

王 凡,李文杰,毛鹏飞,等.固定化菌剂对 PAEs-Cd 复合污染土壤的修复作用 [J]. 中国环境科学, 2025,45(6):3394-3401.

Wang F, Li W J, Mao P F, et al. Remediation of contaminated soil with PAEs and Cd using an immobilized microbial agent [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3394-3401.

固定化菌剂对 PAEs-Cd 复合污染土壤的修复作用

王 凡,李文杰,毛鹏飞,高彦征* (南京农业大学,土壤有机污染控制与修复研究所,江苏 南京 211800)

摘要: 针对广西农田土壤中存在的邻苯二甲酸酯(PAEs)和镉(Cd)复合污染问题,提出了固定化功能菌剂修复复合污染农田土壤的思路.由 *Gordonia* sp.、*Rhodococcus* sp.、*Bacillus* sp.等 3 种功能菌株构建出具备耐 Cd 和降解 PAEs 性能的复合菌群,以巯基改性蒙脱石-生物炭复合材料为固定化载体,制备了固定化菌剂,优化了其制备条件,揭示了菌剂施用对 PAEs-Cd 复合污染土壤的协同修复效能,探究功能菌剂的作用机制.结果表明,5d 内复合菌群对 6 种优控 PAEs 的总降解率达 92.7%,载体材料对 Cd 饱和吸附量达 15.2mg/kg;菌剂最优固定化条件为 30°C、菌料比 1:20 (V/M)下固定 1d.制备的固定化菌剂 5d 内对 Σ PAEs 降解率达 95.4%;以 1%施用量投加固定化菌剂至 PAEs-Cd 复合污染土壤中,50d 后土壤中 PAEs 消减率达 54.14%,可交换态 Cd 减少 37.06%,菌剂对 PAEs-Cd 复合污染有良好的协同修复效能.

关键词: 固定化菌剂; 邻苯二甲酸酯; 镉; 复合污染

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)06-3394-08

Remediation of contaminated soil with PAEs and Cd using an immobilized microbial agent. WANG Fan, LI Wen-jie, MAO Peng-fei, GAO Yan-zheng* (Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 211800, China). *China Environmental Science*, 2025,45(6): 3394~3401

Abstract: To address the co-contamination of phthalic acid esters (PAEs) and cadmium (Cd) in agricultural soils of Guangxi province, a novel approach using immobilized functional microbial agent has been proposed. A composite microbial consortium, composed of three functional bacterial strains including *Gordonia* sp., *Rhodococcus* sp., and *Bacillus* sp., was developed with the ability to tolerate Cd and degrade PAEs. The microbial agent was immobilized on a thiol-modified montmorillonite-biochar composite carrier with optimized preparation conditions to enhance their remediation capabilities. The synergistic remediation efficacy of the agent on PAEs-Cd co-contaminated soils and the underlying mechanisms were elucidated. The results demonstrated that the composite microbial consortium achieved a degradation rate of 92.7% for total PAEs within 5days, while the carrier material exhibited a Cd saturation adsorption capacity of 15.2mg/kg. The optimal immobilization conditions were determined to be 30°C, with a bacteria-to-carrier ratio of 1:20 (V/M) for 1day. Under these conditions, the immobilized microbial agent achieved a degradation rate of 95.4% for Σ PAEs within 5days. When applied at a dosage of 1% to PAEs-Cd co-contaminated soils, the immobilized microbial agent resulted in 54.14% PAEs elimination and 37.06% decrease of exchangeable Cd after 50days. The immobilized microbial agent exhibited favorable synergistic remediation efficacy for PAEs-Cd co-contamination. The research findings provided a theoretical basis for the remediation of PAEs-Cd co-contamination in farmland soil of Guangxi and filled the theoretical gap in the control and remediation of PAEs-Cd co-contamination.

Key words: immobilized microbial agent; phthalic acid esters; cadmium; co-contamination

邻苯二甲酸酯类(PAEs)塑化剂和重金属镉(Cd)复合污染是我国污染土壤中常见的高风险污染类型,广受社会关注^[1-2].复合污染是土壤污染的主要存在形式,美国环境保护署(EPA)优先控制清单中的高危污染场地有 40%均检出有机污染物和重金属复合污染^[3-4].PAEs-Cd 复合污染对人体神经、呼吸、生殖等多个系统具备毒性^[5-7].由于 PAEs 的亲脂性和 Cd 的水溶性,PAEs-Cd 复合污染极易在蔬菜作物中积累^[8-9].由于农业地膜广泛应用,桂林 13 个监测村的土壤样品中均检测出 PAEs 污染, Σ PAEs 浓度为

0.763~ 2.714mg/kg^[10].在广西岩溶区,Cd 和 Ca 离子半径相近,易发生同晶替代,Cd 背景值高达 1.004mg/kg,是全国表层土壤 Cd 平均值(0.29mg/kg)的数倍^[11], PAEs-Cd 复合污染严重威胁岩溶区农业安全生产和人群健康.

