

彭永臻, 孙洪伟, 杨庆. 2008. 短程硝化的生化机理及其动力学 [J]. 环境科学学报, 28(5): 817 - 824  
Peng Y Z, Sun H W, Yang Q. 2008. The biochemical reaction mechanism and kinetics of partial nitrification [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 28(5): 817 - 824

## 短程硝化的生化机理及其动力学

彭永臻\*, 孙洪伟, 杨庆

北京工业大学, 北京市水质科学与水环境恢复工程重点实验室, 北京 100022

收稿日期: 2007-06-01      录用日期: 2008-03-12

**摘要:** 短程硝化的生化反应机理和动力学是生物脱氮技术的理论基础, 同时也是生物脱氮工艺设计、运行科学化和合理化的重要依据。基于短程硝化的生化机理、氨氧化菌的电子传递(能量产生)模式, 从微生物学和化学计量学两个方面详细论述了短程硝化一系列复杂的生化反应过程。由此可知, 短程硝化是一个涉及多种酶及多种中间产物, 并伴随着电子(能量)传递的复杂生化反应过程, 是基质( $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ )利用(产能代谢)和微生物(氨氧化菌)增殖(合成代谢)两类反应的综合, 因此, 研究氨氮比利用速率和氨氧化菌比增殖速率动力学则是对短程硝化反应的深层次研讨。并建议采用积分法和微分法来确定动力学参数  $\mu_{\max}$ 、 $K_N$ 、 $v_{\max}$ 。

**关键词:** 短程硝化; 生化机理; 动力学; 电子传递; 化学计量学

文章编号: 0253-2468(2008)05-817-08      中图分类号: X703.1      文献标识码: A

## The biochemical reaction mechanism and kinetics of partial nitrification

PENG Yongzhen\*, SUN Hongwei, YANG Qing

Key Laboratory of Beijing Water Quality Science and Water Environment Recovery Engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100022

Received 1 June 2007;      accepted 12 March 2008

**Abstract:** The biochemical reaction mechanism and kinetics of partial nitrification are the foundation of biological nitrogen removal and they are important for biological denitrification process design and proper operation. The complex biochemical reaction of partial nitrification is described from the microbiology and stoichiometry on the basis of the electron flow (energy production) pathway. By these, we know that partial nitrification involves a series of complex biochemical reactions concerning many intermediates, accompanied with electron flow (energy production). At the same time, it is the synthesis of two reactions-ammonia-N utilization and ammonia-oxidizing bacterial growth-which need further study. Integral and differential methods are adapted to obtain the values of the kinetics constants.

**Keywords:** partial nitrification; biochemical mechanism; kinetics; electron flow; stoichiometry

### 1 引言( Introduction)

目前, 随着世界各国污水排放标准的不断提高, 许多新建、现存及改造的污水处理厂都面临着更严格的氮排放标准, 也就是面临着如何使生物脱氮工艺设计、运行更合理化、科学化而达到排放标准的问题。能否为特定任务选择和设计合理的反应器, 主要取决于对处理系统中各种反应过程重要性的认识程度和定量表达相关反应速率的能力(Grady *et al.*, 1999)。微生物比增殖速率和基质比利用速率是与反应器设计密切相关的动力学参数, 因为两

者分别与决定反应器运行状态的污泥龄( sludge retention time, SRT) 和水力停留时间( hydraulic retention time, HRT) 直接相关联( Metcalf *et al.*, 2003), 所以生物脱氮动力学是深入研究生物脱氮技术的基础。

由于短程硝化是硝化过程反应速度的控制步骤( Han *et al.*, 2003), 是生物脱氮的必要条件。只有对短程硝化的生化反应机理、电子传递(能量产生)模式、化学计量关系及动力学参数等方面充分理解的前提下, 才能使短程硝化反应系统的设计和运行更合理化、科学化, 从而促进生物脱氮技术的进一

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划重点项目(No. 2006BAC19B03); 北京工业大学第六届研究生科技基金项目(No. ykj-2007-1161)

Supported by the Key Technologies R&D Program for the 11th Five-Year Plan(No. 2006BAC19B03) and the Sixth S & T Programme for the Graduate Students of BJUT (No. ykj-2007-1161)

作者简介: 彭永臻(1949—), 男, 教授(博士), E-mail: pyz@bjut.edu.cn; \* 通讯作者(责任作者)

Biography: PENG Yongzhen(1949—), male, professor(Ph. D.), E-mail: pyz@bjut.edu.cn; \* Corresponding author

步发展.

## 2 短程硝化的生化机理 (The mechanism of partial nitrification)

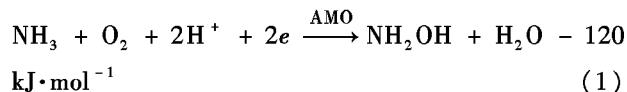
在短程硝化过程中, 氨氮在氨氧化菌的作用下转化为亚硝态氮 ( $\text{NH}_4^+ - \text{N} \rightarrow \text{NO}_2^- - \text{N}$ ) ( Metcalf *et al.*, 2003). 氨氧化菌 (ammonium oxidation bacteria, AOB) 以亚硝酸盐单胞菌属和亚硝酸盐球菌属为主, 主要包括 *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio* 等 5 类细菌 ( Koops *et al.*, 1991). 从进化谱系上看 ( Koops *et al.*, 1990; Head *et al.*, 1993; Purkhold *et al.*, 2000), 目前所分离出来的 AOB 都被归入  $\beta$ -Proteobacteria 纲和  $\gamma$ -Proteobacteria 纲. 从微生物营养类型角度划分 ( Bock *et al.*, 1991), 他们属于化能自养专性好氧菌, 革兰氏染色呈阴性, 不具有光合色素, 不能进行光合作用. 氨氮氧化为亚硝态氮过程所释放的能量是他们获得能量的唯一方式, 二氧化碳是其碳源.

