



以 N-甲基吡咯烷酮(NMP)为电子供体进行反硝化的可行性及实验研究

梁斌^{1*}, 谭学军¹, 陈松筠², 张永明^{2*}

1 迈奇化学股份有限公司, 河南 濮阳 457000

2 上海师范大学环境与地理科学学院, 上海 200234

梁斌, 谭学军, 陈松筠, 张永明. 以 N-甲基吡咯烷酮(NMP)为电子供体进行反硝化的可行性及实验研究[J]. 微生物学报, 2023, 63(7): 2899-2908.

LIANG Bin, TAN Xuejun, CHEN Songjun, ZHANG Yongming. Feasibility of N-methylpyrrolidone (NMP) as an electron donor for denitrification[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(7): 2899-2908.

摘要:【目的】利用 N-甲基吡咯烷酮(N-methylpyrrolidone, NMP)作为电子供体进行反硝化实验, 以实现废水资源化。【方法】分别将 NMP 废水和葡萄糖作为电子供体加入到模拟的城市污水处理尾水中进行反硝化, 比较 2 种电子供体去除硝酸盐的规律。同时考查 NMP 在反硝化过程中的氮素释放规律, 并对所释放的氮素进行后续处理。最后再对它们作为电子供体时的反硝化污泥采用高通量测序, 从微生物群落的角度分析 NMP 作为电子供体时其作用机理是否相同。【结果】当以 NMP 为电子供体时, 硝酸盐氮的去除速率比葡萄糖为电子供体时要快 67%。在 8 h 的反硝化结束后, 剩余的硝酸盐氮、累积的亚硝酸盐氮和 NMP 本身所释放氨氮之和的总氮, 与葡萄糖为电子供体时相近。【结论】NMP 废水可以作为电子供体用于城镇污水处理厂的深度脱氮。对 2 种碳源所驯化的反硝化污泥样品进行高通量分析表明, NMP 与葡萄糖作为电子供体用于反硝化反应时, 相关的作用机理是不同的。该项研究结果对利用含氮杂环化合物作为电子供体进行反硝化具有重要的理论指导意义。

关键词: N-甲基吡咯烷酮(NMP); 反硝化; 电子供体

资助项目: 上海市地方高校能力建设项目(201607050300)

This work was supported by the Shanghai Local University Capacity Building Project (201607050300).

*Corresponding authors. LIANG Bin, Tel/Fax: +86-393-6101528, E-mail: liangbin@nem.com.cn;

ZHANG Yongming, Tel/Fax: +86-21-64322850, E-mail: zhym@shnu.edu.cn

Received: 2022-11-16; Accepted: 2023-02-16; Published online: 2023-03-06

Feasibility of N-methylpyrrolidone (NMP) as an electron donor for denitrification

LIANG Bin^{1*}, TAN Xuejun¹, CHEN Songjun², ZHANG Yongming^{2*}

1 MYJ Chemical Co., Ltd., Puyang 457000, Henan, China

2 School of Environmental and Geographical Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China

Abstract: [Objective] N-methylpyrrolidone (NMP) was used as an electron donor for denitrification to treat wastewater. [Methods] NMP and glucose as electron donors were respectively added into the simulated effluent from wastewater treatment plant for denitrification, during which they were compared for the removal of nitrates. The fate of nitrogen released during the denitrification was studied, and the released nitrogen was further treated. Furthermore, we submitted the sludge samples acclimated with NMP and glucose for high-throughput sequencing to investigate their mechanisms of denitrification. [Results] The NMP-acclimating sludge showed the nitrate-N removal rate 67% higher than the glucose-acclimating sludge. After 8 h of denitrification with NMP as the electron donor, the total nitrogen (TN) composed of residual nitrate N, generated nitrite N, and released ammonium N from NMP biodegradation was similar to the TN after the denitrification with glucose as the electron donor. [Conclusion] The wastewater containing NMP could be used as the electron donor for deep nitrate removal, although it was directly treated as the wastewater before. High-throughput sequencing indicated that NMP was different from glucose in the mechanism of denitrification when being used as the electron donor. As one of the nitrogen-containing heterocyclic compounds, NMP releases the electron donor for denitrification through the biodegradation of organic acids after the cleavage of NMP ring. However, glucose releases its electron donor for denitrification through the biodegradation without ring cleavage because of its simple structure. The results have theoretical significance for utilizing nitrogen-containing heterocyclic compounds as electron donors for denitrification.

