

假单胞菌 DN-1 再生 NO 络合吸收液的特性

荆国华, 李伟, 施耀, 马碧瑶, 谭天恩

(浙江大学环境工程研究所, 杭州 310027, E-mail: shiyao@zju.edu.cn)

摘要: Fe^{II} (EDTA) 络合吸收脱除 NO 吸收速率快, 吸收容量大, 但是存在吸收液再生方面的缺陷. 实验用自行分离得到的假单胞菌 DN-1, 将吸收液中的 Fe^{II} (EDTA) NO 还原为 N_2 而进行再生. 考察了不同碳源种类、碳源量、菌种量、pH 值、温度、络合物浓度等条件下该菌种对 Fe^{II} (EDTA) NO 的还原情况. 结果表明, 葡萄糖比醋酸钠、柠檬酸三钠和乙醇等更适合于作为该体系的外加碳源. 当 Fe^{II} (EDTA) NO 浓度为 $6.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 添加 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的葡萄糖就能满足微生物的反应需要; DN-1 还原适宜温度范围为 $40 \sim 45^\circ\text{C}$, 适宜 pH 值为 $6.9 \sim 7.2$; 还原速率随菌体接种量的增多而加快; 而 Fe^{II} (EDTA) NO 浓度小于 $11.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 还原速率随着络合物浓度的增加而增加; 超过这一浓度, 还原速率不再随络合物浓度的增加而增加, 反应速率基本不变.

关键词: NO 吸收液; 微生物还原; NO_x ; 假单胞菌

中图分类号: X701 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)04-0163-04

Properties of *Pseudomonas* sp. DN-1 in Reduction of Nitric Oxide Chelate Absorption Solution

JING Guo-hua, LI Wei, SHI Yao, MA Bi-yao, TAN Tian-en

(Institute of Environmental Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China E-mail: shiyao@zju.edu.cn)

Abstract: Metal chelate absorption is deemed as a promising method of NO removal in FGD system, but the difficulty in the regeneration of the absorption solution hinders its further development. An original method with microbial reduction is proposed in this paper. With the adding of *Pseudomonas* sp. DN-1, which was newly isolated from wastewater treatment plant, Fe^{II} (EDTA) NO will be reduced to the environmentally benign gaseous product of N_2 , and thus Fe^{II} (EDTA) was regenerated simultaneously. The effects of the types and amount of carbon source, Fe^{II} (EDTA) NO concentration, pH, temperature and the biomass inoculation on bio-reduction efficiency were investigated. The results showed that the microorganism exhibited good performance on bio-reduction of Fe^{II} (EDTA) NO with the carbon sources of glucose. $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ glucose was enough for microorganism to reduce $6.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Fe^{II} (EDTA) NO completely. The rate of Fe^{II} (EDTA) NO reduction did not increase with adding a larger amount of carbon source. The bio-reduction could be achieved efficiently among the temperature range of $40 \sim 45^\circ\text{C}$ and a pH range of $6.9 \sim 7.2$. The bio-reduction rate increased with the increasing of biomass inoculation. When Fe^{II} (EDTA) NO concentration is less than $11.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the reduction rate increased as the concentration increases, while the concentration is over $11.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the reduction rate keeps constant.

Key words: NO absorption solution; bio-reduction; NO_x ; *Pseudomonas*

矿物燃料燃烧产生的锅炉烟气是 NO_x 排放的主要途径之一, 其中 95% 以上是难溶于水的 NO, 在传统的湿法脱硫装置中, 无法同时将 NO 脱除. 催化还原法是目前比较常用的烟气脱氮方法, 但费用较高, 且存在氨泄漏, 催化剂易失活等缺点^[1]. 其他如等离子体去除法^[2]、活性炭吸附法^[3]、生物法^[4~6]等其可行性与经济性有待进一步研究. 络合吸收法是在现有湿法脱硫液中加入 Fe^{II} (EDTA, 乙二胺四乙酸) 等络合吸收剂, 能实现同时脱硫脱氮的较好的方法, 本文作者和其他研究者都有深入研究^[7~10], 但其工业化的关键问题是吸收液的再生.

