

氨氧化菌混培物在 O_2 /微量 NO_2 下的氨氧化动力学

张代钧^{1,2}, 祖波¹, 任宏洋¹, 张萍¹, 丛丽影¹, 阎青¹

(1. 重庆大学环境科学系, 重庆 400030; 2. 重庆大学西南资源开发及环境灾害控制工程教育部重点实验室, 重庆 400030)

摘要:运用序批式试验, 在无分子氧条件下, 确定了好氧氨氧化菌的 NO_2 型氨氧化动力学方程, 得到了最大氨氧化速率 [$q_{NO_2, \max} = 0.144 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$], 二氧化氮半饱和常数 ($K_{NO_2} = 0.821 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和二氧化氮抑制性常数 ($K_i = 1.721 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

在微量 NO_2 气体中添加 2% O_2 氧气后, 氨氧化速率明显提高, 最大氨氧化速率发生在体积分数 2% O_2 和 50×10^{-6} NO_2 的条件下, 达到 $0.198 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$. 在 21% O_2 和微量 NO_2 条件下, 氨氧化速率继续大幅度提高; 在 21% O_2 和 100×10^{-6} NO_2 时氨氧化速率达到 $0.477 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$, 比无 NO_2 空气曝气条件下氨氧化速率高 3 倍. 提出了 NO_2 表观强化氨氧化函数的概念, 建立了在 O_2 和微量 NO_2 混合气体下的氨氧化动力学方程, 利用 2% O_2 和微量 NO_2 条件下的实验结果验证了动力学方程, 讨论了 NO_2 强化氨氧化的机理.

关键词:氨氧化菌; NO_2 型氨氧化; 好氧氨氧化; 强化氨氧化; 动力学

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)01-0127-07

Ammonia Oxidation Kinetics of Ammonia Oxidizer Mixed Culture Under the Conditions of O_2 and Trace NO_2 Mixed Gasses

ZHANG Dai-jun^{1,2}, ZU Bo¹, REN Hong-yang¹, ZHANG Ping¹, CONG Li-ying¹, YAN Qing¹

(1. Department of Environmental Science, Chongqing University, Chongqing 400030, China; 2. Key Laboratory of Southwest-China Resources' Exploitation & Environmental Disaster Control Engineering, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400030, China)

Abstract: The kinetics of the NO_2 -dependent ammonia oxidation was developed for ammonia oxidizer mixed culture when there was no molecular oxygen in the batch tests. The kinetics parameters were determined, where the half saturate coefficient of NO_2 was $0.821 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, inhibition coefficient of NO_2 concentration was $1.721 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, and the maximum ammonia oxidation rate were $0.144 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$. After adding the volume fraction of O_2 was 2% to trace NO_2 , the ammonia oxidation rates increased obviously. The maximum ammonia oxidation rate, $0.198 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$ occurred under the condition of the mixed gasses containing the volume fraction of O_2 was 2% and 50×10^{-6} NO_2 . Under the condition of mixed gasses containing the volume fraction of O_2 was 21% to trace NO_2 , the ammonia oxidation rates further increased greatly. The maximum ammonia oxidation rate, $0.477 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$ occurred when the volume fraction of O_2 was 21% and 100×10^{-6} NO_2 in the mixed gas, which is 3 times higher than the general aerobic ammonia oxidation rate. The function for NO_2 apparently to enhance ammonia oxidation was suggested. The kinetics model of ammonia oxidation under the conditions of O_2 and trace NO_2 mixed gasses was developed. The model was validated by the results of ammonia oxidation experiments under the conditions of the mixed gasses containing 2% O_2 and trace NO_2 . The mechanism for NO_2 to enhance ammonia oxidation under the conditions of O_2 and trace NO_2 mixed gasses was discussed.

Key words: ammonia oxidizers; NO_2 -dependent ammonia oxidation; aerobic ammonia oxidation; enhancing ammonia oxidation; kinetics

废水生物脱氮过程中, 氮元素在各种酶的作用下形成各种中间产物, 其中重要的是 N_2O 和 NO_x (NO 和 NO_2)^[1]. 虽然常规自养硝化和异养反硝化被认为是其主要来源^[2], 但研究证实, 异养硝化-好氧反硝化^[3]、厌氧氨氧化 ANAMMOX (anaerobic ammonia oxidation)^[4,5]、自养硝化菌反硝化和化学反硝化^[6]中均有 N_2O 或 NO_x 生成. 这些中间产物, 尤其是 NO 和 NO_2 对生物氮转化非常重要甚至必不可少, 如 NO 和 NO_2 对氨氧化菌活性的恢复和氨氧化速率具有强化作用、 NO_2 可作为电子受体氧化氨等^[5,7-9]. 本

研究分析了微量 NO_2 对氨氧化的强化作用, 提出了 NO_2 表观强化氨氧化函数的概念, 建立了在 O_2 和微量 NO_2 混合气体下的氨氧化动力学方程, 这对于探索 and 认识微生物氨氧化代谢的新机理, 开发废水生物脱氮新技术具有重要科学价值.