Keywords: N-methylpyrrolidone; denitrification; electron donor

目前, 国内外几乎所有城镇生活污水处理厂都是将处理后且满足特定水质标准的尾水排放到自然水体^[1-2]。在我国, 为了保护自然生态环境, 许多城市污水处理厂都严格执行国家的《城镇污水处理厂污染物排放标准(18918-2002)》^[3]。在该标准的各项指标中, 总氮浓度相对来说较难达标。该标准中, 总氮浓度小于 15 mg N/L 方能满足一级 A 的排放标准。此外, 许多对环境质量要求更高的地区, 执行总氮浓度小于 10 mg N/L 甚至更低的地方标准。这对许多城镇生活

污水处理厂的水处理工艺提出了更高的要求。对于绝大多数城镇污水处理厂, 排放尾水中的总氮主要是由硝酸盐氮组成^[4]。为了降低总氮浓度, 几乎所有污水处理厂都通过提供有机碳源作为电子供体将水中的硝酸盐还原, 以使总氮浓度降低, 来满足更高的污水排放要求。大多数污水处理厂主要是通过投加甲醇、乙酸钠或葡萄糖等使总氮中的硝酸盐得到还原。因此, 碳源的投加成为各污水处理厂水处理运行成本的重要部分^[5]。为降低污水处理成本, 同时满

足尾水的排放标准, 有人采用啤酒生产废水作为碳源, 这是因为啤酒废水中的主要成分都是一些可生化性较好的有机物, 如糖类、醇类、酵母菌残体、酒花残糟、蛋白质和挥发性脂肪酸等, 而氮、磷的浓度很低且不含有毒有害物质^[6-7]。

然而, 在现实生产中还有一种工业废水也具有较好的可生化性, 其主要成分是 N-甲基吡咯烷酮(N-methylpyrrolidone, NMP)。NMP 是一种含氮杂环化合物, 广泛地应用于锂电池等新能源的生产过程中, 其分子式为 C_5H_9NO 。该废水是在 NMP 精馏过程中产生的, 其中约 80% 的有机物是 NMP。以往人们都是将其作为一般的工业废水进行生物处理^[8]。这既需要消耗大量的动力, 又浪费了蕴藏其中的有机碳源。鉴于该废水具有良好的可生化性, 虽然含有氮元素, 但仍有人尝试利用其作为反硝化的碳源^[9-10], 并取得了较好的效果。将 NMP 作为电子供体时, 其通过微生物的作用, 通过反应式: $C_5H_9NO + 9H_2O \rightarrow 5CO_2 + NH_3 + 24H$ 释放出电子供体(H 表示电子供体, $H=H^+ + e^-$)。作为对比, 若采用葡萄糖作为电子供体时, 其生物水解过程则要简单许多, 其总的反应式为: $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 24H$ 。由于 NMP 的分子结构与葡萄糖的结构明显不同, 且更为复杂。当将 NMP 作为反硝化碳源时, 其电子的释放以及还原硝酸盐的机理与葡萄糖有什么不同, 以往几乎没有专门的研究。为此, 本研究将 NMP 作为碳源用于反硝化反应的电子供体, 考察硝酸盐的去除规律, 并与葡萄糖进行比较。通过比较这 2 种有机碳源进行反硝化反应过程中微生物群落不同, 探究其不同的作用机理。为 NMP 废水作为碳源应用于实际污水的处理, 尤其是通过提高污水中总氮的去除效率, 实现污水的超净排放提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 化学试剂以及母液的配制

本研究所用化学试剂全部购自上海泰坦科技股份有限公司。所有溶液配制时均使用电阻率为 $18.2 M\Omega \cdot cm$ 的去离子水。

N-甲基吡咯烷酮(NMP)母液的配制: 用移液管取 4.73 mL NMP 至 50 mL 的容量瓶, 再用去离子水定容后得到浓度为 1 mol/L 的 NMP 母液, 并置于 4 °C 冰箱内保存。

NO_3^- -N 母液的配制: 用去离子水将 30.35 g 的硝酸钠溶解后, 倒入 250 mL 的容量瓶定容, 得到浓度为 20 g N/L 硝酸盐氮的母液, 最后置于 4 °C 冰箱内保存。

磷酸盐缓冲溶液的配制: 分别称取 21.75 g 磷酸氢二钾和 4.26 g 磷酸二氢钾, 并用去离子水将其溶解后, 倒入 1 L 的容量瓶中定容混合均匀后置于冰箱内保存备用。

磷酸盐缓冲液母液的配制: 称取 4.39 g 磷酸二氢钾, 溶解于 1 L 去离子水中, 得到初始浓度为 1 g P/L 的溶液, 同样置于 4 °C 冰箱内保存。

1.2 反硝化活性污泥的驯化

实验所用的原始活性污泥取自于上海某污水处理厂的二沉池。驯化前, 先用自来水清洗该污泥 3 次, 以去除污泥中的一些杂质^[11]。随后, 将清洗后的污泥沉淀 30 min, 分别取沉淀后的污泥 400 mL, 置于 2 个 1 L 的锥形瓶中, 分别用作以葡萄糖和 NMP 作为电子供体进行反硝化污泥的驯化。驯化初始阶段, 2 个锥形瓶都用葡萄糖作为碳源进行。具体做法是, 在 2 个 1 L 的锥形瓶中分别加入 550 g 葡萄糖、5 mL NO_3^- -N 母液和 1 mL 磷酸盐母液, 随后定容到 1 L, 充氮气 10 min 后, 将锥形瓶封口并置于磁力搅拌器上开始反硝化污泥的驯化。对于以葡

