

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2026.11.011

腐殖酸铁强化异养-自养反硝化性能及机理

王 波

(中交天航环保工程有限公司, 天津 300450)

摘 要: 采用腐殖酸(HA)与亚铁离子(Fe^{2+})形成的络合物腐殖酸铁(Fe-HA)作为功能材料,探究其对异养-自养反硝化体系的强化脱氮性能。将Fe-HA投加量作为变量设置批次实验,浓度梯度为0、30、50、70、90 mg/L,考察硝酸盐浓度的变化;并测定胞外聚合物(EPS)、电子传递系统活性(ETSA)、三磷酸腺苷(ATP)和细胞色素c等指标的变化,揭示Fe-HA对异养-自养反硝化的强化机理。结果表明,Fe-HA的最佳投加量为70 mg/L,体系对 NO_3^- -N的去除率可达96.6%,为空白对照组的1.2倍。同时,Fe-HA可促进EPS的分泌量达到15.77 mg/gVSS,ETSA、ATP和细胞色素c含量相比其他投加量均有所提高。可见,在适宜投加量下,Fe-HA可以加速微生物之间的电子传递过程,提升细胞的代谢活性和微生物之间的聚集性,从而提升脱氮性能。

关键词: 腐殖酸; 亚铁离子; 异养-自养反硝化; 电子传递; EPS分泌

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2026)11-0078-05

Performance and Mechanism of Heterotrophic-Autotrophic Denitrification Enhanced by Iron Humate

WANG Bo

(CCCC Tianhang Environmental Protection Engineering Co. Ltd., Tianjin 300450, China)

Abstract: Humic acid (HA) complexed with ferrous ions (Fe^{2+}) to form iron humate (Fe-HA) was used as a functional material to investigate its denitrification performance in a heterotrophic-autotrophic denitrification system. Batch experiments were conducted with Fe-HA dosage as the variable, and the concentration gradient was set at 0 mg/L, 30 mg/L, 50 mg/L, 70 mg/L, and 90 mg/L to examine the changes in nitrate concentration. Additionally, the changes in indicators such as extracellular polymeric substances (EPS), electron transfer system activity (ETSA), adenosine triphosphate (ATP), and cytochrome c were measured to reveal the mechanism by which Fe-HA accelerates heterotrophic-autotrophic denitrification. The results showed that the optimal Fe-HA dosage was 70 mg/L, at which the NO_3^- -N removal rate reached 96.6%, which was 1.2 times that of the blank control group. At the same time, Fe-HA promoted EPS secretion to 15.77 mg/gVSS, and the levels of ETSA, ATP, and cytochrome c were higher than those at other dosages. These findings indicated that at an appropriate dosage, Fe-HA could accelerate the electron transfer process between microorganisms, enhance cellular metabolic activity and microbial aggregation, and thereby improved nitrogen removal performance.

Keywords: humic acid; ferrous ion; heterotrophic-autotrophic denitrification; electron transfer; EPS secretion

随着社会快速发展和人类活动加剧,生活污水、工业废水和垃圾渗滤液等导致的氮污染问题日

益突出。在“双碳”目标和绿色宜居需求的双重驱动下,废水脱氮技术面临更高要求。然而,传统异养反硝化受碳源限制,自养反硝化启动周期长,实际应用仍面临挑战^[1]。因此,亟须开发新型废水处理技术。异养-自养反硝化结合了异养与自养反硝化的优势,具有脱氮效率高等特点。然而,冬季反硝化效率下降已成为制约该工艺应用的关键因素。金属离子作为功能性物质,被用于促进反硝化过程,并进一步与微生物结合后作为功能材料应用于新型反硝化工艺中^[2]。

铁是自然界中含量较丰富的金属元素,来源广泛且还原性强^[3]。作为微生物生长必需的微量元素,亚铁离子参与细胞生长、代谢酶合成、DNA 与 RNA 合成及电子传递等代谢过程,可作为促进反硝化过程的功能组分^[4]。然而,单独投加亚铁离子时,若浓度过高则会产生抑制作用,且易流失。腐殖酸成本低、来源广,同时具有多孔结构、比表面积大及活性官能团种类多等特点,不仅能通过多种作用吸附金属离子,还能加速微生物电子传递、提升物质利用效率。腐殖酸与亚铁离子耦合形成的不溶性络合物,兼具电子传递效率高、亚铁离子不易流失等优势。然而,目前该络合物在污水脱氮方面的研究较少,且存在制备成本较高、作用机制不清晰等问题。