收稿日期: 2007-01-31; 修订日期: 2007-06-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (50378094); 重庆大学研究生科技创新基金项目 (200609Y1A0260185)

作者简介: 张代钧 (1963 ~), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为废水处理理论与技术及环境生物技术, E-mail: dzhang@cqu.edu.cn

1 材料与方法

合成废水主要组分： $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； KH_2PO_4 30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； KCl 110 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； MgSO_4 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ；含微量元素的溶液，0.4 $\text{mL}\cdot\text{L}^{-1}$. 微量元素的组成： $\text{ZnSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； $\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； $\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ； H_3BO_3 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

实验装置和方法见文献[9],主要改进是将 NO_2^- 气体用管道通至反应器底部后由曝气头分散到混合液中.实验所用污泥取自已经富集好的好氧氨氧化菌活性污泥,活性污泥中主要含有亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*),也包含其他的好氧氨氧化菌和硝酸

菌,因此称为好氧氨氧化菌混培物^[10].实验接种经过3次洗涤再沉淀40 min的污泥50 mL,加入450 mL的人工配水,用 NaHCO_3 (2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)调节混合液pH值至7.8~8.2.密闭后,打开磁力搅拌器和气瓶,混合气体(气体组分见表1)由进气口直接通入反应器底部,借助于反应器底部的转子转动(40 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$),保证反应器内混合均匀.每次实验运行周期为2~3 h,从反应开始计时起,每隔20 min从取样口取样,用三重样测量溶液中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量,取平均值.取沉淀后的污泥5 mL采用重铬酸钾法测定COD,55 mL污泥于有效容积为1 L的呼吸仪(美国Bioscience 2000)中测定最大好氧速率($\text{OUR}_{\text{max,ns}}$).

表 1 混合气体组分
Table 1 Contents of mixed gasses

气体成分	序号														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
$\text{NO}_2\times 10^{-6}$	5	15	25	50	150	25	50	100	150	250	25	50	100	150	250
$\text{CO}_2\times 10^{-6}$	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300	300
$\text{O}_2/\%$	—	—	—	—	—	2	2	2	2	2	21	21	21	21	21
平衡气	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2	N_2

用 *N*-(1 奈基)-乙二胺比色法测定 $\text{NO}_2^-\text{-N}$, 酚二磺酸光度法测定 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, 钠氏试剂光度法测定 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 精密 pH 计法测定 pH 和温度, 精密 DO 计法测定 DO, NO_2/NO 气体分析仪(北京北斗星工业化学研究所)测定 NO_2/NO .

用氮需氧量(NOD)来描述 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的浓度.当只考虑 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 氧化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 这一步时, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的 NOD(O_2/N)为 $32\times 1.5/14=3.43\text{ mg}\cdot\text{mg}^{-1}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的 NOD 值是 0. 污泥浓度用 COD 表示, 其计算公式见式(10)^[11]. 氨氧化速率(q)是每 mg COD 污泥单位时间降解的氨氮(NOD)量.

2 结果与分析

2.1 在无分子氧条件下 NO_2 型氨氧化动力学

2.1.1 实验结果

无分子氧条件下, $\text{pH}=8.0\pm 0.2$ 、 t 为 $29^\circ\text{C}\pm 1^\circ\text{C}$ 时, 氨氧化速率与 NO_2 浓度的对应关系见表 2. 氨氧化速率先随 NO_2 浓度的增加而增加, 在 NO_2 浓度为 25×10^{-6} ($1.117\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 时达到最大值 $0.063\text{ mg}\cdot(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$, 随着 NO_2 浓度再继续增加, 氨氧化速率反而下降.

2.1.2 模型推导

假设:在反应过程中,反应器内始终处于完全混合状态;在反应周期内,活性污泥中好氧氨氧化菌的细胞数量不发生变化. NO_2 型氨氧化动力学过程受 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 基质浓度和 NO_2 浓度 2 个因素的限制,过程速率方程符合多组分 Monod 动力学方程,采用 Andrews 抑制模型^[12]来描述微量 NO_2 对氨氧化的影响;所以,氨氧化的比速率为:

$$q_{\text{NO}_2} = q_{\text{NO}_2,\text{max}} \cdot \frac{S_{\text{nh}}}{K_{\text{S}} + S_{\text{nh}}} \cdot \frac{S_{\text{NO}_2}}{K_{\text{NO}_2} + S_{\text{NO}_2} + S_{\text{NO}_2}^2/K_{\text{I}}}$$

(1)

式中, q_{NO_2} 为无分子氧条件下, NO_2 型氨氧化 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 降解速率, $\text{mg}\cdot(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$; $q_{\text{NO}_2,\text{max}}$ 为无分子氧条件下, NO_2 型氨氧化最大 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 降解速率, $\text{mg}\cdot(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$; S_{nh} 为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度(以 NOD 表示), $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; K_{S} 为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 半饱和常数(以 NOD 表示), $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; S_{NO_2} 为 NO_2 浓度, $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; K_{NO_2} 为无分子氧条件下, NO_2 型氨氧化 NO_2 半饱和常数, $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; K_{I} 为无分子氧条件下, NO_2 型氨氧化 NO_2 抑制常数, $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

实验中 NH₄⁺-N 浓度(以 NH₄⁺-N 表示)大约为 150 mg•L⁻¹ = 514 mg•L⁻¹(以 NOD 表示),远大于其饱和常数 K_s = 5.359 mg•L⁻¹(以 NH₄⁺-N 表示) = 18.380 mg•L⁻¹(以 NOD 表示)[见 2.2.3 中(2)所述,与文献值以(NH₄⁺-N 表示)0.2 ~ 5 mg•L⁻¹具有很好一致性]^[13],得到 S_{nh}/(K_s + S_{nh}) = 0.966,代入式(1),得到:

$$q_{\text{NO}_2} = q_{\text{NO}_2, \text{max}} \cdot 0.966 \cdot \frac{S_{\text{NO}_2}}{K_{\text{NO}_2} + S_{\text{NO}_2} + S_{\text{NO}_2}^2/K_1} \quad (2)$$

