



张肖静,张红丽,张楠,等. 群体感应淬灭酶对 MBR-CANON 工艺脱氮性能及污泥特性的影响[J]. 轻工学报,2022,37(6):110-118.

ZHANG X J,ZHANG H L,ZHANG N,et al. Effect of quorum quenching enzyme on the nitrogen removal performance and sludge property of MBR-CANON process[J]. Journal of Light Industry,2022,37(6):110-118.

DOI:10.12187/2022.06.014

# 群体感应淬灭酶对 MBR-CANON 工艺脱氮性能及污泥特性的影响

张肖静,张红丽,张楠,位登辉,马冰冰,张涵,杨浩浩

郑州轻工业大学 环境污染治理与生态修复河南省协同创新中心,河南 郑州 450001

**摘要:**在稳定运行的基于膜生物反应器的全程自养脱氮工艺过程中投加淬灭酶-酰基高丝氨酸内酯(Acyl-Homoserine-Lactones,AHLs)酰基转移酶,跟踪分析该工艺过程中的脱氮性能、污泥性能、关键酶活及功能微生物组成的变化情况。结果表明,AHLs 酰基转移酶的加入导致好氧氨氧化菌的活性严重下降,当 AHLs 酰基转移酶质量浓度为 0.5 mg/L 时,氨氮去除率从最初的 83.7% 下降至 57.0%,总氮去除率由 65.9% 下降至 43.6%,但 AHLs 酰基转移酶可大幅降低膜丝表面附着的污泥中胞外聚合物含量,有利于减缓膜污染;AHLs 酰基转移酶的加入导致自养脱氮关键酶—羟氨氧化还原酶、氨单加氧酶及亚硝酸盐还原酶的活性下降。AHLs 酰基转移酶对好氧氨氧化菌的活性抑制大于厌氧氨氧化菌,但对两者相对丰度的影响则相反,厌氧氨氧化菌受到的抑制主要表现为基质不足导致的生长受限。

**关键词:**群体感应;淬灭酶;自养脱氮;胞外聚合物;膜生物反应器;关键酶活

**中图分类号:**X703.1 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2022)06-0110-09

## 0 引言

全程自养脱氮(Completely Autotrophic Nitrogen Removal Over Nitrite,CANON)工艺是近年来广受关注的新型脱氮技术,其脱氮过程能耗低、物耗少,是可持续污水处理技术的主要组成单元,也是实现污水处理碳中和的重要步骤<sup>[1-3]</sup>。然而,该工艺的高效稳定运行依赖高质量浓度的微生物量。近年来的研究<sup>[4-6]</sup>表明,膜生物反应器(Membrane Bioreactors,MBR)既能截留所有微生物,也能分开控制污泥停留时间和水力停留时间(Hydraulic Retention Time,HRT),可获得较高的微生物量且有利于 CANON 工艺中功能微生物好氧氨氧化菌(Aerobic

Ammonia-oxidizing Bacteria,AOB)和厌氧氨氧化菌(Anaerobic Ammonia-oxidizing Bacteria,AAOB)的生长,因此被公认为是一种能实现自养脱氮工艺的高效反应器。然而,在 MBR 运行过程中,微生物会附着在膜表面并以生物膜形式生长,这会使膜组件的通量严重下降,导致膜污染。膜污染不仅增加了维护和运行成本,也严重限制了 MBR 的发展及应用<sup>[7]</sup>。为了控制或减缓膜污染,研究者们<sup>[8-9]</sup>提出了多种物理或化学方法,包括低通量操作、周期性反冲洗、间歇进水、膜改性、添加膜污染控制剂等。然而,这些控制手段不仅成本高,还存在引入次生污染物的风险。

群体感应是微生物之间的一种通讯机制,微生

收稿日期:2021-08-13;修回日期:2022-05-06

基金项目:国家自然科学基金项目(41701569);河南省高校科技创新人才支持计划项目(20HASTIT014)

作者简介:张肖静(1986—),女,河南省开封市人,郑州轻工业大学副教授,博士,主要研究方向为环境污染治理新技术。  
E-mail:zhang-xiaojing@zzuli.edu.cn

物产生并识别信号分子从而调控自身行为,酰基高丝氨酸内酯(Acyl-Homoserine-Lactones, AHLs)就是其中一种常见的信号分子<sup>[10]</sup>。群体感应淬灭酶可以通过催化降解 AHLs 调节细菌行为,如可溶性微生物产物(Soluble Microbial Products, SMP)和胞外聚合物(Extracellular Polymeric Substance, EPS)的产生、细胞外酶的分泌、生物膜的形成等,这一发现为控制 MBR 系统中细菌行为及膜污染开辟了一条新的途径<sup>[11]</sup>。根据催化降解 AHLs 机制的不同,可将群体感应淬灭酶分为 3 类:AHLs 内酯酶、AHLs 酰基转移酶和 AHLs 氧化还原酶。其中关于 AHLs 酰基转移酶的研究较为深入<sup>[12]</sup>。近年来的研究<sup>[13-14]</sup>证明,AHLs 酰基转移酶可有效减缓膜污染,延长 MBR 运行周期。然而,CANON 工艺的功能微生物 AAOB 对环境条件非常敏感,如将 AHLs 酰基转移酶用于控制 MBR-CANON 工艺的膜污染,其势必将对反应器的脱氮性能、微生物活性、关键酶活及功能微生物组成造成影响。鉴于此,本文探索性地研究了 AHLs 酰基转移酶对 MBR-CANON 工艺运行性能及微生物特征的影响,以期解决 MBR-CANON 工艺的膜污染问题并推动该工艺的发展及应用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与仪器

