

MBBR 工艺中 SNEDPR 的启动及性能研究

敬双怡,宋子洋,刘超,李卫平*,李奇,张铁军 (内蒙古科技大学能源与环境学院,内蒙古 包头 014010)

摘要: 为探究同步硝化内源反硝化除磷(SNEDPR)强化移动床生物膜反应器(MBBR)工艺脱氮除磷的可行性,采用连续曝气和搅拌/曝气交替运行的 MBBR 反应器,以磁性填料作为载体处理模拟生活污水,考察了 SNEDPR 启动过程中的脱氮除磷性能,并结合荧光显微镜和高通量测序技术对各个功能菌群结构变化情况进行了分析.结果表明,经两阶段运行后,氨氮和磷去除率分别达到 97.6%和 85.37%,出水 NO_2^- -N、 NO_3^- -N 和 COD 浓度分别为 1.3949,3.88 和 20.4mg/L,同步硝化内源反硝化率(SNEDR)由 0.07%逐渐升高至 86.35%.好氧阶段同步硝化内源反硝化率的提高,使出水 NO_x^- -N 浓度下降,提高了系统的脱氮性能和厌氧阶段内碳源的储存量.荧光显微镜和高通量测序结果表明,经过 53d 的运行,微生物群落多样性呈显著提高,系统内 GAOs、AOB、NOB 丰度的提高(分别由接种污泥中的 3.3%、0.84%和 0.66%提高至系统内的 27.08%/20.48%、1.45%/1.76%和 1.05%/0.85%) 和 PAOs、DPAOs 的存在,保证了系统的脱氮除磷性能,在 MBBR 工艺中实现了 EBPR 与 SNED 的耦合.

关键词: 同步硝化内源反硝化(SNED); 移动式生物膜反应器; 强化生物除磷; 聚磷菌(PAOs); 高通量测序

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2022)07-3121-09

Start-up and performance study on the simultaneous nitrification-endogenous denitrification phosphorus removal (SNEDPR) in the biological process of the moving bed biofilm reactor (MBBR). JING Shuang-yi, SONG Zi-yang, LIU Chao, LI Wei-ping*, LI Qi, ZHANG Tie-jun (School of Energy and Environment, Inner Mongolia University of Science and Technology, Baotou 014010, China). *China Environmental Science*, 2022,42(7): 3121~3129

Abstract: This study assessed the feasibility of simultaneous nitrification, endogenous denitrification and phosphorus removal (SNEDPR) for enhancing the nitrogen and phosphorus removal by the process of moving bed biofilm reactor (MBBR), an MBBR operated alternately by continuous aeration and stirring/aeration was adopted for simulating the treatment of domestic sewage with magnetic filler as the carrier. The performance of nitrogen and phosphorus removal during SNEDPR initiation was investigated, and the structural changes of functional microflorae were analyzed by fluorescence microscopy and high-throughput sequencing technology. The results showed that after two stages of operation, the removal rates of ammonia nitrogen and phosphorus reached 97.6% and 85.37% respectively, and the NO_2^- -N, NO_3^- -N and COD concentrations in the effluent were 1.3949, 3.88 and 20.4mg/L respectively. The simultaneous nitrification and endogenous denitrification rate (SNEDR) increased from 0.07% to 86.35%. The improvement in SNEDR at the aerobic stage decreased the NO_x^- -N concentration in the effluent, improved the denitrification performance of the system and promoted the storage capacity of carbon source at the anaerobic stage. The fluorescence microscopy and high-throughput sequencing results showed that after 53d of operation, the diversity of microbial community was improved significantly, and at the same time, the increase in abundance for GAOs, AOB and NOB (from 3.3%, 0.84% and 0.66% in the inoculated sludge to 27.08%/20.48%, 1.45%/1.76% and 1.05%/0.85% in the system respectively) and the presence of PAOs and DPAOs guaranteed the performance of nitrogen and phosphorus removal for the system, and realized the coupling of EBPR and SNED by the MBBR process.

Key words: simultaneous nitrification-endogenous denitrification (SNED); moving bed biofilm reactor; enhanced biological phosphorous removal; phosphorous accumulating organisms (PAOs); high-throughput sequencing

采用传统活性污泥法处理低 C/N 比、低温城市污水时,工艺中的聚磷菌与硝化菌、反硝化菌存在污泥龄的矛盾与碳源的竞争^[1-3],导致脱氮除磷能力有限.污水处理厂为实现达标排放需投加额外碳源,增加一定运行成本^[4].与之相比,移动床生物膜反应器(MBBR)工艺具有负荷高、抗冲击负荷能力强、耐受低温、运行费用低等特点^[5-6],但其在低 C/N 条件下脱氮除磷效果也受到限制^[7].因此,如何在低碳源

条件下实现 MBBR 工艺高效稳定的脱氮除磷具有重要意义.同步硝化内源反硝化除磷(SNEDPR)实现强化生物除磷(EBPR)^[8-10]与同步硝化内源反硝化(SNED)^[11-13]的耦合,减少对氧和碳源的需求,有效解

收稿日期: 2022-12-16

基金项目: 内蒙古自治区科技成果转化项目(2019CG075);内蒙古自治区自然科学基金资助项目(2019MS02020);内蒙古科技大学创新基金资助项目(2014QDL052)

* 责任作者, 教授, sjlwp@163.com

决菌群间碳源的竞争和污泥龄的矛盾,被视为处理低 C/N 比污水的高效脱氮除磷途径^[14]. SNEDPR 主要是利用反硝化聚糖菌(DGAOs)与反硝化聚磷菌(DPAOs)代替传统反硝化菌,成为反硝化过程中的优势菌群,使硝化与反硝化、除磷同时发生.有研究表明 SNEDPR 好氧段存在由 DGAOs 和 DPAOs 主导的同步短程硝化内源反硝化,是实现低 C/N(<3)污水高效脱氮除磷的原因^[15].

