

DOI:10.11918/202501023

# 饥饿条件和添加硝酸盐的好氧颗粒污泥形成与稳定性优化

李冬<sup>1</sup>, 蒋鹏飞<sup>1</sup>, 李帅<sup>1</sup>, 傅思博<sup>1</sup>, 张杰<sup>1,2</sup>

(1. 水质科学与水环境恢复工程北京市重点实验室(北京工业大学), 北京 100124;  
2. 城乡水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学), 哈尔滨 150090)

**摘要:** 针对好氧颗粒污泥(aerobic granular sludge, AGS)工程应用中普遍存在的颗粒结构稳定性不足问题, 提出延长水力停留时间(hydraulic retention time, HRT)与硝酸盐协同调控策略, 旨在明确二者协同作用对AGS颗粒结构稳定性的强化机制。实验设置了4组序批式反应器(SBR), 即R0(对照组)、R1(单独外加硝酸盐)、R2(延长HRT控制饥饿条件)和R3(延长HRT结合外加硝酸盐)。以人工合成废水为底物, 系统研究不同调控条件对AGS性能的影响。结果表明: 通过延长HRT所造成的饥饿条件有效消耗了胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)中的多糖(polysaccharide, PS), 从而显著提高了EPS中蛋白质(protein, PN)与PS的质量比, 有效促进了颗粒污泥的密实化与结构稳定化。具体而言, R0、R1、R2和R3系统中颗粒污泥的完整性系数分别达84.26%、85.69%、95.13%和97.12%; EPS总质量分数分别为78.06、96.93、80.00和91.42 mg/g, PN与PS质量比分别为4.77、5.15、11.12和9.30。这表明延长HRT和硝酸盐共同调控显著加快了颗粒污泥形成, 增强了颗粒污泥的结构强度。在污染物去除性能方面, R0、R1、R2和R3系统的化学需氧量平均去除率分别为89.01%、88.25%、83.94%和88.56%; 总氮平均去除率分别达74.49%、82.50%、81.02%和81.41%。其中, R3系统表现出最佳的脱氮性能和污泥稳定性。微生物群落分析显示, R3系统内Proteobacteria门(相对丰度56.49%)占主导地位, 尤其是在硝酸盐诱导的饥饿胁迫下, 优势功能菌属Zoogloea(相对丰度16.13%)显著提高了EPS分泌量(97.40 mg/g), 有效驱动了污泥颗粒化过程。这一结果进一步证实, 通过硝酸盐调控实现微生物群落的定向优化, 是提高AGS结构稳定性的一条有效途径。

**关键词:** 好氧颗粒污泥; 胞外聚合物; 盛宴/饥饿; PN与PS质量比

中图分类号: TU375

文献标志码: A

文章编号: 0367-6234(2026)02-0001-11

## Optimization of aerobic granular sludge formation and stability under feast-famine conditions and nitrate addition

LI Dong<sup>1</sup>, JIANG Pengfei<sup>1</sup>, LI Shuai<sup>1</sup>, FU Sibao<sup>1</sup>, ZHANG Jie<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Beijing Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering(Beijing University of Technology), Beijing 100124, China; 2. State Key Laboratory of Urban-rural Water Resource and Environment(Harbin Institute of Technology), Harbin 150090, China)

**Abstract:** In view of the widespread challenge of structural instability that limits the engineering application of aerobic granular sludge (AGS), this study proposes a synergistic strategy combining extended hydraulic retention time (HRT) and nitrate addition to enhance the structural stability of AGS. The aim is to elucidate the synergistic effects of these two factors on enhancing the structural stability of AGS. Four sequencing batch reactors (SBRs) were operated under distinct conditions: R0 (control), R1 (external nitrate addition only), R2 (extended HRT-induced starvation), and R3 (combined extended HRT and external nitrate addition). Synthetic wastewater was utilized as the substrate to systematically investigate the impact of different operational conditions on AGS performance. Experimental results indicated that extending HRT effectively induced starvation conditions, leading to effective consumption of polysaccharides (PS) within the extracellular polymeric substances (EPS). Consequently, the protein (PN) to PS ratio in EPS was significantly increased, promoting a denser and more structurally stable granule formation. Specifically, the granule integrity coefficients in reactors R0, R1, R2, and R3 were 84.26%, 85.69%, 95.13%, and 97.12%, respectively. Corresponding EPS concentrations were 78.06, 96.93, 80.00, and 91.42 mg/g (based on VSS), with PN/PS ratios of 4.77, 5.15, 11.12, and 9.30,

收稿日期: 2025-01-11; 录用日期: 2025-02-26; 网络首发日期: 2025-04-30

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/23.1235.T.20250429.1711.002>

基金项目: 北京高校卓越青年科学家计划(BJJWZYJH 01201910005019)

作者简介: 李冬(1976—), 女, 教授, 博士生导师; 张杰(1938—), 男, 教授, 中国工程院院士

通信作者: 李冬, lidong2006@bjut.edu.cn

respectively. These findings highlight that the combined strategy of extended HRT and nitrate supplementation effectively accelerated granulation and significantly enhanced structural strength. Regarding pollutant removal performance, the average chemical oxygen demand (COD) removal efficiencies for reactors R0, R1, R2, and R3 were 89.01%, 88.25%, 83.94%, and 88.56%, respectively. Similarly, average total nitrogen (TN) removal efficiencies were 74.49%, 82.50%, 81.02%, and 81.41%, respectively. Among the reactors, R3 exhibited the best nitrogen removal efficiency and sludge stability. Microbial community analyses revealed that Proteobacteria (56.49% relative abundance) dominated the microbial consortium in R3. Notably, under nitrate-induced starvation stress, the enrichment of the functional genus *Zoogloea* (16.13% relative abundance) significantly increased EPS secretion (97.40 mg/g), thus effectively driving the granulation process. These results further confirm that targeted microbial community optimization through nitrate regulation represents an effective approach to improve the structural stability of AGS.

**Keywords:** aerobic granular sludge; extracellular polymeric substance; feast/famine; PN/PS

好氧颗粒污泥(aerobic granular sludge, AGS)作为一种新兴的废水处理技术,因可高效去除有机物和养分、操作简便以及占地面积小等优点,逐渐成为现代废水处理系统中的重要选择<sup>[1-3]</sup>。与传统的活性污泥法相比,AGS 技术在多个方面具有显著优势,包括更高的污泥负荷处理能力、优越的污泥沉降性、更少的污泥膨胀现象以及较低的能源消耗。然而,尽管 AGS 技术在废水处理方面展现了出色的性能,颗粒形成缓慢(数十天或更长时间)、易崩解<sup>[4]</sup>仍是影响其长期应用中稳定性和处理效率的瓶颈<sup>[5]</sup>。

胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)在 AGS 的稳定性中起着重要的作用<sup>[6]</sup>。EPS 是微生物代谢过程中分泌的一类大分子物质,能够促进颗粒的形成并维持其结构的稳定性。高水平的 EPS 促进 AGS 的形成,而 AGS 中 EPS 的减少可能导致颗粒松动甚至崩解<sup>[7]</sup>。研究表明,EPS 的组成(包括蛋白质 PN 和多糖 PS)及其数量直接影响颗粒的黏附性、沉降性和抗剪切能力。PN 大多是疏水性的,有利于微生物的聚集,PN 被认为是影响 AGS 形成和稳定性的关键因素。PS 具有很强的黏附能力,含有多个官能团,促进细胞间黏附并维持颗粒的结构<sup>[8-9]</sup>。因此,调控 EPS 的生成及其组成成为提升 AGS 稳定性的关键因素。此外,微生物群落的结构变化同样对颗粒稳定性有重要影响。

