



有机碳源种类对硫自养短程反硝化的影响

史智炀¹, 周俊才², 聂显玲¹, 刘权¹, 李鹏¹, 张辉¹, 陈婉秋³, 李晓玲^{4,✉}

1. 长安大学建筑工程学院, 西安 710061; 2. 济南市城乡建设发展服务中心, 济南 250000; 3. 长安大学环境与社会发展研究中心, 西安 710061; 4. 长安大学建筑工程学院住建部给排水重点实验室, 西安 710061

摘要 本研究以厌氧序批式反应器 (anaerobic sequencing batch reactor, ASBR) 作为硫自养短程反硝化 (sulfur autotrophic partial denitrification, SAPD) 的研究体系, 以硫代硫酸盐为电子供体。采用批式实验探究了不同有机碳源 (甲醇、乙醇、乙酸钠、葡萄糖) 对 SAPD 亚硝酸盐积累的影响, 并将批式实验结果应用到 ASBR 系统, 验证其强化效果。当 S/N 为 1 时, ASBR 系统成功稳定运行, 硝酸盐去除率 (nitrate removal efficiency, NRE) 和亚硝酸盐积累率 (nitrite accumulation rate, NAE) 分别达到了 95.89% 和 52.40%。C/N 比为 0.5 的碳源批式实验结果显示亚硝酸盐的积累效果为: 乙酸钠>葡萄糖>甲醇≈乙醇>无碳源, 其中乙酸钠对亚氮积累的提升效果最为显著, NAE 由 50.52% 上升至 61.09%, 其中硫单质生成率由 40.43% 下降至 30.21%。将批式实验结果应用到 ASBR 中, 乙酸钠作用使系统对硝氮 (NO_3^- -N) 的处理效果和亚氮 (NO_2^- -N) 积累能力进一步提升, NAE 从 65.00% 提高到了 73.70%, 且 NRE 也从 80.6% 提高到了 89.15%。高通量测序结果可知, 乙酸钠的投加使得 SAPD 系统中变形菌门 (Proteobacteria) 丰度显著增加, 而厚壁菌门 (Firmicutes) 活性受到抑制。硫杆菌属 *Thiobacillus* 相对丰度由 6.83% 上升至 10.32%, *Terrimonas* 相对丰度由 10.68% 下降到 1.20%。总的来说, 低浓度有机物的投加可以提升 SPAD 工艺的整体效果。

关键词 硫自养短程反硝化; 硝酸盐去除; 有机碳源; NO_2^- -N 积累; 微生物群落

随着我国工业化的发展, 食品制造和电镀等行业排放了大量高氨氮、高硝酸盐的工业废水^[1]。但传统生物法处理这种低 C/N, 可生化性差的废水时, 需要投加大量碳源并进行曝气, 导致运行成本高^[2]。

厌氧氨氧化 (anaerobic ammonium oxidation, Anammox) 作为新型节能工艺在处理低碳源含氮废水方面越来越受到重视^[3]。而厌氧氨氧化底物的管理和供应是其在实际应用中的关键问题^[4]。短程反硝化 (partial denitrification, PD) 为 Anammox 获得稳定底物提出了新的思路^[5]。短程反硝化-Anammox (PDA) 耦合工艺与传统生物脱氮技术相比, 具有消耗碳源少、 N_2O 排放量少以及污泥产量低等优点^[6]。

硫自养短程反硝化技术是近年短程反硝化广泛研究内容中的一个重要方向, 更需分析其亚硝态氮的积累特性^[7]。硫的化合物如硫化物、硫代硫酸盐、硫单质、亚硫酸盐等可以作为自养反硝化的电子供体^[8], 其中硫化物和硫代硫酸盐等在氧化过程中会产生固体硫单质^[9]。 S^0 的水溶性较低, 导致生物利用度低, 影响传质效率, 进而限制了工艺的脱氮效果^[10]。并且出水中含有 S^0 会影响出水效果。有研究^[11]表明, 有机物的补充可提高硫的生物利用度。为了避免系统中异养反硝化菌的增长, 有研究^[12]表明, 最佳 C/N 比为 0.25~0.5。此外, 碳源的结构和性质不同也导致了其在微生物体内的代谢途径不同, 从而微生物对于不同碳源的反应速率和需求量也存在着差异^[13]。因此, 本研究考察了不同碳源投加对硫自养短程反硝化亚硝酸盐积累的影响及原因分析。

1 材料与方法

1.1 实验装置

本实验采用 (anaerobic sequencing batch reactor, ASBR) 作为硫自养短程反硝化 (sulfur autotrophic partial denitrification, SAPD) 系统的反应器, 反应器装置如图 1 所示。ASBR 为亚克力材质, 内径 60 cm,

收稿日期: 2024-07-16 录用日期: 2024-10-08

基金项目: 陕西省面上自然科学基金 (2024JC-YBMS-416)

第一作者: 史智炀 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为污水处理, 769532554@qq.com ✉通信作者: 李晓玲 (1986—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为污水处理及污泥资源化, lixiaoling20030327@126.com

有效容积 9 L。反应器具备搅拌控制装置及并通过温控设备使温度维持在 25 ℃。通过 2 台蠕动泵实现进水与出水。人工合成废水通过反应器下部进入，安装时控装置，使反应器规律运行。

1.2 反应器的启动与运行

将来自西安第四污水厂的总体积为 4 L 的异养活性污泥经过短期驯化之后接种于 ASBR 中，污泥质量浓度初始为 $4\,783\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。反应器进水为人工模拟废水，进水前进行高纯度氮气吹脱，保证进水溶解氧浓度在 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下。反应器单次进水 4.5 L，充水比为 50%，在反应完毕后进入沉淀阶段，然后进行出水，该阶段完成后排放 4.5 L 上清液。水力停留时间控制在 8 h，其中进水 20 min，出水 20 min，沉淀 60 min，温度 $(25\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，采用 $5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ HCl}$ 调节进水 pH 为 7.5~8.0。反应器各阶段进水采用人工配水，进水组分及质量浓度见表 1。微量元素参考文献 [14]。

