

低温对硫自养反硝化脱氮系统的影响及调控措施

缪博, 蒋永, 刘攀攀, 王东麟, 郝雯, 梁鹏, 黄霞
(清华大学环境学院, 北京 100084)

摘要: 为了提高低温下硫自养反硝化系统的脱氮性能,通过改变电子供体(硫源),并结合异养反硝化作用,利用序批试验,比较了不同温度下反应系统的脱氮性能。试验结果表明,低温条件下硫自养反硝化脱氮作用受到明显的抑制,5℃时硝态氮的还原反应速率常数为 $0.0037 \text{ mg}^{0.5}/(\text{L}^{0.5} \cdot \text{h})$,仅为25℃时的3.2%,并且亚硝态氮积累严重,pH值降低明显。相较于单质硫,低温条件下投加硫代硫酸盐或乙酸盐后,系统的反应速率常数分别提升2.81倍和8.49倍。加入乙酸盐能够有效缓解亚硝态氮的积累,5℃时亚硝态氮的还原反应速率常数为 $0.2000 \text{ mg}^{0.5}/(\text{L}^{0.5} \cdot \text{h})$,而加入单质硫或硫代硫酸盐试验组的亚硝态氮浓度没有明显下降。

关键词: 硫自养反硝化; 低温; 硫代硫酸盐; 乙酸盐; 亚硝态氮

中图分类号: TU992.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2019)05-0105-05

Effect of Low Temperature on Sulfur Autotrophic Denitrification and Its Improvement

MIAO Bo, JIANG Yong, LIU Pan-pan, WANG Dong-lin, HAO Wen,
LIANG Peng, HUANG Xia

(School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The denitrification performance of the reaction system at different temperatures was compared by changing the electron donor (sulfur source) and combining with the heterotrophic denitrification through batch experiments, in order to improve denitrification performance of the sulfur autotrophic denitrification system at low temperature. The results showed that the effect of sulfur autotrophic denitrification was significantly inhibited at low temperature. The half-reaction rate constant of nitrate removal was $0.0037 \text{ mg}^{0.5}/(\text{L}^{0.5} \cdot \text{h})$ at 5℃, which was equal to 3.2% of the half-reaction rate constant at 25℃. Meanwhile, the nitrite nitrogen accumulated greatly and the pH dropped quickly under low temperature. The denitrification rate was increased by 2.81 times and 8.49 times respectively when the thiosulfate and acetate were added under low temperatures, compared with that of elemental sulfur. Adding acetate also helped to reduce the accumulation of nitrite nitrogen, and the half-reaction rate constant of nitrite nitrogen removal was increased to $0.2000 \text{ mg}^{0.5}/(\text{L}^{0.5} \cdot \text{h})$ at 5℃. However, there was no significant decrease of nitrite nitrogen with the addition of elemental sulfur or thiosulfate.

Key words: sulfur autotrophic denitrification; low temperature; thiosulfate; acetate; nitrite nitrogen

水体中高浓度的硝态氮不仅会导致水体富营养化,而且还会对人体健康构成威胁。通过生物反硝化技术可以高效、经济地去除水中硝态氮,尤其是硫自养反硝化技术,因无需投加有机碳、污泥产量低、可避免有机物二次污染、反应时间短、处理成本低等优势而受到广泛关注^[1-2]。但实际工程中,低温会抑制反硝化菌的活性,进而导致脱氮速率的降低,使出水硝态氮无法达标排放^[3]。为了提升低温条件下硫自养反硝化系统的脱氮性能,可以从电子供体(硫源)和异养反硝化过程两方面着手。硫代硫酸盐作为一种可溶性硫,比疏水性单质硫更易被硫氧化菌利用,常温下硫代硫酸盐作为电子供体时硝态氮的还原速率为单质硫的10倍^[4]。硫自养反硝化混合菌体系中含有一定量的异养反硝化菌^[2],而此类细菌具有生长快、易在短期内形成大量微生物的优势,可能会对低温表现出更好的抗性。因此,低温条件下,利用硫代硫酸盐或有机物作为电子供体可能会提升反硝化系统的脱氮能力。

