

高效亚硝酸型反硝化菌生长特性及脱氮研究

张云霞, 周集体*, 袁守志

(大连理工大学 环境与生命学院, 辽宁 大连 116024)

摘要: 采用定向筛选法,对反硝化污泥进行驯化和富集,得到了富含亚硝酸型反硝化菌的混合菌体.采用批式试验考察了不同环境因子对该菌体生长和脱氮速率的影响,构建了亚硝酸盐降解动力学模型,初步探讨了菌体在填料床生物膜反应器中的脱氮性能.结果表明,该菌体属于兼性厌氧菌,只有在氧缺乏的环境下才能发生反硝化作用;最适的生长和脱氮条件是以柠檬酸三钠为碳源, $\rho(\text{TOC}) : \rho(\text{N}) = 4$,温度 $30\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 9$.菌体在此条件下具有很高的活性,比脱氮速率达 0.25 h^{-1} ,是相关文献报道的 $6\sim 10$ 倍;具有较强的耐盐特性,可耐受 13% 的盐浓度;在填料床生物膜反应器中运行稳定,具有较强的抗碳氮源冲击负荷的能力.本研究有利于促进新型短程硝化反硝化工艺的实施以及解决传统反硝化过程中亚氮积累的问题.

关键词: 生物脱氮;亚硝酸型反硝化菌;比脱氮速率;亚硝酸盐降解动力学

中图分类号: X172 **文献标志码:** A

0 引言

近年来,氮素给环境造成的污染问题日益突出,其危害也日益被人们所认识和重视.各国研究人员采用不同的方法来处理含氮废水.生物脱氮技术是处理含氮废水的最有效方法^[1,2],其中短程硝化反硝化生物脱氮比传统的生物脱氮工艺可节约 40% 碳源和 25% 能源、 $30\%\sim 40\%$ 的反应器体积,具有污泥产量低、占地面积少等优点,越来越受到国内外专家的重视,并成为污水生物脱氮技术研究领域的热点^[3,4].短程硝化实现了亚硝酸盐的积累,而要使亚硝酸盐不发生硝化反应而直接还原至氮气,创造有利于亚硝酸型反硝化菌生长的条件是实现这一过程的关键.此外,在传统的活性污泥系统进行反硝化过程中经常发现具有毒性作用的 NO_2^- 积累.导致亚氮积累的机制主要是:(1)亚硝酸盐和硝酸盐还原酶活性的不平衡;(2) O_2 、 NO_2^- 和 NO_3^- 对亚硝酸盐还原酶的抑制;(3)环境条件有利于选择仅仅将硝酸盐氮还原至亚硝酸盐的微生物^[5].因此,亚硝酸盐的还原反应在废水的反硝化过程中发挥了重要作用.

目前为止,已分离出 60 多种反硝化菌,主要分布于 3 个属: *Pseudomonas*、*Alcaligenes* 和

Bacillus^[6],大多数为兼性厌氧菌.对反硝化微生物的研究主要集中于以硝酸盐氮为电子受体的反硝化菌,对亚硝酸型反硝化菌集中在功能基因 (*nirS* 和 *nirK*) 的研究^[7,8],而对可以耐受高浓度亚硝酸盐的反硝化菌的特性知之甚少.为弥补这一不足,本文采用定向筛选法驯化得到高效的亚硝酸型反硝化菌,优化影响亚硝酸型反硝化的环境因子,构建亚硝酸盐降解动力学模型,以期短程硝化反硝化工艺的应用以及传统反硝化过程中亚氮积累问题的解决提供技术参数.

1 材料和方法

1.1 菌种的驯化

待驯化的污泥取自本实验室一体式生物脱氮反应器的缺氧池,污泥为黑色,呈絮状,有臭味,泥水比为 $1 : 5$.采用定向筛选法对反硝化污泥进行驯化和富集,在 100 mL 血清瓶中加入富集培养基,灭菌后接种 10% 的待驯化污泥,胶塞密封, $30\text{ }^\circ\text{C}$ 培养箱静置培养 7 d 左右,再取 1 mL 培养液转入新鲜培养基中,如此反复,经过 1 个多月的连续驯化,得到了以亚硝酸盐为最终电子受体的亚硝酸型反硝化菌为试验菌体.

收稿日期: 2007-02-19; 修回日期: 2009-01-06.

