第 16 卷　第 14 期　2016 年 5 月
1671—1815(2016)014-0074-05

科　学　技　术　与　工　程
Science Technology and Engineering

Vol. 16　No. 14　May. 2016
ⓒ　2016　Sci. Tech. Engrg.

碳源、C/N 和温度对生物反硝化脱氮过程的影响

胡国山[1]　张建美[1,2*]　蔡惠军[1]

（长江大学地球环境与水资源学院[1]；油气资源与勘探技术教育部重点实验室[2]，武汉 430100）

摘　要　生物反硝化法是去除水体中硝酸盐的有效方法。鉴于生物反硝化过程中有机碳源不足的问题，选择甲醇、乙醇、葡萄糖作为反硝化碳源，研究它们对反硝化的促进作用；同时研究 C/N 比以及温度对反硝化过程的影响。结果显示：甲醇、乙醇和葡萄糖作为反硝化碳源时，均可获得较高的硝酸盐氮去除率。以乙醇为碳源时，反硝化速率进行的最快，硝酸盐氮去除率高，中间副产物亚硝酸盐氮和氨氮积累少，是最优的反硝化碳源；C/N 比对反硝化过程影响显著，C/N 比越高，脱氮速率越快；另外温度对反硝化也有着重要的影响，在 25 ℃、35 ℃时的脱氮效果远好于 10 ℃时的脱氮效果。

关键词　生物反硝化　硝酸盐　碳源　温度　C/N

中图法分类号　X703；　**文献标志码**　B

目前水体硝酸盐污染已成为一个重要的环境问题[1,2]。饮用水中硝酸盐含量过高，容易引起高铁血红蛋白症，甚至会诱发癌症，对人体造成严重危害[3—5]。鉴于此，世界卫生组织（WHO）对饮用水中的硝酸盐氮浓度制定了标准值，规定最高限值为 11.3 mg NO_3^- – N/L。因此，去除水体中的硝酸盐氮对维持我国水体清洁，保证人体健康具有重要意义。去除水体中硝酸盐氮的技术可分为物理处理法、化学处理法和生物处理法，其中生物法具有脱氮彻底、易操作、经济安全等优点，被认为是最有前景的水体脱氮方法。异养反硝化是生物脱氮的主要机制，是指异养型反硝化微生物，在缺氧条件下利用碳源为电子供体，使硝酸盐氮最终转化为 N_2 的过程[6]。该过程受很多因素的影响，可溶性有机碳作为反硝化微生物的碳源对反硝化效率影响很大；然而大多数水体内的有机碳浓度很低，满足不了微生物生长的需要，导致反硝化过程受到限制，硝酸盐氮去除不彻底，因此需要外加碳源[7]。此外，C/N、温度、pH 等很多因素都会对反硝化过程产生影响[8—12]。

鉴于反硝化去除水体硝酸盐过程中有机碳源不足的问题，研究选择甲醇、乙醇和葡萄糖作为反硝化碳源，研究它们对反硝化的促进作用。在此基础上研究 C/N 以及温度对硝酸盐去除率的影响，为水体硝酸盐去除提供重要的理论依据。

2016 年 1 月 22 日收到　　国家自然科学基金青年项目（41401545）资助

* 通信作者简介：张建美（1976—），女，博士，副教授。研究方向：水环境及水处理。E-mail：wf – zjm@ 163. com。

1　材料与方法

1.1　接种污泥

所用污泥为武汉市石洋污水处理厂曝气池中取得的活性污泥。

1.2　实验用水

实验用水为合成污水，硝酸盐浓度为 100 mgNO_3^- – N/L，向其中加入不同种类、不同质量的碳源，新配置的用水 pH 范围为 7.0 ~ 8.0。

1.3　仪器设备

BXM—30R 蒸汽灭菌锅（上海博迅），SPH—2115 恒温培养摇床（上海诺晶生物科技有限公司），UV—1100 紫外可见分光光度计（上海光谱达仪器有限公司），PhS—2F 型 pH 计（雷磁）。

1.4　实验方法

1.4.1　碳源对反硝化过程的影响

分别以甲醇、乙醇和葡萄糖为唯一碳源，配制硝酸盐浓度为 100 mgNO_3^--N/L，C/N 为 2∶1 的实验用水，之后取 250 mL 加入到灭菌过的锥形瓶内，接种入 5 mL 活性污泥，用塞子盖住瓶口，放入摇床于 35 ℃、140 r/min 的条件下培养，定时（0 h，9 h，24 h，48 h，72 h，96 h）取锥形瓶内上清液测定 pH 以及 NO_3^--N、NO_2^--N、NH_4^+-N 的浓度。

