



文章栏目：环境生物技术

DOI 10.12030/j.cjee.202202090

中图分类号 X703.1

文献标识码 A

缪润珠, 王建芳, 陈佳琦, 等. H₂-MBfR 反硝化效能及影响因素[J]. 环境工程学报, 2022, 16(7): 2425-2435. [MIAO Runzhu, WANG Jianfang, CHEN Jiaqi, et al. Denitrification efficiency and impact factors of a hydrogen-based membrane biofilm reactor[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(7): 2425-2435.]

H₂-MBfR 反硝化效能及影响因素

缪润珠¹, 王建芳^{1,2,3,✉}, 陈佳琦¹, 赵俊杰¹

1. 苏州科技大学环境科学与工程学院, 苏州 215000; 2. 城市生活污水资源化利用技术国家地方联合工程实验室, 苏州 215000; 3. 江苏高校水处理技术与材料协同创新中心, 苏州 215009

摘要 氢自养反硝化因资源节约、无二次污染, 是可持续的低碳污水处理工艺。为探究氢基质膜生物膜反应器 (hydrogen-based membrane biofilm reactor) 反硝化的快速启动及其脱氮性能, 考察了不同进水浓度、pH、氢通量 (J_m) 等关键因素对 H₂-MBfR 反硝化过程的影响, 分析了系统的微生物群落特征。结果表明: 不同接种污泥 14 d 内反应器的反硝化效率均可稳定在 98% 以上, 接种反硝化污泥更有利于快速启动; 在氢气足够的条件下, 通过提高进水 NO₃⁻-N 浓度和缩短水力停留时间 (HRT), 反应器运行负荷提高了 3.3 倍, 系统维持稳定、高效的反硝化性能, 相对于异养反硝化, 可节省 CO₂ 的理论排放量约为 0.83~1.25 g (以 NO₃⁻-N 计); 最佳初始 pH 在 7.5 左右, 反硝化过程中亚硝酸盐的积累率最低; J_m 与反硝化速率具有很好的一致性, 提高 J_m 有利于提高反硝化效率。16s rRNA 高通量测序结果表明, 变形菌门 *Proteobacteria* 是 H₂-MBfR 系统中主导菌门, 随着系统反硝化性能提升, 该门类菌属达到 47.5%。*unclassified_f__Comamonadaceae*、*norank_f__Blastocatellaceae*、*Hydrogenophaga* 和 *Rhodobacter* 是 H₂-MBfR 系统中典型的反硝化菌属, 在稳定期总丰度可达到 46% 左右。

关键词 氢基质膜生物膜反应器; 自养反硝化; 影响因素; 高通量测序; 生物膜群落

由于工农业废水和市政污水中的含氮化合物排放进入自然水体中, 导致富营养化、水生态功能障碍等一系列的环境问题^[1-2]。随着国家和地方排放标准日益严苛^[3], 总氮达标排放已成为污水处理厂提标改造的重要目标。目前城市污水处理厂主要采用好氧硝化-缺氧反硝化的传统生物脱氮工艺, 有机碳源的短缺, 已成为总氮达标的重大挑战^[4]。

在以反硝化脱氮为目标的污水处理厂提标改造中, 往往需要外加有机碳源, 如甲醇、乙醇、乙酸盐和葡萄糖。有机碳源的投加, 不仅增加了运行成本, 且有机碳源过量或不足时, 可能导致二次污染或不完全反硝化^[5]。尤其是进水基质浓度波动情况下, 投加有机碳源的剂量难以控制, 使得出水指标难以达标^[1,6]。这种以高能耗、高物耗换取污染物削减工艺, 已经不符合当前“控污降碳”的可持续发展理念。污水厂提标改造, 总氮控制是关键^[7], 因此, 亟待开发低碳高效反硝化生物脱氮工艺。

自养反硝化因无需外源有机碳源、不产生二次污染和剩余污泥产量少等优点^[8-9], 在低 COD/N 废水处理中具有良好的应用价值。按电子供体的不同, 主要分为硫自养、铁自养和氢自养反硝化。硫自养反硝化效能较高, 但对 pH 要求较高, 需外加石灰石调节^[10-11]。反应中间产物有

收稿日期: 2022-02-19; 录用日期: 2022-05-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (51878430)

第一作者: 缪润珠 (1995—), 女, 硕士研究生, 1729448003@qq.com; ✉通信作者: 王建芳 (1973—), 博士, 教授, wjf302@163.com

物毒性,且生成的硫酸盐是水体污染物。铁自养反硝化长期运行中易在铁表面形成一层钝化膜,影响传质效率,且反硝化会产生 NH_4^+ ,并未实现彻底反硝化^[12-13]。氢自养反硝化是清洁、经济的生物处理技术,但其受限于氢气的储存、传质率及利用率^[14-15],近些年,膜曝气生物反应器的研发有效改善了这一局限性。

氢基质膜生物膜反应器($\text{H}_2\text{-MBfR}$)将生物膜技术与中空纤维膜曝气扩散相结合,利用膜内外压力差为传质动力, H_2 以无泡曝气的方式传递到生物膜内部,微生物附着生长在中空纤维膜表面, H_2 利用率高,避免了 H_2 泄漏的风险^[16]。MBfR以 H_2 为电子供体,将氧化性污染物还原为低毒或无毒的低价态产物^[17],广泛应用于硝酸盐/亚硝酸盐、高氯酸盐/氯酸盐、铬酸盐、硫酸盐等氧化态污染物的研究^[18-19]。TANG等^[20]将 $\text{H}_2\text{-MBfR}$ 应用于实际地下水的反硝化效能,在初始 NO_3^- 质量浓度为 $11.9\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,反硝化速率为 $0.8\sim 2.9\text{ g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$,亚硝酸盐累积率低, H_2 利用率100%。 $\text{H}_2\text{-MBfR}$ 反硝化体系的效能,受 NO_3^- -N浓度、pH和氢通量等众多因素的影响。RITTMANN等发现在 $\text{H}_2\text{-MBfR}$ 中,自养反硝化的最佳pH在7.7~8.6,pH超过8.6, NO_3^- 去除率显著下降、 NO_2^- 急剧积累^[21]。增加 H_2 压力,氢通量由 $0.04\text{ mg}\cdot(\text{cm}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 增加到 $0.13\text{ mg}\cdot(\text{cm}^2\cdot\text{d})^{-1}$,可提高生物膜的还原效能^[22]。 $\text{H}_2\text{-MBfR}$ 进行反硝化脱氮,有效解决 H_2 溶解度和利用率低的局限性,无需外加有机碳源、无二次污染,在污水处理厂总氮提标改造中具有良好的应用前景。前期大部分研究主要以地下水中低浓度硝酸盐为对象,对于其在污水处理厂深度反硝化脱氮的研究尚不多见。本研究以 H_2 作为电子供体,考察了MBfR反应器的反硝化性能,此外,考察了 NO_3^- -N浓度、pH、氢通量等关键因素对 $\text{H}_2\text{-MBfR}$ 反硝化过程的影响,在此基础上分析了系统的微生物群落特征,为 $\text{H}_2\text{-MBfR}$ 致力于污水厂深度脱氮的工程化应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验装置

