

分类号: X53
密 级: 无

单位代码: 10430
学 号: 2023045203



山东建筑大学

Shandong Jianzhu University

硕士学位论文

(专业学位)

论文题目: 法桐落叶水热碳与土壤微生物协同作用下的
重金属污染土壤治理研究

Remediation of Heavy Metal-Contaminated
Soil Using Hydrochar from Fallen Leaves of
Platanus in Synergy with Soil

研究生姓名	王秉灏
专业名称	环境工程
学习形式	全日制
校内导师姓名	朱丽
校外导师姓名	张树霞
学 院	市政与环境工程学院
论文提交日期	2026.06

2026年6月1日

山东建筑大学硕士学位论文题目

法桐落叶水热碳与土壤微生物协同作用下的重金属
污染土壤治理研究

山东省自然科学基金资助项目（ZR2024ME129）

计：学位论文 82 页
表 格 7 个
插 图 30 幅

评 阅 人： 盲审

盲审

指 导 教 师： 朱丽

学 院 院 长： 母锐敏

学位论文完成日期： 2026 年 6 月

原创性声明

本人郑重声明：所提交的学位论文是本人在导师的指导下，独立进行研究取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，论文中不含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得山东建筑大学或其他教育机构的学位证书而使用过的材料。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人承担本声明的法律责任。

学位论文作者签名：王秉灏 日期 2026.6.1

学位论文使用授权声明

本学位论文作者完全了解山东建筑大学有关保留、使用学位论文的规定，即：山东建筑大学有权保留并向国家有关部门或机构送交学位论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权山东建筑大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或其它手段保存、汇编学位论文。

保密论文在解密后应遵守此声明。

学位论文作者签名：王秉灏 日期 2026.6.1

导 师 签 名：朱丽 日期 2026.6.1

摘要

随着工业化与城市化进程加快,土壤重金属污染问题日益突出,其中铬污染因毒性高、迁移性高、环境行为复杂而备受关注。与三价铬相比,六价铬 Cr(VI) 具有更高的水溶性、生物有效性和生态毒性,不仅易在土壤-水体体系中迁移转化,还可通过食物链累积对生态安全和人体健康构成持续威胁。当前,针对 Cr 污染土壤的修复虽然已形成物理、化学和生物等多种技术路径,但单一修复方式普遍存在成本偏高、稳定化效果有限、长期风险控制不足或微生物适应性较弱等问题。固化/稳定化因其原位实施便捷、扰动较小和工程适用性较强,被认为是最具应用前景的土壤重金属修复策略之一,而功能修复材料的构建则是决定其修复效果的关键。与此同时,法桐落叶作为城市园林绿化过程中大量产生的典型生物质废弃物,具有来源广泛、季节性集中、收集便利和木质纤维素含量较高等特点,若处置不当易带来清运和环境管理压力,若实现高值转化,则兼具废弃物资源化与环境修复双重意义。

水热碳化技术能够在相对温和的温压条件下,以水为反应介质直接处理高含水率生物质,通过水解、脱水、脱羧、缩合和芳构化等过程制备富碳固体产物。相较于传统热解炭,水热炭更适用于湿态生物质原料,且通常保留较多含氧官能团和部分矿物组分,在金属离子吸附、表面络合、离子交换及界面反应调控方面具有潜在优势。基于此,本研究以法桐落叶为生物质原料,采用 $180\text{--}260^\circ\text{C}$ 梯度水热碳化制备系列水热炭,系统考察其理化结构演化与重金属固定潜力;进一步从 Cr 污染土壤中分离筛选优势功能菌株,构建水热炭基微生物菌剂 PHC-EM,并结合吸附实验、盆栽试验、土柱淋溶试验及宏基因组分析,系统评估其对 Cr 单一污染及 Pb-Ni-Cr 复合污染土壤的修复效果、迁移风险控制能力及作用机制。研究的核心目的在于阐明法桐落叶水热炭的结构特征与固定作用基础,明确炭基菌剂在提高菌体稳定性、强化重金属固定和抑制迁移释放方面的优势,并从材料作用、微生物强化与土壤过程响应三个层面揭示炭-菌协同修复机制。本研究主要内容如下:

(1) 水热温度显著影响法桐落叶水热炭的结构特征与界面反应能力。综合炭结构演化、孔隙特征、表面官能团及表面电性分析, 220°C 制备样品在材料结构稳定性与反应活性之间取得了较优平衡,其比表面积和总孔容分别达到 $51.93\text{ m}^2/\text{g}$ 和 $0.12\text{ cm}^3/\text{g}$, O/C 为 0.34,且在 $\text{pH}>4.5$ 条件下表面 Zeta 电位稳定维持在约 -17 至 -18 mV ,表现出较好的孔隙结构、官能团保留特征和界面吸附潜力,因此被选作后续微生物固定化载体。

(2) 在菌剂构建方面,从 Cr 污染土壤中分离获得的优势真菌菌株 EM 经鉴定为

Talaromyces sp., 并成功负载于法桐落叶水热碳表面形成 PHC-EM。材料由单一炭界面转变为具有多层次反应位点的炭-菌复合界面, 且显著提高了菌剂储存稳定性, 在 4 °C 储存 28 d 后 PHC-EM 的存活率相对游离菌提高了 19.88%。初始 pH 对 Cr 吸附具有重要影响, PHC 与 PHC-EM 均在 pH 3 条件下表现出最佳吸附能力, PHC-EM 较单独 PHC 处理提高了 61.9%。根据吸附动力学和等温线研究, 对 Cr 在固定过程中两者都以表面化学反应占主导地位, 但 PHC 偏向于单层吸附, PHC-EM 则更偏向于多层吸附和异质吸附。

(3) 土壤修复试验进一步验证炭-菌协同体系在复杂环境中的应用潜力。单一 Cr 污染条件下, 49d 时 1%PHC 处理的有效态 Cr 固定率为 17.94%, 而 PHC-EM 处理提高至 35.88%; 引入植物后, 植物+1%PHC-EM 处理在第 21 天达到 59.34%的最高固定率, 根际作用进一步促进炭-菌协同修复效应。此外, PHC-EM 显著改善了污染土壤的理化性质, CEC 最高达到 98.47cmol⁺/kg, 较单独 PHC 提高 44.2%; SOM 最高达到 8.72%, 高于 PHC 处理的 8.07%, 炭-菌体系在促进 Cr 固定的同时通过优化土壤界面环境提升其持续修复潜力。

(4) 在迁移风险控制方面, PHC-EM 同样表现出优于单独材料的长期稳定化能力。淋溶结束时, PHC-EM 较 CK、HM-PHC 和 PHC 分别降低 80.3%、86.7%和 74.8%; BCR 连续提取结果表明, PHC-EM 显著促进 Cr 由活性态向稳定态转化, 末次淋溶时 F1 降至 4.51%, 而 F3 再升至 70.11%。复合污染条件下, 整体迁移强度表现为 Ni>Pb>Cr, 多金属共存会加剧竞争吸附和迁移风险。此外, 通过宏基因组分析, PHC 和 PHC-EM 均可调节污染土壤微生物群落结构与功能分配, 但 PHC-EM 的调控作用更为显著, 推动群落功能由基础代谢维持向跨膜运输、金属稳态调节、抗氧化防御和环境胁迫适应方向增强, 从微生态层面支撑 Cr 稳定化与迁移风险削减。

