

同步硝化反硝化菌(*Alcaligenes faecalis* WT14)养殖污水脱氮效果研究

陈均利, 张树楠, 戴桂金, 张苗苗, 吴金水, 刘锋

引用本文:

陈均利, 张树楠, 戴桂金, 等. 同步硝化反硝化菌(*Alcaligenes faecalis* WT14)养殖污水脱氮效果研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(8): 1811–1817.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0325>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

洱海北部表流人工湿地氮截留的长效性及影响因子

梁启斌, 侯磊, 李能发, 陈鑫, 王克勤

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1585–1593 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1324>

低碳氮比畜禽粪水厌氧消化液短程硝化脱氮试验研究

何清明, 李廷友, 韦平和

农业环境科学学报. 2016, 35(10): 2005–2010 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-0355>

CO₂-N₂气氛下热解工艺对稻秆生物炭吸附Cd²⁺的影响

周红卫, 陈振焱, 胡超, 张亚平, 顾东清

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1605–1612 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1406>

农村生活污水陶瓷膜-生物反应器处理工艺强化脱氮除磷研究

唐舒雯, 纪婧, 王梦娴, 陈佳仪, 李旭东, 邱江平

农业环境科学学报. 2019, 38(5): 1121–1129 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1166>

固定反硝化菌强化人工湿地处理低污染水研究

林燕, 张焕杰, 刘曦, 俞璐, 朱文颖, 孔海南

农业环境科学学报. 2016, 35(11): 2154–2162 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-0540>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

陈均利, 张树楠, 戴桂金, 等. 同步硝化反硝化菌(*Alcaligenes faecalis* WT14)养殖污水脱氮效果研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(8): 1811–1817.

CHEN Jun-li, ZHANG Shu-nan, Dai Gui-jin, et al. Nitrogen removal capacity of simultaneously nitrifying and denitrifying bacteria (*Alcaligenes faecalis* WT14) in breeding wastewater[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(8): 1811–1817.



开放科学 OSID

同步硝化反硝化菌(*Alcaligenes faecalis* WT14) 养殖污水脱氮效果研究

陈均利^{1,3}, 张树楠¹, 戴桂金², 张苗苗^{1*}, 吴金水^{1,3}, 刘锋¹

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙农业环境观测研究站, 长沙 410125; 2. 湖南省凤凰县农业特色产业中心, 湖南 凤凰 416200; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要:为探究溶氧(Dissolved oxygen, DO)控制对异养硝化-好氧反硝化(Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification, HN-AD)菌脱氮效率的影响,本文从绿狐尾藻人工湿地底泥基质中分离出高效HN-AD菌*Alcaligenes faecalis* WT14,通过室内和反应器装置试验,较系统地研究了WT14的HN-AD性能和不同DO条件对其 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除能力的影响,并建立两级DO控制固定床反应器,通过DO控制分析了菌株WT14对养殖废水的处理效果。氮平衡试验表明,菌株WT14具有高效的同步硝化-反硝化能力,92.10%的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 以气态形式被去除,4.16%的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被菌株WT14同化为胞内氮,同时 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的存在会促进 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的还原。DO控制试验表明,菌株WT14的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除能力与DO浓度显著相关,低DO条件会抑制其 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除能力,但是会促进 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除能力,且符合Boltzmann模型,其脱氮脱硝活性的半数DO抑制浓度分别为 $2.53\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $5.40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,最大 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除率分别为94.0%和98.4%。在两级好氧($\text{DO } 4.00\pm 0.30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)条件下,WT14对养殖废水的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN和COD的去除率分别为99.3%、90.5%和97.5%,存在 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的积累,而在连续好氧($\text{DO } 4.00\pm 0.30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)-微氧($\text{DO } 0.50\pm 0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)条件下,WT14对养殖废水的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN和COD的去除率分别为99.3%、97.6%和98.2%,且无 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的积累。研究表明,两级DO控制中连续好氧-微氧显著促进了同步异养硝化-好氧反硝化菌WT14对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的还原,且不影响 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和COD的去除,提高了TN去除率。

关键词:异养硝化-好氧反硝化菌;同步脱氮;养殖废水;溶解氧

中图分类号:X172;X713 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2020)08-1811-07 doi:10.11654/jaes.2020-0325

Nitrogen removal capacity of simultaneously nitrifying and denitrifying bacteria (*Alcaligenes faecalis* WT14) in breeding wastewater

CHEN Jun-li^{1,3}, ZHANG Shu-nan¹, Dai Gui-jin², ZHANG Miao-miao^{1*}, WU Jin-shui^{1,3}, LIU Feng¹

(1. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Regions, Changsha Research Station for Agricultural and Environmental Monitoring, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 2. Special Agricultural Industry Center in Fenghuang county of Hunan Province, Fenghuang 416200, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: To investigate the controlling effect of dissolved oxygen (DO) on the nitrogen removal efficiency of heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying (HN-AD) bacteria, *Alcaligenes faecalis* strain WT14, an HN-AD bacterium, was newly isolated from a constructed

收稿日期:2020-03-23 录用日期:2020-04-29

作者简介:陈均利(1995—),男,湖北黄冈人,硕士研究生,主要开展污水生物处理技术研究。E-mail:1154223483@qq.com

*通信作者:张苗苗 E-mail:zhangmiao0110@163.com

基金项目:中国科学院战略性先导科技专项(XDA23020402);国家自然科学基金青年科学基金项目(Y811461);国家自然科学基金项目(41807056,41771302)

