

文章编号 1001-8166(2004)增-0533-04

# 脱氮硫杆菌同步脱硫反硝化技术的关键因素研究

王爱杰, 杜大仲, 任南琪

(哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150090)

**摘 要** 利用脱氮硫杆菌(*Thiobacillus denitrificans*) 在厌氧条件具有的脱硫反硝化生理特性, 提出同步脱硫反硝化技术的思路, 推导出脱氮硫杆菌(*Thiobacillus denitrificans*) 氧化硫化物为单质硫的化学计量式, 并通过间歇试验考察同步脱硫反硝化技术的关键因素。试验结果表明, 硫氮比( $S^{2-}/NO_3^-$  比值)和硫化物浓度是同步脱硫反硝化技术的关键因素, 两者分别控制在 5/3 和低于 300mg/L 的水平可以获得较好的脱硫和反硝化效果, 在此条件下, 单质硫转化率最高达 94%, 且随着硫氮比的降低而升高。

**关键词** 脱氮硫杆菌(*Thiobacillus denitrificans*); 生物脱硫; 单质硫; 反硝化; 硫氮比

中图分类号 X17 文献标识码 A

随着制药、食品发酵、造纸等产业的迅猛发展, 排放出大量含硫酸盐和硝酸盐的有机废水, 采用厌氧工艺处理后水中仍含有大量硫化物和硝酸盐, 治理难度较大<sup>[1]</sup>。近几年发展起来的生物氧化脱硫工艺多采用无色硫细菌或光合硫细菌去除硫化物<sup>[2,3]</sup>, 但因负荷过低, 单质硫黏附于细胞表面难以分离等问题而限制其实际工程应用<sup>[4]</sup>, 因而多数研究仍停留在实验室的小试阶段。生物脱氮最常用的方法是 A/O 或 A<sup>2</sup>/O 工艺, 工艺和操作相对复杂<sup>[5]</sup>, 而且经常需要额外投加有机物如甲醇以便进行异养反硝化<sup>[6]</sup>, 这无疑会大量增加工程运行成本。

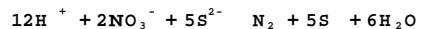
作者于 2003 年提出了一种生物同步脱硫反硝化新技术<sup>[7]</sup>, 即控制适宜的生态条件, 使硫化物氧化( $S^{2-} \rightarrow S$ ) 和硝酸盐还原( $NO_3^- \rightarrow N_2$ ) 两过程中的电子转移达到平衡, 从而实现同步脱氮除硫回收单质硫的目标。本研究以自行筛选出的 3 株脱氮硫杆菌(*Thiobacillus denitrificans*) 为功能菌株, 利用脱氮硫杆菌在厌氧条件下能够以硫化物作为电子供体, 以硝酸盐( $NO_3^-$ ) 作为电子受体的生理特性<sup>[8]</sup>, 探讨影响同步脱硫反硝化的关键因素。

## 1 试验方法

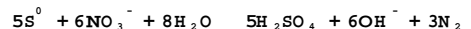
### 1.1 脱氮硫杆菌及其同步脱硫反硝化的化学计量式

脱氮硫杆菌(*Thiobacillus denitrificans*) 归类于硫细菌中的硫杆菌属(*Thiobacillus*), 是一类以  $CO_2$  为碳源的化能自养微生物, 通过氧化硫化物为单质硫或硫酸盐而获取能量, 并可在缺氧或厌氧条件下以硝酸盐( $NO_3^-$ ) 作为电子受体进行反硝化生成氮气<sup>[9]</sup>。本研究采用的脱氮硫杆菌是课题组从厌氧活性污泥中分离纯化的稳定菌株, 培养基配制采用 Kerry 等提出的方法<sup>[10]</sup>, 分离后的纯菌株在 28 温度下进行扩大培养。

作者利用经验公式, 推导出脱氮硫杆菌同步脱硫反硝化的化学反应方程式如下:



$$G = -1151.38 \text{ kJ/mol} \quad (1)$$



$$G = -1833.96 \text{ kJ/mol} \quad (2)$$

可见, 生物同步脱硫反硝化反应可分为两步, 第

收稿日期 2004-04-09.

\* 基金项目 国家自然科学基金项目(编号:50208006)资助.

