

刘杰, 韩士群, 齐建华, 等. 生物碳含量对底泥活化原位脱氮及微生物活性的影响[J]. 江苏农业学报, 2016, 32(1): 106-110.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2016.01.016

生物碳含量对底泥活化原位脱氮及微生物活性的影响

刘杰¹, 韩士群¹, 齐建华², 周庆¹

(1. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 江苏 南京 210014; 2. 中国核电工程有限公司河北分公司, 河北 石家庄 050000)

摘要: 以生物碳组合填料为载体, 考察了不同比例生物碳对关镇河底泥活化原位脱氮系统构建时间、脱氮效果的影响, 同时研究了不同比例生物碳填料成熟生物膜上生物量、微生物活性、硝化菌和反硝化菌数量。结果显示, 组合填料中添加生物碳含量为 5%、10%、15% 时, 脱氮系统的总氮(TN)去除率在处理第 7 d、6 d 和 5 d 时均达到 80% 以上, 且运行稳定后其 TN 平均去除率分别为 88%、90% 和 83%。生物膜上生物量随生物碳含量增加而增加, 当生物碳含量为 10% 时, 生物膜上硝化细菌、反硝化细菌数量最大, 分别为 1 g 6.7×10⁴ MPN 和 8.6×10⁵ MPN, 脱氢酶活性为 54.2 μg/nmol, 而生物碳含量为 15% 时, 硝化细菌、反硝化细菌数量、脱氢酶活性分别为 1 g 1.9×10⁴ MPN、1 g 1.7×10⁵ MPN 和 19.8 μg/nmol, 表明过高的生物碳含量不利于提高生物膜原位脱氮系统的脱氮效能及微生物活性。

关键词: 生物炭; 脱氮; 生物量; 微生物活性

中图分类号: X522 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2016)01-0106-05

Influence of biochar content on *in-situ* denitrification of sediment and microbial activity

LIU Jie¹, HAN Shi-qun¹, QI Jian-hua², ZHOU Qing¹

(1. Institute of Agricultural Resource and Environmental Sciences, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Hebei Branch of China Nuclear Power Engineering Co., Ltd., Shijiazhuang 050000, China)

Abstract: To study the effect of biochar on the building time and efficiency of river sediment denitrification, a laboratory scale reactor was established, and the biomass, microbial activity, nitrobacteria and denitrifying bacteria counts of biofilm were investigated. In the biofilm reactor added with 5%, 10% and 15% biochar, the removal efficiencies of total nitrogen (TN) at days 7, 6 and 5 were over 80%. In the steady running stage, the removal efficiencies of TN reached 88%, 90% and 83%, respectively. Biomass was increased with the content of biochar in the combined packing. When the content of biochar was 10%, nitrobacteria, denitrifying bacteria and TTC-dehydrogenase activity were 6.7×10⁴ MPN per gram, 8.6×10⁵ MPN per gram and 54.2 μg/nmol, respectively. When the content of biochar was 15%, nitrobacteria, denitrifying bacteria and TTC-dehydrogenase activity were 1.9×10⁴ MPN per gram, 1.7×10⁵ MPN per gram and 19.8 μg/nmol, respectively, indicating that excessive biochar are not conducive to the efficiency of denitrification and microbial activity.

Key words: biochar; denitrification; biomass; microbial activity

收稿日期: 2015-06-04

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2015BAD13B04)

作者简介: 刘杰(1984-), 女, 四川宜宾人, 博士, 研究方向为水污染控制。(E-mail) liujie1469@163.com

通讯作者: 韩士群, (E-mail) shqunh@yahoo.com.cn

氮是湖泊生态系统初级生产力的主要限制因子和造成湖泊水体富营养化的关键营养元素^[1], 污染河道氮的输入进一步加剧了湖泊的富营养化程度, 因此入湖河道的原位脱氮效果, 对减轻水体富营养