葡萄糖为碳源的反硝化污泥驯化时, 每 24 h 更换一次新鲜培养液。更换时, 先停止搅拌让污泥沉降 30 min 以上, 随后将 700 mL 的上清液倾出, 再补充等量的新鲜培养液(添加的量 and 操作方法同上)。而以 NMP 为碳源的反硝化污泥驯化步骤, 与葡萄糖为碳源时基本一样, 但葡萄糖的添加量逐步下降, 而 NMP 的添加量逐步上升, 直至用 NMP 全部取代葡萄糖作为碳源。在此过程中, 总的化学需氧量(chemical oxygen demand, COD)浓度和 NO_3^- -N 的浓度始终保持为 500 mg COD/L 和 100 mg N/L 左右。同样是每 24 h 更换一次新鲜培养液。此过程持续约 5 周。

1.3 间歇脱氮实验

将驯化好的 2 种污泥沉降 30 min 后, 分别取 200 mL 的污泥置于 2 个 1 L 的锥形瓶内, 随后, 向 2 个锥形瓶中均加入 5 mL 的 NO_3^- -N 母液和 6 mL 磷酸盐缓冲溶液, 紧接着分别在 2 个锥形瓶中加入 2.6 mL NMP 母液和 455 g 葡萄糖作为反硝化碳源, 最后加入自来水定容至 1 L。此时对应的混合液悬浮固体(mixed liquor suspended solids, MLSS)为(2 280±50) mg/L, 相应的 COD 浓度均约为 500 mg/L, 而 NO_3^- -N 的初始浓度均为 100 mg/L。这样, 对于以葡萄糖为碳源时的 C/N 比为 5.0。若不考虑 NMP 自身所含的 N, 则 C/N 比同样为 5.0, 但考虑到 NMP 自身所含有的 N, 则此时 C/N 比约为 3.7。进行反硝化之前, 用高纯氮气充气 10 min 后, 密封瓶口置于磁力搅拌器上在转速 350 r/min 和温度 30 °C 条件下进行反硝化反应。定期取样测定溶液的 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N 和 NO_3^- -N。

由于 NMP 是一种含氮杂环化合物, 当其作为电子供体进行反硝化时会释放出氨氮, 为避免总氮浓度过高, 对于反硝化后的出水, 再用好氧污泥进行好氧处理。好氧处理在 1 L 的

筒内进行, 污泥量约为 3 g/L。

1.4 反硝化污泥的高通量测序

在上述实验结束后, 葡萄糖和 NMP 作为碳源进行反硝化的污泥沉降 30 min 后, 取约 5 mL 装入 5 mL 的离心管内加冰块冷却送上海派森生物技术有限公司进行高通量测序, 分别定义这 2 个样品为 GLU 和 NMP。根据该公司的说明, 首先用 DNA 提取试剂盒(Fast DNA Biomedicals SPIN Kit)进行总 DNA 的提取。用 NanoDrop2000 检测 DNA 浓度和纯度, 通过 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取物的质量。用 515F (5'-GTGC CAGCCGGTAA-3')和 907R (5'-CCGTCAATTCT TTRAGTT-3')作为上下游引物针对 2 个污泥样品 16S rRNA 基因的 V3-V4 高变区进行 PCR 扩增。PCR 产物用 2%琼脂糖凝胶回收, 并用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen)纯化。QuantiFluor™ ST (Promega)用于定量分析。根据 Illumina MiSeq 平台的标准操作程序, 将扩增片段构建到测序文库中, 然后使用 Illumina 的 MiSeq pe300 进行高通量测序。微生物群落分析以 Silva 数据库作为参考进行^[12]。

1.5 分析方法

硝酸盐、亚硝酸盐和铵离子的测试使用型号为 IC-5000 的离子色谱, 阴离子色谱柱的型号为 DionexIonPac AS19IC, 抑制剂类型设定为 ASRS_4mm, 电流设定为 124 mA, 流速为 1 mL/min。阳离子色谱柱的型号为 DionexIonPac CS12A, 抑制剂类型同样为 ASRS_4mm, 电流设定 59 mA, 流速为 1 mL/min。

NMP 使用高效液相色谱(HPLC)进行测定, 反向色谱柱的型号为 Agilent HC-C18(2) (5 μm , 4.6 mm×150 mm), 流动相设定参数为甲醇:去离子水=60:40 (体积比), 检测波长为 230 nm, 柱温为 40 °C, 流速为 1 mL/min, 保留时间约为 2.16 min。

2 结果与讨论

2.1 基于未驯化污泥 NMP 与葡萄糖进行反硝化的比较

如图 1 所示,当采用未驯化的污泥进行反硝化,以葡萄糖为电子供体时,硝酸盐的降解速率相对较慢。经过 8 h 的反硝化反应,硝酸盐的去除率为 62%左右,而以 NMP 为电子供体时,硝酸盐几乎未去除。这就说明,从污水处理直接获取的活性污泥,换了实验条件后,并不能马上适应新的环境。因此,相应的驯化过程在污水处理中是非常必要的。

