

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2022.11.004

羟基氧化铁强化低C/N废水生物反硝化脱氮研究

雒沛文¹, 李伟^{1,2}, 丁杰¹, 汤婧瑶¹, 张浏², 袁步先²,
梁越敢¹

(1. 安徽农业大学 资源与环境学院, 安徽 合肥 230036; 2. 安徽省环境科学研究院,
安徽 合肥 230071)

摘要: 针对处理低C/N废水过程中传统生物反硝化效率低的技术难题,在活性污泥反硝化系统中投加羟基氧化铁,研究羟基氧化铁对C/N逐渐降低废水反硝化效率的影响。结果表明,在C/N为10、7.5时,羟基氧化铁对硝态氮去除率的影响不明显;当C/N为5、2.5时,投加羟基氧化铁可使硝态氮去除率分别提高16.38%和15.76%,同时加快了系统对反硝化中间产物亚硝态氮的去除。另外,投加羟基氧化铁还促进了胞外聚合物(EPS)中蛋白质(PN)和多糖(PS)的分泌,降低了传统反硝化亚硝酸还原酶(NIR)的活性。羟基氧化铁可以改变微生物的群落结构,使系统能够富集Uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae和Neochlamydia等脱氮菌,诱导发生硝酸盐型厌氧亚铁氧化,实现传统反硝化和硝酸盐型厌氧亚铁氧化协同去除硝态氮。

关键词: 羟基氧化铁; 反硝化; 铁循环; 硝酸盐型厌氧亚铁氧化

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2022)11-0019-06

Biological Denitrification of Low Carbon to Nitrogen Ratio Wastewater Enhanced by Iron Oxyhydroxide

LUO Pei-wen¹, LI Wei^{1,2}, DING Jie¹, TANG Jing-yao¹, ZHANG Liu²,
YUAN Bu-xian², LIANG Yue-gan¹

(1. School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;
2. Anhui Academy of Environmental Sciences, Hefei 230071, China)

Abstract: To solve the problem of low denitrification efficiency of traditional biological process for the treatment of low carbon to nitrogen (C/N) ratio wastewater, iron oxyhydroxide was added into an activated sludge system to investigate its effect on the denitrification efficiency of wastewater with a gradually decreasing C/N ratio. When the C/N ratio was 10 and 7.5, the effect of iron oxyhydroxide on nitrate removal efficiency was not obvious. When the C/N ratio was 5 and 2.5, the addition of iron oxyhydroxide increased the nitrate removal efficiency by 16.38% and 15.76%, respectively, and the removal rate of nitrite (an intermediate produced in denitrification) was accelerated. In addition, iron oxyhydroxide also promoted the secretion of protein and polysaccharide in EPS, and decreased the activity of nitrite reductase (NIR) enzyme. Iron oxyhydroxide changed the microbial community composition, enriched denitrifying bacteria such as Uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae and Neochlamydia

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07603-004)

通信作者: 梁越敢 E-mail: ygliang@ahau.edu.cn

in the system, induced nitrate-dependent Fe(II) oxidation, and realized synergistic removal of nitrate nitrogen through traditional denitrification and nitrate-dependent Fe(II) oxidation.

Key words: iron oxyhydroxide; denitrification; iron cycle; nitrate-dependent Fe(II) oxidation

对于低C/N废水,传统生物反硝化工艺普遍存在因电子供体不足导致反硝化效率低、出水总氮难以达标的难题^[1]。外加碳源的方法常被用来弥补电子供体不足,提高反硝化效率;但外加碳源会增加运行成本,还可能因投加量控制不当而引发二次污染等问题^[2]。因此,寻找新的反硝化电子供体以提升反硝化效率具有十分重要的意义。

