

文章编号:1000-582X(2004)09-0102-07

# 废水生物脱氮中 $N_2O$ 和 $NO_x$ 的来源及生成机理\*

卢培利<sup>1</sup>,张代钧<sup>1,2</sup>,许丹宇<sup>1</sup>

(1.重庆大学资源及环境科学学院,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:**  $N_2O$  和  $NO_x$  是废水生物脱氮处理中常见的中间产物,传统硝化和反硝化被认为是其主要来源,但随着研究的深入,更多的生物氮转化代谢途径被发现,如厌氧氨氧化、化学反硝化等,实验已经证实这些过程中都有  $N_2O$  和/或  $NO_x$  生成。生物酶受到抑制和某些中间物质的化学分解以及物质间的化学反应都有可能成为  $N_2O$  和  $NO_x$  的生成机理,还有一些过程的机理尚不清楚。结合功能微生物的种类和生物化学反应类型阐述废水生物脱氮气态中间产物  $N_2O$  和  $NO_x$  的来源及生成机理,有助于新的氮代谢途径的认识、新技术开发和大气环境二次污染的防治。

**关键词:** 废水处理;生物脱氮; $N_2O$ ; $NO_x$

**中图分类号:** X 703

**文献标识码:** A

废水脱氮处理已经成为基本要求,生物法因被公认为一种经济、有效和最有前途的方法而广泛采用<sup>[1]</sup>。虽然经过100多年的研究,人类在理解无机氮转化方面取得了巨大进展,但因氮转化存在多种可能途径及现实条件下分析这些反应所存在的复杂性,导致对该问题的认识还存在许多不清楚的地方,相互矛盾和带有推测性的研究报告常常出现<sup>[2-3]</sup>。特别是近些年,废水生物脱氮在理论和工程实践方面取得了很大进步,如异养硝化和好氧反硝化<sup>[4-5]</sup>、厌氧氨氧化<sup>[6]</sup>、自养硝化菌反硝化等现象相继被发现<sup>[7-8]</sup>,这些新发展已经远远突破了传统理论的认识,其机理至今仍不为人们完全理解。 $N_2O$  和  $NO_x$  ( $NO$ 、 $NO_2$ ) 是废水生物脱氮中3种重要的中间产物,弄清楚它们的来源和生成机理将有助于这些新现象的认识,即使对传统反硝化,为了弄清各种反硝化酶的作用机理,必须要查清  $NO$  和  $N_2O$  还原酶的作用机理<sup>[3]</sup>。另外,只有掌握了废水生物脱氮中产生  $NO_x$  和  $N_2O$  的基本过程后,才能够控制它们向环境中排放以避免二次污染。

大量有关  $N_2O$  和  $NO_x$  产生的研究最早来自土壤,并认为硝化作用是其主要来源<sup>[9-13]</sup>,针对废水的研究起步较晚。Baalsrud(1954)发现脱氮硫杆菌的纯培养物能产生并转化  $NO$ ,Payne(1973)提出了生物脱氮的

完整步骤并有大量证据证明  $NO$  是必需的中间产物,Bonin等(2002)发现在河口附近和接近沉积层的底层反硝化是  $N_2O$  的主要来源(75%和83%~99%),在海洋中硝化是主要来源(70%)<sup>[14]</sup>。Ritchie和Nicholas(1972)认为好氧条件下  $NH_4^+$  和  $NH_2OH$  氧化及好氧和厌氧条件下  $NO_2^-$  还原都能产生  $N_2O$ <sup>[15]</sup>。Poth和Focht(1985)发现亚硝化菌 *europaea* 能够在溶解氧受限条件下以  $NO_2^-$  为最终电子受体产生  $N_2O$ <sup>[16]</sup>。Colliver等(2000)也认为虽然缺氧反硝化是  $NO$  和  $N_2O$  的主要来源,但有些微生物能在好氧条件下反硝化产生  $NO$  和  $N_2O$ ,有些好氧硝化菌在低溶解氧条件下也能产生  $NO$  和  $N_2O$ <sup>[17]</sup>。因此,废水生物脱氮气态中间产物的来源绝不仅仅局限于传统硝化和反硝化过程,微生物的多功能性和生物氮转化的多途径使这些气态中间产物的来源更多,生成机理更复杂。

## 1 反硝化中 $N_2O$ 和 $NO_x$ 的来源及生成机理

传统反硝化是缺氧条件下  $NO_3^-$  向  $N_2$  的还原,功能微生物是异养菌,其过程和主要的酶见图1<sup>[18-19]</sup>。 $NO$  是反硝化的必然中间产物,但对于其是否能够自由扩散曾经存在争论<sup>[20]</sup>。现在,反硝化中  $N_2O$  的产

\* 收稿日期:2004-05-22

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50378094)