尽管已有大量研究探讨了 AGS 的形成机制及其影响因素,但在颗粒稳定性的优化方面,仍存在许多亟待解决的问题。研究表明,延长水力停留时间(hydraulic retention time, HRT)能够有效提高好氧颗粒污泥(AGS)的密实度和抗解体能力,同时改善系统的脱氮与除磷性能<sup>[10]</sup>。本研究提出通过延长 HRT 调控反应器内颗粒污泥的饥饿状态,以优化 EPS 的组分与比例,从而进一步提升 AGS 颗粒的结

构稳定性。此外,外加硝酸盐可通过反硝化过程产生一氧化氮<sup>[11]</sup>,由此上调微生物细胞内环二鸟苷酸(cyclic dimeric guanosine monophosphate, c-di-GMP)的水平,而 c-di-GMP 的升高可刺激微生物分泌更多 EPS<sup>[12-14]</sup>,对颗粒污泥的稳定性起到积极作用。本实验提出同时兼顾外加硝酸盐和饥饿条件下,在硝酸盐刺激分泌更多的 EPS 情况下通过碳源饥饿,降低 EPS 中 PS 的质量分数,提高 PN 与 PS 质量比,从而进一步增强颗粒的稳定性。本研究深入探讨影响 AGS 稳定性的主要因素,特别是微生物群落、EPS 的作用机制及其与颗粒污泥稳定性之间的关系。旨在为优化颗粒污泥稳定性提供理论依据,及 AGS 在实际污水处理中的应用提供新的思路和参考。

## 1 实验

### 1.1 实验装置与运行模式

实验设置了 4 个完全相同的 SBR 反应器,分别命名为 R0、R1、R2 和 R3。每个反应器均由有机玻璃制成,具有相同的直径和高径比(10:3),有效容积为 6 L。反应器运行工况见表 1。其中,R0 反应器为对照组。R1 在配水阶段添加了额外的硝酸盐(以  $\text{NO}_3^-$ -N 计,下同,质量浓度为 10 mg/L<sup>[15]</sup>),硝酸盐在进水阶段时投加,并保持标准运行周期。R2 反应器延长水力停留时间,但不添加硝酸盐。R3 反应器同时添加 10 mg/L 硝酸盐并延长水力停留时间。污泥初始曝气 48 h,然后投入 SBR。试验共运行 120 d,反应器以 6 h 的周期运行,每个周期包括 10 min 进水,20 min 厌氧,307 ~ 324 min 好氧,3 ~ 20 min 静置。体积交换比(volumetric exchange ratio,  $R_{\text{VE}}$ )、HRT、硝酸盐投加量如表 1 所示。曝气期间,空气通过反应器底部的曝气球引入,曝气强度为 2.5 ~ 3.0 L/min,来保证反应器内良好的混合和剪切力。溶解氧质量浓度不受控制,范围为 3 ~ 6 mg/L。

表1 反应器运行工况

Tab.1 Reactor operating conditions

反应器	周期/h	$R_{VE}$	HRT/h	硝酸盐投加量/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )
R0	6	0.75	8	0
R1	6	0.75	8	10
R2	6	0.50	12	0
R3	6	0.50	12	10

## 1.2 试验用水和接种污泥

接种的污泥来源于冷藏储存6个月的好氧颗粒污泥和实验室稳定运行的连续流A/O反应器中的活性污泥,并将其均匀分配到R0、R1、R2和R3 4个

表2 人工配水水质情况

Tab.2 Quality of synthetic wastewater

进水	COD/( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$\rho(\text{NH}_4^+-\text{N})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{NO}_2^--\text{N})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{NO}_3^--\text{N})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{PO}_4^{3-}-\text{P})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	pH
1	275~325	55~60	<1	<1	6~7	7.6~8.0
2	275~325	45~50	<1	10	6~7	7.6~8.0

## 1.3 分析项目与检测方法

水质分析采用国家标准测定方法。氨氮采用纳氏试剂分光光度法测定;亚氮采用N-(1-萘基)-乙二胺光度法测定;硝氮采用麝香草酚紫外分光光度法测定;总磷(total phosphorus, TP)和化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)的测定采用5B-3B型COD多参数快速测定仪;pH、溶解氧(dissolved oxygen, DO)和温度使用便携式WTW-pH/Oxi 340i测定仪测定;MLSS和MLVSS采用标准重量法测定<sup>[17]</sup>。污泥粒径采用Mastersizer 2000型激光粒度仪测定,颗粒形态观察使用Olympus BX51测定仪光学显微镜。

采用热萃取法从混合液中提取EPS<sup>[18]</sup>。分别测定松散结合的EPS及紧密结合的EPS中PN、PS、腐殖酸(humic acid, HA)质量分数,EPS总量被确定为PS、PN和HA的总和。以牛血清白蛋白为参考,采用改良的Lowry Folin法测定PN和HA质量分数<sup>[19]</sup>。以葡萄糖为参照物,采用硫酸蒽酮法测定PS的质量分数<sup>[20]</sup>。采用重量法测定完整性系数(integrity coefficient,  $C_1$ ),用于反映污泥颗粒的剪切强度<sup>[21-22]</sup>。

## 1.4 微生物多样性测定

为了研究系统中微生物群落结构的变化,采集了反应器在稳定运行阶段第90天的污泥样品,并对其进行了菌群分析。使用DNA抽提试剂盒(E. Z. N. ATM Mag-Bind Soil DNA Kit, OMEGA)从污泥样本中提取DNA。采用16S rRNA基因特异引物341F(5'-CCTAC-GGGNGGCWGCAG-3')和805R(5'-

反应器中,初始混合液悬浮固体浓度(mixed liquor suspended solids, MLSS)、混合液挥发性悬浮固体浓度(mixed liquor volatile suspended solids, MLVSS)和MLVSS/MLSS( $f$ )分别为2 350 mg/L、1 447 mg/L和0.62。实验用水为人工配制,丙酸钠作为唯一的碳源,氯化铵提供氮源,磷酸二氢钾作为磷源,同时投加 $\text{CaCl}_2$ (以 $\text{Ca}^{2+}$ 计,质量浓度为20 mg/L)和 $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (以 $\text{Mg}^{2+}$ 计,质量浓度为20 mg/L)以提供钙和镁离子, $\text{NaHCO}_3$ 则用于调节pH以保持稳定,以及1 mL/L的微量元素浓缩液I和II<sup>[16]</sup>。污泥龄为30 d,温度维持在25℃左右。具体水质参数见表2。

GACTACHV-GGTATCTAATCC-3')对可变区V3~V4区域进行扩增。使用生工(中国上海)的Illumina MiSeq系统(Illumina Miseq300bp,美国)进行高通量焦磷酸测序。以97%置信阈值的聚类序列对操作分类单元(OUT)进行分类。

## 2 结果与分析

### 2.1 污泥特性变化

#### 2.1.1 生物量及沉淀性能变化

添加硝酸盐是一种促进颗粒形成的有效方法<sup>[23]</sup>,但长时间添加硝酸盐可能导致颗粒的不稳定。相比之下,饥饿周期被认为是提高PN与PS质量比的最有效方法,但饥饿周期会抑制污泥浓度的增长。此外,本实验通过将沉降时间从15 min逐步降低至5 min来筛选沉降性能良好的污泥。

如图1所示,在整个实验过程中,R0、R1、R2和R3的MLSS呈现出先下降后上升的趋势,但由于操作条件的不同,MLSS的增速有所差异。R1由于添加了硝酸盐,促进了反硝化细菌的生长,MLSS的增幅较对照组R0更大。而R3由于延长了饥饿时间,抑制了微生物的生长,导致MLSS低于对照组R0。R3结合了延长HRT和外加硝酸盐这两种操作方式,R0和R3的MLSS最终分别为4 781、4 826 mg/L,两者差异不大,说明加入硝酸盐对污泥增长的增速可能与饥饿对污泥增长的负面影响相似,从而维持了生物量的稳定。在实验的后期,4个反应器中的污泥量迅速增加,最终MLSS分别达4 781、5 022、4 491、4 826 mg/L。

