

秋冬季环境下固定化氮循环细菌净化 湖泊水体氮污染动态模拟^{*}

李正魁 濮培民

(中国科学院南京地理与湖泊研究所, 南京 210008)

提 要 本文依据太湖秋冬季水体氮污染的特点,应用辐射增殖氮循环细菌进行了净化湖水氮污染的动态模拟实验. 研究结果表明,富营养化湖水经固定化氮循环细菌净化后,总氮下降72.4%,氨氮下降85.6%,出水水质得到明显改善. 固定化氮循环细菌在冬季低温(7℃)条件下仍保持了较高的除氮能力,总氮和氨氮去除率分别为55.6%,58.9%. 除氮效果与湖水滞留时间有关,探讨了固定化氮循环细菌的除氮机理.

关键词 预辐射聚合 固定化氮循环细菌 动态实验 水质净化 太湖

分类号 P343.3

近年来由于社会物质文明的不断进步和工农业生产持续高速发展,我国的湖泊、水库等天然水体的富营养化速度呈加速发展趋势,污染现象日益严重^[1],特别是氮磷污染的加剧,导致藻类“水华”频频爆发,水质恶化,湖泊原有生物种群被破坏,严重削弱了湖泊的功能,直接影响了人类健康、生存和社会经济的可持续发展. 对于富营养化湖泊水体的净化治理,各国研究人员进行了大量的研究与实践,采取了营养盐控制^[2]、杀藻除藻^[3]、生物调控^[4]、水生植被恢复^[5]、以及生态工程^[6]等一系列措施,取得了一定的效果. 本研究从氮素循环的角度出发,应用高能射线低温辐射技术对亲水性高分子单体丙烯酸羟乙酯(2-Hydroxyethyl acrylate (HEA))进行辐射预聚合制备多孔性载体,固定化氨化细菌、硝化细菌、亚硝化细菌和反硝化细菌等氮循环细菌,对富营养化太湖湖水进行了连续净化实验,研究了固定化氮循环细菌对富营养化太湖水体氮营养盐的动态模拟连续净化效果,及秋冬季温度条件下固定化氮循环细菌控制氮污染的性能.

1 材料和方法

1.1 固定化聚合物载体材料的制备

采用亲水性的玻璃态单体丙烯酸羟乙酯 2-Hydroxyethyl acrylate (HEA) (日本 Shin Nakamura 化学有限公司产品,聚合级),加入一定量的蒸馏水,用振荡器充分混合,充氮气后在-78℃(乙醇—干冰)低温条件下,用 1×10^4 Gy 剂量的⁶⁰Co- γ 射线辐照后聚合形成聚合物,

* 中国国家科委和欧洲联盟科技部支持项目: Physico-biological engineering for removing algae and purifying water quality in Lake Taihu, China. 合同号 C11*-CT93-0094 (DG 12 HSMU).

江苏省科委社会发展基金项目: 转化湖泊氮营养盐的固定化硝化—反硝化菌研究. 合同号 BS99021.

收稿日期: 2000—01—15; 收到修改稿日期: 2000—05—25.

李正魁, 男, 1959年生, 副研究员, 博士研究生, 现在江苏省农业科学院原子能所工作.

取出后制备成 $0.8\text{cm} \times 0.8\text{cm} \times 0.8\text{cm}$ 的固定化载体 poly(HEA), 用蒸馏水浸泡一周, 使之充分膨胀, 然后在 $1.03 \times 10^5 \text{ Pa}$ 下灭菌 30min 之后备用。

1.2 氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌、亚硝化细菌菌种的采集和驯化

在无锡太湖五里湖中桥水厂的“物理—生态工程”实验区内各种水生高等植物生长区, 按照标准方法^[7]直接采集细菌水样, 转至平皿上培养, 分别配制硝化、亚硝化、氨化及反硝化细菌培养基^[8,9], 调节 pH 至适当值, 在 $1.03 \times 10^5 \text{ Pa}$ 下灭菌 20min, 并在 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ 温度条件下培养硝化菌和亚硝化菌 30d, 反硝化菌和氨化菌 15d, 分别分离各种硝化菌, 亚硝化菌, 反硝化菌和氨化菌并培养后得到氨化菌, 硝化菌, 亚硝化菌和反硝化菌, 然后用人工废水驯化备用。

