

基于碳酸氢钠为碳源的氢自养反硝化去除地下水中硝酸盐研究

王豫琪¹, 张增强^{2*}, 陈园¹, 沈志红¹, 王珍², 何国强³

(1.西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100; 2.西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 3.西安石油大学石油工程学院, 西安 710065)

摘要: 氢自养反硝化修复地下水中的硝酸盐污染以其清洁、环保又经济而受到广泛重视。利用全自动恒温振荡仪, 以 NaHCO_3 为碳源驯化氢自养反硝化细菌, 并对影响氢自养反硝化速率的因素进行了研究。结果表明, 以 NaHCO_3 作为唯一的无机碳源, 不仅可以高效驯化氢自养反硝化细菌, 而且可以控制体系的 pH 值, 效果优于单独以 CO_2 或以 CO_2 和 NaHCO_3 共同为碳源的系统; 当单独以 NaHCO_3 为碳源时, 其浓度为 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时可以满足氢自养反硝化细菌的生长, 并使体系 pH 保持在 8.5 ± 0.2 ; 当初始 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度 $< 135.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 反硝化速率随着 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度的升高而增大, 当 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度过高时 ($> 135.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 会抑制氢自养反硝化的进行; 当 pH 在 6.0~9.0 时, 氢自养反硝化可以进行, 但其最适 pH 为 7.0~8.0, 而当 pH < 6.0 或 pH > 9.0 时, 反硝化基本停滞; 温度为 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 时反硝化速率最大, 为 $2.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 当温度为 $15 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 有明显的亚硝酸盐积累。

关键词: 氢自养反硝化; 碳酸氢钠; 硝酸盐; 亚硝酸盐; 地下水

中图分类号: X523 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2011)03-0564-09

Nitrate Removal from Groundwater by Hydrogen Autotrophic Denitrification Using Bicarbonate as Carbon Source

WANG Yu-qi¹, ZHANG Zeng-qiang^{2*}, CHEN Yuan¹, SHEN Zhi-hong¹, WANG Zhen², HE Guo-qiang³

(1.College of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2.College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 3.School of Petroleum Engineering, Xi'an Shiyou University, Xi'an 710065, China)

Abstract: Hydrogen autotrophic denitrification attracts wide attention since it is clean, environmental friendly and economic. In this study, carbon dioxide and bicarbonate were selected as carbon sources. Tests were performed to compare their effectiveness on denitrification under different conditions. The results showed that bicarbonate as the only inorganic carbon source led to faster acclimation, and the stabilization of pH, which was better than that only with carbon dioxide or carbon dioxide combined with bicarbonate as carbon sources. The concentration of $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ bicarbonate was sufficient for the growth of denitrifying bacteria if only bicarbonate was added as carbon source. The performance of denitrification increased with higher nitrate load when its concentration was below $135.6 \text{ mgN} \cdot \text{L}^{-1}$. But it would inhibited denitrification with higher nitrate load. The nitrate degradation could be achieved when pH ranged from 6.0~9.0, but the best pH was 7.0~8.0. A lower (< 6.0) or higher (> 9.0) pH resulted in stagnation of denitrification. The best denitrification efficiency ($2.83 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) was achieved with a temperature at $35 \text{ }^\circ\text{C}$. The accumulation of nitrite occurred at $15 \text{ }^\circ\text{C}$.

Keywords: hydrogen autotrophic denitrification; bicarbonate; nitrate; nitrite; ground water

近年来,随着氮肥的大量施用,导致地下水硝酸盐污染日趋严重,这已经成为全球普遍的环境问题^[1]。

由于硝酸盐进入人体后可以被还原为亚硝酸盐,而亚硝酸盐可以将铁血红蛋白氧化为高铁血红蛋白,从而引起高铁血红蛋白症^[2]。因此,地下水中硝酸盐含量的超标将会影响到人类的健康。

按照硝酸盐污染修复机理的不同,目前,去除地下水中硝酸盐的方法包括非生物法^[3]和生物法^[4]两类。其中非生物法主要有离子交换,反渗透和电渗析等方

收稿日期: 2010-08-17

基金项目: 陕西省攻关项目 (2010K01-01)

作者简介: 王豫琪 (1985—), 女, 陕西汉中, 硕士研究生, 主要从事地下水污染治理研究。E-mail: yqcatherine@163.com

* 通讯作者: 张增强 E-mail: zhangzq58@126.com

法,这些方法仅仅将硝酸盐浓缩,并不能将硝酸盐去除,并且费用比较昂贵^[5]。生物法指利用反硝化细菌将硝酸盐还原为氮气。根据反硝化细菌的不同类型,可以将生物反硝化分为自养反硝化和异养反硝化两类。异养反硝化是利用外源有机物如报纸^[6]、秸秆^[7]、棉花^[8]等作为碳源,其特点是对环境的敏感性弱、脱氮效率高,但容易产生生物絮凝体以及反应副产物,需要进行二次处理。氢自养反硝化以 CO₂ 和氢气为碳源和能源进行生物脱硝。由于 H₂ 价格低廉、反硝化过程不产生二次污染物,而引起了广泛的关注,但采用 CO₂ 为碳源时,容易引起体系 pH 的降低,从而抑制氢自养反硝化的进行。因此,探索替代 CO₂ 的无机碳源就显得非常必要。

本文以 H₂ 作为电子供体,以外源 NaHCO₃ 为碳源,利用氢自养反硝化细菌对模拟地下水中的硝酸盐进行生物脱硝实验,研究了 NaHCO₃ 投加量、硝酸盐浓度、pH 以及温度等对反硝化效果的影响,为地下水中硝酸盐污染的生物修复提供理论依据。

1 材料与方方法

1.1 反应装置

实验在全自动恒温振荡仪中进行,转速为 150 r·min⁻¹。液体容积为 1 L,如图 1 所示。用注射器将菌液注入反应器中,实验前对反应器曝 N₂ 5 min 以除去溶液中的溶解氧。之后,不断通入 CO₂,其中 CO₂ 速率为 100.0 mL·min⁻¹,H₂ 每日通 1 次,每次 10 min^[9],压力为 0.05 MPa,反应器为密封状态,定时从采样口进行采样检测。