目前,相关的研究主要集中在悬浮生长活性污泥体系内 SNEDPR 的启动过程^[16-17],颗粒污泥同步硝化内源反硝化脱氮除磷研究^[18-19],以及在不同 C/N、C/P、SRT 影响因素下污泥体系内 SNEDPR 脱氮除磷特性的分析^[20-22].有学者发现^[23]MBBR 在低 C/N 条件下 TN、TP 去除率保持在 70%和 40%左右,除磷效果不佳,还有研究^[24]指出生物膜中存在的氧浓度梯度有利于 DGAOs 和 DPAOs 的生长.但是有关泥膜混合条件下 SNEDPR 条件下脱氮除磷性能研究相对较少,且缺乏 SNEDPR 强化 MBBR 工艺处理效果及微生物群落分析的研究.

因此,本研究以模拟低 C/N 比的生活污水为处理对象,采用连续曝气和搅拌/曝气交替的运行方式,在 MBBR 反应器内实现 SNEDPR 的启动,并探究该系统启动运行期间的脱氮除磷机理及 SNEDR、反应体系内微生物群落结构及 DGAOs、DPAOs 生长情况.以期对 SNEDPR 强化 MBBR 工艺中脱氮除磷性能提供新的思路和参考.

1 材料与方法

1.1 实验装置与运行工序

本实验采用移动床生物膜反应器(MBBR,图 1),由有机玻璃制备而成,高 56cm,直径 35cm,有效容积 50L.反应器侧面设有 3 个出水口,方便排水和取样,底部设有排泥管.

MBBR 反应器中 SNEDPR 启动与运行的实验研究分为两阶段:阶段 I (1~29d),采用连续曝气的运行方式,促进生物膜的形成和硝化体系的建立;阶段 II (30~53d),采用搅拌/曝气交替的多级运行方式,提高曝气效率,富集聚磷菌和聚糖菌实现同步硝化内源反硝化除磷.曝气强度由气体流量计控制,DO 控制在 2~4mg/L.MBBR 反应器在阶段 I 以 16h 为 1 周期,2d 运行 3 周期,运行工序为:进水 10min,曝气

940min,出水 10min;在阶段 II 以 24h 为 1 周期,1d 运行 1 周期,运行工序为:进水 10min,厌氧搅拌 180min,曝气 150min,厌氧搅拌 180min,曝气 150min,厌氧搅拌 180min,好氧 580min,出水 10min,两阶段均无闲置阶段.

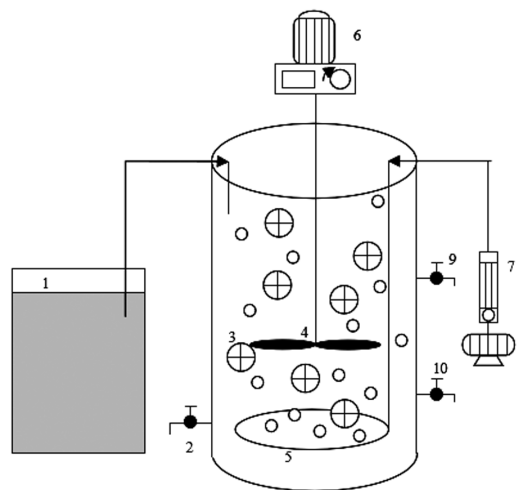


图 1 MBBR 实验装置

Fig.1 MBBR experimental device

1.水箱;2.排泥口;3.填料;4.搅拌桨;5.曝气盘;6.调频电机;7.气体流量计;8.曝气泵;9.取样口;10.排水口

1.2 接种污泥和实验水质

MBBR 是双污泥系统,接种污泥取自包头市某污水处理厂回流污泥,接种后 MBBR 反应器内 MLSS 在 3000mg/L 左右,SV 为 42%,SVI 为 140mL/g.采用人工模拟生活污水配水,碳源采用无水乙酸钠($C_2H_3NaO_2$),维持进水 COD 为 229~314mg/L,分别以氯化铵(NH_4Cl)、磷酸氢二钾(K_2HPO_4)和磷酸二氢钾(KH_2PO_4)作为氮源和磷源,维持进水 NH_4^+-N 为 41~66mg/L、 $PO_4^{3-}-P$ 为 5~6.3mg/L.用碳酸氢钠与盐酸调节模拟生活污水的 pH 值至 7.3~7.5 左右.每升水中加入一毫升营养液以补充微量元素^[25].投加填料是以聚乙烯、羟基磷灰石与钕铁硼磁粉通过共混技术制备而成的磁性悬浮填料,填充率为 30%.

1.3 检测项目与分析方法

水样经过中速滤纸(最大孔径 15~20 μm)过滤后测定各参数,测定方法如下:COD 采用重铬酸钾法测定; NH_4^+-N 采用纳氏试剂光度法测定; $NO_2^- - N$ 采用 N-(1-萘基)-乙二胺光度法测定; $NO_3^- - N$ 采用紫外分光光度法测定; $PO_4^{3-}-P$ 采用钼锑抗分光光度法测定;MLSS 与 MLVSS 采用重量法测定^[26];pH 值和 DO

采用雷 Multy 8330 便携式水质分析仪(法国 PONSEL 公司)测定;生物膜干重采用碱洗法^[27]测定;胞外聚合物进行分层提取^[28],其中 TB-EPS 采用加热法提取,多糖含量采用蒽酮法测定,蛋白质采用 Folin-酚法测定,两者之和即为 EPS 总含量。

1.4 SNEDR

SNEDR 用以表示在系统好氧段的氮损失情况,其计算方法见公式:

$$\text{SNEDR}(\%) = (1 - \frac{\Delta\text{NO}_3^- - \text{N} + \Delta\text{NO}_2^- - \text{N}}{\Delta\text{NH}_4^+ - \text{N}}) \times 100\% \quad (1)$$

式中: $\Delta\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\Delta\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\Delta\text{NO}_3^- - \text{N}$ 分别为系统好氧段 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度的变化量,mg/L。

