

冯欢,梁禹翔,杜耀,等. 2014. 填埋场中铁的生物化学循环对反硝化的影响[J]. 环境科学学报,34(2):409-416

Feng H, Liang Y X, Du Y, et al. 2014. Effect of microbial redox cycling of iron on denitrification in landfill[J]. Acta Scientiae Circumstantiae,34(2): 409-416

## 填埋场中铁的生物化学循环对反硝化的影响

冯欢<sup>1</sup>,梁禹翔<sup>1</sup>,杜耀<sup>1</sup>,劳慧敏<sup>2</sup>,方程冉<sup>3</sup>,沈东升<sup>1</sup>,龙於洋<sup>1,\*</sup>

1. 浙江省固体废物处理与资源化重点实验室,浙江工商大学环境科学与工程学院,杭州 310012

2. 浙江省固体废物监督管理中心,杭州 310012

3. 浙江科技学院建筑工程学院,杭州 310023

收稿日期:2013-06-12

修回日期:2013-07-13

录用日期:2013-07-13

**摘要:**在模拟填埋体系中,以填埋场稳定的垃圾为接种物,通过控制有机物和硝氮负荷,研究了铁的生物化学循环对反硝化的影响. 结果表明,垃圾填埋场内蕴藏着能实现铁的厌氧氧化还原并同步还原硝氮的复合功能菌群. 通过改变有机物和硝氮的负荷,可使得填埋场内持续进行着铁的氧化还原循环和同步氮素转化. 从氮素转化产物来看,铁的循环体系中氨氮浓度比传统的反硝化体系低  $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ . 填埋场内铁的生物化学循环过程对于原位脱氮具有极大贡献.

**关键词:**铁;硝态氮;氧化还原;反硝化;填埋场

文章编号:0253-2468(2014)02-409-08

中图分类号:X705

文献标识码:A

## Effect of microbial redox cycling of iron on denitrification in landfill

FENG Huan<sup>1</sup>, LIANG Yuxiang<sup>1</sup>, DU Yao<sup>1</sup>, LAO Huimin<sup>2</sup>, FANG Chengran<sup>3</sup>, SHEN Dongsheng<sup>1</sup>, LONG Yuyang<sup>1,\*</sup>

1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Solid Waste Treatment and Recycling, School of Environmental Science and Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012

2. Zhejiang Provincial Center of Solid Waste Management, Hangzhou 310012

3. School of Civil Engineering and Architecture, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023

Received 12 June 2013;

received in revised form 13 July 2013;

accepted 13 July 2013

**Abstract:** Effect of microbial redox cycling of iron on denitrification was studied by bath experiments under simulated landfill environment. The aged refuse from real landfill site was used as inoculum and the cultivation condition were controlled by adjusting the load of organic and nitrate, respectively. It is showed that aged landfill refuse contains functional organisms capable of simultaneous Fe(II) redox cycling and denitrification. Repeated changes in nitrate and organic load can sustain continuous nitrate transformation and Fe(II) redox cycling. From the viewpoint of nitrogen transformation products, the accumulation of ammonium nitrogen in the group of Fe(II) redox cycling was  $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  lower than that in the group of traditional denitrification. The microbial redox cycling of iron has significant contribution on the in-situ denitrification in landfill.

**Keywords:** iron; nitrate; redox; denitrification; landfill

### 1 引言(Introduction)

铁是地球上最丰富的元素之一,也是人们在生产和生活中用量最大的金属元素. 作为一种变价金属,铁的生物化学氧化还原过程对环境中的其他物质

的迁移转化、降解等过程都具有一定的影响,如六价铬和腐殖酸(Lovley *et al.*, 2000; Li *et al.*, 2009). 业已证明,厌氧环境下,异化铁还原过程是最重要的生物化学过程之一,几乎所有的有机物都可为铁还原提供电子,微生物则能从 Fe(III) 还原和

基金项目: 国家自然科学基金(No. 41071310,41101453,51108419);浙江省教育厅项目(No. Y201119953);浙江工商大学青年人才基金(No. QY11-22)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 41071310,41101453,51108419), the Research Plan of Department of Education of Zhejiang Province(No. Y201119953) and the Funded Project for Youth Researcher of Zhejiang Gongshang University (No. QY11-22)

作者简介: 冯欢(1988—),男,E-mail: fenghuanr@163.com; \* 通讯作者(责任作者),E-mail: longgy@zjgsu.edu.cn

Biography: FENG Huan(1988—), male, E-mail: fenghuanr@163.com; \* Corresponding author, E-mail: longgy@zjgsu.edu.cn

