

污水反硝化过程中亚硝酸盐的积累规律

付昆明¹, 曹相生^{2*}, 孟雪征², 朱兆亮³, 钱栋²

(1. 北京建筑工程学院城市雨水系统与水环境省部共建教育部重点实验室, 北京 100044; 2. 北京工业大学建工学院, 水质科学与水环境恢复工程北京市重点实验室, 北京 100124; 3. 山东建筑大学市政与环境工程学院, 济南 250101)

摘要:采用 SBR 反应器, 以甲醇为碳源, 研究了污水反硝化过程中的亚硝酸盐积累现象。在试验温度为 14℃, 初始 pH 值为 7.33, 污泥浓度为 1 000 mg·L⁻¹ 条件下, 反硝化过程中出现了明显的亚硝酸盐积累, 亚硝酸盐浓度随着硝酸盐的不断还原而逐渐增加, 2.5 h 时, 硝酸盐基本消耗完毕, 亚硝酸盐浓度达到最大值 22.35 mg·L⁻¹, 亚硝酸盐积累率(生成的 NO₂⁻-N/初始 NO₃⁻-N)为 43.2%, 在此过程中, pH 值开始缓慢上升, 至 2.67 h 达到 7.79。随后, 亚硝酸盐浓度开始逐渐下降, 并最终消耗完毕, 在此过程中, pH 值开始快速上升, 并在硝酸盐消耗完毕时形成了一个明显的拐点, 因而可作为硝酸盐耗尽的指示参数, 至 3.5 h 时 pH 达到最大值 8.35, 最后略有下降。产生亚硝酸盐积累的原因是系统中硝酸盐的存在抑制了亚硝酸盐的还原, 导致硝酸盐还原速率大于亚硝酸盐还原速率。

关键词:亚硝酸盐积累; 反硝化; 甲醇; 污水处理; 厌氧氨氧化

中图分类号: X701.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3301(2011)06-1660-05

Characteristics of Nitrite Accumulation During Wastewater Denitrification

FU Kun-ming¹, CAO Xiang-sheng², MENG Xue-zheng², ZHU Zhao-liang³, QIAN Dong²

(1. Key Laboratory of Urban Storm Water System and Water Environment, Ministry of Education, School of Environment and Energy Engineering, Beijing University of Civil Engineering and Architecture, Beijing 100044, China; 2. Key Laboratory of Beijing for Water Quality Science and Water Environmental Recovery Engineering, College of Civil Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China; 3. School of Municipal and Environmental Engineering, Shandong Jianzhu University, Ji'nan 250101, China)

Abstract: Characteristics of nitrite accumulation during denitrification process were studied by using methanol as the sole organic carbon in a batch-scale sequencing batch reactor with synthetic wastewater. Under the condition of temperature was 14℃, initial pH value was 7.33 and sludge concentration was 1 000 mg·L⁻¹, nitrite accumulated significantly during denitrification process. Nitrite concentration increased gradually with nitrate reduction and reached its maximum value of 22.35 mg·L⁻¹ in 2.5 h when nitrate reduction was almost completed, the amount of accumulated nitrite was equivalent to 43.2% of the amount of initial nitrate. During this period, pH value gradually increased to 7.79 in 2.67 h. Then accumulated nitrite kept decreasing until to zero. When the concentration of nitrate reduced to zero, the increasing rate of pH rise dramatically, formed a breakpoint of pH curve. Therefore, the breakpoint of pH curve can be used as an indicator to show the end of nitrate reductive reaction. The pH value reached its maximum value of 8.35 in 3.5 h and decreased a little afterward. The reason for the accumulation of nitrite is the inhibition of nitrate on nitrite reductive reaction, caused the reductive rate of nitrate was more than that of nitrite.

Key words: nitrite accumulation; denitrification; methanol; wastewater treatment; anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX)

反硝化是常规生物脱氮一个必要过程, 虽然人们已经对反硝化过程有了一些了解, 但对其中的某些机制并不完全清楚; 此外, 近些年来出现了一些新的生物脱氮技术, 其中, 厌氧氨氧化 (anaerobic ammonium oxidation, ANAMMOX) 技术能够利用 NO₂⁻ 氧化 NH₄⁺, 生成氮气, 可同时去除 2 种氮素, 大大降低了运行成本, 被认为是迄今最具可持续发展特性的污水脱氮技术^[1~4]。但 ANAMMOX 在应用时亦有其瓶颈, 为其反应提供电子受体的基质是 NO₂⁻-N, 而非 NO₃⁻-N^[5]。因而, 要利用 ANAMMOX 须首先积累亚硝酸盐。而目前研究人员在获取亚硝酸盐时, 均是在硝化过程中进行控制, 包括控制温度、游离氨 (free ammonia, FA)^[6]、溶解氧 (dissolved

oxygen, DO)^[7,8] 等手段, 但能成功应用于实践的只有 SHARON 工艺^[9], 温度是其主要控制条件, 但将温度控制在 30 ~ 36℃ 之间大大限制了 SHARON 工艺的应用。

