

单级生物脱氮的特性研究*

曹国民, 赵庆祥, 龚剑丽, 张彤(华东理工大学环境工程系, 上海 200237, E-mail: qxzhao@ecust.edu.cn)

摘要: 以 PVA 为载体, 采用冷冻法混合固定硝化菌和反硝化菌, 研究硝化菌与反硝化菌的比例、有机碳源、pH 值、碱度、温度和 DO 等因素对单级脱氮过程的影响。试验结果表明: 当硝化菌/反硝化菌 = 1.5: 1~3.6: 1(W: W) 时, 脱氮速率最快。在甲醇、乙醇、醋酸和葡萄糖 4 种有机碳源中, 以乙醇为碳源时脱氮速率最快。最适的温度、pH 值和 DO 分别是 30℃、8.2 和 2mg/L~6mg/L。碱度与氨氮的比例越高, 脱氮速率越快, 但当碱度/氨氮 > 9.0 时, 脱氮速率趋于稳定。

关键词: 生物脱氮, 硝化细菌, 反硝化细菌, 固定化。

中图分类号: X172, X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)03-0040-04

Characterization of Single-Stage Bionitrification*

Guomin Cao, Qingxiang Zhao, Jianli Gong, Tong Zhang (Department of Environmental Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China E-mail: qxzhao@ecust.edu.cn)

Abstract The effects of the ratio of nitrifying bacteria/denitrifying bacteria, organic carbon source, pH, alkalinity, temperature and DO on single-stage bionitrification process by coimmobilized nitrifying bacteria and denitrifying bacteria were studied in this paper. The results showed that the total inorganic nitrogen (TIN) removal rate was the quickest while the ratio of nitrifying bacteria/denitrifying bacteria was between 1.5/1 and 3.6/1 (W/W) and organic carbon source was ethanol out of methanol, acetic acid and glucose. The optimal pH, DO, and temperature was about 8.2, 2mg/L~6mg/L and 30℃ respectively. The activation energy of the single-stage bionitrification process was calculated as 28.6 kJ/mol. The TIN removal rate increased as the ratio of alkalinity/ammonia nitrogen increased, but when the ratio of alkalinity/ammonia nitrogen was over 9.0, the TIN removal rate tended to be stable.

Keywords: bionitrification, nitrifying bacteria, denitrifying bacteria, immobilization.

利用固定化微生物技术强化生物脱氮过程是近 10 多年来生物脱氮领域研究的热点之一。国内外学者对硝化菌和反硝化菌单独固定及其脱氮特性作了详细研究^[1~6], 在日本已有将固定化硝化菌用于处理能力为 11300m³/d 的工业装置^[7]。但对于将硝化菌和反硝化菌混合固定, 利用传质阻力产生的氧浓度梯度, 在好氧条件下同时实现硝化和反硝化的单级脱氮方法研究则很少^[8], 目前尚未见到研究硝化菌和反硝化菌混合固定后脱氮特性的报道。

本研究以 PVA 为载体, 采用循环冷冻法^[9]将硝化菌和反硝化菌混合固定, 研究硝化菌和反硝化菌菌体比例、有机碳源、pH、碱度、温度和溶解氧等因素对单级生物脱氮过程的影响, 获得了单级生物脱氮过程的最适条件。

1 材料和方法

1.1 硝化细菌和反硝化细菌及其培养基

试验所用硝化细菌和反硝化细菌均由本实验室自行培养。硝化细菌的培养基组成为: (NH₄)₂SO₄ 700 mg/L, NaHCO₃ 1000mg/L, 适量的铁、钙和镁等微量元素和磷酸盐缓冲液; 反硝化细菌的培养基组成为: KNO₃ 1800mg/L, CH₃OH 1500mg/L, 适量的微量元素和磷酸盐缓冲液。

1.2 化学试剂

* 国家自然科学基金资助项目 (Project Supported by the National Natural Science Foundation of China): 29777007
作者简介: 曹国民(1963~), 男, 博士研究生。
收稿日期: 1999-09-11

聚乙烯醇(PVA), 平均聚合度 1750 ± 50 , 上海化学试剂站分装厂; 海藻酸钠(化学纯), 上海化学试剂采购供应站分装厂. 试验所用其它试剂均为国产分析纯.