Fe(II)氧化过程中获得能量(Lovley, 1991; Harvey *et al.*, 2002; Nevin *et al.*, 2002; Zachara *et al.*, 2002; DeLemos *et al.*, 2006)。目前,国内关于亚铁氧化对反硝化影响的研究很少,且主要集中在氧化亚铁硫杆菌及异化铁还原菌等方向(黎秀娟等, 2011; 欧阳建平等, 2009; 沈镭等, 2006; 苑璞等, 2010),而国外则有较多的相关报道。在缺氧条件下,Fe(II)一直被认为只能通过化学过程而被氧化为Fe(III),然而,Widdel等(1993)则首次发现了缺氧条件下微生物作用下的Fe(II)氧化行为,随后大量的研究结果证实,厌氧亚铁氧化微生物在自然界中分布广泛。迄今为止,人们已从沉积物(咸水、半咸水和淡水)、土壤、溪水、湿地甚至水热系统等环境中分离获得了厌氧(缺氧)亚铁氧化菌(Hafenbradl *et al.*, 1996; Emerson *et al.*, 1997; Benz *et al.*, 1998; Hauck *et al.*, 2001; Edwards *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2010)。当前,垃圾填埋场渗滤液脱氮主要包括厌氧氨氧化、MBR、SBR、生物滤池、厌氧-好氧结合等生物和物化方法(Li *et al.*, 2010; Campagna *et al.*, 2013; Morling, 2010; 田兆龙等, 2013; Zhu *et al.*, 2013),但运行费用昂贵、耗能高等弊端常成为其推广应用的瓶颈因素。生活垃圾填埋场富集着大量的铁资源(Wang *et al.*, 2007),其在厌氧环境下的异化还原过程密切影响着生活垃圾中有机物的降解及其他污染物的迁移转化,然而有关其异化铁还原的产物Fe(II)的厌氧氧化过程及作用途径却鲜有关注。Straub等(1996)首次发现了能够在厌氧无光条件下氧化亚铁并同时还原硝态氮的细菌。此后,更多的学者陆续从溪流、湿地、沉积物分离到了具有厌氧无光条件下氧化亚铁并还原硝态氮代谢机制的微生物(Neubauer *et al.*, 2002; Coby *et al.*, 2011; Weber *et al.*, 2006),这充分表明厌氧亚铁氧化细菌存在的普遍性和多样性。因此,我们认为,在垃圾填埋场内,Fe(III)的异化还原及Fe(II)的厌氧氧化所构成的铁的价态及形态循环对氮的归趋具有明显影响。为此,本研究采用模拟试验,研究生活垃圾填埋场中的亚铁厌氧氧化-硝氮还原行为,以期为填埋场脱氮理论提供新的认识。

## 2 材料与方法(Materials and methods)

### 2.1 接种物制备

本研究采用取自浙江省绍兴市大坞岙生活垃圾填埋场填埋龄为1~3年的垃圾作为铁的氧化还

原功能微生物接种物,每个填埋龄垃圾样品分别取样约100 kg,剔除各样品中的石头、砖瓦、水泥块及塑料袋等惰性物质后过4 mm尼龙筛,收集筛下物并采用多次四分法缩分、取样。每种填埋龄样品最终分别取样500 g用于基本性质分析,剩余部分则备用为后续试验的接种物。垃圾样基本性质为:含水率45.35%,pH=7.56,氨氮( $500.5 \pm 67.6$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,硝氮( $177.7 \pm 22.5$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,VS 18.21%,Fe(II) ( $2500.5 \pm 527.9$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,总铁( $20873.1 \pm 4770.8$ )  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

### 2.2 批式厌氧培养

采用批式厌氧模拟试验,试验装置为带丁基橡胶塞的500 mL血清瓶。每个血清瓶内投加20 g干垃圾(折算)和培养液,所有接种试验操作均在厌氧操作箱(Shellab)中完成,操作完后密封并用牛皮纸进行遮光处理,每个血清瓶通过导管与一个史式发酵管连接,置于30 °C温室中静置培养,经排水法收集产气,记录每日产气量。实验共设置7组,分别模拟铁的循环体系(A)、亚铁氧化体系(B)和反硝化体系(C),每组设置两个重复,同时分别设置其灭菌对照体系(A-S、B-S、C-S)。此外,另设两组不接种生活垃圾的化学对照体系(CK-1和CK-2),其中,CK-1作为A和C体系的化学对照,CK-2作为B体系的化学对照,二者的区别在于碳源是否添加。由于CK-2未添加碳源,故后续实验中未检测其TOC,但在结果表述时,其他如pH、氨氮和亚硝氮等参数则均采用CK-1和CK-2的平均值进行表述(图中表述为CK),实验具体设计如表1所示。其中,Fe<sup>2+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N和CH<sub>3</sub>COONa分别模拟相应体系中的铁、氮和有机物,灭菌对照组则通过高温高压灭菌以实现。

每组实验中均添加pH=6.8的碳酸氢钠缓冲液基质(Weber *et al.*, 2001),具体组分为:2.5 g·L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub>, 0.30 g·L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>Cl, 0.60 g·L<sup>-1</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.10 g·L<sup>-1</sup> KCl, 10 mL·L<sup>-1</sup>矿物质溶液, 10 mL·L<sup>-1</sup>维生素溶液。矿物质和维生素溶液配方见文献(Lovley, 2006)。

基质配制过程中,FeCl<sub>2</sub>、NaHCO<sub>3</sub>和维生素溶液采用无氧的灭菌水配制并经0.22 μm滤膜过滤除菌,NaNO<sub>3</sub>和CH<sub>3</sub>COONa等其余成分则经121 °C高温高压灭菌30 min。实验中,根据具体实验现象决定相应体系的硝氮和乙酸钠的补充频率,即当体系中硝氮低于检测限时补充硝氮至起始浓度;当体系中

硝氮出现累积且有机碳浓度不再下降时,补充乙酸钠至起始浓度,具体补充时间节点注明于下文的实验结果中.