尽管反硝化过程中的亚硝酸盐积累现象也常见于文献报道^[10~12], 但鲜见有应用。大多数研究人员致力于消除反硝化过程中的亚硝酸盐, 这是因为在发现 ANAMMOX 技术之前, 亚硝酸盐积累出现在反

收稿日期: 2010-06-08; 修订日期: 2010-08-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50808002); 北京市科技新星计划项目 (2008B11)

作者简介: 付昆明 (1981 ~), 男, 博士, 主要研究方向为水处理技术, E-mail: fukunming@yahoo.com.cn

* 通讯联系人, E-mail: caoxish@yahoo.com.cn

硝化过程中, 是有害无益的. ANAMMOX 技术出现之后, 使其有了应用的可能: 若能成功截流反硝化过程中的亚硝酸盐, 使其回归厌氧氨氧化反应, 不仅被厌氧氨氧化的那部分 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 的最终去除不再需要有机碳源, 而且亚硝酸盐还原到氮气这一步骤所需有机碳源也将节省, 首先提出将反硝化过程中的亚硝酸盐积累加以利用, 是本研究的一个创新之处.

本研究的主要目的是探讨反硝化过程中产生亚硝酸盐积累的原因, 并期望未来能与 ANAMMOX 技术联用. 事实上, ANAMMOX 现象正是首先在一个反硝化流化床^[13]中被发现的.

1 材料与方法

1.1 试验装置与试验用水

试验采用 SBR 反应器, 体积为 20 L. 缺氧段采用电动搅拌器搅拌, 搅拌器转速为 $80 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$. 好氧段采用微孔曝气头曝气(图 1), DO 控制在约 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 培养期间, 使用温控加热棒使反应器内混合液温度控制在 $20 \sim 25^\circ\text{C}$.

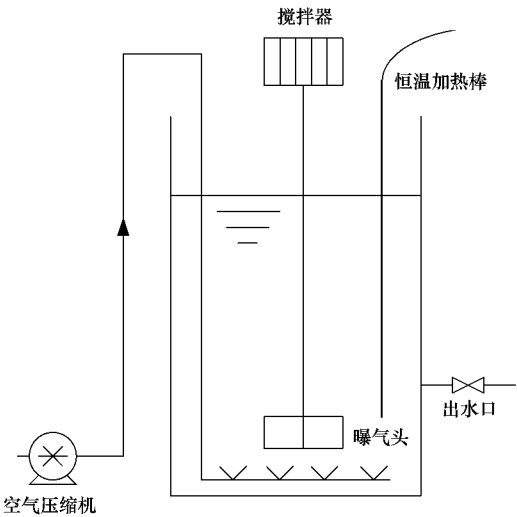


图 1 SBR 反硝化反应器示意

Fig. 1 Schematic of the SBR test equipment for denitrification

试验用水采用人工配水. 配水由自来水溶解 CH_3OH 、 NH_4HCO_3 、 NaNO_3 、 K_2HPO_4 而成. 由于自来水本身含有一些微量元素, 故不再单独投加. 人工配水的主要指标见表 1.

1.2 分析项目与监测方法

亚硝酸盐氮: N -(1-萘基)-乙二胺光度法^[14], 硝酸盐氮: 麝香草酚分光光度法^[15], pH 值: pHTestr 30 型 pH 计, MLSS: 711 型污泥浓度仪. COD: 快速消解比色法. 考虑 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 对 COD 测定的影响, 校准后的

COD 按下式计算:

$$\text{COD}_{\text{校准}} = \text{COD}_{\text{检测}} - 8/7 \text{ NO}_2^- \text{-N}$$

表 1 人工配水水质

Table 1 Water quality of synthetic wastewater				
COD/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{NH}_4^+ \text{-N}$ $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{NO}_3^- \text{-N}$ $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$ $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	pH
400	10	60	2	7.0 ~ 8.5

