

李冬, 齐赛月, 傅思博, 等. 厌氧/缺氧/好氧/缺氧模式 DPR 系统脱氮除磷性能 [J]. 中国环境科学, 2025,45(6):3001-3009.

Li D, Qi S Y, Fu S B, et al. Highly efficient nitrogen and phosphorus removal by a novel denitrifying phosphorus removal system operated in an anaerobic-anoxic-aerobic-anoxic mode [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3001-3009.

厌氧/缺氧/好氧/缺氧模式 DPR 系统脱氮除磷性能

李冬^{1*}, 齐赛月¹, 傅思博¹, 祝彦均¹, 王沁源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: 在废水的脱氮除磷过程中, 通过合作避免优势功能微生物的共生竞争是深度脱氮除磷的有效策略. 本研究采用单级序批式反应器以厌氧/缺氧/好氧/缺氧(A/A₁/O/A₂)的模式运行 100d, 调节聚磷菌(PAOs)、反硝化聚磷菌(DPAOs)和反硝化聚糖菌(DGAOs)的动态平衡, 以期实现高效脱氮除磷. 结果表明, 采用 A/A₁/O/A₂ 模式的新型反硝化除磷(DPR)系统为不同功能微生物创造了协同环境, 通过增设回流装置和缩短有氧段时间的优化, 氮去除效率(NRE)和磷去除效率(PRE)最终分别达到了(95.13%±0.35%)和(94.70%±0.96%), 实现了良好的脱氮除磷效果. 机理分析表明, 新型 DPR 系统中, 好氧段前的 A₁ 段可能为 DPAOs 创造了良好的缺氧环境, DPAOs 在此进行反硝化除磷, 而在 A₂ 段, DGAOs 可能在聚羟基烷酸(PHAs)和糖原(Gly)驱动下实现内源反硝化脱氮. 胞外聚合物(EPS)结果分析表明, 相较于以 A/O/A 模式运行的 R1, 以 A/A₁/O/A₂ 模式运行的 R2 中蛋白质(PN)和多糖(PS)含量分别提高了 35.38 和 12.39mg/gVSS, 污泥聚集性得到增强. 此外, 对微生物群落结构的分析表明, *Dechloromonas* 和 *Ca. Competibacter* 的丰度分别从 R1 的 2.24%、1.53% 上升到 R2 的 7.61%、7.94% 和 R3 的 4.62%、5.28%, A/A₁/O/A₂ 模式显著提高了主要 DPAOs 菌属和主要 DGAOs 菌属的丰度.

关键词: 脱氮除磷; 反硝化除磷; 内源反硝化; EPS

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)06-3001-09

Highly efficient nitrogen and phosphorus removal by a novel denitrifying phosphorus removal system operated in an anaerobic-anoxic-aerobic-anoxic mode. LI Dong^{1*}, QI Sai-yue¹, FU Si-bo¹, ZHU Yan-jun¹, WANG Qin-yuan, ZHANG Jie^{1,2} (1.Beijing Key Laboratory of Water Quality Science and Water Environment Restoration Project, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 2.State Key Laboratory of Urban Water Resources and Water Environment, Harbin University of Technology, Harbin 150090, China). *China Environmental Science*, 2025,45(6): 3001~3009

Abstract: Cooperative strategies that mitigate competition among dominant functional microorganisms are crucial for efficient nitrogen and phosphorus removal in wastewater treatment. This study investigated a novel single-stage sequencing batch reactor operating under an anaerobic/anaerobic/oxic/anaerobic (A/A₁/O/A₂) mode for 100days to regulate the dynamic balance of phosphorus-accumulating organisms (PAOs), denitrifying PAOs (DPAOs), and denitrifying glycogen-accumulating organisms (DGAOs). The optimized system, featuring a recycle loop and reduced aerobic phase duration, achieved nitrogen and phosphorus removal efficiencies of (95.13%±0.35%) and (94.70%±0.96%), respectively. Mechanistic analysis suggested that the A₁ phase created an anoxic environment conducive to DPAO-mediated denitrifying phosphorus removal, while the A₂ phase supported DGAO-driven denitrifying nitrogen removal using polyhydroxyalkanoates (PHAs) and glycogen (Gly). Extracellular polymeric substance (EPS) analysis revealed increases of 35.38mg/gVSS in protein (PN) and 12.39mg/gVSS in polysaccharide (PS) content, enhancing sludge aggregation. Microbial community analysis demonstrated significant enrichment of *Dechloromonas* and *Ca. Competibacter*, with their abundances increasing from 2.24% and 1.53% in R1 to 7.61% and 7.94% in R2, respectively. The A/A₁/O/A₂ mode effectively created a synergistic environment for key DPAOs and DGAOs, achieving superior nitrogen and phosphorus removal performance compared to conventional modes.

Key words: nitrogen and phosphorus removal; denitrifying phosphorus removal; endogenous denitrification; EPS

作为人为控制废水中氮磷排放的关键一环, 污水处理厂(WWTP)对市政污水中氮和磷的有效去除仍然面临缺乏碳源的挑战. 低 C/N 比的情况与实现城市污水中氮磷的同步去除存在矛盾^[1]. 因此反硝化除磷(DPR)工艺作为一种高效且低碳需求的生物技术, 近年来受到了广泛的关注^[2].

在传统 DPR 系统中, 通常通过厌氧、缺氧和好氧 3 个阶段的交替作用来实现氮磷的同步去除. 在

收稿日期: 2024-11-08

基金项目: 北京高校卓越青年科学家计划项目(BJJWZYJH01201910005 019)

* 责任作者, 教授, lidong2006@bjut.edu.cn

厌氧阶段,主要功能菌反硝化聚磷菌(DPAOs)利用聚磷酸盐(poly-P)和糖原(Gly)分解产生的能量,从水中吸收挥发性脂肪酸,并将其转化为聚羟基烷链酸(PHAs)等胞内碳源,同时向废水中释放大量的磷酸盐($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$)^[3].在缺氧阶段,DPAOs以硝酸盐($\text{NO}_3^-\text{-N}$)或亚硝酸盐($\text{NO}_2^-\text{-N}$)代替氧气(O_2)作为电子受体氧化 PHAs 并获得能量,从而从水中过量吸收 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$,达到脱氮除磷的目的^[4].然而,DPAOs 使用的底物 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 或 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 不能直接从原废水中获得.它们需要由氨氧化菌(AOB)提供.AOB 在原废水中转化氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$),这需要一定的氧气.因此,在 DPR 系统中不可避免地存在好氧段以去除氮和磷.聚磷菌(PAOs)在厌氧条件下将外部碳源转化为 PHAs 进行储存,并在好氧段将氧气作为电子受体吸收过量的磷.由于 DPR 系统中氧气的存在,PAOs 会大量增殖,这些 PAOs 不仅会增加能量消耗,还会与 DPAOs 争夺碳源造成竞争性抑制.

