

化学物质对硝化细菌的选择性抑制

宋学起¹, 彭永臻^{1,2}, 王淑莹², 杨庆¹

(1. 哈尔滨工业大学 市政环境工程学院, 哈尔滨 150091; 2. 北京工业大学 环境与能源工程学院, 北京 100022)

摘要: 针对硝化反应中2类细菌对环境的敏感程度不同, 可由此使硝化反应第2步受到抑制, 产生亚硝酸盐的积聚, 即短程硝化反应; 将引起亚硝酸盐积聚的原因分为2种, 相应地将化学物质对生物硝化反应的抑制作用分为2类, 将这些可产生选择性抑制作用的化学物质进一步分为无机氮化合物、毒性物质和杀菌类物质。综合分析已有的研究结果, 着重讨论了消毒剂作为选择性抑制剂的可行性。从安全性、投加剂量及投加频次等角度分析, 认为消毒剂作为选择性抑制剂有很好的应用前景。

关键词: 亚硝酸盐; 短程硝化反硝化反应; 化学物质; 消毒剂; 选择性抑制

中图分类号: X 703.1

文献标识码: A

文章编号: 0254-0037(2005)03-0293-05

常规生物脱氮过程, 由硝化反应和反硝化反应组成。在硝化反应中, 废水中的有机氮经氨化反应生成氨氮, 氨氮在化能自养菌的作用下, 经亚硝态氮转为硝态氮。为进一步除氮, 在厌氧条件下, 硝态氮作为电子受体, 有机物作为电子供体, 反硝化的异养菌将硝态氮还原为氮气, 排入大气, 实现对废水中总氮的去除, 此为反硝化反应^[1]。因为亚硝态氮是硝化反应和反硝化反应的中间产物, 因此, 许多研究者考虑直接通过亚硝态氮而不是硝态氮来实现污水处理中的生物脱氮, 即: 亚硝化型硝化反硝化反应, 或短程硝化反硝化反应^[2]。

在硝化反应中, 氨氮向硝态氮的转化是分2步进行的, 分别由2类不同的细菌来完成。这2类细菌分别被定义为: 亚硝酸菌和硝酸菌。研究表明^[3], 这2类细菌有着不同的生化特性, 其中硝酸菌比亚硝酸菌在某些特定条件下更敏感, 可以利用这一特点, 使其受抑制, 从而达到产生亚硝化型硝化反硝化反应的目的。作者就是从化学物质对2类细菌的不同作用为出发点, 将这方面研究现状加以概述, 并提出了利用化学物质的选择性抑制作用达到亚硝化型硝化反硝化的新思路。

1 抑制作用分类

引起亚硝态氮积聚的原因有2种: ①硝酸菌的生化性能受抑制, 使硝化反应第2段($\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$)的反应速率慢于第1段($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$)的反应速率, 第1阶段产生的亚硝态氮不能及时被氧化, 造成其积累; ②亚硝酸菌和硝酸菌在数量上不平衡, 硝酸菌的数量如果很少或者没有时, 也会使硝化反应2个阶段不匹配, 从而产生亚硝态氮的积累。相应地, 在讨论化学物质对硝化反应的选择性抑制时, 可将抑制分为2类。第1类抑制: 参与生化反应的细菌, 在一定浓度的抑制剂作用下, 不能正常地完成其生化反应过程; 第2类抑制: 抑制剂的作用使参与生化反应的细菌的生长受影响, 经过一定时期后, 这种生长速率的不均衡必然导致细菌数量的不平衡。

作者仅就化学物质的选择性抑制作用进行讨论, 温度、污泥龄(SRT)等因素对2类硝化细菌比例的影响, 在本文中不作探讨。

收稿日期: 2003-12-24。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(50138010); 国家“八六三”计划资助项目(2003AA601010)。

作者简介: 宋学起(1970-), 男, 山东青岛人, 博士。

2 化学物质分类

为便于研究,把能产生选择性抑制的化学物质分为:①无机氮化合物;②毒性物质;③杀菌类物质.