本文研究者曾提出一种利用微生物来还原的方法^[11], 并进一步分离纯化得到一株具有很好还原作用的假单胞菌 DN-1. 在微生物生长和 Fe^{II} (EDTA)

NO 还原过程中, 需要添加葡萄糖作为碳源和电子供体, Fe^{II} (EDTA) NO 络合物可直接作为微生物生长的氮源, 并可通过微生物的导化反硝化作用, 在反应过程中作为电子受体而得到还原. 实验系统考察了该菌种在不同碳源种类、碳源添加量、菌体接种量、pH、温度等条件下对 Fe^{II} (EDTA) NO 的还原特性.

1 材料与方法

1.1 Fe^{II} (EDTA) NO 吸收液的制备

收稿日期: 2003-09-28; 修订日期: 2003-12-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20176052); 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目

作者简介: 荆国华(1975~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为废气治理新技术和环境生物技术.

$\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 是利用 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})$ 络合吸收 NO 过程中的产物,此溶液在空气中易被氧化,使用时需要预先制备.方法如下:配制一定浓度的 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})$ 溶液,用 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 调节 pH 值至 $7.0 \sim 7.5$,再倒入 250 mL 吸收瓶中,通入 NO ;当 NO 出口浓度与进口浓度一致时,停止吸收,得到 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 饱和吸收液,其 pH 值为 $6.5 \sim 7.0$,用 N_2 驱氧密封保存,使用时根据不同实验需要以去氧蒸馏水稀释.

1.2 菌株及培养

实验所用菌株 DN-1 为本课题组分离.

基础培养基 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): 葡萄糖 2500、 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1000、 KH_2PO_4 625、 Na_2SO_3 70、 MgCl_2 100、 CaCl_2 2、 $\text{MnSO}_4 \cdot 0.5$ 、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 0.1$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \cdot 0.1$,氮源为 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$.由于 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 在制备固体培养基时不稳定,斜面培养基中以 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaNO_3 为氮源.

菌种培养:由于菌体接种量比较少时细菌生长缓慢,因此首先将斜面菌种接种到一系列 50 mL 培养液中,以氮气趋氧并密封,在 40°C , 140 r/min 的恒温摇床中振荡培养 5 d,然后将菌液离心 (5000 r/min , 15 min),加入 50 mL 新鲜培养基扩大培养 2 d,再离心,洗涤,收集菌体,用 $\text{pH} 7.0$ 的磷酸盐缓冲液配置成一定浓度的菌悬液待用.后面的扩大培养中,直接以收集的菌体来接种.

1.3 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 的生物还原实验

根据每组实验的不同条件,在 100 mL 的培养瓶中加入菌液 5 mL , 10 倍浓度培养液 5 mL ,用 N_2 驱氧,再加入一定浓度的 (根据实验要求而定) $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 吸收液 40 mL .混匀后取样测定 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度.在 N_2 保护下密封,放入 40°C 摇床中培养 (温度实验除外).每隔一定时间取样分析 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度.同时,以不加微生物的空白实验作对照.

1.4 分析测试方法

气体中 NO 浓度用型号为 FGA-4015 的 5 组分气分析仪测量.

$\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度测定采用分光光度法^[12] (Techcomp 8500 UV-vis 分光光度计).

菌体浓度通过测定菌液在 610 nm 波长下的光密度,根据其光密度和细胞干重的线性关系得到.

2 结果与讨论

2.1 碳源种类对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

DN-1 还原 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 的生物反应中,需要外加碳源作为电子供体和提供能源.不同碳源种类对生物还原效果产生直接影响.实验考察了葡萄糖、乙醇、醋酸钠、柠檬酸三钠为碳源时 DN-1 对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 的还原性能.碳源添加量为 $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (以 C 的质量计)、 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度为 $6.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、菌体接种量为 $0.32 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、温度 40°C 、 pH 值 7.0 ,结果如图 1 所示.

