

DOI: 10.11835/j.issn.2096-6717.2021.125



开放科学(资源服务)标识码(OSID):



硫磺-生物绳为填料的自养反硝化污水脱氮处理

时绍鹏^{1,2,3}, 万柳杨^{2,3}, 廖宏燕^{2,3}, 王兴祖²

(1. 重庆交通大学 河海学院, 重庆 400074; 2. 中国科学院重庆绿色智能技术研究院
水污染过程与防治研究中心, 重庆 400714; 3. 中国科学院大学 资源与环境学院, 北京 100049)

摘要:针对传统的填充床硫自养反硝化工艺填料用量大、水头损失严重以及反应器易堵塞等问题,采用硫涂层接触反硝化工艺进行模拟污水脱氮研究,主要考察反应器内部的填料填充比、温度以及水力停留时间(HRT)对其脱氮性能的影响。结果表明:在进水 NO_3^- -N 浓度为 50 mg/L、温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、 $\text{HRT}=19.5$ h 时,将填料填充比由 1/10 增大到 1/5, NO_3^- -N 的去除效果明显提升,由 56.77% 提升至 78.26%; 温度变化对反应器脱氮有很大影响,当填料填充比为 1/5、 $\text{HRT}=19.5$ h 时,在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 和 $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下, NO_3^- -N 的平均去除率分别为 71.05% 和 98.38%; 此外,当 HRT 降低至 9.7 h 时, NO_3^- -N 的平均去除率为 89.29%。整个反应过程中,出水 NO_2^- -N 浓度均很低,保持在 0.4 mg/L 以内,并且反应器出水 pH 值保持在 6.8~8.3 之间,满足微生物生长所需的 pH 条件。硫涂层接触反硝化系统的硫自养反硝化优势菌属是 *Thiothrixs*、*Thiomonas* 和 *Sulfuritalea*, 其占比分别为 2.89%、1.55% 和 1.35%。微生物功能预测结果表明,硫、氮代谢对系统脱氮起着关键作用。

关键词:硫自养反硝化;硫涂层;生物脱氮;填料填充比;反应器堵塞

中图分类号: X703.1 文献标志码: A 文章编号: 2096-6717(2022)03-0150-10

Nitrogen removal of wastewater by autotrophic denitrification using sulfur and biological rope as fillings

SHI Shaopeng^{1,2,3}, WAN Liuyang^{2,3}, LIAO Hongyan^{2,3}, WANG Xingzu²

(1. College of River and Ocean Engineering, Chongqing Jiaotong University, Chongqing 400074, P. R. China; 2. Research Center for Process and Prevention of Water Pollution, Chongqing Institute of Green and Intelligent Technology, Chinese Academy of Sciences, Chongqing 400714, P. R. China; 3. College of Resource and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, P. R. China)

Abstract: For the traditional packed bed sulfur autotrophic denitrification process has the problems of large

收稿日期: 2021-05-18

基金项目: 国家自然科学基金(52070179); 中国科学院科技服务网络计划(STS计划)区域重点项目(KFJ-STQYD-162)

作者简介: 时绍鹏(1996-), 男, 主要从事硫自养反硝化污水脱氮处理研究, E-mail: 963941672@qq.com.

王兴祖(通信作者), 男, 研究员, E-mail: wangxingzu@cigit.ac.cn.

Received: 2021-05-18

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 52070179); The Science and Technology Service Network Program of Chinese Academy of Sciences (STS Program) (No. KFJ-STQYD-162)

Author brief: SHI Shaopeng (1996-), main research interest: nitrogen removal of wastewater by sulfur autotrophic denitrification, E-mail: 963941672@qq.com.

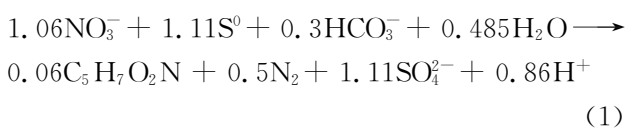
WANG Xingzu (corresponding author), researcher, E-mail: wangxingzu@cigit.ac.cn.

filling dosage, serious head loss, easy blockage of the reactor and so on, the nitrogen removal of simulated wastewater by contact denitrification process with sulfur coating was studied. The effects of filler filling ratio, temperature and hydraulic retention time (HRT) on the denitrification performance of the reactor were investigated. The results showed that when the influent NO_3^- -N concentration was 50 mg/L, the temperature was $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, and $\text{HRT}=19.5$ h, the NO_3^- -N removal efficiency was significantly improved with the filler filling ratio increased from 1/10 to 1/5 and the NO_3^- -N removal rate increased from 56.77% to 78.26%. Temperature has a great influence on the denitrification in the reactor. When the filler filling ratio was 1/5 and $\text{HRT}=19.5$ h, the average NO_3^- -N removal rates were 71.05% and 98.38% at $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ and $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$, respectively. Moreover, when HRT was reduced to 9.7 h, the average NO_3^- -N removal rate was 89.29%. During the whole reaction process, the effluent NO_2^- -N concentration was very low, kept within 0.4 mg/L. And the effluent pH value of the reactor was maintained between 6.8 and 8.3, which met the pH conditions required for microbial growth. The sulfur autotrophic denitrification dominant bacteria of sulfur coating contact denitrification system were *Thiothrixs*, *Thiomonas* and *Sulfuritalea*, with the proportions of 2.89%, 1.55% and 1.35%, respectively. The result of microbial function prediction showed that sulfur and nitrogen metabolism plays a key role in denitrification of the system.

