

温度、pH 值和有机物对厌氧氨氧化污泥活性的影响

杨洋, 左剑恶*, 沈平, 顾夏声

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要:通过厌氧氨氧化速率的测定研究了温度、pH 值和有机物对厌氧氨氧化污泥活性的影响. 结果表明: 温度和 pH 值对污泥的厌氧氨氧化活性有明显影响, 最佳温度为 30~35℃, 在 20~30℃ 之间, 厌氧氨氧化速率与温度之间的关系可以用修正的 Arrhenius 方程式描述; 最佳 pH 值为 7.5~8.3, 在 pH 值为 7.0~9.0 之间, 厌氧氨氧化速率与 pH 值之间的关系可以用双底物双抑制剂模型描述; 厌氧氨氧化污泥中存在着异养反硝化菌, 有机物的存在会导致其与厌氧氨氧化菌之间的基质竞争.

关键词:厌氧氨氧化; 厌氧氨氧化活性; 基质竞争; 异养反硝化

中图分类号:X703.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3301(2006)04-0691-05

Influence of Temperature, pH Value and Organic Substance on Activity of ANAMMOX Sludge

YANG Yang, ZUO Jian-e, SHEN Ping, GU Xia-sheng

(Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: Influence of temperature, pH and organics on ANAMMOX activity was investigated through measuring the anaerobic ammonia oxidation rate of sludge. Results show that temperature and pH could influence ANAMMOX activity dramatically. The optimal temperature was between 30~35℃, and the relationship between the anaerobic ammonia oxidation rate and temperature can be described by revised Arrhenius formula during 20~30℃. The optimal pH was between 7.5~8.3, and the relationship between the anaerobic ammonia oxidation rate and pH can be described by two substrates and two inhibitors model during pH 7.0~9.0. There was substrata competition between the heterotrophic denitrification bacteria and ANAMMOX bacteria when organics in the influent.

Key words: anaerobic ammonia oxidation; ANAMMOX activity; substrata competition; heterotrophic denitrification

厌氧氨氧化是指在厌氧或缺氧条件下, 厌氧氨氧化细菌以 NO_2^- 为电子受体, 将 NH_4^+ 直接氧化为 N_2 的过程^[1], 产物 N_2 中的氮原子一个来自 NO_2^- , 而另一个则来自 NH_4^+ ^[2]. 有研究表明, 厌氧氨氧化工艺具有较强的适应性: 温度在 6~43℃ 之间, pH 值在 6.7~8.3 之间, 厌氧氨氧化污泥均表现出一定活性; 厌氧氨氧化速率最大可达 0.86 mg/(mg·d)^[3]. 本实验室已利用河底污泥接种 UASB 反应器, 成功实现了厌氧氨氧化过程^[4]. 为了优化反应条件, 本文通过自行设计的厌氧氨氧化速率测试系统, 研究了温度、pH 值和有机物对厌氧氨氧化污泥活性的影响.

1 材料与方法

1.1 试验装置

厌氧氨氧化速率测试装置见图 1. 试验过程中利用高纯氮气对反应瓶吹脱, 以消除溶解氧的影响.

1.2 厌氧氨氧化速率测试步骤与方法

测试系统装置见图 1. 从厌氧氨氧化反应器中取出待测污泥, 置于 500mL 具塞广口瓶②中, 并在

其中加入一定浓度的 NH_4HCO_3 、 NaNO_2 和微量元素^[4], 将广口瓶置于已达试验温度的恒温水浴摇床③中, 然后从进气口⑤通入氮气, 气体从出气口⑥排出, 出气口⑥与大气相通. 氮气吹脱 30min 后启动摇床, 开始试验. 试验过程中通过 pH 计④观察反应体系的 pH 值变化, 并从出气口⑥加入适量的 NaOH 或 HCl 溶液以控制反应体系的 pH 值.

试验过程中每 h 从广口瓶中取样进行测试. 取样时, 先关闭氮气瓶阀门, 并停止摇床摇动 5min, 使广口瓶中的污泥沉降. 然后从出气口⑥通入氮气, 使广口瓶中的上清液从进气口⑤中排出, 取样完毕后从进气口⑤通入氮气, 气体从出气口⑥排出, 5min 后再启动摇床继续试验.

