

# 树脂基微生物载体强化硫自养反硝化脱氮效果研究

季思睿<sup>1</sup> 金俊霏<sup>1</sup> 黄前霖<sup>1,2</sup> 吕路<sup>1,2,\*</sup>

1 南京大学 环境学院 污染控制与资源化研究国家重点实验室

2 南京大学常高新国际环保产业技术研究院

DOI:10.12238/eep.v8i3.2572

**[摘要]** 本文提出了一种基于树脂基微生物载体强化硫自养反硝化脱氮效果的方法,探究了树脂骨架结构和官能团类型对树脂基微生物载体-自养反硝化体系脱氮效果的影响规律。结果表明,具有聚丙烯酸骨架和季铵基的D730树脂相较于聚苯乙烯骨架和叔胺基表现出更强的正电性,有助于通过静电相互作用吸附硝酸盐氮( $\text{NO}_3^-$ -N)和硫代硫酸根( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ )。同时微生物群落分析表明,树脂基微生物载体提高了体系中Thiobacillus属的相对丰度,尤其在D730树脂体系下,其相对丰度高达44.64%,这种微生物群落的变化很可能是Bio-D730体系脱氮性能显著提升的关键原因,导致D730树脂基微生物载体强化硫自养反硝化呈现出最佳的脱氮性能。总之,本文为基于树脂基微生物载体-硫自养反硝化体系高效处理低浓度 $\text{NO}_3^-$ -N提供技术支撑和理论参考,在污水处理厂二级出水深度脱氮中具有良好的应用前景。

**[关键词]** 硫自养反硝化; 微生物载体; 生物脱氮; 污水处理; 菌群分析

中图分类号: U664.9+2 文献标识码: A

## Enhancement of sulphur autotrophic denitrification for nitrogen removal by resin-based carriers

Sirui Ji<sup>1</sup> Junfei Jin<sup>1</sup> Qianlin Huang<sup>1,2</sup> Lu Lv<sup>1,2,\*</sup>

1 State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University

2 Nanjing University Chang Gaoxin International Environmental Protection Industry Technology Research Institute

**[Abstract]** This study presents a novel approach to enhancing sulfur autotrophic denitrification using resin-based microbial carriers, focusing on the effects of resin backbone structure and functional group type on the denitrification performance of the resin-based microbial carrier-autotrophic denitrification system. The results indicated that the D730 resin, which features a polyacrylic acid backbone and quaternary ammonium groups, exhibited greater positive surface charge than the polystyrene backbone and tertiary amine groups. This enhanced surface charge facilitated the adsorption of nitrate nitrogen ( $\text{NO}_3^-$ -N) and thiosulphate ( $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ) through electrostatic interactions. Meanwhile, microbial community analysis revealed that the resin-based microbial carrier promoted a significant increase the relative abundance of Thiobacillus spp., which reached 44.64% in the D730 resin system. This microbial enrichment was likely the primary reason for the significant improvement in denitrification performance observed in the Bio-D730 system. Consequently, the Bio-D730 system demonstrated superior sulfur autotrophic denitrification efficiency. In conclusion, this study provides both technical support and a theoretical reference for the efficient treatment of low concentrations of  $\text{NO}_3^-$ -N using a resin-based microbial carrier-sulfur autotrophic denitrification system, which holds significant potential for application in the advanced denitrification of secondary effluent from wastewater treatment plants.

**[Key words]** sulphur autotrophic denitrification; microbiological carrier; biological nitrogen removal; wastewater treatment; microbial community analysis

## 引言

水体总氮(TN)的控制是水体富营养化治理的重要措施之一<sup>[1,2]</sup>。在TN的各种排放源中,污水处理厂二级出水是最主要的来

源之一<sup>[3]</sup>。尽管二级出水中TN浓度相对较低(约5-20 $\text{mgL}^{-1}$ ),但其排放总量巨大,对水体TN污染的贡献尤为显著。在污水处理厂二级出水中,硝态氮( $\text{NO}_3^-$ -N)是最主要的氮形态<sup>[4]</sup>,因此,针对硝态

氮的有效处理是控制水体总氮污染、缓解富营养化问题的关键。硫自养反硝化作为一种无需外加碳源且绿色环保的脱氮技术, 逐渐在污水处理厂二级出水的深度脱氮中获得了广泛关注<sup>[5]</sup>。然而, 硫自养反硝化的实际应用仍面临诸多挑战, 尤其是硫自养菌生长缓慢、易受水流冲击影响以及反应器启动时间较长等问题, 限制了其在工程中的推广和应用<sup>[6,7]</sup>。

向硫自养反硝化处理体系中添加含硫源微生物载体是解决上述挑战的有效策略之一, 这是因为含硫源微生物载体不仅为硫自养菌提供了脱氮所需的电子供体, 还为其附着生长提供了支撑, 从而有效减轻了水流冲击对硫自养菌生长的负面影响<sup>[8]</sup>。目前, 常见的含硫源载体主要包括单质硫和硫化物载体、复合硫源载体以及凝胶包埋载体等。单质硫和硫化物载体主要包括单质硫、黄铁矿 ( $\text{Fe}_2\text{S}_3$ ) 等固体硫源; 复合硫源载体则在此基础上混合了牡蛎壳、碳酸钙、石灰石等物质, 用于中和硫自养过程中产生的氢离子, 从而补充体系的碱度<sup>[9,10]</sup>; 凝胶包埋类载体则是通过将微生物、硫源、碱度补充物质及活性炭等与海藻酸钠或水凝胶一起包埋, 实现微生物在体系内的固定<sup>[11]</sup>。然而, 随着反应过程的进行, 单质硫和硫化物载体以及复合硫源载体中的硫源逐渐被消耗, 载体逐步分解; 而凝胶包埋载体在硫源耗尽后, 凝胶内的微生物无法接触到外部硫源, 导致载体功能丧失。同时, 如何回收此类载体并重新负载硫源的问题尚未得到有效解决。此外, 凝胶包埋载体在使用过程中也面临有机物释放、凝胶溶解及坍塌等问题, 这些都进一步限制了其在工程应用中的可行性。与将硫源固定在载体上的方式相比(含硫源载体), 采用持续富集外加硫源的载体更能保障微生物的持续稳定运行, 提升硫自养反硝化的性能, 并且操作简便, 具有更好的工业应用前景。考虑到污水处理厂二级出水中的  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度较低(约 5-20  $\text{mgL}^{-1}$ ), 有效富集  $\text{NO}_3^-$ -N 也是提高硫自养反硝化性能的关键策略。因此, 寻找具有良好  $\text{NO}_3^-$ -N 和硫源富集能力的微生物载体, 是集成以上两种策略以提高硫自养反硝化性能的关键。

