



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202202121

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

王思凡, 刘雨馨, 王建芳, 等. 短期低温冲击对 PN/A 颗粒污泥脱氮效能及微生物性能的影响[J]. 环境工程学报, 2022, 16(7): 2436-2446.
[WANG Sifan, LIU Yuxin, WANG Jianfang, et al. Effect of short-term low-temperature shock on the denitrification efficiency of PN/A granular sludge and its microbial performance[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(7): 2436-2446.]

短期低温冲击对 PN/A 颗粒污泥脱氮效能及微生物性能的影响

王思凡¹, 刘雨馨¹, 王建芳^{1,2,3,✉}, 钱飞跃^{1,2,3}, 冯新宇¹, 汤宇超¹

1. 苏州科技大学环境科学与工程学院, 苏州 215009; 2. 城市生活污水资源化利用技术国家地方联合工程实验室, 苏州 215009; 3. 江苏高校水处理技术与材料协同创新中心, 苏州 215009

摘 要 常温部分亚硝化/厌氧氨氧化 (partial nitritation/anammox, PN/A) 颗粒污泥中不同功能菌群对温度的响应机制不同, 在低温条件下易导致脱氮系统失衡。为此, 探讨 PN/A 颗粒污泥系统在温度冲击下的应激效应, 包括脱氮性能、微生物活性和 EPS 对温度冲击的响应, 并考察了温度冲击后系统性能恢复的可行性。结果表明: PN/A 颗粒污泥在 25~30 ℃ 时脱氮性能最佳, 平均总氮去除率可达到 73.48%; 低温冲击会抑制 PN/A 的脱氮性能, 温度越低, 其对总氮去除率影响越大, 12 ℃ 以下的低温冲击导致平均总氮去除率下降至 40.6%, 且即使温度回升至 30 ℃, 平均总氮去除率只能恢复至 66.27%。SGompertz 模型可有效拟合温度与系统总氮去除负荷以及温度降幅与总氮去除负荷变化的关系, 拟合所得可决系数 R^2 均在 0.995 以上。通过分析温度对微生物活性影响发现, 温度对 PN/A 颗粒污泥中 AOB、AnAOB 以及 NOB 菌群活性影响不同, AnAOB 对低温更加敏感。在 12 ℃ 和 7 ℃ 时, 总氮比降解速率 $q(\text{TN})$ 分别为 $0.40 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $0.74 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 相对于 30 ℃ 时, $q(\text{TN})$ 下降了 93.42% 和 87.83%。在 20~30 ℃ 时, EPS 总量和 TB、LB、SB 组分基本稳定, 温度降至 12 ℃ 以下, EPS 总量及各组分均会大幅增加。EEM 检测结果表明, 低温可刺激 TB-EPS 分泌更多色氨酸类蛋白质。

关键词 PN/A 颗粒污泥; 低温冲击; 连续流反应器; 功能微生物活性

当今在污水处理领域中, 以能源自给、资源回收为核心的“碳中和”理念逐渐渗透, 成为新型污水处理技术的根本要求。厌氧氨氧化工艺 (anaerobic ammonium oxidation, anammox, 后简称为 AMX) 作为新型脱氮技术, 因其具有能耗低、流程短、污泥产量少等优势已经成为研究热点^[1]。部分亚硝化/厌氧氨氧化工艺 (partial nitritation/anammox, PN/A) 是基于 AMX 的典型污水脱氮技术, 其机理是利用好氧氨氧化菌 (AOB) 将氨氮部分氧化为亚硝酸盐, 而后厌氧氨氧化菌 (AnAOB) 利用生成的亚硝酸盐和剩余的氨氮生成氮气。AOB 和 AnAOB 的高效协同是 PN/A 工艺稳定的基本要求。

PN/A 工艺已成功应用于城镇污水厂侧流脱氮和高浓度氨氮工业废水处理, 但在城镇污水厂主流工艺应用中面临重大挑战, 如氨氮浓度较低、废水温度随季节性波动较大, 在冬季温度会低至 10 ℃ 左右等。有研究^[2]表明, AnAOB 最佳生长温度为 30~40 ℃, 温度下降会降低反应器中的

收稿日期: 2022-02-24; 录用日期: 2022-07-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (51878430); 江苏省自然科学基金面上项目 (BK20211339); 江苏高校自然科学基金面上项目 (21KJB610016); 苏州市社会发展科技创新项目 (SS202114)

第一作者: 王思凡 (1998 —), 女, 硕士研究生, 2023486226@qq.com; ✉通信作者: 王建芳 (1973 —), 博士, 教授, wjf302@163.com

AnAOB 活性。杨朝晖等^[3]研究不同的降温策略对 AnAOB 活性的影响,发现 AnAOB 活性与降温幅度之间存在显著负相关关系,即降温幅度越大, AnAOB 活性越低。废水温度的波动给 PN/A 工艺的稳定运行带来挑战,温度冲击对 PN/A 脱氮性能的影响有待深入研究。

温度下降不仅降低 PN/A 系统中颗粒污泥活性,还会导致菌群结构以及胞外聚合物 (EPS) 的变化。温度对微生物活性产生不同程度的影响,导致菌群间的竞争关系变化,易引起原有菌群间的协同关系失衡。有研究表明,经历长期低温培养后, AnAOB 的最适温度前移, PN/A 颗粒污泥在低温下的脱氮处理效率趋于稳定^[4]。LAURENI 等^[5]通过逐步降低温度适应低温微生物驯化,发现 AMX 系统可以耐受 10~15 °C 的温度。但温度冲击对 PN/A 污泥的脱氮性能以及微生物种群协同的影响尚不清晰。EPS 作为微生物的分泌物及颗粒污泥的重要组成部分,在 PN/A 污泥系统运行过程中环境发生剧烈变化时,其含量和组分就会相应变化^[6]。然而,在低温废水处理过程中, PN/A 反应器的 EPS 特性尚未得到充分的研究。近年来群体感应 (quorum sensing, QS) 作为细菌交流的一种手段受到关注,即利用细菌产生的自诱导信号分子来调控种群密度和生物膜、颗粒污泥的形成。AnAOB 的有些生理特性,如 SAA、生长速率和 EPS 分泌都与 QS 相关^[7],进一步了解 EPS 与 QS 的相互作用有助于 PN/A 工艺的实际工程应用。

本研究考察了 PN/A 颗粒污泥系统在短期温度冲击下的应激效应及恢复能力,系统考察了短期温度冲击以及不同的降温幅度对 PN/A 颗粒污泥中 AOB、AnAOB 和 NOB 活性及菌群间协同效应的影响和脱氮性能恢复的可行性;建立了温度与系统脱氮负荷的变化模型,分析了 EPS 对温度冲击的响应规律,为 PN/A 工艺在主流污水处理中的应用及其提高其应对温度波动的脱氮稳定性提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验装置和运行条件

