

微生物诱导碳酸钙沉淀对干旱半干旱区铜尾矿污染治理效果

常道琴^{1,2,3}, 宋乃平^{1,2,3}, 岳健敏^{1,2,3}, 孟晨^{1,2,3}, 马昀^{1,2,3}

(1.宁夏大学生态环境学院, 银川 750021; 2.宁夏大学西北土地退化与生态系统恢复国家重点实验室培训基地, 银川 750021; 3.西北退化生态系统恢复与重建教育部重点实验室, 银川 750021)

摘要: 为明确微生物诱导碳酸钙沉淀技术(microbial induced calcium carbonate precipitation, MICP)在干旱半干旱高风蚀地区重金属尾矿治理效果, 以研究区生境土中筛选的碳酸盐矿化细菌—纺锤型赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus fusiformis*)为研究对象, 通过在尾矿渣中加注纺锤型赖氨酸芽孢杆菌菌液和由1 mol/L的尿素及氯化钙配制成的胶结液进行室内模拟试验, 研究 MICP 处理前后尾矿坡顶、坡中、坡底(坡顶—细颗粒(K1<5 mm)、坡中—中颗粒(5 mm<K2<15 mm)、坡底—粗颗粒(K3>15 mm))不同粒径尾矿渣中重金属元素含量、pH、电导率及酶活性等基础理化性质的变化, 利用双因素方差分析和相关性热图比较分析揭示基于生境微生物的 MICP 修复技术对区域不同粒径尾矿渣污染物治理的效果及确定 MICP 技术对不同粒径尾矿渣修复的菌剂用量。结果表明, 采用 MICP 技术对尾矿渣中重金属含量、pH、电导率及酶活性等基础理化性质有显著影响。MICP 处理下细颗粒(K1<5 mm)尾矿渣中 As 降低 21%, 中颗粒(5 mm<K2<15 mm)中 Hg 降低 23%, 粗颗粒(K3>15 mm)中 Pb 降低 22%。K1、K3 中的 pH 降低 5%, K2 降低 4%。K1 中全钾、脲酶均升高 33% ($p<0.05$), K2 中全碳升高 39% ($p<0.05$), K3 中蔗糖酶升高 7% ($p<0.05$), 微生物碳氮在 K1、K2、K3 中显著升高 ($p<0.05$)。同时 MICP 处理下 Ni 与 Pb、As 与 Cu、电导率与 Pb 等呈极显著正相关 ($p<0.01$), pH 与 Pb 呈极显著负相关 ($p<0.01$), 在 MICP 技术处理后, 全碳、全氮、全钾、全磷及有机质和重金属元素含量间的相关性增强。综上所述基于生境微生物的 MICP 修复技术能够降低尾矿渣重金属元素含量, 调节尾矿渣土体养分状况从而调节污染土体质量, 降低由矿产开发导致的环境污染风险。同时, 进一步确定不同粒径尾矿渣达到修复治理水平所需菌剂用量, 具有污染土质治理修复应用价值。

关键词: MICP; 干旱半干旱地区; 产脲酶菌; 重金属污染

中图分类号: X53

文献标识码: A

文章编号: 1009-2242(2022)04-0365-10

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcbx.2022.04.045

Effect of Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation on the Pollution Control of Copper Tailings in Arid and Semi-Arid Area

CHANG Daoqin^{1,2,3}, SONG Naiping^{1,2,3}, YUE Jianmin^{1,2,3}, MEN Chen^{1,2,3}, MA Yun^{1,2,3}

(1.College of Ecological Environment, Ningxia University, Yinchuan 750021; 2.Key Laboratory of Land Degradation and Ecosystem Restoration in Northwest China, Ningxia University, Yinchuan 750021; 3.Key Laboratory of Rehabilitation and Reconstruction of Degraded Ecosystem in Northwest China, Ningxia University, Yinchuan 750021)

Abstract: In order to clarify the treatment effect of Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) in the heavy metal tailings in highly wind erosion areas in arid and semi-arid region, this paper used *Bacillus* (*Lysinibacillus fusiformis*) as the research object, which was the carbonate-mineralizing bacteria-spindle lysine bacillus screened in the habitat soil of the study area. We added the bacillus fermented liquid and the cementing solution mixed by 1mol/L urea and calcium chloride in the tailings slag to carry out indoor simulation experiments. And we compared the varieties of basic physical and chemical properties (heavy metal element content, pH, electrical conductivity and enzyme activity) in tailing slag with different size which were from slope top (fine particles: K1<5 mm), slope middle (middle particles: 5 mm<K2<15 mm) and slope bottom (coarse particles: K3>15 mm) before and after MICP treatment. And according to

收稿日期: 2022-01-06

资助项目: 国家重点研发项目(2018YFC1802902); 宁夏自然科学基金优秀项目(2022AAC05005); 宁夏自然科学基金项目(2020AAC03091)

第一作者: 常道琴(1995—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事恢复生态学研究。E-mail: 2213582962@qq.com

通信作者: 宋乃平(1963—), 男, 博士生导师, 主要从事土壤学研究。E-mail: Songnp@163.com

the method of two factor analysis of variance and correlation comparative analysis, we revealed the effect of MICP remediation technology based on habitat microorganisms on the regulation of regional tailing slag pollutants and determined the dosage of bacterial agent in MICP technology for the remediation of tailing slag with different particle sizes. The results showed that the MICP treatment had a significant effect on the basic physical and chemical properties such as heavy metal content, pH, electrical conductivity and enzyme activity in tailings slag. Under the MICP treatment, the arsenic (As) content of small particles ($K1 < 5\text{ mm}$) reduced by 21%, the mercury (Hg) of medium particles ($5\text{ mm} < K2 < 15\text{ mm}$) reduced by 23%, and the lead (Pb) of large particles ($K3 > 15\text{ mm}$) decreased by 22%. The pH in K1 and K3 reduced by 5% and K2 reduced by 4%. The total potassium (K) and urease in K1 significantly increased by 33% ($p < 0.05$), the total carbon in K2 increased obviously by 39% ($p < 0.05$), and the sucrase in K3 increased by 7% ($p < 0.05$). The amount of microbial carbon and nitrogen significantly increased in K1, K2 and K3 ($p < 0.05$). At the same time, Ni-Pb, As-Cu, electrical conductivity and Pb were significantly positively correlated ($p < 0.01$) under MICP treatment and pH-Pb was extremely significantly negatively correlated ($p < 0.01$). And after MICP treatment, the correlations among total nitrogen, total potassium, total phosphorus, the contents of organic matter, heavy metal elements were enhanced. In summary, the MICP remediation technology based on habitat microorganisms could reduce the content of heavy metal elements amount in tailings slag, adjust the nutrient status of tailings slag soil, so as to regulate the quality of contaminated soil, and reduce the risk of environmental pollution caused by mineral resources development. At the same time, this study further determined the application dosage of bacterial agent for different particle tailings restoration to reach the remediation level, which has the better application value in the treatment and remediation of polluted soil.

