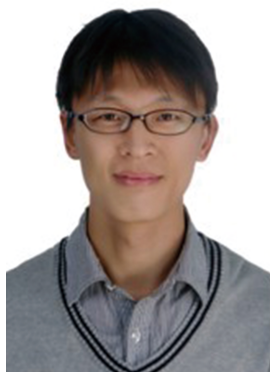


特约论文



练建军, 博士, 副教授, 博士生导师, 美国罗格斯大学访问学者, 安徽省青年拔尖人才(青年学者)、安徽工业大学青年拔尖人才(青年英才)、《安徽工业大学学报(自然科学版)》青年编委、《三峡生态环境监测》青年编委、国家自然科学基金项目通讯评审人、教育部研究生学位通讯评审人。主要从事水环境功能材料研发、水污染生态修复与固废资源化利用技术研究, 担任 *Bioresource Technology*, *Journal of Environmental Management*, *Environmental Pollution* 等期刊审稿人, 主持国家自然科学基金2项、安徽省自然科学基金2项, 以第一/通信作者在 *Journal of Cleaner Production*, *Separation and Purification Technology*, *Science of the Total Environment* 等国际期刊发表 SCI 论文30余篇, 授权国家发明专利7项。获安徽省科学技术进步奖一等奖1项, 多次获本科生导师制优秀指导教师、优秀班主任等荣誉称号, 培养省级优秀毕业硕士研究生1名, 指导硕士研究生获中国冶金教育学会优秀硕士学位论文1篇, 指导本科生获安徽省大学生生态环境创新创业大赛一等奖2项、校级优秀毕业设计论文2篇。

复合钝化剂对砷污染土壤钝化修复及微生物群落结构的影响

蒋顺, 武敬, 陈波, 丁希楼, 洪欣竹, 练建军

(安徽工业大学能源与环境学院, 安徽马鞍山 243032)

摘要: 将羟基磷灰石(HAP)和水热炭(HTC)混合制备新型复合钝化剂HAP-C, 采用扫描电子显微镜和能谱分析、X射线衍射、傅立叶红外光谱等测试方法表征HAP-C的形貌特征、晶体结构和官能团; 以As污染土壤为研究对象, 探究添加质量分数为1%, 3%, 5%的HAP-C对土壤理化性质、砷形态及酶活性的影响, 采用高通量测序技术分析土壤微生物群落组成的变化特征。结果表明: HAP-C含有HAP和HTC的主要特征元素(碳、氧、磷和钙)、晶体结构与主要官能团(P—O, —OH, C=O, —CH₂—); HAP-C的添加可降低土壤中可被生物利用的吸附态砷含量(22.20%~40.26%, 质量分数, 下同), 3%HAP-C的钝化效果最显著; HAP-C对土壤砷的钝化机理主要包括表面络合、化学沉淀和离子交换, HAP-C的添加可提高土壤的pH(19.56%~21.51%)和电导率(205.99%~290.91%)及增加土壤的有机质(23.12%~32.16%)、有效磷(104.29%~176.54%)和硝态氮含量(203.33%~250.19%), 同时提高土壤酶活性及微生物物种的丰富度和多样性; 砷污染土壤中产黄杆菌属(*Rhodanobacter*)和鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)相对丰度较高, 3%HAP-C处理组中产黄杆菌属(*Rhodanobacter*)和芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)的相对丰度与对照组相比分别增加了10.30%~29.06%, 34.94%~48.12%。HAP-C的添加不仅可提高土壤As的钝化效果, 还可改善土壤环境健康状态, 其在As污染土壤修复工程中具有一定的应用潜力。

关键词: 砷; 羟基磷灰石; 水热炭; 钝化机制; 微生物群落; 土壤污染; 土壤修复

中图分类号: X 53 **文献标志码:** A **doi:** 10.12415/j.issn.1671-7872.24033



收稿日期: 2024-03-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(52370159); 安徽省自然科学基金项目(2208085ME154); 安徽工业大学青年基金项目(QZ202318)

作者简介: 蒋顺(1997—), 男, 安徽淮南人, 硕士生, 主要研究方向为土壤重金属污染修复技术。

通信作者: 练建军(1985—), 男, 山西朔州人, 博士, 副教授, 博士生导师, 主要研究方向为功能材料研发与环境治理。

引文格式: 蒋顺, 武敬, 陈波, 等. 复合钝化剂对砷污染土壤钝化修复及微生物群落结构的影响[J]. 安徽工业大学学报(自然科学版), 2024, 41(6):655-666.

Effect of Composite Passivator on Arsenic Contaminated Soil Passivation Remediation and Microbial Community Structure

JIANG Shun, WU Jing, CHEN Bo, DING Xilou, HONG Xinzhu, LIAN Jianjun

(School of Energy and Environment, Anhui University of Technology, Maanshan 243032 China)

Abstract: A novel composite passivator HAP-C was prepared by mixing hydroxyapatite (HAP) and hydrothermal carbon (HTC). The morphological characteristics, crystal structure, and functional groups of the prepared composite passivator were characterized using scanning electron microscopy and energy spectrum analysis, X ray diffraction, and Fourier transform infrared spectroscopy. Taking As-contaminated soil as the research object, the effects of adding HAP-C with mass fraction of 1%, 3%, and 5% on the physicochemical properties of the soil, arsenic speciation, and enzyme activity were investigated. High-throughput sequencing technology was used to analyze the changes in the composition of the soil microbial community. The results show that the prepared HAP-C contains the main characteristic elements of HAP and HTC (carbon, oxygen and calcium), along with their crystal structures and main functional groups (P—O, —OH, C=O, —CH₂—). The addition of HAP-C can reduce the content of bioavailable adsorbed arsenic in the soil (22.20%–40.26%, mass fraction, the same below), with 3% HAP-C showing the most significant immobilization effect. The mechanisms by which HAP-C immobilizes arsenic in soil mainly include surface complexation chemical precipitation, and ion exchange. Adding HAP-C can increase soil pH (19.56%–21.51%), electrical conductivity (205.99%–290.91%), and enhance soil organic matter (23.12%–32.16%), available phosphorus (104.29%–176.54%) and nitrate nitrogen content (203.33%–250.19%). It also improves soil enzyme activity and richness and diversity of the microbial species. The relative abundances of *Rhodanobacter* and *Sphingomonas* in arsenic contaminated soil are relatively high. The relative abundances of *Rhodanobacter* and *Gemmatimonas* in 3% HAP-C treatment group are 10.30%–29.06% and 34.94%–48.12%, respectively, compared with the control group. The addition of HAP-C can not only enhance the passivation effect of As but also improve the health status of soil, indicating potential application in As-contaminated soil remediation projects.

