

土壤包气带土体无机氮的吸附与微生物作用影响试验方法

张 胜 张翠云 叶思源

(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 文章通过河北平原山前地区包气带土体的氮素循环及硝酸盐污染地下水的过程,对包气带土体与微生物细菌对三氮的运移转化作用进行了实验研究,介绍了用于溶质运移的预测与准确估算进入地下水的氮素含量求其参数的实验方法及特点。

关键词 三氮 包气带 吸附作用 硝化作用 反硝化作用

The Experimental Methodological Research on the Adsorption of Inorganic Nitrogen and the Effect of Microbe Action in the Soil of Unsaturated Zone

ZHANG Sheng ZHANG Cuiyun YE Siyuan

(Institute of Hydrogeology and Environmental Geology, CAGS, Zhengding, Hebei 050803)

Abstract This paper has studied the effect of microbe action on the transfer among three forms of nitrogen, namely nitrate, nitrite and ammonia, with the aim of detecting the circumstances of the cycle of nitrogen and the groundwater contamination by nitrate in the piedmont plain of Hebei. The research can obtain the parameters which are used to assess precisely the transference process of solute and estimate the amount of nitrogen entering groundwater. Its methodology is described here.

Key words three forms of nitrogen unsaturated zone adsorption nitrification anti-nitrification

人口、资源、环境已成为当前制约社会经济发展的三大难题。随着人口的增长,农业生产的发展,化肥的施用量不断增加,使环境问题更为突出。尤其是氮素化肥的超量使用对包气带及地下水的污染已愈来愈严重,中国北方许多地区地下水中 NO_3^- 含量也越来越高,一些地区已超过饮用水水质标准,直接危害人类的健康。因此对氮素的污染已引起人们的广泛关注。中国对氮污染的研究始于 20 世纪 70~80 年代初,从 80 年代以来中外相关文献资料来看,基本上都是对表层土壤进行研究,而实验方法和实验内容也都比较单一,没有考虑包气带土体中三氮同时存在条件下的运移转化,以及转化过程存在微生物细菌作用的复杂性,尤其是在土体对三氮的吸附性实验研究上,一般仅对一种氮素铵进行吸

附实验。此次工作就河北平原上游山前地区的氮素循环及污染地下水的过程,对整个包气带土体与微生物细菌对三氮运移转化的作用进行了实验研究,用于溶质运移的预测与准确估算进入地下水中的三氮含量求其参数。

包气带土体中三氮的转化与运移是一个复杂的过程,它包括了土体的物理化学作用和生物化学作用,以及各种地质环境条件的影响,这些作用与影响条件又是多种多样的相互关联和相互作用着。土体的吸附作用不仅对溶质的运移起到了阻截,也为某些微生物在该土体中的生长繁衍提供了物质能量,并将其转化运移。三氮在包气带土体中转化与运移的过程存在着 3 个重要环节,即:包气带土体对三氮的吸附作用、包气带土体的硝化作用和包气带土体

的反硝化作用。因此以三氮在包气带土体中运移转化的 3 个重点问题进行实验研究,现仅将此次实验的方法与特点分别介绍给大家共同探讨。

1 包气带土体对三氮的吸附能力实验

吸附作用是包气带土体中固、液相的物理化学作用的一种现象,对溶质的运移产生着重要影响。大量的实验和理论证明,土壤、包气带对溶质的吸附和解吸是一个极其复杂的过程,它不仅与溶质的浓度有关,还受溶质的电荷性质、土壤颗粒的电荷性质及土壤、包气带土体中微生物作用的影响。由于土壤中存在大量带有电荷的无机和有机胶体,能对溶液中的离子产生吸附作用,同时,由于范德华力、氢键、离子键、质子化等作用,土壤固相又可吸附一些分子态物质。土壤的吸附量除了与固、液相中离子浓度有关外,还与土壤颗粒性质、流体速度、离子种类以及水动力弥散等有关。吸附过程复杂,因此精确描述土壤吸附过程几乎是不可能的。(张瑜芳等,1997;汪民等,1993;王红旗等,1998),从资料上看大部分的吸附实验均未考虑微生物细菌的作用,或只是考虑了硝化作用,施加了少量的硝化抑制剂(张瑜芳等,1997)。且一般的吸附实验都是加入一种氮素($\text{NH}_4^+\text{-N}$),未对 NO_3^- 、 NO_2^- 进行实验。因此,此次进行的吸附实验是在避免微生物的影响,在三氮混合作用和单独作用下的吸附实验,用以求得包气带土体对三氮较为真实的吸附量。