Keywords: MICP; arid and semi-arid area; urease-producing bacteria; heavy metal pollution

随着现代城市及工业的飞快发展,土壤重金属污染引起国内外学者的广泛关注。土壤重金属污染是指土壤中重金属元素含量高于其自然背景值,并造成生态破坏和环境质量恶化的现象^[1]。根据《全国土壤污染状况调查公报》^[2]显示,在全国土壤中,8种无机污染物 Cu (2.1%)、Pb (1.5%)、Zn (0.9%)、Cr (1.1%)、Cd (7.0%)、Hg (1.6%)、As (2.7%)、Ni (4.8%)存在点位超标。重金属降解困难,危害持久,对生态环境和人体健康的危害严重,土壤重金属如果超标严重,将影响动植物的生长,人体一旦摄入这些动植物体内的重金属将对人体产生严重危害。如 Cr、Ni 超标严重会诱发癌症等,Hg、Zn 会导致生殖障碍、肾功能受损,Cd 则会诱发骨质疏松症、生长迟缓及贫血等。土壤重金属污染来源主要包括污水灌溉、农药与化肥的使用、矿山开采以及固体废弃物处置不当等,其中矿山开采是土壤重金属污染的主要来源^[3]。尾矿渣堆放易造成流动和塌漏,在风力推动下粉尘四处飞扬,造成空气、土壤和水资源污染,诱发生态系统退化等^[4]。周科平等^[5]研究发现,大脚岭铅锌尾矿库不同深度土壤的 Pb、Zn、Cu 和 As 的含量均超标,尾矿库重金属的综合污染等级为 V 级,达到重度污染;赵仁鑫等^[6]研究发现,内蒙古白乃庙铜矿矿区周围土壤重金属主要污染元为 Cu,其次为 Ni、Cr 等元素。

如何开发利用尾矿砂,控制和治理土壤重金属污染,是国内外普遍关注的问题。目前针对土壤重金属污染修复包括物理修复法、化学修复法和生物修复法。其中物理和化学修复法操作简单,虽有较好效果,但会破坏土壤结构,其次化学修复过程中施加的化学药剂本身对土壤造成次级污染^[7]。生物修复技术主要包括植物修复、动物修复和微生物修复,目前比较成熟、使用较多的方法是植物修复法。植物修复法修复重金属污染治理有一定的效果,但也存在各种瓶颈问题,如超积累植物品种的适应性差、修复周期长、效率低下等。有研究^[8]显示,德国对矿山废地进行生态修复和复垦,筛选出优势植物,投入长达几十年的时间,完成复垦的土地恢复率才能达 53.5%。对于生态环境脆弱地区,干旱、高风蚀、高盐碱的环境特点,适宜植物少,植物生长缓慢,受环境影响较大,更加限制植物修复技术的应用。因此,寻求一种新型环保、高效的修复技术十分必要。利用 MICP 修复重金属污染是一种适用于各种地理环境具有良好应用前景的生物修复技术,该技术不仅操作简单,环境友好,成本低,效率高,而且无二次污染^[9]。该技术主要利用矿化微生物的代谢活动来阻止重金属的迁移过程对重金属污染进行修复^[10-11]。MICP 技术涉及多个不同生化与物理化学作用过程,包括尿素水解、反硝

化作用、硫酸盐还原与离子还原作用诱导碳酸钙沉淀等。本文主要利用功能微生物释放脲酶,分解尿素生成碳酸根离子(CO_3^{2-})和铵根离子(NH_4^+),生成的 CO_3^{2-} 再与钙离子(Ca^{2+})或其他二价重金属离子生成碳酸钙沉淀、共沉淀或者络合物,阻止土壤中重金属离子的迁移。

目前,国内外利用微生物代谢过程降低重金属污染的研究^[12]正在兴起。Kang等^[13]研究发现,芽孢八叠球菌(*Sporosarcina* B-22)能够去除61.8%的铜;王新花等^[14]筛选出一株假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)可去除金尾矿库中97%的铅;Zhao等^[15]研究发现,芽孢杆菌GZ-22(*Bacillus*, GZ-22)去除60.7%的镉;Li等^[16]在土壤中分离出尿素分解菌,进行Ni、Cu、Pb、Zn等重金属离子固化试验发现,这些重金属去除率范围为88%~99%。

现阶段研究主要集中在MICP技术对尾矿区重金属的固结率及其矿化产物形态的探究,其次关于MICP的试验大部分是接种通用型功能微生物,这可能导致其在特定环境条件下矿化效率下降,重金属固化效率低下,甚至失效。而干旱半干旱生态环境脆弱区,风沙大,土壤气候恶劣,对微生物的活性要求较高,基于特定环境条件筛选的MICP功能微生物及其应用研究尤为重要。但目前关于该区域MICP功能微生物的筛选及其针对不同地形不同粒径尾矿治理功效的研究甚少。本研究利用从干旱半干旱区域宁夏中卫市香山北坡腰峁子沟内矿区周边尾矿土壤分离得到的1株具有MICP功能的纺锤形赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus*),通过对比MICP修复前后重金属元素含量、pH、电导率及酶活性等基础理化性质的变化,评估MICP技术固化重金属的性能及菌剂用量,探索出一条利用微生物诱导碳酸钙沉淀技术在干旱半干旱区域内提高该技术修复重金属污染效果的可靠途径,为干旱半干旱区尾矿渣MICP修复工程提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验区位于宁夏回族自治区中卫市香山北坡腰峁子沟内,气候类型为大陆性干旱气候,夏季炎热、冬季寒冷,年最高气温35℃,最低气温-25℃,年平均气温8.5℃,年平均降水量48 mm,降水多集中在6—8月,降雨强度多为5 mm以下,监测2年内,单次最大降水量为14 mm。该区域强风频发,风沙大且持续时间长,最大风速可达21 m/s,地表侵蚀严重,土壤贫瘠缺水结构差。尾矿堆依山而建,占据4

条冲沟,尾矿砂顺山顶直接倒入,未做防渗透处理,裸露堆积。矿区周边的自然植被为草原化荒漠,以红砂(*Reaumuria songarica*)、荒漠锦鸡儿(*Caragana roborovskiyi*)、短花针茅(*Stipa breviflora*)等为建群种,植被覆盖在10%~30%,生物多样性较低。野生大中型动物比较稀少,矿区周围人畜活动较多,矿区周边数公里范围内有移民点,居住人口上百户,耕地面积较大,矿区周边的农作物主要有马铃薯(*Solanum tuberosum*)、玉米(*Zea mays*)和大枣(*Ziziphus jujube*)等。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 试验所使用的尾矿渣样品采集于宁夏回族自治区中卫市香山北坡腰峁子沟内的铜尾矿。4条冲沟的坡顶、坡中、坡底各布设3个采样点,并用GPS对采样点进行精确定位。将坡顶、坡中、坡底3个采样点采集的尾矿渣各自混合均匀,装入采样袋,贴好标签,带回实验室备用。MICP固化尾矿渣试验于2020年11月在宁夏大学农科试验基地进行,试验前将从研究区采集的尾矿渣过5,15 mm的干筛,筛后的尾矿渣记为细颗粒K1(<5 mm)、K2中颗粒(5~15 mm)、K3粗颗粒(>15 mm)。将筛分好的尾矿渣置于121℃的高压灭菌锅中灭菌30 min后备用。

1.2.2 MICP试验的菌液和反应液制备 MICP试验所用的细菌为尾矿区中分离提取的纺锤形赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus*)。该菌属好氧或兼性厌氧异养菌,细胞呈直杆状,常以成对或链状排列。对环境的适应能力强。该菌筛选自然土体内部,对环境没有危害,代谢产生大量脲酶,使土壤肥力提高,土壤环境改善。

试验所用的培养基为LB培养基,液体培养基的配方为18 g 营养牛肉汤、1 L 蒸馏水,调节pH至7.2~7.4,固体培养基在液体培养基的基础上加入15 g 琼脂。将LB培养基置于高压灭菌锅内,120℃高温灭菌30 min。分离提取的菌种是以真空冷冻菌的形式保存,需要在实验室内进行活化和恢复培养。采用紫外可见分光光度计测定其吸光度OD 600值为2.02。