Keywords: arsenic; hydroxyapatite; hydrothermal carbon; passivation mechanisms; microbial communities; soil contamination; soil remediation

土壤重金属污染已被认为是1个公认的、持续的全球性环境问题^[1]。据统计^[2],我国土壤污染点位总超标率为16.1%,其中砷(As)污染土壤的点位超标率为2.7%。土壤As污染主要来源于除草剂、杀虫剂以及含As化合物的相关产品^[3-4]。土壤As的过量积累对土壤质量和微生物群落产生负面影响,而且通过直接或间接途径对地下水造成污染,从而对动物、植物和人类健康产生威胁^[5-6]。据《2023中国生态环境状况公报》^[7]显示,全国土壤环境风险得到了基本管控,土壤污染加重的趋势得到了初步遏制。农用地土壤环境状况总体稳定,受污染耕地的安全利用率达到91%以上,重点建设用地安全利用得到有效保障,表明我国在土壤污染治理方面正在朝着“十四五”规划设定的目标迈进。因此,有效控制和降低农用地土壤As含量,改善土壤环境健康

状况对于保障农产品质量安全、促进农业可持续发展、维护生态环境安全等方面具有重要意义。

目前,土壤重金属污染的修复方法主要包括物理分离、电化学修复、化学稳定和植物修复法等^[8-9]。其中化学稳定法已成为广泛使用的有效修复措施,对于轻中度重金属污染土壤,添加钝化剂可快速将土壤重金属转化为不溶性或不可生物降解的形态^[10]。磷酸盐化合物可与重金属一起沉淀,能够降低重金属在土壤中的流动性^[11],被认为是更有前途的钝化剂之一。羟基磷灰石(HAP)是1种典型的环保型钝化材料,表面含有丰富的羟基官能团,可与重金属离子发生螯合沉淀^[12];HAP还可通过阳离子交换、表面吸附作用降低重金属在土壤中的生物利用率,具有环境友好、易制备和成本低的优点^[13]。因此,HAP被广泛用于土壤修复和废水处理等领域,然而HAP

单独应用导致的磷释放会对周边水体富营养化带来潜在风险^[14]。水热炭 (HTC) 是生物质在低氧或厌氧条件下热解产生的 1 种多孔材料,具有比表面积大、官能团丰富等特点。HTC 可通过孔隙填充、氢键、官能团络合、离子交换等作用吸附固定土壤重金属^[15-16],其已被广泛用于土壤改良修复技术^[17-18]。然而,HTC 的添加增加了土壤酸度,降低了土壤细菌的丰富度和多样性^[19]。应用 HAP 和 HTC 制备的复合钝化剂 (HAP-C) 能否改善土壤酸碱度和微生物环境需进一步探索;此外,HAP-C 的添加对土壤环境健康的潜在影响,如土壤理化性质、养分状况、酶活性以及微生物群落结构等也需进一步阐明。但是,目前关于复合钝化剂 HAP-C 对土壤生态功能影响的报道较少。因此,采用 HAP 和 HTC 为原料制备复合钝化剂 HAP-C,对添加不同剂量复合钝化剂 HAP-C 的 As 污染土壤进行钝化实验,研究 HAP-C

对土壤 As 的钝化效果,以期为土壤 As 污染修复技术发展提供一定的理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

二水合氯化钙 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、磷酸氢二铵 ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$)、氨水 ($\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$)、氢氧化钠 (NaOH)、硝酸 (HNO_3)、盐酸 (HCl) 和硫酸 (H_2SO_4) 均购自阿拉丁试剂公司。制备 HTC 的玉米秸秆生物质原材料购于江苏省联丰农场。土样取自马鞍山市某农田地表土壤,按照《土壤环境质量标准》(GB 15618—2018) 风险筛选值的 1.2 倍向土样中加入砷外源污染物,保持土壤含水量 40%(质量分数),人工静态培养模拟污染土壤 28 d,自然风干过 150 μm 筛 (304 不锈钢材质) 备用。土壤基本理化性质和 As 含量如表 1。

表 1 供试土壤理化性质与 As 含量

Tab. 1 Physical and chemical properties and As content of the tested soil

pH	电导率/($\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$)	土壤有机质/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有效磷/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	总氮/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	砷/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
4.48	0.327	15.62	31.12	1.25	45.58

1.2 钝化剂的制备与表征

1.2.1 钝化剂的制备

在 40 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中,将一定量的 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 溶液按照 Ca, P 摩尔比值 1.67 缓慢加至 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶液中,形成材料前驱体混合物;继续滴加氨水将混合溶液的 pH 调至 10,再将前驱体浆液放入超声波仪中超声震荡 20 min,放入阴凉避光处陈化 12 h,之后用去离子水反复清洗直至上清液为中性;在烘箱中 105 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 12 h,研磨后过 150 μm 筛得到 HAP 粉末,放入干燥器中备用。

将一定质量的过 150 μm 筛的玉米秸秆粉末,按照固液比 (质量比)1:10 加入装有去离子水的 100 mL 聚四氟乙烯 (PTFE) 内衬反应釜中;再将反应釜置于 220 $^{\circ}\text{C}$ 的马弗炉中加热 2 h 得到 HTC,之后用玛瑙研钵将 HTC 磨成粉末并过 150 μm 筛,放入干燥器中备用。

将 HAP 和 HTC 按照质量比 1:1 放入三维运动混合机 (SYH-20) 混合 30 min,制备成复合钝化剂 HAP-C,备用。HAP-C 复合钝化剂的制备流程示意图如图 1。

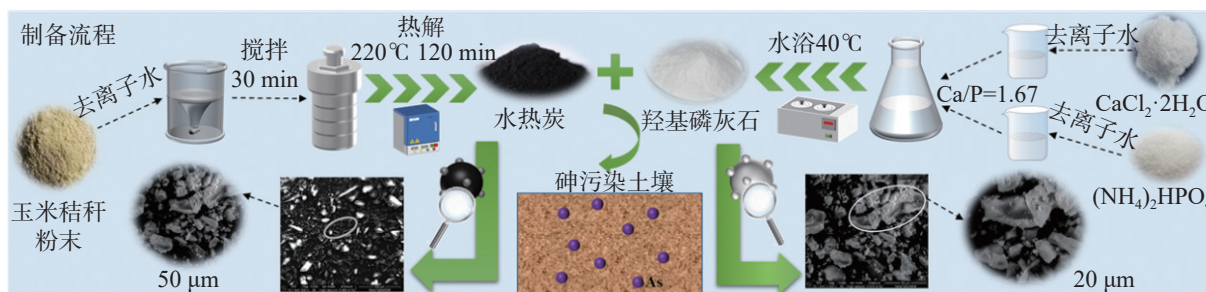


图 1 HAP-C 的制备流程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the preparation process of HAP-C

1.2.2 钝化剂的表征

采用日本 TM-3 000 扫描电子显微镜和能谱分析仪 (scanning electron microscope/energy disperse spectroscopy, SEM/EDS)、德国 D8ADVANCE X 射线

衍射仪 (X ray diffraction, XRD) 和美国 THS-08 傅立叶光谱仪 (Fourier transform infrared, FTIR) 观察 HAP, HTC, HAP-C 复合钝化剂样品的表面形貌、微观结构、晶体结构和官能团类型等,具体操作步骤见表 2。

表2 表征方法的操作步骤

Tab. 2 Operational step of the characterization methods

表征方法	操作步骤
SEM/EDS	1) 将样品切成小块或磨成粉末, 放入SEM样品室对样品进行镀膜, 如镀金或镀碳 2) 将制备的样品置于SEM样品台, 确保样品稳定且不会移动 3) 关闭SEM样品室, 抽真空至所需水平 4) 设置适当的加速电压, 调节聚焦和光阑, 获得清晰的图像; 校准EDS探测器, 选择适当的能量范围和窗口 5) 选择合适的扫描模式, 调整扫描速度和探头工作距离, 开始扫描并获取图像; 在操作SEM的同时, 开启EDS, 对感兴趣的区域进行点分析或面扫描 6) 使用SEM软件进行图像处理和分析, 根据需要调整对比度和亮度; 使用EDS软件分析确定样品中的元素种类和相对含量, 对其进行背景校正、峰拟合等谱图处理 7) 完成实验后, 关闭SEM; 对样品台和SEM内部进行清理, 保持仪器的良好状态
XRD	1) 将样品制成粉末或薄膜, 放入特定的样品夹具中 2) 打开XRD仪器并进行预热, 确保仪器稳定运行, 根据实验需求选择合适的X射线源(如铜靶或钴靶) 3) 将制备的样品安装在XRD仪器样品台上, 调整样品位置, 确保样品表面与入射X射线垂直 4) 设置X射线管的工作电压和电流, 选择适当的扫描范围(2θ), 通常为 $10^\circ\sim 80^\circ$ 5) 启动扫描, X射线穿过样品并产生衍射图案, 使用探测器(如闪烁计数器或位敏探测器)收集衍射数据, 记录每个衍射峰的位置(2θ)、强度和形状 6) 使用XRD软件对衍射数据进行背景校正、峰拟合等处理, 根据衍射峰的位置和相对强度确定样品的晶体结构、晶格常数、晶体取向和应力状态等, 利用JCPDS卡片或其他数据库对样品进行物相鉴定 7) 完成实验后, 关闭XRD仪器
FTIR	1) 将固体样品压成薄片或研磨成粉末 2) 打开FTIR光谱仪, 并允许其预热和稳定, 根据实验需求选择合适的检测器和工作频率范围 3) 将制备的样品放入光谱仪样品室, 确保样品表面平整, 对于固体和液体样品, 需保证样品与红外光束垂直 4) 放入样品前进行1次背景扫描, 记录环境或空白基底的红外吸收 5) 进行样品扫描, 记录样品的红外吸收光谱 6) 使用FTIR软件处理光谱数据, 包括背景校正、峰拟合和谱图归一化, 根据吸收峰的位置和形状确定样品中的化学键类型和分子结构 7) 完成实验后, 关闭FTIR光谱仪