近年来, 国外学者在短程硝化的生化机理等方面进行了深入研究, 尤其在基于微生物酶的角度对氨氧化菌的电子传递及能量产生等方面. 目前, 广泛认可的短程硝化的生化机理模型和氨氧化菌电子传递模式是 Wood 等 (1988a; 1988b)、Bergmann 等 (1994a; 1994b; 1994c) 众多学者经过不断深入研究而提出的. 然而, 这些研究都是建立在 Yamanaka 等 (1974) 假设了电子传递是从羟氨氧还酶 (hydroxylamine oxidoreductase, HAO) 到终端氧化酶基础之上的.

### 2.1 短程硝化的物质转化途径

短程硝化过程从微生物学角度看, 并非仅仅是氨氮转化为亚硝态氮这样简单, 而是涉及多种酶及多种中间产物, 并伴随着电子传递及能量产生的复杂生化反应过程. 根据 Wood 等 (1988a; 1988b) 提出的理论, 氨氮氧化亚硝态氮是分两步进行的生化反应过程.

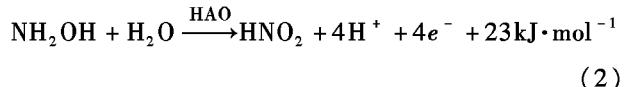
第一步:  $\text{NH}_3$  (非  $\text{NH}_4^+$ ) 在氨单加氧酶 (ammonia monooxygenase, AMO) (Wood, 1986) 的作用下被氧化成羟氨  $\text{NH}_2\text{OH}$ , 反应式为:



氨氧化成羟氨所需的一个氧原子来源于分子氧, 同时需要两个外源电子将双氧中的另外一个氧原子还原为水 (Endersson *et al.*, 1983), 这两个电子

来自羟氨的氧化, 通过 HAO 和细胞色素  $bc_1$  传递给 AMO. 氧还原成水所需的两个  $\text{H}^+$  来源于细胞质内  $\text{H}_2\text{O}$  的分解. 反应过程放出  $120 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$  的能量, 羟胺是能量产生的真正基质. Suzuki 等 (1974; 1981) 研究表明, AMO 是一种包括双铜中心的酶, 位于细胞质膜中, 拥有很高的基质特异性, AOB 的基质是  $\text{NH}_3$ , 而不是  $\text{NH}_4^+$ , 这与 AMO 可能位于细胞质膜中的结论是一致的, 因为细胞膜对于  $\text{NH}_3$  是很容易渗透的, 而对  $\text{NH}_4^+$  是不易渗透的.

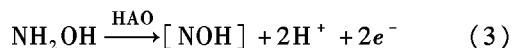
第二步: 在羟氨氧还酶 (hydroxylamine oxidoreductase, HAO) 的作用下, 羟胺被氧化成亚硝态氮, 其反应式为:



从反应式(2)可以看出, 羟氨氧化所需的氧来源于细胞质内的水分子, 同时转移出 4 个电子和 4 个  $\text{H}^+$ , 该反应是吸能的, 需要  $23 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$  的能量. Wood (1986) 和 Hoppert 等 (1995) 研究表明, HAO 是羟氨氧化过程中的关键酶, 由多个血红色素组成, 位于细胞膜外周胞质中. Arciero 和 Hooper 等 (1993) 测定了这种合成酶的相对分子质量为 180, 315—319, 315.

Andersson 和 Hooper (1983) 提出了羟胺氧化成亚硝态氮也是分两步进行的, 反应过程产生 4 个电子和一个与酶结合的中间产物 (NOH), 每一步分别移出 2 个电子和 2 个  $\text{H}^+$ .

第一步: 在羟氨氧还酶的作用下, 羟氨被氧化成硝酰基.



第二步: 在羟氨氧还酶的作用下, 硝酰基被氧化成亚硝态氮.



Hooper 和 Terry 等 (1979), Zart 等 (2000) 对羟氨氧化为亚硝态氮的中间产物进行了深入研究, 结果表明, 中间产物除 NOH 外, 在 *Nitrosomonas europaea* 的细胞自由提取物中, 发现 NO 可能是另一种中间产物. 通过同位素  $^{15}\text{N}$  示踪试验显示, NO 是羟胺氧化产生的, 而不是由亚硝态氮还原产生的.

