

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2015.0766

陈余道,程亚平,蒋亚萍,等.2016.岩溶地下河反硝化作用的有限性——一个碳酸盐岩管道的实验研究[J].环境科学学报,36(10):3629-3635

Chen Y D, Cheng Y P, Jiang Y P, et al. 2016. Limitation of denitrification in karst subterranean river: A carbonate-conduit experimental study [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 36(10): 3629-3635

## 岩溶地下河反硝化作用的有限性 ——一个碳酸盐岩管道的实验研究

陈余道\*,程亚平,蒋亚萍,林鹏,蒋灵芝

桂林理工大学,环境科学与工程学院,桂林 541004

收稿日期:2015-11-10 修回日期:2015-11-23 录用日期:2015-11-23

**摘要:**反硝化作用是公认的去水中硝酸盐的途径,但相比于多孔介质,岩溶地下河中反硝化效果具有不确定性。为更好地认识岩溶地下河中反硝化效果,本研究利用天然碳酸盐岩管道几何模型,以乙醇为可利用电子供体(碳源),示踪了控制流速条件下管道流中反硝化作用,并辅以多孔介质流实验进行对比。反应示踪、地球化学印迹和微生物检测结果表明:当碳源缺乏时,反硝化作用没有明显启动的迹象;一旦补充了碳源,溶解氧、硝酸盐浓度和质量都出现了明显衰减,并且有中间产物亚硝酸盐产生,水体碱度增加。然而,即使在碳源充足情况下,管道流中反硝化强度却明显比多孔介质流中强度低,两者硝酸盐生物去除率分别为 39.4% 和大于 99%,生物降解速率分别为 0.113 和 10.8  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。推测其原因,一是碳酸盐岩管道内固体表面积与水体积比值低,固体吸着条件不利于微生物生长与发育,降低了硝酸盐去除率;二是管道富含的溶解氧可能延迟了反硝化作用启动,溶解氧降至 3.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  左右时硝酸盐浓度才有明显衰减。相比之下,其它环境因素如 pH 值和温度没有出现明显变化。该研究意义在于:岩溶管道流反硝化去除硝酸盐的潜能是存在的,但即使可利用碳源充足仍具有明显的局限性,这可能意味着岩溶地下河一旦遭受硝酸盐污染,其作为饮用水源的安全风险更大。

**关键词:**岩溶地下河;反硝化;硝酸盐;有限性;碳酸盐岩管道模型

文章编号:0253-2468(2016)10-3629-07 中图分类号:X523 文献标识码:A

## Limitation of denitrification in karst subterranean river: A carbonate-conduit experimental study

CHEN Yudao\*, CHENG Yaping, JIANG Yaping, LIN Peng, JIANG Lingzhi

College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004

Received 10 November 2015; received in revised form 23 November 2015; accepted 23 November 2015

**Abstract:** Denitrification is generally recognized as a path to remove nitrate in water, but compared with porous media, the effectiveness of denitrification in karst subterranean river is uncertain. In order to better understand the question, the denitrification in a geometric carbonate-conduit model was traced under the controlled flow condition and was compared with the experiment in porous media. The results indicate that there was no obvious denitrification when carbon source was lacking. Once ethanol was added as an available carbon source, the concentrations and qualities of both dissolved oxygen (DO) and nitrate were significantly attenuated. Moreover, nitrite as an intermediate occurred and the water alkalinity increased. However, in the case of carbon sources, the intensity of denitrification in the carbonate-conduit flow was significantly lower than that in porous media, even though carbon source was fully recharged. The two removal rates of nitrate were 39.4% and >99%, and the biodegradation rates were 0.113 and 10.8  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , respectively. It was deduced that the ratio of solid surface area to water volume within the conduit was lower, so that the microbial solid-attached condition was decreased, which exerted impact on the microbial growth and development as well as the removal rate of nitrate. Additionally, rich DO in the conduit flow might delay the onset of denitrification. Nitrate concentrations attenuated significantly when DO dropped to about 3.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . In contrast, other environmental factors including pH and temperature had no significant change. This study highlights that bio-removal of nitrate by denitrification is of potential but with limitation in karst subterranean river even if available carbon source is adequate, which may increase the safety risk of drinking water.