1.3 细胞的固定化方法^[9]

将已知浓度的硝化细菌和反硝化细菌的悬浮液按一定比例混合后, 在 3000r/min 下离心 15min , 用生理盐水洗涤并离心 2 次. 然后将所得的浓缩菌体加入到含 8% PVA 和 2% 海藻酸钠的混合液中, 搅拌均匀后用注射器滴入 4% 的 CaCl_2 溶液中, 经搅拌、钙化 30min , 制成直径约为 3mm 的小球. 滤去 CaCl_2 溶液, 将小球置于冰箱冷冻室中, 在 -15°C 左右冷冻过夜, 再在室温下解冻. 重复冷冻解冻 4 次, 用蒸馏水充分洗涤小球使得固定化细胞.

1.4 模拟废水组成

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $300 \sim 500\text{mg/L}$, NaHCO_3 $600 \sim 1000\text{mg/L}$ (考察碱度的影响时除外), 适量的微量元素, 100mol/L 、 $\text{pH} 8.2$ (考察 pH 值的影响时除外) 的磷酸盐缓冲溶液, CH_3OH $340 \sim 570\text{mg/L}$ (考察有机碳源的影响时除外).

1.5 固定化细胞的间歇试验

溶解氧及温度对单级生物脱氮过程影响的试验在有效容积约为 1L (内径 5.1cm , 高 50cm) 并带有保温夹套(夹套内通 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 的水, 考察温度的影响时除外) 的鼓泡床中进行, 其中固定化细胞的填充率为 15% , 曝气 24h . 其它试验均在摇床上进行. 方法如下: 取 20g 固定化细胞和 200mL 模拟废水置于 1000mL 烧杯中, 在转速为 100r/min 、温度为 25°C 的摇床上振摇 24h . 测定试验前后模拟废水中 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 NO_2^--N 的浓度, 并按下式计算总无机氮(TIN) 的浓度及脱氮速率:

$$\text{TIN} = \text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N} + \text{NO}_2^--\text{N}$$
$$\text{脱氮速率} = (\text{TIN}_0 \cdot V - \text{TIN}_1 \cdot V) / V \cdot t$$

式中: V 为模拟废水的体积; TIN_0 , TIN_1 为试验前、后总无机氮的浓度; t 为试验时间.

NH_4^+-N 、 NO_3^--N 及 NO_2^--N 用比色法分析, 碱度用滴定法分析^[10].

2 结果与讨论

2.1 pH 值和碱度对单级脱氮过程的影响

pH 值是影响生物脱氮过程的一个重要因素. 硝化过程的最适 pH 值为 $8.0 \sim 8.4$, 而反硝化过程的最适 pH 值为 $7.0 \sim 7.5$ ^[11]. 因此, 对于硝化菌和反硝化菌混合固定的单级脱氮过程, 必须探索出一个最适 pH 值, 试验结果见图 1. 由图 1 可知, 最适 pH 值在 8.2 左右, 与硝化过程的最适 pH 值相同, 但比反硝化最适 pH 值高. 这一结果表明通常硝化过程是整个生物脱氮过程的控制步骤, 单级生物脱氮过程同样取决于硝化的快慢. 因此最适 pH 值与硝化过程最适 pH 值基本一致.

