

DOI:10.3876/j.issn.1000-1980.2015.06.011

铁细菌 A 生物修复铅铜污染土壤

许朝阳,柏庭春,孟 涛,周 锋,吕 惠,庞一山

(扬州大学建筑科学与工程学院,江苏 扬州 225009)

摘要:为改善生物修复重金属污染土壤的方法,利用铁细菌 A 代谢作用形成的铁基络合物对 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 污染土进行生物修复。采用不同灌浆方式研究修复效果;借助扫描电镜 (SEM)、X 射线衍射 (XRD)、傅里叶转换红外光谱 (FTIR) 等方法对铁基络合物的组成和结构进行分析与表征,分析重金属的沉积机理。结果表明:1 次生物灌浆后有效态 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 含量分别减少 64.6%~70.4% 和 47.6%~49.2%,2 次灌浆后分别减少 75.1%~85.5% 和 73.3%~78.9%;微区分析显示,铁基络合物晶形较差,但含有具有优异絮凝效能、较大比表面积的施氏矿物及碱式磷酸铁等物质。铁基络合物通过吸附和共沉作用实现了对污染环境中重金属的固定。

关键词:铁细菌 A;重金属污染; Pb^{2+} 污染土; Cu^{2+} 污染土;生物修复;铁基络合物;吸附作用;共沉作用

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1000-1980(2015)06-0569-005

Bioremediation of soil contaminated by Pb^{2+} or Cu^{2+} using iron bacteria A

XU Zhaoyang, BAI Tingchun, MENG Tao, ZHOU Feng, LYU Hui, PANG Yishan

(College of Civil Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: In order to improve the method for bioremediation of soil contaminated by heavy metals, iron-based complexes produced by the metabolism of iron bacteria A were used to remediate soil contaminated by Pb^{2+} or Cu^{2+} . The effects of bioremediation through different grouting methods were investigated. Methods including scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) were used to identify the composition and structure of iron-based complexes and to analyze the deposition mechanism of heavy metals. Results showed that the concentrations of available Pb^{2+} and Cu^{2+} in soil decreased by 64.6% to 70.4% and 47.6% to 49.2%, respectively, after one round of bio-grouting, and decreased by 75.1% to 85.5% and 73.3% to 78.9%, respectively, after two rounds of bio-grouting. Microscopy analyses showed that the iron-based complexes, which contained schwertmannite and Ferrum oxydatum phosphate, as well as other substances with excellent flocculation efficiency and large specific surface area, had poor crystalline form, but could fix heavy metals in a contaminated environment through adsorption and co-precipitation.

Key words: iron bacteria A; heavy metal pollution; soil contaminated by Pb^{2+} ; soil contaminated by Cu^{2+} ; bioremediation; iron-based complexes; adsorption; co-precipitation

土壤重金属污染在世界范围内广泛存在且日趋严重^[1],根据《全国土壤污染状况调查公报》,我国土壤总污染物超标率为 16.1%,耕地占其中 19.4%,主要污染物以无机型为主,铜、铅点位超标率分别为 2.1%、1.5%^[2],环境质量堪忧,因此治理重金属污染已刻不容缓。

利用传统的物理化学方法处理重金属污染通常存在高能耗、治理规模小且易造成二次污染等缺点,而植物修复技术受环境影响大、生长周期过长和活化重金属能力有限等方面的制约^[3]。21 世纪以来,微生物修

收稿日期:2014-12-12

基金项目:国家自然科学基金(51278446)

作者简介:许朝阳(1971—),女,江苏扬州人,副教授,博士,主要从事岩土工程地基处理、数值计算等研究。E-mail:zhaoyang_xu@aliyun.com

复技术在治理重金属污染方面展示出处理周期短、投资少、效率高、无二次污染等方面的优势。

国内外研究表明,微生物对重金属的修复机理主要有以下 2 种^[4]:(a)生物吸附,微生物通过分泌的多糖、蛋白质或生物多聚体等作为生物吸附剂,将重金属离子富集在细胞内部或表面。Pulsawat 等^[5]利用胞外聚合物 ESP 固定 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Mg^{2+} ,得到良好的生物吸附效果。(b)生物转化,包括氧化还原、络合配位等,通过矿化、共价转化、固定等改变重金属的形态,从而降低其生态毒性。利用微生物诱导的碳酸盐矿物修复重金属污染,如铅、铜、锌、铬以及放射性元素锶、钡等已取得明显成效^[6-10]。然而微生物修复技术在工业化应用中仍面临着技术要求较高、复合型污染、生态安全等诸多问题,同时修复机理尚未完全探明,仍存在很多问题需要解决。