笔者以硫自养反硝化混合菌作为研究对象,在低温条件下通过投加硫代硫酸盐和乙酸盐(AC^-)分析生物反硝化脱氮的性能与恢复能力,并考察亚硝态氮的积累情况和pH值的变化,旨在为硫自养反硝化系统在低温时维持稳定的脱氮性能提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 菌种来源

本试验所用菌种来源于已在实验室稳定运行超过1年的硫填充柱^[5]。为获得较成熟的菌种,取硫填充柱中附着有棕色成熟生物膜的硫颗粒,并置于烧杯中振荡,从而获得含有生物膜的悬浊液。将含有生物膜的悬浊液在8 000 r/min转速下离心5 min,离心后的沉淀物即为含有较多生物量的成熟硫自养反硝化生物膜。

为降低掺杂在生物膜中原有硫粉的干扰,在试验开始前,先将取下的成熟硫自养反硝化生物膜置于硝态氮溶液(60 mg/L)中培养3 d,之后弃去清液保存于4℃冰箱中待用。

1.2 试验用水

试验用水采用自配水,硝态氮浓度为60 mg/L, pH值为7.2~7.5,具体成分: $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (0.15 g/L)、 $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ (0.22 g/L)、 $NaHCO_3$ (0.47 g/L)、 $NaNO_3$ (0.365 g/L)、 NH_4HCO_3 (0.03

g/L)、 $MgCl_2$ (0.005 g/L)、 $CaCl_2$ (0.001 g/L)。

1.3 试验方法

以100 mL血清瓶作为反应容器,试验开始前,向每个血清瓶中加入80 mL硝态氮溶液,并在3组血清瓶中分别投加单质硫、硫代硫酸钠与乙酸钠,之后通入15 min氮气以排出溶液与血清瓶内原有的氧气。每个血清瓶接种2 mL含有硫自养反硝化混合菌的悬浊液,最后用橡胶塞子盖紧,并用铝盖封住瓶口。试验共经历4个阶段,分别为常温25℃,低温15和5℃,最后恢复期为15℃。在每个阶段的结尾,弃去血清瓶内上层50 mL溶液,并重新加入65 mL新配溶液。为了方便控制温度,所有血清瓶均静置在低温培养箱中。试验设计详见表1,其中硫粉仅在第1个试验周期投加6 000 mg,之后的反应消耗与换水均不会造成原有硫粉的大量消耗,因此能一直维持过量,不需再次补充。

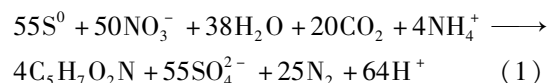
表1 试验方案

Tab. 1 Testing program

时间/h	温度/℃	第1组 起始 硝态氮/ (mg· L ⁻¹)	第2组		第3组	
			起始 硝态氮/ (mg· L ⁻¹)	硫代 硫酸盐 /mg	起始 硝态氮/ (mg· L ⁻¹)	乙酸盐 /mg
0~47	25	63.24	62.24	102.92	64.20	26.36
48~175	15	45.04	43.41	102.92	40.72	26.36
176~634	5	53.15	45.90	137.22	44.59	35.15
635~791	15	56.58	48.44	137.22	43.02	35.15

1.4 检测分析方法

硝态氮、亚硝态氮、硫酸根等采用离子色谱仪测定,测试前采用0.45 μm的水系滤膜过滤水样;pH值采用pH检测仪测定;利用低温培养箱保持反应温度。本试验中,硫自养反硝化反应见式(1)。



