

生物修复 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 污染土的稳定性^{*}

许朝阳 杨 贺 黄建璋 李章彦 王海波
(扬州大学建筑科学与工程学院, 江苏扬州 225009)

摘 要: 微生物诱导碳酸盐沉积 (MICP) 技术可用于地基加固和污染土修复, 由于其良好的效果, 日益受到了人们的关注。MICP 过程中通过吸附固定重金属, 对污染土起修复作用, 但实践中对 MICP 修复污染土的长期稳定性还研究较少。通过测定不同酸液、冻融循环条件下修复土中可交换态重金属的改变量发现: 污染土经 3 次生物修复后, 铜、铅可交换态含量分别降低了 74.8% ~ 79.4% 和 91.3% ~ 93.2%; 在冻融循环下, 可交换态重金属含量仅有小幅增加, 但在酸性溶液中, 修复土中可交换态重金属的含量随 pH 值的减小而增大, 在 pH 值为 2.5 的模拟硝酸型酸雨溶液中, 可交换态铜、铅含量分别平均增加了 27.2% 和 23.6%, 故强酸环境对修复土的稳定性影响较大。

关键词: 微生物诱导碳酸盐沉积; Cu^{2+} 污染土; Pb^{2+} 污染土; 修复稳定性; 冻融循环; 酸性溶液

DOI: 10.13204/j.gyjz201807006

STABILITY OF BIOREMEDIATED SOIL CONTAMINATED BY Cu^{2+} OR Pb^{2+}

XU Zhaoyang YANG He HUANG Jianzhang LI Zhangyan WANG Haibo
(College of Civil Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Microbially induced calcite precipitation (MICP) applied to improvement soil and remediation of polluted soil has increasingly been paying attentions due to the good effects of reinforcement and remediation of contaminated soil. Calcium carbonate precipitation can remediate soil contaminated by heavy metals through adsorption and immobilization. However, less research has been done on stability of bioremediated soil by MICP in practice. The changes of exchangeable heavy metal content were measured under different acidity and freezing and thawing cycle conditions. It was found that the removal efficiency of Cu^{2+} was 74.8% ~ 79.4% after bioremediation three times and the removal efficiency of Pb^{2+} was 91.3% ~ 93.2%. The exchangeable heavy metal content increased slightly under freezing and thawing cycle condition. But in acidic solution, the content of exchangeable heavy metals in the remediation soil increased with the decrease of pH value. In nitric acid rain solution (pH = 2.5), the content of exchangeable copper increased by an average of 27.2% and lead increased by 23.6%. Therefore, the strongly acidic condition had a great influence on the stability of bioremediated soil.

Keywords: MICP; soil contaminated by Cu^{2+} ; soil contaminated by Pb^{2+} ; stability of remediation; freezing and thawing cycle; acidic solution

土壤重金属污染在我国广泛存在且日趋严重^[1]。根据《全国土壤污染状况调查公报》,我国土壤总的污染物超标率为 16.1%,以无机型为主,其中铜、铅点位超标率分别为 2.1% 和 1.5%^[2],因此寻找经济有效的方法治理土壤重金属污染已刻不容缓。

近来,微生物诱导碳酸盐沉淀 (MICP) 技术作为一种新兴的土壤重金属污染修复技术日益受到关注。MICP 依靠微生物代谢生物酶,有效地促进碳酸根离子的产生并诱导碳酸盐在土中的沉积。已有的生物诱导技术中有产脲酶矿化菌、碳酸酐酶矿化菌、反硝化细菌、铁盐还原细菌、硫酸盐还原细菌

等^[3-4],其中碳酸酐酶矿化菌、铁盐及硫酸盐还原细菌在代谢矿化过程中,并无脲酶的产生,在与环境中的金属离子结合过程中,形成碳酸盐的沉淀。在碳酸盐沉积的过程中,重金属离子被吸附固定,从而使重金属在土壤中的生物利用度降低。国内外许多学者利用 MICP 技术对重金属污染土进行了修复研究,取得了良好的效果。Achal 等的研究^[5-7]表明:

