

尿素废水生物处理技术原理与工艺研究进展

贾方旭,刘莹洁,于晓华,蔡伟伟,邢 薇,姚 宏* (北京交通大学土木建筑工程学院,水中典型污染物控制与水质保障北京重点实验室,北京 100044)

摘要: 尿素废水的处理是当前亟需解决的难题,其中生物处理法因具有工艺流程短,成本低,抗冲击负荷,不产生二次污染等优点,在尿素废水的处理中备受青睐.本文基于尿素生物水解法原理,从机理上深入分析了脲酶的发展历程,酶学结构与水解机制,并对传统生物尿素脱氮法的应用进行了系统梳理.此外,为了更好地理解厌氧氨氧化菌降解尿素的潜能及在实际工程中的应用,本文分别从微生物学和工程应用的角度总结了相关研究结果.最后提出了尿素废水生物处理研究的建议与展望,以期在实际工程应用提供有力的理论基础和技术支持.

关键词: 尿素废水; 脲酶; 生物脱氮; 厌氧氨氧化

中图分类号: X703.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6923(2020)12-5270-10

Principle and application of urea wastewater biological treatment technology. JIA Fang-xu, LIU Ying-jie, YU Xiao-hua, CAI Wei-wei, XING Wei, YAO Hong* (Beijing Key Laboratory of Aqueous Typical Pollutants Control and Water Quality Safeguard, School of Civil Engineering, Beijing Jiaotong University, Beijing 100044, China). *China Environmental Science*, 2020,40(12): 5270~5279

Abstract: The treatment of urea wastewater has become an urgent problem. Biological treatment is a popular method in dealing with urea wastewater due to the advantages of short process flow, low cost, anti-shock load and no secondary pollution etc. In this review, based on the principle of urea bio-hydrolysis, the development process, enzymatic structure and hydrolysis mechanism of urease were analyzed in depth from the mechanism, and the application of traditional biological urea denitrification method was systematically reviewed. In addition, in order to better understand the potential of anaerobic ammonia-oxidizing bacteria to degrade urea and its application in practical engineering, this paper summarized the relevant research results from the perspectives of microbiology and engineering application. Finally, the Suggestions and prospects of the research on biological treatment of urea wastewater are put forward in order to provide a strong theoretical basis and technical support for practical engineering application.

Key words: urea wastewater; urease; biological denitrification; anaerobic ammonia oxidation (Anammox)

尿素,又称碳酰胺,化学式为 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$,是最简单的有机化合物之一.尿素作为微生物主要代谢终产物及哺乳动物氮排出的主要方式,在自然界中广泛存在,同时也作为含氮量最高的氮肥品种被广泛使用^[1].此外,尿素作为一种必要原料还可应用在临床领域(如:防腐剂,药物生产,生物活性添加剂等)和工业制造领域(如:塑料,三聚氰胺,脲醛树脂,炸药,稳定剂等)^[2]并且在柴油机,电厂和汽车废气处理领域也具有广泛的应用^[3].

在工业领域中,由于尿素的广泛使用会导致大量的尿素废水排放到自然环境中.据报道,年产 35 万 t 尿素的中型氮肥厂,每年仅排水就会造成 1750t 的尿素损失^[4].偶氮二甲酰胺发泡剂制造厂,每生产 1t 发泡剂,其排放废水中就含 125kg 左右的尿素^[5].因此,尿素工业废水具有排放量大,尿素浓度高,成分复杂,处理难度大等特点,若不进行处理,会对环境造成

严重的破坏.目前,针对尿素工业废水的处理方法主要分为物化法和生物法.各方法的优缺点如表 1 所示,尽管传统的物化法应用较多,但该方法仍存在较大的缺陷.而生物法中的生物水解法,由于无需将脲酶分离纯化,且可在常温常压下利用微生物的细胞代谢,将废水中尿素降解为 NH_3 和 CO_2 ,具有操作简单,工艺流程短,成本低,抗冲击负荷,不产生二次污染等优点,使其在尿素工业废水的处理中备受青睐.

本文针对尿素生物水解法,从机理上深入分析了脲酶的发展历程,酶学结构特征与尿素水解机制,并对传统生物水解法的应用进行对比分析.此外,针对新型厌氧氨氧化脱氮工艺处理尿素废水进行总

收稿日期: 2020-05-09

基金项目: 北京高校卓越青年科学家计划资助项目(BJWZYJH01201910004016); 国家自然科学基金青年基金资助项目(51908029); 中国博士后科学基金资助面上项目(2018M641175)

* 责任作者, 教授, yaohongts@163.com

结,从微生物学角度探讨了厌氧氨氧化菌降解尿素的潜能,总结了该工艺处理尿素废水的工程应用,并提出了未来生物水解法处理尿素废水研究的建议与展望。

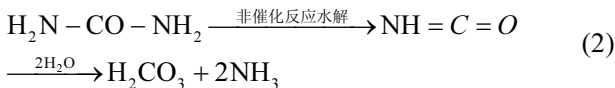
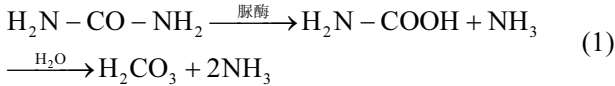
表 1 尿素废水处理方法优缺点对比
Table 1 Advantages and Disadvantages of Urea Wastewater Treatment

处理方法	优点	缺点	参考文献
热力水解法	方法成熟,处理效果好,适用于处理高浓度尿素废水	反应条件严格,动力消耗大,设备造价高,仅适用于大型工厂	[6-7]
物化处 电化分解法	能将尿素转化为无害的 CO ₂ 和 N ₂ ,处理效果较好	反应条件严格,影响因素多,电能消耗大,易产生二次污染物	[8-9]
理法 催化水解法	反应速度快,操作简单	水解产物不稳定,催化剂成本高,运行费用高	[10]
吸附法	运行流程简单,对低浓度尿素吸附效果好	材料制备不成熟,吸附最佳条件不确定	[11-12]
生物处 脲酶水解法	条件温和,反应速率快	脲酶的分离提纯难度大,固定化方法载体不稳定	[13-14]
理法 生物水解法	反应条件温和,流程简单,运行费用低,无二次污染	微生物种类不明确,反应机理不清晰	[15-16]

1 脲酶

1.1 脲酶的发展历程

脲酶,又称尿素酰胺水解酶,是自然界中普遍存在的金属酶,广泛分布于植物,动物,细菌,真菌,藻类,无脊椎动物和人体中.迄今为止,脲酶是人类研究最深入的酶之一.脲酶在尿素水解反应中起到催化作用(式 1),对比无酶参与的非催化反应(式 2),其速率至少可提高 10¹⁴ 倍^[17].