作者简介: 张云霞(1980-),女,博士生;周集体*(1956-),男,教授,博士生导师.

1.2 培养基

1.2.1 富集培养基 NaNO_2 1 g/L, 三水乙酸钠 2.2 g/L, K_2HPO_4 0.5 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g/L, NaCl 1.0 g/L, pH 7.2~7.4.

1.2.2 脱氮实验培养基 NaNO_2 0.5 g/L, 二水柠檬酸三钠 2.45 g/L, K_2HPO_4 0.5 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g/L, NaCl 10 g/L, pH 7.2~7.4.

1.3 环境因子对菌体生长的影响

采用批次试验法, 试验开始时, 向 100 mL 血清瓶中加入 100 mL 不同条件下脱氮实验培养基, 接种两环菌液, 胶塞密封, 30 °C 培养箱中静置培养. 然后定时取样分析菌体浓度, 取线性部分^[9]计算生长速率.

1.4 环境因子对脱氮速率的影响

采用批次试验法, 试验开始时, 向 100 mL 血清瓶中加入 100 mL 不同条件下脱氮实验培养基, 接种 0.1 g 湿菌体, 胶塞密封, 30 °C 培养箱中静置培养. 然后定时取样分析 NO_2^- -N 浓度和菌体浓度, 取线性部分^[9]计算脱氮速率.

1.5 生物脱氮速率的测定^[10]

采用 N(1-萘基)-乙二胺光度法, 用分光光度计测定单位时间内 NO_2^- -N 浓度的降低量, pH 的测定采用玻璃电极法.

2 结果与分析

2.1 环境因子对菌体生长和脱氮的影响

反硝化微生物的类群多, 分布在各种生态环境中, 可以利用氮氧化物作为电子受体产能, 反硝化过程受到氧气、pH、温度、有机碳等因素的影响^[11]. 各个环境因子对微生物反硝化作用的影响从不同方面体现出来, 有的是影响酶的合成, 有的是影响酶的活性, 影响的结果可以从中间产物或终产物的形态、数量、酶的合成情况上表现出来. 本实验详细讨论了这些环境因子对亚硝酸盐反硝化菌的生长和脱氮的影响.

2.1.1 最佳生长和代谢碳源 反硝化微生物大多数需要碳源作为电子供体, 具有很广泛的碳源谱, 可以利用糖、醇、有机酸和有机酸盐等化合物, 碳源的种类影响到反硝化强度^[12]. 本实验考察了该亚硝酸盐反硝化菌在 16 种有机碳源中的生长速率 (r_g), 见表 1. 采用的条件是 100 mg/L 的 NO_2^- -N, $\rho(\text{TOC}) : \rho(\text{N}) = 6$, 保证碳源充足, 为非限制性底物.

表 1 16 种碳源下菌体的生长速率

Tab. 1 Growth rate of the denitrifier using 16 different carbon sources

有机碳源	$r_g /$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)	有机碳源	$r_g /$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
柠檬酸三钠	1.134	甘油	0.141
乙酸钠	0.730	果糖	0.219
丁二酸钠	0.953	蔗糖	0.646
半乳糖	0.581	葡萄糖	0.137
正丁醇	0.329	酒石酸钠	0.003
乙醇	0.280	海藻酸钠	0.001
酒石酸钾钠	0.330	乳糖	0.002 5
草酸钠	0.425	甲醇	0.000 8

由表 1 可以看出, 该亚硝酸盐反硝化菌利用碳源的种类广泛, 不同的有机碳源表现出不同的动力学特征. 其中以柠檬酸三钠为碳源, 菌体的生长速度最快, 短时间内菌体处于对数生长期, 其生长速率达到 $1.134 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$; 其次是丁二酸钠和乙酸钠. 甲醇和乙醇是应用比较广泛的碳源, 但是本实验的研究结果表明, 亚硝酸盐反硝化菌以乙醇为碳源时的生长速率只有柠檬酸三钠的 1/4; 而且不能利用甲醇作为碳源. 除甲醇之外, 该亚硝酸盐反硝化菌几乎不能利用的碳源还有乳糖、海藻酸钠和酒石酸钠. 而对葡萄糖而言, 菌体在其中所需的适应阶段较长, 可能是由糖类物质降解过程的复杂性引起的. Blaszczyk 等^[13]认为, 与硝酸盐的还原相比亚硝酸盐反硝化受碳源种类的影响比较显著, 当葡萄糖作为碳源时, 亚硝酸盐积累达到最高点. Martienssen 等^[5]认为有机碳源的数量和种类是影响反硝化微生物菌落结构的一个非常重要的原因, 当以淀粉和糖类物质作为碳源提供时, 富集到的厌氧菌群只能将硝酸盐还原成亚硝酸盐, 而不是真正的反硝化菌^[14].