本研究利用硫酸亚铁与腐殖酸钠盐络合制备了一种不溶性腐殖酸铁(Fe-HA)配合物,以激活和稳定腐殖酸中的电子中介基团,从而加速反硝化过程。通过添加腐殖酸铁,强化异养-自养反硝化体系的脱氮效率,并从胞外聚合物(EPS)分泌特性、电子传递速率及代谢活性等方面探究不同浓度腐殖酸铁对反硝化作用的影响机理,旨在为提升异养-自养反硝化工艺的处理效率提供一种有效的功能材料及方法。

1 材料与方法

1.1 接种污泥

实验采用的污泥取自天津市某污水处理厂,接种污泥混合液悬浮固体(MLSS)浓度为 1 940 mg/L,挥发性悬浮固体(MLVSS)浓度为 1 460 mg/L,污泥体积指数(SVI)为 135 mL/g,颜色为深褐色。

1.2 实验药剂

本实验采用的硝酸钠(NaNO_3)、无水乙酸钠

(CH_3COONa)、结晶硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)、无水氯化钙(CaCl_2)、腐殖酸钠盐($\text{C}_9\text{H}_8\text{Na}_2\text{O}_4$, AHA)均为分析纯。

1.3 实验方法

Fe-HA 的制备:将 1.5 g/L 的 AHA 溶解于超纯水中,并在 15 000g 下离心 15 min 以去除不溶性颗粒。快速搅拌纯化的 AHA 溶液,并加入 0.385 g/L 的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$,将溶液 pH 调至 7.0。在 30 °C 下保持 pH 为中性且恒定,将溶液放置于聚丙烯容器内保存一周,采用离心收集并进行冷冻干燥,所得沉淀物质即为腐殖酸铁(Fe-HA)络合物。

批次实验:分别取 20 mL 污泥置于 5 个 100 mL 的玻璃瓶中,编号为 S_0 、 S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 。向玻璃瓶中加入不同浓度的 Fe-HA 与污泥充分混合,再将玻璃瓶放于摇床中(35 °C)密闭摇晃 12 h,创造缺氧环境。12 h 后,在玻璃瓶中加入 80 mL 液体培养基。液体培养基成分为:200 mg/L 的 COD(CH_3COONa),350 mg/L 的 NO_3^- -N,120 mg/L 的 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$,12 mg/L 的 CaCl_2 ,10 mg/L 的 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 。 S_0 为空白对照组, S_1 ~ S_4 的 Fe-HA 浓度分别为 30、50、70、90 mg/L。每 2 h 用针管抽取上清液 1 次并测定 NO_3^- -N 浓度。

1.4 检测项目及方法

COD 浓度采用重铬酸盐法测定。 NO_3^- -N 浓度采用紫外可见分光光度计测定。采用傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)表征腐殖酸铁的官能团。EPS 是微生物生长代谢过程中分泌的高分子聚合物,主要由蛋白质(PN)和多糖(PS)等构成,本实验采用加热法提取异养-自养反硝化泥水混合物中的 EPS,并采用考马斯亮蓝法和硫酸-萘酚法分别测定 PN 和 PS 含量。电子传递系统活性(ETSA)是表征微生物间电子传递的重要指标,通过 IN-ETSA 法测定不同 Fe-HA 投加量下的 ETSA,探究 Fe-HA 对异养-自养反硝化体系中微生物间电子传递速率的影响。三磷酸腺苷(ATP)在一定程度上可表征微生物的代谢活性,一般通过热萃取法提取,利用高效液相色谱法分析 ATP 浓度。细胞色素 c 通常用来表征生物氧化还原过程中的电子传递情况,常利用超声破碎法提取细胞色素 c,并使用紫外分光光度计于 550 nm 处检测其吸光度^[5]。采用研磨法处理污泥后,通过 Zeta 分析仪检测 Zeta 电位^[5]。

