

硫酸盐还原菌与铁还原菌联合释放含砷水铁矿中砷及渗透性研究

张世英¹, 刘莹¹, 刘琴¹, 骆大勇², 刘璟¹

(1. 西南大学 资源环境学院, 重庆 400715; 2. 重庆工程职业技术学院 资源与安全学院, 重庆 402260)

摘要: 水铁矿是土壤中常见的铁氧化物矿物,也是主要的载砷矿物。从水铁矿中释放砷,是缓解土壤砷污染的一种途径。本文拟通过硫酸盐还原菌(SRB)和嗜酸铁还原菌(JF-5)生物还原含砷水铁矿(As-Fh),促进其砷释放,以达到土壤修复目的。为此,利用采集自湖南石门矿区的典型含砷水铁矿,进行两种微生物摇瓶实验和生物注入水铁矿柱实验,探究水铁矿释放砷浓度及形态、生物溶解过程中悬浮颗粒物变化以及体系渗透性问题。研究结果表明:①在两个循环周期下,从释放的砷总量可看出,JF-5+SRB操作>JF-5+JF-5操作>SRB+JF-5操作>SRB+SRB操作,对应这些操作每克水铁矿能够分别释放16.4、16.2、7.3和3.3 mg的砷;②水化学分析也表明同等操作下SRB能够提供比JF-5更强的还原性;③生物柱实验表明,相比于SRB来说,JF-5的注入能够产生平均浓度1419 mg/L的铁系悬浮颗粒物,是SRB的7.25倍;同时两种生物操作过程下,SRB柱体系渗透性(平均水压差为0.51 psi)显著优于JF-5(平均水压差为2.22 psi),高悬浮颗粒的分散是引起渗透性变化的主因。上述结果证明连续注入SRB于水铁矿体系,是一种有效的降低土壤中砷浓度的技术。

关键词: 硫酸盐还原菌; 嗜酸铁还原菌; 含砷水铁矿; 砷释放; 渗透性

中图分类号: P578.4; P579

文献标识码: A

文章编号: 1000-6524(2024)04-0982-12

Study on the release of arsenic and permeability from arsenic-containing ferrihydrite by sulfate reducing bacteria and acidiphilium cryptum JF-5

ZHANG Shi-ying¹, LIU Ying¹, LIU Qin¹, LUO Da-yong² and LIU Jing¹

(1. College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. College of Resources and Security, Chongqing Vocational Institute of Engineering, Chongqing 402260, China)

Abstract: Ferrihydrite is a common iron oxide mineral in soil and also the main arsenic carrying mineral. Releasing arsenic from ferrihydrite is a way to alleviate arsenic pollution in soil. In this paper, it is intended to promote the release of arsenic by biological reduction of arsenic-containing ferrihydrite (As-Fh) by sulfate reducing bacteria (SRB) and acidiphilium cryptum JF-5 (JF-5), so as to achieve the purpose of soil remediation. To this end, two kinds of microbial shaker experiment and biological injection experiment were carried out by collecting typical arsenic-containing ferrihydrite from Shimen mining area in Hunan Province, to explore the arsenic release and form of ferrihydrite, the change of suspended particulate matter in the process of biological dissolution, and the permeability of the system. The results showed that: ① In two cycles, according to the total amount of arsenic released, JF-5+SRB operations> JF-5+JF-5 operations>SRB+JF-5 operations>SRB+SRB operations, corresponding to these

收稿日期: 2023-04-30; 接受日期: 2023-12-20; 编辑: 郝艳丽

基金项目: 重庆市自然科学基金(CSTB2022NSCQ-MSX1382)

作者简介: 张世英(1995-),男,硕士研究生,从事土壤重金属污染研究, E-mail: 2658201332@qq.com; 通讯作者: 刘璟(1982-),男,博士,教授,主要从事地球化学迁移及其去除研究, E-mail: liujing-vip@163.com。

operations were able to release 16.4, 16.2, 7.3 and 3.3 mg per gram of ferrihydrite, respectively; ② Hydrochemical analysis also showed that SRB could provide stronger reducibility than JF-5 under the same operation; ③ The biological column experiment showed that compared with SRB, JF-5 injection could produce iron suspended particulate matter with an average concentration of 1 419 mg/L, 7.25 times that of SRB; At the same time, the permeability of SRB column system (mean water pressure difference of 0.51 psi) was significantly better than that of JF-5 (mean water pressure difference of 2.22 psi), and the dispersion of highly suspended particles was the main reason for the permeability change. These results demonstrate that continuous injection of SRB into the ferrihydrite system is an effective technique for reducing arsenic concentration in soil.

Key words: sulfate reducing bacteria; acidiphilium cryptum JF-5; arsenic-containing ferrihydrite; arsenic release; permeability

Fund support: Science Foundation of Chongqing City, China (CSTB2022NSCQ-MSX1382)

水铁矿广泛分布于水、土壤、沉积物和生物体中,具有大比表面积和高表面活性(杨忠兰等, 2020),对砷有强烈的亲和性(Pierce *et al.*, 1982; Carlson *et al.*, 2002)。水铁矿作为矿区常见的铁系次生矿物,它可以通过硫化铁等矿物氧化释放出的 Fe^{3+} 水解形成,常赋存于矿区土壤中(Méndez, 2020; 刘崴等, 2020; 张晓平等, 2022)。由于其对砷具有高亲和性,矿区周围水铁矿常常通过自身矿物结构特点吸附或者共沉淀砷,形成含砷水铁矿(钟松雄等, 2017; Zhang *et al.*, 2022),这些含砷水铁矿已成为野外区域的重要砷源,释放水铁矿中砷在一定程度上可以缓解土壤的砷污染。对于土壤砷污染的治理,常见的方法有活性反应墙(Kober *et al.*, 2005)、吸附(Cheng *et al.*, 2005)、离子交换法(Clifford *et al.*, 2002)、生物膜(Cano-Aguilera *et al.*, 2005)、钝化(燕文明等, 2022)等技术,这些方法各有优缺点,可适用于不同场景的砷污染问题。研究表明,水铁矿等铁氧化物对砷具有显著的固持作用,但因结构不稳定而容易受到环境因素(pH、Eh、共存离子以及微生物等)的影响(Mulligan *et al.*, 2004; Mazumder *et al.*, 2020)发生还原溶解,还可能转化为赤铁矿、针铁矿等次生矿物(Hansel *et al.*, 2003; Erbs *et al.*, 2010; Hiemstra *et al.*, 2013),致使其固持的砷再次释放(Erbs *et al.*, 2010)。

鉴于水铁矿的这一性质,可利用还原释放方法清洗水铁矿吸持的砷。在矿物相变过程中,微生物的还原作用也是含砷水铁矿释放砷的主要驱动力(Kocar *et al.*, 2006),例如,砷还原菌(*Sulfurospirillum arsenophilum*, *Bacillus* sp., *Citrobacter* sp.) (Heimann *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2023)、硫酸盐还原菌(*Desulfovibrio vlugaris miyazaki*, *D. vulgaris*)

(Burton *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2022)和铁还原菌(*S. putrefaciens*, *S. barnesii*) (Masue-Slowey *et al.*, 2011; Jiang *et al.*, 2013)等这些与砷、铁和硫相关的微生物能够显著影响砷的地球化学迁移行为。这样,借用地质生物还原过程能够促进砷释放的思路,利用这类还原微生物强化污染矿区水铁矿中砷的释放,将有助于土壤中砷污染修复。

最近研究表明,联合土壤铁还原菌(*Shewanella oneidensis* MR-1)和硫酸盐还原菌(*Desulfovibrio vlugaris miyazaki*)共同作用能释放每克含砷水铁矿中10.87 mg的砷(Ren *et al.*, 2022)。嗜酸铁还原菌(*Acidiphilium cryptum* JF-5)作为一种铁还原菌,首先由德国耶拿大学 Kirsten Küsel 教授从煤矿酸性矿坑分离(Küsel *et al.*, 1999),并认为该菌适应环境pH值为2.1~5.8,更适宜矿区酸性环境(Cummings *et al.*, 2007),且该菌属于嗜酸杆菌属,能够进行铁呼吸作用,利用葡萄糖或 H_2 还原 Fe^{3+} 而获得能量进行化能异养生长(Küsel *et al.*, 2002),美国能源部联合基因组研究所已完成了该菌种序列组的测序。所以,一些学者认为其在生物修复和生物冶金方面具有重要意义(刘艳阳等, 2007)。显然,利用嗜酸铁还原菌独特生理特性与硫酸盐还原菌相联合,探究生物还原技术对含砷水铁矿中砷的释放规律,有助于为环境中砷污染修复提供理论与实验依据。