早在 1874 年,Musculus 从尿液中成功地分离出一种具有尿素分解活性的酶.直至 1890 年,Miquel 才将这种酶正式命名为“脲酶”^[17].在生物化学领域,关于脲酶的研究共奠定了三次里程碑式的突破.1926 年,Sumner^[18]首次提取出脲酶的结晶并证明酶的本质是蛋白质,并获得了 1946 年诺贝尔化学奖;1975 年,Dixon^[19]发现在洋刀豆脲酶(JBU)的活性位点中存在镍离子,使脲酶成为了首次被发现含有镍离子的金属酶;2001 年,Follmer 等^[20]发现脲酶对植物生长有抑制作用,并将其归类为一种植物毒素,即酶的非催化特性.这些发现拓宽了人类对脲酶的认知,即脲酶除了在氮代谢中发挥作用还具有其他功能.

1.2 脲酶的结构

脲酶是氨基水解酶和磷酸三酯酶家族的成员之一,脲酶单体的活性区域均位于 α 亚基片段,且在

其活性位点上通常带有 2 个镍离子.不同来源脲酶的单体结构,数量与类型均不相同,但这些单体的氨基酸序列通常具有 55%以上的相似度,这表明它们来源于共同的祖先^[21].如图 1A 所示为脲酶的 X 射线晶体学图片,细菌的脲酶通常具有“三聚体”结构^[21],其通常是由 2 种亚基(α 和 β,到目前为止只在螺旋杆菌属中发现)或 3 种亚基(α,β 和 γ)组成,如克氏杆菌脲酶和巴氏杆菌脲酶都属于典型的三聚体([αβγ]₃)结构^[22].但也存在一些其他不同结构的细菌脲酶,如腐生葡萄球菌脲酶([αβ]₄)和金葡萄球菌脲酶([αβ]₅)^[23],幽门螺杆菌脲酶([αβγ]₃)₄^[24].表 2 列出了部分细菌脲酶的生化与结构特性.

脲酶的尿素水解能力需要辅助蛋白的帮助才能激发.在细菌中编码脲酶亚基的基因有 *ureA*,*ureB* 和 *ureC*,而编码辅助蛋白的基因有 *ureD*,*ureE*,*ureF* 和 *ureG*,他们通常存在于同一个操纵子中.细菌脲酶通常由 2 个或 3 个不同的亚基共同构成多聚体结构.如图 1B 所示,在幽门螺杆菌(*H.pylori*)的脲酶中,其只包含由 *ureA* 和 *ureB* 基因编码的 β(26.5kDa)和 α(61.7kDa)亚基^[25].而奇异变形杆菌(*P.mirabilis*)的脲酶中发现了分子量分别为 11kDa,12.2kDa 和 61kDa 的 γ,β 和 α 亚基,其分别由 *ureA*,*ureB* 和 *ureC* 基因编码所得^[26-27].此外,激发脲酶水解活性的辅助蛋白质,则由编码脲酶辅助蛋白的 *ureD*,*ureE*,*ureF* 和 *ureG* 基因所调控.辅助蛋白可协助将镍离子转运到无活性的酶原上,从而激活脲酶活性完成尿素的催化水解反应.奇异变形杆菌(*P.mirabilis*)中还存在一个调节基因 *ureR*,用于合成尿素诱导调节因子,以控制剩余基因的表达^[26].

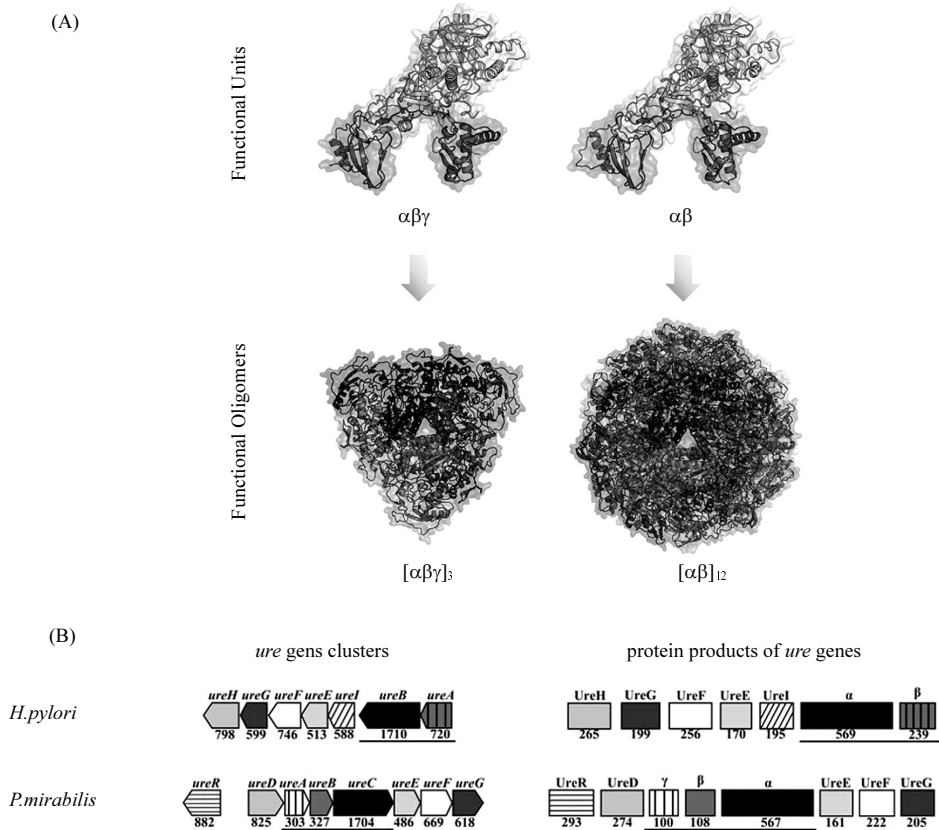


图 1 脲酶的晶体学结构特征^[21]与脲酶基因簇和脲酶结构^[28]

Fig.1 Illustrates the structural features of ureases and scheme of genetic organization of urease genes and structural composition of urease

表 2 细菌中脲酶的生化 and 结构特性^[21]