1.5 多磷酸盐的染色

本实验采用 DAPI 染色剂对生物膜进行染色,用荧光显微镜观察,进一步确认生物膜上聚磷菌的富集情况。取若干填料于烧杯中,加入 50mL 去离子水,通过超声波震荡将生物膜剥离收集,将样品放置于 -80°C 干冰中送到科学指南针检测中心检测。剪取适量样品,放置于 24mm×60mm 盖玻片上,用 DAPI 染色剂染色,并在激发波长 395~391nm 和接收光范围>397nm 的倒置荧光显微镜下观察^[29]。

1.6 高通量测序

为探究反应体系中微生物群落结构及多样性,取反应器启动时的种泥,运行 53d 后的生物膜及污泥絮体样品,进行 3 次重复采样,共采集 9 个样品,样品编号分别记为 W、M、N,进行高通量测序,其中生物膜利用超声波震荡剥离,经离心、抽滤后的样品置于 -80°C 的干冰中送至上海美吉生物医药科技有限公司 Illumina MiSeq 平台进行 16SrDNA 高通量测序。高通量测序采用美国 QIAGEN 公司的 DNeasy® PowerSoil® Pro Kit 试剂盒提取生物膜样品总 DNA,利用 NanoDrop2000 检测 DNA 纯度和浓度,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽取的基因组 DNA 的完整性。选用通用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCA-GCAG-3')和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对细菌 16S rDNA 基因中的 V3-V4 进行 PCR 扩增。PCR 反应条件参数为:95℃预变性温度下保持 3min;95℃变性温度下保持 30s,55℃退火温度下保持 30s,72℃延伸温度下保持 45s,进行 27 次循环扩增;72℃下终止延伸 10min,10℃至反应结束。PCR 扩

增产物用 2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用美国 AXYGEN 公司的 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 扩增产物,并对其进行检测定量分析之后,构建 MiSeq 文库,利用 Illumina MiSeq 测序平台进行高通量测序,将所得序列通过 OTUs(运算分类单位)以 97%的相似度进行聚类,本实验的测序工作由测序公司完成。

2 结果与分析

2.1 系统启动及运行过程中 COD 去除特性

从图 2 中可知,阶段 I (1~29d),系统进水 COD 浓度平均值为 269.11mg/L,出水 COD 浓度平均值为 28.03mg/L,平均去除率为 89.41%,说明有机物的去除效果较好。

阶段 II (30~53d),系统进水 COD 浓度平均值为 274.36mg/L,反应器运行条件改为搅拌/曝气交替多级运行,随后反应体系性能略有下降,主要表现为 COD 去除率下降,由第 29d 的 90.77%下降至第 33d 的 75.31%,随着反应的进行,反应体系的 COD 去除率逐渐恢复至 90%以上。由图 2 观察到在经过第一次厌氧阶段之后,反应器内的 COD 浓度呈现出逐渐下降的趋势,COD 浓度值由 174mg/L 下降至 54mg/L。后续经过第一次好氧阶段的 COD 浓度值与第一次厌氧阶段 COD 浓度值差别较小,说明好氧段有机物消耗较少。经过 3 次循环后的 COD 浓度值不断减小,说明反应体系 COD 去除性能恢复,且阶段 II 中 COD 的去除主要是在第一个循环的厌氧阶段完成。

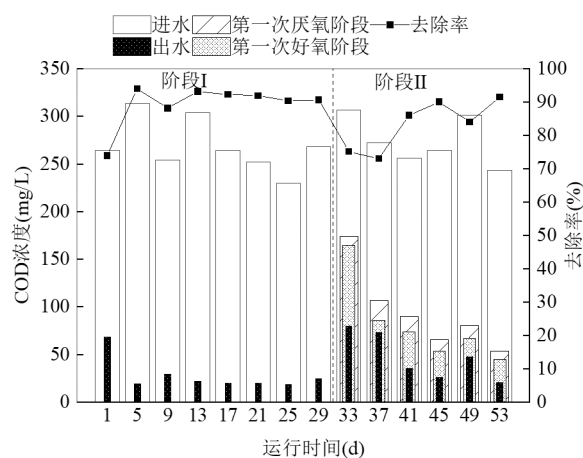


图 2 SNEDPR 启动及运行过程中 COD 浓度变化情况

Fig.2 COD concentration variation in phase I and II during the SNEDPR starting and running processes

2.2 系统启动及运行过程中硝化特性、SNEDR 与脱氮特性

如图 3 所示,阶段 I (1~29d),系统进水 NH_4^+-N 浓度平均值为 50.23mg/L,出水 NH_4^+-N 浓度小于 1.5mg/L,去除率均在 97%以上,说明系统的硝化效果较好.系统出水 NO_2^--N 浓度平均值为(0.05±0.01) mg/L,出水 NO_3^--N 浓度呈现逐渐上升的趋势,由 23.598mg/L 逐渐上升至 46.315mg/L,进水氨氮几乎全部转化为硝态氮,表明系统硝化作用为全程硝化.

阶段 II (30~53d),系统进水 NH_4^+-N 浓度平均值为 44.80mg/L,3 次循环后出水 NH_4^+-N 浓度虽然有所增加,但依然小于 2mg/L,去除率保持在 95%以上,这说明系统的硝化性能维持在较高水平.如图 3 可知,系统中大部分 NH_4^+-N 的去除主要是在第一循环周期实现,经过第一次厌氧阶段之后, NO_2^--N 、 NO_3^--N 浓度值较小,无明显积累,说明系统中存在反硝化反应.经过第一次好氧阶段,氨氮减少的同时, NO_2^--N 、 NO_3^--N 浓度也呈现出逐渐下降的趋势,其中 NO_3^--N 浓度值由 7.653mg/L 逐渐下降至 0.43mg/L,且第一次好氧阶段 SNEDR 由 0.07%逐渐升高至 86.35%,证明反应体系内存在同步硝化反硝化.且 3 次循环后出水 NO_2^--N 、 NO_3^--N 浓度分别为 1.3949 和 3.88mg/L,说明系统脱氮性能较好.

