

# 生物电化学耦合厌氧氨氧化强化脱氮及其微生物群落特征

谢莱<sup>1,2</sup>, 杨敏<sup>1,2\*</sup>, 杨恩喆<sup>1,2</sup>, 刘志华<sup>1,2</sup>, 耿欣<sup>3</sup>, 陈宏<sup>1,2\*</sup>

1 长沙理工大学水利与环境工程学院, 湖南 长沙 410114

2 洞庭湖水环境治理与生态修复湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410114

3 三峡绿色发展有限公司, 北京 100043

谢莱, 杨敏, 杨恩喆, 刘志华, 耿欣, 陈宏. 生物电化学耦合厌氧氨氧化强化脱氮及其微生物群落特征[J]. 生物工程学报, 2023, 39(7): 2719-2729.

XIE Lai, YANG Min, YANG Enzhe, LIU Zhihua, GENG Xin, CHEN Hong. Enhanced nitrogen removal by bioelectrochemical coupling anammox and characteristics of microbial communities[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(7): 2719-2729.

**摘要:** 为探究生物电化学强化厌氧氨氧化(anaerobic ammonia oxidation, anammox)脱氮作用过程, 采用双室微生物电解池(microbial electrolysis cell, MEC)富集电活性微生物, 构建耦合厌氧氨氧化阴极的生物电化学系统。具体地, 在外加 0.2 V 电压条件下改变不同总氮进水浓度于 30 °C 进行暗培养批次实验研究, 结合循环伏安法、电化学阻抗谱、高通量测序方法等多种表征手段研究了强化脱氮机理。结果表明, 在初始总氮浓度分别为 200、300 和 400 mg/L 时对应获得了 96.9%±0.3%、97.3%±0.4%和 99.0%±0.3%的总氮去除率, 且阴极电极生物膜表现出良好的电化学活性。高通量测序结果表明外加电压富集了除厌氧氨氧化菌以外的其他脱氮功能菌群: 反硝化菌(*Denitratisoma*)、*Limnobacter* 和氨氧化菌 *SM1A02* 和 *Anaerolineaceae*、亚硝化菌(*Nitrosomonas europaea*)和硝化螺菌属(*Nitrospira*)等, 这些具有电活性活性的微生物构成了体系的氨氧化胞外产电菌(ammonium oxidizing exoelectrogens, AOE)和反硝化电养菌(denitrifying electrotrophs, DNE), 它们连同厌氧氨氧化菌 *Candidatus Brocadia* 构成了系统的脱氮微生物群落结构。AOE 和 DNE 的种间直接电子传递作用协同厌氧氨氧化是强化系统总氮去除的关键原因。

**关键词:** 厌氧氨氧化; 生物电化学系统; 生物脱氮; 反硝化; 电活性微生物

资助项目: 湖南省科技厅科研项目(2019JJ50646); 湖南省教育厅科研项目(20C0017, 19B040)

This work was supported by the Scientific Research Project of Hunan Provincial Science and Technology Department (2019JJ50646) and the Scientific Research Projects of Hunan Provincial Education Department (20C0017, 19B040).

\*Corresponding authors. E-mail: YANG Min, yangmin1113@126.com; CHEN Hong, chenh@hnu.edu.cn

Received: 2022-11-08; Accepted: 2023-01-13; Published online: 2023-01-19

# Enhanced nitrogen removal by bioelectrochemical coupling anammox and characteristics of microbial communities

XIE Lai<sup>1,2</sup>, YANG Min<sup>1,2\*</sup>, YANG Enzhe<sup>1,2</sup>, LIU Zhihua<sup>1,2</sup>, GENG Xin<sup>3</sup>, CHEN Hong<sup>1,2\*</sup>

1 School of Hydraulic and Environmental Engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha 410114, Hunan, China

2 Key Laboratory of Dongting Lake Aquatic Eco-Environmental Control and Restoration of Hunan Province, Changsha 410114, Hunan, China

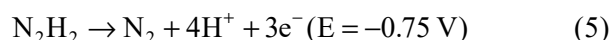
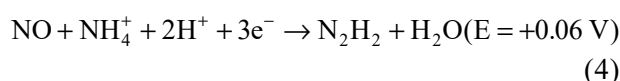
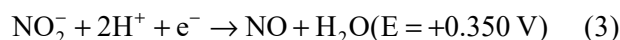
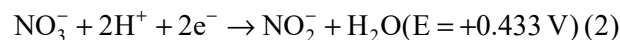
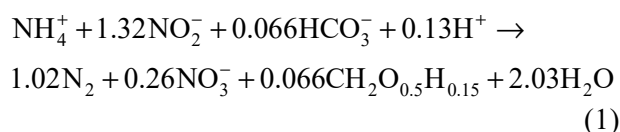
3 Three Gorges Green Development Co., Ltd., Beijing 100043, China

**Abstract:** To investigate the bioelectrochemical enhanced anaerobic ammonia oxidation (anammox) nitrogen removal process, a bioelectrochemical system with coupled anammox cathode was constructed using a dual-chamber microbial electrolysis cell (MEC). Specifically, a dark incubation batch experiment was conducted at 30 °C with different influent total nitrogen concentrations under an applied voltage of 0.2 V, and the enhanced denitrification mechanism was investigated by combining various characterization methods such as cyclic voltammetry, electrochemical impedance spectroscopy and high-throughput sequencing methods. The results showed that the total nitrogen removal rates of  $96.9\% \pm 0.3\%$ ,  $97.3\% \pm 0.4\%$  and  $99.0\% \pm 0.3\%$  were obtained when the initial total nitrogen concentration was 200, 300 and 400 mg/L, respectively. In addition, the cathode electrode biofilm showed good electrochemical activity. High-throughput sequencing results showed that the applied voltage enriched other denitrifying functional groups, including *Denitratisoma*, *Limnobacter*, and ammonia oxidizing bacteria *SM1A02* and *Anaerolineaceae*, *Nitrosomonas europaea* and *Nitrospira*, besides the anammox bacteria. These electrochemically active microorganisms comprised of ammonium oxidizing exoelectrogens (AOE) and denitrifying electrotrophs (DNE). Together with anammox bacteria *Candidatus Brocadia*, they constituted the microbial community structure of denitrification system. Enhanced direct interspecies electron transfer between AOE and DNE was the fundamental reason for the further improvement of the total nitrogen removal rate of the system.

