

# Study on Nitrification and Its Impact Factors in Surface Water of Xinglin Bay

Biyang He\*, Guangnan Ou, Yuze Lv, Yu Huang, Li Li

College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen Fujian  
Email: \*byhe@jmu.edu.cn

Received: Dec. 7<sup>th</sup>, 2016; accepted: Dec. 24<sup>th</sup>, 2016; published: Dec. 27<sup>th</sup>, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

The spatial distribution and seasonal variation of dissolved inorganic nitrogen, the performance of nitrification and its impact factors in Xinglin Bay were investigated based on field observation and laboratory simulation incubations in August 2011 (summer) and February 2012 (winter). The results showed that the inorganic nitrogen and nitrification rates had significant spatial and seasonal variation. The relative higher concentrations of inorganic nitrogen coupling with higher nitrification rates were observed at the upstream and downstream of the Bay as compared to the middle stream, suggesting that inorganic nitrogen was the major factor affecting the spatial distribution of nitrification. Seasonally, the concentrations of inorganic nitrogen and nitrification rates were higher in summer than that in winter, indicating that inorganic nitrogen concentrations and the water temperature were the major factors affecting the seasonal variation of nitrification in the Bay. The laboratory experiments showed that temperature, pH, ammonia concentration and particulate matter had important effects on nitrification. Especially, the temperature and particulate matter had significant effects on nitrifying capacity. The increase of 10°C of temperature, the nitrification rate could be increased by 2.9 times within the temperature range 20°C - 30°C. The nitrification rate in the filtered water (through ~3 μm pore size filter) was only 1/5 of that in unfiltered water. At low concentration ( $\text{NH}_4^+ - \text{N} < 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), the increase of ammonia concentration could enhance the nitrification. However, higher temperature and ammonia concentration could inhibit the process of nitrification. The optimum conditions for nitrification were pH 8.0, temperature 30°C and ammonia concentration  $3.0 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ , indicating that the microorganism adapted to the long-term habitat. It was estimated that around 38% - 52% of input ammonia was removed by nitrification in water column in the Bay, suggesting that nitrification was important on nitrogen cycle in Xinglin Bay.

## Keywords

Inorganic Nitrogen, Nitrification, Ammonia-Oxidizing Bacteria, Ammonia Oxidation Rate, Xinglin Bay

\*通讯作者。

# 杏林湾水体的硝化作用及其影响因素研究

何碧烟\*, 欧光南, 吕禹泽, 黄煜, 李丽

集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门

Email: \*byhe@jmu.edu.cn

收稿日期: 2016年12月7日; 录用日期: 2016年12月24日; 发布日期: 2016年12月27日

## 摘要

文章采用现场调查结合实验室模拟培养, 研究了2011年8月和2012年2月杏林湾表层水体溶解无机氮的分布、硝化作用强度及其影响因素。结果表明, 杏林湾水体溶解无机氮和硝化作用强度的空间差异和季节变化显著, 湾区上游和下游的溶解无机氮的浓度和硝化速率均比中游高, 夏季溶解无机氮的浓度和硝化速率比冬季高, 说明溶解无机氮的浓度和温度是控制硝化作用空间变化和季节变化的主要因素。实验室培养的结果表明, 温度、pH、氨的浓度和颗粒物对硝化菌的硝化作用均有重要的影响, 其中温度和颗粒物对硝化作用强度影响最为显著。在20℃~30℃之间, 温度升高10℃硝化速率提高2.9倍; 水样经3 μm的滤膜过滤去除颗粒物后, 硝化作用强度减弱为原水的1/5。pH对硝化作用有较大影响, 当pH值为8.0时, 硝化速率最大。当氨的浓度 $< 3.0 \text{ mg} \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$  (即 $214 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{N} \cdot \text{L}^{-1}$ )时, 提高氨浓度可有效促进硝化作用, 但是较高的氨浓度、较高的温度反而会抑制硝化作用, 反映了微生物对长期生境的适应性。根据实验结果估算, 硝化作用可以把输入杏林湾水体的38%~52%的氨氮转化为硝氮, 对区域氮循环具有重要意义。

## 关键词

溶解无机氮, 硝化作用, 氨氧化菌, 氨氧化速率, 杏林湾

## 1. 引言

硝化作用是指在硝化菌作用下, 把氨氮氧化成硝氮的过程。随着工农业的高速发展, 人类活动对河口近岸环境的影响越来越突出, 特别是最近50年来, 人类活动已使河流输送的溶解无机氮增加了2~4倍[1]。河口中氮负荷的大量增加已经引起多种环境效应, 赤潮频发和河口缺氧就是典型的例子, 已发展成为当今世界面临的一个全球性重大环境问题。