1.1 实验材料和测试方法:

实验化学试剂: Na_2NO_2 , KNO_3 , NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 等均为分析纯。

主要仪器设备:QZD-1 型电磁振荡器、电热生物恒温箱、高速离心机等。

测试方法: NH_4^+ 用纳氏试剂比色法; NO_3^- 用紫外分光光度法; NO_2^- 用 α -萘胺比色法。实验所用土样为河北正定实验场包气带(0.5~1.10 m 深)的亚砂土,容重为 1.36 g/cm^3 ,风干,用 2 mm 筛过筛备用。

1.2 试验步骤

(1)用四分法称取试验用土样 20 g,置于容积 150 mL 具塞三角瓶中,根据需要称好样品若干瓶。将三角瓶口用纸包好,瓶塞另包,放于高压蒸气灭菌器内,在温度 121°C 条件下灭菌,时间为 60 min,拿出放至室温,在无菌室内塞好瓶塞。

(2)配液用当地地下水,先将水置于高压蒸气灭菌器内,在温度 121°C 下灭菌,时间为 30 min,拿出放至室温,将精确称好的 Na_2NO_2 , KNO_3 , NH_4Cl 等,根据所需浓度溶解后,用 $0.22 \mu\text{m}$ 的细菌过滤器过滤,加入不同的浓度配液中。

(3)将配制好的各种浓度的无菌溶液,加入无菌的三角瓶土样中,每瓶 60 mL。放于电动振荡器上振荡 1 h 后,按设计要求时间取出 1 瓶样品,每隔 3 h 振荡 30 min,并将其置于 25°C 恒温箱中保温。以上操作均在无菌室内完成,注意避免细菌污染。

(4)将到时取样的三角瓶取出,样品用离心机分离,时间为 10 min,取上层清液分析三氮,尽快分析测试。如不立即分析,则将分离液放于 4°C 以下保存。

1.3 试验类型

此次试验根据不同的目的选择了几种试验类型。

1.3.1 三氮的混合等温平衡时间吸附试验 试验目的为在 3 种无机氮素(NO_3^- 、 NO_2^- 、 NH_4^+)混合条件下,土壤对各种氮素的吸附作用,相互间的关系及等温平衡时间的确定。

1.3.2 三氮每一项的单独等温平衡时间吸附试验

试验的目的在于土壤对每一种氮素的吸附作用及等温平衡的时间确定,试验结果见表 1、表 2。

1.4 试验结果

该试验从方法上首先排除了微生物细菌对三氮的转化影响,是在相对较纯的物理和化学作用下的吸附作用。从试验结果看,可以反映出正定实验场上层包气带对三氮的吸附特点,在三氮中该土体反映出对 NH_4^+ 氮的明显吸附性和因浓度不同所反映出不同的吸附量。同时也反映出铵是阳离子性的,能被大量吸附到带负电荷的粘土矿物上。对于 NO_3^- 、 NO_2^- 的吸附性则不明显,尤其是对 NO_3^- ,因其溶解性大,土体中的 NO_3^- 有溶出的现象,使溶液中 NO_3^- 有不同程度的增高。从单项 NH_4^+ 吸附试验看,其平衡时间早于混合三氮的平衡时间,在吸附量上,单项的 NH_4^+ 的吸附量也大多高于混合吸附试验,其作用机理还有待于进一步研究。

2 包气带土体的硝化作用试验研究

由于大量的施入铵氮和土体中有机氮的矿化(氨化作用)产生的铵,被包气带土体的吸附作用所

表 1 三氮混合液土体和单独配液土体吸附平衡时间的确定试验结果(25 ℃)

