

# 反硝化过程中的关键影响因素——电子供体

范红叶<sup>1</sup>, 郑燊鹏<sup>1</sup>, 许宇虹<sup>1</sup>, 刘皓月<sup>1</sup>, 熊千慧<sup>2</sup>, 王泽宇<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>浙江树人学院生物与环境工程学院, 浙江 杭州

<sup>2</sup>浙江树人学院树兰国际医学院, 浙江 杭州

<sup>3</sup>浙江树人学院交叉科学研究院浙江省污染暴露与健康干预重点实验室, 浙江 杭州

收稿日期: 2022年8月17日; 录用日期: 2022年9月13日; 发布日期: 2022年9月19日

## 摘要

废水中的硝酸盐( $\text{NO}_3^-$ )污染已成为一个严重的全球生态问题。生物脱氮通过反硝化作用将 $\text{NO}_3^-$ 还原为氮气( $\text{N}_2$ ), 是一种高效、经济的去除 $\text{NO}_3^-$ 的工艺。然而,  $\text{NO}_3^-$ 作为电子受体须接受电子供体传递来的电子以完成其还原, 因此电子供体的差异严重影响其反硝化性能。本文综述了用于生物脱氮的各种电子供体的最新进展。根据碳源(电子供体)的类型, 反硝化可分为异养反硝化和自养反硝化。本综述从脱氮性能和环境影响方面, 总结并比较了基于不同电子供体的生物脱氮工艺, 并提出了探索异养/自养反硝化的最佳配置和不同的有机/无机源组合可能是未来的研究方向。

## 关键词

反硝化, 电子供体, 有机碳源, 无机碳源

# The Key Influencing Factor in Denitrification Process—Electron Donor

Hongye Fan<sup>1</sup>, Shenpeng Zheng<sup>1</sup>, Yuhong Xu<sup>1</sup>, Haoyue Liu<sup>1</sup>, Qianhui Xiong<sup>2</sup>, Zeyu Wang<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou Zhejiang

<sup>2</sup>Shulan International Medical College, Zhejiang Shuren University, Hangzhou Zhejiang

<sup>3</sup>Key Laboratory of Pollution Exposure and Health Intervention of Zhejiang Province, Interdisciplinary Research Academy, Zhejiang Shuren University, Hangzhou Zhejiang

Received: Aug. 17<sup>th</sup>, 2022; accepted: Sep. 13<sup>th</sup>, 2022; published: Sep. 19<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

Nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) pollution in wastewater has become a serious global ecological problem. Biological

\*通讯作者。

文章引用: 范红叶, 郑燊鹏, 许宇虹, 刘皓月, 熊千慧, 王泽宇. 反硝化过程中的关键影响因素——电子供体[J]. 自然科学, 2022, 10(5): 885-896. DOI: 10.12677/ojns.2022.105101

denitrification reduces  $\text{NO}_3^-$  to nitrogen ( $\text{N}_2$ ) through denitrification, which is an efficient and economical process for removing  $\text{NO}_3^-$ . However, as an electron acceptor,  $\text{NO}_3^-$  must accept electrons from electron donors to complete its reduction, so the difference of electron donors seriously affects its denitrification performance. This article reviewed the recent progress of various electron donors for biological denitrification. According to the type of carbon source (electron donor), denitrification could be divided into heterotrophic denitrification and autotrophic denitrification. This review summarized and compared biological denitrification processes based on different electron donors in terms of denitrification performance and environmental impact. And it is proposed that exploring the optimal configuration of heterotrophic/autotrophic denitrification and different combinations of organic/inorganic sources may be future research directions.

## Keywords

Denitrification, Electron Donor, Organic Carbon Source, Inorganic Carbon Source

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

水体中的硝酸盐 ( $\text{NO}_3^-$ ) 污染已成为一个全球性的环境问题。人为活动(如农业中的过量施肥)是  $\text{NO}_3^-$  污染的主要来源[1] [2]。  $\text{NO}_3^-$  污染会导致水华等生态环境问题的发生, 也会渗入饮用水, 威胁人类健康[3]。美国环境保护局和欧盟委员会已经制定了饮用水中  $\text{NO}_3^-$  浓度限值的规定, 该限值应分别低于 10 mg/L 和 11.3 mg/L  $\text{NO}_3^-$ -N。

与各种去除  $\text{NO}_3^-$  的物理化学方法(例如吸附、离子交换、反渗透)相比, 生物脱氮是一种更具成本效益的方法[4]。生物脱氮过程中,  $\text{NO}_3^-$  作为电子受体, 被反硝化微生物转化为无害的氮气, 其中反硝化菌需要一个电子供体来提供电子和能量, 因此它对反硝化过程至关重要[5]。根据电子供体的类型, 反硝化可分为异养反硝化和自养反硝化。异养反硝化使用有机化合物作为电子供体, 包括液相碳源(例如醋酸盐、甲醇、葡萄糖等)和固相碳源(例如纤维素、聚乳酸、聚己内酯等) [6] [7]; 自养反硝化使用无机化合物, 包括氢( $\text{H}_2$ )、还原硫化物(例如硫化物、元素硫和硫代硫酸盐)、亚铁( $\text{Fe}^{2+}$ )、硫化铁(例如  $\text{FeS}$ 、 $\text{Fe}_{1-x}\text{S}$  和  $\text{FeS}_2$ )作为电子给体[6] [8]。一般来说, 由于异养细菌的生长速度较快, 异养反硝化比自养反硝化具有更高的硝酸盐去除率。然而, 外部有机物的输入增加了二次污染的风险。因此, 自养反硝化被认为是一种替代工艺[9] [10]。

电子供体的选择对反硝化效率有很大影响, 近几十年来, 人们广泛研究了基于不同电子供体的反硝化可行性和代谢机理[11] [12] [13] [14] [15]。一些研究人员对基于无机电子供体的自养反硝化进行了综述, 但对各种电子供体, 包括有机物和无机物的全面介绍和比较仍缺乏综述。因此, 本文综述了生物脱氮的各种电子供体的最新进展, 比较了不同电子供体的优缺点, 并介绍了基于各种电子供体的反硝化中试和全规模应用的最新进展。

## 2. 脱氮概述

生物脱氮是指利用微生物的反硝化作用将  $\text{NO}_3^-$  还原为气态  $\text{N}_2$  的过程。还原顺序为:  $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$

