



文章栏目：水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.201902078

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

刘华光, 荣超, 张金松, 等. 添加前处理垃圾渗滤液污泥反硝化效能及微生物学分析[J]. 环境工程学报, 2019, 13(11): 2610-2618.

LIU Huaguang, RONG Chao, ZHANG Jinsong, et al. Denitrification efficiency and microbiological analysis of sludge with addition of the pretreated landfill leachate[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, 13(11): 2610-2618.

添加前处理垃圾渗滤液污泥反硝化效能及微生物学分析

刘华光¹, 荣超², 张金松^{1,2,3,4}, 周星煜^{2,3,4,*}

1. 广州大学土木工程学院, 广州 510006

2. 深圳市水务(集团)有限公司, 深圳 518031

3. 深圳城市污水处理与再生利用工程实验室, 深圳 518001

4. 哈尔滨工业大学环境学院, 哈尔滨 150090

第一作者: 刘华光(1993—), 男, 硕士研究生。研究方向: 污水生物脱氮新技术。E-mail: 1017012145@qq.com

*通信作者: 周星煜(1988—), 男, 博士, 工程师。研究方向: 污水生物处理技术。E-mail: zhouxingyu2017@163.com

摘要 以探究前处理垃圾渗滤液作为去除高浓度硝态氮外加碳源的可行性为目的, 建立 SBR 系统 R0、R1(分别以无水乙酸钠、前处理垃圾渗滤液+无水乙酸钠作为碳源), 采用模拟高浓度硝态氮废水培养获得快速高效反硝化活性污泥, 考察了其脱氮效能并进行了分子生物学分析。结果表明: 在 PLL 添加体积分数为 10% 时, R1 系统在 2.5 h 内可将硝态氮几乎完全去除, 反硝化速率高达 $58.05 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 是 R0 系统的 1.79 倍; 16S rDNA 扩增子测序结果显示, R0、R1 反应器内微生物种群类别较为相似, 丰度位于前 3 位的优势反硝化菌分别为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、陶厄氏菌属 (*Thauera*) 和 *Pannonibacter*, 但相对丰度存在差异; 经 qPCR 测定, 实验组 R1 中反硝化基因 *narG*、*nirK*、*nirS* 和 *norB* 的相对表达量显著高于对照组 R0。前处理垃圾渗滤液作为外加碳源可以提高污泥反硝化活性。

关键词 前处理垃圾渗滤液; 高浓度硝态氮; 反硝化; 菌群结构

高浓度硝态氮废水来源广泛, 其中大部分源于工业废水。例如, 化肥加工厂产生的废水中硝态氮浓度可达 $950 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[1]; 在核工业处理放射性金属制品过程中, 通常也会产生高浓度硝态氮废水^[2]。此外, 采用物化法处理低浓度硝态氮废水时产生的浓缩液, 也是其来源之一。例如, 离子交换法产生的脱附液^[3]、NF 浓缩液与 RO 浓缩液^[4]等。在利用能够彻底去除氮素的生物法处理此类废水时, 反硝化过程会消耗大量碳源, 甲醇、乙酸和葡萄糖等传统外加碳源会带来高昂的成本问题^[5], 且容易出现 pH 升高过快和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 积累现象^[6]。因此, 可采用新型外加碳源来代替传统碳源。垃圾渗滤液原液就是其中之一, 但却不可避免地引入了大量难降解有机物和重金属离子等。然而, 针对浓度比原液较低但碳源依旧可观的前处理垃圾渗滤液作为反硝化外加碳源的研究则鲜有报道。

收稿日期: 2019-02-21; 录用日期: 2019-04-26

基金项目: 中国博士后科学基金资助项目(2019M653086); 深圳市水务集团科研项目(20180004)

国内外在垃圾渗滤液处理方面的技术还处在不断发展和研究的阶段。随着人民生活水平的提高，城市生活垃圾的产量迅速增加^[7]，现有的NF、反渗透、活性炭吸附等深度处理工艺，由于结构复杂、成本高昂，导致其处理能力跟不上垃圾渗滤液的产生速度，不能及时处理经过前序工艺所带来的初级处理液。因此，寻求合理处置前处理垃圾渗滤液 (pretreated landfill leachate, PLL) 的途径意义重大^[8]。相对于垃圾渗滤液原液，前处理垃圾渗滤液的成分复杂度降低，大分子有机物、重金属离子等有毒物质含量大大减少，TN 和 COD 也得到一定的去除^[9-10]；同时，PLL 中所含的短链脂肪酸 (SCFA)、挥发性脂肪酸 (VFAs) 等快速可生物降解有机物 (属于第一类基质)^[11-12]，可为反硝化过程提供更易于微生物同化的碳源物质。

本研究以无水乙酸钠和 PLL 为混合碳源，对比在不同 PLL 添加比例条件下，活性污泥处理高浓度硝态氮时的反硝化特性，结合实时荧光定量 PCR (qPCR) 技术及 16S rDNA 测序分析，揭示了活性污泥系统内部微生物结构特征和功能基因与系统反硝化效能之间的关系，以为处理高浓度硝态氮废水选择经济高效的外加碳源提供技术参考，并深入探究前处理垃圾渗滤液的高效利用模式。

