



文章栏目：水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.201903202

中图分类号 X703

文献标识码 A

赵彬, 丁雪松, 吴丹青, 等. 高负荷条件下好氧颗粒污泥同步脱氮除碳特性及微生物群落结构分析[J]. 环境工程学报, 2020, 14(2): 295-304.

ZHAO Bin, DING Xuesong, WU Danqing, et al. Characteristics on simultaneous nitrogen and organic carbon removal and microbial community structure analysis of aerobic granular sludge treating high strength wastewater[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2020, 14(2): 295-304.

高负荷条件下好氧颗粒污泥同步脱氮除碳特性及微生物群落结构分析

赵彬^{1,2,*}, 丁雪松^{1,2}, 吴丹青^{1,2}, 陈宇航^{1,2}, 张颖^{1,2}, 冉小川^{1,2}

1. 重庆大学城市建设与环境工程学院, 重庆 400045

2. 重庆大学, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045

第一作者: 赵彬(1979—), 女, 博士, 副教授。研究方向: 污水生物处理。E-mail: binzhao11@cqu.edu.cn

*通信作者

摘要 为研究高负荷条件下好氧颗粒污泥的形成过程、同步脱氮除碳效果和微生物群落结构特点, 构建了一个序批式反应器(sequencing batch reactor, SBR)。结果表明, C/N=40 进水条件下能够完成颗粒化, 成熟后的好氧颗粒污泥呈表面光滑结构紧实的椭球体。随着颗粒粒径增大, 其比好氧速率提高、含水率下降、沉降性能变好、生物量增加。颗粒形成过程产生的胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)先增加后受水质冲击减少, 之后又明显提高, 整个过程中多糖与蛋白质之比(PS/PN)持续下降, EPS中的蛋白质对颗粒的形成影响较大。SBR中的好氧颗粒污泥能够同时高效去除进水中的COD、NH₄⁺-N和TN, 去除率分别为94%、96%和93%, 反应器的反硝化性能良好。C/N=40时, 采用MiSeq高通量测序方法对成熟好氧颗粒污泥中的群落结构进行研究, 发现存在促进颗粒化的优势菌门(包括Saccharibacteria、Proteobacteria、Bacteroidetes、Actinobacteria、Firmicutes和Chloroflexi)。同时, 在颗粒污泥中, 异养硝化、好氧/缺氧反硝化菌属丰度较高, 表明异养硝化-好氧/缺氧反硝化菌属可能存在于好氧颗粒污泥中。

关键词 高负荷污水; 好氧颗粒污泥; 同步脱氮除碳; 微生物群落; 胞外聚合物

好氧颗粒污泥是指在有氧环境条件下微生物相互聚集形成的生物聚集体^[1]。与传统活性污泥相比, 好氧颗粒污泥具有生物量高、结构稳定、沉降性能好、耐冲击负荷强和处理构筑物占地面积小等优点^[2]。与厌氧颗粒相比, 好氧颗粒具有启动时间短、操作温度低等特点。由于颗粒结构内部存在氧浓度梯度, 故能在一定程度上实现多种生物群落共存, 以完成同步脱氮除碳。有的研究表明, 好氧颗粒污泥不能在自然条件下出现, 必须在具有强选择压力的特定条件下培养。以往研究采用特殊操作条件(如调节水力剪切力、好氧饥饿时间、水力停留时间等)来培育, 也有的研究通过调整进水负荷(如有机负荷率(OLR)、化学需氧量和氮之比(C/N))来促进颗粒化形成^[3-4]。

目前, 很多产业生产排出高C/N的污水, 如氮肥行业、化工行业、制药行业等。活性污泥处

收稿日期: 2019-03-31; 录用日期: 2019-05-22

基金项目: 重庆市技术创新与应用示范专项(cstc2018jscx-msybX0308)

理高 C/N 污水存在系统不稳定、污泥容易膨胀、处理效果不理想等问题^[5-6]。好氧颗粒污泥因结构致密，有胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 保护，颗粒内部可截留多种功能菌群，是高 C/N 污水可选择的理想处理工艺，且高 C/N 也是启动好氧颗粒污泥反应器的一种条件^[7-8]。冯殿宝等^[9]用高 C/N 的番茄废水成功培养好氧颗粒污泥，COD 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率分别为 90% 和 85%。杨丹丹等^[10]用 C/N 为 10~24 的汽车涂装废水培育出好氧颗粒污泥，COD 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率分别为 85% 和 95%。然而，目前关于高 C/N 培养条件下颗粒污泥的群落结构研究较少，颗粒污泥高效脱氮除碳的机制尚不清楚。因此，本研究拟在实验室规模的序批式反应器 (sequencing batch reactor, SBR) 中实现高负荷条件下好氧颗粒污泥的培养和高效稳定的同步脱氮和除碳，并考察这一培养条件下好氧颗粒污泥内微生物的群落结构特点，为探寻其高效脱氮除碳的原因提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验装置及运行

本实验采用 SBR 实验装置 (图 1) 研究好氧颗粒污泥对高负荷污水的处理性能。SBR 材质为有机玻璃，装置内径 60 mm，柱高径比 H/D 为 16.7:1，有效容积 3 L，有效水深 1 m。水浴套管通过电加热棒维持环境温度 25~30 °C。反应器通过蠕动泵 (杰恒 BT-300EA) 从底部进水，出水由常闭型电磁阀控制，出水口距离反应器底部 500 mm。

进水中 COD 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度按照培养时间分为 2 个阶段：第 I 阶段为 1~26 d；第 II 阶段为 27~50 d。有机负荷由第 I 阶段 $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ COD 提升到第 II 阶段 $2400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ COD； $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度由 $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 提升到 $60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。SBR 采取间歇进水方式运行，具体操作条件为：进水流量 $0.21 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ，曝气量 $0.2\sim 0.23 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ ，水力停留时间 4 h，进水时间 5 min，排水时间 2 min，前 20 d 沉降时间为 8~4 min、44 d 后为 2 min，其余运行时间为曝气时间。

