

施氏假单胞菌菌株的脱氮特性

胡国元¹, 张凯¹, 袁军¹, 杨洋¹, 雷梦婕¹, 章建国²

(1. 武汉工程大学化工与制药学院 绿色化工过程教育部重点实验室,

湖北省新型反应器与绿色化学工艺重点实验室, 湖北 武汉 430074;

2. 合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽 合肥 230009)

摘要: 对一株具有异养硝化-好氧反硝化功能的施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)菌株 WIT-1 进行研究, 初步探讨了菌株 WIT-1 的脱硝态氮能力、对硝态氮的最高耐受性及在未灭菌生活污水的实际脱氮效果。结果表明, 在初始化学需氧量 (Chemical Oxygen Demand, COD) 为 500 mg/L 时, 48 h 对硝态氮的去除率为 96.38%。在相同 COD 条件下, 菌株 WIT-1 对脱硝态氮耐受性为 800 mg/L。当菌株 WIT-1 的接种量为 2% 时, 12 h 对生活污水中的氨氮去除率为 32.741%。当初始 COD 含量增加到 500 mg/L 或者菌株的接种量提高为 8% 时, 12 h 对生活污水中的氨氮去除率分别为 52.765% 和 100%。但 48 h 对氨氮的去除率都只有 20% 左右。

关键词: 施氏假单胞菌; 硝态氮; 氨氮; 脱氮; 生活污水

中图分类号: S154.3

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.1674-2869.2012.06.002

0 引言

污水脱氮处理厂是基于传统生物脱氮工艺而建造的, 即先由自养好氧硝化细菌进行硝化作用把氨氮变成硝酸氮, 再由厌氧或者缺氧的异养反硝化细菌进行反硝化作用, 把硝酸氮变成氮气。这是两个单独的过程, 一般在两个反应单元交替进行。这个系统有如下几个缺点^[1-3]: **a.** 反应周期长, 基建设施投入大, 反应后留下产物难处理; **b.** 菌种问题, 即自养硝化菌生长缓慢, 易受温度和有机物的影响; **c.** 脱氮过程中存在反应产物对硝化与反硝化的遏制作用; **d.** 反硝化过程中, 反硝化细菌是异养菌, 它的生长和脱氮都需要大量的有机碳源, 而系统的有机碳在硝化阶段的曝气池中大部分被消耗, 当反硝化过程有机碳含量低时往往向其投入碳源 (如甲醇)。而施氏假单胞菌 (*Pseudomonas stutzeri*) 菌株 WIT-1 是异养硝化-好氧反硝化菌株, 在最适条件下, 24 h 对氨氮的去除率可以达到 100%, 48 h 对化学需氧量 (Chemical Oxygen Demand, COD) 的去除率为 73.44%^[4]。它的发现克服上述缺点, 使同时硝化与反硝化工艺成为可能, 所以菌株 WIT-1 对污水脱氮的应用前景广阔。

本研究主要考察菌株 WIT-1 对硝态氮的降解作用和对生活污水脱氨氮的基本条件, 为菌株 WIT-1 实际应用做前期的理论探讨工作。

1 实验部分

1.1 材料

1.1.1 菌种来源 施氏假单胞菌 (*P. stutzeri*) 菌株 WIT-1 为本实验室分离保存菌种。

1.1.2 培养基 反硝化培养基^[4] (g/L): Na₂HPO₄ · 7H₂O 7.9; KH₂PO₄ 1.5; MgSO₄ · 7H₂O 0.1; 丁二酸钠 0.845; 微量元素溶液 2 mL; 其中 KNO₃ 的质量含量随着试验内容而变。

