

以呼吸速率为基础活性污泥抑制动力学常数的测定研究

宋英豪^{1,2} 王凯军² 倪文¹ 朱民²

(1. 北京科技大学土木与环境工程学院, 北京 100083; 2. 北京市环境保护科学研究院, 北京 100037)

摘要 通过对活性污泥不同抑制情况下呼吸速率变化的分析, 对不同的抑制类型提出了利用呼吸速率确定抑制动力学模型中动力学常数的不同方法。产物抑制通过已知起始浓度和呼吸速率曲线, 来构建以 $1/K'_p$ 为斜率, K_s 为截距的直线方程来求解 K_s 和抑制常数。底物抑制先通过呼吸速率求解最值点的底物浓度, 然后根据呼吸速率变化最大值点的关系公式求解抑制常数的方法。竞争性抑制和非竞争性抑制通过求解等速点底物浓度的方法求解抑制常数。对于非竞争性抑制还可以通过简单的最大呼吸速率比值法来求解抑制常数。同时选择非竞争性抑制进行了试验验证和常数求解。最终通过2种方法得到葡萄糖降解时 NaCl 的抑制常数为 20.2 g/L, 或者 0.02 倍的 K_s 。

关键词 呼吸速率 抑制动力学 抑制常数 活性污泥

中图分类号 X703 文献标识码 A 文章编号 1673-9108(2008)04-0493-05

Study on measurement of inhibition kinetic constant based on respiration rate in activated sludge process

Song Yinghao^{1,2} Wang Kaijun² Ni Wen¹ Zhu Min²

(1. Civil & Environmental Engineering School, University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083;

2. Beijing Municipal Institute of Environmental Protection, Beijing 100037)

Abstract In this article, through theoretical analysis about respiration rate of different inhibition in activated sludge process, different kinds of measurement methods of inhibition kinetic constant on different inhibition are put forward based on respiration rate. The inhibition kinetic constant of product inhibition and K_s is get through the line fitting. The line, of which the slope and interception is $1/K'_p$ and K_s respectively, is constructed with the known starting concentration of substrate and the curve of respiration rate. In the course of solution of substrate inhibition constant, the substrate concentration on the maximum of respiration rate is calculated firstly and the kinetic constant of substrate inhibition is solved through the relation equation on the maximum of respiration rate. The inhibition kinetic constant about competitive and non-competitive inhibition is figured out by calculating the substrate concentration on the same speed point. The another way of non-competitive inhibition is the ratio method of maximal respiration rate. At the same time, inhibition kinetic constant of non-competitive inhibition is testified by force of a experiment. Finally, the inhibition kinetic constant of NaCl inhibition on degradation of glucose is 20.2 g/L, or $0.02K_s$ which are calculated by the three different methods.

Key words respiration rate; inhibition kinetics; inhibition kinetic constant; activated sludge

在活性污泥工艺中,微生物作为有机物或其他基质底物降解的主体是一种鲜活的生命体。活性污泥在降解基质的过程中如果由于某种物质的存在,抑制了微生物,导致微生物降解反应的反应速率下降的现象称为微生物的抑制,这种物质被称为微生物反应的抑制剂。此外,由于底物或产物浓度过高也会使微生物反应受到抑制。活性污泥工艺中的微生物受到抑制后,其有机物或其他基质降解效率也大大降低。活性污泥工艺中的微生物受到抑制的动

力学研究已经有大量论述,但是抑制常数的测定仍然比较困难^[1]。呼吸速率也称为耗氧速率,是单位时间内微生物消耗氧气的数量,是活性污泥好氧过程中氧气消耗速率和基质降解速率的重要指示,呼吸速率的测量仪器简单,还可以实现连续在线测量,

收稿日期:2007-08-25; 修订日期:2007-10-27

作者简介:宋英豪(1975~),男,博士研究生,主要从事水污染控制技术研究与推广应用工作。E-mail:song_yh@263.net

近年来其应用研究受到了广大学者的关注^[2]。笔者通过理论和试验研究,提出了一种利用呼吸速率来测定活性污泥所受到抑制动力学模型常数的方法。该方法与其他试验分析方法相比,只需要用呼吸速率仪测量呼吸速率即可,操作简单易行。