^{*} 国家自然科学基金项目(51278446);江苏省前瞻性联合研究项目(BY2016069-05)。

第一作者:许朝阳,女,1971 年出生,博士研究生,教授。

电子信箱: zhaoyang_xu@aliyun.com

收稿日期: 2017-12-01

MICP 技术可显著降低土壤中重金属可交换态含量,增加碳酸盐结合态含量,并可有效固定污染土中 96.9% 的砷、95% 的铜和 80% 的镉。Kumari 等研究了低温环境下 MICP 对镉污染土的修复效果,结果表明:在较低温度(10 ℃)条件下,MICP 方法仍可有效固定污染土中 90% 以上的镉^[8]。Pan 等发现在 MICP 过程中,重金属离子可以被方解石包裹,从而达到固定效果^[9]。钱春香等的研究^[10-11]表明:利用微生物矿化方法,铜离子和镉离子的有效固定率分别可达 83% 和 91%。王新花等分析了 pH 值、 Pb^{2+} 和 Ca^{2+} 浓度对产脲酶菌(*P. Stutzeri*) 生长及去除 Pb^{2+} 的影响,试验^[12]表明: Pb^{2+} 会抑制细菌生长,而 Ca^{2+} 可以缓解 Pb^{2+} 对细菌生长的抑制作用,该菌可耐受较高浓度的 Pb^{2+} ,在初始 Pb^{2+} 浓度为 0.01 ~ 0.5 mmol/L 下, Pb^{2+} 去除率在 97% 以上。许燕波等利用产脲酶菌对 1 000 m² 的污染土壤采用表面喷洒的方式进行修复试验^[13],结果发现土中可交换态重金属含量由 66.01 mg/kg 减少至 24.02 mg/kg。Li 等通过观察盐酸溶液滴在沉积物上的反应,发现 MICP 方法产生的沉积物能在一定程度上抵抗酸雨侵蚀^[14]。

目前国内外对 MICP 技术修复重金属污染土的机理和效果的研究较多,但对修复后土壤的稳定性研究还较少。因此,本研究采用巴氏芽孢杆菌修复铜、铅重金属污染土,通过测定修复后土样在不同酸度、冻融循环条件下重金属各结合形态含量的变化,分析修复后土壤的稳定性,以期 MICP 技术更好地应用于重金属污染土的修复提供参考。

1 生物修复效果研究

1.1 生物修复材料

试验采用的产脲酶微生物为巴氏芽孢八叠球菌(ATCC® 11859TM)。培养基每升含酵母 20 g、硫酸铵 10 g、1.0 mol/L 的三羟甲基氨基甲烷(Tris)缓冲溶液 130 mL, pH 值为 8.8 ~ 9.0。将接种后的培养基在 30 ℃ 的摇床(180 r/min)中恒温培养 24 h 得到菌液。菌液在 600 nm 波长处的吸光值 $OD_{600} > 0.9$,脲酶活性测定中,26 ℃ 的电导率为 1.1 ms/(cm·min⁻¹)。反应液为含 $CaCl_2$ 1.5 mol/L 和 $CO(NH_2)_2$ 1.5 mol/L 的溶液。

1.2 土中重金属修复

1.2.1 污染土模拟和修复方法

原土样采自长江中下游常见粉土,土体的工程性质及颗粒组成见表 1 和表 2 所示。铜、铅污染土分别采用在土中掺入 $CuSO_4$ 和 $Pb(NO_3)_2$ 溶液制

得,其中 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 含量均为 500 mg/kg。将 100 mL 菌液和 100 mL 的反应液先后均匀地加入 500 g 污染土中,充分搅拌,在 30 ℃ 条件下静置 10 d,重复以上步骤两次,处理周期共 30 d。同时为便于比较,每隔 10 d 向 500 g 污染土中加入 200 mL 灭菌后培养基,得到空白对照样。