2.1 无机氮类化合物

硝化反应的主体和反应中间产物(如氨、亚硝酸盐和硝酸盐)都会对硝化反应产生抑制作用,其中被研究者们广泛认可的是游离氨(free ammonia,简称FA). Anthonisen^[4]指出FA和游离亚硝酸(FNA)对硝化反应有抑制作用.其中FA的抑制作用对2类硝化细菌是不同的,对亚硝酸菌,FA的抑制质量浓度范围是10~150 mg/L,而对硝酸菌,这个范围仅仅为0.1~1.0 mg/L.

游离氨质量浓度的计算公式为

$$\rho_{\text{FA}} = 17\rho(\text{NH}_4 - \text{N}) \times 10^{\text{pH}} / 14(K_b/K_w + 10^{\text{pH}})$$

其中: ρ_{FA} 是以 NH_3 (mg/L)表示的游离氨质量浓度; $\rho(\text{NH}_4 - \text{N})$ 是以 N (mg/L)表示的氨氮质量浓度; K_b 是氨的平衡方程式的电离常数; K_w 是水的电离常数. K_b 、 K_w 随温度改变而变化.从上式可以看出,pH值、温度对 ρ_{FA} 会产生影响,其对硝化反应的选择性抑制是通过对FA的作用引起的.

这之后,很多研究者考察和验证了FA的这种选择性抑制作用,不过对FA的浓度有不同的结果: Turk 和 Mavinic^[5,6]在一个4反应池系统实验中,发现当第1池的 ρ_{FA} 达到5 mg/L时,就会有亚硝态氮的积聚;Abeling 和 Seyfried^[7]报告说1~5 mg/L的 ρ_{FA} 只会对硝化反应第1阶段产生抑制,而对第2阶段没有影响. Mauret 等^[8]的研究显示这个质量浓度范围 $\rho(\text{NH}_3 - \text{N}) = 6.6 \sim 8.9$ mg/L.

在FA对亚硝态氮积聚影响的研究中,一个值得注意的问题是硝酸菌对这种抑制作用的适应性.研究发现,硝酸菌虽然较亚硝酸菌敏感,但在长时间与游离氨接触时,可产生对这种抑制作用的适应性. Wong-Chong 和 Loehr^[9]观察到,如果对FA适应的话,微生物可以承受 $\rho(\text{NH}_3 - \text{N}) = 40$ mg/L. Ford 等^[10]报告说在FA达到 $\rho(\text{NH}_3 - \text{N}) = 24$ mg/L时,所有的硝化反应都受到抑制,但是这个系统可以恢复,甚至在 $\rho(\text{NH}_3 - \text{N}) = 56$ mg/L时也能运行.

另外,有研究者对游离氨是否是产生抑制作用的真正物质产生质疑. Yang 和 Alleman^[11]认为,FA不是这种作用的影响因素,DO(溶解氧)本身也不能成为亚硝态氮积聚的主导因素.他们发现羟氨(hydroxylamine, $\text{NH}_2\text{OH}/\text{NH}_3\text{OH}^+$)是真正使硝酸菌产生抑制的原因.羟氨是亚硝酸菌的中间反应产物,在高游离氨、缺少氧和高pH情况下,羟氨就很容易积聚,从而影响和抑制硝酸菌的生化机能.对这一点,值得进一步论证.

2.2 有毒物质

有毒物质主要指重金属类物质和氰化物等有机化合物.这类物质主要是因为存在于工业废水中,当其与生活污水共同生化处理时,就会对参与反应的微生物产生影响.锌、铜和铅等重金属对硝化反应的2个阶段都有抑制,但抑制程度不同^[12]. Neufeld 等^[13]研究了氰化物和酚等有机化合物对硝化反应的抑制.

2.3 消毒剂

在水处理中所使用的消毒剂大多为氧化剂,利用氧化作用破坏生物分子中的酶,达到杀死细菌的目的.如前所述,参与硝化反应的2类细菌的生化特性是不同的,因此,在适量的氧化(杀菌)剂作用下,就会对较敏感的细菌产生选择性抑制.

