

# 污水处理中微生物反硝化脱氮过程及代谢规律

吉芳英, 陈 思, 刘 娜

(重庆大学三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400045)

**摘 要:**微生物同化、异化反硝化均依赖碳源,且同化 C/N 为 23 远高于异化 C/N。污水系统中反硝化菌多为兼性厌氧菌,其反硝化效果受 DO、碳源种类、温度等因素影响较大。DO 与  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  为竞争关系,DO 存在会抑制反硝化,但高 DO 有利于反硝化菌的生长。不同碳源反硝化所需 C/N 不同,污水为碳源时所需的 C/N 约为 4.0-5.0,污泥内源呼吸时反硝化 C/N 最低为 2.9-3.2,但其反硝化速率仅为利用 VFA 时的 1/10。常见 VFA 如甲醇、乙酸等 C/N 为 3.1-4.1。反硝化过程中还应注意温室气体  $\text{N}_2\text{O}$  逸出等问题,偏酸性及较高 DO 会导致反硝化过程  $\text{N}_2\text{O}$  积累与逸出。

**关键词:**反硝化;微生物代谢;低碳源污水

**中图分类号:**X703.1

**文献标志码:**A

含氮污染物是目前污水处理的主要对象之一。根据我国污水处理厂主要应用的除磷脱氮工艺<sup>[1]</sup>,含氮污染物的去除从原理上来看主要还是通过氨化→硝化→反硝化三个阶段来实现<sup>[2]</sup>。随着污水氮磷排放标准的提高,如何提高微生物脱氮能力成为人们关注的问题。在脱氮过程中,由于碳源等限制条件,反硝化逐渐成为影响脱氮效率的关键步骤。而微生物则是污水反硝化过程的核心。本文将主要介绍微生物反硝化代谢途径,微生物的类型以及碳源、DO 等因素对反硝化的影响,在系统分析微生物反硝化过程的同时,为解决污水处理反硝化中出现的“低碳源”、提高反硝化效果等问题提供理论依据与分析。

## 1 微生物降解硝酸盐原理

污水处理中,硝酸盐通过微生物去除有两种途径:一种称为“同化硝酸盐降解”,即生物耗氮;另一种为“异化硝酸盐降解”,通常指反硝化作用。

### 1.1 同化硝酸盐降解

氮作为微生物体内重要的元素组成,微生物可以通过同化作用固定一定量的硝酸盐。然而对于微生物而

言,与  $\text{NO}_3^-$  相比处于 -3 价的  $\text{NH}_4^+$  更容易被用于合成同化。因此同化硝酸盐降解通常只发生在没有  $\text{NH}_4^+$  的情况下,其合成路径如下<sup>[3]</sup>:



这一合成路径在反硝化菌及好氧菌等微生物中都存在<sup>[4]</sup>。微生物的元素组成可以表示为  $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}^{[5]}$ ,对典型的生活污水:BOD 以 150 mg/L、BOD 产率系数以 0.8 计<sup>[6]</sup>,同化硝酸盐降解量约为 13 mg/L,此条件下 C/N 为 23,由此可知,虽然硝酸盐可以通过微生物同化作用最终以污泥的形式从水中去除,但由于 BOD 的限制这一途径不能完全降解污水中的含氮污染物。而进水 BOD 越高则通过同化作用去除的硝酸盐氮也越多,对于低碳源污水则对微生物异化反硝能力提出更高的要求。图 1 为微生物同化硝酸盐降解代谢示意图。

### 1.2 异化硝酸盐降解

与同化硝酸盐降解不同,在异化硝酸盐降解中,硝酸盐是作为呼吸作用的最终电子受体,参与微生物的呼吸产能,N 元素并不参与细胞合成。硝酸盐最后转化为低价态的含氮物质(如  $\text{N}_2$  等)排出体外。异化硝酸盐降解有两条途径,除了污水处理中常讨论的  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$  的

