

分类号：X703

单位代码：10363

密 级：公开

学 号：2220630103

安徽工程大学

FeVO₄@biochar 光催化增强微生物反硝化及细胞外聚
合物电子传递机制研究

Research on the Enhanced Microbial Denitrification and Extracellular
Polymeric Substances Electron Transfer Mechanism of FeVO₄@Biochar
Photocatalysis

学生姓名：徐玉涛

指导教师：杨晓凡（教授）

专 业：环境科学与工程

研究方向：环境功能材料与污染治理

论文答辩日期 2025 年 5 月 10 日

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学位论文作者签名：徐小涛

日期：2025年5月10日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密 ☐，在 ____ 年解密后适用本版权书。

本学位论文属于

不保密 ☒。

学位论文作者签名：徐小涛 指导教师签名：杨晓月

日期：2025 年 5 月 10 日

FeVO₄@biochar 光催化增强微生物反硝化及细胞外聚合物电子传递机制研究

摘要

微生物反硝化作为一种可持续的替代方法，该技术利用微生物将硝酸盐（NO₃⁻）还原为无毒无害的氮气（N₂）过程，因其低成本和环境友好性而受到关注。然而，其效率通常受到厌氧环境中电子传递不足的限制。为了解决反硝化效率低这一问题，研究人员研究增强微生物活性的新策略，提出了光催化反硝化作为一种可行的增强策略方案。光催化剂在光照下产生电子-空穴对，光生电子可参与还原反应，而空穴则参与氧化反应，从而加速硝酸盐的转化。在众多潜在光催化剂中，钒酸铁（FeVO₄）因其较低的带隙（~2.0 eV）、良好的可见光吸收能力和化学稳定性而备受关注。然而，其光催化性能受到电子迁移率低和电子-空穴复合率高的限制，生物炭作为一种富含碳的多孔材料，具有优异的电子传导性和较大的比表面积，本研究将 FeVO₄ 与生物炭耦合，构建与导电材料的异质结，可以增强光生电荷分离，并促进电子向反硝化微生物的传递，提升 FeVO₄@biochar 复合材料的光催化反硝化性能。

本研究通过水热法合成了不同 FeVO₄ 含量的 FeVO₄@biochar 复合材料（质量分数分别为 10%、15%和 30%），分别命名为 BF-10、BF-15 和 BF-30。并采用 X 射线衍射（XRD）、扫描电子显微镜-能量色散 X 射线光谱（SEM-EDAX）、傅里叶变换红外光谱（FTIR）、X 射线光电子能谱（XPS）、光电流和 Zeta 电位分析等对制备的 FeVO₄@biochar 复合材料进行表征和分析，证实了合成的复合材料具有优良电子传递和光电化学性能。

在实验室条件下构建了厌氧反硝化体系。在 7 天内，每隔 24 小时监测一次硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮的浓度变化。结果表明，在没有催化剂的情况下，污泥的硝酸盐去除率为 27.3%（从 100 mg/L 降至 72.7 mg/L）。仅使用纯生物炭和 FeVO₄ 时，去除率分别为 34.3%和 38.6%。复合材料的添加显著提高了反硝化性能。其中 BF-10 实现了 76.4%的硝酸盐去除率，而 BF-15 达到了 87.6%，将硝

酸盐浓度降至仅 12.4 mg/L, BF-30 的性能有所下降, 这表明过量的 FeVO_4 负载可能会抑制微生物活性。

为进一步探索其反硝化电子传递的机制, 研究测定了硝酸盐还原酶 (NAR)、亚硝酸盐还原酶 (NIR) 活性以及细胞外电子传递活性 (ETSA)。BF-15 表现出最高的 NAR 活性, 比未经处理的污泥高出 3.22 倍。这表明复合光催化剂改善了电子传递, 从而促进了微生物代谢。微生物在反硝化过程中会分泌细胞外聚合物 (EPS), 这种物质可以形成保护性生物膜层, 本实验研究了细胞外聚合物 (EPS) 的含量, BF-15 组的 EPS 含量特别是蛋白质和多糖显著增加 (从对照污泥的 78.91 mg/L 和 20.14 mg/L 分别增加到 178.31 mg/L 和 48.62 mg/L), 在反硝化体系中, EPS 够吸附在 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 表面, EPS 不仅保护微生物免受纳米颗粒的毒性影响, 还增强了电子传递过程。它能够吸附在 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 表面, 减少催化剂与硝酸盐离子之间的静电排斥, 从而促进硝酸盐的快速迁移和还原。

此外, 对构建的反硝化体系生物群落进行了高通量测序分析, 揭示了由于催化剂添加导致的微生物多样性和丰度的显著变化。优势门包括变形菌门 (*Proteobacteria*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 和硫酸盐还原菌门 (*Desulfobacterota*), 其中关键的反硝化菌属如地杆菌属 (*Geobacter*)、诺卡氏菌属 (*Novosphingobium*) 和梭菌属 (*Clostridium*) 在 BF-15 和 BF-30 样品中的丰度增加。基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析 (PCoA) 显示, BF-15 和 BF-30 处理的微生物群落与原始群落结构的差异分别约为 52.0% 和 32.0%。结果表明, 复合材料产生的光生电子影响了微生物的生长和功能, 有利于反硝化细菌的生长。

研究表明 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 复合材料, 尤其是 BF-15, 通过增强光催化活性、酶功能、EPS 生产和微生物群落适应性, 有效提升了微生物反硝化效率。为研究开发在自然阳光下高效去除水中硝酸盐的光催化剂辅助生物反硝化提供数据支撑。

关键词: 反硝化, 光催化, 细胞外聚合物, FeVO_4 , 微生物群落

RESEARCH ON THE ENHANCED MICROBIAL DENITRIFICATION AND EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES ELECTRON TRANSFER MECHANISM OF $\text{FeVO}_4@\text{Biochar}$ PHOTOCATALYSIS

ABSTRACT

Microbial denitrification, as a sustainable alternative, is a process in which microorganisms reduce nitrate (NO_3^-) to nontoxic nitrogen gas (N_2). This technology has garnered attention due to its low cost and environmental friendliness. However, its efficiency is often limited by the insufficient electron transfer in anaerobic environments. To address the issue of low denitrification efficiency, researchers have explored new strategies to enhance microbial activity and proposed photocatalytic denitrification as a feasible enhancement strategy. Under illumination, photocatalysts generate electron-hole pairs, with the photogenerated electrons participating in reduction reactions and the holes in oxidation reactions, thereby accelerating the transformation of nitrate. Among numerous potential photocatalysts, iron vanadate (FeVO_4) has attracted significant attention due to its relatively low band gap (~ 2.0 eV), good visible-light absorption capability, and chemical stability. However, its photocatalytic performance is restricted by low electron mobility and high electron-hole recombination rates. Biochar, a carbon-rich porous material, possesses excellent electron conductivity and a large specific surface area. In this study, we coupled FeVO_4 with biochar to construct a heterojunction with conductive materials, which can enhance the separation of photogenerated charges and facilitate the transfer of electrons to denitrifying microorganisms, thereby improving the photocatalytic denitrification performance of the $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ composite.

In this study, $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ composites with different FeVO_4 contents (mass fractions of 10%, 15%, and 30%) were synthesized via a hydrothermal method and were named BF-10, BF-15, and BF-30, respectively. The prepared $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ composites were characterized and analyzed using X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy-energy dispersive X-ray spectroscopy (SEM-EDAX), Fourier-

transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), photocurrent, and zeta potential analysis, confirming that the synthesized composites exhibited excellent electron transfer and photoelectrochemical properties.

An anaerobic denitrification system was constructed under laboratory conditions. The concentrations of nitrate, nitrite, and ammonium nitrogen were monitored every 24 hours over a period of 7 days. The results showed that without a catalyst, the nitrate removal rate of the sludge was 27.3% (decreasing from 100 mg/L to 72.7 mg/L). When pure biochar and FeVO_4 were used alone, the removal rates were 34.3% and 38.6%, respectively. The addition of the composites significantly enhanced the denitrification performance. Among them, BF-10 achieved a nitrate removal rate of 76.4%, while BF-15 reached 87.6%, reducing the nitrate concentration to only 12.4 mg/L. The performance of BF-30 decreased, indicating that excessive loading of FeVO_4 might inhibit microbial activity.

To further explore the mechanism of denitrification electron transfer, the activities of nitrate reductase (NAR), nitrite reductase (NIR), and extracellular electron transfer activity (ETSA) were measured. BF-15 exhibited the highest NAR activity, which was 3.22 times higher than that of untreated sludge. This indicates that the composite photocatalyst improved electron transfer, thereby promoting microbial metabolism. During the denitrification process, microorganisms secrete extracellular polymeric substances (EPS), which can form a protective biofilm layer. The content of EPS was investigated in this study. The EPS content in the BF-15 group, especially proteins and polysaccharides, increased significantly (from 78.91 mg/L and 20.14 mg/L in the control sludge to 178.31 mg/L and 48.62 mg/L, respectively). In the denitrification system, EPS can adsorb onto the surface of FeVO_4 @biochar. EPS not only protects microorganisms from the toxic effects of nanoparticles but also enhances the electron transfer process. It adsorbs onto the surface of FeVO_4 @biochar, reducing the electrostatic repulsion between the catalyst and nitrate ions, thereby facilitating the rapid migration and reduction of nitrate.

Furthermore, high-throughput sequencing analysis was conducted on the microbial communities in the constructed denitrification system, revealing significant changes in microbial diversity and abundance due to the addition of the catalyst. The dominant phyla included *Proteobacteria*, *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Chloroflexi*, and *Desulfobacterota*. Key denitrifying genera, such as *Geobacter*, *Novosphingobium*, and

Clostridium, increased in abundance in the BF-15 and BF-30 samples. Principal coordinate analysis (PCoA) based on Bray-Curtis distance showed that the microbial communities in the BF-15 and BF-30 treatments differed from the original community structure by approximately 52.0% and 32.0%, respectively. The results indicate that the photogenerated electrons from the composite material influenced microbial growth and function, favoring the growth of denitrifying bacteria.

The study demonstrates that the FeVO₄@biochar composite, particularly BF-15, effectively enhances microbial denitrification efficiency by improving photocatalytic activity, enzyme function, EPS production, and microbial community adaptability. This research provides data support for the development of photocatalyst-assisted biological denitrification for efficient nitrate removal from water under natural sunlight.

KEY WORDS : Denitrification; Photocatalytic; EPS; FeVO₄; Microbial community

目录

摘要.....	I
ABSTRACT.....	III
目录.....	VI
第1章 绪论	1
1.1 研究背景、目的与意义	1
1.1.1 研究背景	1
1.1.2 研究目的与意义	1
1.2 国内外研究进展	3
1.2.1 硝酸盐污染现状以及治理研究进展	3
1.2.2 生物炭吸附硝酸盐的研究进展	5
1.2.3 光催化促进微生物反硝化研究进展	7
1.3 课题研究意义	9
1.4 研究内容及技术路线	9
1.4.1 研究内容	9
1.4.2 技术路线	11
第2章 材料制备与表征.....	12
2.1 实验试剂和仪器	12
2.1.1 主要实验材料	12
2.1.2 设备和仪器	13
2.2 实验材料制备	13
2.2.1 矾酸铁纳米颗粒的制备	13
2.2.2 生物炭的制备	14
2.2.3 生物炭负载光催化剂制备	15
2.3 材料的表征及分析	15
2.3.1 扫描电子显微镜（SEM）和透射电子显微镜（TEM）分析.....	15
2.3.2 X射线衍射（XRD）分析.....	17
2.3.3 傅里叶变换红外光谱（FT-IR） 分析	19
2.3.4 EIS（奈奎斯特图）和循环伏安法分析	20
2.3.5 光电流分析	21
2.3.6 Zeta电位分析	22
2.3.7 UV-Vis（紫外可见光分析）	23

2.3.8 X射线光电子能谱（XPS）分析	24
2.4 本章小结	26
第3章 生物炭负载硫酸铁耦合微生物增强反硝化实验研究	27
3.1 引言	27
3.2 脱氮试验	27
3.2.1 实验方法	27
3.2.2 生物炭负载硫酸铁耦合微生物脱氮实验	27
3.2.3 硝酸盐和亚硝酸盐的浓度测定	28
3.2.4 氨氮浓度的测定	28
3.3 微生物反硝化还原实验	29
3.3.1 C/N对反硝化脱氮过程的影响	29
3.3.2 温度对反硝化脱氮过程的影响	30
3.4 实验结果分析	30
3.5 本章小结	34
第4章 生物炭负载光催化剂耦合微生物强化脱氮性能及其机理研究	35
4.1 引言	35
4.2 反硝化系统活度分析	35
4.2.1 反硝化过程中酶活性的测定	35
4.2.2 电子传递系统活度分析	36
4.2.3 细胞外聚合物的提取和定量	36
4.2.4 实验结果分析	37
4.3 微生物群落结构分析	39
4.3.1 催化改良微生物反硝化分析	39
4.3.2 测定NAR、NIR酶和ETSA活性	40
4.3.3 EPS在反硝化过程中的作用	43
4.4 微生物群落结构变化	46
4.5 新型光催化强化微生物反硝化系统的可能机制	53
4.6 本章小结	53
第5章 结论与展望	55
5.1 结论	55
5.2 展望	56
参考文献	57
攻读硕士学位期间的科研成果	66
致谢	67

第1章 绪论

1.1 研究背景、目的与意义

1.1.1 研究背景

硝酸盐 (NO_3^-) 和亚硝酸盐 (NO_2^-) 是氮循环中的重要化合物, 在环境、食品和生物体系中都具有重要意义。它们的性质和作用较为复杂, 既在某些方面对人类有积极作用, 同时在一些情况下也可能带来健康风险, 近年来, 随着化工、造纸、电镀等工业的快速发展和氮肥工业的大量生产使用, 导致其硝酸盐 (NO_3^-) 含量大幅增加^[1], 大量残留的含氮类化合物经过地表径流、尾水排放等形式进入了自然水体中, 对水体污染和生态失衡产生了巨大的影响。这种硝酸盐污染进一步加剧了水体富营养化、水生态系统失衡等诸多环境问题, 同时还会引起高铁血红蛋白血症和蓝血等疾病, 威胁人体健康^[2]。反渗透、离子交换和吸附等常规方法可用于分离水中的 NO_3^- , 然而, 物理分离可能导致二次污染, 需要进一步管理。生物法相较于前面的处理方法是处理废水中 NO_3^- 最有利、最有效的方法, 但由于运行成本较高以及效率较低, 严重限制了其在许多工业处理过程中的实际应用, 特别是中小型污水处理厂。因此, 为了提高废水中生物处理 NO_3^- 的效率和适用性, 需要进行进一步的改进。通过研究发现, 可见光光催化剂是一种应用前景广泛的环境友好型材料, 它利用可见光产生光激发电子和空穴, 在各种废水处理过程中产生活性氧^[3]。微生物反硝化脱氮是一种环境友好的过程, 可以将水中的硝酸盐转化为无毒无害的氮气, 从而降低水中硝酸盐的含量, 这涉及到细菌的活性代谢以维持其生存。综上所述, 结合光催化剂-微生物系统可以显著提高反硝化代谢过程^[4]。利用微生物-光催化系统提高刚性有机和无机污染物的去除效率是许多研究的重点。

1.1.2 研究目的与意义

硝酸盐和亚硝酸盐是自然环境中常见的含氮污染物, 此类污染物不仅损坏了人类赖以生存的生态环境, 而且对人体健康也造成了巨大的威胁。本研究聚焦于污水深度脱氮^[5], 以微生物学、材料学和环境工程等学科理论为基础, 通过实验室实验、电化学测试、高通量测序、微生物群落分析等手段, 探讨生物炭负载 FeVO_4 对硝酸盐微生物反硝化降解性能的影响, 并揭示其微观吸附机制

以及在反硝化脱氮过程中的电化学和分子生物学促进机制。研究发现，固体材料/供体产生的电子可被微生物高效接收，同时催化剂的光生电子对微生物生长速率具有显著的促进作用。近年来很少有研究通过外电子传递机制研究添加氧化石墨烯和纳米材料对生物脱氮效果的改善。由于其效率低下、制备复杂及潜在腐蚀性限制了其广泛应用。因此，开发高效且环保的光催化材料对于促进废水处理中的电子转移和增强生物脱氮^[6]具有重要意义。

钒酸铁 (FeVO_4) 作为一种新型的可见光催化剂，其具有较低能带隙 ($\sim 2.0 \text{ eV}$)、优异的稳定性和选择性、较低的带边、较小的污染、较高的可见光吸收能力和良好的催化效率等优点，是光催化应用的优选催化剂。但是，在光催化应用中仍面临一些挑战，主要表现为光生载流子迁移率低和复合速率高，这限制了其作为单一材料在光催化过程中的实际应用。为解决上述问题，研究者们尝试通过构建异质结来提高 FeVO_4 的催化效率^[7]。例如，在与 FeVO_4 形成异质结的过程中，还原氧化石墨烯 (rGO) 经常被用作有效的电荷载体，显著提升了其降解各种有机污染物的催化效率。尽管如此，还原氧化石墨烯 (rGO) 在实际应用中仍面临制备方法复杂、成本较高以及可见光吸收范围有限等问题，限制了其广泛应用。相比之下，生物炭因其优异的导电性、高效的电荷载体能力和较低的成本，逐渐成为一种更具潜力的替代材料，生物炭不仅能够有效促进光生载流子的分离与传输，还能通过其多孔结构提供更大的比表面积，进一步增强催化剂的吸附性能^[8]，因此，将 FeVO_4 与生物炭结合，有望在微生物反硝化过程中实现高效的电子转移和催化性能提升。本研究提出将 FeVO_4 与生物炭复合，用于强化微生物反硝化过程。这一策略不仅能够充分发挥生物炭的电荷传输和吸附优势，还能利用 FeVO_4 的光催化特性，实现对硝酸盐的高效降解。实验结果表明，该复合材料在微生物反硝化过程中表现出显著的促进作用，为废水深度脱氮提供了新的技术思路， FeVO_4 与生物炭结合用于强化微生物反硝化是合理并且有意义的。

综上所述，本研究成功地合成了 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料，并将其应用于反硝化过程，作为微生物的固体电子供体。试验结果表明，铁基微生物反硝化通过界面生物光电化学途径在土壤中表现出显著的提升效果。这一发现促使我们将 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 视为一种理想的微生物群落符合材料。在可见光照射下，

该复合材料能够产生被微生物群落有效接收的电子，展现出强大的催化活性。为进一步系统评估该催化剂的性能及其在反硝化过程中的效率，本研究设计并开展了一系列批量实验。实验结果表明， $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 在促进微生物反硝化过程中发挥了显著作用。此外，本研究还深入探讨了胞外聚合物、微生物酶活性以及微生物群落多样性和结构在反硝化过程中的作用机制。通过高通量测序和酶活性分析，揭示了 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 如何通过调控微生物群落的代谢活动和电子传递途径，增强反硝化效率。

1.2 国内外研究进展

1.2.1 硝酸盐污染现状以及治理研究进展

硝酸盐污染现在已成为全球性的环境问题，其主要来源包括农业化肥施用、工业废水和生活污水的排放。根据世界卫生组织的数据，全球约有 20% 的地下水硝酸盐浓度超过安全标准^[9]。我国农业面源污染是硝酸盐污染的主要来源，尤其是在集约化农业区，地下水硝酸盐超标率高达 30% 以上。此外，自然地质过程以及大气中硝酸盐的沉降也是硝酸盐污染的重要因素^[10]，硝酸盐的氮化物是水环境中最稳定的存在形式之一，随着现代社会的进步，化工、电镀、造纸等工业的快速发展以及氮肥工业的大量生产，硝酸盐 (NO_3^-) 含量在环境中的积累不断增加，严重影响了自然水体和生态环境。硝酸盐进入水体易导致水体富营养化，引发藻类和水生植物过度生长，破坏水生态平衡，减少水中溶解氧，影响鱼类和其他水生生物生存同时还会严重威胁人体健康^[11]，硝酸盐在人体内可被还原为亚硝酸盐，亚硝酸盐能使血红蛋白失去携氧能力，导致人体缺氧，还可能与食物中的胺类化合物反应形成致癌的亚硝胺类物质，增加高铁血红蛋白血症、糖尿病、甲状腺疾病和胃癌等疾病的风险。此外，土壤中硝酸盐过高会导致土壤酸化、板结，影响土壤肥力和结构。我国河流中的硝酸盐浓度分布也存在明显的空间特征差异，根据对我国 30 个省和 71 条主要河流中硝酸盐的分布调查结果显示^[12]，如图 1-1 所示，地表水中硝酸盐浓度自西向东浓度逐渐增加，并且存在南北分布不均的情况，有将近 8% 的河流中硝酸盐的浓度甚至超过了国家《地表水环境质量标准》（GB 3838-2002）中规定饮用水硝酸盐标准（45 mg/L），这对人类健康安全构成严重。因此，开发有效的硝酸盐污染治理技术具有极为重要的现实意义。

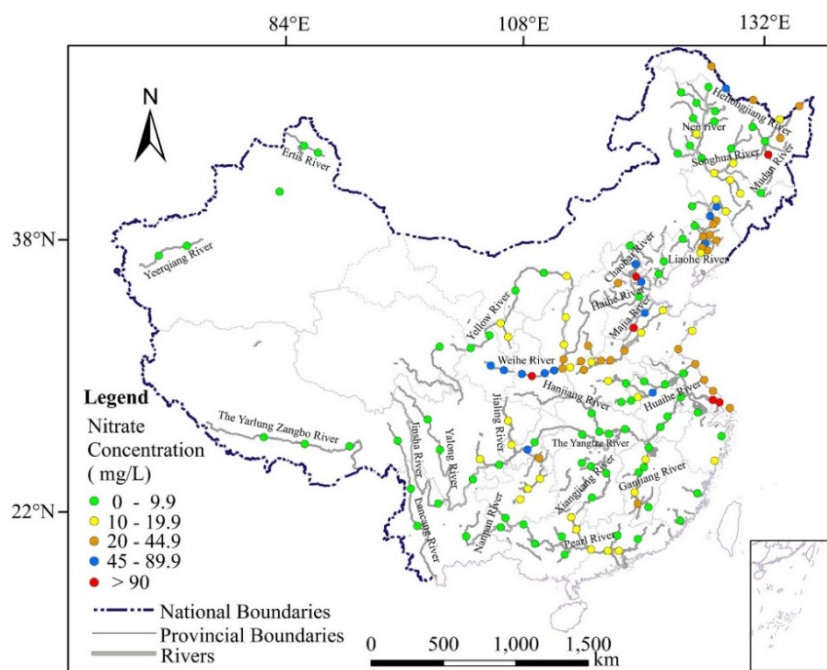


图 1-1 我国河流地表水中 NO_3^- -N 浓度分布特征^[12]

Fig. 1-1 Distribution of the NO_3^- -N concentrations for river water samples in China^[12]

反渗透、离子交换和吸附等常规方法可用于分离水中的硝酸盐 (NO_3^-)，反渗透是利用半透膜在压力作用下分离水和硝酸盐等溶质^[13]，可有效降低水中硝酸盐浓度，但设备成本高且需定期维护更换滤芯；离子交换则是通过离子交换树脂将水中硝酸盐离子与树脂上其他离子交换，操作简便，但树脂需定期再生，且物理分离可能导致二次污染，需要进一步处理。生物处理法是处理废水中硝酸盐 (NO_3^-) 最有利、最有效的方法之一，但较高的运行成本和较低的效率严重限制了其在许多工业处理过程中的应用^[14]，尤其是在中小型处理厂。因此，亟需改进生物处理法，以提高废水中生物处理硝酸盐 (NO_3^-) 的效率和适用性。

近年来，光催化和微生物反硝化耦合用于促进硝酸盐和亚硝酸盐的研究已经取得了一定的进展。Zhou 等^[15]首次提出了一种新的化学-生物耦合概念，通过连续的光/暗循环下交替去除有机和无机污染物。该研究构建了 $\text{WO}_3/\text{g-C}_3\text{N}_4$ 记忆光催化剂与河流沉积物微生物群落的耦合体系，用于光/暗循环交替去除邻苯二甲酸二甲酯 (DMP) 和硝酸盐。光/暗循环 (12/12 h) 条件下 DMP 的性能表明，在光相中，约 84.90% 的 DMP 主要通过强劲的光催化氧化去除，而在暗相中，约 86.80% 的硝酸盐通过储存在 $\text{WO}_3/\text{g-C}_3\text{N}_4$ 记忆光催化剂中的光生电子增强的微生物还原去除。Sui 等^[16]首次制备了强化反硝化的沉淀物基生物炭。以

碳和杂原子含量高的疏浚沉积物为原料，制备天然掺杂杂原子的沉积物基生物炭（SBC），用于微生物去除硝酸盐。研究表明，含氮官能团与生物炭的供电能力（EDC, $r=0.898$, $p<0.05$ ）和电子接受能力（EAC, $r=0.911$, $p<0.05$ ）呈显著相关性，且与硝酸盐（ NO_3^- ）氮去除率呈高度相关（ $r=0.903$, $p<0.05$ ），反硝化菌丰度提高至 75.9%。该研究为河流系统中氮的高效去除提供了一种低成本且可持续的方法提供了一种低成本和可持续的方法来有效地去除河流系统中的氮^[17]。光催化剂是一种有前途的绿色材料，可用于各种废水处理工艺。近年来，利用绿色材料作为电子供体/穿梭体来改善生物反硝化过程的研究逐渐成为热点^[18]。主要集中在通过电子转移过程利用生物炭和纳米材料提升生物脱氮效率。