土壤有毒有机物-重金属复合污染过程与控制

收稿日期: 2024-12-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(U22A20590,42430703);国家重点研发计划项目(2023YFE0110800);江苏省农业科技自主创新资金(CX(24)1002)

* 责任作者, 教授, gaoyanzheng@njau.edu.cn

原理是国际环境领域研究的一个瓶颈^[12-13]。土壤复合污染不是污染效应的简单叠加,而是污染物之间发生协同、拮抗等相互作用^[14-15],本课题组早期研究表明,重金属污染后土壤中多环芳烃(菲)的吸附系数增大^[16],使环境污染效应更加复杂,治理难度更高。微生物修复是治理农田土壤 PAEs-Cd 复合污染的经济有效的途径,如 Wang 等^[17]添加外源性菌株至 DBP-Cd 复合污染土壤,发现该菌株对 DBP 的代谢产物还可以吸附 Cd。自 1975 年首次报道 PAEs 的微生物代谢^[18],之后,*Gordonia* sp.、*Rhodococcus* sp.、*Bacillus* sp.等大批具有 PAEs 降解功能的菌株陆续被分离纯化^[19-21]。在 PAEs-Cd 复合污染土壤中,微生物面临多种 PAEs 和 Cd 共同胁迫,因此,将 PAEs 降解菌株固定至 Cd 钝化材料,制备固定化功能菌剂,有望实现 PAEs 降解和 Cd 钝化的协同修复^[22]。生物炭和蒙脱石都是具备良好 Cd 钝化和负载微生物功能的材料^[23-25],常用于 PAEs 和 Cd 污染土壤修复^[26-27]。将生物炭和蒙脱石复合,有望得到理想的微生物固定载体和 Cd 钝化材料,研制固定化菌剂,实现对 PAEs-Cd 复合污染土壤的协同修复。对此,国内外相关研究较少。

本研究提出以生物炭-巯基蒙脱石复合材料为固定化载体,构建具有耐 Cd 和 PAEs 降解功能的细菌菌群,采用吸附法制备固定化菌剂,研究固定化菌剂对土壤 PAEs-Cd 复合污染的协同修复效能,旨在为农田土壤 PAEs-Cd 复合污染控制与修复提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 主要试剂 6 种 EPA 优控塑化剂 PAEs,包括邻苯二甲酸二甲酯(DMP)、邻苯二甲酸二乙酯(DEP)、邻苯二甲酸二丁酯(DBP)、邻苯二甲酸丁基苜基酯(BBP)、邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)、邻苯二甲酸正辛酯(DnOP)均为分析纯,购于上海麦克林生化科技股份有限公司。正己烷、丙酮为分析纯,甲醇、乙腈为色谱纯,购于南京化学试剂股份有限公司。蒙脱石为分析纯,购于上海麦克林生化科技股份有限公司。3-巯丙基三甲氧基硅烷(3-MPTs)为分析纯,购于上海笛柏生物科技有限公司。无水 CdCl₂ 为分析纯,购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.1.2 供试菌株 试验使用菌株为本课题组已有的 PAEs 降解菌:戈登氏菌属(*Gordonia* sp. 24107)、红球杆菌属(*Rhodococcus* sp. 2G)、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp. W34)。

1.1.3 培养基 试验所用培养基均为 LB 培养基和无机盐(MSM)培养基,配置方法为 LB 培养基:进口蛋白胨 10.0g/L,进口酵母提取物 5.0g/L,NaCl 10.0g/L。

MSM 培养基:1.50g/L (NH₄)₂SO₄,0.5g/L KH₂PO₄,1.91g/L K₂HPO₄·3H₂O,0.5g/L NaCl, 0.20g/L MgSO₄·7H₂O。使用前均需使用高压灭菌锅 121℃ 灭菌 20min。

1.1.4 供试土壤 广西岩溶区采集的重金属-塑化剂复合污染土壤,其理化性质见表 1。

表 1 供试土壤基础理化性质

Table 1 Basic physicochemical properties of the tested soil

指标	棕色石灰土
黏粒(%)	2.06±0.071
粉粒(%)	13.08±0.37
砂粒(%)	84.86±0.30
有机碳(g/kg)	27.42±1.47
全氮(g/kg)	2.63±0.39
ΣPAEs(mg/kg)	2.56±0.26
全 Cd(mg/kg)	2.01±0.12
有效 Cd(mg/kg)	0.63±0.13

1.2 复合菌群的制备

1.2.1 PAEs 降解功能单菌的耐 Cd 驯化 将实验室前期已富集、筛选、分离、纯化获得的具有 PAEs 降解功能的单一功能菌株戈登氏菌属(*Gordonia* sp. 24107)、红球杆菌属(*Rhodococcus* sp. 2G)、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp. W34)使用液体 LB 培养基,在 30℃、150r/min 恒温培养箱中活化 24h,在 0~30mg/L 不同 Cd²⁺浓度 LB 培养基中梯度诱导驯化培养,稀释涂布,得到具有耐 Cd 和 PAEs 降解功能的单菌。

1.2.2 复配菌群的构建 将 3 种功能单菌在 LB 培养基中,温度 30℃、150r/min 条件下活化 24h,并使用无机盐培养基离心,弃上清液,重悬 2 次,使用紫外分光光度计调 OD₆₀₀ 至 1.0。拮抗试验发现 24107、2G、W34 之间不存在拮抗反应,按体积比 1:1:1 复配,4℃ 冰箱冷藏。

1.2.3 驯化菌株与固定化菌剂 PAEs 降解功能验证 向灭菌的锥形瓶中加入 PAEs 混标,使 6 种 PAEs

浓度为 5mg/L,加入 19mL MSM 液体培养基和 1mL 菌悬液,设置未加菌液的空白对照,每个处理 3 个重复,在 30℃、150r/min 条件下避光培养,5d 后取样测定 PAEs 残留浓度。

1.3 固定化载体材料的制备

1.3.1 生物炭制备 称取适量玉米秸秆粉末于坩埚,置于气氛炉中,密封并通入氮气,形成无氧环境。持续通入氮气为保护气,升温至裂解温度 600℃,恒温炭化 2h。冷却后用 0.1%的 HCl 溶液清洗,去除热解过程产生的焦油和灰分,用超纯水冲洗多次后烘干。