Keywords: sulfur autotrophic denitrification; sulfur coating; biological nitrogen removal; filler filling ratio; reactor blockage

过量的氮、磷元素会引发水体富营养化^[1-2],破坏水域生态环境,危害水生生物生存和人体健康^[3-4]。自然因素和人类活动^[5-6]是影响水中氮、磷含量的主要原因。污水中的氮包括有机氮、氨氮、亚硝酸盐氮以及硝酸盐氮 4 种形式。其中,少量的硝酸盐虽然不会对人体造成危害,但通过还原作用会转换成有毒且具有高度致癌性的亚硝酸盐^[7-8]。因此,需要采用一定的方法将硝酸盐转化为氮气。

虽然传统去除硝酸盐的物理化学方法较多,但运行成本高、适用性低等缺点限制了其推广使用^[3, 9]。虽然异养反硝化的脱氮速率较高,但在运行过程中需要不断加入碳源,从而提高了运营成本^[1]。相比异养反硝化,硫自养反硝化工艺因无需外加碳源、污泥产生量少、低成本、高效率^[10-11]等优点而被学者们广泛应用于污水脱氮处理中。它是指硫自养反硝化微生物(如脱氮硫杆菌)以单质硫(S^0)作为电子供体,硝酸盐(NO_3^-)为电子受体,将硝酸盐氮转化为氮气的过程^[8, 10, 12-13],从而达到脱氮以净化水质的目的。反应方程式为



Sierra-Alvarez 等^[14]采用硫-石灰石填充床生物反应器进行自养反硝化污水脱氮处理, NO_3^- -N 去除率可达 95% 以上。同时,采用硫-铁填充床^[15]、硫磺-白云石填充床^[16]、木屑-硫磺填充床^[17]以及硫

磺-硫铁矿填充床^[18]进行总氮深度去除,发现出水中硝酸盐氮浓度都很低。但是,采用这种填料填充式的方式进行污水处理会导致反应器内产生填料堵塞问题,影响脱氮效果。因此,笔者在硫自养反硝化工艺的基础上,通过自制硫涂层填料和反应装置,在实验室进行模拟污水脱氮研究,并从反应器的填料填充比、温度以及水力停留时间(HRT)3 个方面对反应器进行运行参数优化。此外,取稳定运行阶段中的反应污泥进行扫描电镜观察、微生物高通量测序分析,以及对污泥中的微生物进行功能预测分析。

1 材料与方 法

1.1 接种污泥及模拟污水

实验反应器所用污泥取自重庆市合川区某污水处理厂 A²/O 工艺的二沉池新鲜污泥,污泥使用前需稀释。反应装置启动初期,往装置内添加 SS(悬浮物)浓度为 7 120 mg/L 的活性污泥进行微生物培养与驯化。

模拟污水为人工配水,主要化学成分包括:310 mg/L NaNO_3 、20 mg/L KH_2PO_4 、800 mg/L NaHCO_3 以及 0.1 mL/L 的微量元素。其中,微量元素的组成成分见文献^[19],配制的模拟污水进水 NO_3^- -N 浓度为 50 mg/L, COD 浓度为 (6 ± 1) mg/L,且 pH 值保持在 7.5~8.4 之间。

1.2 实验装置

采用的反应器为上流式厌氧反应器,其有效体

积为 2.5 L, 直径为 90 mm, 有效高度为 400 mm, 材质为有机玻璃, 内部设有固液分离器。反应器内部挂上自制的硫磺粉涂层填料, 实际填充比(填料体积: 反应器有效体积)为 1/10~1/5, 连续流运行方式为下进上出, 进水流量由蠕动泵控制。夏季反应器温度保持在 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 冬季通过水浴加热的方式使反应器温度控制在 $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。为避免光照对硫自养反硝化菌的伤害, 反应器外部用铝箔纸包裹避光。实验装置如图 1 所示。

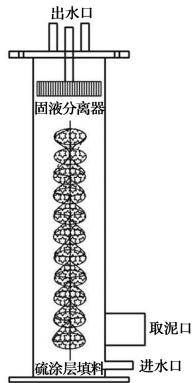


图 1 连续流装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of continuous flow device

1.3 硫磺粉涂层的制备

原材料: 硫磺粉、生物绳填料和胶黏剂。硫磺粉含量 $\geq 99.5\%$; 生物绳填料购于宜兴市和盛环保有限公司, 型号为 60CS3; 胶黏剂为实验室自制, 组成成分为 5% 的聚乙烯醇。

制备方法: 填料制备流程见图 2。根据反应装置的内部尺寸, 截取长度为 350 mm 的生物绳填料, 然后按照胶黏剂 40 mL + 硫磺粉 50 g 的配比将硫

磺粉混匀至黏稠状, 有利于硫磺粉粘附在生物绳填料上。接着, 将混匀的硫磺粉全部涂刷到生物绳填料上, 悬挂晾干至重量无变化。负载到填料上的硫磺粉质量 M 按式(2)计算。

$$M = (m_2 - m_1 - m_0)g \quad (2)$$

式中: m_0 为胶黏剂的质量; m_1 为生物绳填料质量; m_2 为晾干后的硫磺粉涂层填料质量; g 为重力加速度。

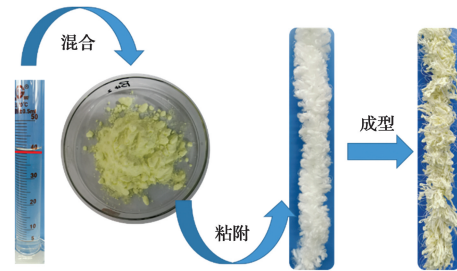


图 2 填料制备流程图

Fig. 2 Flow chart of filler preparation

1.4 实验方法

采用自制的硫磺粉涂层填料和反应器在实验室进行连续运行, 共运行 5 个月。反应器密封后, 通过蠕动泵进水以灌满装置, 静置 3 d, 主要使装置内活性污泥中的微生物得到培养和驯化。整个反应过程分为 6 个阶段(见表 1), 阶段 I、II、III 主要考察填料填充比和温度对反应器脱氮性能的影响; 阶段 IV、V、VI 保持填料填充比、反应器温度和进水 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度一致, 通过缩短 HRT 对反应器进行优化。其中, 阶段 II、IV、V 为反应器内部填料更换阶段。待反应器稳定运行后, 取稳定运行阶段中的反应污泥进行扫描电镜观察和微生物高通量测序分析。