铁不仅是微生物自身进行生化反应所必需的微量元素,也是参与自然生物化学循环过程的重要元素。例如,硝酸盐型厌氧亚铁氧化脱氮工艺就是利用二价铁作为反硝化电子供体,该工艺能够在低C/N甚至不含有机物的条件下将 NO_3^- -N转化为 N_2 ^[3]。Song等^[4]发现,低C/N条件下,外加 Fe^{2+} 显著提高了人工湿地的生物脱氮能力。另外,Wang等^[5]比较了3种固相铁(海绵铁、FeS和 FeCO_3)对低C/N废水自养反硝化速率的影响,得出FeS组反硝化效率最高,硝态氮去除率达到96%。然而,亚铁氧化产物为多种不溶性铁矿物,这些铁矿物包裹在细胞表面并随反应的进行不断积累,导致活性污泥矿化,降低了微生物活性和物质传递的发生,使反应器难以实现长期有效的稳定运行^[6]。

目前,缺氧环境下活性污泥系统中Fe(III)异化还原反应被广泛关注。为此,在反硝化系统中投加羟基氧化铁,试图利用Fe(III)异化还原产生的Fe(II)诱导实现硝酸盐型厌氧亚铁氧化脱氮,实现Fe(III)还原与Fe(II)氧化的交替发生,克服硝酸盐型厌氧亚铁氧化脱氮铁盐沉淀在微生物表面的缺陷。基于此,笔者在C/N逐渐降低的ASBR系统中,研究了羟基氧化铁对硝态氮去除、氮和铁转化、胞外聚合物(EPS)、反硝化酶和微生物菌群的影响。

1 材料与方 法

1.1 接种污泥的驯化

接种污泥取自合肥市望塘污水处理厂氧化沟中的泥水混合液。混合液经沉淀浓缩后于ASBR中进行驯化,每天运行2个周期,每周期反应10h,静置2h,温度控制在 $(25.0\pm 1)^\circ\text{C}$ 。模拟废水的组分详见文献^[7],控制进水 NO_3^- -N为14 mg/L、COD为

140 mg/L、pH为 7.0 ± 0.2 。当硝态氮去除率达到85%以上时,表示驯化成熟。

1.2 实验方法

取驯化成熟的污泥分配到两个ASBR反应器(有效容积为2.5 L)中,控制MLSS为2 500 mg/L,排水比为40%,运行方式与污泥驯化时一致。对照组不加羟基氧化铁,实验组每隔5 d按Fe/N物质的量之比为5投加羟基氧化铁。在进水硝态氮浓度不变条件下,通过改变进水COD浓度调整进水C/N。实验分为4个阶段,第1阶段(0~22 d)C/N为10,第2阶段(23~41 d)C/N为7.5,第3阶段(42~112 d)C/N为5,第4阶段(113~203 d)C/N为2.5。

1.3 分析项目及方法

NO_3^- -N采用紫外分光光度法测定, NO_2^- -N采用N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法测定, NH_4^+ -N采用纳氏试剂分光光度法测定,COD采用快速消解-分光光度法测定。亚硝酸还原酶(NIR)活性采用 NO_2^- -N减量法测定。EPS采用热提取法进行提取,蛋白质(PN)和多糖(PS)含量分别采用Folin-酚试剂法和硫酸-苯酚法测定。污泥中吸附态Fe(II)按文献^[8]提取,采用邻菲罗啉分光光度法测定。

2 结果与分析

2.1 羟基氧化铁对去除 NO_3^- -N的影响

羟基氧化铁对硝态氮去除率的影响见图1。第1、2阶段(C/N为10、7.5),对照组和实验组的硝态氮去除率没有差异。第1阶段,对照组和实验组的 NO_3^- -N去除率分别为 $(98.65\pm 4.51)\%$ 和 $(98.82\pm 4.43)\%$;第2阶段,对照组和实验组的 NO_3^- -N去除率均为100%。这是由于充足的碳源能保证生物反硝化过程中的电子供体,同时满足了微生物生长的需求。第3阶段,对照组和实验组的 NO_3^- -N去除率分别降低到 $(81.51\pm 9.76)\%$ 和 $(97.89\pm 1.92)\%$,实验组对 NO_3^- -N的去除效果较好。第4阶段,对照组和实验组的 NO_3^- -N去除率进一步分别降低到 $(38.49\pm 8.18)\%$ 和 $(54.25\pm 5.74)\%$,实验组的去除率显著高于对照组。这表明在低C/N条件(C/N ≤ 5)下,羟基氧化铁加快了系统对硝态氮的去除。

