



董浩然, 香港科技大学环境工程专业博士学位, 现任湖南大学教授, 环境科学系主任, 环境生物与控制教育部重点实验室副主任, 国家优秀青年科学基金获得者(2021), 入选湖南省“湖湘青年英才”。主要研究方向是土壤/地下水污染原位修复、环境纳米技术、纳米材料-微生物协同环境修复研究等。主持/参与 10 余项国家/省部级科研项目; 已在环境领域国际权威期刊发表论文 100 余篇; 申请/授权 12 项国家发明专利; 荣获 2019 年度教育部高等学校科学研究优秀成果奖自然科学奖二等奖, 2021 年度中国有色金属科技成果奖二等奖; 入选全球前 2% 顶尖科学家榜单(2020、2021、2022) 和全球顶尖前 10 万科学家榜单(2021、2022)。担任《能源环境保护》青年编委, 《Chinese Chemical Letters》(中国化学快报) 青年编委, 《Water》期刊编委, 国际水协会 IWA-YWP 委员。



移动扫码阅读

张浩轩, 李龙, 董浩然. 固定化微生物技术修复重金属污染土壤的研究进展[J]. 能源环境保护, 2023, 37(2): 147-155.

ZHANG Haoxuan, LI Long, DONG Haoran. Research progress of immobilized microbial technology in remediation of heavy metal contaminated soil[J]. Energy Environmental Protection, 2023, 37(2): 147-155.

固定化微生物技术修复重金属污染土壤的研究进展

张浩轩^{1,2}, 李 龙^{1,2}, 董浩然^{1,2,*}

(1. 湖南大学 环境科学与工程学院, 湖南 长沙 410082;

2. 环境生物与控制教育部重点实验室(湖南大学), 湖南 长沙 410082)

摘要: 土壤修复产业在推进双碳行动、提高土壤碳汇能力上有着举足轻重的地位, 而重金属污染具有的隐蔽性、持久性和不可逆性使得我国土壤重金属污染持续积累, 影响了双碳目标的实现。固定化微生物技术作为生物修复法的一种, 既可以减少传统的物理法、化学法在修复过程中产生的能源消耗和二次污染, 又可以提高微生物密度、维持微生物活性, 因此在修复重金属污染土壤方面具有广阔的发展前景。本文从固定方法、载体种类、微生物种类 3 个角度介绍了固定化微生物技术的分类, 总结了该技术修复重金属污染的机理。根据不同的应用场景选择适配的载体和微生物可以达到事半功倍的效果。本综述汇总了固定化微生物技术在近五年内的研究发展现状, 研究表明该技术可以有效修复重金属污染土壤, 新型载体和新型微生物可以满足多种应用需求, 还可以与植物修复技术联用以达到更加绿色低碳的修复效果。考虑到该技术未来的发展潜力, 提出了固定化微生物技术的发展方向, 旨在为固定化微生物技术修复重金属污染土壤的发展提供参考。

关键词: 固定化微生物技术; 低碳; 重金属; 土壤修复

中图分类号: X53

文献标识码: A

文章编号: 1006-8759(2023)02-0147-09

Research progress of immobilized microbial technology in remediation of heavy metal contaminated soil

ZHANG Haoxuan^{1,2}, LI Long^{1,2}, DONG Haoran^{1,2,*}

(1. College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China;

2. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control (Hunan University), Ministry of Education, Changsha 410082, China)

Abstract: Soil remediation industry plays an important role in promoting "double carbon" action and improving soil carbon sink capacity. However, the concealment, persistence and irreversibility of heavy

metal pollution make the soil heavy metal pollution in China continuously accumulate, hindering the realization of "double carbon" goal. Immobilized microbial technology is used as one of the bioremediation methods. This technology can reduce the energy consumption and secondary pollution produced by traditional physical and chemical methods in the remediation process. This technology can also improve microbial density and maintain microbial activity. Therefore, it has a broad development prospect in the remediation of heavy metal contaminated soil. This paper firstly introduced the classification of immobilized microbial technology from three perspectives of immobilization methods, carrier types, and microbial species. Then the mechanisms of heavy metal pollution remediation by this technology were summarized. According to different application situations, the selection of carriers and microorganisms is of great importance. So, this paper also summarized the research development status of immobilized microbial technology in the last five years. Studies have shown that this technology can effectively remediate heavy metal contaminated soil. New carriers and new microorganisms have been developed to satisfy a variety of applications. The technology can also be combined with phytoremediation technology to achieve a more low-carbon remediation effect. Considering the future development potential of this technology, this paper also proposes the development direction of immobilized microbial technology. It is expected to provide a reference for the development of immobilized microbial technology for remediation of heavy metal contaminated soil.

