

文章编号:1000-582X(2009)06-721-06

# 单级自养脱氮污泥的厌氧氨氧化代谢特征

郭劲松, 杨国红, 方 芳, 秦 宇

(重庆大学 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400030)

**摘 要:**以单级自养脱氮污泥为研究对象,采用批式试验的方式,分析在不同进水水质条件下系统内生成的中间产物的种类及其含量,研究了单级自养脱氮污泥的厌氧氨氧化反应的代谢特征。实验结果表明,单级自养脱氮污泥具有厌氧氨氧化反应功能。部分  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_2^-$  是按照 Graaf 提出的厌氧氨氧化代谢途径去除的; $\text{NO}_2^-$  首先被还原为  $\text{NH}_2\text{OH}$ ,生成的  $\text{NH}_2\text{OH}$  则与系统内的  $\text{NH}_4^+$  反应生成  $\text{N}_2\text{H}_4$ , $\text{N}_2\text{H}_4$  继续被转化为  $\text{N}_2$  实现氮的去除。还有部分  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_2^-$  是按照另外一条厌氧氨氧化反应代谢途径去除的: $\text{NH}_2\text{OH}$  与  $\text{NO}_2^-$  在缺氧条件下被转化为  $\text{N}_2\text{O}$ , $\text{N}_2\text{O}$  则进一步被转化为  $\text{N}_2$  而实现氮的去除,同时  $\text{NH}_4^+$  被氧化为  $\text{NH}_2\text{OH}$ 。该途径中  $\text{NH}_4^+$  转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$  的反应和  $\text{N}_2\text{O}$  转化为  $\text{N}_2$  的反应可能是相互耦合的过程,但关于这点还需进一步证实。

**关键词:**单级自养脱氮;厌氧氨氧化;中间产物;代谢途径

中图分类号:X703.1

文献标志码:A

## Anaerobic ammonium oxidation in a one-step, completely autotrophic nitrogen removal system

GUO Jin-song, YANG Guo-hong, FANG Fang, QIN Yu

(Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-environment,  
Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400030, P. R. China)

**Abstract:** We explore the characteristics of anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX) using sludge drawn from a one-step, completely autotrophic nitrogen removal system. Batch experiments are adopted. The quality and quantity of the intermediates formed in the system are analyzed. The results show that the sludge possesses the ANAMMOX function. Some of the  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_2^-$  are removed in the ANAMMOX metabolic pathway. That is to say,  $\text{NO}_2^-$  first is reduced to  $\text{NH}_2\text{OH}$ , and then  $\text{NH}_2\text{OH}$  reacts with  $\text{NH}_4^+$  to form  $\text{N}_2\text{H}_4$ , which subsequently is converted to  $\text{N}_2$ . Other portions of the  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_2^-$  are removed in a different ANAMMOX metabolic pathway in which the  $\text{NH}_2\text{OH}$  and  $\text{NO}_2^-$  are converted to  $\text{N}_2\text{O}$ , then the  $\text{N}_2\text{O}$  is converted to  $\text{N}_2$ , and  $\text{NH}_4^+$  is converted to  $\text{NH}_2\text{OH}$ . The coupling between the  $\text{NH}_4^+$  to  $\text{NH}_2\text{OH}$  conversion process and the process of  $\text{N}_2\text{O}$  being converted to  $\text{N}_2$  needs further research.

**Key words:** one-step completely autotrophic nitrogen removal; anaerobic ammonium oxidation (ANAMMOX); intermediates; metabolic pathway

收稿日期:2009-02-17

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50608071);教育部科学技术研究重大项目(308020);重庆大学研究生创新项目(200801A1A0180277)

作者简介:郭劲松(1963-),男,重庆大学教授,博士生导师,主要研究方向为水污染控制理论与技术,(Tel)023-65120768;  
(E-mail)guo0768@126.com。

欢迎访问重庆大学期刊社网 <http://qks.cqu.edu.cn>

单级自养脱氮工艺是指在同一构筑物内、由自养菌完成由氨氮至  $N_2$  全部转化过程的一类工艺,是近 10 年来出现的一种新型脱氮工艺<sup>[1-3]</sup>,在处理垃圾渗滤液、污泥析出液和家禽粪便等高氨氮、低 C/N 比废水方面极具潜力<sup>[4-5]</sup>。目前,关于单级自养脱氮工艺机理研究的主流观点认为,单级自养脱氮工艺是由亚硝化反应和厌氧氨氧化反应联合实现的<sup>[6-7]</sup>。