主要材料:(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、NaHCO<sub>3</sub>、MgSO<sub>4</sub>、CaCl<sub>2</sub>和 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,均为化学纯,甲醇(优级纯),均为阿拉丁试剂有限公司产;实验用淬灭酶为 AHLs 酰基转移酶 I,酶活力为 500~1500 U/mg,美国 Sigma 公司产。

主要仪器:TU-1810 型紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司产;Mutit3430 型便携式水质参数测定仪,德国 WTW 公司产。

### 1.2 实验设置

本实验采用圆柱形 MBR 反应器,由有机玻璃制成,有效体积约为 4.8 L。实验采用人工配水,配水中氨氮质量浓度约为 200 mg/L,碱度约为 1600 mg/L,同时含有微量元素及矿物质元素。运行过程中维持 HRT 为 18 h,温度控制在 18~22 ℃。实验共包含 3 个阶段,分别记为 P0、P1 和 P2,其中 P0 不添加淬灭酶,P1 和 P2 阶段分别加入 0.1 mg/L 和 0.5 mg/L 的

淬灭酶。各阶段末从反应器内部取悬浮态的污泥样品进行 EPS、SMP、关键酶活及功能微生物组成的测定,样品以各阶段标记命名。其中,P1 和 P2 阶段结束时,由于膜丝表面明显附着有生物膜,同时采集了膜丝表面的生物膜样品,分别记为 MP1 和 MP2。

### 1.3 分析方法

采用纳氏试剂分光光度法测定氨氮质量浓度,波长为 420 nm;采用 N-1-萘基乙二胺分光光度法测定亚硝酸盐氮质量浓度,波长为 540 nm;采用紫外分光光度法测定硝酸盐氮质量浓度,波长为 220 nm 和 275 nm。氨氮去除率和总氮去除率按照式①和②计算,其中 C 指物质的质量浓度/(mg·L<sup>-1</sup>)。泥样经 8000 r/min 离心后,上清液用于测定 SMP 的含量,剩余泥样中加入缓冲溶液,经加热提取得到的溶液用于测定 EPS 的含量。其中,EPS 和 SMP 中的多糖含量采用蒽酮法测定,蛋白质含量采用福林-酚法测定。

$$\text{氨氮去除率} = \frac{C_{\text{进水氨氮}} - C_{\text{出水氨氮}}}{C_{\text{进水氨氮}}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{总氮去除率} = \frac{C_{\text{进水总氮}} - C_{\text{出水总氮}}}{C_{\text{进水总氮}}} \times 100\% \quad (2)$$

基于文献[15-16]的方法,羟氨氧化还原酶(Hydroxylamine Oxidoreductase, HAO)的活性以铁氰化钾催化羟胺为反应基质进行测定,氨氮加氧酶(Ammonia Monooxygenase, AMO)活性通过硫酸铵氧化生成亚硝酸盐氮的速率来反映,亚硝酸盐还原酶(Nitrite Reductase, NIR)的活性则通过以甲基紫晶为电子供体还原亚硝酸盐氮的速率来反映。

### 1.4 高通量测序

每次取泥样时,均从反应器 3 个不同位置分别取样,混合后作为样品用于测定。从反应器内部和膜丝表面取样后,采用 E. Z. N. ATM Mag-Bind 试剂盒提取 DNA。提取得到的合格 DNA 进行 PCR 扩增,扩增引物为 341F/805R(341F:CCTACGGGNGGCWGCAG; 805R:GACTACHVGGGTATCTAATCC),得到的扩增产物在 Miseq 平台上进行高通量测序。测序结果与 Silva 数据库中的序列进行比对,并进行微生物分类。OTU 定义为相似度大于 97%,多样性指数 Shannon 和 Simpson 通过 Mothur 软件(Mothur v1.30.1)

进行分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 淬灭酶对反应器性能的影响

反应器在不同阶段的脱氮效果如图 1 所示。由图 1 可知, P0 阶段前期, 在进水氨氮质量浓度为 200 mg/L 左右的条件下, 出水氨氮质量浓度逐渐下降, 至第 10 d 时, 出水氨氮质量浓度降为 4.0 mg/L, 但亚硝酸盐氮和硝酸盐氮分别剩余 17.4 mg/L 和 25.7 mg/L。这说明, AOB 的活性较好, 能够及时将氨氮氧化为亚硝酸盐氮, 但 AAOB 的活性不足以将亚硝酸盐氮及时还原。同时, 硝酸盐氮生成量较高, 说明反应器中存在硝化细菌 (Nitrite-oxidizing Bacteria, NOB), 而这对不利于高效脱氮。因此, 在第 11 d, 将反应器内的溶解氧从 0.17 mg/L 调节至 0.10 mg/L。之后, 反应器的氨氮去除率和总氮去除率均迅速下降, 出水氨氮质量浓度升高, 同时不再有亚硝酸盐氮残留。这说明, 溶解氧质量浓度的降低限制了 AOB 的活性, 不能将全部氨氮氧化为亚硝酸盐氮, 但低溶解氧有利于 AAOB 对亚硝酸盐氮的还原。再次运行 10 d 后, 即第 21 d 再次通过调节曝气量将溶解氧升高至 0.13 mg/L 左右, 之后出水氨氮质量浓度迅速降低, 氨氮去除率和总氮去除率随之升高, 同时反应器内无亚硝酸盐氮积累, 硝酸盐氮生成量约为 28 mg/L, 此时硝酸盐氮生成量与氨氮