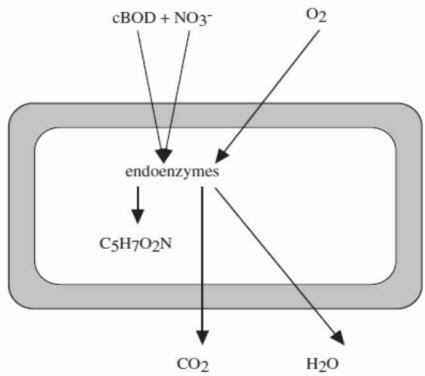


图 1 微生物同化硝酸盐降解示意图

反硝化过程外,某些微生物还可以经过  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_4^+$  的氨化途径将硝酸盐还原为  $\text{NH}_4^+$ <sup>[7]</sup>,而这一还原途径是不利于污水脱氮的。图 2 为污水中常见的微生物反硝化代谢示意图。

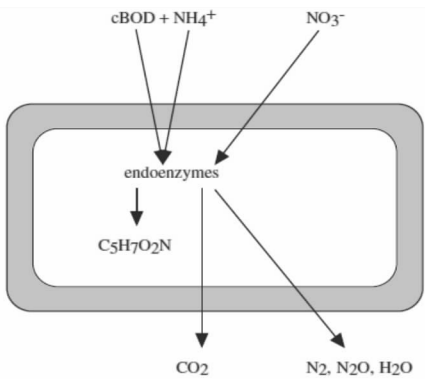
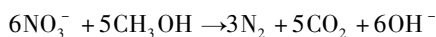


图 2 微生物反硝化示意图

污水处理中讨论的“反硝化”通常是指兼性厌氧菌在缺氧的条件下,将  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  还原为  $\text{N}_2$  的异化硝酸盐降解过程<sup>[8]</sup>。以甲醇为例,反硝化过程可以表示为:



$\text{NO}_3^-$  反硝化产生  $\text{N}_2$  是分步进行的,其过程涉及 5 种含氮物质和 4 个生化步骤,其转化步骤如如图 3 所示<sup>[4]</sup>。

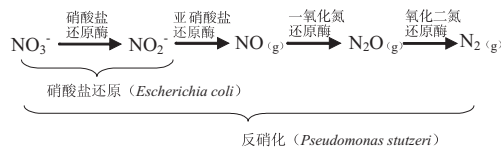


图 3 反硝化步骤示意图

5 个含氮物质中,  $\text{NO}_3^-$  通常作为最初的能量来源,  $\text{NO}_2^-$  可以是最初的能量来源也可能是中间产物,  $\text{NO}$ 、 $\text{N}_2\text{O}$  通常为中间产物;4 个步骤中只有两个产能环节。5 种含氮物质在反硝化过程中的角色关系见表 1<sup>[5]</sup>。

对于图 3 所示的反硝化过程,大多兼性厌氧菌能将

$\text{NO}_3^-$  还原成  $\text{N}_2$ ,但在某些情况下会以中间产物为终点:(1)某些微生物缺少相应的酶,不能还原到  $\text{N}_2$ ,例如大肠杆菌(*Escherichia coli*)只能进行  $\text{NO}_3^-$  到  $\text{NO}_2^-$  的还原步骤<sup>[4]</sup>。(2)在某些不利条件下运行,反硝化也可能进行到中间步骤就停止了<sup>[5]</sup>,比如碳源不足,可提供的电子不够用于完全反硝化。因此,碳源是保证完整反硝化的一个重要条件,目前污水厂解决碳源不足的问题主要方法仍然是投加外碳源,一些节省碳源的反硝化工艺如短程反硝化、反硝化除磷等被广泛研究。

表 1 反硝化过程含氮物质角色

含氮物质	能源底物	中间产物	最终产物
$\text{NO}_3^-$	√		
$\text{NO}_2^-$	√	√	
$\text{NO}$		√	
$\text{N}_2\text{O}$		√	
$\text{N}_2$			√