关键词: Cr 污染土壤, 水热碳, 炭基微生物菌剂, 迁移风险控制, 稳定化修复

ABSTRACT

With the acceleration of industrialization and urbanization, heavy metal contamination in soils has become increasingly severe, among which chromium pollution has attracted particular attention because of its high toxicity, strong mobility, and complex environmental behavior. Compared with trivalent chromium, hexavalent chromium [Cr(VI)] exhibits greater water solubility, bioavailability, and ecotoxicity. It can readily migrate and transform within the soil–water system and may further accumulate through the food chain, thereby posing persistent threats to ecological security and human health. Although multiple remediation approaches for Cr-contaminated soils have been developed, including physical, chemical, and biological methods, single-strategy remediation generally suffers from high cost, limited stabilization efficiency, insufficient long-term risk control, or poor microbial adaptability. Owing to its convenience for in situ application, low disturbance to the soil matrix, and strong engineering applicability, solidification/stabilization is regarded as one of the most promising strategies for the remediation of heavy metal-contaminated soils, while the development of functional remediation materials remains central to its effectiveness. Meanwhile, fallen leaves of *Platanus acerifolia*, a typical biomass waste generated in large quantities during urban landscaping, are characterized by abundant availability, pronounced seasonal accumulation, ease of collection, and high lignocellulosic content. Inadequate disposal of this biomass can impose considerable pressure on collection, transportation, and environmental management, whereas its value-added conversion would simultaneously promote waste valorization and environmental remediation.

Hydrothermal carbonization (HTC) can directly process high-moisture biomass under relatively mild temperature and pressure conditions, using water as the reaction medium to produce carbon-rich solid products through hydrolysis, dehydration, decarboxylation, condensation, and aromatization. Compared with conventional pyrolytic biochar, hydrochar is better suited to wet biomass feedstocks and typically retains more oxygen-containing functional groups and certain mineral components, thereby offering potential advantages in metal ion adsorption, surface complexation, ion exchange, and interfacial reaction regulation. Against this background, fallen leaves of *Platanus acerifolia* were selected as the biomass precursor, and a series of hydrochars were prepared via gradient HTC at 180–260 °C. Their physicochemical structural evolution and heavy metal immobilization potential were systematically investigated. In parallel, a dominant functional microbial strain was isolated from Cr-contaminated soil to construct a hydrochar-based microbial agent, PHC-EM.

Combined adsorption experiments, pot trials, soil-column leaching tests, and metagenomic analysis were then employed to comprehensively evaluate its remediation performance, migration-risk control capacity, and underlying mechanisms in soils contaminated with Cr alone and with mixed Pb–Ni–Cr pollution. The central objectives were to clarify the structural characteristics of hydrochar derived from *P. acerifolia* leaves and the basis of its immobilization behavior, to determine the advantages of the hydrochar-based microbial agent in improving microbial stability, strengthening heavy metal fixation, and suppressing metal release and migration, and to elucidate the synergistic remediation mechanism of the hydrochar–microbe system from three interconnected dimensions: material function, microbial reinforcement, and soil-process response. The main findings are as follows:

(1) Hydrothermal temperature markedly influenced the structural characteristics and interfacial reactivity of hydrochar derived from *P. acerifolia* leaves. Integrating analyses of carbon structural evolution, pore characteristics, surface functional groups, and surface charge revealed that the sample prepared at 220 °C achieved the most favorable balance between structural stability and reactivity. Its specific surface area and total pore volume reached 51.931 m²/g and 0.119 cm³/g, respectively, with an O/C ratio of 0.34. Moreover, its surface zeta potential remained stably at approximately –17 to –18 mV when pH exceeded 4.5, indicating desirable pore properties, effective retention of functional groups, and considerable interfacial adsorption potential. It was therefore selected as the carrier for subsequent microbial immobilization.

(2) For microbial-agent construction, the dominant fungal strain EM isolated from Cr-contaminated soil was identified as *Talaromyces* sp. and successfully loaded onto the surface of hydrochar derived from *P. acerifolia* leaves, forming PHC-EM. This transformation converted a single carbon interface into a hydrochar–microbe composite interface with multi-level reactive sites and significantly enhanced storage stability; after storage at 4 °C for 28 d, the survival rate of PHC-EM was 19.88% higher than that of the free strain. Initial pH exerted a pronounced effect on Cr removal, and both PHC and PHC-EM exhibited their optimal performance at pH 3, with PHC-EM achieving a 61.9% increase relative to PHC alone. Kinetic and isotherm analyses indicated that surface chemical reactions dominated Cr immobilization in both systems; however, PHC tended toward monolayer adsorption, whereas PHC-EM showed a stronger tendency toward multilayer and heterogeneous adsorption.