化起到了至关重要的作用。现有原位脱氮技术主要包括投加特效菌剂、人工曝气、生物膜净化技术和水生生物净化技术等。特效菌剂投入河道以后,存在适应性较差、效能不高、难以成为优势菌群等问题^[2-3];人工曝气充氧,提高了水体的溶解氧(DO),使氮在不同形态间相互转化,但脱氮效能不高^[4-5];普通生物膜技术存在挂膜时间长,处理效能易受气温、水质、水量等影响^[6-7]。

生物碳(Biochar, BC)是生物质在高温条件下经厌氧处理产生的一种富碳物质^[8-9],具有较大的比表面积和孔隙率,添加至土壤中,可以增加微生物数量和种类,增加氨氧化细菌数量,增强土壤硝化作用^[10]。生物碳用于水处理的研究主要集中在生物碳对有机污染物及重金属等的吸附去除^[11-14],鲜有将其用于污染河道原位脱氮的报道。针对上述问题,结合巢湖入湖河道关镇河水质,提出基于河道底泥原位活化的生物膜脱氮技术研究,在对河道底泥进行充分再悬浮活化的基础上,构建以生物碳组合填料为载体的生物膜原位脱氮系统(BDBR),研究生物碳对生物膜原位脱氮系统构建速度、脱氮效能的影响,同时考察生物膜原位脱氮系统生物量、硝化和反硝化细菌数量及微生物活性等的变化规律,为污染河道原位脱氮示范工程提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验装置

采用投加组合填料(填充比 50%)的序批式生物膜反应器,反应器有效容积 10 L,通过温度控制仪和加热棒控制反应器内的温度,反应器每个运行周期为:进水 0.25 h 好氧,7.50 h 缺氧,4.00 h 沉淀,排水 0.25 h,共 12.00 h。

1.2 试验材料

试验用水取自巢湖支流关镇河,化学需氧(COD)、铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、总氮(TN)、磷酸盐($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$)平均浓度分别为 162.89 mg/L、18.69 mg/L、0.57 mg/L、24.22 mg/L 和 1.79 mg/L。采用巢湖关镇河表层底泥作为接种污泥,底泥 TN、总磷(TP)和有机质平均含量分别为 3.05 mg/g、0.72 mg/g 和 4.48%。组合填料纤维丝为分别添加质量百分比为 0、5%、10%、15%生物碳的粘胶纤维。

1.3 试验方法

生物膜原位脱氮系统构建采用巢湖关镇河表层底泥作为接种污泥,接种量按 100 g/L 计算。采用平行试验,考察组合填料中添加生物碳质量百分含量分别为 0、5%、10%、15%以及只接种底泥未添加生物碳填料未曝气的空白对照组的生物膜原位脱氮系统构建时间、脱氮效能,每组试验均设 3 个平行。试验温度(28 ± 1) $^\circ\text{C}$, DO 为 4 mg/L,有机负荷为 0.3 $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$,氮负荷为 0.04 $\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$,试验期间测试处理前后河水的 COD、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN 等指标(处理前为进水,处理后为出水),同时取运行稳定后一个反应周期结束时的生物膜污泥测试生物量、硝化、反硝化细菌数量、TTC-脱氢酶活性等。

1.4 测试方法

进、出水指标 COD 采用重铬酸钾法测定, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 采用纳氏试剂法测定, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 TN 采用紫外分光光度法测定^[15],硝化、反硝化细菌数量采用 MNP-Griess 法测定^[16]。

生物量采用脂磷法测定,脂磷不储存在细胞内,通常进行自然转化,死细胞内脂磷含量相当低,因此可以用脂磷含量近似表示活性微生物量, 1×10^8 个大肠杆菌大小的活细胞大约含 1 nmol 磷^[17]。微生物细胞膜磷脂中的磷(脂磷, Lipid-P)采用氯仿、甲醇和水 3 个阶段萃取,提取液按总磷测定的钼酸铵分光光度法测试。