早在1945年, Lees 和 Quastel^[14]在Nature上发表论文指出,他们在研究土壤的硝化反应时注意到氯酸钾(KClO_3)的影响.后来 Lees 等^[15]进一步确定当氯酸钾的浓度仅为(0.001~0.01) mmol/L 就会对硝酸菌的生长产生抑制作用;当 ClO_3^- 浓度为(1~10) mmol/L 时,硝酸菌被完全抑制,同时发现当亚氯酸盐(ClO_2^-)浓度为3 mmol/L 时,硝酸菌也能完全被抑制.而在这些反应中,亚硝酸菌并未受到影响.亚氯酸

盐是氯酸盐的还原产物,因此,他们认为亚氯酸盐(ClO_2^-)是真正对硝酸菌产生抑制作用的化学物质。

对于氯酸盐的这种选择性抑制作用,后来又有人做了更细致的研究工作。为研究亚硝化反应($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$)速率, Belser 和 Mays^[16]向反应器中加入 10 mmol/L 氯酸盐,以使 NO_2^- 不能转化为 NO_3^- 。为验证这种方法的可行性,他们以纯菌分别做了氯酸盐对亚硝化反应及硝化反应影响的实验,实验结果显示,10 mmol/L 氯酸盐对亚硝酸菌的生化特性没有任何影响,在这个环境下的亚硝化反应的速率与不加入氯酸盐的反应速率是完全相同的;而硝酸菌则被完全抑制了。

但对氯酸盐和亚氯酸盐的选择性抑制作用也有不同的结论。在 Hynes 和 Knowles^[17]的研究中发现:氯酸盐有时也会对亚硝化菌产生影响。为此,他们从 2 类硝化菌中选用了其中 2 种细菌(*N. euroaea* 和 *N. winogradskyi*)进行实验,当单独实验这 2 种细菌时,结论与前人的相符,即:10 mmol/L 氯酸盐只抑制硝化菌 *N. winogradskyi* 而对亚硝化菌 *N. euroaea* 没有影响。但是,当 2 种细菌混合培养时,发现硝化菌 *N. winogradskyi* 在缺氧和好氧情况下都可以将氯酸盐还原为亚氯酸盐,对此 Hynes 和 Knowles 认为,硝酸菌无论在缺氧还是好氧情况下,都可以利用氯酸盐作最终电子受体,将氯酸盐还原为亚氯酸盐;正是亚氯酸盐不仅抑制了硝酸菌,也抑制了质量。实验使他们认为亚氯酸盐确实能够抑制这 2 种细菌。

氯酸盐和亚氯酸盐只是常见的氧化剂,氯和二氧化氯是在水处理中常用的消毒剂。同为氧化剂,因其灭菌效率高且本身无毒或低毒而被广泛应用于饮用水处理中。这类消毒剂在一定浓度下也会对硝化反应的 2 个阶段有不同的抑制作用,从而产生亚硝态氮的积聚。Jooste 和 Leeuwen^[18]研究了南非的金矿废水中亚硝态氮积聚的现象。他们认为消毒剂是使亚硝态氮积聚的原因。为此,他们模拟金矿废水的过滤过程,重现了这种现象。氯(Cl_2)、二氧化氯(ClO_2)和溴都可以选择性地抑制硝酸菌。

通过加氯抑制丝状菌是控制污泥膨胀的一种常规方法,在使用这种方法时,经常会发生亚硝态氮的积聚, Cotteux 和 Duchene^[19]研究了这种现象。他们在二沉池至反应池之间设一个接触池,向其中通氯,每天每 kg MLVSS 通氯药剂量为 $(4.6 \pm 0.2) \text{g}$, 结果在 2 个反应器(回流比不同)中硝态氮质量浓度都小于 1 mg/L, 氨氮的氧化产物以亚硝态氮的形式存在。

3 消毒剂作为选择性抑制剂在生物脱氮工艺中的应用前景

在以上提到的这些研究中,大部分的实验结果显示,在一定浓度的抑制剂作用下,氨氮被生物氧化后的硝化产物中,亚硝态氮几乎占 100%,而在此过程中氨氮至亚硝态氮的亚硝化过程不受影响。但迄今为止,还没有利用抑制剂实现短程硝化反硝化的专门研究,这可能是由于大部分研究者还不能接受为实现短程硝化反硝化而向水体中加入化学物质;但是,如果综合分析一下,消毒剂作为选择性抑制剂是有实际意义的,并且有很好的应用前景。