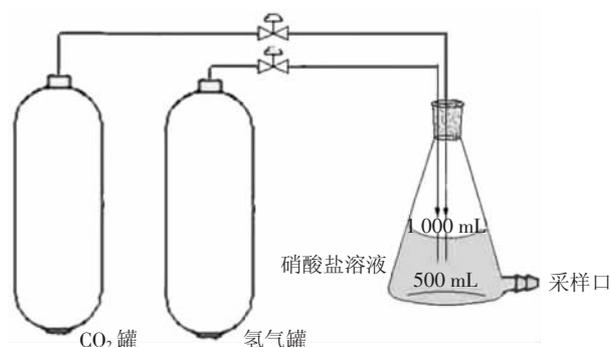


图 1 反应装置示意图

Figure 1 The experimental setup

1.2 主要仪器与试剂

1.2.1 仪器

UV1102 型紫外可见分光光度计(上海天美),电

子天平,PHS23C 型通用 pH 计(上海雷磁),DDS2307 型电导率仪(上海雷磁),蠕动泵,超净工作台,高压灭菌锅。

1.2.2 试剂

KNO₃、HCl、NaNO₂、ZnSO₄·KH₂PO₄、(NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O、NH₄Cl、NaHCO₃、N-(1-萘基)-乙二胺盐酸盐、氨基苯磺酰胺、硫酸锰溶液、碱性碘化钾溶液、(1+5)硫酸溶液、1%淀粉溶液、重铬酸钾标准溶液、硫代硫酸钠溶液、氨基磺酸、H₂。

1.3 实验设计

1.3.1 自养反硝化细菌碳源的筛选

采用 Till^[10]的培养基,氮源采用 KNO₃,以 K₂HPO₄ 作为缓冲介质。

实验所用污泥取自杨凌污水处理厂二次厌氧池中的新鲜污泥,按照表 1 进行循环式批反应(NO₃⁻-N 降解完全为一个循环,之后注入同等浓度的 NO₃⁻-N 溶液进行下一个循环),确定最佳碳源。

表 1 不同无机碳源的氢自养反硝化体系

Table 1 Hydrogen autotrophic denitrification with different inorganic carbon sources

批反应	无机碳源	电子供体	pH
1	CO ₂	H ₂	5.0~6.0
2	CO ₂ +NaHCO ₃	H ₂	5.0~6.0
3	NaHCO ₃	H ₂	7.0~8.5

注:CO₂ 速率为 100.0 mL·min⁻¹,H₂ 压力为 0.05 MPa,NaHCO₃ 投加量为 2.0 g·L⁻¹,反应体系为 1 L。

1.3.2 自养反硝化菌的富集培养

驯化菌体所用污泥取自杨凌污水处理厂的二次厌氧发酵池内的污泥。向 1 L 反应器中投加适量的基质^[10]和 10.0 g·L⁻¹ 污泥。首次添加的 KNO₃ 溶液浓度为 100.0 mg·L⁻¹ (22.6 mg NO₃⁻-N·L⁻¹),在反应器中进行培养直至 NO₃⁻-N 浓度为零(第一代,7 d)。再吸取 100.0 mL 菌液注入新鲜的含有培养基质的 200.0 mg·L⁻¹ KNO₃ (45.2 mg NO₃⁻-N·L⁻¹) 溶液中进行培养,待 NO₃⁻-N 彻底还原后(第二代,5 d)再吸取上述菌液 100.0 mL 接种于 300.0 mg·L⁻¹ (67.8 mg NO₃⁻-N·L⁻¹) 的 KNO₃ 溶液中,连续培养(第三代,3 d)。观察发现初期 NO₃⁻-N 的降解速率较慢,随后逐渐升高,最后达到稳定(第四代),这时的菌体可以用于进行后续实验。

1.3.3 NaHCO₃ 投加量的影响

将反硝化体系的初始 pH 调节到 7.0,温度控制在 25 °C,H₂ 压力为 0.05 MPa 时,分别向体系投加 1.5、2.0、2.5 g 和 3.0 g NaHCO₃,考察不同 NaHCO₃ 投

加量对氢自养反硝化的影响。

1.3.4 硝酸盐浓度的影响

将体系 pH 调节到 7.0, NaHCO_3 投加量为 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 温度控制在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$, H_2 压力为 0.05 MPa , 分别设置硝酸盐浓度为 45.2 、 67.8 、 90.4 、 $135.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $180.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 探讨不同初始硝酸盐浓度对反硝化速率的影响。

1.3.5 初始 pH 的影响

将体系 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 浓度控制在 $45.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NaHCO_3 投加量为 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 温度为 $25 \text{ }^\circ\text{C}$, H_2 压力为 0.05 MPa , 设置不同的 pH 梯度, pH 分别为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 和 10.0, 考察不同初始 pH 对反硝化速率的影响。

1.3.6 温度的影响

将体系 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 浓度控制在 $45.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NaHCO_3 投加量为 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 氢气压力为 0.05 MPa , 设置不同的温度, 分别为 15 、 25 、 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $45 \text{ }^\circ\text{C}$, 考察不同温度对反硝化的影响。

1.4 分析方法

溶液 pH、电导率分别用 pH 计和电导率仪测定。 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 用紫外可见分光光度计在 220 nm 和 275 nm 两个波长下同时测定; $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 用 N-1 萘基-乙二胺光度法在 540 nm 下测定^[1]; 菌体生物量采用 OD_{600} 表示, DO 值用碘量法测定^[1]。

2 结果与分析

2.1 不同碳源的影响

单独利用 CO_2 作为外源碳源、 H_2 作为电子供体进行自养反硝化时, 反硝化细菌驯化耗时 19 d , 共 7 个循环(见图 1)。由图 1 可知, 在前 4 个循环中, $22.6 \text{ mg NO}_3^- \text{-N} \cdot \text{L}^{-1}$ 被完全降解分别需要 6、5、3 d 和 2 d, 说明反应初期体系不稳定, 并且第 3 d 时 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的

积累达到最大, 为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 随后, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度逐渐降低。因为在氢自养反硝化过程中, $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 首先转化为 $\text{NO}_2^- \text{-N}$, 最终 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 被还原为 N_2 。但在最初阶段, 反硝化细菌没有达到稳定状态, 所以不能及时将 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 转化为 N_2 , 造成了 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的积累。4 个循环结束后, 氢自养反硝化细菌达到稳定状态, 之后 3 个循环中, 24 h 就可以将 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 完全降解, 并且没有 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 的积累。在这一过程中, 由于不断通入 CO_2 , 所以体系的 pH 一直保持在 $5.0 \sim 6.0$ 之间。

用 NaHCO_3 和 CO_2 为混合碳源驯化反硝化菌的结果见图 2。从图 2 可以看出, 同时利用 NaHCO_3 和 CO_2 为碳源进行驯化时耗时 16 d , 共 6 个循环。在第 3 d 时 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度达到 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 但是随后浓度迅速减小, 最终维持在 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在这一过程中, 氢自养反硝化细菌在前 4 个循环结束后达到稳定, 和单独以 CO_2 为碳源的驯化过程相似, 但是驯化并且达到稳定的周期变短。由于不断通入 CO_2 , 体系的 pH 仍然保持在 $5.0 \sim 6.0$ 之间。