1 材料与方法

1.1 实验材料

模拟废水水质。实验以模拟高浓度硝态氮废水为考察对象，驯化阶段用无水乙酸钠为 COD 唯一来源，启动成功后添加 PLL 作为混合碳源；利用 KNO_3 作为唯一氮源；以 KH_2PO_4 配制磷酸盐质量浓度；以 MgSO_4 和 CaCl_2 满足反硝化菌对 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的需求；微量元素添加量为 $1 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ ，1 L 微量元素溶液中含有 10.00 g EDTA、1.50 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、0.03 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、0.12 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.15 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、0.12 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、0.06 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.18 g KI、0.15 g H_3BO_3 ；实验全过程各反应器内 $\text{DO} \leq 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，保持缺氧状态；进水 pH 控制在 7.5 ± 0.1 ；水温为室温，即 $21.5 \sim 25.6 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

前处理垃圾渗滤液水质及来源。深圳市下坪垃圾填埋场采用氨吹脱+厌氧生物滤池+A/A/O+MBR+NF 的新型组合工艺处理垃圾渗滤液，本研究所用前处理垃圾渗滤液取自该垃圾填埋场厌氧生物滤池出水，此系统前 2 步流程已经有效降解垃圾渗滤液原液中的氨氮、SS 等主要污染物，前处理垃圾渗滤液中的 COD 主要来源于 VFAs 和腐殖酸。具体水质成分如下： $\text{COD} (1\,989 \pm 50) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ， $\text{NH}_4^+\text{-N} (8.5 \pm 3.5) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ， $\text{DO} (0.2 \pm 0.1) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ， $\text{Ca}^{2+} (335 \pm 14) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ， $\text{Mg}^{2+} (13.2 \pm 3.8) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，As (0.253 ± 0.096) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，Cd (0.04 ± 0.01) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2 实验装置

实验装置由 2 个相同的有机玻璃材质柱形 SBR (R0 和 R1) 组成，有效柱高为 65 cm，内径为 10 cm，有效容积 10 L，在反应器底部设有排泥口，直径为 10 mm。反应器侧面 15、25、35、45、55 cm 处分别设有取样口，反应器顶部设置搅拌器，使泥水保持混合状态，反应器进水方式为上进下出，反应装置如图 1 所示。

1.3 实验方法

实验分为 3 个阶段，即驯化阶段、反硝化速率对比阶段、最佳投加比例研究阶段。驯化阶段将活性污泥接种在 R0 及 R1 反应器中，无水乙酸钠作为唯一碳源培养，控制进水碳氮比 ($\text{COD}/\text{NO}_3\text{-N}$ ，下称 C/N) 为 5.0，硝态氮浓度根据驯化程度采取阶梯式上升的方式在 $50 \sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 内逐渐增加。微生物驯化完成后，R0 作为对照组按原驯化方式运行，而 R1 反应器则以无水乙酸钠 + PLL 为碳

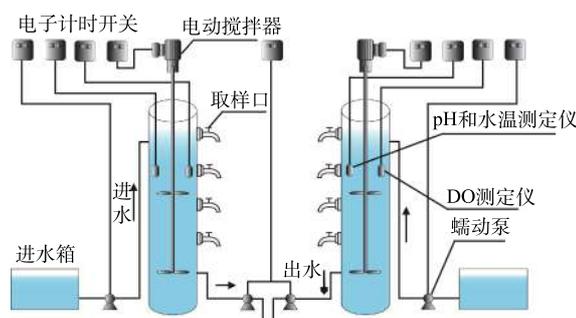


图 1 SBR 反应装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the SBR reaction unit

源进行培养,此时PLL添加体积分数为10%,提供足量电子供体以排除碳源不足的影响,从而对2种不同碳源的反硝化速率进行比较。为了探究前处理垃圾渗滤液的最佳掺入比例,设置C/N分别为2.5、3.2、4.5、4.9、5.6、6.1的批次实验,每批6组反应器(在六连搅拌器内进行)中,前处理垃圾渗滤液的投加体积分数分别为0%、5%、10%、15%、20%、25%,无水乙酸钠的添加量则依次减少,具体分配情况见表1。测定每组每批次的反硝化速率和COD去除率,重复3个周期;批次实验活性污泥均取自R1反应器,接种300 mL纯水洗滌3次后的污泥,最终体积为1.0 L。

1.4 分析方法

在固定时间点于采样口取10 mL泥水混合液,静沉5 min,取适量上清液并稀释一定倍数后,用0.22 μm 微滤膜过滤,再经消解器(DRB200,美国哈希)消解2 h后用分光光度计(DR3900,美国哈希)对COD进行测定,硝态氮和亚硝态氮浓度采用离子色谱法^[13]测定,MLVSS采用马弗炉灼烧重量法^[13]测定,以单位重量MLVSS在单位时间内对硝态氮的去除量表征反硝化速率(V_{DN} , $\text{mg}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$)。在系统运行的第65天,分别从R0、R1反应器底部取进水后15 min泥水混合液50 mL,3 500 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min后,去除上清液取其沉淀物,将样品标记为R0-0、R1-1;16S rDNA测序送至测序公司检测。