2.2 NMP 和葡萄糖为电子供体进行反硝化的比较

图 2 表示的是分别利用葡萄糖(glucose)和 NMP 作为碳源进行反硝化反应时,硝酸盐的去除速率(图 2A)和亚硝酸盐生成的规律(图 2B)。其中,硝酸盐的去除可以用一级反应速率动力学 $r = -\frac{dC}{dt} = kC$ 很好地描述,该动力学反应式经过积分后可以得到 $C = C_0 e^{-kt}$ 。其中 C_0 和 C (mg/L) 为初始和 t (h) 时刻的硝酸盐浓度, k 为一级速率常数(h^{-1})。如图 2A 所示,相比葡萄糖,当以

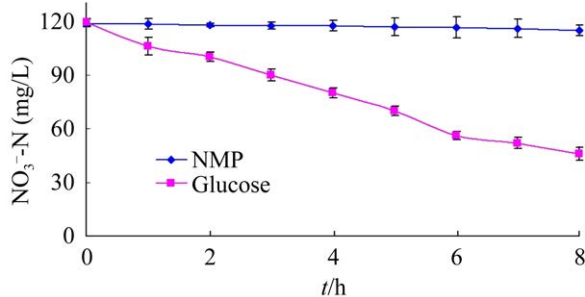


图 1 分别以葡萄糖和 NMP 为电子供体对未驯化活性污泥进行反硝化的效果

Figure 1 Glucose and NMP as electron donor for denitrification based on non-acclimated activated sludge. Error bars indicate average values for the duplicate experiments.

NMP 作为电子供体进行反硝化时,硝酸盐的去除速率比葡萄糖要高 67%。在此过程中,经过分析测试 NMP 已完全消失,转化为后续的中间产物直至矿化。

图 2B 反映了亚硝酸盐的变化规律。从图中可以看出,当采用 NMP 为碳源时,亚硝酸盐的生成积累量比葡萄糖的多。但它们都是在 2–4 h 时亚硝酸盐的浓度达到峰值,随后则逐渐下降。实验结果表明,在反硝化反应进行到 16 h 后,硝酸盐和亚硝酸盐都基本去除完毕(本文未显示)。此外,在 NMP 的降解过程中,至 8 h 时释放了大约 20 mgN/L 的 NH_4^+-N , 随后不再增加。综合比较葡萄糖和 NMP 作为电子供体进行反硝化的效果,葡萄糖为电子供体时,至 8 h 时,剩余硝酸盐氮和积累亚硝酸盐氮共 72 mg N/L, 而 NMP 为电子供体时,剩余的硝酸盐氮、积累的亚硝酸盐和释放的氨氮共有 76 mg N/L。这个结果表明,与葡萄糖相比, NMP 是一种潜在

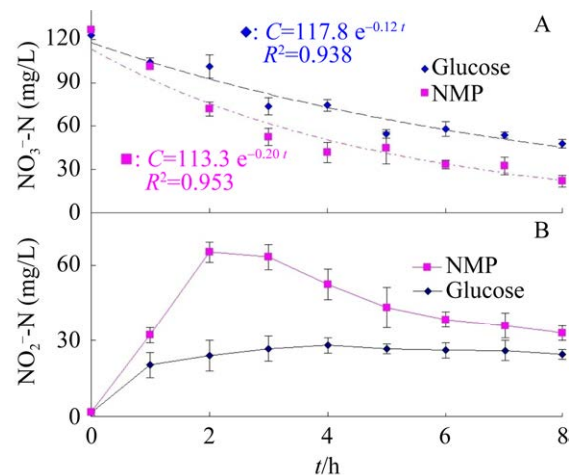


图 2 分别以葡萄糖和 NMP 为电子供体进行反硝化的效果

Figure 2 Glucose and NMP as electron donor for denitrification. A: Nitrate removal kinetics. B: Fate of nitrite together with nitrate removal. Error bars indicate average values for the duplicate experiments.

的电子供体可以用于反硝化。该实验结果与陈松筠等^[9]的实验结果是一致的。比较2种不同的电子供体在进行反硝化过程中的情况,硝酸盐的去除和亚硝酸盐的生成具有不同的规律,由此可以得到一个假设,即它们进行反硝化的机理应该是不同的。这或许与2种底物的分子结构不同密切相关,它们的降解代谢途径和中间产物相差很大,这应该可以从2种反硝化污泥的微生物群落分布得到解释。

