵	NH_4HCO_3	600~1500
亚硝酸钠	$NaNO_2$	0~500
微量元素	\	1mL/L

表 2 微量元素溶液组分

Table 2 Trace element solution components

试剂名称	化学式	浓度(g/L)
七水合硫酸亚铁	$FeSO_4·7H_2O$	5
七水合硫酸锌	$ZnSO_4·7H_2O$	0.215
六水合氯化钴	$CoCl_2·6H_2O$	0.12
四水合氯化锰	$MnCl_2·4H_2O$	0.495
五水合硫酸铜	$CuSO_4·5H_2O$	0.125
二水合钼酸钠	$NaMO_4·2H_2O$	0.11
六水合氯化镍	$NiCl_2·6H_2O$	0.095
二水合钨酸钠	$NaWO_4·2H_2O$	0.63
硼酸	H_3BO_4	0.007
乙二胺四乙酸	$C_{10}H_{16}N_2O_8$	8.304

表 3 PNA 反应器操作参数

Table 3 Operating parameter of PNA system

阶段	时间 (d)	温度 (℃)	进水氮负荷 [kg-N/(m³·d)]	GO-CS 浓度 (mg/L)
I	1~43	35	0.20	20
II	44~73	35	0.20	50
III	74~114	35	0.20	100

1.3 表征手段与测试方法

本试验中采用纳氏试剂分光光度法测定 NH_4^+-N 浓度;N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法测定 NO_2^--N 浓度;紫外分光光度法测定 NO_3^--N 浓度;在启动初期以及各阶段稳定时取污泥样品,用粒度分析仪检测粒径;重量法测定污泥浓度;提取 EPS 并用 Lowry 法测定蛋白质浓度,苯酚-硫酸法测定多糖浓度;电子传递活性检测方法是基于四唑还原作用来体现好氧值;将保存的微生物样品送至上海派森诺生物科技股份有限公司进行高通量测序[18].

2 结果与讨论

2.1 GO-CS 表征

GO-CS 与 GO 的 SEM 图如图 2 所示,SEM 分析表明,原始 GO 呈现典型的层状结构,表面相对平整;经壳聚糖改性后,GO-CS 仍保留了 GO 的外观特征,但表面出现较多均匀分布的凸起结构,表面褶皱更加丰富,可与污泥充分接触,更好地与微生物发生作用.

通过 FTIR 图谱分析各材料的表面官能团种类[19].图 3(a)中,GO 和 GO-CS 在 1075, 1620 和 1734cm^{-1} 处产生的吸收峰分别为 O-C-O 官能团、C=C 官能团和 C=O 官能团的伸缩振荡;CS 和 GO-CS 在 2878cm^{-1} 处的吸收峰属于 CS 的 C-H 基团的伸缩振荡[20-21].该结果表明 GO-CS 仍具有 GO 和 CS 的的特征吸收峰,说明 CS 改性并没有破坏 GO 原有的结构.

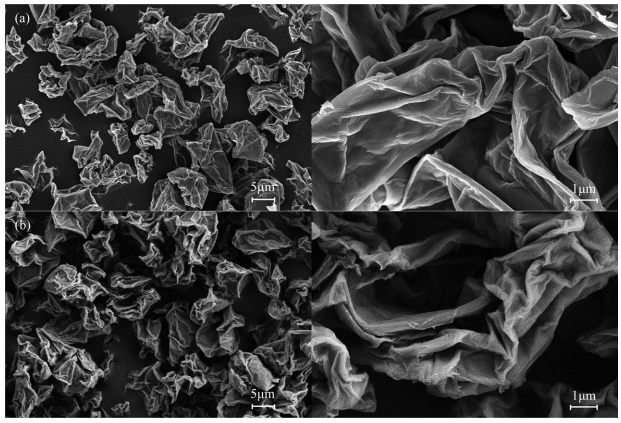


图 2 GO(a)和 GO-CS(b)的 SEM 图

Fig.2 SEM images of GO (a) and GO-CS (b)

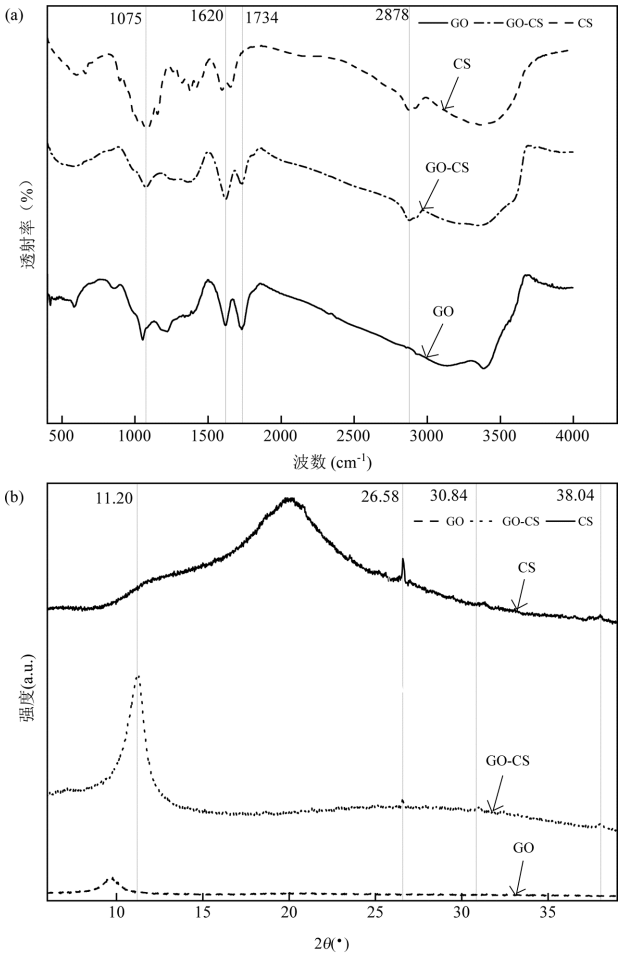


图 3 GO、CS 和 GO-CS 的 FTIR 图(a)和 XRD 图(b)