硝化作用可以将水体和沉积物中的氨氮氧化为 $\text{NO}_3^-$ , 使氮素发生形态转化, 从而降低氨氮的毒性[2], 而产生的 $\text{NO}_3^-$ 通过反硝化作用形成 $\text{N}_2$ 和 $\text{N}_2\text{O}$ , 使氮返回到大气中, 从而完成一次氮的生物地球化学循环。硝化与反硝化作用是河口近岸氮素营养盐去除的重要途径, 对于缓解水体的富营养化状况具有重要作用。硝化作用是耗氧和产生质子的过程, 在氮污染严重的河口、近岸水域, 硝化作用是造成水体缺氧, 特别是底层水体和沉积物缺氧的重要原因[3] [4] [5]; 此外沉积物和水界面强烈的硝化作用, 会明显降低沉积物间隙水的pH值, 从而导致沉积物中重金属离子的溶出, 增加重金属的环境毒性[6]。硝化作用还是大气中 $\text{N}_2\text{O}$ 的重要来源[7] [8],  $\text{N}_2\text{O}$ 是第二大温室气体, 也是破坏大气臭氧层的主要化合物之一。全球 $\text{N}_2\text{O}$ 中有20%来源于海洋, 其中的60%以上来自近岸。河口、近岸水域的硝化作用的强度必然会影响到大气 $\text{N}_2\text{O}$ 的分布, 进而影响全球的气候系统。因此, 研究河口、近岸水域的硝化过程不仅有助于了解河口、近岸水体对氮的自净能力, 探明河口、近海缺氧区的形成机制, 而且对

研究全球气候变化也有重要意义。

河口、近岸水域硝化作用受复杂的物理、化学、生物等因子共同控制，且地区性差异很大。目前，国内外对河口、近岸水域的硝化作用的研究主要集中在河口沉积物和滨海湿地沉积物[2] [9] [10] [11]，对水体的硝化作用的研究还比较缺乏，对硝化作用发生的条件，以及环境因素对硝化作用产生影响的机制尚不清楚。本文以受人类影响比较严重的杏林湾为研究区域，通过现场调查结合实验室模拟培养，研究了杏林湾表层水体溶解无机氮和硝化作用强度的空间分布和季节变化，探讨了温度、pH、氨氮浓度以及颗粒物等环境因素对硝化作用的影响，以深化对河口、近岸水域氮循环机制的认识。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 研究区域概况

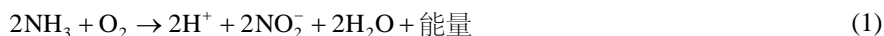
杏林湾位于厦门市北部的集美区内，杏林湾水域由后溪、港头、杏林等区域的小溪流或沟渠汇集而成，原属亚热带海湾滩涂。经 1956 年人工修筑集杏海堤后，形成一个封闭的淡水水库。杏林湾水库流域面积 142 km<sup>2</sup>，集水面积 67.3 km<sup>2</sup>，库容面积约 2.2 km<sup>3</sup>，平均水深约 2.5 m，最大深度 5.5 m [12]。水库北部形成淡水水域，南部由于厦门西海域海水通过集杏海堤渗透进入，形成咸淡混合水体。杏林湾外海域潮汐为正规半日潮，由于集杏海堤和集美水闸等作用，把杏林湾水体与外海水体基本隔断，使其受外海潮汐作用较小。随着厦门城镇化的快速推进，工业、农业、水产养殖、畜禽养殖及生活污水等不断排入水库，使库区氮磷浓度严重超标达到劣五类水，水体富营养化日益严重[13]。

### 2.2. 站位设置及样品采集

于 2011 年 8 月(夏季)和 2012 年 2 月(冬季)沿杏林湾水库的上游到下游分别设定 5 个站位(见图 1)，采集表层水样进行氮素营养盐的形态分析，并用多功能水质分析仪(德国 WTW, Multi 3420)现场测定表层温度、盐度、溶解氧、pH。同时在水库的上游 S1 站、中游 S2 站和下游 S5 分别进行硝化作用实验室模拟培养。为了研究环境因素对硝化作用的影响，于 2012 年 3 月期间取 S5 站位的表层水样进行实验室受控培养。各个站位的表层水样用小桶采集，装入 20 L 的聚碳酸酯瓶中，马上运回实验室进行相关指标的测定和培养实验，样品采集和后续处理的时间间隔一般不超过 3 h。所有采样器械、容器、滤膜、培养装置均预先经过 1.0 mol·L<sup>-1</sup> 的 HCl 酸泡 24 h，再用超纯水洗至中性后使用。

### 2.3. 硝化速率的测定

硝化速率的测定采用抑制剂法[4]。一般认为自然环境中的硝化作用分两步完成，第一步是氨在氨氧化菌(AOB)的作用下被氧化为 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>；第二步是 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>在亚硝酸盐氧化菌(NO<sub>2</sub>-oxidizing bacteria, NOB)的作用下被氧化为 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>。硝化作用可简单表示如下：



抑制剂法的测定原理如下：在培养过程中加入 NaClO<sub>3</sub> 抑制剂，可以阻止硝化反应的第二步反应，即 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 被氧化成 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>，但不会阻止 NH<sub>3</sub> 氧化成 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的第一步反应，因此随着培养的进行，NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 浓度将逐渐升高，测量 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 浓度的升高速率，就可以得到氨氧化速率。相应地在培养过程中加入烯丙基硫脲(ATU)抑制剂，可以阻止硝化反应的第一步反应，但不会阻止第二步反应，因此 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 浓度将逐渐降低，测量 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 浓度的降低速率，就可以得到 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 氧化速率。本文报道的氨氧化速率和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 氧化速率均为培养 48 h 的平均速率。