Table 1 Experimental Results of absorption balace time for soil absorbing nitrogen in the mixing liquid and each nitrogen liquid of three nitrgens

$\times 10^{-6}$

混合液土体				各项单独配液土体			
$t_{\text{累加}}/\text{h}$	NO_3^-	NO_2^-	NH_4^+	$t_{\text{累加}}/\text{h}$	NO_3^-	NO_2^-	NH_4^+
0	323.2	300	85.0	0	286.9	300.0	80.0
2	323.9	280	60.0	2	288.2	280.0	35.0
4	329.4	280	50.0	4	299.9	280.0	33.5
9	325.6	280	48.0	9	296.2	280.0	32.0
11	329.8	280	46.0	11	289.1	280.0	32.0
15	337.1	280	45.0	15	289.5	280.0	32.0
22	334.7	280	45.0	22	293.5	280.0	32.0
26	336.0	280	45.0	26	288.6	280.0	31.0
30	331.6	280	43.0	30	291.9	260.0	31.0
34	363.5	280	43.0	34	321.7	260.0	31.0
38	332.7	260	43.0	38	292.6	260.0	31.0
50	328.3	260	43.0	50	285.5	280.0	31.0

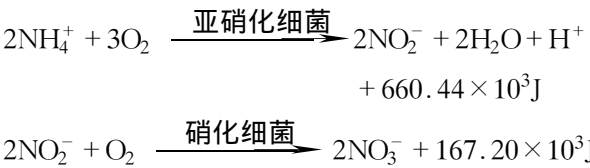
表 2 不同浓度三氮混合液土体和单独配液土体吸附前和吸附 41 h 后的液体变化测试结果 (25℃)

Table 2 Analyzed Results of the liquid variation before absorption and after 41 absorption in the mixing liquid of three nitrgens of different concentrtrions

$\times 10^{-6}$

土体	NO_3^-		NO_2^-		NH_4^+	
	原液	41h 后	原液	41h 后	原液	41h 后
混合液土体	16.87	25.85	0.03	0.64	<0.04	1.20
	80.46	109.8	15.0	19.5	27.5	12.5
	167.6	258.9	36.0	41.0	80.0	34.0
	337.3	346.3	37.0	37.0	100.0	55.0
	389.5	398.5	41.0	42.0	150.0	97.0
	621.3	626.4	60.0	68.0	156.0	100.0
	714.0	716.6	74.0	74.0	170.0	136.0
	794.3	800.8	100.0	100.0	214.0	158.0
	1260.0	1331.0	140.0	143.0	360.0	250.0
	1498	1493	170.0	172.0	450.0	390.0
单独配液土体	1637	1639	180.0	180.0	550.0	475.0
	21.23	28.37	0.004	0.016	0.2	0.2
	91.86	97.25	41.0	41.0	26.33	8.6
	163.5	206.0	44.0	46.0	75.0	26.67
	327.7	344.8	58.8	58.8	94.0	45.0
	392.2	390.5	62.0	64.0	156.0	50.0
	569.9	570.4	66.0	66.8	172.0	97.0
	699.9	702.9	72.0	73.2	208.0	134.0
	773.4	972.1	140.0	142.0	253.3	120.0
	1184	1028	200.0	200.0	380.0	260.0
万方数据	1545	1554	260.0	250.0	550.0	365.0
	1626	1741	260.0	250.0	700.0	570.0

吸附 ,包气带土体中的铵态氮不断积累 ,使包气带土体中的硝化细菌大量繁殖形成较强的硝化作用。包气带土体中的铵在微生物细菌的作用下 ,转化成硝态氮的过程称之为硝化过程。能引起硝化反应的细菌主要是亚硝酸菌和硝酸细菌类 ,统称为硝化细菌 ,它们是无机营养型菌类。硝化过程为 $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$,但后一步反应速度比前一步反应快得多。作用机理主要是硝化细菌的生化作用为一生物催化剂 ,能氧化铵为硝酸盐。反应式如下 :



硝化作用是自然界氮循环微生物作用中的重要作用之一 ,与氮素的有效利用关系密切。另一方面硝化作用引起的环境污染问题 ,已受到人们的重视 ,因此研究硝化作用具有重要的意义。

