

垃圾渗滤液膜浓缩液中总氮深度脱除的工艺优化及微生物机理解析

刘 宁^{1,2}, 陆 杰², 罗 琦^{2,3}, 邱晨晨³,
杨 庆³, 黄开龙^{2,3}, 叶 林², 张徐祥²

(1. 南京大学金陵学院, 江苏南京 210032;

2. 南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 江苏南京 210023;

3. 南京江岛环境科技研究院有限公司, 江苏南京 210019)

[摘要] 为了开发高效低耗的垃圾渗滤液膜浓缩液处理方法, 以江苏某垃圾焚烧厂渗滤液膜浓缩液为研究对象, 通过优化调控碳源种类、水力停留时间(HRT)、碳氮比(C/N)等运行条件, 考察反应器的脱氮效能, 并揭示其深度脱氮的微生物学机理。研究表明, 从碳源种类来看, 葡萄糖体系和乙酸钠体系的反硝化效能相较甲醇体系更加高效稳定、耐冲击负荷, 且葡萄糖体系处理成本为乙酸钠体系的一半; 从 HRT、C/N 来看, 工艺运行过程调控 HRT、C/N 参数对系统脱氮效能造成的冲击均是可逆的。通过优化获得的最佳运行条件为以葡萄糖为外加碳源, HRT=12 h, C/N=3.5。基于 16S rRNA 高通量测序结果显示碳源种类对反应器中微生物群落结构影响较大, 而 HRT 和 C/N 对脱氮微生物群落结构影响较小。稳定运行期间主要优势反硝化脱氮菌为 *Vibrio* (弧菌属)、*Marinobacter* (海杆菌属)、*Halomonas* (盐单胞菌属)、*Paracoccus* (副球菌属)、*Rhodocyclaceae* (红环菌科)、*Carnobacteriaceae* (肉杆菌科)、*Porphyromonadaceae* (紫单胞菌科)、*Pseudomonas* (假单胞菌属)、*Xanthomonadaceae* (黄单胞菌科) 和 *Flavobacteriaceae* (黄杆菌科)。

[关键词] 垃圾渗滤液膜浓缩液; 碳源种类; 水力停留时间; 碳氮比; 成本分析

[中图分类号] X703.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-829X(2022)05-0067-10

Deep removal efficiency of total nitrogen from landfill leachate membrane concentrate: Process optimization and microbial mechanism analysis

LIU Ning^{1,2}, LU Jie², LUO Qi^{2,3}, QIU Chenchen³, YANG Qing³,
HUANG Kailong^{2,3}, YE Lin², ZHANG Xuxiang²

(1. Nanjing University Jinling College, Nanjing 210032, China; 2. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China;
3. Nanjing Jiangdao Institute of Environmental Research Co., Ltd., Nanjing 210019, China)

Abstract: In order to explore a more efficient and low consumption landfill leachate membrane concentrate (LLC) treatment method, the LLC of a waste incineration plant in Jiangsu was chosen as the research object. This research investigated the optimization of UASB denitrification process and evaluated the effects of different operating conditions (carbon source type, hydraulic retention time and carbon nitrogen ratio) on denitrification efficiency, microbial community structure and treatment cost. The results showed that the denitrification efficiency of glucose system and sodium acetate system was more efficient, stable and impact resistant than that of methanol system, and the treatment cost of glucose system was half of that of sodium acetate system. In terms of HRT and C/N, the effects of HRT

[基金项目] 国家自然科学基金项目(52100082); 江苏省重点研发计划(社会发展)项目(BE2019635); 污染控制与资源化研究国家重点实验室开放基金项目(PCRRF19004、PCRRF20018); 江苏高校青蓝工程中青年学术带头人(苏教师[2017]15号); 2020年度南京大学金陵学院校企共建课题“水处理工程设计”(0010522014)

and C/N on the efficiency of denitrification system were reversible. The optimum operating parameters were as follows: the carbon source, HRT, C/N were glucose, 12 h, and 3.5, respectively. Furthermore, 16S rRNA high-throughput sequencing technology was used to investigate the effects of operating conditions on the microbial community structure of UASB. The results showed that carbon source types had a greater influence on the microbial community structure in UASB, while HRT and C/N had a smaller influence on the bacterial structure composition. The main dominant denitrifying bacteria were *Vibrio*, *Marinobacter*, *Halomonas*, *Paracoccus*, Rhodocyclaceae, Carnobacteriaceae, Porphyromonadaceae, *Pseudomonas*, Xanthomonadaceae and Flavobacteriaceae.

Key words: landfill leachate membrane concentrate; carbon source type; hydraulic retention time; carbon nitrogen ratio(C/N); cost analysis

城镇化进程的快速推进导致生活垃圾围城现象日益严重,仅2020年我国就产生了2.4亿t生活垃圾,约占全球垃圾产量的17%^[1]。随着垃圾减量化无害化处理等相关政策与标准的发布^[2],焚烧处理已逐步替代卫生填埋成为垃圾无害化处理的主流方式^[3],但在焚烧过程中会产生包含多种有害物质的垃圾渗滤液(LL)。行业金标准“生物处理+膜处理”的组合工艺处理LL,虽然出水达标,但会产生15%~30%的垃圾渗滤液膜浓缩液(LLC)。垃圾焚烧厂中LLC属于高氮、高盐、高有机难降解废水,其主要污染物为高浓度的氮(TN)与大分子难降解有机物。高级氧化是有效去除LLC中难降解有机物的重要方法,但该方法无法脱除LLC中的TN。研究表明^[4],经UASB+A/O+UF+NF+RO处理后,NO₃⁻-N成为LLC中最主要的氮素污染物。生物法(上流式厌氧污泥床,Up-flow Anaerobic Sludge Bed, UASB)具有脱氮性能好、耐冲击能力强、成本较低、便于操作等优点,非常适合LLC的深度脱氮。

由于反硝化脱氮的功能微生物主要是异养菌,碳源种类、HRT、碳氮比(C/N)是影响生物脱氮效能的主要因素,也是实际工程运行成本的决定性因素。因此,本研究围绕碳源种类、HRT、C/N这三个运行参数,探究UASB深度脱除LLC中TN的最佳工艺条件。同时,采用16S rRNA高通量测序技术,阐明UASB优化调控过程中微生物群落结构变化规律,揭示LLC深度脱氮的微生物学机理,为LLC厌氧处理工程实践提供理论依据与技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验装置