对于上述研究需要说明的是, 所有的生化反应都是基于氨是最主要的基质, 羟胺是真正能源这个假设基础上的. 因为对于自养氨氧化菌, 氨和羟氨耦合的复杂机理目前还不清楚, 所以目前的研究只

能是假定。

## 2.2 短程硝化过程的电子传递模式

在短程硝化物质转换途径的基础上,结合其生化反应过程及电子传递模式图1,来详细描述短程硝化的电子传递过程。从生化反应式(1)可以看出,氨氧化为羟胺需要两个电子。从生化反应式(2)和氨氧化菌的电子传递模式图1可以看出,在羟氨氧化过程中,产生4个电子,同时涉及到AMO、HAO及c-型色素等几种重要的酶,这几种酶都需要从羟胺氧化成亚硝态氮中获得电子,并通过电子传递链传递给终端电子受体。要弄清楚氨氧化菌的电子传递模式,首先要了解电子传递链(Madigan et al., 1997)。氨氧化菌的电子传递链是由与细胞膜紧密结合的电子载体(NAD或NADH,细胞色素c,细胞色素bc<sub>1</sub>复合物,及细胞色素aa<sub>3</sub>等)组成的电子传递体系。该传递链主要有两种功能:①从一个电子供体接受电子并把它传递给另一个电子受体;②存储电子传递过程中释放的能量,用于驱动ATP的合成。电子之所以能够沿着电子传递链进行传递并在传递过程中产生能量,是因为传递链内电子载体的还原电动势E'不同,电子按还原电动势增加的方向进行传递。也就是说,电子载体可以把电子传递给另一个比它具有更高还原电动势的电子载体,同时本身可以接受比它还原电动势低的电子载体提供的电子。这样由于载体间的还原电动势的不同而驱动了电子从电动势低的载体向电动势高的载体的传递,同时产生了电势能。氨氧化菌细胞膜内电

子传递载体的还原电动势大小顺序为(Hooper et al., 1972):底物(NH<sub>3</sub>,电子供体)< NAD+/NADH<细胞色素bc<sub>1</sub><细胞色素c<细胞色素aa<sub>3</sub><O<sub>2</sub>(终端电子受体)。Yamanaka等(1974)提出了从HAO到终端氧化酶的电子传递路径,具体如下: HAO→Cyt·c<sub>554</sub>(细胞色素c<sub>554</sub>)→Cyt·c<sub>552</sub>(细胞色素c<sub>552</sub>)→Cyt·aa<sub>3</sub>(细胞色素aa<sub>3</sub>,终端氧化酶)。可以将此途径与氨氧化菌的电子流动模式图结合起来描述氨氧化菌的电子传递过程。羟胺被氧化释放出4个电子,首先流向电子传递的第一个节点Cyt·c<sub>554</sub>。Cyt·c<sub>554</sub>是一个分子量为25kDa的亚铁血红色素蛋白,作为电子的携带体,它是电子传递过程中起主要作用的角色之一(Hommes et al., 1994)。在第一个节点处分叉,4个电子中的两个流向电子传递的第二节点Cyt·c<sub>552</sub>,用于产生质子驱动力(Ferguson et al., 1982),同时,另外两个电子通过细胞色素cyt·bc<sub>1</sub>传递给AMO,来完成氨氧化成羟胺的反应,这一个过程是必须的,因为此过程可以产生更多的羟胺,使反应得以循环进行。通过第二个节点Cyt·c<sub>552</sub>的两个电子最终传递给终端细胞色素cyt·aa<sub>3</sub>氧化酶,或者亚硝态氮氧还酶。Kurokawa等(1987)指出,每经过一定周期,就会有两个电子通过细胞色素cyt·bc<sub>1</sub>被逆向传递给NAD,使其被还原成NADH,来合成ATP。在此过程中,Cyt·aa<sub>3</sub>起着终端氧化酶的作用,最后 $\frac{1}{2}$ O<sub>2</sub>被还原成水,至此完成短程硝化的电子传递。

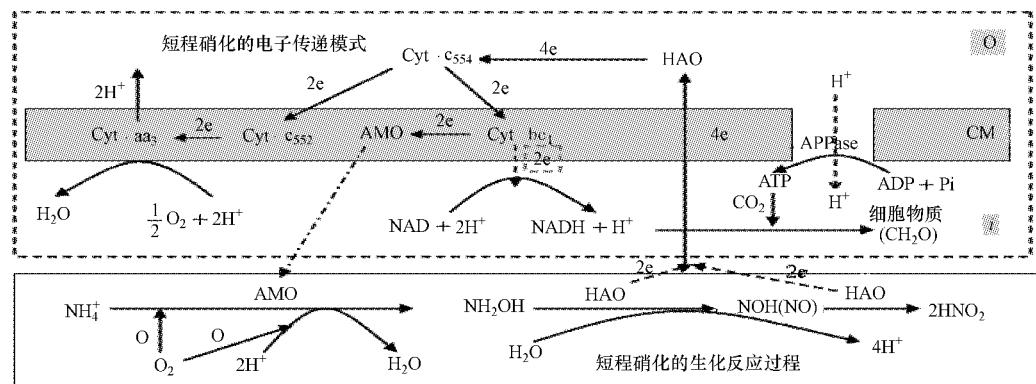


图1 短程硝化的生化反应过程及电子传递模式(CM. 细胞质膜,O. 细胞膜外部,i. 细胞膜内部; HAO. 羟氨氧化酶, AMO. 氨氮加氧酶, Cyt·c<sub>554</sub>. 细胞色素c<sub>554</sub>, Cyt·c<sub>552</sub>. 细胞色素c<sub>552</sub>, Cyt·aa<sub>3</sub>. 细胞色素aa<sub>3</sub>, Cyt·bc<sub>1</sub>. 细胞色素bc<sub>1</sub>复合物,NAD. 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸, ATPase-ATP合成酶,ATP. 三磷酸腺嘌呤核苷酸)