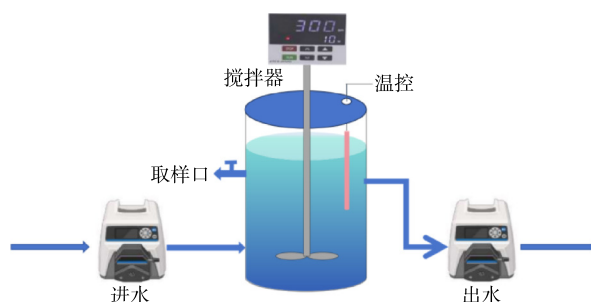


图 1 ASBR 装置图

Fig. 1 Diagram of the ASBR process experimental device

表 1 反应器各阶段主要进水组分、质量浓度

Table 1 Reactor inlet composition and concentration at each stage

阶段	$\text{NaNO}_3/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{CH}_3\text{COONa}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{CaCl}_2/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{KH}_2\text{PO}_4/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{NaHCO}_3/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	微量元素/ ($\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$)
第1阶段	242.86	177.28	—	37	80	20	1 134	1
第2阶段	242.86	354.56	—	37	80	20	1 134	1
第3阶段	242.86	531.84	—	37	80	20	1 134	1
第4阶段	242.86	354.56	—	37	80	20	1 134	1
第5阶段	242.86	354.56	25.64	37	80	20	1 134	1

1.3 批次实验

SAPD 过程线测定。为探究周期内各物质浓度变化以及反应机理，在反应各阶段平稳运行之后进行过程线测定。在 SAPD 反应器平稳运行之后，取 200 mL 泥水混合物于大烧杯中，沉淀 30 min，弃去上清液，加入磷酸盐缓冲液至 200 mL，用玻璃棒使污泥悬浮，冲洗 3 次后。将冲洗后的污泥移入 500 mL 烧杯中，用蒸馏水稀释至 400 mL。进水各物质浓度与反应器各阶段进水相同，配水完成后超声振荡溶解 1 min。完全溶解后用高纯度氮气进行吹脱，保证溶解氧小于 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，通过 NaOH 与 HCl 调节 pH 为 8.0，然后将烧杯移至磁力搅拌器上进行批次实验。实验期间，上部用保鲜膜及皮筋对烧杯进行密封，设置磁力搅拌器温度为 $(25\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，磁力搅拌速度为 $(350\pm 50)\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。由于 SAPD 反应器的水力停留时间 (hydraulic retention time, HRT) 为 8 h，为确保反应更加彻底，取样总时长为 9 h，每 1 h 取样 1 次。

碳源种类对硫自养短程反硝化的影响实验。取 S/N 为 1.0 运行稳定污泥，进行甲醇、乙醇、乙酸钠、葡萄糖不同碳源的批次实验。在反应器平稳运行之后，取 200 mL 泥水混合物于大烧杯中，沉淀 30 min，弃去上清液，加入磷酸盐缓冲液至 200 mL，用玻璃棒使污泥悬浮，冲洗 3 次后，将冲洗后的污泥移入 500 mL 烧杯中，用蒸馏水稀释至 400 mL。分别加入甲醇、乙醇、乙酸钠、葡萄糖为碳源。实验条件如表 2 所示，通过加入 NaOH 和 HCl 调节 pH 为 7.5。配水完成后超声振荡溶解 1 min。完全溶解后用高纯度氮气进行吹

表 2 不同碳源种类批次主要组分、质量浓度以及条件

Table 2 Batch main components, concentrations, and conditions of different carbon sources

批次 实验	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}\text{-S}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	$\text{NO}_3^{-}\text{-N}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	碳源 种类	C/N	S/N	温度/ $^{\circ}\text{C}$	进水pH
1	182.86	80	无	0.5	1.0	25	8.0
2	182.86	80	甲醇	0.5	1.0	25	8.0
3	182.86	80	乙醇	0.5	1.0	25	8.0
4	182.86	80	乙酸钠	0.5	1.0	25	8.0
5	182.86	80	葡萄糖	0.5	1.0	25	8.0

脱, 保证溶解氧小于 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 取样总时长为 6 h, 每 1 h 取样 1 次。

1.4 分析方法

常规分析方法: 所有水质指标均在离心 (在转速 $4\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 10 min) 和过滤 ($0.45 \mu\text{m}$ 滤膜) 后测定。氨氮 (NH_4^+-N) 采用纳氏试剂分光光度法, NO_2^--N 采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法, NO_3^--N 采用紫外分光光度法, pH 使用上海越平 PHS-3C 监测。混合液悬浮固体浓度和混合液挥发性悬浮固体浓度按照相关标准方法^[15] 进行测定。 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 采用碘量法, SO_4^{2-} 采用离子色谱法, S^0 采用硫平衡方程进行计算。

微生物群落分析: 分别对第 4 阶段, 第 5 阶段污泥运行稳定后取样。样品于上海美吉生物医药科技有限公司进行生物测序分析^[16]。

指标计算方法: 硝酸盐去除效率 (nitrate removal efficiency, NRE)、亚硝酸盐积累效率 (nitrite accumulation rate, NAE)、硫酸盐生成率和总氮去除效率 (total nitrogen removal efficiency, TNRE) 分别根据式 (1)~(4) 计算。

$$F_1 = \frac{C_{i,\text{NO}_3^--\text{N}} - C_{e,\text{NO}_3^--\text{N}}}{C_{i,\text{NO}_3^--\text{N}}} \times 100\% \quad (1)$$

$$F_2 = \frac{C_{e,\text{NO}_2^--\text{N}} - C_{i,\text{NO}_2^--\text{N}}}{C_{i,\text{NO}_3^--\text{N}} - C_{e,\text{NO}_3^--\text{N}}} \times 100\% \quad (2)$$

$$F_3 = \frac{C_{i,\text{SO}_4^{2-}-\text{S}} - C_{e,\text{SO}_4^{2-}-\text{S}}}{C_{i,\text{S}_2\text{O}_3^{2-}-\text{S}} - C_{e,\text{S}_2\text{O}_3^{2-}-\text{S}}} \times 100\% \quad (3)$$

$$F_4 = \frac{C_{i,\text{TN}} - C_{e,\text{TN}}}{C_{i,\text{TN}}} \times 100\% \quad (4)$$

式中: F_1 为硝酸盐去除率, %; $C_{i,\text{NO}_3^--\text{N}}$ 为进水 NO_3^--N 的质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $C_{e,\text{NO}_3^--\text{N}}$ 为出水 NO_3^--N 的质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; F_2 为亚硝酸盐积累率, %; $C_{i,\text{NO}_2^--\text{N}}$ 为进水 NO_2^--N 的质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $C_{e,\text{NO}_2^--\text{N}}$ 为出水 NO_2^--N 的质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; F_3 为硫酸盐生成率, %; $C_{i,\text{SO}_4^{2-}-\text{S}}$ 为进水 $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$ 的质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $C_{e,\text{SO}_4^{2-}-\text{S}}$ 为出水 $\text{SO}_4^{2-}-\text{S}$ 的质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; F_4 为总氮去除率, %; $C_{i,\text{TN}}$ 为进水 TN 的质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $C_{e,\text{TN}}$ 为出水 TN 的质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2 结果与讨论

