

## 膨润土中硫酸盐还原菌对As和N的还原作用

蒙薪赟, 赵嘉, 刘璟

### 引用本文:

蒙薪赟, 赵嘉, 刘璟. 膨润土中硫酸盐还原菌对As和N的还原作用[J]. *农业环境科学学报*, 2023, 42(6): 1305-1314.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0983>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 生物炭基硫酸盐还原菌(SRB)对Cr(VI)的吸附效应及作用机制

朱晓丽, 李雪, 寇志健, 王军强, 尚小清, 陈超

*农业环境科学学报*. 2021, 40(4): 866-875 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1156>

#### 不同质量浓度硝态氮在潮白河模拟河床中去除效果研究

王西涵, 王莹, 刘云, 杨丽虎, 梁琼, 张茜茜, 王浚亦

*农业环境科学学报*. 2022, 41(1): 144-152 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0635>

#### 同步硝化反硝化菌(*Alcaligenes faecalis* WT14)养殖污水脱氮效果研究

陈均利, 张树楠, 戴桂金, 张苗苗, 吴金水, 刘锋

*农业环境科学学报*. 2020, 39(8): 1811-1817 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0325>

#### 黄腐酸改性膨润土对氮素淋失和氮肥利用率的影响

孔柏舒, 焦树英, 李永强, 沈玉文, 李焯, 张子胥, 付春雨

*农业环境科学学报*. 2020, 39(10): 2371-2379 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0838>

#### 双氰胺减少铵态氮肥施用后潮土N<sub>2</sub>O排放的机制

马兰, 李晓波, 马舒坦

*农业环境科学学报*. 2021, 40(12): 2801-2808 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0459>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

蒙薪赉, 赵嘉, 刘璟. 膨润土中硫酸盐还原菌对As和N的还原作用[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(6): 1305-1314.

MENG X Y, ZHAO J, LIU J. Bio-reduction of arsenic and nitrogen by sulfate-reducing bacteria in bentonite[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2023, 42(6): 1305-1314.

## 膨润土中硫酸盐还原菌对As和N的还原作用

蒙薪赉, 赵嘉, 刘璟\*

(西南大学资源环境学院, 重庆 400715)

**摘要:**通过微宇宙实验,探究厌氧条件下不同硫酸盐还原菌(*Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki, SRB)活性、外源氮添加量和有机物对膨润土固-液体系中砷(As)和氮(N)形态及浓度的影响,以及二者间的联系。结果表明:与超纯水环境相比,在适宜SRB生长的标准培养液中,As(V)从第0天就开始还原成As(III),在第7天时As(III)达到 $1\ 947\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,明显高于超纯水环境中的As(III)浓度( $1\ 341\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )。同时,生物还原作用下3种不同细菌生长环境中的 $\text{NO}_2^-$ 和 $\text{NH}_4^+$ 都有升高的趋势。在没有外源N添加的控制组,几乎检测不到As(III),而在低氮和高氮两种N水平的实验组中,As(III)浓度分别高达 $427\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1\ 341\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,成铵作用和反硝化作用随着N源的输入也变得明显。高低两种水平乙酸钠的添加极大地提高了As(V)的还原量,得到的平均As(III)浓度分别为控制组的2.0倍和2.5倍。但腐植酸的加入使得As(V)还原量减少。进一步实验探究 $\text{NO}_2^-$ 和As(III)的关系,其实验结果显示:亚硝酸钠直接加入As(V)溶液共存体系后,可在5 h内将As(III)的浓度由低于检测范围提高至 $14.6\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,因此 $\text{NO}_2^-$ 可以作为反应中的电子供体,直接参与As(V)还原反应。

**关键词:**砷;氮素转化;硫酸盐还原菌;膨润土

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)06-1305-10 doi:10.11654/jaes.2022-0983

### Bio-reduction of arsenic and nitrogen by sulfate-reducing bacteria in bentonite

MENG Xinyun, ZHAO Jia, LIU Jing\*

(College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** This paper investigates the effects of the sulfate-reducing bacteria (SRB), *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki, exogenous N addition amount, and organic matter on the species and concentration of arsenic (As) and nitrogen (N) molecules in the bentonite solid-liquid system under anaerobic conditions, as well as the relationship between them through microcosmic experiments. The results showed that As(V) was reduced to As(III) from day zero, reaching  $1\ 947\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  on day seven, in the standard culture medium suitable for SRB growth. This is markedly higher than As(III) concentration ( $1\ 341\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) in ultra-pure water. Biological reduction increased  $\text{NO}_2^-$  and  $\text{NH}_4^+$  in three different bacterial growth conditions. In the control group without nitrogen addition, As(III) was almost undetectable. However, in the experimental groups with low and high nitrogen levels, As(III) concentrations were  $427\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $1\ 341\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively, and ammonium formation and denitrification was evident with the addition of nitrogen. The addition of high and low levels of sodium acetate markedly increased the amount of As(V) available for reduction. The average As(III) concentrations obtained were 2.0 and 2.5 times higher than those of the control group, respectively. However, the addition of humic acid increased the amount of As(V) being reduced. Further experiments to explore the relationship between  $\text{NO}_2^-$  and As(III) show that the concentration of As(III) can be increased from below the detection range to  $14.6\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  within 5 hours after sodium nitrite is directly added to As(V) solution coexistence system, therefore  $\text{NO}_2^-$  can serve as an electron donor in the reaction and directly participate in As(V) reduction reaction.

**Keywords:** arsenic; nitrogen transformation; sulfate-reducing bacteria; bentonite

收稿日期:2022-10-06 录用日期:2022-12-19

作者简介:蒙薪赉(1997—),男,广西河池人,硕士研究生,从事土壤重金属污染研究。E-mail:mengxinyun@foxmail.com

\*通信作者:刘璟 E-mail:liujing-vip@163.com

砷(As)是一种有毒、致癌的类金属元素,通常存在于矿物中,并通过采矿、冶炼、矿物风化和大气降水等途径广泛分布于自然界中,进而对人类健康和生态环境构成潜在威胁<sup>[1-3]</sup>。一般来说,黏土对As具有较好的吸附和固定效果。Yamazaki等<sup>[4]</sup>调查了孟加拉国一村庄土壤中的As含量,发现黏土中的As含量为20~111 mg·kg<sup>-1</sup>,而沙土中的As含量则为3~7 mg·kg<sup>-1</sup>。在厌氧条件下,As通常为毒性和流动性更强的三价态[As(Ⅲ)],因此富含黏土矿物且长期处于淹水缺氧环境的土壤受到的As污染较为严重<sup>[5-8]</sup>。土壤As污染问题已越来越引起人们的关注。

氮(N)是农业土壤中的主要养分之一,土壤中N素的转化及其含量的高低,对作物产量和生态平衡影响重大<sup>[9-10]</sup>。N在固-液体系中以铵盐(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)、亚硝酸盐(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)和硝酸盐(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)等形态存在并进行转换,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>在水体中具有很高的溶解度,NH<sub>4</sub><sup>+</sup>会通过硝化作用氧化成NO<sub>3</sub><sup>-</sup>,再通过反硝化作用转化为N<sub>2</sub>O和N<sub>2</sub>,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>会异化还原为NH<sub>4</sub><sup>+</sup><sup>[11-12]</sup>。N和As同处于农田土壤环境中,如果能通过研究发现两者间的联系和其形态变换规律,将为土壤As污染治理和修复提供新思路。