阴离子吸附树脂因其独特的交联结构、带正电荷的功能基团及丰富的孔隙结构, 在  $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  等阴离子富集方面具有显著优势<sup>[12]</sup>。此外, 一些吸附树脂呈现良好的生物兼容性, 可作为微生物载体从水体中迅速富集污染物, 并使这些污染物作为微生物生长的原料实现污染物原位降解最近也被证实<sup>[13]</sup>。然而, 现有的相关研究主要集中在有机污染物的去除, 关于树脂基微生物载体在脱氮过程中的应用尚未见相关报道。同时, 树脂的骨架结构和官能团类型对微生物载体-硫自养反硝化体系的影响也有待进一步探讨。

基于上述研究背景, 本文提出了一种树脂基微生物载体强化硫自养反硝化脱氮性能的方法, 系统探究了树脂骨架结构和官能团类型对  $\text{NO}_3^-$ -N 和硫源的吸附性能、硫自养菌固定能力以及体系脱氮性能差异的影响规律, 并通过高通量测序技术探究体系微生物群落结构变化及其内在机理, 相关研究可为树脂基微生物载体-硫自养反硝化高效处理低浓度  $\text{NO}_3^-$ -N 提供技术支撑和理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

硝酸钠 ( $\text{NaNO}_3$ , AR,  $\geq 99.0\%$ )、氯化钠 ( $\text{NaCl}$ , AR,  $\geq 99.5\%$ )、碳酸氢钠 ( $\text{NaHCO}_3$ , AR,  $\geq 99.5\%$ )、磷酸二氢钾 ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , AR,  $\geq 99.5\%$ ) 购于国药集团化学试剂有限公司(沪式), 五水合硫代硫酸钠 ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 99.99%)、硫酸钠 ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 99%)、氯化镁 ( $\text{MgCl}_2$ , 99%)、氯化钙 ( $\text{CaCl}_2$ , 97%) 购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。自养反硝化菌菌液 (BioPower116) 购于水之国环保科技有限公司。

D201、D301、D730和D314四种树脂购于浙江争光实业股份有限公司。树脂的主要理化性能如表1所示。

表1 树脂理化性能

树脂名称	骨架类型	官能团	含水率 (%)	体积交换容量 ( $\text{mmol mL}^{-1}$ )	湿密度 ( $\text{g mL}^{-1}$ )
D201	聚苯乙烯	-NR <sub>2</sub>	50-60	1.21	1.06-1.10
D301	聚苯乙烯	-NR <sub>2</sub>	48-58	1.45	1.03-1.06
D730	聚丙烯酸	-NR <sub>2</sub>	65-75	0.82	1.03-1.10
D314	聚丙烯酸	-NR <sub>2</sub>	60-65	1.07	1.06-1.10

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 吸附实验

在做吸附实验前, 所有树脂都需要进行预处理, 具体步骤如下: 将树脂置于10wt%的NaCl溶液中, 再放入恒温摇床中于30℃ 150rpm条件下振荡4h, 随后用去离子水清洗3次, 完成树脂转型。将转型后的树脂置于甲醇中, 再放入恒温摇床中于30℃ 150rpm条件下振荡4h, 随后用去离子水清洗3次, 去除树脂上吸附的有机杂质。

吸附实验的具体步骤如下: 准确称取0.1g上述预处理后的树脂, 置于20mL混合溶液中(其中  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为30  $\text{mgL}^{-1}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  浓度为192  $\text{mgL}^{-1}$ ), 然后在恒温摇床中于30℃ 150rpm条件下振荡4h, 反应结束后测定溶液中  $\text{NO}_3^-$ -N 和  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  浓度。然后, 改变溶液中  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  与  $\text{NO}_3^-$ -N 的摩尔比 ( $n(\text{S}/\text{N})=0.2, 0.4, 0.9, 1.5$ ) 用于考察不同硫源投加比对树脂共吸附性能的影响; 选用不同树脂 (D201、D301、D730和D314) 进行共吸附实验用于探索树脂骨架结构和官能团类型对吸附性能的影响。吸附量计算公式如式(1)所示, 树脂吸附  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  与  $\text{NO}_3^-$ -N 比的计算公式如式(2)所示。其中,  $q_e$  表示树脂的平衡吸附量 ( $\text{mmol g}^{-1}$ ),  $c_0$  和  $c_e$  分别表示溶液的初始浓度和平衡浓度 ( $\text{mmol L}^{-1}$ ),  $V$  表示溶液体积 (L),  $m$  表示树脂的质量 (g),  $q_{e(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})}$  表示树脂的  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  吸附量,  $q_{e(\text{NO}_3^-)}$  表示树脂的  $\text{NO}_3^-$ -N 吸附量。

$$q_e = \frac{(c_0 - c_e)V}{m} \quad (1)$$

$$n(\text{S}/\text{N}) = \frac{q_{e(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})}}{q_{e(\text{NO}_3^-)}} \quad (2)$$

#### 1.2.2 硫自养反硝化摇瓶实验

## 1.2.2.1 模拟废水配置

使用 $\text{NaNO}_3$ 、 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NaHCO}_3$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{MgCl}_2$ 、 $\text{CaCl}_2$ 配置模拟废水,并调控pH至8(硫自养菌生长最适pH),废水中各组分浓度如表2所示。