2 结果与讨论

2.1 反硝化污泥的培养

试验所用污泥为接种自本实验室 SBR 反应器的普通活性污泥. 有研究显示^[16], 反硝化菌体内某些酶组分只有在有氧条件下才能合成, 因此污泥培养采用缺氧、好氧交替运行的模式, 使反硝化菌处于最佳试验条件. SBR 反应器按照时间区分缺氧段与好氧段, 污泥培养期间, 每个周期缺氧段运行 3 h, 好氧段 1 h, 沉淀 2 h, 1 d 运行 2 个周期. 其它时间处于闲置期. MLSS 保持在 $1000 \sim 2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间.

反硝化污泥富集培养 20 d 后, 为验证该活性污泥的反硝化效果, 在室温 (18°C) 条件下, $\text{MLSS} = 1690 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 进行缺氧反硝化试验, 定时取样测定其 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 、COD 与 pH, 绘制曲线如图 2 所示.

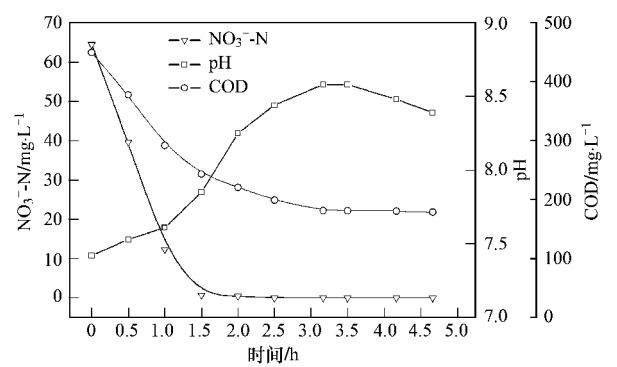


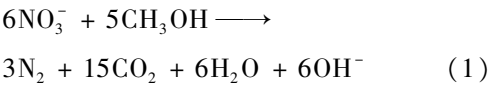
图 2 培养完成后的反硝化效果

Fig. 2 Denitrifying performance of activated sludge after incubation

从图 2 可以看出, 驯化后的活性污泥具有非常高的反硝化活性. 仅经过 1.5 h, 反应器中的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 已被消耗完毕, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的还原速率达到 $30.85 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$, 至此认为已经完成反硝化污泥的培养.

2.2 亚硝酸盐积累现象

以甲醇为碳源反硝化时, 反硝化反应方程式如式(1)所示.



通过式(1)可以看出,在 NO_3^- 反硝化过程中,总会伴随着 COD 的降低与 pH 的上升.但在图2中,当 NO_3^- -N 耗尽后, COD 并没有停止下降的趋势,而是在 3 h 后, COD 才维持相对稳定; pH 在 NO_3^- -N 耗尽后,同样没有停止上升的趋势,也在 3 h 时达到最大值 8.58,而后缓慢下降.

显然,若消耗的 NO_3^- -N 完全能够反硝化为氮气,那么上述现象与式(1)并不吻合.分析认为,在反硝化过程中,中间产物 NO_2^- -N 很可能大量积累于反应器中,当 NO_3^- -N 耗尽后, NO_2^- -N 继续反硝化,导致了 COD 的持续下降与 pH 的持续上升.

为进一步明确反硝化过程中亚硝酸盐的存在情况及其作用,在检测 COD、 NO_3^- -N 与 pH 时,同时检测水样的 NO_2^- -N 指标;在大量的试验中,注意到 pH 变化有一定规律,为明确其指示作用,加大了 pH 的检测密度.试验时温度为 14°C , $\text{MLSS} = 1\,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NO_2^- -N、 NO_3^- -N 和 pH 的变化规律如图3所示, NO_x^- -N (NO_2^- -N + NO_3^- -N) 与 COD 的变化规律如图4所示.