1 活性污泥抑制动力学与呼吸速率动力学概述

活性污泥抑制动力学反应是在酶促反应米-门公式的基础上建立起来的,基本形式是遵循MONOD方程的。下式是活性污泥抑制动力学基质降解速率的公式,是有抑制时基质降解速率的一般表达式^[1]:

$$V = \frac{V_{\max} S}{K_m \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{K'_i}\right)} \quad (1)$$

式中: V —降解速率; $V_{\max}$ —最大降解速率; S —基质浓度; K_m —饱和常数; I —抑制剂浓度; K_i —竞争性抑制常数; K'_i —其他抑制常数。

抑制类型的分类都是建立在酶促反应的基础上。在实际抑制过程中存在几种不同的抑制,在一般表达式的基础上可以分位竞争性抑制、非竞争性抑制、底物抑制和产物抑制4种。

根据抑制动力学模型,抑制状况下的呼吸速率模型形式如下:

$$r_{\text{total}} = r_{\text{ex}} + r_{\text{end}} \\ r_{\text{ex}} = \frac{K - Y}{Y} \frac{\mu_{\max} S}{K_s \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S \left(1 + \frac{I}{K'_i}\right)} X \quad (2)$$

式中: r_{total} —总呼吸速率; r_{end} —内源呼吸速率; r_{ex} —外源呼吸速率; K —产率变化常数(碳氧化为1,氮氧化为3.43,亚硝酸氧化为1.14)。

K_i 项与 K'_i 项在模型中一般情况下并不同时出现。竞争性抑制情况下 K_i 项出现,而 K'_i 项并不出现。在其他抑制类型情况下, K_i 项不出现而 K'_i 项出现。对于不同的抑制类型,呼吸速率的模型稍有不同,主要是在抑制项出现的情况。

2 呼吸速率与降解基质浓度的关系

由于测定抑制常数的过程中需要确定基质降解过程中基质的浓度,因此本文首先分析呼吸速率与基质浓度的关系。

呼吸速率也称为耗氧速率,是单位时间内单位体积混合液中的微生物所消耗的氧量,包括外源呼吸和内源呼吸两部分。外源呼吸速率是基质降解的函数。基质的降解主要去向为两部分,一部分为细

胞体合成使用,即微生物的生长,其消耗的量由产率系数 Y 来体现,产率系数是始终少于1的;而另一部分即 $(1 - Y)$ 部分主要是微生物利用氧将其转化为生长所需要的能量。这就是外源物质的变化途径,是广大学者们的一致看法^[2,3]。

由呼吸速率的定义可知,呼吸速率与时间的乘积为反应过程总的耗氧量,在间歇反应过程中,外源呼吸速率与时间轴之间的面积为把基质浓度从 S_0 降解到 S 时单位体积所消耗的溶解氧量。如果该部分溶解氧总量除以产率系数项 $(K - Y)$ 就应该得到 $S_0 - S$,其中 K 为不同基质情况下,与氧当量的对应关系。即:

$$\int_0^t r_{\text{ex}} dt = (K - Y)(S_0 - S) \quad (3)$$

在时刻 t 时,反应器内基质浓度为 S ,已消耗的基质浓度为 $S_0 - S$ 。

$$\frac{\int_0^t r_{\text{ex}} dt}{\int_0^T r_{\text{ex}} dt} = \frac{(S_0 - S)}{S_0} \quad (4)$$

由于呼吸速率为已知, S_0 也为已知,因此可以根据外源呼吸速率与时间轴之间的面积求出任意一时刻点的基质浓度。

3 利用呼吸速率测定抑制常数的基本原理

3.1 产物抑制的抑制常数的确定

产物抑制在化学反应的可逆反应中很常见,在污水处理的生化反应中出现的几率也非常高。例如亚硝酸在硝化反应和亚硝化反应中存在的抑制现象。产物抑制下基质降解的动力学模型与呼吸速率模型如下:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu_{\max}}{Y} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{P}{K'_p}\right)} X \quad (5)$$

$$r_{\text{total}} = \frac{(K - Y)\mu_{\max}}{Y} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{P}{K'_p}\right)} X + r_{\text{end}} \quad (6)$$