表2 模拟废水组分

组分	添加量 ( $\text{mg L}^{-1}$ )	组分	添加量 ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$\text{NaNO}_3$	182.16	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	150.00
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	504.69	$\text{MgCl}_2$	5.00
$\text{NaHCO}_3$	500.00	$\text{CaCl}_2$	1.00

## 1.2.2.2 体系设置及运行条件

(1) 固定菌阶段 (Day1-14): 实验设置生物组与非生物组。

对于生物组,分别称取5g不同的树脂于250mL锥形瓶中,加入10mL硫自养菌液和100mL如1.2.2.1所述模拟废水。对于非生物组,分别称取5g不同的树脂于250mL锥形瓶中,加入100mL如1.2.2.1所述模拟废水,不添加菌液。这部分树脂每周在37wt%的甲醇中浸泡3h,以抑制微生物活性。两组均置于恒温摇床中,于30℃150rpm条件下振荡。每24h取样并更换模拟废水,测定溶液 $\text{NO}_3^-$ 的浓度。更换模拟废水前,将体系溶液于6000rpm下离心10min以沉淀体系内游离微生物,避免换水导致的菌种流失。(2) 连续运行阶段 (Day15-54): 上述体系于30℃150rpm条件下恒温振荡,每24h取样并更换模拟废水,测定溶液 $\text{NO}_3^-$ 的浓度,计算体系脱氮率。更换模拟废水前不再通过离心保留体系游离微生物。

## 1.2.3 树脂及微生物表征测定

对树脂进行傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析,以表征树脂表面官能团的相对数量。

在硫自养体系连续运行的第7、14、34、54天各取适量微生物载体,置于PBS溶液中,超声10min以分离载体表面的微生物。测定蛋白质含量以表征载体表面微生物量,测定ATP浓度以表征载体表面微生物活性。对生物样品进行高通量测序,以分析载体表面微生物群落多样性及群落结构。

## 1.3 分析方法

实验过程中溶液 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的浓度通过离子色谱 (Thermo Dionex Aquion-1100) 测定。树脂表面的官能团使用 FTIR (Nicolet iS5, Thermo Fisher Nicolet) 在400-4000 $\text{cm}^{-1}$ 的光谱范围内进行测定。树脂表面微生物群落形态通过环境扫描电镜 (FEI Quanta 250 FEG) 观测。蛋白质含量使用Lowry法测定,ATP浓度使用BacTiter-Glo™ Microbial Cell Viability Assay试剂盒测定。基于16srRNA基因的高通量测序由上海美吉生物医药科技有限公司进行,使用引物338F\_806R在PCR仪 (ABI GeneAmp@9700型) 上进行PCR扩增,并在Illumina Miseq上进行高通量测序,所有数据分析均在美吉生物云平台完成。

## 2 结果与讨论

2.1 树脂对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的共吸附性能

树脂对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的吸附性能是影响树脂基微生物载体

-硫自养反硝化工艺效果的关键因素,而树脂的骨架结构和官能团类型在吸附性能中起着核心作用。为此,我们首先研究了聚苯乙烯/聚丙烯酸骨架及季铵/叔胺基对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 吸附性能的影响,相关实验结果如图1所示。从图1a和图1b可以看出,在相同n(S/N)条件下(以n(S/N)=0.9为例),四种树脂对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的吸附能力依次为D201>D730>D301>D314。从树脂骨架结构的角度来看,D201和D730树脂均含有季铵基(表1),但D201对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的吸附量(0.180 $\text{mmol g}^{-1}$ 和0.327 $\text{mmol g}^{-1}$ )显著高于D730(0.055 $\text{mmol g}^{-1}$ 和0.297 $\text{mmol g}^{-1}$ ),这主要是因为树脂骨架结构不同导致季铵官能团的数量存在差异。由图2a可知,D201树脂中C-N键的特征峰(1055-990 $\text{cm}^{-1}$ )相较于D730树脂更强,表明其拥有更多离子交换位点(季铵基),因而呈现出更好的吸附性能。同样的,D301和D314树脂均具有叔胺基(表1),但D301对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的吸附量(0.087 $\text{mmol g}^{-1}$ 和0.075 $\text{mmol g}^{-1}$ )优于D314(0.008 $\text{mmol g}^{-1}$ 和0.016 $\text{mmol g}^{-1}$ )。并且D301树脂中C-N键的特征峰(1055-990 $\text{cm}^{-1}$ )相较于D314树脂更强(图2b),表明其具有更多的叔胺基。这进一步表明聚苯乙烯骨架树脂相较于聚丙烯酸骨架树脂具有更多离子交换官能团,进而有利于提高吸附性能。这可能是因为聚苯乙烯骨架树脂的聚合度通常比聚丙烯酸骨架树脂要高,导致其携带的官能团也更多,这也可以从聚苯乙烯骨架树脂的离子交换容量高于其对应相同官能团的聚丙烯酸树脂得以进一步证实(表1)。从树脂官能团角度来看,D201和D301均为聚苯乙烯骨架(表1),但D201对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的吸附量(0.180 $\text{mmol g}^{-1}$ 和0.327 $\text{mmol g}^{-1}$ )高于D301树脂(0.087 $\text{mmol g}^{-1}$ 和0.075 $\text{mmol g}^{-1}$ ),这主要是因为两者官能团类型的差异。D201的季铵基在pH=8.0下(硫自养菌生存繁殖最适pH)条件下表现出更强的正电性,从而与 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 产生更强的静电相互作用,相比之下,D301的叔胺基碱性较弱,产生的静电相互作用也相对更弱<sup>[14,15]</sup>。这一结论也可以从D730对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的吸附量(0.055 $\text{mmol g}^{-1}$ 和0.297 $\text{mmol g}^{-1}$ )优于D314(0.008 $\text{mmol g}^{-1}$ 和0.016 $\text{mmol g}^{-1}$ )得到进一步验证。因此,在树脂骨架结构和官能团综合影响下,四种树脂对 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 的吸附能力依次为D201>D730>D301>D314。

