

螯台球菌 TAD1 在高温曝气生物滤池中的 异养硝化-反硝化性能*

杨云龙¹ 黄少斌^{1,2**} 许辅乾^{1,3} 黄慧星¹ 张永清¹

(1. 华南理工大学环境科学与工程学院, 广州, 510006; 2. 污染控制与生态修复广东省普通高等学校重点实验室, 广州, 510006;
3. 工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室, 广州, 510006)

摘要 初步实验证实螯台球菌(*Chelatococcus daeguensis*) TAD1 在高温下具有异养硝化-反硝化的能力, 为验证其可应用性, 采用曝气生物滤池工艺, 研究了 TAD1 在温度为 50 °C 的异养硝化-反硝化性能. 结果表明, TAD1 在曝气生物滤池中可同时进行好氧反硝化和异养硝化. 当分别以硝氮、氨氮及硝氮和氨氮为氮源时, 12 h 的氮去除率均达到 100%, 氮的去除能力分别为 12.67 mg·L⁻¹·h⁻¹、3.62 mg·L⁻¹·h⁻¹ 及 16.53 mg·L⁻¹·h⁻¹. 虽然在脱氮过程中, 亚硝酸盐在 6 h 迅速积累到 76 mg·L⁻¹ (硝氮为氮源) 和 52.6 mg·L⁻¹ (硝氮和氨氮为氮源), 但在随后的几个小时内又快速降低至 0 (检测限之外). 因而, TAD1 具有应用于高温生物脱氮工艺的能力和优势.

关键词 螯台球菌 TAD1, 高温, 生物滤池, 好氧脱氮.

经济的快速发展导致工业废水大量排放, 发展低廉高效的废水处理技术已是迫在眉睫, 其中脱氮就是处理废水的重要课题之一, 而生物脱氮由于其经济有效成为众多学者的研究热点. 近年来人们在研究生物转盘^[1]、曝气生物滤池^[2]、生物膜^[3]等工艺时都不同程度地发现在好氧条件下有总氮的损失现象, 这些充分证实了好氧反硝化的存在. 由于好氧反硝化具有其特殊优势, 使好氧脱氮技术受到极大关注. (1) 好氧反硝化可以使硝化/反硝化即同时硝化反硝化在一个反应器内进行, 从而大大减少占地面积和建设资金; (2) 好氧反硝化与传统的反硝化不同, 不需要严格的厌氧环境, 因而在整个脱氮过程中更容易控制. 然而, 目前许多工业废水的温度都超过了 45 °C, 传统的生化处理所使用的常温菌已不能适用于高温废水的处理, 同时由于冷却水的使用及冷却装置腐蚀等原因, 常规的生物处理困难大大增加. 而高温菌可以直接处理高温废水, 从而节省设备及运行费用. 更为重要的是, 高温菌的代谢速度快, 大约是常温过程的 3—10 倍^[4], 因而能够缩短废水处理时间, 提高废水处理效率.

温度是影响硝化反硝化的重要因子之一, 一般认为, 硝化的最适温度为 30 °C, 超过 38 °C 硝化作用将完全停止^[5]. 对于好氧反硝化而言, 通常认为其发生的最佳温度在 20 °C—40 °C 之间^[6-7], 高温下的好氧反硝化研究并不多见.

本文对螯台球菌(*Chelatococcus daeguensis*) TAD1 在高温曝气生物滤池中的异养硝化-反硝化性能的研究结果, 对高温生物脱氮工艺具有一定的指导意义.

1 材料与方 法

1.1 菌种

螯台球菌(*Chelatococcus daeguensis*) TAD1 分离于广州瑞明电厂生物滴滤塔内, 初步实验证明在高温下具有很好的好氧反硝化能力, -20 °C 保存于 40% 甘油中.

1.2 培养基

种子培养基(g·L⁻¹): 丁二酸钠 1.5, KNO₃ 1.5, 蛋白胨 8.6, NaCl 6.4, pH 7.5. 使用前于 115 °C 高

2011 年 9 月 21 日收稿.

* 广东省教育部产学研结合项目(2011B090400284)专项资金资助; 广州市番禺区科技和信息化局项目(2011-专 02-4-23); 广东省科技厅项目(2011B010100029); 广东省经济和信息化委员会-粤港关键领域重点突破招标项目(20100106-3)资助.

