环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社

2020
Vol.41 No.5
第41卷 第5期

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第41卷 第5期
2020年5月15日

目 次

Eco-Environmental Knowledge Web
环 境 科 学
Environmental Science
第41卷第5期 2020年5月
Vol.41, No.5 May, 2020

新型填料 A/O 生物滤池处理低碳氮比农村污水脱氮

赵远哲[1,2,3], 杨永哲[1], 王海燕[2,3*], 储昭升[2,3], 常洋[2,3], 董伟羊[2,3], 闫国凯[2,3], 王欢[1,2,3], 李丛宇[2,3]
(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055; 2. 中国环境科学研究院环境污染控制技术工程研究中心, 北京 100012; 3. 中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点试验室, 北京 100012)

摘要: 针对低碳氮比导致低污染农村污水生物处理时出水总氮(total nitrogen, TN)质量浓度高不能满足排放标准的问题,以普通砾石 A/O 生物滤池为对照组(1 号),采用芦竹和活性炭分别作为缺氧段和好氧段填料的 A/O 生物滤池(2 号)处理人工模拟农村污水并研究其脱氮效果. 结果表明,当进水化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)、氨氮(ammonia nitrogen, NH_4^+-N)和 TN 质量浓度分别为(79.47 ± 14.21)、(34.49 ± 2.08)和(34.73 ± 3.87) mg·L^{-1}时,两套装置对 COD、NH_4^+-N和 TN 的去除率分别为(88.00 ± 7.00)%和(89.00 ± 10.00)%、(90.00 ± 2.00)%和(97.00 ± 7.00)%、(37 ± 15)%和(68 ± 7)%,表明添加新型填料芦竹和活性炭能显著增强 A/O 生物滤池对NH_4^+-N和 TN 的去除. 高通量测序结果显示, 1 号装置中参与硝化过程的微生物主要为 Proteobacteria(变形菌门), 2 号则是变形菌门和 Nitrospirae(硝化螺旋菌门)共同作用;1 号装置缺氧段中发挥反硝化作用的主要细菌门类包括 Chloroflexi(绿弯菌门)、变形菌门、Bacteroidetes(拟杆菌门)和 Planctomycetes(浮霉菌门),而 2 号缺氧段中则主要是拟杆菌门、变形菌门、Firmicutes(厚壁菌门)和 Patescibacteria. 实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real time polymerase chain reaction, qPCR)结果表明, 2 号装置中生物膜的硝化功能基因(*amoA* 和 *Nitrospira* 16S rDNA)、反硝化功能基因(*narG*、*nosZ*、*nirS* 和 *nirK*)和厌氧氨氧化功能基因(ANAMMOX)丰度均高于 1 号装置,除 *narG* 和 *nosZ* 基因外,其余几种都有 1 ~ 2 个数量级的差别.

关键词: A/O 生物滤池; 低污染低 C/N 农村污水; 芦竹-活性炭填料; 高通量测序; 实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)
中图分类号: X703.1 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2020)05-2329-10 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201910118

Nitrogen Removal in Low-C/N Rural Sewage Treatment by Anoxic/Oxic Biofilter Packed with New Types of Fillers

ZHAO Yuan-zhe[1,2,3], YANG Yong-zhe[1], WANG Hai-yan[2,3*], CHU Zhao-sheng[2,3], CHANG Yang[2,3], DONG Wei-yang[2,3], YAN Guo-kai[2,3], WANG Huan[1,2,3], LI Cong-yu[2,3]
(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. Research Center for Environmental Pollution Control Engineering Technology, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 3. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Abstract: When low-concentration rural sewage is treated biologically, the effluent total nitrogen (TN) concentration often does not meet the discharge limit because of its low carbon-to-nitrogen ratio (C/N). To solve this problem, a laboratory-scale anoxic/oxic (A/O) biofilter packed with *Arundo donax* and activated carbon as the anoxic and aerobic column fillers (No. 2) was operated for treatment of simulated rural sewage and advanced nitrogen removal, while an ordinary gravel-packing A/O biofilter (No. 1) was set up as the control group. The results were as follows. When the influent chemical oxygen demand (COD), ammonia nitrogen (NH_4^+-N), and TN concentrations were (79.47 ± 14.21), (34.49 ± 2.08), and (34.73 ± 3.87) mg·L^{-1}, respectively, the No. 1 and No. 2 reactors achieved removal efficiencies of (88.00 ± 7.00)% and (89.00 ± 10.00)%, (90.00 ± 2.00)% and (97.00 ± 7.00)%, and (37 ± 15)% and (68 ± 7)%, respectively. The results revealed that using *Arundo donax* and activated carbon new fillers could significantly enhance NH_4^+-N and TN removal. High-throughput sequencing results indicated that the microorganisms involved in the nitrification process in the No. 1 reactor mainly belong to Proteobacteria, whereas those in the No. 2 reactor belong to Proteobacteria and Nitrospirae. In addition, the main denitrification bacterial phyla in the anoxic column of the No. 1 reactor were Chloroflexi, Proteobacteria, Bacteroidetes, and Planctomycetes, whereas those in the anoxic column of the No. 2 reactor were primarily Bacteroidetes, Proteobacteria, Firmicutes, and Patescibacteria. Quantitative real time polymerase chain reaction (qPCR) results showed that the microbial nitrification (*amoA* and *Nitrospira* 16S rDNA), denitrification (*narG*, *nosZ*, *nirS*, and *nirK*), and anaerobic ammonium oxidation functional genes (ANAMMOX) in the No. 2 reactor were significantly higher than those in the No. 1 reactor. All the genes, except for the *narG* and *nosZ* genes, had one to two orders of magnitude of improvement in the No. 2 reactor compared to those in the No. 1 reactor.

Key words: anoxic/oxic (A/O) biofilter; low-pollution and low-C/N rural sewage; *Arundo donax*-activated carbon filler; high-throughput sequencing; quantitative real time polymerase chain reaction (qPCR)

收稿日期: 2019-10-17; **修订日期**: 2019-12-06
基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(2016YSKY-031);国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07401003-05-01)
作者简介: 赵远哲(1995 ~),男,硕士研究生,主要研究方向为水污染控制理论与技术,E-mail:1174833645@qq.com
* 通信作者,E-mail:wanghy@craes.org.cn

农村污水中含有大量的营养元素氮,如果直接排放到河流和湖泊中,会造成水体富营养化,引起藻类的大量繁殖,从而降低水质和水体生物多样性,对水体生态和经济产生很大的危害[1]. 且由于农村地区排水设施建设不完善导致的雨污混流现象使得农村污水大多具有低污染低碳氮比(C/N)的特点. 在采用生物法处理农村生活污水时,碳源不足会导致微生物反硝化作用被严重抑制,大大降低生物脱氮效率[2].

