

好氧反硝化菌 RWX31 强化污染废水脱氮的研究

周影茹^{1,2}, 陆玉芳^{1,2}, 施卫明^{1*}

(1.土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2.中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要:为了深入挖掘好氧反硝化菌株 RWX31 在农业面源污染治理中的应用价值,通过纯培养试验研究在不同 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度负荷和 C/N 条件下的该菌反硝化脱氮效率,并利用该菌株强化小型反应器(4L)中模拟废水(硝态氮浓度为 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的脱氮效果。结果表明,相比于对照菌株 ACCC01047, RWX31 菌株可以耐受更高的硝态氮污染负荷($200\sim 400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和更低的 C/N($6\sim 10$)。利用菌株强化反应器对污染废水的处理,在水力停留时间为 24 h 情况下,投加菌株 RWX31 对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 污染废水的去除率为 80%左右,而投加对照菌株的去除率仅为 60%。菌株 RWX31 单位 COD 去除 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的能力为 $0.35\sim 0.4\text{ mg N}\cdot\text{mg}^{-1}\text{COD}$, 而对照菌株在等量的 COD 碳源供应情况下对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的去除能力较低。模拟废水条件下的结果表明,菌株 RWX31 可能比较适应于碳氮比较低而氮素污染变幅较大的农业面源污染废水的生物脱氮处理,在实际应用中可望降低处理成本,提高脱氮效率。

关键词:好氧反硝化菌;碳氮比;硝态氮浓度;生物反应器

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)10-2047-08 doi:10.11654/jaes.2013.10.021

Bioaugmentation on Nitrate Removal from Simulated Wastewater by Aerobic Denitrifying Bacterium RWX31

ZHOU Ying-ru^{1,2}, LU Yu-fang^{1,2}, SHI Wei-ming^{1*}

(1.State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, The Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2.Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: To explore the application potential of aerobic denitrifying bacterium RWX31 in agricultural non-point source pollution treatment, batch experiments were conducted to investigate nitrate removal efficiency of the strain under different $\text{NO}_3\text{-N}$ loads and C/N conditions, and bioaugmentation effects by the strain on simulated wastewater ($\text{NO}_3\text{-N}$ concentration $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) in a small bioreactor (4L) were also studied. The results showed that, compared with control strain ACCC01047, strain RWX31 had higher tolerance to nitrate-N load ($200\sim 400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) and lower requirement of C/N ($6\sim 10$). Under hydraulic retention time of 24 h, bioaugmentation by strain RWX31 on simulated wastewater had good performance of 80% nitrate-N removal efficiency, while control strain had only about 60%; the nitrate removal ability of strain RWX31 was $0.35\sim 0.4\text{ mg N}\cdot\text{mg}^{-1}\text{COD}$, higher than that of control strain, meaning RWX31 consumed less carbon source in the $\text{NO}_3\text{-N}$ removal process. These characters make strain RWX31 have higher biological nitrogen removal efficiency and lower cost of wastewater treatment, and may have great potential in practical application of wastewater treatment with low C/N and high nitrogen concentration such as agricultural non-point source wastewater.

Keywords: aerobic denitrifying bacterium; carbon nitrogen ration; nitrate concentration; bioreactor

随着农业生产中化肥使用量的增加,大量的氮磷随着降水和径流排入河流和湖泊,造成了水体富营养化现象的产生,严重影响水资源的利用和区域经济的

发展^[1-3]。对于农业来源的氮素污染目前主要有以下解决途径^[4]:用不同的施肥和农艺措施^[5]降低污染氮素的产生;通过中间过程如湿地、生态沟渠等拦截污染物入湖^[6];对于已经排入环境中的氮素还可以通过原位处理如植物修复^[7-8]和微生物反硝化过程进行转化去除。反硝化脱氮是通过微生物作用将环境中的硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)转化为氧化亚氮气体或者氮气的过程,由于具有经济有效、无二次污染等优点而被用作污染水体脱氮的首选方法。传统理论认为,反硝化过程需要绝

收稿日期:2013-03-05

基金项目:南方平原稻作农区农业面源污染防治技术集成与示范项目(2012BAD15B03);竺山湾农田种植业面源污染综合治理技术集成研究与工程示范项目(2012ZX07101-004)

作者简介:周影茹(1985—),女,陕西西县人,博士研究生,主要从事面源污染控制方面的研究。E-mail:zhouyingru1985@163.com

* 通信作者:施卫明 wmsi@mail.issas.ac.cn

对厌氧条件,因为 O_2 会抑制反硝化酶的活性^[9],同时,在有机物质氧化的过程中, O_2 也被认为是首选电子受体,这样就阻止了反硝化菌使用硝酸盐作为电子受体过程。但在农业面源污染废水的处理过程中,污染水体来源复杂,污染程度变幅较大^[10],且不同水体流动性和富营养化状态的不同造成水体中好厌氧情况交替存在,普通的反硝化细菌很难适应如此复杂多变的环境,若要将污染水体在绝对厌氧条件下进行反硝化脱氮处理又需要严格的处理环境以及大量的经济投入。1983 年 Robertson 和 Kuenen^[11]分离出一株反硝化菌 *Thiosphaera pantotropha* (后更名为 *Paracoccus denitrificans*),该菌株可以在有氧气存在的情况下继续进行反硝化脱氮过程,因此在复杂环境条件下的脱氮处理中具有很大的应用潜力,从而引发了各国学者对好氧反硝化的研究热潮,之后便有更多的好氧反硝化菌株从不同的环境中诸如土壤、沟渠、沉积物和活性污泥中被分离出来^[12-14]。