实验装置由2组 $\text{H}_2\text{-MBfR}$ 组成,分别命名为A组和B组(图1)。每组MBfR分为主管和副管,用硅胶管连接,通过蠕动泵实现水循环,以保证反应器内液体混合均匀,并在中空纤维膜外表面形成剪切力,促进微生物均匀生长。副膜主要用于取微生物样品,以防止生物取样对反应器运行造成较大的干扰^[23]。反应器内径1.2 cm,高度36 cm,有32根PVDF中空纤维膜(膜内径250 μm ,膜外径350 μm)组成的膜束,表面积为86.2 cm^2 。每组反应器总体积为80 mL,其中有效容积为60 mL。

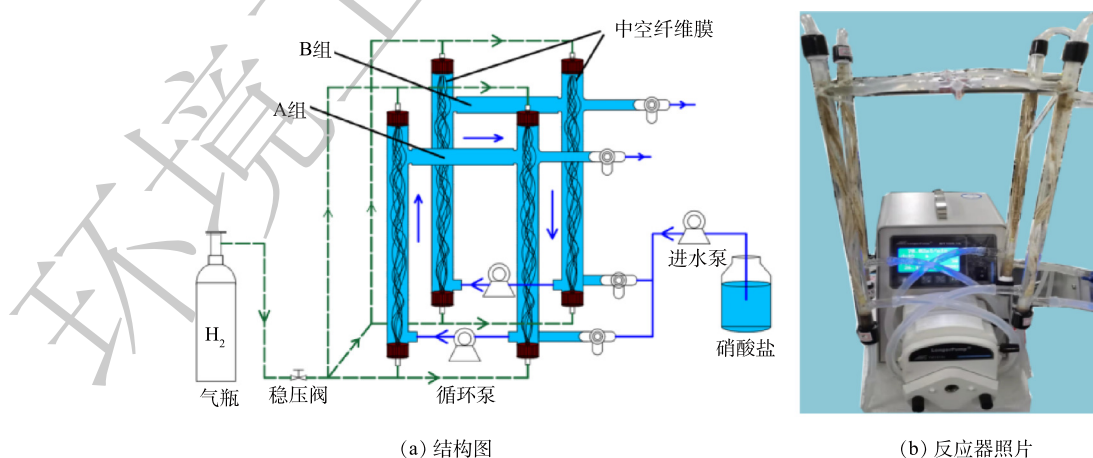


图1 $\text{H}_2\text{-MBfR}$ 反应器的结构图和照片

Fig. 1 Schematic diagram and photographs of the $\text{H}_2\text{-MBfR}$ reactor

1.2 实验水质

氢自养反硝化的驯化和效能实验采用人工模拟配水,以 20 mg·L⁻¹ 的 NaHCO₃ 为无机碳源,培养基质由 NaNO₃、K₂HPO₄、KH₂PO₄ 和微量元素^[24]按一定比例配成。微量元素分别为: 100 mg·L⁻¹ ZnSO₄·7H₂O, 30 mg·L⁻¹ MnCl₂·4H₂O, 300 mg·L⁻¹ H₃BO₃, 200 mg·L⁻¹ CoCl₂·6H₂O, 50 mg·L⁻¹ CuSO₄·5H₂O, 10 mg·L⁻¹ NiCl₂·6H₂O, 170 mg·L⁻¹ MgCl₂, 100 mg·L⁻¹ CaCl₂·2H₂O。

1.3 实验方法

1) 驯化挂膜和性能提升。为了考察接种污泥对反应器启动的影响, A 组反应器接种反硝化污泥, B 组反应器接种厌氧污泥, 接种后反应器内污泥质量浓度为 5 000 mg·L⁻¹ 左右, 分为驯化挂膜和性能提升 2 个阶段。启动阶段, 采用间歇运行的方式, HRT 由 48 h 逐渐降为 24 h, 氢分压维持 0.05 MPa, 进水 NO₃⁻-N 浓度为 1 mmol·L⁻¹。每天检测进、出水 pH、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮。性能提升阶段, 连续进水, 逐步提高进水 NO₃⁻-N 浓度, 反应器的运行工况如表 1 所示。

表 1 反应器性能提升过程对应的运行工况
Table 1 Operating conditions corresponding to the reactor performance improvement process

阶段	运行时间/d	NO ₃ ⁻ -N浓度/(mmol·L ⁻¹)	H ₂ 压力/MPa	HTR/h	pH
I	15~28	1	0.05	15	6.8~7.0
II	29~37	2	0.05	15	6.8~7.0
III	38~47	3	0.05	15	6.8~7.0
IV	48~59	4	0.06	15	6.8~7.0
V	60~65	4	0.06	6	6.8~7.0
VI	66~73	5	0.06	6	6.8~7.0

2) 反硝化速率根据式 (1) 进行计算, 氢通量(通过中空纤维膜微孔曝气均匀分布在膜外表面的氢气量)根据式 (2) 进行计算。

$$r_{\text{NO}_3^--\text{N}} = \frac{C\Delta(\text{NO}_3^--\text{N})}{t} \quad (1)$$

式中: $r_{\text{NO}_3^--\text{N}}$ 为反硝化速率, mg·(L·h)⁻¹。CΔ(NO₃⁻-N) 表示在某一时间段内硝酸盐浓度变化, mg·L⁻¹; Δt 表示反应的时间, h。

$$J_m = \frac{K}{z} (P_0 - P_{m-lf}) k_1 \quad (2)$$

式中: J_m 为氢通量, g·(m²·d)⁻¹; K 为在标准温度和大气压下氢气渗透率, 为 1.8×10⁻⁷ m³·(m²)⁻¹; z 为中空纤维膜的厚度(膜外径-膜内径), μm; P_0 表示中空纤维膜内氢气压力, bar; P_{m-lf} 表示中空纤维膜和液膜界面间的氢气压力, bar; k_1 表示在标准温度和大气压下将氢气从体积转换为质量的系数, 1 g·(0.0112m³)⁻¹。

3) 分析方法。水样经 0.45 μm 水相滤膜过滤后进行分析。硝态氮分析采用紫外分光光度法(HJ/T 346-2007), 亚硝态氮分析采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法, pH 通过便携式 pH 计(BestLab 962244) 进行测定。