土壤中黏土矿物的含量对As的吸附和N含量的变化均有影响<sup>[13-14]</sup>。膨润土[Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·4(SiO<sub>2</sub>)·H<sub>2</sub>O]主要由蒙脱石组成,是一种2:1类型的黏土矿物,是国内外开发最早、应用最广泛的非金属矿产之一,具有良好的缓冲和吸附效果,在环境污染治理方面发挥着重要作用<sup>[15-17]</sup>。由于膨润土具有较大的比表面积和较强的阳离子交换能力及吸附能力,可通过络合作用吸附金属离子,所以膨润土及其改性产品常作为吸附剂吸附As等重金属<sup>[18]</sup>。Mar等<sup>[19]</sup>通过等温吸附实验得出膨润土的As(V)吸附量最高可达0.33 mg·g<sup>-1</sup>。程冰冰等<sup>[20]</sup>通过干法提纯得到的膨润土对As(V)的最大吸附量达0.186 mg·g<sup>-1</sup>。Su等<sup>[21]</sup>用阳离子表面活性剂改性制备的有机膨润土,可去除水溶液中As(V)和As(Ⅲ)。除此之外,膨润土也可作为微生物的天然养分载体,提高土壤中微生物的存活率<sup>[22]</sup>。因此,膨润土可作为吸附剂和微生物载体用于本研究。在土壤环境中,硫(S)的氧化还原也会影响到As,厌氧环境下硫酸盐还原菌(Sulfate-reducing bacteria SRB)等厌氧微生物会影响土壤中As和N的流动及变化<sup>[23-24]</sup>。目前,关于As污染和N素转化的研究较多,但将两者联系起来的研究相对较少。因此,本研究以膨润土为载体,SRB为优势菌种,探究厌氧环境下不

同因素对膨润土固液体系中As和N的影响以及两者间的联系,以丰富对矿区土壤As污染的防控认识。

## 1 材料与方 法

### 1.1 硫酸盐还原菌的培养

本实验所用的硫酸盐还原菌来自四川西南某铜矿区,用固体培养基进行培养,平板划线后分离纯化,经鉴定为*Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki,以下简称SRB。本研究所用培养基为德国微生物和细胞培养物保藏库(DSMZ)所记录的DSMZ 63标准培养基(<http://www.dsmz.de/microorganisms>)<sup>[25]</sup>。该培养基含有K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(0.5 g·L<sup>-1</sup>),MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O(2 g·L<sup>-1</sup>),Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(1 g·L<sup>-1</sup>),CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O(2 g·L<sup>-1</sup>),Yeast extract(1 g·L<sup>-1</sup>)和DL-Na-lactate(2 g·L<sup>-1</sup>)。将硫酸盐还原菌接种至上述培养基7 d后取48 mL以10 000 r·min<sup>-1</sup>(5810,艾本德,中国)离心20 min,倒掉上清液后用超纯水定容至50 mL,摇匀备用。

### 1.2 实验设计

#### 1.2.1 SRB厌氧微宇宙实验

开展微宇宙实验以研究不同SRB活性对膨润土中N和As形态以及浓度的影响,通过设置不同的SRB生长环境:超纯水、标准DSMZ 63培养液和寡营养培养液(1%的DSMZ 63培养液),分别建立有差异的SRB生长活性环境。以超纯水为控制对照组,另外两种营养条件作为实验组。在250 mL的三孔蓝盖瓶中分别加入上述溶液196.76 mL,然后加入1 g膨润土,用移液枪吸取对数期生长良好的SRB菌液2 mL注入上述瓶中,加入1.2 g硝酸钠作为N源,1.24 mL As(V)储备液(1 g·L<sup>-1</sup>)作为As源,最终使得瓶中溶液体积达到200 mL,初始As浓度和N浓度分别为6 200 μg·L<sup>-1</sup>和4 200 mg·L<sup>-1</sup>。连续通入10 min氩气以创造厌氧环境,然后将三孔蓝盖瓶置于35 ℃,150 r·min<sup>-1</sup>下振荡(IS-RDD3)。试验周期为7 d,每天定时用10 mL针管抽取样品溶液,样液过0.45 μm滤膜后,测定As形态[As(Ⅲ)、As(V)]和N形态(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>和NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)。

#### 1.2.2 共存N和有机酸影响实验

对于N浓度添加影响,参考1.2.1部分,在其他实验条件不变的前提下,改变硝酸钠的添加量(0、0.3、1.2 g)开展相应微宇宙实验。对于共存有机物的影响,分别选用乙酸钠和腐植酸作为代表性小分子和大分子酸进行研究。取乙酸钠(Alfa Aesar)0、0.2 g和0.5 g分别加入到上述(1.2.1)SRB溶液中,再分别加入

0、0.4 mL和4 mL  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  腐植酸溶液(药品配制,购自Alfa Aesar)到上述(1.2.1)SRB溶液中开展相应的微宇宙实验。取样和分析方法同上。上述所有实验均采用超纯水( $18.25 \text{ M}\Omega$ )营养条件。

上述所有实验均设置3组平行,微宇宙实验样品总量为216个。

### 1.3 亚硝酸盐对As氧化还原的影响

开展微宇宙实验进一步研究N对As形态变化的影响。在250 mL三孔蓝盖瓶中加入196.76 mL的超纯水和2 mL SRB菌体溶液,参照1.2.1部分避光厌氧培养后,将三孔蓝盖瓶放入恒温振荡箱以 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 在 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下振荡3 d。之后用针管抽取20 mL溶液用于检测初始N和As形态,再注入20 mL亚硝酸钠标准溶液( $1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。再次将实验装置放入恒温振荡箱后,每1 h取6 mL样品溶液用于检测N和As形态,实验时间为5 h。

### 1.4 As和N的检测

As价态及浓度测试采用氢化物发生原子荧光光谱高效液相色谱法,以 $7\% \text{ HNO}_3$ (优级纯)为载流, $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KBH}_4$ (优级纯)和 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KOH}$ (优级纯)混合作为还原剂, $1.96 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (优级纯)作为流动相,高级氙气( $0.3 \text{ MPa}$ )作为载气<sup>[26]</sup>,用高效液相色谱原子荧光质谱仪(HPLC-AFS SAP50,北京吉天仪器有限公司)测试样品。采用国家标物中心提供的砷酸盐( $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $1001 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )和亚砷酸盐( $\text{AsO}_3^{3-}$ ,  $1007 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )标准溶液绘制标准曲线,其线性相关性为0.998。

$\text{NH}_4^+$ 浓度测定采用直接比色法:在10 mL试管中加入1 mL阿拉伯树胶溶液(2%),1 mL纳氏试剂和1

mL样品溶液,用超纯水将试管中溶液的体积定容至10 mL,混合均匀,静置30 min后将混合液倒入10 mL标准比色管,放入DR2500分光光度计(美国哈希)中,于420 nm处读取吸光度。标准曲线采用 $1002 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ NH}_4\text{Cl}$ 标准溶液(北京北方伟业计量技术研究院)配制,线性相关性为0.993。