2 结果与讨论

2.1 反应器运行实验结果

R1系统运行结果如图2所示。0~45 d为驯化阶段,以无水乙酸钠作为碳源培养接种污泥以提高反硝化效能,每天测定1个周期的出水 NO_3^- -N浓度。初始进水 NO_3^- -N质量浓度设置为50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,启动阶段共经过5级逐次提高,具体为50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ →100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ →200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ →300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ →400→

表1 前处理垃圾渗滤液掺入比和乙酸钠投加量

Table 1 Mixing ratio of pretreated landfill leachate and sodium acetate dosage

PLL添加体 积分数/%	乙酸钠投加量/g					
	C/N=2.5	C/N=3.2	C/N=4.5	C/N=5.0	C/N=5.6	C/N=6.1
0	1.79	2.29	3.21	3.50	4.00	4.36
5	1.65	2.15	3.07	3.36	3.86	4.22
10	1.51	2.01	2.93	3.22	3.72	4.08
15	1.37	1.87	2.79	3.08	3.58	3.94
20	1.23	1.73	2.65	2.94	3.44	3.80
25	1.09	1.59	2.51	2.80	3.30	3.66

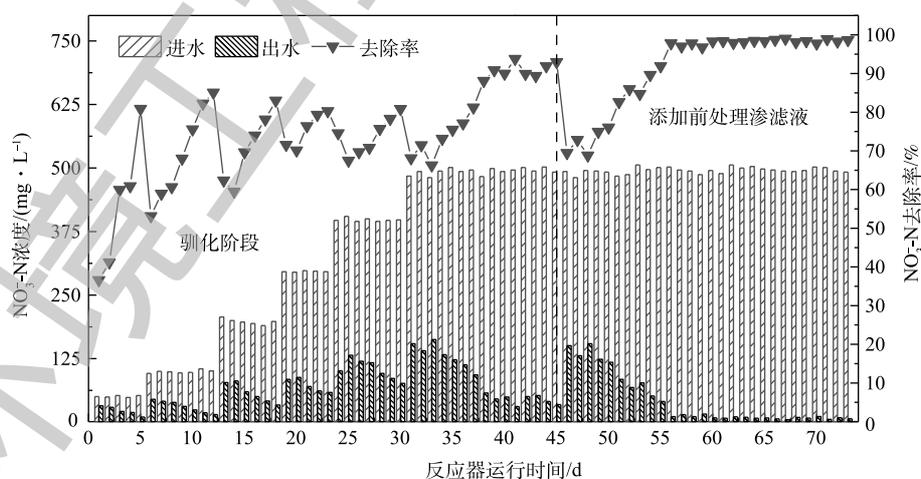


图2 R1系统在添加PLL前后 NO_3^- -N浓度的变化和对 NO_3^- -N的去除率

Fig. 2 Variation of NO_3^- -N concentration and removal efficiency of NO_3^- -N in R1 system before and after adding pretreated landfill leachate

500 mg·L⁻¹。每级去除率达到 80% 时，提高硝酸钾投加量，使 NO₃-N 质量浓度最终维持在约 500 mg·L⁻¹，当去除率保持在 90% 以上，并连续 1 周效果保持稳定时，视为反应器启动成功；第 46 天开始以 10% 的体积分数添加前处理垃圾渗滤液，此后出水硝态氮浓度出现较大波动，系统经过 11 d 的适应，硝态氮去除率慢慢提高到 98.3% ± 1.0%，第 56 天之后达到稳定。整个运行过程出水未检测出氨氮，亚硝氮质量浓度均小于 10 mg·L⁻¹。经驯化的反硝化菌已经很好地适应高浓度的 NO₃-N，能够满足后续批次实验在高负荷条件下研究添加前处理垃圾渗滤液作为碳源时脱氮效能的要求。

2.2 添加前处理渗滤液对反硝化速率的影响

在 R0、R1 反应器中分别以无水乙酸钠、PLL+无水乙酸钠为碳源，并使 PLL 添加的体积分数为 10%，控制各反应器 C/N=5.0，在电子供体足量情况下对比其反硝化速率，结果如图 3 所示。由图 3 可以看出，R0 系统将硝态氮几乎完全去除(出水浓度低于检出下限)需要约 6.0 h，反硝化速率为 32.32 mg·(g·h)⁻¹，而 R1 系统在约需 2.5 h 即可去除相同浓度的硝态氮，平均反硝化速率可高达 58.05 mg·(g·h)⁻¹，是 R0 的 1.79 倍。这主要是因为 PLL 中 COD 来源较为多样，相对于 R0 的单一碳源，R1 的混合碳源更有利于加速 SBR 的反硝化过程，从而提高脱氮速率。ELEFSINIOTIS 等^[14-15]研究认为，当系统内存在多种碳源时，微生物可以同时利用多种电子供体。由此可推测，R1 系统内发生的不是单一的零级反应，而是结合多种碳源参与的一种耦合反应，故相比只有单一碳源的 R0 系统而言，R1 系统有着更快的反硝化速率。此外，PLL 中富含的 Ca²⁺和 Mg²⁺也是促进微生物快速生长的一个因素。刘沛然^[16]用 ASBR 法处理垃圾渗滤液时，发现 25 mmol·L⁻¹ 的 Ca²⁺和 Mg²⁺能够有效促进反硝化菌的代谢活性。