1.3 氨化细菌、硝化细菌、亚硝化细菌、反硝化细菌的固定化

用合成废水浸泡固定化载体 poly(HEA), 在 28°C 温度条件下振荡 24h 并交换三次, 使合成废水充分进入膨胀后的固定化载体内部, 然后在载体中加入适量分别经 $4000\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、 4°C 温度下离心 20min 后所得到的氨化菌、硝化菌、亚硝化菌和反硝化菌, 在 28°C 条件下振荡 24h、静置 48h, 使氨化菌、硝化菌、亚硝化菌和反硝化菌交替在有氧条件及厌氧条件下吸附于固定化载体表面并通过增殖进入充满合成废水的具有良好微孔生长环境的聚合物载体 poly(HEA) 内部, 使之被固定化。

1.4 实验用水

取自太湖五里湖中桥水厂附近(1999 年 10 月—1999 年 12 月), 由于近年来大量污染物被排入五里湖, 水质污染较重, 夏季时常出现“水华”, 总氮(TN)、氨氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$)含量监测值多次超过 $8.8\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $6.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用水取自水厂附近水面下 1.0m 处, 由于实验时间为秋冬季节, 湖湾内一部分水生植被死亡, 引起二次污染, 水质变差, TN、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、DO 分别为 $7.5 - 8.3\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5.70 - 6.40\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $5.9 - 7.6\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.5 动态模拟实验装置

本实验装置由一玻璃培养缸(90cm × 30cm × 30cm), 蠕动泵(BT00 - 300M/DG - 4), 三个固定化氮循环细菌存放篮, 连续加液系统, 以及出液液接收系统组成(图1)。存放篮中分别放

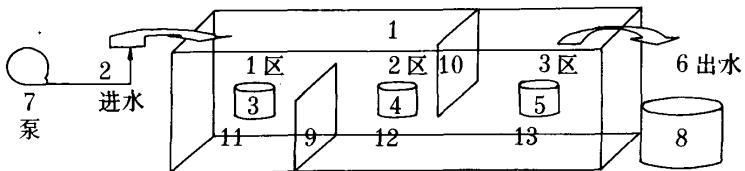


图1 固定化氮循环细菌净化秋冬季湖泊水体氮营养盐动态实验装置

Fig.1 Dynamic experimental device for purifying Lake Water by immobilized nitrogen cycle bacteria at winter temperature

1. 动态实验容器 Container for dynamic experiment, 2. 实验进水 Inflow,
3. 4. 5. 固定化氮循环细菌存放篮 Case for immobilized nitrogen cycle bacteria,
6. 出水口 Effluent, 7. 蠕动泵 Pump, 8. 出水接收容器 Container for effluent,
9. 10. 半隔栅 Septa, 11. 第一区 Zone 1, 12. 第二区 Zone 2, 13. 第三区 Zone 3

置固定化氮循环细菌,存放篮为空心网结构,放置固定化氮循环细菌后被置于每一区中部距底部约15cm处(图1—3,4,5)。实验用水(太湖水)经蠕动泵由玻璃培养缸顶部加入,经过固定化氮循环细菌,由另一端流出,动态实验时玻璃培养缸内水位保持不变,温度随室温变化。

1.6 采样分析

每隔5d对进出水进行取样分析,TN采用过硫酸盐氧化法测定^[10], NH_4^+-N 、 NO_3^--N 、 NO_2^--N 等水质指标采用中国环境监测标准方法测定^[11],DO用雷磁JPB-607型溶氧仪测定。