作者简介:卢培利(1975-),男,安徽蚌埠人,重庆大学博士研究生,主要从事水污染控制理论与技术研究。

生已经得到公认,  $NO$  作为独立中间体出现也得到证实, 而且被认为是  $NO$  和  $N_2O$  的主要来源<sup>[17]</sup>。

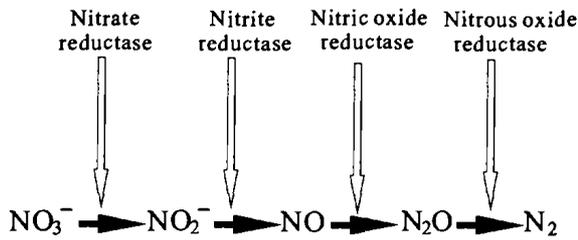


图1 传统反硝化过程及其酶

Brons 等(1991)报道了还原  $NO_3^-$  的大肠杆菌培养液中有  $NO$  产生, Casey 等(1992)推测反硝化中  $NO$  的短暂形成是由诸如活性污泥中丝状微生物生长等异常现象所致<sup>[21-22]</sup>。Cutruzzola(1999)发现在反硝化期间, 细菌胞外存在  $NO$ , 细菌中 3 种  $NO_2^-$  还原酶(NIR)有 2 种催化  $NO_2^-$  还原为  $NO$ , 并对细菌中  $NO$  的主要来源——异化亚硝酸盐还原起着重要作用<sup>[18-20,23]</sup>。

$N_2O$  在低溶解氧浓度下会取代  $N_2$  成为反硝化最终产物。 $N_2O$  还原酶是反硝化中对氧气最为敏感的酶, 并最终导致  $N_2O$  积累<sup>[14]</sup>。长期以来, 都认为是  $NO_2^-$  还原酶催化了  $NO_2^-$  到  $N_2O$  的反应, Zumft 等(1988)发现不含  $NO_2^-$  还原酶的发生突变的 *P. stutzeri* 菌仍能还原  $NO$  为  $N_2O$ , 最先证明该反应由  $NO$  还原酶(NOR)引起, Carr 等(1989)发现不含  $NO_2^-$  还原酶的 *P. denitrificans* 菌的胞囊中仍有  $NADH - NO$  氧化还原活性<sup>[20]</sup>, Braun 和 Zumft(1991)的工作最终证实 NOR 参与了反硝化过程。后来, Ye 等(1992)发现去除 *Pseudomonas SP.* 菌属 G-179 菌中的  $Cu - NO_2^-$  还原酶仍不会除去其  $NO$  还原活性, 最终确认 NOR 的存在<sup>[24]</sup>。Schulthess 等(1995)用 He 吹脱反硝化中产生的  $NO$ , 证实  $NO$  对  $N_2O$  还原酶活性的抑制导致  $N_2O$  积累<sup>[18]</sup>。

Beline 等(2001)用养猪场泥浆(pig slurry)所做的实验证明了反硝化是  $N_2O$  的主要来源<sup>[25]</sup>。然而, Schonharting 等(1998)的实验却发现即使  $NO_3^-$  的抑制作用存在也不会出现  $N_2O$  的积累, 因为  $N_2O$  的还原速率是  $NO_3^-$  和  $NO_2^-$  还原速率的 2 倍, 只有当  $N_2O$  的还原被抑制 56% 以上时才会有  $N_2O$  释放<sup>[26]</sup>。Schulthess 等(1995)通过脉冲投加  $NO_2^-$  的实验发现了  $NO_2^-$  对反硝化酶、反硝化菌的影响, 并且研究了它与  $NO$  和  $N_2O$  累积的关系<sup>[18]</sup>。反硝化中间产物向环境释放已经受到关注<sup>[2]</sup>。

## 2 硝化中 $N_2O$ 和 $NO_x$ 的来源及生成机理

传统硝化反应是  $NH_4^+$  在好氧条件下被氧化为  $NO_3^-$  的过程, 包括亚硝化和硝化两步, 通常由自养或混合营养型微生物完成, 如图 2<sup>[19,27-28]</sup>。

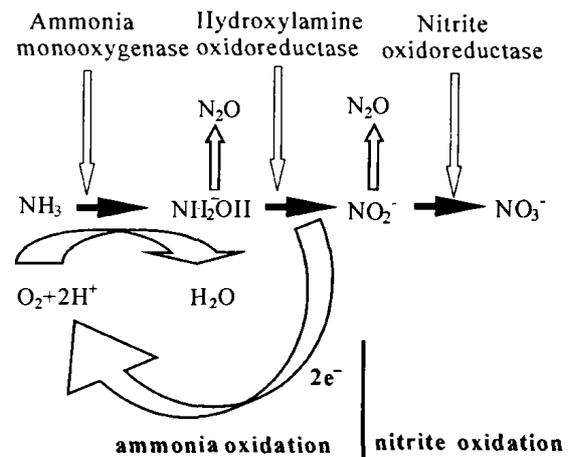


图2 传统硝化过程及其酶

硝化过程中  $N_2O$  和  $NO$  的产生已经得到广泛公认, 这些气态中间产物在亚硝化阶段和硝化阶段均有可能形成。有研究发现在强烈波动或微生物受到不良影响时, 硝化生物膜中有  $N_2O$  形成, 但由于硝化菌和反硝化菌同时存在, 死亡的微生物可作为反硝化的基质, 所以很难确定这些  $N_2O$  的真实来源<sup>[29-30]</sup>。硝化抑制剂对土壤中  $N_2O$  释放产生的快速(部分)抑制证明硝化对  $N_2O$  的产生具有直接作用<sup>[31]</sup>。Beline(2001)的实验发现在完全曝气保证硝化的条件下, 7.4% 的总氮以  $N_2O$  的形式排出, 并通过示踪实验说明这些  $N_2O$  来源于硝化<sup>[25]</sup>。