→ NO → N<sub>2</sub>O → N<sub>2</sub>, 由特定酶催化的四个步骤: 硝酸还原酶(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(N<sub>2</sub>OR)。电子由碳源(即电子供体)经电子传递链传递至最终电子受体(硝酸盐), 以此完成了 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的生物还原[16] [17]。

### 3. 不同电子供体

有机电子供体由液相碳源和固相碳源组成, 而无机电子供体主要由氢、还原硫化物、铁和铁硫化物组成[18] [19] [20]。反硝化电子供体的分类如图 1 所示。

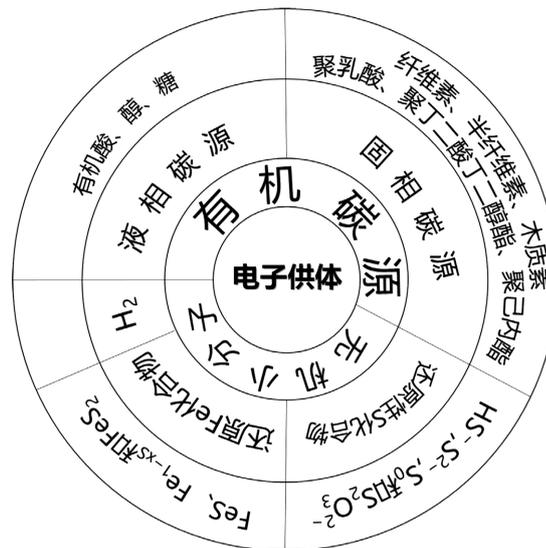


Figure 1. Types of denitrification carbon sources [19]

图 1. 反硝化碳源的种类[19]

#### 3.1 有机电子供体

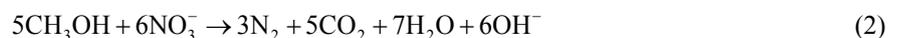
液相碳源, 包括有机酸、醇、糖, 其中, 醋酸盐、甲醇、乙醇和葡萄糖是最常用的。

有机酸: 以醋酸盐为电子供体的反硝化反应如下所示:



在反应中, 醋酸盐首先转化为乙酰辅酶 A, 然后乙酰辅酶 A 可以通过进入 TCA 循环直接被反硝化细菌使用。对于以丙酸作为电子供体的反应, 丙酸首先转化为丙酰辅酶 A。通过一系列的酶羧化反应, 丙酰辅酶 a 转化为琥珀酰辅酶 a, 可供微生物使用。据报道, 醋酸盐的利用速度通常快于丙酸盐, 这导致更高的反硝化速率[21]。此外, 使用混合 VFA 基质的反硝化速率显著高于使用单一 VFA 基质(例如醋酸盐、丙酸盐、丁酸盐和戊酸盐)的反硝化速率。当混合 VFA 足够时, 反硝化速率遵循零级动力学, 达到每天 0.754 g NO<sub>3</sub>-N/g VSS [22]。

酒精: 醇(例如甲醇、乙醇和甘油)可以被反硝化菌用作电子供体。甲醇和乙醇是常见的电子给体, 其反应如下所示:



在反应过程中, 甲醇和乙醇首先分别转化为甲醛和乙醛。然后甲醛转化为乙醛酸, 而乙醛转化为乙

酸。它们最终都转化为乙酰辅酶 A，然后进入 TCA 循环。就乙醇而言，约 40% 的乙醇用于同化目的。由于甲醇是所有液体有机碳源中最便宜的，因此它已广泛用于废水处理[23]。

糖类：单糖(如葡萄糖、木糖和甘露糖)和双糖(如蔗糖、乳糖和纤维二糖)均可作为反硝化菌的电子供体。其中，葡萄糖是最常用的电子供体，其反应如下：



在此过程中，葡萄糖首先转化为丙酮酸，然后转化为乙醇。葡萄糖作为电子供体的反硝化速率低于醋酸盐。此外，当使用葡萄糖作为电子供体时，异化硝酸盐还原为铵途径将变得显著，导致铵产量增加；而使用醋酸盐或乙醇作为电子供体，则以反硝化途径为主。此外，与醋酸盐和乙醇相比，使用葡萄糖作为电子供体的  $\text{NO}_2^-$  积累和  $\text{N}_2\text{O}$  生成更高[24]。

当可溶性有机物过量时，向反硝化反应器中添加可溶性液相碳源会导致二次有机污染的风险。因此，近年来，使用固相碳源(包括天然木质纤维材料和合成可生物降解聚合物)作为电子供体的固相反硝化已成为  $\text{NO}_3^-$  去除的前景工艺[25] [26] [27] [28]。固相脱氮示意图如图 2 所示。

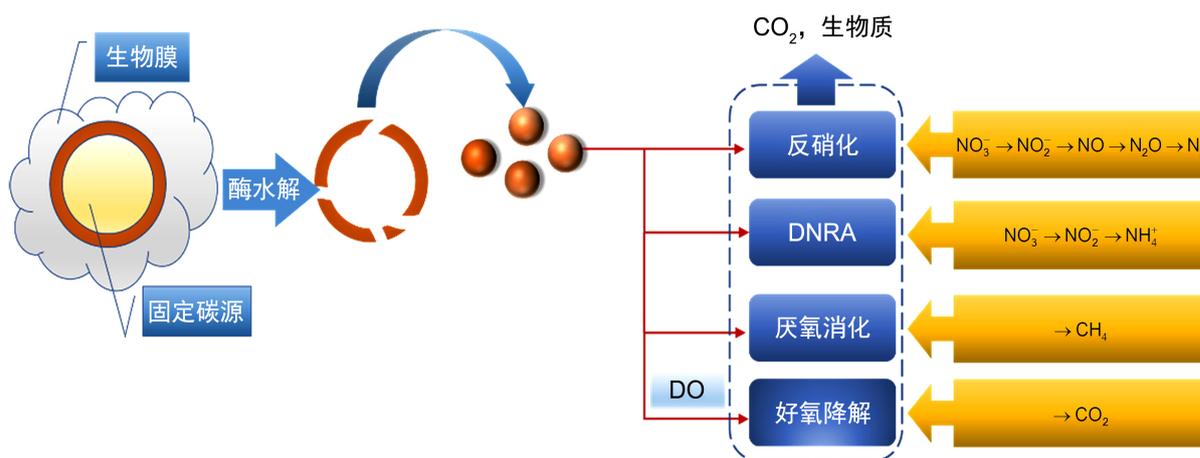


Figure 2. Schematic diagram of solid-phase denitrification [28]