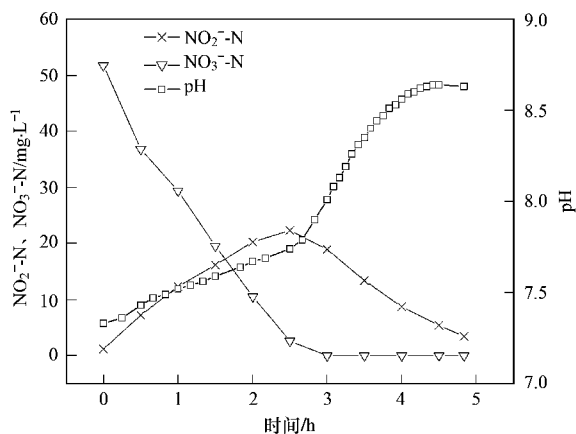


图3 反硝化过程中 NO_2^- -N、 NO_3^- -N 和 pH 的变化

Fig.3 Variations of NO_2^- -N, NO_3^- -N and pH during denitrification

从图3可以看出,反硝化的过程中的确出现了明显的亚硝酸盐积累. NO_2^- -N 在 2.5 h 达到最大值 $22.35\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 亚硝酸盐积累率(生成的 NO_2^- -N/初始 NO_3^- -N)为 43.2%,而此时正是 NO_3^- -N 基本被消耗完毕的时刻.由于此时 COD 尚有剩余,因而积累的亚硝酸盐不能稳定,被继续还原;至 NO_2^- -N 将被消耗完毕时, COD 下降速度也开始变慢.比较 NO_x^- -N 与 COD 的 2 条曲线,发现 COD 降解的过程中,始终伴有 NO_x^- -N 的降低,与反硝化的变化规律相吻合.

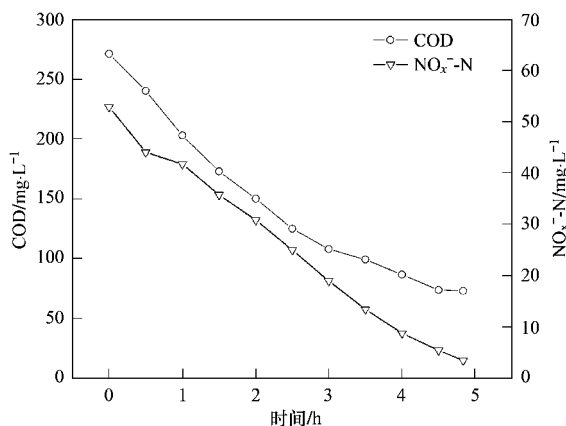


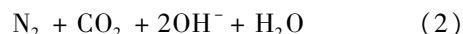
图4 反硝化过程中 COD 与 NO_x^- -N 的变化

Fig.4 Variations of COD and NO_x^- -N during denitrification

混合液的 pH 初始值为 7.33,当试验开始后, pH 值开始缓慢上升,至 2.67 h 达到 7.79,此阶段 pH 上升速率为 0.16 h^{-1} .随后 pH 上升速率明显加快,至 3.5 h 时已经达到 8.35,此阶段上升速率达到 0.69 h^{-1} .可以看出, pH 在 2.67 h 存在一个明显变化的拐点;3.5 h 后 pH 上升速率逐渐变慢并趋于 0. pH 值最后略有下降.

2.3 亚硝酸盐积累原因分析

在本次试验中, COD 始终处于过剩状态.若硝酸盐完全反硝化,其代谢方程如式(1)所示,而亚硝酸盐完全反硝化,其代谢方程如式(2)所示.



比较式(1)与式(2)可知,1 mol 亚硝酸盐还原成氮气所消耗的碳源是 1 mol 硝酸盐还原成氮气所消耗碳源的 0.6 倍,因此以 NO_3^- -N + $0.6 \times \text{NO}_2^-$ -N 来表示试验中的硝酸盐当量^[17-20],而不能简单地以 NO_x^- -N 作为消耗的 C/N 比.

图5列出了 COD 变化与硝酸盐当量变化之间的比例关系,显然,两者具有良好的线性关系,相关系数 r 达到 0.999,斜率即 C/N 比为 3.86,与 McCarty 等^[21]得出的以甲醇为碳源的反硝化方程的 C/N 比为 3.70 (CH_3OH 与 NO_3^- 物质的量比 1.08)非常接近.这表明本试验中, COD 的消耗主要靠反硝化菌完成.