1.2.2 生物炭吸附硝酸盐的研究进展

在生物炭耦合微生物驱动污染物降解过程中，污染物首先是从液相扩散到生物炭表面，并在酶促作用下被微生物代谢利用，从而实现污染物的降解^[19]。生物炭的吸附作用主要通过静电作用、离子交换及其它作用力实现污染物的液相分离。由于吸附过程能够富集污染物，并提供较大的接触表面积和浓度梯度，因此为后续的生物降解提供了有利的条件。

硝酸根（ NO_3^- ）是具有孤电子且带有强电负性的阴离子，其吸附位点主要包括带正电荷官能团、可用于离子交换的阴离子官能团、多价金属离子或氢原子等。然而，未经物理活化或化学改性的原生生物炭通常比表面积较小且表面带有较多负电荷，硝酸根（ NO_3^- ）与生物炭表面的静电斥力显著限制了其对硝酸盐等阴离子污染物的吸附能力。Hollister 等^[20]以橡木木屑为原料制备生物炭吸附硝酸盐，吸附量仅为 $0.63 \text{ mg/g NO}_3^{-1}\text{-N}$ 。而相关研究统计显示，未改性生物炭对硝酸盐的平均最大吸附量仅为 1.78 mg N/g 。因此，为了提升吸附剂对硝酸盐的吸附性能^[21]，众多学者通过不断的优化吸附剂改性策略来制备高性能吸附剂，以尽可能产生更多的吸附位点，如表面质子化、金属氧化物/金属氢氧化物掺杂、羧基、羟基或胺基的嵌入以及阳离子表面活性剂的修饰等。这些表面改性策略可以通过增强吸附剂与硝酸盐之间的静电吸引力^[22]、络合能力和氢键等相互作用力，提高对硝酸盐的吸附性能。

在众多改性策略中，质子化改性策略主要是指通过改性在吸附剂表面引入

质子 (H^+)，可以增加表面的正电荷密度，从而增强与带负电荷物质之间的静电吸引力，进而提升对于一些带有负电荷的物质（如阴离子）的吸附效果。例如，Heaney 等^[23]采用三种小分子有机酸（柠檬酸、草酸、苹果酸）对生物炭进行改性，发现小分子有机酸能够造成生物炭表面质子化，提高表面的正电荷数量，进而提高对水中硝酸盐阴离子的吸附性能。Chintala 等^[24]通过盐酸改性黄松木渣生物炭显著提升了其硝酸盐的吸附能力，经改性后的生物炭的比表面积显著增加 10 倍，最大硝酸盐吸附量达到 9.74 mg N/g，是未改性生物炭的 3.14 倍。

金属/金属氧化物掺杂是指在吸附剂中引入多价金属离子，可以提高吸附剂与孤立电子的氧原子的络合能力，增强吸附剂与目标物质之间的相互作用，从而提高对 NO_3^- 吸附效率。例如，Yin 等^[25]采用不同复配比例的铝改性生物炭材料用于吸附硝酸盐和磷酸盐的研究，发现 15% 铝负载量的生物炭材料对硝酸盐的吸附效果最佳，且对 NO_3^- 的最大吸附量为 89.58 mg/g（折合 20.22 mg N/g）。Wan 等^[26]研究发现，通过 $FeCl_3$ 改性污泥生物炭将其对百草枯的吸附能力提高了 5.3 倍。Zhang 等^[27]研究发现，经酸质子化改性后的生物炭对硝酸盐的吸附能力显著提升，而经碱去质子化改性的生物炭吸附能力有所下降。由此可见，生物炭表面电荷和官能团在其吸附硝酸盐过程中发挥着重要作用。Zhang 等^[28]统计发现，改性生物炭对硝酸盐的平均最大吸附量 (Q_{max}) 为 7.42 mg N/g，约为未改性生物炭的 3.8 倍。

在生物炭吸附机制的研究中，目前主要通过吸附等温线、动力学和热力学以及结合傅里叶变换红外光谱 (FT-IR)、X 射线衍射 (XRD) 等技术，分析吸附前后生物炭表面成分和元素价态变化，从而推测验证吸附过程可能发生的吸附机制。Wang 等^[29]采用 Mg/Al 层状双氢氧化物 (Mg/Al-LDHs) 改性苹果枝生物炭吸附水中的硝酸盐，发现改性后的生物炭的吸附能力提高了 7.43 倍，对硝酸根的最大吸附量 (Q_{max}) 为 156.84 mg/g（折合 35.41 mg N/g），机理分析表明，硝酸根的吸附作用力主要来自于静电吸附和离子交换等作用^[30]。然而，在生物炭吸附抗生素机制探索方面主要是依赖实验验证，尽管这些表征分析对于理解吸附过程提供了有价值的信息，但对于分子结构层面的微观吸附机制探索仍然相对较少。由于生物炭分子结构的不确定性，从分子水平进一步准确揭示吸

附机理存在一定的难度。此外，吸附过程只是将污染物从一种介质转移到另一种介质，尚不能彻底去除污染物，容易造成二次污染，单一吸附工艺在水处理过程中仍存在一定的局限性。因此，通常将吸附与降解过程耦合彻底去除污染物，实现对污染物环境风险的有效控制。

1.2.3 光催化促进微生物反硝化研究进展

近年来，将生物处理过程与光催化技术相结合用于硝酸盐还原的策略逐渐展现出广阔的应用前景。Chen 等^[31]提出了一种光电营养反硝化（PEDeN）系统，其中反硝化生物阴极与光催化光阳极耦合，使细菌能够直接利用光电化学过程产生的电子以促进反硝化。然而，双室 PEDeN 系统在原位硝酸盐去除方面不如单室生物电化学系统。Zhu 等^[32]构建了一个单系统，利用水中的附生生物膜以及分布的二氧化钛（TiO₂）纳米颗粒来促进原位硝酸盐还原^[33]。在半导体材料（光催化剂）存在的情况下，生物膜中的异养菌和化能自养菌可以利用光诱导电子进行代谢，从而促进这些细菌的生长，并增强其硝酸盐还原能力。然而，这种单系统需要考虑光催化剂对环境的影响^[34]，因为光催化剂释放到自然水体中可能存在潜在生态风险。

紧密耦合的光催化与生物降解（ICPB）技术因其在水处理中的潜力而受到广泛关注。这种方法最初由 Marsolek 等^[35,36]提出，为生物膜与光催化剂的结合提供了一种创新手段。在典型的 ICPB 系统中，光催化剂被覆盖在大孔海绵载体的外表面，然后在其上培养活性污泥中的生物膜^[37]。光催化和生物降解在同一系统中同时发生。与上述单系统相比，ICPB 技术可以避免光催化剂^[38]直接释放到水体中，并且光催化剂可以很容易地从水中移除，从而显著降低对环境的影响。研究表明，在 ICPB 系统中，微生物与光催化剂之间在可见光照射下发生了光诱导光电子的转移。光催化产生的自由基可以将难降解的分子转化为更易被生物降解的中间体，随后这些中间体会被附着在海绵载体内部的生物膜迅速降解^[39]。此外，微生物可以利用由可见光诱导的光催化剂产生的电子来维持代谢、刺激生长、调节群落结构，并促进环境修复。迄今为止，这种组合系统已被研究用于降解一系列生物难降解污染物^[40]，如废水中的染料、二硝基甲苯、三氯苯酚和抗生素。然而，ICPB 技术尚未被用于水中的硝酸盐还原，这与以往研究中复杂的生物难降解分子有所不同。

目前，生物反硝化领域的研究已取得显著进展，并已开展了大量关于生物反硝化的研究^[41]，近期的研究重点是通过使用生态友好型电子供体或电子穿梭体来增强生物反硝化过程。相关的研究集中在利用生物炭和纳米材料通过电子转移过程来提高生物反硝化的效率^[42]。材料中的电子转移在增强生物反硝化方面起着关键作用。为了提高硝酸盐的光催化还原效率，研究者们采用多种方法，例如引入牺牲剂（空穴猝灭剂）来控制副产物的选择性，或探索新型材料。传统光催化剂在硝酸盐还原中具有潜在应用价值，但在提高去除效率的同时，必须谨慎考虑提高去除效率和控制反应副产物选择性的措施，以防止如甲酸和草酸等化学试剂释放到环境中^[43]。微生物驱动的反硝化脱氮过程主要是在缺氧或厌氧条件下，反硝化微生物利用有机或无机电子供体，以硝酸盐作为电子受体，在一系列还原酶的作用下，通过电子传递链将电子传递给硝酸盐，如图 1-2 所示，反硝化过程中涉及的酶及反应过程，反硝化过程包括四个反应步骤，每个步骤由对应的酶参与发生催化反应，分别为硝酸盐还原酶（NAR）、亚硝酸盐还原酶（NIR）、一氧化氮还原酶（NOR）和一氧化二氮还原酶（N₂OR）^[44]

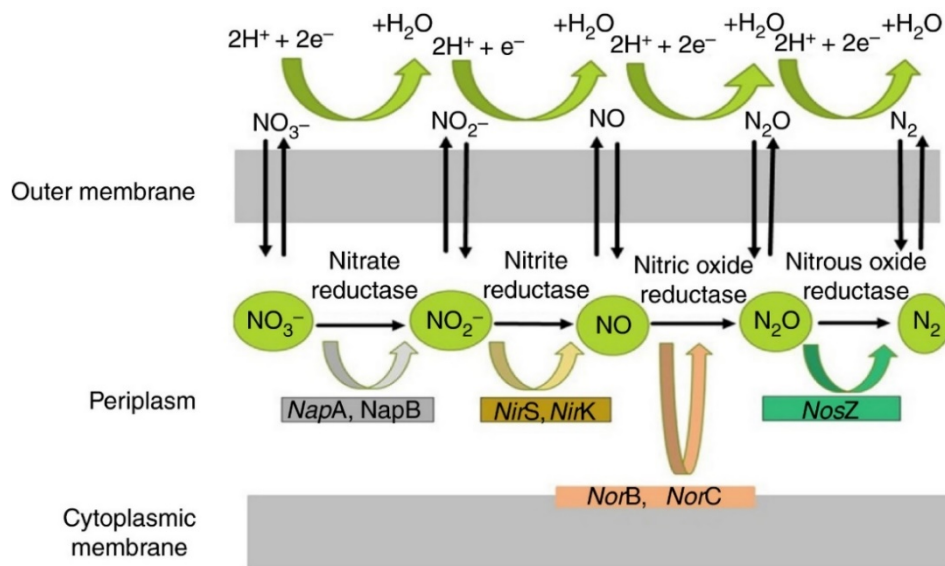


图 1-2 反硝化过程中涉及的酶及反应过程^[45]

Fig. 1-2 The enzymes and reaction processes involved in denitrification ^[45]

研究表明，一些半导体材料（光催化剂）可以在可见光照射下促进化能自养细菌和异养细菌的生长，因为这些细菌能够利用光激发产生的光电子获取能量以维持其代谢。此外，像硫化物、铁氧化物和黄铁矿这样的半导体材料可以

通过提供光激发电子来增强通过自养反硝化途径的硝酸盐还原^[45]。基于以上研究进展，本研究成功合成了 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ ，并将其作为反硝化过程中微生物的固相电子供体。这种组合在可见光照射下表现出强大的催化活性，通过产生电子供微生物群落接收，从而显著增强反硝化过程^[46]。

1.3 课题研究意义

饮用水中硝酸盐的含量过高会对人体健康造成严重危害，过量的硝酸盐还会严重影响人们的身体健康^[47]，在人体内的硝酸盐还有可能被还原为亚硝酸盐，亚硝酸盐会与人体内的血红蛋白结合从而影响氧气的运输，尤其对婴幼儿的危害更为显著，长此以往容易引起高铁血红蛋白血症、糖尿病、甲状腺疾病和胃癌等一系列疾病，对人体健康构成潜在威胁。生态环境的质量与人类活动密切相关，随着现代农业中化肥、农药等含氮类化学品的大规模生产和过度使用，高浓度的硝酸盐以及大量残留的含氮营养物质经地表径流、农田排水、直接或间接排放等多种途径进入水环境中^[48]，导致了地表水中硝酸盐浓度增加，引起水体的富营养化。在湖泊、河流等水域中，过多的硝酸盐促使藻类等水生植物过度繁殖，消耗水中溶解氧，导致水质恶化，危害水生生物生存。因此，去除硝酸盐对于维持水体生态平衡至关重要。此外，土壤中过多的硝酸盐会影响土壤质量，限制农业的可持续发展^[49]。研究去除硝酸盐的方法可以合理调控土壤养分，减少硝酸盐的淋溶，防止土壤盐碱化，从而保障农作物的健康生长。本研究通过光催化促进微生物反硝化作用来降解硝酸盐和亚硝酸盐，并深入探讨其电子传递机制。相关研究成果可为污水处理深度脱氮过程中氮污染物和微生物及光催化剂协同去除提供技术支持和理论依据，去除自然水体中过量的硝酸盐^[50]，有助于进一步改善流域水环境质量，强化生态环境风险控制，对建设美丽中国具有重要意义。

1.4 研究内容及技术路线

1.4.1 研究内容

本研究以微生物学、材料学和环境工程学等多学科基础理论为指导，通过实验室实验、电化学测试、高通量测序、微生物群落分析等方法，系统研究生物炭负载钒酸盐（ FeVO_4 ）在微生物反硝化过程中对硝酸盐的降解性能，探讨了生物炭负载 FeVO_4 对硝酸盐的微观吸附机制，以及反硝化脱氮过程中所发挥

的电化学和分子生物学促进作用^[54]。

对所制备的 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 的复合材料采用 X 射线衍射 (XRD)、扫描电子显微镜-能量色散 X 射线光谱 (SEM-EDAX)、傅里叶变换红外光谱 (FTIR)、X 射线光电子能谱 (XPS)、光电流和电位分析等进行表征和分析, 考察复合材料的电子传递和光电化学性能, 为进一步探讨材料光催化奠定基础。

利用复合材料开展一系列的硝酸盐还原实验研究, 比较不同条件下制备的复合材料的反硝化效果, 同时研究 C/N 比及温度等因素脱氮效果的影响, 为材料的实践应用提供数据支撑。

通过测定反硝化过程中硝酸盐还原酶 (NAR) 和亚硝酸盐还原酶 (NIR) 的活性、细胞外聚合物的定量和电子传递系统活度分析, 综合分析氧化还原系统活度; 采用高通量测序分析研究构建的反硝化系统的微生物群落结构, 分析了不同反硝化系统的胞外聚合物 (Extracellular Polymers, EPS) 含量, 从生物学角度探求复合材料对生物群落在生物脱氮体系中的内在关联。

1.4.2 技术路线

本研究技术路线如图 1-3 所示。

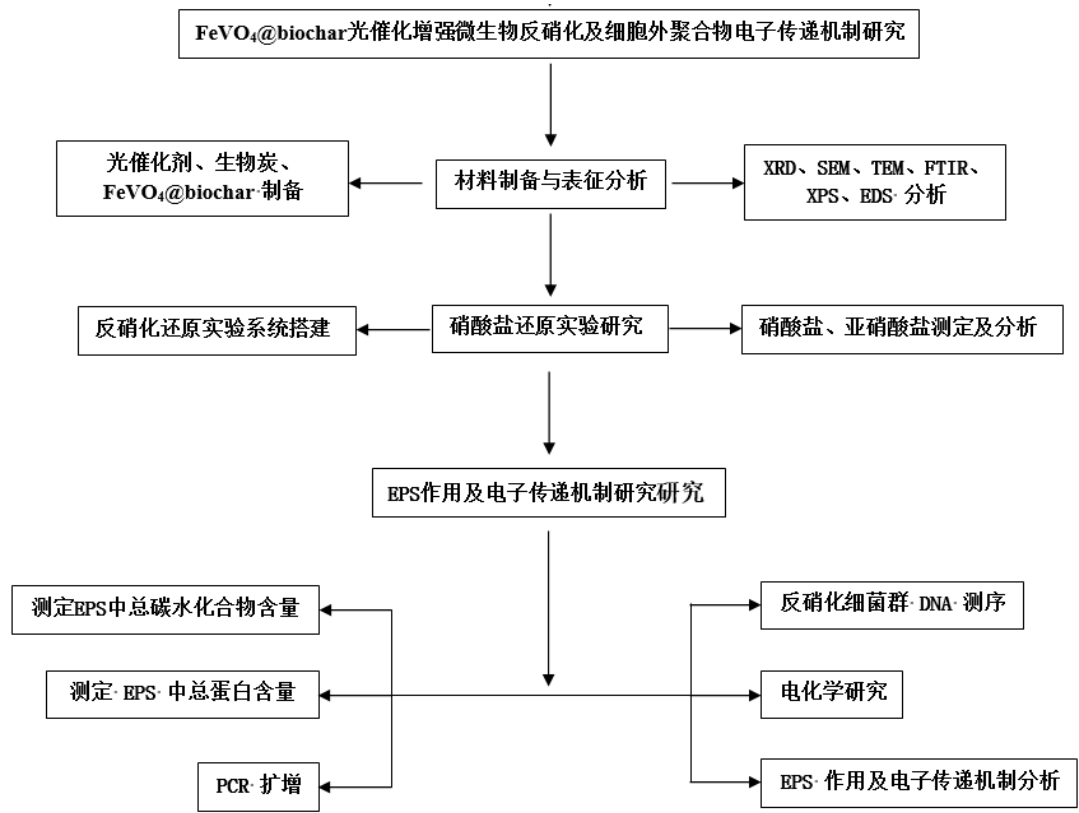


图 1-3 技术路线图

Fig.1-3 Technology Roadmap

第 2 章 材料制备与表征

2.1 实验试剂和仪器

2.1.1 主要实验材料

本实验中所用生物炭原材料采自安徽工程大学附近的神山公园干竹叶。将采集的干竹叶使用工业粉碎机将叶子粉碎成粉末，然后进行筛分处理。随后将叶片粉末放置于氮气管状炉中的铝坩埚中进行热解处理。热解过程的温度设为 600℃，升温速率为 10℃/分钟，保温时间为 4 小时。热解完成后，所得到的产品用去离子水充分清洗以去除残留杂质，并在 80℃的烤箱中干燥过夜以备用。本实验中使用的活性污泥取自芜湖市朱家桥污水处理厂厌氧池中的厌氧活性污泥，用于后续的微生物反硝化实验。

本实验所用主要试剂包括：氯化钠、盐酸、甲醇、氢氧化钠、碳酸钠、硫酸、硝酸钠、葡萄糖、碳酸氢钠、氯化亚铁、磷酸二氢钾、硫酸锰、氯化钙、氯化镁、氯化锌、氯化亚铜、钼酸钠、氯化钴、氯化镍、硼酸、乙酸、亚硝酸钠、氨基磺酸（0.8%）、聚乙烯吡咯烷酮、九水硝酸铁、偏钒酸铵，均购自安徽颀创生物科技有限公司，实验用水为去离子水，其他普通化学试剂均为分析纯。

2.1.2 设备和仪器

本实验所使用仪器和设备见表 2-1 所示。

表2-1 实验设备和仪器

Table 2-1 Experimental equipment and instruments

仪器名称	型号	生产厂家
管式炉	MFLGKD206	芜湖科标仪器有限公司
鼓风干燥箱	DHG-9140A	上海力辰邦西仪器科技有限公司
真空干燥箱	DNG-9101-2	上海一恒科技有限公司
破碎机	BJ-150	德清拜杰电器有限公司
水浴摇床	THZ-82	杭州旌斐仪器科技有限公司
移液枪	1mL/5mL/10mL	大龙兴创实验仪器股份公司
电子分析天平	HZK-FA210S	福建华志电子科技有限公司
六联磁力搅拌器	MS6PRO	浙江群安科学仪器有限公司
机械搅拌器	LC-ES-60SH	上海力辰邦西仪器科技有限公司
超声波清洗机	KH-300DE	昆山禾创超声仪器有限公司
紫外可见分光光度计	TU-191	北京普析通用仪器有限责任公司
PH 计	PHSJ -3F	上海仪电科学仪器股份有限公司
高速离心机	H2-16K-II	河南可成仪器设备有限公司
超纯水机	Smart-S	上海和泰仪器有限公司
X 射线衍射仪 (XRD)	Bruker D8	德国布鲁克
傅立叶变换红外光谱仪(FTIR)	iS20	美国
扫描电子显微镜(SEM)	Hitachi Regulus 8100	日本岛津
X 射线光电子能谱仪 (XPS)	Thermo Scientific	美国 Thermo Scientific

2.2 实验材料制备

2.2.1 矾酸铁纳米颗粒的制备

首先将 1.5 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 溶于 75 mL 去离子水中搅拌 15 分钟, 记为溶液 a。同样, 将 0.75 g NH_4VO_3 溶于另 75 mL 去离子水中, 搅拌 30 分钟, 记为溶液 b。将溶液 a 缓慢加入溶液 b 中, 搅拌均匀。再向上述混合溶液中加入 0.3 g PVP 并继续搅拌 1 小时。用氢氧化钠溶液将混合溶液的 pH 值调至 13, 此时溶液出

现黑褐色沉淀，再将溶液转移至聚四氟乙烯衬里的不锈钢高压釜中并维持在 180℃ 保持 24 小时。加热反应完成后自然冷却高压釜至室温，再将样品放入 80℃ 的烘箱中干燥 6 小时，以去除水分。最后，将粉末样品至于马弗炉中，在 600℃ 下煅烧 3 小时，以去除有机物并进一步稳定产物结构。具体流程如下图 2-1 所示：

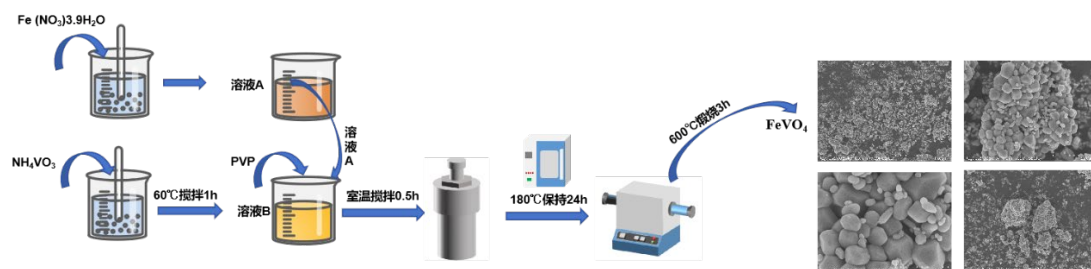


图 2-1 矾酸铁纳米颗粒制备装置示意图

Fig. 2-1 Schematic diagram of preparation device for iron alum nanoparticles

2.2.2 生物炭的制备

制备生物炭的原材料采自安徽工程大学附近神山公园内的干竹叶。将采集的干竹叶使用工业粉碎机将叶子粉碎成粉末，然后进行筛分处理。具体流程如图 2-2 所示：

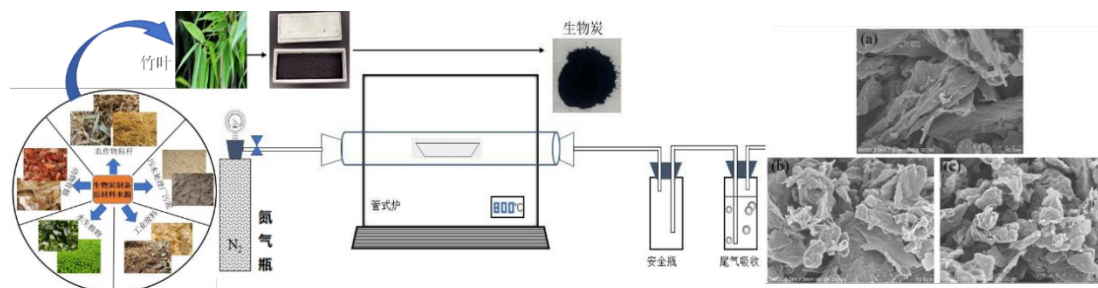


图 2-2 生物炭制备热解装置示意图

Fig. 2-2 Schematic diagram of biochar pyrolysis plant

(1) 将采集的干竹叶经超纯水洗净后，放入鼓风干燥箱进行干燥，干燥后的竹叶经粉碎机破碎后，过 100 目筛混合均匀后备用。

(2) 用氮气对管式炉进行吹扫 30 分钟。称取 20 g 竹叶粉末置于瓷方舟中，再将瓷方舟置于管式炉中，在持续通入氮气条件下以 10℃/分钟的速率升温至设定的温度（800℃）并热解 240 分钟，自然降温冷却至室温。

(3) 用 0.1 mol/L 盐酸对竹叶生物炭（BC）进行酸洗，再用超纯水洗涤数次直至洗涤液 pH 值为中性，并在 80℃ 的烤箱中干燥过夜，以去除水分。最后

密封在容器中避光保存备用。

2.2.3 生物炭负载光催化剂制备

通过改变 FeVO_4 质量% (10、15 和 30)，制备了不同重量百分比(wt %)的 FeVO_4 与生物炭的复合材料。具体步骤为：首先，将 0.5 g 的生物炭和 FeVO_4 纳米颗粒溶于 40 mL 的甲醇中，使用超声波处理混合溶液约 30 分钟，以确保生物炭和 FeVO_4 纳米颗粒均匀分散。然后，将上述混合溶液置于 80°C 的油浴中加热，不断搅拌反应混合物，以去除甲醇。待溶剂完全挥发后，将所得沉淀物置于马弗炉中，在 200°C 下煅烧约 1 小时，以稳定复合材料的结构。将不同重量百分比的生物炭 FeVO_4 复合材料分别用 BC/Fe-10 (BF-10)、BC/Fe-15 (BF-15) 和 BC/Fe-30 (BF-30) 表示，以便后续实验区分。具体流程如图 2-3 所示：