1.3 土壤钝化实验与样品分析

1.3.1 土壤钝化实验

设置6个处理组进行土壤钝化实验, 分别为不施加任何材料的空白处理组, 记作CK; 施加质量分数为3%的HTC处理组, 记作3%HTC; 施加质量分数为3%的HAP处理组, 记作3%HAP; 施加质量分数为1%, 3%, 5%的HAP-C处理组(HAP和HTC复合比为1:1), 分别记为1%HAP-C, 3%HAP-C, 5%HAP-C。各处理组均在25℃的室温下开展实验, 将100g原土和不同含量的土壤钝化剂均匀混合, 完全混合后将其分别加至相应的聚乙烯管中(直径4cm, 高16cm), 并保持土壤含水量40%, 每个处理组重复3次实验。土壤钝化剂修复砷污染土壤周期自2023年3月10日至2023年6月6日, 共88d, 其中污染土壤培育时间28d和钝化修复时间60d。

1.3.2 土壤样品分析

在土壤钝化至0, 30, 60d时, 采用五点法分别从0~14cm土层中均匀采集土样, 经风干、磨碎、过1mm

筛后, 根据土壤分析方法(NYT 1848—2010, 中国)测定土壤的电导率(EC)、铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)和有效磷(AP)含量等基本理化性质。使用重铬酸钾容量法测定土壤中的有机质(SOM)含量, 采用苯酚钠-次氯酸钠比色法、磷酸苯二钠比色法分别测定土壤中的脲酶和土壤酸性磷酸酶活性^[20]。采用扫描电子显微镜、X射线衍射和傅立叶红外光谱表征测试土壤样品的表面形貌、微观结构、晶体结构和官能团类型等。

另采集钝化至第60d的土壤样品, 经风干、磨碎、过1mm筛后分成2份。采用土壤污染物分析方法(GB/T 22105.2)测定第一份土样中的砷含量; 采用Wenzel法^[21]测试分析第二份土样中As的化学形态。测试得到As的化学形态主要包括非特异性吸附态(EXC)、特异性吸附态(CA)、无定形铁铝氧化物结合态(Fe-Al)、晶质铁铝氧化结合态(OM)和残渣态(RES), 其中EXC和CA作为砷结合力较弱的形态可被生物利用, 具体测试步骤见表3。

表3 采用 Wenzel 法连续测试土壤 As 形态的步骤

Tab. 3 Steps for continuous determination of As form in soil using Wenzel method

步骤	土壤砷形态	测定方法
1	非专性吸附态 (EXC)	称取过 150 μm 筛风干土样 1.000 g, 将其置于 50 mL 离心管, 再加入 25 mL 浓度为 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液, 摇匀, 在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下振荡 4 h, 以 8 000 r/min 的速度离心 30 min 后过滤, 上清液即待测溶液 F_1
2	专性吸附态 (CA)	将上步残渣放入 50 mL 离心管, 加入 25 mL 浓度为 $0.05 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ 溶液, $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下振荡 16 h, 以 8 000 r/min 的速度离心 30 min 后过滤, 上清液即待测溶液 F_2
3	无定型铁铝氧化物结合态 (Fe-Al)	将上步残渣放入 50 mL 离心管中, 再加入 25 mL 浓度 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 草酸铵缓冲液 ($\text{pH}=3.25$), 在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下振荡 4 h (黑暗中), 以 8 000 r/min 离心 30 min 后过滤, 上清液即待测溶液 F_3
4	晶质铁铝氧化物结合态 (OM)	将上步残渣放入 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 浓度为 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 草酸铵缓冲液 ($\text{pH}=3.25$) 和 $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的抗坏血酸混合溶液, 在 $96\text{ }^\circ\text{C}$ 下见光水浴震荡 30 min, 以 8 000 r/min 离心 30 min 后, 上清液即待测溶液 F_4
5	残渣态 (RES)	将上步残渣置于 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱, 研磨过筛, 称取 0.2 g 置于 50 mL 比色管, 加入 10 mL 王水, 沸水浴 2 h, 定容、过滤, 取一定量消解液, 按照 GB/T 22105.2—2008《土壤质量: 总汞、总砷、总铅的测定—原子荧光法, 第 2 部分: 土壤中总砷的测定》测定残渣态砷含量

采集第 60 d 土壤鲜样, 且保存于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱待测微生物数量。使用 MO-BIO PowerSoil DNA 分离试剂盒 (MoBio Laboratories Inc, Carlsbad, CA, 美国) 提取 DNA, 使用分光光度计 (NanoDrop 1000, ThermoFisher Scientific, 美国) 和琼脂糖凝胶电泳测定 DNA 的质量和数量。使用引物 357F ($5'$ -ACTCCTACGGGAGGCAGCAG- $3'$) 和 806R ($5'$ -GGACTACHVGGGTWTC TA AT- $3'$) 进行 PCR 扩增 V3~V4 片段, 采用微生物科技有限公司 (上海) 的 Illumina NGS 平台开展 DNA 测序。

1.4 数据处理

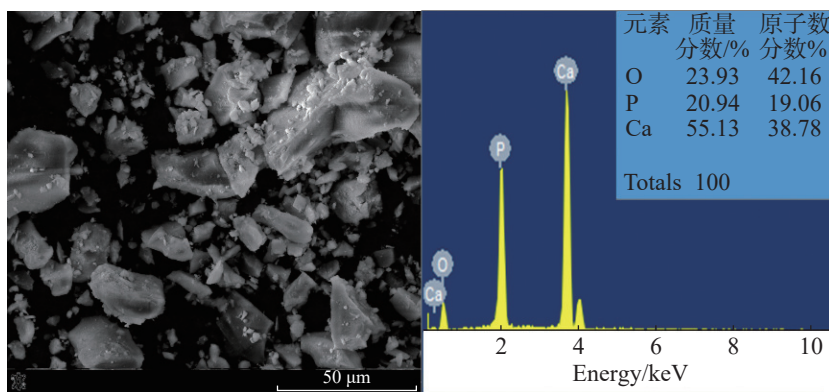
采用 Microsoft Excel 2010, Origin 2018 和 SPSS 26.0 处理实验数据, 采用单因素方差分析 (ANOVA, $P<0.05$) 评估不同处理组之间的显著差异。