表 1 粉土的工程特性指标

Table 1 The engineering characteristics of silt					
土粒相对 密度 G_s	塑限 $w_p / \%$	液限 $w_L / \%$	塑性指数 $I_p / \%$	最大干密度/ ($g \cdot cm^{-3}$)	最佳含水率 $w_{op} / \%$
2.70	20.5	28.9	8.4	1.52	25.6

表 2 粉土的颗粒组成

Table 2 Grain composition of silt				%
0.5 ~ 0.25 mm	0.25 ~ 0.075 mm	0.075 ~ 0.005 mm	< 0.005 mm	
0.2	16.8	76.8	6.2	

1.2.2 污染土修复效果分析

污染土修复完成后,利用 Tessier 等提出的五步提取法^[15]提取修复土中各结合态重金属,并采用原子吸收光谱仪测定相对含量。表 3 和表 4 为处理前、后土壤可交换态 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 含量测定结果。考虑土壤本身可以固定部分重金属,所以计算 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 的去除率时,以修复前的实测值为基准。

表 3 土壤可交换态 Cu^{2+} 测定结果

Table 3 Test results of exchangeable Cu^{2+} in soil			
试样	修复前/($mg \cdot kg^{-1}$)	修复后/($mg \cdot kg^{-1}$)	去除率/%
生物修复样	302.8	62.5 ~ 71.3	74.8 ~ 79.4
空白对照样	302.8	245.7 ~ 256.2	15.4 ~ 18.9

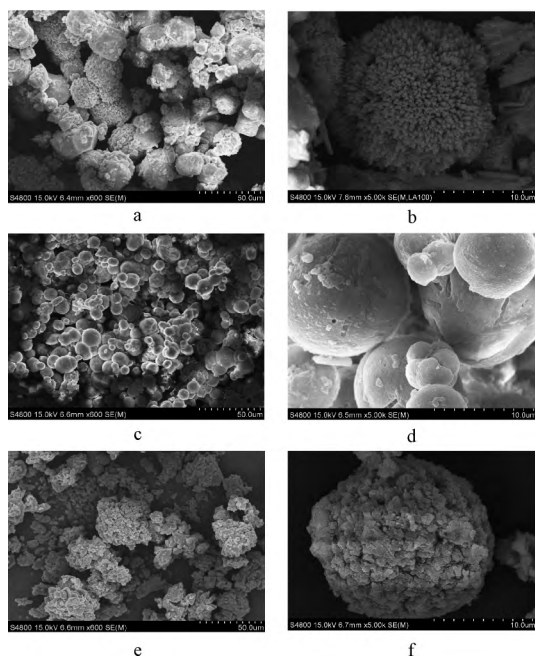
表 4 土壤可交换态 Pb^{2+} 测定结果

Table 4 Test results of exchangeable Pb^{2+} in soil			
试样	修复前/($mg \cdot kg^{-1}$)	修复后/($mg \cdot kg^{-1}$)	去除率/%
生物修复样	340.4	23.1 ~ 29.6	91.3 ~ 93.2
空白对照样	340.4	271.7 ~ 287.8	15.5 ~ 20.2

由表 3 和表 4 可见:污染土经过 3 次生物修复后,可交换态铜、铅去除率分别为 74.8% ~ 79.4% 和 91.3% ~ 93.2%,而空白对照样的去除率则较低。