2.1.2 最佳生长和代谢碳氮比 除碳源的种类外, 碳源的数量, 即 $\rho(\text{TOC}) / \rho(\text{N})$, 同时也影响反硝化作用的强度和终产物的组成. 有机碳源缺乏将导致反硝化反应的不彻底, 终产物会产生部分温室气体 N_2O . 在以亚硝酸盐为底物的反硝化过程中, 亚硝酸盐氮通过反硝化菌的代谢活动, 可能有两种转化途径: 一种途径是同化反硝化(合成), 最终形成有机氮化合物, 成为菌体的组成部分; 另一种是异化反硝化(分解), 最终产物是氮气. 根据理论公式计算得到亚硝酸盐反硝化作用所需电子供体的碳源(以乙醇为例)公式: $c_m = 0.5c(\text{NO}_2^- - \text{N}) + 1.75c(\text{NO}_2^- - \text{N})$, 在无氧条件下, 亚硝酸盐反

硝化作用需碳与氮的理论物质的量比为 2.25 : 1,比硝酸型反硝化节省 40%碳源.

通过不同 $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})$ 下菌体的生长曲线对比可见(如图 1 所示),当 $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N}) > 1$ 时,菌体均能获得比较好的生长速度,碳氮比越高,有机碳源越充足,菌体的繁殖速度越快.图 2 显示 $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N}) = 4$ 时具有最大的比脱氮速率(q), $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N}) < 1$ 时,由于有机碳源供给不足,严重影响脱氮效果.

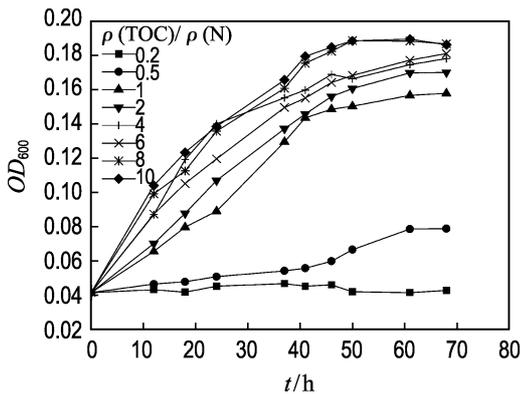


图 1 $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})$ 对菌体生长的影响
Fig. 1 Effect of $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})$ on growth of the denitrifier

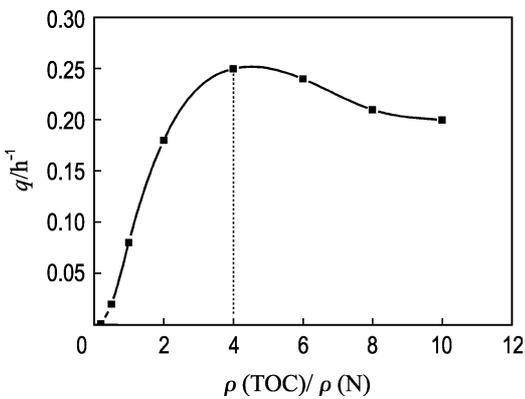


图 2 $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})$ 对菌体比脱氮速率的影响
Fig. 2 Effect of $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})$ on specific denitrification rate of the denitrifier

2.1.3 最佳生长和代谢温度 由图 3 可见,该亚硝酸型反硝化菌属中温细菌,适宜的温度范围是 20~40 °C,最佳温度是 30 °C.当 $\theta \leq 30$ °C 时,随着温度的升高,细菌体内酶活力旺盛,代谢速度加快,30 °C 时菌体的生长速率和脱氮速率是 20 °C 的 3~4 倍;当 $\theta \leq 20$ °C 时,细菌的酶活力受到抑制,代谢速度缓慢,进而处于生长繁殖停滞状态;当 $\theta > 30$ °C 时,菌体内酶结构发生变化,阻碍了细

胞的正常代谢,细菌的生长也受到抑制,在 40 °C 时,菌体的生长速率(r_g)和脱氮速率(r_d)分别下降到 $0.65 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 和 $17.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$;超过最高生长温度时,会使微生物的蛋白质迅速变性,酶系统遭到破坏而失去活性^[15].