厌氧氨氧化反应不同于传统的脱氮,是一种全新的脱氮途径<sup>[8-10]</sup>。Graff 等<sup>[11]</sup>采用<sup>15</sup>N 同位素示踪实验证实, $NO_2^-$  是厌氧氨氧化反应的关键电子受体。随后,Graff 等<sup>[12]</sup>又研究了厌氧氨氧化反应的代谢途径,该反应按照图 1 所示的途径进行, $NH_2OH$  和  $N_2H_4$  是厌氧氨氧化反应的重要中间产物。根据 Wood<sup>[13]</sup>和 Thauer<sup>[14]</sup>所报道的氮化合物转化的吉布斯自由能, $NH_3$  与  $NO_2^-$  反应生成  $N_2$  的总吉布斯自由能为  $\Delta G^{\circ} = -358 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $NH_3$  被氧化为  $NH_2OH$  的  $\Delta G^{\circ} = -87 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $NH_2OH$  与  $NO_2^-$  反应生成  $N_2O$  的  $\Delta G^{\circ} = -270 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 而  $N_2O$  转化为  $N_2$  的  $\Delta G^{\circ} = -341.4 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。因此,根据各反应的吉布斯自由能推测,如下的厌氧氨氧化反应途径也是可行的: $NH_3$  首先在缺氧条件下被转化为  $NH_2OH$ ,生成的  $NH_2OH$  则与  $NO_2^-$  反应生成  $N_2O$ , $N_2O$  进一步被转化为  $N_2$  而实现氮的去除。与图 1 所示的厌氧氨氧化代谢途径不同,该代谢途径中  $NH_2OH$  和  $N_2O$  是重要的中间产物, $NH_2OH$  是由  $NH_3$  转化而来的,而且  $NO_2^-$  可与  $NH_2OH$  发生反应生成  $N_2O$  和  $N_2$  从而实现氮的去除。但该代谢途径尚未得到证实。

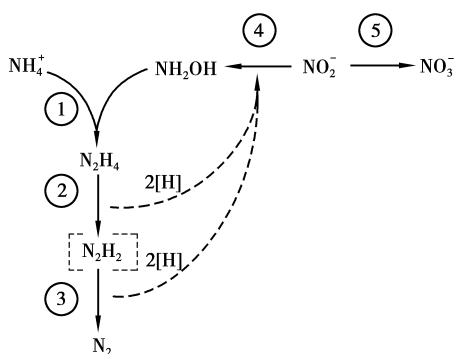


图 1 Graff 等提出的厌氧氨氧化代谢途径

研究以稳定运行的单级自养脱氮系统内的污泥为研究对象,采用批式试验的方式,考察单级自养脱氮污泥是否具有厌氧氨氧化反应功能,并在此基础上,针对厌氧氨氧化代谢途径中涉及的反应过程,配制不同的模拟含氮废水,通过分析在不同水质条件

下反应器内生成的中间产物种类及其含量,探讨系统内是否存在上述 2 条厌氧氨氧化代谢途径。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验装置与方法

用批式试验的方式,反应器容积为 500 mL 的锥形瓶,有效容积 300 mL。反应器置于可控恒温振荡培养箱中,培养箱的温度和转速分别设置为  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  和 130 r/min,反应器的温度保持在  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  左右,并使反应器内化合物与微生物充分接触。反应器接口处采用橡皮塞和玻璃胶密封以实现反应器的密闭,反应器内产生的气体经两级干燥管干燥后收集于气体采样袋(大连光明化工研究所生产,体积为 4 L)内以便于测定  $NO$ 、 $NO_2$ 、 $N_2O$  和  $N_2$  的含量。

每批试验进水在加入反应器之前,先用恒温磁力搅拌器加热至  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ,同时用过量的 Ar 曝气 30 min,使进水的温度与恒温培养箱设置的温度基本相同并驱除进水中的  $N_2$  和  $O_2$ ,曝气后进水中的 DO 低于 LDOTMHQ10 溶氧仪的检测限( $0.01 \text{ mg/L}$ )。进水加入反应器后继续用 Ar 曝气 30 min,驱除反应器内的空气,以免影响后期的测定和分析。试验过程中则用 Ar 连续曝气以保持反应器内的厌氧状态和气压平衡,曝气流量通过气体转子流量计控制在  $4\sim 6 \text{ mL/min}$ 。

批式试验运行周期为 12 h,每批试验进行 3 次平行试验,同时进行空白试验(反应器内只加废水,没有污泥)作为参比。取反应器的进水和试验周期结束时的出水,测定液相中  $NH_4^+$ 、 $NO_2^-$ 、 $NO_3^-$ 、 $NH_2OH$ 、 $N_2H_4$  和 TN 浓度,并测定所收集的反应器内生成气体的种类及其质量。同时,进行周期试验,每 2 h 取 1 次水样,分析各种氮化合物浓度在 1 个运行周期内的变化情况。