Project supported: The Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA23020402); The Young Scientists Fund of the National Natural Science Foundation of China (Y811461); The National Natural Science Foundation of China (41807056, 41771302)

wetland, and its heterotrophic nitrification-aerobic denitrification capacity was explored. The effects of different DO conditions on its removal capacity of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ were studied, and a two-stage, DO-controlled, fixed-bed reactor was established to analyze the effect of treatment with strain WT14 on breeding wastewater by DO control. Nitrogen balance experiments revealed that strain WT14 had an efficient and simultaneous nitrification-denitrification capacity; 92.10% of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ was converted into nitrogen-containing gas, 4.16% of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ was assimilated into intracellular nitrogen, and the presence of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ promoted the reduction in $\text{NO}_3^-\text{-N}$. The DO control experiment showed that the $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ removal capacities of strain WT14 were significantly related to the DO concentration. Low DO conditions inhibited the removal of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ but promoted that of $\text{NO}_3^-\text{-N}$, which was in accordance with the Boltzmann model. The half-inhibitory concentrations of the $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ removal capacities were $2.53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $5.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of DO, respectively. The maximum $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_3^-\text{-N}$ removal efficiencies of strain WT14 were 94.0% and 98.4%, respectively. Under two-stage aerobic conditions ($4.00 \pm 0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of DO), the removal efficiencies of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, total nitrogen (TN), and chemical oxygen demand (COD) in aquacultural wastewater by strain WT14 were 99.3%, 90.5%, and 97.5%, respectively. Under continuous aerobic ($4.00 \pm 0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of DO) and hypoxic ($0.50 \pm 0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of DO) conditions, the removal efficiencies of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, TN, and COD for breeding wastewater were 99.3%, 97.6%, and 98.2%, respectively, without the accumulation of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$.

Keywords: heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria; simultaneous (de) nitrification; breeding wastewater; dissolved oxygen

水体氮污染已成为世界上最为严峻的环境问题,而生物脱氮是水污染处理中最为经济、有效的处置方法^[1]。传统生物脱氮主要包括硝化与反硝化作用。生物硝化与反硝化过程相互依赖,但是由于硝化和反硝化微生物在生理生化上存在巨大差异,所以对溶氧(Dissolved oxygen, DO)、温度、pH、生长速度、化学需氧量(Chemical oxygen demand, COD)以及硝酸盐和亚硝酸盐有着不同的耐受和表现。这使得传统硝化与反硝化过程很难平衡和协调,导致脱氮过程十分复杂,且效率低下^[2]。

最近,一类能在好氧条件下进行同步硝化反硝化的新型微生物——异养硝化-好氧反硝化(Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification, HN-AD)菌,受到广泛关注,如 *Pseudomonas An-1*^[3]、*Klebsiella* sp. KSND^[4]、*Paracoccus denitrificans* FJAT-14899^[5]等。HN-AD菌有着比传统硝化微生物更高的细胞生长速率,并且可以利用有机基质作为碳源,同时能够将不同的形态氮污染物,如氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)和亚硝态氮($\text{NO}_2^-\text{-N}$)转化为含氮气体^[4]。而且,HN-AD菌在硝化和反硝化过程中的酸碱补偿还可以减少pH调节成本^[6]。一些特殊HN-AD菌甚至还具备耐受低温、高 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、低C/N、高有机物和高盐度的特性^[4]。这些优势使得HN-AD菌成为水处理领域的热点。然而,目前对HN-AD菌生理生化和脱氮性能的研究多通过人工合成废水和摇瓶培养试验,而在实际废水和生物反应器中的脱氮潜力还鲜有报道,因此很难评价HN-AD菌在自然环境条件下的实际脱氮性能^[6]。此外,DO已经被证明是影响HN-AD菌同步硝

化反硝化能力的重要因素,对其氮代谢过程有着重要影响^[7],但是以前研究多集中于某一DO条件对HN-AD菌脱氮性能的影响^[8-9],而很少研究DO对HN-AD菌硝化和反硝化活性发挥的影响阈值和具体应用,因此研究DO控制对生物反应器中HN-AD菌脱氮效力的影响十分必要。

本研究以长期处理养殖废水的湿地系统分离的一株高效HN-AD菌(*Alcaligenes faecalis* WT14)为研究对象,通过氮平衡分析了该菌株的同步硝化反硝化特性,以Boltzmann模型确定了不同DO浓度对菌株WT14 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除能力的影响及其DO抑制阈值,并考察了DO控制对固定化床反应器中的菌株WT14脱氮性能的影响。本研究为HN-AD菌处理高 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 废水提供了新的视角。

1 材料和方法

1.1 微生物菌株、培养基和养殖废水

Alcaligenes faecalis WT14 (GenBank No. MN578054)由本实验室从长期处理养殖废水的绿狐尾藻湿地底泥基质中分离,前期已鉴定为一株高效HN-AD菌株。Luria-Bertani (LB)富集培养基:酵母粉 $5.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 酶蛋白胨 $10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; NaCl $10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。氨氮培养基: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $0.38 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、柠檬酸钠 $4.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 K_2HPO_4 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NaCl $0.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 FeSO_4 $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、去离子水 1 L , pH=7。硝氮培养基: KNO_3 $0.72 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、柠檬酸钠 $4.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.05 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 K_2HPO_4 $0.20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NaCl $0.12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、

