

## 基于玉米芯的固相反硝化柱实验研究

钟华<sup>1,2,3†</sup>, 程莹<sup>1,2</sup>, 张洪维<sup>3</sup>, 邵雅璐<sup>3</sup>, 曾光明<sup>1,2</sup>

- (1. 湖南大学 环境科学与工程学院, 湖南 长沙 410082;  
2. 湖南大学 环境生物学与控制教育部重点实验室, 湖南 长沙 410082;  
3. 武汉大学 水资源与水电工程科学国家重点实验室, 湖北 武汉 430072)

**摘要:** 选用农业废弃物玉米芯作为固态碳源, 采用一维柱实验研究玉米芯在流场环境下的反硝化性能. 结果显示固相反硝化过程中, 反硝化速率和氮素形态转化受水力停留时间的影响显著, 水力停留时间增加可提高反硝化速率, 但它在一定范围内可造成亚硝酸盐的生成, 水力停留时间太长时可造成氨的累积. 水溶性碳氮比也是影响固相反硝化的重要因素, 适宜的碳氮比可提高硝酸盐去除速率且抑制亚硝酸盐和铵盐的产生. 实验结果表明, 玉米芯固相反硝化系统的最佳水力停留时间为 16 h, 最适宜的确氮进水浓度为  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . 玉米芯能够向水相稳定释放 TOC 为反硝化提供电子供体, SEM 结果显示其表面结构也有利于微生物附着生长, 因此作为原位可渗透反应墙的填充介质具有很好的应用潜力. 微生物鉴定结果表明 *Pseudomonas sp* 在玉米芯介质固相反硝化的过程中为主要作用菌属.

**关键词:** 硝酸盐; 亚硝酸盐; 氨; 水力停留时间; 碳氮比; 固相反硝化

**中图分类号:** X523

**文献标志码:** A

## Performance of Corncob-based Solid Phase Denitrification System: A Column Study

ZHONG Hua<sup>1,2,3†</sup>, CHENG Ying<sup>1,2</sup>, ZHANG Hongwei<sup>3</sup>, SHAO Yalu<sup>3</sup>, ZENG Guangming<sup>1,2</sup>

- (1. College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China;  
2. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control(Hunan University), Ministry of Education, Changsha 410082, China;  
3. State Key Laboratory of Water Resources and Hydropower Engineering Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** Corncob, a typical agricultural waste, is studied as the carbon source for solid phase denitrification under dynamic flow conditions by using 1-D column experiment. The results show that the hydraulic retention time has significant effect on the denitrification rate and transformation between the nitrogen species. The increase of hydraulic retention time can improve the denitrification rate, however, it can cause the accumulation of nitrite when it

\* 收稿日期: 2019-02-15

**基金项目:** 中国水污染控制与治理重大科技计划资助项目(2017ZX07108-001), Major Science and Technology Program for Water Pollution Control and Treatment of China (2017ZX07108-001); 国家自然科学基金资助项目(51779182), National Natural Science Foundation of China(51779182)

**作者简介:** 钟华(1980—), 男, 湖南株洲人, 武汉大学教授, 博士

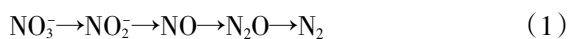
† 通讯联系人, E-mail: zhonghua@hnu.edu.cn

is in a proper range or ammonium if it is too large. C/N ratio is also an important factor affecting the solid phase denitrification. Appropriate C/N ratio can improve the nitrate removal rate and inhibit the production of nitrite and ammonium. The results show that the optimal hydraulic retention time of the system is 16 h, and the proper nitrate concentration for the system to treat is  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Corncob has good application potential as the packing material of permeable reactive barrier for solid phase denitrification, as it can steadily release the water-soluble TOC to provide electron donor and its surface structure also favors microbial adhesion and growth. The result indicates that *Pseudomonas* sp is the main bacteria in the corncob-based denitrification system.

**Key words:** nitrate; nitrite; ammonia; hydraulic residence time; carbon-to-nitrogen ratio; solid phase denitrification.

化肥在农业中的广泛应用以及动物废弃物的排放,地表水及土壤环境中的硝酸盐迁移等,会造成地下水环境中的硝酸盐污染<sup>[1]</sup>.高浓度硝酸盐在水体中的存在不仅会破坏水体环境,还可能会危及人类健康,甚至引发疾病<sup>[1-2]</sup>.目前关于硝酸盐污染水体处理的研究方法有物理方法、化学方法以及生物方法等<sup>[3-6]</sup>.其中生物方法具有高效低耗的优点,适宜地下水硝酸盐原位修复.原位可渗透生物反应墙是浅层地下水常见的生物修复技术,污染地下水通过反应墙体时,硝酸盐经过反硝化作用得以去除.

