

# Effects of Ammonia Accumulation on Nitrification Process in Water of the Eutrophic Shallow Freshwater Lakes

Guoyuan Chen

Water Resources and Environmental Institute, Xiamen University of Technology, Xiamen, China

Email: cgy1117@yahoo.com.cn

**Abstract:** Nitrification is a process in which ammonia is oxidized to nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) that is further oxidized to nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ). The relations between these two steps and ambient ammonia concentrations were studied in surface water of Lake Yuehu and Lake Dianchi. The rates of ammonia oxidation were higher than those for  $\text{NO}_2^-$  oxidation in the two eutrophic lakes. This can be explained by the excessive unionized ammonia ( $\text{NH}_3$ ) concentration that inhibits nitrite oxidizing bacteria. Furthermore,  $\text{NO}_2^-$  oxidation was less associated with particles in natural water of the studied lakes. Without effective protection, it would be selectively inhibited by the excessive ammonia in eutrophic lakes, resulting in  $\text{NO}_2^-$  accumulation. Shortly, the increased concentrations of ammonia cause a misbalance between the  $\text{NO}_2^-$ -producing and the  $\text{NO}_2^-$ -consuming processes, thereby exacerbating the lake eutrophication.

**Keywords:** nitrification; ammonia accumulation;  $\text{NO}_2^-$  accumulation; eutrophic lakes

## 富营养化浅水湖泊水体中氨氮积累对硝化作用的影响研究

陈国元

厦门理工学院水资源环境研究所, 厦门, 中国, 361005

Email: cgy1117@yahoo.com.cn

**摘要:** 硝化作用分两个过程进行, 首先是氨被氧化成亚硝酸盐 ( $\text{NO}_2^-$ ), 然后再被氧化成硝酸盐 ( $\text{NO}_3^-$ )。本文系统研究了富营养化湖泊月湖和滇池水体中硝化作用的两个过程及其与氨氮浓度的关系。结果表明: 月湖和滇池水体中存在的高浓度非离子态氨 ( $\text{NH}_3$ ) 抑制了亚硝酸盐氧化过程, 从而导致高氨氧化速率和低亚硝酸盐氧化速率。同时, 与氨氧化过程相比, 月湖和滇池水体中亚硝酸盐氧化的颗粒态活性部分较少, 更容易受到高浓度  $\text{NH}_3$  的抑制。简言之, 富营养化湖泊水体中氨氮的积累导致了氨氧化过程和亚硝酸盐氧化过程的不平衡, 促进了  $\text{NO}_2^-$  的积累, 在一定程度上加剧了水体的富营养化。

**关键词:** 硝化作用; 氨积累;  $\text{NO}_2^-$  积累; 富营养化湖泊

### 1. 引言

沉积物-水界面上的反硝化在削减富营养化湖泊氮源上起着重要作用。反硝化的底物是硝酸盐 ( $\text{NO}_3^-$ ), 而硝化作用是  $\text{NO}_3^-$  的一种主要内源, 是水生态系统中氮循环的一个非常重要的环节<sup>[1]</sup>。硝化作用包括氨氧化和亚硝酸盐氧化两个过程。由于人类大量使用化

厦门理工学院引进高层次人才科研启动项目 (YKJ09022R) 和国家自然科学基金项目 (2008CB418005) 联合资助。

肥和排放生活污水、工业废水造成大量含氮化合物进入湖泊生态系统。例如: 象牙海岸中心的一个湖泊水体中氨氮浓度超过  $1 \text{ mg l}^{-1}$ <sup>[2]</sup>; Onondaga 湖水体中氨氮浓度为  $1.5-4 \text{ mg l}^{-1}$ <sup>[3]</sup>; 中国 33 个湖泊水体氨氮平均浓度为  $0.36-1.30 \text{ mg l}^{-1}$ <sup>[4]</sup>。较高浓度的非离子态氨 ( $\text{NH}_3$ ) 会对硝化作用产生抑制<sup>[5]</sup>。因此, 系统研究氨氮积累的富营养化湖泊水体中硝化作用的发生过程, 明确氨氮积累对硝化作用的影响机制, 对于揭示湖泊生态系

统中氮的生物地球化学循环机理具有重要的理论意义。

## 2 材料与方法

### 2.1 研究湖泊概况

月湖 (114°14'–114°15'E, 30°33'N) 位于汉阳龟山以西, 汉水以南, 东西长约3150 m, 南北宽约450 m, 平均水深1.2 m, 总面积为0.66 km<sup>2</sup>。由于大量未经处理的生活污水和工业废水的排放导致月湖水体出现严重的富营养化<sup>[6]</sup>。