利用好氧反硝化菌株处理污染水体的菌株现已经报道很多^[15-16],但是不同菌株对硝酸盐负荷耐受能力和 C/N 需求不同,农业面源污染中氮素污染浓度经常很高($200\sim 600\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),而 COD 浓度则相对较低($70\sim 350\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)^[17-18],因此反硝化作用可能会因为缺乏有效利用的碳源而受到抑制。选择一株既耐受高浓度硝酸盐负荷又对 C/N 需求较低的菌株对农业面源污染废水进行处理,可以降低运行成本,提高处理效率。本文以之前实验室筛选所得的一株好氧反硝化细菌 *Pseudomonas* sp. RWX31 为供试菌株,并选取一株常用的反硝化菌株 *Pseudomonas fluorescens* 作为对照菌株,研究在不同 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度负荷和 C/N 条件下菌株的反硝化脱氮作用,并将其应用在小型反应器中对模拟废水的脱氮效果进行强化,从而发掘供试菌株在原位和异位水体修复中的应用优势和潜力,期望为其实际应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采用本试验室之前筛选所得的好氧反硝化菌株 *Pseudomonas* sp. RWX31,其在初始硝态氮浓度为 $140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,在 $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的摇床(DO 浓度: $6.2\sim 6.7\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)培养 24 h 后 $\text{NO}_3\text{-N}$ 去除率可达 81.3%。用作对照的菌株 *Pseudomonas fluorescens* ACCC01047 购于中国农业菌株库。

1.2 硝态氮负荷和 C/N 对两菌株反硝化过程的影响

采用纯培养方式研究不同 $\text{NO}_3\text{-N}$ 负荷和 C/N 对两菌株反硝化作用的影响。在 250 mL 的三角瓶中,加入 100 mL 反硝化培养基(单位: $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$),其中柠檬酸钠 5、 KNO_3 1.011、 KH_2PO_4 1、 K_2HPO_4 0.5、 $\text{Mg}_2\text{SO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2,pH 7.2,分别接种 1 mL 预培养的 RWX31 和 ACC01047 菌液(OD_{600} 调为 0.5 左右),温度 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 和摇床转速 $160\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 48 h。定期取样,做出菌株在不同培养条件下细胞生长和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 变化曲线。菌株比生长速率(μ)根据生长曲线中 OD_{600} 的斜率计算。

考察不同 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度对菌株反硝化作用的影响:固定培养体系中 C/N 为 8,设置 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度分别为 100、200、300、400、550 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。考察 C/N 对菌株反硝化作用的影响:固定培养体系中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度为 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,设置 C/N 分别为 2、4、6、8、10、12。

1.3 模拟反应器装置

试验用的小型模拟反应器,采用有机玻璃制成圆柱形反应器,内径 15 cm,高 35 cm,有效容积 4 L,设有进水孔、排气孔,采用圆柱形曝气头,曝气量为 $0.5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$,装置置于温室中,维持反应温度为 $(27\pm 2)\text{ }^\circ\text{C}$ (图 1)。

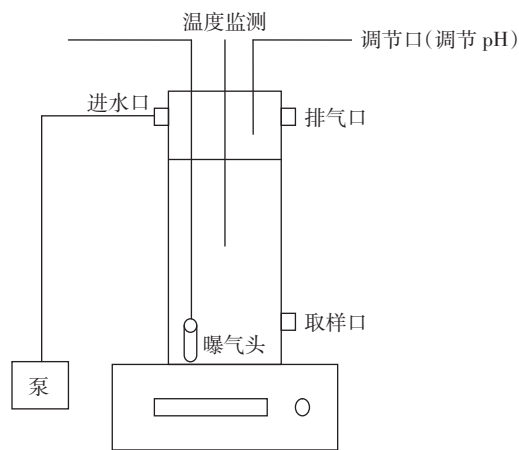


图 1 小型反应器装置图

Figure 1 Schematic diagram of small scale simulated bioreactor

1.4 模拟反应器的启动及运行条件

试验采用模拟 $\text{NO}_3\text{-N}$ 污染废水,以柠檬酸钠、氯化铵、硝酸钾、磷酸二氢钾、亚硝酸钠和微量元素根据试验要求配置废水。试验中共使用两个反应器,反应器驯化时,各投加采自南京某生活小区的污泥 100 g,污泥形状为浅褐色,间有少许絮状体。污泥经高温灭菌后,加入反应器中曝气培养 12 h 使得污泥中脱氮

优势菌得以生长。当反应器中污泥驯化结束后,初始一次性人工进模拟废水 4 L,废水组分如表 1 所示。向两个反应器中分别投加供试菌株 RWX31 和对照菌株 ACCC01047,投菌量为 2%(菌体干重约为 160 mg),投加的菌株会悬浮在上层水相中,每个运行周期持续时间 24 h,其中曝气 22 h,沉降 2 h 后排出 50%(即 2 L)水样,并注入 2 L 新鲜模拟废水,运行下一个周期。试验过程中不断通过滴加 NaOH 和 HCl,调节反应器中 pH 为 6.8~7.0。

表 1 NO ₃ -N 污染模拟废水成分组成						
Table 1 Components of nitrate-N contaminated simulated wastewater						
污水指标	COD	NH ₄ -N	NO ₃ -N	TN	TP	pH
含量/mg·L ⁻¹	1050	20	200	220	0.3	7.0