**Keywords:** anammox; bioelectrochemical system; biological nitrogen removal; denitrification; electroactive microorganism

氮是引起水体富营养化的主要原因之一，含氮废水生物处理一直备受关注，而传统的脱氮技术存在效率低和成本高<sup>[1]</sup>等问题，不断受到挑战。厌氧氨氧化是具有无需外加碳源和能耗成本低等优点的主流脱氮工艺之一，但厌氧氨氧化工艺的严苛条件和存在副产物硝酸盐<sup>[2]</sup>(公式 1)问题限制了该工艺的应用。近年来，有研究将生物电化学系统(bioelectrochemical

system, BES)与反硝化-厌氧氨氧化结合。理论上硝酸盐和亚硝酸盐的还原需要电子还原<sup>[3-4]</sup>(公式 2 和 3, 其中公式 2-5 的电位为与标准氢电极对比所得)，一氧化氮和肼均为厌氧氨氧化的中间产物，最后肼被氧化成氮气<sup>[5]</sup>(公式 4 和 5)。可见，生物电化学系统中电极源源不断释放的电子能够加强胞内电子转移路径，提高厌氧氨氧化反应速率(公式 4 和 5)<sup>[6]</sup>。



生物电化学系统中电信号刺激和电活性微生物缺一不可。电信号刺激可提高微生物功能酶的活性<sup>[7]</sup>和增加微生物细胞膜通透性<sup>[8]</sup>以增强脱氮的能力;电活性微生物具有胞外电子转移能力<sup>[9]</sup>,这使得微生物可以将电子供体(如氨氮等)的氧化过程中获得的电子转移到细胞外表面,以还原细胞外终端电子受体,从而促进代谢<sup>[10]</sup>。具有胞外电子转移能力的电活性微生物之间可通过接触直接连通转移电子,即微生物直接种间电子转移(biological direct interspecies electron transfer, bDIET);或者微生物和电极之间直接接触转移电子,即电极介导的直接种间电子转移(direct interspecies electron transfer via electrode, eDIET),其作用可以通过监测阳极和阴极之间外部电路的电流来判断。同时电场作用下可以富集更多的电活性脱氮微生物,例如氨氧化胞外产电菌(ammonium oxidizing exoelectrogens, AOE)和反硝化电养菌(denitrifying electrotrophs, DNE)<sup>[11]</sup>。

Joicy 等<sup>[12]</sup>通过电刺激在活性污泥中富集了 AOE 和 DNE,分别进行氧化铵(AOE)和还原硝酸盐、亚硝酸盐(DNE),从而脱氮。Qiao 等<sup>[13]</sup>在电化学反应器内同时接种反硝化污泥和厌氧氨氧化污泥,启动 20 d 后,总氮去除率最高可达到 99.1%。这些研究证实了电化学、反硝化和厌氧氨氧化耦合强化脱氮的可行性,但均未报道仅接种 anammox 菌启动的生物电化学反应器能否富

集电化学活性微生物并强化脱氮过程。而这项研究对强化 anammox 脱氮功能,实现电刺激下 anammox 强化脱氮系统快速启动具有重要意义。基于此,本研究提出了 anammox-MEC 阴极脱氮装置,施加外加电压聚集电化学活性菌协同 anammox,探究该体系加速脱除氮素过程的机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 MEC 反应器的构建

实验装置是由玻璃制成的 2 组(R1 和 R2) H 型三电极双室 MEC 反应器(图 1),其中 R1 开路为对照组,R2 施加外加电压 0.2 V。阴阳极室净容积均为 250 mL,两室之间通过质子交换膜分隔,2 组反应器的工作电极和对电极均使用碳毡(4 cm×5 cm)电极,碳毡分别在 1 mol/L NaOH、1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 和无水乙醇中浸泡 12 h,然后用水清洗 3 遍后 105 °C 干燥备用。阴极室插入 1 根饱和甘汞参比电极(0.241 V vs. SHE,上海辰华仪器有限公司)。试验过程中使用磁力搅拌器使反应液混合均匀。反应器均置于 30 °C 的黑暗环境下培养。

### 1.2 菌源和培养液

试验菌种来自实验室已稳定运行 1 年以上的厌氧氨氧化反应器(upflow anaerobic sludge blanket, UASB),阴极接种污泥体积为极室净容积的 10%,阳极使用非生物阴极。阴极室培养液配方为(1 L): 0.125 mL 微量元素混合液, 0.4 g NaHCO<sub>3</sub>, 0.025 g CaCl<sub>2</sub>, 0.05 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05 g MgCl<sub>2</sub>, 3 mg EDTA 二钠和 6.67 mg FeSO<sub>4</sub>·10H<sub>2</sub>O,按照 1:1 的物质的量之比分批加入 NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 和 NaNO<sub>2</sub>,配制 3 个不同总氮浓度 200、300 和 400 mg/L<sup>[14]</sup>。阳极室培养液(1 L)为 1.56 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O, 3.58 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 和 8.77 g NaCl 的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffer solution, PBS)。