Fig. 1 Biological reaction of nitrite and electron flow in ammonia-oxidizing bacteria

## 2.3 短程硝化过程的能量产生

众所周知,在短程硝化过程中,氨氧化菌维持

正常生理活动及合成新细胞均需要能量,这些能量主要来源于生物体内的能量载体ATP(Seviour

*et al.*, 1999). 所以了解氨氧化菌体内 ATP 的产生方式是十分必要的。在氨氧化菌生物体内 ATP 的生成方式是氧化磷酸化(Hooper, 1984a)。氧化磷酸化是 ADP 被磷酸化生成 ATP 的酶促反应过程, 这个过程伴随电子从底物(氨氮)到终端电子受体 O<sub>2</sub>的传递。对于氧化磷酸化产生 ATP 的作用机理, 目前公认的是英国生物化学家 Peter Mitchel(1961)提出的化学渗透假说, 该假说很好地说明了线粒体内膜中质子梯度建立与 ADP 被磷酸化的关系, 如图 2 所示。

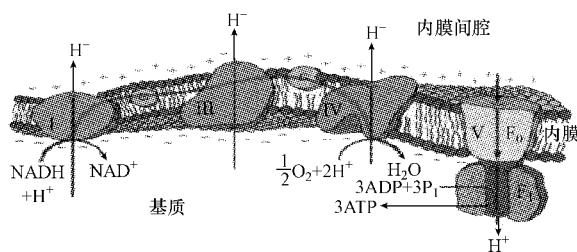


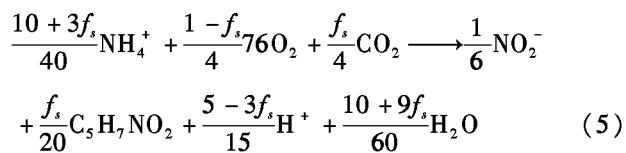
图 2 化学渗透假说示意图(复合体 I:NADH 脱氢酶, 复合体 III: 细胞色素 bc<sub>1</sub> 复合体, 复合体 IV: 细胞色素氧化酶, Q: 辅酶 Q(泛醌), C: c 型细胞色素, ADP: 二磷酸腺苷, ATP: 三磷酸腺苷)

Fig. 2 Diagram of the chemiosmotic hypothesis

从图 2 可以看出, 在线粒体内膜上, 电子载体(NADH 脱氢酶、辅酶 Q、细胞色素 bc<sub>1</sub> 复合体、细胞色素 c 氧化酶)和线粒体内膜上的蛋白质紧密结合形成 3 个复合体(复合体 I, 复合体 III, 复合体 IV)。这 3 个复合体在线粒体内膜上的位置是固定的。除传递电子外, 还起着质子泵的作用, 将 H<sup>+</sup> 从线粒体基质跨过内膜进入膜间腔。H<sup>+</sup> 不断从膜内侧被泵传至膜外侧, 而又不能自由返回膜内侧, 从而在膜两侧建立质子浓度梯度和电化学梯度, 也称为质子动力(proton motive force, pmf)(Ferguson, 1982)。当存在足够的跨膜电化学梯度时, 强大的质子流通过嵌在线粒体内膜的 F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATP 合酶返回基质, 并借助 F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATP 合酶和质子电化学梯度蕴藏的自由能, 推动 ATP 的合成。每两个质子穿过线粒体内膜所释放的能量可合成 1 个 ATP 分子, 一个 NADH 分子经过电子传递链后, 可积累 6 个质子, 生成 3 个 ATP。所以在短程硝化过程中, 每摩尔 NH<sub>3</sub> 氧化传递的电子数和生成的 ATP 是确定的, 这也就决定了生化反应中生成的细胞数量。相应的数量关系可通过下述的化学剂量关系式进行表述。

### 3 短程硝化的化学剂量关系(The stoichiometry of partial nitrification)

从短程硝化反应过程及电子传递模式可以看出, 在短程硝化过程中, 所有电子最后归宿于最终电子受体或新细胞物质。合成新细胞的数量取决于生物体内 ATP 的量, 而合成 ATP 的量又依赖于传递电子的数量。就是说, 氧化一种特定的基质, 所合成的 ATP 量取决于完成氧化的微生物。对于短程硝化反应来说, 基质和氨氧化菌是特定的, 所以反应中传递的电子数也是固定的, 这就决定了生化反应消耗的氧(最终电子受体)和合成的 ATP 的量, 以及产生新细胞的量。而对生化反应过程中这些物质的转化关系进行量化是十分必要的, 这需要借助于化学计量学。化学计量学是对生化反应过程中反应物的组成和转化程度的数量化研究, 就是将生化反应过程中消耗的基质、生成新细胞及代谢产物进行量化(Grady *et al.*, 1999)。建立短程硝化反应计量关系式采用 McCarty(1975)提出的半反应法, 这种方法基础是他建立的三种类型半反应: 即细胞物质的半反应(Rc), 电子供体的半反应(Rd)和电子受体的半反应(Ra)。在此基础上, 从短程硝化反应电子流守恒原理出发, 以 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 为电子供体、以 O<sub>2</sub> 为电子受体, 根据 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 氧化成 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, O<sub>2</sub> 还原成 H<sub>2</sub>O 及细胞合成 3 个半反应。用 f<sub>s</sub> 表示电子供体中用于细胞合成的分量。采用电子计量学的方法推导出短程硝化反应中电子计量方程通式为(McCarty, 1975):