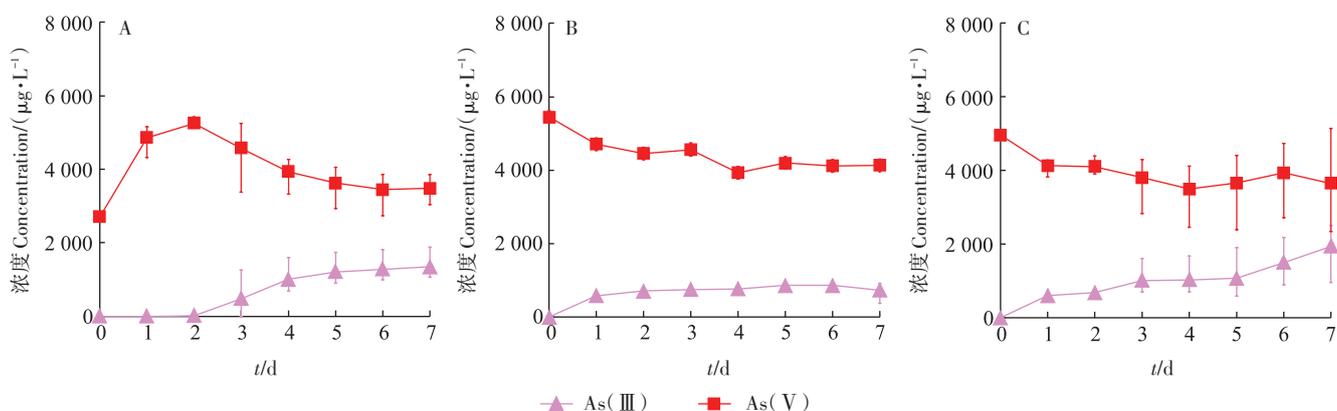
$\text{NO}_2^-$ 浓度测定采用分光光度法:将1 mL的格里斯试剂和1 mL样品溶液先后加入到10 mL试管并定容至10 mL,静置30 min后移液至10 mL标准比色管,于540 nm波长处读取吸光度。标准曲线采用 $1000 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \text{ NaNO}_2$ 标准溶液(北京北方伟业计量技术研究院)配制,线性相关性为0.994。

$\text{NO}_3^-$ 浓度测定采用哈希硝酸根离子测量法:将1 mL样品溶液定容至10 mL后摇匀,倒入10 mL的标准比色管,加入一袋Nitraver 5硝酸盐试剂包(哈希,中国),摇匀后放入DR2500型实验用分光光度计运行HACH 353程序,以10 mL超纯水作为空白调零,读取样品溶液中的 $\text{NO}_3^-$ 浓度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 细菌活性对膨润土中N和As的影响

如图1所示,厌氧条件下,在膨润土-水溶液的体系中,As(V)在SRB的生物还原作用下还原成As(III),As(V)浓度逐渐下降,As(III)浓度逐渐升高。在标准培养液和寡营养体系中,As(III)第0天就可以检测到,而控制组(超纯水)在第2天之后才能检测出As(III)。对比7 d的As(III)平均浓度,超纯水条件下As(III)的平均浓度为 $668 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,标准营养条件下的



A: 超纯水, B: 寡营养培养液, C: 标准DSMZ 63培养液; 误差棒表示平行实验组之间的偏差。

A: Pure water, B: Oligotrophic culture, C: Standard medium 63 of DSMZ; Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

图1 厌氧条件下不同SRB活性的膨润土中As形态的浓度变化

Figure 1 Arsenic species transformation in the presence of bentonite under different culture of sulfate reducing bacteria

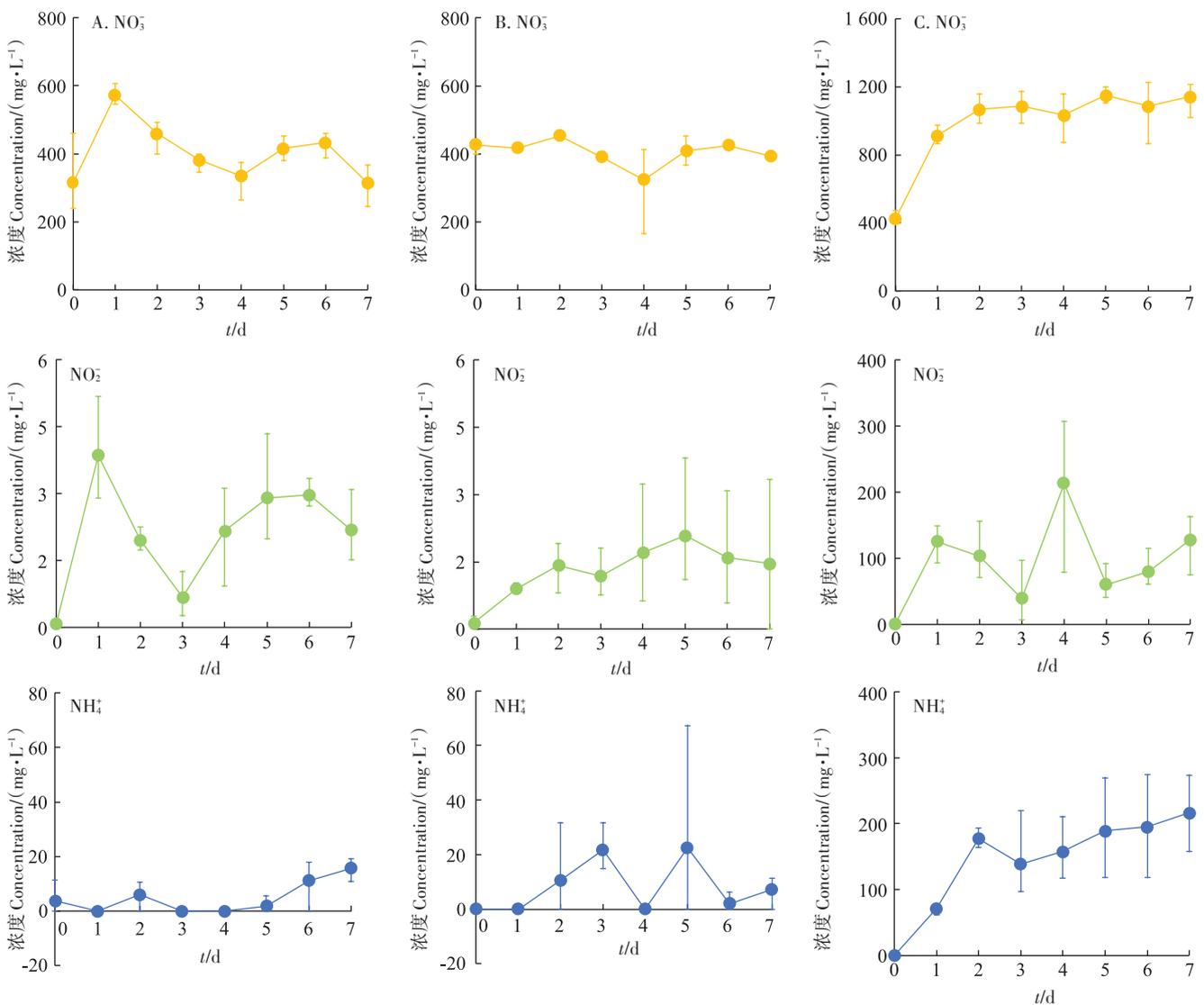
平均浓度为  $983 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , 表明在有利的营养生长环境下, SRB能更有效地促进  $\text{As(V)}$  的还原。

