

磁性炭基菌球降解土壤阿特拉津性能的研究

魏书奇, 李梓玮, 吴志欢, 毕馥漩, 王思琪, 孟庆娟

引用本文:

魏书奇, 李梓玮, 吴志欢, 毕馥漩, 王思琪, 孟庆娟. 磁性炭基菌球降解土壤阿特拉津性能的研究[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(5): 1067-1076.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0570>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

黄菖蒲对水中阿特拉津污染的去贡献研究

王庆海, 夏凡, 李翠, 却晓娥

农业环境科学学报. 2020, 39(11): 2613-2620 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0543>

玉米秸秆生物炭固定化Acinetobacter lwoffii DNS32性能研究

江群, 杨帆, 朱墨染, 赵璐璐, 闫立龙, 张颖

农业环境科学学报. 2017, 36(2): 382-386 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1018>

阿特拉津降解菌CS3的分离鉴定及其降解特性的研究

杨晓燕, 李艳琴, 魏环宇, 朱昌雄, 李峰, 耿兵

农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1149-1158 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1453>

根际效应对狼尾草降解土壤中阿特拉津的强化作用

蔺中, 杨杰文, 蔡彬, 钟来元, 张倩, 李进, 李隆凡, 陈小丽, 甄珍

农业环境科学学报. 2017, 36(3): 531-538 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1313>

阿特拉津胁迫下外源磷对香蒲磷吸收和抗氧化酶系统的影响

武淑文, 侯磊, 洪子萌, 范黎明, 叶敏

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 844-851 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1075>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

魏书奇, 李梓玮, 吴志欢, 等. 磁性炭基菌球降解土壤阿特拉津性能的研究[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(5): 1067-1076.

WEI S Q, LI Z W, WU Z H, et al. Degradation of soil atrazine by magnetic biochar coupled with functional bacteria pellets[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(5): 1067-1076.



开放科学 OSID

磁性炭基菌球降解土壤阿特拉津性能的研究

魏书奇, 李梓玮, 吴志欢, 毕馥漩, 王思琪, 孟庆娟*

(东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150010)

摘要:本研究通过海藻酸钠包埋磁性生物炭与降解菌 DNS32 形成磁性炭基菌球(DMBC-P), 并将其用于阿特拉津(ATZ)污染土壤的修复, 探讨其去除 ATZ 的效能及促进大豆幼苗生长的能力。研究表明, 当海藻酸钠与氯化钙的浓度为 2% 时, DMBC-P 对 ATZ 的去除能力最强。在 DMBC-P 投加量为 2%、温度为 30 °C、pH=7.3 时, 其对水体中 ATZ 的去除率可达到 99.99%; 并且在 pH 为 3.3~7.3、温度为 10~50 °C 以及 ATZ 浓度为 30~140 mg·L⁻¹ 的环境中, DMBC-P 对 ATZ 的去除性能仍然十分优异且其可以被有效回收。盆栽试验结果表明, 施用 DMBC-P 进行修复后, 该处理下大豆幼苗的生理指标显著高于空白对照处理, 叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素和总叶绿素含量分别提高 79.14%、45.48%、67.87% 和 110.78%。研究表明, DMBC-P 施用于污染土壤中能够实现 ATZ 的高效去除和材料有效回收, 是一种极具潜力的污染土壤修复材料。

关键词:阿特拉津; DNS32 降解菌; 磁性生物炭; 固定化技术; 土壤修复

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2024)05-1067-10 doi:10.11654/jaes.2023-0570

Degradation of soil atrazine by magnetic biochar coupled with functional bacteria pellets

WEI Shuqi, LI Ziwei, WU Zhihuan, BI Fuxuan, WANG Siqi, MENG Qingjuan*

(School of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150010, China)

Abstract: In this study, magnetic biochar and DNS32 were embedded and immobilized with sodium alginate to form magnetic biological pellets(DMBC-P), which were used to remediate atrazine-contaminated soil. Furthermore, their ability to remove atrazine and the mechanism by which they alleviated atrazine stress on soybean seedlings were explored. The results showed that DMBC-P had the strongest atrazine removal ability when the sodium alginate and calcium chloride content was 2%. At a DMBC-P dosage of 2%, temperature of 30 °C, and pH of 7.3, the atrazine removal efficiency reached 99.99%. DMBC-P also exhibited excellent atrazine removal performance under the conditions of pH 3.3-7.3, temperatures of 10-50 °C, and atrazine concentrations of 30-140 mg L⁻¹, and it could be effectively recycled. Pot experiment results showed that the physiological indexes of soybean seedlings after DMBC-P remediation were significantly higher than those under CK treatment, and the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid, and total chlorophyll were increased by 79.14%, 45.48%, 67.87%, and 110.87%, respectively. The results show that DMBC-P applied to contaminated soil can efficiently remove atrazine and effectively recover materials. It is a suitable contaminated soil remediation material with great research potential.

Keywords: atrazine; DNS32 degrading bacteria; magnetic biochar; immobilization technology; soil remediation

阿特拉津(ATZ), 又称莠去津, 是一种合成的三嗪类除草剂, 因具有效率高、毒性低、价格便宜、用途广泛等优势而成为受欢迎的除草剂之一^[1-3]。ATZ 具

有多种特性, 例如高泄漏潜力、易被有机材料和黏土吸收等, 是一种危险的地表和地下水污染物^[4]。ATZ 的三氮苯结构稳定, 不易被微生物降解, 残留在土壤

收稿日期: 2023-07-18 录用日期: 2023-10-17

作者简介: 魏书奇(1996—), 男, 黑龙江牡丹江人, 博士, 主要从事水土界面多过程调控与污染修复研究。E-mail: weishuqi0606@163.com

*通信作者: 孟庆娟 E-mail: mengqingjuan@neau.edu.cn

基金项目: 黑龙江省土壤保护与修复重点实验室项目

Project supported: Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Soil Protection and Remediation

深层的时间较长以及可持续从土壤深层释放到地下水,导致了ATZ在环境中的含量及留存时间持续增加^[5]。此外,ATZ也会对人体健康产生影响,包括对多种细胞成分中结构蛋白和运输蛋白等表达的影响、DNA损伤、精子突变以及提高多种癌症的得病率(如非霍奇金淋巴瘤、乳腺癌和前列腺癌)^[6]。

目前ATZ污染的修复方法主要包括化学修复技术和生物修复技术^[7-8]。化学修复技术一般通过添加氧化剂到土壤中使之与污染物反应来将其降解。例如,芬顿法是处理除草剂和农药污染土壤的高级氧化方法之一,但其在实际修复土壤污染的过程中成本巨大、操作复杂,而且可能会对土壤造成二次污染。生物修复技术主要依靠微生物或植物自身的代谢过程来达到修复污染土壤的目的,具有适用范围广、程序相对简单、成本低、无二次污染等优点。其中,微生物降解是修复ATZ污染的主要方法之一。许多研究者已在环境中分离出可以降解ATZ的微生物,包括细菌、真菌、放线菌以及藻类,其中以细菌为主^[9]。不同的细菌会通过不同的降解途径对ATZ进行降解。但是,利用生物修复技术进行实际修复时,土壤环境的复杂性和污染环境的恶劣性,即环境温度、pH值、营养物质含量、有毒物质等因素,以及与土著微生物的竞争,限制了微生物对污染物的修复效率。为解决上述问题,利用微生物固定化技术将微生物固定在无机材料(如活性炭和硅藻土)或高分子材料(如纤维素和聚乙烯醇)等载体材料上,提供微生物适宜的生存条件,并且保护微生物免受极端的物理或化学环境变化的影响,使其具有较高的活性以降解污染物^[10]。其中海藻酸钠是一种具有生物相容性且可生物降解的物质,其能够将微生物包埋固定化形成微球。通过海藻酸钠对细菌进行固定化后,细菌的生存能力和对极端条件的抵抗力被提高,从而提升了细菌的活性。