一般认为硝化反应仅在溶解氧浓度大于 1.0 mg/L 的条件下发生, 但低溶解氧浓度下的硝化反应也被发现。Bock 等(1995)报道在溶解氧浓度为 0.2 mg/L 时, *N. eutropha* 和 *N. europaea* 的培养液能够将  $NH_4^+$  氧化为  $NO_2^-$ <sup>[7]</sup>。有研究显示硝化菌对低溶解氧浓度下土壤和废水处理系统中  $N_2$  和  $N_2O$  的产生可能具有重要作用, Sliemers(2002)等虽然也认为低溶解氧浓度下氨氧化菌会产生  $NO$  和  $N_2O$ , 但在实验中并未检测到这些气体<sup>[32]</sup>。

尽管硝化菌在  $NO_2^-$  的氧化中会产生  $NO$  和  $N_2O$ , 但当与亚硝化菌共存时只要有  $NH_4^+$  作为基质, 就不能把  $NO_2^-$  氧化为  $NO_3^-$ , 特别是在高浓度  $NH_4^+$  废水处理中, 硝化菌对脱氮不起重要作用<sup>[10]</sup>。Conrad(1996)认为  $N_2O$  是硝化反应第一步的副产物<sup>[33]</sup>。

目前对于硝化过程中产生 NO 和 N<sub>2</sub>O 的确切机理仍不十分清楚,甚至有学者认为由于亚硝化菌 *N. eutropha* 在缺氧和好氧条件下都能产生 NO 和 N<sub>2</sub>O,还不能断定它们究竟是形成于 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的生物还原还是 NH<sub>2</sub>OH 的化学分解<sup>[8]</sup>。Jiang 等(1999)认为在完全曝气情况下产生的少量 N<sub>2</sub>O 可能是 NH<sub>2</sub>OH 氧化为 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 这一过程的直接副产物<sup>[31]</sup>。

### 3 厌氧氨氧化中 N<sub>2</sub>O 和 NO<sub>x</sub> 的来源及生成机理

以前认为 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 只有在分子氧存在的好氧和限氧系统中才能被氧化,但理论上 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 也可以作为反硝化的无机电子供体。Broda(1977)发表文章描述了两种能够以 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 为电子受体氧化 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 为 N<sub>2</sub> 的化能无机营养型细菌存在的可能性<sup>[3]</sup>。最近,在流化床反应器中观察到了 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的消失,同时伴随 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的消耗和 N<sub>2</sub> 的产生,这一过程被命名为厌氧氨氧化 Anammox,功能微生物被称为厌氧氨氧化菌 *Anammoxidan*<sup>[6]</sup>。随着诸如亚硝化菌 *eutropha* 等某些好氧氨氧化菌在缺氧条件下用 NH<sub>2</sub>OH(或 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)作为电子供体还原 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>(或 NO<sub>2</sub>)现象的发现,Anammox 的概念得到延伸形成两类微生物作用下的 3 种类型的厌氧氨氧化。研究表明,这 3 种 Anammox 过程中都有气态中间产物 NO 和 N<sub>2</sub>O 产生。

#### 3.1 *Anammoxidan* 作用下 N<sub>2</sub>O 和 NO<sub>x</sub> 的产生

*Anammoxidan* 作用下 Anammox 的可能反应是:  $3\text{NO}_2^- + 5\text{NH}_4^+ \rightarrow 4\text{N}_2 + 9\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+$ ,但示踪实验证明 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 是更合适的电子受体,反应方程为<sup>[34]</sup>:  $\text{NO}_2^- + \text{NH}_4^+ \rightarrow \text{N}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ 。此类 Anammox 中 NO 和 N<sub>2</sub>O 的来源有两个可能途径:一是 NH<sub>2</sub>OH 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 反应产生 N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>O 进一步转化为 N<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 被氧化为 NH<sub>2</sub>OH; 二是一方面 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 被氧化为 NH<sub>2</sub>OH, NH<sub>2</sub>OH 经 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 被氧化为 N<sub>2</sub>,另一方面 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 被还原为 NO, NO 又被还原为 N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>O 再被还原为 N<sub>2</sub><sup>[35]</sup>。有学者假设好氧(厌氧)氨氧化中与 AMO 相关的酶对 NO 或 HNO 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 进行了雾化作用,之后产生的 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 或 N<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 被 HAO 转化为 N<sub>2</sub>,其产生的电子将 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 还原为 NO。在 *Anammoxidan* 培养液的细胞提取物中发现了很高的 HAO 活性,表明其中含有类似于 HAO 的酶,最新研究确实在 *Anammoxidan* 中发现了这种酶,它能催化 NH<sub>2</sub>OH 和 N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 的氧化<sup>[34]</sup>。