以往的研究经常在厌氧段和缺氧段之间添加一个好氧阶段(即 A/O/A 模式)^[5].然而,这种先有氧再缺氧的方法往往会增强 PAOs 的优势.但如果将好氧段后移到较晚的阶段,会出现两个问题:第一,它不能为缺氧段的 DPAOs 提供底物,这可以通过建立再循环系统来解决.其次,未经进一步处理的好氧废水将不符合 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的排放标准.作为脱氮除磷系统中重要的功能菌,反硝化聚糖菌(DGAOs)总是随着 DPAOs 的富集而增殖,并在系统中与其他脱氮除磷的功能菌相互影响.在厌氧和好氧/缺氧阶段,DGAOs 利用与 PAOs/DPAOs 相似的代谢来促进内源反硝化,而不会积累聚磷酸盐^[6].因此,如果在后移好氧段后,再增加一个缺氧段,为 DGAOs 提供合适环境,就可以进一步处理好氧废水中的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$,同时还可以充分利用 DPR 系统中共存的碳源,最大化的平衡功能微生物.

本研究在后移好氧段后,再增加一个缺氧段,提出一种新的操作模式——厌氧-缺氧-好氧-缺氧(A/A₁/O/A₂)模式,旨在通过调节 PAOs、DPAOs 与 DGAOs 之间的相互作用,优化微生物群落的平衡,提升反硝化除磷系统的脱氮除磷性能.通过长期运行,考察系统在不同模式下的脱氮除磷性能,并进行相应优化;探究不同的操作模式下的脱氮除磷路径,明确各阶段对脱氮除磷的作用;分析不同操作模式下

EPS 的变化情况,评估新模式对系统稳定性的影响;分析不同操作模式对主要 PAOs、DPAOs 和 DGAOs 菌群的调控作用,以期反硝化除磷系统性能提升提供参考.

1 材料与方法

1.1 接种污泥与实验用水

接种污泥为课题组中试 A/O 沉淀池中的污泥与北京高碑店污水处理厂二沉池混合污泥的混合物.反应器厌氧进水为 3L 的合成生活污水.其组成包括 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COONa}$ 、 NH_4Cl 、 KH_2PO_4 、无水 CaCl_2 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 1mL/L 的微量元素^[7].采用 NaHCO_3 模拟生活污水的碱度以稳定 pH 值.具体水质指标为 COD:210~290mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$:40~60mg/L, $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$:6~8mg/L, $\text{NO}_2^-\text{-N}$:<1mg/L, $\text{NO}_3^-\text{-N}$:0~2mg/L, pH 值为 7.5~8.0.此外,在启动期采用 3L 初始浓度约为 30mg/L $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的 NaNO_3 溶液在 A₁ 段开始前进水.

1.2 实验装置与运行方式

为了对比不同的操作模式对系统性能的影响,设 3 套由有机玻璃制成的单级序批式反应器(SBR).编号 R1、R2、R3,每个反应器高径比相同(高度/内径=3),有效容积为 8L,换水比为 3/4.3 个反应器均设置 4 个阶段的运行来逐步优化系统,提升系统的脱氮除磷性能,运行周期如图 1 所示.

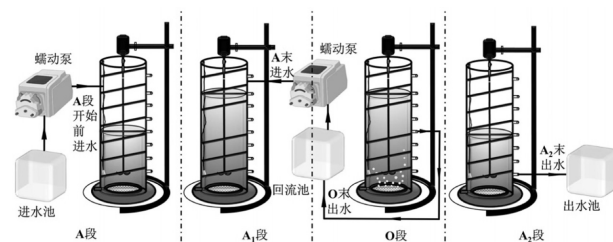


图 1 反应器运行周期示意

Fig.1 Schematic diagram of reactor operation cycle

为了分析 A₁/O/A₂ 的最佳比例,在 100d 的试验中对每个运行周期共 480min 的周期时长进行了分配.其中进水 10min,厌氧 120~180min,缺氧进水 10min,A₁段 0~80min(R1 的 A₁段为 0min,缺氧进水在 O 段前),O 段 60~120min,好氧沉淀 25min,好氧出水 10min,A₂段 40~120min,沉淀 25min,排水 10min,空闲时间 5~90min,不同反应器的具体时间分配如表 1 所示.在第 1 阶段(1~50d),厌氧和缺氧阶段(A₁)

开始前分别加入 3L 合成生活废水和 3L 的 NaNO_3 溶液.将 3 个 SBR 反应器的 A_1/A_2 时间比分别设置为 0、1:2 和 2:1.第 2 阶段(51~60d)和第 3 阶段(61~70d)为过渡期.第 2 阶段将 3 个反应器的 A_1/A_2 时间比改为上阶段实验得出的最佳 A_1/A_2 时间比.在第 3 阶段在 3 个反应器的 A_1 段停止加入 NaNO_3 溶液,而是将好氧阶段结束后的出水作为回流储存,然后在下一个循环的 A_1 段开始时流入反应器.在第 4 阶段(71~100d),缩短有氧时间以进一步抑制 PAOs.

表 1 反应器运行工况

Table 1 Operational conditions of the reactor

反应器	阶段	阶段 1 (1~50d)	阶段 2 (51~60d)	阶段 3 (61~70d)	阶段 4 (71~100d)
	A(min)	180	150	120	120
R1	A_1 (min)	0	40	40	40
	O(min)	120	120	120	60
	A_2 (min)	120	80	80	80
R2	A_1 (min)	40	40	40	40
	O(min)	120	120	120	90
	A_2 (min)	80	80	80	80
R3	A_1 (min)	80	40	40	40
	O(min)	120	120	120	120
	A_2 (min)	40	80	80	80

1.3 分析项目与检测方法

本实验包括长期的水质监测和批次试验,批次试验在第 48d 时进行,除了单个周期的氮、磷和 COD 的含量外,还对 R2 的内碳源进行了测定. NH_4^+-N 的测定采用纳氏试剂光度法; NO_2^--N 的测定采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法; NO_3^--N 的测定采用麝香草酚紫外分光光度法;COD 和总磷(TP)的测定采用 5B-3B 型 COD 多参数快速测定仪.溶解氧(DO)和 pH 值的测定采用 WTW-Multi3430 分析仪.此外,混合液悬浮固体浓度(MLSS)和混合液挥发性悬浮固体浓度(MLVSS)等指标均采用国家规定的标准测量方法^[8].