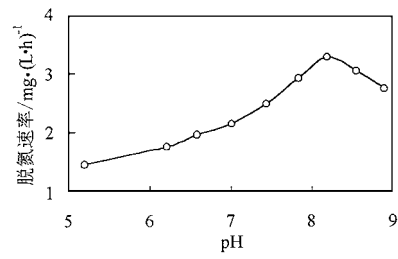


图1 pH 值与脱氮速率的关系

图 2 为碱度(总碱度以 CaCO_3 计, 下同)与脱氮速率之间的关系. 由图 2 可见, 脱氮速率随着碱度的增加而增大, 当碱度/氨氮 > 9.0 时, 脱氮速率不再随碱度增加而增大. 硝化过程要消耗碱度, 反硝化过程可以回收部分碱度, 但整个生物脱氮过程的碱度仍是下降的. 碱度的减少必将使 pH 值下降, 从而对生物脱氮过程产生不利影响. Sakairi MAC 等人^[12]的研究结果表明, 当进水的碱度/氨氮 < 8.85 时, 碱度将影响硝化过程的进行, 碱度增大, 脱氮速度也增大. 这一结论与本试验结果基本一致. 但碱度也不宜过高, 因为当碱度/氨氮 > 9 后, 继续增加碱度, 脱氮速率增加甚微, 而药剂用量却明显增多, 操作费用相应增大.

2.2 温度对单级生物脱氮过程的影响

温度对生物脱氮过程的影响比对 BOD 降解过程大, 图 3 表示了温度与脱氮速率之间的关系. 由图 3 可知, 最适温度是 30°C , 小于或大

于此温度脱氮速率均呈下降趋势. 在悬浮生长的生物脱氮过程中, 当温度低至 10℃ 时, 硝化相对速率仅为 30℃ 时的 27%^[13]. 本试验结果, 温度低至 10℃ 时, 脱氮速率约为 30℃ 时的 46%. 按 Arrhenius 方程求得的单级生物脱氮过程的活化能约为 28.6 kJ/mol, 与文献[14]报道的固定化硝化菌氧化氨氮时的活化能 63.6 kJ/mol 数量级相同, 但绝对值小. 单级生物脱氮过程的活化能小, 进一步说明其对温度的敏感性小.

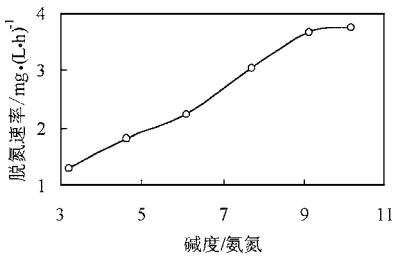


图 2 碱度/氨氮与脱氮速率的关系

2.3 溶解氧对单级生物脱氮过程的影响

硝化反应借助硝化细菌的作用, 将氨氮氧化成硝态氮, 需要氧的有效供给; 反硝化则是一个兼氧反应, 只有在缺氧和无氧条件下, 反硝化菌才能把硝态氮还原为氮气. 因此, 在固定化细胞内部形成一个适宜的好氧区和缺氧区是单级

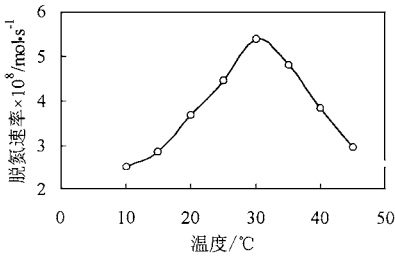


图 3 温度与脱氮速率的关系

生物脱氮过程能否高效进行的关键之一. 好氧区和缺氧区的大小除了与固定化介质及固定化方法有关外, 主要与溶液中溶解氧浓度高低有关. 为此, 在总曝气量不变的前提下, 通过改变空气与氮气流量之比, 控制反应器中的 DO, 考察了 DO 对单级生物脱氮过程的影响, 试验结果见表 1. 当 DO 在 1~2 mg/L 时, 固定化细胞的脱氮速率较低, DO 在 2~6 mg/L 时, 脱氮速率较高, 而 DO > 6 mg/L 时, 脱氮速率反而下降. 原因是 DO 过小, 氨氧化受到限制, 从而影响脱氮效果; DO 过大, 随溶液中 DO 的增大, 氧在介质中传递推动力增大, 势必使载体内部 DO 也增大, 从而缩小了载体内部的缺氧区, 减弱了反硝化过程, 使硝化和反硝化出现不平衡, 脱氮速率下降. 实验结果也证实了这一结论, 此时发现溶液中有 NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 的积累.

