

DOI: 10.11835/j.issn.2096-6717.2021.062

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



# NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 促进剩余污泥水解新原理:Fe(II)氧化与 Fe(III)还原

孟雨桐,赵智强,高金索,张耀斌

(大连理工大学 环境学院,辽宁 大连,116024)

**摘要:** 剩余污泥的水解破壁是其厌氧消化的限速步骤。投加 Fe(III)氧化物可富集具有异化铁还原功能的 Fe(III)还原菌,强化复杂有机物的分解,是一种促进剩余污泥水解破壁的有效手段。然而,在实际工程中,连续投加 Fe(III)氧化物不经济。亚硝酸盐作为反硝化中间产物,被报道能促进污泥水解破壁,同时可将污泥中的 Fe(II)化学氧化为 Fe(III),但对于亚硝酸盐引发的 Fe(II)氧化和 Fe(III)还原过程对污泥水解破壁及后续厌氧消化的影响却鲜有报道。向剩余污泥中添加亚硝酸盐,发现其中 97.3% 的 Fe(II)被氧化为 Fe(III),进而参与异化铁还原。扫描电镜和三维荧光光谱结果表明,添加亚硝酸盐组污泥水解破壁明显,有机物大量释出;微生物群落分析表明,添加亚硝酸盐组反硝化细菌和 Fe(III)还原菌显著富集。厌氧消化结束后,相比对照组(未添加亚硝酸盐),添加亚硝酸盐组污泥减量化和累积甲烷产量分别提高 21% 和 86%。

**关键词:** 剩余污泥;水解破壁;异化铁还原;亚硝酸盐;Fe(II)氧化

**中图分类号:** X705      **文献标志码:** A      **文章编号:** 2096-6717(2021)06-0155-10

## Novel mechanism of promoting the hydrolysis of waste activated sludge with nitrite: Fe(II) oxidation and Fe(III) reduction

MENG Yutong, ZHAO Zhiqiang, GAO Jinsuo, ZHANG Yaobin

(School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning, P. R. China)

**Abstract:** Hydrolysis including the cell disintegration is the rate-limiting step of anaerobic digestion of waste activated sludge. Adding Fe(III) oxides to enrich the Fe(III)-reducing bacteria via the dissimilatory iron reduction can enhance the decomposition of complex organic compounds, which is considered as an effective method to promote the hydrolysis and cell disintegration of waste activated sludge. However, the continuous addition of Fe(III) oxides is uneconomical in the practical engineering. Adding nitrite, the intermediates in the denitrification, has been reported to promote the hydrolysis and cell disintegration of waste activated sludge. In the meantime the Fe(II) in the sludge can be chemically oxidized to Fe(III). However, there are few reports on the effects of nitrite induced Fe(II) oxidation and Fe(III) reduction processes on sludge hydrolysis and cell disintegration and subsequent anaerobic digestion. In this study,

**收稿日期:** 2021-02-07

**基金项目:** 国家自然科学基金(21777016),辽宁省“兴辽英才计划”(XLYC1902075)

**作者简介:** 孟雨桐(1994-),女,主要从事污泥厌氧消化研究,E-mail:mengyutong0331@163.com.

张耀斌(通信作者),男,教授,博士生导师,E-mail:zhangyb@dlut.edu.cn.

**Received:** 2021-02-07

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (No. 21777016); Xingliao Talent Program of Liaoning Province (No. XLYC1902075)

**Author brief:** MENG Yutong (1994-), main research interest: anaerobic digestion of waste activated sludge, E-mail: mengyutong0331@163.com.

ZHANG Yaobin (corresponding author) professor, doctoral supervisor, E-mail: zhangyb@dlut.edu.cn.

adding nitrite into the waste activated sludge caused the oxidation of Fe(II) with an efficiency of 97.3%. The produced Fe(III) further drove the dissimilatory iron reduction. Analysis of scanning electron microscope and three dimensional fluorescence spectrum indicated that the hydrolysis and cell disintegration of waste activated sludge were significantly enhanced in the nitrite-added group, accompanied by the release of large amounts of soluble organic compounds. Analysis of microbial community showed that, both denitrifying and Fe(III)-reducing bacteria were significantly enriched in the nitrite-added group. After anaerobic digestion, the sludge reduction and accumulative methane production in the nitrite-added group were 21% and 86% higher than that in the control group without nitrite, respectively.

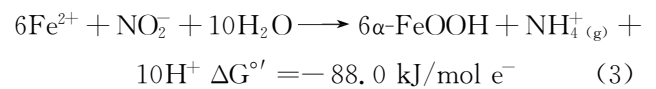
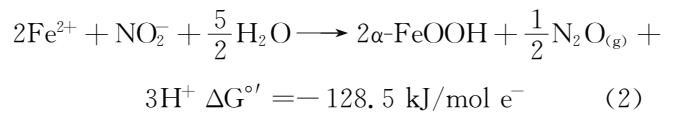
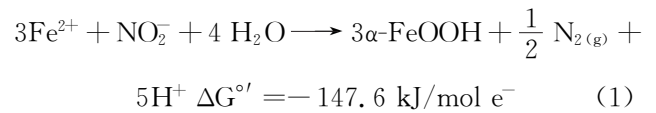
**Keywords:** waste activated sludge; hydrolysis and cell disintegration; dissimilatory iron reduction; nitrite; Fe(II) oxidation

城市污水处理规模扩增带来剩余污泥的急剧增加<sup>[1]</sup>。剩余污泥中富集了大量有机物、病原体、重金属等,若不妥善处理会危害环境安全。厌氧消化是实现污泥稳定化和安全化处理的有效手段之一,能在实现剩余污泥减量化的同时回收甲烷。然而,由于污泥细胞壁的存在,细胞内有机物难以被释放到液相,这限制了污泥厌氧消化的水解效率<sup>[2]</sup>。