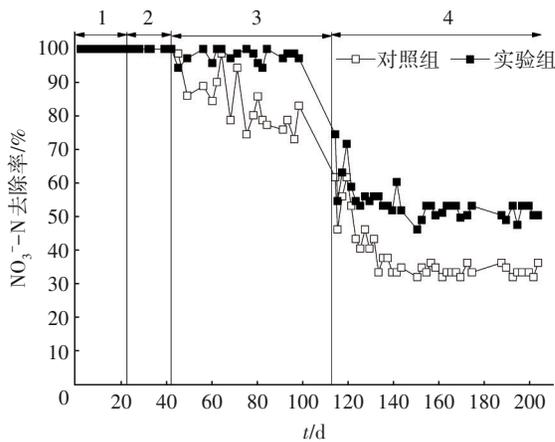


图1 羟基氧化铁对硝态氮去除率的影响

Fig.1 Effect of iron oxyhydroxide on nitrate removal rate

2.2 羟基氧化铁对氮和铁转化的影响

羟基氧化铁对氮素转化的影响如图2所示。

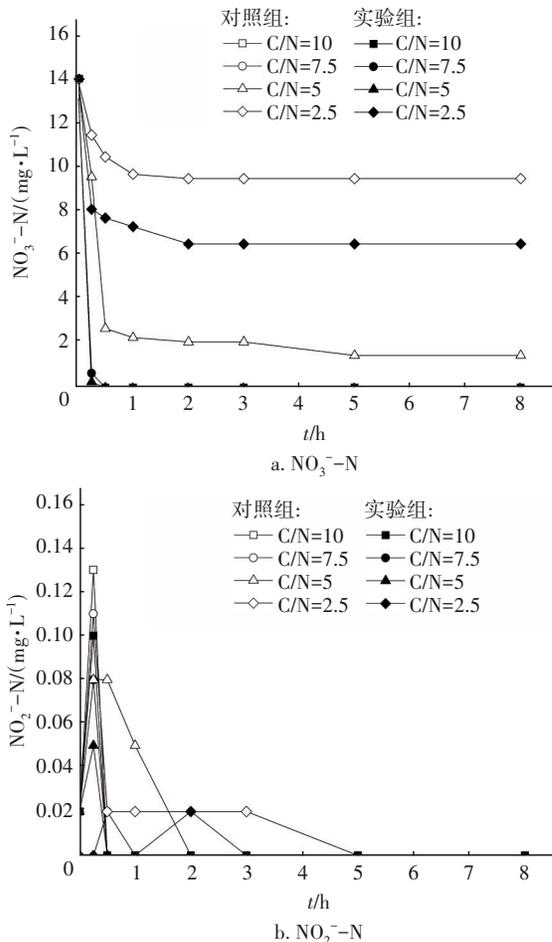


图2 羟基氧化铁对氮素转化的影响

Fig.2 Effect of iron oxyhydroxide on nitrogen species

当C/N为10和7.5时,在0~0.5 h,对照组和实验组的NO₃⁻-N浓度快速下降至0。当C/N为5和2.5时,在0~0.5 h,对照组和实验组的NO₃⁻-N浓度