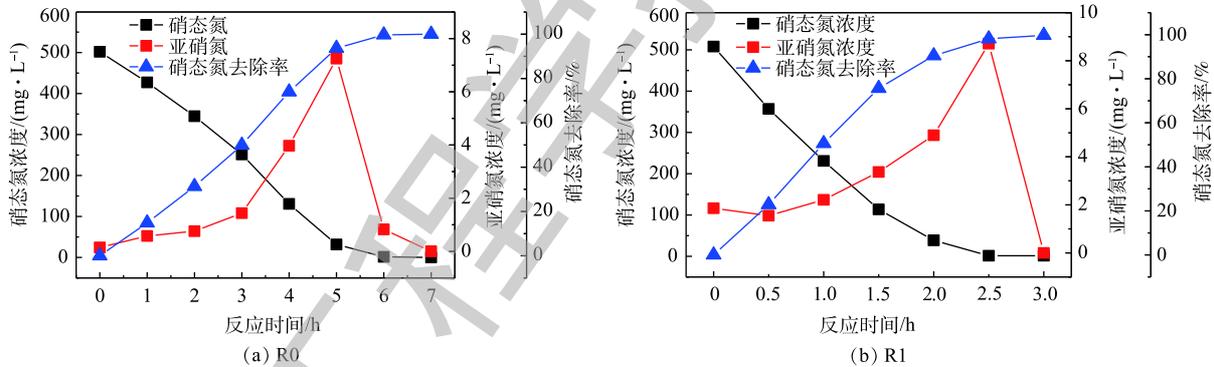


图 3 R0、R1 反应器典型周期内硝态氮和亚硝态氮变化

Fig. 3 Variations of nitrate nitrogen and nitrite nitrogen in R0 and R1 reactors during typical cycles

2.3 前处理垃圾渗滤液最佳掺入比的确定

为进一步探究不同 PLL 添加比例时碳、氮的去除情况，批次实验结果如图 4 所示。由图 4(a)和图 4(b)可以看出，C/N 为 2.5、3.2 时，反硝化速率与 PLL 添加比例呈反比例关系。这是由于在 C/N 过低条件下，随着 PLL 添加量的增多，乙酸钠添加量减少，大分子有机物的相对含量会超过专性大分子有机物的降解需求量，导致电子供体在周期内不能把高浓度的 NO₃-N 彻底还原，从而降低单位时间硝态氮的还原量。在 C/N 为 4.5 和 5.0 条件下，PLL 添加体积分数 ≤ 10% 时，V_{DN} 随 PLL 添加量增加而升高，最大值分别为 61.03 mg·(g·h)⁻¹ 和 62.28 mg·(g·h)⁻¹；当 PLL 添加体积分数大于 10% 时，反硝化速率随添加量的增加而降低，V_{DN} 在 PLL 添加的体积分数为 25% 时达到最低值，分别为 45.82 mg·(g·h)⁻¹ 和 32.71 mg·(g·h)⁻¹。这是由于此条件下小分子碳源和复杂碳源在系统内的相对含量与不同菌属对各种碳源的需求之间达到一种平衡，微生物间的协同作用加快了硝态氮

的还原速率。相反,可以看到C/N为5.6和6.1时的反硝化速率随PLL体积分数的增加而降低。这可能是因为R1系统内发生了共代谢作用,在共代谢机制下,生长基质和非生长基质的质量浓度比值过高会对关键酶的生成产生竞争性抑制作用^[17],在R1系统中乙酸钠和硝态氮充当生长基质的一部分,PLL中的复杂有机物(腐殖酸等)则充当非生长基质,当C/N为5.6和6.1时乙酸钠的投加量很高,故可以合理推测,此时生长基质和非生长基质的质量浓度比值超过了共代谢的需求范围,添加PLL反而会降低共代谢作用,进而降低硝态氮的去除速率^[18]。将PLL添加量换算为COD占比,碳氮比4.5~5.0且PLL添加的体积分数为5%~15%时所对应的COD占比为4.10%~13.5%。由此可见,投加PLL所带来的COD占比在4.10%~13.5%范围内能够促进硝态氮的还原速率。

另外,由图4(c)~(f)还可以看出,在C/N为4.5~6.1时,COD去除率随PLL添加比例的增加逐渐升高。这说明添加PLL作为混合碳源可以提高乙酸钠利用率,减少乙酸钠投加量。但是,在C/N为5.6和6.1时,COD去除率均小于64.96%;而在C/N为3.2、4.5、5.0时的COD去除率最大分别可达到96.77%、84.38%、82.67%。因此,综合考虑COD利用率和反硝化速率2方面因素,建议在C/N为3.2~5.0条件下,将PLL的投加体积分数控制在5%~15%,能够在兼顾COD去除率的同时,也可以得到高效的反硝化速率。