1.5 测定方法

菌体生物量采用比浊法测定,即用分光光度计(Bio-Rad 3000;USA)测定菌体在 600 nm 波长处的吸光度,NO₃-N 测定采用紫外分光光度法,总氮测定采用过硫酸钾消解-紫外分光光度法^[9],COD_{Cr}采用重铬酸钾氧化后用 COD 测定仪(Lovibond ET99731 型,德国)测定,pH 采用 pH 计(HANNA pH211 型,意大利)测定,DO 采用溶氧仪(雷磁 JPB-607,中国)测定。试验数据用 Excel2003 和 SPSS17.0 软件进行数理统计分析,并用 Duncan 检验进行多重比较($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 NO₃-N 负荷对两株菌株反硝化除氮作用的影响

以 *Pseudomonas fluorescens* ACCC01047 为对照菌株,考察 *Pseudomonas* sp. RWX31 菌株在不同 NO₃-N 污染条件下的生长和反硝化效率,结果如图 2 所示。在初始 NO₃-N 浓度为 100 mg·L⁻¹ 时候,两菌株生长与 NO₃-N 去除效率相同,均为 75%;而当初始 NO₃-N 浓度为 200~400 mg·L⁻¹,其除氮率开始下降,但菌株 RWX31 的生长与除氮效率始终大于 ACCC01047。NO₃-N 浓度为 200 mg·L⁻¹ 时,RWX31 和 ACCC01047 的 NO₃-N 去除率分别为 79%和 29%;NO₃-N 浓度为 300 mg·L⁻¹ 时,两菌株的 NO₃-N 去除率分别为 43%和 18%;NO₃-N 浓度为 400 mg·L⁻¹ 时,两菌株的 NO₃-N 去除率分别为 45%和 18%;到 NO₃-N 浓度为 500 mg·L⁻¹ 时,菌株 RWX31 和 ACCC01047 的除氮率则分别降至 22%和 11%。在较低(100 mg·L⁻¹)及较高(500 mg·L⁻¹)的 NO₃-N 负荷时,两菌株均无较大差异,但在适中的 NO₃-N 负荷(200~400 mg·L⁻¹)下,RWX31 比

ACCC01047 表现出明显的生长优势和除氮能力。该结果表明,在用于实际废水处理的时候,过高浓度的氮负荷可能会影响微生物的生长和反应活性,所以过高浓度的污染废水需先进行适当的稀释后再进行净化处理才能获得较好的效果,菌株 RWX31 的脱氮效果和处理作用范围均大于菌株 ACCC01047。

根据表 2 结果可以看出,两株菌株单位 OD₆₀₀ 的硝态氮去除量随初始 NO₃-N 浓度的不同而异,其中菌株 RWX31 的单位 OD₆₀₀ 硝态氮最大去除量(133.6 mg·L⁻¹·OD₆₀₀⁻¹)发生在初始 NO₃-N 浓度为 200 mg·L⁻¹ 时,而对照菌株 ACCC01047 的单位 OD₆₀₀ 硝态氮最大去除量(88.9 mg·L⁻¹·OD₆₀₀⁻¹)则发生在初始 NO₃-N 浓度为 100 mg·L⁻¹ 时,可见菌株 RWX31 对高浓度初始 NO₃-N 的耐受能力强于对照菌株,并且能够耐受较大范围的硝态氮污染浓度,在农业污水原位处理应用中具有更大的潜力。

表 2 不同 NO ₃ -N 浓度下两株菌株单位 OD ₆₀₀ 硝态氮去除量(mg·L ⁻¹ ·OD ₆₀₀ ⁻¹)					
Table 2 Nitrate-N removal amount per OD ₆₀₀ under different NO ₃ -N load(mg·L ⁻¹ ·OD ₆₀₀ ⁻¹)					
菌株	NO ₃ -N 浓度/mg·L ⁻¹				
	100	200	300	400	500
RWX31	85.2	133.6	78.0	91.2	58.4
ACCC01047	88.9	66.7	52.9	60.0	87.1

2.2 C/N 对两株菌株反硝化除氮作用的影响

在固定初始 NO₃-N 浓度为 200 mg·L⁻¹ 时候,随着 C/N 的增加,菌株 RWX31 和 ACCC01047 的生长与除氮能力也增加(图 3)。在较低 C/N 时,两菌株的生长和 NO₃-N 去除曲线无显著差异。C/N=2 时,两菌株对 NO₃-N 的去除率为 17%;C/N=4 时,两菌株对 NO₃-N 的去除率为 32%。但在中等 C/N 条件时,两菌株的生长和除氮曲线表现出显著的差异,RWX31 生长和 NO₃-N 去除速率均快于 ACCC01047。C/N=6 时,两菌株 NO₃-N 去除率分别为 70%和 24%;C/N=8 时,两菌株 NO₃-N 去除率分别为 87%和 51%;C/N=10 时,两菌株 NO₃-N 去除率分别为 79%和 62%。而当 C/N 为 12 时,由于过量的碳源会对菌株代谢产生一定的抑制作用^[20],两株菌株的生长和代谢反而都降低,RWX31 菌株最终 NO₃-N 去除率降为 51%,而 ACCC01047 菌株降至 47%。

