

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2023.13.003

# 硫自养强化 PHBV 异养反硝化脱氮的协同特性

葛丹丹<sup>1</sup>, 刘 锋<sup>1,2</sup>, 许国栋<sup>3</sup>, 张雪智<sup>1</sup>, 冯 震<sup>1</sup>, 陈柯秀<sup>1</sup>

(1. 苏州科技大学 环境科学与工程学院, 江苏 苏州 215009; 2. 城市生活污水资源化利用技术国家地方联合工程实验室, 江苏 苏州 215009; 3. 苏州中晟环境修复有限公司, 江苏 苏州 215009)

**摘 要:** 在基于聚羟基丁酸酯(PHBV)的反硝化填充床反应器中,引入硫代硫酸盐作为自养反硝化电子供体强化反硝化脱氮。构建了两套 PHBV 反硝化反应器(R1和R2),分别针对不同水力停留时间(HRT),探讨了投加硫代硫酸盐强化反硝化脱氮性能的协同效应。结果表明,当进水  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 50 mg/L 时,将 R1 和 R2 的 HRT 分别从 1.0、1.5 h 缩短至为 0.5、0.75 h,出水  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度升高至 26.18、18.78 mg/L,  $\text{NO}_2^-$ -N 也发生了积累。向两个反应器中分别加入 25、50 和 75 mg/L 的硫代硫酸盐,  $\text{NO}_3^-$ -N 去除率逐渐提高。当 HRT 为 0.75 h、硫代硫酸盐加入量为 50 mg/L 时,反硝化协同效应显著,  $\text{NO}_3^-$ -N 去除率达到了 100%,出水 pH 在 6.8~7.4 之间、 $\text{SO}_4^{2-}$ -S < 250 mg/L。通过扫描电镜观察发现,在微生物的水解作用下 PHBV 表面出现了无数孔隙,为微生物的附着生长提供了空间。高通量测序分析结果显示,两个反应器内的功能菌属主要包括 *Thiobacillus*、*Comamonadaceae* 和 *Thermomonas* 等。

**关键词:** 固态有机碳源; 聚羟基丁酸酯; 硫代硫酸盐; 异养反硝化; 硫自养反硝化; 高通量测序

中图分类号: TU992 文献标识码: A 文章编号: 1000-4602(2023)13-0016-09

## Synergistic Properties of Sulfur Autotrophic Enhanced PHBV Heterotrophic Denitrification for Nitrogen Removal

GE Dan-dan<sup>1</sup>, LIU Feng<sup>1,2</sup>, XU Guo-dong<sup>3</sup>, ZHANG Xue-zhi<sup>1</sup>, FENG Zhen<sup>1</sup>,  
CHEN Ke-xiu<sup>1</sup>

(1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215009, China; 2. Municipal Wastewater Utilization Technology National Local Joint Engineering Laboratory, Suzhou 215009, China; 3. Suzhou Zhongsheng Environmental Remediation Limited Company, Suzhou 215009, China)

**Abstract:** Thiosulfate was introduced as an electron donor for autotrophic denitrification to enhance nitrogen removal in a denitrifying biofilter packed with polyhydroxybutyrate (PHBV). This paper constructed two sets of denitrifying biofilter packed with PHBV (R1 and R2), and investigated the synergistic effect of adding thiosulfate to enhance nitrogen removal performance according to different hydraulic retention time (HRT). When the nitrate nitrogen in influent was 50 mg/L, and the HRTs of R1

基金项目: 江苏省研究生科研创新计划项目(KYCX20\_2765); 苏州市水利水务科技项目(2019006)

通信作者: 刘锋 E-mail: 278834585@qq.com

and R2 were shortened from 1.0 h and 1.5 h to 0.5 h and 0.75 h respectively, the nitrate nitrogen in effluent increased to 26.18 mg/L and 18.78 mg/L respectively accompanied with the accumulation of nitrite nitrogen. The removal rate of nitrate nitrogen gradually increased after adding 25 mg/L, 50 mg/L and 75 mg/L thiosulfate to the two reactors, respectively. When the HRT was 0.75 h and the thiosulfate dosage was 50 mg/L, the denitrification synergistic effect was significant, the nitrate nitrogen removal rate reached 100%, the effluent pH was between 6.8 and 7.4, and the  $\text{SO}_4^{2-}$ -S concentration was less than 250 mg/L. Scanning electron microscopy revealed that numerous voids appeared on the surface of PHBV under the action of microbial hydrolysis, which provided habitats for the adhesion and growth of microorganisms. High-throughput sequencing results showed that the functional bacterial genera in the two reactors mainly included *Thiobacillus*, *Comamonadaceae* and *Thermomonas*.

**Key words:** solid organic carbon source; polyhydroxybutyrate; thiosulfate; heterotrophic denitrification; sulfur autotrophic denitrification; high-throughput sequencing