图 2. 固相反硝化示意图[28]

天然生物聚合物材料：一系列含有纤维素、半纤维素或木质素的天然生物聚合物材料(例如淀粉、棉花、麦秸、稻壳、锯末和木屑)可以用作固相反硝化的电子供体。研究了以木质纤维材料为电子供体的反硝化机理：木质纤维材料首先被酶水解成小分子有机化合物(例如葡萄糖)，然后被反硝化细菌使用[29]。在纤维素、半纤维素和木质素中，纤维素最容易被微生物利用，其次是半纤维素，木质素最难被利用。一些反硝化细菌甚至可以直接使用木质纤维材料。使用木质纤维材料作为电子供体的反硝化速率通常低于使用葡萄糖和乙醇的反硝化速率[30]。天然木质纤维材料不仅可以作为反硝化细菌的电子供体和碳源，而且由于其较大的可接近表面积，还可以作为生物膜形成的载体。Hellman 等人[31]发现，莎草和秸秆反应器中  $\text{NO}_3^-$  的去除率是木片反应器的 3.3 倍。这主要是由于木片反应器中的木质素(难以被微生物利用)含量高于莎草和稻草反应器。提高碳消化率是提高天然木质纤维原料反应速率的有效途径。酸或碱预处理可以提高其碳消化率。研究人员报告称，用石灰和过氧乙酸预处理后，以木屑为碳源的反硝化速率增加了 4.5~4.8 倍。此外，Fan 等人[32]发现，秸秆的碱预处理增强了反应器中的 COD 释放，并提高了反硝化速率。

合成可生物降解聚合物：合成的可生物降解聚合物，如聚乳酸(PLA)、聚丁二酸丁二醇酯(PBS)、聚

己内酯(PCL)、聚羟基烷酸酯(PHA)、聚-3-羟基丁酸(PHB)和 3-羟基丁酸-共羟基丙基酯(PHBV)被证明是固相反硝化的合适电子供体。与天然木质纤维材料类似, 酶水解是降解合成聚合物的第一步也是关键步骤。可生物降解聚合物的水解速率是影响脱氮速率的主要因素, 乙酸是这些聚合物的主要水解产物之一[33]。

与棉花、稻草和木片相比, 这些合成聚合物释放的溶解有机碳(DOC)较低。在处理硝酸盐污染的地下水和低 C/N 废水(即二级出水)中, 使用合成可生物降解聚合物进行反硝化已得到广泛研究。在这些研究中, 当进水  $\text{NO}_3^-$  浓度在 25 至 60 mg/L 之间时, 反硝化速率在 0.19 至 3.80 g N/L·d 范围内[34]。一些研究将合成的可生物降解聚合物与廉价的有机物质(如竹粉、淀粉和稻壳)混合, 以降低成本。Yang 等人[35]发现, 与单个 PHBV 系统相比, PHBV 稻壳和 PHNV 锯屑系统的启动速度更快, 脱氮率更高。

### 3.2. 无机电子供体

无机电子供体: 如  $\text{H}_2$ 、还原硫化物(如  $\text{HS}^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{S}^0$  和  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ), 亚铁和硫化铁(例如  $\text{FeS}$ 、 $\text{Fe}_{1-x}\text{S}$  和  $\text{FeS}_2$ )已开发用于自养反硝化工艺, 更适合于低碳氮比水处理[8] [36]。

氢( $\text{H}_2$ )是自养反硝化菌的替代电子供体, 使用  $\text{H}_2$  作为电子供体的反硝化反应如下所示:



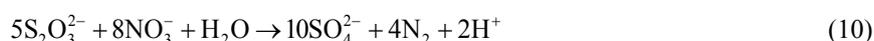
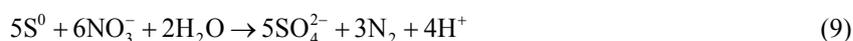
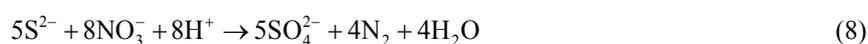
大多数氢营养反硝化细菌隶属于副球菌属、红细胞属、不动杆菌属和假单胞菌属。氢营养反硝化细菌的最佳 pH 值为 7.6~8.6。由于氢营养反硝化消耗  $\text{H}^+$ , 因此该过程需要控制 pH 值。

$\text{H}_2$  具有较高的能量, 但其在水介质中的低溶解度限制了其生物利用度。此外,  $\text{H}_2$  的安全问题也是大规模应用的限制。近年来, 膜技术的发展为硝酸盐污染水的氢脱氮处理提供了一条有效途径, 它可以增强氢气从气相到液相的传质。利用中空纤维膜作为气体渗透膜进行氢气扩散已得到广泛研究。Park 等人[37]构建了中空纤维膜生物膜反应器(HF-MBfR), 其中反硝化效率高于 98%, 最大反硝化速率为 2.42 g-N/m<sup>3</sup>·d。

除了通过膜曝气产生氢气外, 还可以在电极上产生氢气, 这可以减少氢气的浪费。在生物电化学系统(BES)中, 阴极生物膜上的反硝化细菌可以利用电解在电极上产生的氢气。Zhu 等人[38]发现, 阴极而不是电化学产生的  $\text{H}_2$  是 BES 中的主要电子供体, 因为硝酸盐还原速率比  $\text{H}_2$  生成速率高 100 倍。值得注意的是, 几种自养反硝化菌, 如脱氮硫杆菌、嗜碱假单胞菌和铜绿假单胞菌, 可以直接吸收电极电子进行反硝化。学者研究了双室 BES 反应器中的阴极反硝化性能, 该反应器达到 0.017~0.062 g  $\text{NO}_3^-$ -N/L·d 处理合成地下水时。Mahl 等人[39]构建了一个两级连续生物催化反硝化系统, 在 0.066 至 0.200  $\text{NO}_3^-$ -N/L·d 的负荷率下, 实现了较高的  $\text{NO}_3^-$  去除率(>95%)。