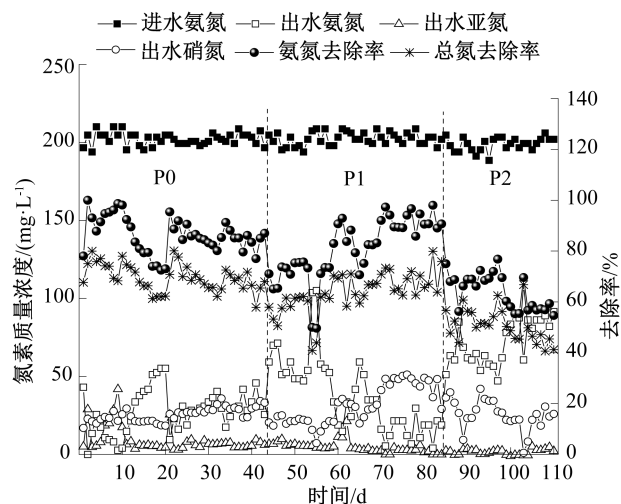


图 1 反应器在不同阶段的脱氮效果

Fig. 1 Nitrogen removal performance of the reactor in each stage

去除量的比值为 0.16, 略大于 CANON 反应的理论值 0.11<sup>[17]</sup>。此后直至该阶段结束, 反应器运行稳定, 氨氮去除率和总氮去除率最终稳定在 83.7% 和 65.9%。这表明, 溶解氧是 CANON 反应器运行的关键参数, 即使相差较小的数值, 对反应器的脱氮性能及功能微生物的活性都有较大影响。与之前的研究结果相似<sup>[18]</sup>, 即溶解氧太高会抑制 AAOB 活性, 太低则抑制 AOB 活性, 在实际运行中, 需要经过多次调控以找到最佳参数。

在第二阶段 P1 加入 0.1 mg/L 的 AHLs 酰基转移酶后, 氨氮氧化受到抑制, 出水氨氮质量浓度迅速升高, 同时总氮去除率下降。加入后的第 1 d, 出水氨氮质量浓度从 25.6 mg/L 升高至 59.2 mg/L, 相应地, 氨氮去除率从 87.0% 降低至 71.1%, 总氮去除率从 68.0% 降低至 57.9%, 而亚硝酸盐氮质量浓度无明显变化, 硝酸盐氮生成量大幅降低。这表明, AHLs 酰基转移酶刚加入时, 不仅抑制了 AOB 的活性, 同时也抑制了 NOB 的活性, 但是对 AAOB 的影响较小。然而, 在运行一段时间后, 反应器去除效果回升, 尤其是第 59 d 后, 出水氨氮质量浓度显著降低, 氨氮去除率和总氮去除率均随之升高, 最终分别达到 91.8% 和 70.5%, 出水氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮质量浓度分别为 16.4 mg/L、0.7 mg/L 和 42.2 mg/L (最后 5 d 平均值, 下同), 这个现象可能是由于 MBR-CANON 体系内的微生物逐渐适应了 AHLs 酰基转移酶, AOB 和 AAOB 的活性得到提升, 进而提高了总氮去除率, 同时有部分氨氮被氧化为硝酸盐氮。

反应器运行稳定后, 进入 P2 阶段。将淬灭酶的质量浓度提高到 0.5 mg/L, 出水氨氮质量浓度再次出现大幅升高, 在该阶段第 1 d 上升至 51.2 mg/L, 说明 AOB 活性再次受到严重抑制。亚硝酸盐氮尚无积累, 出水硝酸盐氮质量浓度有所下降但仍然较高, 说明 NOB 活性没有受到抑制。而脱氮效果的下降主要是因为 AOB 无法为 AAOB 及时提供足够的亚硝酸盐氮基质。第 5 d 反应器运行效果开始回升, 经过波动后, 最终出水氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮质量浓度分别稳定在 87.0 mg/L、3.3 mg/L 和 24.6 mg/L, 氨氮去除率和总氮去除率则稳定在

57.0%和43.6%。该结果表明,0.5 mg/L 的 AHLs 酰基转移酶长期作用严重影响了氨氮的氧化, AOB 和 AAOB 活性均受到持续抑制, NOB 能够较快速适应,这对于维持自养脱氮稳定是不利的。有研究<sup>[19]</sup>表明, AHLs 酰基转移酶的加入会导致脱氮效果下降,严重抑制 AOB 活性,但对其丰度影响不大,这与本文结果相似。本文实验中 AOB 受到持续抑制后, AAOB 由于得不到充足的反应基质,也在较高质量浓度的 AHLs 酰基转移酶作用下受到抑制。

## 2.2 淬灭酶对污泥 EPS 的影响

各阶段悬浮污泥及膜附着污泥样品的 EPS 和 SMP 含量如图 2 所示。由图 2a) 可知,在样品 P0 中, EPS 中的多糖和蛋白质含量分别为 1.1 mg/g SS (指单位质量污泥中的含量,下同)和 6.6 mg/g SS,至 P1 阶段末,多糖和蛋白质含量均显著降低,分别降至 0.4 mg/g SS 和 3.0 mg/g SS。一般认为,在受到毒性抑制时,微生物会大量分泌 EPS 以保护自身细胞的正常生命活动。但本实验中, AHLs 酰基转移酶的加入却降低了 EPS 的含量,同样的结果在之前也有相关报道,例如猪肾酰基转移酶加入 MBR 后显著降低了 EPS 含量,有效抑制了膜污染<sup>[11]</sup>。其原因一方面是 AHLs 酰基转移酶的加入抑制了微生