生物反硝化是指反硝化菌在缺氧条件下将硝酸盐经一系列中间反应过程转化成氮气的过程<sup>[7]</sup>,如式(1)所示:



生物反硝化根据选用电子供体的不同可分为自养反硝化和异养反硝化.自养反硝化是指反硝化微生物以氢、硫、铁、硫铁矿等材料作为电子供体,并利用二氧化碳为碳源,将硝酸盐还原为氮气的过程<sup>[8]</sup>.异养反硝化是指反硝化菌利用有机质作为电子供体和碳源,将硝酸盐还原为氮气同时产生二氧化碳的过程<sup>[9]</sup>.研究表明,异养反硝化是自然界中生物反硝化的主要方式<sup>[10-11]</sup>.

利用异养反硝化修复地下水的过程中,通常需要外加碳源.传统的外加碳源多为水溶性低分子有机物(液态碳源),如甲醇、乙醇、醋酸、苯甲酸等.这类碳源的分子量较小,易于降解,生物利用性高.但是其具有强水溶性,易降解性等特点,一旦投加量不足,会造成反硝化不完全;投加量过多,其流失将使碳源利用效率降低,造成浪费<sup>[12]</sup>.相比之下,固态

碳源有相应的优势,首先固态碳源水解产生可溶性的小分子物质,作为反硝化电子供体<sup>[7]</sup>,同时固态碳源还能够作为反硝化微生物的生长载体,尤其适合原位可渗透反应墙(PRB)设施<sup>[13]</sup>.目前研究较多的固态碳源主要包括以农业固体废弃物为主的天然材料以及人工合成的可生物降解的高分子材料<sup>[14]</sup>.相比于人工合成材料,天然材料具有来源广泛、价格低廉的优点,目前仍是实际水体中硝酸盐反硝化去除的首选.但天然材料中,由于木质纤维素的大量存在,存在水解能力弱、碳源可利用性差、反硝化效率低的问题<sup>[15]</sup>.因此,找到生物可利用性好、反硝化效率高同时又能长时间保持其机械结构,有持续供给能力的天然固态碳源,对于原位可渗透生物墙方法去除地下水中的硝酸盐具有重要意义.

玉米芯作为一种常见的农业废弃物,一般占玉米穗重量的20%~30%,具有组织均匀、硬度适宜、韧性好、亲水性强等优点.其主要成分为纤维素和淀粉,玉米芯中的纤维素含量约为30%,淀粉含量约为17%<sup>[16]</sup>.这样的性能优点和化学组成有望使玉米芯作为固态碳源,实现高效持续的反硝化过程.相比于传统的序批实验,实验室条件下的柱实验提供的动态流动条件更符合实际修复过程中的原位可渗透反应墙系统所对应的条件,且柱实验能实现长时间连续观测,更容易捕捉氮素形态转化的细节<sup>[17]</sup>.因此,本研究采用玉米芯颗粒作为固态碳源,通过一维柱实验,研究了玉米芯固相体系在流场条件下的反硝化表现,同时探究了硝氮、亚硝氮、氨氮的转化规律,为材料用于原位可渗透反应墙的固态反硝化过程提供理论支撑.

## 1 实验部分

### 1.1 实验材料及仪器

玉米芯颗粒购于禹城市盛之源农业科技有限公司,将过筛后的玉米芯(20 目筛下,近球形, $d \approx 0.9 \text{ mm}$ )以纯水超声洗净,风干备用.反硝化微生物来自湖南大学某居民小区花园表层土(0~20 cm).硝酸钾(优级纯)购于国药集团化学试剂有限公司.背景溶液为纯水配置的模拟地下水溶液(AGW),主要成分为: $\text{NaCl } 0.006 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{CaSO}_4 \text{ } 0.012 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{NaHCO}_3 \text{ } 0.012 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{KNO}_3 \text{ } 0.002 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O } 0.035 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ .液体培养基主要成分为:牛肉浸膏  $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,蛋白胨  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{NaCl } 5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其 pH 值用 10%  $\text{NaOH}$  和 10%  $\text{HCl}$  调节.琼脂培养基为液体培养基中加 20% 的琼脂粉,121  $^{\circ}\text{C}$  灭菌 20 min,冷却后形成.

实验仪器包括:离子色谱仪(CIC-D120,青岛),高压恒流泵(LC100 高压恒流泵,上海),TOC 测定仪(TOC-VCPH/TOC-VCPN 总有机碳分析仪,日本),pH 计(PHB-4,上海),高速离心机(TG16-WS,长沙),扫描电子显微镜(JSM-6360LV,日本),傅里叶变换红外光谱仪(Nicolet6700,美国).

### 1.2 实验方法

实验装置见图 1,实验选用钢化玻璃柱,柱子规格为  $\Phi 2.1 \text{ cm} \times 15.3 \text{ cm}$ ,柱子两端装有不锈筛网以保证布水均匀性.向柱中均匀填入玉米芯颗粒,压实后称重,得到玉米芯颗粒的填入量.向柱中通入二氧化碳气体以去除其中的空气,用液相色谱泵从柱子左端通入加热法脱气后的 AGW 溶液直至柱子饱和(柱子保持恒重).所有实验均在恒温箱( $(30 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ )中进行.