1.3.2 巯基改性蒙脱石的制备 称取适量钙基蒙脱石加入含有 3-巯基丙基三甲氧基硅烷(3-MPTs)的乙醇-水溶液中充分混合,调整固液比为 1g:20mL、25℃温度下持续搅拌反应 6h,离心,烘干,制得巯基改性蒙脱石。

1.3.3 生物炭-巯基蒙脱石复合载体的制备 称取适量巯基改性蒙脱石,加入去离子水,持续搅拌 1h,制得巯基蒙脱石悬浮液;按生物炭和蒙脱石质量比 3:1 加入玉米生物炭,持续搅拌 2h,离心,烘干,121℃下灭菌 30min,制得生物炭-巯基蒙脱石复合载体。

1.3.4 载体材料 Cd 吸附能力测定 取 0.1000g 载体材料加入 20mL 含 0.1mol/L KNO₃ 的 100mg/L Cd²⁺溶液体系,调 pH 值为 6.0,在 25℃恒温培养箱振荡 1h,静置 20h,定时取样,离心 30min,取上清液过 0.45μm 水系滤膜,使用 ICP-OES 测定 Cd²⁺浓度。

1.4 固定化菌剂的制备及条件优化

称取按 1.3 制备的生物炭-改性蒙脱石复合载体 5g,将其加入 100mL 按 1.2 复配的菌群悬液(调 OD₆₀₀ 为 1.0),均匀混合。混合体系在恒温 30℃、150r/min 条件下避光振荡培养 1d,并在无菌条件下过滤,冲洗,25℃烘干,制得 5g 的固定化功能菌剂。

1.4.1 固定时间对固定化菌剂降解 PAEs 的影响 按 1.4 中流程,分别培养 1,2,3d,制备固定化菌剂,投加至 1.2.3 中体系,验证 PAEs 降解能力,确定最佳固定时间。

1.4.2 菌料比对固定化菌剂降解 PAEs 的影响 在最佳固定时间条件下,每 1g 固定化载体分别添加 10,20 和 30mL 复配菌群悬液,制得固定化载体。同上,验证 PAEs 降解能力,确定最佳菌料比。

1.4.3 固定温度对固定化菌剂降解 PAEs 的影响 在最佳固定时间和菌液用量的固定条件下,分

别设置恒温培养箱在 25,30,35℃条件下制备固定化菌剂。同上,验证 PAEs 降解能力,确定最佳固定温度。

1.5 固定化菌剂降解 PAEs 的动力学研究

向灭菌的锥形瓶中加入 PAEs 混标,各 PAEs 浓度为 5mg/L,加入 19mL MSM 液体培养基和 1g 固定化菌剂,设置未加菌液的空白对照,每个处理 3 个重复,在 30℃、150r/min 条件下避光培养,连续 7d 每 24h 取样测定 PAEs 残留浓度,绘制 PAEs 降解曲线,利用 Origin 2021 进行拟合。

1.6 固定化菌剂对 PAEs-Cd 复合污染土壤修复作用验证

以 1%的投加量施用菌剂至 PAEs-Cd 复合污染土壤中,保持土壤湿度为最大持水量的 60%,在 25℃恒温下避光培养 50d,定期搅拌均匀,以未添加菌剂的处理组为对照,测定 PAEs 含量与 Cd 赋存形态。

1.7 分析方法

1.7.1 PAEs 的检测方法 采用 LC-20AT 高效液相色谱仪。样品检测时长 40min,进样量 20μL,流动相为乙腈-水,初始流速 1.0mL/min,以梯度洗脱分离 6 种 PAEs,色谱柱为 φ4.6mm×250mm Inertsil ODS-P 液相色谱柱,柱温 40℃,使用紫外检测器,在 205 和 225nm 双波长检测。6 种 PAEs 加标回收率范围在 80.03%~102.05%,相对标准偏差为 0.52%~4.36%,本实验方法符合要求。

$$\text{降解率}(\%) = (C_k - C_B) / C_k \times 100\% \quad (1)$$

式中: C_k 为无菌对照组处理 PAEs 的残留浓度,mg/L; C_B 为菌群或菌剂培养液中 PAEs 的残留浓度,mg/L。

1.7.2 Cd 的检测方法 采用 BCR 连续提取法测定土壤 Cd 赋存形态。

F1 可交换态和碳酸盐结合态:准确称取 1.00g 过 0.15mm 尼龙筛的风干土壤样品,置于 50mL 离心管内,加入 8mL 浓度为 1mol/L 的 MgCl₂ 溶液,用稀 HCl 调 pH 值至 7.0,常温振荡 1h,然后 4000r/min 离心 10min,上清液过滤置于 50mL 容量瓶,用去离子水清洗滤纸 3 次后定容。

F2 铁锰氧化物结合态:向上一步残余物中加入 8mL 1mol/L 的 NaOAc 溶液,并用 HOAc 调节 pH 值至 5.0,常温下 220r/min 连续振荡 5h,然后在 4000r/min 下离心 10min,上清液过滤置于 50mL 容量瓶中,去离子水清洗滤纸 3 次后定容。

F3 有机物结合态:向上一步残余物加入 3mL 0.02mol/L 的 HNO₃ 溶液,再加入 5mL 30%的 H₂O₂(稀 HNO₃ 调 pH 值为 2.0),于 85℃ 的水浴加热并搅拌反应 2h,再加入 3mL 30%的 H₂O₂,85℃ 的水浴加热并间歇搅拌反应 3h,冷却后再加入 5mL 含 3.2mol/L NH₄OAc 的 20%的 HNO₃ 溶液,并加入约 15mL 去离子水稀释至 20mL,常温连续振荡 30min,4000r/min 下离心 10min,上清液过滤置于 50mL 容量瓶,去离子水清洗滤纸 3 次后定容.