当(5)式中 f<sub>s</sub> 值为 0.05, C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub> 表示合成的新细胞时, 短程硝化反应的化学计量关系式见表 1。表 1 为分别考虑和不考虑细胞合成的短程硝化的化学计量关系式(McCarty, 1975)。化学计量关系式更能清楚地反映出需氧量、C/N、碱度的消耗及产生新细胞的量。

由表 1 可知, 如果不考虑短程硝化过程细胞的合成, 1g 氨氮氧化为亚硝态氮需要消耗 3.43g O<sub>2</sub>。若考虑细胞合成, 需要消耗 3.16g O<sub>2</sub>, 产生 0.146g 新细胞, 也就是基于化学计量关系式计算出的氨氧化菌的产率系数 Y<sub>n</sub> 为 0.146。同时消耗 7.07g 碱度和 0.08g 无机碳。由于 A 式没有考虑用于细胞合成的一部分氨氮, 所以由 A 式得出的 1g 氨氮氧化成

亚硝态氮的需氧量(3.43g O<sub>2</sub>)多于B式的计算值(3.16g O<sub>2</sub>)。同样A式得出短程硝化需要消耗碱度(7.14g)多于B式的计算值(7.07g),也是因为A式没有考虑一部分氨氮被用于细胞合成。从上述分析

可知,短程硝化反应是氨氮利用(产能代谢)与氨氧化菌合成与增殖(合成代谢)两者的综合,两者之间的纽带为氨氧化菌的产率系数Y<sub>n</sub>。

表1 短程硝化反应化学计量关系式

Table 1 The stoichiometry of the partial nitrification reaction

反应类型	化学剂量关系式	需氧量/g <sup>1)</sup>	C/N	碱度/g <sup>1,2)</sup>	产生新细胞的量/g <sup>1,3)</sup>
A	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + 1.5O <sub>2</sub> → NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + 2H <sup>+</sup> + H <sub>2</sub> O	3.43	—	-7.14	—
B	55NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + 76O <sub>2</sub> + 5CO <sub>2</sub> → 54NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + C <sub>5</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> + 109H <sup>+</sup> + 52H <sub>2</sub> O	3.16	0.08	-7.07	0.146

注:1)需氧量、碱度及产生新细胞的量均以消耗每克N相对应的数值来计算;2)碱度以CaCO<sub>3</sub>计,负号表示消耗碱度;3)C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>表示产生的新细胞

#### 4 短程硝化动力学 (The kinetics of partial nitrification)

由于短程硝化的化学计量关系式定量地关联了反应物和产物(新细胞)之间的数量关系,而短程硝化动力学则是研究基质利用和氨氧化菌增殖的速率。所以当一种反应物或产物(新细胞)的反应速率已知,就可以通过化学计量关系式确定另一种反应物或产物的反应速率。通过计量关系式,可以计算出氨氧化菌的理论产率系数Y<sub>ntheo</sub>,而通过动力学试验可以测定氨氧化菌的真实产率系数Y<sub>ntrue</sub>,由于试验条件的不同Y<sub>ntheo</sub>和Y<sub>ntrue</sub>是有一定差别的。近些年,国外学者对短程硝化的动力学研究经历了一个循序渐进的过程,在最初单一基质Monod方程(Monod, 1949)的基础上, Henze等(1987)、Barker等(1998)及 Grady等(1999)对硝化反硝化动力学进行了充分的研究,建立了目前广泛采用的动力学方程,从而为该理论的进一步发展奠定了基础。短程硝化反应动力学研究的目的在于:①确定氨氮利用速率与基质浓度之间的函数关系;②确定氨氧化菌增殖速率与基质浓度之间的函数关系;③确定动力学参数μ<sub>nmax</sub>、K<sub>N</sub>、v<sub>max</sub>;④确定动力学参数与反应条件的关系。

##### 4.1 氨氧化菌生长动力学

短程硝化过程中,氨氧化菌比增殖速率与氨氮浓度的关系可用Monod方程来描述,并结合氨氧化菌比增殖速率的物理意义,得式(6)。

$$\mu_n = \frac{1}{X} \left( \frac{dx}{dt} \right)_T = \mu_{nmax} \frac{N}{K_N + N} \quad (6)$$

式中,μ<sub>n</sub>为氨氧化菌比增殖速率(g·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>);μ<sub>nmax</sub>为氨氧化菌最大比增殖速率(g·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>);x为氨氧化菌浓度(mg·L<sup>-1</sup>);N为氨氮浓度(mg·L<sup>-1</sup>);K<sub>N</sub>为

半速率常数,在最大比基质利用率一半时的基质浓度(mg·L<sup>-1</sup>)。

##### 4.1.1 氨氧化菌增殖动力学参数μ<sub>nmax</sub>、K<sub>N</sub>的确定

对实际生物处理系统中的短程硝化反应,其动力学参数应通过试验确定。在参考活性污泥动力学参数的确定方法和相关资料的基础上,笔者建议采用积分法和微分法来求解特定生化反应条件下的氨氧化菌增殖的动力学参数μ<sub>nmax</sub>、K<sub>N</sub>。