FeSO₄ 0.01 g·L⁻¹、去离子水 1 L, pH=7。氨-硝培养基: (NH₄)₂SO₄ 0.19 g·L⁻¹、KNO₃ 0.36 g·L⁻¹、柠檬酸钠 4.08 g·L⁻¹、MgSO₄·7H₂O 0.05 g·L⁻¹、K₂HPO₄ 0.20 g·L⁻¹、NaCl 0.12 g·L⁻¹、MnSO₄·4H₂O 0.01 g·L⁻¹、FeSO₄ 0.01 g·L⁻¹、去离子水 1 L, pH=7。养殖废水: 取自中国科学院长沙环境监测站长期处理养猪废水的绿狐尾藻人工湿地中处理组调节池, 进水 NH₄⁺-N 浓度 253~295 mg·L⁻¹, TN 浓度 261~311 mg·L⁻¹, COD 浓度 1 088~1 447 mg·L⁻¹。

1.2 氮平衡

将菌株 WT14 接种于在 100 mL LB 培养基中, 在 30 ℃、120 r·min⁻¹ (DO 5.50 mg·L⁻¹) 条件下培养 24 h, 随后离心 (5 000 r·min⁻¹、10 min), 用 0.9% 无菌 NaCl 溶液悬浮, 重复 3 次 (OD_{600nm}=1) 备用。

为了分析菌株 WT14 的氮转化, 将 1 mL 菌悬液分别接种于包含 50 mg·L⁻¹ NH₄⁺-N 的 100 mL 氨氮培养基和包含 25 mg·L⁻¹ NH₄⁺-N、25 mg·L⁻¹ NO₃⁻-N 的氨-硝培养基中, 120 r·min⁻¹ (DO 5.50 mg·L⁻¹)、30 ℃ 培养 24 h。培养结束收集培养液, HX-IIID 超声波细胞破碎仪 (沪析, 上海) 进行超声处理, 并用于测定最终的总氮 (Total nitrogen, TN) 浓度 (包括细胞内氮)。接着将培养液 8 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 上清液过 0.22 μm 滤膜, 滤液用于测定可溶性 TN、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N^[10]。

1.3 DO 对菌株 WT14 脱氨脱硝性能的影响

为了了解 DO 对菌株 WT14 脱氨脱硝能力的影响。将 100 mL 氨氮培养基和硝氮培养基分别置于 250 mL 锥形瓶中, NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 浓度均设置为 100 mg·L⁻¹, 菌悬液接种量 1% (V/V), 30 ℃ 恒温培养 24 h, 不同 DO 培养条件设置如下: 0 (0.05 mg·L⁻¹)、20 (0.85 mg·L⁻¹)、40 (1.81 mg·L⁻¹)、60 (2.84 mg·L⁻¹)、80 (3.85 mg·L⁻¹)、100 (4.75 mg·L⁻¹)、120 (5.50 mg·L⁻¹)、140 (6.08 mg·L⁻¹)、160 r·min⁻¹ (6.51 mg·L⁻¹) 和 180 r·min⁻¹ (6.81 mg·L⁻¹), 不同转速 DO 浓度通过 DO 测定仪测定, 培养结束取样测定 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 浓度变化, 并计算 NH₄⁺-N 去除率和 NO₃⁻-N 去除率。

采用 Boltzmann 模型对不同 DO 浓度下菌株 WT14 的 NH₄⁺-N 去除率和 NO₃⁻-N 去除率进行分析, 模型公式如下:

$$y_N = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(x - x_N)/d_x}} + A_2$$

$$y_D = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{(x - x_D)/d_x}} + A_2$$

式中: y_N 和 y_D 分别为菌株 WT14 在 DO 浓度为 x 时的 NH₄⁺-N 去除率和 NO₃⁻-N 去除率, %; A_1 和 A_2 为最低和最高 NH₄⁺-N 或 NO₃⁻-N 去除率, %; x 为 DO 浓度, mg·L⁻¹; x_N 和 x_D 分别为一半最大 NH₄⁺-N 去除率和一半最大 NO₃⁻-N 去除率时的 DO 浓度, mg·L⁻¹; d_x 为时间常数 (Time const)。

1.4 养殖废水处理可行性分析

为评价菌株 WT14 处理实际养殖废水的可行性。将 1 mL 菌悬液接种于装有 100 mL 养殖废水的 250 mL 三角瓶中, 在 30 ℃、120 r·min⁻¹ (DO 5.50 mg·L⁻¹) 条件下培养 24 h。每 8 h 取 10 mL 水样测定 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N、TN 和 COD 浓度变化。

1.5 菌株 WT14 在养殖废水处理的应用

为进一步评价 *Alcaligenes faecalis* WT14 在实际应用中的可行性, 采用直径 32.5 cm、高 40.0 cm 的透明有机玻璃柱作为固定床反应器, 内部填充多孔陶粒作为固定化载体, 有效填充高度为 34.7 cm (图 1)。固定床反应器在 30 ℃ 下运行, 通过 LZB 玻璃转子空气流量计进行两级 DO 控制, 使用电子气体流量计 (MF5706, MEMS, 美国) 和 DO 测定仪实时监测气体通量和 DO 溶度, 好氧溶氧浓度 (4.00±0.30) mg·L⁻¹, 微氧溶氧浓度 (0.50±0.10) mg·L⁻¹, 水力停留时间为 12 h。装填完成后系统先运行 7 d 进行稳定, 再进行 30 d 定期采样监测, 每日采样一次, 每次采水样 50 mL, 测定水样 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、NO₂⁻-N、TN 和 COD 浓度变化。