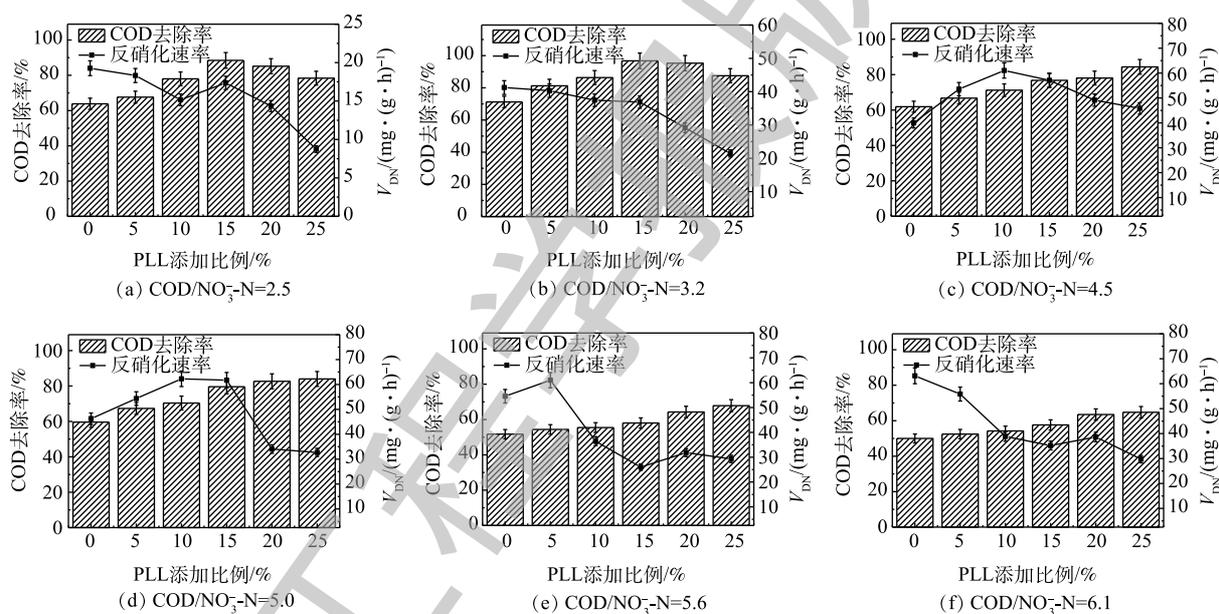


图4 不同C/N在不同前处理垃圾渗滤液添加比例条件下 V_{DN} 和COD去除率

Fig. 4 Removal rates of V_{DN} and COD under the conditions of different C/N and pretreated landfill leachate addition ratios

2.4 分子生物学分析

1) 添加前处理垃圾渗滤液对菌群结构及相对丰度的影响。经高通量测序,2个样本去除嵌合体后的有效序列数分别为36 591和39 831,Shannon和Simpson指数分别为2.366、2.511和0.738、0.686,文库覆盖率均为100%,表明测序结果真实可靠。图5为R0和R1系统运行第65天时不同分类水平上的微生物群落结构。由图5(a)可知,2个反应器均被检出8个纲,对照组R0反应器泥样中相对丰度大于1%的优势菌有3种,分别为*Gammaproteobacteria*(γ -变形菌纲,72.78%)、*Alphaproteobacteria*(α -变形菌纲,20.98%)、*Bacteroidia*(拟杆菌纲,4.77%),占比之和为98.53%。这与周梦娟等^[19]用乙酸钠为碳源培养富集的微生物群落具有较高的相似度。实验组R1反应器泥样中相对丰度大于1%的优势菌有4种,分别为 γ -变形菌纲(77.66%)、 α -变形菌纲(13.34%)、拟杆菌纲(4.17%)

和 *Clostridia*(梭菌纲, 3.21%), 占比之和为 98.38%。添加 PLL 可以提高纲水平上 *Gammaproteobacteria* 和 *Clostridia* 的相对丰度。

