

Research on Removing Ammonium Nitrogen from Wastewater by Immobilized Nitrosobacteria and Denitrobacteria

Linxia Song¹, Suying Wang²

¹College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin, China, 300134

²College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin, China, 300134

Email: myxia987@163.com, wsyding@tjcu.edu.cn

Abstract: It mainly introduces immobilized Nitrosobacteria and Denitrobacteria technology in this paper. After comparing some immobilized means, the results indicated that 10% polyvinyl alcohol (PVA), 1 vol. bacteria in 2 vol. gelatin, 32h crosslinked time were the optimal conditions. Moreover, Waste water contained ammonia nitrogen was treated by immobilized microbial beads that were made in best conditions. The experimental results showed that the content of ammonia nitrogen, nitrite and COD in artificial wastewater was decreased significantly, the ammonia nitrogen removal rate was 85.5% and the COD decrement rate was 84.8% respectively.

Keywords: Nitrosobacteria; Denitrobacteria; Immobilization; Ammonia nitrogen

亚硝化细菌和反硝化细菌的固定化及其降解废水中氨氮的研究

宋霖霞¹, 王素英²

¹天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津, 中国, 300134

²天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津, 中国, 300134

Email: myxia987@163.com, wsyding@tjcu.edu.cn

摘要: 本实验选用聚乙烯醇(PVA)作为包埋载体, 含氯化钙的硼酸缓冲液作为交联剂, 固定亚硝化细菌 YW5 和反硝化细菌 YL3。试验结果表明 PVA 浓度为 10%, 菌液与 PVA 体积比为 1:2, 交联时间为 32h 时制备的固定化小球, 其机械强度、传质性能及颗粒所含活菌数均为最佳。另将所得最佳性能的固定化小球处理人工配制的模拟废水, 经过 6d 处理, 废水中的氨氮浓度、亚硝酸盐浓度及 COD 值都明显下降, 其中氨氮的去除率为 85.5%, COD 值降低 84.8%。

关键词: 亚硝化细菌; 反硝化细菌; 固定化; 氨氮

1 引言

氨氮是废水中最常见的污染物, 可导致水体富营养化现象产生, 对鱼类及某些水生生物有毒害。氨氮浓度是评价水环境, 特别是养殖用水体质量的重要指标之一^[1]。由此看来氨氮的去除是废水处理中的重要一环。近年来, 固定化微生物技术已在某些水相污染物处理中显示了一定的技术优势^[2], 在废水处理中, 为改进废水处理方法提供了有效的思路, 它是一项很有潜力的新技术^[3]。

硝化细菌和反硝化细菌是最早广泛应用于水体除

氮的菌种。硝化就是通过亚硝化细菌和硝化细菌的活动使氨氮分别连续地转化为亚硝酸氮和硝酸氮的过程; 反硝化则是兼性好氧细菌在环境氧浓度接近零时, 将硝酸盐作为呼吸终点氢受体还原为氮气而释放。本研究探讨了亚硝化细菌和反硝化细菌的固定化及其在废水处理中降解氨氮的效果。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 菌株

本实验室分离保藏: 亚硝化细菌 YW5 菌株属于亚

基金项目: 天津市高等学校科技发展基金项目(2004ZD20)

硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas* sp.) 和反硝化细菌 YL3 菌株属于副球菌属 (*Paracoccus* sp.)。

2.1.2 固定化材料

聚乙烯醇(PVA)、海藻酸钠、活性炭、二氧化硅、碳酸钙、氯化钙和硼酸

2.1.3 试验用水

采用人工配制

2.2 培养基

亚硝化细菌和反硝化细菌的液体发酵培养基及分离培养基分别见参考文献[4]和[5]

2.3 实验方法

2.3.1 固定化载体的制备

取一定量的 PVA 加入去离子水, 在 80℃ 下完全溶解, 加入一定量的添加剂(海藻酸钠、二氧化硅和碳酸钙)混匀。PVA 凝胶的浓度选取 8%、10%、12%。