**Keywords:** Karst subterranean river; denitrification; nitrate; limitation; carbonate-conduit model

基金项目:国家自然科学基金(No.41362012,41172229)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.41362012,41172229)

作者简介:陈余道(1965—),男,教授;\*通讯作者(责任作者),E-mail:cyd0056@vip.sina.com

Biography: CHEN Yudao(1965—), male, professor; \* Corresponding author, E-mail: cyd0056@vip.sina.com

## 1 引言 (Introduction)

在典型碳酸盐岩发育地区,岩溶地下河系统是极其重要的水资源储存空间,满足了当地人群生活、生产和生态的基本需求,如我国西南岩溶地区(袁道先等,2007).然而,当前岩溶地下河遭受硝酸盐污染的环境问题十分普遍.我国西南地区 2836 条岩溶地下河面临着变成“下水道”的实际威胁(袁道先等,2007),对地表水体的污染也造成了影响(薛禹群等,2009).郭芳等(2002)的调查表明,广西境内 32 条典型岩溶地下河硝酸盐浓度明显上升.人们通过同位素示踪研究(Liu *et al.*, 2006; Jiang *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010)发现,我国西南岩溶地下河硝酸盐污染与农业生产中过量施用化肥及农村废弃物不适当处置有密切关系.

反硝化作用已经被认为是修复地下水硝酸盐污染的有效路径,在可利用碳源存在条件下具有很高的修复效果.例如,王珍等(2008)利用锯木和零价铁作为碳源,发现硝酸盐去除率达到 100%;宋晓薇等(2013)用乙醇为碳源,发现硝酸盐去除率达到 99%;国外学者用液态碳源如甲醇、醋酸盐、葡萄糖、乙醇等,发现硝酸盐去除率均在 95% 以上(Her *et al.*, 1995; Gómez *et al.*, 2000; Salminen *et al.*, 2014; Carrey *et al.*, 2014).然而,大多数报道是在多孔介质条件下针对碳源选择而展开的.对于岩溶含水系统,尤其是地下河系统,有关利用反硝化作用去除硝酸盐的研究很少见.由于岩溶地下河具有特

殊的管道结构和管道流特征,与多孔介质相比,其中的反硝化效果具有不确定性.针对岩溶地下河硝酸盐污染,其修复策略也将是人们关注的问题.因此,探索岩溶地下河中反硝化作用效果,对岩溶水资源保护与利用具有积极意义.

由于真实岩溶地下河发育非均质性、环境许可制度及人为干扰因素复杂性,野外开展污染物输入和输出试验十分困难.本次研究在桂林寨底地下河野外调查的基础上(陈余道等,2013),利用天然沉积的碳酸盐岩制作几何管道模型,在实验室开展人工流条件下的硝酸盐生物去除实验研究,旨在认识并评价岩溶地下河管道中反硝化作用效果,分析其主要的影响因素.

## 2 材料与方法 (Materials and methods)

### 2.1 主体实验

2.1.1 实验装置 桂林是我国南方典型喀斯特发育地区,境内的桂林寨底岩溶地下河系统是一个具有代表性的科研基地,主要出露地层是泥盆纪和石炭纪的碳酸盐岩.最近,在该地区响水岩-寨底泉地下河(直线距离约 2.8 km),利用荧光素钠作为示踪剂开展了一次枯水径流示踪试验,估测了地下河管道结构参数和水力参数(陈余道等,2013).为进一步研究地下河中反硝化作用效果,本次研究结合现场调查制作了实验主体装置—碳酸盐岩管道几何模型(图 1).选择天然碳酸盐岩作为材料,一是考虑它的真实性,二是因为它具有缓冲酸碱度(pH 值)的性能.

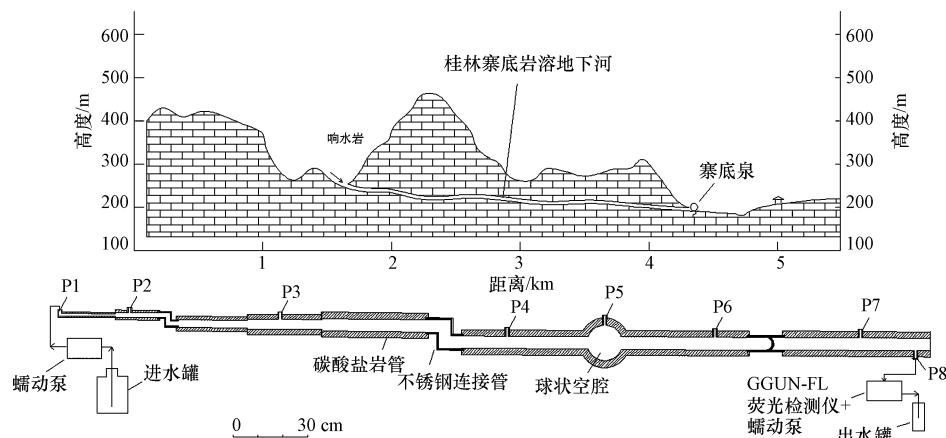


图 1 参照桂林寨底地下河制作的碳酸盐岩管道模型(入口 P1 与蠕动泵相连供投注溶液,出口 P8 与荧光监测仪相接测量出水中示踪剂浓度;P2~P7 是管道上的注射器取样口)

Fig.1 Sketch of the carbonate-conduit model according to the understanding of Guilin Zhaidi Subterranean River, China