由图 5(d) 可知, 在属水平, R0 和 R1 都被检出有 17 种菌属, 其中 *Pseudomonas*(假单胞菌属)、*Thauera*(陶厄氏菌属)、*Pannonibacter* 和 *Proteiniphilum* 均为 2 个反应器内的优势菌属, 相对丰度分别为 54.75%、13.26%、1.49%、1.79% 和 59.39%、17.7%、1.95%、1.97%。从丰度变化能够看出, 这 4 种反硝化功能菌在 R1 中都得到强化和富集, 而 *Pseudomonas*^[20]、*Thauera*、*Pannonibacter* 均具有良好的反硝化特性。QIAO 等^[21] 在石化废水中分离出 1 株革兰氏阴性杆状菌 *Thauera* sp.K11, 发现其能利用 10 多种酚类衍生物作为电子供体进行反硝化; 王艳青^[22] 利用 MBR 处理芳香族磺酸类有机废水时, 发现 *Pannonibacter* sp.W1 能够有效降解对氨基苯磺酸。这进一步证明了添加前处理垃圾渗滤液可提高反硝化效率; 此外, 与科层面相似, 属层面 R0 的 *Flavobacterium* 丰度高于 R1, 但 R1 中的 *Anoxynatronum* 丰度为 1.85%, 属于优势菌属, 为 R0 的 46.25 倍(其在 R0 中仅占 0.04%)。这说明添加前处理垃圾渗滤液有利于 *Anoxynatronum* 生长。ELENA 等^[23] 在贝加尔湖分离出了一种嗜碱厌氧型菌属 *Anoxynatronum*, 并发现它可以利用纤维素等大分子有机物为碳源实现反硝化, 能够分解结构较为复杂的化合物。这解释了批次实验中 COD 去除率随前处理渗滤液添加量增加而升高的现象。

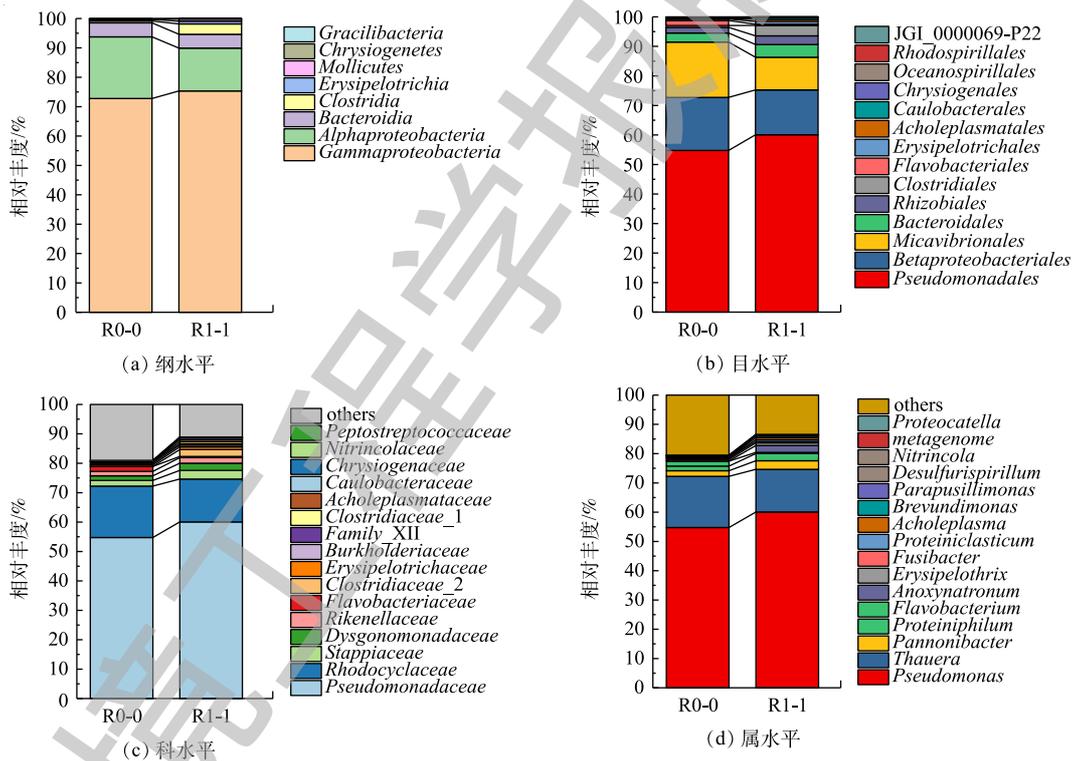


图 5 R0 和 R1 系统运行第 65 天时不同分类水平上的微生物群落结构

Fig. 5 Microbial community structure at different taxonomic levels in R0 and R1 systems on the 65th day of stable operation

2) 添加前处理垃圾渗滤液对反硝化功能基因相对丰度的影响。反硝化过程包括 4 步反应 ($\text{NO}_3\text{-N} \rightarrow \text{NO}_2\text{-N} \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$), 分别由硝酸还原酶 (NAR)、亚硝酸还原酶 (NIR)、一氧化氮还原酶 (NOR) 和一氧化二氮还原酶 (NOS) 进行催化, 这 4 种功能蛋白的编码基因分别是 *nar*、*nir*、*nor* 和 *nos*。由图 6 可知, 除了 NOS 编码基因 *nosZ* 外, 基因 *narG*、*nirS*、*nirK* 和 *norB* 的相对含量在 R1 中分别提高了 4.98、3.69、10.80 和 2.38 倍。NOS 的作用是将 N_2O 催化还原为 N_2 , 但这并非是反硝化的限速