2 结果与讨论

2.1 Fe-HA的FTIR图谱及对 NO_3^- -N去除的影响

图1为Fe-HA的FTIR图谱。可知,红外吸收峰在 $3\,400\text{ cm}^{-1}$ 处有较强的宽波峰,其中以羟基、羧基和酚羟基的O—H键为主^[6]。 $2\,900\text{ cm}^{-1}$ 处的峰表明,其可能存在饱和C—H伸缩振动。 $1\,620\text{ cm}^{-1}$ 处的峰表明,Fe-HA含有较多的芳香族不饱和化合物,这可归因于C=C骨架振动。在 $1\,400\sim 1\,500\text{ cm}^{-1}$ 范围内主要是脂肪族的O—H变形振动和C—O伸缩振动,还有少数的C—H键。 $1\,060\text{ cm}^{-1}$ 处的峰是由于N—Fe配位键的伸缩振动^[7]。可见,Fe-HA中含有羟基、芳烃、羧基、N—Fe等典型官能团结构。

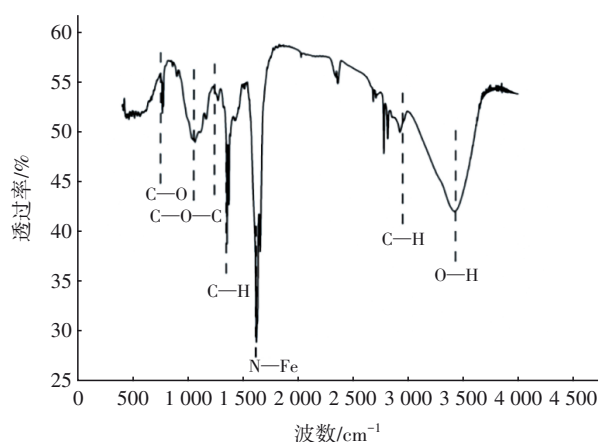


图1 Fe-HA的FTIR图谱

Fig.1 FTIR spectrum of Fe-HA

Fe-HA投加量对 NO_3^- -N去除的影响如图2所示。可以看出,在12 h内,空白组中 NO_3^- -N的去除率为81.4%。当Fe-HA投加量为70 mg/L时,对 NO_3^- -N的去除率可达96.6%,是空白组的1.2倍,且在反硝化过程中的4和8 h均有明显加速效果。当Fe-HA投加量为90 mg/L时,对 NO_3^- -N的去除效果减弱,去除率为83%。可见,加入70 mg/L的Fe-HA能够明显加速异养-自养反硝化系统对 NO_3^- -N的去除。这可能是由于Fe-HA具有羧基、酚羟基和羰基等基团,这些活性基团可以促进微生物代谢产物的分泌,提升电子传递速率和代谢活性^[8],同时加入70 mg/L的Fe-HA后,在C/N值仅为0.57的条件下, NO_3^- -N去除率相比空白组提高了15.2个百分点,除电子传递速率提高外,还可能是由于系统内碳源不足时,铁氧化还原循环过程中 Fe^{2+} 代替碳源充当电子供体,从而促进了自养反硝化的进行,间接表

