



PAC 促进直接电子传递强化厌氧消化处理 SMX 废水的机制

王永斌^{1,2}, 成宇², 张唯^{2,3,✉}, 古振澳^{2,3}, 胡承志^{1,2,3}

1. 郑州大学河南先进技术研究院, 郑州 450001; 2. 中国科学院生态环境研究中心, 环境水质学国家重点实验室, 北京 100085; 3. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要 抗生素会显著抑制厌氧消化, 探究简便易行的促进种间电子转移的方法, 对于优化养殖、制药等废水的处理与资源化具有重要意义。本文考察了粉末活性炭 (powdered activated carbon, PAC) 强化厌氧消化处理高浓度磺胺甲恶唑 (sulfamethoxazole, SMX) 废水的效能与机制。高浓度 SMX 抑制了厌氧消化, 使得最大甲烷产量降低 13%, 而向厌氧污泥中添加 4 g·g⁻¹ (以 COD 计) 或 8 g·g⁻¹ PAC 均抵消了这种不利影响, 相较于 SMX 暴露控制组提升了 22.4%, 显著改善了甲烷生成。PAC 会对厌氧代谢活性产生正向调控, 丰富了污泥中 ATP、Cyt C 和辅酶 F₄₂₀ 这些在能量转换过程中的重要物质, 还丰富了潜在的种间直接电子转移 (DIET) 菌群和 SMX 降解相关的优势属。PAC 会强化挥发性脂肪酸 (Volatile Fatty Acids, VFAs) 氧化细菌 (*Syntrophobacter* 和 *Syntrophomonas* 等) 和产甲烷菌 (*Methanosarcina*) 的 DIET 过程, 促进 VFAs 转化为甲烷。

关键词 磺胺甲恶唑; 厌氧生物降解; 产甲烷; 种间直接电子转移

制药废水水质成分复杂, 往往同时含有较高浓度的有机物 (COD 可达 4 450~32 500 mg·L⁻¹)、无机盐等, 属于难处理的高浓度工业废水。据估计, 全世界产生的制药废水中约有一半未经特殊处理就被排放^[2], 其中 mg·L⁻¹ 水平的高质量浓度药物活性化合物会造成严重水污染^[3], 是对环境健康的巨大威胁。我国在 2008 年就已经制定了各类制药废水的排放标准, 目前处理方法主要包括物理化学和生物处理技术, 实际工程中往往需将二者结合提高处理效能^[4-5]。其中, 以厌氧消化为代表的生物处理技术不但可以有效去除废水中的污染物, 还能同时将有机物转化为甲烷等资源, 具有污泥产量低、降本增效的优点, 因此是实现制药废水减量化、无害化和资源化的重要技术路径^[6-7]。然而, 制药废水中含有大量的生物毒性物质, 对微生物具有毒害作用, 严重影响了活性微生物的正常功能。特别是我国每年会产生近 2000 万吨含有磺胺类抗生素的制药废水, 而磺胺甲恶唑 (sulfamethoxazole, SMX) 是使用最广泛的磺胺类抗生素之一^[8], 其会在叶酸代谢周期中充当竞争性抑制剂, 干扰对氨基苯甲酸的产生, 对微生物细胞产生毒性作用, 减缓脂肪酸氧化细菌繁殖^[9], 导致 VFAs 的积累, 使厌氧系统逐步丧失功能^[10]。因此, 如何控制高浓度 SMX 制药废水的毒性, 强化厌氧微生物的群落和功能的稳定性至关重要。

粉末活性炭 (powdered activated carbon, PAC) 是强化高浓度有机废水厌氧消化处理的重要策略。PAC 作为一种典型多孔物质, 具有理想的比表面积^[11], 其丰富发达的内部孔道一方面可以有效地吸附废水中的有机物和杂质, 提高难降解废水的可生化性^[12]; 另一方面, 还可以为厌氧微生物提供附着生长的物理介质, 辅助厌氧微生物的生长繁殖, 提高厌氧消化反应器内微生物的数量^[13-14]。更重要的是, PAC 作为良好的电子导体, 附着在其表面的厌氧微生物可以借助其降低电子转移的内阻, 诱导 VFAs 氧化细菌和产甲烷菌的种间直接电子传递 (direct interspecies electron transfer, DIET) 来强化产甲烷过程, 提高厌氧消化效率^[15]。由此可见, PAC 有望实现生物毒性控制、微生物增殖和活化协同, 提高厌氧消化处理有毒有机废水的稳定性,

收稿日期: 2024-03-25; 录用日期: 2024-05-27

基金项目: 长江生态环境保护修复联合研究第二期 (2022-LHYJ-02-0303), 国家自然科学基金资助项目 (52200101、52100109)

第一作者: 王永斌 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向为厌氧膜生物反应器处理技术, 13931449466@163.com ✉通信作者: 张唯 (1994—), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为太阳能净水技术, weizhang@rcees.ac.cn

为生物毒性突出的制药废水的厌氧消化处置提供可能。多项研究表明, PAC 的添加一方面可以缓解挥发性脂肪酸累积、氨氮浓度过高对厌氧消化的不利影响^[16], 另一方面也有助于提升厌氧消化去除 COD、浊度、胶体和抗生素的能力^[17]。然而, PAC 是否可以在高浓度 SMX 存在的情况下缓解厌氧消化抑制、维持厌氧消化期间微生物群落的稳定还有待确定。基于此, 本研究通过在厌氧消化过程中引入 PAC 作为流动电子传递体, 探讨添加 PAC 对暴露于高浓度 SMX 废水厌氧消化的影响。重点研究对比了 PAC、SMX 对产甲烷效率和 VFAs 利用率的影响, 并且研究了添加 PAC 的反应器中功能微生物的特性和厌氧代谢活性。

1 材料与方法

1.1 实验设置和批次测定

接种污泥来自北京市高碑店污水处理厂热水解后厌氧消化池的污泥。采用 1 mm 孔径的滤网过滤, 从而去除大颗粒物后进行预培养。配水模拟山东省某制药公司高浓度 SMX 废水^[18], 由乙酸钠、丙酸钠、丁酸钠、 NH_4Cl 和 KH_2PO_4 根据 C:N:P = 100:5:1 的组成配置, 其中 SMX 质量浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。SMX 质量浓度的选定一方面是因为现有的研究提出 SMX 达到 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上时可能会抑制厌氧消化的效率^[19], 另一方面也是模拟了上述制药废水中的质量浓度 ($2.5 \sim 155 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。此外, 加入 2 mL 的微量元素溶液^[20], 微量元素溶液中含有 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{MgSO}_4$ 、 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 、 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{FeCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ZnCl}_2$ 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{CuCl}_2$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{H}_3\text{BO}_3$ 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{AlCl}_3$ 、 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NiCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{KI}$, 每升配水中加入 2 mL 上述微量元素溶液。用 HCl 和 NaOH 溶液将 pH 调节至 6.8。所选用的活性炭粒径为 47-80 μm , 比表面积为 $853.42 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, 使用去离子水冲洗 3 次, 在 60°C 的烘箱中干燥至恒重, 加入到厌氧反应器中。

该实验使用全自动甲烷潜力测试系统 (AMPTS® II, Bioprocess Control AB, 瑞典) 进行, 本测试系统由中温厌氧消化单元、 CO_2 吸收单元和甲烷体积记录单元组成^[21], 可以实时监测甲烷产量, 其他指标需取样检测, 在本文 1.2 中。每个反应器含有 200 mL 接种物和 200 mL 底物的混合物, 每瓶的混合液悬浮固体浓度 (MLSS) 为 $28.03 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 混合液挥发性悬浮固体浓度 (MLVSS) 为 $9.98 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, COD 约为 $28\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。PAC 投加量参考相关研究^[22-23], $1 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ (以 COD 计) 以下的投加量对厌氧消化的强化效果较差, 当投加量达到 $25 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 甲烷产量相较于 $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 差别不大, 故在研究中选择了 $4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC。批量厌氧生化甲烷潜力测试 (biochemical methane potential, BMP) 的实验条件主要分为 4 类: 1) 作为对照的未加干预的厌氧消化; 2) 分别添加 $4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 粉末活性炭 (PAC) 的厌氧消化; 3) 添加 SMX 的厌氧消化; 4) 同时添加 PAC 与 SMX 的厌氧消化 ($4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX 和 $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX)。每组实验 1 式 2 份, 水浴温度控制在 $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$, 设置 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 间歇搅拌, 5 min 搅拌和 5 min 静止交替进行。