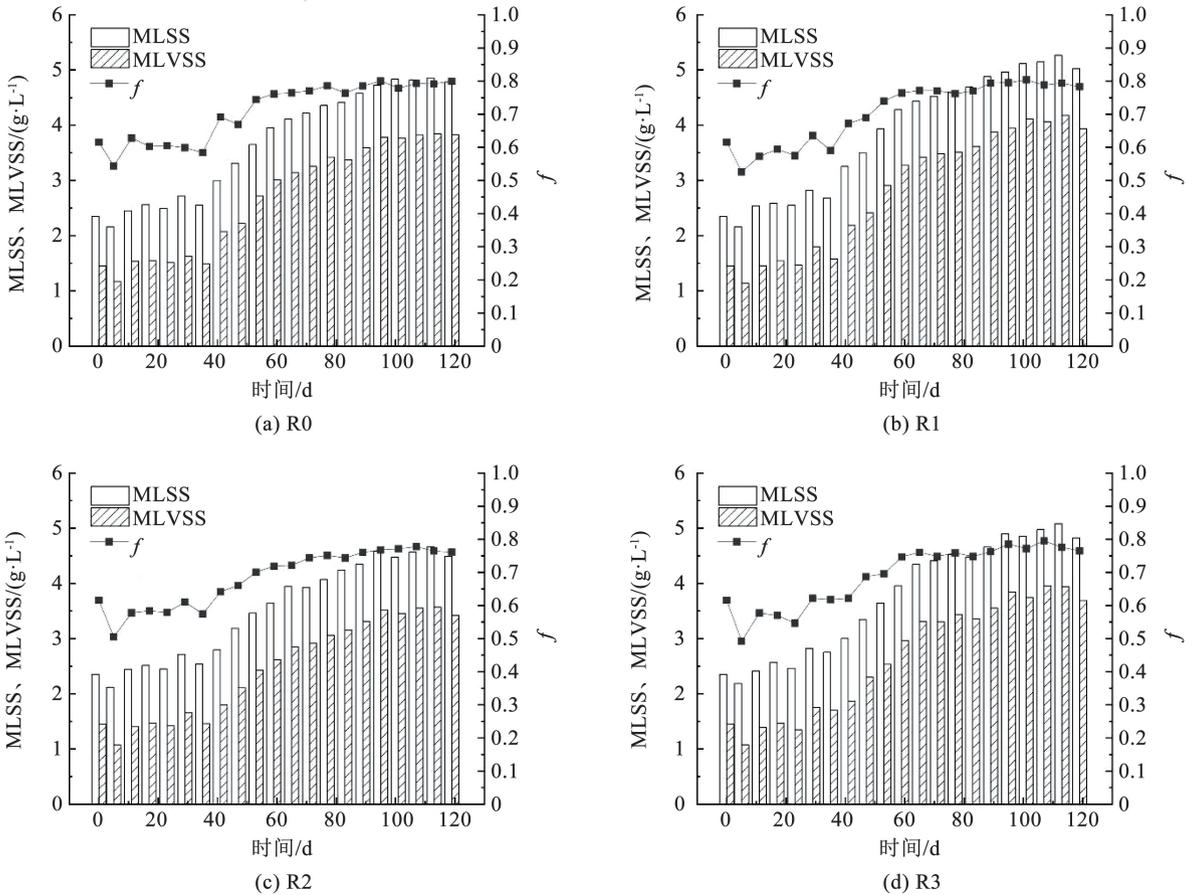


图 1 运行过程中 MLSS、MLVSS、 $f$  的变化

Fig.1 Changes in MLSS, MLVSS and  $f$  during operation

$f$  反映了活性污泥的生物活性和有机物降解能力。 $f$  越高,表示活性污泥的生物活性越强,能够更有效地降解有机物。4 组实验均表现出  $f$  先降低后升高的趋势,这可能是由反应初期活性污泥的淘洗效应所致。

### 2.1.2 粒径分布情况

粒径可以从一定程度上反映污泥颗粒化的进程。有研究表明,当污泥的粒径达到 200  $\mu\text{m}$  时,可以认为造粒已成功<sup>[24]</sup>。为了明确各反应器的颗粒化情况,对对照组污泥、R1、R2 和 R3 进行了粒径测量,结果如图 2 所示。可以看出,接种的初始污泥粒径为 64.26  $\mu\text{m}$ 。经过 53 d 的反应,R0、R1、R2 和 R3 的平均粒径分别为 309.19、392.3、266.48、455.26  $\mu\text{m}$ ,均超过 200  $\mu\text{m}$ ,表明各组均成功实现了造粒。其中,R3 的粒径最大,其次是 R1,R0 和 R2 的粒径相对较小,这表明不同反应器达到 200  $\mu\text{m}$  粒径的时间有所不同,而 R1 是最早完成造粒的组。

随着反应的进行,4 个反应器的粒径总体呈上升趋势,但由于操作方式的不同,3 组反应器的粒径增长速率也存在差异。R1 的粒径增长最快,并在第 89 天达到了最大粒径 845.09  $\mu\text{m}$ 。R2 虽然在前期

的造粒时间比对照组 R0 稍长,但在反应后期其粒径大于 R0,表明饥饿周期虽然延缓了成粒的速度,但在后期有助于颗粒的聚集。R3 的粒径增速介于 R1 和 R2 之间,既能较快形成较大的颗粒,又不会过快增长以致颗粒发生裂解。

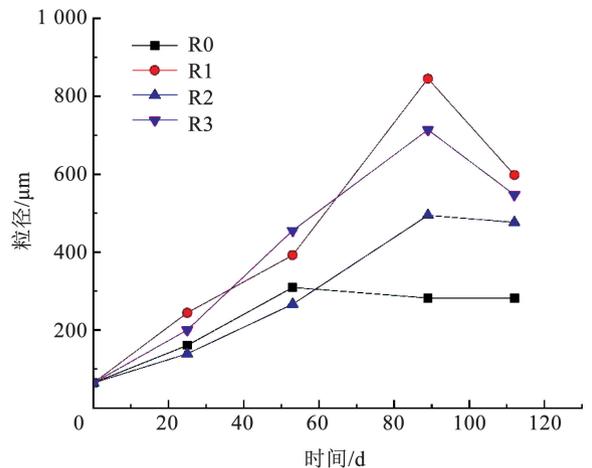


图 2 反应器中污泥的粒径分布

Fig.2 Particle size distribution of sludge in the reactor

此外,经过 110 d 的反应,4 个反应器的粒径趋于稳定,颗粒分布较为均匀,未观察到明显的脱粒现

象。有研究表明<sup>[25-26]</sup>,适当的饥饿条件平衡能够抑制丝状微生物的增殖,促进有能力储存底物的絮凝细菌的生长,从而有助于颗粒的稳定形成。

如图3所示,R3峰值粒径小于R2,但是R3峰值粒径占比大于R2,说明R3颗粒更加均匀。此外,如图4所示,R0中颗粒颜色较浅,且颗粒较不规则,而R1颗粒较大但是颜色较浅,这印证了添加硝酸盐能够刺激颗粒分泌EPS快速成粒。R2则颜色较深但是粒径并不是很大,说明饥饿消耗掉了一部分EPS,但是颗粒更加紧实。R3的颗粒是颜色最深的且具有和R1相当的粒径,说明饥饿条件下添加硝酸盐不仅能提高颗粒的粒径,还能提高颗粒的稳定性。