Keywords: Immobilized microbial technology; Low carbon; Heavy metals; Soil remediation

0 引言

2020年9月22日,在第七十五届联合国大会上习近平总书记提出了中国“二氧化碳排放力争于2030年前达到峰值,2060年前实现碳中和”的目标(以下成为双碳目标)。为完整、准确、全面贯彻新发展理念,扎实推进双碳行动,生态系统碳汇能力巩固提升是重要行动方案之一。生态系统碳汇是指生态系统循环中二氧化碳的吸收量大于其排放量^[1],主要有森林碳汇、林业碳汇、土壤碳汇、海洋碳汇等。其中土壤是陆地生态系统中最大的碳库,对于固碳有巨大的潜力,由此土壤修复产业在完成双碳目标中有举足轻重的地位。

目前,全国受污染耕地安全利用率稳定在90%以上^[2],但由于重金属污染具有隐蔽性、持久性和不可逆性^[3],且涉及的行业广、历史遗留问题多,导致土壤重金属持续累积,污染扩散趋势未得到有效的控制^[4],土壤重金属污染修复迫在眉睫。修复方法可以分为物理、化学和生物修复法,固定化微生物技术作为生物修复法的其中一种,是指通过物理或化学的手段将游离微生物固定在有限空间的技术。该技术相较于物理、化学修复法可以恢复土壤碳库容量、减少在土壤修复过程中温室气体的排放和能源消耗、减少二次污染,相较于

游离微生物可以提高微生物密度、维持微生物活性、降低微生物敏感性,具有广阔的应用前景。

本文首先从固定方法、载体种类、微生物种类3个角度介绍了固定化微生物技术的分类,并总结了该技术载体和微生物修复重金属污染的机理,为全面了解固定化微生物技术提供参考。而后聚焦于近五年内固定化微生物技术对镉、铬、汞、铅和复合重金属污染的研究进展,大部分研究表明固定化微生物技术在很大程度上缓解了土壤重金属污染,甚至可以改善土壤环境、提高土壤微生物丰度。但是固定化微生物技术无法将重金属从土壤中移除,仍需要长期的监测观察,因此本文还介绍了固定化微生物技术与植物修复技术联用以达到更加绿色低碳的修复效果。在此基础上,本文还提出了固定化微生物技术的未来发展方向,旨在为固定化微生物技术修复重金属污染土壤的发展提供参考。

1 固定化微生物技术的分类

为全面总结修复重金属污染土壤的固定化微生物技术,将其按照固定方法、载体种类、微生物种类3种方式进行分类。

1.1 固定化方法

1.1.1 吸附、共价化合

吸附法,如图1(a)所示,是一种简单、快速、

廉价的固定方法,其固定原理是依靠载体表面与微生物之间形成范德华力、氢键等相对较弱的物理作用力,这种弱结合力不会对微生物的结构产生影响且具有可逆性^[5],但也导致微生物容易从载体表面泄漏。共价化合法如图 1(b)所示,相比于吸附法可以显著增加微生物固定的稳定性,其原理是微生物与载体中的某些基团(比如酰胺、醚、氨基甲酸酯等)之间形成牢固的共价键^[6],如果没有特定活性基团就需要应用载体活化剂。缺点是使用的活化剂多数对微生物有毒性且固定化条件复杂,在提高稳定性的同时会降低微生物的活性,所以该方法主要应用于酶固定化,而不是全细胞固定化^[7]。

1.1.2 交联

交联法如图 1(c)和(d)所示,一种使微生物表面分子与载体表面之间形成交联,一种是微生物表面分子之间形成交联。该方法是通过多功能交联剂(如戊二醇、六亚甲基二异氰酸酯、双重氮联苯胺等)活化载体或微生物表面形成共价键。

微生物表面分子与载体表面形成交联与共价化合法的原理相似,但其对微生物的危害比共价化合法小^[8]。微生物与微生物之间交联需要先诱导微生物发生聚集,而后加入多功能交联剂使其发生交联,该方法不需要载体成本更低,但过量的交联剂仍可能有毒性^[9]。

1.1.3 包埋和包封

包埋和包封非常相似都是不可逆的固定化技术,前者如图 1(e)所示是将微生物截留在聚合物网络中,后者如图 1(f)所示在微生物存在的情况下生成聚合物网络。这两种方法都可以在不影响物质运输的情况下限制微生物的移动,为微生物提供了温和的环境抵抗外部环境变化造成的影响,扩大了微生物的适用范围^[10]。然而载体孔的大小是该方法的一个重要参数,孔径太小会限制微生物与外界进行营养和代谢产物的交换且易发生堵塞,孔径太大微生物会泄露到环境中去,因此该方法更适用于小分子物质和产物的反应体系中。

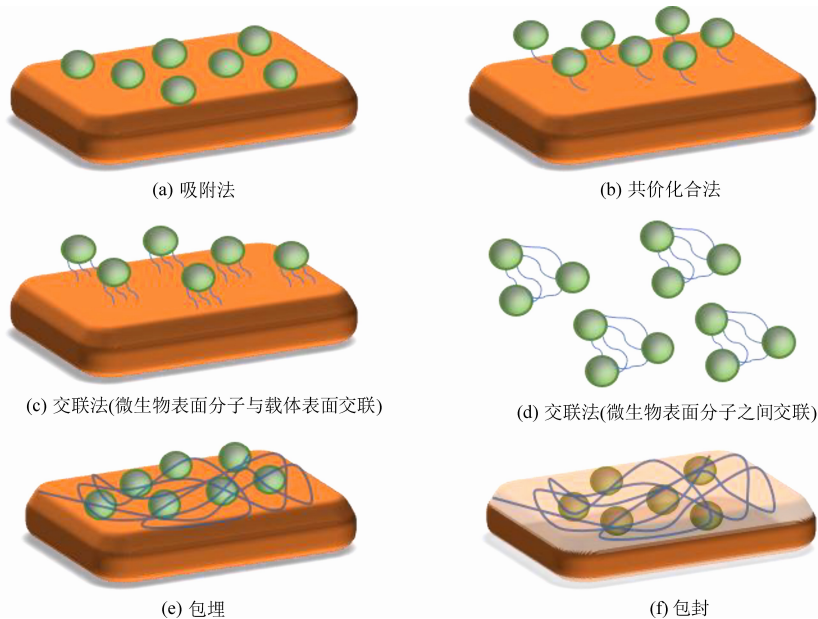


图 1 固定化方法

Fig. 1 Immobilization methods

1.2 载体种类

固定化微生物的性质是由载体材料和微生物共同决定的,两者之间的相互作用提供了特定的化学、生化、机械和动力学性质^[11],所以需根据不同微生物和应用场景选择合适的载体材料。一个好的载体首先应该满足无毒无污染、低价格廉、性质稳定、易于处理和可再生等特点,目前常用的载体可以分为无机载体和有机载体两大类。