—第一次厌氧阶段 NH_4^+-N —第一次好氧阶段 NH_4^+-N —进水 NH_4^+-N —去除率
 ■第一次厌氧阶段 NO_2^--N ▨第一次好氧阶段 NO_2^--N ▩出水 NO_2^--N —出水 NH_4^+-N
 ▨第一次厌氧阶段 NO_3^--N ▩第一次好氧阶段 NO_3^--N □出水 NO_3^--N —SNEDR

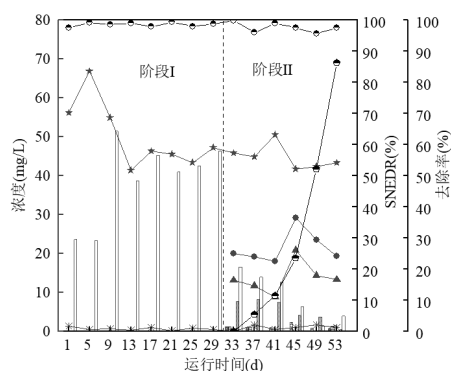


图3 SNEDPR 启动及运行过程中 NH_4^+-N 、 NO_x^--N 和 SNEDR 变化情况

Fig.3 NH_4^+-N and NO_x^--N concentration variations and SNEDR changing pattern in phase I and II during the SNEDPR starting and running processes

2.3 系统启动及运行过程中除磷特性

从图 4 中可知,阶段 I (1~29d),系统进水 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$

浓度平均值为 5.36mg/L,出水 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度平均值为 0.50mg/L,去除率最高达 92.72%,说明系统除磷性能较好.

阶段 II (30~53d),系统进水 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度平均值为 5.61mg/L,随着反应器运行条件的改变,反应体系磷的去除性能下降,主要表现为 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 去除率下降,由第 29d 的 92.10%下降至第 33d 的 30.01%,随后系统除磷性能逐渐恢复,去除率恢复至 85.37%.聚磷菌的一个关键特征是在厌氧条件下释放磷的能力,以及随后在有氧条件下吸收磷的能力,由图 4 观察到经过第一次厌氧阶段之后, $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度由 11.147mg/L 逐渐上升至 31.107mg/L,厌氧释磷量逐渐增大.后续经过第一次好氧阶段,吸磷量逐渐增大,经过 3 次循环后出水 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度逐渐减小至 0.84mg/L,表明系统的除磷性能恢复良好.

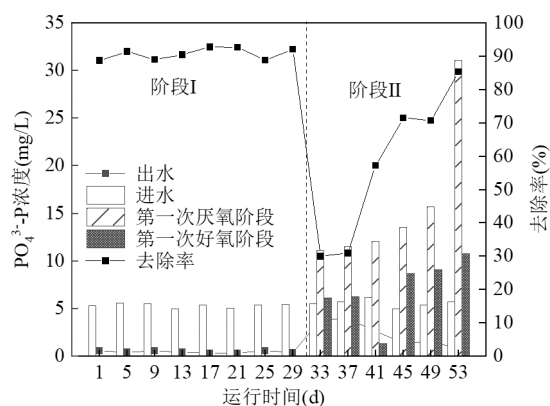


图4 SNEDPR 启动及运行过程中 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 浓度变化

Fig.4 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ concentration variation in phase I and II during the SNEDPR starting and running processes

2.4 生物膜上聚磷菌的鉴定

随着实验的进行,填料上的生物膜在启动前后也发生了变化,反应器启动初期,填料表面呈现白色,无明显的挂膜现象;当反应器运行 20d 之后,填料表面能观察到一层很薄的黄色薄膜,即认为开始挂膜,且生物膜分布的位置和厚度相对均匀.生物膜经过碱洗法处理后,测得平均每个填料上附着生长了干重 8.32mg 的生物膜.

为了确认 PAOs 在生物膜中是否存在和具有活性,对生物膜进行了聚磷菌的鉴定.PAOs 存在和具有活性的一个关键是其将废水中的可溶性磷转化为生物物质中的多磷酸盐颗粒的能力.有研究表明^[30],4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)是一种能够与 DNA

强力结合的荧光染料,菌体内的多磷酸盐和脂类物质能被高浓度 DAPI(50mg/L)染色,染色后用荧光显微镜观察,DAPI-脂类的荧光较弱,几秒之后就会淬灭,而 DAPI-多磷酸钠盐的荧光呈现亮黄色,不易淬灭.将反应器中剥离的生物膜用 DAPI 染色后,经荧光显微镜观察,结果显示样品中发出较强的黄色或绿色荧光,且长时间不淬灭,表明生物膜中积累了聚磷颗粒,即认为生物膜上已经成功富集了聚磷菌.

2.5 微生物群落结构及多样性

2.5.1 门和属水平的微生物群落结构

高通量测序结果显示,全部样品的序列数目为 421961,序列碱基数目为 176220066bases,平均序列长度 417bp (NCBI 登陆号:PRJNA810913).图 5(b)显示了生物膜(M)、污泥絮体(N)和接种污泥(W)3 个样本中基于 OTU 分类的门级微生物群落.其中生物膜和污泥絮体样品鉴定出 17 个主要门(>0.5%),接种污泥鉴定出 10 个主要门.生物膜与污泥絮体样本的微生物群落相似,最主要的门是变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetota).接种污泥的主要门是变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteriota).生物膜和污泥絮体中的变形菌门(45.13%~46.26%)和拟杆菌门(17.20%~22.25%)丰度显著高于接种污泥的变形菌门(17.53%)和拟杆菌门(5.96%)丰度,而它们的绿弯菌门(10.44%~9.83%)丰度低于接种污泥的绿弯菌门(18.23%)丰度.这说明虽然反应器内生物膜与污泥絮体的优势菌门与接种污泥相似,但是其功能菌群落可能发生了变化.

