

# 低基质条件下厌氧氨氧化泥膜系统的生物群落分析

王伟刚<sup>1,2</sup>, 张卓然<sup>1</sup>, 舒诗湖<sup>2</sup>, 王亚宜<sup>1,\*</sup>

(1. 同济大学环境科学与工程学院 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092;  
2. 东华大学环境科学与工程学院, 上海 201620)

**摘要:** Anammox 自养脱氮工艺具有显著低碳特性, 添加填料形成生物膜是实现主流市政污水厌氧氨氧化脱氮的常用策略。然而关于低基质条件下 Anammox 生物膜形成过程中微生物群落结构及功能演变的研究相对较少。因此, 首先在低基质条件下 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}=(32.6 \pm 2.4)\text{mg/L}$ ,  $\text{NO}_2^-\text{-N}=(43.9 \pm 1.9)\text{mg/L}$ ) 成功启动了 Anammox 泥膜系统, 并深入分析了 Anammox 生物膜形成过程中的微生物群落结构及功能演变规律。结果表明, 在低基质条件下, Anammox 生物膜可在 20 d 左右形成, 反应体系的总氮去除率维持在  $67.1\% \pm 2.5\%$ 。填料的投加为体系提供了多样性的生态位, 显著提高了泥膜体系的物种丰富度和多样性; 填料的投加对 Anammox 菌群还起到了一定的选择作用: 起骨架作用的丝状菌 *Chloroflexi* 的相对丰度从种泥的 20.9% 降至 18.6%, 而 *norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_WWE3* 和 *norank\_f\_AKYH767* 的相对丰度分别从 1.9% 和 0 大幅提高至 13.8% 和 7.6%。 $\beta$ NTI( $\beta$  最近分类单元指数) 结果也证明了低基质条件以及填料的投加在群落构建过程中增加了同质选择的作用。此外, 生物膜的形成增强了 Anammox 群落与细胞生长相关的代谢功能, 如氨基酸代谢、翻译、复制和修复、核苷酸代谢及细胞生长和死亡等; 同时, 也强化了反硝化、硝酸盐呼吸、硝酸盐还原及与碳循环相关的生态功能。然而, 能量代谢及与信息交流相关的膜运输和信号转导等代谢功能, 如氮呼吸、亚硝酸盐呼吸、Anammox 及硫循环相关生态功能则有明显降低。

**关键词:** 厌氧氨氧化; 生物膜; 市政污水; 群落结构; 群落功能

中图分类号: X703

文献标识码: A

## Biological Community Analysis of an Anammox Sludge-Biofilm System under Low Substrate Concentrations

WANG Weigang<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhuoran<sup>1</sup>, SHU Shihu<sup>2</sup>, WANG Yayi<sup>1,\*</sup>

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China)

**Abstract:** Anammox autotrophic denitrification process has significantly low-carbon characteristics, and the addition of carriers to form biofilm is a common strategy for achieving Anammox in mainstream municipal wastewater. However, relatively few studies have been conducted on the evolution of the microbial community structure and functions during Anammox biofilm formation under low-temperature and low-substrate conditions. Therefore, in this study, an Anammox sludge-biofilm system was first established under low-substrate conditions ( $\text{NH}_4^+\text{-N} = (32.6 \pm 2.4)\text{mg/L}$ ,

收稿日期: 2024-12-18

修回日期: 2025-02-19

接受日期: 2025-02-22

DOI: 10.20078/j.eep.20250307

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52225001, 52100058)

第一作者: 王伟刚(1993—), 男, 河北衡水人, 副教授, 主要研究方向为污水生物处理与资源化。E-mail: [wwang@dhu.edu.cn](mailto:wwang@dhu.edu.cn)

通讯作者: 王亚宜(1977—), 女, 浙江上虞人, 教授, 主要研究方向为污水生物处理理论、技术及工艺优化控制、废水资源化及能源回收。

E-mail: [yayi.wang@tongji.edu.cn](mailto:yayi.wang@tongji.edu.cn)

$\text{NO}_2\text{-N} = (43.9 \pm 1.9) \text{ mg/L}$ ). The evolution of microbial community structure and functions during the formation of Anammox biofilm was thoroughly investigated. The results showed that Anammox biofilms could form in about 20 days under low-substrate concentrations, and the total nitrogen removal efficiency of the reaction system could be maintained at  $67.1\% \pm 2.5\%$ . The addition of carriers provided a diverse ecological niche for the anammox sludge and significantly increased the species richness and diversity of the sludge-biofilm system. The addition of carriers also played a selective role in the anammox bacterial community. The relative abundance of the filamentous *Chloroflexi*, which served as a skeleton, decreased from 20.9% in the seed sludge to 18.6%. In contrast, the relative abundances of *norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_WWE3* and *norank\_f\_AKYH767* increased significantly from 1.9% and 0 to 13.8% and 7.6%, respectively. The results of  $\beta$  nearest taxon index also demonstrated that the low-substrate conditions and the addition of carriers increased the role of homogeneous selection in the process of microbial community construction. In addition, the formation of biofilm enhanced the metabolic functions of Anammox communities related to cell growth, such as amino acid metabolism, translation, replication and repair, nucleotide metabolism, and cell growth and death. At the same time, it also strengthened ecological functions such as denitrification, nitrate respiration, nitrate reduction, and those related to the carbon cycle. However, metabolic functions such as energy metabolism, membrane transport and signal transduction related to information exchange, as well as nitrogen respiration, nitrite respiration, Anammox function, and ecological functions related to the sulfur cycle, were significantly reduced.