1.2.1 无机载体

天然无机载体有沸石、膨润土等^[6],合成无机载体活性炭、陶瓷、多孔玻璃、纳米材料等。无机材料因其多孔且较高的化学、物理和生物抗性、优异的耐热性和机械强度受到了广泛的关注,但其表面缺乏官能团,需要使用的特定的活化剂如戊二醇、碳二亚胺等进行化学修饰或与其他材料联合制成混合载体后才能与微生物进行充分的结合^[12]。

1.2.2 有机载体

常见的天然有机载体有纤维素、琼脂、藻酸盐、植物纤维等,具有易获得、价格低、无毒可生物降解等优点,但同时因其对生物降解的抵抗性低、对有机溶剂敏感性高以及 pH 适应范围窄的缺点在应用时受到限制,例如藻酸盐不能在连续条件下使用,因为物理强度低会导致固定化微生物泄露^[6]。合成有机载体如聚丙烯、聚丙烯铵、聚氨酯、聚乙烯醇等,合成有机载体具有丰富的官能团,可以在大分子水平上调节空间结构,在合成过程中可以控制载体的孔径、极性和形状,且合成的有机载体更稳定、机械强度更强但是对微生物有毒性^[13]。

目前有越来越多的研究选择复合载体材料或新型载体材料满足多种应用需求,例如 Wu 将高效菌株 *Bacillus* sp. CRB-7 固定在腐殖酸(HA)、蛭石(VE)和海藻酸钠(SA)结合的一种新型固定化生物复合物上,并成功去除土壤中 96.18% 的 Cr(VI)^[14]。

1.3 微生物种类

1.3.1 细菌

研究表明,已有多数细菌对重金属有良好的吸附性,比如芽孢杆菌、微球菌、假单胞菌、黄杆菌、链霉菌属等^[15]。细菌的细胞壁有很多潜在活性位点能很好的吸附重金属离子,部分细菌通过重金属离子的重新溶解和整合来降低其毒性。除了单独培养外还可以使用混合细菌,当细菌在土壤达到一定的数量和规模能够更稳定降低重金属的毒性。

1.3.2 真菌

真菌由菌丝和孢子组成,菌丝分支成团形成的菌丝体可以比细菌大几倍甚至几十倍,广泛的分支菌丝可以通过细胞壁上的官能团被动吸收金属离子,或与特定的酶结合主动转运到胞内形成胞内沉淀^[16]。但是相较于细菌,真菌对土壤环境要求更加严格,在重金属污染土壤往往生长缓慢,数量和种类达不到降解的要求,所以需要选择合适的固定化材料为真菌提供相对优质和稳定的生长环境,例如利用磁性纳米材料和海藻酸钙共固定化黄孢原毛平革菌发现固定化技术增加了菌丝的机械强度和稳定性,提高了处理效率^[17]。

1.3.3 微藻^[18]

藻类是自养微生物可以通过较低的营养物质产生巨大的生物量,目前用于生物修复的微藻属

有小球藻属、蓝藻属、结节藻属、螺旋藻属等。藻类进行重金属修复的机理也相对复杂,主要可以分为 3 种途径:首先是重金属离子与藻类细胞壁或藻类分泌的有机物质结合发生生物吸附;其次是重金属离子通过细胞壁转运到细胞内并与细胞内物质结合生成沉淀发生生物吸收;最后是生物降解指微藻将重金属离子催化代谢生成毒性更小的产物。然而藻类生长过程中需要水,所以更多的是被应用在水污染修复中,对土壤修复治理仍没有得到普遍应用。

2 固定化微生物技术处理重金属污染的机理

固定化微生物技术是在微生物和载体的共同作用下去除重金属污染(如图 2 所示)。微生物修复重金属污染的机理主要有生物吸附、生物积累和生物转化。生物吸附可以发生在活细胞或死细胞中,主要依靠的是细胞壁上的官能团如羟基、羰基、羧基、磷酸盐、酰胺等与重金属离子发生络合或微生物表面的阴离子与金属阳离子发生静电吸附,且该过程是可逆的,在实际应用中可以用于解吸回收重金属。生物积累是指重金属离子进入到微生物胞内速率大于排出的速率,但微生物对重金属离子的吸收有一定的限度,当超过限度会对微生物自身造成危害,因此可以筛选出对重金属耐受性更高的微生物用于生物修复。对重金属耐受性更高的微生物可能会表现出更好的生物转化能力,通过微生物酶系统的工作,将重金属离子氧化、还原、烷基化或甲基化来改变重金属的状态从而降低毒性^[19]。