磁性生物炭是一种稳定的碳基材料,具有高比表面积和较多活性官能团,并且拥有十分优异的磁性^[11]。此外,引入磁性生物炭不仅可以提高微球对ATZ的吸附性能,还可以将复合微球与土壤进行有效分离,从而避免材料对环境的二次污染,实现微球的重复利用。因此,本研究目的为:(1)将ATZ降解菌DNS32与磁性生物炭结合,并通过海藻酸钠-氯化钙对复合材料进行包埋固定化制备磁性炭基菌球;(2)通过表征综合评价磁性炭基菌球化学特征和表面形貌;(3)考察磁性炭基菌球对修复ATZ污染土壤的效能、机制及其对土壤环境的影响;(4)探究磁性炭基菌

球缓解ATZ对大豆幼苗的胁迫。

1 材料与方法

1.1 供试土壤及菌株

本试验所使用的土壤采集于黑龙江省哈尔滨市阿城区某处未污染农田(0~20 cm),土壤pH 6.94,有机质、有效磷、速效钾的含量分别为 $13.89 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $95.60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $5.26 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。将收集到的土壤在室内风干,然后去除杂质并过20目筛网。ATZ污染土壤是通过添加含有ATZ的丙酮溶液进行制备,样品混合均匀后置于通风橱内使丙酮完全挥发,最终得到 $22 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的ATZ污染土壤^[9]用于后续修复试验。

试验采用的菌株是DNS32(*Acinetobacter lwoffii*),来自实验室前期在受ATZ污染的土壤中筛选出的一株降解菌。培养DNS32菌株所需的培养基为无机盐培养基: $1.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{HPO}_4$ 、 $0.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ 、 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4$ 、 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$ 、 $3.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 和 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ ATZ}$ 。

1.2 磁性生物炭耦合降解菌微球的制备

磁性炭基菌球的制备包括:(1)将*Acinetobacter lwoffii* DNS32接种至无机盐培养基中,在 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温摇床中振荡培养48 h。在菌株生长至对数期,即菌液在紫外分光光度计600 nm处光密度为0.9~1.0时获取菌悬液。然后将菌悬液置于高速离心机中离心($12\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 3 min),倒掉上清液后获得湿细胞,重复上述操作步骤多次,以获得足够量的湿细胞,最后使用少量无菌水将湿细胞重新悬浮备用;(2)将过筛后的玉米秸秆粉(2 mm)置于管式炉内,在 N_2 氛围下以 $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $500 \text{ }^\circ\text{C}$ 并热解2 h,经过酸洗、水洗、干燥和研磨过筛后得到生物炭(BC)。然后,将 $9.44 \text{ g FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和 $3.44 \text{ g FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 加入到400 mL无氧水中形成混合溶液,边滴加 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (20 mL)边使用机械搅拌器搅拌1 h,使其发生共沉淀反应形成 Fe_3O_4 。最后将10 g BC加入到上述溶液并继续搅拌30 min。对得到的颗粒进行水洗、醇洗后放于 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 干燥箱内烘干,经研磨过筛后获得磁性BC(MBC);(3)将2.0 g海藻酸钠(SA)加入到100 mL无菌水中,超声搅拌至完全溶解,溶液经过高温灭菌后冷却至室温。然后将2.0 g MBC和2.0 g DNS32湿细胞与上述溶液混合均匀,用滴管将混合物滴入到2%的 CaCl_2 溶液中,形成磁性炭基菌球(DMBC-P)。将其置于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中钙化24 h,再用0.9%的NaCl溶液洗涤DMBC-P 3次,最后把DMBC-P浸泡于NaCl

溶液中,并放置在4℃冰箱保存备用。

1.3 磁性炭基菌球修复农田ATZ污染土壤的试验

1.3.1 不同处理对于ATZ的去除性能

设置对照(CK)、SA微球(Pellet)、游离菌(DNS32)、MBC、磁性生物炭负载ATZ降解菌(MBC-P)和DMBC-P 6个处理,每个处理重复3次。分别将1.2 mL DNS32 ($OD_{600} \approx 9.0$)和0.5 g Pellet、MBC、MBC-P、DMBC-P加入到50 mL含有 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ATZ的污染溶液中,然后将其分别置于 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温摇床中振荡培养9 h,分别在0、3、6 h和9 h取样,测定样品中ATZ的浓度。

1.3.2 磁性生物微球对ATZ的去除能力

①溶液初始pH对DMBC-P去除ATZ性能的影响:用 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl和NaOH溶液调节含有 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ATZ的培养基的pH值,分别将pH调节至3.3、4.3、5.3、6.3、7.3、8.3和9.3。然后将1.2 mL DNS32菌悬液($OD_{600} \approx 9.0$)、0.5 g MBC-P和0.5 g DMBC-P分别加入到50 mL上述不同pH的ATZ污染溶液中;②环境温度对DMBC-P去除ATZ性能的影响:在不同温度下(10 、 20 、 30 、 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $50 \text{ }^\circ\text{C}$),将1.2 mL DNS32菌悬液($OD_{600} \approx 9.0$)、0.5 g MBC-P和0.5 g DMBC-P分别投加到含有50 mL $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ATZ的培养基中^[8];③溶液初始ATZ浓度对DMBC-P去除ATZ性能的影响:将1.2 mL DNS32菌悬液($OD_{600} \approx 9.0$)、0.5 g MBC-P和0.5 g DMBC-P分别投加到含有50 mL不同ATZ浓度(30 、 60 、 100 、 $120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 $140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的培养基中;④DMBC-P的投加量对其去除ATZ性能的影响:称取不同质量的DNS32菌悬液($OD_{600} \approx 9.0$)、MBC-P和DMBC-P(1%、2%、3%、4%和5%)分别投加到含有50 mL $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ATZ的培养基中。每个处理均进行3组平行试验,将培养基置于 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温摇床中振荡培养,反应48 h后的溶液过 $0.22 \text{ } \mu\text{m}$ 有机系滤膜,测定溶液中ATZ的浓度并计算去除率。

1.3.3 不同体系对土壤中残留ATZ的修复效果

设置CK、DNS32、MBC-P和DMBC-P 4个处理,每个处理3组平行试验。分别将1.2 mL DNS32($OD_{600} \approx 9.0$)、0.5 g MBC-P和0.5 g DMBC-P加入到100 g含有 $22 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ATZ的污染土壤中,并保持土壤最大持水量为60%(水的质量:干土质量),室温($25 \text{ }^\circ\text{C}$)下静置培养7 d,每隔1 d取一次土样,测定其中ATZ的含量,同时计算相应的表观速率常数(k_{obs} , d^{-1}),公式如下:

$$\ln \frac{C}{C_0} = -k_{\text{obs}} t$$

式中: C 和 C_0 分别为土壤中ATZ的残余含量和初始含量; t 为反应时间。

具体测定方法如下:将土壤样品风干、充分研磨后过100目筛网。称取1.0 g土壤样品于50 mL离心管中,向其加入10 mL甲醇,盖紧盖子后用涡旋机涡旋1 min,将土壤和甲醇溶液充分混匀。然后将离心管放入超声萃取仪中萃取2 h。萃取结束后使用高速离心机离心10 min($5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)。将离心后的上清液倒入10 mL离心管,在 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下进行氮吹,将溶液吹至剩余1 mL时,使用三氯甲烷再次定容至10 mL。最后通过 $0.22 \text{ } \mu\text{m}$ 有机系滤膜过滤后,使用气相色谱仪测定溶液中ATZ的浓度。