**Keywords:** Anammox; Biofilm; Municipal wastewater; Community structure; Community function

## 0 引 言

厌氧氨氧化(Anaerobic ammonium oxidation, Anammox)生物脱氮工艺可在缺氧条件下,将氨氮和亚硝氮转化为氮气和一部分硝氮<sup>[1]</sup>。由于其功能菌 Anammox 菌为自养菌,反应过程不需要有机物。同时,只需要将污水中一半的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_2\text{-N}$ 即可满足 Anammox 反应条件。因此,与传统硝化反硝化工艺相比,Anammox 工艺可大幅减少碳源投加量(100%)、曝气量(约 60%)及剩余污泥产量(约 90%)<sup>[2-3]</sup>,具有显著低碳特性,是当前污水生物脱氮领域的明星工艺<sup>[4]</sup>。

当前,工程应用的 Anammox 工艺主要用于处理污泥消化液、垃圾渗滤液、禽畜养殖场废水、味精废水等高氨氮废水<sup>[5-6]</sup>,极少应用于流量更大的市政主流污水工程。这主要是因为主流市政污水低氨氮的特性会严重抑制 Anammox 菌的生长速度与活性,使得反应器中缺乏足够的生物量以维持高效脱氮。为维持反应器中的污泥浓度,向其中添加填料是一种较为普遍的策略<sup>[7]</sup>。有研究表明,通过在推流式反应器的缺氧区中植入填料,可实现主流市政污水 Anammox 耦合多途径稳定高

效脱氮<sup>[8]</sup>。然而,有关低氨氮条件下 Anammox 生物膜形成过程中微生物群落结构及功能演变的研究鲜见报道。

因此,本研究在低基质浓度条件下启动 Anammox 生物膜,探究了低基质浓度对 Anammox 系统挂膜过程中脱氮性能及微生物群落结构的影响,同时结合 PICRUST2 及 FAPROTAX 功能预测,分析了 Anammox 挂膜启动过程中的微生物群落功能演变规律,以期为主流市政污水 Anammox 生物膜工艺提供理论基础与技术支持。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验装置和运行方案

Anammox 污泥培养装置采用序批式生物膜反应器(Sequencing Batch Biofilm Reactor, SBBR),由有机玻璃制作,有效容积 1 L, SBBR 示意图如图 1 所示。反应器通过蠕动泵间歇进水,采用螺旋桨搅拌,通过水浴控制反应器内温度为  $30\text{ }^\circ\text{C}$ <sup>[9]</sup>,试验过程中不排泥。向反应器中添加 YL 活性生物填料,直径为 25 mm,投配率 30%。空白填料如图 2(a)所示。

反应器换水比为 50%,每天运行 3 个周期,每

个周期 8 h, 其中进水 5 min, 缺氧搅拌 390 min, 静置沉淀 50 min, 排水 5 min, 闲置 30 min。

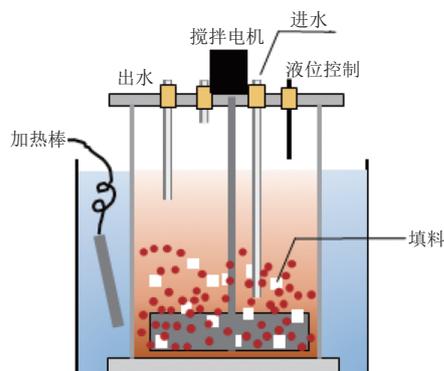


图 1 SBBR 示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the SBBR

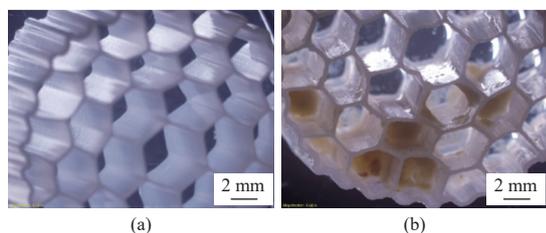


图 2 空白填料(a)和第 30 天的填料(b)图片

Fig. 2 Pictures of blank carriers (a) and carriers on day 30 (b)

## 1.2 接种污泥和试验用水

反应器接种的 Anammox 污泥来源于课题组长期运行的膨胀颗粒污泥床反应器<sup>[10]</sup>, 接种前使用筛网筛选出直径在 1~2 mm 之间的颗粒污泥, 为便于污泥挂膜, 将颗粒污泥搅碎后用于接种, 接种后反应器内混合液悬浮固体浓度控制在 7 000 mg/L 左右。

本试验用水采用人工配制的无机合成污水,  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  浓度分别控制在 30 mg/L 和 40 mg/L, 其他主要营养成分和微量元素浓缩液成分见表 1, 微量元素浓缩液按 0.5 mL/L 添加。每次配置进水后对进水桶进行 20 min 高纯氮曝气操作, 曝气后进水桶内溶解氧低于 1 mg/L。通过添加 NaOH 或 HCl, 控制进水 pH 7.2 左右。