表 1 反应器各个阶段运行条件

Table 1 Operating conditions of each stage of the reactor

反应阶段	反应时间/d	填料填充比	硫粉质量/g	HRT/h	温度/ $^\circ\text{C}$	$\text{NO}_3^- - \text{N}/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
I	0~26	1:10	49.1215	19.5	25 ± 1	50
II	27~38	1:5	88.4534	19.5	25 ± 1	50
III	39~66	1:5	88.4534	19.5	30 ± 1	50
IV	67~99	1:5	100.5477	14.7	30 ± 1	50
V	100~132	1:5	100.9725	12.6	30 ± 1	50
VI	133~149	1:5	100.9725	9.7	30 ± 1	50

1.5 分析方法

水质指标检测方法为: $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 采用紫外分光光度法、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 采用纳氏试剂分光光度法、COD 采用硫酸

亚铁铵滴定法^[20]; SO_4^{2-} 采用离子色谱仪(ICS-1100, Dionex, 中国)测定、pH 值采用奥克斯 ST300 便携式 pH 计测定。

采用热场发射扫描电镜(JSM-7800F, JEOL, 日

本)对污泥进行形貌表征分析,扫描电镜样品前期处理参照文献[21]。将污泥样品送往上海美吉生物医药科技有限公司,采用 Illumina Miseq 测序技术进行微生物多样性分析,主要通过 PCR 仪对细菌 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增,引物序列为 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3') 和 907R (5'-CGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')^[22]。此外,微生物功能预测分析主要运用 FAPROTAX (Functional Annotation of Prokaryotic Taxa) 软件和 R 语言 3.5.3 进行结果运行以及绘图分析。

2 结果与讨论

2.1 NO_3^- -N 的去除及出水 NO_2^- -N、 NH_4^+ -N 的积累

2.1.1 NO_3^- -N 的去除 待装置静置 3 d 后,打开蠕动泵连续进水,之后开始每天测定出水 NO_3^- -N 含量。如图 3 所示,反应前期(阶段 I),即填料填充比为 1/10, HRT=19.5 h, $T=(25\pm 1)^\circ\text{C}$ 时,系统 NO_3^- -N 的去除率并不高,平均只有 66.78%。随着反应的不进行, NO_3^- -N 的去除率逐渐降低,且在该反应阶段末期,反应器的脱氮率趋于平稳,保持在 55%~60%,这可能与装置内的填料被消耗有关。另一种解释认为,可能是因为阶段 I 的水力停留时间较长,微生物会慢慢附着在填料表面增殖和生长,溶液体系中 NO_3^- -N 与填料表面的单质硫接触受阻^[23]。为了提高反应器的脱氮效果,将填料的填充比由阶段 I 的 1:10 提高到 1:5。相比之下,当填料填充比为 1/5, HRT=19.5 h, $T=(25\pm 1)^\circ\text{C}$ 时(阶

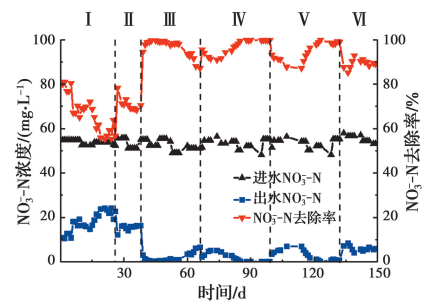


图 3 进出水 NO_3^- -N 浓度及去除率

Fig. 3 Influent and effluent concentrations of NO_3^- -N and its removal rate

段 II), NO_3^- -N 的平均去除率为 71.05%, 说明增加反应器内部的填料填充比可有效提高 NO_3^- -N 的去除率,且没有出现堵塞现象。Flere 等^[24]采用硫-石灰石自养反硝化工艺(SLAD)进行脱氮效果评估, NO_3^- -N 的最大去除率可达 95%, 但污泥淤积造成堵塞,降低了硝酸盐氮的去除率。Han 等^[25]对硫-石灰多孔陶瓷载体在填充床生物反应器中的脱氮性能进行了评价,结果表明: NO_3^- -N 的最大去除率可达 99.5%; 同样,污泥淤积造成的反应器堵塞限制了其反硝化能力。实验采用的硫-生物绳填料悬挂式反应器与目前的硫-石灰石填充式生物反应器相比^[14, 26-27],其主要特点是填料在反应器内的形式为悬挂式,污泥可直接附着生长在填料上,避免沉积到反应器底部造成淤积,且自制的硫涂层填料孔隙度较大,填料填充比由以往 SLAD 工艺的 1/3~1/2 缩减到 1/5(表 2),有效防止了反应器堵塞问题。

表 2 单质硫自养反硝化

Table 2 Autotrophic denitrification of elemental sulfur

进水 NO_3^- -N 浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	反应器类型	温度/ $^\circ\text{C}$	HRT/h	反应器有效体积/L	填料填充比	NO_3^- -N 最大去除率/%	文献
15~60	固定床柱式反应器		6	1.13	8:25	95	[24]
12.5~16.8	上流式生物过滤器	6.4~9.8	18	1 100	2:5	85.3	[28]
10~40	上流式生物过滤器	20~25	3	3.2	21:50	90	[26]
20~60	填充床生物反应器	28±1	3.6	3.02	3:10	99.5	[25]
54.46±1.15	填充床生物反应器	30	2.5	3.9	2:5	99.93	[29]
50	悬挂式生物反应器	30±1	9.7	2.5	1:5	92.83	本实验

注:填料填充比=填料体积:反应器有效体积。

在填料填充比为 1/5、HRT=19.5 h、 $T=(30\pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下(阶段 III), NO_3^- -N 平均去除率为 94.69%, 远远高于第 II 阶段的脱氮效果,这主要与反应器的温度有关,研究表明^[26],硫自养反硝化菌的最佳生长温度在 30 $^\circ\text{C}$ 左右。因此,在第 39 d,将反应