2.1 实验材料和测试方法

实验用化学试剂、土样、三氮测试方法同前述。试验试管(直径(内)1.5 cm ,长 15 cm)、棉塞、电热生物恒温箱、高速离心机等。

2.2 试验步骤

(1)用四分法称取风干筛选土样 15 g ,30 份 ,分别置于试管中 ,棉塞塞口。

(2)取 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液 ,用蒸馏水配成质量浓度为 $500 \times 10^{-6} \text{NH}_4\text{-N}$ 溶液 ,取 3 mL 分别加入各试管内 ,使含水量达到 20 % 左右。

(3)取上述 10 支试管进行高压蒸汽灭菌,作为无菌对照,即为化学作用的转化试验。

(4)另取一支试管样作为试验初始含量,测试 $\text{NH}_4\text{-N}$ 等三氮含量和细菌数。

(5)将上述所有试管样品均放入 25℃ 恒温箱中培养,并保持恒温箱中的湿度,减少试管中水份蒸发。

(6)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 土样进行硝化细菌菌数和细菌总数测试。将无菌对照样为隔次取样进行分析,将试管内经培养的土样用 50 mL,浓度为 1 mol Na_2SO_4 溶液洗入 150 mL 具塞三角瓶中,振荡 30 min 后,离心取清液测三氮。

2.3 硝化作用试验结果分析

试验结果见表 3,此次试验为了真实地反映土壤中细菌的硝化作用强度,未在所试土样中加入其他任何试剂和营养。从表 3 中可以看出整个硝化作用 $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$ 的转化过程,而无菌对照则

NH_4^+ 变化不大,没有转化。因土样的风干,使试验过程中开始有 3~7 d 的硝化作用缓滞阶段,从第 9~15 d 硝化作用开始增强,转化 NH_4^+ 的含量从初始浓度转化至 18.97%~96.6%,变为一强作用阶段,但从细菌培养上看细菌菌数的变化不是很大,因细菌的培养条件不同,其培养基是最佳生长条件。不同于硝化作用试验的条件,效果是一样的。

3 包气带土体反硝化作用的试验研究

在吸附作用、硝化作用的作用下,包气带土体中产生了大量的硝酸盐,特别是在硝化细菌的作用下,不仅使包气带土体中产生大量的硝酸盐,而且在细菌的硝化作用下消耗了土体中的氧气,形成包气带土体中局部的厌氧环境。给包气带土体中反硝化细菌的生长繁衍创造了条件,反硝化细菌是一种在厌氧并含有机碳的环境中活动的细菌。反硝化作用是在反硝化细菌的作用下,还原土壤中硝酸和亚硝酸后,释放出 NO 、 N_2O 、 N_2 的整个过程。其反应式如

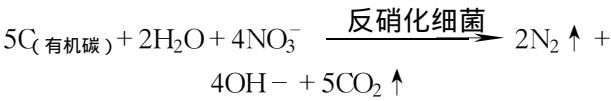
表 3 包气带土样硝化作用试验三氮与菌数测试结果

Table 3 Analyzed results of three nitrogen contents and bacterium number in nitrification experiment for the soil of vadose

$t_{\text{累加}}/\text{d}$	NH_4^+		NH_3^-		NH_2^-		细菌总数 /个· g^{-1}	硝化菌数 /个· g^{-1}
	含菌	对照	含菌	对照	含菌	对照		
0	193.14	—	36.43	—	4.66	—	3.1×10^5	4.6×10^6
1	186.48	189.81	19.78	35.0	5.66	2.00	3.2×10^4	3.8×10^6
2	183.15	—	27.04	—	5.73	—	4.9×10^4	9.0×10^5
3	176.49	189.81	28.47	24.88	5.66	1.96	7.0×10^3	5.3×10^7
4	169.83	—	32.10	—	5.66	—	1.0×10^5	7.3×10^6
5	166.50	189.81	30.64	28.47	5.16	1.93	8.1×10^4	4.7×10^6
7	163.17	—	33.60	—	8.66	—	4.3×10^4	2.8×10^6
9	156.51	189.81	48.88	25.61	227.34	1.60	5.4×10^4	2.6×10^6
11	133.20	—	53.25	—	306.36	—	2.4×10^4	2.8×10^6
13	66.60	189.81	117.95	29.24	319.68	1.07	—	—
15	6.66	—	144.16	—	333.00	—	3.4×10^3	1.6×10^6
18	6.66	—	155.06	—	455.20	—	—	—
23	2.55	—	296.40	—	482.85	—	—	—
30	2.00	—	314.35	—	325.25	—	—	—
36	2.55	—	380.30	—	199.80	—	1.1×10^4	8.1×10^5
42	1.67	—	231.83	—	46.62	—	1.3×10^4	7.3×10^5