异化铁还原是一种强化污泥厌氧消化的有效手段。异化铁还原菌以 Fe(III) 矿物为电子受体能够协助芳香族、部分糖类和长链脂肪酸等复杂有机物的降解<sup>[3]</sup>。投加铁氧化物可以富集铁还原菌,同时依靠 Fe(II)/Fe(III) 的氧化与还原使微生物种间电子传递效率得到有效提升。近年来,大量学者通过投加铁氧化物到污泥厌氧消化反应器中取得了较好的运行效果,显著提升了甲烷产量<sup>[4-6]</sup>。但值得注意的是,在实际工程中,连续投加 Fe(III) 不经济,且较高含量的铁可能在污泥处置中带来潜在风险<sup>[7]</sup>,在污水处理工艺末端,含铁絮凝剂的投加会使剩余污泥包含大量的铁,若能将这部分铁有效利用或循环利用将是一种经济有效的方案。

亚硝酸盐是部分来自反硝化过程的重要中间产物,可在废水处理中由硝酸盐还原或氨氧化过程得到。近期许多研究者发现在剩余污泥厌氧消化系统中投加亚硝酸盐可以促进污泥发酵<sup>[8-10]</sup>,Wang 等<sup>[9]</sup>认为亚硝酸盐具有促进细胞破壁和有机物水解的作用。值得关注的是,亚硝酸盐同样会对剩余污泥中铁的价态产生影响。由于 Fe(II)/Fe(III) 氧化还原电位介于 N 的氧化还原电位之间,NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 可以迅速地化学氧化 Fe(II),又称氮依赖型铁氧化(见式(1)~式(3)<sup>[11]</sup>),化学反硝化产生的 Fe(III) 将在体系中继续

参与异化铁还原作用<sup>[12]</sup>,从而持续促进复杂有机物的分解。目前,对于亚硝酸盐投加后引发异化铁还原途径对剩余污泥的水解及后续厌氧消化的影响却鲜有研究。



笔者提出一种投加亚硝酸盐改善污泥消化的新原理,即引发 Fe(II)/Fe(III) 的氧化和还原,从而促进复杂有机物的降解。弱碱性条件(pH=7.5)下,向剩余污泥厌氧消化反应器中投加亚硝酸盐,以实现 Fe(II)/Fe(III) 的氧化还原及提升污泥降解率,并对其机理和微生物群落变化情况进行分析。

## 1 材料和方法

### 1.1 引种污泥和剩余污泥

引种污泥取自大连夏家河污水处理厂,其挥发性悬浮固体(VSS)约为 35 g/L,总悬浮固体(TSS)约为 70 g/L。剩余污泥取自中国大连春柳城市污水处理厂的脱水剩余污泥,实验前加入高纯水稀释至含固率约为 9%,其参数指标: TSS 为(56.7 ± 3.8)g/L, VSS 为(28.4 ± 0.3)g/L,总化学需氧量(TCOD)为(41 010.2 ± 830.5)mg/L,总氮(TN)为(1 132.7 ± 49.6)mg/L,溶解性化学需氧量(SCOD)为(308.5 ± 36.8)mg/L, Fe(II) 为(1 282.8 ± 128.0)mg/L, Fe(III) 为(1 029.4 ± 39.5)mg/L。

## 1.2 实验设置

阶段 I, 采用两组有效容积为 150 mL 的厌氧瓶分别为空白组(以下简称为 R1)和亚硝酸盐处理组(以下简称为 R2), 每组设 18 个平行。将 50 mL 稀释后的剩余污泥样品添加到厌氧发酵瓶中, 并在每个瓶中通入  $\text{N}_2$  维持 30 min, 以去除其中的空气, 随后立即用橡胶塞将其密封并置于恒温摇床中, 于 120 r/min、37 °C 的条件下发酵 6 d。在理论上, 1 mol  $\text{Fe}(\text{II})$  完全被氧化可接受 1 mol 电子, 而 1 mol  $\text{NO}_2^-$  可提供 3 mol 电子, 因此, 为使初始剩余污泥中的 1.146 mmol/L  $\text{Fe}(\text{II})$  完全被氧化为  $\text{Fe}(\text{III})$ , 按照  $n_{\text{Fe}(\text{II})} : n_{\text{NO}_2^- - \text{N}}$  小于 3:1 在 R2 每个平行反应器中分别添加 1 mL 的 30 g/L 的  $\text{NaNO}_2$ , 使反应器中  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  含量为 121.74 mg/L。同时在空白组中补充等量的高纯水。每天从每组 3 个未取样的反应器中取适当泥水混合样品进行分析, 在反应结束时, 分析各反应器顶空的气体成分和含量。

阶段 II, 将酸化后的剩余污泥和接种污泥以 9:1 的比例混合使其总体积为 120 mL, 并置于 150 mL 厌氧瓶中密封培养, 同样通入  $\text{N}_2$  30 min, 以去除顶部空气, 在每个反应器顶部连接气体采集袋, 每 4 d 替换一次气袋并测定每个反应器中的甲烷和二氧化碳的产生量。

## 1.3 分析指标和方法

1) 化学分析。摇匀后的泥水混合样品均在 10 000 r/min、4 °C 条件下离心 20 min, 然后通过 0.25  $\mu\text{m}$  滤膜过滤, 得到用于分析液相指标的滤液。滤液和泥水混合样品中基础指标分析参照《水和废水监测分析方法》: 用重量法测定挥发性悬浮物(VSS)、总悬浮物(TSS)<sup>[3]</sup>; 用微波消解比色法测定溶解性化学需氧量(SCOD)、总化学需氧量(TCOD); 考马斯亮蓝法测定溶解性蛋白和总蛋白<sup>[13]</sup>; 蒽酮-硫酸法测定溶解性多糖和总多糖; 分别使用两台气相色谱仪(天美, 7900/热导检测器, 中国)测定气体和挥发性脂肪酸(VFAs)的组分和含量<sup>[14]</sup>, 采用 Zhu 等<sup>[15]</sup>介绍的方法测定  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ ; 使用电子能谱仪(EDS)观察冷冻干燥后污泥样品中 Fe 元素的分布情况; 将污泥与 0.5 mol/L HCl 溶液以 1:5 的比例混合, 浸提 2 h 后离心, 参照 Ding 等<sup>[16]</sup>的方法分析  $\text{Fe}(\text{II})$  和  $\text{Fe}(\text{III})$ 。