根据表 3 结果可以看出,两菌株单位 OD₆₀₀ 硝态氮去除量随 C/N 的不同而异,其中菌株 RWX31 的单

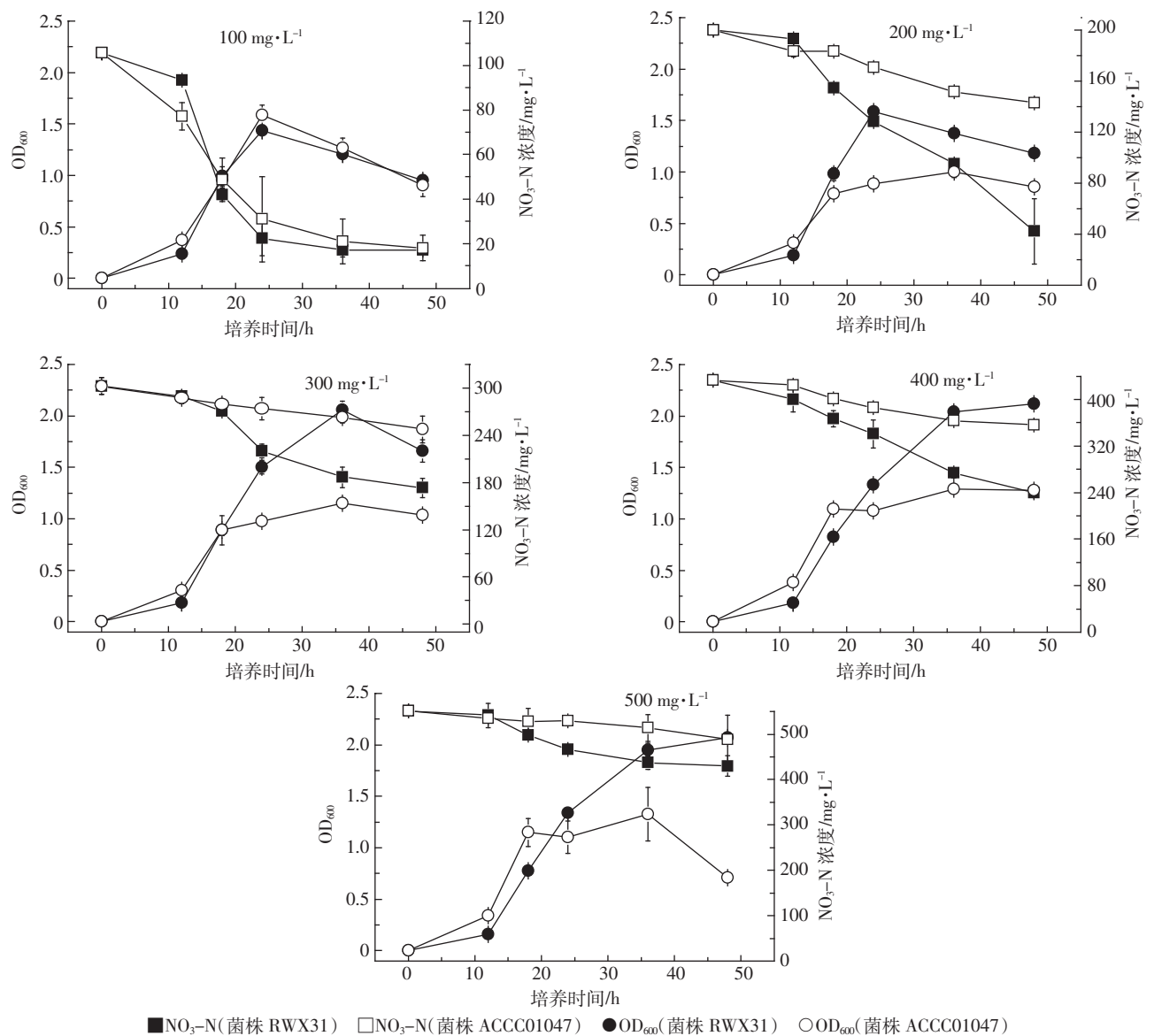


图 2 不同硝态氮浓度负荷对两株菌株生长和硝态氮去除能力的影响
Figure 2 Growth and nitrate-N concentration curve under different nitrate load

位 OD₆₀₀ 硝态氮最大去除量 (148.8 mg·L⁻¹·OD₆₀₀⁻¹)发生在 C/N 为 6 时, 而对照菌株 ACCC01047 的单位 OD₆₀₀ 硝态氮最大去除量 (126.6 mg·L⁻¹·OD₆₀₀⁻¹)发生在 C/N 为 8 时, 并且其最大去除量数值低于 RWX31, 但所需的 C/N 却高于 RWX31。这也说明菌株 RWX31 在低 C/N 的面源污染水体处理中具有更大的优势。

2.3 好氧反硝化菌株 RWX31 强化反应器对硝态氮污染废水的去除效果研究

由于菌株 RWX31 在纯培养条件下具有较好的去氮效果, 我们设计小型模拟反应器, 根据文献资料并结合上文研究结果设计供试污水水质, 研究该菌株在水力停留时间(HRT)为 24 h 的情况下强化反应器

表 3 不同 C/N 下两株菌株单位 OD₆₀₀ 硝态氮去除量(mg·L⁻¹·OD₆₀₀⁻¹)

Table 3 Nitrate-N removal amount per OD₆₀₀ under different C/N(mg·L⁻¹·OD₆₀₀⁻¹)