#### 3.2 亚硝化菌 Anammox 中 N<sub>2</sub>O 和 NO<sub>x</sub> 的产生

实验室中发现亚硝化菌(氨氧化菌)的功能之多已经超出了人们以前对它的认识,除传统亚硝化之外,

还可以在缺氧条件下以 H<sub>2</sub> 为电子供体、NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 为电子受体生长,以 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 或 NO<sub>2</sub> 为电子受体进行 Anammox,但还不能确定自然界中的亚硝化菌是否也是如此。

Boettcher 等(1994)在亚硝化菌以 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 NH<sub>2</sub>OH 混合物为基质的生长实验中发现有气态 NO<sub>x</sub> 形成。厌氧活性实验表明缺氧条件下当存在 NH<sub>2</sub>OH 时, *Nitrosomonas* 能够还原 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 产生 N<sub>2</sub>O, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 也可以作为这一反应的电子供体产生 N<sub>2</sub>O<sup>[3]</sup>。Jetten 等(1999)也发现 N<sub>2</sub>O 和 NH<sub>2</sub>OH 作为 *N. eutropha* 的 Anammox 的中间产物出现<sup>[34]</sup>。

Schmidt 等(1997)发现 *N. eutropha* 能够在无氧条件下以 NO<sub>2</sub> 或 N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 为电子受体氧化氨, NO 是中间产物且没有被进一步代谢,反应方程为:  $\text{NH}_3 + \text{N}_2\text{O}_4 \rightarrow \text{HNO}_2 + 2\text{NO} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ ,产生的 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 有 47% 被反硝化成 N<sub>2</sub>,整个过程中主要气体产物是 N<sub>2</sub>、NO 和微量 N<sub>2</sub>O,其中 NO 来源于 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 的厌氧氧化, N<sub>2</sub>O 来源于 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的反硝化<sup>[8]</sup>。这一发现为亚硝化菌的 Anammox 提供了证据,同时也表现了氮氧化物在好氧氨氧化菌代谢中的复杂作用(图 3)<sup>[36]</sup>。除 *N. eutropha* 外, *N. europaea*、*Nitrosolobus* 和 *multiformis* 都能进行 NO<sub>2</sub> 型 Anammox 产生 NO<sup>[10]</sup>。

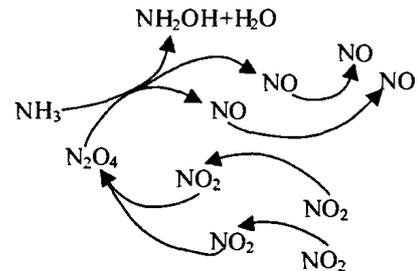


图 3 *Nitrosomonas* NO<sub>2</sub> 型 anammox 的假设模型

### 4 异养硝化 - 好氧反硝化和自养反硝化中 N<sub>2</sub>O 和 NO<sub>x</sub> 的产生

人们发现异养硝化现象已很久,但由于技术限制和研究对象选择不当导致好氧反硝化在以往的研究与生产中没有得到证实<sup>[35]</sup>, Muler 等(1995)证明了好氧反硝化与硝化相伴发生,速率与氨消耗速率基本处于同一数量级<sup>[5]</sup>。各种纯培养液中氮平衡表明有几种菌类的异养硝化速率要比以前所知的高得多<sup>[3]</sup>。异养硝化 - 好氧反硝化中 N<sub>2</sub>O 主要来源于反硝化过程。Wrage 等(2001)认为异养硝化的过程和产物与自养硝化相同,但酶的性质不同,而且异养硝化菌能够进行好氧反硝化产生 N<sub>2</sub>O<sup>[19]</sup>。Niel 等(1992)和 Robertson 等(1995)相继进行限制曝气恒化培养液中的过度实验和好氧/厌氧交替实验证实了几种异养硝化菌在充分

混合、好氧条件下产生  $N_2$  的现象, 其中 *A. faecalis* TUD 菌属产生了几近等量的  $N_2$  和  $N_2O$ , Robertson 等 (1988, 1995) 用气相色谱和质谱进行的批实验证实了在充分混合、好氧条件下 *T. pantotropha* 能利用  $NH_4^+$  和/或  $NO_2^-$  产生  $N_2$ <sup>[37]</sup>, Arts 等 (1995) 发现了 *T. pantotropha* 在连续培养液中产生  $N_2$  和  $N_2O$  的现象, 并证实  $NH_2OH$  对 *T. pantotropha* 氨氧化活性有抑制作用<sup>[38]</sup>。

