

生物膜对纳米铁-微生物去除地下水中 NO_3^- -N的影响

李宁¹, 金朝晖^{1,2*}, 李铁龙^{1,2,3}, 夏宏彩¹, 张娜¹

(1. 南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071; 2. 环境污染过程与基准教育部重点实验室, 天津 300071; 3. 天津市城市生态环境修复与污染防治重点实验室, 天津 300071)

摘要:采用液相还原法制得纳米 Fe^0 , 并采用自制恒化器从活性污泥中驯化出自养反硝化细菌. 对比单独投加纳米 Fe^0 与投加纳米 Fe^0 及微生物时硝酸盐培养液体系的脱氮效果, 包括采用分光光度法监测三氮 (NO_3^- -N、 NO_2^- -N、 $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ -N) 的浓度变化, 使用 pH 计监测培养液中 pH 的变化. 结合吖啶橙染色荧光显微照片, 证明了在纳米 Fe^0 -微生物体系中, 生物膜在纳米 Fe^0 腐蚀过程及生物反硝化过程中均起主导作用. 在此基础上对比了分别投加纳米 Fe^0 和微生物及投加在葡萄糖营养环境下制得的生物膜-纳米 Fe^0 复合材料时体系的脱氮效果. 结果表明, 分别投加纳米 Fe^0 和微生物时, 可在 10 d 内将体系中的 NO_3^- -N 完全去除, 其中 37% 转化成了氨氮, 其余 63% 应以气态反硝化产物的形式离开溶液. 投加生物膜-纳米 Fe^0 复合材料时仅需 5 d 即可将体系中的 NO_3^- -N 完全去除, 其中 28% 转化成氨氮, 其余 72% 应以气态反硝化产物的形式离开溶液. 实验结果同时表明生物膜-纳米 Fe^0 复合材料具有更大的微生物量和更强的反硝化活性, 适用于去除地下水中的 NO_3^- -N 污染.

关键词:生物膜; 纳米零价铁; 硝酸盐污染; 地下水

中图分类号: X523 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)06-1620-07

Effect of Biofilm on Nanoscale Zero-Valent Iron-Microorganism Removing NO_3^- -N in Groundwater

LI Ning¹, JIN Zhao-hui^{1,2}, LI Tie-long^{1,2,3}, XIA Hong-cai¹, ZHANG Na¹

(1. College of Environmental Science and Technology, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2. Key Laboratory of Environmental Processes and Criteria, Ministry of Education, Tianjin 300071, China; 3. Tianjin Key Laboratory of Environmental Remediation and Pollution Control, Tianjin 300071, China)

Abstract: Nanoscale zero-valent iron (NZVI) was synthesized by reduction in liquid phase, and autotrophic denitrifying bacteria were domesticated from activated sludge by self-made chemostat. Compared the denitrifying effects of adding NZVI only with that of adding booth NZVI and bacteria in nitrate culture fluid, including investigation of three forms of nitrogen (NO_3^- -N, NO_2^- -N, $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ -N) by spectrophotometer, and investigating the variety of pH in nitrate culture fluid by pH meter. Combining acridine orange (AO) dyed fluorescence photomicrograph, proved that biofilm has a leading role both in corrosion process of NZVI and in process of biotic denitrification of NZVI-bacteria system. Based on this, compared denitrifying effect in the circumstance of adding NZVI and bacteria separately with that in the circumstance of adding biofilm-NZVI composite which was made with glucose providing nutrition. Result shows that in the circumstance of adding NZVI and bacteria separately, NO_3^- -N in the system can be removed completely within 10 days, there are 37% of NO_3^- -N was transformed into ammoniacal nitrogen, the rest 63% of NO_3^- -N should have left solution in the form of gaseous denitrifying products. In the circumstance of adding biofilm-NZVI composite, NO_3^- -N in the system can be removed completely within 5 days, there are 28% of NO_3^- -N be transformed into ammoniacal nitrogen, the rest 72% of NO_3^- -N should have left solution in the form of gaseous denitrifying products. Experimental result also shows biofilm-NZVI composite has a greater abundance of microorganism and is more active in denitrification, it is suitable for removing the nitrate pollutant in groundwater.

Key words: biofilm; nanoscale zero-valent iron (NZVI); nitrate pollution; groundwater

由于农业生产中氮肥的大量使用及工业的发展, 硝酸盐已成为全球范围内地下水中的主要污染物^[1]. 婴儿消化道内的高含量硝酸盐是导致高铁血红蛋白症的辅助因素^[2], 高浓度的硝酸盐还是导致癌症的诱因, 因此地下水中的硝酸盐污染受到了全球范围内的重视. 由于地下水环境的特殊地理条件, 治理被硝酸盐污染的地下水是一项耗资很大的工程^[3], 2010 年英国每年治理地下水硝酸盐污染的费用

约 5 800 万英镑^[4]. 目前治理地下水中的硝酸盐污染主要可分为物理化学法和生物法两大类, 电渗析、反渗透和离子交换等物理化学方法需要把地下水抽出处理, 因此成本很高、不易推广. 生物法是利用微

收稿日期: 2010-07-19; 修订日期: 2010-10-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40971254, 20907023)

作者简介: 李宁 (1985 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境污染防治.