2.1 SAPD 启动阶段与平稳运行阶段脱氮性能

由图 2 中 SAPD 反应器进出水浓度变化和图 3 中各阶段氮、硫质量浓度变化分析可知。

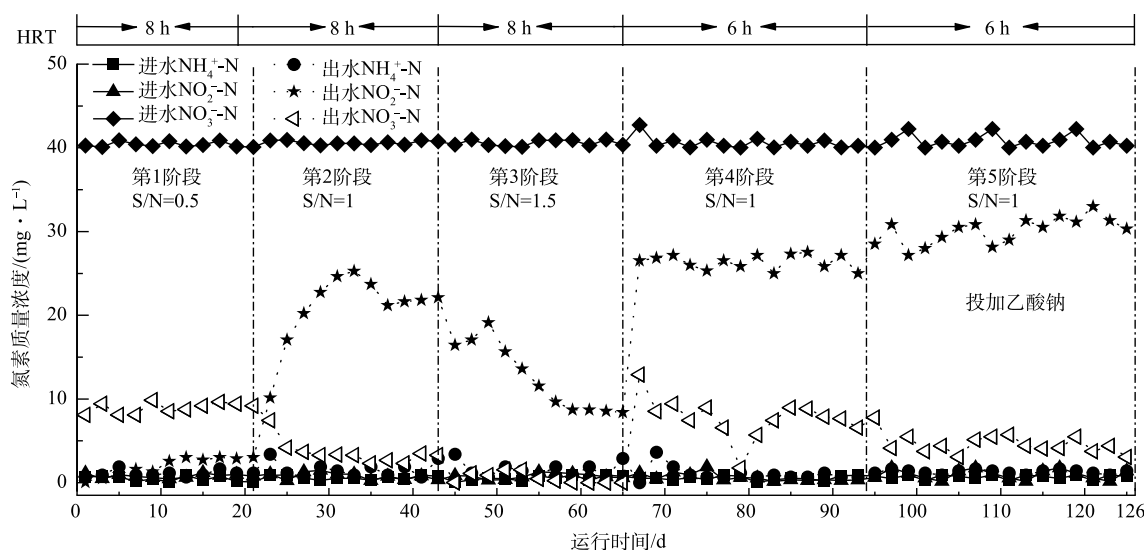


图2 SAPD 反应器进出水质量浓度变化

Fig. 2 Concentration variations of influent and effluent in a SAPD reactor

第 1 阶段 (1~21 d) (图 3(a))：在进水 S/N(摩尔比) 为 0.5，进水 NO_3^- -N 平均质量浓度为 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的情况下启动 SAPD 反应器。因电子供体不足且处于驯化初期，脱氮效果并不理想，出水 NO_3^- -N 质量浓度平均值在 $10.91 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右， NO_2^- -N 平均值在 $7.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右，NRE 平均值为 77.02%，TNRE 平均值 70.00%，NAE 为 9.83%。此阶段出水 SO_4^{2-} -S 质量浓度平均值在 $37.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右，通过计算硫酸盐生成率平均值为 90.25%。有研究^[17]表明， $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -S 为电子供体时，可能会转化为 SO_3^{2-} -S 和 S^0 -S，两者同时也可以作为电子供体参与反硝化反应，最终产物为 SO_4^{2-} -S。由于 SO_3^{2-} -S 化学性质不稳定，极易被氧化为 SO_4^{2-} -S^[18]，因此在硫质量平衡计算时不考虑 SO_3^{2-} -S 含量。通过计算得，在 HRT 为 8 h 情况下，产生 S^0 -S 的量为 $4.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

第 2 阶段 (22~43 d) (图 3(b))：将进水 S/N 改变为 1.0。在运行前期 (22~35 d)，因进水负荷发生变化，经过 7 d 的适应后，NRE 出现了持续上升，最终稳定在 95.89%。在 22~33 d，出水 NO_2^- -N 质量浓度不断上升，在 33 d 时达到最高，为 $23.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右，之后出水 NO_2^- -N 质量浓度逐渐下降，最终稳定在 $21.63 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。NAE 稳定在 52.40% 左右，实现了稳定积累。此外，与第 1 阶段相比，TNRE 出现了明显下降，主要原因是出水 NO_2^- -N 的大幅度提高，TNRE 稳定在 43.18%。此阶段出水 SO_4^{2-} -S 质量浓度平均值为 $79.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，硫酸盐生成率为 86.55%，通过硫质量平衡方程可以计算出 HRT 为 8 h 情况下，产生 S^0 -S 的量为 $12.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

第 3 阶段 (44~64 d) (图 3(c))：进水 S/N 为 1.5。此阶段，出水 NO_3^- -N 质量浓度下降至 $0.53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右，出水 NO_2^- -N 质量浓度先上升再下降，5 d 后稳定在 $8.27 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右，NAE、NRE、TNRE 分别为 20.95%、98.67%、78.56%。此阶段 NAE 低于第 2 阶段，反硝化过程进行较为彻底， NO_2^- -N 积累并不足够。此阶段出水 SO_4^{2-} -S 质量浓度平均值为 $103.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ，硫酸盐生成率为 76.19%，通过硫质量平衡可以计算出 HRT 为 8 h 情况下，产生 S^0 -S 的量为 $32.34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

$\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -S 在反应中会转化为 S^0 -S，伴随着 S/N 的提高， S^0 -S 生成率也会升高，同时， NO_2^- -N 的积累率随着 S/N 的提高出现了先上升后下降的现象。有研究^[19]发现电子供体为 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ -S 时，有利于 NO_2^- -N 积累，但电子供体转变为 S^0 -S 后， NO_2^- -N 优先被还原，导致其积累量下降。应避免反应中 S^0 -S 成为主要电子供体，从而获得更高的 NAE。