2.3.2 菌体的制备

分别将 YW5 和 YL3 菌液在 5000r/min 离心 15min, 弃上清液, 用生理盐水反复洗涤, 制成菌液, 加入 4% 的活性炭吸附 10min。

2.3.3 固定化小球的制备

将菌液倒入 PVA 凝胶中, 搅拌均匀。菌液于 PVA 凝胶的比例选取 1:1、1:2、2:1。用注射器滴入含 2% 的氯化钙的硼酸溶液 (pH=6.7) 中, 使得小球直径小于 3mm。分别制作 YW5、YL3 及 YW5+YL3 菌株的固定化小球。4℃ 下交联一定时间后用去离子水洗涤即

得。交联时间选取 16h、24h、33h。

2.3.4 检验固定化小球的机械强度

从固定化颗粒的强度、手感及成球难易度及是否粘连等方面进行观察。

2.3.5 检验固定化小球的传质性能

数出每组相同数量的固定化小球 (大小适中), 放入稀释了的红墨水中, 放置 32h 后, 于波长 406nm 下测吸光度值, 同时做空白实验。

2.3.6 检验固定化小球的活菌数

各取大小相同的固定化小球 1 粒研磨破碎, 用生理盐水稀释, 取 1ml 涂布于平板, 37℃ 培养, 平板菌落计数。

2.3.7 固定化硝化细菌对合成废水的降解效果

取经过上述试验测得的优良固定化小球以 1:25 (g/v) 的比例处理合成废水, 每隔 1d 测定废水的氨氮浓度、亚硝酸盐浓度及 COD 的浓度。

3 结果与讨论

3.1 制作固定化小球正交试验结果

以 PVA 浓度、菌液与 PVA 体积比及交联时间为试验因素, 分别制作固定化小球, 观察不同组试验固定化小球的机械强度, 结果见表 1

从表 1 可以看出, PVA 的浓度越大, 固定化小球颗粒越硬, 且不易破; 交联时间为 16h 的固定化小球在洗涤时均有絮状物且粘连, 是由于交联时间不够。因此选取以上软硬适中, 弹性好, 洗涤时无絮状物, 且不粘连的 4、5、9 号测定三种固定化颗粒的传质性能并做平板菌落计数, 结果见表 2 和表 3。

Table 1. The effect of PVA concentration, the ratio of bacteria and gelatin, crosslinked time
表 1 不同 PVA 浓度、菌液与 PVA 体积比及交联时间对固定化小球的影响

试验号	PVA 浓度	菌液与 PVA 比例	交联时间	机械强度
1	8%	1:1	16	软, 易破, 洗涤时有絮状物, 易粘连
2	8%	1:2	24	软, 易破, 洗涤时无絮状物, 易粘连
3	8%	2:1	32	软, 易破, 洗涤时无絮状物, 不粘连
4	10%	1:1	24	较硬, 弹性好, 洗涤时无絮状物, 不粘连
5	10%	1:2	32	较硬, 弹性好, 洗涤时无絮状物, 不粘连
6	10%	2:1	16	硬, 弹性差, 洗涤时有絮状物, 易粘连
7	12%	1:1	32	硬, 没弹性, 洗涤时无絮状物, 不粘连
8	12%	1:2	16	硬, 易破, 洗涤时有絮状物, 易粘连
9	12%	2:1	24	硬, 弹性好, 洗涤时无絮状物, 不粘连

Table 2. Comparisons of the immobilized beads in transfer performance
表 2. 三种固定化小球的传质性能

试验号	YW5 固定化小球的吸光度值		YL3 固定化小球的吸光度值		混合菌固定化小球的吸光度值	
	18 h	32 h	18 h	32 h	18 h	32 h
4	3.008	3.002	3.015	3.012	2.987	2.854
5	2.975	2.957	2.971	2.967	2.365	2.341
9	3.013	2.994	3.012	2.987	3.016	3.011

Table 3. The number of strain in the immobilized beads
表 3 三种固定化小球的活菌数

试验号	YW5	YL3	混合菌	
			YW5	YL3
4	2.9×10 ⁷ cfu/ml	3.8×10 ⁸ cfu/ml	1.3×10 ⁷ cfu/ml	2.5×10 ⁸ cfu/ml
5	3.7×10 ⁷ cfu/ml	4.2×10 ⁸ cfu/ml	8.3×10 ⁷ cfu/ml	3.2×10 ⁸ cfu/ml
9	3.6×10 ⁷ cfu/ml	4.0×10 ⁸ cfu/ml	3.5×10 ⁷ cfu/ml	1.9×10 ⁸ cfu/ml