* 通讯联系人, E-mail: jinzh@nankai.edu.cn

生物的反硝化生理活动去除地下水中的硝酸盐,使之转变为气态产物离开地下水水体^[5]. 生物法可以用于地下水的原位修复,但是由于地下水中营养匮乏,缺少能为微生物反硝化活动提供电子的物质,因此运用生物法需要向地下水中投加微生物可以利用的电子供体^[6].

零价铁在地下水中腐蚀产氢为微生物的反硝化活动提供电子已有许多报道^[7]. 普通铁粉曾被用于为地下水中微生物提供电子,但是普通铁粉的还原活性太低,用于地下水中硝酸盐的生物处理时需要很大的投加量,限制了其应用^[8]. 纳米 Fe^0 具有比普通铁粉大得多的比表面积,因此具有更强的反应活性. 利用纳米 Fe^0 在地下水中的腐蚀为微生物的反硝化活动提供电子的研究已取得了一些成果^[9],但目前的研究都集中在硝酸盐还原的反应速率和产物分布上,并且都着重纳米 Fe^0 的纯化学腐蚀过程,没有对纳米 Fe^0 的生物腐蚀进行研究.

在金属的生物腐蚀过程中,生物膜对金属的腐蚀具有重要影响,大约 90% 以上微生物的活性发生在生物膜里^[10]. 生物膜是由微生物在金属等固体材料表面生长形成的,除含有极大的微生物量外,还含有多糖、核酸、脂质、蛋白质、有机酸等微生物胞外分泌物以及吸附的有机物、无机物等. 金属表面的微生物膜可以在金属与微生物膜的界面上产生与周围环境差异很大的化学环境,尤其是生物膜中的微生物胞外分泌物对金属的腐蚀往往产生促进作用. 微生物的胞外分泌物是酸性的并含有某些官能团可以吸附金属离子,这可能形成金属离子浓差电池,加速腐蚀的进行. 另外,生物膜对物质的扩散可产生阻碍作用,同时还可以富集某些环境中含量低的化学物质.

目前关于生物膜对金属腐蚀作用的研究都集中在生物膜对管道、船舶等大块金属的腐蚀研究上,关于生物膜在地下水环境中对纳米 Fe^0 腐蚀作用的研究还鲜见报道. 本研究的目的在于分析地下水环境中生物膜对纳米 Fe^0 腐蚀的影响,及利用腐蚀产氢进行反硝化活动的能力. 尝试用人工合成的生物膜-纳米 Fe^0 复合材料处理地下水中的硝酸盐污染,以期应用纳米 Fe^0 处理地下水中硝酸盐污染探索新的途径^[11-13].

1 材料与方法

1.1 试剂、仪器与分析方法

试剂:七水合硫酸亚铁,硼氢化钾,PEG-4000(聚乙二醇-4000),无水乙醇,葡萄糖,均为分析纯.

仪器:Cary 50 型紫外可见分光光度计(Varian);JJ-1 数显电动搅拌器;320-S pH 计(梅特勒-托利多有限公司);THZ-82B 气浴恒温振荡器(江苏省金坛市医疗仪器厂);Zeiss Axio Imager Z1 型高级正置荧光显微镜(ZEISS).

分析方法: NO_3^- -N 用紫外分光光度法; NH_4^+ -N 用纳氏试剂光度法; NO_2^- -N 用 *N*-(1-萘基)-乙二胺光度法^[14].

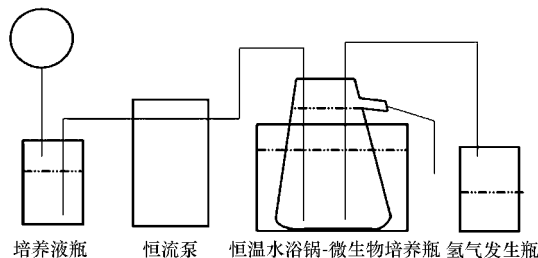
1.2 微生物驯化

本实验采用从活性污泥中驯化的反硝化微生物作为实验用微生物,活性污泥取自天津市纪庄子污水处理厂. 根据微生物不同的生理特点,采用自制恒化器对活性污泥中的微生物进行筛选培养,以获得有较强利用氢气做电子供体进行反硝化活动的微生物.

所采活性污泥首先经过前期 3 个月的驯化培养. 培养方法:将活性污泥及上清液约 1 L 密封在 1.5 L 的大瓶子里,氮气脱氧,投加硝酸钠 5 g,1 月后测得污泥清液中含硝酸盐氮 255 mg/L,而后每半月加入硝酸钠 5 g.