生活污水, 取自中国地质大学 (武汉) 生活污水排污口, COD 为 300 mg/L 左右, 氨氮含量为 38 mg/L 左右。

1.2 方法

1.2.1 菌株 WIT-1 对脱硝态氮过程试验 以丁二酸钠为碳源, 配制 COD 为 500 mg/L, 初始硝态氮质量浓度为 100 mg/L 的反硝化培养基。250 mL 锥形瓶分装 100 mL 培养液, 接种扩大培养后的菌株 WIT-1 菌液 2% (体积比), 置于 30 ℃、180 r/min 的摇床上振荡培养。分别在培养 0、6、12、24、48 h 取样, 离心 5 min, 转速 8 000 r/min, 取上清

收稿日期: 2012-04-16

基金项目: 湖北省新型反应器与绿色工艺重点实验室开放基金 (RGCT201101)

作者简介: 胡国元 (1965-), 男, 湖北红安人, 教授, 博士, 硕士研究生导师, 研究方向: 环境微生物。

液测定其氨氮含量,对照组接同体积的无菌水。

1.2.2 菌株 WIT-1 对硝态氮浓度的耐受性试验

以丁二酸钠为碳源,配制 COD 为 500 mg/L,初始硝态氮浓度分别为 100、200、300、400、500、800 mg/L 的培养基。250 mL 锥形瓶装液量、接种量、培养条件、取样、离心等同 1.2.1,在培养 24 h 后测定其硝态氮的去除率。

1.2.3 灭菌生活污水脱氨氮试验 在装有四粒玻璃珠和 150 mL 灭菌的生活污水的 250 mL 锥形瓶中,接种量、培养条件、取样、离心、氨氮含量测定等同 1.2.1,另外测定 0、48 h COD 含量。

1.2.4 未灭菌生活污水脱氨氮试验 在装有四粒玻璃珠和 150 mL 未灭菌的生活污水的 250 mL 锥形瓶中,接种量、培养条件、取样、离心、氨氮含量测定等同 1.2.1,同时测定 0、6、12、24、48 h COD 含量。对照组接同体积的无菌水。

1.2.5 提高未灭菌的生活污水中 COD 含量的脱氨氮试验 在未灭菌的生活污水中添加丁二酸钠的含量,使生活污水的初始 COD 含量为 500 mg/L,接种量、培养条件、取样、离心、氨氮含量测定等同 1.2.4,不设置对照组,测定 0、48 h COD 含量。

1.2.6 提高未灭菌生活污水接菌量的脱氨氮试验 菌株 WIT-1 的接菌量由原来的 2% 增加到 8%,培养条件、取样、离心、氨氮含量与 COD 含量测定等同 1.2.5。

1.2.7 检测方法 NO_3^- -N: 紫外分光光度法^[5]; NH_4^+ -N: 纳氏试剂光度法^[5]; COD: 重铬酸钾法^[5]。

2 结果与分析

2.1 菌株 WIT-1 对脱硝态氮过程测定

菌株 WIT-1 去除 NO_3^- -N 的结果如图 1 所示:在一定时间内,菌株 WIT-1 对硝酸盐氮有很好且较为稳定的去除效果。48 h 对硝态氮的去除率为 96.38%。而对照组中硝态氮浓度基本上变化不大。而蔡昌凤等^[6]研究的高效好氧反硝化细菌 F1,在初始硝态氮含量为 194.1 mg/L,很高 COD 浓度下,30% 的接种量,连续曝气 6 h,其对硝态氮的去除率为 99.8%。

2.2 菌株 WIT-1 对硝态氮浓度的耐受性试验

如图 2 所示,不同初始硝态氮条件下菌株 WIT-1 去除硝态氮试验结果表明,随着初始硝态氮浓度的增加硝态氮去除率在下降。当初始硝态氮的含量小于 500 mg/L 时,其对硝态氮的去除率

为 5.20% ~ 98.04%,相应的去除量为 25 ~ 98.04 mg/L。当初始硝态氮的含量 800 mg/L 时,其对硝态氮的去除率为 0。这有可能是低 C/N 比能使菌株 WIT-1 对硝态氮浓度的耐受性降低。

