

微生物在不同pH下对水稻土胶体中砷释放的影响

陈爽, 张翊鹏, 黄臣臣, 张凯璇, 杨泽延, 罗江兰

引用本文:

陈爽, 张翊鹏, 黄臣臣, 张凯璇, 杨泽延, 罗江兰. 微生物在不同pH下对水稻土胶体中砷释放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(5): 959-08-1.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1178>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[Shewanella oneidensis MR-1异化铁还原诱导次生矿物固定镉](#)

童昆, 徐成, 吴峥, 司友斌

农业环境科学学报. 2021, 40(10): 2114-2123 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0496>

[铁还原条件下铁负载生物质炭固定三价砷的能力及其稳定性](#)

朱晓东, 杨敏, 吴松, 施维林, 周东美

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2735-2742 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0548>

[蚯蚓粪肥对水稻土磷形态及微生物活性的影响](#)

张峰, 王荣萍, 梁嘉伟, 廖新荣, 黎森, 石永锋, 吴永贵

农业环境科学学报. 2018, 37(12): 2774-2784 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0936>

[两种典型炭材料对微生物还原含砷水铁矿的影响及其机制研究](#)

吴松, 袁贝嘉, 闫慧珺, 方国东, 张俊, 王玉军, 周东美

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1370-1376 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0433>

[冻融作用对土壤胶体及胶体结合态铅迁移的影响](#)

王展, 邹洪涛, 范庆锋, 岑佳蓉, 张玉龙

农业环境科学学报. 2019, 38(2): 342-347 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0444>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

陈爽, 张翊鹏, 黄臣臣, 等. 微生物在不同pH下对水稻土胶体中砷释放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(5): 959–966.

CHEN S, ZHANG C P, HUANG C C, et al. Effects of microorganisms on the release of arsenic from paddy soil colloids at different pH levels[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(5): 959–966.

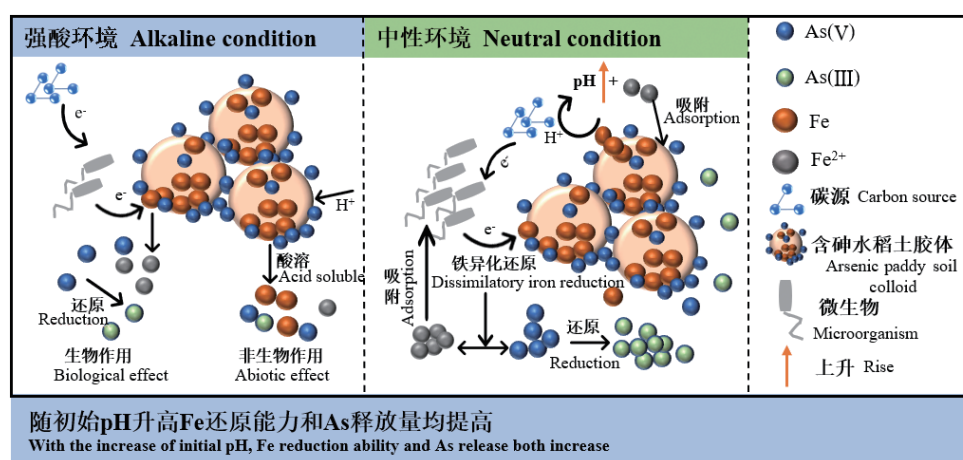


开放科学 OSID

微生物在不同pH下对水稻土胶体中砷释放的影响

陈爽^{1,3}, 张翊鹏^{1,2*}, 黄臣臣^{1,3}, 张凯璇^{1,3}, 杨泽延^{1,3}, 罗江兰^{1,3}

(1. 贵州大学资源与环境工程学院, 贵阳 550025; 2. 喀斯特地质资源与环境教育部重点实验室, 贵阳 550025; 3. 贵州喀斯特环境生态系统教育部野外科学观测研究站, 贵阳 550025)



摘要:为探讨水稻土胶体与类金属砷(As)的生物地球环境行为,本研究对比分析了微生物在初始pH=3和初始pH=7的不同酸碱条件下对土壤胶体负载As释放的作用差异,并揭示其内在机制。结果表明:在pH=3条件下微生物作用相对较弱,对胶体悬液pH与Eh影响较小,与无菌对照组相比,溶液中Fe²⁺与As含量均有所提高,且释放的As主要为氧化态As(V);在pH=7条件下微生物活性较强,至28 d时可使胶体悬液pH升至8.12, Eh降至-55 mV,形成强还原环境,铁还原溶解量明显增多,Fe²⁺含量是无菌对照组的2.79倍,并且胶体中吸附态As随着Fe的还原溶解而释放,主要为还原态As(III)。相关性分析表明,土壤胶体中As的释放与铁氧化物的还原转化有关,溶液中As释放量与Fe²⁺含量呈显著正相关关系,尤其在中性条件下As(III)含量与Fe²⁺极显著正相关($r=0.798^{**}$, $P<0.01$)。研究表明,在中性环境条件下较强的微生物活性可提高土壤胶体中铁氧化物的异化还原,同时增强As的释放与转化。

关键词:微生物;土壤胶体;铁还原;As;释放;pH

中图分类号:X142;P593 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)05-0959-08 doi:10.11654/jaes.2021-1178

Effects of microorganisms on the release of arsenic from paddy soil colloids at different pH levels

CHEN Shuang^{1,3}, ZHANG Chipeng^{1,2*}, HUANG Chenchen^{1,3}, ZHANG Kaixuan^{1,3}, YANG Zeyan^{1,3}, LUO Jianglan^{1,3}

(1. College of Resources and Environmental Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Key Laboratory of Karst