### 1.2 试验废水

试验废水为人工配置的模拟含氮废水,每批试验进水中所加的氮化合物种类根据每批试验证实的反应途径而有所不同(如表 1 所示),并加入适量的  $NaHCO_3$  使进水 pH 值为  $8.0(\pm 0.2)$ ,同时模拟废水中还加入少量的营养盐储备液( $EDTA 5.0 \text{ g/L}$ ,  $CoCl_2 \cdot 6H_2O 1.6 \text{ g/L}$ ,  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O 2.2 \text{ g/L}$ ,  $MnCl_2 \cdot 4H_2O 5.1 \text{ g/L}$ ,  $CuSO_4 \cdot 5H_2O 1.6 \text{ g/L}$ ,  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O 1.1 \text{ g/L}$ ,  $CaCl_2 \cdot 2H_2O 5.5 \text{ g/L}$ ,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O 5.0 \text{ g/L}$ )。

表 1 试验废水

批次	人工模拟废水		反应过程	代谢途径
	氮化合物	浓度/(mg·L <sup>-1</sup> )		
I	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> (以 N 计,下同)	30	NH <sub>3</sub> +NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> →N <sub>2</sub>	厌氧氨氧化反应
	NaNO <sub>2</sub>	30		
II	NaNO <sub>2</sub>	30	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> →NH <sub>2</sub> OH	Graaf 等报道的途径
	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	30		
III	NH <sub>2</sub> OHCl	30	NH <sub>3</sub> +NH <sub>2</sub> OH→N <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	Graaf 等报道的途径
	N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	30		
IV	N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	30	N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> →N <sub>2</sub>	Graaf 等报道的途径
V	NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	30	NH <sub>3</sub> →NH <sub>2</sub> OH	基于热力学计算可行的代途径
VI	NH <sub>2</sub> OHCl	30	NH <sub>2</sub> OH+NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> →N <sub>2</sub> O→N <sub>2</sub>	基于热力学计算可行的途径
	NaNO <sub>2</sub>	30		

### 1.3 污泥来源

试验所用污泥取自课题组稳定运行 2 年多的 SBBR 单级自养脱氮反应器<sup>[15-16]</sup>,接种污泥浓度为 873.6 mgMLSS/L。

### 1.4 分析测定方法

NH<sub>4</sub><sup>+</sup>:纳氏试剂分光光度法;NO<sub>2</sub><sup>-</sup>:N-1-萘基-乙二胺比色法;NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和 TN:过硫酸钾氧化-紫外分光光度法;MLSS:标准重量法<sup>[17]</sup>。

NH<sub>2</sub>OH 和 NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> 的测定方法分别参照 Frear<sup>[18]</sup>和 Yatslmlrsky<sup>[19]</sup>所描述的方法进行。

NO 和 NO<sub>2</sub> 的浓度用 42C NO-NO<sub>2</sub>-NO<sub>x</sub> Analyzer(Thermo Scientific 公司,美国)进行测定。

N<sub>2</sub>O 采用配置有 ECD 检测器的惠普 5890 气相色谱仪(惠普公司,美国)进行检测。

N<sub>2</sub> 采用配置有 TCD 检测器的 SC-6000 气相色谱仪(重庆川仪,中国)进行测定。

pH: Sension2 型便携式 pH/ISE 测量仪(Hach 公司,美国);溶解氧:LDOTMHQ10 便携式溶解氧测量仪(Hach 公司,美国)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同进水水质条件下氮化合物转化情况

分别以表 1 中的人工模拟废水为反应器进水,向反应器中充入 Ar,同时收集反应器内生成的气体,周期结束后检测系统进出水中中和反应器内生成气体中氮化合物的种类及其含量。在不同进水水质和运行条件下,系统内氮化合物的转化情况如表 2 所示。

表 2 不同进水水质条件下单级自养脱氮系统出水氮化合物质量

进水	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>2</sub> OH	N <sub>2</sub> H <sub>4</sub>	NO	NO <sub>2</sub>	N <sub>2</sub> O	N <sub>2</sub>
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> /NaNO <sub>2</sub>	5.93	5.56	0.97	0.077	0.052	0.001 5	0.000 31	0.000 56	5.06
NaNO <sub>2</sub>		5.57	0.05	1.68					
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub> /NH <sub>2</sub> OHCl	6.26	0.027	—	5.18	2.01				
N <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O					2.24	—	—	—	5.58
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	8.65	—	0.06	—	—	—		0.000 76	—
NH <sub>2</sub> OHCl/NaNO <sub>2</sub>		2.99	0.09	0.91		0.013	0.002 8	1.23	5.93