16S rRNA 高通量测序分析: 取接种污泥和反应器运行不同阶段的生物膜样品, 送至美吉公司进行高通量测序分析。16S rRNA 基因在 V3~V4 高变区测序, 选用细菌通用引物 338F(5'-ACT CCTACGGGAGGCAGCAG-3') 及 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。在优化序列的基础上按照 97% 相似性分析, 得到每个 OTU 对应的物种分类信息, 并在各水平上统计每个样品的群落组成, 获得样品中微生物门(phylum) 和属(genus) 等物种组成及丰度。

2 结果与讨论

2.1 H₂-MBfR 启动及稳定运行反硝化效能

1) 接种污泥对 H₂-MBfR 启动效能比较。相对于传统的生物膜, MBfR 的电子供体(氢气、氧气

等)和电子受体(污染物)从生物膜的两侧相对扩散,属于反向扩散膜(counter-diffusion biofilm)^[25]。因此,MBfR启动与微生物挂膜值得关注。接种不同污泥的MBfR反硝化驯化挂膜阶段的序批实验结果如图2所示。接种反硝化污泥的A组,反应器运行2 d后, NO_3^- -N浓度由进水的 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降至出水的 $0.35 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$;运行8 d后,出水 NO_3^- -N浓度低至 $0.014 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (图2(a))。从第9天开始,HRT调整为24 h,微生物很快适应,第10天 NO_3^- -N去除率达到98.4%以上,并保持稳定。接种厌氧污泥的B组图2(b),反应器运行2 d后,出水 NO_3^- -N浓度为 $0.4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,反应器第10天,出水 NO_3^- -N浓度低至 $0.008 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在第11天,调整HRT为24 h, NO_3^- -N浓度略有下降。随着反应的进行,第14天 NO_3^- -N去除率达到98%以上。此时,中空纤维膜表面已附着一层黄褐色生物膜,出水pH维持在7.8左右,无中间产物的产生与累积,可认为MBfR驯化阶段已经完成。

为了探究接种污泥对 H_2 -MBfR启动效能的影响,在反应器运行第6天和第12天,分别对A、B组进行原位批次实验,硝酸盐浓度变化和反硝化速率变化情况如图2(c)和图2(d)所示。发现A组对 NO_3^- -N的反硝化速率均快于B组,A组反硝化速率由 $0.751 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 提高到 $1.347 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$,B组反硝化速率由 $0.608 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 提高到 $1.114 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 。从整个驯化过程来看,采用序批式运行,有利于生物膜的快速形成,均能在14 d内达到稳定的反硝化性能。A组反应器接种反硝化污泥,反应速率更快,10 d左右即可达到稳定的反硝化效果,有利于 H_2 -MBfR反硝化的快速启动。

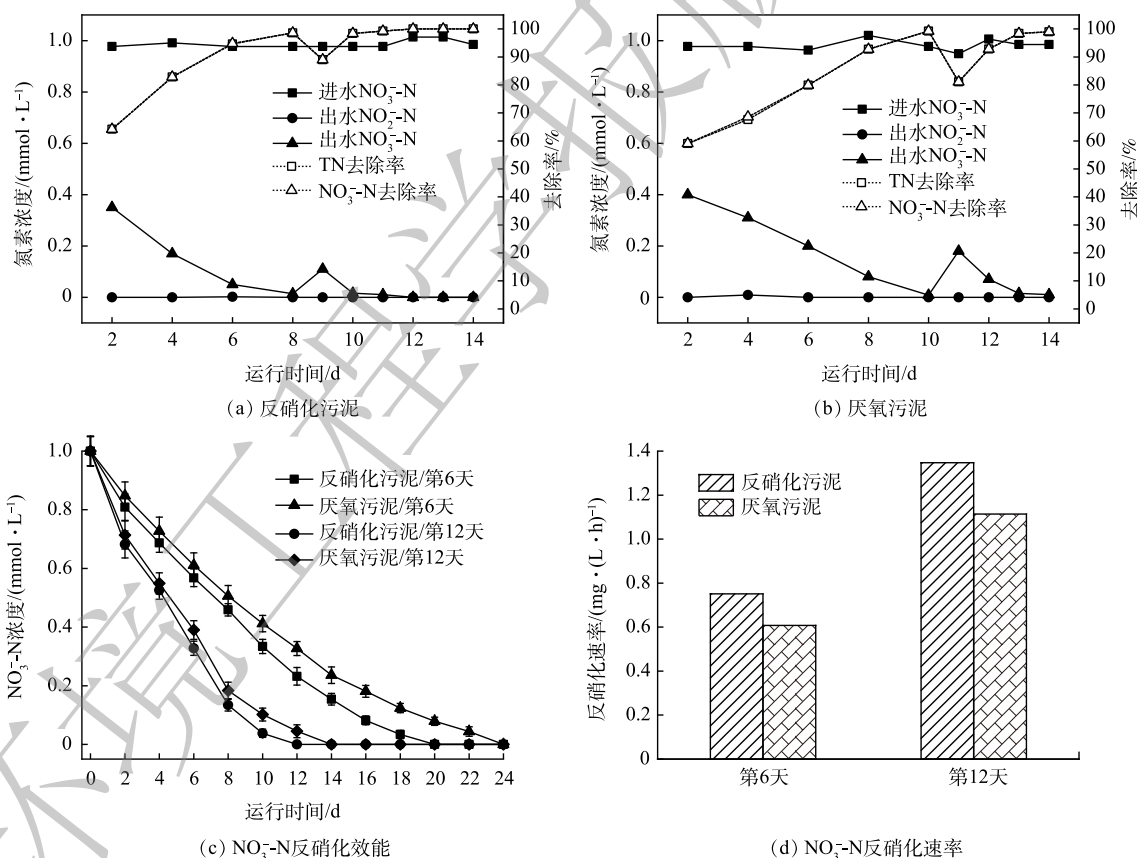


图2 不同接种污泥启动阶段反硝化性能比较

Fig. 2 Comparison of denitrification efficiency at start-up stages with different inoculated sludge

2) H_2 -MBfR反硝化效能的提升。考虑到A组和B组反应器形成稳定生物膜后,两者性能稳定,并无显著差异。因此,以A组为研究对象,考察进水浓度对系统反硝化效能的影响,运行工况见表1,反应器性能变化如图3所示。

在前3个阶段, 进水NO₃⁻-N浓度由1 mmol·L⁻¹逐步提高到3 mmol·L⁻¹, 去除率维持在98.6%以上, 无NO₂⁻-N累积; 第IV阶段, 当进水NO₃⁻-N浓度提高到4 mmol·L⁻¹, 反硝化去除率急剧下降至78%左右, 出水NO₃⁻-N浓度上升至0.86 mmol·L⁻¹, 且出水中亚硝酸盐生成。在物料平衡分析中, 发现尽管进水NO₃⁻-N浓度提高, 去除率下降, 但是反硝化脱氮的总量与第III阶段基本持平, 认为此时反硝化去除率下降应该与电子供体氢气的供给不足有关。在第50天将氢分压由0.05 MPa(0.080 g·(m²·d)⁻¹)提高到0.06 MPa(0.096 g·(m²·d)⁻¹), 反硝化性能逐渐提升, 出水NO₃⁻-N和NO₂⁻-N浓度逐渐下降。随后在第V阶段, 缩短HRT为6 h, 运行负荷提高了3.3倍, 反硝化去除率稳定在98.7%以上。在此基础上, 进一步提高进水NO₃⁻-N浓度至5 mmol·L⁻¹, 反硝化去除率均维持在98.5%以上, 没有其他副产物生成。在氢气足够的条件下, 系统反硝化效率高、性能稳定, 且具有应对负荷变化的良好性能。氢气作为反硝化电子供体, 氢分压对反硝化效能有重要影响。