1.4.2　C/N 对反硝化过程的影响

向硝酸盐浓度为 100 mg NO_3^--N/L 的合成污水中加入不同量的乙醇，控制 C/N 为 1∶1、2∶1、3∶1和 4∶1，之后取 250 mL 加入到灭菌过的锥形瓶内，接种入 5 mL 活性污泥，用塞子盖住瓶口，放入摇床于 35 ℃、140 r/min 的条件下培养，定时（0 h，9 h，24 h，48 h，72 h，96 h）取锥形瓶内上清液

测定 pH 以及 NO_3^--N、NO_2^--N、NH_4^+-N 的浓度。

1.4.3　温度对反硝化过程的影响

硝酸盐浓度为 100 mg NO_3^--N/L 的合成污水中加入乙醇,控制 C/N 为 3∶1,向其中接种入 5 mL 活性污泥,用塞子盖住瓶口。之后放入摇床于 10 ℃、25 ℃和 35 ℃的温度下培养,定时(0 h, 9 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h) 取锥形瓶内上清液测定 pH 以及 NO_3^--N、NO_2^--N、NH_4^+-N 的浓度。

1.5　分析方法

采用紫外分光光度计测定 NO_3^--N(紫外分光光度法)、NO_2^--N(N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法)、NH_4^+-N(纳氏试剂光度法);pH 计测定 pH。

2　结果与讨论

2.1　碳源对反硝化过程影响

由图 1(a)可知,以甲醇、乙醇和葡萄糖为碳源时,各锥形瓶内硝酸盐氮去除速率在 9 h 之前均很低,可能在这段时间内反硝化微生物正处于适应驯化期,活性低,导致反硝化效率低下[13]。9 h 以后去除速率明显加快,以乙醇为碳源时,在 24 h 内硝酸盐氮的去除率达到了 100%。以葡萄糖为碳源时,硝酸盐氮的去除率在 72 h 内达到 100%。甲醇为碳源时,NO_3^--N 的去除速率相对来说较慢,在 96 h 内去除率达到 100%。

亚硝酸盐是反硝化过程的中间产物,其毒性要远远高于硝酸盐,其积累不但对人体健康产生威胁,而且还会对反硝化微生物产生毒害作用,抑制反硝化过程[14]。碳源类型、磷源、pH 以及温度等都会引起亚硝酸盐的积累[15—17]。由图 1(b)可以发现,实验过程中,亚硝酸盐氮先积累后浓度逐渐下降。乙醇和葡萄糖为碳源时,亚硝酸盐氮积累量在 24 h 内达到最大数值,分别为 1.51 mg NO_2^--N/L 和 6.22 mg NO_2^--N/L,之后迅速减少,在实验结束时无亚硝酸盐积累。以甲醇为碳源时,亚硝酸盐氮积累量在 72 h 时达到最大值 0.74 mg NO_2^--N/L,随后减少,实验结束时无亚硝酸盐积累。而以甲醇为碳源时,整个实验过程亚硝酸盐积累量较少,且变化不大。由此可知,反硝化碳源类型不同,反硝化过程中亚硝酸盐的积累量差别较大,以葡萄糖为碳源时,亚硝酸盐积累最严重。田建强等[18]同样发现碳源类型及 C/N 比都会对反硝化过程中亚硝酸盐的积累产生影响。

实验过程中发现有氨氮的积累,氨氮积累表明反硝化过程中发生了硝酸盐异化还原到铵(DNRA)过程。由图 1(c)可见,锥形瓶内氨氮浓度同样是先积累后下降的变化规律。以葡萄糖为碳源时,氨氮积累量在 9 h 时达到最大值 6.4NH_4^+-N/L,随后逐渐减少到零。以乙醇为碳源时,氨氮积累量在 24 h 时达到最大值 3.9 mg NH_4^+-N/L,随后减少,至实验结束时仍有少量积累。以甲醇为碳源时,氨氮积累量在 48 h 时达到最大值 4.1 mg NH_4^+-N/L,随后逐渐降低,至实验结束时仍有少量氨氮积累。由此可以判断,以葡萄糖为碳源时,氨氮积累最为严重。