本研究采集了湖南石门矿区的含砷水铁矿作为典型砷污染源,利用硫酸盐还原菌 *Desulfovibrio vlugaris miyazaki* 和嗜酸铁还原菌 *Acidiphilium cryptum* JF-5 这两种还原微生物,开展了摇瓶实验和微生物注入水铁矿柱实验,从生物作用顺序及期次上分别讨论了砷的释放规律、形态变化以及柱体渗透性变化,同时对比了砷的释放效果。通过这些工作

有望建立一种高效的土壤砷污染原位修复技术。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

含砷水铁矿 (arsenic-containing ferrihydrite, 以下简称为 As-Fh) 采集自中国湖南省常德市石门县矿区, 粒径小于 100 目, 外观为红褐色固体颗粒物。如图 1 所示, 该矿物通过 X 射线衍射法 (XRD) 分析鉴定, 使用 MDI Jade 6 软件分别演示矿物相, 结果表明样品由 6-线水铁矿和石膏组成。X 射线荧光法 (XRF) 分析结果表明, As-Fh 中含有高浓度的 Fe (292 mg/g)、S (101 mg/g)、Ca (159 mg/g)、As (36.6 mg/g) (Fan *et al.*, 2018)。实验所用试剂均为分析纯或优级纯 (国药化学试剂公司), 实验用水为超纯水 (18.25 MΩ·cm)。

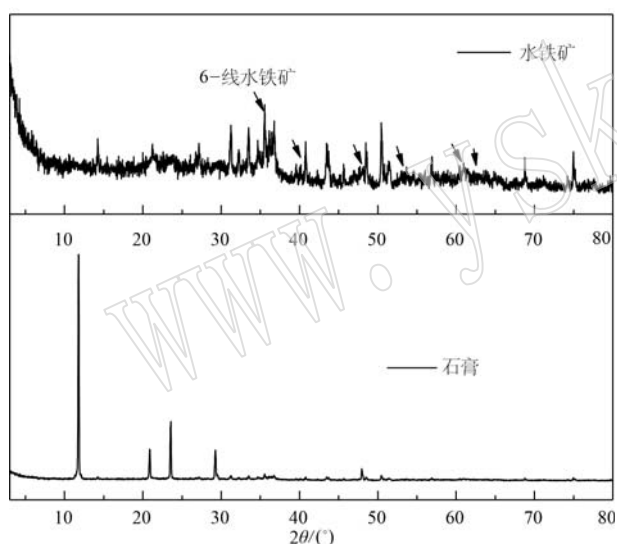


图 1 载砷矿物的 XRD 数据

Fig. 1 XRD data of arsenic-carrying minerals

1.2 还原微生物培养

(1) 硫酸盐还原菌培养: 硫酸盐还原菌来源于四川西南某铜矿区, 纯化鉴定为 *Desulfovibrio vlugaris miyazaki* 简称 SRB, 其培养基采用德国微生物和细胞培养物保藏库 (DSMZ) 63 标准培养基 (<http://www.dsmz.de/microorganisms>) (Liu *et al.*, 2017)。该培养基每升含有 0.5 g K_2HPO_4 、2 g $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ 、1 g Na_2SO_4 、2 g $CaCl_2 \cdot 2 H_2O$ 、1 g Yeast extract、2 g DL-Na-lactate。培养基高温高压灭菌 30 min, 冷却至室温后接种 SRB, 厌氧条件下置于 30℃ 恒温培养箱 (MGC-100, 上海一恒) 培养 7 天, 具有浓烈臭鸡蛋味

气体即培养完成。

(2) 嗜酸铁还原菌的培养: 嗜酸铁还原菌 (*Acidiphilium cryptum* JF-5, 以下简称 JF-5) 其培养基为酸性 Fe-TSB 液体培养基, 配制方法如下。溶液①: 称取 0.5 g 胰酶大豆肉汤 (TSB) 溶于 917 mL 超纯水中, 高温灭菌 30 min; 溶液②: 称取 18.016 g 葡萄糖溶于水并定容至 100 mL, 经 0.22 μm 的微孔滤膜过滤灭菌; 溶液③: 称取 19.995 g $Fe_2(SO_4)_3$ 溶于水并定容至 100 mL, 经 0.22 μm 的微孔滤膜过滤灭菌; 溶液④: 称取 100 mg 维生素 B12、80 mg p-氨基酸、20 mg D-生物素、200 mg 烟酸、100 mg Ca-D-泛酸酯、200 mg 盐酸硫胺素和 300 mg 盐酸吡哆胺溶解于 1 L 超纯水中, 完全溶解后经 0.22 μm 的微孔滤膜过滤灭菌, 存放于 4℃ 的阴暗处; 溶液⑤: 称取 1.5 g $FeCl_2 \cdot 4 H_2O$ 溶解于 10 mL 25% HCl 溶液中, 向溶液中添加 70 mg $ZnCl_2$ 、100 mg $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$ 、190 mg $CoCl_2 \cdot 6 H_2O$ 、2 mg $CuCl_2 \cdot 2 H_2O$ 、24 mg $NiCl_2 \cdot 6 H_2O$ 、36 mg $Na_2MoO_4 \cdot 2 H_2O$ 和 6 mg H_3BO_3 , 定容至 1 L 后高压灭菌; 溶液⑥: 添加 0.5 g NaOH、0.003 g $Na_2SeO_3 \cdot 5 H_2O$ 和 0.004 g $Na_2WO_4 \cdot 2 H_2O$ 至 1 L 超纯水中, 完全溶解后高压灭菌。上述 6 种溶液配制完成后, 取 10 mL 溶液②、70 mL 溶液③、1 mL 溶液④、⑤、⑥分别加入溶液①中, 混合均匀完成培养基配制。接种 JF-5 后在厌氧条件下于 30℃ 的恒温培养箱 (MGC-100, 上海一恒) 中培养, 培养液颜色变白即培养完成。

1.3 摇瓶实验

为模拟研究厌氧淹水环境下, SRB 和 JF-5 生物作用顺序及期次对 As-Fh 中 As 还原和释放的影响, 设计开展了摇瓶实验。实验设计为两周期, 每周期 7 天, 进行 4 种不同的微生物添加处理: 7 天 SRB+7 天 SRB、7 天 JF-5+7 天 JF-5、7 天 SRB+7 天 JF-5、7 天 JF-5+7 天 SRB, 具体方案如下:

第 1 周期: 将 0.1 g 高温灭菌的 As-Fh、5 mL 培养完成的 SRB (或 JF-5) 菌液、20 mL 对应菌种培养基加入 50 mL 离心管中, 通入氩气制造厌氧环境, 密封避光放置于台式恒温振荡器 (IS-RDD3, 美国精琪), 以 35℃、150 rpm 振荡培养 7 天, 每天定时取样。第 2 周期: 第 1 周期取样结束后立即用高速离心机 (Eppendorf Centrifuge, 5810) 以 1 000 r/min 离心 10 min, 倒出上清液, 再次加入 5 mL 培养完成的 SRB (或 JF-5) 菌液以及 20 mL 对应菌种培养基, 以相同的厌氧避光条件振荡培养 7 天, 定时取样。实验

设置3个平行处理,同时设置3个平行补充,每次取样后定量补充管中培养液;实验过程中用HQ系列便携式测定仪(HQ440D,美国哈希公司)测定每天培养环境内的pH和Eh;实验所有样品通过0.45 mm注射过滤后用液相色谱-原子荧光光度计(SAP-50, AFS-8230,北京吉天公司)检测其砷形态及含量;实验结束后对反应产物进行傅里叶红外光谱分析。