## 1.3 检测指标与方法

试验中, 每日取反应器进出水样并通过一次性微孔过滤器 (0.45  $\mu\text{m}$ ) 过滤, 水样中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度采用国家标准方法进行测定<sup>[12]</sup>。填料表面微观形态采用体视显微镜进行观测。种泥及试验末污泥样品通过离心去除水分后, 保存在 -80  $^\circ\text{C}$  冰箱备用。采用 DNA 快速提取试

表 1 合成污水主要成分

Table 1 Main components of synthetic wastewater

主要营养成分	浓度/(g·L <sup>-1</sup> )	微量元素浓缩液	浓度/(g·L <sup>-1</sup> )
$\text{NH}_4\text{Cl}$	0.115	$\text{Na}_2\text{EDTA}$	7.500
$\text{NaNO}_2$	0.197	$\text{H}_3\text{BO}_3$	0.035
$\text{NaHCO}_3$	1.000	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.075
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.025	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.625
$\text{CaCl}_2$	0.300	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.495
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.300	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.550
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.015	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.600
$\text{Na}_2\text{EDTA}$	0.020	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.475

剂盒 Fast DNA® SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, 美国) 对污泥样品的 DNA 进行提取, 选择细菌的通用引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 DNA 样品中 16S rDNA 的 V3-V4 区进行扩增, 采用 Illumina 平台对扩增产物进行测序分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 长期运行效果

反应器在低负荷下共运行 42 d, 进水  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  浓度为 (32.6  $\pm$  2.4) mg/L,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  浓度为 (43.9  $\pm$  1.9) mg/L, 总氮负荷 NLR 为 0.23 kg N/m<sup>3</sup>/d。如图 3 所示, 反应器脱氮效果先在较低水平波动, 后稳定在较高水平。

在前期挂膜阶段 (1~17 d), 反应器出水  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  浓度逐渐降低并稳定在 (15.2  $\pm$  2.9) mg/L, 出水  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  浓度始终在较低水平波动 (7.3  $\pm$  3.5) mg/L, 出水  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度逐渐上升并稳定在 (30.1  $\pm$  3.1) mg/L。与之相对应, 反应器  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  去除率逐渐上升并稳定在 53.1%  $\pm$  9.2%,  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  去除率始终维持在 83.4%  $\pm$  8.1% 的较高水平, 总氮去除率 (Nitrogen Removal Efficiency, NRE) 为 32.9%  $\pm$  9.8%。为方便 Anammox 菌快速挂膜, 本试验将实验室培养的 Anammox 颗粒污泥打散用于接种。一方面打散过程中可能会释放颗粒污泥内部的胞外聚合物 (Extracellular Polymer Substances, EPS), 种泥中的反硝化菌可以利用释放的 EPS 作为碳源去除进水中的  $\text{NO}_2^-\text{-N}$ <sup>[13]</sup>, 因而反应初  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  去除率便维持在较高的水平; 另一方面, 打散的过程也会改变 Anammox 菌的空间占位, 对其活性产生抑制, 因此出水  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  浓度缓慢降低, Anammox

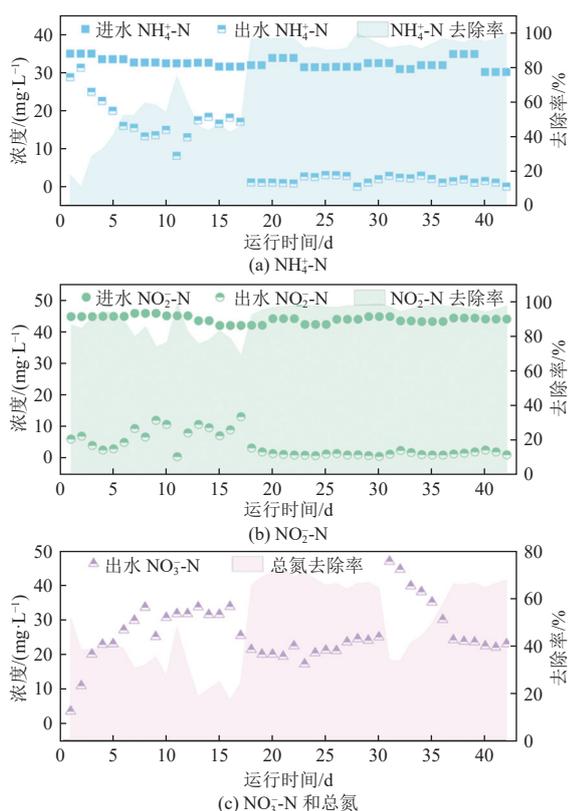


图3 长期脱氮效果

Fig. 3 Long-term nitrogen removal performance

生物膜在该过程中缓慢形成。

反应器从第 18 天开始进入稳定阶段, 出水  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度分别稳定在  $(1.7 \pm 0.9)$ 、 $(1.5 \pm 0.6)$  和  $(26.1 \pm 8.1)$  mg/L, 反应器 *NRE* 稳定在  $67.1\% \pm 2.5\%$ , 表明已达到稳定状态, Anammox 生物膜形成。第 30 天的填料图片如图 2(b) 所示, 可以看到其表面覆盖一层黏性物质, 光泽度明显小于原始填料, 颜色从纯白变成红褐色, 部分蜂窝结构内附着污泥。需要指出的是, 在第 31 天时, 反应器出水硝氮浓度突然从 25.0 mg/L 上升至 46.9 mg/L, 这可能是由于第 30 天取填料时反应器进氧所致, 导致反应器中硝化菌活性突然上升。