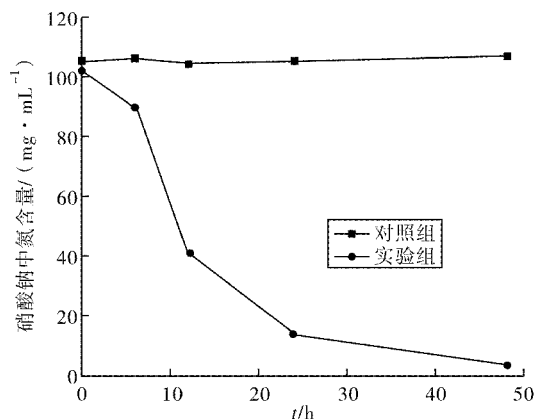


图 1 施氏假单胞菌菌株 WIT-1 对 NO_3^- -N 的降解曲线

Fig. 1 Degradation curves of nitrate nitrogen of *P. stutzeri* strain WIT-1

注:图中数据为 3 次重复试验结果的平均值,以下同。

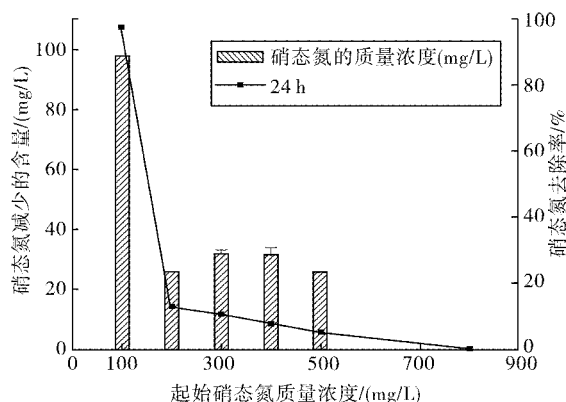


图 2 施氏假单胞菌菌株 WIT-1 不同初始硝态氮条件下去除硝态氮的影响

Fig. 2 Effect of *P. stutzeri* strain WIT-1 removing nitrate nitrogen under different initial nitrate nitrogen

2.3 灭菌生活污水脱氨氮试验

为了考察菌株 WIT-1 在生活污水中应用能力,先把菌株 WIT-1 接种到灭菌的生活污水中,测量菌株 WIT-1 的脱氨氮和除 COD 的能力。菌株 WIT-1 在灭菌生活污水脱氨氮试验结果如图 3 所示。由图 3 可知,在 12 h 菌株 WIT-1 对氨氮的去除率为 92.845%,并且在 12 h 以后趋于稳定。这与文献^[4]中菌株 WIT-1 在不同的 COD 浓度下脱氨氮过程的测定结果中,脱氨氮曲线的趋势是一样的。这说明灭菌生活污水的 COD 可能在 500 mg/L 左右或者以上。对灭菌生活污水的初始 COD 测定结果 693.76 mg/L,比未灭菌的生活污水的 COD 高,究其原因可能是一些浮游的不溶有机物和细

菌经过高温分解而充分溶解所致,48 h 灭菌生活污水的 COD 为 2 016.24 mg/L,这说明菌株 WIT-1 对 COD 没有降解反而增加,可能是污水中缺少某些必须元素,或者某些毒素遏制了菌株 WIT-1 的生长或则某些酶受到遏制。

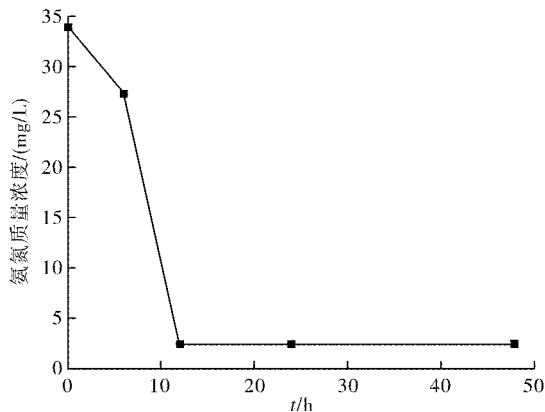


图 3 施氏假单胞菌株 WIT-1 在灭菌生活污水脱氨氮曲线

Fig. 3 The curves of *P. stutzeri* strain WIT-1 removing ammonia under the sterilization domestic sewage