本研究采用圆柱形气提式反应器,有效容积为 2 L(图 1)。进水和压缩空气均由反应器中心管底部进入,颗粒污泥在气提条件下完全呈流化状态,在顶部沉淀区泥水分离后出水,污泥经内外循环再回到中心管。反应器外壁设有夹套,可通过冷热水浴调控反应温度。

接种污泥为实验室常温下培养的 PN/A 颗粒污泥,颜色为棕黄色,平均粒径为 1.0 mm,反应器污泥质量浓度 (MLSS) 约为 4.5 g·L⁻¹, MLVSS/MLSS 为 0.88, SVI₅ 值在 52 mL·g⁻¹ 左右,污泥具有良好的沉降性能。

整个实验过程维持进水氨氮质量浓度为 100 mg·L⁻¹,不外加有机碳源,水力停留时间 (HRT) 为 1.5 h,氨氮负荷维持在 1.63 kg·(m³·d)⁻¹。具体运行工况如表 1 所示。实验共分为 5 个阶段,第 I 阶段在 30 °C 下稳定运行 1~30 d,后续 4 个阶段以不同幅度 (5、10、18 和 23 °C) 进行降温与恢复,考察温度冲击对 PN/A 脱氮性能的影响以及温度冲击后 PN/A 的性能恢复情况。期间 pH 稳定在 7.43~7.74,溶解氧质量浓度维持在 0.8~1.4 mg·L⁻¹。

1.2 常规分析方法

NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N 和 TN 浓度分别采用纳氏试剂光度法、紫外分光光度法、N-(1-萘基)-乙二胺光度法和过硫酸钾氧化-紫外分光光度法测定。pH 和溶解氧 (DO) 分别采用便携式 pH 计 (METTLER TOLEDO) 和 HACH HQ30d 型溶解氧仪。

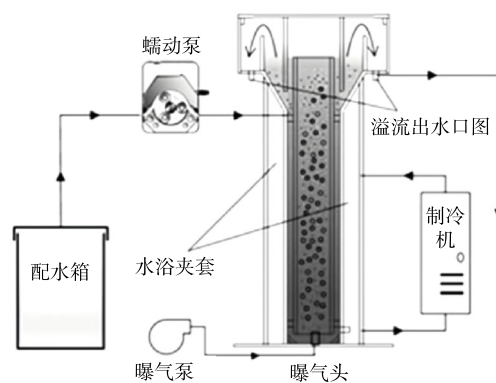


图 1 实验装置示意

Fig. 1 Schematic and photo of the experimental setup

通过批次实验测定温度冲击对 PN/A 污泥氮转化性能的影响以此表征微生物的活性变化,具体操作参考文献^[8]。从初始的 30 ℃ 分别降温至 25、20、12、7 ℃,取反应器中各阶段的颗粒污泥混合液 10 mL,装入配备有透气硅胶塞的 150 mL 锥形瓶中,加入 90 mL 反应器进水 (pH=7.6~7.8),并置于机械摇床中,控制转速为 160 r·min⁻¹。每隔 10 min 或 20 min,取样测定上清液中亚硝态氮浓度、硝态氮和氨氮,并计算氨素转化速率。

为了更好地理解温度变化对 EPS 的影响,本研究提取位于核心的紧密结合的 TB-EPS、中间层松散结合的 LB-EPS 和最外层黏液的 S-EPS^[9],并采用三维荧光光谱 (EEM) 法进行分析^[10]。颗粒污泥胞外聚合物 (EPS) 采用甲醇-NaOH 法^[11]提取,蛋白质 (PN) 和多糖 (PS) 分别采用 Lowry 法和改进苯酚-硫酸法测定^[12]。

1.3 指标计算

采用批次实验考察不同运行工况下污泥的脱氮性能,并且结合拟合线性分析,通过测定氮素含量变化分别计算氨氮比降解速率 ($q(\text{NH}_4^+-\text{N})$)、硝态氮比累积速率 ($q(\text{NO}_3^--\text{N})$)、亚硝态氮的比累积速率 ($q(\text{NO}_2^--\text{N})$) 和总氮比降解速率 ($q(\text{TN})$) (以 N/MLVSS 计),单位为 $\text{mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$,计算方法参考文献^[8]。

2 结果与讨论

2.1 温度冲击对 PN/A 系统运行效能影响

不同温度冲击与恢复过程中反应器运行效能如图 2 所示。第 I 阶段 (1~30 d),将常温培养的 PN/A 颗粒污泥接种于 30 ℃ 反应器中,系统运行性能稳定,总氮平均去除率维持在 73.48% 左右。在第 II 阶段 (31~38 d),降温至 25 ℃,系统脱氮性能未出现明显变化。在第 39 天温度恢复到 30 ℃ 运行,总氮去除率维持稳定。如图 2(c) 所示, $\Delta\text{NO}_3^--\text{N}/\Delta\text{TN}$ 也一直在 0.11 左右。

第 III 阶段,系统在第 70 天由 30 ℃ 降温至 20 ℃,运行 7 d 后,总氮去除率略有下降,由 73.64% 降至 65.32%, $\Delta\text{NO}_3^--\text{N}/\Delta\text{TN}$ 值上升至 0.15。而后系统温度恢复至 30 ℃ 后再运行 30 d,这一阶段总氮平均去除率为 72.06%,总氮去除率在 2 d 内恢复至 73.26%。 $\Delta\text{NO}_3^--\text{N}/\Delta\text{TN}$ 值始终稳定在 0.11,恢复到未受过低温度冲击的初始水平。

第 IV 阶段,在第 109 天,温度由 30 ℃ 降温至 12 ℃ 运行 7 d。期间,出水氨氮去除率由最初的 82.52% 急剧下降至 67.62%。图 2(b) 中亚硝累积率有所上升 (由 6.68% 升至 8.61%), $\Delta\text{NO}_3^--\text{N}/\Delta\text{TN}$ 值升至 0.15。而图 2(d) 中总氮去除率及总氮去除负荷均有下降,其中总氮去除率下降至 58.35%。而后,系统在 30 ℃ 条件下恢复运行 30 d,总氮去除率缓慢逐渐提升至 61.28% 左右,与第 I 阶段的脱氮性能相比下降了 16.6%。