用表 2 中试验数据对式(3)进行拟合,拟合曲线如图 1 所示,得到参数 q_{NO₂,max} = 0.144 mg•(mg•h)⁻¹、K_{NO₂} = 0.821 μmol•L⁻¹、K₁ = 1.721 μmol•L⁻¹.NO₂ 型氨氧化动力学方程:

$$q_{\text{NO}_2} = 0.144 \cdot \frac{S_{\text{nh}}}{K_s + S_{\text{nh}}} \cdot \frac{S_{\text{NO}_2}}{0.821 + S_{\text{NO}_2} + S_{\text{NO}_2}^2/1.721} \quad (3)$$

表 2 不同微量 NO₂ 气体浓度时的氨氧化速率

Table 2 Ammonia oxidation rate under the different concentrations of trace NO₂

S _{NO₂} × 10 ⁻⁶	S _{NO₂} / μmol•L ⁻¹	q/mg•(mg•h) ⁻¹	方差/%
5	0.224	0.029	5.0
15	0.671	0.051	3.2
25	1.117	0.063	2.7
50	2.235	0.048	4.9
150	6.708	0.030	2.2

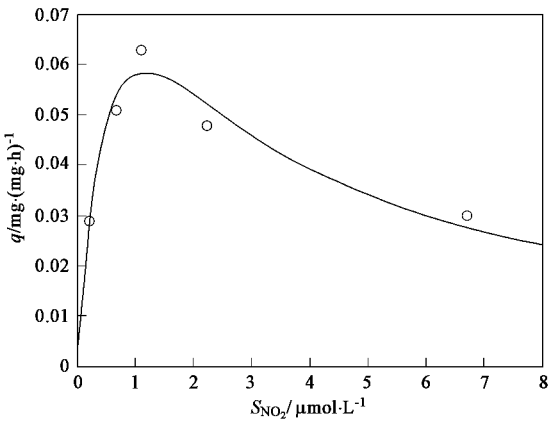


图 1 氨氧化速率随 NO₂ 浓度变化拟合曲线

Fig.1 Simulated curve of the ammonia oxidation rate under the different concentration of trace NO₂

2.2 在 O₂ 和微量 NO₂ 条件下的氨氧化动力学

2.2.1 实验结果

在有氧气条件下, pH = 8.0 ± 0.2、t 为 29℃ ±

1℃时,氨氧化速率与 NO₂ 浓度的对应关系见表 3 和 4.在微量 NO₂ 气体中加入 2% 氧气后,氨氧化速率明显提高,表明加入微量氧气之后,反应器内氨氧化菌活性得到了提高;最大氨氧化速率出现在 50 × 10⁻⁶ NO₂/2% O₂ 条件下,约为 0.198 mg•(mg•h)⁻¹;但随着微量 NO₂ 浓度的继续增加,氨氧化速率减小.在 21% O₂ 和微量 NO₂ 条件下,氨氧化速率继续大幅度提高,最大氨氧化速率出现在 100 × 10⁻⁶ NO₂/21% O₂ 条件下,约为 0.477 mg•(mg•h)⁻¹;但随着 NO₂ 浓度进一步增加到 250 × 10⁻⁶,氨氧化速率又降低.相同浓度的 NO₂ 条件下,随着 O₂ 浓度的增加,氨氧化速率显著增大.

2.2.2 模型推导

假设:与 2.1.2 中的假设相同.当 O₂ 和微量 NO₂ 共存时,常规好氧氨氧化与 NO₂ 型氨氧化同时发生;这时氨氧化动力学过程受 NH₄⁺-N 基质浓度、O₂ 浓度和 NO₂ 浓度 3 个因素的限制.微量 NO₂ 对氨的氧化作用具有典型的抑制型动力学方程特征,用典型的 Andrews 方程^[12]描述.由于 NO₂ 型氨氧化的间产物 NO 在氨氧化菌细胞内通过 NO_x 化学循环被转化为 NO₂,参与氨氧化反应,同时导致 O₂ 的消耗^[1].假设在氨氧化反应过程中细胞内 NO 浓度很快达到稳定,则 NO_x 循环的 O₂ 消耗速率仅与 O₂ 浓度有关.所以,有 O₂ 条件下的 NO₂ 型氨氧化动力学方程中应包含 O₂ 组分.O₂ 对氨氧化的作用主要受到 2 个因素的限制:NH₄⁺-N 浓度和 O₂ 浓度,考虑到基质竞争和中间产物 NO 对微生物的毒性作用,其氨氧化速率用好氧氨氧化速率方程乘以 NO₂ 竞争影响项.

