



第 19 卷 第 3 期 2025 年 3 月 Vol. 19, No.3 Mar. 2025

(www) http://www.cjee.ac.cn

E-mail: cjee@rcees.ac.cn

💮 (010) 62941074

DOI 10.12030/j.cjee.202410137 中图分类号 X703 文献标识码 A

# 周丛生物膜强化微污染水脱氮除磷效能及其微生物群落特征

张林防<sup>1,∞</sup>, 钟琦<sup>1</sup>, 王骏<sup>1</sup>, 吴苏<sup>1</sup>, 李豪<sup>1</sup>, 黄晓丹<sup>1</sup>, 付国楷<sup>2</sup>, 张智<sup>2</sup>, 张俊翔<sup>3</sup> 1. 南京林业大学土木工程学院, 南京 210037; 2. 重庆大学环境与生态学院, 重庆 400044; 3. 昆山市水务局, 苏 州 215301

摘 要 利用天然周丛生物构建了微藻-细菌-真菌三元复合生物膜,探讨了复合生物膜强化城乡小微水体微污染水脱氮 除磷处理效能及其微生物群落结构特征。结果表明,相比于单一异养生物膜,微藻-细菌-真菌三元复合生物膜对总氮 (total nitrogen, TN) 和磷酸盐 (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>P) 的去除效率分别提高了 34.2% 和 60.1%。正交实验分析结果表明,光照强度对复 合生物膜强化微污染水氮、磷去除效能的影响最为显著,在最佳运行条件下,TN 和 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>P 的最大去除率分别为 94.1% 和 98.2%。批次活性实验结果表明异养硝化-好氧反硝化、厌氧氨氧化、微藻/光合细菌同化、微生物诱导磷酸盐 沉淀等过程可能共同驱动了微污染水中氮、磷的有效去除。16S rDNA/ITS/18S rDNA 扩增子高通量测序结果表明, Proteobacteria、Cyanobacteria、Bacteroidota、Planctomycetota、Verrucomicrobiota、Actinobacteriota、Dependentiae 为复 合生物膜中的优势细菌门;Ascomycota、Basidiomycota、Rozellomycota、Chytridiomycota 为优势真菌门;Chlorophyta、Bacillariophyceae 是优势微藻门。*Silanimonas、Chloroplast、Cyanobium\_PCC-6307、Blastomonas、Leptolyngbyaceae、Porphyrobacter、NS11-12\_marine\_group、Sediminibacterium、Curvibacter、OLB12、Pirellula 是复合生物膜中的优势细菌属;Trichoderma 是优势真菌属;Chlorella、Chlamydomonas 为优势微藻属。其中,Silanimonas、NS11-12\_marine\_group、Sediminibacterium 是负责异养硝化-好氧反硝化过程的关键微菌属;作为 典型的厌氧氨氧化菌属,Pirellula 可能有助于贫营养条件下氮的去除。研究结果初步解析了复合生物膜处理微污染水 的多路径脱氮除磷过程及微生物群落特征,对城乡小微水体的生态修复及其生态涵养价值的提升具有重要意义。* 

作为地表水最小的单位部分和最基本的生态细胞,小微水体在行洪排涝、灌溉供水、养殖及人居生态环境质量保障等方面发挥着重要的基础性功能和作用<sup>[1]</sup>。然而,由于城镇小微水体污染源的多样性、居民环保意识不足以及治理体系不够完善,加之小微水体自身具有流动性差、自净能力弱、封闭性强等特点,城镇小微水体极易出现富营养化和水体黑臭现象,严重影响居民生活健康与水生态安全<sup>[2]</sup>。因此,城镇小微水体微污染水治理已成为我国"十四五"水环境治理重点。

在现有的湖泊、河流治理修复技术中,物理技术见效较快,但存在治标不治本的特点;化学技术需要添加外源试剂,容易造成二次污染;生态工程及生物技术具有应用范围广、环境友好、可持续修复性强、运行投资相对较省等优点<sup>[3]</sup>。其中,生物膜技术可形成紧密与多样化的微生物膜结构,容易聚集较高浓度的生物量,可有效减少处理工艺占地面积、增加处理负荷,在受污染水体治理修复中的应用研究日趋增多。薛同站等<sup>[4]</sup> 采用改性中空纤维膜曝气生物膜 (membrane aeration bioreactor, MABR)进行了为期 78 d 的中试实验,结果表明,MABR 技术对河水主要污染物具有较好的去除效果,有助于小型河流生态功能的修复,可用于低流速河流和黑臭水体的污染治理。杨垒等<sup>[3]</sup>利用外源菌剂构建了强化耦合生物膜系统 (enhanced hybrid biofilm reactor, EHBR) 治理城市明渠污染水体,结果表明,通过增氧曝气及 EHBR 膜处理,COD 值、

收稿日期: 2024-10-31 录用日期: 2025-02-11

**基金项目**:国家自然科学基金青年基金资助项目(52400085);江苏省自然科学基金青年基金资助项目(BK20220432);江苏省大学生实践创新训练计划项目(202210298095Y);江苏省高等学校自然科学研究项目(21KJB560020)

第一作者: 张林防(1990—), 男, 博士, 讲师, 研究方向为水污染与水环境修复、工业废水资源化处理, linfangzhang@njfu.edu.cn ⊠通信作者

第3期

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 及总氮 (total nitrogen, TN) 浓度分别下降了 55%、93% 和 94%。王荣昌等<sup>[5]</sup> 将自主设计的悬浮载体 生物膜反应器 (suspended carrier biofilm reactor, SCBR) 应用于清华大学万泉河的修复,当水力停留时间控 制在 1.0 h 左右时, SCBR 对 COD 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的平均去除率可分别达到 57% 和 76%。总之,生物膜技术在 城镇小微水体原位修复中具有一定的技术优势和应用前景,但由于自然环境的复杂性和对生物膜净化机理 (特别是污染物去除的微生物学机制) 的研究还不够深入透彻,其大规模实际应用依然任重而道远。

微生物是生物膜发挥污染物降解功能的核心部件。目前,填料表面微生物的附着挂膜过程分为自然成膜和人工接种强化成膜2种方式。自然挂膜方式所形成的生物膜主要为土著微生物,不存在与外源微生物的竞争和生态风险问题,然而该方式成膜周期长且存在生物膜不易形成等弊端;人工接种强化成膜方式可快速形成具有降解功能的生物膜,但外源微生物可能与土著微生物存在竞争关系而不能稳定存在甚至被演替,导致生物膜处理性能降低甚至失效<sup>[6]</sup>。事实上,天然生物膜(周丛生物)广泛存在于自然水体中,如水生植物根叶表面、消落带砾石表面、河道混凝土岸坡表面等<sup>[7,8]</sup>。笔者认为,这些原生生物膜可能是生物技术应用过程中更为理想的接种源,在强化水体污染物降解的同时,还可以有效防范生态环境风险、提高系统运行效率。因此,本实验以小微水体混凝土岸坡表面生物膜为研究对象,重点考察光照强度、污染物(氮、磷)浓度对复合生物膜强化微污染水处理效能的影响,解析复合生物膜多路径脱氮除磷机理及微生物群落结构特征,为城镇小微水体微污染水的有效治理提供理论依据。