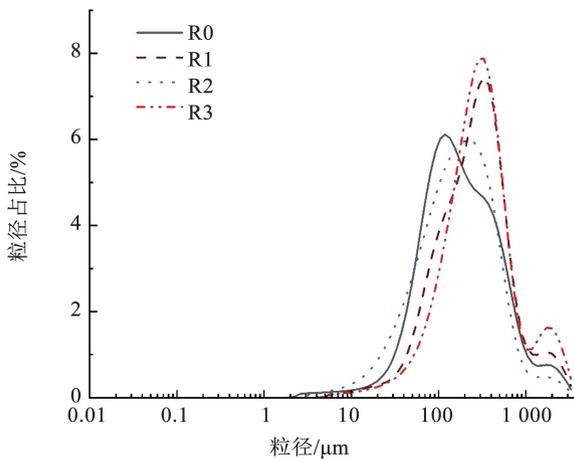


图3 污泥的粒径分布占比

Fig. 3 Proportion of sludge particle size distribution

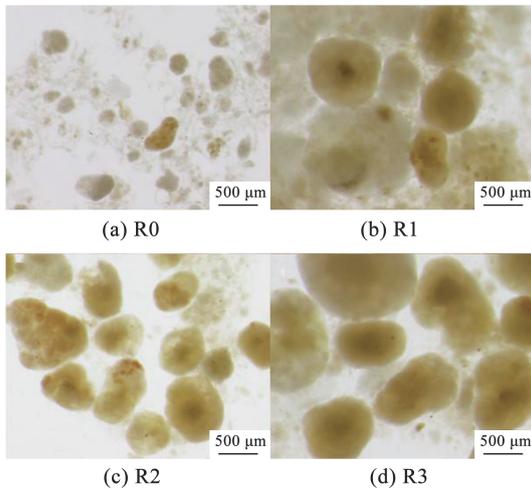


图4 第53天颗粒污泥显微镜照片

Fig. 4 Microscopic image of granular sludge on day 53

### 2.1.3 完整性系数 $C_1$ 变化

颗粒污泥强度是指颗粒污泥在外部力作用下抵抗破碎的能力。如表3所示,R3中颗粒污泥在振荡2 min后的  $C_1$  为 98.79%,振荡5 min后的  $C_1$  为

97.21%,均明显高于R2、R1和R0组。在振荡2 min后,R0的  $C_1$  最低,为 91.25%,并且随着振荡时间延长至5 min,  $C_1$  逐渐下降至 84.26%。在振荡5 min后,  $R1 > R0$ ,且  $R3 > R2$ ,说明加入硝酸盐对颗粒污泥强度有强化作用。此外,在振荡5 min后,  $R2 > R0$ ,且  $R3 > R1$ ,表明在延长饥饿周期的条件下培养的颗粒污泥具有更强的结构强度。并且R3对于R1的增幅大于R2对于对照组的增幅,说明饥饿对颗粒污泥稳定性有更强的效果。

表3 不同运行方式下污泥  $C_1$

Tab. 3 Sludge  $C_1$  under different operating modes %

反应器	$C_1$ (2 min)	$C_1$ (5 min)
R0	91.25	84.26
R1	92.46	85.69
R2	97.28	95.13
R3	98.79	97.21

该现象可能是延长饥饿期的操作方式引起了AGS的应激反应。较长的饥饿期促进了蛋白质型EPS的合成,从而增强了颗粒污泥的结构稳定性。随着饥饿时间的延长,颗粒污泥中的PN与PS质量比逐渐增加,R3组的颗粒强度高于R2组。需要指出的是,R3组相对于R2组的强度增幅小于R2组相对于R1组的增幅,表明与对照组相比,颗粒污泥的结构强度有了显著提升。

### 2.2 不同运行条件下AGS的胞外聚合物变化

颗粒污泥的结构稳定性与EPS密切相关。EPS主要由PN和PS组成,其质量分数在反应过程中的变化如图5所示。在反应器运行过程中,R0、R1、R2、R3的EPS质量分数逐渐稳定,分别达到78.06、96.93、80.00、91.42 mg/g,其中,R1的EPS质量分数最高。有研究<sup>[27-28]</sup>表明,颗粒污泥在应对环境变化时会分泌EPS,尤其是在间歇饥饿条件下,EPS的产生会得到促进,从而有助于AGS的稳定性。实验中,R2组的EPS质量分数高于R0,表明延长饥饿期能够促进EPS的产生。

最近的研究还发现外加硝酸盐能够提高细胞内的c-di-GMP水平<sup>[29]</sup>。高水平的c-di-GMP通过促进EPS基质的合成,进而增强生物膜的形成,并刺激细菌分泌更多EPS,从而提高其沉降性和聚集能力。从图5可以看出,反应后期,R0、R1、R2和R3的  $SVI_{30}$  分别为33.99、32.05、26.03和27.90。R1、R2和R3的  $SVI_{30}$  均低于R0,进一步验证了饥饿周期和外加硝酸盐对AGS沉降性能的改善作用。