由于传统的 BES 反应器(具有两个电极)的硝酸盐去除能力受到阴极表面积的限制, 近年来开发了三维生物膜电极反应器(3D-BER)。在 3D-BER 中, 活性炭(AC)或与其他物质混合的 AC 填充在阳极和阴极之间, 用作第三个双极电极。这种第三电极不仅为微生物生长提供了高比表面积, 而且还增加了氢气产量。与 2D-BER 相比, 3D-BER 的电流效率和反硝化速率分别提高了 76%和 35% [40]。

还原无机硫化物: 一些化石自养细菌可以使用还原硫化物(例如  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{HS}^-$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,  $\text{S}^0$ )作为反硝化的电子供体。基于硫化物、硫和硫代硫酸盐的反硝化反应如下(等式(8)~(10))。使用  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  由于电子供体可能实现比其他还原硫化物更高的反硝化速率, 但它会导致更高的硫酸盐产率[9] [41]。



化学合成的  $S^0$  ( $S^0$ -chem) 已广泛用于含硫脱氮, 但其低水溶性限制了传质速率。因此, 一些研究人员将重点放在使用生物源  $S^0$  ( $S^0$  bio), 这是工业废物流或天然气(例如金属精炼厂的废水和厌氧消化产生的沼气)脱硫的产物。Zhang 等人[42]测试了  $S^0$  bio 作为硫基反硝化的电子供体, 并获得了比  $S^0$  chem 高 1.7 倍的反硝化速率。此外, 与添加  $S^0$ -chem 的膜生物反应器相比, 添加  $S^0$ -bio 的膜生物反应器具有更好的反硝化性能。

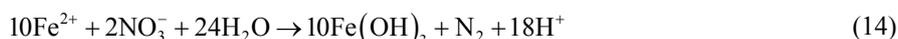
工业活动和废物厌氧消化产生的  $H_2S$  在 100 ppm 时对人体健康有害, 填充床缺氧生物滴滤器用于利用含  $NO_3^-$  废水从气流中去除  $H_2S$ , 可能是一种同时去除  $H_2S$  和  $NO_3^-$  的有前景的技术。在完全自养条件下, 入口  $NO_3^-$  负荷率在 0.07 到 0.31  $g \cdot N \cdot m^{-1}$  之间时,  $H_2S$  去除效率最高(>99%)-3  $d^{-1}$  ( $N/S$  摩尔比 = 1.2~1.7)。生物滴滤器与  $H_2SO_4$  氧化硝酸盐还原菌株 *Paracoccus* MAL 1HM19 1 的生物强化可以在高  $NO_3^-$  负荷率下提高  $H_2S$  去除率[43]。

除填充床和流化床生物膜反应器外, 近年来的研究认为, 硫化物或硫代硫酸盐基反硝化污泥的颗粒化将是一种很有前景的应用, 其对各种环境因素(如 pH、DO 和温度)具有更好的弹性[44]。Yang 等人[45]采用了以硫化物为电子供体的颗粒污泥自养反硝化反应器, 该反应器连续运行 600 多天, 具有良好的稳定性。

$Fe^0$  和  $Fe^{II}$ : 当使用  $Fe^0$  作为反硝化的电子供体时, 生物和非生物反应都可能发生。厌氧  $Fe^0$  腐蚀导致  $H_2$  生成, 因为  $Fe^0$  在水中热力学不稳定(等式(11))。氢营养反硝化菌可以使用产生的  $H_2$  去除硝酸盐。同时, 非生物  $NO_3^-$  与  $Fe^0$  还原, 其中最终产物主要由  $NH_4^+$  而不是  $N_2$  (等式(12))。厌氧  $Fe^0$  腐蚀和自养氢营养反硝化(等式(13))的组合比用  $Fe^0$  还原非生物  $NO_3^-$  更可行, 因为  $N_2$  作为最终产物比  $NH_4^+$  更有利。然而, 生物脱氮不可避免地会将  $NO_3^-$  还原为  $NH_4^+$ 。需要采取策略来尽量减少  $NH_4^+$  的产生。研究人员发现,  $Fe^0$  浓度的降低可能会减少非生物  $NH_4^+$  的产生。此外, 用其他金属掺杂  $Fe^0$ , 例如  $(Pd/Cu)/Fe^0$ 、 $Cu_2O-Cu/Fe^0$  和  $TiO_2/Fe^0$ , 可以提高用  $Fe^0$  还原非生物  $NO_3^-$  的  $N_2$  选择性[46]。



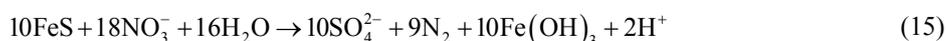
除  $Fe^0$  外, 使用  $Fe^{II}$  作为电子供体的反硝化过程最近备受关注, 其反应如下:

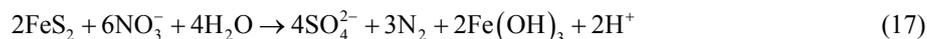
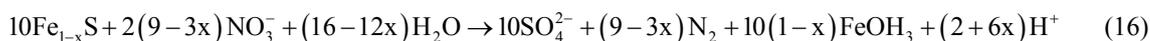


Ruby 等人[47]首次观察到淡水沉积物中存在  $Fe^{II}$  氧化和硝酸盐还原。然而, 在接下来的 20 年研究中, 研究人员发现, 大多数分离的  $Fe^{II}$  氧化反硝化菌是异养的, 只能在有机碳存在的情况下生长。这使人们怀疑所谓的  $Fe^{II}$  氧化脱氮是一种酶催化的生物过程, 还是  $Fe^{II}$  与活性氮中间产物(即  $NO_2^-$ )的简单化学反应。研究表明, 通过  $Fe^{II}$  的化学作用, 可以将异养反硝化菌产生的  $NO_2^-$  直接还原为  $N_2$  或  $N_2O$ 。Meyer 等人[48]通过分析  $N_2O$  中的  $\delta^{15}N$  发现, 在假单胞菌纯培养物中, 化学  $Fe^{II}$  氧化反硝化占主导地位。

近年来, 人们对铁基自养反硝化在废水处理中的应用进行了研究。然而, 在这些研究中, 硝酸盐去除率(0.07~0.33  $g \cdot N/L/d$ )相对较低。此外, 长期运行后产生的三价铁可能会形成铁壳, 导致反硝化活性下降。未来的研究需要采取措施来消除或避免铁锈。