式中: P 为能够对反应过程进行抑制的产物浓度。

从上式可以看出,在基质降解速率和呼吸速率受到抑制的程度除了与产物浓度有关外就是与 K'_p 有关。对于一种抑制产物来说其抑制常数是基本不变的。在序批式反应过程中,底物与产物的浓度是相抵的,产物与底物浓度的和与底物基质的起始浓度是相等的。假设底物基质的起始浓度为 S_0 ,则产物浓度可以用 $(S_0 - S)$ 来表示。图1为序批式反应过程中呼吸速率的模拟曲线,图1中 t_1 、 t_2 、 t_3 代表抑制反应过程的任意时刻点。

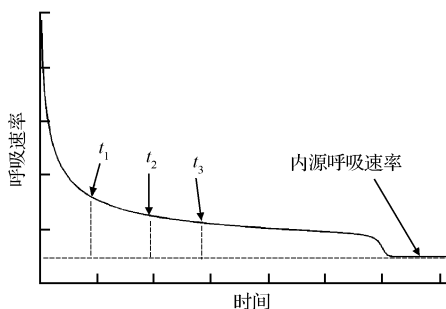


图1 产物抑制过程中呼吸速率的变化曲线

Fig.1 Change curve of respiration rate in the presence of product inhibition on degradation of substrate

从图1可以看出,产物抑制的过程中,随着产物浓度的增加呼吸速率和基质降解速率迅速下降,然后基质降解速率和呼吸速率的降低进入较为平稳的阶段。当基质将要消耗殆尽时,产物浓度也达到了较大值此时呼吸速率也出现了迅速下降的过程,直至基质消耗殆尽,呼吸速率进入内源呼吸速率阶段。

由于已知起始浓度,根据公式(4)计算得到任意时刻点的基质浓度。在 t_1 时刻点的基质浓度为 S_1 ,根据产物抑制的外源呼吸速率公式在 t_1 时刻点有:

$$r_{ex1} = M \frac{S_1}{K_s + S_1 (1 + a(S_0 - S_1))} \quad (t = t_1) \quad (7)$$

式中: $M = \frac{(K - Y)\mu_{\max} X}{Y}$, $a = 1/K'_p$ 。

以 t_1 时刻点的外源呼吸速率公式(即公式7)的左右两边为分母,以 t_2 点的外源呼吸速率公式的左右两边为分子同时相除,然后整理可得:

$$a \frac{S_1 S_2 (S_0 - S_2) r_2 - S_1 S_2 (S_0 - S_1) r_1}{S_1 r_2 - S_2 r_1} + K_s = \frac{S_1 S_2 (r_1 - r_2)}{S_1 r_2 - S_2 r_1}$$

同理对于以 t_1 时刻点的外源呼吸速率公式的左右两边为分母,以 t_3 点或 t_n 点的外源呼吸速率公式的左右两边为分子同时相除均可以得到 t_3 点或 t_n 点相似式。由此可以得到以 a 为斜率, K_s 为截距的

直线数据系列($\frac{S_1 S_i (S_0 - S_i) r_i - S_1 S_i (S_0 - S_1) r_1}{S_1 r_i - S_1 r_1}$, $\frac{S_1 S_i (r_1 - r_i)}{S_1 r_i - S_1 r_1}$)($i = 2, 3, \dots, n$),然后可以回归得到 a 和 K_s 。通过 a 值可以得到抑制常数 K'_p 。

总之,产物抑制可以通过已知起始浓度和呼吸速率曲线,来构建以 $1/K'_p$ 为斜率, K_s 为截距的直线方程来求解 K_s 和抑制常数。

3.2 底物抑制的抑制常数的确定

底物抑制在有毒物质的降解方面存在非常广

泛。底物抑制的基质降解模型和呼吸速率模型如下:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu_{\max}}{Y} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{S}{K'_I}\right)} X \quad (8)$$

$$r_{\text{total}} = \frac{(K - Y)\mu_{\max}}{Y} \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{S}{K'_I}\right)} X + r_{\text{end}} \quad (9)$$