自养亚硝化菌和硝化菌也能进行好氧反硝化, 并有  $NO$  和  $N_2O$  作为中间产物出现。亚硝化菌的好氧反硝化现象比较普遍, 但一般不完全, 主要产物是  $NO$  和  $N_2O$ , 硝化菌的好氧反硝化作用不普遍<sup>[39]</sup>。Ritchie 等 (1972) 对好氧和缺氧条件下  $N_2O$  的来源进行研究, 发现  $N_2O$  主要由氨氧化菌还原  $NO_2^-$  而产生,  $NO$  似乎在氨氧化和  $NO_2^-$  还原中均能产生, Poth 等 (1985) 也证实了在限制溶解氧条件下, *N. europaea* 仅能还原  $NO_2^-$  产生  $N_2O$  ( $N_2O$  并未来自氨的氧化), Remde 等 (1990) 认为好氧反硝化是氨氧化过程中  $NO$  和  $N_2O$  的主要来源, Anderson 等 (1993) 使用硝化和亚硝化抑制剂以及人工电子受体和电子供体进行的研究表明,  $NO$  和  $N_2O$  主要来自于  $NO_2^-$  还原, 而不是氨的氧化<sup>[39-40]</sup>。在限制氧气的条件下, 自养亚硝化菌好氧反硝化作用更明显, Miller 和 Nicholas (1985) 发现 *N. europaea* 能够通过  $NO_2^-$  还原酶还原  $NO_2^-$  为  $NO$  和  $N_2O$ , Stuvén 等 (1992) 和 Miller 等 (1993) 也发现起硝化作用的亚硝化菌产生了明显的  $NO$ 、 $N_2O$  和  $N_2$ , Zart 和 Bock (1998) 还发现当外加  $NO$  和  $NO_2$  时 *N. europaea* 的好氧反硝化作用会明显加强, 导致形成的  $NO_2^-$  有 50% 被还原, 但强化机理仍不清楚<sup>[41-42]</sup>。*N. europaea* 和 *N. europaea* 已经被认为是两种好氧反硝化菌。Wrage 等 (2001) 提出了“硝化菌反硝化 (nitrifier denitrification)”的概念, 指一种微生物 (自养硝化菌) 在本身细胞内几种酶的作用下顺序完成硝化 (亚硝化) 和反硝化 (图 4), 能完成这一过程的最常见的微生物是氨氧化菌, 但 Freitag (1987) 发现  $NO_2^-$  氧化菌也具有这一功能, 而目前有关资料还很少<sup>[19]</sup>。

异养硝化 - 好氧反硝化和自养菌好氧反硝化现象

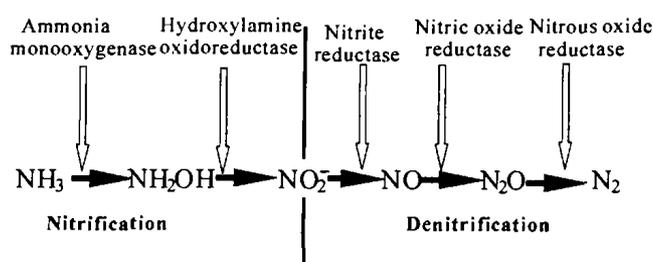


图 4 硝化菌反硝化假设的过程及其可能的酶

的存在并不能使人们对其在废水生物脱氮中的作用持一致肯定的观点<sup>[2-3, 23, 28, 43]</sup>。有关这些过程中气态中间产物  $NO$  和  $N_2O$  的产生还有待进一步研究。

## 5 化学反硝化中 $N_2O$ 和 $NO_x$ 的来源及生成机理

化学反硝化 (chemodenitrification) 指亚硝化过程中间产物  $NH_2OH$  和  $NO_2^-$  的化学分解及  $NH_2OH$  和  $NO_2^-$  之间的化学反应引起的反硝化脱氮作用, 可能的反应方程式有<sup>[18]</sup>:  $3HNO_2 \leftrightarrow HNO_3 + 2NO + H_2O$ ,  $2HNO_2 \leftrightarrow NO + NO_2 + H_2O$ ,  $HNO_2 + HNO_3 \leftrightarrow 2NO_2 + H_2O$ ,  $NH_2OH + HNO_2 \leftrightarrow N_2O + 2H_2O$ 。在可能途径中,  $N_2O$ 、 $NO$  和  $NO_2$  都有可能作为气态中间产物出现, 但实际中观察到的主要是  $N_2O$  和  $NO$ 。Cleemput (1984) 认为在酸性条件下主要产物是  $NO$ , Chalk 等 (1983) 认为也会有  $N_2O$ <sup>[19]</sup>。

有研究认为在亚硝化过程中,  $NH_2OH$  氧化速率慢而成为  $NH_4^+$  氧化的瓶颈, 反应不平衡导致  $NH_2OH$  积累, 与  $NO_2^-$  反应产生  $NO$ <sup>[10]</sup>。金属离子还原  $NO_2^-$  的反应也被认为是化学反硝化中  $N_2O$  和  $NO$  产生机理之一, 一般方程是:  $M^{red} + NO_2^- + 2H^+ \rightarrow M^{ox} + NO + H_2O$ , 对 pH 为 6~8 时由  $Fe^{2+}$  引起的  $NO_2^-$  分解的厌氧研究发现大量  $N_2O$  和  $N_2$  产生, Harper 等 (2000) 却只发现了少量的  $N_2O$ , 虽然 Schulthess 等 (1995) 也承认这一机理, 但认为对他本人实验中  $NO$  的积累并不重要<sup>[18, 28]</sup>。