1.2 理化性质测试分析

甲烷产量由配备气体流量计的 AMPTS II 自动测量。对每个反应器进行取样, 其中 MLSS 和 MLVSS 按照标准方法测定^[23], 用 pH 计 (H198103, HANNA, Italy) 测量 pH。然后通过 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤污泥样品, 再进行进一步分析。SCOD 使用哈希消解器 (DRB 200, 哈希, 美国) 和紫外分光光度计 (DR 3 900, 哈希, 美国) 测定。通过气相色谱仪 (FID+FPD)(2010Plus, 日本岛津) 和 Agilent DB-FFAP 123-3 232 色谱柱 (30 m, 0.32 mm , $25 \mu\text{m}$) 检测 VFAs 的质量浓度^[24]。实验结束后, 用购自上海酶联生物技术有限公司的 ELISA 试剂盒测定 ATP、细胞色素 C (cytochrome c, Cyt C) 和辅酶 F_{420} 。

1.3 微生物群落测试分析

实验结束时, 从各组反应器中收集污泥样品, 并在 -80°C 下保存, 用于 DNA 提取和进一步分析。根据 E.Z.N.A.® soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, 美国) 说明书进行微生物群落总 DNA 提取。细菌使用 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V4-V5 可变区进行 PCR 扩增。古菌采用 524F10extF(5'-TGYCAGCCGCCGCGGTAA-3') 和 Arch958RmodR(5'-YCCGGCGTTGAVTCCAATT-3') 对 16S rRNA 基因 V4-V5 可变区进行 PCR 扩增^[25]。使用 ABI GeneAmp®PCR 热循环仪 (ABI, CA, USA) 扩增。Illumina Miseq-PE300 测序服务由上海美吉生物医药科技有限公司提供。

1.4 数据分析

利用修正的 Gompertz 模型 (式 (1)) 拟合实验观测的 CH_4 累积曲线^[26]。VFAs 的变化与一级动力学拟合方程如式 (2)^[22] 所示。

$$G_t = G_m \cdot \exp \left\{ -\exp \left[\frac{R_m \cdot e}{G_m} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

式中: G_t 是实际累计甲烷产量, $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ (以 VS 计); G_m 是最大甲烷产量, $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ (以 VS 计); R_m 是每日最大甲烷产率, $\text{mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$ (以 VS 计); $e=2.7183$; λ 是滞后期, d。进行非线性回归分析以估计动力学常数 (λ 和 R_m) 的值。根据 BMP 测得的甲烷产量, 使用初始估计值来获得数据的最佳拟合模型。

$$\frac{\ln C_0}{\ln C_t} = k \quad (2)$$

式中: C_0 、 C_t 为特定底物的初始质量浓度和时刻 t 的质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), k 是对应的一阶动力学常数 (h^{-1})。对六组实验的微生物群落结构进行主成分分析 (principal component analysis, PCA)^[27], 并使用 Canoco 5 进行了冗余分析 (redundancy analysis, RDA)^[28]。

2 结果与讨论

2.1 SMX 存在下 PAC 对甲烷生成和动力学的影响

如图 1 所示, 通过测定不同反应器的累积甲烷产生曲线可以发现: 对照组在启动初期便产生了甲烷, 滞后并不明显, 这与底物中存在的易于生物利用的乙酸盐有关^[29]。PAC 的加入进一步提升了初期的甲烷快速生成, 说明 PAC 能够促进参与厌氧消化的微生物的活性^[30]。相比之下, SMX 的引入显著降低了甲烷的初期产量, 体系的厌氧消化进程呈现出明显的滞后效应。经过 13 d 的反应, 对照组的累积甲烷产量为 $248.56 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$; 而添加了 $4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC 和 $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC 的 2 组反应器中的累积甲烷产量在第 13 天时分别达到了 $279.40 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $279.82 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 分别比对照组提高了 12.4% 和 12.5%, 这说明 PAC 的引入能够促进厌氧消化的快速发生, 提高厌氧消化的电子利用效率。

相反地, 添加 SMX 的反应器甲烷产量下降至 $216.95 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 相比对照组低了 13%, 说明 SMX 对于厌氧消化过程产生了明显的抑制效果。通过加入 PAC, SMX 对厌氧消化过程的抑制效果得到了逆转。如图 1 所示, PAC 的投加量分别为 $4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 甲烷产量相比对照组分别提高了 6.2% 和 9.4%。由此可见, 引入的 PAC 可能减少了 SMX 对微生物的干扰, 从而强化了厌氧消化过程的发生^[13]。

修正的 Gompertz 模型良好的拟合了各实验组的累积甲烷产量, 明确了 PAC、SMX 等物质共存条件下厌氧消化体系的动力学参数 (表 1)。一方面, 在添加 PAC 的反应器中, 拟合最大甲烷产率和最大甲烷产量均高于对照组, 且 PAC $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 的滞后期 ($\lambda=1.64 \text{ d}$) 相对于对照组 ($\lambda=2.87 \text{ d}$) 缩短了 43%, 每日最大甲烷产率也由对照组的 $36.74 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$ 提升至 $38.58 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$ ($4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC) 和 $37.95 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$

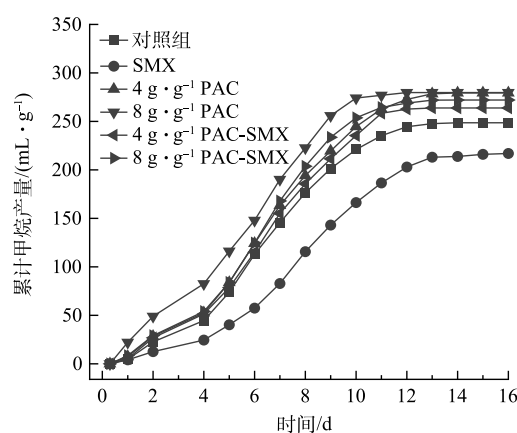


图 1 对照、SMX 和 PAC-SMX 反应器的累积甲烷产量变化
Fig. 1 Cumulative methane production in control, SMX, and PAC-SMX systems

表 1 使用修正的 Gompertz 模型估计的动力学参数
Table 1 Kinetic parameters estimated using the modified Gompertz model