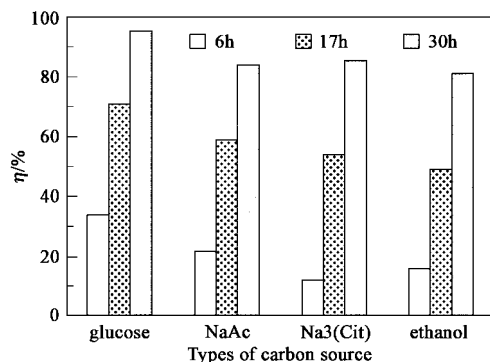


图 1 碳源种类对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

Fig.1 Effect of types of carbon sources on the bio-reduction of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$

实验发现,添加以上几种碳源的培养液中,经过 $3 \sim 4 \text{ d}$ 反应以后, $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 基本上都能够被 DN-1 还原,但是不同碳源下其还原速度不一样.从图 1 中可以看出,在不同的反应时间,以葡萄糖为碳源的还原效率均明显要比乙醇、醋酸钠、柠檬酸三钠为碳源时的高.反应 30 h 后,还原效率达到 95.3% ,而其他 3 种碳源下还原效率仅为 80% 左右.

2.2 碳源添加量对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

碳源添加量直接影响生物反应速率,从而影响到 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 的还原效率.实验以葡萄糖为碳源,考察其添加量对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原效率的影响. $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度为 $6.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、菌体接种量为 $0.23 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、温度 40°C 、 pH 值 7.0 .结果如图 2 所示.

从图 2 可以看出, $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原效率开始都上升较快, 6 h 后,不同碳源量的 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原效率都为 50% 左右.当碳源量小于 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,还原效率随碳源用量的增加而加快,当碳源量大于 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以后,对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 的还原效率基本上保持不变,这在 28 h 时显得更为明显.说明外加碳源量过低时,不能满足反应需要,达到一定添加量以后,再增加对反应过程也没有促进作用.

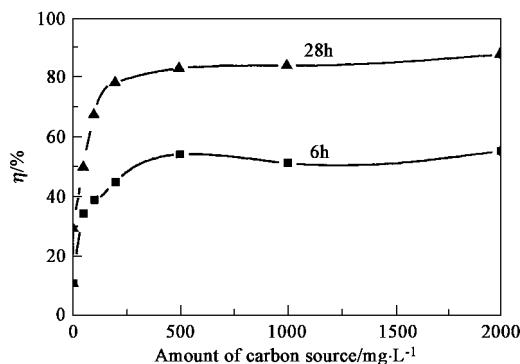
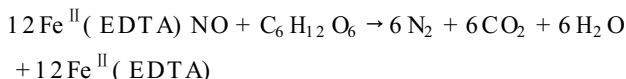
图2 碳源添加量对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

Fig.2 Effect of the amount of carbon source on the bio-reduction of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$

另外,也可以从还原反应来分析所需碳源用量.还原过程中碳源的消耗可用以下方程式来表示:



实验中起始 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度为 $6.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 需要葡萄糖 $6.50/12 = 0.54 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 即 $97.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 以上计算中没有考虑细菌本身生长的需要, 因此实验中的葡萄糖用量大于理论值, 约为 2.5 倍.

2.3 菌体接种量对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

在温度 40°C 、pH 值 7.0、 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度 $6.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、葡萄糖添加量 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的实验条件下, 考察了菌体接种量对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响.

从图 3 可以看出, 在 20 h 之前, 接种量越大, 溶液中 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度下降越快; 在 20 h 之后,

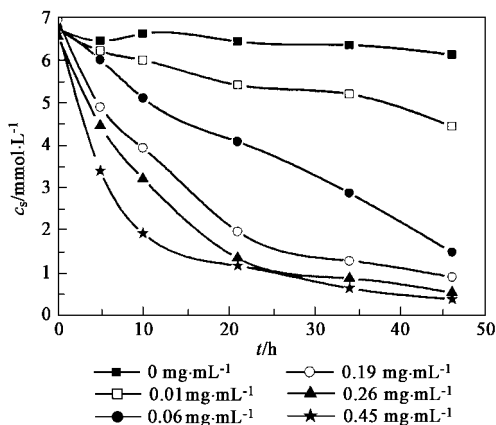
图3 菌本接种量对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

Fig.3 Effect of the microbial inoculation on the bio-reduction of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$

当菌体接种量大于 $0.26 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以后, 曲线基本重合, 这是由于刚开始反应时, $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度较高, 反应速度随接种量的增大而增大, 经过 20 h 反应以后, $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度很低, 菌体负荷很小, 反应速率不再随菌体浓度发生变化. 并且当接种量很小时 (小于 $0.06 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度下降很慢.

