

DOI:10.19853/j.zgjsps.1000-4602.2022.15.005

异养硝化-好氧反硝化菌HNAD4的脱氮性能分析

蒙小俊¹, 祖德彪², 张玉秀², 刘可欣²

(1. 安康学院 旅游与资源环境学院, 陕西 安康 725000; 2. 中国矿业大学<北京> 化学与环境工程学院, 北京 100083)

摘要: 异养硝化-好氧反硝化为焦化废水处理革新提供了新思路。从某焦化废水处理厂活性污泥中分离获得一株高效的异养硝化-好氧反硝化菌株HNAD4,经16S rRNA鉴定为*Pseudomonas* sp.。分析了菌株HNAD4的硝化、反硝化以及同步硝化反硝化(SND)性能,研究了菌株对实际焦化废水的处理能力。结果表明,当菌株以柠檬酸钠为碳源、C/N为15、温度为35℃、pH为7.0时,硝化性能最优;以 NO_3^- -N和 NO_2^- -N为混合氮源时,两种氮源可同步去除,但反硝化优先利用 NO_3^- -N;以 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N和 NO_2^- -N为混合氮源时,SND过程中利用氮源的优先顺序依次为 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N和 NO_2^- -N;当处理实际焦化废水时,与对照组相比,投加菌株的实验组可使A/O₁/O₂工艺中O₁池的 NH_4^+ -N去除率提高46.45%、TN去除率提高33.14%。

关键词: 焦化废水; 异养硝化-好氧反硝化; 同步硝化反硝化; 生物脱氮

中图分类号: TU992 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4602(2022)15-0029-08

Denitrification Performance of Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification Bacteria HNAD4

MENG Xiao-jun¹, ZU De-biao², ZHANG Yu-xiu², LIU Ke-xin²

(1. School of Tourism & Environment, Ankang University, Ankang 725000, China; 2. School of Chemical & Environmental Engineering, China University of Mining and Technology - Beijing, Beijing 100083, China)

Abstract: Heterotrophic nitrification-aerobic denitrification provides a new idea for the innovation of coking wastewater treatment. An efficient heterotrophic nitrification-aerobic denitrification strain HNAD4 was isolated from the activated sludge of coking wastewater treatment plant and identified as *Pseudomonas* sp. by 16S rRNA. The nitrification, denitrification and simultaneous nitrification and denitrification (SND) characteristics of strain HNAD4 were analyzed, and the ability of the strain for actual coking wastewater treatment was investigated. The best nitrification performance was obtained when the following operating conditions were adopted: sodium citrate as carbon source, C/N ratio of 15, temperature of 35℃ and pH of 7.0. When NO_3^- -N and NO_2^- -N were used as mixed nitrogen sources, the two nitrogen sources could be simultaneously removed, but NO_3^- -N was preferentially used in denitrification. When NH_4^+ -N, NO_2^- -N and NO_3^- -N were used as mixed nitrogen sources, the priority of nitrogen sources utilized in SND process was NH_4^+ -N, NO_3^- -N and NO_2^- -N. When the actual coking wastewater was treated, the removal efficiencies of NH_4^+ -N and TN in O₁ tank of A/O₁/O₂ process

基金项目: 国家水体污染控制与治理科技重大专项(2017ZX07402001); 安康学院高层次人才科研专项(2016AYQDZR09)
通信作者: 张玉秀 E-mail: zhangyuxiu@cumtb.edu.cn

increased by 46.45% and 33.14% in the experimental group compared with those in the control group.

Key words: coking wastewater; heterotrophic nitrification-aerobic denitrification; simultaneous nitrification and denitrification; biological denitrification

煤焦化过程中会产生大量废水,该类废水含有高浓度的氨、氟化物、硫化物、氰化物等无机物,还含有种类繁多的有机污染物^[1],具有致癌性、生物毒性和难降解性等特征^[2],若得不到有效处理,会对生态环境造成严重危害。由于焦化废水水质成分复杂,处理工艺单元较多,一般需结合物理、化学和生物技术进行处理,国内外焦化废水处理工程的通用工艺模式为预处理+生物处理+深度处理+脱盐^[3]。生物处理单元作为整个焦化废水处理工艺的主体与核心,决定了废水处理成本和出水水质。焦化废水处理中常用的生物脱氮工艺有厌氧/好氧/水解/好氧(A/O/H/O)、厌氧/缺氧/好氧(A/A/O)、厌氧/好氧/好氧(A/O/O)和缺氧/好氧/缺氧/好氧(A/O/A/O)等^[4],这些脱氮工艺都是基于传统脱氮理论发展而来的。在传统脱氮技术中,因功能微生物特征、反应条件和作用机理不同,硝化和反硝化在相对独立的反应器中进行,导致工艺流程复杂,存在水力停留时间长、脱氮效果不佳、处理成本高等诸多缺点。异养硝化-好氧反硝化细菌可以使硝化和反硝化同时在好氧条件下完成,同步降解COD和氮素,菌株生长代谢快,从而可节省反应空间、缩短工艺流程、降低处理成本^[5-6],这为焦化废水强化处理或工艺革新提供了新思路。