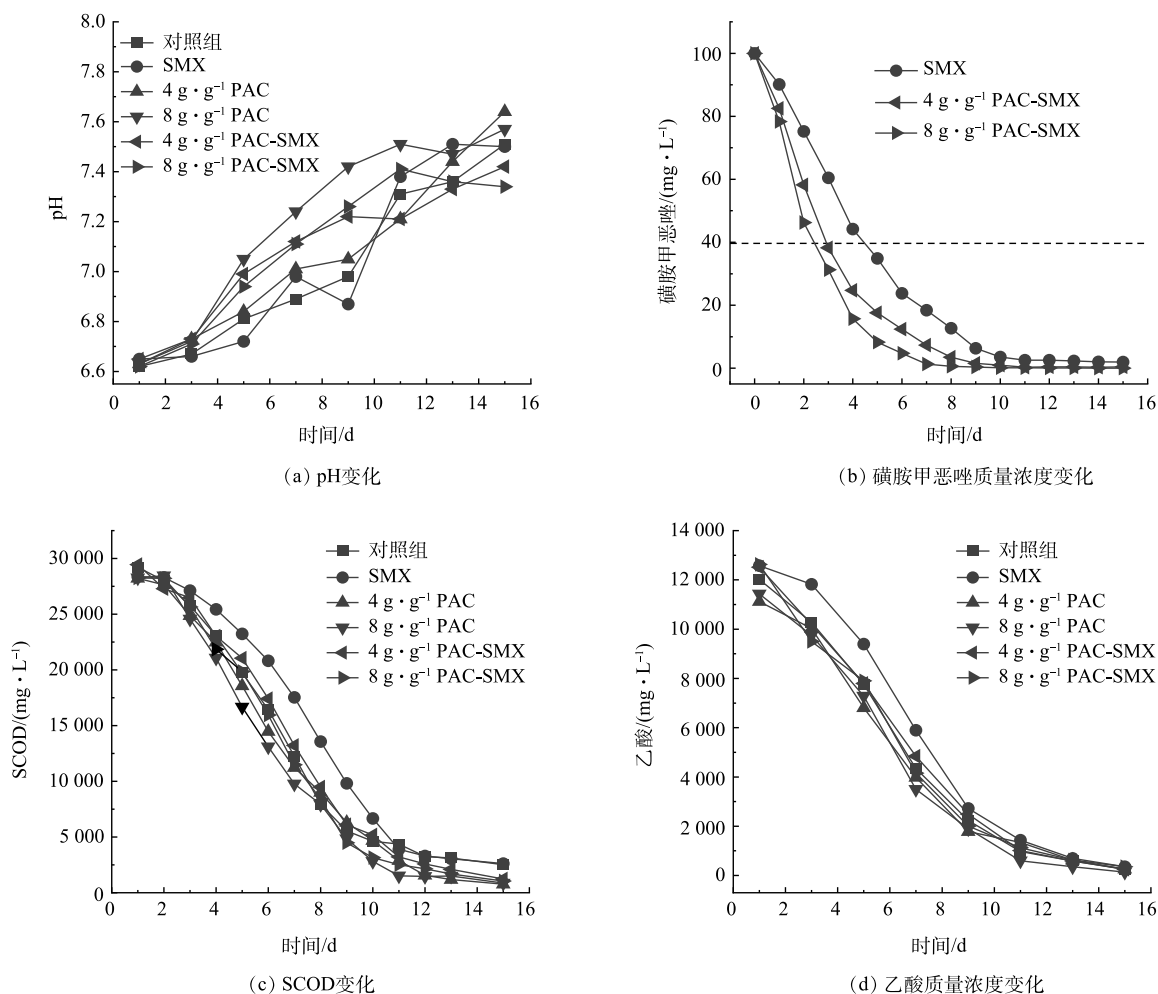
名称	$G_m/$ ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	$R_m/$ ($\text{mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$)	λ/d	R^2	$G_t/$ ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)
对照组	259.53	36.74	2.87	0.995 3	248.56
SMX	262.94	31.26	3.86	0.995 2	240.48
$4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC	294.53	38.58	2.68	0.994 6	279.4
$8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC	297.06	37.95	1.64	0.981 0	279.8
$4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX	278.28	38.39	2.82	0.992 2	263.88
$8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX	282.68	43.53	2.93	0.991 2	272.04

($8 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC)。相反, SMX 组的滞后期 ($\lambda=3.86 \text{ d}$) 与对照组相比延长了 34%, 每日最大甲烷产率也下降至 $31.26 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$ 。PAC 的引入成功改善了 SMX 造成的滞后效应: $4 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX ($\lambda=2.82 \text{ d}$) 和 $8 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX 的滞后期 ($\lambda=2.93 \text{ d}$) 与对照组非常接近; 与此同时, PAC 有效提升了 SMX 暴露下的每日最大甲烷产率: $4 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $8 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 的 PAC-SMX 组分别可以将 R_m 提高至 $38.39 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$ 和 $43.53 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$, 高于对照组的同时也几乎与 $4 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC、 $8 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC 的体系一致。因此, 从动力学上看, SMX 对甲烷生成具有明显的抑制作用, 而 PAC 可以逆转 SMX 的抑制作用, 提高甲烷生成速率和产量。

2.2 SMX 与 PAC 对厌氧消化底物利用的影响

pH、SCOD、VFAs 是厌氧消化过程中的重要理化指标, 反映和决定了厌氧消化过程的代谢状态和性能^[31]。在产甲烷过程中, 乙酸、甲酸等小分子有机物会转化为甲烷、二氧化碳, 这个过程消耗了有机酸, 导致 pH 升高。如图 2(a) 所示, 各反应器的 pH 由初始时的 6.6 逐步提升。SMX 的加入导致初期 pH 上升速率相比对照组明显减慢, 直到第 4~5 天才快速上升。这充分对应了图 2(b) 中所示 SMX 在第 4~5 天才显著下降至 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的结果, 对于厌氧体系的干扰能力明显下降。相比之下, 得益于加入 PAC 的吸附和微生物的同步降解, SMX 在体系内的质量浓度在第 2~3 天便下降至 $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水平; 对应地, 加入 PAC 的所有组在初始阶段 pH 都快速上升; 说明 PAC 可以显著降低 SMX 对于厌氧消化过程的影响^[32]。

如图 2(c) 所示, 在第 1 天中, 对照组中的 SCOD ($29\ 215 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 高于所有 PAC 组 ($28\ 215 \sim 28\ 369 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。这是因为 PAC 能够有效吸附可溶性有机物, 这些有机物也可以作为附着其表面的产甲烷菌的碳源, 促进产甲烷菌的生长和代谢, 可以更快消耗量底物中的 VFAs。最终, 在对照组、SMX、 $4 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC、 $4 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX、 $8 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC、 $8 \cdot \text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX 中, 后续的 SCOD 的消耗比例分别为 89.4%、89.7%、



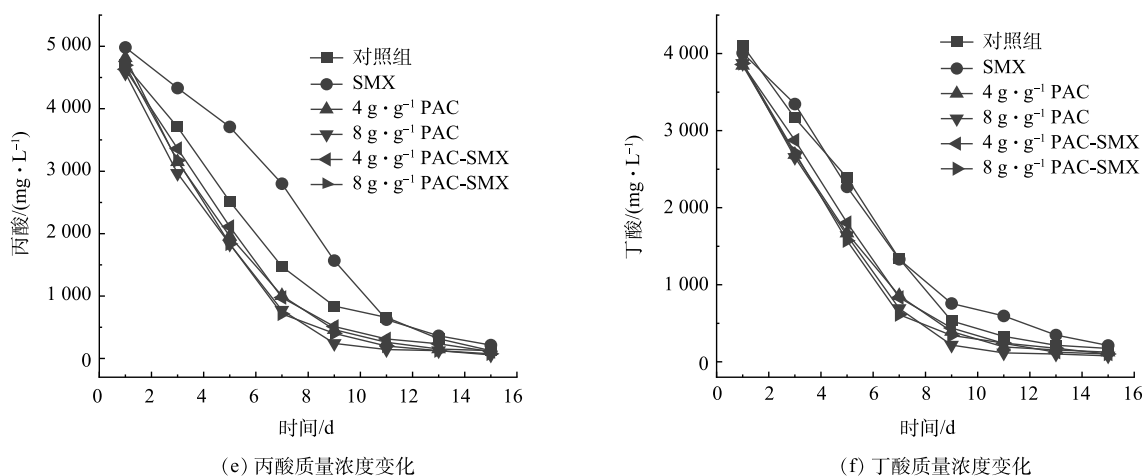


图 2 各组反应器的 pH 变化及磺胺甲恶唑、SCOD 和挥发性脂肪酸的质量浓度变化 Fig. 2 Changes in pH and mass concentrations of sulfamethoxazole, SCOD and volatile fatty acids in each group of reactors

