

氨氮、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮在 PVA 凝胶膜中的扩散性能

曹国民, 赵庆祥, 孙贤波, 张彤 (华东理工大学环境工程系, 上海 200237)

摘要: 用冷冻-解冻法制备 PVA 凝胶膜, 测定了氨氮、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮在 PVA 凝胶膜中的扩散系数, 考察了成膜条件和细胞密度对扩散系数的影响。结果表明, 扩散系数随冷冻-解冻次数、PVA 溶液的浓度及细胞密度的增大而减小。氨氮、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮在 15% PVA 的空白膜中的扩散系数分别为 $0.69 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, $0.52 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 和 $0.56 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$; 在细胞浓度为 60g/L 的 PVA 膜中的扩散系数分别为 $0.55 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, $0.46 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 和 $0.45 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 。

关键词: 扩散系数; 固定化细胞; PVA; 生物脱氮

中图分类号: X703.1, TQ021.4 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2002)02-04-0065

Diffusion Coefficients of Ammonia, Nitrate and Nitrite in Cell-free and Cell-containing PVA Gel Membranes

Cao Guomin, Zhao Qingxiang, Sun Xianbo, Zhang Tong (Department of Environmental Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: The cell-free PVA gel membrane and cell-containing PVA gel membrane were prepared by iterative freezing and thawing, and the diffusion coefficients of ammonia, nitrate and nitrite in PVA gel membranes were determined. The effect of the conditions of preparing PVA gel membranes and cell concentration on the diffusion coefficients of ammonia in PVA gel membranes were investigated. The results shown the diffusion coefficients of ammonia in PVA gel membranes decreased while the iteration times of freezing-thawing or PVA concentration or cell concentration increased. The diffusion coefficients of ammonia, nitrate and nitrite in cell-free PVA gel membranes (PVA concentration was 15%) were $0.69 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, $0.52 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, and $0.56 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, respectively. The diffusion coefficients of ammonia, nitrate and nitrite in cell-containing PVA gel membranes (the cell concentration was 60g/L) were $0.55 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, $0.46 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, and $0.45 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, respectively.

Key words: diffusion coefficient; immobilized cells; PVA; biological nitrogen removal

近年来,利用固定化微生物强化生物脱氮,受到了人们的极大关注,进行了广泛的研究^[1~3]。但有关固定化微生物脱氮方面的研究,大多数仅限于工艺条件方面,对传质及动力学方面的研究则很少。事实上,底物和产物在固定化细胞内的传质性能,会直接影响到脱氮速率和脱氮效果。固定化细胞的传质性能一般用扩散系数来表示,扩散系数是设计固定化细胞生物反应器的基本参数之一。关于扩散系数的测定至今已有很多报道^[4~7],然而,有关固定化细胞生物脱氮过程中底物和产物扩散性能的报道却很少,也未见到 PVA 凝胶膜中扩散系数的报道。为此,采用冷冻-解冻法制备 PVA 凝胶膜

和固定化细胞膜,测定了生物脱氮过程中 3 种主要形态的氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$) 在空白 PVA 凝胶膜和固定化细胞膜中的扩散系数,考察了成膜条件和细胞浓度对扩散系数的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

化学试剂:聚乙烯醇(PVA),平均聚合度 1750 ± 50 ,上海化学试剂站分装厂;试验所用其它试剂均为国产分析纯。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(29777007)

作者简介:曹国民(1963~),男,博士研究生,主要从事水污染控制理论和技术方面的研究。

收稿日期:2000-12-15;修订日期:2001-03-03

硝化菌和反硝化菌及其培养基:硝化菌和反硝化菌由实验室自行培养.硝化菌的培养基组成为: (NH₄)₂SO₄ 700 mg/L, NaHCO₃ 1000 mg/L, 适量的铁、钙和镁等微量元素和磷酸盐缓冲液;反硝化菌的培养基组成为: KNO₃ 1800 mg/L, CH₃OH 1500 mg/L, 适量的微量元素和磷酸盐缓冲液.

1.2 方法

(1) 空白 PVA 膜的制备方法 将已知质量的 PVA 粒子在蒸馏水中浸泡 24h, 水浴加热至完全溶解, 稍作冷却后称重, 并视具体情况补加适量的蒸馏水, 调节 PVA 溶液的浓度至需要值. 然后将冷却至室温的 PVA 溶液平铺于板框式有机玻璃模型板上, 置于 -20℃ 左右的冰箱中冷冻 20~22h, 再在室温下解冻 2~4h. 反复冷冻-解冻数次, 即得 PVA 凝胶膜.