氮是水体富营养化的关键指标之一,同时水中的硝酸盐和亚硝酸盐亦可能会与一些含氮有机化合物反应形成亚硝基胺和亚硝基酰胺,诱发脑、骨骼、皮肤等疾病,对人体健康造成伤害<sup>[1]</sup>。生物反硝化技术被认为是去除硝酸盐最经济高效的方法<sup>[2-3]</sup>,包括异养反硝化和自养反硝化两种途径。异养反硝化利用有机碳源作为还原硝酸盐的电子供体,具有良好的硝酸盐还原效果。然而,由于进水负荷的波动,液态有机碳源的最佳用量难以精准控制,投加过量还可能会导致被处理水体的二次污染<sup>[4]</sup>。因此,许多研究将固态有机碳源,包括天然材料(木屑、小麦秸秆等)<sup>[5]</sup>和合成的可生物降解聚合物如聚己内酯(PCL)、聚羟基丁酸酯(PHBV)等<sup>[6-7]</sup>用作反硝化系统中的有机碳源,取得了较好的效果。反硝化是一种分步还原反应(硝酸盐→亚硝酸盐→氮气),硝酸盐是优先于亚硝酸盐的首选电子受体<sup>[8]</sup>。因此,电子供应不足还容易导致亚硝酸盐积累,降低反硝化效率<sup>[9]</sup>。近年来,硫自养反硝化(SAD)技术备受关注,该工艺具有更低的运行成本和更少的污泥产量<sup>[10]</sup>。其中,硫代硫酸盐驱动反硝化具有相对较高的生物利用度和传质效率<sup>[11]</sup>。许多研究已经证实,加入硫代硫酸盐可以显著提高电子利用率<sup>[12]</sup>,并提高硝酸盐废水的TN去除效率。

基于自养和异养反硝化脱氮过程具有的优势与不足,混合营养型反硝化被应用于相关废水的处理中。李祥等<sup>[13]</sup>通过在异养反硝化系统中添加单质硫,实现硫自养与异养反硝化协同处理硝酸盐废水,异养反硝化产生的碱度可以满足自养反硝化的

需求,对TN的去除率达到85%以上;Xu等<sup>[14]</sup>设计并运行了3种规模的异养/自养反硝化反应器(HAR)来处理市政污水厂二级出水,出水TN可降至2.5 mg/L以下。由此可知,异养与硫自养协同反硝化可以有效提高硝酸盐去除率、避免亚硝酸盐积累、减少有机碳源消耗、控制硫酸盐生成以及保持系统的酸碱平衡。

虽然固态碳源反硝化技术对进水pH、溶解氧(DO)变化的适应能力较强,但是水力停留时间(HRT)对其反硝化效果影响较大,较低的HRT会导致系统中硝酸盐去除率降低<sup>[15]</sup>。因此,笔者在基于固态碳源PHBV构建的异养反硝化填充床反应器中,引入液态硫代硫酸盐作为自养反硝化电子供体协同反硝化脱氮,以达到增强反应器对不同进水条件的适应能力与脱氮效果,重点研究了低HRT胁迫下固态碳源反硝化填充床的脱氮性能,以及投加硫代硫酸盐后异养/自养协同反硝化的效果,分析两种反硝化反应在系统中的作用和贡献比例,并通过高通量测序技术分析混合营养条件下的微生物群落特征。

## 1 材料与方法

### 1.1 反应器构建和实验用水

实验装置如图1所示,为两个有机玻璃材质的上流式柱状反应器R1、R2,有效容积均为500 mL。反应器采用PHBV(3-羟基丁酸酯和3-羟基戊酸酯共聚物)作为填料,PHBV粒径为2~4 mm,填充体积均为400 mL;反应器底部填充粒径为3~15 mm的鹅卵石作为承托层;反应器温度保持在(30±1) °C。

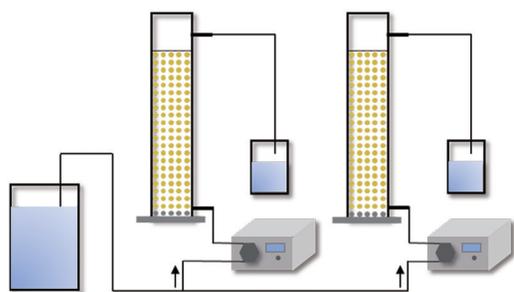


图1 实验装置示意

Fig.1 Schematic diagram of experimental setup

反应器接种污泥取自苏州市某污水厂 A<sup>2</sup>/O 工艺的缺氧池,污泥浓度为 4 000 mg/L。实验用水为人工配水,组分包括:NaNO<sub>3</sub>(按需配制)、Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(按需配制)、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 以及微量元素溶液(1 mL/L)。微量元素溶液的组分及其浓

度参见文献[16]。

## 1.2 实验方法

本研究包括两个阶段:PHBV 异养反硝化运行阶段(阶段 I)和硫自养强化异养协同反硝化阶段(阶段 II)。各阶段的运行工况如表 1 所示。在阶段 I-1,R1 和 R2 反应器的 HRT 分别为 1.0 和 1.5 h,在阶段 I-2,两反应器的 HRT 分别缩短为 0.5 和 0.75 h,研究不同 HRT 对单独 PHBV 反硝化填充床脱氮效果的影响。在阶段 II,保持两个反应器的 HRT 不变,逐步提高进水的硫代硫酸盐加入量,一方面,研究同一反应器中不同硫代硫酸盐加入量对协同反硝化脱氮效果的影响;另一方面,探究在相同硫代硫酸盐加入量下,HRT 对协同脱氮系统中自养与异养反硝化贡献率的影响。

表 1 反应器不同阶段的运行条件

Tab.1 Operating condition for different stages of the reactor

项 目	运行时间/d	HRT/h		进水浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )		S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> -S/ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	进水硝酸盐负荷/(kg·m <sup>-3</sup> ·d <sup>-1</sup> )		
		R1	R2	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>2-</sup> -S	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N		R1	R2	
I	I-1	1~8	1.0	1.5	—	50	—	1.2	0.8
	I-2	8~27	0.5	0.75	—	50	—	2.4	1.6
II	II-1	27~49	0.5	0.75	25	50	0.5	2.4	1.6
	II-2	49~70	0.5	0.75	50	50	1.0	2.4	1.6
	II-3	70~90	0.5	0.75	75	50	1.5	2.4	1.6