外加碳源是提高微生物对低污染低 C/N 水脱氮的有效手段[3]. 然而出于高效性、安全性、可再生性、经济性和二次污染等角度,外加碳源材料的选择及其添加方式需慎重考虑. 以甲醇、乙醇和乙酸等小分子物质为外加碳源可显著提高微生物脱氮效率[4~6],但因其消耗量大、价格昂贵,且不易控制用量,因此在实际工程应用中受到一定限制. 目前研究较多的可替代碳源包括以天然纤维素物质、人工合成高聚物为主的固体碳源、污泥水解上清液、垃圾渗滤液和气体碳源甲烷等[7]. 其中天然纤维素物质主要为植物材料,其价廉、易得且有机质含量高,具有一次添加长期释放、绿色无害、后续管理方便的特点[8]. Park 等[9]利用西红柿和黄瓜叶的水解液为有机碳源,对污染严重的农耕污水中硝酸盐进行强化去除,去除率高达68%~99%;丁怡等[10]在研究植物水解液对人工湿地中脱氮的影响时发现,添加水解液使得总氮(total nitrogen, TN)去除率提高了 41%;肖蕾等[11]利用千屈菜植物材料为垂直流人工湿地系统外加碳源,发现系统处理人工模拟配制生活污水时脱氮效率最高可提升 30.85%. 还有研究人员发现采用碱处理玉米秸秆作为反硝化碳源补充材料的潮汐流人工湿地反硝化速率是未添加的 2.05 倍[12]. 此外,还有许多植物如芦苇碎段[13]、梧桐树皮[14]、梧桐树叶[14]、玉米芯[14]、稻草[15]和芦竹[16]等也都被用作外加碳源强化生物脱氮,并且都被证实是有效的. 在这之中,芦竹是一种大量生长于中国南方的竹类植物,纤维中含有丰富的多糖类物质,在水的浸泡及微生物分解作用下释放出单糖,可作为反硝化菌的电子供体,强化系统脱氮;并且,芦竹硬度大且表面粗糙,经过长时间水的浸泡依然保持形态不发生变化,很适合微生物附着生长,因此可用作生物填料[16].

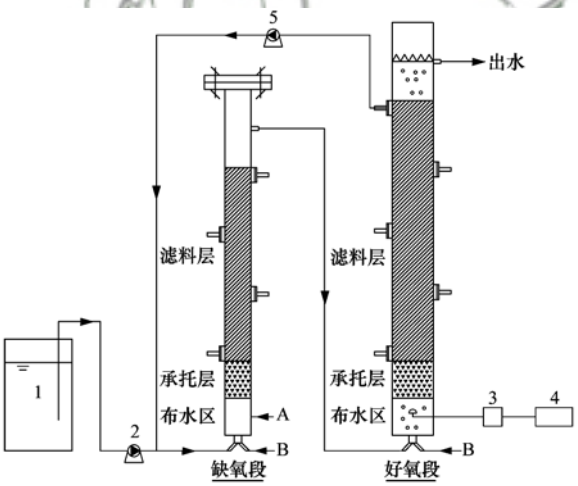
活性炭作为最常用的吸附剂,具有吸附容量大、原料来源广和造价低廉的优点,广泛应用于水处理中[17-19]. 其在生物法污水处理系统中的作用主要体现在两方面:第一,活性炭的多孔结构可吸附水中颗粒污染物,降低出水浊度. 而吸附在活性炭表面的污染物会被系统中微生物分解,从而实现活性炭的吸附再生,如此循环以达到净水的目的[20]. 第二,活性炭对微生物絮体的吸附作用可以保证整个污水处理系统中有更多的微生物量,强化微生物作用,促进污染物的去除[21].

本研究选取采自洱海流域农村的芦竹以及购买到的椰壳活性炭分别作为 A/O 生物滤池缺氧段和好氧段填料,并采用扫描电镜(scanning electronic microscopy, SEM)、高通量测序和实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative real time polymerase chain reaction, qPCR)等现代表征手段从微生物角度分析芦竹和活性炭对整个系统脱氮的促进机制,以期为芦竹和活性炭作为 A/O 生物滤池填料对低污染低 C/N 农村污水的处理提供参考.

1 材料与方法

1.1 试验装置

试验时两套 A/O 生物滤池反应器(1 号和 2 号)同时运行,装置采用有机玻璃制成,两套反应器均为圆柱型,好氧段内径 0.11 m,布水区高度 0.1 m,采用石英砂承托层,高度 0.1 m,填料层高度 0.7 m. 缺氧段内径 0.07 m,布水区 0.1 m,采用石英砂承托层,高度 0.1 m,填料层高度 0.52 m(图 1).



1. 进水水箱; 2. 提升泵; 3. 气体流量计; 4. 空气压缩机; 5. 回流泵; A. 接反冲洗气泵; B. 接自来水作反冲洗水

图 1 A/O 生物滤池试验装置示意

Fig. 1 A/O biofilter experimental set-up

1.2 试验材料

1.2.1 试验填料及配置

将采回的芦竹用清水反复冲洗干净后,太阳下晒干. 破碎机(800Y,旭曼)破碎后,经 3 mm 和 5 mm 方形筛筛分,得到 3~5 mm 大小的芦竹小段备用. 将购买到的粒径 3~5 mm 砾石(重庆清源荣顺净水材料有限公司,重庆)和 3~5 mm 椰壳活性炭(宜兴

市华海活性炭有限公司，宜兴）以及 5 ~ 8 mm 石英砂（重庆清源荣顺净水材料有限公司，重庆）清洗晒干后备用. 1 号装置好氧段与缺氧段填料层均用 3 ~ 5 mm 砾石填充，总有效过水体积 5.450 L. 2 号装置好氧段填料层用活性炭与砾石以体积比 1∶1 填充（活性炭在上，砾石在下），缺氧段用芦竹与砾石以体积比 3∶1 分层装填（芦竹在上，砾石在下），总有效过水体积 4.475 L.

1.2.2　模拟农村污水

试验时通过向自来水中投加葡萄糖、氯化铵和磷酸二氢钾来模拟农村污水水质（表 1），并加入 1 $mL \cdot L^{-1}$ 微量元素溶液补充微生物所需微量元素，微量元素溶液组分见表 2.

表 1　模拟污水水质/$mg \cdot L^{-1}$

Table 1　Characteristics of synthetic sewage/$mg \cdot L^{-1}$

水质指标	质量浓度范围	均值
COD	48.60 ~ 103.00	79.47 ± 14.21
TN	28.32 ~ 47.07	34.73 ± 3.87
NH_4^+-N	29.48 ~ 45.03	34.49 ± 2.08
NO_3^--N	0 ~ 2.09	1.30 ± 0.42
NO_2^--N	0.05 ~ 1.65	0.58 ± 0.24

表 2　微量元素溶液组分/$mg \cdot L^{-1}$

Table 2　Components of trace element solution/$mg \cdot L^{-1}$

成分	参数值	成分	参数值
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	240	$NaMoO_4$	65
H_3BO_4	150	$NiCl_2$	50
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	120	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	210
$MnCl_2 \cdot 7H_2O$	120	KI	30
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	30		

1.3　污泥接种及试验设计

两套 A/O 生物滤池装置接种污泥取自北京某污水处理厂卡鲁赛尔氧化沟缺氧池段，悬浮固体（mixed liquor suspended solids, MLSS）质量浓度为 7000 $mg \cdot L^{-1}$，混合液挥发性固体（mixed liquor volatile suspended solids, MLVSS）质量浓度为 3549 $mg \cdot L^{-1}$，污泥沉降比为 66%，污泥体积指数 94 $mL \cdot g^{-1}$. 两套 A/O 生物滤池装置均采用接种挂膜法启动：接种挂膜阶段首先将取得的污泥与配水按体积比 1∶2 的比例混匀后分别送入 2 根滤柱，缺氧段不曝气，好氧段闷曝 1 d（气量 20 $L \cdot h^{-1}$），排空两根柱子. 以此方式重复 3 次. 之后，装置开始小流量进水，逐渐增大流量至水力停留时间（hydraulic retention time, HRT）10 h. 每两天取一次样，测定装置稳定期进出水的 COD、NH_4^+-N、NO_2^--N、NO_3^--N 和 TN 等水质指标（装置启动期为 16 d），第 17 d，开始稳定运行，本实验将第 17 d 记录为第 1 d（即指稳定阶段开始的第 1 d），每两天取一次水样. 试验时两套装置同时运行，采用连续流进水方式，保持 HRT 为 10 h，气水比 4∶1，硝化液回流比 150%. 反冲洗每月 1 次，具体操作参数如下：先气冲 3.0 min，再气水联冲 4.5 min，最后水冲 4.0 min，气、水冲洗强度分别为 0.4 $mL \cdot (m^2 \cdot min)^{-1}$ 和 22.89 $mL \cdot (m^2 \cdot min)^{-1}$[22].