#### 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与试剂

实验所用水样以南京林业大学校内紫湖溪 (N: 32.07°; E: 118.82°) 溪水为基底进行调配,紫湖溪 溪水原始水质如下: 51~60 mg·L<sup>-1</sup> COD, 0.08~ 0.29 mg·L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, 0.11~0.32 mg·L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, 0.03~0.04 mg·L<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, 0.21~0.65 mg·L<sup>-1</sup> TN, 0.003~0.010 mg·L<sup>-1</sup>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P, 6.65~8.36 mg·L<sup>-1</sup> O<sub>2</sub>, pH 为 7.71~8.03。为考察光照强度、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N及 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 浓度对复合生物膜去除污染物的影 响,将光照强度分别设置为 4 000、6 000、8 000 Lux,利用 NH<sub>4</sub>Cl和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>将原水 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N及 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 质量浓度分别调节至 2、6、10 mg·L<sup>-1</sup>和 0.5、1、2 mg·L<sup>-1</sup>,并以此设计正交实验 (表 1)。 实验所用其他试剂均为分析纯,实验用水为超 纯水。

#### 1.2 实验装置及方法

如图 1 所示,圆柱体实验装置由有机玻璃制成,其高为 10 cm,直径为 8 cm,有效容积为 500 mL,反应装置顶部设置盖板,盖板设置换液 孔、气孔及载体安装孔道。周丛生物膜载体为碳纤 维刷,刷毛直径为 3 cm,刷毛长度为 5 cm,总长 度为 15 cm,碳纤维刷在使用之前先用 1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 溶液浸泡 12 h,然后用超纯水彻底冲洗,接着再用 1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 溶液浸泡 12 h,之后用超 纯水彻底冲洗,然后用 95% 乙醇溶液浸泡 12 h,随后在超纯水中浸泡 12 h,最后将碳纤维刷置于 60  $\mathbb{C}$  鼓风干燥箱内烘干备用。实验装置接种所用 的周丛生物膜取自紫湖溪混凝土岸坡 (图 1),将周

表1 正交实验表 Table 1 Orthogonal experimental table

组别	光照强度/Lux	NH4+-N浓度/(mg·L-1)	PO43P浓度/(mg·L-1)
T1	8 000	2	0.5
T2	8 000	6	1
T3	8 000	10	2
T4	6 000	2	1
T5	6 000	6	2
T6	6 000	10	0.5
T7	4 000	2	2
T8	4 000	6	0.5
Т9	4 000	10	1



Fig. 1 Schematic drawing of the composite biofilm reactor

丛生物膜置于摇床中振荡分散,将分散后的周丛生物悬浊液过 100 目筛,以去除水生植物凋落物和较大的无 机碎屑等,然后在 4 ℃ 下以 8 000 r·min<sup>-1</sup>将过筛后的周丛生物悬浊液离心 10 min,弃去上清液后向离心管 中加入超纯水再次将周丛生物重悬,最后取 15 mL 重悬污泥接种于实验组反应器 (即复合生物膜体系)。此 外,另取实验室培养的好氧活性污泥 15 mL 构建对照组反应器 (即单一异养生物膜体系)。重悬污泥和好氧活 性污泥的污泥浓度值 (mixed liquid suspended solids, MLSS) 均为 3 000 mg·L<sup>-1</sup>。

在挂膜启动期间采用 LED 灯对实验组反应器进行补光照明,光照强度设置为 10 000 Lux,连续照明; 对照组反应器用锡纸包裹进行遮光并进行曝气,溶解氧 (dissolved oxygen, DO) 控制在 4.0 mg·L<sup>-1</sup> 左右。挂 膜期间实验组和对照组反应器进水均为紫湖溪原水,采用磁力搅拌器对反应溶液进行搅拌混匀以免出现短 流,每隔 48 h 换水一次,在至少连续 3 个换水周期反应器出水均能达到相似污染物去除率时,认为系统挂膜 成功。系统挂膜成功后,将紫湖溪原水 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 及 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 质量浓度分别调节至 5.0 和 1.5 mg·L<sup>-1</sup>,实验组 和对照组其他运行条件保持不变,反应器连续运行 5 个换水周期 (48 h),以此考察单一异养生物膜和复合生 物膜污染物处理效能的差异性。

之后按照表1所示正交实验表考察光照强度、污染物 (氮、磷) 浓度对复合生物膜除污性能的影响,实验 阶段反应器采用续批式模式运行,换水周期为 48 h,每个工况下反应器均运行 9 个周期 (3 个适应周期+6 个 稳定周期),参考自然条件光照变化规律光暗比设置为 12 h: 12 h。在典型周期污染物去除过程分析中,作为 反应器进水,紫湖溪原水 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 及 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 质量浓度分别调节至 10.0 和 2.0 mg·L<sup>-1</sup>,分别在 0、12、24、 36、48 h 对实验组反应器出水进行采样,测定 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P、DO 质量浓度及 pH。 为解析复合生物膜的多路径脱氮除磷过程,在主体实验结束后,裁取一部分附着生物膜的碳纤维进行批次活 性实验测试,包括硝化 (I)、反硝化 (II)、厌氧氨氧化 (II)、微藻/光合细菌同化及微生物诱导磷酸盐沉淀 (IV),该部分实验采用模拟废水,其主要成分浓度见表 2。在第 I 组实验过程中,DO 控制在 4.0~4.5 mg·L<sup>-1</sup>,其 3<sup>#</sup>和 4<sup>#</sup>阶段均投加 0.1 g·L<sup>-1</sup> 自养硝化抑制剂烯丙基硫脲 (allylthiourea, ATU);在第 II 组实验 中,1<sup>#</sup>和 2<sup>#</sup>阶段 DO 控制在 4.0~4.5 mg·L<sup>-1</sup>,且在 1<sup>#</sup>阶段另投加 1 mmol·L<sup>-1</sup>氯酸盐 (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>—N 抗氧化剂), 3<sup>#</sup>和 4<sup>#</sup>阶段则控制为缺氧条件;第III 组实验在厌氧条件下进行;在第IV组实验过程中,光照强度控制在 8 000 Lux,在 3<sup>#</sup>阶段另投加 20 µmol·L<sup>-1</sup> 二氯苯基二甲脲 (光合抑制剂)。如无特殊说明,上述所有实验均在 (25±1) ℃ 的室温下进行。

phosphorus removal pathways unough composite biornin								
实验组别	实验阶段	$NH_4^+-N/(mg \cdot L^{-1})$	$NO_2^N/$ (mg·L <sup>-1</sup> )	$NO_3^{-}N/$ (mg·L <sup>-1</sup> )	$PO_4^{3-}-P/$ (mg·L <sup>-1</sup> )	NaHCO <sub>3</sub> / (g·L <sup>-1</sup> )	乙酸钠/ (g·L <sup>-1</sup> )	$Ca^{2+}/(mmol \cdot L^{-1})$
	1#	5.0	_	_	_	0.2	_	_
т	2#	5.0	_	_	_	_	0.2	_
1	3#	5.0	_	_	_	_	0.2	_
	4#	5.0	_	_	_	_	_	_
	1#	_	5.0			_	0.2	
Π	2#	_	_	5.0	_	_	0.2	_
Ш	3#	_	5.0	_	_	_	0.2	_
	4#	_	_	5.0	_	_	0.2	_
Ш	1#	5.0	6.6			0.2		
IV	1#	5.0		_	1.5	0.2		
	2#	5.0	_	_	1.5	0.2	_	1.0
	3#	5.0	—	—	1.5	0.2	—	1.0