MICP试验中反应液为尿素和氯化钙的混合液,微生物生长的氮源由尿素提供,试验需要的钙源由氯化钙提供。按照体积比1:1进行配制得到反应液。配制好的反应液中尿素和氯化钙的浓度均采用1 mol/L。

1.2.3 MICP试验过程 尾矿渣的MICP试验采用分步灌注法:称取已灭菌处理的不同粒径的尾矿渣各6.5 kg置于酒精(75%)消毒后的长度为35 cm、宽为26 cm、高为3.5 cm的沙盘中进行初次灌注,将1.2.2配制好的菌液和反应液按照体积比1:1混合均匀,

进行灌注,为了保证尾矿渣的固化效果,进行 3 次灌注,在常温下每次灌注时间间隔为 15 天,每次灌注的高度为 3.5 cm。细颗粒每次灌注菌液和反应液的总量分别为 850,300,200 mL;中颗粒的用量分别为 600,500,200 mL;粗颗粒的用量分别为 600,300,200 mL。

1.3 测定方法

尾矿渣中 Cu、Ni、Cr、Cd、Ag、Pb 元素含量测定参考 DZ/T 0279.3—2016 区域地球化学调查样品分析方法第 3 部分,电感耦合等离子体质谱法^[17]。As 元素含量测定参考 DZ/T 0279.13—2016 区域地球化学调查样品分析方法第 13 部分,氢化物发生—原子荧光光谱法^[18]。Hg 元素含量测定参考 DZ/T 0279.17—2016 区域地球化学调查样品分析方法第 17 部分,蒸气发生—冷原子荧光光谱法^[19]。

尾矿渣 pH 的测定方法参考 ISO 10390: 2005,称取 5 g 尾矿渣样品,加入 25 mL 去离子水(5:1),用 pH 计测定^[20]。尾矿渣电导率测定方法参考国家标准 HJ 802—2016 测定,称取 5 g 尾矿渣样品,加入 25 mL 去离子水(5:1),用电导率仪测定^[21]。尾矿渣中总碳、总氮采用元素分析仪测定(意大利 DK,UDK140)、有机质采用灼烧法、总磷含量的测定采用氢氧化钠熔融—火焰光度计法测定,全钾采用氢氧化钠熔融—钼锑抗比色法测定,全盐量采用质量法测定,脲酶活性采用苯酚钠—次氯酸钠比色法测定,蔗糖酶活性采用 3,5—二硝基水杨酸比色法测定,过氧化氢酶活性采用高锰酸钾测定法测定^[22]。

1.4 数据处理

本研究涉及 6 个处理,每个处理 5 个重复,共计 30 样品。对照(CK)有细颗粒尾矿渣($K1 < 5$ mm)、中颗粒尾矿渣($5 \text{ mm} < K2 < 15$ mm)、粗颗粒尾矿渣($K3 > 15$ mm),试验组(MICP)是在对照的基础上进行 MICP 处理。本研究所有试验数据采用 Excel 2010 软件进行初步整理。尾矿渣中重金属元素含量、养分含量和土壤酶含量数据采用 IBM SPSS Statistics 25 进行双因素分析,利用 Origin 2018 制图。利用 R 4.0.3 中绘制重金属间、重金属—养分含量—土壤酶的 Pearson 相关性热力图。

2 结果与分析

2.1 MICP 对不同粒径尾矿渣重金属含量的影响

由图 1 可知,MICP 修复前后研究区不同粒级尾矿渣中除重金属 Ni 元素含量低于宁夏回族自治区土壤背景值(36.6 mg/kg)外,其余元素 Cr、Cd、Pb、Cu、As、Hg 均超过宁夏回族自治区土壤背景值(60,0.112,20.6,22.1,11.9,0.021 mg/kg)。MICP 处理前 K1、K2、K3 粒径的尾矿渣中 Cd、Pb、As 含量无显著差异($p > 0.05$)。Cd 元素含量为 $K3 > K2 > K1$,在

K3 中 Cd 含量为 0.61 mg/kg。Pb 元素含量为 $K2 > K3 > K1$,在 K2 中 Pb 含量为 45.1 mg/kg。As 元素含量在 K3 中最多,为 95.4 mg/kg。Ag 元素含量 $K2 > K1 > K3$ ($p < 0.05$),在 K2 中 Ag 含量为 0.99 mg/kg,在 K3 中 Ag 含量为 0.44 mg/kg。Hg 元素在 K3 粒径的尾矿渣含量最少($p < 0.05$),Hg 元素含量 $K1 > K2 > K3$,依次分别为 0.55,0.38,0.24 mg/kg。Cr、Ni 在 K1、K2、K3 粒径的尾矿渣中差异显著($p < 0.05$),Cr 元素在 K2 中含量最多,为 348.5 mg/kg。Ni 元素的含量在 K2 中最多,为 17.7 mg/kg。不同粒径的尾矿渣中 Cu 元素为 $K2 > K3 > K1$ ($p < 0.05$),K3 中 Cu 元素含量为 748.47 mg/kg。

MICP 处理下 Cr 元素含量为 $K2 > K3 > K1$ ($p < 0.05$),K1 中 Cr 元素含量为 296.2 mg/kg。Hg、As、Cu 元素在 K1 中差异显著($p < 0.05$)。Hg 元素在 MICP 处理下 $K1 > K3 > K2$,K1 中含量为 0.6 mg/kg。As 元素在 K1 中含量分别为 81.1 mg/kg。Cu 元素在 K3 中含量最多,为 738.5 mg/kg。Pb 元素含量为 $K2 > K1 > K3$,Ni 元素含量为 $K1 > K2 > K3$ 。MICP 处理前后,K1 粒径的尾矿渣中 As 元素比处理前显著减少 14.3 mg/kg($p < 0.05$);K2 粒径的尾矿渣中 Hg 元素含量比处理前显著降低 23%($p < 0.05$),Cr、Cd、Cu、Ni、Ag 元素含量差异不显著($p > 0.05$),但均呈现降低趋势,分别比 MICP 处理前降低 15%,2%,9%,16%,20%。K3 粒径尾矿中,Ag 元素比处理前显著升高($p < 0.05$)。K3 粒径尾矿渣中 Cr、Cd、Pb、Cu 的含量经过 MICP 处理后,分别降低 6%,12%,22%,3%。