2) 电子显微镜分析。将反应前后的污泥样品经冷冻干燥后固定在铜片上, 再经过喷金镀膜以增强导电性, 通过扫描电镜(SEM)观察剩余污泥样品细胞形态的变化。

3) 三维荧光光谱分析。为分析污泥释放的有机物种类和对污泥生物降解性的影响, 采用日本日立 FL4500 荧光分光光度计对稀释后的污泥悬浮液进行分析。三维激发发射光谱 2 400 nm/min 的扫描速度以 5 nm 为增量, 扫描范围为激发波长( $E_x$ ) 250~500 nm, 发射波长( $E_m$ ) 200~400 nm。所获得的矩阵光谱数据采用 Origin2018 进行数据分析。参照 Chen 等<sup>[17]</sup>的方法划分荧光区域, 计算其体积分占比  $P_{i,n}$ , %。

4) 微生物群落分析。在每阶段实验结束后, 在 R1 和 R2 反应器中分别取 10 mL 样品, 委托上海生工生物工程有限公司采用高通量 16S rRNA 测序技术进行微生物群落结构分析。污泥样品经 0.1 mol/L PBS 溶液清洗和离心预处理后, 使用 E. Z. N. A<sup>TM</sup> Mag-Bind Soil DNA Kit (OMEGA) 和 Qubit3.0 DNA 检测试剂盒对污泥样品中的 DNA 进行提取和定量。采用 (341F/805R) 引物对细菌的 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增, 采用 (340F/1000R) 引物和 (349F/806R) 引物对古菌进行两轮扩增。之后采用 Illumina TruSeq DNA 库的方案构建汇集和纯化之后的 PCR 产物。采用上海生工科技的测序仪(Illumina, Illumina HiSeq 2000, 美国)进行高通量测序。

最终利用 RDP、Silva 和 NCBI 数据库对得到的操作分类单元(OTUs)进行分类(www.ncbi.nlm.nih.gov, http://rdp.cme.msu.edu)。所得微生物测序分析结果经过去除接头序列、合并低含量序列等步骤得到最终有效序列, 根据 OTU 在不同样本中的丰度分布, 评估每个样本的微生物多样性水平。

## 2 结果与讨论

### 2.1 投加亚硝酸盐对 Fe 和污泥水解的影响

2.1.1 剩余污泥中铁的氧化和还原 如图 1(a)所示, 能谱仪(EDS)对原始剩余污泥的分析结果揭示了初始剩余污泥中铁元素的存在形式, 其中 55.6% 是  $\text{Fe}(\text{II})$ 。对阶段 I 两组反应器中  $\text{Fe}(\text{II})$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$

及  $\text{NH}_4^+-\text{N}$  含量变化情况进行了监测。如图 1(b)、(c)所示,在 R2 组分两次(初始和第 3 天)添加了 0.43 mmol/L 亚硝酸盐,随着亚硝酸盐的添加,Fe(II) 含量均在 6 h 内迅速降低,分别由 1 282.79、1 713.26 mg/L 降至 35.22、207.26 mg/L。亚硝酸盐的消耗与 Fe(II) 的氧化同步进行,投加的 121.74 mg/L 亚硝酸盐在 1 d 内几乎被完全消耗,可见投加的亚硝酸盐 85% 以上用于氧化 Fe(II),而余量可能用于有机碳氧化或氨氧化。另发现两组反应器中  $\text{NO}_2^--\text{N}$  的含量在低浓度区间(0~0.1 mg/L) 波动变化,这可能是由于溶解性氮的部分氧化。

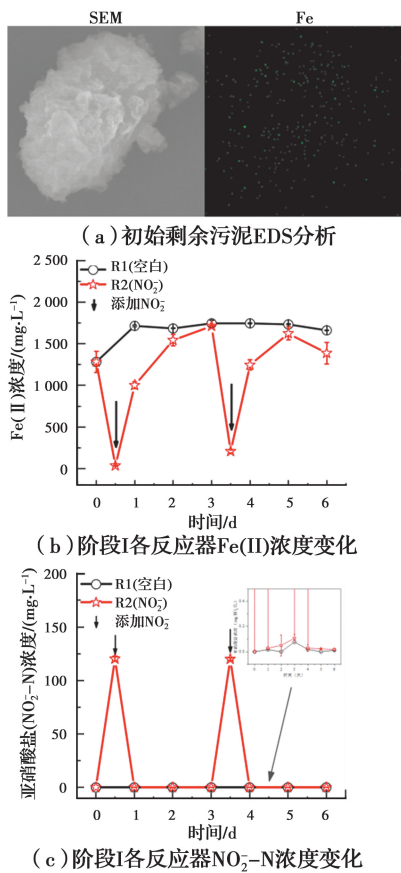


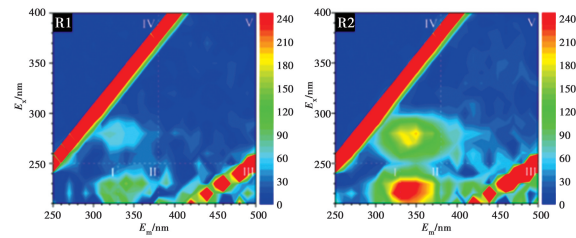
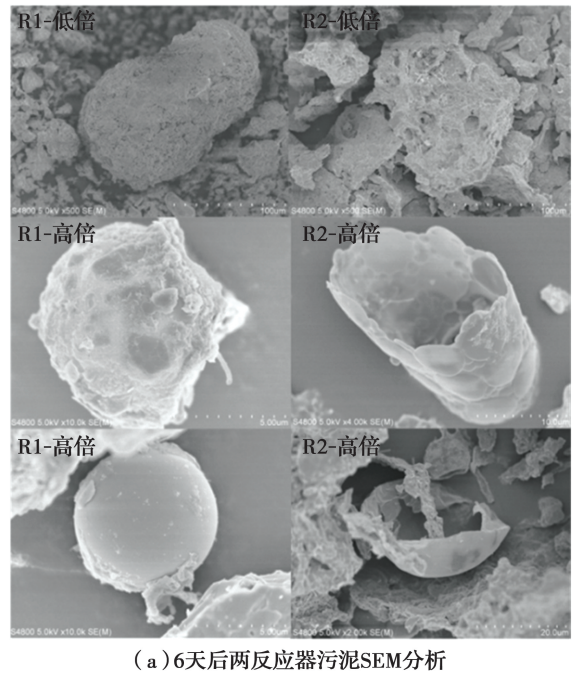
图 1 0~6 d 两组反应器 Fe(II) 和  $\text{NO}_2^-$  含量的变化