1.3.4 磁性炭基菌球的回收及循环使用性能

称取投加量为0.5%的DMBC-P,加入到50 g $22 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的ATZ污染土壤中,再加入蒸馏水保持土壤含水率为60%。经过4 d的修复后,用磁铁将土壤中的DMBC-P提取出来冲洗干净,再将其投加到另外相同质量的污染土壤中,进行下一轮修复,试验参数与第一轮一致。然后将每一轮修复后的土壤风干并研磨过筛,测定土壤中残留的ATZ含量。共进行3轮循环修复试验。将DMBC-P按照一定量加入到不同含水率(0、60%、100%)的土壤中,搅拌均匀后,利用磁铁进行回收,并记录回收状态和性能。

1.3.5 测定不同处理下大豆幼苗生理生化指标

将不同处理组种植15 d的大豆幼苗从土壤中分离出来,用蒸馏水清洗植株茎和根上残留的土壤,冲洗干净后将幼苗放于滤纸上沥干水分。每个处理选取长势相似的植株,即刻用分析天平称量植株地上部和地下部的鲜质量,用直尺测量植株的株高和根长。此外,称取0.5 g不同处理下于大豆幼苗相同位置取下的叶片(避开大脉),剪碎放入研钵中,加入一定量的石英砂、碳酸钙粉和3.0 mL乙醇,研磨成均浆,再加入10.0 mL乙醇,继续研磨至大豆叶片组织变白。静置5 min后过滤,用乙醇定容至100 mL容量瓶中,摇匀。溶液在663、645 nm和470 nm的波长下测定吸光度,计算叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素的含量^[11]。

1.4 磁性炭基菌球的表征

利用扫描电子显微镜(SEM)观察DMBC-P的微观形貌特征;利用傅里叶红外光谱(FT-IR)揭示不同修复材料的官能团类型;利用X射线衍射仪(XRD)分析不同修复材料的表面晶体结构。

1.5 数据处理

数据处理以及图表绘制均采用Origin 2019b、

Photoshop 2019c 和 Jade 6.0 完成。使用 DPS 数据处理系统, 经过单因素方差分析和 Duncan 多重比较后确定不同处理之间的显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 材料表征分析

利用扫描电镜分析了 DMBC-P 的表面微观结构和内部形貌。如图 1a 所示, DMBC-P 呈球状, 经过冷冻干燥后其粒径约为 2 mm, 具有较小的体积。从图 1b 中可以看出 DMBC-P 的表面十分粗糙, 且皱褶形态分布密集, 这种结构能够提高 DMBC-P 的稳定性和比表面积。此外, 图 1c 和图 1d 的剖面结构图显示 DMBC-P 具有大量的三维网状多孔结构, 这是 SA 特有的结构, 同时也为 MBC 和 DNS32 去除 ATZ 以及物质运输提供了良好的通道。

通过红外光谱表征了 BC、MBC、MBC-P 和 DMBC-P 的官能团组成。如图 2a 所示, BC、MBC、MBC-P 和 DMBC-P 中均存在 -OH、-COOH 和 C-O 官能团的振动峰^[12-14], 分别位于 3 416、1 628 cm⁻¹ 和 1 096 cm⁻¹ 附近。随着 Fe₃O₄ 和 SA 的引入和固定, 3 种振动峰的振幅变大。另外, MBC-P 和 DMBC-P 在 1 420 cm⁻¹ 和 1 034 cm⁻¹ 附近的宽吸收带分别属于 SA 特有的 C=O 和 C-O-C 官能团^[15], 这表明材料被成功制备。除此之外, MBC 在 564 cm⁻¹ 处的振动峰与 Fe₃O₄ 纳米颗粒中的 Fe-O 官能团有关^[16], 说明磁性纳米颗粒被成功地引入到 DMBC-P 中。值得注意的是, 利用 SA 进行包埋固定化后, Fe-O 官能团的振幅并

没有减弱, 说明 DMBC-P 的磁性没有受到影响。

利用 X 射线衍射仪分析了 BC、MBC、MBC-P 和 DMBC-P 的晶体结构。如图 2b 所示, BC 在 2θ=26.6° (005) 处出现一个明显的衍射峰, 这种峰与具有代表性的石墨结构有关^[17]。此外, MBC 在 2θ=30.09°、35.42°、43.05°、56.94° 和 62.51° 处产生的衍射峰与 Fe₃O₄ 的 (220)、(311)、(400)、(511) 以及 (440) 晶面相匹配^[18]。同时, 在 MBC-P 和 DMBC-P 中也发现了相同的特征峰, 说明 Fe₃O₄ 被成功地负载到微球中, 并且这些特征峰的峰强并没有因为 SA 的包埋固定化而减弱, 表明 Fe₃O₄ 的性质没有受到 SA 的影响。

2.2 不同体系对水体中 ATZ 的去除效果

图 3 表明, 经过 9 h 的修复, CK 和 Pellet 处理对 ATZ 的去除率仅为 6.31% 和 8.30%, 可能的原因是 ATZ 的水溶性较低, 在振荡培养过程中有一定的析出, 因此该结果并非是 Pellet 本身对 ATZ 的去除率。此外, DNS32 处理在 9 h 后对 ATZ 的去除率仅为 37.36%, 这是因为 DNS32 虽然以 ATZ 作为氮源进行生长, 但较高浓度的 ATZ 对微生物仍具有一定毒性, 因此降低了 DNS32 的活性, 导致其降解 ATZ 的性能

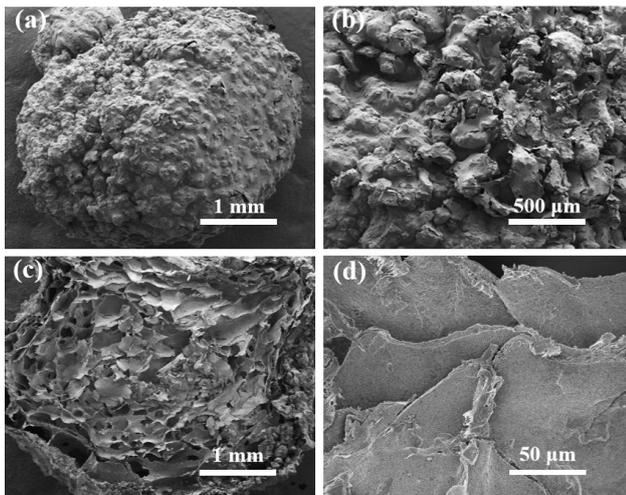


图 1 DMBC-P 表面(a,b)和内部结构(c,d)的扫描电镜图
Figure 1 SEM images of DMBC-P surface(a,b) and internal structures(c,d)