作者简介 王爱杰(1972-), 女, 黑龙江人, 副教授, 主要从事环境生物技术、微生物生态学和废水生物处理等领域的研究.

E-mail: wai0578@hit.edu.cn

一步是硫化物被氧化为单质硫并释放出能量,反应所需的硫氮比,即硫化物( $S^{2-}$ )与硝酸盐( $NO_3^-$ )的比值为 5/2。第二步是单质硫被继续氧化为硫酸盐,前提是反应体系中有剩余的硝酸盐。由公式(1)可知,原水的硫化物浓度、硝酸盐浓度和硫氮比必然会影响到同步脱硫反硝化的效果。但是,我们提出的同步脱硫反硝化技术首要目的是将硫化物氧化为单质硫,从而彻底消除硫化物污染。因此,我们的研究需要采取有效手段将反应控制在第一步。

## 1.2 试验设计与试验方法

### 1.2.1 硫化物浓度影响试验

由于本研究的目的是最大限度获取单质硫,故选择硝酸盐过量,即硫氮比(摩尔比  $N/N$ )为 5/3 情况下,考察硫化物浓度对同步脱硫反硝化效果的影响。

(1) 固定硫氮比(摩尔比,  $N/N$ )为 5/3,设置 5 个硫化物( $S^{2-}$ )浓度梯度,分别为 100mg/L、200mg/L、300mg/L、400mg/L、500mg/L,用浓 HCl 调节 pH 为 7.0 左右。

(2) 离心分离培养的菌液,转速  $r=4000$  转/min,  $T=15$  min,用生理盐水冲洗 3 次,去除背景值。

(3) 将离心后的菌体溶于不同浓度梯度的溶液中,混匀后装入 100mL 锥形瓶中,充入  $CO_2$  驱赶尽氧气后密闭,放入摇床培养。

(4) 以不装入菌体的溶液作空白,每隔 12h 取样分析。

### 1.2.2 硫氮比( $S^{2-}/NO_3^-$ 比值)影响试验

固定硫化物浓度( $S^{2-}$ )为 200mg/L,设置 4 个硫氮比( $S^{2-}/NO_3^-$ )梯度,分别为 5/1、5/2、5/3、5/4,均为摩尔比( $N/N$ )。用浓 HCl 调节 pH 为 7.0 左右。其它操作步骤同 1.2.1 的(2)~(4)。

## 1.3 分析方法

本研究中各指标的分析方法如下:硫化物( $S^{2-}$ )采用电位滴定法<sup>[11]</sup>,硝酸盐( $NO_3^-$ )采用离子色谱法;硫酸盐( $SO_4^{2-}$ )采用分光光度法<sup>[11]</sup>;氮气生成量由硝酸盐( $NO_3^-$ )的去除量换算得到。单质硫生成量由被去除的硫化物的量和生成硫酸盐的量换算得到。

## 2 结果与讨论

### 2.1 硫化物浓度对脱硫效果的影响

能否在高硫化物浓度下保持较高的脱硫效果,是衡量脱硫工艺优劣的一个重要指标。表 1 是硫氮比为 5/3 时,不同硫化物浓度下的脱硫效果。可见,当硫化物( $S^{2-}$ )浓度控制在 300 mg/L 以下时,脱硫效果较好,单质硫的转化率最大可达 99% ( $S^{2-}=100$ mg/L 时), $S^{2-}$  去除量最大可达 216.0 mg/L ( $S^{2-}=300$ mg/L 时)。但是,当硫化物浓度达到 400mg/L 时,脱硫效果明显降低,单质硫的转化率最大只有 22.9%。 $S^{2-}$  去除量只有 92.4 mg/L,这比硫化物浓度为 300mg/L 时的脱硫能力大大降低。可见,硫化物浓度为 300mg/L 对脱硫硫杆菌是适宜的。但是,作者认为脱硫硫杆菌耐受硫化物的浓度阈可以通过进一步驯化和适当的工艺控制条件得以提高。