Table 2 Biochemical and structural data on selected ureases of bacteria

脲酶细菌	分子量(kDa)	晶体结构	米氏常数 K_m (mmol/L)	酶活($\mu\text{mol}/\text{min}\cdot\text{mg}$)	最适 pH 值	等电点 pI
<i>Aerobacter aerogene</i>	—	—	2.8	690	7.5	—
<i>Arthobacter oxydans</i>	242	—	12.5	219	7.6	4.3~4.7
<i>Bacillus pasteurii</i>	—	—	17.3	2500	8.0	4.6
<i>Brevibacterium ammoniagenes</i>	200	$[\alpha\beta\gamma]_3$	32	3570	7	4.1
<i>Brucella suis</i>	—	$[\alpha\beta\gamma]_3$	5.60	540	7.0	5
<i>Helicobacter pylori</i>	1060	$([\alpha\beta\gamma]_3)_4$	0.2~0.8	1700	8.0~8.2	5.9; 5.93; 5.99
<i>Klebsiella aerogenes</i>	—	$[\alpha\beta\gamma]_3$	2.8	2500	7.75	—
<i>Morganella morganii</i>	590	$[\alpha\beta\gamma]_3$	—	—	—	0.7
<i>Proteus mirabilis</i>	252	$[\alpha\beta\gamma]_3$	13	2000	7.5	5.2~5.9
<i>Providencia rettgeri</i>	—	—	10.5	30.6	7.5	5.1~5.2
<i>Providencia stuartii</i>	230	$[\gamma_2\beta_2\alpha]_2$	9.3	7100	—	5.4
<i>Selenomonas ruminantium</i>	360	—	2.2	1100	8.0	—
<i>Sporosarcina pasteurii</i>	260	$[\alpha\beta\gamma]_3$	17.3	—	8.0	4.6
<i>Sporosarcina pasteurii</i>	480	$[\gamma\alpha\beta]_5$	1.66	730	—	—
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	427	$[\gamma\alpha\beta]_4$	9.5	1979	6.0; 7.0	4.7
<i>Staphylococcus xylosus</i>	300	$[\alpha\beta\gamma]_3$	—	1573	7.2	4~5
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	274	$[\alpha\beta\gamma]_3$	2.5	180000	6.9~7.5	5.0~5.2; 4.60

1.3 脲酶的工作机制

自 19 世纪 20 年代以来,有关脲酶催化水解尿素的反应机理被广泛研究,但脲酶催化水解尿素的反

应机理目前仍存在争议,但就目前来看,大多数研究者的观点都与巴氏芽孢杆菌脲酶的工作机制相符,并为脲酶抑制剂方面的研究提供了较好的理论支

撑^[29-30]。如图 2A 所示^[21],脲酶的活性主要取决于 2 个镍离子的活性位点,由 1 个羧酸化的赖氨酸(K220)连接 2 个镍原子,Ni(1)再由 2 个组氨酸(H249 和 H275)配位,Ni(2)则与另外 2 个组氨酸(H137 和 H139)和 1 个天冬氨酸残基(D363)配位。此外,2 个镍原子再通过氢氧根离子连接,并通过氢键(W_B)作用与 3 个水分子($W1, W2, W3$)在活性位点上形成四面体结构。除了组成活性位点本身的氨基酸残基外,其他残基(A366, H323, H222)会形成“活动瓣”(图 2B),其通过开合负责脲酶中的底物流入和产物外排,参与到脲酶催化水解反应中^[31]。在催化过程中,活动瓣的氨基酸残基主要通过氢键参与底物的结合,从而稳定了催化的过渡态并加速了反应的进行^[17,21]。

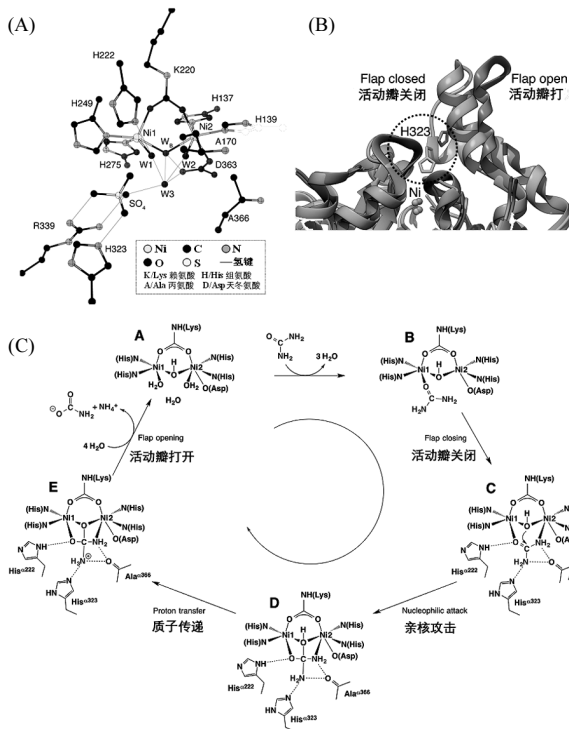


图 2 脲酶晶体结构模型与活动瓣的酶学结构及脲酶的催化机理^[31](以巴氏芽孢杆菌为例)

Fig.2 Crystallographic structural models of urease and ribbon scheme of the active site flap and catalytic mechanism of ureases (The *Bacillus pasteurii* urease residue-numbering scheme is used)

如图 2C 所示,在脲酶催化过程中,尿素首先通过羰基 O 与 Ni(1)结合,取代水分子 $W1 \sim W3$ 后,使尿素中的碳更亲电,更容易发生亲核攻击。然后尿素中的一个氨基 N 与 Ni(2)结合,使尿素与脲酶建立双齿键,同时该键促进了 OH 对尿素的羰基 C 的亲核

攻击,从而形成四面体结构的过渡态,此时活动瓣打开,使 NH_3 和氨基甲酸酯从中被释放出来,最终完成尿素的水解反应。而目前主要争议集中在亲和攻击反应, Benini 等^[32]认为亲核攻击是在桥接镍离子的 OH 的作用下进行的,但 Karplus 等^[33]则认为尿素只是单齿配体,活动瓣中组氨酸残基才是亲核攻击反应进行的关键。除了这两个假设外, Estiu 等^[34]基于仿生复合物的酶动力学模型提出,在蛋白残基的协助下首先对尿素的氨基进行消除生成氰酸,然后再水解为 CO_2 和 NH_3 ,虽然该过程未涉及脲酶结构中的氨基酸信息,但其在实验中被观察到并得到量子化学的验证,所以仍被认为是脲酶水解的可能途径之一。

2 尿素废水生物处理工艺

目前,生物脱氮工艺可分为传统型和新型两大类,其主要原理都是通过微生物的作用将污水中不同形式的氮素转化为氮气从水相中脱除,以达到污水脱氮的目的。如图 3 所示为目前已报道的生物脱氮途径。