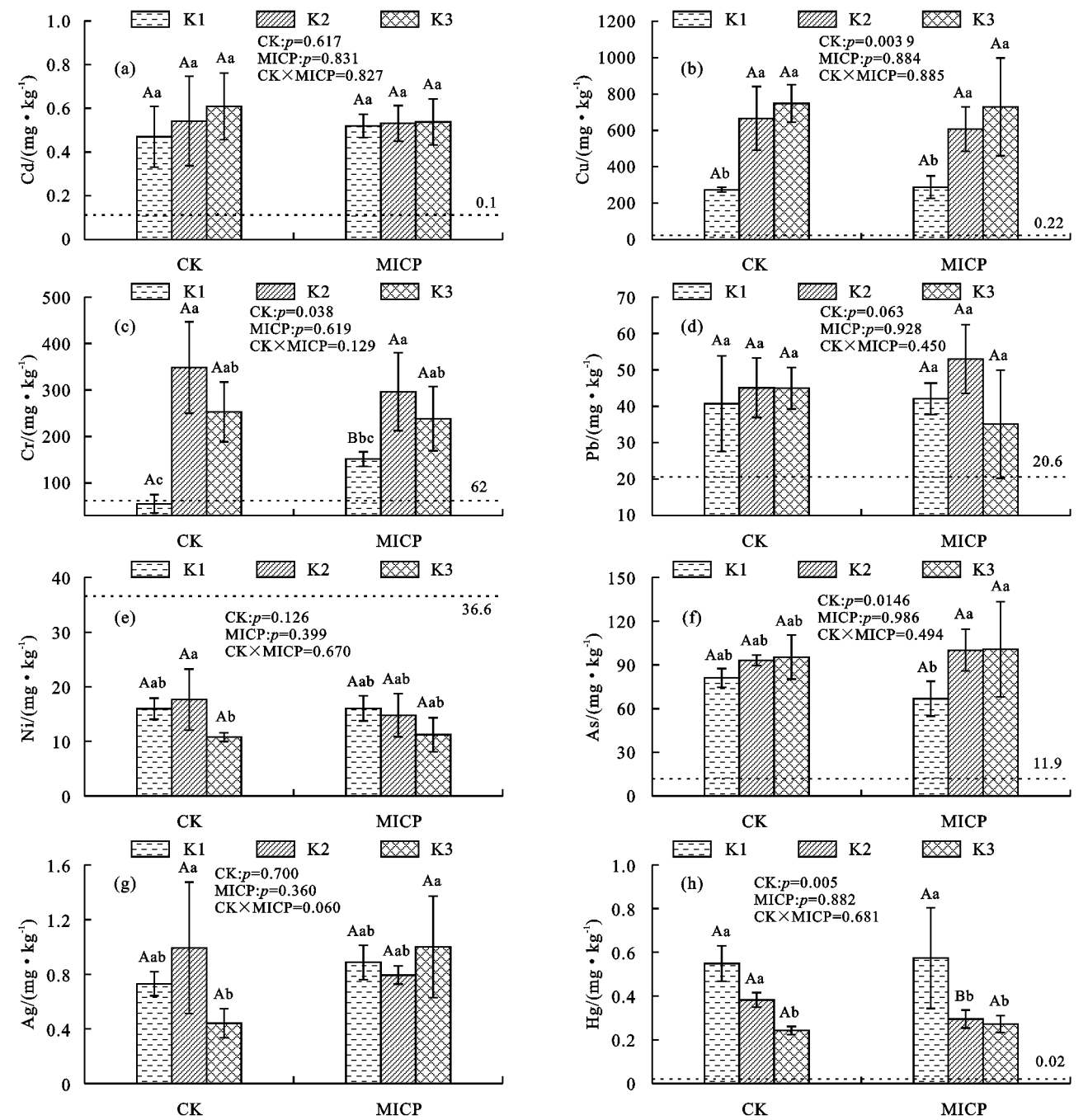
2.2 MICP 对不同粒径尾矿渣理化性质的影响

由图 2 可知,MICP 处理前 K1、K2、K3 粒径的尾矿渣中全钾、全氮、全盐量、pH 和电导率的含量无显著差异($p > 0.05$),K1 粒径的尾矿渣中全钾、全氮、全盐量、pH 和电导率的含量分别为 3.52,0.90,22.90 g/kg 和 9.25,2 585.2 uS/cm;K2 粒径的尾矿渣中全钾、全氮、全盐量、pH 和电导率的含量分别 2.52,0.78,22.18 g/kg 和 9.12,2 462.8 uS/cm;K3 粒径的尾矿渣中全钾、全氮、全盐量、pH 和电导率的含量分别为 2.66,,0.68,22.86 g/kg 和 9.30,2 624.0 uS/cm。有机质在 K2 中含量最多($p < 0.05$),为 0.016 3 g/kg,全磷在 K3 中含量最高($p < 0.05$),含量为 0.31 g/kg。MICP 处理下 K1、K2、K3 的尾矿渣中全氮、全盐量、pH 和电导率无显著差异($p > 0.05$),全碳含量为 $K3 > K2 > K1$ ($p < 0.05$),K3 中全碳含量为 15.3 g/kg。全钾的在 K1 中含量最多($p < 0.05$),为 1.92 g/kg。

MICP 处理前后,尾矿渣中全氮、电导率的含量显著升高($p < 0.05$),pH 显著下降($p < 0.05$)。K1 粒径的尾矿渣中全氮和电导率的含量较 MICP 处理

前分别增加 75%,37%,pH 降低 5%;K2 粒径的尾矿渣中全氮、电导率、全碳的含量比 MICP 处理前分别增加 70%,39%,39%,pH 降低 4%;K3 粒径的尾矿渣中全氮和电导率的含量比 MICP 处理前分别增

加 74%,26%,pH 降低 5%。在 K2 粒径的尾矿渣中全碳的含量在 MICP 处理后显著增加 39% ($p < 0.05$),全钾的含量在 K1 粒径的尾矿渣中较 MICP 处理前显著增加 33% ($p < 0.05$)。



注:K1 为细颗粒矿渣<5 mm;K2 为中颗粒矿渣 5~15 mm;K3 为粗颗粒矿渣>15 mm;不同小写字母表示不同粒径在有无 MICP 处理下的差异显著 ($p < 0.05$);不同大写字母表示同一粒径在有无 MICP 处理下的差异显著 ($p < 0.05$)。虚线表示宁夏回族自治区土壤背景值。下同。

图 1 不同粒径尾矿渣中重金属的种类和含量

2.3 MICP 技术对尾矿渣生物学参数和酶活性的影响

由表 1 可知,在 MICP 处理前不同粒径的尾矿渣中,脲酶活力、土壤微生物碳、微生物氮、过氧化氢酶、蔗糖酶没有显著差异 ($p > 0.05$),脲酶活力在 K1、K2、K3 粒径的尾矿渣中分别为 41.5,44.0,47.1 U/g,土壤微生物碳在不同粒径尾矿渣中含量分别为 306.6,318.0,308.5 mg/kg,微生物氮含量在不同粒径尾矿

渣中含量依次为 30.7,31.1,31.0 mg/kg,过氧化氢酶含量依次为 2.3,2.4,2.4 $\mu\text{mol}/(\text{d} \cdot \text{g})$,蔗糖酶的含量依次为 11.3,11.2,11.0 $\mu\text{mol}/(\text{d} \cdot \text{g})$ 。

MICP 处理下不同粒径的尾矿渣中脲酶活力、土壤微生物碳、微生物氮、蔗糖酶的含量没有显著差异 ($p > 0.05$)。脲酶含量为 K3>K1>K2,微生物碳含量为 K1>K2>K3,微生物氮的含量 K2>K3>K1,过氧化氢酶的

含量在 K3 中最少($p<0.05$),为 $2.48\text{ }\mu\text{mol}/(\text{d}\cdot\text{g})$ 。MICP 处理下 K1、K2、K3 粒径的尾矿渣中脲酶活力、土壤微生物碳、微生物氮、过氧化氢酶、蔗糖酶的含量比处

理前均显著增加($p<0.05$)。K1 粒径尾矿渣中分别增加 33%,15%,4%,10%,6%,K2 中分别增加 26%,9%,3%,6%,6%,K3 中分别增加 27%,3%,7%,9%,6%。