收稿日期:2021-10-13 录用日期:2022-01-04

作者简介:陈爽(1996—),女,河南信阳人,硕士研究生,研究方向为土壤重金属污染与防治。E-mail:2291401682@qq.com

*通信作者:张翊鹏 E-mail:re.cpzhang@gzu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41403088);国家自然科学基金委员会-贵州省人民政府喀斯特中心项目(U1612442)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (41403088); The Joint Fund of the National Natural Science Foundation of China and Guizhou Provincial People's Government Karst Center Project(U1612442)

Georesources and Environment, Ministry of Education, Guiyang 550025, China; 3. Guizhou Karst Environmental Ecosystems Observation and Research Station, Ministry of Education, Guiyang 550025, China)

Abstract: To explore the biogeoenvironmental behavior of paddy soil colloids and metal-like arsenic, this study mainly analyzed the differences in the effects of microorganisms on the release of arsenic from soil colloids under different acid-base conditions of initial pHs 3 and 7, respectively, and reveals the internal mechanism. The results showed that the microbial effect was relatively weak at an initial pH of 3 and had little effect on the pH and Eh of the colloidal suspension. Compared with the aseptic condition, the content of Fe^{2+} and As in the solution increased, and the released As was mainly in the oxidation state As(V). At an initial pH of 7, the microbial activity was relatively strong. By the 28th day, the pH of the colloidal suspension increased to 8.12, and the Eh was reduced to -55 mV, forming a strong reducing environment. Therefore, the amounts of iron reduction and dissolution increased significantly. The Fe^{2+} content was 2.79 times that of the sterile control group. The adsorbed arsenic in the colloid is released with the reduction and dissolution of iron and is finally formed into reduced As(III). Correlation analysis showed that the release of arsenic from soil colloids was related to the reduction and transformation of iron oxides. There was a significant positive correlation between the amount of arsenic released in the solution and Fe^{2+} content. In particular, under neutral conditions, the As(III) concentration was also significantly positively correlated with Fe^{2+} ($r=0.798^{**}$, $P<0.01$). Therefore, strong microbial activity under neutral environmental conditions can increase the dissimilatory reduction of iron oxides in soil colloids and simultaneously enhance the release and transformation of arsenic.

Keywords: microorganism; soil colloid; iron reduction; arsenic; release; pH

类金属砷(As)广泛存在于土壤、水、岩石中,我国土壤中As平均含量为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [1]。但矿物不合理开采、农药使用、金属冶炼等人为活动,导致As释放到周围环境中[2],As进入农田后,不仅影响水稻安全生产,还可通过食物链对人类健康造成严重的危害[3-4]。土壤胶体具有带电性、比表面积大、吸附能力强等特点,对土壤中As的迁移转化有着重要作用[5],其性质随土壤环境条件的变化而发生改变,从而也会影响到As的生物环境地球化学行为。

土壤胶体广泛存在于土壤环境中,主要由黏土矿物、铁锰氧化物及无定形矿物、有机物和微生物组成,是土壤中最为细小也是最活跃的部分[6]。其中铁氧化物是典型的可变电荷胶体矿物,其表面电荷是由表面—OH上的 H^+ 解离以及—OH与 H^+ 质子化产生的[7],因此铁氧化物的电荷极性和数量受溶液中pH的影响较大。与此同时pH变化也是引起铁氧化物异化还原的重要原因之一,其不仅会影响土壤中铁矿物的溶解[8],还影响着微生物种群结构及活性[9-11],进而影响铁(Fe)还原能力。有研究表明在微生物的作用下,pH偏低或偏高均可使Fe还原能力降低,在中性环境中Fe还原的效果最好[12]。微生物在还原高价态铁氧化物的同时,也影响As在水稻土中的迁移转化。在金属-微生物相互作用过程中,高价态金属及其氧化物作为电子受体发生的“异化金属还原”对维系厌氧微生物繁衍是不可或缺的。土壤胶体中存在的大量铁氧化物一旦被微生物还原而发生解离,原本结合在其上的As就会被释放到环境中[13-15],从而造成潜在的

污染危害。王亚洁等[16]研究发现*Shewanella oneidensis* MR-1可还原根际铁膜上的 Fe^{3+} ,进而影响水稻对As的吸收。也有研究提出微生物作用下毒砂和臭葱石均随着时间的延长逐渐释放出As和Fe,且不同pH下MR-1对毒砂和MR-4对臭葱石的还原溶解能力不同[17]。故探究不同pH下微生物在厌氧环境中对含As胶体释放As的作用非常必要。

本研究在前人研究微生物异化还原铁氧化物的基础上,通过提取土壤菌悬液在不同pH条件下作用于载As土壤胶体,开展厌氧培养实验,着重分析了微生物在含As土壤胶体释放As过程中的作用,同时讨论了培养过程中pH变化对微生物的影响,进而探讨其对胶体Fe还原及As释放过程的作用,以揭示在微生物驱动下土壤胶体中As还原释放的地球化学特征,为土壤As污染防治提供一定科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 载As土壤胶体的制备

供试土壤采自贵州省黔西南州兴仁市交乐村石头寨水库下游水稻田。选择水库下游河流周边3个农田土壤理化性质基本一致的水稻土进行采样,使用便携式不扰动土壤采样器采集0~20 cm表层土,均匀混合后利用沉淀虹吸分离法提取土壤胶体,反复提取土壤悬液中胶体颗粒,直至溶液上层澄清。提取完毕后离心浓缩,冷冻干燥后保存备用[18],其基本理化性质如表1所示。

表1 土壤胶体基本性质

Table 1 Basic characteristics of soil colloid

pH	比表面积 $S_{\text{BET}}/(\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$	粒径 Particle size/ μm	As 含量 As content/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Fe 含量 Fe content/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
7.4	20.24	1.82	13.41	37.90