硫自养菌的脱氮性能不仅与 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 和 $\text{NO}_3^-$ -N的浓度相关,还与n(S/N)比密切相关。Huang等人[16]的研究表明,随着n(S/N)比的增加,硫自养菌的脱氮性能也随之提升。基于此,我们探讨了不同n(S/N)比对树脂对 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 和 $\text{NO}_3^-$ -N吸附量比的影响,实验结果如图1c所示。在相同n(S/N)条件下,四种树脂对 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 和 $\text{NO}_3^-$ -N的吸附比依次为D730>D314>D201>D301,且均高于硫自养菌对 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 和 $\text{NO}_3^-$ -N的理论利用比(n(S/N)=0.8),表明树脂更倾向于吸附具有高价的 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,这主要是由于高价态离子与树脂间的静电作用力更强,更容易被吸引到树脂表面进行离子交换<sup>[14,15]</sup>。同时由于季铵基相较于叔胺基能产生更强的静电相互作用,这导致树脂骨架结构的相同条件下,拥有季铵基的树脂的 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 和 $\text{NO}_3^-$ -N的吸附比要高于叔胺基的树脂(如D730>D314以及D201>D301);而当树脂的官能团相同的条件下,聚苯乙烯骨架树

脂因其具有更多的官能团数量,这有利于减轻 $S_2O_3^{2-}$ 和 $NO_3^-N$ 在树脂表面的竞争吸附作用,因而导致拥有聚苯乙烯骨架的树脂的 $S_2O_3^{2-}$ 和 $NO_3^-N$ 的吸附比要低于聚丙烯酸骨架的树脂(如D730>D201以及D314>D301)。因此,具有聚丙烯酸骨架和季铵基的D730具有最高的 $S_2O_3^{2-}$ 和 $NO_3^-N$ 的吸附比。高吸附比有利于在树脂表面构建富电子供体的环境,进而促进其作为微生物载体应用于提升硫自养体系的反硝化脱氮性能。此外,实验还显示,随着n(S/N)比的增加,四种树脂的 $S_2O_3^{2-}$ 与 $NO_3^-N$ 吸附量比均有所提升。这是由于n(S/N)比增加导致体系中 $S_2O_3^{2-}$ 浓度升高,从而更有利于树脂对 $S_2O_3^{2-}$ 的吸附。然而,n(S/N)比过高会增加处理成本,因此最佳n(S/N)比应略高于其理论值(0.8)<sup>[6]</sup>。因此,后续实验中我们选用n(S/N)=0.9进行研究。

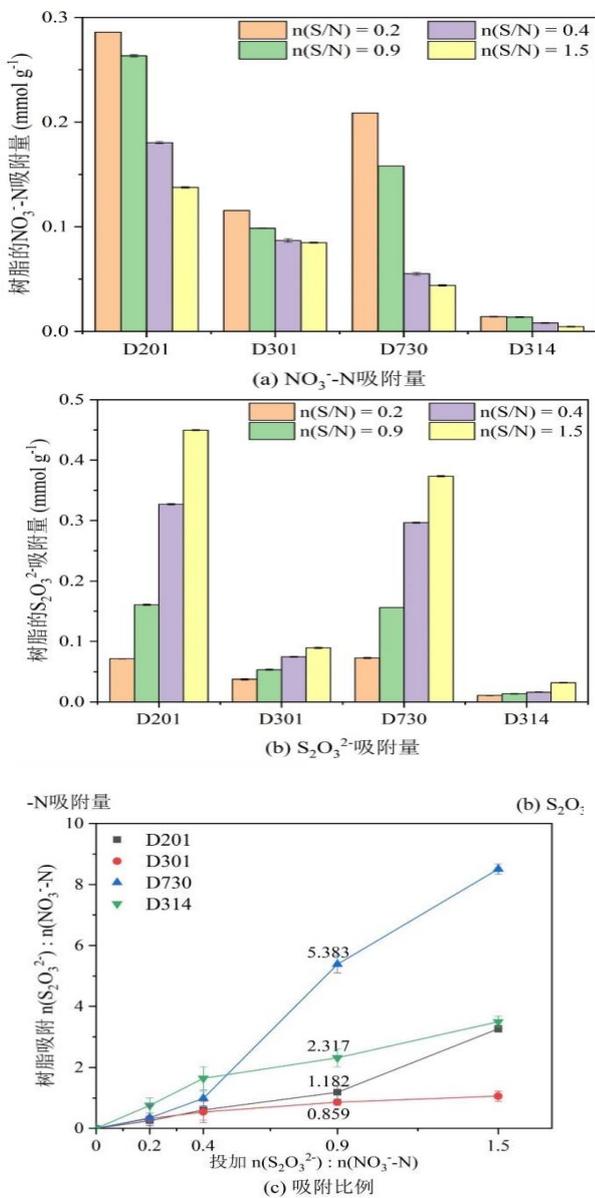


图1 不同环境投加n(S/N)下树脂的吸附性能(部分误差棒被数据点覆盖)

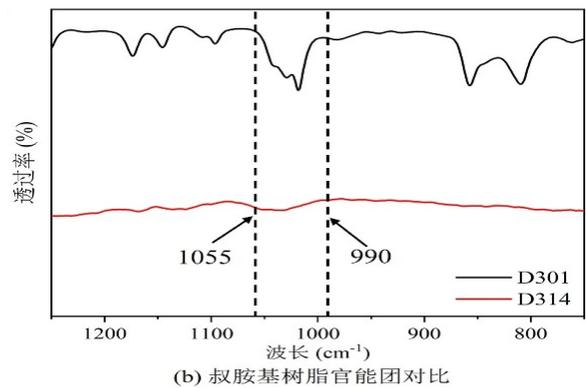
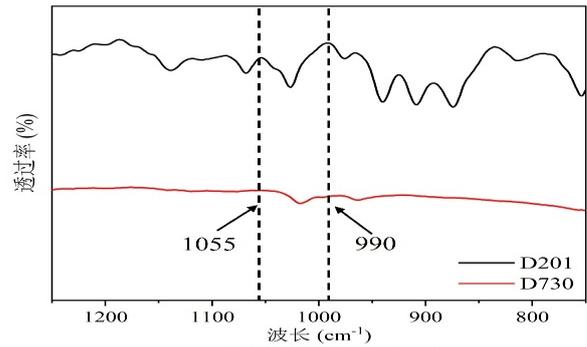