通过测定固定化小球放入稀释了的红墨水中的吸光度值可以间接的反应固定化小球的传质性能的好坏。吸光度大，说明固定化小球吸收墨水物质就少，所以传质性能就差，反之亦然。从表 2 可以看出，5 号试验的三种固定化小球的吸光度值均比 4 号和 9 号低，因此 5 号试验的固定化小球的传质性能是最好的。同时，5 号试验的三种固定化小球中混合固定化小球的吸光度值要低于两种菌分别固定化。因此，混合菌固定化的传质性能最好。

固定化小球中的活菌数是检验固定化效果的重要指标，也是应用固定化小球去除废水中氨氮物的重要保障。表 3 为三种固定化颗粒磨碎稀释后培养 5 天后的活菌数，从中可看出，5 号试验的三种固定化小球的活菌数都较 4 号和 9 号多，同时混合菌固定化后的活菌数要多于单独菌固定化，且两种菌的生长都很旺盛，如图 1

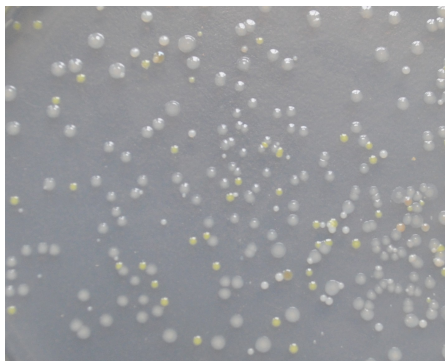


Figure 1. The colony of immobilized fixed strains
图 1 混合菌固定化颗粒的菌落图

注：黄色菌落为 YW5 菌，白色菌落为 YL3 菌

综上所述，依据固定化小球的机械强度、传质性能及颗粒所含活菌数确定固定化小球的最佳包埋条件为：PVA 浓度为 10%，菌液与 PVA 体积比为 1：2，交联时间为 32h。

3.2 固定化小球对含氮废水的降解效果试验

将在最佳包埋条件下制得的单菌固定化小球和混合菌固定化小球放入人工配制的模拟废水中，检测其对氨氮、亚硝酸盐及 COD 的降解情况，结果见图 2、图 3 及图 4。

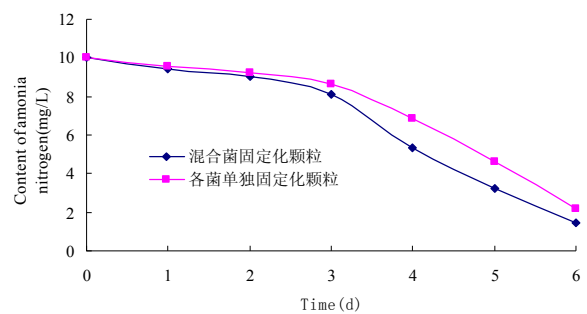


Figure 2 the content of amonia nitrogen

图 2 氨氮含量变化

从图 2 可以看出，固定化颗粒处理废水后，废水中的氨氮浓度先缓慢减小，到第三天迅速下降至较低水平。其主要原因是 YW5 菌株生长缓慢，不能将氨氮转化为亚硝酸盐类，到第三天，YW5 大量积累从而也将氨氮迅速的转化为亚硝酸盐累，从而降低了氨氮