2 实验结果

2.1 固定化氮循环细菌去除湖泊水体氮污染的动态实验

湖水经过固定化氮循环细菌动态实验装置处理后,TN、 NH_4^+-N 浓度均有不同程度的下降,实验第5d出水的TN、 NH_4^+-N 浓度分别比进水下降29.1%和27.8%,实验第10d分别下降54.2%和74.1%,实验第10d后出水的TN、 NH_4^+-N 浓度趋于稳定,TN和 NH_4^+-N 浓度的出水浓度分别为72.4%和85.6%(图2),F检验结果证明,经过固定化氮循环细菌净化处理过的出水TN和 NH_4^+-N 浓度与进水相比均有极显著性差异($P < 0.01$),表明固定化氮循环细菌能够有效地去除富营养化湖水的氮污染。

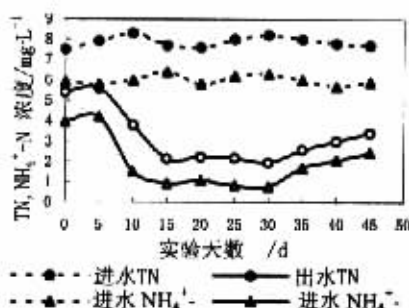


图2 动态实验进出水TN和 NH_4^+-N 的变化

Fig. 2 Changes of TN and NH_4^+-N during dynamic experiment

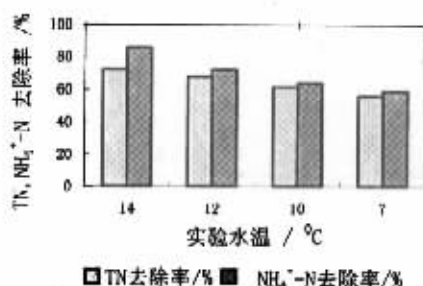


图3 实验水温对出水总氮和氨氮去除率的影响

Fig. 3 The effect of water temperatures on the removal efficiencies for TN and NH_4^+-N

2.2 不同反应区域固定化氮循环细菌去除湖水氮污染的动态实验

实验结果表明,湖水在不同区域内固定化氮循环细菌的作用下,呈现出不同的去除氮污染效果。总的趋势是:湖水经不同隔栅内固定化菌处理后,TN、 NH_4^+-N 及DO值较高,以好氧硝化为主;而在隔栅3区域内由于湖水经底部流入隔栅3区域,DO值较低, NO_3^--N 、 NO_2^--N 明显下降,表明此区域内以厌氧反硝化为主(表1、表2)。

2.3 固定化氮循环细菌在不同温度条件下去除湖水氮污染的实验

实验期间,湖水温度随气候发生变化,由实验开始时的14℃逐步下降至7℃,在实验进入稳定运行时期后,湖水温度的波动对固定化氮循环细菌去除氮污染的效果有一定的影响,当实验湖水温度为14℃时,出水的TN、 NH_4^+-N 浓度最低,分别比进水下降72.4%和85.6%;而当实验湖水温度下降至7℃时,出水的TN、 NH_4^+-N 分别比进水下降55.6%和58.9%,结果表

明,虽然呈现出一定的温度效应,但固定化氮循环细菌在冬季低温条件下仍保持了较高的除氮能力(图 3)。

表 1 固定化氮循环细菌在不同区域净化湖水时 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的动态变化

Tab. 1 Dynamics of TN, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ from inflow to effluent through different immobilized bacteria zone ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

时间/d	进水		第一区		第二区		第三区		出水	
	TN	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	TN	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	TN	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	TN	$\text{NH}_4^+\text{-N}$	TN	$\text{NH}_4^+\text{-N}$
0	7.5	5.9	7.1	5.4	6.3	4.6	6.1	4.2	5.4	4.0
10	8.3	6.0	5.8	3.6	4.4	2.4	3.9	1.5	3.8	1.5
30	8.2	6.3	5.6	3.9	4.3	2.5	2.1	0.8	1.9	0.8
45	7.7	5.9	5.9	4.4	4.8	3.1	3.3	2.3	3.4	2.4