1.4 胞外聚合物(EPS)的分析

EPS 测定主要分为 3 步:EPS 提取、蛋白质(PN)测定和多糖(PS)测定.EPS 采用改良的热提取法^[9]:取 30mL 泥水混合物,4000g 离心 5min,收集上清液为溶解性 EPS(S-EPS);用 70℃ 的 0.05%NaCl 溶液恢复体积后,4000g 离心 10min,收集上清液为松散结合 EPS(LB-EPS);再用常温的 0.05%NaCl 溶液恢复体

积后,60℃ 水浴加热 30min,4000g 离心 15min,收集上清液为紧密结合 EPS(TB-EPS).

分别测定 S-EPS、LB-EPS 及 TB-EPS 中 PN 和 PS 含量,PS 测定采用 Lowry 法,PN 测定采用萘酮硫酸法^[10].每个阶段的污泥样品被冷冻干燥,采用 Carvalho 等^[11]和 Oehmen 等^[12]的方法测定 PHAs 和 Gly,其中 PHAs 的测量基于聚 β -羟基丁酸酯(PHB)和聚 β -羟基戊酸酯(PHV)的总量.

采用三维荧光光谱法(F97Pro,冷光,中国)对分离后 EPS 内的有机物组成进一步分析,扫描激发和发射光谱范围均为 200~700nm.此外,采用 MatLab R2018a(MathWorks Inc.,USA)平台中 DOMFluor 工具箱进行平行因子(PARAFAC)分析^[13],得到 EPS 组分的变化.

1.5 微生物组成分析

为了探寻不同操作模式下的微生物群落动态变化规律,在 3 个反应器运行状态相对稳定的第 48d 进行取样并根据测序结果进行了微生物群落分析.特别是针对 16S 区域,由 Magigene 生物技术有限公司(广州,中国)进行,对细菌结构域进行扩增,重点扩增 V3-V4 片段,根据 Mag-Bind 土壤 DNA 试剂盒说明书进行 DNA 提取.细菌聚合酶链反应(PCR)扩增采用引物 341F(CCTACGGGGNGGCWGCAG)和 805R(GACTACHVGGGGTATCTAATCC)^[14],得到的结果使用 Illumina MiSeq 系统(Illumina MiSeq 2x300bp,USA)进行高通量测序,这些非重复序列以 97%的相似阈值进行 OTU 聚类.

2 结果与讨论

2.1 不同运行阶段下系统的脱氮除磷性能

根据表 1 所述,3 个反应器在不同操作模式下运行了 100d,如图 2 所示,第 1 阶段(1~50d),为了快速恢复污泥活性和增强细胞内碳源储量,反应器设置较长的厌氧段(180min)和好氧段(120min).在 R1 反应器中,好氧末的 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度由第 1d 的 3.79mg/L 降至第 22d 的 1.61mg/L,这可能是由于 PAOs 活性的增强.此时厌氧末的 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度稳定在 (23.61±1.70)mg/L.在第 46d,好氧末 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的浓度稳定在 3.49mg/L 左右,总出水 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度为 (1.09±0.08)mg/L.磷的去除主要发生在好氧段.而 NO_3^--N 的出水浓度下降至稳定在 (22.64±0.58)mg/L,这可能

是由于 DPAOs 的缓慢富集.以 A/O/A 模式运行的 R1 在 46d 内初步富集到起除磷作用的 PAOs 和 DPAOs,其中 PAOs 占主导地位.在 R2 和 R3 中,厌氧末磷的含量分别稳定在了(23.85±1.89)mg/L 和 (23.73±3.16)mg/L.而 A₁ 末 PO₄³⁻-P 稳定较早,分别在 38d 和 32d 时稳定在(3.12±0.17)mg/L 和 (2.17±0.10)mg/L.这表明在 A/A₁/O/A₂ 模式下,R2 和 R3 中磷的去除主要发生在 A₁ 段,DPAOs 可能为主要功能菌,且 R2 和 R3 比 R1 更早的富集到 DPAOs.稳定后的 R2 反应器的出水 NO₃⁻-N 浓度(12.69±0.78)mg/L 高于 R3(9.22±0.35)mg/L,但低于 R1(22.64±0.58)mg/

L.内源性反硝化可能发生在 R2 和 R3 中,DGAOs 可能与 DPAOs 一起富集.此外,第一阶段稳定后 R1 的氮去除率(NRE)为(67.70%±0.93%),显著低于 R2 和 R3 的(80.31%±1.28%)和(85.06%±0.76%),这表明采用 A/A₁/O/A₂ 模式的 R2 和 R3 在系统的脱氮性能上相对于 R1 更有优势.3 个反应器的磷去除率(PRE)分别为(85.49%±0.49%)、(91.52%±0.94%)和(90.56%±1.08%),R1 虽初步富集到了起除磷作用的 PAOs 和 DPAOs 两种菌,但在除磷性能上仍稍逊于 R2 和 R3,这可能是由于 A₁ 阶段对 PAOs 的抑制作用.