器的温度升高至(30±1) $^\circ\text{C}$,显然,反应器的脱氮率提升迅速,由原来的 70.50% 提升到 94.50%,最高达到 99.60%(阶段 III)。不过,该过程中 NO_3^- -N 的去除率逐渐下降,由最高的 99.60% 降低到 87.15%,这主要是因为填料上的基质(单质硫)释放有限。

除了填料填充比和温度会对反应器的脱氮效果产生影响外, HRT 也是评估反应器脱氮效率的一个重要指标。保持反应器内部的填料填充比和温度不变, 逐渐缩短水力停留时间, 观察反应器的脱氮效果。图 3 表明, 随着 HRT 的减小, 各个阶段的脱氮效果也逐渐降低, 阶段 IV (HRT = 14.7)、阶段 V (HRT = 12.6) 以及阶段 VI (HRT = 9.7) 的 NO_3^- -N 平均去除率分别为 96.77%、93.61%、89.29%; 对应反应器体积负荷分别为 0.08、0.10、0.12 $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 。说明通过对反应器的反应条件进行调整和优化, 缩短 HRT 也能达到较高的脱氮率, 且出水 NO_3^- -N 含量均低于 10 mg/L 。值得注意的是, 阶段 IV、V 和 VI 的初期 NO_3^- -N 去除率有所下降, 可能是由于各阶段运行初期进水负荷突然提升, 系统中微生物还未能适应环境。与其他文献中的硫自养反硝化工艺相比(见表 2), 实验在保证较好脱氮效果的前提下, 减少了硫磺的使用量, 提高了利用率。但是, 实验也存在缺点, 比如硫涂层填料制作耗时以及水力停留时间并没有达到最优, 后期可考虑继续增加填料填充比来进一步优化 HRT。

2.1.2 出水 NO_2^- -N 和 NH_4^+ -N 的积累 对出水 NO_2^- -N 含量进行检测, 发现各个反应阶段的 NO_2^- -N 浓度均很低, 其中浓度最高为 0.41 mg/L (图 4(a)), 远远低于中国城镇污水排放标准限值。这表明在反应器脱氮过程中, NO_3^- -N 主要还原成 N_2 , 因此, 出水中只有极少量的 NO_2^- -N 积累。其中, 在填料填充比为 1/10, HRT = 19.5 h, $T = (25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下(阶段 I), NO_2^- -N 平均积累量高于其他反应阶段, 这可能是因为填料上生物膜的积累阻碍了传质, 降低了 NO_3^- -N 的处理效果^[29]。此外, 出水氨氮含量均低于 1 mg/L (图 4(b)), 说明在脱氮过程中整个反应器硝酸盐氮基本完全转化成了氮气。

2.2 pH 值的变化及出水 COD、 SO_4^{2-} 的浓度

实验测试了反应器进出水 pH 值和出水 COD 浓度的变化。图 5(a) 表明, 每个阶段的出水 pH 值均低于进水, 这主要与硫自养反硝化过程产生 H^+ 有关。其中, 当填料填充比为 1/10、HRT = 19.5 h、 $T = (25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 时(阶段 I), 出水 pH 值波动较小, 保持在 6.8~7.8 之间。而增加填料填充比至 1/5 时(阶段 II~III), 出水 pH 值随着反应的进行呈逐渐下降的趋势, 这主要与每个阶段的脱氮效果有关。相比阶段 II、III, 阶段 I 的脱氮率较低(图 3), 在相同

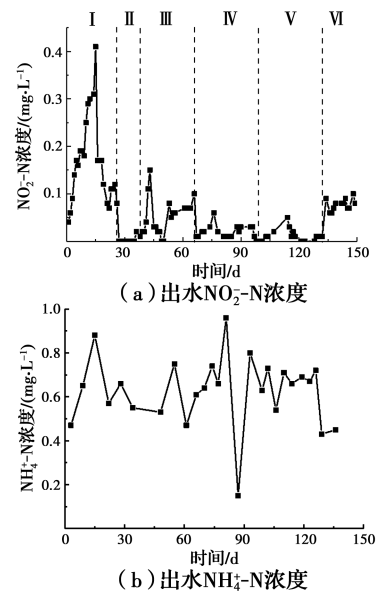


图 4 出水 NO_2^- -N 和 NH_4^+ -N 浓度

Fig. 4 Effluent NO_2^- -N and NH_4^+ -N concentrations

条件下, 产生的 H^+ 较少, 基本上能被进水中的 HCO_3^- 中和; 相反, 当填料填充比提升至 1/5 后, 反应器在单位时间内还原的 NO_3^- -N 较多, 对应产生的 H^+ 也较多, 换句话说, 随着反应的进行, 产生 H^+ 的能力大于进水碱度中和 H^+ 的能力。因此, 阶段 II 和 III 出水 pH 值趋于下降。在随后的 HRT 调控反应阶段, pH 值变化情况与阶段 II、III 相似, 也呈逐渐降低的趋势。总体来说, 出水 pH 值在 6.8~8.3 之间, 均趋于中性或弱碱性, 不会引起出水 pH 值超标。

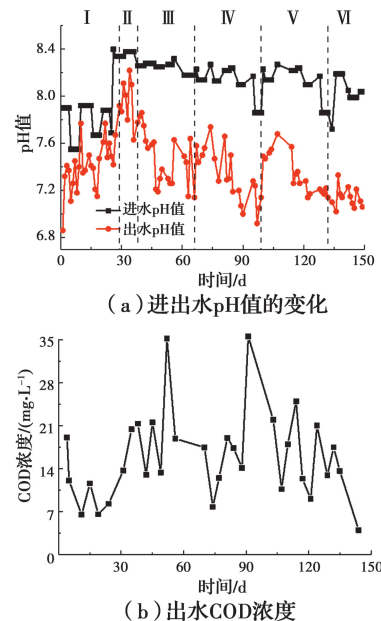


图 5 进出水 pH 值的变化和出水 COD 浓度

Fig. 5 Changes of pH value in influent and effluent and effluent COD concentration