研究表明,从土壤中分离出的铁细菌 A 通过自身酶化代谢作用能形成具有较大吸附性和反应活性的铁基络合物^[11]。笔者利用铁基络合物吸附、固定污染土壤环境中的 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} ,使其从有效态转变为稳定态,从而达到修复环境中重金属污染的目的。

1 试验方法

1.1 铁细菌 A 的培养及生长过程监测

铁细菌 A 培养基每升含有柠檬酸铁铵 10 g、硫酸镁 0.5 g、硫酸亚铁铵 0.5 g、磷酸氢二钾 0.5 g、氯化钙 0.2 g、硝酸钠 0.5 g,pH 为 6.8~7.0。目标菌株在 18~35 ℃ 环境中发生代谢作用,最终形成具有很大反应活性和吸附性的铁基络合物,具体过程见文献[11]。

图 1 为 30 ℃ 时利用稀释平板计数法记录的铁细菌 A 生长曲线,培养 3 d 后细菌开始大量繁殖,呈几何级数增长,随后经过 2 d 指数期繁殖后菌株浓度可达 1.2×10^9 个/mL。静置 3 d 后菌液出现明显分层,铁基络合物逐渐沉积,后期继续提供营养,沉积物数量将持续增加,说明菌株的代谢环境不会因为沉积作用而破坏,该菌的这种生理特点为实现重复灌浆修复重金属污染土壤提供了条件。

1.2 液体沉积试验

为了能清晰观测到铁细菌沉积重金属的过程,便于分析沉积机理,首先进行液体试验。选取 300 mL 锥形瓶 2 个,编号为 I、II,I 号瓶中加入 0.024 mol/L $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液 50 mL 和 250 mL 培养 3 d 的菌液,II 号瓶中加入 0.064 mol/L CuSO_4 溶液 50 mL 和 250 mL 培养 3 d 的菌液。图 2 为菌液与 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液混合后的变化过程,菌液与 CuSO_4 溶液混合后的变化过程类似。将沉积物过滤、风干,以傅里叶转换红外光谱(FTIR)、X 射线衍射(XRD)分析沉积物的物相组成。

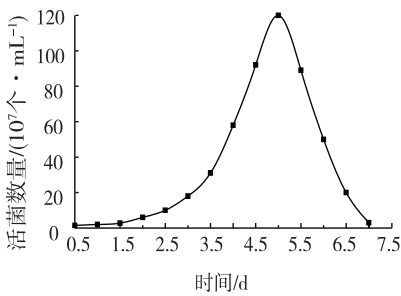
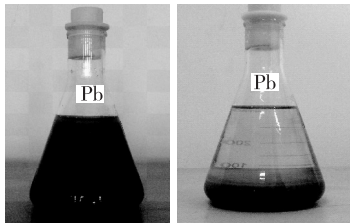


图 1 铁细菌 A 生长曲线

Fig. 1 Growth curve of iron bacteria A



(a) 混合 1 d (b) 混合 7 d

图 2 菌液与 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液混合后的变化过程

Fig. 2 Changing process of bacteria solution after mixing with $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ solution

1.3 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 污染土壤的修复

1.3.1 污染土模拟

原土样采自长江中下游常见粉土,其基本理化性质:pH(1:2.5 土水比)为 6.3~6.5,阳离子交换量为 17.54 cmol/kg,有机质、全氮、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 的质量比分别为 10.89 g/kg、0.67 g/kg、2.37 mg/kg、5.89 mg/kg。污染土采用土中均匀掺入重金属溶液制得,土中重金属的含量根据 GB 15618—1995《土壤环境质量标准》^[12] 三级标准放大约 2 倍,并考虑菌株对该重金属的耐受性取值。含 Pb^{2+} 污染土和含 Cu^{2+} 污染土是采用原土样中分别掺入 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 和 CuSO_4 溶液制备而成,其中 Pb^{2+} 污染土中有效态 Pb^{2+} 总质量比为 1003.28 mg/kg,