图2 不同树脂的FTIR图

### 2.2 树脂基载体硫自养反硝化连续运行性能

图3展示了不同树脂基载体在生物组与非生物组条件下的脱氮效果。从图中可以看出,在运行初期(Day 1-7), $NO_3^-N$ 在生物组和非生物组条件下均得到有效去除,但生物组的脱氮率低于非生物组,主要是因为体系微生物量和活性较低,脱氮主要依赖树脂对 $NO_3^-N$ 的物理吸附<sup>[13]</sup>,而微生物在树脂表面的生长占据了部分活性位点,导致树脂吸附性能降低。随着微生物进入对数生长期(Day 8-14),生物降解逐渐成为生物组脱氮的主导机制<sup>[17]</sup>,各生物组脱氮率显著提高;而非生物组树脂吸附饱和,脱氮率持续下降。在固定菌阶段(Day 1-14)结束后,由于体系内游离微生物浓度显著降低,各树脂基载体的脱氮率普遍下降。然而,随着树脂表面微生物的进一步生长和繁殖,各体系的脱氮率逐渐回升。

进一步分析,聚丙烯酸骨架树脂体系(Bio-D730和Bio-D314)表现出较为稳定的脱氮性能。其中,Bio-D730体系的脱氮率回升最快,在连续运行15天后达到最高脱氮率(约100%)并保持稳定;而Bio-D314体系在连续运行23天后达到约50%的脱氮率并趋于稳定。相比之下,聚苯乙烯骨架树脂体系(Bio-D201和Bio-D301)的生物脱氮效果较差,其脱氮率在短暂回升后持续下降。这可能是由于聚丙烯酸骨架树脂相较于聚苯乙烯骨架树脂具有更强的亲水性,更容易与微生物表面官能团结合并促进微生物的附着生长<sup>[18,19]</sup>。进一步比较Bio-D730和Bio-D314两种聚丙烯酸骨架树脂可知,Bio-D730的脱氮效果显著优于Bio-D314。这主要归因于Bio-D730的季铵基相较于Bio-D314的叔胺基更有利于富集废水中的目标污染物 $NO_3^-N$ 和微生物可利用硫源 $S_2O_3^{2-}$ 。此外,Bio-D730具有

最高的 $S_2O_3^{2-}$ 与 $NO_3^-$ -N吸附量比(图1c), 在树脂表面构建了富电子供体的环境, 从而显著提升了其脱氮性能<sup>[16]</sup>。值得注意的是, D201树脂对 $S_2O_3^{2-}$ 和 $NO_3^-$ -N的吸附容量最高, 但对应的Bio-D201体系却表现出最差的脱氮性能, 可能是由于D201树脂对微生物潜在的灭活作用抑制了微生物的生长和脱氮活性<sup>[20,21]</sup>。

2.3 体系微生物表征及群落分析

2.3.1 微生物形貌分析

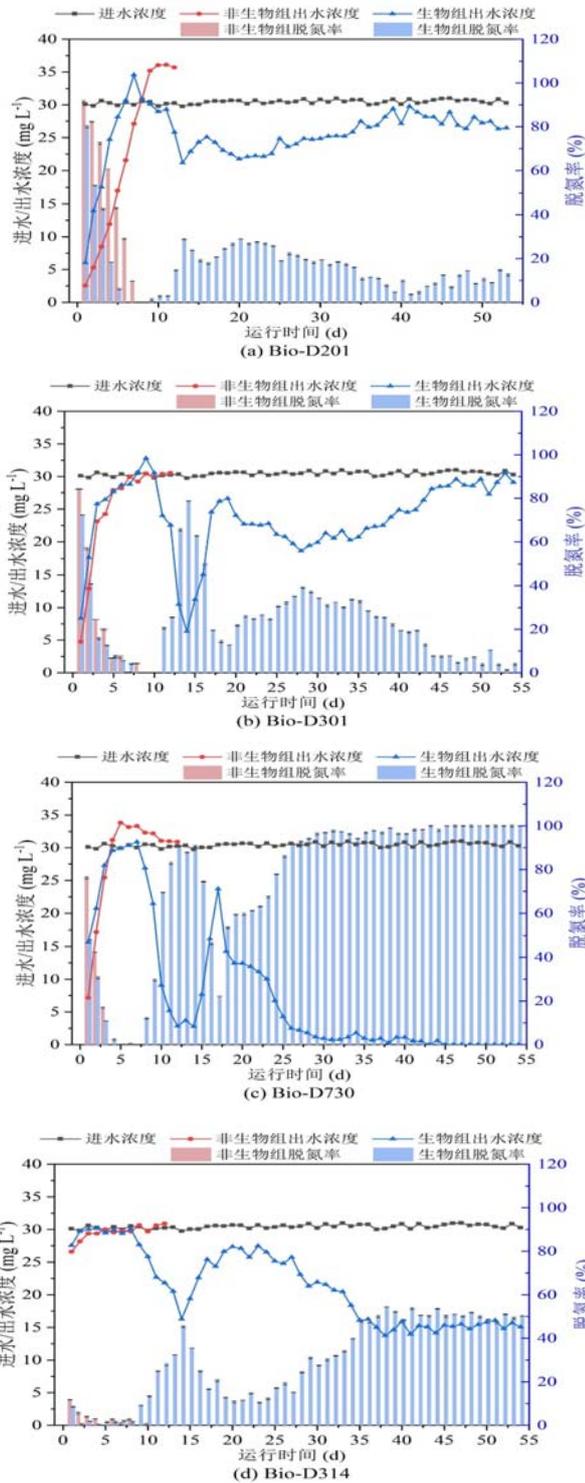
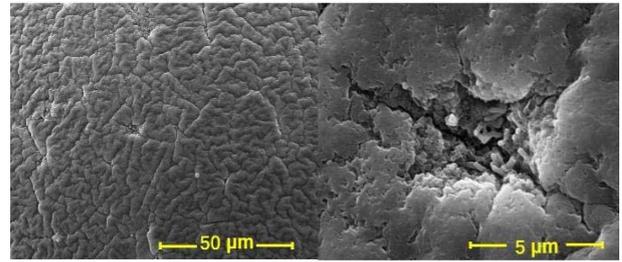
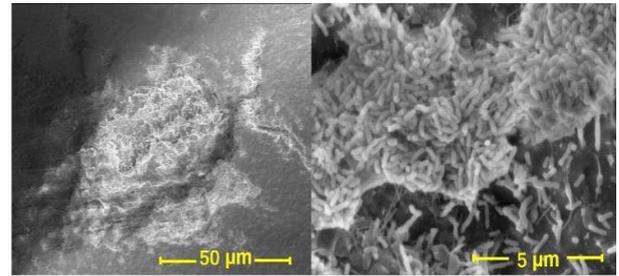