采用自制恒化器(图 1),微生物培养瓶里装入硝酸盐培养液(成分为:15.000 g·L⁻¹ NaHCO_3 , 3.036 g·L⁻¹ NaNO_3 , 0.975 g·L⁻¹ KH_2PO_4 , 以及 10 mL 微量元素溶液,微量元素溶液组分为^[7]:0.52 mg·L⁻¹ ZnCl_2 , 1.90 mg·L⁻¹ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1.00 mg·L⁻¹ $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.24 mg·L⁻¹ $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.29 mg·L⁻¹ $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.36 mg·L⁻¹ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 0.30 mg·L⁻¹ H_3BO_3) 500 mL,培养液瓶里同样装入一定量上述培养液. 取经过先期驯化的活性污泥上清液 2 mL,加入微生物培养瓶中,氮气脱氧 30 min. 每天检测恒化器中的硝酸盐氮及亚硝酸盐氮含量,在第 5 d 硝酸盐几乎完全被反硝化时打开恒流泵. 开始时调节流速至静水停留时间约 120

平衡压力用氮气袋



细线条表示导管

图 1 微生物培养恒化器

Fig. 1 Chemostat for microbial culture

h, 逐天调节流速, 3 d 后调节流速至静水停留时间约 25 h, 并保持该流速 1 周. 其间每天按时监测培养瓶里硝酸盐氮和亚硝酸盐氮含量, 发现均保持在很低的水平.

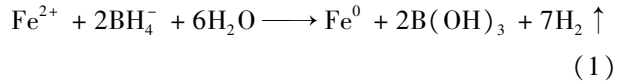
整个驯化过程中每天早晚 2 次向氢气发生瓶(装约 10 g 300 目还原铁粉, 100 mL 去离子水)中注入经氮气脱氧的 40 mL 1:24 硫酸溶液, 每 2 d 更换氢气发生瓶中的铁粉. 按时补充新鲜培养液瓶中的培养液, 平衡压力用氮气袋.

在微生物培养瓶里, 不具有利用氢气进行反硝化的能力或在实验条件下细胞分裂周期长于静水停留时间的微生物, 随出水会被逐渐淘汰出培养瓶. 培养瓶中获得的微生物为具有较强的利用氢气进行反硝化能力的菌种. 采用革兰氏染色法观察获得的微

生物, 几乎全部为革兰氏阴性细菌^[15,16].

1.3 纳米 Fe⁰ 的制备

采用液相还原法, 在氩气保护下, 用 KHB₄ 还原 FeSO₄·7H₂O 制取纳米铁, 反应方程为:



反应结束后, 产物先用脱氧去离子水洗涤 3 次, 再用脱氧无水乙醇洗涤 3 次^[17]. 为排除在实验中乙醇对微生物的干扰, 本实验中所制备的纳米铁在经过上述洗涤后, 再用脱氧去离子水洗涤 3 次.

1.4 实验方法

本实验设计 5 组实验(见表 1), 每组均设有重复对照实验. 所有实验均在 175 mL 血浆瓶中进行.

表 1 各实验组实验条件
Table 1 Experimental condition for each experimental group

组别	实验条件
第 1 组	加入 12 mL 硝酸盐培养液, 用去离子水稀释至 120 mL, 将新制纳米 Fe ⁰ 0.056 g 导入血浆瓶中
第 2 组	加入 12 mL 硝酸盐培养液, 用去离子水稀释至 120 mL, 将新制纳米 Fe ⁰ 0.056 g 导入血浆瓶中, 5 d 后加入微生物培养瓶中的菌液 2 mL
第 3 组	加入 12 mL 硝酸盐培养液, 用去离子水稀释至 120 mL, 加入微生物培养瓶中的菌液 2 mL
第 4 组	加入 12 mL 硝酸盐培养液, 用去离子水稀释至 120 mL, 加入 0.6 g 葡萄糖及微生物培养瓶中的菌液 2 mL
第 5 组	加入不含硝酸盐的培养液 12 mL(成分同硝酸盐培养液, 但不含 NaNO ₃), 用去离子水稀释至 120 mL, 将新制纳米 Fe ⁰ 0.056 g 导入血浆瓶中, 加入 0.6 g 葡萄糖及微生物培养瓶中的菌液 2 mL. 于 35℃ 振荡培养 2 d 后用磁铁吸住纳米铁, 将瓶中的溶液抽出, 用脱氧去离子水洗 3 遍以除去葡萄糖, 水洗时动作要轻, 避免破坏微生物与纳米铁形成的生物膜. 然后加入 12 mL 硝酸盐培养液, 用去离子水稀释至 120 mL

NO₃⁻-N 初始浓度为 50 mg·L⁻¹, 各瓶均用聚四氟乙烯胶塞密封, 抽样处的针孔用蜡烛油密封. 置于恒温振荡器中, 温度 35℃, 转速 150 r/min.

2 结果与讨论

2.1 纳米 Fe⁰ 粒子的表征

利用 PHILIPS EM400ST 型透射电镜(TEM)对纳米 Fe⁰ 粒子进行了 TEM、粒径分析等表征(图 2).

可以看出, 本实验采用的液相还原法所制得的纳米 Fe⁰ 为直径约 80 nm 的球形颗粒状物. 由于纳米 Fe⁰ 粒子具有磁性, 且具有巨大的比表面能, 因此很容易团聚.