Fig. 1 Change of Fe(II) and  $\text{NO}_2^-$  concentration during the initial 6-day experiments

各反应器中二价铁溶出量的升高可以证实其中异化铁还原反应的发生。如图 1(b)所示,未添加亚硝酸盐的 R1 组中 Fe(II) 含量仅在第一天升高,随后基本保持在  $(1\ 715.22 \pm 31.67)$  mg/L,而 R2 中只有当亚硝酸盐消耗完全后,Fe(II) 的含量才开始升高,在两次投加亚硝酸盐后,3 天内逐渐恢复至 1 713.26、1 388.20 mg/L。可见,投加亚硝酸盐能

在不外加铁源的情况下为污泥厌氧消化系统提供更多的活性 Fe(III),这些 Fe(III) 可被铁还原菌利用作为电子受体参与异化铁还原过程。

2.1.2 剩余污泥破壁和有机物增溶 由于胞外聚合物、细胞膜和细胞壁的存在,剩余污泥中的有机物不易被释放,通常以固相形式存在于细胞内,因此,常认为有机物的溶解是污泥发酵过程的第一步。而在污泥中投加亚硝酸盐可破坏剩余污泥紧密的团聚结构、使细胞破壁,促进细胞内有机物的释放、增溶和水解(图 2(a)),在投加亚硝酸盐后剩余污泥团聚体由紧密变为破碎,表面出现孔洞结构,同时,细胞表面出现破裂和溶解。



波长 $E_x/E_m$ (nm)	区域	$P_{Ln}/\%$	
		R1	R1
200-250/200-300	I	11.47	12.98
200-250/330-350	II	13.07	17.73
200-250/380-500	III	18.06	15.73
250-280/200-300	IV	14.63	21.51
250-400/380-500	V	14.91	16.60

(b) 6天后两反应器污泥悬浮液三维荧光光谱分析

图 2 第 6 天两反应器内污泥样品的物理化学表征分析

Fig. 2 The physiochemical characterization of sludge samples

两组反应器中剩余污泥在 6 d 的产酸阶段中溶解性有机物含量的变化如图 3 所示,由于此阶段并

没有投加引种污泥,因此,溶解性有机物含量的增加均来自剩余污泥本身。如图 3 所示,经过 6 d 的发酵,R2 中添加亚硝酸盐有利于污泥的 SCOD、溶解性蛋白和溶解性多糖的溶解。第 5 天 R2 的 SCOD 浓度达到峰值 4 158. 33 mg/L,比空白反应器提高近 4 倍,可见,亚硝酸盐可以增强污泥中有机物溶解的能力,与 Lu 等<sup>[8,18]</sup>的结果一致。同时,亚硝酸盐的投加能够提高污泥破壁水解的速率,如第一天 R2 组 SCOD 达到 1 968. 92 mg/L,净增加量是 R1 的 1. 82 倍。

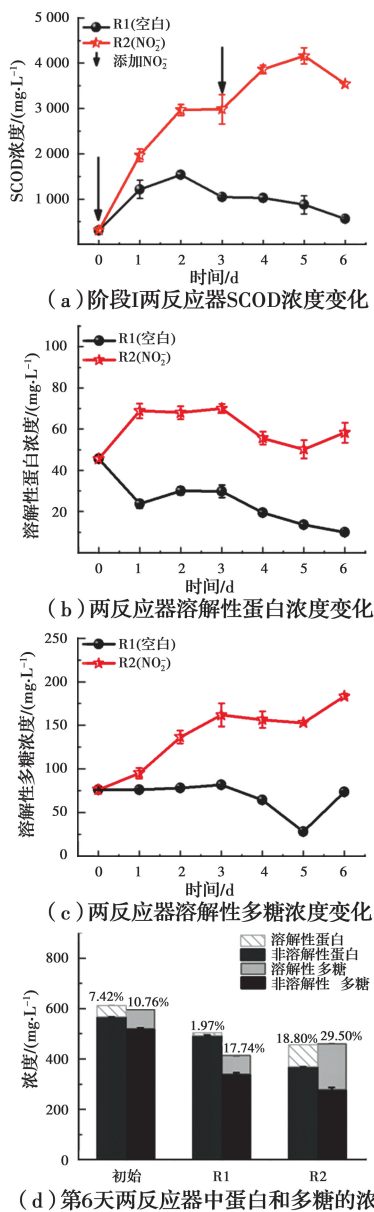


图 3 0~6 d 两组反应器内有机物含量的变化

Fig. 3 Change in the organic matter concentration during the initial 6-day experiments

蛋白和多糖是污泥 EPS 和细胞壁的主要组成成分,也是使有机物难以被释放的关键原因<sup>[19]</sup>。如图 3(d),经过 6 d 的发酵阶段后,所有反应器中总蛋白和总多糖的含量均有不同程度的减少,R1 和 R2 中总蛋白的浓度(COD)由 612. 7 mg/L 分别减少至 503. 8、456. 3 mg/L。同时,相对于 R1,R2 中溶解性蛋白和溶解性多糖的溶出量显著提高,分别达到 85. 79、366. 51 mg/L,在总蛋白和总多糖中的比重提高了 16. 83%和 11. 75%。

同时,R2 组中有机氮化合物(如蛋白质)的水解过程也被促进。如图 4,第 6 天两组反应器中溶解性  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  的含量分别增加至 40. 45、61. 14 mg/L,其产生速率在 R2 组中明显高于空白组。依据 Wu 等<sup>[20]</sup>的研究,仅在高  $\text{Fe}(\text{II})/\text{NO}_2^-$  的摩尔比(大于 50:1)条件下,亚硝酸盐才会被完全还原为  $\text{NH}_4^+$ ,而低摩尔比则易产生气体产物,如  $\text{N}_2$  等。在 R2 组中添加亚硝酸盐后, $\text{Fe}(\text{II})/\text{NO}_2^-$  摩尔比仅为 2. 63,远小于 50:1,可见 R2 组中持续增加的溶解性氮含量是含氮有机物水解速率提高的结果。