** 通讯联系人, TEL:020-39380587; E-mail: chshuang@scut.edu.cn

压灭菌 20 min. 培养条件为 150 mL 三角瓶装有 50 mL 的培养基于 50 ℃、200 r·min⁻¹ 培养 12 h.

好氧反硝化培养基 (Medium for aerobic denitrification, MAD) ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): KNO_3 1, 乙酸钠 2, MgSO_4 0.05, KH_2PO_4 0.5, Na_2HPO_4 0.5, $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03, EDTA 0.03.

异养硝化培养基 (Medium for heterotrophic nitrification, MHN) ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): NH_4Cl 0.15, 乙酸钠 2, MgSO_4 0.05, KH_2PO_4 0.5, Na_2HPO_4 0.5, $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03, EDTA 0.03.

异养硝化反硝化培养基 (Medium for heterotrophic nitrification-denitrification, MHND) ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): KNO_3 1, NH_4Cl 0.15, 乙酸钠 2, MgSO_4 0.05, KH_2PO_4 0.5, Na_2HPO_4 0.5, $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03, EDTA 0.03.

1.3 实验装置

实验装置如图 1 所示. 由有效容积为 1.5 L 的有机玻璃容器和温度控制装置组成, 容器内放有微生物的附着载体——聚丙烯多面空心球, 容器底部设有曝气头.

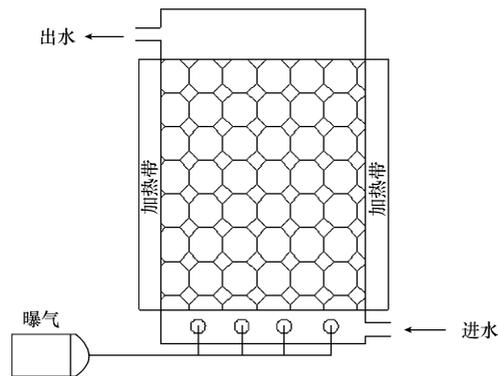


图 1 高温曝气生物滤池示意图

Fig.1 Schematic of the high temperature aerating biofilter

1.4 分析方法

氨氮测定采用纳氏试剂分光光度法, 亚硝酸盐氮采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法, 硝酸盐氮采用紫外分光光度法, pH 测定采用 pH 计.

2 结果与讨论

2.1 挂膜与启动

反应器加入配好的营养液, 培养好的种子液以 10% 的接种量接入反应器内, 在 50 ℃ 条件下曝气、挂膜. 为使 TAD1 始终成为优势菌种, 每 2 d 更换一次新鲜的营养液, 同时接入 10% 的种子液. 在挂膜前期, 可能由于 TAD1 占有绝对优势, 直至 14 d 才在填料上出现一层肉眼可见的黄色薄膜.

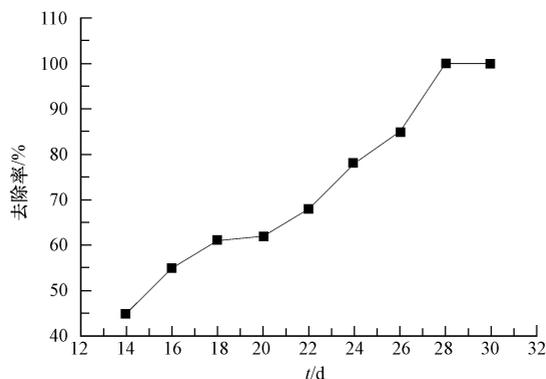


图 2 挂膜期间的硝酸盐去除率

Fig.2 Temporal variation of nitrate removal rate during the start-up period

图2显示了从14 d开始直到膜成熟的硝态氮去除率的变化.可以看出,随着挂膜时间的延长,硝酸盐去除率从最初的45%逐渐上升至28 d的100%,此后两天去除率均达到100%,说明挂膜完成.

2.2 好氧反硝化性能

TAD1在曝气生物滤池中的反硝化性能见图3.由图3可以看出,TAD1具有快速的好氧反硝化能力,尤其是在前几小时内,硝氮从初始的 $152 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降到6 h的 $55.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,12 h降至0(检测限之外),即前6 h的反硝化能力明显高于后6 h,这可能由于随着反硝化的进行,各种细胞代谢产物逐渐积累,其中的某些物质部分抑制了硝酸还原酶的活性,从而导致反硝化能力降低.而就亚硝氮而言,可以看到一个“类三角趋势”,尽管硝氮在快速还原的同时,亚硝氮在6 h迅速积累到 $76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,但在接下来的几个小时又快速减少至0(检测限之外).此外,在整个反硝化过程中,没有调控pH,因而pH值从最初的7.0逐渐升高至12 h的9.2.