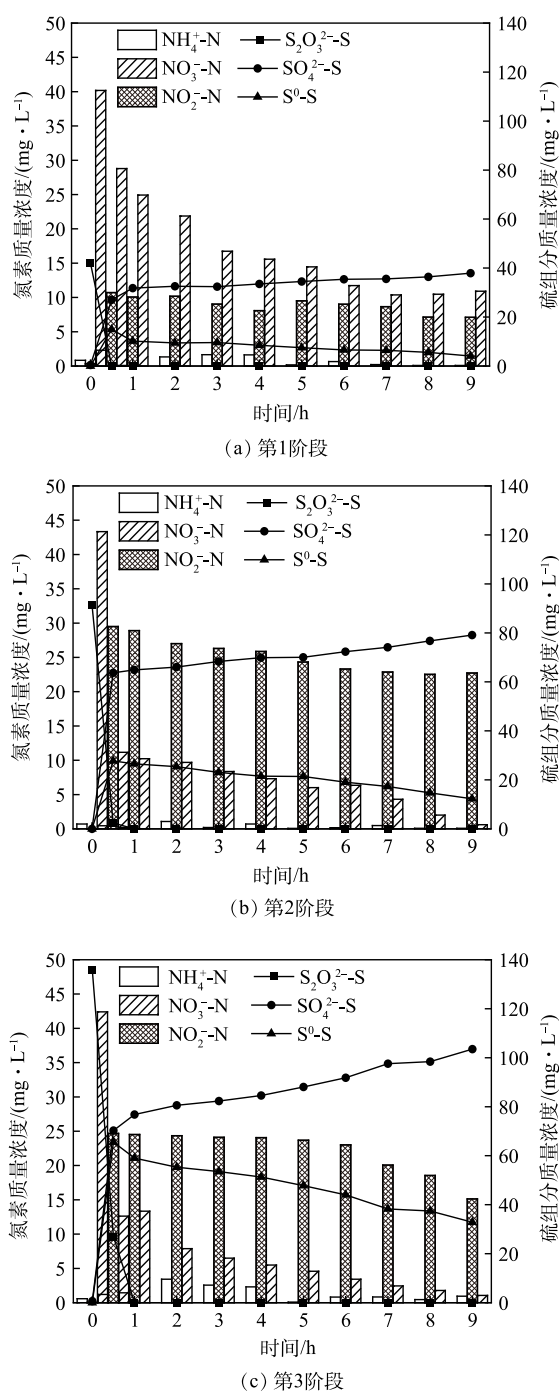


图 3 各阶段氮、硫质量浓度变化

Fig. 3 Variations in nitrogen and sulfur concentrations at different stages

2.2 不同碳源投加对硫自养短程反硝化亚硝酸盐积累的影响

根据 2.1 节中的研究结果, 在第 2 阶段 ($S/N=1$) 时可实现显著亚硝酸盐积累, 继续增大 S/N 比, 因电子供体较为充足, $TNRE$ 显著提高, 整个反应器脱氮效果良好, 但 NAE 较低。故本实验将在反应器第 2 阶段中通过批次实验的方式, 测定投加不同碳源 (甲醇、乙醇、乙酸钠、葡萄糖) 时各项指标的变化, 探究不同碳源种类投加对硫自养短程反硝化亚硝酸盐积累性能的影响, 寻找到最有利于 NO_2^- 积累的碳源。为避免异养菌的过度增殖, 将 C/N 控制在 0.5。

在无碳源、甲醇、乙醇、乙酸钠、葡萄糖不同碳源条件下基质质量浓度变化如图 4 所示。经过 6 h 反

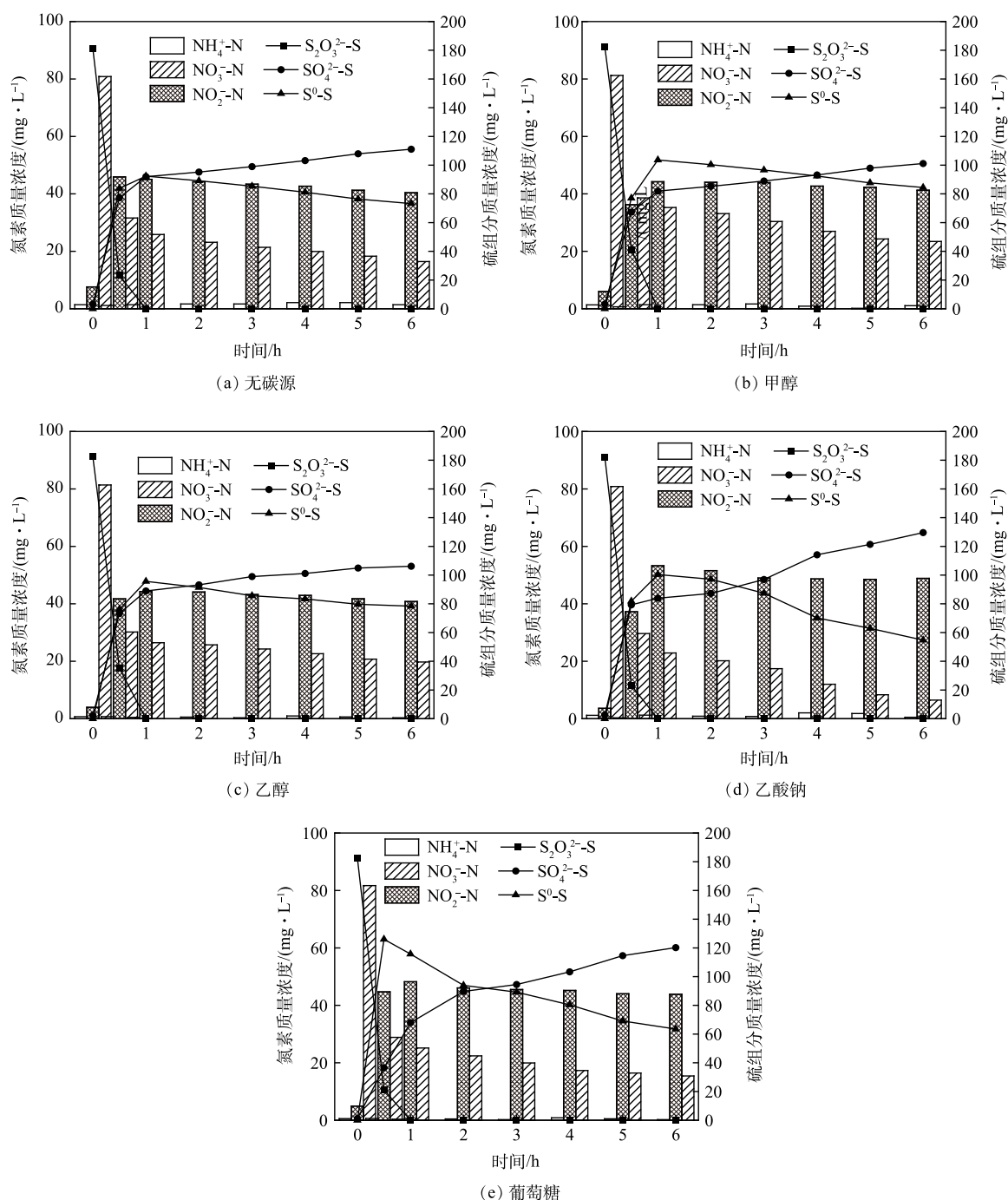


图 4 不同碳源条件下氮、硫质量浓度变化

Fig. 4 Changes in nitrogen and sulfur mass concentrations under different carbon source conditions