## 1.3 检测项目与方法

在 R1、R2 反应器出水口收集水样,过 0.45 μm 滤膜后,进行水质检测分析。pH 采用便携式 pH 计测定;NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>-S 采用离子色谱法测定;COD 和 MLSS 分别采用重铬酸盐法和标准重量法测定。

在实验前后分别采集反应器内的 PHBV 填料,清洗去除表面的微生物,采用扫描电子显微镜对 PHBV 填料进行形貌表征分析,扫描电镜样品前期处理方法参照文献[17]。

在反应器运行的第 90 天,采集 R1、R2 反应器中的污泥样品,分别标记为 S1、S2,置于 -80 °C 条件下保存。使用试剂盒(HiPure Soil DNA Kit)对污泥样品进行 DNA 提取。以 20~30 ng DNA 为模板,使用 GENEWIZ 设计的一系列 PCR 引物扩增原核生物 16S rDNA 上包括 V3 及 V4 的 2 个高度可变区。采用包含“CCTACGRRBGCASCAGKVRVGAAT”序列的上游引物和包含“GGACTACNVGGGTWTCTAATCC”序列的下游引物扩增 V3 区和 V4 区。使用 Qubit<sup>®</sup>

dsDNA HS Assay Kit 检测 DNA 浓度。委托 GENEWIZ Inc(South Plainfield, NJ)公司完成二代测序文库构建和测序工作。

## 2 结果与讨论

### 2.1 PHBV 反应器的反硝化脱氮性能

以 PHBV 为填料的异养反硝化反应器 R1 和 R2 均稳定运行了 27 d。如图 2 所示,R1 和 R2 反应器分别以 1.0 和 1.5 h 的 HRT 开始运行,两反应器的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 去除率分别为 95.89%、100%,R2 的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 去除率始终高于 R1,但是两反应器中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 降解速率相当。在阶段 I-2,将 R1 和 R2 反应器的 HRT 分别缩短到 0.5 和 0.75 h,使得进水硝酸盐负荷分别达到 2.4 和 1.6 kg/(m<sup>3</sup>·d),这导致了更多的硝酸盐残留在水中无法被去除,两反应器的出水 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度分别达到 26.18 和 18.78 mg/L,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 去除率分别降至 48.69% 和 63.20%。如图 3 所示,在阶段 I-1,R1 和 R2 反应器出水均没有亚硝酸盐的积累;在阶段 I-2 缩短反应器的 HRT 后,出水亚硝酸盐开始积累,浓度最高分别达到 14.18 和 10.52 mg/L,随

后分别稳定在 6.91 和 3.71 mg/L 左右。在本实验中,PHBV 反硝化反应器在高硝酸盐进水负荷条件下运行时,亚硝酸盐会发生积累,显著影响污水的完全脱氮,导致总氮去除率无法提高。

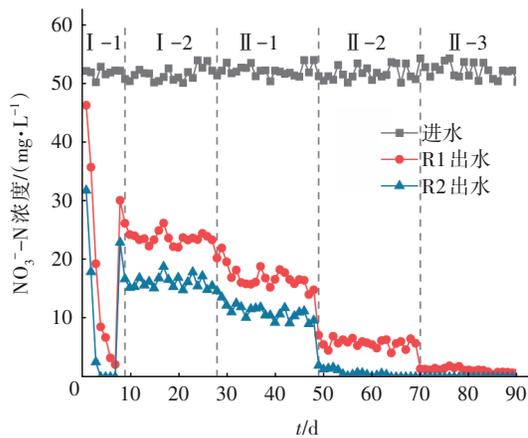


图2 反应器不同阶段的硝酸盐浓度变化

Fig.2 Variation of nitrate concentration at different stages of the reactor

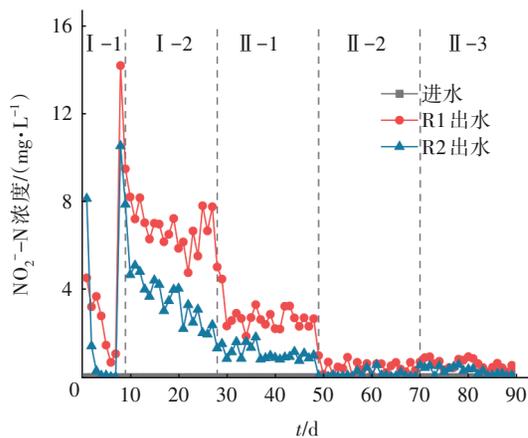


图3 反应器不同阶段的亚硝酸盐浓度变化

Fig.3 Variation of nitrite concentration at different stages of the reactor

反应器出水 COD 浓度的变化如图 4 所示。在阶段 I-1, R1、R2 反应器出水中均检测到 COD 的积累,出水 COD 浓度最高分别达到 45.68 和 59.19 mg/L,这是由于异养微生物在反应初期促进了 PHBV 中有机碳的释放。尽管出水中 COD 浓度较高,但这有利于 PHBV 表面生物膜的形成<sup>[6]</sup>。PHBV 释放的有机物一部分会被反硝化过程利用,当释放的有机物超过生物膜的需要时,反应器出水 COD 浓度将增加<sup>[18]</sup>。此后,当 HRT 缩短时,两个反应器出水 COD 浓度开始降低,这可能与反应器进水流速过快和 PHBV 的有机碳释放速率相对稳定有关,表明反应