称取 25 g 土壤胶体,加入 500 mL $1\,000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 As(V) 溶液,放置于温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、振荡条件为 $180\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温振荡器中振荡 24 h,随后以 $6\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的转速离心 10 min,再用超纯水洗涤 5 次后冷冻干燥,研磨过 200 目筛后保存备用。

1.1.2 土壤微生物分布及菌悬液的提取

将混合均匀的新鲜土壤样品送至上海生工生物科技有限公司进行微生物种群的测定,经 PCR 扩增后借助 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析。如表 2 所示,丰度较高的菌属包括酸杆菌门(*Gp1*、*Gp3*、*Gp4*、*Gp6*、*Gp7*、*Gp16*、*Gp17*)、*Subdivision3_genera_incertae_sedis*、厌氧黏细菌(*Anaeromyxobacter*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*),其分别占比为 23.53%、2.63%、3.23%、3.14%、3.16%。水稻土中含有丰富的铁还原菌,共检测出 11 种,占微生物总数的 4.90%。其中丰度较高的菌属是地杆菌(*Geobacter*, 1.35%)和厌氧黏细菌(3.23%)。有研究表明地杆菌和厌氧黏细菌及酸杆菌均具有异化还原铁的能力。称取 10 g 新鲜土壤放置于 250 mL 三角烧瓶中,加入 0.10% 焦磷酸钠溶液,在 $180\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温振荡器中振荡 30 min 后静置 30 min,上清液为土壤菌悬液^[19]。

1.1.3 基础培养基的配制

基础盐培养基(Minimal salt medium, MSM)的配制: $\text{KH}_2\text{PO}_4\ 0.14\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{NH}_4\text{Cl}\ 0.25\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{KCl}\ 0.5\text{ g} \cdot$

L^{-1} , $\text{NaCl}\ 1.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}\ 0.13\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MgCl}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}\ 0.62\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4\ 0.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 乙酸钠 $2\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用 $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 调节 pH 为 7,配制完成后放置在温度为 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、压力为 0.105 MPa 的高温灭菌锅中灭菌 20 min。

1.2 培养实验

称取 As(V) 水稻土胶体 0.20 g 于 50 mL 具塞厌氧瓶中,用高压灭菌锅在温度为 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、压力为 0.105 MPa 下灭菌 21 min。空白处理组(KB):加入 25 mL $2\times\text{MSM}+25\text{ mL}$ 灭菌去离子水;菌悬液处理(JX):加入 25 mL $2\times\text{MSM}+$ 土壤菌悬液 25 mL。采样地区水稻土 pH 范围为 3~7,因此分别调节初始 pH 为 3(KB-3、JX-3)和 7(KB-7、JX-7)。置于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中避光培养,在第 1、3、7、14、21、28 天利用 WTW (Multi 3430) 水质参数仪测定系统中的 pH 和 Eh。以上操作均在厌氧操作箱中进行。

1.3 化学分析

Fe^{2+} 含量按照 FREDRICKSON 等^[20]的盐酸酸洗法测定:取 5 mL 摇匀后的水土混合液,加入 5 mL $1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl,密闭,在 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $170\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床中溶解 1 h 后离心分离,取上清液,加入邻菲罗啉和缓冲液显色 10 min,用紫外分光光度计测定,检测波长为 510 nm。

液相中总 As 含量采用《水质 汞、砷、硒、铋和锑的测定 原子荧光法》(HJ 694—2014)中的方法测定,使用氢化物原子荧光光谱仪(AFS-9700)测定,先用国家 As 标准物质配制 $1\,000\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 As 标准溶液,通过稀释得到不同含量 As 的标准溶液,以含量为横坐标,荧光峰高为纵坐标,绘制标准曲线。As(Ⅲ)采取许珺辉等^[21]的方法测定,土壤胶体悬液用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,使用高效液相色谱原子荧光联用仪(北京科创海光仪器有限公司, HPLC-AFS 9700)测定液相中 As(Ⅲ)的含量,流动相为磷酸盐缓冲溶液(称取磷酸氢二钠 1.790 8 g 和磷酸二氢钾 6.052 g,置于容量瓶中用超纯水稀释至 1 L,用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜进行抽滤,超声 15 min 脱气后使用);载气流量 $400\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;屏蔽气流量 $600\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;蠕动泵速 $80\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。As(V) 含量由液相中总 As 含量减去 As(Ⅲ)含量得到。

1.4 数据处理

为得到 As 释放最大速率及其所需时间,采用描述微生物生长动力学的 Logistic 方程对不同处理 As 累积含量和时间的关系进行拟合。Logistic 方程为:

$$C=a/(1+be^{-kt})$$

式中: C 为不同时刻 As 的含量, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; t 为反应时间,

表2 水稻土微生物菌属的分布(%)

Table 2 Distribution of paddy soil microbial genera(%)

土壤微生物菌属 Soil microorganism	占比 Proportion	土壤微生物菌属 Soil microorganism	占比 Proportion
<i>Gp1</i>	4.98	<i>Gp3</i>	4.32
<i>Gp6</i>	5.26	<i>Gp7</i>	2.53
<i>Kofteria</i>	1.30	<i>Gp17</i>	0.87
<i>Pelolinea</i>	0.91	<i>Gp4</i>	1.06
<i>Gemmatimonas</i>	3.14	<i>Sphingomonas</i>	3.16
<i>Omatilinea</i>	2.26	<i>Litonilinea</i>	2.07
<i>Thermomarinilinea</i>	1.18	<i>Desulfomonile</i>	0.93
<i>Geobacter</i>	1.35	<i>Anaeromyxobacter</i>	3.23
其他	37.13	未分类	24.32

d ; a 为 As 释放的最大潜势, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; k 为反应速率常数; b 为模型参数。 $0.25ak$ 为 As 最大释放速率 ($V_{\max}$), $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$; $\ln b/k$ 为最大释放速率对应的时间 ($T_{V_{\max}}$), d 。