如图2所示, 在3种不同的营养环境中, 均可以观察到  $\text{NO}_3^-$  还原成  $\text{NO}_2^-$ , 以及  $\text{NO}_2^-$  还原成  $\text{NH}_4^+$  的N转化, 随着时间的推移,  $\text{NH}_4^+$  浓度总体处于增加的趋势, 说明实验体系中的还原作用越来越强, 这与  $\text{As(III)}$  浓度的上升相互印证。与超纯水以及寡营养环境相比, 在标准培养液中,  $\text{NO}_3^-$  浓度随着实验进行不断升高, 由第0天的  $424 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  升高至第7天的  $1142 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NH}_4^+$  浓度也由第0天的  $0 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  升高至第7天的  $217 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 同时  $\text{NO}_2^-$  浓度也处于3组中的最高水平 ( $128$

$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 是寡营养条件 ( $1.5 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的85倍, 超纯水环境 ( $2.2 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 的58倍。我们推测这是由于标准DSMZ 63培养液中含有额外的N源, 以及受到SRB的影响。有研究也发现SRB可以加强对N的固定作用<sup>[27-28]</sup>, 本次研究所用的脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*) 也属于固氮硫酸盐还原菌的一种。

### 2.2 不同N添加量对As氧化还原的影响

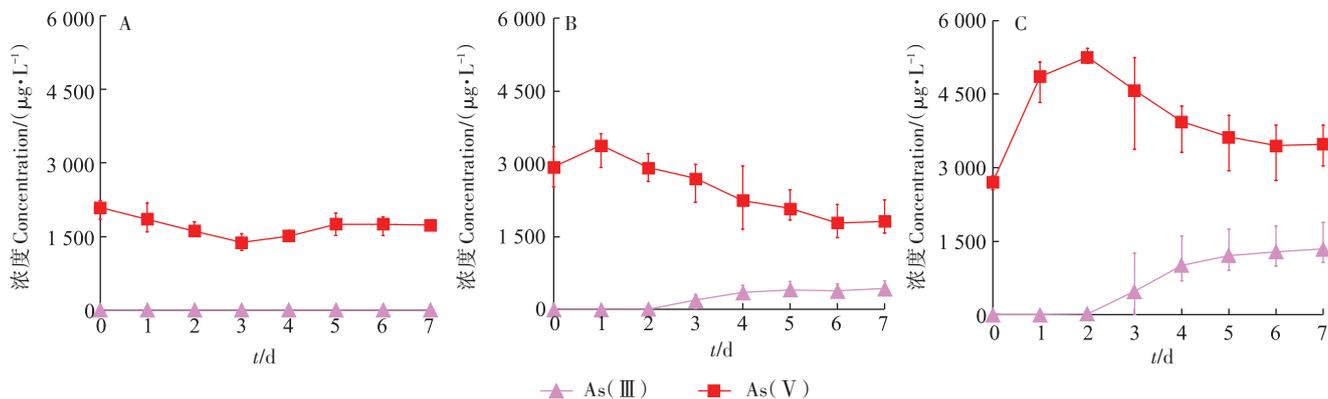
如图3所示, 未添加硝酸钠的条件下, 几乎检测不出  $\text{As(III)}$ , 而  $\text{As(V)}$  总量相对添加N的实验组较低, 这可能是受膨润土吸附的影响。有研究表明膨润土对氮肥和  $\text{NH}_4^+$  具有强烈的吸附效果, 如果膨润土对



A: 超纯水, B: 寡营养培养液, C: 标准DSMZ 63培养液; 误差棒表示平行实验组之间的偏差。  
A: Pure water, B: Oligotrophic culture, C: Standard medium 63 of DSMZ; Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

图2 厌氧条件下不同SRB活性的膨润土中N形态的浓度变化

Figure 2 Nitrogen species transformation in the presence of bentonite under different culture of sulfating reducing bacteria



A: 无外源N添加, B: 低氮条件(0.3 g NaNO<sub>3</sub>), C: 高氮条件(1.2 g NaNO<sub>3</sub>); 误差棒表示平行实验组之间的偏差。

A: No exogenous nitrogen addition, B: Low nitrogen (0.3 g NaNO<sub>3</sub>), C: High nitrogen (1.2 g NaNO<sub>3</sub>); Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

图3 厌氧条件不同N含量膨润土中As的形态浓度变化

Figure 3 Arsenic species transformation in the presence of bentonite under different nitrogen addition

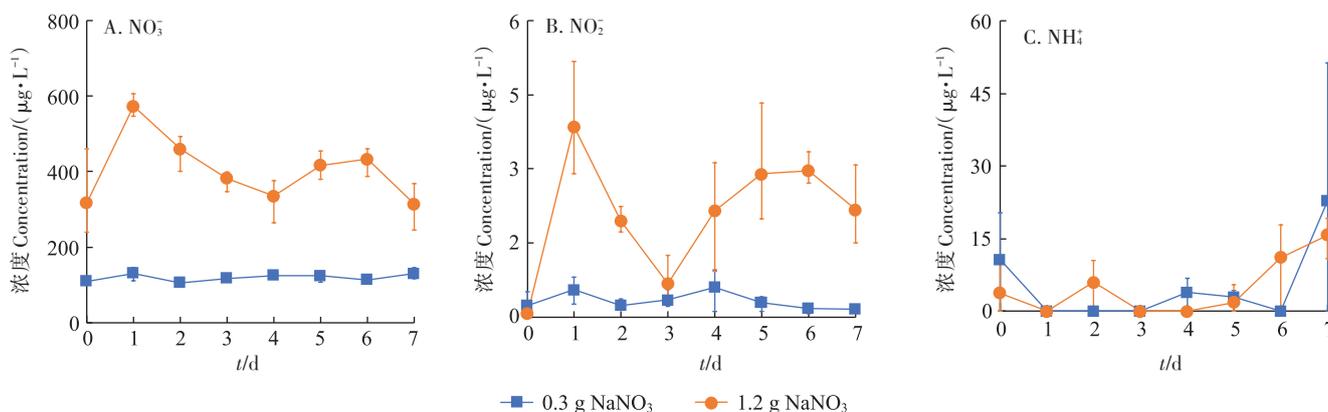
N的吸附接近饱和,则吸附的As相对较少<sup>[29]</sup>。在低N(0.3 g NaNO<sub>3</sub>)条件下,As(III)浓度由第2天的0.81 µg·L<sup>-1</sup>逐渐升高至第7天的427 µg·L<sup>-1</sup>。对比低N条件,高N(1.2 g NaNO<sub>3</sub>)条件下As(III)浓度升高的趋势更明显,且在第7天时达到1 341 µg·L<sup>-1</sup>,约为第7天低N条件As(III)浓度的3倍。