2.2 生物膜对纳米 Fe⁰ 腐蚀的影响

虽然纳米铁具有大的比表面积和比普通铁粉更高的反应活性, 但是在高 pH(>9) 环境中纳米 Fe⁰ 与硝酸盐的反应活性很差[图 3(a)]. 本实验反应初始的 pH 为 8.9, 而纳米 Fe⁰ 与硝酸盐反应 5 d 后测得溶液 pH 为 9.2. NO₃⁻-N 10 d 的降解率仅有 10%, 并且降解速率越来越低.

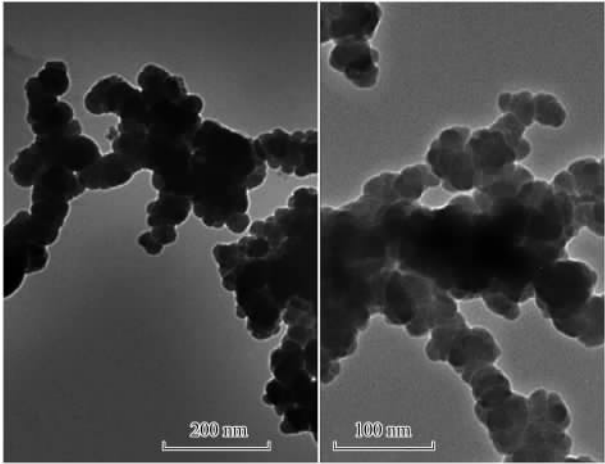
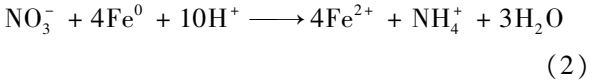


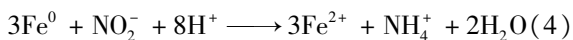
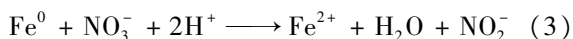
图 2 纳米 Fe⁰ TEM 照片

Fig. 2 TEM photograph of nano-Fe⁰

纳米 Fe⁰ 与硝酸盐反应的主要方式为^[7]:



另外, 还有一些次要反应^[18,19]:



可以看出,上述反应的动力学常数都与溶液的 pH 呈负相关,即溶液 pH 越高反应动力学常数就越低,这是造成在高 pH 培养液中纳米 Fe^0 与硝酸盐反应活性差的主要原因. 另外, Sarathy^[20] 认为,用硼氢化物还原的方法所制备的纳米 Fe^0 短期暴露于硝酸

盐溶液中会导致纳米 Fe^0 颗粒尺寸缩小及表面积的增加,但是对硝酸盐的还原速率并无太大影响,这与本实验前 2 d 的结果基本一致. 随着纳米 Fe^0 与硝酸盐反应的进行,纳米 Fe^0 核表面会形成富含 $\text{Fe}(\text{III})$ 的氧化壳,逐渐生成更多的钝性 Fe_3O_4 ,阻碍硝酸盐与纳米 Fe^0 的反应,这与本实验中硝酸盐的还原率逐渐降低的现象一致[图 3(a)]^[21~24].

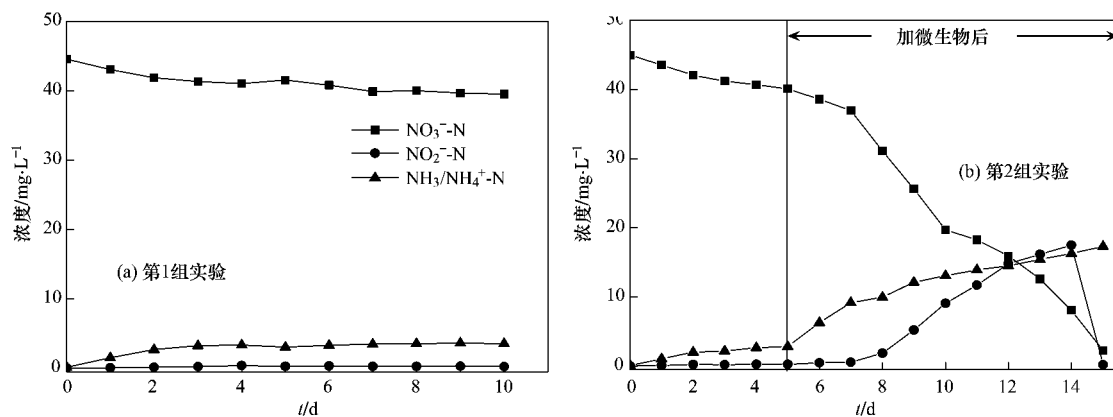


图3 第1、2组实验硝酸盐及不同还原产物的浓度变化

Fig. 3 Concentration changes of nitrate and different reduced products of the 1st group and the 2nd group

第2组实验初始条件和第1组相同,在反应进行 5 d 后加入微生物培养瓶中的菌液 2 mL. 微生物的反硝化过程是一系列生物酶利用电子供体催化还原 NO_3^- 的过程:包括被硝酸盐还原酶还原成亚硝酸盐、亚硝酸盐被亚硝酸盐还原酶还原成 NO 、 NO 被 NO 还原酶还原成 N_2O 、最后 N_2O 被 N_2O 还原酶还原成 N_2 ^[25]. 对比第1组实验的数据,发现第2组在加入微生物后硝酸盐的还原率大幅提高,并表现出明显的微生物反硝化活动的特征:亚硝酸盐先是积累后又快速降解[图 3(b)]. 加入微生物反应 10 d 后 NO_3^- -N 被完全去除,有 37% 转化为了氨氮,其余 63% 应以 N_2O 、 N_2 等气态形式的反硝化产物离开溶液.