数据处理:①测定 n 个时刻体系上清液中的基质浓度: $c_1, c_2, \dots, c_n$; ②绘制基质浓度变化曲线; ③根据基质浓度变化曲线求出最大斜率, 即基质的最

收稿日期: 2005-01-31; 修订日期: 2005-03-17

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2002AA601190)

作者简介: 杨洋(1979~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为废水厌氧生物处理技术.

* 通讯联系人, E-mail: jiane.zuo@tsinghua.edu.cn

大去除速率 $V_{\max}$; ④ $V_{\max}$ 除以反应瓶中的污泥浓度 X 即得基质的最大比反应速率 $v_{\max}$.

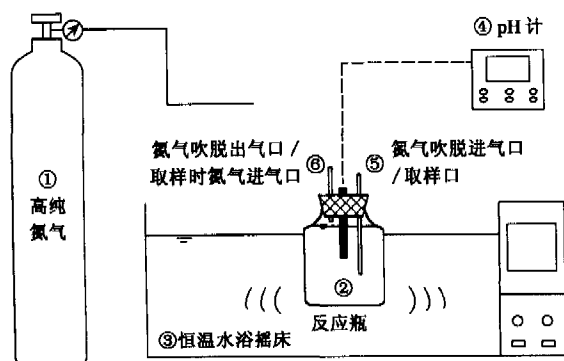


图1 厌氧氨氧化速率测试系统装置

Fig. 1 Experimental apparatus of ANAMMOX activity

1.3 厌氧氨氧化污泥

测试污泥取自本实验室的厌氧氨氧化反应器,该反应器采用无机配水,在 30℃ 左右已连续运行了 360d,总氮容积负荷为 1.72kg/(m³·d),总氮去除率约为 86%^[4]。厌氧氨氧化污泥呈棕黄色,以絮状污泥为主,有部分颗粒污泥存在,污泥的 VSS/SS 约为 60%。

1.4 分析项目及测试方法

氨氮:纳氏试剂比色法^[5];亚硝酸盐:N-(1-萘基)-乙二胺光度法^[5];

硝酸盐:DX-100 型离子色谱 (DX-100, Dionex);

溶解氧:溶解氧仪 (Orion 810A+, Thermo);

悬浮固体 (SS) 和挥发性悬浮固体 (VSS):标准重量法^[5];

pH 值:Thermo Orion 828 型 pH 计;温度:水银温度计;

COD:TL-1A 型污水 COD 速测仪。

2 结果与讨论

2.1 温度对厌氧氨氧化污泥活性的影响

温度是影响细菌活性的重要环境条件之一,只有在最适温度附近,细菌才会表现出良好的反应活性,从而增进反应器的运行效果。

本文测试了厌氧氨氧化污泥在 5 个不同温度 (20、25、30、35 和 40℃) 下的反应速率。试验中除温度外的其它主要试验条件为:污泥浓度 (VSS) 约为 1.6g/L, pH 值 8.2, 起始 NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 浓度均为 200mg/L。试验结果如图 2 所示。

由图 2 可知,对于本研究中的厌氧氨氧化污泥,当反应温度在 30~35℃ 时,其厌氧氨氧化速率最高,为 0.171~0.174 mg/(mg·d);当温度升至 40℃ 时,其活性明显下降,仅为 0.091 mg/(mg·d);而当温度低于 30℃ 时,其活性也明显下降,25℃ 和 20℃ 时分别为 0.132 mg/(mg·d) 和 0.064 mg/(mg·d)。

