

杨晓峰, 庄彦华, 付云玲, 等. 水力停留时间对实际城镇污水处理中短程反硝化的影响[J]. 净水技术, 2025, 44(1): 98-108.

YANG X F, ZHUANG Y H, FU Y L, et al. Effect of hydraulic retention time on partial denitrification in practical urban wastewater treatment[J]. Water Purification Technology, 2025, 44(1): 98-108.

水力停留时间对实际城镇污水处理中短程反硝化的影响

杨晓峰¹, 庄彦华^{2,*}, 付云玲³, 唐燕华³, 陶昱明², 杨小丽³

(1. 南京浦口城乡水务发展有限公司, 江苏南京 211805; 2. 南京市给排水工程设计院有限公司, 江苏南京 210036; 3. 东南大学土木工程学院, 江苏南京 211189)

摘要 【目的】构建基于生物膜法的全程硝化-短程反硝化中试装置, 以实际城镇污水为进水, 探究水力停留时间(HRT)对短程反硝化亚硝酸盐(NO_2^- -N)累积效果的影响。【方法】研究采用实际城镇污水作为进水, 构建基于生物膜法的中试装置。阶梯式缩短 HRT, 分析不同 HRT 条件下 NO_2^- -N 的累积效果。同时, 对关键生物酶活性进行测定, 分析生物膜中硝酸盐还原酶和脱氢酶活性的变化。此外, 分析微生物群落结构变化, 并利用原核生物分类功能注释数据库(FAPROTAX)对功能菌群进行预测。【结果】阶梯缩短 HRT 可显著提高 NO_2^- -N 累积率, HRT 为 3 h 时 NO_2^- -N 累积率达到 $50.47\% \pm 5.06\%$ 。关键生物酶活性测定结果显示, 随着 HRT 缩短生物膜中硝酸盐还原酶和脱氢酶活性均上升。微生物群落结构分析显示, 系统内富集了黄杆菌属(*Flavobacterium*)、热单胞菌属(*Thermomonas*)和陶氏菌属(*Thauera*)等短程反硝化功能菌, 总丰度为 12.83%。【结论】生物膜法在实际城镇污水处理中可以有效保留和富集短程反硝化菌, 提高 NO_2^- -N 的累积效果。同时, 有机物降解菌也得到有效富集, 提高了有机物的利用率。FAPROTAX 的预测结果进一步证实, 生物膜能够富集多种有机物降解和短程反硝化功能菌群, 从而提高短程反硝化处理实际城镇污水的抗冲击性能和有机物去除能力, 实现 NO_2^- -N 的稳定累积。

关键词 生物膜法 短程反硝化 水力停留时间 NO_2^- -N 累积 微生物群落结构

中图分类号: TU992 文献标志码: A 文章编号: 1009-0177(2025)01-0098-11

DOI: 10.15890/j.cnki.jsjs.2025.01.012

Effect of Hydraulic Retention Time on Partial Denitrification in Practical Urban Wastewater Treatment

YANG Xiaofeng¹, ZHUANG Yanhua^{2,*}, FU Yunling³, TANG Yanhua³, TAO Yuming², YANG Xiaoli³

(1. Nanjing Pukou Urban and Rural Water Development Co., Ltd., Nanjing 211805, China;

2. Nanjing Water Supply and Drainage Engineering Design Institute Co., Ltd., Nanjing 210036, China;

3. School of Civil Engineering, Southeast University, Nanjing 211189, China)

Abstract [Objective] A pilot equipment based on the biofilm method for full-process nitrification and partial denitrification was constructed to explore the effect of hydraulic retention time (HRT) on the accumulation of nitrite nitrogen (NO_2^- -N) in partial denitrification by using actual urban wastewater as influent. [Methods] The actual urban wastewater was used as the influent to construct a pilot equipment based on the biofilm method. By shortening the HRT step by step, the accumulation effect of NO_2^- -N under different HRT conditions was analyzed. At the same time, the activity of key biological enzymes was determined, and the changes of nitrate reductase and dehydrogenase activity in biofilm were analyzed. In addition, the changes of microflora structure were analyzed, and the functional flora was predicted by using the functional annotation of prokaryotic taxa (FAPROTAX). [Results] Step-shortening HRT could significantly improve the NO_2^- -N accumulation rate, reaching $50.47\% \pm 5.06\%$ when HRT was 3 h. The results of key enzyme activities showed that with the shortening of HRT, the activities of nitrate reductase and dehydrogenase of the biofilm increased. The analysis of microflora structure showed that partial denitrification functional bacteria such as *Flavobacterium*,

[收稿日期] 2024-05-22

[基金项目] 江苏省重点研发计划(BE2021619); 南京水务集团有限公司技术攻关课题(H202310299)

[作者简介] 杨晓峰(1985—), 男, 高级工程师, 主要从事给排水相关工作, E-mail: 24204173@qq.com。

[通信作者] 庄彦华(1983—), 男, 高级工程师, E-mail: 13913954712@163.com。

Thermomonas, and *Thauera* were enriched in the system, with a total abundance of 12.83%. [Conclusion] Biofilm method in actual urban wastewater treatment can effectively retain and enrich partial denitrifying bacteria, improve the accumulation effect of NO_2^- -N. At the same time, organic matter degrading bacteria have also been effectively enriched and the utilization rate of organic matter has been improved. The FAPROTAX prediction results indicates that various organic matter decomposition and partial denitrification functional bacterial communities can be enriched on the biofilm, which can effectively improve the impact resistance and organic matter removal ability of partial denitrification treatment of actual urban wastewater, and achieve stable accumulation of NO_2^- -N.

Keywords biofilm method partial denitrification hydraulic retention time(HRT) accumulation of nitrite nitrogen (NO_2^- -N) microflora structure

厌氧氨氧化(anaerobic ammonia oxidation, Anammox)工艺通过厌氧氨氧化菌(anaerobic ammonium oxidizing bacteria, AnAOB)在厌氧或缺氧条件下,以亚硝态氮(NO_2^- -N)为电子受体,氧化氨氮转化为氮气(N_2),是一种高效低耗的生物脱氮方法。然而,实际污水原水中以氨氮为主而缺乏 NO_2^- -N,限制了该技术的推广应用。因此,稳定的 NO_2^- -N供给是实施Anammox的关键^[1]。短程反硝化是异养反硝化菌以有机物为电子供体,利用硝态氮(NO_3^- -N)与 NO_2^- -N在反硝化过程中的速率差异,将反硝化还原 NO_3^- -N终止在 NO_2^- -N为最终产物的过程^[2]。目前,针对短程反硝化的研究多停留于采用简单碳源配水的实验室研究^[3-6],而实际城镇污水中的碳源成分复杂,且水质和水量波动较大,导致 NO_2^- -N难以稳定积累^[7]。既往研究^[1,7]还发现,水力停留时间(HRT)不仅会影响有机物降解速率、微生物与底物的接触时间及传质过程,进而影响生物酶活性和微生物种群分布,而且会直接影响 NO_3^- -N反硝化进程和 NO_2^- -N累积。因此,HRT是调控实际城镇污水短程反硝化和 NO_2^- -N累积效果的关键运行参数。