2 结果与讨论

2.1 钝化剂的表征结果

图 2 为 HAP, HTC, HAP-C 的扫描电镜图及能

谱图, 图 3 为 HAP, HTC, HAP-C 的 XRD, FTIR 谱图。综合图 2, 3 可知: HAP 主要呈扁平块状且表面粗糙, 含有 O, Ca 和 P 3 种元素, $2\theta=25.8^\circ, 31.8^\circ, 39.8^\circ$ 处显示 3 个特征峰, 说明存在无定形 HAP^[22]; HTC 主要呈棒状结构, 表面相对粗糙且空隙较大, C 元素质量分数达 69.4%, 在 $2\theta=20.7^\circ, 26.5^\circ, 50.0^\circ$ 处显示 3 个特征峰, 表明存在生物质 C 和 Si 元素; 复合钝化剂 HAP-C 同时具有 HAP 和 HTC 的形貌和晶体特征, 这是由于 HAP 和 HTC 的质量比为 1:1 时, C 含量相对较高 (51.69%, 质量分数)。如图 3 (b) 所示, 在 $564\sim 602 \text{ cm}^{-1}$ 处为 O—H 弯曲振动峰, $1\ 033, 3\ 570 \text{ cm}^{-1}$ 处的特征峰分别由 HAP 中 P—O 和 O—H 伸缩振动产生^[23], $2\ 924, 1\ 454 \text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰分别对应—CH₂—和 CO₃²⁻的伸缩振动峰^[20,24], $1\ 637, 3\ 440 \text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰分别对应 C=O 和 O—H 的伸缩振动峰, $1\ 103, 796 \text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰分别由 C—H 的伸缩振动和弯曲振动产生, 470 cm^{-1} 处的吸收峰由 Si—O—Si 伸缩振动产生^[25]。



Full scale 508 cts cursor: -0.279 (0 cts)
(a) HAP

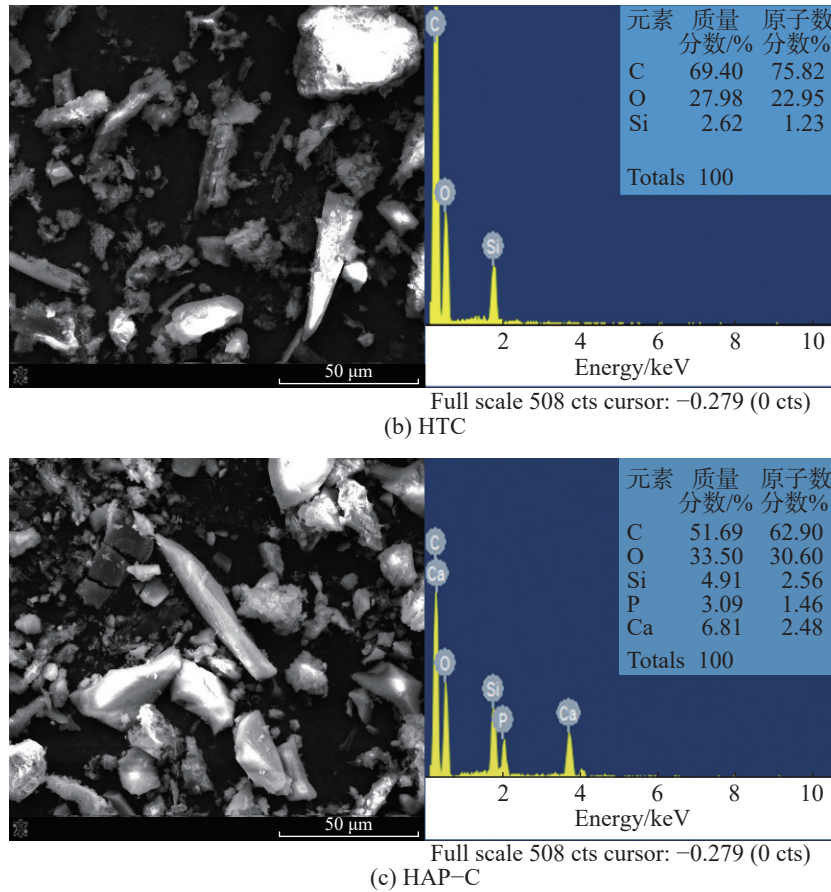


图2 HAP, HTC, HAP-C 的 SEM/EDS 图

Fig. 2 SEM/EDS images of HAP, HTC and HAP-C

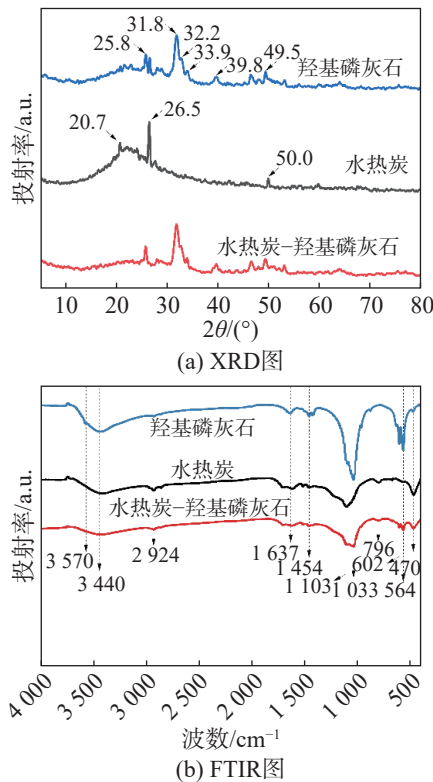


图3 HAP, HTC, HAP-C 的 XRD, FTIR 图

Fig. 3 XRD, FTIR images of HAP, HTC and HAP-C

2.2 钝化剂对土壤理化性质和酶活性的影响

2.2.1 钝化剂对土壤理化性质的影响

图 4 为不同钝化剂对土壤 pH、有机质 (SOM)、电导率 (EC)、有效磷 (AP)、铵态氮 (NH_4^+-N) 和硝态氮 (NO_3^--N) 的影响, 图中 a, b, c, d, e 表示各实验组相同指标的差异显著 ($p < 0.05$), 下同。

从图 4(a) 可见: HAP-C 复合钝化剂可明显提高土壤的碱度, 钝化 60 d 后, 添加 HAP, 1% HAP-C, 3% HAP-C 和 5% HAP-C 土壤中的 pH 由 4.52, 4.50, 4.50, 4.51 分别提高到 5.51, 5.38, 5.71, 6.15。这主要是由于 HAP 作为磷酸盐矿物, 施加到土壤中后会不断释放 PO_4^{3-} 且与土壤中的 H^+ 反应生成 HPO_4^{2-} 和 H_2PO_4^- , 反应过程中释放的大量 OH^- 会导致土壤 pH 的升高。

由图 4(b) 可见: HTC 可显著提高 SOM 含量, 钝化至 60 d, SOM 呈先升高后降低的趋势。主要是因为水热炭自身含有大量的炭, 可在短时间内提高土壤的 SOM 含量; 随钝化时间的延长, 由于土壤微生物的消耗或与土壤砷发生了络合等作用^[26], SOM 含量有所降低。