菌株	C/N					
	2	4	6	8	10	12
RWX31	91.9	91.0	148.8	128.1	81.9	51.5
ACCC01047	94.3	113.4	112.2	126.6	87.1	58.3

处理氮污染废水的效果, 结果如图 4 所示。

微生物强化生物废水处理可以提高对污染物的去除效果。从图 4A 中可以看出, 两菌株都具有强化

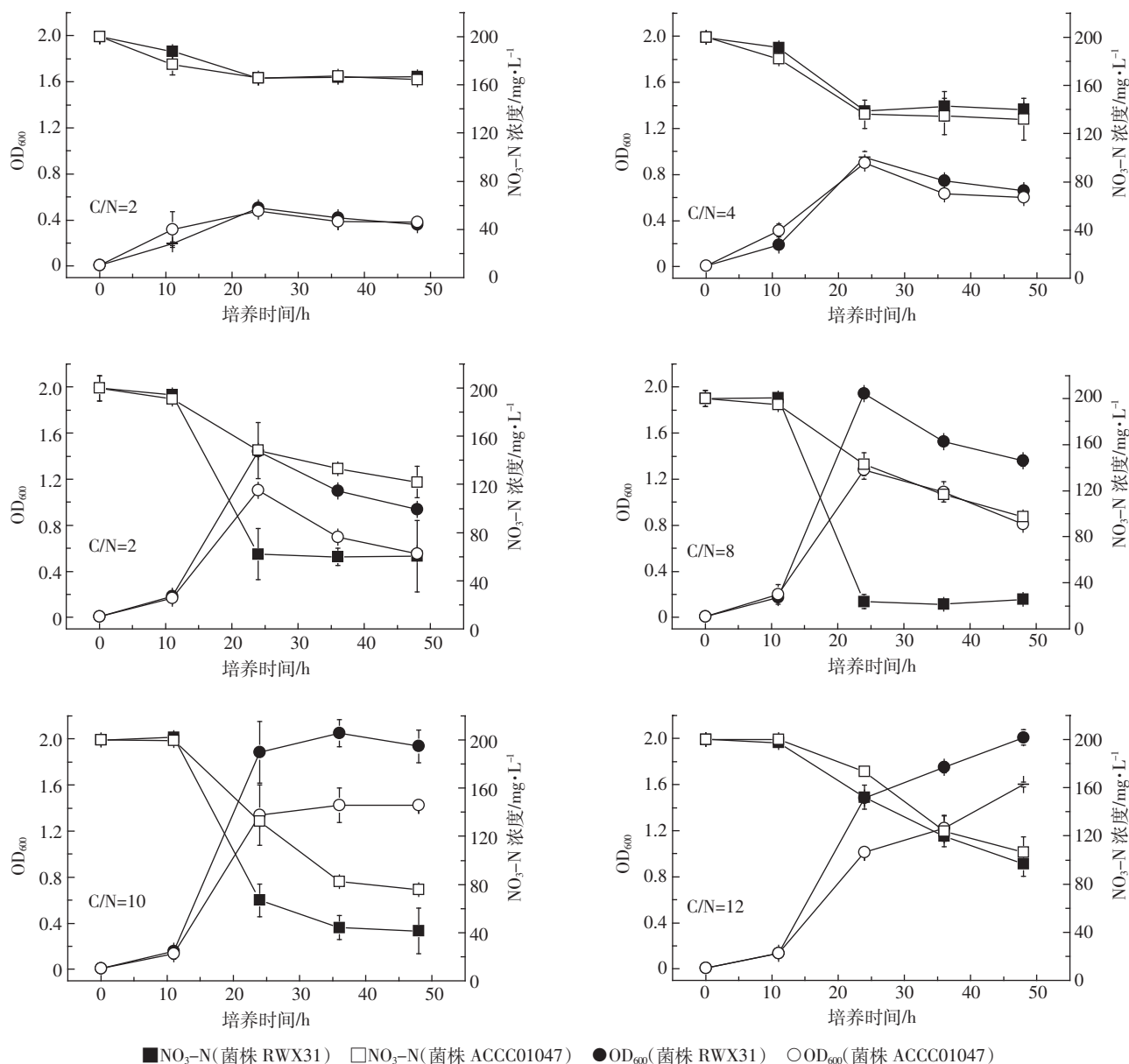


图3 不同 C/N 对两株菌株生长和硝态氮去除能力的影响

Figure 3 Growth and nitrate-N concentration curve under different C/N

反硝化脱 NO₃-N 的能力,在反应器进水后,少量 NH₄-N 的存在有利于微生物的快速生长,随着反应周期数的增加,反应器中微生物得以充分生长,其除氮效果均趋于稳定。至第 4 周期时,菌株 RWX31 处理的反应器出水 NO₃-N 仅为 40 mg·L⁻¹,除氮率为 80%,之后效果稳定在此水平。而菌株 ACCC01047 处理的反应器在第 3 周期即稳定,但其出水 NO₃-N 浓度为 80 mg·L⁻¹,除氮率仅为 60%,之后周期也在此水平上下浮动。菌株对 NO₃-N 去除的同时,对废水中的 COD 也进行去除。这是因为微生物的生长和反硝化作用需要碳源提供能量,两菌株对 COD 的去除差异

在 40%~50% 间浮动(图 4B),但对 COD 的去除效果为 RWX31 处理的反应器略低于 ACCC01047 处理的反应器,说明 ACCC01047 菌株在生长和反硝化过程中需要更多的碳源。而实际环境中的废水 C/N 数值大多数较低,很难达到一般微生物生长所需,在处理过程中往往需要人工投加有机碳源^[21]以达到微生物所需。这个特点对于需要较低 COD 进行生长和脱氮的菌株(如菌株 RWX31)来说,其应用于处理过程中可以减少碳源添加量,降低净化成本,同时可以防止二次污染的产生。