F4 残渣态:采用差减法,全 Cd 减去前 3 种形态之和即为残渣态含量.

四步提取样品采用 ICP-OES 分析浓度.

1.8 数据处理

使用 Excel 2021 处理数据,选用 Tukey's HSD 法进行不同处理的多重比较,采用 SPSS 23.0 中 ANOVA 软件进行方差分析,显著性水平为 0.05.使用 Origin 2021 绘制图表.

2 结果与讨论

2.1 复配菌群对 PAEs 的降解作用

2.1.1 驯化菌株对 PAEs 降解效能 由图 1 所示,菌株经过 Cd²⁺梯度驯化后,可在 Cd²⁺胁迫下保持对不同分子量 PAEs 的特异性降解功能.菌株 24107 (*Gordonia* sp.)ΣPAEs 降解率可达 87.91%,对低分子量 PAEs(LMW-PAEs)及中分子量 PAEs(MMW-PAEs)的降解率超过 94%. 菌株 2G(*Rhodococcus* sp.)和 W34(*Bacillus* sp.)对 MMW-PAEs 的降解率超过 90%.

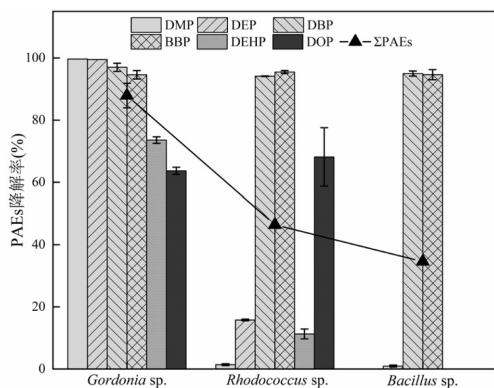


图 1 耐 Cd 驯化菌株 PAEs 降解效能

Fig.1 Degradation ability of cadmium tolerant domesticated strains on PAEs

2.1.2 复配菌群 PAEs 降解效能 通过 3 种菌株的

复配,根据图 2 所示,菌群对于高分子量 PAEs (HMW-PAEs) 的降解率由单菌的 34.6% 提升至 87.9%,ΣPAEs 降解率可达 92.7%.菌群复配后对供试 PAEs 降解谱更宽,降解效能也得到提升,各降解菌株可通过协同代谢形成互养关系.李静等^[28]从活性污泥土著菌群驯化得菌群 SD-1,对 DMP、DEP 和 DBP 3d 降解率为 68.7%、68.5%和 80.0%.本研究得到的菌群降解谱更宽,覆盖 6 种 EPA 优控 PAEs,并且降解效能更强,有望用于实际土壤 PAEs 污染的修复.

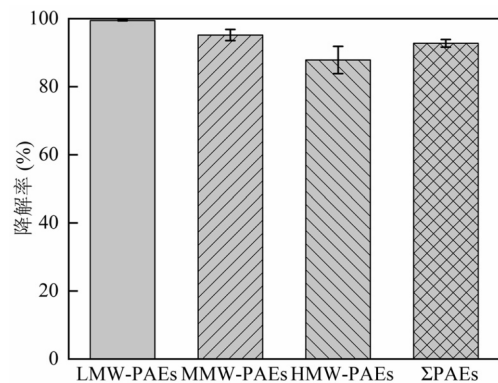


图 2 复配菌群 PAEs 降解效能

Fig.2 The degradation efficiency of PAEs by the mixed microbial consortium

2.2 固定化载体材料性状

2.2.1 生物炭-巯基蒙脱石复合载体性状 由图 3 所示,玉米生物炭与巯基蒙脱石复合后,表面孔隙变大,出现稳定的多孔网状结构,大大提升了材料的孔径和比表面积.巯基蒙脱石粒径较小,附着在生物炭的表面或孔隙结构中,减少了杂质的附着.玉米生物炭和巯基蒙脱石复合材料增加了大量吸附点位,Cd 固定能力得到增强,且适于微生物负载,是制备 PAEs-Cd 协同修复功能菌剂的理想载体材料.

图 4 的 FT-IR 图谱表明,生物炭与巯基蒙脱石复合后改善了表面官能团性状.复合材料表面红外吸收峰的位置主要出现在 791,1080,1613,2980,3422cm⁻¹ 等处.3600~3100cm⁻¹ 处为 O-H 键的伸缩振动,表明生物炭和巯基蒙脱石复合后疏水性变差.2980cm⁻¹ 处的吸收峰为 C-H 键的吸收振动,1613cm⁻¹ 处的吸收峰为 C=O 键的吸收振动,表明复合材料石墨化程度降低.1080cm⁻¹ 处的吸收峰为 Si-O-Si 的伸缩振动,是巯基改性蒙脱石的特征吸收峰.