表 2 固定化氮循环细菌在不同区域净化湖水时 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 DO 值的动态变化

Tab. 2 Dynamic of $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ and DO from inflow to effluent through different immobilized bacteria zone($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

时间/d	进水			第一区			第二区			第三区			出水	
	NO_3^-	NO_2^-	DO	NO_3^-	NO_2^-	DO	NO_3^-	NO_2^-	DO	NO_3^-	NO_2^-	DO	NO_3^-	NO_2^-
0	0.227	0.102	7.6	0.313	0.143	5.2	0.339	0.151	3.6	0.317	0.113	0.7	0.314	0.117
10	0.375	0.128	5.9	0.387	0.139	4.5	0.354	0.129	3.2	0.259	0.098	0.5	0.251	0.101
30	0.231	0.115	7.3	0.260	0.129	4.3	0.287	0.170	3.4	0.198	0.103	0.6	0.185	0.105
45	0.307	0.132	6.1	0.334	0.157	4.7	0.365	0.156	3.9	0.217	0.119	0.7	0.199	0.108

3 讨论

本实验装置总体积为 81L,有效运行体积为 73L,运行时间 45d,实验开始阶段为固定化氮循环细菌对湖水的净化效果调整期约 10d,10d 后开始动态模拟实验,蠕动泵进水速率为 $24.3\text{L}\cdot\text{d}^{-1}$,湖水在实验装置内换水周期约为 3d.动态实验结果表明:当进水速率较高,湖水换水周期短于 1d 时,固定化氮循环细菌对富营养化湖水的净化效果不明显;当换水周期为 1.5—2d 时有一定的净化效果;当进水速率较低,换水周期约为 3d 时,对湖水有明显的净化作用,对 TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率分别达到 72.4% 和 85.6%。

固定化氮循环细菌的区域分布对湖水的净化效果有明显的影响,实验结果表明:在隔栅一区域内 TN 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 下降,而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度呈上升趋势,由于固定化氮循环细菌载体的特殊结构^[12-14],构成一种适宜于细菌生长的微生态环境,在载体的表面和内部实际存在着富氧化和缺氧区^[15],氨氮在载体表面富氧区被氧化为硝态氮,同时部分硝态氮在载体内部缺氧区被反硝化菌还原为分子态氮排空.然而由于作为底物的氮污染湖水在载体内部缺氧区向外扩散的速度不够,同时在载体内部氮的氧化-还原反应需要一定的时间,以及受进水速率的影响,造成湖水在隔栅一区域内的滞留时间较短,不足以完成硝化-反硝化反应全过程.当湖水经半隔栅上部进入隔栅二区域后, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度仍较高,表明在隔栅二区域内,经初步硝化-反硝化反应的湖水在较高溶解氧环境下,固定化氮循环细菌的硝化反应仍较强烈,

氨氮被继续氧化,反应区内的 NO_3^- -N、 NO_2^- -N 浓度仍维持较高水平.当湖水最后经过半隔栅二的下部进入隔栅三区域内时,作为底物的湖水在载体内部和外部扩散速率在经过上两级反应区内足够时间的滞留后在隔栅三区域内达到了动态平衡,区域内的溶解氧值下降, NO_3^- -N、 NO_2^- -N 浓度明显下降,湖水中的氮污染物经过三级隔栅区域的硝化-反硝化(氧化-还原)反应过程后不断的被除去.

秋冬季节,湖水水温下降,大多数水生高等植物生长处于停滞阶段,一些漂浮植物、挺水植物死亡,引起二次污染,成为新的污染源,水生植物根区微生物对湖水的净化作用^[16]受到了限制,固定化氮循环细菌由于采用辐射技术制备生物相容性多孔结构载体,为氮循环细菌的生长、繁殖提供了良好的微生态环境,在外界环境温度变化较大的情况下,仍能继续进行硝化反硝化反应,去除湖水中的氮污染物.