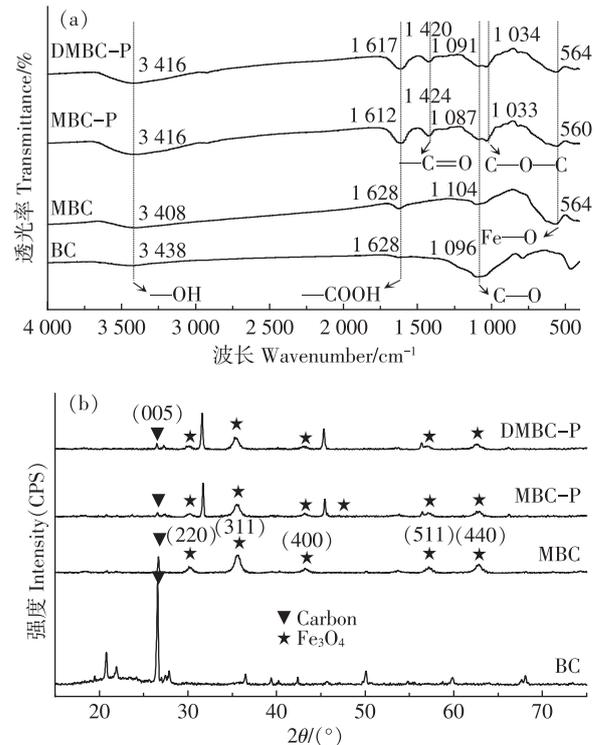


图 2 BC、MBC、MBC-P 和 DMBC-P 的傅里叶变换红外光谱(a)和 X-射线衍射光谱(b)
Figure 2 FT-IR(a) and XRD spectra(b) of BC, MBC, MBC-P and DMBC-P

较低。MBC对ATZ的去除率基本保持在36.95%,其主要是通过自身的孔隙结构对ATZ进行吸附,而经过SA包埋后(MBC-P),MBC与ATZ的接触面积减小,导致其对ATZ的吸附能力减弱,去除率降低至28.63%。DMBC-P是将降解菌DNS32与MBC相结合,通过SA将其包埋固定化后再对ATZ进行去除。从结果可以看出,在9h后,DMBC-P对ATZ的去除率达到了97.19%,能够高效去除水体中 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的ATZ。这是由于MBC的加入以及SA的包埋不仅能够保护DNS32免受环境中ATZ的胁迫,而且MBC还可以为微生物提供丰富的能源物质(碳、氮等),进而促进微生物的生长和繁殖,使DMBC-P先将水体中游离的ATZ吸附到微球中,再利用降解菌DNS32对被吸附的ATZ进行逐步降解,达到先吸附、后降解的效果。因此,与其他材料相比,DMBC-P可作为一种更加有效去除ATZ的修复材料。

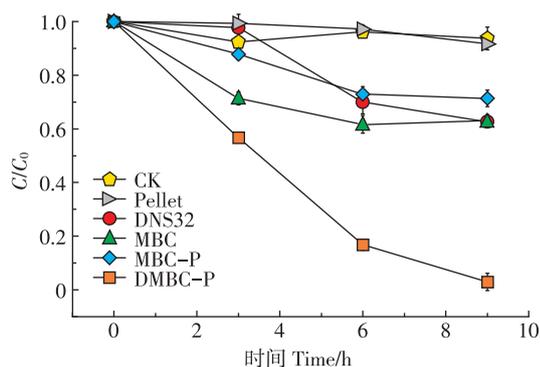


图3 不同体系对ATZ的去除效果

Figure 3 Removal effects of different systems on atrazine

2.3 磁性炭基菌球对ATZ的去除能力

图4a展示了不同pH值对DNS32、MBC-P和DMBC-P去除ATZ能力的影响。从图中可以发现,在酸性条件下(pH为3.3~5.3),DNS32和MBC-P对ATZ的去除率最高分别达到60.49%和11.10%;在偏中性条件下(pH为6.3、7.3),最佳去除率可以分别达到95.00%和20.53%;而在碱性条件下(pH为8.3、9.3),DNS32和MBC-P对ATZ的去除率最高可以达到60.31%和10.02%。以上说明酸性和碱性环境会抑制DNS32和MBC-P去除ATZ的能力。研究表明DNS32降解菌是一株中性偏碱的菌株,酸性和碱性条件会抑制其活性,导致去除率降低。相比之下,DMBC-P在酸性、偏中性及碱性条件下对ATZ均具有良好的去除能力,最高可分别达到90.44%、99.99%及93.25%。

主要的原因是DNS32经过包埋固定化后所形成的海藻酸钙可以保护细菌免受酸性和碱性环境的影响,从而保持了细菌原有的活性^[19]。

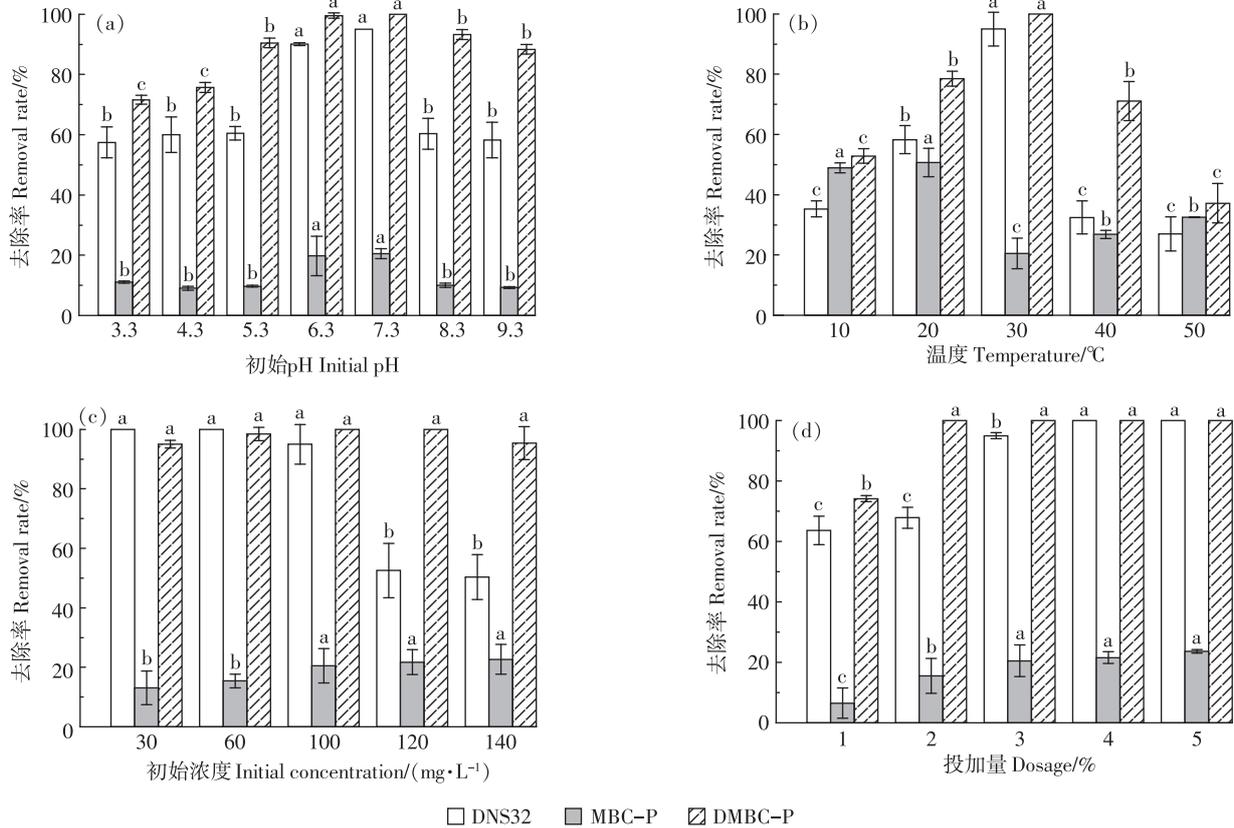
温度一般被认为是影响微生物活性的重要环境因素之一。从图4b中可以看出,随着温度的升高,DNS32、MBC-P和DMBC-P对ATZ的去除率呈现先上升后下降的趋势。以DNS32最适宜生长的温度(30℃)作为参照,在相对低温(10、20℃)和相对高温(40、50℃)的条件下,DNS32对ATZ的去除率分别为35.27%、58.30%、32.47%和27.05%,而经过SA包埋固定化后,DMBC-P对ATZ的去除率可提升至52.88%、78.52%、71.14%和37.18%。由此可见,SA作为微生物固定化载体,能够有效提高细菌的生存能力和在极端条件下的抵抗力,从而增强对污染物的去除能力^[20]。