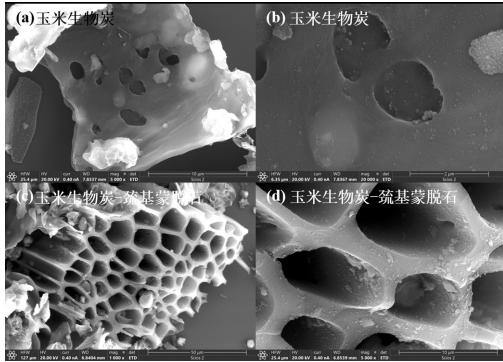


图3 生物炭和复合材料的SEM形貌图

Fig.3 SEM morphology images of biochar and composite materials

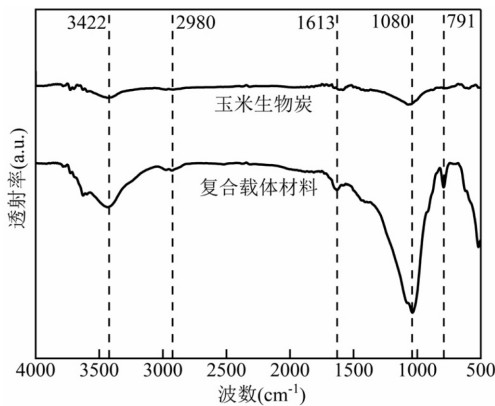


图4 生物炭和复合材料的FT-IR图

Fig.4 FT-IR spectra of biochar and composite materials

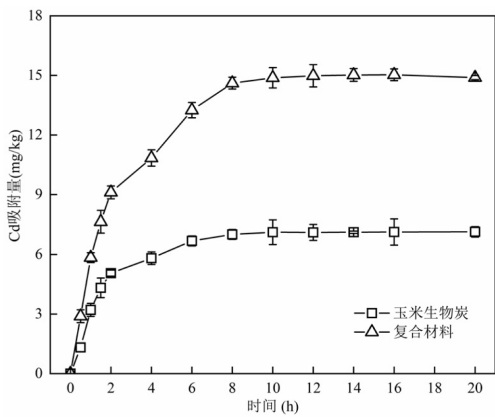


图5 复合载体材料的Cd饱和和吸附曲线

Fig.5 Cd deactivation performance of different carrier materials

2.2.2 复合载体 Cd 吸附效能 图5为复合载体的Cd饱和吸附曲线,玉米生物炭与巯基蒙脱石复合后,Cd²⁺吸附性得到显著提升,菌剂对Cd饱和吸附量达15.2mg/kg,较生物炭Cd吸附量提升了1.11倍.复

合材料加入Cd溶液中,各个时期Cd吸附量均高于生物炭,且8~10h吸附达到平衡,12h后略微降低,吸附法结合并不稳定,可能出现解吸现象.

2.3 固定化功能菌剂对PAEs的降解作用

2.3.1 固定化菌剂结构特征 从图6观察到生物炭-巯基蒙脱石复合材料的表面和孔隙结构中附着大量的功能菌株,且菌株以团聚形式或分散状态附着在复合材料中,形状较为饱满,表明固定化菌剂对功能微生物具有良好的负载效能.

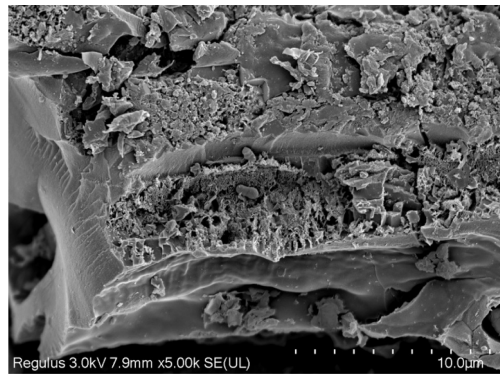


图6 固定化菌剂扫描电镜图

Fig.6 SEM spectra of immobilized microbial agent

2.3.2 固定化菌剂制备条件优化 根据图7,其他条件一致,固定时间为1d制备的菌剂PAEs降解率显著高于其他时间.结合菌株的生长特性,3种菌株在24h内可能处于对数生长期,代谢活动最强,污染物降解效能最高^[29].若固定化时间延长,菌株生长进入衰亡期,菌群降解能力不佳.另外,若固定时间太短,复合载体对于菌株的吸附固定不充分,将导致菌剂PAEs降解效能较差.

控制其他条件一致,菌料比为1:20制备的固定化菌剂PAEs降解率显著高于其他比例.在细菌菌群负载到载体材料过程中,若菌群数量太少,细菌进入载体吸附点位的概率降低,污染物降解能力不足;若细菌数量过多,可能导致对底物的竞争^[30],不利于细菌生长定殖,使污染物降解效果不佳.

其他条件一致的情况下,30℃制备的固定化菌剂PAEs降解能力显著优于其他温度.功能细菌降解PAEs多为酶促反应,与温度密切相关^[31].过高的温度使细菌体内相关酶活性下降,降解能力减弱.反之温度过低会降低细胞膜的流动性,不利于PAEs作为底物进入生物循环,污染物降解能力减弱.

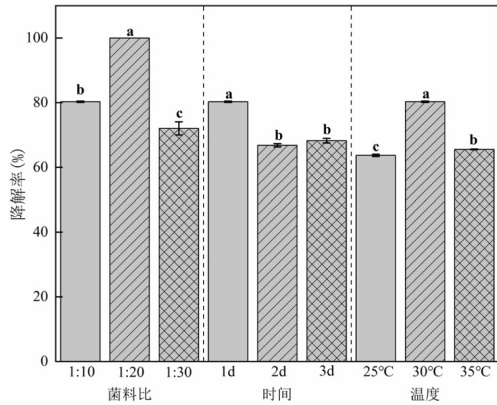


图 7 固定化菌剂制备条件优化

Fig.7 Optimization of preparation conditions for immobilized microbial agents

不同字母表示不同处理间差异显著($P < 0.05$)

固定化菌剂制备的最佳负载条件为菌料比 1g:20mL,30°C 恒温振荡培养 1d,该条件下制备的固定化菌剂对 6 种 PAEs 降解效果最佳.由图 8 可见,最优条件下制备的固定化菌剂,ΣPAEs 降解率可达 95.4%,较菌群降解能力略有提升,高分子量 PAEs 的降解率提升至 85%以上,具备高效性和广谱性.