通过检测发现,整个阶段的出水 COD 含量均较低,保持在 40 mg/L 以内(图 5(b)),远远低于中国城镇污水处理厂出水 COD 一级 A 标准(50 mg/L)。说明实验所用的胶黏剂在单位时间内释放的有机物含量较少,具有良好的粘附性和不溶性,且经过处理后的出水不会带来二次有机污染。

SO_4^{2-} 是研究过程中单质硫氧化检测的唯一产物,图 6 为整个反应阶段出水 SO_4^{2-} 的浓度。反应初期,出水 SO_4^{2-} 浓度高于理论值,除了硫自养反硝化外,可能还存在人工配水(无机废水)中源源不断的 DO 输入,形成好氧硫氧化^[30]。到了第 45 天,出水 SO_4^{2-} 浓度达到最高,为 486.32 mg/L;在第 67~149 天,出水 SO_4^{2-} 浓度基本稳定在(400±50) mg/L 左右。总之,在 0~38、39~66 和 67~149 天,出水 SO_4^{2-} 浓度平均分别为 350.33、463.56、417.91 mg/L。出水 SO_4^{2-} 浓度与 NO_3^- -N 的去除量有关,且在第 39~149 天,生成的 SO_4^{2-} 含量与理论计算值相差不大,这与 Sahinkaya 等^[31]的研究结果基本一致,推测可能与反应器内发生部分异养反硝化有关。Sun 等^[30]分别以硫代硫酸钠、硫代硫酸钠联合乙酸钠为电子供体进行自养反硝化和自养-异养耦合反硝化二级出水脱氮研究,结果表明,自养-异养耦合反硝化工艺的脱氮效果最佳,且有效降低了出水 SO_4^{2-} 浓度。He 等^[32]研发了一种新型循环反硝化过滤器,并以白松和单质硫颗粒为填料进行含盐废水处理,实现了较高的脱氮率,降低了 SO_4^{2-} 的积累。此外,Sahinkaya 等^[33]和 Liu 等^[34]利用异养和硫自养反硝化进行饮用水处理,可有效控制出水 SO_4^{2-} 浓度,且出水 SO_4^{2-} 浓度均低于中国生活饮用水最低标准 250 mg/L。故与现阶段已有研究相比^[12, 35],实验可能是由于进水中少量有机物或者填料上的部分有机物被异养反硝化菌利用,进行部分异养反硝化作用,从而减少了 SO_4^{2-} 的产生。

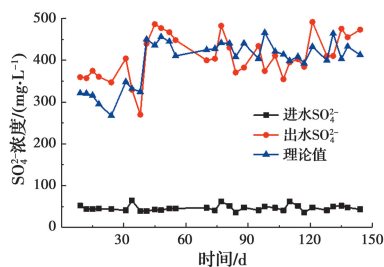
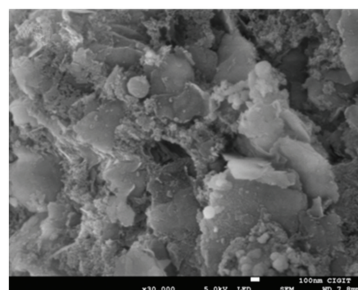


图 6 出水 SO_4^{2-} 浓度

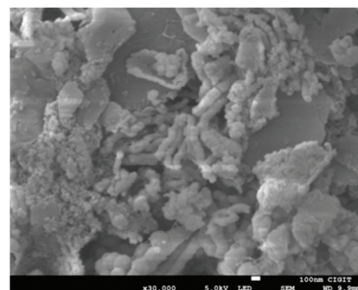
Fig. 6 Effluent SO_4^{2-} concentration

2.3 污泥 SEM 图片分析

取初始污泥和反应器稳定运行后阶段Ⅲ中的污泥进行 SEM 微生物形态观察分析。如图 7(a)所示,初始污泥形状均不规则,且疏松多孔,表面粗糙,这为微生物的附着生长提供了场所。待反应器成功启动且稳定运行后,取阶段Ⅲ的反应污泥进行 SEM 微生物形态观察,结果见图 7(b),发现污泥表面附着有明显且形状规则的杆状微生物,这与实验在电子显微镜下观察到的硫自养反硝化微生物形态一致。马潇然等^[36]通过对硫自养反硝化系统稳定运行时期的污泥进行扫描电镜观察,结果表明,污泥中存在一些短杆菌和球状菌。此外,赵晴等^[37]研究指出,以硫化物为电子供体的自养反硝化污泥中细菌形态主要为球状和短杆状。



(a) 初始污泥



(b) 反应后污泥

图 7 污泥 SEM 图像

Fig. 7 SEM image of sludge

2.4 微生物群落多样性分析

为了研究硫自养反硝化系统中的微生物种类及其相对丰度,取初始污泥和反应器稳定运行后阶段Ⅲ中的底泥,采用高通量测序技术进行微生物多样性分析。

如图 8(a)所示,初始污泥中微生物多样性丰富,相对丰度排名前 7 位的属分别是:norank_f_Gemmataceae (7.48%)、norank_f_Caldilineaceae (6.28%)、norank_f_Pirellulaceae (4.48%)、norank_f_A4b (3.99%)、*Dechloromonas* (3.28%)、