在图4A和图4B中,低N条件下NO<sub>3</sub><sup>-</sup>和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的平均浓度分别为120 mg·L<sup>-1</sup>和0.3 mg·L<sup>-1</sup>,分别约为高N条件的1/3(404 mg·L<sup>-1</sup>)和1/7(2.1 mg·L<sup>-1</sup>)。两种不同N环境中的NH<sub>4</sub><sup>+</sup>浓度变化波动较大,未观测出明显差异(图4C)。Al-Tamimi等<sup>[30]</sup>曾用生物竞争排除(Bio-competitive exclusion, BCX)技术研究硝酸盐对

SRB产生的H<sub>2</sub>S的影响,最终发现高浓度的硝酸盐可以有效抑制SRB产生H<sub>2</sub>S。H<sub>2</sub>S在厌氧条件下可以和As(V)形成沉淀以达到去除As的效果<sup>[31]</sup>,因此我们推测硝酸钠的加入使SRB产生H<sub>2</sub>S受阻,从而使得实验体系中的As(V)和As(III)浓度升高,且在一定范围内As(III)浓度与所添加硝酸钠的量成正比。

### 2.3 厌氧条件下不同乙酸钠添加量对膨润土中N、As形态的影响

乙酸钠是土壤中较为常见的小分子有机酸,Azelee等<sup>[32]</sup>通过整合法研究铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)中重金属的去除率,发现乙酸钠对As的去除率为59.50%。因此可以推测在细菌存在的厌



误差棒表示平行实验组之间的偏差。

Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

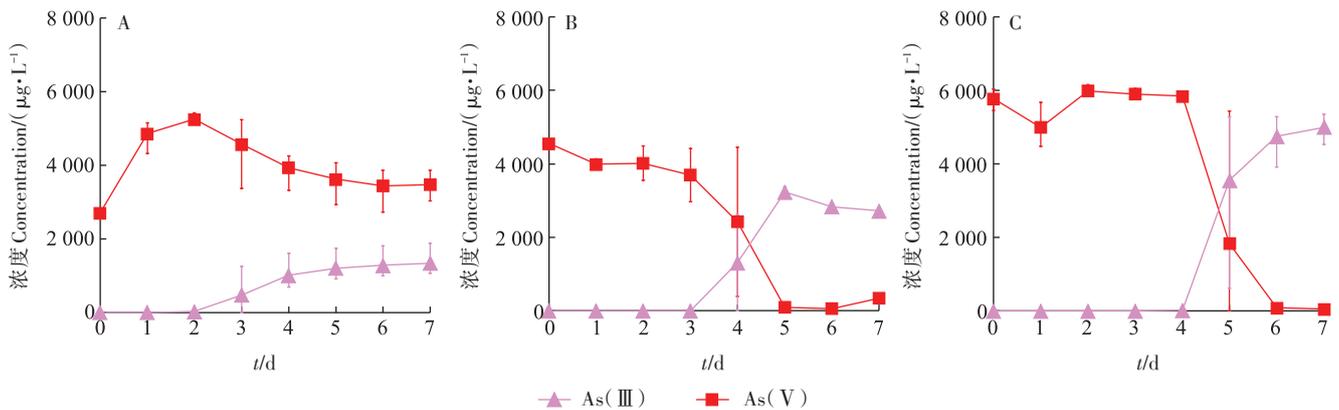
图4 不同硝酸钠添加量条件下3种N形态浓度变化

Figure 4 The change diagram of concentration of three nitrogen species under different sodium nitrogen addition

氧体系下,乙酸钠的加入可以有效减少 As 浓度。由图 5 可看出,在含有乙酸钠的实验体系中,As(V) 的还原率明显高于未添加乙酸钠的控制组。在低乙酸钠(0.2 g)添加的条件下,As(III) 浓度从第 3 天开始迅速升高,在第 5 天达到最高浓度 3 233  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,为控制组(1 208  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )的 2.7 倍。与控制组相比,添加乙酸钠的条件下 As(III) 浓度的升高,明显多于 As(V) 浓度的减少,说明膨润土中吸附的 As(V) 也被释放还原。这可能是因为醋酸盐等小分子有机酸可以作为电子穿梭体,在矿物表面的微生物 C 源氧化和溶液 As(V) 还原吸附之间穿梭,从而提高 As(V) 的还原

率。如图 5B 所示,在低乙酸钠添加的条件下,As(V) 浓度在第 5 天几乎接近于 0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,说明 SRB 还原 As(V) 的效率得到了极大的提高。高乙酸钠(0.5 g)添加使得实验体系中的 As(V) 浓度升高,更多的 As(V) 还原成 As(III),As(III) 在第 5 天的浓度为 3 548  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,是低乙酸钠条件下的 1.1 倍,且 As(III) 浓度持续升高至实验结束。通过计算在低乙酸钠和高乙酸钠两种添加条件下求得的平均 As(III) 浓度(1 370、1 663  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )约为控制组(667  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )的 2.0 倍和 2.5 倍。

如图 6B 和图 6C 所示,添加乙酸钠的实验组  $\text{NO}_2^-$  和  $\text{NH}_4^+$  的平均浓度明显高于控制组,在高乙酸钠添加

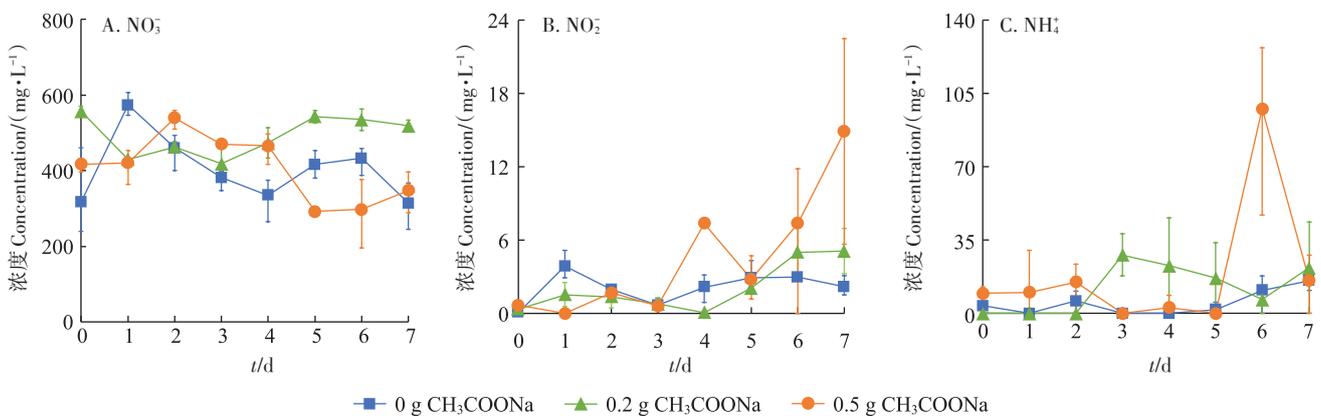


A: 控制组(无乙酸钠), B: 低乙酸钠条件(0.2 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), C: 高乙酸钠条件(0.5 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ); 误差棒表示平行实验组之间的偏差。

A: Control group, no exogenous sodium acetate addition, B: Low sodium acetate (0.2 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ), C: High sodium acetate (0.5 g  $\text{CH}_3\text{COONa}$ ); Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

图 5 厌氧条件下不同乙酸钠添加量的膨润土中 As 形态的浓度变化

Figure 5 Arsenic species transformation in the presence of bentonite under under different sodium acetate addition



