

包气带土体反硝化作用对NO₃⁻转化的试验研究

张 胜, 张翠云, 肖 宇

(中国地质科学院水文地质环境地质研究所, 河北 正定 050803)

摘 要: 就河北平原山前地区包气带土体中的氮素循环转化及污染地下水的过程、包气带土体中反硝化细菌对硝酸盐转化的作用强度进行了试验研究。结果表明, 生物反硝化作用是土壤包气带氮素转化的主要作用之一。该区包气带土体中由于有机物较少并随深度增加而减少, 因此对NO₃⁻细菌的反硝化作用强度也随深度加大而减弱, 从而造成包气带土体中硝酸盐积累, 进而污染地下水。如对包气带的有机碳源加以调控, 可阻止地下水的污染。

关键词: 包气带土体; 反硝化作用; 硝酸盐转化

中图分类号: X131 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 – 0267 (2002) 03 – 0254 – 03

Effect of Denitrification on Transformation in the Unsaturated Zone of Soil

ZHANG Sheng, ZHANG Cui-yun, XIAO Yu

(Institute of Hydrogeology and Environment Geology, CAGS, Zhengding 050803, Hebei, P. R. China)

Abstract: The soil of unsaturated zone acts as a natural protector to groundwater’ quality, the denitrification is one of the most important roles on denitrifying bacteria transform nitrogen in unsaturated zone of soil. With the developing of agriculture, the usage of fertilizer is growing steadily, the contamination of nitrate in groundwater and wandering water becomes heavy and heavy. To learn the degree of the denitrifying bacteria in unsaturated zone of soil and it’ s significance to the protection of groundwater’ quality, we carried out some experiments and research about the cycle of nitrogen in unsaturated zone of soil and it’ s contaminate process to groundwater, and the degree of the effect of denitrifying bacteria to nitrate transformation in piedmont plain of Hebei.

Keywords: unsaturated zone soil; denitrification; nitrate transformation

土壤包气带是地下水保护的天然屏障, 反硝化作用是包气带土体中反硝化细菌对氮素转化的重要环节之一。由于农业生产的发展, 化肥的施用量不断增加, 包气带、地下水中硝酸盐污染日益严重。生物反硝化作用是土壤中对氮素转化的主要作用之一。我国氮污染的研究始于上世纪 70 年代末, 近年来在农业土壤方面对氮肥转化进行了广泛的研究^[1-10], 但对整个包气带土体反硝化细菌对硝酸盐转化作用的研究尚未见报道。我们就河北平原山前地区包气带土体中的氮素循环转化及污染地下水的过程, 包气带土体中反硝化细菌对硝酸盐转化的作用强度进行了试验研究, 目的在于了解包气带土体生物反硝化作用规律及对地下水保护的意义等。

收稿日期: 2001 – 07 – 26
基金项目: 国土资源部基础研究项目 (9501110 – 02); 环境地质开放实验室资助课题 (K98014)
作者简介: 张 胜 (1956—), 男, 副研究员, 从事微生物水文地球化学研究工作。

1 试验研究

包气带土体的反硝化作用是在厌氧的硝酸盐还原细菌的作用下, 将硝酸盐和亚硝酸盐还原为 NO、N₂O、N₂ 的整个过程, 是包气带土体对硝酸盐污染的自净功能的生态效应, 对地下水环境保护具有一定的实际意义。

1. 1 试验材料和方法

试验用化学试剂 KNO₃、Na₂SO₄ 等均为分析纯。主要仪器设备为 QZD – 1 型电磁振荡器、电热生物恒温箱、高速离心机、微生物实验室、无菌室等。NO₃⁻ 用紫外分光光度法进行测试。土样为中国地质科学院水文地质环境地质研究所正定水土环境研究实验场包气带土体: 1 号土体为 0. 5—1. 10 m 深的亚砂土; 2 号土体为 3. 40—3. 50 m 深的亚砂土; 3 号土体为 9. 5—9. 70 m 深的亚砂土。各土体的 pH 依次为 8. 1、8. 29、8. 19, 有机碳依次为 0. 67%、0. 21%、0. 19%, 硝酸盐依次为 13. 5、93. 6、84. 35 mg · kg⁻¹, 亚硝酸盐依次为

13.5、2.0、3.8 mg · kg⁻¹。风干用 2 mm 筛过筛备用。试验装置为分装试管,试管为直径(内)1.5 cm,长 15 cm,橡胶塞。

1.2 试验步骤

- (1) 按四分法各取风干筛选的土样 15 g,分别置于试管中,每个样 30 份。
- (2)在装有土样的试管中加入含量约为 500 mg · L⁻¹ 的 KNO₃ 溶液 3.0 mL,而后用当地地下水加至近满试管,用橡胶塞堵塞管口,以保持厌氧条件。
- (3) 其中 10 支试管为无菌对照,按无菌要求灭菌。将试管均置于 25 ℃ 恒温箱培养。据试验设计按取样时间取样,每次取出 1 支试管,将含菌的试管在无菌室内取出 1 g 土样进行反硝化细菌菌数和细菌总数培养测试。对无菌对照样为隔次取样进行NO₃⁻ 分析,将试管内经培养的土样用 50 mL1mol · L⁻¹Na₂SO₄ 溶液洗入 150 mL 具塞三角瓶中,振荡 30 min 后,离心取上清液测NO₃⁻。
- (4) 另取一支试管按上述方法同时测NO₃⁻ 为初始浓度。