受环境影响,反硝化过程中产生的气体也可能被释放出来<sup>[7]</sup>。 $\text{N}_2\text{O}$  由于其较高的温室效应,如何控制  $\text{N}_2\text{O}$  也广受关注<sup>[9]</sup>。Pan Y T 等<sup>[10]</sup>研究表明在偏酸性条件下会导致  $\text{N}_2\text{O}$  积累,巩有奎<sup>[11]</sup>等研究表明,高浓度的  $\text{NO}_2^- - \text{N}$  会引起  $\text{N}_2\text{O}$  的累积和释放,并且 DO 对  $\text{N}_2\text{O}$  还原酶有抑制作用,降低 DO 是减少  $\text{N}_2\text{O}$  产量的关键因素。

## 2 污水中微生物反硝化条件及影响因素

在污水处理系统中,发生反硝化通常应具备以下四个条件<sup>[5]</sup>:(1)大量活跃的反硝化微生物;(2)存在  $\text{NO}_3^-$  或  $\text{NO}_2^-$ ;(3)不存在分子氧或存在溶氧梯度;(4)溶解性 cBOD。

### 2.1 反硝化微生物

从能源利用情况来看,反硝化菌可以是自养菌也可以是异养菌,绝大多数的反硝化菌是异养菌,极少数为自养反硝化菌<sup>[7]</sup>。自养反硝化菌以氧化无机物(例如  $\text{H}_2$ 、S)获取能量。例如脱氮硫杆菌(*Thiobacillus denitrificans*)其能源底物为单质硫,利用溶解的  $\text{CO}_2$  或  $\text{HCO}_3^-$  为碳源<sup>[3]</sup>。

污水处理系统中大多数反硝化微生物属于变形菌门(*Proteobacteria*),生理学上属于兼性厌氧菌,它们在  $\text{O}_2$  存在时以  $\text{O}_2$  呼吸,没有  $\text{O}_2$  时以  $\text{NO}_3^-$  呼吸。许多反硝化菌在缺氧条件下,也可以以其他物质作为电子受体,如  $\text{Fe}^{3+}$  等<sup>[4]</sup>。在污水处理中,常见的反硝化细菌生长速度非常快,其世代周期约为 15 - 30 min<sup>[5]</sup>。

此外,一些反硝化细菌通过发酵生存,一些是光养紫细菌。因此,反硝化细菌的新陈代谢存在多样化的能量转移机制<sup>[4]</sup>。表 2 列举了污水处理中反硝化微生物

常见菌属见<sup>[5]</sup>。

表2 污水处理系统中反硝化微生物常见菌属

菌属	译名	菌属	译名
<i>Achromobacter</i>	无色菌属	<i>Escherichia</i>	埃希氏杆菌属
<i>Acinetobacter</i>	不动杆菌属	<i>Flavobacterium</i>	黄杆菌属
<i>Agrobacterium</i>	农杆菌属	<i>Gluconobacter</i>	葡萄糖酸杆菌
<i>Alcaligenes</i>	产碱杆菌属	<i>Halobacterium</i>	盐杆菌属
<i>Bacillus</i>	芽孢杆菌属	<i>Hyphomicrobium</i>	生丝菌属
<i>Chromobacterium</i>	色杆菌属	<i>Kingella</i>	金氏菌属
<i>Corynebacterium</i>	棒状杆菌属	<i>Thiobacillus</i>	硫杆菌属
<i>Denitrobacillus</i>	脱氮菌属	<i>Moraxella</i>	莫拉氏菌属
<i>Enterobacter</i>	肠杆菌属	<i>Xanthomonas</i>	黄单胞菌属
<i>Neisseria</i>	奈瑟氏菌属	<i>Rhizobium</i>	根瘤菌属
<i>Paracoccus</i>	副球菌属	<i>Rhodospseudomonas</i>	红假单胞菌属
<i>Propionibacterium</i>	丙酸菌属	<i>Spirillum</i>	螺旋菌属
<i>Pseudomonas</i>	假单胞菌属		