第 V 阶段 (148~155 d) 时,温度从 30 ℃ 降至 7 ℃,降幅达 23 ℃,系统脱氮性能快速下降,7 d 内,总氮去除率下降至 40.6%,而 $\Delta\text{NO}_3^--\text{N}/\Delta\text{TN}$ 均值从 0.12 上升至 0.30,总氮去除负荷降至 $0.67 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 。系统在第 156 天恢复至 30 ℃ 运行 30 d 后,最终总氮去除率仅恢复至 66.27%,与第 I 阶段相比,总氮去除率下降 21.6%。当经历过 7 ℃ 冲击后,再次将系统温度恢复至 30 ℃, $\Delta\text{NO}_3^--\text{N}/$

表 1 各阶段运行工况说明

Table 1 Operating parameters of the reactor at different operational stages

阶段	运行 时间/d	进水 NH_4^+-N 浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	温度 /℃	容积负荷 /($\text{kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$)
I	1~30	100	30	1.63
II	31~38	100	25	1.63
	39~69		30	
III	70~77	100	20	1.63
	78~108		30	
IV	109~116	100	12	1.63
	117~147		30	
V	148~155	100	7	1.63
	156~186		30	

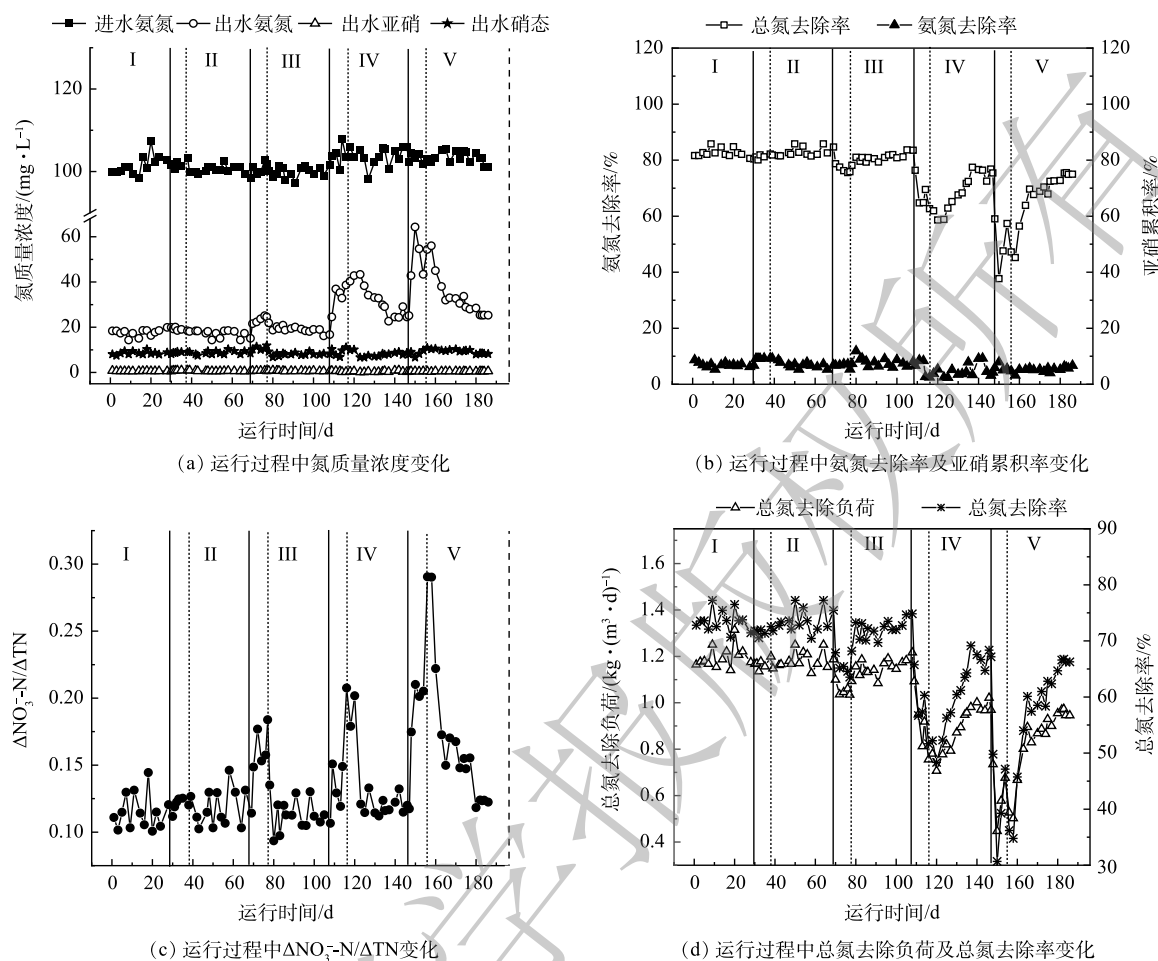


图2 温度波动与恢复过程中反应器脱氮效能变化

Fig. 2 Variations of nitrogen removal performance during temperature fluctuation and recovery process

ΔTN 也会下降, 最终 $\Delta\text{NO}_3^- \text{-N} / \Delta\text{TN}$ 平均值约为 0.15, 较第 I 阶段升高了近 38.73%。

SGompertz 模型曾成功用于拟合海藻糖添加条件下单周期内氨素的降解过程^[13]。本实验采用该模型拟合平均总氮去除负荷与温度以及总氮去除负荷差值与降温幅度的关系, 可决系数 R^2 分别为 0.9951 和 0.9984。如图 3 所示, 本实验数据符合预测值, 7℃ 下实验得出平均总氮负荷为 $0.67 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$, 曲线拟合预测值为 $0.66 \text{ kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$ 。预测值与实验值具有很好的相关性, 表明该模型可以很好地描述温度冲击与脱氮效能的关系。温度在 25~30℃, 总氮去除负荷相对稳定, 温度低于 20℃, 总氮去除负荷快速下降 (图 3(a))。温度降幅越大, 总氮去除负荷降幅呈指数级增长 (图 3(b))。采用 SGompertz 模型对温度与系统总氮去除负荷, 以及温度降幅与总氮去除负荷变化具有很好的拟合效果, 可以用于指导实际工程运行中系统稳定运行以及应对温度变化提供最佳运行参数。

2.2 温度冲击对 PN/A 系统运行效能影响原因分析

本研究的第 I~II 阶段, 脱氮性能无明显变化, 这与钱飞跃等^[4]研究结果一致。PN/A 颗粒污泥经低温驯化后, 最佳温度可由原来的 35℃ 降至为 25℃。有研究表明, 温差 2、4、6℃ 的波动对 AMX 系统脱氮性能不会产生明显影响^[14]。HU 等^[15]的研究表明, AnAOB 的生物反应器温度在 1 d 内从 30℃ 降至 25℃, 脱氮性能无不良影响。