norank_f_SC-I-84 (2.89%) 和 *Ferritrophicum* (2.49%)。其中, *Dechloromonas* 是一种可利用有机碳源为电子供体、 NO_3^- -N 为电子受体进行反硝化的异养反硝化菌^[1, 38]; 有研究表明^[2], *Ferritrophicum* 是一种嗜中性且微好氧的铁氧化菌, 在低氧条件下富集, 可将 Fe^{2+} 还原成 Fe^{3+} 。因此, 反应器启动初期, 初始污泥中的异养反硝化菌可以利用水中少量有机物或者填料上的有机物作为电子供体进行反硝化。但是, 在反应后污泥中(图 8(b)), *Metallibacterium*、norank_f_Caldilineaceae、*Denitratisoma*、norank_f_Gemmatimonadaceae 和 *Thiothrix* 是主要优势菌属, 其占比分别为 18.87%、3.35%、2.99%、2.92% 和 2.89%。*Denitratisoma* 是一种典型的可利用 NO_3^- -N 为电子受体的异养反硝化菌, 具有去除氮和其他化合物的能力^[1, 28]; *Thiothrix* 是一种硫自养反硝化菌, 在厌氧条件下, 可以将 NO_3^- -N 还原为 N_2 , 从而达到脱氮的目的^[30]。此外, 系统中与硫自养反硝化相关的菌属还有 *Thiomonas*^[2] 和 *Sulfuritalea*^[30], 其相对丰度分别为 1.55% 和 1.35%。综合以上数据, 推断出实验中主要进行硫自养反硝化和部分异养反硝化作用。

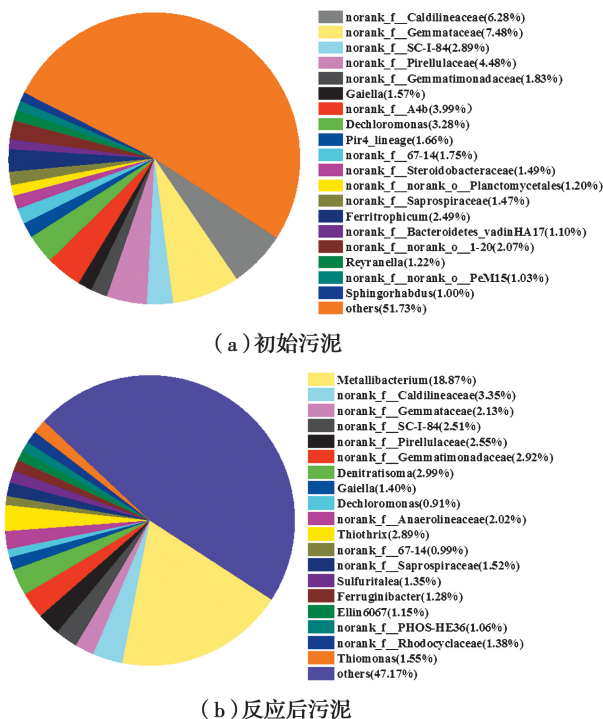


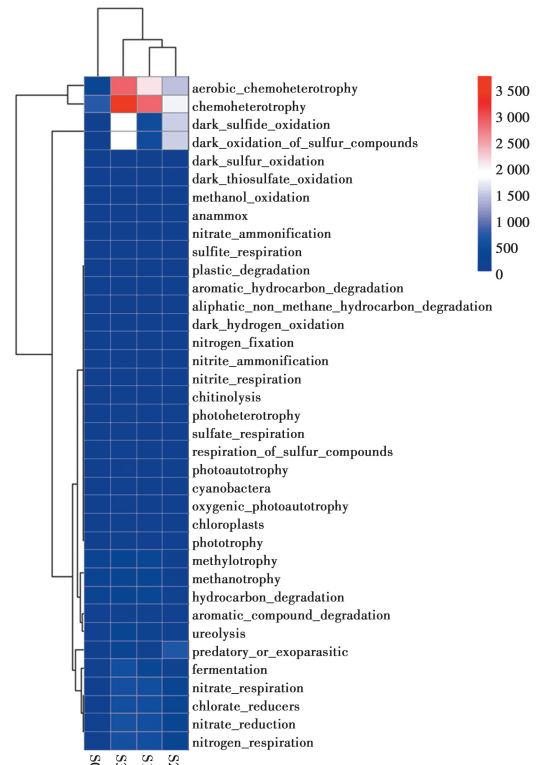
图 8 微生物在属水平的相对丰度

Fig. 8 Relative abundance of microorganisms at genus level

2.5 FAPROTAX 功能预测分析

采用 FAPROTAX 方法对脱氮系统中的微生物

群落功能表型进行预测, 以及对系统中的碳、氢、氮、磷和硫的循环功能进行分析^[19]。如图 9 所示, 主要有 7 个硫循环相关以及 13 个氮循环相关的功能注释, 分别包括 dark_sulfide_oxidation、dark_oxidation_of_Sulfur_compounds、respiration_of_sulfur_compounds 等和 nitrate_respiration、nitrate_reduction、nitrogen_respiration 等。



注: S_0 为初始污泥; S_1 为阶段 III 中的污泥; S_2 为阶段 IV 中的污泥; S_3 为阶段 VI 中的污泥。

图 9 不同反应阶段的污泥微生物功能预测图
Fig. 9 Function prediction of sludge microbial at different reaction stages

与初始污泥的微生物功能预测结果相比, 反应后各阶段中与硫循环和氮循环相关的功能注释强度均有所增加。其中, 初始污泥以及反应阶段 III、IV、VI 中的 dark_sulfide_oxidation 强度分别为 0、472、1 527 和 1 807, nitrate_reduction 强度分别为 34、537、314 和 586, 说明在整个脱氮系统中, 微生物主要进行的是硫代谢和氮代谢, 且随着反应的进行, 二者代谢强度有所增强。根据聚类分析关系可知, nitrate_respiration、nitrate_reductio 和 nitrogen_respiration 联系紧密; dark_Sulfide_oxidation、dark_sulfur_oxidation、dark_thiosulfate_oxidation 和 dark_oxidation_of_Sulfur_compounds 联系紧密, 这也说明了体系中硫、氮代谢对脱氮起着关键作用。此外, 各阶段功能预测中均