2.4 未灭菌生活污水脱氨氮试验

前面所做人工废水脱氨氮试验和灭菌生活污水脱氨氮试验,都是人工模拟试验,考虑菌种 WIT-1 在没有其它菌种干扰条件下,脱氨氮和除 COD 的试验.为了验证菌株 WIT-1 是否能够在实际污水中脱氨氮,直接把菌株接种到未灭菌生活污水中进行脱氨氮试验.其测量结果如图 4 和图 5 所示。

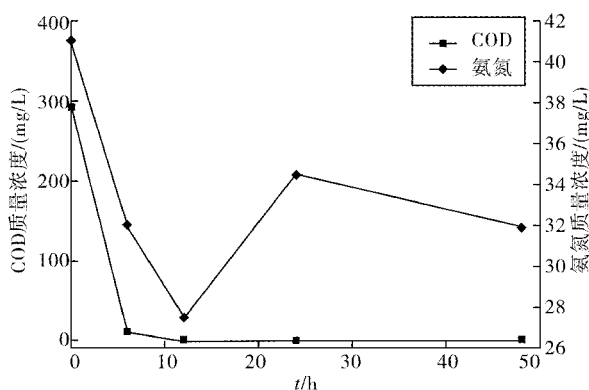


图 4 施氏假单胞菌株 WIT-1 在未灭菌生活污水脱氨氮和去 COD 曲线

Fig. 4 The curves of *P. stutzeri* strain WIT-1 removing ammonia and COD under the non-sterilized domestic sewage

由图 4 和图 5 可知,实验组中菌株 WIT-1 在未灭菌生活污水的脱氨氮曲线是先降低后上升趋于平衡,而对照组中氨氮基本上无明显变化.氨氮含量上升的原因可能是 a. 菌株 WIT-1 没有有机物作为碳源,脱氨氮能力减弱,而污水中其它微生物多多少少都有些合成氨氮作用. b. 菌株 WIT-1 与污水中其它微生物有竞争作用,竞争使菌株 WIT-1

的细胞破解死亡,其中的氨氮又被重新释放出来. c. 祝贵兵等^[7]人研究的某些抑制剂会影响硝化反应,生活污水中的某些物质遏制了菌株 WIT-1 的脱氨氮的硝化酶. COD 含量都是下降趋势,对照组比实验组下降得快.因为实验组菌株 WIT-1 在脱氨氮前 COD 差不多都有一个上升的趋势.菌株 WIT-1 对生活污水脱氨氮效果不是很理想,12 h 对生活污水中的氨氮的去除率为 32.741%,但 48 h 后对氨氮的去除率下降到 22.203%. Joo 等^[8]人研究的异养硝化菌 *Alcaligenes faecalis* No. 4 处理养猪废水时,当 C/N 质量比为 4 时,对氨氮的去除率为 80%,当 C/N 质量比为 7~8 时,对氨氮的去除率为 100%. 所以适当调节 C/N 有助于异养硝化作用.针对原因 a,通过添加丁二酸钠提高污水的 COD 从而提高其对氨氮的去除率;针对原因 b,通过增大其接种量来提高其对氨氮的去除率。