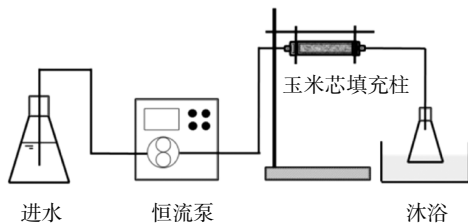


图 1 实验装置图

Fig.1 Schematic diagram of experimental set-up

玉米芯的释碳性能分析:向饱和的玉米芯柱中持续通入 AGW 的过程中,收集流出液,测定 TOC 值.

不同水力停留时间下的反硝化规律:取新鲜花园表层土 10 g 至 90 mL 纯水中,振荡摇匀,以  $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  的转速离心 10 min,取上清液,循环通入柱子中,用于反硝化微生物的接种,静置 3 d 后向柱子中通入硝氮浓度为  $22.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 AGW 溶液,测定流出液中的硝氮浓度,直至硝氮浓度显著下降,即柱内发生了反硝化反应,认为微生物驯化完成.之后保持进水硝氮浓度为  $22.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,分别设置液相色谱泵流量为  $0.144 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $0.072 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $0.048 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $0.036 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $0.024 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ ,对应柱子中的水力停留时间分别为 4 h、8 h、12 h、16 h、24 h,每个水力停留时间下的注入量为 10 个 PV(PV 为玉米芯填充柱的孔隙体积,1 个 PV 等于饱和后的玉米芯填充柱质量与未通入 AGW 之前的玉米芯填充柱质量的差值所对应的水的体积).在每个水力停留时间下,第 1 个 PV 时及之后每 3 个 PV 用 25 mL 的锥形瓶于冰浴中进行样品收集,随后分析其中的硝氮、亚硝氮、氨氮浓度以及 TOC 和 pH.

不同硝氮初始浓度下的反硝化规律:固定液相色谱泵流量为  $0.036 \text{ L} \cdot \text{d}^{-1}$ ,注入液硝氮初始浓度分别为  $22.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .每个浓度下的注入量为 10 个 PV,取样方式同上.

微生物筛选及鉴定:柱子完成接种且驯化完成之后,取 1 mL 流出液于培养皿中,倒入  $45^{\circ}\text{C}$  的固体培养基,转动平板,使菌液与固体培养基混合均匀.固体培养基冷凝后倒置,30  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中培养 7 d.待固体培养基上菌落长出后,选取不同形态的菌落,采用常规平板划线法反复纯化得到纯菌种.用接种环挑取不同菌落分别接种至液体培养基中进行富集,得到单菌种的菌悬液,取 1 mL 加入于硝氮浓度为  $22.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的液体培养基中,于温度为 30  $^{\circ}\text{C}$ 、转速为  $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  的恒温培养箱中培养,每 24 h 取一次样,测定硝氮的浓度,得到硝氮去除能力最强的菌种,进行 16S rRNA 鉴定.根据测序结果,进入 NCBI 数据库 BLAST 选项进行细菌核苷酸序列的对比,并使用 MEGA 4.0 软件通过邻接法构建系统发育树.

### 1.3 分析方法

上述实验中,流出液样品首先经过  $0.22 \mu\text{m}$  滤膜过滤,滤液中硝氮、亚硝氮、氨氮用离子色谱仪测

定. 硝氮、亚硝氮测定淋洗液为碳酸盐/碳酸氢盐体系, 样品溶液经 C18 预处理柱去除溶解性有机碳后, 再通过 SH-AC-3 阴离子色谱柱进行离子分离; 氨氮测定淋洗液为甲烷磺酸体系, 采用 SH-CC-3 阳离子色谱柱. 流量设定均为  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . 滤液中 TOC 浓度用 TOC 分析仪测定, pH 值用 pH 计测定. 使用扫描电子显微镜来对玉米芯颗粒样品的表面形貌表征成像; 采用 EDS 能谱分析实验前后玉米芯颗粒的主要元素变化; 微生物鉴定由湖南擎科生物科技有限公司完成.

孔隙体积计算如下:

$$PV = (W_2 - W_1) / \rho \quad (2)$$

式中:  $PV$  为孔隙体积,  $\text{mL}$ ;  $W_1$  为未通入 AGW 之前的玉米芯填充柱质量,  $\text{g}$ ;  $W_2$  为饱和后的玉米芯填充柱的质量,  $\text{g}$ ;  $\rho$  为水的密度,  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ .

硝氮去除率计算如下:

$$\eta = [(C_0 - C) / C_0] \times 100\% \quad (3)$$

式中:  $\eta$  为硝氮去除率, %;  $C_0$  为初始硝态氮浓度,  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $C$  为流出液硝态氮浓度,  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

一级反应动力学描述:

$$\frac{dC}{dt} = -kC (k > 0) \quad (4)$$

式中:  $k$  为一级反应速率常数,  $\text{h}^{-1}$ ;  $t$  为水力停留时间,  $\text{h}$ .

该动力学方程求解得到:

$$\ln\left(\frac{C}{C_0}\right) = -kt \quad (5)$$

平均反硝化速率的计算如下:

$$v = 1000 \times (C_0 - C) \times Q / PV \quad (6)$$

式中:  $Q$  为流量,  $\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ ;  $v$  为平均反硝化速率,  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

## 2 结果与讨论

### 2.1 玉米芯释放溶解性有机物过程

柱子填入的玉米芯颗粒质量为  $36.280 \text{ g}$ ,  $PV$  经测定为  $23.94 \text{ mL}$ . 在注入液的流量为  $0.1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 孔隙水流速为  $0.029 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$ , 对应水力停留时间  $4 \text{ h}$  时, 玉米芯柱流出液 TOC 随注入时间变化如图 2 所示. 流出液初期 TOC 很高, 达到  $2500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 这是由于在注入 AGW 之前, 玉米芯介质处于长时间饱

和静置状态, 其中的可溶性成分释放造成的. 经过 5 个  $PV$  共  $20 \text{ h}$  的注入, 释碳量显著降低. 经过 22 个  $PV$  共  $88 \text{ h}$  的注入, 玉米芯的释放的 TOC 稳定在  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  左右, 对应释放速率为  $0.0033 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

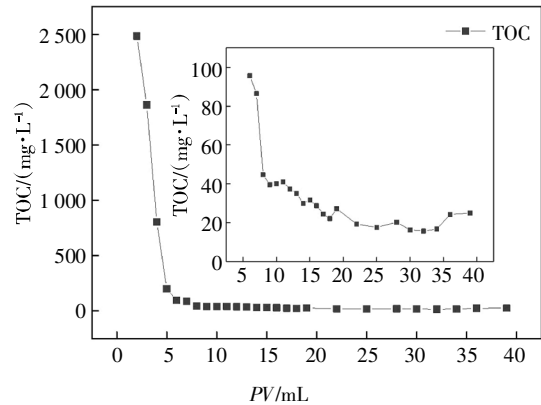


图 2 玉米芯初期释碳规律

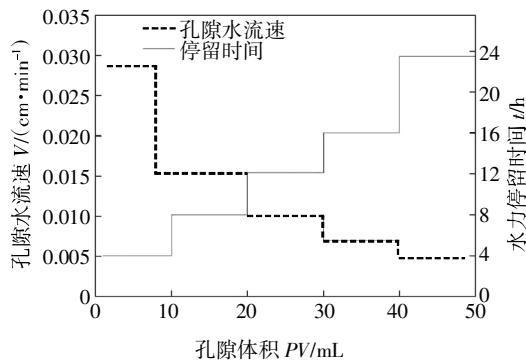
Fig.2 The discussion of the initial carbon release of corncob

### 2.2 不同水力停留时间下的反硝化特征

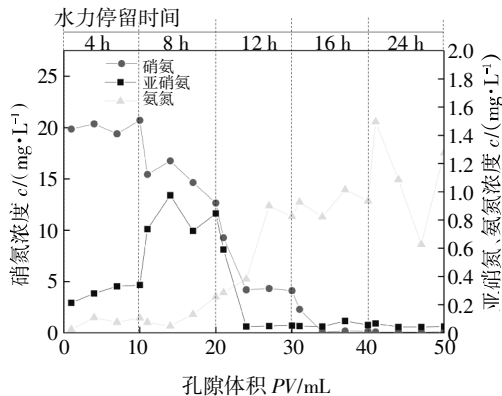
玉米芯颗粒介质在不同水力停留时间下的反硝化规律如图 3 所示. 硝态氮的进水浓度为  $22.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 图 3(a) 为设置的实验各阶段的孔隙水流速及对应停留时间. 图 3(b) 为流出液中三种形态的氮素浓度随时间的变化规律, 图 3(c) 为硝态氮的去除率与反硝化速率变化规律. 水力停留时间为  $4 \text{ h}$  时, 硝氮的去除率仅  $10\%$ . 随着硝酸盐在柱子中的水力停留时间增大, 流出液中硝氮浓度显著降低, 对应的硝氮去除率显著增加, 当水力停留时间增大到  $16 \text{ h}$  时, 硝氮去除率达到了  $100\%$  (图 3(c)). 水力停留时间从  $4 \text{ h}$  增加到  $16 \text{ h}$  时, 系统的平均反硝化速率也随停留时间的增大而增大. 停留时间为  $16 \text{ h}$  时, 反硝化速率达到最大的  $36.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ . 说明在孔隙水流速较低、水力停留时间较长时, 系统反硝化能力提高, 其可能的原因是较低的孔隙水流速更有利于反硝化微生物的挂膜和生长. 停留时间较长时, 硝氮有充足的微生物反应时间, 这与 Wang 等人<sup>[18]</sup>的研究结论相吻合. 停留时间增加至  $16 \text{ h}$  以上时, 计算得到的平均反硝化速率反而降低, 这是由于硝酸盐在流出柱子之前已反应完, 无法实现穿透, 此时式(6)计算得到的反硝化速率不能反映真实值. 采用 SPSS 分析水力停留时间与平均反硝化速率的相关性, 结果表明水力停留时间与平均反硝

化速率显著相关,  $R = 0.859(p < 0.01, n = 16)$ .