1.4　分析方法

1.4.1　水质分析方法

主要水质检测指标与方法：化学需氧量（chemical oxygen demand, COD）采用哈希试剂检测法（UV-2100）；TN 采用 TOC 测定仪 TN 测定单元（TOC-VCPH）；氨氮（ammonia nitrogen, NH_4^+-N）采用纳氏试剂分光光度法（UV-2100）；亚硝酸盐氮（nitrite nitrogen, NO_2^--N）和硝酸盐氮（nitrate nitrogen, NO_3^--N）采用离子色谱（DIONEX ICS-1000）；pH 采用便携式 pH 计（PHC10103）.

1.4.2　芦竹填料组分测定

取若干块太阳下晒干的形状大小相似的芦竹，委托青岛科创质量检测有限公司进行芦竹纤维中纤维素、半纤维素和木质素的组分分析，采用范式洗涤纤维分析法测定[23].

1.4.3　微生物及分子生物学分析

在两套 A/O 生物滤池装置稳定阶段的第 45 d，取生物膜生长良好的填料进行 SEM、高通量及 qPCR 分析. 选取 5 mm × 5 mm 的填料小块，用 2.5% 中性戊二醛固定，磷酸缓冲液清洗，乙醇梯度脱水. 再进行临界点干燥和喷金后，置于 SEM 电镜下观察[24].

用土壤基因组 DNA 提取试剂盒（MPBiomedicals，美国）提取生物膜样品的 DNA. 20 μL 的 qPCR 混合反应物由 16.4 μL 的 2X *Taq* Plus Master Mix（Vazyme Biotech，美国），2 μL 的模板 DNA，0.8 μL 的正向引物和 0.8 μL 的反向引物组成. qPCR 的反应条件为：95℃ 预变性 5 min；在不同温度下（*amoA*，52℃；*Nitrospira* 16S rDNA，60℃；*narG* 和 *nirS*，60℃；*nirK*，54℃；*nosZ*，56℃；ANAMMOX，55℃）变性 30 s，共 40 个循环；最后 72℃ 延伸 40 s. 每个样品设 3 个平行样. 用 Nano Drop 2000 分析仪（Thermo Fisher Scientific，美国）监测构建质粒的数量与质量. 以 10 倍梯度稀释各功能基因重组质粒进行 qPCR（博日 9600Plus，中国）检测，获得各功能基因标准曲线. R^2 为 0.994 9 ~ 0.999 9，扩增效率为 84.8% ~ 99.7%.

在 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪（Life Technologies，美国）对两套装置填料层中取得的不同填料生物膜进行 qPCR 分析. 对硝化过程功能基

因 *amoA* 和 *Nitrospira* 16S rDNA、厌氧氨氧化细菌功能基因 ANAMMOX 以及反硝化过程功能基因 *narG*、*nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 的拷贝数进行定量分析,各目的基因的引物序列见表 3.

表 3 qPCR 引物序列

Table 3 Primer sequences for qPCR

目的基因(正向引物/反向引物)	正向引物序列	反向引物序列
ANAMMOX(PLA46F/AMX667R)[17]	GGATTAGGCATGAAGTC	ACCAGAAGTTCCACTCTC
nirK(nirK876/nirK1040)[18]	ATYGGCGGVCAYGGCGA	GCCTCGATCAGRTTRTGGTT
nirS(nirS-cd3af/nirS-R3cd)[19]	GTSAACGTSAAGGARACSGG	GASTTCGGRTGSGTCTTGA
nosZ(nosZ-1527F/nosZ-1773R)[20]	CGCTGTTCHTCGACAGYCA	ATRTCGATCARCTGBTCGTT
narG(narG-F/narG-R)[21]	TA(CT)GT(GC)GGGCAGGA(AG)AAA	CGTAGAAGAAGCTGGTGCTGTT
amoA(AOB-1F/AOB-2R)[25]	GGGGTTTCTACTGGTGGT	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC
Nitrospira 16S rDNA(NSR-1113f/NSR-1264r)[25]	5′-CCTGCTTTCAGTTGCTACCG-3′	5′-GTTTGCAGCGCTTTGTACCG-3′

高通量测序采用 MiSeqPE300 测序模式,选择细菌 16S rRNA V3 ~ V4 区引物 338F 和 806R(引物序列 5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3′ 和 5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′),古菌 16S rRNA V5 ~ V7 区引物 524F 和 958R(引物序列 5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′和 5′-YCCGGCGTTGAVTCCAATT-3′)对样品进行测试,再分析得到样品的菌群结构.

2 结果与讨论

2.1 COD 的变化及去除

由表 4 可知,两套 A/O 生物滤池装置对 COD 都有很好地去除效果,且差异不大. 两者出水 COD 可满足《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)一类水标准(小于 15 mg·L^{-1}). 图 2 可以看出,采用芦竹作为填料的 2 号滤池缺氧段出水中 COD 质量浓度[(40.80 ± 23.01) mg·L^{-1}]远远高于 1 号普通砾石填料缺氧段出水[(11.81 ± 8.64) mg·L^{-1}],表明芦竹作为填料时可显著增加缺氧段中碳源含量,为微生物反硝化过程提供更多的电子供体,强化系统脱氮. 而系统出水中 COD 质量浓度低且差异不大说明芦竹释放出的碳源在促进微生物反硝化作用的同时多余的碳源物质会被其它异养菌利用,从而并不会造成出水二次污染,这也从侧面反映了芦竹作为 A/O 生物滤池缺氧段填料的可行性与优越性.

表 4 A/O 生物滤池对 COD 的去除效果

Table 4 COD removal efficiency in two A/O biofilters

指标	1 号 A/O 生物滤池			2 号 A/O 生物滤池		
	进水/mg·L^{-1}	出水/mg·L^{-1}	去除率/%	进水/mg·L^{-1}	出水/mg·L^{-1}	去除率/%
COD	79.47 ± 14.21	8.90 ± 5.75	88.00 ± 7.00	79.47 ± 14.21	8.70 ± 9.39	89.00 ± 10.00