根据除氮曲线换算出来的两菌株单位 COD 去除

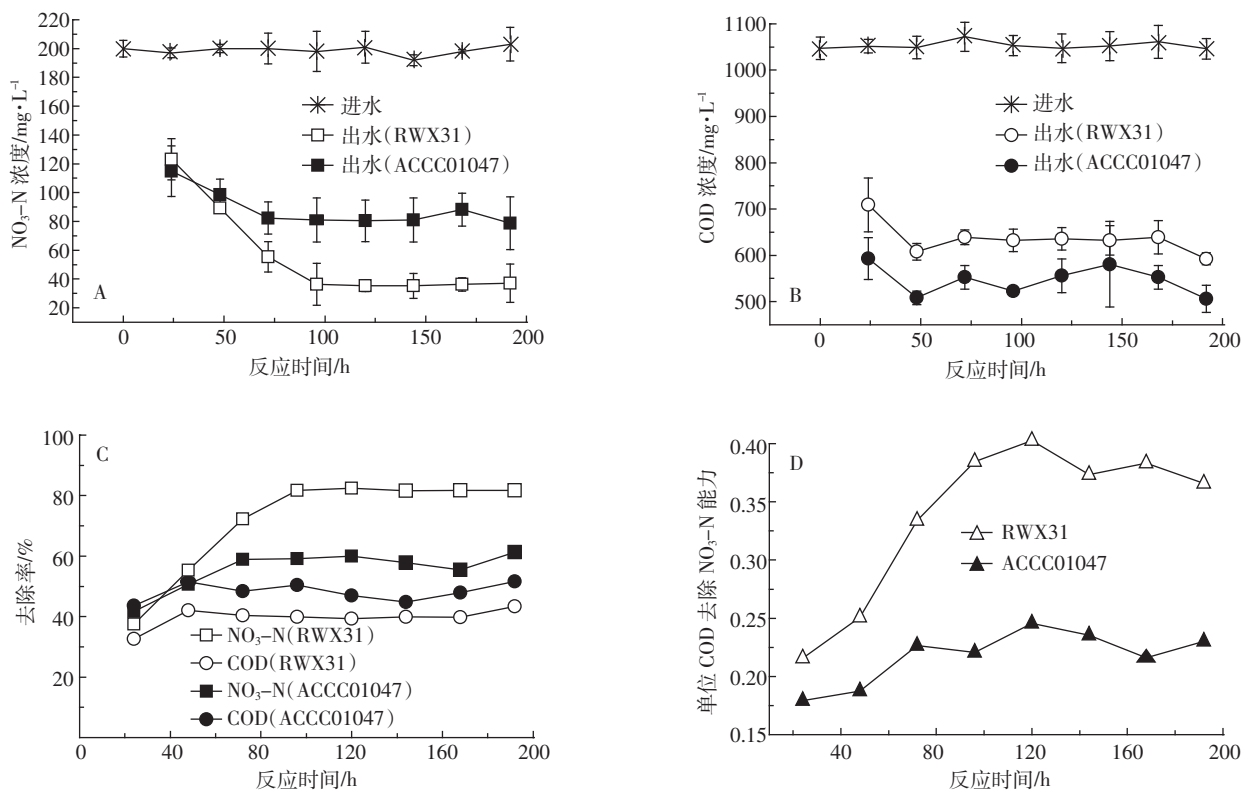


图4 两株菌株在反应器中对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和 COD 的去除效果(A、B、C)及去除能力(D)

Figure 4 Bioaugmentation performance on $\text{NO}_3\text{-N}$ and COD removal(A, B, C) and the removal ability(D) of the two strains

$\text{NO}_3\text{-N}$ 能力结果(图4D), RWX31 菌株单位 COD 去除 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的能力为 $0.36\sim 0.4 \text{ mgN}\cdot\text{mg}^{-1}\text{COD}$, 而 ACCC01047 的去除能力仅为 $0.21\sim 0.24 \text{ mgN}\cdot\text{mg}^{-1}\text{COD}$, 菌株 RWX31 利用碳源去除 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的能力显著高于对照菌株, 说明其对碳源能够有效利用。

3 讨论

有研究认为^[22], $\text{NO}_3\text{-N}$ 的浓度越高($1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 反硝化菌株基因(nirS 和 cnorB)和酶活性诱导及表达的时间便越长, 菌株反硝化活性便越大。但在实际应用时, 每个菌株对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 都有一个耐受范围, 过高浓度的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 会在反硝化过程中产生大量的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 积累, 从而抑制菌株的继续生长和代谢。另据报道^[23], 大部分工业和农业污水中的硝态氮浓度范围为 $50\sim 360 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 这类污水的反硝化作用依赖于很多因素, 如所使用的微生物能够耐受的最高 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度以及有机碳源的量等。菌株 *Pseudomonas stutzeri* D6 可以耐受 $49.2\sim 358 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的初始 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度^[23], 本研究中对照菌株 ACCC01047 可以耐受的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度为 $100\sim 200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 菌株 RWX31 则可以耐受更高浓度的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 污染($200\sim 400 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。也就是说, 在实际

污水处理时候, 用 RWX31 菌株进行处理的高浓度废水可以稀释倍数少些, 既可以节约自来水用量, 减少废水处理体积, 又能够提高处理效率。

碳氮比是衡量反硝化体系中电子供体与电子受体比率的指标, 可以影响到反硝化速率和中间产物的积累。在过低的 C/N 情况下, 微生物没有足够的碳源进行菌体生长, 菌体就必须利用细胞物质进行内源呼吸反硝化, 相应的反硝化效率会降低, 所以高效菌株也无法发挥其去氮优势; 在过高的碳源浓度下, 碳源已非限制性因素, 菌体生长和代谢活性稳定, 此时增加碳源反硝化效率的增加也极为有限^[23]。不同菌株进行反硝化所需的最佳 C/N 不同, 周莉等^[24]分离的反硝化菌株作用的最佳 C/N 为 15, 王莹等^[15]在人工湿地分离的另一株好氧反硝化菌株 B13 所需最佳 C/N 为 10, 本文的菌株 RWX31 在 C/N 为 $6\sim 10$ 时均表现出比对照菌株更加快速的生长和脱氮能力, 而王弘宇等^[25]报道的菌株 X31 虽然在 C/N 为 $5\sim 6$ 时候即可达到最高的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 去除率, 但是其所处理的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度为 $120\sim 150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 低于 RWX31 对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的耐受能力。同时高 C/N 条件下由于盐度增加使得微生物的生长和代谢受到胁迫, 大量添加碳源还会造成能源