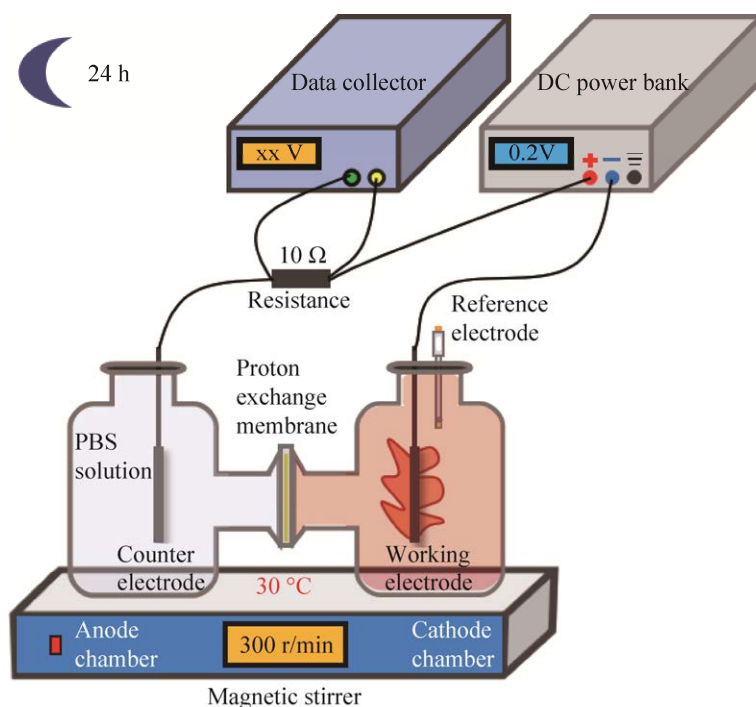


图1 实验装置示意图

Figure 1 Schematic diagram of the experimental setup.

### 1.3 分析方法

#### 1.3.1 水质分析方法

水质的检测参数主要有  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  等,检测方法参照《水和废水监测分析方法》(第4版);所有的样品在测定之前均使用  $0.45\ \mu\text{m}$  的滤头过滤。溶液中总氮浓度为氨氮、亚硝氮和硝氮浓度总和。

#### 1.3.2 电化学分析方法

循环伏安法(cyclic voltammetry, CV)和电化学阻抗谱(electrochemical impedance spectrum, EIS)采用三电极体系,两种检测方法均使用电化学工作站(CHI660E, 上海辰华仪器有限公司)扫描,循环伏安扫描电压范围为  $0.5\text{--}0.9\ \text{V}$ ,扫描速率为  $0.001\ \text{V/s}$ ;电化学阻抗谱测量设置幅值为  $5\ \text{mV}$ ,  $0.01\text{--}10\ 000\ \text{Hz}$ 。eDIET 可以用外电路电流对其进行表征<sup>[12]</sup>,外电路电流采集回路中  $10\ \Omega$  电阻两端电压,以欧姆定律换算求得电流值。

#### 1.3.3 微生物群落结构分析

高通量测序对微生物群落结构进行分析。

从 R1 与 R2 在  $\text{TN}=200\ \text{mg/L}$  和  $\text{TN}=400\ \text{mg/L}$  时的生物膜和本体溶液中分别收集  $0.2\ \text{g}$  细菌,用于提取总基因组 DNA 并进行高通量测序,相关方法参考 Wang 等<sup>[15]</sup>所述。最后通过 Majorbio 在线云平台([www.majorbio.com](http://www.majorbio.com))进行高通量测序数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 氮去除性能

系统总氮去除率和反硝化速率如表 1 所示。3 组不同总氮浓度的 MEC 出水  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度随时间变化如图 2 所示。当施加外加电压  $0.2\ \text{V}$  时,改变初始进水总氮浓度( $\text{TN}=200$ 、 $300$  和  $400\ \text{mg/L}$ ),R1 的总氮去除率分别为  $66.8\%\pm 1.4\%$ 、 $83.7\%\pm 0.5\%$  和  $80.5\%\pm 1.1\%$ ;R2 的总氮去除率分别为  $96.9\%\pm 0.3\%$ 、 $97.3\%\pm 0.4\%$  和  $99.0\%\pm 0.3\%$ 。R1 中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_2^-\text{-N}$  以及总氮的去除率均低于 R2 (表 1, 图 2A、2B),这表明电极的极化促进了氮的去除。

在 R2 中不同进水总氮浓度下产生的硝酸盐被全部还原，相应的反硝化速率分别为(0.4±0.1)、(3.4±0.2)和(5.7±0.4) g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/(m<sup>3</sup>·d) (表 1)。R1 的反硝化速率为(-3.6±0.1)、(3.4±0.1)、(1.6±0.2) g NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/(m<sup>3</sup>·d)均低于 R2，可见施加的外加电压

既能提高总氮去除率也能提升反硝化速率。

2.2 电化学性能

2.2.1 电化学阻抗谱

R1 与 R2 的 EIS 结果如图 3 所示。电解池内阻 R 由 3 部分组成：电荷转移电阻 R<sub>CT</sub>、溶

表 1 不同进水总氮浓度下的总氮去除率和反硝化速率  
Table 1 Total nitrogen removal rate and denitrification rate under different influent total nitrogen concentration

Total influent nitrogen concentration (mg/L)		Total nitrogen removal rate (%)	Rate of denitrification (g NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/(m <sup>3</sup> ·d))
R1	200	66.8±1.4	-3.6±0.1
	300	83.7±0.5	3.4±0.1
	400	80.5±1.1	1.6±0.2
R2	200	96.9±0.3	0.4±0.1
	300	97.3±0.4	3.4±0.2
	400	99.0±0.3	5.7±0.4