2.3 异养硝化性能

传统的生物脱氮理论认为,硝化和反硝化是两个独立的阶段,分别由硝化菌和反硝化菌完成.然而,随着近来越来越多的好氧反硝化菌被发现,大量的研究表明^[8,9],大部分好氧反硝化菌同时也是硝化菌,但主要集中在常温下,而高温下的异养硝化研究报道相对较少.占国强等^[10]研究发现,利用筛选的耐高温亚硝化单胞菌结合适量的市政污水厂活性污泥,通过逐步提高温度进行曝气、驯化、挂膜,获得能够在 $38 \text{ }^{\circ}\text{C}$ — $47 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件具有高氨氧化活性的硝化生物膜,在进水氨浓度 120 — $180 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,氨氧化率达到 90% — 99.9% ,结合大量的 NH_4^+ -N被氧化且氨氧化产物中又只有少量的 NO_2^- -N和 NO_3^- -N,以及碱度消耗明显下降的特征,推测在高温条件下发生了自养硝化反硝化脱氮现象.

图4显示了异养硝化过程中的氮浓度变化趋势.虽然在整个过程中,没有检测到硝酸盐和亚硝酸盐的积累,但pH值从最初的7.0上升至12 h的8.1.考虑到硝化是一个产酸过程,因此推测TAD1在高温曝气生物滤池中具有异养硝化的能力,先把铵根氧化成亚硝酸根,接着发生好氧反硝化产碱来弥补硝化产酸,进而总体可能表现为pH的上升.

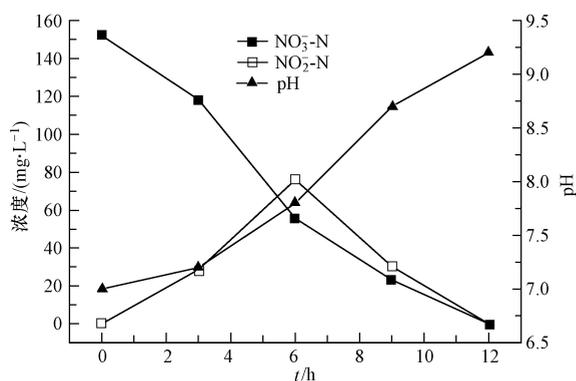


图3 MAD中的氮去除变化过程

Fig. 3 Time course of nitrogen removal in MAD

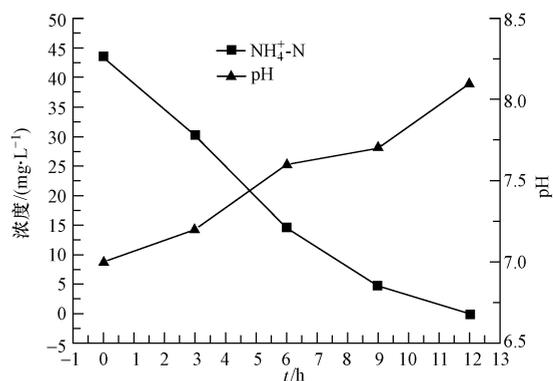


图4 MHN中的氮去除变化过程

Fig. 4 Time course of nitrogen removal in MHN

2.4 异养硝化反硝化性能

前述实验结果初步证实TAD1在曝气生物滤池中可以同时硝化反硝化,在下面实验中考察了 NH_4^+ -N和 NO_3^- -N同时存在对TAD1异养硝化反硝化性能的影响.从图5可以明显地看出,尽管 NH_4^+ -N的变化趋势与图4相似,但TAD1的确发生了异养硝化反硝化,因为pH值由开始的7.0上升至结束时的9.5,其产碱度高于图3(不含 NH_4^+ -N)中的产碱度,说明 NH_4^+ -N首先被氧化成 NO_2^- -N,表现为总 NO_2^- -N增加,从而产生了更多的碱度.

图5也显示出,MHND的总体脱氮性能优于MAD和MHD:(1) NO_3^- -N由初始的 $158.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降至9 h的 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; (2)虽然同样出现了“类三角趋势”,但MHND中积累的最高 NO_2^- -N浓度为 $52.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,与MAD相比显著降低.关于此现象的原因,将在2.5中详细讨论.