1.3 微观机理分析

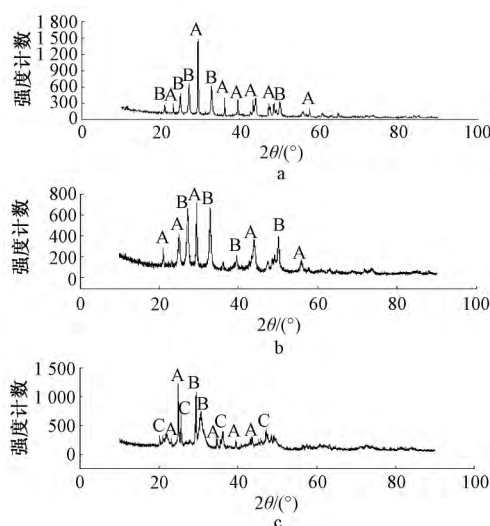
为了便于分析生物修复重金属 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 的机理,将 Cu^{2+} 含量为 500 mg/L 的 $CuSO_4$ 溶液和 Pb^{2+} 含量为 500 mg/L 的 $Pb(NO_3)_2$ 溶液与培养 48 h 的菌液、反应液混合,得到液体试验沉积物。对沉积物进行电镜扫描(SEM)观测和 X 射线衍射(XRD)分析,研究沉积物的形貌和成分组成,并与未加重金属的基础沉积物进行比较。图 1 所示为沉积物的电镜扫描图片,图 2 为沉积物的 XRD 图谱,从中可以看出:基础沉积物晶体形貌呈类圆形,大小不均匀,成



a—基础沉积物(600倍); b—基础沉积物(5000倍);
c— Cu^{2+} 修复沉积物(600倍); d— Cu^{2+} 修复沉积物(5000倍);
e— Pb^{2+} 修复沉积物(600倍); f— Pb^{2+} 修复沉积物(5000倍)。

图1 不同条件下沉积物电镜图片

Fig.1 SEM images of sediments under different conditions



a—基础沉积物; b— Cu^{2+} 修复沉积物; c— Pb^{2+} 修复沉积物。
A— CaCO_3 (球) 霏石; B— CaCO_3 (方解石); C— PbCO_3 。

图2 沉积物的XRD图谱

Fig.2 XRD pattern of sediments

分由 CaCO_3 的方解石和球霏石混合而成,有较强吸附性,部分颗粒表面覆盖较多细小的方解石晶体,呈明显微孔结构,可增强吸附效果。 Cu^{2+} 修复沉积物大多以 CaCO_3 的球霏石形式存在,呈球状,颗粒细小而分散,且比表面积较大,故可通过表面吸附对 Cu^{2+} 起固定作用;而 Pb^{2+} 修复沉积物的晶体形貌不规则,分析 XRD 图谱可知:沉积物为 CaCO_3 和 PbCO_3 的共沉物,一方面细小的 PbCO_3 吸附在

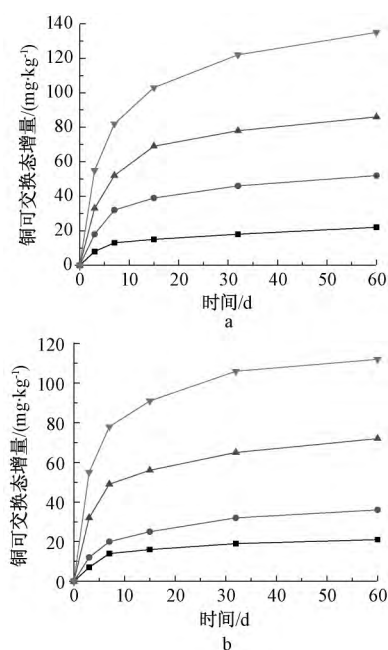
CaCO_3 晶体表面,导致沉积物颗粒大小不均,另一方面 CaCO_3 亦可表面吸附 Pb^{2+} ,故沉积物可通过表面沉积和表面吸附共同作用,实现对 Pb^{2+} 的固定。

2 修复土的稳定性的研究

2.1 酸性环境下的稳定性分析

为研究酸性环境对修复土的影响,测定修复土在不同 pH 值的酸性溶液中重金属各结合形态的含量。试验中模拟了实际环境中的酸雨特征^[16],酸性溶液分别采用硝酸型酸雨溶液 A 和硫酸型酸雨溶液 B,并通过改变溶液浓度,得到不同 pH 值的溶液。试验中取同质量的铜、铅修复土各 3 组,浸入 A、B 溶液中各 60 d 后,测定土中重金属可交换态的增量。为尽量减小液固比对 pH 值的影响,每次取土样 20 g,酸液 500 mL。