如图4c所示,当ATZ初始浓度 $\leq 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,DNS32的活性良好,对ATZ的去除效果优异,能够达到95.00%以上,而当初始浓度提升至 $140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,DNS32对ATZ的去除率仅为50.29%,表明高浓度的ATZ会影响游离DNS32的生长繁殖,从而导致其对ATZ去除能力的减弱。相比之下,DMBC-P无论对低浓度或高浓度的ATZ都具有良好的去除能力,去除率始终保持在95.03%~99.99%,说明SA的包埋固定化能够有效避免游离菌与有毒有害物质的直接接触,进而保持了菌株自身的活性,提高其对污染物去除的能力^[21]。此外,MBC-P对ATZ的去除率随着污染物浓度的增加而提高,在ATZ $140\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的时候去除率基本保持在22.68%不再提升,这是由于MBC-P本身的吸附位点有限,因此对于溶液中ATZ的捕获也具有一定的限制。

材料投加量会影响其对污染物的去除能力,图4d表明,投加量为1%时,DMBC-P对ATZ的去除率为74.17%,随着投加量提升至2%,DMBC-P对ATZ的去除率增加至99.99%,而投加量再次提升至3%~5%后,去除率不再进一步变化,始终保持在99.99%。以上结果说明,尽管在较低的投加量下,DMBC-P仍然对ATZ具有十分优异的去除能力。

2.4 不同体系对土壤ATZ的去除效果

本研究比较了CK、DNS32、MBC-P和DMBC-P对土壤中ATZ的去除能力,结果如图5a所示。由于环境条件的影响,例如土著微生物的降解、光照的光解、土壤水分的水解以及氧化还原反应等,土壤中的ATZ发生了自降解过程,所以在培养7d之后,CK处理对



不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。
Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$). The same below.

图4 溶液pH、温度、污染物浓度以及投加量对DMBC-P去除ATZ能力的影响

Figure 4 Effects of solution pH, temperature, pollutant concentration and dosage on atrazine removal ability of DMBC-P

ATZ的去除率约为21.00%。此外,与CK相比,MBC-P对ATZ的去除率提高到49.00%左右,其原因是MBC与ATZ之间能够产生孔径填充、氢键、 $\pi-\pi$ 堆积等相互作用^[22],从而进一步提升对ATZ的去除率。DMBC-P在各处理组中降解ATZ的速率最快,同时

DMBC-P回收后并未检测到ATZ,因此在4 d就实现了土壤中ATZ的完全降解。不仅如此,DMBC-P对于ATZ的去除率明显高于DNS32,这可能是由于实际环境中的各种因素对外源施加微生物产生了不利影响,比如土壤中的重金属和其他有机污染物、土著微生物

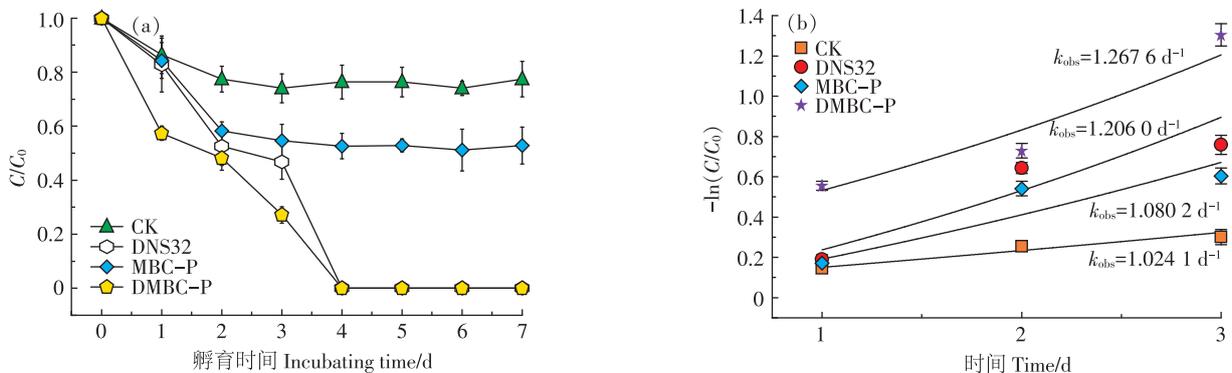


图5 不同处理对土壤中ATZ的去除效果(a)和不同处理去除土壤中ATZ的一级表观动力学拟合(b)

Figure 5 Removal effects of atrazine in soil under different treatments(a) and first-order apparent kinetic fitting of atrazine removal from soil under different treatments(b)

和恶劣的环境条件等,从而导致微生物的生存能力、适应能力和污染物降解效率下降^[23]。此外,本研究还通过计算 k_{obs} 比较了不同处理组之间的去除速率。如图5b所示,DMBC-P处理的 k_{obs} 为 1.2676 d^{-1} ,显著高于DNS32($k_{\text{obs}}=1.2060\text{ d}^{-1}$)、MBC-P($k_{\text{obs}}=1.0802\text{ d}^{-1}$)和CK($k_{\text{obs}}=1.0241\text{ d}^{-1}$),这表明DMBC-P对土壤中的ATZ不仅具有较高的去除率,同时还具有较高的去除速率。总的来说,在3个修复处理组中,DMBC-P对土壤中ATZ的去除能力最好、速率最高。根据以上结果,本研究最终选择了4d作为修复周期以进行后续试验。

2.5 磁性炭基菌球在土壤中的重复再利用能力

为了探究DMBC-P在污染土壤中的重复再利用能力,本研究在ATZ污染土壤中对DMBC-P进行了循环再生试验,结果如图6a所示。经过3轮的循环修复,DMBC-P仍然保持着优异的修复能力,对土壤中 $22\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ATZ的去除率仍能够保持在99.99%。此外,在本研究的含水率(60%)以及环境中的极端条件(0和100%)下对DMBC-P的回收性能进行测试,结果见图6b,可以发现,在3种含水率的土壤中均匀分布着DMBC-P,利用外加磁铁在土壤上方对DMBC-P进行提取,能够将土壤内的微球全部回收。以上结果表明,DMBC-P具有优异的循环使用性能,并且在极端干燥或淹水的条件下也能够很好地从土壤中提取出DMBC-P。因此,DMBC-P可以作为一种具有回收再利用特性的高性能生物修复剂,用于实际的ATZ污染土壤修复。