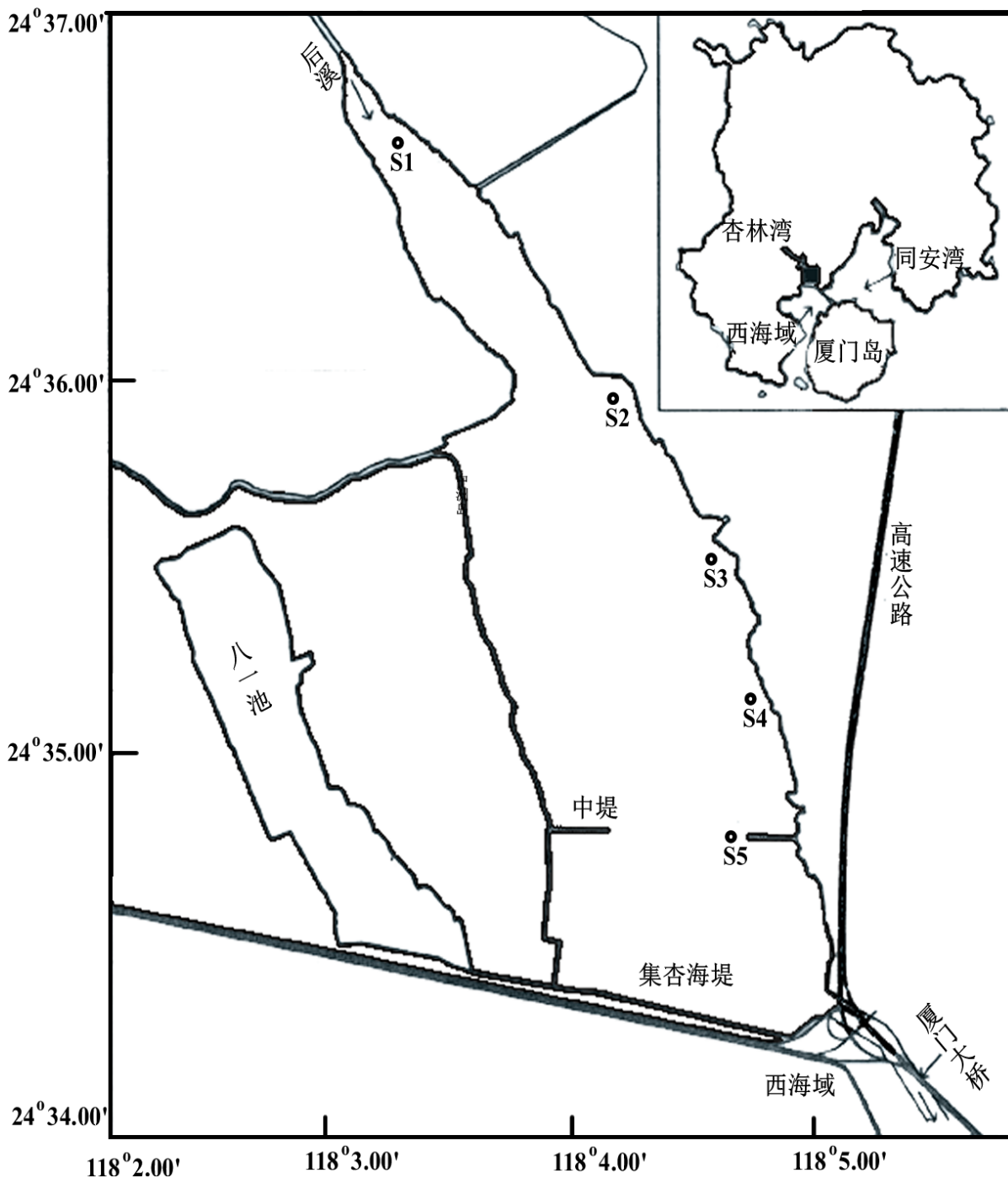


Figure 1. Location of sampling sites in Xinglin Bay  
图 1. 杏林湾水域的调查站点

测定方法简述如下：将上述水样分装入 3 个洗净和灭菌后的 4 L 的棕色玻璃瓶子中，装入之前先用水样润洗三遍。其中 1 号瓶中加  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ATU, 2 号瓶中加  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  氯酸钠, 3 号瓶中加  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  ATU 和氯酸钠  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  作为控制样。置于恒温培养箱避光培养，培养温度控制与现场采样时的水温相当，即夏季为  $30^\circ\text{C}$ ，冬季为  $15^\circ\text{C}$ ，培养周期 48 h。分别在培养之初(0 h)、24 h、48 h 取培养水样，经  $0.45 \mu\text{m}$  纤维滤膜过滤后，用于测定亚硝酸盐氮的浓度。