表 1 铁的氧化还原对反硝化行为影响试验体系

Table 1 Experimental set of effect of iron redox on denitrification

实验组别	实验具体处理
A	30 mmol·L <sup>-1</sup> Fe <sup>2+</sup> 、12 mmol·L <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N、12 mmol·L <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COONa、接种垃圾
B	30mmol·L <sup>-1</sup> Fe <sup>2+</sup> 、12 mmol·L <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N、接种垃圾
C	12 mmol·L <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N、12 mmol·L <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COONa、接种垃圾
A-S	30mmol·L <sup>-1</sup> Fe <sup>2+</sup> 、12 mmol·L <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N、12 mmol·L <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COONa、接种垃圾,灭菌
B-S	30mmol·L <sup>-1</sup> Fe <sup>2+</sup> 、12 mmol·L <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N、接种垃圾,灭菌
C-S	12mmol·L <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N、12 mmol·L <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COONa、接种垃圾,灭菌
CK-1	30 mmol·L <sup>-1</sup> Fe <sup>2+</sup> 、12 mmol·L <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N、12 mmol·L <sup>-1</sup> CH <sub>3</sub> COONa
CK-2	30 mmol·L <sup>-1</sup> Fe <sup>2+</sup> 、12 mmol·L <sup>-1</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N

### 2.3 分析测定

本试验运行时间约 80 d,每隔 2~6 d 采样 1 次.取样前摇动血清瓶,采用一次性 5 mL 无菌注射器取泥水混合液.将样品离心(13000 g) 10 min,上清液用于测定水相中亚铁、硝氮、亚硝氮、氨氮、乙酸根和总铁浓度.倒出上清液后,立即向沉淀物中加入等体积的 0.5 mol·L<sup>-1</sup> 盐酸,在漩涡振荡器上混匀后过夜浸提固相亚铁(Coby *et al.*, 2011).浸提液离心(13000 g) 10 min 后,测定上清液中的亚铁和总铁浓度.总的亚铁浓度为水相和固相亚铁浓度之和.

固相样品的氨氮、硝氮和亚硝氮采用 2 mol·L<sup>-1</sup> KCl 浸提后(鲁如坤,2000),分别采用靛酚蓝比色法、紫外分光光度法和 N-(1-萘基)-乙二胺盐酸盐比色法测定(APHA, 2005);亚铁和总铁采用 1 mol·L<sup>-1</sup> HCl 浸提(Li *et al.*, 2010),其中,亚铁采用邻菲罗啉法测定(Straub *et al.*, 1998),总铁则采用火焰原子吸收光谱法(AAS, ZENit 700P, Jena, Germany)测定;pH 采用 pH 计测定(Mettler Toledo, Seven Multi);总有机物采用 TOC 仪测定(Shimadzu, TOC-L, Japan).

## 3 结果与讨论(Results and discussion)

### 3.1 垃圾填埋场内的亚铁氧化-硝氮还原行为

实验过程中,3 个不同模拟体系中总的 Fe(II) (水相亚铁与固相亚铁的总和)变化规律如图 1~3 所示(O、N 分别表示补充乙酸钠和硝氮的节点).由于模拟反硝化体系(C)中未外加铁,其中的 Fe(II) 主要源自接种垃圾的本底值.与各自的灭菌对照组相比,铁循环体系(A)、亚铁氧化体系(B)和反硝

化体系(C)中 Fe(II) 浓度的波动明显剧烈得多,这表明 A、B、C 3 组体系中显著发生了铁的价格和形态的转化.

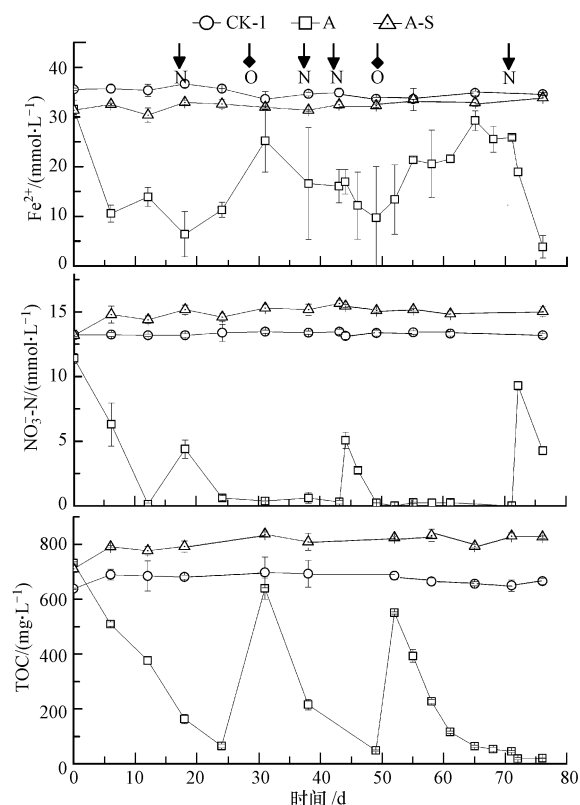


图 1 铁循环体系中亚铁、硝氮和 TOC 的变化

Fig.1 Variations of Fe(II), nitrate and TOC in anaerobic microbial iron redox cycling system