笔者从北方某焦化废水处理厂活性污泥中分离出一株脱氮性能良好的异养硝化-好氧反硝化菌HNAD4,采用16S rRNA基因测序分析鉴定菌株种属,分析了菌株异养硝化的最适环境条件,探究了菌株的好氧反硝化和同步硝化反硝化(SND)性能,研究了在未添加任何化学物质的情况下菌株对实际焦化废水的处理效果,以期为焦化废水强化处理和工艺改造提供微生物菌剂和理论支持。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

菌株筛选自北方某焦化废水处理厂A/O₁/O₂工艺的O₂池活性污泥。实验用仪器主要包括:高速离心机、立式压力蒸汽灭菌器、紫外-可见分光光度计、空气摇床、pH计和超纯水机(Millipore-Q)等。

实验用试剂均为分析纯。

1.2 培养基

好氧反硝化培养基(DM):柠檬酸钠 6.125 g、KNO₃ 0.72 g、KH₂PO₄ 1.5 g、Na₂HPO₄·12H₂O 10.55 g、MgSO₄·7H₂O 0.1 g、微量元素 2 mL,定容至 1 L,调节 pH 为 7.0~7.3。

异养硝化培养基(HM):柠檬酸钠 6.125 g、(NH₄)₂SO₄ 0.472 g、KH₂PO₄ 1.0 g、Na₂HPO₄·12H₂O 6.7 g、MgSO₄·7H₂O 0.1 g、微量元素 2 mL,定容至 1 L,调节 pH 为 7.0~7.3。

GN显色培养基:KNO₃ 1.0 g、0.1%溴百里酚蓝 5 mL、MgSO₄·7H₂O 1.0 g、KH₂PO₄ 1.0 g、柠檬酸钠 8.5 g、FeCl₃·6H₂O 0.05 g、CaCl₂·6H₂O 0.2 g,定容至 1 L,调节 pH 为 7.0~7.3。

微量元素溶液的成分为:EDTA 50 g、CaCl₂·2H₂O 7.28 g、FeSO₄·7H₂O 5 g、ZnSO₄·7H₂O 3.92 g、MnCl₂·4H₂O 2.06 g、CoCl₂·6H₂O 1.61 g、CuSO₄·5H₂O 1.57 g、(NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 1.1 g,1 L蒸馏水,pH为6.0。

培养基配制完成后在121℃高温条件下灭菌20 min。固体培养基的配制是在液体培养基中加入2%的琼脂。

1.3 菌株的分离与鉴定

取5 mL焦化废水污泥加入到装有95 mL灭菌水的250 mL锥形瓶中充分摇匀,然后按照5%的接种量加入到HM培养基中,在35℃和180 r/min条件下连续培养10 d,每隔48 h更换一次HM培养基。待培养结束后,按照5%的接种量转接至DM培养基中重复上述步骤。取1 mL经DM培养基培养10 d的菌液进行梯度稀释并涂布于GN显色培养基中,在30℃下恒温培养2~3 d,挑选能使GN培养基变蓝的菌落。目的菌株挑选后在GN培养基中反复划线进行纯化直至获得单菌株,对其异养硝化性能进行测定。选择硝化能力最强的菌株HNAD4保存于-80℃冰箱中。

利用16S rRNA基因测序分析对菌株进行鉴定,扩增引物为27F(AGAGTTTGATCCTGGCTCAG)和

1492R (TACGGCTACCTTGTACGACTT)。获得的PCR产物经京睿博兴科生物技术有限公司测序后,将测序结果在NCBI数据库中通过BLAST进行同源性比对分析。

1.4 环境条件对菌株HNAD4硝化性能的影响

控制碳源分别为柠檬酸钠、琥珀酸钠、乙酸钠、葡萄糖和蔗糖,C/N分别为5、10、15、20和25,pH分别为5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,温度分别为20、25、30、35、40℃,改变其中一个环境因子时其余反应条件保持不变, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度约为100 mg/L,将培养至对数生长期的菌株HNAD4用生理盐水清洗3次,制备成菌悬液(OD_{600} 约为1.0),按5%的接种量接种至装有95 mL HM培养基的250 mL锥形瓶中,在转速为180 r/min的条件下培养24 h,定时取样测定各培养基中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度与菌株生长量 OD_{600} 。同时以不加菌株的空白培养基作为对照。

1.5 菌株HNAD4的异养硝化性能

在最适环境条件下,以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 作为唯一氮源,将培养至对数生长期的菌株HNAD4按5%的接种量接种至装有95 mL HM培养基的250 mL锥形瓶中,培养24 h定时取样测定TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 OD_{600} 和pH。

1.6 菌株HNAD4的好氧反硝化性能

分别以 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 为唯一氮源,或者以两者为混合氮源,控制C/N为15, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度均约为100 mg/L,将培养至对数生长期的菌株HNAD4按5%的接种量接种至装有95 mL DM培养基的250 mL锥形瓶中,培养24 h定时取样测定,测定指标同1.5节。