为了实现 NO_2^- -N的高效累积,短程反硝化阶段通常采取较短的HRT,但控制不当易出现活性污泥流失、菌种浓度降低和系统不稳定等问题。相比之下,生物膜法具有富集微生物、抗冲击负荷能力强和无污泥膨胀风险等优势^[8],通过在填料上保留和富集短程反硝化功能菌,有助于提高 NO_2^- -N累积效果。

因此,本研究构建了基于生物膜法的全程硝化-短程反硝化中试装置,以实际城镇污水为进水,探究HRT对实际城镇污水短程反硝化过程中 NO_2^- -N累积效果的影响,并通过生物酶活性、微生

物群落结构及原核生物分类功能注释数据库(FAPROTAX)功能预测分析功能菌群和微生物群落结构变化,解析其反应机理,以期为加快短程反硝化耦合Anammox工艺应用于实际城镇污水处理提供理论依据与实践指导。

1 材料和方法

1.1 试验装置与接种污泥

中试装置由全程硝化池和短程反硝化池组成,有效体积分别为324 L和85 L,工艺流程如图1所示。进水和回流硝化液由短程反硝化池下部进入,经处理后一部分进入全程硝化池,另一部分出水进行后续处理。

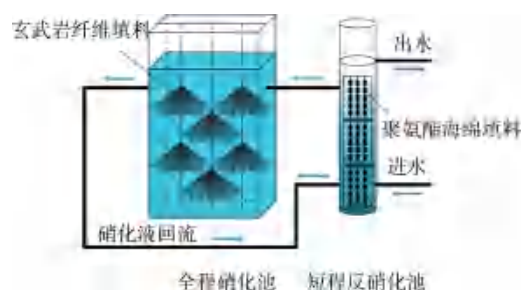


图1 全程硝化-短程反硝化工艺流程

Fig. 1 Process Flow of Full Nitrification-Partial Denitrification

接种污泥取自南京市某污水处理厂改进AAO工艺生化段,污泥质量浓度为3 000~3 500 mg/L,其中全程硝化池接种好氧池活性污泥,内设伞状玄武岩纤维填料,填料投加比约为15%;短程反硝化池接种缺氧池活性污泥,内设聚氨酯海绵填料,填料投加比约为50%。

1.2 试验水质与运行条件

试验进水为南京某污水处理厂沉砂池出水,试验期间进水水质如表1所示。可以看出,不同于实验室相对稳定的配水水质,实际进水化学需氧量(COD_{Cr})、总氮(TN)和氨氮波动较大,直接影响

NO_2^- -N 累积效果。

表 1 南京市某污水处理厂进水水质

Tab. 1 Influent Quality of a WWTP in Nanjing

水质指标	质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	均值±标准差/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
悬浮物(SS)	58~176	119.62±13.65
COD_{Cr}	108.8~490.4	284.73±97.63
五日生化需氧量(BOD_5)	37.1~143.0	102.24±16.27
TN	19.8~50.1	34.02±5.40
氨氮	15.6~46.0	29.57±5.28
总磷(TP)	0.60~7.24	3.29±0.88

试验采用连续流运行方式,硝化液回流比设置为 150%,投加硝酸铵钙调控进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 为 3.0~4.0。试验总运行时间为 113 d,共 4 个阶段,分别是挂膜阶段(1~24 d)、 $\text{HRT}=5\text{ h}$ (25~48 d)、 $\text{HRT}=4\text{ h}$ (49~82 d)、 $\text{HRT}=3\text{ h}$ (83~113 d),试验期间水温为 12.9~18.0℃。

1.3 测试与分析方法

1.3.1 常规指标检测方法

COD_{Cr} 、TN、TP、氨氮、 NO_3^- -N、 NO_2^- -N 等指标采用标准方法^[9]测定,pH/ORP 在线检测仪(PHG-217C)实时监测 pH 和氧化还原电位(oxidation-reduction potential, ORP),DO 在线监测仪(SJG-209)实时监测溶解氧(dissolved oxygen, DO)。

1.3.2 酶活性测定

亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase, NIR)、硝酸盐还原酶(nitrate reductase, NAR)和脱氢酶(dehydrogenase, DHA)活性按照相应的检测试剂盒(ZCIBIO, 中国)进行检测。

1.3.3 微生物群落结构分析

采用 16S rRNA 高通量测序对微生物群落进行分析:提取样本脱氧核糖核酸(DNA),通过琼脂糖电泳检验 DNA 纯度与浓度,利用带标签序列的 V3~V4 区特异引物进行聚合酶链式反应扩增。扩增产物经 2% 琼脂糖电泳检测后,对合格产物纯化并混合。然后构建测序文库并使用量子比特计数和定量聚合酶链式反应量,最后在 Illumina NovaSeq6000 平台上进行测序。

1.3.4 数据计算方法

亚硝态氮累积率(nitrite translation ratio, NTR)是评价短程反硝化过程中 NO_2^- -N 产生效率和反应

器运行稳定性的关键指标,计算如式(1)^[4]。

$$N_{\text{NTR}} = \frac{c(\text{NO}_2^-)\text{-N}_{\text{出水}} - c(\text{NO}_2^-)\text{-N}_{\text{进水}}}{c(\text{NO}_3^-)\text{-N}_{\text{进水}} - c(\text{NO}_3^-)\text{-N}_{\text{出水}}} \times 100\% \quad (1)$$

其中: N_{NTR} ——NTR 值;

$c(\text{NO}_3^-)\text{-N}_{\text{进水}}$ ——反应器进水 NO_3^- -N 质量浓度, mg/L ;

$c(\text{NO}_2^-)\text{-N}_{\text{出水}}$ ——反应器出水 NO_2^- -N 质量浓度, mg/L ;

$c(\text{NO}_3^-)\text{-N}_{\text{出水}}$ ——反应器出水 NO_3^- -N 质量浓度, mg/L ;

$c(\text{NO}_2^-)\text{-N}_{\text{出水}}$ ——反应器出水 NO_2^- -N 质量浓度, mg/L 。

2 结果和讨论

2.1 HRT 对短程反硝化脱氮效果的影响

控制短程反硝化池理论进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 为 3.0~4.0,探究阶梯缩短 HRT 对 NO_2^- -N 累积效果的影响。由于进水为 C/N 波动幅度较大的城镇污水,实际进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 为 4.76 ± 1.22 ,各阶段运行效果如图 2 所示。

填料挂膜阶段,为使活性污泥快速适应环境达到良好的挂膜效果,采用较长 HRT(6 h)。此阶段 NO_3^- -N 去除率为 $93.89\% \pm 2.49\%$,进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 为 5.17 ± 0.57 , COD_{Cr} 平均去除率为 $63.48\% \pm 2.90\%$ 。但由于 HRT 较长,反硝化进程较完全,出水 NO_2^- -N 质量浓度为 $(3.96 \pm 0.25)\text{ mg/L}$,NTR 为 $7.60\% \pm 0.65\%$,初显 NO_2^- -N 累积趋势。第 24 d 取出填料观察挂膜效果,发现填料表面和内部孔隙中均匀分布着深灰色污泥层,认为挂膜成功。

$\text{HRT}=5\text{ h}$ 阶段, NO_3^- -N 去除率为 $88.00\% \pm 4.54\%$,进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 为 5.53 ± 0.93 , COD_{Cr} 去除率为 $62.00\% \pm 7.09\%$ 。此时出水 NO_2^- -N 质量浓度为 $(5.14 \pm 2.03)\text{ mg/L}$,NTR 为 $8.53\% \pm 3.51\%$,相比于填料挂膜阶段无显著提升($P>0.05$),表明缩短 HRT 至 5 h 时,反应仍以全程反硝化为主,因此, NO_2^- -N 累积效果没有显著提升。