1.2 实验进水及接种污泥

实验进水采用人工配水，主要成分见表 1。在第 I 阶段，采用无水乙酸钠 (50%) 和蔗糖 (50%) 混合碳源；在第 II 阶段，采用无水乙酸钠 (45%)、蔗糖 (45%) 和蛋白胨 (10%) 混合碳源。2 个阶段均采用氯化铵作为氮源，第 I、II 阶段的 C/N 分别为 20、40。配水中加入 $3 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 微量元素溶液，配方为： $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ， $3.36 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$ ， $3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ， $1.12 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ H}_3\text{BO}_3$ ， $0.3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 $0.6 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CaCl}_2$ ，实验药品均采用化学纯。

接种污泥来自重庆市鸡冠石污水厂二沉池。活性污泥颜色呈深褐色，形状无规则，呈絮体，

表 1 人工配水组分

Table 1 Components of synthetic wastewater

阶段	$\text{CH}_3\text{COONa}(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	蔗糖($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	蛋白胨($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{NH}_4\text{Cl}(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$	微量元素溶液($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$)
I	0.51	0.38	—	0.16	投加量保证进水pH为7.0~8.0	3
II	1.38	1.01	0.24	0.23	投加量保证进水pH为7.0~8.0	3

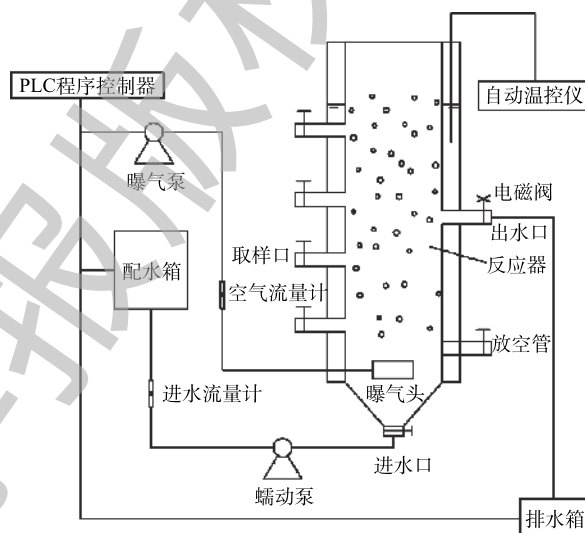


图 1 SBR 实验装置

Fig. 1 Schematic diagram of SBR installation

初始 SV_{30} 为 35%, SV_5 为 28%, SVI 为 $44 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 混合液挥发性悬浮固体浓度/混合液悬浮固体浓度 (MLVSS/MLSS) 为 0.63。取回的污泥静止后, 去掉上清液, 取少量浓缩的活性污泥在显微镜下观察。同时将 1 L 浓缩污泥投入反应器中, 闷曝 24 h, 调节污泥 MLSS 为 $6.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右, 正常进水。

1.3 分析方法

在实验中, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 采用水杨酸分光光度法测定, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 采用氨基磺酸分光光度法测定, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 采用 N-(1-萘基)-2 乙二胺光度法测定, TN 采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法测定, COD 采用密闭消解比色法测定。 SV_{30} 和 SV_5 分别为 30 min 和 5 min 污泥沉降比。MLSS、MLVSS 采用标准重量法测定。采用光学显微镜对颗粒污泥形成过程中的生物相进行连续观察, 采用扫描电子显微镜 (SEM) 观察颗粒形态及表面结构。颗粒成熟后, 采用标准筛法测量不同直径颗粒粒径分布。pH 采用 HACH 便携式三用仪测定。含水率的测定方法为: 取新鲜颗粒污泥和 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱中烘干后的定量滤纸分别称重, 质量记为 w_1 和 w_2 , 将湿污泥和滤纸一并放在烘箱烘干, 直到质量变化不超过 0.2 mg, 总质量记为 w_3 。污泥含水率的计算方法见式 (1)。

$$\eta = (w_1 - w_2) / (w_3 - w_2) \quad (1)$$

EPS 的提取采取离心与阳离子树脂相结合的方法。多糖 (polysaccharide, PS) 含量采用硫酸-蒽酮法测定, 蛋白质 (proteins, PN) 含量采用 Lowry 试剂盒方法 (Solarbio, 日本) 测定。取反应器中的颗粒污泥样品 1 mL, 使用土壤 DNA 分离试剂盒 (GenElute™ Soil DNA Isolation Kit) 抽提群落 DNA, 样品需要前处理, 以去除腐殖质等的干扰且保证群落 DNA 纯度。MisSeq 高通量测序及数据整理由上海美吉公司开发的 I-Sanger 云平台完成。