$$q_{(\text{O}_2/\text{NO}_2)} = \frac{S_{\text{O}_2}}{S_{\text{O}_2} + K \cdot S_{\text{NO}_2}} \cdot q_{\text{max}} \cdot \frac{S_{\text{nh}}}{K_s + S_{\text{nh}}} \cdot \frac{S_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2} + S_{\text{O}_2}} + q_{\text{NO}_2, \text{max}} \cdot \frac{S_{\text{nh}}}{K_s + S_{\text{nh}}} \cdot \frac{S_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2} + S_{\text{O}_2}} \cdot \frac{S_{\text{NO}_2}}{K_{\text{NO}_2}^{\text{O}_2} + S_{\text{NO}_2} + S_{\text{NO}_2}^2/K_{\text{NO}_2,1}^{\text{O}_2}} \quad (4)$$

式中,q_(O₂/NO₂)为 21% O₂ 和微量 NO₂ 条件下 NH₄⁺-N 降解速率, mg•(mg•h)⁻¹; q_{max} 为好氧氨氧化最大 NH₄⁺-N 降解速率, mg•(mg•h)⁻¹; S_{O₂} 为 DO 浓度, mg•L⁻¹; K_{O₂} 为 DO 半饱和常数, mg•L⁻¹; K_s 为 NH₄⁺-N 半饱和常数(以 NOD 表示), mg•L⁻¹; K_{NO₂}^{O₂} 为

有 O_2 条件下, NO_2 型氨氧化 NO_2 半饱和常数, $\mu mol \cdot L^{-1}$; $K_{NO_2,1}^{O_2}$ 为有 O_2 条件下, NO_2 型氨氧化 NO_2 抑制常数, $\mu mol \cdot L^{-1}$; K 为影响系数, $mg \cdot \mu mol^{-1}$.

变化式(4),

$$q_{(O_2/NO_2)} = q_{max} \cdot [S_{nh}/(K_S + S_{nh})] \cdot [S_{O_2}/(K_{O_2} + S_{O_2})] \times \left(\frac{\alpha_{max} \cdot S_{NO_2}}{K_{NO_2}^{O_2} + S_{NO_2} + S_{NO_2}^2/K_{NO_2,1}^{O_2}} + \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K \cdot S_{NO_2}} \right) \quad (5)$$

式中 $\alpha_{max} = q_{NO_2,max}^{O_2}/q_{max}$, 定义表观 NO_2 强化氨氧化函数 $\alpha_{(NO_2)}$, 它是 NO_2 组分和 O_2 组分的函数:

$$\alpha_{NO_2} = \frac{\alpha_{max} \cdot S_{NO_2}}{K_{NO_2}^{O_2} + S_{NO_2} + S_{NO_2}^2/K_{NO_2,1}^{O_2}} + \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K \cdot S_{NO_2}} \quad (6)$$

$$q_{(O_2/NO_2)} = q_{max} \times [S_{nh}/(K_S + S_{nh})] \times [S_{O_2}/(K_{O_2} + S_{O_2})] \times \alpha_{(NO_2)} \quad (7)$$

2.2.3 模型参数估计

(1) 好氧氨氧化最大氨氮降解速率 q_{max}

当应用 Monod 方程估计最大比基质降解速率 q_{max} 时, 由于它与基质半饱和常数相关, 可能导致较大误差; 所以, 人们现在通常采用细胞呼吸试验来测定细胞的最大比生长速率或最大比基质降解速率^[11].

$$\mu_{max} = f_{ns}/(1 - f_{ns}) \times OUR_{max}/X_{ns} \quad (8)$$

$$X_{ns} = X \cdot f_{ns}/(f_{ns} + f_{nb}/3) \quad (9)$$

$$f_{ns} = (S_{nh,o} - OU_{ns,f})/(S_{nh,o} + 0.30OU_{ns,f}) \quad (10)$$

$$f_{nb} = (S_{no_2,o} - OU_{nb,f})/S_{no_2,o} \quad (11)$$

式中, f_{ns} 为好氧氨氧化菌细胞增长系数, $mg \cdot mg^{-1}$; f_{nb} 为亚硝酸盐氧化菌细胞增长系数, $mg \cdot mg^{-1}$; $OU_{ns,f}$ 为呼吸仪中好氧氨氧化菌的氧吸收量, $mg \cdot L^{-1}$; $OU_{nb,f}$ 为呼吸仪中亚硝酸盐氧化菌的氧吸收量, $mg \cdot L^{-1}$; OUR_{max} 为好氧氨氧化菌的最大氧吸收速率, $mg \cdot (L \cdot h)^{-1}$; $S_{nh,o}$ 为 NH_4^+ -N 初始浓度(以 NOD 表示), $mg \cdot L^{-1}$; $S_{no_2,o}$ 为 NO_2^- -N 初始浓度(以 NOD 表示), $mg \cdot L^{-1}$; X 为细菌总细胞浓度, $mg \cdot L^{-1}$; X_{ns} 为好氧氨氧化菌浓度, $mg \cdot L^{-1}$; μ_{max} 为好氧氨氧化菌最大生长速率系数, h^{-1} .