应, 反应器内 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 质量浓度分别为 111.10、101.10、106.19、129.60、120.19 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 通过硫质量平衡可以计算出, 产生 $\text{S}^0\text{-S}$ 的量分别为 73.22、84.45、78.40、54.72、63.48 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 由图 5(a) 可知, 硫单质生成率分别为 40.43%、46.63%、43.29%、30.21%、35.05%。分析发现, 与无碳源相比, 添加甲醇和乙醇会使 $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 质量浓度出现下降, 硫单质生成率上升, 而添加乙酸钠和葡萄糖, $\text{SO}_4^{2-}\text{-S}$ 质量浓度较明显上升, 硫单质生成率有所下降。可推测甲醇, 乙醇对体系内自养反硝化没有明显效果, 反而出现了抑制, 而乙酸钠、葡萄糖对自养反硝化有促进效果, 使得处理效果提高。

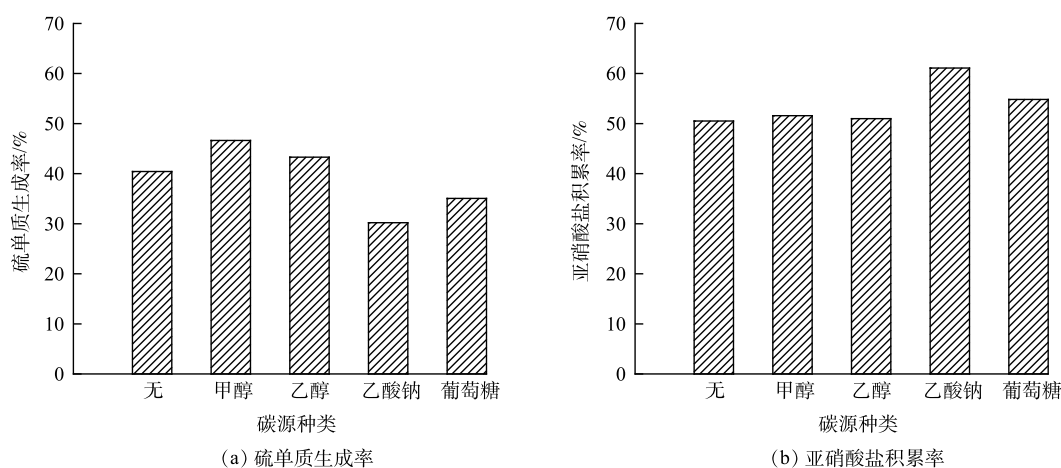


图 5 不同碳源条件下硫单质生成率与亚硝酸盐积累率比较

Fig. 5 Comparison of sulfur generation rate and nitrite accumulation rate under different carbon sources

根据图 4 中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累结果 (图 5(b)) 可以发现, 在无碳源、甲醇、乙醇、乙酸钠、葡萄糖不同碳源条件下, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 出水质量浓度分别为 16.43、23.43、19.75、6.47、15.43 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 出水质量浓度分别为 40.42、41.26、40.80、48.87、43.86 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NAE 分别为 50.52%、51.58%、51.00%、61.09%、54.83%。与无碳源相比, 乙酸钠、葡萄糖均可提升对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的处理效果, 但甲醇和乙醇却降低了处理效果, 出现这种情况可能是甲醇具有毒性导致其不利于微生物作用且微生物对甲醇的响应时间也较长^[13]。由图 6 可得乙醇被降解为乙酸时 ΔpH 为 1.01, 对体系 pH 影响很大^[20], 降低了微生物活性。很明显的是, 碳源为乙酸钠时 ΔpH 最小为 0.32, 有利于体系内 pH 的稳定, 且其对 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 处理效果提升最为显著, NAE 上升最为明显。葡萄糖虽然也促进了反硝化效果, 但效果较为轻微, 其原因可能是糖类也对体系 pH 影响很大 (ΔpH 为 1.07) 且与其他低分子有机物相比具有更为复杂的分解代谢过程^[21]。

对 ΔS^0 分析来看, 与无碳源相比, 葡萄糖和乙酸钠的 ΔS^0 分别为 62.59 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 45.66 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 最为明显。有研究^[12]表明, 添加有机物可以通过生物方式将固体硫还原为硫化物。而硫化物又可以与固体硫发生化学反应, 形成多硫化物 (式 (5)), 这反过来又通过自养硝酸盐反硝化增加了亚硝酸盐积累, 显著提高了生物固体硫的利用率^[22]。



当有机物存在时, 硫自养反硝化反应器中可能涉及的脱氮途径, 即 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}\text{-S}$ 和 S^0 直接作为 SAPD 过程

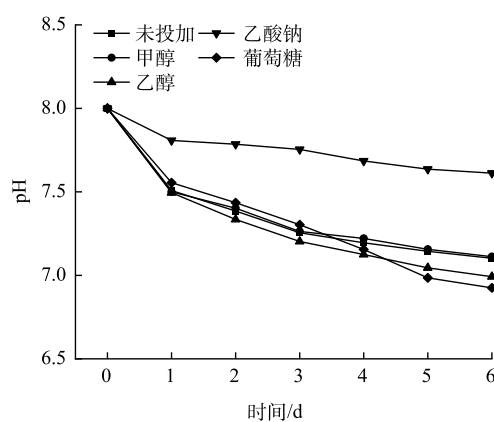


图 6 不同碳源条件下进出水 pH 变化

Fig. 6 Changes in influent and effluent pH under different carbon source conditions