注:表中空白处表示为检测该物质,“—”表示未检测出该物质的浓度,表中氮化合物的浓度均以 N 计

### 2.2 单级自养脱氮污泥的厌氧氨氧化反应功能

以同时含有 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的废水 I 为试验用水,试验过程中采用 Ar 进行曝气。反应器出水中可以检测到少量的 NH<sub>2</sub>OH、N<sub>2</sub>H<sub>4</sub> 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的存在,且收集的气体中有 5.06 mg 的 N<sub>2</sub>(如表 2 所示),说明系统内发生了厌氧氨氧化反应,根据氮素质量平衡的计算,参与反应的大部分 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 被转化为 N<sub>2</sub> 得以去除。同时收集的气体中还检测到极少

量 NO、NO<sub>2</sub> 和 N<sub>2</sub>O。Wyffels<sup>[20]</sup>和 Graaf 等<sup>[21]</sup>的研究结果均表明,少量异养菌可以通过吞噬死细菌和进行内源呼吸而在自养反应器内得以生存。而反硝化菌可以把 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 转化为 NO、NO<sub>2</sub> 和 N<sub>2</sub>O 并从中获得能量使自身得到增殖,并且与厌氧氨氧化菌相似,反硝化菌也需要在缺氧的环境下生长。据此推测,反应器内可能存在少量的反硝化菌,部分 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 被反硝化菌转化为 NO、NO<sub>2</sub> 和 N<sub>2</sub>O。

运行周期内各氮化合物的浓度变化情况如图2所示。 $\text{NH}_4^+$ 的降解速率与 $\text{NO}_2^-$ 相当,二者的比值为1:1.12,与Strous<sup>[22]</sup>报道的厌氧氨氧化反应中 $\text{NH}_4^+$ 与 $\text{NO}_2^-$ 的反应比值基本一致,说明单级自养脱氮污泥具有厌氧氨氧化反应功能。

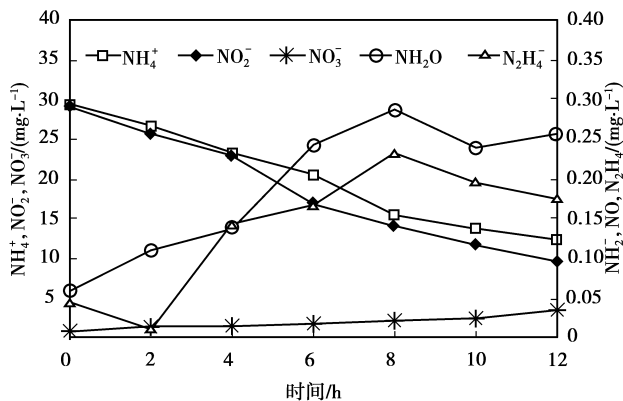


图2 以模拟废水 I 为进水时氮化合物转化情况

## 2.3 厌氧氨氧化反应代谢途径

### 2.3.1 Graaf 等报道的厌氧氨氧化代谢途径

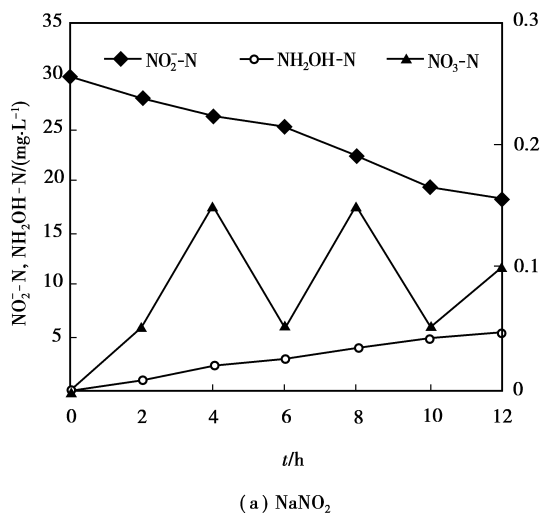
分别采用人工模拟废水 II、III 和 IV 为试验用水,并采用 Ar 进行曝气,以考察系统内是否存在 Graaf 等<sup>[12]</sup>报道的厌氧氨氧化代谢途径。

