

固定化土著氮循环细菌在城市湖泊水体净化中的应用*

张晓姣¹, 李正魁^{1,2**}, 杨竹攸^{1,2}, 石鲁娜¹, 王月明¹, 吕溢修¹, 冯露露¹

(1: 南京大学环境学院污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093)

(2: 水处理与水环境修复教育部工程研究中心, 南京 210093)

摘要: 从镇江金山湖天然水体中筛选分离出土著氨化、亚硝化、硝化和反硝化细菌, 对氮循环细菌固定化后在镇江金山湖示范工程区进行水体净化应用。结果表明, 运行一段时间后水质得到明显改善, 氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮以及总氮浓度处于动态变化中, 有降低的趋势; 氨氮含量已经达到Ⅱ类指标, 总氮和 COD 分别达到Ⅴ类、Ⅲ类指标; 分析结果还显示硝酸盐氮是金山湖水体中总氮的主要存在形式, 与水体荒漠化状态有关; 固定化氮循环细菌通过扩散, 可以增加水体及植物根区的微生物数量, 高出对比组 1-3 个数量级; 固定化氮循环细菌技术对荒漠化水体氨氮、总氮和 COD 去除具有重要意义。

关键词: 固定化细菌; 氮循环细菌; 城市湖泊; 金山湖

Application of immobilized nitrogen cycling bacteria in water purification of urban lakes

ZHANG Xiaojiao¹, LI Zhengkui^{1,2}, YANG Zhuyou^{1,2}, SHI Luna¹, WANG Yueming¹, LV Yixiu¹ & FENG Lulu¹

(1: *State Key Laboratory of Pollutant Control and Resources Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, P.R.China*)

(2: *Engineering Center of Water Treatment and Environment Remediation, Ministry of Education, Nanjing 210093, P.R.China*)

Abstract: Indigenous ammonibacteria, nitrosobacteria, nitrifying bacteria and denitrifying bacteria were screened from natural water of Lake Jinshan. The effect of water purification was studied in the demonstration project of Lake Jinshan after immobilization of nitrogen cycling bacteria. The result showed that water quality was improved obviously after running a period of time. $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2^-\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ or TN concentration was in dynamic state respectively, and the trend of them was negative. $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentration had reached national II class of water quality index, TN and COD had reached IV and III respectively. $\text{NO}_3^-\text{-N}$ was the main form of TN in the water of Lake Jinshan, which might be in relation to the water environment without aquatic plants. The microorganisms in immobilized nitrogen cycling bacteria area could diffuse in the water and root area of aquatic plants, the number of them was higher 1-3 degrees than that of the comparison group. It was significant that techniques of immobilized nitrogen cycling bacteria can remove $\text{NH}_4^+\text{-N}$, TN and COD in desertification water.

Keywords: Immobilized bacteria; nitrogen cycling bacteria; urban lakes; Lake Jinshan

随着社会经济的发展, 对城市湖泊的开发和利用也在日益加剧。目前我国大多数城市湖泊水体呈营养化状态, 削弱了原有的多项功能和美学价值^[1]。金山湖属于一个典型的城市景观湖泊, 位于镇江市西北, 紧靠金山寺, 主要功能是旅游观光。金山湖是一浅水湖泊, 水深在 1.5-2.5m 之间, 由东部的映山湖和西部的塔影湖两部分组成。由于自然环境的演变和长期渔业生产等活动造成水面面积不断缩小。目前金山湖除了受到旅游业的影响外, 周围尽被农田、农居、渔塘所包围, 生活污水排入湖泊, 导致湖区受到

* 国家科技支撑计划项目(2006BAJ08B01-02)、国家高新技术研究发展计划(863)项目(2003AA601100-4)和教育部水处理与水环境修复工程研究中心项目(WTWER0707)联合资助。2008-07-14 收稿; 2008-09-27 收修改稿。张晓姣, 女, 1983 年生, 硕士研究生; E-mail: zxnj@163.com.

** 通讯作者; E-mail: zhkuili@nju.edu.cn.

较严重的面源污染, 水体污染严重, 生态系统退化, 水体逐渐呈荒漠化状态.