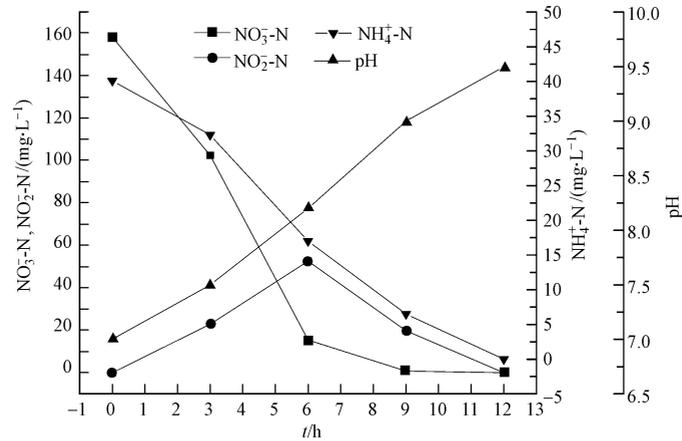


图5 MHND 中的氮去除变化过程

Fig. 5 Time course of nitrogen removal in MHND

2.5 不同培养基中总脱氮性能的比较

TAD1 在 MAD、MHD 和 MHND 中的异养硝化-反硝化性能如图 6 所示. 3 种情况下的氮去除率均达到了 100%, 而 MAD、MHD 和 MHND 的氮去除能力分别为 $12.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、 $3.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 $16.53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, MHND 的氮去除能力提高可能是由于 (1) NH_4^+ -N 的加入使系统中的总氮负荷增加, 同时, NH_4^+ -N 更容易被细胞利用, 因而刺激了细胞的生长, 导致生物膜中的活性生物物质增多, 表现为总脱氮能力上升; (2) NH_4^+ -N 被氧化成 NO_2^- -N 使得系统中总 NO_3^- -N 有所提高, 从而进一步诱导了硝酸还原酶、亚硝酸还原酶等脱氮基因的表达^[11].

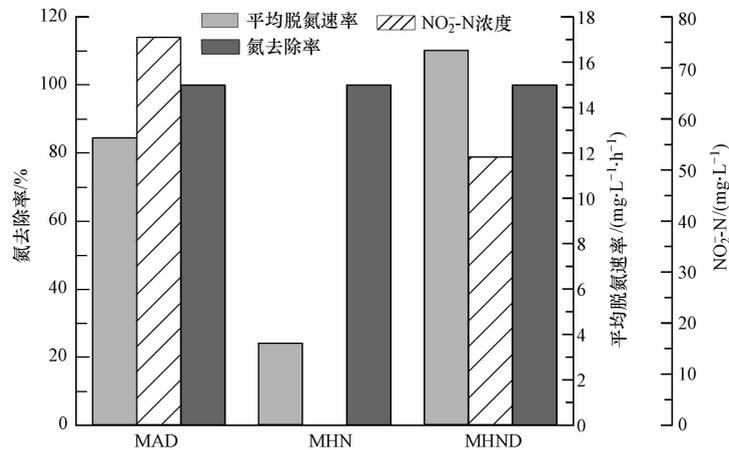


图6 不同培养基中的氮去除性能

Fig. 6 Performance of nitrogen removal in different culture media

如前所述,亚硝酸盐在 MAD 和 MHDN 中均出了“类三角趋势”,在两者中的最高积累浓度分别为 $76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $52.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,表明硝酸盐在快速还原的同时,亚硝酸盐也快速积累,这主要是因为:一方面, TAD1 中的硝酸还原酶活性远高于亚硝酸还原酶的活性;另一方面,亚硝酸需要积累到一定浓度才能诱导 TAD1 亚硝酸还原酶基因的表达. 这与前期实验结果基本一致,即在硝酸盐和亚硝酸盐同时存在时, TAD1 会优先利用硝酸盐^[12].

3 结论

(1) TAD1 在高温曝气生物滤池中有明显的异养硝化-反硝化性能, 12 h 后在 MAD、MHD 和 MHND 培养基中的氮去除率均达到 100%, 氮去除能力分别为 $12.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、 $3.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

及 $16.53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

(2) 虽然在 MAD 和 MHND 培养基中亚硝氮快速积累到 $76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $52.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 但在随后的几小时内又快速降到 0 (检测限之外).