#### 1) $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_2\text{OH}$

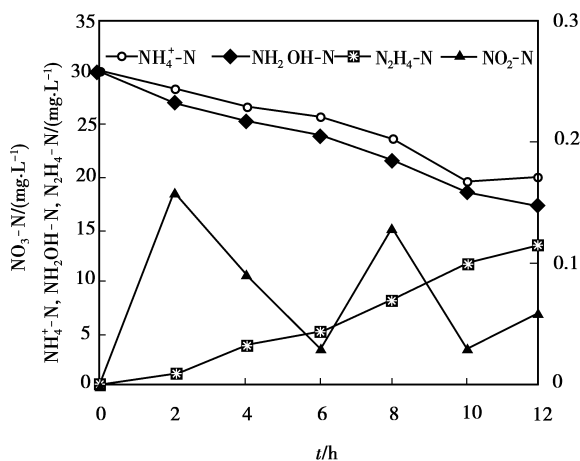
试验结果可知,在以仅含  $\text{NO}_2^-$  的废水 II 为反应器进水的情况下,12 h 后系统内有 1.68 mg  $\text{NH}_2\text{OH}$  生成。1 个运行周期内  $\text{NO}_2^-$ 、 $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NH}_2\text{OH}$  浓度的变化情况如图 3(a) 所示, $\text{NO}_2^-$  的降解速率 0.97 mg/L·h,以 N 计,下同是  $\text{NH}_2\text{OH}$  生成速率(0.45 mg/(L·h) 的 2.16 倍,而系统内  $\text{NO}_3^-$  的浓度一直很低,最高只有 0.15 mg/L。在厌氧条件下, $\text{NO}_2^-$  被微生物转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$  的反应是存在的。但是系统内减少的  $\text{NO}_2^-$  的量(3.43 mg)远远高于  $\text{NH}_2\text{OH}$  的生成量(1.68 mg),因为生成的  $\text{NH}_2\text{OH}$  与剩余的  $\text{NO}_2^-$  反应生成了  $\text{N}_2\text{O}$  和  $\text{N}_2$  等物质。

#### 2) $\text{NH}_3 + \text{NH}_2\text{OH} \rightarrow \text{N}_2\text{H}_4$

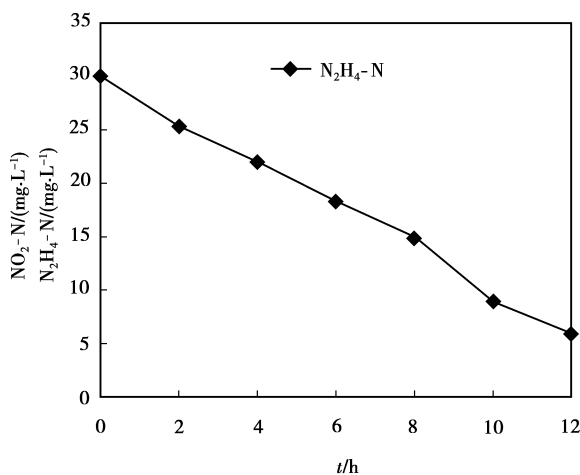
在同时含有  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NH}_2\text{OH}$  的模拟废水 III 为反应器进水的情况下,液相中主要产物为  $\text{N}_2\text{H}_4$ ,浓度为 13.34 mg/L。 $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{NH}_2\text{OH}$ 、 $\text{N}_2\text{H}_4$  和  $\text{NO}_2^-$  的浓度在 1 个运行周期内的变化情况如图 3(b) 所示, $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NH}_2\text{OH}$  的浓度均快速下降, $\text{N}_2\text{H}_4$  的浓度随着时间的增加而增加,说明存在  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NH}_2\text{OH}$  在厌氧条件下被转化为  $\text{N}_2\text{H}_4$  的代谢途径。同时检测到反应器内有少量  $\text{NO}_2^-$  生成,但系统内转化掉的  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NH}_2\text{OH}$  的总量(6.56 mg)高于



(a)  $\text{NaNO}_2$



(b)  $\text{NH}_4\text{HCO}_3/\text{NH}_2\text{OHCl}$



(c)  $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$

图3 以模拟废水 II、III 和 IV 为实验用水时氮转化情况

系统内生成的  $\text{N}_2\text{H}_4$  和  $\text{NO}_2^-$  的总量(4.02 mg),有一部分氮化合物以其他形式逸出反应器。