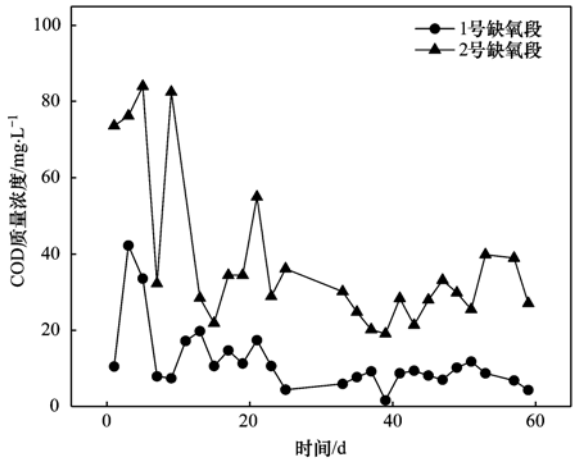


图 2 A/O 生物滤池缺氧段出水 COD 质量浓度

Fig. 2 COD concentration in anoxic column effluent of the two A/O biofilters

2.2 NH_4^+-N的去除

两套 A/O 生物滤池对NH_4^+-N去除效果如表 5 所示,可以看出 2 号装置相比 1 号NH_4^+-N去除率提高了 7%,出水NH_4^+-N质量浓度可满足《城镇污水处理厂污染物排放标准》(GB 18918-2002)一级 A 标准(小于 5 mg·L^{-1}). NH_4^+-N的去除主要依靠硝化细菌在好氧条件下将NH_4^+-N转化为硝氮,而硝化菌属于自养菌,生长缓慢,世代周期长,对环境条件要求比较苛刻[26],不易富集培养. 在本试验中,由于好氧柱与缺氧柱填料层都较长(分别为 520 mm 和 700 mm),因此在垂直方向存在溶解氧梯段变化. 在好氧段气水比为 4:1的条件下,两套装置好氧柱填料最底层的溶解氧质量浓度为 2 ~ 3 mg·L^{-1},填料最上层溶解氧质量浓度在 4.5 ~ 7 mg·L^{-1}之间,整个填料层都处于好氧环境,是最适于硝化细菌生长的条件. 在硝化液回流比为 150%时,两套 A/O 生物滤池装置缺氧段填料底层溶解氧质量浓度为 0.5 ~ 1 mg·L^{-1},填料最上层溶解氧质量浓度小于 1 mg·L^{-1},整个缺氧段填料层都处于反硝化菌的最佳生长溶解氧质量浓度条件下,因此也能最大程度发挥生物脱氮作用. 当两套装置进水中氨氮质量浓度相同,且运行条件一致时, 2 号装置对于NH_4^+-N具有更好的去除效果:一方

面是因为好氧段填充的活性炭具有强大的吸附能力，在填料表面的生物膜遭受水流冲刷时使微生物免遭流失，可为系统保留住更多的硝化菌；另一方面，缺氧段填充的芦竹填料在浸泡及微生物分解过程中释放出的一些微量元素也会促进硝化细菌的生长代谢[27]，从而强化系统对氨氮的去除.

表 5　A/O 生物滤池对 NH_4^+-N 的去除效果

Table 5　NH_4^+-N removal efficiency in the two A/O biofilters

指标	1 号 A/O 生物滤池			2 号 A/O 生物滤池		
	进水/mg·L^{-1}	出水/mg·L^{-1}	去除率/%	进水/mg·L^{-1}	出水/mg·L^{-1}	去除率/%
NH_4^+-N	34.49 ± 2.08	3.38 ± 0.72	90.00 ± 2.00	34.49 ± 2.08	1.09 ± 2.47	97.00 ± 7.00

2.3　TN 的去除

两套 A/O 生物滤池在 60 d 的稳定运行时间里对模拟农村污水中 TN 的去除见图 3. 当进水 TN 质量浓度为(34.73 ± 3.87) mg·L^{-1}时，1 号和 2 号装置出水 TN 质量浓度分别为(21.56 ± 4.26) mg·L^{-1}和(11.04 ± 1.88) mg·L^{-1}，TN 平均去除率分别为(37 ± 15)%和(68 ± 7)%. 可见，填充了芦竹和活性炭的 2 号装置对 TN 有更好的去除效果. 余波等采用以多孔聚合物颗粒和空心球为填料的一体式生物流化床-生物滤池处理低 COD/TN(C/N)城市污水时，发现当进水 C/N 为 2.64 时，TN 的平均去除率只有 30.8%[28]. 而在本试验中，平均进水 C/N 为 2.28，当采用普通砾石填料时，1 号系统 TN 去除率与上述研究接近；而在相同运行条件下添加了活性炭和芦竹的 2 号装置 TN 去除率提高了 31%，这体现了芦竹和活性炭作为 A/O 生物滤池填料的优越性.

芦竹组分测定结果如表 6 所示，芦竹主要由纤维素、半纤维素和木质素这 3 部分组成. 纤维素是由纤维二糖结构单元组成的长链大分子多聚糖组成，易水解，井洪晶等研究发现水稻秸秆中纤维素水解为葡萄糖等物质是纤维素利用的重要途径[29]. 半纤维素是一种相对低分子质量、无定形，并且具有多官能团(包括乙酰基、甲基、葡萄糖醛酸、肉桂酸以及半乳糖醛酸)的杂多糖，易水解[30]，且水解时会产生一种以上的单糖或单糖衍生物，如透明质酸、糖醛酸等[31]. 木质素是由氧代苯丙醇或其衍生物结构单元形成的芳香性高聚物，是这 3 种物质中最难水解的成分[32]. 从表 6 的结果可以看出，纤维素和半纤维素质量之和在芦竹总质量中所占比重超过 60%，表明芦竹作为反硝化外加碳源是可行的. 有研究发现，以纤维素物质枫树叶为碳源时会分解出以延胡索酸为主要成分的低分子有机酸[33]；刘长莉等[34]也发现水稻秸秆中纤维素的分解能释放出丙酸、乙醇和异丙酸等挥发性脂肪酸. 因此可以推测芦竹中纤维素与半纤维素分解也会产生类似的多聚糖、单糖或单糖衍生物、小分子挥发性脂肪酸及低分子有机酸等. 而 Elefsiniotis 等[31]的研究已证实，这些挥发性脂肪酸及低分子有机酸作为反硝化碳源时能获得更高的反硝化速率，这就解释了芦竹填料可强化系统脱氮的原因.

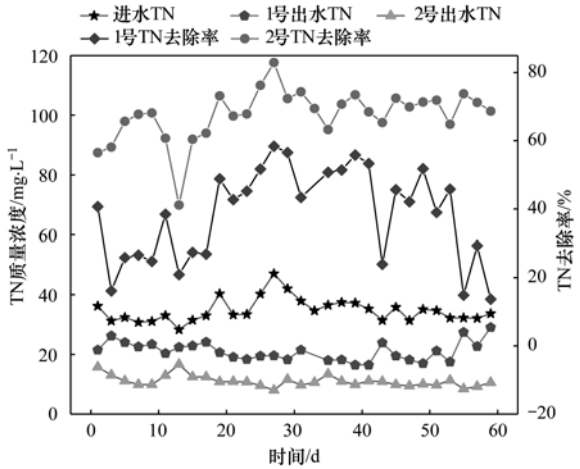


图 3　A/O 生物滤池对 TN 的去除效果

Fig. 3　TN removal efficiency in the two A/O biofilters

表 6　芦竹组分分析/g·g^{-1}

Table 6　Composition analysis of *Arundo donax*/g·g^{-1}

项目	纤维素	半纤维素	木质素
样品 1	0.368 3	0.291 7	0.156 4
样品 2	0.301 6	0.321 8	0.204 1
样品 3	0.316 4	0.273 6	0.190 8
平均值	0.328 8	0.295 7	0.183 8