从图 4(c) 可见: 钝化 60 d, HAP-C 的添加可显著提高土壤的电导率, 这主要是由于 HAP-C 中矿

物质和可溶性盐的释放导致。土壤修复过程中 EC

值的变化可反映土壤阳离子的迁移率^[27]。

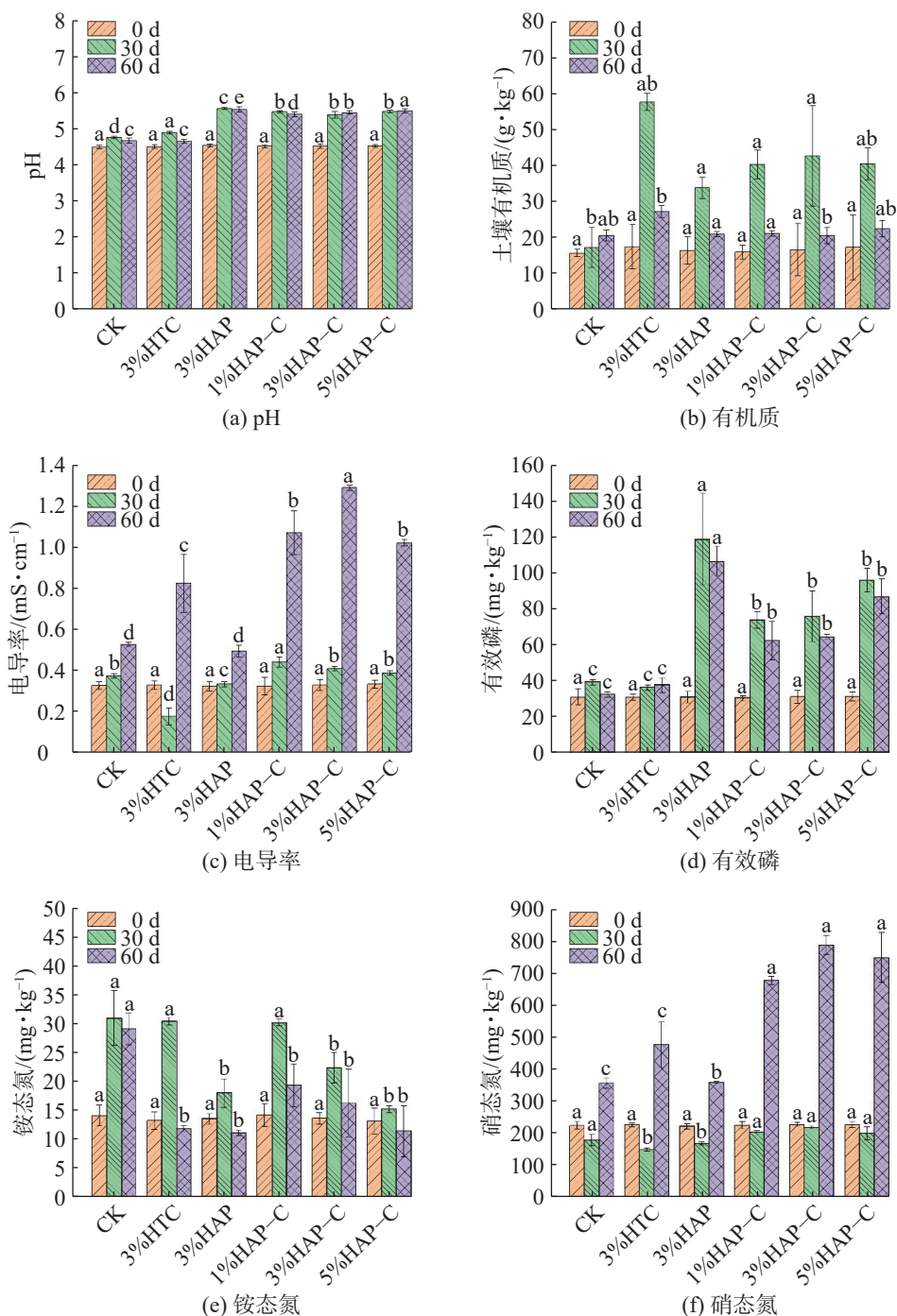


图4 同钝化剂对土壤 pH 与 EC 及土壤有机质、有效磷、铵态氮和硝态氮含量的影响

Fig. 4 Effects of different passivators on soil pH, EC and contents of soil organic matter, available phosphorus, ammonium nitrogen, and nitrate nitrogen

从图 4(d) 可见: 单独投加 HAP 处理组的有效磷含量最高, 钝化至 30 d 达到 $118.43 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 这主要归因于 HAP 释放的可溶性磷; 此外, 与 1%HAP-C 和 3%HAP-C 相比, 添加 5%HAP-C 的土壤中有有效磷含量明显提高, 因此在实际应用中为避免过量磷的释放, HAP 与 HTC 的混合投加质量分数应小于 5%。

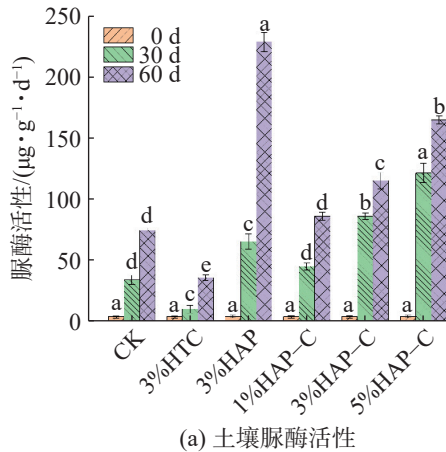
从图 4(e), (f) 可知: 土壤 NO_3^- -N 含量随钝化

时间的延长呈先降低后增加的趋势, 而土壤 NH_4^+ -N 含量的变化趋势正好相反。这主要是由于随钝化时间的延长硝化微生物数量不断增加, 从而增强了 NH_4^+ -N 向 NO_3^- -N 的转化过程。

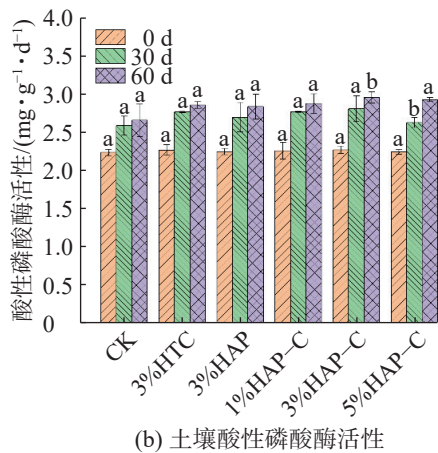
2.2.2 钝化剂对土壤酶活性的影响

土壤脲酶在土壤氮素利用和循环中发挥重要作用, 土壤酸性磷酸酶能够促进有机磷化合物的分解,

常被用作土壤砷污染的敏感指标^[28]。图5为不同处理组钝化0, 30, 60 d的土壤脲酶和酸性磷酸酶活性变化。由图5可看出: HAP-C处理组对土壤脲酶活性的改善远高于CK组, HAP-C的添加可提高土壤脲酶活性, 有利于土壤氮循环; 所有处理组的土壤酸性磷酸酶活性随钝化时间的延长呈增加趋势, 且3%HAP-C处理组的土壤酸性磷酸酶活性较高, 主要是由于HTC和HAP的投加降低了土壤中有效态As的含量, 从而减弱了As对土壤酸性磷酸酶的抑制作用^[28]。



(a) 土壤脲酶活性



(b) 土壤酸性磷酸酶活性

图5 不同处理组钝化0, 30, 60 d土壤脲酶和酸性磷酸酶的活性变化

Fig. 5 Changes of urease and acid phosphatase activity in soil after 0, 30, 60 d of passivation different treatment groups

2.3 土壤砷污染钝化机制

2.3.1 钝化机理

图6为不同时间钝化处理下土壤的X射线衍射图。从图6可知: 钝化至60 d, 随钝化时间的增加, 不同处理组土壤的XRD变化较小, 这可能与钝化剂添加量小有关; 26.7°和20.9°处的特征衍射峰表明土壤样品主要含有无定形物质或几乎不含矿物^[29], 与CK相比, HAP-C处理组中26.7°和20.9°处的特征衍射峰强度逐渐减弱, 这是由于HAP-C所含官能