1.4 生物注入As-Fh柱实验

如图2所示,设计一个长度40 cm、内径3.4 cm、外径5.5 cm的双层玻璃填充柱,柱左侧外层有上下两接口连接恒温水浴锅,维持柱内细菌30℃恒温生长;柱右侧有5个与内层连接的接口(每个间距5 cm),上、下两个端口分别连接两个水压探头,与水压传感器(CR1000, Campbell Scientific公司,美国)和计算机相连,每10 min收集一次水压数据,通过水压计(Control公司, Traceable)和输出电压信号进行修正,其输出水压(psi)与实际压力有显著的线性($R^2=0.999$);中间3个接口为3个不同层位剖面取样口,填充柱下端接口连接蠕动泵(BT100L, Leadfluid)。在玻璃柱底部填充20 g惰性材料石英砂(10~20目),石英砂上添加0.5 g含砷水铁矿(As-Fh),并在同一水平位置埋入一根外径0.32 cm、壁厚0.02 cm、长45 cm的不锈钢管,管下端靠近As-Fh,上端连接注射泵(harvard apparatus),用石英砂填充整个柱子,柱顶部密封。

目前已有研究利用石英砂模拟地下多孔介质,将 Fe^{2+} 和氧化剂(如溶解氧)泵入其填充柱中,研究砷的迁移行为和去除效果(Abia, 2011)。本实验通过将SRB和JF-5分别泵入图2柱装置中,探究生物还原溶解As-Fh过程中As释放、悬浮颗粒物以及体系渗透性变化。实验设计为两周期14天,在第1天和第8天时分别将30 mL培养完成的SRB(或JF-5)菌液通过注射泵以1 mL/min的流速注入柱体,下端利用蠕动泵以0.5 mL/min的流速通入培养液,供柱内细菌生长。实验过程中实时监测柱体压力变化,每天定时对3个层位剖面 and 流出废液进行取样,检测悬浮颗粒物浓度和砷浓度。

1.5 悬浮颗粒物和砷的检测

悬浮颗粒物检测:配置质量分数为0.1%的羧甲基纤维素钠溶液(CMC-Na,阿法埃莎),将柱实验中的样品以0.5 mL样品:9.5 mL CMC-Na的比例稀释,利用DR/2400型实验室用分光光度计,运行HACH 630 Suspended Solids程序,以0.1% CMC-Na

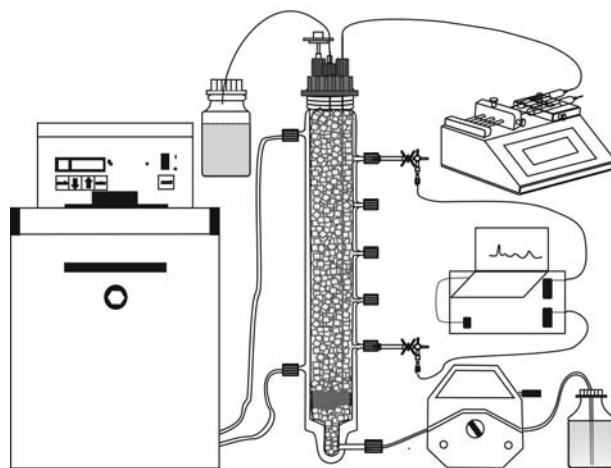


图2 柱实验装置图

Fig. 2 Column experimental device

为空白样品,每天定时检测不同层位悬浮颗粒物的浓度。

砷检测:样品采用液相色谱-原子荧光光谱法(SAP-50, AFS-8230,北京吉天公司)测定As(Ⅲ)和As(Ⅴ)浓度。流动相为 $(NH_4)_2HPO_4$ (优级纯, 1.96 g/L),载液为硝酸(优级纯, 7%),还原剂为KBH₄(优级纯, 20 g/L)和KOH(优级纯, 5 g/L)的混合物,载气为高纯氩气(分压0.3 MPa)。采用国家标物中心提供的砷酸盐(AsO_4^{3-} , 1 001 $\mu\text{g/mL}$)和亚砷酸盐(AsO_3^{3-} , 1 007 $\mu\text{g/mL}$)标准溶液绘制标准曲线,标准曲线的相关性为0.999。

2 结果与讨论

2.1 SRB和JF-5作用顺序对As释放的影响

如图3所示,在摇瓶实验中,硫酸盐还原菌(SRB)和嗜酸铁还原菌(JF-5)单独作用含砷水铁矿(As-Fh)时,两周期均促进了As的释放,且第2周期As的释放浓度显著高于第1周期。图3a是SRB单独作用As-Fh,第1周期初始以As(Ⅴ)释放为主,随SRB生长还原性增强,As(Ⅴ)释放浓度逐渐下降,As(Ⅲ)浓度升高,并在第2天时溶液中As(Ⅲ)浓度开始高于As(Ⅴ),第3天后As(Ⅲ)浓度趋于稳定,此阶段溶液内的砷释放浓度趋于饱和,浓度约为4.18 mg/L。SRB第2周期作用As-Fh时,以As(Ⅲ)释放为主,As(Ⅲ)释放速率在第8天到第9天时最高,第10天时溶液中As(Ⅲ)浓度达到最高7.28 mg/L; SRB作用As-Fh砷总释放量第2周期较

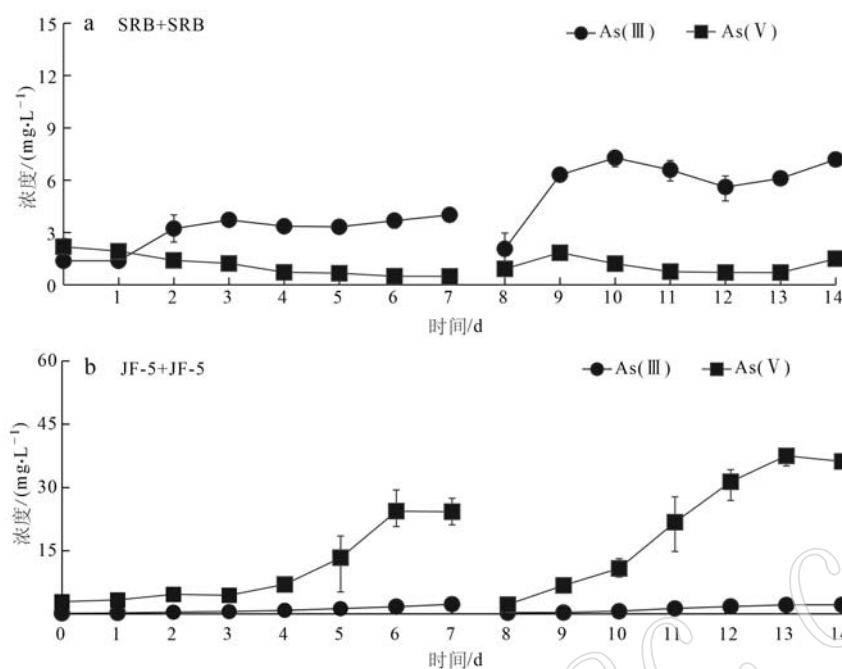


图3 摇瓶实验SRB和JF-5各单独作用两周期砷形态变化

Fig. 3 Arsenic species variations of ferrihydrite reacted with SRB and JF-5 separately under batch experiments for two cycles

第1周期提高了93.16%,两周期As总释放量为0.33 mg。如图3b所示,JF-5单独作用As-Fh时,溶液中主要以As(V)的形式存在,As(III)和As(V)浓度整体都呈现上升趋势。第1周期的前4天As-Fh中As(V)的释放相对缓慢,在第5、6天时溶液中As(V)浓度显著升高。较第4天而言,第5天As(V)浓度增加了1.90倍,第6天增加了3.48倍;第2周期JF-5作用As-Fh时,As(V)的释放效果较第1周期更加显著,溶液中As(V)浓度在第9到13天匀速升高,到第14天趋于稳定,且第2周期砷总释放量较第1周期增长了44.41%,两周期总释放量为1.62 mg。综上所述,两种还原菌单独作用As-Fh两周期,JF-5中As总释放量是SRB的4.93倍,结果表明JF-5对铁的还原(张明慧等, 2020)使As-Fh中As的释放效果比SRB还原硫酸盐(Liu *et al.*, 2022)对As释放效果更好;两种还原菌第2周作用对As-Fh中As的释放效果显著高于第1周期,表明As-Fh具有进一步释放As的潜力。