Fig.3 FTIR Spectra of GO, CS, and GO-CS (a) and GO-CS (b)

图 3(b)的 XRD 图谱中,GO 的特征衍射峰在 2θ=

9.8°,CS 的特征衍射峰在 2θ=20.3°, GO−CS 的特征衍射峰在 2θ=11.20°,位 GO 与 CS 之间.并且 CS 在 2θ>30°后存在杂峰,例如 GO−CS 在 2θ=26.58°、30.84°以及 28.04°时均可在 CS 的 XRD 图谱中找到相应的特征峰,可认为在 GO 上成功复合了 CS.GO−CS 的特征衍射峰相比 GO 的特征峰要更加尖锐,说明复合后的材料结晶度更高,化学性质更加稳定[22].

2.2　GO−CS 投加对系统性能影响

2.2.1　单级自养脱氮性能变化　启动阶段(45d)建立稳定脱氮基准,TN 去除率从第 7d45.2%升至第 30d78.6%,MLSS 增至 5120mg/L;稳定后 TNRE 维持在 75.2%~80.4%,为后续 GO−CS 投加效应提供对照依据.

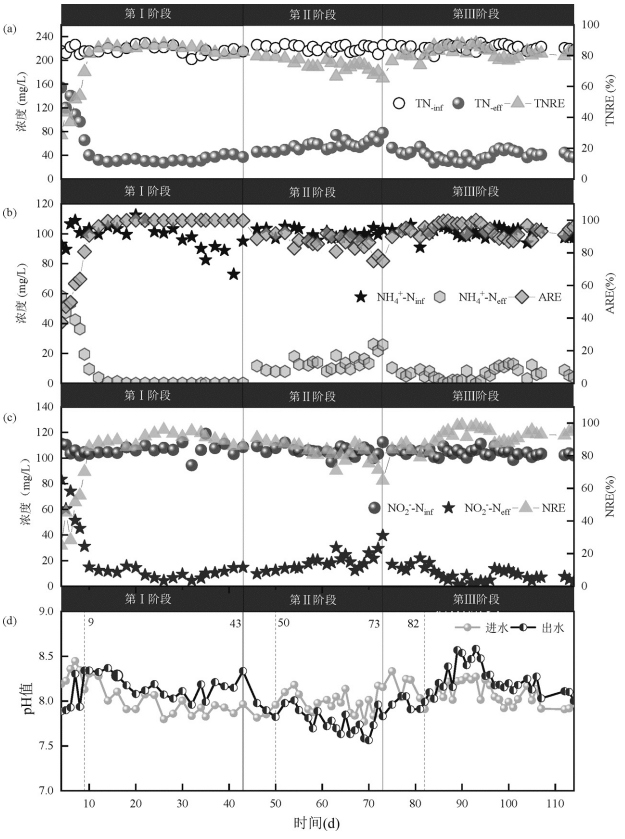


图 4　基于石墨烯基材料的 PNA 系统性能变化

Fig.4　The performance of PNA system with graphene−based materials

向反应器中投加 GO−CS,其性能变化如图 4 所示.反应器中初始总氮去除率(TNRE)在阶段 I 初期短暂降至 28.49%,但第 10d 提升至 81.23%,证实低浓度材料的电子传递促进作用.第一阶段 GO−CS 浓度为 20mg/L,运行一段时间后,在第 10dTNRE 达到了 81.23%,ARE 也达到了 100%,说明在 GO−CS 的作用下可以完成单级自养脱氮的快速启动.在第 43d 时 TNRE 可以稳定在 80%以上,表明了反应器脱氮性能已经达到稳定,之后提高 GO−CS 的浓度,将其浓度提高到 50mg/L.提高 GO−CS 浓度后,TNRE 持续下降,在第 57d 降至 72.98%.由图 4 可看出此时氨氮与亚硝酸盐的去除率也在降低,ARE 由最开始的 100%降到 90%,NRE 则从 90%降至 80%,此时可能由于 GO−CS 浓度的增加,其生物毒性开始体现,使 AnAOB 的活性降低,导致脱氮性能下降,在第 73d 时 TNRE 降至 65.42%.在第 73d 继续提高 GO−CS 浓度,提升至 100mg/L,反应器的脱氮性能有所恢复,TNRE 在第 82d 达到 80.13%,之后在第 114d 仍可以达到 82.89%,并可以维持在 80%左右.ARE 与 NRE 在这段时间曾升至 100%后有所降低,原因可能是 GO−CS 浓度增加后进一步刺激了 AnAOB 的活性,活性有所降低则推测原因在于材料的生物毒性作用,但 TNRE 并未像之前降至 70%左右可能是因为菌群对 GO−CS 产生了适应性恢复,将 TNRE 稳定在了 80%左右.

图 4(d)为在 GO−CS 影响下厌氧氨氧化过程中中 pH 值变化.反应器进水维持在(8.0±0.4),在厌氧处理的第一阶段开始时出水 pH 值小于进水 pH 值,在第 9d 时出水 pH 值高于进水,因为厌氧氨氧化为消耗 H^+的反应[23],pH 值会升高,故表明此时反应器中进行厌氧氨氧化反应.而在第 50d,即 GO−CS 浓度提升至 50mg/L 后第 7d,出水 pH 值又低于进水,此时反应器中厌氧氨氧化性能较弱,直到第 82d 厌氧氨氧化性能才恢复.