快速下降;在0.5~8 h,NO₃⁻-N浓度缓慢下降至一定范围并趋于稳定,且实验组的出水NO₃⁻-N浓度均低于对照组,表明羟基氧化铁加快了硝态氮的去除。

在传统反硝化过程中NO₂⁻-N一般是中间产物,而在硝酸盐型厌氧亚铁氧化过程中NO₃⁻-N的最终还原产物主要是N₂和少量N₂O,还可能是NO₂⁻-N、NH₄⁺-N、NO₂和NO^[9]。在本研究的4个阶段,对照组和实验组均检测到了NO₂⁻-N的产生,但均未检测到NH₄⁺-N。对照组的NO₂⁻-N浓度始终高于实验组。此外,随着C/N的下降,去除NO₂⁻-N所需的时间逐渐变长,且对照组明显长于实验组,表明羟基氧化铁加快了中间产物亚硝态氮的去除。

实验组溶解态和吸附态铁浓度的变化见图3。

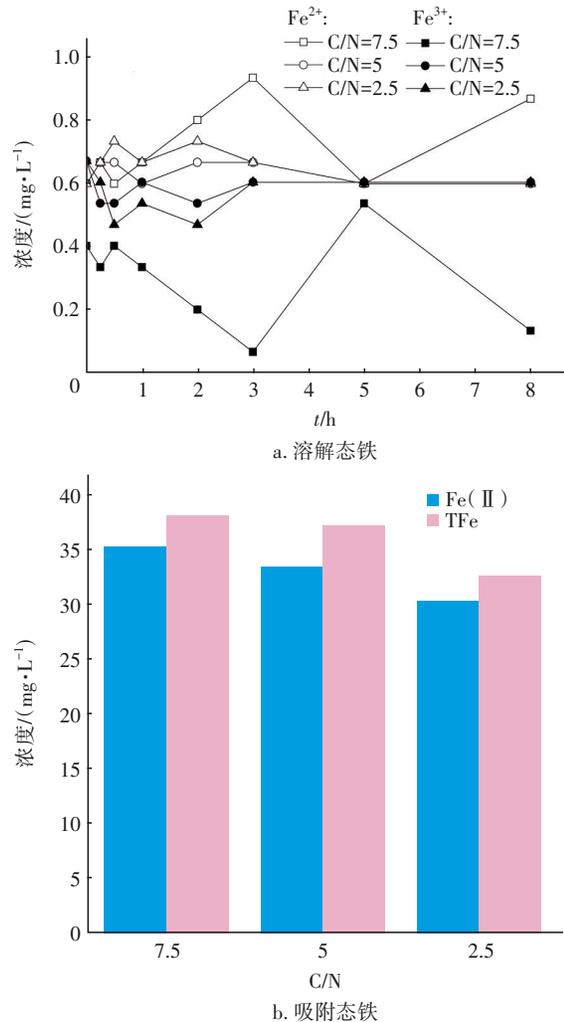


图3 实验组溶解态和吸附态铁浓度的变化

Fig.3 Change of dissolved and adsorbed iron concentrations in the experimental group

由图3(a)可知,随着NO₃⁻-N浓度的降低,实验

组中溶解态二价铁和三价铁浓度交替升降,说明实验组中三价铁异化还原和硝酸盐型厌氧亚铁氧化反应共存,实现二价铁氧化与三价铁还原的交替发生。吸附态铁主要为 Fe(II),且溶解态 Fe²⁺和吸附态 Fe(II)的浓度随着 C/N 值的降低而下降,见图 3 (b),这是由于可供微生物异化铁还原的碳源逐渐减少^[4]。

2.3 羟基氧化铁对 NIR 活性的影响

对照组与实验组 NIR 活性的变化如图 4 所示。可知,不同阶段对照组和实验组的 NIR 活性均随着 C/N 的降低而升高,且实验组 NIR 活性低于对照组。当 C/N 为 5 和 2.5 时,实验组 NO₃⁻-N 去除率显著高于对照组。NIR 与反硝化关系密切,其具有将亚硝酸盐降解为 NO 的功能^[10]。综合分析实验组 NIR 活性和硝态氮去除率的结果,实验组去除硝态氮除了利用 NIR 进行传统反硝化途径外,还可能存在硝酸盐型厌氧亚铁氧化途径。