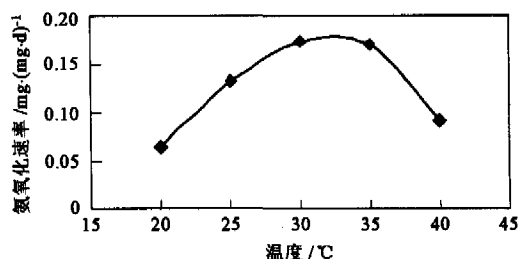


图2 厌氧氨氧化速率随温度的变化

Fig. 2 Effect of temperature on anaerobic ammonia oxidation rates

从图 2 还可知,该污泥的厌氧氨氧化速率随温度的变化趋势与硝化反应一致^[6]。有研究表明,在一定温度范围 (5~40℃) 内,硝化细菌最大生长速率与温度之间的关系可用修正的 Arrhenius 方程式来描述^[7]。而在废水生物处理中,基质的去除速率与微生物的增长速率可用简单的正比关系来描述^[8]。因此,利用修正的 Arrhenius 方程式 (式 1),计算了温度对厌氧氨氧化速率的影响,结果发现温度小于 30℃ 时计算值与实测值较吻合,大于 30℃ 时偏差较大。

$$v_t = v_{20} \exp \left[-\frac{E_a(20 - t)}{293R(273 + t)} \right] \quad (1)$$

式中, v_t : 温度 t (℃) 时的厌氧氨氧化速率; v_{20} : 20℃ 时的厌氧氨氧化速率 [本研究 $v_{20} = 0.064$ mg/(mg·d)]; E_a : 厌氧氨氧化反应活化能, 约为 70kJ/mol^[3]; $R = 8.314$ J/(mol·K)。

通过计算值与实测值的比较可知,在一定温度范围内 (20~30℃), 厌氧氨氧化速率与温度之间的关系可用 (1) 式来描述。厌氧氨氧化反应的活化能约为 70kJ/mol, 从活化能角度看, 厌氧氨氧化属于容易进行的化学反应, 但由于厌氧氨氧化细菌的生长特性 (如世代周期长等), 使得该过程与其它生物过程相比又较难进行 (一般废水生物处理过程中, 活化能的范围为 8.4~83.7 kJ/mol), 因此, 厌氧氨氧化工艺应尽量在较高温度 (30~35℃) 条件下进行。

2.2 pH 值对厌氧氨氧化污泥活性的影响

对于废水生物处理过程, pH 值是另外一个非常重要的环境条件, 其对废水生物处理过程的影响主

要表现在 2 个方面:①pH 值会影响细胞内的电解质平衡,直接影响微生物的活性甚至其能否存活;② pH 值还会影响溶液中基质或抑制物的浓度,而间接影响微生物的活性。

本文测试了厌氧氨氧化污泥在 7 个不同 pH 值 (7.0、7.5、7.8、8.0、8.3、8.5 和 9.0) 下的氨氧化速率。测试过程中其它主要条件为:污泥浓度约为 1.6g/L,温度 30℃,起始 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 浓度均为 200mg/L。试验结果如图 3 中的黑点所示。

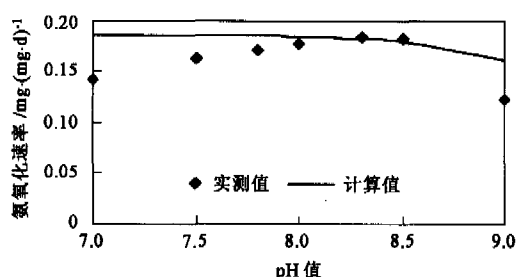


图 3 厌氧氨氧化速率随 pH 值的变化

Fig.3 Effect of pH value on anaerobic ammonia oxidation rates

pH 值对污泥的厌氧氨氧化活性有较明显的影响,当 pH 值为 8.3 时,污泥的厌氧氨氧化活性最大,为 0.184 mg/(mg·d);当 pH 值小于 8.3 时,污

泥的活性略有下降,而当 pH 值大于 8.3 时,其活性下降幅度较大,pH 值为 7.0 和 9.0 时的厌氧氨氧化速率分别为 pH 值 8.3 时的 77% 和 66%。

分析表明,对厌氧氨氧化过程来说, NH_4^+ 和 NO_2^- 既是反应的基质,同时也是抑制剂^[7,9]。对于底物自身又是抑制剂的生化反应过程,通常采用 Haldane 模型进行模拟^[8],据此可建立双底物双抑制剂的厌氧氨氧化反应速率方程。一般来说,生化反应中半速率常数 K_m 远小于抑制常数 K_i ,因此含有 K_m/K_i 的项在计算中通常可忽略,简化后的双底物双抑制剂速率方程如式(2)所示。

$$v = \frac{v_{\max}}{\left[1 + \frac{K_{m\text{NH}_4}}{S_{\text{NH}_4}} + \frac{S_{\text{NH}_4}}{K_{i\text{NH}_4}}\right] \left[1 + \frac{K_{m\text{NO}_2}}{S_{\text{NO}_2}} + \frac{S_{\text{NO}_2}}{K_{i\text{NO}_2}}\right]} \quad (2)$$