根据反应器性能变化可知,GO−CS 呈现典型的三阶段浓度效应:低浓度促进(≤20mg/L):通过羧基介导的电子传递使 TNRE 提升至 81.23%;高浓度抑制(50mg/L):因电子竞争导致 TNRE 骤降至 65.42%;长时间高浓度适应(100mg/L):通过 EPS 屏障实现性能恢复

2.2.2　污泥性能变化　反应器在厌氧处理后的 MLSS、MLVSS、SV 以及 EPS 如图 5 所示.在将反应器厌氧处理后,污泥浓度一直在增长,在第 43dMLVSS 由最初的 2690mg/L 升至 2980mg/L,在第 73d 和第 114d 分别升至 4185 和 4430mg/L,表明在

GO−CS 影响下厌氧氨氧化污泥浓度一直在增加.此外,MLVSS/MLSS 也有所增长,由 47.70%升至 49.69%,SV 也从最开始的 26%升至最后的 37%,原因可能是污泥中的生物量增加.

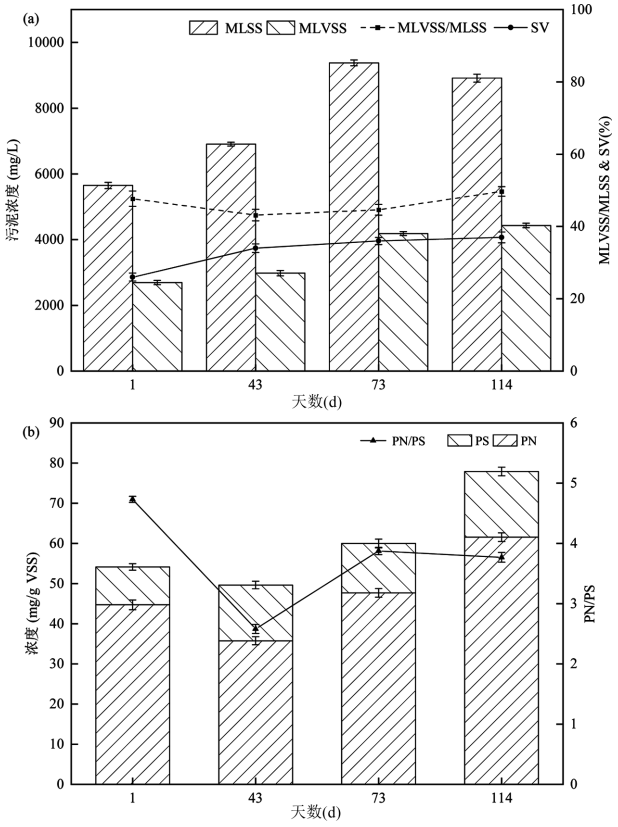


图 5 反应器中的污泥特性

Fig.5 Sludge characteristics in the reactor

随着 GO−CS 浓度增加,污泥中微生物分泌的 EPS 也随之增加,在第 43d 为 49.64mg/g−VSS, GO−CS 浓度增加至 50mg/L 后,EPS 在第 73d 达到 60.00mg/g−VSS,继续增加 GO−CS 浓度至 100mg/L, EPS 在第 114d 达到最大值 77.90mg/g−VSS.说明 GO−CS 浓度越高微生物分泌 EPS 越多,因为微生物需要分泌更多的 EPS 来进行自我保护,从而适应高浓度的 GO−CS 环境.EPS 浓度升高主要是其中的蛋白质浓度增加,在三个阶段末期 PN 分别为 35.77, 47.69 和 61.56mg/g−VSS,说明微生物主要通过分泌蛋白质来抵御 GO−CS.

反应器厌氧后各阶段污泥粒径变化如图 6(a)所示.厌氧氨氧化颗粒污泥(AnGS)主要是由细菌细胞、EPS 和内部的孔隙组成[24],从图中可明显看出,随着 GO−CS 浓度增加,污泥粒径也随之增加.污泥在第 43, 73 以及 114d 平均粒径分别增长至 97.72, 105.45 和 132.18μm,此污泥粒径增加可能是因为 GO−CS 影响微生物分泌大量 EPS,导致大量细胞团聚,从而增大了粒径,也可能是污泥以材料为基底发生包裹、凝聚现象,从而使粒径增加.在第 43d 粒径大于 400μm 占比为 3.58%,而在第 73d 时粒径大于 400μm 的颗粒污泥占比减少为 1.51%,说明此时 GO−CS 会破坏大粒径的颗粒污泥,可能是 GO−CS 的生物毒性使得细胞死亡裂解,而大颗粒污泥中污泥内部的细胞会缺少基质,无法保护自身从而率先死亡裂解,因此大颗粒污泥会减少.而在第 114d 时粒径大于 400μm 的颗粒污泥占比重新增长,增长至 4.86%,说明此时细胞又重新适应环境,细胞重新团聚,使得大颗粒污泥增加.