虽然已经有研究表明反硝化是沿着式(3)的路径还原为氮气,但是两步反硝化模型[the two-step denitrification model, 式(4)]已经能够较好地模拟亚硝酸盐积累的过程^[22],两步反硝化模型的反应方程

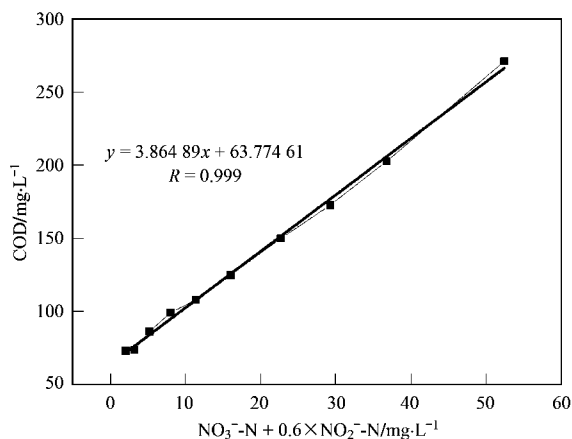
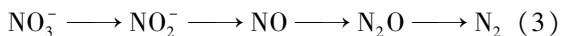


图5 反硝化过程中硝酸盐当量与消耗 COD 的比例关系

Fig. 5 Relationship between nitrate equivalent and COD consume during denitrification

式,第一步可用式(5)表示,第二步可用式(2)表示.



在本试验中,2.5 h 之前的 NO_2^- -N增加速率为 $9.44 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$,2.5 ~ 4 h 的 NO_2^- -N还原速率为 $10.48 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$,而2.5 h 前,硝酸盐的还原速率为 $19.92 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$, NO_2^- -N的还原速率明显低于 NO_3^- -N的还原速率,因此,反硝化过程中产生亚硝酸盐积累的主要原因是硝酸盐还原到亚硝酸盐的速率大于亚硝酸盐还原到氮气的速率造成的.Oh 等^[23]认为,导致反硝化过程中产生亚硝酸盐积累的原因是硝酸盐还原酶与亚硝酸盐还原酶在有机碳源缺乏时,亚硝酸盐还原酶在争夺电子受体时处于劣势造成的,但本试验中的有机碳源充足,因此产生亚硝酸盐积累另有原因.

随着 NO_2^- -N的减少, NO_2^- -N还原反应速率降低,最后阶段仅为 $5.91 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$,这与Abufayed等^[24]的结论并不吻合.他们认为在碳源充足, NO_3^- -N浓度 $>0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,反硝化呈现零级反应,当然,还有可能反硝化导致pH升高后,抑制了亚硝酸盐的反硝化速率,或者他们只考虑了 NO_3^- -N的还原,而并不意味着 NO_3^- -N会被完全还原为氮气.

笔者注意到,在2.67 h 时,反硝化过程中pH曲线明显出现拐点,pH变化明显加快.而在2.67 h 时,也是 NO_3^- -N耗尽的时刻.并且这种现象在随后的数次试验中均有重现,因此,认为pH拐点出现与 NO_3^- -N耗尽的点同时出现,并非是一种偶然现象.分

析反硝化过程中的两步的各自方程发现,碱度的产生是在亚硝酸盐反硝化的步骤[式(2)]中发生的,会导致pH的变化,而在硝酸盐还原到亚硝酸盐的步骤中[式(5)],并不产生碱度,不会导致pH的变化,因而pH的变化间接反映了亚硝酸盐反硝化的速率,即硝酸盐耗尽后,亚硝酸盐还原的速率明显加快,这表明硝酸盐的存在对于亚硝酸盐反硝化过程有明显的抑制作用.Korner 等^[25]也有类似的结论,认为硝酸盐的存在抑制了反硝化菌细胞内亚硝酸盐还原酶,导致了亚硝酸盐还原速率的降低.因此,在本试验中,认为硝酸盐的存在抑制了亚硝酸盐反硝化的速率,是导致亚硝酸盐积累的原因.利用反硝化这一规律可知,反硝化过程中,pH值上升速率由慢变快的拐点也可作为硝酸盐耗尽的指示参数.

综上所述,在以甲醇为碳源进行反硝化试验时,在COD浓度过量的基础上,会出现明显的亚硝酸盐积累,其存在原因是由反硝化两级反应的速率差异造成的,硝酸盐的存在抑制了亚硝酸盐反硝化的速率.在COD浓度受限的条件下,可望使得积累的亚硝酸盐获得稳定积累.

3 结论

(1)以甲醇为碳源,实验室配水驯化反硝化污泥,可以在反硝化过程出现亚硝酸盐积累.

(2)亚硝酸盐积累的原因是由反硝化两级反应的速率差异造成的,硝酸盐的存在抑制了亚硝酸盐反硝化的速率.

(3)反硝化过程中,pH上升速率由慢变快的拐点可作为硝酸盐耗尽的指示参数.