相对于以有机物为电子供体的异养反硝化, 氢自养反硝化工艺产物为氮气和水, 无二次污染, 污泥产率低, 无温室气体CO₂排放, 甚至可以利用CO₂作为微生物生长的无机碳源^[26]。表2总结了不同有机电子供体和H₂作为无机电子供体反硝化时NO₃⁻-N去除率和CO₂排放量。在异养反硝化过程中, 不同有机电子供体, CO₂的排放量略有差异, 理论值为0.83~1.25 g, 在实际运行过程中, 由于有机物利用率不同, CO₂应该高于理论值。H₂-MBfR反应器通过无孔膜布气的方式, 有效缓解了H₂溶解度低的限制, 提高了H₂的利用率, 且无CO₂排放, 在污水厂总氮达标、敏感水域硝酸盐控制中, 具有很好的节能减排效果。

表2 不同电子供体的反硝化性能与CO₂排放量比较

Table 2 Comparison of denitrification performance and CO₂ emissions of different electron donors

电子供体	反应方程式	NO ₃ ⁻ -N去除率/%	反应器	CO ₂ 排放量/g	参考文献
甲醇	5CH ₃ OH + 6NO ₃ ⁻ → 3N ₂ + 5CO ₂ + 7H ₂ O + 6OH ⁻	92.8~98.7	附着生长填充床	0.83	[27]
乙醇	5C ₂ H ₅ OH + 12NO ₃ ⁻ → 6N ₂ + 10CO ₂ + 9H ₂ O + 12OH ⁻	100	流化床	0.83	[28]
乙酸盐	5CH ₃ COO ⁻ + 13H ⁺ + 8NO ₃ ⁻ → 4N ₂ + 10CO ₂ + 14H ₂ O	99	连续搅拌反应器	1.25	[29]
葡萄糖	5C ₆ H ₁₂ O ₆ + 24NO ₃ ⁻ + 24H ⁺ → 12N ₂ + 30CO ₂ + 42H ₂ O	88~92	填充床	1.25	[30]
氢气	2NO ₃ ⁻ + 5H ₂ + 2H ⁺ → N ₂ + 6H ₂ O	98.5	膜生物膜反应器	0	本研究

2.2 影响因素

1) 进水浓度对氢自养反硝化的影响。本研究在氢分压为0.06 MPa、HRT为15 h的条件下, 通过原位批次实验考察不同NO₃⁻-N浓度和NO₂⁻-N浓度对反硝化活性的影响, 结果如图4所示。提高进水NO₃⁻-N浓度, 反硝化速率增加(图4(d))。当NO₃⁻-N浓度由1 mmol·L⁻¹逐渐增加到4 mmol·L⁻¹时, 反硝化速率由4.20 mg·(L·h)⁻¹提高到10.78 mg·(L·h)⁻¹, 且进水浓度越高, 反硝化速率增幅越高。这个结果也可较好地解释在氢气足够的条件下H₂-MBfR体系中随着进水硝酸盐浓度提高, 反应器仍能维持高效反硝化的现象。批次实验结果表明, 亚硝酸盐是氢基质反硝化的中间产物, 进