$FeS$ : 硫化亚铁( $FeS$ )、磁黄铁矿( $Fe_{1-x}S$ )和黄铁矿( $FeS_2$ )可以用作反硝化的电子供体, 其中的反应由等式(15)和(16)描述。根据化学计量方程(等式(15)和(16)), 与使用  $S^0$  作为电子供体相比, 产生的硫酸盐更少。





最近研究了基于铁硫化物的反硝化在地下水修复和废水处理中的应用。Mao 等人[49]评估了基于黄铁矿的生物修复的可行性和耐用性,该生物修复在流动实验中实现了持续 180 天的完全硝酸盐去除。Li 等人[50]报告了磁黄铁矿自养反硝化生物滤池的效率,其中 95.9%的  $\text{NO}_3^-$  可以用 24 h 的 HRT 去除。在 Yang 等人[51]的研究中,纳米结构磁黄铁矿自养反硝化生物滤池实现了更短的 HRT (1.2 h)和更高的氮去除效率(99.6%)。此外,还研究了颗粒剂量、硫化铁预处理和操作温度对基于硫化铁的反硝化性能的影响。

然而,微生物如何利用固态电子供体硫化铁的机制仍然是一个悬而未决的问题。目前尚不清楚微生物是通过细胞外电子转移直接利用硫化铁,还是在利用之前转化为可溶形式。Zhao 等人[52]认为,  $\text{FeS}_2$  可能首先受到  $\text{Fe}^{3+}$  的攻击,然后溶解到  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,然后再被反硝化菌利用。Hosono 等人[53]推断,反硝化菌可能只利用  $\text{FeS}_2$  表面的元素硫( $\text{S}^0$ ),而不是直接利用  $\text{FeS}_2$ 。Huang [54]推测,微生物产生的电子梭首先诱导  $\text{FeS}_2$  氧化为生物可用硫(例如  $\text{S}^0$ ),然后  $\text{S}^0$  被硫氧化反硝化菌利用。

#### 4. 不同电子供体的差异

用于  $\text{NO}_3^-$  处理的反硝化电子供体的选择应基于对反硝化速率、效率以及环境影响的评估。本节总结了使用不同电子供体的反硝化速率(硝酸盐去除率)和效率。由于电子供体的类型和生物利用度、反应器配置、操作条件和进水特性的不同,脱氮速率表现出很大的差异。

##### 4.1. 反硝化性能

通常,使用有机电子供体的异养反硝化比使用无机电子供体的自养反硝化具有更高的反硝化速率,因为异养反硝化菌通常比自养反硝化菌具有更高的比生长速率。电子供体的生物利用度对反硝化性能有很大影响。反硝化菌可以直接使用低分子量液体有机物。此外,液相电子供体具有高接触面积,因此具有滞后期短和快速脱氮的优点。近年来,利用高分子量电子供体的固相异养反硝化受到了广泛关注。使用合成的可生物降解聚合物作为电子给体的异养反硝化可以获得与使用传统液相有机物类似的硝酸盐去除率。在大多数报告的研究中,使用合成可生物降解聚合物比使用天然木质纤维材料具有更高的脱氮率。在填充床生物反应器中,当使用 PCL 或 PBS 作为电子供体时,  $\text{NO}_3^-$  去除率范围为 1.23~3.80g N/L·d 当使用木片或麦秆时,其范围为 0.01~0.06 g N/L·d。然而,一些研究人员提出,天然木质纤维材料可以溶解促进反应的微量元素和常量元素[55]。

就自养反硝化而言,与其他自养反硝化工艺相比,基于  $\text{H}_2$  和硫的反硝化具有较高的硝酸盐去除率。在某些情况下,基于  $\text{H}_2$  和硫的反硝化甚至比异养反硝化具有更高的硝酸盐去除率。对于基于  $\text{H}_2$  的反硝化,由于  $\text{H}_2$  的低水溶性是反硝化速率的主要限制因素,因此使用透气膜(如中空纤维膜)可以通过促进  $\text{H}_2$  溶解来提高反硝化速率。在  $\text{H}_2$  基中空纤维膜生物膜反应器中,硝酸盐去除率范围为 0.8~2.9 g N/L·d、对于硫基反硝化,据报道,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  的硝酸盐去除率明显高于  $\text{S}^{2-}$  和  $\text{S}^0$ 。由于其高溶解度和生物利用度,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  是所有还原硫化物中最有效的电子供体。在基于  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  的上流式厌氧污泥反应器中,硝酸盐去除率可达到 6.72 g N/L·d [56]。

有一些实验室规模的自养反硝化试验使用  $\text{Fe}^{2+}$  或硫化铁作为电子供体。然而,在基于  $\text{Fe}^{2+}$  和硫化铁的反硝化反应器中观察到的最大反硝化速率分别不超过 0.33 和 0.38 g N/L·d。相对较低的反硝化速率限制了它们用于自养反硝化。

表 1 总结了使用不同电子供体的反硝化效率(硝酸盐去除率)和速率。由于电子供体的类型和生物利用度、反应器配置、操作条件和进水特性的不同,反硝化速率的范围很宽。

**Table 1.** Difference in denitrification performance caused by electron donors**表 1.** 电子供体引起的反硝化性能差异

电子供体	硝酸盐入口浓度 (mg/L)	硝酸盐去除能力 (%)	硝酸盐去除速率 (g N/L·d)	反应场所	参考文献
葡萄糖	15.6~50.6	88~92	0.17~0.46	填充床	[7]
木片	10	79	0.01	填充床	[9]
棉花	30.97	98.5	0.044	生物过滤	[11]
PCL	25~35	88~99	1.23~3.80	填充床	[18]
硫化物	69	93.7	0.33	颗粒污泥反应器	[21]
硫代硫酸盐	23~278	-	1.24~3.25	流化床反应器	[23]
硫代硫酸盐	70	97.7	6.72	上流式厌氧污泥床	[26]
Fe <sup>2+</sup>	120	34.6	0.09	上流式厌氧污泥床	[29]
Fe <sup>2+</sup>	40~60	81	0.33	上流式厌氧污泥床	[30]
磁黄铁矿	28.0	96	0.027	上流式固定床反应器	[31]
黄铁矿	50	45.7~94.5	0.006~0.012	升流塔反应器	[32]
黄铁矿	99.28	39.7~56.4	0.33~0.38	上流式填料床反应器	[33]
硫 + 木片	36.5	100	0.018	上流式填料床反应器	[34]