对 3 个样本通过创建热图(图 5c)在属水平上对微生物群落进行比较.在属水平上,生物膜和污泥絮体最主要的属为 *Candidatus_Competibacter* (24.91%~17.20%),是该反应器的绝对优势菌属,与接种污泥相比,其丰度显著增加.生物膜和污泥絮体还包含其他一些菌属,如 OLB12(4.95%~4.99%)、*Defluviicoccus*(2.17%~3.28%)、*Acinetobacter* (0.19%~4.84%)、*Thauera*(2.10%~0.64%)、*Ellin6067* (0.54%~1.49%)、*Nitrospira*(1.05%~0.85%)等,接种污泥的优势菌属为 *Candidatus_Microthrix*(14.36%)、*Tetrasphaera*(11.17%)和 *Ornithinibacter*(7.3%).结合图 5(a)与图 5(c),发现与接种污泥相比,生物膜与污

泥絮体的聚糖菌和硝化菌丰度增加,聚磷菌的丰度下降,反应体系内的菌属丰度发生了显著变化,说明反应体系中的脱氮除磷的功能菌属不同.

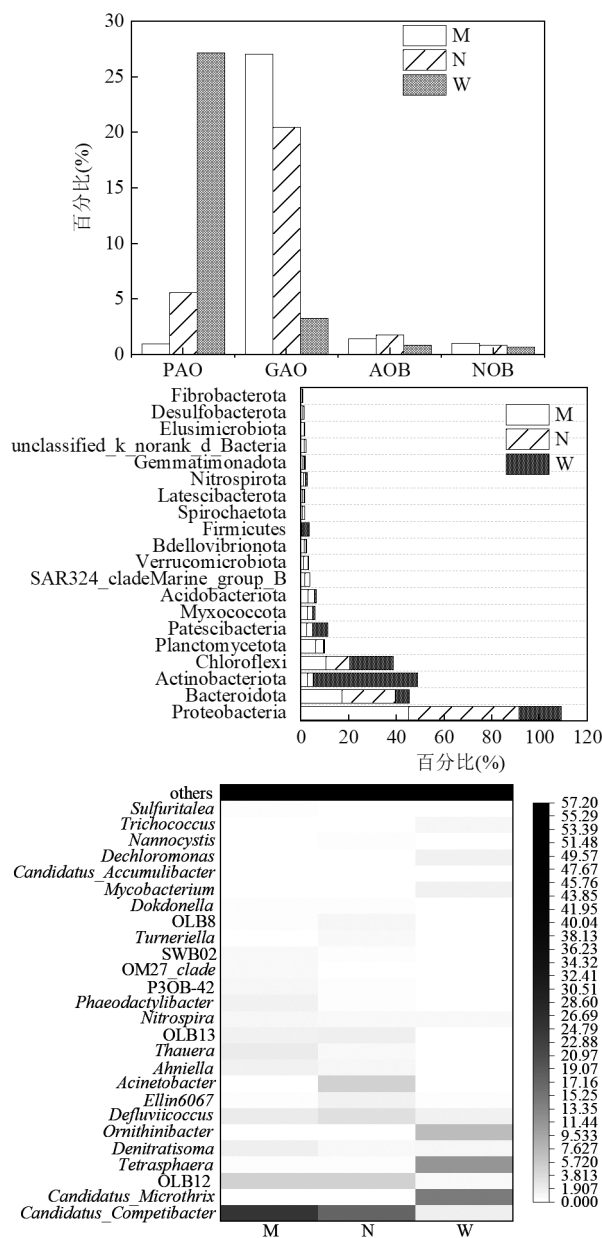


图5 SNEDPR启动前后菌群变化对比以及门水平和属水平微生物分布

Fig.5 Microbial community variation comparison and microbial distribution at the phylum level and genus level before and after SNEDPR starting up
M 为生物膜, N 为污泥絮体, W 为接种污泥

2.5.2 微生物群落多样性

选择 Sobs、Shannon、Simpson、Chao1 和 PD 指数对反应体系内的微生物群落多样性进行评估.表 1 显示了运行 53d 的生物膜(M)、污泥絮体(N)和接种污泥(W)样本的细菌

群落丰富度和多样性,由表 1 可知,样品的 Coverage 指数均>0.97,说明样本中的序列基本能被检测出,测序结果能反应出样本的真实性.Chao1 在生态学中常用来估计物种总数,Shannon 和 Simpson 多样性指数常用于反映群落 alpha 多样性,Shannon 值越大,说明群落多样性越高,而 Simpson 指数值越大,

说明群落多样性越低.由表 1 可知,生物膜的 chao1 指数高于接种污泥,污泥絮体和生物膜的 Shannon 指数高于接种污泥,Simpson 指数呈现相反的结果,说明经过 53d 运行的反应体系中的微生物群落多样性得到了显著的提高,微生物群落结构发生显著变化,菌群复杂.

表 1 系统启动前后微生物群落多样性
Table 1 Microbial community diversity before and after system starting up

样品名称	Sobs 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao1 指数	PD 指数	Coverage 指数
污泥絮体	826±91.26	5.08±0.18	0.02±0.004	920.04±166.77	87.65±11.32	0.99
生物膜	1083.33±67.84	5.07±0.41	0.03±0.02	1262.07±14.07	105.68±10.82	0.99
接种污泥	993.33±138.5	4.66±0.07	0.04±0.005	1260.56±69.21	105.71±3.71	0.99

注:Coverage指数是指各样本文库的覆盖率,Sobs和Chao1指数反应群落丰富度,Shannon和Simpson指数反应群落多样性,PD指数是谱系多样性.

3 讨论

3.1 系统启动及运行期间的脱氮性能分析

反应器经过 2 个阶段的运行,成功启动 SNEDPR.阶段 I,结果如图 3 所示,接种污泥中硝化菌的活性较好,且实验采用连续曝气的运行方式,有充足的溶解氧供应,进水氨氮大部分由硝化菌转化为硝态氮,表明经过长期好氧阶段的反应器内已经成功构建了全程硝化体系,且性能良好.由图 2 可知该阶段反应体系中 COD 去除率较高,但是出水中 NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 含量损失较小,说明该阶段反应器中有机物主要是被好氧异养微生物消耗,而不是传统反硝化菌.