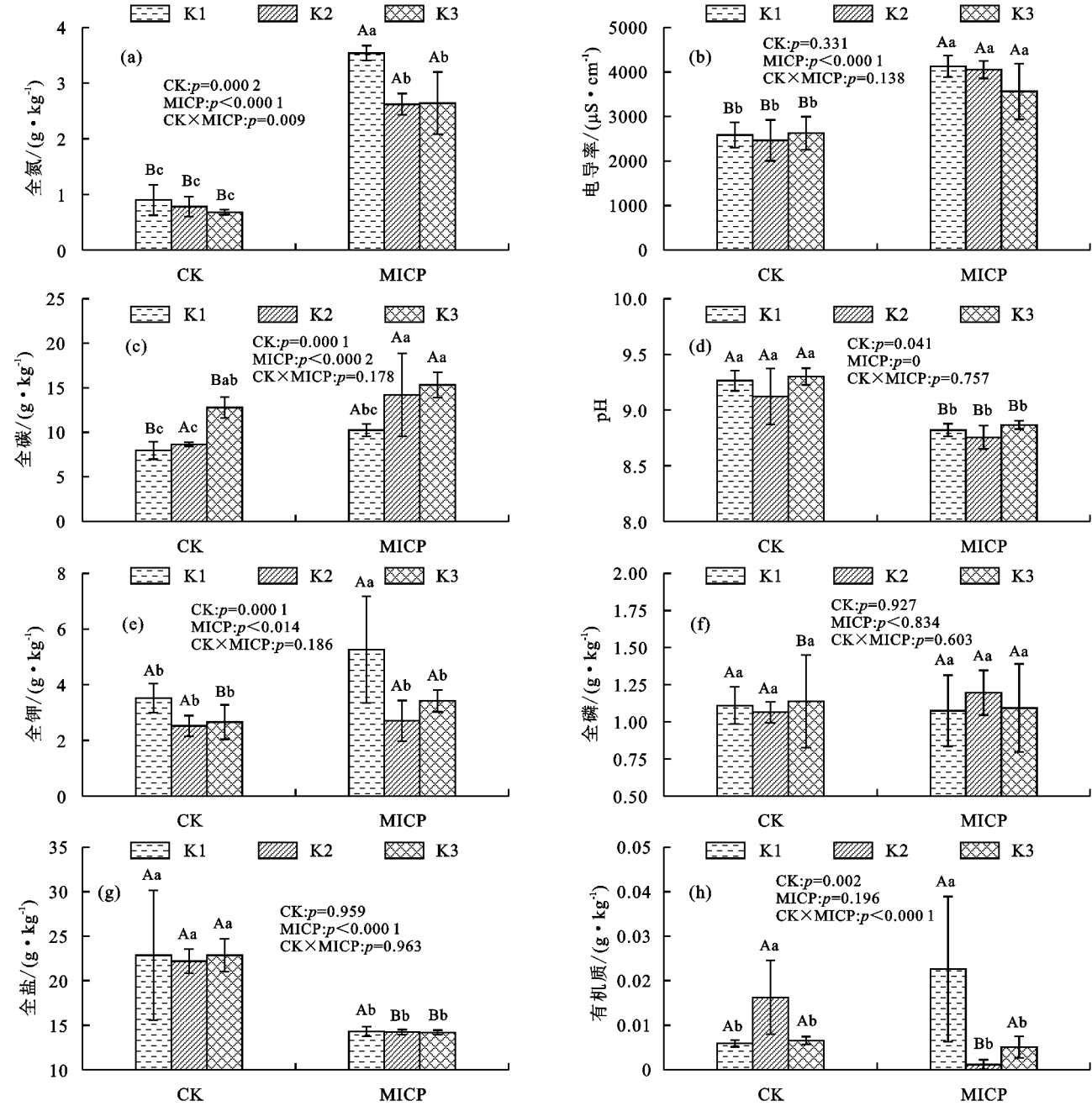


图 2 MICP 对不同粒径尾矿渣理化性质的影响

表 1 MICP 技术对尾矿渣生物学参数和酶活性的影响

处理		脲酶活力/ ($\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$)	微生物碳/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	微生物氮/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	过氧化氢酶/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)	蔗糖酶/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)
CK	K1	$41.6\pm5.6\text{Bb}$	$306.6\pm6.2\text{Bb}$	$30.7\pm0.3\text{Bb}$	$2.3\pm0.2\text{Bb}$	$11.3\pm0.1\text{Bab}$
	K2	$44.1\pm4.7\text{Bb}$	$318.0\pm9.8\text{Bb}$	$32.1\pm0.6\text{Bb}$	$2.4\pm0.2\text{Ab}$	$11.2\pm0.4\text{Aab}$
	K3	$47.1\pm5.7\text{Bb}$	$308.5\pm8.2\text{Bab}$	$30.9\pm0.5\text{Bb}$	$2.4\pm0.3\text{Ab}$	$11.0\pm0.4\text{Bb}$
MICP	K1+M	$62.0\pm6.6\text{Aa}$	$342.4\pm4.1\text{Aa}$	$32.7\pm0.7\text{Aa}$	$2.7\pm0.2\text{Aa}$	$11.8\pm0.3\text{Aa}$
	K2+M	$59.2\pm9.7\text{Aa}$	$339.4\pm10.6\text{Aa}$	$33.1\pm0.8\text{Aa}$	$2.6\pm0.2\text{Aa}$	$11.6\pm0.7\text{Aab}$
	K3+M	$64.1\pm8.0\text{Aa}$	$337.7\pm8.9\text{Aa}$	$33.0\pm0.8\text{Aa}$	$2.5\pm0.2\text{Ab}$	$11.8\pm0.6\text{Aa}$

注:K1 为细颗粒矿渣 $<5\text{ mm}$;K2 为中颗粒矿渣 $5\sim15\text{ mm}$;K3 为粗颗粒矿渣 $>15\text{ mm}$;不同小写字母表示不同粒径在有无 MICP 处理下的差异显著($p<0.05$);不同大写字母表示同一粒径在有无 MICP 处理下的差异显著($p<0.05$)。

2.4 MICP 修复前后尾矿渣重金属间的相关性

由图 3 可知,MICP 处理前,Cu 与 Cr、Ag 与 Ni 间呈显著正相关($p<0.01$),Hg 与 Cu、Ni 与 Pb 呈显著负相关,相关系数分别为 $-0.81,-0.84,-0.08,-0.37$ 。As 与 Cu 显著正相关;Hg 与 Cr、Ag 与 Pb 呈显著负相关($p<0.05$)。MICP 处理下,Ni 与 Pb、As 与 Cu 呈显著正相关,相关性系数分别为 $0.67,0.91$,Hg 与 Cr、As 与 Ni 呈显著负相关($p<0.01$),相关系数为

$-0.52,-0.54$ 。Cu 与 Cr、Ni 与 Cd、As 与 Cr 呈显著正相关,As 与 Pb、Hg 与 Cu 呈显著负相关($p<0.05$)。经 MICP 处理后,Ni 与 Pb、As 与 Cu 呈极显著正相关,修复前后各金属间相关性变化显著,Ni 与 Pb 在处理前后由负相关变为正相关,同时各金属间相关性在处理前后强弱又发生显著变化,Cu 与 Cr 在处理前后,由显著正相关转变为极显著正相关;Ni 与 Cu 由没有相关性转变为呈极显著负相关。