#### 4.2. 环境影响

二次有机污染的风险是传统异养反硝化的主要缺点。甲醇毒性很高，如果从过程中释放出来，可能会对环境造成有害影响。相比之下，固体有机电子供体对环境的影响较小。H<sub>2</sub> 是最清洁的电子供体，在基于 H<sub>2</sub> 的反硝化过程中不会产生任何不需要的化合物。因此，它是饮用水处理的最佳选择。对于硫基脱氮，SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的产生是主要的缺点。美国环保局制定的饮用水中 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 浓度的水质标准低于 250 mg/L。因此，应小心控制含硫化合物的剂量。表 2 总结了用于生物脱氮的各种电子供体的优缺点。

**Table 2.** Advantages and disadvantages of electron donors in denitrification process**表 2.** 反硝化过程中不同电子供体的优缺点。

电子供体	优势	缺点
有机酸，酒精	高脱氮效率和速率； 高稳定性； 操作可行性；	外部有机碳成本高； 二次有机碳污染风险； 污泥产量高[42]
天然木质纤维材料	原料廉价	大量 DOC 释放，颜色浑浊； 相对低的脱氮效率[45]
合成可生物降解聚合物	脱氮效率和速率高；	高成本[46]
甲烷	利用温室气体甲烷； 无 N <sub>2</sub> O 释放	相对低的脱氮效率； DAMO 增长率低[47]

## Continued

H <sub>2</sub>	清洁无害; 污泥产量低	氢气生产和运输成本高; H <sub>2</sub> 的安全问题; H <sub>2</sub> 的低溶解度限制了反应速率[48]
含硫化合物	污泥产量低; 成本低; N <sub>2</sub> O 排放量低于异养反硝化	产生高浓度硫酸盐; 与异养工艺相比, 反硝化速率较低; 需要控制 pH 值[50]
Fe <sup>0</sup>	成本低; 还原速率快	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 的形成[51]
Fe <sup>2+</sup>	生成的 Fe <sup>III</sup> 可作为除磷的混凝剂	反硝化速率低[52]
硫化铁	成本低; 污泥产量低; 与硫基反硝化相比, 硫酸盐产量和 pH 值变化更低; 同时去除硝酸盐和磷酸盐	运行一段时间后 铁结垢的形成[53]; 反硝化率低[55]

## 5. 总结以及未来期望

生物脱氮是废水中去除 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 最经济的方法, 利用有机碳物质作为电子供体的异养反硝化已被证明在用于大规模废水处理是高效的。然而, 在处理低碳氮比废水时, 额外的有机碳源可能会增加二次污染风险。因此, 利用无机电子供体的自养反硝化已发展成为处理缺乏有机碳废水的方法。H<sub>2</sub> 是最清洁的电子供体, 氢营养反硝化可能是最佳选择, 然而, 为了提高 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 去除效率和安全性, 应研究自生氢营养过程的操作参数, 如氢气和 CO<sub>2</sub> 流速、pH 值、温度以及营养盐浓度。此外, 使用还原硫化物(例如硫化物、元素硫和硫代硫酸盐)作为电子供体的自养反硝化是一种经济高效的工艺, 产生的 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的控制是硫基脱氮的主要关注点。未来的研究可能集中在以下几个方面: 与传统的液相异养反硝化相比, 固相异养反硝化具有许多优势。然而, 固相异养反硝化在大规模应用中的可行性和成本分析还需要进一步研究, 未来应开发更具成本效益的可生物降解聚合物。异养反硝化和硫基自养反硝化的结合已成为一种新的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 处理方法, 与单一异养或硫基自养工艺相比, 可以降低成本和抑制 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的产生, 探索异养/自养反硝化的最佳配置和不同的有机/无机源组合可能是未来的研究方向。

## 致 谢

本项目受浙江树人学院引进人才启动项目资助项目。

## 参考文献

- [1] Peng, C., *et al.* (2018) Identification of Nitrate Pollution Sources through Various Isotopic Methods: A Case Study of the Huixian Wetland. *Environmental Science*, **39**, 5410-5417.
- [2] Sheng, T., *et al.* (2018) Nitrate-Nitrogen Pollution Sources of an Underground River in Karst Agricultural Area Using <sup>15</sup>N and <sup>18</sup>O Isotope Technique. *Environmental Science*, **39**, 4547-4555.
- [3] Wang, Y.-L., Feng, M.-Q. and Dong, X.-Q. (2019) Analysis of Nitrate Pollution Sources in the Rainy Season of the Lower Fenhe River. *Environmental Science*, **40**, 4033-4041.
- [4] Chen, X., *et al.* (2022) High Efficient Bio-Denitrification of Nitrate Contaminated Water with Low Ammonium and Sulfate Production by a Sulfur/Pyrite-Based Bioreactor. *Bioresource Technology*, **346**, Article ID: 126669. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126669>
- [5] Graham, D.W., *et al.* (2010) Correlations between *in Situ* Denitrification Activity and Nir-Gene Abundances in Pristine and Impacted Prairie Streams. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, **158**, 3225-3229.