误差棒表示平行实验组之间的偏差。

Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

图 6 不同乙酸钠添加条件下 3 种 N 形态浓度变化

Figure 6 The change diagram of concentration of three nitrogen species under different sodium acetate addition

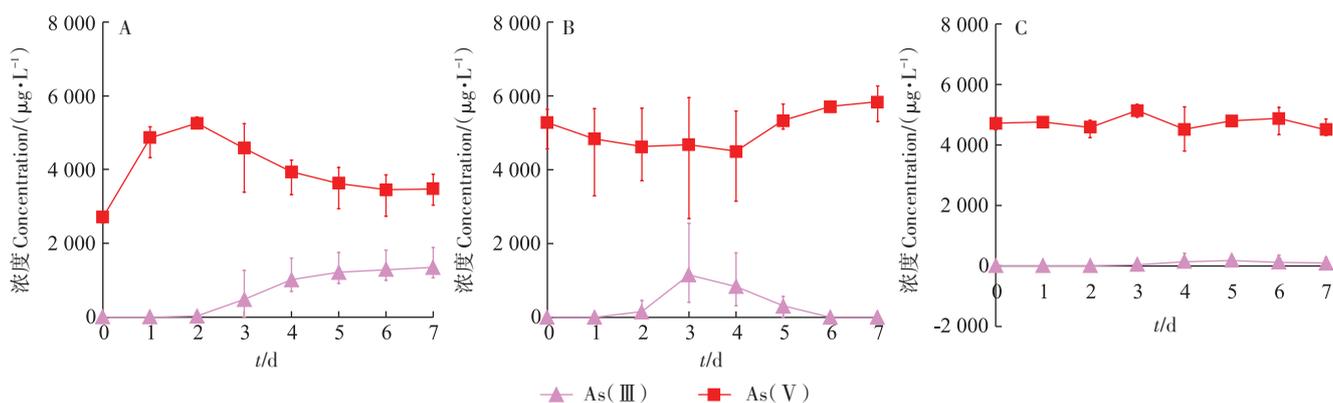
的条件下,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的平均浓度为4.4 mg·L<sup>-1</sup>,约为控制组(2.1 mg·L<sup>-1</sup>)的2倍,这进一步说明乙酸钠的添加有利于体系中的还原反应进行。

#### 2.4 厌氧条件下不同腐植酸添加量对膨润土中N、As形态的影响

腐植酸是农业土壤中常见且最具代表性的高分子有机物,也是影响土壤重金属形态和活性的关键组分<sup>[33]</sup>。如图7所示,与控制组(无腐植酸)相比,加入腐植酸的实验组As(V)还原成As(III)的效率明显降低,随着腐植酸添加量的增多,实验体系中的As(V)还原效果降低,总As浓度也随之减小。在腐植酸浓度为0.002 g·L<sup>-1</sup>的环境下,As(III)浓度在第3天达到还原释放的最高浓度(1 150 μg·L<sup>-1</sup>),然后逐渐降低

至0 μg·L<sup>-1</sup>,在4~7 d时,As(V)浓度有逐渐升高的趋势。当实验体系中的腐植酸浓度达到0.02 g·L<sup>-1</sup>时,As(III)浓度达到最高浓度,但仅有181 μg·L<sup>-1</sup>,远低于控制组还原释放的As(III)浓度(1 208 μg·L<sup>-1</sup>)。Ko等<sup>[34]</sup>研究了腐植酸对As的吸附和解吸动力学的影响,发现腐植酸在As的氧化还原反应中起到一定的作用,并且发现腐植酸的存在更有利于As的氧化。

如图8所示,在控制组中NO<sub>3</sub><sup>-</sup>的平均浓度为2.1 mg·L<sup>-1</sup>,约为低腐植酸组(0.77 mg·L<sup>-1</sup>)的2.7倍和高腐植酸组(0.79 mg·L<sup>-1</sup>)的2.6倍,而高腐植酸组的平均NH<sub>4</sub><sup>+</sup>浓度(25.18 mg·L<sup>-1</sup>)则明显高于控制组(4.82 mg·L<sup>-1</sup>),说明腐植酸的加入使体系中NO<sub>3</sub><sup>-</sup>大部分还原为NH<sub>4</sub><sup>+</sup>,只有少部分还原为NO<sub>2</sub><sup>-</sup>。

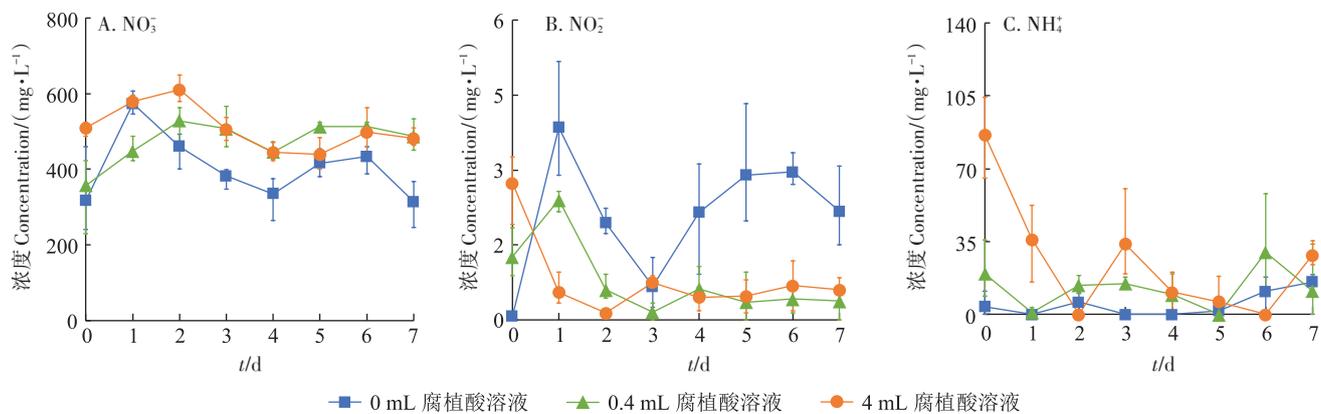


A:控制组(无腐植酸),B:低腐植酸条件(0.002 g·L<sup>-1</sup>),C:高腐植酸条件(0.02 g·L<sup>-1</sup>);误差棒表示平行实验组之间的偏差。

A: Control group, no exogenous humic acid addition, B: Low humic acid(0.002 g·L<sup>-1</sup>), C: High humic acid(0.02 g·L<sup>-1</sup>); Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