脱氮装置为UASB,材质为有机玻璃,总容积为3.0 L,其中反应区有效容积为2.0 L,内径为10 cm,

高度为26 cm。UASB反应器装置示意图见图1。

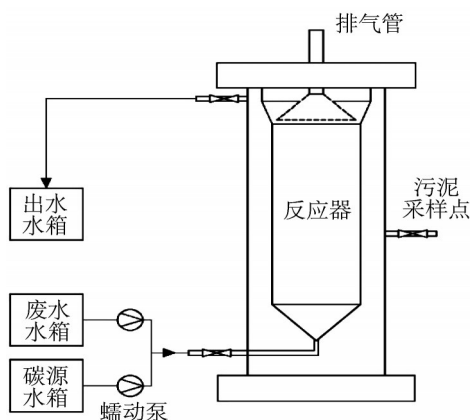


图1 UASB反应器装置示意

Fig. 1 Schematic diagram of UASB reactor

1.2 进水水质与运行方案

接种污泥取自与废水同厂的生化段。污泥质量浓度(MLSS)为4.9 g/L,挥发性悬浮物质量浓度(VSS)为3.4 g/L。反应器启动时均加入等量的接种污泥(10.0 g),以保证各实验组启动条件一致,具体实验方案如下:

1.2.1 碳源种类调控与优化方案

本实验设置3个独立运行的UASB反应器(R1、R2、R3),分别投加葡萄糖、乙酸钠和甲醇。采用逐级提高进水负荷的方法来驯化启动反应器,具体运行条件见表1。

表1 不同碳源种类条件下反应器的启动和运行条件

Table 1 The start-up and operating conditions of the reactor based on different carbon source types

| 阶段 | 时间/d | 进水水质 | | | | HRT/h |
|----|--------|--------------------------|------------------------------|-------------------------------|-----|-------|
| | | $V_{LLC}:V_{\text{自来水}}$ | TN/ (mg·L ⁻¹) | COD/ (mg·L ⁻¹) | C/N | |
| 1 | 1~40 | 1:5 | 206.3±5.6 | 139±25 | 4 | 24 |
| 2 | 41~80 | 1:1 | 618.8±16.9 | 418±76 | 4 | 24 |
| 3 | 81~120 | 1:0 | 1 237.6±33.8 | 837±152 | 4 | 24 |

1.2.2 HRT调控与优化方案

采用启动后的葡萄糖体系反应器R1,进行HRT调控与优化。设置4个HRT条件(24、12、8、12 h),具体运行条件见表2。

表2 HRT调控运行条件

| 阶段 | 时间/d | 进水水质 | | | HRT/h |
|----|---------|--------------------------|-----------------------------|-----|-------|
| | | TN/(mg·L ⁻¹) | 进水COD/(mg·L ⁻¹) | C/N | |
| 1 | 1~40 | 1 205.6±38.2 | 832±150 | 4 | 24 |
| 2 | 41~80 | 1 197.6±43.8 | 799±133 | 4 | 12 |
| 3 | 81~120 | 1 318.6±21.9 | 861±126 | 4 | 8 |
| 4 | 121~160 | 1 237.6±33.8 | 837±152 | 4 | 12 |

1.2.3 C/N调控与优化方案

采用葡萄糖体系反应器R1,在HRT=12 h条件下进行C/N的调控与优化,设置3个C/N运行条件(4、3、3.5),具体运行条件见表3。

表3 C/N调控运行条件

Table 3 Regulation and operating conditions of different C/N ratios

| 阶段 | 时间/d | 进水水质 | | | HRT/h |
|----|--------|--------------------------|---------------------------|-----|-------|
| | | TN/(mg·L ⁻¹) | COD/(mg·L ⁻¹) | C/N | |
| 1 | 1~40 | 1 241.6±58.2 | 807±192 | 4 | 12 |
| 2 | 41~80 | 1 176.2±39.1 | 787±122 | 3 | 12 |
| 3 | 81~120 | 1 231.9±44.3 | 827±161 | 3.5 | 12 |

在反应器运行期间,每48 h采集出水水样(3个平行),经0.45 μm微孔过滤器过滤后进行水质检测。此外,在每个运行阶段末期进行污泥样品的采集(3个平行),并用50%乙醇固定,保存至-80℃冰箱。

1.3 水质指标与分析方法

常规水质检测指标见表4(3次平行,结果以平均值表示),测定具体操作步骤参考《水和废水检测分析方法》(第四版)和相关仪器的应用说明书。

关于脱氮效能的相关计算公式见式(1)、式(2)。

亚硝酸盐转化率(NTR):

$$NTR = \frac{c(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{eff.}} - c(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{inf.}}}{c(\text{NO}_3^- - \text{N})_{\text{inf.}} - c(\text{NO}_3^- - \text{N})_{\text{eff.}}} \times 100\% \quad (1)$$

亚硝酸盐积累率(NAR):

$$NAR = \frac{c(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{eff.}} - c(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{inf.}}}{c(\text{NO}_3^- - \text{N})_{\text{inf.}} + c(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{inf.}}} \times 100\% \quad (2)$$

式中: $c(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{eff.}}$ ——出水亚硝酸盐氮质量浓度,mg/L;

$c(\text{NO}_2^- - \text{N})_{\text{inf.}}$ ——进水亚硝酸盐氮质量浓度,mg/L;

表4 常规水质指标检测方法与参考标准

Table 4 Conventional water quality test methods and the reference standards

| 分析项目 | 分析方法 | 参考标准 |
|---------------------------------|-------------------|---------------------|
| pH | 玻璃电极法 | 梅特勒 F2-standard |
| 电导率 | 电导率水质自动分析仪 | HJ/T 97—2003 |
| COD | 重铬酸盐法 | GB 11914—89 |
| TOC | 燃烧氧化非分散红外吸收法 | HJ 501—2009 |
| BOD ₅ | 无汞压差法快速测定法 | WTW BOD OxiTop IS12 |
| NH ₄ ⁺ -N | 纳氏试剂分光光度法 | HJ 535—2009 |
| NO ₂ ⁻ -N | N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法 | GB 7493—87 |
| NO ₃ ⁻ -N | 紫外分光光度法 | HJ/T 346—2007 |
| TN | 碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法 | HJ 636—2012 |
| TP | 钼酸铵分光光度法 | GB 11893—89 |
| Cl ⁻ | 离子色谱法 | HJ 84—2016 |
| SO ₄ ²⁻ | 离子色谱法 | HJ 84—2016 |
| K ⁺ | 火焰原子吸收分光光度法 | GB 11904—89 |
| Na ⁺ | 火焰原子吸收分光光度法 | GB 11904—89 |
| Ca ²⁺ | 原子吸收分光光度法 | GB 11905—89 |
| Mg ²⁺ | 原子吸收分光光度法 | GB 11905—89 |
| SS | 重量法 | — |

$c(\text{NO}_3^- - \text{N})_{\text{eff.}}$ ——出水硝酸盐氮质量浓度,mg/L;

$c(\text{NO}_3^- - \text{N})_{\text{inf.}}$ ——进水硝酸盐氮质量浓度,mg/L。

1.4 DNA提取、高通量测序及生物信息学分析

采用FastDNA™ Spin Kit DNA提取试剂盒(MP Biomedicals, Europe)提取污泥样品中DNA,并将DNA样品送往生工生物工程(上海)股份有限公司进行16S rRNA基因的V4区高通量测序^[5],高通量数据处理流程见图2。