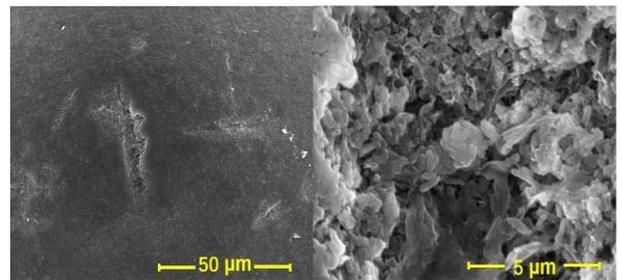
图3 不同树脂基载体生物组与非生物组脱氮效果(部分误差棒被数据点覆盖)



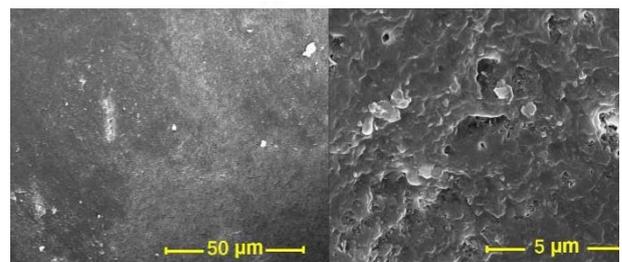
(a) Bio-D730



(b) Bio-D314



(c) Bio-D301



(d) Bio-D201

图4 树脂基载体表面微生物群落形态

树脂基硫自养体系连续运行54d后, 分别从Bio-D201、Bio-D301、Bio-D730和Bio-D314体系中取出部分树脂, 观测载体表面的微生物群落形态, 结果如图4所示。由图可得, Bio-D730树脂载体表面完全被菌群覆盖(图4a), Bio-D314树脂载体表面能观测到数个突起的微生物群落(图4b), Bio-D301树脂载体表面仅部分区域存在微生物群落(图4c), 而Bio-D201树脂载体表面仅能看到表面的划痕, 未能观测到硫自养菌群(图4d)。上述结果进一

步表明,聚丙烯酸骨架树脂(Bio-D730和Bio-D314)因其较强的亲水性,更容易与微生物表面官能团结合,从而显著促进微生物在树脂表面的固定和附着生长。相比之下,聚苯乙烯骨架树脂(Bio-D201和Bio-D301)由于亲水性较差,表现出较低的微生物附着能力<sup>[18,19]</sup>。此外,D201与D730同为季铵基树脂,但其对应体系(Bio-D201和Bio-D730)的微生物固定性能差异显著。通过结构对比可知,二者的交换阴离子类型和季铵基烷基链长度均无实质差异,表明其性能差异主要源于树脂骨架结构特性<sup>[20,21]</sup>。如图5所示<sup>[22]</sup>,D201树脂结构中的苯环很可能从以下两个方面促进了季铵基的杀菌作用:一方面,苯环的共轭 $\pi$ 电子体系能够增强季铵基的正电性,进而加强季铵基对带负电的细胞膜的静电吸引<sup>[23]</sup>;另一方面,苯环的疏水性能够提升季铵盐的脂溶性,使其更容易穿过微生物的疏水性细胞膜并导致细胞裂解<sup>[24]</sup>。反之,D730并无此类结构,展现出更优的生物相容性,说明含苯环结构的苯乙烯系季铵树脂(如D201)不适合作为微生物固定载体应用于硫自养反硝化体系。

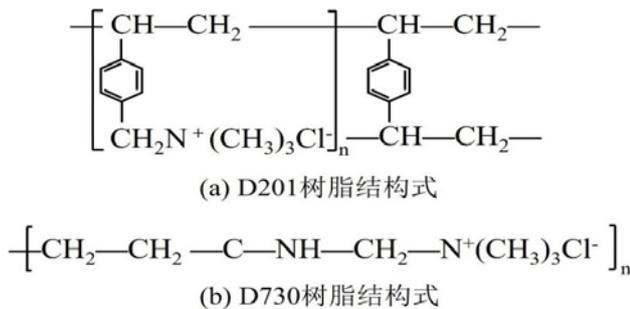


图5 两种季铵树脂的结构式<sup>[22]</sup>

### 2.3.2 微生物量及活性分析

为了量化树脂表面的生物量及生物活性,测定了胞外聚合物的蛋白质含量和ATP含量,结果如图6所示。由图6a可见,随着体系的连续运行,Bio-D730体系的蛋白质含量增幅最大,达到了 $2.883 \pm 0.091 \text{ mg g}^{-1}$ ,显著高于其他体系;Bio-D314体系次之。而Bio-D301和Bio-D201体系的蛋白质含量显著偏低,表明其表面几乎未形成生物膜,微生物难以固定在聚苯乙烯骨架树脂表面<sup>[23]</sup>。这一结论得到了ATP含量测定结果的进一步验证。运行54天后,Bio-D730、Bio-D314、Bio-D301和Bio-D201体系的ATP浓度依次降低,表明各体系生物活性依次递减。其中,Bio-D730和Bio-D314体系的高蛋白质含量和ATP浓度表明其具备更高的生物量及生物活性<sup>[25]</sup>,而Bio-D301和Bio-D201体系因缺乏有效的微生物固定能力,导致其生物活性显著降低。