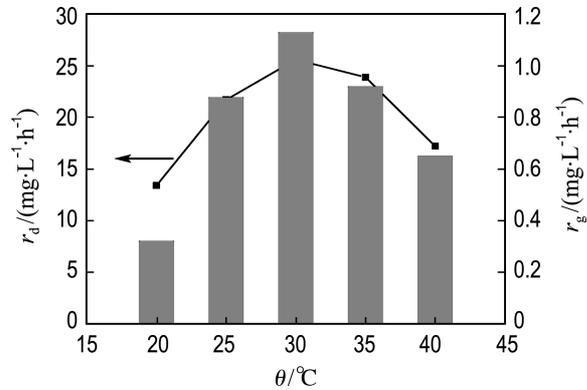


图 3 温度对菌体的生长速率和脱氮速率的影响
Fig. 3 Effect of temperature on growth and denitrification rate of the denitrifier

2.1.4 最佳生长和代谢 pH 由图 4 可以看出,亚硝酸型反硝化菌同大多数反硝化微生物一样,适合在中性偏碱条件下生长.本研究结果表明,该菌生长的最适 pH 为 8~10,最佳点是 9.0,比文献[15、16]报道的适宜 pH 范围 7.0~8.5 更能耐受碱性环境.产生这种偏差的原因可能是在驯化和富集过程中,菌体渐渐适应反硝化产生的高碱性环境,从而大大提高了其对碱的耐受能力.

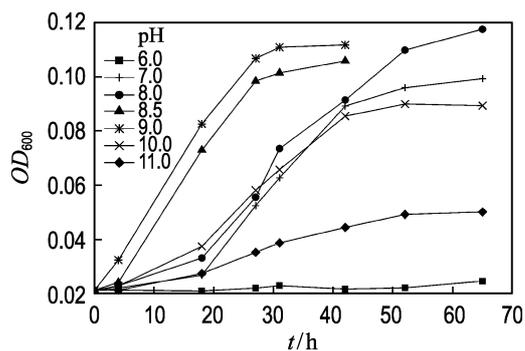


图 4 pH 对菌体生长的影响
Fig. 4 Effect of pH on growth of the denitrifier

由表 2 可见,pH 显著影响了比脱氮速率.当 pH 从 6 增加到 9 时,比脱氮速率呈上升趋势;当 pH=7 或 10 时,比脱氮速率不足 pH=9 时的 1/2;当 pH < 7 或 pH > 10 时,菌体的比脱氮速率

大大降低, pH=6 时降低至零. 这是因为 pH 在酸性环境中使 NO_2^- 形成了 HNO_2 , 而 HNO_2 极易进入细胞膜, 通过抑制 ATP 酶降低质子由膜间隙运回膜内侧的动力, 导致 ATP 无法合成, 且 HNO_2 还会影响 NO 还原酶和 N_2O 还原酶的合成^[17]. 当 $\text{pH} > 10$ 时会影响酶的表达和活性, 抑制亚硝酸盐还原酶的合成, 最终影响反硝化速率.

表 2 pH 对菌体比脱氮速率的影响

Tab. 2 Effect of pH on specific denitrification rate of the denitrifier

pH	q/h^{-1}	pH	q/h^{-1}
6.0	0	9.0	0.25
7.0	0.11	10.0	0.09
8.0	0.19	11.0	0.04
8.5	0.23		

2.1.5 亚硝酸盐反硝化菌生长和降解曲线 由亚硝酸盐反硝化菌在好氧和缺氧条件下生长和降

解曲线可以看出, 该菌的快速生长是好气性的, 生长受氧气量的限制. 好氧条件下具有很高的细胞产率, 稳定期菌体浓度大约是缺氧条件下的 5 倍左右, 可达 300 mg/L . 但是在好氧条件下, 亚硝酸盐氮只是为菌体合成细胞物质提供氮源, 而不能发生反硝化作用, 最终的亚硝酸盐氮稳定在 60 mg/L . 在缺氧条件初期, 亚硝酸盐型反硝化菌首先利用环境中的微量氧作为电子受体呼吸生长获得能量, 当氧消耗殆尽, 环境中含氧浓度很低时, 通过反硝化作用获得能量, 此时反硝化作用就成为缺氧环境下的替代产能途径. 由图 5(a) 可见, 亚硝酸盐型反硝化菌的反硝化作用发生在对数生长期和稳定期, 反应的 pH 由 8.0 升高到 10.0 左右. 所以该菌与大多数反硝化菌一样属于兼性厌氧菌, 在有氧气的条件下利用氧气作为电子受体进行好氧呼吸; 在缺氧条件下, 利用亚硝酸盐氮作为电子受体, 发生反硝化作用^[18].