图 3(b) 中, NO_2^- -N 浓度逐渐增加是生物反硝化的典型表现. 加入微生物后的起初 2 d, 微生物由于进入新的环境而在做生理上的适应,包括相应酶的合成,此时没有表现出明显的反硝化作用, NO_2^- -N 浓度变化不大. 之后微生物开始适应环境, NO_2^- -N 浓度逐渐增加,溶液中总氮含量持续下降,表现出明显的反硝化活动的特征. 微生物的反硝化活动需要有电子供体才能进行,在本实验所用微生物培养液中没有生物可利用的电子供体,因此判断纳米 Fe^0 的腐蚀产氢为微生物的反硝化活动提供了电子,而利用纳米铁在水中腐蚀产氢作为微生物反硝化的电

子供体已被许多研究所证实^[9,22].

第2组实验中,反应瓶中溶液的 pH 同第1组相似,一直维持在较高水平,在 8.9~9.5 之间. 如上所述,从纯化学反应的角度来看,在本实验 pH 高于 9 的条件下,铁水析氢腐蚀几乎难以进行. 但是,在纳米 Fe^0 表面形成的生物膜,可以从至少 2 个方面加速纳米 Fe^0 的腐蚀:第一,生物膜具有更适合微生物生长而且不同于溶液中的理化性质,如 pH 值,因此生物膜可以在纳米 Fe^0 表面创造一个不同于溶液中的较低的 pH 环境;第二,生物膜中微生物分泌的胞外黏多糖可以通过螯合等化学作用方式结合纳米 Fe^0 表面的离子态腐蚀产物,然后生成结构疏松的羟基氧化铁而不是结构紧密的 Fe_3O_4 沉积在铁核上,由此暴露出内层铁核,增加反应的活性位点^[26]. 反应后的吡啶橙荧光显微照片证实了微生物在纳米 Fe^0 表面形成的生物膜的存在[图 4(a)],同时显示出纳米 Fe^0 表面生物膜中微生物的密度远远大于溶液中微生物的数量,同生物活性的 90% 发生在生物膜内的论点一致^[9~11].