(2) PVA 固定化细胞膜的制备方法 将已知浓度的硝化菌和反硝化菌悬浮液按一定比例混合后, 在 3000r/min 下离心 15 min, 用生理盐水洗涤, 离心 2 次, 所得的浓缩菌体加入到 15% PVA 与保护剂(甘油)的混合液中, 搅拌均匀后平铺于模型板上, 在 -20℃ 左右的冰箱中冷冻过夜, 再在室温下解冻. 反复冷冻-解冻数次, 用蒸馏水充分洗涤膜表面, 即得 PVA 固定化细胞膜.

(3) 扩散系数的测定与计算方法 用上面制得的 PVA 膜组装成图 1 所示的扩散系数测定装置. PVA 膜把整个容器一分为二, 膜一侧装入氯化铵水溶液或硝酸钾水溶液或亚硝酸钠水溶液, 膜的另一侧装入纯蒸馏水. 膜两侧均配有良好的搅拌, 以消除外扩散的影响. 每隔 10~30 min 从蒸馏水侧取出少量样品, 分析其中底物的浓度, 以总的扩散量(Q)对时间作图(见图 2~4), 即可求出扩散系数. Q 随时间延长而增加, 经过一段滞后时间(time-lag)后, Q 与时间变成下式所示的直线关系^[6]:

$$Q = A \cdot D_e \cdot K_p \cdot c_1 \cdot l^{-1} \cdot (t - l^2/6 D_e) \quad (1)$$

式中, Q 为在时间 t 内扩散通过膜的总溶质量; A 为膜的有效面积; l 为膜的平均厚度; K_p 为溶质的分配系数; D_e 为有效扩散系数; c₁ 为 t = 0 时, 底物侧溶质的浓度, t 为扩散时间.

上述直线在横坐标上的截距定义为滞后时间 t₀. 由此可以计算出扩散系数 D_e^{TL}:

$$D_e^{TL} = l^2/6 t_0 \quad (2)$$

扩散系数也可以从上述直线的斜率计算求得, 即对式(1)微分, 可求出与稳定状态对应的扩散系数 D_e^{SS}:

$$D_e^{SS} = A^{-1} \cdot l \cdot K_p^{-1} \cdot c_1^{-1} \left| \frac{dQ}{dt} \right|_{ss} \quad (3)$$

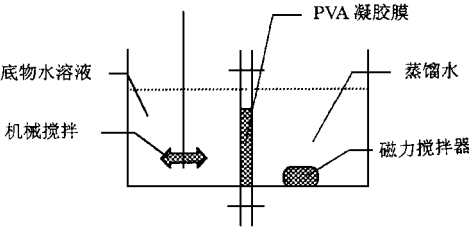


图 1 扩散系数测定装置简图

Fig.1 Schematic diagram of diffusion cell used to measure the diffusion coefficient

(4) 分配系数的测定见文献[6].

(5) 分析方法 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 的浓度用比色法^[8]分析.

2 结果与讨论

2.1 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 在 PVA 凝胶膜中的扩散系数

图 2~4 示出了 NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 扩散通过 PVA 凝胶膜(15% PVA, 冷冻-解冻 5 次)的量与扩散时间之间的关系. 由图 2~4 可见, 经过一段滞后时间后, 扩散量与时间呈直线关系. 将直线在横坐标上的截距和斜率分别代入式(2)和式(3), 就可计算出扩散系数, 结果列于表 1.

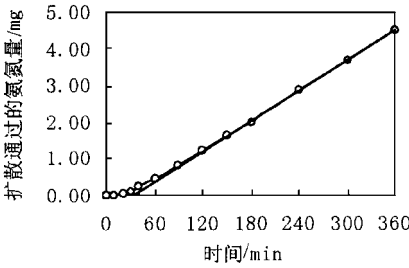


图 2 NH₄⁺-N 扩散量与时间的关系

Fig.2 Ammonia transferred vs time

从表1 可以看出, 按稳态法算得的扩散系

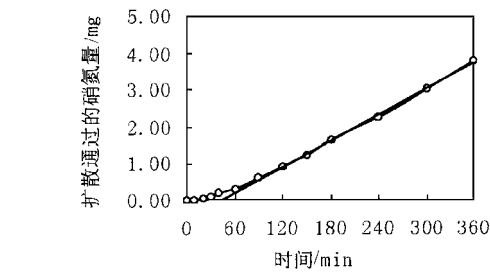


图 3 NO₃-N 扩散量与时间的关系

Fig.3 Nitrate transferred vs time

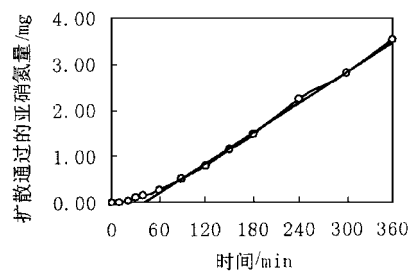


图 4 NO₂-N 扩散量与时间的关系

Fig.4 Nitrite transferred vs time

表 1 氨氮、硝酸盐氮和亚硝酸盐氮在 PVA 凝胶膜中及纯水水中的扩散系数

Table 1 Ammonia, nitrate and nitrite diffusion coefficients in 15 % PVA membrane and water