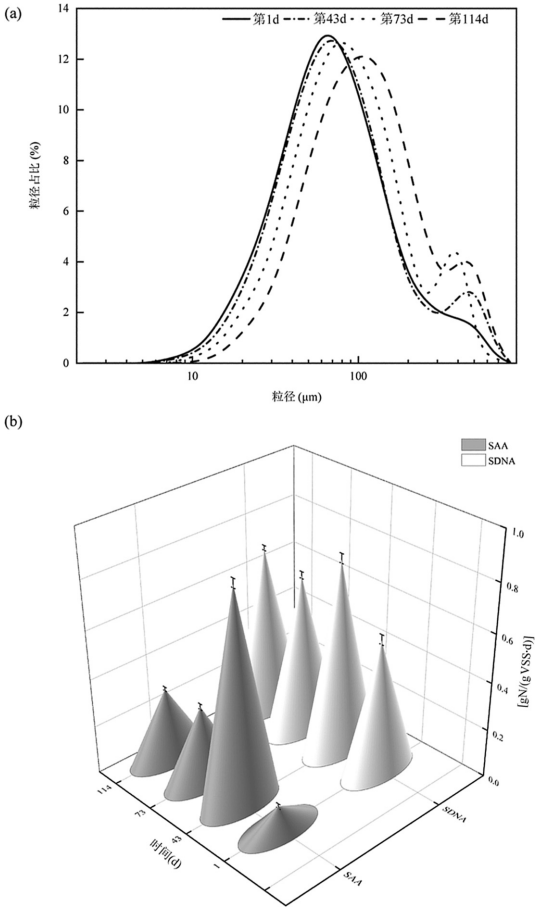


图 6 污泥粒径与活性变化

Fig.6 Particle size distribution and variation in sludge

在第 1,43,73 和 114d 所进行的异位批次活性试验测得的 SAA 和 SDNA 如图 6 所示.在阶段Ⅰ初期 SAA 为 0.0980g−N/(g−VSS·d),AnAOB 活性极低,此时反应器脱氮性能差.在进行厌氧处理,进水基质增

加亚硝酸盐氮浓度后至第 43d,SAA 提高至 0.8859g−N/(g−VSS·d),说明此时 AnAOB 活性有所提升,其他实验表明,在不添加 GO−CS 的厌氧氨氧化中 AnAOB 活性为 0.506g−N/(g−VSS·d)[25],说明 GO−CS 在 20mg/L 下刺激了 AnAOB,导致其活性升高,这表明在厌氧环境下且有充足的基质下 AnAOB 活性可恢复.在第 43d 增加 GO−CS 浓度后反应器脱氮性能有所降低,在第 73d 时 SAA 降低至 0.3154g−N/(g−VSS·d),表明 GO−CS 浓度增加后抑制了 AnAOB 的活性,而且此时 SDNA 由 0.7973g−N/(g−VSS·d)降到 0.6569g−N/(g−VSS·d),原因是 AnAOB 活性降低,厌氧氨氧化所生成的硝酸盐氮减少使反硝化菌基质减少,导致其活性降低.之后继续提高 GO−CS 浓度,在第 114dSAA 略微降低,为 0.2980g−N/(g−VSS·d),没有出现大幅度降低的原因可能是污泥对 GO−CS 产生了适应性恢复,适应了这种环境,此时 SDNA 变化也较小,有略微的提升,为 0.6953g−N/(g−VSS·d).

污泥的活性试验表明,在厌氧处理后污泥的脱氮性能有所恢复,反应器内的厌氧环境为 AnAOB 提供了良好的生存环境.GO−CS 在较低浓度时对 AnAOB 活性有促进作用,但随着浓度增加会抑制 AnAOB 活性,而若 AnAOB 适应了 GO−CS,则会产生适应性恢复,较高浓度的 GO−CS 对厌氧氨氧化的影响变低.

2.2.3　厌氧氨氧化菌电子传递活性变化　厌氧氨氧化菌胞内胞外电子传递过程及各阶段 ETSA 如图 7 所示, GO−CS 投加浓度与 AnAOB 的 ETSA 呈现显著剂量−效应关系.当 GO−CS 浓度为 20mg/L 时,污泥 ETSA 达到最大值 0.936μg·O_2/(gprotein·min),表明低浓度 GO−CS 可通过表面羧基/羟基促进电子传递,从而促进 AnAOB 的代谢活性,使总氮去除率提升至 81.2%.当浓度提升至 50mg/L 时,ETSA 显著降低至 0.363μg·O_2/(gprotein·min),原因可能是 GO−CS 的生物毒性抑制了 AnAOB 的活性,或是 GO−CS 的导电性能与微生物间竞争电子,从而使微生物需要更多的能量用于电子传递过程,与自身的生长繁殖相互竞争能量从而导致其活性降低.值得注意的是,在 100mg/L 长期暴露下,ETSA 回升至 0.441μg·O_2/(gprotein·min),此现象与厌氧氨氧化性能有所提升相符,说明此时 AnAOB 已经适应高浓度的 GO−CS,活性开始增强,微生物产生了适应性响应.

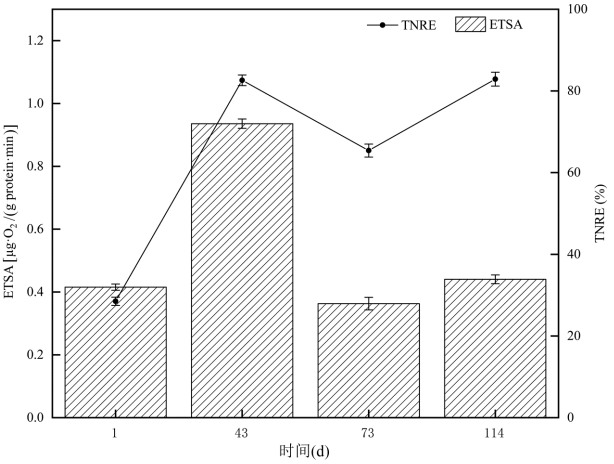


图 7　不同阶段 ETSA 与 TNRE 的相关性

Fig.7　Correlation between ETSA and TNRE at various stages

2.2.4　系统中微生物群落结构变化　Alpha 多样性通常用来表征物种在生存环境内的丰富度、多样性与均匀度等指标,也被称为生境内多样性.本研究采用 Chao1 和 Observedspecies 指数表征丰富度,以 Shannon 和 Simpson 指数表征多样性,以 Good's coverage 指数表征覆盖度[26].反应器中添加不同浓度 GO−CS 的微生物样品的 Alpha 多样性指数如表 4 所示.本次样品检测的 Coverage 指数均大于 0.998,表明本次的检测结果具有代表性.