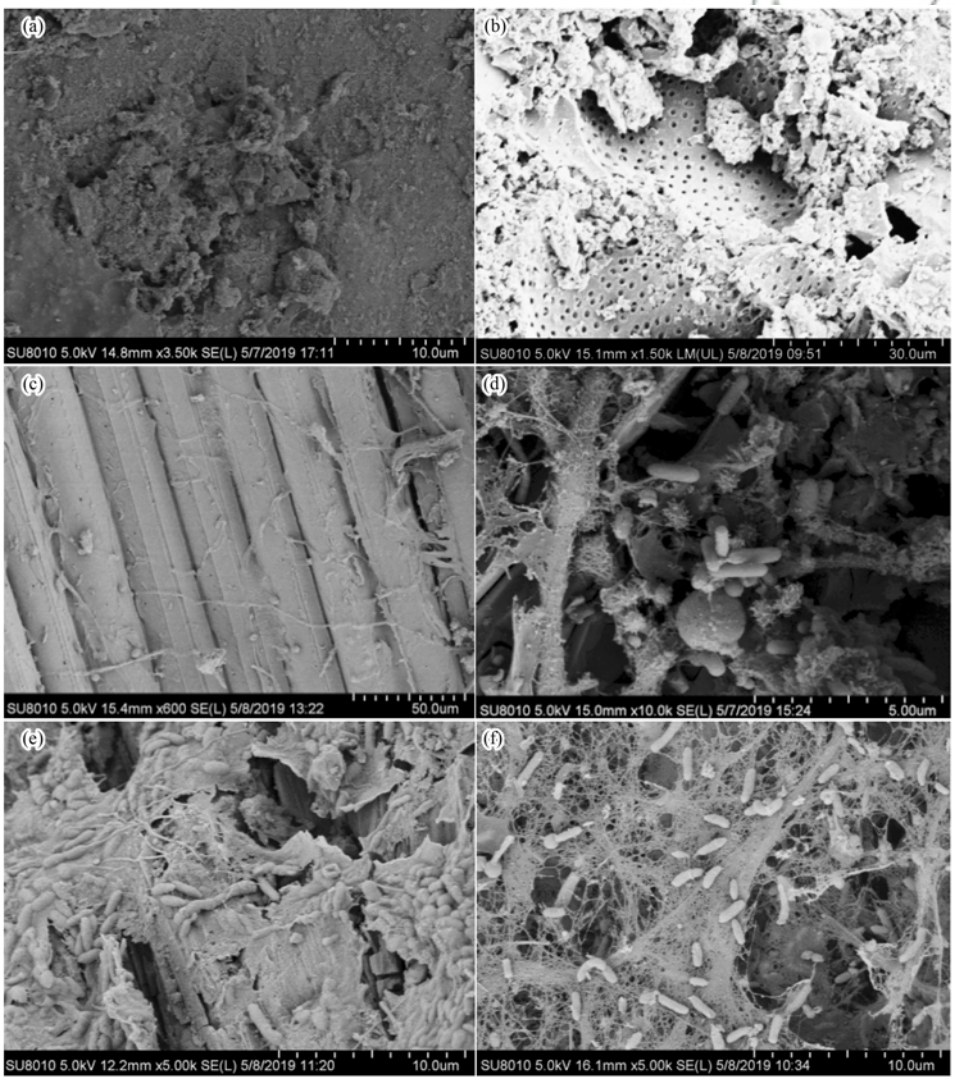
活性炭与芦竹对于 A/O 生物滤池系统脱氮的促进作用机制不同. 对活性炭而言，对 TN 的去除主要依靠强大的吸附作用固定更多的硝化菌在填料表面从而促进氨氮在好氧段的转化，为缺氧段微生物反硝化作用提供电子受体，直接促进水中氨氮的去除，间接地强化系统对于 TN 的去除. 而芦竹作为生物滤池缺氧段的填料时，在水的浸泡及微生物分解双重作用下，芦竹纤维中的大分子糖类会分解为小分子糖类及有机酸，为反硝化菌提供更多的电子供体，强化缺氧段反硝化作用，增强系统对于 TN 的去除[35~37].

值得注意的是，芦竹对于系统强化脱氮是一个持续且稳定的过程，在经历了 60 d 的碳源释放后，芦竹对于系统强化脱氮的作用丝毫没有减弱，说明

芦竹作为生物滤池缺氧段填料时可保证在一个较长的时期内发挥作用. 孙雅丽等[38]以腐朽木为碳源去除废水中硝酸盐氮,发现腐朽木在添加 46 d 后释放碳源的能力显著下降. 而同样在使用芦竹作为外加碳源及微生物填料时,Li 等[16]发现将芦竹填入反硝化膜生物反应器中强化系统脱氮时, 170 d 后芦竹仍有很好地促进系统脱氮的能力,但质量损失高达 92%,这很好地体现出芦竹作为植物碳源的优越性. 结合上述试验结果及已有研究,可推测芦竹作为植物碳源最少可在 170 d 内保持碳源稳定释放,而作为微生物载体时由于碳源释放过程导致质量损失严重会使得填料表面形态发生变化,不能很好地附着微生物,因此需要及时更换填料. 但保守估计 120 d 内,芦竹都能很好地发挥填料及外加碳源的双重功能.

2.4 不同填料上的生物膜形态

图 4 所示为活性炭及芦竹附着生物膜前后的填料表面扫描电镜图. 可以看出,砾石表面光滑,微生物附着能力较弱;活性炭表面多孔,能很好地吸附生物膜和水中的颗粒污染物;芦竹表面粗糙,很适于微生物附着生长. 两套装置缺氧段中无论是砾石还是芦竹填料上,生物膜都以短杆菌为主. 相比 1 号装置缺氧段砾石填料上较稀薄的生物膜, 2 号缺氧段砾石填料上黏性物质将细菌紧紧粘合在一起,形成更为密实的生物膜结构;而芦竹上附着的生物膜较砾石显然更为均匀紧凑,黏性物质也更少. 这一方面说明芦竹作为微生物载体效果优于普通砾石填料;另一方面也表明芦竹释放出的有机物和微量元素促进了微生物的生长. 在微生物反硝化过程中,典型的反硝化假单胞菌属 (*Pseudomonaceae*) 和色杆菌属 (*Chromobacterium*) 均呈杆状[39]. 图 4 中显示的缺氧段填料上的短杆菌可能就属于这两类细菌.



(a)1 号好氧段砾石填料;(b)2 号好氧段活性炭填料;(c)空白芦竹表面;(d)1 号缺氧段砾石填料;(e)2 号缺氧段砾石填料;(f)2 号缺氧段芦竹填料

图 4 A/O 生物滤池填料表面扫描电镜

Fig. 4 SEM image of the carriers in the two A/O biofilter anoxic columns

2.5　填料表面细菌分布特征

2.5.1　好氧段填料表面细菌在门层面的分布特征

A/O 生物滤池好氧段微生物群落多样性分析结果见图 5，两组生物滤池好氧段细菌门类多样性都比较丰富；在 1 号好氧段中，微生物主要由 Proteobacteria（变形菌门，28.45%）、Actinobacteria（放线菌门，22.21%）、Patescibacteria（16.59%）、Chloroflexi（绿弯菌门，9.92%）和 Bacteroidetes（拟杆菌门，6.54%）组成. 2 号好氧段中，主要由变形菌门（30.57%）、绿弯菌门（15.84%）、拟杆菌门（10.30%）、放线菌门（9.47%）、Patescibacteria（8.45%）和 Nitrospirae（硝化螺旋菌门，6.99%）组成，二者优势类群均包括变形菌门、绿弯菌门、拟杆菌门、放线菌门和 Patescibacteria. 污水处理微生物群落中的硝化细菌主要属于变形菌门和硝化螺旋菌门[40,41]. 而 1 号好氧段中变形菌门占比高而硝化螺旋菌门的占比极低（0.31%），表明氨氮的转化主要是由变形菌门完成. 而 2 号好氧段中变形菌门占比大于 1 号好氧段且硝化螺旋菌门占比较高，表明是变形菌门与硝化螺旋菌门共同完成硝化过程.