式中, v :反应速率; $v_{\max}$:最大反应速率; K_m :半速率常数; K_i :基质抑制常数; S :底物浓度。

作为弱酸弱碱的亚硝酸和氨在溶液中存在水解电离平衡,而弱酸弱碱的水解电离平衡与 pH 值有直接关系,因此上式可改写为含有 pH 值的反应速率方程,如式(3)所示。

$$v = \frac{v_{\max}}{\left[1 + \frac{10^{-\text{pH}} K_{m\text{NH}_4} K_b + K_{m\text{NH}_4} K_w}{10^{-\text{pH}} T_{\text{NH}_3} K_b} + \frac{10^{-\text{pH}} T_{\text{NH}_3} K_b}{10^{-\text{pH}} T_{\text{NH}_4} K_b - K_w K_{i\text{NH}_4}}\right] \left[1 + \frac{10^{-\text{pH}} K_{m\text{NO}_2}}{10^{-\text{pH}} + T_{\text{HNO}_2} K_a} + \frac{10^{-\text{pH}} + T_{\text{HNO}_2} K_a}{10^{-\text{pH}} K_{i\text{NO}_2}}\right]} \quad (3)$$

式中, T_{NH_3} :总氨氮浓度,等于离子态氨和游离氨浓度之和; T_{HNO_2} :总亚硝酸氮浓度,等于亚硝酸根和游离亚硝酸之和; K_b :氨的离解常数; K_a :亚硝酸的离解常数; K_w :水的离子积;其它同前。

由式(3)可知,在溶液中总氨氮和总亚硝酸盐浓度一定的情况下,由于 pH 值的变化,会直接影响到其中同时作为基质和抑制物的 NH_4^+ 和 NO_2^- 的浓度,进而影响厌氧氨氧化速率。

根据郑平等^[9]的研究结果,厌氧氨氧化过程中,氨氮的半速率常数 $K_{m\text{NH}_4}$ 和基质抑制常数 $K_{i\text{NH}_4}$ 分别为 48.4mg/L 和 1 123.2mg/L,亚硝酸盐的半速率常数 $K_{m\text{NO}_2}$ 和基质抑制常数 $K_{i\text{NO}_2}$ 分别为 6.6 mg/L 和 720.6mg/L;在 Strous 等人^[3]的研究中,厌氧氨氧化污泥最大反应速率为 0.856 mg/(mg·d),其污泥中厌氧氨氧化细菌的含量达 80%,而在本研究中,污泥中的厌氧氨氧化细菌含量约为 30%,因此本文采用 0.321 mg/(mg·d) 作为式(3)中的

$v_{\max}$ 。据此可计算出不同 pH 值条件下的厌氧氨氧化反应速率,结果如图 3 中的连线所示。

由图 3 可知,计算值与实测值在 pH 值为 7.5~9.0 之间时有相同的变化趋势:当 pH 值为 7.5~8.3 时,厌氧氨氧化活性处于较高水平,当 pH 值从 8.3 升高为 9.0 时,厌氧氨氧化活性降低。而 pH<7.5 时,计算值与实测值的变化趋势不一致,实测结果显示厌氧氨氧化速率开始降低,但计算值仍维持较高水平,这可能是由于式(3)仅考虑了 pH 值对于 NH_4^+ 和 NO_2^- 浓度的影响,而未考虑 pH 值本身对细菌活性的影响。

2.3 有机物对厌氧氨氧化污泥活性的影响

厌氧氨氧化菌属于自养型细菌,其生长无需有机碳的参与,但有机物作为废水生物处理中常见的电子供体,易与亚硝酸氮发生反硝化反应,因此,本文对有机物(以葡萄糖为代表)是否影响厌氧氨氧化污泥活性进行了研究。试验条件为:温度 30℃,pH 值 8.3,污泥浓度约为 1.6g/L,起始基质(NH_4^+ 、

NO_2^- 和葡萄糖)浓度见表 1.