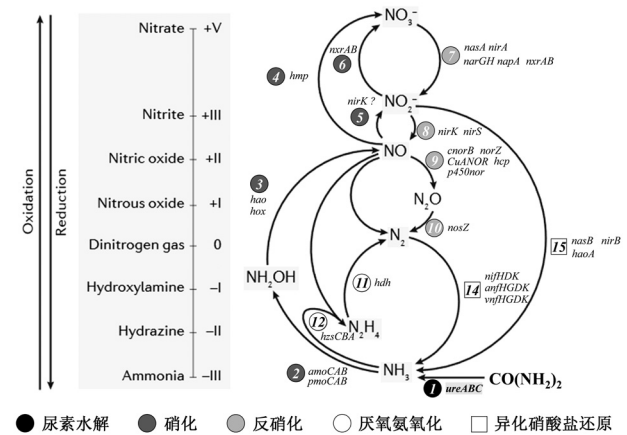


图 3 尿素废水处理中微生物脱氮途径^[35]

Fig.3 Microbial denitrification pathways for urea wastewater treatment

传统生物脱氮通常指硝化—反硝化过程,即在好氧条件下硝化菌将 NH_4^+-N 转化 NO_3^--N ,然后在缺氧条件下反硝化菌再将 NO_3^--N 转化为 N_2 ,这是目前研究最多,应用最广的生物处理方法。新型脱氮工艺主要指厌氧氨氧化过程,即在缺氧条件下厌氧氨氧化菌将 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 直接转化为 N_2 。而针对尿素废水的处理,都需要先经过尿素降解菌把污

水中的尿素水解成氨氮再进行脱氮.

2.1 硝化-反硝化传统生物脱氮工艺

在污水处理领域中,许多不同种属的氨氧化细菌(AOB)^[36],亚硝酸盐氧化细菌(NO_B)^[37]及一部分氨氧化古菌(AOA)^[38-39]不仅可以发生人们所熟知的硝化反应(NH₄⁺→NO₂⁻或 NO₂⁻→NO₃⁻),还都可以利用有机氮源——尿素作为营养物质供自身代谢.Koops 等^[40]研究了 25 个 AOB 菌种发现,大部分 AOB 都可以利用尿素作为氮源,其中 *Nitrosospira* 属所有种均可检测到脲酶活性,但 *Nitrosomonas* 属中则有一部分不具有尿素水解能力.Koch 等^[37]通过基因组测序发现 NO_B 中的 *Nitrospira Moscoviensis* 存在编码脲酶的基因.同时在污水厂活性污泥,土壤和淡水生态环境中的 *Nitrospira lenta* 和海洋生态系统中的 *Nitrospira defluvii* 中均发现了脲酶基因.Alonso 等^[41]对极地海洋古菌 *Thaumarchaeota* 进行研究并证实该菌除了具有氨氧化代谢能力,还有大量的脲酶基因参与尿素的运输和降解.此外,污水中很多异养菌也具有尿素降解

能力^[42],所以上述研究均表明污水中具有尿素水解能力的微生物普遍存在,所以传统生物脱氮工艺处理尿素废水有较好的可行性.

目前,传统生物脱氮工艺处理尿素废水主要采用曝气生物滤池(BAF)^[43-44],序批式反应器(SBR)^[45-46]和升流式污泥床(USB)^[47-51]工艺.如表 3 可知,BAF 对 187~467mg/L 浓度的(NH₂)₂CO-N 平均去除率高达 90%,具有很高的去除尿素氮效能和抗尿素氮负荷冲击能力,对 COD 也具有较好的去除效果,但对氨氮和总氮的去除效果不佳,去除率均低于 30%.而 SBR 对浓度在 93~373mg/L 的(NH₂)₂CO-N,能够达到 90%以上的去除率,当进水(NH₂)₂CO-N 浓度在 373~467mg/L 之间波动时,(NH₂)₂CO-N 去除率约为 65%,但(NH₂)₂CO-N 浓度高于 467mg/L 时,会严重抑制细菌活性,导致(NH₂)₂CO-N 去除效果变差,去除率低于 20%.而 USB 反应器适用尿素浓度范围较广,对(NH₂)₂CO-N 的去除率均在 65%以上,最高可达 97%,且对于树脂和发泡剂尿素废水中的甲醛去除效果也较明显.

表 3 尿素废水传统生物处理工艺
Table 3 Traditional biological treatment of urea wastewater

工艺类型	反应器指标			稳定运行条件下进水指标							稳定运行条件下出水指标			参考文献
	反应器规格	填充物 接种污泥	HRT(h)	废水类型	(NH ₂) ₂ CO-N mg/L	NH ₄ ⁺ -N (mg/L)	COD (mg/L)	温度 (℃)	pH 值	其他指标	尿素去除率(%)	COD 去除率(%)	其他指标	
BAF	6.53L	活性炭 活性污泥	0.26	石化厂冷凝液	44~522	0.54	24~85	28~30	7.8~8.5	SS=16.4mg/L	98	>78	NH ₄ ⁺ -N%=20%	[43]
	0.89L	陶粒 回流污泥	2.25	模拟尿素解吸配水	10~200	-	230~817	13~23	8.3~9.1	-	90	>77	TN%=27%	[44]
SBR				尿素冷凝液:	280~373						>95			
	50L	剩余污泥	16	低压锅炉排水=3:1	373~467 >467	-	-	22~30	8.1~9.2	TN=605mg/L	65 <20	-	TN%=18.4%	[45]
	1.76L	剩余污泥	12	化工厂冷凝液	93~373	0.06~1.53	7.9~45.3	23~27	7.2~8.5	-	>90	-	-	[46]
USB	1.5L	厌氧污泥	9.6	模拟脲醛粘合剂生产配水	217	-	-	37	8.2~9.3	甲醛=100mg/L	65~85	-	甲醛<6mg/L	[47]
	高 6m	活性污泥	2~3	化肥厂尿素解吸废水	5600	-	-	25~32	7.5	-	>97	-	-	[48]
	2.18L	活性污泥		模拟配水	435~477	56~96	932~1090	13	-	-	65~70	60~68	SS%=66~76%	[49]
	0.92L	缺氧污泥	43.2	模拟发泡剂生产配水	100~800	-	-	20	7.6~8.7	甲醛=430mg/L	91	-	甲醛%=100%	[50]
	0.1L	厌氧污泥	14.4	模拟脲醛粘合剂生产配水	350	-	2160	37	7~8	甲醛=950mg/L	>95%	90~95	甲醛%=100%	[51]