在这些微生物中产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)包含了大部分的反硝化菌<sup>[5]</sup>。而研究得较为深入的反硝化菌有脱氮副球菌(*Paracoccus denitrifications*)、施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)<sup>[8]</sup>。除此以外,古生菌中的嗜盐菌、极端嗜热菌中也发现具有反硝化功能的菌属。真菌中的某些菌属(如镰刀菌)通过不同于细菌的代谢途径,可以将硝酸盐还原为 $N_2O$ 或 $NH_4^+$ <sup>[7-8,12]</sup>。

## 2.2 DO

对于兼性厌氧菌而言,反硝化需要在没有分子氧的环境中进行。在其呼吸作用中可以利用 $O_2$ 或 $NO_3^-/NO_2^-$ 作为最终电子受体。在兼性厌氧菌呼吸链中有两套不同的酶系统,利用 $O_2$ 作为电子受体被称为“好氧呼吸”;利用 $NO_3^-/NO_2^-$ 作为电子受体被称为“缺氧呼吸”。这两种呼吸作用的代谢途径相似,最大的区别在于电子传递链中进行最终电子传递的酶不同<sup>[3]</sup>,兼性厌氧菌利用 $O_2$ 、 $NO_3^-$ 代谢过程如图4所示<sup>[4]</sup>。

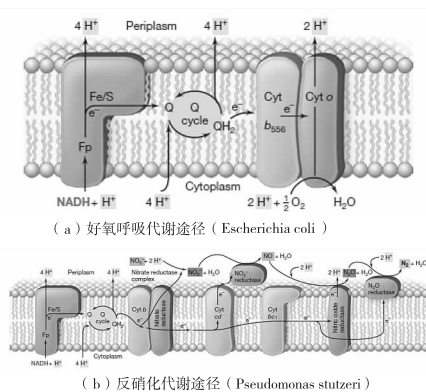
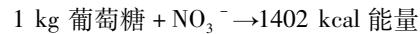
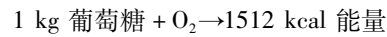
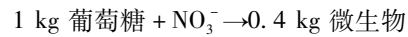
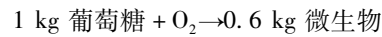


图4 兼性厌氧菌呼吸作用代谢途径

兼性厌氧菌在同一时刻只能利用一种物质进行呼吸,在 $O_2$ 与 $NO_3^-/NO_2^-$ 同时存在的条件下,总是优先利用 $O_2$ 。从微观的角度解释,是由于反硝化酶只能在缺氧

或接近缺氧的条件下才能进行反硝化,暴露在 $O_2$ 会使其活性受到抑制<sup>[8]</sup>,图3所表示的反硝化过程中每个步骤的酶都会受到抑制<sup>[4]</sup>。从微生物生存策略来讲,氧化相同量的BOD,与 $NO_3^-/NO_2^-$ 相比利用 $O_2$ 可以产生更多的能量和后代<sup>[5]</sup>。因此,在反硝化微生物培养时可以考虑适当采曝气方式让反硝化菌快速生长。以葡萄糖为例,利用 $O_2$ 、 $NO_3^-$ 微生物和能量产量比较如下<sup>[5]</sup>:



在实际工程中,反硝化过程一般DO控制在 $0.5 \text{ mg/L}$ 以下<sup>[13]</sup>,但在活性污泥系统中通常测得的DO并不能真实反映絮体内部的DO浓度,当絮体边界 $DO < 1 \text{ mg/L}$ ,絮体颗粒直径 $> 150 \mu\text{m}$ 时,DO由絮体边界逐渐减小,直至某处不存在分子氧。此时在絮体内部存在可以进行反硝化的溶氧梯度<sup>[5]</sup>。在低氧环境中,构建溶氧梯度是反硝化的保证,这也是为SND提供了微观环境<sup>[14]</sup>。此外,一些研究发现了在好氧条件下某些微生物可以进行反硝化的现象,不同于传统缺氧反硝化的模式,使其受到了广泛关注<sup>[15]</sup>。