从上式可以看出,在基质降解速率和呼吸速率受到抑制的程度除了与底物浓度有关外就是与 K'_I 有关。对于一种抑制底物来说其抑制常数是基本不变的。图2为起始浓度为 S_0 序批式反应过程中呼吸速率的模拟曲线。

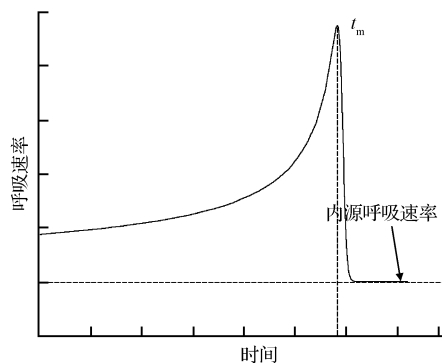


图2 底物抑制下呼吸速率随时间的变化曲线

Fig.2 Change curve of respiration rate in the presence of substrate inhibition on degradation of substrate

从图2可以看出在基质降解的过程中,呼吸速率和基质降解速率存在最大值点即 t_m 时刻点。根据底物抑制的动力学模型,呼吸速率与基质降解速率的最大值是出现在同一时刻的。采用公式(4),可以根据任一时刻点的外源呼吸速率曲线与时间轴之间的面积可以计算已经降解的基质浓度和该时刻点的基质浓度。

根据外源呼吸速率公式进行整理后可得:

$$\frac{1}{r_{\text{ex}}} = \frac{1}{M} \left(\frac{K_s}{S} + 1 + aS \right) \quad (10)$$

上式中: $M = \frac{(K - Y)\mu_{\max} X}{Y}$, $a = 1/K'_I$ 。

为了求上式的最大值,令 $y = M/r_{\text{ex}}$:

$$y = \frac{K_s}{S} + 1 + aS \quad (11)$$

求 y 的最大值即可,对上式对 S 求导并令其等于零解方程可得:

$$a = \sqrt{\frac{K_s}{2S^2}} \quad (12)$$

因此,根据起始浓度 S_0 和呼吸速率方法计算所

得的最大值点有机物浓度 S 以及 K_s , 利用最大值点有机物浓度与底物抑制常数的关系公式, 可以求得底物抑制常数。

3.3 竞争性抑制常数

竞争性抑制与产物抑制和底物抑制显著不同的就是抑制物并不参与基质降解的反应过程中。因此抑制物的浓度不受基质浓度变化的影响。为确定竞争性抑制的抑制常数, 通过投加抑制物和不投加抑制物两个序批式反应过程来求解, 两个序批式反应的起始浓度相同, 典型的反应曲线如图3所示。

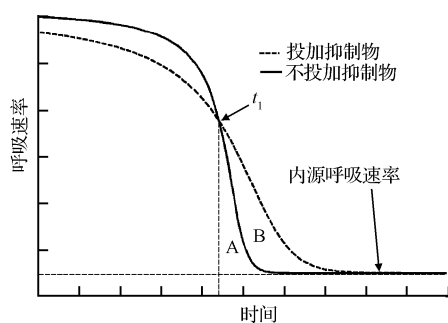


图3 竞争抑制情况下呼吸速率变化曲线

Fig. 3 Change curve of respiration rate in the presence of competitive inhibition on degradation of substrate

从图3可以看出, 投加和不投加抑制物两种情况下在时刻 t_1 处基质降解速率和呼吸速率处于等速点。根据外源呼吸速率与时间轴之间的面积和起始基质浓度 S_0 可以得到在 t_1 时刻处投加抑制物时的基质浓度 S_1 和不投加抑制物时的基质浓度 S_2 。在等速点存在如下公式:

$$\frac{S_1}{K_s \left(1 + \frac{I}{K'_I} \right) + S_1} = \frac{S_2}{K_s + S_2} \quad (13)$$

由上式可得:

$$\frac{I}{K'_I} = \frac{S_1 - S_2}{S_2} \quad (14)$$

因此, 竞争性抑制可以通过呼吸速率计算等速点底物浓度, 然后利用等速点底物浓度与抑制常数的关系求解抑制常数。

3.4 非竞争性抑制常数的确定

非竞争性抑制也是一些不参与反应过程的物质引起的。为确定非竞争性抑制的抑制常数, 通过投加抑制物和不投加抑制物2个序批式反应过程来求解, 2个序批式反应的起始浓度相同, 典型的反应曲线如图4所示。