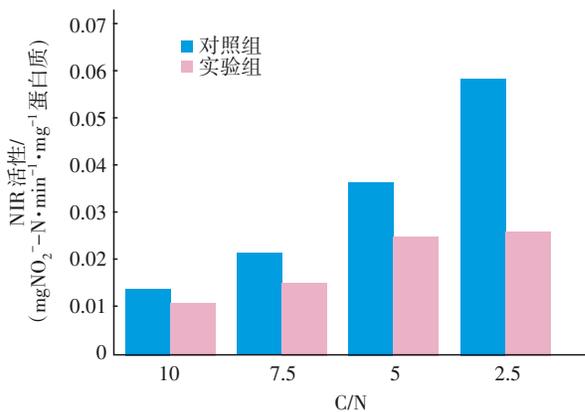


图 4 对照组与实验组 NIR 活性的变化

Fig.4 Change of NIR activity at two groups

2.4 羟基氧化铁对 EPS 含量的影响

羟基氧化铁对 EPS 含量的影响如图 5 所示。可知,对照组和实验组的蛋白质(PN)和多糖(PS)含量随着 C/N 的降低均呈现下降的趋势,但实验组蛋白质和多糖含量均高于对照组。可见,羟基氧化铁能促进 EPS 的分泌,提高蛋白质和多糖含量。长期投加铁会在一定程度上刺激活性污泥中的微生物,促进其分泌较多的 EPS^[11]。在活性污泥中,PN/PS 值与污泥絮凝能力成正比^[12]。前 3 个阶段,随着 C/N 的降低,实验组 PN/PS 低于对照组;第 4 阶段,实验组 PN/PS 高于对照组。这是由于在低 C/N 条件下,多糖可以作为碳源被微生物水解利用,所以多糖含量比蛋白质含量降低更多。