###### (1) 积分法

如果动力学实验中测得的是微生物浓度x与时间t的关系,笔者建议采用积分一元回归图解法。就是将动力学方程进行积分求得积分式,再将其线性化,然后把试验数据带入坐标系内作图,进行线性回归,据此求取动力学参数。具体步骤如下:

①氨氧化菌的比增殖速率表示为:

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{nmax} \frac{K_N}{K_N + N}$$

②将上式两边分别对x、t积分得积分式并取倒数:

$$\frac{t}{\ln(x - x_0)} = \frac{K_N}{\mu_{nmax}} \cdot \frac{1}{N} + \frac{1}{\mu_{nmax}} \quad (7)$$

③作图求取参数值

可将式(7)按直线方程y = ax + b考虑,以 $\frac{1}{N}$ 为

横坐标,以 $\frac{t}{\ln(x - x_0)}$ 为纵坐标作图。在试验过程中,测定不同时刻混合液的氨氮浓度及污泥浓度,将测得的数值带入相应的横、纵坐标,可得多组数据,然后在坐标系内作图,按一元线性回归的方法进行归纳整理,所得直线的斜率为 $\frac{K_N}{\mu_{nmax}}$ ,横坐标轴上的截距为 $-\frac{1}{K_N}$ ,纵坐标轴上的截距为 $\frac{1}{\mu_{nmax}}$ ,通过这些数据

联立方程求取动力学参数值.

### (2) 微分法

微分法是根据不同的试验条件下测得的反应速率, 直接由速率方程计算参数值. 在动力学试验中, 如果测定一定时间范围内氨氧化菌浓度, 计算出相应的比增殖速率, 然后采用微分法来确定动力学参数. 具体步骤如下:

①首先测定、计算一定时间范围内的微生物浓度, 然后采用公式(8)来确定微生物的比增殖速率.

$$\mu_{nt} = \frac{1}{\bar{x}} \frac{\Delta x}{\Delta t} \quad (8)$$

式中,  $\mu_{nt}$  为测定时间段内微生物的比增殖速率 ( $\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ );  $\bar{x}$  为测定时间段内微生物的平均浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $\Delta x$  为测定时间段内微生物浓度的变化量 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

②将氨氧化菌的比增殖速率表示为:

$$\mu_n = \mu_{nmax} \frac{N}{K_N + N}$$

两边取倒数得:

$$\frac{1}{\mu_n} = \frac{K_N}{\mu_{nmax}} \cdot \frac{1}{N} + \frac{1}{\mu_{nmax}} \quad (9)$$

③将式(9)以  $1/\mu_n \sim 1/N$  作图, 通过在横、纵坐标轴上的截距, 联立方程确定动力学参数.

### 4.1.2 氨氧化菌增殖比速率动力学方程的修正

氨氧化菌的生长除了需要营养外, 还需要合适的生存因子, 如溶解氧(DO)、温度、pH值等. 方程式(6)是在假定系统中DO充足的前提下得到的. 由于DO是影响氨氧化菌生长的重要因素, 也就是实现短程硝化的一个重要控制因素. 所以考虑DO对氨氧化菌增殖的影响, 氨氧化的比增殖速率表达式变换如下(McCarty, 1999):

$$\mu_n = \mu_{nmax} \frac{N}{K_N + N} \times \frac{O_2}{K_{O_2} + O_2} \quad (10)$$

式中,  $O_2$  为溶解氧浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $K_{O_2}$  为溶解氧半饱和数 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 其他符号定义同前.

### 4.2 氨氮比利用速率动力学

氨氮比利用速率按物理意义考虑, 可用下式表示:

$$v = -\frac{1}{X} \frac{dN}{dt} \quad (11)$$

式中,  $v$  为氨氮的比利用速率 ( $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ); 其他符号定义同前.

氨氮的比利用速率与氨氧化菌的比增殖速率通过氧化菌的产率系数相关联, 见下式:

$$Y_n = \frac{dX}{dt} / \frac{dN}{dt} = -\frac{\mu_n}{v} \quad (12)$$

式中,  $Y_n$  为氨氧化菌的产率系数 ( $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ ); 其他符号定义同前.

将式(12)变形, 并与式(6)组合可得:

$$v = \frac{\mu_n}{Y_n} = \mu_{nmax} \frac{N}{K_N + N} \times \frac{1}{Y_n} = \frac{\mu_{nmax}}{Y_n} \frac{N}{K_N + N} \quad (13)$$

令  $v_{max} = \frac{\mu_{nmax}}{Y_n}$ , 则式(13)可改写成如下形式:

$$v = v_{max} \frac{N}{K_N + N} \quad (14)$$

式中,  $v_{max}$  为氨氮的最大比利用速率 ( $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ).

4.2.1 氨氮利用动力学参数  $v_{max}$ 、 $K_N$  的确定 对于氨氮利用动力学参数  $v_{max}$ 、 $K_N$  的确定, 同样采用积分法和微分法.

### (1) 积分法

如果动力学实验中所测得的数据是氨氮浓度  $N$  与时间  $t$  的关系时, 笔者建议采用积分一元回归图解法. 具体步骤如下:

①将式(9)和式(12)联立, 氨氮比利用速率表示为:

$$-\frac{dN}{dt} = v_{max} \frac{NX}{K_N + N}$$

②积分并整理得:

$$\ln \frac{N_0}{N_t} = \frac{v_{max}}{K_N} \frac{Xt}{(N_0 - N_t)} - \frac{1}{K_N} \quad (15)$$

式中,  $N_0$  为在  $t=0$  时刻氨氮浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $N_t$  为在  $t$  时刻氨氮浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 其他符号定义同前.