根据 X 衍射荧光分析(ZSX Primus II, 日本), 碳酸盐岩的成分主要为  $\text{CaO}$  (44.375%)、 $\text{SiO}_2$

(12.219%)、MgO (0.672%)、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (1.535%) 和 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0.357%)。模型构件包括 8 个不同内径 (1~5 cm) 的碳酸盐岩管、1 个球状碳酸盐岩空腔 (内径 10 cm) 和 3 个不锈钢连接管。模型总长度 367.5 cm, 管道内壁表面积 5602 cm<sup>2</sup>, 体积 8672 cm<sup>3</sup>。进水口 P1 连接进水蠕动泵, 出水口 P8 连接一个瑞士制造的 GGUN-FL 荧光检测仪 (Goldscheider *et al.*, 2008)。在进水端和出水端之间设置了 6 个管道内部取样孔 (P2~P7), 开口向上, 与进水口 P1 之间的距离分别为 28、89、180、218、263、320 cm。

**2.1.2 投注溶液** 实验开始前约半个月, 用投注溶液代替了管道中浸泡的地下水。投注溶液由新鲜的岩溶地下水做母液, 加入化合物硝酸钠和荧光素钠配置而成, 物理化学性质如表 1 所示。其中, 新鲜地下水作为土著微生物来源, 硝酸盐作为研究污染物 (目标浓度约 100 mg·L<sup>-1</sup>), 非反应示踪剂荧光素钠 (浓度约 50 μg·L<sup>-1</sup>) 被用来对照其它投注物质的浓度变化。为反映地下河富氧特征, 投注溶液中溶解氧含量趋近于当地岩溶地下河常见值。参照真实地下河管道流平均滞留时间, 投注溶液流入、流出管道模型的速度设定为 50 mL·h<sup>-1</sup>, 在管道中的平均滞留时间约 173 h (即 7.2 d)。

表 1 实验采用的地下水物理化学特征

Table 1 Physical-chemical characteristics of groundwater used in the experiments

指标	单位	范围(平均值)
硝酸盐(NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	mg·L <sup>-1</sup>	2.1~3.9(3.3)
溶解氧(DO)	mg·L <sup>-1</sup>	7.7~9.0(8.3)
硫酸盐(SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	mg·L <sup>-1</sup>	1.9~3.0(2.6)
重碳酸根(HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	mg·L <sup>-1</sup>	116~128(122)
钙离子(Ca <sup>2+</sup> )	mg·L <sup>-1</sup>	40~44(42)
乙酸盐(CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup> )	mg·L <sup>-1</sup>	未检出
亚硝酸盐(NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	mg·L <sup>-1</sup>	未检出
总有机碳(TOC)	mg·L <sup>-1</sup>	2.12~2.56(2.43)
电导率(EC)	μS·cm <sup>-1</sup>	165~184
pH		7.8~8.3(8.0)
温度(T)	℃	16.5~25.0(22.0)

**2.1.3 碳源添加** 反硝化作用依赖于可利用电子供体的存在, 否则会抑制反硝化作用的出现 (Rivett *et al.*, 2008)。为了排除可利用碳源不足对地下河反硝化作用的影响, 本次研究在实验开始一段时间后持续添加乙醇, 作为唯一可利用碳源。根据已有研究 (Chen *et al.*, 2008; 2013; 宋晓薇等, 2013), 乙醇是微生物嗜好的碳源, 是一种能够与水混溶的液体,

容易被定量, 这里不试图说明现场使用乙醇的前景。添加的乙醇随投注溶液一起进入管道, 目标浓度为 300 mg·L<sup>-1</sup>。

## 2.2 辅助实验

本次研究还利用了一个以前的砂柱实验结果, 来与主体实验对比反硝化作用的效果。该装置是一个上流式的有机玻璃圆柱反应器, 内径 5 cm, 柱高 120 cm, 全部被含水层细砂充填。X 衍射荧光分析表明, 细砂的主要成分为: SiO<sub>2</sub> (77.73%)、Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (11.046%)、Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (3.769%)、CaO (1.723%) 和 MgO (0.051%), 反映了浅层孔隙含水层的沉积物组成。与碳酸盐岩管道材质一样, 沉积物不含明显的可利用电子供体, 如还原态铁和硫。进水由同源的新鲜地下水经人工配制构成, 其中, 硝酸盐浓度 200 mg·L<sup>-1</sup>, 乙醇浓度 100 mg·L<sup>-1</sup>, 进水流量为 45 mL·h<sup>-1</sup>, 柱内平均滞留时间约 25 h。值得注意的是, 与主体实验比较, 辅助实验投注乙酸浓度是前者的 2 倍, 投注碳源浓度是前者的 1/3, 装置内的平均滞留时间大约是前者的 1/7。