由图 3 可以看出, 利用 NaHCO_3 作为外源碳源进行氢自养反硝化耗时 8 d , 进行了 5 个循环。在第 2 个循环结束后, 氢自养反硝化细菌达到稳定状态。在第 4 d 时, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 积累达到最大, 为 $0.28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。随着 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的不断还原, $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 浓度随之降低。开始驯化时, 用 HCl 和 NaOH 调节体系 pH 至 7.0。由于没有外源 CO_2 的加入, 该体系的 pH 值会随着反硝化过程的进行而逐渐升高, 一个循环结束后体系的 pH 维持在 $8.0 \sim 8.5$ 之间。通入 N_2 后, 体系内的 DO 值变化如图 4 所示, 反应开始后不久, N_2 的通入除去了体系内的溶解氧, 使得体系内的 DO 值为 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 不同 NaHCO_3 的投加量对反硝化速率的影响

以 NaHCO_3 为碳源进行氢自养反硝化脱氮, 探讨

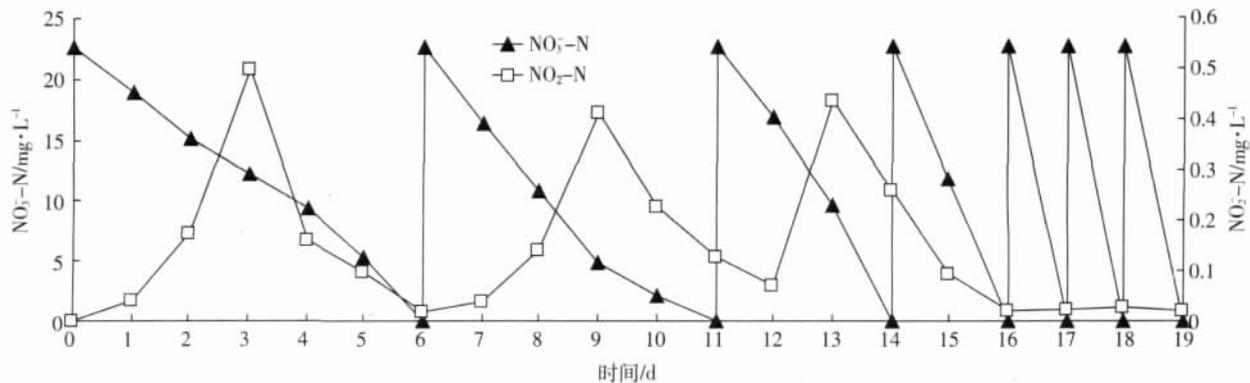


图 1 以 CO_2 为碳源驯化过程中硝酸盐和亚硝酸盐变化

Figure 1 Nitrate and nitrite profiles during acclimatization of hydrogenotrophic denitrifiers and adaptation with CO_2

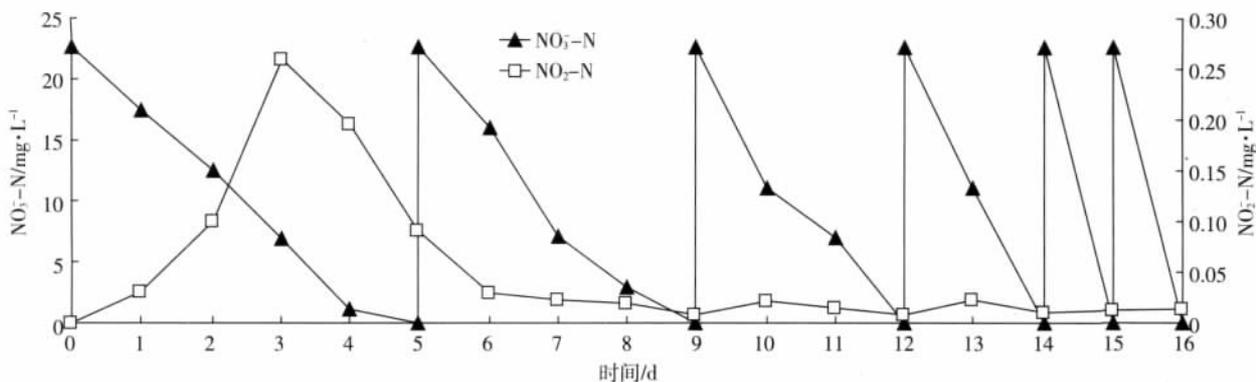


图2 以CO₂和NaHCO₃为碳源驯化过程中硝酸盐和亚硝酸盐变化

Figure 2 Nitrate and nitrite profiles during acclimatization of hydrogenotrophic denitrifiers and adaptation with CO₂ and NaHCO₃

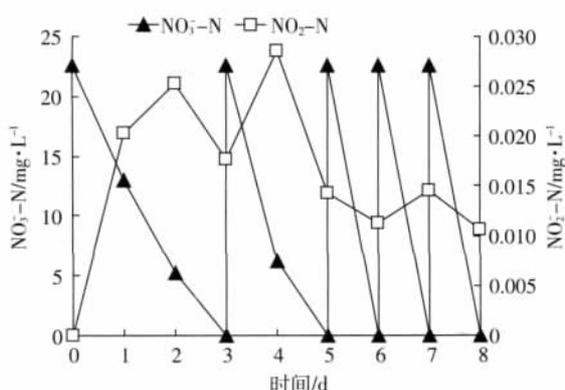


图3 以NaHCO₃为碳源驯化过程中硝酸盐和亚硝酸盐变化

Figure 3 Nitrate and nitrite profiles during acclimatization of hydrogenotrophic denitrifiers and adaptation with NaHCO₃

NaHCO₃投加量对反硝化速率的影响,结果见图5、图6。由图5、图6可以看出,不同的NaHCO₃投加量对于反硝化过程的影响不大。NO₃-N可以在16h内完全去除,在之后的4h内,NO₂-N可以完全降解,总氮去除率达到97%以上。从图7可以看出,不同的NaHCO₃投加量对体系的pH有不同的贡献,投加量为1.5、2.0、2.5g和3.0g的最终pH分别为9.1、8.5、