1.6 分析方法

使用全自动流动分析系统 (AA3, 海豹公司, 德国) 测定 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 TN 的浓度, NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 用连续流分析仪测定, TN 通过碱性过硫酸钾光度法测定, COD 使用重铬酸钾氧化法测定^[11], DO 浓度采用多参数 DO 测定仪测定 (SG68, 梅特勒, 瑞士)。

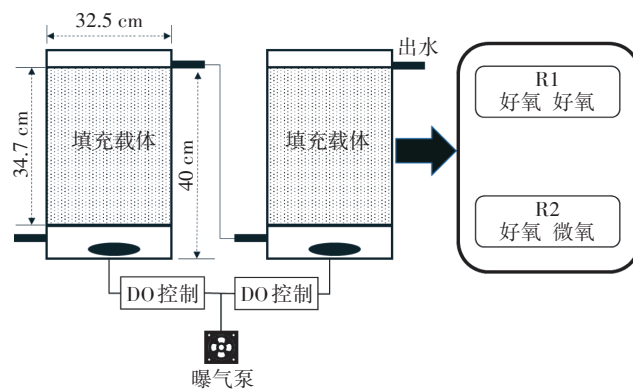


图1 固定床反应器示意图

Figure 1 Schematic diagram of fixed bed reactor

2 结果与讨论

2.1 异养硝化-好氧反硝化性能与氮平衡

如表1所示,在氨氮培养基中,约92%的氮以气态形式去除,仅有少量 NO_3^- -N的积累($1.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),其余大部分为胞内氮($2.08 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。而在氨-硝培养基中,WT14的氮去除率更高,约95%的氮转化为气态氮,且胞内氮浓度更低($0.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。这表明菌株WT14与好氧反硝化菌*Hanseniaspora uvarum* KPL108相似,具有 NH_4^+ -N同化能力^[12]。与氨氮培养基相比($1.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),菌株WT14在氨-硝培养基中有着更低的 NO_3^- -N积累量($0.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。在菌株*Pseudomonas stutzeri* T13中也发现了同样的现象,在 NO_3^- -N和 NH_4^+ -N同时存在时, NH_4^+ -N会促进好氧反硝化菌对 NO_3^- -N的还原,从而有着更低的 NO_3^- -N积累^[13]。

2.2 DO对菌株WT14脱氨脱硝性能的影响

图2展示了不同DO浓度对菌株WT14脱氨脱硝能力的影响。菌株WT14的 NH_4^+ -N去除能力与DO浓度有着很好的正相关性,通过 Boltzmann 模型进行拟合得到相关性函数公式: $y_N=94.0+(36.3-94.0)/[1+e^{(x-2.53)/0.42}]$ (图2),相关系数 $R^2=0.99$ ($P<0.01$),这表示 Boltzmann 模型能够很好地解释 DO 浓度与菌株WT14 NH_4^+ -N去除率的关系。根据该模型,在DO浓度为 $2.53 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,WT14的 NH_4^+ -N去除率为最大 NH_4^+ -N去除率94.0%的一半(半数抑制浓度)。此外在DO浓度为 $3.85 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,菌株WT14能够达到90%的 NH_4^+ -N去除率,高于同等条件下的好氧反硝化菌*Ochrobactrum anthropic* LJ81^[14]和*P.chengduensis* ZPQ2^[15]。菌株WT14的硝化活性虽然受DO限制,但是其最低 NH_4^+ -N去除率依然能达到36.3%(图2),这表明菌株WT14具有较强的低氧耐受性,在厌氧条件下也有着较好的硝化活性。

菌株WT14的 NO_3^- -N去除能力同样与DO浓度密切相关,相关性函数公式为 $y_D=2.52+(98.4-2.52)/[1+e^{(x-5.40)/0.95}]$,相关系数 $R^2=0.98$ ($P<0.01$),表明该模型同

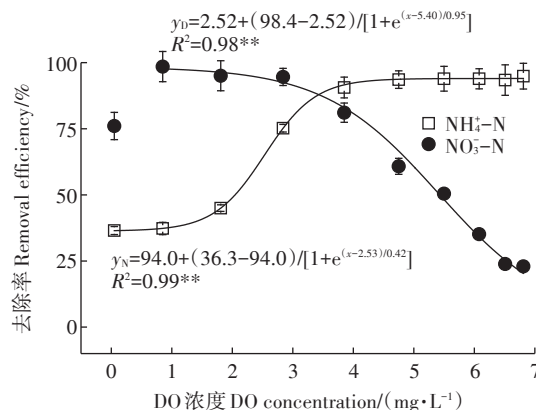


图2 不同DO浓度对 NH_4^+ -N和 NO_3^- -N去除的影响

Figure 2 Effect of different DO concentrations on NH_4^+ -N and NO_3^- -N removal efficiency