在工程实践中常用温度依赖性 (θ) 值来表征颗粒污泥的敏感性, 其随着温度的降低而增加^[16]。通常 AnAOB 较 AOB、NOB 对温度更加敏感, 在低温条件下 AnAOB 的活性更易受抑制^[17-18]。

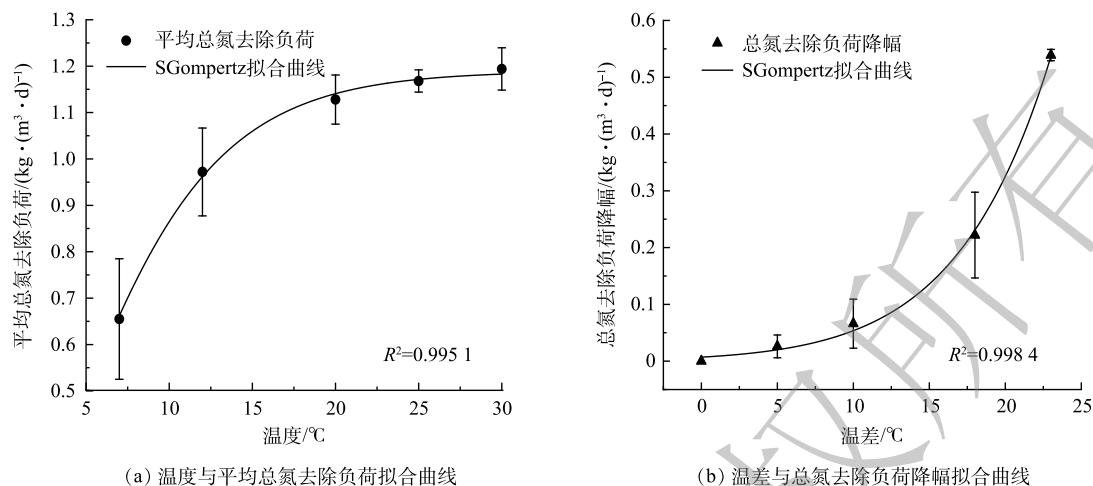


图3 SGompertz模型拟合温度与总氮去除负荷回归曲线

Fig. 3 Regression curve between TNRR and temperature fitted by the SGompertz model

LOTTI等^[19]的研究也证实 AnAOB 的 θ 值在较低温度 (10~20 $^{\circ}\text{C}$) 下增加。20 $^{\circ}\text{C}$ 通常被认为是影响 PNA 系统脱氮效率的分界线。温度从 35 $^{\circ}\text{C}$ 降到 20 $^{\circ}\text{C}$, 会导致生物量比活性大幅下降^[20], 但在 PNA 反应器中仍可实现了 71.4% 的高脱氮效率^[21]。这与本研究的结论相似。本研究 PN/A 颗粒污泥在这一温度范围内变化, AOB 和 AnAOB 都能保持良好的性能和微生物间的协同, 得益于 PN/A 颗粒的特殊结构, AOB 位于颗粒的最外层, NOB 紧随其后, 位于较薄的氧化区, AnAOB 位于颗粒内核, 这种特殊的传质结构使得 AnAOB 可以耐受降温的冲击^[22]。本研究发现 25 $^{\circ}\text{C}$ 时总氮去除速率及去除率都较高, 分别为 $6.60 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 77.84%。常温 PN/A 颗粒污泥可适应低温驯化, 导致 AnAOB 的最适温度前移^[4]。

本研究低温冲击后, AnAOB 活性受抑制, 出现亚硝酸盐未能及时被消耗而在体系内积累。有研究证实, 在 10 $^{\circ}\text{C}$ 下, 高浓度 AMX 系统中, 亚硝酸盐积累导致 AnAOB 活性下降 75%^[23]。此外, 伴随温度的降低, AOB 活性被抑制, 氧的利用率下降, 导致颗粒污泥中氧的渗透深度增加, AnAOB 的生存空间减小, 使其生长受到进一步的抑制。AINA 等研究发现, 15 $^{\circ}\text{C}$ 时 AOB 活性下降, AOB 层氧气消耗量减少, 导致氧气从颗粒外层向内部渗透, 抑制 AnAOB 活性, 反而更有利于 NOB 的生长^[24]。在低温下, 维持稳定的亚硝化 (PN) 是实现 PN/A 脱氮的关键前提。温度在 10 $^{\circ}\text{C}$ 到 15 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, AOB、NOB 的活性都下降, 但 NOB 的活性往往高于 AOB^[25]。本研究也证实, 在低温 7 $^{\circ}\text{C}$ 和 12 $^{\circ}\text{C}$ 时 AOB 的氨氧化效率下降, NOB 对亚硝酸盐和 O_2 的亲合力更高, 占据主导地位, 导致 $\Delta\text{NO}_3^- - \text{N} / \Delta\text{TN}$ 值升高, 这也增加 PN/A 颗粒污泥低温运行调控的难度。

在本研究中, 当 PN/A 颗粒温度降低到 7 $^{\circ}\text{C}$ 后, AnAOB 对底物亲和力、酶活性和传质速率等都受到显著抑制。这主要是由于微生物对温度依赖性的不同, 微生物种群结构发生变化, 脱氮性能及活性在短时间内无法恢复至最佳状态。宋成康等^[26]研究发现在温度 20~33 $^{\circ}\text{C}$ 下, SBR 反应器的厌氧氨氧化性能稳定高效, SAA 大于 $0.32 \text{ gN} \cdot (\text{gVSS} \cdot \text{d})^{-1}$, 当温度降至 10 $^{\circ}\text{C}$ 时, SAA 较 33 $^{\circ}\text{C}$ 时活性下降 91%。即使温度恢复微生物活性亦无法恢复至最佳状态, 与本研究结果非常相似。

2.3 不同温度下功能菌生物活性分析

PN/A 颗粒污泥中功能微生物对温度变化的响应不完全一致, 本研究通过分析不同温度条件下氮元素的转化规律 (图 4), 揭示温度与微生物活性的关系。由图 4(a) 可见, 在 30 $^{\circ}\text{C}$ 和 25 $^{\circ}\text{C}$ 时 $q(\text{NH}_4^+ - \text{N})$ 的最佳降解速率相近, 分别为 $6.60 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $7.48 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 25 $^{\circ}\text{C}$ 活性较高可能是该颗粒污泥在接种前经过长期低温驯化导致了最适温度出现前移的现象, 这与 KAWAGOSHI 等的观