将实测结果 $S_{nh,o} = 76.457 \text{ } mg \cdot L^{-1}$, $OU_{ns,f} =$

$55.400 \text{ } mg \cdot L^{-1}$ 代入式(10), 得到 $f_{ns} = 0.226 \text{ } mg \cdot mg^{-1}$; 将实测结果 $S_{no_2,o} = 65.337 \text{ } mg \cdot L^{-1}$, $OU_{nb,f} = 50.220 \text{ } mg \cdot L^{-1}$ 代入式(11), 得到 $f_{nb} = 0.231 \text{ } mg \cdot mg^{-1}$. 通过实测结果 $X = 1656.01 \text{ } mg \cdot L^{-1}$, 再由式(9)求得 $X_{ns} = 1235 \text{ } mg \cdot L^{-1}$; 将实测结果 $OUR_{max} = 120 \text{ } mg \cdot (L \cdot h)^{-1}$, 代入式(8), 得到 $\mu_{max} = 0.0284 \text{ } h^{-1} = 0.682 \text{ } d^{-1}$; $q_{max} = \mu_{max}(1 + 0.3f_{ns})/f_{ns} = 0.134 \text{ } mg \cdot (mg \cdot h)^{-1}$.

(2) DO 半饱和系数 K_{O_2} 和氨氮半饱和系数 K_{nh}

常规好氧氨氧化速率方程:

$$q = \frac{(ds_{nh}/dt)_{\text{氨氧化}}}{X_{ns}} = -q_{max} \cdot \frac{S_{nh}}{K_S + S_{nh}} \cdot \frac{S_{O_2}}{K_{O_2} + S_{O_2}} \quad (12)$$

式中 q 为好氧氨氧化 NH_4^+ -N 降解速率, $mg \cdot (mg \cdot h)^{-1}$.

实验 NH_4^+ -N 浓度(以 NH_4^+ -N 表示)大约为 $150 \text{ } mg \cdot L^{-1} = 514 \text{ } mg \cdot L^{-1}$ (以 NOD 表示), 远大于其饱和常数, $S_{nh}/(K_S + S_{nh}) = 1$, 氨氧化速率仅随 DO 值的变化而变化.

$$q = -q_{max} \cdot S_{O_2}/(K_{O_2} + S_{O_2}) \quad (13)$$

式(13)两边取倒数进行线性回归, 得到方程 $1/q = 4.013/S_{O_2} + 8.119$, 相关系数 $R^2 = 0.928$. 求得 $K_{O_2} = 0.494 \text{ } mg \cdot L^{-1}$, 与文献[14]具有很好一致性.

批试验中使 DO 浓度饱和, 测定氨氧化速率仅随 NH_4^+ -N 浓度的变化而变化, 求得氨氮半饱和系数(以 NOD 表示) $K_S = 18.380 \text{ } mg \cdot L^{-1} = 5.359 \text{ } mg \cdot L^{-1}$ (以 NH_4^+ -N 表示), 与文献[13]具有很好一致性.

(3) 其它参数

实验 NH_4^+ -N 浓度(以 NH_4^+ -N 表示)为 $150 \text{ } mg \cdot L^{-1}$, K_S (以 NH_4^+ -N 表示) $= 5.359 \text{ } mg \cdot L^{-1}$; 21% O_2 时实测 O_2 浓度为 $9.380 \text{ } mg \cdot L^{-1}$, $K_{O_2} = 0.494 \text{ } mg \cdot L^{-1}$. 所以, $S_{nh}/(K_S + S_{nh}) = 0.966$, $S_{O_2}/(K_{O_2} + S_{O_2}) = 0.950$; 简化式(7)得:

$$q_{(O_2/NO_2)} = q_{max} \cdot 0.966 \cdot 0.950 \cdot \left(\frac{\alpha_{max} \cdot S_{NO_2}}{K_{NO_2}^{O_2} + S_{NO_2} + S_{NO_2}^2/K_{NO_2,1}^{O_2}} + \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K \cdot S_{NO_2}} \right) \quad (14)$$

用表 3 实验数据对式(14)应进行拟合, 拟合曲

线如图 2 所示,得到参数 $\alpha_{\max} = 34.163$ 、 $K_{\text{NO}_2}^{\text{O}_2} = 16.716 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $K_{\text{NO}_2,\text{I}}^{\text{O}_2} = 0.943 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $K = 24.997$.将所有参数值代入式(7),得到在 O₂ 和微量 NO₂ 条件下的氨氧化动力学方程:

$$q_{(\text{O}_2/\text{NO}_2)} = 0.134 \times \frac{S_{\text{nh}}}{K_{\text{S}} + S_{\text{nh}}} \cdot \frac{S_{\text{O}_2}}{K_{\text{O}_2} + S_{\text{O}_2}} \\ \times \left(\frac{34.163 \cdot S_{\text{NO}_2}}{16.716 + S_{\text{NO}_2} + S_{\text{NO}_2}^2/0.943} \right)$$

$$+ \frac{S_{\text{O}_2}}{S_{\text{O}_2} + 24.997 \cdot S_{\text{NO}_2}} \Big) \tag{15}$$

求得表观 NO₂ 强化氨氧化函数 $\alpha_{(\text{NO}_2)}$:

$$\alpha_{(\text{NO}_2)} = \frac{34.163 \cdot S_{\text{NO}_2}}{16.716 + S_{\text{NO}_2} + S_{\text{NO}_2}^2/0.943} \\ + \frac{S_{\text{O}_2}}{S_{\text{O}_2} + 24.997 \cdot S_{\text{NO}_2}} \tag{16}$$