表 1 有机物对厌氧氨氧化污泥活性影响的试验条件

Table 1 Test conditions on effect of organic substance

试验 序号	起始基质成分/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		
	NH_4HCO_3	NaNO_2	葡萄糖(COD)
a	200	200	0
b	200	200	20
c	200	200	200
d	200	300	200
e	200	350	200

结果如图 4 所示.从图 4 可知,在试验 a 中,基质中只有氨氮和亚硝酸氮,不含有机物,污泥表现出较高的厌氧氨氧化活性 $[0.174 \text{ mg}/(\text{mg}\cdot\text{d})]$.在试验 b 和 c 中,分别加入了少量($20\text{mg}/\text{L}$)和大量($200\text{mg}/\text{L}$)葡萄糖.结果表明,少量有机物的加入对污泥的厌氧氨氧化活性影响不大;而大量有机物的加入在明显抑制其厌氧氨氧化活性的同时,使污泥表现出较高的反硝化活性,这表明反硝化过程与厌氧氨氧化过程之间存在着基质竞争.在试验 d 和 e 中,分别在试验 c 的基础上不同程度地增加了亚硝酸盐浓度.结果表明,随着亚硝酸盐浓度的提高,氨氮、亚硝酸氮和有机 COD 的去除速率均有所增加,在亚硝酸氮充足的情况下(试验 e),氨氮的去除速率基本恢复到体系中不含有机物(试验 a)的水平,这表明基质竞争引起的抑制作用是可逆的.

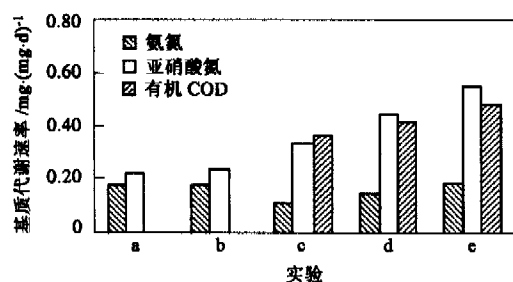


图 4 有机物对厌氧氨氧化污泥活性影响试验结果

Fig. 4 Effect of organic substances on anaerobic ammonia oxidation rates

以上试验结果表明,本研究中的厌氧氨氧化污泥在有有机物存在时,会表现出反硝化活性,而当反应体系中亚硝酸盐充足时,反硝化过程不会对污泥的厌氧氨氧化活性产生明显影响.

2.4 与其它研究结果比较

将本文获得的最大氨氧化速率与其他研究者的试验结果进行比较,结果如表 2 所示.

表 2 不同研究中污泥氨氧化速率的比较

Table 2 Comparison of ammonia oxidation rates

反应类型	污泥(细菌)种类	氨氧化速率 $/\text{mg}\cdot(\text{mg}\cdot\text{d})^{-1}$	参考文献
厌氧氨氧化	厌氧氨氧化污泥	0.18	本文
	厌氧氨氧化污泥	0.86	[3]
	厌氧氨氧化菌混培物	0.02~0.04	[10]
	厌氧氨氧化菌混培物	0.07	[11]
好氧氨氧化	<i>Nitrosomonas eutropha</i>	1.55~3.86	[12]
	亚硝化污泥	3.01	[13]

从表 2 可知,好氧条件下亚硝化菌的氨氧化速率明显大于厌氧条件下厌氧氨氧化菌的氨氧化速率,尽管这 2 个过程的反应活化能基本相当^[3].在 Strous 等人^[3]的研究中,厌氧氨氧化细菌占到了细菌总量的 80%,但与富集程度较高的亚硝化菌相比,其氨氧化速率仍然较低.而在本文以及国内其他研究中,厌氧氨氧化速率均明显低于 Strous 等人的试验结果,这可能是由于其污泥中高效厌氧氨氧化细菌的含量较少.