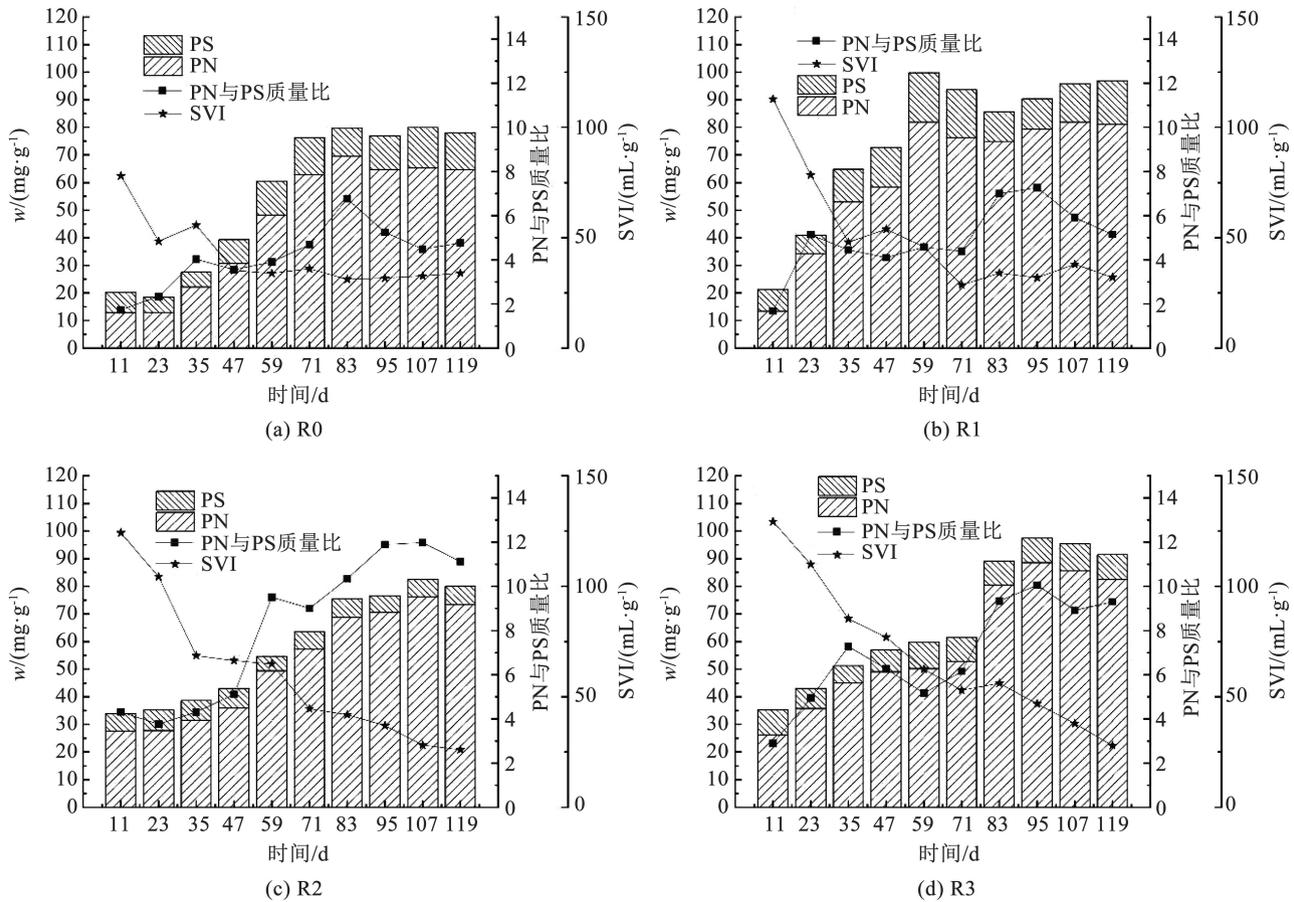


图 5 运行期间 PN、PS、PN 与 PS 质量比、SVI 的变化

Fig. 5 Changes in PN, PS, PN/PS ratio, and SVI during operation

随着反应的进行, R0、R1、R2、R3 中 PN 和 PS 的质量分数逐渐变化, 最终 PN 质量分数为 64.52、81.17、73.40、82.54 mg/g, PS 质量分数为 13.53、15.76、6.60、8.88 mg/g。有研究<sup>[30-31]</sup>表明, PN 质量分数与细胞表面疏水性呈正相关关系。经计算得, PN 与 PS 质量比分别为 4.77、5.15、11.12、9.30, 表明 PN 占比相比对照组有较大的提高。此外, PN 质量分数高能增强 PN 与二价金属离子(如钙离子和镁离子)之间的架桥效应, 从而提高稳定性<sup>[32]</sup>。与对照组相比, R2 中 PN 的质量分数较高, PN 与 PS 质量比也较高(可达 11.12), 进一步证明了在饥饿条件下添加硝酸盐的策略有助于 AGS 分泌更多的 EPS, 尤其是 PN。

然而, R2 中 PS 的质量分数较低(为 6.60 mg/g), 低于 R0(为 13.53 mg/g), 表明在饥饿过程中 PS 被部分消耗, 导致其最终稳定在较低的水平。尽管 R2 中的 EPS 质量分数较高, 但 PN 与 PS 质量比较低, 说明仅仅添加硝酸盐的操作模式并没有显著提高 PN 与 PS 质量比。因此, R2 中 PS 的相对较高促进了 AGS 的亲水性, 导致 EPS 与水的结合增强, 最终使污泥结构松散, 沉降性能下降。

在 4 个反应器中, R3 既拥有较高的 EPS 质量分数(91.42 mg/g), 也维持了较高的 PN 与 PS 质量比(9.30), 且其 SVI<sub>30</sub> 较低。表明 R3 不仅保持了较好的颗粒稳定性, 还具备较高的沉降性能。因此, 饥饿条件下添加硝酸盐的运行模式有助于 AGS 分泌更多的 EPS, 提升其稳定性和沉降性能。

综上, 饥饿条件下添加硝酸盐的运行模式能够显著促进 AGS 分泌 EPS, 特别是 PN, 从而提高其稳定性和沉降性能。

## 2.3 去除特性变化

### 2.3.1 COD 去除性能

如图 6 所示, 4 个反应器均保持了良好的 COD 去除效率, 出水 COD 在整个运行过程中基本维持在 50 mg/L 以下。R2 的去除效率在 4 个反应器中最低, 维持在 90%, 说明饥饿在一定程度上影响了 COD 的去除。而 R0、R1、R3 的 COD 去除率都能超过 95%, 表明添加 10 mg/L 硝酸盐对 COD 去除效果的影响并未表现出显著差异。不同之处在于 R0 的 COD 去除效率浮动大, R1 和 R3 相较于 R0 的 COD 去除效率更加稳定, 表明硝酸盐对 COD 去除效率的稳定性具有积极的影响, 这可能与硝酸盐对颗粒生

长的促进作用有关。

在 R2 中,由于延长了饥饿期,微生物活性有所下降,导致 COD 去除率略有降低,其总体 COD 去除率低于 R1,但去除率较为稳定,表明颗粒活性较 R1

更为稳定。相比之下,R3 的 COD 去除率一直保持在 95% 以上,且后期稳定在 97% 以上,说明在饥饿条件下添加硝酸盐能够有效保持颗粒活性的高效稳定性。

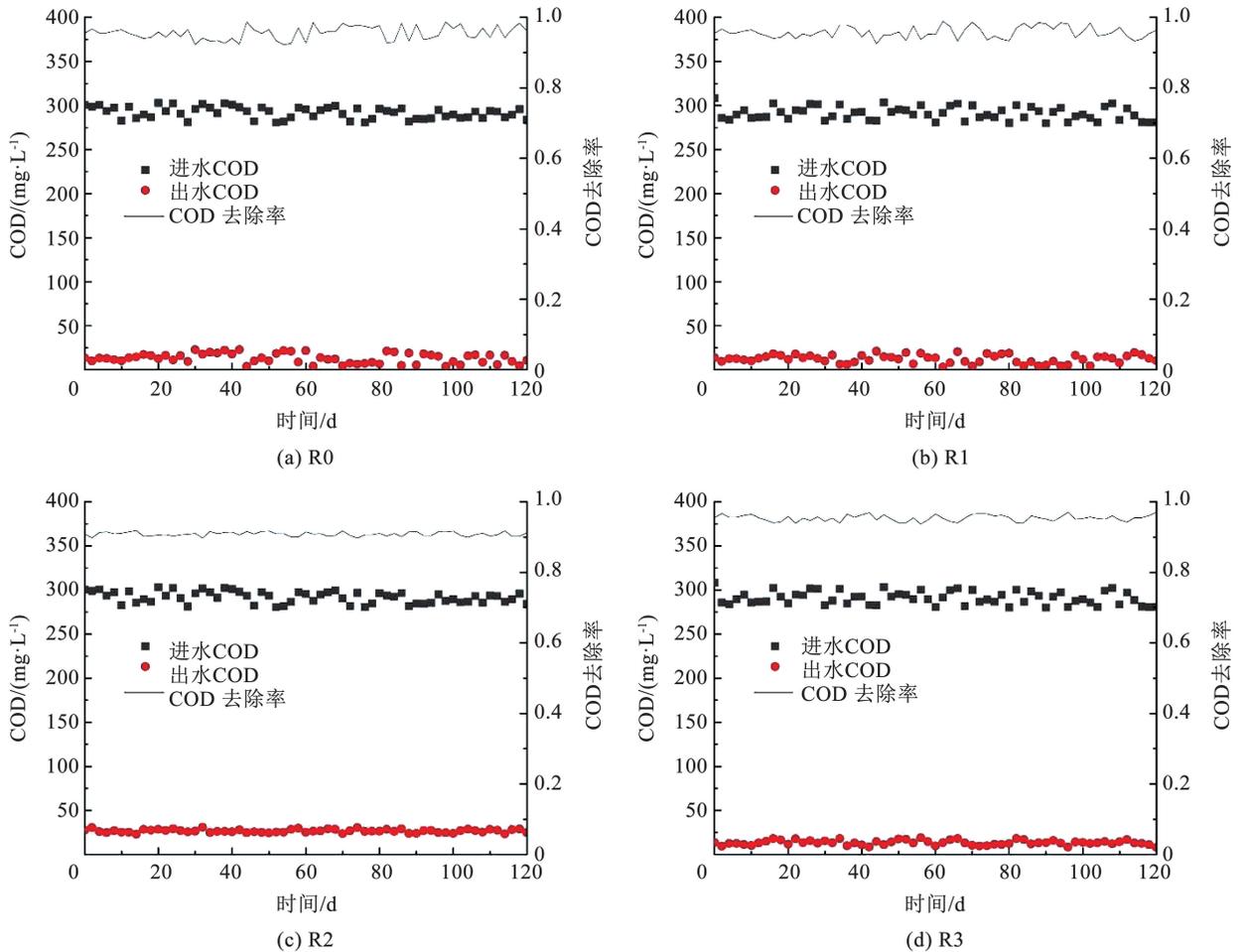


图6 运行期间 COD 的变化

Fig. 6 Changes in COD during operation

### 2.3.2 脱氮性能

如图7所示,在实验初期,氮去除性能受硝化菌和反硝化菌活性的影响。4个反应器的出水硝氮质量浓度较高,第20天分别为26.36(R0)、9.61(R1)、10.75(R2)、17.13 mg/L(R3)。第20天R0、R1、R2、R3的总氮去除效率分别为46.60%、72.99%、73.79%、70.18%。这一现象主要是由于初期大量排泥以促进絮状污泥的颗粒化,导致硝化菌和反硝化菌数量的显著减少。随着系统运行时间的延长,硝化菌和反硝化菌逐渐得到恢复和增殖,进而使脱氮性能逐步恢复。