器中有机碳的生产和消耗之间存在动态平衡。

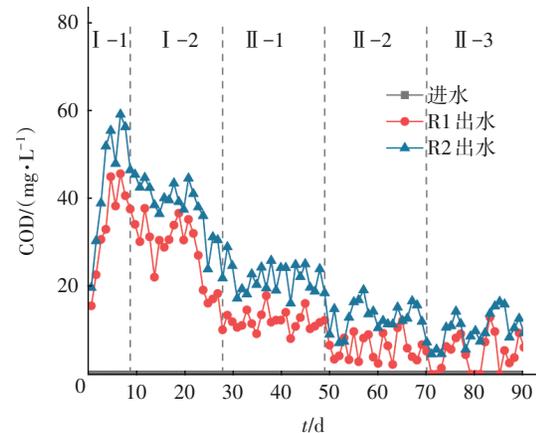


图4 反应器不同阶段的 COD 浓度变化

Fig.4 Variation of COD concentration at different stages of the reactor

## 2.2 硫代硫酸盐加入量对脱氮性能的影响

在 PHBV 反硝化反应器中,PHBV 释放有机碳是一个稳定缓慢的过程。有研究表明,PHBV 的反硝化电子转移效率较难调节,其在水中的溶解度较低,微生物利用速度慢。而且经过长时间运行,生物膜在固体表面的覆盖可能会影响有机碳的释放<sup>[19]</sup>。溶解性的硫代硫酸盐为离子态,易于电子传递<sup>[20]</sup>,故硫代硫酸盐的加入对 PHBV 异养反硝化反应有着显著的影响。

阶段 II-1,在反应器进水中加入 25 mg/L 的硫代硫酸盐,从图 2 可以看出,R1 和 R2 反应器出水  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度开始降低, $\text{NO}_3^-$ -N 去除率分别提高至 67.20% 和 78.58%,说明电子供体的增加确实能一定程度地提高反硝化性能,但是硝酸盐去除率依然没有达到理想水平。阶段 II-2,提高硫代硫酸盐加入量至 50 mg/L,R1 和 R2 反应器出水  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度进一步降低, $\text{NO}_3^-$ -N 去除效果提升较为显著, $\text{NO}_3^-$ -N 去除率分别达到了 88.73% 和 98.90%。当进入阶段 II-3,硫代硫酸盐加入量提高至 75 mg/L 时,R1 反应器的  $\text{NO}_3^-$ -N 去除率能够保持在 97.6% 以上,R2 反应器对进水硝酸盐实现了完全去除。

在有限的有机碳释放速率下,硝酸盐还原酶(Nar)比亚硝酸盐还原酶(Nir)获得电子的优先级更高,因此硝酸盐的还原速率比亚硝酸盐更快<sup>[21]</sup>。在阶段 I-2,有机碳释放不足放大了 Nar 和 Nir 的竞争,导致硝酸盐的还原速率比亚硝酸盐要快,并且亚硝酸盐在低 HRT 下出现了积累。但是进入阶段

II-1后,R1和R2反应器的出水 $\text{NO}_2^-$ -N浓度显著降低,平均浓度分别为2.82和1.09 mg/L。这一结果表明,硫代硫酸盐的加入可以缓解亚硝酸盐的积累,实现更好的脱氮性能<sup>[22]</sup>。在阶段II-2和II-3,两反应器出水 $\text{NO}_2^-$ -N浓度进一步降低,始终低于0.97和0.56 mg/L。从图4可以看出,R1和R2反应器的COD浓度在阶段II-1开始时先迅速降低,之后分别稳定在12.20和22.02 mg/L左右。随着硫代硫酸盐加入量的增加以及反应器中硫自养反硝化菌的不断富集,微生物对PHBV的利用度有所降低,出水COD浓度持续下降。在阶段II-2,两反应器的出水COD平均浓度分别为6.45和13.40 mg/L,在阶段II-3分别降至4.67和10.20 mg/L。

如图5所示,阶段II开始加入硫代硫酸盐后,R1和R2反应器的出水硫酸盐便不断升高,表明反应器中的自养微生物开始利用硫代硫酸盐为电子供体进行硫自养反硝化反应,以去除硝酸盐和亚硝酸盐。实验结果表明,在 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -S/ $\text{NO}_3^-$ -N为0.5、1.0和1.5时,R1反应器的出水 $\text{SO}_4^{2-}$ -S平均浓度分别为120.8、308.82和413.77 mg/L,R2的出水 $\text{SO}_4^{2-}$ -S平均浓度分别为112.83、238.68和380.16 mg/L。出水 $\text{SO}_4^{2-}$ -S浓度均低于硫代硫酸盐自养反硝化的理论硫酸盐产值。

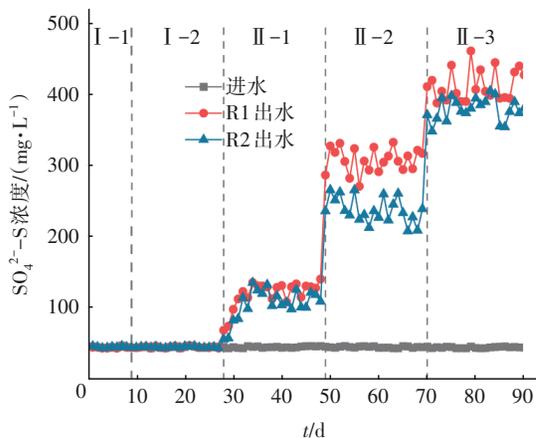


图5 反应器不同阶段的硫酸盐浓度变化

Fig.5 Variation of sulfate at different stages of the reactor

当进水pH保持在7.0~7.2时,随着硫代硫酸盐的加入,R1和R2反应器出水pH开始降低。如图6所示,在 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -S/ $\text{NO}_3^-$ -N为0.5和1.0时,R1和R2的出水pH均保持在6.8~7.4范围内。研究表明,反硝化微生物适宜的pH范围为6.5~8.5,若pH过低,则会对反硝化反应产生抑制作用<sup>[23]</sup>。但是当