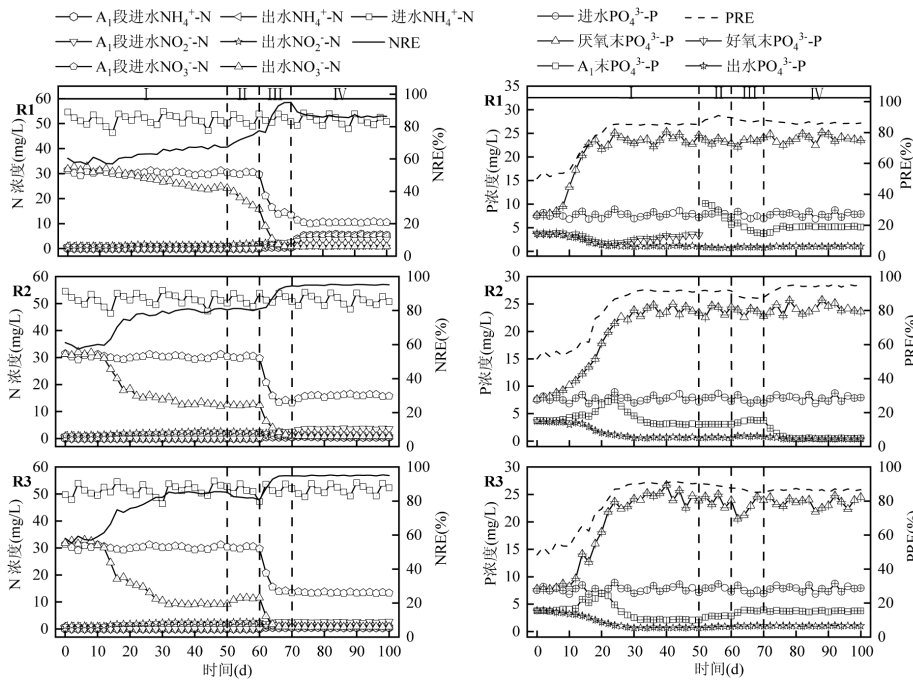


图 2 不同运行阶段下系统氮磷浓度及去除率变化

Fig.2 Changes of nitrogen and phosphorus concentration and removal rate in DPR system under different operation stages

第 2 阶段(51~60d)调整 R1 和 R3 的 A₁/A₂ 比值,第 3 阶段(61~70d)停止加入 NaNO₃ 溶液,增设回流装置,主要目的是使 NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 作为底物回流到 A₁ 段,供给 DPAOs,抑制 PAOs,实现整个系统氮的良性循环.加入回流后,R2 中 NO₃⁻-N 浓度显著下降.但 A₁ 末的 PO₄³⁻-P 浓度略有上升,达到(3.79±0.05)mg/L,这可能是由于回流中的 NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 浓度(分别为(2.56±0.13)mg/L 和 (13.61±0.58)mg/L)低于添加的 NaNO₃ 溶液浓度(约 30mg/L),一定程度上减弱了 DPAOs 活性.在第 4 阶段缩短好氧时间,提高 DPAOs 的活性.在第 4 阶段(71~100d),缩短

R1 的好氧时间至 60min,回流水中含有(5.35±0.39)mg/L 的 NH₄⁺-N,说明 NH₄⁺-N 未被完全氧化,好氧时间过短导致出水 NH₄⁺-N 浓度较高(5.25±0.38)mg/L.A₁ 结束时,PO₄³⁻-P 增加到(5.21±0.17)mg/L,表明反硝化除磷能力也在减弱.R3 反应器的好氧段时间保持不变,A₁ 末 PO₄³⁻-P 浓度维持在(3.86±0.13)mg/L,而 PRE 下降至(86.51%±1.51%),为增设回流装置减弱除磷菌群的活性提供了支持.在 R2 中,A₁ 末 PO₄³⁻-P 浓度接近出水,PRE 和 NRE 分别从(91.52%±0.94%)和(80.31%±1.28%)提高至(94.70%±0.96%)和(95.13%±0.35%),结合 R1 缩短好

氧时间至 60min 导致 NH_4^+-N 未被完全氧化和 R3 增设回流装置后 PRE 下降来看,缩短好氧时间至 90min 既可使 NH_4^+-N 反应完全,又有助于进一步提高 PRE,抵消回流对除磷造成的负面影响。

与 R1 相比,采用 A/A₁/O/A₂ 操作模式的 R2 和 R3 在缺氧段除磷效率更高,这可能富集更多的 DPAOs.缩短有氧时间至 90min 有助于进一步抑制 PAOs,提高 DPAOs 活性,最终 NRE 和 PRE 分别达到了 (95.13%±0.35%) 和 (94.70%±0.96%).这一去除效率同王文琪等^[15]采用间歇曝气 A/O/A 工艺后期的 NRE、PRE(分别为 91.15%和 95.66%)相比提高了氮的去除效率.与 Mandel 等^[16]在以 A/A/O 模式运行下通过延长缺氧时间和缩短好氧时间刺激 DPAOs 的生长使 PRE 最高达到 90.4%的方法相比,对磷的去除效果也更具有优势。

2.2 不同模式下典型周期内污染物去除机理

在第 48d 的典型周期中监测了 3 个反应器的物质转化,如图 3 所示.第 48d 时 R1 反应器中大部分的 NH_4^+-N 在好氧阶段转化为 NO_3^--N ,少量的 NH_4^+-N 被转化为 NO_2^--N ,出水中含有高浓度的 NO_3^--N ,这可能是由于有氧段时间较长导致.在好氧阶段结束时 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 从 11.35mg/L 降至 3.47mg/L,表明 R1 中磷的去除主要依赖于好氧除磷.在 A₂ 段 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 进一步减少,出水浓度仅为 1.06mg/L. NO_3^--N 的浓度从 31.03mg/L 下降到 27.56mg/L,表明体系中存在一定程度的缺氧除磷,但比例较低.缺氧段前的好氧段提供了丰富的氧电子受体,这可能导致了较高的 PAOs 活性和较低的 DPAOs 活性.系统主要依靠好氧除磷,反硝化除磷性能不佳。

在 R2 和 R3 反应器中,A₁ 段 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的浓度显著下降,分别从 12.84 和 12.34mg/L 降至 3.03 和 2.14mg/L.而 NO_3^--N 水平分别从 15.14 和 15.23mg/L 下降到 6.35 和 0.32mg/L.表明在 R2 和 R3 中除磷主要发生在稳定后的 A₁ 段,先缺氧后好氧的 A/A₁/O/A₂ 操作模式使得反硝化除磷性能显著加强,从而一定程度上抑制了好氧除磷,DPAOs 活性可能得到加强.过度延长 A₁ 段时间对除磷的额外影响微乎其微.在好氧段,随着 NH_4^+-N 被氧化,R2 和 R3 的 NO_2^--N 和 NO_3^--N 在 90min 后均趋于稳定(为后续进一步调整 O 段时间提供了参考), $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 出水浓度进一步降低,表明 A/A₁/O/A₂ 操作模式下也存在好