(3) Soil remediation experiments further verified the applicability of the hydrochar–microbe synergistic system under complex environmental conditions. In soil contaminated with Cr alone, the total Cr removal rate reached 17.94% after 49 d with 1% PHC

treatment, whereas PHC-EM increased it to 35.88%. When plants were introduced, the plant + 1% PHC-EM treatment achieved the highest removal rate of 59.34% on day 21, indicating that rhizosphere processes further enhanced the synergistic remediation effect of hydrochar and microorganisms. In addition, PHC-EM significantly improved the physicochemical properties of the contaminated soil. The cation exchange capacity (CEC) reached a maximum of 98.47 cmol⁺/kg, 44.2% higher than that under PHC alone, while soil organic matter (SOM) peaked at 8.72%, exceeding the 8.07% observed for the PHC treatment. These results indicate that, while promoting Cr immobilization, the hydrochar–microbe system also improved the soil interfacial environment and thus enhanced the potential for sustained remediation.

(4) In terms of migration-risk control, PHC-EM also exhibited superior long-term stabilization performance compared with the material alone. At the end of the leaching experiment, the corresponding value for PHC-EM was 80.3%, 86.7%, and 74.8% lower than those of CK, HM-PHC, and PHC, respectively. BCR sequential extraction further showed that PHC-EM markedly promoted the transformation of Cr from labile fractions to more stable forms: the F1 fraction decreased to 4.51% at the final leaching stage, whereas the F3 fraction increased to 70.11%. Under composite contamination, the overall migration intensity followed the order Ni > Pb > Cr, indicating that the coexistence of multiple metals intensified competitive adsorption and migration risks. Metagenomic analysis further demonstrated that both PHC and PHC-EM could regulate the structure and functional allocation of microbial communities in contaminated soil, but the effect of PHC-EM was more pronounced, shifting community functions from basic metabolic maintenance toward enhanced transmembrane transport, metal homeostasis regulation, antioxidant defense, and environmental stress adaptation. At the microecological level, this functional reprogramming supported Cr stabilization and the reduction of migration risk.

Key Words: Cr-contaminated soil, hydrochar, hydrochar-based microbial agent, migration risk control, stabilization remediation

目 录

摘 要	I
ABSTRACT	III
第 1 章 绪论	1
1.1 研究背景与意义	1
1.1.1 土壤重金属污染现状与环境风险	1
1.1.2 土壤修复技术	2
1.1.3 园林废弃物资源化与水热碳材料的潜力	3
1.2 水热碳化技术研究进展	4
1.3 水热碳土壤重金属修复	5
1.3.1 水热碳对重金属的固定的影响因素	5
1.3.2 微生物对重金属固定途径	6
1.3.3 炭基微生物菌剂、载体固定化与协同机制研究	7
1.4 研究目的与技术路线	8
1.4.1 研究目的	8
1.4.2 主要研究内容	8
1.4.3 技术路线	10
第 2 章 材料与方法	11
2.1 实验材料与仪器	11
2.1.1 法桐落叶的采集与前处理	11
2.1.2 供试土壤与污染特征	11
2.1.3 主要化学试剂	11
2.1.4 主要仪器设备	12
2.2 实验设计与方法	13
2.2.1 法桐落叶水热碳制备	13
2.2.2 重金属抗性功能菌的分离、筛选与鉴定	14
2.2.3 水热碳基微生物菌剂的构建	15