表 2 复合生物膜脱氮除磷路径探究实验模拟废水水质

Table 2 Simulated wastewater quality used in the exploration experiment of nitrogen and

注:"---"表示无数据。

#### 1.3 检测指标及方法

实验相关水质指标的检测与分析过程参照《水和废水监测分析方法》(第4版)中规定的标准方法,主要的测试分析指标包括 COD、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、TN、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P、pH、DO、Ca<sup>2+</sup>、总铁 (total ferrum, TFe)等。正交实验结果采用 SPSS 22.0 进行分析。实验结束后,将周丛生物接种污泥与实验组生物 膜样品在 4 °C 下以 10 000 r·min<sup>-1</sup> 的转速离心 10 min,然后将离心后的样品保存在-80 °C 冰箱 12 h。微生物 DNA 提取和 PCR 扩增过程均交由武汉贝纳科技有限公司完成。本研究利用 16S rDNA/ITS/18S rDNA 扩 增子高通量测序分析复合生物膜的微生物群落组成,其中细菌引物组为 338F(ACTCCTACGGGAGGCAGCA)和 806R(GGACTACNVGGGTWTCTAAT),真菌引物组为 547F(CCAGCASCYGCGGTAATTCC)和 V4R(ACTTTCGTTCTTGATATGC),真核生物(微藻)引物组为 547F(CCAGCASCYGCGGTAATTCC)和 V4R(ACTTTCGTTCTTGATYRA)。测序完成后,原始数据经过数据拆分后得到各样本原始序列数据,各样本原始序列数据经过 Reads 拼接、tags 过滤、去嵌合体等步骤得到有效数据 (Clean reads), Clean reads 在利用 DADA2 算法降噪后通过 UPARSE 软件进行序列分析,以 100% 相似度进行 ASV(Amplicon Sequence Variants)聚类,然后计算样本 α和β多样性,评估样本间多样性差异,最后根据 NCBI 本地 BLAST 数据库进行物种注释,得到样品在门和属分类水平下的微生物组成及其相对丰度。原始序列数据已上传至 CNCB 数据库, 登录号为 CRA019389。实验数据采用 Origin 9.0 软件进行绘图。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 单一异养生物膜和复合生物膜污染物处理效能分析

由图 2(a) 可知,当单一异养生物膜与微藻-光合/异养菌-真菌复合生物膜用于城乡小微水体微污染水处理时,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 质量浓度分别可从 5.02 mg·L<sup>-1</sup>和 5.09 mg·L<sup>-1</sup>降低至 0.23 mg·L<sup>-1</sup>和 0.19 mg·L<sup>-1</sup>,其相应去除率分别可达 95.42%和 96.27%(图 2(b))。NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 质量浓度基本保持不变,维持在 0.06~0.08 mg·L<sup>-1</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 质量浓度分别从进水的 0.36 mg·L<sup>-1</sup> (单一异养生物膜)和 0.39 mg·L<sup>-1</sup> (复合生物膜)变化为出水的 2.01 mg·L<sup>-1</sup>和 0.21 mg·L<sup>-1</sup> (图 2(a))。由于 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>—N 的积累,单一异养生物膜体系出水 TN 质量浓度为 2.40 mg·L<sup>-1</sup>, 而 复合生物膜体系出水 TN 质量浓度仅为 0.54 mg·L<sup>-1</sup> (图 2(a)),其相应去除率分别为 56.28%和 90.43% (图 2(b))。在磷去除方面,单一异养生物膜体系和复合生物膜体系 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 质量浓度分别从 1.53 mg·L<sup>-1</sup>和 1.51 mg·L<sup>-1</sup>降低至 1.01 mg·L<sup>-1</sup>和 0.09 mg·L<sup>-1</sup> (图 2(a)),其相应去除率分别为 33.99%和 94.04%(图 2(b))。单一异养生物膜体系和复合生物膜体系出水 COD 值分别为 20.16 mg·L<sup>-1</sup>和 30.79 mg·L<sup>-1</sup> (图 2(a)),去除率分别为 66.60%和 50.60%。总体来讲,相比于单一异养生物膜体系,复合生物膜对 TN 和 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 的去除效 率分别提高了 34.15%和 60.05%。



Fig. 2 Changes in nitrogen, phosphorus and organic matter concentration and removal efficiency of micro-polluted water treated by single or composite biofilm

上述研究结果表明,在复合生物膜体系中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 的转化去除并非小微水体微污染水生物处理的限速步骤,其原因在于自养硝化细菌、异养硝化细菌、异养硝化真菌、厌氧氨氧化菌及光合微生物可能

共存于复合生物膜中,进而有效驱动了 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 的转化去除<sup>[9]</sup>。此外,通过对比单一异养生物膜和 复合生物膜的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除情况,推测微生物硝化过程可能在复合生物膜氮转化中发挥了核心作用。单一异 养生物膜体系 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的积累可能缘于电子供体不足。虽然进水理论碳氮比 (COD/TN) 约为 12 左右,但由 于进水碳源多为难降解有机物<sup>[10]</sup>,加之异养硝化、好氧异养等过程对碳源的竞争<sup>[11]</sup>,因此造成反硝化不充分 及 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的积累。微污染水中的铁、硫等元素可以驱动 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的还原<sup>[12]</sup>,然而由于单一异养生物膜体系 的高 DO(4.0 mg·L<sup>-1</sup>) 环境,铁、硫元素基本处于氧化状态,此时自养反硝化作用可能极为微弱。相比于单一 异养生物膜,复合生物膜的高效脱氮主要得益于额外碳源的补充。先前的研究表明,真核微藻等光合微生物 可以将 CO<sub>2</sub>转化为有机物,并将其作为碳源提供给反硝化菌<sup>[13]</sup>。与此同时,光合作用驱动的有机物合成可能 造成了复合生物膜 COD 去除效率的降低。

单一异养生物膜体系较低的 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>P 去除效率表明聚磷菌的同化作用在贫营养条件下较弱。而在复合生物膜中,光合微生物的同化以及微生物诱导磷酸盐沉淀 (biologically induced phosphate precipitation, BIPP) 过程可能极大地促进了磷的去除。ZHANG 等<sup>[9]</sup> 研究表明,微藻的光合作用不仅实现了磷的同化去除,而且有效提升了反应体系溶液的 pH,在钙离子存在情况下,PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 同时以羟基磷灰石的形式被沉淀去除,微藻同化与 BIPP 最终承担了大约 63.8~70.9% 的磷去除量。本研究进水 TFe 浓度和 Ca<sup>2+</sup>质量浓度分别为 10.7 μmol·L<sup>-1</sup> 和 600 μmol·L<sup>-1</sup> 左右,据此推测 CaP 可能是 BIPP 的主要产物。此外,磷除了可以通过构建细胞有机成分 (如磷脂) 而被微藻等光合微生物正常吸收外,还可以通过多聚磷酸盐颗粒的形式被光合微生物超量吸收<sup>[14]</sup>,这可能进一步促进磷的高效去除。综上所述,周丛生物可以作为城乡小微水体微污染水生态修复的良好接种源。相比于外源接种物,原生周丛生物可在强化水体污染物降解的同时,达成有效防范生态环境风险发生的目的,这对于城乡水生态环境的可持续保护具有重要的现实意义。