1.7 菌株HNAD4的SND性能

分别以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$,及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 为混合氮源, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 均为100 mg/L,控制C/N为15,将培养至对数生长期的菌株HNAD4按5%的接种量接种至HM培养基中,培养24 h定时取样测定,测定指标同1.5节。

1.8 菌株HNAD4在焦化废水处理中的应用

模拟处理工艺装置依据北方某焦化废水处理厂A/O₁/O₂工艺大小等比例缩小设计,实验用水与污泥均取自该焦化废水处理厂。长期监测发现,O₁池主要降解有机物,O₂池主要进行硝化反应。模拟采用两套完全相同的装置,一组为对照组(A/O₁/O₂),

另一组为实验组(A_m/O_{1-m}/O_{2-m}),整个实验过程中两套装置所有的运行参数和进水水质均保持一致。反应器连续进水,运行分为3个阶段:阶段一为启动阶段(1~20 d);阶段二为负荷提高阶段,即驯化阶段(21~80 d);阶段三为强化阶段(81~99 d)。负荷提高后,两套装置各单元出水水质逐渐稳定且基本相同,第80天将菌株HNAD4培养至对数生长期并调节 OD_{600} 为1.0,以5%的接种量将菌株接种至实验组的O_{1-m}单元中进行降解实验,定期对反应器各处理单元取样进行水质分析。

1.9 分析项目与方法

TN:过硫酸钾氧化紫外分光光度法; $\text{NH}_4^+\text{-N}$:纳氏试剂分光光度法; $\text{NO}_3^-\text{-N}$:紫外分光光度法; $\text{NO}_2^-\text{-N}$:N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法; OD_{600} :光电比浊法;COD:快速消解分光光度法;pH:pH计。

2 结果与分析

2.1 菌株的分离与鉴定

经分离筛选与纯化,最终获得4株菌株,分别命名为HNAD1、HNAD2、HNAD3和HNAD4。分别提取各菌株的DNA,通过16S rRNA基因进行扩增测序后,将测序结果输入NCBI数据库的BLAST比对系统中,搜索数据库中相似的序列。结果表明,4株菌株均与*Pseudomonas* sp. 比较接近,菌株HNAD1、HNAD2、HNAD3和HNAD4分别与*Pseudomonas mendocina* TH1(MT634252.1)、*Pseudomonas alcaliphila* TXF8(MT636466.1)、*Pseudomonas stutzeri* SM12(MT356167.1)和*Pseudomonas toyotomiensis* CSYP3(KF010921.1)同源性较高,相似性分别为99.28%、100.00%、99.86%和99.79%。分别将纯化后的4株菌株培养至对数生长期,按5%的接种量接种至HM培养基中培养24 h,9 h后取样测定发现,4株菌株对100 mg/L $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率分别为80.01%、70.83%、87.35%和100%,相比之下,菌株HNAD4具有较高的脱氮性能,故后续实验以菌株HNAD4作为研究对象。

2.2 环境条件对菌株HNAD4硝化性能的影响

2.2.1 碳源与C/N的影响

不同碳源在异养硝化-好氧反硝化中具有不同的氧化还原电位,会产生不同的脱氮效果^[5]。分别以柠檬酸钠和琥珀酸钠作为碳源时,9 h后对100 mg/L $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率达到了100%,对应的 OD_{600} 分别为1.091和1.059;以乙酸钠作为碳源时,15 h后

$\text{NH}_4^+\text{-N}$ 才能被完全去除;以葡萄糖作为碳源时,24 h后仅67.4%的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被去除;而菌株HNAD4在以蔗糖为碳源的培养基中不能生长, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度保持不变。整个硝化过程中,不同碳源条件下的脱氮效率依次为柠檬酸钠>琥珀酸钠>乙酸钠>葡萄糖>蔗糖,说明菌株HNAD4更易利用柠檬酸钠作为碳源,这与刘淳等人^[7]的研究结果一致。已有研究表明,在异养硝化-好氧反硝化中,因好氧硝化菌利用碳源进行生长和反硝化,异养硝化菌对碳源的利用多数遵循丙酮酸钠>琥珀酸钠>柠檬酸钠>乙酸钠>葡萄糖>其他有机碳源,有机酸在三羧酸(TCA)循环中直接被利用,而糖类需要转化为有机酸后再被利用,菌株更容易利用有机酸进行生长代谢^[8-9]。

C/N是影响异养硝化-好氧反硝化的重要环境因子之一。在本实验中,当C/N为5时,24 h内菌株HNAD4几乎未生长, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度基本保持不变;当C/N为10~25时,菌株在15 h内均能将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 完全降解,脱氮效率为 $\text{C/N}=15>\text{C/N}=20>\text{C/N}=10>\text{C/N}=25$,随着C/N的增加,脱氮效率会提高,但C/N过高反而不利菌株生长和脱氮,菌株HNAD4异养硝化的最佳C/N为15,这基本与黄明明等人^[10]的研究结果一致,过高或过低的C/N都对菌株的生长和脱氮性能产生抑制作用。