表 1 溶解氧浓度与脱氮速率的关系

DO/mg·L ⁻¹	1~2	2~3	3~4	4~5	5~6	6~7
脱氮速率/mg·(L·h) ⁻¹	3.43	4.16	4.25	4.65	4.20	3.92

2.4 有机碳源对单级生物脱氮过程的影响

反硝化菌需要有机碳源供其呼吸和生长. 至于碳源对单一反硝化过程的影响已有很多文献报道^[15], 涉及的碳源也很多. 此外, 有机物的存在还会影响硝化过程^[16]. 本研究选择 4 种常用的反硝化碳源: 甲醇、乙醇、醋酸和葡萄糖(投加量均为其理论投加量的 3 倍), 考察了不同碳源对单级脱氮过程的影响, 试验结果如图 4 所示. 由图 4 可知, 对于硝化菌和反硝化菌混合包埋构成的单级脱氮过程而言, 以乙醇为碳源时, 脱氮速率最快, 其次为甲醇、醋酸, 葡萄糖最慢. 这与国外的研究成果基本相符^[17,18]. 实验结果还表明, 不同碳源对单级生物脱氮过程的硝化

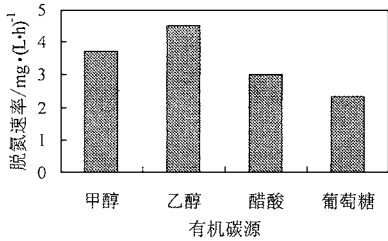


图 4 有机碳源对单级生物脱氮过程的影响

反应无明显影响, 因为 4 者的氨氮氧化速率基本相同. 由此可知, 在硝化菌和反硝化菌混合固定的单级生物脱氮过程中, 碳源主要影响反硝化过程. 虽然以乙醇为碳源时的脱氮速率要大于甲醇, 但是甲醇要比乙醇便宜得多, 因此一般

仍使用甲醇作为脱氮的碳源。

2.5 菌体比例对单级生物脱氮过程的影响

为了找出一个合适的菌体比例,使单级生物脱氮过程中硝化和反硝化 2 个反应保持平衡,提高系统的脱氮效率,本试验考察了 7 组不同菌体比例的固定化细胞脱氮速率。由图 5 可见,随着硝化细菌所占比例的增加,脱氮速率逐渐增加,当硝化菌与反硝化菌之比在 1.5: 1~ 3.6: 1 时,脱氮速率最好。在生物脱氮过程中,硝化反应是速度控制步骤,因此硝化细菌比例增大,脱氮速率增大。但当硝化菌比例过高时,使硝化和反硝化出现不平衡(溶液中出现 NO₂⁻-N 和 NO₃⁻-N 的积累),从而降低了 T IN 的去除速率。

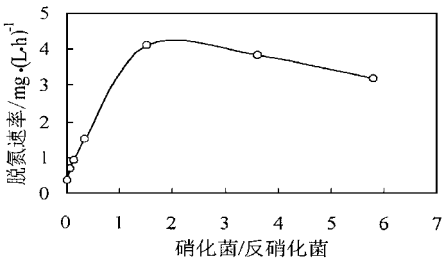


图 5 菌体比例与脱氮速率的关系

3 结论

(1)利用硝化菌与反硝化菌混合固定构成的单级生物脱氮系统进行生物脱氮时,最适宜的 pH 值、温度和溶解氧分别是 8.2、30℃ 和 2mg/L~ 6mg/L。

(2)碱度与氨氮的比例越大,脱氮速率越大。当碱度/氨氮> 9 时,脱氮速率趋于稳定。

(3)不同有机碳源对硝化菌和反硝化菌混合固定的单级生物脱氮过程的硝化反应无影响,但对反硝化反应有影响。以乙醇为碳源时的脱氮速率最快,甲醇、醋酸次之,葡萄糖最慢。

(4)硝化菌与反硝化菌混合包埋时,随硝化菌比例增加,脱氮速率逐渐增加。当硝化菌与反硝化菌干重之比为 1.5: 1~ 3.6: 1 时,脱氮速率最快。但硝化菌比例过高,脱氮速率反而会降低。