Cu²⁺ 污染土中 Cu²⁺ 总质量比为 825.95 mg/kg。

1.3.2 污染土的修复

制取 Pb²⁺、Cu²⁺ 污染土若干,平均分为 3 组,拟采用 3 种不同方法进行修复:F-1,将 250 mL 培养 3 d 的菌液一次性均匀加入到 250 g 污染土中,30℃ 条件下静置 10 d;F-2,方法同 F-1,待土样风干后,再次添加 250 mL 菌液进行二次修复;F-3,将 250 mL 灭菌后的培养基直接倒入 250 g 污染土。

将上述 3 种方法处理下的土样风干,分别称取 10 g,再加入 20 mL DTPA 提取剂,放入调速多用振荡器中,振荡 2 h 后过 0.45 μm 滤膜过滤。利用 KIIM6 型原子吸收分光光度计,与 Pb、Cu 的标准曲线对照,检测滤液中 Pb²⁺、Cu²⁺ 浓度,分析处理前后污染土壤中有效态 Pb²⁺、Cu²⁺ 含量。

2 试验结果与分析

2.1 Pb²⁺、Cu²⁺ 污染修复评价

表 1 为 5 个批次 3 种方法处理前后土壤有效态 Pb²⁺、Cu²⁺ 含量测定结果。经 F-2 处理后 Pb²⁺ 污染土 pH 最终在 7.3~7.7 范围内,Cu²⁺ 污染土 pH 最终在 6.9~7.4 范围内。由表 1 可以看出,修复前实测的 Pb²⁺、Cu²⁺ 有效态含量比理论计算值有所减少,Pb²⁺、Cu²⁺ 分别减少 12.84%、9.75%,这与土壤本身可以固定适量重金属有关,在修复评价中以修复前实测值为依据,计算 F-1、F-2、F-3 对 Pb²⁺、Cu²⁺ 的去除效果。

表 1 土壤有效态 Pb²⁺ 和 Cu²⁺ 测定结果

Table 1 Test results of available Pb²⁺ and Cu²⁺ in soil

方法编号	Pb ²⁺ 污染土			Cu ²⁺ 污染土		
	Pb ²⁺ 质量比/(mg·kg ⁻¹)		Pb ²⁺ 去除率/%	Cu ²⁺ 质量比/(mg·kg ⁻¹)		Cu ²⁺ 去除率/%
	修复前	修复后		修复前	修复后	
F-1	874.4	259.0~309.9	64.6~70.4	745.4	378.3~390.5	47.6~49.2
F-2	874.4	126.9~217.7	75.1~85.5	745.4	158.0~199.2	73.3~78.9
F-3	874.4	650.9~754.0	13.8~25.6	745.4	620.9~644.5	13.5~16.7

污染土经过 1 次修复后,有效态 Pb²⁺、Cu²⁺ 去除率分别为 64.6%~70.4% 和 47.6%~49.2%,经过 2 次修复,土中有效态重金属的残留进一步减少,与未处理土壤相比有效态 Pb²⁺ 减少了 75.1%~85.5%、Cu²⁺ 减少了 73.3%~78.9%,因此实践中可采用多次灌浆来逐步降低污染环境重金属有效态含量,使其达到环境排放标准。F-3 处理效果远不如 F-1 和 F-2,说明重金属有效态含量的减少主要与铁细菌 A 代谢过程及产物的吸附作用相关。

2.2 机理分析

2.2.1 XRD 分析

由图 3 中菌株代谢产物的 XRD 图可见,代谢产物晶形较差,以无定形物质为主,但在 26° 和 28° 时也出现 2 个弱峰,说明沉积物中含有部分晶型矿物;与对谱软件标准库中 PDF 卡进行比对,谱图的出峰位置和碱式磷酸铁(Fe₅(PO₄)₄(OH)₃·2H₂O)的 XRD 图中出峰位置一致。碱式磷酸铁具有优异的絮凝效能,可吸附土中的游离阳离子及菌丝等多糖产物,形成团聚结合体下沉。由图 3 中代谢产物与 Pb²⁺ 共沉物(代谢产物与 Cu²⁺ 共沉物与其类似)的 XRD 图谱可见,菌液与重金属共沉作用的产物晶形较差,均以无定形物质为主。