金山湖示范工程区位于金山湖区的西北角, 对金山湖区水体修复进行示范研究. 项目前期采用固定化土著氮循环细菌, 在实验室进行模拟人工废水实验得到很好的脱氮效果^[2]. 本文采用固定化氮循环细菌技术在示范工程区天然水体中进行净化试验, 将固定有微生物的载体投放水体后考察氮循环细菌释放对水体的影响并进行水质跟踪监测检验水体净化效果, 实验结果对利用该技术在强化净化湖泊水体水质, 控制小型城市湖泊的富营养化, 进行生态修复实际应用有重要意义.

1 实验材料和方法

1.1 金山湖示范工程区背景概况

金山湖区域的主要污染源为面源污染, 涉及农田、养殖、渔业以及旅游业, 对生态环境造成一定的影响, 水质不断恶化. 2004年4月-2005年9月的5次现场监测资料显示, 湖区水质中COD浓度为25.6-107.2mg/L, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为0.80-2.23mg/L, TN为0.88-3.95mg/L, TP为0.77-2.23mg/L. 根据金山湖周边污染以及金山湖水体水质特征, 在镇江市金山湖区西北部建立了示范工程区, 利用生态修复技术——固定化氮循环细菌技术对水体进行生态修复. 该示范工程区为独立水体, 有效水体面积达到27000m².

1.2 菌种采集、分离与筛选

土著氮循环细菌是从镇江金山湖的水体、不同植物根区和底泥中采集, 接种至选择培养基, 并富集筛选出纯化的氨化、硝化、亚硝化以及反硝化细菌.

1.3 载体的制备

将亲水性玻璃态单体甲基丙烯酸- β -羟乙酯、丙烯酸羟乙酯与蒸馏水按照一定的体积比混合均匀, 用氮气充至饱和, 在-78℃温度条件下, 采用辐射剂量为 $1 \times 10^4 \text{Gy}$ 的⁶⁰Co- γ 射线辐照制备形成生物相容性固定化聚合物载体^[3].

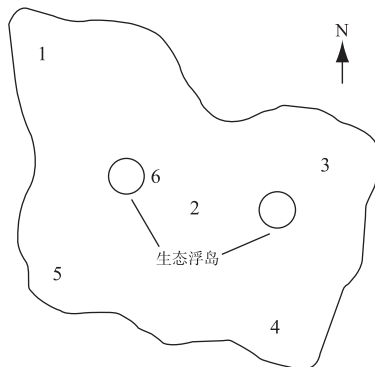


图1 金山湖示范工程区平面简图

Fig.1 The flat chart of demonstration project of Lake Jinshan

1.4 菌种的固定化

将辐射聚合后制备的固定化载体切成5mm×5mm×5mm的小块, 用蒸馏水浸泡, 至充分膨胀. 再用合成废水浸泡, 28℃振荡24h并交换3次, 使合成废水充分进入膨胀后的固定化载体内部, 加入经活化培养进入对数生长期的氨化、硝化、亚硝化和反硝化细菌培养液各200ml, 28℃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, 并通过增殖进入多孔载体内部使之固定化.

1.5 原位实验方法

实验期间在示范区内布设2个64m²生态浮岛, 每一个生态浮岛上引种景观植物香蒲, 浮岛下方20-30cm处悬挂一个固定化氮循环细菌释放装置, 将5kg固定化氮循环细菌载体放置于特制的具有网眼的装置中, 使得固定化细菌载体能够充分接触水体, 对水质进行强化净化. 实验过程

中一个月左右更换一次负载微生物的固定化载体, 以强化微生物净化水体的能力. 同时设立5个水质监测点, 均匀分布于示范区内监测水质. 水质监测点与氮循环细菌测定实验采样点见图1, 其中1、2、3、4、5号点为水质监测点, 6号为氮循环细菌测定实验采样点.