2 结果与分析

2.1 颗粒污泥的形成

1) 污泥形态变化。采用光学显微镜对污泥生物相和颗粒形态进行观察, 结果如图 2 所示。从

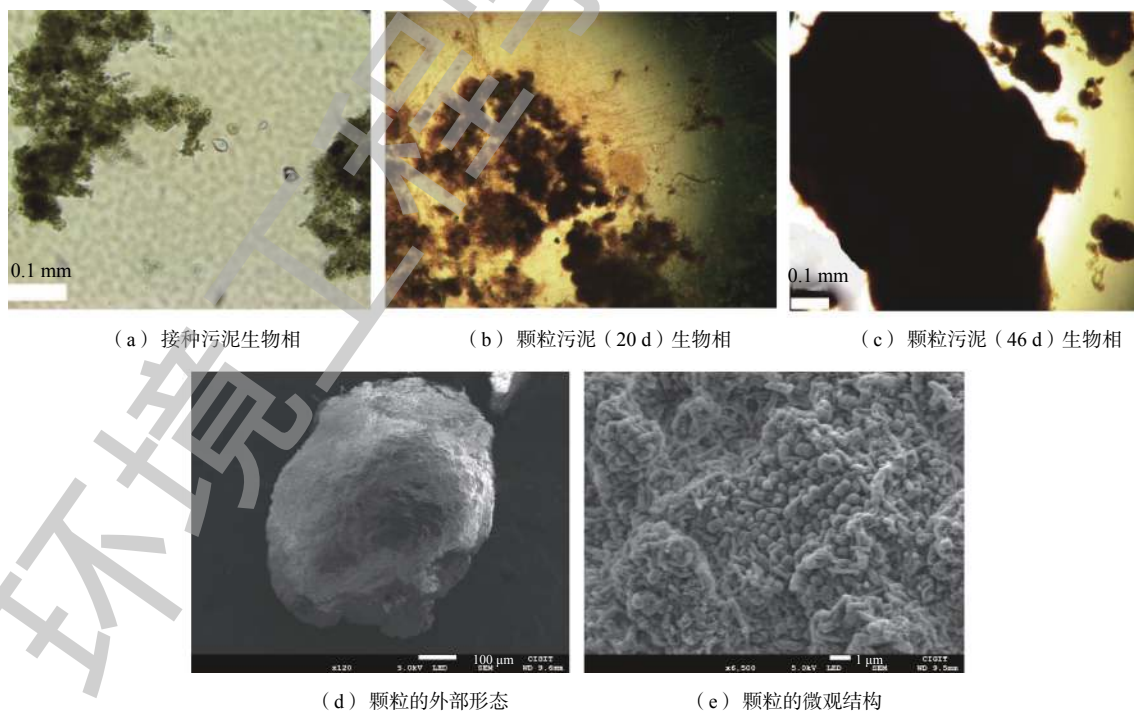


图 2 光学显微镜和 SEM 照片

Fig. 2 Optical microscope and SEM images

二沉池取出的接种污泥在显微镜下为絮状，轮廓和边缘不清晰，整体松散，有大量菌胶团且混有活性良好的原生动物和后生动物(如钟虫、轮虫等)，为成熟的活性污泥。在SBR启动20 d后(阶段I)，可观察到小颗粒污泥出现，颜色由棕褐色转变成黄色，颗粒形态整体为椭球状，缠绕有固着型微生物(累枝虫等)，颗粒有较清晰的边缘轮廓且粒径较小，有少量的污泥絮体未被洗脱存留在视野内。当反应器运行到46 d时(阶段II)，反应器中整体污泥颗粒化程度高，大小均匀。取46 d时反应器中的典型颗粒，在SEM下进一步观察，颗粒呈轮廓清晰的椭球体，结构紧实，表面倾斜分布着排列紧密的短杆细菌，几乎不存在丝状菌。同时颗粒表面也存在一些扩散开的网状物质。这与LIU等^[11]和TAY等^[12]的观察结果类似，推测应该是细菌分泌的EPS。

2) 粒径分布、比好氧速率及含水率变化。SBR运行到46 d时，采用标准筛法测量污泥粒径的分布，结果见表2。此时反应器中的好氧颗粒污泥粒径大于0.38 mm的污泥占总体积的91.6%。根据研究^[2]，当粒径超过0.36 mm的颗粒污泥的比例超过总污泥体积的50%时，可以认定好氧颗粒污泥颗粒化完成，在本研究中，46 d反应器内的颗粒污泥已经成熟。

颗粒污泥的比耗氧速率(specific oxygen uptake rate, SOUR)及含水率变化如图3所示。由于闷曝处理活性降低，初始投加污泥的SOUR为 $0.5 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{min})^{-1}$ (以VSS计)，随着培养过程中污泥颗粒化的形成，SOUR有所提升，最终稳定在 $3.2 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{min})^{-1}$ 左右。SOUR逐步提高，说明培养过程中污泥的微生物活性提升，高负荷污水的处理效果得到有效改善。污水厂的曝气池污泥为絮状活性污泥，其含水率为99%，颗粒形成后，含水率降低至92%。好氧颗粒污泥与活性污泥相比，结构更加密实，其含水率也会降低。一般污泥机械脱水后含水率为97%，而颗粒污泥较低的含水率可以减少污泥浓缩工序，降低污水处理厂的经济成本，这在污水处理中是一种经济有效的方式。

3) 好氧颗粒污泥沉降性能变化。污泥的 SV_5 、 SV_5/SV_{30} 、SVI、MLSS和MLVSS变化情况如图4所示。初始污泥的 SV_5 为 $35 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ，培养20 d后降低50%，这表明污泥团聚成小颗粒的过程使污泥的沉降性逐步提高。在28~39 d，反应器内发生污泥轻微膨胀现象，沉降性随之降低。这是由于进水负荷从 $800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (COD)提高到 $2400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (COD)后，对已形成的颗粒污泥有一定的冲击作用。但随着颗粒适应进水环境，颗粒污泥沉降性持续升高，46 d时 SV_5 降低至 $12 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ， SV_{30} 降低至 $11 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 。好氧颗粒污泥形成过程中， SV_5/SV_{30} 的变化幅度很小，基本维持在1.1左右，说明 SV_{30} 与 SV_5 的变化趋势基本一致，颗粒污泥沉降性良好。LIU等^[11]发现， SV_{30} 与 SV_5 的差异小于10%时，有利于好氧颗粒污泥的形成。污泥容积指数SVI从 $43.6 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 降低到了 $17.8 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ，除了适应进水变化时期发生轻微的污泥膨胀，整体趋势均随着颗粒粒径的增长，沉降性变好。