团与土壤中的石英发生复杂的吸附作用, 致使土壤中石英含量减少^[30]。

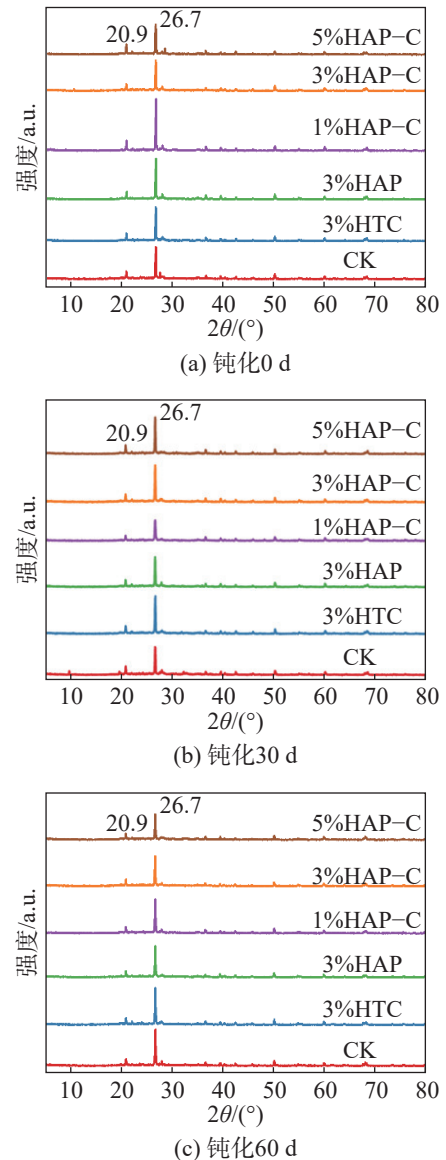


图6 不同处理组钝化0, 30, 60 d土壤的XRD图

Fig. 6 XRD patterns of soil passivated for 0, 30, 60 d in different treatment groups

图7为不同时间钝化处理下土壤的红外光谱图。从图7可看出: 钝化初期, 与CK相比, 添加不同类型钝化剂的土壤在3740~3625 cm⁻¹处的游离醇羟基和苯酚羟基吸收峰以及在691~777 cm⁻¹, 1033 cm⁻¹处的C—H和P—O的吸收峰均有一定增强。研究表明: HTC表面存在的含氧官能团(—OH和C=O)可通过形成化学沉淀来稳定金属离子^[31]; 随钝化时间的增加, HAP的溶解使土壤中C—H和P—O的吸收峰进一步增强, 从而更有利于与土壤As发生配位或螯合作用^[32]。此外, 从图7(b), (c)可见: 钝化至第30 d在波长1383 cm⁻¹处出现CO₃²⁻的吸收峰, 至第60 d该处的吸收峰强度出现下降。这主要是由

于钝化初期空气中的 CO₂ 进入土壤, 钝化后期土壤更密实, 空气无法进入土壤内部^[33]。

综上, HAP-C 复合钝化剂在土壤中钝化 As 的机理主要包括表面络合、化学沉淀和离子交换, 如图 8。

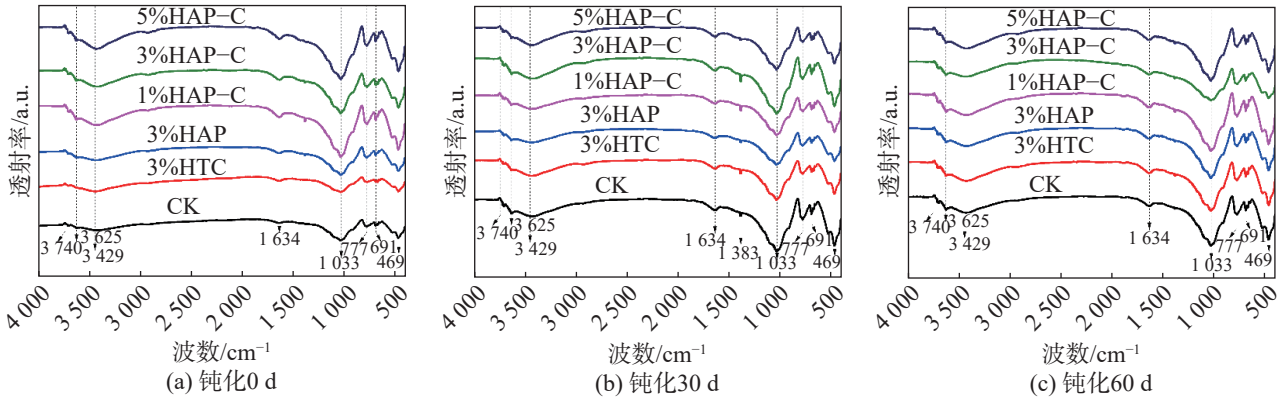


图 7 不同处理方式下土壤的 FTIR 图

Fig. 7 FTIR spectra of soil under different treatment methods

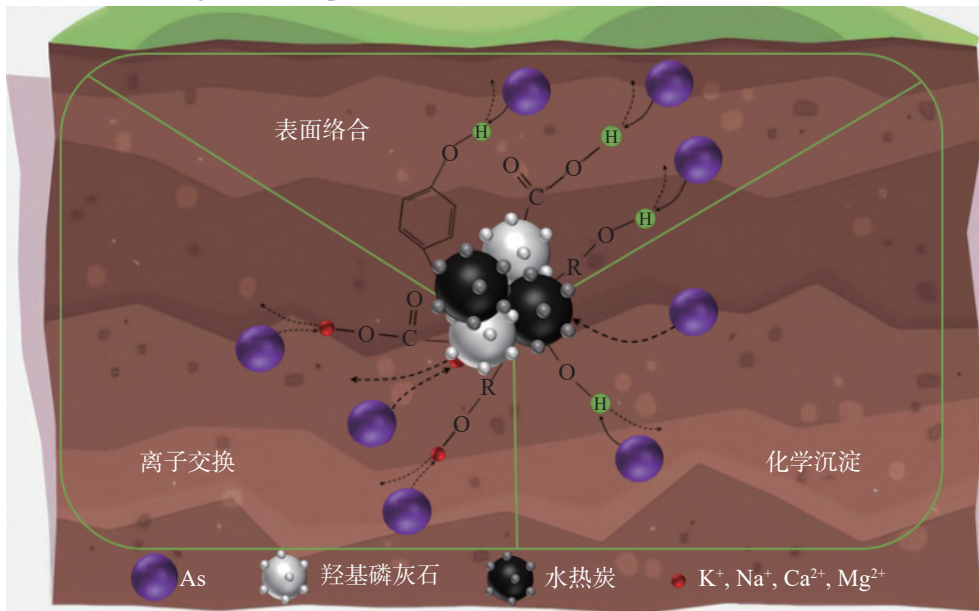


图 8 HAP-C 复合材料对土壤砷的钝化机理

Fig. 8 Immobilization mechanism of HAP-C composites on soil As

2.3.2 砷形态

图 9 为钝化处理至 60 d 后土壤砷的形态特征。由图 9 可看出: 添加不同类型钝化剂钝化至 60 d, 可被生物利用的吸附态砷 (EXC, CA) 相对含量较 CK 组均有所降低, 降幅为 22.20%~40.26%; 3% HAP-C 的降幅最大, EXC 和 CA 分别降低了 70.31% 和 35.78%, 而 Fe-Al, OM 和 RES 含量较 CK 组出现了不同程度的提高。一方面通过阴离子交换途径对土壤 As 的存在形态产生影响^[34], 另一方面 HAP-C 含有的活性官能团对土壤 As 具有一定的络合作用。然而, HAP-C 投加的质量分数从 3% 增至 5% 时, 土壤中 As 的钝化效果却有所下降, 这是由于过量的 HAP 提高了土壤的 pH, 从而提高了静电斥力和 As 的迁移率^[30]。

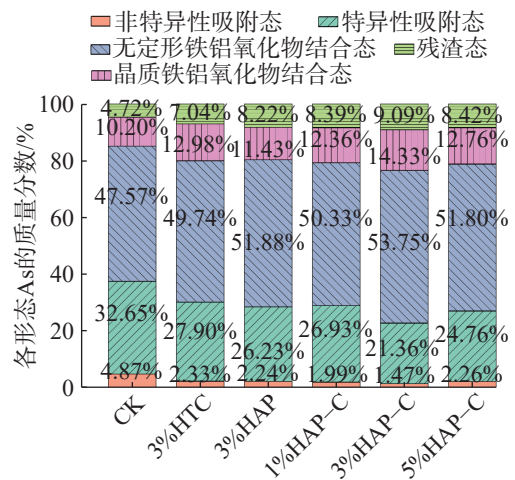


图 9 不同处理方式对土壤砷形态特征的影响
Fig. 9 Effect of different treatment methods on the speciation of soil As