### ③作图求取参数值

同样, 可将式(15)按直线方程  $y = ax + b$  考虑,

以  $\frac{Xt}{N_0 - N_t}$  为横坐标, 以  $\ln \frac{N_0}{N_t}$  为纵坐标. 在试验过程中, 测定不同时刻混合液的氨氮浓度值、污泥浓度值, 将测得的数值带入相应的横、纵坐标项, 可以得到多组数据, 坐标系内作图, 然后按一元线性回归的方法进行归纳整理. 所得直线的斜率为  $\frac{v_{max}}{K_N}$ , 在横坐标轴上的截距  $\frac{1}{v_{max}}$ , 纵坐标轴上的截距为  $-\frac{1}{K_N}$ , 通过这些数据求取动力学参数.

## (2) 微分法

在动力学试验中,测定一定时间范围内氨氮浓度,计算出相应的比利用速率,就可以采用微分法来确定动力学参数。具体步骤如下:

①首先测定计算一定时间范围内氨氮浓度,直接采用下式来确定氨氮的比利用速率。

$$v_{nt} = \frac{1}{\bar{x}} \frac{\Delta N}{\Delta t} \quad (16)$$

式中,  $v_{nt}$  为测定时间段内氨氮比利用速率 ( $\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ );  $\bar{x}$  为测定时间段内微生物的平均浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ );  $\Delta N$  为测定时间段内氨氮浓度的变化量 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

②氨氮的比利用速率表示为:

$$v_n = v_{n\max} \frac{N}{K_N + N}$$

两边取倒数得:

$$\frac{1}{v_n} = \frac{K_N}{v_{n\max}} \cdot \frac{1}{N} + \frac{1}{v_{n\max}} \quad (17)$$

③将式(17)以  $1/v_n \sim 1/N$  作图,通过横、纵坐标上的截距,联立方程求解可确定动力学参数。

对于短程硝化反应动力学参数,目前普遍采用的是 Henze 和 Grady(1987)提出的 IAWPRC ASM 模式 I 中推荐的免误数值。由于文献报道氨氧化动力学参数覆盖范围很大,所以在具体的试验过程中,在参考文献给出的动力学常数范围的基础上,进行实验室试验或生产性试验,采用上述的试验方法进行动力学系数的测定,评定现场条件的氨氧化动力学数值。在试验过程中实测的动力学常数与文献参考值可能会有一定的偏差,都属于正常的试验现象。很多学者的研究已证明了这一点。

## 5 结语(Summary)

短程硝化是一个涉及多种酶及多种中间产物,并伴随电子(能量)传递的复杂生化反应过程,是基质( $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ )利用(产能代谢)和氨氧化菌增殖(合成代谢)两类反应的综合。对短程硝化的生化反程、电子传递(能量产生)途径、化学计量关系式及氨氧化动力学的研究,是对短程硝化生化反应机理的深层次研讨,同时有助于人们对短程硝化反应的深入理解,从而创造出短程硝化反应的适宜条件,以此促进生物脱氮理论的进一步发展,为实现可持续污水生物脱氮技术奠定基础。



**责任编辑简介:**彭永臻(1949—),男,工学博士、教授,博士生导师,全国模范教师,北京市高等学校教学名师奖获得者。北京工业大学环境科学与工程学科首席教授、环境工程研究所所长,中国环境科学学会环境工程分会副主任委员、《环境科学学报》

等8种杂志编委。国家精品课程“水质工程学”和“环境保护概论”课程的主讲教师。发表论文400余篇,取得专利25项。先后获国家科技进步二等奖等多项科研及教学奖。指导的博士生2005年和2006年连续两次获得“全国百篇优秀博士学位论文”奖。

## References:

- Arciero D M, Hooper A B. 1993. Hydroxylamine oxidoreductase from *Nitrosomonas europaea* is a multimer of an octa-heme subunit [J]. *Bio Chem*, 268:14645—14654
- Andersson K K, Hooper A B. 1983.  $\text{O}_2$  and  $\text{H}_2\text{O}$  are each the source of one O in  $\text{NO}_2^-$  produced from  $\text{NH}_3$  by *Nitrosomonas* [J]. *FEBS Lett*, 164: 236—240
- Bergmann D J, Hooper A B. 1994a. Primary structure of cytochrome P-460 of *Nitrosomonas* [J]. *FEBS Lett*, 353: 324—326
- Bergmann D J, Hooper A B. 1994b. Sequence of the gene *amob* for the 43kDa polypeptide of ammonia monooxygenase of *Nitrosomonas europaea* *Biochim* [J]. *Biophys Res*, 204:759—762
- Bergmann D J, Arciero D, Hooper A B. 1994c. Organization of the HAO gene cluster of *Nitrosomonas europaea*: Genes for two tetraheme cytochromes [J]. *Bacteriol*, 176: 3148—3153
- Bergmann D J, Zahn J A, Dispirito A A. 2000. Primary structure of cytochrome c' of *methyllococcus capsulatus* batch: evidence of a phylogenetic link between P460 and c'-type cytochromes [J]. *Arch Microbiol*, 173: 29—34
- Bock E, Koops H P, Harms H, et al. 1991. The biochemistry of nitrifying organisms [C]. London UK: Variations of Autotrophic Life Academic Press, 171—200
- Bark P L, Dold P L. 1998. Nutrient removal in activated sludge system [J]. *Water Environment Research*, 68(5): 969—984
- Ferguson S. 1982. Is a proton-pumping cytochrome oxidase essential for energy conservation in *Nitrobacter* [J]. *FEBS Lett*, 146:239—243
- Grady C P L, Daigger G T, Lim H C. 1999. Biological wastewater treatment(Second Edition) [M]. USA: Marcel Dekker, 258—300
- Han D W, Chang J S, Kim D J. 2003. Nitrifying microbial community analysis of nitrite accumulating biofilm reactor by fluorescence in situ hybridization [J]. *Wat Sci Tech*, 47 (1):97—104
- Head I M, Hioms W D, Embley T M, et al. 1993. The phylogeny of autotrophic ammonia-oxidizing bacteria as determined by analysis of 16S rRNA gene sequence [J]. *Gen Microbiol*, 139:1147—1153
- Henze M, Grady C P L, Gujer W, et al. 1987a. Activated Sludge Model No1 IAWPRC scientific and technical report [R]. IAWPRC, London