1.6 氮循环细菌测定——MPN方法

用最大可能数(MPN: Most Probable Number)法测定水样中氨化、硝化、亚硝化及反硝化细菌的数量. 分别配制硝化、亚硝化、氨化和反硝化细菌培养基^[4], 调节pH值, 分装在长150mm、直径14mm的试管中, 并将长30mm、直径5mm的小指管分别倒置于装有氨化细菌和反硝化细菌培养基的试管中, 加塞, 在 $1.03 \times 10^5 \text{Pa}$ 下灭菌20min. 每个水样做10倍系列稀释, 每支试管中接种水样和稀释样各1ml, 每一稀释浓

度做 3 个平行, 在(28±1)°C 条件下, 氨化细菌、反硝化细菌培养 15d, 硝化细菌和亚硝化细菌培养 30d. 以 Nessler(奈氏)试剂、Griess(格里斯)试剂、二苯胺试剂等检测各种形态氮的产生和消失情况^[5]. 根据阳性试管数量查 MPN 表, 用下式换算成每升水样中的菌群数:

$$\text{每升水样中菌群数} = \text{MPN 指数} \times (100 / \text{接种量最大的一管样品量})$$

1.7 水质测试项目与方法

氨氮: 纳氏试剂分光光度法; 硝酸盐氮: 酚二磺酸分光光度法; 亚硝酸盐氮: N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法; COD: 重铬酸钾法^[6].

2 结果与讨论

2.1 固定化氮循环细菌释放影响效果

固定化氮循环细菌技术采用固定化细胞增殖技术固定氮循环系列细菌, 载体具有良好生物相容性, 微孔中负载细菌生长良好, 活性大, 密度高^[2], 载体内部丰富的微生物可对氮素进行形态转化. 研究表明该固定化氮循环细菌技术不仅在载体内部维持较高的微生物数量, 同时可以向水体释放氮循环细菌并且在一定实验区域内弥散, 维持较高的微生物数量^[7-8], 进一步增强固定化氮循环细菌技术净化水体的能力.

2.1.1 固定化氮循环细菌释放对水体的影响效果 在水体氮素循环过程中, 微生物起着重要的作用, 因此氮循环细菌的数量是一个关键的指标. 本实验以其中一次投放载体实验考察固定化氮循环细菌的释放效果. 4月4日放入固定化载体, 每周用 MPN 方法考察其对自然水体的影响效果. 固定化载体在一定试验区有明显的释放效果, 一周后氨化、亚硝化和反硝化菌数量均高于对照组 2-3 个数量级, 到第二周第三周呈下降趋势, 但是下降程度不大(表 1). 结果表明, 实验中采用固定化氮循环细菌技术在试验区能较好的释放氮循环细菌, 并在实验周期内保持较高微生物数量, 表明从氮素循环与微生物的关系出发, 增加氮循环细菌数量可以快速促进氮素转化迁移, 在冬春交替温度较低条件下应用固定化氮循环细菌可以作为优势菌种为去除氮素提供先锋作用.

表 1 固定化氮循环细菌释放效果

Tab.1 Release of immobilized nitrogen cycling bacteria

细菌种类	4月11日(cells/L)	4月18日(cells/L)	4月25日(cells/L)	4月4日(对照)(cells/L)
氨化细菌	3.5×10^7	1.5×10^6	2.0×10^6	4.5×10^5
亚硝化细菌	1.5×10^8	1.6×10^8	1.5×10^7	1.9×10^5
硝化细菌	0.7×10^6	0.9×10^6	1.9×10^5	0.6×10^6
反硝化细菌	1.4×10^7	1.7×10^5	1.5×10^6	3.5×10^5

2.1.2 固定化氮循环细菌释放对水生植物根部的影响效果 采用景观植物香蒲根部微生物数量来考察氮循环细菌释放后对植物根部微生物数量的影响效果. 采样时间是 4 月 18 日, 实验结果见表 2. 由表 2 可以看出除了硝化细菌外, 采用固定化氮循环细菌释放技术的水生植物根区的氮循环细菌高于对比植物根区 1-2 数量级. 表明该技术可以增加实验区水生植物根区微生物的数量. 水生植物根区可以分泌有机物质, 为微生物生长提供所需的氮源和碳源等物质, 对根区微生物的生长发育有一定的促进作用^[9], 因此采用固定化氮循环细菌技术不仅可以影响根区微生物的数量, 而且可以通过在根区增殖氮循环细菌数量, 进一步净化水质, 改变水环境状态, 修复水体生态环境.