2.2.4 模型验证

表 3 21% O₂ 和微量 NO₂ 下的氨氧化速率¹⁾

Table 3 Ammonia oxidation rate under the different concentrations of 21% O ₂ and trace NO ₂					
S_{NO_2} / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}(\times 10^{-6})$	$q_{(\text{O}_2/\text{NO}_2)}$ / $\text{mg}\cdot(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$	好氧氨氧化 所占比例/%	NO ₂ 型氨氧化 所占比例/%	强化 函数	方差 /%
0.000(0)	0.117	100	0	—	1.7
1.117(25)	0.257	11.2	88.8	1.918	3.1
2.236(50)	0.401	4.4	95.6	2.993	0.9
4.475(100)	0.477	2.1	97.9	3.560	3.9
6.708(150)	0.390	1.6	98.4	2.910	4.2
11.168(250)	0.283	1.3	98.7	2.112	1.5

1) 混合液中 DO 浓度 9.380 mg/L

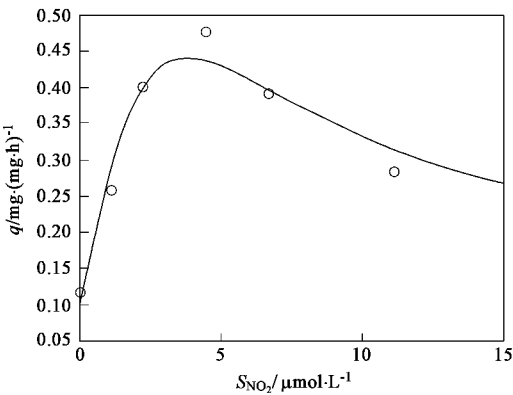


图 2 21% O₂ 条件下氨氧化速率随 NO₂ 浓度变化拟合曲线

Fig.2 Simulated curve of the ammonia oxidation rate under the different NO₂ concentration with 21% O₂

将 2% O₂ 和微量 NO₂ 条件下的实测结果代入式(15),计算出对应的氨氧化速率 q 值,与实验测得的氨氧化速率 q 值作比较,详见表 4.由表 4 可以看出,氨氧化速率计算值与实测值具有较好的一致性.

3 讨论

无分子氧条件下,好氧氨氧化菌混培物能利用 NO₂ 进行氨氧化反应;加入 2% O₂ 后,氨氮去除率明显增加,表明加入微量氧气之后,反应器内氨氧化菌活性得到了提高.氧气含量增加至 21%后,氨氧化速率进一步大大提高.在有氧条件下,过高浓度的 NO₂ 反而使氨氧化速率降低.比较在 50×10^{-6} NO₂ 和 150×10^{-6} NO₂ 浓度下含不同浓度 O₂ 时的氨氮去除情况可以发现,氨氧化速率随着氧气浓度的增加而增加.

表 4 2% O₂ 和微量 NO₂ 下的氨氧化速率

Table 4 Ammonia oxidation rate under the different concentration of trace NO ₂ /2% O ₂							
S_{NO_2} / $\times 10^{-6}$	S_{NO_2} / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	S_{O_2} / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	计算 q / $\text{mg}\cdot(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$	实测 q / $\text{mg}\cdot(\text{mg}\cdot\text{h})^{-1}$	好氧氨氧化 所占比例/%	NO ₂ 型氨氧化 所占比例/%	误差 /%
25	1.117 0	0.375	0.112	0.098 7	0.661	99.339	- 11.9
50	2.236 0	0.375	0.176	0.198	0.211	99.789	12.4
100	4.475 0	0.374	0.201	0.171	0.092	99.908	- 15.2
150	6.708 0	0.378	0.181	0.165	0.07	99.93	- 8.9
250	11.168 0	0.379	0.134	0.155	0.057	99.943	15.8

文献[15]观察到在无 O_2 、以 NO_2 为氧化剂的氨氧化中, NH_4^+ 、 NO_2 和 NO 之间的化学计量关系为 1:2:2, NO 作为最终产物排放. 当有 O_2 时, NO 被氧化为 NO_2 再进入循环, NO_2 始终在细胞内部循环, 只是在细胞外部才能检测到少量 NO ; NO_x 循环被看作是氨氧化的一种新的机理模型; NO_x 循环增加了 O_2 的可供利用性, 并增强好氧氨氧化活性^[15,16]. 但是实验研究结果表明, C_2H_2 能够抑制好氧氨氧化活性, 却不能抑制 NO_2 的氨氧化活性, 说明 O_2 和 C_2H_2 作用在相同的活性部位, 但与 NO_2 作用的活性部位不同, NO_2 型氨氧化中化合态氧和常规好氧氨氧化中分子态氧通过相同酶的不同活性部位达到了氧化氨这一共同结果^[15]. 这表明, 尽管基于 NO_2 氨氧化和常规好氧氨氧化在机理上并不一致, 但是两者之间存在耦合协同作用.

在 O_2 和微量 NO_2 条件下的氨氧化机理: 一方面, 以 O_2 为电子受体的常规型好氧氨氧化和以 NO_2 为电子受体的 NO_2 型氨氧化同时发生; 另一方面, NO_2 型氨氧化的其中间产物 NO 在细胞内通过 O_2 的化学氧化转化成 NO_2 , 参与氨氧化反应, 使得 NO_2 型氨氧化作用增强. 需要指出的是, 氨氧化菌的细胞内 NO_x 循环同时导致了 O_2 的消耗增加^[1]. 2 种类型氨氧化耦合的结果使得氨氧化速率大幅提高, 微量 NO_2 起到了强化氨氧化的作用, 这一特性可以用表观 NO_2 强化氨氧化函数表征.