95.8%、92.6%、94.7% 和 94.1%。即使存在 SMX, PAC 的加入也可以促进微生物对 VFAs 的利用, 提高其最终的利用比例。因此, PAC 能够促进微生物对可溶性有机物的消耗, 有利于提高微生物群落的活性。

通过测定不同实验组对于 VFAs 底物的利用速率可以发现: SMX 的存在会抑制厌氧消化中乙酸盐和丙酸盐的代谢, 动力学常数 (k) 相比于对照组分别降低了 15.8% 和 47.6%(图 2(d)、(e), 表 2)。丙酸的利用速率降低可能是由于 SMX 对产酸细菌叶酸代谢过程的干扰, 而叶酸是微生物生长和 DNA 合成中的重要物质, 叶酸代谢的抑制可能会对产酸细菌的代谢活性产生不利影响^[33-34], 而乙酸利用显著衰减则归因于 SMX 对产甲烷菌活性抑制的结果^[35]。直到第 4~5 天, 乙酸盐和丙酸盐的利用速率才显著加快, 这对应于 SMX 的质量浓度降低至 $\sim 40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 2(b))。而单纯添加 PAC 有效改善了乙酸盐和丙酸盐的利用, 其动力学常数 k 相比对照组最多可分别提升 15.4% 和 46.5%。即使在 SMX 存在的体系下投加 PAC 也可以有效阻止 SMX 的抑制效应, $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX 组对乙酸盐和丙酸盐的动力学常数 k 相较 SMX 组可分别提升 40.8% 和 190.9%, 且均高于对照组。这是由于 PAC 作为流动电子传递体, 提高了产酸细菌的电子供给与产甲烷菌的电子接受效率, 从而提升了对乙酸盐和丙酸盐的利用效率。相比而言, SMX 对丁酸盐的利用并无明显抑制 (如图 2(f)), 这是由于丁酸盐的生物可利用性相比乙酸和丙酸盐较弱, 微生物在厌氧消化初期会优先利用乙酸和丙酸盐^[36-37]; 所以相比于对照组, 无论是否加入 SMX, 丁酸盐的利用速率无明显差异。然而, 添加 PAC 进一步增强了丁酸盐的利用, $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC 的 k 相较对照组提升了 51.8%, $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX 的 k 相较 SMX 组提升了 59.2%, 且高于对照组。结合之前的结果 (图 2(c)) 可以证明, 通过添加 PAC, PAC 表面可以同时富集有机物 (包括丁酸盐分子) 和附着厌氧消化细菌 (如丙/丁酸盐氧化细菌和产甲烷八叠球菌)^[38], 借助种间直接电子传递作用, 可以构建电活性微生物与产甲烷菌之间的联系, 进而加速 VFAs 的利用和提高甲烷的产率。

2.3 SMX 与 PAC 对厌氧微生物代谢活性的影响

VFAs 利用速率的提升与厌氧代谢活性密切相关, ATP 为能量储存和运输物质, 而 Cyt C 和辅酶 F_{420} 在能量转换过程中也扮演着重要角色^[39]。作为氧化还原介质的 PAC^[30] 促进了细胞的 ATP 合成, 为厌氧代谢提供更多的能量^[40]。如图 3(a) 所示, 对照组、SMX、 $4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC、 $4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX、 $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC、 $8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$

表 2 表 2 挥发性脂肪酸利用速率的一级动力学拟合

Table 2
Table 2 First-order kinetics of volatile fatty acids degradation

名称	乙酸		丙酸		丁酸	
	k/h^{-1}	R^2	k/h^{-1}	R^2	k/h^{-1}	R^2
对照组	0.006 77	0.948	0.007 96	0.982	0.007 39	0.971
SMX	0.005 02	0.919	0.004 17	0.978	0.007 48	0.970
$4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC	0.007 27	0.954	0.010 41	0.990	0.010 12	0.989
$8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC	0.007 81	0.929	0.011 66	0.978	0.011 22	0.971
$4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX	0.006 35	0.974	0.010 29	0.972	0.010 11	0.968
$8 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ PAC-SMX	0.007 07	0.950	0.012 13	0.967	0.011 91	0.962

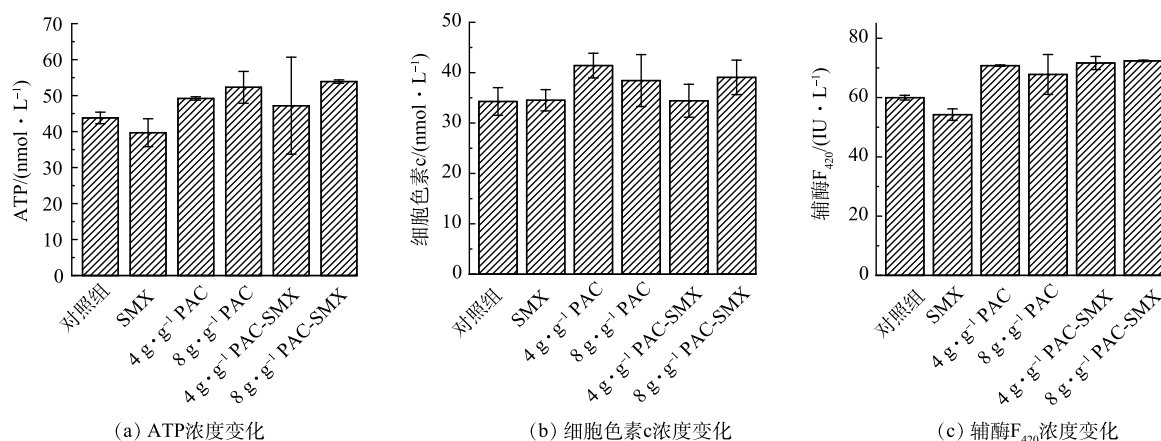


图3 各组反应器的厌氧代谢活性指标的变化

Fig. 3 Changes in anaerobic metabolic activity indices in each group of reactors

PAC-SMX 6 个反应器中的 ATP 浓度分别为 43.8、39.7、49.2、47.2、52.3 和 53.9 nmol·L⁻¹。这一结果表明 PAC 增强了古菌和细菌的能量产生和代谢活性。PAC 可以通过促进细胞外呼吸使底物更彻底的氧化,使微生物通过氧化磷酸化产生 ATP。在此过程中电子沿呼吸链转移,添加 PAC 可与微生物形成较高的电位差,促进质子动力的形成并产生 ATP^[41]。另外,质子跨膜的速度直接影响电子转移的速度,因此,ATP 含量可以反映电子传递的效率,这也是 PAC 组底物利用效率更高的重要原因。

一方面,ATP 的增加为 Cyt C 等蛋白质合成提供了必要的能量,这有助于提高 PAC 系统中 Cyt C 对于 DIET 的形成效率,Cyt C 传递过程本身也可参与分解代谢,产生 ATP^[42]。Cyt C 通过改变卟啉环中铁原子的价态,可实现电子在电子供体和受体之间的可逆转移。在厌氧呼吸中,Cyt C 主要负责将电子从复合体Ⅲ传递给复合体Ⅳ,参与厌氧呼吸中电子的传递过程^[43-45]。为了完成细胞外呼吸作用,需要更多的位于细胞外质和外膜的 Cyt C 数量。因此,如图 3(b) 所示,对照组 SMX、4 g·g⁻¹ PAC、8 g·g⁻¹ PAC、4 g·g⁻¹ PAC-SMX、8 g·g⁻¹ PAC-SMX 6 个反应器中的 Cyt C 的浓度分别为 34.3、34.5、41.4、38.4、34.4 和 39.1 nmol·L⁻¹。