具体而言,在 A 和 C 体系中,明显发现 Fe(II) 呈现出周期性变化的现象,而 B 体系却不然.究其原因,主要是由于 A、B 和 C 体系接种垃圾中的微生物在还原 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 时将 Fe(II) 氧化成了 Fe(III),一旦

体系中  $\text{NO}_3^-$  消耗殆尽,在异养型铁还原菌等的作用下,又会利用培养体系中的有机物将  $\text{Fe(III)}$  还原为  $\text{Fe(II)}$  (Coby *et al.*, 2011). 然而,由于 A 和 C 体系中人为补充了有机物,但 B 体系中缺乏该有机物,从而致使  $\text{Fe(III)}$  的还原过程无法进行,也即无法实现如 A 和 C 体系中的  $\text{Fe(II)}$  周期性变化的现象. 这充分表明所接种的垃圾中具有从  $\text{Fe(II)}$  氧化为  $\text{Fe(III)}$ ,再还原成  $\text{Fe(II)}$  的功能菌群.

相比而言, A 体系中第 18、38、49 和 72 d 的  $\text{Fe(II)}$  浓度都出现了降低,且都是出现在新补充硝氮之后. 第 18 d 和第 76 d 时 A 体系中总的  $\text{Fe(II)}$  浓度最低,原因可能是此时体系中有有机物浓度较低,但此时反硝化活性高,用于还原硝氮的电子供体主要来源于  $\text{Fe(II)}$ . 而第 37 和 43 d 尽管连续加入硝氮,第 49 d 总的  $\text{Fe(II)}$  浓度并未降至最低,原因可能是由于此时 A 体系中有有机物浓度最低,导致反硝化过程受阻,微生物无法还原硝氮,  $\text{Fe(II)}$  氧化的过程也随之停止. 这表明在垃圾填埋场内,如果单纯依靠  $\text{Fe(II)}$  作为还原硝氮的电子供体,可能无法维持体系的持续运行,也即在铁的氧化还原过程中脱氮的潜力有限.

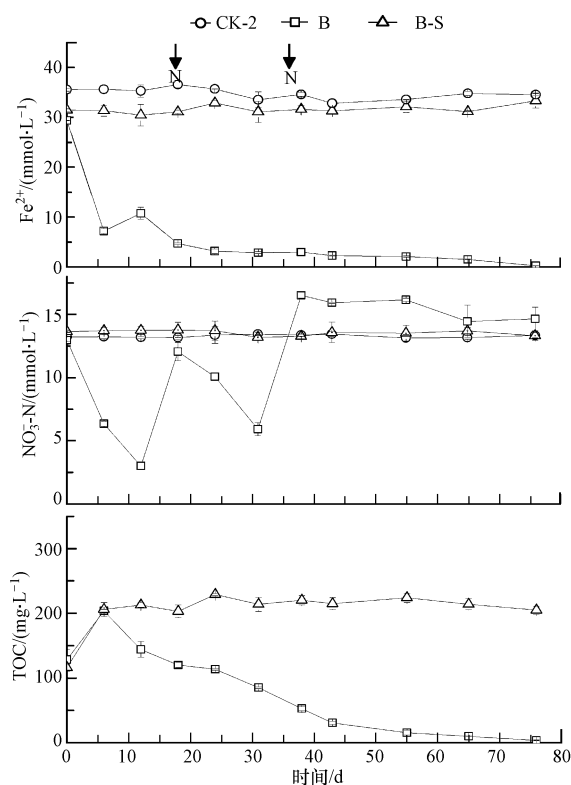


图 2 亚铁氧化体系中亚铁、硝氮和 TOC 的变化

Fig. 2 Variations of  $\text{Fe(II)}$ , nitrate and TOC in nitrate-independent  $\text{Fe(II)}$ -oxidizing system

C 体系中总的  $\text{Fe(II)}$  浓度也出现类似于 A 体系的周期性变化趋势,但由于未外添加  $\text{Fe(II)}$ ,  $\text{Fe(II)}$  氧化-硝氮还原所起作用可忽略,其中,硝氮的还原过程更偏向于传统的反硝化作用. 与 A 体系和 C 体系相比, B 体系到第 65 d 时,反硝化作用基本停止. 原因可能是 B 体系中有有机物被消耗完时,不补充有机物,无法实现铁的异化还原,从而最终未能实现铁的氧化还原循环.

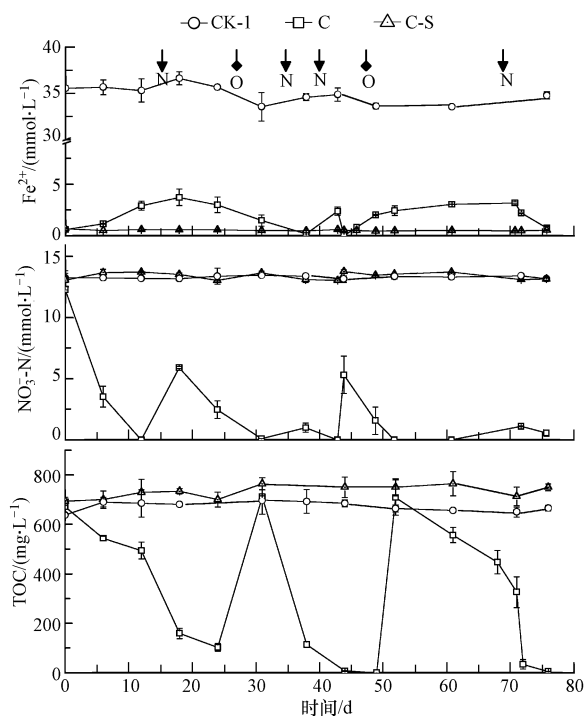


图 3 反硝化体系中亚铁、硝氮和 TOC 的变化

Fig. 3 Variations of  $\text{Fe(II)}$ , nitrate and TOC in nitrate-reducing system