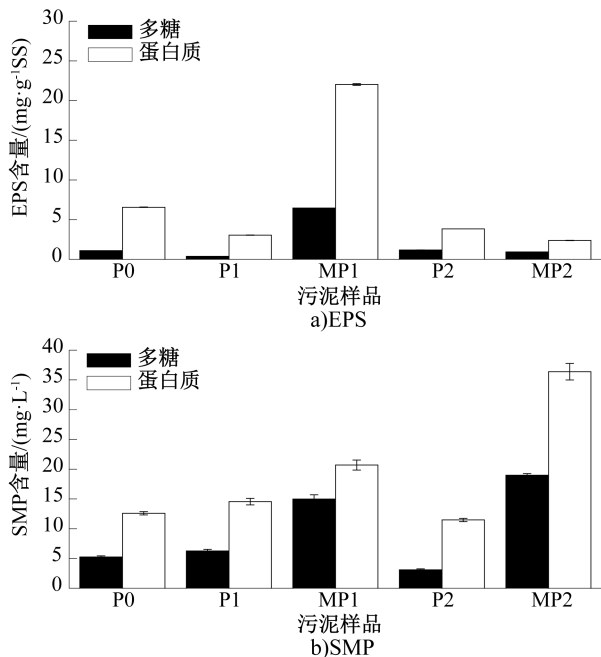


图 2 各阶段悬浮污泥及膜附着污泥样品的 EPS 和 SMP 含量

Fig. 2 EPS and SMP contents of the suspended sludge and membrane attached sludge in each stage

物对 EPS 的分泌,另一方面则是 AHLs 酰基转移酶会导致某些微生物受到抑制,尤其是膜污染微生物更易受到影响。

泥样 MP1 中, EPS 中的多糖和蛋白质含量均显著升高 ( $P < 0.01$ ), 分别升至 6.5 mg/g SS 和 22.0 mg/g SS。这说明低质量浓度的 AHLs 酰基转移酶会导致微生物生长趋向发生转变,逐渐向膜丝表面转移并附着生长。也可能是 P1 阶段运行时间较长,此时跨膜压力大、膜污染程度较重而导致的。而在 P2 阶段,悬浮污泥的 EPS 中多糖和蛋白质含量恢复至 1.2 mg/g SS 和 3.8 mg/g SS,同时膜丝表面 EPS 中的多糖和蛋白质含量显著降低至 0.9 mg/g SS 和 2.4 mg/g SS ( $P < 0.01$ )。有研究<sup>[20]</sup>表明,膜丝表面附着的 EPS 是 MBR 出现膜污染的重要原因,而本文的结果表明,0.5 mg/L 的 AHLs 酰基转移酶极大地抑制了 EPS 的分泌,降低了膜表面的 EPS 含量,有利于减缓膜污染速度。然而,值得注意的是,在该质量浓度下,氨氮的好氧化受到抑制,因此需进一步考查是否可用于厌氧系统的氨氮氧化,或者需结合其他抗抑制策略用于好氧系统。

SMP 是反应器内的溶解性微生物产物,与死亡的微生物残体有密切关系。由图 2b) 可知,在 P0 阶段, SMP 中多糖和蛋白质含量分别为 5.3 mg/L 和 12.6 mg/L,而在 P1 阶段, SMP 中多糖和蛋白质含量均略有升高,说明 0.1 mg/L 的 AHLs 酰基转移酶对于微生物生长影响较小。在 P2 阶段, SMP 有轻微降低,表明 AHLs 酰基转移酶更多的是影响微生物活性,并不足以导致微生物死亡。膜丝表面附着污泥的 SMP 含量均比悬浮污泥要高,这是由于微生物产物更容易附着在膜表面,而膜表面的环境也更适合微生物附着生长。此外,据报道<sup>[21]</sup>,反硝化菌可以利用 SMP 进行内源反硝化,这也是 SMP 含量出现波动的原因之一。

## 2.3 淬灭酶对关键酶活的影响

反应器中各阶段关键酶活性的变化如图 3 所示,其中 P1 和 P2 阶段的 AMO 仅测定了一次,故未进行误差分析。HAO 是厌氧氨氧化过程的重要参与者,同时也广泛存在于 AOB 和反硝化细菌中,能够催化脱氮过程中间产物—羟胺的氧化和还原。因