根据竞争性抑制常数确定过程中所采用的等速点确定的办法可以得到抑制常数的计算公式如下:

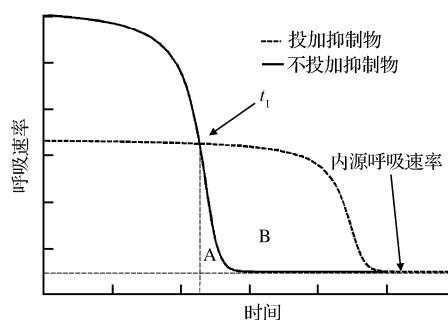


图4 非竞争抑制下的呼吸速率变化曲线

Fig. 4 Change curve of respiration rate in the presence of uncompetitive inhibition on degradation of substrate

$$\frac{I}{K'_I} = K_s \frac{S_1 - S_2}{S_1 S_2} \quad (15)$$

此外还可以根据非竞争抑制的最大呼吸速率值进行确定。非竞争抑制下最大呼吸速率值为:

$$r_{\max} = M \frac{S}{K_s + S \left(1 + \frac{I}{K'_I} \right)} \quad (16)$$

在不投加抑制物的情况下最大呼吸速率和投加抑制物的情况下最大呼吸速率的比如下:

$$\frac{r_{\max}}{r_{\max \text{投}}} = \frac{K_s + S_0 \left(1 + \frac{I}{K'_I} \right)}{K_s + S_0} \quad (17)$$

当出现最大呼吸速率时, K_s 一般远少于 S_0 , 因此可以采用如下公式:

$$\frac{I}{K'_I} = \frac{r_{\max} - r_{\max \text{投}}}{r_{\max \text{投}}} \quad (18)$$

采用最大呼吸速率进行计算存在的主要问题是序批式反应起始阶段由于微生物活性恢复需要时间, 所测到的最大呼吸速率值可能并不在基质浓度为 S_0 的时刻。一般情况下, 差别是比较少的, 基本可以忽略。同时也可以采用高起始浓度延长最大呼吸速率测量时间的方法来避免该问题。

4 非竞争性抑制常数的试验验证

4.1 试验材料与装置

主要的装置包括: 本试验所采用的反应器为SBR反应器, 是一个矩形玻璃缸, 尺寸为300 mm × 270 mm × 520 mm。空气泵1套, 溶解氧为B&C OD7685, 氧化还原电位计为B&C PH7685, 供气路上装有转子流量计。在线呼吸速率测定仪1套。

主要材料: 本实验所用的原水为人工配水, 即用自来水添加一定的营养液。C:N:P按100:5:1投加, C为葡萄糖, N、P分别为硫酸氨、磷酸二氢钾, K

的投加量按由磷的投加量确定。微量元素包括硫酸镁、氯化钙和三氯化铁等。抑制剂 NaCl 为分析纯。

4.2 实验过程

首先,把正常运行的 35 L SBR 反应器停止进水后曝气 24 h,同时测量呼吸速率,然后沉淀排水后,投加一定浓度人工配水 2 L,然后加自来水稀释至 35 L,保持起始的 COD 浓度在 1 500 mg/L 左右,然后开始曝气并使用在线呼吸测量仪连续测量呼吸速率。24 h 后停止曝气。沉淀排水后,投加一定浓度人工配水 2 L 和 200 mg/L NaCl 溶液,然后加自来水稀释至 35 L,保持起始的 COD 浓度在 1 500 mg/L 左右,NaCl 的浓度在 20 g/L 左右,再开始曝气并使用在线呼吸测量仪连续测量呼吸速率 24 h。

4.3 结果与讨论

根据实验安排,人工配水是以葡萄糖为主的溶液,葡萄糖的饱和常数在 30 ~ 80 mg COD/L 之间,因此本实验开始,均可以认为达到了最大呼吸速率值。呼吸速率测量的结果如图 5 所示。