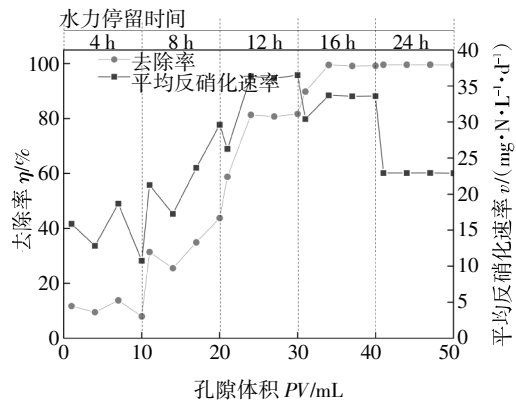
如图 3(b)所示,流出液中亚硝氮的浓度呈现先升高后降低的变化规律.在水力停留时间较小时,亚硝酸盐的产生不明显.当水力停留时间增加到 8 h 时,亚硝氮的浓度明显增加,结合硝氮浓度的变化,说明在这个水力停留时间下,硝酸盐的还原虽有增强,但反应不彻底,导致了亚硝酸盐的累积.进一步增加水力停留时间,水相中的 TOC 明显增高(图 3(d)),强化了还原过程,使得反硝化更彻底,亚硝酸盐浓度降低.但此时流出液中氨氮的浓度明显增加,说明在系统中高 C/N 的条件下,发生了明显的异化硝酸盐还原为氨(DNRA)过程<sup>[19-20]</sup>,而氨的产生,导致了流出液 pH 的轻度上升(图 3(d)).上述结果说明,在以玉米芯为固态碳源的反硝化过程中,氮素形态的变化与水相 TOC 的浓度密切相关,而水力停留时间是控制 TOC 和氮素形态的重要因素.由于亚硝态氮和氨氮在环境中危害均高于硝态氮,在《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2006)<sup>[21]</sup>中的最大浓度限值( $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )也远低于硝态氮的限值( $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),因此实际固相反硝化过程中控制停留时间防止亚硝酸盐和氨的大量产生十分必要.



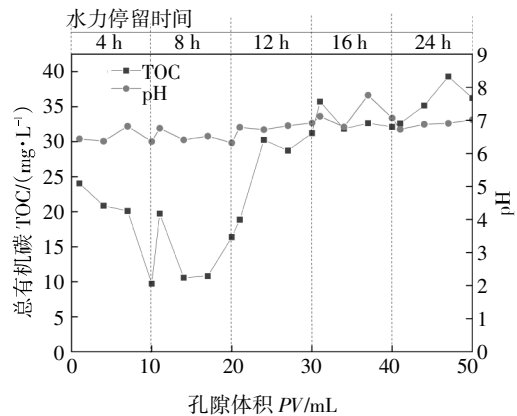
(a)孔隙水流速及对应水力停留时间



(b)流出液中 3 种形态氮素浓度的变化



(c)硝态氮去除率及反硝化速率的变化



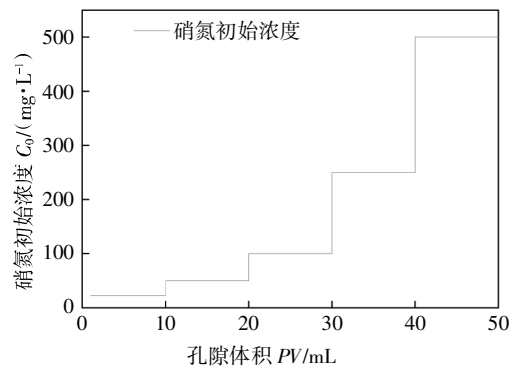
(d)总有机碳和 pH 的变化

图 3 玉米芯-固相反硝化系统在不同流速下的反硝化规律

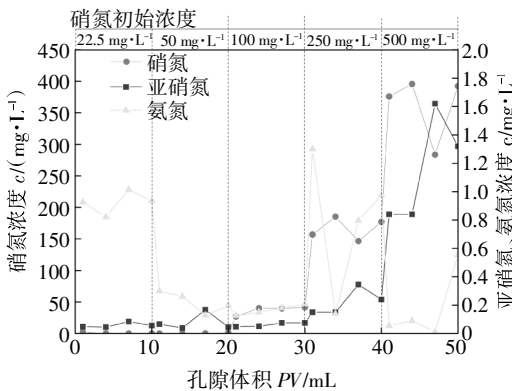
Fig.3 The denitrification performance of corncob-based solid phase denitrification system at different flow rates