2.4 温度对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

图 4 为 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度 $9.21 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、葡萄糖添加量 $350 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、微生物接种量 $0.24 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、pH7.0 的实验条件下, 不同温度对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响. 根据微生物生长特点, 再结合图 4, 微生物对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 的还原情况也符合微生物生长特点, 在 $30^\circ\text{C} \sim 42^\circ\text{C}$ 之间, 还原效率随着温度的上升而增加; 在 $40^\circ\text{C} \sim 50^\circ\text{C}$ 之间, 则随着温度上升转而下降, 并且在 42°C 时达到最适还原温度, 说明此时微生物的生命活动较为旺盛, 新陈代谢较快. 从 $45^\circ\text{C} \sim 50^\circ\text{C}$ 之间, 还原效率急速下降, 该微生物属于嗜温性微生物, 当温度高于它的适宜范围就会失去活性.

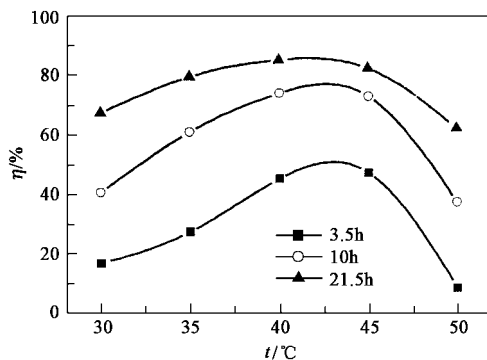
图4 温度对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

Fig.4 Effect of temperature on the bio-reduction of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$

2.5 pH 值对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

图 5 为在 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度 $6.50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、葡萄糖添加量 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、菌体接种量为 $0.19 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、温度 40°C 的实验条件下, 不同 pH 对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响. 从图 5 可以看出, DN1 还原 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 最为适合的 pH 值在 $6.9 \sim 7.2$. 过低或者过高的 pH 值都不利于 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 的还原.

2.6 络合物浓度对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

图 6 为在葡萄糖添加量 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、微生物接种量为 $0.24 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、温度 40°C 、pH 值 7.0 的

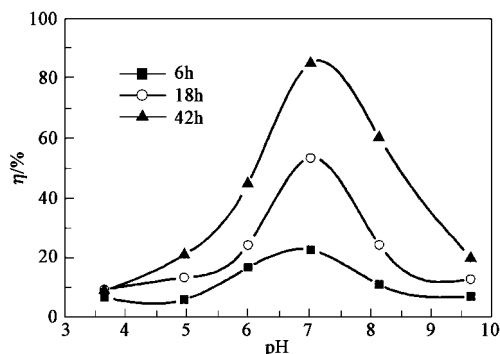


图5 pH值对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

Fig.5 Effect of pH on the bio-reduction of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$

实验条件下,不同浓度 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 对 DN-1 还原性能的影响.结合图7反应速率随络合物浓度的变化曲线可以看出,当络合物浓度小于 $11.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,还原速率随着络合物浓度的增加而增加;超过这一浓度以后,还原速率不再随络合物浓度的增加而增加,反应速率基本不变,并且当络合物浓度高达 $21 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对微生物还原也没有抑制作用.

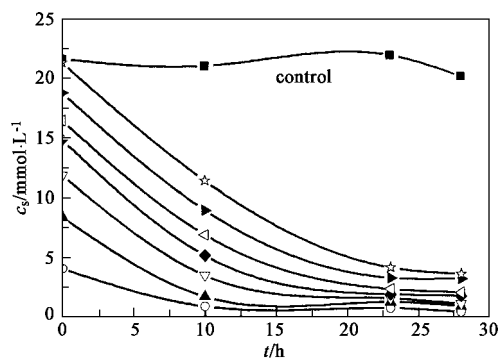


图6 络合物浓度对 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 还原的影响

Fig.6 Effect of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ concentration on the bio-reduction of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$