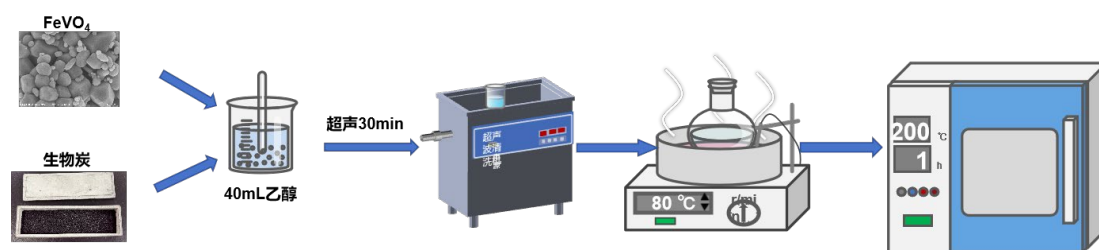


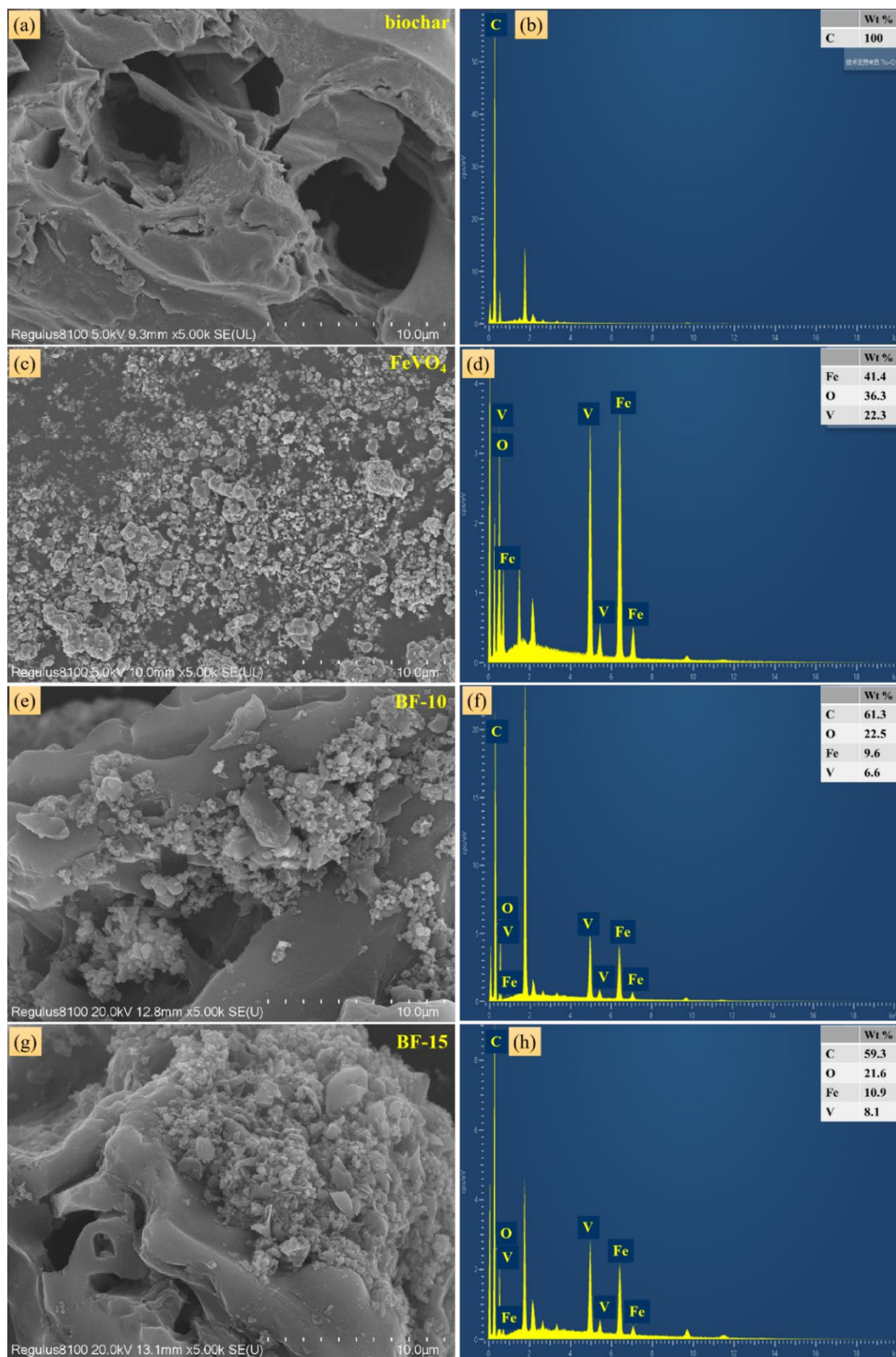
图 2-3 生物炭负载光催化剂制备技术路线图

Fig. 2-3 Biochar supported photocatalyst preparation technology roadmap

2.3 材料的表征及分析

2.3.1 扫描电子显微镜 (SEM) 和透射电子显微镜 (TEM) 分析

采用场发射扫描电子显微镜^[55] (Hitachi Regulus 8100, 日本) 结合能量色散光谱 (EDS) 对所制备的生物炭、光催化剂、生物炭耦合光催化剂的形貌进行表征。具体操作为：将少量制备的材料均匀放置于样品台上，经喷金处理以增强导电性后进行测试，其中生物炭和光催化剂测试电压设定为 5 kV，而生物炭耦合光催化剂测试电压设定为 20 kV。此外，透射电子显微镜 (TEM) 成像则是利用 ThermoFisher Talos F200S (USA) G2 电子显微镜完成。



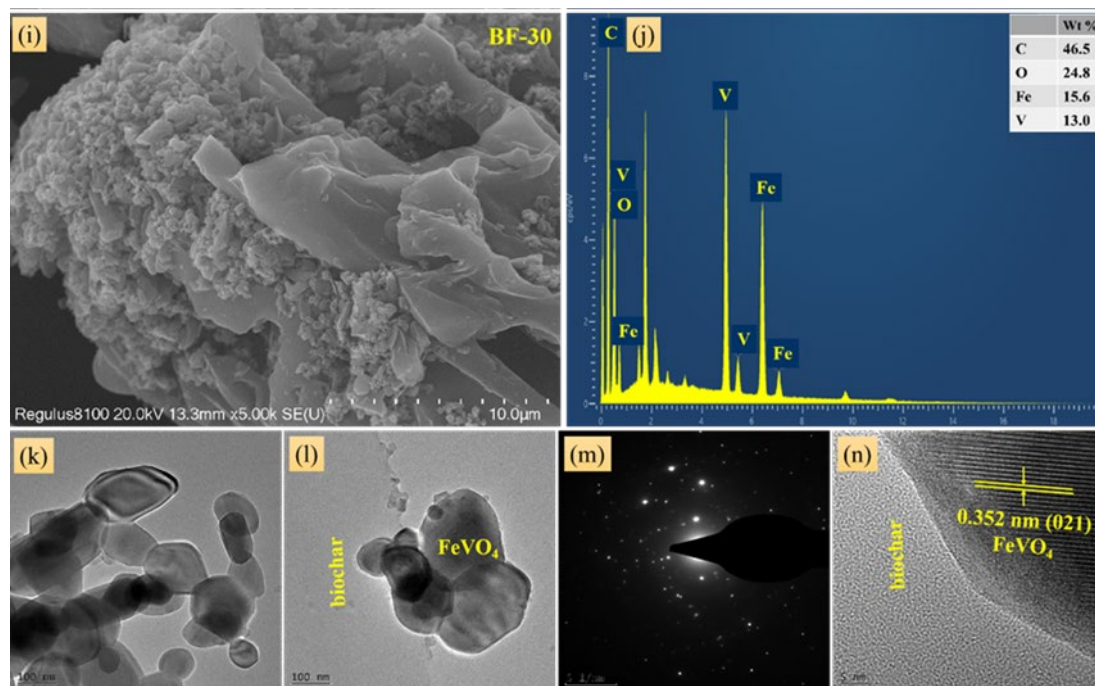


图 2-4 生物炭的 SEM (a) 和 EDS (b)、光催化剂的 SEM (c) 和 EDS (d)、生物炭耦合光催化剂的 SEM BC/Fe-10 (BF-10) (e) 和 EDS (f)、BC/Fe-15 (BF-15) (g) 和 EDS (h)、BC/Fe-30 (BF-30) (i) 和 EDS (j)、TEM (k-n)

Fig. 2-4 SEM (a) and EDS (b) of biochar, SEM (c) and EDS (d) of photocatalyst, SEM BC/Fe-10 (BF-10) (e) and EDS (f), BC/Fe-15 (BF-15) (g) and EDS (h), BC/Fe-30 of biochar coupled photocatalyst (BF-30) (i) and EDS (j), TEM (k-n)

扫描电子显微镜 (SEM) 分析结果显示, 纯生物炭呈现出多孔结构^[56], 表面较为光滑, 孔径较大 (图 2-4 1a)。其对应的能量色散光谱 (EDS) 分析表明, 生物炭中未检测到其他杂质元素 (图 2-4 1b)。纯 FeVO_4 纳米颗粒呈不规则形貌, 平均尺寸约为 60-100 nm, 分布较为均匀 (图 2-4 1c)。其 EDS 结果显示, 样品中仅含有构成 FeVO_4 的元素, 未发现其他杂质 (图 2-4 1d)。对于不同质量比的 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料的表面形貌表明^[57], 扫描电子显微镜 (SEM) 观察到 FeVO_4 纳米颗粒均匀分布在生物炭表面, 其相应的 EDS 显示了元素组成和添加到生物炭中的不同重量百分比的 FeVO_4 (图 2-4 1e-1j)。此外, 对性能最佳的 BF-15 样品进行了 TEM 分析, 结果显示 FeVO_4 纳米颗粒与生物炭基体呈散乱状连接, 这对反硝化过程中的有效性能至关重要 (图 2-4 1k-1n)。

2.3.2 X 射线衍射 (XRD) 分析

X 射线衍射 (XRD) 分析是材料科学中广泛使用的一种技术, 用于研究材料的晶体结构、相组成和微观结构特性。XRD 的基本原理如下:

基本原理是布拉格定律：

$$n\lambda=2d \sin \theta$$

其中： n :衍射级数（通常为 1）； λ :入射 X 射线的波长； d :晶格中的晶面间距； θ :入射/衍射角。

为了得到所制备材料的物相以及晶体组成等信息，采用德国 Bruker D8 Advance X 射线衍射仪来对制备的 FeVO_4 和 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料的结构进行分析，辐射源为 $\text{Cu K}\alpha$ 射线（ $\lambda=0.15406 \text{ nm}$ ）。将干燥粉末样品涂布在涂片上用玻璃片压平后进行扫描分析，实验条件为：电压 40 kV、电流 40 mA、扫描 2θ 角度范围为 $10^\circ\sim 90^\circ$ ，扫描速度 $5^\circ/\text{分钟}$ 。将所得样品的 X 射线衍射图谱与 JCPDS 数据库（卡号 01-071-1592）中的标准图样对比，如图 2-5 所示。结果表明，所制备的 FeVO_4 为纯相，其特征峰分别位于 $2\theta = 13.797^\circ$ 、 16.623° 、 17.517° 、 20.130° 、 25.191° 、 27.099° 、 27.359° 、 27.798° 、 31.336° 、 42.068° 和 43.626° ，分别对应于 $(0\ 3\ 0)$ 、 $(2\ -2\ 1)$ 、 $(3\ 1\ 0)$ 、 $(-4\ 1\ 2)$ 和 $(-2\ 3\ 4)$ 等晶面，与稳定的三斜相 FeVO_4 一致。纯生物炭在 2θ 值为 22° 处显示出一个特征宽峰，对应于石墨的 (002) 平面^[58]，表明其具有无定形结构。所有制备的复合样品均显示出生物炭的特征峰和 FeVO_4 的主要衍射峰，这不仅揭示了复合材料的相纯度和组分分布，还进一步证实了生物炭的添加未改变 FeVO_4 的晶体结构。

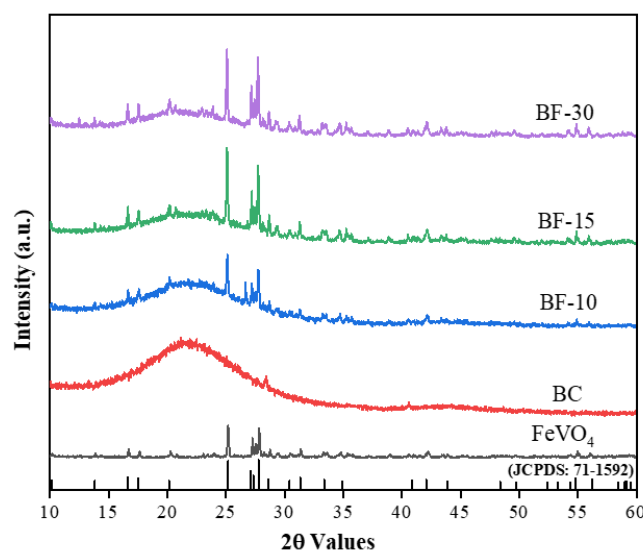


图 2-5 复合材料的 X 射线衍射（XRD）图

Fig. 2-5 X-ray diffraction (XRD) pattern of composite materials

2.3.3 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 分析

采用 Thermo Scientific Nicolet iS20 型傅里叶变换红外光谱仪器对样品材料进行表征测试, 以考察样品表面的官能团类型。傅里叶变换红外 (FTIR) 光谱是一种广泛使用的分析技术, 能够识别样品中的官能团、化学键和分子结构。FTIR 光谱反映材料在不同波长 (通常在红外区域) 下的分子吸收和透射性。使用傅里叶变换红外光谱 (Thermo Scientific Nicolet iS20, 美国) 分析制备的催化剂材料的化学成分, 测试方法采用 KBr 压片法^[59], 具体操作为: 取少量的粉末状生物炭样品, 与溴化钾 (KBr) 混合, 研磨并混合均匀后压制成片, 由于 KBr 对宽光谱范围内的红外辐射透明, 因此不会干扰样品的光谱信号。将制备好的样品片置于光谱仪中, 在 $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ 的波数范围内测试样品的红外信号, 以分析生物炭的官能团类型。

FTIR 光谱分析结果显示 (图 2-6), 在纯 FeVO_4 样品中, 1010 cm^{-1} 处的峰属于 VO_4^{3-} 的对称拉伸, 而 706 cm^{-1} 和 464 cm^{-1} 处的吸收峰分别是 V-O-Fe 的桥接振动和 Fe-O 的拉伸振动, 在 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 复合样品中, 除了生物炭特有的 1580 cm^{-1} (C-C 拉伸振动) 和 1093 cm^{-1} (C-O-C 拉伸振动) 吸收峰外, 还观察到 FeVO_4 存在的所有其他相关吸收峰。此外, 随着 FeVO_4 含量的增加, 峰值强度增加, 这进一步证实了 FeVO_4 与生物炭之间的强相互作用。

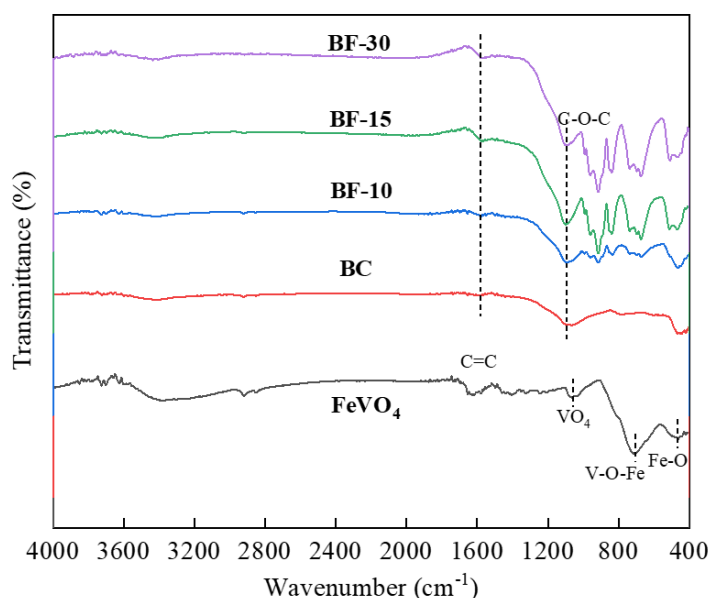


图 2-6 复合材料的傅里叶变换红外 (FTIR) 光谱图

Fig. 2-6 Fourier transform infrared (FTIR) spectrum of the composite material

2.3.4 EIS（奈奎斯特图）和循环伏安法分析

电化学阻抗谱（EIS）作为分析材料电化学性质的强有力工具，能够深入解析材料的电化学特性，涵盖电荷转移电阻、离子扩散以及界面过程等多个方面。在 EIS 奈奎斯特图中，半圆的直径对应于电荷转移电阻（ R_{ct} ），该参数直接反映了电极-电解质界面处电子转移的难易程度，而直线段通常表示扩散控制过程，可以通过 Warburg 阻抗进行建模。对于复合材料，EIS 图能够揭示组分之间的协同效应，例如电阻的降低或电荷传输的增强。实验结果显示，在 EIS 奈奎斯特图中，随着 $FeVO_4$ 含量的增加，电弧尺寸逐渐减小，其中纯生物炭（BC）展现出较大的电弧，而 $FeVO_4$ 含量最高的复合材料（BF-30）则具有最小的电弧尺寸（图 2-7a）。这一现象进一步表明，生物炭中 $FeVO_4$ 含量的增加降低了电子转移电阻，从而证实了复合样品具有最佳的电子转移能力。

电化学研究对于评估复合材料的性能和特性具有重要意义，尤其是在储能和催化应用邻域。循环伏安法（CV）和电化学阻抗谱（EIS）等技术被广泛用于研究复合材料的氧化还原行为、电荷转移机制和界面特性。这些研究有助于深入理解复合材料成分之间的协同效应，进而优化其电化学性能^[60]。此外，光电流研究对于揭示复合材料的光电化学特性至关重要，此类材料在太阳能转换、光催化和光电探测器等领域有着广泛应用。当复合材料暴露在光照条件下时，其产生光电流的能力主要取决于光生电荷载体（电子和空穴）的有效分离和传输效率。复合材料中成分的协同组合，例如半导体-半导体或半导体-金属结，通常可以增强光吸收并最大限度地减少电荷复合。线性扫描光伏安培法和瞬态光电流测量等技术用于评估复合材料在光照下的光电流响应、电荷转移效率和稳定性。通过分析光电流行为，研究人员可以针对性的优化材料特性^[61]，例如能带排列、表面积和电子结构，从而提升复合材料在光驱动应用中的效率和性能。将电化学技术与材料表征相结合，研究人员能够精准定制复合材料的结构和成分，以实现其在不同应用中实现更高的性能、耐用性和效率。合成催化剂的光电化学性质通过 CHI-650 电化学工作站进行评估，该工作站由三电极系统组成。

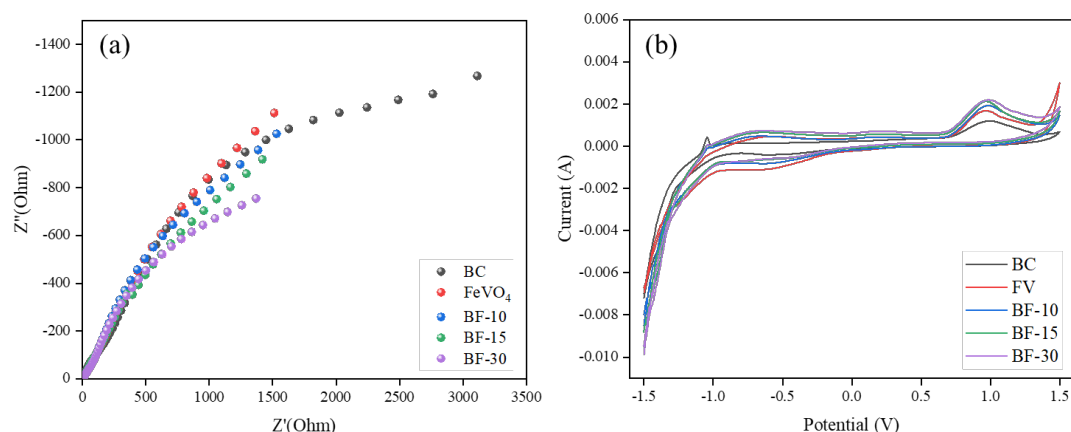


图 2-7 复合材料的电化学阻抗谱 (EIS) 图和循环伏安法 (CV) 图

Fig. 2-7 Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and Cyclic voltammetry (CV) diagram of the composite material

循环伏安法 (CV) 作为一种电化学行为技术, 广泛用于研究 FeVO₄ 和生物炭复合材料的电化学行为, 尤其是在储能和催化应用中。循环伏安法 (CV) 分析可以深入揭示材料的氧化还原过程、电荷存储机制和电容特性。本研究对所有制备的样品进行循环伏安法 (CV) 分析, 采用三电极系统, 以硫酸钠 (Na₂SO₄) 为电解质, 扫描速率为 50 mV/s, 电位扫描范围在 -1.5 至 1.5 之间, CV 分析结果表明纯生物炭 (BC) 的氧化还原峰强度最低, 随着 FeVO₄ 加入后, 这表明 FeVO₄ 的引入有效提升了复合材料的电化学活性。在所有制备的样品中, FeVO₄ 含量最高的复合材料 (BF-30) 展现出最高的氧化还原峰强度 (图 2-7b), 进一步证实了 FeVO₄ 的加入显著增强了复合材料中的电子转移能力。这一结果表明, FeVO₄ 与生物炭的复合不仅提高了材料的电化学性能, 还优化了其在储能和催化应用中的潜力。

2.3.5 光电流分析

对 FeVO₄ 和生物炭复合材料的光电流研究揭示了其在高效光驱动应用 (如光催化和太阳能转换) 方面的潜力。过渡金属钒酸盐 FeVO₄ 展现出优异的光吸收和氧化还原活性, 而生物炭则因其高比表面积和电导率, 能够有效增强电荷传输和稳定性。当这两种材料结合时, 可以协同提升光照条件下的光电流响应, 其中 FeVO₄ 有助于提升光催化活性, 而生物炭则促进电荷分离和传输。光电流测量能够有效的评估复合材料中电荷产生、传输和复合效率, 从而为其性能提供重要参考。

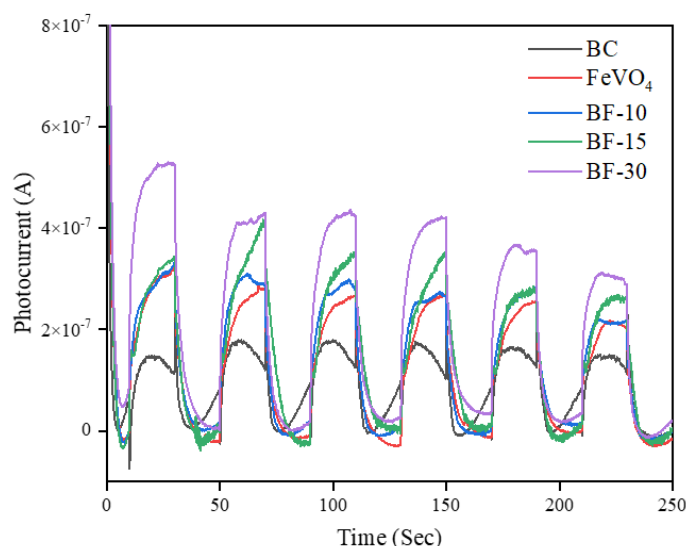


图 2-8 复合材料的光电流分析图

Fig. 2-8 Photocurrent analysis of composite materials

这种组合方法显著提高了整体光催化效率^[62], 使 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料成为可持续能源和环境应用邻域极具潜力的候选材料。本研究对所有制备样品进行了光电流响应分析, 结果显示, 当光源关闭时, 所有样品均表现出较低的电流响应 ($\sim 2 \mu\text{A}/\text{cm}^2$), 而当可见光开启时, 光电流密度显著增加。与纯生物炭 (BC) 和纯 FeVO_4 相比, 所有复合样品的光电流密度都显著提升, 最高可达 $35 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, 其中 BF-15 和 BF-30 (图 2-8) 表现出最高的光电流密度, 这表明复合材料凭借其高效的可见光吸收能力而有效分离光生电子, 从而显著增强反硝化过程。

2.3.6 Zeta 电位分析

在反硝化过程中, Zeta 电位对于理解胞外聚合物 (EPS) 与微生物之间的相互作用方面具有重要意义。EPS 由微生物分泌的生物聚合物组成, 对反硝化环境中微生物群落的絮凝、聚集和稳定性具有显著影响。Zeta 电位测量的是颗粒或胶体系统剪切平面上的静电势, 有助于了解微生物聚集体的表面电荷和稳定性。在反硝化过程中, 负的 Zeta 电位^[63]通常表示微生物细胞与其 EPS 之间存在排斥力, 从而阻止聚集并促进单个细胞活动。然而, Zeta 电位的变化 (例如向负值较小的方向转变) 可能表明 EPS 与微生物之间存在相互作用, 通过影响细胞粘附、生物膜形成和营养物质可用性来影响反硝化效率。监测反硝化系统中的 Zeta 电位有助于优化微生物活动的条件并增强脱氮过程。