在实验中期,第40天R0、R1、R2和R3的出水氨氮( $\text{NH}_4^+$ -N)质量浓度分别降至1.91、1.14、1.55、0.84 mg/L, $\text{NH}_4^+$ -N的去除率分别为96.66%、97.54%、97.28%和98.18%,TN去除率分别达

55.77%、75.9%、76.92%和73.65%。这些结果表明,4个反应器中的硝化菌活性已恢复,反硝化菌也得到了提高。

在实验后期,R0、R1、R2和R3的 $\text{NH}_4^+$ -N去除率相似,表明饥饿处理和硝酸盐添加对硝化菌的活性影响较小。然而,R1、R2和R3的出水 $\text{NO}_3^-$ -N质量浓度明显低于R0,表明饥饿处理和硝酸盐添加有助于提升反硝化菌的活性。

随着反应的持续进行,出水中硝酸盐的积累逐渐减少,且几乎没有亚硝酸盐( $\text{NO}_2^-$ )积累。这些结果表明,增加外源硝酸盐质量浓度促进了反硝化过程。这可能是由于外源硝酸盐的添加促进了反硝化菌的快速富集,同时,硝酸盐刺激产生的较大颗粒提供了适宜的缺氧/厌氧环境,有利于反硝化作用的进行。

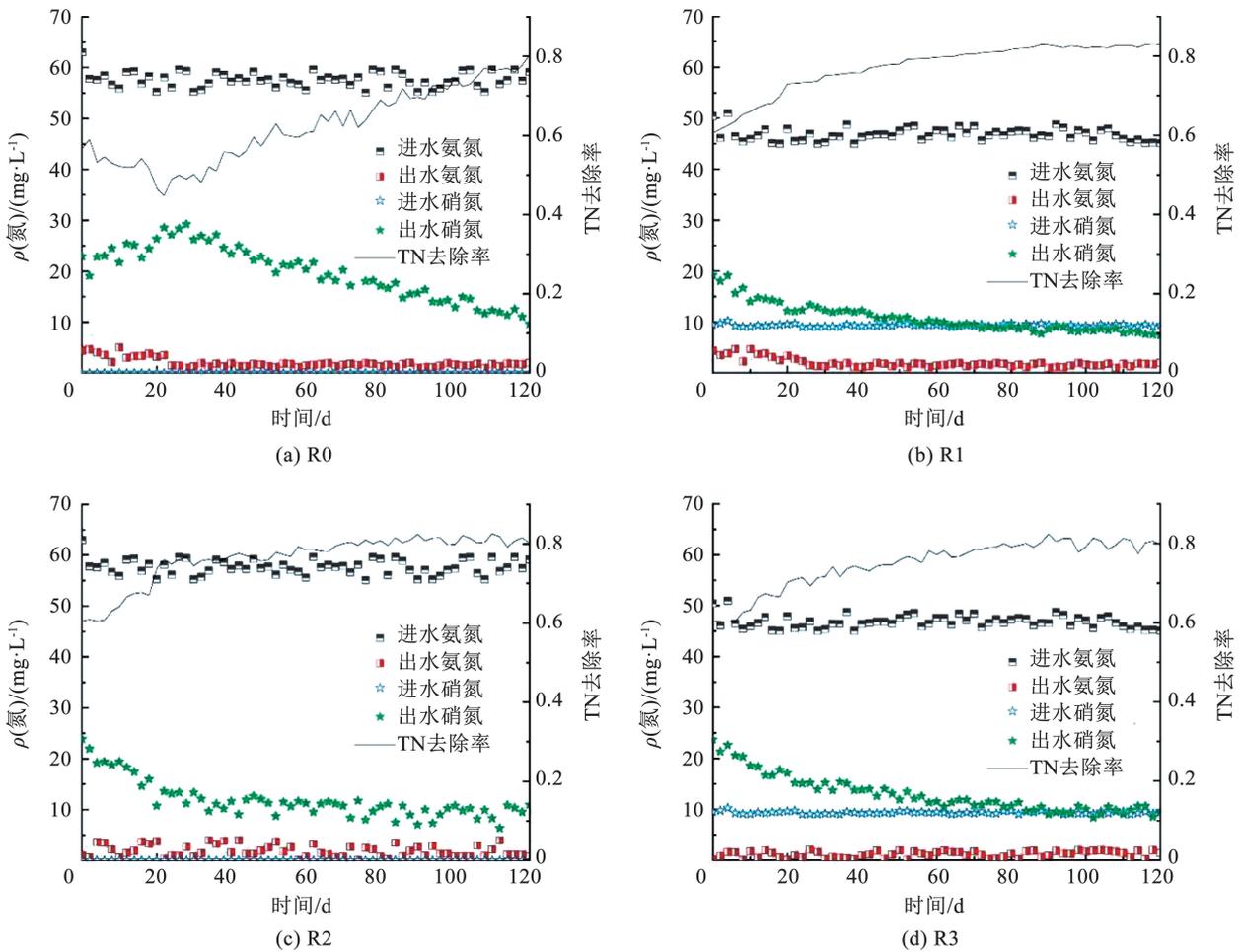


图 7 运行期间氮质量浓度以及氮去除率的变化

Fig. 7 Changes in nitrogen concentration and nitrogen removal efficiency during operation

## 2.4 微生物群落结构变化

本文研究了延长 HRT 以控制饥饿时间的方法,从而增强 AGS 的稳定性。作为一种微生物聚集体,AGS 的微生物组成和结构对其颗粒化及稳定性具有重要影响。在本实验中,发现高浓度的钙镁离子可能通过反硝化过程中的碳酸钙沉淀以及一氧化氮的信号作用促进颗粒化的形成。分析了第 90 天 4 个反应器中的微生物群落结构。

各反应器中的微生物含量如图 8 所示, Proteobacteria 门通常在厌氧氨氧化反应器中较为常见,其中含有大量的硝化细菌和反硝化细菌,且常与厌氧氨氧化细菌(anaerobic ammonium-oxidizing bacteria, AnAOB)共存<sup>[33]</sup>。在第 90 天的 R0、R1、R2 和 R3 反应器中, Proteobacteria 的相对丰度分别为 43.66%、45.22%、43.69% 和 56.49%。Proteobacteria 门包含许多与氮循环相关的物种,如固氮菌和氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)以及具有反硝化能力的微生物。Planctomycetota 是所有已知

AnAOB 所属的门,但在属水平中并没有检测出大量的 AnAOB,可能是参与氮循环或辅助系统中的厌氧氨氧化过程的其他微生物<sup>[34-35]</sup>,其丰度在 R3 中最高,达到 6%。Patescibacteria 门主要包含厌氧氢氧化细菌(hydrogenotrophic anaerobic bacteria, AHB),能够降解有机物,但不含与氮和硫循环相关的基因<sup>[36]</sup>。在 R3 反应器中, Patescibacteria 的丰度达到 3.63%,进一步验证了该反应器在运行条件上的优势。此外,含有硝化细菌(nitrite-oxidizing bacteria, NOB)的 Nitrospirota 门相较于对照组有明显减少,表明 AHB 能够通过竞争性抑制 NOB 的活性,促进系统的稳定性<sup>[37]</sup>。Bacteroidetes 门主要功能是参与有机物和聚合氮的降解,在 R0、R1、R2 和 R3 反应器中的相对丰度分别为 27.14%、32.14%、29.68% 和 15.70%<sup>[38]</sup>。最后, Chloroflexi 门有助于分泌 EPS 促使微生物的聚集和颗粒化,其丰度在 R1 中最高,达到 5.23%,这一结果与粒径变化的观察结果相符<sup>[39]</sup>。