表 4　不同浓度 GO−CS 下厌氧氨氧化污泥中 Alpha 多样性指数

Table 4　Alpha diversity indices in anammox sludge under different concentrations of GO−CS

样品	丰富度		多样性		覆盖率
	Chao1	Observed species	Shannon	Simpson	Coverage
第 1d	1022.76	1017.6	6.12	0.936	0.999226
第 43d	1228.08	1218.4	6.16	0.947	0.998688
第 73d	1136.73	1128.7	6.26	0.963	0.998822
第 114d	1096.52	1091.0	6.21	0.961	0.999041

Chao1 指数和 Observedspecies 指数与微生物群落的丰富度成正比,在第 43d 分别增长到 1228.08 和 1218.4,说明在厌氧一段时间后微生物群落丰度增加,表明在厌氧环境和 GO−CS 影响下对微生物群落丰度产生了正面影响.在将 GO−CS 浓度提高到 50 和 100mg/L 后两种指数逐渐降低,在第 73d 时 Chao1 指数和 Observed species 指数分别为 1136.73 和 1128.7,在第 114d 时两种指数分别为 1096.52 和 1091.0,表明增加 GO−CS 浓度后抑制了微生物群落

丰富度,对其产生负面作用.但第 114d 时 Chao1 指数和 Observed species 指数与第 73d 相差不大,说明微生物对 GO-CS 产生了适应性恢复,GO-CS 对微生物丰富度的影响变小.

Shannon 和 Simpson 指数通常用来表征样品中微生物群落的多样性,两个指数越大表明样品中具有更高的物种丰富度.在第 43d 时 Shannon 指数和 Simpson 指数分别为 6.16 和 0.947,与初始时相比略有增加,说明厌氧后物种丰富度增加.在提高 GO-CS 浓度后指数有所提升,在 73dGO-CS 浓度为 50mg/L 时群落多样性增加,说明此时在 GO-CS 影响下产生了新的菌群.而在 114d 将 GO-CS 浓度提高至 100mg/L 后 Shannon 指数和 Simpson 指数略微降低,表明此时部分新产生的菌群无法在更高浓度的 GO-CS 影响下生存,只有部分具有耐药性的菌群生存下来.

2.2.5 门水平下微生物群落结构分析 在最初时样品中检测出门的数量为 34 种,到第 43d 时增长为 37 种,随着 GO-CS 浓度增加,到 73d 时减少为 36 种,之后继续提高 GO-CS 浓度至 100mg/L,在第 114d 时检测出有 35 种不同的门类.说明在厌氧后反应器中微生物门类增加,但随着 GO-CS 浓度增加门类逐渐减少.反应器内微生物门水平上的群落组成及相对丰度演替如图 8(a)所示.

在各阶段的污泥样品中,占比最多的微生物门类为拟杆菌门(Bacteroidota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、变形菌门(Proteobacteria)和浮霉菌门(Planctomycetota),这几种菌门相对丰度和占比达到 74.48%~80.70%,为厌氧氨氧化污泥中的优势细菌门类,这与之前的相关研究表现一致[27].AMX1 是唯一可以合成大多数氨基酸的厌氧氨氧化基因组,而这 4 种菌门均可为 AMX1 提供叶酸和钼酸盐因子来增强活性,从而使厌氧氨氧化活性增强[28].

其中拟杆菌门常常出现在厌氧环境中,是厌氧反应器中的常见菌门[29].该菌门作为典型竞争性异养菌,其丰度变化可以直接反映 GO-CS 的选择性抑制效应.该菌门在第 1d 时占比为 37.11%,之后逐步递减,在第 114d 时降低到 24.19%.该种菌门降低的原因是该种菌门是嗜酸菌,而厌氧氨氧化为消耗酸的反应,因此该菌门最终占比降低.而第 73d 时拟杆菌门占比与 43d 相比略有上升,由 31.26%升至 33.90%,由图 4 可知,在第 50d 到第 82d 内出水 pH 值低于进水 pH 值,此时反应器中还发生了产氢反应,此时反应器内环境适宜拟杆菌门生存,因此占比会增加.