## 2.3 碳源

反硝化微生物通常为异养菌,有机物在反硝化过程中既作为电子供体(能源)也作为微生物合成的碳源。在污水处理过程中,反硝化脱氮的同时也去除一定量的COD。由于城市污水低碳源化等原因,部分污水厂在反硝化阶段出现碳源不足的情况而需要投加外碳源。因此利用外加碳源进行反硝化也研究得较为广泛<sup>[16]</sup>,常用于添加的碳源有:乙酸、乙醇、葡萄糖,甲醇、水解污泥等<sup>[3]</sup>。选择碳源通常考虑三个因素:可以提供的电子量、反应速率(微生物利用情况)以及碳源价格。而甲醇由于其具有经济优势以及易于被微生物利用,是污水处理厂用得最多的反硝化外加碳源<sup>[17]</sup>。

由化学计量可知,反硝化所需C/N为 $2.86$ <sup>[3]</sup>。然而,在实际应用中,反硝化过程中的有机物还参与产能及同化合成,而不同有机物的可生化性也各不相同。此外,Her J J等<sup>[18]</sup>发现有机物在反硝化过程中部分转化成了 $CH_4$ 及其他气体,不同的有机物 $CH_4$ 产量不同。因此,微生物利用不同的碳源进行完全反硝化所需的C/N是不一样的,某些有机物为碳源时微生物产率较高,因此需要较高的C/N才能完全反硝化。例如以蔗糖为碳源时,污泥产量约为以甲醇为碳源时的两倍,而乙酸、乙醇、丙酮的微生物产量与甲醇相差不大。在长污泥系统

中,由于微生物内源呼吸其污泥产量较低,所需的 C/N 较小<sup>[17]</sup>。表 3 为常见碳源物质最佳的碳氮比<sup>[3,17-18]</sup>:

表 3 各种碳源反硝化碳氮比

碳源	C/N (kg COD/kg N)
污水	4.0 ~ 5.0
污泥(内源)	2.9 ~ 3.2
甲醇	3.5 ~ 4.1
乙酸	3.1 ~ 3.7
葡萄糖	3.2 ~ 3.8

除此 C/N 之外,碳源种类对反硝化速率也有较大的影响。

在碳源充足的条件下,反硝化速率与硝酸盐浓度呈零级动力学反应,即反硝化速率与硝酸盐浓度无关(一般认为,NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 超过 0.1 mg/L 时,对反硝化速率无影响),而只与反硝化细菌的数量有关<sup>[19-20]</sup>。而利用不同的碳源,微生物反硝化速率不同。Barnard 发现在污水处理中由于碳源物质不同反硝化过程存在三个阶段<sup>[21-22]</sup>: (1) 利用 VFAs 等易被降解的物质,反硝化速率约为 50 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> - N/L · h。(2) 利用颗粒有机物和复杂有机物,反硝化速率约为 16 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> - N/L · h。(3) 利用内源代谢产物,反硝化速率仅为 5.4 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> - N/L · h。一般而言,小分子碳源物质易于用于反硝化,其速率较大分子碳源快。在某种程度上而言,大分子物质反硝化速率慢的原因可能是受其自身水解速率影响,使微生物处于碳源缺乏的状态<sup>[23]</sup>。微生物反硝化速率受温度影响较大,图 5 为微生物分别利用甲醇、原污水、内源代谢产物为碳源时反硝化速度随温度的变化<sup>[17]</sup>。