溶质	$c_i / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	K_p	t_0 / min	$D_e^{SS} \times 10^9 / \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$D_e^{TL} \times 10^9 / \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$D_{aq}^1 \times 10^9 / \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$D_e^{TL} / D_{aq} / \%$
NH ₄ ⁺	118	0.95	34	0.75	0.69	1.96	35.2
NO ₃ ⁻	132	0.96	45	0.58	0.52	1.90	27.4
NO ₂ ⁻	120	0.94	42	0.59	0.56	1.91	29.3

1) D_{aq} 指溶质在水中的扩散系数^[9]

数大于滞后时间法. Hannoun 和 Stephanopoulos^[4], Bassi 等人^[5]及 Mjgont 和 Junter^[6]在他们的试验中也都发现,用不同的计算方法得到的扩散系数是不同的,且都是 $D_e^{SS} > D_e^{TL}$. Mjgont 和 Junter^[6]认为 2 种方法各有优点,当需要扩散系数的绝对值时,用滞后时间法计算比较好,而在对条件变化不大的扩散过程进行比较时,稳态法更明显.因此,若无特别说明,本文以下的扩散系数均按稳态法计算.此外,从表 1 中还可以看出, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 在 PVA 膜中的扩散系数都比水中的小,这主要是由凝胶的排斥效应和障碍效应^[10]引起的.

2.2 成膜条件对扩散系数的影响

用冷冻-解冻法制备固定化细胞膜时的成膜条件,即冷冻-解冻次数和 PVA 浓度,不仅会影响固定化细胞膜的强度和固定化细胞的活性,而且也会影响反应底物和产物在固定化细胞中的扩散速率,从而进一步影响表观反应速率.因此有必要考察成膜条件对扩散系数的影响,试验结果如图 5 和图 6 所示.由图可见,成膜条件对扩散系数的影响较大.扩散系数随冷冻-解冻次数或 PVA 浓度的增加而减小.因此,在制备固定化细胞时,可以通过改变成膜条件来调节扩散系数,改善传质性能.例如,对于内扩散控制的反应过程,可以适当减小 PVA 浓度

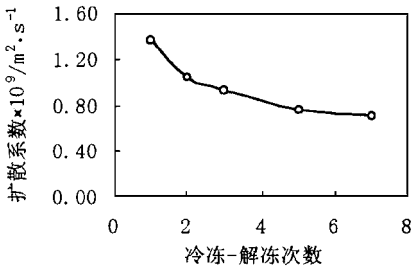


图 5 冷冻-解冻次数对 NH₄⁺-N 在 PVA 膜中扩散系数的影响 (15 %PVA)

Fig.5 Effect of iteration number of freezing-thawing on ammonia diffusion coefficient in 15 % PVA membrane

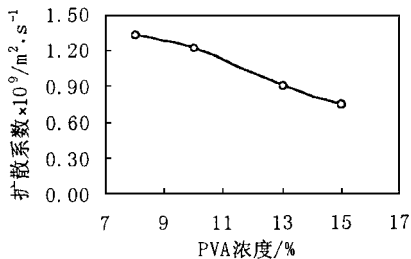


图 6 PVA 溶液浓度对 NH₄⁺-N 在 PVA 膜中扩散系数的影响 (冷冻-解冻 5 次)

Fig.6 Effect of PVA concentration on ammonia diffusion coefficient in PVA membrane (the iteration number of freezing-thawing is 5)

或冷冻-解冻次数,来减小扩散阻力,提高表观反应速率.

目前对于 PVA 溶液经冷冻-解冻成膜的机理尚不清楚,扩散系数随冷冻-解冻次数增加而减小,可能是由于 PVA 溶液在冷冻过程中失去

部分游离水,体积收缩,冷冻-解冻次数越多,失水量越大,PVA 凝胶膜的体积收缩也就越多^[11],使 PVA 膜内扩散通道更加曲折,孔径减小,扩散阻力增大所致.至于扩散系数随 PVA 溶液浓度增大而减小,则可能是由于 PVA 浓度的增加,使凝胶中扩散通道数减少,扩散路径加长而引起^[4].这还可以用下述公式^[10]加以解释:

$$\frac{D_e}{D_{aq}} = \frac{(1 + \phi_p)^3}{(1 + \phi_p)^2} \quad (4)$$

式中, D_e 溶质在凝胶中的有效扩散系数; D_{aq} 溶质在水中的扩散系数; ϕ_p 凝胶中聚合物的体积分数. PVA 浓度增加, ϕ_p 值增大.因此,由式(4)可知,扩散系数随 PVA 浓度的增加而减小.