$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -S/ $\text{NO}_3^-$ -N为1.5时,自养反硝化速率迅速增加,产生了更多的氢离子,这导致反应器内pH急剧下降,R1和R2的出水pH降至6.2~6.6之间。这一结果表明,加入过量硫代硫酸盐会带来出水硫酸盐浓度升高、pH过低等问题。

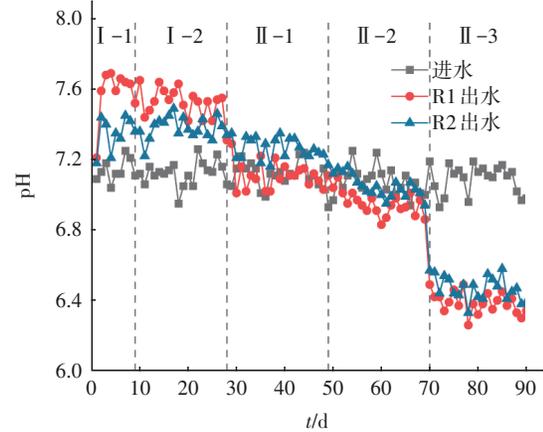


图6 反应器不同阶段的pH变化

Fig.6 Variation of pH at different stages of the reactor

### 2.3 异养和自养协同反硝化贡献率

由化学计量方程式(1)可以得到,当以硫代硫酸盐作为电子供体时,1 mg硝酸盐还原为 $\text{N}_2$ 将伴随12.15 mg硫酸盐的产生。因此根据测定的出水硫酸盐浓度,可以推算出反应器中自养反硝化对硝酸盐去除的贡献率,剩余部分即为PHBV异养反硝化对硝酸盐去除的贡献,计算结果如图7所示。

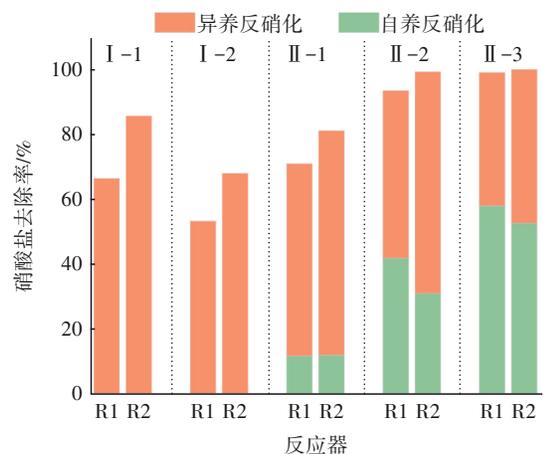
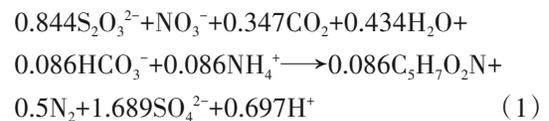


图7 反应器中异养/自养反硝化贡献

Fig.7 Contribution of heterotrophic/autotrophic denitrification in the reactor

由图7可知,在加入硫代硫酸盐之后,整个阶段II的硝酸盐去除率明显高于阶段I,说明异养/自养协同反硝化能够提高反应器的脱氮性能。在阶段II-1硫代硫酸盐加入量为25 mg/L时,R1和R2反应器中自养反硝化的贡献率分别为11.7%和12.02%,两个反应器的自养贡献率均较小且差距不大,此阶段的反应器中异养反硝化在脱氮中占据主要地位。随着阶段II-2中硫代硫酸盐加入量增加到50 mg/L,R1和R2反应器的自养反硝化贡献率分别增长到41.85%和31%。在硫代硫酸盐加入量为75 mg/L时,自养反硝化对硝酸盐去除的贡献超过异养反硝化,两个反应器分别达到58%和52.7%。在相同 $S_2O_3^{2-}$ -S/ $NO_3^-$ -N的条件下,R1反应器的自养反硝化贡献率高于R2,这一结果表明,在高HRT条件下,溶解性的硫代硫酸盐相对于PHBV更容易被反硝化微生物利用。

#### 2.4 PHBV填料的微观结构分析

如图8所示,两个反应器中的PHBV填料表面在实验前和长期运行后均发生了比较明显的变化。在SEM放大5 000倍下可以看到,实验开始前PHBV颗粒表面干净且结构完整,然而在实验结束后,剥离生物膜的PHBV颗粒表面出现了无数孔隙。这表明附着在PHBV表面的微生物在实验开始后不断水解PHBV,使得颗粒表面逐渐呈不规则状,颗粒比表面积大大增加,为微生物提供了更多的附着空间<sup>[24]</sup>,也为微生物提供了缺氧环境,有利于反硝化微生物的生长。与R2相比,R1中PHBV颗粒表面的孔隙更深,原因是在较低HRT条件下,R1中的水解微生物对PHBV的利用率大大增加,导致PHBV的消耗量较R2更多。

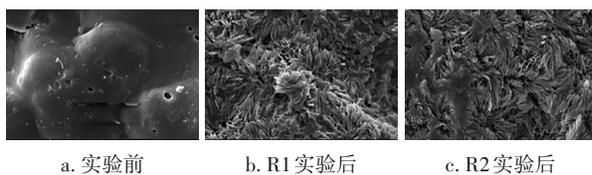


图8 PHBV填料的微观结构变化

Fig.8 Microstructure change of PHBV filler

#### 2.5 微生物群落结构分析

两反应器内的微生物在门水平的相对丰度如图9(a)所示。*Proteobacteria*(变形菌门)是反应器中最主要的门类,其相对丰度由初始污泥样品S0中的58.22%分别增长到73.82%(S1)和77.15%(S2)。