另一方面,ATP 含量的增加可以促进氢营养型产甲烷过程中的电子传递($F_{420}H_2/F_{420}$ 转换),加快电子的跨膜传输和 CO₂ 的还原。鉴于辅酶 F₄₂₀ 是产甲烷菌的獨特酶,参与低氧化还原电位下甲烷产生的细胞内电子转移,辅酶 F₄₂₀ 浓度在厌氧消化系统中,通常用于反映产甲烷菌的活性^[46]。因此,测定了污泥中辅酶 F₄₂₀ 的含量(图 3(c)),对照组、SMX、4 g·g⁻¹ PAC、8 g·g⁻¹ PAC、4 g·g⁻¹ PAC-SMX、8 g·g⁻¹ PAC-SMX 的含量分别为 60.0、54.3、70.8、71.7、67.8、72.4 U·L⁻¹。4 组含 PAC 的反应器中辅酶 F₄₂₀ 的浓度有所增加,与这 4 组中最大甲烷产量的增加是一致的,同时也表明电子传递得到了加强。这表明添加 PAC 的反应器中的甲烷菌可能直接接受来自产酸菌的 e⁻ 和 H⁺,使辅酶 F₄₂₀ 向还原态 F₄₂₀H₂ 转化,参与将 CHO-H₄MPT 还原为 CH₃-H₄MPT,以驱动后续反应中甲烷的生成^[47]。另外,PAC 作为载体可以促进产甲烷菌生物膜的形成,从而进一步保护产甲烷菌免受 SMX 的抑制,使得 PAC-SMX 组的产甲烷菌活性更高。

2.4 SMX 与 PAC 对微生物群落结构的影响

本实验多样性的分析是按照使用 100% 的序列相似度作为阈值来定义引物扩增序列变体 (amplicon sequence variant, 即 ASV, 其是一种在 16S rRNA 等特定基因区域进行高通量测序时使用的序列变体定义方法)。由表 3 可以看出,各组反应器污泥中古菌与细菌的覆盖率 (coverage) 均达到 99.8% 以上,说明此次样品 ASV 归类较为合理,可真实反映反应器中微生物群落结构情况。环境微生物群落的丰富度和多样性可以通过单样本的多样性 (Alpha 多样性) 反映,其中群落丰富度 (community richness) 指数主要包括 Ace 指数和 Chao 1 指数,群落多样性 (community diversity) 指数包括 Shannon 指数和 Simpson 指数^[48]。其中,对于细菌而言,由于 SMX 的添加,SMX 组和 PAC-SMX 组的群落多样性和丰富度均有不同程度的下降,尤其以 SMX 组的下降最为明显,而 PAC 的添加改善了 SMX 对细菌丰富度的负面影响。这一现象在古菌也有类似的发现,在暴露于 SMX 的组别中,古菌的多样性随着 PAC 的投加而改善。这些结果表明,PAC 的添加可有效改善 SMX 对于群落构成的负面影响。

表 3 细菌和古菌的微生物群落多样性分析
Table 3 Analysis of microbial community diversity in bacteria and archaea

菌种	反应器	ACE	Chao1	Shannon	Simpson	覆盖率/%
古菌	对照组	20.33	20.00	0.65	0.72	99.99
	SMX	20.00	20.00	0.49	0.79	100.00
	4 g·g ⁻¹ PAC	21.00	21.00	0.75	0.68	100.00
	8 g·g ⁻¹ PAC	26.00	26.00	0.87	0.59	100.00
	4 g·g ⁻¹ PAC-SMX	20.00	19.33	0.34	0.86	99.99%
	8 g·g ⁻¹ PAC-SMX	20.00	20.00	0.63	0.74	100.00
细菌	对照组	848.02	828.75	4.53	0.03	99.80
	SMX	508	508	4.12	0.05	100.00
	4 g·g ⁻¹ PAC	782.54	764.4	3.85	0.09	99.70
	8 g·g ⁻¹ PAC	699.37	689.5	4.43	0.04	99.90
	4 g·g ⁻¹ PAC-SMX	658.79	643.27	3.65	0.11	99.80
	8 g·g ⁻¹ PAC-SMX	639.55	632.06	4.02	0.04	99.90

如图 4 所示，对各组反应器古菌群落结构在属水平上进行分析，主要属为产 *Methanosarcina*、*Methanobacterium*、*Methanoculleus* 和 *Methanomassiliicoccus*，其中，SMX 组的 *Methanosarcina* 的丰度 (52.59%) 显著低于其他组，而所有添加 PAC 的反应器 *Methanosarcina* 的丰度均高于对照组 (73.59%~92.56%)。*Methanosarcina* 是一种多功能产甲烷菌，具有乙酸型、氢型和甲基型产甲烷菌的能力，是已知代谢途径最多的产甲烷古菌属，可以利用多种底物产生甲烷，包括乙酸、甲醇、甲胺和 H₂/CO₂，可以有效地提高微生物的适应性和稳定性^[49-50]。*Methanosarcina* 是仅有的两个能够使用乙酸盐产生甲烷的属之一^[51-52]，其丰度的提升与乙酸盐降解速率的变化一致，是 PAC 系统中有效提高产甲烷的关键古菌。

细菌的种群群落结构如图 5 所示，*Firmicutes*

(厚壁菌门)、*Synergistota* (互养菌门)、*Proteobacteria* (变形菌门) 和 *Caldatribacteriota* (钙热微菌门) 为主要细菌。其中 *Firmicutes* 在 PAC 组富集增强，表明具有加速有机物降解能力的细菌在 PAC 的添加下得到了选择性富集^[53]。在 4 组添加 PAC 的反应器中，主要菌属为 *Clostridia D8A-2* (梭状芽胞杆菌属)、*Syntrophobacter* (互营杆菌属)、*Syntrophomonas* (互营单胞菌属) 和 *Candidatus_Caldatribacterium* (念珠菌)。*Clostridia D8A-2* 是 VFAs 产甲烷降解的潜在同养细菌^[54]，在 4 种添加 PAC 的反应器中的丰度为 15.3%~29.2%，而在对照组和 SMX 组分别为 11.7% 和 3.5%。*Syntrophobacter* 和 *Syntrophomonas* 在添加 PAC 组定向富集，这 2 个菌属分别在丙酸以及丁酸的互营养代谢中起到重要作用，对丙酸丁酸的利用以及厌氧消化过程的进行有利。PAC 可直接干预 *Syntrophomonas* 等和 *Methanosarcina* 间直接电子传递过程，其中，*Methanosarcina* 可通过上调的 Cyt C 更快地接受来自 *Syntrophomonas* 等的电子来还原 CO₂ 并产生 CH₄，实现在 SMX 的抑制下稳定提高 PAC 系统中产甲烷效率^[55-56]。另外，在四种添加 PAC 的反应器中丰度达到 7.1%~15.6% 的 *Candidatus_Caldatribacterium* 可能参与具有电子转移潜力的乙酸盐的同养氧化^[56]。另外，添加 PAC 的反应器与 SMX 降解相关的 *norank_f_norank_o_SBR1031* 和 *Bacillus* 的丰度均有提高，这与 PAC-SMX 组中

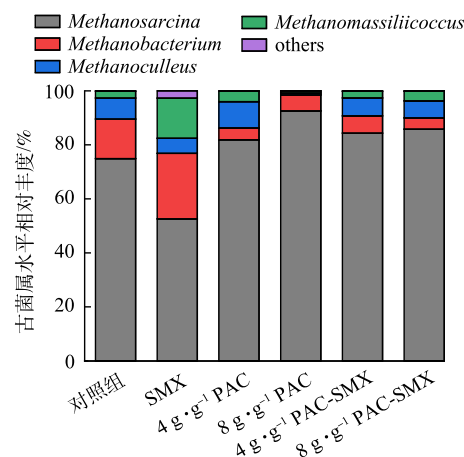


图 4 古菌微生物群落分析
Fig. 4 Microbial community analysis of archaea at the genus level in the sludge