如图4所示,在摇瓶实验中,SRB与JF-5交替作用As-Fh两周期的结果表明,与单独作用相比,生物交替作用更有利于As-Fh中砷的释放。图4c为先SRB作用后JF-5作用的实验结果,第1周期SRB作用As-Fh时与图4a结果相似,初始以As(V)释放为主,由于SRB的还原作用,As(III)浓度逐渐上升,在

第4天浓度达到最高4.43 mg/L;第2周期JF-5作用As-Fh时,初始时溶液中As(III)和As(V)释放浓度均较低,作用两天后,溶液中的As(III)和As(V)的浓度均呈现出快速增长的趋势,可能第1周期SRB作用后的As-Fh更易被JF-5还原溶解,产生Fe²⁺促进了As的释放(张凯璇等, 2023),溶液中砷释放量达到0.63 mg,占As-Fh中总砷含量的17.14%。图4d为JF-5先作用SRB后作用的实验结果。第1周期JF-5作用As-Fh时,As(V)的浓度随着实验的进行快速上升,相较于图4b中JF-5第1周期作用As-Fh,该组中检测出的As(V)浓度更高,对As释放更好,有研究表明微生物活性对As释放有一定影响(杨烨, 2017);第2周期SRB作用As-Fh时,SRB还原硫酸盐产生的S²⁻可以将As(V)还原为As(III)(Zacarias-Estrada *et al.*, 2020),从而使溶液中以As(III)的形式存在为主;与图4a中SRB单独作用As-Fh的第2周期相比,图4d中As-Fh的总As释放量提升了1.74倍。综上所述,SRB与JF-5交替作用As-Fh时,JF-5+SRB操作能更有效地降低As-Fh中砷浓度,总As释放率为44.84%,释放量是SRB+JF-5操作的2.24倍。

2.2 生物交替作用后As-Fh的ATR-FTIR分析

图5是两种摇瓶实验操作过程后As-Fh的红外光谱图。1024~1092 cm⁻¹是两种生物残屑中C—O

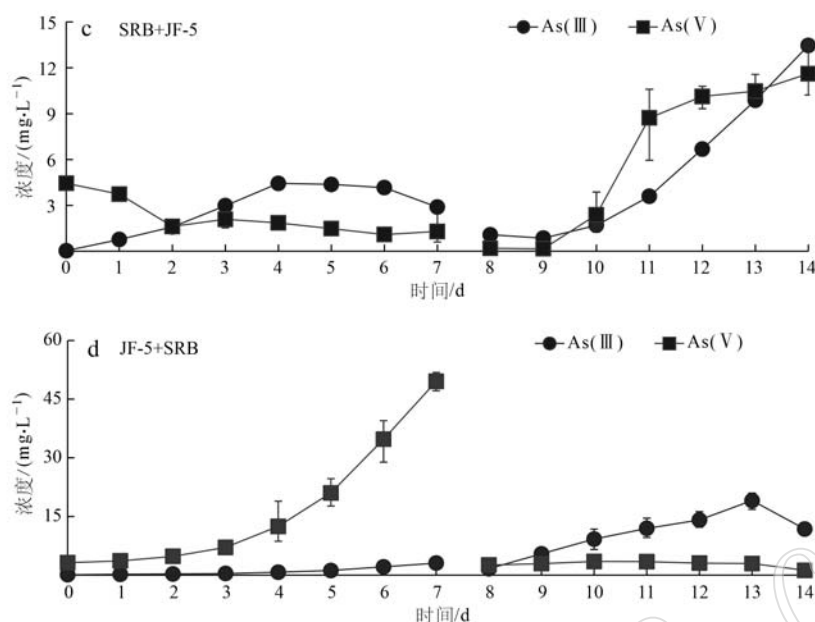


图4 摇瓶实验 SRB 和 JF-5 交替作用两周砷形态变化

Fig. 4 Arsenic morphology changes of alternating SRB and JF-5 during two cycles in shaker experiment

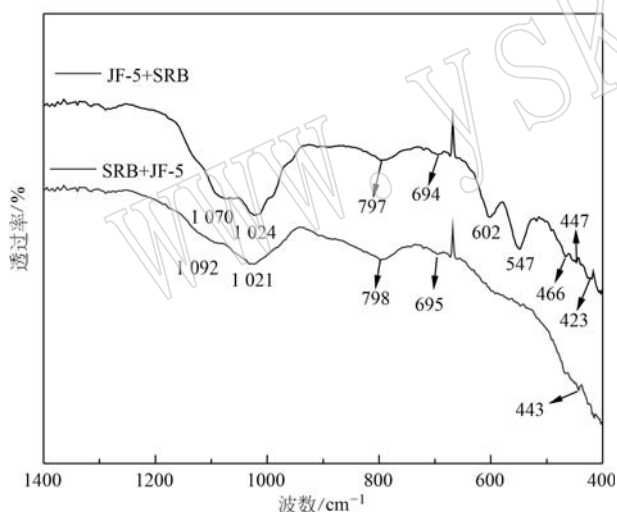


图5 摇瓶实验 SRB 和 JF-5 交替作用 As-Fh 后 ATR-FTIR 图谱

Fig. 5 ATR-FTIR profiles after alternating SRB and As-Fh with JF-5 in shake flask experiments

伸缩振动。Zhou 等(2017)和 Ren 等(2022)分别利用硫酸盐还原菌与嗜酸铁还原菌合成生物硫化亚铁(四方硫铁矿),指出 $420\sim 450\text{ cm}^{-1}$ 和 $607\sim 622\text{ cm}^{-1}$ 数个峰代表 $\text{Fe}^{2+}\text{—S}$ 和 S—S 的伸缩振动。本次研究也在两种更替操作中发现存在至少 3 个较多吸收带(447 、 443 和 423 cm^{-1}),因此可以判断处理砷的样品中均含有硫化铁成分。比较发现,JF-5+SRB 操作过

程下,这些吸收带强度要比 SRB+JF-5 操作更强,代表更多的硫化铁存在,这可能也是造成在该操作过程中处理效果更好的原因之一。另外两种样品中均出现一个宽的 797 cm^{-1} 吸收带,它是亚砷酸根的振动峰。这些表明该样品经过两种还原微生物操作均出现亚砷成分。

2.3 SRB 和 JF-5 作用过程 Eh 和 pH 值变化

图6根据砷铁 Eh-pH 相图及实测数据绘制。如图6所示,JF-5 和 SRB 作用 As-Fh 时,主要 Eh-pH 域差异明显。在厌氧条件下,SRB 作用于 As-Fh 的实验组溶液 pH 值范围在 $6.56\sim 8.01$ 之间,JF-5 实验组 pH 值在 $1.83\sim 2.05$ 之间。低 pH 值能促进次生矿物中砷的释放(徐诗琦,2017)。根据 Eh 值可以明显看出 SRB 的还原能力强于 JF-5,强还原性能使 SRB 作用中后期以 As(III) 释放为主。摇瓶实验中,JF-5 作用 As-Fh 时主要存在 Fe^{2+} 、 H_3AsO_3 和雄黄 As_2S_2 矿物相,SRB 作用 As-Fh 时主要以雄黄 As_2S_2 与 Fe_3O_4 矿物相存在。研究表明,SRB 还原砷过程主要是通过生物歧化反应,将有机物中电子转移到水溶液态砷,并引起 As(V) 还原 As(III), SO_4^{2-} 还原为 S^{2-} ,并形成硫化砷(Liu *et al.*, 2022);同时 SRB 生成的 H_2S 也具有强的还原性。JF-5 还原性较弱,只能将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} ,但对铁矿物溶解性较强(Kusel *et al.*, 2002)。已有文献表明,还原微生物能够引起