2.4 钝化剂对土壤微生物群落组成的影响

为进一步明确 3%HAP-C 添加对土壤微生物的影响,在门水平和属水平下分别探索微生物群落组

成的变化,添加 HAP-C 后土壤在门和属水平的相对丰度如图 10。

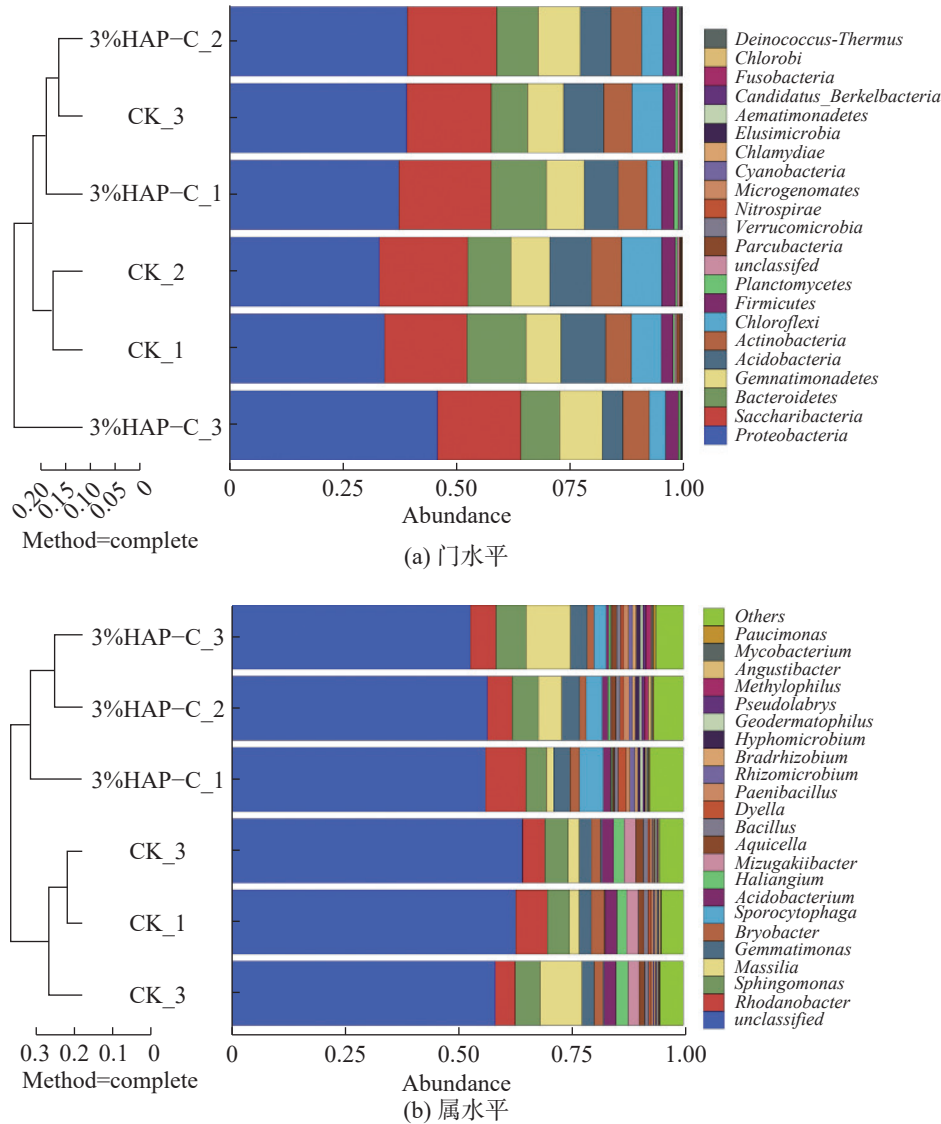


图10 细菌在门水平和属水平下的相对丰度

Fig. 10 Relative abundance of bacteria at the phylum and genus levels

由图 10(a)可知:CK 组和 3%HAP-C 组的变形菌门 (*Proteobacteria*) 相对含量较高,分别为 34.30%~39.20%(质量分数,下同)和 37.47%~46.00%,其次是单糖菌门 (*Saccharibacteria*),分别为 18.16%~19.48%和 18.34%~20.34%;与 CK 组相比,变形菌门、酸酞菌门 (*Acidobacteria*) 和绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 的相对丰度变化最显著。这是因为变形菌门具有有机物降解和抗砷特性^[35],添加 3%HAP-C 提高了土壤变形菌门的丰度,在 As 污染土壤的修复过程中,抗 As 细菌和 HAP-C 可协同促进 As 的稳定^[36-37];酸酞菌门和绿弯菌门是工业园区周边农田土壤的优势菌种,对重金属污染具有较强的耐受性,3%HAP-C 添

加后酸酞菌门和绿弯菌门的相对丰度均有所降低,可能与 HAP-C 吸附相关微量元素(如 Cu 等)有关^[38]。

从图 10(b)可看出:在属水平下 CK 组和 3%HAP-C 组的产黄杆菌属 (*Rhodanobacter*) 和鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*) 相对丰度较高,分别为 4.44%~6.95%和 5.46%~8.97%;与 CK 相比,3%HAP-C 处理组中产黄杆菌属和芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*) 的相对丰度发生显著变化,分别增加 10.30%~29.06%和 34.94%~48.12%。这是因为产黄杆菌属是 1 种对高硝酸盐和重金属具有耐受性的反硝化菌属^[39],鞘脂单胞菌属是变形菌门中最丰富的属,芽单胞菌属对重金属具有高度耐受性^[40]。研究^[41]表明,在镉和砷

污染的稻田土壤中,均检测到鞘脂单胞菌属和芽单胞菌属的富集。

上述优势菌群相对丰度的增加表明,添加3%HAP-C能够显著提高土壤中有益菌群的生长,有利于改善土壤环境健康状态。

3 结论

制备新型复合钝化剂 HAP-C,表征分析其形貌特征、晶体结构和官能团,且用于 As 污染土壤的钝化实验,分析施加 HAP-C 钝化剂对 As 污染土壤的钝化效果及土壤理化性质、酶活性和微生物群落组成的变化特征,得到以下主要结论:

1) HAP-C 复合钝化剂具有 HAP 和 HTC 的形貌特征,其中碳、氧、磷和钙是主要组成元素,XRD 和 FTIR 进一步证实了 HAP-C 的成功制备。

2) HAP-C 的添加可有效降低土壤 As 的生物利用比例,其中 3%HAP-C 的钝化效果最佳,钝化途径以表面络合、化学沉淀和离子交换为主。

3) HAP-C 的添加可提高土壤 pH, EC 及 SOM, NO_3^- -N 与有效磷的含量,并可增强脲酶和酸性磷酸酶活性;同时,添加 HAP-C 的质量分数为 3% 时,土壤 As 含量最低。

4) 3%HAP-C 的添加可提高土壤微生物的相对丰度和多样性,促进黄杆菌属和芽单胞菌属等耐砷菌属的生长,改善土壤环境健康状态。故本文研究可为土壤 As 污染的钝化修复提供理论参考。

参考文献:

- [1] CHEN G N, SHAH K J, SHI L, et al. Red soil amelioration and heavy metal immobilization by a multi-element mineral amendment: performance and mechanisms[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 254:112964.
- [2] SHI J D, ZHAO D, REN F T, et al. Spatiotemporal variation of soil heavy metals in China: the pollution status and risk assessment[J]. *Science of The Total Environment*, 2023, 871:161768.
- [3] 中华人民共和国环境保护部. 2013 中国环境状况公报 [EB/OL]. (2014-05-27) [2024-03-08]. https://www.mee.gov.cn/xxgk2018/xxgk/xxgk15/201912/t20191231_754083.html.
- [4] MA M Y, HA Z H, LYU C Y, et al. A novel passivator based on electrolytic manganese residues and calcite for arsenic sorption and heavy metal passivation of contaminated soil[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2023, 414:137544.
- [5] RAN H Z, GUO Z H, YI L W, et al. Pollution characteristics and source identification of soil metal (loid)s at an abandoned arsenic-containing mine, China[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 413:125382.
- [6] TANG R G, LAN P, DING C F, et al. A new perspective on the toxicity of arsenic-contaminated soil: tandem mass tag proteomics and metabolomics in earthworms[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 398:122825.
- [7] 生态环境部. 2023 中国生态环境状况公报 [EB/OL]. (2024-06-05) [2024-07-29]. https://www.mee.gov.cn/ywdt/hjywnews/202406/t20240605_1075031.shtml.
- [8] 戴志楠, 杨兴, 陈翰博, 等. 原始及铁改性生物质炭对污染土壤中 As, Pb 生物有效性和微生物群落结构的影响 [J]. *环境科学学报*, 2022, 42(7):456-465.
- [9] WANG H F, HU W Y, WU Q M, et al. Effectiveness evaluation of environmentally friendly stabilizers on remediation of Cd and Pb in agricultural soils by multi-scale experiments[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 311:127673.
- [10] 蒲生彦, 余东, 肖雨婷, 等. 钙基磁性生物炭对 Cr(VI) 污染土壤钝化稳定化机制及微生物影响研究 [J]. *环境科学学报*, 2022, 42(4):390-402.
- [11] PALANSOORIYA K N, SHAHEEN S M, CHEN S S, et al. Soil amendments for immobilization of potentially toxic elements in contaminated soils: a critical review[J]. *Environment International*, 2020, 134:105046.
- [12] LI H H, LIU Y T, TANG S Y, et al. Mechanisms for potential Pb immobilization by hydroxyapatite in a soil-rice system[J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 783:147037.
- [13] HOSSAIN M F, ISLAM M S, KASHEM M A, et al. Lead immobilization in soil using new hydroxyapatite-like compounds derived from oyster shell and its uptake by plant[J]. *Chemosphere*, 2021, 279:130570.
- [14] SUN R J, CHEN J H, FAN T T, et al. Effect of nanoparticle hydroxyapatite on the immobilization of Cu and Zn in polluted soil[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 25:73-80.
- [15] ZHU Y Q, LV X, SONG J H, et al. Application of cotton straw biochar and compound Bacillus biofertilizer decrease the bioavailability of soil Cd through impacting soil bacteria[J]. *BMC Microbiology*, 2022, 22(1):35.
- [16] 程虎, 张佳鹏, 宋洋, 等. 水热炭在土壤环境中的应用研究进展和展望 [J]. *环境工程技术学报*, 2021, 11(6):1202-1209.
- [17] FAN Y C, WU Q G, BAO B L, et al. Ferrihydrite reduces the bioavailability of copper and cadmium and phosphorus release risk in hydroxyapatite amended soil[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9:106756.
- [18] ZHU X D, LIU Y C, QIAN F, et al. Preparation of magnetic

- porous carbon from waste hydrochar by simultaneous activation and magnetization for tetracycline removal[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 154(1):209–214.
- [19] ISLAM M A, LIMON M S H, ROMIC M, et al. Hydrochar-based soil amendments for agriculture: a review of recent progress[J]. *Arabian Journal of Geosciences*, 2021, 14:102.
- [20] 吴梅, 李社红, 廖杰, 等. 3种复合铁基钝化剂对黔西南高砷土壤的修复效果研究[J]. *地球与环境*, 2022, 50(4):586–592.
- [21] SUN K, HAN L F, YANG Y, et al. Application of hydrochar altered soil microbial community composition and the molecular structure of native soil organic carbon in a paddy soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(5):2715–2725.
- [22] WENZEL, W W, KIRCHBAUMER N, PROHASKA T, et al. Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 436(2):309–323.
- [23] 侯钦宣, 张英, 于开宁, 等. 淹水-落干循环驱动下土壤砷结合形态的动态转化[J]. *科学技术与工程*, 2023, 23(22):9728–9736.
- [24] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [25] 梁宁, 闵彬彬, 冯国杰, 等. 羟基磷灰石改性毛竹生物炭对铅污染土壤的钝化修复性能[J]. *桂林理工大学学报*, 2021, 41(1):193–200.
- [26] DONG W M, WAN J M. Additive surface complexation modeling of uranium (VI) adsorption onto quartz-sand dominated sediments[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48:6569–6577.
- [27] CUI L Q, NOERPEL M R, SCHECKEL K G, et al. Wheat straw biochar reduces environmental cadmium bioavailability[J]. *Environment International*, 2019, 126:69–75.
- [28] LIN P C, LIU H, YIN H, et al. Remediation performance and mechanisms of Cu and Cd contaminated water and soil using Mn/Al-layered double oxide-loaded biochar[J]. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 2023, 125:593–602.
- [29] SHALTOUT A A, ALLAM M A, MOHARRAM M A. FTIR spectroscopic, thermal and XRD characterization of hydroxyapatite from new natural sources[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, 2011, 83:56–60.
- [30] DENG C X, WEN J J, LI Z W, et al. Passivating effect of dehydrated sludge and sepiolite on arsenic contaminated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 164:270–276.
- [31] HAN M N, KONG L J, HU X L, et al. Phase migration and transformation of uranium in mineralized immobilization by wasted bio-hydroxyapatite[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 197:886–894.
- [32] TAN L S, MA Z H, YANG K Q, et al. Effect of three artificial aging techniques on physicochemical properties and Pb adsorption capacities of different biochars[J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 699:134223.
- [33] AHMED W, MEHMOOD S, MAHMOOD M, et al. Simultaneous immobilization of lead and arsenic and improved phosphorus availability in contaminated soil using biochar composite modified with hydroxyapatite and oxidation: findings from a pot experiment[J]. *Environmental Research*, 2023, 2325:116640.
- [34] KIM H S, SEO B H, KUPPUSAMY S, et al. A DOC coagulant, gypsum treatment can simultaneously reduce As, Cd and Pb uptake by medicinal plants grown in contaminated soil[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 148:615–619.
- [35] MAZIARZ P, MATUSIK J, STRACZEK T, et al. Highly effective magnet-responsive LDH-Fe oxide composite adsorbents for As(V) removal[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 362:207–216.
- [36] PARK J H, LAMB D, PANEERSELVAM P, et al. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal (loid) contaminated soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 185:549–574.
- [37] LIU N H, LIAO P, ZHANG J C, et al. Characteristics of denitrification genes and relevant enzyme activities in heavy-metal polluted soils remediated by biochar and compost[J]. *Science of The Total Environment*, 2020, 739:139987.
- [38] WANG Q S, HE M C, WANG Y. Influence of combined pollution of antimony and arsenic on culturable soil microbial populations and enzyme activities[J]. *Ecotoxicology*, 2011, 20(1):9–19.
- [39] 朱永官, 彭静静, 韦中, 等. 土壤微生物组与土壤健康[J]. *中国科学: 生命科学*, 2015, 51(1):1–11.
- [40] LI X Z, JIA R, LU X Z, et al. The use of mercapto-modified palygorskite prevents the bioaccumulation of cadmium in wheat[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 417:125917.
- [41] ABOU-SHANAB R A, MATHAI P P, SANTELLI C, et al. Indigenous soil bacteria and the hyperaccumulator *pteris vittata* mediate phytoremediation of soil contaminated with arsenic species[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 195:110458.