存在一定强度的异养反硝化作用,说明脱氮体系中有部分异养反硝化作用参与,进而推断本系统中主要进行硫自养反硝化作用和部分异养反硝化作用。

3 结论

1)采用自制硫涂层填料进行自养反硝化污水脱氮研究,应用性能良好,且反应器并未出现堵塞现象。出水 COD 含量均低于 40 mg/L,说明胶黏剂的粘附效果较好,不会带来二次有机污染。

2) NO_3^- -N 的去除率与反应器的填料填充比和温度有关。增大装置的填料填充比, NO_3^- -N 的去除率明显提升,最高达到 99.92%;此外,当温度由 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 调至 $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ 时, NO_3^- -N 的去除率由 70.50% 提升至 94.50%。

3)整个反应过程中,出水 NO_2^- -N 和 NH_4^+ -N 浓度均很低,分别保持在 0.4、1 mg/L 以内;且反应器出水 pH 值相对稳定,基本保持在 6.8~8.3 之间,符合硫自养反硝化微生物生长的 pH 条件。

4)反应器内硫自养反硝化菌是 *Thiothrixs*、*Thiomonas* 和 *Sulfuritalea*,其所占比例分别为 2.89%、1.55% 和 1.35%,此外,还存在部分异养反硝化菌 *Denitratisoma*,其占比为 2.99%。

5)FAPROTAX 功能预测结果表明,脱氮系统中微生物主要进行硫代谢和氮代谢,硫、氮代谢对脱氮起着关键作用。

参考文献:

- [1] WANG Z, HE S B, HUANG J, et al. Comparison of heterotrophic and autotrophic denitrification processes for nitrate removal from phosphorus-limited surface water [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 238: 562-572.
- [2] LI Y F, GUO J B, LI H B, et al. Effect of dissolved oxygen on simultaneous removal of ammonia, nitrate and phosphorus via biological aerated filter with sulfur and pyrite as composite fillers [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 296: 122340.
- [3] HAO W, MIAO B, LIU P P, et al. Potential regulation accelerates element sulfur metabolism in sulfur autotrophic denitrification [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2019, 228: 94-100.
- [4] LIU X W, HUANG M Q, BAO S P, et al. Nitrate removal from low carbon-to-nitrogen ratio wastewater by combining iron-based chemical reduction and autotrophic denitrification [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 301: 122731.
- [5] LIN S, MACKEY H R, HAO T W, et al. Biological sulfur oxidation in wastewater treatment: A review of emerging opportunities [J]. *Water Research*, 2018, 143: 399-415.
- [6] LIANG J, CHEN N, TONG S, et al. Sulfur autotrophic denitrification (SAD) driven by homogeneous composite particles containing CaCO_3 -type kitchen waste for groundwater remediation [J]. *Chemosphere*, 2018, 212: 954-963.
- [7] WATSUNTORN W, RUANGCHAINIKOM C, RENE E R, et al. Comparison of sulphide and nitrate removal from synthetic wastewater by pure and mixed cultures of nitrate-reducing, sulphide-oxidizing bacteria [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 272: 40-47.
- [8] SAHINKAYA E, KILIC A, CALIMLIOGLU B, et al. Simultaneous bioreduction of nitrate and chromate using sulfur-based mixotrophic denitrification process [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 262: 234-239.
- [9] SAHINKAYA E, DURSUN N. Sulfur-oxidizing autotrophic and mixotrophic denitrification processes for drinking water treatment: Elimination of excess sulfate production and alkalinity requirement [J]. *Chemosphere*, 2012, 89(2): 144-149.
- [10] VO T K, LEE J J, KANG J S, et al. Nitrogen removal by sulfur-based carriers in a membrane bioreactor (MBR) [J]. *Membranes*, 2018, 8(4): 115.
- [11] SUN Y M, 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.
- [12] ZHANG T C, LAMPE D G. Sulfur: Limestone autotrophic denitrification processes for treatment of nitrate-contaminated water: Batch experiments [J]. *Water Research*, 1999, 33(3): 599-608.
- [13] SAHINKAYA E, YURTSEVER A, AKTAŞ Ö, et al. Sulfur-based autotrophic denitrification of drinking water using a membrane bioreactor [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 268: 180-186.
- [14] SIERRA-ALVAREZ R, BERISTAIN-CARDOSO R, SALAZAR M, et al. Chemolithotrophic denitrification with elemental sulfur for groundwater treatment [J]. *Water Research*, 2007, 41(6): 1253-1262.
- [15] WANG S H, LIANG P, WU Z Q, et al. Mixed sulfur-iron particles packed reactor for simultaneous advanced