2.2.4 水热碳及菌剂吸附实验	16
2.2.5 盆栽实验设计	17
2.2.6 淋溶实验设计	18
2.3 分析与检测方法	19
2.3.1 土壤理化性质分析	19
2.3.2 土壤阳离子交换量测定	19
2.3.3 土壤有机质测定	20
2.3.4 土壤重金属含量测定	20
2.3.5 重金属有效性测定	21
2.3.6 重金属形态分析	21
第 3 章 法桐落叶水热碳的理化性质与重金属固定潜力	22
3.1 概述	22
3.2 结果与讨论	22
3.2.1 碳回收、碳封存潜力及水热碳的稳定性	22
3.2.2 孔隙结构与比表面积特征	24
3.2.3 微观形貌与表面结构特征	26
3.2.4 晶相/矿物相特征	27
3.2.5 表面官能团特征	28
3.2.6 表面电性与界面反应相关特征	29
3.2.7 热稳定性与结构演化特征	30
3.3 水热碳对重金属固定的潜在机制分析	31
3.4 章节小结	32
第 4 章 水热碳基微生物菌剂构建及其稳定性	34
4.1 概述	34
4.2 结果与讨论	34
4.2.1 功能性菌种确定	34
4.2.2 水热碳基微生物菌剂微观形貌与表面结构特征	35
4.2.3 水热碳基微生物菌剂的稳定性研究	36

4.2.4 初始 pH 对 Cr 去除的影响	37
4.2.5 吸附等温线	39
4.2.6 吸附动力学	41
4.2.7 吸附机理	42
4.3 章节小结	42
第 5 章 水热碳基微生物菌剂对铬污染土壤修复机制研究	44
5.1 概述	44
5.2 结果与讨论	44
5.2.1 土壤阳离子交换量	44
5.2.2 土壤有机质	46
5.2.3 不同条件处理下对 Cr 污染土壤的修复	48
5.2.4 不同条件处理下对复合污染土壤的修复	49
5.3 章节小结	50
第 6 章 水热碳基微生物菌剂对重金属迁移风险控制效果与机制	52
6.1 概述	52
6.2 结果与讨论	52
6.2.1 淋溶液 pH 值	52
6.2.2 淋溶液 EC 值	54
6.2.3 淋溶液中重金属浓度变化与累积淋失量	55
6.2.4 淋溶土壤中 Cr 形态变化影响	57
6.3 章节小结	58
第 7 章 淋溶土壤微生物功能性基因研究	59
7.1 概述	59
7.2 结果与讨论	59
7.2.1 土壤微生物群落组成特征	59
7.2.2 土壤微生物群落整体结构差异	61
7.2.3 土壤微生物群落功能组成特征	62

7.2.4 金属抗性相关功能基因响应特征	64
7.3 章节小结	65
第 8 章 结论与展望	67
8.1 结论	67
8.2 展望	68
参考文献	69
致谢	81
攻读硕士学位期间论文发表及科研情况	82

第1章 绪论

1.1 研究背景与意义

1.1.1 土壤重金属污染现状与环境风险

土壤重金属污染之所以成为全球环境科学与环境工程领域的核心问题，根本原因在于这类污染物具有不可生物降解、环境滞留时间长、隐蔽累积和食物链放大等特征，一旦进入农田或生态土壤系统，往往会同时危及土壤生态功能、作物安全和人体健康，这也是其与多数可降解有机污染物在风险属性上的本质差异所在^[1, 2]。与水体和大气污染相比，土壤重金属污染一旦形成，往往更难通过自然过程消减，而且其风险释放具有明显滞后性，这使得污染识别、风险评估和修复治理均面临更长时间尺度上的挑战^[2, 3]。

从全球尺度看，根据 Hou 等人^[2]最新研究指出，毒性金属污染已经对全球农地系统构成广泛胁迫，约 14%–17%的耕地受到至少一种毒性金属的显著影响，潜在受影响人口达到数十亿量级。这也意味着土壤重金属污染已不仅仅是局部环境问题，而是与粮食安全、土地可持续利用和公共健康密切相关的全球性挑战。

在我国，土壤重金属污染具有来源多元、区域差异显著和复合污染突出等特征，矿山开采与冶炼、工业排放、污水灌溉、固废堆存以及农业长期投入共同导致了 Cd、Pb、Cr、Ni、Cu、Zn 等元素在土壤中的累积，其中矿区及周边区域往往表现出更高的污染强度和更复杂的空间异质性^[3, 4]。我国城市土壤、道路尘和农业土壤中多种重金属浓度长期高于背景值的事实，也进一步说明重金属污染并非仅限于传统工矿场地，而已延伸至与居民生活和粮食生产密切相关的城市—农业复合空间之中，这使得土壤重金属问题具有更强的生态与社会联动的风险属性^[4, 5]。