本研究使用 Zeta Plus 仪器 (Brookhaven Instruments Corp, 纽约州霍尔茨维尔, 美国) 测量 Zeta 电位, $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 的 Zeta 电位值在不同条件下表现出显著差异

(图 2-9)。纯 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 的零电荷点 (PZC) 约为 $\text{pH}_{\text{PZC}}=4.4$ ，而在存在 EPS 的情况下，该点增加到 6.5。这表明 EPS 在反硝化过程中显著提高了 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 的零电荷点 (PZC)。吸附在 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 上的 EPS 不仅作为牺牲剂，还降低了 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 和硝酸根离子之间的静电排斥，从而促进了硝酸根移动到催化剂表面，并加速了 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 的光催化硝酸根还原。

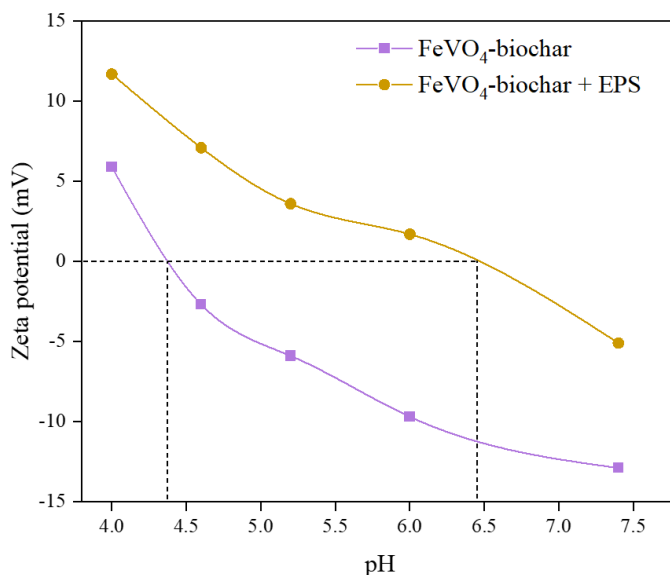


图 2-9 Zeta 电位分析图

Fig. 2-9 Zeta potential nalysis chart

2.3.7 UV-Vis (紫外可见光分析)

紫外可见漫反射光谱 (DRS) 是表征复合材料光学特性的重要技术，尤其在光催化和太阳能收集等领域具有广泛应用。通过测量紫外和可见光区域的光漫反射，DRS 可提供有关复合材料吸收特性^[64]、电子跃迁和带隙的详细信息。对于金属氧化物-半导体或半导体-碳复合材料等体系，DRS 有助于识别成分之间的相互作用以及其对材料吸收光的能力的影响。吸收边缘的偏移或光吸收强度的变化可以指示带隙的调节，这对于优化复合材料的光催化性能或光吸收效率至关重要。通过对紫外可见 DRS 光谱分析，研究人员可以修改复合材料的光学特性来定制复合材料，以适应光催化等特定应用，从而提高其在特定光照条件下的性能。

本研究采用 Shimadzu UV-3600 分光光度计对制备的 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 复合材料的 DRS 光谱和光学特性进行了分析。结果显示，纯 FeVO_4 的吸收边约为 300-400 nm，而在添加生物炭后，所有复合样品的吸收强度显著增加，并且吸收边发生红移至约 400-500 nm (图 2-10a)。此外，通过 Tauc 图分析计算得到相应的带隙值表明，向生物炭中添加 FeVO_4 显著降低了复合材料的带隙 (图 2-10b)，这一变化有助于复

合材料更有效地吸收可见光，从而产生更多的光生电荷载流子，进而改善电子转移并增强反硝化活性。

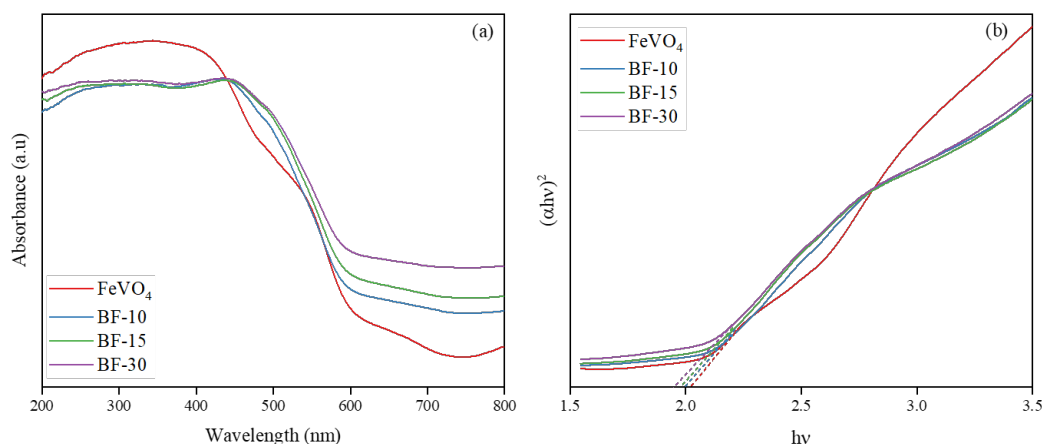


图 2-10 紫外可见漫反射光谱 (DRS)图

Fig. 2-10 V-Vis Diffuse Reflectance Spectrum (DRS)

2.3.8 X 射线光电子能谱 (XPS) 分析

为深入探究生物炭表面的化学物质组成以及相关元素之间的成键价态，本研究采样 Thermo Scientific K-Alpha 型 X 射线光电能谱仪进行测试，并借助 XPS PEAK 软件对测试数据进行分析。实验中，设定操作电压 12.5 kV，利用 Al K α 射线（能量为 1486.6eV）对样品的化学元素组成及价态进行分析。X 射线光电子能谱（XPS）作为一种表面敏感的分析技术，能够提供材料的元素组成、化学状态和键合环境的详细信息。在分析 FeVO₄@biochar 复合材料时，XPS 不仅揭示了 FeVO₄ 和生物炭成分之间的相互作用，还阐明了其表面特性如何影响材料的整体性能。通过检测 FeVO₄ 中铁（Fe）和钒（V）的氧化态，XPS 能够反映它们的氧化还原行为及其在光催化或储能等反应中的参与情况。此外，XPS 还可以识别生物炭表面的功能基团，如含氧官能团，这些含氧官能团可能会影响复合材料的导电性和电荷转移能力。通过分析核心能级电子的结合能和峰值强度^[65]，XPS 有助于确定 FeVO₄ 和生物炭之间的相互作用程度以及材料的表面化学性质，从而使其成为优化复合材料在光催化、储能和环境修复等各种应用中的性能的重要工具。

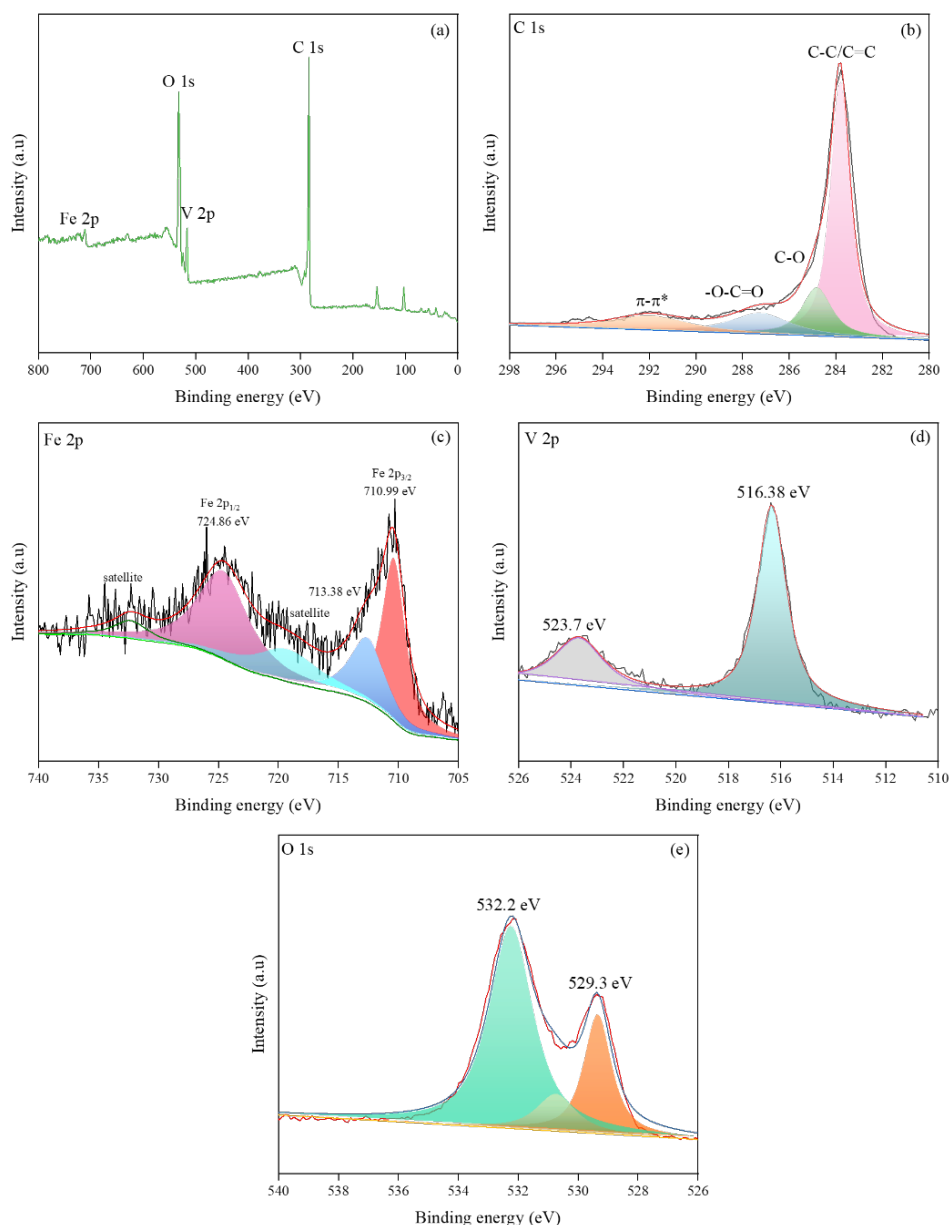


图 2-11 X 射线光电能谱 (XPS)图

Fig. 2-11 X-ray photoelectric spectrum (XPS)

基于本研究的其他结果，对性能最佳的 BF-15 复合样品进行了 XPS 分析，以深入了解所制备样品的化学组成，图 2-11 展示了不同元素 Fe、V、O 和 C 的 XPS 光谱。结果显示，在 BF-15 复合样品中，全谱图清晰地显示了所有元素的存在，证实了 FeVO_4 和生物炭在复合材料中的共存（图 2-11a）。此外，Fe2p 的高分辨率 XPS 光谱在 710.89 eV ($2p^{3/2}$)、712.85 eV 和 724.86 eV ($2p^{1/2}$) 处显示出三个特征峰（图 2-11d）。V2p 的光谱可以解卷积为 516.8 eV 和 524.1 eV 处的两个峰，分别归属于 V $2p^{3/2}$ 和 V $2p^{1/2}$ （图 2-11e）。O1s 的光谱在 529.3 eV 处出现一个峰，归属于 FeVO_4 催化剂中的氧，而 532.2 eV 处的峰则归属于生物炭中的 O-C=O（图 2-11e）。C1s 的高

分辨率光谱在 283.8 eV、285.6 eV 和 287.7 eV 处出现峰，分别对应于 C-C、C=O 和 O-C=O（图 2-11b）。研究结果表明，生物炭的添加并未改变 FeVO₄ 的化学状态，且两种材料在复合后仍保持其原有特性，这有助于它们在反硝化过程中发挥更高的活性。

2.4 本章小结

本章通过一系列材料表征技术，对 FeVO₄@biochar 复合材料的形貌、结构、元素组成及其电化学和光电化学特性进行了全面分析。扫描电子显微镜（SEM）和透射电子显微镜（TEM）的形貌分析结果显示，FeVO₄ 纳米颗粒在所有复合材料中均匀分布在生物炭表面，并与生物炭紧密结合。这种独特的结构不仅增强了复合材料的稳定性，还为反硝化过程中高效的性能表现提供了有力支持。X 射线衍射（XRD）分析进一步证实了复合材料的晶体结构特性，表明 FeVO₄ 的引入并未改变生物炭的基本结构，且二者之间存在着良好的相容性。

X 射线光电子能谱（XPS）分析揭示了复合材料的元素组成及价态信息，明确了 FeVO₄ 与生物炭之间的相互作用，以及这种相互作用如何影响复合材料的表面化学性质。电化学研究，包括循环伏安法（CV）和电化学阻抗谱（EIS）分析，深入评估了复合体系中电子传递机制的能力。EIS 奈奎斯特图清晰地表明，随着 FeVO₄ 含量的增加，复合材料的电子传递电阻显著降低，证实了复合样品具有更优的电子传递能力。循环伏安法测试结果进一步支持了这一结论，表明 FeVO₄ 的加入显著提升了复合材料的电化学活性。

光电流测试结果则从另一个角度验证了复合材料的性能优势。在关闭光源时，所有样品的电流响应均较低（约为 2 μA/cm²），而在可见光开启时，光电流密度显著增加。这一现象表明，复合材料凭借其高效的可见光吸收能力，能够有效分离光生电子，从而在光照条件下展现出优异的光电化学活性。这一特性对于提升复合材料在光催化反硝化过程中的效率具有重要意义。

综上所述，本章通过系统的材料表征和性能测试，全面揭示了 FeVO₄@biochar 复合材料的结构特性及其在电化学和光电化学领域的应用潜力。研究结果表明，FeVO₄ 与生物炭的复合不仅优化了材料的电子传递和光电化学性能，还为反硝化过程中的高效氮去除提供了有力保障。这些发现为后续章节中复合材料在实际水处理应用中的进一步研究奠定了坚实的基础。

第3章 生物炭负载钒酸铁耦合微生物增强反硝化实验研究

3.1 引言

随着工业化和城市化的加速推进，水体中的氮污染问题愈发严峻，已成为全球性的重大环境挑战之一。尤其是硝酸盐和亚硝酸盐污染^[66]，不仅会引起水体富营养化，还可能通过食物链累积，对人类健康构成潜在威胁。传统的氮污染处理方法，如物理沉降、化学沉淀和生物脱氮，往往存在效率低、成本高或引发二次污染等问题，难以满足日益严格的环保要求。

近年来，生物炭作为一种环境友好型的碳质材料^[67]，凭借其独特的物理化学性质和显著的环境修复潜力而受到广泛关注。生物炭具有高比表面积、丰富的孔隙结构和良好的化学稳定性，能有效吸附和固定多种污染物。钒酸铁作为一种高效的催化剂，在氧化还原反应中展现出卓越的性能，尤其在促进污染物的转化和降解方面具有巨大潜力。微生物反硝化作为一种生物脱氮技术，通过利用微生物将硝酸盐还原为氮气，实现氮的无害化处理，但其效率受到电子供体可用性和环境条件等多种因素的影响。

本研究旨在探索生物炭负载钒酸铁耦合微生物反硝化技术在提高氮去除效率方面的潜力。通过将生物炭与钒酸铁结合，利用生物炭的吸附特性和钒酸铁的催化活性，协同增强微生物反硝化过程，从而实现更高效的氮污染控制。本研究将系统探讨 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 对微生物反硝化的影响机制，并评估其在实际水处理中的应用前景。这项研究不仅为氮污染治理提供新的技术途径，也为生物炭和钒酸铁的环境应用提供理论依据和实践指导。

3.2 脱氮试验

3.2.1 实验方法

通过改变 FeVO_4 质量%（10、15 和 30），制备了不同重量百分比（wt %）的 FeVO_4 与生物炭的复合材料。具体步骤如下 2.2.3。在完成上述不同重量百分比的复合材料制备后，进行脱氮实验。

3.2.2 生物炭负载钒酸铁耦合微生物脱氮实验

所有反硝化实验的活性污泥（厌氧）均采自安徽省芜湖市朱家桥工业污水处理厂。污泥在采集后立即转移至个冰盒中，并储存在实验室冰箱中以备后续实验使用。在反硝化批量试验中，以污泥做为接种物，其反硝化培养基的详细

组成如下：

（一）反硝化培养基的配制

反硝化培养基组成（每升）：1000 mg 葡萄糖、100 mg $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、25 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、300 mg KH_2PO_4 、100 mg NaNO_3 和 300 mg NaHCO_3 。向培养基中添加 1 mL/L 微量元素溶液，其中微量元素溶液组成（mg/L）：450 mg $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、52 mg ZnCl_2 、100 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、190 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、24 mg $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、29 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、36 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 30 mg H_3BO_3 。将培养基 pH 调节至 7.0 ± 0.1 并在 121°C 下灭菌 15 分钟。

（二）反硝化还原实验系统

所有反硝化实验均在 150 mL 厌氧血清瓶中进行，实验前，将制备好的反硝化培养基置于氮气中吹扫约 15 分钟，以保持适宜的厌氧条件。向 5 个血清瓶中加入 100 mL 制备好的培养基、10 mL 活性污泥（反硝化微生物培养基）和 150 mg/L 浓度的制备材料，即生物炭(BC)、 FeVO_4 (FV)、BF-10、BF-15 和 BF-30。对照瓶仅添加培养基，以评估制备的材料对反硝化过程的实际作用。将实验系统的厌氧瓶密封好，在 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 的光照培养箱中培养 7 天，配备可见光源（Xe 灯；300 W）。期间每隔 1 天采集 1 次样品，离心除去上清液后，分析硝酸盐（ NO_3^- -N）、亚硝酸盐（ NO_2^- -N）浓度和氨氮（ NH_4^+ -N）浓度。

3.2.3 硝酸盐和亚硝酸盐的浓度测定

采用紫外分光光度法（220 ~ 275）nm 和 n-1-萘乙二胺二盐酸分光光度法（543 nm）分析硝酸盐和亚硝酸盐的浓度。测定硝酸盐时，取 2 mL 样品与 1 mL 1 M 盐酸和 0.1 mL 0.8% 氨基磺酸混合均匀。测定反应混合物在 220 和 275 nm 处的吸光度，所得吸光度用于测定硝酸盐浓度。测定亚硝酸盐时，将 1 mL 样品用 10 mL 蒸馏水稀释，加入 0.2 mL N-1-萘乙二胺二盐酸显色剂，室温下反应 90 分钟。在 543 nm 处测定吸光度。

3.2.4 氨氮浓度的测定

用纳氏试剂分光光度法检测溶液中 NH_4^+ -N 的浓度，在碱性溶液中，纳氏试剂中的 KI 和 HgI_2 与 NH_4^+ -N 反应生成淡黄色胶态化合物，该胶态物质在 410 nm~425 nm 处有很强的吸收。

标准曲线的绘制：称取 1.9103 g 纯度 AR 的 NH_4Cl ，在洗净的烧杯中用超

纯水溶解，转移至 1 L 的容量瓶中并定容，所配置的溶液为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 标准储备液，浓度为 500 mg N/L。用量筒量取 100 mL 标准储备液，转移至 1 L 的容量瓶中并定容，所配置的溶液为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 标准使用液，浓度为 50 mg N/L。取 6 支 50 mL 比色管，分别加入储备液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、1.0 mL，并用超纯水定容到 50 mL。随后加入 2.0 mL 的饱和酒石酸钾钠溶液和 1.5 mL 纳氏试剂，显色 10 min 后以 50 mL 去离子水为参比，用石英比色皿（光程为 10 mm）在 420 nm 处测量吸光度。在用加入显色剂的超纯水扣除背景值之后，然后以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度为横坐标，吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

样品的测试：在实验过程中，在预设的取样时间点取 3 mL 左右的溶液样品，用 0.22 μm 孔径的尼龙过滤头过滤，取 1 mL 过滤后的样品，用超纯水稀释至 50 mL，加入 2.0 mL 的饱和酒石酸钾钠溶液和 1.5 mL 纳氏试剂后静置 10 min，随后在 420 nm 处测量吸光度。样品的稀释倍数和标线配置的稀释倍数相同，可直接通过标线计算出稀释前溶液中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度，即水样的实际 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度。

3.3 微生物反硝化还原实验

3.3.1 C/N 对反硝化脱氮过程的影响

在微生物脱氮过程中，C/N 是影响氮去除效率的重要因素。因此本次实验针对不同类型的生物炭耦合光催化剂在不同 C/N 条件下对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除效率的影响。结果如图 3-1 所示，可以看出随着 C/N 比的逐渐增大，硝酸盐的去除效率逐渐升高，C/N=10 时，硝酸盐去除效率最高，这主要是得益于碳源的增加能够为微生物反硝化过程提供更多的电子供体，促进反硝化的进行。

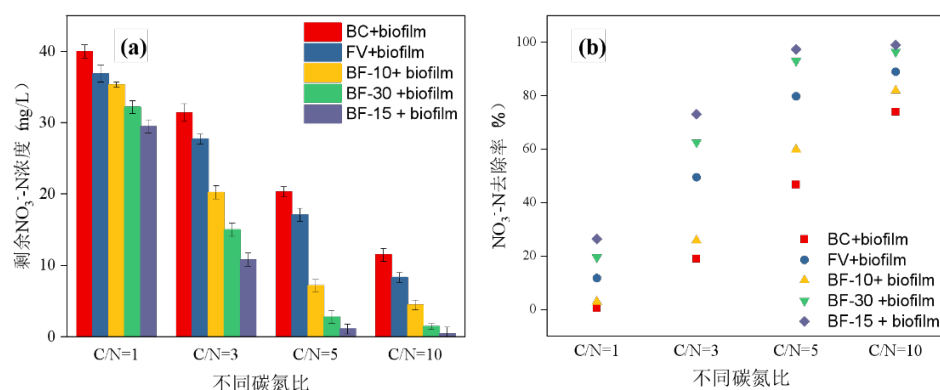


图 3-1 不同 C/N 条件下剩余硝态氮浓度 (a) 和硝酸盐去除率 (b)

Fig. 3-1 Changes of nitrate concentration at different C/N ratio(a), and efficiency of nitrate reduction (b)

3.3.2 温度对反硝化脱氮过程的影响

在微生物反硝化过程中，反应温度是影响细胞代谢活性及微生物脱氮过程的重要影响因素。图 3-2 展示了不同温度梯度条件下不同类型生物炭耦合光催化剂对脱氮体系中 NO_3^- -N 的去除效果。由图可知，在同一反应体系中，随着温度的逐渐升高，反硝化脱氮反应速率呈现先升高后降低的趋势。这主要是由于当温度过低时，微生物细胞活性较低，营养物质的跨膜运输受阻，微生物的生长和代谢活动速率降低或者停滞，造成反硝化速率降低。随着温度的升高细胞活性逐渐升高，反硝化脱氮效率随之提高，但温度过高时，由于亚硝酸盐还原酶对温度异常敏感，细胞组分(如蛋白质和核酸)开始变性失去活性，进而造成细胞活性降低导致反硝化效率的下降。

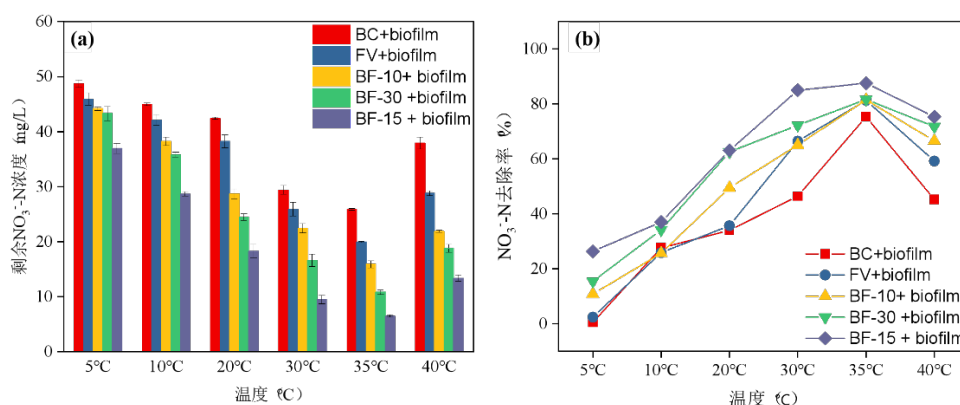


图 3-2 不同温度条件下剩余 NO_3^- -N 浓度 (a) 和 NO_3^- -N 去除率 (b)

Fig. 3-2 Remain nitrate concentration at different temperature(a), and efficiency of nitrate reduction (b)

3.4 实验结果分析

为测定硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮浓度的变化，在所有批次实验中每 24 小时采样一次。对最适温度条件下和最优 $\text{C/N}=10$ 的实验条件下硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮浓度进行测定，实验结果显示，在未添加催化剂的条件下，污泥的硝酸盐浓度降低 27.3%（从 100 mg/L 降至 72.7 mg/L），对纯生物炭（BC）和 FeVO_4 （FV）中，硝酸盐浓度分别降低了 34.3%（从 100 mg/L 降至 65.7 mg/L）和 38.6%（从 100 mg/L 降至 61.4%）。添加复合样品后，硝酸盐还原效率显著提高，其中 BF-10 复合样品的硝酸盐去除率高达 76.4%，而 BF-15 复合样品的硝酸盐去除率则提高至 87.6%（从 100 mg/L 降至 12.4 mg/L）（图 3-