阶段 II,如图 2 和图 3 所示,经过第一次厌氧阶段之后,反应器中的氨氮浓度下降,但无 NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 的累积,同时第一次厌氧阶段 COD 浓度大幅度降低,说明反应体系中存在传统反硝化菌进行反硝化.随着反应的进行,第一次厌氧阶段 COD 浓度的降低幅度呈现越来越大的趋势,由于在厌氧阶段,进水有机物可以用于传统的外源反硝化或者被吸收转化为内碳源储存聚合物,而第一次厌氧阶段反应器中的亚硝态氮和硝态氮含量较少,传统外源反硝化对有机物的消耗较少,因此第一次厌氧阶段 COD 的大幅度降低,说明大部分进水有机物转化为内碳源,反应体系中聚磷菌和聚糖菌在系统内逐渐富集,其内碳源储存特性逐渐增强.经过第一次好氧阶段,氨氮浓度继续下降,但无明显的 NO₂⁻-N、

NO₃⁻-N 的累积,说明大部分 NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 一旦产生就会通过反硝化作用被消耗,也就是说反应体系内存在同步硝化反硝化过程.同时第一次好氧阶段 COD 浓度与第一次厌氧阶段 COD 浓度差值较小,说明传统的外源反硝化在同步硝化反硝化过程中发挥作用较小,因为留给反硝化菌进行外源反硝化的碳源较少,唯一能够积极进行反硝化作用的是在厌氧阶段以内源有机底物的形式储存可溶性外源有机碳的微生物(PAOs 和 GAOs),聚磷菌和聚糖菌能够氧化体内积累的内碳源 PHAs 进行反硝化,为其糖原的合成和细胞生长提供能量.且 SNEDR 逐渐升高,说明系统的同步硝化内源反硝化逐渐占据优势.有研究表明^[31],与外源有机物降解相比,内源有机底物降解慢的多,能够保持脱氮的持久性.经过 3 次循环后的出水氨氮、亚硝态氮和硝态氮的浓度较低,系统脱氮性能较好,说明采用间歇曝气的运行方式成功富集了聚磷菌和聚糖菌,实现了同步硝化内源反硝化.

3.2 系统启动及运行期间的除磷性能分析

阶段 I,如图 4 所示,接种污泥聚磷菌活性较好,连续的好氧阶段,聚磷菌进行好氧吸磷的过程,出水磷浓度较低,说明阶段 I 强化生物除磷性能较好,实现了硝化体系与 EBPR 的结合.

阶段 II,如图 4 所示,出水磷浓度首先呈现出上升的趋势,有研究表明^[32],低碳源时异养反硝化菌会优先利用污水中的有机碳源进行外源反硝化,即如图 2 和图 3 所示,第一次厌氧阶段 COD 浓度下降,

出水 NO_2^- -N、 NO_3^- -N 含量较少,说明反硝化菌进行反硝化反应,因此聚磷菌厌氧阶段释磷碳源不足,PAOs 或 DPAOs 的内碳源储量减少,好氧吸磷过程或反硝化除磷过程中内碳源不足,磷的去除率下降.随着反应的进行,第一次厌氧阶段系统表现出逐渐增大的磷释放趋势,在随后的第一次好氧阶段表现出磷吸收上升的趋势,磷的去除率不断上升,以及第一次厌氧阶段 COD 浓度大幅度下降,说明 PAOs 逐渐适应环境.经过 3 次循环后的系统出水磷浓度小于 1mg/L,磷去除率可达到 85.37%,说明系统的除磷性能良好.

3.3 系统启动及运行期间微生物种群分析

由图 5(b)可知,经两阶段运行后,生物膜和污泥絮体中的变形菌门(Proteobacteria)占比最大,该菌门微生物具有多样的代谢机制、营养类型及形态特征,是参与污水中有机物降解和氮磷去除的最主要菌种,经常在污水系统中被检测到为优势菌门.拟杆菌门、绿弯菌门和浮霉菌门在系统微生物群落结构中占比较大,有明显的丰度变化,都与系统内污泥的形态、特性以及系统的污染物降解能力有极大的相关性.还有研究学者认为绿弯菌门(Chloroflexi)在硝化和反硝化过程中对 COD 分解和内碳源储存具有重要意义^[14],保证了系统具有良好的脱氮除磷和有机物降解性能.

由图 3 可知,氨氮的去除率保持在 95%以上,这是由于图 5(c)观察到生物膜和絮体内存在 *Ellin6067* 等硝化菌属以及 *OLB12* 好氧硝化菌属,硝化菌属将氨氮氧化成 NO_2^- -N、 NO_3^- -N 从而保证了反应体系在好氧条件下硝化性能的稳定.生物膜和污泥絮体内丰度显著增加的 *Candidatus_Competibacter* 菌属以及 *Defluviicoccus* 菌属被称为反硝化聚糖菌,研究表明^[33]反硝化聚糖菌可在厌氧/微氧交替的条件下发挥良好的 NO_2^- -N、 NO_3^- -N 内源反硝化特性,实现氮的去除,保证了反应体系内高效的脱氮性能.生物膜和污泥絮体内存在着 *Candidatus_Microthrix* 和 *Tetrasphaera* 等聚磷菌进行好氧吸磷,由于聚磷菌和聚糖菌在厌氧阶段会竞争碳源,导致聚磷菌数量减少.但生物膜和污泥絮体样品中出现的 *Dechloromonas* 和 *Acinetobacter* 等反硝化聚磷菌(DPAOs),其能够利用储存的内碳源以 NO_2^- -N 或 NO_3^- -N 作为电子受体超量吸磷,反应器采用搅拌/曝

气多级运行方式也保证了反应体系内磷的高效去除,这也解释了图 4 中系统具有良好的除磷性能的现象.

结合表 1 可知,微生物群落多样性和结构发生显著变化,反应体系内菌群复杂,由图 5(a)和图 5(c)可知反应体系内存在以 DGAOs 为主的反硝化反应,且与闫建平^[33]的研究中内源反硝化的微生物群落组成相似,以及存在好氧吸磷、硝化和反硝化(除磷)等过程证明 MBBR 反应器中实现 SNEDPR 的启动.由图 5(c)可知生物膜和污泥絮体样品中的 *Candidatus_Competibacter* 菌属均占其主导地位,且其在生物膜中的丰度较高,*Dechloromonas* 反硝化聚磷菌在生物膜中的丰度高于污泥絮体,这是由于生物膜存在氧浓度梯度,有利于 DGAOs、DPAOs 的生长.可以发现发生内源反硝化的微生物在生物膜中的丰度高于污泥絮体,认为内源反硝化主要发生在生物膜.