由上面的分析可知,乙醇为碳源时硝酸盐氮去除效果最好,去除率快,亚硝酸盐和氨氮的积累少,是最优的反硝化碳源。

2.2　C/N 比对反硝化脱氮过程的影响

图 2(a)表明,硝酸盐氮浓度在不同 C/N 比下变化趋势基本相似,在开始反应时硝酸盐氮去除率较低,在 9 h 之后去除速率明显加快。C/N 比为4∶1时,在 24 h 时去除率达到了 100%。C/N 比为2∶1和3∶1时,在 24 h 时去除率达 90% 以上,在 C/N 比为1∶1时硝酸盐氮的去除速率相对较慢,在 24 h 时去除率为 60.7%,在 48 h 时去除率达 100%。

亚硝酸盐氮浓度先积累后下降,且 C/N 比越小积累量越多。在 24 h 内不同锥形瓶内硝酸盐氮的积累都达到最大,随后开始减少,实验结束时无亚硝酸盐积累。Blaszczyk[19]同样研究发现,在脱氮副球菌反硝化过程中,当脱氮副球菌生长在营养比较贫乏的环境中时,生长比较缓慢,并伴随有大量亚硝酸盐氮的积累,但是当脱氮副球菌生长在富含营养的

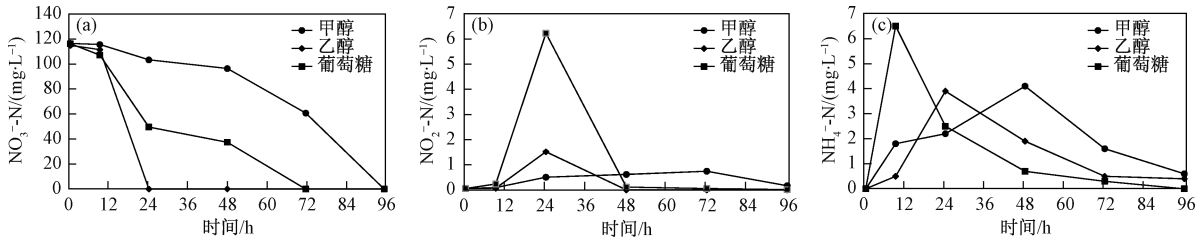

图 1　甲醇、乙醇、葡萄糖为碳源时上清液中 NO_3^- – N、NO_2^- – N 和 NH_4^+ – N 浓度随时间的变化

Fig. 1　Concentrations of NO_3^- – N, NO_2^- – N and NH_4^+ – N of supernatants when using methanol, ethanol and glucose as the carbon source during denitrification.

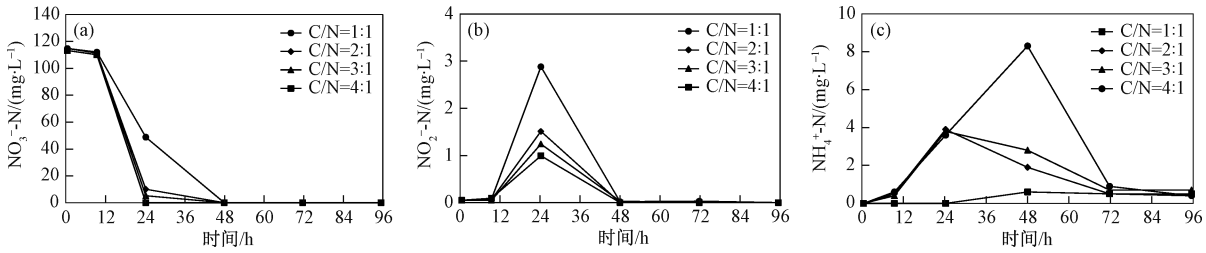

图 2 不同 C/N 比时反硝化系统内上清液中 NO_3^- －N、NO_2^- －N 和 NH_4^+ －N 浓度随时间的变化

Fig. 2 Concentrations of NO_3^- －N, NO_2^- －N and NH_4^+ －N of supernatants during denitrification under different C/N ratio.