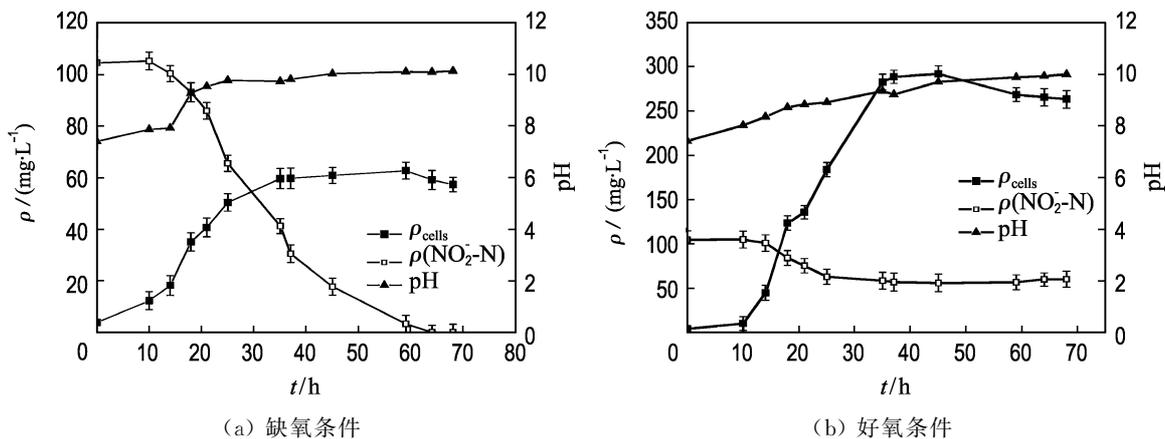


图 5 菌体生长和降解曲线

Fig. 5 Growth curves and nitrite reduction curves of the denitrifier

2.2 亚硝酸盐反硝化菌的耐盐特性

本实验富集驯化得到的亚硝酸盐反硝化菌具有一定的耐盐特性. 当盐质量分数为 1%~3% 时, 溶液中的渗透压适合微生物的生长, 菌体繁殖速度最大(见图 6), 当盐质量分数为 1% 时具有最大的比脱氮速率(见图 7). 随着盐质量分数升高到 4%~9%, 菌体生长的抑制期延长, 比盐质量分数为 3% 时延长了 10 h, 但是仍具有较大的生长速度, 盐的抑制作用并不明显. 当盐质量分数大于 9% 时, 盐对菌的生长速率和亚硝酸盐氮的比降解速率具有较大的影响. 该菌的耐盐特性适用于针对高氨氮、高盐废水的短程硝化反硝化.

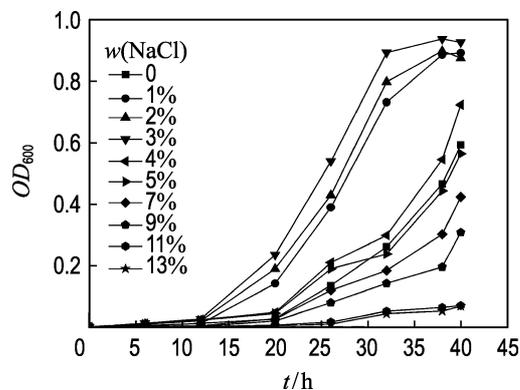


图 6 盐质量分数对菌体生长的影响

Fig. 6 Effect of NaCl concentration on growth of the denitrifier

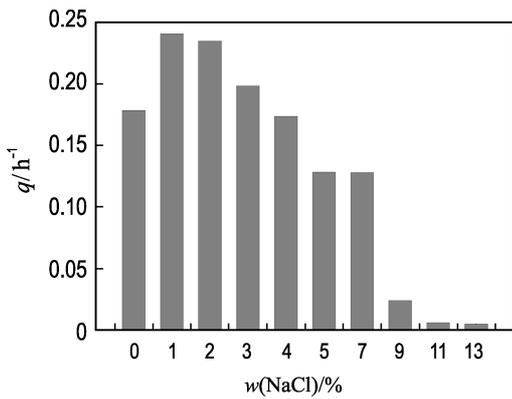


图 7 盐质量分数对菌体比脱氮速率的影响
Fig. 7 Effect of NaCl concentration on specific denitrification rate of the denitrifier