### 2.3 不同进水硝酸盐浓度下的反硝化特征

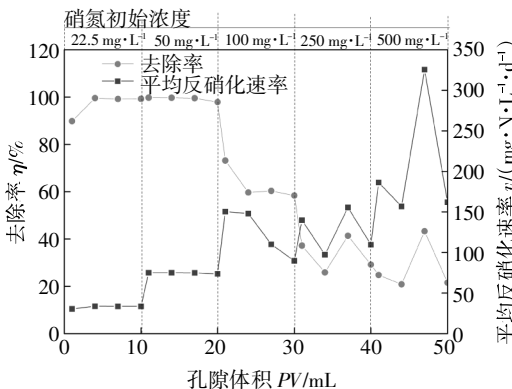
上述实验结果表明玉米芯填充柱在水力停留时间为 16 h 时可完全去除硝态氮.因此,设置该阶段实验的停留时间为 16 h.不同进水硝酸盐浓度下的反硝化规律如图 4 所示.在进水硝氮浓度为  $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,流出液硝态氮和亚硝氮浓度几乎为 0,硝氮去除率接近 100%,而氨氮浓度达到  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 4(b)(c)). TOC 浓度维持在  $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的水平(图 4(d)).这些结果相对之前的结果展现出了很好的重现性.当进水硝氮浓度增加到  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,硝氮的去除率仍维持在 100%的水平,但氨氮的浓度显著降低.表明系统中硝酸盐浓度的增高,抑制了 DNRA 过程.当进水硝氮浓度增加到  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,流出液中硝氮的浓度明显增加,去除率显著下降至 60%.当进水硝氮浓度增加到  $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,去除率进一步下降至 30%左右.当进水浓度进一步增加至



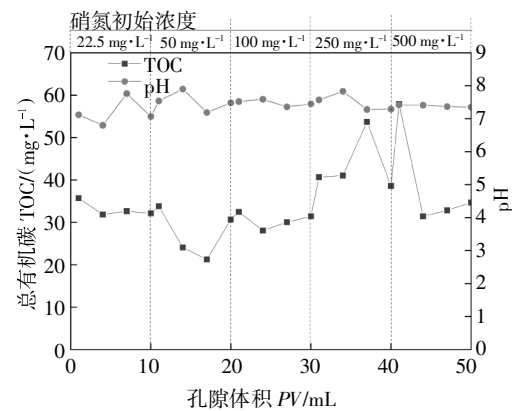
(a) 进水硝态氮初始浓度



(b) 流出液3种形态氮素浓度的变化



(c) 硝态氮去除率及反硝化速率的变化



(d) TOC和pH的变化

图4 玉米芯-固相反硝化系统在不同硝酸盐浓度下的反硝化规律

Fig.4 The denitrification performance of corncob-based solid phase denitrification system at different nitrate loads

500 mg·L<sup>-1</sup>时,亚硝氮显著生成,表明此时反硝化的进程变得不完全.反硝化速率在进水硝氮浓度为100 mg·L<sup>-1</sup>以下时,随进水硝氮浓度的增加而增大,但进水硝氮达到100 mg·L<sup>-1</sup>时,反硝化速率在150 mg·N·L<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>上下波动(图4(c)).而整个过程中,系统流出液TOC基本维持在30~40 mg·L<sup>-1</sup>之间(图4(d)),随进水硝氮浓度变化不大.上述结果说明,水溶性碳氮比是影响固相反硝化的重要因素,玉米芯固态碳源依其水解释放的溶解性有机物,对反硝化有一定的承载力,表现为反硝化速率存在上限,当硝酸盐的浓度高于相应浓度(碳氮比过低)时,去除率下降,甚至伴随亚硝酸盐的积累;而同时硝酸盐又需要有足够浓度,抑制DNRA,防止氨氮的大量产生.因此,待修复地下水中的硝氮浓度也是实施玉米芯为填充介质的原位可渗透反应墙方法需要考虑的重要因素.

#### 2.4 微生物鉴定

在菌种分离实验中,得到3种菌落形态不同的菌株,分别命名为denitrifier-A、denitrifier-B、denitrifier-C.3种菌株厌氧条件下对硝酸盐的还原去除效果如图5所示.不加菌液对照组硝酸盐的去除十分有限.3株菌对硝氮均有去除效果,经过120h的反应,硝氮的去除率分别达到了18.4%、98.8%、43.2%.其中denitrifier-B对硝酸盐的还原效果最好,对其进行菌种鉴定,系统进化树如图6所示,结果显示菌株denitrifier-B与Pseudomonas sp的同源性达到98%.上述结果说明,假单胞菌属在玉米芯介质固相反硝化的过程中为主要作用菌属.