8.4和8.4。不同体系中的DO值在通入N₂后降低为0 mg·L⁻¹,由于反硝化过程在密闭的容器中进行,体系的DO值一直维持在0 mg·L⁻¹,如图8所示。

2.3 不同初始硝酸盐浓度对反硝化速率的影响

不同初始硝酸盐浓度会引起氢自养反硝化速率的变化,如图9、图10所示。当NO₃-N浓度在45.2~90.4 mg·L⁻¹时,随着初始NO₃-N浓度的增大,反硝化速率增大,总氮去除率达到95%以上,没有NO₂-N的积累。但当初始NO₃-N浓度为135.6 mg·L⁻¹和180.8 mg·L⁻¹时,反硝化速率下降,并有NO₂-N的积累,最高达14.56 mg·L⁻¹。在高浓度的NO₃-N体系中,NO₂-N的积累比较明显,NO₃-N浓度降低后,NO₂-N降解速率提高。DO值在反应过程中保持为0 mg·L⁻¹,如图11所示。

2.4 不同pH对反硝化速率的影响

外界环境pH的变化对反硝化过程NO₃-N和NO₂-N的还原有一定影响,如图12、13所示。当体系分别为pH5.0和pH10.0时,NO₃-N的降解受到明显抑制,在pH为6.0~9.0时,虽然都可以将硝酸盐完全降解,但是反硝化速率存在显著差异,24h内,pH6.0~