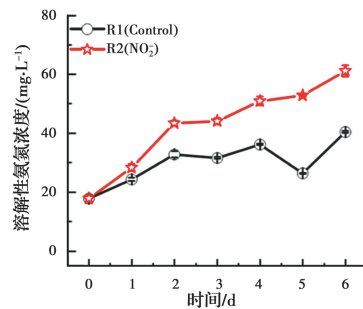


图 4 0~6 d 两组反应器内  $\text{NH}_4^+$  含量的变化

Fig. 4 Change of  $\text{NH}_4^+$  concentration during the initial 6-day experiments

采用三维荧光光谱法对反应器 R1 与 R2 内污泥发酵液中的溶解性有机物进行分析。依据 Chen 等<sup>[17]</sup>的研究,根据可溶性有机物的激发波长( $E_x$ )-发射波长( $E_m$ )可以将三维光谱分为 5 个区域:区域 I ( $E_x < 250 \text{ nm}/E_m < 330 \text{ nm}$ )对应酪氨酸类物质;区域 II ( $E_x: 200 \sim 250 \text{ nm}/E_m: 330 \sim 380 \text{ nm}$ )对应色氨酸类物质;区域 III ( $E_x: 200 \sim 250 \text{ nm}/E_m: 380 \sim 500 \text{ nm}$ )对应富里酸类物质;区域 IV ( $E_x: 250 \sim 400 \text{ nm}/E_m: 200 \sim 380 \text{ nm}$ )代表微生物副产物物质和蛋白质类物质,区域 V ( $E_x: 250 \sim 400 \text{ nm}/E_m: 380 \sim 500 \text{ nm}$ )代表腐殖质物质。亚硝酸盐投加后,R2 中部分区域的

荧光强度显著增强,包括 I 区色氨酸、II 区酪氨酸和 IV 区微生物代谢产物,代表亚硝酸盐加入后促进了这几种物质在污泥样品中的溶出。一般认为 II 区和 V 区是微生物可利用区<sup>[21]</sup>,如图 2(b),R2 组在 II 区和 IV 区的荧光区域体积积分占比  $P_{II,n}$  和  $P_{IV,n}$  总和为 39.24%,大于 R1 中的 27.70%,说明 R2 组的可生物降解性得到提高。另外,R2 中 V 区腐殖酸的  $P_{V,n}$  也得到提高,腐殖酸类物质由于其富含醌基,可以作为电子穿梭体加强在 Fe(III) 还原和有机物氧化过程中的电子传递。

图 5 表示不同组中 VFAs 的成分构成和浓度,添加亚硝酸后,R2 中 VFAs 被明显积累且显著高于空白组。如图 5(b),在第 6 天 R2 组的 VFA 浓度达到 1 127.19 mg COD/L,是 R1 组的 3.7 倍,这表明 R2 组污泥酸化率得到提高。在第 5~6 天,即使亚硝酸盐几乎被完全消耗,R2 体系内 VFAs 仍在不断积累,这可能是其他复杂有机物向简单有机物的转化过程仍在被促进,表明除亚硝酸盐外,Fe(III) 还原过程能持续促进复杂有机物的水解和酸化。

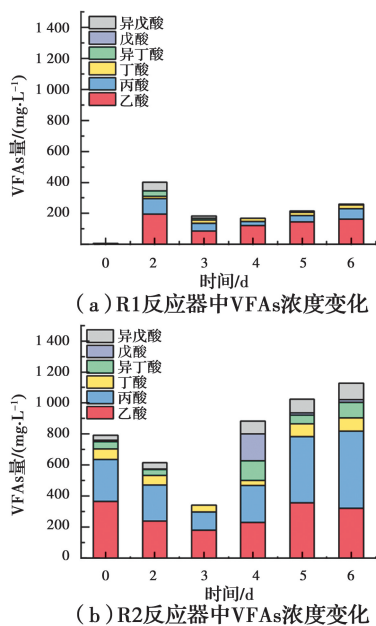


图 5 0~6 d 两反应器内 VFAs 浓度与成分组成

Fig. 5 The concentration and ratio of VFAs in each reactor during the initial 6-day experiments

采用高通量 16S rRNA 测序技术进行微生物群落结构分析,探究微生物对污泥水解、酸化过程的影响。表 1 中列出属水平的细菌群落并进行相对丰度(定义占比低于 0.05% 的菌株归类于其他微生物

(others)分析。第 I 阶段,R1 反应器中无明显的优势菌种,而添加亚硝酸盐后 R2 反硝化细菌相对丰度显著增加,约为 R1 的 3.23 倍(见表 2),其中不动杆菌属(*Acinetobacter*)<sup>[22]</sup>占据了主导地位,相对丰度达到 27.95%。厌氧氨氧化菌的硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)<sup>[23]</sup>及氨氧化共生细菌 *Armatimonadetes\_gp5*<sup>[24]</sup>分别提高 0.1% 和 0.32%,亚硝酸盐氧化细菌相对丰度也得到提高,包括假单胞菌属(*Pseudomonas*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、微杆菌属(*Microbacterium*) 相对丰度分别提高了 3.08%、0.2%、0.03%、0.02%<sup>[25]</sup>,可见,亚硝酸盐添加后提高了具有亚硝酸盐氧化的相关功能基因的微生物的优势。另外, $\text{NO}_2^-$  反硝化产生了碱度,碱性发酵优势细菌 *Proteocatella*<sup>[26]</sup> 逐渐取代其他不能适应的微生物,丰度达到 9.31%。同时,因亚硝酸盐使污泥体系氧化还原电位降低,专性厌氧菌如梭菌属(*clostridium*)、厌氧绳菌(*Anaerolinea*) 受到抑制,其丰度分别降低 1.18% 和 6.06%。