参考文献

1 Sumino T, Nakamura H and Mori N et al. Immobilization

of nitrifying bacteria by polyethylene glycol prepolymer. *J. Ferment. Bioeng.*, 1992, **73**(1): 37~ 42.

2 王磊, 兰淑澄. 固定化硝化菌去除氨氮的研究. *环境科学*, 1997, **18**(2): 18~ 20.

3 Chen K C and Lin Y F. Immobilization of microorganisms with phosphorylated polyvinyl alcohol (PVA) gel. *Enzyme Microb. Technol.*, 1994, **16**(1): 79~ 83.

4 Tramper J, Suwinska-Borowice G and Klappwijk A. Characterization of nitrifying bacteria immobilized in calcium alginate. *Enzyme Microb. Technol.*, 1985, **7**(4): 155~ 160.

5 Wijffels R H, Schukking G C and Tramper J. Characterization of a denitrifying bacterium immobilized in K-carrageenan. *Appl. Microb. Biotechnol.*, 1990, **34**(3): 399~ 403.

6 赵兴利, 兰淑澄. 固定化硝化菌去除废水中氨氮工艺的研究. *环境科学*, 1999, **20**(1): 39~ 42.

7 Tanaka K, Sumino T and Nakamura H et al. Application of nitrification by cells immobilized in polyethylene glycol. *Prog. Biotechnol.*, 1996, **11**(immobilized cells): 622~ 632.

8 Dos Santos VAPM, Bruijnes M and Tramper J et al. The magic-bead concept: an integrated approach to nitrogen removal with co-immobilized microorganisms. *Appl. Microb. Biotechnol.*, 1996, **45**(4): 447~ 453.

9 Okazaki M, Hamada T and Fujii H et al. Development of poly(vinyl alcohol) hydrogel for waste water cleaning. I. Study of poly(vinyl alcohol) gel as a carrier for immobilizing microorganisms. *J. Appl. Polymer Sci.*, 1995, **58**(12): 2235~ 2249.

10 国家环保局. 水和废水监测分析方法, 第三版. 北京: 中国环境科学出版社, 1997. 252~ 275.

11 章非娟编著. 生物脱氮技术. 北京: 中国环境科学出版社, 1992. 17~ 30.

12 Sakairi MAC, Yasuda K and Matsumura M. Nitrogen removal in seawater using nitrifying and denitrifying bacteria immobilized in porous cellulose carrier. *Wat. Sci. Tech.*, 1996, **34**(7, 8): 267~ 274.

13 顾夏声编著. 废水生物处理数学模式. 第二版. 北京: 清华大学出版社, 1993. 201.

14 Willke T H and Vorlop K D. Nitrification in PVAL beads: Influence of pH and temperature on nitrite oxidation. *Prog. Biotechnol.*, 1996, **11**(immobilized cells): 718~ 724.

15 Mateju V, Cizinska S and Krejci J et al. Biological water denitrification—a review. *Enzyme Microb. Technol.*, 1992, **14**(3): 170~ 183.

16 王歆鹏, 陈坚, 华兆哲等. 硝化菌在不同条件下的增值速率和硝化活性. *应用与环境生物学报*, 1999, **5**(1): 64~ 68.

17 Lewandowski Z. Denitrification by packed bed reactors in the presence of chromium. *Water Res.*, 1985, **19**(5): 589~ 596.

18 Lemoine D, Jouenne and Junter G A. Reduction of nitrate by pseudomonas entrapped in composite agar layer/microporous membrane structures. *Biotechnol. Letters*, 1988, **10**(6): 399~ 402.