2.2 示范工程前后主要水质指标变化

2004 年 4 月到 2005 年 9 月, 对金山湖区进行背景值调查, 主要监测指标有氨氮、总氮、总磷、COD 以及 Chl.a 等. 金山湖示范工程建成后, 从 2007 年 3-10 月每月对示范区的水质进行跟踪监测以考察水体水质的改善情况. 水质指标的背景值以及监测值见表 3.

表 2 固定化氮循环细菌对水生植物根部的作用

Tab.2 Effect of immobilized nitrogen cycling bacteria around the root area

细菌种类	有释放细菌植物根部(cells/L)	无释放细菌植物根部(cells/L)
氨化细菌	9.5×10^8	4.5×10^7
亚硝化细菌	1.4×10^5	1.1×10^4
硝化细菌	3.5×10^6	4.0×10^6
反硝化细菌	2.5×10^8	2.5×10^6

表 3 示范工程建成前后水质监测均值

Tab.3 Average result of water quality before and after demonstration project

项目	$\text{NH}_4^+-\text{N}(\text{mg/L})$	$\text{TN}(\text{mg/L})$	$\text{COD}(\text{mg/L})$	$\text{TP}(\text{mg/L})$	$\text{Chl.a}(\mu\text{g/L})$
背景值	1.62	2.58	46.1	1.13	40.92
监测值	0.34	1.8	21.05	0.12	-

对照国家地表水环境质量标准^[10], 示范工程建成前, 水体水质较差, 氨氮指标属于 V 类, 总氮、COD、总磷指标均属于劣 V 类, 监测指标显示, 金山湖水体全年大部分时间为劣 V 类水质, 属于富营养化湖泊. 示范工程建成后, 经过 7 个月的运行, 水质明显得到改善, 氨氮含量已经达到 II 类水质标准, 总氮和 COD 分别达到 V 类、III 类指标, 总磷指标达到 III 类. 实验结果表明, 固定化氮循环细菌对水体的脱氮效果较好, 与工程实施前的水体总氮平均值相比, 总氮的平均去除率达 30.2%, 表明固定化氮循环细菌技术具有良好的原位修复天然富营养化水体的应用效果.

2.3 固定化氮循环细菌释放对水体氮素变化的影响

示范工程实施前, 金山湖示范区水体中氨氮、亚硝酸盐、硝酸盐氮和总氮浓度分别介于 0.89–2.23mg/L、0.32–0.48mg/L、1.60–5.24mg/L、0.88–3.95mg/L. 采用固定化氮循环细菌技术后, 每月对氮素指标氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮和总氮进行监测, 研究氮循环细菌技术的原位修复效果, 图 2 是 2007 年 3 月到 10 月期间三种氮和总氮指标的浓度值以及变化趋势情况. 氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮和总氮浓度处于动态变化中(图 2). 图 2a 显示监测期间最高氨氮浓度出现在 5 月, 为 0.524mg/L, 随着生态修复的进行氨氮浓度逐步下降, 保持在 0.4mg/L 以下, 与示范工程建成前相比有较大幅度的降低. 图 2b 表明亚硝酸盐氮最高浓度也出现在 5 月, 为 0.03mg/L, 与氨氮浓度变化相同, 之后浓度一直维持在 0.02mg/L 左右, 比较稳定, 浓度显著降低. 实验初期由于金山湖水环境本底硝酸盐氮含量较高, 浓度在 1.60mg/L 以上, 但从图 2c 中可以看出 3 月至 5 月硝酸盐氮浓度降低明显, 均在 1.25mg/L 以下, 6 月份出现波动后则一直持续下降, 到 10 月浓度已经降到 0.55mg/L. 图 2d 体现总氮浓度变化显著, 10 月浓度已低至 1.5mg/L 以下. 实验结果表明水体中的各形态氮不断进行转化, 总氮浓度的降低说明了一定的氮素得到明显的去除.