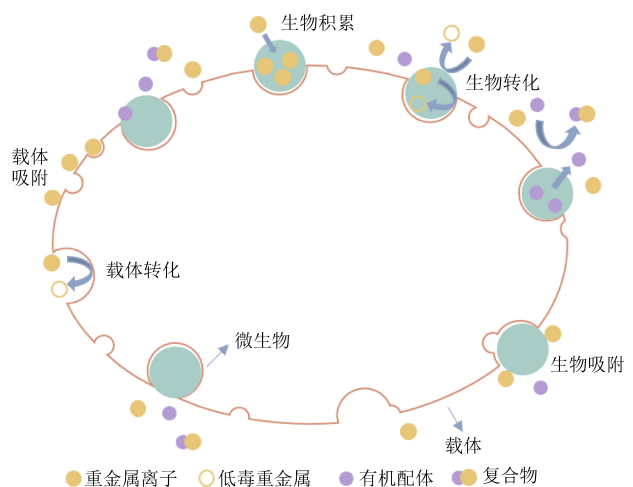


图 2 固定化微生物技术处理重金属污染示意图

Fig. 2 Schematic diagram of heavy metal pollution treatment by immobilized microbial technology

载体首先可以为微生物提供更良好的环境,抵御外界环境带来的干扰使得微生物能够更稳定的发挥作用两者相辅相成。例如 Wu 等将 HA 吸附固定的芽孢杆菌(CRB-7)再用 SA 包埋用以去除 Cr(VI),虽然 SA 并没有对 Cr(VI)的去除起到直接贡献,但是能为 CRB-7 提供保护并使其分泌物缓慢释放,提高了细菌的密度和稳定性,使 Cr(VI)更好的在固定化菌株内发生反应^[20]。其次部分载体自身可以吸附重金属离子或与其发生反应,例如生物炭可以通过络合、阳离子交换、静电相互作用、还原和沉淀过程吸附重金属,并为微生物提供营养物质,Tu 等利用生物炭负载 NT-2 处理受到镉和铜污染的土壤,实验结果表明该方法能有效的降低镉和铜的不稳定性和生物利用率,同时显著提高污染土壤中的酶活性^[21]。

3 固定化微生物技术修复重金属污染土壤的研究进展

近年来,城市工业、农业发展迅速,石油煤炭的开采燃烧、化工医药、有色金属包括使用农药、污水灌溉等都会造成土壤重金属污染,常见的重金属污染有铬、铜、镉、铅、汞等。不同的重金属在土壤中的生物毒性不仅取决于其总量,还取决于其化学形态,据研究重金属的迁移、转化和毒性遵循以下规律:酸溶部分>可还原部分>可氧化部分>残留部分。不同的重金属具有不同降低毒性的路径,这要求固定化微生物技术能够调整载体材料和微生物种类满足不同的场景应用。因此在表 1 中按照重金属种类、固定化材料、微生物种类、处理效果总结了近五年部分国内外固定化微生物技术修复重金属污染土壤的研究进展。

表 1 固定化微生物技术修复重金属污染土壤研究进展

Table 1 Research progress on remediation of heavy metal contaminated soil by immobilized microbial technology

重金属	微生物	载体	处理效果	参考文献
Cr	芽孢杆菌 CRB-7	蛭石+腐殖酸+海藻酸钠	Cr(VI)钝化率 96.18%	[20]
	QY-1	纳米零价铁、腐殖酸	HA+QY-1 钝化率 82.83%; CMC-Nzvi+QY-1 钝化率 76.15%	[22]
	恶臭假单胞细菌	壳聚糖和赤铁矿改良生物炭		[23-24]
Cd	枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌和柠檬酸杆菌按照 3:3:2 的比例混合	玉米秸秆生物炭、海藻酸钠+玉米秸秆生物炭	AIB 的固定化率 58.2%	[25]
	假单胞菌 NT-2	玉米生物炭	75 d 后 Cd 浓度下降 8.7 mg/kg	[26]
	蜡状芽孢杆菌 RC-1	稻草生物炭	可提取 Cd 的比例降低了 38.82%	[27]
	芽孢杆菌 K1	稻草生物炭、磁性稻草生物炭	SBB 和 MBB 处理有效 Cd 浓度在好氧条件下降低 83%和 85%,在厌氧条件下降低 76.2%和 88.1%	[28]
	<i>Alishewanella sp.</i> WH16-1	海藻酸钠+莲子羹	交换性和碳酸盐结合镉分别降低 33.6%和 17.36%	[29]
Hg	假单胞菌 DC-B1	木屑生物炭	与对照组相比去除效率提高了 10.7%~23.2%	[30]
Pb	绿针假单胞菌	牛粪生物炭	当投加量大于 800 mg/kg 时可以控制 Pb 浓度在 1 mg/kg 以下	[32]
	无机溶磷菌	麦秆生物炭	与空白对照相比,有害酸溶解部分降低 60.43%,固定化部分增加 48.16%	[33]
	溶磷菌 <i>Leclercia adecarboxylata</i> L1-5	稻壳生物炭+纳米零价铁+聚乙烯醇+海藻酸钠	Pb 固定率 45%	[34]
	溶磷菌 <i>Leclercia adecarboxylata</i>	稻壳生物炭+纳米零价铁+聚乙烯醇+海藻酸钠	Pb ²⁺ 去除率可达 70%	[35]