2.3 反硝化过程中 NMP 中间产物的归趋

在利用 NMP 作为电子供体还原硝酸盐过程中, NMP 分解为甲胺,这与 Cai 等^[13]的研究结果是一致的。由于 NMP 最初就是通过 γ -丁内酯与甲胺合成而得,在生物降解时,通过一系列生物反应开环之后,生成一甲胺和丁二醛。此时,原始 NMP 中所含有的 N,在开环之后,都存在于一甲胺中。随着一甲胺(CH_3NH_2)的进一步降解,其中的 N 则以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的形式释放出来。但是在缺氧条件下,只有少量的 N 是以氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)的形式释放出来,如图 3A 所示。对比图 2A 和图 3A 的实验结果,由 NMP 所释放出来的 N 只占 5%左右。当所含的这些氮(以甲胺或氨的形式存在)经过好氧处理后,甲胺迅速被降解并释放出氨氮。如图 3B 所示,释放的氨氮在好氧条件下,在 3 h 内全部去除,并生成少量的硝酸盐。相比最初的硝酸盐氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)的浓度,所剩余的硝酸盐氮只有初始硝酸盐氮浓度的 0.5%。这个浓度远低于污水的排放标准所要求的浓度。由此可以判断, NMP 用作反硝化的电子供体不会造成出水中总氮浓度的升高。该研究结果表明, NMP 生产过程中所产生的废水,是可以作为电子供体进行反硝化的。此外,根据 NMP 的分子式($\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}$)可知,该化合物的有效电子数为 24 eq/mol (24H, 其中 $\text{H}=\text{H}^++\text{e}^-$)。所含有一个 N 在生物降解过程

中,首先是以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的形式释放出来,在好氧条件下,会转变为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,即还原 1 个 N,需要的有效电子数为 5H,按照反应式: $\text{NO}_3^-+5\text{H}\rightarrow 0.5\text{N}_2+2\text{H}_2\text{O}+\text{OH}^-$ 进行还原反应需要 5H,而 NMP 的生物降解过程中,单加氧反应和还原反应等^[13],需要 8H,这样就有 11H 可供外源硝酸盐的还原。因此,从理论上讲, NMP 是可以作为电子供体进行反硝化的。该实验为废水的综合利用奠定了良好的理论和实践基础。

2.4 微生物多样性分析

α 多样性分析可以反映出这2种反硝化污泥中微生物物种的丰富度(Chao1 指数)和物种多样性(Shannon 和 Simpson 指数)。Chao1 指数表示微生物群落的丰富度,Chao1 值越大,丰富度越高;Shannon 和 Simpson 指数越大,生物多样性越高或群落中的物种数越多,物种多样性

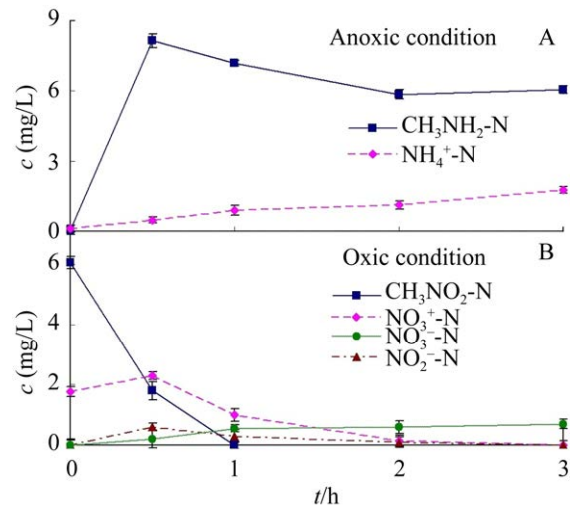


图3 在缺氧和好氧情况下 NMP 中的 N 的释放与转化

Figure 3 Release and transform of N in NMP under anoxic and aerobic conditions. A: Fates of $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in anoxic condition. B: $\text{CH}_3\text{NH}_2\text{-N}$ and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal kinetics and fates of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$. Error bars indicate average values for the duplicate experiments.

程度高。如表 1 所示, 比较 2 个样品可以发现, 以 NMP 作为碳源驯化的反硝化污泥中, Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均高于以葡萄糖为电子供体的反硝化污泥。这是因为 NMP 的分子结构是一个五元含氮杂环结构, 其分子结构比葡萄糖的分子结构要复杂很多。对于 NMP, 其降解过程先后通过水解生成 N-甲基丁二酰胺, 同时释放出一甲胺, 开环之后逐步生成各种有机酸^[10,14]。因此, 相关微生物群落的丰富度和多样性显然是应该高于以葡萄糖为碳源所驯化的反硝化污泥中的微生物群落, 实验结果也印证了这一推断。

为了进一步探讨 NMP 作为电子供体进行反硝化的可行性, 将其与葡萄糖(GLU)进行比较, 探讨它们的机理是否相同。

NMP 生物降解过程中先是通过单氧化反应转化为 1-甲基-5-羟基-2-吡咯烷酮($C_5H_9NO_2$), 然后脱氢形成 1-甲基-2,5-吡咯烷二酮($C_5H_7NO_2$), 再通过一个单氧化转化为 2-羟基-N-甲基琥珀酰亚胺($C_5H_7NO_3$)。随后水解生成丁二醛($C_4H_6O_2$)和甲胺(CH_3NH_2)。丁二醛通过 2 次羟基化转化为丁二酸($C_4H_6O_4$), 并进入三羧酸循环, 通过呼吸完成矿化和产生能量。经过这一系列的反应, 释放出 20 eq/mol 电子, 除去生物降解和内源硝酸盐还原需要消耗 11 eq/mol 外, 可以提供 11 eq/mol 用于外源硝酸盐的还原^[13,15]。而葡萄糖在厌氧条件下首先经过一系列的代谢生成丙酮酸, 最后进入三羧酸循环, 在此过程中释放出电子为硝酸盐的还原提供电子供体。