- removal of nitrogen and phosphorus from secondary effluent [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2015, 22(1): 415-424.
- [16] 李芳芳, 施春红, 周北海, 等. 硫磺和黄铁矿为填料的生物滤池自养反硝化强化处理二沉尾水[J]. *环境科学研究*, 2016, 29(11): 1693-1700.
LI F F, SHI C H, ZHOU B H, et al. Enhanced treatment of secondary effluent via autotrophic denitrification biofilter process using sulfur and pyrite as fillings [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2016, 29(11): 1693-1700. (in Chinese)
- [17] 董全宇, 陈帆, 程浩, 等. 木屑-硫磺填充床反硝化生物滤池强化硝酸盐去除[J]. *环境工程学报*, 2018, 12(10): 2725-2731.
DONG Q Y, CHEN F, CHENG H, et al. Woodchip-sulfur packed denitrification biofilter for enhanced nitrate removal [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2018, 12(10): 2725-2731. (in Chinese)
- [18] 周娅, 买文宁, 梁家伟, 等. 硫磺/硫铁矿自养反硝化系统脱氮性能[J]. *环境科学*, 2019, 40(4): 1885-1891.
ZHOU Y, MAI W N, LIANG J W, et al. Nitrogen removal performance of a sulfur/pyrite autotrophic denitrification system [J]. *Environmental Science*, 2019, 40(4): 1885-1891. (in Chinese)
- [19] 廖宏燕, 宋诚, 万柳杨, 等. 螯合铁对厌氧铁氨氧化脱氮效能及微生物群落的影响[J]. *环境科学*, 2021, 42(9): 4366-4373.
LIAO H Y, SONG C, WAN L Y, et al. Effect of chelated iron on nitrogen removal efficiency and microbial community structure in anaerobic ferric ammonium oxidation [J]. *Environmental Science*, 2021, 42(9): 4366-4373. (in Chinese)
- [20] 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.
- [21] 郑照明, 杨函青, 马静, 等. SNAD反应器中颗粒污泥和絮体污泥脱氮特性[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(10): 2996-3002.
ZHENG Z M, YANG H Q, MA J, et al. The nitrogen removal performance of granules and flocs in SNAD reactor [J]. *China Environmental Science*, 2015, 35(10): 2996-3002. (in Chinese)
- [22] SUN S H, JIA T P, CHEN K Q, et al. Simultaneous removal of hydrogen sulfide and volatile organic sulfur compounds in off-gas mixture from a wastewater treatment plant using a two-stage bio-trickling filter system [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2019, 13(4): 1-13.
- [23] 周娅, 买文宁, 代吉华, 等. 硫代硫酸钠联合硫铁矿自养反硝化脱氮性能[J]. *中国环境科学*, 2020, 40(5): 2081-2086.
ZHOU Y, MAI W N, DAI J H, et al. Study on autotrophic denitrification performance of sodium thiosulfate combined with pyrite system [J]. *China Environmental Science*, 2020, 40(5): 2081-2086. (in Chinese)
- [24] FLERE J M, ZHANG T C. Nitrate removal with sulfur-limestone autotrophic denitrification processes [J]. *Journal of Environmental Engineering*, 1999, 125(8): 721-729.
- [25] HAN G B, PARK J K. NO_3^- -N removal with sulfur-lime porous ceramic carrier (SLPC) in the packed-bed bioreactors by autotrophic denitrification [J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2012, 43(4): 591-596.
- [26] ZHOU W L, SUN Y J, WU B T, et al. Autotrophic denitrification for nitrate and nitrite removal using sulfur-limestone [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 23(11): 1761-1769.
- [27] 袁玉玲, 李睿华. 硫磺/石灰石自养反硝化系统脱氮除磷性能研究[J]. *环境科学*, 2011, 32(7): 2041-2046.
YUAN Y L, LI R H. Performance of nitrogen and phosphorus removal of sulfur/limestone autotrophic denitrification system [J]. *Environmental Science*, 2011, 32(7): 2041-2046. (in Chinese)
- [28] LI Y Y, WANG Y L, WAN D J, et al. Pilot-scale application of sulfur-limestone autotrophic denitrification biofilter for municipal tailwater treatment: Performance and microbial community structure [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 300: 122682.
- [29] 汤丹娜, 陈莹, 田晓雷, 等. 硫磺/石灰石自养反硝化系统脱氮性能及 N_2O 排放规律研究[J]. *当代化工*, 2016, 45(12): 2810-2812, 2820.
TANG D N, CHEN Y, TIAN X L, et al. Performance of nitrogen removal and N_2O emission law of sulfur/limestone autotrophic denitrification system [J]. *Contemporary Chemical Industry*, 2016, 45(12): 2810-2812, 2820. (in Chinese)
- [30] SUN S S, LIU J, ZHANG M P, et al. Thiosulfate-driven autotrophic and mixotrophic denitrification processes for secondary effluent treatment: Reducing sulfate production and nitrous oxide emission [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 300: 122651.

- [31] SAHINKAYA E, KILIC A, DUYGULU B. Pilot and full scale applications of sulfur-based autotrophic denitrification process for nitrate removal from activated sludge process effluent [J]. *Water Research*, 2014, 60: 210-217.
- [32] HE Q C, DASI E A, CHENG Z, et al. Wood and sulfur-based cyclic denitrification filters for treatment of saline wastewaters [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 328: 124848.
- [33] SAHINKAYA E, DURSUN N, KILIC A, et al. Simultaneous heterotrophic and sulfur-oxidizing autotrophic denitrification process for drinking water treatment: Control of sulfate production [J]. *Water Research*, 2011, 45(20): 6661-6667.
- [34] LIU H J, JIANG W, WAN D J, et al. Study of a combined heterotrophic and sulfur autotrophic denitrification technology for removal of nitrate in water [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 169(1/2/3): 23-28.
- [35] 付炳炳, 潘建新, 马景德, 等. 采用含硫铁化学污泥作为反硝化电子供体进行焦化废水中总氮深度去除[J]. *环境科学*, 2018, 39(7): 3262-3270.
- FU B B, PAN J X, MA J D, et al. Evaluation of advanced nitrogen removal from coking wastewater using sulfide iron-containing sludge as a denitrification electron donor [J]. *Environmental Science*, 2018, 39(7): 3262-3270. (in Chinese)
- [36] 马潇然, 郑照明, 卞伟, 等. 硫自养反硝化系统运行效能和微生物群落结构研究[J]. *中国环境科学*, 2020, 40(10): 4335-4341.
- MA X R, ZHENG Z M, BIAN W, et al. Study on operation efficiency and microbial community structure of sulfur-based autotrophic denitrification system [J]. *China Environmental Science*, 2020, 40(10): 4335-4341. (in Chinese)
- [37] 赵晴, 杨伟明, 王瑶, 等. 硫化物自养反硝化细菌颗粒污泥及其物化特征[J]. *环境工程学报*, 2017, 11(6): 3884-3890.
- ZHAO Q, YANG W M, WANG Y, et al. Granulation and physical-chemical characterization of sulfur-oxidizing bacteria sludge [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2017, 11(6): 3884-3890. (in Chinese)
- [38] ZHONG F, WU J, DAI Y R, et al. Bacterial community analysis by PCR-DGGE and 454-pyrosequencing of horizontal subsurface flow constructed wetlands with front aeration [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(3): 1499-1512.

(编辑 黄廷)