2 结果分析

试验结果见表 1、表 2,该试验为了真实地反映土壤反硝化作用强度,在所试土样中均未加任何其它营养成分。并且在实验取样方面选择了试管分装,取样不影响整个实验过程。细菌的反硝化作用是异化还原作用,需要碳源作为细菌的能量,其最低的 C: N 比为 7: 1,在没有增加其它碳源营养物质时,其转化不彻底,将在一定阶段减弱或停止。表 1 可定量反映出此次试验土样的反硝化作用强度,硝酸盐的转化消失量,1 号土样第 5 d 转化硝酸盐为初始浓度的 23.43%,第 9 d 为 33.48%,第 30 d 以后为 50% 左右,以后变化不大;2 号土样第 5 d 为 15.75%,一直到第 23 d 时基本稳定没变,第 30 d 为 22.08%,第 36 天为 31.53%,以后变化不大;3 号土样第 5 d 为 11.93%,第 23 d 时基本稳定没变,第 30 d 为 19.10%,一直到第 42 d 时也基本稳定没变。也就是在土体反硝化细菌作用下,土样所含营养碳源不增加的情况下,1 号土样在加入NO₃⁻ 初始含量为 420.25 mg · L⁻¹ 的浓度时经一定作用时间NO₃⁻ 有 50% 以上可以转化消失;2 号土样在加入NO₃⁻ 初始含量为 515.82 mg · L⁻¹ 的浓度时经一定作用时间NO₃⁻ 也有 30% 可以转化消失;3 号土样在加入NO₃⁻ 初始含量为 496.84 mg · L⁻¹ 的浓度时经一定作用时间NO₃⁻ 只有

19% 可以转化消失。从这一结果可以得出,包气带土体中细菌的反硝化作用强度随深度的加大而减弱,且在同等培养条件下作用速度也随之减慢,主要原因我们分析是由于土体中有机碳的含量减少而抑制了细菌的反硝化作用强度。另从每组样品的无菌对照看则反应很小,NO₃⁻ 含量变化不大,也证明了生物反硝化作用是土壤包气带土体中对氮素转化的主要作用之一。

表 1 包气带土样反硝化作用试验硝酸盐测试结果 (mg · L⁻¹)
Table 1 Nitrate testing consequence on denitrification experiment in unsaturated zone of soil (mg · L⁻¹)

取样时间 /d	1 号土体NO ₃ ⁻		2 号土体NO ₃ ⁻		3 号土体NO ₃ ⁻	
	含菌	无菌对照	含菌	无菌对照	含菌	无菌对照
0	420.25		515.82		496.84	
1	365.30	433.23	449.22	495.50	475.19	482.52
2	349.32		437.56		470.86	
3	339.33	452.21	428.90	483.85	453.55	482.52
4	343.66		431.90		438.89	
5	321.81	465.20	434.57	480.85	437.56	478.19
7	257.74		427.91		445.22	
9	279.55	458.54	439.56	499.17	440.89	510.82
11	307.19		442.56		429.57	
13	275.39	440.89	430.90	478.85	424.91	491.84
15	294.01		427.91		424.91	
18	297.16		430.57		443.56	
23	235.43		431.90		443.56	
30	199.56		401.93		401.93	
36	203.85		353.20		404.93	
42	202.43		368.96		404.93	

从表 2 可看出,细菌总数和反硝化细菌菌数该两种菌群的变化不十分明显,略有变化,规律性不强。但总的变化趋势尚能显现,随着培养时间的延长,该两种菌群的数量也有所下降,反映了实验体系中营养物质的消耗抑制了细菌的生长。因其培养条件的不同,细菌菌数是从培养基上得出的,单从细菌菌数上是很难反映出其作用强度的,也不能体现反硝化细菌对NO₃⁻ 的转化率。因此从方法上我们选择了生化作用下物质的转化,来确定生化作用强度。

3 结论

土壤、包气带是氮素循环转化的重要场地,也是氮素污染地下水的主要途径。对硝酸盐污染地下水进行预测和定量评价,则必须查清土壤、包气带对氮素的吸附作用和硝化作用、反硝化作用强度等一系列参数。本次试验选择在包气带不同深度上进行。从整个试验结果上可得出如下主要结论:反硝化作用是土壤