表 1 硫化物浓度对脱硫效果的影响

试验条件	$S^{2-}=100$ mg/L		$S^{2-}=200$ mg/L		$S^{2-}=300$ mg/L		$S^{2-}=400$ mg/L		$S^{2-}=500$ mg/L	
	$S^{2-}$ 去除量	$S^0$ 生成量	$S^{2-}$ 去除量	$S^0$ 生成量	$S^{2-}$ 去除量	$S^0$ 生成量	$S^{2-}$ 去除量	$S^0$ 生成量	$S^{2-}$ 去除量	$S^0$ 生成量
	/ $S^{2-}$	/ $S^0$	/ $S^{2-}$	/ $S^0$	/ $S^{2-}$	/ $S^0$	/ $S^{2-}$	/ $S^0$	/ $S^{2-}$	/ $S^0$
	去除率	转化率	去除率	转化率	去除率	转化率	去除率	转化率	去除率	转化率
空白	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
12h	99.2/99.2	97.7/97.7	54.8/27.4	53.0/26.5	70.7/26.9	70.7/26.9	87.2/21.8	84.8/21.2	87.0/17.4	85.5/17.1
24h	99.2/99.2	98.0/98.0	74.2/37.1	70.6/35.3	148.5/49.5	144.9/48.3	89.6/22.4	88.4/22.1	87.0/17.4	85.5/17.1
36h	99.2/100	99.1/99.1	120.6/60.3	112.4/56.2	216.0/72.0	203.7/67.9	92.4/23.1	91.6/22.9	89.0/17.8	86.0/17.2

注:反应条件为  $S^{2-}/NO_3^-$ (摩尔比,  $N/N$ ) = 5/3,表中: $S^{2-}$  去除量,  $S^0$  生成量单位均为 mg/L;  $S^{2-}$  去除率,  $S^0$  转化率单位均为 %

### 2.2 硫化物浓度对反硝化效果的影响

表 2 是硫氮比为 5/3 时,不同硫化物浓度梯度条件下的反硝化效果。可见,硫化物( $S^{2-}$ )浓度在 300 mg/L 时,氮气的生成量和转化率最大,分别为 182.2mg/L 和 78.3%。这比硫氮比值为 5/2(公式(1)中的理论硫氮比值)时大大提高。当硫化物( $S^{2-}$ )浓度提高到 400 mg/L 时,氮气的生成量和转化率明显下降,分别为 157.6mg/L 和 48.6%。这进

一步说明了硫化物浓度为 300mg/L 适宜脱硫硫杆菌进行同步脱硫反硝化作用的。

### 2.3 硫氮比对脱硫反硝化效果的影响

对脱硫硫杆菌而言,硝酸盐作为硫化物的电子受体,其浓度会影响硫化物的去除效果。图 1 是硫化物浓度为 200mg/L 时,4 个硫氮比梯度(5/1、5/2、5/3、5/4)条件下的单质硫转化率和氮气转化率情况,表 3 是不同硫氮比条件下的同步脱硫反硝化效果。

表 2 硫化物浓度对反硝化效果的影响

试验条件	S <sup>2-</sup> =100mg/L		S <sup>2-</sup> =200mg/L		S <sup>2-</sup> =300mg/L		S <sup>2-</sup> =400mg/L		S <sup>2-</sup> =500mg/L	
	N <sub>2</sub> 生成量 (mg/L)	N <sub>2</sub> 转化率 (%)	N <sub>2</sub> 生成量 (mg/L)	N <sub>2</sub> 转化率 (%)	N <sub>2</sub> 生成量 (mg/L)	N <sub>2</sub> 转化率 (%)	N <sub>2</sub> 生成量 (mg/L)	N <sub>2</sub> 转化率 (%)	N <sub>2</sub> 生成量 (mg/L)	N <sub>2</sub> 转化率 (%)
空白	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
12h	28.5	36.8	80.0	45.8	85.7	36.8	140.1	45.2	46.5	12.0
24h	28.5	36.8	83.4	53.8	134.9	57.9	146.0	47.1	46.5	12.0
36h	28.5	36.8	106.0	68.4	182.4	78.3	157.6	48.6	46.5	12.0

注:反应条件为 S<sup>2-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (摩尔比, N/N) =5/3