2.3 葡萄糖营养环境下制得的生物膜-纳米 Fe^0 复合材料及其反硝化作用

第1、2组实验的结果显示出了生物膜在纳米 Fe^0 腐蚀及生物反硝化活动中的重要作用. 因此,本

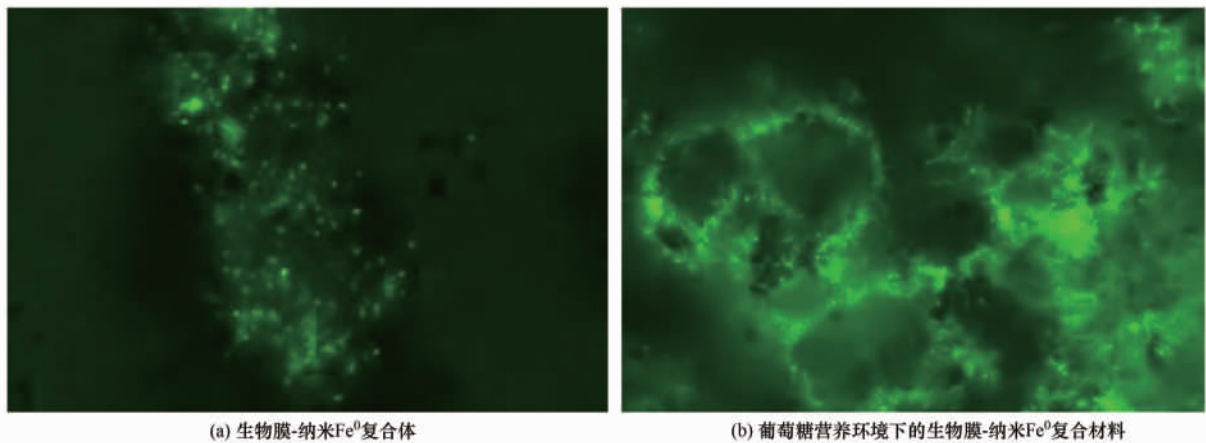


图 4 吖啶橙染色荧光显微照片

Fig.4 Acridine orange (AO) dyed fluorescence photomicrograph

实验进一步考虑让微生物在营养丰富且对纳米 Fe⁰ 腐蚀性很小的环境中快速生长繁殖,形成生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料,然后用这种生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料进行反硝化,其可能会在反硝化速度、产物分布上同第 2 组中分开投加纳米 Fe⁰ 和微生物的情形有所不同. 另外,由于地下水中营养物质稀少,其中的微生物量很少,典型地下水中的总微生物量大约为 10³ ~ 10⁶ 个/mL^[27]. 因此在利用纳米 Fe⁰ 腐蚀产氢作为微生物电子供体来降解地下水中污染物时,常常面临地下水中的微生物量尤其是有针对的能利用纳米 Fe⁰ 腐蚀产氢作为电子供体来降解污染物的微生物量太少的问题,这使得纳米铁在相当长的一段时间内被无意义地腐蚀^[20]. 这样既浪费了纳米 Fe⁰ 所携带的电子,又因腐蚀引起纳米 Fe⁰ 老化而导致纳米 Fe⁰ 的活性降低,不利于纳米 Fe⁰ 用于地下水中污染物的降解. 而本实验中由纳米 Fe⁰ 和驯化筛选出的具有较强反硝化能力的微生物,在营养丰富

的环境中形成的生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料含有丰富的微生物量,可以有效解决这一问题,因此更具有实际的应用前景.

本实验使用葡萄糖为微生物耦合纳米 Fe⁰ 形成生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料创造所需的营养环境,因此首先考察葡萄糖对微生物反硝化能力的影响. 在第 3 组实验中,微生物单独与硝酸盐培养液反应,结果显示在没有外加电子供体的情况下,微生物利用其自身所携带的营养物质进行内源反硝化的活性很有限[图 5 (a)]. 这种条件下大约只能去除溶液中 NO₃⁻-N 的 5%,且被去除的 NO₃⁻-N 中的大多数转化为了 NO₂⁻-N. 第 4 组实验中,微生物与投加了 5g/L 葡萄糖的硝酸盐培养液反应,微生物在这种条件下 3 d 就能将培养液中的 NO₃⁻-N 完全反硝化[图 5 (b)],表明本实验所用微生物可以利用葡萄糖作电子供体进行反硝化. 综合第 2 组和第 4 组实验的结果,证明本实验驯化筛选的微生物既可以自养反硝

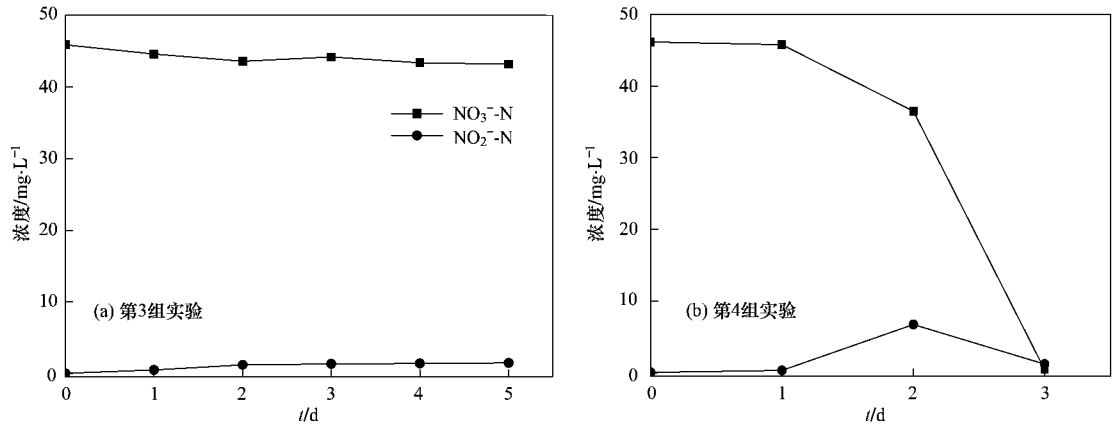


图 5 第 3、4 组实验硝酸盐及还原产物的浓度变化

Fig. 5 Concentration changes of nitrate and different reduced products of the 3rd group and the 4th group

化也可以异养反硝化,但是异养反硝化的速率比自养反硝化的速率快得多.

第 5 组实验使用在葡萄糖营养环境下生成的生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料进行反硝化. 吡啶橙染色荧光显微照片表明,在葡萄糖营养环境下形成的生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料是由生物量很大的微生物膜包住纳米 Fe⁰ 团构成的[图 4(b)].

生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料可以在 5 d 内将 NO₃⁻-N 完全反硝化(图 5),产物中有 28% 转化为氨氮,其余 72% 应以 N₂O、N₂ 等气态形式的反硝化产物离开溶液. 生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料的反硝化能力比分开投加微生物和纳米 Fe⁰ (第 2 组实验)体系的反硝化能力要强许多,后者需要 10 d 才能去除同等量的 NO₃⁻-N.

生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料的强反硝化能力主要来自于 2 个方面:首先,从吡啶橙染色荧光显微照片来看[图 4(b)],生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料的生物膜,比分别投加纳米 Fe⁰ 和微生物形成的生物膜[图 4(a)]厚得多且生物量大得多. 由于微生物反硝化的速率同生物量呈正相关,因此丰富的生物量是该复合材料具有强反硝化能力的一个重要因素. 其次,虽然在加入硝酸盐培养液前已将原来瓶内的葡萄糖培养液抽出,并用脱氧去离子水冲洗了 3 遍,但生物膜本身会吸附少量葡萄糖. 虽然这部分葡萄糖量很少,但是从第 4 组实验的结果来看,葡萄糖对微生物的反硝化作用具有较强的促进作用,因此生物膜中的这部分葡萄糖对微生物的反硝化作用也会起到一定促进作用.