续表

重金属	微生物	载体	处理效果	参考文献
Cd、Pb	阿斯伯里肠杆菌 G3、烟草肠杆菌 I12、变异克雷伯杆菌 J2 按照 1 : 3 : 3 比例混合	生物炭+活性炭+海藻酸钠	Cd 和 Pb 含量分别减少 55.84% 和 48.13%	[36]
	<i>Bacillus megaterium</i> H3、 <i>Serratia liquefaciens</i> CL-1	稻壳生物炭	酸溶性铅镉含量下降 26% 和 47%	[37]

3.1 铬 (Cr)

铬 (Cr) 能够稳定存在的价态有 Cr(0)、Cr(III)、Cr(VI), 其中 Cr(VI) 具有致突变性和致癌性是剧毒物质, Cr(III) 的毒性较低且迁移性差。Wu 等^[20]从四川省制革厂污染土壤中分离出高效 Cr(VI) 还原芽孢杆菌 CRB-7 并与 HA、VE、SA 结合, 设置不同对照组以说明载体材料各自的贡献。实验结果表明与对照组和游离 CRB-7 相比, 将 CRB-7 嵌入生物复合材料对土壤中的 Cr(VI) 表现出了更有效的还原作用, HA 和 VE 增加了载体的多孔性和比表面积, 提高了载体的吸附能力、渗透性和传质性能, SA 缓释营养, 增加了微生物对 Cr(VI) 的耐受性, 复合载体材料成功融合了 3 种材料的优势。实验表明, 复合材料不仅使 Cr(VI) 的去除率达到 96.18%, 还依靠其协同作用改善了土壤酶活性、微生物数量和多样性和促进植物生长。Hou 等^[22]从铬污染土壤中分离出的新型耐铬菌 QY-1 分别与 HA 和羧甲基纤维素 (CMC) 修饰的纳米零价铁 (CMC-nZVI) 结合, 实验结果表明 HA+QY-1 组合的 Cr(VI) 钝化率为 82.83%, CMC-nZVI+QY-1 为 76.15%。HA+QY-1 的土壤相关肥力指标、微生物数量和种子萌芽率明显提高, CMC-nZVI+QY-1 会降低土壤呼吸和微生物丰度但比单独使用 CMC-nZVI 有所改善。CMC-nZVI 比 HA 有更好的 Cr(VI) 还原性, 但与 QY-1 复合使用后的结果说明 HA 和 QY-1 之间的协同效应更强, 可能是因为 HA 自身可以充当电子穿梭机, 为土壤提供更多的养分并为 QY-1 的生存提供更好的屏障。Zibaei 等^[23]采用壳聚糖和赤铁矿对稻壳生物炭进行改性后与恶臭假单胞菌结合, 实验结果说明对生物炭进行改性可以提高其附着能力和对 Cr(VI) 的还原能力。随后的实验也证明施用与改良生物炭结合的恶臭假单胞菌可以提高玉米根和茎秆的物质产量, 降低 Cr(VI) 的生物利用率^[24]。

3.2 镉 (Cd)

镉在土壤主要以酸溶态 Cd(II) 存在, Qi

等^[25]将枯草芽孢杆菌、蜡样芽孢杆菌和柠檬酸杆菌按照 3 : 3 : 2 的比例混合得到的混合细菌 (MB9), 分别采用物理吸附法和海藻酸钠包埋法固定在玉米秸秆生物炭上合成 AIB 和 EIB 复合材料。实验证明 MB9 和生物炭之间的协同作用使得 AIB 和 EIB 的固定化性能优于单独添加生物炭, 且生物炭能够为 MB9 提供安全的栖息地, 并为 MB9 和本地微生物提供营养元素, 能够有效改善土壤性质和微生物活性。Tu^[26]将假单胞菌 NT-2 固定在玉米生物炭上, 通过 75 d 盆栽实验说明其能有效降低镉和铜的不稳定性和生物利用率。Mei 等^[27]采用稻草生物炭和蜡状芽孢杆菌 RC-1 为复合材料, 与未经处理的对照组相比可提取 Cd 的比例降低了 38.82%, 过氧化氢酶、脲酶和转化酶的活性分别提高了 42.39%、30.50% 和 31.20%。Wang^[28]将芽孢杆菌 K1 分别固定在稻草生物炭 (SBB) 和磁性稻草生物炭 (MBB), 在好氧和厌氧条件下培养 90 d, 结果表明, SBB 和 MBB 均可以有效修复 Cd 污染, 有效 Cd 的总浓度在好氧条件下分别降低 83% 和 85%, 在厌氧条件下降低 76.2% 和 88.1%。Shi^[29]采用海藻酸钠和莲子菜固定 *Alishewanella sp.* WH16-1 在镉污染的稻田土壤中进行盆栽实验, 120 d 后与为固定化 WH16-1 相比交换性和碳酸盐结合性镉分别降低了 33.6% 和 17.36%, 水稻中的镉浓度降低了 78.31%。

3.3 汞 (Hg)

无机汞主要以 Hg(I)、Hg(II) 的形式存在, Hg(II) 的分布范围更广毒性更大, 可与土壤有机质、矿物质、粘土颗粒结合。耐汞微生物将土壤中的 Hg(II) 还原为 Hg(0) 并挥发至大气中, 或是通过分泌硫配体、还原剂、吸附剂来降低 Hg 在土壤中的毒性。Chen 等^[30]从重金属污染土壤中分离出一种耐多金属的假单胞菌 DC-B1 并固定在木屑生物炭上对含汞土壤处理 24 d 后比单独用生物炭或假单胞菌 DC-B1 处理效率提高了 10.7%~23.2%, 且联合处理促进了土壤中莴苣根的生长。除细菌外, Yang 等^[31]发现丛枝菌根真菌 (AMF) 与