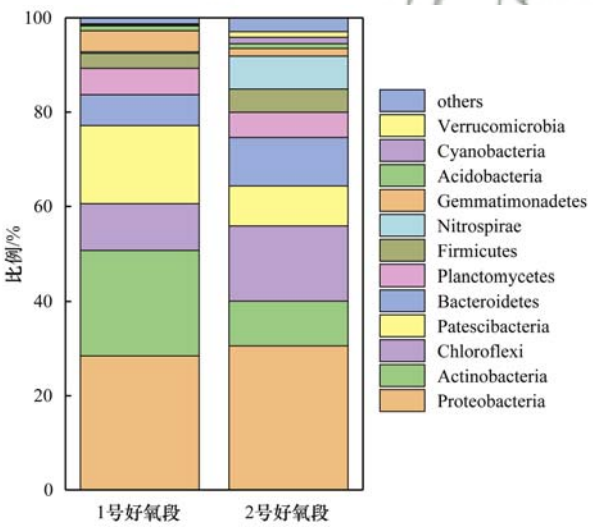


图 5　A/O 生物滤池好氧段微生物门层面群落组成分析

Fig. 5　Microbial community diversity and its composition in the aerobic column of the two A/O biofilters at phylum level

从上述结果可以看出，活性炭作为好氧段填料会显著改变生物膜中微生物的种群结构，提高好氧段中微生物的多样性，使装置具有更好地抗击负荷变化的能力；同时也有效提高了硝化菌的丰度占比，强化系统氨氮的去除. 这就很好地解释了两套装置对氨氮去除的差异.

2.5.2　缺氧段填料表面细菌在门层面的分布特征

A/O 生物滤池缺氧段微生物群落多样性分析如图 6 所示. 在 1 号缺氧段中，细菌门类主要由绿弯菌门（25.38%）、变形菌门（16.33%）、拟杆菌门（15.44%）和浮霉菌门（12.16%）组成. 2 号缺氧段中，占比较高的细菌门类为拟杆菌门（24.00%）、变形菌门（19.97%）、Firmicutes（厚壁菌门，15.82%）和 Patescibacteria（12.83%），二者共同的优势类群为变形菌门和拟杆菌门. 据报道，绿弯菌门和厚壁菌门是微生物反硝化脱氮过程中的主要参与菌种，常见于各种规模的试验及实际污水处理中[42~46]. 拟杆菌门和变形菌门在污水中的作用主要对应于化能有机营养的专性厌氧和固氮作用[47,48]，因此也常被认为是反硝化过程的主要参与者. 浮霉菌门是一小门水生细菌. 可通过厌氧氨氧化过程脱氮的厌氧氨氧化（anaerobic ammonium oxidation，ANAMMOX）细菌主要就存在于浮霉菌门[49]. 因此，浮霉菌门在微生物种群中分布较多时预示着系统中可能存在厌氧氨氧化脱氮过程. 总体来看，两套装置缺氧段中反硝化脱氮微生物都占据主导地位，表明反硝化脱氮是两套装置缺氧段中氮去除的主要途径. 值得注意的是，1 号缺氧段中浮霉菌门的占比高达 12.16%，表明 1 号装置缺氧段很可能存在厌氧氨氧化脱氮过程，但 ANAMMOX 细菌在系统 TN 去除中的贡献率还有待于进一步研究.

2.6　A/O 生物滤池脱氮菌功能基因拷贝数

A/O 生物滤池脱氮主要依靠微生物硝化-反硝化过程，其间需要不同种类微生物参与. 其中微生物硝化过程包括 2 个连续的步骤（$NH_4^+ \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$），*amoA* 和 *Nitrospira* 16S rDNA 基因是硝化细菌在氨氮转化过程中的两个关键基因[25]. 反硝化过程包括 4 个连续的步骤（$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$），其中 *narG*、*nosZ*、*nirS* 和 *nirK* 是硝氮和亚硝氮转化的关键基因，也是研究最为广泛的基因；ANAMMOX 基因是典型厌氧氨氧化基因，与 NO_2^- 去除密切相关[50]. 因此，以上这些与氮的转化有关的

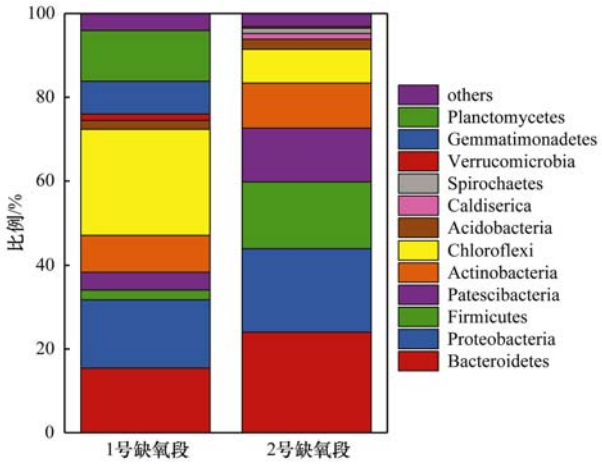


图 6　A/O 生物滤池缺氧段微生物门层面群落组成分析

Fig. 6　Microbial community diversity and its composition in the anoxic column of the two A/O biofilters at phylum level

功能基因丰度即可反映出系统的脱氮能力. 用 qPCR 测定装置稳定期的生物膜中基因拷贝数(表 7 和表 8). 可以看出, 2 号装置好氧段两种硝化功能基因丰度要高于 1 号好氧段 2 个数量级. 且 2 号装置缺氧段几种反硝化功能基因和厌氧氨氧化功能基因都要显著高于 1 号装置缺氧段,而且除了 *narG* 和 *nosZ* 基因,其余几种都有 1 ~ 2 个数量级上的差别. 微生物脱氮功能基因丰度的变化反映在宏观上即脱氮微生物种群数量的差异. 因此以上结果表明以活性炭和芦竹为填料会显著增加脱氮微生物在装置中的数量分布,同时促进生物滤池系统对于氨氮和总氮的去除,这也很好地解释了两套生物滤池装置对氨氮和 TN 去除的变化趋势.

表 7 A/O 生物滤池好氧段填料生物膜中各基因拷贝数(以 SS 计)/copies·g^{-1}

Table 7 Copy numbers of genes in the carrier biofilm of the two A/O biofilter aerobic columns(SS)/copies·g^{-1}

项目	1 号好氧段	2 号好氧段
amoA	5.93×10^{6}	8.18×10^{8}
Nitrospira 16S rDNA	7.02×10^{7}	1.91×10^{9}

表 8 A/O 生物滤池缺氧段填料生物膜中各基因拷贝数(以 SS 计)/copies·g^{-1}

Table 8 Copy numbers of genes in the carrier biofilm of the two A/O biofilter anoxic columns(SS)/copies·g^{-1}

项目	1 号缺氧段	2 号缺氧段
narG	1.09×10^{9}	3.22×10^{9}
nosZ	9.45×10^{7}	9.61×10^{7}
nirS	8.43×10^{8}	1.51×10^{9}
nirK	7.91×10^{8}	1.03×10^{10}
ANAMMOX	3.74×10^{2}	1.83×10^{3}

3 结论

(1)在两套 A/O 生物滤池稳定运行的 60 d 内,采用芦竹和活性炭作为填料的 2 号 A/O 生物滤池对水中NH_4^+-N和 TN 的去除率相比于采用砾石填料的 1 号 A/O 生物滤池分别提高了 7% 和 31%.

(2)生物滤池缺氧段中的微生物以短杆菌为主. 芦竹表面粗糙,作为填料时适于微生物附着生长. 且芦竹表面附着的生物膜较砾石表面的更为均匀紧凑,黏性物质更少.

(3)采用芦竹和活性炭填料的 2 号 A/O 生物滤池好氧段和缺氧段中脱氮微生物种群多样性更加丰富,且硝化功能基因(*amoA* 和 *Nitrospira* 16S rDNA)、反硝化功能基因(*narG*、*nosZ*、*nirS* 和 *nirK*)和厌氧氨氧化功能基因(ANAMMOX)丰度均明显高于普通砾石 A/O 生物滤池中. 这些结果与两套装置对于 TN 和NH_4^+-N的去除结果一致.