## 2.2 挂膜前后的微生物群落结构差异

为研究低基质条件下 Anammox 挂膜启动过程中的微生物群落功能演变规律, 取第 0 天(种泥)和第 42 天(稳定阶段)的污泥进行 16S rDNA 高通量测序, 每个样品取 3 个平行样。

### 2.2.1 $\alpha$ 多样性

微生物群落多样性和丰富度指数见表 2, 生物膜的形成明显增加了 Anammox 菌群的多样性和丰富度。

具体来说, Shannon 指数和 Simpson 指数是衡

表 2 微生物群落多样性和丰富度指数  
Table 2 Microbial community diversity and richness indices

样品	多样性指数		丰富度指数	
	Shannon	Simpson	Chao	Ace
种泥	2.42	0.428	203	202
泥膜	3.12	0.159	281	281

量微生物种群多样性的指标: Shannon 指数越大, Simpson 指数越小, 物种多样性越高<sup>[14]</sup>。本试验中, Shannon 指数泥膜 > 种泥, Simpson 指数泥膜 < 种泥, 这意味着填料的添加增加了微生物群落多样性。Chao 指数和 Ace 指数可用来衡量微生物群落的丰富度: 其值越大, 物种种群越丰富<sup>[15]</sup>。本试验中, 泥膜样品的 Chao 指数和 Ace 指数均明显高于种泥, 表明填料的添加增加了微生物群落的丰富度。填料的加入, 可以为微生物生长创造更为多样性的生态位, 这可能是造成在低基质不利条件下 Anammox 种群多样性和丰富度增加的主要原因。另一方面, Anammox 群落多样性和丰富度的增加, 反之促进了低基质条件下反应器的高效稳定脱氮。

图 4 展示了种泥和泥膜样品中分类操作单元 (Operational Taxonomic Units, OTU) 的差异性。2 组样品中共有的 OTU 为 106, 仅占总 OTU (191) 的 55.5%, 说明生物膜形成过程中微生物群落结构发生明显的变化。种泥和泥膜样品中独有的 OTU 数量分别为 17 和 68, 分别占总 OTU 的 8.9% 和 35.6%, 独有 OTU 可反映各组样品中微生物群落组成的差异性。种泥中独有 OTU 比例较低, 说明填料的添加可以保持种泥中绝大部分的原始微生物种群。泥膜样品较高比例的独有 OTU 则证实了填料的添加可为 Anammox 菌群提供更为丰富独特的生态位。

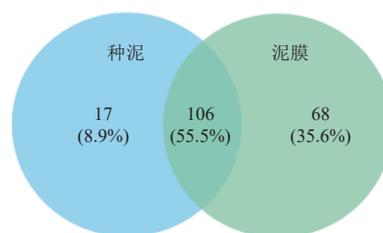


图 4 基于 OTU 水平的微生物群落 Venn 图

Fig. 4 Venn diagram of microbial community based on OTU level

### 2.2.2 门水平微生物群落结构

微生物群落在门水平的分布情况如图 5 所示。两组样品中共检测出 Planctomycetota、Chloroflexi、Patescibacteria、Proteobacteria、Bacteroidota、Armatimonadota、Acidobacteriota 和 Gemmatimonadota 8 种相对丰度大于 1% 的菌门, 它们的相对丰度之和均占到各自总细菌丰度的 97% 以上。

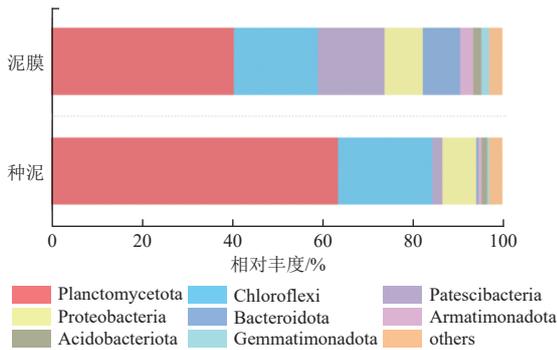


图 5 微生物种群在门水平的相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of microbial community at the phylum level

其中与 Anammox 菌相关的 Planctomycetota 在种泥和泥膜样品中均占主导地位<sup>[16]</sup>, 其相对丰度分别为 60.8% 和 40.8%。在低基质浓度(低氮素浓度)条件下, 功能菌 Anammox 菌活性受到抑制, 并利用胞内物质进行内源呼吸, 使得 Anammox 菌裂解死亡, 从而使其丰度降低<sup>[17]</sup>。尽管生物膜能够显著维持生物量, 但其作用仍不足以抵抗低基质浓度带来的功能菌丰度下降。主要由丝状菌构成的 Chloroflexi 可形成颗粒污泥骨架并维持颗粒结构的完整性<sup>[18]</sup>, 泥膜样品中 Chloroflexi 的相对丰度为 18.6%, 略低于种泥的 20.9%, 这是因为载体的添加削弱了 Anammox 菌对 Chloroflexi 生物骨架的依赖。除 Planctomycetota 和 Chloroflexi 外, 其他 6 种菌门微生物在泥膜样品中的相对丰度均明显高于种泥, 这与 2.2.1 节填料的添加增加了微生物群落的多样性和丰富度结论一致, 是 Anammox 泥膜系统抵抗低基质浓度的一种主动适应机制。