参考文献:

- [1] Jetten M, Horn S J, Van Loosdrecht M. Towards a more sustainable municipal wastewater treatment system[J]. Water Science and Technology, 1997, 35(9): 171-180.
- [2] Jetten M, Sliekers O, Kuypers M, et al. Anaerobic ammonium oxidation by marine and freshwater planctomycete-like bacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2003, 63(2): 107-114.
- [3] Ahn Y. Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review[J]. Process Biochemistry, 2006, 22(7): 519-532.
- [4] Liu S T, Yang F L, Gong Z, et al. Assessment of the positive effect of salinity on the nitrogen removal performance and microbial composition during the start-up of CANON process[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 80(2): 339-348.
- [5] Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms[J]. Applied Microbiology

- and Biotechnology, 1998, **50**(5): 589-596.
- [6] Anthonisen A C, Loehr R C, Prakasam T, *et al.* Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous-acid [J]. Journal Water Pollution Control Federation, 1976, **48**(5): 835-852.
- [7] Hanaki K, Wantawin C, Ohgaki S. Nitrification at low levels of dissolved oxygen with and without organic loading in a suspended-growth reactor [J]. Water Research, 1990, **24**(3): 297-302.
- [8] Kuai L P, Verstraete W. Ammonium removal by the oxygen-limited autotrophic nitrification-denitrification system [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, **64**(11): 4500-4506.
- [9] Heijnen J J, Hellinga C, Mulder J W, *et al.* The SHARON process: An innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water [J]. Water Science and Technology, 1998, **37**(9): 135-142.
- [10] Wilderer P A, Jones W L, Dau U. Competition in denitrification systems affecting reduction rate and accumulation of nitrite [J]. Water Research, 1987, **21**(2): 239-245.
- [11] Kornaros M, Zafiri C, Lyberatos G. Kinetics of denitrification by *Pseudomonas denitrificans* under growth conditions limited by carbon and/or nitrate or nitrite [J]. Water Environment Research, 1996, **68**(5): 934-945.
- [12] Van Rijn J, Tal Y, Barak Y. Influence of volatile fatty acids on nitrite accumulation by a *Pseudomonas stutzeri* strain isolated from a denitrifying fluidized bed reactor [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, **62**(7): 2615-2620.
- [13] Mulder A, Van de Graaf A A, Robertson L A, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized-bed reactor [J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, **16**(3): 177-183.
- [14] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [15] GB/T 5750. 5-2006 生活饮用水标准检验方法——无机非金属指标 [S].
- [16] 张自杰, 林容忱, 金儒霖. 排水工程 (下册) [M]. (第四版). 北京: 中国建筑工业出版社, 2000.
- [17] Cokgor E U, Sozen S, Orhon D, *et al.* Respirometric analysis of activated sludge behaviour - I. Assessment of the readily biodegradable substrate [J]. Water Research, 1998, **32**(2): 461-475.
- [18] Kujawa K, Klapwijk B. A method to estimate denitrification potential for predenitrification systems using NUR batch test [J]. Water Research, 1999, **33**(10): 2291-2300.
- [19] Beun J J, Verhoef E V, Van Loosdrecht M, *et al.* Stoichiometry and kinetics of poly-beta-hydroxybutyrate metabolism under denitrifying conditions in activated sludge cultures [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2000, **68**(5): 496-507.
- [20] Ni B, Yu H. Kinetic modeling microbial storage process in activated sludge under anoxic conditions [J]. Chemical Engineering Science, 2008, **63**(10): 2785-2792.
- [21] McCarty P L, Beck L, St Amant P P. Biological denitrification of agricultural wastewaters by addition of organic materials [R]. West Lafayette: Purdue University, 1969.
- [22] Ni B, Yu H. An approach for modeling two-step denitrification in activated sludge systems [J]. Chemical Engineering Science, 2008, **63**(6): 1449-1459.
- [23] Oh J, Silverstein J. Acetate limitation and nitrite accumulation during denitrification [J]. Journal of Environmental Engineering, 1999, **125**(3): 234-242.
- [24] Abufayed A A, Schroeder E D. Kinetics and stoichiometry of SBR/denitrification with a primary sludge carbon source [J]. Journal Water Pollution Control Federation, 1986, **58**(5): 398-405.
- [25] Korner H, Zumft W G. Expression of denitrification enzymes in response to the dissolved-oxygen level and respiratory substrate in continuous culture of *pseudomonas-stutzeri* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1989, **55**(7): 1670-1676