### 2.3.3 微生物群落组成分析

为进一步分析四种树脂表面微生物群落差异,分别收集了Bio-D201、Bio-D301、Bio-D730和Bio-D314树脂上的微生物样品,以固定菌阶段原始菌液作为对照,分析体系微生物多样性和群落结构。微生物多样性指数如表3所示。由表3可知,Bio-D730

体系Shannon指数达到1.932,Simpson指数达到了最低的0.245,表明其群落结构更加均匀且多样性更高<sup>[13]</sup>。此外,Bio-D730的群落丰度也明显优于其他体系。图7展示了各体系中属水平的相对丰度分布。与原始菌液相比,树脂体系中的Sulfurimonas属相对丰度有所下降,而Thiobacillus属的相对丰度显著上升。具体而言,Thiobacillus属在Bio-D730体系中的相对丰度最高,达到44.64%,而在Bio-D201、Bio-D301和Bio-D314体系中,占比最高的属均为Sulfurimonas属,分别为77.49%、75.16%和59.52%。相比之下,Sulfurimonas属在Bio-D730中的占比仅为14.15%。这些结果表明,Bio-D730树脂表面的理化特性更适合Thiobacillus属的生存和繁殖,而Thiobacillus属是硫自养反硝化脱氮的主要功能菌属,具备优秀的硫自养反硝化脱氮性能<sup>[26,27]</sup>。这种微生物群落的变化很可能是Bio-D730体系脱氮性能显著提升的关键原因。

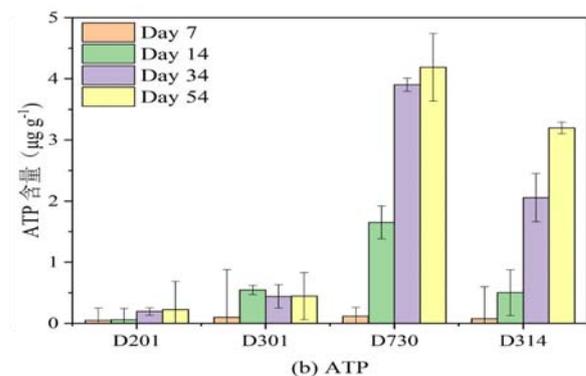
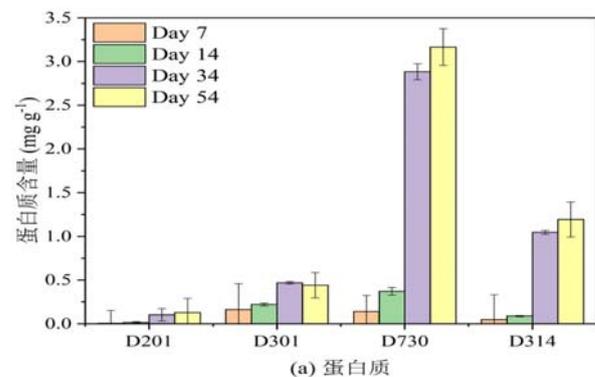


图6 不同树脂基体系生物活性

表3 原始菌液及树脂基体系的微生物群落多样性

样本	OUT	Ace	Shannon	Simpson	Coverage (%)
原始菌液	41	43.485	1.268	0.408	99.993
Bio-D201	48	49.362	0.814	0.627	99.991
Bio-D301	49	52.162	0.919	0.592	99.986
Bio-D730	60	63.046	1.932	0.245	99.990
Bio-D314	56	60.865	1.314	0.410	99.995

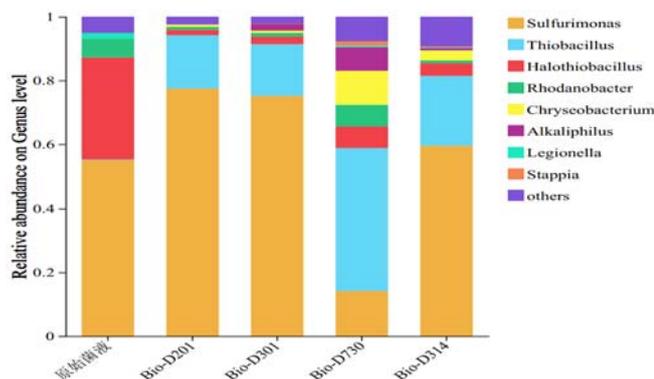


图7 不同树脂基体系微生物群落结构

### 3 结论

本文提出了一种基于树脂基微生物载体强化硫自养反硝化脱氮效果的方法,探究了树脂骨架结构和官能团类型对树脂基微生物载体-自养反硝化体系脱氮效果的影响规律,得出以下结论。

(1) 聚苯乙烯骨架树脂较聚丙烯酸树脂具有更多官能团数量,呈现出更优异的 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 吸附性能。季铵基较叔胺基表现出更强的正电性,有利于通过静电相互作用吸附 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 。同时, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 因具有更多负电荷,较 $\text{NO}_3^-$ -N更易在季铵基树脂上完成离子交换,进而有利于构建富电子供体的微生物环境,提高脱氮性能。(2) 以具有聚丙烯酸骨架和季铵基的D730树脂作为载体,因其能兼具良好的 $\text{NO}_3^-$ -N和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 吸附能力和生物相容性而呈现出最佳的脱氮性能。聚苯乙烯骨架和季铵基的D201树脂表面季铵基受到骨架苯环的影响,生物相容性差,不适合作为微生物载体。(3) 微生物群落分析表明,树脂微生物载体提高了体系中Thiobacillus属的相对丰度,Thiobacillus属是硫自养反硝化脱氮主导菌群,其在D730树脂体系下相对丰度高达44.64%,这种微生物群落的变化很可能是Bio-D730体系脱氮性能显著提升的关键原因。

### 【参考文献】

[1] Pang Y., Hu L., Wang J. Mixotrophic denitrification using pyrite and biodegradable polymer composite as electron donors[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 351: 127011.