2.2.2 温度和pH的影响

氮素降解反应本质上是微生物关键酶介导的氧化还原反应,温度和pH作为两个非常重要的环境因子会影响细胞酶的活性。在本实验中,当温度为25~35℃时,随着温度的升高,相同时间对数生长期生物量越高, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除效率就越高,15 h内 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率均可达到100%;尽管在40℃条件下菌株HNAD4可在12 h内将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 完全去除,但脱氮效率低于30℃和35℃;而在20℃下菌株HNAD4完全去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 需要24 h。温度过高或者过低均不利于菌株HNAD4去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,最佳温度为35℃。已有研究表明^[11],*Pseudomonas mandelii*在10℃下生长时,负责SND的基因会出现长滞后期和延迟表达的现象。

在本实验中,当pH为5.0时,菌株几乎不生长;当pH为7.0和8.0时,12 h后 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率达到100%,对应的 OD_{600} 分别为0.976和0.956;当pH为6.0和9.0时,菌株完全去除 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 分别需要24 h和19 h。适合菌株HNAD4生长的最佳pH为7.0,这

与Hiatt等人^[12]的研究结果一致,中性和偏碱性可为菌株提供更优的生长环境,过酸或过碱均会抑制菌株生长。

2.3 菌株HNAD4的异养硝化性能

在最适环境条件下,以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为唯一氮源,将培养至对数生长期的菌株HNAD4接种至HM培养基中,菌株生长情况、氮浓度及pH的变化见图1。在9 h后菌株HNAD4的生长进入稳定期, OD_{600} 达到最大值1.169,氮素去除效果和菌株生物量呈正相关, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和TN浓度迅速降低,其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度从96.87 mg/L降至0.98 mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和TN去除率分别达到98.99%和86.62%。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 硝化过程中检测到了 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 在0~6 h内逐渐积累,在6~9 h内逐渐降低,12 h后基本检测不到。12 h后菌株开始进入衰亡期,在15 h时检出少量 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,随后又消失。整个过程未发现 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 积累,pH从7.0左右逐渐上升至7.8左右。菌株HNAD4可以将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 作为唯一氮源转化为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,进一步证实其具有较强的异养硝化能力,但这不同于李海红等人的研究,*Paracoccus denitrificans*可将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ ^[13],这可能与菌株的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 代谢途径不同有关。异养硝化-好氧反硝化细菌的脱氮机理较为复杂,且不同种类菌株多分布于不同的分类单元,菌株的氮代谢途径较为多样,即使同属不同菌株,氮代谢途径都会有较大差异^[14]。另外,由于碳源被完全消耗使得菌株进入衰亡期,细胞合成的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被释放出来,这可能是后期培养基中出现少量 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 积累的原因。