环境中时，生长速率很快，同时亚硝酸盐氮积累量小。

实验过程中同样发现有氨氮积累，当 C/N 比为 2∶1和 3∶1时水体内氨氮积累量在 24 h 内达到最大，随后减少，有少量积累。当 C/N 比为 1∶1和4∶1时水体中氨氮积累量在 48 h 内达到最大，随后减少，有少量积累。同时可以看出 C/N 比越大氨氮中间积累量的最大值越大，C/N 比为 4∶1时，积累的氨氮最大浓度为 8.3 mg NH_4^+-N/L，可能是随着 C/N 比增加，反硝化碳源充足，有助于促进 DNRA 过程。资料表明虽然 DNRA 和反硝化作用的条件类似（可利用硝酸盐和有机碳源），但一般认为 DNRA 过程在氮源缺乏、碳源充足的条件下更容易发生，而反硝化作用则更适合碳源受限的情况[20,21]。

2.3 温度对反硝化过程的影响

图 3（a）表明，温度对反硝化有较大的影响，10 ℃时硝酸盐氮去除率低下，在 96 h 实验结束时硝酸盐氮去除率仅为 29.1%。25 ℃时，前 24 h 硝酸盐去除率较低，仅为 11%，之后去除率逐渐增加，在48 h时去除率达到了 100%。35 ℃时硝酸盐氮去除速率最快，在 24 h 时，硝酸盐氮去除率就达到 41%，远高于此时在 10 ℃以及 25 ℃下硝酸盐氮去除率，之后去除率快速增加，在 48 h 时去除率达到了 100%。

实验过程有明显的亚硝酸盐积累，在 25 ℃时锥形瓶内亚硝酸盐积累量在 48 h 达到最大值 4.23 mgNO_2^- －N/L；随后开始减少，实验结束时亚硝酸盐氮的积累量为零。在 35 ℃时，亚硝酸盐氮的积累量在 24 h 达到最大值 4.21 mgNO_2^- －N/L，随后开始减少，实验结束时无亚硝酸盐氮积累。而温度为 10 ℃时亚硝酸盐氮的积累量一直较低且变化不大。以往的研究表明，在低的温度下反硝化进行不完全，硝酸盐氮不能彻底去除，亚硝酸盐有严重的积累[22]。而此处在温度较高环境下的反硝化过程却有亚硝酸盐积累，原因可能是在接种入活性污泥后，活性污泥处于驯化初期，亚硝酸盐还原菌活性低，不能及时的降解由硝酸盐还原生成的亚硝酸盐，导致亚硝酸盐积累。艾小凡等[23]同样发现在反硝化初期系统有亚硝酸盐积累。另外由实验可以看出，温度越高微生物驯化越快，而且随着实验的进行，亚硝酸盐逐渐消失。

实验过程有氨氮积累，当温度为 25 ℃时，氨氮积累量在 48 h 时达到最大值 4.35 mg NH_4^+-N /L，随后减少，有少量积累。当温度为 35 ℃时，氨氮积累量在 24 h 时达到最大值 3.9 mg NH_4^+-N /L，随后减少，有少量积累。当温度为 10 ℃时，氨氮积累量较小。这可能是由于 DNRA 受温度的影响很大，在低的温度下，不利于 DNRA 进行，该结论与以前的实验结果相吻合[24]。

3 结论

（1）碳源类型对反硝化过程产生较大影响，以乙醇为碳源时，反硝化速率进行最快，硝酸盐氮去除率高，中间副产物亚硝酸盐氮和氨氮的积累少，是最优的反硝化碳源。

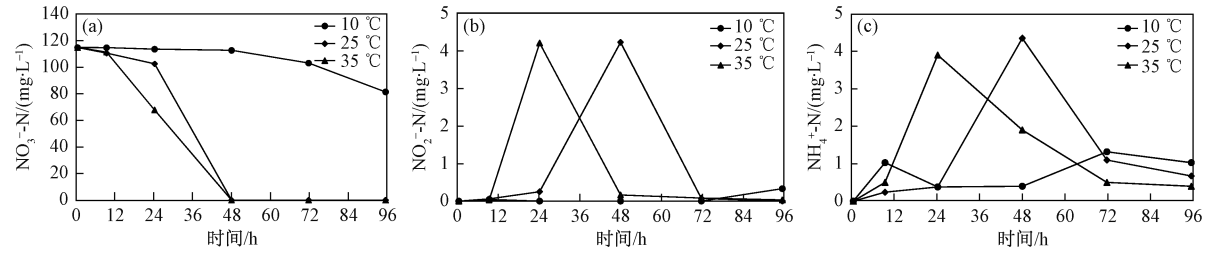

图 3 不同温度下反硝化系统内上清液中 NO_3^--N、NO_2^--N 和 NH_4^+-N 浓度随时间的变化

Fig. 3 Concentrations of NO_3^--N, NO_2^--N and NH_4^+-N of supernatants during denitrification under different temperature