从图 2a、图 2b、图 2c 和图 2d 中氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮和总氮趋势线可看出三种氮以及总氮浓度的动态变化趋势: 氨氮、硝酸盐氮和总氮浓度降低变化趋势明显, 亚硝酸盐氮浓度减少趋势较为平缓. 水体中的氮素在氮循环细菌作用下不断被转化去除, 使营养盐指标下降. 说明固定化氮循环细菌的有效释放与水质改善有密切关系, 采用固定化氮循环细菌技术的生态修复已经取得初步的净化效果.

2.4 水体总氮的主要存在形式分析

氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮含量都在动态变化中, 且有不断降低的趋势, 但是水体中总氮的指标仍维持在 V 类左右(图 2, 表 3), 在对金山湖水体进行水质监测中可发现, 环境本底硝酸盐氮浓度偏高是引起总氮含量较高的原因之一. 在 2007 年 3 月到 10 月间, 分析了硝酸盐氮对总氮的贡献程度(图 3). 硝酸盐氮含量占到总氮含量的 40%–70%, 因此总氮主要以硝酸盐氮形式存在. 另外, 研究表明, 目前富营养

化湖泊水体中因大量水生植物衰亡导致水体均一性增加、非均一性减少而使氧化-还原环境恶化, 仅仅在水与沉积物界面存在相互分异的氧化-还原微环境^[9]. 硝酸盐浓度偏高与水体呈现荒漠化有关, 金山湖水体因受到污染, 湖泊生态系统逐渐退化, 形成水生植物消亡的荒漠化状态. 因此金山湖水体中缺乏反硝化的环境, 是导致水体中硝酸盐氮积累, 形成较高的硝酸盐氮背景浓度值的另一个重要原因.

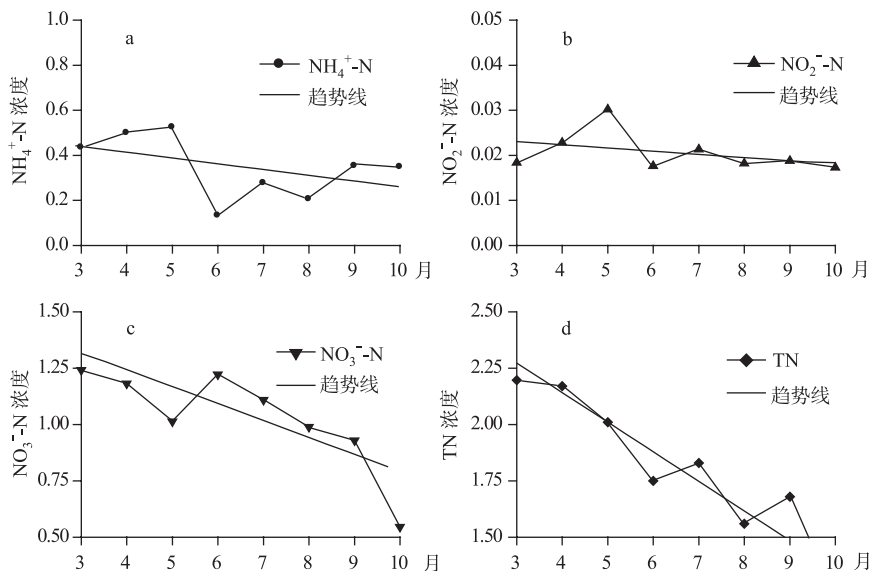


图2 氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮以及总氮月浓度值以及变化趋势

Fig.2 Monthly change and trend of NH₄⁺-N, NO₂⁻-N, NO₃⁻-N and TN

本实验利用固定化载体负载氮循环细菌, 一方面由于载体具有良好的微孔结构^[2], 有利于微生物的附着生长, 为微生物提供“微生态”环境进行好氧、缺氧、厌氧反应, 另一方面负载的反硝化细菌对水体和植物根部有扩散释放能力, 均能有效的参与反硝化过程, 减少硝酸盐氮积累, 从图 2 中可以看出其脱氮效果. 水质虽得到逐步净化, 但考虑到利用氮循环细菌技术进行生态修复的时间较短, 氮循环细菌释放的区域有限, 因此接种固定化氮循环细菌的影响效果相对较小, 不能彻底的解决硝酸盐氮的积累问题.