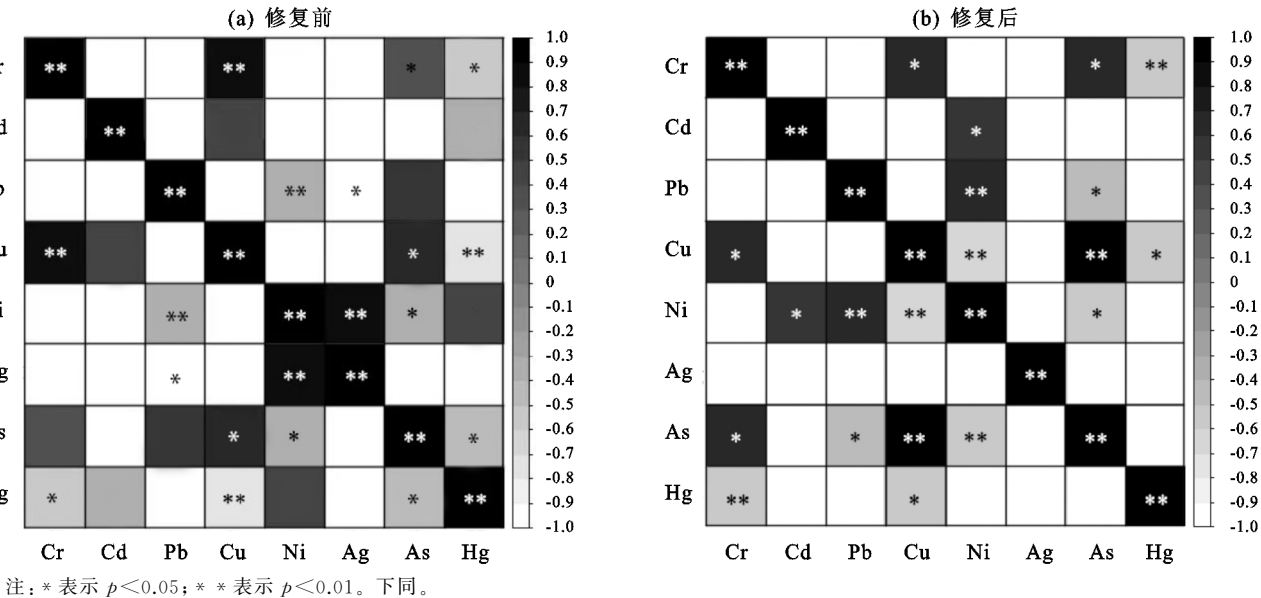


图 3 MICP 修复前后尾矿渣重金属间的相关性

2.5 MICP 修复前后重金属和理化性质之间的相关性

由图 4 可知,在 MICP 处理前,全氮和 Hg 呈极显著正相关($p<0.01$),相关系数为 0.77 ,全碳和 Cu、As 呈显著正相关,相关系数分别为 $0.68,0.50$,全钾和 Hg 呈显著正相关,相关系数为 0.89 ,URE 和 Cr、Cu 及 CAT 与 Cd 呈显著正相关,电导率和 Pb 及全氮与 Cr、Cu、As 呈显著负相关,相关系数分别为 $-0.58,-0.56,-0.59,-0.31$,全钾和 Cr、Cd、Cu 呈显著负相关,蔗糖酶和 As(-0.76)、脲酶和 Hg 呈显著负相关(-0.77)。全钾和 Ni、全磷和 Hg、有机质和 Ni 及

Ag 呈显著正相关($p<0.05$),pH 和 Ni、电导率和 Hg、全碳和 Ni、过氧化氢酶和 Cr 等呈显著负相关。在 MICP 处理下,尾矿渣重金属和理化性质间的相关性发生显著变化。pH 和 Cr、过氧化氢酶和 Ag 呈极显著正相关($p<0.01$),相关系数分别为 $0.59,0.63$,有机质和 Hg 为显著正相关,脲酶和 Pb、Ni 为显著负相关,相关系数分别为 $-0.75,-0.54$,有机质和 Cr、Cu 等为显著负相关,相关系数分别为 $-0.62,-0.65$;pH 和 Pb 呈显著正相关($p<0.05$);全磷在 MICP 处理后和 Cr、Cu 等为正相关,相关系数分别为 $0.61,0.73$ 。

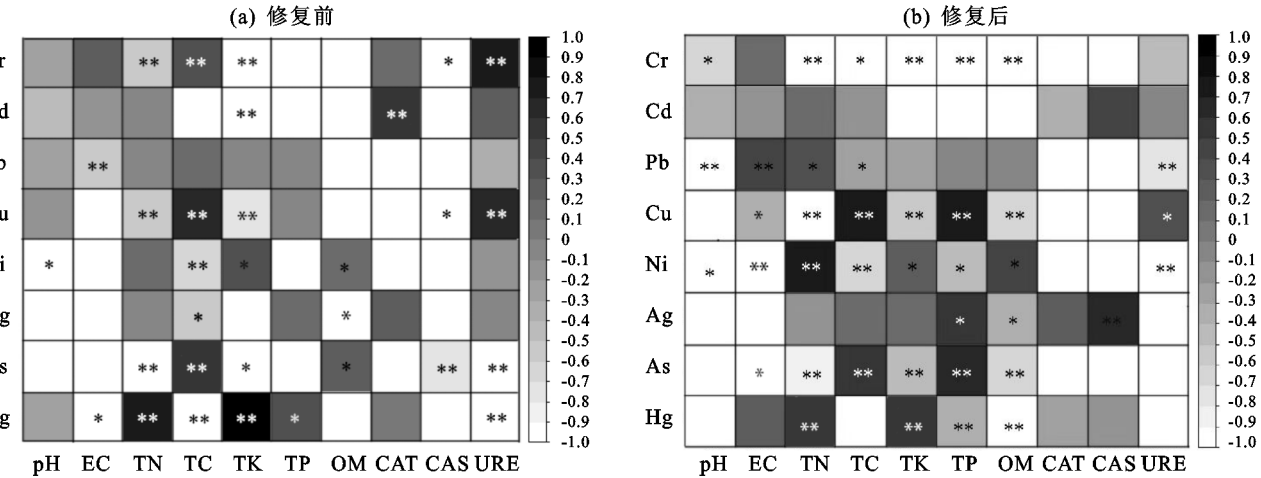


图 4 MICP 修复前后重金属和理化性质之间的相关性

3 讨论

3.1 MICP 对不同粒径尾矿渣重金属含量的影响

本研究中,除 Ni 外,其余各重金属元素含量均超过宁夏回族自治区土壤背景值,超标严重。经过 MICP 技术处理后,K1 中 As 含量降低 21%,K2 中 Hg 含量降低 23%,Ag 降低 20%,K3 中 Pb 降低 22%,说明该区域存在较严重的复合型重金属污染,而 MICP 技术能够作为土壤重金属污染治理的有效手段。MICP 技术固化尾矿渣中的重金属,发挥作用的是细菌,它们释放脲酶,分解尿素生成 CO_3^{2-} 和 NH_4^+ , CO_3^{2-} 和土壤中的 Cu^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ca^{2+} 等重金属离子以沉淀或其晶格的形式封存固定,阻止重金属元素的迁移,降低重金属通过食物链对人类造成的健康威胁。其他学者也有类似研究结果,Achal 等^[23]利用 MICP 技术修复铅污染的土壤发现,污染土壤中可交换态 Pb 含量减少 83.4%,碳酸盐结合态 Pb 含量增加 83.2%。郭同同^[24]从矿区汞污染土壤中分离出了 *Pseudomonas sp.* DC2,研究发现,DC2 对 Hg 的去除率为 91.6%。降低游离 Cd 离子的污染风险。本研究中,干旱半干旱区域筛选的 MICP 功能微生物能够有效固化重金属降低土壤重金属污染,具备规模化开发应用潜力。