滇池 (102°36'–102°47'E, 24°40'–25°02'N) 是云贵高原第一大湖, 位于云南省昆明市城区西南面。近十几年来, 由于人类活动的影响, 滇池水体富营养化程度加剧, 以微囊藻为优势种的有毒蓝藻水华频繁发生, 湖泊生态系统日益恶化<sup>[7]</sup>。

### 2.2 样品采集与指标分析

于2006年3月和6月分别在月湖和滇池采集表层水样。用便携式测定仪现场测定温度(T)、溶氧(DO)、pH和透明度。水样密封冰冻后, 于3~4h内运回实验室供后续处理与分析。采集的水样过0.45 μm孔径的滤膜后, 严格按照《水和废水监测分析方法》(第四版)进行NO<sub>2</sub><sup>-</sup>和离子态氨(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)浓度的测定。NH<sub>3</sub>浓度根据Barnabe公式<sup>[8]</sup>进行计算。

氨氧化速率的测定: 取100 mL原水样于150 mL聚乙烯瓶中, 加入亚硝酸盐氧化抑制剂NaClO<sub>3</sub>(最终浓度为1.06 g l<sup>-1</sup>)<sup>[9]</sup>和NH<sub>4</sub><sup>+</sup>溶液(最终浓度为2 mM), 20°C下于黑暗中培养24 h<sup>[10]</sup>, 根据培养前后NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量的差值计算氨氧化速率<sup>[11]</sup>。

亚硝酸盐氧化速率的测定: 取100 mL原水样于150 mL聚乙烯瓶中, 加入氨氧化抑制剂丙烯基硫脲(ATU)(最终浓度为10 mg l<sup>-1</sup>)<sup>[9]</sup>和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>溶液(最终浓度为0.36 mM), 20°C下于黑暗中培养24 h<sup>[10]</sup>, 根据培养前后NO<sub>2</sub><sup>-</sup>含量的差值计算亚硝酸盐氧化速率<sup>[11]</sup>。

氨氧化和亚硝酸盐氧化速率的分级测定: 水样过3.0 μm孔径的滤膜后, 取滤液按上述方法测定氨氧化和亚硝酸盐氧化速率, 表示自由态活性, 记作F(<3.0 μm)。颗粒态活性, 记作F(>3.0 μm), 由原水的氨氧化和亚硝酸盐氧化速率减去自由态活性获得<sup>[12]</sup>。

## 3 结果

### 3.1 湖泊水质参数

如表1所示, 月湖和滇池水体的透明度平均值较低, 但是呈现较高的pH、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>和NH<sub>3</sub>浓度。同时月湖和滇池水体中出现明显的NO<sub>2</sub><sup>-</sup>积累。

### 3.2 氨氧化和亚硝酸盐氧化速率

如表2所示, 滇池和月湖水体中氨氧化速率显著高于(p<0.05)亚硝酸盐氧化速率, 其比值分别为2.36±0.574和1.71±0.389。

### 3.3 氨氧化和亚硝酸盐氧化速率的分级

如表3所示, 月湖和滇池水体中氨氧化的颗粒态活性分别占总活性的74.1%和78.4%, 亚硝酸盐氧化的颗粒态活性分别占总活性的59.4%和57.1%。

Table 1. Basic parameters (Mean±SD) in surface water of Lake Yuehu (n=12) and Lake Dianchi (n=15)

表1. 月湖(n=12)和滇池(n=15)水体的基本参数(Mean±SD)

水质参数	滇池	月湖
水深(cm)	283±46.3	123±13.8
透明度 (cm)	46.3±3.16	34.8±2.78
温度 (°C)	23.4±0.37	20.1±0.25
pH	9.42±0.113	9.21±0.389
DO (mg l <sup>-1</sup> )	5.27±0.672	8.34±0.481
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> (mg l <sup>-1</sup> )	0.086±0.021	0.103±0.026
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg l <sup>-1</sup> )	0.908±0.264	0.401±0.198
NH <sub>3</sub> (mg l <sup>-1</sup> )	0.522±0.182	0.156±0.051

Table 2. Rates of ammonia and NO<sub>2</sub><sup>-</sup> oxidation (Mean±SD) in surface water of Lake Yuehu (n=12) and Lake Dianchi (n=15)

表2. 月湖(n=12)和滇池(n=15)水体中氨氧化和亚硝酸盐氧化速率(Mean±SD)

湖泊	氨氧化速率(mgN l <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	亚硝酸盐氧化速率(mgN l <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )
滇池	0.046±0.025	0.020 ±
		0.011
月湖	0.176±0.064	0.115 ±
		0.043

Table 3. Size-fractionated rates of ammonia and NO<sub>2</sub><sup>-</sup> oxidation (Mean±SD) in surface water of Lake Yuehu (n=12) and Lake Dianchi (n=15)

表3. 月湖(n=12)和滇池(n=15)水体中氨氧化和亚硝酸盐氧化速率的分级(Mean±SD)