表2 46 d时SBR内颗粒污泥粒径分布
Table 2 Size distribution of aerobic granular sludge in SBR after 46 d cultivation

编号	粒径/mm	质量分数/%
1	≤ 0.25	7.1
2	0.25~0.38	1.4
3	0.38~0.83	24.1
4	0.83~1.18	29.6
5	1.18~1.7	14.9
6	1.7~2.36	9.1
7	≥ 2.36	13.9

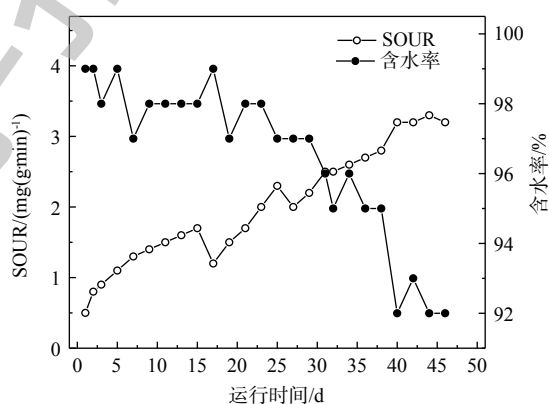
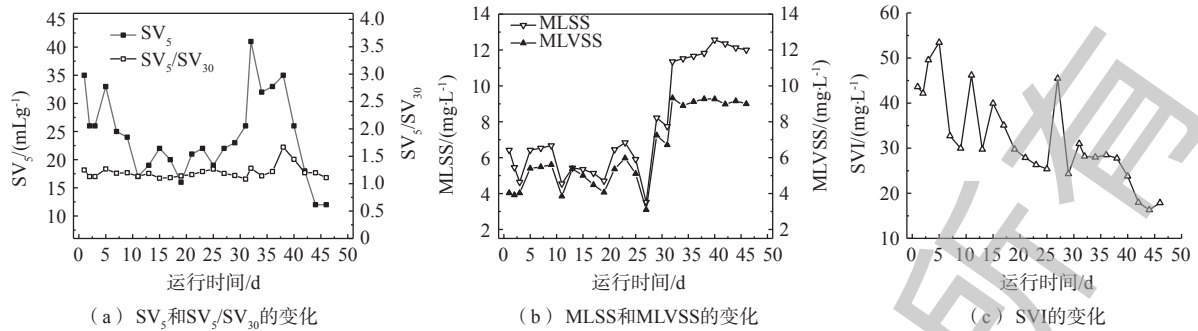


图3 反应器内污泥SOUR和含水率的变化

Fig. 3 Changes of sludge SOUR and moisture content in

图4 污泥的 SV_5 、 SV_5/SV_{30} 、MLSS、MLVSS和SVI的变化Fig. 4 Changes in SV_5 , SV_5/SV_{30} , MLSS, MLVSS and SVI of sludge

SBR内生物量的变化有一定的波动性,但在进水COD提高至 $2400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,MLSS和MLVSS持续上升,表明高负荷可以刺激微生物的增长。

4)好氧颗粒污泥胞外聚合物变化。通常认为,EPS对于好氧颗粒污泥的形成有促进作用^[13-14]。好氧颗粒污泥形成过程中的EPS含量如图5所示。在23d时,污泥的EPS总量为 $199\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其中蛋白质的含量为 $157\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,多糖的含量为 $41.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,PS/PN为0.3左右。而在30d时,EPS总量下降为 $119\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其中蛋白质的含量为 $110\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,多糖的含量为 $8.8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,PS/PN为0.08。蛋白质和多糖含量的降低可能是由于提高负荷后,颗粒污泥沉降性降低导致微生物流失引起的。在44d,颗粒污泥逐渐成熟后,EPS总量上升为 $345.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,

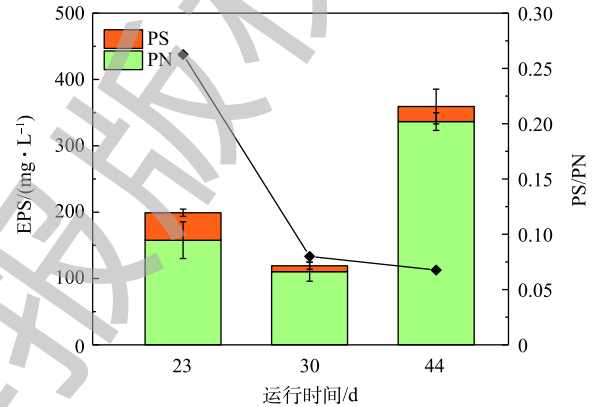


图5 颗粒污泥的EPS含量及PS/PN比例变化

Fig. 5 Changes in EPS content and PS/PN ratio of aerobic granular sludge

其中蛋白质的含量为 $336.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,多糖的含量为 $8.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,PS/PN约为0.03。可以看出,好氧颗粒污泥的成熟过程伴随着EPS含量的增多和PS/PN的下降。PS/PN的持续降低是由于蛋白质的增长量相比多糖更为显著造成的,这说明在好氧颗粒污泥的形成过程中,蛋白质可能比多糖作用更大^[15]。