## 2.4. 环境因素对硝化作用强度的影响

采用单因素实验法研究环境因素对硝化作用的影响,即在实验中,只有一个因素在变化,其余的因素保持不变。即采集 S5 站位的表层水样,分别在不同的温度下进行培养以研究温度的影响;同样采集 S5 站位的表层水,用稀盐酸或稀氢氧化钠调节成不同的 pH,然后在 30℃ 下进行培养以研究 pH 的影响;取 S5 站位的表层水样,加入  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  调整成含不同的  $\text{NH}_4^+$  浓度,然后在 30℃ 下进行培养以研究  $\text{NH}_4^+$  浓度的影响;颗粒物的影响则采用过 3  $\mu\text{m}$  滤膜的水样和未过滤的水样在 30℃ 进行对照培养。

## 2.5. 溶解无机氮浓度测定

溶解无机氮包括氨氮、亚硝氮和硝氮。样品采集后马上运回实验室用 0.45  $\mu\text{m}$  的纤维素滤膜过滤,滤液用于测定氨氮、亚硝氮和硝氮的浓度。其中氨氮浓度测定采用靛酚蓝法[4],  $\text{NO}_2^-$ -N 浓度测定采用盐酸萘乙二胺法[4],  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度测定采用锌镉还原法[14]。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 杏林湾水体溶解无机氮的空间分布和季节变化

考虑到杏林湾水库水体较浅,平均深度仅 2.5 m,因此只对表层水体进行采样和观测。如表 1 所示,2011 年 8 月(夏季)杏林湾表层水体的盐度范围在 0.3~0.9 之间,下游因受海水渗入的影响盐度略高于上游,但差别不大;水温在 29.4℃~30.0℃ 之间,空间差异不明显;溶解氧(DO)浓度范围为 4.8~6.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,均低于现场温度、盐度和气压条件下水体 DO 的饱和度,存在不同程度的氧亏损现象,这主要是因为水体存在强烈的生物耗氧,夏季水体总耗氧速率可高达 2.1~3.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  (何碧烟等,未发表数据)。2012 年 2 月(冬季)因为上游来水较夏季少,表层水体盐度略高于夏季,范围在 0.3~1.2 之间;水温明显低于夏季,杏林湾水浅,水温基本受气温变化控制,空间差异很小;溶解氧浓度范围为 6.0~9.2  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,比夏季高,主要是因为冬季气温低,氧在水中的溶解度较大,此外还因为水温较低,微生物耗氧速率也比较低。

夏季杏林湾水库  $\text{NH}_4^+$ -N 的浓度范围为 30~96  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NO}_2^-$ -N 的浓度约为 25~33  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NO}_3^-$ -N 的浓度约是 230~281  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ 。冬季  $\text{NH}_4^+$ -N 的浓度范围为 13~93  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NO}_2^-$ -N 的浓度约为 21~24  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NO}_3^-$ -N 的浓度约 166~287  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ 。三态氮中以  $\text{NO}_3^-$ -N 为主,夏季  $\text{NO}_3^-$ -N 平均占总溶解无机氮(TDIN)的 74%,冬季占 78%,其次是  $\text{NH}_4^+$ -N,夏季和冬季  $\text{NH}_4^+$ -N 分别约占 TDIN 的 17% 和 14%,  $\text{NO}_2^-$ -N 的含量最少,在两个季节均约占 TDIN 的 8%。

$\text{NH}_4^+$ -N 的空间差异最显著,无论是春季或者夏季最高值都出现在水库上端的 S1 站,可能是由于上游受杏林居民排污影响较大,而且上游水浅,沉积物再悬浮可能也是造成水体  $\text{NH}_4^+$ -N 高的原因;水库中游区域由于没有污水输入的影响,  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度比较低;靠下游的 S4 站附近有 2 个排污口,受污水输入的影响营养盐浓度也比较高。从季节变化看,夏季的  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度均大于冬季,可能是因为夏季暴雨频发,雨水把杏林湾周边富含营养盐的污水冲刷进入杏林湾水库造成的。这与文献报告杏林湾水库丰水期的污染指数比枯水期高是一致的[12]。

### 3.2. 杏林湾水体的硝化速率

杏林湾表层水体的氨氧化速率和  $\text{NO}_2^-$  氧化速率的分布如表 2 所示,夏季水体氨氧化速率在 5.28~9.33  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  之间,平均值为  $7.15 \pm 2.04 \mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,亚硝酸盐氧化速率在 2.64~8.78  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  之间,平均值为  $5.42 \pm 3.10 \mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。冬季水体氨氧化速率在 1.16~4.52  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  之间,平均值为  $2.93 \pm 1.69 \mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,亚硝酸盐的氧化速率在 0.95~1.92  $\mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  之间,平均值为  $1.55 \pm 0.52 \mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。从总体上看,水体的氨氧化速率大于亚硝酸盐的氧化速率,这可能是导致水体亚硝