在 21% 和 2% O_2 添加微量 NO_2 的条件下, 氨氧化速率是无 NO_2 时空气曝气条件下氨氧化速率 $0.117 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$ 的 2.197 ~ 4.077 倍和 0.844 ~ 1.692 倍, 见表 3 和 4. 最大氨氧化速率出现在 21% O_2 和 100×10^{-6} NO_2 的条件下, 表观 NO_2 强化氨氧化函数值为 3.560, 达到 $0.477 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$, 比无 NO_2 时空气曝气条件下氨氧化速率高 3 倍; 而无分子氧时, NO_2 型氨氧化最大速率 $0.063 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$, 比无 NO_2 时空气曝气条件下氨氧化速率的低约 46%; 在有 O_2 条件下, 添加微量的 NO_2 强化了氨氧化速率. 表 3 和 4 中分别给出了好氧氨氧化速率与 NO_2 型氨氧化速率所占总氨氧化速率的比例, 从中可以看出, 在有 O_2 和微量 NO_2 条件下, 主要发生了 NO_2 型氨氧化, 且在 2% O_2 条件下更为明显, 即 O_2 的偏低使得系统中 NO_2 型氨氧化更具优势. Jetten 等证实当空气中 NO_2 浓度为 25×10^{-6} ~ 50

$\times 10^{-6}$ 时好氧硝化速率可提高 8 倍^[8]. Zart 等发现 NO_x 使 *N. eutropha* 纯培养液的硝化速率、比氨氧化速率、细胞生长速率、最大细胞密度和好氧反硝化能力明显提高, 在无 O_2 条件下当 NO_2 浓度为 25×10^{-6} 时其氨氧化活性最大, 在有 O_2 条件下当 NO_2 浓度为 100×10^{-6} 时其氨氧化活性最大^[7,18]. Schmidt 等对纯菌种 *Nitrosomonas eutropha* 在 NO_2/O_2 气体条件下的氨氧化速率的测定结果显示, 在无 O_2 条件下, *Nitrosomonas eutropha* 在 $0 \sim 25 \times 10^{-6}$ NO_2 条件下氨氧化速率呈上升趋势, NO_2 浓度大于 25×10^{-6} 以后, 氨氧化速率又逐渐降低. 最大的氨氧化速率(以蛋白质计)达到 $134.4 \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$, 但仍比在空气条件下(O_2 含量 21%)的氨氧化速率(以蛋白质计) [$1377.6 \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$] 低大约 10 倍, 比微量氧条件下(O_2 含量 1%)的氨氧化速率(以蛋白质计) [$367.6 \mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$] 低大约 3 倍^[7].

Schmidt 等发现, 将氨氧化菌从无 O_2 条件下转移到有 O_2 条件下时, 氨氧化菌将不会立即发生基于 O_2 的氨氧化, 而是先利用 NO_2 作为电子受体, 而后才能逐渐恢复利用 O_2 作为电子受体的能力, 认为在有 O_2 情况下, NO_2 (NO_x) 气体的存在起到了信号分子的作用, 能使好氧氨氧化菌更容易发生 NO_2 型氨氧化^[7,17]. 文献[5]观察到 NH_4^+ 、 NO_2 和 NO 之间的比例是 1:1:1, 与文献[15,16]的情况不符; 这是因为, 在 100×10^{-9} 氧分压条件下, 氨氧化菌的 NO_2 型氨氧化活性仍然保持, 并且具有消耗 O_2 的能力. Zart 等通过曝气、投加 NO 结合剂 DMPS 和 NO 解毒细菌 3 种方式去除 *N. eutropha* 硝化中产生的 NO 后, 氨氧化受到极大抑制甚至停止, 再通入 NO 后氨氧化活性得到恢复, 用实验证实了 NO 对好氧氨氧化活性具有重要作用, 并发现需要投加的 NO 的量远大于细胞实际需求, 可能是由于只有少量的 NO 能够进入细胞真正发挥作用的缘故^[8,19]. Schmidt 等研究了 NO_2 对失去氧化 NH_4^+ 和 NH_2OH 活性的 *N. eutropha* 在有 O_2 条件下活性恢复的影响, 发现不投加 NO_2 , 需要 8 ~ 9 d 才出现 NH_4^+ 的消耗, 且有少量 NO 和 NO_2 产生, 通过曝气方式去除这些 NO 和 NO_2 , NH_4^+ 氧化活性降低, 15 d 后彻底失去活性; 投加 25×10^{-6} 的 NO_2 , 3 d 后即可恢复 NH_4^+ 氧化活性; 在 NH_4^+ 氧化活性恢复的同时 NH_2OH 氧化活性也得到了恢复, 细菌生理结构也发生了变化^[17]. NO 不能使好氧氨氧化活性恢复, 只有其被氧化为 NO_2 后才能使好氧

氨氧化活性得到恢复^[15].关于 NO_2 对激发和恢复氨氧化菌利用活性的影响,或者 NO_2 型氨氧化与好氧氨氧化协同作用的微观机理,还有待进一步研究.