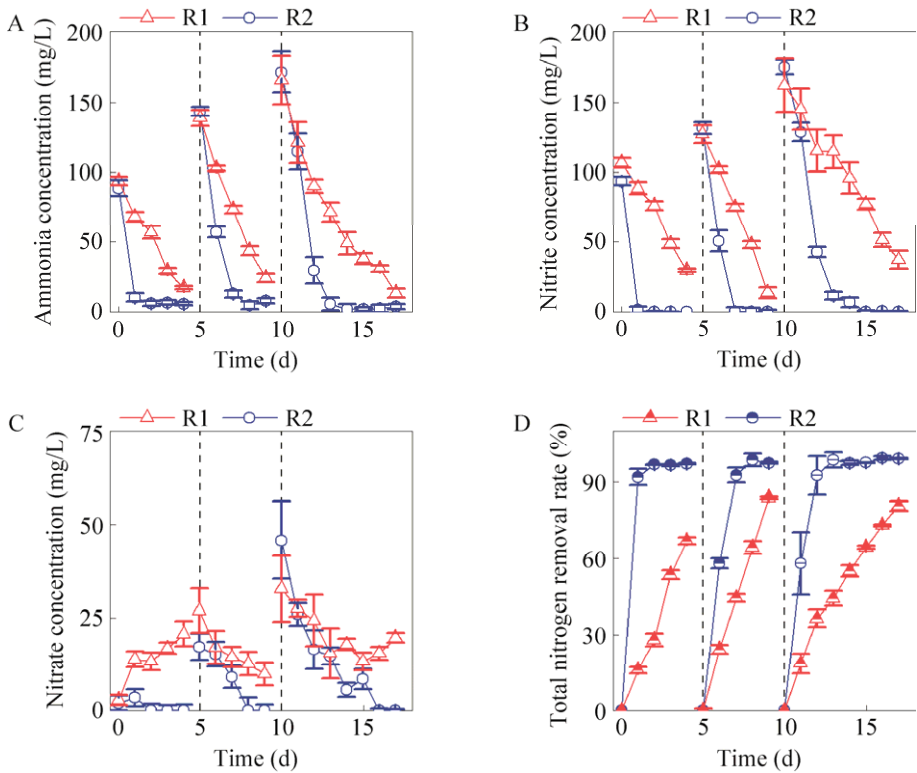


图 2 不同进水总氮浓度条件下系统出水 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度及总氮去除率的变化 A：氨氮浓度变化. B：亚硝酸盐氮浓度变化. C：硝酸盐浓度变化. D：总氮去除率变化

Figure 2 Changes in NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N concentrations and total nitrogen removal rate in effluent under different influent total nitrogen concentrations conditions. A: Change in NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N concentration. B: Change in NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N concentration. C: Change in NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N concentration. D: Change in total nitrogen removal rate.

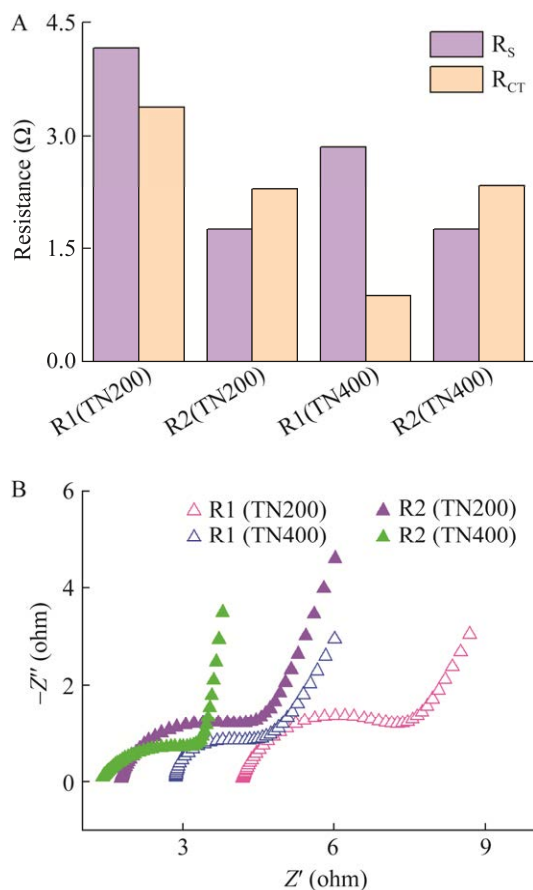


图3 不同进水总氮浓度下的电化学阻抗谱 A: R1和R2在不同进水总氮浓度下的 $R_{CT}$ 和 $R_s$ . B: R1和R2在不同进水总氮浓度下的EIS Nyquist图  
Figure 3 Electrochemical impedance spectra at different total influent nitrogen concentrations. A:  $R_{CT}$  and  $R_s$  of R1 and R2 under different influent total nitrogen concentrations. B: Nyquist diagram of EIS for R1 and R2 at different influent total nitrogen concentrations.

液电阻 $R_s$ 和浓度(扩散)电阻。由图3可知,  $R_{s1}(TN200)=4.159\ \Omega > R_{s2}(TN200)=1.755\ \Omega$ ,  $R_{s1}(TN400)=2.584\ \Omega > R_{s2}(TN400)=1.334\ \Omega$ , 可见电极极化富集了更多本体溶液中电活性微生物, 溶液导电性增加。同时实验结果也证明电极极化作用下 $R_s$ 对进水总氮浓度的变化不敏感, 其对电活性微生物的依赖性更大。 $R_{CT1}(TN200)=3.377\ \Omega > R_{CT2}(TN200)=2.29\ \Omega$ ,

表明电极极化有利于导电生物膜的形成。 $R_{CT2}(TN400)=2.349\ \Omega$ 略小于 $R_{CT2}(TN200)=2.318\ \Omega$ , 说明可能导电生物膜的活性并不完全依赖于反应底物的浓度, 也与电极表面的微生物组成有关。

### 2.2.2 循环伏安法

R1与R2的CV曲线如图4所示, R1的CV曲线几乎无氧化和还原峰产生, R2的CV曲线上均出现了明显的氧化峰和还原峰。每次更换培养液以后R2的CV曲线均存在氧化还原峰, 这说明R2系统中富集了电化学活性微生物。R2的CV曲线两个还原峰属于亚硝氮和硝氮还原。当TN=200 mg/L时, CV仅在-0.410 V出现了还原峰, 而当TN=300 mg/L和TN=400 mg/L分别出现了2个还原峰, 说明此时电极上发生了2种不同的还原反应(公式2和公式3)。

### 2.2.3 外电路电流

外电路电流结果如图5所示。整个实验过程中R1为开路状态, 因此无电流产生; R2的电流峰值呈现下降趋势。在3种不同浓度下的峰值电压由0.016 mA (TN=200 mg/L)降低至0.005 mA (TN=300 mg/L), 至TN=400 mg/L时