- Hommes N G, Sayavedra-Soto L A, Arp D J. 1994. Sequence of a gene encoding cytochrome c-554 from *Nitrosomonas europaea* [J]. Gene 146:87—89
- Hooper A B. 1984a. Ammonia oxidation and energy transduction in the nitrifying bacteria [A]. Microbial chemotrophy: Ohio State University 8th Bioscience Colloquium[C]. Columbus, Ohio: Ohio State University Press, 133—167
- Hooper A B, Erickson R H, Terry K R. 1972. Electron transport systems in *Nitrosomonas*: Isolation of a membrane-envelope fraction [J]. Bacterial, 10:430—438
- Hooper A B, Terry K R. 1979. Hydroxylamine oxidoreductase of *Nitrosomonas*: Production of nitric oxide from hydroxylamine [J]. Biochim Biophys Acta, 571:12—20
- Koops H P, Böttcher B, Mller U C, et al. 1990. Description of a new species of *Nitrosococcus*[J]. Arch Microbiol, 154: 244—248
- Koops H P, Böttcher U C, Möller A, et al. 1991. Classification of eight new species of ammonia-oxidizing bacteria: *Nitrosomonas communis* sp., *Nitrosomonas ureae* sp., *Nitrosomonas marina* sp., *Nitrosomonas nitrosa* sp., *Nitrosomonas eutropha* sp., *Nitrosomonas oligotropha* sp. and *Nitrosomonas halophila* sp nov[J]. Gen Microbiol, 137:1689—1699
- Kurokawa T, Fukumori Y, Yamanaka T. 1987. Purification of a flavoprotein having NADPH-cytochrome c reductase and transhydrogenase activities from *Nitrobacteria winogradskyi* and its molecular and enzymatic properties [J]. Arch Microbiol, 148: 95—99
- Metcalf & Eddy, Inc. 2003. Wastewater Engineering Treatment and Reuse (Fourth Edition) [M]. USA: McGraw-Hill Companies, 580—587
- McCarty P L. 1975. Stoichiometry of biological reaction [J]. Process in Water Technology, 71:157—172
- Monod. 1949. The growth of bacteria cultures [J]. Annual Review of Microbiology, 3: 371—394
- Madigan M T, Martinko M, Parker J. 1997. Brock Biology of Microorganisms[M]. Beijing: Scientific publisher, 161—162
- Peter Mitchel. 1961. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transport by a chemiosmotic type of membrane Possible function of chains of catalysts[J]. NATURE, 191:144—148
- Purkhold U A, Pommerer-Roser S, Juretschko M C, et al. 2000. Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis: Implications for molecular diversity surveys [J]. Environ Microbiol, 66: 5368—5382
- Wood P M. 1986. Nitrification as a bacterial energy source[M]. Oxford UK: Nitrification IRL Press, 63—78
- Wood P M. 1988a. Chemolithotrophy[A]. Bacterial Energy Transduction [C]. London: Academic Press, 183—230
- Wood P M. 1988b. Monoxygenase and free radical mechanism for biological ammonia oxidation [A]. The nitrogen and sulfur cycles: 42nd symposium of the society of General Microbiology [C]. UK: Cambridge University, 219—243
- Suzuki I, Kwok S C, Dular U, et al. 1981b. Cell-free ammonia oxidizing system of *Nitrosomonas europaea*: General conditions and properties can[J]. Biochem, 59:477—483
- Seviour R J, Blackall L L. 1999. The Microbiology of Activated Sludge [M]. Australia: Kluwaer Academic Publishers, 287—288
- Suzuki I, Dular U, Kwok S C. 1974. Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas* cells and extracts [J]. Bacteriol, 120:556—558
- Yamanaka T, Shinra M. 1974. Cytochrome c-552 and cytochrome c-554 derived form *Nitrosomonas europaea*: properties and their function in hydroxylamine oxidation [J]. The Journal of Biochemistry, 75(6): 1265—1273
- Zart D, Schmidt I, Bock E. 2000. Significance of gaseous NO for ammonia oxidation by *Nitrosomonas eutropha* [J]. Ant v Leeuwenhoek, 77:49—55