3.2 MICP 对不同粒径尾矿渣养分含量的影响

土壤 pH 对重金属的影响十分重要,土壤 pH 表现为酸性时,土壤中重金属元素含量增加,迁移性增强,土壤中固定的重金属更易释放出来^[25-26]。本研究显示,pH、全盐量在 MICP 处理后显著降低($p < 0.05$),电导率、全碳、全氮、全磷含量显著升高($p < 0.05$),可能是微生物在矿化的过程中产生了 CO_3^{2-} ,导致土壤环境 pH 变低。但整体上看尾矿渣 $\text{pH} > 7$,偏碱性,重金属的可溶性和可移动性在碱性的环境条件下降低,有利于重金属的稳定化。土壤溶液传导电流的能力和重金属离子浓度的间接测量一般用电导率表示^[27]。氯化钙和尿素的加入使得尾矿渣中各种盐离子的浓度增加,所以 MICP 处理后尾矿渣的电导率显著上升($p < 0.05$),K1、K2、K3 中电导率分别升高 37%,39%,26%,土壤电导率升高表明土壤盐分含量升高而土壤盐分含量过高或者过低均影响植物的生长发育,因此在进行 MICP 修复过程中应严格控制含盐量。与 MICP 处理前相比,经过 MICP 处理后尾矿渣中的全氮、全碳、全钾含量显著升高($p < 0.05$),全氮在 K1 中升高 75%,全碳在 K2 中升高 39%,全钾在 K1 中升高 33%,MICP 处理后全盐量显著降低($p < 0.05$),K3 降低 61%。主要原因是 MICP 处理过程

中,尿素和氯化钙的添加改变尾矿渣的养分含量,让更多的营养元素添加进尾矿渣,使尾矿渣营养状况得到较好的改善;在 MICP 处理的过程中,添加的微生物菌剂,可产生糖类物质及改善土壤团粒结构、物理性质和颗粒损失等^[28]。表明基于环境特定菌种 MICP 技术能够改善尾矿土养分含量,促进尾矿渣向土壤的转变,有利于尾矿区生态环境修复。

3.3 MICP 技术对尾矿渣酶活性的影响

土壤酶作为土壤组分中最活跃的有机组成部分之一,是作为评价土壤肥力高低、生态环境质量优劣的一个重要生化指标^[29]。脱氢酶可以衡量土壤中 Cr、Cd、Cu、Pb 和 Zn 等重金属污染指标,水解类酶,一般可当作 As、Hg 等重金属污染的生物指示剂^[30]。有研究^[31]表明,重金属含量是导致矿区土壤酶活性降低的主要因素。在 MICP 处理后,脲酶活性显著升高($p < 0.05$),K1、K2、K3 分别增加 33%,26%,27%。过氧化氢酶的含量在 K1、K2 显著升高($p < 0.05$),分别增加 15%,9%。蔗糖酶的含量在 K3 中显著增加 7%。主要原因是在加入 MICP 之后,重金属元素含量降低,而土壤酶的本质是蛋白质,少量的重金属离子作为土壤酶的辅基,可以促进土壤酶活性中心和催化底物间的配位的结合,土壤酶活性中心的专性结构得以保持,酶活性增强^[32]。此外,也有研究^[33]表明,微生物菌剂通过改善土壤理化特性和微生物活性,从而影响土壤酶活性。本研究中在 MICP 技术处理后,尾矿渣养分含量显著升高。微生物碳和微生物氮的含量可作为重金属土壤污染的敏感指标,本研究中微生物碳氮较 MICP 处理前都增加,K1 增加 $0.5 \mu\text{mol}/(\text{d} \cdot \text{g})$,K2 增加 $0.4 \mu\text{mol}/(\text{d} \cdot \text{g})$,K3 增加 $0.8 \mu\text{mol}/(\text{d} \cdot \text{g})$ 。在 MICP 处理前,该区域长期受到重金属胁迫,随着污染程度的增加,微生物碳氮呈下降趋势,主要原因有:(1)高浓度的重金属可使细胞的结构和功能受到破坏,促使细胞死亡,抑制微生物活性从而使生物量降低;(2)由于重金属的污染,土壤中微生物需要更多的能量来度过恶劣环境,进而生物量的增加受到抑制;(3)在土壤重金属的胁迫下,微生物将生长所需能量被维护细胞消耗^[34]。而在 MICP 处理后,微生物碳和氮增加,主要原因为该技术将重金属以沉淀的形式固定,使重金属的赋存价态发生改变,有效阻止其迁移和运动。有研究^[35]表明,土壤酶活性可反映土壤肥力的高低和土壤有机养分转化情况,对土壤肥力的保持具有重要意义。本研究中,尾矿渣中酶含量在 MICP 处理过程中显著升高,说明基于环境特定菌种的 MICP 技术不仅能有效快

速阻断重金属扩散风险,同时能够助力区域重金属污染土体的养分恢复。

3.4 MICP 修复前后尾矿渣重金属间及重金属和理化性质间的相关性

推测土壤中不同重金属来源途径的相似性通常采用相关性分析,一般来说,金属间的相关性越显著,说明来源途径越接近^[36]。为了解土壤重金属的复合污染及其影响因素,研究土壤重金属间及重金属和理化性质间的相关性就尤为重要,有助于充分了解土壤污染物的来源并为重金属污染修复提供依据。本研究将 MICP 修复前后重金属元素和尾矿渣养分含量进行相关性分析, MICP 处理前, Cu 与 Cr、Ag 与 Ni 间呈显著正相关($p < 0.05$), As 与 Cu 呈显著正相关, Hg 与 Cr、Ag 与 Pb 呈极显著负相关($p < 0.01$)。MICP 处理下, Ni 与 Pb、As 与 Cu 呈极显著正相关($p < 0.01$)。重金属与尾矿养分含量之间,在 MICP 处理前, TN 与 Hg、TC 与 Cr、TC 与 As、TC 与 Cu 呈极显著正相关($p < 0.01$), MICP 处理下, TN 与 Ni、TC 与 Cu 呈极显著正相关($p < 0.01$)。表明在修复前尾矿渣中 TN 与元素 Cr、Cu、As、Ag、Ni 具有相同的来源,有机质与 Ni 和 Ag 具有相同的来源, CAT 和 Cd 具有相同来源, URE 与 Cr 和 Cu 具有相同来源,在 MICP 修复后, EC 与 Pb 和 Ni、TC 与 Cr、Cu 和 As、TK 与 Pb 和 Ni、TP 与 Cr、Cu 和 As、有机质与 Ni、Pb 和 Cd、URE 与 Cu、Cr 和 As 具有相同来源。由此可知,重金属元素间是相互促进、协同吸收,具有相似的迁移或转化规律。说明随着重金属元素的增加,养分含量也会增加,是因为土壤中的某些理化因子和某些重金属离子形成络合化合物,重金属元素的有效性、迁移能力和重金属离子活性降低,最终导致土壤中重金属含量增加^[37]。在 MICP 处理后重金属元素和尾矿渣养分含量间多呈显著负相关,可能是由于加入 MICP 后,土壤发生的氨化作用、消化作用和脱氮作用干扰重金属的行为和活性,从而降低重金属可用性^[38],也可能是由于 MICP 在固化过程中改变各重金属元素的赋存价态。

4 结论

(1)研究区内尾矿渣中重金属含量除 Ni 外,其他重金属含量均超过宁夏回族自治区土壤背景值。较 MICP 处理前, K1 中 As 含量降低 21% ($p < 0.05$); K2 中 Hg、Ag 含量分别降低 23%, 20% ($p < 0.05$); K3 中 Pb 含量降低 22% ($p < 0.05$)。表明基于环境特定菌种的 MICP 技术可有效阻止干旱半干旱区域内重金属的迁移,降低重金属元素对干旱半干旱区域