脱氢酶是衡量微生物活性的重要物质,试验中以人造受氢体 2,3,5-氯化三苯基四唑(TTC)做受氢体,TTC 还原后的产物三苯基甲臜(TF)为红色结晶体,通过分光光度法测定其吸光度,计算 TF 的生成量^[18]。用 TF 的生成量来表示 TTC-脱氢酶活性的大小。

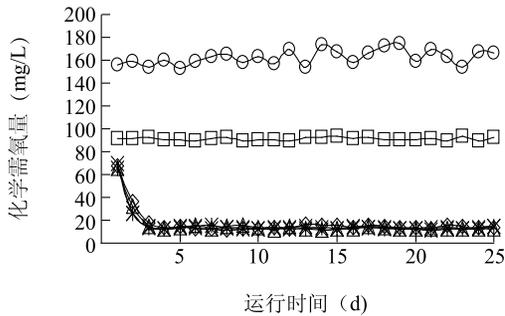
2 结 果

2.1 生物碳对生物膜原位脱氮系统脱氮效能的影响

由图 1 可知,在设定的运行参数条件下,4 个含生物碳处理对 COD 均有较好的去除效果,连续运行 3 d 后含生物碳为 0、5%、10%和 15%处理的 COD 平均去除率均可达到 92%,而空白对照的 COD 平均去除率仅为 44%。

由图 2 可知,含生物碳 5%和 10%处理的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率均在处理第 3~4 d 达到 70%以上,且在处理第 5 d 达到 90%,运行稳定后的平均去除率分别

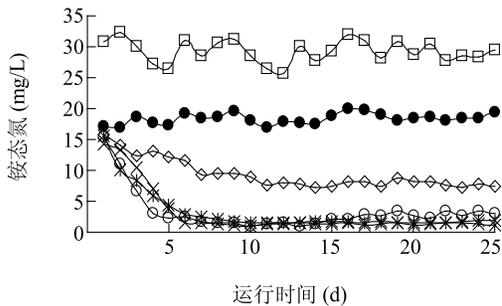
为94%和96%,出水 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度可达到《地表水环境质量标准》(GB3838-2002)的V类水体要求。未添加生物碳处理平均去除率稳定维持在72%左右,空白对照组平均去除率为37%。



—△— 含生物碳0%; —×— 含生物碳5%; —*— 含生物碳10%;
—◇— 含生物碳15%; —□— 空白; —○— 进水

图1 生物膜原位活化脱氮系统的COD去除特征

Fig.1 Performance of COD removal of biofilm denitrification reactor of biochar



—◇— 含生物碳0%; —*— 含生物碳5%; —×— 含生物碳10%;
—○— 含生物碳15%; —●— 空白; —□— 进水

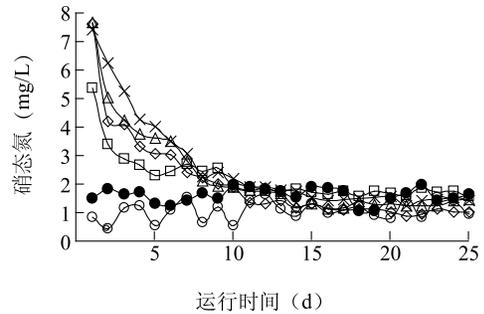
图2 生物膜原位活化脱氮系统的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除特征

Fig.2 Performance of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ removal of biofilm denitrification reactor of biochar

由图3可知,4个生物碳处理的出水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量在处理11 d前均显著高于进水 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量,这是因为上覆水和底泥中有机氮及 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 经硝化作用氧化成 $\text{NO}_3^-\text{-N}$,反硝化菌未能及时将其完全消耗所致,生物碳含量为0、5%、10%和15%的处理分别在处理第14 d、11 d、10 d和10 d达到稳定,运行稳定后的出水硝酸盐浓度分别维持在 (1.48 ± 0.14) mg/L、 (1.31 ± 0.15) mg/L、 (1.09 ± 0.08) mg/L、 (1.72 ± 0.14) mg/L,空白对照出水硝酸盐浓度为 (1.63 ± 0.32) mg/L。