图7 厌氧条件下不同腐植酸添加量的膨润土中As形态的浓度变化

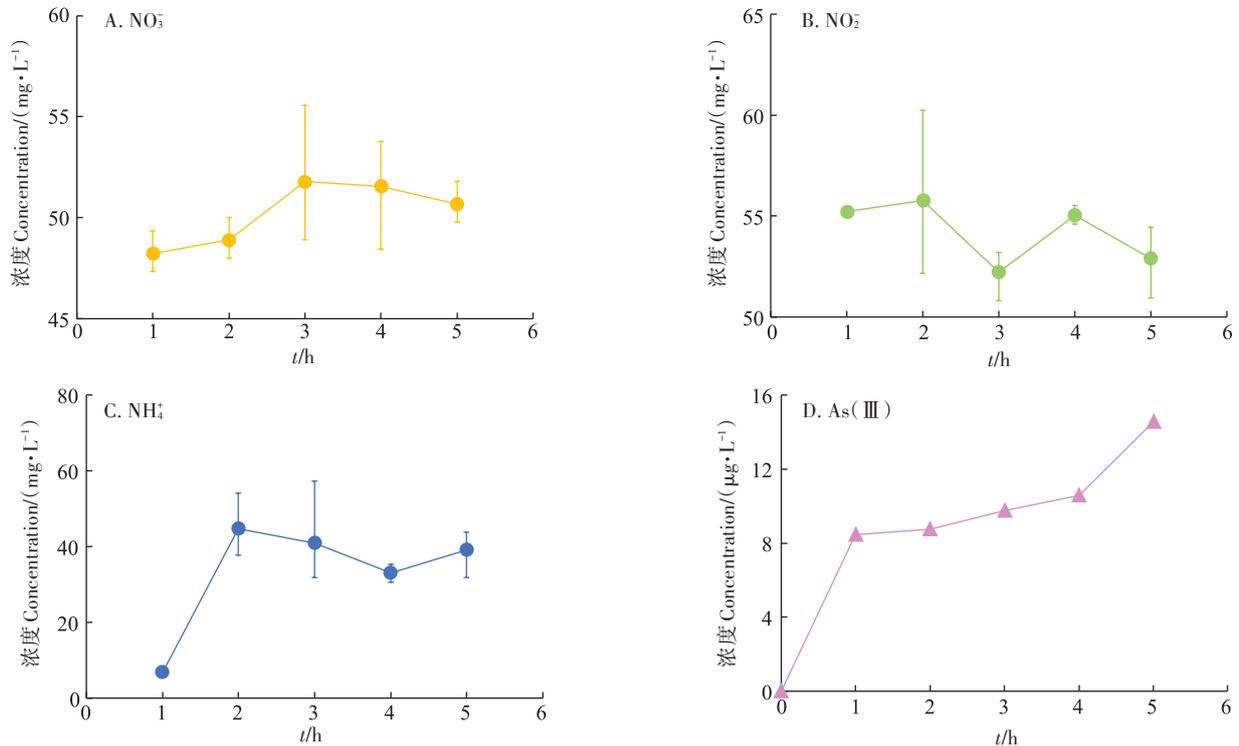
Figure 7 Arsenic species transformation in the presence of bentonite under different humic acid addition



误差棒表示平行实验组之间的偏差。  
Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

图8 不同腐植酸添加条件下3种N形态浓度变化

Figure 8 The change diagram of concentration of three nitrogen species under different humic acid addition



误差条表示每个微宇宙实验的两个平行线的平均值的标准差。  
Error bars represent the standard deviation from the average of two parallel for each batch experiment.

图9 添加亚硝酸盐后As(III)和N浓度的变化

Figure 9 Changes of As(III) and nitrogen species concentration after adding nitrite

### 2.5 亚硝酸盐对As氧化还原的影响

综合分析不同SRB活性、外源N和乙酸钠的实验结果可以发现,当NO<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度较高时,As(III)的浓度也在升高,以此推测NO<sub>2</sub><sup>-</sup>和As(III)之间可能存在一定的联系,为此开展了厌氧条件下亚硝酸盐对SRB作用的As(V)还原的影响。如图9所示,亚硝酸盐注入后的1 h内,其部分氧化成了NO<sub>3</sub><sup>-</sup>,部分还原成了NH<sub>4</sub><sup>+</sup>,As(III)浓度达到了8.5 μg·L<sup>-1</sup>并逐渐升高,到实验结束的第5小时,As(III)浓度升高至14.6 μg·L<sup>-1</sup>,说明NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的存在有可能促进As(V)还原成As(III)。结合图9中NO<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度的降低和NO<sub>3</sub><sup>-</sup>浓度的升高,推测得出以下方程式:



因此NO<sub>2</sub><sup>-</sup>可以作为反应中的电子穿梭体,也可以直接参与As(V)的还原反应,充当电子供体,这进一步解释了该实验现象的合理性。

### 3 结论

(1)通过对比厌氧条件下不同营养条件膨润土固-液体系中N和As的变化,得出最适合硫酸盐还原

菌(*Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki SRB)生长的条件,更有利于As(V)还原生成As(III),此时N的浓度也维持在一个很高的水平,说明SRB活性越强,还原生成的As(III)浓度越高,对体系中的N也得到了固定。

(2)厌氧膨润土固-液体系中,外源N的添加明显促进了As(V)的还原。在没有外源N添加的控制组几乎检测不出As(III),并且随着外源N的增加,体系中成铵作用和反硝化作用也变得更加明显。

(3)大分子有机物腐植酸和小分子有机物乙酸钠对厌氧膨润土固-液体系中As(V)的还原表现出不同的效果。在厌氧条件下,高乙酸钠添加的膨润土生成释放As(III)的浓度约为未添加乙酸钠的膨润土的2.1倍,NO<sub>2</sub><sup>-</sup>浓度也明显升高。而腐植酸的添加对As(V)的还原起到了明显的抑制作用,促进了NH<sub>4</sub><sup>+</sup>的生成。

(4)NO<sub>2</sub><sup>-</sup>可以参与As(V)的还原反应,并在5 h内将As(III)的浓度由0 μg·L<sup>-1</sup>提高至14.6 μg·L<sup>-1</sup>。

### 参考文献:

[1] WU C, CUI M, XUE S, et al. Remediation of arsenic-contaminated paddy soil by iron-modified biochar[J]. *Environmental Science & Pollution*