(2)碳氮比对反硝化过程产生较大影响,碳氮比越大反硝化速率越快,亚硝酸盐氮积累量越少,但氨氮的中间积累量相对较大。

(3)温度对反硝化有较大的影响,10 ℃时硝酸盐氮去除率低下,25 ℃、35 ℃时反硝化脱氮效果均较高,但在较高的温度下,反硝化过程中有较明显的氨氮积累。

参 考 文 献

1 Costa J L, Massone H, Martínez D, *et al*. Nitrate contamination of a rural aquifer and accumulation in the unsaturated zone. Agricultural Water Management, 2002; 57(1): 33—47

2 陈　干, 罗继红. 合肥市滨湖新区硝酸盐污染研究. 河北农业科学. 2009; 13(3): 90—91
Chen G, Luo J H. Study on the nitrate pollution in Nanfeihe river basin of Hefei. Journal of Hebei Agricultural Sciences. 2009; 13(3): 90—91

3 Bouchard D C, Williams M K, Surampalli R Y. Nitrate contamination of groundwater; sources and potential health effects. Journal of the American Water Works Association, 1992; 84(9): 85—90

4 Ward M H, Dekok T M, Levallois P, *et al*. Workgroup report: drinking-water nitrate and health—recent findings and research needs. Environ Health Perspect, 2005; 113(11): 1607—1614

5 Yang C, Wu D, Chang C. Nitrate in drinking water and risk of death from colon cancer in Taiwan. Environment International, 2007; 33(5): 649—653

6 Israel S, Engelbrecht P, Tredoux G, *et al*. In situ batch denitrification of nitrate-rich groundwater using sawdust as a carbon source—Marydale, South Africa. Water, Air, & amp; Soil Pollution, 2009; 204(1): 177—194

7 Bedessem M E, Edgar T V, Roll R. Nitrogen removal in laboratory model leachfields with organic-rich layers. Journal of Environmental Quality, 2005; 34(3): 936—942

8 Gómez M A, Hontoria E, González-López J. Effect of dissolved oxygen concentration on nitrate removal from groundwater using a denitrifying submerged filter. Journal of Hazardous Materials, 2002; 90(3): 267—278

9 Sirivedhin T, Gray K A. Factors affecting denitrification rates in experimental wetlands: field and laboratory studies. Ecological Engineering, 2006; 26(2): 167—181

10 Hien T, Park H, Jo H, *et al*. Influence of different substrates in wetland soils on denitrification. Water, Air, & Soil Pollution, 2011; 215(1): 549—560

11 王少坡, 彭永臻, 王淑莹, 等. 温度和污泥浓度对短程内源反硝化脱氮的影响. 环境科学与技术, 2005; 28(4): 85—86,103
Wang S B, Peng Y Z, Wang S Y, *et al*. Effects of temperature and MLSS on endogenous denitrification via nitrite, Environmental Science and Technology, 2005; 28(4):85—86,103

12 张建美, 郝春博, 冯传平, 等. 磷对地下水反硝化系统中细菌菌群结构的影响. 地学前缘, 2014; 21(4): 191—198
Zhang J M, Huo C B, Feng C P, *et al*. Effect of phosphorous on bacteria community structure of denitrification-based groundwater remediation systems. Earth Science Frontiers, 2014; 21(4): 191—198

13 韦宗敏, 黄少斌, 蒋　然. 碳源对微生物硝酸盐异化还原成铵过程的影响. 工业安全与环保,2012; 38(9): 4—7
Wei Z M, Huang S B, Jiang R. Effect of carbon on dissimilatory nitrate reduction to ammonium process. Industrial Safety and Environmental Protection, 2012; 38(9): 4—7

14 Gelfand I, Yakir D. Influence of nitrite accumulation in association with seasonal patterns and mineralization of soil nitrogen in a semi-arid pine forest. Soil Biology and Biochemistry, 2008; 40(2): 415—424

15 Yang X, Wang S, Zhou L. Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by Pseudomonas stutzeri D6. Bioresource Technology, 2012; 104: 65—72

16 Ge S, Peng Y, Wang S, *et al*. Nitrite accumulation under constant temperature in anoxic denitrification process: the effects of carbon sources and COD/NO_3-N. Bioresource Technology, 2012; 114(3):137—143