[2] Zhang H., Sun M., Tian J., et al. Synergetic effects of pyrrhotite and biochar on simultaneous removal of nitrate and phosphate in autotrophic denitrification system[J]. *Water Environment Research*, 2023, 95(4): 1-14.

[3] Ji B., Jiang M., Yang Y., et al. High treatment effectiveness for secondary effluent in Fe-C microelectrolysis constructed wetlands with electron donor supplementation[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 342: 130934.

[4] Zhou Q., Sun H., Jia L., et al. Simultaneous biological removal of nitrogen and phosphorus from secondary effluent of wastewater treatment plants by advanced treatment: A review

[J]. *Chemosphere*, 2022, 296: 134054.

[5] 刘蕊, 施海仁, 常丽如, 等. 硫基自养反硝化处理市政污水的性能研究[J]. *环境化学*, 2024, (44): 1-14.

[6] Wang J., Huang B., Li J., et al. Advances and challenges of sulfur-driven autotrophic denitrification (SDAD) for nitrogen removal[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2020, 31(10): 2567-2574.

[7] 路青, 刘宏雁, 郑博英, 等. 硫自养反硝化的污水脱氮技术研究[J]. *环境工程*, 2023, (41): 60-64.

[8] Li L., He Z., Liang T., et al. Colonization of biofilm in wastewater treatment: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 293: 118514.

[9] Chen X., Yang L., Chen F., et al. High efficient bio-denitrification of nitrate contaminated water with low ammonium and sulfate production by a sulfur/pyrite-based bioreactor[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 346: 126669.

[10] Wang Y., Liang B., Kang F., et al. An efficient anoxic/aerobic/aerobic/anoxic process for domestic sewage treatment: From feasibility to application[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1-12.

[11] Kang S., Vo T., An S., et al. Investigating the effects of physical properties of sulphur-based carriers on autotrophic denitrification[J]. *Environmental Technology*, 2023, 44(1): 108-117.

[12] Korak J.A., Mungan A. L., Watts L.T. Critical review of waste brine management strategies for drinking water treatment using strong base ion exchange[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 441: 129473.

[13] Xu S., Yan Y., Shuang C., et al. Biological magnetic ion exchange resin on advanced treatment of synthetic wastewater[J]. *Bioresource Technology*, 2023, 372: 128613.

[14] Kumar E., Bhatnagar A., Hogland W., et al. Interaction of inorganic anions with iron-mineral adsorbents in aqueous media—A review[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2014, 203: 11-21.

[15] Tansel B. Significance of thermodynamic and physical characteristics on permeation of ions during membrane separation: Hydrated radius, hydration free energy and viscous effects[J]. *Separation and Purification Technology*, 2012, 86: 119-126.

[16] Huang S., Yu D., Chen G., et al. Realization of nitrite accumulation in a sulfide-driven autotrophic denitrification process: Simultaneous nitrate and sulfur removal[J]. *Chemosphere*, 2021, 278: 130413.

[17] Zimmermann K., Sampara P., Ziels R., et al. Biological contributions to biological ion exchange[J]. *Environmental Science Water Research & Technology*, 2024, 10(4): 877-888.

[18]高凯燕,王羽洁,韩立秦,等.生物离子交换工艺在水处理中的应用[J].离子交换与吸附,2024,40(6):441-449.

[19]Zhao Y.,Liu D.,Huang W.,et al.Insights into biofilm carriers for biological wastewater treatment processes: Current state-of-the-art,challenges, and opportunities[J]. Bioresource Technology,2019,288:121619-121633.

[20]Ivanov I.,Vemparala S.,Pophristic V.,et al.Characterization of nonbiological antimicrobial polymers in aqueous solution and at water-lipid interfaces from all-atom molecular dynamics[J].Journal of the American Chemical Society,2006, 128(6):1778-1779.

[21]Asri L.A.T.W.,Crismaru M.,Roest S.,et al.A shape-adaptive,antibacterial-coating of immobilized quaternary-ammonium compounds tethered on hyperbranched polyurea and its mechanism of action[J]. Advanced Functional Materials,2013, 24(3):346-355.

[22]刘明华.水处理化学品手册[M].第1版.北京:化学工业出版社,2016:833.

[23]Gilbert P.,Moore L.E.Cationic antiseptics: Diversity of action under a common epithet[J].Journal of Applied Microbiology,2005,99(4):703-715.

[24]Jiménez-Munguía Irene,Volynsky P.E.,Batishchev O.V., et al.Effects of sterols on the interaction of SDS,benzalkonium chloride, and a novel compound, Kor105, with membranes[J]. Biomolecules,2019,9(627):1-21.

[25]Pharand L.,Van M.,Anderson W.B.,et al.Assessment of biomass in drinking water biofilters by adenosine triphosphate [J].Journal American Water Works Association,2014,106(10): 433-444.

[26]Wang Y.,Bott C.,Nerenberg R.Sulfur-based denitrification:Effect of biofilm development on denitrification fluxes [J].Water Research,2016,100:184-193.

[27]Zhang Y.,Fang F.,Qian X.,et al.Semiconductor biohybrids for enhanced bifunctional wastewater sulfur and heavy metal removal[J].Green Chemistry,2024,26(7):3940-3948.

#### 作者简介:

季思睿(2000--),女,汉族,山东淄博人,硕士研究生,主要研究方向为硫自养反硝化深度脱氮。

#### \*通讯作者:

吕路(1975--),男,汉族,江西九江人,教授,主要研究方向为大数据与工业污染减排过程控制。