由此可见,在垃圾填埋场内赋存着丰富的铁的氧化、还原微生物菌群,在其氧化还原循环过程中,能充分利用其得、失电子的过程促使填埋场内部氮形态发生转化. 铁可以连续循环,理论而言,该过程能连续周转,然而,实验结果表明该过程的连续运行还得有赖于相对充足的碳源作保障.

为了验证上述现象,本实验过程中系统分析了各体系中的 pH 变化情况,结果如图 4 所示. 由图可知, A 体系和 B 体系的 pH 在运行初期略有下降,这主要是由  $\text{Fe}^{2+}$  的水解造成,因为同样的现象发生在 A-S 和 CK 中;而 C 体系中未加亚铁, pH 没有下降也能验证这一解释. 从整个运行周期看, A、B、C 3 个体系的 pH 都在逐步上升,原因在于反硝化过程会产生碱,而 B 体系还原的硝氮量最少,所以增幅最

小; A 体系和 B 体系可能由于含铁氢氧化物的生成,使得体系中 pH 上升速度比 C 体系慢。由于反硝化过程会导致体系 pH 上升,而 pH 升高会抑制反硝化效果,因此可以说,在碳源充足的情况下,在长期运行过程中 A 体系比 B、C 体系具有更稳定的脱氮效果。

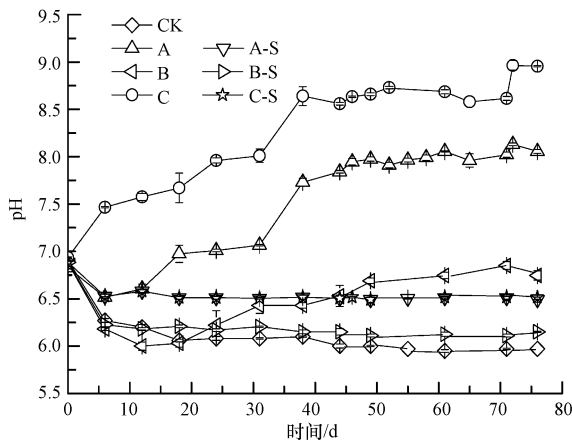


图4 A、B和C3个体系中pH变化

Fig. 4 pH change trends in three systems A ~ C

### 3.2 氮的形态变化

为了更明确地了解各体系中的脱氮行为,本研究分别测定了硝氮主要的转化产物亚硝氮和氨氮的变化过程。如图5所示,3个体系中的亚硝氮大部分时间都保持在较低水平,其中,A、B体系中亚硝氮只有在补充硝氮后的检测中出现,且持续时间短;C组则仅在第37~43 d连续投加硝氮后才出现暂时的亚硝氮累积。3组体系中,C组未外加Fe(II),A和B组中尽管投加了亚铁,但其亚硝氮浓度也均低于 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,因此,3个体系中亚硝氮对亚铁的化学氧化作用可忽略,这与Tai等(2009)

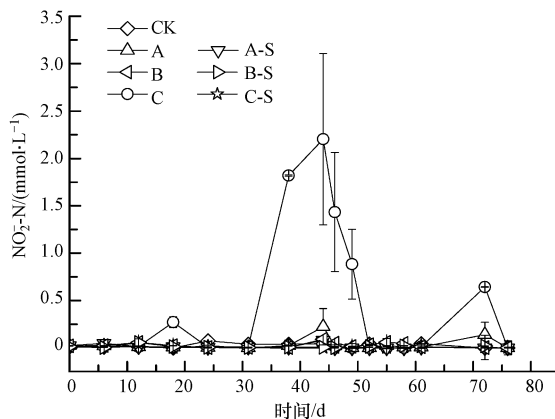


图5 A、B和C3个体系中NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N浓度变化

Fig. 5 Variation of nitrite concentration in A, B, C system

研究中发现的当体系中亚硝氮浓度达到 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 及以上时亚硝氮与亚铁间方能发生显著的化学作用的认识一致。

图6反映了A、B和C3个体系中氨氮浓度的变化情况。与灭菌对照组和化学对照组相比,3个体系的氨氮浓度总体都呈上升趋势。A和B组氨氮浓度在前43 d增幅不大,A组第一、二次补充的硝氮被消耗后,氨氮浓度基本没有变化,表明硝态氮并没有转化为氨氮。B组在第17和37 d补充了两次硝氮,虽未被完全消耗,但被还原的硝氮也未转化为氨氮。A组中氨氮在铁还原阶段(第50~70 d)出现微小的降幅,可能是氨氮作为氮源被微生物利用导致的。B组到运行后期,反硝化过程逐渐停止,但氨氮浓度同样开始增加,原因可能是体系中有有机物基本被消耗完,体系中还原硝氮的电子主要依靠亚铁供给,此时硝氮的还原产物主要为氨氮。这与Coby(2011)的报道类似,试验前期氨氮浓度变化不大,后期出现氨氮累积的现象,表明可能存在能够将亚铁氧化并同时还原硝态氮为氨氮的微生物。与A和B组相比,C组中氨氮浓度持续上升,截至运行终期,C组氨氮浓度比A和B组高了近 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这表明亚铁的存在有助于抑制硝氮向氨氮方向转化,这对于将亚铁氧化-硝氮还原应用于填埋场原位脱氮有着积极的意义。