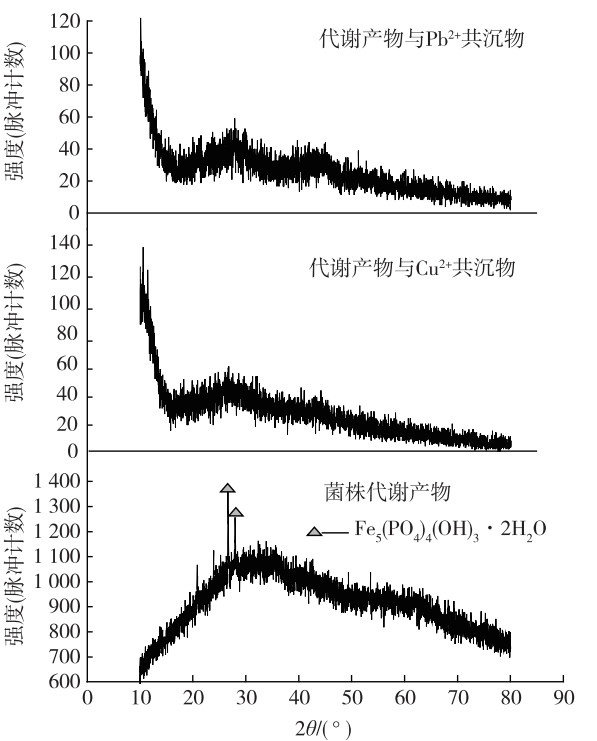


图 3 沉积物的 XRD 图谱
Fig. 3 XRD pattern of sediments

2.2.2 FTIR 分析

利用 FTIR 分析菌株代谢物组成,对其结构进行表征。图 4 为铁基络合物红外光谱图,按照文献[13]对谱图的主要吸收峰进行解读,图 4 在 $3\,391.9\text{ cm}^{-1}$ 处有一个较强、宽的吸收峰,归属于 O—H 的伸缩振动吸收峰,说明铁基络合物中含大量—OH 官能团。由表 2 可知,铁基络合物大部分的吸收峰位置和特征与施氏矿物具有较高的吻合性^[14-15],迄今为止,自然界发现或人工合成的施氏矿物都是无定形或晶形较差,这与 XRD 分析结果一致。

2.2.3 SEM 分析

图 5 为沉积物的 SEM 图。由图 5(a)可以看出,沉积物呈片状分布,结构较松散,无明显的晶体形貌特征;由图 5(b)(c)铁基络合物与重金属离子共沉产物的 SEM 图片可见,其表观与图 5(a)铁基络合物差别较大,大量团聚状态良好且结合紧密的纳米级细小颗粒吸附在片状大颗粒表面,填充了铁基络合物的表面和孔隙,是原铁基络合物和重金属离子团聚结合体。这证实了利用铁细菌 A 的代谢作用及其产物吸附固定游离态 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 的可行性。

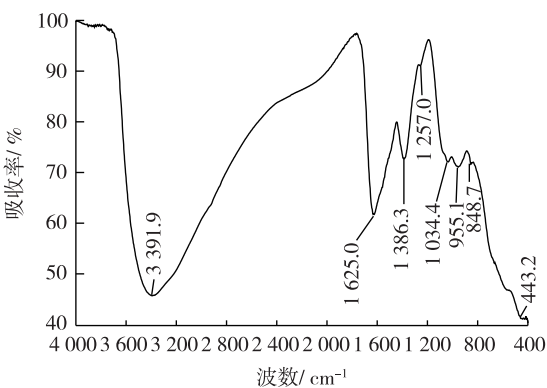
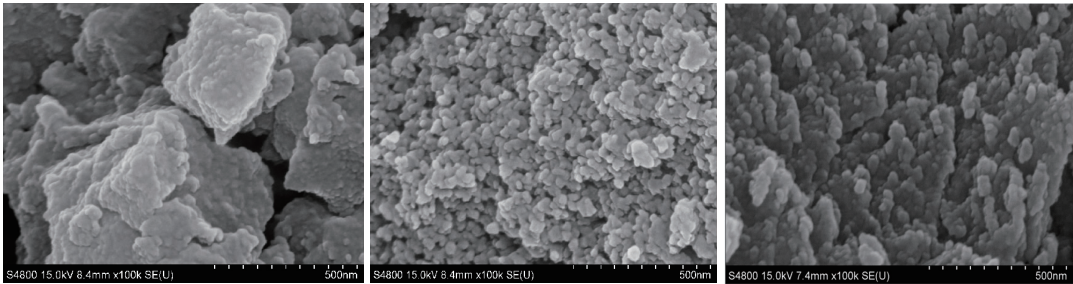