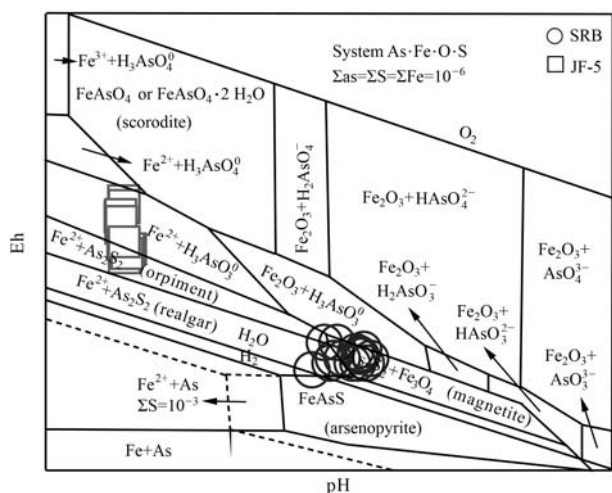


图6 摇瓶实验SRB和JF-5作用As-Fh的Fe-As形态

Eh-pH图

Fig. 6 Eh-pH diagram of Fe-As species of As-Fh reacted by SRB and JF-5 in shaker experiment

含砷水铁矿次生矿化,形成诸如硫化砷 As_2S_3 、蓝铁矿 $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 等矿物 (Newman *et al.*, 1997; Peretyazhko *et al.*, 2010)。

2.4 As-Fh 柱不同层位剖面 As 浓度变化

如图7所示,SRB作用As-Fh柱时,3个剖面As浓度整体变化趋势一致,不同层位剖面的As(Ⅲ)和As(V)浓度表现为上剖面>中剖面>下剖面,表明As-Fh中释放出的As流动性较强;SRB作用As-Fh柱体系之初以As(V)释放为主,各剖面As(V)浓度均随实验进行而逐渐下降,在第8天到第9天浓度有所提高,可能受第7天结束时重新注入的菌液的影响;随着SRB生长还原性增强,As-Fh释放的部分As(V)被还原为As(Ⅲ),As(Ⅲ)的浓度开始升高,3个剖面As(Ⅲ)释放浓度均在第6天达到峰值,最高浓度为353 $\mu\text{g/L}$ 。

图8为JF-5作用As-Fh柱不同层位剖面As(Ⅲ)和As(V)浓度变化结果,整体上看柱内上剖面As(Ⅲ)和As(V)的浓度略高于其他两剖面。JF-5作用柱主要以As(V)释放为主,As(V)浓度范围在106~659 $\mu\text{g/L}$,随作用时间有一定的波动性,在第4、6、8天释放浓度相对较高;实验过程中As(Ⅲ)整体释放浓度较低,浓度在7~68 $\mu\text{g/L}$ 之间,主要原因为JF-5还原性较弱,且As-Fh中As主要以As(V)形式

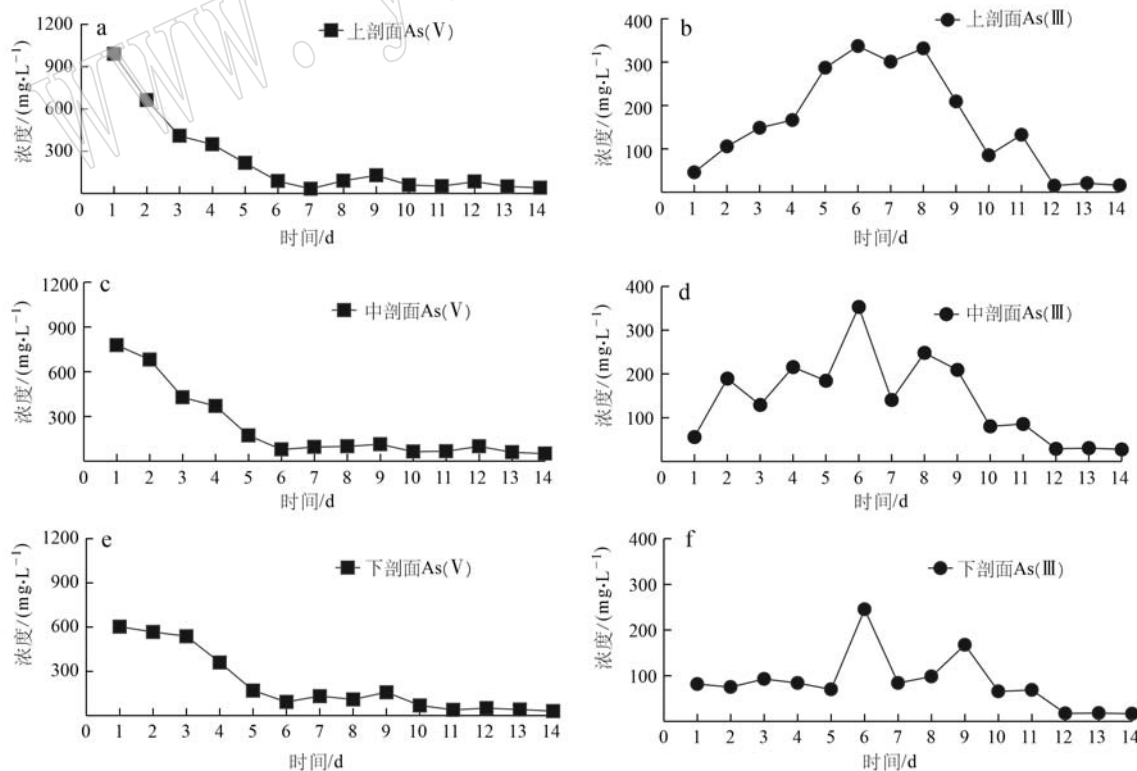


图7 柱实验SRB作用时剖面As(Ⅲ)和As(V)的变化

Fig. 7 Arsenic (Ⅲ) and arsenic(V) concentrations of profiles of column experiment under SRB circumstance

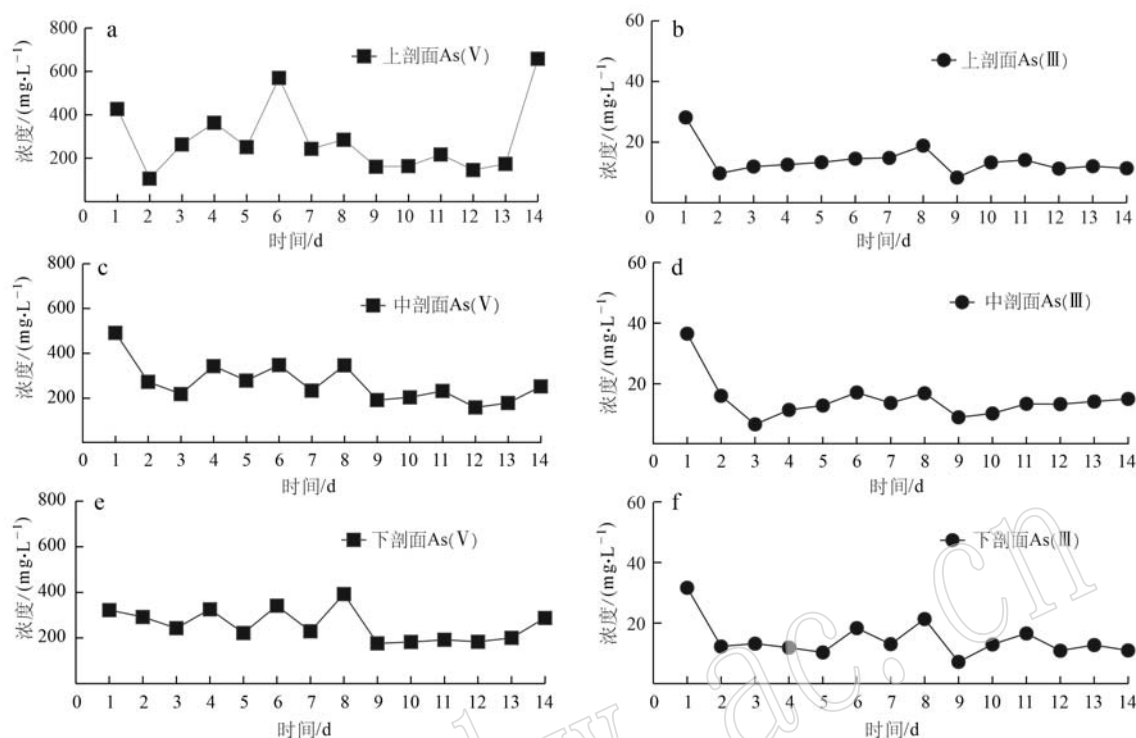


图8 柱实验 JF-5 作用时剖面 As(Ⅲ)和 As(V)的变化

Fig. 8 Changes of As(Ⅲ) and As(V) concentrations of profiles in column experiment under JF-5 circumstance