表 1 两反应器内细菌群落

Table 1 Bacterial genus communities in each reactor

属名	相对丰度/%		属名	相对丰度/%	
	R1	R2		R1	R2
<i>Acinetobacter</i>	5.56	27.95	<i>Rhodobacteraceae</i>	0.23	0.19
<i>Proteocatella</i>	0.27	9.31	<i>Nitrosomonas</i>	0.05	0.15
<i>Pseudomonas</i>	0.21	3.29	<i>Alkaliophilus</i>	0.04	0.11
<i>Acetoanaerobium</i>	0.33	2.55	<i>Acidovorax</i>	0.96	0.09
<i>Saccharibacteria_genera_incertae_sedis</i>	1.12	2.13	<i>Candidatus_Hydrogenedens</i>	0.07	0.08
<i>Macellibacteroides</i>	0.09	1.64	<i>Bacteroides</i>	0.03	0.08
<i>Romboutsia</i>	0.38	1.46	<i>Thauera</i>	0.18	0.07
<i>Clostridium</i>	2.47	1.29	<i>Bacillus</i>	0.04	0.07
<i>Armatimonadetes_gp5</i>	0.71	1.03	<i>Anaerobacter</i>	0.03	0.06
<i>Thermomonas</i>	1.61	0.74	<i>Bdellovibrio</i>	0.03	0.05
<i>Anaerolinea</i>	6.97	0.61	<i>Longilinea</i>	2.00	0.05
<i>Bradyrhizobium</i>	0.34	0.54	<i>Tissierella</i>	0.04	0.05
<i>Petrimonas</i>	0.08	0.52	<i>Moraxellaceae</i>	0.01	0.05
<i>Sedimentibacter</i>	0.01	0.47	<i>Gp6</i>	0.54	0.03
<i>Proteinclasticum</i>	0.90	0.47	<i>Flavobacterium</i>	0.06	0.03
<i>Dechloromonas</i>	0.29	0.40	<i>Ruminococcaceae</i>	0.10	0.01
<i>Hyphomicrobium</i>	0.42	0.40	<i>Microbacterium</i>	0.18	0.20
<i>Escherichia_Shigella</i>	0.05	0.33	<i>unclassified</i>	57.73	34.16
<i>Dokdonella</i>	1.45	0.27	<i>others</i>	14.42	9.07

表 2 两反应器内反硝化菌和铁还原菌相对丰度

Table 2 Relative abundances of denitrifiers and IRB

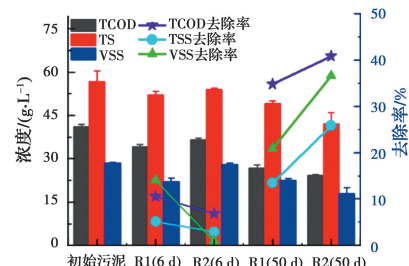
反硝化菌	相对丰度/%		铁还原菌	相对丰度/%	
	R1	R2		R1	R2
<i>Acinetobacter</i>	5.56	27.95	<i>Pseudomonas</i>	0.21	3.29
<i>Pseudomonas</i>	0.21	3.29	<i>Bacteroides</i>	0.12	1.73
<i>Bradyrhizobium</i>	0.34	0.54	<i>Escherichia</i>	0.05	0.33
<i>Microbacterium</i>	0.18	0.20	<i>Alkaliphilus</i>	0.04	0.11
<i>Anaerobacter</i>	0.03	0.06	<i>Desulfobulbus</i>	0.06	0.07
<i>Bacillus</i>	0.04	0.07	<i>Bacillus</i>	0.04	0.07
<i>Clostridium</i>	2.47	1.29	<i>Clostridium</i>	2.47	1.29
<i>Hyphomicrobium</i>	0.42	0.40	other IRBs	0.06	0.06
<i>Acidovorax</i>	0.96	0.09			
<i>Thauera</i>	0.18	0.07			
other denitrifiers	0.17	0.12			
Total	10.56	34.08	Total	3.05	6.95

在 R2 中检测到多种可进行异化铁还原的细菌,包括假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、梭菌属 (*Clostridium*)、大肠杆菌 (*Escherichia\_Shigella*)、芽孢杆菌 (*Bacillus*)、拟杆菌 (*Bacteroides*) 等,其相对丰度的总和约为空白组的 2 倍,其中兼性厌氧菌假单胞菌属 (*Pseudomonas*)<sup>[27]</sup> 相对丰度达到 3.29%,约为 R1 组的 15.7 倍,它可以参与异养反硝化,同时还原 Fe(III),也可参与芳香烃及其他有机物的降解并代谢产生乙酸、丁酸、氨氮、二氧化碳等。泰氏菌 (*Tissierella*) 和 *Alkaliphilus* 也能参与芳香烃的降解,其丰度相对于 R1 分别提高了 0.01% 和 0.07%。总的来说,R2 组中投加亚硝酸盐带来较高的 Fe(III) 浓度,使反硝化菌和铁还原菌丰度提升 23.52% 和 3.9%,同时,发酵和水解功能使微生物得到富集。

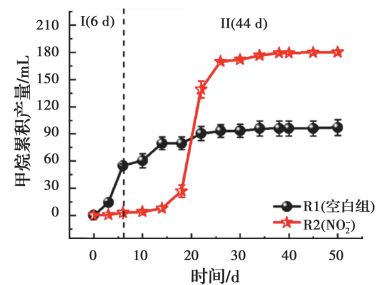
2.2 投加亚硝酸盐对污泥厌氧消化的影响

2.2.1 对污泥减量和脱氮的影响 两个组在厌氧消化阶段 II 结束后污泥减量化的结果如图 6(a) 所示。依据 Switzenbaum 等<sup>[28]</sup> 提出的质量平衡公式计算发现,在第 1 阶段 R2 的 VSS 去除率仅为 1.48%,但在厌氧消化后,R2 组的 TCOD、TSS、VSS 的减量率分别达到 40.92%、25.88%、36.66%,比 R1 分别提高了 6.06%、12.36% 和 15.69%。阶段 II 结束时两组反应器的甲烷累积产量如图 6(b) 所示,投加亚硝酸盐的 R2 组甲烷累积产量约为 R1 组的 1.86 倍。在前 10 天,R2 组甲烷

生产被显著抑制,而在第 20 天左右开始显著提高。空白组前 6 天就完成了 2/3 的甲烷生产,即使在阶段 II 投加了新的引种污泥,其甲烷累积过程并未被显著促进,这是由于微生物细胞壁限制了固相污泥中有机物的释放,使其难以被水解酸化菌和产甲烷菌利用。综合甲烷产生量与 TCOD、TSS 和 VSS 的减量数据可以得出,投加亚硝酸盐后,污泥水解过程得到有效促进,为产甲烷菌提供了更多可溶性小分子底物,从而在整体过程中使污泥减量化率提高 20.97%。