**Table 1.** Spatial and seasonal variation of physical and chemical parameters and inorganic nitrogen in surface water of the Xinglin Bay**表 1.** 杏林湾表层水体的理化参数和无机氮的空间分布与季节变化

采样时间	站位	盐度	水温(°C)	DO(mg·L <sup>-1</sup> )	pH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	TDIN
						(μmol·N·L <sup>-1</sup> )			
夏季	1	0.3	30.0	6.5	7.47	96	31	277	404
	2	0.5	29.6	4.8	8.39	30	31	263	324
	3	0.6	29.6	5.5	8.12	57	26	230	313
	4	0.7	29.4	6.5	7.91	57	33	281	371
	5	0.9	29.9	5.2	8.31	63	25	262	350
	平均值	0.6	29.7	5.7	8.04	61	29	262	352
	变异系数(%)	37.3	0.8	13.5	4.6	38.9	11.7	7.6	10.5
冬季	1	0.3	15.2	6.6	7.71	93	24	287	405
	2	1.1	15.1	9.2	8.23	16	22	166	204
	3	1.1	15.1	6.0	8.25	25	21	172	218
	4	1.2	15.6	6.8	8.15	32	23	281	335
	5	1.2	15.1	6.9	7.78	23	21	179	222
	平均值	1.0	15.2	7.1	8.02	38	22	217	277
	变异系数(%)	39.1	1.4	17.3	3.2	83.2	7.0	28.3	32.0

注: DO 指溶解氧; TDIN 指总溶解无机氮, 包括氨氮、亚硝氮和硝氮。

**Table 2.** Spatial and seasonal variation of nitrification rates in surface water of the Xinglin Bay**表 2.** 杏林湾表层水体硝化速率的空间分布和季节变化

站位	夏季		冬季	
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 氧化速率	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 氧化速率	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> 氧化速率	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> 氧化速率
1	6.84	8.78	4.52	0.95
2	5.28	2.64	1.16	1.78
5	9.33	4.85	3.12	1.92
平均值	7.15	5.42	2.93	1.55
变异系数(%)	28.6	57.3	57.5	33.8

注: 速率单位均为 μmol·N·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>。

酸盐积累的主要原因。从空间分布看, 水库上游 S1 站和下游的 S5 站的氨氧化速率和亚硝酸盐的氧化速率均高于中游的 S2 站, 氨氧化速率的空间分布和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 的空间分布基本一致, 说明氨氧化速率的空间差异可能主要受 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 浓度的空间差异决定。从季节变化看, 夏季氨氧化速率和亚硝酸盐的氧化速率均高于冬季, 其原因可能是夏季水体的平均温度大于冬季, 促进了硝化作用, 同时夏季水体的溶解无机氮的浓度也比冬季高, 为硝化细菌提供充足的反应底物, 有利于硝化作用的进行。

## 4. 讨论

### 4.1. 温度对氨氧化速率的影响

如表 2 所示, 杏林湾水体的硝化作用强度存在显著的空间差异和季节变化, 推测可能与无机氮的浓

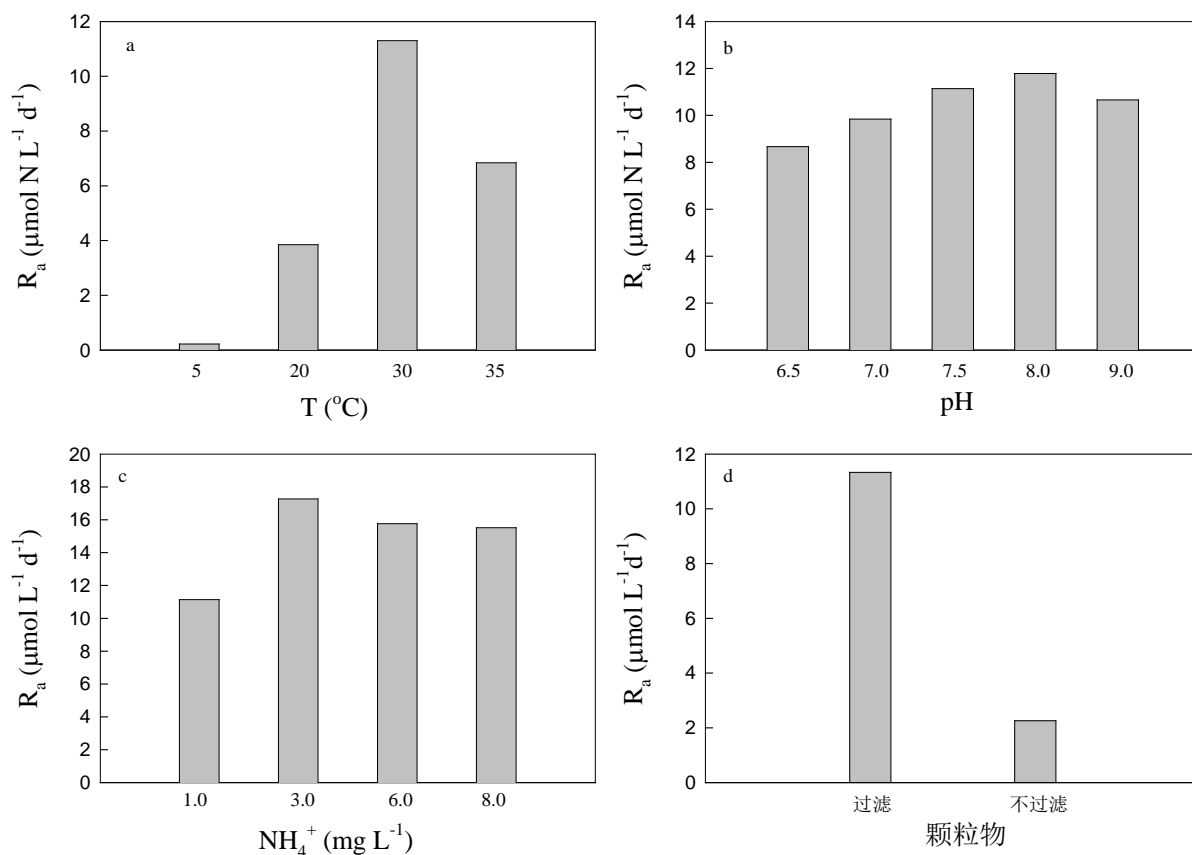
度、水体的温度、pH 等环境因素有关。为了确认环境因素对硝化作用的影响，本研究于 2012 年 3 月期间采集 S5 站位水样进行实验室受控培养。实验结果如图 2 所示。