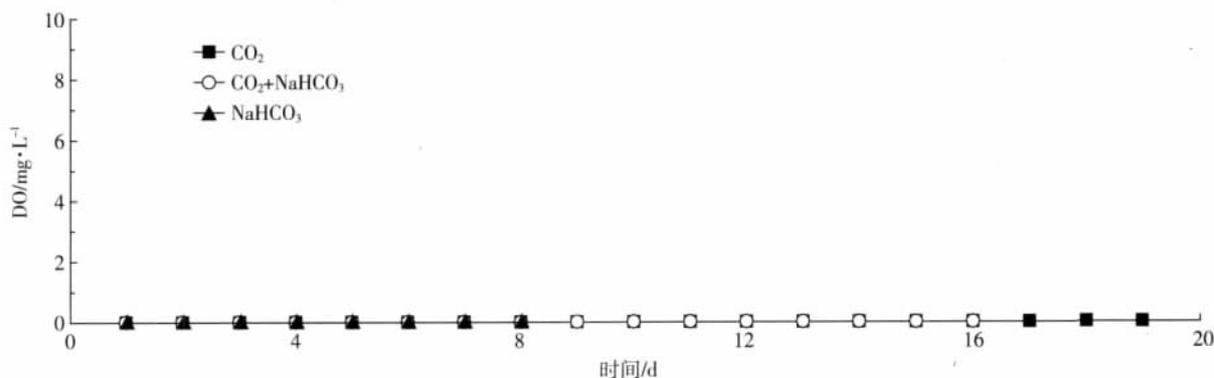


图4 不同碳源下的DO变化

Figure 4 DO profiles under different carbon sources

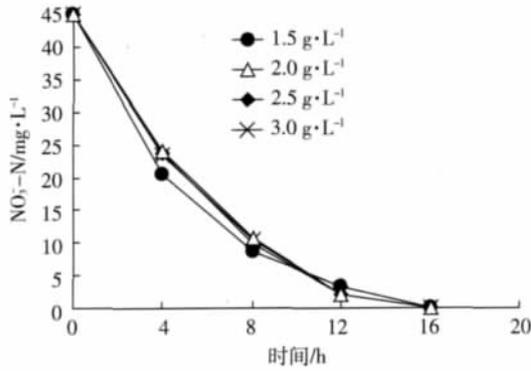


图5 不同 NaHCO₃ 投加量下 NO₃-N 的变化
Figure 5 Nitrate profiles with different mNaHCO₃

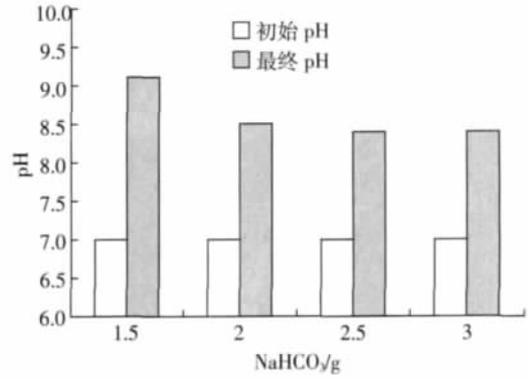


图7 不同 NaHCO₃ 投加量下 pH 的变化
Figure 7 Variation of pH with different mNaHCO₃

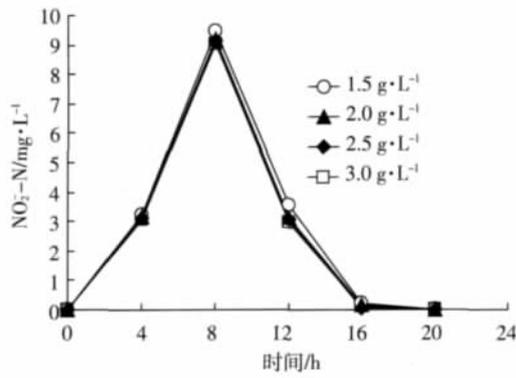


图6 不同 NaHCO₃ 投加量下 NO₂-N 浓度的变化
Figure 6 Nitrite profiles with different mNaHCO₃

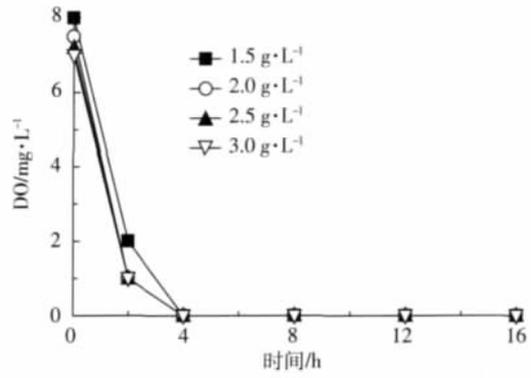


图8 不同 NaHCO₃ 投加量下 DO 的变化
Figure 8 DO profiles with different mNaHCO₃

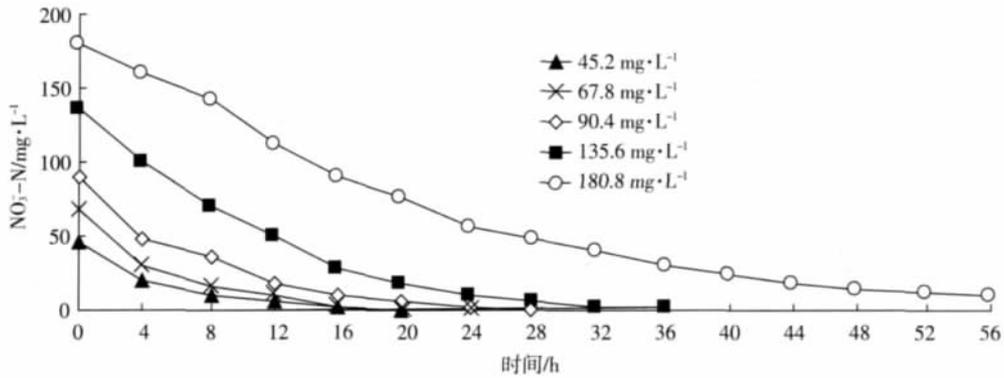


图9 不同初始硝酸盐浓度下 NO₃-N 变化
Figure 9 Nitrate profiles with different cNO₃-N

pH9.0 的反硝化速率分别为 1.88、3.22、3.77 mg·L⁻¹·h⁻¹ 和 2.83 mg·L⁻¹·h⁻¹, 并且 NO₂-N 的积累存在差异。从图 13 可以看出, 在 pH5.0 和 pH10.0 的体系中, NO₂-N 有明显的积累, 其他 4 个 pH 梯度中, 在 NO₃-N 去除后的 8 h 内, NO₂-N 可以彻底还原。体系中的 DO 值为 0 mg·L⁻¹, 如图 14 所示。

2.5 不同温度对反硝化的影响

不同温度对反硝化速率有不同的影响, 如图 15

所示。从图 15 可以看出, 在反应开始的 8 h 内, 45 °C 时反硝化速率最大, 8 h 后的 NO₃-N 剩余量仅为 0.83 mg·L⁻¹。但随后 25 °C 和 35 °C 的反硝化速率增大, 分别在 20 h 和 16 h 内将 NO₃-N 降解完全, 反硝化速率分别为 2.26 mg·L⁻¹·h⁻¹ 和 2.83 mg·L⁻¹·h⁻¹。15 °C 和 45 °C 的体系在 24 h 内将 NO₃-N 降解完全, 反硝化速率均为 1.88 mg·L⁻¹·h⁻¹, 但 15 °C 时 NO₂-N 积累最明显, 在 8 h 达到最大 15.01 mg·L⁻¹, 如图 16 所示。体系内的

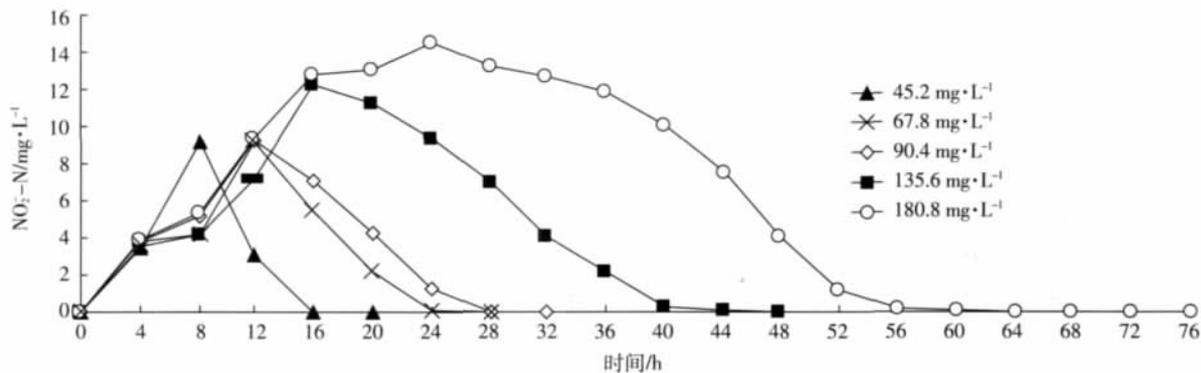


图 10 不同初始硝酸盐浓度下 NO₂-N 变化

Figure 10 Nitrite profiles with different cNO₃-N

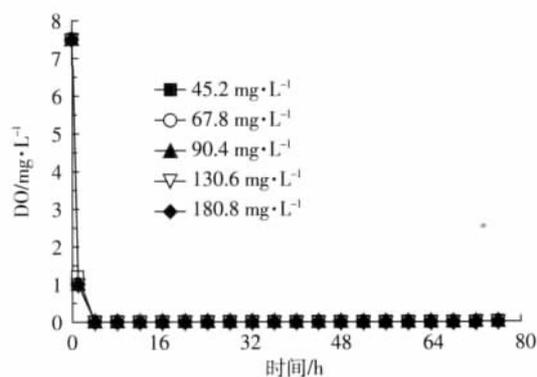


图 11 不同初始硝酸盐浓度下 DO 变化

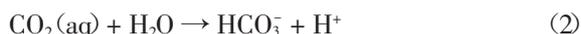
Figure 11 DO profiles with different cNO₃-N

DO 值为 0 mg·L⁻¹, 见图 17。

3 讨论

不同无机碳源对氢自养反硝化细菌的驯化有不同的影响。和 CO₂ 相比,以 NaHCO₃ 为碳源驯化氢自养反硝化细菌所需时间短,达到稳定脱硝的速度快,这是因为 CO₂ 溶于水后使体系的 pH 迅速降低^[12],如方程(1)、(2)所示,有利于调节由于反硝化作用所引起的 pH 升高,见方程(3),但 CO₂ 引起的 pH 的降低

速率大于因氢自养反硝化导致的 pH 升高的速率,使得体系 pH 在酸性范围内,不利于氢自养反硝化细菌的生长。而由于 NaHCO₃ 可起缓冲作用,将体系的 pH 维持在中性偏碱的范围内,有利于氢自养反硝化细菌的生长。因此,以 NaHCO₃ 为无机碳源的脱氮效果优于其他两种组合,这与 Ghafari^[9]的研究结果相似。



对比 NaHCO₃ 投加量对氢自养反硝化速率的影响发现,尽管反硝化细菌脱硝过程对 NaHCO₃ 投加量不敏感,但不同量的 NaHCO₃ 对体系 pH 起到了不同程度的缓冲作用,与 Ghafari^[13]的研究结论基本一致。如图 7 所示,当 NaHCO₃ 为 1.5 g·L⁻¹ 时,反应后期 pH 明显高于其他 3 组,说明 NaHCO₃ 投加量过低时,不能起到很好的缓冲作用。进一步比较 NaHCO₃ 投加量为 2.0、2.5 g·L⁻¹ 和 3.0 g·L⁻¹ 时的 pH 又可以发现,反应后期 3 个体系 pH 都可以维持在稳定范围内,但是随着 NaHCO₃ 投加量的增加,pH 明显不变化。因此,2.0 g·L⁻¹ NaHCO₃ 足以有效控制体系的 pH。