#### 2.2 复合生物膜系统正交实验结果分析

由表 3 可知,在不同光照强度、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N及 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P浓度条件下,复合生物膜对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、TN、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P及 COD 的去除率分别为 83.1%~98.2%、69.9%~94.1%、77.3%~98.2%及 37.9%~53.3%。正交实验的极差分析结果表明(表 4),对于城乡小微水体微污染水中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、TN、PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P及 COD 去除效果的影响程度而言,光照强度> NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 浓度> PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P浓度,此结果表明光照强度对复合生物膜处理性能影响最大;从方差分析结果来看(表 4), *P*(光照强度)均小于 0.05,对各项污染物的去除影响显著,而 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N和 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P浓度对复合生物膜的处理性能无显著影响。去除 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N和 TN 对应的最佳光照强度水平为 6 000 Lux,去除 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P和 COD 对应的最佳光照强度水平分别为 8 000 Lux和 6 000 Lux。一方面,光照可影响微藻及光合菌的生长代谢,对氦、磷的吸收产生直接影响;另一方面,光合微生物产生的 O<sub>2</sub>可用于硝化、好氧异养代谢过程,强化 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的转化与有机物的降解<sup>[15]</sup>。但光照强度过高,有可能对硝化细菌产生抑制作用并造成有机物的部分累积<sup>[9]</sup>。再者,过高的 DO浓度可能会对反硝化过程产生不良影响,造成 TN 去除率的降低。随着光照强度的提升,磷的去除率不断提高,这可能是由于光合作用对溶液 pH 的推升及泌氧极大地促进了 BIPP 及聚磷菌的好氧磷吸收过程<sup>[9,16]</sup>。

组别	光照强度/Lux	$NH_4^+ - N / (mg \cdot L^{-1})$	$PO_4^{3-}-P/(mg \cdot L^{-1})$	NH4+-N去除率/%	TN去除率/%	PO43-P去除率/%	COD去除率/%
T1	8 000	2	0.5	83.14	69.94	96.93	43.49
T2	8 000	6	1	84.63	71.85	98.23	44.71
T3	8 000	10	2	84.63	72.56	97.22	46.16
T4	6 000	2	1	94.59	87.84	86.96	51.07
T5	6 000	6	2	96.23	91.51	89.45	51.51
T6	6 000	10	0.5	98.24	94.13	86.19	53.27
Т7	4 000	2	2	89.63	79.62	78.83	37.88
Т8	4 000	6	0.5	90.57	81.79	80.45	40.75
Т9	4 000	10	1	92.42	82.34	77.33	41.26

表 3 正交实验结果 Table 3 Orthogonal experimental results

radie 4 Orthogonal range and variance analysis							
项目	因素	$K_1$	$K_2$	$K_3$	$R_{K}$	F	Р
	光照强度	252.4	273.48	243.75	36.66	170.750	0.006
NH4+-N去除率	NH4+-N浓度	267.36	245.15	249.03	7.93	7.963	0.112
	PO43-P浓度	271.95	242.03	243.69	1.46	0.300	0.769
	光照强度	214.35	273.48	243.75	59.13	300.305	0.003
TN去除率	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N浓度	237.4	245.15	249.03	11.63	12.046	0.077
	PO43-P浓度	245.86	242.03	243.69	2.17	1.267	0.441
	光照强度	292.38	262.6	236.61	55.77	1 577.309	0.001
PO4 <sup>3-</sup> -P去除率	NH4+—N浓度	262.72	268.13	260.74	7.39	29.638	0.033
	PO43P浓度	263.57	262.52	265.5	2.98	4.627	0.178
	光照强度	134.36	155.85	119.89	35.96	258.029	0.004
COD去除率	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N浓度	132.44	136.97	140.69	8.25	13.454	0.069
	PO43-P浓度	137.51	137.04	135.55	1.96	0.825	0.548

表4 正交实验极差与方差分析

#### 2.3 典型周期复合生物膜污染物去除过程分析

如图 3(a) 所示, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 在黑暗和光照条件下的去除速率差异极小,在 12~24 h 和 24~36 h 内, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除速率分别为 0.21 mg·(L·h)<sup>-1</sup> 和 0.20 mg·(L·h)<sup>-1</sup>。NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 未出现累积,其质量浓度在 0.04~0.14 mg·L<sup>-1</sup>。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 随着运行时间的延长出现一定程度的积累,在运行末期其累积量为 1.29 mg·L<sup>-1</sup>。DO 随着光照/黑暗 的切换呈现出波动变化趋势,但其最低浓度维持在 6.0 mg·L<sup>-1</sup>以上。上述结果进一步表明,相比于光合微生 物的同化去除,微生物硝化可能在 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 转化过程中发挥了更为关键的作用,特别是异养硝化<sup>(9)</sup>。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的累积一方面可能是因为较高的 DO 浓度抑制了反硝化相关酶的活性<sup>[17]</sup>,另一方面可能是由于碳源供应不 足而引起。虽然微藻光合作用可以合成一定量的有机物用于反硝化过程,但硝化和反硝化步骤可能存在一定 程度的错位 (即非完全同步硝化反硝化),进而导致异养硝化、好氧异养过程同反硝化过程竞争碳源,造成 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 还原所需电子供体阶段性不足。此外,复合生物膜系统的厌氧氨氧化过程也可能促进了 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的积累。





Fig. 3 Variation trends of nitrogen and dissolved oxygen (DO), and phosphorus and pH during the treatment of micro-polluted water using composite biofilm

如图 3(b) 所示,复合生物膜在最初的 12 h 内去除了 85.1% 的 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 去除速率可达 0.15 mg·(L·h)<sup>-1</sup>,随后 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 浓度在 12~48 h 内缓慢下降,最终出水质量浓度为 0.05 mg·L<sup>-1</sup>。pH 随着光照/黑 暗状态的切换也呈现出波动变化趋势,光照状态下 pH 可维持在 8.0 以上。上述结果表明,不同于硝化-反硝 化菌主导的生物脱氮过程,磷可能更多是通过沉淀过程及光合微生物的同化吸收被去除<sup>[9,18]</sup>。如在黑暗状态 下 (12~24 h),随着溶液 pH 的下降及光合微生物代谢活性的减弱,PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 去除速率变得极为缓慢 (0.000 8 mg·(L·h)<sup>-1</sup>),也间接表明聚磷菌对磷的去除贡献较小。溶液 pH 的变化主要由以下过程主导:光合微生物的 光合作用、硝化、反硝化及有机物氧化。研究表明,光合微生物代谢过程会消耗部分 CO<sub>2</sub>,导致溶液 pH 的 上升<sup>[9]</sup>,反硝化也会产生一定量的碱度进而推高 pH;而硝化和有机物氧化过程均会消耗部分碱度,造成 pH 的降低。在光照期间,光合微生物的代谢可能较为强烈 (由图 3(a) 所示的 DO 浓度可推知),其消耗的 CO<sub>2</sub>量超过了硝化及有机物氧化产生的 CO<sub>2</sub>量,由此导致溶液 pH 不断上升。溶液 pH 的上升有利于 CaP 等 沉淀的形成,进一步促进磷的去除。而在黑暗状态下,除了硝化及有机物氧化外,微藻等光合微生物的呼吸 作用也会产生 CO<sub>2</sub>,造成溶液 pH 整体呈下降趋势,在光合微生物同化吸收及磷沉淀过程几乎停滞的情况 下,磷的去除势必变得缓慢。