表 1 两种微生物样品 α 多样性指数

Table 1 Alpha diversity index of two microbial samples

Sample	Chao1 index	Simpson index	Shannon index
Glucose	598.421	0.808 7	4.352
NMP	603.905	0.872 8	5.035

由于 NMP 与葡萄糖在进入三羧酸循环前的途径有着明显的差别, 为此分别对这 2 种电子供体驯化的反硝化污泥取样进行高通量测序, 从它们微生物多样性的角度比较其差异。

2.5 GLU 和 NMP 内微生物群落结构和相对丰度分析

图 4 所示是 2 个样品(GLU 和 NMP)在属水平上位于前 20 细菌的丰度。从图中可以看出, 丰度差异最明显的是 *Ottowia*、*Gemmobacter*、*Thauera* 和 *Brooklawnia* 等菌属。在样品 GLU 中, *Ottowia* 的丰度高达 45.2%, 但在样品 NMP 中, 其丰度只有 0.8%; 而 *Gemmobacter* 菌属在 NMP 样品中, 其丰度高达 32.4%, 但在 GLU 中则几乎为 0; *Thauera* 菌属在 2 个样品中的丰度差值高达 13.6%; *Brooklawnia* 菌属在 GLU 样品中的丰度为 6.9%, 但在 NMP 样品中几乎为 0。据报道, *Ottowia* 通常是生物处理水产养殖废水^[16]、石化废水^[17]和垃圾渗滤液^[18]中的重要细菌属。由于这 2 个菌属都具有反硝化功能^[19], 且这些废水处理的主要目的便是通过反硝化去除水中的氮素。再加上葡萄糖是一种可生化性较好的有机物, 即葡萄糖可以直接水解并释放出电子(H), *Ottowia* 菌比较容易地利用葡萄糖水解后所释放的电子使硝酸盐得到还原。而当利用 NMP 作为电子供体进行反硝化时, 在微生物的作用下, 首先是通过单加氧反应后, 再开环转化为丁二酸和甲基氨基丁酸^[10,20-21], 最后才释放出电子。而 *Gemmobacter* 菌属是可以利用吡啶作为生长的唯一碳源和氮源^[22]。由于吡啶和 NMP 都属于含氮杂环化合物, 据此可以判定菌属 *Gemmobacter* 也具有利用 NMP 为唯一碳源和氮源进行生长的功能。同时考虑到菌属 *Gemmobacter* 具有反硝化功能^[19], 比较图 1 的实验结果表明, 只有较高的 *Gemmobacter* 菌属

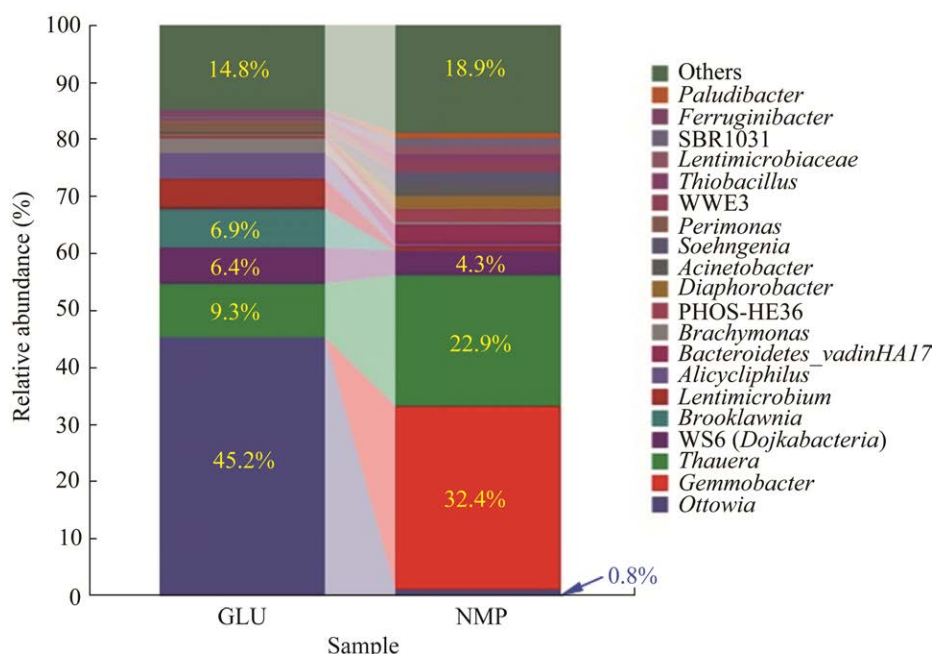


图 4 不同电子供体的反硝化污泥在属水平上的细菌相对丰度

Figure 4 Relative abundance at the genus level for the two kinds of denitrifying sludge.