浪费,增加净化成本,甚至产生二次污染。因此,在实际污水处理时根据污水水质和使用微生物情况及时调整碳源的供应量可以达到节约能源,提高处理效率的作用。

由于农业面源污染具有分散性、隐蔽性、滞后性和难以量化等特性^[26],使得目前对于农业来源的废水的处理方式有别于工业污水,而污水的来源多样性和复杂性也使得对处理菌株的要求较高。菌株 RWX31 可以耐受较低的 C/N 和较广范围的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度负荷,本研究选用其作为反应器脱氮的强化菌株,该菌株在反应器中 HRT 为 24 h 可达到 80% 的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 去除率,而对照菌株仅为 60%,虽然两株菌株处理的反应器出水中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度均未达到排放水水质要求,但已经显著降低了污染水体对环境的风险。孔秀琴等^[27]通过向 SBR 反应器中投加筛选得到的优势菌 A5 来对 COD 和氨氮浓度为 $450\sim 500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $45\sim 55\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的校园生活污水进行净化,利用菌株强化后的反应器对总氮和 COD 的去除率分别在 83% 和 95% 左右,而未强化的反应器对其去除率则分别为 57% 和 88%。本研究在小型模拟反应器中添加了优势菌株 RWX31,可以处理进水 COD 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 分别为 $1050\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的废水,且对氮素的去除率几乎相当,但对 COD 的去除率却略低于菌株 A5。一方面可能是本实验所配置的废水 COD 浓度过高所致,另一方面不同菌株对碳源的需求也有所差异。

综上所述,利用菌株 RWX31 作为农业污水原位处理的强化菌株具有较为明显的优势。当然,该小型模拟反应器效果仍需要进一步扩大到大型反应器中并用实际废水进行验证。

4 结论

与对照菌株 *Pseudomonas fluorescens* ACCC01047 相比,菌株 RWX31 可以耐受更高浓度的硝态氮污染 ($200\sim 400\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 和更低的 C/N ($6\sim 10$)。用菌株 RWX31 强化反应器处理废水的效果,在水力停留时间为 24 h 的小型模拟反应器中,RWX31 菌株强化的反应器对 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 污染废水去除率为 80%,菌株 RWX31 单位 COD 去除 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的能力为 $0.35\sim 0.4\text{ mgN}\cdot\text{mg}^{-1}\text{COD}$,而对照菌株在等量的 COD 碳源供应情况下对 $\text{NO}_3\text{-N}$ 的去除能力较低。菌株 RWX31 可能比较适应于碳氮比较低而氮素污染变幅较大的农业面源污染废水的生物脱氮处理,在实际应用中可以降低处理成本,提高脱氮效率。

参考文献:

- [1] Chhabra A, Manjunath K R, Panigrahy S. Non-point source pollution in Indian agriculture: Estimation of nitrogen losses from rice crop using remote sensing and GIS[J]. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation*, 2010, 12(3): 190-200.
- [2] Tian Y H, Yin B, Yang L Z, et al. Nitrogen runoff and leaching losses during rice-wheat rotations in Taihu Lake region, China [J]. *Pedosphere*, 2007, 17(4): 445-456.
- [3] 闵 矩, 施卫明, 王俊儒. 不同施氮水平对大棚蔬菜氮磷钾养分吸收及土壤养分含量的影响[J]. 土壤, 2008, 40(2): 226-231.
MIN Ju, SHI Wei-ming, WANG Jun-ru. Effects of N fertilizer application rate on vegetable N, P, K uptake and soil nutrient content in greenhouse[J]. *Soils*, 2008, 40(2): 226-231.
- [4] 杨林章, 施卫明, 薛利红, 等. 农村面源污染治理的“4R”理论与实践: 总体思路与“4R”治理技术[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(1): 1-8.
YANG Lin-zhang, SHI Wei-ming, XUE Li-hong, et al. Reduce-retain-reuse-restore technology for the controlling the agricultural non-point source pollution in countryside in China: General countermeasures and technologies[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(1): 1-8.
- [5] Pan Gen-xing, Zhou Ping, Li Zhi-peng, et al. Combined inorganic/organic fertilization enhances N efficiency and increases rice productivity through organic carbon accumulation in a rice paddy from the Tai Lake region, China[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2009, 131(3-4): 274-280.
- [6] Schulz M, Rinke K, Hler J K. A combined approach of photogrammetrical methods and field studies to determine nutrient retention by submerged macrophytes in running waters[J]. *Aquatic Botany*, 2003, 76: 17-29.
- [7] 周影茹, 袁晓燕, 王俊儒, 等. 太湖地区高效除氮浮萍品种的筛选及其除氮机理的初步研究[J]. 土壤, 2010, 42(3): 390-397.
ZHOU Ying-ru, YUAN Xiao-yan, WANG Jun-ru, et al. Screening duckweed (*Lemnaceae*) species for efficient removal of water-body's nitrogen in the Tai Lake region and preliminary study on nitrogen removal mechanism[J]. *Soils*, 2010, 42(3): 390-397.
- [8] 宋祥甫, 邹国燕, 吴伟明, 等. 浮床水稻对富营养化水体中氮磷的去除效果及规律研究[J]. 环境科学学报, 1998, 18(5): 489-494.
SONG Xiang-fu, ZOU Guo-yan, WU Wei-ming, et al. Study on the removal effect and regulation of rice plants on floating-beds to main nutrients N and P in eutrophicated water bodies[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1998, 18(5): 489-494.
- [9] Ferguson S J. Denitrification and its control[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1994, 66: 89-110.
- [10] 闵 矩, 陆扣萍, 陆玉芳, 等. 太湖地区大棚蔬菜地土壤养分与地下水水质调查[J]. 土壤, 2012, 44(2): 213-217.
MIN Ju, LU Kou-ping, LU Yu-fang, et al. Investigation of soil fertility and quality of ground water in greenhouse vegetable fields of Tai Lake region[J]. *Soils*, 2012, 44(2): 213-217.
- [11] Robertson L A, Kuenen J G. *Thiosphaera pantotropa* gen. nov. sp.