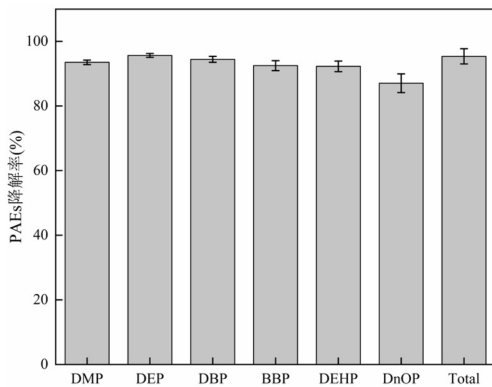


图 8 最佳固定条件菌剂的 PAEs 降解效能

Fig.8 The PAEs degradation performance of microbial agents under the optimal immobilization conditions

2.3.3 固定化菌剂对 PAEs 的降解动力学 在纯培养体系下,菌剂对 6 种 PAEs 均具备良好的降解能力,由图 9(a)降解曲线所示,第 1d 时,菌剂对 LMW-PAEs 和 MMW-PAEs 的降解率均高于 80%,对 HMW-PAE 降解率为 32.7%和 35.3%.培养 1~3d,菌剂对 HMW-PAEs 降解率逐渐提高,对 LMW-PAEs 的降解趋于稳定,均在 85%以上,降解能力优良.培养 4~7d,随时间延长,菌剂降解趋于平稳.以上结果表明,固定化菌

剂降解 PAEs 具有广谱性,对 LMW-PAEs 的降解具有高效性.在培养初期,HMW-PAEs 降解功能菌株可能经历适应阶段合成相关的酶,或调整代谢途径,随时间延长,对其降解率逐渐提高.利用一级动力学方程对 PAEs 降解曲线进行拟合,方程如下:

$$\ln(C_0/C) = Kt + A \quad (2)$$

式中: C_0 为初始底物浓度(mg/L); C 为底物浓度(mg/L); t 为降解时间(d); K 为一级反应速率常数(d^{-1}); A 为常数.

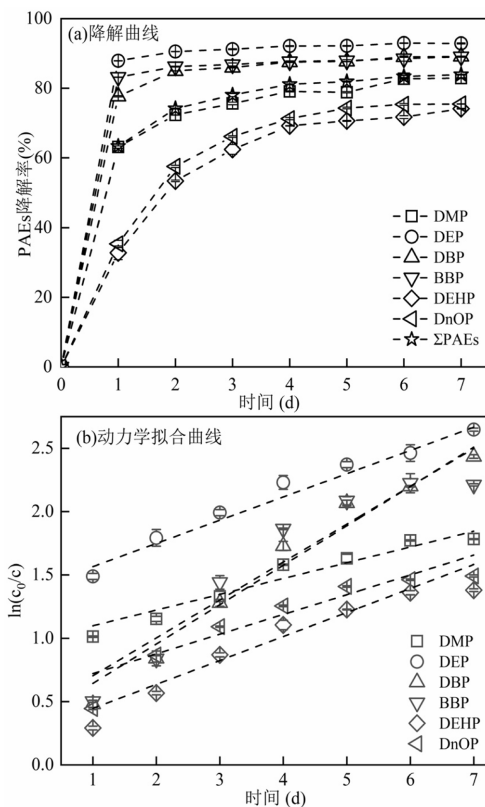


图 9 菌剂对 PAEs 的降解曲线和准一级动力学拟合曲线
Fig.9 The degradation curve of PAEs by microbial agents and the quasi-first-order kinetic fitting curve

表 2 PAEs 的降解动力学方程

Table 2 Degradation kinetic equation of PAEs

底物	动力学方程	半衰期(d)	R^2
DMP	$y = 0.12433x + 0.97439$	2.23	0.907
DEP	$y = 0.18349x + 1.3818$	2.32	0.982
DBP	$y = 0.96563x + 0.33297$	5.78	0.966
BBP	$y = 0.8416x + 0.40533$	3.78	0.842
DEHP	$y = 0.90028x + 0.25726$	3.66	0.900
DnOP	$y = 0.8712x + 0.56546$	4.45	0.871

如图 9(b)和表 2 所示,菌剂对 6 种 PAEs 的降解过程均符合伪一级反应动力学,PAEs 残留浓度的自

然对数与降解时间线性相关.LMW-PAEs 半衰期较短,仅 2.2d 左右;HMW-PAEs 和 MMW-PAEs 半衰期较长,与 PAEs 性质和微生物代谢途径相关.

2.4 固定化菌剂对复合污染土壤的修复效能

2.4.1 固定化菌剂对复合污染土壤中 PAEs 的消减作用

根据图 10(a),按 1%投加量施用固定化菌剂至复合污染土壤, Σ PAEs 含量由 2.56mg/kg 降至 1.17mg/kg,与同时期 CK 相比 Σ PAEs 消减率为 54.14%.目前有关 PAEs 降解微生物的研究局限于溶液培养体系,使用固定化菌剂处理 PAEs 污染土壤的研究较少.褚美函^[32]利用生物炭制备固定化菌剂,以 5%投加量,处理东北矿区重金属 Cd-多环芳烃(PAHs)复合污染土壤 60d 后菌剂对萘的降解率为 52.39%.参考这一表现,本研究制备的固定化菌剂具有理想的 PAEs 消减效能.