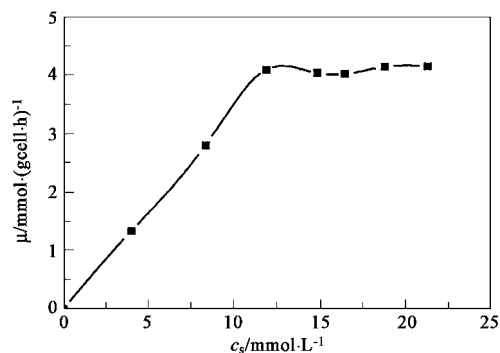


图7 还原速率与 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度的关系

Fig.7 The relationship between specific reduction rate and $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ concentration

3 结论

(1) 在外加适宜碳源的条件下,利用假单胞菌 DN-1 还原 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 是可行的.考察的几种碳源中,添加葡萄糖的还原效果比醋酸钠、柠檬酸钠和乙醇好.

(2) DN-1 还原的适宜 pH 值和温度范围分别为 $6.9 \sim 7.2$ 和 $40 \sim 45^\circ\text{C}$;还原效率随菌体接种量的增加而增大;碳源用量只要能满足生物还原需要即可,过量碳源对还原反应没有促进作用.

(3) 当 $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ 浓度小于 $11.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,还原速率随着络合物浓度的增加而增加;超过这一浓度以后,还原速率不再随着络合物浓度的增加而增加,反应速率基本恒定.

参考文献:

- [1] Jirat J, Stepanek F, Marek M, Kubicek M. Comparison of design and operation strategies for temperature control during selective catalytic reduction of NO_x [J]. Chemical Engineering and Technology, 2001, 24(1): 35 ~ 40.
- [2] Mok Y S, Ham S W. Conversion of NO to NO_2 in air by a pulsed corona discharge process [J]. Chemical Engineering Science, 1998, 53(9): 1667 ~ 1678.
- [3] Mochida I, Yozo K. Removal of SO_2 and NO_x over activated carbon fibers [J]. Carbon, 2000, 38(2): 227 ~ 239.
- [4] Nagase H, Yoshihara K, Eguchi K, Okamoto Y, Murasaki S, Yamashita R, Hirata K, Miyamoto K. Uptakes pathway and continuous removal of nitric oxide from flue gas using microalga [J]. Biochemical Engineering Journal, 2001, 7(3): 241 ~ 246.
- [5] Nagase H, Eguchi K, Yoshihara K, Hirata K, Miyamoto K. Improvement of microalgal NO_x removal in bubble column and airlift reactor [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1998, 86(4): 421 ~ 423.
- [6] Flanagan W P, Apel W A, Barnes J M, Lee B D. Development of gas bioreactors for the removal of nitrogen oxides from synthetic flue gas streams [J]. Fuel, 2002, 81(5): 1953 ~ 1961.
- [7] Shi Y, Littlejohn D, Chang S G. Kinetics of NO absorption in aqueous iron (II) bis (2, 3-dimercapto-1-propanesulfonate) solutions using a stirred reactor [J]. Industrial and Engineering Chemistry Research, 1996, 35(5): 1668 ~ 1672.
- [8] Shi Y, Littlejohn D, Kettler P B, Chang S G. Removal of nitric oxide from flue gas with iron thiochelatase aqueous solution in a turbulent contact absorber [J]. Environmental Progress, 1996, 15(3): 153 ~ 158.
- [9] Shi Y, Littlejohn D, Chang S G. Integrated tests for removal of nitric oxide with iron thiochelatase in wet flue gas desulfurization systems [J]. Environmental Science and Technology, 1996, 30(11): 3371 ~ 3376.
- [10] Shi Y, Wang H, Chang S G. Kinetics of NO absorption in aqueous iron (II) thiochelatase solution [J]. Environmental Progress, 1997, 16(4): 301 ~ 306.
- [11] Li W, Shi Y, Jing G H, Ma B Y, Chang S G. A novel approach for simultaneous reduction of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ and $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})$ using microorganisms [J]. 化工学报, 2003, 54(9): 1340 ~ 1342.
- [12] Jing G H, Li W, Shi Y, Ma B Y, Tan T E. Bioreduction of $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{EDTA})\text{NO}$ in nitric oxide removal with ferrous chelate absorption [C]. The First International Conference on Energy and Environment — A World of Challenges and Opportunities. Changsha, China, 2003, 655 ~ 659.