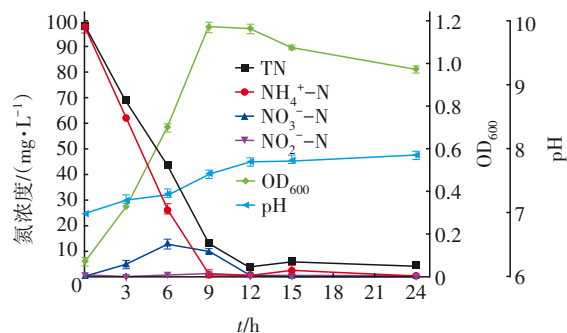


图1 菌株HNAD4的异养硝化性能

Fig.1 Heterotrophic nitrification performance of strain HNAD4

2.4 菌株HNAD4的好氧反硝化性能

菌株HNAD4的好氧反硝化性能如图2所示。

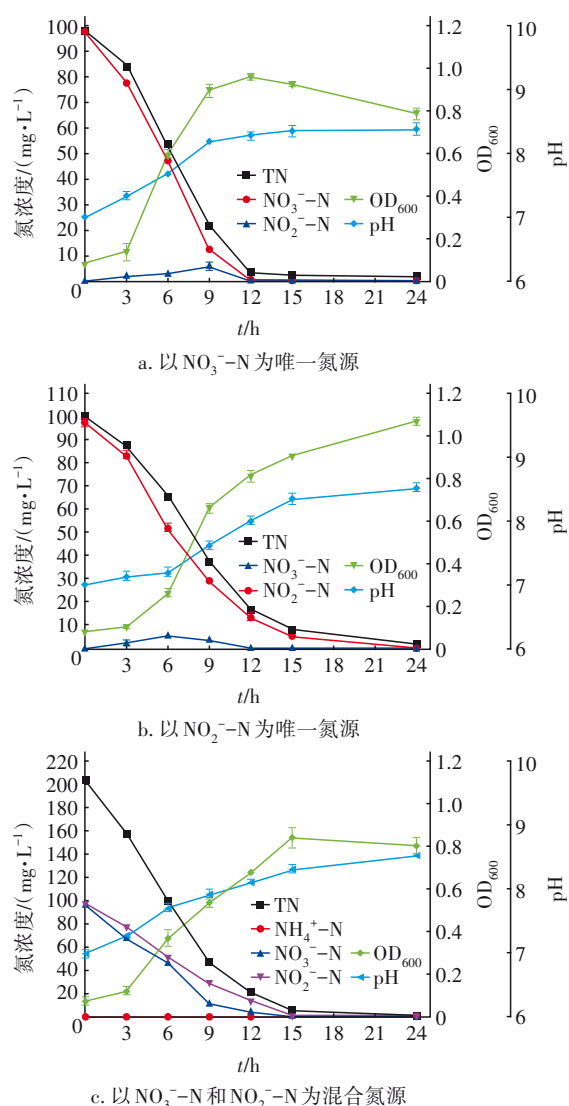


图2 菌株HNAD4的好氧反硝化性能

Fig.2 Aerobic denitrification performance of strain HNAD4

由图2(a)可知,当以 NO_3^- -N为唯一氮源时,随着菌株的快速生长, NO_3^- -N和TN浓度迅速降低,12 h后菌株生物量达到最大,此时TN和 NO_3^- -N去除率均超过97%;菌株对数生长期的平均 NO_3^- -N降解速率为 $10.86 \text{ mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$,反硝化速率明显高于黄菲菲的研究结果^[15]。在前12 h内,随着 NO_3^- -N的去除, NO_2^- -N逐渐出现少量积累,其浓度先升高后降低,在9 h时达到最大,但整个过程中 NO_2^- -N的积累浓度都较低,这与肖继波等人的研究结果一致^[16], NO_2^- -N的产生表明菌株HNAD4具有好氧反硝化性能。好氧反硝化过程产生碱,pH由最初的7.0增加到8.3,较低的pH变化给菌株生长创造了适宜的环境。目前公认的好氧反硝化代谢途径主要有两种,

分别为完全硝化反硝化途径和羟胺氧化途径^[8],推测菌株HNAD4的好氧反硝化可能符合传统反硝化途径。

如图2(b)所示,当以 NO_2^- -N为唯一氮源时,菌株的生长和 NO_2^- -N的降解规律基本与 NO_3^- -N为氮源时相似,但仍有差异;菌株完全降解 NO_2^- -N所需要的时间较长,可能是由于 NO_2^- -N具有一定的毒性, NO_2^- -N浓度较高时会抑制微生物的生长与反硝化反应^[5];15 h时TN与 NO_2^- -N的去除率分别为97.14%和99.55%,但菌株仍在缓慢生长,可能是碳源充足所致; NO_2^- -N去除过程发现有少量 NO_3^- -N出现,但是随后消失。如图2(c)所示,以 NO_3^- -N和 NO_2^- -N作为混合氮源时,菌株在3~12 h处于对数生长期,对TN、 NO_3^- -N和 NO_2^- -N的去除速率较高, NO_3^- -N从 68.23 mg/L 降至 4.73 mg/L , NO_2^- -N从 77.16 mg/L 降至 13.73 mg/L ,去除率分别为93.07%和82.21%,未检测到 NH_4^+ -N的生成;在基本相同的初始浓度条件下,菌株对 NO_3^- -N的去除率明显高于 NO_2^- -N,表明 NO_3^- -N和 NO_2^- -N共存时,菌株更容易利用 NO_3^- -N;但在 NO_2^- -N存在的情况下, NO_3^- -N去除率相比其作为唯一氮源时有所降低,这说明 NO_2^- -N的存在会稍微抑制菌株对 NO_3^- -N的利用。

2.5 菌株HNAD4的SND性能

菌株HNAD4的SND性能如图3所示。由图3(a)可知,以 NH_4^+ -N和 NO_3^- -N为氮源时,菌株在0~9 h内快速生长,12 h时达到最大生长量($\text{OD}_{600}=1.068$), NH_4^+ -N和 NO_3^- -N被同步去除,未见有 NO_2^- -N或 NO_3^- -N的积累;9 h时 NH_4^+ -N和 NO_3^- -N去除率分别为96.68%和76.15%,表明菌株HNAD4会优先利用 NH_4^+ -N进行硝化反应;相比 NO_3^- -N作为唯一氮源,在混合氮源条件下 NO_3^- -N去除率较低,可能是 NH_4^+ -N的存在抑制了菌株对 NO_3^- -N的反硝化^[17]。如图3(b)所示,以 NH_4^+ -N和 NO_2^- -N为氮源时,因 NO_2^- -N对菌株的抑制作用,0~3 h时菌株生长较慢;3~12 h内菌株处于对数生长期, NH_4^+ -N浓度从 62.20 mg/L 降至 3.23 mg/L , NO_2^- -N浓度从 68.16 mg/L 降至 1.73 mg/L ,去除率分别为94.81%和97.46%,TN去除率达到96.35%; NH_4^+ -N与 NO_2^- -N共存时,两者可以同步被去除,但菌株优先利用 NH_4^+ -N,脱氮过程中有少许 NO_3^- -N出现,这完全不同于张培玉等人^[18]的研究, NO_2^- -N存在时并没有发生 NH_4^+ -N的降解。如图3(c)所示,以 NH_4^+ -N、