腐殖酸联用可以诱导微生物群落发生变化以及抗汞基因的表达,对控制土壤中 Hg 污染有重要意义。

3.4 铅(Pb)

Pb 是一种剧毒重金属,可以选择与磷化合物反应降低其迁移性和毒性,但是大部分磷化合物在土壤中不易溶解,因此可以选择采用增磷菌(PB)溶解不溶性磷化合物从而提高土壤中 Pb 的固定。Zhang^[32]将绿针假单胞菌固定在牛粪生物炭,可以帮助绿针假单胞菌在当地土壤存在的情况下生长繁殖,且当复合材料的添加量大于 800 mg/kg 时,可以控制 Pb 浓度在 1 mg/kg 以下。Zhu^[33]将无机溶磷菌(iPSB)固定在麦秆生物炭上也能显著降低铅的生物利用率。近期 Wang^[34]、Teng 等^[35]在生物炭固定的基础上加入纳米零价铁、聚乙烯醇(PVA)和海藻酸钠制成新型多孔溶磷菌珠用于固定化土壤中 Pb,不仅能有效增加 Pb 在土壤中的稳定性还能显著提高土壤微生物丰度,是一种优良的土壤修复策略。

3.5 复合污染

在实际环境中一般是多种重金属同时污染,因此研究重金属复合污染也具有一定的现实意义。Wei 等^[36]通过实验构建了一个具有最佳 Cd、Pb 吸附能力的细菌群落,将阿斯伯里肠杆菌 G3、烟草肠杆菌 I12、变异克雷伯杆菌 J2 按照 1:3:3 比例培养,并通过物理吸附和海藻酸钠包埋固定在生物炭和活性炭上。实验证明可以使土壤中 Cd 和 Pb 含量分别减少 55.84% 和 48.13%,且土壤中脲酶、过氧化氢酶和磷酸酶的活性增强,土质得到了改善。Cheng^[37]合成稻壳生物炭和金属固定化细菌(*Bacillus megaterium* H3 和 *Serratia liquefaciens* CL-1) (BHC) 复合材料,实验结果表明复合材料分别降低了酸溶性铅、镉 26% 和 47% 的含量,显著提高脲酶活性、无定形铁氧化物含量,并且降低蔬菜可食用组织的金属积累。

4 与植物修复联用

固定化微生物技术可以有效降低重金属在土壤中的毒性、迁移率和生物利用率等,但重金属无法从受污染的土壤中移除,仍需要长期的管理和监测。因此在环保低碳的基础上可以将固定化微生物技术与植物修复联用,进一步修复受污染土壤。

固定化微生物技术(图 3)可以提升土壤中微

生物丰度、酶活性改善土壤环境促进植物生长^[38],提高重金属在土壤中的可交换性和溶解度,辅助植物吸附重金属^[39]。如 Hu^[40]将芽孢杆菌 AP-3 通过物理吸附法和包埋法固定在生物炭和海藻酸钠中生成的复合材料(SABCS)可以提高土壤酶(S-CAT、S-DHA、S-UE 和 S-PPO)活性促进植物根系对重金属的吸收,同时减少可食用组织 25% 的金属积累。Ye 等^[41]利用磁黄铁矿(Fe1-xS)和木屑生物炭负载硫杆菌施入 Pb 污染土壤 60 d,土壤 Pb 交换态从 22.86% 提高到 37.19%,种植的黑麦草茎部和根部 Pb 含量分别提高了 55.65% 和 73.43%,明显提高了土壤铅的植物有效性。Song 等^[42]将芽孢杆菌 KSB7 固定在花生生物炭上与地肤联用,实现结果表明其可以显著提高根际土壤中微生物的丰度,锌、铅、铬和铜的可提取量分别降低 58.46%、53.42%、84.94% 和 83.15%。

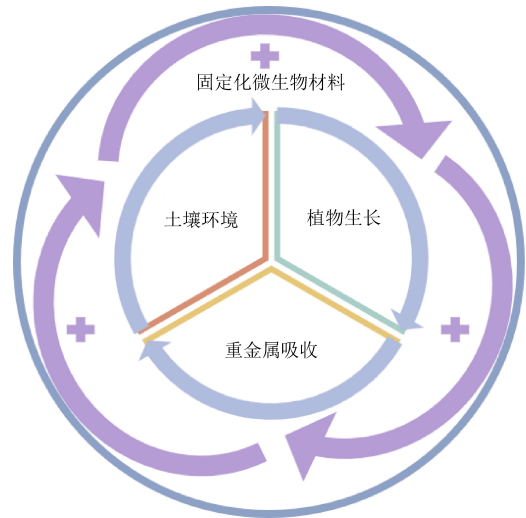


图 3 固定化微生物材料与植物联用的作用机理

Fig. 3 Mechanism of action of immobilized microbial materials in association with plants

5 总结与展望

土壤重金属污染修复一直是我国需要重视的挑战,固定化微生物技术修复污染土壤比物理、化学修复更加安全、友好,比游离微生物活性强、效率高。本文从固定方法、载体种类和微生物种类 3 个方面了解固定化微生物种类,总结其应用原理,再从近五年内该技术在不同种重金属污染土壤的研究应用和与植物修复联用入手,为了解固定化微生物技术在修复重金属污染土壤的现状及未来发展提供了参考。