- nov., a facultatively anaerobic, facultatively autotrophic sulphur bacteria[J]. *Journal of General Microbiology*, 1983, 29:2847-2855.
- [12] Borges M T, Sousa A, De Marco P, et al. Aerobic and anoxic growth and nitrate removal capacity of a marine denitrifying bacterium isolated from a recirculation aquaculture system[J]. *Microbial Ecology*, 2008, 55(1):107-118.
- [13] Wang P, Liu X T, Xiang M F, et al. Characterization of efficient aerobic denitrifiers isolated from two different sequencing batch reactors by 16S rRNA analysis[J]. *The Society for Biotechnology*, 2007, 103(6):563-567.
- [14] Song Z F, An J, Fu G H, et al. Isolation and characterization of an aerobic denitrifying *Bacillus* sp. YX -6 from shrimp culture ponds [J]. *Aquaculture*, 2011, 319(1-2):188-193.
- [15] 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.
- [16] 杨小龙, 李文明, 陈燕, 等. 一株好氧反硝化菌的分离鉴定及其除氮特性[J]. 微生物学报, 2011, 51(8):1062-1070.
- YANG Xiao-long, LI Wen-ming, CHEN Yan, et al. Identification and denitrification of an aerobic bacterium[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(8):1062-1070.
- [17] 王学华, 苏祥, 沈耀良. 人工湿地组合工艺处理太湖三山岛农村生活污水研究[J]. 环境科技, 2012, 25(1):38-41.
- WANG Xue-hua, SU Xiang, SHEN Yao-liang. Research on treatment of rural domestic wastewater in Sanshan island Taihu Lake by combined process of constructed wetland[J]. *Environmental Science and Technology*, 2012, 25(1):38-41.
- [18] 高春芳, 刘超翔, 王振, 等. 人工湿地生态工艺对规模化猪场养殖废水的净化效果研究[J]. 生态环境学报, 2011, 20(1):154-159.
- GAO Chun-fang, LIU Chao-xiang, WANG Zhen, et al. Purification performance of a constructed three-stage wetland system for ecological treatment of piggery wastewater[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(1):154-159.
- [19] 北京工业大学工业水务中心. 水务管理法规标准规范全书(水源环境卷)[M]. 北京:中国标准出版社, 2003.
- Industrial Water Center, Beijing University of Technology. Standard specification for water management regulations (Water resources volume)[M]. Beijing: China Standard Press, 2003.
- [20] Kim M, Jeong S Y, Su J et al. Aerobic denitrification of *Pseudomonas putida* AD-21 at different C/N ratios[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2008, 106(5):498-502.
- [21] 酒卫敬, 汪苹, 岳建伟. 好氧反硝化菌处理高浓度氨氮废水研究[J]. 环境工程技术学报, 2011, 1(2):111-117.
- JIU Wei-jing, WANG Ping, YUE Jian-wei. Study on the treatment of wastewater containing high-concentration ammonia nitrogen with aerobic denitrifying bacteria[J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 2011, 1(2):111-117.
- [22] Saleh-Lakha S, Shannon K E, Henderson S L. Effect of nitrate and acetylene on nirS, cnorB, and nosZ expression and denitrification activity in *Pseudomonas mandelii*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(15):5082-5087.
- [23] Yang X P, Wang S M, Zhou L X. Effect of carbon source, C/N ratio, nitrate and dissolved oxygen concentration on nitrite and ammonium production from denitrification process by *Pseudomonas stutzeri* D6[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 104:65-72.
- [24] 周莉, 汤江武, 王新, 等. 好氧反硝化细菌的筛选鉴定及其反硝化反应条件优化[J]. 浙江农业学报, 2011, 23(5):942-947.
- ZHOU Li, TANG Jiang-wu, WANG Xin, et al. Screening and identification of aerobic denitrifiers and the optimization of denitrification conditions[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2011, 23(5):942-947.
- [25] 王弘宇, 马放, 苏俊峰, 等. 不同碳源和碳氮比对一株好氧反硝化细菌脱氮性能的影响[J]. 环境科学学报, 2007, 27(6):968-972.
- WANG Hong-yu, MA Fang, SU Jun-feng, et al. Influence of carbon source and C/N ratio on nitrogen removal of aerobic denitrifier[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2007, 27(6):968-972.
- [26] 李兆富, 杨桂山. 太湖流域非点源污染特征与控制[J]. 湖泊科学, 2004, 16(增刊):83-95.
- LI Zhao-fu, YANG Gui-shan. Research on non-point source pollution in Taihu Lake region[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2004, 16(Suppl):83-95.
- [27] 孔秀琴, 赵祥, 杨国栋, 等. 优势菌的筛选及其强化活性污泥好氧反硝化的研究[J]. 环境工程学报, 2008, 2(12):1621-1625.
- KONG Xiu-qin, ZHAO Xiang, YANG Guo-dong, et al. Isolation of dominant bacterial and intensification of aerobic denitrification of activated sludge[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2008, 2(12):1621-1625.