## 2.3 采样与分析

每天定时使用注射器采集碳酸盐管道进口和出口水样, 采样体积分别为 21 mL, 按需要在实验期间沿 P2~P7 采集管道水样。对于辅助实验, 每小时采集砂柱进水和出水样品, 采样体积分别为 10 mL。

使用气相色谱仪 (Agilent6890N) 分析乙醇, 用离子色谱仪 (DIONEX ICS-1000 IC) 分析硝酸盐和亚硝酸盐, 用德国产的 WTW 仪器 (Multi 3420) 分析溶解氧、pH、温度, 用德国默克化工生产的 Calcium-test 和 Alkalinity-test 检测测试药剂和测试重碳酸根浓度, 由 GGUN-FL 荧光检测仪自动监测荧光素钠示踪剂浓度。各物质的检测下限分别为: 乙醇 0.1 mg·L<sup>-1</sup>, 硝酸盐 0.1 mg·L<sup>-1</sup>, 亚硝酸盐 0.01 mg·L<sup>-1</sup>, 重碳酸根 1 mg·L<sup>-1</sup>, 荧光素钠 0.001 mg·L<sup>-1</sup>。气相色谱仪和离子色谱仪的检测方法见文献 (陈余道等, 2014)。

主体实验期间, 在出水口 P8 采集水样 1 L, 用来检测微生物丰度。用荧光定量 PCR 仪 (CFX Manager 2.1 Bio-rad, Hercules, 美国) 测定单位水体积中 16S rRNA 和 *nirK* 基因拷贝数, 分别作为总细菌 (Yaoa *et al.*, 2006) 和反硝化细菌 (Henry *et al.*, 2004) 的指示丰度。

## 3 结果与讨论 (Results and discussion)

主体实验持续 2184 h (91 d), 合计向管道中投

注溶液体积为 101.62 L,与出水体积 100.45 L 和管道沿途取样体积 1.17 L 之和持平.投注溶液中溶解氧、硝酸盐和乙醇浓度变化如图 2 所示.由图可知,

溶解氧浓度变化较平稳,平均达  $8.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;硝酸盐和乙醇浓度具有人为的波动,平均值分别达  $99.1$  和  $285.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .其中,乙醇投注时间为第 156~1488 h.