湖泊	氨氧化速率	亚硝酸盐氧化速率
----	-------	----------

	(mgN l <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )		(mgN l <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	
	F (>3.0 μm)	F (<3.0 μm)	F (>3.0 μm)	F (<3.0 μm)
滇池	0.027 ± 0.013	0.008 ± 0.003	0.012 ± 0.005	0.006 ± 0.002
月湖	0.133 ± 0.052	0.046 ± 0.018	0.079 ± 0.024	0.042 ± 0.017

## 4 讨论

氨氧化过程在许多生态系统中一般受到可利用性氨氮浓度的限制<sup>[13]</sup>。氨氧化细菌的底物饱和系数为 0.3 mg NH<sub>3</sub> l<sup>-1</sup><sup>[14]</sup>。较高浓度的 NH<sub>3</sub> 一定程度上促进了氨氧化过程，从而导致较高的氨氧化速率。但是，亚硝酸盐氧化过程会受到较高浓度 NH<sub>3</sub> 的抑制，从而导致较低的亚硝酸盐氧化速率。月湖和滇池水体中存在较高浓度的 NH<sub>3</sub>，同时存在高速率的氨氧化过程和低速率的亚硝酸盐氧化过程证实了这一点，说明在富营养化湖泊中氨氮的积累是影响硝化作用的一个重要因素。

氨氧化细菌在一定条件下会受到高浓度氨氮的抑制，但是亚硝酸盐氧化细菌对高浓度氨氮更加敏感<sup>[15]</sup>。例如：NH<sub>3</sub> 对淡水生态系统中氨氧化细菌的主要种类之一 *Nitrosomonas* 的抑制域值是 10—150 mg l<sup>-1</sup>，而对淡水生态系统中亚硝酸盐氧化细菌的主要种类之一 *Nitrobacter*<sup>[16]</sup> 的抑制域值是 0.1—1.0 mg l<sup>-1</sup><sup>[15]</sup>。同时，NH<sub>3</sub> 对淡水生态系统中亚硝酸盐氧化细菌的另一种主要种类 *Nitrospira*<sup>[16]</sup> 的抑制域值更低，为 0.04—0.08 mg l<sup>-1</sup><sup>[17]</sup>。月湖和滇池水体中的 NH<sub>3</sub> 浓度分别为 0.156 和 0.522 mg l<sup>-1</sup>，以达到对 *Nitrobacter* 和 *Nitrospira* 的抑制范围，而同时高浓度的氨氮却促进了氨氧化细菌的活性，从而导致高氨氧化速率和低亚硝酸盐氧化速率的情况。

自然水体中，硝化细菌一般是黏附在悬浮的或固定的固体颗粒物上，而不是以个体形式的自由形态生活<sup>[18-21]</sup>。硝化细菌黏附在固体颗粒物上，一方面可以导致它们在水中有较长的停留时间<sup>[22]</sup>，另一方面形成的生物膜可以增强它们抵抗高浓度氨氮、高 pH 等外界不良的环境因子<sup>[23]</sup>。例如，氨氮浓度在生物膜内呈梯度性降低<sup>[24]</sup>，因此可以极大地削弱氨氮对硝化细菌的抑制。在滇池和月湖水体中，颗粒态的氨氧化速率占总氨氧化速率的 78.4% 和 74.1%，而颗粒态的亚硝酸盐氧化速率仅占总亚硝酸盐氧化速率的 57.1% 和 59.4%，也就是说，在滇池和月湖水体中，有 42.9% 和

40.6% 的自由态生活的亚硝酸盐氧化细菌，这部分细菌很容易受到水体中已达到亚硝酸盐氧化细菌抑制域值的 NH<sub>3</sub> 的抑制，从而导致低速率的亚硝酸盐氧化过程。

以亚硝酸盐氧化速率为对照，对氨氧化速率和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 浓度进行偏相关分析，结果表明，月湖 ( $r = 0.83$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 12$ ) 和滇池 ( $r = 0.60$ ,  $p < 0.05$ ,  $n = 15$ ) 水体中氨氧化速率和 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 浓度呈显著正相关，说明富营养化程度比较高的湖泊水体中的高速率氨氧化和低速率亚硝酸盐氧化在一定程度上促进了 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 的积累。