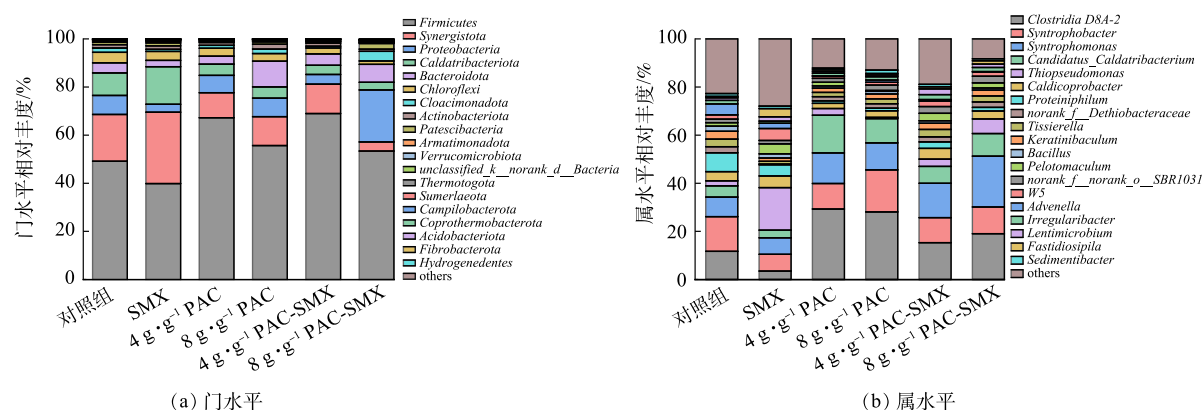


图 5 细菌微生物群落分析

Fig. 5 Microbial community analysis of bacterial in the sludge

SMX 降解速率的提升相一致^[57-58]。综上所述, PAC 的添加为富集与 VFAs 和 SMX 降解相关的优势属创造了理想的条件, 物种间的直接电子转移可能是促进 SMX 废水中有机物厌氧消化的重要原因。

通过 PCA 分析组间微生物群落的差异 (图 6(a)), 可以看出群落结构的差异分为 PAC 体系 (4 g·g⁻¹ PAC、8 g·g⁻¹ PAC、4 g·g⁻¹ PAC-SMX、8 g·g⁻¹ PAC-SMX)、SMX 体系 (SMX 组) 和 PAC、SMX 均未添加体系 (对照组) 3 种类型。这一结果揭示了 PAC 和 SMX 的引入对微生物群落结构发生明显改变。RDA 分析体现了初始条件与主要微生物群落的相关性 (图 6(b)), PAC 投加量与 *Methanosarcina*、*Clostridia D8A-2*、*Syntrophobacter*、*Syntrophomonas*、*Candidatus_Caldatribacterium*、*norank_f_norank_o_SBR1031* 和 *Bacillus* 呈正相关, 表明 PAC 对 DIET 相关菌属的富集和 SMX 降解相关菌属具有正向调控作用; SMX 对 *Syntrophobacter*、*Syntrophomonas* 和 *Methanosarcina* 等呈负相关, 与 *Methanobacterium*、*Thiopseudomonas*、*norank_f_norank_o_SBR1031* 和 *Methanomassiliicoccus* 等呈正相关, 表明 SMX 可能会抑制脂肪酸氧化细菌和 *Methanosarcina* 的代谢活性, 且 SMX 和 PAC 的添加均会诱导 SMX 降解菌属的富集。因此, 暴露于 SMX 的厌氧消化系统受到 PAC 的调节, 有助于提高 COD 去除率和产甲烷性能, 提高 VFAs 利用效率, 促进厌氧消化性能的快速恢复 (图 7)。

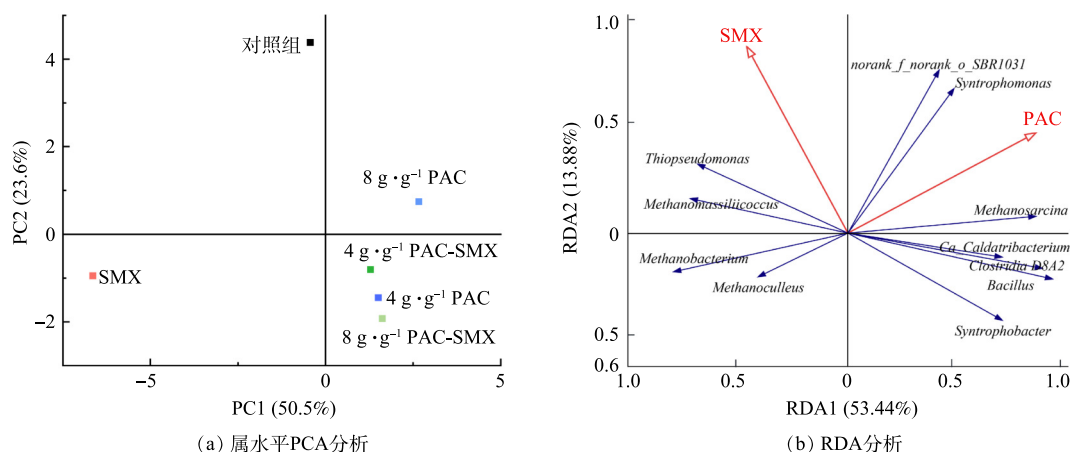


图 6 微生物群落的统计学分析

Fig. 6 Statistical analysis of microbial communities

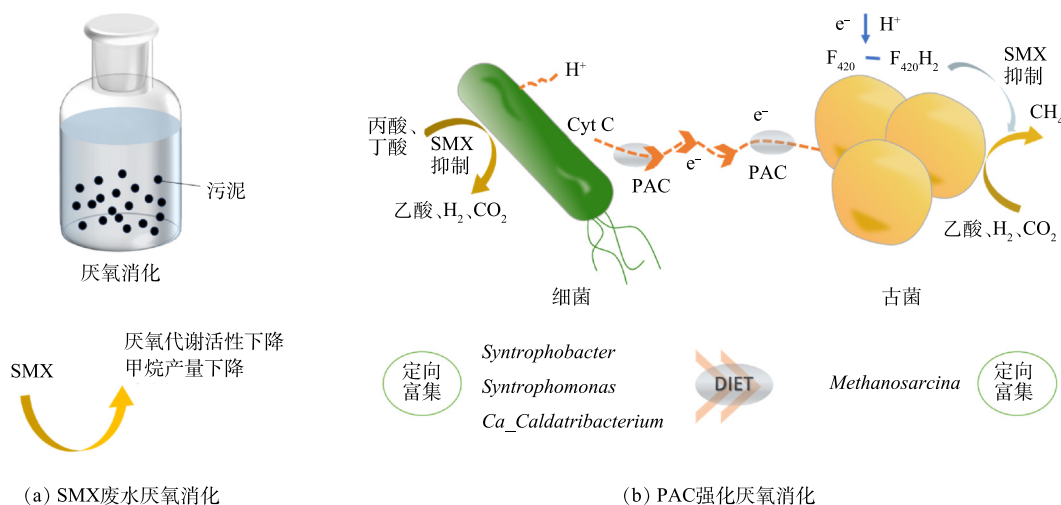


图 7 PAC 促进 DIET 强化厌氧消化处理 SMX 废水的机理图

Fig. 7 Mechanism diagram of PAC promoting DIET-enhanced anaerobic digestion of SMX wastewater

3 结论

本研究探讨了 PAC 在减缓高浓度 SMX 暴露于厌氧消化系统引发的产甲烷抑制方面的应用, 提升了 SMX 废水的处理效率和微生物群落的稳定性, 得到主要结论如下。