由图 3、图 4 所示的修复后铜、铅污染土在不同类型酸性溶液和 pH 值下重金属可交换态增量的变化可见:修复土浸入 pH = 2.5 的硝酸型酸雨溶液 60 d 后,可交换态铜或可交换态铅平均增加了 27. % 或 23. 6%;相同条件下的硫酸型酸雨溶液,则土中分别平均增加了 22. 4% 或 18. 2%,故酸性环境对修复土的稳定性的影响,且随着 pH 值的减小及浸泡时间的加长,可交换态重金属增加量逐渐增多,对比不同



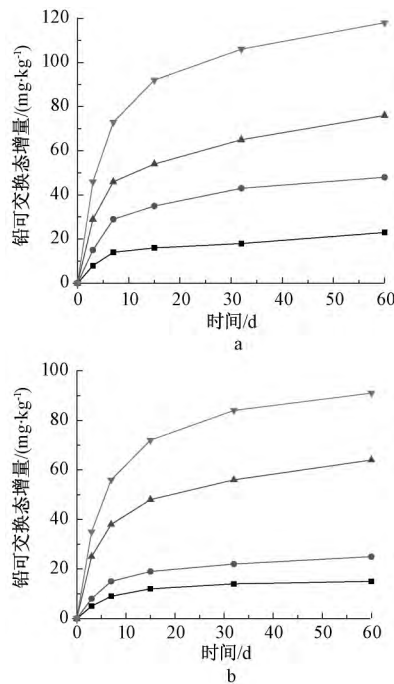
a—模拟硝酸型酸雨; b—模拟硫酸型酸雨。

—■—pH = 5.5; —●—pH = 4.5; —▲—pH = 3.5; —▼—pH = 2.5。

图3 不同酸性溶液中修复后铜污染土可交换态增量随 pH 值的变化

Fig.3 The changes of leaching amount of heavy metals in bioremediated copper contaminated soil under different acidic solutions and pH values

酸液环境下重金属的可交换态增加量可发现: 土中可交换态铜、铅在硝酸型酸雨溶液中的增加量明显比在硫酸型酸雨溶液中多。此外, 可交换态重金属在前期增加较快, 随着时间的增长, 增量越来越少。



a—硝酸型酸雨环境下; b—硫酸型酸雨环境下。
—■—pH = 5.5; —●—pH = 4.5;
—▲—pH = 3.5; —▼—pH = 2.5。

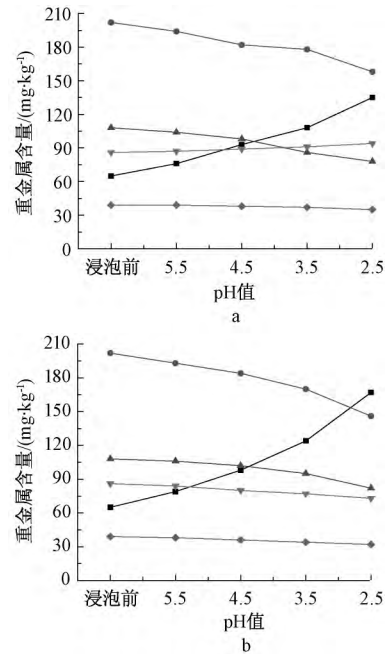
图4 不同酸性溶液中修复后铅污染土可交换态增量随 pH 值的变化
Fig.4 The changes of leaching amount of heavy metals in bioremediated soil contaminated by lead under different acidic solutions and pH values

图5为酸液浸泡后, 采用五步连续提取法测得的重金属铜各结合形态的含量, 图6为酸液浸泡后重金属铅各结合形态的含量; 从中可见: 随 pH 值的增加, 土中重金属的碳酸盐结合态含量显著减少, 可交换态含量显著增加, 而铁锰氧化物结合态和残渣态减少较小。这是由于酸液与矿化物反应可使原本包裹于矿化物中的部分重金属再次释放。此外, 有机质及硫化物结合态在硝酸型酸雨环境下含量降低, 而在硫酸型酸雨环境下则升高, 这是因为在硫酸型酸雨环境下产生了相对较多的硫酸钙沉淀。