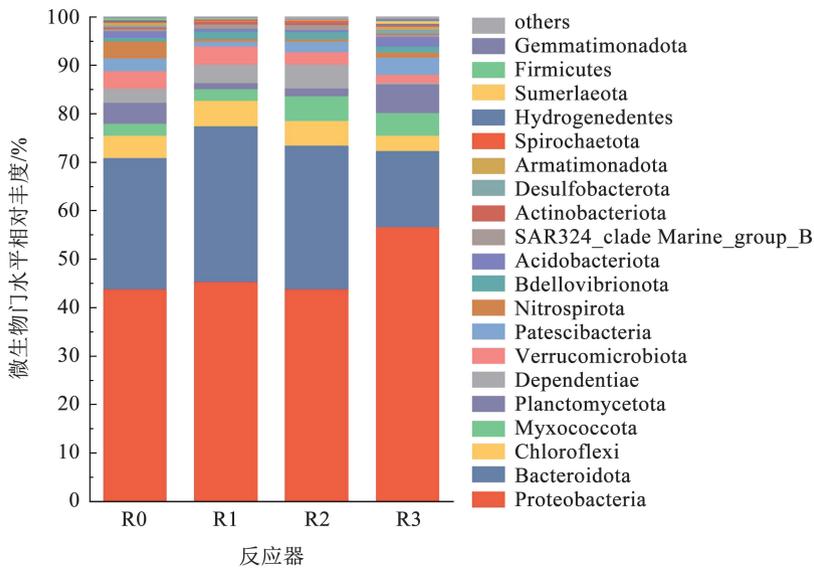


图 8 第 90 天 SBR 中微生物群落结构门水平分布

Fig. 8 Phylum-level distribution of microbial community structure in SBR on day 90

如图 9 在属水平上, *Zoogloea* 是一种广泛存在于活性污泥系统中的细菌, 属于 Proteobacteria 门, 尤其是 Betaproteobacteria 纲。 *Zoogloea* 能够形成生物膜, 促进污泥颗粒化, 并在氮去除过程中发挥重要作用。在本实验的 4 个反应器中, *Zoogloea* 的相对丰

度分别为 9.6%、10.9%、9.49% 和 16.13%, 其中, R3 反应器的丰度最高。此结果与 R3 反应器中 EPS 的丰度最高一致(为 97.40 mg/g), 进一步证明了饥饿条件下添加硝酸盐能够促进 *Zoogloea* 产生 EPS, 从而加速颗粒化过程。

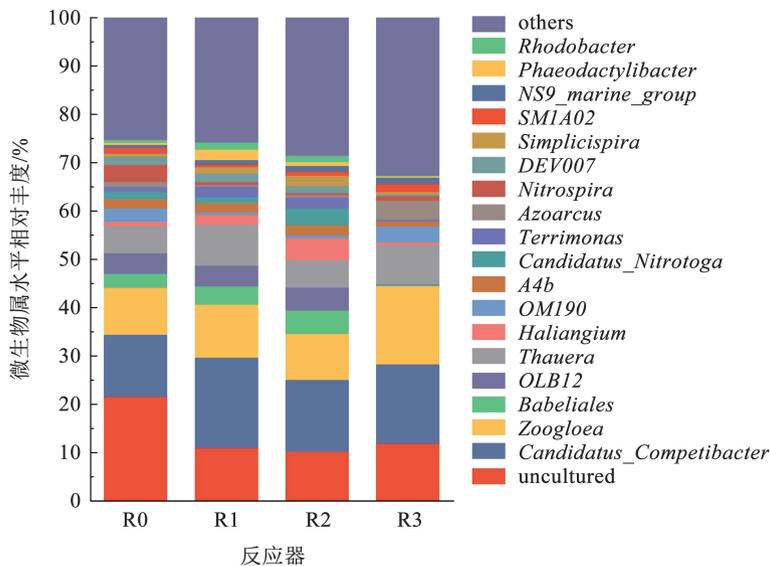


图 9 第 90 天 SBR 中微生物群落结构属水平分布

Fig. 9 Genus-level distribution of microbial community structure in SBR on day 90

*Thauera* 是一种常见的反硝化细菌, 广泛存在于污水处理系统中, 能够将硝酸盐还原为氮气。它同样属于 Proteobacteria 门, Betaproteobacteria 纲, 并在氮的去除及有机物降解过程中起着重要作用。在 R0、R1、R2 和 R3 反应器中, *Thauera* 的相对丰度分别为 5.64%、8.45%、5.66% 和 8.15%。这些结果表明, 添加硝酸盐能够促进反硝化细菌的富集, 从而

提高了总氮的去除率。

此外, *Candidatus Competibacter* 是一种常见的聚糖细菌, 其在 R0、R1、R2 和 R3 反应器中的相对丰度分别为 12.89%、18.72%、14.87% 和 16.34%。其中, R1 和 R2 中聚糖细菌的丰度相对较高, 这表明硝酸盐的添加对聚糖细菌的富集具有明显的促进作用, 可能有进一步的 EPS 分泌的潜力。

### 3 结 论

1) 相较于对照组,在饥饿条件下添加硝酸盐显著提高了实验组的 EPS 质量分数。其中,硝酸盐介导的饥饿环境下明显提高了 EPS 质量分数(91.42 mg/g),表明饥饿条件下添加硝酸盐促进了 EPS 的分泌,从而增强了颗粒污泥的稳定性。

2) 硝酸盐介导的饥饿环境通过上调 EPS 合成代谢路径,显著提升 PN 占比(最高达 82.54 mg/g),其疏水作用主导的颗粒强化机制较 PS 富集策略表现出更高的结构稳定性。尽管 R1 组的 EPS 质量分数最高(96.93 mg/g),其 PN 与 PS 质量比较低(5.15),限制了颗粒的稳定性。R2 组虽然 EPS 质量分数较低,但 PN 与 PS 质量比最高(11.12),表明延长饥饿周期消耗部分 PS 增加了 PN 比例,提高了颗粒稳定性。

3) R3 显示出最优的沉降性能,其  $SVI_{30}$  较低,表明饥饿条件下添加硝酸盐能够有效提高颗粒污泥的沉降性能。与 R0 相比,R1、R2 和 R3 组的  $SVI_{30}$  明显较低,进一步印证了饥饿和硝酸盐添加对沉降性能的积极影响。

### 参 考 文 献

[1] LV Y, WAN C, LEE D, et al. Microbial communities of aerobic granules: crumulation mechanisms [J]. *Bioresource Technology*, 2014, 169: 344. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.07.005

[2] FRANCA R D G, PINHEIRO H M, VAN LOOSDRECHT M C M, et al. Stability of aerobic granules during long-term bioreactor operation[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(1): 228. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2017.11.005

[3] HAN Xushan, JIN Yan, YU Jianguo. Rapid formation of aerobic granular sludge by bioaugmentation technology: a review [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 437: 134971. DOI: 10.1016/j.cej.2022.134971

[4] VERAWATY M, PIJUAN M, YUAN Z, et al. Determining the mechanisms for aerobic granulation from mixed seed of floccular and crushed granules in activated sludge wastewater treatment[J]. *Water Research*, 2012, 46(3): 761. DOI: 10.1016/j.watres.2011.11.054

[5] LIN H, MA R, HU Y, et al. Reviewing bottlenecks in aerobic granular sludge technology: slow granulation and low granular stability[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114638. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114638

[6] SHI Yahui, HUANG Jinhui, ZENG Guangming, et al. Exploiting extracellular polymeric substances (EPS) controlling strategies for performance enhancement of biological wastewater treatments: an overview[J]. *Chemosphere*, 2017, 180: 396. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.04.042

[7] LIU Xiaoying, LIU Jie, DENG Dongkun, et al. Investigation of extracellular polymeric substances (EPS) in four types of sludge: factors influencing EPS properties and sludge granulation [J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2021, 40: 101924. DOI: 10.