表 2 包气带土样反硝化作用试验菌数测试结果

Table 2 The effects of the microbe bacteria's quantity on denitrification experiment in unsaturated zone soil

取样时间/d	1号土体		2号土体		3号土体	
	细菌总数	反硝化菌	细菌总数	反硝化菌	细菌总数	反硝化菌
	/个·g ⁻¹	/个·g ⁻¹	/个·g ⁻¹	/个·g ⁻¹	/个·g ⁻¹	/个·g ⁻¹
0	4.1×10 ⁶	9.5×10 ³	4.5×10 ⁴	1.1×10 ⁴	4.6×10 ³	1.1×10 ³
1	7.7×10 ⁴	1.4×10 ⁵	1.6×10 ⁴	1.4×10 ⁵	1.24×10 ²	2.0×10 ²
2	1.6×10 ⁵	1.4×10 ⁵	3.45×10 ⁵	1.4×10 ⁵	3.0×10 ⁵	1.4×10 ⁴
3	9.8×10 ⁵	1.4×10 ⁶	9.0×10 ⁵	1.1×10 ⁶	2.25×10 ⁵	1.5×10 ³
4	4.8×10 ⁵	1.1×10 ⁴	6.6×10 ⁵	1.4×10 ⁵	2.4×10 ⁵	1.4×10 ⁵
5	2.6×10 ⁵	1.4×10 ⁶	2.85×10 ⁵	1.1×10 ⁵	2.7×10 ⁶	1.4×10 ⁶
7	6.4×10 ⁴	1.1×10 ⁵	3.4×10 ⁴	4.5×10 ⁴	2.25×10 ⁵	1.4×10 ⁶
9	4.1×10 ⁴	1.4×10 ⁶	6.0×10 ³	1.1×10 ⁵	4.0×10 ³	1.1×10 ⁵
11	4.0×10 ⁴	1.4×10 ⁶	1.1×10 ⁴	4.1×10 ⁵	3.8×10 ⁴	1.1×10 ⁵
13						
15	2.7×10 ⁴	1.4×10 ⁶	2.7×10 ⁴	1.5×10 ⁴	2.2×10 ⁴	1.1×10 ⁵
18						
23						
30						
36	1.1×10 ⁴	1.4×10 ⁶	3.4×10 ⁴	9.5×10 ³	6.2×10 ³	4.5×10 ⁵
42	1.3×10 ⁴	1.1×10 ⁵	4.4×10 ⁴	4.5×10 ³	2.0×10 ²	9.0×10 ²

氮素损失的一个重要因素，也是氮循环的重要环节，但是对地下水的保护能起一定的屏障作用。试验结果首先验证了生物反硝化作用是土壤包气带氮素转化的主要作用之一。但由于研究区包气带中有机物较少并随深度的加大含量进一步减少，使细菌反硝化作用受到了限制，不能进行得彻底。该区包气带土体中对NO₃⁻细菌的反硝化作用强度随深度的加大而减弱，在相同培养条件下作用速度也随之减慢。这就造成了包气带土体中硝酸盐的积累，进而造成对地下水的污染。如能对包气带的有机碳源加以调控，则可对地下水的NO₃⁻污染起到阻控作用，对农业的可持续发展具有一定的实际意义。

参考文献：

[1] 倪吾钟,等. 不同氧化还原电位条件下稻田土壤中¹⁵N标记硝态氮的反硝化作用[J]. 中国环境科学,2000,**20**(6):519-523.
[2] 李新慧,朱兆良,等. 硝化-反硝化损失中水稻根际效应的研究

[J]. 土壤学报,1995,(增刊):36-40.
[3] 朱建国. 硝态氮污染危害与研究展望[J]. 土壤学报,1995,(增刊):63-69.
[4] 封克,殷士学. 含氮有机物在不同类型土壤中的转化[J]. 土壤学报,1993,**30**(3):333-335.
[5] 张蔚榛,张瑜芳,等. 排水条件下化肥流失的研究——现状与展望[J]. 水科学进展,1997,**8**(2):197-203.
[6] 袁峰明,等. 北京地区潮土层中NO₃⁻-N的转化积累及其淋洗损失[J]. 土壤学报,1995,**32**(4):388-398.
[7] 蔡贵信,朱兆良. 稻田中化肥氮的气态损失[J]. 土壤学报,1995,(增刊):128-135.
[8] 李新慧,朱兆良,等. 不同氧化还原条件下淹水土壤中氮的硝化和反硝化损失[J]. 土壤学报,1995,(增刊):1-5.
[9] 郑平,胡宝兰. 生物脱氮技术的研究进展[J]. 环境污染与防治,1997,**19**(4):25-28.
[10] 田森林,等. 环境中氮化物迁移转化过程研究进展[J]. 环境科学动态,1999,1:25-27.

致谢:课题研究是在任福弘研究员、孙继朝研究员主持下完成的,作者表示诚挚的感谢!