样能很好地解释DO浓度与WT14 NO_3^- -N去除能力的关系(图2)。根据模型,菌株WT14的 NO_3^- -N去除能力在DO浓度为 $5.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时会被抑制一半,其最大 NO_3^- -N去除率为98.4%,这表明菌株WT14对DO有着较高的耐受度。但是高DO对WT14还有较强的抑制作用,当DO浓度超过 $6.51 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, NO_3^- -N去除率仅为23.0%,模型预测极限的高DO条件,菌株WT14的最低反硝化率为2.52%。这表明相比于硝化活性,反硝化活性对DO变化更加敏感。

菌株WT14的 NH_4^+ -N去除能力与DO浓度呈正相关,而 NO_3^- -N去除能力与DO浓度呈负相关(图2),这表明异养硝化-好氧反硝化菌具备同步硝化和反硝化能力还是有着其矛盾的地方。Jin等^[4]发现,在好氧条件下HN-AD菌硝化关键功能基因HAO的表达量是其厌氧条件下表达量的2.72倍,而反硝化关键功能基因NAR的表达量比厌氧条件下增加了大约3倍,这说明DO浓度的变化是通过抑制硝化反硝化相关基因的表达影响HN-AD菌异养硝化-好氧反硝化功能的发挥,本次试验也间接验证了这一点。此外,在DO浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ($0 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)时,该DO浓度的 NO_3^- -N去除率与模型离散,表现出较低的 NO_3^- -N去除率

表1 菌株WT14在好氧条件下的氮平衡

Table 1 Nitrogen balance of the strain WT14 under aerobic conditions

氮源 Nitrogen source	初始TN Initial TN/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	最终氮 Final nitrogen/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)			胞内氮 Intracellular N	氮去除 N removal/%
		NH_4^+ -N	NO_2^- -N	NO_3^- -N		
氨氮培养基	50.0 ± 0.60	0.09 ± 0.20	0.02 ± 0.00	1.21 ± 0.02	2.08 ± 0.43	92.1 ± 0.34
氨-硝培养基	50.0 ± 0.12	0.77 ± 0.02	0.01 ± 0.00	0.06 ± 0.01	1.54 ± 0.06	95.2 ± 0.47

注:a:氨氮培养基($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ -N);b:氨-硝培养基($25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ -N和 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_3^-$ -N)。

Notes:a: Ammonia nitrogen medium ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ -N);b: Ammonia-nitrate medium ($25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4^+$ -N and $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NO}_3^-$ -N).

(76.0%),该结果与Sun等^[7]的结果相似,菌株*P. stutzeri* T13在转速为 $50\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时,有着近100%的硝化率,而在 $0\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, NO_3^- -N去除率降低了约21.0%,这是由于在低DO条件菌株WT14有着较低的细胞生长率,从而影响了 NO_3^- -N的去除^[7]。

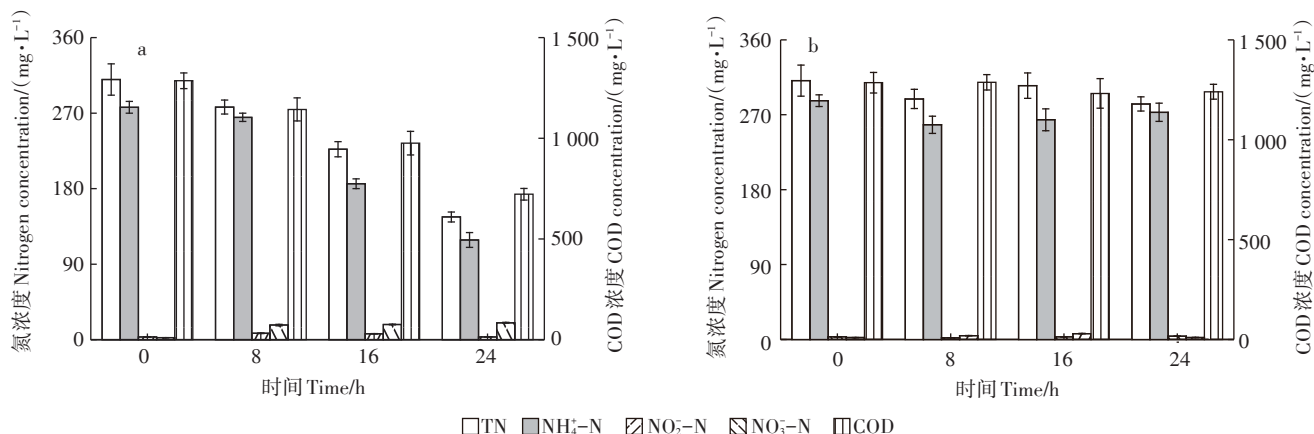
2.3 菌株WT14处理养殖废水的可行性分析

如图3所示,经24 h处理,养殖废水TN、 NH_4^+ -N和COD浓度分别从初始310、276 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和1 285 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降到146、119 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和772 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,去除率分别为52.9%、56.9%和39.9%。由于所取养殖废水氮组成以 NH_4^+ -N为主,因此TN和 NH_4^+ -N有着相近的去除率,24 h平均 NH_4^+ -N去除速率为 $6.60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,高于菌株*Pseudomonas fluorescens* wsw-1001^[16]和*Pseudomonas stutzeri* YZN-001^[17]。养殖废水中 NO_2^- -N和 NO_3^- -N初期浓度都较低,自8 h时开始有了积累(NO_2^- -N $7.00\sim 7.70\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NO_3^- -N $17.4\sim 20.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。前期试验已表明菌株WT14具备同步硝化-反硝化能力,因此 NO_2^- -N和 NO_3^- -N波动是菌株WT14的氮代谢所引起,而且 $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ (DO $5.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的DO条件也抑制了WT14约一半的 NO_3^- -N还原活性,这也导致了 NO_2^- -N和 NO_3^- -N的积累。此外,对照组(图3b)各污染物浓度随时间变化均较小,这表明养殖废水中污染物的去除是由于菌株WT14的存在,因此继续进行装置试验,探究其实际应用潜能。