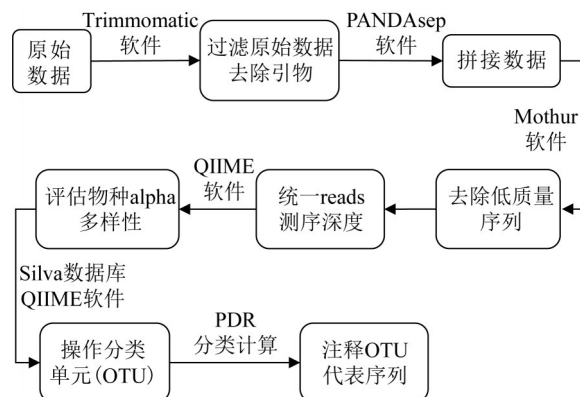


图2 高通量测序数据处理流程

Fig. 2 The flowchart of high-throughput sequencing data processing

1.5 碳源成本分析

碳源成本分析见式(3)、式(4)。

$$P_1 = \frac{1}{R \times F} \cdot \frac{c}{f} \cdot C/N \quad (3)$$

$$P_2 = P_1 \cdot C_{TN} \quad (4)$$

式中: P_1 ——去除单位氮的碳源成本, 元/kg;
 R ——反应器的TN平均去除率, %;
 F ——碳源与COD换算常数 ($F_{\text{葡萄糖}}=1.067$,
 $F_{\text{乙酸钠}}=0.78$);
 c ——碳源单价, 元/kg;
 f ——碳源纯度, %;
 C/N ——碳氮比;
 P_2 ——处理单位体积废水的碳源成本, 元/ m^3 ;
 C_{TN} ——进水总氮质量浓度, mg/L。

2 结果与讨论

2.1 反硝化脱氮碳源优化及其菌群变化特征和运行成本分析

2.1.1 不同碳源条件下的脱氮效能分析

碳源种类对反硝化工艺的脱氮效能与处理成本影响较大, 本研究选取常用的葡萄糖、乙酸钠、甲醇这三种有机物分别作为反应器R1、R2、R3的外加碳源, 不同碳源体系下反应器的脱氮效能具体情况见图3。

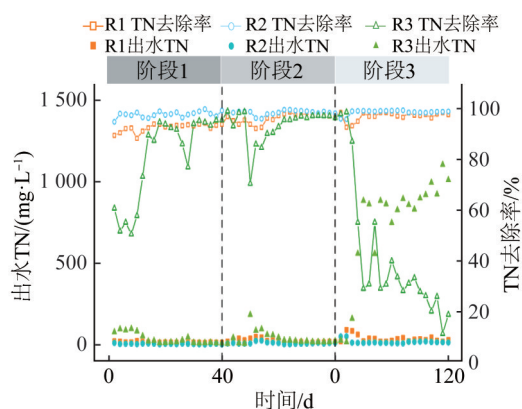


图3 不同碳源体系出水TN及TN去除率

Fig. 3 The TN concentrations and their removal efficiency of effluent in different carbon source systems

由图3可知, 在反应器启动和稳定运行阶段, R1和R2均具有稳定高效的脱氮效能。在阶段1, R1和R2分别运行14 d和4 d后系统达到稳定; 阶段2, R1和R2运行较为稳定, TN去除率波动不明显, 阶段1和2中TN平均去除率均在96%以上, 出水TN持续低于40 mg/L; 阶段3, R1和R2脱氮效能出现波动, 出水TN>70 mg/L, 分别运行10 d和4 d后恢复脱氮效能, 运行稳定后, TN平均去除率均达97%以上, TN容积负荷去除速率达1.20 kg/($m^3 \cdot d$), 出水TN平均浓度符合相应标准^[6]。

在反应器启动驯化阶段, R3具有高效脱氮效能。阶段1, R3运行16 d后, 系统脱氮效能稳定, 出水TN<40 mg/L; 阶段2, R3的TN去除率先降低后增加, 运行16 d后恢复至90.56%, 后续系统保持高效脱氮效能, 出水TN<50 mg/L, 阶段1和2脱氮效能稳定后TN平均去除率均保持在91%以上; 阶段3, R3运行4 d后系统开始出现污泥酸化现象, 脱氮效能大幅度持续降低, TN去除率和出水TN分别在10.81%~54.93%和557.7~1 103.8 mg/L范围内波动, 严重超出排放标准限值^[6], 运行40 d后R3仍无法恢复。

上述结果表明, 碳源种类对UASB的反硝化效能影响较大。R1、R2呈现出高效稳定的反硝化脱氮效能, 其原因是糖类等简单碳源易被微生物利用进行反硝化作用。但葡萄糖需要先进行酸化与发酵才能参与反硝化作用^[7-8], 因此, R2的稳定性与脱氮效能略优于R1。R3投加的甲醇属于低级醇类, 易生物降解, 反硝化效能极高^[9-10]。但甲醇又是强还原性化合物^[11], 高浓度甲醇严重抑制微生物的增长、降低其增长速率。综上所述, 葡萄糖、乙酸钠均可作为UASB去除LLC中TN的外加碳源。检测R1与R2运行末期出水水质, 出水COD分别为(1 034±177) mg/L和(1 208±72) mg/L, 表明反应器中投加的碳源有部分未被使用, 后续需进一步优化C/N。

2.1.2 不同碳源条件下的微生物群落结构变化特征

对接种污泥(CK)和反应器R1、R2、R3运行末期(120 d)的污泥微生物群落进行Alpha多样性分析, 不同碳源体系污泥样品中Chao1和Shannon指数(相似度97%)见图4。

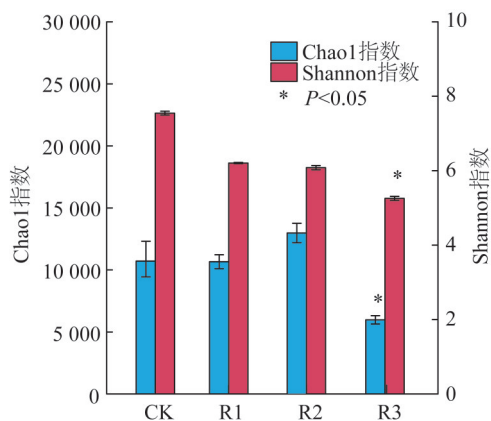


图4 不同碳源体系污泥样品中Chao1和Shannon指数

Fig. 4 Chao1 and Shannon index of sludge samples within different carbon source systems

由图4可知,与CK相比,R1与R2中微生物多样性未发生显著性变化,而R3中污泥的Chao1指数与Shannon指数均显著降低($p<0.05$),表明葡萄糖与乙酸钠体系的微生物丰富度与多样性比甲醇体系高。