表 3 不同硫氮比条件下的同步脱硫反硝化效果

试验条件	S <sup>2-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> =5/1(N/N)			S <sup>2-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> =5/2(N/N)			S <sup>2-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> =5/3(N/N)			S <sup>2-</sup> /NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> =5/4(N/N)		
	S <sup>0</sup> (mg/L)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	S <sup>0</sup> (mg/L)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	S <sup>0</sup> (mg/L)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)	S <sup>0</sup> (mg/L)	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/L)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/L)
空白	0	0	77.5	0	0	155.0	0	0	233.0	0	0	310.0
12h	0	0	77.5	0	0	155.0	12.9	6.1	29.5	44.5	6.47	51.6
24h	33.1	5.1	42.3	45.8	5.2	50.0	47.0	6.78	130.3	188.0	7.70	171.7
36h	63.8	6.3	70.0	70.1	6.48	73.3	185.6	7.57	167.7	190.0	8.00	173.6

注:初始硫化物浓度为 200mg/L, 初始 pH 值为 7.0;

S<sup>0</sup> 指转化为单质硫的硫化物量;SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 指转化为硫酸盐的硫化物量;NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 指反应消耗的硝酸盐量

2.3.1 硫氮比对单质硫生成率的影响

从表 3 和图 1 可见,随着硫氮比的降低单质硫转化率呈增加的趋势。反应的前 12h 硫氮比为 5/1 和 5/2 时的单质硫转化率均为零,硫氮比为 5/4 的单质硫转化率高于 5/3 时。反应至 24h 时硫氮比为 5/4 条件下,单质硫转化率已经达到 94%,硫氮比为 5/3 条件下,36h 小时单质硫生成率也达到这一水平。分析表 3 中 24h 时硫氮比为 5/3 和 5/4 两种情况下反应体系中的硝酸盐浓度,可以看出后者比前者大幅度提高。这说明 24h 时硫氮比为 5/4 条件下单质硫转化率已经达到最大,此时系统中没有多余的硫化物做为电子供体还原剩余的硝酸盐,从而导致氮气的转化率下降(图 1)。

表 1 也表明在脱硫反硝化过程中,有少量的硫酸盐(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)生成。分析认为,不同时间段硫化物消耗量(S<sup>0</sup>+SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)与硝酸盐消耗量的比值均高于公式(1)中硫氮比的理论值(5/2),即硝酸盐过量。这是单质硫被进一步氧化为硫酸盐的原因,公式(2)也说明这一点。结合表 3 和图 1,作者认为对单质硫转化率而言适宜的硫氮比应选择 5/3。

2.3.2 硫氮比对反硝化氮气生成率的影响

如图 1 所示,反应的前 12h 硫氮比为 5/1 和 5/2 的氮气转化率也为零,硫氮比为 5/4 的单质硫转化率高于 5/3 时,这与单质硫转化率表现出相同的规律。此后,随着硫氮比降低硝酸盐的消耗量逐渐升高(表 3)。但是, S<sup>2-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> =5/3 和 S<sup>2-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> =5/4

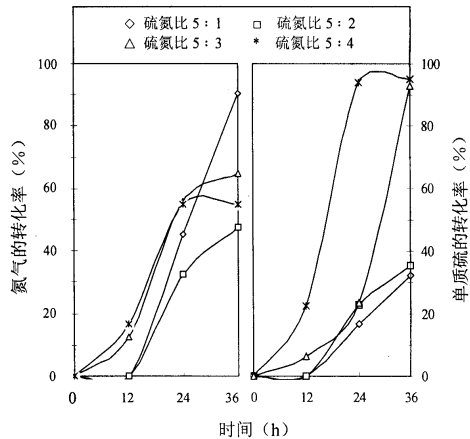


图 1 不同硫氮比条件下单质硫和氮气的转化率

两种情况下反应消耗硝酸盐(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)的量相当(分别为 167.7 mg/L 和 173.6mg/L),尽管初始硝酸盐浓度分别为 233.0mg/L 和 310.0mg/L(见表 3)。这说明硫氮比大于 5/3 时脱氮硫杆菌的反硝化能力难以在提高,因为没有多余的电子供体。

可见,反硝化作用而言,适宜的硫氮比应选择 5/3。

3 结论

(1) 推导出脱氮硫杆菌同步脱硫反硝化的化学计量关系式,反应所需的硫氮比(S<sup>2-</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)为 5/2。

(2) 提出硫氮比和硫化物浓度是影响同步脱硫反硝化效果的关键因素。两者分别控制在 5/3 和低于 300mg/L 的水平可以获得较好的脱硫和反硝化效果,在此条件下,单质硫转化率最高达 94%,且随着硫氮比的降低而升高。