2.4 不同DO控制方式对养殖废水氮去除的影响

前期DO影响试验证明菌株WT14在高DO条件下有着较高的 NH_4^+ -N去除率和较低的 NO_3^- -N去除率,且反硝化活性更易受到DO的抑制,而养殖废水氮去

除可行性试验进一步证明WT14在高DO条件下处理高 NH_4^+ -N浓度养殖废水时其反硝化活性受到抑制,易积累 NO_3^- -N和 NO_2^- -N,从而影响TN的去除。为维持较高的 NH_4^+ -N去除率,同时促进 NO_3^- -N和 NO_2^- -N的还原,基于DO模型预测WT14在DO浓度为 $4.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,有约90%的 NH_4^+ -N去除率,在DO浓度为 $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,有约97.7%的 NO_3^- -N去除率,因此建立了两个污水处理系统R1(好氧+好氧)和R2(好氧+微氧)(图1)来明确好氧-微氧控制对TN去除的促进作用。如图4a所示,养殖废水进水TN、 NH_4^+ -N和COD浓度分别为 $261\sim 311$ 、 $253\sim 295\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1\ 088\sim 1\ 447\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而 NO_3^- -N和 NO_2^- -N浓度较低,分别为 $0.60\sim 6.60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.50\sim 4.90\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。R1和R2反应器出水 NH_4^+ -N和COD浓度相近,分别为 $0.9\sim 3.0$ (R1)、 $0.7\sim 2.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (R2)和 $27.0\sim 36.4$ (R1)、 $18.2\sim 30.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (R2),但是两个反应器出水TN浓度相差较大,分别为 $27.2\sim 30.9\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (R1)和 $4.8\sim 9.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (R2)(图4b和图4c)。这主要是由于R1反应器中 NO_3^- -N($17.5\sim 22.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和 NO_2^- -N($2.80\sim 5.70\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的积累,导致其TN去除率(90.5%)低于R2(97.6%)(图4d)。前期研究结果已经证明高DO条件(DO $4.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)有利于菌株WT14对 NH_4^+ -N的去除,硝化活性比反硝化活性更不易受到抑制,因此R1和R2有着相似的 NH_4^+ -N去除率(99.3%和99.3%),但是高DO会抑制WT14反硝化功能的发挥,从而导致了R1反应器中 NO_3^- -N和 NO_2^- -N的积累(图4d)。而R2后续的微氧条件重新激活了WT14的反硝化活性,从而促进了 NO_3^- -N和 NO_2^- -N的还原,因此R2中有着较低的 NO_3^- -N和 NO_2^- -N



(a)添加1% WT14菌悬液的养殖废水,(b)未添加1% WT14菌悬液的养殖废水
(a) 1% WT14 bacteria suspension was added, (b) 1% WT14 bacteria suspension was not added