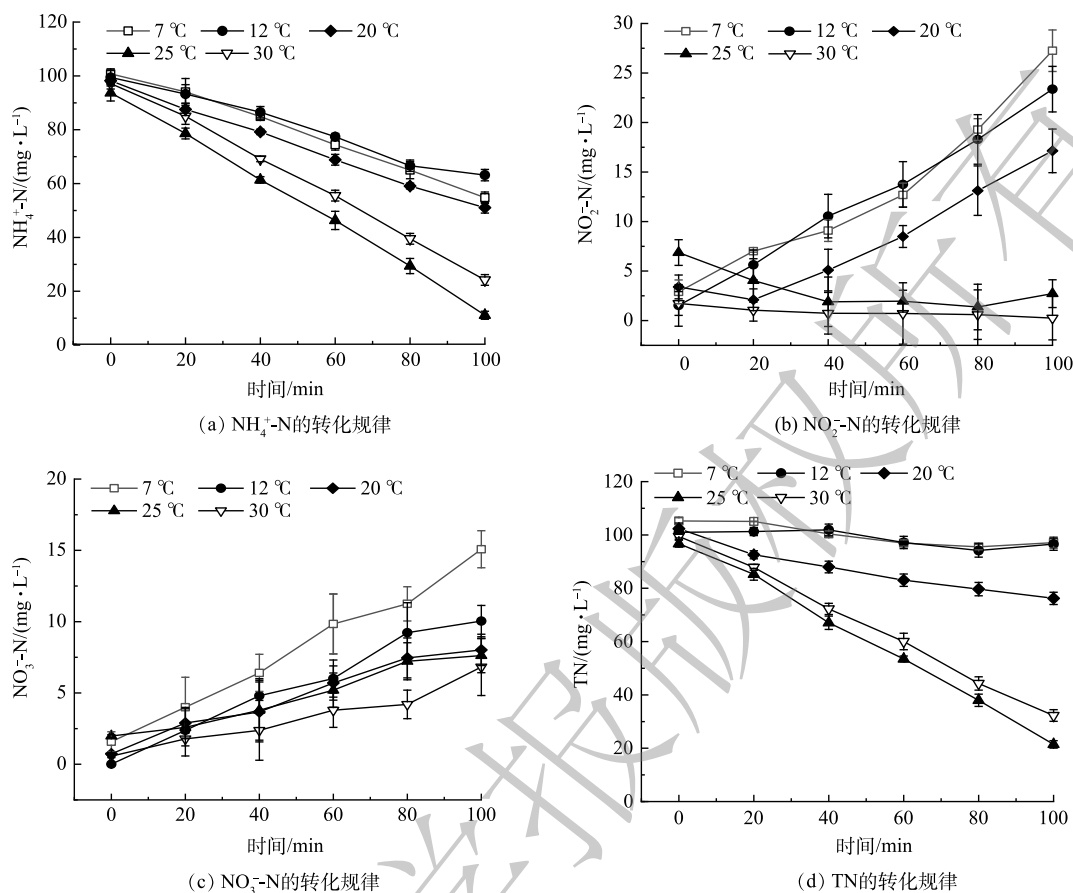


图4 不同温度批次实验氮素的转化规律

Fig. 4 The influence of different temperature on the change of nitrogen concentration

点一致^[27]。而7、12和20 °C时, $q(\text{NH}_4^+\text{-N})$ 有显著下降, 均值为 $3.91 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 。

在30 °C和25 °C的批次实验中未出现亚硝酸盐积累, 当温度降至12 °C和7 °C时, 出现显著的亚硝酸盐积累, 且温度越低, 亚硝酸盐积累率越高(图4(b)), 其质量浓度已达到 $25.30 \sim 28.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $q(\text{NO}_3^-\text{-N})$ 也相应增加, 分别达到 $0.91 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $1.22 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 因此, 出水硝酸盐浓度增加(图4(c))。这表明在低温下NOB具有更高的活性, 部分亚硝态氮被NOB利用生成硝酸盐, 最终导致 $q(\text{TN})$ 显著下降(图4(d))。在12 °C和7 °C时, $q(\text{TN})$ 分别为 $0.40 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 和 $0.74 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 相对于最佳温度为25 °C时, $q(\text{TN})$ 下降了94.13%和89.13%。这与温度冲击对PN/A颗粒污泥连续运行的影响具有很好的一致性。批次实验中出现TN下降, 亚硝酸积累, 证实AnAOB对低温更加敏感。这可能是由于低温使AMX过程的关键酶活性降低及蛋白质合成减缓影响跨膜转运, 从而抑制了反应进程, 导致亚硝态氮的积累^[28]。KUMAR等^[29]也发现, AnAOB的活性在低于10 °C时会被完全抑制。

综上所述, 温度对PN/A颗粒污泥中AOB、AnAOB以及NOB菌群活性影响不同, 各种功能微生物对底物(O_2 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 等)的利用速率有显著差异, 当有温度冲击时, 功能微生物种群竞争与协同性下降。

2.4 EPS对温度冲击的响应规律

本研究分析了温度冲击下不同阶段EPS组成和变化规律。如图5所示, TB-EPS和LB-EPS中PS含量逐渐增加, 易于形成三维网状结构, 利于PN和PS的相互协作及细胞间物质转换和能量传递, 同时, 增加AnAOB和TB-EPS中EPS修饰酶活性, 使EPS分层更加趋于稳定。