#### 4 展 望

同步脱氮脱硫技术无需外加有机物作为电子受体,既降低成本又避免了增大反应器的负荷,造成二次污染,生成的单质硫可进行资源回收,取得良好的经济效益。作者认为,今后可以从以下两方面深入开展研究:利用现代生物技术,构建活性更高、遗传稳定性更好的工程菌株,提高同步脱硫反硝化的效能,并寻求工程菌投放反应器的最佳作用条件;利用微生物生理生态学原理,积极探索工艺条件的人工调控对策,提高工艺操作的可控性和可预见性,以加速同步脱硫反硝化工艺应用推广的步伐。

#### 参考文献(References):

- [1] 邓良伟,唐一. 生物脱硫机理及其研究进展[J]. 上海环境科学, 1998, 12(5): 35-39.  
 [2] Van Niel C. The morphology and physiology of the purple and sul-

- fur bacteria [J]. Arch Microbiology, 1931, 3: 1.  
 [3] Buism an C J N, Bert G, Ijspeert P, et al. Optimization of sulfur production in a biotechnological sulfide-removing reactor [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1990, 38: 50-56.  
 [4] 左剑恶,袁琳,胡纪翠,等. 利用无色硫细菌氧化废水硫化物的研究[J]. 环境科学, 1995, 16(6): 7-10  
 [5] 杨秀山, Garuti G, Tliche A. 厌氧—缺氧—好氧处理城市废水系统缺氧相中的脱氮硫杆菌[J]. 中国环境科学, 1994, 14(16): 429-433.  
 [6] Koenig Albert, 刘玲花. 脱氮硫杆菌处理垃圾填埋场渗滤污水的研究[J]. 环境科学, 1997, 18(5): 51-54.  
 [7] 王爱杰,杜大中,任南琪,等. 脱氮硫杆菌在废水脱硫、脱氮处理工艺中的应用[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2004, 36(2): 56-60.  
 [8] Koenig A, Liu L, H. Autotrophic denitrification of landfill leachate using elemental sulphur [J]. Water Science and Technology, 1996, 34(5-6): 469-476.  
 [9] Buchanan R E, Gibbens N E. 伯杰细菌鉴定手册(第八版)[M]. 北京: 科学出版社, 1984. 634-638.  
 [10] Carlos N L, Fanslow S. Denitrification by thermophilic sulfur bacteria with ethanol as substrate in a UASB reactor [J]. Biotechnology Letters, 1991, 4: 299-304.  
 [11] 王心芳,魏复盛,等. 水和废水监测分析方法(第四版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 142, 164, 261.

## KEY FACTORS AFFECTING THE PROCESS OF SIMULTANEOUS DE-SULFIDE AND DE-NITRIFICATION

WANG Ai-jie, DU Da-zhong, REN Nan-qi

(School of Municipal & Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology Harbin, 150090, China)

**Abstract:** Thiobacillus denitrificans, as a kind of autotrophic facultative bacteria, could oxidize sulfide into elemental sulfur when nitrate was adopted as its electron acceptor and carbon dioxide as its carbon resource under anaerobic environment. Through this way, nitrate was converted into nitrogen. In addition, Thiobacillus denitrificans has a wide ecological-amplitude and could accumulate sulfur extracellularly. Based on these special physiological characteristics, an innovative process of simultaneous de-sulfide and de-nitrification was developed by authors. Three strains of Thiobacillus denitrificans were employed as sulfur-producers in the treatment of wastewater containing sulfide and nitrate in this study. The stoichiometric equations of simultaneous de-sulfide and de-nitrification by Thiobacillus denitrificans was presented. The key factor affecting this process was investigated through batch tests. The experimental results indicated that the sulfide concentration and the ratio of sulfide to nitrate ( $S^{2-}/NO_3^-$  ratio) in the influent are the key factors. Their suitable level could be controlled at 5/3 and 300mg/L respectively in order to achieve 94% of sulfur conversion rate. If  $S^{2-}/NO_3^-$  ratio was not over 5/3, sulfur conversion rate will increase with the decrease of  $S^{2-}/NO_3^-$  ratio.

**Key words:** Thiobacillus denitrificans; Biological de-Sulfate; Sulfur; De-nitrification;  $S^{2-}/NO_3^-$  ratio.