2.2 反应器同步脱氮除碳性能

如图6所示,第I阶段,SBR在进水COD为 $800\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下运行26d,出水COD降为 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,去除率为95%, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 完全去除,TN去除率为87%, $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^+\text{-N}$ 累积量低于 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。第II阶段,进水COD和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 分别提高到 $2400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在28~39d时,出水水质有所波动,其COD为 $106\sim 386\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为 $0\sim 7.9\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,TN为 $0\sim 13\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。而这一时期也对应了好氧颗粒污泥沉降性降低、生物量减少、EPS含量降低的时期。这表明,水质波动的出现可能是颗粒污泥受到高负荷水质冲击,部分微生物从SBR系统内流失的结果。随着培养的进行,系统内的微生物逐渐适应了高负荷条件,而较高的营养物也促进了微生物的快速生长。因此,随着好氧颗粒污泥的成熟,处理效率也在稳步提高。在50d时,出水的COD去除率达到94%左右, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和TN的去除率提高到96%和93%。而且,阶段II提高进水负荷后,反应器的反硝化性能得到了改善,出水 $\text{NO}_3^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^+\text{-N}$ 很低。这可能是因为高负荷刺激了部分反硝化菌的生长。上述结果表明,好氧颗粒污泥在高负荷条件下实现了良好的同步脱氮除碳。

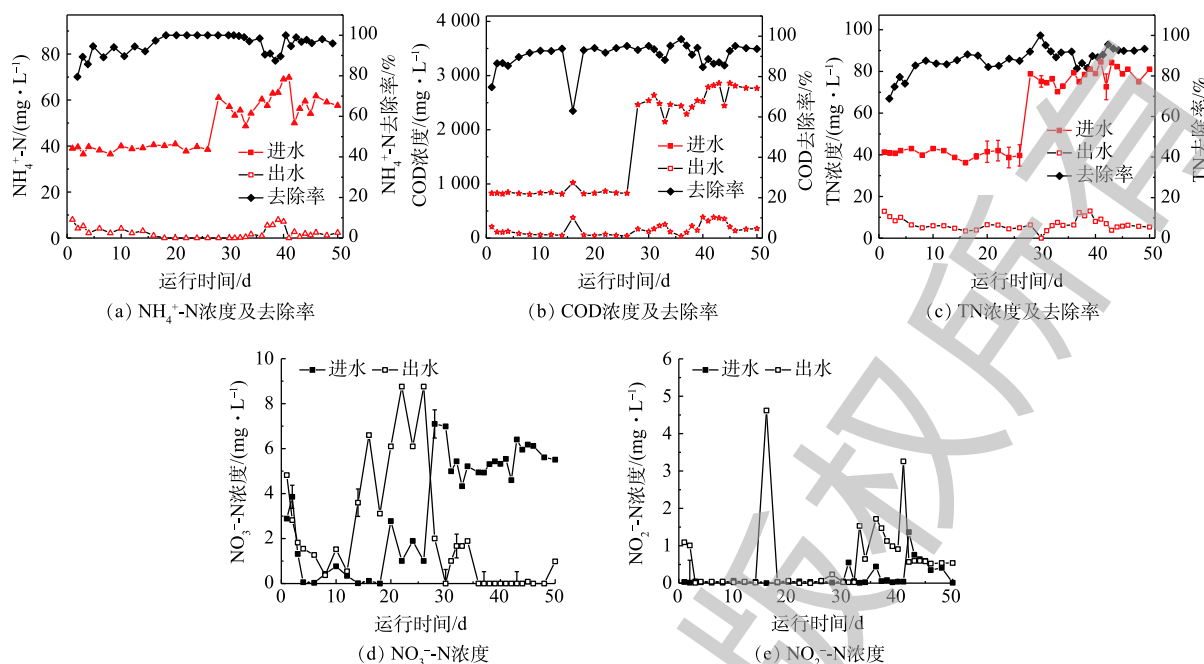


图6 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、COD、TN 的浓度及去除率和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的浓度

Fig. 6 Concentration and remove efficiency of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, TN, COD and concentration of $\text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$

2.3 好氧颗粒污泥微生物群落结构分析

对培养 46 d 的好氧颗粒污泥进行高通量测序分析, 按照可生物学分类的最小水平分类获得总样本数 69 341 条, 采用 Usearch 软件 (vsesion 7.0 <http://drive5.com/uparse/>) 进行聚类分析, 在 97% 相似水平下进行生物信息统计。样本文库覆盖率大于 99.9%, 表明测序深度能覆盖 SBR 内的绝大多数细菌信息。

在门水平上 (图 7), 颗粒污泥中的优势菌群主要为 *Saccharibacteria*、*Proteobacteria* (变形菌门)、*Bacteroidetes* (拟杆菌门)、*Actinobacteria* (放线菌门)、*Firmicutes* (厚壁菌门)、*Chloroflexi* (绿弯菌门), 上述菌群在总微生物中的相对丰度分别为 38.01%、37.94%、15.13%、7.58%、3.51% 和 2.45%。杨冰^[16] 在 SBR 好氧颗粒污泥的菌群结构中发现有 *Saccharibacteria* 的存在。SEVIOUR 等^[17] 发现, 好氧污泥颗粒形成过程中 *Proteobacteria* 相对丰度增加, 推测 *Proteobacteria* 在颗粒污泥中起到重要作用。刘风华等^[18] 通过克隆测序得到 *Bacteroidetes* 是厌氧出水培养的好氧颗粒污泥中的优势菌。高景峰等^[19] 在监测颗粒化过程中微生物群落动态变化时发现, 相对于活性污泥, *Bacteroidetes* 在成熟好氧颗粒污泥中

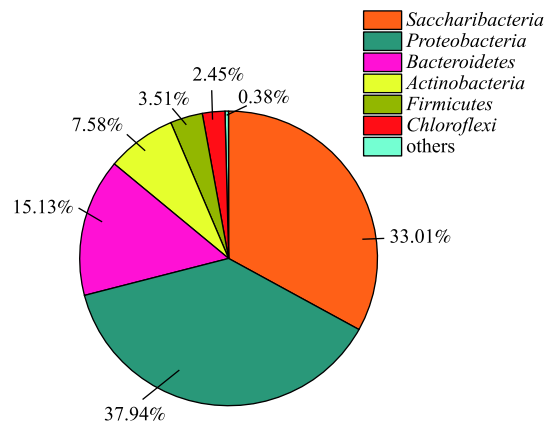


图7 成熟好氧颗粒污泥在门水平上的相对丰度
Fig. 7 Relative abundance of sample species in mature granules at phylum level