在OTU水平上分析了不同碳源对微生物菌群结构的影响,结果见图5。

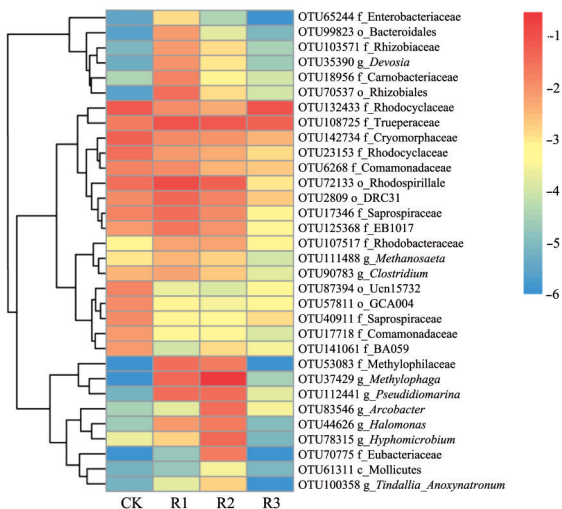


图5 不同碳源体系中微生物群落结构组成(OTU水平)

Fig. 5 Variations of microbial community structure at OTU level in different carbon source systems

由图5可知,与CK相比,葡萄糖体系(R1)与乙酸钠体系(R2)中微生物群落的优势功能菌变化较大,而甲醇体系(R3)的变化较小。*Methylophaga*(噬甲基菌属)、*Halomonas*(盐单胞菌属)、*Hyphomicrobium*(生丝微菌属)、*Devosia*(德沃斯氏菌属)和*Pseudidiomarina*同为R1与R2的新增优势菌,Enterobacteriaceae(肠杆菌科)、Bacteroidales(拟杆菌目)和*Arcobacter*(弓形杆菌属)、Eubacteriaceae(优杆菌科)分别为R1和R2特有的新增优势菌。新增优势菌中除优杆菌科和拟杆菌目外,其余都属于变形菌门。已有研究表明*Methylophaga*(噬甲基菌属^[12])、*Halomonas*(盐单胞菌属^[13])、*Hyphomicrobium*(生丝微菌属^[12])均为耐盐脱氮反硝化菌,*Devosia*(德沃斯氏菌属^[14-15])、Enterobacteriaceae(肠杆菌科^[16-17])、Bacteroidales(拟杆菌目^[18-19])均为反硝化系统中的脱氮优势菌,*Arcobacter*(弓形杆菌属)为反硝化过程中关键的完全缺氧反硝化菌^[20]。由此可知,R1、R2中微生物多样性高且反硝化功能菌种类多,是R1、R2具有高效脱氮效能的主要原因。

2.1.3 不同碳源条件下的运行成本分析

因脱氮效能较差,甲醇不适合作为LLC脱氮的外加碳源,故后续仅评估葡萄糖和乙酸钠作为外加碳源的运行成本,该阶段进水TN为(1 237.6±33.8) mg/L,C/N为4,UASB处理LLC的反硝化效能与碳源成本分析见表5。

表5 UASB处理LLC的反硝化效能与碳源成本分析

Table 5 Denitrification efficiency and carbon source cost analysis of LLC treated by UASB

| 碳源种类 | TN平均去除率/% | 出水TN/(mg·L ⁻¹) | TN容积负荷去除速率/(kg·m ⁻³ ·d ⁻¹) | 去除氮的碳源成本/(元·kg ⁻¹) | 处理废水的碳源成本/(元·m ⁻³) |
|------|------------|----------------------------|---|--------------------------------|--------------------------------|
| 葡萄糖 | 97.10±2.11 | 35.8±10.1 | 1.20 | 19.5 | 24.1 |
| 乙酸钠 | 98.67±1.77 | 16.4±11.6 | 1.22 | 39.6 | 49.0 |

由表5可知,葡萄糖与乙酸钠体系均具有高效稳定的脱氮效能,反应器出水TN平均浓度均低于TN标准排放限值^[6],两个反应器的TN平均去除率和TN容积负荷去除速率无显著差异($p>0.05$);但从处理成本来看,葡萄糖体系处理成本只占到乙酸钠体系的一半左右。综合考虑反应器的处理效能和外加碳源成本,后续将选取葡萄糖作为UASB脱除LLC中TN的外加碳源。

2.2 反硝化工艺HRT优化及其菌群变化特征分析

2.2.1 不同HRT条件下的脱氮效能分析

合适的HRT既能够保证生物工艺的脱氮效能

又能降低运行成本,因此需对葡萄糖体系的HRT进行优化调控,以获得最适HRT,不同HRT条件下的脱氮效能分析见图6。

由图6可知,当HRT为24 h(阶段1)时,系统反硝化效能稳定;当HRT为12 h(阶段2)时,系统对TN去除效能略有波动,运行10 d后可恢复高效的脱氮作用。稳定运行期间,阶段1和2中TN和NO₃⁻-N的平均去除率均高于97%,阶段2的TN容积负荷去除速率是阶段1[1.21 kg/(m³·d)]的2倍,出水TN、NO₃⁻-N和NO₄⁺-N的平均浓度均满足排放标准^[6]。

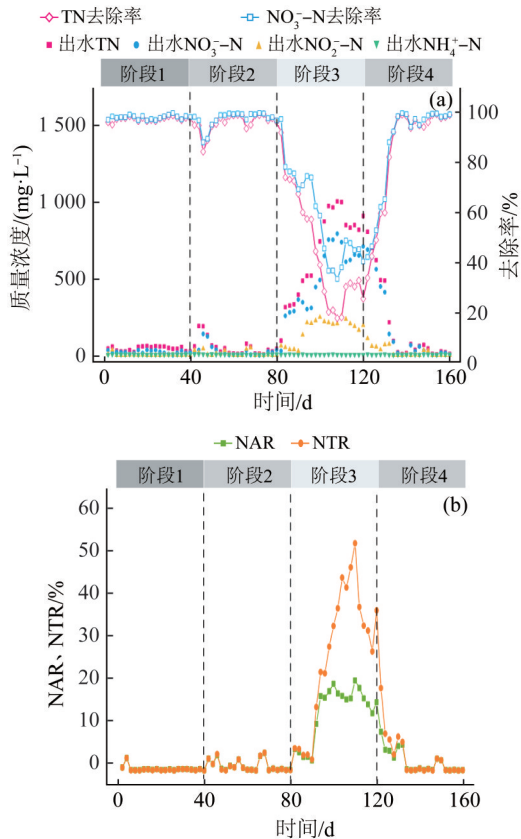


图6 不同HRT条件下的脱氮效能分析

Fig. 6 Analysis of the nitrogen removal efficiency under different HRT conditions

当HRT为8 h(阶段3)时,反硝化系统崩溃,出水TN持续超标。运行40 d后系统仍无法恢复脱氮效能且出现亚硝酸盐的累积,出水TN平均为 $(905.6 \pm 68.4) \text{ mg/L}$,系统NTR和NAR波动范围分别为21.17%~51.83%和11.78%~19.50%,过短的HRT使系统无法实现完全的反硝化作用,外加碳源葡萄糖停留在酸化发酵阶段,未能提供反硝化所需的电子,系统产生的 NO_2^- -N随水流出^[21]。