氧除磷,但占比较低.在 A₂ 段中, NO_2^--N 和 NO_3^--N 水平进一步降低,猜测可能是由于经常与 DPAOs 一同出现的 DGAOs 的内源反硝化导致的.由于 A₂ 段进水中含有的高水平 NO_3^--N 在 R2 和 R3 中无法完全转化,出水的硝氮仍然较高(12.43 和 9.12mg/L).COD 和 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 的变化在厌氧段的前 1.5h 最为显著,特别是在前 0.5h,这与以往的研究一致^[17],为 A₂ 段 DGAOs 通过内源性代谢去除氮提供了支持。

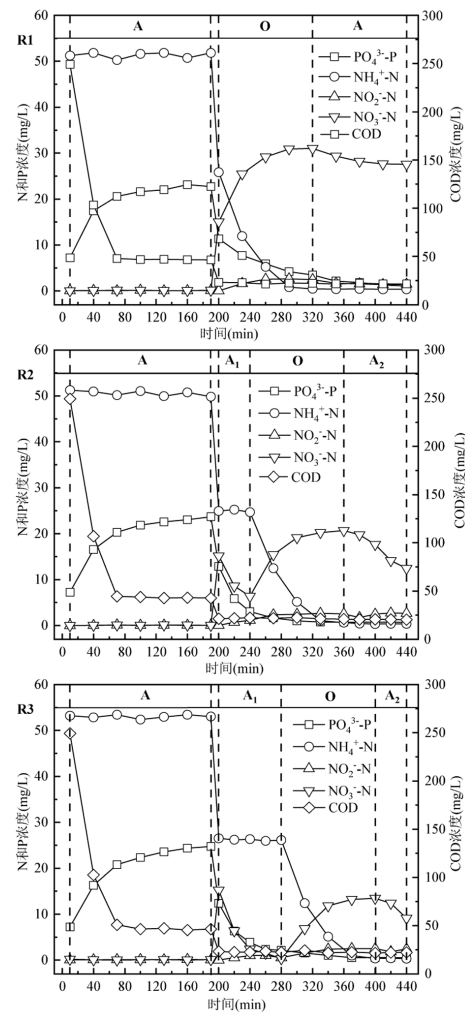


图 3 三个反应器典型周期内 COD、 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 、 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、 NO_3^--N 的浓度变化
Fig.3 Changes of concentrations of COD、 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 、 NH_4^+-N 、 NO_2^--N 、 NO_3^--N in typical cycles of three reactors

为进一步了解 A/A₁/O/A₂ 模式下系统硝化、内源反硝化和除磷的内在机理,在第 48d 对 R2 中的胞内碳源(能量来源)进行分析,如图 4 所示.在 A 段,PHAs 的浓度上升到 15.9mmolC/L,Gly 浓度下降到 10.6mmolC/L, $\Delta\text{PHA}/\Delta\text{COD}$ 比值为 1.60molC/molC,

高于 PAOs 的 $1.33\text{molC/molC}^{[18]}$ 的理论代谢模型,但低于 GAOs 的 $1.86\text{molC/molC}^{[19]}$ 模型.这些结果表明 PAOs 和 GAOs 都参与了细胞内有机物的转化.如图 3, A_1 段 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 的浓度从 12.34mg/L 降低到 3.53mg/L . PHAs 浓度从 7.9mmolC/L 下降到 5.9mmolC/L , Gly 浓度从 5.3mmolC/L 下降到 4.5mmolC/L . 吸磷量与 ΔPHA 之比 ($\text{PUA}/\Delta\text{PHA}$) 为 0.17molP/molC , 接近 0.15molP/molC 的 DPAOs 代谢模型^[20]. $\Delta\text{Gly}/\Delta\text{PHA}$ 的比值为 0.40molC/molC , 介于 DPAOs 模型的 0.30molC/molC 和 DGAOs 模型的 0.79molC/molC 之间^[21]. 上述结果表明, A_1 段主要是 DPAOs 进行反硝化除磷, DGAOs 的内源性反硝化作用较小. 在 A_2 段 Gly 浓度从 6.9mmolC/L 下降到 5.7mmolC/L , PHAs 浓度从 5.0mmolC/L 下降到 3.2mmolC/L . $\Delta\text{Gly}/\Delta\text{PHA}$ 的比值为 0.67molC/molC , 介于硝酸盐型 DGAOs (0.62molC/molC) 和亚硝酸盐型 DGAOs (1.04molC/molC) 的代谢模型之间^[22]. 推测 A_2 段该系统在 PHAs 和 Gly 共同驱动下实现了内源性反硝化脱氮. 观察到 R2 中 $\Delta\text{PHA}/\Delta\text{COD}$ 的比值处于 PAOs 模型和 GAOs 模型中间, 表明存在混合微生物群落, 这些生物的共存可以提供代谢灵活性, 允许系统适应不同的环境条件和底物的可用性. 在 A_1 段中, 磷的吸收以及 PHAs 和 Gly 浓度的相应变化为 DPAOs 和 DGAOs 的代谢途径提供了能量供给. 而接近 DPAOs 模型的 $\text{PUA}/\Delta\text{PHA}$ 比值又表明了 DPAOs 是该部分除磷的主要驱动因素. 在 A_2 段推测是由于内源反硝化作用, Gly 浓度和 PHAs 浓度下降. 该系统可能依靠内部储存的碳源 (PHAs 和 Gly) 进行反硝化, 这在外部底物有限的情况下至关重要. 硝酸盐型和亚硝酸盐型 DGAOs 的可能存在结果表明, 该系统可以通过多种途径高效脱氮, 进一步增强了其稳定性和适应性.

综上所述, R1 主要依靠好氧除磷, 而在以 $A/A_1/O/A_2$ 模式运行下的 R2 与 R3 中, 缺氧除磷是磷去除的主要途径. 氮的去除可能依赖于硝化和内源反硝化. 功能菌主要在厌氧段转化外部碳源为内碳源储存在细胞内, 而好氧段前的 A_1 段为 DPAOs 创造了良好的缺氧环境, DPAOs 利用提供的 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 或 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 底物从原始废水中去除了几乎所有的磷和部分氮, 实现缺氧除磷的同时抑制了 PAOs. 在好氧段 AOB 将原废水中的氨氮氧化, 同时被抑制的 PAOs

进行一定程度的好氧吸磷. 氮的去除主要发生在 A_2 段, 此时外部底物有限, 系统可能依赖于内部储存的碳源来去除残留的氮, DGAOs 在 PHAs 和 Gly 的共同驱动下实现了内源性反硝化脱氮.