#### 3) $\text{N}_2\text{H}_4 \rightarrow \text{N}_2$

以仅含  $\text{N}_2\text{H}_4$  的废水 IV 为试验用水时,周期结

束后出水中  $\text{N}_2\text{H}_4 - \text{N}$  只有  $7.47 \text{ mg/L}$ 。1 个运行周期内  $\text{N}_2\text{H}_4$  的浓度变化情况如图 3(c) 所示,  $\text{N}_2\text{H}_4$  的浓度随着时间快速降低, 降解速率为  $1.99 \text{ mg}/(\text{L} \cdot \text{h})$ , 同时收集到的气体中可以检测到  $5.58 \text{ mg}$  的  $\text{N}_2$  存在, 但基本未检测到  $\text{NO}$ 、 $\text{NO}_2$  和  $\text{N}_2\text{O}$ , 表明  $\text{N}_2\text{H}_4$  在微生物的作用下主要被转化为  $\text{N}_2$  而得以去除, 说明以同时含有  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NH}_2\text{OH}$  的模拟废水为反应器进水时, 逸出反应器的氮化合物主要是  $\text{N}_2$ 。

由上述实验结果可知, 系统内存在 Graaf 等<sup>[12]</sup> 报道的厌氧氨氧化代谢途径, 部分  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_2^-$  是通过该代谢途径去除的。

### 2.3.2 厌氧氨氧化代谢途径研究

分别采用人工模拟废水 V 和 VI 为试验用水, Ar 进行曝气, 检测系统内生成的氮化物的种类及其质量, 并结合模拟废水 I 的研究结果, 分析是否存在基于热力学计算可行的厌氧氨氧化代谢途径。

#### 1) $\text{NH}_3 \rightarrow \text{NH}_2\text{OH}$

以只含  $\text{NH}_4^+$  的模拟废水 V 为反应器进水, 并用 Ar 进行曝气, 反应器内的 DO 低于溶氧仪的检测限 ( $0.01 \text{ mg/L}$ ), 周期结束后反应器出水氨氮为  $28.83 \text{ mg/L}$ , 与空白反应器出水氨氮浓度基本相当, 并且出水中没有检测到  $\text{NH}_2\text{OH}$  和  $\text{N}_2\text{H}_4$  等中间产物生成, 即只有  $0.35 \text{ mg}$  的氨氮在吹脱作用下随 Ar 一起逸出反应器。因此, 可以认为, 在厌氧条件下氨氮没有在微生物的作用下发生转化。

#### 2) $\text{NH}_2\text{OH} + \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$

以含有  $\text{NH}_2\text{OH}$  和  $\text{NO}_2^-$  的人工模拟废水 VI 为试验废水, 并采用 Ar 进行曝气。每 2 h 检测 1 次系统水质变化情况 (如图 4 所示)。  $\text{NH}_2\text{OH}$  和  $\text{NO}_2^-$  的浓度均随时间的变化快速下降, 而  $\text{NH}_2\text{OH}$  的降解速率较  $\text{NO}_2^-$  稍快一些, 比值为  $1:1.27$ , 系统中的  $\text{NO}_3^-$  浓度较低, 最高只有  $0.15 \text{ mg/L}$ 。运行周期结束后, 收集的气体中可以检测到  $\text{NO}$ 、 $\text{NO}_2$ 、 $\text{N}_2\text{O}$  和  $\text{N}_2$  的存在, 且生成的气体中主要为  $\text{N}_2\text{O}$  和  $\text{N}_2$ , 分别占氮类气体总质量的  $17.14\%$  和  $82.64\%$ 。表明  $\text{NH}_2\text{OH}$  与  $\text{NaNO}_2$  在厌氧条件下发生反应, 生成的主要产物是  $\text{N}_2\text{O}$  和  $\text{N}_2$ 。

由以上试验结果可知, 在厌氧条件下,  $\text{NH}_4^+$  与  $\text{NO}_2^-$  以  $1:1.12$  的比例发生反应, 生成的中间产物中可以检测到  $\text{NH}_2\text{OH}$  和  $\text{N}_2\text{O}$ , 而且  $\text{NH}_2\text{OH}$  与  $\text{NO}_2^-$  以  $1:1.27$  的比例发生反应, 生成的气态氮化合物中  $\text{N}_2\text{O}$  和  $\text{N}_2$  分别占气体总质量的  $17.14\%$  和  $82.64\%$ , 从一定程度上证实了基于热力学计算可行的厌氧氨氧化反应途径是存在的。

根据热力学计算的结果,  $\text{NH}_4^+$  转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$  的反应和  $\text{N}_2\text{O}$  转化为  $\text{N}_2$  的反应均是产能过程, 可