注:表中含菌数据测试单位为 $\times 10^{-6}$ 。

下：



该作用也是氮素循环的重要一环 ,与土壤中氮素的有效利用有直接关系 ,对环境的污染问题具有一定的实际意义。

3.1 实验材料和测试方法

实验用化学试剂、土样、测试方法、试管同前述 ,试管塞改为橡胶塞封口。

3.2 试验步骤

(1)用四分法取风干筛选的土样 15 g ,分别置于试管中 ,共 30 份。

(2)在试管中加入质量浓度为 500×10^{-6} 的 KNO_3 溶液 3.0 mL ,而后用自来水加满试管 ,用橡胶塞塞口 ,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。

(4)另取一支试管按上述方法同时测三氮为初

始浓度。

(5)按设计要求的取样时间取样 ,分析三氮方法同上述 ,细菌分析为反硝化菌菌数和细菌总数。

3.3 反硝化作用试验结果分析

反硝化作用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他营养成分 (表 4) 。微生物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 ,到一定阶段就减弱了。从表 4 中可反映出此次试验土样的反硝化作用强度和硝酸盐的消失量 ,第 5 天为 23.43% ,第 9 天为 33.48% ,第 30 天以后为 50% 左右 ,以后变化不大 ,也就是在土壤反硝化细菌作用下 ,土样所含碳源不增加的情况下 ,加入 NO_3^- 质量浓度为 420.25×10^{-6} 的 NO_3^- 有 50% 以上可以转化消失。而无菌对照则无反应 ,三氮含量变化不大。反硝化细菌菌数的变化也不十分明显 ,略有变化 ,这是因其培养条件的不同所造成。

表 4 包气带土样反硝化作用试验三氮与菌数测试结果
Table 4 Analyzed results of three nitrogens and bacterium number in denification experiment for the soil of vadose

$t_{\text{取样}}/d$	NH_4^+		NH_5^-		NH_2^-		细菌总数 /个·g ⁻¹	硝化菌数 /个·g ⁻¹
	含菌	对照	含菌	对照	含菌	对照		
0	420.25	—	2.66	—	4.83	—	4.1×10^6	9.5×10^3
1	365.30	433.23	2.66	2.66	23.98	2.20	7.7×10^4	1.4×10^5
2	349.32	—	2.00	—	28.64	—	1.6×10^5	1.4×10^5
3	339.33	452.21	2.66	2.00	27.31	2.33	9.8×10^5	1.4×10^6
4	343.66	—	2.66	—	23.98	—	4.8×10^5	1.1×10^4
5	321.81	465.20	2.00	2.66	21.31	2.53	2.6×10^5	1.4×10^6
7	257.74	—	2.66	—	22.38	—	6.4×10^4	1.1×10^5
9	279.55	458.54	3.33	2.00	1.00	2.66	4.1×10^4	1.4×10^6
11	307.19	—	2.66	—	0.27	—	4.0×10^4	1.4×10^6
13	275.39	440.89	2.66	2.66	0.20	2.66	—	—
15	294.01	—	2.66	—	0.13	—	2.7×10^4	1.4×10^6
18	297.16	—	2.55	—	0.33	—	—	—
23	235.43	—	2.00	—	0.80	—	—	—
30	199.56	—	1.67	—	0.13	—	—	—
36	203.85	—	2.00	—	0.10	—	1.1×10^4	1.4×10^6
42	202.43	—	1.33	—	0.07	—	1.3×10^4	1.1×10^5