- <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.07.010>
- [6] Li, R., *et al.* (2016) Woodchip-Sulfur Based Heterotrophic and Autotrophic Denitrification (WSHAD) Process for Nitrate Contaminated Water Remediation. *Water Research*, **89**, 171-179. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.044>
- [7] Tong, S., *et al.* (2013) Characteristics of Heterotrophic/Biofilm-Electrode Autotrophic Denitrification for Nitrate Removal from Groundwater. *Bioresource Technology*, **148**, 121-127. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.146>
- [8] Tian, T. and Yu, H.-Q. (2020) Denitrification with Non-Organic Electron Donor for Treating Low C/N Ratio Wastewaters. *Bioresource Technology*, **299**, Article ID: 122686. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122686>
- [9] Liu, H., *et al.* (2022) Effect of  $S_2O_3^{2-}$ -S Addition on Anammox Coupling Sulfur Autotrophic Denitrification and Mechanism Analysis Using N and O Dual Isotope Effects. *Water Research*, **218**, Article ID: 118404. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118404>
- [10] Yang, X., *et al.* (2022) Effect of Electric Current Intensity on Performance of Polycaprolactone/FeS<sub>2</sub>-Based Mixotrophic Biofilm-Electrode Reactor. *Bioresource Technology*, **361**, Article ID: 127757. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127757>
- [11] Bai, Y., *et al.* (2022) Role of Iron(II) Sulfide in Autotrophic Denitrification under Tetracycline Stress: Substrate and Detoxification Effect. *The Science of the Total Environment*, **850**, Article ID: 158039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158039>
- [12] Li, S., Jiang, Z. and Ji, G. (2022) Effect of Sulfur Sources on the Competition between Denitrification and DNRA. *Environmental Pollution*, **305**, Article ID: 119322. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119322>
- [13] Pang, Y., Hu, L. and Wang, J. (2022) Mixotrophic Denitrification Using Pyrite and Biodegradable Polymer Composite as Electron Donors. *Bioresource Technology*, **351**, Article ID: 127011. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127011>
- [14] Wang, P., *et al.* (2022) Use of Sponge Iron as an Indirect Electron Donor to Provide Ferrous Iron for Nitrate-Dependent Ferrous Oxidation Processes: Denitrification Performance and Mechanism. *Bioresource Technology*, **357**, Article ID: 127318. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127318>
- [15] Zhang, H., *et al.* (2022) Nitrogen Removal from Low Carbon/Nitrogen Polluted Water Is Enhanced by a Novel Synthetic Micro-Ecosystem under Aerobic Conditions: Novel Insight into Abundance of Denitrification Genes and Community Interactions. *Bioresource Technology*, **351**, Article ID: 127013. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127013>
- [16] Wang, J., *et al.* (2022) Elucidating the Role of Carbon Shell in Autotrophic Denitrification Driven by Carbon-Coated Nanoscale Zerovalent Iron. *Chemical Engineering Journal*, **434**, Article ID: 134656. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.134656>
- [17] Zhang, X.-N., *et al.* (2022) Thiosulfate as External Electron Donor Accelerating Denitrification at Low Temperature Condition in S-0-Based Autotrophic Denitrification Biofilter. *Environmental Research*, **210**, Article ID: 113009. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113009>
- [18] de Albuquerque, F.P., *et al.* (2022) Carbon Cloth Amendment for Boosting High-Solids Anaerobic Digestion with Percolate Recirculation: Spatial Patterns of Microbial Communities. *Chemosphere*, **307**, Article ID: 135606. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135606>
- [19] Fu, X., *et al.* (2022) Application of External Carbon Source in Heterotrophic Denitrification of Domestic Sewage: A Review. *Science of the Total Environment*, **817**, Article ID: 153061. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153061>
- [20] Li, C., *et al.* (2022) Initial Carbon Release Characteristics, Mechanisms and Denitrification Performance of a Novel Slow Release Carbon Source. *Journal of Environmental Sciences*, **118**, 32-45. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2021.08.045>
- [21] Li, H., *et al.* (2022) Efficient Nitrogen Removal from Stormwater Runoff by Bioretention System: The Construction of Plant Carbon Source-Based Heterotrophic and Sulfur Autotrophic Denitrification Process. *Bioresource Technology*, **349**, Article ID: 126803. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126803>
- [22] Li, J., *et al.* (2006) Removal of Organic Matter and Nitrogen from Distillery Wastewater by a Combination of Methane Fermentation and Denitrification/Nitrification Processes. *Journal of Environmental Sciences (China)*, **18**, 654-659.
- [23] Louzeiro, N.R., *et al.* (2002) Methanol-Induced Biological Nutrient Removal Kinetics in a Full-Scale Sequencing Batch Reactor. *Water Research*, **36**, 2721-2732. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(01\)00494-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00494-8)
- [24] Xu, Z., Dai, X. and Chai, X. (2018) Effect of Different Carbon Sources on Denitrification Performance, Microbial Community Structure and Denitrification Genes. *Science of the Total Environment*, **634**, 195-204. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.348>
- [25] Gao, Y., *et al.* (2020) Denitrification Performance Evaluation and Kinetics Analysis with Mariculture Solid Wastes (MSW) Derived Carbon Source in Marine Recirculating Aquaculture Systems (RAS). *Bioresource Technology*, **313**, Article ID: 123649. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123649>
- [26] Li, H., *et al.* (2021) Porous Solid Carbon Source-Supported Denitrification in Simulated Mariculture Wastewater. *En-*