的浓度。同时发现，混合菌固定化颗粒要比各菌单独固定化颗粒能使氨氮降低到更低水平。

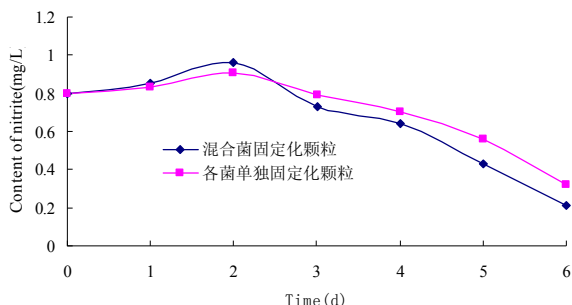


Figure 3.the content of nitrite
图3 亚硝酸盐含量变化

图4表明，固定化颗粒处理废水后，前2d亚硝酸盐浓度逐渐升高，其主要原因是YW5菌株将废水中的氨氮转化为亚硝酸盐类。从第3d亚硝酸盐浓度开始下降，这是由于同时存在与水体中的YL3菌株对亚硝酸盐进行还原，因此表现为废水中的亚硝酸盐含量迅速降低。

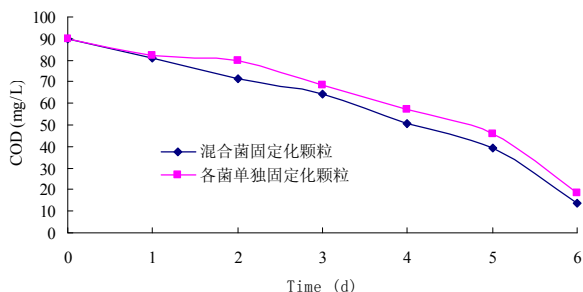


Figure 4.the content of COD
图4 COD 值的变化

COD是衡量水体是否被污染的重要指标，COD值越大，说明水体被污染越严重。图4表明，固定化颗粒作用于废水，其COD值呈下降趋势。

综上所述，固定化颗粒对于废水中的氨氮、亚硝酸盐及COD都有很强的降解能力，经过6d的处理，氨氮和COD的去除率分别为85.5%和84.8%。

4 结论

本实验以PVA为固定化载体，含氯化钙的硼酸溶液为交联剂，固定化亚硝化细菌YW5和反硝化细菌YL3，以固定化小球的机械强度、传质性能及颗粒所含活菌数为指标，发现PVA浓度为10%，菌液与PVA体积比为1:2，交联时间为32h，制备的固定化小球性能最佳。并将其作用于废水，经过6d的处理，废水中的氨氮、亚硝酸盐及COD值均不同程度降低。同时发现，YW5和YL3混合固定化降解废水中污染物的能力要强于YW5和YL3单独固定化。因此，固定化亚硝化细菌和反硝化细菌去除废水中的氨氮具有良好的应用前景

致 谢

感谢我的导师王素英教授的悉心指导和无私关怀。本论文是在王老师的悉心指导下完成的，从论文的选题、研究内容、实验设计到实验实施的整个过程都凝聚着导师王素英教授的心血。王素英老师严谨的治学态度、对科学发展的敏锐洞察力、慎密的思维能力和渊博的知识功底都深深影响着我，使我受益终生。

References (参考文献)

- [1] Renhaibo. Isolation and identification of bacteria from aquacultural wastewater and immobilization for ammonia degradation[D].Qingdao: Ocean University of China, 2004
任海波.养殖废水氨氮降解菌的分离、鉴定与固定化研究[D].青岛:中国海洋大学,2004.
- [2] Tartakovskiy B.Coupled nitrification-denitrification processes in a mixed culture of coimmobilized cells. Analysis and experiment. Chem. Eng. Sci., 1996, 51: 2327
- [3] Wang Jie, Sun Peishi, Sun Xuexi. Development of the Applied Studies of Immobilized Microorganisms Technology[J]. Guangzhou environmental sciences .2004,19 (1) : 14
王洁, 孙珮石, 孙学习. 固定化微生物技术及其应用研究的进展[J]. 广州环境科学. 2004, 19 (1) : 14
- [4] Zhang Hui, Li Peijun, Hu Xiaomin. Screening and Cultivation Conditions of Two Nitrosobacteria Strains. [J]. Environmental Protection of Chemical Industry, 2006, 26 (5): 366369
张辉, 李培军, 胡筱敏, 等. 亚硝化细菌的筛选及培养条件的研究[J]. 化工环保, 2006, 26 (5): 366369.
- [5] Takaya N, Catalan-Sakairi M A B, Yasushi S, et al. Aerobic denitrification bacteria that produce low levels of nitrous oxide[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 68 (6): 31523.