使用 SPSS 21.0 对总 As 和 Fe(II) 含量变化分别与培养时间和有无细菌进行双因素方差分析。利用 Microsoft Excel 2010 和 Origin 2018 等软件进行数据处理分析及图表制作。

2 结果与分析

2.1 含 As 水稻土胶体悬液 pH 和 Eh 的变化

KB 与 JX 处理的胶体悬液 pH 随厌氧培养时间增加均呈上升的趋势(图 1), 至第 28 天, 初始 pH=3 体系 pH 分别增加 0.22、0.18, 初始 pH=7 体系分别增加 0.67、1.12。对比两体系 KB 与 JX 处理组 pH 变化发现, JX-3 处理组 pH 低于 KB-3, 而 JX-7 处理组 pH 高于 KB-7, 至培养结束时较 KB-7 处理组高 0.45。各处理组 Eh 随实验进行呈下降现象。KB-3 与 JX-3 处理胶体悬液初始 Eh 分别为 239 mV 和 240 mV, 培养至 28 d 时分别下降了 10、9 mV, 总体上 Eh 变化较小; KB-7 与 JX-7 处理胶体悬液初始 Eh 分别为 1 mV 和 5 mV, 3 d 后均为负值, 呈还原状态, 直至 28 d 时分别降低了 30 mV 和 60 mV(图 1)。Nernst 方程体系中 pH 每增加 1 个单位, 氧化还原电位降低 59 mV, 因此初始 pH 越低、Eh 越高, 越不利于形成还原环境。总之, 与无菌组相比, 在中性条件下微生物活动有助于土壤胶体悬液中 pH 升高、Eh 降低, 这会对胶体中 Fe 和 As 的生物地球化学循环有潜在影响。

2.2 水稻土胶体中铁氧化物的还原

微生物活动是影响土壤矿物转化的主要因素之一, 铁氧化物作为电子受体, 可被还原溶解, 产生菱铁矿、蓝铁矿、磁铁矿和绿锈等各种含 Fe^{2+} 的矿物。在

不同初始 pH 条件下, KB 与 JX 处理的 Fe^{2+} 含量均随厌氧培养时间的增加呈逐渐增大趋势(图 2), 不同体系下 Fe^{2+} 含量的离散程度均较高, 尤其是 JX-7 处理。在微生物作用下, JX-3 处理组土壤胶体悬液中 Fe^{2+} 含量高于 KB-3 处理, 第 28 天时高出 $1.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 约为 KB-3 的 1.13 倍; 同时 JX-7 处理组微生物作用更加明显, 第 28 天时比 KB-7 处理组高出 $13.59 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 是其 2.80 倍。双因素方差分析主体间效应检验结果也显示, 不同初始 pH 下 KB 与 JX 处理 Fe 还原均呈现显著差异 ($P < 0.05$); 时间的变化对强酸条件下 Fe 还原有显著影响 ($P < 0.01$), 但对中性条件下 Fe 还原无显著影响(表 3), 表明微生物的作用有利于 Fe 还原。厌氧培养前 3 d, JX-7 处理组 Fe^{2+} 增加量与 JX-3 处理组相比较低, 培养至第 7 天时, JX-7 处理组 Fe^{2+} 含量为 $15.45 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 比 JX-3 处理组高 $8.34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 在第 21~28 d, pH=7 体系中 Fe^{3+} 还原量出现减缓现象(图 2)。分析认为在较低 pH 条件下, 铁氧化物还原转化过程中物理化学转化起主要作用, 而在较高 pH 条件下生物转化作用显著。因此, 在厌氧环境中, 微生物作用有助于土壤胶体中铁氧化物的还原转化, 在近中性条件下作用更加明显。

表 3 时间变化与有无细菌处理对铁还原影响的双因素方差分析

Table 3 A two-factor ANOVA of time variation and presence or absence of bacterial treatments on iron reduction

处理 Treatment	因子 Independent variable	R^2	F	P
初始 pH=3	时间	0.989	71.066	<0.01
	有无细菌		94.217	<0.01
初始 pH=7	时间	0.846	2.730	0.147
	有无细菌		13.841	0.014

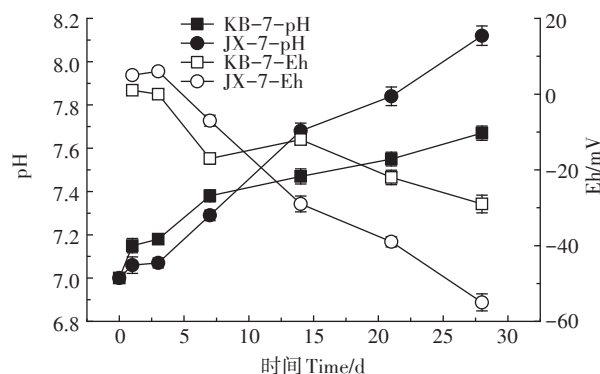
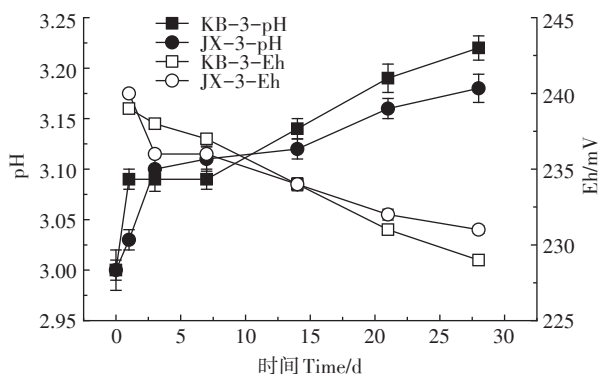
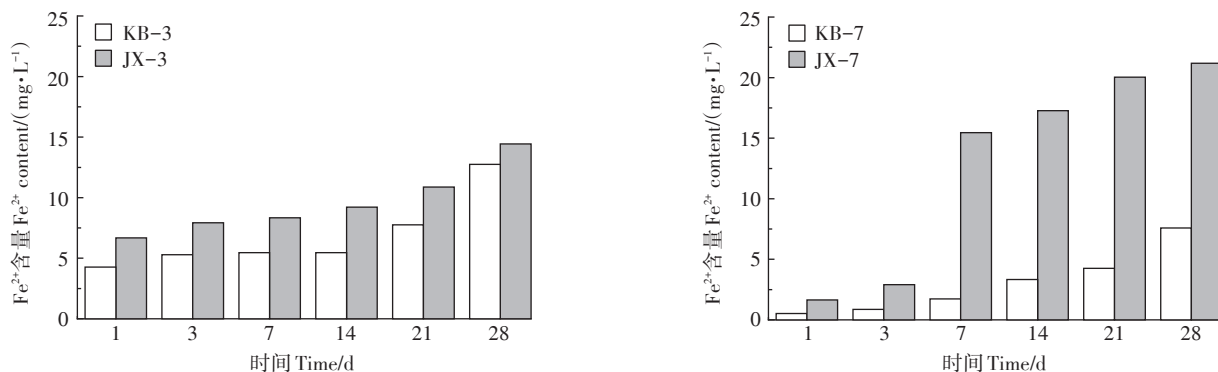