3 结论

(1)温度对厌氧氨氧化过程有明显影响,最适温度为 $30\sim 35^\circ\text{C}$,在 $20\sim 30^\circ\text{C}$ 之间,厌氧氨氧化速率与温度之间的关系可以用修正的 Arrhenius 方程式描述.

(2)pH 值对厌氧氨氧化过程有明显影响,最适 pH 值为 $7.5\sim 8.3$,在 pH 值 $7.0\sim 9.0$ 之间,厌氧氨氧化速率与 pH 值之间的关系可以用双底物双抑制剂模型描述.

(3)厌氧氨氧化污泥中存在着异养反硝化菌,有机物的存在会导致其与厌氧氨氧化菌之间的基质竞争.

参考文献:

- [1] Strous M, Heijnen J J, Kuenen J G, et al. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms[J]. Microbiol. Biotechnol., 1996, 50(5): 589~596.
- [2] Schmid M, Twachtmann U, Klein M, et al. Molecular evidence for genus level diversity of bacteria capable of catalyzing anaerobic ammonium oxidation[J]. Sys. Appl. Microbiol., 2000, 23(1): 93~106.

- [3] Strous M, Kuenen J G, Jetten M S M. Key Physiology of Anaerobic Ammonium Oxidation [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1999, 65(7): 3248~3250.
- [4] 杨洋, 左剑恶, 沈平, 等. 环境科学与工程[M]. 北京: 清华大学出版社, 2004. 39~43.
- [5] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 276~279.
- [6] Antoniou P, Hamilton J, Koopman B, et al. Effect of temperature and pH on the effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria [J]. Wat. Res., 1990, 24(1): 97~101.
- [7] Hao X, Joseph J, Mark C M. Model-based evaluation of temperature and inflow variations on a partial nitrification ANAMMOX biofilm process[J]. Wat. Res., 2002, 36: 4839~4849.
- [8] 顾夏声. 废水生物处理数学模式[M]. (第二版). 北京: 清华大学出版社, 1993. 61~64.
- [9] 郑平, 胡宝兰. 厌氧氨氧化菌混培物生长及代谢动力学研究[J]. 生物工程学报, 2001, 17(2): 193~198.
- [10] 胡宝兰, 郑平, 冯孝善. 新型生物脱氮技术的工艺研究[J]. 应用与环境生物学报, 1999, S1: 68~73.
- [11] 阮文权, 邹华, 陈坚. 厌氧氨氧化混培菌的获得及其运行条件[J]. 重庆环境科学, 2002, 24(6): 30~33.
- [12] Zart D, Bock E. High rate of aerobic nitrification and denitrification by Nitrosomonas eutropha grown in a fermentor with complete biomass retention in the presence of gaseous NO₂ or NO[J]. Arch. Microbiol., 1998, 169: 282~286.
- [13] 左剑恶, 杨洋, 蒙爱红. 高氨氮浓度下的亚硝化过程及其影响因素研究[J]. 环境污染与防治, 2003, 25(6): 332~335.

关于反对个别作者一稿两投行为的联合声明

为保证所发表论文的首创性和学术严谨性,《环境科学》、《中国环境科学》、《环境科学学报》编辑部和《Journal of Environmental Sciences》编辑部特发表如下联合声明。

我们明确反对个别作者的一稿两投或变相一稿两投行为。自2006年5月1日起,我们各刊在接受作者投稿时,要求论文全体作者就所投稿件作出以下承诺(附在投稿上):

1) 来稿所报道的研究成果均系全体作者的原创性研究成果,文中报道的研究成果(含图、表中数据的全部或部分)未曾发表亦未曾投其它科技期刊。

2) 在接到所投期刊编辑部关于稿件处理结果之前,所投稿件的全部或部分内容不再投其它科技期刊。

我们将认真对待作者所作的上述承诺,并建立信息共享机制,对违背上述承诺的作者(包括在文中署名的全体作者)采取联合行动。

净化学术环境、促进学术繁荣是学术期刊作者和编者的共同责任。我们诚恳地希望广大作者能够了解我们的上述立场和做法,并积极宣传和配合。

《环境科学》编辑部

《中国环境科学》编辑部

《环境科学学报》编辑部

《Journal of Environmental Sciences》编辑部

2005年12月1日