存在,通过盐酸消解实验表明每克 As-Fh 仅含有 0.79 mg 的 As(Ⅲ)(Ren *et al.*, 2022)。

综合两种微生物各个剖面 As 释放情况表明,在模拟地下多孔介质环境的 As-Fh 柱中,与 JF-5 作用相比,SRB 对 As-Fh 柱中 As 释放和还原的效果更显著,且上、中和下层位释放趋势一致。

2.5 As-Fh 柱总 As 累计释放量变化

如图9所示,在 SRB 和 JF-5 分别作用 As-Fh 柱时,总 As 释放量随作用时间逐渐趋于稳定。SRB 作用 As-Fh 柱时对 As 的释放量明显高于 JF-5 作用,最大释放量为 4.40 mg,占柱内 As-Fh 中 As 总量的 24.03%。JF-5 作用 As-Fh 时柱内总砷的释放率只有 18.45%,这与厌氧淹水体系中 JF-5 对砷的释放量高于 SRB 的结果相反。主要原因可能是:① 相对于摇瓶实验的厌氧环境,柱体系的环境可能不利于 JF-5 的生长;② 硫酸盐还原菌或铁还原菌均能分解 As-Fh 中部分铁氧化物,使吸附态和铁氧化物结合态砷部分释放到溶液中(Jones *et al.*, 2006; 谢芸芸等, 2013),JF-5 对矿物溶解迁移性更强,使检测到的 As-Fh 柱中 As 浓度降低。

2.6 As-Fh 柱渗透性及悬浮颗粒物变化

图10是柱实验中 SRB 和 JF-5 作用体系的压力

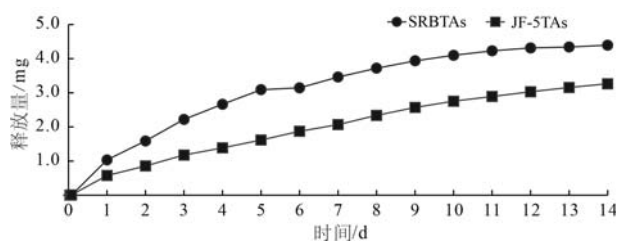


图9 SRB 和 JF-5 分别作用 As-Fh 柱总砷累积释放量

Fig. 9 Cumulative arsenic release from As-Fh column by SRB and JF-5 respectively

变化示意图。系统的水力传导率是反映体系渗透性变化的关键因素。Darcy 定律用饱和水力导电率来描述柱的渗透率(Liu *et al.*, 2013)。实验中石英砂柱的孔隙度为 34%,由蠕动泵通入溶液的流量是恒定的,故水压差越大,渗透性越差,影响 As-Fh 中 As 的释放。与 JF-5 相比,SRB 作用 As-Fh 时具有较好的渗透性,两种操作之间存在显著的差异,平均水压差 SRB(0.51 psi) < JF-5(2.22 psi)。在 JF-5 作用 As-Fh 柱时水压差浮动较大,在第2阶段可以观察到水压差明显上升。研究表明,酸性环境中 JF-5 可以将 Fe³⁺ 还原为 Fe²⁺ 促进铁氧矿物溶解(Gonzalez

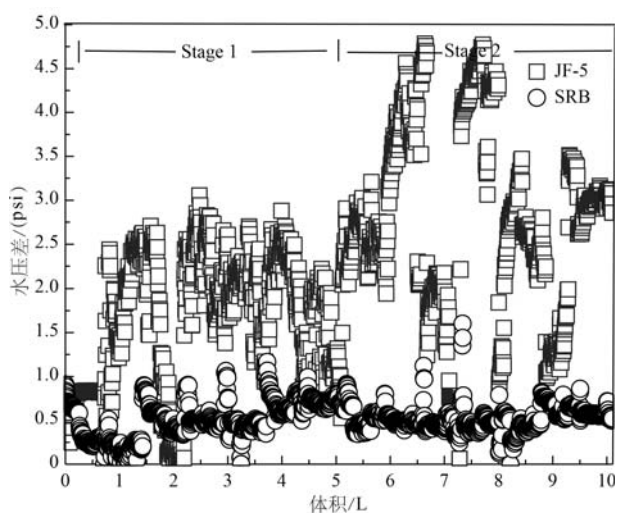


图 10 柱实验 SRB 和 JF-5 体系水压差变化
(孔隙度 34%, 流速 0.5 mL/min)

Fig. 10 Changes of water pressure difference between SRB and JF-5 systems in column experiment (porosity 34%, flow rate 0.5 mL/min)

et al., 2015), 使溶液中产生大量铁系胶体导致柱压升高渗透性降低。当 SRB 作用时, 水压整体相对稳

定, 在溶液体积累计至 1.5 L 后水压差有一定的升高, 可能是 SRB 还原产生的 S^{2-} 与 Fe^{2+} 结合生成硫化亚铁 (FeS_x) 等次生矿物, 影响了柱内的渗透性 (Alam and Mephedran, 2019)。

如图 11 所示, 在 As-Fh 柱中, JF-5 作用时体系内各层位的悬浮颗粒物浓度均远高于 SRB 体系, 柱内产生了更多的颗粒物影响了柱体的渗透性, 与图 10 中 JF-5 作用柱水压差高于 SRB 相印证。在 JF-5 作用的柱实验中 3 个剖面平均悬浮颗粒物浓度为 1 419 mg/L 是 SRB 作用体系下的 7.25 倍, 这可能是 JF-5 将 As-Fh 部分溶解为更小颗粒的矿物随培养液的通入持续迁移 (Zhang *et al.*, 2009), 同时柱内还原 Fe^{3+} 形成更多的铁系胶体, 使体系中颗粒物增加 (Silva *et al.*, 2012), 水压差上升。SRB 体系 3 个剖面的悬浮颗粒物浓度呈现出先增后减, 并在第 6 天浓度达到峰值, 同时与柱内各剖面层位 As(III) 释放规律相吻合。已有研究表明, 硫酸盐还原菌可介导水铁矿相转化, 形成马基诺矿和磁铁矿等次生矿物 (祝紫莹等, 2022), 这些次生矿物的生成是体系颗粒物增加的主要原因。