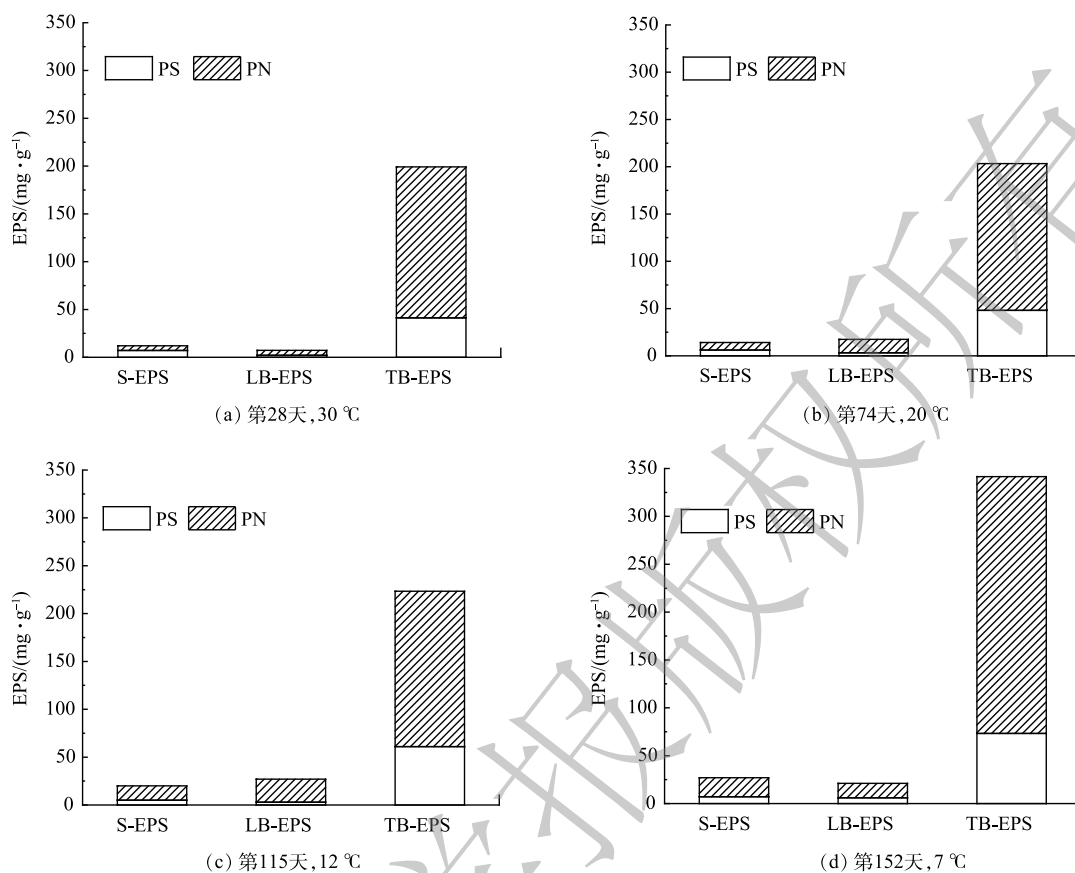


图5 不同温度下PN/A颗粒污泥中EPS组分和含量的变化

Fig. 5 Variation of EPS content in PN/A granular sludge at different temperatures

在实验的低温冲击阶段, PN/A颗粒污泥从30℃降至20℃时, EPS总量及3层组分基本无变化; 而当PN/A颗粒污泥中经历30℃突降至12℃后, EPS总量较30℃增加了12.14%, LB层的蛋白质含量增加至原来的5倍; 当受到更低的温度冲击(7℃), EPS总量也增长了原来的50%, TB层的蛋白质大幅增长至268.36 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, SB层和LB层的多糖及蛋白质与30℃及20℃相比都略有增长。研究实际污水厂污泥时, 发现EPS含量与温度存在负相关, 冬季时污泥的EPS含量高于夏季, 温度下降时, 多糖、蛋白质、腐植酸组分均会升高, 这主要是由于在低温环境下微生物分泌了更多的EPS来应对环境变化^[30]。从本实验结果看, EPS对微生物低温生长起到保护作用, 但若EPS过量则会改变颗粒污泥的传质结构, 使污泥沉降性变差, 最终导致脱氮性能恶化。

AnAOB适应低温时, QS信号分子通过改变细菌细胞膜的结构和冷应激蛋白的含量以及积累抗低温胁迫代谢物, 进而影响细菌低温下的代谢调控^[31]。低温可能会刺激分泌更多QS的信号分子来调节EPS, 霍唐燃等发现在25℃条件下酰化高丝氨酸内酯(AHLs, Acyl-homoserine lactones)合成的前体物质SAM显著增加, 导致AnAOB用于种内通讯的关键信号分子AHLs的含量增加^[32]。AHLs在AnAOB菌群的微生物聚集中具有重要作用, AHLs增加了AnAOB菌群中特定氨基酸的含量, 从而诱导了PN的产生^[33], ZHAO等^[34]发现AMX颗粒污泥反应器中含AHLs的上清液对PN和PS的合成分别起到33.5%和48.6%的促进作用。QS与EPS的关系应用为提高PNA工艺脱氮性能提供了新的思路。

为了进一步了解EPS组分, 运用三维荧光光谱(EEM)探究了12℃及7℃污泥样品中的EPS, 以检测EPS含有的荧光特性物质。不同的荧光峰位置代表不同的物质, 强度则表示其相对含量大

小。由图6可见, 峰A位于激发波长/发射波长 (Ex/Em) 为 290~300 nm/340~350 nm 处, 为色氨酸类蛋白质; 峰B和峰C分别位于 Ex/Em 为 220~260 nm/400~440 nm 和 220~350 nm/430~440 nm 处, 为腐殖酸物质及芳香类蛋白质。有研究表明, 酪氨酸和色氨酸均属于芳香类蛋白, 这类蛋白是污泥结构稳定的关键^[35]。本研究中色氨酸或腐殖酸物质及芳香类蛋白物质的荧光强度显示出与PN相同的变化趋势。