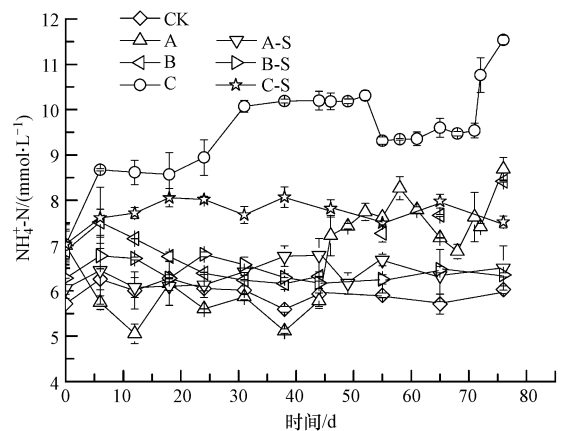


图6 A、B和C3个体系中NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N变化

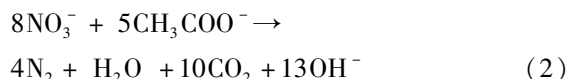
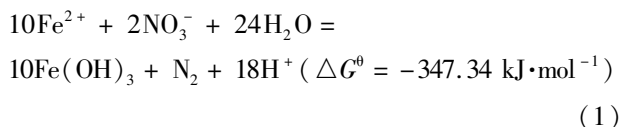
Fig. 6 Variation of ammonium nitrogen concentration in A, B, C system

经过近80 d的运行,发现A与C组相比,其中氨氮浓度上升趋势较慢,而B组中由于有机物的匮乏,铁无法实现氧化还原循环,至运行后期硝氮还原基本停止。因此,在适量的有机物保证下,微生物参与的铁氧化还原有助于降低硝氮转化为氨氮,这

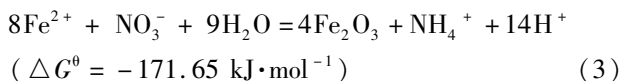
对实现从源头削减生物反应器填埋场外排渗滤液的氨氮浓度,对改善渗滤液(尤其是氨氮)对环境的污染问题有重要的理论价值和现实意义。

### 3.3 有机物变化行为

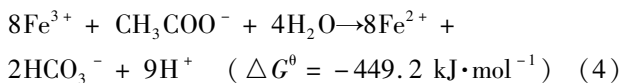
对比图 1~3 中的 TOC 变化结果可发现,与各自灭菌对照组相比,未灭菌组的 TOC 出现了明显的变化。灭菌对照组初期出现的 TOC 上升可能是由垃圾中自身的有机物释放出来导致的。TOC(乙酸钠)作为电子供体,既可直接用于硝酸盐还原,也可用于 Fe(III) 的还原,此时电子转移到 Fe(II) 中,相当于电子储存器,等到环境中有机物匮乏时,Fe(II) 可充当电子供体,用于硝酸盐的还原。A 体系中 TOC 的变化趋势与体系中硝氮和 Fe(II) 浓度密切相关,第一、二次补充的硝氮被还原主要涉及以下过程:



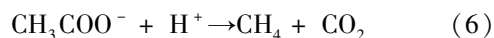
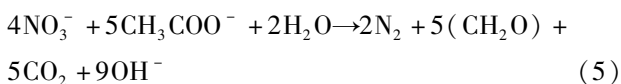
因为当体系中有有机物与 Fe(II) 含量都较高时,硝氮的还原速率大大加快,如第二次补充的硝氮,在 24 h 内基本全被还原。随着有机物和 Fe(II) 的消耗,第 3 次补充的硝氮在 24 h 内大约只被还原了 1/2。第 4 次补充的硝氮只能依靠 Fe(II) 充当电子供体,用于硝酸盐的还原,24 h 内大约只被还原了 1/3。A 反应体系中可能存在能够将 Fe(II) 氧化并同时硝态氮还原为氨氮的微生物。这一点从 A 组第 72~76 d 的试验结果可以得到证实。此外,Coby 等(2011)的研究成果也发现了类似的现象,推断可能是反应(3)起主导作用。



虽然依赖亚铁氧化还原硝氮的速率与直接从有机物还原硝氮相比速率较低,但这一过程可能发生在一些极端环境,缺少有机物但富含铁,可用于消除硝氮的污染。第 50 d 第 2 次补充乙酸钠后,经过 17 d 的铁异化还原作用,最终总的亚铁浓度达到  $30 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,非常接近起始的  $32 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,这表明铁作为有机物和硝氮传递电子的中间体是可行的。经过铁还原阶段,有机物基本被消耗完,异化铁还原可能在起主导作用:



与 A 组相比,B 组 TOC 和亚铁浓度一直在下降,至运行后期硝氮还原基本停止。A 组中铁之所以能形成氧化还原的循环,就在于当 A 组中亚铁被氧化后,通过及时补充有机物,异化菌的还原作用使得亚铁能重新回到还原状态。这一点表明要维系填埋场中持续的铁氧化还原循环,并以此降低氮素污染,有机物的存在是必要的。C 组中只有 TOC 作为电子来源,因此,TOC 浓度的高低直接决定了硝氮还原的速率。当体系中有有机物含量过高时,如图 3 中第 50~70 d 的情况,部分有机物会通过产甲烷方式被消耗,此期间可能主要是反应(5)和(6)在起主导作用。



假如体系中含有如铁可作为电子媒介的物质,在有机物过量时通过异化作用将一部分电子储存下来,等到环境中有机物匮乏时,可作为电子供体参与到新的反应,这一点对于降低体系中有有机物和无机物的污染都有积极作用。以上 3 个不同体系的结果表明,微生物通过参与铁的氧化还原循环既能消耗填埋场中的有机物,同时又能够脱除氮素,因此,将铁的循环与原位脱氮进行耦合的这一设想是切实可行的。在硝氮和有机物的含量会发生变化的环境中(如土壤、沉积物),也有发现微生物参与铁的循环的过程(Blöthe, 2009; Bruun *et al.*, 2010; Sobolev, 2002)。当体系中有有机物含量过高时,一方面有机物会被用于 Fe(III) 还原为 Fe(II),相当于一部分电子转移到 Fe(II) 中,等到环境中有机物匮乏时,Fe(II) 可充当电子供体,用于硝酸盐的还原,避免有机物通过发酵作用变成  $\text{CH}_4$  而造成电子损失。从本次试验中可以发现,在厌氧条件下重复地添加有机物和硝氮,接种垃圾中的微生物能够通过硝氮氧化 Fe(II) 和异化铁还原实现体系中铁的循环。更重要的是,在这个铁的循环过程中能显著影响氮素形态,降低填埋场渗滤液中氨氮和有机物的浓度,这对于依靠填埋场中微生物经亚铁厌氧氧化-硝氮还原进行原位脱氮有着重要的参考意义。

## 4 结论(Conclusion)

模拟批式实验表明,垃圾填埋场内蕴藏着能实现铁的厌氧氧化还原并同步还原硝氮的复合功能菌群,通过改变有机物和硝氮的负荷,可使得填埋

场内持续进行着铁的氧化还原循环和同步氮素转化,且氮素转化产物中,在铁的循环体系中氨氮浓度比传统的反硝化体系低  $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 填埋场内铁的生物化学循环过程对于原位脱氮具有极大贡献。