17 Zhang J M, Hao C B, Feng C P, *et al*. Effect of phosphate rock on denitrification in a nitrate-polluted groundwater remediation system. Desalination and Water Treatment. 2015; 54:265—274

18 田建强, 李咏梅. 以喹啉或吲哚为单一碳源时反硝化过程中亚硝酸盐的积累. 环境科学学报. 2009; 29(1): 68—74
Tian J Q, Li Y M. Nitrite accumulation during denitrification with quinolone or indole as the sole carbon source. Acta Scientiae Circumstantiae, 2009; 29(1):68—74

19 Blaszczyk M. Effect of medium composition on the denitrification of nitrate by Paracoccus denitrificans. Applied and Environmental Microbiology, 1993; 50(11): 3951—3953

20 Tiedje J M, Sexstone A J, Myrold D D, *et al*. Denitrification: ecological niches, competition and survival. Antonie Van Leeuwenhoek, 1982; 48(6): 569—583

21 Rütting T, Boeckx P, Müller C, *et al*. Assessment of the importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium for the terrestrial nitrogen cycle. Biogeosciences, 2011; 8(7): 1779—1791

22 Zhang J M, Feng C P, Hong S Q, *et al*. Behavior of solid carbon sources for biological denitrification in groundwater remediation. Water Science and Technology. 2012; 65; 1696—1704

23 艾小凡, 王鹤立, 陈祥龙. 地下水硝酸盐污染生物修复中的亚硝态氮积累研究. 环境工程, 2014;(1):33—36
Ai X F, Wang H L, Chen X L. Experiment research on the problem of nitrite accumulation in groundwater during biological denitrification. Environmental Engineering, 2014;(1): 33—36

24 Ogilvie B G, Rutter M, Nedwell D B. Selection by temperature of nitrate-reducing bacteria from estuarine sediments: species composition and competition for nitrate. FEMS Microbiology Ecology, 1997; 23(1): 11—22

(下转第 106 页)

Model Test and Finite Element Analysis of Arched Retaining Wall

GU Ren-guo, ZHI Bing, SUN Bo-yu
(College of Civil Engineering and Transportation of South China University of Technology, Guangzhou 510640, P. R. China)

[**Abstract**] Arched retaining wall is safe and reliable and can save the project cost as well as be in harmony with the surrounding environment, which makes it be more and more used in chongqing region. But there is no available code to be abided by in design and construction of arched retaining wall. The relevant model test and numerical analysis is performed to gain the deformation and stress characteristics of arched retaining wall. Test data and the numerical calculation shows us compared with other forms of retaining wall, the arched retaining wall is more symmetry and arch effect can be better used to metope load transfer to the arch foot, so as to make full use of the side wall support and frictional force to balance the lateral pressure; Arched retaining wall is lighter and it can bear greater load, its charge-mass ratio is the largest, deformation of the wall is minimum; Arched retaining wall is going to be more use in chongqing, as well as in east sichuan region which is made of cohesive soil, and easy construction and soil weathering of mudstone area of the cohesive soil.

[**Key words**] arched retaining wall Model test numerical analysis charge-mass ratio

(上接第 77 页)

Effect of Carbon Source, C/N Ratio and Temperature on Biological Denitrification Process

HU Guo-shan[1], ZHANG Jian-mei[1,2*], CAI Hui-jun[1]
(School of Earth Environment and Water Resources, Yangtze University[1]; Key Laboratory of Exploration Technologies for Oil and Gas Resources, Ministry of Education[2], Wuhan 430100, P. R. China)

[**Abstract**] Biological denitrification is considered to be the best option for removing nitrate from wastewater. The purpose of this study was to solve the problem of the lack of carbon source for biological denitrification in water remediation. Methanol, ethanol and glucose were selected as carbon sources to evaluate their capacity for the promotion of denitrification. And then, the effect of C/N ratio and temperature on denitrification was investigated. The results showed that methanol, ethanol and glucose can be used as carbon source for biological denitrification and ethanol showed the best effect for the promotion of denitrification owing to the fastest denitrification rate, higher denitrification efficiency and lower accumulation of nitrite and ammonia nitrogen. The C/N ratio had significant effect on denitrification process, the higher C/N ratio, the faster nitrate removal rate. In addition, the temperature has an important influence on denitrification, and the nitrate removal efficiency at 25 ℃, 35 ℃ were much better than that at 10 ℃.

[**Key words**] biological denitrification nitrate carbon source temperature C/N