$\text{HRT}=4\text{ h}$ 阶段, NO_3^- -N 去除率为 $91.75\% \pm 1.76\%$,进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 为 5.17 ± 0.82 , COD_{Cr} 去除率为 $53.40\% \pm 1.03\%$,相较于 $\text{HRT}=5\text{ h}$ 显著下降($P<0.05$)。此时,出水 NO_2^- -N 质量浓度为 $(10.99 \pm 4.60)\text{ mg/L}$,NTR 为 $23.09\% \pm 0.63\%$,与

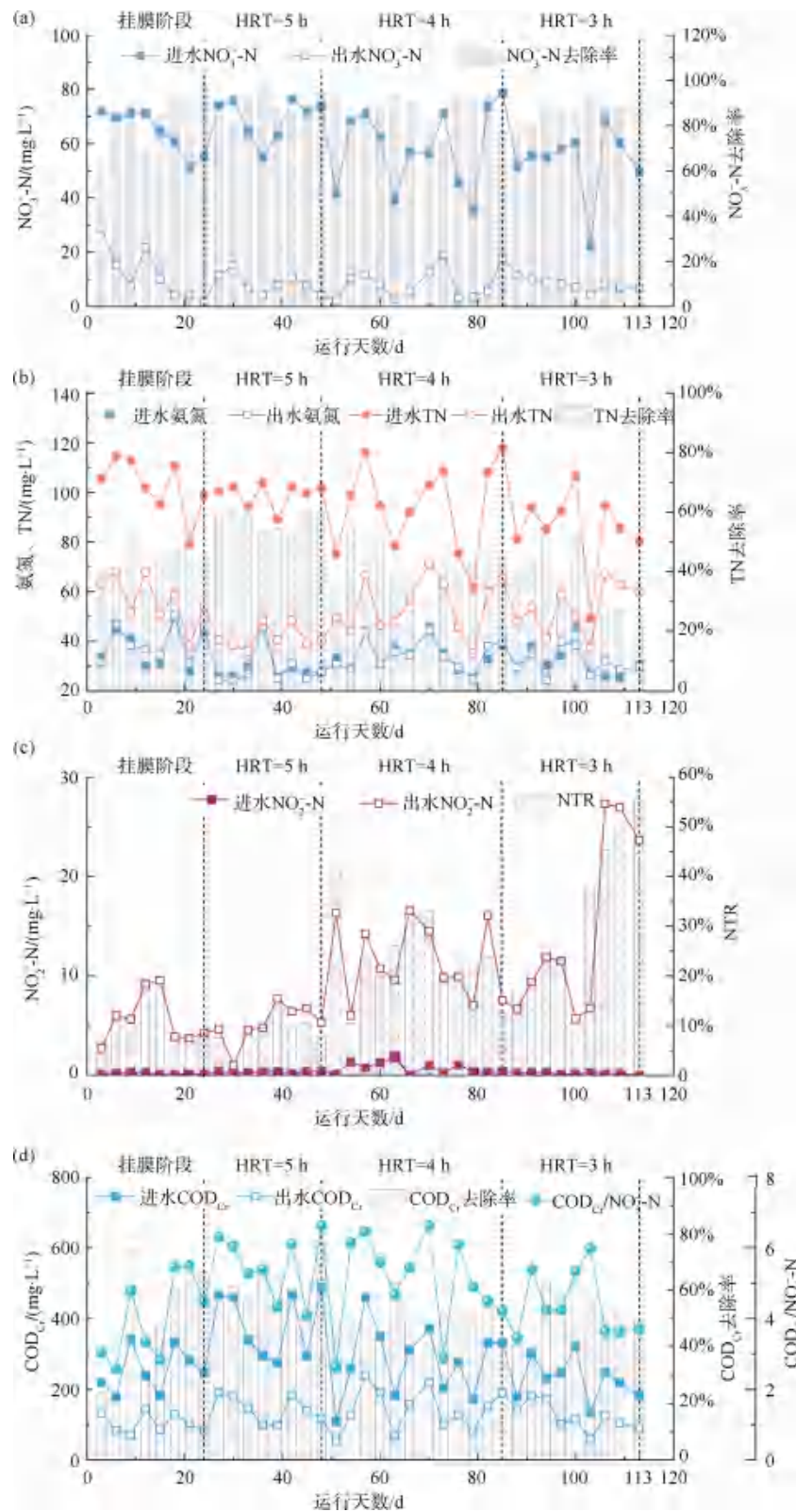


图2 不同 HRT 对短程反硝化池脱氮效果的影响

Fig. 2 Effect of Different HRTs on Denitrification Efficiency in Partial Denitrification Tank

HRT=5 h 相比, 尽管进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 无显著降低 ($P>0.05$), 但出水 NTR 显著提升 ($P<0.05$), 说明缩短 HRT 有效提高了 NO_2^- -N 累积率。这是因为 NO_3^- -N 通过反硝化过程先转化为 NO_2^- -N, 随着 HRT 缩短, NO_2^- -N 进一步转化为 N_2 的反硝化速率降低, 进而有效提高 NO_2^- -N 累积。

随着 HRT 进一步缩短 (HRT=3 h), NO_3^- -N 去除率为 $87.58\% \pm 1.15\%$, 进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 为 3.45 ± 0.68 , COD_{Cr} 去除率为 $50.65\% \pm 1.22\%$ 。此时出水 NO_2^- -N 质量浓度为 $(25.96 \pm 2.04) \text{ mg/L}$, NTR 为 $50.47\% \pm 5.06\%$, 说明较短的 HRT 能更好地实现 NO_2^- -N 累积。

此外, 由图 2(b) 可知, 试验期间进出水氨氮浓度无明显波动。分析认为, 短程反硝化池内未发生 Anammox, 氨氮对 NO_2^- -N 累积效果不产生影响; 而 TN 去除率 (nitrogen removal efficiency, NRE) 随着 HRT 缩短下降趋势明显, 从 HRT=5 h 时的 $57.61\% \pm 3.52\%$ 下降为 HRT=3 h 时的 $26.91\% \pm 1.97\%$ 。分析认为, 随着 HRT 的缩短, NO_2^- -N 累积量增加, 出水 NO_2^- -N 和 TN 浓度增加, 进而导致 NRE 下降。

2.2 短程反硝化池中运行参数的动态变化及其对出水水质的影响

试验期间短程反硝化池中运行参数 pH、ORP 及 DO 动态变化如图 3 所示。

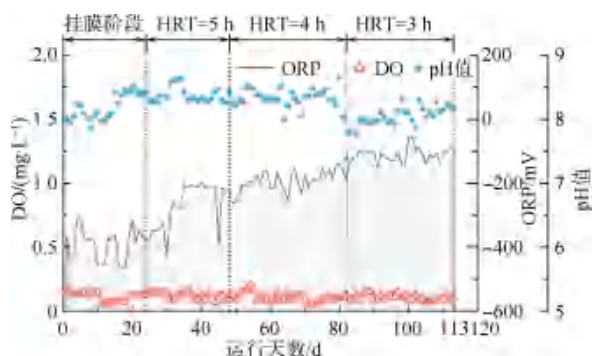


图 3 短程反硝化池中 DO、ORP 和 pH 的动态变化

Fig. 3 Dynamic Changes in DO, ORP and pH Value in Partial Denitrification Tank

由图 3 可知, 运行期间 DO 和 pH 相对比较稳定, DO 始终稳定在厌氧状态, pH 值为 8.23 ± 0.22 。而 ORP 波动幅度较大 ($-468 \sim -53 \text{ mV}$), 随着 HRT 缩短, ORP 出现上升趋势, 这与王孝维等^[10]研究一致, 即随着 NO_2^- -N 累积效果提升, ORP 呈上升趋势。