至今, 人们对化学反硝化作为  $NO$  和  $N_2O$  的来源还存在着争论和怀疑。Remde 和 Conrad (1990) 发现抑制了亚硝化菌活性后仍有 15% (不抑制时) 的  $NO$  产生, 认为是由化学分解作用引起, 但 Anderson 和 Levine (1986) 却认为主要由微生物活性引起, Martikainen 等 (1993) 也认为化学反硝化过程与硝化 (亚硝化) 过程紧密联系在一起, 很难确定  $NO$  和  $N_2O$  是来自硝化还是化学反硝化, Schulthess 等还发现化学反硝化和生物还原可能会联合作用产生  $NO$ , Brons (1991) 描述了 *E. coli* 将  $NO_3^-$  还原为  $NO_2^-$ , 同时  $Fe^{3+}$  还原为  $Fe^{2+}$ , 然后  $Fe^{2+}$  和  $NO_2^-$  再发生化学反应产生  $NO$  和  $Fe^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$  再进入下一个循环<sup>[17-19]</sup>。

## 6 甲烷菌作用下 $N_2O$ 和 $NO_x$ 的来源及生成机理

甲烷菌在现行废水处理中的作用还不十分明显, 厌氧技术的推广、甲烷化和反硝化耦合的实现和氨氧化菌与甲烷营养型细菌之间的协同作用现象却预示了这类微生物的巨大潜力。尽管在甲烷菌作用下  $NO$  和

$N_2O$  的产生已经被观察到,但目前对甲烷菌产生  $NO$  和  $N_2O$  的机理还未形成定论。

Ren 等(2000)对3种甲烷菌产生  $NO$  和  $N_2O$  的现象进行了实验研究,首次报道了 T20 这种甲烷菌在无氧条件下产生了大量的  $NO$  (高达 250ppmv),比活性与所报道的某些反硝化菌接近,但比另外一些报道低得多,其余两种甲烷菌产生的  $NO$  极少;3种甲烷菌  $N_2O$  的产率比  $NO$  低得多,T20 产  $N_2O$  的比活性最大,却也比反硝化酶的比活性至少低 1000 倍以上,并且无论甲烷或氧气存在与否,T20 都不能还原  $N_2O$ 。研究还发现这些甲烷菌产生  $NO$  的反应是氧气限制型,临界溶解氧浓度为  $5.7 \mu M$ ,即使没有氧气,投加甲烷也会刺激  $NO$  的产生,而且这3种细菌都能在好氧条件下消耗  $NO$ 。因为没有生理学和分子学的证据证明 T20 中存在反硝化系统,因此,反硝化不太可能作为其产生  $NO$  和  $N_2O$  的机理;研究发现 T20 在好氧含  $NH_4^+$  介质中发生硝化反应产生  $NO$  和  $N_2O$ ,但也可能是  $NH_4^+$  氧化产物( $NH_2OH$ 、 $NO_2^-$ )的化学分解,很难确定哪种作用更重要;反硝化菌之外的其它细菌的异化  $NO_3^-$  还原也可能是实验中  $NO$  和  $N_2O$  的产生机理; $NO_3^-$  同化会产生  $N_2O$ ,但是否会产生  $NO$  还未明确,该实验表明  $NO_3^-$  同化及其后的  $NO_2^-$  化学分解可能是 T20 产生较多  $NO$  和少量  $N_2O$  的机理; $NO$  合酶形成  $NO$  需要精氨酸和氧气,但在 T20 中,精氨酸没有促进  $NO$  产生,氧气反而抑制了  $NO$  的产生,所以  $NO$  合酶不可能是 T20 产生  $NO$  的机理;黄嘌呤氧化还原酶催化  $NO_3^-$  或  $NO_2^-$  还原产生  $NO$  的机理也不太可能,但仍需进一步研究<sup>[44]</sup>。

## 7 结 语

废水生物脱氮过程中氮元素在各种生物酶的作用下存在形态发生一系列变化,形成各种中间产物,其中  $NO_x$  ( $NO$ 、 $NO_2$ ) 和  $N_2O$  是常见的必然中间产物,在生物氮转化中广泛存在,受到了极大的关注。传统硝化和反硝化、厌氧氨氧化以及化学反硝化等都可以作为这些中间产物的来源,不同的来源有着不同的产生机理,有些机理至今仍不为人们完全理解。弄清楚它们的来源及产生机理有助于发现引起氮损失的新途径,确定氮形态转化过程,推测可能的生物化学反应,最终弄清楚整个代谢机理,开发新的废水生物脱氮技术和控制  $NO_x$  的排放、避免废水脱氮处理对大气环境的二次污染。