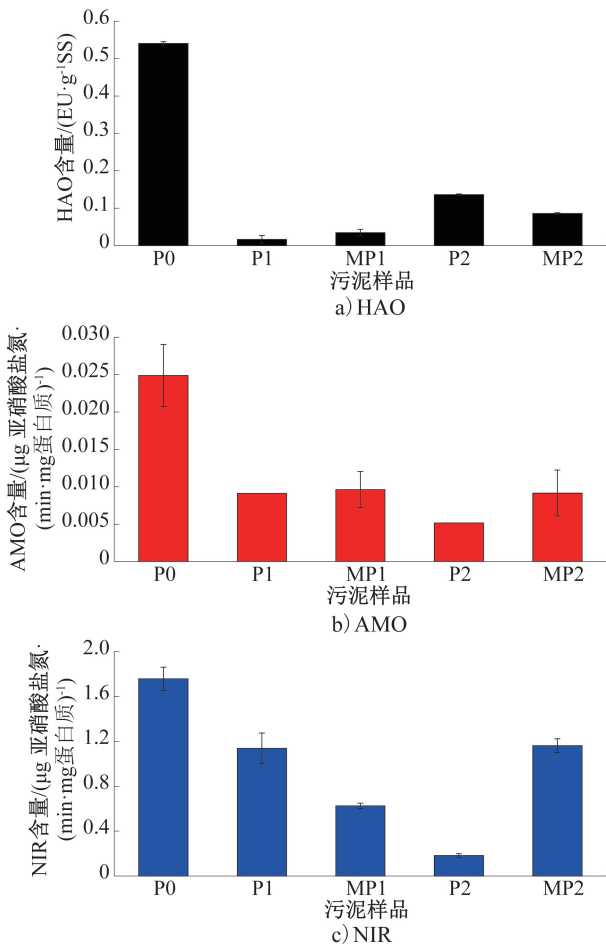


图3 反应器中各阶段关键酶活性的变化

Fig. 3 Variation of the key enzymes' activity in each stage of the reactor

此,HAO 的活性变化与 CANON 系统的脱氮效果密切相关<sup>[22]</sup>。由图 3 可以看出,加入 AHLs 酰基转移酶后,HAO 的含量显著降低( $P < 0.01$ ),从 P0 阶段的  $0.54 \text{ EU/g SS}$  (指单位质量污泥的酶活性,下同)降低至  $0.016 \text{ EU/g SS}$ ,但到 P2 阶段有回升的趋势,悬浮污泥中的 HAO 含量略微升高到  $0.14 \text{ EU/g SS}$ 。这说明,AHLs 酰基转移酶严重抑制了 AOB 的活性,但随着运行时间的延长,AAOB 或反硝化菌逐渐适应,酶活增高。膜丝表面泥样的 HAO 含量也同样有所升高,从 P1 阶段的  $0.034 \text{ EU/g SS}$  升高到 P2 阶段的  $0.086 \text{ EU/g SS}$ 。这说明 AHLs 酰基转移酶对自养脱氮系统有重要影响,但具体影响规律仍需进一步研究。

AMO 主要存在于 AOB 中,反映了 AOB 氧化氨氮的活性<sup>[16]</sup>。由图 3b)可知,在加入 AHLs 酰基转移酶后,AMO 含量同样显著降低,从 P0 阶段的

$0.025 \mu\text{g}$  亚硝酸盐氮/ $(\text{min} \cdot \text{mg}$  蛋白质)降低至  $0.009 \mu\text{g}$  亚硝酸盐氮/ $(\text{min} \cdot \text{mg}$  蛋白质),并在 P2 阶段进一步降低至  $0.005 \mu\text{g}$  亚硝酸盐氮/ $(\text{min} \cdot \text{mg}$  蛋白质),这再次说明,AHLs 酰基转移酶对 AOB 活性影响较大,严重限制了氨氮的氧化。同时,在 MP1 和 MP2 样品中膜丝表面微生物的 AMO 活性在两个阶段变化不大,说明附着生长在膜丝表面的微生物受到的冲击较小,比悬浮态的污泥更能够耐受冲击,适应不利环境。

NIR 是亚硝酸盐还原酶,其活性反映了微生物对亚硝酸盐氮的还原能力<sup>[23]</sup>,在 CANON 工艺中则主要反映 AAOB 的活性。由图 3c)可知,在加入 AHLs 酰基转移酶后,NIR 也受到抑制,从 P0 阶段的  $1.76 \mu\text{g}$  亚硝酸盐氮/ $(\text{min} \cdot \text{mg}$  蛋白质)降低到  $1.14 \mu\text{g}$  亚硝酸盐氮/ $(\text{min} \cdot \text{mg}$  蛋白质)。但与 HAO 和 AMO 相比,其降低幅度较小,因而反映出 AHLs 酰基转移酶对 AAOB 活性影响较小。然而在 P2 阶段,NIR 再次显著降低至  $0.18 \mu\text{g}$  亚硝酸盐氮/ $(\text{min} \cdot \text{mg}$  蛋白质) ( $P < 0.01$ ),说明 AHLs 酰基转移酶质量浓度的升高增强了对 AAOB 的抑制。因此,在 P2 阶段,不仅 AOB 受到抑制,悬浮污泥中的 AAOB 同样受到抑制。值得注意的是,膜表面污泥中的 NIR 含量出现升高,从 MP1 的  $0.63 \mu\text{g}$  亚硝酸盐氮/ $(\text{min} \cdot \text{mg}$  蛋白质)增加到 MP2 的  $1.16 \mu\text{g}$  亚硝酸盐氮/ $(\text{min} \cdot \text{mg}$  蛋白质),这说明 AAOB 更加趋向于附着生长,其在膜表面污泥中的活性远远大于悬浮状态的污泥。膜表面污泥中 AAOB 活性的增强可以减小反应系统中 AAOB 受到的综合影响,而膜表面的 AAOB 分泌 EPS 较少,更加有利于控制膜污染。

通过分析以上 3 种关键酶的活性变化情况可知,AHLs 酰基转移酶的加入,导致 AOB 的关键酶活受到严重抑制,而对 AAOB 的影响相对较小。AAOB 在受到抑制时,更趋向于附着在膜丝表面生长以增强活性。因此推测,利用 AHLs 酰基转移酶减少 EPS 的分泌进而减缓膜污染的方法可能更适用于 MBR-厌氧氨氧化系统。