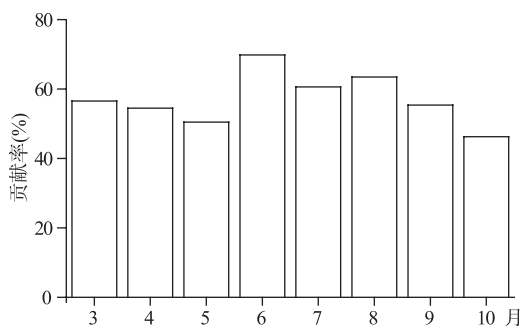


图3 硝酸盐氮对总氮的月贡献率

Fig.3 Ratio of NO₃⁻-N to TN during Mar.-Oct.

研究表明^[11], 水生植物群落可以为微生物提供附着基质和栖息场所, 水中的根系为微生物提供空间, 形成的好氧及缺氧区为微生物脱氮提供良好的氧化还原条件. 如果将固定化氮循环细菌技术与修复水生

植物有效的结合起来, 利用反硝化细菌的扩散以及载体和植物根区的厌氧环境, 将会促进反硝化过程的顺利进行, 减少硝酸盐氮的积累, 对改善富营养化湖泊水体水质有实际的应用意义.

3 结论

(1)金山湖示范工程建成后, 通过长达 7 个月的监测表明, 水质明显得到改善, 氨氮含量已经达到 II 类水, 总氮和 COD 分别达到 V 类、III 类指标.

(2)氨氮、亚硝酸盐氮和硝酸盐氮以及总氮浓度在动态变化中, 有降低趋势, 水体逐渐净化.

(3)固定化氮循环细菌通过扩散, 增加了水体以及植物根区的微生物数量, 氨化、亚硝化和反硝化细菌均高出对比组 1-3 个数量级, 进一步增强净化水体的能力.

(4)硝酸盐氮是金山湖水体中总氮存在的主要形式, 因此在长期生态修复情况下, 利用固定化氮循环细菌技术和水生植物修复相结合, 建立互利共生强化净化系统, 对去除荒漠化水体氮素, 修复水生生态系统具有重要意义.

4 参考文献

- [1] 彭俊杰, 李传红, 黄细花. 城市湖泊富营养化成因和特征. 生态科学, 2004, 23(4): 370-373.
- [2] 宁安, 李正魁, 赖鼎东等. 固定化土著纯种细菌流化床的脱氮效果研究. 中国给水排水, 2007, 23(17): 71-75.
- [3] Li Zhengkui, Pu Peimin, Hu Weipin *et al.* Improvement of Taihu water quality by the technology of immobilized nitrogen cycle bacteria. 核技术与应用, 2002, 13(2): 115-120.
- [4] 李阜棣, 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.
- [5] 王国祥, 濮培民, 黄宜凯等. 太湖人工生态系统中氮循环细菌分布. 湖泊科学, 1999, 11(2): 160-164.
- [6] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法(第 4 版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [7] 李正魁, 濮培民, 胡维平等. 固定化细菌技术及其物理生态工程中的应用——固定化氮循环细菌对水生生态系统的修复. 江苏农业学报, 2001, 17(4): 248-252.
- [8] 袁冬海, 席北斗, 王京刚等. 固定化微生物-水生生物强化系统在前置库示范工程中的应用. 环境科学研究, 2006, 19(5): 45-48.
- [9] Martinei-Toledom V. Root exudates of zeamays and production of auxins gibberellins and cytokonins by Azotobacter chroococcum. *Plant and Soil*, 1988, 110: 149-155.
- [10] GB 3838-2002. 地表水环境质量标准, 2002.
- [11] 程伟, 程丹, 李强. 水生植物在水污染治理中的净化机理及其应用. 工业安全与环保, 2005, 31(1): 6-9.