(a) 初始、第 6 天和第 50 天两反应器的 TCOD、TSS、VSS



(b) 两反应器的甲烷累积产量

图 6 TCOD、TSS、VSS 的减量化与甲烷累积产量

Fig. 6 The TCOD、TSS、VSS degradations and cumulative methane production during two groups

表 3 对比了消化前后各组总氮变化情况。经过 50 d 的厌氧消化后,空白组 R1 和实验组 R2 的总氮含量由初始的 1 144.79 mg/L 分别变为 1 065.93、953.46 mg/L,这表明添加亚硝酸盐虽增加了系统中的氮素投入,却不会增加额外的总氮污染,可能的原因是:1)投加的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N 大部分以 N<sub>2</sub> 等气体形式损失;2)蛋白质等含氮有机物的加速降解造成总氮损失。

表 3 两反应器中总氮变化

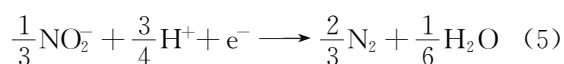
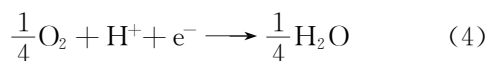
Table 3 Change of TN concentration in each reactor

反应器	初始 TN 含量/ (mg · L <sup>-1</sup> )	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N 投加 量/(mg · L <sup>-1</sup> )	消化后 TN 含量/(mg · L <sup>-1</sup> )
R1	1 144.79	0	1 065.93
R2	1 144.79	243.48	953.46

2.2.2 投加亚硝酸盐的经济性分析 理论上 1 mol 亚硝酸盐可提供 3 mol Fe(III)氧化所需电子。以投加亚硝酸钠为例,如需代替投加 1 g/L 的氢氧化铁,亚硝酸钠投加质量浓度为 0.207 g/L 即可。经调研,工业级亚硝酸钠约 3.5~5.6 元/kg,工业级氢氧化铁约 10~15 元/kg。因此,投加亚硝酸盐试剂的成本仅为三价铁盐的 4.8%~11.6%。另外,许多学者考虑在工程应用中使用含有亚硝酸盐的废水反硝化液与剩余污泥共同处理,可节约亚硝酸盐的药剂成本,不会造成总氮污染,同时,避免了高铁含量污泥的产生。

### 2.3 亚硝酸盐促进剩余污泥水解的新原理

通过在剩余污泥厌氧消化体系中投加亚硝酸盐,促进了污泥减量化和甲烷的产生,这与 Lu 等<sup>[8]</sup>的研究结论一致。在以往报道中认为,亚硝酸盐投加后剩余污泥的发酵过程包括 4 个步骤:1)污泥颗粒的增溶;2)溶解性底物的水解;3)水解产物的酸化;4)酸化产物的产甲烷作用<sup>[29]</sup>。污泥减量化和甲烷产率的提高归因于亚硝酸盐对微生物细胞壁和 EPS 的破坏导致有机物释放<sup>[9]</sup>,及生物反硝化过程促进有机物水解引起 VFAs 积累。然而,异化铁还原过程也能参与促进复杂有机物的降解,因此,亚硝酸盐对污泥体系中铁价态的影响不可忽略。笔者提出了亚硝酸盐促进剩余污泥水解过程的新原理:  $\text{NO}_2^-$  化学反硝化耦合 Fe(II)氧化,产生的 Fe(III)能继续参与到异化铁还原作用,耦合小分子有机酸或大分子的蛋白、芳香烃等有机物的降解,这会加速剩余污泥的水解并为产甲烷阶段提供更多可利用的底物。理论上,1 mg/L  $\text{NO}_2^-$ -N 的反硝化过程能消耗 1.72 mg/L 的 COD<sup>[30]</sup>(式(4)~(5)<sup>[31]</sup>),研究中共添加了 243.48 mg/L 的  $\text{NO}_2^-$ -N,50 d 内比空白组带来更多(2 485 mg/L)的 COD 去除,远大于理论上 418.79 mg/L 的 COD,而实际上,几乎 97%的  $\text{NO}_2^-$  用于氧化 Fe(II),而 Fe(III)还原过程的发生和铁还原菌被富集都说明,投加亚硝酸后,Fe(II)/Fe(III)的氧化还原在促进剩余污泥水解中起到了至关重要的作用。



## 3 结论

向剩余污泥中投加亚硝酸盐,可显著促进剩余污泥细胞破壁,大幅提升水解酸化效率,对比空白组,甲烷累计产量提升 86%,VSS 去除量提高 21%。投加亚硝酸盐除引起生物反硝化外,可化学氧化污泥中 97.3%Fe(II),引发 Fe(III)还原过程,进而富集铁还原菌,对污泥水解和后续厌氧消化起到重要促进作用。未来的研究中,可对亚硝酸盐反硝化及 Fe(III)还原对污泥厌氧消化的贡献进行量化分析。

### 参考文献:

- [1] 黄英才,许丹丹,白少元,等.我国城镇污泥资源化利用综述[J].环境与发展,2020,32(11):250-252.  
HUANG Y C, XU D D, BAI S Y, et al. Review on utilization of municipal sludge resources in China [J]. Environment and Development, 2020, 32(11): 250-252. (in Chinese)
- [2] APPELS L, BAEYENS J, DEGRÈVE J, et al. Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge [J]. Progress in Energy and Combustion Science, 2008, 34(6): 755-781.
- [3] LOVLEY D R, LONERGAN D J. Anaerobic oxidation of toluene, phenol, and p-cresol by the dissimilatory iron-reducing organism, GS-15 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1990, 56(6): 1858-1864.
- [4] WANG M W, ZHAO Z Q, ZHANG Y B. Sustainable strategy for enhancing anaerobic digestion of waste activated sludge: driving dissimilatory iron reduction with Fenton sludge [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2018, 6(2): 2220-2230.
- [5] ZHAO Z S, LI Y, QUAN X, et al. Improving the co-digestion performance of waste activated sludge and wheat straw through ratio optimization and ferrous iron oxide supplementation [J]. Bioresource Technology, 2018, 267: 591-598.
- [6] YE J, HU A D, REN G P, et al. Enhancing sludge methanogenesis with improved redox activity of extracellular polymeric substances by hematite in red mud [J]. Water Research, 2018, 134: 54-62.
- [7] 王绍文,秦华.城市污泥资源利用与污水土地处理技术[M].北京:中国建筑工业出版社,2007.  
WANG S W, QIN H. Urban sludge resource