已有的研究表明,*Proteobacteria*是固态碳源提供电子供体的异养反硝化过程中的主要优势门类<sup>[25-26]</sup>。同样地,进行硫自养反硝化的主要微生物也属于*Proteobacteria*。*Bacteroidota*(拟杆菌门)所占比例仅次于*Proteobacteria*,相对丰度分别为18.65%(S1)和11.00%(S2)。*Bacteroidota*能将大分子有机物分解为小分子物质,这有助于PHBV的水解与利用<sup>[27]</sup>。*Firmicutes*(厚壁菌门)的相对丰度分别为1.69%(S1)和4.55%(S2)。有研究表明,当采用PHBV作为碳源时,*Firmicutes*在PHBV分解和硝酸盐还原过程中起重要作用<sup>[28-29]</sup>。

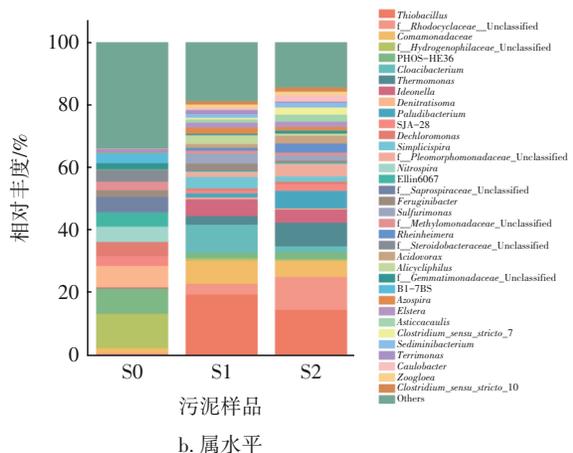
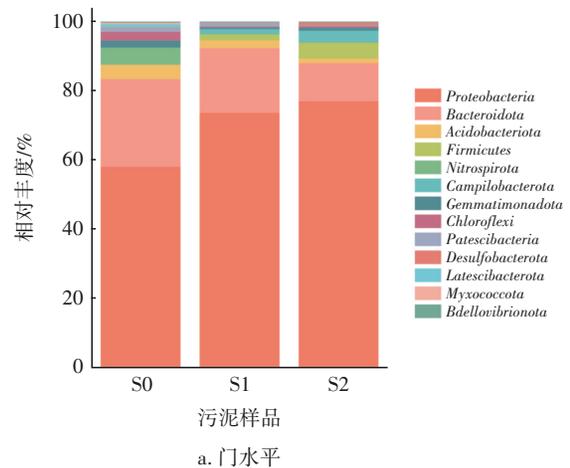


图9 微生物在不同物种分类学水平上的相对丰度

Fig.9 Relative abundance of microorganisms at the taxonomic level of different species

微生物在属水平上的相对丰度见图9(b)。稳定运行后,反应器中占比最大的菌属为*Thiobacillus*(硫杆菌属),属于*Proteobacteria*,相对丰度分别为19.61%(S1)和14.71%(S2);*Sulfurimonas*(硫单胞菌属)的相对丰度分别为3.27%(S1)和1.65%(S2)。*Thiobacillus*和*Sulfurimonas*是最常见的自养反硝化

菌属,两种菌属均能够利用单质硫、硫化物及硫代硫酸盐作为电子供体还原硝酸盐和亚硝酸盐<sup>[30]</sup>。

除了硫自养反硝化菌属之外,反应器中的异养反硝化菌属也占据了重要地位。*Thermomonas*为污水处理系统中常见的反硝化菌属,相对丰度分别为2.72%(S1)和7.54%(S2)。*Acidovorax*能够利用多种碳源,如PCL、乙醇、甲醇、乙酸钠等进行反硝化<sup>[31]</sup>,相对丰度为1.17%(S1)和2.48%(S2)。Boley等<sup>[32]</sup>利用PCL作为碳源去除饮用水中的硝酸盐和农药时发现,*Acidovorax*为反应器的优势菌属。

在固相脱氮系统中,微生物分泌胞外酶水解固态碳源,之后反硝化细菌利用水解产物作为电子供体进行反硝化,因此微生物水解固态碳源的过程也是不可或缺的。如表2所示,*Comamonadaceae*(丛毛单胞菌属)属于*Betaproteobacteria*,相对丰度分别为7.31%(S1)和5.14%(S2)。有研究表明,*Comamonadaceae*是基于固态碳源的异养反硝化系统中还原硝酸盐的优势菌属<sup>[33]</sup>。*Cloacibacterium*(克劳斯氏菌属)与纤维素的降解有关,相对丰度分别为8.93%(S1)和1.79%(S2)。Huang等<sup>[34]</sup>在处理造纸厂废水时发现大量*Cloacibacterium*的存在,证明*Cloacibacterium*是纤维素降解过程中的优势菌属。*Ideonella*(艾德昂菌属)是日本科学家发现的一个新菌种,它能够以聚对苯二甲酸乙二酯为唯一碳源,将其水解成无毒单体如对苯二甲酸、乙二醇等<sup>[35]</sup>,相对丰度分别为5.41%(S1)和4.22%(S2)。