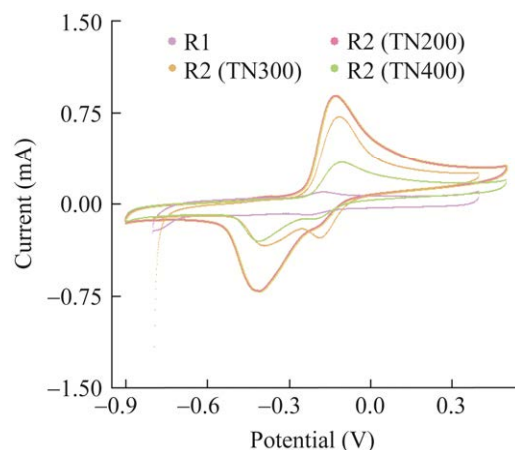


图4 不同进水总氮浓度下的循环伏安曲线  
Figure 4 Cyclic voltammetry curves under different influent total nitrogen concentrations.



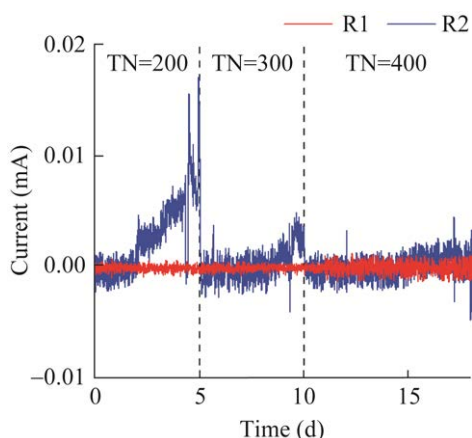


图5 不同进水总氮浓度下的外电路电流

Figure 5 External circuit currents under different influent total nitrogen concentrations.

外电路中几乎无电流(图5),可见R2在不同进水总氮浓度下的eDIET逐渐减弱。

### 2.3 微生物群落结构特征

R1和R2组反应器在TN=200 mg/L和TN=400 mg/L时的工作电极生物膜和本体溶液中的细菌DNA样品高通量测序分析结果如图6所示。在TN=200 mg/L和TN=400 mg/L时,R2微生物群落相对丰度的门水平中,生物膜和本体溶液中最占优势的3种菌为:(1)绿弯菌门(*Chloroflexi*) (R1: 30.06%和38.46%; 36.61%和33.69%、R2: 32.32%和32.41%; 28.11%和37.33%)。(2)拟杆菌门(*Bacteroidota*) (R1: 36.88%和31.68%; 34.89%和44.70%、R2: 26.45%和20.92%; 34.76%和26.19%)。(3)变形菌门(*Proteobacteria*) (R1: 14.96%和17.50%; 13.43%和16.12%、R2: 14.96%和17.50%; 13.43%和16.12%)。其中*Proteobacteria*和*Bacteroidota*的许多细菌都有脱氮功能,这些菌群对于脱氮有重要作用。

属水平上主要由厌氧氨氧化菌、反硝化菌和氨氧化菌构成了脱氮功能菌群。厌氧氨氧化菌属*Candidatus Brocadia*在生物膜和本体溶液

中的相对丰度为R1: 0.15%和0.53%; 0.43%和0.19%、R2: 0.54%和1.5%; 0.56%和1.05%,可见电极极化同样能够富集厌氧氨氧化菌,然而进水总氮浓度的增加并未进一步富集*Candidatus Brocadia*。反硝化菌*Denitratisoma*在R1和R2的生物膜和本体溶液的相对丰度为R1: 2.17%和1.77%; 2.10%和1.19%、R2: 2.73%和5.46%; 2.7%和3.36%,相对丰度差异表明其在本体溶液中的富集更依赖于电极极化。R1和R2中*Denitratisoma*的富集程度因进水总氮浓度的改变较小,这进一步可以确定电极极化是*Denitratisoma*富集的主要原因。反硝化能力菌属*Limnobacter*以R1: 5.22%和4.85%; 5.45%和6.33%、R2: 2.48%和7.57%; 2.70%和3.36%被富集。菌株*SM1A02*和在R1和R2的生物膜和本体溶液中的相对丰度分别为R1: 1.10%和0.75%; 0.67%和0.85%、R2: 2.87%和4.45%; 1.5%和2.65%,*Anaerolineaceae*的相对丰度为R1: 0.65%和1.11%; 0.86%和0.54%、R2: 1.13%和1.58%; 1.11%和1.17%,这两种菌属已被报道过具有氧化 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的能力。除此之外,系统还富集了氨氧化菌属亚硝化菌(*Nitrosomonas europaea*)<sup>[16-17]</sup>(R1: 0.19%和0.29%; 0.09%和0.10%、R2: 0.08%和0.15%; 0.13%和0.11%)和硝化螺菌属(*Nitrospira*) (相对丰度<0.1%)。

## 3 讨论

### 3.1 氮去除性能

微生物阴极可以促进废水中硝酸盐的还原<sup>[18]</sup>,厌氧氨氧化反应副产物硝酸盐在阴极环境下可以接受电子还原成氮气,R1中明显的硝酸盐积累表明硝酸盐的还原是R2总氮去除率高于R1的原因。R1在未施加外加电压的情况下出现了反硝化特征,这与许明熠等<sup>[19]</sup>的研究结果一致。R1在TN=300 mg/L时反硝化速