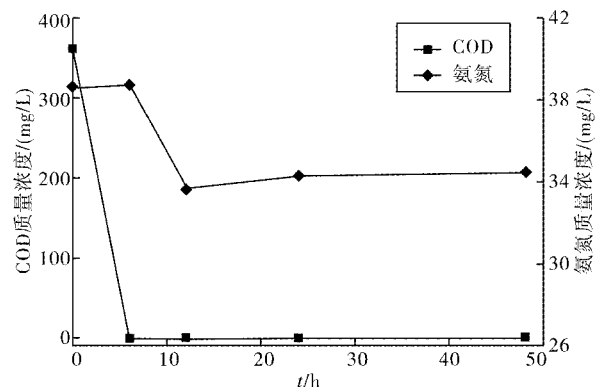


图 5 对照组未灭菌生活污水脱氨氮和去 COD 曲线

Fig. 5 The curves of removing ammonia and COD under the non-sterilized domestic sewage without the strain WIT-1

2.5 提高未灭菌的生活污水中 COD 含量的脱氨氮试验

为了解决菌株 WIT-1 在未灭菌生活污水中因为没有足够有机物作为碳源,脱氨氮能力减弱,向污水培养基中加入丁二酸钠使其初始 COD 的含量为 500 mg/L. 通过提高 COD 含量来提高菌株 WIT-1 对氨氮的去除率,其测量结果如图 6 所示. 菌株 WIT-1 在未灭菌生活污水的脱氨氮曲线是先降低后上升趋于平衡. 它对生活污水脱氨氮效果也不是很理想,虽然 12 h 对氨氮的去除率为 52.765%,比没有加丁二酸钠脱氨效率好,但是 48 h 后对氨氮的去除率又下降到 21.507%. 图 6 与图 4 中脱氨氮曲线情况一致,其曲线上升可能原因同 2.4 中原因,也有可能丁二酸钠增加的量不够. 针对上述原因,增大其接种量,不仅提高了 COD 含量也增加了 WIT-1 菌种含量。

2.6 提高未灭菌生活污水接菌量的脱氨氮试验

提高接菌量,不仅能提高菌种 WIT-1 与其他

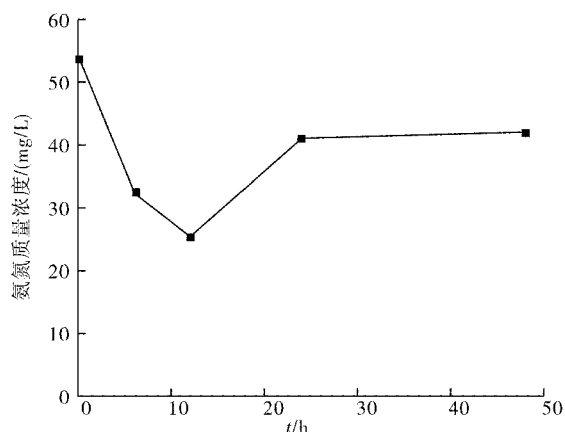


图6 增加 COD 施氏假单胞菌菌株 WIT-1 脱氨氮曲线

Fig. 6 The curves of *P. stutzeri* strain WIT-1 removing ammonia by increasing the COD

菌种的竞争能力,而且能够提高其对氨氮的去除率.通过提高接菌量,来提高菌种 WIT-1 在未灭菌生活污水中进行脱氨氮能力.提高接菌量其氨氮含量变化曲线如图 7 所示.

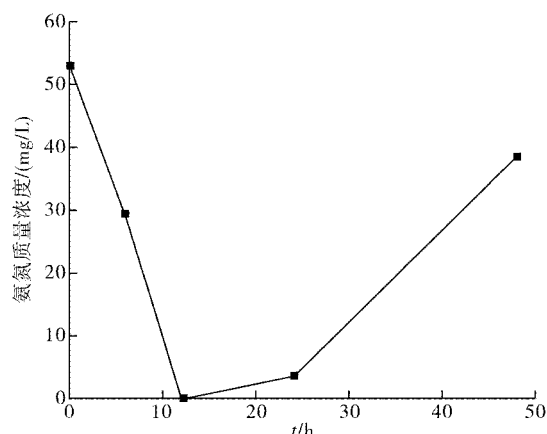


图7 增加接菌量施氏假单胞菌菌株 WIT-1 脱氨氮曲线

Fig. 7 The curves of *P. stutzeri* strain WIT-1 removing ammonia by increasing the inoculation