- utilization and sewage land disposal technology [M]. Beijing: China Architecture & Building Press, 2007. (in Chinese)
- [8] LU Y Q, XU Y, CHEN S S, et al. Effect of nitrite addition on the two-phase anaerobic digestion of waste activated sludge: Optimization of the acidogenic phase and influence mechanisms [J]. Environmental Pollution, 2020, 261: 114085.
- [9] WANG X L, ZHANG L, PENG Y Z, et al. Enhancing the digestion of waste activated sludge through nitrite addition: Insight on mechanism through profiles of extracellular polymeric substances (EPS) and microbial communities [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 369: 164-170.
- [10] 彭永臻, 王晓玲, 张亮, 等. 亚硝酸盐投加方式对剩余污泥发酵性能的影响[J]. 北京工业大学学报, 2019, 45(11): 1057-1062.
- PENG Y Z, WANG X L, ZHANG L, et al. Effects of nitrite dosing modes on sludge fermentation performance [J]. Journal of Beijing University of Technology, 2019, 45(11): 1057-1062. (in Chinese)
- [11] PICARDAL F. Abiotic and microbial interactions during anaerobic transformations of  $\text{Fe}(\text{II})$  and  $\text{NO}_x^-$  [J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 112.
- [12] YANG Y F, ZHANG Y B, LI Y, et al. Nitrogen removal during anaerobic digestion of wasted activated sludge under supplementing  $\text{Fe}(\text{III})$  compounds [J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 332: 711-716.
- [13] FROLUND B, GRIEBE T, NIELSEN P H. Enzymatic activity in the activated-sludge floc matrix [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995, 43 (4): 755-761.
- [14] HINMAN J J Jr. Standard methods for the examination of water, sewage, and industrial wastes [J]. American Journal of Public Health and the Nations Health, 1955, 45(6): 821.
- [15] ZHU T T, ZHANG Y B, QUAN X, et al. Effects of an electric field and iron electrode on anaerobic denitrification at low C/N ratios [J]. Chemical Engineering Journal, 2015, 266: 241-248.
- [16] DING L J, AN X L, LI S, et al. Nitrogen loss through anaerobic ammonium oxidation coupled to iron reduction from paddy soils in a chronosequence [J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(18): 10641-10647.
- [17] CHEN W, WESTERHOFF P, LEENHEER J A, et al. Fluorescence Excitation-Emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter [J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(24): 5701-5710.
- [18] LU Y Q, XU Y, DONG B, et al. Effects of free nitrous acid and nitrite on two-phase anaerobic digestion of waste activated sludge: a preliminary study [J]. Science of the Total Environment, 2019, 654: 1064-1071.
- [19] 冯应鸿. 零价铁强化剩余污泥厌氧消化的研究[D]. 辽宁 大连: 大连理工大学, 2014.
- FENG Y H. Research of enhanced anaerobic digestion of waste activated sludge by addition of zero valent iron [D]. Dalian, Liaoning: Dalian University of Technology, 2014. (in Chinese)
- [20] WU D L, SHAO B B, FU M Y, et al. Denitrification of nitrite by ferrous hydroxy complex: Effects on nitrous oxide and ammonium formation [J]. Chemical Engineering Journal, 2015, 279: 149-155.
- [21] JIA X, ZHU C W, LI M X, et al. A comparison of treatment techniques to enhance fermentative hydrogen production from piggery anaerobic digested residues [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2013, 38(21): 8691-8698.
- [22] CHEN H J, ZHOU W Z, ZHU S N, et al. Biological nitrogen and phosphorus removal by a phosphorus-accumulating bacteria *Acinetobacter* sp. strain C-13 with the ability of heterotrophic nitrification-aerobic denitrification [J]. Bioresource Technology, 2021, 322: 124507.
- [23] 孟佳. 养猪废水厌氧消化液的亚硝化调控与功能微生物分析[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.
- MENG J. Process control of shortcut nitrification and functional microbial community in a SBR for anaerobic digested piggery wastewater treatment [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2013. (in Chinese)
- [24] 邢崇阳, 范禹辰, 陈璇, 等. 羟胺对厌氧氨氧化污泥群落的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(7): 3365-3372.
- XING C Y, FAN Y C, CHEN X, et al. Effect of hydroxylamine on community of ANAMMOX sludge [J]. Environmental Science, 2020, 41(7): 3365-3372. (in Chinese)
- [25] YANG Y F, PENG H, NIU J F, et al. Promoting nitrogen removal during  $\text{Fe}(\text{III})$  reduction coupled to

- anaerobic ammonium oxidation (Feammox) by adding anthraquinone-2, 6-disulfonate (AQDS) [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 247: 973-979.
- [26] 接伟光. 剩余污泥碱性厌氧发酵混合菌系构建与性能 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.  
JIE W G. Construction and properties of mixed microbial consortium in alkaline anaerobic fermentation of excess sludge [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015. (in Chinese)
- [27] STRAUB K L, BENZ M, SCHINK B, et al. Anaerobic, nitrate-dependent microbial oxidation of ferrous iron [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(4): 1458-1460.
- [28] SWITZENBAUM M S, FARRELL J B, PINCINCE A B. Relationship between the Van Kleeck and mass-balance calculation of volatile solids loss [J]. *Water Environment Research*, 2003, 75(4): 377-380.
- [29] WANG B, WANG S Y, LI B K, et al. Integrating waste activated sludge (WAS) acidification with denitrification by adding nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2014, 67: 460-465.
- [30] WANG B, PENG Y Z, GUO Y Y, et al. Bioproduction of volatile fatty acid from the fermentation of waste activated sludge for in situ denitrification [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2016, 121(4): 431-434.
- [31] 徐峥勇. 基于亚硝化、厌氧氨氧化与反硝化的脱氮耦合工艺及其控制策略研究 [D]. 长沙: 湖南大学, 2011.  
XU Z Y. Study on control strategies of partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and denitrification coupling process [D]. Changsha: Hunan University, 2011. (in Chinese)

(编辑 王秀玲)