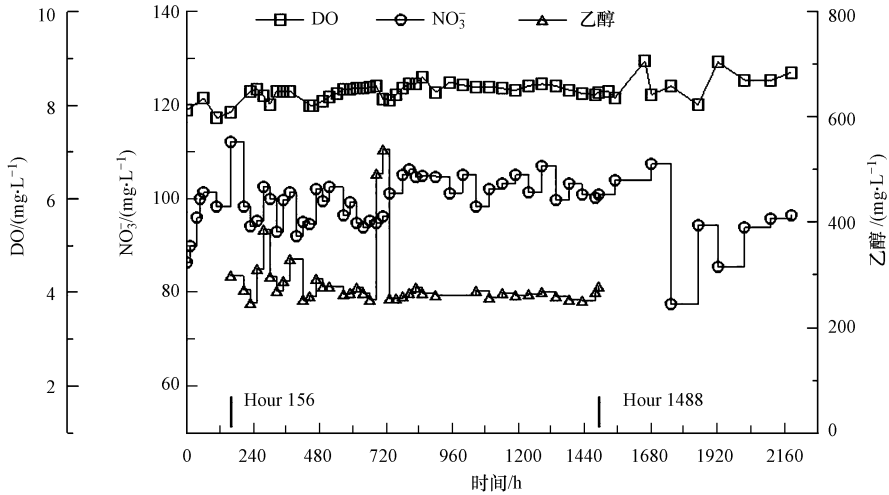


图 2 进水中 DO、NO<sub>3</sub> 和乙醇的浓度变化

Fig.2 Concentrations of DO, nitrate and ethanol in the influent

3.1 反应物质量衰减及其产物

投注溶液沿管道迁移至出口,其组分在出水中表

现出了不同程度的浓度-质量变化.首先,溶解氧和硝酸盐浓度在添加碳源后均发生了显著变化(图3),

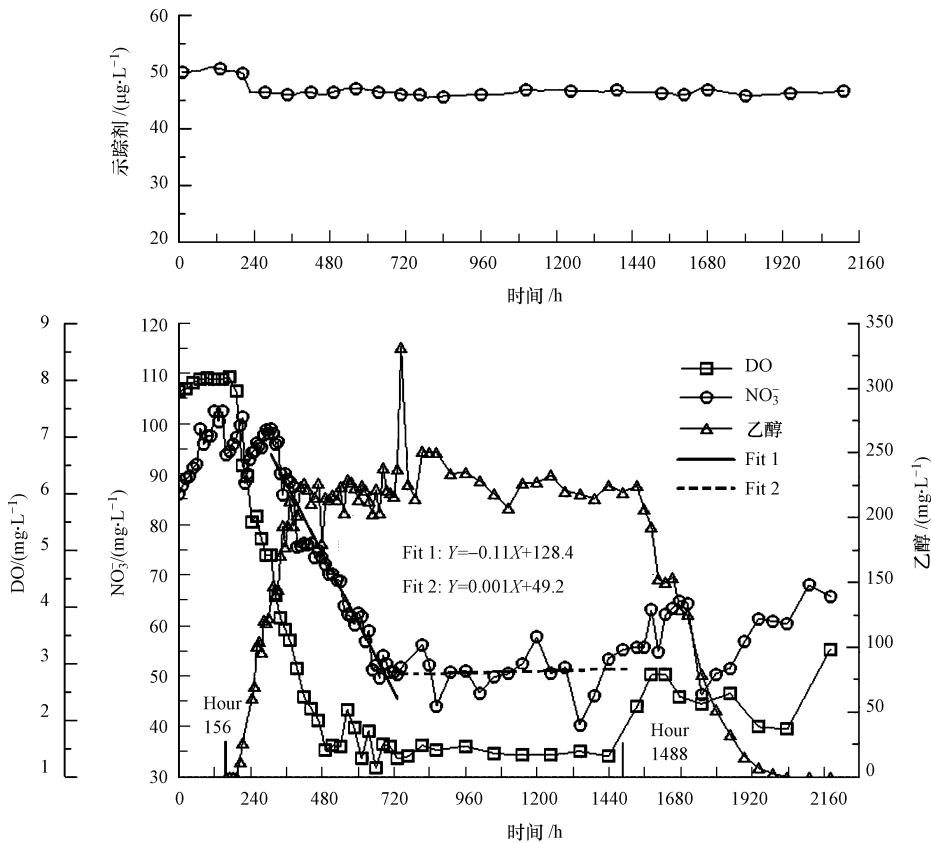


图 3 出水中投注组分的浓度变化 (Y 表示硝酸盐浓度 ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), X 表示时间 (h))

Fig.3 Concentration changes of the injected solutes in the effluent

它们的浓度检出范围分别为  $8.1 \sim 1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $102.6 \sim 40.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。相比之下,作为非反应示踪剂,荧光素钠浓度变化很小,范围为  $45.5 \sim 51.6 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在添加碳源前(0~155 h),溶解氧和硝酸盐的出水浓度与进水浓度相近,变化小;随着碳源的持续添加,出水中乙醇浓度逐渐增加并相对稳定,而溶解氧和硝酸盐浓度则相继急剧下降。其中,硝酸盐浓度的下降速率达到  $0.114 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (图 3 Fit 1),硝酸盐在第 732~1548 h 期间平均浓度为  $49.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;溶解氧在第 456~1488 h 期间的平均浓度为  $1.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

其次,溶解氧和硝酸盐的质量也出现了显著变化(表 2)。添加碳源前(0~155 h),进水和出水中硝酸盐和溶解氧的质量变化很小,相对误差分别为 1.53% 和 0.83%;持续添加碳源期间(156~1488 h),出水中硝酸盐质量比进水质量减少 39.4%,溶解氧质量减少 70.2%,而乙醇质量也减少 34.1%。

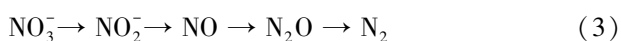
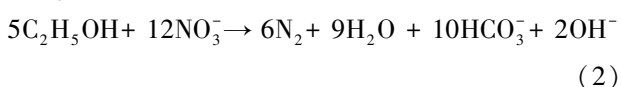
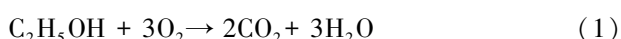
表 2 溶解氧、硝酸盐和乙醇在进、出水中的质量变化统计

Table 2 Mass estimations of DO, nitrate and ethanol in the influent and effluent

组分	实验时段/h	进水中质量/mg	出水中质量/mg	质量减少率	备注
溶解氧	0~155	60.5	61.0	-0.83%	
	156~1488	531.9	158.5	70.2%	+
硝酸盐	0~155	743.3	731.9	1.53%	
	156~1488	6706.4	4062.9	39.4%	+
乙醇	0~155	0	0		
	156~1488	19251.0	12696.5	34.1%	+

注:管道 P2~P7 处水样带来的质量损失被累计到出水质量中;+ 表示期间有碳源添加。

对照示踪剂的浓度变化,出水中溶解氧和硝酸盐出现了浓度下降与质量衰减过程,这与碳源的添加有密切联系。由此可以认为,这些物质之间发生了化学反应,即存在乙醇被氧化和被反硝化的过程。乙醇作为碳源,也是电子供体,氧气和硝酸盐作为电子受体,微生物获得碳源和能源。反应过程可以用下列关系概括:



实验中对反应产物包括亚硝酸盐和重碳酸根的监测也能证明上述反应的存在。如图 4 所示,在添加碳源后,反应生成的二氧化碳导致出水重碳酸盐

浓度快速增加,最高达  $186 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;亚硝酸盐成为反硝化作用的中间产物,最高浓度达到  $5.24 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

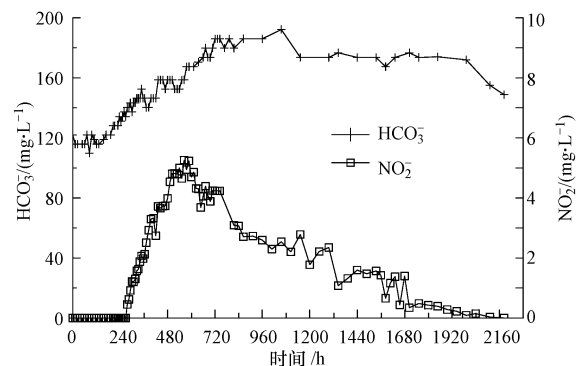


图 4 亚硝酸盐和重碳酸根的浓度变化

Fig.4 Concentration changes of nitrite and bicarbonate ion

除了地球化学信息外,实验中期(约第 960 h)管道水样的微生物检测得出,总细菌丰度(16S rRNA 基因丰度)为  $2.96 \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ ,反硝化菌丰度(*nirK* 基因丰度)为  $6.23 \times 10^6 \text{ copies} \cdot \text{L}^{-1}$ ,其比值(*nirK*/16S rRNA)为 21.05%,表明管道水中存在大量的微生物,包括反硝化菌。但反硝化菌占总细菌数的比例不足 25%。

### 3.2 反硝化作用的有限性

有趣的是,主体实验出现了一个以前多孔介质实验中没有发生的现象,也就是在可利用碳源充足条件下硝酸盐没有得到完全去除。从图 3 可以看出,硝酸盐浓度在第 1548 h 后没有持续下降,而是开始了上下波动。通过线性拟合这组波动数据,可以得出一个近水平的线性方程(图 3 Fit 2),斜率为 0.001,截距为 49.2。质量统计(表 2)也表明,在持续添加碳源期间(156~1488 h)硝酸盐质量减少率仅为 39.4%。

在以前的辅助实验中,尽管硝酸盐投注的目标浓度( $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )比主体实验( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )高,乙醇浓度( $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )比主体实验( $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )低,但硝酸盐去除率、去除速率都大于主体实验。多孔介质中硝酸盐浓度呈未检出水平,去除率大于 99%,反硝化动力学速率达  $10.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (图 5)。对比这些数据表明,即使在碳源充足条件下,碳酸盐岩管道中反硝化作用也受到了明显的约束。

### 3.3 影响反硝化作用的因素

由于地下环境普遍存在反硝化菌,通常能够影响反硝化作用效果的因素除了可利用电子供体(碳源)和电子受体浓度外,还有环境条件,如温度、pH

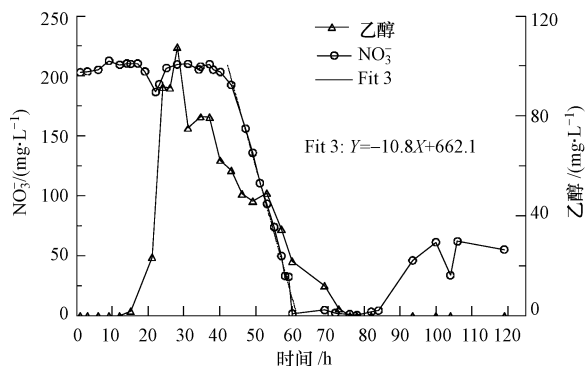


图5 辅助实验中的硝酸盐和碳源乙醇的浓度变化( $Y$ 表示硝酸盐浓度( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), $X$ 表示时间( $\text{h}$ ))

Fig.5 Concentrations of nitrate and ethanol in the assistant experiment

值、营养物和介质空隙大小等(Rivett *et al.*, 2008).对于硝酸盐污染的情形,硝酸盐本身就是电子受体,浓度高.下面将从碳源、溶解氧和环境因素方面进行讨论.