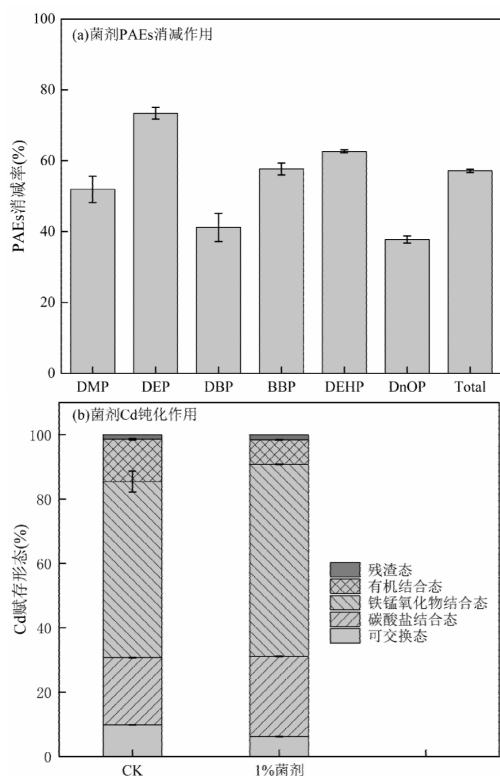


图 10 菌剂对复合污染土壤协同修复作用

Fig.10 The synergistic remediation effect of microbial agents on composite contaminated soil

2.4.2 固定化菌剂对复合污染土壤中 Cd 的钝化作用

根据图 10(b),施用 1%固定化菌剂后,复合污染土壤中可交换态 Cd 含量较 CK 降低了 37.06%,碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态和残渣态 Cd 分别增加

了 19.26%、13.00%和 12.55%.在土壤中,可交换态 Cd 活性更强且易于被植物吸收,碳酸盐结合态在偏碱性土壤中相对稳定,铁锰氧化物含量在氧化环境下也相对稳定.Zhao 等^[33]按 1%投加量施用改性煤矸石 MGE 至重金属 Cd 污染土壤,植物根部有效态 Cd 含量降低了 20.4%.Bashir 等^[34]将水稻生物炭和沸石及磷酸盐结合处理 Cd 污染土壤,投加量为 3%时土壤有效 Cd 下降了 18.18%~37.66%.相对比下,本研究制备的固定化菌剂具有良好的 Cd 钝化效能.固定化菌剂的施用可能通过提高土壤 pH 值,复合材料表面的阳离子交换作用和巯基官能团的络合作用等途径,使土壤中 Cd^{2+} 由活性较强的可交换态向稳定的碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态和残渣态转化,大大降低了 Cd 的生物有效性.

3 结论

3.1 本研究构建了具备耐 Cd 和 PAEs 降解功能的菌群,6 种 PAEs 总降解率达 92.7%,对高分子量 PAEs 降解率提升至 85%以上,具备高效性和广谱性.

3.2 制备了巯基改性蒙脱石和生物炭复合载体,对 Cd 饱和吸附量为 15.2mg/kg,较生物炭提升了 1.11 倍.

3.3 制备了固定化菌剂,优化了制备条件.菌剂最优制备条件为温度 30℃,固定时间 1d,菌料比 1:20(V/M),最佳条件下制备的固定化菌剂 Σ PAEs 降解率达 95.4%.

3.4 固定化菌剂对土壤 PAEs 和 Cd 复合污染具有良好的协同修复作用.以 1%投加量施用菌剂,50d 后复合污染土壤中 Σ PAEs 消减率为 54.14%,可交换态 Cd 减少了 37.06%.

参考文献:

- [1] Shi J, Yu X, Zhang M, et al. Potential risks of copper, zinc, and cadmium pollution due to pig manure application in a soil-rice system under intensive farming: a case study of Nanhu, China [J]. Journal of Environmental Quality, 2011,40(6):1695-1704.
- [2] Wang J, Luo Y, Teng Y, et al. Soil contamination by phthalate esters in Chinese intensive vegetable production systems with different modes of use of plastic film [J]. Environmental Pollution, 2013,180:265-273.
- [3] Olaniran A O, Balgobind A, Pillay B. Bioavailability of heavy metals in soil: impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2013,14(5):10197-10228.
- [4] Rahman Z. An overview on heavy metal resistant microorganisms for simultaneous treatment of multiple chemical pollutants at co-