的电子供体。另一种脱氮途径如图7所示,当有机物引入时, S^0 的还原除了直接为异养反硝化(HD)提供电子外,还形成了硫化物,形成的硫化物可继续充当电子供体以及刺激多硫化物的形成^[23-24],从而提高 S^0 的利用率。

而乙酸钠促进效果最显著的原因可能是其为最容易被微生物利用的碳源,能立即对反硝化和硫还原过程产生影响,而糖类因其结构复杂,导致微生物较难利用葡萄糖,对固体硫的利用率不如乙酸钠。尽管其 ΔS^0 最高,但原因可能为其中大部分通过硫代硫酸盐的 S^0 氧化途径转化了(图8),即 $S_2O_3^{2-}$ -S在多酶复合物 SoxAX、SoxYZ 和 SoxB 的作用下被转化为 SO_4^{2-} 与 S^0 ^[25]。导致其对亚硝酸盐的积累的促进效果不如乙酸钠。综合以上分析,乙酸钠投加后 NO_2^- -N 积累有所提高,且乙酸钠的处理作用可能主要通过影响硫还原过程起作用,这与刘等^[11]研究结果一致。

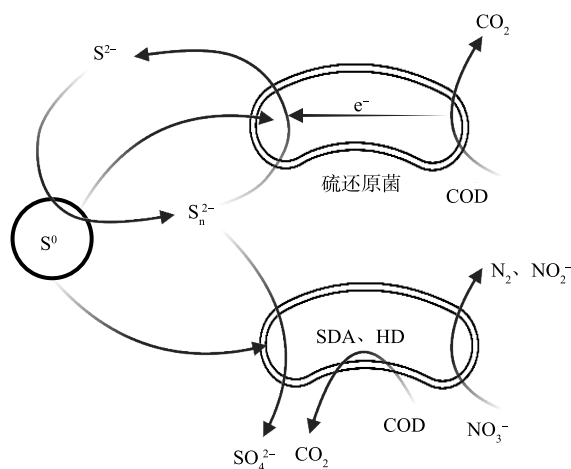


图7 添加额外有机碳的 SAPD 系统的脱氮途径^[12]

Fig. 7 The nitrogen removal pathways of a SAPD system with additional organic carbon^[12]

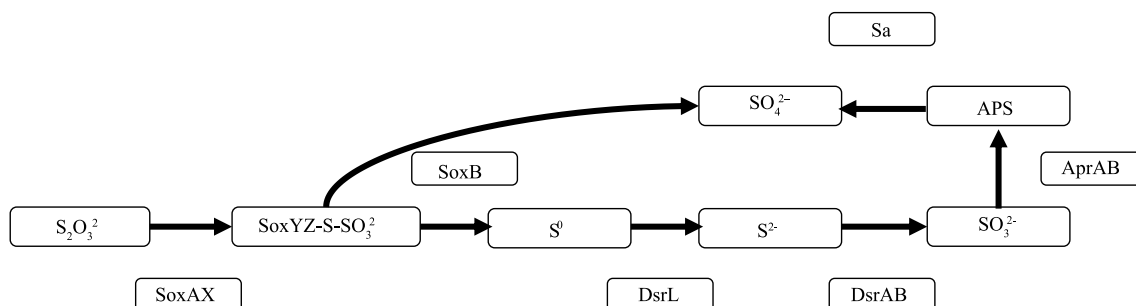


图8 $S_2O_3^{2-}$ 的 S^0 氧化途径

Fig. 8 The oxidation pathway of S^0 in $S_2O_3^{2-}$

2.3 碳源对 SAPD 工艺的影响

通过 2.2 的批次实验,发现投加碳源可以提高 NAE。本实验在前期研究的基础上,在 ASBR 实际运行中添加乙酸钠,与硫代硫酸钠同时作为电子供体,探究在长期运行下有机物调节对 SAPD 系统亚硝酸盐积累的影响情况,期望实现对硫代硫酸盐、硝酸盐和有机的同步去除。此外,对反应器微生物样品进行高通量测序的研究。

对比第 4、5 阶段可得到乙酸钠投加对反应器出水的氮素影响(图2)。由图2可见,第4阶段(65~93 d):控制进水 S/N 为 1.0。出水 NO_3^- -N 质量浓度最终稳定在 $7.77 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 NO_2^- -N 质量浓度稳定在 $26.37 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NRE 和 NAE 分别为 80.86%、65.00%。第5阶段(94~126 d):投加乙酸钠为碳源,控制进水 S/N/C 为 1.0/1.0/0.5。出水 NO_3^- -N 质量浓度最终稳定在 $4.43 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NO_2^- -N 质量浓度稳定在 $30.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NRE 和 NAE 分别为 89.14% 和 73.70%。综上所述,在乙酸钠投加下,系统对增强了对 NO_3^- -N 的处理能力, NO_2^- -N 积累效果获得进一步提升。

2.4 微生物群落特征

门水平上微生物菌群结构分析:采用高通量测序技术对反应器中的微生物群落进行研究。有机物投加前后微生物的门分类水平上的变化如图9(a)所示。可以发现,投加有机物之后,变形菌门(Proteobacteria)相对丰度大幅上升,从 17.83% 升至 22.58%,这正是与反硝化相关的主要功能菌门之一^[26],其相对丰度的上升恰恰反应反硝化效率的上升。酸杆菌门(Acidobacteria)和绿湾菌门(Chloroflexi)相对丰度也明显升高,分别由 1.99% 和 16.48% 升至 10.9% 和 19.02%,而绿湾菌门具有稳定微生物生长的作用,说明此阶段