步骤, 决定整个反硝化速率的是 NIR 将 NO_2^- 转化为 NO 的过程^[24]。因此, R1 中的 *nosZ* 相对含量低于 R0 并不会抵消其他功能基因的高表达活性对反硝化速率的促进作用。*nir* 基因分为编码铜型亚硝酸还原酶 (Cu-NiRs) 的 *nirK* 和编码血红素 cd1 型亚硝酸还原酶 (cd1-NiRs) 的 *nirS*, PLL 所含的铜离子为 Cu-NiRs 单体的 II 型 Cu 提供了足量的底物结合位点, 因此, 增强了 *nirK* 的表达; cd1-NiRs 为一种同二聚体双功能酶, 发挥催化作用时以天青蛋白、假天青蛋白或细胞色素 c551 作为电子

供体, 由此可以推测, PLL 为其提供了所需电子供体, 从而提高了 *nirK* 的相对表达量。PINTATHONG 等^[25] 的研究显示, 添加 Fe(III) 和 Mo(VI) 可以提高 NAR 活性, 这可能与 PLL 含有的 Fe^{3+} 、 Mo^{6+} 可以增强 *narG* 的相对表达量有关。qPCR 对功能基因的相对定量结果很好地解释了 2 个反应器所表现出的反硝化效能差异。

3 结论

1) 以无水乙酸钠为唯一碳源处理高浓度硝态氮废水, 获得了快速高效反硝化活性污泥, 最大反硝化速率为 $32.32 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$; 当 PLL 添加体积分数为 10% 时, 最大反硝化速率升至 $58.05 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$ 。

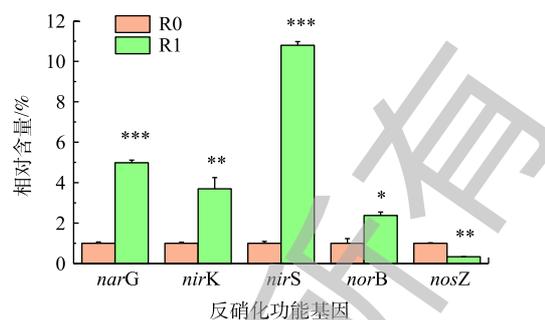
2) PLL 充当碳源时能提高乙酸钠利用率。在 C/N 为 3.2~5.0 条件下, PLL 投加比例为 10%~15%, 最大 COD 去除率为 96.77%, 是添加 PLL 前的 1.23~1.41 倍。

3) 添加 PLL 对微生物种群类别没有明显影响, 但改变了优势菌种群的相对丰度, *Pseudomonas*、*Thauera*、*Pannonibacter* 和 *Proteiniphilum* 相对丰度有所提高, *Alphaproteobacteria* 和 *Bacteroidia* 相对丰度则有所降低。

4) PLL 的加入使反硝化功能基因 *narG*、*nirK*、*nirS* 和 *norB* 的相对含量分别提高了 4.98、3.69、10.80 和 2.38 倍, 但一氧化二氮还原酶编码基因 *nosZ* 的相对表达量却有所降低。

参考文献

- [1] ZALA S L, AYYER J, ANJANA J. Nitrate removal from the effluent of a fertilizer industry using a bioreactor packed with immobilized cells of *Pseudomonas stutzeri* and *Comamonas testosteroni*[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2004, 20(7): 661-665.
- [2] BIRADAR P M, DHAMOLE P B, NAIR R R, et al. Long-term stability of biological denitrification process for high strength nitrate removal from wastewater of uranium industry American Institute of Chemical Engineers[J]. Environmental Progress, 2008, 27(3): 365-372.
- [3] SAITUA H, GIL R, PADILLA A P. Experimental investigation on arsenic removal with a nanofiltration pilot plant from naturally contaminated groundwater[J]. Desalination, 2011, 274(1/2/3): 1-6.
- [4] SONG H, ZHOU Y, LI A, et al. Selective removal of nitrate from water by a macroporous strong basic anion exchange resin[J]. Desalination, 2012, 296(13): 53-60.