当HRT回调至12 h(阶段4)时,反应器效能逐渐恢复,亚硝酸盐累积现象逐渐消失,运行12 d后TN和 NO_3^- -N的去除率均恢复至82%以上,NTR和NAR降至1%以下;稳定运行后,TN和 NO_3^- -N的平均去除率均高达97%,TN容积负荷去除速率与阶段2时持平,各污染物浓度均满足排放标准^[6]。

综上所述,12 h是UASB处理LLC最佳水力停留时间。对阶段4(12 h)运行末期出水进行检测,出水COD为 $(1\,147 \pm 86) \text{ mg/L}$,高于HRT为24 h出水

COD,表明HRT缩短后,UASB的C/N仍有进一步优化的空间。

2.2.2 不同HRT条件下的微生物群落结构变化特征

采集每个运行阶段末期的污泥进行微生物群落进行Alpha多样性分析,结果见图7。

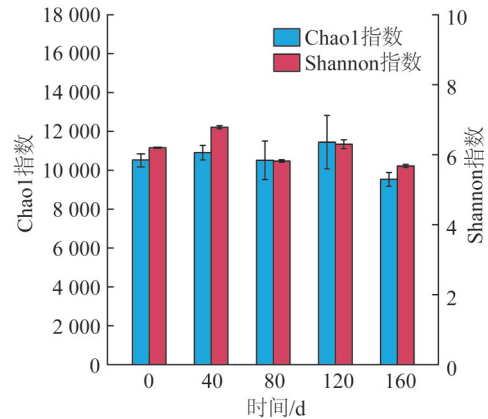


图7 不同HRT体系污泥样品中Chao1和Shannon指数(相似度97%)

Fig. 7 Chao1 and Shannon index of sludge samples within different HRT systems (similarity 97%)

由图7可知,HRT对UASB中微生物丰富度与多样性影响较小,与运行调控前相比,不同HRT条件下反应器中污泥微生物的多样性未发生显著性变化($p > 0.05$)。

在OTU水平上分析了不同HRT对微生物群落结构组成的影响,结果见图8。

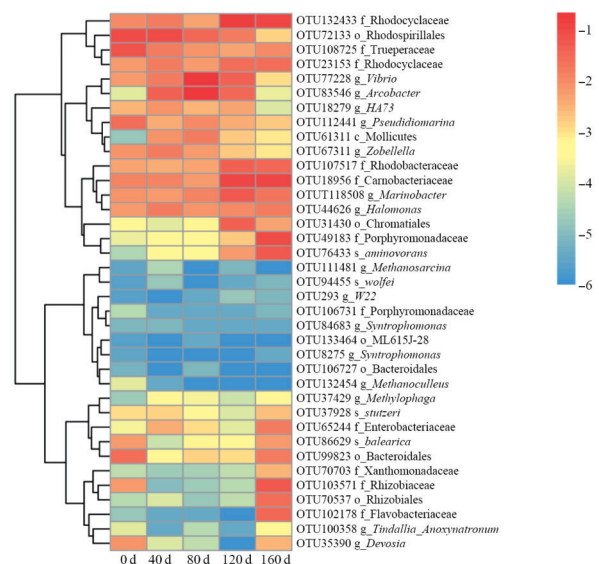


图8 不同HRT体系微生物群落结构组成(OTU水平)

Fig. 8 Variations of microbial community structure at OTU level in different HRT systems

由图8可知,HRT调控与优化过程中,各阶段微生物群落的优势功能菌构成相似,主要有 *Arcobacter* (弓形杆菌属)、*Vibrio* (弧菌属)、*Halomonas* (盐单胞菌属)、*Zobellia* (佐贝氏菌属)、*Marinobacter* (海杆菌属)、*Paracoccus* (副球菌属)、*Rhodocyclaceae* (红环菌科)、*Carnobacteriaceae* (肉杆菌科)、*Porphyromonadaceae* (紫单胞菌科)、*Pseudidiomarina*、*Trueperaceae* 和 *Dethiosulfovibrionaceae*。其中, *Vibrio* (弧菌属^[22-24])、*Marinobacter* (海杆菌属^[25-27])、*Halomonas* (盐单胞菌属^[13]) 和 *Paracoccus* (副球菌属^[28]) 为耐盐反硝化脱氮菌属, *Rhodocyclaceae* (红环菌科^[29-30])、*Carnobacteriaceae* (肉杆菌科^[31-32]) 和 *Porphyromonadaceae* (紫单胞菌科^[33-34]) 含有厌氧反硝化菌, *Zobellia* (佐贝氏菌属^[35]) 与 *Arcobacter* (弓形杆菌属^[20]) 均为脱氮系统中优势反硝化菌。 *Pseudomonas* (假单胞菌属)、*Xanthomonadaceae* (黄单胞菌科)、*Flavobacteriaceae* (黄杆菌科)、*Rhizobiaceae* (根瘤菌科) 为反硝化相关菌^[36-39], 在阶段4运行末期, 相对丰度均显著增加。值得注意的是, 反硝化效能较差(HRT为8 h)阶段与反硝化效能较好(HRT为24 h和12 h)阶段其微生物群落结构无显著差异($p>0.05$), 表明HRT对UASB中微生物群落结构的影响较小。

2.3 反硝化工艺 C/N 优化及其菌群变化特征和运行成本分析

2.3.1 不同 C/N 条件下的脱氮效能分析

对UASB进行C/N的调控与优化,可兼顾脱氮效能与处理成本,不同C/N对UASB处理LLC脱氮能效的影响见图9。

由图9可知,当C/N为4(阶段1)时,系统反硝化效能稳定,TN和 NO_3^- -N的平均去除率均高于97%,TN容积负荷去除速率达到 $2.42 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$,出水TN、 NO_3^- -N和 NH_4^+ -N的平均浓度均满足排放标准^[6]。

当调整C/N至3(阶段2)时,运行10 d后反硝化系统崩溃,TN去除率下降至60%~85%且持续波动;运行40 d后,系统脱氮效能仍无法恢复且出现亚硝酸盐积累,出水TN显著升高,NTR和NAR逐渐升高。系统反硝化作用不完全是由亚硝酸盐还原酶的活性远低于硝酸盐还原酶所引起的,加之 NO_2^- -N还原成 N_2 的反应能耗高于 NO_3^- -N转化成 NO_2^- -N的能耗。在低C/N条件下,碳源未能提供足够的电子和能量, NO_3^- -N还原作用不完全,产生 NO_2^- -N累积现象,出水TN严重超标^[9]。