注 :表中含菌和对照测试单位为 $\times 10^{-6}$ 。

4 结 论

土壤、包气带土体是氮素循环转化的重要场地,也是氮素污染进入地下水的主要途径,对氮素污染地下水进行预测和定量评价,则必须查清土壤、包气带土体对三氮的吸附作用和硝化作用、反硝化作用强度等一系列参数,本次试验选择了包气带不同深度进行了上述试验研究,从整个试验过程和方法上得出如下结论:

(1)通过本次试验,较精确地计算了氮肥对地下水的影响,建立氮在包气带土体中运移转化的数学模型,提供了包气带土体对三氮的吸附作用和硝化作用、反硝化作用强度等一系列参数。例如土体对 NH_4^+-N 的吸附符合线性等温方程: $S = K_D C$, 其中 S 为土体颗粒对 NH_4^+-N 的吸附量($\mu\text{g/g}$), K_D 为土体颗粒对 NH_4^+-N 的吸附系数(无量纲), C 为土体溶液中 NH_4^+-N 的浓度(mg/L)。考虑包气带土体对 NH_4^+-N 的吸附过程伴随着微生物的转化作用,而且硝化、反硝化作用受多种因素的影响,具体属何种动力学形式,必须通过实验确定。

(2)本次试验从试验方法上不同于以往资料介绍的方法,对于吸附试验采用了高温蒸汽灭菌,很好地控制了微生物的作用,保证了其纯物理化学的吸附作用程度,反映了土体物理化学性对三氮的吸附作用。另在三氮混合同时存在条件下进行包气带土体的吸附试验,也是本次试验的另一特点,从吸附试验的结果看,土体只对 NH_4^+ 产生吸附作用,对 NO_3^- 和 NO_2^- 的吸附性很小,在此次试验的精度内尚未测出结果。

(3)硝化作用是土壤氮素淋失的一个重要因素,由于土壤、包气带的较强硝化作用,使 NH_4^+ 大量转化为 NO_3^- 而淋失。从试验结果看,在培养 15 d 时,则 NH_4^+ 态氮有 96% 转化为 NO_3^- 和 NO_2^- , 而 NO_3^- 和 NO_2^- 土体对其吸附性很小极易淋失进入地下水。

(4)反硝化作用是土壤氮素损失的另一个重要因素,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,从试验结果可看出,由于包气带中有机物较少使细菌反硝化作用受到了限制,但是在 30 d 时也能使 NO_3^- 转化消失 50% 以上。如能对包气带的有机碳源加以调控,则对地下水的 NO_3^- 污染起到阻控作用,对人类的可持续发展具有一定的实际意义。

(5)从试验结果看,此次试验土体细菌硝化作用强于反硝化作用,而灭菌对照氮素均较稳定,很少或没有转化,进一步说明了土体中微生物细菌是氮素转化的主要因素。此次试验为室内试验,与室外田间环境有一定的差别,只是把方法提供大家共同讨论。

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!

参 考 文 献

- 汪民,吴永锋,钟佐等.1993.污水快速渗滤土地处理.北京:地质出版社,1~138.
- 王红旗,鞠建华.1998.城市环境氮污染模拟与防治.北京:北京师范大学出版社,1~161.
- 张瑜芳,张蔚榛,沈荣开等.1997.排水农田中氮素转化运移和流失.武汉:中国地质大学出版社,1~184.

References

- Wang Min, Wu Yongfeng, Zhong Zuoxin et al. 1993. The land treatment of the rapid percolation for sewage. Beijing: Geological Publishing House(in Chinese).
- Wang Hongqi, Ju Jianhua. 1998. Simulation and prevention and cure of the nitrogen contamination at the urban environment. Beijing: Beijing Normal University Publishing House(in Chinese).
- Zhang Yufang, Zhang Weizhen, Shen Rongkai et al. 1997. Transformation, transportation and loss of nitrogen at the drainage farmland. Wuhan: Publishing House of China Geoscience University(in Chinese with English abstract).