分析认为, HRT 较长时反硝化程度较高, ORP 值较低; 而缩短 HRT, 短程反硝化反应占比增加, NO_2^- -N 还原减少, ORP 上升。因此, ORP 可以更准确地反映实际城镇污水的短程反硝化进程。

为进一步分析不同 HRT 下, 运行参数变化对出水水质的影响, 对短程反硝化池中运行参数和出水指标进行相关性分析, 结果如图 4 所示。

由图 4 可知, HRT 和出水 NO_2^- -N 浓度、NTR、ORP 显著负相关, 和 NRE 显著正相关, 这说明随着 HRT 缩短, 出水 NO_2^- -N 浓度、NTR 和 ORP 增加, NRE 下降。这是因为缩短 HRT 会使得 NO_3^- -N 反硝化程度降低, 减少 NO_2^- -N 进一步还原为 N_2 , 实现 NO_2^- -N 累积, 所以 ORP、出水 NO_2^- -N 浓度和 NTR 均升高, 这与出水 NO_2^- -N 浓度和 ORP 正相关保持一致, 进一步论证了 ORP 可以较好地反映实际城镇污水的短程反硝化进程。

DO、pH 和 HRT 相关性较小, 表明 HRT 缩短对 DO 和 pH 影响不显著, 这与前面分析短程反硝化池中运行参数得出的结论保持一致。此外, DO 和 NTR 显著负相关, 和 NRE 显著正相关, 表明 DO 越低、NTR 越高, NO_2^- -N 累积效果越好, 而短程反硝化池内 DO 质量浓度始终低于 0.2 mg/L , 有利于实现 NO_2^- -N 稳定累积。

还可以看出, NTR、出水 NO_2^- -N 浓度和出水 TN 显著正相关, 和 NRE 显著负相关, 进一步论证了出水 NO_2^- -N 的累积会导致出水 TN 浓度增加, 进而导致 NRE 下降, 和前面图 2(b) 的分析一致。

2.3 酶活性变化

为深入解析 NO_2^- -N 累积效果变化的原因, 对短程反硝化池中悬浮污泥和生物膜的 NAR、DHA 和 NIR 活性变化进行分析, 分别取挂膜阶段开始时 (第 1 d) 初始污泥样本 (PD0), HRT=5 h 阶段结束时 (第 48 d) 悬浮污泥样本 (PD11) 和填料表面生物膜污泥样本 (PD12), HRT=3 h 阶段结束时 (第 113 d) 悬浮污泥样本 (PD21) 和填料表面生物膜污泥样本 (PD22), 结果如图 5 所示。

由图 5 可知, NAR 活性始终高于 NIR 活性, 表明 NO_3^- -N 还原速率始终比 NO_2^- -N 还原速率高, 这是 NO_2^- -N 累积的主要原因。随着 HRT 缩短, 活性污泥中 NAR 活性下降, 分析认为, 悬浮污泥受 HRT 的影响较大, 随着 HRT 缩短, 悬浮污泥不稳定, 不利

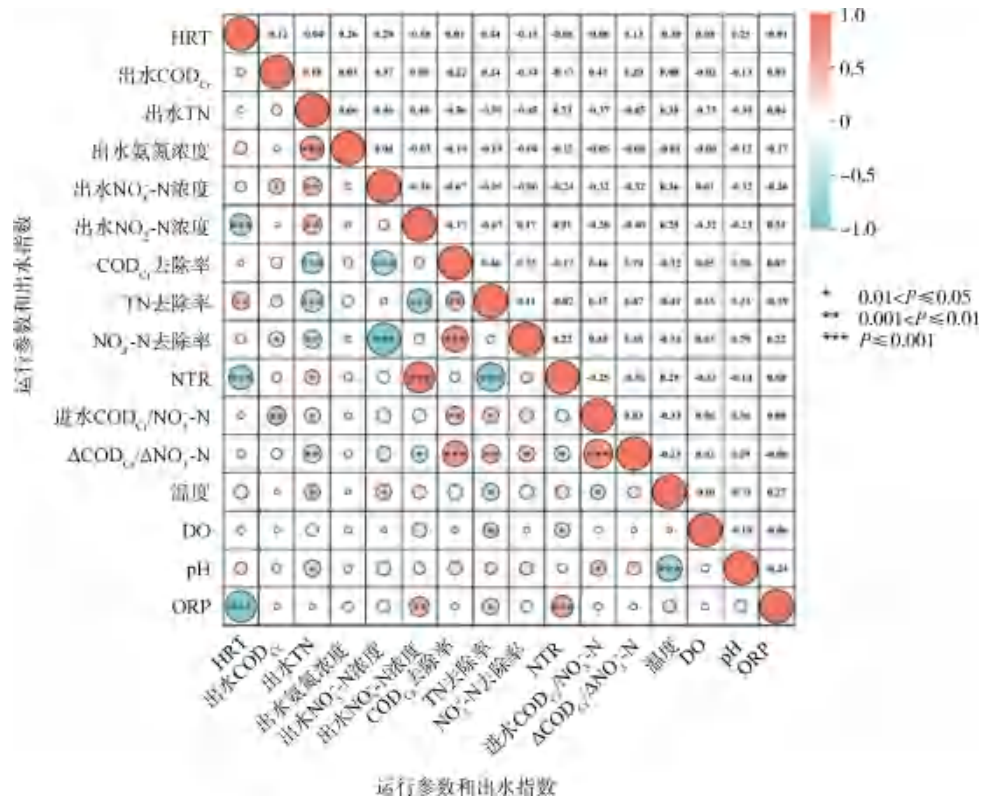


图 4 运行参数和出水指标的相关性分析

Fig. 4 Correlation Analysis of Operation Parameters and Effluent Indices

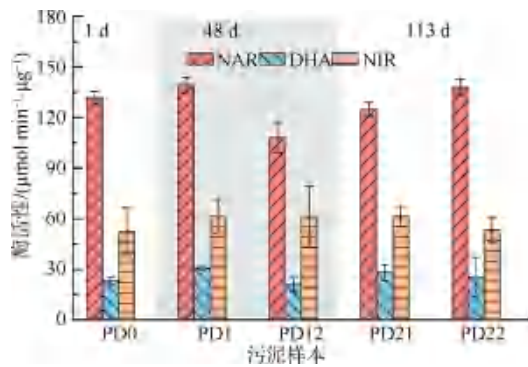


图 5 关键生物酶活性变化

Fig. 5 Changes of Key Biological Enzyme Activity

于发生短程反硝化,所以 NO_3^- -N 还原为 NO_2^- -N 的效果变差,NAR 活性下降;而生物膜中 NAR 活性增加,NIR 活性下降,分析认为,生物膜系统受 HRT 影响较小,系统稳定,有利于富集 NAR,促进短程反硝化;而随着 HRT 缩短,反硝化被控制在 NO_2^- -N 累积阶段,减少 NO_2^- -N 被进一步还原为 N_2 过程的发生,所以 NIR 活性下降。此外,HRT=3 h 阶段结束时,生物膜系统中 NAR 和 NIR 活性之间的差距显著高于 HRT=5 h 阶段结束时的差距,而活性污泥中