2.3 亚硝酸盐氮降解动力学

亚硝酸型反硝化菌在以亚硝酸盐氮为底物进行反硝化的过程中,其本身对微生物有一定的毒害作用,当浓度达到一定值时,也会对反硝化过程产生抑制,导致反应速率下降,因此建立动力学模型时,可以考虑选择一种非竞争性底物抑制模型^[19].下式是由 Andrews 提出的一种最常见的描述微生物菌体生长的非竞争性底物抑制模型^[20]:

$$q = \frac{q_{max} S}{S + K_s + S^2/K_i} \quad (1)$$

根据亚硝酸盐氮降解动力学数据,采用非竞争性底物抑制动力学进行模拟,模拟曲线如图 8 所示,得到亚硝酸盐抑制动力学方程(式(2)).根据动力学参数得到 q 取最大值时亚硝酸盐氮浓度为 270.86 mg/L.

$$q = \frac{0.9374S}{S + 408.79 + S^2/179.47} \quad (2)$$

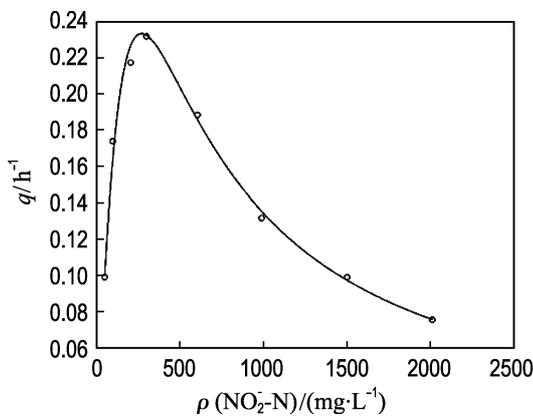


图 8 亚硝酸盐氮降解动力学拟合曲线
Fig. 8 Simulation curve of nitrite reduction kinetics

2.4 生物膜反应器的反硝化性能

本实验采用填料床生物膜反应器考察亚硝酸型反硝化菌的抗碳源和氮源的冲击负荷能力及实际脱氮效率.反应器容积 1.2 L,填料为陶瓷粒,装填密度为 0.8 kg/L.实验用模拟废水成分为柠檬酸三钠、亚硝酸钠、磷酸氢二钾及适量微量元素.反应器的操作条件:水力停留时间为 8 h,进水流量为 100 mL/h,温度为 (28±2) °C,反应器中溶解氧浓度为 0~0.02 mg/L.

陶瓷粒具有较大的空隙率和比表面积,是较理想的填料.由挂膜后陶瓷粒填料的扫描电镜照片(图 9)可以看出,菌体可以附着在陶瓷粒的表面和孔隙中,陶瓷粒为亚硝酸型反硝化菌提供了理想的栖息场所,同时可以防止菌液的大量流失.