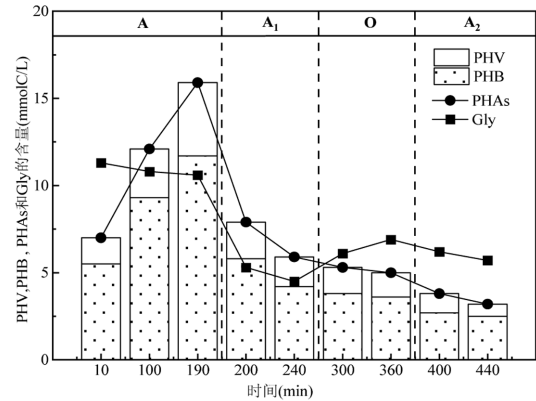


图 4 R2 典型周期内细胞内碳源 (PHV、PHB、PHAs 和 Gly) 浓度的动态变化

Fig.4 Dynamic variations in intracellular carbon sources (PHV, PHB, PHAs and Gly) concentrations during a typical cycle in R2

2.3 不同模式下 EPS 变化分析

细胞外聚合物 (EPS) 是一种由细菌产生并附着在细胞表面的粘性物质, 是活性污泥的主要成分. EPS 在微生物聚集、营养保护、细胞保护、代谢和污染物去除等方面发挥着重要作用^[23]. 图 5(a) 总结了第 48d (第 1 阶段) 和第 96d (第 4 阶段) 中 EPS 蛋白质和多糖的变化. 作为 EPS 的主要成分, PN 和 PS 的总含量与 EPS 组分的含量成正比, 其中 TB-EPS 含量高于 LB-EPS 和 S-EPS, 这有利于污泥的稳定性. 第一阶段中 R1 的 PN 和 PS 含量分别为 71.62 和 38.26mg/gVSS , R2 中 PN 和 PS 含量分别为 103.42 和 58.16mg/gVSS , R3 中 PN 和 PS 含量分别为 126.29 和 58.02mg/gVSS . 大多数 PN 由疏水性氨基酸组成, 疏水性的增加可以增强细胞亲和力, 促进细胞聚集^[24]. PS 对于维持污泥的结构完整性至关重要, 并能适应微生物的粘附, DGAOs 的增加会促进 PS 的过量分泌^[25]. 与 R1 相比, R2 和 R3 中 PN 和 PS 含量的增加表明稳定性增强, 这可能是由于操作模式有利于 DGAOs 和 DPAOs 的生长. 这表明, 与 R1 相比, 以 $A/A_1/O/A_2$ 模式运行的 R2 和 R3 的 EPS 含量发生了显著变化, 污泥聚集性增强.

利用三维荧光结合 PARAFAC 模型进行组分拆

分和残差分析,将所有荧光光谱分解为 3 个组分.图 5(b)显示了 3 种组分的光谱位置,图 5(c)显示了 3 种组分的光谱强度变化.在这些物质中,组分 1 代表了酪氨酸,组分 2 代表可溶性微生物副产物,组分 3 与腐植酸样品内的疏水酸有关^[26].拆分后的 R2 和 R3 中酪氨酸的荧光强度分别为 6172.80 和 6178.13,而 R1 的荧光强度仅为 2754.27,明显低于 R2 和 R3.腐植酸作为 EPS 的组分之一,主要是一种高负电官

能团的高聚物,不利于污泥的絮凝造粒,导致污泥沉降和活性变差.R2 和 R3 中与腐植酸样品内的疏水酸有关的荧光强度分别为 1434.03 和 1741.29,低于 R1 中的 2663.61.这可能是由于腐植酸对微生物代谢有抑制作用,腐植酸荧光强度的降低反而说明其生物活性较高.造成这些差异的原因可能是 A/A₁/O/A₂ 模式的变化以及 R1 与 R2 和 R3 的除磷路径的差异.

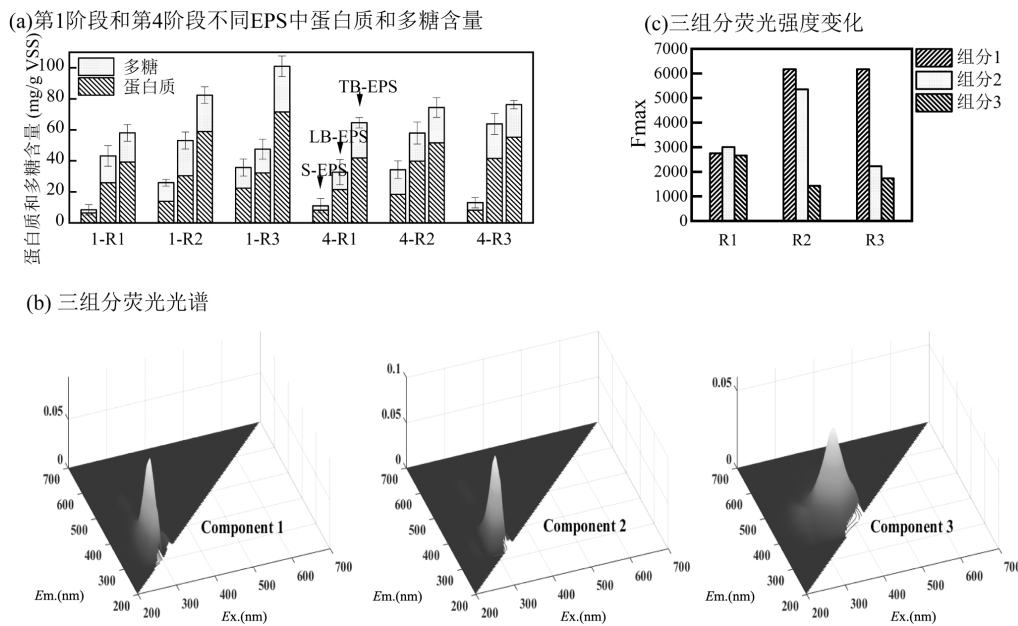


图 5 EPS 组分变化

Fig.5 Compositional changes of extracellular polymeric substances

2.4 微生物群落结构变化分析

利用 MiSeq 高通量测序平台对 3 个反应器第 48d 的优势微生物群落进行鉴定,如图 6 所示.维恩图(图 6(a))说明了 3 个反应器之间共享的和唯一的 OTUs 数量.微生物共有的 OTU 数为 949 个,说明反应器内微生物群落存在一定的相似性.而 R1、R2 以及 R3 中分别有的 81,207 和 496 个独特 OTU 导致污泥内微生物群落发生实质性变化,这说明由于操作模式的变化生物群落结构也发生了切实的变化.