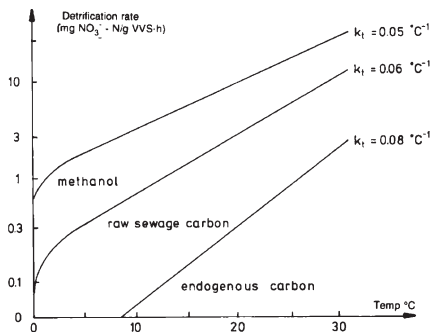


图 5 不同温度下微生物利用各碳源反硝化速率

## 2.4 其它影响因素

反硝化通常发生在氧化还原电位为 +100 mV - 100 mV 之间,除上述条件外,还受 pH、温度等环境因素影响<sup>[5]</sup>。

### (1) pH

反硝化菌进行反硝化适合在中性或微碱性环境中,最适 pH 范围为 7.0 - 7.5,当 pH < 6.0 或 pH > 8.0 时反

硝化菌会丧失其活性<sup>[5, 22]</sup>。此外, pH 还会对反硝化过程造成其它影响,如 N<sub>2</sub>O 释放。

### (2) 温度

反硝化菌进行反硝化的最适温度为 15 - 35 °C,当温度低于 10 °C 或高于 30 °C 反硝化速率会降低,当温度小于 3 °C 时反硝化停止<sup>[19]</sup>。对于污水处理环境,水温升高有利于反硝化进行,不仅是因为酶的活性提高,水温增加同时也降低了对 O<sub>2</sub> 的亲合力<sup>[5]</sup>。

## 3 结 论

(1) 目前“碳源”是污水反硝化过程最主要的影响因素,无论同化反硝化还是异化反硝化其反硝化量均受碳源数量的限制。对典型生活污水 BOD 以 150 mg/L、产率系数 0.8 计,同化去除 N 为 13 mg/L。BOD/COD 以 0.5 计,同化脱氮的 C/N 为 23,远高于异化反硝化 C/N。因此在整个污水处理过程中,减少微生物同化耗氮,即控制微生物合成,可以提高异化反硝化脱氮量。

(2) 针对污水厂出现的碳源不足现象,在投加外碳源时结合经济因素可以考虑甲醇、葡萄糖等 C/N 比较低的易降解有机物,在保证可利用的碳源同时可以保持较高的反硝化速率。对反硝化速率要求不高而需提高反硝化率时,可以考虑延长反硝化时间,让微生物进入内源阶段,利用内源有机物进行反硝化。

(3) 反硝化微生物是反硝化的核心,存在于污水处理系统的反硝化菌主要是兼性厌氧菌,高 DO 会抑制反硝化作用,但氧化相同量的 BOD,利用 O<sub>2</sub> 可以产生更多的能量和后代。因此,适时的曝气有利于反硝化微生物的生长并提高其活性。

## 4 展 望

随着研究地深入,生物反硝化的机理步骤逐渐被人们发现掌握,在微生物研究领域反硝化微生物的研究已经到了分子生物水平。然而在污水处理领域,如何有效地进行反硝化脱氮仍然是一个亟需解决的问题。而如何利用不断的研究成果去完善、改善、创造反硝化工艺与条件,以提高脱氮效果将是一项非常有意义的工作。

## 参 考 文 献:

- [1] 李楠,王秀衡,任南琪,等.我国城镇污水处理厂脱氮除磷工艺的应用现状[J].给水排水,2008,34(3):39-42.
- [2] 张自杰.排水工程[M].北京:中国建筑工业出版社,2000.
- [3] Water E F. Nutrient Removal[M]. Alexandria: McGraw-