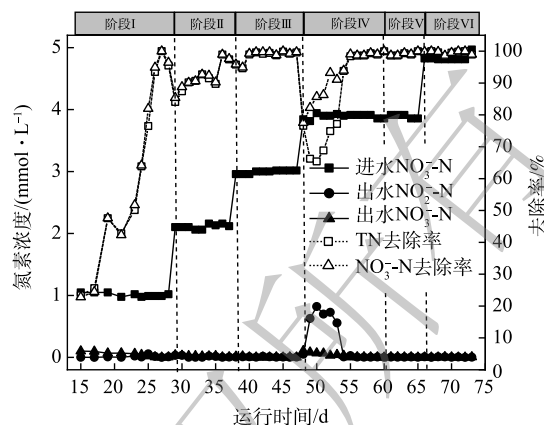


图3 H₂-MBfR性能提升阶段的反硝化效能

Fig. 3 Denitrification efficiency at H₂-MBfR performance enhancement stage

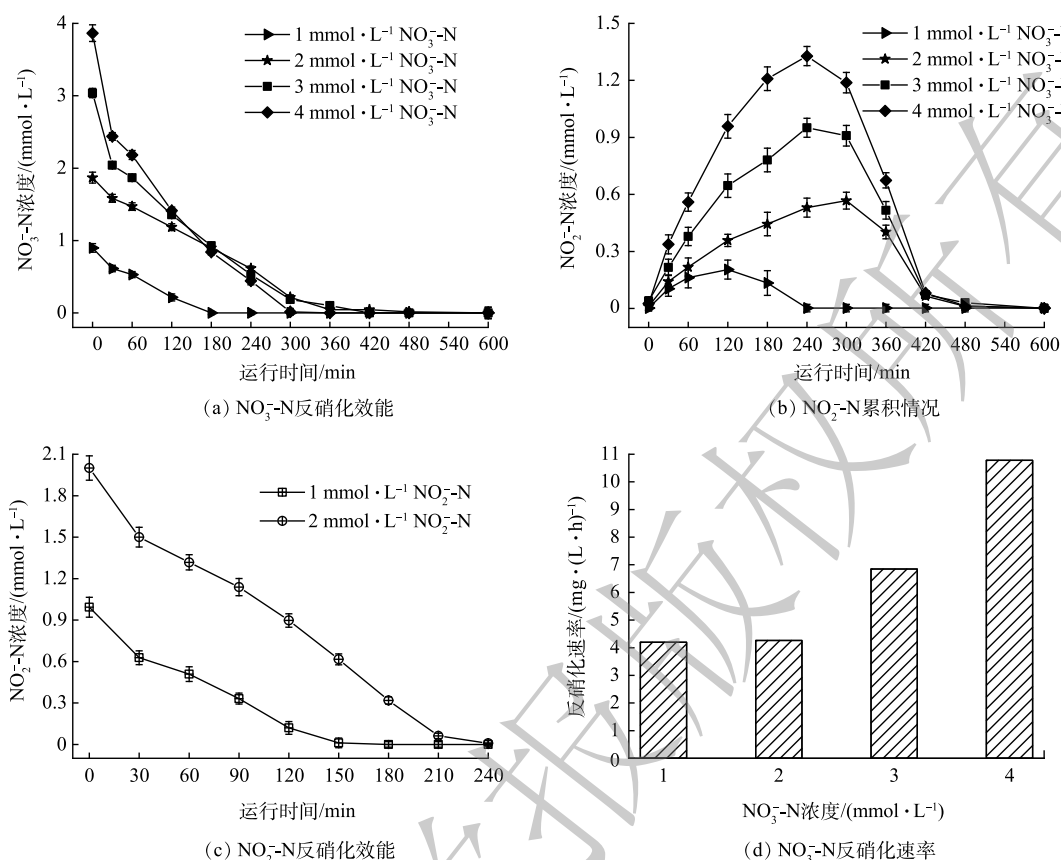


图4 进水浓度对氢自养反硝化的影响

Fig. 4 Effect of influent concentration on hydrogen autotrophic denitrification

水 NO_3^- -N 浓度越高, 亚硝酸盐积累量越大。反应过程中生成的 NO_2^- -N 在 NO_3^- -N 完全降解后 120 min 内被迅速去除。考察了 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NO_2^- -N 的还原过程, NO_2^- -N 的氢自养反硝化速率分别为 $5.5 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 和 $7.3 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, 略高于相同浓度的 NO_3^- -N 反硝化速率。曹相生等以 CH_3COONa 为外加碳源的反硝化研究发现, 无论碳源是否充足, 反硝化过程中均出现亚硝酸盐氮先积累后逐渐消失的现象, 亚硝酸盐氮积累是由硝酸盐氮还原到亚硝酸盐氮和亚硝酸盐氮还原到氮气的速率差造成的^[31]。孙洪伟等发现亚硝酸盐氮还原速率低于硝酸盐氮还原速率是导致亚硝酸盐氮积累的主要原因^[32]。本研究以氢气作为电子供体的氢自养反硝化过程中, 亚硝酸盐的积累可能是硝酸盐转化率与亚硝酸盐还原率不同导致的。氢自养反硝化过程中, 中间产物亚硝酸盐的生成速率高于亚硝酸盐被还原的速率, 使得即使亚硝酸盐的还原速率高于硝酸盐的还原速率, 过程中也会出现亚硝酸盐积累, 但最终能够彻底被反硝化生成氮气。

2) pH 对氢自养反硝化的影响。pH 是微生物体系的一个重要参数, 反硝化过程中会导致碱度增加, 氢自养反硝化的最佳 pH 在 $7.6\sim 8.6$ ^[21,33], 控制合理的 pH 有利于反应器的稳定运行。本研究在氢分压为 0.05 MPa 、HRT 为 15 h 的条件下, 考察 pH 对 H_2 -MBfR 的反硝化效果的影响, 结果如图 5 所示。可见, 进水 pH 维持在中性条件下, 反硝化速率最快, 过高或过低的初始 pH 均会影响反硝化速率。pH 较低时电子供体不能被充分利用; 而过高的 pH 会抑制氢自养反硝化菌活性^[34-35]。初始 pH 在 $6\sim 7.5$ 时, 硝态氮反硝化速率均在 $9.58 \text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 以上。但初始 pH 在 7.5 左右, 以氢气为电子供体反硝化过程中, 亚硝酸盐的积累率最低, 且反应结束后, pH 增加至 8.2 左右, 体系中 pH 相对比较平稳。初始 pH 在 6.5 和 7 时, 都会出现较高的亚硝酸盐积累, pH 增幅达 1 左右。当进