图 1 不同初始 pH 条件下胶体悬液中 pH 与 Eh 的变化

Figure 1 Changes of pH and Eh in colloidal suspension under different initial pH conditions

图2 不同初始pH条件下胶体悬液中Fe²⁺含量变化Figure 2 Change of Fe²⁺ content in colloidal suspension under different initial pH conditions

2.3 水稻土胶体中As的释放

不同初始pH条件下含As胶体悬液中As含量变化趋势如图3所示。初始pH=3时,厌氧培养1 d后,KB、JX处理组总As含量急剧增加,由原始溶液 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别增至 2.26 、 $2.62 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,之后随培养时间的增加,总As含量变化趋于平缓,直至第28天时出现下降现象。初始pH=7时,KB、JX处理组总As含量随厌氧培养时间推移呈现逐渐增大的趋势,至第28天,KB-7与JX-7处理组总As释放量分别是初始pH=3的1.5、1.6倍。表明在强酸环境中水溶态As可在短时间内被迅速淋溶释放,而在中性环境中,随着培养时间的增加,悬液的pH升高和Eh降低有利于Fe还原,进而促进As的释放。双因素方差分析结果显示,两个体系中不仅KB与JX处理组总As含量均呈现显著差异($P<0.05$),而且在初始pH=7体系中,不同时间的总As含量也呈现显著差异($P=0.02$)(表4)。对悬液中总As累积含量随培养时间变化进行Logistic拟合,两处理组间差异达到显著水平($P<0.05$);初始pH=3处理体系中,第0天时As释放速率达到最大,尤

其是JX-3组As的 $V_{\max}$ 达到 $0.26 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,随着初始pH的提高,As达到 $V_{\max}$ 的培养时间延长至第2天,值与JX-3相比也有所降低(表5)。拟合结果中不同处理的 a 值在 $2.78 \sim 5.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,占厌氧培养过程中As最大释放量的95.5%~102.5%。可见不同方式处理均能使胶体中As释放,但胶体悬液中As释放速率及其所需要的时间有所差异。因此,含As水稻土中As的迁移与pH变化和微生物活动密切相关。

在厌氧培养过程中,As以三价和五价两种形态在液相中存在(图3)。初始pH=3时前期为As(V),随实验进行有As(III)出现,但含量较低,KB-3和JX-3处理组中As(III)含量均低于 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,至第28天,As(III)分别约占总As释放量的11.63%和9.43%;初始pH=7时,KB-7和JX-7处理组中As(III)含量明显增大,在实验过程中其含量分别介于 $0.21 \sim 3.54$ 、 $1.18 \sim 4.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间,其中JX处理组在培养过程中As(III)释放量均大于KB组,培养至第28天时As(III)浓度相对KB组增加 $0.55 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。总之,在酸性条件下As主要以As(V)存在于胶体悬液中,而在中性条件下

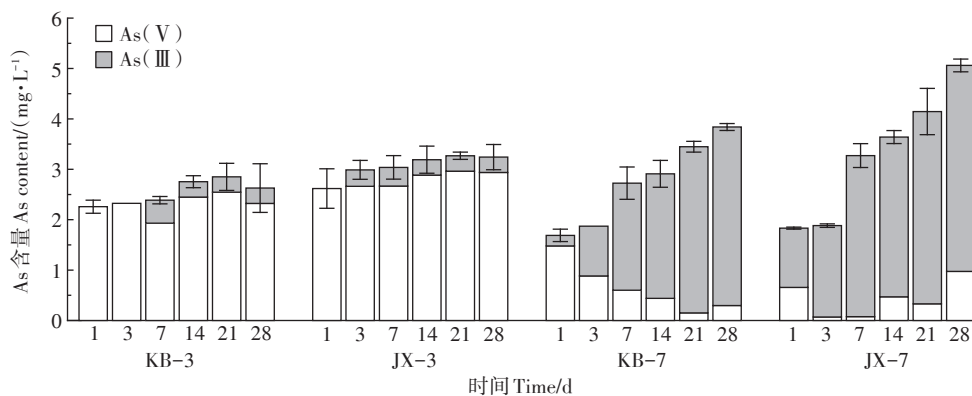


图3 不同初始pH条件下胶体悬液中As含量变化

Figure 3 Changes in the concentration of arsenic species in colloidal suspension under different initial pH conditions