NO_3^- -N和 NO_2^- -N为氮源时,12 h时 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N和 NO_2^- -N的去除率分别为99.74%、99.63%和88.59%,去除顺序依次为 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、 NO_2^- -N,这与前面的研究结果一致,当 NO_3^- -N与 NO_2^- -N共存时,好氧反硝化更容易利用 NO_3^- -N,而当 NH_4^+ -N和 NO_3^- -N共存或者 NH_4^+ -N和 NO_2^- -N共存发生同步硝化反硝化时, NH_4^+ -N则被优先利用。

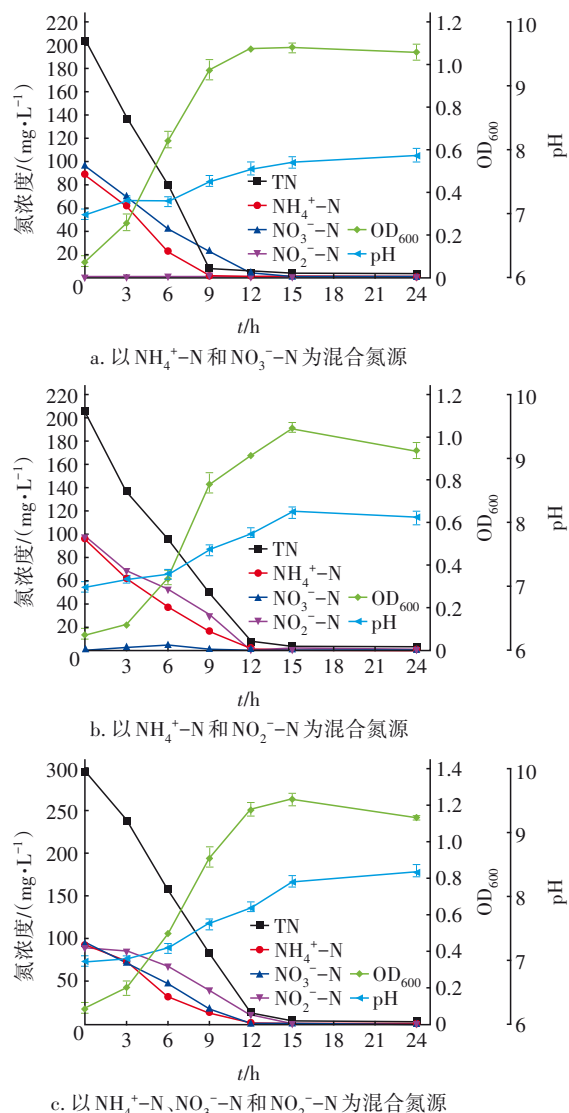


图3 菌株HNAD4的SND性能

Fig.3 SND performance of strain HNAD4

2.6 菌株HNAD4在焦化废水中的脱氮效果

在阶段一(启动阶段)和阶段二(负荷提高阶段),对照组和实验组各单元出水水质基本一致,例如,在阶段一,A池和 A_m 池对COD的去除率分别为76.21%和75.90%;在阶段二,A池和 A_m 池对COD的去除率分别为81.31%和80.76%, O_1 池和 O_{1-m} 池

对COD的去除率分别为21.83%和22.93%。第80天在 O_{1-m} 池中加入菌株HNAD4,5 d后 O_{1-m} 池和 O_1 池出水COD平均浓度分别为255.39、289.85 mg/L, O_{1-m} 池的COD平均去除率比对照组提高了4.73%,但运行至第99天时 O_1 和 O_{1-m} 池出水COD浓度基本相近。

反应器启动阶段,调节池的进水 NH_4^+ -N平均浓度为81.26 mg/L,两组实验中A池和 O_1 池出水 NH_4^+ -N浓度几乎未发生变化,但 NH_4^+ -N在两组 O_2 池中去除较多,两组 O_2 池出水 NH_4^+ -N平均浓度都为13.76 mg/L,平均去除率均为83.07%,这与焦化废水处理厂长期监测发现 O_1 池主要降解有机物、 O_2 池主要进行硝化反应的结果相吻合。在负荷提高阶段, NH_4^+ -N浓度从83.16 mg/L升至119.22 mg/L,两组反应器对氮素的去除能力均有所提高, NH_4^+ -N、 NO_3^- -N和TN浓度的变化趋势与启动阶段基本相同,两组反应器各处理单元出水水质基本一致,说明反应器运行稳定。