1) 高浓度 SMX 会降低甲烷产率并延长滞后期。然而, 当 PAC 被引入到系统中时, 可以减轻 SMX 对甲烷产率的抑制效应, 且滞后期缩短了 29.97%~35.02%。这是因为 PAC 的添加可以快速降低 SMX 在污泥中的有效浓度, 从而减少了其对产甲烷微生物的抑制作用, 改善了甲烷的生成。

2) PAC 可以对厌氧代谢活性产生正向调控。在 SMX 废水中添加 PAC 使 ATP 含量增加了 18.89%-35.78%, 为有机物分解提供了能量支持。ATP 的增加一方面为 Cyt C 等蛋白质合成提供了必要的能量, 这有助于提高 PAC 系统中 Cyt C 对于 DIET 的形成效率, 另一个方面, 促进了氢营养型产甲烷过程中的电子传递 ($F_{420}H_2/F_{420}$ 转换), 加快电子的跨膜传输和 CO_2 的还原, 进而提升了甲烷产量。

3) PAC 对 VFAs 氧化细菌 (如 *Syntrophobacter* 和 *Syntrophomonas* 等) 和种间直接电子传递相关产甲烷菌 (*Methanosarcina*) 具有显著的富集作用。*Methanosarcina* 可通过上调的 Cyt C 更快地接受来自 *Syntrophomonas* 等的电子来还原 CO_2 并产生 CH_4 , 可以实现在 SMX 抑制下稳定提高系统的 VFAs 利用和产甲烷效率。

参考文献

- [1] GADIPELLY C, PÉREZ-GONZÁLEZ A, YADAV G D, et al. Pharmaceutical industry wastewater: Review of the technologies for water treatment and reuse[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2014, 53(29): 11571-11592.
- [2] ENICK O V, MOORE M M. Assessing the assessments: Pharmaceuticals in the environment[J]. *Environmental Impact Assessment Review*, 2007, 27(8): 707-729.
- [3] ENIOLA J O, KUMAR R, BARAKAT M A, et al. A review on conventional and advanced hybrid technologies for pharmaceutical wastewater treatment[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 356: 131826.
- [4] HEBA G, ELENA K, JOHN H, et al. Insights into current physical, chemical and hybrid technologies used for the treatment of wastewater contaminated with pharmaceuticals[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 361: 132079.
- [5] JI J, KAKADE A, YU Z, et al. Anaerobic membrane bioreactors for treatment of emerging contaminants: A review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2020, 270: 110913.
- [6] MARTÍNEZ-ALCALÁ I, PELLICER-MARTÍNEZ F, FERNÁNDEZ-LÓPEZ C. Pharmaceutical grey water footprint: Accounting, influence of wastewater treatment plants and implications of the reuse[J]. *Water Research*, 2018, 135: 278-287.
- [7] SHI X, LEONG K Y, NG H Y. Anaerobic treatment of pharmaceutical wastewater: A critical review[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 245: 1238-1244.
- [8] CUI J, FU L, TANG B, et al. Occurrence, ecotoxicological risks of sulfonamides and their acetylated metabolites in the typical wastewater treatment plants and receiving rivers at the Pearl River Delta[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 709: 136192.

- [9] TANG T, LIU M, CHEN Y, et al. Influence of sulfamethoxazole on anaerobic digestion: Methanogenesis, degradation mechanism and toxicity evolution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 431: 128540.
- [10] ZHI S, ZHANG K. Antibiotic residues may stimulate or suppress methane yield and microbial activity during high-solid anaerobic digestion[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 359: 1303-1315.
- [11] BERTONE E, CHANG C, THIEL P, et al. Analysis and modelling of powdered activated carbon dosing for taste and odour removal[J]. *Water Research*, 2018, 139: 321-328.
- [12] ATALLAH AL-ASAD H, PARNISKE J, QIAN J, et al. Development and application of a predictive model for advanced wastewater treatment by adsorption onto powdered activated carbon[J]. *Water Research*, 2022, 217: 118427.
- [13] MA J, WEI H, SU Y, et al. Powdered activated carbon facilitates methane productivity of anaerobic co-digestion via acidification alleviating: Microbial and metabolic insights[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 313: 123706.
- [14] XIE Z, CAO Q, CHEN Y, et al. The biological and abiotic effects of powdered activated carbon on the anaerobic digestion performance of cornstalk[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 343: 126072.
- [15] LI L, GAO Q, LIU X, et al. Insights into high-solids anaerobic digestion of food waste enhanced by activated carbon via promoting direct interspecies electron transfer[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 351: 127008.
- [16] YOUQIAN X, LIANGWEI D, HONGNAN Y, et al. Alleviation of ammonia inhibition in dry anaerobic digestion of swine manure[J]. *Energy*, 2022, 253: 124149.
- [17] YAN W, ZHANG L, WIJAYA S M, et al. Unveiling the role of activated carbon on hydrolysis process in anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 296: 122366.
- [18] CHEN Y, HE S, ZHOU M, et al. Feasibility assessment of up-flow anaerobic sludge blanket treatment of sulfamethoxazole pharmaceutical wastewater[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2018, 12: 1-12.
- [19] CETECIOGLU Z, INCE B, GROS M, et al. Biodegradation and reversible inhibitory impact of sulfamethoxazole on the utilization of volatile fatty acids during anaerobic treatment of pharmaceutical industry wastewater[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 536: 667-674.
- [20] DENG H, REN H, FAN J, et al. Membrane fouling mitigation by coagulation and electrostatic repulsion using an electro-AnMBR in kitchen wastewater treatment[J]. *Water Research*, 2022, 222: 118883.
- [21] BELLATON S, GUÉRIN S, PAUTREMAT N, et al. Early assessment of a rapid alternative method for the estimation of the biomethane potential of sewage sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 206: 279-284.
- [22] XU S, HAN R, ZHANG Y, et al. Differentiated stimulating effects of activated carbon on methanogenic degradation of acetate, propionate and butyrate[J]. *Waste Management*, 2018, 76: 394-403.
- [23] GILCREAS F W. Standard methods for the examination of water and waste water[J]. *American Journal of Public Health and the Nations Health*, 1966, 56(3): 387-388.
- [24] WANG T, ZHU G, KUANG B, et al. Novel insights into the anaerobic digestion of propionate via syntrophobacter fumaroxidans and geobacter sulfurreducens: Process and mechanism[J]. *Water Research*, 2021, 200: 117270.
- [25] XU S, HE C, LUO L, et al. Comparing activated carbon of different particle sizes on enhancing methane generation in upflow anaerobic digester[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 196: 606-612.
- [26] ZHANG J, WANG S, LANG S, et al. Kinetics of combined thermal pretreatment and anaerobic digestion of waste activated sludge from sugar and pulp industry[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 295: 131-138.
- [27] LIU Y, LI Y, GAN R, et al. Enhanced biogas production from swine manure anaerobic digestion via in-situ formed graphene in electromethanogenesis system[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 389: 124510.
- [28] LIU J, WANG L, LU D, et al. Quorum quenching enhanced methane production in anaerobic systems – performance and mechanisms[J]. *Water Research*, 2023, 235: 119841.
- [29] CHENG Y, SHI Z, SHI Y, et al. Biochar promoted microbial iron reduction in competition with methanogenesis in anaerobic digestion[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 387: 129561.
- [30] SUN W-X, FU S-F, ZHU R, et al. Improved anaerobic digestion efficiency of high-solid sewage sludge by enhanced direct interspecies electron transfer with activated carbon mediator[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 313: 123648.
- [31] YUAN X, WANG L, BHAT O M, et al. Differential effects of short chain fatty acids on endothelial Nlrp3 inflammasome activation and neointima formation: Antioxidant action of butyrate[J]. *Redox Biology*, 2018, 16: 21-31.
- [32] LI Q, LIU Y, YANG X, et al. Kinetic and thermodynamic effects of temperature on methanogenic degradation of acetate, propionate, butyrate and valerate[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 396: 125366.
- [33] BILEA F, BRADU C, CICIRMA M, et al. Plasma treatment of sulfamethoxazole contaminated water: Intermediate products, toxicity assessment and potential agricultural reuse[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 909: 168524.
- [34] BRAIN R A, RAMIREZ A J, FULTON B A, et al. Herbicidal effects of sulfamethoxazole in *Lemna gibba*: using p-aminobenzoic acid as a biomarker of effect[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(23): 8965-8970.
- [35] CETECIOGLU Z, ORHON D. How do sulfamethoxazole and tetracycline affect the utilization of short chain fatty acids under anaerobic conditions?[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2018, 6(1): 1305-1313.
- [36] SHI C, WANG K, ZHENG M, et al. The efficiencies and capacities of carbon conversion in fruit and vegetable waste two-phase anaerobic digestion: Ethanol-