2.6 磁性炭基菌球缓解ATZ对大豆幼苗的胁迫

残留的ATZ会影响大豆幼苗的生理指标,因此本研究探讨了不同处理下,植株生长15d后的株高、根长和鲜质量,并且同时与无污染土壤对照处理(US)进行比较,结果如图7所示。与CK处理相比,DMBC-P处理使大豆幼苗地上部的株高增加了3.41cm,地下部的根长增加了1.02cm,表明DMBC-P能够有效缓解ATZ对大豆生长的胁迫作用,从而促进植物生长。而DNS32处理使株高和根长仅分别提高了1.02cm和0.26cm,MBC-P处理仅分别提高了1.16cm和0.29cm。此外,与US处理相比,CK处理中大豆幼苗茎和根部的生长受到显著抑制,从图7b可以看出US处理的植株茎和根的鲜质量分别为 $2.51\text{ g}\cdot\text{株}^{-1}$ 和 $0.82\text{ g}\cdot\text{株}^{-1}$,而CK处理的植株茎和根的鲜质量分别降低至 $2.39\text{ g}\cdot\text{株}^{-1}$ 和 $0.76\text{ g}\cdot\text{株}^{-1}$ 。与DNS32和MBC-P处理相比,DMBC-P处理中大豆幼苗茎和根的鲜质量最

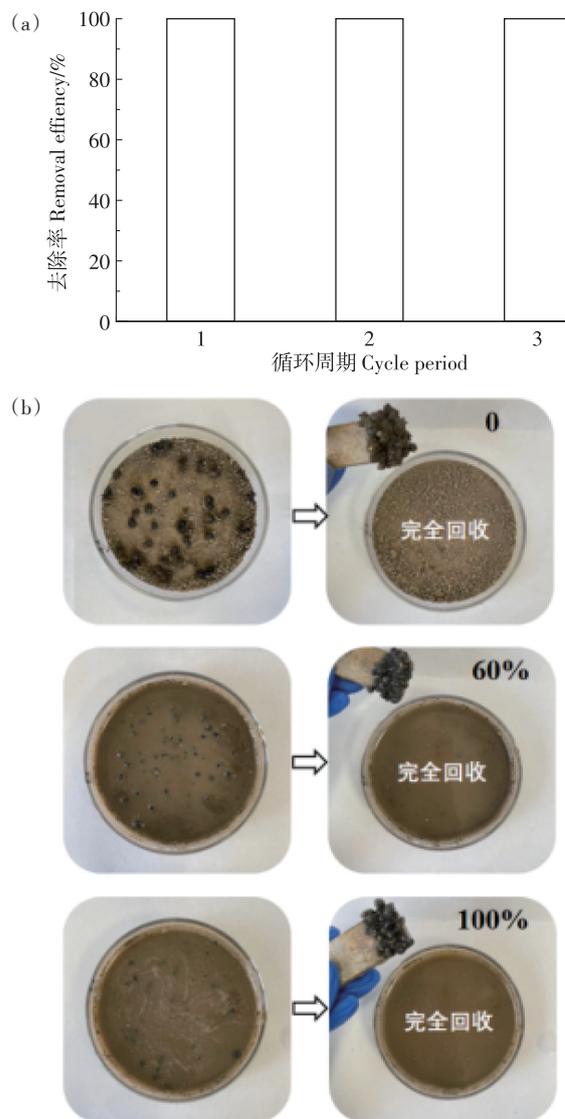


图6 DMBC-P在土壤中的循环再生能力(a)和回收性能(b)
Figure 6 Recycling capacity(a) and recovery performance(b) of DMBC-P in soil

高,分别达到 $2.50\text{ g}\cdot\text{株}^{-1}$ 和 $0.73\text{ g}\cdot\text{株}^{-1}$ 。

此外,各种外界环境因素(非生物胁迫)会通过改变植物光合色素的含量,从而影响植物的正常功能,导致植物的生产力严重降低^[24]。因此,本研究通过分析不同处理下植株光合色素的含量来评价大豆幼苗的生长,结果如图8所示。在US处理下,大豆幼苗的叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素含量分别为 21.57 、 11.30 、 $32.87\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $1.92\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。而在ATZ的胁迫下,CK处理中4种光合色素的含量显著降低,分别降低至 15.82 、 7.96 、 $23.78\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $1.02\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。这种现象可能是由于ATZ破坏了植物的叶绿体和线粒体结构,限制了光合色素的合成。此外,

与CK处理相比,DNS32和MBC-P处理均不同程度地提高了大豆幼苗的光合色素含量,而DMBC-P处理对光合色素的促进作用最强,使光合色素含量分别提高79.14%、45.48%、67.87%和110.78%。结果表明,DMBC-P的修复可以有效缓解ATZ对大豆幼苗的胁迫作用,进而促进大豆幼苗的生长。

本研究通过测定植株超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)的活性,进一步评价了ATZ胁迫对大豆幼苗的影响。从图9a可以看

出,与US处理相比,CK处理中植株的SOD活性从368.90 U·g⁻¹增加到423.02 U·g⁻¹,说明ATZ对植物具有很大的胁迫作用,植物通过激活抗氧化防御系统提高抗氧化酶活性来清除高浓度的活性氧(ROS),从而达到自我保护的目的。SOD、POD和CAT是植株体内主要的H₂O₂清除剂,能够催化ROS并将其转化为H₂O和O₂,以此缓解污染物的毒害作用^[25-26]。如图9b和图9c所示,在CK处理中,植株POD和CAT的活性分别从US处理的110.53 U·g⁻¹·min⁻¹和52.37 U·g⁻¹·

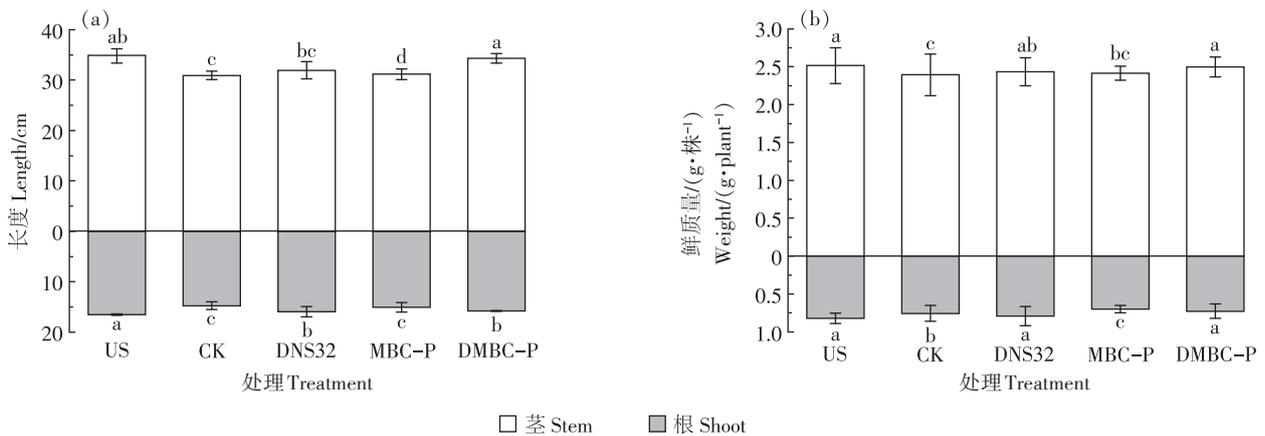


图7 不同处理对植株株高、根长和鲜质量的影响

Figure 7 Effects of different treatments on plant height, root length and fresh weight