#### 2.4 复合生物膜脱氮除磷潜在路径分析

如图 4(a) 所示,在无光照条件下,当进水不含有机碳源时,无论有无 ATU 的存在,系统 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除 率均较低,分别为 22.5%(对照组) 和 22.0%(存在 ATU 组),相应的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除速率分别为 0.0313 和 0.0311 mg·(L·h)<sup>-1</sup>。结果表明,在复合生物膜系统中,细菌自养硝化和古菌自养硝化反应较为微弱,可能对氮素的



图 4 异养硝化、好氧反硝化、厌氧氨氧化、微藻/光合细菌同化及微生物诱导磷酸盐沉淀验证实验中氮和磷浓度变化

Fig. 4 Variations of nitrogen and phosphorus concentration in validation experiments of heterotrophic nitrification, aerobic denitrification, anaerobic ammonia oxidation, and microalgae/photosynthetic bacteria assimilation and biologically induced phosphate precipitation

转化去除贡献不大。当进水含有有机碳源时,系统对 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的去除率分别为 97.6%(不存在 ATU 组)和 93.8%(存在 ATU 组),相应的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除速率分别为 0.14 mg·(L·h)<sup>-1</sup>和 0.13 mg·(L·h)<sup>-1</sup>,表明异养硝化可能主导了复合生物膜中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的转化过程<sup>[11]</sup>。如图 4(b) 所示,在无光照、缺氧及有机碳源存在条件下,复合生物膜系统中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 去除率分别为 92.0% 和 99.2%,去除速率分别为 0.20 mg·(L·h)<sup>-1</sup> 和 0.21 mg·(L·h)<sup>-1</sup>; 而在无光照、曝气及有机碳源存在条件下,复合生物膜系统依然可以实现良好的反硝化性能,其 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 去除速率分别可达 0.16 和 0.21 mg·(L·h)<sup>-1</sup>。结果表明,好氧反硝化可能在复合生物膜系统脱氮过程中发挥了重要作用<sup>[9]</sup>。如图 4(c) 所示,在黑暗无有机碳源存在条件下,复合生物膜系统 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 同步降低被消耗,其化学反应计量比约为 1.26~1.32,同时生成了部分 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N,表明厌氧氨氧化过程可能有助于小微水体贫营养条件下氮的去除<sup>[19]</sup>。如图 4(d) 所示,在无光合抑制剂存在且 Ca<sup>2+</sup>供应充足的情况下,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除速率为 0.11 mg·(L·h)<sup>-1</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 去除率高达 99.3%, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 无明显积累; 而当光合抑制剂和 Ca<sup>2+</sup>同时存在时,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 去除速率仅为 0.04 mg·(L·h)<sup>-1</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 去除率低至 10.7%; 无光合抑制剂和 Ca<sup>2+</sup>存在时,PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 去除率仅提升至 33.1%。上述结果进一步表明,微藻/光合细菌对氮、磷的同化去除作用可能较为有限,然而微生物硝化强烈依赖于光合产氧过程,进而对系统氮去除产生重要影响,CaP 沉淀是复合生物膜系统的主要磷汇,但该沉淀过程可能由微藻/光合细菌及钙离子共同驱动,尤其是光合作用营造的碱性溶液环境可能极大地促进了羟基磷灰石的形成<sup>[20]</sup>。

#### 2.5 微生物群落结构分析

如表 5 所示,接种污泥 (周丛生物)中细菌的 ACE 和 Chao1 指数均远大于复合生物膜,表明接种污泥的 细菌群落丰富度要远高于复合生物膜;接种污泥细菌的 Shannon 和 Simpson 指数分别为 8.429 和 0.988,也 大于复合生物膜的 6.507 和 0.97,说明接种污泥的细菌群落多样性要高于复合生物膜。反观真菌、真核藻类的 α 多样性指数 (ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数)变化情况 (表 5),显示其群落丰富度和多样性保持相对稳定。造成这一变化的原因可能是:相比于紫湖溪原水水质,实验用水氮、磷浓度显著提高,而细菌 在污染物去除过程中处于核心地位,尤其是氮的转化去除,因此复合生物膜中不适于"较高"污染物浓度的某 些原生细菌可能会被淘洗,细菌种属将趋于集中化。此外,从α多样性指数来看,复合生物膜细菌群落的 物种丰富度和多样性明显高于真菌和真核生物群落 (*P*<0.05),再次证明了复合生物膜中细菌群落的主体 作用<sup>[21]</sup>。

物种类别	样品名称	Feature	ACE	Chao1	Shannon	Simpson	Faith_pd
细菌	接种污泥	1 742	1 742	1 742	8.429	0.988	101.323
	复合生物膜	896	896	896	6.507	0.97	60.694
真菌	接种污泥	347	347	347	4.003	0.749	84.233
	复合生物膜	356	356	356	6.122	0.964	66.264
真核藻类	接种污泥	426	427	429	3.365	0.816	81.262
	复合生物膜	454	454	456	3.796	0.895	94.367

表 5 接种污泥和复合生物膜的微生物多样性分析 Table 5 Microbial diversity analysis of inoculated sludge and composite biofilm

如图 5(a) 所示, 接种污泥 (周丛生物) 的主要细菌门为 Proteobacteria(31.5%)、Cyanobacteria(28.9%)、 Bacteroidota(19.2%)、Verrucomicrobiota(5.5%)、Planctomycetota(2.9%)、Patescibacteria(2.0%)等, 复合生物膜的主要细菌门为 Proteobacteria(42.4%)、Cyanobacteria(31.2%)、Bacteroidota(11.9%)、Planctomycetota (6.0%)、Verrucomicrobiota(3.1%)、Actinobacteriota(1.8%)等。显然, 驯化前后细菌群落的优势菌门并未发生明显变化, 而 Planctomycetota 相对丰度的提高则表明厌氧氨氧化菌可能在复合生物膜中得到了进一步发育<sup>[22]</sup>。如图 5(b) 所示, 接种污泥 (周丛生物)中相对丰度大于 1.0% 的细菌属包括 Chloroplast(11.0%)、 Pseudanabaena\_PCC-7429(9.5%)、Geitlerinema\_LD9(5.5%)、Lysobacter(4.5%)、Rhodoferax(4.4%)、OLB12 (3.5%)、Fluviicola(3.3%)、Flavobacterium(1.5%) 和Luteolibacter(1.4%)。Chloroplast、Pseudanabaena\_PCC-



Fig. 5 Relative abundance of bacterial, fungal, and eukaryotic algae microbial communities in inoculated sludge and composite biofilm