进一步对样品中的微生物群落由门到属进行分类.在门水平上,3 个反应器内微生物组成相似,但丰度不同(图 6(b)).在不同的反应器中优势菌门包括变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线杆菌门(Actinobacteriota)和氯弯菌门(Chloroflexi),占总菌群的 83.69%~90.13%.其中,Proteobacteria 和 Bacteroidota 的比例最高,它们与系

统中的反硝化除磷菌密切相关.Proteobacteria 包括多种去除有机物、氮和磷的功能微生物,是增强型生物除磷系统中的重要物种^[27].Bacteroidota 和 Chloroflexi 参与有机物分解成短链脂肪酸,而 Actinobacteriota 可以合成促进多糖或酚类化合物分解代谢的酶^[28].

在属水平上,优势功能菌属的演替与不同操作设置的变化相对应,如图 6(c)所示.典型 DPAOs 属 *Dechloromonas* 在 R2 和 R3 中的丰度较 R1 显著增加,分别从 2.24% 上升到 7.61% 和 7.94%.*Dechloromonas* 在 A₁ 阶段对 NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 和 PO₄³⁻-P 的去除起主要作用,显著提高了 R2 和 R3 的反硝化除磷能力.*Ca.Accumulibacter* 是大型生物污水处理厂和实验室规模的除磷反应器中的主要 PAOs 和 DPAOs.它可以使用氧、亚硝酸盐和硝酸盐作为除磷的电子受体^[29],它在 3 个反应器中的相对

丰度分别为 8.12%、2.73%和 2.22%,这表明采用的 A/A₁/O/A₂ 模式抑制了以 O₂ 为电子受体的 PAOs 的相关菌群.除此之外,*Tetrasphaera* 已被鉴定为 PAOs 菌属^[30],虽然与 *Ca.Accumulibacter* 相比, *Tetrasphaera* 不储存 PHAs,但它可以吸收复杂的有机分子,如氨基酸和葡萄糖^[31],在 3 个反应器中相对丰度分别为 1.41%、0.63%和 0.75%. *Ca. Accumulibacter* 与 *Tetrasphaera* 的趋势同 2.1 节 R1 中磷的去除主要发生在 O 段,R2 和 R3 中磷的去除主要发生在 A₁ 段相吻合,进一步验证了 A/A₁/O/A₂ 模式对 PAOs 菌群有抑制作用.*Ca.compebacter*、*Defluviicoccus* 和 *Propionivibrio* 属于 DGAOs^[5].在操作过程中,*Ca.Competibacter* 为优势 DGAOs,其丰度分别为 1.53%、4.62%和 5.28%,与 DPAOs 的变化趋势一致.系统中的 A₁ 段提供了一个低碳、低氧、低磷的环境,有利于 DGAOs 的内源反硝化,进一步提高了脱氮效率.

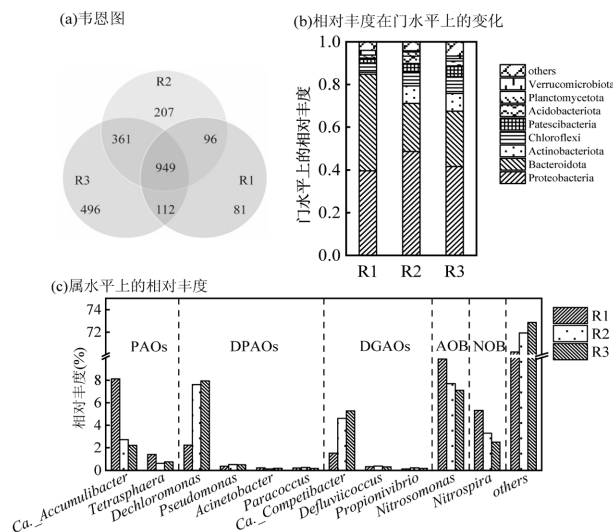


图 6 不同模式下主要功能菌分类及相对丰度
Fig.6 Taxonomic classification and relative abundance of major functional bacteria under different operating modes

总体而言,微生物群落分析表明 A/A₁/O/A₂ 操作模式成功地地为不同功能微生物创造了协同环境,显著提高了 *Dechloromonas*、*Ca.Accumulibacter* 等 DPAOs 菌属和 *Ca.compebacter*、*Defluviicoccus*、*Propionivibrio* 等 DGAOs 菌属的丰度,在新型 DPR 系统中获得了良好的氮和磷去除效果.该方法不仅可以最大限度地提高 DPAOs 和 DGAOs 的平衡,还可以保证新型 DPR 系统的稳定性和效率.

3 结论

3.1 与 A/O/A 模式相比,A/A₁/O/A₂ 模式为不同功能微生物创造了协同环境,通过对系统增设回流装置和缩短有氧段时间的优化,最终 NRE 和 PRE 分别达到(95.13%±0.35%)和(94.70%±0.96%),实现了良好的脱氮除磷效果.

3.2 根据结果推测 DPAOs 主要在 A₁ 段进行反硝化除磷.DGAOs 可能在 A₂ 段依靠内部储存的碳源 (PHAs 和 Gly) 进行内源性反硝化去除残余的氮.

3.3 EPS 结果分析表明,相较于以 A/O/A 模式运行的 R1,以 A/A₁/O/A₂ 模式运行的 R2 中 PN 和 PS 含量分别提高了 35.38 和 12.39mg/gVSS,污泥聚集性得到增强.

3.4 微生物群落结构分析表明,*Dechloromonas* 的丰度从 R1 的 2.24%上升到 R2 的 7.61%和 R3 的 4.62%,*Ca.Competibacter* 的丰度从 R1 的 1.53%上升到 R2 的 7.94%和 R3 的 5.28%,采用 A/A₁/O/A₂ 模式显著提高了主要 DPAOs 菌属和主要 DGAOs 菌属的丰度.