图 6 表明,氨氮的生成速率同亚硝酸盐的变化速率呈很好的正相关性. 在本实验中氨氮是由硝酸盐与纳米 Fe⁰ 的化学反应而非生物活动生成,而亚硝酸盐的积累与降解是微生物反硝化活性的重要表征. 这一产物变化趋势表明,生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料中纳米 Fe⁰ 的化学腐蚀同生物膜中微生物的活性密切相关,这与第 2 组实验中观察到的情形一致,进一步证明了生物膜在纳米 Fe⁰ 腐蚀,及利用腐蚀产氢提供的电子供体进行反硝化过程中的主导作用.

另外,生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料用于去除地下水中 NO₃⁻-N 的潜在负面影响是可能会引起地下水中铁离子浓度的升高. 但是铁元素是地壳中含量很丰富的一种元素,地下水中普遍溶解了一定量的铁元素,用于污染修复所投加的纳米铁量相比较与地下水中铁元素的本底值是很少的. 另外,不论二价铁还

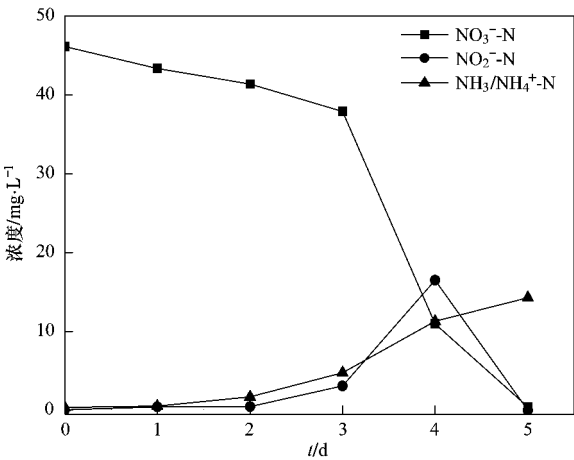


图 6 第 5 组实验硝酸盐及不同还原产物的浓度变化
Fig. 6 Concentration changes of nitrate and different reduced products of the 5th group

是三价铁的化合物都仅在酸性条件下有一定溶解度,在中性或碱性条件下溶解度都很小^[28]. 而采用生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料去除地下水中 NO₃⁻-N 的过程中,地下水环境的 pH 值会随着铁水腐蚀及生物反硝化的进行逐渐升高,形成碱性环境,使得投加生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料的地下水中铁元素的溶解度降低. 此外,由于铁对人和动物的毒性较小,各国的环境标准中对生活饮用水铁元素的含量要求较宽. 例如《中华人民共和国地下水水质标准》中规定生活饮用水中铁元素的允许含量为 <0.3 mg/L,且铁元素含量 <1.5 mg/L 时可在适当处理后作为饮用水. 因此笔者认为采用生物膜-纳米铁材料去除地下水中 NO₃⁻-N 会引起地下水中铁离子浓度的一定提升,但是除非是非常大剂量的投加,否则不会使地下水中的铁元素含量超过生活饮用水水质标准中所规定的含量.

3 结论

(1) 在高碱性 (pH > 9)、纯化学体系下,纳米 Fe⁰ 与溶液中硝酸盐的反应活性很低,而微生物的引入可以加快纳米 Fe⁰ 的腐蚀并利用腐蚀产氢提供的电子供体进行反硝化作用. 该环境下纳米 Fe⁰ 的腐蚀速率同微生物活性密切相关,结合吡啶橙染色荧光显微图片所反映的信息,表明生物膜在纳米 Fe⁰ 腐蚀过程中具有主导地位.

(2) 对比分开投加微生物和纳米 Fe⁰ 体系中形成的生物膜的荧光显微照片,葡萄糖营养环境下形成的生物膜-纳米 Fe⁰ 复合材料的生物膜具有大得

多的生物量. 另外, 分开投加微生物和纳米 Fe^0 的体系需要 10 d 才能将体系中的 NO_3^- -N 完全去除, 产物中气态 N 约占 63%, 而葡萄糖营养环境下形成的生物膜-纳米 Fe^0 复合材料可以在 5 d 内就将同等量的 NO_3^- -N 完全去除, 且产物中气态 N 达 72%, 即有更多的反硝化产物可以气态形式离开地下水体.

(3) 生物膜-纳米 Fe^0 复合材料具有高反硝化速率, 并且反硝化产物更加环境友好. 另外, 生物膜-纳米 Fe^0 复合材料含有丰富的微生物量, 并且这些微生物为驯化筛选出的具有较强反硝化能力的微生物, 这种特性使其更适合地下水中本底微生物量稀少, 能利用纳米 Fe^0 腐蚀产氢作为电子供体进行反硝化的微生物量更少的特点, 因此具有实际应用前景.