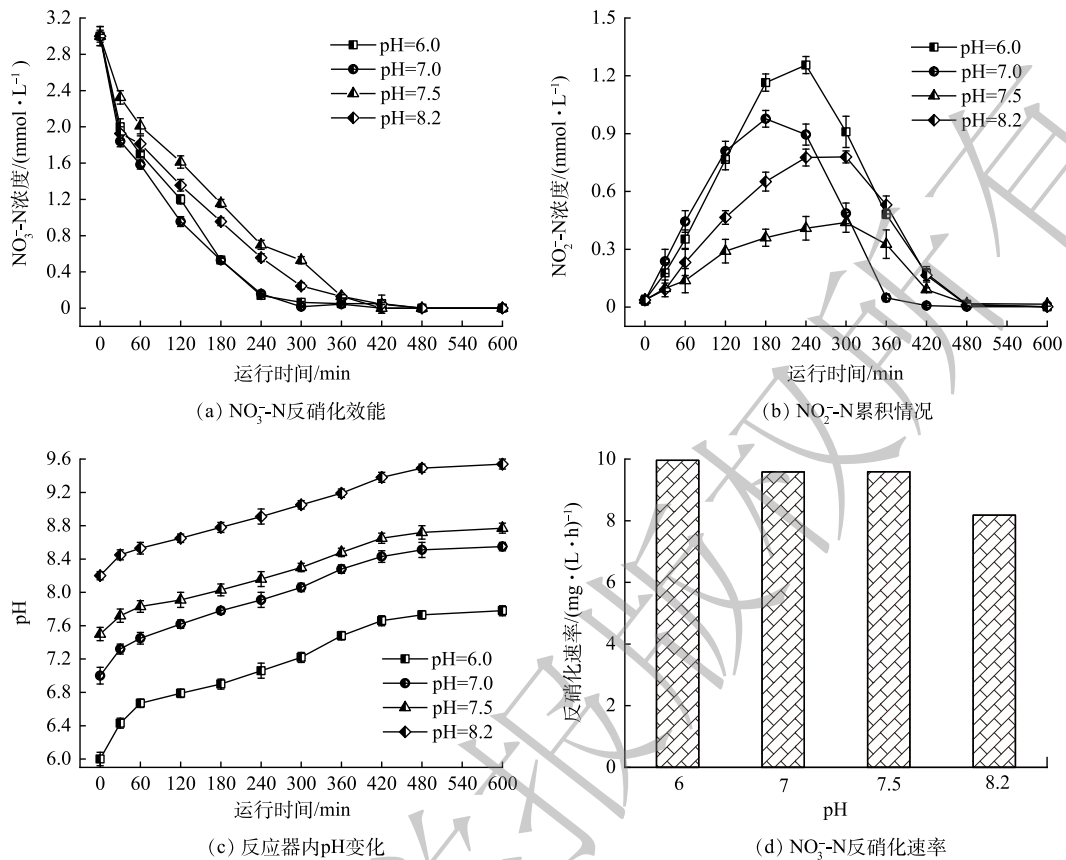


图 5 进水 pH 对氢自养反硝化的影响

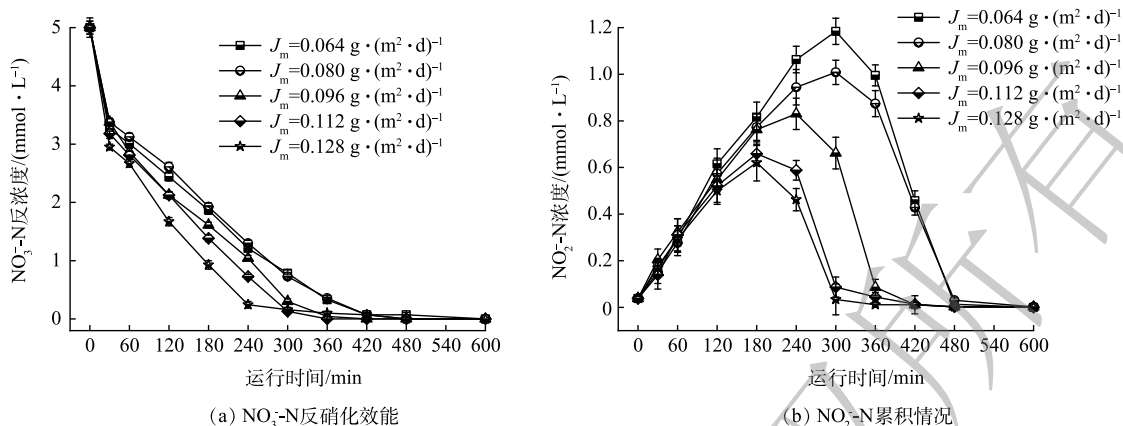
Fig. 5 Effect of influent pH on hydrogen autotrophic denitrification

水 pH 在 8 左右, 最终体系中 pH 超过 9, 不利于微生物正常代谢。因此, 初始 pH 在 7.5 左右, 体系中的 pH 可维持在理想的范围内, 有利于微生物活性发挥。

3) 氢通量对氢自养反硝化的影响。氢气作为电子供体, 对反硝化有重要的影响。在连续运行过程中, 硝酸盐浓度提高, 氢气不足, 会抑制反硝化; 由于氢气的溶解度较低, 氢气过量无法被充分利用, 造成资源浪费。本研究在 HRT 为 6 h 的条件下, 考察 J_m 分别为 0.064、0.080、0.096、0.112 和 0.128 $\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 对 H₂-MBfR 的反硝化效果的影响 (对应的氢分压分别为 0.04、0.05、0.06、0.07 和 0.08 MPa)。由图 6 可见, 随着 J_m 增加, NO₃⁻-N 的降解速率提高, 这使得反硝化速率提高。当 J_m 为 0.128 $\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 时, NO₃⁻-N 的降解速率最快为 16.5 $\text{mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 。中间产物 NO₂⁻-N 的生成量随 J_m 增加而下降, 且 J_m 越高, 达到 NO₂⁻-N 的最大积累量耗时越短。 J_m 为 0.064 $\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 时, 在 300 min 出现 NO₂⁻-N 最大积累量 1.18 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$; J_m 增加到 0.128 $\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ 时, 在 180 min 时 NO₂⁻-N 最大积累量为 0.62 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。 J_m 对亚硝酸盐的累积影响与硝酸盐的反硝化速率具有很好的一致性。增加氢分压, 提高了氢通量, 微生物对污染物的去除能力及电子利用率增强^[16]。调控合理的 H₂ 压力, 使其保持在相对低能耗、高效率的反应状态^[22]。在实际运行过程中, 从资源节约的角度优化 J_m 与氢分压, 维持 J_m 为 0.096 $\text{g}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{d})^{-1}$ (对应的氢分压为 0.06 MPa)。

2.3 微生物群落结构分析

1) 门水平微生物群落结构分析。生物膜是 H₂-MBfR 系统稳定的核心。随着反应器的运行, 生物膜逐渐增厚, 但内循环水流剪切力, 促使生物膜维持在相对稳定的厚度。对 H₂-MBfR 反应器第 1 天接种污泥 (A0) 及其运行至第 47 天 (A1) 和第 73 天 (A2) 时生物膜样品进行高通量分析, 其门水

图6 J_m 对氢自养反硝化的影响Fig. 6 Effect of J_m on hydrogen autotrophic denitrification

平微生物群落结构如图7所示。污泥样品中发现6个典型门属,分别为变形菌门 *Proteobacteria*、拟杆菌门 *Bacteroidetes*、酸杆菌门 *Acidobacteriota*、放线菌门 *Actinobacteriota*、绿湾菌门 *Chloroflexi*、后壁菌门 *Firmicutes*。*Proteobacteria* 在所有样本中均占据主导地位,是活性污泥和生物膜中丰度最高的菌群之一,其中许多与反硝化相关的菌群属于 *Proteobacteria* 分类^[36-37]。本研究接种污泥为反硝化污泥, *Proteobacteria* 丰度达到25.7%,随着污泥反硝化性能提升,该门类菌属逐渐增加,达到33.8%和47.5%。尽管在接种污泥中未检测到 *Acidobacteriota*,随着污泥反硝化性能提升,丰度明显增加,达到10%和17.6%。*Actinobacteriota* 和 *Chloroflexi* 相对丰度显著下降。有研究^[38]表明, *Actinobacteriota* 菌门常引发活性污泥泥水分离问题和包含了多种与污泥膨胀相关菌属。 H_2 -MBfR 反应器内未添加有机碳源,可能是因为缺乏有机碳源抑制了 *Actinobacteriota* 菌门生长。

2) 属水平微生物群落结构分析。从属水平进一步对微生物群落结构进行分析,如图8所示。 H_2 -MBfR 典型的反硝化菌属 *unclassified_f_Comamonadaceae*、*Hydrogenophaga* 和 *Rhodobacter* 属于 *Proteobacteria*, *norank_f_Blastocatellaceae* 属于 *Acidobacteriota*, 这4类菌属在反硝化稳定期可达到46%左右。优势菌属 *unclassified_f_Comamonadaceae*、*norank_f_Blastocatellaceae* 和 *Hydrogenophaga*, 相对丰度均明显增加。*unclassified_f_Comamonadaceae* 和 *norank_f_Blastocatellaceae* 均为低有机物条件下典型的反硝化菌属,本系统中该类微生物可能是由于生物膜脱落水解导致内源反硝化。*Hydrogenophaga* 是可以利用残余有机

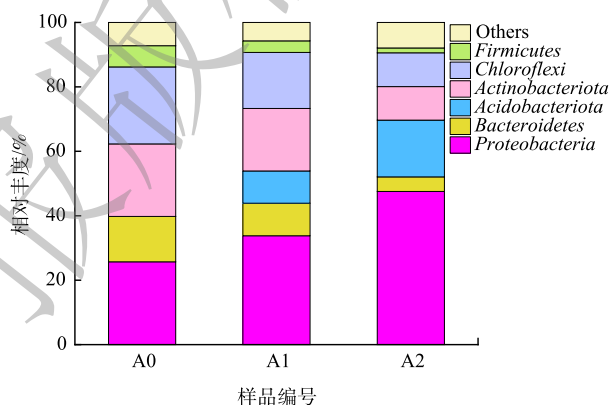


图7 在不同阶段门水平上微生物相对丰度变化

Fig. 7 Variation of microbial relative abundance at phylum level and different stages