NAR 和 NIR 活性之间的差距变化趋势相反,进一步论证了在生物膜系统中,缩短 HRT 有利于促进短程反硝化,减少 NO_2^- -N 被进一步还原为 N_2 ,实现 NO_2^- -N 累积。可见,生物膜能够有效保留和富集短程反硝化菌,适合实际城镇污水短程反硝化实现 NO_2^- -N 稳定累积。

还可以看出,HRT=3 h 阶段结束时活性污泥和生物膜的 DHA 均高于初始污泥样本的 DHA,DHA 高意味着对污染物具有较高的降解活性^[11],表明随着 HRT 缩短,悬浮污泥和生物膜对有机物的降解活性均得以提高。分析认为,在活性污泥系统中,随着 HRT 缩短,硝化液回流进入短程反硝化池中的小分子有机物增多,可以利用的简单碳源增多。所以 DHA 活性增加,而生物膜系统中 DHA 活性升高除了因为回流的小分子有机物增多,也可能是因为生物膜富集了去除难降解有机物的微生物,提高了对大分子有机物的降解活性,所以 DHA 活性上升。

2.4 微生物群落结构分析

为进一步探究生物膜中微生物对实际城镇污水

短程反硝化过程中 NO_2^- -N 累积的影响, 选取 PD0 和 PD22, 进行微生物高通量测序, 并对其 α 多样性和微生物群落结构加以分析。

2.4.1 α 多样性分析

α 多样性指数可评估细菌群落的丰富度和多样性, PD0 和 PD22 的 α 多样性分析如表 2 所示。操作分类单元 (OTUs)、丰富度指数 (Chao 1) 和基于丰

度的覆盖估计值 (ACE) 指数反映微生物丰富度, 数值高则丰富度高; 香农多样性指数 (Shannon) 与辛普森多样性指数 (Simpson) 反映物种多样性和均匀度, 相似丰富度下均匀度越大, 微生物群落更具有多样性; 测序深度 (Coverage) 指数反映样本覆盖率, 所有样本的微生物群落覆盖率均大于 0.98, 表明本次测序结果可信^[12]。

表 2 微生物的 α 多样性分析

Tab. 2 Analysis of α Diversity of Microorganisms

样品名称	OTUs	Shannon	Simpson	Chao1	ACE	Coverage
PD0	2 981	8.179	0.988	2 987.997	3 038.017	0.997
PD22	1 189	7.429	0.980	1 210.986	1 268.795	0.988

由表 2 可知, PD0 样本中 OTUs、Chao1 和 ACE 指数均显著高于 PD22, Shannon 指数略高, Simpson 指数差异不明显, 这说明随着 HRT 缩短, 微生物群落多样性下降, 这与 Cao 等^[5]以生活污水进行短程反硝化的多样性分析一致。分析认为, 初始接种污泥中细菌种类丰富且分布均匀, 在长期控制进水低 C/N 和较短 HRT 条件下, 生物膜系统不断筛选和富集适合短程反硝化的微生物, 所以微生物群落多样性下降。

2.4.2 物种组成分析

为进一步探究微生物群落结构的变化, 对门水平和属水平上物种组成进行分析, 结果如图 6 所示。

(1) 门水平微生物群落结构变化

选取门水平上丰度大于 1% 的 10 种菌群, 构成如图 6 (a) 所示。由图 6 (a) 可知, 变形菌门 (Proteobacteria) 占比最高, 相对丰度由 18.57% 上升至 37.89%, 该菌门普遍存在于实际污水反硝化系统, 包括硝化菌和反硝化菌等细菌^[12], 对有机物和氮素去除有重要作用。研究^[5,13]发现, 高丰度的 Proteobacteria 是高效 NTR 的保证, 所以该菌属富集有利于提高 NO_3^- -N 短程反硝化效果, 实现 NO_2^- -N 累积, 这与本研究结论一致, 即随着 HRT 缩短, Proteobacteria 占比大幅提升, 促进短程反硝化, 提高 NO_2^- -N 累积效果和 NTR。但本试验中 Proteobacteria 丰度低于 Du 等^[13]采用简单碳源进行短程反硝化试验的 Proteobacteria 丰度, 分析认为, 以实际城镇污水复杂有机物作为碳源进行短程反硝化, 可能并存较多其他菌门下的功能菌属。

随着 HRT 缩短, 厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆

菌门 (Bacteroidetes) 是另外 2 类丰度增加较多的微生物, 丰度分别从 7.00% 和 18.48% 上升至 15.74% 和 24.78%。除 Proteobacteria 外, Firmicutes 和 Bacteroidetes 也是参与反硝化脱氮过程较多的菌种^[5,14], Firmicutes 在水解有机物、降解大分子化合物以及去除挥发性脂肪酸中具有重要作用^[13]; Bacteroidetes 主要负责水解和发酵, 可以将蛋白质、多糖等复杂有机物降解为小分子有机物^[14]。本研究中 Bacteroidetes 丰度高于 Du 等^[13]采用简单碳源进行短程反硝化的 Bacteroidetes 丰度, 分析认为, 实际城镇污水中包含较多大分子有机物, 生物膜系统促进了 Bacteroidetes 的富集进而有助于大分子有机物的水解, 这与生物膜中 DHA 的变化趋势一致, 进一步论证了生物膜系统可以富集降解大分子有机物相关菌属, 提高对有机物的降解活性。此外, Zhang 等^[1]在生物膜系统中研究发现, Bacteroidetes 与低 C/N 下的 NO_2^- -N 累积相关, 添加载体后该菌群在生物膜中成为优势菌门, 而本试验中短程反硝化池填料挂膜效果好, 有利于该菌属富集, 提升 NO_2^- -N 累积效果。

值得注意的是, 生物膜有效富集了 ϵ -变形菌纲 (Epsilonbacteraeota), 随着 HRT 缩短, 丰度由 0.03% 上升至 1.51%。Zhou 等^[15]在研究发现 Epsilonbacteraeota 在营养物质缺乏条件下可以增强反硝化脱氮, 而本研究限制低进水 $\text{COD}_{\text{Cr}}/\text{NO}_3^-$ -N 和低 HRT 有利于富集该菌种, 在 HRT 较短时有利于提升短程反硝化效果。