虽然传统生物脱氮工艺较成熟,脱氮效果较好.但存在工艺流程长,占地多,需外加碳源,能耗大,成

本高等缺点.且目前传统脱氮工艺处理尿素废水均为实验室或中试规模,而对于实际规模的尿素废水

处理还未见报道。

2.2 厌氧氨氧化新型生物脱氮工艺

2.2.1 厌氧氨氧化菌的尿素代谢

厌氧氨氧化是全球氮循环过程中普遍存在的现象,且在脱氮过程中发挥着关键性作用^[52-53]。据报道在海洋生态系统中由厌氧氨氧化导致的氮损失占 50%以

上^[54]。但在缺氧海域中氨氮浓度通常较低,而尿素作为海洋生物的代谢终产物其含量丰富,是海洋生态系统中普遍存在的一种有机氮源,所以在缺乏氨氮的缺氧海域中,尿素是否可以作为替代氮源直接参与厌氧氨氧化菌的代谢过程一直是值得探讨的问题^[55]。

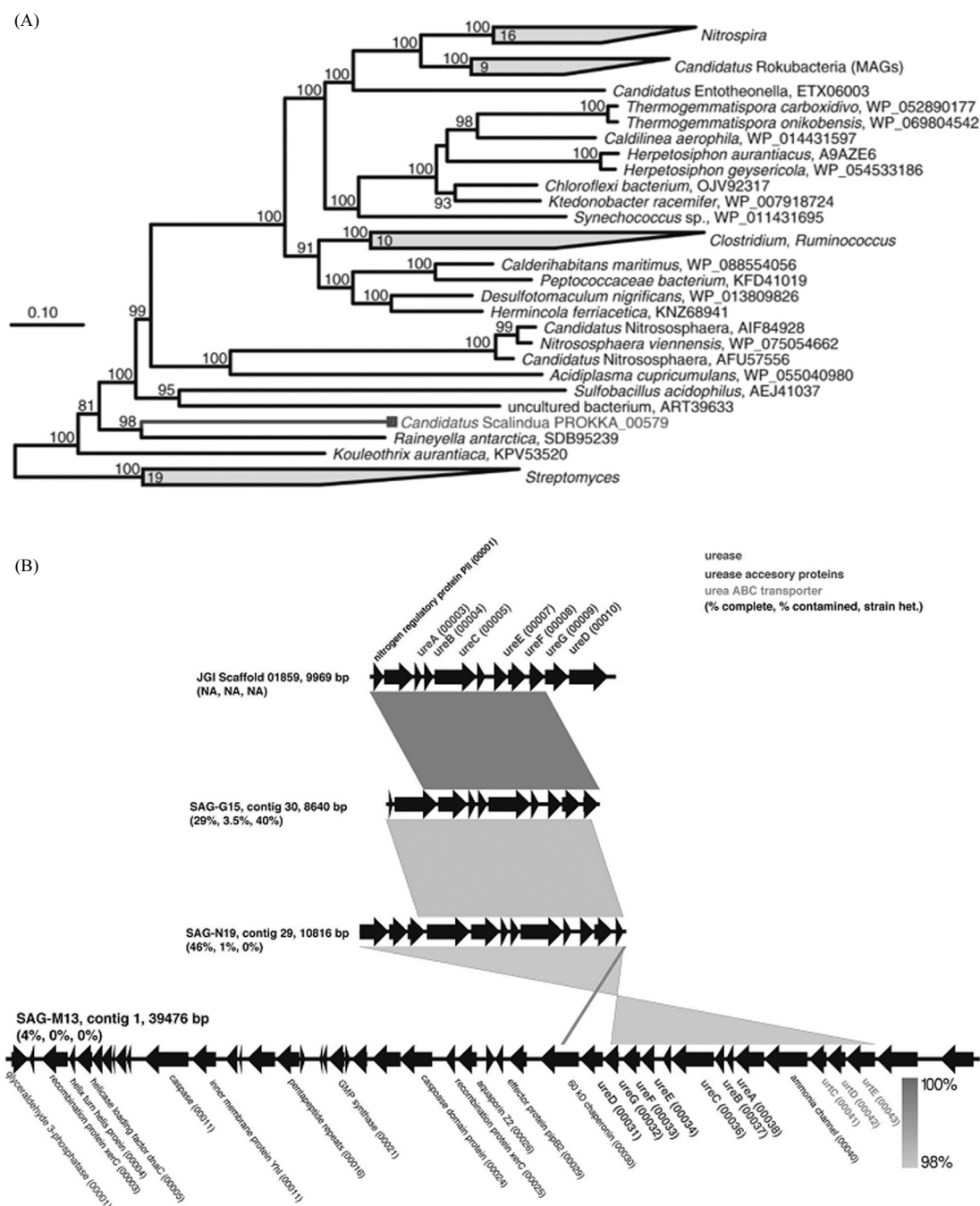


图4 基于 *ureC* 基因构建的系统发育树和单细胞扩增基因组中脲酶的基因点位

Fig.4 Maximum likelihood-based phylogeny of the *ureC* gene encoding the urease alpha subunit and gene order and synteny of putative urease-encoding contigs identified in SAGs

Babbin 等^[56]通过 ^{15}N 稳定性同位素示踪技术标记尿素来培养南太平洋东部热带缺氧海域中的 *Candidatus Scalindua*, 研究结果表明 N_2 来自尿素的转化, 产气速率为 $(2.3 \pm 0.5) \text{ nmol}/(\text{L} \cdot \text{d})$, 但在培养过程中 N_2 并未立刻被监测到, 而是在添加尿素的 1.5d 后才逐渐产生 N_2 . 因此推测 *Candidatus Scalindua* 不能直接水解尿素, 而是依赖其他尿素降解微生物或非生物过程的尿素水解所提供氨氮作为底物进行脱氮. 随后 Widner 等^[57]利用宏基因组测序技术考察了北太平洋东部热带缺氧海域中微生物的氮循环分布, 研究发现该海域中有 20% 的微生物检测出尿素基因(*ureC*), 其中不包括 *Candidatus Scalindua*, 因此推测 *Candidatus Scalindua* 不具有尿素降解能力. 然而, Ganesh 等^[58]通过单细胞基因组与转录组学技术对北太平洋东部热带缺氧海域中的 *Candidatus Scalindua* 进行研究, 图 4A 为 *ureC* 构建的系统发育树. 图 4B 为 *Candidatus Scalindua* 单细胞扩增基因组(M13, N19, G15)中编码脲酶和脲酶转运相关基因(*ureABC* 和 *urtCDE*) 在操纵子中的位置, 且在其转录组中也检测到脲酶和脲酶转运蛋白的表达, 所以推测 *Candidatus Scalindua* 可以直接利用海洋中的尿素作为底物进行厌氧氨氧化过程.