3)。这种硝酸盐去除效率的提升可能是由于 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料的光电子可以转移至微生物群落中，从而促进硝酸盐还原为氮气分子。然而，在添加 BF-30 (FeVO_4 为 30 wt %) 后，硝酸盐还原效率显著降低，这可能是由于较高浓度的催化剂抑制了微生物群落中某些微生物的细胞活力，降低了硝酸盐的去除率。催化剂的用量应既能满足反应需求，同时不影响微生物群落的活力。其他研究者也报告了类似结果。例如，Yusoff 等^[68]报道，在采用同时光生物降解的顺序批式反应器中，较高的 ZnO 含量显著降低了苯酚的降解。另有研究表明，在紧密耦合的光催化与生物降解 (ICPB) 系统中，光催化剂用量的增加对阳极电流有显著影响。这些结果表明，在所有制备的样品中，BF-15 是最佳的催化剂，能够在反硝化过程中有效地将电子传递给微生物群落。

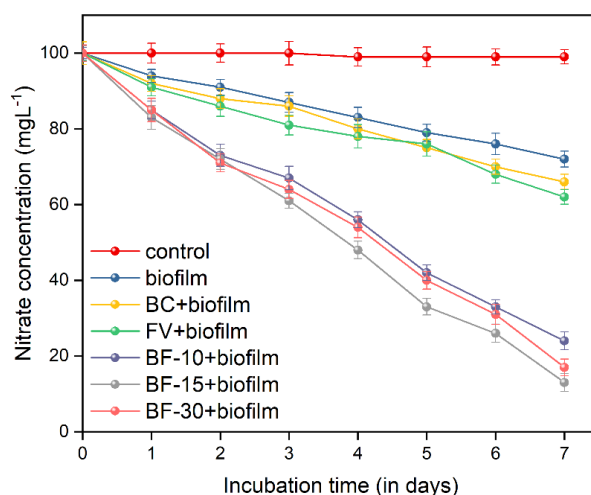


图 3-3 培养过程中硝酸盐浓度的变化

Fig. 3-3 Changes in the concentration of Nitrate during the incubation

在反硝化实验中，还对微生物反硝化过程中亚硝酸盐的浓度进行了分析。结果显示，与其他与污泥复合的样品相比，复合样品的亚硝酸盐浓度显著降低。所有样品的亚硝酸盐浓度在第 4 天呈显著升高趋势，而在第 7 天呈下降趋势。此外，在第 1 至 7 天的复合处理过程中亚硝酸盐浓度均有积累，表明生成的硝酸盐未完全转化为 NO 、 NO_2 和 N_2 。尽管复合样品中的亚硝酸盐积累量较高，但在第 7 天，BF-10、BF-15 和 BF-30 的浓度分别降至 11.4 mg/L、4.3 mg/L 和 8.8 mg/L (图 3-4)。亚硝酸盐浓度的显著积累和降低可归因于微生物群落的有效生长以及 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合样品中电荷转移电子的可用性。先前的研究

也报道了类似的结果，即添加生物炭和氧化还原介质增强了微生物反硝化过程。纯污泥、BC 和 FeVO_4 样品中亚硝酸盐的浓度高于复合样品，可能是由于 BC 和 FeVO_4 的电子转移比其他复合样品少。高浓度亚硝酸盐的积累会导致有毒的 $\text{NO}/\text{N}_2\text{O}$ 的产生。在所有复合样品中，BF-15 在 7 天后的亚硝酸盐积累量显著降低，还原速率较高。这表明在 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合样品和微生物污泥存在的情况下，硝酸盐和亚硝酸盐的去除对 N_2 具有很高的选择性，为硝酸盐还原为 N_2 提供电子供体至关重要。研究结果表明， $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料的加入能够很容易地为微生物污泥提供足够的电子，从而将硝酸盐转化为 N_2 。在反硝化实验中，随着生物炭中 FeVO_4 wt % 的增加，亚硝酸盐的还原率从 BF-10 增加到 BF-15，而在 BF-30 中，由于在硝酸盐还原过程中提到的污泥中微生物群落的可用性不足，亚硝酸盐的还原率进一步下降，这可能是由于生物炭中过量的 FeVO_4 wt % 的增加抑制了活性污泥中反硝化细菌的活性。

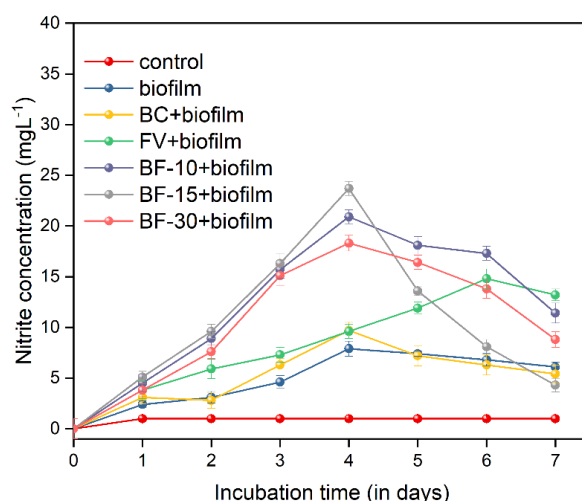


图 3-4 培养过程中亚硝酸盐浓度的变化

Fig. 3-4 Changes in the concentration of Nitrite and during the incubation

在反硝化实验过程中，还对所有批次实验中氨的浓度进行了分析。结果显示，复合样品中氨的浓度高于纯污泥、BC 和 FeVO_4 样品（图 3-5）。这种现象可能是由于微生物群落和 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 样品之间有效的电子传递。一些研究也强调了类似的现象，即活性炭和碳管作为氧化还原介质，能够有效的将电子传递到微生物群落^[69]。另一项研究表明，活化的生物炭已成为硝酸盐转化为氨的促进剂，其中氢作为电子传递体。研究结果表明， $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料

样品产生的光电子很容易被电活性细菌利用，从而促进硝酸盐反硝化过程。反硝化过程主要有两种机制：一种是硝酸盐转化为 N_2 ，另一种是氨的厌氧氧化（Annamox），其中氨转化为 N_2 ；还有一种是异化硝酸盐还原为氨（DNRA）。在本实验过程中，硝酸盐转化为氨的 DNRA 过程已经发生，然而，在第 4 天后，氨的浓度显著下降，这表明氨通过 Annamox 过程进一步转化为 N_2 。可能，DNRA 和 Annamox 工艺都可能在反硝化过程中发挥主要作用，而这些耦合方法在硝酸盐转化方面可能具有竞争力。值得注意的是，虽然在所有复合样品中都观察到氨的浓度，但它们处于痕量水平。因此，我们认为在本研究中，微生物群落的主要反硝化过程可能主要受硝酸盐向亚硝酸盐转化的影响。此外，本研究还比较了以往报道的光催化材料反硝化工艺，结果见表 3-1。

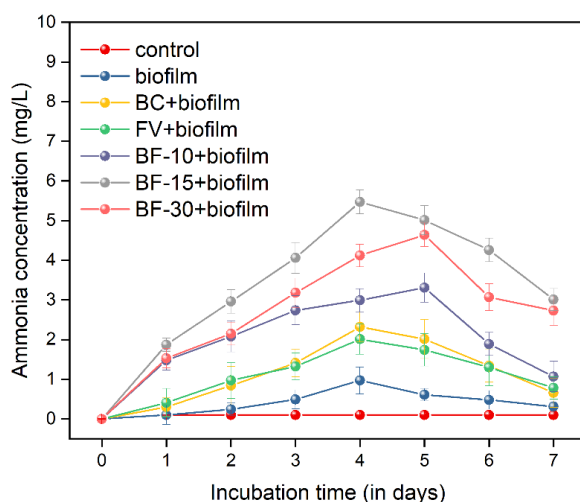


图 3-5 培养过程中氨浓度的变化

Fig. 3-5 Changes in the concentration of Ammonia during the incubation

表 3-1 已报道的光催化材料反硝化工艺

Table 3-1 Nitrate removal efficiency by the previous reports

No.	Catalyst	Method	Efficiency (%)	Ref
1	NH ₂ -MIL-101(Fe)	NH ₂ -MIL-101(Fe) + sludge	85.2	[11]
2	Biochar Fe (0)	Biochar + Fe (0)	83.1	[12]
3	Cu/TiO ₂	Cu/TiO ₂	76.5	[13]
4	TiO ₂ /g-C ₃ N ₄	TiO ₂ /g-C ₃ N ₄ + river sediment	72.3	[14]
5	FeVO ₄ @biochar	FeVO ₄ @biochar + sludge	87.6	This study

3.5 本章小结

在反硝化脱氮实验中，对所有样品每 24 小时采样一次，检测硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮的浓度变化。实验结果显示，在未添加催化剂的条件下，污泥能够将硝酸盐浓度降低至 27.3%（从 100 mg/L 降至 72.7 mg/L），而纯生物炭（BC）和 FeVO_4 （FV）的降解率分别达到 34.3%（从 100 mg/L 降至 65.7 mg/L）和 38.6%（从 100 mg/L 降至 61.4 mg/L）。在添加复合样品后，硝酸盐的去除效率显著提高，其中 BF-10 的去除效率达到 76.4%，而 BF-15 复合样品的去除效率则提高至 87.6%（从 100 mg/L 降至 12.4 mg/L）。这种显著提升的硝酸盐去除效率可归因于 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 生物炭复合材料产生的光生电子能够传递给微生物群落，从而促进硝酸盐还原为氮气的反应。然而，在添加 BF-30 后，硝酸盐去除效率显著降低，这可能是由于过高的催化剂浓度导致微生物群落中某些微生物的活性降低。因此，催化剂的用量应既能满足反应需求，同时又不影响微生物群落的活性。综合以上结果，BF-15 是在所有制备的样品中表现最佳的一组，是反硝化过程中将电子高效传递给微生物群落的理想催化剂。

结果表明，在制备的具有不同 wt % FeVO_4 的复合材料中，与纯生物炭、 FeVO_4 和微生物污泥相比，生物炭负载钒酸铁耦合微生物反硝化的效率显著提高了，说明了生物炭与钒酸铁光催化剂结合后有利于微生物的反硝化，这表明 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 通过为微生物群落中的电活性细菌提供足够的电子，显著提升了反硝化效率，为微生物提供了更多的电子供体。对于反硝化过程中的酶活性以及电子转移机制需要我们做更进一步的实验研究，后续研究将聚焦于生物炭负载钒酸铁耦合微生物反硝化的脱氮性能及其作用机理。

第 4 章 生物炭负载光催化剂耦合微生物强化脱氮性能及其机理研究

4.1 引言

反硝化脱氮是在缺氧条件下，反硝化微生物利用有机物作为电子供体，在各种酶参与下将硝酸根离子（ NO_3^- ）还原为氮气（ N_2 ），凭借其环境友好、处理成本低等优势已成为氮污染控制的主要技术工艺。然而在实际污水处理过程中，受低碳氮比（C/N）、低温、有毒有害物质等诸多复杂外界环境因素的干扰，往往存在微生物活性较低，导致反硝化脱氮速率缓慢、水力停留时间延长等问题。众多研究表明，微生物驱动的反硝化脱氮过程涉及多重电子转移，其反硝化脱氮性能主要取决于电子的产生、转移和利用效率。因此，加快反硝化脱氮微生物种间电子传递速率是促进反硝化脱氮的重要途径之一。

为进一步探究光生电子对微生物群落反硝化能力的影响，进行了反硝化系统活度分析、微生物群落结构分析、微生物群落结构变化分析，对所有批次实验均进行了高通量测序分析。考察了微生物电子转移促进反硝化脱氮的技术可行性，并结合电化学和分子生物学分析手段深入探讨了强化反硝化脱氮作用机制。

4.2 反硝化系统活度分析

4.2.1 反硝化过程中酶活性的测定

测定反硝化过程中硝酸盐还原酶（NAR）和亚硝酸盐还原酶（NIR）的活性对于理解缺氧条件下微生物将硝酸盐还原为氮气的过程至关重要。以下是检测反硝化过程中环境或生物样品中 NAR 和 NIR 酶活性的一般方法：

在实验第 7 天结束时，从每组取 5 mL 混浊水混合液分析关键酶活性。采用试剂盒法（96T, Jing Kang Bio, China）进行 NAR 分析。首先将样品摇匀，使用还原剂二硫苏糖醇（DTT）将样品悬浮在磷酸盐缓冲液（0.1 M, $\text{pH} \approx 7.4$ ）中制备酶提取物。然后将摇匀后的样品以 10000 转/分离心 10 分钟，以去除细胞碎片并获得透明的上清液，该上清液即为酶提取物，需要将其保存在冰块上以备即时使用。然后在厌氧室缺氧条件下培养酶提取物。取 50 μL 反应缓冲液、50 μL 硝酸盐底物溶液、50 μL NADH 溶液（在反应缓冲液中新鲜制备）、50 μL

酶提取物（取自样品），在 30℃下孵育 30 分钟，使硝酸盐还原酶将硝酸盐还原为亚硝酸盐。孵育结束后，在反应混合物中加入 100 μL Griess 试剂，Griess 试剂与亚硝酸盐反应生成粉红色偶氮染料，从而终止反应。样品在室温下进一步孵育 10 分钟，使其显色。用分光光度计在 540 nm 处测定染色产物的吸光度。NAR 的活性是根据每毫克蛋白质每分钟产生的亚硝酸盐的微摩尔数来确定的，与标准曲线上产生的亚硝酸盐进行比较。

同样地，对于亚硝酸盐还原酶（NIR）的测定，采用试剂盒（kit）法（96T, Jing Kang Bio, China）进行近红外分析，酶提取物是通过将样品悬浮在匀浆样品的磷酸盐缓冲液（0.1 M, pH $\approx$ 7.4）中制备，然后将摇匀后的样品以 10000 转/分离心 10 分钟，以去除细胞碎片并获得清晰的上清液。然后在厌氧室缺氧条件下培养酶提取物。再取 50 μL 反应缓冲液、50 μL 亚硝酸钠溶液（1 mM）、50 μL NADH 和 50 μL 酶提取物，总体积为 200 μL ，在 30℃孵育 30 分钟，使亚硝酸盐还原酶还原亚硝酸盐。孵育结束后，在反应混合物中加入 100 μL Griess 试剂，Griess 试剂与亚硝酸盐反应生成粉红色偶氮染料，终止反应。样品在室温下进一步孵育 10 分钟，使其显色。最后，使用分光光度计在 540 nm 处测定染色产物的吸光度。

4.2.2 电子传递系统活度分析

本研究采用 Wan 等^[70]的方法将 2-异苯基-3-对硝基苯基-5-苯基四唑氯铵（INT）还原为甲氮杂（INF）的方法检测悬浮液样品中细菌的 ETSA。具体步骤如下：取 1 mL 污泥样品，加入 2 mL 浓度为 0.2%的 INT 溶液，混合均匀；然后将上述溶液置于黑暗条件下孵育约 20 分钟，以确保反应充分进行。随后，在孵育后的溶液中加入 0.2 mL 甲醇，将反应后的溶液在 10,000 rpm 下离心 5 分钟，分离出沉淀，再将所得沉淀用 4 mL 96%甲醇溶液重溶，使用 TU-1901 紫外可见分光光度计（北京脉冲通用仪器有限公司）在 495 nm 处测定吸光度。ETSA 值由下式计算：

$$ETSA (\mu\text{g } O_2.g^{-1}.min^{-1}) = \frac{Ab \times V \times 32}{15.9 \times 2 \times S \times t}$$

式中 Ab 为吸光度，V 为再溶解甲醇体积（mL），S 为样品体积（mL），t 为孵育时间（min）。

4.2.3 细胞外聚合物的提取和定量

细胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS) 的提取和定量分析参考了先前的研究方法。具体步骤如下: 在反硝化培养基培养 7 天后, 收集培养物, 用冷却离心机在 4 °C、12000 rpm 离心 15 分钟, 分离上清液, 将上清液与三倍的冰异丙醇混合, 置于 -20 °C 孵育过夜, 以沉淀细胞外聚合物。将沉淀的细胞外聚合物收集成颗粒, 悬浮于 1 倍浓度的磷酸盐缓冲盐水 (PBS-137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄ 和 2 mM KH₂PO₄, pH 7.4) 中。采用 Lowry 法测定 EPS 中总蛋白质含量, 采用 Anthorne 法测定 EPS 中总碳水化合物含量。通过上述步骤, 本研究系统地提取并定量分析了胞外聚合物 (EPS) 的组成, 为深入理解其在反硝化过程中的作用提供了重要的实验依据。

4.2.4 实验结果分析

反硝化过程涉及四个关键步骤, 分别由硝酸盐还原酶 (NAR)、亚硝酸盐还原酶 (NIR)、一氧化氮还原酶 (NOR) 和氧化亚氮还原酶 (NOS) 催化。NAR 将硝酸盐转化为亚硝酸盐, 分为膜结合型 (Nar) 和质周型 (Nap)。Nar 由 narGHI 基因编码, 与厌氧硝酸盐呼吸和反硝化密切相关; Nap 由 NapA 和 NapB 基因编码, 主要在好氧条件下发挥作用。NIR 将亚硝酸盐还原为一氧化氮, 分为细胞色素 cd1 型 (cd1NIR) 和含铜型 (CuNIR), 分别由 NirS 和 NirK 基因编码。NOR 将一氧化氮还原为一氧化二氮, 分为短链 cNor (由 NorC 基因编码) 和长链 qNor (由 NorB 基因编码)。NOS 将氧化亚氮转化为氮气, 由 nosZ 基因编码, 是完成反硝化过程的关键酶, 表 4-1 是完成反硝化过程的关键酶和基因。

表 4-1 反硝化反应中涉及的酶和基因

Table 4-1 The enzymes and genes involved in the denitrification process.

Denitrification reactions	Enzymes	Genes
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2$	Nitrate reductase	NapA, NapB, NarGHI
$\text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$	Nitrite reductase	NirS, NirK
$2\text{NO} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$	Nitric oxide reductase	NorB, NorC
$\text{N}_2\text{O} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$	Nitrous oxide reductase	NosZ

实验结果表明, FeVO₄@biochar 复合材料显著提升了反硝化效率。在 7 天的反硝化实验中, BF-15 样品的 NAR 活性比纯污泥高出 3.22 倍, NIR 活性高出

4.57 倍，电子传递系统活性（ETSA）高出 3.34 倍。随着培养时间的延长，ETSA 活性逐渐增加，表明光电子从催化剂向微生物群落的转移持续进行。BF-15 样品中较高的 NAR 和 NIR 活性表明， FeVO_4 产生的光电子通过生物炭传递至微生物群落，作为电子供体促进了反硝化过程^[71]。尽管所有复合样品的 NIR 活性均为 NAR 活性的两倍，但亚硝酸盐在批处理实验中仍有积累。这可能与 NIR 活性受到一氧化氮过量产生的抑制有关。然而，亚硝酸盐浓度在第 4 天后显著下降，表明电子能够有效传递给微生物群落，进一步转化为亚硝酸盐。其他酶如 NOR 也参与反硝化过程，涉及一氧化氮的进一步转化。BF-15 样品中亚硝酸盐的累积浓度增加，可能是由于光电子的有效转移。先前的研究也报道了类似现象，即 AQDS 减轻了亚硝酸盐的积累。即使在反应 4 天后，ETSA 活性仍有所增加，表明亚硝酸盐的进一步转化。本研究认为，亚硝酸盐浓度的增加可能与培养期间一氧化氮和一氧化二氮的短时间积累及 NAR 活性增强有关，但随后 NIR 活性的增加表明亚硝酸盐的进一步转化^[72]。

尽管氮气（ N_2 ）是好氧反硝化的理想最终产物，但不完全反硝化可能产生氧化亚氮（ N_2O ），这是一种已知的温室气体。根据美国环境保护署（2014 年）的报告，氧化亚氮占全球温室气体排放量的 6%。因此，选择能够进行完全反硝化的微生物至关重要。然而，针对反硝化中间产物的研究相对较少，且很少有研究关注废水生物处理过程中氧化亚氮的排放。一些假单胞菌（*Pseudomonas* sp.）和海洋杆菌（*Marinobacter* sp.）菌株已被证实能够在好氧条件下进行脱氮，并产生低水平的氧化亚氮。

本研究分析了不同复合样品中 NAR 和 NIR 酶活性随 ETSA 的变化。结果表明， $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合样品的 NAR 活性显著高于其他样品。反硝化实验 7 天后，BF-15 样品的 NAR 酶活性比纯污泥高出 3.22 倍。随着 FeVO_4 质量分数的增加（从 BF-10 到 BF-15），NAR 活性呈上升趋势，但在 BF-30 中略有下降。这可能是由于 BF-30 中细胞活力相对较低，与硝酸盐去除实验结果一致。这一结果进一步证实了 BF-15 是所有样品中脱氮性能最佳的复合材料。NIR 酶活性也呈现出类似的增加趋势，其中 BF-15 的活性比纯污泥高出 4.57 倍。此外，ETSA 活性表现出与 NAR 和 NIR 活性相同的趋势，其中 BF-15 在 7 天后的 ETSA 活性几乎是纯污泥的 3.34 倍。随着培养时间的延长，ETSA 活性逐渐增加，证实了光电子从催化剂向微生物群落的转移未中断。

微生物反硝化过程在很大程度上依赖于 NAR 和 NIR 酶活性以及 ETSA 活性。NAR 和 NIR 活性均直接依赖于硝酸盐和亚硝酸盐转化的电子转移，而 ETSA 的测定对于评估微生物群落的反硝化效果至关重要。随着反硝化时间的增加，ETSA 活性显著增加，证实了 NAR 和 NIR 酶活性的增强，从而加快了反硝化过程。BF-15 样品中较高的 NAR 和 NIR 酶活性表明， FeVO_4 产生的光电子能够通过生物炭传递至微生物群落，并在反硝化过程中作为电子供体。尽管所有复合样品的 NIR 活性均为 NAR 活性的两倍，但在批处理实验中仍观察到亚硝酸盐的积累。这可能与 NIR 活性受到一氧化氮过量产生的抑制有关。尽管亚硝酸盐浓度随时间增加，但在第 4 天后，复合样品中的亚硝酸盐浓度显著下降，表明电子能够有效传递给微生物群落，进一步转化为亚硝酸盐。其他酶如 NOR 也影响反硝化过程，涉及一氧化氮的进一步转化。BF-15 样品中亚硝酸盐的累积浓度增加，可能是由于光电子的有效转移。先前的研究也报道了类似现象，即 AQDS 减轻了亚硝酸盐的积累。即使在反应 4 天后，ETSA 活性仍有所增加，表明亚硝酸盐的进一步转化。本研究认为，亚硝酸盐浓度的增加可能是由于培养期间一氧化氮和一氧化二氮的短时间积累与 NAR 活性增强有关，但随后 NIR 活性的增加表明亚硝酸盐的进一步转化。

4.3 微生物群落结构分析

为了深入研究微生物群落结构，对不同批次试验的所有污泥样品进行了高通量测序分析。具体步骤如下：细菌群落分析用细菌引物 341F（5'-cctaygggrbgcascag-3'）和 806R（5'-ggactacnnggtatcta-3'）扩增 16S rRNA 基因 V3-V4 区。采用 ABI GeneAmp®9700 PCR（美国）进行 PCR 扩增。扩增产物的焦磷酸盐测序使用 Illumina Miseq 测序平台（Shanghai Biozeron Biotechnology Co., Ltd, Shanghai, China）。所有焦磷酸盐测序数据均使用 QIIME 1.9.0 进行处理。每个样本对应的序列 reads 信息已上传到 NCBI SRA 数据库供公众查阅（生物工程号：BZ2024032617385），通过上述步骤，本研究系统地分析了不同样品中的微生物群落结构，为后续的微生物生态学研究提供了重要的数据支持。

4.3.1 催化改良微生物反硝化分析

在所有批次实验中，每 24 小时取样一次，监测硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮浓度的变化。结果显示，在未添加催化剂的条件下，污泥可将硝酸盐浓度降低 27.3%（从 100 mg/L 降至 72.7 mg/L），而纯生物炭（BC）和 FeVO_4 （FV）的

硝酸盐浓度分别降低了 34.3%（降至 65.7 mg/L）和 38.6%（降至 61.4 mg/L）。添加复合样品后，硝酸盐还原效率显著提高，其中 BF-10 的去除效率达到 76.4%，BF-15 的去除效率进一步提高至 87.6%（从 100 mg/L 降至 12.4mg/L）。这种效率提升归因于 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 复合材料产生的光生电子能够传递至微生物群落，从而促进硝酸盐还原为氮气。然而，添加 BF-30 后，硝酸盐还原效率显著下降，这可能是由于过高的催化剂浓度抑制了微生物群落中某些微生物的活性。因此，催化剂的用量应既能满足反应需求，又不影响微生物群落的活性。其他研究也报告了类似结果，表明 BF-15 是反硝化过程中将电子高效传递给微生物群落的最佳催化剂。