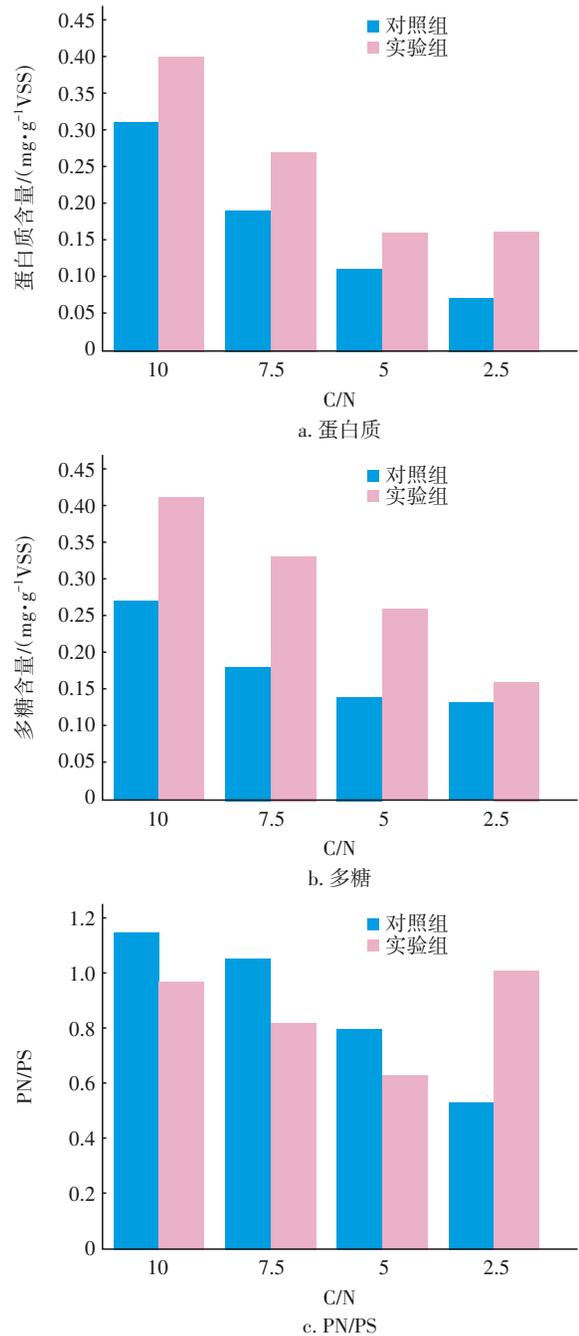


图 5 羟基氧化铁对 EPS 含量的影响

Fig.5 Effect of iron oxyhydroxide on EPS content

2.5 羟基氧化铁对微生物群落的影响

当 C/N 为 5、2.5 时,微生物群落结构在属水平上相对丰度的变化如图 6 所示。可知,当 C/N=5 时,实验组的菌属种类明显多于对照组。对照组的优势菌属为 *Thauera*(22.99%) 和 *Uncultured_bacterium_p_Latescibacteria*(15.38%),而实验组的优势菌属包括 *Ellin6067*(12.25%)、*Neochlamydia*(23.05%)、*Thauera*(2.02%)、*Uncultured_bacterium_f_Rhodocyclaceae*

(3.16%)、*Denitratisoma* (4.60%)、*Uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae* (6.73%) 和 *Nitrospira* (3.86%)。当 C/N=2.5 时,对照组的优势菌属发生改变,主要包括 *Ellin6067* (12.63%)、*Thauera* (5.49%)、*Uncultured_bacterium_f_Rhodocyclaceae* (22.44%)、*Denitratisoma* (3.76%)、*Uncultured_bacterium_p_Latescibacteria* (8.12%) 和 *Nitrospira* (3.66%); 而实验组的优势菌属种类未发生改变,但是 *Neochlamydia* (14.53%) 和 *Uncultured_bacterium_f_Rhodocyclaceae* (4.33%) 的相对丰度明显降低, *Denitratisoma* (6.17%) 和 *Uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae* (5.41%) 明显增加。实验组区别于对照组的菌属是 *Uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae* 和 *Neochlamydia*, 表明羟基氧化铁改变了微生物的群落构成。

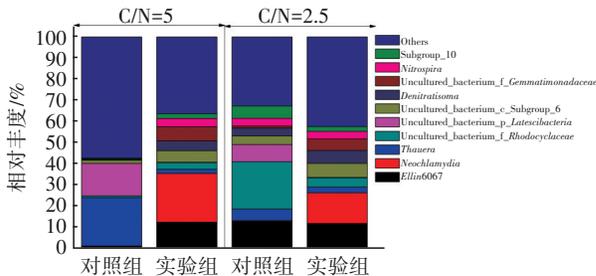


图6 各菌群在属水平上的丰度分布

Fig.6 Abundance distribution of each flora at genus level

对照组和实验组的主要菌属在种类和相对丰度上相差较大。如当 C/N 为 5 时,对照组 *Thauera* 和 *Uncultured_bacterium_p_Latescibacteria* 的丰度分别比实验组高 20.97% 和 15.21%, 且对照组中 *Thauera* 是第一优势菌属。*Thauera* 是一类广泛存在于废水处理系统中的传统反硝化菌^[13], 说明对照组主要以传统反硝化方式进行生物脱氮。实验组中除了 *Thauera* 外, 还有多种反硝化菌, 如 *Uncultured_bacterium_f_Rhodocyclaceae*、*Uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae* 和 *Denitratisoma*, 其中 *Rhodocyclaceae* 中的许多菌属具有反硝化能力^[14]。*Denitratisoma* 能将硝态氮或亚硝态氮转化为氮气, 且乙酸钠的存在能促进其生长^[15]。*Gemmatimonadaceae* 也与脱氮过程密切相关^[16]。另外, 实验组的两大优势菌属是 *Neochlamydia* 和 *Ellin6067*。*Neochlamydia* 是共生菌, 能去除污水中的有机物, 其丰度很高, 这可能与微生物去除硝态氮过程有关。*Ellin6067* 和 *Nitrospira* 属于硝化菌, 在二者共同作用下能将氨氮转化为亚硝态氮。虽然对照组和实验组均未检测到氨氮, 但