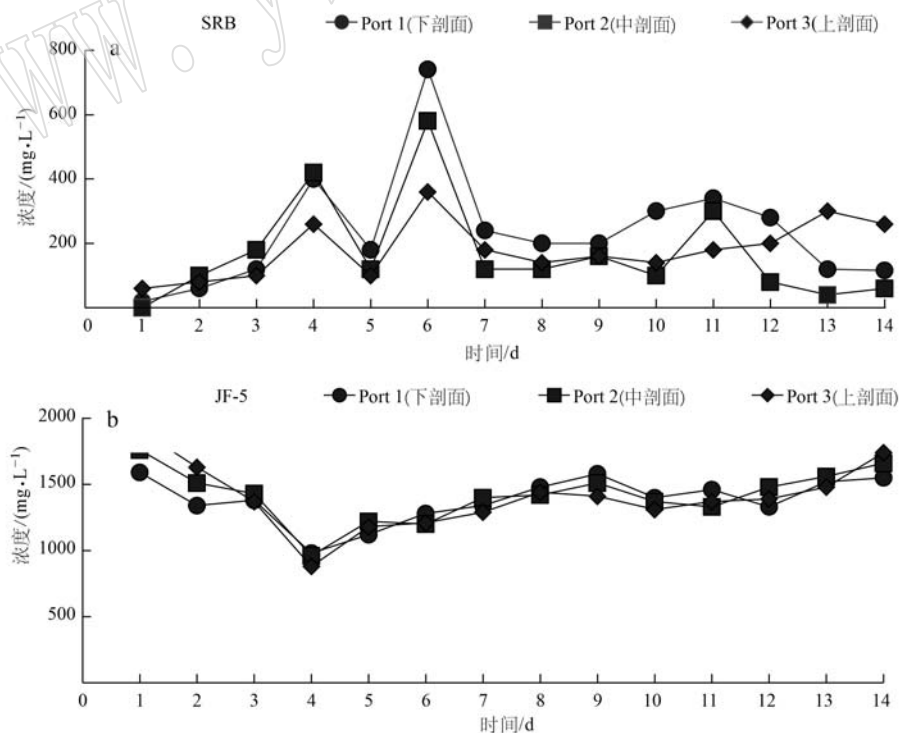


图 11 柱实验 SRB 和 JF-5 剖面悬浮颗粒物浓度变化

Fig. 11 Column experiment SRB and JF-5 profile suspended particulate concentration changes variations of suspended particulate from profiles of column experiments for SRB and JF-5 circumstance

3 结论

利用硫酸盐还原菌(SRB)和嗜酸铁还原菌(JF-5)生物还原技术,模拟厌氧淹水和地下多孔介质环境中对含砷水铁矿(As-Fh)中As释放及渗透性进行了研究,主要结论有:

(1) 摇瓶实验结果表明,单独作用时,JF-5对As-Fh释放As效果更好,是SRB作用的4.93倍;联合作用时,两种还原菌不同作用顺序对As-Fh(含As 36.6 mg/g)总砷释放量:JF-5+SRB操作(16.4 mg/g)>JF-5+JF-5操作(16.2 mg/g)>SRB+JF-5操作(7.3 mg/g)>SRB+SRB操作(3.3 mg/g),JF-5+SRB操作对As-Fh中As的释放效果最好,达到44.84%。

(2) 生物注入As-Fh柱实验表明,在多孔介质环境中SRB对As释放效果更好,对As-Fh中As的释放量(8.8 mg/g)高于JF-5作用(6.5 mg/g)。

(3) As-Fh柱中,SRB作用时体系渗透性更好,平均水压差SRB(0.51 psi)<JF-5(2.22 psi);JF-5作用柱剖面悬浮颗粒物浓度为1 419 mg/L是SRB作用时的7.25倍,是影响柱内渗透性的主要原因。

References

- Abia II T S. 2011. In Situ Iron Oxide Emplacement for Groundwater Arsenic Remediation[D]. Texas A&M University.
- Alam R and Mcphedran K. 2019. Applications of biological sulfate reduction for remediation of arsenic[J]. *Chemosphere*, 222: 932~944.
- Burton E D, Johnston S G and Planer-Friedrich B. 2013. Coupling of arsenic mobility to sulfur transformations during microbial sulfate reduction in the presence and absence of humic acid[J]. *Chemical Geology*, 343: 12~24.
- Cano-Aguilera I, Haque N, Morrison G M, *et al.* 2005. Use of hydride generation-atomic absorption spectrometry to determine the effects of hard ions, iron salts and humic substances on arsenic sorption to sorghum biomass[J]. *Microchemical Journal*, 81(1): 57~60.
- Carlson L, Bigham J M, Schwertmann U, *et al.* 2002. Scavenging of As from acid mine drainage by schwertmannite and ferrihydrite: A comparison with synthetic analogues[J]. *Environmental Science & Technology*, 36(8): 1 712~1 719.
- Cheng Z Q, Van Geen A, Louis R, *et al.* 2005. Removal of methylated arsenic in groundwater with iron filings[J]. *Environmental Science & Technology*, 39(19): 7 662~7 666.
- Clifford D A and Ghurye G L. 2002. Metal-oxide adsorption, ion exchange, and coagulation-microfiltration for arsenic removal from water[J]. *Environmental Chemistry of Arsenic*, 217~245.
- Cummings D E, Fendorf S, Singh N, *et al.* 2007. Reduction of Cr(VI) under acidic conditions by the facultative Fe(III)-reducing bacterium *Acidiphilium cryptum*[J]. *Environmental Science & Technology*, 41(1): 146~152.
- Erbs J J, Berquo T S, Reinsch B C, *et al.* 2010. Reductive dissolution of arsenic-bearing ferrihydrite[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74(12): 3 382~3 395.
- Fan L J, Zhao F H, Liu J, *et al.* 2018. The As behavior of natural arsenical-containing colloidal ferric oxyhydroxide reacted with sulfate reducing bacteria[J]. *Chemical Engineering Journal*, 332: 183~191.
- Gonzalez E, Espada A, Munoz J A, *et al.* 2015. Reductive dissolution of magnetite and jarosite by *Acidiphilium cryptum* JF-5[J]. *Hydrometallurgy*, 157: 292~297.
- Hansel C M, Benner S G, Neiss J, *et al.* 2003. Secondary mineralization pathways induced by dissimilatory iron reduction of ferrihydrite under advective flow[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(16): 2 977~2 992.
- Heimann A C, Blodau C, Postma D, *et al.* 2007. Hydrogen thresholds and steady-state concentrations associated with microbial arsenate respiration[J]. *Environmental Science & Technology*, 41(7): 2 311~2 317.
- Hiemstra T. 2013. Surface and mineral structure of ferrihydrite[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 105: 316~325.
- Jiang S, Lee J H, Kim D, *et al.* 2013. Differential arsenic mobilization from As-bearing ferrihydrite by iron-respiring shewanella strains with different arsenic-reducing activities[J]. *Environmental Science & Technology*, 47(15): 8 616~8 623.
- Jones E J P, Nadeau T L, Voytek M A, *et al.* 2006. Role of microbial iron reduction in the dissolution of iron hydroxysulfate minerals[J]. *Journal of Geophysical Research-Biogeosciences*, 111(G1): 277~282.
- Kober R, Daus B, Ebert M, *et al.* 2005. Compost-based permeable reactive barriers for the source treatment of arsenic contaminations in aquifers: Column studies and solid-phase investigations[J]. *Environmental Science & Technology*, 39(19): 7 650~7 655.
- Kocar B D, Herbel M J, Tufano K J, *et al.* 2006. Contrasting effects of dissimilatory iron(III) and arsenic(V) reduction on arsenic retention and transport[J]. *Environmental Science & Technology*, 40