在强化阶段,将菌株HNAD4加入到 O_{1-m} 池中, O_{1-m} 池中的 NH_4^+ -N浓度逐渐降低,而且在6 d后降到最低,此时两套装置中 O_1 池和 O_{1-m} 池出水 NH_4^+ -N浓度分别为35.44、16.65 mg/L,去除率分别为3.64%和50.09%; O_{2-m} 池中 NO_3^- -N的积累量比 O_2 池要低,这主要是因为 O_{1-m} 池提高了 NH_4^+ -N的去除率从而降低了其在 O_{2-m} 池中的浓度,进而在硝化后生成了较少的 NO_3^- -N; O_{1-m} 池的TN去除率比 O_1 池提高了33.14%,推测可能发生了好氧反硝化。以上结果表明,在焦化废水处理过程中添加菌株HNAD4能起到强化脱氮的作用。随着反应器的继续运行, O_{1-m} 池出水 NH_4^+ -N、TN浓度以及 O_{2-m} 池出水 NO_3^- -N浓度逐渐升高,运行至第99天时基本与对照组出水水质一致。李婷等人^[19]的研究也得到了类似的结果。分析原因,实验采用的是实际焦化废水,废水中存在的毒性物质可能对菌株HNAD4产生了抑制作用^[20],也有可能是因为加入的是菌液,随反应的持续进行,大量菌株HNAD4随出水流失。

3 结论

① 从实际焦化废水处理厂的活性污泥中分离出一株异养硝化-好氧反硝化菌株HNAD4,经鉴定为*Pseudomonas* sp.。

② 菌株HNAD4的最适硝化反应条件如下:温度为35℃,C/N=15,pH为7.0,碳源为柠檬酸钠。

③ 菌株HNAD4具有高效的异养硝化-好氧反硝化能力,SND过程中利用氮源的优先顺序依次为 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 NO_2^--N ,脱氮过程均发生于菌株对数生长期且pH均有所升高。

④ 在实际焦化废水处理工艺中投加菌株HNAD4以强化脱氮,与对照组相比,6d后可使 O_2 池的 NH_4^+-N 去除率提高46.45%、TN去除率提高33.14%。

参考文献:

- [1] 林亚凯,何柳东,王业清,等. 耐温超滤膜在焦化废水处理中的应用研究[J]. 膜科学与技术, 2020, 40(4): 113-118.
LIN Yakai, HE Liudong, WANG Yeqing, *et al.* Application of temperature-tolerance ultrafiltration membrane in coal coking wastewater treatment [J]. Membrane Science and Technology, 2020, 40(4): 113-118 (in Chinese).
- [2] HUANG Y, HOU X L, LIU S T, *et al.* Correspondence analysis of bio-refractory compounds degradation and microbiological community distribution in anaerobic filter for coking wastewater treatment [J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 304: 864-872.
- [3] 赵雅思,杨兴舟,叶国杰,等. 焦化废水处理过程中固相物质的形成及处置方法评价[J]. 环境科学学报, 2020, 40(7): 2548-2556.
ZHAO Yasi, YANG Xingzhou, YE Guojie, *et al.* Formation and treatment methods evaluation of solid-phase substances in coking wastewater treatment [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2020, 40(7): 2548-2556 (in Chinese).
- [4] 邹晓爽,李江,李彦澄,等. 两级A/O工艺处理焦化废水有机污染物转化特征及细菌群落响应[J]. 环境科学研究, 2022, 35(5): 1245-1256.
ZOU Xiaoshuang, LI Jiang, LI Yancheng, *et al.* Two-stage anoxic/oxic (A/O) process to remove organic pollutants and bacterial community in coking wastewater [J]. Research of Environmental Sciences, 2022, 35(5): 1245-1256 (in Chinese).
- [5] 雷强,张燕,孙燕,等. 异养硝化-好氧反硝化菌YZ-12的脱氮性能及其对养殖废水的处理效果[J]. 环境工程学报, 2022, 16(1): 301-310.
LEI Qiang, ZHANG Yan, SUN Yan, *et al.* Denitrification performance and aquaculture wastewater treating effects of heterotrophic nitrifying aerobic denitrifying bacteria YZ-12 [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(1): 301-310 (in Chinese).
- [6] 刘方剑,杨海龙,周化斌. 异养硝化细菌 *Acinetobacter junii* WZ17 的脱氮特性及动力学研究[J]. 环境科学学报, 2021, 41(3): 951-959.
LIU Fangjian, YANG Hailong, ZHOU Huabin. Nitrogen removal and kinetics research by heterotrophic nitrification bacterium *Acinetobacter junii* WZ17 [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2021, 41(3): 951-959 (in Chinese).
- [7] 刘淳,李永红,刘颖颖,等. 1株高效异养硝化细菌的分离鉴定及硝化特性[J]. 环境科学与技术, 2019, 42(3): 152-157.
LIU Chun, LI Yonghong, LIU Yingying, *et al.* Screening and identification of a efficient heterotrophic nitrifying bacteria and the study of its nitrification characterization [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 42(3): 152-157 (in Chinese).
- [8] 陈均利,彭英湘,刘锋,等. 异养硝化-好氧反硝化菌脱氮特性研究进展[J]. 环境科学与技术, 2020, 43(5): 41-48.
CHEN Junli, PENG Yingxiang, LIU Feng, *et al.* Research advances in denitrification property of the heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria [J]. Environmental Science & Technology, 2020, 43(5): 41-48 (in Chinese).
- [9] REN Y X, LEI Y, LIANG X. The characteristics of a novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium, *Acinetobacter junii* YB [J]. Bioresource Technology, 2014, 171: 1-9.
- [10] 黄明明,石先阳. 2株异养硝化-好氧反硝化菌的分离及脱氮特性[J]. 环境科学与技术, 2019, 42(12): 123-130.
HUANG Mingming, SHI Xianyang. Isolation and denitrification characteristics of two heterotrophic nitrification aerobic denitrifying bacteria [J]. Environmental Science & Technology, 2019, 42(12): 123-130 (in Chinese).
- [11] SALEH-LAKHA S, SHANNON K E, HENDERSON S L, *et al.* Effect of pH and temperature on denitrification gene expression and activity in *Pseudomonas mandelii* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(12): 3903-3911.