- path vs. butyrate-path[J]. *Waste Management*, 2021, 126: 737-746.
- [37] YAN X, CHEN L, PENG P, et al. Dual role of birnessite on the modulation of acid production and reinforcement of interspecific electron transfer in anaerobic digestion[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 906: 167842.
- [38] XIA A, FENG D, HUANG Y, et al. Activated Carbon Facilitates Anaerobic Digestion of Furfural Wastewater: Effect of Direct Interspecies Electron Transfer[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2022, 10(25): 8206-8215.
- [39] SHUNAN Z, SHAOQING Z, SUO L, et al. Quorum sensing enhances direct interspecies electron transfer in anaerobic methane production[J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, 58: 6,2891-2901.
- [40] LIKUI F, SHUFEI H, ZHELU G, et al. Mechanisms, performance, and the impact on microbial structure of direct interspecies electron transfer for enhancing anaerobic digestion-A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 862: 160813.
- [41] WANG M, REN T, YIN M, et al. Enhanced anaerobic wastewater treatment by a binary electroactive material: Pseudocapacitance/conductance-mediated microbial interspecies electron transfer[J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(32): 12072-12082.
- [42] KALKAVAN H, CHEN M J, CRAWFORD J C, et al. Sublethal cytochrome c release generates drug-tolerant persister cells[J]. *Cell*, 2022, 185(18): 3356-3374.
- [43] LIANFU L, MINGWEI W, QILIN Y, et al. Accelerating anaerobic oxidation of methane coupled with extracellular electron transfer to electrodes via magnetite stimulating membrane-bound proteins of anaerobic methanotrophic (ANME) archaea/methanogens[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 462: 142266.
- [44] YANG B, XU H, LIU Y, et al. Role of GAC-MnO₂ catalyst for triggering the extracellular electron transfer and boosting CH₄ production in syntrophic methanogenesis[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 383: 123211.
- [45] ZHANG X, JOYCE G H, LEU A O, et al. Multi-heme cytochrome-mediated extracellular electron transfer by the anaerobic methanotroph 'Candidatus Methanoperedens nitroreducens' [J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 6118.
- [46] ZHU H, HAN Y, MA W, et al. New insights into enhanced anaerobic degradation of coal gasification wastewater (CGW) with the assistance of graphene[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 262: 302-309.
- [47] CHADWICK G L, SKENNERTON C T, LASO-PÉREZ R, et al. Comparative genomics reveals electron transfer and syntrophic mechanisms differentiating methanotrophic and methanogenic archaea[J]. *PLOS Biology*, 2022, 20(1): e3001508.
- [48] ZHANG J, MAO F, LOH K-C, et al. Evaluating the effects of activated carbon on methane generation and the fate of antibiotic resistant genes and class I integrons during anaerobic digestion of solid organic wastes[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 249: 729-736.
- [49] SCHÖNE C, POEHLIN A, JEHLICH N, et al. Deconstructing Methanosarcina acetivorans into an acetogenic archaeon[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(2): e2113853119.
- [50] YE J, YU J, ZHANG Y, et al. Light-driven carbon dioxide reduction to methane by Methanosarcina barkeri-CdS biohybrid[J]. *Applied Catalysis B: Environment and Energy*, 2019, 257: 117916.
- [51] SAINI J, DEERE T M, CHANDERBAN M, et al. Methanosarcina acetivorans[J]. *Trends in Microbiology*, 2023, 31(3): 320-321.
- [52] YI Y, DOLFING J, JIN G, et al. Thermodynamic restrictions determine ammonia tolerance of methanogenic pathways in Methanosarcina barkeri[J]. *Water Research*, 2023, 232: 119664.
- [53] YAN S, WANG M, ZHANG S, et al. Fe-doped hydrochar facilitating simultaneous methane production and pharmaceutical and personal care products (PPCPs) degradation in co-anaerobic digestion of municipal sludge and food waste[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2023, 474: 146001.
- [54] LEE J, KOO T, YULISA A, et al. Magnetite as an enhancer in methanogenic degradation of volatile fatty acids under ammonia-stressed condition[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 241: 418-426.
- [55] CARNEIRO R B, MUKAEDA C M, SABATINI C A, et al. Influence of organic loading rate on ciprofloxacin and sulfamethoxazole biodegradation in anaerobic fixed bed biofilm reactors[J]. *Journal of Environmental Management*, 2020, 273: 111170.
- [56] SHEKHURDINA S, ZHURAVLEVA E, KOVALEV A, et al. Comparative effect of conductive and dielectric materials on methanogenesis from highly concentrated volatile fatty acids[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 377: 128966.
- [57] NI Z, ZHOU L, LIN Z, et al. Iron-modified biochar boosts anaerobic digestion of sulfamethoxazole pharmaceutical wastewater: Performance and microbial mechanism[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 452: 131314.
- [58] XI C, HAI L, YINGBO D, et al. Mechanisms underlying enhanced bioremediation of sulfamethoxazole and zinc(II) by Bacillus sp. SDB₄ immobilized on biochar[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 370: 133483.

(责任编辑: 曲娜)

Mechanism of enhanced anaerobic digestion by PAC promoting direct electron transfer for SMX wastewater treatment

WANG Yongbin^{1,2}, CHENG Yu², ZHANG Wei^{2,3,*}, GU Zhenao^{2,3}, HU Chengzhi^{1,2,3}

1. Henan Institute of Advanced Technology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Water Quality, Ecological Environment Research Centre, Chinese Academy of Sciences (CAS), Beijing 100085, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

*Corresponding author, E-mail: weizhang@rcees.ac.cn

Abstract Antibiotics significantly inhibit anaerobic digestion, and it is important to optimize the treatment and resource recovery of pharmaceutical wastewater by exploring simple and easy methods for promoting interspecies electron transfer. Herein, the efficacy and mechanism of powdered activated carbon (PAC)-enhanced anaerobic digestion for the treatment of high-concentration sulfamethoxazole (SMX) wastewater were investigated. SMX with high concentration hindered anaerobic digestion, resulting in a 13% reduction in maximum methane production. The addition of either 4 g·g⁻¹(as COD) or 8 g·g⁻¹ PAC to the anaerobic digested sludge could avoid the inhibition and significantly improve methanogenesis by 22.4% compared to the SMX-exposed control group. In addition, PAC boosted anaerobic metabolic activity, enriching sludge with ATP, Cyt C, and coenzyme F₄₂₀, which were important energy storage and transport substances for microorganisms, as well as direct interspecies electron transfer (DIET) flora and dominant genera associated with SMX degradation. PAC could strengthen the DIET between the oxidizing bacteria in VFAs (*Syntrophobacter* and *Syntrophomonas*, etc.) and methanogenic bacteria (*Methanosarcina*), facilitating the conversion of VFAs to methane.

Keywords sulfamethoxazole; anaerobic biodegradation; methane production; direct interspecies electron transfer