### 2.2.3 属水平微生物群落结构

微生物群落在属水平的分布情况如图 6 所示。其中主要菌属包括 Anammox 菌属 *unclassified\_f\_Brocadiaceae*、硝化菌属 *norank\_f\_norank\_o\_SBR1031* 和 *norank\_f\_A4b*、反硝化菌属 *norank\_f\_norank\_o\_Ardenticatenales* 及其他菌属 *norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_WWE3* 等。

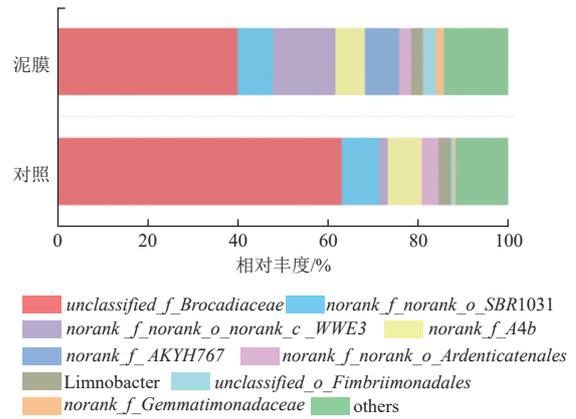


图 6 微生物种群在属水平的相对丰度

Fig. 6 Relative abundance of microbial community at the genus level

2 种样品中均只检出一种 Anammox 菌属 *unclassified\_f\_Brocadiaceae*, 其在泥膜样品中的相对丰度为 40.3%, 明显低于种泥的 63.4%, 表明低基质浓度条件确实不利于 Anammox 菌生长, 显著降低了其相对丰度。较低的功能菌相对丰度也与 2.1 节稳定阶段反应器较低 NRE 相一致。*norank\_f\_norank\_o\_SBR1031* 和 *norank\_f\_A4b* 为硝化菌属<sup>[19-20]</sup>, 其在泥膜样品中的相对丰度分别为 7.9% 和 6.5%, 分别略低于种泥的 8.4% 和 7.4%, 这可能是由于本试验严格控制了反应器中的溶解氧。*norank\_f\_norank\_o\_Ardenticatenales* 为反硝化菌属<sup>[21]</sup>, 其在泥膜样品中的相对丰度为 2.7%, 略低于种泥的 3.7%。值得指出的是, 与种泥相比, 泥膜样品中 *norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_WWE3*

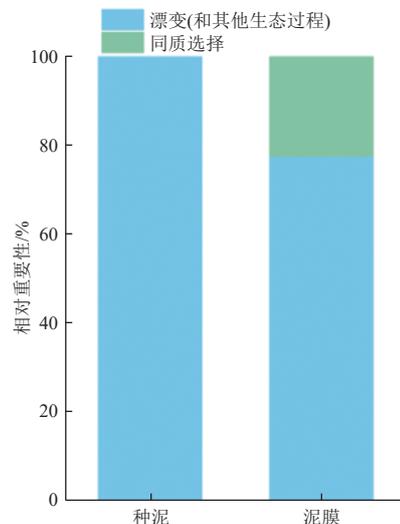


图 7 不同生态过程的相对重要性

Fig. 7 Relative importance of different ecological processes

*c\_WWE3* 和 *norank\_f\_AKYH767* 的相对丰度均大幅提升, 分别从 1.9% 和 0% 提高至 13.8% 和 7.6%。关于 *norank\_f\_AKYH767* 功能的相关报道较少, 但有研究表明, *norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_WWE3* 能够合成 EPS 中的蛋白质, 促进 Anammox 菌群聚集<sup>[22]</sup>, 推测二者在 Anammox 生物膜形成的过程中可能起到了关键作用。

### 2.2.4 微生物群落构建过程

$\beta$ NTI 结果表明, 种泥和泥膜系统的细菌群落构建均由随机作用主导。随机作用中的漂变(和其他生态过程)对种泥群落构建过程起绝对影响(100%)。漂变是指由于出生率和死亡率的随机变化而导致物种丰富度的随机波动; 尽管在泥膜系统的群落构建中, 随机作用中的漂变(和其他生态过程)也起主要作用(77.8%), 但是与种泥明显

不同的是, 泥膜系统的群落构建还受确定性作用中同质选择的影响(22.2%)。因此, 低基质条件以及填料的加入对 Anammox 群落微生物起到了一定的选择作用。

### 2.3 挂膜前后的微生物功能差异

生物膜的形成会在一定程度上影响 Anammox 菌群的代谢途径以及部分功能, 本试验基于 PICRUSt2 功能预测及 KEGG 数据库的注释结果如图 8 所示。本试验分析了占比较高的 4 个 KEGG 一级代谢通路, 包括新陈代谢(12 个二级代谢通路, 78.8%~79.4%)、遗传信息处理(4 个二级代谢通路, 8.1%~7.6%)、环境信息处理(2 个二级代谢通路, 4.5%~4.6%)和细胞过程(5 个二级代谢通路, 约 3.7%~3.6%)。