- contaminated sites, and their multipurpose application [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020,396:122682.
- [5] Zhao S, Xu W, Zong S, et al. The pollution characteristics and full-scale risk assessment of coking plant soil co-contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals [J]. *Environmental Engineering Science*, 2021,38(9):867-876.
- [6] Aitio A, Tritscher A. Effects on health of cadmium-WHO approaches and conclusions [J]. *Biometals*, 2004,17:491.
- [7] Genchi G, Sinicropi M S, Lauria G, et al. The effects of cadmium toxicity [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2020,17(11):3782.
- [8] Wilson S C, Meharg A A. Investigation of organic xenobiotic transfers, partitioning and processing in air-soil-plant systems using a microcosm apparatus. Part II: comparing the fate of chlorobenzenes in grass planted soil [J]. *Chemosphere*, 2003,53:583-591.
- [9] Antoniadis V, Levizou E, Shaheen S M, et al. Trace elements in the soil-plant interface: Phytoavailability, translocation, and phytoremediation-A review [J]. *Earth-Science Reviews*, 2017,171:621-645.
- [10] Chen H, Teng Y, Lu S, et al. Contamination features and health risk of soil heavy metals in China [J]. *Science of The Total Environment*, 2015,512:143-153.
- [11] Yang Q, Yang Z, Zhang Q, et al. Ecological risk assessment of Cd and other heavy metals in soil-rice system in the karst areas with high geochemical background of Guangxi, China [J]. *Science China Earth Sciences*, 2021,64(7):1126-1139.
- [12] 骆永明,滕 应.中国土壤污染与修复科技研究进展和展望 [J]. *土壤学报*, 2020,57(5):1137-1142.
- Luo Y M, Teng Y. Progress and Prospects in Soil Pollution and Remediation Research in China [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, 57(5):1137-1142.
- [13] Deary M E, Ekumankama C C, Cummings S P. Effect of lead, cadmium, and mercury co-contaminants on biodegradation in PAH-polluted soils [J]. *Land Degradation and Development*, 2018,29(6): 1583-1594.
- [14] Otitoloju A A. Evaluation of the joint-action toxicity of binary mixtures of heavy metals against the mangrove periwinkle *Tympanotomus fuscatus var radula* (L.) [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2002,53(3):404-415.
- [15] Zheng Z, Zhou P, Wu Z. New advances in research of combined pollution [J]. *Journal of Applied Ecology*, 2001,12(3):469-473.
- [16] Gao Y Z, Xiong W, Ling W T, et al. Sorption of phenanthrene by soils contaminated with heavy metals [J]. *Chemosphere*, 2006,65(8):1355-1361.
- [17] Wang X, Wu H, Dai C, et al. Microbial interactions enhanced environmental fitness and expanded ecological niches under dibutyl phthalate and cadmium co-contamination [J]. *Environmental Pollution*, 2022,306:119362.
- [18] Engelhardt G, Wallnofer P R, Hutzinger O, et al. The microbial metabolism of di-n-butyl phthalate and related dialkyl phthalates [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1975,13:342-347.
- [19] Chatterjee S, Dutta T K. Metabolism of butyl benzyl phthalate by *Gordonia* sp. strain MTCC 4818 [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2003,309(1):36-43.
- [20] Wang J L, Ye Y C, Wu W Z. Comparison of di-n-methyl phthalate biodegradation by free and immobilized microbial cells [J]. *Biomedical and Environmental Sciences*, 2003,16(2):126-132.
- [21] Jin D C, Liang R X, Dai Q Y, et al. Biodegradation of di-n-butyl phthalate by *Rhodococcus* sp. JDC-11 and molecular detection of 3,4-phthalate dioxygenase gene [J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2010,20(10):1440-1445.
- [22] Priyanka J V, Rajalakshmi S, Kumar P S, et al. Bioremediation of soil contaminated with toxic mixed reactive azo dyes by co-cultured cells of *Enterobacter cloacae* and *Bacillus subtilis* [J]. *Environmental Research*, 2022,204:112-136.
- [23] Hagemann N, Joseph S, Schmidt H P, et al. Organic coating on biochar explains its nutrient retention and stimulation of soil fertility [J]. *Nature communications*, 2017,8(1):1089.
- [24] Guo D, Xia Q, Zeng Q, et al. Antibacterial mechanisms of reduced iron-containing smectite-illite clay minerals [J]. *Environmental Science and Technology*, 2021,55(22):15256-15265.
- [25] Van G N, Christl I, Kretzschmar R, et al. The effect of aeration on Mn(II) sorbed to clay minerals and its impact on Cd retention [J]. *Environmental Science and Technology*, 2021,55(3):1650-1658.
- [26] Abbas T, Rizwan M, Ali S, et al. Effect of biochar on cadmium bioavailability and uptake in wheat (*Triticum aestivum* L.) grown in a soil with aged contamination [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017,140:37-47.
- [27] Guimarães A M, Ciminelli V S, Vasconcelos W L, et al. Smectite organofunctionalized with thiol groups for adsorption of heavy metal ions [J]. *Applied Clay Science*, 2009,42(3/4):410-414.
- [28] 李 静.邻苯二甲酸酯降解菌的降解特性与降解机制的初步研究 [D]. 重庆:西南大学, 2018.
- Li J. Preliminary study on the degrading characteristics and mechanisms of phthalic acid esters-degrading bacteria [D]. Chongqing: Southwest University, 2018
- [29] Yates G T, Smotzer T. On the lag phase and initial decline of microbial growth curves [J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2007,244(3):511-517.
- [30] 陆雯逸,王泽铭,左翔之,等.固定化菌剂对邻苯二甲酸酯的降解效能及途径 [J]. *中国环境科学*, 2024,44(3):1584-1591.
- Lu W Y, Wang Z M, Zuo X Z, et al. The degradation efficiency and pathways of phthalic acid esters by immobilized bacterial agent [J]. *China Environmental Science*, 2024,44(3):1584-1591.
- [31] 张小红,陶 红,王亚娟,等.固定化微球降解土壤中PAEs效果及影响因素 [J]. *生物技术通报*, 2021,37(1):223.
- Zhang X H, Tao H, Wang Y J, et al. Effect and influencing factors of immobilized microspheres on degradation of phthalate esters in soil [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021,37(1):223-233.
- [32] 褚美函.固定化菌剂对复合污染土壤的修复效果及微生物群落结构的影响 [D]. 沈阳:沈阳大学, 2024.
- Chu M H. The remediation effect of immobilized microbial agents on co-contaminated soils and their impact on microbial community structure [D]. Shenyang: Shenyang University, 2024.
- [33] Zhao H, Li P, He X, et al. Remediation of cadmium contaminated soil by modified gangue material: characterization, performance and mechanisms [J]. *Chemosphere*, 2022,290:133347.
- [34] Bashir S, Zhu J, Fu Q, et al. Cadmium mobility, uptake and anti-oxidative response of water spinach (*Ipomoea aquatica*) under rice straw biochar, zeolite and rock phosphate as amendments [J]. *Chemosphere*, 2018,194:579-587.

作者简介: 王 凡(2000-),男,江苏宿迁人,南京农业大学硕士研究生,主要从事土壤有机污染控制与修复研究.2022103031@stu.njau.edu.