表4 时间变化与有无细菌处理对As释放影响的
双因素方差分析

Table 4 A two-factor ANOVA of time variation and presence or absence of bacterial treatment on arsenic release

处理 Treatment	因子 Independent variable	R^2	F	P
初始 pH=3	时间	0.968	12.259	0.08
	有无细菌		92.071	<0.01
初始 pH=7	时间	0.916	23.392	0.02
	有无细菌		9.765	0.026

表5 不同初始 pH 条件下胶体悬液中总 As 释放 Logistic
拟合结果($n=6$)

Table 5 Logistic fitting results of total As release in colloidal suspension under different initial pH conditions($n=6$)

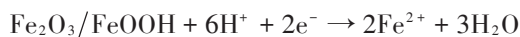
处理 Treatment	Logistic 方程参数 Logistic model parameter				$V_{\max}/$ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)	$T_{V_{\max}}/$ d
	$a/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$	b	k	R^2		
KB-3	2.78	0.29	0.14	0.821	0.01	0.74
JX-3	3.23	0.29	0.32	0.930	0.26	0.081
KB-7	4.00	1.43	0.11	0.959	0.11	2.55
JX-7	5.30	2.01	0.11	0.940	0.15	2.89

下释放的As(V)大部分被还原为As(III)。

3 讨论

3.1 水稻土胶体悬液 pH、Eh 的变化

厌氧培养实验过程中,还原环境下的铁矿物与有机质氧化分解产生的还原性物质强烈作用,将会消耗 H^+ ^[22],使不同初始 pH 处理土壤胶体悬液的 pH 均上升。反应式为:



在初始 pH=3 体系中,后期有菌组 pH 低于无菌组,而在中性条件下异化还原铁氧化物过程中会消耗更多的质子, pH 上升幅度较大,因此,中性胶体悬液更适合微生物的生长。两个体系 Eh 变化也证实了这一观点。在强酸性条件下,微生物群落活动相对较弱^[23], JX 处理胶体悬液 Eh 变化与 KB 处理差异较小,而在中性条件下微生物活性较强,呼吸作用使 Eh 明显降低。所以,水稻土胶体悬液中 pH 与 Eh 的变化主要是由微生物活动引起的。

3.2 pH 变化对胶体中 Fe 还原的影响

有机质分解及微生物活动使水稻土胶体悬液 pH 发生变化,这将会影响 Fe 的还原溶解。本研究中水

稻土胶体含有丰富的 Fe, 含量高达 $37.90 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (表 1), 低 pH 有利于溶解胶体中的铁氧化物并释放 Fe^{3+} , 而 $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ 的氧化还原电位 (820 mV) 和 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (770 mV) 相接近, 这有利于微生物利用溶解释放的 Fe^{3+} 进行呼吸获能, 从而发生异化还原^[24]。因此, 初始 pH=3 体系培养前期 Fe 还原能力较强。同时不同初始 pH 体系中 Fe 异化还原能力也可间接反映悬液中微生物群落及活性的变化^[25]。本研究供试水稻土含有丰富的铁还原菌, 其中地杆菌、厌氧黏细菌分别占比为 1.35%、3.23%。这两类细菌在 pH 介于 4~9 之间均可发生 Fe 的异化还原, pH 为 7 时还原量达到最大^[26], 但过低的 pH 会抑制这两类细菌的生长^[27]。也有研究表明铁还原菌在中性环境中的数量远高于酸性条件下^[25]。因此, 结合本文 JX-7 与 JX-3 处理组 Fe^{2+} 浓度变化, 推测认为在中性溶液中铁还原菌对 Fe 异化还原起主导作用, 低 pH 条件下, 微生物还原 Fe 的能力受到抑制, 不利于 Fe 的异化还原。但 JX-7 处理后 Fe 还原速率趋于平缓, 这是由于细菌细胞表面在中性环境中一般带负电荷^[28-29], 随着初始 pH=7 体系中 Fe^{2+} 含量增多, Fe^{2+} 可在细菌与铁矿物表面发生静电吸附, 减少电子穿梭体与铁氧化物和微生物的接触位点^[30], 不利于异化反应的进行, 从而减弱 Fe 的还原转化^[31-32]。

3.3 胶体中 As 的释放与 pH 及 Fe 还原的关系

铁氧化物的还原溶解及 pH 的改变对胶体中负载 As 的释放有着显著影响^[2]。相关性分析显示, 在两种初始 pH 条件下 pH 的变化均与 Fe^{2+} 浓度呈显著正相关 (表 6), 表明体系 pH 的变化与铁氧化物的还原转化有着密切关系。同时还原产生的 Fe^{2+} 量与释放的总 As 量也呈显著正相关, 表明释放的 As 主要来自胶体中铁氧化物中负载的 As。WANG 等^[33]的研究表明, 水稻土中铁还原菌的丰度与 Fe^{2+} 和 As 释放量紧密相关。也有研究提出, 微生物能够还原溶解结晶度低的铁氧化物, 并将其转化为表面积更小的次生矿物, 从而使提供的吸附位点减少, 导致 As 的释放^[34-36]。因此, 自然环境中 Fe 的循环转化可影响 As 的迁移转化, 进而影响 As 的生物可利用性。在初始 pH=7 条件下, JX-7 处理组受微生物转化作用 Fe^{2+} 产生量较大, 对 pH 和总 As 影响更加显著, 两参数间也具有显著正相关关系; 且在该初始条件下, 释放的 As 以还原态为主, As(III) 的浓度与 pH 和 Fe^{2+} 浓度呈显著正相关关系, 说明胶体中铁氧化物还原转化对悬液酸碱性的改变也会对释放的 As 形态有一定影响。

表6 不同初始pH条件下胶体悬液中不同参数间的相关性

Table 6 Correlation among different parameters in colloidal suspension under different initial pH conditions

指标 Index	初始 pH=3 Initial pH=3				初始 pH=7 Initial pH=7			
	pH	Fe ²⁺	总 As Total As	As(Ⅲ)	pH	Fe ²⁺	总 As Total As	As(Ⅲ)
pH	1				1			
Fe ²⁺	0.691*	1			0.786**	1		
总 As Total As	0.399	0.693*	1		0.964**	0.846**	1	
As(Ⅲ)	0.488	0.396	0.519	1	0.851**	0.798**	0.945**	1

注: *在0.05水平(双尾)相关性显著, **在0.01水平(双尾)相关性显著。

Note: *at the 0.05 level(two-tailed), the correlation is significant, ** at the 0.01 level(two-tailed), the correlation is significant.