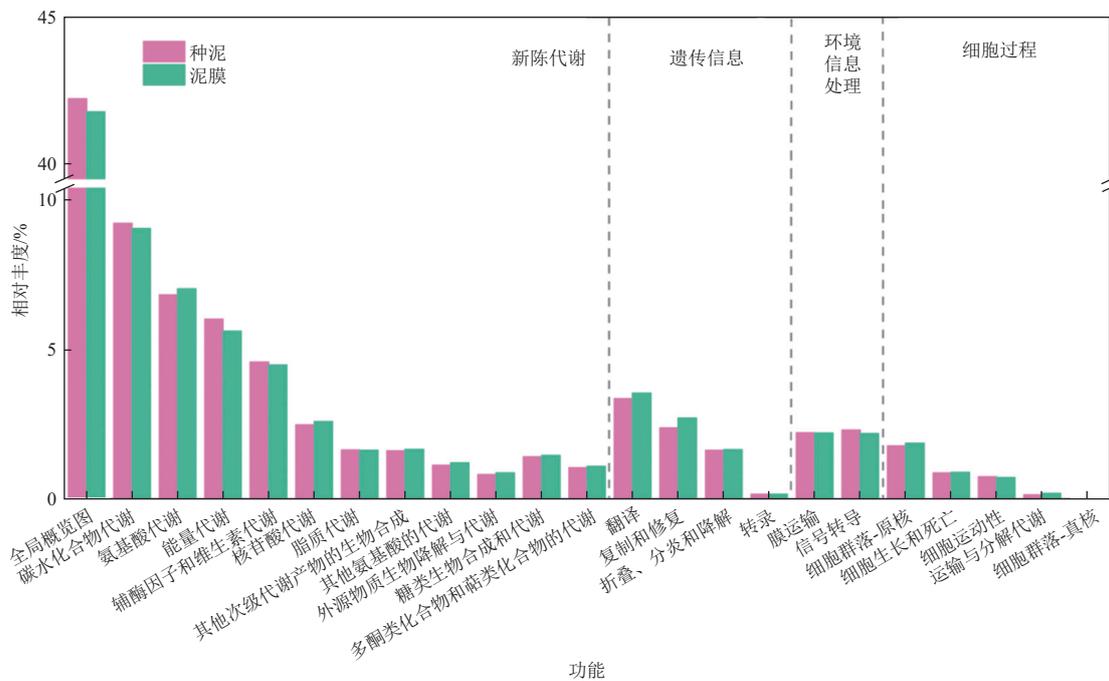


图 8 利用 PICRUSt 2 对 KEGG 一级和二级代谢通路的微生物功能预测

Fig. 8 Functional prediction of microbial metabolism processes at KEGG pathways of level 1 and level 2 using PICRUSt 2

4 个一级代谢通路中, 新陈代谢 (Metabolism) 相对丰度最高, 其次为遗传信息处理 (Genetic information processing), 表明这 2 个代谢通路在生物膜形成过程中起着重要的作用<sup>[23]</sup>。在所选的 23 个二级代谢通路中, 有 14 个通路在泥膜样品中的相对丰度比种泥高, 表明泥膜与种泥微生物代谢路径存在明显差异。相对丰度前 10 的二级代谢通路分别为全局概览图 (Global and overview maps)、碳水化合物代谢 (Carbohydrate metabo-

lism)、氨基酸代谢 (Amino acid metabolism)、能量代谢 (Energy metabolism)、辅酶因子和维生素代谢 (Metabolism of cofactors and vitamins)、翻译 (Translation)、复制和修复 (Replication and repair)、核苷酸代谢 (Nucleotide metabolism)、膜运输 (Membrane transport) 和信号转导 (Signal transduction), 其中除氨基酸代谢、翻译、复制和修复及核苷酸代谢外, 其余二级代谢通路在泥膜样品中的相对丰度均比种泥低。由此可见, 生物

膜形成过程中代谢路径的变化主要是由于微生物种群丰富度和多样性的增加,从而增加了占比较小的代谢通路的相对丰度。氨基酸代谢与胞外蛋白质的分泌密切相关<sup>[24]</sup>,进一步分析可以发现,泥膜系统氨基酸代谢通路丰度的提高说明胞外蛋白质可能在生物膜的形成中起到关键作用,这也与2.2.3节中相对丰度显著提升的 *norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_WWE3* 一致。泥膜样品中与细胞生长相关的翻译、复制和修复、细胞生长和死亡 (Cell growth and death) 及核苷酸代谢等通路的相对丰度也比种泥高<sup>[25]</sup>。这可能是由于低基质条件加剧了微生物间的竞争关系,使得种群演替速度加快。泥膜样品中的能量代谢通路明显低于种泥,这与低基质条件下较低的 *NRE* 一致。

此外,本研究还通过 FAPROTAX 对微生物碳、氮和硫循环等生态相关功能进行预测,结果如图9所示。与 PICRUSt 2 结果类似,泥膜样品中大多数生态功能相对丰度高于种泥,但相对丰度较高的几种生态过程在泥膜样品的相对丰度低于