在反硝化过程中，亚硝酸盐浓度的变化表明，复合样品中的亚硝酸盐浓度显著低于其他与污泥混合的样品。所有样品的亚硝酸盐浓度在第 4 天显著增加，然后在第 7 天降低。尽管复合样品中亚硝酸盐的积累较高，但第 7 天时，BF-10、BF-15 和 BF-30 的亚硝酸盐浓度分别降至 11.4 mg/L、4.3 mg/L 和 8.8 mg/L。这表明在 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 复合样品和微生物污泥存在下，硝酸盐和亚硝酸盐的去除对 N_2 具有高度选择性。随着生物炭中 FeVO_4 质量分数的增加，亚硝酸盐还原率从 BF-10 增加到 BF-15，而 BF-30 中的还原率进一步降低，这可能是由于污泥中微生物群落的可用性不足。

在培养期间，还对氨氮浓度进行了分析。结果显示，复合样品中的氨氮浓度高于纯污泥、BC 和 FV 样品。这种现象可能是由于微生物群落和 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 样品之间的有效电子转移所致。 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 复合材料样品产生的光电子能够被电活性细菌利用，从而促进硝酸盐到亚硝酸盐的反硝化过程。反硝化过程涉及硝酸盐转化为 N_2 和氨的厌氧氧化（Anammox）两种主要机制。实验结果表明，DNRA 过程已发生，将硝酸盐转化为氨，但第 4 天后氨浓度显著下降，表明氨通过 Anammox 过程进一步转化为 N_2 。尽管在所有复合样品中都观察到了氨的浓度，但它们都处于痕量水平。因此，我们认为微生物群落的主要反硝化过程可能主要受到硝酸盐向亚硝酸盐转化的影响。

4.3.2 测定 NAR、NIR 酶和 ETSA 活性

反硝化过程包括四个步骤，每个步骤都由一系列酶进行。硝酸盐还原酶、亚硝酸盐还原酶、一氧化氮还原酶和一氧化二氮还原酶是参与反硝化的四种主要酶。反硝化途径的第一个酶是硝酸盐还原酶，它将硝酸盐转化为亚硝酸盐。

它有两种类型，根据细胞位置描述为膜结合硝酸盐还原酶（Nar）和周质硝酸盐还原酶（Nap）。Nar 是一种三聚酶复合物（narGHI），与厌氧硝酸盐呼吸和反硝化有关。周质硝酸盐还原酶（Nap）主要存在于有氧条件下，在有氧反硝化中起主要作用。在碳源减少的情况下，其水平较高，Nap 是由 NapA 和 NapB 基因编码的异二聚体。

亚硝酸盐还原酶是参与反硝化作用的第二重要的酶。周质中存在的两种不同的亚硝酸盐还原酶将亚硝酸盐单电子还原为一氧化氮。这两种酶本质上是非同源的。亚硝酸盐还原酶是细胞色素 cd1（cd1NIR）或含铜（CuNIR）酶。含细胞色素 cd1 的酶由 NirS 基因编码，含铜的酶由 NirK 基因编码。据发现，有氧反硝化可以在这两种基因之一或两者存在的情况下进行。NirS 基因是从好氧反硝化菌 *Ps. stutzeri* X31 中分离出来的，NirK 基因是从好氧反硝化菌 *Alcaligenes faecalis* 中分离出来的。

一氧化氮还原酶是一种膜结合酶。它也有两种类型：短链 cNor，由 NorC 基因编码；长链 qNor，由 NorB 基因编码^[80]。这两种基因中的任何一种的存在都足以将一氧化氮还原为一氧化二氮。一氧化二氮还原酶是参与反硝化作用的最后但也是最重要的酶之一，因为它将 N_2O （温室气体）转化为 N_2 。这种酶是完成反硝化过程所必需的。它由革兰氏阴性菌周质中的 NosZ 基因编码^[81]。对于革兰氏阳性菌，由于这些细菌缺乏周质，所有四种酶都是膜结合的。

尽管无害的氮气（ N_2 ）是好氧反硝化的理想最终产物，但不完全反硝化可能会产生一种众所周知的温室气体一氧化二氮。一氧化二氮的产生是人们不希望看到的，据美国环境保护署报告，它被认为占全球温室气体排放量的 6%。因此，最好选择能够进行完全反硝化的生物。目前很少有研究针对反硝化的中间产物。然而，很少有研究人员对生物废水处理过程中的一氧化二氮排放进行研究。一些假单胞菌属和海洋杆菌属的菌株已被证实在好氧条件下脱氮过程中会产生低水平的一氧化二氮。

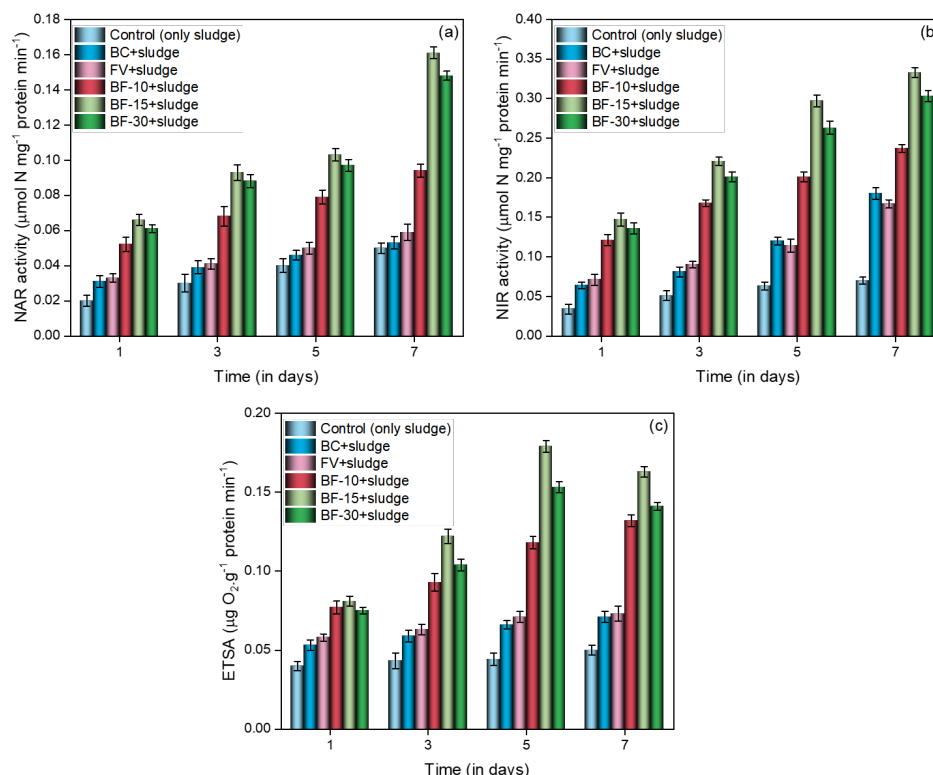


图 4-1 不同批次实验中 (a) NAR、(b) NIR 和 (c) ETSA 含量在孵育过程中酶活性的浓度变化

Fig. 4-1 Concentration changes in the enzyme activity of (a) NAR, (b) NIR and (c) ETSA contents during incubation by the different batch experiments

为了了解不同复合样品中微生物群落的反硝化能力的变化, 研究了 NAR 和 NIR 酶活性以及 ETSA 的变化。结果表明, $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合样品中的 NAR 活性明显高于其他样品。培养 7 天后, BF-15 样品的 NAR 活性比纯污泥高 3.22 倍。随着 FeVO_4 wt% 的增加 (从 BF-10 到 BF-15), NAR 活性也增加, 而在 BF-30 中略有降低 (图 4-1a)。这可能是因为 BF-30 存在的细胞存活率比 BF-15 低, 这与我们的硝酸盐去除实验一致。该结果进一步证实, BF-15 是所有样品中在反硝化过程中表现最好的复合材料。NIR 活性也表现出类似的趋势, 即随着催化剂和孵育时间的增加, NIR 活性增加, 其中 BF-15 的活性比纯污泥高 4.57 倍 (图 4-1b)。此外, ETSA 活性显示出与 NAR 和 NIR 活性相同的趋势, 其中 BF-15 在 7 天后显示出的 ETSA 活性几乎是纯污泥的 3.34 倍 (图 4-1c)。结果还表明, 随着时间的推移, ETSA 活性逐渐增加, 这证实了光电子从催化剂到微生物群落的产生和转移在培养期内没有中断。微生物反硝化过程更显著地依赖于 NAR 和 NIR 酶活性以及 ETSA 活性。NAR 和 NIR 活性都直接依赖于

硝酸盐和亚硝酸盐转化的电子转移，而 ETSA 的测定对于了解微生物群落的反硝化效果至关重要。正如预期的那样，随着培养时间的增加，ETSA 活性显著增加，这证实了 NAR 和 NIR 活性的增加，最终增强了反硝化过程。BF-15 样品中 NAR 和 NIR 活性较高，表明 FeVO_4 产生的光电子将通过生物炭转移到微生物群落，并在反硝化过程中充当微生物群落的电子供体。虽然所有复合样品中的 NIR 活性都是 NAR 活性的两倍，但在所有批量实验中仍然发现了亚硝酸盐的积累。涉及硝酸盐转化为亚硝酸盐和亚硝酸盐转化为一氧化氮的 NAR 和 NIR 耦合反应的活性也与该过程中生成的产物有关。例如，NIR 活性可能会被过程中过量生成的一氧化氮所抑制^[82]。尽管亚硝酸盐浓度随着时间的推移而增加，但在第 4 天后，在复合样品中观察到浓度显著下降。这意味着产生的电子可以有效地捐献给微生物群落，以进一步转化亚硝酸盐。此外，其他酶如 NOR 也会影响反硝化过程，该过程涉及一氧化氮的进一步转化。在反硝化过程中，最初硝酸盐转化为亚硝酸盐，由于 BF-15 样品中光生电子的有效转移，亚硝酸盐的累积浓度有所增加。之前的一份报告也提出了类似的现象，即 AQDS 减轻了亚硝酸盐的积累^[83]。然而，即使在孵育 4 天后，ETSA 活性的增加也强烈表明亚硝酸盐进一步转化。亚硝酸盐浓度较高可能是由于孵育期间一氧化氮和一氧化二氮的短时间积累与 NAR 活性增强有关，但随后 NIR 活性的增加强烈表明亚硝酸盐进一步转化。

4.3.3 EPS 在反硝化过程中的作用

胞外聚合物（Extracellular Polymers, EPS）是由微生物分泌的复杂聚合物，用于保护微生物免受不利条件（干燥和外部化合物暴露）的影响，其存在反映了微生物系统中的代谢活动^[84]。EPS 在增强和调节反硝化过程中发挥着多种关键作用，影响生物膜形成、底物利用率、微生物群落结构以及微生物的保护。EPS 主要由多糖、蛋白质、核酸和脂质等生物聚合物组成。由微生物分泌形成水合凝胶状基质，包围微生物细胞，尤其是在生物膜群落中。EPS 的产生为微生物提供了多种功能，包括结构支持、抵御环境压力和保留营养物质。

EPS 是生物膜形成和稳定的核心成分，生物膜是有结构的微生物群落，附着于表面。在反硝化系统中，生物膜具有诸多优势，例如增强微生物细胞密度、不同微生物种类的紧密接触以及为反硝化提供稳定的微环境。EPS 基质有助于固定微生物细胞，使其能够与硝酸盐和其他底物保持接触。这种固定化在

污水处理系统中尤为有益，生物膜可以在生物反应器、过滤器或载体材料的表面生长。EPS 在生物膜发育中的作用确保了参与反硝化途径各步骤的微生物群落的空间排列。例如，生物膜中的异养反硝化细菌可以分解有机物，同时将硝酸盐还原为氮气。通过创造稳定的微环境，EPS 提高了这些代谢过程的效率，确保反硝化更加一致和有效地进行。

EPS 在反硝化中的一个关键作用是其保留和调节底物（如硝酸盐和碳源）扩散的能力。EPS 具有吸附溶解性有机物和其他营养物质的高容量，这些物质可被反硝化微生物利用。EPS 基质还可以捕获硝酸根离子，确保其对微生物还原过程的可用性。这种硝酸盐和其他底物的缓慢释放促进了反硝化过程的持续进行。此外，EPS 的物理结构可以形成一个扩散梯度，调节氧气和硝酸盐在生物膜内的移动。反硝化在厌氧条件下效率最高，EPS 基质有助于在生物膜内创造微区，其中氧气受限，为反硝化细菌提供适宜的环境。生物膜的外层可能暴露于氧气中，但在更深层，氧气浓度较低，促进了反硝化所需的厌氧条件。反硝化过程中涉及的微生物通常会受到各种环境压力的影响，如 pH、温度、盐度的波动以及有毒化合物的存在。EPS 通过作为物理屏障，保护微生物细胞免受有害外部条件的影响。EPS 的凝胶状质地可以捕获有害物质，防止它们直接接触微生物细胞。这使得反硝化细菌能够在可能对其生存不利的环境中存活并保持活性。在可能含有重金属或有机污染物等有毒化合物的污水处理系统中，EPS 可以与这些化合物结合并将其固定，减少它们对反硝化的抑制作用。这种保护功能确保了即使在不利条件下，反硝化过程也能持续进行。

此外，EPS 通过促进不同物种之间的协同作用来影响生物膜内的微生物群落结构。反硝化通常涉及多个步骤，每个步骤都由不同类型的微生物介导。EPS 促进这些物种在生物膜基质内的共存，确保反硝化的中间产物（如亚硝酸盐（ NO_2^- ）或一氧化氮（NO）），能够高效地从一种微生物传递到另一种微生物。例如，硝化细菌可以在氧气存在的条件下将铵（ NH_4^+ ）转化为硝酸盐，然后在生物膜的厌氧区被反硝化细菌还原为氮气。EPS 使得这些过程能够在近距离发生，从而创造一个协同环境，提高整体脱氮效率。此外，EPS 有助于微生物群落内的水平基因转移，这可以传播与反硝化相关的基因并提高生物膜的整体反硝化能力。

本研究进一步探讨了细胞外聚合物基质（EPS）在反硝化过程中作为增强

电子通过细胞外物质电子传递介质的作用。结果显示，BF-15 样品中的总蛋白质和碳水化合物含量已从纯污泥样品中的 78.91 mg/L 和 20.14 mg/L 增加到 178.31 mg/L 和 48.62 mg/L。微生物产生的 EPS 将充当一种保护层，能够抵御光催化材料（ $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ ）产生的环境压力和纳米颗粒毒性。除了在污泥表面分布催化材料外，EPS 还可作为增强微生物反硝化过程的有效电子受体，增强了微生物反硝化过程。此外，EPS 的成分能够作为电子调节剂来传递细胞外电子^[85]。这一结论进一步得到了使用过的 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 的 Zeta 电位的测量结果的支持，表明在 EPS 存在的情况下， $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 的零电荷点（PZC）有所增加。吸附在 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 上 EPS 不仅作为牺牲剂，还减少了 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 和硝酸根离子之间的静电排斥，促进了硝酸盐向催化剂表面的迁移，并加速了 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 的光催化硝酸盐还原。值得注意的是，尽管 BF-30 样品中的细胞存活率低于 BF-15，但 BF-15 和 BF-30 中的 EPS 含量没有显著差异。这可能是因为，在细胞死亡增加的情况下，污泥中存活的细胞通常会增加 EPS 成分的产生。

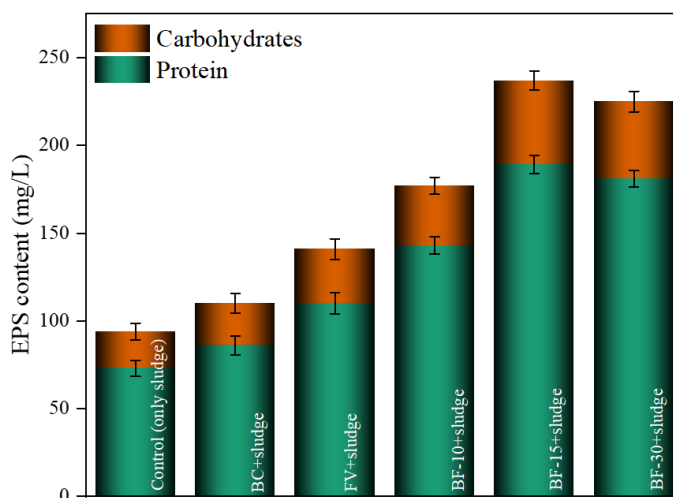


图 4-2 不同批次实验中孵化过程中的 EPS 含量

Fig. 4-2 The content of EPS during the hatching process in different experimental batches

这种响应可能是微生物污泥结构的一种保护机制，以增强其稳定性并抵御进一步的环境压力。此前的研究中也有类似的观察。尽管细胞死亡率较高，但 EPS 产量的上调有助于保持微生物污泥的弹性和功能性。因此，本研究结果强烈表明，添加 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 催化剂显著增加了微生物污泥中 EPS 成分的释放，这些成分在将胞外电子传递至微生物群落中发挥了重要作用，从而提高了

反硝化效率。

为了进一步验证微生物污泥的活性及其附着情况，对 BF-10、BF-15 和 BF-30 样品进行了扫描电子显微镜（SEM）分析。结果显示，在所有污泥样品中，在 $\text{FeVO}_4\text{@biochar}$ 存在下，大量微生物形成了厚的生物膜，表明材料表面适宜微生物生长。此外，在所有生物膜样品中都可以清晰的看到细胞间鞭毛结构，这些结构对细胞间电子传递起关键作用^[86]。然而，与 BF-10（图 4-3a）和 BF-15（图 4-3b）相比，BF-30 的细胞存活率略低，存在破裂细胞，这可能是由于 BF-30 样品对生物膜有轻微毒性（图 4-3c），这也可能是反硝化效率降低的原因，与之前反硝化实验结果一致。此外，BF-10（图 4-3d）和 BF-15（图 4-3e）的荧光显微镜图像显示，与 BF-30（图 4-3f）相比，活细胞水平较高和更强的细胞荧光强度。BF-30 中微生物的存活率和强度较低可能是由于催化剂材料在浓度增加时导致的毒性。BF-15 中细菌的存活率较高，为该系统提供了有利的环境，实现了高效的反硝化过程。因此，这些结果进一步证实，BF-15 是在所制备的样品中，脱氮过程中最有利的催化剂。

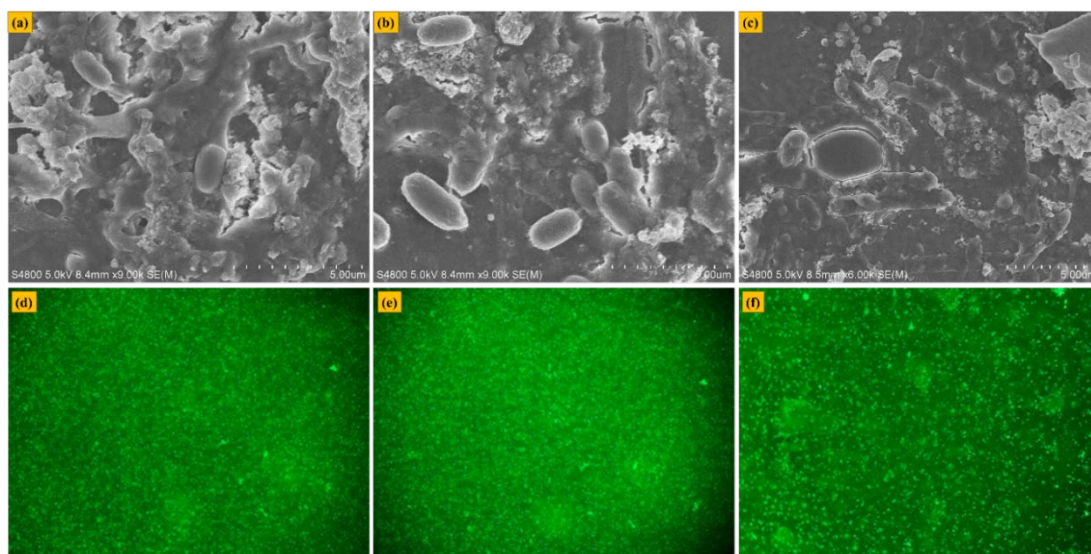


图 4-3 (a) BF-10、(b) BF-15 和 (c) BF-30 中形成的生物膜的 SEM 图像；(d) BF-10、(e) BF-15 和 (f) BF-30 样品在孵育过程中形成的生物膜的落射荧光图像

Fig. 4-3 SEM images of biofilm formed in (a) BF-10, (b) BF-15 and (c) BF-30; The epifluorescence images of biofilm formed in (d) BF-10, (e) BF-15 and (f) BF-30 samples during incubation

4.4 微生物群落结构变化

反硝化作用通常在氧气水平耗尽或降低时开始。许多生态系统，如土壤、沉

积物或污水处理系统，都会存在氧气梯度，这会引起微生物群落结构的转变。反硝化过程中涉及的微生物群落结构会因环境条件、底物可用性以及生态系统内的微生物相互作用而动态变化。深入理解微生物群落在反硝化过程中如何变化对于优化各种系统（包括土壤和废水处理）中的氮去除过程至关重要。参与反硝化的微生物群落具有高度动态性，会根据环境条件、底物可用性和反硝化过程的阶段发生显著变化。随着反硝化作用的进展和厌氧条件的持续，微生物群落会发生显著的重构，其中专性厌氧菌和兼性厌氧菌发挥主导作用。这些变化对于优化自然和人工系统（如土壤和污水处理厂）中的反硝化过程至关重要。理解影响微生物群落变化的因素可以提高氮去除过程的效率，最终有助于缓解与硝酸盐污染相关的环境问题。

为深入理解光生电子对微生物群落物种丰富度和群落组成的影响，本研究对所有批次实验样本进行了高通量测序分析。本章节展示了各种制备样品中优势门的相对丰度（%）。结果显示，不同的细菌门，包括 *Bacteroidota*、*Firmicutes*、*Proteobacteria*、*Chloroflexi*、*Desulfobacterota*、*Acidobacteriota*、*Actinobacteriota*、*Synergistota*、*Spirochaetota*、*Gemmatimonadota* 等。拟杆菌门在所有样品中均为优势门，尤其在 BC、BC-10、BC-15 和 BC-30 样品中相对丰度超过 50%。尽管在 BF-15 和 BF-30 样本中其优势度略有下降，但仍然具有较为显著的相对丰度。*Firmicutes* 在所有样本中也具有较高的相对丰度，尤其是在 BF-15 样品中，其相对丰度几乎与 *Bacteroidota* 相当。*Proteobacteria* 门在 BF-15 和 BF-30 样品中表现出显著的相对丰度，而在其他样品中相对较低。*Chloroflexi*、*Desulfobacterota*、*Acidobacteriota* 和 *Actinobacteriota* 门在所有样品中均有不同程度的分布，但相对丰度较低。*Synergistota*、*Spirochaetota* 和 *Gemmatimonadota* 等其他门在所有样品中的相对丰度较低，表明其在群落中的作用可能较为特定或相对不显著（图 4-4）。*Bacteroidota* 因其分解复杂聚合物的能力而闻名，在多种生态系统中对有机物的分解和营养循环贡献显著。其在这些样品中的优势表明了高水平的有机物分解和营养循环，这与文献中描述的作用一致^[87]。*Firmicutes* 门以其多样的代谢能力而著称，包括发酵过程。其在 BF-15 样品中的显著存在表明了一个能够在各种环境条件下（包括厌氧环境）茁壮成长的微生物群落，其中发酵过程至关重要。*Proteobacteria* 门具有高度的多样性，参与氮循环、硫循环和其他生物地球化学过程。其在 BF-15 和 BF-30

样品中的增加可能表明了特定环境条件有利于这些代谢途径。

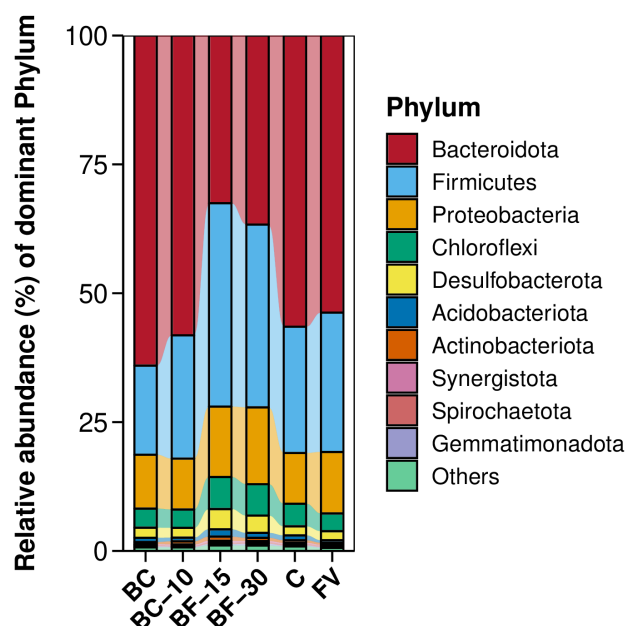


图 4-4 门水平的微生物群落多样性

Fig. 4-4 Microbial community diversity at phylum levels

尽管 *Chloroflexi*、*Desulfobacterota*、*Acidobacteriota* 和 *Actinobacteriota* 门的相对丰度较低，但它们在特定环境过程中发挥着关键作用。*Chloroflexi* 门参与光合作用和有机污染物的分解。*Desulfobacterota* 门对硫酸盐还原很重要，而 *Acidobacteriota* 门对土壤生态系统至关重要，*Actinobacteriota* 门则参与有机物质的分解^[88]。*Gammaproteobacteria* 纲以其在反硝化中的作用而闻名，其中假单胞菌属和弧菌属能够将硝酸盐还原为氮气。*Alphaproteobacteria* 纲也包含多种反硝化细菌，如根瘤菌属和慢生根瘤菌属。尽管其相对丰度较低，但其存在表明对反硝化的贡献。*Bacteroidia* 纲主要以其分解复杂有机物的能力而闻名，但某些 *Bacteroidia* 纲成员也能参与反硝化。某些梭菌属物种以其还原硝酸盐和亚硝酸盐的能力而闻名，在特定条件下对反硝化有贡献。*Desulfuromonadia* 纲包括能够还原硫化化合物的细菌，在某些情况下也能还原硝酸盐。尽管其相对丰度较低，但其存在表明可能参与硫和氮循环，包括反硝化。芽孢杆菌纲和负螺旋菌纲虽然主要不以反硝化著称，但可能包含能够还原硝酸盐的成员，在这些生态系统中对整个过程的贡献。在水生环境中，反硝化对于控制氮水平、防止富营养化和维持水质至关重要。样品中反硝化细菌的大量存在表明了活跃的氮循环过程（图 4-5a-c）。