**3.3.1 碳源(电子供体)** 一个氧化还原反应缺乏可利用电子供体,反应是不能进行的,这也是限制反硝化作用的固有因素.从本次研究可以看出,没有碳源,反硝化作用去除硝酸盐的效果不明显,一旦添加了碳源,硝酸盐被去除的效果明显增加.

**3.3.2 溶解氧的影响** 作为自然环境中的电子受体, $\text{O}_2$ 具有比其它电子受体(如 $\text{NO}_3^-$ )更强的争夺电子供体的能力. $\text{O}_2$ 转化为 $\text{H}_2\text{O}$ 的氧化还原电位 $E_h$ 值为 $+0.805\text{ V}$ ,而硝酸盐转化为 $\text{N}_2$ 和 $\text{NO}_2^-$ 的 $E_h$ 分别为 $+0.712\text{ V}$ 和 $+0.404\text{ V}$ (Wiedemeier *et al.*, 1999).在电子供体的利用上,需氧呼吸优先,其次为反硝化呼吸.

由于岩溶地下河系统的开放性及与地表水密切的水力联系,水体中的溶解氧含量通常很高,比如,桂林寨底地下河出口处的溶解氧为 $8.0\sim 8.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .本次研究表明,溶解氧衰减的启动时间比硝酸盐早,明显下降的时间分别为第 $192\sim 212\text{ h}$ 和第 $384\sim 396\text{ h}$ (图3),图6也表明在水流路径上溶解氧浓度降低比硝酸盐提前,首先在上游P2取样点出现了溶解氧和乙醇浓度的降低,然后在下游P4取样点才出现硝酸盐浓度的降低.

溶解氧对反硝化作用的影响体现在利用优先碳源上.可以设想,如果本次实验添加的碳源有限,就可能出现碳源被需氧呼吸消耗而反硝化不能启动的情形.然而,当碳源相对富余时,溶解氧被利用使得浓度下降到一定程度,反硝化作用将启动.在主

体实验中,硝酸盐浓度明显降低时,溶解氧浓度大约为 $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ .

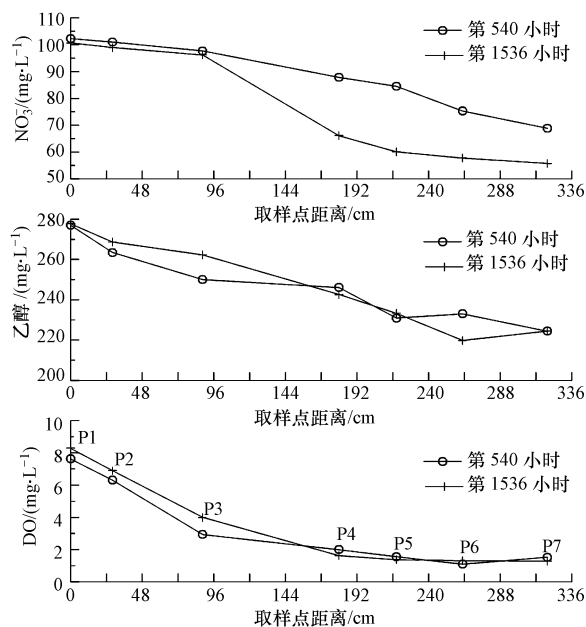


图6 溶解氧、硝酸盐和乙醇浓度沿水流路径的变化

Fig.6 Concentration changes of DO, nitrate and ethanol along the flow path

**3.3.3 环境因素 温度、pH 和营养物的影响:**主体实验进、出水温度为 $16.5\sim 25.0\text{ }^\circ\text{C}$ ,进水pH值平均为 $8.08$ ,出水pH值平均值为 $7.89$ .这些值与我国南方岩溶地下水体特征值基本一致,不会影响微生物的代谢生长.对于营养物,氮素本身也是营养成分.因此,相对于溶解氧和碳源缺失这两个因素,真实岩溶地下河中环境因素对反硝化的影响可以忽略.

空隙固体表面积和水体积比值的影响:岩溶地下河常被看成是管道流,在储水空间大小方面与多孔介质有显著差别.管道储水空间大,单位体积内固体表面积比多孔介质颗粒表面积小,或者说,固体表面积和水体积比值较小.根据已有文献,Harvey等(1984)认为不管是在污染含水层还是在未污染含水层,大部分细菌是附着在固体颗粒表面的;Lehman等(2001)也认为附着在颗粒表面的生物量达到 $99\%$ .由此推测,岩溶地下河管道内生物量密度要比多孔介质环境低,从而影响了管道内的反硝化作用,使得管道内硝酸盐去除率较低.

#### 4 结论(Conclusions)

1) 碳酸盐岩管道中存在反硝化作用的潜能,通

过反硝化菌的代谢可以去除水体中的硝酸盐.碳源是反硝化作用首要的影响因素,没有可利用电子受体意味着反硝化作用难以出现.

2)碳酸盐岩管道流与多孔介质流不同:即使碳源充足的情况下,反硝化作用程度也会受到限制,硝酸盐去除仍然是有限的.其原因主要与管道空隙固体表面积与水体积比值小、管道流存在丰富的溶解氧有关,而地下河系统中其它环境因素(如 pH 值和温度)影响不明显.