7429、Geitlerinema\_LD9 是常见的光合细菌,属于 Cyanobacteria 菌门<sup>[9, 23-24]</sup>; Lysobacter 常见于沉积物与农 田土壤,是一种捕食性细菌,能够驱动天然微生物群落的演化过程<sup>[25]</sup>; Rhodoferax 是地表水环境中常见的菌 属,可能驱动了有机物的氧化及铁 (III)的还原过程<sup>[26]</sup>; OLB12、Flavobacterium 具有异养硝化-好氧反硝化 功能<sup>[27-28]</sup>,可能在自然水体氮循环中发挥了关键作用。总之,在寡营养条件下,接种污泥形成了以光合细菌 (蓝细菌)为主体,以捕食性细菌为辅的微生物群落体系。复合生物膜中主要的细菌属包括 Silanimonas (18.4%)、Chloroplast(12.4%)、Cyanobium\_PCC-6307(12.3%)、Blastomonas(4.7%)、Leptolyngbyaceae(4.6%)、 Porphyrobacter(3.5%)、 NS11-12\_marine\_group(2.4%)、 Sediminibacterium(1.9%)、 FukuN57(1.9%)、 Cyanothece PCC 7425(1.4%)、Curvibacter(1.3%)、OLB12(1.3%)、 Pirellula(1.2%)、Aquiflexum(1.2%)。 Silanimonas 是一种典型的兼性好氧异养菌属,其既可以利用有机物进行异养反硝化<sup>[29]</sup>,又可以利用氢气等进行自养反硝化<sup>[30]</sup>。Chloroplast、Cyanobium\_PCC-6307、Cyanothece\_PCC\_7425、Leptolyngbyaceae为Cyanobacteria 菌门,其中Cyanobium\_PCC-6307在代谢过程中可能产生释放蓝藻毒素<sup>[31]</sup>。Blastomonas和Porphyrobacter作为好氧不产氧光合异养细菌,具有降解藻毒素的功能<sup>[32-33]</sup>。尽管如此,在后续研究中依然要重点关注复合生物膜处理出水的藻毒素生态风险评估与控制。NS11-12\_marine\_group、Sediminibacterium、Curvibacter、OLB12均已被证实具有反硝化功能<sup>[34-36]</sup>。作为典型的厌氧氨氧化菌,Pirellula可能有助于贫营养条件下氮的去除<sup>[37]</sup>。除了归属于Cyanobacteria 菌门的Chloroplast、Cyanobium等菌属可以承担除磷功能以外,OLB12也具有聚磷能力<sup>[38]</sup>。值得注意的是,复合生物膜中与自养硝化过程相关的菌属相对丰度很低,如氨氧化菌Bryobacter<sup>[39]</sup>(0.5%)、完全氨氧化菌Reyranella<sup>[40]</sup>(0.2%)、SM1A02<sup>[41]</sup>(0.09%)、NS9\_marine\_group<sup>[42]</sup>(0.05%)、Devosia<sup>[43]</sup>(0.04%),因此推测Silanimonas、NS11-12\_marine\_group、Sediminibacterium除了承担反硝化功能外,还担负了异养硝化任务,即异养硝化-好氧反硝化菌属在氮去除过程发挥了核心作用。

如图 5(c) 所示, Rozellomycota、Chytridiomycota、Basidiomycota、Ascomycota 是接种污泥中的优势 真菌门,其相对丰度分别为 60.0%、9.3%、8.1% 和 1.0%。复合生物膜优势真菌门为 Ascomycota(27.7%)、 Basidiomycota(8.7%) 和 Chytridiomycota(2.9%)。在自然水体中,Rozellomycota 和 Chytridiomycota 常作为 捕食者侵染真核藻类<sup>[44]</sup>。Ascomycota 和 Basidiomycota 被证实具有反硝化功能,并且可以同真核藻类建立协 作关系以驱动废水处理<sup>[45-46]</sup>。如图 5(d) 所示,*Trichoderma* 是复合生物膜中唯一可被识别的真菌属,其具有 异养硝化-好氧反硝化功能,已被发现在土壤氮循环过程发挥了重要作用<sup>[47]</sup>。

如图 5(e) 所示, Euglenophyta、Bacillariophyceae、Chlorophyta、Cryptophyta 是接种污泥中的优势微藻 门,其总相对丰度高达 85.2%。复合生物膜的优势微藻门则为 Chlorophyta(54.4%)、Bacillariophyceae (21.4%)和 Euglenophyta(12.4%)。Chlorophyta、Euglenophyta、Bacillariophyceae、Cryptophyta 均是淡水环 境中常见的真核藻类<sup>[48]</sup>。有研究<sup>[49]</sup>表明,高营养条件有利于 Chlorophyta 的生长繁殖,这可能是复合生物膜 中该微藻门相对丰度能够高占比的主要原因。如图 5(f) 所示,接种污泥中的优势微藻属为 Euglenaria (15.4%)、Trachelomonas(10.2%)、Stephanodiscus(9.0%)、Stigeoclonium(6.3%)、Lepocinclis(6.3%)、 Cyclotella(5.9%)、Cladophora(5.4%)、Cryptomonas(4.3%)等。Euglenaria和 Trachelomonas 是小型水体 (如鱼塘、农村池塘等)最常见的微藻属,可能在小微水体物质循环过程中发挥了重要作用<sup>[50]</sup>。而在复合生物 膜,Chlorella(32.4%)、Chlamydomonas(16.8%)、Cyclotella(9.4%)、Cryptomonas(5.7%)、Navicula(5.4%) 成为优势属。已有研究表明,在藻菌共生系统中,Chlorella和 Chlamydomonas 可以协同细菌实现废水处理 及能源同步回收<sup>[51]</sup>。总之,复合生物膜体系中异养硝化-好氧反硝细菌、厌氧氨氧化细菌、自养硝化细菌、反 硝化聚磷菌、光合细菌、异养硝化-好氧反硝真菌、真核微藻等功能菌群的富集为多路径脱氮除磷过程的实现 奠定了坚实基础。

#### 3 结论

1)利用周丛生物作为接种源,可以在小试条件下成功构建微藻-光合/异养菌-真菌复合生物膜,并用于小 微水体微污染水处理。

2) 在最佳运行条件下,复合生物膜对 TN 和 PO43-P 的最大去除率分别为 94.1% 和 98.2%。

3) 光照强度是影响复合生物膜处理性能最为关键的因素;异养硝化-好氧反硝化、厌氧氨氧化、微藻/光 合细菌同化、微生物诱导磷酸盐沉淀等过程共同驱动了复合生物膜中氮、磷的高效稳定去除。

4) Silanimonas、Chloroplast、Blastomonas、Pirellula、OLB12、Bryobacter、Trichoderma、Chlorella 等代表性功能菌属的富集为复合生物膜多路径脱氮除磷过程奠定了坚实基础。

#### 参考文献

[1] 邵宇航, 楼少华, 唐颖栋, 等. 深圳市茅洲河流域某小微水体治理方法与实践[J]. 中国给水排水, 2023, 39(14): 134-140.

[4] 薛同站, 李卫华, 黄健, 等. 膜曝气生物膜技术 (MABR) 去除河水中污染物的研究[J]. 生态与农村环境学报, 2022, 38(4): 531-537.