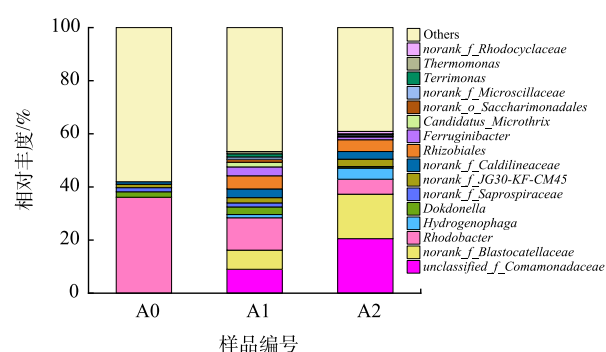


图8 不同阶段属水平上微生物相对丰度变化

Fig. 8 Variation of microbial relative abundance at genus level and different stages

物或无机物的兼性自养反硝化菌^[39], 反应器内 *Hydrogenophaga* 丰度明显升高, 与系统氢自养反硝化性能提升一致。氢基质膜生物膜的群落结构主要取决于液相中污染物的种类及浓度, 当进水污染物只有硝氮时, 优势菌种主要为红环菌属 (*Rhodocyclus*)、噬氢菌属 (*Hydrogenophaga*) 等。本研究也发现红细菌属 *Rhodobacter* 是典型的微生物菌属, *Hydrogenophaga* 随着系统反硝化性能提升, 丰度增加。尽管典型的反硝化菌群丰度变化与 H₂-MBfR 系统脱氮性能的变化有很好的契合度, 反硝化微生物种类复杂, 尚可能存在一部分未知的氢自养反硝化菌, 需要进一步深入探讨。

3 结论

1) 不同接种污泥的实验组采用序批式在 14 d 左右均可启动内循环 H₂-MBfR, 反硝化效率稳定在 98% 以上, 而接种反硝化污泥更有利于氢自养反硝化的快速启动。

2) 在氢气足够的条件下, H₂-MBfR 系统具有应对负荷变化的良好性能。提高进水 NO₃⁻-N 浓度和缩短 HRT, 反应器运行负荷提高了 3.3 倍, 反硝化去除率稳定在 99%。相对于异养反硝化 CO₂ 的理论排放量 (0.83~1.25 g), 氢自养反硝化无二次污染、无温室气体排放。

3) 氢自养反硝化速率、中间产物亚硝酸盐累积率、累积峰值的时间与进水浓度、pH、氢通量密切相关。氢自养反硝化速率与进水浓度呈正相关, 有利于 H₂-MBfR 能够适应较大范围进水负荷波动。理想的进水 pH 在 7.5 左右, 氢通量为 0.096 g·(m²·d)⁻¹。

4) *Proteobacteria* 是 H₂-MBfR 系统中主导菌门, 随着系统反硝化性能提升, 该门类菌属达到 47.5%。*unclassified_f_Comamonadaceae*、*norank_f_Blastocatellaceae*、*Hydrogenophaga* 和 *Rhodobacter* 是 H₂-MBfR 系统中典型的反硝化菌属, 在稳定期总丰度可达到 46% 左右。

参考文献

- [1] CHU L B, WANG J L. Denitrification performance and biofilm characteristics using biodegradable polymers PCL as carriers and carbon source[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(9): 1310-1316.
- [2] CONLEY D J, PAERL H W, HOWARTH R W, et al. Controlling eutrophication: Nitrogen and phosphorus[J]. *Science*, 2009, 323(5917): 1014-1015.
- [3] 郝晓地, 方晓敏, 李季, 等. 污水碳中和运行潜能分析[J]. *中国给水排水*, 2018, 34(10): 11-16.
- [4] WANG Y L, WANG D B, YANG Q, et al. Wastewater opportunities for denitrifying anaerobic methane oxidation[J]. *Trends in Biotechnology*, 2017, 35(9): 799-802.
- [5] MARIN J A, CARAVELLI A H, ZARITZKY N E, et al. Nitrification and aerobic denitrification in anoxic-aerobic sequencing batch reactor[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 200: 380-387.
- [6] CHU L B, WANG J L. Comparison of polyurethane foam and biodegradable polymer as carriers in moving bed biofilm reactor for treating wastewater with a low C/N ratio[J]. *Chemosphere*, 2011, 83(1): 63-68.
- [7] XIE G J, CHEN C, HU S H, et al. Complete nitrogen removal from synthetic anaerobic sludge digestion liquor through integrating anammox and denitrifying anaerobic methane oxidation in a membrane biofilm reactor[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(2): 819-827.
- [8] CAPUA F D, PIROZZI F, ESPOSITO G, et al. Electron donors for autotrophic denitrification[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 362: 922-937.
- [9] WEI X, WANG Y, HAO T Y, et al. pH control and microbial community analysis with HCl or CO₂ addition in H₂-based autotrophic denitrification[J]. *Water Research*, 2020, 168: 115200.
- [10] LIU L H, KOENIG A. Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification batch experiments[J]. *Process Biochemistry*, 2002, 37: 885-893.
- [11] MOON H S, AHN K H, LEE S, et al. Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 129: 499-507.
- [12] 姚鹏程, 袁仪, 龙震宇, 等. 单质硫自养反硝化研究现状及展望[J]. *现代化工*, 2018, 38(6): 28-33.
- [13] PANG Y M, WANG J L. Various electron donors for biological nitrate removal: A review[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 794: 148699.
- [14] GHAFARI S, HASAN M, AROUA M K. Nitrate remediation in a novel upflow bio-electrochemical reactor (UBER) using palm shell activated carbon as cathode material[J]. *Electrochimica Acta*, 2009, 54(17): 4164-4171.