种泥。具体来说,泥膜样品中与氮循环相关的氮呼吸 (Nitrogen respiration)、亚硝酸盐呼吸 (Nitrite respiration) 和 Anammox 作用明显低于种泥,而其他与氮循环相关的反硝化功能 (Nitrate denitrification、Nitrite denitrification、Nitrous oxide denitrification、Denitrification 等)、硝酸盐呼吸 (Nitrate respiration) 和硝酸盐还原 (Nitrate reduction) 功能则明显高于种泥。对于碳循环来讲,生物膜的形成显著提高了 Anammox 微生物种群的碳循环相关功能,如化能异养 (Chemoheterotrophy) 和有机物代谢 (Methylotrophy、methanol oxidation、Aromatic hydrocarbon degradation、Aromatic compound degradation、Aliphatic non methane hydrocarbon degradation、Hydrocarbon degradation) 等。但与之相反的是,生物膜的形成降低了微生物种群的硫循环相关功能,如硫化物暗氧化 (Dark sulfide oxidation、Dark oxidation of sulfur compounds) 和硫化物呼吸 (Sulfate respiration、Respiration of sulfur compounds) 等。

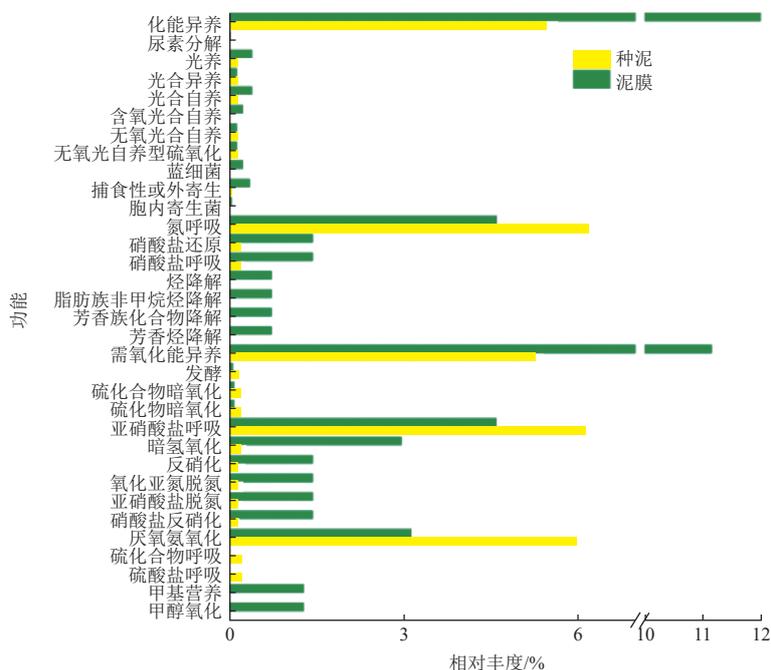


图9 基于 FAPROTAX 的功能预测结果

Fig. 9 Functional prediction based on FAPROTAX

### 3 结 论

(1) 低基质条件下, Anammox 生物膜可在 20 d 左右形成, 泥膜系统 *NRE* 可维持在 67.1% ± 2.5%。

(2) 填料的投加可显著增加 Anammox 体系的

物种丰富度和多样性, 同时填料还对 Anammox 群落的构建具有一定的选择作用。*norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_WWE3* 和 *norank\_f\_AKYH767* 可能在 Anammox 生物膜形成过程中起到了关键作用。

(3) PICRUSt2 功能预测结果发现泥膜样品中与细胞生长相关的氨基酸代谢、翻译、复制和修

复、核苷酸代谢及细胞生长和死亡等二级代谢通路相对丰度高于种泥,但能量代谢及与信息交流相关的膜运输和信号转导等二级代谢通路相对丰度比种泥低;FAPROTAX 功能预测发现,泥膜样品中氮循环相关的氮呼吸、亚硝酸盐呼吸、Anammox 功能及硫循环相关功能明显低于种泥,但生物膜的形成强化了反硝化、硝酸盐呼吸、硝酸盐还原及与碳循环相关的生态功能。