## 参考文献:

- [1] 周少奇,周吉林.生物脱氮新技术研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备,2000,16(1):11-19.
- [2] VAN LOOSDRECHT M C M, JETTEN M S M. Microbiological conversions in nitrogen removal[J]. Wat Sci Tech, 1998,38(1):1-7.
- [3] JETTEN M S M, LOGEMANN S, MUYER G, et al. Novel principles in the microbial conversion of nitrogen compounds[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1997,71:75-93.
- [4] ROBERTSON L A, KUENEN J G. Combined heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in *Thiosphaera pantotropa* and other bacteria[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 1990,56:289-299.
- [5] MULLER E B, STOUTHAMER A H, VERSEVELD H W. Simultaneous  $NH_3$  oxidation and  $N_2$  production at reduced  $O_2$  concentrations by sewage sludge subcultured with chemolithotrophic medium[J]. Biodegradation, 1995,6:339-349.
- [6] MULDER A, VAN DE GRAAFF A A, ROBERTSON L A, et al. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor[J]. FEMS Microbiol Ecol, 1995,16:177-184.
- [7] BOCK E, STUEVEN R, ZART D. Nitrogen loss caused by denitrifying *Nitrosomonas* cells using ammonium or hydrogen as electron donors and nitrite as electron acceptor[J]. Arch Microbiol, 1995,163:16-20.
- [8] SCHMIDT I, BOCK E. Anaerobic ammonia oxidation with nitrogen dioxide by *Nitrosomonas eutropha*[J]. Arch Microbiol, 1997,167:106-111.
- [9] 郑平,俞秀娥,冯孝善.生物脱氮过程中的  $NO$  的产生与转化[J]. 环境污染与防治,1995,17(4):30-33.
- [10] STUVEEN 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.
- [11] JENKINSON D S. An introduction to the global nitrogen cycle[J]. Soil Use & Management, 1990,6:56-61.
- [12] BYRNES B H. Environmental effects of N fertilizer use - An overview[J]. Fertilizer Research,1990,26:209-215.
- [13] 刘小兰,李世清.土壤中的氮素与环境[J]. 干旱地区农业研究,1998,16(4):36-43.
- [14] BONIN P, TAMBURINI C, MICHOTTEY V. Determination of the bacterial processes which are sources of nitrous oxide production in marine samples[J]. Wat Res, 2002,36(3):722-732.
- [15] RITCHIE G A F, NICHOLAS D J D. Identification of the source of nitrous oxide produced by oxidative and reductive processes in *Nitrosomonas europaea* [J]. Biochemistry Journal, 1972,126:1181-1191.
- [16] POTH M, FOCHT D D.  $^{15}N$  kinetic analysis of  $N_2O$  production by *Nitrosomonas europaea*: an examination of nitrifi-

- fier denitrification[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1985, 49(3):1 134 - 1 141.
- [17] COLLIVER B B, STEPHENSON T. Production of nitrogen oxide and dinitrogen oxide by autotrophic nitrifiers[J]. *Biotechnology Advances*, 2000, 18:219 - 232.
- [18] SCHULTHESS R V, KUHN M, GUJER W. Release of nitric and nitrous oxide from denitrifying activated sludge[J]. *Wat Res*, 1995, 29(1):215 - 226.
- [19] WRAGE N, VELTHOF G L, VAN BEUSICHEM M L, et al. Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide[J]. *Soil Biology & biochemistry*, 2001, 33:1 723 - 1 732.
- [20] WATMOUGH N J, BUTLAND G, CHEESMAN MR, et al. Nitric oxide in bacteria: Synthesis and consumption[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1411:456 - 474.
- [21] BRONS H J, HAGEN W R, ZEHNDER A J B. Ferrous iron dependent nitric oxide production in nitrate reducing cultures of *Escherichia coli* [J]. *Arch Microbiol*, 1991, 155:341 - 347.
- [22] CASEY T G, WENTZEL M C, LOEWENTHAL R E, et al. A hypothesis for the cause of low F/M filament bulking in nutrient removal activated sludge system [J]. *Wat Res*, 1992, 26(4):867 - 869.
- [23] CUTRUZZOLA F. Bacterial nitric oxide synthesis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, 1411:231 - 249.
- [24] YE R W, AVERILL B A, TIEDJE J M. Characterization of Tn5 mutants deficient in dissimilatory nitrite reduction in *Pseudomonas* sp. strain G - 179, which contains a copper nitrite reductase [J]. *J. Bacterial*, 1992, 174: 6 653 - 6 658.
- [25] BELINE F, MARTINEZ J, GUIRAUD C. Application of the  $^{15}N$  technique to determine the contributions of nitrification and denitrification to the flux of nitrous oxide from aerated pig slurry [J]. *Wat Res*, 2001, 35(11):2 774 - 2 778.
- [26] SCHONHARTING B, REHNER R, METZGER J W. Release of nitrous oxide ( $N_2O$ ) from denitrifying activated sludge caused by  $H_2S$  - containing wastewater: quantification and application of a new mathematical model[J]. *Wat Sci Tech*, 1998, 38(1):237 - 246.
- [27] VAN NIEL E W, ARTS P A, WESSELINK B J, et al. Competition between heterotrophic and autotrophic nitrifiers for ammonia in chemostat culture [J]. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 1993, 102:109 - 118.
- [28] JONES M L, LIEHR S K, CLASSEN J J, et al. Mechanism of dinitrogen gas formation in anaerobic lagoons[J]. *Advances in Environmental Research*, 2000, 4:133 - 139.
- [29] GARRIDO J M, CAMPOS J L, MENDEZ R, et al. Nitrous oxide production by nitrifying biofilms in a biofilm airlift suspension reactor[J]. *Wat Sci Tech*, 1997, 36(1):157 - 163.
- [30] VAN BENTUM W A J, GARRIDO J, MATHIJSSSE C, et al. Nitrogen removal in intermittent aerated biofilm airlift suspension reactor[J]. *J Env Eng*, 1998, 124:239 - 248.
- [31] JIANG Q Q, BAKKEN L R. Nitrous oxide production and methane oxidation by different ammonia - oxidizing bacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1999, 65(6): 2 679 - 2 684.
- [32] SLIEKERS A O, DERWORT N, CAMPOS GOMEZ J L, et al. Completely autotrophic removal over nitrite in one single reactor [J]. *Wat Res*, 2002, 36(10):2 475 - 2 482.
- [33] CONRAD R. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gas ( $H_2$ ,  $CO$ ,  $CH_4$ ,  $OSC$ ,  $N_2O$  and  $NO$ ) [J]. *Microbiol Rev*, 1996, 60:609 - 640.
- [34] JETTEN M S M, STROUS M, VAN DE PAS - SCHOONEN K T, et al. The anaerobic oxidation of ammonium[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 1999, 22:421 - 437.
- [35] 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.
- [36] SCHMIDT I, SLIEKERS O, SCHMIDT M, et al. Aerobic and anaerobic ammonia oxidizing bacteria - competitors or natural partners? [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 39:175 - 181.
- [37] ROBERTSON L A, REVSBECH N P D T, KUENEN J G. Confirmation of aerobic denitrification in batch cultures using gas chromatography and mass spectrometry[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, 18:113 - 120.
- [38] ARTS P, ROBERTSON L A, KUENEN J G. Nitrification and denitrification by *Thiosphaera pantotropha* denitrificants in aerobic chemostat cultures [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, 18:305 - 315.
- [39] COLLIVER B B, STEPHENSON T. Production of nitrogen oxide and dinitrogen oxide by autotrophic nitrifiers [J]. *Biotechnology Advances*, 2000, 18:219 - 232.
- [40] ZART D, SCHMIDT I, BOCK E. Significance of gases  $NO$  for ammonia oxidation by *Nitrosomonas eutropha* [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2000, 77:49 - 55.
- [41] SCHMIDT I, ZART D, BOCK E. Effects of gas  $NO_2$  on cells of *Nitrosomonas eutropha* previously incapable of using ammonia as an energy source [J]. *Antonie Leeuwenhoek*, 2001, 79:39 - 47.
- [42] 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 gases  $NO_2$  or  $NO$  [J]. *Arch Microbiol*, 1998, 169:282 - 286.
- [43] CARTER J P, HSIAO Y H, PIRO S, et al. Soil and sediment bacteria capable of aerobic nitrate respiration [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61(8):2 852 - 2 858.
- [44] REN T, ROY R, KNOWLES R. Production and consumption of nitric oxide by three methanotrophic bacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, 66(9):3 891 - 3 897.