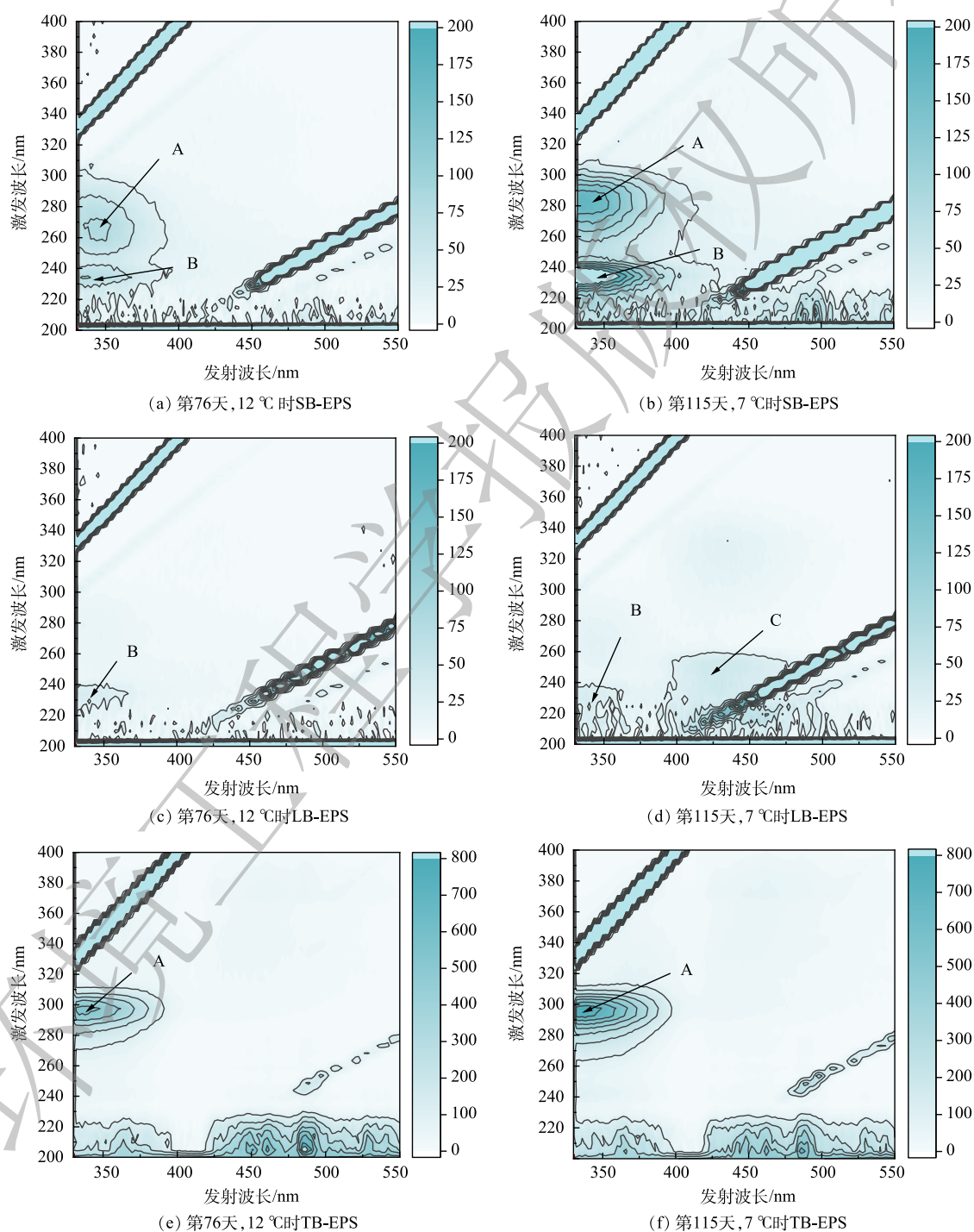


图6 低温条件下污泥中EPS提取物三维荧光图谱变化

Fig. 6 Variation of EEM fluorescence spectra of EPS extracted from PN/A granular sludge at low temperatures

在 LB-EPS 和 TB-EPS 的荧光光谱中仅观察到 A 峰和 B 峰, 表明蛋白质是主要成分。这与 EPS 组成分析结果(图 6)一致。此外, 温度为 7 ℃ 时, A 峰和 B 峰的荧光强度明显高于温度为 12 ℃ 时, 尤其是 TB-EPS。这进一步表明, 低温刺激可增加 EPS 的分泌, 特别是含有大量蛋白质的 TB-EPS, 可以丰富内部细胞的营养, 从而保护微生物免受环境危害。

3 结论

1) PN/A 颗粒污泥在 25~30 ℃ 性能最佳, 低温冲击会抑制 PN/A 脱氮性能。12 ℃ 以下的低温冲击后, 系统性能难以完全恢复。温度降至 7 ℃, 总氮去除率下降至 40.6%, 恢复至 30 ℃ 运行, 最终总氮去除率恢复至 66.27%, 相对于初始稳定状态, 总氮去除率约下降 10%。

2) SGompertz 模型可有效拟合温度与系统总氮去除负荷, 以及温度降幅与总氮去除负荷波动的关系, 相关系数 R^2 均在 0.995 以上, 经验证预测值与实验值无明显差异, 具有很好的相关性。

3) 温度对 PN/A 颗粒污泥中 AOB、AnAOB 以及 NOB 菌群活性影响不同, AnAOB 对低温更加敏感。温度低于 15 ℃ 时, AOB 和 AnAOB 种群难以有效协同。

4) 在 20~30 ℃ 时, PN/A 颗粒污泥中 EPS 总量及 TB、LB、SB 组分稳定, 温度降至 12 ℃ 以下, EPS 总量和 TB 等各组分都大幅增加, 在 7 ℃ 时 EPS 总量较 30 ℃ 时增加了 50%, TB 层的蛋白质增长至 268.36 mg·g⁻¹。根据 EEM 检测发现, 低温可刺激 TB-EPS 分泌更多色氨酸类蛋白物质。

参考文献

- [1] GONG X, WANG B, QIAO X, et al. Performance of the anammox process treating low-strength municipal wastewater under low temperatures: Effect of undulating seasonal temperature variation[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 312: 123590.
- [2] ISAKA K, DATE Y, KIMURA Y, et al. Nitrogen removal performance using anaerobic ammonium oxidation at low temperatures[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, 282(1): 32-38.
- [3] 杨朝晖, 徐峥勇, 曾光明, 等. 不同低温驯化策略下的厌氧氨氧化活性[J]. *中国环境科学*, 2007, 27(3): 300-305.
- [4] 刘雨馨, 王建芳, 钱飞跃, 等. 低温下全自养脱氮颗粒污泥适应低基质效能[J]. *环境科学*, 2020, 41(9): 4161-4168.
- [5] LAURENI M, FALAS P, ROBIN O, et al. Mainstream partial nitrification and anammox: Long-term process stability and effluent quality at low temperatures[J]. *Water Research*, 2016, 101: 628-639.
- [6] TENG Z, SHAO W, ZHANG K, et al. Pb biosorption by leclercia adecarboxylata: Protective and immobilized mechanisms of extracellular polymeric substances[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 375: 122113-122113.
- [7] ZHANG Q, FAN N S, FU J J, et al. Role and application of quorum sensing in anaerobic ammonium oxidation (anammox) process: A review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2021, 51(6): 626-648.
- [8] 陈希, 钱飞跃, 王建芳, 等. 环境因子对全自养脱氮颗粒污泥功能菌协同效应的影响[J]. *环境科学*, 2018, 39(4): 1756-1762.
- [9] GU C, GAO P, YANG F, et al. Characterization of extracellular polymeric substances in biofilms under long-term exposure to ciprofloxacin antibiotic using fluorescence excitation-emission matrix and parallel factor analysis[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2017, 24(15): 13536-13545.
- [10] MIAO L, WANG S, CAO T, et al. Advanced nitrogen removal from landfill leachate via anammox system based on sequencing biofilm batch reactor (SBBR): Effective protection of biofilm[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 220: 8-16.
- [11] 李金璞, 张雯雯, 杨新萍. 活性污泥污水处理系统中胞外多聚物的作用及提取方法[J]. *生态学杂志*, 2018, 37(9): 2825-2833.
- [12] ADAV S S, LEE D J. Extraction of extracellular polymeric substances from aerobic granule with compact interior structure[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 154(1/2/3): 1120-1126.
- [13] 杨振琳, 于德爽, 李津, 等. 海藻糖强化厌氧氨氧化耦合反硝化工艺处理高盐废水的脱氮除碳效能[J]. *环境科学*, 2018, 39(10): 4612-4620.
- [14] MENG Y, ZHOU Z, MENG F. Impacts of diel temperature variations on nitrogen removal and metacommunity of anammox biofilm reactors[J]. *Water Research*, 2019, 160(SEP.1): 1-9.
- [15] HU Z, LOTTI T, DE KREUK M, et al. Nitrogen removal by a nitrification-anammox bioreactor at low temperature[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(8): 2807-2812.
- [16] PARK G, TAKEKAWA M, SODA S, et al. Temperature dependence of nitrogen removal activity by anammox bacteria enriched at low temperatures[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2017, 123(4): 505-511.
- [17] REINO C, SUÁREZ-OJEDA M E, PÉREZ J, et al. Kinetic and microbiological characterization of aerobic granules performing partial