- [15] TANG Y N, ZHOU C, MEYER K, et al. Comparing heterotrophic and hydrogen-based autotrophic denitrification reactors for effluent water quality and post-treatment[J]. *Water Science & Technology:Water Supply*, 2012: 227-233.
- [16] LEE K C, RITTMANN B E. Applying a novel autohydrogenotrophic hollow-fiber membrane biofilm reactor for denitrification of drinking water[J]. *Water Research*, 2002, 36: 2040-2052.
- [17] RITTMANN B E. The membrane biofilm reactor is a versatile platform for water and wastewater treatment[J]. *Environmental Engineering Research*, 2007, 12(4): 157-175.
- [18] ZHAO H P, GINKEL A V, TANG Y N, et al. Interactions between perchlorate and nitrate reductions in the biofilm of a hydrogen-based membrane biofilm reactor[J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(23): 10155-10162.
- [19] 夏四清, 梁郡, 李海翔, 等. 利用氢基质生物膜反应器同步去除多种污染物[J]. *同济大学学报(自然科学版)*, 2012, 6: 876-881.
- [20] TANG Y N, MICHAL Z E, ZHOU C, et al. Bioreduction of nitrate in groundwater using a pilot-scale hydrogen-based membrane biofilm reactor[J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering in China*, 2010, 4(3): 280-285.
- [21] LEE K C, RITTMANN B E. Effects of pH and precipitation on autohydrogenotrophic denitrification using the hollow-fiber membrane-biofilm reactor[J]. *Water Research*, 2003, 37(7): 1551-1556.
- [22] MICHAL Z E, RITTMANN B E. Systematic evaluation of nitrate and perchlorate bioreduction kinetics in groundwater using a hydrogen-based membrane biofilm reactor[J]. *Water Research*, 2009, 43(1): 173-181.
- [23] 冉雅郡, 周云, 杨潇潇, 等. MBR处理水中氧化性污染物的研究进展[J]. *中国环境科学*, 2018, 38(12): 4484-4493.
- [24] XIA S Q, LI H X, ZHANG Z Q, et al. Bioreduction of para-chloronitrobenzene in drinking water using a continuous stirred hydrogen-based hollow fiber membrane biofilm reactor[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 192(2): 593-598.
- [25] WANG R C, TERADA A, LACKNER S, et al. Nitritation performance and biofilm development of co- and counterdiffusion biofilm reactors: modeling and experimental comparison[J]. *Water Research*, 2009, 43(10): 2699-2709.
- [26] ZHOU C, AURA O V, WANG Z C, et al. Palladium recovery in a H₂-based membrane biofilm reactor: Formation of Pd(0) Nanoparticles through enzymatic and autocatalytic reductions[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(5): 2546-2555.
- [27] RAJAPAKSE J P, SCUTT J E. Denitrification with natural gas and various new growth media[J]. *Water Research*, 1999, 33(18): 3723-3734.
- [28] CONSTANTIN H, FICK M. Influence of C-sources on the denitrification rate of a highnitrate concentrated industrial wastewater[J]. *Water Research*, 1997, 31(3): 583-589.
- [29] JESUS R A, ELIAS R F, JORGE G. Simultaneous biological removal of nitrogen, carbon and sulfur by denitrification[J]. *Water Research*, 2004, 38(14/15): 3313-3321.
- [30] XU Z S, DAI X H, CHAI X L. Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 634: 195-204.
- [31] 曹相生, 钱栋, 孟雪征. 乙酸钠为碳源时的污水反硝化规律研究[J]. *中国给水排水*, 2011, 27(21): 76-79.
- [32] 孙洪伟, 王淑莹, 王希明, 等. 低温SBR反硝化过程亚硝酸盐氮积累试验研究[J]. *环境科学*, 2009, 30(12): 3619-3623.
- [33] REZANIA B, CICEK N, OLESZKIEWICZ J A. Kinetics of hydrogen-dependent denitrification under varying pH and temperature conditions[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2010, 92(7): 900-906.
- [34] REZANIA B, OLESZKIEWICZ J A, CICEK N, et al. Hydrogen-dependent denitrification in an alternating anoxic-aerobic SBR membrane bioreactor[J]. *Water Science & Technology*, 2005, 51(6/7): 403.
- [35] GINKEL S V, LAMENDELLA R, RITTMANN B E, et al. Microbial community structure during nitrate and perchlorate reduction in ion-exchange brine using the hydrogen-based membrane biofilm reactor (MBfR)[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 3747-3750.
- [36] XIA S Q, DUAN L, SONG Y H, et al. Bacterial community structure in geographically distributed biological wastewater treatment reactors[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(19): 7391-7396.
- [37] LU H J, CHANDRAN K, STENSEL D. Microbial ecology of denitrification in biological wastewater treatment[J]. *Water Research*, 2014, 64: 237-254.
- [38] 高春娣, 张娜, 韩徽, 等. 低温下丝状菌膨胀污泥的微生物多样性[J]. *环境科学*, 2020, 41(7): 3373-3383.
- [39] XING W, LI J L, LI P, et al. Effects of residual organics in municipal wastewater on hydrogenotrophic denitrifying microbial communities[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2018, 65: 262-270.

(责任编辑: 曲娜)

Denitrification efficiency and impact factors of a hydrogen-based membrane biofilm reactor

MIAO Runzhu¹, WANG Jianfang^{1,2,3,*}, CHEN Jiaqi¹, ZHAO Junjie¹

1. School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou 215000, China; 2. National and Local Joint Engineering Laboratory of Municipal Sewage Resource Utilization Technology, Suzhou 215000, China; 3. Collaborative Innovation Center of Water Treatment Technology and Materials in Jiangsu Universities, Suzhou 215009, China

*Corresponding author, E-mail: wjf302@163.com

Abstract Hydrogen autotrophic denitrification is a sustainable low carbon wastewater treatment process due to resource conservation and no secondary pollution. In order to study the rapid start-up of denitrification and its denitrification performance in a hydrogen-based membrane biofilm reactor (H₂-MBfR), the effects of key factors such as different influent concentrations, pH and hydrogen flux (J_m) on the denitrification process of H₂-MBfR were investigated, and the microbial community characteristics of the system were analyzed. The results showed that: the denitrification efficiency of the reactors with different inoculated sludge could all be stabilized above 98% within 14 d, and the inoculation of denitrification sludge was more conducive to the rapid start-up than others. Under the condition of sufficient hydrogen, the reactor operating load increased by 3.3 times through increasing the influent NO₃⁻-N concentration and shortening the hydraulic retention time (HRT), and the system maintained a stable and efficient denitrification performance, and could save theoretical CO₂ emissions of about 0.83-1.25 g (as NO₃⁻-N) comparing to heterotrophic denitrification. The optimal initial pH was around 7.5, and the lowest accumulation rate of nitrite during denitrification occurred accordingly. J_m had a good agreement with denitrification rate, and the increase of J_m was beneficial to improving denitrification efficiency. The results of 16s rRNA high-throughput sequencing showed that, the phylum *Proteobacteria* was the dominant phylum in the H₂-MBfR system, and the genus of this phylum reached 47.5% as the denitrification performance of the system was improved. *Unclassified f_Comamonadaceae*, *norank f_Blastocatellaceae*, *Hydrogenophaga* and *Rhodobacter* were typical denitrifying genera in the H₂-MBfR system, and the total abundance could reach about 46% in the stable phase.

Keywords hydrogen-based membrane biofilm reactor; autotrophic denitrification; impact factors; high-throughput sequencing; biofilm communities