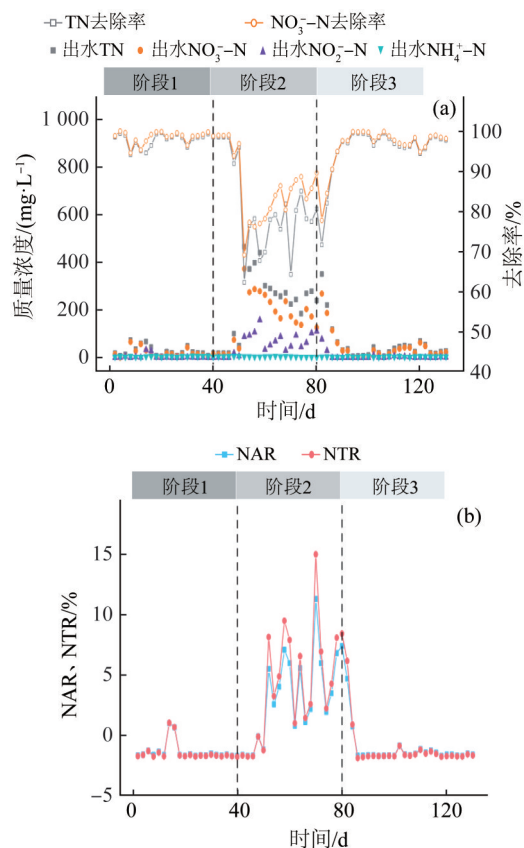


图9 不同C/N条件下的脱氮效能分析

Fig. 9 Analysis of the nitrogen removal efficiency under different C/N conditions

当C/N调整为3.5(阶段3)时,反应器效能逐渐恢复,亚硝酸盐累积现象逐渐消失,运行10 d后系统TN和 NO_3^- -N的去除率均恢复至97%,NTR和NAR均降低至0.5%以下。稳定运行后,各方面性能与C/N为4(阶段1)时保持一致。检测该阶段运行末期出水COD为 $(794 \pm 126) \text{ mg/L}$,说明外加碳源已被完全降解,并未造成额外的COD污染。

2.3.2 不同 C/N 条件下的微生物群落结构变化特征

采集每个运行阶段末期的污泥对不同C/N体系微生物群落进行Alpha多样性分析(相似度97%),结果见图10。

由图10可知,当C/N为4时微生物的多样性未发生显著性变化($p>0.05$);当C/N调整至3时微生物的多样性显著降低($p<0.05$),表明低C/N条件下的微生物丰富度与多样性较低;当C/N回调整至3.5时,Chao1指数与Shannon指数均有所增加,表明提高C/N可增强反应器中污泥微生物的多样性^[40]。

不同C/N对反应器中微生物群落结构的影响见

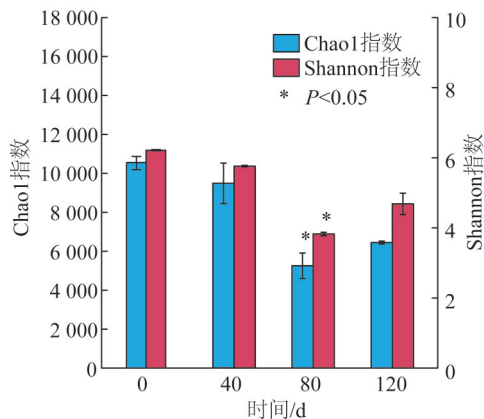


图 10 不同 C/N 污泥样品中 Chao1 和 Shannon 指数

Fig. 10 Chao1 and Shannon index of sludge samples within different C/N ratio systems

图 11。

由图 11 可知,当 C/N 为 4(阶段 1)时,UASB 中微生物群落结构与调控前的微生物群落结构相似,主要优势反硝化菌种类基本一致,表明该反应器反硝化体系稳定;当 C/N 调整至 3(阶段 2)时,污泥中 *Pseudomonas*(假单胞菌属)、*Xanthomonadaceae*(黄单胞菌科)、*Rhizobiaceae*(根瘤菌科)、*Flavobacteriaceae*(黄杆菌科)相对丰度降低,前人研究表明 *Pseudomonas*(假单胞菌属)、*Xanthomonadaceae*(黄单胞菌科)和 *Flavobacteriaceae*(黄杆菌科)与反硝化作用息息相关^[38-41],低 C/N 严重抑制了 UASB 中反硝化菌种的生长,从而降低了系统的反硝化效能;当 C/N 调整至 3.5(阶段 3)时,上述 4 类菌种的相对丰度增加,反应器中微生物群落结构与阶段 1 趋于一致,系统亦恢复了高效的反硝化效能,表明 C/N 升高可促进反硝

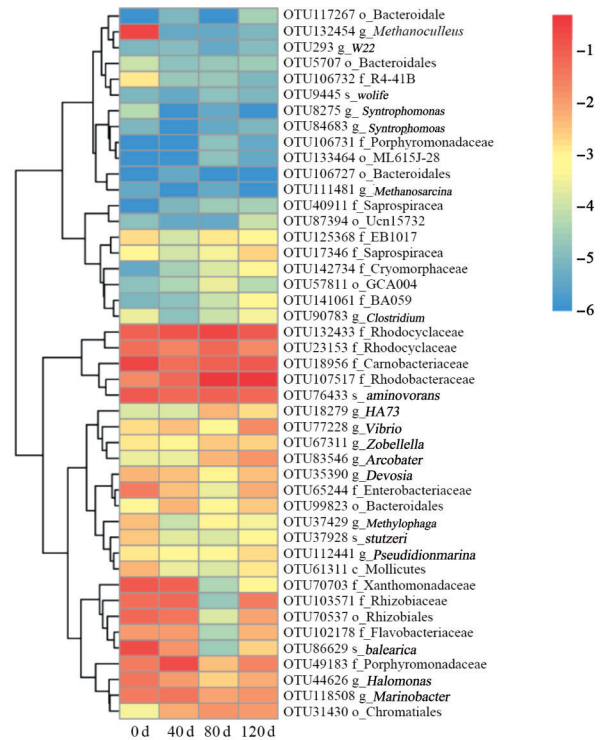


图 11 不同 C/N 体系微生物群落结构组成(OTU 水平)

Fig. 11 Variations of microbial community structure at OTU level in different C/N ratio systems

化菌的生长,进而强化了系统反硝化效能^[42-43]。

2.3.3 不同 C/N 条件下的运行成本分析

由上述结果可知 C/N 为 4 和 3.5 时,UASB 具有高效脱氮效能,因此本节仅对 C/N 为 4 和 3.5 的葡萄糖体系进行碳源成本分析,该阶段进水 TN 为 $(1\ 237.6 \pm 33.8)$ mg/L, HRT 为 12 h。根据式 3 和式 4,反应器中碳源投加成本分析的结果详见表 6。