- nitritation of a low-strength wastewater at 10 °C[J]. *Water Research*, 2016, 101: 147-156.
- [18] ZHOU H, LI X, XU G, et al. Overview of strategies for enhanced treatment of municipal/domestic wastewater at low temperature[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 643: 225-237.
- [19] LOTTI T, KLEEREBEZEM R, VAN LOOSDRECHT M C M. Effect of temperature change on anammox activity[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2015, 112(1): 98-103.
- [20] VÁZQUEZ-PADÍN J R, FERNANDEZ I, MORALES N, et al. Autotrophic nitrogen removal at low temperature[J]. *Water Science and Technology*, 2011, 63(6): 1282-1288.
- [21] JEONG D, LIM H, KIM W. Low-ammonia wastewater treatment by integration of partial nitritation and anaerobic ammonium oxidation (anammox) at 20°C[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(2): 105122.
- [22] ZHANG L, OKABE S. Ecological niche differentiation among anammox bacteria[J]. *Water Research*, 2020, 171: 115468.
- [23] LOTTI T, KLEEREBEZEM R, VAN ERP TAALMAN KIP C, et al. Anammox growth on pretreated municipal wastewater[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(14): 7874-7880.
- [24] SOLER-JOFRA A, WANG R, KLEEREBEZEM R, et al. Stratification of nitrifier guilds in granular sludge in relation to nitritation[J]. *Water Research*, 2019, 148: 479-491.
- [25] YANG Q, PENG Y, LIU X, et al. Nitrogen removal via nitrite from municipal wastewater at low temperatures using real-time control to optimize nitrifying communities[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(23): 8159-8164.
- [26] 宋成康, 王亚宜, 韩海成, 等. 温度降低对厌氧氨氧化脱氮效能及污泥胞外聚合物的影响[J]. *中国环境科学*, 2016, 36(7): 2006-2013.
- [27] KAWAGOSHI Y, FUJISAKI K, TOMOSHIGE Y, et al. Temperature effect on nitrogen removal performance and bacterial community in culture of marine anammox bacteria derived from sea-based waste disposal site[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2012, 113(4): 515-520.
- [28] 丁爽. 厌氧氨氧化关键技术及其机理的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [29] KUMAR M, LIN J G. Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal: Strategies and issues[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 178(1-3): 1-9.
- [30] WILÉN B M, LUMLEY D, MATTSSON A, et al. Relationship between floc composition and flocculation and settling properties studied at a full scale activated sludge plant[J]. *Water Research*, 2008, 42(16): 4404-4418.
- [31] 郑贝贝. 耐冷菌 *Bacillus cereus* MYB41-22 群体感应系统与其温度适应性相关功能研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2018.
- [32] 霍唐燃, 潘珏君, 刘思彤. 基于代谢组的厌氧氨氧化菌群对温度的响应机制[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(8): 1936-1945.
- [33] TANG X, GUO Y, WU S, et al. Metabolomics uncovers the regulatory pathway of acyl-homoserine lactones based quorum sensing in anammox consortia[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(4): 2206-2216.
- [34] ZHAO R, ZHANG H, ZHANG F, et al. Fast start-up anammox process using acyl-homoserine lactones (AHLs) containing supernatant[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 65: 127-132.
- [35] ZHU L, ZHOU J, LV M, et al. Specific component comparison of extracellular polymeric substances (EPS) in flocs and granular sludge using EEM and SDS-PAGE[J]. *Chemosphere*, 2015, 121: 26-32.

(责任编辑: 曲娜)

Effect of short-term low-temperature shock on the denitrification efficiency of PN/A granular sludge and its microbial performance

WANG Sifan¹, LIU Yuxin¹, WANG Jianfang^{1,2,3,*}, QIAN Feiyue^{1,2,3}, FENG Xinyu¹, TANG Yuchao¹

1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China;

2. National and Local Joint Engineering Laboratory of Municipal Sewage Resource Utilization Technology, Suzhou 215009,

China; 3. Jiangsu High Education Collaborative Innovation Center of Water Treatment Technology and Material, Suzhou 215009, China

*Corresponding author, E-mail: wjf302@163.com

Abstract Different functional bacterial groups in normal temperature partial nitrification/anammox (PN/A) granular sludge have different response mechanisms to temperature, which can easily lead to an imbalance of the denitrification system under low temperature conditions. In this study, the stress effects of PN/A granular sludge system under temperature shock were investigated, including the response of denitrification performance, microbial activity and EPS to temperature shock, and the feasibility of system performance recovery after temperature shock was also investigated. The results showed that PN/A granular sludge had the best performed on denitrification at 25~30 °C, with an average total nitrogen removal rate of 73.48%, and low temperature shock could inhibit PN/A denitrification performance, the lower the temperature was, the greater the effect on the total nitrogen removal rate was. The low-temperature shock below 12°C could lead to the decrease of the average TN removal rate to 40.6%, even when the temperature rose back to 30°C, the average TN removal rate only returned to 66.27%. The SGompertz model could effectively fit the relationship between temperature and total nitrogen removal load, as well as the relationship between temperature reduction and total nitrogen removal load variation, with the determination coefficients R^2 above 0.995. The effects of temperature on the activity of AOB, AnAOB and NOB flora in PN/A granular sludge were different, and AnAOB was more sensitive to low temperature. At 12 °C and 7 °C, total nitrogen specific degradation rate ($q(\text{TN})$) was $0.40 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ and $0.74 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, respectively, which decreased by 93.42% and 93.42% compared with that at 30 °C. The total amount of EPS and TB, LB and SB fractions were essentially stable at 20~30 °C. When the temperature dropped below 12 °C, the total amount of EPS and each EPS fraction increased significantly. According to the EEM analysis, low temperature could stimulate TB-EPS to secrete more tryptophan-like protein substances.

Keywords PN/A granular sludge; low temperature shock; continuous flow reactor; functional microbial activity