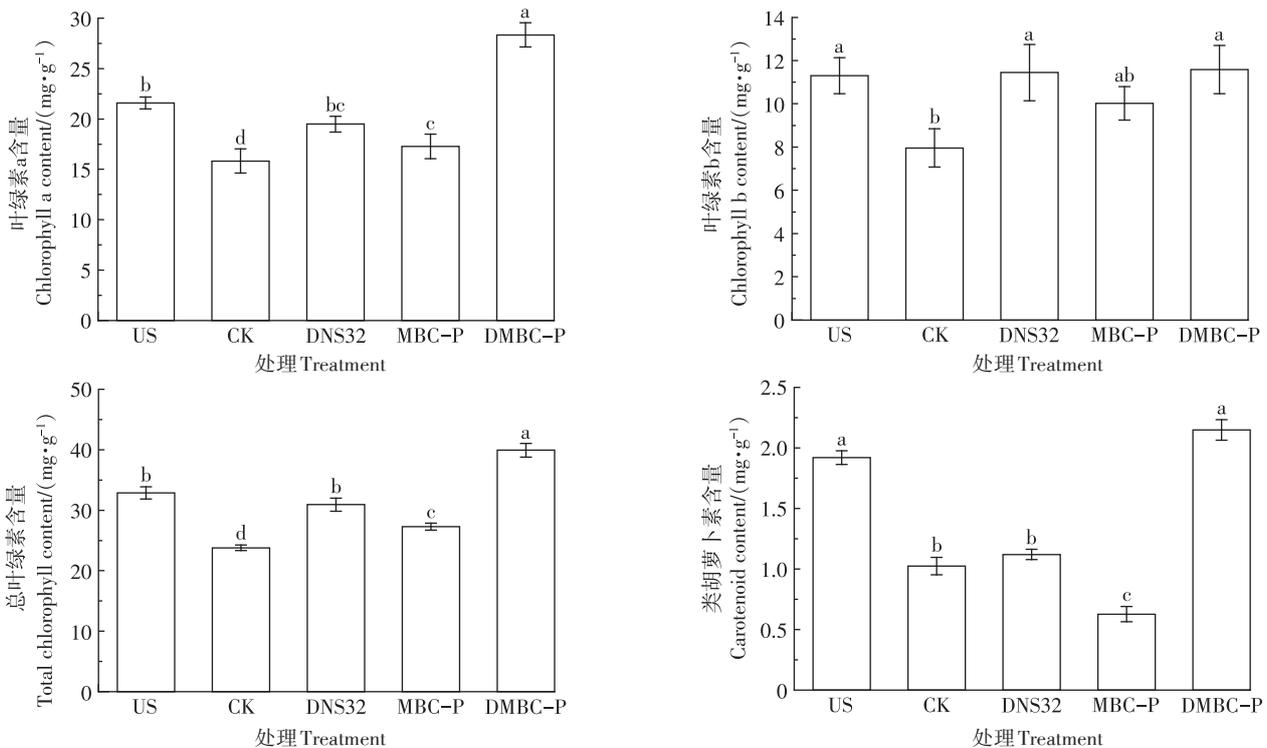


图8 不同处理下大豆幼苗叶片中叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素的含量

Figure 8 Contents of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoid in soybean seedling leaf under different treatments

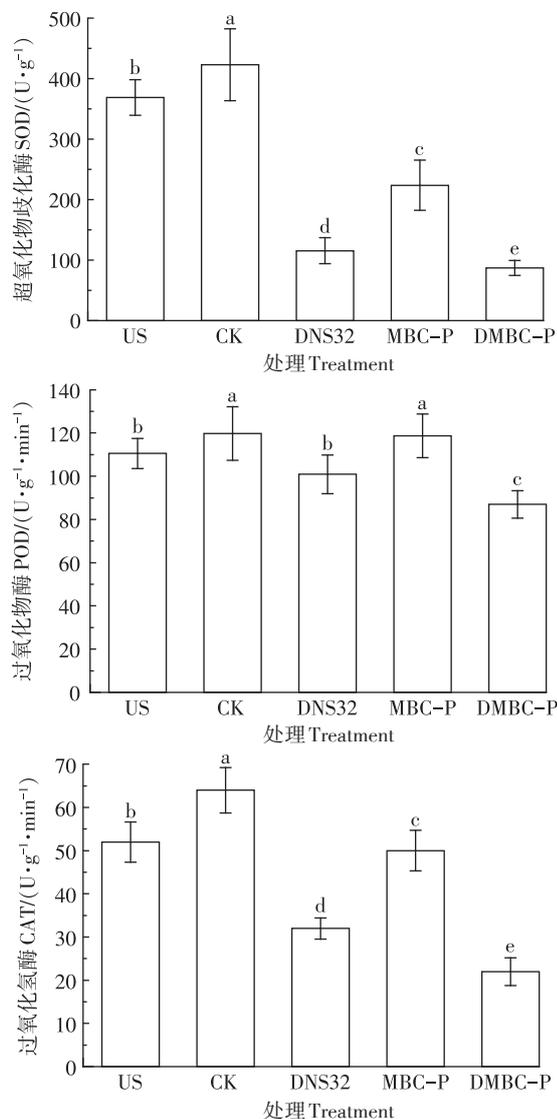


图9 不同处理对大豆幼苗超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶活性的影响

Figure 9 SOD, POD, and CAT activities of soybean seedlings under different treatments

min^{-1} 增至 $119.80 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 和 $64.72 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 。此外,与CK处理相比,3种修复材料均不同程度地降低了SOD、POD和CAT的活性,这是由于随着土壤中ATZ残留量降低,其对植物的胁迫能力下降,从而降低了3种抗氧化酶的活性。其中,DMBC-P处理显著降低了3种抗氧化酶的活性,SOD、POD、CAT活性分别较CK处理降低了79.45%、27.42%和65.71%。结果表明,DMBC-P处理可以通过高效修复ATZ污染来减轻ATZ的毒性,进而降低大豆幼苗的氧化损伤。

3 结论

(1)扫描电子显微镜、傅里叶红外光谱、X射线衍

射仪表征分析表明,MBC被成功地引入到生物菌球中,并且DMBC-P的磁性没有因为SA的包埋而受到影响。批量试验表明,在DMBC-P的投加量为2%、温度为 $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $\text{pH}=7.3$ 时,其对水体中 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ATZ的去除率可以达到99.99%。DMBC-P为DNS32提供了适宜的生存环境来抵御外界环境的胁迫,在酸性、较宽的温度范围以及较高的ATZ浓度($140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)条件下,其对ATZ具有十分优异的去除能力。