- [12] HIATT W C, GRADY C P L. Application of the activated sludge model for nitrogen to elevated nitrogen conditions [J]. Water Environment Research, 2008, 80 (11): 2134–2144.
- [13] 李海红, 佟欣宇, 宦臣臣, 等. 高效异养硝化-好氧反硝化菌株TS-1筛选及降解特性[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(4): 791–799.
LI Haihong, TONG Xinyu, HUAN Chenchen, *et al.* Characterizing the heterotrophically nitrifying and aerobically denitrifying TS-1 strain [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26 (4): 791–799 (in Chinese).
- [14] 李贵珍, 赖其良, 邵宗泽, 等. 异养硝化-好氧反硝化细菌的研究进展[J]. 生物资源, 2018, 40 (5): 419–429.
LI Guizhen, LAI Qiliang, SHAO Zongze, *et al.* Research progress of heterotrophic nitrification aerobic denitrification bacteria [J]. Biotic Resources, 2018, 40 (5): 419–429 (in Chinese).
- [15] 黄菲菲. 异养硝化-好氧反硝化菌的筛选与脱氮性能研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2013.
HUANG Feifei. Identification and Nitrogen Removal Characteristic of Two Heterotrophic Nitrification–Aerobic Denitrification Strains [D]. Nanjing: Nanjing University of Science & Technology, 2013 (in Chinese).
- [16] 肖继波, 江惠霞, 褚淑祎. 不同氮源下好氧反硝化菌 *Deffluibacter lusatiensis* str. DN7 的脱氮特性[J]. 生态学报, 2012, 32(20): 6463–6470.
XIAO Jibo, JIANG Huixia, CHU Shuyi. Denitrification characteristics of an aerobic denitrifying bacterium *Deffluibacter lusatiensis* str. DN7 using different sources of nitrogen [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32 (20): 6463–6470 (in Chinese).
- [17] 卢晓燕, 王亚娥, 李杰, 等. 兼具铁氧化功能的好氧反硝化菌脱氮性能研究[J]. 环境科学与技术, 2018, 41(11): 21–26.
LU Xiaoyan, WANG Ya'e, LI Jie, *et al.* Study on nitrogen removal performance of aerobic denitrifying bacteria with iron-oxidizing function [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 41 (11): 21–26 (in Chinese).
- [18] 张培玉, 曲洋, 于德爽, 等. 菌株qy37的异养硝化/好氧反硝化机制比较及氨氮加速降解特性研究[J]. 环境科学, 2010, 31(8): 1819–1826.
ZHANG Peiyu, QU Yang, YU Deshuang, *et al.* Comparison of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification system by strain qy37 and its accelerating removal characteristic of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ [J]. Environmental Science, 2010, 31(8): 1819–1826 (in Chinese).
- [19] 李婷, 张玉秀, 祖德彪, 等. 红球菌KDPy1在焦化废水生物处理中的强化作用[J]. 工业水处理, 2021, 41 (10): 96–103.
LI Ting, ZHANG Yuxiu, ZU Debiao, *et al.* Bioaugmentation of *Rhodococcus* sp. KDPy1 in coking wastewater treatment [J]. Industrial Water Treatment, 2021, 41(10): 96–103 (in Chinese).
- [20] 郭诺玮, 余太平, 谭斌, 等. 分级氧化-絮凝耦合工艺同步降解焦化废水[J]. 中国给水排水, 2020, 36 (16): 116–120, 125.
GUO Nuowei, YU Taiping, TAN Bin, *et al.* Simultaneous degradation of coking wastewater by fractional oxidation–flocculation coupling process [J]. China Water & Wastewater, 2020, 36 (16): 116–120, 125 (in Chinese).

作者简介: 蒙小俊(1981–), 男, 陕西汉中, 博士, 讲师, 研究方向为环境微生物技术与水污染控制工程。

E-mail: yanjiushengmengjun@163.com

收稿日期: 2022-01-17

修回日期: 2022-05-25

(编辑: 刘贵春)