目前, 虽然对 *Candidatus Scalindua* (海洋中特有的厌氧氨氧化菌属) 降解尿素的相关研究进行了报道, 但其具体的工作机制与菌种间互作模式仍未可知^[59-60]. 然而, 对于非海洋类的淡水及污水处理厂中的厌氧氨氧化菌, 其是否具有尿素降解能力的相关研究更是知之甚少. Sliekers 等^[61]利用 SBR 反应器接种 *Candidatus Brocadia* 相对丰度为 80% 污泥, 向该反应器中加入 70mg/L 的 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}-\text{N}$ 和 28mg/L 的 NO_2^--N 验证其降解尿素的可行性. 结果表明, 反应器运行一周, 尿素的浓度始终未发生变化, 所以表明 *Candidatus Brocadia* 不具有尿素水解能力. 为进一步验证厌氧氨氧化菌对尿素的降解能力, Liu 等^[62]采用 Percoll 密度梯度离心方法获得纯度高达 99.6% 的 *Plactomycetes* sp., 向血清瓶中分别加入 100mg/L 的 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}-\text{N}$ 和 NO_2^--N , 结果发现血清瓶中各氮素浓度均未发生明显改变, 这也同样说明厌氧氨氧化菌不能以尿素作为氮源. 截至目前, 对于非海洋类的厌氧氨氧化菌降解尿素的深入机制研究极为有限, 其降解尿素的可行性仍需进一步探索.

2.2.2 厌氧氨氧化工艺处理尿素废水 虽然目前对厌氧氨氧化菌能否降解尿素仍存在较大争议, 但作为一种生物处理技术, 其执行者为厌氧氨氧化菌群, 除了厌氧氨氧化菌外还存在一些与其协同共生的其他细菌, 而这些细菌往往具有尿素降解能力, 使得厌氧氨氧化工艺处理尿素废水成为可能. 此外, 因尿素废水中含有大量的尿素, 在尿素降解菌的作用下可将其水解成氨氮转化为高氨氮废水, 因此采用节能降耗型的厌氧氨氧化工艺更为适合.

Sliekers 等^[61]利用短程硝化—厌氧氨氧化工艺处理尿素, 研究结果表明当仅以尿素作为氮源时, 系统可以将尿素完全转化为 N_2 进行脱氮, 经 2 周驯化后 *Nitrosomonas oligotropha* 和 *Nitrosomonas nitrosa* 的丰度均有大幅度提高并成为反应器中主导的 AOB. 由于这两种 AOB 具有水解尿素的能力, 其可将污水中的尿素水解为氨氮为厌氧氨氧化菌提供底物, 从而完成厌氧氨氧化脱氮过程. 刘思彤^[63]利用无纺布固定床反应器考察了以尿素和亚硝酸盐为底物的厌氧氨氧化反应性能, 研究结果表明, 当进水 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}-\text{N}$ 和 NO_2^--N 浓度为 100mg/L, HRT 为 6h 的条件下, 反应器最高的尿素去除负荷为 0.35g $(\text{NH}_2)_2\text{CO}-\text{N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$. 同时还发现该过程主要由 *Bacillus* sp. LST-1 参与尿素的水解, 为厌氧氨氧化菌提供底物进行协同脱氮.

此外, 有机物的存在对厌氧氨氧化尿素废水处理的影响也有相应的报道. 卢建聪^[64]在考察厌氧氨氧化系统对不同浓度尿素废水处理的研究中发现, 当 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 浓度为 15~30mg/L, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}-\text{N}$ 浓度为 2.3mg/L, COD 为 70mg/L 时, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}-\text{N}$ 与 NO_2^--N 可完全被降解, 但 NH_4^+-N 和 COD 略有剩余. 但当 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}-\text{N}$ 浓度提升至 18.7mg/L 时, 其会造成原始体系中电子供体与受体失衡, 系统脱氮效果变差. 当废水中 COD 含量低于 2mg/L 时, 尿素水解作用会受较严重的阻碍. 李玖龄^[65]利用升流式微氧活性污泥系统研究了不同 C/N 对厌氧氨氧化处理尿素废水过程中的影响. 当体系 NH_4^+-N 和 NO_2^--N 浓度均为 30mg/L 的条件下, 添加 12.6, 25.2, 37.8mg/L 的 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}-\text{N}$, 分别在 13, 13, 27h 后被完全降解, 且体系脱氮仍以厌氧氨氧化为主导. 但由尿素引起的 C/N 比增加, 会严重影响系统的 NH_4^+-N 和 TN 去除效率, 但对 NO_2^--N 的去除并无

显著影响.这说明高浓度的尿素会抑制厌氧氨氧化活性,但对反硝化活性几乎没有影响.

由此可见,以厌氧氨氧化主导的尿素废水处理体系,因脱氮过程中完全自养无需额外碳源,所以与传统尿素处理工艺相比更加经济有效,但其未来的应用与发展仍需要不断的研究与探索.

3 结论及展望

3.1 结论

尿素废水来源广,水质波动大,对自然环境有较大的危害.在生物法处理尿素废水的研究中,如何利用尿素水解产生的氨氮进行后续的高效脱氮成为实际工程应用中的主要挑战.与常规污水处理系统相比厌氧氨氧化工艺作为一种高效低耗的工艺,若能在尿素废水处理中得到广泛应用将会大有可为.

3.2 展望

3.2.1 目前针对尿素废水的生物处理仍停留在实验室研究阶段,基于传统生物脱氮工艺的成熟性并依托现有技术经验,可尝试开展尿素废水处理的中试乃至实际规模的研究,以逐步实现尿素废水生物处理的规模化应用.

3.2.2 目前虽然有少数报道称海洋类厌氧氨氧化菌存在尿素降解基因,但对于非海洋类厌氧氨氧化菌的相关研究还未有报道,且大部分学者认为其不具有降解尿素的能力.因此,尿素是否可作为厌氧氨氧化菌的直接氮源参与其生理代谢,至今还存在较大争议,该问题值得进一步的深入研究与探讨.

3.2.3 厌氧氨氧化作为新型的生物脱氮工艺,其在处理尿素废水中的研究还需要继续深入,应对该系统中菌群降解尿素的可行性进行研究,确定其降解尿素的关键功能微生物,探讨尿素代谢途径与具体化学反应计量学方程,建立厌氧氨氧化工艺降解尿素的理论模型,为厌氧氨氧化工艺处理尿素废水的实际工程应用提供理论基础和技术支持.

参考文献:

[1] Cozzi S, Mistaro A, Sparnocchia S, et al. Anthropogenic loads and biogeochemical role of urea in the Gulf of Trieste [J]. *Science of The Total Environment*, 2014,493:271-281.

[2] Jh Meessen H P. Urea. In: *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim [M]. Weinheim: Wiley-VCH, 2010.

[3] Koebel M, Elsener M, Kleemann M. Urea-SCR: a promising technique to reduce NO_x emissions from automotive diesel engines [J]. *Catalysis Today*, 2000,59(3/4):335-345.