#### 参考文献(References):

- Carrey R, Otero N, Vidal-Gavilan G, *et al.* 2014. Induced nitrate attenuation by glucose in groundwater: Flow-through experiment [J]. *Chemical Geology*, 370: 19-28
- 陈余道,程亚平,王恒,等. 2013. 岩溶地下河管道流和管道结构及参数的定量示踪——以桂林寨底地下河为例[J]. *水文地质工程地质*, 40(5):8-12
- 陈余道,宋晓薇,蒋亚萍,等. 2014. 岩溶地下河系统石灰石对 BTEX 的吸附动力学和热力学[J]. *地学前缘*, 21(4):180-185
- Chen Y, Jiang Y, Zhu Y, *et al.* 2013. Fate and transport of ethanol blended dissolved BTEX hydrocarbons: A quantitative tracing study of a sand tank experiment [J]. *Environmental Earth Science*, 70(1): 49-56
- Chen Y D, Barker J F, Gui L. 2008. A strategy for aromatic hydrocarbon bioremediation under anaerobic conditions and the impacts of ethanol: A microcosm study [J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 96(1): 17-31
- Goldscheider N, Meiman J, Pronk M, *et al.* 2008. Tracer tests in karst hydrogeology and speleology [J]. *International Journal of Speleology* 37(1):27-40
- 郭芳,姜光辉,裴建国,等. 2002. 广西主要地下河水质评价及其变化趋势[J]. *中国岩溶*, 21(3):195-201
- Gómez M A, González-López J, Hontoria-García E. 2000. Influence of electron donor on nitrate removal of contaminated groundwater in a denitrifying submerged filter[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 80(1): 69-80
- Harvey R W, Smith R L, George L. 1984. Effect of organic contamination upon microbial distributions and heterotrophic uptake in a Cape Cod, Mass., aquifer [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(6):1197-1202.
- Henry S, Baudoin E, López-Gutiérrez J C, *et al.* 2004. Quantification of denitrifying bacteria in soils by *nirK* gene targeted real-time PCR [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 59(3): 327-335
- Her J J, Huang J S. 1995. Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough [J]. *Bioresource Technology*, 54(1): 45-51
- Jiang Y, Wu Y, Yuan D. 2009. Human impacts on Karst groundwater contamination deduced by coupled nitrogen with strontium isotopes in the Nandong subterranean river system in Yunan, China [J]. *Environmental Science Technology*, 43(20):7676-7683
- Lehman R M, Colwell F S, Bala G A. 2001. Attached and unattached microbial communities in a simulated basalt aquifer under fracture- and porous-flow conditions [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(6):2799-2809
- Li S L, Liu C Q, Lang Y C, *et al.* 2010. Tracing the sources of nitrate in karstic groundwater in Zunyi, Southwest China: a combined nitrogen isotope and water chemistry approach [J]. *Environmental Earth Science*, 60(7):1415-1423
- Liu C Q, Li S L, Lang Y C, *et al.* 2006. Using  $\delta^{15}\text{N}$ - and  $\delta^{18}\text{O}$ -values to identify nitrate sources in Karst ground water, Guiyang, Southwest China [J]. *Environmental Science Technology*, 40(22):6928-6933
- Rivett M O, Buss S R, Morgan P, *et al.* 2008. Nitrate attenuation in groundwater: A review of biogeochemical controlling processes [J]. *Water Research*, 42(16): 4215-4232.
- 宋晓薇,蒋亚萍,陈余道,等. 2013. 2种生物反硝化法去除地下水中硝酸盐的研究[J].*环境科学与技术*,36(5):108-111
- Salminen J M, Petäjäjärvi S J, Tuominen S M, *et al.* 2014. Ethanol-based in situ bioremediation of acidified, nitrate-contaminated groundwater [J]. *Water Research*, 63: 306-315
- Wiedemeier T H, Wilson J H, Kampbell D H. 1999. Technical protocol for implementing intrinsic remediation with long-term monitoring for natural attenuation of fuel contamination dissolved in groundwater, vol 1 [R]. San Antonio: TX Air Force Center for Environmental Excellence, Technology Transfer Division Brooks AFB
- 王珍,张增强,唐次来,等.2008.生物-化学联合法去除地下水中硝酸盐[J].*环境科学学报*, 28(9):1839 -1847
- 薛禹群,张幼宽. 2009.地下水污染防治在我国水体污染控制与治理中的双重意义[J].*环境科学学报*, 29(3): 474-481
- Yao S, Merwina I A, Abawib G S, *et al.* 2006. Soil fumigation and compost amendment alter soil microbial community composition but do not improve tree growth or yield in an apple replant site [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(3): 587-599
- 袁道先,薛禹群,傅家谟,等, 2007.防止我国西南岩溶地区地下河变成“下水道”的对策与建议[Z].,中国科学院院士建议,(4): 1-14