表2 主要菌属功能及其所占比例

Tab.2 Function and proportion of main genera %

菌属名称	功能	所占比例	
		R1	R2
<i>Thiobacillus</i>	硫自养反硝化	19.61	14.71
<i>Sulfurimonas</i>	硫自养反硝化	3.27	1.65
<i>Comamonadaceae</i>	水解PHBV	7.31	5.14
<i>Cloacibacterium</i>	水解PHBV	8.93	1.79
<i>Ideonella</i>	水解PHBV	5.41	4.22
<i>Thermomonas</i>	异养反硝化	2.72	7.54
<i>Simplicispira</i>	异养反硝化	3.67	1.69
<i>Acidovorax</i>	异养反硝化	1.17	2.48
<i>Azospira</i>	异养反硝化	1.90	1.18
<i>Terrimonas</i>	异养反硝化	1.26	0.42
<i>Zoogloea</i>	异养反硝化	1.23	1.17

### 3 结论

① 以PHBV为填料构建了2个相同的异养反

硝化填充床反应器R1和R2。在进水 $\text{NO}_3^-$ -N浓度为50 mg/L、HRT分别为1.0和1.5 h的条件下启动反应器,2个反应器的 $\text{NO}_3^-$ -N去除效果较好。之后将R1和R2反应器的HRT分别缩短至0.5和0.75 h, $\text{NO}_3^-$ -N去除率迅速降至48.69%和63.20%,同时出现了 $\text{NO}_2^-$ -N的积累,浓度分别达到了14.18和10.52 mg/L。

② 在PHBV反硝化填充床反应器中加入自养反硝化电子供体硫代硫酸盐,以强化反硝化脱氮。实验中先后加入25、50和75 mg/L的硫代硫酸盐,两个反应器的 $\text{NO}_3^-$ -N去除率逐渐提高。当HRT为0.75 h、硫代硫酸盐加入量为50 mg/L时,协同反硝化系统的 $\text{NO}_3^-$ -N去除效果较好,去除率达到了100%,出水pH在6.8~7.4之间、 $\text{SO}_4^{2-}$ -S<250 mg/L。通过扫描电镜观察发现,在微生物的水解作用下PHBV表面出现了无数孔隙,为微生物的附着生长提供了空间。

③ 2个反应器内的功能菌属主要由硫自养反硝化菌属、固态碳源水解菌属和异养反硝化菌属组成,包括*Thiobacillus*(相对丰度分别为19.61%和14.71%)、*Comamonadaceae*(相对丰度分别为7.31%和5.14%)和*Thermomonas*(相对丰度分别为2.72%和7.54%)等。

### 参考文献:

- [1] LIU Y, WANG J L. Reduction of nitrate by zero valent iron (ZVI)-based materials: a review[J]. Science of the Total Environment, 2019, 671: 388-403.
- [2] LIANG B R, ZHANG K, LIU D D, et al. Exploration and verification of the feasibility of sulfur-based autotrophic denitrification process coupled with vibration method in a modified anaerobic baffled reactor for wastewater treatment [J]. Science of the Total Environment, 2021, 786: 147348.
- [3] 周娅,买文宁,代吉华,等. 硫代硫酸钠联合硫铁矿自养反硝化脱氮性能[J]. 中国环境科学, 2020, 40(5): 2081-2086.  
ZHOU Ya, MAI Wenning, DAI Jihua, et al. Study on autotrophic denitrification performance of sodium thiosulfate combined with pyrite system [J]. China Environmental Science, 2020, 40(5): 2081-2086 (in Chinese).
- [4] SAHINKAYA E, DURSUN N. Sulfur-oxidizing