2.3 细胞浓度对扩散系数的影响

以上测定的是不含细胞的空白 PVA 膜中的扩散系数,而在实际应用中均为包含细胞的膜,因此有必要考察载体中细胞浓度对扩散系数的影响.为了防止固定化活细胞催化氨氧化,试验过程中把 NH_4^+ -N 溶液及蒸馏水的 pH 值调至 5 以下,试验结果如图 7 所示.由图 7 可

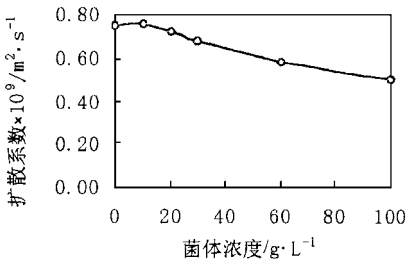


图 7 细胞浓度对 NH_4^+ 在含细胞的 PVA 膜中扩散系数的影响

Fig. 7 Effect of cell concentration on ammonia diffusion coefficient in cell containing PVA membrane

见,当菌体浓度小于 20g/L 时,其对扩散系数的影响很小.但当菌体浓度大于 20g/L 后,扩散系数随菌体浓度的增大而减小.这是由于细胞被固定于载体中时,必然会占据部分扩散通道,使通道变小或通道数减少,扩散阻力加大.细胞浓度越高,扩散阻力越大,扩散系数就越小.

Westrin 和 Axelsson 提出了一个扩散系数与细胞在凝胶中的体积分数(ϕ_c)之间的关系式^[10],从该式可以直观地看出,细胞浓度增大, ϕ_c 增加,扩散系数减小.但由于 ϕ_c 不易测出,所以实

际上很难用该式来求扩散系数.此外,试验中还测定了 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 在细胞浓度为 60g/L 的 PVA 膜中的扩散系数,按滞后时间法算得的 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 在其中的扩散系数分别为 $0.55 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, $0.46 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 和 $0.45 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$.

3 结论

(1) 制备 PVA 凝胶膜的条件对扩散系数的影响较大,扩散系数随冷冻-解冻次数或 PVA 浓度的增加而减小.当以 PVA 为载体,用冷冻-解冻法固定化细胞时,必须考虑这一因素.

(2) NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 在 15% PVA 冷冻-解冻 5 次制成的空白膜中的扩散系数分别为 $0.69 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, $0.52 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 和 $0.56 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$.

(3) 凝胶中细胞浓度增加,扩散系数减小. NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 在细胞浓度为 60g/L 的 PVA 膜中的扩散系数约为水中的 25% 左右,其值分别为 $0.55 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, $0.46 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ 和 $0.45 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$.

参考文献:

- 曹国民,赵庆祥,龚剑丽,张彤. 单级生物脱氮的特性研究[J]. 环境科学, 2000, 21(3): 40~43.
- 张彤,曹国民,赵庆祥. 固定化微生物脱氮技术进展[J]. 城市环境与城市生态, 2000, 14(2): 14~17.
- Dos Santos VAP M, Tramper J, Wijffels RH. Integrated nitrogen removal in compact systems by immobilized microorganisms: new generation bioreactor[J]. Biotechnol. Annu. Rev., 1998, 4: 321~394.
- Hannoun BJM, Stephanopoulos G. Diffusion coefficients of glucose and ethanol in cell-free and cell-occupied calcium alginate membranes[J]. Biotechnol. Bioeng., 1986, 28: 829~835.
- Bassi AS, Rohani S, Macdonald DG. Measurement of effective diffusivities of lactose and lactic acid in 3% agarose gel membrane[J]. Biotechnol. Bioeng., 1987, 30: 794~797.
- Mignot L, Junter GA. Diffusion in immobilized cell agar layers: influence of microbial burden and cell morphology on the diffusion coefficients of L-malic acid and glucose[J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1990, 32: 418~423.
- Mignot L, Junter GA. Diffusion in immobilized cell agar layers: influence of bacterial growth on the diffusivity of potassium chloride[J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1990, 33: 167~171.
- 国家环保局编. 水和废水标准分析方法[M]. 第 3 版. 北京: 中国环境科学出版社, 1989. 252~280.
- Vanysek P. Ionic conductivity and diffusion at infinite dilution[M]. In Lide DR editor-in-chief. CRC Handbook of chemistry and physics. 80th edition. New York: CRC Press, 1999. 94~95.
- Westrin BA, Axelsson. Diffusion in gels containing immobilized cells: A critical review[J]. Biotechnol. Bioeng., 1991, 38: 439~446.
- Ariga O, Takage H et al. Immobilization of microorganisms with PVA hardened by iterative freezing and thawing[J]. J. Ferment. Technol., 1987, 65: 651~658.