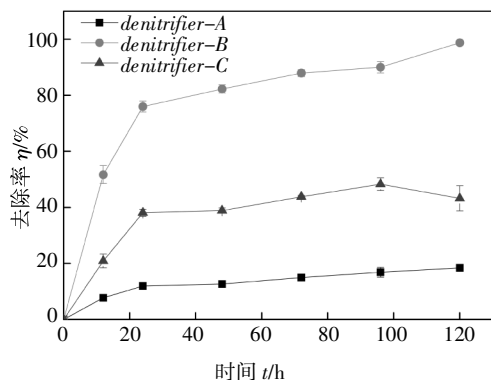


图5 微生物反硝化效果对比

Fig.5 Comparison of denitrification performance of the isolated denitrifiers

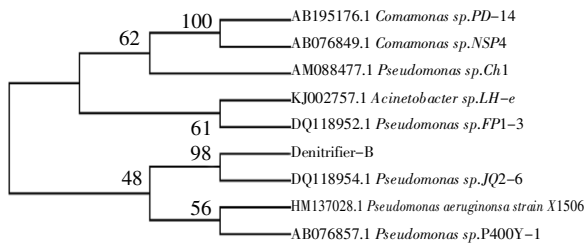


图 6 *Denitrifier-B* 的 16S rRNA 序列的系统进化树

Fig.6 Phylogenetic tree derived from 16S rRNA sequence data of strain *denitrifier-B* and other related species

### 2.5 玉米芯颗粒的表征

固体碳源的形态结构对微生物生长附着的难易程度有显著影响,具有良好表面粗糙度的生物膜载体可为细菌增殖提供有利条件.玉米芯的 SEM 扫描结果如图 7 所示.结果表明,玉米芯表面粗糙,存在大量微米级的褶皱和结粒结构,有利于微生物附着,适合作为微生物生长载体.图 8 为在 70 d 的实验周期前后玉米芯的 EDS 能谱分析,结果显示玉米芯表面的相对碳含量在实验前后分别为 60.00%和 55.92%,表明其在实验过程中释碳缓慢,且实验后柱子中玉米芯颗粒仍然填充紧密,未出现结构性塌陷.表明玉米芯作为场地修复中的填充介质具有很好的应用潜力.

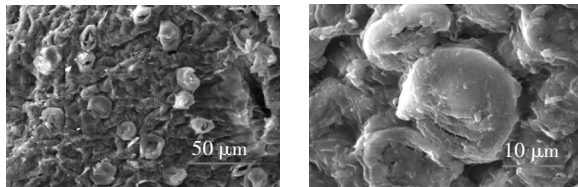
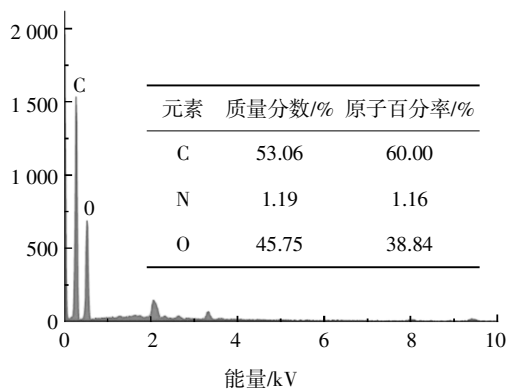
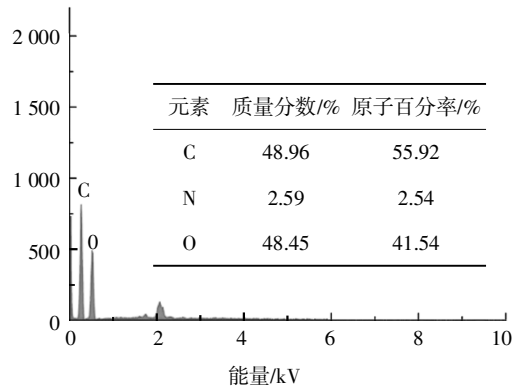


图 7 玉米芯颗粒的 SEM 图片

Fig.7 SEM of corncob particles



(a)实验前



(b)实验后

图 8 玉米芯颗粒实验前后的 EDS 能谱

Fig.8 EDS spectrum of corncob particles

### 3 结论

1) 水力停留时间是影响玉米芯固相反硝化过程中反硝化速率及氮素形态转化的重要因素.水力停留时间越长,反硝化速率越高,但它在一定范围内可造成亚硝酸盐的产生,时间太长可造成氨的累积.

2) 碳氮比是影响固相反硝化的重要因素,适宜的碳氮比有利于硝酸盐去除,且抑制亚硝酸氮和氨累积.

3) 玉米芯释碳缓慢且具有很好的反硝化表现,结构也有利于微生物附着生长,作为原位可渗透反应墙的填充介质具有很好的应用潜力.