## 2.4 淬灭酶对微生物群落的影响

在实验过程中,分别测得 P0、P1、MP1、P2、MP2

5 个泥样的有效序列个数为 53 349、67 560、62 004、57 884、63 230,满足微生物分类的要求,按照相似度大于 97% 进行分类,5 个样品的序列中分别包含 479、488、477、475、474 个 OTU。而结合 OTUs 分布图(见图 4)可知,5 个样品中共有的 OTU 为 373 个,每个样品独有的 OTU 较少。这说明,AHLs 酰基转移酶的加入对 CANON 系统 OTU 组成及生物多样性的影响较小,对其微生物组成的种类影响不大。代表多样性的 Shannon 指数越高,代表微生物多样性越大,Simpson 指数则相反。表 1 为高通量测序结果,表 1 显示,两个指数在几个样品中变化均较小。整体而言,加入 AHLs 酰基转移酶后,悬浮污泥中的生物多样性有所增加,从 P0 阶段的 3.64 增加到 P1 阶段的 3.70,至 P2 阶段则进一步增加至 3.82,这说明 AHLs 酰基转移酶的加入引入了一些新的微生物,但影响不显著。而膜表面污泥中的生物多样性相对较小,这一方面是由于其附着时间较短,另一方面是由于附着在膜丝表面的微生物应具备一定的特性,比如黏性较大等,因此微生物组成相对较为简单,多样性较小,但随着 AHLs 酰基转移酶的加入,多样性同样有所增加。

经与 Silva 数据库比对,各阶段悬浮污泥和附着污泥中微生物组成(属水平)如图 5 所示,与脱氮相关的微生物相对丰度见表 1。其中,*Candidatus Kuenenia* 是典型的 AAOB 细菌,其相对丰度在 P0 阶段为 21.1%,在 P1 阶段加入 AHLs 酰基转移酶后降低为 17.1%,在 P2 阶段进一步降低至 11.7%,这说明 AHLs 酰基转移酶的加入限制了 AAOB 的增殖,

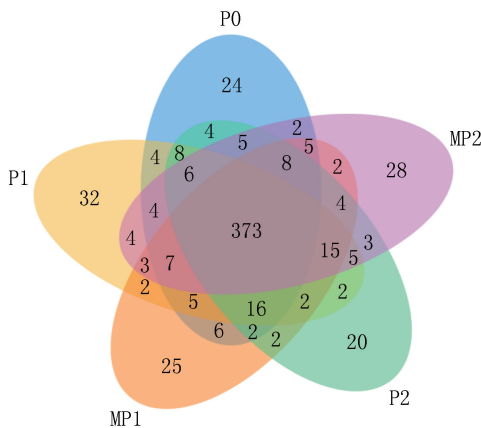


图 4 OTUs 分布图

Fig. 4 Distribution of OTUs

限制的原因可能是由于没有充足的基质而生长受限,从而导致总氮去除率下降。然而值得注意的是,膜丝表面同样存在 AAOB,两个阶段的相对丰度分别为 10.8% 和 9.3%,并不高于悬浮污泥,这是由于膜丝表面附着有大量与膜污染有关的微生物,减少了 AAOB 的相对占比。

*Nitrosomonas* 是 AOB 细菌,其相对丰度同样出现下降,从 7.1% 降低至 6.9% 再进一步降低至 5.7%。AOB 丰度的下降并不明显,说明 AHLs 酰基转移酶的加入主要影响了 AOB 的活性,而对其相对丰度影响较小。相反,AHLs 酰基转移酶对 AAOB 的限制则主要表现在相对丰度的降低,这是由于 AOB 活性受到抑制,无法为 AAOB 提供充足的基质,限制了 AAOB 的生长,该结论尚需进一步研究确认。膜丝表面污泥中的 AOB 和 AAOB 的相对丰度均低于悬浮污泥,与酶活的变化刚好相反,这说明

表 1 高通量测序结果

Table 1 Results of the high throughput sequencing

样品	多样性指数		功能微生物的相对丰度/%		
	Shannon	Simpson	<i>Candidatus Kuenenia</i>	<i>Nitrosomonas</i>	<i>Nitrospira</i>
P0	3.64	0.07	21.1	7.1	0.3
P1	3.70	0.06	17.1	6.9	0.8
P2	3.82	0.04	11.7	5.7	1.2
MP1	3.44	0.08	10.8	4.4	0.2
MP2	3.52	0.08	9.3	3.8	0.9

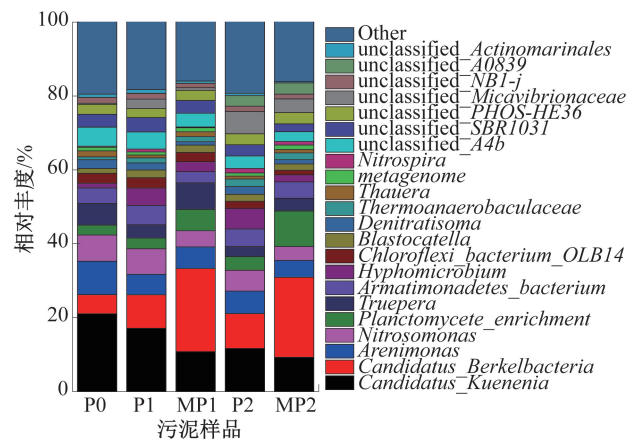


图 5 各阶段悬浮污泥和附着污泥中微生物组成(属水平)