Ellin6067 的出现表明反应器中可能出现了氨氮, 可是其被 *Ellin6067* 和 *Nitrospira* 快速转化为亚硝态氮。

此外, 分析系统进化树, *Acidobacteria* 门中的 *Paludibaculum* 能够进行异化还原铁。*Proteobacteria* 门中的 *Azospira* 和 *Dechloromonas* 属于硝酸盐型厌氧铁氧化菌, 能利用亚铁将硝态氮还原为氮气^[9], 表明实验组除了传统反硝化过程外, 还可能发生了异化铁还原和硝酸盐型厌氧亚铁氧化反应。因此, 羟基氧化铁能通过诱导发生硝酸盐型厌氧亚铁氧化反应强化对硝态氮的去除。

3 结论

① 在 C/N 为 10 和 7.5 条件下, 羟基氧化铁对 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 去除率的影响不明显; 而当 C/N 为 5 和 2.5 时, 羟基氧化铁提高了硝态氮去除率和去除速率, 加快了对反硝化中间产物亚硝态氮的去除。

② 羟基氧化铁诱导活性污泥系统中, 三价铁还原和二价铁氧化交替发生, 促进了 EPS 中蛋白质和多糖的分泌, 降低了传统反硝化的 NIR 酶活性。

③ 羟基氧化铁改变了微生物群落结构, 系统中 *Uncultured_bacterium_p_Latescibacteria* 的丰度降低, 并富集了 *Uncultured_bacterium_f_Gemmatimonadaceae* 和 *Neochlamydia* 等脱氮菌, 诱导系统发生了硝酸盐型厌氧亚铁氧化反应, 实现了反硝化和硝酸盐型厌氧亚铁氧化协同去除硝态氮。

参考文献:

- [1] 阚睿哲, 李军, 卞伟, 等. 多级 A/O 耦合生物膜反硝化处理低 C/N 值生活污水[J]. 中国给水排水, 2017, 33(1):27-32.
KAN Ruizhe, LI Jun, BIAN Wei, et al. Treatment of domestic sewage with low C/N ratio by coupling process multistage A/O and denitrifying biofilm [J]. China Water & Wastewater, 2017, 33(1):27-32(in Chinese).
- [2] 汤同欢, 陈丙法, 金婧梅, 等. 芦苇碳源后置反硝化滤池强化低碳氮比纳污水脱氮[J]. 中国给水排水, 2019, 35(5):19-23.
TANG Tonghuan, CHEN Bingfa, JIN Jingmei, et al. Post denitrification biofilter with reed carbon source for enhanced nitrogen removal in low C/N ratio polluted river water [J]. China Water & Wastewater, 2019, 35(5):19-23(in Chinese).
- [3] 王苏艳, 宋新山, 赵志淼, 等. 亚铁对水平潜流人工湿地反硝化作用的影响[J]. 环境科学学报, 2016, 36