硫自养反硝化过程中,硝态氮的还原过程遵循0.5级动力学,详见式(2)^[6]。

$$\frac{dC_A}{dt} = -kC_A^{0.5} \quad (2)$$

式中: C_A 为硝态氮浓度,mg/L; t 为反应时间,h; k 为反应速率常数,mg^{0.5}/(L^{0.5}·h)。

2 结果与讨论

2.1 低温对单质硫自养反硝化的影响

当以单质硫作为电子供体时,各阶段硝态氮和

硫酸根的变化如图1所示。可以看出,25℃条件下反应47 h后,对硝态氮的去除率为58%;而在15℃时,175 h后对硝态氮的去除率为64%;5℃时,634 h后对硝态氮的去除率仅为20%。可见,对脱氮的抑制程度随温度的降低而加重。经计算,15℃下硝态氮的还原速率为4.5 mg/(L·d),为25℃的24%,而5℃时硝态氮的还原速率则为25℃时的3%。恢复阶段硝态氮还原速率立刻升高,表明在试验温度范围内,低温对于体系内微生物的抑制随温度的升高而得以恢复。

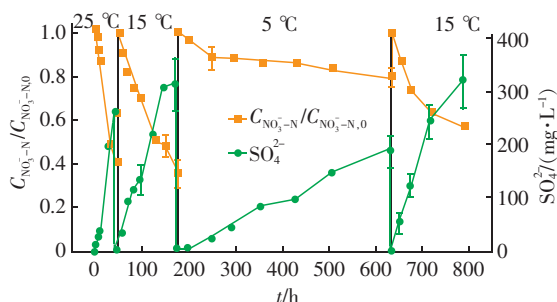


图1 不同温度下硝态氮和硫酸根浓度的变化

Fig.1 Change of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and sulfate concentration at different temperatures

由式(1)可知,将1 mg 硝态氮完全还原为氮气将产生7.5 mg 硫酸根。而本系统中实际产生的硫酸根量要显著高于理论值,这是由于取样操作、更换溶液基质或调节pH值导致溶液中仍残有溶解氧,其与硫在微生物的作用下产生了硫酸根。

不同温度下pH值和亚硝态氮的变化见图2。

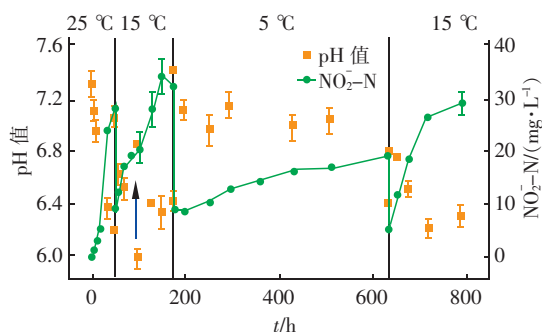


图2 不同温度下pH值和亚硝态氮浓度的变化

Fig.2 Change of pH value and $\text{NO}_2^- - \text{N}$ concentration at different temperatures

由图2可知,各阶段中pH值均出现了下降。在15℃中期,pH值下降到6.0以下。因此,在试验进行到100 h时,加入适量NaOH溶液后缓慢振荡,调节pH值至7.0左右,但仍然无法阻止后续反应

中pH值的快速、持续下降。已有研究表明,硫自养反硝化反应的适宜pH值为6.5~7.5,因此反应后期若不调节pH值,pH值很有可能降低至6.0以下,对反硝化过程产生明显抑制作用。

从图2还可以看出,低温下亚硝态氮积累严重。经计算,15和5℃条件下,分别有97.8%与95.0%的硝态氮被还原为亚硝态氮,而没有进一步被还原为氮气。在反硝化过程中,硝态氮首先被还原为亚硝态氮,亚硝态氮再进一步被还原为氮气,微生物在这两个过程中利用的酶蛋白存在差异^[7],反硝化脱除硝态氮的速度与亚硝态氮的积累存在差异,说明低温对硫自养反硝化菌亚硝态氮还原酶系的抑制作用强于硝态氮还原酶系。有研究表明,过高的亚硝态氮浓度会对硫自养反硝化菌产生抑制作用。因此,在低温情况下,随着亚硝态氮的积累,会对系统内的硫自养反硝化菌形成反馈抑制作用,这不利于系统进行脱氮。综上所述,由于低温对硫自养反硝化菌活性的抑制作用,系统还原硝态氮的能力减弱,并且会出现pH值的迅速下降与亚硝态氮的积累,进一步抑制系统的脱氮性能。