#### 4.1.1. 温度对氨氧化速率的影响

从图 2a 可以看出，在温度 5°C~30°C 之间，随着温度的升高，硝化速率显著提高。本研究结果显示硝化作用最适宜的温度是 30°C 左右，温度太低会抑制硝化作用，当温度为 5°C 时硝化作用几乎完全被抑制，氨氧化速率只有  $0.22 \mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ，但是温度过高也会抑制硝化作用，例如温度 35°C 时氨氧化速率反而有所降低，硝化速率随温度的这种变化趋势可能是微生物适应环境的结果。根据我们多年的观测，杏林湾水体的温度在全年的大部分时间都处于 20°C~30°C 之间，这也是该区域微生物比较适应的生长温度。在此温度范围内，温度升高 10°C 氨氧化速率提高 2.9 倍(即  $Q_{10} = 2.9$ )。Jones 等[15]通过培养测得海洋和淡水硝化细菌的典型  $Q_{10}$  值范围为 1~3.5 之间，与本文的测定结果吻合。温度对硝化作用的影响很好地解释了杏林湾水体夏季硝化作用比冬季强的现象。

#### 4.1.2. pH 对硝化作用的影响

pH 从 6.5 提高到 8.0，水体的硝化作用强度有一定程度的提高。当 pH 为 8.0 时，氨氧化速率达到最大，为  $11.78 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ，是 pH 为 6.5 时 1.36 倍。然而，pH 进一步升高到 9.0，氨氧化速率反而有所下降，说明弱碱性条件下有利于硝化作用，而弱酸性和较强的碱性条件下会对硝化作用产生抑制。pH 对硝化作用有重要的影响，一方面 pH 可以影响氨的解离平衡，从而影响氨氮中的游离态氨( $\text{NH}_3$ )的比例。我们知道氨氮包括离子态的  $\text{NH}_4^+$  和游离态的  $\text{NH}_3$ ，二者存在如下平衡：



**Figure 2.** The influence of temperature, pH, ammonia concentration and particulate matter on ammonia oxidation rates ( $R_a$ )  
**图 2.** 温度、pH、氨的浓度和颗粒物对氨氧化速率( $R_a$ )的影响



当水体 pH 发生变化时, 上述平衡也随之移动, 由上述解离平衡(3)可以推导出游离氨  $\text{NH}_3$  浓度的计算公式(4):

$$[\text{NH}_3]_{\text{游离}} = \frac{[\text{TAN}] \times 10^{\text{pH}}}{K_b/K_w + 10^{\text{pH}}} \quad (4)$$

式中: TAN 代表总氨氮浓度( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ );  $K_b$  是氨的解离常数;  $K_w$  是水的离子积常数。 $K_b$  和  $K_w$  都是温度的函数,  $K_b/K_w$  随温度变化可以由公式(5)近似计算[16]:

$$K_b/K_w = \exp[6334/(273 + t)] \quad (5)$$

式中:  $t$  代表温度( $^{\circ}\text{C}$ )。由(4)和(5)可以计算出, 在温度为  $30^{\circ}\text{C}$  时, pH 从 6.5 升高到 8.0, 游离  $\text{NH}_3$  占 TAN 的比例从~0.3% 升高到~7.7%, 而  $\text{NH}_3$  被认为是 AOB 作用真正底物, 因此适度升高 pH 值可以促进氨氧化作用。另一方面, 当 pH 过高时会影响氨氧化酶的活性, 从而降低氨氧化速率, 这在其它水域也有类似的报道[17]。