不同的初始硝酸盐浓度对氢自养反硝化去除硝

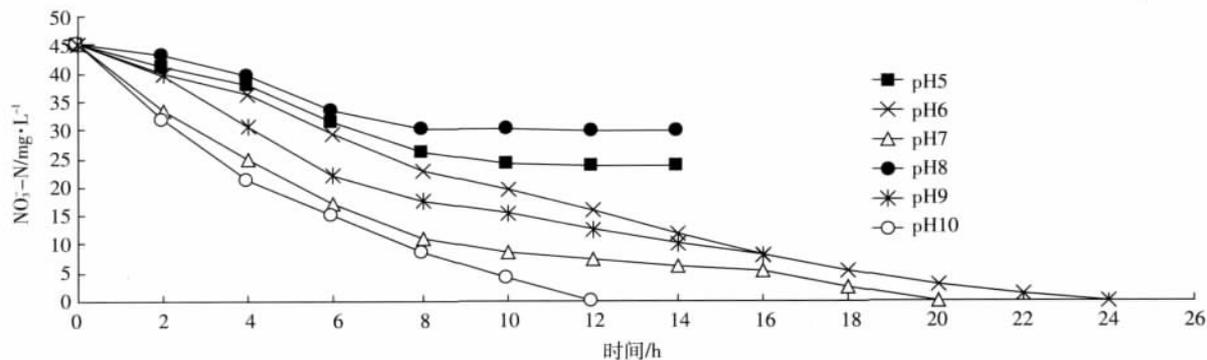


图 12 不同 pH 下 NO₃-N 的浓度变化

Figure 12 Nitrate profiles with different pH

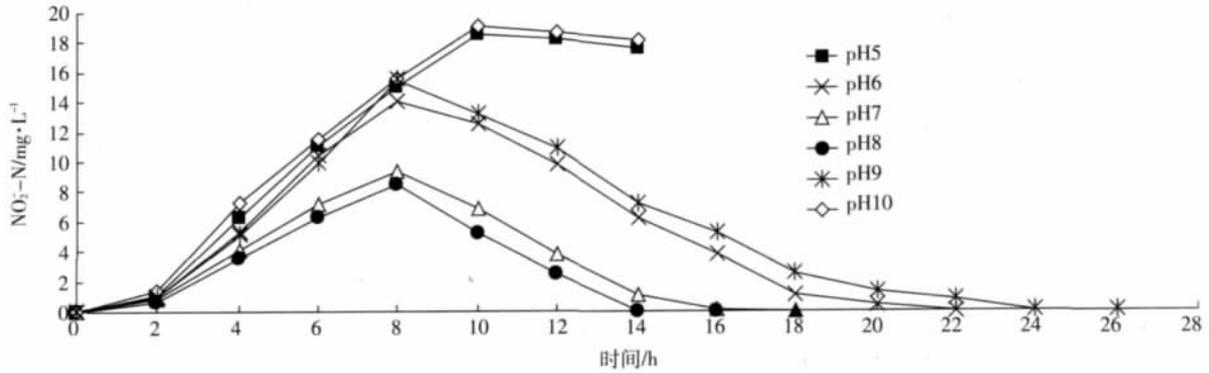


图 13 不同 pH 下 NO₂-N 的变化
Figure 13 Nitrite profiles with different pH

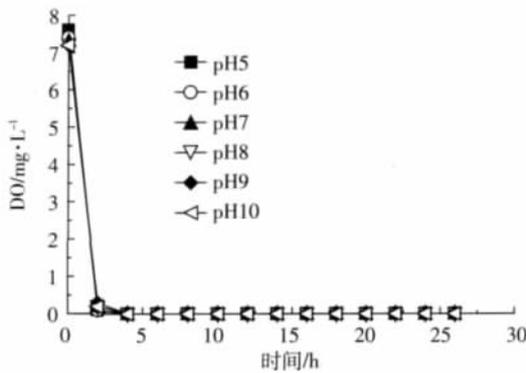


图 14 不同 pH 下 DO 变化
Figure 14 DO profiles with different pH

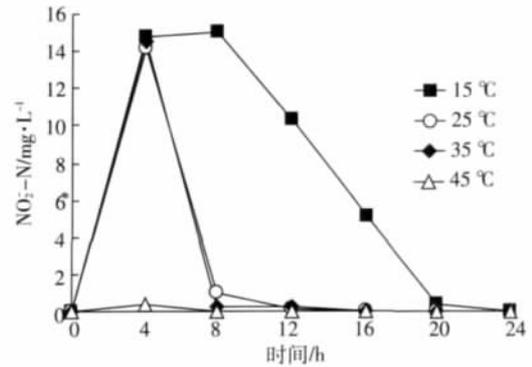


图 16 不同温度下 NO₂-N 的浓度变化
Figure 16 Nitrite profiles with different temperature

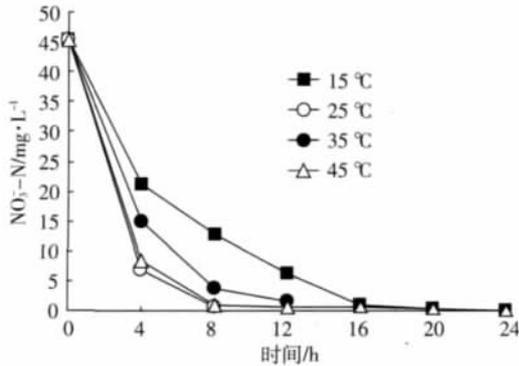


图 15 不同温度下 NO₃-N 的浓度变化
Figure 15 Nitrate profiles with different temperature

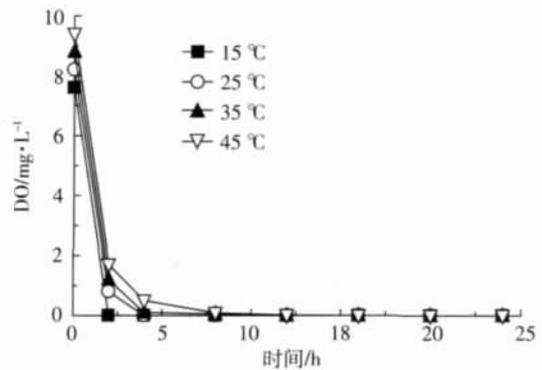


图 17 不同温度下 DO 变化
Figure 17 DO profiles with different temperature

酸盐的过程有显著影响,不同硝酸盐浓度的反硝化速率如表 2 所示。

由表 2 可以看出,当 NO₃-N 浓度低于 90.4 mg·

表 2 不同硝酸盐浓度的反硝化速率

Table 2 Reduction rates with different cNO₃-N

初始 NO ₃ -N 浓度/mg·L ⁻¹	45.2	67.8	90.4	135.6	180.8
反硝化速率/mg·L ⁻¹ ·h ⁻¹	2.51	2.83	3.23	3.08	2.38