4 结论

(1)初始pH的设定对含As土壤胶体中铁氧化物还原及As释放均有显著影响。在pH为3和7的条件下,胶体悬液的pH、Eh在微生物的介导下均发生变化,初始pH=3时不利于微生物的生长,pH与Eh变化不明显,悬液中释放的As主要为As(V);但在pH=7条件下,微生物活动增强并形成强还原环境,pH上升,促进铁还原,造成吸附态As向溶解态转化,从而释放As(Ⅲ)。

(2)Fe²⁺与As存在耦合释放关系,初始pH与胶体悬液中Fe²⁺、总As呈显著正相关关系,Fe²⁺与总As也呈现正相关关系,且在中性环境中铁还原与As释放效果更好。

(3)在中性环境条件下含As土壤胶体中As的释放受微生物对铁氧化物异化还原过程影响较大。

参考文献:

- [1] OSUNA-MARTÍNEZ C C, ARMIENTA M A, BERGÉS-TIZNADO M E, et al. Arsenic in waters, soils, sediments, and biota from Mexico: An environmental review[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 752: 142062.
- [2] 安礼航, 刘敏超, 张建强, 等. 土壤中砷的来源及迁移释放影响因素研究进展[J]. *土壤*, 2020, 52(2): 234-246. AN L H, LIU M C, ZHANG J Q, et al. Sources of arsenic in soil and affecting factors of migration and release: A review[J]. *Soils*, 2020, 52(2): 234-246.
- [3] ROY M, MCDONALD L M. Metal uptake in plants and health risk assessments in metal-contaminated smelter soils[J]. *Land Degradation & Development*, 2015, 26(8): 785-792.
- [4] 刘文菊, 赵方杰. 植物砷吸收与代谢的研究进展[J]. *环境化学*, 2011, 30(1): 56-62. LIU W J, ZHAO F J. A brief review of arsenic uptake and metabolism in plants[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 30(1): 56-62.
- [5] 杨士, 卢陈彬, 刘祖文, 等. 土壤胶体对重金属迁移及生物有效性影响的研究进展[J]. *环境污染与防治*, 2019, 41(8): 974-978. YANG S, LU C B, LIU Z W, et al. Advances of the effects of soil colloids on

heavy metal migration and bioavailability[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2019, 41(8): 974-978.

- [6] GOMEZ-GONZALEZ M A, VOEGELIN A, GARCIA-GUINEA J, et al. Colloidal mobilization of arsenic from mining-affected soils by surface runoff[J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 1123-1131.
- [7] 吴金明, 刘永红, 李学垣, 等. 我国几种地带性土壤无机胶体的表面电荷特性[J]. *土壤学报*, 2002, 39(2): 177-183. WU J M, LIU Y H, LI X Y, et al. Surface charge characteristics of soil colloids in China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(2): 177-183.
- [8] MANDAL S, PU S, SHANGGUAN L, et al. Synergistic construction of green tea biochar supported nZVI for immobilization of lead in soil: A mechanistic investigation[J]. *Environment International*, 2020, 135: 105374.
- [9] KONNO N, ISHII M, NAGAI A, et al. Mechanism of *Candida albicans* transformation in response to changes of pH[J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2006, 29(5): 923-926.
- [10] DAVIS-BELMAR C S, GALLARDO I, DEMERGASSO C, et al. Effect of organic extractant LIX 84IC, pH and temperature changes on bioleaching microorganisms during SX treatment[J]. *Hydrometallurgy*, 2012, 129/130: 135-139.
- [11] FAN J, LIU X, GU Q, et al. Effect of hydraulic retention time and pH on oxidation of ferrous iron in simulated ferruginous acid mine drainage treatment with inoculation of iron-oxidizing bacteria[J]. *Water Science and Engineering*, 2019, 12(3): 213-220.
- [12] 陈秦, 赵佳佳, 曲东, 等. 渤海沉积物中微生物铁还原能力及其影响因素探讨[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(6): 1172-1179. CHEN Q, ZHAO J J, QU D, et al. The capability and influencing factors of microbial iron reduction in marine sediments from Bohai Bay, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(6): 1172-1179.
- [13] 谢芸芸, 陈天虎, 周跃飞, 等. 微生物-铁氧化物交互作用对黄土中砷活化迁移的影响[J]. *环境科学*, 2013, 34(10): 3940-3944. XIE Y Y, CHEN T H, ZHOU Y F, et al. Effect of the interaction of microorganisms and iron oxides on arsenic releasing into groundwater in Chinese loess[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(10): 3940-3944.
- [14] 朱晓东, 吴松, 施维林, 等. 金属氧化物负载生物炭对铁矿中As迁移转化的影响[C]. 重庆: 中国土壤学会土壤环境专业委员会, 土壤化学专业委员会联合学术研讨会, 2019. ZHU X D, WU S, SHI W L, et al. Effect of metal oxide loaded biochar on the migration and