由图 7 可知,在 12 h,菌株 WIT-1 对氨氮的去除率达到了 100%,但是在 12 h 以后,其氨氮含量有大幅度提高,在 48 h 其对氨氮的去除率下降到 27.428%.其初始 COD 含量为 1 669.36 mg/L,48 h 时 COD 含量为 86.72 mg/L.氨氮回升原因可能是生活污水中的某些物质遏制了菌株 WIT-1 的脱氨氮的硝化酶.菌株 WIT-1 与污水中其它微生物有竞争作用,竞争使菌株 WIT-1 的细胞破解死亡,其中的氨氮又被重新释放出来.对比图 4 到图 7,菌株 WIT-1 在未灭菌生活污水脱氨氮曲线都是先降低后上升,在 12 h 对氨氮的去除率随着 COD 含量和接种量的依次增加而增加,最高时达到了 100%,并且 48 h 对氨氮的去除含量都在 10 mg/L 左右.

3 结 语

a. 异养硝化-好氧反硝化菌株 WIT-1 对硝态氮的耐受性为 800 mg/L.

b. 菌株 WIT-1 对灭菌生活污水的脱氨氮效果显著,去除率能达到 92.845%,但它对灭菌生活污水 COD 的去除效果不理想.分析可能是因为某些物质遏制了菌株生长或者菌株的某些酶受到遏制.

c. 当菌株 WIT-1 应用于未灭菌生活污水时,菌株 WIT-1 的接种量为 2%,12 h 对生活污水中的氨氮的去除率为 32.741%.当初始 COD 含量增加到 500 mg/L 或者菌株的接种量提高为 8% 时,12 h 对氨氮的去除率分别为 52.765%、100%,但 48 h 对氨氮的去除率又下降到 20% 左右.而在菌株用于人工废水时脱氨氮效果良好,说明菌株 WIT-1 受自然环境影响比较大.

当菌株 WIT-1 应用于未灭菌生活污水时,如果脱氨氮反应在 12 h 停止,是否有助于提高整体氨氮的去除率;摇瓶试验脱氨氮效率与开放试验脱氨氮效率是否一致以及如何把菌株 WIT-1 作为工程菌株应用污水,这些都需要进一步的研究.

参考文献:

- [1] 丁元娜,代进,腾欣宇. 生物脱氮技术研究现状探讨[J]. 纯碱工业,2011,1: 22-25.
- [2] 王英阁,胡宗泰. 生物脱氮新工艺研究进展[J]. 上海化工,2008,33(11): 1-5.
- [3] 黄君涛,钟理,熊帆. 污水生物脱氮新工艺[J]. 广东化工,2004(9/10): 55-58.
- [4] 张凯,雷梦婕,胡国元,等. 一株好氧反硝化细菌 WIT-1 的分离鉴定及其脱氨氮特性[J]. 武汉工程大学学报,2011,33(11): 14-18.
- [5] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社,2002: 211-213,266-268,279-281.
- [6] 蔡昌凤,梁磊. 高效好氧反硝化细菌的筛选及脱氮特性的研究[J]. 环境科学与技术,2011,34(1): 42.
- [7] 祝贵兵,彭永臻,郭建华. 短程硝化反硝化生物脱氮技术[J]. 哈尔滨工业大学学报,2008,40(10): 1552-1557.
- [8] Joo H S, Hirai M, Shoda M. Piggery wastewater treatment using *Alcaligenes faecalis* strain No. 4 with heterotrophic nitrification and aerobic denitrification[J]. Water Research,2006,40(16): 3029-3036.

(下转第 17 页)