图3 菌株WT14对养殖废水中氮和COD的去除

Figure 3 Removal of nitrogen and COD in breeding wastewater by strain WT14

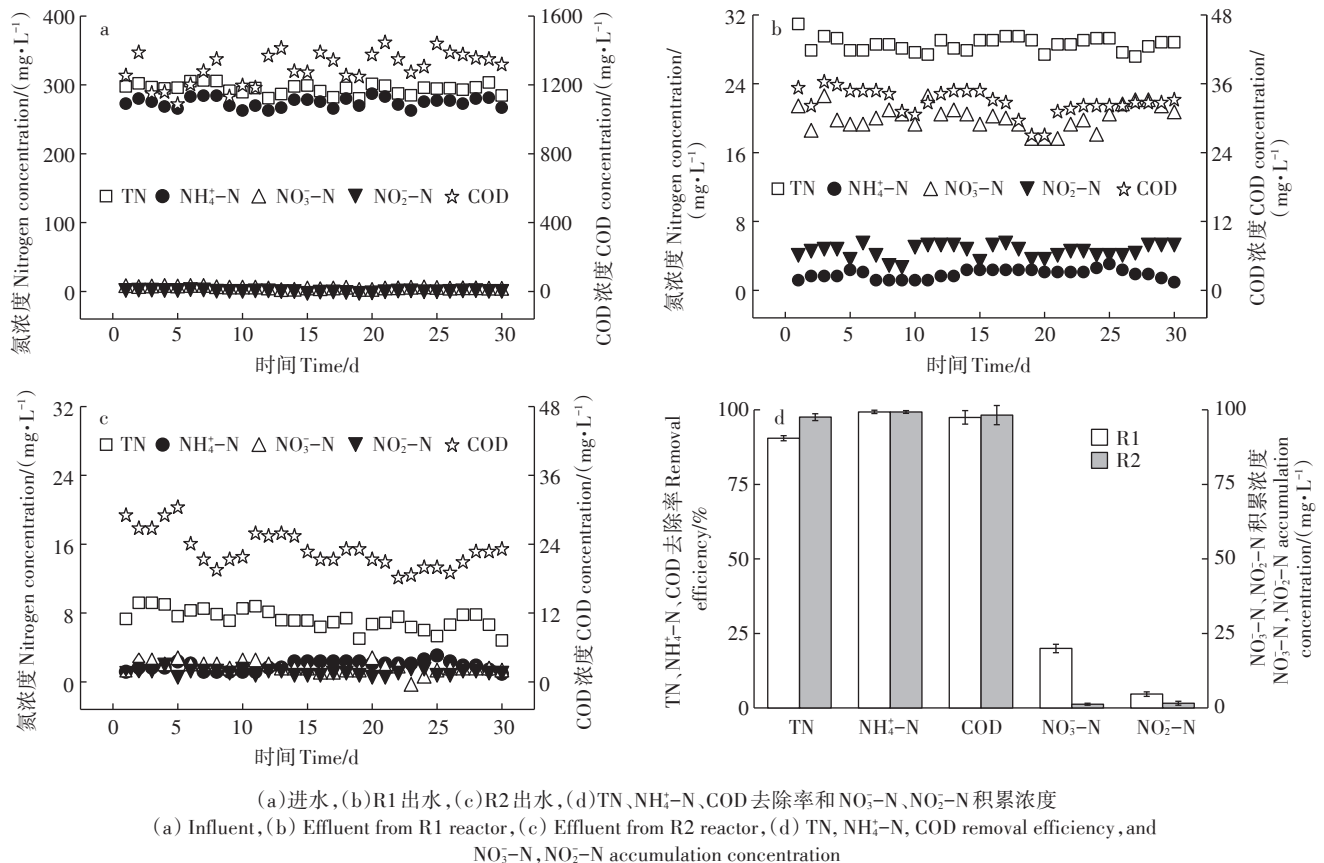


图4 固定床反应器对养殖废水中氮和COD的去除

Figure 4 Removal of nitrogen and COD in breeding wastewater from a fixed-bed reactor

积累量。此外, R1和R2反应器的COD去除率相差不大, 分别为97.4%和98.2%, 这说明菌株WT14对COD的去除并不受DO浓度变化的影响, 这与Yan等^[18]的结果一致。

异养硝化-好氧反硝化菌有着同步硝化反硝化的天然优势, 但是以前研究都过度着重于对NH₄⁺-N的去除, 而忽视了TN的去除^[19], 如接种*Bacillus methylophilus* L7的膜生物反应器中NH₄⁺-N的去除率能达到77.5%, 但是TN去除率仅有52.0%^[20]; *Alcaligenes faecalis* NR的NH₄⁺-N去除率为72.4%, 而TN去除率为64.2%^[21]; *Acinetobacter calcoaceticus* N7的NH₄⁺-N去除率为99.2%, 而TN去除率为67.1%^[22]。这主要是由于HN-AD菌的异养硝化和好氧反硝化相关酶对DO的敏感性不同, 这就导致HN-AD菌在高DO条件下处理高NH₄⁺-N废水时虽然有着较高的NH₄⁺-N去除率, 但是却有着NO₃⁻-N或NO₂⁻-N的积累, 从而影响TN的去除^[7]。本次试验通过好氧-微氧两级DO控制显著改善了这一点, 保证NH₄⁺-N去除率的同时, 促进了WT14的反硝化活性, 显著提高了TN去除率, 这对HN-AD菌用于处理高NH₄⁺-N废水具有重要意义。

3 结论

(1) 菌株WT14在以NH₄⁺-N作为底物时, 约92.1%的NH₄⁺-N以气态形式去除, 其余大部分同化为胞内氮, 同时NH₄⁺-N的存在会促进NO₃⁻-N的还原。

(2) 菌株WT14的NH₄⁺-N去除能力和NO₃⁻-N去除能力与DO浓度显著相关, 符合Boltzmann模型, 分别在DO浓度为2.53 mg·L⁻¹和5.40 mg·L⁻¹时有着二分之一的一半的最大NH₄⁺-N去除率和NO₃⁻-N去除率, 最大NH₄⁺-N去除率和NO₃⁻-N去除率分别为94.0%和98.4%。

(3) 好氧-微氧两级DO控制能够显著提高WT14的TN去除率, 在进水TN、NH₄⁺-N和COD浓度分别为261~311、253~295 mg·L⁻¹和1 088~1 447 mg·L⁻¹的养殖废水中, 平均去除率达到97.6%、99.3%和98.2%, 且几乎没有NO₃⁻-N或NO₂⁻-N的积累, 这为HN-AD菌株处理高污染负荷废水提供了参考和借鉴。

参考文献:

- [1] 林燕, 张焕杰, 刘曦, 等. 固定反硝化菌强化人工湿地处理低污染水研究[J]. 农业环境科学学报, 2016, 35(11): 2154-2162.