- vironmental Technology*, **42**, 1196-1203. <https://doi.org/10.1080/09593330.2019.1660415>
- [27] Liu, F., *et al.* (2016) The Use of Fermentation Liquid of Wastewater Primary Sedimentation Sludge as Supplemental Carbon Source for Denitrification Based on Enhanced Anaerobic Fermentation. *Bioresource Technology*, **219**, 6-13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.030>
- [28] Si, Z., *et al.* (2018) Intensified Heterotrophic Denitrification in Constructed Wetlands Using Four Solid Carbon Sources: Denitrification Efficiency and Bacterial Community Structure. *Bioresource Technology*, **267**, 416-425. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.029>
- [29] Igielski, S., Kjellerup, B.V. and Davis, A.P. (2019) Understanding Urban Stormwater Denitrification in Bioretention Internal Water Storage Zones. *Water Environment Research*, **91**, 32-44. <https://doi.org/10.2175/106143017X15131012188024>
- [30] Ghane, E., *et al.* (2018) Carbon Quality of Four-Year-Old Woodchips in a Denitrification Bed Treating Agricultural Drainage Water. *Transactions of the Asabe*, **61**, 995-1000. <https://doi.org/10.13031/trans.12642>
- [31] Hellman, M., *et al.* (2021) Substrate Type Determines Microbial Activity and Community Composition in Bioreactors for Nitrate Removal by Denitrification at Low Temperature. *Science of the Total Environment*, **755**, Article ID: 143023. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143023>
- [32] Fan, Z., Hu, J. and Wang, J. (2012) Biological Nitrate Removal Using Wheat Straw and PLA as Substrate. *Environmental Technology*, **33**, 2369-2374. <https://doi.org/10.1080/09593330.2012.669411>
- [33] Xu, Z., Dai, X. and Chai, X. (2019) Effect of Temperature on Tertiary Nitrogen Removal from Municipal Wastewater in a PHBV/PLA-Supported Denitrification System. *Environmental Science and Pollution Research*, **26**, 26893-26899. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05823-6>
- [34] Chen, Y., *et al.* (2011) Effects of Dissolved Oxygen on Extracellular Enzymes Activities and Transformation of Carbon Sources from Plant Biomass: Implications for Denitrification in Constructed Wetlands. *Bioresource Technology*, **102**, 2433-2440. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.122>
- [35] Yang, Z., *et al.* (2020) Nitrogen Removal Performance in Pilot-Scale Solid-Phase Denitrification Systems Using Novel Biodegradable Blends for Treatment of Waste Water Treatment Plants Effluent. *Bioresource Technology*, **305**, Article ID: 122994. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122994>
- [36] Xie, Y., *et al.* (2019) An Iron-Carbon-Activated Carbon and Zeolite Composite Filter, Anaerobic-Aerobic Integrated Denitrification Device for Nitrogen Removal in Low C/N Ratio Sewage. *Water Science and Technology*, **80**, 223-231. <https://doi.org/10.2166/wst.2019.261>
- [37] Park, J.-H., *et al.* (2016) Pyrosequencing Analysis of Microbial Communities in Hollow Fiber-Membrane Biofilm Reactors System for Treating High-Strength Nitrogen Wastewater. *Chemosphere*, **163**, 192-201. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.07.099>
- [38] Zhu, C., *et al.* (2017) Enhanced Denitrification at Biocathode Facilitated with Biohydrogen Production in a Three-Chambered Bioelectrochemical System (BES) Reactor. *Chemical Engineering Journal*, **312**, 360-366. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.11.152>
- [39] Mahl, U.H., *et al.* (2015) Two-Stage Ditch Floodplains Enhance N-Removal Capacity and Reduce Turbidity and Dissolved P in Agricultural Streams. *Journal of the American Water Resources Association*, **51**, 923-940. <https://doi.org/10.1111/1752-1688.12340>
- [40] Zhou, P., *et al.* (2021) Electrochemical Insight into the Activated Algal Biochar Assisted Hydrogenotrophic Denitrification at Biocathode Using Bioelectrochemical System (BES). *Process Biochemistry*, **103**, 60-64. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2021.02.008>
- [41] Fan, C., *et al.* (2021) Sulfur Transformation in Sulfur Autotrophic Denitrification Using Thiosulfate as Electron Donor. *Environmental Pollution*, **268**, Article ID: 115708. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115708>
- [42] Zhang, L., *et al.* (2021) Elemental Sulfur as Electron Donor and/or Acceptor: Mechanisms, Applications and Perspectives for Biological Water and Wastewater Treatment. *Water Research*, **202**, Article ID: 117373. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117373>
- [43] Watsuntorn, W., *et al.* (2017) Hydrogen Sulfide Oxidation under Anoxic Conditions by a Nitrate-Reducing, Sulfide-Oxidizing Bacterium Isolated from the Mae Urn Long Luang Hot Spring, Thailand. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **124**, 196-205. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.06.013>
- [44] Li, W., *et al.* (2013) Physical Characteristics and Formation Mechanism of Denitrifying Granular Sludge in High-Load Reactor. *Bioresource Technology*, **142**, 683-687. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.04.118>
- [45] Yang, W., *et al.* (2016) Sulfide-Driven Autotrophic Denitrification Significantly Reduces N<sub>2</sub>O Emissions. *Water Research*, **90**, 176-184. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.12.032>
- [46] Guo, J., *et al.* (2022) Selective Reduction of Nitrate to Nitrogen by Fe<sup>0</sup>-Cu<sup>0</sup>-CuFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Composite Coupled with Carbon

- Dioxide Anion Radical under UV Irradiation. *Chemosphere*, **295**, Article ID: 133785. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133785>
- [47] Ruby, C., *et al.* (2006) *In Situ* Redox Flexibility of FeII-III Oxyhydroxycarbonate Green Rust and Fougerite. *Environmental Science & Technology*, **40**, 4696-4702. <https://doi.org/10.1021/es0606834>
- [48] Meyer, A., *et al.* (2010) A New <sup>5</sup>N Tracer Method to Determine N Turnover and Denitrification of *Pseudomonas stutzeri*. *Isotopes in Environmental and Health Studies*, **46**, 409-421. <https://doi.org/10.1080/10256016.2010.528840>
- [49] Mao, J., *et al.* (2022) Resource Utilization of Waste Tailings: Simulated Removal of Nitrogen from Secondary Effluent by Autotrophic Denitrification Based on Pyrite Tailings. *Frontiers in Environmental Science*, **10**, Article ID: 949618. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.949618>
- [50] Li, R., *et al.* (2020) Pyrrhotite-Sulfur Autotrophic Denitrification for Deep and Efficient Nitrate and Phosphate Removal: Synergistic Effects, Secondary Minerals and Microbial Community Shifts. *Bioresource Technology*, **308**, Article ID: 123302. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123302>
- [51] Yang, Y., *et al.* (2017) Nanostructured Pyrrhotite Supports Autotrophic Denitrification for Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal from Secondary Effluents. *Chemical Engineering Journal*, **328**, 511-518. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.061>
- [52] Zhao, L., *et al.* (2022) Simultaneous Heterotrophic and FeS<sub>2</sub>-Based Ferrous Autotrophic Denitrification Process for Low-C/N Ratio Wastewater Treatment: Nitrate Removal Performance and Microbial Community Analysis. *Science of the Total Environment*, **829**, Article ID: 154682. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154682>
- [53] Hosono, T., *et al.* (2015) Nitrogen, Carbon, and Sulfur Isotopic Change during Heterotrophic (*Pseudomonas aureofaciens*) and Autotrophic (*Thiobacillus denitrificans*) Denitrification Reactions. *Journal of Contaminant Hydrology*, **183**, 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2015.10.009>
- [54] Huang, Z., *et al.* (2020) Mercury Oxidation Coupled to Autotrophic Denitrifying Branched Sulfur Oxidation and Sulfur Disproportionation for Simultaneous Removal of Hg(0) and NO. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **104**, 8489-8504. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10827-1>
- [55] Soundaranayaki, K. and Gandhimathi, R. (2020) Enhancing the Nitrogen Removal of Vertical Flow Constructed Wetland by Using Organic Media. *Desalination and Water Treatment*, **175**, 125-140. <https://doi.org/10.5004/dwt.2020.24927>
- [56] Sanchez, I., *et al.* (2008) Assessment of the Addition of *Thiobacillus denitrificans* and *Thiomicrospira denitrificans* to Chemolithoautotrophic Denitrifying Bioreactors. *International Microbiology: The Official Journal of the Spanish Society for Microbiology*, **11**, 179-184.