4 结论

(1) 在无分子氧时,借助于 NO_2 提供的化合态氧,氨氧化菌发生了 NO_2 型氨氧化.当 NO_2 浓度为 25×10^{-6} 时,氨氧化速率达到最大值 $0.063 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$.氨氧化动力学可以利用 Andrews 模型进行描述,其中最大氨氧化速率($q_{NO_2, \max}$)为 $0.144 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$ 、二氧化氮半饱和和常数(K_{NO_2})为 $0.821 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和二氧化氮抑制性常数(K_i)为 $1.721 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

(2) 在微量 NO_2 气体中加入 2% 氧气后,氨氧化速率明显提高,最大氨氧化速率出现在 $50 \times 10^{-6} NO_2/2\% O_2$ 条件下,为 $0.198 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$.在 21% O_2 和微量 NO_2 条件下,氨氧化速率继续大幅度提高,最大氨氧化速率出现在 $100 \times 10^{-6} NO_2/21\% O_2$ 条件下,达到 $0.477 \text{ mg} \cdot (\text{mg} \cdot \text{h})^{-1}$,比无 NO_2 时空气曝气条件下氨氧化速率高 3 倍,表观 NO_2 强化氨氧化函数值为 3.560.建立了 O_2 和微量 NO_2 条件下氨氧化的动力学方程,并利用 2% O_2 和微量 NO_2 条件下的实验结果验证了动力学方程的正确性.

(3) 提出了在 O_2 和微量 NO_2 条件下 NO_2 强化氨氧化的机理:一方面,氨氧化菌发生了常规型好氧氨氧化;另一方面,在添加 NO_2 后,由于氨氧化菌的细胞内 NO_x 循环作用, NO_2 型氨氧化的中间产物 NO 在细胞内转化成 NO_2 ,参与氨氧化反应的原因,氨氧化菌的 NO_2 型氨氧化作用会增强.在 O_2 和微量 NO_2 条件下 NO_2 强化氨氧化的效应可以用表观 NO_2 强化氨氧化函数表征.

参考文献:

- [1] 卢培利,张代钧,李小鹏.废水生物脱氮中 N_2O 和 NO_x 的产生和作用[J].应用与环境生物学报,2005,11(5):632-637.
- [2] Stuenkel R, Bock E. Nitrification and denitrification as a source for NO and NO_2 production in high-strength wastewater[J]. Wat Res, 2001,35(8):1905-1914.
- [3] Wragge N, Velthof G L, van Beusichem M L, et al. Role of nitrifier

- denitrification in the production of nitrous oxide[J]. Soil Biol Biochem, 2001,33:1723-1732.
- [4] 赵宗升,刘鸿亮,李炳伟,等.高浓度氨氮废水的高效生物脱氮途径[J].中国给水排水,2001,17(5):24-28.
- [5] Schmidt I, Bock E. Anaerobic ammonia oxidation with nitrogen dioxide by *Nitrosomonas europaea*[J]. Arch Microbiol, 1997,167:106-111.
- [6] Colliver B B, Stephenson T. Production of nitrogen oxide and dinitrogen oxide by autotrophic nitrifiers[J]. Biotechnol Adv, 2000,18:219-232.
- [7] Schmidt I, Zart D, Bock E. Gaseous NO_2 as a regulator for ammonia oxidation of *Nitrosomonas europaea* [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2001,79:311-318.
- [8] Jetten M S M, Strous M, van de Pas-Schoonen K T, et al. The anaerobic oxidation of ammonium[J]. FEMS Microbiol Rev, 1999,22:421-437.
- [9] 张代钧,卢培利,李小鹏,等.氨氧化菌混培物在微量 NO_2 气氛下的氨代谢特性[J].中国环境科学,2005,25(3):348-352.
- [10] 祖波,张代钧,卢培利,等.普通活性污泥富集好氧氨氧化菌试验[J].重庆大学学报(自然科学版),2005,28(2):100-104.
- [11] Chandran K, Smets B F. Estimating Biomass Yield Coefficients for Autotrophic Ammonia and Nitrite Oxidation from Batch Respirograms [J]. Wat Res, 2001,35(13):3153-3156.
- [12] Andrews P. Resolution with merging[J]. JACM, 1968,15:367-381.
- [13] Zhu Songming, Chen Shulin. An experimental study on nitrification biofilm performances using a series reactor system[J]. Aqua Eng, 1999,20(2):245-259.
- [14] 国际水协废水生物处理设计与运行数学模型课题组著,张亚雷,李咏梅译.活性污泥数学模型[M].上海:同济大学出版社,2000.116-118.
- [15] Schmidt I, Bock E, Jetten M S M. Ammonia oxidation by *Nitrosomonas europaea* with NO_2 as oxidant is not inhibited by acetylene [J]. Microbiol, 2001,147:2247-2253.
- [16] Schmidt I, Slikkers O, Schmidt M, et al. Aerobic and anaerobic ammonia oxidizing bacteria-competitors or natural partners? [J]. FEMS Microbiol Ecol, 2002,39:175-181.
- [17] Schmidt I, Zart D, Bock E. Effects of gas NO_2 on cells of *Nitrosomonas europaea* previously incapable of using ammonia as an energy source[J]. Antonie Leeuwenhoek, 2001,79:39-47.
- [18] Zart D, Bock E. High rate of aerobic nitrification and denitrification by *Nitrosomonas europaea* grown in a fermentor with complete biomass retention in the presence of gases NO_2 or NO[J]. Arch Microbiol, 1998,169:282-286.
- [19] Zart D, Schmidt I, Bock E. Significance of gases NO for ammonia oxidation by *Nitrosomonas europaea*[J]. Ant van Lee, 2000,77:49-55.