由图4可知,4个含生物碳为0、5%、10%和

15%处理的TN去除率分别在第9 d、7 d、6 d和5 d时达到60%、80%、85%和80%并运行稳定,运行稳

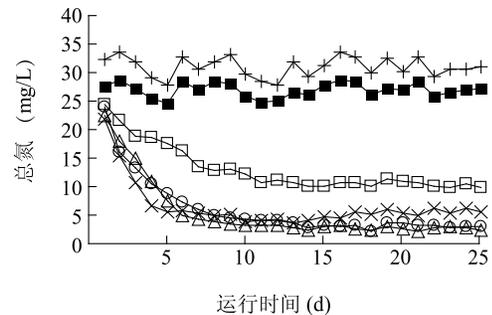


—×— 含生物碳0%; —△— 含生物碳5%; —◇— 含生物碳10%;
—□— 含生物碳15%; —●— 空白; —○— 进水

图3 生物膜原位活化脱氮系统的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 去除特征

Fig.3 Performance of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ removal of biofilm denitrification reactor of biochar

定后各处理TN去除率分别为65%、88%、90%和83%,空白对照组TN平均去除率为13%,生物膜原位活化脱氮系统能在5~7 d内完成构建。



—□— 含生物碳0%; —○— 含生物碳5%; —△— 含生物碳10%;
—×— 含生物碳15%; —■— 空白; —+— 进水

图4 生物膜原位活化脱氮系统的总氮去除特征

Fig.4 Performance of total nitrogen removal of biofilm denitrification reactor of biochar

2.2 生物碳对生物膜微生物的影响

由表1可知,添加生物碳的生物膜上的生物量显著高于未添加生物碳的填料,含生物碳5%处理的生物膜上的生物量是含生物碳含量为0处理的1.6倍,且随着生物碳质量百分含量从5%增加至15%,生物膜上生物量提高至 $1 \text{ g } 2.002 \times 10^6 \text{ nmol P}$,说明添加生物碳有助于提高生物膜上的生物量,生物碳含量增大,生物膜对微生物的吸附能力

也随之增强。4个处理的硝化、反硝化细菌数量结果显示,随着生物碳质量百分含量从0增大至15%,生物膜上硝化、反硝化细菌数量明显升高,其中含生物碳5%和10%处理的硝化细菌数量为生物碳含量为0处理的12.0倍和26.8倍,反硝化细菌数量为生物碳含量为0处理的21倍和43倍,但含生物碳15%处理的硝化、反硝化细菌数量较含生物碳5%和10%处理少。脱氢酶活性试验结果与硝化、反硝化细菌数量结果具有相似规律。

表1 生物碳组合填料生物膜的生物量和微生物活性

Table 1 The biomass and microbial activity in the biofilm

指 标	含生物碳 0	含生物碳 5%	含生物碳 10%	含生物碳 15%
生物量 ($\times 10^6$ nmol P, 1 g DW)	8.11	13.11	15.90	20.02
硝化细菌数 ($\times 10^4$ MPN, 1 g DW)	0.25	3.0	6.7	1.9
反硝化细菌数 ($\times 10^5$ MPN, 1 g DW)	0.20	4.20	8.60	1.70
脱氢酶活性 ($\mu\text{g}/\text{nmol}$)	9.30	27.60	54.20	19.80

3 讨论

底泥原位活化脱氮系统连续运行3 d后COD平均去除率均可达到92%,说明,关镇河表层底泥中存在丰富的异养微生物,通过对底泥进行曝气再悬浮即能有效去除上覆水中COD,并且对底泥的再悬浮并未引起上覆水COD的增大。由于大量好氧有机物的输入,使得关镇河水体处于缺氧状态,COD降解速率较低,分别加入含量为5%、10%和15%的生物碳填料后,生物膜上生物量从1 g 8.110×10^6 nmol P分别增加到 1.311×10^7 nmol P、 1.590×10^7 nmol P和 2.002×10^7 nmol P,溶解氧(DO)及生物量的增加使COD得到有效去除。