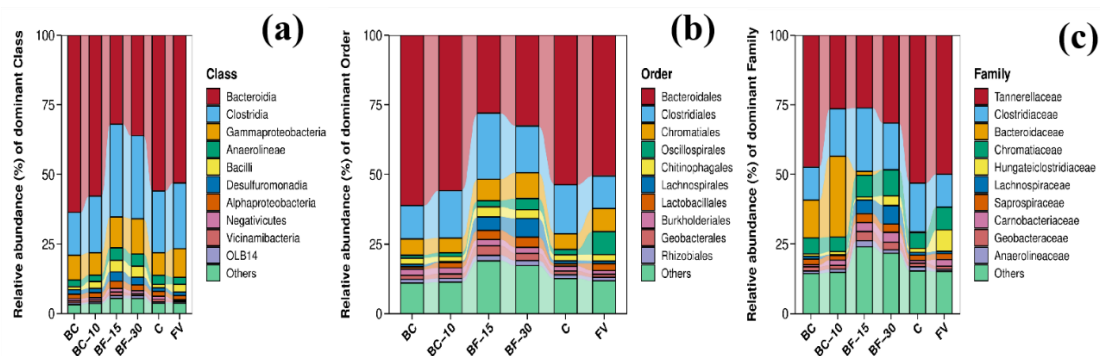


图 4-5 (a) 纲、(b) 目、(c) 科水平的微生物群落多样性

Fig. 4-5 Microbial community diversity at (a) class, (b) order, (c) family levels

反硝化过程中涉及的细菌纲的相对丰度，尤其是伽马变形菌和阿尔法变形菌，凸显了该过程在环境中的重要性。拟杆菌、梭菌和其他次要菌类的存在进一步证实了反硝化作用的潜力，有助于整体氮循环。了解微生物群落结构及其功能能力对于管理各种生态系统中的氮水平至关重要。

图 4-6 表示不同样品中优势细菌属的相对丰度。在 BC 中，*Macellibacteroides* 是优势属，约占微生物群落的 85%。然而，在处理组（BF-10、BF-15、BF-30）中，微生物多样性显著增加。*Macellibacteroides* 大幅减少，而其他属如 *Bacteroides*、*Thiothrix*、*Youngiibacter* 和 *Clostridium sensu stricto* 12 相对增加。其他属如 *Ruminiclostridium*、*Trichococcus* 和 *Geobacter* 也以不同数量出现。在对照组（C）中，微生物群落与 BC 相似，以 *Macellibacteroides* 为主导，但多样性略有增加。FeVO₄ 样本显示出属间最高的多样性，表明随着时间的推移发生了显著变化。观察到的微生物组成变化表明，添加材料会改变微生物群落结构，降低 *Macellibacteroides* 的优势并增加其他属的存在。这对反硝化有影响，反硝化是氮循环中的关键微生物过程，它将硝酸盐（NO₃⁻）转化为氮气（N₂），去除过量的氮。*Macellibacteroides* 通常参与发酵过程，但不以反硝化而闻名。它们数量减少可能表明环境有利于反硝化菌的生长。拟杆菌在营养循环和有机物降解中发挥着重要作用，可促进厌氧过程，包括反硝化作用。狭义梭菌包括已知在厌氧条件下将硝酸盐还原为氮气的菌种。地杆菌属参与铁还原和有机污染物降解，在特定条件下也可参与硝酸盐还原。可降解复杂多糖的瘤胃梭菌也可在厌氧条件下参与反硝化作用。与之前的文献相比，引入多种有机底物可促进各种能够还原硝酸盐的细菌属的生长，从而增强反硝化活性^[89]。微生物多样性较高的环境，特别是含有拟杆菌和梭菌

的环境，由于不同微生物种群之间的协同作用，反硝化速率增加。本研究中观察到的微生物群落变化与这些发现一致，表明添加促进微生物多样性的材料可以增强反硝化过程。梭菌属、拟杆菌属和地杆菌属等属的增加与反硝化能力增强相一致。

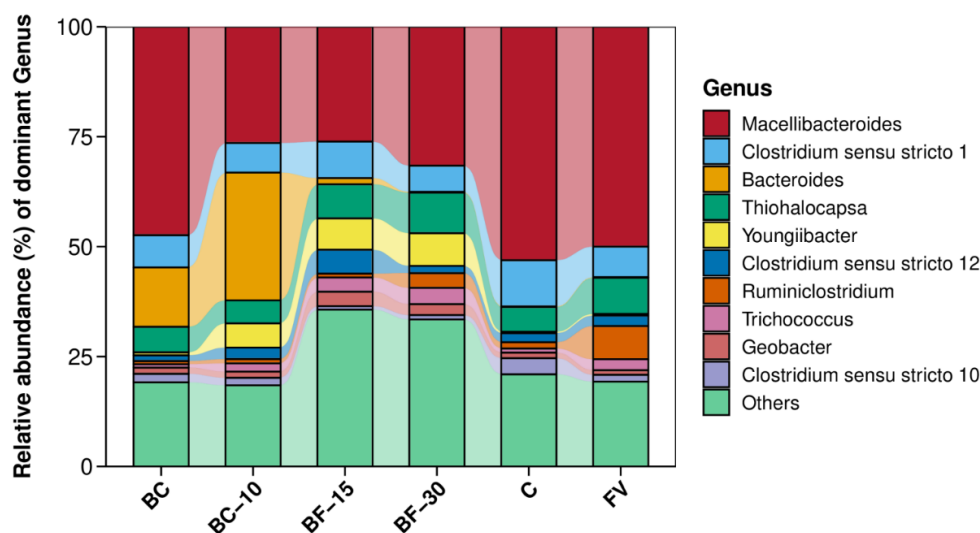


图 4-6 属水平的微生物群落多样性

Fig. 4-6 Microbial community diversity at genus levels

各类菌种相对丰度热图显示，在 BF-15 和 BF-30 中，*Novosphingobium.nitrifigens* 和 *Geobacter sulfatereducens* 表现出较高的相对丰度，而 *Clostridium.beijerinckii*、*G.lovleyi* 和 *S.glycolicus* 也具有中等丰度；在 FV 中，*G.sulfatereducens* 和 *A.denitrificans* 具有较高的丰度，而 *Hydrogenophaga pseudoflava* 和 *Paenibacillus graminis* 具有中等至高的丰度（图 4-7）。在 BF-10 中，*G.lovleyi* 和 *Clostridium saccharolyticum* 丰度较高，*Pseudoxanthomonas mexicana* 和 *G.sulfatereducens* 丰度中等。在对照组（C）中，*N.nitrifigens* 和 *G.sulfatereducens* 相对丰度较高，而 *C.beijerinckii* 和 *Paenibacillus timonensis* 丰度中等。*N.nitrifigens* 主要以固氮作用而闻名，它们的大量存在表明它可能在氮循环中发挥支持作用，可能间接影响反硝化作用^[90]。*G.sulfatereducens* 因其在金属还原中的作用而闻名，并已被证明参与硝酸盐还原，有助于反硝化作用。

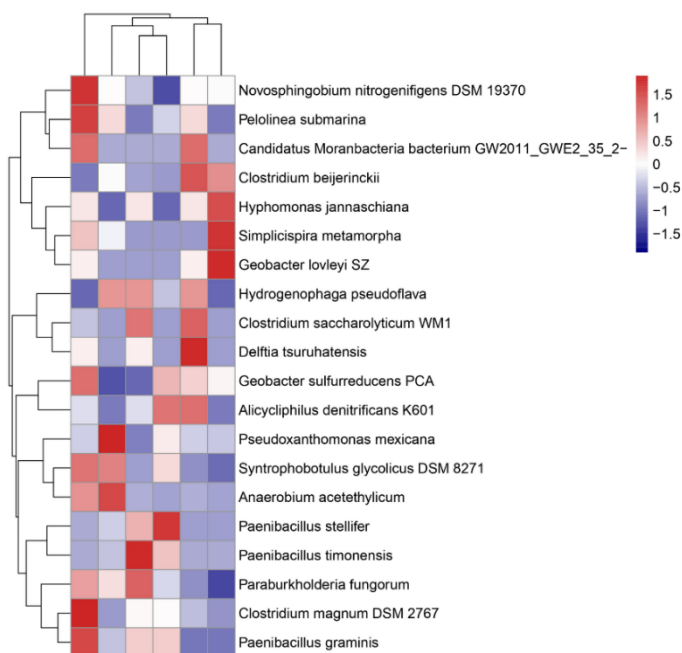


图 4-7 物种丰富度热图

Fig. 4-7 heatmap of species richness

此外，基于 Bray-Curtis 相似性的主坐标分析（PCoA）结果显示，微生物群落的差异性变化分别约为 52.0%和 32.0%（图 4-8a）。分布点进一步表明，BF-15 和 BF-30 样品中的微生物群落与原始微生物群落显著分离，这可能受到培养期产生的光电子的强烈影响。图 4-8b 显示了不同样品中预测功能的相对丰度，条形图中的每种颜色代表不同的功能项，如化能异养、发酵、光养、光自养等。化能异养是大多数样品中的主导功能，表明这些微生物高度依赖有机碳源来获取能量，而发酵是一种常见的厌氧过程，通常在氧气有限的环境中具有显著作用。此外，光养细菌可以利用光能进行反硝化，这一过程称为光养反硝化，在 BF-15 和 BF-30 中占主导地位。在光照穿透和硝酸盐可用性共存的水生环境中，这一过程可能具有重要意义。Cheng 等^[91]的研究表明，在光生物反应器中，光养微生物的整合可以提高反硝化速率，为可持续氮管理策略提供了见解。

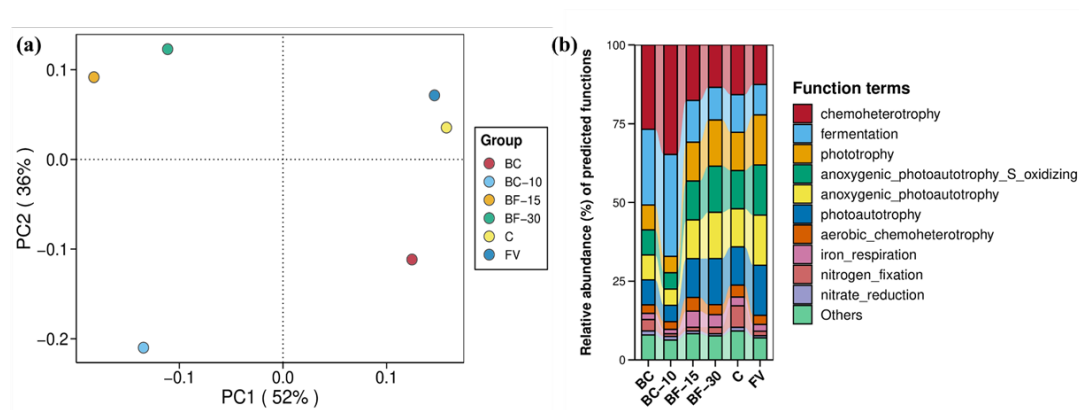


图 4-8 (a) 基于 Bray-Curtis 距离的坐标分析 (PCoA) 显示微生物群落的变化, (b) 制备样品中预测功能的相对丰度

Fig. 4-8 (a) The changes in microbial community by Coordinate analysis (PCoA) based on Bray-Curtis distances, (b) Relative abundance of predicted functions in the as prepared samples

光养和光自养在所有样品中均表现显著, 表明存在能够利用光作为能源的光养生物。这在光照充足的环境较为典型, 例如地表水和土壤。无氧光自养过程出现在具有特定生态位的环境中, 生物可以在不产生氧气的情况下进行光合作用, 通常使用硫化物或其他化合物作为电子供体。

好氧化能异养表明存在需要氧气来代谢有机碳的生物, 反映了这些环境中的好氧条件。铁呼吸和固氮在某些样品中虽不丰富但确实存在, 分别反映了与使用铁作为电子受体和将大气氮转化为氨相关的特定代谢过程。这些过程在营养循环中至关重要, 存在于多种环境中。硝酸盐还原表明硝酸盐被还原为含氮气体, 这是厌氧条件下氮循环的重要组成部分^[92]。近期研究表明, 微生物群落的组成和功能受环境因素的高度影响, 包括营养物质的可用性、光照和氧气水平。样本中化能异养的主导地位可能反映了有机物的可用性。光养和化能异养功能的存在表明代谢的多样性, 使微生物群落能够适应不同的环境条件。观察到的功能, 特别是与固氮和硝酸盐还原相关的功能, 突出了这些群落在生物地球化学循环中的作用。样本中预测的功能突出了多种代谢过程, 反映了微生物群落不同环境中的适应性和生态作用, 并显著参与了反硝化作用。这些结果与近期的科学研究结果一致, 强调了微生物生态学中功能多样性的重要性, 其中化能异养、发酵、光养、光自养、硝酸盐还原是反硝化中的关键功能, 对硝酸盐去除过程有显著贡献。

4.5 新型光催化强化微生物反硝化系统的可能机制

图 4-9 展示了光催化剂和微生物群落之间合理的电子转移机制。简而言之，光催化剂产生的电子将通过可见光照射产生，这些电子能够被微生物群落中的光活性细菌高效接受，其中 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 和胞外聚合物（EPS）均作为电子转移介质，有效促进硝酸盐还原为氮气，从而增强微生物反硝化能力。除了利用 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 产生的光生电子来增强其反硝化能力外，微生物还能够适应外部环境变化来调节和优化其群落结构与组成，从而维持这种增强效果。

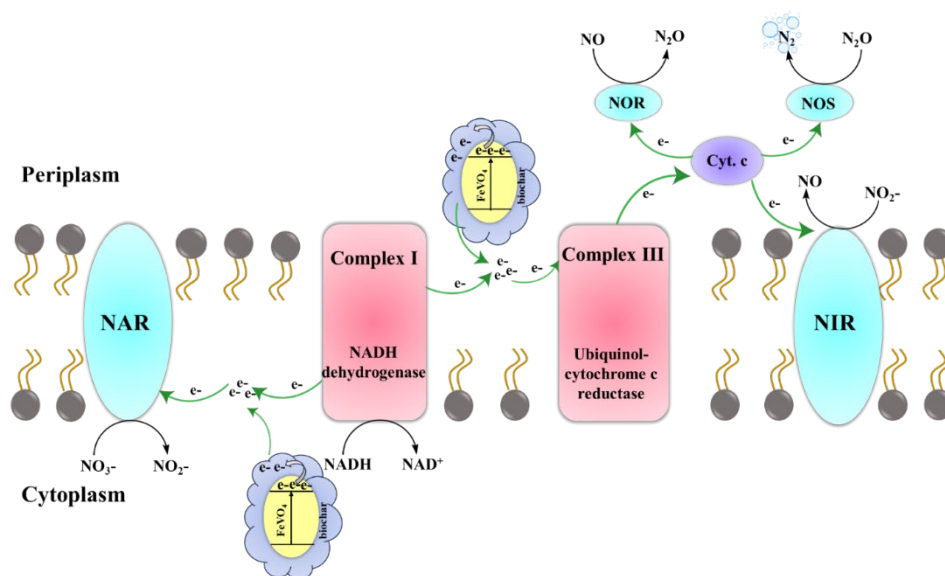


图 4-9 光催化增强微生物反硝化过程中可能的电子转移机制

Fig. 4-9 Possible electron transfer mechanism during photocatalytically enhanced microbial denitrification process

4.6 本章小结

本研究致力于制备一种新型的 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 光催化剂，用于构建高效的微生物反硝化系统。详细的表征技术证实了复合催化剂的成功制备，其在可见光下展现出卓越的电荷转移效率。在制备的不同质量分数的 FeVO_4 复合材料中，与纯生物炭、 FeVO_4 和微生物污泥相比，BF-15 在 7 天后表现出最高的反硝化效率（87.6%），这一结果有力地表明 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 通过为微生物群落中的电活性细菌提供足够的电子，极大地促进了微生物反硝化效率。此外，复合材料中负责反硝化过程的酶活性（如 NAR、NIR 和 ETSA）也得到了显著提升。这进一步证实 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 是高效微生物反硝化的优质电子供体。在微生物群落中，*Bacteroidota*、*Firmicutes*、*Proteobacteria*、*Chloroflexi*、*Desulfobacterota*、*Acidobacteriota*、*Actinobacteriota*、*Synergistota*、*Spirochaetota*、

Gemmatimonadota 等门类是参与增强反硝化过程的优势菌群。在催化剂存在的情况下，微生物群落发生变化并趋于稳定，同时释放出更多的胞外聚合物（EPS），这不仅有助于群落的生存，还促进了电子传递机制，从而提升了反硝化活性。因此，本研究为构建光催化-微生物系统以有效提升微生物反硝化过程提供了新的思路，尤其是在自然阳光照射下，能够显著提高反硝化效率。生物反硝化方法因较高的操作成本和较低的效率，严重限制了其在许多工业处理过程中的应用，光催化-微生物耦合系统已展现出卓越的反硝化潜力。研究认为，新型光催化增强型微生物耦合系统，其中 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 作为反硝化过程中微生物的固相电子供体，为水生态修复提供了一种可持续且环境友好的解决方案。光催化技术是一种清洁、高效的环境友好型技术，其在生态修复中的应用具有积极意义。它可以作为生物降解技术的辅助手段，提升水体的自净能力。

第5章 结论与展望

5.1 结论

本研究聚焦于新型 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 光催化剂的制备及其在强化微生物反硝化系统中的应用，深入探讨了其在硝酸盐污染治理中的效能。通过一系列详细的表征技术，成功制备了在可见光下具有卓越电荷转移效率的复合催化剂。通过微生物反硝化实验进一步探讨了胞外聚合物基质（EPS）在反硝化过程中作为胞外电子传递介质的作用，深入探究光生电子对微生物群落反硝化能力的影响。揭示了微生物反硝化过程中的电子传递机制，主要研究结论如下：

以干竹叶作为生物炭原材料通过慢热解方式制备了光催化剂的载体生物炭，再将光催化剂负载到生物炭的表面，成功制备了 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料，采用 SEM、EDS、XPS、TEM、XRD、FTIR、EIS、DRS、Zeta 电位等技术，对制备的光催化剂复合材料进行了详细的表征。实验结果分析了所制备材料的各种性能，证实了合成的复合材料具有优良电子传递和光电化学性能。

在反硝化实验中，通过对最适 C/N 和最适温度条件下反硝化过程中硝酸盐、亚硝酸盐和氨氮的浓度变化测定。通过对硝酸盐浓度数据的分析得出，未经催化剂处理时，污泥可将硝酸盐浓度降低至 27.3%（从 100 mg/L 降至 72.7 mg/L），纯生物炭和 FeVO_4 的降解率分别约为 34.3%（从 100 mg/L 降至 65.7 mg/L）和 38.6%（从 100 mg/L 降至 61.4 mg/L）。添加 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合样品后，硝酸盐的去除效率显著提高，其中 BF-10 的去除效率达到 76.4%，而 BF-15 复合样品的去除效率则提高至 87.6%（从 100 mg/L 降至 12.4 mg/L）。这种增强的硝酸盐去除效率归因于 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合材料产生的光生电子能够传递给微生物群落，从而提高硝酸盐还原为氮气。添加 BF-30 后，硝酸盐去除效率显著下降，这可能是由于催化剂浓度过高抑制了微生物群落中某些微生物的活性。因此，催化剂用量需在满足反应需求的同时，还需要避免对微生物群落活性产生负面影响。综合分析表明，BF-15 是反硝化过程中将电子高效传递至微生物群落的最佳催化剂。

为深入探究微生物群落反硝化能力的变化，研究分析了硝酸盐还原酶（NAR）和亚硝酸盐还原酶（NIR）活性的变化，以及胞外电子传递能力（ETSA）。结果表明， $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 复合样品的 NAR 活性明显高于其他样

品, 其中 BF-15 在 7 天培养后, NAR 活性较纯污泥提高了 3.22 倍。随着 FeVO_4 质量分数的增加 (从 BF-10 到 BF-15), NAR 活性呈上升趋势, 但在 BF-30 中, 由于细胞活性降低, NAR 活性略有下降, 说明了 BF-15 光催化剂复合材料具有最优的光催化性能。

考察了胞外聚合物基质 (EPS) 在反硝化过程中作为胞外电子传递介质的作用。EPS 作为微生物分泌的保护层, 可抵御光催化剂材料造成的环境胁迫和纳米颗粒毒性。吸附在 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 上的 EPS 不仅作为牺牲剂, 还减少了 $\text{FeVO}_4@\text{biochar}$ 与硝酸根离子之间的静电排斥, 促进了硝酸根离子向催化剂表面的迁移, 并加速了光催化硝酸盐还原反应, 提高了反硝化效率。

对所有批次实验进行了高通量测序分析, 探究光生电子对微生物群落反硝化能力的影响, 包括物种丰富度和微生物群落组成的改变。结果显示, 微生物群落中包含多种细菌门, 其中参与反硝化过程的 *Gammaproteobacteria* 和 *Alphaproteobacteria* 等细菌纲的相对丰度较高, 表明这些微生物在反硝化过程中发挥了重要作用。BF-15 和 BF-30 样品中, *Novosphingobium nitrogenifigens* 和 *Geobacter sulfurreducens* 的相对丰度较高。基于 Bray-Curtis 相似性主坐标分析 (PCoA) 的结果, 微生物群落的差异性变化分别约为 52.0% 和 32.0%。表明样品的微生物群落与原始微生物群落显著分离。

在催化剂存在的情况下, 微生物群落通过释放更多的胞外聚合物 (EPS) 增强了自身生存能力, 并通过促进胞外电子传递机制显著提高了反硝化效率。本研究为构建光催化-微生物系统以利用自然阳光高效提升微生物反硝化过程提供了新的思路。

5.2 展望

本研究构建了光催化-微生物耦合系统, 能够有效提升自然光照条件下的微生物反硝化效率。尽管微生物反硝化技术在去除硝酸盐污染方面展现出了巨大的潜力和效率, 但仍需解决一些技术挑战, 进一步研究优化耦合反应器的构型并扩大反应体系规模、如何降低运行成本, 降低电子传递阻力提高催化效率, 以实现更广泛的实际应用。未来的研究应聚焦于进一步提高处理效率、降低成本, 并探索新的微生物资源和技术创新, 为守护水、土生态健康提供持久动力, 助力可持续发展战略的实施。

参考文献

- [1] Y. Ma, J. Cui, P. Zheng, K. Yuan, S. Chu, K. Mu, L. Hu, Plant uptake in subsurface wastewater infiltration systems plays an important role in removing nitrogen from sewage, *Ecol. Eng.* 2018, 123: 193–201.
- [2] H.O.N. Tugaoen, S. Garcia-Segura, K. Hristovski, P. Westerhoff, Challenges in photocatalytic reduction of nitrate as a water treatment technology, *Sci. Total Environ.* 2017, 599–600: 1524–1551.
- [3] B. Xu, D. Li, Q. Zhao, S. Feng, X. Peng, P.K. Chu, Electrochemical reduction of nitrate to ammonia using non-precious metal-based catalysts, *Coord. Chem. Rev.* 2024, 502: 215609.
- [4] G. Jiang, X. You, B. An, F. Liu, X. Duan, Y. Wang, C. Liu, C. Zhao, Visible-light-responsive Cl/S co-doped carbon nitride nanotubes for photocatalytic denitrification: A new reaction pathway dominated by photo-electrons, *Appl. Catal. B Environ.* 2022, 305: 121018.
- [5] K. Velusamy, S. Periyasamy, P.S. Kumar, D.V.N. Vo, J. Sindhu, D. Sneka, B. Subhashini, Advanced techniques to remove phosphates and nitrates from waters: a review, *Environ. Chem. Lett.* 2021, 19: 3165–3180.
- [6] F. Wahyudi, W.H. Saputera, D. Sasongko, H. Devianto, Recent advances in the development of photocatalytic technology for nitrate reduction to ammonia, *Case Stud. Chem. Environ. Eng.* 2023, 8: 100478.
- [7] M.J. Ahmed, B.H. Hameed, M.A. Khan, Recent advances on activated carbon-based materials for nitrate adsorption: A review, *J. Anal. Appl. Pyrolysis.* 2023, 169: 105856.
- [8] T. Arumugham, J. Khudzari, N. Abdullah, A. Yuzir, K. Iwamoto, K. Homma, Research trends and future directions on nitrification and denitrification processes in biological nitrogen removal, *J. Environ. Chem. Eng.* 2024, 12: 111897.
- [9] N. Zhong, M. Chen, Y. Luo, Z. Wang, X. Xin, B.E. Rittmann, A novel photocatalytic optical hollow-fiber with high photocatalytic activity for enhancement of 4-chlorophenol degradation, *Chem. Eng. J.* 2019, 355: 731–739.
- [10] 张焕军, 王席席, 李轶. 水体中抗生素污染现状及其对氮转化过程的影响研究进展. *环境化学*, 2022, 41(4): 1168-1181.