固定化微生物技术修复土壤重金属污染具有

较好应用前景,但在以下方面还需进一步研究:

(1) 缩短微生物固定技术的修复时间,例如添加与微生物有协同效应的化学试剂;(2) 增强微生物解毒能力,从受污染土壤中分离出解毒能力更强的微生物种类,并从分子层面探究其机理;(3) 新复合载体的研究,合理利用载体不同性质,并探究微生物与载体之间相互作用的机理;(4) 材料的分离回收,例如选择磁性载体,并探究与微生物之间的相互作用及回收再利用等问题。

参考文献 (References):

- [1] YANG Y, SHI Y, SUN W, et al. Terrestrial carbon sinks in China and around the world and their contribution to carbon neutrality[J]. *Science China Life Sciences*, 2022, 65(5): 861-895.
- [2] 生态环境部. 2021 中国生态环境状况公报[R]. 北京: 生态环境部, 2022: 38-39.
- [3] LI C F, ZHOU K H, QIN W Q, et al. A review on heavy metals contamination in soil: Effects, sources, and remediation techniques[J]. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 2019, 28(4): 380-394.
- [4] 生态环境部. “十四五”土壤、地下水和农村生态环境保护规划[R]. 北京: 生态环境部, 2021: 7-10.
- [5] KADIMPATI K K, MONDITHOKA K P, BHEEMARAJU S, et al. Entrapment of marine microalga, *isochrysis galbana*, for biosorption of Cr(III) from aqueous solution: Isotherms and spectroscopic characterization[J]. *Applied Water Science*, 2013, 3(1): 85-92.
- [6] ANNA DZIOŃEK, DANUTA WOJCIESZYŃSKA, URSZULA GUZIK. Natural carriers in bioremediation: A review[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2016, 23: 28-36.
- [7] 隋春红, 王昭懿, 韦雨清, 等. 以静电纺 PAA/PVA 纤维膜为载体活化酯法固定葡萄糖淀粉酶[J]. *过程工程学报*, 2016, 16(3): 494-499.
SUI Chunhong, WANG Zhaoyi, WEI Yuqing, et al. Immobilization of glucoamylase onto electrospun PAA/PVA microfibrillar membrane by active ester method[J]. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 2016, 16(3): 494-499.
- [8] GONG Y Z, NIU Q Y, LIU G Y, et al. Development of multifarious carrier materials and impact conditions of immobilised microbial technology for environmental remediation: A review[J]. *Environment Pollution*, 2022, 314(1): 120232.
- [9] ASHJARI M, GARMROODI M, AHRARI F, et al. Soluble enzyme cross-linking via multi-component reactions: A new generation of cross-linked enzymes [J]. *Chemical Communications*, 2020, 56: 9683-9686.
- [10] ALTINKAYNAK C, TAVLASOGLU S, NİZDEMİR, et al. A new generation approach in enzyme immobilization: Organic-inorganic hybrid nanoflowers with enhanced catalytic activity and stability[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2016, 93-94: 105-112.
- [11] HWANG E T, GU M B. Enzyme stabilization by nano/micro-sized hybrid materials[J]. *Engineering in Life Science*, 2013, 13(1): 49-61.
- [12] WAHAB R A, ELIAS N, ABDULLAH F, et al. On the taught new tricks of enzymes immobilization: An all-inclusive overview [J]. *Reactive and Functional Polymers*, 2020, 152: 104613.
- [13] SHELDON R A, VAN PELT S. Enzyme immobilisation in biocatalysis: Why, what and how[J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42(15): 6223-6235.
- [14] WU M H, WANG Q Q, WANG C, et al. Strategy for enhancing Cr(VI)-contaminated soil remediation and safe utilization by microbial-humic acid-vermiculite-alginate immobilized biocomposite [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 243: 113956.
- [15] 焦迎迎, 闫斐, 吕淑华. 微生物在重金属污染土壤修复中的作用[J]. *皮革制作与环保科技*, 2022, 3(9): 105-107.
JIAO Yingying, YAN Fei, LV Shuhua. Role of microorganisms in remediation of heavy metal contaminated soils [J]. *Leather Manufacture and Environmental Technology*, 2022, 3(9): 105-107.
- [16] 刘长青, 陈纪杰, 黄正洋. 真菌吸附重金属的研究进展 [J]. *现代盐化工*, 2021, 4: 10-11.
LIU Changqing, CHEN Jijie, HUANG Zhengyang. Advances in the study of heavy metal adsorption by fungi [J]. *Modern Salt and Chemical Industry*, 2021, 4: 10-11.
- [17] 许飘. 白腐真菌对重金属的吸附富集特性及其重金属耐受性和抗性机制研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2016: 25-38.
XU Piao. Research on heavy metal biosorption/accumulation by white-rot fungi and fungi tolerance/resistance analysis [D]. Changsha: Hunan University, 2016: 25-38.
- [18] TUFAIL M A, ILTAF J, ZAHEER T, et al. Recent advances in bioremediation of heavy metals and persistent organic pollutants: A review [J]. *Science of the Total Environment*, 2022: 157961.
- [19] TAREKEGN M M, SALILIH F Z, ISHETU A I, et al. Microbes used as a tool for bioremediation of heavy metal from the environment [J]. *Food Science and Technology*, 2020, 6(1): 1783174.
- [20] WU M H, LI Y Z, LI J J, et al. Bioreduction of hexavalent chromium using a novel strain CRB-7 immobilized on multiple materials [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 368: 412-420.
- [21] TU C, WEI J, GUAN F, et al. Biochar and bacteria inoculated biochar enhanced Cd and Cu immobilization and enzymatic activity in a polluted soil [J]. *Environment International*, 2020, 137: 105576.
- [22] HOU S, WU B, LUO Y, et al. Impacts of a novel strain QY-1 allied with chromium immobilizing materials on chromium availability and soil biochemical properties [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 382: 121093.
- [23] ZIBAEI Z, GHASEMI Fasaei R, RONAGHI A, et al. Improvement of biochar capability in Cr immobilization via modi-