- Hill Professional Publishing,2010.
- [4] Michael T. John M. Brock Biology of Microorganisms [M]. Benjamin Cummings,2010.
- [5] Michael H G. Wastewater Bacteria(Wastewater Microbiology)[M]. New York:Wiley-Interscience,2006.
- [6] 姚重华. 废水处理计量学导论[M]. 北京:化学工业出版社,2002.
- [7] Zumft W G. Cell biology and molecular basis of denitrification [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews,1997,61(4):533-616.
- [8] Hermann B, Tuart J Ferguson, William E Newton. Biology of the Nitrogen Cycle[M]. Oxford: Elsevier Science Ltd, 2007.
- [9] 朴哲. 曝气强度对同时硝化反硝化(SND)脱氮过程中  $N_2O$  排放的影响[J]. 环境工程学报,2011,12(5):2658-2662.
- [10] Pan Y, Ye L, Ni B J, et al. Effect of pH on  $N_2O$  reduction and accumulation during denitrification by methanol-utilizing denitrifiers[J]. Water Res., 2012,15(46):4832-4840.
- [11] 巩有奎,王淑莹,王莎莎,等. 碳氮比对短程反硝化过程中  $N_2O$  产生的影响[J]. 化工学报,2011,7(7):2049-2054.
- [12] 邓荣森. 氧化沟污水处理理论与技术[M]. 北京:北京化工出版社,2006.
- [13] Wang L K, Shammass N K. Yung T H. Advanced Biological Treatment Processes[M]. New York:Humana Pr Inc,2009.
- [14] 王薇,蔡祖聪,钟文辉,等. 好氧反硝化菌的研究进展[J]. 应用生态学报,2007,11(11):2618-2625.
- [15] Debarbadillo C. Got Carbon widespread biological nutrient removal is increasing the demand for supplement sources[J]. Water environment & technology,2008,20(1):48-53.
- [16] Sarensen B H, Jargensen S E. The Removal of Nitrogen Compounds from Waste Water[M]. London:Elsevier Science & Technology,1993.
- [17] 张林生. 水的深度处理与回用技术[M]. 北京:化学工业出版社,2009.
- [18] Her J J, Huang J S. Influences of carbon surface and C/N ratio on nitrate nitrite denitrification and carbon breakthrough[J]. Bioresource Technology,1995,1(54):45-51.
- [19] Christensen M H, Harremoes P. Biological denitrification of swage: a literature review[J]. Progress in Water Technology. 1977,4-5(8):509-555.
- [20] Barnard J L. Activated primary tanks for phosphate removal[J]. Water SA., 1984,3(10):121-126.
- [21] 徐亚同. 废水反硝化除氮[J]. 上海环境科学,1994(10):8-12.
- [22] Lee N M, Welander T. The effect of different carbon sources on respiratory denitrification in biological wastewater treatment[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering,1996,3(82):277-285.
- [23] 徐亚同. pH值、温度对反硝化的影响[J]. 中国环境科学,1994(4):308-313.

## Denitrifying Denitrification Process and Metabolic Rule of Microorganisms in Wastewater Treatment

JI Fang-ying, CHEN Si, LIU Na

(Key Laboratory of Eco-environments of Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400045, China)

**Abstract:** Both assimilatory nitrate reduction and dissimilatory denitrification all need organic substances, and the C/N ratio of assimilatory nitrate reduction is about 23, which is much higher than dissimilatory denitrification. Most of denitrifying bacteria in the sewage system are facultative anaerobe whose denitrification effect is greatly influenced by many factors such as DO, carbon source type and temperature, etc. DO competes with  $NO_3^-$ -N, the exist of DO will inhibit denitrification. However' the high DO is conducive to the growth of denitrifying bacteria. For different carbon source the C/N need in denitrification is different, the C/N is about 4.0 ~ 5.0 when the carbon source is waste water, the denitrification C/N of endogenous respiration is at least about 2.9 ~ 3.2, but it's denitrification rate is one-tenth of that when the carbon source is VFA. The C/N of some common VFA such as methanol, acetic acid and so on, is about 3.1 ~ 4.1. The phenomenon of greenhouse gas  $N_2O$  escape during denitrification should be noted.  $N_2O$  would accumulate and escape in denitrification process in condition of weak acidity or high DO.

**Key words:** denitrification; microbial metabolism; low-carbon source wastewater