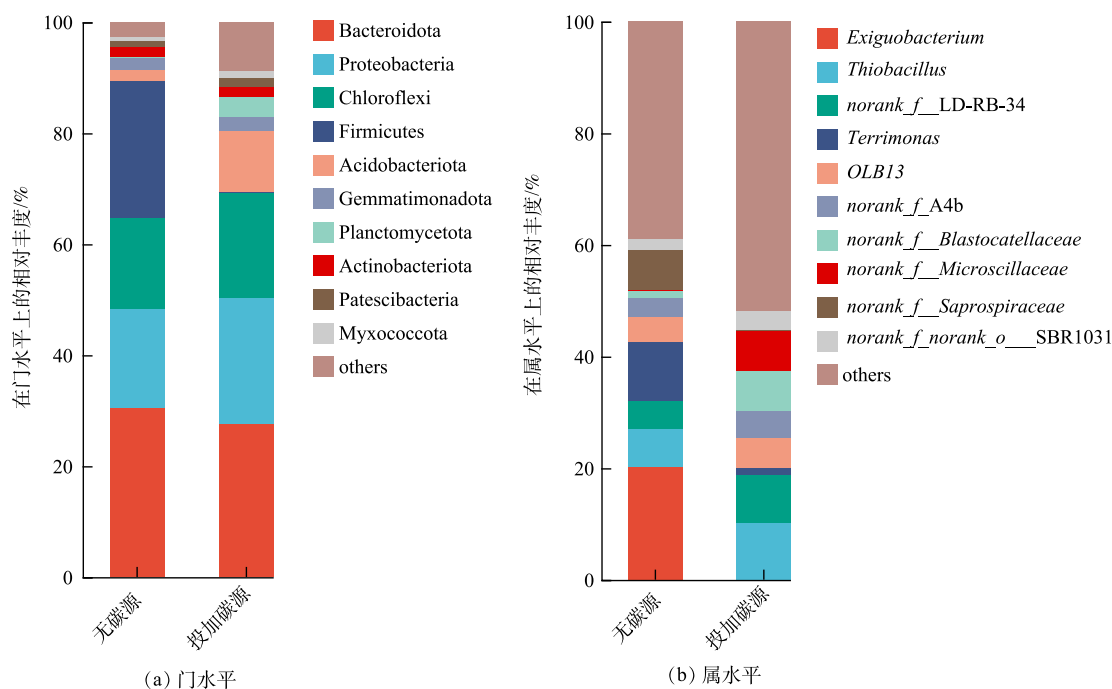


图 9 有机物投加前后微生物菌群结构门水平和属水平

Fig. 9 Microbial community structure at the phylum and genus level before and after organic matter addition

Chloroflexi 促进了系统内其余微生物的生长。厚壁菌门 (Firmicutes) 作为有机物投加前的主要菌门, 主要进行自养反硝化作用, 但投加乙酸钠之后, 其相对丰度从 24.63% 大幅降至 0.15%, 可能是其并不适应有机物的影响, 对其反应很敏感导致生长繁殖受到严重阻碍, 而大多数异养和化能自养反硝化细菌属于的变形菌门 (Proteobacteria) 较为适应有机物投加后的环境, 活性增强, 与厚壁菌门争夺底物, 也是其相对丰度大幅度下降的原因之一。

属水平上微生物菌群结构分析: 对反应器内微生物群落从属水平分析, 如图 9(b) 所示。厚壁菌门 (Firmicutes) 的微小杆菌属 (*Exiguobacterium*), 变形菌门 (Proteobacteria) 的硫杆菌属 (*Thiobacillus*) 都是以硫为底物进行反硝化作用的菌种, 证明了此系统中具有自养反硝化功能, 且硫杆菌属是以硫为电子供体的自养反硝化体系中最常见的菌属之一^[27]。但投加乙酸钠之后, *Exiguobacterium* 的相对丰度大幅度降低 (20.21% 至 1.02%), 而 *Thiobacillus* 的相对丰度却从 6.83% 上升至 10.32%, 说明 *Exiguobacterium* 对于有机负荷的冲击没有抵抗能力, 其生长不适应有机物环境, 而 *Thiobacillus* 表现出对有机新环境更强的适应性。而 *Terrimonas* 是异养反硝化菌属, 在投加 C/N 为 0.5 的乙酸钠之后, 其相对丰度反而由 10.68% 下降至 1.20%。

系统中自养反硝化菌 *Thiobacillus* 占比大幅度增长与亚硝酸盐的明显积累现象共同说明在 SAPD 体系中, 低浓度乙酸钠的投加, 非但没有促进异养反硝化菌的生长, 反而促进了自养反硝化菌的大幅生长, 而反应使得系统中产生的 S^0 含量降低, 故有机物在 SAPD 系统中的作用主要是通过提高固体硫的生物利用率和促进硫杆菌属的增长来发挥作用。

3 结论

1) SAPD 系统在 S/N=1.0 时成功启动且可平稳运行, 不同碳源批次实验结果表明: 与甲醇、乙醇、葡萄糖相比, 乙酸钠对 NAE 的提高效果最为明显, 且投加乙酸钠会使硫单质生成率由 40.43% 下降至 30.21%, 乙酸钠对硫自养短程反硝化的影响主要在硫还原过程发挥作用。

2) 在 SAPD 反应器实际运行中持续投加乙酸钠, 与投加前相比, NAE 由 65.00% 提高至 73.70%, 且 NRE 也由 80.6% 提高至 89.15%。

3) 反应器内门水平上与反硝化相关的变形菌门 (*Proteobacteria*) 相对丰度由 17.83% 升至 22.58%, 而厚

壁菌门 (*Fimicutes*) 作为有机物投加之前的主要菌属, 在乙酸钠投加后其丰度出现大幅度下降, 有机物对其活性产生抑制作用; 在属水平上, 硫杆菌属 *Thiobacillus* 的相对丰度出现较大幅度增长, 异养反硝化菌 *Terrimonas* 相对丰度由 10.68% 下降到 1.20%, 说明低浓度有机物的投加不但不会促进异养反硝化菌属增长, 反而促进了硫杆菌属的增长, 进而使得系统中的亚硝酸盐稳定积累。