表 6 UASB 处理 LLC 的反硝化脱氮效能与碳源成本分析

Table 6 Denitrification efficiency and carbon source cost analysis of LLC treated by UASB

| C/N | TN 平均去除率/% | 出水 TN/(mg·L ⁻¹) | TN 容积负荷去除速率/(kg·m ⁻³ ·d ⁻¹) | 去除氮的碳源成本/(元·kg ⁻¹) | 处理废水的碳源成本/(元·m ⁻³) |
|-----|------------|-----------------------------|--|--------------------------------|--------------------------------|
| 4 | 97.75±1.65 | 27.48±20.17 | 2.42 | 19.4 | 23.9 |
| 3.5 | 97.60±1.47 | 34.58±16.54 | 2.42 | 17.0 | 20.9 |

由表 6 可知,当 C/N 分别为 4 和 3.5 时,UASB 均具有高效稳定的脱氮效能,反应器出水 TN 分别为 (27.4 ± 20.1) mg/L 和 (34.5 ± 16.5) mg/L, TN 平均去除率和 TN 容积负荷去除速率无显著差异($p > 0.05$);从处理成本来看,C/N 为 3.5 的处理成本低于 C/N 为 4,此外,当 C/N 为 3.5 时,外加碳源被完全利用。因此,综合反应器的处理效能和运行成本,UASB 处理 LLC

中 TN 的最佳碳氮比为 3.5。

3 结论

(1) 碳源种类对 UASB 的脱氮效能、微生物群落结构组成及运行成本影响较大。与甲醇相比,葡萄糖和乙酸钠作为外加碳源时均能够实现 LLC 的高效脱氮,且两体系的微生物组成相似。综合考虑脱氮

效能和运行成本,故选择葡萄糖作为 UASB 深度脱除 LLC 中 TN 的外加碳源。

(2)HRT 对 UASB 的脱氮效能影响较大,但对微生物群落结构的影响较小。综合考虑脱氮效能和运行成本,UASB 深度脱除 LLC 中 TN 的最适 HRT 为 12 h。

(3)C/N 对 UASB 处理 LLC 的脱氮效能和运行成本影响较大,但对微生物群落结构影响较小。综合考虑脱氮效能和运行成本,UASB 深度脱除 LLC 中 TN 的最适 C/N 为 3.5。

参考文献

- [1] KAZA S, YAO L C, BHADA-TATA P, et al. What a waste 2.0: A global snapshot of solid waste management to 2050 [M]. USA, Washington D C: World Bank, 2018: 1-100.
- [2] 国家统计局. 中国统计年鉴 2020(附光盘)[M]. 北京: 中国统计出版社, 2020: 23-35.
The People's Republic of China. China statistical yearbook 2020[M]. Beijing: China Statistics Press, 2020: 23-35.
- [3] LU Jiawei, ZHANG Sukun, HAI Jing, et al. Status and perspectives of municipal solid waste incineration in China: A comparison with developed regions[J]. Waste Management, 2017, 69: 170-186.
- [4] 吴莉娜, 史泉, 张杰, 等. UASB1-A/O-UASB2 深度处理垃圾渗滤液[J]. 环境科学研究, 2015, 28(8): 1331-1336.
WU Lina, SHI Xiao, ZHANG Jie, et al. Advanced treatment of landfill leachate using the UASB1-A/O-UASB2[J]. Research of Environmental Sciences, 2015, 28(8): 1331-1336.
- [5] 蔡媛, 刘浩, 王勇庆, 等. 基于 16S rRNA 基因高通量测序方法分析多花黄精内生细菌群落结构及多样性[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(7): 846-852.
CAI Yuan, LIU Hao, WANG Yongqing, et al. Analysis of structure and diversity of endophytic bacteria community in polygonatum cyrtoneura and diversity based on 16S rRNA gene high-throughput sequencing [J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2020, 40(7): 846-852.
- [6] GB 166889—2008 生活垃圾填埋场污染控制标准[S].
GB 166889—2008 Standard for pollution control of domestic waste landfill[S].
- [7] 徐亚同. 不同碳源对生物反硝化的影响[J]. 环境科学, 1994, 15(2): 29-44.
XU Yatong. Influence of different carbon sources on denitrification[J]. Chinese Journal of Environmental Science, 1994, 15(2): 29-44.
- [8] HU Yongmin, LU Yaobin, LIU Guangli, et al. Effect of the structure of stacked electro-Fenton reactor on treating nanofiltration concentrate of landfill leachate[J]. Chemosphere, 2018, 202: 191-197.
- [9] 阎宁, 金雪标, 张俊清. 甲醇与葡萄糖为碳源在反硝化过程中的比较[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2002, 31(3): 41-44.
YAN Ning, JIN Xuebiao, ZHANG Junqing. A comparison between the processes of denitrification with glucose and methanol as carbon source[J]. Journal of Shanghai Teachers University, 2002, 31(3): 41-44.
- [10] 姜桂华. 碳源对人工微生物脱氮的影响研究[J]. 水资源保护, 2001, 17(1): 29-30.
JIANG Guihua. Effect of organic carbon on nitrogen removal from artificial microorganism[J]. Water Resources Protection, 2001, 17(1): 29-30.
- [11] GRADY P L, LIM H C. 废水生物处理理论与应用[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 1989: 11-28.
GRADY P L, LIM H C. Theory and application of wastewater biological treatment[M]. Beijing: China Construction Industry Press, 1989: 11-28.
- [12] TIMMERMAN P, HAUTE A V. Denitrification with methanol: Fundamental study of the growth and denitrification capacity of *Hyphomicrobium* sp[J]. Water Research, 1983, 17(10): 1249-1255.
- [13] PEYTON B M, MORMILE M R, PETERSEN J N. Nitrate reduction with halomonas campisalis: Kinetics of denitrification at pH 9 and 12.5% NaCl[J]. Water Research, 2001, 35(17): 4237-4242.
- [14] FALK S, LIU Binbin, BRAKER G. Isolation, genetic and functional characterization of novel soil nir K-type denitrifiers[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2010, 33(6): 337-347.
- [15] IANNACONE F, DI CAPUA F, GRANATA F, et al. Simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal in a continuous-flow moving bed biofilm reactor alternating microaerobic and aerobic conditions[J]. Bioresource Technology, 2020, 310: 123453.
- [16] 颜薇芝, 郝健, 孙俊松, 等. 拉乌尔菌 sari01 的分离及其异养硝化好氧反硝化特性[J]. 环境科学, 2016, 37(7): 2673-2680.
YAN Weizhi, HAO Jian, SUN Junsong, et al. Isolation of raoultella sp. sari01 and its heterotrophic nitrification-aerobic denitrification characteristics[J]. Environmental Science, 2016, 37(7): 2673-2680.
- [17] CHEN Jinchen, LIU Xiaoguang, PAVLOSTATHIS S G. Long-term evaluation of the effect of peracetic acid on a mixed aerobic culture: Organic matter degradation, nitrification, and microbial community structure[J]. Water Research, 2021, 190: 116694.
- [18] TIAN Xueping, ZHAO Jingtao, HUANG Jun, et al. The metabolic process of aerobic granular sludge treating piggery wastewater: Microbial community, denitrification genes and mathematical model calculation[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2021, 9(4): 105392.
- [19] MAEDA K, MIYATAKE F, ASANO R, et al. Response of the denitrifier community and its relationship with multiple N₂O emission peaks after mature compost addition into dairy manure compost with forced aeration[J]. Chemosphere, 2018, 206: 310-319.
- [20] PISHGAR R, DOMINIC J A, SHENG Zhiya, et al. Denitrification performance and microbial versatility in response to different selection pressures[J]. Bioresource Technology, 2019, 281: 72-83.
- [21] 吴姣姣, 黎远梅, 谭东梅, 等. HRT 对 UASB 厌氧反硝化脱氮的影响[J]. 环境工程学报, 2018, 12(5): 1510-1516.
WU Jiaojiao, LI Yuanmei, TAN Dongmei, et al. Effects of HRT on anaerobic denitrification in UASB[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2018, 12(5): 1510-1516.
- [22] LIU Xing, WANG Qingkui, LI Lianxing, et al. Characterization of