L⁻¹ 时,随着初始 NO₃-N 浓度的增加,反应速率呈上升趋势。当初始 NO₃-N 浓度为 180.8 mg·L⁻¹ 时,反硝化速率明显降低,说明过高浓度的 NO₃-N 会抑制氢自养反硝化脱硝过程。这和张彦浩等^[14], Vasiliadou^[15] 的研究结果基本相似,但与陆彩霞^[16] 的研究结果存在差异,可能因为本实验中初始 NO₃-N 浓度较大。当初始 NO₃-N 浓度为 135.6 mg·L⁻¹ 时,反应速率有所下降,但依然高于 NO₃-N 浓度为 45.2 mg·L⁻¹ 和 67.8

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的反应速率。可能和驯化阶段 NO_3^--N 浓度有关^[14], 驯化后的氢自养反硝化细菌对 NO_3^--N 浓度有耐受极限, 当驯化时的 NO_3^--N 浓度和实际反应中的相差过大时, 可能会导致反硝化速率减慢。因此, 可以通过增大驯化期 NO_3^--N 浓度来得到降解较高浓度 NO_3^--N 的氢自养反硝化细菌。

此外, 不同初始 NO_3^--N 浓度对 NO_2^--N 的降解也有一定的影响。从图10可以看出, 随着初始 NO_3^--N 浓度的升高, NO_2^--N 的积累也逐渐增大。 NO_3^--N 浓度降低后 NO_2^--N 的积累也明显下降。可能因为高浓度的 NO_3^--N 会抑制亚硝酸盐还原酶的活性, 伴随着 NO_3^--N 浓度的降低, 亚硝酸盐还原酶的活性逐渐增大, NO_2^--N 还原速率逐渐升高。

氢自养反硝化细菌对环境中的 pH 变化有不同的敏感程度, 当 pH 为 7.0~8.0 时, 反硝化速率较高, 当体系处于偏酸 (pH5.0) 和偏碱 (pH10.0) 时, 反硝化基本停滞, 如图 18 所示。

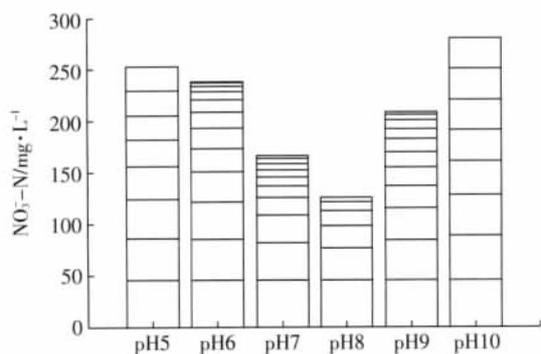


图 18 不同 pH 下 NO_3^--N 每一时刻的积累量

Figure 18 Nitrate accumulation with different pH at different times

从图 18 可以看出, 氢自养反硝化细菌具有较广的 pH 范围, 但最适 pH 为 7.0~8.0, 可能因为在中性偏碱的环境中反硝化细菌的酶活性最高, 细胞的代谢最旺盛。其中 pH8.0 时 NO_3^--N 积累量最少, 还原 NO_3^--N 所消耗时间最短, 其次是 pH7.0 的体系。当 pH6.0 和 pH9.0 时, 反应速率受到影响。不同 pH 对体系 NO_2^--N 积累也存在差异。从图 13 可以看出, pH6.0~pH9.0 范围内的 NO_2^--N 都可以在 NO_3^--N 降解完后的 8 h 内彻底去除。pH5.0 和 pH10.0 时, 有较高 NO_2^--N 积累, 反硝化基本停滞。说明以 NaHCO_3 为无机碳源的氢自养反硝化的最适 pH 范围是 pH7.0~8.0, 这与 Ghafari^[13] 的研究结果基本一致。张彦浩^[17] 认为, 初始 pH 为 7.7 的模拟水反硝化速率最高, 这与本实验得到的反硝化最适 pH 值相似。当体系 pH 为 6.0 和 9.0 时, 氢自养反硝化可以进行, 但速率减慢, 因此

在实际应用中, 可以在驯化期调节 pH, 培养对偏酸、偏碱耐受的氢自养反硝化细菌, 以提高对偏酸或偏碱水质中 NO_3^--N 的去除速率。

氢自养反硝化脱硝过程在 15、25、35 °C 和 45 °C 下均可以进行。由图 19 可以看出, 在反应初期, 45 °C 体系的 NO_3^--N 降解最快, 但随后 25 °C 和 35 °C 的反硝化速率突然升高, 在 20 h 内将硝酸盐完全降解, 没有 NO_2^--N 的积累。本结论和夏四清^[18] 的结论存在差异, 可能因为在反应初期, 氢自养反硝化细菌对环境温度的变化存在滞后作用, 反应初期不能立即感应外界的高温度。所以在反应最初的 8 h 内, 45 °C 下的氢自养反硝化速率最大。随后, 氢自养反硝化细菌对长时间的高温环境有所反应, 引起细菌体内蛋白质变性, 导致反硝化速率降低。15 °C 时, 反硝化速率明显降低, NO_2^--N 的积累严重。但是实际地下水温度一般为 15 °C^[19], 因此在进行原位反硝化时, 可以通过加热提高地下水温度来增加反硝化速率。

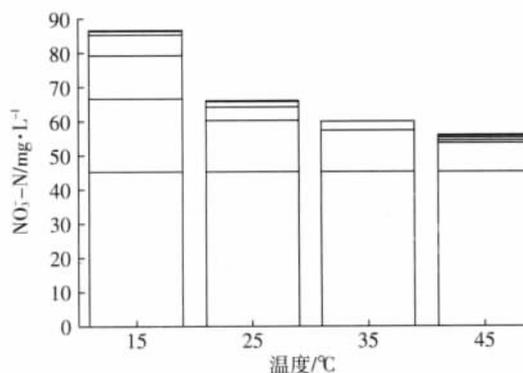


图 19 不同温度下每一时刻的硝酸盐积累量

Figure 19 Nitrate accumulation with different temperature at different times

NO_2^--N 的积累也和体系的温度有一定的相关性。45 °C 和 15 °C 下 NO_2^--N 的积累明显高于 25 °C 和 35 °C, 说明温度过高或过低对反硝化过程中 NO_2^--N 的还原有显著影响, 并且低温的影响大于高温。可能因为温度过低时, 氢自养反硝化细菌的生命活动基本停止而温度过高又引起细菌体内酶活丧失。