- tion Research, 2018, 25(21):20792-20801.
- [2] SIGNES-PASTOR A J, CAREY M, MEHARG A A. Inorganic arsenic in rice-based products for infants and young children[J]. *Food Chemistry*, 2016, 191:128-134.
- [3] 李逸纯, 伍莹, 续颖, 等. 氢化物发生原子荧光光谱法测定食品中总砷[J]. 现代食品, 2020(11):218-220. LI Y C, WU Y, XU Y, et al. Determination of total arsenic in food by hydride generation atomic fluorescence spectrometry[J]. *Modern Food*, 2020(11):218-220.
- [4] YAMAZAKI C, ISHIGA H, AHMED F, et al. Vertical distribution of arsenic in ganges delta sediments in deuli village, bangladesh[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2003, 49(4):567-574.
- [5] National Agricultural Library. Arsenic distribution in soils[M]. New York: Wiley, 1994:17-49.
- [6] SCAZZOLA R, MATTEUCCI G, GUERZONI S, et al. Evaluation of trace metal fluxes to soils in hinterland of porto marghera industrial zone: comparisons with direct measurements in the lagoon of venice[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2004, 153(1/2/3/4):195-203.
- [7] 王锋, 张静, 周少余, 等. 水稻土中氮素对微生物固氮的扰动及效应机制[J]. 环境科学, 2022, 43(11):4847-4887. WANG F, ZHANG J, ZHOU S Y, et al. Mechanism and environmental effect on nitrogen addition to microbial process of arsenic immobilization in flooding paddy soils[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(11):4847-4887.
- [8] ZHANG L, XIAO J, JI J, et al. Arsenate adsorption on different fractions of iron oxides in the paddy soil from the karst region of China[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2021, 106(1):126-133.
- [9] 梁杏, 孙立群, 张鑫, 等. 无机态氮素转化机制及水土体氮源识别方法[J]. 环境科学, 2020, 41(9):4333-4344. LIANG X, SUN L Q, ZHANG X, et al. Mechanism of inorganic nitrogen transformation and identification of nitrogen sources in water and soil[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(9):4333-4344.
- [10] 姜天华, 温立柱, 郭芸琿, 等. 生物炭与氮肥配施对牡丹叶片氮素营养和籽粒品质的影响[J]. 应用生态学报, 2017, 28(9):2939-2946. JIANG T H, WEN L Z, GUO Y H, et al. Effects of biochar and nitrogen fertilizer application on nitrogen nutrition in leaves and seed quality of tree peony[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(9):2939-2946.
- [11] 林伟, 李玉中, 李昱佳, 等. 氮循环过程的微生物驱动机制研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(6):1146-1155. LIN W, LI Y Z, LI Y J, et al. Advances in the mechanism of microbe-driven nitrogen cycling[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(6):1146-1155.
- [12] ZHAO S, ZHOU N Q, LIU X Q. Occurrence and controls on transport and transformation of nitrogen in riparian zones of Dongting Lake, China[J]. *Environmental Science & Pollution Research*, 2016, 23(7):6483-6496.
- [13] 翟辉, 孙红霞, 李义连, 等. 微量As(III)在黏土矿物上的吸附模拟实验研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6):2246-2250. ZHAI H, SUN H X, LI Y L, et al. The study for sorption of trace arsenite on clay minerals[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(6):2246-2250.
- [14] ZHU G Y, ZHOU L H, HE X J, et al. Effects of elevation gradient on soil carbon and nitrogen in a typical karst region of Chongqing, southwest China[J]. *J Geophys Res Biogeosci*, 2022, 127(6):e2021JG006742.
- [15] DOULIA D, LEODOPOULOS C, GIMOUHOPOULOS K, et al. Adsorption of humic acid on acid-activated Greek bentonite[J]. *Journal of Colloid & Interface Science*, 2009, 340(2):131-141.
- [16] MOTAMEDI M, KARLAND O, PEDERSEN K. Survival of sulfate reducing bacteria at different water activities in compacted bentonite[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1996, 141(1):83-87.
- [17] 蒋茂林, 秦妍, 何春林. 改性膨润土在含砷废水处理中的应用[J]. 广东化工, 2012, 39(14):103-104. JIANG M L, QIN Y, HE C L. Modified bentonite in arsenic-containing wastewater processing application[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2012, 39(14):103-104.
- [18] JO J Y, CHOI J H, TSANG Y F, et al. Pelletized adsorbent of alum sludge and bentonite for removal of arsenic[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 227:116747.
- [19] MAR K K, KAMAWATI D, SARTO, et al. Comparison of arsenic adsorption on lignite, bentonite, shale, and iron sand from Indonesia[J]. *Procedia Earth and Planetary Science*, 2013, 6:242-250.
- [20] 程冰冰, 莫伟, 苏秀娟, 等. 膨润土同时去除水中铅、锌、镉、砷及其作用机制研究[J]. 广西大学学报(自然科学版), 2022, 47(2):526-537. CHENG B B, MO W, SU X J, et al. Simultaneous removal of lead, zinc, cadmium and arsenic from water by bentonite and its mechanism[J]. *Journal of Guangxi University (Natural Science Edition)*, 2022, 47(2):526-537.
- [21] SU J, HUANG H G, JIN X Y, et al. Synthesis, characterization and kinetic of a surfactant-modified bentonite used to remove As(III) and As(V) from aqueous solution[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 185(1):63-70.
- [22] 赵雪淞, 杨晨曦, 冯良山, 等. 膨润土与肥料配施对土壤生化特性和微生物数量的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2020(5):183-188. ZHAO X S, YANG C X, FENG L S, et al. Effects of the combination of bentonite and fertilizer on soil biochemical characteristics and microbial quantity[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2020(5):183-188.
- [23] LIU P F, POMMERENKE B, CONRAD R. Identification of syntrophobacteriaceae as major acetate-degrading sulfate reducing bacteria in Italian paddy soil[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(1):337-354.
- [24] ZHU X B, CHEN L Y, PAN H Z, et al. Diversity and biogenesis contribution of sulfate-reducing bacteria in arsenic-contaminated soils from realgar deposits[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(21):31110-31120.
- [25] LIU J, ZHOU L, DONG F Q, et al. Enhancing As(V) adsorption and passivation using biologically formed nano-sized FeS coatings on limestone: implications for acid mine drainage treatment and neutralization, chemosphere[J]. *Chemosphere*, 2017, 168:529-538.
- [26] 罗唐惠子, 任霞, 刘璟, 等. 湖南石门雄黄矿区黄水溪砷昼夜变化及藻对砷释放影响研究[J]. 岩石矿物学杂志, 2022, 41(4):835-843. LUO T H Z, REN X, LIU J, et al. Study on the diel variation of arsenic in Huangshui Creek and the effect of algae on arsenic release

- in shimen realgar mining area, Hunan Province[J]. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 2022, 41(4):835-843.
- [27] DURBIN K J, WATANABE I. Sulfate-reducing bacteria and nitrogen fixation in flooded rice soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1980, 12(1):11-14.
- [28] THAJUDEEN J, YOUSUF J, VEETIL V P, et al. Nitrogen fixing bacterial diversity in a tropical estuarine sediments[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 33(2):1-11.
- [29] 丁述理, 刘钦甫. 蒙脱石作为尿素缓释基质的试验研究[J]. *矿物学报*, 1998(1):67-72. DING S L, LIU Q F. Experimental study on using montmorillonite as slow releasing matrix for urea[J]. *Acta Mineralogica Sinica*, 1998(1):67-72.
- [30] AL-TAMIMI W, MEHDI K. Inhibition of biogenic hydrogen sulfide produce by sulfate reducing bacteria isolated from oil fields in Basra by nitrate based treatment introduction[J]. *Journal of Petroleum Research and Studies*, 2017, 7(3):88-106.
- [31] FEI Y, WAN J, ZHAO Y, et al. Factors influencing arsenic removal by sulfate-reducing bacteria[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2016, 10(7):3898-3904.
- [32] AZELEE I W, ISMAILI R, ALI R, et al. Chelation technique for the removal of heavy metals (As, Pb, Cd and Ni) from green mussel, *Perna viridis*[J]. *Indian Journal of Geo Marine Sciences*, 2014, 43(3):372-376.
- [33] 王俊, 王青清, 蒋珍茂, 等. 腐殖酸对外源砷在土壤中形态转化和有效性的影响[J]. *土壤*, 2018, 50(3):522-529. WANG J, WANG Q Q, JIANG Z M, et al. Transformation and bioavailability of exogenous as in soil as influenced by humic acids and its active components [J]. *Soils*, 2018, 50(3):522-529.
- [34] KO I, KIM J Y, KIM K W. Arsenic speciation and sorption kinetics in the as-hematite-humic acid system[J]. *Colloids and Surfaces A:Physicochemical and Engineering Aspects*, 2004, 234(1/2/3):43-50.

# 爱护环境

# 美好家园



《农业环境科学学报》公益宣传