2.2 冻融循环下稳定性研究

为研究冻融循环条件下修复土的稳定性, 将修复后铜、铅污染土冻融循环 60 次, 每天置于 -10°C 环境下 16 h, 30°C 环境下 8 h, 设置 3 组平行试样, 测定不同结合形态重金属含量随时间的变化。图7为冻融循环条件下土中各结合形态重金属的变化。

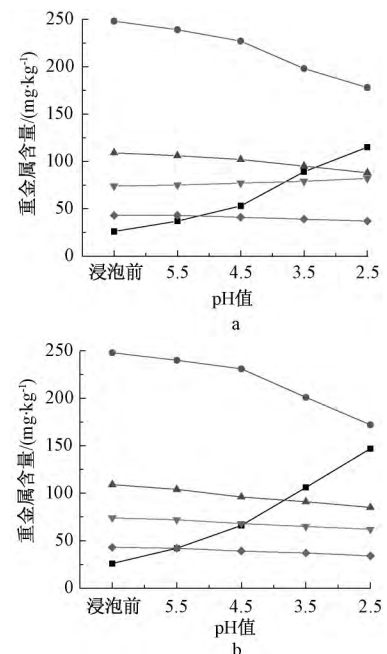
由图7可知: 随着冻融次数的增加, 土中碳酸盐结合态重金属含量逐渐减少, 而可交换态、铁锰氧化



a—硝酸型酸雨环境; b—硫酸型酸雨环境。

—■—可交换态; —●—碳酸盐结合态; —▲—铁锰氧化物结合态;
—▼—有机质及硫化物结合态; —◆—残渣态。

图5 铜污染修复土经酸液浸泡 60 d 后结合形态的变化
Fig.5 The changes of the combination form of bioremediated soil contaminated by copper under acidic environment after 60 days

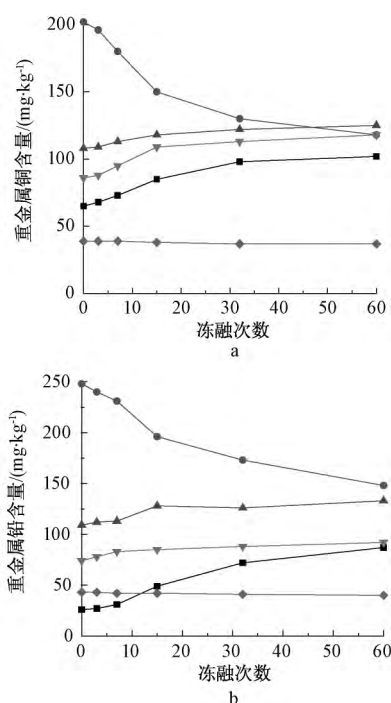


a—硝酸型酸雨环境; b—硫酸型酸雨环境。

—■—可交换态; —●—碳酸盐结合态; —▲—铁锰氧化物结合态;
—▼—有机质及硫化物结合态; —◆—残渣态。

图6 铅污染修复土经酸液浸泡 60 d 后结合形态的变化
Fig.6 The changes of the combination form of bioremediated soil contaminated by lead under acidic environment after 60 days

物结合态和有机质及硫化物结合态重金属含量则有少量增加, 其中可交换态重金属增加最多, 残渣态含



a—重金属铜结合形态变化; b—重金属铅结合形态变化。

—■—可交换态; —●—碳酸盐结合态; —▲—铁锰氧化物结合态;
—▼—有机质及硫化物结合态; —◆—残渣态。

图7 冻融循环60次修复后污染土重金属形态变化

Fig.7 The changes of the combination form of bioremediated contaminated soil after 60 cycles of freezing and thawing