4 结论

4.1 在 MBBR 反应器中可实现 SNEDPR 的启动,运行 53d 的结果表明,出水 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N、 NO_3^- -N 和 COD 浓度分别为 1.04、1.3949、3.88、20.4mg/L,SNEDR 达到 86.35%,TN 去除率达到 85.61%,系统具有良好的脱氮性能.

4.2 长期的好氧阶段可促进硝化体系的建立,使硝化体系能够与 EBPR 实现成功结合;且间歇曝气的方式,有利于促进聚磷菌和聚糖菌的富集,强化 SNED 作用,实现内源反硝化,进而促进系统的脱氮性能.

4.3 生物膜中的缺氧层有利于 DGAOs 和 DPAOs 的发展,可使系统保持高效的同步硝化反硝化除磷过程,同时由于生物膜的厚度产生较好的厌氧/好氧交替微环境,保证了系统的高效脱氮除磷性能.

4.4 系统启动后菌群多样性提高,群落复杂程度增大;其中反硝化聚糖菌驱动的内源反硝化是系统的主要脱氮途径,聚磷菌和反硝化聚磷菌驱动的强化生物除磷是系统的主要除磷途径.

参考文献:

- [1] Zhang W T, Peng Y Z, Ren N Q, et al. Improvement of nutrient removal by optimizing the volume ratio of anoxic to aerobic zone in AAO-BAF system [J]. Chemosphere, 2013,93(11):2859-2863.

- [2] 赵伟华,王梅香,李健伟,等. A^2O 工艺和 A^2O+BCO 工艺的脱氮除磷性能比较 [J]. 中国环境科学, 2019,39(3):994-999.
Zhao W H, Wang M X, Li J W, et al. Comparison of nitrogen and phosphorus removal performance between A^2O process and A^2O+BCO process [J]. China Environmental Science, 2019,39(3): 994-999.
- [3] 黄健平,闫 阁,卞晓崢,等.反硝化除磷污水处理工艺影响因素分析 [J]. 华北水利水电大学学报(自然科学版), 2021,42(6):100-106.
Huang J P, Yan G, Bian X Z, et al. Analysis on influencing factors of denitrifying phosphorus removal wastewater treatment process [J]. Journal of North China University of Water Resources and Hydropower (Natural Science Edition), 2021,42(6):100-106.
- [4] 李洪静,陈银广,顾国维.丙酸的加入对厌氧-低氧同时生物除磷脱氮系统的影响 [J]. 环境科学, 2007,(8):1681-1686.
Li H J, Chen Y G, Gu G W. Effect of propionic acid on anaerobic hypoxia simultaneous biological phosphorus and nitrogen removal system [J]. Environmental Science, 2007,(8):1681-1686.
- [5] 黄 崇,袁林江,牛晚霞,等.投加填料对微生物群落结构的影响及对水质的变化研究 [J]. 中国环境科学, 2021,41(1):207-213.
Huang C, Yuan L J, Niu W X, et al. Study on the effect of adding fillers on microbial community structure and water quality [J]. China Environmental Science, 2021,41(1):207-213.
- [6] 向元婧,蒋 潇.MBBR 工艺在市政污水处理中的应用及展望 [J]. 绿色科技, 2021,23(2):84-86.
Xiang Y J, Jiang X. Application and prospect of MBBR process in municipal sewage treatment [J]. Green Technology, 2021,23(2):84-86.
- [7] 史晓林.固体碳源对 MBBR 短程硝化反硝化脱氮性能的影响研究 [D]. 合肥:安徽大学, 2019.
Shi X L. Effect of solid carbon source on the performance of MBBR shortcut nitrification and denitrification [D]. Hefei: Anhui University, 2019.
- [8] Xu X Y, Liu G, Zhu L. Enhanced denitrifying phosphorus removal in a novel anaerobic/aerobic/anoxic (AOA) process with the diversion of internal carbon source [J]. Bioresource Technology, 2011,102(22): 10340-10345.
- [9] Kuba T, Van Loosdrecht M C, Heijnen J J. Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two-sludge system [J]. Water Research, 1996,30(7):1702-1710.
- [10] Jabari P, Munz G, Oleszkiewicz J A. Selection of denitrifying phosphorus accumulating organisms in IFAS systems: comparison of nitrite with nitrate as an electron acceptor [J]. Chemosphere, 2014, 109:20-27.
- [11] Zeng R J, Lemaire R, Yuan Z, et al. Simultaneous nitrification, denitrification, and phosphorus removal in a lab-scale sequencing batch reactor [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2003,84(2): 170-178.
- [12] 王晓霞,王淑莹,赵 骥,等.厌氧/好氧 SNEDPR 系统处理低 C/N 污水的优化运行 [J]. 中国环境科学, 2016,36(9):2672-2680.
Wang X X, Wang S Y, Zhao J, et al. Optimal operation of anaerobic / aerobic SNEDPR system for low C/N wastewater treatment [J]. China Environmental Science, 2016,36(9):2672-2680.
- [13] 方 茜,张朝升,张立秋,等.同时硝化/反硝化除磷工艺稳定性控制研究 [J]. 给水排水, 2014,50(11):132-135.
Fang Q, Zhang Z S, Zhang L Q, et al. Study on stability control of simultaneous nitrification / denitrification phosphorus removal process [J]. Water Supply and Drainage, 2014,50(11):132-135.
- [14] 甄建园.低 C/N 城市污水同步硝化内源反硝化脱氮除磷性能及优化研究 [D]. 青岛:青岛大学, 2019.
Zhen J Y. Performance and optimization of simultaneous nitrification and endogenous denitrification for nitrogen and phosphorus removal in low C/N municipal wastewater [D]. Qingdao: Qingdao University, 2019.
- [15] 甄建园,于德爽,王晓霞,等.低 C/N(<3)条件下 SNEDPR 系统启动及其脱氮除磷特性研究 [J]. 中国环境科学, 2018,38(8):2960-2967.
Zhen J Y, Yu D S, Wang X X, et al. Study on start-up and nitrogen and phosphorus removal characteristics of SNEDPR system under low C/N (<3) [J]. China Environmental Science, 2018,38(8):2960-2967.
- [16] Oehmen A, Saunders A M, Vives M T, et al. Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources [J]. Journal of Biotechnology, 2006,123(1):22-32.
- [17] Ge S J, Peng Y Z, Lu C C, et al. Practical consideration for design and optimization of the step feed process [J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2012,7(1):135-142.
- [18] 李 冬,李 悦,李雨朦,等.好氧颗粒污泥同步硝化内源反硝化脱氮除磷 [J]. 中国环境科学, 2022,42(3):1113-1119.
Li D, Li Y, Li Y M, et al. Simultaneous nitrification of aerobic granular sludge and endogenous denitrification for nitrogen and phosphorus removal [J]. China Environmental Science, 2022,42(3):1113-1119.
- [19] Coma M, Verawaty M, Pijuan M, et al. Enhancing aerobic granulation for biological nutrient removal from domestic wastewater. Bioresource Technology, 2012,103(1):101-108.
- [20] 都叶奇,于德爽,甄建园,等.进水 C/N 对 SNEDPR 系统脱氮除磷的影响 [J]. 环境科学, 2019,40(2):816-822.
Du Y Q, Yu D S, Zhen J Y, et al. Effect of influent C/N on nitrogen and phosphorus removal in SNEDPR system [J]. Environmental Science, 2019,40(2):816-822.
- [21] 甄建园,于德爽,王晓霞,等.进水 C/P 对 SNEDPR 系统脱氮除磷性能的影响 [J]. 环境科学, 2019,40(1):343-351.
Zhen J Y, Yu D S, Wang X X, et al. Effect of influent C/P on nitrogen and phosphorus removal performance of SNEDPR system [J]. Environmental Science, 2019,40(1):343-351.
- [22] 王晓霞,甄建园,赵 骥,等.不同污泥龄(SRT)对 SNEDPR 系统脱氮除磷影响 [J]. 环境科学, 2019,40(1):352-359.
Wang X X, Zhen J Y, Zhao J, et al. Effect of different sludge age (SRT) on nitrogen and phosphorus removal in SNEDPR system [J]. Environmental Science, 2019,40(1):352-359.
- [23] 沈雁群,胡安辉,杨岳平.MBBR 处理低 C/N 生活污水影响因素研究 [J]. 浙江大学学报(理学版), 2011,38(6):671-676,681.
Shen Y Q, Hu A H, Yang Y P. Study on influencing factors of low C/N domestic sewage treatment by MBBR [J]. Journal of Zhejiang University (Science Edition), 2011,38(6):671-676,681.
- [24] Wang J, Xia L, Chen J, et al. Synergistic simultaneous nitrification-endogenous denitrification and EBPR for advanced nitrogen and phosphorus removal in constructed wetlands [J]. Chemical