- fication with chitosan and hematite and inoculation with *Pseudomonas putida*[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2020, 51(7): 963-975.
- [24] ZIBAEI Z, GHASEMI Fasaai R, RONAGHI A, et al. Effective immobilisation of chromium in a polluted calcareous soil using modified biochar and bacterial inoculation [J]. Chemistry and Ecology, 2020, 36(9): 827-838.
- [25] QI X, GOU J, CHEN X, et al. Application of mixed bacteria-loaded biochar to enhance uranium and cadmium immobilization in a co-contaminated soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 401: 123823.
- [26] TU C, WEI J, GUAN F, et al. Biochar and bacteria inoculated biochar enhanced Cd and Cu immobilization and enzymatic activity in a polluted soil [J]. Environment International, 2020, 137: 105576.
- [27] MEI C, WANG H, CAI K, et al. Characterization of soil microbial community activity and structure for reducing available Cd by rice straw biochar and *Bacillus cereus* RC-1 [J]. Science of the Total Environment, 2022: 156202.
- [28] WANG L, CHEN H, WU J, et al. Effects of magnetic biochar-microbe composite on Cd remediation and microbial responses in paddy soil [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 414: 125494.
- [29] SHI X, ZHOU G, LIAO S, et al. Immobilization of cadmium by immobilized *Alishewanella* sp. WH16-1 with alginate-lotus seed pods in pot experiments of Cd-contaminated paddy soil [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 357: 431-439.
- [30] CHEN J, DONG J, CHANG J, et al. Characterization of an Hg (II)-volatilizing *Pseudomonas* sp. strain, DC-B1, and its potential for soil remediation when combined with biochar amendment [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 163: 172-179.
- [31] YANG T, LIU L, LI M. Combined application of humic acid and arbuscular mycorrhizal fungi regulates microbial community dynamics and enhances mercury-resistant genes in mercury-polluted paddy soil[J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 369: 133317.
- [32] ZHANG X, LI Y, LI H. Enhanced bio-immobilization of Pb contaminated soil by immobilized bacteria with biochar as carrier[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2017, 26(1): 413-418.
- [33] ZHU X, LI X, SHEN B, et al. Bioremediation of lead-contaminated soil by inorganic phosphate-solubilizing bacteria immobilized on biochar [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2022, 237: 113524.
- [34] WANG G, ZHAO X, LUO W, et al. Noval porous phosphate-solubilizing bacteria beads loaded with BC/nZVI enhanced the transformation of lead fractions and its microecological regulation mechanism in soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 437: 129402.
- [35] TENG Z, SHAO W, ZHANG K, et al. Enhanced passivation of lead with immobilized phosphate solubilizing bacteria beads loaded with biochar/nanoscale zero valent iron composite[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 384: 121505.
- [36] WEI T, LI X, LI H, et al. The potential effectiveness of mixed bacteria-loaded biochar/activated carbon to remediate Cd, Pb co-contaminated soil and improve the performance of pakchoi plants [J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 435: 129006.
- [37] CHENG C, LUO W, WANG Q, et al. Combined biochar and metal-immobilizing bacteria reduces edible tissue metal uptake in vegetables by increasing amorphous Fe oxides and abundance of Fe- and Mn-oxidising *Leptothrix* species [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 206: 111189.
- [38] LEBRUN M, MIARD F, BUCCI A, et al. Evaluation of direct and biochar carrier-based inoculation of *Bacillus* sp. on As- and Pb-contaminated technosol: Effect on metal (loid) availability, salix viminalis growth, and soil microbial diversity/activity [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 28(9): 11195-11204.
- [39] CHUAPHASUK C, PRAPAGDEE B. Effects of biochar-immobilized bacteria on phytoremediation of cadmium-polluted soil [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(23): 23679-23688.
- [40] HU X, LI F, PAN Y, et al. A novel BC-HMRPGPB-plant system for remediation of low concentration Cd in soil: The process of metal migration and microbial community evolution [J]. Journal of Cleaner Production, 2022, 360: 132164.
- [41] YE J, LIAO W, ZHANG P, et al. FeI-xS/biochar combined with thiobacillus enhancing lead phytoavailability in contaminated soil: Preparation of biochar, enrichment of thiobacillus and their function on soil lead[J]. Environmental Pollution, 2020, 267: 115447.
- [42] SONG L, NIU X, ZHOU B, et al. Application of biochar-immobilized *Bacillus* sp. KSB7 to enhance the phytoremediation of PAHs and heavy metals in a coking plant [J]. Chemosphere, 2022, 307: 136084.