1016/j.jwpe.2021.101924

[8] WANG Shengyin, YUAN Shili, SU Liantai, et al. Aluminum toxicity in alfalfa (*Medicago sativa*) is alleviated by exogenous foliar IAA inducing reduction of Al accumulation in cell wall [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2017, 139: 1. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2017.03.018

[9] LI Z, LIN L, LIU X, et al. Understanding the role of extracellular polymeric substances in the rheological properties of aerobic granular sludge[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 705: 135948. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2019.135948

[10] CORSINO S F, DI BIASE A, DEVLIN T R, et al. Effect of extended famine conditions on aerobic granular sludge stability in the treatment of brewery wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 226: 150. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.12.026

[11] RINALDO S, GIORGIO G, FEDERICO M A P, et al. Beyond nitrogen metabolism: nitric oxide, cyclic-di-GMP and bacterial biofilms[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2018, 365(6): fny029. DOI: 10.1093/femsle/fny029

[12] WILLE J, COENYE T. Biofilm dispersion: the key to biofilm eradication or opening Pandora's box? [J]. *Biofilm*, 2020, 2: 100027. DOI: 10.1016/j.biofilm.2020.100027

[13] YANG S, WU Y, QU C, et al. Quantitative analysis of the surficial and adhesion properties of the Gram-negative bacterial species *Comamonas testosteroni* modulated by c-di-GMP [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021, 198: 111497. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2020.111497

[14] WU Y, SHUKAL S, MUKHERJEE M, et al. Involvement in denitrification is beneficial to the biofilm lifestyle of *Comamonas testosteroni*: a mechanistic study and its environmental implications [J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(19): 11551. DOI: 10.1021/acs.est.5b03381

[15] WU Danqing, ZNAO Bin, ZHANG Peng, et al. Insight into the effect of nitrate on AGS granulation: granular characteristics, microbial community and metabolomics response [J]. *Water Research*, 2023, 236: 119949. DOI: 10.1016/j.watres.2023.119949

[16] WU Xiao, LI Hui, LEI Lei, et al. Tolerance to short-term saline shocks by aerobic granular sludge [J]. *Chemosphere*, 2020, 243: 125370. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.125370

[17] ARNOLD E. GREENBERG L S C A. Standard methods for the examination of water and wastewater [M]. 18th ed. Affiliation: American Public Health Association, 1995. DOI: 10.1002/j.1551-8833.1939.tb12942.x

[18] LI G, HUANG B, CHENG Y, et al. Determination of the response characteristics of anaerobic ammonium oxidation bioreactor disturbed by temperature change with the spectral fingerprint [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 719: 137513. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.137513

[19] LI Guifeng, MA Wenjie, CHENG Yafei, et al. A spectra metrology insight into the binding characteristics of  $Cu^{2+}$  onto anammox extracellular polymeric substances [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 393: 124800. DOI: 10.1016/j.cej.2020.124800

[20] GUO Haixiao, TIAN Lixin, LIU Siru, et al. The potent effects of polyoxometalates (POMs) on controlling sulfide and methane production from sewers [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 453: 139955. DOI: 10.1016/j.cej.2022.139955

- [21] LI Dong, LV Yufeng, ZENG Huiping, et al. Enhanced biological phosphorus removal using granules in continuous-flow reactor[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 298: 107. DOI: 10.1016/j.cej.2016.03.152
- [22] NI Shouqing, SUN Na, YANG Houling, et al. Distribution of extracellular polymeric substances in anammox granules and their important roles during anammox granulation [J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2015, 101: 126. DOI: 10.1016/j.bej.2015.05.014
- [23] RAN Xiaochuan, ZHANG Xinyi, ZHAO Bin, et al. Unraveling the two-sided effect of nitrate on aerobic granulation [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 479: 147430. DOI: 10.1016/j.cej.2023.147430
- [24] DE KREUK M K, KISHIDA N, VAN LOOSDRECHT M C M. Aerobic granular sludge-state of the art [J]. *Water Science and Technology Water Science and Technology*, 2007, 55 (8/9): 75. DOI: 10.2166/wst.2007.244
- [25] LI Zhengwen, MENG Qingting, WAN Chunli, et al. Aggregation performance and adhesion behavior of microbes in response to feast/famine condition: rapid granulation of aerobic granular sludge[J]. *Environmental Research*, 2022, 208: 112780. DOI: 10.1016/j.envres.2022.112780
- [26] SUN Y, ANGELOTTI B, BROOKS M, et al. Feast/famine ratio determined continuous flow aerobic granulation[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 750: 141467. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141467
- [27] LI Dong, YANG Jingwei, LI Yue, et al. Research on rapid cultivation of aerobic granular sludge (AGS) with different feast-famine strategies in continuous flow reactor and achieving high-level denitrification via utilization of soluble microbial product (SMP) [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 786: 147237. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.147237
- [28] IORHEMEN O T, ZAGHLOUL M S, HAMZA R A, et al. Long-term aerobic granular sludge stability through anaerobic slow feeding, fixed feast-famine period ratio, and fixed SRT[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2020, 8 (2): 103681. DOI: 10.1016/j.jece.2020.103681
- [29] ZHANG X, ZHAO B, AN Q, et al. The influence of different nitrate concentrations on aerobic sludge granulation and the role of extracellular polymeric substances [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 348: 119226. DOI: 10.1016/j.jenvman.2023.119226
- [30] XIONG Yanghui, LIU Yu. Importance of extracellular proteins in maintaining structural integrity of aerobic granules[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 112: 435. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2013.07.060
- [31] SHENG G, YU H, LI X. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems; a review [J]. *Biotechnology Advances*, 2010, 28 (6): 882. DOI:10.1016/j.biotechadv.2010.08.001
- [32] PENG T, WANG Y, WANG J, et al. Effect of different forms and components of EPS on sludge aggregation during granulation process of aerobic granular sludge[J]. *Chemosphere*, 2022, 303: 135116. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.135116
- [33] DU Shuai, YA Tao, ZHANG Minglu, et al. Distinct microbial communities and their networks in an anammox coupled with sulfur autotrophic/mixotrophic denitrification system [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 262: 114190. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114190
- [34] ZHU Y, DONG L, BEN M, et al. Deciphering key microbes and their interactions within anaerobic ammonia oxidation systems[J]. *Bioresource Technology*, 2025, 416: 131799. DOI: 10.1016/j.biortech.2024.131799
- [35] GUO K, WENXUAN L Y W, TONGYAO H, et al. Low strength wastewater anammox start-up and stable operation by inoculating sponge-iron sludge: cooperation of biological iron and iron bacteria [J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, 322: 116086. DOI: 10.1016/j.jenvman.2022.116086
- [36] YANG X, YUAN J, GUO W, et al. The enzymes-based intermediary model explains the influence mechanism of different aeration strategies on nitrogen removal in a sequencing batch biofilm reactor treating simulated aquaculture wastewater [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 356: 131835. DOI: 10.1016/j.jclepro.2022.131835
- [37] SUN Tiantian, DU Rui, DAN Qiongpeng, et al. Rapidly achieving partial nitrification of municipal wastewater in enhanced biological phosphorus removal (EBPR) reactor: effect of heterotrophs proliferation and microbial interactions [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 340: 125712. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.125712
- [38] CHO S, TAKAHASHI Y, FUJII N, et al. Nitrogen removal performance and microbial community analysis of an anaerobic up-flow granular bed anammox reactor [J]. *Chemosphere*, 2010, 78(9): 1129. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.12.034
- [39] CHEN Hong, WANG Hong, YU Guanlong, et al. Key factors governing the performance and microbial community of one-stage partial nitritation and anammox system with bio-carriers and airlift circulation [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 324: 124668. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.124668

(编辑 刘彤)