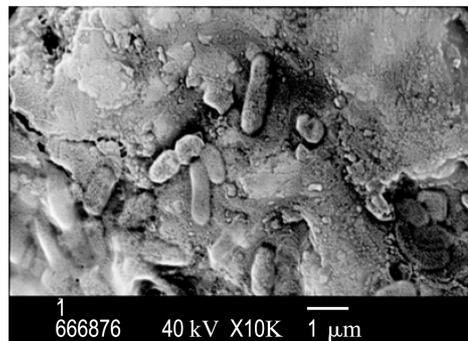


图 9 挂膜后陶瓷粒填料电镜照片
Fig. 9 SEM photo of ceramic granule after startup phase

由图 10 可以看出,反应器启动快,挂膜 5 d 后出水保持稳定.当进水亚氮浓度为 200 mg/L,

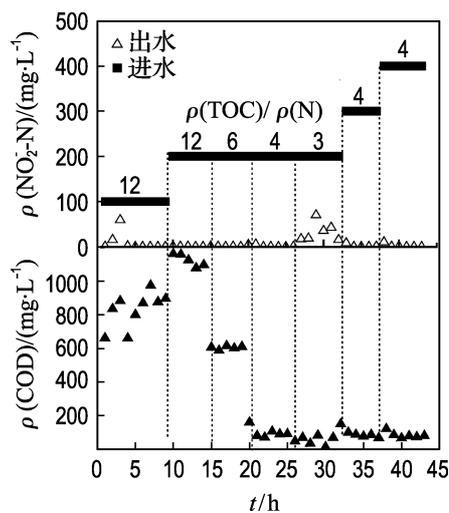


图 10 固定床生物膜反应器脱氮性能
Fig. 10 Performance of denitrification of packed-bed biofilm reactor

进水有机负荷从 $57.6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ 降低到 $19.2 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})$ 分别为 12、6、4 时, 出水亚氮浓度稳定在 0.8 mg/L 左右, 具有较强的抗碳源冲击负荷能力。随着 $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})$ 的降低, 出水 COD 明显降低。当 $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})=3$ 时, 由于碳源不足, 反硝化不完全, 出水中亚氮浓度升高。维持 $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})=4$, 进水亚氮浓度从 200 mg/L 增加到 400 mg/L , 出水亚氮浓度和 COD 稳定, 说明该菌具有较强的抗氮源冲击负荷能力。

3 结 论

(1) 驯化得到的亚硝酸型反硝化菌是兼性厌氧菌, 最佳的生长和代谢条件是: 柠檬酸三钠为最佳碳源, $\rho(\text{TOC})/\rho(\text{N})$ 为 4, 温度为 $30 \text{ }^\circ\text{C}$, pH 为 9.0。与大多数反硝化微生物不同之处在于该菌能更好地适应碱性环境。

(2) 该反硝化菌具有很高的反硝化活性, 在最佳条件下, 比脱氮速率是相关文献报道的 6~10 倍, 且有较强的耐盐特性, 当盐质量分数达到 7% 时, 比脱氮速率可达 0.13 h^{-1} , 仍能保持较高的活性。

(3) 采用非竞争性底物抑制模型模拟亚硝酸盐氮降解动力学过程, 得到的动力学参数如下: q_{\max} 为 0.9374 h^{-1} , K_s 为 408.78 mg/L , K_i 为 179.47 mg/L , q 取最大值时亚氮浓度为 270.86 mg/L , 该亚硝酸型反硝化菌可耐受 3000 mg/L 的亚氮浓度。

(4) 从陶瓷粒填料生物膜反应器的运行效果可以看出, 有机负荷 $14.4 \sim 57.6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, 亚氮容积负荷 $2.4 \sim 9.6 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$, 均能获得较好的出水效果, 该反硝化菌具有较强的抗碳氮源冲击负荷能力。

亚硝酸型反硝化是将 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 还原成 N_2 的复杂生化过程, 是短程硝化反硝化的重要过程, 本文得到的菌体具有较高的反硝化活性, 能耐受很高的亚氮及盐浓度, 可为高盐高氨氮废水的短程硝化反硝化提供理论指导。同时亚硝酸型反硝化微生物的特性、亚硝酸盐还原酶的表达及其应用有待于进一步研究。

参 考 文 献:

[1] POTTER T G, TSENG C C, KOOPMAN B.

Nitrogen removal in partial nitrification/complete denitrification process [J]. **Water Environment Research**, 1998, **70**(3):334-342

[2] LADAN H, GEORGE N, AMARJEET S B, *et al.*

Long term performance of MBR for biological nitrogen removal from synthetic municipal wastewater [J]. **Chemosphere**, 2007, **66**(5):849-857

[3] RUIZ G, JEISON D, RUBILAR O, *et al.*

Nitrification-denitrification via nitrite accumulation for nitrogen removal from wastewaters [J]. **Bioresource Technology**, 2006, **97**(2):330-335

[4] TURK O, MAVINIC D S. Maintaining nitrite

build-up in a system acclimated to free ammonia [J].