明Fe-HA的加入促进了异养-自养反硝化系统的构建。

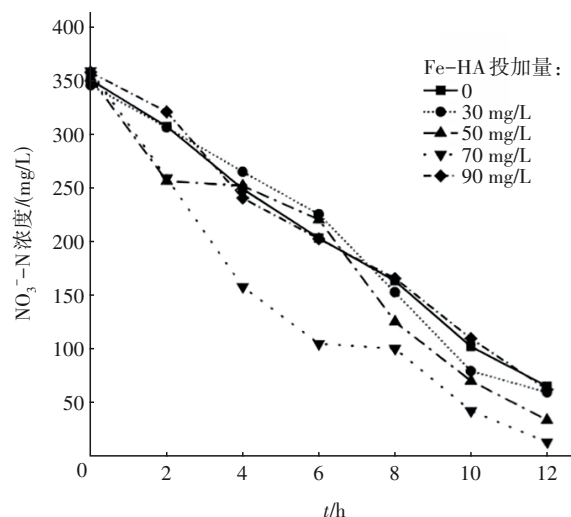


图2 Fe-HA投加量对 NO_3^- -N去除的影响

Fig.2 Effect of Fe-HA dosages on NO_3^- -N removal

2.2 Fe-HA投加量对污泥分泌EPS的影响

微生物代谢过程中可分泌EPS,其在保护微生物细胞和加速细胞间电子传递速率方面具有重要作用。Fe-HA对异养-自养反硝化体系代谢产物的影响如图3所示。可以看出,当Fe-HA投加量为0、30、50、70、90 mg/L时,EPS含量分别为1.58、7.89、6.37、15.77和8.68 mg/gVSS,且Fe-HA投加量为70 mg/L时EPS含量约为空白组的10倍。由此可见,Fe-HA投加量为70 mg/L时能促进污泥分泌更多的EPS,从而保证微生物的稳定性并加快电子传递速率。

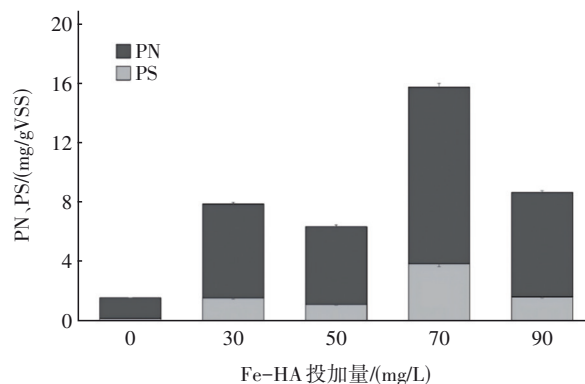


图3 Fe-HA对异养-自养反硝化体系代谢产物的影响

Fig.3 Effect of Fe-HA on metabolites in heterotrophic-autotrophic denitrification system

当Fe-HA投加量为0、30、50、70、90 mg/L时,PN含量分别为1.40、6.32、5.23、11.90和7.03 mg/

gVSS, PS 含量分别为 0.18、1.57、1.14、3.87 和 1.65 mg/gVSS。当 Fe-HA 投加量为 70 mg/L 时, PN 和 PS 的含量分别为空白组的 8.5 和 21.5 倍, 且 PN/PS 值为 3.07, 明显低于其他实验组。较低的 PN/PS 表明, 微生物聚集体具有更好的强度和稳定性^[9]。可见, Fe-HA 投加量为 70 mg/L 时, 能够促进微生物分泌更多的 EPS 并具有较低的 PN/PS 值, 从而使微生物具有更好的聚集性、强度及稳定性。

当 Fe-HA 投加量为 0、30、50、70、90 mg/L 时, 微生物表面 Zeta 电位分别为 -28.2、-20.3、-22.1、-16.8 和 -22.7 mV。Zeta 电位的升高表明, 因所带负电荷而引起的微生物表面静电斥力下降, 微生物聚集能力增强。当 Fe-HA 投加量为 70 mg/L 时, Zeta 电位最高, 微生物表面所带负电荷最少。这是因为高 EPS 分泌量中含有大量 PN 组分, 且 PN 中带正电荷的氨基可以中和微生物所带负电荷, 从而降低微生物间的静电斥力, 有助于微生物的絮凝和稳定。

2.3 Fe-HA 对 ETSA 和能量代谢的影响

ETSA 作为评价生物系统中微生物代谢活性的重要指标, 在研究电子传递方面具有重要作用^[10]。当 Fe-HA 投加量为 0、30、50、70、90 mg/L 时, ETSA 分别为 0.75、0.82、0.76、0.93 和 0.78 $\mu\text{g}/(\text{mg}\cdot\text{min})$, Fe-HA 投加量为 70 mg/L 时的 ETSA 是空白组的 1.2 倍。可见, 异养-自养反硝化体系在投加 70 mg/L 的 Fe-HA 后具有更强的生物代谢活性, 这可能是由于适量功能材料的添加提高了微生物间的电子传递速率, 提升了电子利用率。