丰度才能保证很好地利用 NMP 作为电子供体进行反硝化。图 4 中 *Gemmobacter* 丰度的分布结果很好地解释了这点。

对于 *Thauera* 菌属，在样品 GLU 和 NMP 中，它的丰度分别是 9.3% 和 22.9%。同样，*Thauera* 菌属也是一种典型的反硝化功能的菌，它可以利用包括芳香化合物在内的多种碳源进行脱氮^[23]。这就很清楚解释了为什么样品 NMP 中 *Thauera* 菌属的丰度明显高于样品 GLU 的原因。

菌属 *Brooklawnia* 在 GLU 样品中的丰度高达 6.9%，但在 NMP 样品中的丰度不足 0.04%。据报道，菌属 *Brooklawnia* 是制糖厂废水处理中的优势微生物^[24]，而制糖废水的代谢过程与葡萄糖的代谢有相似之处。这也说明了为什么 *Brooklawnia* 在 GLU 样品中的丰度远远高于 NMP 样品中的丰度。WS6 菌属于 *Patescibacteria* 门，

它在样品 GLU 和 NMP 中的丰度分别是 6.4% 和 4.3%。*Patescibacteria* 具有同步硝化和反硝化的功能^[25]。

3 结论

分别以葡萄糖和 NMP 作为电子供体使硝酸盐还原。对比 2 种碳源对硝酸盐还原的速率发现，NMP 作为电子供体时，硝酸盐的去除速率要比葡萄糖快。考虑到 NMP 作为电子供体时，由于其自身含有的氮元素，在反硝化过程中剩余总氮的浓度与葡萄糖为电子供体时相近。因此，虽然 NMP 是一种含氮杂环化合物，通过与葡萄糖的对比，NMP 是一种潜在的可以用于反硝化的电子供体。通过对 NMP 和葡萄糖驯化的反硝化污泥的高通量测序分析，发现它们的微生物群落分布明显不同，这与 NMP 和葡萄糖的代谢途径有着明显差别相对应。

参考文献

- [1] 刘梦, 伯鑫, 孟凡琳, 金正宇, 王龙飞, 于浪, 赵晓宏. 2015 年中国城镇污水处理厂达标排放评估[J]. 环境工程, 2017, 35(10): 77-81, 90.
LIU M, BO X, MENG FL, JIN ZY, WANG LF, YU L, ZHAO XH. Standard discharge evaluation of Chinese urbansewage plants in 2015 based on continuous emission monitoring system data[J]. Environmental Engineering, 2017, 35(10): 77-81, 90 (in Chinese).
- [2] 鲁杨川, 张城铭. 我国城镇污水中污染物排放现状解析及展望[J]. 四川环境, 2022, 41(3): 273-278.
LU YC, ZHANG CM. Analysis and prospect of pollutant emissions in urban sewage in China[J]. Sichuan Environment, 2022, 41(3): 273-278 (in Chinese).
- [3] 何星海, 马世豪, 罗孜. 北京市《城镇污水处理厂水污染物排放标准》解读[J]. 给水排水, 2013, 49(10): 123-127.
HE XH, MA SH, LUO Z. Explanation of Beijing local standard of discharge standard of water pollutants for municipal wastewater treatment plants[J]. Water & Wastewater Engineering, 2013, 49(10): 123-127 (in Chinese).
- [4] LU QY, ZHOU JQ, ZHU G, TAN C, CHEN SY, ZHU XH, YAN N, ZHANG YM, XU QE, PAN BF, RITTMAN NBE. Anoxic/oxic treatment without biomass recycle[J]. The Science of the Total Environment, 2022, 834: 155166.
- [5] 余琴芳, 章诗璐, 杜敬, 刘佳. 反硝化生物滤池碳源选择与运行方式优化研究[J]. 水处理技术, 2022, 48(9): 113-117, 122.
YU QF, ZHANG SL, DU J, LIU J. Study on the carbon source selection and operation optimization of denitrification biofilter[J]. Technology of Water Treatment, 2022, 48(9): 113-117, 122 (in Chinese).
- [6] 李宛谊. 啤酒废水资源化研究进展[J]. 中国资源综合利用, 2021, 39(10): 141-144, 147.
LI WY. Research progress of brewery wastewater resource utilization[J]. China Resources Comprehensive Utilization, 2021, 39(10): 141-144, 147 (in Chinese).
- [7] 谢甜. 基于啤酒废水为碳源的短程反硝化及其与厌氧氨氧化耦合脱氮研究[D]. 青岛: 青岛科技大学硕士学位论文, 2022.
XIE T. Partial denitrification based on brewery wastewater as carbon source and nitrogen removal via combining partial denitrification with anammox[D]. Qingdao: Master's Thesis of Qingdao University of Science & Technology, 2022 (in Chinese).
- [8] 吴正岭. γ -丁内酯与 N-甲基吡咯烷酮联产装置废水处理研究[J]. 精细与专用化学品, 2015, 23(6): 44-47.
WU ZL. Study on the wastewater treatment in the cogeneration device with the N-methylpyrrolidone and gamma-butyrolactone[J]. Fine and Specialty Chemicals, 2015, 23(6): 44-47 (in Chinese).
- [9] 陈松筠, 诸晓慧, 梁斌, 曲征野, 项彩鑫, 张永明. 以 N-甲基吡咯烷酮为电子供体的反硝化[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2022, 51(4): 492-498.
CHEN SJ, ZHU XH, LIANG B, QU ZY, XIANG CX, ZHANG YM. N-methylpyrrolidone used as electron donor for denitrification[J]. Journal of Shanghai Normal University (Natural Sciences Edition), 2022, 51(4): 492-498 (in Chinese).
- [10] WANG J, LIU X, JIANG X, ZHANG L, HOU C, SU G, WANG L, MU Y, SHEN J. Nitrate stimulation of N-methylpyrrolidone biodegradation by *Paracoccus pantotrophus*: metabolite mechanism and genomic characterization[J]. Bioresource Technology, 2019, 294: 122185.
- [11] ZHU G, ZHANG YM, CHEN SY, WANG L, ZHANG ZC, RITTMANN BE. How bioaugmentation with *Comamonas testosteroni* accelerates pyridine mono-oxygenation and mineralization[J]. Environmental Research, 2021, 193: 110553.
- [12] QUAIST C, PRUESSE E, YILMAZ P, GERKEN J, SCHWEER T, YARZA P, PEPLIES J, GLÖCKNERFO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(D1): D590-D596.
- [13] CAI S, CAI T, LIU S, YANG Q, HE J, CHEN L, HU J. Biodegradation of N-methylpyrrolidone by *Paracoccus* sp. NMD-4 and its degradation pathway[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2014, 93: 70-77.
- [14] 诸晓慧. N-甲基-2-吡咯烷酮的生物降解与利用[D]. 上海: 上海师范大学硕士学位论文, 2022.
ZHU XH. Biodegradation and utilization of N-methyl-2-pyrrolidone[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai Normal University, 2022 (in Chinese).
- [15] CARNERUP M, ÅKESSON AB, GJÖNSSON BA. Determination of 5-hydroxy-N-methyl-2-pyrrolidone and 2-hydroxy-N-methylsuccinimide in human plasma and urine using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 2001, 761(1): 107-113.