量变化很小。冻融循环60次后,土中铜、铅可交换态含量分别平均增加12.2%和8.2%。

分析原因认为:反复冻融循环会促进水聚合物从矿物及有机质里迁出,导致土壤结构破坏,矿物和有机质对重金属的吸附失效,进而吸附于土壤胶体表面或矿化物内部的少部分可交换态重金属再次释放。

3 结束语

1) 微生物诱导碳酸钙沉积方法可通过表面吸附作用有效降低土壤中可交换态铜的含量,通过表面吸附和表面沉淀作用固定可交换态铅。

2) 酸性环境对修复土的稳定性有明显影响,在酸性溶液中,修复土中可交换态重金属的增加量随pH值的减小而增大,这是由于酸液与矿化物反应,使原本包裹于矿化物中的部分重金属再次释放。在pH=2.5的模拟硝酸型酸雨溶液中,可交换态铜、铅含量分别平均增加27.2%和23.6%。

3) 随着冻融次数的增加,土中碳酸盐结合态重金属含量逐渐减少,而可交换态、铁锰氧化物结合态和有机质及硫化物结合态重金属含量有少量增加。修复土经冻融循环60次,土中铜、铅的酸盐结合态

含量减少,可交换态含量分别平均增加12.2%和8.2%。

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.
- [2] 环境保护部, 国土资源部. 全国土壤污染状况调查公报[EB/OL]. http://www.zhb.gov.cn/gkml/hbb/qt/201404/t20140417_270670.htm. 2015.
- [3] 何稼, 楚剑, 刘汉龙, 等. 微生物岩土技术的研究进展[J]. 岩土工程学报, 2016, 38(4): 643-653.
- [4] 程晓辉, 杨钻, 李萌, 等. 岩土材料微生物改性的基本方法综述[J]. 工业建筑, 2015, 45(7): 1-7.
- [5] ACHAL V, PAN X, FU Q, et al. Biomineralization Based Remediation of As(III) Contaminated Soil by *Sporosarcina* *Ginsengisoli* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012(1): 178-184.
- [6] ACHAL V, PAN X, ZHANG D. Remediation of Copper-Contaminated Soil by *Kocuria* *Flava* CR1: Based on Microbially Induced Calcite Precipitation [J]. *Ecological Engineering*, 2011, 37(10): 1601-1605.
- [7] ACHAL V, PAN X, ZHANG D. Bioremediation of Strontium (Sr) Contaminated Aquifer Quartz Sand Based on Carbonate Precipitation Induced by Sr Resistant *Halomonas*, sp. [J]. *Chemosphere*, 2012, 89(6): 764-768.
- [8] KUMARI D, PAN X, LEE D J, et al. Immobilization of Cadmium in Soil by Microbially Induced Carbonate Precipitation with *Exiguobacterium* at Low Temperature [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014(94): 98-102.
- [9] PAN X. Micrologically Induced Carbonate Precipitation as a Promising Way to in Situ Immobilize Heavy Metals in Groundwater and Sediment [J]. *Research Journal of Chemistry & Environment*, 2009, 13(4): 3-4.
- [10] 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, 34(12): 33-36.
- [11] 成亮, 钱春香, 王瑞兴, 等. 碳酸盐矿化菌株 A 固结土壤 Cd^{2+} 的生物矿化过程[J]. *硅酸盐学报*, 2008, 36(增刊1): 215-221.
- [12] 王新花, 赵晨曦, 潘响亮. 基于微生物诱导碳酸钙沉淀(MICP)的铅污染生物修复[J]. *地球与环境*, 2015, 43(1): 80-84.
- [13] 许燕波, 钱春香, 陆兆文. 微生物矿化修复重金属污染土壤[J]. *环境工程学报*, 2013, 7(7): 2763-2768.
- [14] LI M, CHENG X, GUO H. Heavy Metal Removal by Biomineralization of Urease Producing Bacteria Isolated from Soil [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 76(1): 81-85.
- [15] TESSIER A, CAMPBELL P G C, BISSEON M. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals [J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7): 844-851.
- [16] 王寿超. 模拟不同类型酸雨对小白菜生长、生理及营养品质的影响研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.