注: *代表 $P < 0.05$, **代表 $P < 0.01$, ***代表 $P < 0.001$ 。

图 6 R0 和 R1 系统内反硝化功能基因的相对丰度

Fig. 6 Relative content of denitrifying functional genes in R0 and R1 system

- [5] 杨敏, 孙永利, 郑兴灿, 等. 不同外加碳源的反硝化效能与技术经济性分析[J]. *给水排水*, 2010, 46(11): 125-128.
- [6] YANG X P, WANG S H, ZHOU L X. Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by *Pseudomonas stutzeri* D6[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 104(2): 65-72.
- [7] 熊建英, 郑正. 垃圾填埋场渗滤液溶解性有机质特性及其去除技术综述[J]. *环境化学*, 2015, 34(1): 44-53.
- [8] 袁敏, 周琪, 杨殿海, 等. 垃圾渗滤液为碳源时A²/O法的脱氮除磷研究[J]. *中国给水排水*, 2008, 24(11): 27-29.
- [9] KACZOREK K, LEDAKOWICZ S. Kinetics of nitrogen removal from sanitary landfill leachate[J]. *Bioprocess Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2006, 29(5/6): 291-304.
- [10] 欧阳科, 黎丽华, 陈媛, 等. 膜生物反应器(MBR)处理垃圾渗滤液的脱氮研究[J]. *生态环境学报*, 2011, 20(4): 706-710.
- [11] PAVAN P, BATTISTONI P, FAVA G. Biowaste fermentation and phosphorus crystallization as a way to improve the reliability of the BNR processes[J]. *Water Environment & Technology*, 1996, 20(4): 131-140.
- [12] SANS C, MATA-ALVAREZ J, CECCHI F, et al. Volatile fatty acids production by mesophilic fermentation of mechanically sorted urban organic wastes in a plugflow reactor[J]. *Bioresource Technology*, 1995, 51(1): 89-96.
- [13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [14] ELEFSINIOTIS P, WAREHAM D G. Utilization patterns of volatile fatty acids in the denitrification reaction[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, 41(1/2): 92-97.
- [15] ELEFSINIOTIS P, WAREHAM D G, SMITH M O. Use of volatile fatty acids from an acid-phase digester for denitrification[J]. *Journal of Biotechnology*, 2004, 114(3): 289-297.
- [16] 刘沛然. Ca²⁺、Mg²⁺对垃圾渗滤液厌氧生物处理及微生物群落的影响研究[D]. 合肥: 安徽建筑大学, 2017.
- [17] 梅林玲, 于静洁, 张燕, 等. 难降解有机污染物的共代谢研究进展[J]. *天津城建大学学报*, 2018, 24(6): 423-429.
- [18] MENG X, XIANG Y Y, HENG J G, et al. Effect of hydroxypropyl-β-cyclodextrin on the cometabolism of phenol and phenanthrene by a novel *Chryseobacterium* sp.[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 273: 56-62.
- [19] 周梦娟, 缪恒锋, 陆震明, 等. 碳源对反硝化细菌的反硝化速率和群落结构的影响[J]. *环境科学研究*, 2018, 31(12): 2047-2054.
- [20] YAN Y L. Structural and functional analysis of denitrification genes in *Pseudomonas stutzeri* A1501[J]. *Science China Life Sciences*, 2005, 48(6): 585-592.
- [21] QIAO N H, XI L J, ZHANG J J. *Thauera sinica* sp. nov.: A phenol derivative-degrading bacterium isolated from activated sludge[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2017, 111(6): 945-954.
- [22] 王艳青. *Pannonibacter* sp. W1降解对氨基苯磺酸的特性研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2009.
- [23] ELENA S G, TATJANA N Z, TATJANA P T. *Anoxynatronum sibiricum* gen. nov., sp. nov. alkaliphilic saccharolytic

anaerobe from cellulolytic community of Nizhnee Beloe (Transbaikal region)[J]. *Extremophiles*, 2003, 7(3): 213-220.

- [24] SUN Y L, LI A, ZHANG X N, et al. Regulation of dissolved oxygen from accumulated nitrite during the heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of *Pseudomonas stutzeri* T13[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(7): 3243-3248.
- [25] PINTATHONG P, RICHARDSON D J, SPIRO S, et al. Influence of metal ions and organic carbons on denitrification activity of the halotolerant bacterium, *Paracoccus pantotrophus* P16 a strain from shrimp pond[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2009, 12(2): 1-11.

(本文编辑: 金曙光, 曲娜, 郑晓梅)

Denitrification efficiency and microbiological analysis of sludge with addition of the pretreated landfill leachate

LIU Huaguang¹, RONG Chao², ZHANG Jinsong^{1,2,3,4}, ZHOU Xingyu^{2,3,4*}

1. School of Civil Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China

2. Shenzhen Water (Group) Co. Ltd., Shenzhen 518031, China

3. Shenzhen Municipal Sewage Treatment and Recycling Engineering Laboratory, Shenzhen 518001, China

4. School of Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China

*Corresponding author, E-mail: zhouxingyu2017@163.com

Abstract In order to explore the feasibility of pretreated landfill leachate (PLL) as an additional carbon source for the removal of high concentration nitrate nitrogen, SBR system R0 and R1 were established(R0: anhydrous sodium acetate carbon source; R1: PLL + anhydrous sodium acetate carbon source). Efficient denitrifying activated sludge was obtained through cultivation with the simulated high concentration nitrate nitrogen wastewater and PLL addition from anaerobic biofilter. Then its denitrification efficiency was investigated, and the molecular biological was also analyzed. The results showed that nitrate nitrogen could be almost completely removed within 2.5 hours in R1 system at PLL addition volume fraction of 10%, and the denitrification rate reached $58.05 \text{ mg} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, which was 1.79 times of R0. 16S rDNA sequencing showed that the microbial population structure of R0 and R1 reactors were comparatively similar. The dominant denitrifying bacteria in the first three abundances were *pseudomonas*, *thauera* and *pannonibacter*, but their relative abundances were different; The results of qPCR showed that the relative expression of denitrification genes *narG*, *nirK*, *nirS* and *norB* in experimental group R1 was significantly higher than that in control group R0. PLL as an additional carbon source could promote the sludge denitrification activity.

Keywords pretreated landfill leachate; high concentration nitrate; denitrification; microbial community structure