参 考 文 献

- 1 金相灿、刘鸿亮、屠清瑛编著.中国湖泊富营养化.北京:中国环境科学出版社,1990,92—102
- 2 Welch E B, Barbiero R P, Bouchard D, *et al.* Lake trophic state change and constant algal composition following dilution and diversion. *Ecological Engineering*, 1992, 1:173—197
- 3 濮培民等实验小组.改善太湖马山水厂水源区水质的物理-生态工程实验研究.湖泊科学,1993,5(2):171—180
- 4 Shapiro J V Lamarra, M Lynch. Biomanipulation: an ecosystem approach to lake restoration in water quality management through Biological methods. Gainesville; University Press of Florida, 1975. 85—96
- 5 Schriver P, Bogestrand J, Jeppesen E, *et al.* Impact of submerged macrophytes on fish-zooplankton-phytoplankton interactions: Large-scale enclosure experiments in a shallow eutrophic lake. *Freshwat Biol*, 1995, 33:255—270
- 6 Bradshaw A D. Restoration of mined lands using natural processes. *Ecol Eng*, 1997, 8:255—269
- 7 国家环保局(水生生物监测手册)编委会.水生生物监测手册.南京:东南大学出版社,1993
- 8 Matulewich VA, Strom PF, Finstein MS. Length of incubation for enumerating nitrifying bacteria presents in various environments. *Appl Microbiol*, 1975, 29(2):265—268
- 9 李卓棣,喻子牛,何绍江.农业微生物学实验技术.北京:中国农业出版社,1996
- 10 金相灿,屠清瑛主编.湖泊富营养化调查规范,第二版.北京:中国环境科学出版社,1990
- 11 国家环境保护局(水和废水监测分析方法)编委会.水和废水监测分析方法.第三版.北京:中国环境科学出版社,1989
- 12 Li Zhengkui, Zhang Bosen. Study on immobilized yeast cells with hydrophilic polymer carrier by radiation-induced copolymerization. *Nuclear Sci Tech*, 1993, 4:235—240
- 13 李正魁,濮培民.辐射聚合固定化反硝化菌去除污水中硝酸盐的研究.江苏农业学报,2000,16(1):37—40
- 14 李正魁,张伯森.辐射共聚制备固定化酒精酵母细胞的研究.核技术,1994,17(2):119—123
- 15 蒋宇红,黄霞.几种固定化细胞载体的比较.环境科学学报,1993,14(2):11—15
- 16 詹发苹,邓家齐,夏宜琰等.凤眼莲根区异养细菌的群落特征与异养活性的研究.中国环境科学,1993,17(2):150—155

Purification of Lake Water by Simulative Dynamic Experiment Using Immobilized Nitrogen Cycle Bacteria in Winter

LI Zhengkui PU Peimin

(Nanjing Institute of Geography and Limnology, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, P. R. China)

Abstract

Experimental studies were carried out on the purification of eutrophic lake water by simulative dynamic experiment using immobilized nitrogen cycle bacteria. The results showed that the eutrophic water of Taihu Lake can be purified effectively as it pass through different immobilized nitrogen cycle bacteria zones. The removal efficiencies for Total N (TN), NH_4^+ -N with immobilized nitrogen cycle bacteria were 72.4% and 85.6%, respectively. It was found that the immobilized nitrogen cycle bacteria also have purificatory effect on eutrophic water of Taihu lake in winter (7°C), the removal efficiencies for Total N (TN), NH_4^+ -N were 55.6%, and 58.9%, respectively. The removal efficiencies for TN and NH_4^+ -N depended on the retention time of the water in eximperimental zone.

Key Words Preradiation polymerization, immobilized nitrogen cycle bacteria, dynamic test, purifying water quality, Taihu Lake