[5] 王荣昌, 文湘华, 景永强, 等. 悬浮载体生物膜反应器修复受污染河水试验研究[J]. 环境科学, 2004(S1): 67-69.

<sup>[2]</sup> 陈成,杨正健,王从锋,等.小微黑臭水体修复过程中温室气体排放特征[J].中国环境科学,2023,43(8):4211-4218.

<sup>[3]</sup> 杨垒, 李坤, 刘如. 强化耦合生物膜技术在河道污水中的应用[J]. 资源节约与环保, 2023(1): 71-74.

[6] 吕鹏翼,罗金学,韩振飞,等.生物膜技术在污染河流原位修复中的应用及研究进展[J].水处理技术, 2017, 43(11): 1-7.

- [7] SALLY H, A C R, ROCHELLE P, et al. Influence of substratum on the variability of benthic biofilm stable isotope signatures: implications for energy flow to a primary consumer[J]. Hydrobiologia, 2011, 664(1): 135-146.
- [8] CHAORAN L, LINGZHAN M, M A T, et al. Transformation of biofilm to carbon sinks after prolonged droughts linked with algal biodiversity change[J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(41): 15487-15498.
- [9] ZHANG L, HUANG X, ChEN W, et al. Microalgae-assisted heterotrophic nitrification-aerobic denitrification process for cost-effective nitrogen and phosphorus removal from high-salinity wastewater: Performance, mechanism, and bacterial community [J]. Bioresource Technology, 2023, 390: 129901.
- [10] CHENG H, YOU J, MA S, et al. 2-Hydroxy-1, 4-Naphthoquinone: A promising redox mediator for minimizing dissolved organic nitrogen and eutrophication effects of wastewater effluent[J]. Environmental Science & Technology, 2024, 58(6): 2870-2880.
- [11] ZHANG L, FU G, ZHANG Z. Long-term stable and energy-neutral mixed biofilm electrode for complete nitrogen removal from high-salinity wastewater: Mechanism and microbial community [J]. Bioresource Technology, 2020, 313: 123660.
- [12] WANG Z, RUAN X, LI R, et al. Microbial interaction patterns and nitrogen cycling regularities in lake sediments under different trophic conditions[J]. Science of the Total Environment, 2024, 907: 167926.
- [13] ZHANG X, CHEN D, HOU X, et al. Nitrification-denitrification co-metabolism in an algal-bacterial aggregates system for simultaneous pyridine and nitrogen removal [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 460: 132390.
- [14] LIU J, WU Y, WU C, et al. Advanced nutrient removal from surface water by a consortium of attached microalgae and bacteria: A review [J]. Bioresource Technology, 2017, 241: 1127-1137.
- [15] FAN J, YUAN W, ZHANG X, et al. Oxygen affinity and light intensity induced robust phosphorus removal and fragile ammonia removal in a non-aerated bacteria-algae system [J]. Science of the Total Environment, 2024, 912: 169013.
- [16] WANG J, LI Z, WANG Q, et al. Use of photo-driven algal-bacterial aerobic granular sludge system to close carbon cycle in biological nutrients removal and sludge anaerobic digestion units in wastewater treatment plants[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 475: 145999.
- [17] YANG J, FENG L, PI S, et al. A critical review of aerobic denitrification: Insights into the intracellular electron transfer[J]. Science of the Total Environment, 2020, 731: 139080.
- [18] ZHANG Q, ZHANG C, ZHU Y, et al. Effect of bacteria-to-algae volume ratio on treatment performance and microbial community of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria-chlorella symbiotic system [J]. Bioresource Technology, 2021, 342: 126025.
- [19] 胡劲涛, 信欣. 基于电化学系统内 Feammox/NDFO 耦合工艺脱氮效能和机理研究[J]. 中国环境科学, 2024, 44(9): 4958-4967.
- [20] ZHANG L, HUANG X, FU G, et al. Aerobic electrotrophic denitrification coupled with biologically induced phosphate precipitation for nitrogen and phosphorus removal from high-salinity wastewater: Performance, mechanism, and microbial community [J]. Bioresource Technology, 2023, 372: 128696.
- [21] MIAO L, WANG C, ADYEL T M, et al. Periphytic biofilm formation on natural and artificial substrates: Comparison of microbial compositions, interactions, and functions[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 1917.
- [22] WEI L, HU Y, XUE Y, et al. Granular sludge characterization and microbial response in a hydroxyapatite (HAP)- anammox coupled process at different nitrogen loading rates[J]. Journal of Water Process Engineering, 2024, 64: 105582.
- [23] ACINAS S G, HAVERKAMP T H A, HUISMAN J, et al. Phenotypic and genetic diversification of *Pseudanabaena* spp. (cyanobacteria)[J]. The ISME Journal, 2009, 3(1): 31-46.
- [24] KHAN S, DAS P, KASAK P, et al. Production of sustainable thermoplastic composites from waste nitrogen fertilizer-grown marine filamentous cyanobacterium *Geitlerinema* sp[J]. Journal of Environmental Management, 2024, 366: 121931.
- [25] LIN L, XU K, SHEN D, et al. Antifungal weapons of Lysobacter, a mighty biocontrol agent [J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(10): 5704-5715.
- [26] ZHAO Z, SUN C, LI Y, et al. Upgrading current method of anaerobic co-digestion of waste activated sludge for high-efficiency methanogenesis: Establishing direct interspecies electron transfer via ethanol-type fermentation[J]. Renewable Energy, 2020, 148: 523-533.
- [27] LI S, ZHANG H, ZHANG S, et al. Stress responses of partial denitrification system under long-term ciprofloxacin exposure in an anaerobic sequencing batch reactor[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2023, 11(3): 110141.
- [28] PISHGAR R, DOMINIC J A, SHENG Z, et al. Denitrification performance and microbial versatility in response to different selection pressures[J]. Bioresource Technology, 2019, 281: 72-83.
- [29] ZHAO Y, SONG X, CAO X, et al. Modified solid carbon sources with nitrate adsorption capability combined with nZVI improve the denitrification performance of constructed wetlands[J]. Bioresource Technology, 2019, 294: 122189.
- [30] XU Y, LI Q, TANG Y, et al. Electrocatalytic denitrification biofilter for advanced purification of chlorophenols via ceramsite-based Ti/SnO<sub>2</sub>-Sb particle electrode: Performance, microbial community structure and mechanism[J]. Environmental Pollution, 2024, 346: 123594.
- [31] XV K, ZHANG S, PANG A, et al. White feces syndrome is closely related with hypoimmunity and dysbiosis in *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquaculture Reports, 2024, 38: 102329.
- [32] JIN L, CUI C, ZHANG C, et al. New multidrug efflux systems in a microcystin-degrading bacterium *blastomonas fulva* and its genomic feature[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(18): 10856.
- [33] JIANG Y, FANG Y, LIU Y, et al. Community succession during the preventive control of cyanobacterial bloom by hydrogen peroxide in an aquatic microcosm [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 237: 113546.
- [34] SUN Z, LI Y, LIU J, et al. Performance and mechanism of the synergistic hexavalent chromium and nitrogen removal in a MABR system[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 478: 147433.

[35] HU J, LI T, ZHAO Y, et al. A novel in-situ enhancement strategy of denitrification biofilter for simultaneous removal of steroid estrogens and total nitrogen from low C/N wastewater[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 452: 138896.