2.2 硫自养反硝化去除硝态氮的调控分析

为提高硫自养反硝化系统在低温下的脱氮性能,向硫自养反硝化混合菌体系内投加硫代硫酸盐或乙酸盐,以取代原有单质硫。图3为不同电子供体下硝态氮的变化。相比单质硫,以硫代硫酸盐或乙酸盐作为电子供体都能显著提升硝态氮的还原速率,且恢复阶段也能迅速恢复。同时,加入乙酸盐系统的反应前期,硝态氮的还原过程并未出现明显的停滞,这是由于混合菌体系内存在异养反硝化菌与兼性菌能快速利用乙酸盐,同时体系内硫自养反硝化菌能利用残留的还原态硫,因此反硝化速率较高。

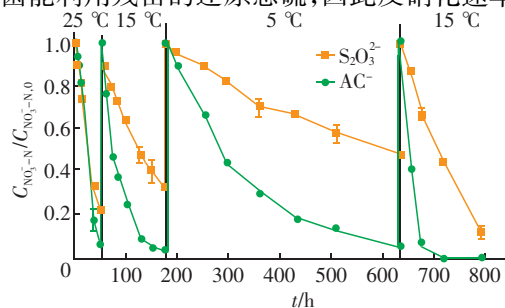


图3 不同电子供体下硝态氮的变化

Fig.3 Change of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ concentration with different electron donors

图4为不同阶段下各组还原硝态氮反应的速率常数。可知,25℃时,加入乙酸盐和硫代硫酸盐的反应速率常数分别为0.225 1和0.183 6 $\text{mg}^{0.5}/(\text{L}^{0.5} \cdot \text{h})$,分别是单质硫的1.93倍与1.57倍。在低温情况下,15℃时加入乙酸盐和硫代硫酸盐的反应速率常数是单质硫的3.18倍与1.05倍;5℃时,扩大为8.49倍与2.81倍。在恢复阶段,3组反应速率常数均能恢复到15℃的反硝化脱氮水平,甚至有所升高,这可能是由于体系内生物量增加所致。因此,在低温条件下,相较于单质硫,硫自养反硝化混合菌以乙酸盐或硫代硫酸盐作为电子供体时对硝态氮的去除速率增大,温度越低提升效果越显著。

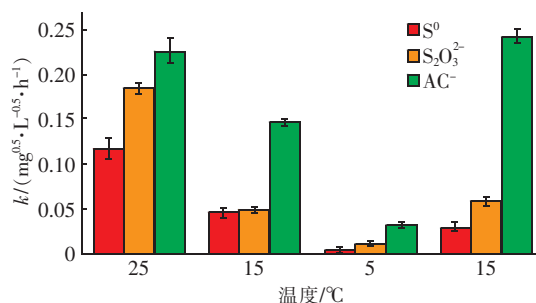


图4 不同阶段下各组还原硝态氮反应的速率常数

Fig. 4 Nitrate reduction rate constants in different phases

相比疏水的单质硫,作为溶解性还原态的硫代硫酸盐更容易被硫自养反硝化菌所利用。低温会对硫自养反硝化菌蛋白的活性产生抑制作用,而微生物分泌的与硫代谢相关的蛋白既包括硫氧化蛋白,也包括硫转移与传递蛋白^[8]。因硫代硫酸盐为离子态,易于传递,因此在低温下硫转移与传递蛋白的抑制作用对硫代硫酸盐的代谢影响较小,表现为硝态氮的还原抑制作用相对更弱。部分异养反硝化菌的繁殖能力与对低温的抗性要优于硫自养反硝化菌,因此当投加有机物时,异养反硝化菌能更好地发挥脱氮能力,使得系统对低温的抗性有所提高。本试验中,硫代硫酸盐组产生的硫酸根略高于硫自养反硝化理论值,这可能也是由于溶液中含有一定量的溶解氧被用来氧化还原态硫。乙酸盐组也有少量的硫酸根产生,这是由于接种的硫自养反硝化混合菌中可能含有一定量未被消耗掉的还原态硫,这些硫被继续氧化为硫酸根。