- [11] H. Xi, X. Zhou, M. Arslan, Z. Luo, J. Wei, Z. Wu, M. Gamal El-Din, Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification process: Promising but a long way to go in the wastewater treatment, *Sci. Total Environ.* 2022, 805: 730–734.
- [12] Zhang X, Zhang Y, Shi P, et al. The deep challenge of nitrate pollution in river water of China[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 770: 144674.
- [13] T. Li, D. Du, C. Li, J. Zhao, L. Guo, X. Wang, J. Zhao, W. Xiang, Investigation on Cr(VI)-bioreduction mechanism and reduction products by a novel *Microbacterium* sp. strain NEAU-W11, *Chemosphere*. 2023, 343: 140232.
- [14] S. Fu, X. Zhao, Z. Zhou, M. Li, L. Zhu, Effective removal of odor substances using intimately coupled photocatalysis and biodegradation system prepared with the silane coupling agent (SCA)-enhanced TiO₂ coating method, *Water Res.* 2021, 188: 116569.
- [15] Zhou. Cates, Comment on “intimate Coupling of Photocatalysis and Biodegradation for Degrading Phenol Using Different Light Types: Visible Light vs UV Light,” *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49: 13075–13076.
- [16] Sui, Y. Yu, H. Huang, Making waves: Microbe-photocatalyst hybrids may provide new opportunities for treating heavy metal polluted wastewater, *Water Res.* 2021, 195: 116984.
- [17] J.A. Pérez-García, F.J. Bacame-Valenzuela, J. Manríquez, F. Castañeda-Zaldívar, Y. Reyes-Vidal, Electrochemical analysis of extracellular electron transfer process of *Pseudomonas aeruginosa* NEJ07R using pyocyanin on a carbon electrode, *J. Environ. Chem. Eng.* 2023, 11:140-148.
- [18] 陈甜甜, 王先宝, 张雨笛,等. 氧化还原介体强化生物反硝化脱氮研究进展[J]. *环境化学*, 2021, 40(10): 8.
- [19] P.L. Tremblay, L.T. Angenent, T. Zhang, Extracellular Electron Uptake: Among Autotrophs and Mediated by Surfaces, *Trends Biotechnol.* 2017, 35: 360–371.
- [20] N. Zhu, J. Tang, C. Tang, P. Duan, L. Yao, Y. Wu, D.D. Dionysiou, Combined CdS nanoparticles-assisted photocatalysis and periphytic biological processes for nitrate removal, *Chem. Eng. J.* 2018, 353: 237–245.
- [21] 姜晶, 吴仪, 盛光遥. 生物炭改性及其对水中污染物去除研究进展[J]. *功能材料*, 2022, 53(12):12073-12084.
- [22] J. Li, Y. Li, P. Chen, K. Sathishkumar, Y. Lu, S. Naraginti, Y. Wu, H. Wu,

- Biological mediated synthesis of reduced graphene oxide (rGO) as a potential electron shuttle for facilitated biological denitrification: Insight into the electron transfer process, *J. Environ. Chem. Eng.* 2022, 10(5): 108225.
- [23] 仇付国, 王肖倩, 童诗雨, 等. 给水厂污泥改性活性炭对硝酸根的吸附性能[J]. *应用化工*, 2022, (002): 051.
- [24] Q.A. Alsulami, A. Rajeh, M.A. Mannaa, S.M. Albukhari, D.F. Baamer, Preparation of highly efficient sunlight driven photodegradation of some organic pollutants and H₂ evolution over rGO/FeVO₄ nanocomposites, *Int. J. Hydrogen Energy*. 2021, 46: 27349–27363.
- [25] W. Wang, Y. Zhang, L. Wang, Y. Bi, Facile synthesis of Fe³⁺/Fe²⁺ self-doped nanoporous FeVO₄ photoanodes for efficient solar water splitting, *J. Mater. Chem. A*. 2017, 5: 2478–2482.
- [26] Q.A. Alsulami, A. Rajeh, M.A. Mannaa, S.M. Albukhari, D.F. Baamer, One-step preparation of RGO/Fe₃O₄-FeVO₄ nanocomposites as highly effective photocatalysts under natural sunlight illumination, *Sci. Rep.* 2022, 12: 1–12.
- [27] J. Ji, X. Yuan, Y. Zhao, L. Jiang, H. Wang, Mechanistic insights of removing pollutant in adsorption and advanced oxidation processes by sludge biochar, *J. Hazard. Mater.* 2022, 430: 128375.
- [28] T.T. Zhu, H.Y. Cheng, L.H. Yang, S.G. Su, H.C. Wang, S. Sen Wang, A.J. Wang, Coupled Sulfur and Iron(II) Carbonate-Driven Autotrophic Denitrification for Significantly Enhanced Nitrate Removal, *Environ. Sci. Technol.* 2019, 53: 1545–1554.
- [29] 孙建财, 周丹丹, 王薇, 等. 生物炭改性及其对污染物吸附与降解行为的研究进展[J]. *环境化学*, 2021, 40(5): 1503-1513.
- [30] G. Kesavan, M. Pichumani, S.M. Chen, Influence of Crystalline, Structural, and Electrochemical Properties of Iron Vanadate Nanostructures on Flutamide Detection, *ACS Appl. Nano Mater.* 2021, 4: 5883–5894.
- [31] H.Y. Cheng, X.D. Tian, C.H. Li, S.S. Wang, S.G. Su, H.C. Wang, B. Zhang, H.M.A. Sharif, A.J. Wang, Microbial photoelectrotrophic denitrification as a sustainable and efficient way for reducing nitrate to nitrogen, *Environ. Sci. Technol.* 2017, 51: 12948-12955.
- [32] N.Y. Zhu, J. Tang, C.L. Tang, P.F. Duan, L.G. Yao, Y.H. Wu, D.D. Dionysiou, Combined CdS nanoparticles-assisted photocatalysis and periphytic biological

- p>processes for nitrate removal,
- Chem. Eng. J.*
- 2018, 353: 237-245.
- [33] N. Zhu, Y. Wu, J. Tang, P. Duan, L. Yao, E.R. Rene, P.K. Wong, T. An, D.D. Dionysiou, A new concept of promoting nitrate reduction in surface waters: simultaneous supplement of denitrifiers, electron donor pool, and electron mediators, *Environ. Sci. Technol.* 2018, 52: 8617-8626.
- [34] A.H. Lu, Y. Li, S. Jin, X. Wang, X.L. Wu, C.P. Zeng, Y. Li, H.R. Ding, R.X. Hao, M. Lv, C.Q. Wang, Y.Q. Tang, H.L. Dong, Growth of non-phototrophic microorganisms using solar energy through mineral photocatalysis, *Nat. Commun.* 2012, 3 (1): 768.
- [35] B.E. Rittmann, Biofilms, active substrata, and me *Water Res.* 2018 132: 135-145
- [36] M.D. Marsolek, C.I. Torres, M. Hausner, B.E. Rittmann, Intimate coupling of photocatalysis and biodegradation in a photocatalytic circulating-bed biofilm reactor, *Biotechnol. Bioeng.* 2008, 101: 83-92.
- [37] D.D. Zhou, Z.X. Xu, S.S. Dong, M.X. Huo, S.S. Dong, X.D. Tian, B. Cui, H.F. Xiong, T.T. Li, D.M. Ma, Intimate coupling of photocatalysis and biodegradation for degrading phenol using different light types: visible light vs UV light, *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49: 7776-7783.
- [38] R. Ding, W.F. Yan, Y. Wu, Y. Xiao, H.Y. Gang, S.H. Wang, L.X. Chen, F. Zhao, Light-excited photoelectrons coupled with bio-photocatalysis enhanced the degradation efficiency of oxytetracycline, *Water Res.* 2018, 143: 589-598.
- [39] H.F. Xiong, D.L. Zou, D.D. Zhou, S.S. Dong, J.W. Wang, B.E. Rittmann, Enhancing degradation and mineralization of tetracycline using intimately coupled photocatalysis and biodegradation (ICPB), *Chem. Eng. J.* 2017, 316: 7-14.
- [40] K.K. Sakimoto, A.B. Wong, P.D. Yang, Self-photosensitization of nonphotosynthetic bacteria for solar-to-chemical production, *Science.* 2016, 351: 74-77.
- [41] G.Z. Li, S. Park, B.E. Rittmann, Degradation of reactive dyes in a photocatalytic circulating-bed biofilm reactor, *Biotechnol. Bioeng.* 2012, 109: 884-893.
- [42] G.Z. Li, S. Park, D.W. Kang, R. Krajmalnik-Brown, B.E. Rittmann, 2,4,5-Trichlorophenol Degradation Using a Novel TiO₂-Coated Biofilm Carrier: Roles of Adsorption, Photocatalysis, and Biodegradation, *Environ. Sci. Technol.* 2011, 45: 8359-8367.

- [43] M. Sui, Y. Li, Y. Jiang, L. Wang, W. Zhang, K. Sathishkumar, H. Zakaria, Sediment based biochar facilitates highly efficient nitrate removal: physicochemical properties, biological responses and potential mechanism, *Chem. Eng. J.* 2021, 405: 126645.
- [44] N. Zhu, J. Tang, C. Tang, P. Duan, L. Yao, Y. Wu, D.D. Dionysiou, Combined CdS nanoparticles assisted photocatalysis and periphytic biological processes for nitrate removal, *Chem. Eng. J.* 2018, 353: 237-245.
- [45] Rajta A, Bhatia R, Setia H, et al. Role of heterotrophic aerobic denitrifying bacteria in nitrate removal from wastewater[J]. *Journal of applied microbiology*, 2020, 128(5): 1261-1278.
- [46] K. Doudrick, T. Yang, K. Hristovski, P. Westerhoff, Photocatalytic nitrate reduction in water: managing the hole scavenger and reaction by-product selectivity, *Appl. Catal. B.* 2013, 136–137: 40-47.
- [47] A. Lu, Y. Li, S. Jin, X. Wang, X.L. Wu, C. Zeng, Y. Li, H. Ding, R. Hao, M. Lv, C. Wang, Y. Tang, H. Dong, Growth of non-phototrophic microorganisms using solar energy through mineral photocatalysis, *Nat. Commun.* 2012, 3: 768.
- [48] Y. García-Martínez, J. Chirinos, C. Bengoa, F. Stüber, J. Font, A. Fortuny, A. Fabregat, Nitrate removal in an innovative up-flow stirred packed-bed bioreactor, *Chem. Eng. Process. Process Intensif.* 2017, 121: 57-64.
- [49] D. Li, Y. Wang, X. Qi, W. Huang, Y. Wang, X. Zhao, Y. Liu, X. Song, X. Cao, A photocatalytic-microbial coupling system for simultaneous removal of harmful algae and enhanced denitrification: Construction, performance and mechanism of action, *J. Hazard. Mater.* 2023, 459: 132233.
- [50] Y. Fan, L. Yu, Q. Chen, T. Yu, Z. Ma, Y. Yang, Mechanisms of partial denitrification in an integrated fixed-film activated sludge (IFAS) system: From progressive startup to stabilization, *J. Water Process Eng.* 2024, 63: 105437.
- [51] X. Su, B. Xue, Y. Wang, M.Z. Hashmi, H. Lin, J. Chen, R. Mei, Z. Wang, F. Sun, Bacterial community shifts evaluation in the sediments of Puyang River and its nitrogen removal capabilities exploration by resuscitation promoting factor, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2019, 179: 188–197.
- [52] Z. Hao, L. Zhang, Q. Zhang, Y. Peng, L. Shi, Y. Li, Rapidly achieving partial denitrification from nitrate wastewater in a alkaline fermentation system with primary sludge as inoculated sludge and fermentable substrate, *Bioresour.*

- Technol. 2022, 360: 127528.
- [53] Z. Wu, F. Xu, C. Yang, X. Su, F. Guo, Q. Xu, G. Peng, Q. He, Y. Chen, Highly efficient nitrate removal in a heterotrophic denitrification system amended with redox-active biochar: A molecular and electrochemical mechanism, *Bioresour. Technol.* 2019, 275: 297–306.
- [54] A. Melo, C. Quintelas, E.C. Ferreira, D.P. Mesquita, The Role of Extracellular Polymeric Substances in Micropollutant Removal, *Front. Chem. Eng.* 2022, 4: 1–13.
- [55] X. Liu, R. Sun, S. Hu, Y. Zhong, Y. Wu, Aromatic compounds releases aroused by sediment resuspension alter nitrate transformation rates and pathways during aerobic-anoxic transition, *J. Hazard. Mater.* 2022, 424: 127365.
- [56] K. Sathishkumar, Y. Li, M.S. Alsalhi, B. Muthukumar, G.K. Gaurav, S. Devanesan, A. Rajasekar, R. Manikandan, Enhanced biological nitrate removal by $\text{gC}_3\text{N}_4/\text{TiO}_2$ composite and role of extracellular polymeric substances, *Environ. Res.* 2022, 207: 1–6.
- [57] E. Orlowska, A. Roller, M. Pignitter, F. Jirsa, R. Krachler, W. Kandoller, B.K. Keppler, Synthetic iron complexes as models for natural iron-humic compounds: Synthesis, characterization and algal growth experiments, *Sci. Total Environ.* 2017, 577: 94–104.
- [58] Y. Wang, R. Zhang, J. Duan, X. Shi, Y. Zhang, F. Guan, W. Sand, B. Hou, Extracellular Polymeric Substances and Biocorrosion/Biofouling: Recent Advances and Future Perspectives, *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23: 90–92.
- [59] A. Kouzuma, S. Kato, K. Watanabe, Microbial interspecies interactions: Recent findings in syntrophic consortia, *Front. Microbiol.* 2015, 6: 1–8.
- [60] F. Thomas, J.H. Hehemann, E. Rebuffet, M. Czjzek, G. Michel, Environmental and gut Bacteroidetes: The food connection, *Front. Microbiol.* 2011, 2: 1–16.
- [61] S.P. Claus, H. Guillou, S. Ellero-Simatos, The gut microbiota: A major player in the toxicity of environmental pollutants?, *Npj Biofilms Microbi.* 2016, 5 (2): 1–12.
- [62] F. Thomas, J.H. Hehemann, E. Rebuffet, M. Czjzek, G. Michel, Environmental and gut Bacteroidetes: The food connection, *Front. Microbiol.* 2011, 2 (8): 1–16.
- [63] N. Campos-Quevedo, T. Moreno-Perlin, E. Razo-Flores, A.J.M. Stams, L.B.

- Celis, I. Sánchez-Andrea, Acetotrophic sulfate-reducing consortia develop active biofilms on zeolite and glass beads in batch cultures at initial pH 3, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2021, 105: 5213–5227.
- [64] T. Yamada, Y. Sekiguchi, Cultivation of uncultured Chloroflexi subphyla: Significance and ecophysiology of formerly uncultured Chloroflexi “subphylum i” with natural and biotechnological relevance, *Microbes Environ.* 2009, 24 (6): 205–216.
- [65] K.A. Weber, L.A. Achenbach, J.D. Coates, Microorganisms pumping iron: Anaerobic microbial iron oxidation and reduction, *Nat. Rev. Microbiol.* 2006, 4 (4): 752–764.
- [66] Suharti, S. De Vries, Membrane-bound denitrification in the Gram-positive bacterium *Bacillus azotoformans*, *Biochem. Soc. Trans.* 2005, 33 (6): 130–133.
- [67] S. Seitzinger, J.A. Harrison, J.K. Böhlke, A.F. Bouwman, R. Lowrance, B. Peterson, C. Tobias, G. Van Drecht, Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis, *Ecol. Appl.* 2006, 16: 2064–2090.
- [68] A. Rajta, R. Bhatia, H. Setia, P. Pathania, Role of heterotrophic aerobic denitrifying bacteria in nitrate removal from wastewater, *J. Appl. Microbiol.* 2020, 128: 1261–1278.
- [69] W. Pang, H. Li, Y. He, B. Zhou, C. Ji, T. Li, X. Wang, L. Xie, Nitrate reduction pathways and microbial community to different COD/NO₃⁻-N ratios in mesophilic and thermophilic denitrification systems, *J. Water Process Eng.* 2023, 53: 103797.
- [70] A.M. Smit, T.J. Strabala, L. Peng, P. Rawson, G. Lloyd-Jones, T.W. Jordan, Proteomic phenotyping of *Novosphingobium nitrogenifigens* reveals a robust capacity for simultaneous nitrogen fixation, polyhydroxyalkanoate production, and resistance to reactive oxygen species, *Appl. Environ. Microbiol.* 2012, 78 (2): 4802–4815.
- [71] J. Chang, Q. Wu, P. Liang, X. Huang, Enhancement of nitrite-dependent anaerobic methane oxidation via *Geobacter sulfurreducens*, *Sci. Total Environ.* 2021, 766: 144230.
- [72] N. Fierer, J.W. Leff, B.J. Adams, U.N. Nielsen, S.T. Bates, C.L. Lauber, S. Owens, J.A. Gilbert, D.H. Wall, J.G. Caporaso, Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes, *Proc. Natl.*

- Acad. Sci. U. S. A. 2012, 109 (5): 21390–21395.
- [73] E.G. Hiis, S.H.W. Vick, L. Molstad, K. Røsdal, K.R. Jonassen, W. Winiwarter, L.R. Bakken, Unlocking bacterial potential to reduce farmland N₂O emissions, *Nature* 2024,38: 90–95.
- [74] H.Y. Cheng, X. Di Tian, C.H. Li, S. Sen Wang, S.G. Su, H.C. Wang, B. Zhang, H.M.A. Sharif, A.J. Wang, Microbial Photoelectrotrophic Denitrification as a Sustainable and Efficient Way for Reducing Nitrate to Nitrogen, *Environ. Sci. Technol.* 2017, 51: 12948–12955.
- [75] N.S. Alhajeri, A. Tawfik, Integrating biochar and microbial community for detoxification of wastewater industry containing analgesics, *J. Water Process Eng.* 2024, 58: 104767.
- [76] T. Li, W. Zhang, L. Yang, S. Guo, R. Wang, Differentiation of prokaryotic community composition in suspended sediment size-fractionation in a small loess watershed, *Catena*.2024, 237 (9): 107806.
- [77] J. Hemp, S. Lüscher, J. Schott, L.A. Pace, J.E. Johnson, B. Schink, H. Daims, W.W. Fischer, Genomics of a phototrophic nitrite oxidizer: Insights into the evolution of photosynthesis and nitrification, *ISME J.* 2016, 10: 2669–2678.
- [78] O. Ponomarova, K.R. Patil, Metabolic interactions in microbial communities: Untangling the Gordian knot, *Curr. Opin. Microbiol.* 2015, 27 (7): 37–44.
- [79] D.J. Richardson, B.C. Berks, D.A. Russell, S. Spiro, C.J. Taylor, Functional, biochemical and genetic diversity of prokaryotic nitrate reductases, *Cell. Mol. Life Sci.* 2001, 58: 165–178.
- [80] S. Banerjee, K. Schlaeppi, M.G.A. van der Heijden, Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning, *Nat. Rev. Microbiol.* 2018, 16: 567–576.
- [81] S. Louca, L.W. Parfrey, M. Doebeli, Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome, *Science.* 2016, 353 (6): 1272–1277.
- [82] R.D. Bardgett, W.H. Van Der Putten, Belowground biodiversity and ecosystem functioning, *Nature*.2014, 515 (4): 505–511.
- [83] Boyle E. Nitrogen pollution knows no bounds[J]. *Science*, 2017, 356(6339): 700-701.
- [84] Bhatnagar A, Sillanpää M. A review of emerging adsorbents for nitrate removal from water[J]. *Chem. Eng. J.*, 2011, 168: 493-504.
- [85] Gaballah M S, Guo J, Sun H, et al. A review targeting veterinary antibiotics

- removal from livestock manure management systems and future outlook[J]. *Bioresour. Technol.*, 2021, 333: 125069.
- [86] Kuppusamy Sathishkumar, Yi Li, Edmond Sanganyado, Electrochemical behavior of biochar and its effects on microbial nitrate reduction: Role of extracellular polymeric substances in extracellular electron transfer, *Chem. Eng. J.* 2020, 395 (3): 125077.
- [87] R. Wan, Y. Chen, X. Zheng, Y. Su, M. Li, Effect of CO₂ on Microbial Denitrification via Inhibiting Electron Transport and Consumption, *Environ. Sci. Technol.* 2016, 50 (7): 9915–9922.
- [88] R.P. Singh, M.K. Shukla, A. Mishra, P. Kumari, C.R.K. Reddy, B. Jha, Isolation and characterization of exopolysaccharides from seaweed associated bacteria *Bacillus licheniformis*, *Carbohydr. Polym.* 2011, 84: 1019–1026.
- [89] N.A. Yusoff, S.A. Ong, L.N. Ho, N.A. Rashid, Y.S. Wong, F.N.M. Saad, W.F. Khalik, S.L. Lee, Development of simultaneous photo-biodegradation in the photocatalytic hybrid sequencing batch reactor (PHSBR) for mineralization of phenol, *Biochem. Eng. J.* 2018, 138: 131–140.
- [90] H. Xiong, D. Zou, D. Zhou, S. Dong, J. Wang, B.E. Rittmann, Enhancing degradation and mineralization of tetracycline using intimately coupled photocatalysis and biodegradation (ICPB), *Chem. Eng. J.* 2017, 316 (6): 7–14.
- [91] W. Zuo, L. Zhang, Z. Zhang, S. Tang, Y. Sun, H. Huang, Y. Yu, Degradation of organic pollutants by intimately coupling photocatalytic materials with microbes: a review, *Crit. Rev. Biotechnol.* 2021, 41 (7): 273–299.
- [92] G. Chen, Z. Zhang, Z. Zhang, R. Zhang, Redox-active reactions in denitrification provided by biochars pyrolyzed at different temperatures, *Sci. Total Environ.* 2018, 615: 1547–1556.

攻读硕士学位期间的科研成果

论文

- [1] Xiaofan Yang*, **Yutao Xu**, Saraschandra Naraginti**, Xueyu Wei, et al. Enhanced sulfamethazine detoxification by a novel BiOCl(110)/NrGO/BiVO₄ heterojunction, Environmental Research 232 (2023) 116351. (导师一作、本人二作)
- [2] Xiaofan Yang*, **Yutao Xu**, Saraschandra Naraginti**, Kuppusamy Sathishkumar, et al. Catalytic enhancement of microbial denitrification by FeVO₄@biochar:Insight into the extra cellular polymeric matrix mechanism, Journal of Environmental Chemical Engineering 12 (2024) 113629. (导师一作、本人二作)

发明专利

- [1] 万杰,李锦程, 万昊, **徐玉涛**等.一种黑水虻养殖虫料高效自动分离装置 [P].CN.118252125A
- [2] **徐玉涛**, 陶良欢,刘捷等.一种农村污水处理排泥设备[P].CN118384606A.

授权实用新型专利

- [1] **徐玉涛**, 陶良欢, 庞晓慧等.一种污水处理用格栅[P]. CN221788460U.

致谢

时光飞逝，转眼 3 年的研究生求学生涯即将结束，在这篇硕士论文即将完成之际，我首先要感谢我的导师杨晓凡教授和我的导师 Saras 博士，非常荣幸能够成为他们的研究生，他们严谨的治学态度、深厚的学术造诣和无私的奉献精神深深地影响了我。在论文的选题、研究过程中，杨晓凡老师和 Saras 老师给予了我悉心的指导和无私的帮助，使我能够不断克服困难，最终完成了这篇论文。他们的教诲和支持，将成为我今后学术生涯中宝贵的财富。回忆着 3 年的研究生生活，是忙碌充实而又快乐的 3 年，在这里认识了很多可爱的同学和敬爱的老师们，非常感谢大家对我的帮助。

我还要感谢朱美庆老师，刘莎莎老师，徐大勇老师，徐晓平老师，唐海老师，洪冉老师，张庆云老师，张晓颖老师，胡颖老师在学业上的指导与帮助。同时感谢我的师兄师姐们，他们/她们在学术研究和日常生活中给予我许多宝贵的建议和帮助。特别是霍加续、李锦程、邵帅、曾帅师兄和庞晓慧、唐晓露师姐，在数据分析和实验设计方面给予了我极大的帮助，使我的研究工作得以顺利进行。感谢同届的李凯鑫、孙龙、单梦、孙涛涛、孙莹珂、秦璇、潘玲慧、陈力嘉和肖洒几位同学在实验期间互帮互助，让研究生生涯充满了激情与欢乐。同时也感谢杜思雨，侯世强等各位师弟师妹们。

感谢所有参与我研究调查的老师、同学和朋友，在我学习生活中给予我许多的帮助和支持，让我感到温暖和力量。同时还要感谢学院和学校为我提供了良好的学术环境和资源，因为有你们的参与和支持，才使我顺利完成我的硕士学业。

最后感谢我的父母对我的理解和支持，他们的鼓励和爱是我完成学业的最大动力。在我遇到困难和挫折时，是家人的鼓励让我重新振作，继续前行。

再次感谢所有在我硕士学习期间给予我帮助和支持的人，是你们让我的学术之路更加丰富多彩。

本文完成于安徽工程大学化学与环境工程学院四号楼 115 实验室。

徐玉涛

2025.5.8