(2)土壤修复试验表明,DMBC-P首先通过孔隙填充、氢键和 $\pi-\pi$ 堆积作用吸附土壤中游离的ATZ,然后利用DNS32降解菌通过一系列水解酶进一步降解被吸附的ATZ。同时,在极端含水率条件(0和100%)下,利用外加磁铁在土壤上方对DMBC-P进行提取,能够将土壤内的菌球完全回收,说明DMBC-P可作为一种具有高回收再利用特性的生物修复剂用于实际ATZ污染土壤的修复。

(3)盆栽试验结果表明,DMBC-P能够有效缓解土壤中ATZ对大豆幼苗的胁迫作用,不仅能够提高大豆幼苗中叶绿素a、叶绿素b、总叶绿素和类胡萝卜素含量,还能降低植株抗氧化酶的活性,进而促进植株生长。

参考文献:

- [1] 李娜. 阿特拉津在沉水植物根际的降解及其微生物多样性特征[D]. 武汉:华中农业大学,2017. LI N. The degradation of atrazine and microbial diversity characteristics of this process in submerged plant rhizosphere[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017.
- [2] LUO S, REN L, WU W, et al. Impacts of earthworm casts on atrazine catabolism and bacterial community structure in laterite soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 425: 127778.
- [3] 卫婷, 黄枫城, 李慧君, 等. 不同原材料生物炭对农田土壤阿特拉津去除性能及微生物群落结构的影响[J]. 南方农业学报, 2022, 53(9): 2457-2467. WEI T, HUANG F C, LI H J, et al. Effects of biochar from different raw materials on atrazine removal and microbial community structure in farmland soil[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2022, 53(9): 2457-2467.
- [4] 赵鹏程. 改性生物炭对阿特拉津的吸附性能研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2022. ZHAO P C. The adsorption performance of atrazine on modified biochars[D]. Shenyang: Shenyang Agriculture University, 2022.
- [5] 宋文慧. 微塑料对土壤中莠去津吸附-解吸行为及生物富集的影响[D]. 泰安:山东农业大学,2022. SONG W H. Effects of microplastics on the adsorption-desorption behavior and bioaccumulation of atrazine in soil[D]. Tai'an: Shandong Agriculture University, 2022.
- [6] 罗军. 方铁锰矿型 BioMn_2O_3 吸附重金属和降解阿特拉津的机制研究[D]. 株洲:湖南工业大学,2022. LUO J. Study on the mechanism of adsorbing heavy metals and degrading atrazine by bixbyte BioMn_2O_3

- [D]. Zhuzhou: Hunan University of Technology, 2022.
- [7] BALDISSARELLI D, VARGAS G, KORF E, et al. Remediation of soils contaminated by pesticides using physicochemical processes: a brief review[J]. *Planta Daninha*, 2019, 37:123458.
- [8] 丁丽娜. 生物炭负载微生物对阿特拉津的去除效果及去除机理研究[D]. 苏州: 苏州科技大学, 2022. DING L N. Removal effect and mechanism of atrazine by biochar loaded microorganisms[D]. Suzhou: Suzhou University of Science and Technology, 2022.
- [9] 曹博. 基于阿特拉津降解菌构建功能菌剂及其原位修复污染土壤研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2017. CAO B. Study on construction of functional microbial inoculum based on atrazine degrading bacteria and *in-situ* remediation of contaminated soil[D]. Harbin: Northeast Agriculture University, 2017.
- [10] 倪芳芳. 海藻酸钠-明胶水凝胶珠对植物乳杆菌和姜黄素的共包埋机制研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2022. NI F F. Study on the co-encapsulation of *Lactobacillus plantarum* and curcumin by alginate-gelatin hydrogel beads[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2022.
- [11] 陈玉坤. 新型功能生物有机肥的制备及其缓解黑土中残留阿特拉津对大豆幼苗胁迫的机制[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020. CHEN Y K. Preparation of a novel functional bio-organic fertilizer and its alleviation mechanism of atrazine stress on soybean seedlings in black soil[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2020.
- [12] WANG L, LI Z T, WANG Y, et al. Performance and mechanisms for remediation of Cd(II) and As(III) co-contamination by magnetic biochar-microbe biochemical composite: competition and synergy effects[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 750:141672.
- [13] QU J H, MENG Q J, LIN X F, et al. Microwave-assisted synthesis of β -cyclodextrin functionalized celluloses for enhanced removal of Pb(II) from water: adsorptive performance and mechanism exploration[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 752:141854.
- [14] QU J H, LIN X F, LIU Z Y, et al. One-pot synthesis of Ca-based magnetic hydrochar derived from consecutive hydrothermal and pyrolysis processing of bamboo for high-performance scavenging of Pb(II) and tetracycline from water[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 343:126046.
- [15] KUMARI S, MAHAPATRA S, DAS S. Ca-alginate as a support matrix for Pb(II) biosorption with immobilized biofilm associated extracellular polymeric substances of *Pseudomonas aeruginosa* N6P6[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 328:556-566.
- [16] LIU J, ZHOU J, WU Z H, et al. Concurrent elimination and stepwise recovery of Pb(II) and bisphenol A from water using β -cyclodextrin modified magnetic cellulose: adsorption performance and mechanism investigation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 432:128758.
- [17] 熊青月, 韩志勇, 吴杰, 等. 改性花生壳生物炭对四环素的吸附性能研究[J]. 化学与生物工程, 2023, 40(3):49-57. XIONG Q Y, HAN Z Y, WU J, et al. Adsorption of tetracycline by modified peanut shell biochar to tetracycline[J]. *Chemistry & Bioengineering*, 2023, 40(3):49-57.
- [18] QU J H, LIU Y, MENG J, et al. Pinecone-derived magnetic porous hydrochar co-activated by KHCO_3 and K_2FeO_4 for Cr(VI) and anthracene removal from water[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 306:119457.
- [19] 王浩楠. 固定化降酚菌复合微球的制备及其降酚性能研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2022. WANG H N. Preparation of immobilized phenol-reducing bacteria composite microspheres and study on their phenol degradation properties[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2022.
- [20] PETRAITYTE S, ŠIPAILIENE A. Enhancing encapsulation efficiency of alginate capsules containing lactic acid bacteria by using different divalent cross-linkers sources[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 110:307-315.
- [21] LI X, DAI L H, ZHANG C, et al. Enhanced biological stabilization of heavy metals in sediment using immobilized sulfate reducing bacteria beads with inner cohesive nutrient[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 324:340-347.
- [22] QY J H, YUAN Y H, MENG Q J, et al. Simultaneously enhanced removal and stepwise recovery of atrazine and Pb(II) from water using β -cyclodextrin functionalized cellulose: characterization, adsorptive performance and mechanism exploration[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 400:123142.
- [23] BANERJEE S, MISRA A, CHAUDHURY S, et al. A *Bacillus* strain TCL isolated from *Jharia coalmine* with remarkable stress responses, chromium reduction capability and bioremediation potential[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 367:215-223.
- [24] BARAGANO D, FORJANA R, ALVAREZ N, et al. Zero valent iron nanoparticles and organic fertilizer assisted phytoremediation in a mining soil: arsenic and mercury accumulation and effects on the antioxidative system of *Medicago sativa* L.[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 433:128748.
- [25] JIANG L, YANG Y, JIA L X, et al. Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide simetryne in soils[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 127:87-94.
- [26] ZHANG J J, LU Y C, ZHANG J J, et al. Accumulation and toxicological response of atrazine in rice crops[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2014, 102:105-112.

(责任编辑:李丹)