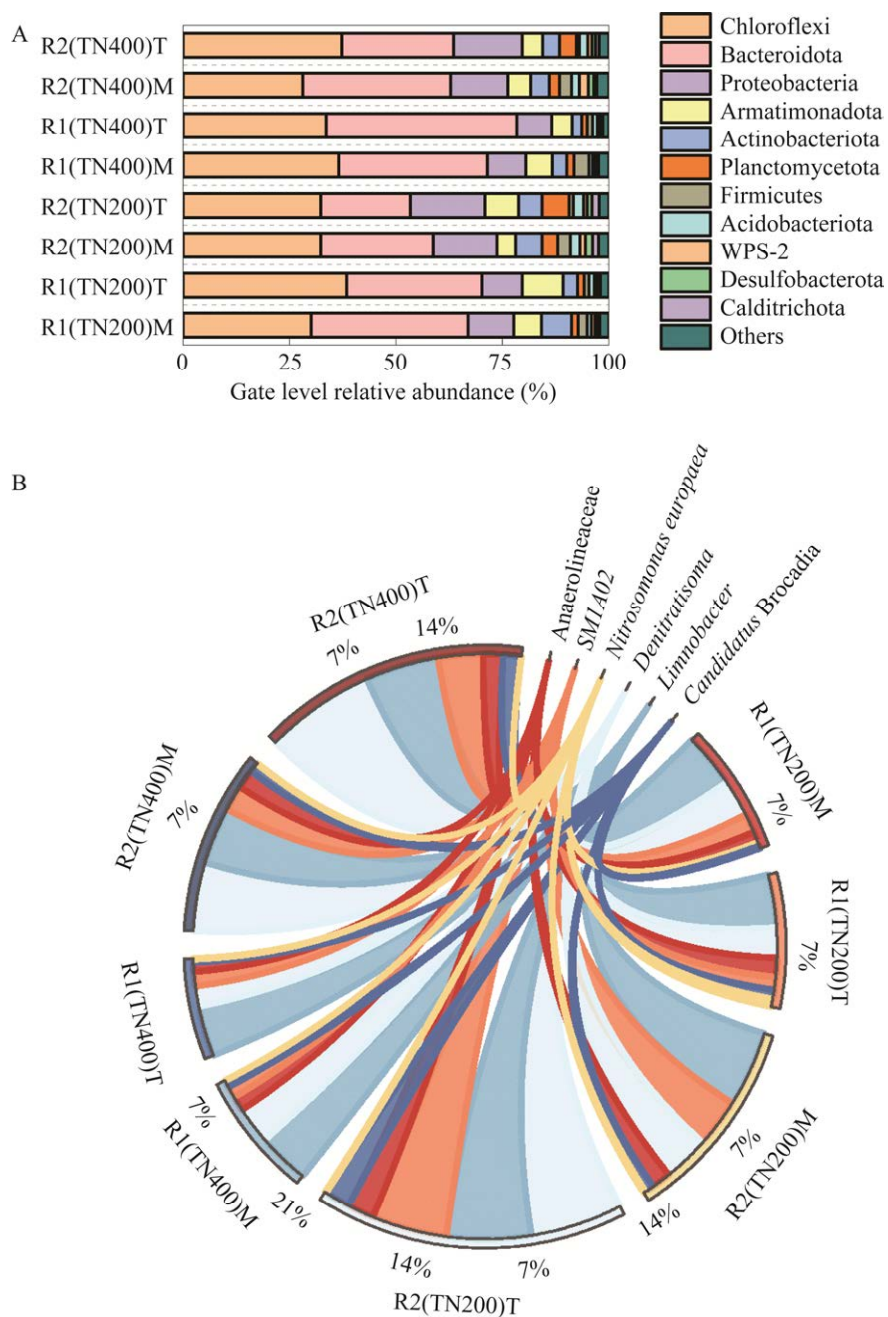


图6 电极生物膜和本体溶液中微生物群落结构 A: 微生物群落门水平分布. B: 微生物群落水平属分布. R1: 对照组开路; R2: 施加电压 0.2 V 组; M: 电极生物膜; T: 本体溶液

Figure 6 Structure of microbial community in electrode biofilm and bulk solution. A: Microbial community phylum level distribution. B: Microbial communities are horizontally distributed. R1: Open circuit for control group; R2: Applied voltage 0.2 V group; M: Electrode biofilm; T: Bulk solution.

率( $3.4 \pm 0.1$ ) g  $\text{NO}_3^- \cdot \text{N} / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ , 但其出水硝酸盐浓度仍较高(图 2C), 这是其总氮去除率无法进一

步提高的原因。随着反应的进行, R2 最终硝酸盐浓度接近于 0 mg/L, R1 则最后保持在 15 mg/L



左右,可见施加的外加电压既能提高总氮去除率和反硝化速率,又有助于维持厌氧氨氧化系统的稳定。

### 3.2 电化学性能

电化学微生物的活性可以通过电化学阻抗谱(EIS)来识别。当溶液中具有丰富的高导电性氧化还原蛋白的电活性细菌时,此时电阻差异体现在  $R_s$  上,而导电生物膜的形成可以有效降低  $R_{CT}$ <sup>[20]</sup>。 $R_{s2}$  和  $R_{CT2}$  均低于  $R_{s1}$  和  $R_{CT1}$  (图 3),表明 R2 中微生物团的导电性增加,即电极极化使 R2 系统中产生了电化学活性微生物。亚硝酸盐因为其缓慢的电子接受能力和酶活性的差异不是脱氮作用的首选电子受体<sup>[21]</sup>,且亚硝酸盐还原比硝酸盐还原需要更低的峰电位<sup>[22-23]</sup>,因此可以判断循环伏安曲线(图 4)中 R2 (TN300)和 R2 (TN400)中峰电位更低的为亚硝酸盐还原电位,而峰电位更高的为硝酸盐还原电位。可见电极极化使得系统中富集了电化学活性微生物 AOE 和 DNE。

外电路电流特征表明 R2 在不同进水总氮浓度下的 eDIET 逐渐减弱,但 R2 的总氮去除率并没有减小,说明 bDIET 在逐渐增强。TN200 的还原峰的电位与 TN300 和 TN400 的亚硝酸盐还原峰重合,因此可以判断 TN=200 mg/L 时,此时在电极表面发生的亚硝酸盐还原占主导地位。在 TN=300 mg/L 时 TN=400 mg/L 不仅出现了硝酸盐还原峰,亚硝酸盐还原峰峰值减小,可见 R2 的电极表面发生的亚硝酸盐还原在减弱,硝酸盐还原在增强,且此时 bDIET 取代了部分 eDIET 进行脱氮<sup>[11]</sup>。可见, R2 的电流变化表明不同进水总氮浓度下生物电化学脱氮的 bDIET 与 eDIET 的脱氮分配不同。