[4] 薛明.含尿素和氨的化工废水处理技术探讨 [J]. *化工管理*, 2017,(18):182.

Xue M. Discussion on treatment Technology of Chemical Wastewater containing Urea and ammonia [J]. *Chemical Enterprise Management*, 2017,(18):182.

[5] 李飘.ADC工业污水资源回收及处理技术研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨工程大学, 2018.

Li P. Research on Recovery and Treatment Technology of ADC Industrial Sewage Resources [D]. Harbin: Harbin Engineering University, 2018.

[6] 李明华,刘昭斌,李永效.利用深度水解技术处理强素工艺冷凝液 [J]. *氮肥技术*, 2006,(6):27-30.

Li M H, Liu Z B, Li Y X. Treatment of urea process condensate by deep hydrolysis technology [J]. *Nitrogenous Fertilizer Technology*, 2006,(6):27-30.

[7] Rahimpour M R, Azarpour A. Simulation of a urea thermal hydrolysis reactor [J]. *Chemical Engineering Communications*, 2005,192(1-3): 155-167.

[8] Boggs B, King R, Botte G. Urea electrolysis: direct hydrogen production from urine [J]. *Chemical Communications*, 2009,32:4859-4861.

[9] Singla J, Sangal V K, Verma A. Evaluation and optimization of the process parameters for the photo-electrochemical treatment of urea using mixed metal oxide anodes [J]. *Process Safety and Environmental Protection*, 2019,130:197-208.

[10] Shen S, Li M, Li B, et al. Catalytic hydrolysis of urea from wastewater using different aluminas by a fixed bed reactor [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2014,21:12563-12568.

[11] Xue C, Wilson L D. Kinetic study on urea uptake with chitosan based sorbent materials [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016,135:180-186.

[12] Liu J, Chen X, Shao Z, et al. Preparation and Characterization of Chitosan/Cu(II) Affinity Membrane for Urea Adsorption [J]. *Journal of Applied Polymer*, 2003,90(4):1108-1112.

[13] 刘长荣,张凤丽,李志勇.固定化海洋脲酶制备及其在尿素废水处理中的应用 [J]. *生物技术通报*, 2019,35(9):75-82.

Liu C R, Zhang F L, Li Z Y. Immobilization of Marine Urease and Its Utilization in the Treatment of Urea Wastewater [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019,35(9):75-82.

[14] Daneshfar A, Matsuura T, Emadzadeh D, et al. Urease-carrying electrospun polyacrylonitrile mat for urea hydrolysis [J]. *Reactive and Functional Polymers*, 2015,87:37-45.

[15] 王辉.吹脱-生化组合工艺处理尿素废水的技术研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2006.

Wang H. Research on treatment of urea wastewater via combined process of air stripping and biotechnology technology [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2006.

[16] Matijašević L, Dejanović I, Lisac H. Treatment of wastewater generated by urea production [J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2010,54(3):149-154.

[17] Krajewska B. Ureases I. Functional, catalytic and kinetic properties: A

- review [J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2009, 59(1-3):9-21.
- [18] Sumner J B. The isolation and crystallization of the enzyme urease. Preliminary paper [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1926,69(2): 435-441.
- [19] Dixon N E, Gazzola T C, Blakeley R L, et al. Letter: Jack bean urease (EC 3.5.1.5). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel? [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1975,97(14):4131-4133.
- [20] Follmer C, Barcellos G B, Zingali R B, et al. Canatoxin, a toxic protein from jack beans (*Canavalia ensiformis*), is a variant form of urease (EC 3.5.1.5): biological effects of urease independent of its ureolytic activity [J]. *Biochemical Journal*, 2001,360:217-224.
- [21] Kappaun K, Piovesan A R, Carlini C R, et al. Ureases: Historical aspects, catalytic, and non-catalytic properties - A review [J]. *Journal of Advanced Research*, 2018,13:3-17.
- [22] Jabri E, Carr M, Hausinger R, et al. The crystal structure of urease from *Klebsiella aerogenes* [J]. *Science*, 1995,268:998-1004.
- [23] Schäfer U, Kaltwasser H. Urease from *Staphylococcus saprophyticus*: purification, characterization and comparison to *Staphylococcus xylosus* urease [J]. *Archives of microbiology*, 1994,161:393-399.
- [24] L M, F M, S. C. Urease [G]. The Royal Chemical Society, 2017: 60-97.
- [25] Schoep T D, Fulurija A, Good F, et al. Surface Properties of *Helicobacter pylori* Urease Complex Are Essential for Persistence [J]. *PLoS One*, 2010,5(11):e15042.
- [26] Mobley H L, Island M D, Hausinger R P. Molecular biology of microbial ureases. [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1995,59(3):451-480.
- [27] Jones B, Mobley H. *Proteus mirabilis* urease: nucleotide sequence determination and comparison with jack bean urease.[J]. *Journal of bacteriology*, 1989,171(12):6414-6422.
- [28] Iwona K, Paulina Z, Marek K, et al. Bacterial Urease and its Role in Long-Lasting Human Diseases [J]. *Current Protein and Peptide Science*, 2012,13:789-806.
- [29] Benini S, Kosikowska P, Cianci M, et al. The crystal structure of *Sporosarcina pasteurii* urease in a complex with citrate provides new hints for inhibitor design [J]. *Journal of biological Inorganic chemistry*, 2013,18(3):391-399.
- [30] Krajewska B. A combined temperature-pH study of urease kinetics. Assigning pKa values to ionizable groups of the active site involved in the catalytic reaction [J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2016,124:70-76.
- [31] Maroney M, Ciurli S. Nonredox nickel enzymes [J]. *Chemical reviews*, 2014,114(8):4206-4228.
- [32] Benini S, Rypniewski W R, Wilson K S, et al. A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: why urea hydrolysis costs two nickels [J]. *Structure*, 1999,7(2):205-16.
- [33] Karplus P A, Pearson M A, Hausinger R P. 70years of crystalline urease: what have we learned? [J]. *Accounts of Chemical Research*, 1997,30(8):330-337.
- [34] Estiu G, Merz K M. Competitive hydrolytic and elimination mechanisms in the urease catalyzed decomposition of urea [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2007,111(34):10263-10274.
- [35] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018,16(5):263-276.
- [36] Burton S A Q, Prosser J I. Autotrophic Ammonia Oxidation at Low pH through Urea Hydrolysis [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001,67(7):2952-2957.
- [37] Koch H, Lückner S, Albertsen M, et al. Expanded metabolic versatility of ubiquitous nitrite-oxidizing bacteria from the genus *Nitrospira* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences - PNAS*, 2015,112(36):11371-11376.
- [38] Hallam S J, Mincer T J, Schleper C, et al. Pathways of Carbon Assimilation and Ammonia Oxidation Suggested by Environmental Genomic Analyses of Marine Crenarchaeota [J]. *PLoS Biology*, 2006, 4(4):520-536.
- [39] Qin W, Amin S A, Martens-Habben W, et al. Marine ammonia-oxidizing archaeal isolates display obligate mixotrophy and wide ecotypic variation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014,111(34):12504-12509.
- [40] Koops H, Pommerening-Roser A. Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001,37:1-9.
- [41] Alonso-Saez L, Waller A S, Mende D R, et al. Role for urea in nitrification by polar marine Archaea [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012,109(44):17989-17994.
- [42] Rittstieg K, Robra K H, Somitsch W. Aerobic treatment of a concentrated urea wastewater with simultaneous stripping of ammonia [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001,56(5/6):820-825.
- [43] 闫立龙,张 颖,李伟光,等. BACF 处理高浓度尿素废水的效能研究 [J]. *中国给水排水*, 2010,26(9):108-111.
- Yan L L, Zhang Y, Li W G, et al. Treatment Efficiency of High-concentration Urea Wastewater by BACF [J]. *China Water & Wastewater*, 2010,26(9):108-111.
- [44] 张东伟.曝气生物滤池(BAF)处理尿素解吸废水的试验研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2006.
- Zhang D W. Study on biological aerated filter (BAF) used for urea containing wastewater treatment [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2006.
- [45] 付文博.SBR 工艺处理高浓度尿素废水的试验研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2007.
- Fu W B. Experimental Research on High Concentration Urea Wastewater Treatment by SBR [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2007.
- [46] 闫立龙,张 颖,任 源. SBR 工艺处理高浓度尿素废水影响因素研究 [J]. *工业水处理*, 2009,29(3):25-28.
- Yan L L, Zhang Y, Ren Y. Influential factors of SBR process on the treatment of highly concentrated urea wastewater [J]. *Industrial Water Treatment*, 2009,29(3):25-28.
- [47] Garrido J M, Méndez R, Lema J M. Simultaneous urea hydrolysis, formaldehyde removal and denitrification in a multified upflow filter under anoxic and anaerobic conditions [J]. 2001,35(3):691-698.
- [48] 崔连起,莫光成,李雅琦,等.生物水解法处理尿素废水 [J]. *化工环保*, 1992,(6):325-329.