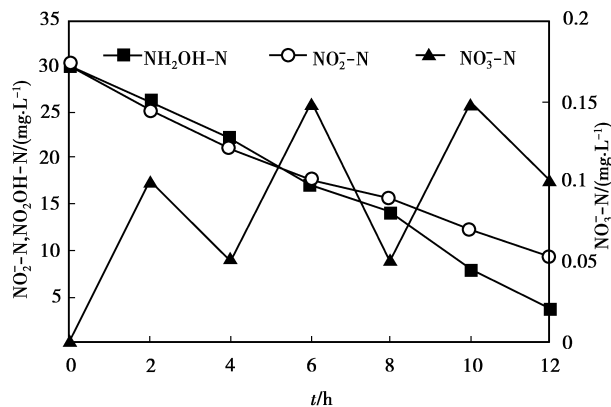


图 4 以模拟废水 VI 为进水时氮转化情况

以自发进行, 但在厌氧条件下,  $\text{NH}_2\text{OH}$  中的氧原子从何而来是个疑问, 与之相反的是,  $\text{N}_2\text{O}$  转化为  $\text{N}_2$  之后, 氧原子的去向也不清楚。根据 Zart 等<sup>[23]</sup> 的研究结果, 在缺氧条件下,  $\text{NO}$  和  $\text{NO}_2$  可以为  $\text{NH}_3$  的氧化过程提供氧。在研究中, 仅有  $\text{NH}_4^+$  存在的情况下,  $\text{NH}_4^+$  没有被微生物所代谢。由此推测,  $\text{NH}_4^+$  转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$  的反应和  $\text{N}_2\text{O}$  转化为  $\text{N}_2$  的反应是同步进行的,  $\text{N}_2\text{O}$  转化为  $\text{N}_2$  的反应为  $\text{NH}_4^+$  转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$  的反应提供了氧, 这 2 个反应在氧原子和能量等方面是相互耦合的过程, 厌氧氨氧化的代谢途径如图 5 所示, 但  $\text{NH}_4^+$  转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$  的反应和  $\text{N}_2\text{O}$  转化为  $\text{N}_2$  的反应的相耦合还需进一步的深入研究。

## 3 结 论

采用批式试验的方式, 以单级自养脱氮污泥为研究对象, 以含有不同氮化物的人工配制废水为试验用水, 通过分析不同进水水质条件下系统内生成中间产物的种类及其含量, 研究了单级自养脱氮污泥的厌氧氨氧化反应功能, 并进一步从物质转化角度证实了厌氧氨氧化反应的代谢途径, 得出以下主要结论:

1) 以仅含  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_2^-$  的模拟含氮废水为反应器进水, 且采用 Ar 进行曝气以保持反应器的厌氧状态, 在反应器的一个运行周期 (12 h) 内,  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_2^-$  的浓度随时间以  $1:1.12$  的比例逐渐下降, 收集的气体中有  $5.06 \text{ mg}$  的  $\text{N}_2$ , 说明单级自养脱氮污泥具有厌氧氨氧化反应的功能。

2) 证实了部分  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_2^-$  是按照 Graaf 提出的厌氧氨氧化代谢途径去除的: 即  $\text{NO}_2^-$  首先被还原为  $\text{NH}_2\text{OH}$ , 生成的  $\text{NH}_2\text{OH}$  则与系统内的  $\text{NH}_4^+$  反应生成  $\text{N}_2\text{H}_4$ ,  $\text{N}_2\text{H}_4$  继续被转化为  $\text{N}_2$  而实现氮的去除。

3) 从一定程度上证实了部分  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_2^-$  是

按照另外一条基于热力学计算可行的厌氧氨氧化反应代谢途径去除的:即  $\text{NH}_2\text{OH}$  与  $\text{NO}_2^-$  在缺氧条件下被转化为  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  则进一步被转化为  $\text{N}_2$  而实现氮的去除,同时  $\text{NH}_4^+$  被氧化为  $\text{NH}_2\text{OH}$ 。该途径中  $\text{NH}_4^+$  转化为  $\text{NH}_2\text{OH}$  的反应和  $\text{N}_2\text{O}$  转化为  $\text{N}_2$  的反应可能是相互耦合的过程,但关于还需进一步证实。