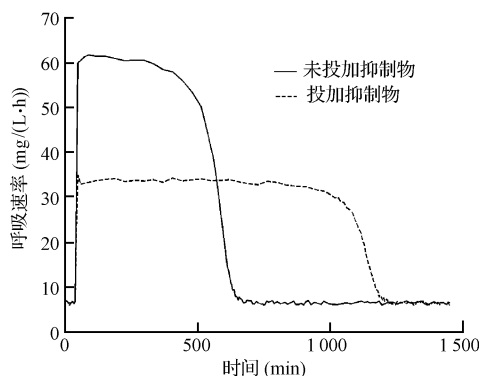


图5 NaCl 对葡萄糖降解抑制实验的呼吸速率曲线

Fig.5 Change curve of respiration rate in the presence of NaCl inhibition on degradation of glucose

上述 2 个实验过程中,最终的内源呼吸速率为 6.5 mg/(L·h),最大呼吸速率值分别为 54.5 mg/(L·h) 和 27.5 mg/(L·h),最大外源呼吸速率,两者的比值 J 为 1.99。根据以呼吸速率为基础抑制类型判断的方法,非竞争性抑制下基质降解的最大呼吸速率是受到抑制影响的,而竞争性抑制的最大呼吸速率是不受抑制影响的,因此当不投加抑制物情况下的最大呼吸速率与投加抑制物情况下的最大呼吸速率比值(定义为 J)过大时,就认为该抑制物的抑制为非竞争性抑制。本实验中, J 为 1.99,已经

大于 1.2 ~ 1.5(非竞争性抑制区分的基准值),因此可以认为 NaCl 对葡萄糖降解过程的抑制为非竞争性抑制。根据前述 2 种方法计算的结果如下:

(1) 根据 NaCl 的抑制测量结果,起始浓度为 1 500 mg/L,根据公式(4)计算等速点 S_1 和 S_2 的值分别为 721 mg/L 和 45 mg/L。根据公式(15),经计算 $1/K'_1$ 为 0.02 倍的 K_s 。

(2) 由于已知微生物降解葡萄糖的 K_s 远少于起始浓度 S_0 ,根据公式(18),NaCl 的 $1/K'_1$ 为 0.99。

根据公式(18)的计算结果,已知 I 为 20 g/L,则 K'_1 值为 20.2 g/L 与文献[4,5]中所测结果基本一致。

5 结 论

本文在模拟分析的基础上给出了 4 种不同抑制类型抑制常数的呼吸速率求解方法。产物抑制通过已知起始浓度和呼吸速率曲线,来构建以 $1/K'_p$ 为斜率, K_s 为截距的直线方程来求解 K_s 和抑制常数。采用通过呼吸速率求解最大值点的底物浓度,然后利用已知饱和常数,根据最大值点有机物浓度与底物抑制常数的关系公式求解底物抑制的抑制常数。竞争性抑制和非竞争性抑制通过求解等速点底物浓度的方法求解抑制常数。对于非竞争性抑制还可以通过简单的最大呼吸速率比值法来求解抑制常数。通过 NaCl 对葡萄糖降解的实验对非竞争性抑制类型的判断和抑制常数的求解进行了验证,最终得到葡萄糖降解 NaCl 的抑制常数为 20.2 g/L,或者 0.02 倍的 K_s ,证明该方法基本可行的。

参 考 文 献

- [1] 顾夏声. 废水与生物处理数学模式. 北京:清华大学出版社, 1993
- [2] IAW Task Group. *Respirometry in Control of the Activated Sludge Process: Benchmarking Control Strategies*. London: IWA Publishing, 2002
- [3] Henry Spanjers, *et al.* Towards a simulation-benchmark for evaluating respirometry-based control strategies. *Wat. Sci. Tech.*, 1998, 37(12):219 ~ 226
- [4] Nancy I. Lopez, *et al.* Controls on nitrification in a water-limited ecosystem: Experimental inhibition of ammonia-oxidising bacteria in the Patagonian steppe. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35: 1609 ~ 1613
- [5] 崔有为,王淑莹,甘湘庆. 生物处理含盐污水的盐抑制动力学. *环境污染治理技术与设备*, 2005, 6(5): 38 ~ 41