### 3.3 微生物群落结构

R1 的脱氮以厌氧氨氧化为主导, R1 与 R2 的厌氧氨氧化菌相对丰度差异也证明了 R2 中厌

氧氨氧化的脱氮作用。*Denitratisoma* 与系统中其他菌属有密不可分的联系,例如 Chen 等<sup>[24]</sup>的研究也发现了 *Candidatus Brocadia* 和 *Denitratisoma* 之间的脱氮协同作用,而菌株 *SM1A02* 和 *Anaerolineaceae* 可以协同其在电刺激环境下脱氮<sup>[25]</sup>,体系中具有反硝化能力菌属 *Limnobacter* 和具有胞外电子转移能力的氨氧化菌属 *Nitrosomonas europaea*<sup>[16-17]</sup>和 *Nitrospira* 在电极极化系统下与 *Denitratisoma* 都有利于系统反硝化脱氮<sup>[26]</sup>。可见系统中 *Denitratisoma*、*Limnobacter*、*SM1A02* 和 *Anaerolineaceae*、*Nitrosomonas europaea* 和 *Nitrospira* 等具有电化学活性的微生物构成了体系的 DNE 和 AOE,它们协同厌氧氨氧化菌 *Candidatus Brocadia* 构成了体系脱氮微生物群落结构。

### 3.4 电极极化对系统脱氮过程的强化机制

R2 富集了厌氧氨氧化菌以外的脱氮功能菌群 DNE: *Denitratisoma*、*Limnobacter* 和 AOE: *SM1A02* 和 *Anaerolineaceae*、*Nitrosomonas europaea* 和 *Nitrospira* (图 6),这些微生物在电极极化下展现了良好的电化学活性(图 2、3、4)。厌氧氨氧化菌在电极极化下得以富集(图 6),DNE 还原硝酸盐和亚硝酸盐的产物(公式 2)均为厌氧氨氧化的反应底物(公式 1),同时电极释放电子能加速厌氧氨氧化菌获取底物还原为氮气的内部反应(公式 4 和 5)。电极极化使得仅接种了厌氧氨氧化菌的系统富集了电化学活性微生物 AOE 与 DNE,促进了厌氧氨氧化菌与 AOE 和 DNE 的高效协同作用(图 7)。

电极极化强化了电活性微生物—AOE: *SM1A02*、*Anaerolineaceae*、*Nitrosomonas europaea* 和 *Nitrospira* 和 DNE: *Denitratisoma* 和 *Limnobacter* 之间的种间直接电子传递作用(图 7)。R2 的总氮去除率(分别为 96.9%±0.3%、97.3%±0.4%和 99.0%±0.3%)均高于厌氧氨氧化

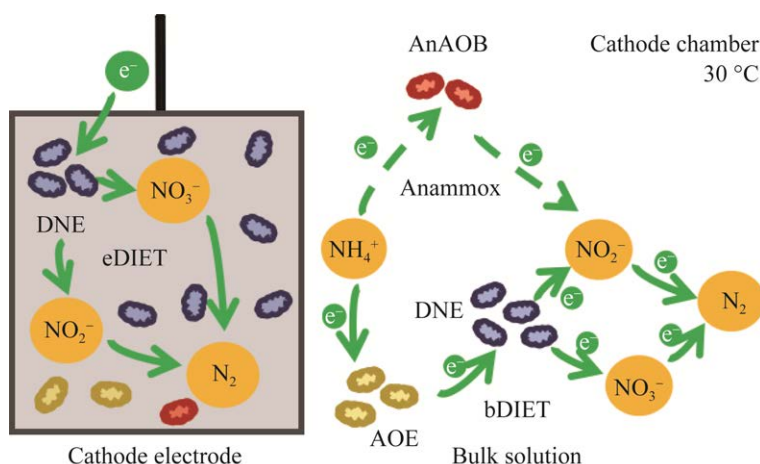


图7 电极极化对系统脱氮过程的强化机制

Figure 7 Mechanism of enhancing nitrogen removal by electrode polarization.

的理论总氮去除率为 88.9%，是因为 AOE 和 DNE 的 DIET 使得 R2 的出水硝酸盐浓度稳定于 0 mg/L(图 2C)。电极极化富集 AOE 和 DNE 这些脱氮功能菌群均也出现在了 R1 中，但 R1 这些菌群的相对丰度并不如 R2 (图 6)，且图 4 的 CV 曲线可知 R1 的菌群并没有展现电化学活性，可见电极极化可以富集上述菌群，加强菌群之间的种间直接电子传递作用(图 7)。