参考文献:

[1] 黄翔峰, 闻岳, 何少林, 等. 高效藻类塘对农村生活污水的处理及氮的迁移转化[J]. 环境科学, 2008, **29**(8): 2219-2226.
Huang X F, Wen Y, He S L, *et al*. Migration and transformation of nitrogen in a HRAP treating domestic wastewater in rural area [J]. Environmental Science, 2008, **29**(8): 2219-2226.

[2] 荣懿, 刘小钗, 何音旋, 等. A^2/O 流量分配处理低 C/N 污水性能与微生物结构优化[J]. 环境科学, 2019, **40**(9): 4113-4120.
Rong Y, Liu X C, He Y X, *et al*. Enhanced nutrient removal and microbial community structure in a step-feed A^2/O process treating low-C/N municipal wastewater [J]. Environmental Science, 2019, **40**(9): 4113-4120.

[3] Zhu H, Yan B X, Xu Y Y, *et al*. Removal of nitrogen and COD in horizontal subsurface flow constructed wetlands under different influent C/N ratios[J]. Ecological Engineering, 2014, **63**: 58-63.

[4] Garcia-Montiel D C, Melillo J M, Steudler P A, *et al*. Carbon limitations to nitrous oxide emissions in a humid tropical forest of the Brazilian Amazon[J]. Biology and Fertility of Soils, 2003, **38**(5): 267-272.

[5] Fleming-Singer M S, Horne A I. Enhanced nitrate removal efficiency in wetland microcosms using an episediment layer for denitrification[J]. Environmental Science & Technology, 2002, **36**(6): 1231-1237.

[6] 余丽华, 贺锋, 徐栋, 等. 碳源调控下复合垂直流人工湿地脱氮研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(11): 3300-3305.
She L H, He F, Xu D, *et al*. Nitrogen removal under the condition of carbon source supplement in integrated vertical-flow constructed wetland [J]. Environmental Science, 2009, **30**(11): 3300-3305.

[7] 冯延申, 黄天寅, 刘锋, 等. 反硝化脱氮新型外加碳源研究进展[J]. 现代化工, 2013, **33**(10): 52-57.
Feng Y S, Huang T Y, Liu F, *et al*. New types of extra carbon sources for denitrification[J]. Modern Chemical Industry, 2013, **33**(10): 52-57.

[8] 赵联芳, 朱伟, 高青. 补充植物碳源提高人工湿地脱氮效率[J]. 解放军理工大学学报(自然科学版), 2009, **10**(6): 644-649.
Zhao L F, Zhu W, Gao Q. Improving nitrogen removal of constructed wetlands by supplying plant carbon[J]. Journal of PLA University of Science and Technology (Natural Science Edition), 2009, **10**(6): 644-649.

[9] Park J B K, Craggs R J, Sukias J P S. Treatment of hydroponic wastewater by denitrification filters using plant prunings as the organic carbon source[J]. Bioresource Technology, 2008, **99**(8): 2711-2716.

[10] 丁怡, 宋新山, 严登华. 补充碳源提取液对人工湿地脱氮作用的影响[J]. 环境科学学报, 2012, **32**(7): 1646-1652.
Ding Y, Song X S, Yan D H. Effect of adding carbon source extracts on nitrogen removal in constructed wetland[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, **32**(7): 1646-1652.

[11] 肖蕾, 贺锋, 梁雪, 等. 不同碳源添加量对垂直流人工湿地污水处理效果的影响[J]. 环境工程学报, 2013, **7**(6): 2074-2080.
Xiao L, He F, Liang X, *et al*. Impact of solid carbon sources supplement amount on performance of wastewater treatment effect in vertical-flow constructed wetland[J]. Journal of Environmental Engineering, 2013, **7**(6): 2074-2080.

[12] 赵秋菊, 陈昱奇. 潮汐流人工湿地不同位置脱氮效果及外加

碳源对其影响[J]. 供水技术, 2015, **9**(4): 32-37.
Zhao Q J, Chen Y Q. Effects of denitrification in different points and external carbon source for tide and current constructed wetland[J]. Water Technology, 2015, **9**(4): 32-37.

[13] 常洋, 王彤, 王海燕, 等. 芦苇碳源-表面流人工湿地对农田退水脱氮的长期效能研究[J]. 环境工程技术学报, 2016, **6**(5): 453-461.
Chang Y, Wang T, Wang H Y, *et al*. The long-term nitrogen removal efficiency from agricultural runoff in phragmites australis packed surface flow constructed wetland [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2016, **6**(5): 453-461.

[14] 晋凯迪, 于鲁冀, 陈涛, 等. 植物碳源调控对人工湿地脱氮效果的影响[J]. 环境工程学报, 2016, **10**(10): 5611-5616.
Jin K D, Yu L J, Chen T, *et al*. Effect of adding plant carbon on nitrogen removal in constructed wetland[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, **10**(10): 5611-5616.

[15] 向衡, 韩芸, 刘琳, 等. 用于河道水反硝化脱氮补充碳源选择研究[J]. 水处理技术, 2013, **39**(5): 64-68.
Xiang H, Han Y, Liu L, *et al*. Selection of carbon sources for biological denitrification of riverway water[J]. Technology of Water Treatment, 2013, **39**(5): 64-68.

[16] Li L, Yan G K, Wang H Y, *et al*. Denitrification and microbial community in MBBR using *A. donax* as carbon source and biofilm carriers for reverse osmosis concentrate treatment[J]. Journal of Environmental Sciences, 2019, **84**: 133-143.

[17] Wen L W, Hong Y H, Xin L, *et al*. Combination of catalytic ozonation by regenerated granular activated carbon (rGAC) and biological activated carbon in the advanced treatment of textile wastewater for reclamation[J]. Chemosphere, 2019, **231**: 369-377.

[18] Völker J, Stapf M, Miehe U, *et al*. Systematic review of toxicity removal by advanced wastewater treatment technologies via ozonation and activated carbon[J]. Environmental Science & Technology, 2019, **53**(13): 7215-7233.

[19] Östman M, Björlenius B, Fick J, *et al*. Effect of full-scale ozonation and pilot-scale granular activated carbon on the removal of biocides, antimycotics and antibiotics in a sewage treatment plant[J]. Science of the Total Environment, 2019, **649**: 1117-1123.

[20] Sontheimer H, Brauch H J, Kühn W. Impact of different types of organic micropollutants present on sources of drinking water on the quality of drinking water [J]. Science of the Total Environment, 1985, **47**: 27-44.

[21] 王晖, 周伟丽, 欧阳丽华, 等. 硫自养反硝化结合生物活性炭处理硝酸盐废水[J]. 中国给水排水, 2011, **27**(9): 29-32.
Wang H, Zhou W L, Ouyang L H, *et al*. Combined system of sulphur-based autotrophic denitrification and biological activated carbon for treatment of nitrate wastewater[J]. China Water & Wastewater, 2011, **27**(9): 29-32.

[22] 丁绍兰, 王娟娟, 谢林花. 核桃壳、陶粒曝气生物滤池反冲洗特性的研究[J]. 环境污染与防治, 2017, **39**(8): 841-844, 850.
Ding S L, Wang J J, Xie L H. Walnut shell and ceramsite backwashing performance investigation in biological aerated filters [J]. Environmental Pollution and Control, 2017, **39**(8): 841-844, 850.

[23] 邱雁斌, 秦向东, 赵艳, 等. 杂交狼尾草碱预处理研究[J]. 云南化工, 2016, **43**(1): 11-14, 27.
Qiu Y B, Qin X D, Zhao Y, *et al*. Study on different alkali pretreatment of hybrid pennisetum [J]. Yunnan Chemical Technology, 2016, **43**(1): 11-14, 27.