- (2):557-563.
WANG Suyan, SONG Xinshan, ZHAO Zhimiao, *et al.*
The influence of Fe^{2+} on denitrification in horizontal subsurface flow constructed wetlands[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(2):557-563(in Chinese).
- [4] SONG X S, WANG S Y, WANG Y H, *et al.* Addition of Fe^{2+} increase nitrate removal in vertical subsurface flow constructed wetlands [J]. *Ecological Engineering*, 2016, 91:487-494.
- [5] WANG L, ZHAO L F, HE L. Solid-phase $\text{Fe}(\text{II})$ -mediated autotrophic denitrification for nitrate removal from wastewater with a low carbon-to-nitrogen ratio[J]. *Journal of Environmental Engineering*, 2020, 146(7): 04020070.
- [6] 刘同旭, 程宽, 陈丹丹, 等. 微生物介导的硝酸盐还原耦合亚铁氧化成矿研究进展[J]. *生态环境学报*, 2019, 28(3):620-628.
LIU Tongxu, CHENG Kuan, CHEN Dandan, *et al.*
Formation of $\text{Fe}(\text{III})$ -minerals by microbially mediated coupling of nitrate reduction and $\text{Fe}(\text{II})$ oxidation: a review[J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2019, 28(3): 620-628(in Chinese).
- [7] WEBER K A, URRUTIA M M, CHURCHILL P F, *et al.* Anaerobic redox cycling of iron by freshwater sediment microorganisms [J]. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(1):100-113.
- [8] KLUEGLEIN N, ZEITVOGEL F, STIERHOF Y D, *et al.* Potential role of nitrite for abiotic $\text{Fe}(\text{II})$ oxidation and cell encrustation during nitrate reduction by denitrifying bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(3):1051-1061.
- [9] 张萌, 郑平, 季军远. 厌氧铁氧化菌研究进展[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(8):2377-2382.
ZHANG Meng, ZHENG Ping, JI Junyuan. Research advances on anaerobic ferrous-oxidizing microorganisms [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(8): 2377-2382(in Chinese).
- [10] 张庆芳, 李美玉, 王晓辉, 等. 微生物亚硝酸盐还原酶的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(11): 3148-3157.
ZHANG Qingfang, LI Meiyu, WANG Xiaohui, *et al.*
Research progress of microbial nitrite reductase [J]. *Microbiology China*, 2019, 46(11): 3148-3157 (in Chinese).
- [11] 宿程远, 郑鹏, 卢宇翔, 等. 磁性纳米铁对厌氧颗粒污泥特性及其微生物群落的影响[J]. *环境科学*, 2018, 39(3):1316-1324.
SU Chengyuan, ZHENG Peng, LU Yuxiang, *et al.*
Effects of magnetic Fe_3O_4 nanoparticles on the characteristics of anaerobic granular sludge and its interior microbial community [J]. *Environmental Science*, 2018, 39(3):1316-1324(in Chinese).
- [12] 何志江, 赵媛, 张源凯, 等. 活性污泥表面性质对絮凝沉降性能与出水悬浮物的影响[J]. *环境科学*, 2016, 37(8):3135-3143.
HE Zhijiang, ZHAO Yuan, ZHANG Yuankai, *et al.*
Influence of activated sludge surface properties on flocculating settling and effluent suspend solid [J]. *Environmental Science*, 2016, 37(8): 3135-3143 (in Chinese).
- [13] SHI L L, DU R, PENG Y Z. Achieving partial denitrification using carbon sources in domestic wastewater with waste-activated sludge as inoculum [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 283:18-27.
- [14] TIAN H L, ZHAO J Y, ZHANG H Y, *et al.* Bacterial community shift along with the changes in operational conditions in a membrane-aerated biofilm reactor [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(7): 3279-3290.
- [15] LYU W L, HUANG L, XIAO G Q, *et al.* Effects of carbon sources and COD/N ratio on N_2O emissions in subsurface flow constructed wetlands [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245:171-181.
- [16] JIA L P, JIANG B H, HUANG F, *et al.* Nitrogen removal mechanism and microbial community changes of bioaugmentation subsurface wastewater infiltration system [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 294: 122140.

作者简介: 雒沛文(1994-), 男, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要研究方向为污水生物处理技术。

E-mail: 769522003@qq.com

收稿日期: 2020-07-31

修回日期: 2020-09-25

(编辑: 任莹莹)