(3) 据实验结果可以推测氨氮的转化途径为: $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$, 但其内在的异养硝化-好氧反硝化途径还需进一步研究.

参 考 文 献

- [1] Watanabe Y, Masuda S, Ishiguro M. Simultaneous nitrification and denitrification in micro-aerobic biofilms[J]. Water Sci Technol, 1992, 26(3/4): 511-522
- [2] Chui P, Terashima Y, Tay J, et al. Nitrogen removal in a submerged filter with no effluent recirculation[J]. Water Science and Technology, 2000, 42(3/4): 51-57
- [3] Helmer C, Kunst S. Simultaneous nitrification/denitrification in an aerobic biofilm system[J]. Water Science and Technology, 1998, 37(4/5): 183-187
- [4] LaPara T, Konopka A, Nakatsu C, et al. Thermophilic aerobic treatment of a synthetic wastewater in a membrane-coupled bioreactor[J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 2001, 26(4): 203-209
- [5] 金志刚, 屈计宁. 硝化细菌富集技术分析及其方法研究[J]. 上海环境科学, 1998, 17(8): 16-19
- [6] Lukow T, Diekmann H. Aerobic denitrification by a newly isolated heterotrophic bacterium strain TL1[J]. Biotechnol Lett, 1997, 19(11): 1157-1159
- [7] Kim J, Park K, Cho K, et al. Aerobic nitrification-denitrification by heterotrophic *Bacillus* strains[J]. Bioresour Technol, 2005, 96(17): 1897-1906
- [8] Robertson L A, VAN Niel E W J, Torremans R A M, et al. Simultaneous nitrification and denitrification in aerobic chemostat cultures of *Thiosphaera pantotropha*[J]. Appl Environ Microbiol, 1988, 54(11): 2812-2818
- [9] Robertson L A, Dalsgaard T, Revsbech N P, et al. Confirmation of aerobic denitrification in batch cultures using gas chromatography and ^{15}N mass spectrometry[J]. FEMS Microbiol Ecol, 1995, 18(2): 113-120
- [10] 占国强, 王晓梅, 何晓红, 等. 高温自养硝化反硝化工艺研究[J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(1): 122-125
- [11] Saleh-Lakha S, Shannon K, Henderson S, et al. Effect of nitrate and acetylene on *nirS*, *cnorB*, and *nosZ* expression and denitrification activity in *pseudomonas mandelii*[J]. Appl Environ Microbiol, 2009, 75(15): 5082-5087
- [12] 张苗, 黄少斌. 高温好氧反硝化菌的分离鉴定及其反硝化性能研究[J]. 环境科学, 2011, 32(1): 259-265

Heterotrophic nitrification-denitrification of *Chelatococcus daeguensis* TAD1 in an aerating biofilter at high temperature

YANG Yunlong¹ HUANG Shaobin^{1,2*} XU Fuqian^{1,3} HUANG Huixing¹ ZHANG Yongqing¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, 510006, China;

2. The Key Laboratory of Environmental Protection and Eco-Remediation of Guangdong Regular Higher Education Institutions, Guangzhou, 510006, China; 3 The Key Lab of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters,

Ministry of Education, Guangzhou, 510006, China)

ABSTRACT

Previous studies demonstrated that *Chelatococcus daeguensis* TAD1 exhibited an ability of heterotrophic nitrification-denitrification at high temperature. To verify its applicability, the performance for heterotrophic nitrification-denitrification at $50 \text{ }^\circ\text{C}$ was studied using an aerating biofilter process. Results showed that TAD1 simultaneously aerobically denitrified and heterotrophically nitrified in the biofilter. When using NO_3^- -N, NH_4^+ -N and NO_3^- -N plus NH_4^+ -N respectively as nitrogen source, the corresponding nitrogen removal capacity was $12.67 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, $3.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and $16.53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, and all the nitrogen removal rates reached 100% after 12 h. Although NO_2^- -N accumulated quickly to $76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (NO_3^- -N as nitrogen source) and $52.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (NO_3^- -N plus NH_4^+ -N as nitrogen source) during the denitrification, both of them decreased to zero (not detected) in the following hours. Thus, TAD1 possesses ability and advantage in its application to the biological denitrification process at high temperature.

Keywords: *Chelatococcus daeguensis* TAD1, high temperature, biofilter, aerobic denitrification.