Water Research, 1989, **23**(11):1383-1388

[5] MARTIENSSEN M, SCHOPS R. Population

dynamics of denitrifying bacteria in a model biocommunity [J]. **Water Research**, 1999, **33**(3):639-646

[6] CHENEY D, PHILOPPOT L, HARTMANN A,

et al. 16S rDNA analysis for characterization of denitrifying bacteria isolated from three agricultural soils [J]. **FEMS Microbiology Ecology**, 2000, **34**(2):121-128

[7] BRAKER G, ZHOU J, WU L, *et al.* Nitrite

reductase genes (*nirK* and *nirS*) as functional markers to investigate diversity of denitrifying bacteria in Pacific Northwest marine sediment communities [J]. **Applied Environmental Microbiology**, 2000, **66**(5):2096-2104

[8] CASTRO-GONZALEZ M, BRAKER G, FARIAS

L, *et al.* Communities of *nirS* type denitrifiers in the water column of the oxygen minimum zone in the eastern South Pacific [J]. **Environmental Microbiology**, 2005, **7**(9):1298-1306

[9] 徐亚同. 不同碳源对生物反硝化的影响 [J]. 环境科学, 1994, **15**(2):29-44

[10] 国家环保局. 水和废水监测分析方法:3 版[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1989

[11] BAUMANN B, SNOZZI M, ZEHNDER A J B,

et al. Inhibition of denitrification activity but not of mRNA induction in *Paracoccus denitrificans* by nitrite at a suboptimal pH [J]. **Antonie van Leeuwenhoek**, 1997, **72**(3):183-189

[12] BLASZCZYK M. Effect of medium composition on

the denitrification of nitrate by *Paracoccus*

- denitrificans* [J]. **Applied Environmental Microbiology**, 1993, **59**(11):3951-3953
- [13] BLASZCZYK M, MYUCIELSKI R, JAWOROWSKA-DEPTUCH H, *et al.* Effects of various sources of organic carbon and high nitrite and nitrate concentrations on the selection of denitrifying bacteria I: stationary cultures [J]. **Acta Microbiologica Polonica**, 1980, **29**(4):397-406
- [14] WILDERER P A, JONES W L, DAU U. Competition in denitrification systems affecting reduction rate and accumulation of nitrite [J]. **Water Research**, 1987, **21**(2):239-245
- [15] 陈际达, 曲中堂, 邓 玥, 等. 亚硝酸盐反硝化脱氮 [J]. 重庆大学学报(自然科学版), 2002, **25**(3): 81-84
- [16] 王家玲. 环境微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1988
- [17] ALEFOUNDER P R, GREENFIL A J, MCCARTHY J E G. Selection and organisation of denitrifying electron-transfer pathways in *Paracoccus denitrificans* [J]. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1983, **724**(1):20-39
- [18] PAYNE W J. **Denitrification** [M]. New York: Wiley, 1981
- [19] JULIAN C, IRENE J, LORENA C. Kinetic models for nitrification inhibition by ammonium and nitrite in a suspended and an immobilized biomass systems [J]. **Process Biochemistry**, 2004, **39**(9):1159-1165
- [20] ANDREWS J F. The Monod equation: a revisit and a generalization to substrate inhibition situation [J]. **Biotechnology and Bioengineering**, 1968, **10**:707-711

Study of denitrification and growth characteristics of effective denitrifier community reducing nitrite

ZHANG Yun-xia, ZHOU Ji-ti*, YUAN Shou-zhi

(School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: The effective denitrifier community reducing nitrite was obtained by the method of directional selection from denitrification sludge. The effects of environmental factors on growth and denitrification rate of the denitrifier community were investigated by batch culture experiments. Then, nitrite reduction kinetics model was constructed and the performance of a packed-bed biofilm reactor seeding with this kind of denitrifier for denitrification was studied. The results show that the denitrifier community is anoxic, which reduces nitrite to nitrogen gas at lower DO concentration. The optimal conditions are: sodium citrate as carbon source, $\rho(\text{TOC}) : \rho(\text{N}) = 4$, temperature 30 °C, pH 9. Under the optimal condition, the specific denitrification rate of the denitrifier community can reach 0.25 h⁻¹, which is 6-10 times of that previously reported. The denitrifier community has strong salt-resistant ability, which can tolerate 13% NaCl. Furthermore, it shows the great capability of resisting the variation of carbon and nitrogen loading rate for stable denitrification in the packed-bed biofilm reactor. This study will be beneficial to the implementation of novel partial nitrification/denitrification and solving the problem of nitrite accumulation in the process of traditional denitrification.

Key words: microbial denitrification; denitrifier community reducing nitrite; specific denitrification rate; nitrite reduction kinetics