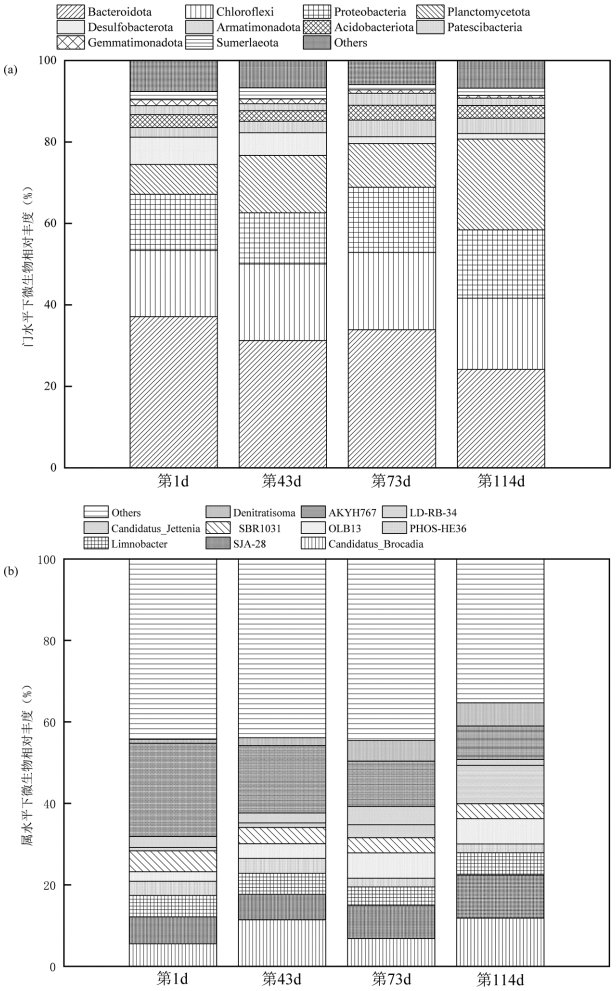


图 8 不同阶段下污泥中微生物在门水平(a)和在属水平(b)上的相对丰度

Fig.8 Dynamics of Microbial Diversity at the Phylum Level (a) and Genus Level (b) in Sludge at Various Stages

绿弯菌门是自养脱氮工艺中的常见菌门,该种菌门的微生物一般为线形,含有叶绿素,一般称为绿色非硫细菌,是一种多细胞丝状细菌[30].通常绿弯菌门可以利用有机碳源或者通过光合作用的供氮体来进行厌氧异养生长,其丝状结构可以在污泥中起到骨架作用,有利于污泥聚集成团颗粒化[31].该菌门在第 43d 时丰度占比从 16.28%增至 18.79%,在 GO-CS 浓度为 50mg/L 时绿弯菌门占比与第 43d 相比变化较小,为 19.00%.而当 GO-CS 浓度达到 100mg/L 时,该菌门占比减少,在第 114d 时相对丰度为 17.48%,说明绿弯菌门在高浓度 GO-CS 影响下被

抑制.

变形菌门通常与厌氧氨氧化菌共存,大多数为异养厌氧菌,但有部分具有脱氮作用的菌群属于变形菌门,例如硝化过程中的 AOB 与 NOB 便属于变形菌门[32].其中 AOB 菌群对环境变化敏感,其丰度变化与电子传递活性(ETSA)密切相关.变形菌门在厌氧后丰度占比先降低,后随 GO-CS 浓度增加而增加,在第 43d 时降为 12.56%,之后在第 73d 升至 15.98%,最后第 114d 时升至 16.74%.在厌氧后丰度降低的原因是该菌门中含有一些好氧菌,在厌氧环境下被抑制导致丰度降低,之后升高可能是受 GO-CS 刺激其它菌群生长发育能力变强.

浮霉菌门的丰度占比可以体现出 AnAOB 的在菌群中的占比[33].在第 1d 时占比仅为 7.33%,而在厌氧一段时间后,第 43d 时浮霉菌门丰度占比达到了 14.08%,增长了近一倍.之后增加 GO-CS 浓度后浮霉菌门丰度有所降低,在第 73d 降至 10.73%,这也是厌氧氨氧化性能变差的主要原因.之后 GO-CS 浓度达到 100mg/L,在第 114d 时丰度占比达到 22.29%,与第 73d 相比增长了一倍多,说明此时浮霉菌门已经对 GO-CS 产生耐药性,适应了 GO-CS 环境,这也是最后厌氧氨氧化性能稳定的主要原因.

2.2.6　属水平下微生物群落结构分析　图 8(b)为厌氧氨氧化污泥中各阶段关键微生物在属水平上的相对丰度对比.本次研究主要对 *Candidatus Brocadia*、*CandidatusJettenia*、*Limnobacter* 以及 *Denitratisoma* 菌属进行分析.

属水平变化丰度表明,在第 1d 时具有 AnAOB 的 *CandidatusBrocadia* 和 *CandidatusJettenia* 占比分别为 5.53%和 0.84%,到第 43d 时该两种菌属占比分别增长至 11.64%和 1.14%,由此可见此时污泥中 AnAOB 含量增加,此时厌氧氨氧化性能良好.而到第 73d 时 *CandidatusBrocadia* 和 *CandidatusJettenia* 占比分别为 6.81%和 3.18%,整体呈现出下降趋势,此时 GO-CS 浓度为 50mg/L,GO-CS 抑制了 AnAOB 的繁殖生长,导致菌属丰度占比下降,与此时厌氧氨氧化脱氮性能下降相符.之后将 GO-CS 浓度提升至 100mg/L,此时 *CandidatusBrocadia* 和 *Candidatus Jettenia* 占比提升达到最高,分别为 11.84%和 9.40%,表明此时 AnAOB 已经对 GO-CS 产生耐药性,适应该环境并大量繁殖,此时厌氧氨氧化脱氮性能较为稳定.

Denitratisoma 在保持厌氧后一直呈现出递增状态,表明在厌氧情况下有利于 DNB 的生长发育,在 GO-CS 浓度为 50mg/L 时其丰度占比与在 100mg/L 时相近,只有略微的增长,幅度较小,可能是受高浓度 GO-CS 的抑制,导致其生长发育速率变慢,但由于其可利用 Anammox 生成的 NO_3^- 作为电子受体,在厌氧环境中仍保持竞争优势.