- transformation of arsenic in iron ore[C]. Chongqing: Joint Symposium of the Soil Environment Professional Committee, Soil Chemistry Professional Committee of the Chinese Soil Society, 2019.
- [15] LIU L, YANG Y, DUAN G, et al. The chemical-microbial release and transformation of arsenic induced by citric acid in paddy soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 421: 126731.
- [16] 王亚洁, 朱永官, 孙国新, 等. 铁还原菌 *Shewanella oneidensis* MR-1 对根表铁膜中 As 运移的影响[J]. 环境科学学报, 2015, 35(7): 2240-2246. WANG Y J, ZHU Y G, SUN G X, et al. Effects of iron-reducing bacteria on arsenic releasing from iron plaque on rice root surface[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(7): 2240-2246
- [17] WANG Y, LIU X, SI Y, et al. Release and transformation of arsenic from As-bearing iron minerals by Fe-reducing bacteria[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 295: 29-38.
- [18] 熊毅. 土壤胶体(第二册): 土壤胶体研究法[J]. 北京: 科学出版社, 1984. XIONG Y. Soil colloid (Volume 2): Soil colloid research method[M]. Beijing: Science Press, 1984.
- [19] 张崇邦, 马国芳, 张俊会. 6 种土壤微生物提取剂的比较[J]. 生物学杂志, 2009, 26(1): 84-86. ZHANG C B, MA G F, ZHANG J H. Comparison of six reagents for extracting microorganism from soil[J]. *Journal of Biology*, 2009, 26(1): 84-86.
- [20] FREDRICKSON J K, ZACHARA J M, KENNEDY D W, et al. Biogenic iron mineralization accompanying the dissimilatory reduction of hydrous ferric oxide by a groundwater bacterium[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1998, 62(19): 3239-3257.
- [21] 许珺辉, 王洪玮, 郭新彪, 等. 高效液相色谱-氢化物发生-原子荧光法检测不同形态的砷[J]. 中华预防医学杂志, 2004, 38(2): 39-41. XU J H, WANG H W, GUO X B, et al. High performance liquid chromatography-hydride generation-atomic fluorescence method detection of different forms of arsenic[J]. *Chinese Journal of Preventive Medicine*, 2004, 38(2): 39-41.
- [22] 吴超, 曲东, 刘浩. 初始 pH 值对碱性和酸性水稻土微生物铁还原过程的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(4): 933-942. WU C, QU D, LIU H. Effect of initial pH value on microbial Fe(III) reduction in alkaline and acidic paddy soils[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(4): 933-942.
- [23] LI Y, WANG Y, ZHANG W. Impact of simulated acid rain on the composition of soil microbial communities and soil respiration in typical subtropical forests in southwest China[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 215: 112152.
- [24] SLOBODKIN A I. Thermophilic microbial metal reduction[J]. *Microbiology*, 2005, 74(5): 501-514.
- [25] 林颖. 水稻根际土壤铁还原微生物的丰度及多样性变化特征[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019. LIN Y. Changing characteristics of iron-reducing microbial abundance and diversity in paddy rhizosphere soil[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.
- [26] 李金珠, 王旭刚, 袁雪红, 等. pH 与石灰性水稻土铁氧化还原过程的关系[J]. 土壤学报, 2014, 51(1): 143-149. LI J Z, WANG X G, YUAN X H, et al. Relationship between pH and iron redox cycle in calcareous paddy soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2014, 51(1): 143-149.
- [27] 朱超. 环境因素对水稻土中地杆菌和厌氧黏细菌群落的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011. ZHU C. Effects of environmental factors on *Geobacteraceae* and *Anaeromyxobacter* spp. communities in paddy soils[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2011.
- [28] POORTINGA A T, BOS R, NORDE W, et al. Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces[J]. *Surface Science Reports*, 2002, 47(1): 1-32.
- [29] HAMADI F, LATRACHE H, ZAHIR H, et al. Evaluation of the relative cell surface charge by using microbial adhesion to hydrocarbon [J]. *Microbiology*, 2011, 80(4): 488-491.
- [30] 刘娟, 李晓旭, 刘枫, 等. 铁氧化物-微生物界面电子传递的分子机制研究进展[J]. 矿物岩石地球化学通报, 2018, 37(1): 39-47. LIU J, LI X X, LIU F, et al. Research advantages on molecular mechanisms of interfacial electron transfer between iron oxide and microbe [J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2018, 37(1): 39-47.
- [31] RODEN E E, URRUTIA M M, MANN C J. Bacterial reductive dissolution of crystalline Fe(III) oxide in continuous-flow column reactors [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(3): 1062-1065.
- [32] RODEN E E, ZACHARA J M. Microbial reduction of crystalline iron(III) oxides: Influence of oxide surface area and potential for cell growth[J]. *Environmental Science & Technology*, 1996, 30(5): 1618-1628.
- [33] WANG N, XUE X, JUHASZ A L, et al. Biochar increases arsenic release from an anaerobic paddy soil due to enhanced microbial reduction of iron and arsenic[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 220: 514-522.
- [34] HANSEL C M, BENNER S G, NEISS J, et al. Secondary mineralization pathways induced by dissimilatory iron reduction of ferrihydrite under advective flow[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2003, 67(16): 2977-2992.
- [35] 罗海林, 汤佳, 周普雄, 等. 异化铁还原诱导次生铁矿对土壤重金属形态转化的影响[J]. 生态学杂志, 2018, 37(6): 1620-1627. LUO H L, TANG J, ZHOU P X, et al. Influence of secondary iron-oxide mineralization induced by dissimilatory iron reduction bacteria on fraction transformation of heavy metals in soil[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2018, 37(6): 1620-1627.
- [36] FAN L, ZHAO F, LIU J, et al. The As behavior of natural arsenical-containing colloidal ferric oxyhydroxide reacted with sulfate reducing bacteria[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 332: 183-191.

(责任编辑: 宋潇)