[36] JIANG Z, YANG S, PANG Q, et al. Biochar improved soil health and mitigated greenhouse gas emission from controlled irrigation paddy field: Insights into microbial diversity [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 318: 128595.

- [37] CHENG Q, LIU Z, HUANG Y, et al. Advanced nitrogen removal performance and microbial community structure of a lab-scale denitrifying filter with insitu formation of biogenic manganese oxides [J]. Journal of Environmental Management, 2023, 331: 117299.
- [38] HEI S, XU H, LIU Y, et al. Redox environment inducing strategy for enhancing biological phosphorus removal in a full-scale municipal wastewater treatment plant [J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 376: 134237.
- [39] HU T, XIONG J, ZHOU J, et al. Nitrogen removal performance of bioretention cells under freeze-thaw cycles: Effects of filler structure and microbial community[J]. Journal of Environmental Management, 2024, 369: 122380.
- [40] BI R, XU X, WANG B, et al. Evidence of complete ammonia-oxidizing microbial communities and their contribution to N<sub>2</sub>O emissions in typical vegetable fields across China [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2024, 194: 109423.
- [41] YANG X, LIAO Y, ZENG M, et al. Nitrite accumulation performance and microbial community of algal-bacterial symbiotic system constructed by *Chlorella* sp. And *Navicula* sp.[J]. Bioresource Technology, 2024, 399: 130638.
- [42] LIANG D, GUO W, LI D, et al. Enhanced aerobic granulation for treating low-strength wastewater in an anaerobic-aerobic-anoxic sequencing batch reactor by selecting slow-growing organisms and adding carriers [J]. Environmental Research, 2022, 205: 112547.
- [43] TAO Z, JING Z, TAO M, et al. A novel filter-type constructed wetland for secondary effluent treatment: Performance and its microbial mechanism [J]. Bioresource Technology, 2023, 380: 129075.
- [44] ILICIC D, GROSSART H-P. Basal parasitic fungi in marine food webs-A mystery yet to unravel [J]. Journal of Fungi, 2022, 8(2): 114.
- [45] CHEN H, SHI W. Opening up the N<sub>2</sub>O-producing fungal community in an agricultural soil with a cytochrome *p450nor*-based primer tool[J]. Applied Soil Ecology, 2017, 119: 392-395.
- [46] NORDIO R, BELACHQER-EI ATTAR S, CLAGNAN E, et al. Exploring microbial growth dynamics in a pilot-scale microalgae raceway fed with urban wastewater: Insights into the effect of operational variables[J]. Journal of Environmental Management, 2024, 369: 122385.
- [47] ZHANG Y, DAI S, HUANG X, et al. pH-induced changes in fungal abundance and composition affects soil heterotrophic nitrification after 30 days of artificial pH manipulation [J]. Geoderma, 2020, 366: 114255.
- [48] LI J, XIAO X, GUO L, et al. A novel qPCR-based method to quantify seven phyla of common algae in freshwater and its application in water sources[J]. Science of The Total Environment, 2022, 823: 153340.
- [49] DING X, LIU J, LIU W, et al. Phytoplankton communities miniaturization driven by extreme weather in subtropical estuary under climate changes[J]. Water Research, 2023, 245: 120588.
- [50] JANKOWSKA K, ŁUKOMSKA-KOWALCZYK M, MILANOWSKI R, et al. Biodiversity of autotrophic euglenids based on the group specific DNA metabarcoding approach[J]. Protist, 2024, 175(3): 126024.
- [51] DAYANA PRIYADHARSHINI S, SURESH BABU P, MANIKANDAN S, et al. Phycoremediation of wastewater for pollutant removal: A green approach to environmental protection and long-term remediation [J]. Environmental Pollution, 2021, 290: 117989.
- (责任编辑:曲娜)

## Enhanced nitrogen and phosphorus removal efficacy from micro-polluted water by periphyton biofilm and its microbial community characterization

ZHANG Linfang<sup>1,\*</sup>, ZHONG Qi<sup>1</sup>, WANG Jun<sup>1</sup>, WU Su<sup>1</sup>, LI Hao<sup>1</sup>, HUANG Xiaodan<sup>1</sup>, FU Guokai<sup>2</sup>, ZHANG Zhi<sup>2</sup>, ZHANG Junxiang<sup>3</sup>

1. College of Civil Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. College of Environment and Ecology, Chongqing University, Chongqing 400044, China; 3. Kunshan Water Affairs Bureau, Suzhou 215301, China \*Corresponding author, E-mail: linfangzhang@njfu.edu.cn

In this study, a ternary composite biofilm comprising microalgae, bacteria, and fungi was Abstract constructed using natural periphyton. Its enhanced efficacy for nitrogen (N) and phosphorus (P) removal, and microbial community structure were systematically investigated when treating micro-polluted water in smallscale aquatic systems. Compared to a single heterotrophic biofilm, the ternary microalgae-bacteria-fungi biofilm could increase the removal efficiencies of total nitrogen (TN) and phosphate ( $PO_4^{3-}P$ ) by 34.1% and 60.1%, respectively. Orthogonal experimental analysis revealed that light intensity was the most influential factor in enhancing N and P removal. Under optimal conditions, the ternary composite biofilm achieved the maximum removal efficiencies of 94.1% for TN and 98.2% for PO43-P. Batch activity tests elucidated the underlying mechanisms, indicating that multiple pathways including heterotrophic nitrification-aerobic denitrification, anaerobic ammonium oxidation (anammox), microalgal and photosynthetic bacterial assimilation, and biologically induced phosphate precipitation collectively contributed to nutrient removal. High-throughput sequencing of 16S rDNA, ITS, and 18S rDNA amplicons revealed a highly diverse microbial community. The dominant bacterial phyla included Proteobacteria, Cyanobacteria, Bacteroidota, Planctomycetota, Verrucomicrobiota, Actinobacteriota, and Dependentiae. The fungal community was primarily composed of Ascomycota, Basidiomycota, Rozellomycota, and Chytridiomycota, while Chlorophyta and Bacillariophyceae dominated the microalgal population. At the genus level, key bacterial taxa included Silanimonas, Chloroplast, Cyanobium PCC-6307, Blastomonas, Leptolyngbyaceae, Porphyrobacter, NS11-12 marine group, Sediminibacterium, Curvibacter, OLB12, and Pirellula. The fungal community was dominated by Trichoderma. Chlorella and Chlamydomonas were the dominant microalgae genera. Notably, Silanimonas, NS11-12 marine group, Sediminibacterium, Curvibacter, OLB12, and Trichoderma were identified as key genera driving heterotrophic nitrification-aerobic denitrification. Additionally, Pirellula, a representative genus of anaerobic ammonia-oxidizing bacteria, likely played a critical role in nitrogen removal under oligotrophic conditions. The research findings preliminarily elucidate the multi-pathway nitrogen and phosphorus removal processes and microbial community characteristics of the composite biofilm in treating micro-polluted water. This holds significant importance for the ecological restoration of small and micro water bodies in urban and rural areas, as well as for the enhancement of their ecological conservation value.

**Keywords** periphyton biofilm; small and micro water bodies; micro-polluted water; nitrogen and phosphorus removal; microbial community structure