#### 4.1.3. 氨浓度对硝化作用的影响

在低浓度下随着水样中氨氮浓度的上升, 硝化作用强度逐渐上升, 氨的浓度从  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$  升高到  $3.0 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 氨氧化速率增加了~55%。氨氮是 AOB 作用的底物, 适度增加底物的浓度能够促进 AOB 的生长, 从而提高氨氧化速率。但是氨浓度进一步升高到  $6.0 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$  氨氧化速率并没有进一步升高, 反而略有下降, 表现为弱抑制现象。而此时水体中游离氨的浓度~ $0.45 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ , 和上述 pH 等于 9.0 时水体中游离氨的浓度~ $0.46 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$  相当, 预示着较高氨浓度和较高 pH 对硝化作用的抑制机理可能是相似的。值得注意的是以往的研究表明, AOB 对氨氮的耐受性比较强, 游离  $\text{NH}_3$  的浓度大于  $10\sim 150 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$  才会对 AOB 产生抑制作用[18]。本实验设定的氨氮浓度范围  $1.0\sim 8.0 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ , 对应的游离态  $\text{NH}_3$  浓度为  $0.077\sim 0.62 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ , 远低于前人报道的  $\text{NH}_3$  对 AOB 的抑制阈值[18]。本研究涉及的是天然水体中的氨氧化菌, 因其长期生长在氨浓度较低( $0.3\sim 1.3 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ , 见表 1)的环境中, 不能适应短期内氨浓度的大幅升高是可以理解的。类似的现象在其它天然水体中也有报道, 例如, Isnansetyo 等[17]报告氨氮浓度大于  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$  (即  $2.8 \text{ mg}\cdot\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 时, 会抑制 Ariake 海水体的硝化作用, 这进一步说明了微生物对环境的适应性。

#### 4.1.4. 颗粒物对硝化作用的影响

图 2d 所示, 经过  $3 \mu\text{m}$  滤膜过滤后的水样培养测得的氨氧化速率大约只有未过滤水样的 1/5, 说明颗粒物的存在可以显著提高氨氧化作用。这是因为一方面经过过滤后, 水中 AOB 和 NOB 的数量减少, 从而使硝化作用减弱[19]。另一方面, 颗粒物是一种吸附载体, 可以通过吸附水体中的氨氮并在颗粒物表面提供细菌氧化的场所, 从而加快硝化反应[19]。但是, 二者对天然水体中硝化作用的相对重要性尚不清楚, 有待于进一步深入研究。

### 4.2. 硝化作用对杏林湾生态环境的影响

根据 2005 年的统计数据[13], 每年排入杏林湾的总氮量为  $1195\sim 1605 \text{ t}$ , 假设把水库最上端 S1 站氨氮占总氮的比例~23% 作为输入杏林湾水库的氨氮百分比, 则每年输入库区的总氨氮量为  $275\sim 269 \text{ t}$ 。再假设本研究测定的夏季和冬季的氨氧化速率的平均值能够代表库区全年的平均氨氧化速率, 结合杏林湾水库面积(~ $2.2 \text{ km}^2$ )和平均水深(~ $2.5 \text{ m}$ ) [12], 可以估算出杏林湾水库的水体每年通过硝化作用可以将大约  $142 \text{ t}$  氨氮转化为硝氮, 相当于输入杏林湾水域氨氮通量的 38%~52%。尽管本研究调查站位较少, 调查



的次数有限, 可能导致计算氨氮去除通量存在较大的不确定性, 但由此还是可看出, 水体的硝化作用对杏林湾氮循环的影响不容忽视。此外, 硝化作用需要消耗大量溶解氧, 每减少 1.0 mol 氨需要消耗 1.82 mol 氧分子[20], 在硝化作用强烈的区域可能造成底层水体或沉积物缺氧而影响其它生物的生长, 同时硝化作用是个产生质子的过程, 沉积物和水界面强烈的硝化作用, 会明显降低沉积物间隙水的 pH 值, 从而导致沉积物中重金属离子的溶出, 增加重金属的环境毒性。因此, 杏林湾水体的硝化作用对区域氮循环和生态环境演变具有重要意义。

## 5. 结论

1) 杏林湾水体溶解无机氮和硝化作用强度的空间差异和季节变化显著, 湾区上游和下游的溶解无机氮的浓度和硝化速率均比中游高, 夏季溶解无机氮的浓度和硝化速率比冬季高, 说明溶解无机氮的浓度和温度是控制硝化作用强度空间分布格局和季节变化规律的主要因素。

2) 实验室培养的结果显示, 温度、pH、氨的浓度和颗粒物对硝化作用均有重要的影响, 其中温度和颗粒物的存在对硝化作用强度影响最为显著。在 20℃~30℃之间, 温度升高 10℃硝化速率可以提高 2.9 倍; 水体中的颗粒物对于硝化作用具有显著的促进作用。

3) 根据研究结果估算出杏林湾水体每年通过硝化作用可以将~142 t 氨氮转化为硝氮, 相当于输入杏林湾水域氨氮通量的 38%~52%, 硝化作用对区域氮循环具有重要意义。