- aerobic denitrification genome sequencing of *Vibrio parahaemolyticus* strain HA2 from recirculating mariculture system in China [J]. *Aquaculture*, 2020, 526: 735295.
- [23] SHIEH W Y. *Vibrio ruber* sp. nov., a red, facultatively anaerobic, marine bacterium isolated from sea water [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2003, 53 (2): 479-484.
- [24] REN Jilong, MA Hongjing, LIU Ying, et al. Characterization of a novel marine aerobic denitrifier *Vibrio* spp. AD2 for efficient nitrate reduction without nitrite accumulation [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2021, 28(24): 30807-30820.
- [25] RUAN Yunjie, KUMAR AWASTHI M, CAI Lei, et al. Simultaneous aerobic denitrification and antibiotics degradation by strain *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* RAD2 [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 313: 123609.
- [26] CARREIRA C, NUNES R F, MESTRE O, et al. The effect of pH on *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* denitrification pathway and nitrous oxide reductase [J]. *Journal of Biological Inorganic Chemistry: JBIC: A Publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry*, 2020, 25(7): 927-940.
- [27] LIAO Runhua, SHEN Ke, LI Aimin, et al. High-nitrate wastewater treatment in an expanded granular sludge bed reactor and microbial diversity using 454 pyrosequencing analysis [J]. *Bioresource Technology*, 2013, 134: 190-197.
- [28] TAKII S, HANADA S, TAMAKI H, et al. Dethiosulfatibacter aminovorans gen. nov., sp. nov., a novel thiosulfate-reducing bacterium isolated from coastal marine sediment via sulfate-reducing enrichment with Casamino acids [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57(10): 2320-2326.
- [29] YE Zhengfang, WANG Feng, BI Haitao, et al. Denitrification of nitrate-contaminated groundwater using a simple immobilized activated sludge bioreactor [J]. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 2012, 66(3): 517-524.
- [30] CHU Libing, WANG Jianlong. Denitrification performance and biofilm characteristics using biodegradable polymers PCL as carriers and carbon source [J]. *Chemosphere*, 2013, 91(9): 1310-1316.
- [31] HUANG Jiansheng, GUO Yong, YANG Ping, et al. Performance evaluation and bacteria analysis of AFB-MFC enriched with high-strength synthetic wastewater [J]. *Water Science and Technology: A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 2014, 69(1): 9-14.
- [32] SIP A, GRAJEK W, DEMBCZYŃSKI R, et al. Relationship between divercin production and *Camobacteriumdivergens* growth [J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2007, 16: 563-568.
- [33] HAHNKE S, MAUS I, WIBBERG D, et al. Complete genome sequence of the novel Porphyromonadaceae bacterium strain ING2-E5B isolated from a mesophilic lab-scale biogas reactor [J]. *Journal of Biotechnology*, 2015, 193: 34-36.
- [34] SIMPSON M. From citizen diplomacy to national security: Reraming the international visitor leadership program [J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2014, 57(2): 342-346.
- [35] 李小义, 王丽萍, 赖其良, 等. 一株卓贝尔氏菌 F13-1 好氧反硝化特性及其反硝化基因的初步研究 [J]. *应用海洋学学报*, 2016, 35(1): 122-129.
- LI Xiaoyi, WANG Liping, LAI Qiliang, et al. Preliminary study on aerobic denitrification characteristics of *Zobellella* sp. F13-1 [J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2016, 35(1): 122-129.
- [36] ALMEIDA J S, JÚLIO S M, REIS M A M, et al. Nitrite inhibition of denitrification by *Pseudomonas fluorescens* [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1995, 46(3): 194-201.
- [37] ALMEIDA J S, REIS M A M, CARRONDO M J T. Competition between nitrate and nitrite reduction in denitrification by *Pseudomonas fluorescens* [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1995, 46(5): 476-484.
- [38] WANG Shuo, QIAN Kai, ZHU Yin, et al. Reactivation and pilot-scale application of long-term storage denitrification biofilm based on flow cytometry [J]. *Water Research*, 2019, 148: 368-377.
- [39] WANG Zhiyue, YAO Yinuo, STEINER N, et al. Impacts of nitrogen-containing coagulants on the nitrification/denitrification of anaerobic digester centrate [J]. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 2020, 6(12): 3451-3459.
- [40] 沈一君, 彭明国, 徐彬焜, 等. 紫外活化过硫酸盐降解二苯甲酮-4 的动力学影响及降解机理与风险评估 [J]. *环境科学研究*, 2019, 32(1): 174-182.
- SHEN Yijun, PENG Mingguo, XU Binkun, et al. Degradation of BP₄ by UV-activated persulfate process: Kinetic, mechanism and risk [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2019, 32(1): 174-182.
- [41] DENG Qiujin, SU Chengyuan, LU Xinya, et al. Performance and functional microbial communities of denitrification process of a novel MFC-granular sludge coupling system [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 306: 123173.
- [42] ZHOU Yaoyu, XIANG Yujia, HE Yangzhuo, et al. Applications and factors influencing of the persulfate-based advanced oxidation processes for the remediation of groundwater and soil contaminated with organic compounds [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 359: 396-407.
- [43] 赵杰俊, 刘祖文, 蔡晓媛, 等. 短程硝化-厌氧氨氧化工艺控制方法与机理分析 [J]. *工业水处理*, 2021, 41(10): 36-43.
- ZHAO Jiejun, LIU Zuwen, CAI Xiaoyuan, et al. Control method and mechanism analysis of partial nitrification-Anammox process [J]. *Industrial Water Treatment*, 2021, 41(10): 36-43.

[作者简介] 刘宁(1973—), 博士, 副教授。E-mail: liuning@nju.edu.cn。通讯作者: 黄开龙, 博士。E-mail: huangkl@nju.edu.cn。

[收稿日期] 2022-04-18(修改稿)