- Cui L Q, Mo G C, Li Y Q, et al. Treatment of Urea Wastewater by Biological Hydrolysis [J]. Environmental Protection of Chemical Industry, 1992,(6):325-329.
- [49] Pathe P P, K S A P. Urea Hydrolysis by Upflow Anaerobic Filter [J]. Journal of Environmental Health, 1987,29(2):128-138.
- [50] Eiroa M, Kennes C, Veiga M C. Formaldehyde and urea removal in a denitrifying granular sludge blanket reactor [J]. Water Research, 2004, 38(16):3495-3502.
- [51] Vidal G, Jiang Z P, Omil F, et al. Continuous anaerobic treatment of wastewaters containing formaldehyde and urea [J]. Bioresource Technology, 1999,70(3):283-291.
- [52] 贾方旭,彭永臻,王衫允,等.厌氧氨氧化菌细胞的超微结构及功能 [J]. 应用与环境生物学报, 2014,20(5):944-954.
- Jia F X, Peng Y Z, Wang S Y, et al. Ultrastructure and function of anaerobic ammonium oxidation bacteria cells [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2014,20(5):944-954.
- [53] 贾方旭,彭永臻,杨 庆.厌氧氨氧化菌与其他细菌之间的协同竞争关系 [J]. 环境科学学报, 2014,34(6):1351-1361.
- Jia F X, Peng Y Z, Yang Q. Competition and synergism between anammox bacteria and other bacteria [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014,34(6):1351-1361.
- [54] Kuenen J G. Anammox bacteria: from discovery to application [J]. Nat Rev Microbiol, 2008,6(4):320-326.
- [55] Kalvelage T, Lavik G, Lam P, et al. Nitrogen cycling driven by organic matter export in the South Pacific oxygen minimum zone [J]. Nature Geoscience, 2013,6:228-234.
- [56] Babbin A R, Peters B D, Mordy C W, et al. Multiple metabolisms constrain the anaerobic nitrite budget in the Eastern Tropical South Pacific [J]. Global Biogeochemical Cycles, 2017.
- [57] Widner B, Fuchsman C A, Chang B X, et al. Utilization of urea and cyanate in waters overlying and within the eastern tropical north Pacific oxygen deficient zone [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2018, 94(10).
- [58] Ganesh S, Bertagnolli A D, Bristow L A, et al. Single cell genomic and transcriptomic evidence for the use of alternative nitrogen substrates by anammox bacteria [J]. The ISME Journal, 2018,12(11):2706-2722.
- [59] van de Vossenberg, Woebken D, Maalcke W J, et al. The metagenome of the marine anammox bacterium 'Candidatus Scalindua profunda' illustrates the versatility of this globally important nitrogen cycle bacterium [J]. Environmental Microbiology, 2012,15(5):1275-1289.
- [60] Ganesh S, Bristow L A, Larsen M, et al. Size-fraction partitioning of community gene transcription and nitrogen metabolism in a marine oxygen minimum zone [J]. ISME Journal, 2015,9:2682-2696.
- [61] Sliekers A O, Haaijer S, Schmid M, et al. Nitrification and Anammox with Urea as the Energy Source [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2004,27(3):271-278.
- [62] Liu S, Gong Z, Yang F, et al. Combined process of urea nitrogen removal in anaerobic Anammox co-culture reactor [J]. Bioresource Technology, 2008,99(6):1722-1728.
- [63] 刘思彤.电/磁场强化厌氧氨氧化及多菌群协同自养生物脱氮 [D]. 大连:大连理工大学, 2009.
- Liu S T. The enhancement by electrical/magnetic field and Multi-species coupling of Anammox technology for autotrophic nitrogen removal [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2009.
- [64] 卢健聪.基于能源回收的中低温城市污水厌氧氨氧化生物脱氮新工艺 [D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2013.
- Lu J C. A novel municipal wastewater treating process base on Anammox for energy production and autotrophic nitrogen [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2013.
- [65] 李玖龄.基于信号分子 AHLs 检测的微氧废水处理系统脱氮机制研究 [D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2016.
- Li J L. The mechanism of nitrogen removal in a microaerobic wastewater treatment system based on the detection of signal molecule AHLs [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2016.

作者简介: 贾方旭(1988-),男,黑龙江哈尔滨人,讲师,博士,主要从事厌氧氨氧化污水脱氮处理.发表论文 10 余篇。