#### 参考文献 (References) :

- [1] KARTAL B, KUENEN J G, VAN LOOSDRECHT M C M. Sewage treatment with anammox[J]. *Science*, 2010, 328(5979): 702-703.
- [2] 潘凯玲, 魏钰轩, 邱晨, 等. 有机物对泥膜复合 PNA-MBBR 挂膜启动的影响 [J]. *中国给水排水*, 2024, 40(9): 69-76.  
PAN Kailing, WEI Yuxuan, QIU Chen, et al. Effects of organic matter on start-up of sludge-biofilm hybrid partial nitrification anammox in moving bed biofilm reactor[J]. *China Water & Wastewater*, 2024, 40(9): 69-76.
- [3] LOTTI T, KLEEREBEZEM R, ABELLEIRAPEREIRA J M, et al. Faster through training: The anammox case[J]. *Water Research*, 2015, 81: 261-268.
- [4] 李佳, 汪涵, 王亚宜. 城市污水生物脱氮提质增效技术现状与展望 [J]. *能源环境保护*, 2023, 37(2): 48-61.  
LI Jia, WANG Han, WANG Yayi. Improving the quality and efficiency of biological nitrogen removal from domestic wastewater: Current situation and prospects[J]. *Energy Environmental Protection*, 2023, 37(2): 48-61.
- [5] LACKNER S, GILBERT E M, VLAEMINCK S E, et al. Full-scale partial nitrification/anammox experiences—An application survey[J]. *Water Research*, 2014, 55: 292-303.
- [6] PAVEZ JARA J A, VAN LIER J B, DE KREUK M K. Effects of thermal hydrolysis process-generated melanoidins on partial nitrification/anammox in full-scale installations treating waste activated sludge[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2023, 432: 139767.
- [7] 卢帅宇, 由昆, 周伟伟, 等. MBBR 厌氧氨氧化工艺污水脱氮的研究进展 [J]. *能源环境保护*, 2022, 36(6): 22-31.  
LU Shuaiyu, YOU Kun, ZHOU Weiwei, et al. Research progress on denitrification of wastewater by MBBR anammox process[J]. *Energy Environmental Protection*, 2022, 36(6): 22-31.
- [8] 陈长东, 薛晓飞, 穆永杰, 等. 主流程厌氧氨氧化耦合多种脱氮途径处理市政污水 [J]. *环境工程学报*, 2023, 17(4): 1084-1091.  
CHEN Changdong, XUE Xiaofei, MU Yongjie, et al. Mainstream anammox coupled with multiple denitrification paths to treat municipal wastewater[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2023, 17(4): 1084-1091.
- [9] LIU Wenlong, LI Jun, LU Huijie, et al. Sponge iron strengthens the activity of anammox biofilm under low nitrogen conditions in a two-stage fixed-bed biofilm reactor[J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 355: 120194.
- [10] WANG Yayi, XIE Hongchao, WANG Duanli, et al. Insight into the response of anammox granule rheological intensity and size evolution to decreasing temperature and influent substrate concentration[J]. *Water Research*, 2019, 162: 258-268.
- [11] STROUS M, KUENEN J G, JETTEN M S. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(7): 3248-3250.
- [12] 国家环境保护总局, 水和废水监测分析方法编委会编. 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.  
The State Environmental Protection Administration, *The water and wastewater monitoring analysis method* Editorial Board. *Water and wastewater monitoring analysis method*[M]. 4th Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [13] CHEN Xue, HU Rui, XIA Mengting, et al. Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs modulates the nitrogen metabolism of anammox at low temperature: EPS role and microbial metabolism[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2024, 485: 144395.
- [14] ZHANG Yuqing, LI Yuqi, ZHAO Baihang, et al. Rapid reactivation of long-term frozen preservation anammox granular sludge by biochar: Performance, mechanism and artificial neural network optimization[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2024, 63: 105516.
- [15] HU Meina, LIU Xiaojing, LIU Shidi, et al. Responses of microbial interactions and functional genes to sulfamethoxazole in anammox consortia[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 348: 119408.
- [16] STROUS M, FUERST J A, KRAMER E H M, et al. Missing lithotroph identified as new planctomycete[J]. *Nature*, 1999, 400(6743): 446-449.
- [17] 杨智秋. 低基质浓度下厌氧氨氧化菌活性抑制机理及其活性恢复调控机制 [D]. 苏州: 苏州科技大学, 2023: 15-24.  
YANG Zhiqiu. Inhibition mechanism of anammox bacteria activity and its regulation mechanism of activity recovery under low substrate concentration. Suzhou: Suzhou University of Science and Technology, 2023: 15-24.
- [18] CAO Shenbin, DU Rui, LI Baikun, et al. High-throughput profiling of microbial community structures in an ANAMMOX-UASB reactor treating high-strength wastewater[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(14): 6457-6467.
- [19] HUANG Jingang, WEN Shilin, SHI Binfang, et al. Ammonia oxidation with bicarbonate as an electron acceptor: An energy-saving process to accumulate nitrite for potential anammox in wastewater[J]. *Journal of Water*

- [Process Engineering](#), 2024, 68: 106421.
- [20] YUAN Mu, QIU Shan, FU Mengqi, et al. Larger hydroxypapatite aggregation from  $\text{Ca}^{2+}$  adhesion in ANAMMOX granular sludge caused by high dissolved oxygen[J]. [Chemosphere](#), 2024, 350: 141158.
- [21] ZHU Hongxu, LIU Yanmei, PENG Zhenghua, et al. Enhanced nitrogen removal by an isolated aerobic denitrifying strain in a vertical-flow constructed wetland[J]. [Chemosphere](#), 2024, 359: 142131.
- [22] ZHANG Cuiya, GAO Fan, WU Yinghai, et al. Small-sized salt-tolerant denitrifying and phosphorus removal aerobic granular sludge cultivated with mariculture waste solids to treat synthetic mariculture wastewater[J]. [Biochemical Engineering Journal](#), 2022, 181: 108396.
- [23] 袁强, 陆依雯, 李墨涵, 等. 微塑料短期暴露后附着细菌与所在水域环境样本细菌群落及功能差异 [J]. [环境化学](#), 2024, 43(11): 3629-3641.
- YUAN Qiang, LU Yiwen, LI Mohan, et al. Difference in community structure and function of bacteria attached to microplastics surface after short-term exposure compared to bacteria in the overlying water and sediment[J]. [Environmental Chemistry](#), 2024, 43(11): 3629-3641.
- [24] FENG Ying, ZHAO Yunpeng, GUO Yongzhao, et al. Microbial transcript and metabolome analysis uncover discrepant metabolic pathways in autotrophic and mixotrophic anammox consortia[J]. [Water Research](#), 2018, 128: 402-411.
- [25] YIN Hong, CHEN Ruya, WANG Haibo, et al. Co-occurrence of phthalate esters and perfluoroalkyl substances affected bacterial community and pathogenic bacteria growth in rural drinking water distribution systems[J]. [Science of the Total Environment](#), 2023, 856: 158943.