内重金属污染。

(2) MICP 修复后,不同粒径尾矿渣 pH、电导率变化显著($p < 0.05$); K1 中全氮升高 75%; K2 中全碳升高 39% ($p < 0.05$); 各粒径中全氮均升高($p < 0.05$)。因此 MICP 去除污染土壤中重金属元素的效率较高,长期使用该技术可改善土壤养分含量,促进尾矿渣向土壤的转变,有利于尾矿区生态环境修复。

(3) MICP 修复后, K1、K2、K3 粒径的尾矿渣中脲酶的活力、土壤微生物碳、微生物氮、过氧化氢酶、蔗糖酶等的含量均升高。K1、K2、K3 中脲酶活力升高 33%, 26%, 27%。因此基于研究区生境菌—纺锤型赖氨酸芽孢杆菌(*Lysinibacillus*)的 MICP 技术在阻断重金属扩散风险的同时能够助力区域重金属污染土体的养分恢复。

(4) MICP 修复后, pH 和 Pb 呈极显著负相关($p < 0.01$); Pb 和 EC 呈极显著正相关($p < 0.01$), Cu、As 和 TC 呈极显著负相关($p < 0.01$)。说明 MICP 可有效固化尾矿渣中重金属元素,降低其迁移能力,最终使得尾矿渣中重金属元素含量降低,养分含量及酶活性提高,尾矿渣肥力状况得到改善。

参考文献:

- [1] 曾蓉.土壤重金属污染现状及修复研究[J].安徽农学通报,2012,18(20):20,32.
- [2] 全国土壤污染状况调查公报[J].中国环保产业,2014(5):10-11.
- [3] 郝秀珍,周东美.金属尾矿砂的改良和植被重建研究进展[J].土壤,2005,37(1):13-19.
- [4] 陈卫连,姚锁平,蔡婕,等.一种铅尾矿砂的植被改良方法:CN 102658291A[P].2014-05-07.
- [5] 周科平,林允,胡建华,等.大脚岭铅锌尾矿库重金属迁移规律与污染评价[J].中南大学学报(自然科学版),2015,46(5):1953-1958.
- [6] 赵仁鑫,郭伟,包玉英,等.内蒙古草原白乃庙铜矿区土壤重金属污染特征研究[J].土壤通报,2012,43(2):496-500.
- [7] 叶增辉,尹国勋.污染土壤的物理化学修复现状与展望[J].山西建筑,2010,36(13):333-335.
- [8] 李榜江.贵州山区煤矿废弃地重金属污染评价及优势植物修复效应研究[D].重庆:西南大学,2014.
- [9] 赵庆龄,张乃弟,路文如.土壤重金属污染研究回顾与展望Ⅱ:基于三大学科的研究热点与前沿分析[J].环境科学与技术,2010,33(7):102-106.
- [10] Shraddha G, Darshan M. Microbially induced calcite precipitation through urolitic organisms: A review[J]. International Journal of Life Sciences, 2019, 7(1):133-139.
- [11] Seifan M, Samani A K, Berenjian A. Bioconcrete: Next generation of self-healing concrete[J]. Applied Microbiology

- and Biotechnology, 2016, 100(6): 2591-2602.
- [12] Helmi F M, Elmitwalli H R, Elnagdy S M. Calcium carbonate precipitation induced by ureolytic bacteria *Bacillus licheniformis*[J]. Ecological Engineering, 2016, 90: 367-371.
- [13] Kang C H, Shin Y J, Anbu P, et al. Biosequestration of copper by bacteria isolated from an abandoned mine by using microbially induced calcite precipitation[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2016, 62(4): 206-212.
- [14] 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): 80-85.
- [15] Zhao Y, Yao J, Yuan Z M, et al. Bioremediation of Cd by strain GZ-22 isolated from mine soil based on bio-sorption and microbially induced carbonate precipitation[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 24(1): 372-380.
- [16] Li M, Cheng X H, Guo H X. Heavy metal removal by biomineralization of urease producing bacteria isolated from soil[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2013, 76: 81-85.
- [17] 陈海杰, 马娜, 白金峰, 等. 基于外供氢气—氢化物—原子荧光光谱法测定地球化学样品中硒的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2020, 40(9): 2896-2900.
- [18] 中华人民共和国国土资源部. DZ/T 0279.13—2016 区域地球化学样品分析方法 第 13 部分: 砷、锑和铋量测定氢化物发生—原子荧光光谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [19] 中华人民共和国国土资源部. DZ/T 0279.17—2016 区域地球化学样品分析方法 第 17 部分: 汞量测定蒸气发生—冷原子荧光光谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [20] 李强, 赵秀兰, 胡彩荣. ISO 10390: 2005 土壤质量 pH 的测定[J]. 污染防治技术, 2006, 19(1): 53-55.
- [21] 黄博珠. 土壤电导率测定的不确定度评定[J]. 广州化工, 2018, 46(15): 132-133.
- [22] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 521-648.
- [23] Achal V, Pan X L, Zhang D Y, et al. Bioremediation of Pb-contaminated soil based on microbially induced calcite precipitation[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 22(2): 244-247.
- [24] 郭同同. 耐汞微生物的分离及其对汞污染土壤的修复[D]. 昆明: 云南大学, 2018.
- [25] Vrancut L, Badulescu B, Musta S. The influence of pH on the mobility of heavy metals in agricultural soil from Ialomita area[C]. International Mutidisciplinary Scientiific Geoconference: SGEM, 2019.
- [26] 陈敏洁, 李亚飞, 郑春丽. 微生物诱导碳酸钙沉淀对土壤中 Pb 污染稳定化的效果研究[J]. 有色金属工程, 2020, 10(12): 132-138.
- [27] 沈萍. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 1421-1531.
- [28] 范娜, 彭之东, 赵建武, 等. 微生物菌剂对土壤酶活性及高粱生长的影响[J]. 中国农业科技导报, 2021, 23(2): 185-192.
- [29] 胡廷会. 干旱胁迫下 LCO 和 TH17 对燕麦形态、生理指标及根际土壤环境的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
- [30] 李楠. 重金属形态与土壤酶活性关系研究[D]. 西安: 西安科技大学, 2015.
- [31] 陈玲玲. 土壤酶活性对土壤重金属污染的指示研究[D]. 西安: 西安科技大学, 2012.
- [32] Sannino F, Gianfreda L. Pesticide influence on soil enzymatic activities[J]. Chemosphere, 2001, 45(4/5): 417-425.
- [33] 陈亚东, 梁成华, 张永红, 等. 氧化还原条件对湿地土壤磷吸附与解吸特性的影响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(4): 116-121.
- [34] 叶协锋, 杨超, 敬海霞, 等. 绿肥对植烟土壤酶活性及土壤肥力的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(2): 445-454.
- [35] 张玲, 叶正钱, 李廷强, 等. 铅锌矿区污染土壤微生物活性研究[J]. 水土保持学报, 2006, 20(3): 136-140.
- [36] 杨强, 刘明亮, 沈旭. 钱塘江沉积物重金属污染源解析及生态风险评价[J]. 环境科学与技术, 2017, 40(12): 278-283.
- [37] 陈岭啸, 宋垠光, 袁旭音, 等. 长江三角洲典型地区土壤—水稻系统中 Cd 的分布及其迁移制约因素[J]. 地球科学与环境学报, 2011, 33(3): 288-295.
- [38] 孙晨, 程一松, 王兴明, 等. 植被恢复对露天铁矿排土场土壤理化性质及重金属污染特征的影响[J]. 现代矿业, 2017, 33(4): 218-221.