整个培养时间段内的比例很高, 相同的结果出现于已报道的研究^[20] 中。侯爱月等^[21] 研究发现, 不同颗粒化方法培育出的好氧颗粒污泥共同的优势菌群为 *Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes*。杨春等^[22] 发现, 折流板厌氧反应器 (ABR) 中的颗粒污泥优势菌群主要分布在 *Proteobacteria*、*Bacteroidetes*、*Chloroflexi*。邢雅娟^[23] 采用高效厌氧反应器培育的颗粒污泥菌群组成中, 有很高比例的 *Firmicutes*。

Actinobacteria 是丝状菌, 在促进污泥絮凝方面有良好效果^[24]。

在属水平上, *Saccharibacteria* 下没有得到进一步的分类信息 (unclassified)。在 *Proteobacteria* 门下, 单一菌属相对丰度大于 0.5% 的依次为 *Paracoccus* (副球菌属, 5%)、*Brevundimonas* (短波单胞菌属, 3.2%)、*Rhodobacter* (红细菌属, 2.1%)、*Aquimonas* (水单胞菌属, 1.7%)、*Shinella* (申氏杆菌属, 1.7%)、*Acidovorax* (食酸菌属, 0.9%)、*Bdellovibrio* (蛭弧菌属, 0.5%)、*Hydrogenophaga* (氢噬胞菌属, 0.5%)。远野^[25] 在废水碳、氮、硫污染物共脱系统中驯化的反硝化优势菌群包含 *Paracoccus*。在膜生物反应器中, *Paracoccus* 作为好氧反硝化菌占比最高^[26]。聂毅磊等^[27] 从环境样品中筛选出了具有良好脱氮效果的好氧反硝化菌, 属于 *Brevundimonas*。杨浩等^[28] 利用 16S rRNA 高通量测序在雨窖水中发现了异养硝化-好氧反硝化优势菌 *Rhodobacter*。SAHA 等^[29] 分离出了自养硝化菌 *Aquimonas*。潘丹等^[30] 从养猪场污水中筛选鉴定 *Shinella* 是异养反硝化细菌, 并考察了其脱氮特性。*Acidovorax* 是一种利用氢作为电子供体进行反硝化脱氮的异养反硝化菌^[31]。*Bdellovibrio* 作为优势菌, 存在于厌氧氨氧化反应器并起到脱氮作用^[32]。*Hydrogenophaga* 等反硝化细菌实现利用固体碳源对生化池尾水进行反硝化脱氮的作用^[33]。陈小军等^[34] 发现, 在反硝化滤池生物/化学协同处理系统中, 脱氮主要功能菌属包括 *Hydrogenophag*。

在 *Bacteroidetes* 中, *Flavobacterium* (黄杆菌属) 相对丰度高达 11%。*Flavobacterium* 是一种被广泛报道能够表征颗粒污泥成熟与否的菌属^[35-36]。同时 ŚWIATCZAK 等^[37] 发现, *Flavobacterium* 属细菌具有异养硝化特性, 说明其对反应器的脱氮能力也有促进作用。其他相对丰度大于 0.5% 的菌属为 *Leadbetterella* (里德拜特氏菌属, 0.7%) 和 *Ferruginibacter* (0.6%)。*Ferruginibacter* 被发现于潜流人工湿地中, 是一种不常见的反硝化功能菌^[38]。

在 *Actinobacteria* 门下, 单一菌属相对丰度大于 0.5% 的依次为 *Micropruina* (微白霜菌属, 5.7%) 和 *Propioniciclava* (丙酸棒状体菌属, 0.8%)。李建婷等^[39] 报道了 *Micropruina* 存在于好氧颗粒污泥中且具有很好的 COD 和氨氮去除能力。

在 *Firmicutes* 门下, 单一菌属相对丰度大于 0.5% 的依次为 *Clostridium* (梭菌属, 0.9%)、*Proteocatella* (0.7%)、*Sedimentibacter* (0.5%) 和 *Acetoanaerobium* (厌氧醋菌属, 0.5%)。*Clostridium* 是低溶解氧下好氧颗粒污泥 SBR 内的优势菌群, 与除磷过程^[40] 相关。*Acetoanaerobium* 是一种能将 H_2 和 CO_2 转化为醋酸的厌氧菌, 常出现于微生物燃料电池中。LI 等^[41] 首次报道, *Acetoanaerobium* 产生醋酸的过程可以为异养反硝化提供电子和碳源, 从而参与到反硝化过程中。

通过群落结构分析可知, 对颗粒形成有促进作用的优势菌群包括 *Saccharibacteria*、*Proteobacteria*、*Bacteroidetes* 和 *Bacteroidetes* 菌门下的 *Flavobacterium*、*Firmicutes* 和 *Chloroflexi*, 它们都曾作为优势菌群被发现于颗粒污泥反应器中。虽然 *Actinobacteria* 未被发现与颗粒污泥形成有直接关联, 但以往研究认为, 其对污泥絮凝有促进作用, 这可能也有利于污泥聚集。在脱氮除碳方面, 已发现的优势菌门包含丰富的异养硝化、好氧/缺氧反硝化菌属, 如 *Flavobacterium*、*Paracoccus*、*Rhodobacter* 等; 还存在可以降解有机物、提供电子参与反硝化过程的优势菌属, 如 *Acetoanaerobium*。这些微生物被高负荷环境筛选出来, 在高 COD 和高 C/N 条件下, 完成了同步脱氮除碳过程, 说明它们彼此之间能够协作处理, 实现此类污水的处理。同时, 在好氧颗粒污泥的群落结构中, 自养硝化细菌 (如 *Nitrosomonas* (亚硝化单胞菌属)) 并未成为优势菌属, 这也进一步说明异养硝化-好氧/缺氧反硝化可能在好颗粒污泥中起着重要作用。