Fig. 5 Microbial composition of the suspended sludge and membrane attached sludge in each stage (in genus level)

附着生长的自养脱氮微生物活性更好,但膜丝表面生长了更多与膜污染相关的细菌,因此脱氮细菌占比较低。*Nitrospira* 是系统中检测到的唯一 NOB,这证实了反应器中过多的硝酸盐氮是由 NOB 氧化生成的。其相对丰度在整个实验过程中一直很低,从 0.3% 分别升高至 0.8% 和 1.2%,这说明 AHLs 酰基转移酶的加入对硝化菌有一定的促进作用,从而导致反应器出水中硝酸盐氮的生成量相应增加。硝化菌相对丰度的升高不利于自养脱氮的稳定性,也不利于总氮的去除。膜丝表面的硝化菌含量也低于悬浮状态的污泥,分别为 0.2% 和 0.9%。这说明,膜丝表面附着的更多是膜污染微生物,脱氮微生物则较多悬浮在反应器中。有研究<sup>[24]</sup>认为,AHLs 酰基转移酶的加入虽然对有机物去除效果影响不大,但对微生物有较大影响。也有研究<sup>[25]</sup>表明,AHLs 酰基转移酶的加入对微生物组成影响不大。此外,还有研究<sup>[26]</sup>认为,AHLs 酰基转移酶的加入对革兰氏阴性菌有严重的抑制作用,而本文 CANON 系统中,功能微生物多为革兰氏阴性菌。结合本文的实验结果,AHLs 酰基转移酶的加入对微生物组成影响较小,其生物多样性变化不大,但对功能微生物的相对丰度及关键酶活影响较大。因此,将群体感应淬灭酶应用于 MBR-CANON 系统的膜污染控制,需要解决的首要问题应是如何快速恢复功能微生物及关键酶的活性。

### 3 结论

本文在稳定运行的 MBR-CANON 工艺过程中投加 AHLs 酰基转移酶,跟踪分析该工艺各阶段的脱氮性能、污泥性能、关键酶活及微生物组成的变化情况,得出:0.5 mg/L 的 AHLs 酰基转移酶可大幅降低膜丝表面污泥的 EPS 含量,有利于减缓膜污染;AHLs 酰基转移酶的加入,抑制了 AOB 及其关键酶活,对 AAOB 活性的抑制则相对较小,且长期运行后有一定的适应性;AHLs 酰基转移酶对 AOB 的相对丰度影响较小,对 AAOB 的相对丰度影响较大,AAOB 受到的影响主要表现为生长受限;AHLs 酰基转移酶对 NOB 有一定的诱导作用,不利于自养脱氮工艺的稳定性。该研究结果表明 AHLs 酰基转移酶

可用于调控 MBR-CANON 工艺的膜污染,但需考虑如何减轻其对功能微生物及关键酶活性的影响,并进一步了解其对单独的亚硝化或者厌氧氨氧化工艺的影响规律。

### 参考文献:

- [1] ARORAA A S, NAWAZ A, QYYUMA M A, et al. Energy saving anammox technology-based nitrogen removal and bioenergy recovery from wastewater: Inhibition mechanisms, state-of-the-art control strategies, and prospects [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2021, 135:110126.
- [2] WU D, LI X Z, LI X D. Toward energy neutrality in municipal wastewater treatment: A systematic analysis of energy flow balance for different scenarios [J]. *ACS ES&T Water*, 2021, 1(4):796-807.
- [3] 张肖静,张涵,周月,等. 亚硝化-厌氧氨氧化工艺的启动及微生物种群演替规律研究 [J]. *轻工学报*, 2019, 34(6):54-63.
- [4] ZHANG X L, LIU X C, ZHANG M. Performance and microbial community of the CANON process in a sequencing batch membrane bioreactor with elevated COD/N ratios [J]. *Water Science & Technology*, 2020, 81(2):138-147.
- [5] MAO X, MYAVAGH P H, LOTFIKATOULI S, et al. Membrane bioreactors for nitrogen removal from wastewater: A review [J]. *Journal of Environmental Engineering*, 2020, 146(5):03120002.
- [6] VAN DER STAR W R L, MICLEA A I, VAN DONGEN U G J M, et al. The membrane bioreactor: A novel tool to grow anammox bacteria as free cells [J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2010, 101(2):286-294.
- [7] WANG S, ZOU L X, LI H B, et al. Full-scale membrane bioreactor process WWTPs in East Taihu basin: Wastewater characteristics, energy