4) *Pseudomonas sp* 为玉米芯介质固相反硝化的过程中的主要作用菌属.

### 参考文献

[1] ZHAI Y,ZHAO X,TENG Y,*et al.* Groundwater nitrate pollution and human health risk assessment by using HHRA model in an agricultural area,NE China [J]. *Ecotoxicology & Environmental Safety*,2017,137:130—142.

[2] CAO W. Nitrogenous compounds removal from recalcitrant wastewaters using biofilms on filamentous bamboo [J]. *Desalination & Water Treatment*,2016,57(30):13995—14003.

[3] KONDAVEETI S,LEE S H,PARK H D,*et al.* Bacterial communities in a bioelectrochemical denitrification system:the effects of supplemental electron acceptors [J]. *Water Research*,2014,51(12):25.

[4] ZHOU H Y,LIANG S,ZENG S S,*et al.* Chemical reduction of ni-

- trate in aqueous solution by iron powder [J]. *Advanced Materials Research*, 2013, 777:71—76.
- [5] RAJIC L, BERROA D, GREGOR S, *et al.* Electrochemically induced reduction of nitrate in aqueous solution [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2017, 12(7):5998—6009.
- [6] FOX S, BRUNER T, OREN Y, *et al.* Concurrent microbial reduction of high concentrations of nitrate and perchlorate in an ion exchange membrane bioreactor [J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2016, 113(9):1881—1891.
- [7] WANG J L, CHU L B. Biological nitrate removal from water and wastewater by solid-phase denitrification process [J]. *Biotechnology Advances*, 2016, 34(6):1103—1112.
- [8] LIU H, JIANG W, WAN D, *et al.* Study of a combined heterotrophic and sulfur autotrophic denitrification technology for removal of nitrate in water [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 169(1):23—28.
- [9] JØRGENSEN P R, URUP J, HELSTRUP T, *et al.* Transport and reduction of nitrate in clayey till underneath forest and arable land [J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2004, 73(1):207—226.
- [10] PUIG R, SOLER A, WIDORY D, *et al.* Characterizing sources and natural attenuation of nitrate contamination in the Baix Ter aquifer system (NE Spain) using a multi-isotope approach [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 580:518—532.
- [11] RIVETT M O, BUSS S R, MORGAN P, *et al.* Nitrate attenuation in groundwater: a review of biogeochemical controlling processes [J]. *Water Research*, 2008, 42(16):4215—4232.
- [12] LI T, LI W, FENG C, *et al.* In-situ biological denitrification using pretreated maize stalks as carbon source for nitrate-contaminated groundwater remediation [J]. *Water Science and Technology: Water Supply*, 2017, 17(1):1—9.
- [13] RUAN Y J, DENG Y L, GUO X S, *et al.* Simultaneous ammonia and nitrate removal in an airlift reactor using poly(butylene succinate) as carbon source and biofilm carrier [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 216:1004—1013.
- [14] SHEN Z Q, ZHOU Y X, HU J, *et al.* Denitrification performance and microbial diversity in a packed-bed bioreactor using biodegradable polymer as carbon source and biofilm support [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 250—251(8):431—438.
- [15] GREENAN C M, MOORMAN T B, KASPAR T C, *et al.* Comparing carbon substrates for denitrification of subsurface drainage water [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2006, 35(3):824—829.
- [16] 陈家明, 余稳稳, 吴晖, 等. 玉米芯的营养成分分析 [J]. *现代食品科技*, 2012, 28(9):1073—1075.
- CHEN J M, YU W W, WU H, *et al.* Analysis of the nutritional components of corn cobs [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2012, 28(9):1073—1075. (In Chinese)
- [17] ZHOU D, LI Y, ZHANG Y, *et al.* Column test-based optimization of the permeable reactive barrier (PRB) technique for remediating groundwater contaminated by landfill leachates [J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2014, 168:1—16.
- [18] WANG X M, WANG J L. Nitrate removal from groundwater using solid-phase denitrification process without inoculating with external microorganisms [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2013, 10(5):955—960.
- [19] IDI A, IBRAHIM Z, MOHAMAD S E, *et al.* Biokinetics of nitrogen removal at high concentrations by *Rhodobacter sphaeroides* ADZ101 [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, 105:245—251.
- [20] JAFARI S J, MOUSSAVI G, YAGHMAEIAN K. High-rate biological denitrification in the cyclic rotating-bed biological reactor: effect of COD / NO<sub>3</sub> - mathcontainer loading mathjax , nitrate concentration and salinity and the phylogenetic analysis of denitrifiers [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 197:482—488.
- [21] GB 5749—2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京:中国卫生部, 2006:1—9.
- GB 5749—2006 Standards for drinking water quality [S]. Beijing: Ministry of Health of People's Republic of China, 2006:1—9. (In Chinese)