## 5 结论

富营养化程度较高的湖泊水体中存在的高浓度氨氮在一定程度上会对亚硝酸盐氧化过程产生抑制，导致整个硝化作用的不完全，从而加剧水体的富营养化。

## 致 谢

非常感谢中国科学院水生生物研究所曾鹞、王智、刘云兵、邱珊莲等人在采集样品及实验过程中的大力支持和帮助。

## References (参考文献)

- [1] Wetzel RG. Limnology [M], 2nd edn. New York: Saunders College Press, 1983.
- [2] Parinet B, Lhote A, Legube B, Principal component analysis: an appropriate tool for water quality evaluation and management-application to a tropical lake system [J]. *Ecological Modelling*, 2004, 178, P295-311.
- [3] Effler SW, Brooks CM, Whitehead KA, Domestic waste inputs of nitrogen and phosphorus to Onondaga Lake, and water quality implications [J]. *Lake and Reservoir Management*, 1996, 12, P127-140.
- [4] Wu SK, Xie P, Wang SB, Zhou Q, Changes in the patterns of inorganic nitrogen and TN/TP ratio and the associated mechanisms of biological regulation in the shallow lakes along the middle and lower reaches of the Yangtze River [J]. *Science in China Series d-Earth Sciences*, 2006, 49(Suppl 1), P126-134.
- [5] Kim DJ, Lee DI, Keller J, Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH [J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97, P459-468.
- [6] Chen GY, Cao XY, Liu JY, Zhou YY, Adverse effects of ammonia on nitrification process: the case of Chinese shallow freshwater Lakes [J]. *Water Air Soil poll*, 2009, DOI 10.1007/s11270-009-0253-z.
- [7] Liu YM, Chen W, Li DH, Shen YW, Li GB, Liu YD, First report of aphanotoxins in China-waterblooms of toxigenic *Aphanizomenon flos-aquae* in Lake Dianchi [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, 65, P84-92.
- [8] Barnabe G. Aquaculture [M]. Ellis Horwood, London, United Kingdom, 1990.
- [9] Gernaey K, Bogaert H, Vanrolleghem P, Massone A, Rozzi A, Verstraete W, A titration technique for on-line nitrification monitoring in activated sludge [J]. *Water Science and Technology*, 1998, 37, P103-110.

- [10] Cébron A, Berthe T, Garnier J, Nitrification and nitrifying bacteria in the lower Seine river and estuary (France) [J]. *Applied and environmental microbiology*, 2003, 69(12), P7091-7100.
- [11] Féray C, Montuelle B, Chemical and microbial hypotheses explaining the effect of wastewater treatment plant discharges on the nitrifying communities in freshwater sediment [J]. *Chemosphere*, 2003, 50, P919-928.
- [12] Lam P, Cowen JP, Jones RD, Autotrophic ammonia oxidation in a deep-sea hydrothermal plume [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 47, P191-206.
- [13] Belser LW, Population ecology of nitrifying bacteria [J]. *Annual Review of Microbiology*, 1979, 33, P309-333.
- [14] Ciudad G, Werner A, Bornhardt C, Muñoz C, Antileo C, Differential kinetics of ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria: A simple kinetic study based on oxygen affinity and proton release during nitrification [J]. *Process Biochemistry*, 2006, 41, P1764-1772.
- [15] Anthonisen AC, Loehr RC, Prakasam TBS, Srinarh EG, Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid [J]. *Journal of Water Pollution Control Fed*, 1976, 48(5), P835-852.
- [16] Cébron A, Garnier J, Nitrobacter and Nitrospira genera as representatives of nitrite-oxidizing bacteria: Detection, quantification and growth along the lower Seine River (France) [J]. *Water Research*, 2005, 39, P4979-4992.
- [17] Blackburne R, Vadivelua VM, Yuan ZG, Keller J, Kinetic characterisation of an enriched Nitrospira culture with comparison to Nitrobacter [J]. *Water Research*, 2007, 41, P3033-3042.
- [18] Lusby FE, Gibbs MM, Cooper AB, Thompson K, The fate of groundwater ammonium in a lake edge wetland [J]. *J. Environ Qual*, 1998, 27, P459-466.
- [19] Stehr G, Böttcher B, Dittberner P, Rath G, Koops HP, The ammonia-oxidizing nitrifying population of the River Elbe estuary [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, 17, P177-186.
- [20] de Bie JM, Starink M, Boschker HTS, Peene JJ, Laanbroek HJ, Nitrification in the Schelde estuary: methodological aspects and factors influencing its activity [J]. *FEMS microbiology ecology*, 2002, 42, P99-107.
- [21] Iriarte A, Madariaga I, de Diez-Garagarza F, Revilla M, Orive E, Primary plankton production, respiration and nitrification in a shallow temperate estuary during summer [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1996, 208, P127-151.
- [22] Soetaert K, Herman PMJ, Estimating estuarine residence times in the Westerschelde (The Netherlands) using a box model with fixed dispersion coefficients [J]. *Hydrobiologia*, 1995, 311, P215-224.
- [23] Hagopian DS, Riley JG, A closer look at the bacteriology of nitrification [J]. *Aquacultural Engineering*, 1998, 18, P223-244.
- [24] Zhang TC, Fu YC, Bishop PL, Competition for substrate and space in biofilms [J]. *Water Environment Research*, 1995, 67, P992-1003.