参考文献

- [1] 操卫平, 冯玉军, 李正山, 等. 高氮低碳废水生物脱氮研究进展[J]. *化工环保*, 2004(4): 266-270.
- [2] 沈耀良. 城市污水处理工艺: 生命周期评价[J]. *苏州科技大学学报(工程技术版)*, 2019, 32(1): 1-9.
- [3] 杜睿, 彭永臻. 城市污水生物脱氮技术变革: 厌氧氨氧化的研究与实践新进展[J]. *中国科学: 技术科学*, 2022, 52(3): 389-402.
- [4] NAUFAL M, WU J H. Chemomixotrophy and stress adaptation of anammox bacteria: A review[J]. *Water Research*, 2024, 257: 121663.
- [5] XIN X, LI B X, LIU X, et al. Starting-up performances and microbial community shifts in the coupling process (SAPD-A) with sulfide autotrophic partial denitrification (SAPD) and anammox treating nitrate and ammonium contained wastewater[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 331: 117298.
- [6] 沈明玉, 吴莉娜, 李志, 等. 厌氧氨氧化在废水处理中的研究及应用进展[J]. *中国给水排水*, 2019, 35(6): 16-21.
- [7] 平彩霞, 周鑫, 聂裕婷. 硫自养反硝化工艺亚硝酸盐积累研究进展[J]. *工业水处理*, 2024, 44(8): 21-28.
- [8] LI Y Y, HAN Q, LI B. Engineering-scale application of sulfur-driven autotrophic denitrification wetland for advanced treatment of municipal tailwater[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 379: 129035.
- [9] WANG T, LI X, WANG H, et al. Sulfur autotrophic denitrification as an efficient nitrogen removals method for wastewater treatment towards lower organic requirement: A review[J]. *Water Research*, 2023, 245: 120569.
- [10] SUN Y, NEMATI M. Evaluation of sulfur-based autotrophic denitrification and denitrification for biological removal of nitrate and nitrite from contaminated waters[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 114: 207-216.
- [11] LIU Z H, LIN W M, LUO Q J, et al. Effects of an organic carbon source on the coupling of sulfur (thiosulfate)-driven denitrification with Anammox process[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 335: 125280.
- [12] QIU Y Y, ZHANG L, MU X T, et al. Overlooked pathways of denitrification in a sulfur-based denitrification system with organic supplementation[J]. *Water Research*, 2020, 169: 115084.
- [13] 殷同昕, 操家顺, 张腾, 等. 不同碳源下反硝化亚硝酸盐积累情况研究进展[J]. *应用化工*, 2020, 49(11): 2919-2925.
- [14] 张文勃. 硫代硫酸盐驱动脱氮与厌氧氨氧化耦合处理硝酸盐废水的研究[D]. 西安: 长安大学, 2023.
- [15] 国家环境保护总局. 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.
- [16] REN Y, YU G, SHI C P, et al. Majorbio Cloud: A one-stop, comprehensive bioinformatic platform for multiomics analyses[J]. *Imeta*, 2022, 1: e12.
- [17] YANG Y, CALLEJA P P, LIU Y W, et al. Assessing intermediate formation and electron competition during thiosulfate-driven denitrification: An experimental and modeling study[J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56(16): 11760-11770.
- [18] 贾艳萍, 薛东奇, 刘启帆, 等. 亚硫酸盐活化技术及其在废水处理中的应用[J]. *化工进展*, 2022, 41(1): 418-426.
- [19] LIU Y H, WANG Y M, FAN G D, et al. Metagenomics reveals functional species and microbial mechanisms of an enriched thiosulfate-driven denitrification consortia[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 341: 125916.
- [20] 元毛毛, 刘研萍, 陈雪, 等. 不同有机负荷下混合蔬菜废物厌氧消化性能分析[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(18): 213-218.
- [21] 阎宁, 金雪标, 张俊清. 甲醇与葡萄糖为碳源在反硝化过程中的比较[J]. *上海师范大学学报(自然科学版)*, 2002(3): 41-44.
- [22] WANG Y, SABBA F, BOTT C, et al. Using kinetics and modeling to predict denitrification fluxes in elemental-sulfur-based biofilms[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2019, 116(10): 2698-2709.
- [23] ZHANG L, ZHANG Z F, SUN R R, et al. Self-accelerating sulfur reduction via polysulfide to realize a high-rate sulfidogenic reactor for wastewater treatment[J]. *Water Research*, 2018, 130: 161-167.
- [24] LIANG S, ZHANG L, JIANG F. Indirect sulfur reduction via polysulfide contributes to serious odor problem in a sewer receiving nitrate dosage[J]. *Water Research*, 2016, 100: 421-428.
- [25] 王亚鑫, 吴玉, 张洪琳, 等. 微生物硫代谢及其驱动下建立的生物生态关系[J]. *微生物学报*, 2022, 62(3): 930-948.
- [26] GABARRÓ J, HERNÁNDEZ-DEL AMO E, GICH F, et al. Nitrous oxide reduction genetic potential from the microbial community of an intermittently aerated partial nitrification SBR treating mature landfill leachate[J]. *Water Research*, 2013, 47(19): 7066-7077.
- [27] 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.

(责任编辑: 曲娜)

The impact of different types of organic carbon sources on sulfur autotrophic partial denitrification processes

SHI Zhiyang¹, ZHOU Juncui², NIE Xianling¹, LIU Quan¹, LI Peng¹, ZHANG Hui¹, CHEN Wanqiu³, LI Xiaoling^{4,*}

1. School of Civil Engineering, Chang'an University, Xi'an 710061, China; 2. Jinan Urban and Rural Construction Development Service Center, Jinan 250000, China; 3. Environmental and Social Development Research Center, Chang'an University, Xi'an 710061, China; 4. Key Laboratory of Water Supply and Sewage Engineering, Ministry of Housing and Urban-Rural Development, Chang'an University, Xi'an 710061, China

*Corresponding author, E-mail: lixiaoling20030327@126.com

Abstract The study investigated sulfur autotrophic partial denitrification (SAPD) process by utilizing an anaerobic sequencing batch reactor (ASBR), with thiosulfate serving as the electron donor. The effects of different organic carbon sources (methanol, ethanol, sodium acetate, glucose) on SAPD nitrite accumulation were investigated by batch experiments, and then the results of batch experiments were applied to ASBR system to verify the enhancement effect. When the S/N ratio was 1, the ASBR system successfully operated, achieving a nitrate removal efficiency (NRE) of 95.89% and a nitrite accumulation efficiency (NAE) of 52.40%. Results from batch experiments with a C/N ratio of 0.5 indicated that the effectiveness of nitrite accumulation was as follows: sodium acetate > glucose > methanol $\approx$ ethanol > no carbon source. Among these, sodium acetate had the most significant enhancement on nitrite accumulation, increasing the NAE from 50.52% to 61.09%, while the elemental sulfur production rate decreased from 40.43% to 30.21%. The optimization results in ASBR show that, the addition of sodium acetate further enhanced the NO_3^- -N removal and NO_2^- -N accumulation ability. The NAE increased from 65.00% to 73.70%, and the NRE also improved from 80.6% to 89.15%. High-throughput sequencing results indicated that the addition of sodium acetate significantly increased the abundance of Proteobacteria in the SAPD system, while the activity of Firmicutes was inhibited. The relative abundance of *Thiobacillus* increased from 6.83% to 10.32%, and the relative abundance of *Terrimonas* decreased from 10.68% to 1.20%. Overall, the addition of low concentrations of organic matter can enhance the overall effectiveness of the SAPD process.

Keywords sulfur autotrophic partial denitrification; nitrate removal; organic carbon source; NO_2^- -N accumulation; microbial community