此外,*Limnobacter* 属于变形菌门(Proteobacteria),能反映 AOB 的变化情况,其丰度变化呈现与 GO-CS 浓度相关的动态响应.在第 1d(未投加 GO-CS)和第 43d(20mg/L GO-CS)时,其占比分别为 5.28%和 5.3%,表明低浓度 GO-CS 对其影响较小;当 GO-CS 浓度升至 50mg/L(第 73d),*Limnobacter* 占比下降至 4.6%,反映该浓度可通过电子竞争或生物毒性抑制其代谢活性;而在 100mg/L 长期暴露下(第 114d),其占比恢复至 5.43%,与微生物群落的整体适应性恢复趋势一致.

值得注意的是,尽管高浓度 GO-CS 暴露下微生物表现出适应性恢复,仍需警惕其潜在环境风险:纳米材料长期累积可能通过干扰电子传递链破坏微生物能量代谢稳态;耐药性菌株的富集可能改变自然水体微生物组的结构与功能;长期暴露引发的遗传适应性可能加剧环境微生物的不可预测性演化.未来研究应着重关注:GO-CS 在复杂环境介质中的迁移转化行为及其生态毒性效应;长期暴露对微生物遗传特性的累积影响;开发可降解改性材料以降低环境残留风险.本研究为石墨烯基材料在污水脱氮工艺中的精准调控与风险评估提供了理论框架.

3　结论

3.1　当 GO-CS 浓度为 20mg/L 时,材料表面羧基/羟基通过增强电子传递效率使反应器总氮去除率提升至 81.2%;当浓度升至 50mg/L 时,因电子竞争和材料毒性导致 AnAOB 活性显著受抑,脱氮效率降至 65.42%.

3.2　在 100mg/L GO-CS 长期暴露下,微生物通过分泌 EPS 增强保护屏障及群落结构适应性调整实现活性恢复,最终脱氮效率稳定在 82.9%.厌氧氨氧化污泥中关键微生物属水平相对丰度发生显著变化,*Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Jettenia* 丰度

经初期抑制后分别回升至 12.48%和 9.09%.

3.3 研究表明,低浓度 GO-CS 主要通过促进胞外电子传递驱动自养脱氮;高浓度 GO-CS 则通过抑制 AnAOB 丰度制约脱氮效能;长期暴露后,微生物通过 EPS 屏障及群落重组形成耐受机制,ETSA 动态变化证实 AnAOB 可适应高浓度 GO-CS 环境.

参考文献:

[1] Sliekers A O, Derwort N, Gomez J L C, et al. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor [J]. Water Research, 2002,36(10):2475-2482.

[2] Zhang Q, Fan N S, Fu J J, et al. Role and application of quorum sensing in anaerobic ammonium oxidation (anammox) process: A review [J]. Critical Reviews in Environmental Science & Technology, 2021,51(6):626-648.

[3] 夏博宇,戴 犇.厌氧氨氧化亚硝酸盐的供应过程及其强化策略研究进展 [J]. 工业水处理, 2025,45(9):1-9.
Xia B Y, Dai B. Research progress on the supply process of nitrite for Anammox and its enhancement strategies [J]. Industrial Water Treatment, 2025,45(9):1-9.

[4] Li J, Li J, Peng Y, et al. Insight into the impacts of organics on anammox and their potential linking to system performance of sewage partial nitrification-anammox (PN/A): A critical review [J]. Bioresource Technology, 2020,300:122655.

[5] Wei Y, Ye M, Chen Y, et al. Competitive bio-augmentation overcoming unusual direct inhibitor inefficacy in mainstream nitrite-oxidizing bacteria suppression: Unveiling the underpinnings in microbial and nitrogen metabolism aspects [J]. Science of the Total Environment, 2024,926:171900.

[6] 闫 冰,夏 嵩,桂双林,等.厌氧氨氧化菌富集培养过程微生物群落结构及多样性 [J]. 环境科学, 2020,41(12):5535-5543.
Yan B, Xia S, Gui S L, et al. Microbial community structure and diversity during the enrichment of anaerobic ammonium oxidation bacteria [J]. Environmental Science, 2020,41(12):5535-5543.

[7] 韩 双,高梦娇,傅慧敏,等.碳基材料对厌氧氨氧化菌胞外电子传递的影响 [J]. 中国环境科学, 2025,45(7):3692-3703.
Han S, Gao M J, Fu H M, et al. Mechanisms of carbon-based materials on extracellular electron transfer of anaerobic ammonium oxidizing bacteria [J]. China Environmental Science, 2025,45(7):3692-3703.

[8] Shi B, Wu H, Shen J, et al. Control of edge/in-plane interactions toward robust, highly proton conductive graphene oxide membranes [J]. ACS Nano, 2019,13(9):10366-10375.

[9] Wang C, Li Y, Wang H, et al. High performance polyamide crosslinked graphene oxide/MPNs nanofiltration membrane for wastewater purification [J]. Separation and Purification Technology, 2022,289:120798.

[10] Hu M, Mi B. Enabling graphene oxide nanosheets as water separation membranes [J]. Environmental Science & Technology, 2013,47(8):3715-3723.

[11] Zheng S, Tu Q, Urban J J, et al. Swelling of graphene oxide membranes in aqueous solution: Characterization of interlayer spacing and insight into water transport mechanisms [J]. ACS Nano, 2017,11(6):6440-6450.

[12] Guo Z, Ahmad H A, Tian Y, et al. Extensive data analysis and kinetic modelling of dosage and temperature dependent role of graphene oxides on anammox [J]. Chemosphere, 2022,308:136307.

[13] 殷牧辰,李 军,吴耀东,等.氧化石墨烯对活性污泥脱氮性能影响的机制 [J]. 中国环境科学, 2024,44(7):3759-3766.
Yin M C, Li J, Wu Y D, et al. Mechanism of the effect of graphene oxide on nitrogen removal performance of activated sludge [J]. China Environmental Science, 2024,44(7):3759-3766.