2.3 硫自养反硝化去除亚硝态氮的调控分析

图5为不同电子供体下亚硝态氮的变化。可以

看出,硫代硫酸盐组的亚硝态氮积累明显。经计算,15℃时有91.8%的硝态氮转化为亚硝态氮,且没有进一步转化为氮气,而5℃时则超过100%。在各阶段,尽管乙酸盐组也存在亚硝态氮的积累,但积累量较低,仅在15℃反应后期积累较多,但积累的亚硝态氮仅占还原的硝态氮的20.5%。并且从其他阶段的亚硝态氮浓度来看,随着反应的进行,乙酸盐组的亚硝态氮被迅速还原为氮气。这可能是由于相比自养反硝化菌,体系内存在的异养反硝化菌具备更强的亚硝态氮还原能力。

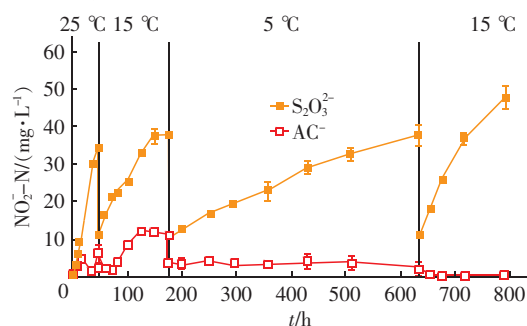


图5 不同电子供体下亚硝态氮的变化

Fig. 5 Change of $\text{NO}_2^- - \text{N}$ concentration with different electron donors

不同电子供体下 pH 值的变化表明,与单质硫作为电子供体相似,当硫自养反硝化微生物利用硫代硫酸盐时,同样出现 pH 值明显下降的现象。15℃时,即使反应中期加入适当碱液调节 pH 值,也无法阻止 pH 值的快速下降。以乙酸盐作为电子供体时,反应前期 pH 值出现一定程度的下降(从 7.2 下降至 6.8),这是由于体系内硫自养反硝化菌氧化残留的还原态硫所致。而利用硫代硫酸盐作为电子供体时,系统 pH 值从 7.2 下降到 5.8,因此乙酸盐作为电子供体在一定程度上能防止 pH 值的快速下降。以硫代硫酸盐作为电子供体时不断积累的亚硝态氮与酸化的环境将进一步抑制微生物的活性,导致系统脱氮速率继续下降;而以乙酸盐作为电子供体时,较低的亚硝态氮积累与稳定的偏中性环境能够保持微生物的高活性。

为了进一步研究低温(5℃)条件下,不同电子供体脱除亚硝态氮的性能,在恢复阶段结束后,更换以亚硝态氮为基质的配水。为了避免过高的亚硝态氮对微生物系统产生抑制作用,初始亚硝态氮的浓度控制在 30 mg/L 左右。试验结果表明,加入单质硫或硫代硫酸盐时,亚硝态氮浓度均没有下降,而加

入乙酸盐时,亚硝态氮浓度快速下降,50 h后即可将亚硝态氮完全降解。对亚硝态氮进行0.5级动力学模拟,结果显示其反应速率常数为 $0.200\ 0\ \text{mg}^{0.5}/(\text{L}^{0.5}\cdot\text{h})$,说明在低温($5\ ^\circ\text{C}$)下,硫自养反硝化菌还原亚硝态氮作用完全受到抑制,而在硫自养反硝化混合菌系统中的异养反硝化与兼性反硝化菌还原亚硝态氮的抑制作用不明显,仍然能在较短时间内还原全部的亚硝态氮。