**责任作者简介:** 龙於洋, 副研究员, 研究方向: 固体废物处理与资源化. E-mail: longgy@zjgsu.edu.cn.

#### 参考文献 (References):

- APHA, AWWA, WEF. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (21st ed) [M]. Washington D C: American Public Health Association
- Benz M, Brune A, Schink B. 1998. Anaerobic and aerobic oxidation of ferrous iron at neutral pH by chemoheterotrophic nitrate-reducing bacteria [J]. Archives of Microbiology, 169(2): 159-165
- Blöthe M, Roden E E. 2009. Microbial iron redox cycling in a circumneutral-pH groundwater seep [J]. Applied and Environmental Microbiology, 75(2): 468-473
- Bruun A M, Finster K, Gunnlaugsson H P, et al. 2010. A comprehensive investigation on iron cycling in a fresh-water seep including microscopy, cultivation and molecular community analysis [J]. Geomicrobiology Journal, 27(1): 15-34
- Campagna M, Çakmakçı M, Yaman F, et al. 2013. Molecular weight distribution of a full-scale landfill leachate treatment by membrane bioreactor and nanofiltration membrane [J]. Waste Management, 33(4): 866-870
- Coby A J, Picardal F, Shelobolina E, et al. 2011. Repeated anaerobic microbial redox cycling of iron [J]. Applied and Environmental Microbiology, 77(17): 6036-6042
- DeLemos J L, Bostick B C, Renshaw C E, et al. 2006. Landfill-stimulated iron reduction and arsenic release at the coakley superfund site (NH) [J]. Environmental Science & Technology, 40(1): 67-73
- Edwards K J, Rogers D R, Wirsen C O, et al. 2003. Isolation and characterization of novel psychrophilic, neutrophilic, Fe-oxidizing, chemolithoautotrophic alpha- and gamma-Proteobacteria from the deep sea [J]. Applied and Environmental Microbiology, 69(5): 2906-2913
- Emerson D, Moyer C. 1997. Isolation and characterization of novel iron-oxidizing bacteria that grow at circumneutral pH [J]. Applied and Environmental Microbiology, 63(12): 4784-4792
- Hafenbradl D, Keller M, Dirmeier R, et al. 1996. *Ferroglobus placidus* gen. nov., sp. nov., a novel hyperthermophilic archaeum that oxidizes  $\text{Fe}^{2+}$  at neutral pH under anoxic conditions [J]. Archives of Microbiology, 166(5): 308-314
- Harvey C F, Swartz C H, Badruzzaman A B, et al. 2002. Arsenic mobility and groundwater extraction in Bangladesh [J]. Science, 298(5598): 1602-1606
- Hauck S, Benz M, Brune A, et al. 2001. Ferrous iron oxidation by denitrifying bacteria in profundal sediments of a deep lake (Lake Constance) [J]. FEMS Microbiology Ecology, 37(2): 127-134
- 黎秀娟, 彭静静. 2011. 水稻土中铁还原菌多样性 [J]. 应用生态学报, 22(10): 2705-2710
- Li W B, Yao J, Tao P P, et al. 2010. A comparative study on two extraction procedures in speciation of iron in municipal solid waste [J]. Journal of Hazardous Materials, 182(1/3): 640-648
- Li Y R, Low G K, Scott J A. 2009. The role of iron in hexavalent chromium reduction by municipal landfill leachate [J]. Journal of Hazardous Materials, 161(2/3): 657-662
- Liu J, Zuo J, Yang Y, et al. 2010. An autotrophic nitrogen removal process: Short-cut nitrification combined with ANAMMOX for treating diluted effluent from an UASB reactor fed by landfill leachate [J]. Journal of Environmental Sciences, 22(5): 777-783
- Lovley D R. 1991. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction [J]. Microbiological Review, 55(2): 259-287
- Lovley D R, Kashefi K, Vargas M, et al. 2000. Reduction of humic substances and Fe(III) by hyperthermophilic microorganisms [J]. Chemical Geology, 169(3/4): 289-298
- Lovley D R. 2006. Dissimilatory Fe(III)- and Mn(IV)-Reducing Prokaryotes [J]. Prokaryotes, 2: 635-658
- 鲁如坤, 等. 2000. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社
- Morling S. 2010. Nitrogen removal and heavy metals in leachate treatment using SBR technology [J]. Journal of Hazardous Materials, 174(1/3): 679-686
- Neubauer S C, Emerson D, Megonigal J P. 2002. Life at the energetic edge: Kinetics of circumneutral iron oxidation by lithotrophic iron-oxidizing bacteria isolated from the wetland-plant Rhizosphere [J]. Applied and Environmental Microbiology, 68(8): 3988-3995
- Nevin K P, Lovley D R. 2002. Mechanisms for Fe(III) oxide reduction in sedimentary environments [J]. Geomicrobiology Journal, 19(2): 141-159
- 欧阳建平, 陈新华. 2009. 氧化亚铁硫杆菌亚铁氧化系统的研究进展 [J]. 生物技术通报, 3: 46-49
- 沈镭, 张再利, 贾晓珊. 2006. 氧化亚铁硫杆菌和氧化硫硫杆菌对硫化硫酸钠的代谢机理研究 [J]. 环境科学学报, 26(12): 2000-2007
- Sobolev D, Roden E E. 2002. Evidence for rapid microscale bacterial redox cycling of iron in circumneutral environments [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 181(1/4): 587-597
- Straub K L, Benz M, Schink B, et al. 1996. Anaerobic, nitrate-dependent microbial oxidation of ferrous iron [J]. Applied and Environmental Microbiology, 62(4): 1458-1460
- Straub K L, Hanzlik M, Buchholz-Cleven B E E. 1998. The use of biologically produced ferrihydrite for the isolation of novel iron-reducing bacteria [J]. Systematic and Applied Microbiology, 21(3): 442-449
- Tai Y L, Dempsey B A. 2009. Nitrite reduction with hydrous ferric oxide and Fe(II): stoichiometry, rate, and mechanism [J]. Water Research, 43(2): 546-552
- 田兆龙, 汪晓军, 黄志聪. 2013. 间歇式曝气生物滤池对焚烧垃圾渗滤液深度脱氮的研究 [J]. 环境科学学报, 33(5): 1244-1248
- 苑璞, 苑琳, 邵静, 等. 2010. 氧化亚铁硫杆菌的分离及其培养条件优

- 化[J]. 生物技术, 20(2):47-50
- Wang T, Muller D B, Graedel T E. 2007. Forging the anthropogenic iron cycle [J]. *Environmental Science & Technology*, 41(14): 5120-5129
- Weber K A, Urrutia M M, Churchill P F, *et al.* 2006. Anaerobic redox cycling of iron by freshwater sediment microorganisms [J]. *Environmental Microbiology*, 8(1):100-113
- Weber K A, Picardal F, Roden E E. 2001. Microbially catalyzed nitrate-dependent oxidation of biogenic solid-phase Fe(II) compounds [J]. *Environmental Science & Technology*, 35(8):1644-1650
- Widdel F, Schnell S, Heising S, *et al.* 1993. Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria [J]. *Nature*, 362(6423): 834-836
- Wu G Y, Zhang D Y, Pan X L. 2010. Anaerobic oxidation of ferrous iron by microbial mixture and its potential to remove mercury and nitrate from the groundwater [J]. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 14(4):36-39
- Zachara J M, Kukkadapu R K, Fredrickson J K, *et al.* 2002. Biomineralization of poorly crystalline Fe(III) oxides by dissimilatory metal reducing bacteria (DMRB) [J]. *Geomicrobiology Journal*, 19(2):179-207
- Zhu R, Wang S, Li J, *et al.* 2013. Biological nitrogen removal from landfill leachate using anaerobic-aerobic process: Denitrification via organics in raw leachate and intracellular storage polymers of microorganisms [J]. *Bioresource Technology*, 128:401-408