- LIN Yan, ZHANG Huan-jie, LIU Xi, et al. Performance of immobilized denitrifying bacteria in constructed wetland for slightly-polluted water treatment[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(11):2154-2162.
- [2] Zhou Y, Oehmen A, Lim M, et al. The role of nitrite and free nitrous acid(FNA) in wastewater treatment plants[J]. *Water Res*, 2011, 45(15):4672-4682.
- [3] Ren H, Su Y, Wang C, et al. Application of response surface methodology to optimize nitrate removal at low temperature by aerobic denitrification *Pseudomonas* strain An-1[J]. *Water Environ J*, 2018, 32(2):235-241.
- [4] Jin P, Chen Y, Xu T, et al. Efficient nitrogen removal by simultaneous heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacterium in a purification tank bioreactor amended with two-stage dissolved oxygen control[J]. *Bioresource Technol*, 2019, 281:392-400.
- [5] 王洁, 蓝江林, 刘波. 一株异养硝化细菌的分离鉴定和脱氮特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(4):805-810.
- WANG Jie, LAN Jiang-lin, LIU Bo. Isolation and denitrification characteristics of a heterotrophic nitrification bacterium[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(4):805-810.
- [6] Zhang Q, Liu Y, Ai G, et al. The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylophilus* strain L7[J]. *Bioresource Technol*, 2012, 108:35-44.
- [7] Sun Y, Li A, Zhang X, et al. Regulation of dissolved oxygen from accumulated nitrite during the heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of *Pseudomonas stutzeri* T13[J]. *Appl Microbiol Biot*, 2015, 99(7):3243-3248.
- [8] 王莹, 周巧红, 梁威, 等. 人工湿地高效好氧反硝化菌的分离鉴定及反硝化特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(6):1193-1198.
- WANG Ying, ZHOU Qiao-hong, LIANG Wei, et al. Isolation and identification of a high-efficiency aerobic denitrifier and its denitrifying characteristic in constructed wetland[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(6):1193-1198.
- [9] Zhao B, An Q, He Y L, et al. N₂O and N₂ production during heterotrophic nitrification by *Alcaligenes faecalis* strain NR[J]. *Bioresource Technol*, 2012, 116:379-385.
- [10] Huang T, Guo L, Zhang H, et al. Nitrogen-removal efficiency of a novel aerobic denitrifying bacterium, *Pseudomonas stutzeri* strain ZF31, isolated from a drinking-water reservoir[J]. *Bioresource Technol*, 2015, 196:209-216.
- [11] Luo P, Liu F, Zhang S, et al. Nitrogen removal and recovery from lagoon-pretreated swine wastewater by constructed wetlands under sustainable plant harvesting management[J]. *Bioresource Technol*, 2018, 258:247-254.
- [12] Zhang H, Zhao Z, Kang P, et al. Biological nitrogen removal and metabolic characteristics of a novel aerobic denitrifying fungus *Hanseniaspora uvarum* strain KPL108[J]. *Bioresource Technol*, 2018, 267:569-577.
- [13] Sun Y, Feng L, Li A, et al. Ammonium assimilation: An important accessory during aerobic denitrification of *Pseudomonas stutzeri* T13[J]. *Bioresource Technol*, 2017, 234:264-272.
- [14] Lei X, Jia Y, Chen Y, et al. Simultaneous nitrification and denitrification without nitrite accumulation by a novel isolated *Ochrobactrum anthropic* LJ81[J]. *Bioresource Technol*, 2019, 272:442-450.
- [15] 潘玉瑾, 刘芳, 孟爽, 等. 好氧反硝化菌 *P. chengduensis* ZPQ2 的筛选及其反硝化条件优化[J]. 环境工程, 2016, 34(1):41-46.
- PAN Yu-jin, LIU Fang, MENG Shuang, et al. Isolation and characterization of an aerobic denitrifying-heterotrophic bacterium[J]. *Environmental Engineering*, 2016, 34(1):41-46.
- [16] Zhang S, Sha C, Jiang W, et al. Ammonium removal at low temperature by a newly isolated heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium *Pseudomonas fluorescens* wsw-1001[J]. *Environ Technol*, 2015, 36(19):2488-2494.
- [17] Zhang J, Wu P, Hao B, et al. Heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by the bacterium *Pseudomonas stutzeri* YZN-001[J]. *Bioresource Technol*, 2011, 102(21):9866-9869.
- [18] Yan L, Liu S, Liu Q, et al. Improved performance of simultaneous nitrification and denitrification via nitrite in an oxygen-limited SBR by alternating the DO[J]. *Bioresource Technol*, 2019, 275:153-162.
- [19] 颜薇芝, 张汉强, 余从田, 等. 1株异养硝化好氧反硝化不动杆菌的分离及脱氮性能[J]. 环境工程学报, 2017, 11(7):4419-4428.
- YAN Wei-zhi, ZHANG Han-qiang, YU Cong-tian, et al. Isolation of *Acinetobacter* sp. YN3 and its heterotrophic nitrification-aerobic denitrification characters[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2017, 11(7):4419-4428.
- [20] Yao Y, Zhang Q, Liu Y, et al. Simultaneous removal of organic matter and nitrogen by a heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacterial strain in a membrane bioreactor[J]. *Bioresource Technol*, 2013, 143:83-87.
- [21] Zhao B, Tian M, An Q, et al. Characteristics of a heterotrophic nitrogen removal bacterium and its potential application on treatment of ammonium-rich wastewater[J]. *Bioresource Technol*, 2017, 226:46-54.
- [22] 田雪雪, 程玉立, 张圆圆, 等. 一株异养硝化-好氧反硝化功能菌的分离鉴定及其脱氮特性[J]. 环境工程学报, 2017, 11(2):1269-1275.
- TIAN Xue-xue, CHENG Yu-li, ZHANG Yuan-yuan, et al. Isolation identification and nitrogen removal characteristics of a heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2017, 11(2):1269-1275.