- (21): 6 715~6 721.
- Küsel K, Dorsch T, Acker G, *et al.* 1999. Microbial reduction of Fe (Ⅲ) in acidic sediments; Isolation of *Acidiphilium cryptum* JF-5 capable of coupling the reduction of Fe(Ⅲ) to the oxidation of glucose[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8): 3 633~3 640.
- Küsel K, Roth U and Drake H L. 2002. Microbial reduction of Fe(Ⅲ) in the presence of oxygen under low pH conditions[J]. *Environmental Microbiology*, 4(7): 414~421.
- Liu E Y, Yang Y, Xie Z M, *et al.* 2022. Influence of Sulfate Reduction on Arsenic Migration and Transformation in Groundwater Environment[J]. *Water*, 14(6): 942.
- Liu J, Cheng H, Zhao F, *et al.* 2013. Effect of reactive bed mineralogy on arsenic retention and permeability of synthetic arsenic-containing acid mine drainage[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 394: 530~538.
- Liu J, Zhou L, Dong F Q, *et al.* 2017. Enhancing As(V) adsorption and passivation using biologically formed nano-sized FeS coatings on limestone; Implications for acid mine drainage treatment and neutralization[J]. *Chemosphere*, 168: 529~538.
- Liu Wei, Hu Jundogn and Lu Guohui. 2020. Assessment of arsenic contamination and risk in Shimen realgar mine[J]. *Journal of Hunan University of Science and Technology (Natural Science Edition)*, 35(4): 96~102 (in Chinese with English abstract).
- Liu Y B, Zhang B Y, Han Y H, *et al.* 2023. Involvement of exogenous arsenic-reducing bacteria in root surface biofilmformation promoted phytoextraction of arsenic[J]. *Science of the Total Environment*, 858: 160158.
- Liu Yanyang, Chen Zhiwei, Jiang Chengying, *et al.* 2007. Isolation and identification of an acidophilic heterotrophic bacterium *Acidiphilium* sp. and its study of Fe (Ⅲ) metabolism[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, (2): 350~354 (in Chinese with English abstract).
- Masue-Slowey Y, Kocar B D, Jofre S B, *et al.* 2011. Transport implications resulting from internal redistribution of arsenic and iron within constructed soil aggregates[J]. *Environmental Science & Technology*, 45(2): 582~588.
- Mazumder P, Sharma S K, Taki K, *et al.* 2020. Microbes involved in arsenic mobilization and respiration; a review on isolation, identification, isolates and implications[J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 42(10): 3 443~3 469.
- Méndez J. 2020. Ion Complexation Modelling of Ferrihydrite; From Fundamentals of Metal (Hydr) Oxide Nanoparticles to Applications in Soil Systems[D]. Wageningen University.
- Mulligan C N and Yong R N. 2004. Natural attenuation of contaminated soils[J]. *Environment International*, 30(4): 587~601.
- Newman D K, Beveridge T J and Morel F M M. 1997. Precipitation of arsenic trisulfide by *Desulfotomaculum auripigmentum* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(5): 2 022~2 028.
- Pierce M L and Moore C B. 1982. Adsorption of arsenite and arsenate on amorphous iron hydroxide[J]. *Water Research*, 16(7): 1 247~1 253.
- Peretyazhko T S, Zachara J M, Kennedy D W, *et al.* 2010. Ferrous phosphate surface precipitates resulting from the reduction of intra-grain 6-line ferrihydrite by *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74(13): 3 751~3 767.
- Ren X, Yan N Z, Chen S, *et al.* 2022. Remediation of arsenic-containing ferrihydrite in soil using iron- and sulfate-reducing bacteria; Implications for microbially-assisted clean technology[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(6): 108876.
- Silva J, De Mello J W V, Gasparon M, *et al.* 2012. Effects of competing anions and iron bioreduction on arsenic desorption[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 223(9): 5 707~5 717.
- Xie Yunyun, Chen Tianhu, Zhou Yuefei, *et al.* 2013. Effect of the interaction of microorganisms and iron oxides on arsenic releasing into groundwater in Chinese loess[J]. *Environmental Science*, 34(10): 3 940~3 944 (in Chinese with English abstract).
- Xu Shiqi. 2017. Study on Bench and Pilot-scale Stabilization Mechanism of Arsenic in Realgar Tailings[D]. Huazhong University of Science and Technology (in Chinese with English abstract).
- Yan Wenming, Jiang Chao, Chen Xiang, *et al.* 2022. Effect of two covering agents on passivation of simulated arsenic contaminated sediments by microscale techniques[J]. *Environmental Engineering*, 40(11): 127~133, 151 (in Chinese with English abstract).
- Yang Ye. 2017. Diversity and Functional Characterization of the Genes and Microorganisms Involved in Arsenite Oxidation from the Extreme Environments and Their Influence on Arsenic Release[D]. China University of Geosciences (in Chinese with English abstract).
- Yang Zhonglan, Zeng Xibai, Sun Benhua, *et al.* 2020. Research progress on the stability of ferrihydrite structure and its application in arsenic fixation[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 39(3): 445~453 (in Chinese with English abstract).
- Zacarias-Estrada O L, Ballinas-Casarrubias L, Montero-Cabrera M E, *et al.* 2020. Arsenic removal and activity of a sulfate reducing bacteria-enriched anaerobic sludge using zero valent iron as electron donor [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 384: 121392.
- Zhang Kaixuan, Zhang Chipeng, Wu Pan, *et al.* 2023. Effect of iron-

reducing bacteria on soil colloidal adsorption and release of arsenic [J]. *Earth and Environment*, 51(1): 108~116 (in Chinese with English abstract).

Zhang Minghui and Liu Jing. 2020. A study of the release behavior of arsenic in tailings of Shimen realgar mining area by redox organisms [J]. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 39(2): 203~210 (in Chinese with English abstract).

Zhang M N, Dale J R, Dichristina T J, *et al.* 2009. Dissolution morphology of iron (oxy) (hydr)oxides exposed to the dissimilatory iron-reducing bacterium *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Geomicrobiology Journal*, 26(2): 83~92.

Zhang T, Chen X Y, Wang Y, *et al.* 2022. The stability of poorly crystalline arsenical ferrihydrite after long-term soil suspension incubation [J]. *Chemosphere*, 291: 132844.

Zhang Xiaoping, Wu Zhihua, Chen Jiamu, *et al.* 2022. Occurrence state and migration mechanism of arsenic in metal mines[J]. *Bulletin of Geological Science and Technology*, 41(4): 138~148 (in Chinese with English abstract).

Zhong Songxiong, Yin Guangcai, He Hongfei, *et al.* 2017. Stabilization effect of arsenic by different iron minerals in paddy soils and the related mechanism[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 37(5): 1 931~1 938 (in Chinese with English abstract).

Zhou L, Liu J and Dong F Q. 2017. Spectroscopic study on biological mackinawite (FeS) synthesized by ferric reducing bacteria (FRB) and sulfate reducing bacteria (SRB): Implications for in-situ remediation of acid mine drainage[J]. *Spectrochimica Acta Part A—Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 173: 544~548.

Zhu Ziyang, Liu Qianqian, Deng Yanping, *et al.* 2022. Phase transition characteristics of ferrihydrite mediated by sulfate-reducing bacteria and the effect of its products on Cr(VI) fixation[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 42(12): 231~240 (in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

刘 巍, 胡俊栋, 路国慧. 2020. 石门雄黄矿区砷污染水平及风险评估[J]. *湖南科技大学学报(自然科学版)*, 35(4): 96~102.

刘艳阳, 陈志伟, 姜成英, 等. 2007. 一株嗜酸化能异养菌 *Acidiphilium* sp. 的分离鉴定及其对 Fe(Ⅲ) 代谢的研究[J]. *微生物学报*, (2): 350~354.

谢芸芸, 陈天虎, 周跃飞, 等. 2013. 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*, 34(10): 3 940~3 944.

徐诗琦. 2017. 雄黄尾矿中砷的稳定化机理及其中试研究[D]. 华中科技大学.

燕文明, 蒋 超, 陈 翔, 等. 2022. 基于微尺度技术精准评估 2 种覆盖剂对砷的钝化效果[J]. *环境工程*, 40(11): 127~133, 151.

杨 烨. 2017. 极端环境砷氧化微生物多样性、活性特征及其对砷释放的影响[D]. 中国地质大学.

杨忠兰, 曾希柏, 孙本华, 等. 2020. 水铁矿结构稳定性及对砷固定研究与展望[J]. *农业环境科学学报*, 39(03): 445~453.

张凯璇, 张翊鹏, 吴 攀, 等. 2023. 铁还原菌对土壤胶体吸附与释放砷的影响[J]. *地球与环境*, 51(1): 108~116.

张明慧, 刘 璟. 2020. 氧化还原生物对石门雄黄矿区尾矿砷释放行为研究[J]. *岩石矿物学杂志*, 39(2): 203~210.

张晓平, 吴志华, 陈佳木, 等. 2022. 砷在金属矿山中的赋存形态及迁移机制[J]. *地质科技通报*, 41(4): 138~148.

钟松雄, 尹光彩, 何宏飞, 等. 2017. 不同铁矿物对水稻土砷的稳定化效果及机制[J]. *环境科学学报*, 37(5): 1 931~1 938.

祝紫莹, 刘倩倩, 邓燕萍, 等. 2022. 硫酸盐还原菌介导水铁矿相转化特征及其产物对 Cr(VI) 固存的影响[J]. *环境科学学报*, 42(12): 231~240.