- Engineering Journal, 2020:127605.
- [25] 刘 强,梁 森,闫军伟,等.污泥龄对 HMBR 中 S-EPS 及膜污染的影响 [J]. 工业水处理, 2019,39(2):34-37,41.
- Liu Q, Liang S, Yan J W, et al. Effect of sludge age on S-EPS and membrane fouling in HMBR [J]. Industrial Water Treatment, 2019, 39(2):34-37,41.
- [26] 国家环境保护总局水和废水检测分析方法 [M]. 北京:中国环境科学出版社, 2002:252-354.
- Test and analysis method for water and wastewater of State Environmental Protection Administration [M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002:252-354.
- [27] 孙洪伟,陈翠忠,高宇学,等.碳氮比对活性污泥胞外聚合物的长期影响 [J]. 中国环境科学, 2018,38(3):950-958.
- Sun H W, Chen C Z, Gao Y X, et al. Long term effect of carbon nitrogen ratio on activated sludge extracellular polymers [J]. China Environmental Science, 2018,38(3):950-958.
- [28] 周 俊,周立祥,黄焕忠.污泥胞外聚合物的提取方法及其对污泥脱水性能的影响 [J]. 环境科学, 2013,34(7):2752-2757.
- Zhou J, Zhou L X, Huang H Z. Extraction method of extracellular polymer from sludge and its influence on sludge dewatering performance [J]. Environmental Science, 2013,34(7):2752-2757.
- [29] Aschar-Sobbi R, Abramov A Y, Diao C, et al. High sensitivity, quantitative measurements of polyphosphate using a new DAPI-based approach [J]. Journal of Fluorescence, 2008,18(5):859-866.
- [30] 任世英,肖 天.聚磷菌体内多聚物的染色方法 [J]. 海洋科学, 2005,(1):59-63.
- Ren S Y, Xiao T. Staining method of polymer in polyphosphate accumulating bacteria [J]. Marine Science, 2005,(1):59-63.
- [31] Miao L, Wang S, Li B, et al. Effect of carbon source type on intracellular stored polymers during endogenous denitrification (ED) treating landfill leachate [J]. Water Research, 2016,100:405-412.
- [32] 夏 雪.反硝化除磷系统中碳源对除磷效果及菌群结构的影响研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2013.
- Xia X. Study on the influence of carbon source on phosphorus removal effect and bacterial community structure in denitrifying phosphorus removal system [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2013.
- [33] 闫建平.内源反硝化过程 N_2O 释放特性及影响因素研究 [D]. 西安:西安建筑科技大学, 2017.
- Yan J P. Study on N_2O release characteristics and influencing factors in endogenous denitrification process [D]. Xian: Xian University of Architecture and Technology, 2017.

作者简介: 敬双怡(1978-),男,四川遂宁人,副教授,硕士,主要从事污水处理方面研究.发表论文 50 余篇.