## 基金项目

福建省自然科学基金项目(2015J01167); 集美大学科研基金项目。

## 参考文献 (References)

- [1] Seitzinger, S.P. and Kroeze, C. (1998) Global Distribution of Nitrous Oxide Production and N Inputs in Freshwater and Coastal Marine Ecosystems. *Global Biogeochemical Cycles*, **12**, 93-113. <https://doi.org/10.1029/97GB03657>
- [2] 白洁, 陈春涛, 赵阳国, 等. 辽河口湿地沉积物硝化细菌及硝化作用研究[J]. 环境科学, 2010, 31(12), 3011-3017.
- [3] Garnier, J., Servais, P., Billen, G., et al. (2001) Lower Seine River and Estuary (France) Carbon and Oxygen Budgets during Low Flow. *Estuaries*, **24**, 964-976. <https://doi.org/10.2307/1353010>
- [4] Dai, M., Wang L., Guo, X., et al. (2008) Nitrification and Inorganic Nitrogen Distribution in a Large Perturbed River/Estuarine System: The Pearl River Estuary, China. *Biogeosciences*, **5**, 1545-1585. <https://doi.org/10.5194/bg-5-1227-2008>
- [5] He, B., Dai, M., Zhai, W., et al. (2014) Hypoxia in the Upper Reaches of the Pearl River Estuary and Its Maintenance Mechanisms: A Synthesis Based on Multiple Year Observations during 2000-2008. *Marine Chemistry*, **167**, 13-24. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.07.003>
- [6] Zeng, X., Chen, X. and Zhuang, J. (2015) The Positive Relationship between Ocean Acidification and Pollution. *Marine Pollution Bulletin*, **91**, 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.001>
- [7] de Wilde, H.P.J. and de Bie, M.J.M. (2000) Nitrous Oxide in the Scheldt Estuary: Production by Nitrification and Emission to the Atmosphere. *Marine Chemistry*, **69**, 203-216. [https://doi.org/10.1016/S0304-4203\(99\)00106-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4203(99)00106-1)
- [8] Lin, H., Dai, M., Kao S. J. et al. (2016) Spatiotemporal Variability of Nitrous Oxide in a Large Eutrophic Estuarine System: The Pearl River Estuary, China. *Marine Chemistry*, **182**, 14-24. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2016.03.005>
- [9] 王玉萍, 王立立, 李取生, 等. 珠江河口湿地沉积物硝化作用强度及影响因素研究[J]. 生态科学, 2012, 31(3), 330-334.
- [10] 徐继荣, 王友绍, 殷建平, 等. 珠江口入海河段 DIN 形态转化与硝化和反硝化作用[J]. 环境科学学报, 2005, 25(5): 686-692.
- [11] Hou, M., Xiong, J., Wang, K., et al. (2014) Communities of Sediment Ammonia-Oxidizing Bacteria along a Coastal Pollution Gradient in the East China Sea. *Marine Pollution Bulletin*, **86**, 147-153. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.07.031>

- [12] 王静, 刘瑞志, 李捷, 等. 厦门市杏林湾水库水环境质量评价分析[J]. 浙江农业科学, 2014, 1(10): 1599-1607.
- [13] 龙邹霞. 基于生态系统健康的湖泊生态需水研究[D]: [硕士学位论文]. 厦门: 国家海洋局第三海洋研究所, 2007.
- [14] 国家技术监督局. GB 12763.4-91 中华人民共和国国家标准, 海洋调查规范第 4 部分: 海水化学要素调查[S]. 北京: 中国标准出版社, 1991.
- [15] Jones, R.M., Bye, C.M. and Dold, P.L. (2005) Nitrification Parameter Measurement for Pliant Design: Experience and Experimental Issues CD with New Methods. *Water Science & Technology*, **52**, 461-468.
- [16] 陈旭良, 郑平, 金仁村, 等. pH 和碱度对生物硝化影响的探讨[J]. 浙江大学学报, 2005, 31(6): 755-759.
- [17] Isnansetyo, A., Getsu, S., Seguchi, M. and Koriyama, M. (2014) Independent Effects of Temperature, Salinity, Ammonium Concentration and ph on Nitrification Rate of the Ariake Seawater above Mud Sediment. *Hayati Journal of Biosciences*, **21**, 21-30. <https://doi.org/10.4308/hjb.21.1.21>
- [18] Anthonisen, A.C., Loehr, R.C., Prakasam, T.B., et al. (1976). Inhibition of Nitrification by Ammonia and Nitrous Acid. *Journal of the Water Pollution and Control Federation*, **48**, 835-852.
- [19] 余晖, 张学青, 夏星辉, 等. 黄河水体颗粒物对硝化过程的影响研究[J]. 环境科学学报, 2004, 24(4): 601-606.
- [20] Rittmann, B.E. and McCarty, P.L. (2001) *Environmental Biotechnology: Principles and Applications*. McGraw-Hill, New York, 408.

期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [amb@hanspub.org](mailto:amb@hanspub.org)