3.1 消毒剂是安全的

在给水处理中,要求经一定处理时间的水中保持一定的余氯质量浓度,WHO1984 年出版的《饮用水水质准则》^[20]中建议 pH 值低于 8,接触时间 30 min 以上,水中自由性余氯质量浓度应不低于 0.2 mg/L;日本为 0.1 mg/L 以上,美国为 0.05~0.1 mg/L,我国为 0.3 mg/L^[21]。可见,从安全健康方面考虑,消毒剂不会带来新的污染。

3.2 消毒剂的用量是可接受的

与给水处理不同,为达到亚硝化型硝化反硝化的目的,硝化反应只需对 2 类硝化细菌中较敏感的硝酸菌进行抑制,因此用药量将大大小于给水处理等一般消毒过程。如前所述,消毒剂对硝化反应的抑制作用分为 2 类。对第 1 类抑制,通过序批实验可以很容易地得出结果,大部分已知的研究工作是针对这方面的。但由 Lees 对氯酸钾的选择性抑制作用研究可知,第 2 类抑制所需的抑制剂的浓度是极低的,在 $1 \mu\text{mol/L}$ ($\rho(\text{KClO}_3) = 0.1 \text{ mg/L}$) 时,硝酸菌的生长就会受到影响。Jooste 和 Leeuwen^[18]指出,20℃ 时,在氯(以 Cl_2 计)质量浓度为 0.5 mg/L 情况下,亚硝酸菌的生长速率是硝酸菌生长速率的 3 倍。可见,如果能

利用第 2 类抑制的话,抑制剂的用量将大大减少.

3.3 消毒剂不需要连续投加

从消毒剂作用机理看,在某一浓度的氧化剂作用下,细菌的生物酶被破坏,导致细菌最终死亡.从已知的实验结果看,氧化剂对硝化反应第 2 阶段抑制作用很完全,可以证明硝酸菌应是被全部杀死了,这样生物系统就不存在像对游离氨那样产生适应了.同时,硝酸菌被淘汰后,在系统中并不易于重新培养,从微生物学角度看,这类类似于纯种培养的机制,因此,使生化反应系统保持这种纯菌状态所需要的投药量要比系统起始时的需药量还要低,不仅如此,以现在已有的亚硝酸菌纯种分离与固化工艺来看,应有一段相对较长的时间不需要加药.

4 结束语

作者分析了 3 类选择性抑制剂,硝酸菌对游离氨可产生适应性,毒性物质不适于主动投加到水体中,消毒剂可以应用于对生物硝化反应的选择性抑制.但对这方面的研究工作还很少,以前的研究都没有从它对亚硝化型硝化反硝化有利的方面来考虑,因此,如同在给水处理中的消毒剂研究一样,对消毒剂作为选择性抑制剂的研究也有着广阔的前景.

参考文献:

- [1] 张自杰. 排水工程下册[M]. 第 4 版. 北京:中国建筑工业出版社,2000. 308-311.
ZHANG Zi-jie. Drainage Engineer Volume II [M]. 4th ed. Beijing: China Architecture Industry Publishing Company, 2000. 308-311. (in Chinese)
- [2] 袁林江,彭党聪,王志盈. 短程硝化-反硝化生物脱氮[J]. 中国给水排水,2000,16(2):29-31.
YUAN Lin-jiang, PENG Dang-cong, WANG Zhi-ying. Shortcut nitrification-denitrification biological nitrogen removal[J]. China Water & Wastewater, 2000, 16(2):29-31. (in Chinese)
- [3] 冯叶成,王建成,钱易. 生物脱氮新工艺研究进展[J]. 微生物学通报,2001,28(4):88-91.
FENG Ye-cheng, WANG Jian-cheng, QIAN Yi. New research review of biological nitrogen removal[J]. Microbiology, 2001, 28(4):88-91. (in Chinese)
- [4] ANTHONISEN A C. Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid[J]. J W P C F, 1976, 48(5):835-852.
- [5] TRUK O, MAVINIC D S. Preliminary assessment of a shortcut in nitrogen removal from wastewater[J]. Can J Civ Eng, 1986, 13:600-605.
- [6] TURK O, MAVINIC D S. Selective inhibition: A novel concept for removing nitrogen from highly nitrogenous wastes[J]. Environ Technol Lett, 1987, 8:419-426.
- [7] ABELING U, SEYFRIED C F. Anaerobic-aerobic treatment of high-strength ammonia wastewater nitrogen removal via nitrite[J]. Wat Sci Tech, 1992, 26(5-6):1007-1015.
- [8] MAURET M, PAUL E, PUECH-COSTES E, et al. Application of experimental research methodology to the study of nitrification in mixed culture[J]. Wat Sci Tech, 1996, 34(1-2):245-252.
- [9] WONG-CHONG G M, LOEHR R C. Kinetics of microbial nitrification: Nitrite-nitrogen oxidation[J]. Wat Res, 1978, 12: 605-609.
- [10] FORD D L, CHURCHWEL R L, KACHTICK J W. Comprehensive analysis of nitrification of chemical processing wastewaters[J]. J Wat Pollut Control Fed, 1980, 52:2726-2746.
- [11] YANG L, ALLEMAN J E. Investigation of batchwise nitrite build-up by an enriched nitrification culture[J]. Wat Sci Tech, 1992, 26(5-6): 997-1005.
- [12] CAMILLA Grunditz, LENA Guamelius, GUNNEL Dalhammar. Comparison of inhibition assays using nitrogen removing bacteria: Application to industrial wastewater[J]. Wat Res, 1998, 32(10):2995-3000.
- [13] NEUFELD R, GREENFIELD J, RIEDER, B. Temperature, cyanide and phenolic nitrification inhibition[J]. Wat Res, 1986, 20(5):633-642.

- [14] LEES H, QUASTEL J H. Bacteriostatic effects of potassium chlorate on soil nitrification[J]. *Nature*, 1945, 155: 276-278.
- [15] LEES H, SIMPSON J R. The biochemistry of the nitrifying organisms 5 nitrite oxidation by nitrobacter[J]. *Biochem J*, 1957, 65: 297-305.
- [16] BELSER L W, MAYES E L. Specific inhibition of nitrite oxidation by chlorate and its use in assessing nitrification in soils and sediments[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1980, 39: 505-510.
- [17] HYNES R K, KNOWLES R. Inhibition of chemoautotrophic nitrification by sodium chlorate and sodium chlorite: A reexamination[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1983, 45: 1178-1182.
- [18] JOOSTE S, VAN LEEUWEN J. Induction of nitrite build-up in water by some common disinfectants[J]. *Water SA*, 1993, 19(2): 107-112.
- [19] COTTEUX E, DUCHENE P. Nitrification preservation in activated sludge during curative bulking chlorination[J]. *Wat Sci Tech*, 2003, 47 (11): 85-92.
- [20] ISBN 924154460—1984, World Health Organization[S].
- [21] 左经云, 王乃益, 章琪, 等. 生活饮用水总余氯卫生标准的研究[J]. *安徽预防医学杂志*, 1996, 2(3): 1-3.
ZUO Jing-yun, WANG Nai-yi, ZHANG Qi, et al. Research of the sanitary standard of the chlorine in drinking water[J]. *Anhui Journal of Prevent Medicine*, 1996, 2(3): 1-3. (in Chinese)

Selective Inhibition on Nitrification by Chemicals

SONG Xue-qi¹, PENG Yong-zhen^{1,2}, WANG Shu-ying², YANG Qing¹

(1. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;

2. College of Environmental and Energy Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100022, China)

Abstract: In traditional biological nitrogen removal process, nitrification can be divided into two steps, which are performed by two separated bacteria. The sensibilities of the two bacteria to the environment are different. The second step of nitrification is easy to be inhibited, which result in accumulation of nitrite defined as shortcut nitrification. In this paper, two reasons of the nitrite accumulation was classified, correspondingly the chemicals to inhibit the nitrification process can be defined as two kinds. The chemicals which can lead to the inhibitions was sorted in three categories: inorganic nitrogen compounds, toxic materials and disinfectants. After analyzing the current research results, the feasibility of the disinfectants application was focused on. Conclusion was made based on the analysis of safety, dose and dose frequency that is feasible to use disinfectants as selective inhibitors for the shortcut nitrification.

Key words: nitrite; shortcut nitrification/denitrification; chemicals; disinfectants; selective inhibition