## REFERENCES

- [1] GU J, ZHANG M, LIU Y. A review on mainstream deammonification of municipal wastewater: novel dual step process[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 299: 122674.
- [2] LACKNER S, GILBERT EM, VLAEMINCK SE, JOSS A, HORN H, van LOOSDRECHT MCM. Full-scale partial nitrification/anammox experiences-an application survey[J]. *Water Research*, 2014, 55: 292-303.
- [3] CHENG HY, TIAN XD, LI CH, WANG SS, SU SG, WANG HC, ZHANG B, SHARIF HMA, WANG AJ. Microbial photoelectrotrophic denitrification as a sustainable and efficient way for reducing nitrate to nitrogen[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(21): 12948-12955.
- [4] di CAPUA F, PIROZZI F, LENS PNL, ESPOSITO G. Electron donors for autotrophic denitrification[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 362: 922-937.
- [5] KARTAL B, MAALCKE WJ, de ALMEIDA NM, CIRPUS I, GLOERICH J, GEERTS W, den CAMP HJMO, HARHANGI HR, JANSSEN-MEGENS EM, FRANCOIS KJ, STUNNENBERG HG, KELTJENS JT, JETTEN MSM, STROUS M. Molecular mechanism of anaerobic ammonium oxidation[J]. *Nature*, 2011, 479(7371): 127-130.
- [6] WANG LS, GU WC, LIU YC, LIANG P, ZHANG XY, HUANG X. Challenges, solutions and prospects of mainstream anammox-based process for municipal wastewater treatment[J]. *The Science of the Total Environment*, 2022, 820: 153351.
- [7] SUGIMOTO Y, KITAZUMI Y, TSUJIMURA S, SHIRAI O, YAMAMOTO M, KANO K. Electrostatic interaction between an enzyme and electrodes in the electric double layer examined in a view of direct electron transfer-type bioelectrocatalysis[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2015, 63: 138-144.
- [8] YIN X, QIAO S, ZHOU JT, QUAN X. Using three-bio-electrode reactor to enhance the activity of anammox biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 196:376-382.
- [9] HUANG B, GAO SM, XU ZX, HE H, PAN XJ. The functional mechanisms and application of electron shuttles in extracellular electron transfer[J]. *Current Microbiology*, 2018, 75(1): 99-106.
- [10] FENG Q, SONG YC, YOO K, KUPPANAN N, SUBUDHI S, Lal B. Polarized electrode enhances biological direct interspecies electron transfer for methane production in upflow anaerobic

- bioelectrochemical reactor[J]. Chemosphere, 2018, 204: 186-192.
- [11] SONG YC, JOICY A, JANG SH. Direct interspecies electron transfer in bulk solution significantly contributes to bioelectrochemical nitrogen removal[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2018, 44(4): 2180-2190.
- [12] JOICY A, SONG YC, YU HC, CHAE KJ. Nitrite and nitrate as electron acceptors for bioelectrochemical ammonium oxidation under electrostatic field[J]. Journal of Environmental Management, 2019, 250:109517.
- [13] QIAO S, YIN X, ZHOU JT, WEI LE, ZHONG JY. Integrating anammox with the autotrophic denitrification process via electrochemistry technology[J]. Chemosphere, 2018, 195: 817-824.
- [14] SU DX, CHEN YP. Advanced bioelectrochemical system for nitrogen removal in wastewater[J]. Chemosphere, 2021, 292:133206.
- [15] WANG H, YANG M, LIU K, YANG EZ, CHEN J, WU S, XIE M, WANG DB, DENG HW, CHEN H. Insights into the synergy between functional microbes and dissolved oxygen partition in the single-stage partial nitrification-anammox granules system[J]. Bioresource Technology, 2021, 347:126234.
- [16] QU B, FAN B, ZHU SK, ZHENG YL. Anaerobic ammonium oxidation with an anode as the electron acceptor[J]. Environmental Microbiology Reports, 2014, 6(1): 100-105.
- [17] QIAO L, YUAN Y, MEI C, YIN WX, ZOU C, YIN YA, GUO QY, CHEN TM, DING C. Reinforced nitrite supplement by cathode nitrate reduction with a bio-electrochemical system coupled anammox reactor[J]. Environmental Research, 2022, 204: 112051.
- [18] ZHENG WX, ZHU LY, YAN Z, LIN ZC, LEI ZC, ZHANG YF, XU HL, DANG Z, WEI CH, FENG CH. Self-activated Ni cathode for electrocatalytic nitrate reduction to ammonia: from fundamentals to scale-up for treatment of industrial wastewater[J]. Environmental Science & Technology, 2021, 55(19): 13231-13243.
- [19] 许明熠, 周少奇, 刘泽珺, 王敬平, 马福臻. 耦合厌氧氨氧化反应的高氮负荷型双室 MFC 性能研究[J]. 环境科学学报, 2017, 37(1): 154-161.
- XU MY, ZHOU SQ, LIU ZJ, WANG JP, MA FZ. Study on performance of dual-chamber MFC coupled with anammox process in a high nitrogen load circumstance[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2017, 37(1): 154-161 (in Chinese).
- [20] FENG Q, SONG YC, YOO K, KUPPANAN N, SUBUDHI S, LAL B. Bioelectrochemical enhancement of direct interspecies electron transfer in upflow anaerobic reactor with effluent recirculation for acidic distillery wastewater[J]. Bioresource Technology, 2017, 241: 171-180.
- [21] WILLIAMS DR, ROWE JJ, ROMERO P, EAGON RG. Denitrifying *Pseudomonas aeruginosa*: some parameters of growth and active transport[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1978, 36(2): 257-263.
- [22] POUS N, KOCH C, COLPRIM J, PUIG S, HARNISCH F. Extracellular electron transfer of biocathodes: revealing the potentials for nitrate and nitrite reduction of denitrifying microbiomes dominated by *Thiobacillus* sp.[J]. Electrochemistry Communications, 2014, 49:93-97.
- [23] KONDAVEETI S, LEE HS, PARK HD, MIN B. Bacterial communities in a bioelectrochemical denitrification system: the effects of supplemental electron acceptors[J]. Water Research, 2014, 51: 25-36.
- [24] CHEN WJ, CHEN SD, HU F, LIU WR, YANG DH, WU J. A novel anammox reactor with a nitrogen gas circulation: performance, granule size, activity, and microbial community[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27(15): 18661-18671.
- [25] FENG JP, ZHANG Q, TAN B, LI M, PENG HJ, HE J, ZHANG YJ, SU JH. Microbial community and metabolic characteristics evaluation in start-up stage of electro-enhanced SBR for aniline wastewater treatment[J]. Journal of Water Process Engineering, 2022, 45: 102489.
- [26] VILAJELIU-PONS A, Koch C, Balaguer MD, COLPRIM J, HARNISCH F, PUIG S. Microbial electricity driven anoxic ammonium removal[J]. Water Research, 2018, 130:168-175.

(本文责编 陈宏宇)