参考文献:

- [1] Hautier Y, Seabloom E W, Borer E T, et al. Eutrophication weakens stabilizing effects of diversity in natural grasslands [J]. Nature, 2014, 508(7497):521-525.
- [2] Hu K, Li W, Wang Y, et al. Novel biological nitrogen removal process for the treatment of wastewater with low carbon to nitrogen ratio: A review [J]. Journal of Water Process Engineering, 2023,53:103673.
- [3] Dong K, Qiu Y, Wang X, et al. Towards low carbon demand and highly efficient nutrient removal: establishing denitrifying phosphorus removal in a biofilm-based system [J]. Bioresource Technology, 2023, 372:128658.
- [4] 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.
- [5] Dan Q, Peng Y, Wang B, et al. Side-stream phosphorus famine selectively strengthens glycogen accumulating organisms (GAOs) for advanced nutrient removal in an anaerobic-aerobic-anoxic system [J]. Chemical Engineering Journal, 2021,420:129554.
- [6] 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.
- [7] Su Y, Peng Y, Wang J, et al. Rapid enrichment of anammox bacteria

- and transformation to partial denitrification/anammox with nitrification/denitrification sludge [J]. *Science of the Total Environment*, 2023,856(Pt 1):158973.
- [8] Association A. Standard methods for the examination of water and wastewater [J]. American Public Health Association, Washington, DC, 2012,49(12):49-6910.
- [9] 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.
- [10] Zhu Y, Li H, Yang P, et al. Aluminum speciation in polymerized aluminum chloride: roles and chloride ion migration in sludge dewatering [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2024, 12(1):111749.
- [11] Carvalho V, Freitas E B, Silva P J, et al. The impact of operational strategies on the performance of a photo-EBPR system [J]. *Water Research*, 2018,129:190-198.
- [12] Oehmen A, Keller-Lehmann B, Zeng R J, et al. Optimisation of poly-beta-hydroxyalkanoate analysis using gas chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005,1070(1/2):131-136.
- [13] Zhu L, Qi H Y, Lv M L, et al. Component analysis of extracellular polymeric substances (EPS) during aerobic sludge granulation using FTIR and 3D-EEM technologies [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 124: 455-459.
- [14] 祝彦均. 碳源对硫酸盐型厌氧氨氧化的影响研究 [D]. 长春:东北电力大学, 2022.
- Zhu Y J. Research on effect of different carbon sources on sulfate reducing ammonium oxidation process [D]. Changchun: Northeast Electric Power University, 2022.
- [15] 王文琪,李 冬,高 鑫,等. 短程硝化反硝化除磷颗粒污泥的同步驯化 [J]. *环境科学*, 2021,42(6):2946-2956.
- Wang W Q, Li D, Gao X, et al. Simultaneous domestication of short-cut nitrification denitrifying phosphorus removal granules [J]. *Environmental Science*, 2021,42(6):2946-2956.
- [16] Mandel A, Zekker I, Jaagura M, et al. Enhancement of anoxic phosphorus uptake of denitrifying phosphorus removal process by biomass adaption [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 2019,16(10):5965-5978.
- [17] Wang X, Wang S, Xue T, et al. Treating low carbon/nitrogen (C/N) wastewater in simultaneous nitrification-endogenous denitrification and phosphorous removal (SNDPR) systems by strengthening anaerobic intracellular carbon storage [J]. *Water Research*, 2015,77: 191-200.
- [18] Wang X, Wang S, Zhao J, et al. A novel stoichiometries methodology to quantify functional microorganisms in simultaneous (partial) nitrification-endogenous denitrification and phosphorus removal (SNEDPR) [J]. *Water Research*, 2016,95:319-329.
- [19] Zeng R J, van Loosdrecht M C, Yuan Z, et al. Metabolic model for glycogen-accumulating organisms in anaerobic/aerobic activated sludge systems [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2003,81(1): 92-105.
- [20] Wang X, Wang S, Zhao J, et al. A novel stoichiometries methodology to quantify functional microorganisms in simultaneous (partial) nitrification-endogenous denitrification and phosphorus removal (SNEDPR) [J]. *Water Research*, 2016,95:319-329.
- [21] Ji J, Peng Y, Wang B, et al. Achievement of high nitrite accumulation via endogenous partial denitrification (EPD)[J]. *Bioresource Technology*, 2017,224:140-146.
- [22] Wang X, Wang S, Xue T, et al. Treating low carbon/nitrogen (C/N) wastewater in simultaneous nitrification-endogenous denitrification and phosphorous removal (SNDPR) systems by strengthening anaerobic intracellular carbon storage [J]. *Water Research*, 2015,77: 191-200.
- [23] 李 冬,胡丽君,李明润,等. 延时厌氧调控DPAOs内碳源转化实现反硝化除磷 [J]. *中国环境科学*, 2024,44(7):3662-3671.
- Li D, Hu L J, Li M R, et al. Delayed anaerobic regulation of carbon source conversion in DPAOs to realize denitrification and phosphorus removal [J]. *Chinese Environmental Science*, 2024,44(7):3662-3671.
- [24] Cai W, Peng S, Tian Y, et al. Hydrophobic core evolution of major histocompatibility complex class I chain-related protein A for dramatic enhancing binding affinity [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024,271(Pt 2):132588.
- [25] Chen B, Li Y, Luo Z, et al. Formation and granulation mechanism of granular sludge dominated by denitrifying glycogen-accumulating organisms [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023,474:145638.
- [26] Chen W, Westerhoff P, Leenheer J A, et al. Fluorescence excitation - emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003,37(24): 5701-5710.
- [27] Wang R, Yang C, Hu H, et al. The impact of the varying nutrient concentrations on the enhanced biological phosphorus removal performance and functional phosphorus-accumulating and denitrifying genes in an anaerobic-aerobic-anoxic sequencing batch reactor [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2021,21:101256.
- [28] Yang Z, Zhou Q, Sun H, et al. Metagenomic analyses of microbial structure and metabolic pathway in solid-phase denitrification systems for advanced nitrogen removal of wastewater treatment plant effluent: a pilot-scale study [J]. *Water Research*, 2021,196:117067.
- [29] Fan Z, Zeng W, Wang B, et al. Transcriptional responses of candidatus accumilibacter clades to environmental dynamics in enhanced biological phosphorus removal [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 306:123108.
- [30] Marques R, Ribera-Guardia A, Santos J, et al. Denitrifying capabilities of tetrasphaera and their contribution towards nitrous oxide production in enhanced biological phosphorus removal processes [J]. *Water Research*, 2018,137:262-272.
- [31] Barnard J L, Dunlap P, Steichen M. Rethinking the mechanisms of biological phosphorus removal [J]. *Water Environment Research*, 2017,89(11): 2043-2054.

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