[24] 谢家仪, 董光军, 刘振英. 扫描电镜的微生物样品制备方法[J]. 电子显微学报, 2005, **24**(4): 440.
Xie J Y, Dong G J, Liu Z Y. Method of preparation of microbiological specimen for scanning electron microsope[J]. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 2005, **24**(4): 440.

[25] Dionisi H M, Layton A C, Harms G, *et al*. Quantification of *Nitrosomonas oligotropha*-like ammonia-oxidizing bacteria and *Nitrospira* spp. from full-scale wastewater treatment plants by competitive PCR[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(1): 245-253.

[26] Gnida A, Żabczyński S, Surmacz-Górska J. Filamentous bacteria in the nitrifying activated sludge [J]. Water Science & Technology, 2018, **77**(11): 2709-2713.

[27] Kim J M, Lee H J, Lee D S, *et al*. Characterization of the denitrification-associated phosphorus uptake properties of "*Candidatus* Accumulibacter phosphatis" clades in sludge subjected to enhanced biological phosphorus removal [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, **79**(6): 1969-1979.

[28] 余波, 江传春, 陈婷婷, 等. 新型一体式生物流化床-生物滤池处理低 C/N 废水研究[J]. 环境科学与技术, 2014, **37**(4): 171-174, 197.
Yu B, Jiang C C, Chen T T, *et al*. Study on a novel integrated biological fluidized-bed-biofilter for treatment of wastewater of low C/N[J]. Environmental Science & Technology, 2014, **37**(4): 171-174, 197.

[29] 井洪晶, 魏东辉. 应用于工业化生产的提高秸秆水解效率的试验研究[J]. 南方农机, 2018, **49**(13): 243.

[30] Brandt A, Gräsvik J, Hallett J P, *et al*. Deconstruction of lignocellulosic biomass with ionic liquids[J]. Green Chemistry, 2013, **15**(3): 550-583.

[31] 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.

[32] 李晓崴, 贾亚红, 李冰, 等. 人工湿地植物缓释碳源的预处理方式及释碳性能研究[J]. 水处理技术, 2013, **39**(12): 46-48, 52.
Li X W, Jia Y H, Li B, *et al*. Research on pretreatment methods and carbon releasing property of constructed wetland plant as slow-releasing carbon source [J]. Technology of Water Treatment, 2013, **39**(12): 46-48, 52.

[33] 熊剑锋, 徐华, 阎宁, 等. 梧桐树叶作为反硝化碳源的研究[J]. 环境科学, 2012, **33**(11): 4057-4061.
Xiong J F, Xu H, Yan N, *et al*. Leaves of platanus orientalis as the carbon source for denitrification[J]. Environmental Science, 2012, **33**(11): 4057-4061.

[34] 刘长莉, 朱万斌, 郭鹏, 等. 常温木质纤维素分解菌群的筛选与特性研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(8): 2458-2463.
Liu C L, Zhu W B, Guo P, *et al*. Screening and characteristics of normal temperature lignocellulose-degradation microbial community[J]. Environmental Science, 2009, **30**(8): 2458-2463.

[35] Her J J, Huang J S. Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough[J]. Bioresource Technology, 1995, **54**(1): 45-51.

[36] Fernández-Nava Y, Marañón E, Soons J, *et al*. Denitrification of high nitrate concentration wastewater using alternative carbon sources[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, **173**(1-3): 682-688.

[37] 蔡碧婧, 谢丽, 杨殿海, 等. 反硝化脱氮工艺补充碳源选择与优化研究进展[J]. 净水技术, 2007, **26**(6): 37-41.
Cai B J, Xie L, Yang D H, *et al*. A review on carbon source supplement and optimization in denitrification process[J]. Water Purification Technology, 2007, **26**(6): 37-41.

[38] 孙雅丽, 张国臣, 阎中, 等. 以腐朽木为碳源去除废水中硝酸盐氮的研究[J]. 环境科学, 2010, **31**(6): 1494-1498.
Sun Y L, Zhang G C, Yan Z, *et al*. Removing nitrate-nitrogen from wastewater using rotten wood as carbon source [J]. Environmental Science, 2010, **31**(6): 1494-1498.

[39] 方晶晶, 马传明, 刘存富. 反硝化细菌研究进展[J]. 环境科学与技术, 2010, **33**(6E): 206-210, 264.
Fang J J, Ma C M, Liu C F. The advance of study on denitrifying bacteria[J]. Environmental Science & Technology, 2010, **33**(6E): 206-210, 264.

[40] Nielsen P H, Mielczarek A T, Kragelund C, *et al*. A conceptual ecosystem model of microbial communities in enhanced biological phosphorus removal plants [J]. Water Research, 2010, **44**(17): 5070-5088.

[41] Mobarry B K, Wagner M, Urbain V, *et al*. Phylogenetic probes for analyzing abundance and spatial organization of nitrifying bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, **63**(2): 815.

[42] 张浏, 栾晓男, 杜玉来. 丝瓜络填料反硝化滤池中微生物群落结构研究[J]. 安徽农业科学, 2017, **45**(20): 60-64, 69.
Zhang L, Luan X N, Du Y L. Study on the loofah filler microorganism community structure in denitrification filters[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, **45**(20): 60-64, 69.

[43] Zhou S L, Sun Y, Zhang Y R, *et al*. Variations in microbial community during nitrogen removal by in situ oxygen-enhanced indigenous nitrogen-removal bacteria [J]. Water Science and Engineering, 2018, **11**(4): 276-287.

[44] 彭永臻, 钱雯婷, 王琦. 基于宏基因组的城市污水处理厂生物脱氮污泥菌群结构分析[J]. 北京工业大学学报, 2019, **45**(1): 95-102.
Peng Y Z, Qian W T, Wang Q. Unraveling microbial structure of activated sludge in a full-scale nitrogen removal plant using metagenomic sequencing[J]. Journal of Beijing University of Technology, 2019, **45**(1): 95-102.

[45] Takahashi M, Yamada T, Tanno M, *et al*. Nitrate removal efficiency and bacterial community dynamics in denitrification processes using poly ($_L$-lactic acid) as the solid substrate[J]. Microbes and Environments, 2011, **26**(3): 212-219.

[46] Vishnivetskaya T A, Fisher L S, Brodie G A, *et al*. Microbial communities involved in biological ammonium removal from coal combustion wastewaters[J]. Microbial Ecology, 2013, **66**(1): 49-59.

[47] Xing W, Li D S, Li J L, *et al*. Nitrate removal and microbial analysis by combined micro-electrolysis and autotrophic denitrification[J]. Bioresource Technology, 2016, **211**: 240-247.

[48] Lu Y, Ramiro-Garcia J, Vandermeeren P, *et al*. Dechlorination of three tetrachlorobenzene isomers by contaminated harbor sludge-derived enrichment cultures follows thermodynamically favorable reactions[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2017, **101**(6): 2589-2601.

[49] Kartal B, De Almeida N M, Maalcke W J, *et al*. How to make a living from anaerobic ammonium oxidation [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, **37**(3): 428-461.

[50] 李莉, 闫国凯, 王海燕, 等. 底物浓度对反硝化 MBBR 处理反渗透浓水脱氮效能及脱氮基因的影响[J]. 环境工程技术学报, 2019, **9**(4): 375-383.
Li L, Yan G K, Wang H Y, *et al*. Influence of substrate concentration on the nitrogen removal and relative genes of denitrifying MBBR for the treatment of reverse osmosis concentrate [J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2019, **9**(4): 375-383.

HUANJING K0EXUE Vol. 41 No. 5
Environmental Science (monthly) May 15, 2020

CONTENTS