ATP 能够为细胞代谢过程直接提供能量^[11], 因此通过分析不同 Fe-HA 投加量下异养-自养反硝化体系中 ATP 含量的变化, 揭示其对微生物代谢速率的影响。当 Fe-HA 投加量为 0、30、50、70、90 mg/L 时, ATP 含量分别为 0.08、0.17、0.11、0.18 和 0.14 mg/gVSS。投加 Fe-HA 后的 ATP 含量明显高于未投加 Fe-HA 的。当 Fe-HA 投加量为 70 mg/L 时, ATP 含量较高, 为空白组的 2.25 倍。ATP 浓度与微生物的生理活性呈正相关, 在异养-自养反硝化体系中, 投加 70 mg/L 的 Fe-HA 能够使微生物分泌更多的 ATP, 可用于增强异养-自养反硝化体系中微生物的活性, 并促进细胞的生长和代谢^[12]。

细胞色素 c 是生物氧化过程中非常重要的电子传递体, 与细胞的代谢过程相关。当 Fe-HA 投加量为 0、30、50、70、90 mg/L 时, 细胞色素 c 含量分别为

0.49、0.56、0.72、1.24 和 0.87 $\mu\text{g}/\text{gSS}$ 。可见, 当 Fe-HA 投加量为 70 mg/L 时细胞色素 c 含量最高, 在该投加量下可有效促进细胞色素 c 的分泌, 从而加速细胞代谢过程, 提高微生物代谢活性。

综上所述, 当 Fe-HA 投加量为 70 mg/L 时, 微生物分泌的 EPS 总量、PN/PS、ETSA、ATP 和细胞色素 c 含量均优于空白组及其他投加量组。在该投加量下, 可有效加速微生物间的电子传递速率, 提升微生物代谢活性, 从而实现 NO_3^--N 的高效去除。

2.4 潜在机理与应用

首先, 在低碳氮比条件下, 相比空白组, Fe-HA 组对 NO_3^--N 去除率的提高了 15.2 个百分点。碳源不足时, Fe-HA 的加入可使铁代替碳源来提供电子供体, 促进了异养-自养反硝化体系的构建。异养-自养反硝化体系中微生物在功能材料腐殖酸铁的刺激下能够分泌更多的 EPS 且 PN/PS 值明显下降, 致使微生物具有更好的聚集活性、强度及稳定性, 这对实现高效脱氮具有重要作用。同时, EPS 中的 PN 和 PS 可通过形成聚合物电解质或导电聚合物而表现出半导体性能, 故 EPS 中的 PN 和 PS 可充当电子穿梭体并促进生物体系中的电子传递速率, 所以 PN 与 PS 的增加可有效提升异养-自养反硝化体系中微生物的电子传递速率^[13]。其次, ETSA 提升, 电子传递速率加快, 可促使微生物分泌更多的 ATP 来支撑微生物的代谢, 也为其他必要的生理过程提供了能量, 使得微生物代谢活性增加; 代谢过程中产生的 ATP 也促进了 EPS 的分泌并用于微生物的自我保护, 且电子转移是微生物生长代谢的主要能量储存途径。本研究还验证了 Fe-HA 可以有效加速异养-自养反硝化体系中 NO_3^--N 的去除。且 HA 是一种天然、绿色的有机材料, 在水中具有复杂的表面结构, 性能稳定, 对重金属和有机物有直接吸附作用, 且不完全溶于水^[14], 可通过高速离心将不溶部分从水样中析出, 对环境污染较小。

3 结论

① Fe-HA 的投加可刺激微生物分泌 EPS 并降低 PN/PS 值, 使得微生物具有更好的聚集活性, 提升了抗冲击负荷能力, 从而具有更好的反硝化性能。

② 在 Fe-HA 投加量为 70 mg/L 条件下, 系统对 NO_3^--N 的去除率相比空白组提高了 15.2 个百分

点,进一步表明了Fe-HA对系统反硝化具有强化作用。

③ Fe-HA提升了胞内氧化还原物质(细胞色素c)含量及ETSA,加速了微生物的电子传递速率,并促进分泌更多的ATP,提升了细胞生长代谢速率,改善了异养-自养反硝化体系中微生物代谢活性。

参考文献:

- [1] SU X Y, CHEN Y, WANG Y Y, et al. Impacts of chlorothalonil on denitrification and N_2O emission in riparian sediments: microbial metabolism mechanism [J]. Water Research, 2019, 148(10): 188-197.
- [2] SU J F, GAO C Y, HUANG T L, et al. Characterization and mechanism of the Cd(II) removal by anaerobic denitrification bacterium *Pseudomonas* sp. H117 [J]. Chemosphere, 2019, 222: 970-979.
- [3] 黄潇月, 王伟, 凌岚, 等. 纳米零价铁与重金属的反应: “核-壳”结构在重金属去除中的作用[J]. 化学学报, 2017, 75(6): 529-537.
HUANG X Y, WANG W, LING L, et al. Heavy metal-nZVI reactions: the core-shell structure and applications for heavy metal treatment [J]. Acta Chimica Sinica, 2017, 75(6): 529-537 (in Chinese).
- [4] TIAN T, YU H Q. Iron-assisted biological wastewater treatment: synergistic effect between iron and microbes [J]. Biotechnology Advances, 2020, 44: 107-110.
- [5] PENG L, LI H B, GUO J B, et al. Enhanced AGS by granular activated carbon loaded with nano iron when treating low strength and low COD/TN ratio municipal wastewater: microbial metabolism, electron transfer and enhancement mechanism [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2024, 12(2): 112416.
- [6] GUO H X, CHEN Z, LU C C, et al. Effect and ameliorative mechanisms of polyoxometalates on the denitrification under sulfonamide antibiotics stress [J]. Bioresource Technology, 2020, 305(10): 123073.
- [7] DAI R B, CHEN X G, XIANG X Y. Understanding azo dye anaerobic bio-decolorization with artificial redox mediator supplement: considering the methane production [J]. Bioresource Technology, 2018, 249(10): 799-808.
- [8] ZHOU S, ZHANG Z, SUN Z L, et al. Responses of simultaneous anammox and denitrification (SAD) process to nitrogen loading variation: start-up, performance, sludge morphology and microbial community dynamics [J]. Science of the Total Environment, 2021, 795(4): 148911.
- [9] 王冬, 王少坡, 周瑶, 等. 胞外聚合物在污水处理过程中的功能及其控制策略[J]. 工业水处理, 2019, 39(10): 14-19.
WANG D, WANG S P, ZHOU Y, et al. Function and control strategies of extracellular polymer substances in wastewater treatment process [J]. Industrial Water Treatment, 2019, 39(10): 14-19 (in Chinese).
- [10] HE Y, GUO J B, SONG Y Y, et al. Acceleration mechanism of bioavailable Fe(III) on Te(IV) bioreduction of *Shewanella oneidensis* MR-1: promotion of electron generation, electron transfer and energy level [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 403(2): 123728.
- [11] ROBERTO S, FEDERICA S, PAOLA C, et al. Cytochrome c: an extreme multifunctional protein with a key role in cell fate [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 136(2): 1237-1246.
- [12] JIANG S, SU Y, LU H L, et al. Influence of polycyclic aromatic hydrocarbons on nitrate reduction capability in mangrove sediments [J]. Marine Pollution Bulletin, 2017, 122(1/2): 366-375.
- [13] LIU Y, QIAO J L, SUN Y K, et al. Simultaneous sequestration of humic acid-complexed Pb(II), Zn(II), Cd(II), and As(V) by sulfidated zero-valent iron: performance and stability of sequestration products [J]. Environmental Science & Technology, 2022, 56(5): 3127-3137.
- [14] 才金玲, 谢玉洁, 刘兰军, 等. 腐殖酸的性质及应用进展[J]. 应用化工, 2023, 52(12): 3418-3422, 3427.
CAI J L, XIE Y J, LIU L J, et al. Nature of humic acid and its application progress [J]. Applied Chemical Industry, 2023, 52(12): 3418-3422, 3427 (in Chinese).

作者简介:王波(1982—),男,天津人,本科,高级工程师,主要研究方向为港航工程及污染控制、水环境保护与生态修复。

E-mail: wbtju03@126.com

收稿日期: 2025-12-12

修回日期: 2026-03-08

(编辑:任莹莹)