- consumption and sustainability [ J ]. *Science of the Total Environment*, 2020, 723: 137983.
- [ 8 ] ZHOU J H, JIANG S F, YU H C, et al. A comparative study on membrane fouling alleviation mechanisms by using nanoscale  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  and poly dimethyldiallylammonium chloride [ J ]. *Environmental Technology*, 2020, 41( 12 ): 1477–1485.
- [ 9 ] DU X, SHI Y, JEGATHEESAN V, et al. A review on the mechanism, impacts and control methods of membrane fouling in MBR system [ J ]. *Membranes*, 2020, 10( 2 ): 24.
- [ 10 ] MUTLU B K, ERGÖN-CAN T, KOYUNCU I, et al. Quorum quenching for effective control of biofouling in membrane bioreactor: A comprehensive review of approaches, applications, and challenges [ J ]. *Environmental Engineering Research*, 2019, 24( 4 ): 543–558.
- [ 11 ] KHAN M, KHAN S J, HASAN S W. Quorum sensing control and wastewater treatment in quorum quenching/submerged membrane electro-bioreactor (SMEBR(QQ)) hybrid system [ J ]. *Biomass & Bioenergy*, 2019, 128: 105329.
- [ 12 ] 张泽瀚, 洪乾坤, 刘博超, 等. 群体淬灭技术在控制 MBR 生物污染中的研究进展 [ J ]. *工业水处理*, 2021, 41( 4 ): 7–13.
- [ 13 ] LEE K, YU H R, ZHANG X L, et al. Quorum sensing and quenching in membrane bioreactors: Opportunities and challenges for biofouling control [ J ]. *Bioresource Technology*, 2018, 270: 656–668.
- [ 14 ] 常晶, 史国萃, 曾名湧, 等. 细菌群体感应淬灭酶及其应用研究进展 [ J ]. *生物加工过程*, 2019, 17( 3 ): 244–250.
- [ 15 ] ZHANG X J, WEI D H, CHEN Z, et al. Impact of increasing sulfide addition on the nitrogen removal and microbial community of CANON process in membrane bioreactor [ J ]. *Biochemical Engineering Journal*, 2021, 173: 108071.
- [ 16 ] ENSIGN S A, HYMAN M R, ARP D J. In vitro activation of ammonia monooxygenase from *Nitrosomonas europaea* by copper [ J ]. *Journal of Bacteriology*, 1993, 175( 7 ): 1971–1980.
- [ 17 ] SLIEKERS A O, DERWORT N, GOMEZ J, et al. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor [ J ]. *Water Research*, 2002, 36( 10 ): 2475–2482.
- [ 18 ] 张肖静, 傅浩强, 张楠, 等. 低基质厌氧氨氧化滤柱的快速启动及稳定运行 [ J ]. *轻工学报*, 2018, 33( 4 ): 42–49.
- [ 19 ] YU H R, QU F S, ZHANG X L, et al. Effect of quorum quenching on biofouling and ammonia removal in membrane bioreactor under stressful conditions [ J ]. *Chemosphere: Environmental Toxicology and Risk Assessment*, 2018, 199: 114–121.
- [ 20 ] PALUCH E, REWAK-SOROCZYŃSKA J, JDRUSIK I, et al. Prevention of biofilm formation by quorum quenching [ J ]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104( 1 ): 1871–1881.
- [ 21 ] LIU Y E, SUN J, PENG L, et al. Assessment of heterotrophic growth supported by soluble microbial products in anammox biofilm using multidimensional modeling [ J ]. *Scientific Reports*, 2016, 6( 1 ): 275–276.
- [ 22 ] 何志仙, 魏旖旎, 刘婧晶, 等. 活性污泥羟氨氧化还原酶粗酶提取及活性测定方法的优化研究 [ J ]. *环境科学学报*, 2015, 35( 12 ): 3797–3804.
- [ 23 ] YIN X, QIAO S, YU C, et al. Effects of reduced graphene oxide on the activities of anammox biomass and key enzymes [ J ]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 276: 106–112.
- [ 24 ] OUYANG Y, HU Y, HUANG J H, et al. Effects of exogenous quorum quenching on microbial community dynamics and biofouling propensity of activated sludge in MBRs [ J ]. *Biochemical Engineering Journal*, 2020, 157: 107534.
- [ 25 ] SALEHIZIRI M, AMALFITANO S, GALLIPOLI



A, et al. Investigating the influences of quorum quenching and nutrient conditions on activated sludge flocs at a short-time scale [J]. *Chemosphere*, 2020, 248: 125917.

[26] WAHEED H, XIAO Y Y, HASHMI I, et al. The selective pressure of quorum quenching on microbial communities in membrane bioreactors [J]. *Chemosphere*, 2020, 247: 125953.

## Effect of quorum quenching enzyme on the nitrogen removal performance and sludge property of MBR-CANON process

ZHANG Xiaojing, ZHANG Hongli, ZHANG Nan, WEI Denghui, MA Bingbing, ZHANG Han, YANG Haojie  
*He'nan Collaborative Innovation Center of Environmental Pollution Control and Ecological Restoration,  
Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China*

**Abstract:** Quorum quench enzyme-Acyl-Homoserine-Lactones (AHLs) acyltransferase was added to the stable MBR-CANON process, the nitrogen removal performance, sludge property, key enzymes' activity and microbial community were tracked and analyzed. The results showed that the addition of AHLs acyltransferase significantly suppressed the nitrogen removal ability. The AHLs acyltransferase in 0.5 mg/L obviously decreased the ammonia removal efficiency from 83.7% to 57.0%, and the total nitrogen removal efficiency from 65.9% to 43.6%. The extracellular polymeric substance in the sludge attaching to the membrane surface was also decreased by the AHLs acyltransferase, which was beneficial to alleviate the membrane fouling. Additionally, the activity of hydroxylamine oxidoreductase, ammonia monooxygenase, and nitrite reductase all significantly decreased with the addition of AHLs acyltransferase. The inhibition of AHLs acyltransferase on the activity of aerobic ammonia-oxidizing bacteria was greater than that on the anaerobic ammonia-oxidizing bacteria (AAOB), but the effect on their relative abundances was opposite. The suppression on AAOB was mainly attributed to the lack of substrate.

**Key words:** quorum sensing; quenching enzyme; autotrophic nitrogen removal; extracellular polymeric substance; membrane bioreactor; enzyme activity

(责任编辑:王晓波)