3 结论

1) 采用高负荷人工配水运行 SBR, 经过 46 d, 培养出稳定好氧颗粒污泥。颗粒呈椭球形, 表面光滑, 结构紧实, 粒径大于 0.38 mm 的颗粒达 91.6%。在培养过程中, SOUR、MLSS、MLVSS

提高,含水率、SV₅、SVI降低,SV₅/SV₃₀保持在1.1,表明颗粒沉降性和活性变好,生物量在第I阶段和第II阶段保持稳定并随进水浓度提高而增长。EPS先增加后受水质冲击减少,之后又明显提高,整个过程中PS/PN持续下降,蛋白质在颗粒化过程中的作用强于多糖。

2)在C/N=20时,SBR中COD、NH₄⁺-N和TN的去除率分别为95%、100%和87%。在C/N=40时,COD、NH₄⁺-N和TN的去除率分别为94%、96%和93%,在整个过程中,NO₃⁻-N和NO₂⁻-N均维持在很低的水平,表明颗粒污泥在高负荷条件下实现了良好的同步脱氮除碳效果。

3)在高负荷下,反应器内促进颗粒化的菌门得到充分增长并成为优势菌群,包括*Saccharibacteria*、*Proteobacteria*、*Bacteroidetes*、*Actinobacteria*、*Firmicutes*和*Chloroflexi*。同时,在颗粒污泥中检测到许多异养硝化、好氧/缺氧反硝化优势菌属,表明异养硝化-好氧/缺氧反硝化脱氮可能存在于好氧颗粒污泥中。

参考文献

- [1] 彭永臻,吴蕾,马勇,等.好氧颗粒污泥的形成机制、特性及应用研究进展[J].环境科学,2010,31(2):273-281.
- [2] YARLAGADDA N Y, REDDYANG K K. Aerobic granular sludge technology: Mechanisms of granulation and biotechnological applications[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 247: 1128-1143.
- [3] LUO J H, HAO T W, LI W, et al. Impact of influent COD/N ratio on disintegration of aerobic granular sludge[J]. *Water Research*, 2014, 62(7): 127-135.
- [4] LONG B, XUAN X P, YANG C Z, et al. Stability of aerobic granular sludge in a pilot scale sequencing batch reactor enhanced by granular particle size control[J]. *Chemosphere*, 2019, 225: 460-469.
- [5] 高健磊,张肖静,李石磊,等. A²/O²工艺处理氮肥废水的短程硝化反硝化[J]. 中国给水排水, 2011, 27(17): 15-17.
- [6] 李健,王文菊,东志强,等.高机硫和硫酸盐含量高COD制药废水处理工程[J]. 水处理技术, 2018, 44(11): 138-140.
- [7] CORSINO S F, DI BIASE A, DEVLIN T R, et al. Effect of extended famine conditions on aerobic granular sludge stability in the treatment of brewery wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 226: 150-157.
- [8] CALUWE M, DOBBELEERS T, D'AES J, et al. Formation of aerobic granular sludge during the treatment of petrochemical wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 238: 559-567.
- [9] 冯殿宝,王维红,王燕彬,等.以黏土为载体的好氧颗粒污泥培养及其对番茄废水的处理[J]. 应用与环境生物学报, 2019, 44(1): 199-205.
- [10] 杨丹丹,周安澜,刘绍根. SBR反应器中好氧颗粒污泥培养及处理汽车涂装废水试验[J]. 工业用水与废水, 2019, 50(1): 8-12.
- [11] LIU Y Q, TAY J H. Characteristics and stability of aerobic granules cultivated with different starvation time[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2007, 75(1): 205-210.
- [12] TAY J H, LIU Q S, LIU Y. The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2001, 57(1/2): 227-233.
- [13] LIU Y, YANG S F, TAY J H. Improved stability of aerobic granules by selecting slow-growing nitrifying bacteria[J]. *Journal of Biotechnology*, 2004, 108(2): 161-169.
- [14] LIU Y Q, LIU Y, TAY J H. The effects of extracellular polymeric substances on the formation and stability of biogranules[J].