此外, 浮霉菌门 (Planctomycetes) 和骸骨细菌门 (Patescibacteria) 丰度下降趋势明显, 随着 HRT 缩

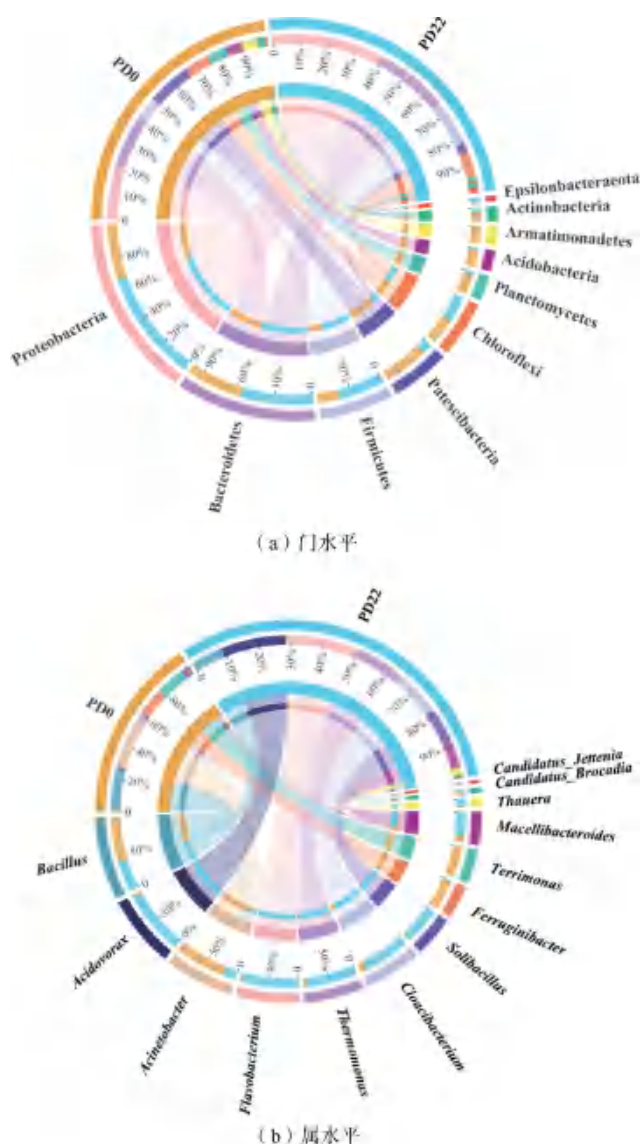


图 6 微生物群落结构变化

Fig. 6 Changes of Microflora Structure

短,丰度分别从 6.49% 和 14.62% 下降至 1.00% 和 3.60%。研究^[16]发现,Planctomycetes 与 Anammox 密切相关,是典型的 Anammox 菌属,丰度下降可能是因为短程反硝化优势菌属的富集抑制了 AnAOB 功能菌属生长繁殖,所以 Planctomycetes 丰度下降,进一步论证了短程反硝化池内未发生 Anammox,可以忽略 Anammox 对 NO_2^- -N 累积效果的影响。而 Patescibacteria 下降可能是因为该细菌必须从其他共生微生物中获取必需营养物质^[17]。研究^[18]在 Anammox 反应器中发现,Patescibacteria 能够利用 Planctomycetes 下的 AnAOB 代谢产物繁殖,所以 Patescibacteria 丰度降低可能是由于共代谢菌群

Planctomycetes 的数量减少。

(2) 属水平微生物群落结构变化

选取属水平上丰度变化大于 1% 的前 10 种菌属、陶氏菌属 (*Thauera*) 和 AnAOB 相关菌属:布罗卡迪亚属 (*Candidatus_Brocadia*) 及杰特尼亚属 (*Candidatus_Jettenia*),构成如图 6(b) 所示。

由图 6(b) 可知,随着 HRT 缩短,黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 丰度提升较多,由 0.07% 富集至 6.30%,该菌属隶属于 Bacteroidetes 菌门,是一类异养反硝化菌^[7]。研究^[19]发现,该菌属在 NO_3^- -N 存在时,只能以 NO_3^- -N 作为电子受体,无法合成 NIR,所以该菌属可以将 NO_3^- -N 反硝化过程控制在 NO_2^- -N 累积阶段,对 NO_2^- -N 累积起主导作用,推测该菌属是短程反硝化功能菌属,丰度提升有利于促进短程反硝化。此外,*Flavobacterium* 和生物膜的形成有关,添加生物载体改变微生物群落,尤其是实现 *Flavobacterium* 的增殖^[1],本研究良好的生物膜挂膜效果促进了该菌属的富集。

随着 HRT 缩短,热单胞菌属 (*Thermomonas*) 丰度从 0.20% 提升至 5.69%,该菌属隶属于 Proteobacteria 菌门,是污水处理厂中反硝化群落的主要菌属^[20]。Wang 等^[21]在同步 Anammox 和反硝化系统中发现 *Thermomonas* 是能够还原 NO_3^- -N 的主要反硝化菌,HRT 较短时可以实现 NO_3^- -N 短程反硝化,所以推测该菌属是短程反硝化功能菌属。

值得注意的是,*Thauera* 作为最常见短程反硝化功能菌属^[13],富集程度不高,随着 HRT 缩短,丰度仅提升了 0.84%。*Thauera* 和 *Flavobacterium* 在短程反硝化中有相似特点^[19],虽然它们能进行多种反硝化反应,但当环境中存在 NO_3^- -N 时,微生物无法合成 NIR,所以它们仅能以 NO_3^- -N 作为电子受体,对 NO_2^- -N 累积起主导作用。但该菌属富集程度较低,分析认为,一方面,在低温和低 C/N 条件下,*Flavobacterium* 更具有竞争力^[22];另一方面是接种污泥本身 *Thauera* 丰度极低,且 *Thauera* 作为主要功能菌属多出现在简单碳源短程反硝化系统中^[5,23],本研究进水碳源复杂,形成的微生物结构可能也存在差异。

结合上述分析,认为本研究中短程反硝化相关的菌属包括 *Flavobacterium*、*Thermomonas* 和 *Thauera*,由不同种类细菌构成,体现了实际污水处理中短程反硝化功能菌的多样性。此外,随着 HRT

缩短,短程反硝化功能菌属总丰度占比由 0.27% 提升至 12.83%,体现了短程反硝化池内短程反硝化反应占比升高,促进 NO_2^- -N 累积。

其他丰度累积较高的菌属大多属于能够降解大分子有机物的菌属^[24],包括梭杆菌属(*Cloacibacterium*)上升 4.62%,嗜酸芽孢杆菌(*Solibacillus*)上升 3.72%等,有效提高了对大分子有机物的利用率。此外,马氏杆菌属(*Macellibacteroides*)是与发酵相关的菌属^[25],丰度提升了 2.19%,提高了系统中脂肪酸含量,使得传统反硝化菌嗜酸菌属(*Acidovorax*)可利用底物增加^[26],丰度提升了 6.99%,强化了系统中 COD_{Cr} 和 NO_3^- -N 去除。

此外,由图 6(b)可知,在属水平上与 AnAOB 相关菌属包括 2 种,即 *Candidatus_Brocadia* 和 *Candidatus_Jettenia*,丰度分别从 0.204 7% 和 0.089 2% 上升到 0.241 2% 和 0.113 0%,丰度占比始终较低且变化趋势不显著。分析认为,本研究中短程反硝化池内不存在适合 AnAOB 菌属生长的环境,短程反硝化功能菌属居于主要地位,短程反硝化池内未发生 Anammox 反应,这与前面对短程反硝化池进、出水氨氮浓度变化的分析结论保持一致。

2.5 微生物菌群功能预测分析

FAPROTAX 是一个功能注释数据库,能够有效预测原核生物参与的生化循环过程^[27]。本研究利用 FAPROTAX 对样本 PD0 和 PD22 进行微生物群落功能预测分析,共识别出 17 个功能群组,结果如图 7 所示。