- [16] WANG T, LIN Z, KUANG B, NI Z, CHEN X, GUO B, ZHU G, BAI S. Electroactive algae-bacteria wetlands for the treatment of micro-polluted aquaculture wastewater: pilot-scale verification[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2022, 184: 108471.
- [17] KIM E, YULISA A, KIM S, HWANG S. Monitoring microbial community structure and variations in a full-scale petroleum refinery wastewater treatment plant[J]. *Bioresource Technology*, 2020, 306: 123178.
- [18] LI JY, DU QP, PENG HQ, ZHANG YL, BI YQ, SHI Y, XU YB, LIU T. Optimization of biochemical oxygen demand to total nitrogen ratio for treating landfill leachate in a single-stage partial nitrification-denitrification system[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 266: 121809.
- [19] LIU T, HE XL, JIA GY, XU JW, QUAN X, YOU SJ. Simultaneous nitrification and denitrification process using novel surface-modified suspended carriers for the treatment of real domestic wastewater[J]. *Chemosphere*, 2020, 247: 125831.
- [20] ZHANG YM, CHANG L, YAN N, TANG YX, LIU R, RITTMANN BE. UV photolysis for accelerating pyridine biodegradation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(1): 649-655.
- [21] TANG YX, ZHANG YM, YAN N, LIU R, ITTMANN BE. The role of electron donors generated from UV photolysis for accelerating pyridine biodegradation[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2015, 112(9): 1792-1800.
- [22] LIU YX, ZHANG Q, LV YK, REN RP. Pyridine degradation characteristics of a newly isolated bacterial strain and its application with a novel reactor for the further treatment in pyridine wastewater[J]. *Process Biochemistry*, 2020, 95: 64-70.
- [23] REN T, CHI YL, WANG Y, SHI X, JIN X, JIN PK. Diversified metabolism makes novel *Thauera* strain highly competitive in low carbon wastewater treatment[J]. *Water Research*, 2021, 206: 117742.
- [24] ZHANG LG, BAN QY, LI JZ, WAN CL. Functional bacterial and archaeal dynamics dictated by pH stress during sugar refinery wastewater in a UASB[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 288: 121464.
- [25] ZHU WT, ZHANG XH, YUAN SC, SANG WJ, TANG XH, ZHANG SY. Effects of different aeration strategies on removal of organics, nitrogen and phosphorus in sequencing batch biofilm reactor (SBBR): performance, microbial community and nitrogen cycling pathways[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2022, 49: 103118.