- Applied Microbiology & Biotechnology, 2004, 65(2): 143-148.
- [15] ZHANG L, FENG X, ZHU N, et al. Role of extracellular protein in the formation and stability of aerobic granules[J]. *Enzyme & Microbial Technology*, 2007, 41(5): 551-557.
- [16] 杨冰. 两种碳源条件下好氧颗粒污泥中细菌的群落结构研究[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2015.
- [17] SEVIOUR T W, LAMBERT L K, PIJUAN M, et al. Selectively inducing the synthesis of a key structural exopolysaccharide in aerobic granules by enriching for *Candidatus "Competibacter phosphatis"* [J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2011, 92(6): 1297-1305.
- [18] 刘风华, 宋永会, 曾萍, 等. 厌氧出水培养好氧颗粒污泥及其微生物多样性分析[J]. *环境科学与技术*, 2014, 37(1): 70-74.
- [19] 高景峰, 张丽芳, 张树军, 等. 两次污泥颗粒化过程中微生物群落的动态变化[J]. *环境科学*, 2018, 39(5): 2265-2273.
- [20] LV Y, WAN C, LEE D J, et al. Microbial communities of aerobic granules: Granulation mechanisms[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 169: 344-351.
- [21] 侯爱月, 李军, 王昌稳, 等. 不同好氧颗粒污泥中微生物群落结构特点[J]. *中国环境科学*, 2016, 36(4): 1136-1144.
- [22] 杨春, 吕锡武. 农村生活污水处理ABR工艺的启动与污泥微生物特性[J]. *净水技术*, 2017, 36(5): 79-85.
- [23] 邢雅娟. 生物除碳脱氮污泥组成、结构和性能研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [24] LIU Y, LIU Q S. Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors[J]. *Biotechnology Advances*, 2006, 24(1): 115-127.
- [25] 远野. 废水碳氮硫污染物共脱除工艺调拉与生物硫回收参数优化[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.
- [26] 喻珊, 黄振山, 唐美如, 等. 氧含量对嗜热膜生物反应器烟气脱硝脱汞的影响[J]. *环境工程学报*, 2018, 12(10): 2797-2806.
- [27] 聂毅磊, 贾纬, 曾艳兵, 等. 两株好氧反硝化聚磷菌的筛选、鉴定及水质净化研究[J]. *生物技术通报*, 2017, 33(3): 116-121.
- [28] 杨浩, 张国珍, 杨晓妮, 等. 16S rRNA高通量测序研究集雨水中微生物群落结构及多样性[J]. *环境科学*, 2017, 38(4): 1704-1716.
- [29] SAHA P, KRISHNAMURTHI S, MAYILRAJ S, et al. *Aquimonas voraii* gen. nov., sp. nov., a novel gammaproteo bacterium isolated from a warm spring of Assam, India[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(4): 1491-1495.
- [30] 潘丹, 黄巧云, 陈雯莉. 两株异养硝化细菌的分离鉴定及其脱氮特性[J]. *微生物学报*, 2011, 51(10): 1382-1389.
- [31] 王建超, 郝瑞霞, 孟成成, 等. 3DBER-S反硝化脱氮性能及其菌群特征[J]. *环境科学研究*, 2015, 28(2): 310-317.
- [32] 陈重军, 张海芹, 汪瑶琪, 等. 基于高通量测序的ABR厌氧氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析[J]. *环境科学*, 2016, 37(7): 2652-2658.
- [33] 吴安琪. 固体碳源反硝化生物膜反应器的脱氮性能研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2017.
- [34] 陈小军, 黄韬, 刘石虎, 等. 污水厂尾水反硝化滤池生物/化学协同脱氮除磷研究[J]. *中国给水排水*, 2017, 33(23): 27-32.
- [35] LI A, YANG S, LI X, et al. Microbial population dynamics during aerobic sludge granulation at different organic loading rates[J]. *Water Research*, 2008, 42(13): 3552-3560.
- [36] 刘文如, 丁玲玲, 王建芳, 等. 低C/N比条件下亚硝化颗粒污泥的培养及成因分析[J]. *环境科学学报*, 2013, 33(8): 2226-2233.
- [37] ŚWIATCZAK P, CYDZIK-KWIATKOWSKA A. Performance and microbial characteristics of biomass in a full-scale aerobic

granular sludge wastewater treatment plant[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2018, 25(2): 1655-1669.

[38] 侯洁. 生物炭对潜流人工湿地生物脱氮影响机理研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017.

[39] 李建婷, 纪树兰, 刘志培, 等. 16S rDNA克隆文库方法分析好氧颗粒污泥细菌组成[J]. *环境科学研究*, 2009, 22(10): 1218-1223.

[40] 信欣, 管蕾, 姚艺朵, 等. 低DO下AGS-SBR处理低COD/N生活污水长期运行特征及种群分析[J]. *环境科学*, 2016, 37(6): 2259-2265.

[41] LI P, WANG Y, ZUO J, et al. Nitrogen removal and N₂O accumulation during hydrogenotrophic denitrification: Influence of environmental factors and microbial community characteristics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 51(2): 870-879.

(本文编辑: 郑晓梅, 张利田)

Characteristics on simultaneous nitrogen and organic carbon removal and microbial community structure analysis of aerobic granular sludge treating high strength wastewater

ZHAO Bin^{1,2,*}, DING Xuesong^{1,2}, WU Danqing^{1,2}, CHEN Yuhang^{1,2}, ZHANG Ying^{1,2}, RAN Xiaochuan^{1,2}

1. School of Urban Construction and Environmental Engineering, Chongqing University, Chongqing 400045, China

2. Key Laboratory of Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China

*Corresponding author, E-mail: binzhao11@cqu.edu.cn

Abstract To investigate granular formation process, simultaneous nitrogen and organic carbon removal efficiency, community characteristics of aerobic granular sludge treating high strength wastewater, a sequencing batch reactor (SBR) was set up. The results showed that the granulation can be completed under the influent condition of C/N=40. The mature aerobic granules were compact spheroids with a smooth surface. With the increase of particle size, the specific oxygen uptake rate (SOUR) and biomass increased, the settling performance became good, while the water content decreased. During the granular formation process, extracellular polymeric substance (EPS) increased at first and then reduced due to the influence of water quality, and finally increased significantly. The ratio of polysaccharides to proteins (PS/PN) continued to decrease throughout the whole process, and proteins in EPS have an important effect on granular formation. The aerobic granular sludge in the SBR could simultaneously remove COD, NH₄⁺-N and TN with high efficiencies of 94%, 96% and 93%, respectively, and the denitrification performance of the reactor was good. High-throughput sequencing by MiSeq revealed that the dominant bacteria in aerobic granular sludge to promote granulation at C/N=40 were following: *Saccharibacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* and *Chloroflexi*. Meanwhile, the relative abundances of heterotrophic nitrifiers, aerobic/anoxic denitrifiers in granular sludge were high, indicating that heterotrophic nitrification - aerobic/anoxic denitrification process occurred in aerobic granular sludge.

Keywords high strength wastewater; aerobic granular sludge; simultaneous nitrogen and carbon removal; microbial community; extracellular polymeric substance