#### 参考文献:

- [1] SUN G Z, AUSTIN D. Completely autotrophic nitrogen-removal over nitrite in lab-scale constructed wetlands: Evidence from a mass balance study [J]. *Chemosphere*, 2007, 68(6):1120-1128.
- [2] SLIEKERS A O, DDEWORTH N, GOMEZ J L C, et al. Completely autotrophic nitrogen removal over nitrite in one single reactor [J]. *Water Research*, 2002, 36(10): 2475-2482.
- [3] GONG Z, YANG F L, LIU S T, et al. Feasibility of a membrane-aerated biofilm reactor to achieve single-stage autotrophic nitrogen removal based on Anammox [J]. *Chemosphere*, 2007, 69(5):776-784.
- [4] AHN Y H, CHOI H C. Autotrophic nitrogen removal from sludge liquids in upflow sludge bed reactor with external aeration [J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41(9): 1945-1950.
- [5] DONG X, TOLLNER E W. Evaluation of anammox and denitrification during anaerobic digestion of poultry manure [J]. *Bioresource Technology*, 2003, 86(2):139-145.
- [6] GONG Z, LIU S T, YANG F L, et al. Characterization of functional microbial community in a membrane-aerated biofilm reactor operated for completely autotrophic nitrogen removal [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(8):2749-2756.
- [7] NIELSEN M, BOLLMANN A, SLIEKERS O, et al. Kinetics, diffusional limitation and microscale distribution of chemistry and organisms in a CANON reactor [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 51(2):247-256.
- [8] NAKAJIMA J, SAKKA M, KIMURA K, et al. Enrichment of anammox bacteria from marine environment for the construction of a bioremediation reactor [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2008, 77(5):1159-1166.
- [9] RATTARY, J E, VAN DE VOSSENBERG J, HOPMANS E C, et al. Ladderane lipid distribution in four genera of anammox bacteria [J]. *Archives of Microbiology*, 2008, 190(1):51-66.
- [10] LIU S T, YANG F L, XUE Y, et al. Evaluation of oxygen adaptation and identification of functional bacteria composition for anammox consortium in non-woven biological rotating contactor [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(17): 8273-8279.
- [11] GRAAF A A, MULDER A, BRUIJIN P, et al. Anaerobic oxidation of ammonia is a biologically mediated process [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(4):1246-1251.
- [12] GRAAF A A, BRUIJIN P, ROBERTSON L A, et al. Metabolic pathway of anaerobic ammonium oxidation on the basis of  $^{15}\text{N}$  studies in a fluidized bed reactor [J]. *Microbiology*, 1997, 143(7):2415-2421.
- [13] WOOD P M. Nitrification as a bacterial energy source [C]. In *Nitrification*. Oxford, UK: IRL Press, 1986:39-62.
- [14] THANER R K, JUNGERMANN K, DECKER K. Energy conversation in chemotrophic anaerobic bacteria [J]. *Bacterial Rev*, 1977, 41:100-180.
- [15] 方芳,杨国红,郭劲松,等. DO和曝停比对单级自养脱氮工艺影响试验研究 [J]. *环境科学*, 2007, 28(9): 1975-1980.
- FANG FANG, YANG GUO-HONG, GUO JIN-SONG, et al. Influence of DO and aeration/non-aeration ratio on one-step SBBR completely autotrophic nitrogen removal process [J]. *Environmental Science*, 2007, 28(9):1975-1980.
- [16] 郭劲松,方芳,罗本福,等. 生物膜 SBR 反应器中低氨氮浓度废水亚硝化启动试验研究 [J]. *环境科学*, 2006, 27(4):686-690.
- GUO JIN-SONG, FANG FANG, LUO BEN-FU, et al. Start up experiment on nitrification of mid-low ammonia concentration wastewater in SBR Biofilm reactor [J]. *Environmental Science*, 2006, 27(4):686-690.
- [17] 国家环保局. 水和废水监测分析方法 [M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [18] FREAR D S, BURREL R C. Spectrophotometric method for determining hydroxylamine reductase activity in higher plants [J]. *Analytical Chemistry*, 1955, 27(10): 1664-1665.
- [19] YATSLMLRSKY A K, YATSLMLRSKAYA N T, KASHINA S B. Micellar catalysis and product stabilization in hydrazone formation reactions and micellar-modified determination of hydrazine and phenyl hydrazine [J]. *Analytical Chemistry*, 1994, 66:2232-2237.
- [20] WYFFELS S, VAN HULL S W H, BOECK P, et al. Modelling and simulation of oxygen-limited partial nitritation in a membrane-assisted bioreactor [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2004, 86:531-542.
- [21] GRAAF A A, BRUIJIN P, ROBERTSON P, et al. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor [J]. *Microbiology*, 1996, 142:2187-2196.
- [22] 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]. *Appl Microbiol Biol*, 1998, 50(5): 589-596.
- [23] ZART D, BOCK E. High rate of aerobic nitrification and denitrification by *Nitrosomonas eutropha* grown in a fermenter with complete biomass retention in the presence of gaseous  $\text{NO}_2$  or  $\text{NO}$  [J]. *Arch Microbiol* 1998; 169(4):282-286.

(编辑 陈移峰)