参考文献:

- [1] Widory D, Kloppmann W, Chery L, *et al.* Nitrate in groundwater: an isotopic multi-tracer approach [J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2004, **72**(1-4): 165-188.
- [2] Mina S, Christine L M, Benaissa A, *et al.* Drinking water nitrate and prevalence of methemoglobinemia among infants and children aged 1-7 years in Moroccan areas [J]. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 2008, **211**(5-6): 546-554.
- [3] Knapp M F. Diffuse pollution threats to groundwater: a UK water company perspective [J]. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology*, 2005, **38**(1): 39-51.
- [4] Department for Environment, Food and Rural Affairs (Defra), Post-conciliation Partial Regulatory Impact Assessment. Groundwater Proposals under Article 17 of the Water Framework Directive. Draft final report [R]. London: Defra, 2006.
- [5] Vasiladou I A, Pavlou S, Vayenas D V. A kinetic study of hydrogenotrophic denitrification [J]. *Process Biochemistry*, 2006, **41**(6): 1401-1408.
- [6] Shin K H, Cha D K. Microbial reduction of nitrate in the presence of nanoscale zero-valent iron [J]. *Chemosphere*, 2008, **72**(2): 257-262.
- [7] Till B A, Weathers L J, Alvarez P J. $\text{Fe}(0)$ -supported autotrophic denitrification [J]. *Environmental Science and Technology*, 1998, **32**(5): 634-639.
- [8] Westerhoof P, James J. Nitrate removal in zero-valent iron packed columns [J]. *Water Research*, 2003, **37**(8): 1818-1830.
- [9] Shin K H, Cha D K. Microbial reduction of nitrate in the presence of nanoscale zero-valent iron [J]. *Chemosphere*, 2008, **72**(2): 257-262.
- [10] Fletcher M. *Bacterial Adhesion* [M]. New York: Wiley-Liss, 1960. 26-51.
- [11] Dexter S C. Marine and Natural Waters: Corrosion [A]. In: *Encyclopedia of Materials: Science and Technology* [M]. 2008, 5172-5174.
- [12] Lappin-Scott H M, Costerton J W. *Microbial Biofilms* [M]. London: Cambridge University Press, 2003. 171-182.
- [13] Whiteley M, Brown E, McLean R J. An inexpensive chemostat apparatus for the study of microbial biofilms [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, **30**(2): 125-132.
- [14] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002. 258-280.
- [15] Wang L, Wolkowicz G S K. A delayed chemostat model with general nonmonotone response functions and differential removal rates [J]. *Journal of Mathematical Analysis and Applications*, 2006, **321**(1): 452-468.
- [16] Rapaport A, Dochain D, Harmand J. Long run coexistence in the chemostat with multiple species [J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2009, **257**(2): 252-259.
- [17] Wang W, Jin Z H, Li T L, *et al.* Preparation of spherical iron nanoclusters in ethanol-groundwater solution for nitrate removal [J]. *Chemosphere*, 2006, **65**(8): 1396-1404.
- [18] Alowitz M J, Scherer M M. Kinetics of nitrate, nitrite and Cr (VI) reduction by iron metal [J]. *Environmental Science and Technology*, 2002, **36**(3): 299-306.
- [19] Kielemoes J, Boever P D, Verstraete W. Influence of denitrification on the corrosion of iron and stainless steel powder [J]. *Environmental Science and Technology*, 2000, **34**(4): 663-671.
- [20] Sarathy V, Tratnyek P G, Nurmi J T, *et al.* Aging of iron nanoparticles in aqueous solution: effects on structure and reactivity [J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2008, **112**(7): 2286-2293.
- [21] Sohn K, Kang S W, Ahn S, *et al.* $\text{Fe}(0)$ nanoparticles for nitrate reduction: Stability, reactivity, and transformation [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, **40**(17): 5514-5519.
- [22] Choe S, Chang Y Y, Hwang K Y, *et al.* Kinetics of reductive denitrification by nanoscale zero-valent iron [J]. *Chemosphere*, 2000, **41**(8): 1307-1311.
- [23] Shin K H, Daniel K C. Microbial reduction of nitrate in the presence of nanoscale zero-valent iron [J]. *Chemosphere*, 2008, **72**(2): 257-262.
- [24] Cheng I F, Muftikian R, Fernando Q, *et al.* Reduction of nitrate to ammonia by zero-valent iron [J]. *Chemosphere*, 1997, **35**(11): 2689-2695.
- [25] 郑平, 徐向阳, 胡宝兰. 新型生物脱氮理论与技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2004. 60-65.
- [26] Beech I B, Sunner J. Biocorrosion: towards understanding interactions between biofilms and metals [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2004, **15**(3): 181-186.
- [27] Haveman S A, Pedersen K. Distribution of culturable microorganisms in Fennoscandian Shield groundwater [J]. *FEMS Microbiol Ecology*, 2002, **39**(2): 129-137.
- [28] Cundy A B, Hopkinson L, Whitby R L. Use of iron-based technologies in contaminated land and groundwater remediation: A review [J]. *Science of the Total Environment*, 2008, **400**(1-3): 42-51.