图 4 铁基络合物红外光谱图

Fig. 4 FTIR spectrum of iron-based complexes

表 2 铁基络合物与标准施氏矿物红外光谱吸收峰对比

Table 2 Comparison of infrared spectrum absorbance peaks of iron-based complexes with standard schwertmannite cm⁻¹				
物质	OH ⁻	H ₂ O	SO ₄ ²⁻	FeO ₆ ⁹⁻
标准施氏矿物	3318.0	1629.0	702~1118	432.0
铁基络合物	3391.9	1625.0	848~1034	443.2



(a) 铁基络合物 (b) 铁基络合物与 Pb^{2+} 共沉物 (c) 铁基络合物与 Cu^{2+} 共沉物

图 5 沉积物的 SEM 图

Fig. 5 SEM image of sediments

2.2.4 重金属修复机理分析

重金属的减少可以用吸附、共沉机制来解释。铁细菌 A 可通过自身代谢及酶化作用分解营养物质,产生施氏矿物、碱式磷酸铁等物质,其具有优异的絮凝效能及较大的比表面积($100\sim200\text{ m}^2/\text{g}$),使得菌株代谢物具有较强的表面化学活性和生物吸附性,且其含有的羟基、硫酸根等基团对重金属具有很强的吸持能力^[15-17]。随着菌株代谢过程的进行,代谢物不断吸附重金属,形成稳定的团聚结合体,但营养物质的消耗及重金属的毒性作用加强,导致菌株逐渐死亡,最终通过共沉作用实现对污染环境中重金属的固定。故重金属离子的减少可以解释为铁细菌代谢物与重金属吸附、共沉共同作用的结果。

3 结 论

- a. 模拟污染土壤修复试验表明,采用铁基灌浆可有效降低土中重金属有效态的含量,2 次灌浆修复效果优于 1 次灌浆,因此可通过增加灌浆次数进一步提高重金属处理效果。
- b. XRD、FTIR 以及 SEM 分析结果表明,铁细菌 A 代谢作用形成的铁基络合物晶形较差,含有优异絮凝效能、比表面积较大的施氏矿物和碱式磷酸铁等物质。
- c. 铁基灌浆是通过铁基络合物有效固定土中重金属,并共同沉积为稳定的团聚结合体,使重金属从有效态转变为稳定态。

参考文献:

- [1] 傅国伟. 防控日益严重的水土重金属污染之我见[J]. 水利水电科技进展, 2012, 32(1): 8-12. (FU Guowei. Viewpoints on prevention and control of more and more serious water and soil pollution by heavy metals[J]. Advances in Science and Technology of Water Resources, 2012, 32(1): 8-12. (in Chinese))
- [2] 王玉军, 刘存, 周东美, 等. 客观地看待我国耕地土壤环境质量的现状: 关于《全国土壤污染状况调查公报》中有关问题的讨论和建议[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(8): 1465-1473. (WANG Yujun, LIU Cun, ZHOU Dongmei, et al. A critical view on the status quo of the farmland soil environmental quality in China: discussion and suggestion of relevant issues on report on the national general survey of soil contamination[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2014, 33(8): 1465-1473. (in Chinese))
- [3] 郑君健, 刘杰, 张学洪, 等. 重金属污染土壤植物修复及强化措施研究进展[J]. 广东农业科学, 2013, 40(18): 159-164. (ZHENG Junjian, LIU Jie, ZHANG Xuehong, et al. Research progress of phytoremediation and strengthening measures for soil contaminated by heavy metals[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013, 40(18): 159-164. (in Chinese))
- [4] 薛高尚, 胡丽娟, 田云, 等. 微生物修复技术在重金属污染治理中的研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(11): 266-271. (XUE Gaoshang, HU Lijuan, TIAN Yun, et al. Research progress on microbial remediation of controlling heavy metal pollution [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2012, 28(11): 266-271. (in Chinese))
- [5] PULSAWAT W, LEKSAWASDI N, ROGERS P L, et al. Anions effects on biosorption of Mn (II) by extracellular polymeric substance (EPS) from *Rhizobium etli* [J]. Biotechnology Letters, 2003, 25: 1267-1270.
- [6] FUJITA Y, FERRIS E G, LAWSON R D, et al. Calcium carbonate precipitation by ureolytic subsurface bacteria [J]. Geomicrobiology Journal, 2000, 17: 305-318.
- [7] FUJITA Y, REDDEN G D, INGRAM J C, et al. Strontium incorporation into calcite generated by bacterial ureolysis [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2004, 68: 3261-3270.
- [8] 钱春香, 许燕波, 胡黎明, 等. 一种微生物固结污染体系中 Cu^{2+} 的研究[J]. 环境科学与技术, 2011(增刊2): 33-36. (QIAN Chunxiang, XU Yanbo, HU Liming, et al. Study on Cu^{2+} in Contaminated System Mineralized by Bacteria[J]. Environmental Science & Technology, 2011(Sup2): 33-36. (in Chinese))
- [9] 许燕波, 钱春香, 陆兆文. 微生物矿化修复铅离子污染的研究[J]. 化工时刊, 2012, 26(6): 14-17. (XU Yanbo, QIAN Chunxiang, LU Zhaowen. Study on Pb^{2+} mineralized by bacteria for remediation[J]. Chemical Industry Times, 2012, 26(6): 14-17. (in Chinese))
- [10] 李萌, 郭红仙, 程晓辉. 土壤中产脲酶微生物分离及对重金属的固化[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(14): 3280-3282. (LI Meng, GUO Hongxian, CHENG Xiaohui. Isolation of urease producing bacteria from soil and its mineralization on heavy metal [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2013, 52(14): 3280-3282. (in Chinese))
- [11] 许朝阳, 马耀仁, 吕惠, 等. 铁基灌浆对粉土特性影响试验研究[J]. 建筑科学, 2014, 30(3): 44-47. (XU Zhaoyang, MA Yaoren, LYU Hui, et al. Laboratory tests on the improvement of characteristics of silt using iron bacteria[J]. Building Science, 2014, 30(3): 44-47. (in Chinese))
- [12] GB 15618—1995 土壤环境质量标准[S].
- [13] 孙振亚, 祝春水, 陈和生. 几种不同类型的 FeOOH 吸附水溶液中铬离子研究[J]. 岩石矿物学杂志, 2003, 22(4): 352-354. (SUN Zhenya, ZHU Chunshui, CHEN Hesheng. A comparative study of the adsorption of chromium on five different types of FeOOH [J]. Acta Petrologica et Mineralogica, 2003, 22(4): 352-354. (in Chinese))
- [14] REGENSPURG S, BRAND A, PEIFFER S. Formation and stability of schwertmannite in acid mining lakes[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2004, 68(6): 1185-1197.
- [15] 周顺桂, 周立祥, 陈福星. 施氏矿物 Schwertmannite 的微生物法合成、鉴定及其对重金属的吸附性能[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(2): 367-370. (ZHOU Shungui, ZHOU Lixiang, CHEN Fuxing. Characterization and heavy metal adsorption properties of Schwertmannite synthesized by bacterial oxidation of ferrous sulfate solutions [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2007, 27(2): 367-370. (in Chinese))
- [16] 夏远亮, 焦炜, 王志军, 等. 碱性磷酸铁复合络合物形态分布的研究[J]. 哈尔滨师专学报, 1998(2): 150-152. (XIA Yuanliang, JIAO Wei, WANG Zhijun, et al. Study on morphological distribution of complex polymeric ferrum oxydatum phosphate[J]. Journal of Harbin Teachers College, 1998(2): 150-152. (in Chinese))
- [17] 田宝珍, 汤鸿霄. $\text{Fe}(\text{III})$ 水解过程中无机阴离子的影响作用[J]. 环境化学, 1993, 12(5): 365-372. (TIAN Baozhen, TANG Hongxiao. The effect of inorganic anions on the hydrolysis process of $\text{Fe}(\text{III})$ solution [J]. Environmental Chemistry, 1993, 12(5): 365-372. (in Chinese))