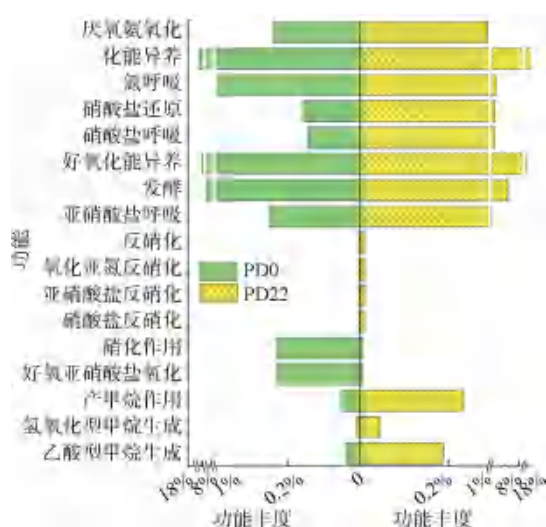


图 7 不同样本细菌 FAPROTAX 功能预测

Fig. 7 Function Prediction of FAPROTAX in Different Samples

由图 7 可知,短程反硝化池内碳循环主要以化能异养、好氧化能异养、发酵和产甲烷作用为主,随着 HRT 缩短,化能异养功能菌群相对丰度由 9.13% 上升到 16.78%,好氧化能异养功能菌群相对丰度由 7.84% 上升到 13.51%,发酵功能菌群相对丰度由 1.36% 上升到 5.10%,表明利用有机物的能力增强,这与 DHA 增长趋势一致。分析认为,短程反硝化池底部受 NO_3^- -N 回流影响可能在生物膜局部形成 DO 梯度,高 DO 区域发生好氧化能异养作用消耗有机物,厌氧区域微生物通过水解和发酵作用降解有机物,这与门水平中 Bacteroidetes 丰度变化趋势一致,表明生物膜系统可以实现多途径去除有机物。产甲烷作用微生物相对丰度由 0.05% 上升至 0.23%,乙酸型甲烷生成作用微生物相对丰度由 0.04% 上升至 0.19%,表明厌氧环境和生物膜系统有利于水解发酵菌生长,这和属水平中 *Cloacibacterium* 和 *Solibacillus* 丰度变化一致,进一步论证了生物膜可以富集降解大分子有机物的菌属,提高实际城镇污水中大分子有机物去除率。

氮循环主要以硝酸盐还原、氮呼吸、硝酸盐呼吸和亚硝酸盐呼吸为主,随着 HRT 缩短,硝酸盐还原微生物相对丰度由 0.16% 上升至 1.73%,表明硝酸盐还原作用在短程反硝化池内加强;同时,氮呼吸微生物相对丰度也从 0.39% 增加到 2.02%,进一步论证了氮循环过程中的微生物活性得到了增强。值得注意的是,硝酸盐呼吸微生物的相对丰度也显著上升,从 0.14% 增加至 1.73%,并且其相对丰度超过了亚硝酸盐呼吸微生物(由 0.25% 上升至 0.85%),这一变化表明随着 HRT 缩短,短程反硝化池内使用 NO_3^- -N 作为最终电子受体的细菌变得更加活跃, NO_2^- -N 作为中间产物在 NO_3^- -N 还原过程中的积累作用增强,进一步论证了生物膜可以富集短程反硝化功能菌属,提高 NO_2^- -N 累积效果。

此外,整个试验周期内 Anammox 功能菌群占比始终较低,随着 HRT 缩短,Anammox 功能菌群丰度由 0.24% 上升至 0.29%,变化趋势不显著,这与前面属水平 AnAOB 相关菌属的变化趋势一致,进一步论证了短程反硝化池内未发生 Anammox,不会对短程反硝化 NO_2^- -N 累积效果产生影响。

3 结论

(1) 通过不断缩短 HRT 为 5、4 h 和 3 h, NO_2^- -N

累积效果提高,出水 NTR 上升趋势明显 HRT 为 3 h 时出水 NTR 达到 $50.47\% \pm 5.06\%$;表明通过调节 HRT 可以实现实际城镇污水短程反硝化的 NO_2^- -N 有效累积。

(2)关键生物酶活性测定结果显示,随着 HRT 缩短,生物膜中 NAR 和 DHA 活性上升,表明生物膜系统可以有效保留和富集短程反硝化和降解大分子有机物的功能菌,短程反硝化池设置生物填料可以有效提高抗冲击性能,提高对实际城镇污水中有机物和 NO_3^- -N 的利用能力。

(3)高通量测序结果显示,阶梯缩短 HRT 显著降低了系统的物种多样性,实现了关键短程反硝化功能菌属的富集,丰度提升较高的细菌集中在 Proteobacteria、Firmicutes 和 Bacteroidetes 菌门;系统内富集了 *Flavobacterium*、*Thermomonas* 和 *Thauera* 等短程反硝化功能菌,共占 12.83%,这说明实际城镇污水的复杂碳源条件有利于在生物膜系统中形成多种功能菌协同作用,实现 NO_2^- -N 的稳定累积。

(4)基于 FAPROTAX 的微生物群落功能预测分析结果显示,与碳、氮循环相关的功能菌群对生物脱氮很重要,生物膜能富集多种有机物降解菌群和短程反硝化菌群,促进实际城镇污水短程反硝化。表明实际城镇污水可以通过调节 HRT 实现短程反硝化过程中 NO_2^- -N 稳定累积,为 Anammox 提供稳定的 NO_2^- -N 底物。未来研究可以通过调节 HRT 控制短程反硝化池出水 NO_2^- -N 和氨氮浓度,实现短程反硝化和 Anammox 反应之间的平衡,以期推动 Anammox 技术在实际城镇污水处理的广泛应用。