## Sources and Production Mechanisms for $N_2O$ and $NO_x$ in Wastewater Biological Nitrogen Removal

LU Pei-li<sup>1</sup>, ZHANG Dai-jun<sup>1,2</sup>, XU Dan-yu<sup>1</sup>

- (1. College of Resources and Environmental Science, Chongqing University, Chongqing 400030, China;
2. Key Laboratory for the Exploitation of South-western Resources & the Environmental Disaster Control Engineering Under the State, Ministry of Education, Chongqing 400030, China)

**Abstract:** In wastewater biological treatment for nitrogen removal,  $N_2O$  and  $NO_x$  are common gaseous intermediates. Traditional nitrification and denitrification are considered to be the main sources for them. But with the development of relevant study, more new metabolic pathways for nitrogen are found and the production of  $N_2O$  and/or  $NO_x$  in these processes are experimentally confirmed, which makes the mechanisms for  $N_2O$  and  $NO_x$  production more complex. Though inhibitory of enzymes and chemical reaction are the probable mechanisms, there are still others unknown. Discussing the sources and mechanisms of  $N_2O$  and  $NO_x$  in wastewater treatment from the point of contributing microorganisms and biochemistry reaction will benefit the understanding of new nitrogen metabolic pathways, the development of new technology and the protection of air pollution from  $NO_x$ .

**Key words:** wastewater treatment; biological nitrogen removal;  $N_2O$ ;  $NO_x$

(编辑 姚 飞)

(上接第 101 页)

## Synthesize of the Polysilic Aluminum Ferric Sulfate (PSAFS)

ZHAO Hui-ming<sup>1</sup>, LUO Gu-yuan<sup>2</sup>

- (1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China;
2. College of Urban Construction and Environmental Engineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China)

**Abstract:** Polysilicate aluminum ferric sulfate (PSAFS) is presented as one kind of new polymerized inorganic coagulants. The advantage of aluminum and ferric homopolymer are still contained while the disadvantage is thrown away such as high Al residuals of polyaluminum chloride (PAC) in treated water and the poor stability of polyferric chloride (PFC). Because of those, considerable interest and attention have been paid to PSAFS home and abroad in recent years. PSAFS is prepared from aluminum sulfate and ferric sulfate and water glasses. The influence of different factors (the stability of poly-silicic acid, Al/Fe/Si molar ratio, etc.) in flocculation is studied and the optimal compounding condition is obtained finally.

**Key words:** flocculant polysilic-aluminum-ferric-sulfate (PSAFS); preparation-method; flocculating-behavior; affecting-factors

(编辑 张 苹)