- autotrophic and mixotrophic denitrification processes for drinking water treatment: elimination of excess sulfate production and alkalinity requirement [J]. *Chemosphere*, 2012, 89(2): 144–149.
- [ 5 ] WARNEKE S, SCHIPPER L A, MATIASEK M G, *et al.* Nitrate removal, communities of denitrifiers and adverse effects in different carbon substrates for use in denitrification beds [J]. *Water Research*, 2011, 45(17): 5463–5475.
- [ 6 ] CHU L B, WANG J L. Nitrogen removal using biodegradable polymers as carbon source and biofilm carriers in a moving bed biofilm reactor [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 170(1): 220–225.
- [ 7 ] SHEN Z Q, ZHOU Y X, LIU J, *et al.* Enhanced removal of nitrate using starch/PCL blends as solid carbon source in a constructed wetland [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 175: 239–244.
- [ 8 ] DU R, PENG Y Z, JI J T, *et al.* Partial denitrification providing nitrite: opportunities of extending application for anammox [J]. *Environment International*, 2019, 131: 105001.
- [ 9 ] SHAO M F, ZHANG T, FANG H H P. Sulfur-driven autotrophic denitrification: diversity, biochemistry, and engineering applications [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 88(5): 1027–1042.
- [10] SUN S S, LIU J, ZHANG M P, *et al.* Simultaneous improving nitrogen removal and decreasing greenhouse gas emission with biofilm carriers addition in ecological floating bed [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 292: 121944.
- [11] OH S E, YOO Y B, YOUNG J C, *et al.* Effect of organics on sulfur-utilizing autotrophic denitrification under mixotrophic conditions [J]. *Journal of Biotechnology*, 2001, 92(1): 1–8.
- [12] CHUNG J, AMIN K, KIM S, *et al.* Autotrophic denitrification of nitrate and nitrite using thiosulfate as an electron donor [J]. *Water Research*, 2014, 58: 169–178.
- [13] 李祥, 马航, 黄勇, 等. 异养与硫自养反硝化协同处理高硝氮废水特性研究 [J]. *环境科学*, 2016, 37(7): 2646–2651.
- LI Xiang, MA Hang, HUANG Yong, *et al.* Characteristics of a combined heterotrophic and sulfur autotrophic denitrification technology for removal of high nitrate in water [J]. *Environmental Science*, 2016, 37(7): 2646–2651 (in Chinese).
- [14] XU Z C, CHEN X L, LI H S, *et al.* Combined heterotrophic and autotrophic system for advanced denitrification of municipal secondary effluent in full-scale plant and bacterial community analysis [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 717: 136981.
- [15] HU R T, ZHENG X L, ZHENG T Y, *et al.* Effects of carbon availability in a woody carbon source on its nitrate removal behavior in solid-phase denitrification [J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 246: 832–839.
- [16] HUANG S, ZHENG Z M, WEI Q Q, *et al.* Performance of sulfur-based autotrophic denitrification and denitrifiers for wastewater treatment under acidic conditions [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 294: 122176.
- [17] 郑照明, 杨函青, 马静, 等. SNAD反应器中颗粒污泥和絮体污泥脱氮特性 [J]. *中国环境科学*, 2015, 35(10): 2996–3002.
- ZHENG Zhaoming, YANG Hanqing, MA Jing, *et al.* The nitrogen removal performance of granules and flocs in SNAD reactor [J]. *China Environmental Science*, 2015, 35(10): 2996–3002 (in Chinese).
- [18] SHEN Z Q, WANG J L. Biological denitrification using cross-linked starch/PCL blends as solid carbon source and biofilm carrier [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(19): 8835–8838.
- [19] DU S, YA T, ZHANG M, *et al.* Distinct microbial communities and their networks in an anammox coupled with sulfur autotrophic/mixotrophic denitrification system [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 262: 114190.
- [20] CUI Y X, GUO G, EKAMA G A, *et al.* Elucidating the biofilm properties and biokinetics of a sulfur-oxidizing moving-bed biofilm for mainstream nitrogen removal [J]. *Water Research*, 2019, 162: 246–257.
- [21] OBEROI A S, HUANG H, KHANAL S K, *et al.* Electron distribution in sulfur-driven autotrophic denitrification under different electron donor and acceptor feeding schemes [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 404: 126486.
- [22] FAN C, ZHOU W, HE S, *et al.* Sulfur transformation in sulfur autotrophic denitrification using thiosulfate as electron donor [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 268: 115708.
- [23] BAO H X, LI Z R, SONG Z B, *et al.* Mitigating nitrite accumulation during S<sup>0</sup>-based autotrophic denitrification: balancing nitrate-nitrite reduction rate

- with thiosulfate as external electron donor [J]. *Environmental Research*, 2022, 204: 112016.
- [24] JIANG L, WU A, FANG D, *et al.* Denitrification performance and microbial diversity using starch-polycaprolactone blends as external solid carbon source and biofilm carriers for advanced treatment [J]. *Chemosphere*, 2020, 255: 126901.
- [25] CHEN D, WANG H, YANG K, *et al.* Performance and microbial communities in a combined bioelectrochemical and sulfur autotrophic denitrification system at low temperature [J]. *Chemosphere*, 2018, 193: 337-342.
- [26] XU Z, SONG L, DAI X, *et al.* PHBV polymer supported denitrification system efficiently treated high nitrate concentration wastewater: denitrification performance, microbial community structure evolution and key denitrifying bacteria [J]. *Chemosphere*, 2018, 197: 96-104.
- [27] NAVARRO-NOYA Y E, SUÁREZ-ARRIAGA M C, ROJAS-VALDES A, *et al.* Pyrosequencing analysis of the bacterial community in drinking water wells [J]. *Microbial Ecology*, 2013, 66(1): 19-29.
- [28] CHU L B, WANG J L. Denitrification of groundwater using PHBV blends in packed bed reactors and the microbial diversity [J]. *Chemosphere*, 2016, 155: 463-470.
- [29] ZHAO G, MA F, WEI L, *et al.* Using rice straw fermentation liquor to produce biofloculants during an anaerobic dry fermentation process [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 113: 83-88.
- [30] YANG Y, GERRITY S, COLLINS G, *et al.* Enrichment and characterization of autotrophic *Thiobacillus* denitrifiers from anaerobic sludge for nitrate removal [J]. *Process Biochemistry*, 2018, 68: 165-170.
- [31] NALCACI O O, BÖKE N, OVEZ B. Potential of the bacterial strain *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* LMG 17238 and macro algae *Gracilaria verrucosa* for denitrification [J]. *Desalination*, 2011, 274 (1/3): 44-53.
- [32] BOLEY A, MERGAERT J, MULLER C, *et al.* Denitrification and pesticide elimination in drinking water treatment with the biodegradable polymer poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL) [J]. *Clean-Soil Air Water*, 2003, 31(3): 195-203.
- [33] KHAN S T, HORIBA Y, YAMAMOTO M, *et al.* Members of the family *Comamonadaceae* as primary poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)-degrading denitrifiers in activated sludge as revealed by a polyphasic approach [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(7): 3206-3214.
- [34] HUANG F, GE L, ZHANG B, *et al.* A fullerene colloidal suspension stimulates the growth and denitrification ability of wastewater treatment sludge-derived bacteria [J]. *Chemosphere*, 2014, 108: 411-417.
- [35] YOSHIDA S, HIRAGA K, TAKEHANA T, *et al.* A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate) [J]. *Science*, 2016, 351(6278): 1196-1199.

作者简介:葛丹丹(1997-),女,江苏常州人,硕士研究生,主要的研究方向为水污染控制理论与技术。

E-mail:2216192512@qq.com

收稿日期:2021-12-27

修回日期:2022-03-24

(编辑:刘贵春)

借自然之力,护绿水青山