4 结论

和 CO_2 相比, 以 NaHCO_3 为无机碳源进行氢自养反硝化时, NaHCO_3 不仅能有效提供碳源, 同时对体系 pH 起缓冲作用, 并且投加量在 $2.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时可以有效控制体系的 pH。以 NaHCO_3 为碳源的氢自养反硝化在 NO_3^--N 浓度较低时, 随着浓度的增大反硝化速

率逐渐上升,但是高浓度的初始 NO_3^- -N 会抑制反硝化反应,最佳的 NO_3^- -N 浓度为 $45.2\sim 90.4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;氢自养反硝化细菌有较广的 pH 范围,pH 为 $6.0\sim 9.0$ 都可进行反硝化,但最适 pH 为 $7.0\sim 8.0$,当 $\text{pH}>9.0$ 或 $\text{pH}<6.0$ 时,反硝化基本停滞; $35\text{ }^\circ\text{C}$ 为氢自养反硝化的最适反应温度,温度过高,氢自养反硝化速率降低,温度过低,氢自养反硝化中 NO_2^- -N 积累显著。因此,以 NaHCO_3 为碳源的氢自养反硝化对地下水中硝酸盐的去除有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Su C, Puls R. Nitrate reduction by zerovalent iron: Effects of formate, oxalate, citrate, chloride, sulfate, borate, and phosphate[J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38: 2715–2720.
- [2] Lundberg J O, Weitzberg E, Cole J A, et al. Nitrate, bacteria and human health[J]. *Nature*, 2004(2) : 593–602.
- [3] Hiscock K M, Lloydand J W, Lerner D N. Review of natural and artificial denitrification of groundwater[J]. *Water Research*, 1996, 25: 1099–1111.
- [4] Soares M. Biological denitrification of groundwater[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 2000, 123: 183–193.
- [5] Ghafari Shahin, Hasan M, Aroua M K. Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater: A review[J]. *Biores Technol*, 2008, 99: 3965–3974.
- [6] Volokita M, Belkin S, Abeliovich A, et al. Biological denitrification of drinking water using newspaper [J]. *Water Research*, 1996, 30(4) : 965–971.
- [7] Soares Mim, Abeliovich A. Wheat straw as substrate for water denitrification[J]. *Water Research*, 1998, 32(12) : 379–385.
- [8] Volokita M, Abeliovich A, Soares Mim. Denitrification of ground water using cotton as energy resource[J]. *Water Science Technology*, 1996, 34(1–2) : 379–385.
- [9] Ghafari Shahin, Masitah Hasan, Mohamed Kheireddine Aroua. Effect of carbon dioxide and bicarbonate as inorganic carbon sources on growth [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 162: 1507–1513.
- [10] Till B A, Weathers L J, Alvarez P J. Fe^0 -supported autotrophic denitrification [J]. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32: 634–639.
- [11] Page A L, Mile R H. Soil analytical method[M]. Madison: U S, Soil Acad Publisher, 472–474.
- [12] Chalermchai, Ruangchainikom, Liao Chih-Hsiang, et al. Effects of water characteristics on nitrate reduction by the Fe^0/CO_2 process [J]. *Chemosphere*, 2006, 36: 335–343.
- [13] Ghafari Shahin, Masitah Hasan, Mohamed Kheireddine Aroua. A kinetic study of autohydrogenotrophic denitrification at the optimum pH and sodium bicarbonate dose and sodium bicarbonate dose[J]. *Biore-source Technology*, 2010, 101: 2236–2242.
- [14] 张彦浩, 钟佛华, 夏四清. 利用氢自养反硝化菌处理硝酸盐污染地下水的研究[J]. 水处理技术, 2009, 35(5) : 75–78.
ZHANG Yan-hao, ZHONG Fo-hua, XIA Si-qing. Study on contaminated ground water treatment with hydrogenotrophic denitrifying bacteria[J]. *Technology of Water Treatment*, 2009, 35(5) : 75–78.
- [15] Vasiliadou I A, Pavlou S, Vayenas D V. A kinetic study of hydrogenotrophic denitrification[J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41: 1401–1408.
- [16] 陆彩霞, 顾平. 氢自养反硝化去除饮用水中硝酸盐的试验研究[J]. 环境科学, 2008, 29(3) : 671–676.
LU Cai-xia, GU Ping. Hydrogenotrophic denitrification for the removal of nitrate in drinking water[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(3) : 671–676.
- [17] 张彦浩, 谢康, 钟佛华, 等. pH 对氢自养型反硝化菌反硝化性能的影响[J]. 环境污染与防治, 2010, 32(4) : 40–47.
ZHANG Yan-hao, XIE Kang, ZHONG Fo-hua, et al. Effects of pH on denitrification of hydrogenotrophic denitrifying bacteria[J]. *Environmental Pollution and Control*, 2010, 32(4) : 40–47.
- [18] 夏四清, 钟佛华, 张彦浩. 氢自养反硝化去除水中硝酸盐的影响因素研究[J]. 中国给水排水, 2008, 24(21) : 5–8.
XIA Si-qing, ZHONG Fo-hua, ZHANG Yan-hao. Study on affecting factors of nitrate removal from water by hydrogen autotrophic denitrification[J]. *China Water and Wastewater*, 2008, 24(21) : 5–8.
- [19] 张云, 张胜, 杨振京, 等. 不同碳源强化地下水中生物脱氮模拟试验研究[J]. 地理与地理信息科学, 2003, 19(1) : 66–69.
ZHANG Yun, ZHANG Sheng, YANG Zhen-jing, et al. Experimental study on the microbial removal of nitrogen from groundwater under different carbon sources[J]. *Geography and Geo-Information Science*, 2003, 19(1) : 66–69.
- [20] Shrimali M, Singh K P. New methods of nitrate removal from water[J]. *Environmental Pollution*, 2001, 112: 351–359.
- [21] Kurt M, Dunn I J, Bourne J R. Biological denitrification of drinking water using autotrophic organisms with H_2 in a fluidized-bed biofilm reactor[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1987, 29: 493–501.
- [22] Lee Kuan-Chun, Rittmann Bruce E. Effects of pH and precipitation on autohydrogenotrophic denitrification using the hollow-fiber membrane-biofilm reactor[J]. *Water Research*, 2003, 37: 1551–1556.
- [23] 陆彩霞, 顾平. 氢自养反硝化系统中亚硝酸盐的累积特性 [J]. 环境科学, 2008, 29(10) : 2830–2834.
LU Cai-xia, GU Ping. Characteristics of nitrite accumulation in a hydrogenotrophic denitrification system[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(10) : 2830–2834.
- [24] Lee J W, Lee K H, Park K Y, et al. Hydrogenotrophic denitrification in a packed bed reactor: effects of hydrogen-to-water flow rateration[J]. *Biore-source Technology*, 2010, 101: 3940–3946.