综上所述,在低温条件下,若硫自养反硝化混合菌长期以单质硫或硫代硫酸盐作为单一电子供体,则亚硝态氮会不断积累,随着浓度的逐渐升高,又会进一步抑制反硝化菌的活性,最终导致系统脱氮性能的迅速下降。若在系统中投加乙酸盐等有机物,充分利用混合菌中异养反硝化菌和兼性菌的反硝化能力,可以有效避免亚硝态氮的积累,保持中性环境,维持系统的稳定,进而获得较好的脱氮效果。

3 结论

① 在低温条件下,单质硫自养反硝化脱氮作用受到明显的抑制。动力学拟合过程显示,15和 $5\ ^\circ\text{C}$ 条件下,系统脱除硝态氮的反应速率常数分别为 $25\ ^\circ\text{C}$ 的39.5%和3.2%,并且出现pH值明显下降与亚硝态氮的积累现象。温度恢复后,硫自养反硝化系统能迅速恢复到原有脱氮水平。

② 低温条件下,在硫自养反硝化混合菌系统中加入硫代硫酸盐或乙酸盐均能显著提升系统还原硝态氮的速率。尤其在 $5\ ^\circ\text{C}$ 时,加入乙酸盐和硫代硫酸盐试验组的反应速率常数分别为以单质硫作为电子供体时的8.49倍和2.81倍。

③ 当以单质硫或硫代硫酸盐作为电子供体时,硫自养反硝化混合菌系统会出现明显的亚硝态氮积累与pH值迅速降低现象,低温时尤为严重,而投入乙酸盐能够防止亚硝态氮的大量积累,并可维持pH值稳定。

参考文献:

- [1] Sahinkaya E, Kilic A, Duygulu B. Pilot and full scale applications of sulfur-based autotrophic denitrification process for nitrate removal from activated sludge process effluent[J]. *Water Res*, 2014, 60: 210 – 217.
- [2] Wang S H, Liang P, Wu Z Q, *et al*. Mixed sulfur-iron particles packed reactor for simultaneous advanced removal of nitrogen and phosphorus from secondary

effluent[J]. *Environ Sci Pollut Res*, 2015, 22(1): 415 – 424.

- [3] 袁莹,周伟丽,王晖,等. 不同电子供体的硫自养反硝化脱氮实验研究[J]. *环境科学*, 2013, 34(5): 1835 – 1844.
- [4] Yuan Ying, Zhou Weili, Wang Hui, *et al*. Study on sulfur-based autotrophic denitrification with different electron donors[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(5): 1835 – 1844 (in Chinese).
- [5] Capua F D, Ahoranta S H, Papirio S, *et al*. Impacts of sulfur source and temperature on sulfur-driven denitrification by pure and mixed cultures of *Thiobacillus* [J]. *Process Biochemistry*, 2016, 51(10): 1576 – 1584.
- [6] 苏晓磊,刘雪洁,梁鹏,等. 硫-硫铁复合床深度脱氮除磷[J]. *化学工业与工程*, 2015, 32(4): 63 – 67.
- [7] Su Xiaolei, Liu Xuejie, Liang Peng, *et al*. Sulfur and sulfur-iron particles packed reactors for simultaneous advanced removal of nitrogen and phosphorus [J]. *Chemical Industry and Engineering*, 2015, 32(4): 63 – 67 (in Chinese).
- [8] Koenig A, Liu L H. Kinetic model of autotrophic denitrification in sulphur packed-bed reactors[J]. *Water Res*, 2001, 35(8): 1969 – 1978.
- [9] Kampschreur M J, Temmink H, Kleerebezem R, *et al*. Nitrous oxide emission during wastewater treatment [J]. *Water Res*, 2009, 43(17): 4093 – 4103.
- [10] Ghosh W, Dam B. Biochemistry and molecular biology of lithotrophic sulfur oxidation by taxonomically and ecologically diverse bacteria and archaea [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2009, 33(6): 999 – 1043.



作者简介:缪博(1993 –),男,河北唐山人,硕士研究生,主要研究方向为硫自养反硝化技术。

E-mail: miaobo0315@163.com

收稿日期:2018-08-12