在DO充足的情况下,随着生物碳含量从5%增加至10%,硝化细菌数量从1 g 3.0×10^4 MPN增加至 6.7×10^4 MPN,硝化细菌迅速繁殖,使各处理 NH_4^+-N 去除率显著提高;生物碳含量增加至15%后,硝化细菌数量为1 g 1.9×10^4 MPN, NH_4^+-N 去除率在第3 d可达78%,但从处理第15 d开始,去除率有所降低,虽仍能维持在90%左右,但稳定运行期间 NH_4^+-N 平均去除率仅为92%,较含生物碳5%和10%处

理低,说明,填料中添加一定量的生物碳可以有效提高脱氮系统硝化细菌数量,从而提高生物膜原位脱氮系统的硝化速率,但过高的生物碳含量并未使硝化速率显著提高。

生物膜原位脱氮系统构建完成后,生物碳含量分别为5%、10%和15%处理的生物膜上反硝化细菌数量分别为1 g 4.2×10^5 MPN、 8.6×10^5 MPN、 1.7×10^5 MPN,反硝化细菌在生物膜上大量繁殖,各处理反硝化效果逐渐增强,生物碳含量分别为5%、10%和15%处理的出水 NO_3^--N 浓度分别维持在 (1.31 ± 0.15) mg/L、 (1.09 ± 0.08) mg/L、 (1.72 ± 0.14) mg/L, TN去除率分别为88%、90%和83%,但由于含生物碳15%处理的反硝化细菌数量较含生物碳5%和10%处理少,因此生物碳含量为15%处理的反硝化效果相对较差。

含生物碳5%、10%和15%处理的TN去除率能在5~7 d内达到80%以上,分析认为,生物碳的多孔性及较大的比表面积^[19-20],使水体中的氮、磷等更易吸附于填料中,填料投入污染河道水体后,首先吸附水体中的COD、氮、磷等,在填料周围形成较高浓度的营养环境,微生物在河道底泥的曝气活化再悬浮过程中,更倾向于聚集在营养物质丰富的组合填料表面,丰富的营养物质使微生物能迅速生长繁殖;另外,生物膜的形成主要依靠微生物分泌胞外聚合物(EPS)吸附在填料表面^[21],生物碳表面活性基团的存在^[22],更有利于EPS与填料结合,填料中生物碳含量越高,填料对微生物的吸附性能越强,因此,生物碳质量百分含量从5%升高至15%时,生物膜原位活化脱氮系统构建速度及生物量随之增大。但是,运行稳定后含生物碳15%处理的TN去除率、硝化菌、反硝化菌及脱氢酶活性均比含生物碳5%和10%处理低,分析认为,当生物碳含量从10%升高至15%时,在生物膜原位脱氮系统构建初期,填料较强的吸附性能,使填料表面迅速富集底泥中的微生物,生物膜原位活化脱氮系统构建速度加快,随着时间的推移,更多的微生物及底泥等吸附在填料表面,使得生物膜厚度增大,过大的生物膜厚度影响膜内DO、营养物质的传输效果,生物膜活性降低^[23],因此,含生物碳15%处理的生物膜的硝化菌、反硝化菌数量、脱氢酶活性均较含生物碳5%和10%处理少,最终导致运行稳定后含生物碳15%处理的脱氮效果较含生物碳5%和10%处理的低。组

合填料中添加质量分数为 10% 的生物碳时,生物膜原位脱氮系统能在 6 d 内完成构建,TN 去除率最高为 90%。

参考文献:

- [1] SCHINDLER D W, HECKY R E, FINDLAY D L, et al. Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: Results of a 37-year whole-ecosystem experiment[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(32): 11254-11258.
- [2] THOMPSON I P, VAN DER GAST C J, CIRIC L, et al. Bioaugmentation for bioremediation: the challenge of strain selection[J]. *Environ Microbiol*, 2005, 7(7): 909-915.
- [3] JIAO Y, ZHAO Q, JIN W, et al. Bioaugmentation of biological oxidation ditch with indigenous nitrifying bacteria for in-situ remediation of nitrogen-rich stream water[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(2): 990-995.
- [4] 刘波, 王国祥, 王凤贺, 等. 不同曝气方式对城市重污染河道水体氮素迁移与转化的影响[J]. *环境科学*, 2011, 32(10): 2971-2978.
- [5] 许宽, 刘波, 王国祥, 等. 底泥曝气对城市污染河道内源氮变化过程的影响[J]. *环境科学学报*, 2012, 32(12): 2935-2942.
- [6] 徐京, 朱亮, 丁炜, 等. 挂膜方式对模拟河道生物反应器启动与稳态运行的影响[J]. *中国环境科学*, 2010, 30(8): 1091-1096.
- [7] 曹蓉, 邢海, 金文标. 生物膜处理城市河道污染水体的挂膜试验研究[J]. *环境工程学报*, 2008, 2(3): 374-377.
- [8] LEHMANN J, GAUNT J, RONDON M. Biochar sequestration in terrestrial ecosystems-a review [J]. *Mitig Adapt Strat Global Change*, 2006, 11: 403-427.
- [9] KNICKER H. How does fire affect the nature and stability of soil organic nitrogen and carbon a review [J]. *Biogeochemistry*, 2007(85): 91-118.
- [10] GLASER B, LEHMANN J, ZECH W. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal-a review [J]. *Biol Fert Soils*, 2002, 35: 219-230.
- [11] 梁丽萍. 秸秆类生物吸附剂的制备及其对溶液中六价铬的吸附性能研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2011.
- [12] 陈再明, 方远, 徐义亮, 等. 水稻秸秆生物碳对重金属 Pb^{2+} 的吸附作用及影响因素[J]. *环境科学学报*, 2012, 32(4): 769-776.
- [13] 张继义, 李金涛, 鲁华涛, 等. 小麦秸秆生物碳质吸附剂从水中吸附硝基苯的机理[J]. *环境科学研究*, 2012, 25(3): 333-339.
- [14] 杨晓庆, 侯仔尧, 常梦婷, 等. 生物炭对镉污染土壤的修复研究[J]. *江苏农业科学*, 2015, 43(6): 335-337.
- [15] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [16] 张光亚, 陈美慈, 闵航, 等. 设施栽培土壤氧化亚氮释放及硝化、反硝化细菌数量的研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2002, 8(2): 239-243.
- [17] 于鑫, 张晓键, 王占生. 饮用水生物处理中生物量的脂磷法测定[J]. *给水排水*, 2002, 28(5): 1-5.
- [18] 朱晓彪, 许春华, 高宝玉, 等. 曝气生物滤池生物量和生物活性的实验研究[J]. *环境科学学报*, 2007, 27(7): 1135-1140.
- [19] QIU Y P, ZHENG Z Z, ZHOU Z L, et al. Effectiveness and mechanisms of dye adsorption on a straw-based biochar [J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100: 5348-5351.
- [20] JUNYEONG P, IVAN H, GAN Z H, et al. Activated carbon from biochar: Influence of its physicochemical properties on the sorption characteristics of phenanthrene [J]. *Bioresource Technology*, 2013(149): 383-389.
- [21] QI P S, WANG W B, WANG H Y, et al. Effect of COD concentration and shear stress on secretion of extracellular polymeric substances [J]. *Journal of Harbin University of Commerce*, 2008(6): 682-686.
- [22] QIU Y P, ZHENG Z Z, ZHOU Z L, et al. Effectiveness and mechanisms of dye adsorption on a straw-based biochar [J]. *Bioresource Technology*, 2009(100): 5348-5351.
- [23] PAOLA M, ELENA M, RUSSELL J D, et al. Predicting the effects of biochar on volatile petroleum hydrocarbon biodegradation and emanation from soil: A bacterial community fingerprint analysis inferred modelling approach [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014(68): 20-30.

(责任编辑: 袁伟)