[14] Zhang Z, Li D, Zhou C, et al. Enhanced nitrogen removal via partial nitrification/denitrification coupled Anammox using three stage anoxic/oxic biofilm process with intermittent aeration [J]. Water Research, 2024,255:121491.

[15] Tomaszewski M, Cema G, Ziembińska-Buczyńska A. Short-term effects of reduced graphene oxide on the anammox biomass activity at low temperatures [J]. Science of the Total Environment, 2019,646:206-211.

[16] Ebratkhahan M, Zarei M, Arsalani N. Facile synthesis and preparation of graphite/chitosan/graphene quantum dots nanocomposite cathode for electrochemical removal of tetracycline from aqueous solution [J]. Separation and Purification Technology, 2022,299:121663.

[17] 蒋 睿,李 韧,于莉芳,等.缺氧生物膜转型厌氧氨氧化生物膜培养与富集特性 [J]. 中国环境科学, 2024,44(1):114-120.
Jiang R, Li R, Yu L F, et al. Culture and enrichment characteristics of anammox biofilm with anoxic biofilm [J]. China Environmental Science, 2024,44(1):114-120.

[18] Chen H, Wang H, Yu G L, et al. Key factors governing the performance and microbial community of one-stage partial nitritation and anammox system with bio-carriers and airlift circulation [J]. Bioresource Technology, 2021,324:124668.

[19] Cheng W, Wang M, Yang Z, et al. The efficient enrichment of U(VI) by graphene oxide-supported chitosan [J]. RSC Advances, 2014,4(106):61919-61926.

[20] 齐梦雨,戴媛媛,张 莹,等.氧化石墨烯/适配体吸附剂对四环素类抗生素的吸附性能研究 [J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2020,43(2):168-175.
Qi M Y, Dai Y Y, Zhang Y, et al. Adsorption properties of graphene oxide / aptamer adsorbents for tetracycline antibiotics [J]. Journal of Zhejiang Normal University (Nat. Sci.), 2020,43(2):168-175.

[21] Zhang L, Zhong L, Yang S, et al. Adsorption of Ni(II) ion on Ni(II) ion-imprinted magnetic chitosan/poly(vinyl alcohol) composite [J]. Colloid and Polymer Science, 2015,293(9):2497-2506.

[22] 郑怀礼,钟 政,邹 宏,等.磁性阳离子型壳聚糖絮凝剂去除 Cr(VI) [J]. 中国环境科学, 2022,42(2):745-752.
Zheng H L, Zhong Z, Zou H, et al. Synthesis of magnetic cationic chitosan flocculant by low-pressure UV light for the removal of Cr(VI) [J]. China Environmental Science, 2022,42(2):745-752.

[23] 纪鑫奇,钱 杰,于鹏飞.pH 值对厌氧氨氧化与反硝化耦合脱氮性能的影响 [J]. 辽宁化工, 2018,47(12):1211-1215.
Ji X Q, Qian J, Yu P F, et al. Effect of pH value on denitrification performance of anaerobic ammonium oxidation and denitrification

coupling system [J]. Liaoning Chemical Industry, 2018,47(12):1211-1215.

[24] Kang D, Guo L, Hu Q, et al. Surface convexity of anammox granular sludge: Digital characterization, state indication and formation mechanism [J]. Environment International, 2019,131:105017.

[25] Anush S M, Chandan H R, Gayathri B H, et al. Graphene oxide functionalized chitosan-magnetite nanocomposite for removal of Cu(II) and Cr(VI) from waste water [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020,164:4391-4402.

[26] Jin Y, Xiong W, Zhou N, et al. Role of initial bacterial community in the aerobic sludge granulation and performance [J]. Journal of Environmental Management, 2022,309:114706.

[27] 李　进,吴莉娜,闫志斌,等.主流部分亚硝化-厌氧氨氧化工艺脱氮功能菌群的控制策略研究 [J]. 环境工程, 2021,39(8):45-54,61.
Li J, Wu L N, Yan Z H, et al. Research on control strategy of nitrogen removal functional bacteria in mainstream partial nitrification-anammox process [J]. Environmental Engineering, 2021,39(8):45-54,61.

[28] Ya T, Liu J, Zhang M, et al. Metagenomic insights into the symbiotic relationship in anammox consortia at reduced temperature [J]. Water Research, 2022,225:119184.

[29] Amann R I, Ludwig W. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation [J]. Microbiological Reviews, 1995,59(1):143.

[30] 鲜文东,张潇橦,李文均.绿弯菌的研究现状及展望 [J]. 微生物学报, 2020,60(9):1801-1820.
Xian W D, Zhang X T, Li W J. Research status and prospect on bacterial phylum *Chloroflexi* [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(9):1801-1820.

[31] Mielczarek A T, Kragelund C, Eriksen P S, et al. Population dynamics of filamentous bacteria in Danish wastewater treatment plants with nutrient removal [J]. Water Research, 2012,46(12):3781-3795.

[32] Jeon C O, Lee D S, Park J M. Microbial communities in activated sludge performing enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch reactor [J]. Water Research, 2003,37(9):2195.

[33] 胡倩怡,郑　平,康　达.厌氧氨氧化菌的种类、特性与检测 [J]. 应用与环境生物学报, 2017,23(2):384-391.
Hu Q Y, Zheng P, Kang D. Taxonomy, characteristics, and biotechniques used for the analysis of anaerobic ammonium oxidation bacteria [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2017,23(2):384-391.

作者简介：郭丽莎(2000-),女,湖南醴陵人,长沙理工大学硕士研究生,主要从事废水脱氮新技术研究.发表论文 1 篇.3060644330@qq.com.