参考文献

- [1] ZHANG X C, MIAO Y Y, YU D S, et al. Culturing partial denitrification biofilm in side stream incubator with ordinary activated sludge as inoculum; One step closer to mainstream anammox upgrade [J]. Bioresource Technology, 2022, 347: 126679. DOI:10.1016/j.biortech.2022.126679.
- [2] 张星星,张钰,王超超,等.短程反硝化耦合厌氧氨氧化工艺及其应用前景研究进展[J].化工进展,2020,39(5):1981-1991.
- ZHANG X X, ZHANG Y, WANG C C, et al. Research advances in application prospect of partial denitrification coupled with anammox: A review [J]. Chemical Progress, 2020, 39(5): 1981-1991.
- [3] 柳全龙,范亚骏,张森,等. C/N 对短程反硝化 NO_2^- -N 积累特性影响及机理分析[J].工业水处理,2022,42(6):159-167.
- LIU Q L, FAN Y J, ZHANG M, et al. Influence of C/N on NO_2^- -N accumulation characteristic and mechanism analysis in short-cut denitrification [J]. Industrial Water Treatment, 2022, 42(6): 159-167.
- [4] CAO S B, WANG S Y, PENG Y Z, et al. Achieving partial denitrification with sludge fermentation liquid as carbon source: The effect of seeding sludge [J]. Bioresource Technology, 2013, 149: 570-574. DOI:10.1016/j.biortech.2013.09.072.
- [5] CAO S B, DU R, LI B K, et al. Nitrite production from partial-denitrification process fed with low carbon/nitrogen (C/N) domestic wastewater: Performance, kinetics and microbial community [J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 326: 1186-1196. DOI:10.1016/j.cej.2017.06.066.
- [6] DU R, CAO S, LI B, et al. Performance and microbial community analysis of a novel deamox based on partial-denitrification and anammox treating ammonia and nitrate wastewaters [J]. Water Research, 2017, 108: 46-56. DOI: 10.1016/j.watres.2016.10.051.
- [7] SHI L L, DU R, PENG Y Z. Achieving partial denitrification using carbon sources in domestic wastewater with waste-activated sludge as inoculum [J]. Bioresource Technology, 2019, 283: 18-27. DOI:10.1016/j.biortech.2019.03.063.
- [8] 于莉芳,张兴秀,张琼,等.生物膜系统中部分反硝化实现特性[J].环境科学,2021,42(9):4390-4398.
- YU L F, ZHANG X X, ZHANG Q, et al. Characteristics of partial denitrification in biofilm system [J]. Environmental Science, 2021, 42(9): 4390-4398.
- [9] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法[M].第4版.北京:中国环境科学出版社,2002.
- State Environmental Protection Administration. Methods for water and wastewater monitoring and analysis [M]. 4th ed. Beijing: China Environmental Sciences Press, 2002.
- [10] 王孝维,薛晖军,岳秀萍.焦化废水反硝化脱氮过程 pH 和 ORP 变化规律[J].太原理工大学学报,2017,48(5):741-746.
- WANG X W, XUE H J, YUE X P. Variation in pH and ORP during denitrification of coking wastewater [J]. Journal of Taiyuan University of Technology, 2017, 48(5): 741-746.
- [11] ZHAO R J, ZHANG Z, YANG S S, et al. Study on the performance of a new type of combined packing biofilm reactor treating wastewater [J]. Environmental Technology, 2024, 45(21): 4191-4201.
- [12] 庄彦华,唐燕华,杨笑康,等.改进 UCT 工艺强化城镇污水脱氮除磷实例研究[J].水处理技术,2023,49(3):102-108.
- ZHUANG Y H, TANG Y H, YANG X K, et al. Case study on strengthening nitrogen and phosphorus removal of urban sewage by the improved UCT process [J]. Water Treatment Technology,

- 2023, 49(3): 102–108.
- [13] DU R, PENG Y, CAO S, et al. Mechanisms and microbial structure of partial denitrification with high nitrite accumulation [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(4): 2011–2021.
- [14] RODRIGUEZ-SANCHEZ A, MARGARETO A, ROBLEDO-MAHON T, et al. Performance and bacterial community structure of a granular autotrophic nitrogen removal bioreactor amended with high antibiotic concentrations [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 325: 257–269. DOI:10.1016/j.cej.2017.05.078.
- [15] ZHOU Q, SUN H, JIA L, et al. Enhanced pollutant removal from rural non-point source wastewater using a two-stage multi-soil-layering system with blended carbon sources: insights into functional genes, microbial community structure and metabolic function [J]. *Chemosphere*, 2021, 275: 130007. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.130007.
- [16] PARK M, KIM J, LEE T, et al. Correlation of microbial community with salinity and nitrogen removal in an Anammox-based denitrification system [J]. *Chemosphere*, 2021, 263: 128340. DOI:10.1016/j.chemosphere.2020.128340.
- [17] TIAN R, NING D, HE Z, et al. Small and mighty: Adaptation of superphylum *Patescibacteria* to groundwater environment drives their genome simplicity [J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 51. DOI:10.1186/s40168-020-00825-w.
- [18] HOSOKAWA S, KURODA K, NARIHIRO T, et al. Cometabolism of the superphylum *Patescibacteria* with Anammox bacteria in a long-term freshwater anammox column reactor [J]. *Water*, 2021, 13(2): 208. DOI:10.3390/w13020208.
- [19] 姚雪薇, 邵贤明, 王康舟, 等. 不同基质条件下厌氧氨氧化 SMBBR 启动特性研究 [J]. *环境科学学报*, 2021, 41(10): 4049–4055.
- YAO X W, SHAO X M, WANG K Z, et al. Anammox SMBBR fast start-up with different substrates [J]. *Journal of Environmental Science*, 2021, 41(10): 4049–4055.
- [20] SCHULZE R, SPRING S, AMANN R, et al. Genotypic diversity of *Acidovorax* strains isolated from activated sludge and description of *Acidovorax defluvii* sp. nov. [J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 1999, 22(2): 205–214.
- [21] WANG D P, LI T, HUANG K, et al. Roles and correlations of functional bacteria and genes in the start-up of simultaneous anammox and denitrification system for enhanced nitrogen removal [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 655: 1355–1363. DOI:10.1016/j.scitotenv.2018.11.321.
- [22] ZHANG M, GAO J, LIU Q, et al. Nitrite accumulation and microbial behavior by seeding denitrifying phosphorus removal sludge for partial denitrification (Pd): The effect of COD/NO₃⁻ ratio [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 323: 124524. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.124524.
- [23] XU Z S, DAI X H, CHAI X L. Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 634: 195–204. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.348.
- [24] HEINZ K G H, ZANONI P R S, OLIVEIRA R R, et al. Recycled paper sludge microbial community as a potential source of cellulase and xylanase enzymes [J]. *Waste and Biomass Valorization*, 2017, 8(6): 1907–1917.
- [25] XIN X D, SHE Y C, HONG J M. Insights into microbial interaction profiles contributing to volatile fatty acids production via acidogenic fermentation of waste activated sludge assisted by calcium oxide pretreatment [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 320: 124287. DOI:10.1016/j.biortech.2020.124287.
- [26] NALCACI O O, BÖKE N, OVEZ B. Potential of the bacterial strain *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* LMG 17238 and macro algae *Gracilaria verrucosa* for denitrification [J]. *Desalination*, 2011, 274(1/2/3): 44–53. DOI:10.1016/j.desal.2011.01.067.
- [27] 王飞鹏, 黄亚玲, 张瑞瑞, 等. 不同曝气方式对人工湿地细菌多样性、代谢活性及功能的影响 [J]. *环境科学*, 2022, 43(4): 2007–2017.
- WANG F P, HUANG Y L, ZHANG R R, et al. Effects of different aeration treatments on bacterial diversity, metabolic activity, and function in constructed wetlands [J]. *Environmental Science*, 2022, 43(4): 2007–2017.

(上接第 80 页)

- [7] QI W Q, LI W Y, ZHANG J P, et al. Effect of biological activated carbon filter depth and backwashing process on transformation of biofilm community [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2019, 13(1): 15. DOI: 10.1007/s11783-019-1100-0.
- [8] GU Q, Ma J, ZHANG J, et al. Nitrogen-metabolising microorganism analysis in rapid sand filters from drinking water treatment plant [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(11): 29458–29475.
- [9] 丁卫, 盛德洋, 张晓健, 等. 活性碳-石英砂双层滤池去除氨氮和亚硝酸盐氮的特性 [J]. *净水技术*, 2012, 31(5): 20–24.
- DING W, SHENG D Y, ZHANG X J, et al. Characteristics of ammonia nitrogen and nitrite nitrogen removal with GAC-sand dual media filter processes [J]. *Water Purification Technology*, 2012, 31(5): 20–24.