铬是一种重要的战略性资源，具有广泛的应用，Cr 污染主要与铬盐生产、制革、电镀、冶金、金属表面处理和工业固废堆存等活动有关^[6]。Cr 主要以三价铬 Cr(III)和六价铬 Cr(VI)的形式存在于环境中^[7]。其中，Cr(III)是人体必需的微量元素，在土壤中通常迁移性较低，易与有机质、铁锰氧化物和黏土矿物形成络合或沉淀^[8]。相比之下，Cr(VI)多以铬酸根或重铬酸根形式存在，具有更高的水溶性、迁移性和生态毒性，更易随降雨淋溶进入深层土壤和地下水系统^[9]。其作为天然致癌物，即使是微量摄入也会导致许多健康问题，因此 Cr(VI)的危害性要远高于 Cr(III)^[10, 11]。

重金属在土壤中的环境风险并不只取决于总量高低，更取决于其赋存形态、迁移能力、生物有效性和与土壤胶体、有机质及矿物组分之间的相互作用，因此同等总量条件

下,不同土壤类型与不同污染背景对应的生态风险可能存在显著差异^[1, 12]。正因如此,当前污染土壤治理研究的重点已逐渐由总量去除转向风险削减,即通过调控金属的活性、迁移性和生物可利用性来降低环境暴露水平,而不是单纯追求绝对浓度的工程性清除^[12, 13]。

1.1.2 土壤修复技术

目前重金属污染土壤的工程治理技术大体可分为异位治理与原位治理两类^[14]。异位治理是通过挖掘—转运—处置—再利用为核心,能够在短期内实现污染土体的快速移除,适用于污染程度高、风险敏感或需快速再开发利用的地块^[15, 16]。然而该类技术通常伴随较高的工程与处置成本,且在挖掘、运输及堆存过程中存在扬尘与二次扩散风险,同时会对土壤结构、地表植被与原有生态系统造成显著扰动^[17];与异位处置相比,土壤淋洗/化学萃取属于去除型方法,是利用酸、螯合剂或表面活性剂等将重金属从固相解吸并转移到液相,从而降低土壤总量或可迁移部分含量^[18]。其优势在于对部分金属具有较高去除效率,但其应用往往受到药剂消耗量大、对土壤团聚体与养分系统破坏明显、产生高盐和高金属浓度废液需进一步处理等因素制约^[17],工程实施与环境管理成本较高,尤其在大面积场地治理中难以经济推广^[15]。

在原位治理方面,植物修复因其成本相对低、对场地扰动小而被广泛研究,主要通过植物吸收富集或根际过程改变金属形态实现风险降低^[19, 20]。但植物修复通常具有明显的时间尺度限制,修复周期长,且受植物耐性、气候条件、金属类型与生物有效性限制较强^[21];对于强毒性或高浓度污染土壤,植物生长受抑可能导致修复难以推进^[22]。电动修复技术则是通过外加电场驱动离子迁移与电渗作用,使金属向电极区域富集并便于后续收集,对细粒土、低渗透性土壤具有一定优势^[23],但其设备与运行维护复杂,对含水率与土壤电导等条件敏感,并伴随能耗与电极反应副产物控制等工程问题,因此不适用于普通场景治理^[24, 25]。

在众多土壤重金属修复策略中,固定/稳定化技术因能够通过原位投加调理剂降低金属的迁移性和生物有效性,同时避免大规模挖运、洗脱和异位处置带来的高成本与高扰动,被普遍认为是最适合大面积中低度污染农田和生态敏感用地的工程路径之一^[26]。该技术路线的核心思路不是将污染物完全移出土壤,而是通过矿物材料、有机材料或复合功能材料提供吸附位点、络合基团和沉淀成核界面,使活性态金属向相对稳定态转化,从而削弱其在降雨、淋溶、根际扰动和生物摄取条件下的释放风险^[27, 28]。近年来,以生

物炭及其改性材料为代表的碳基稳定化剂受到广泛关注^[29]，原因在于其通常兼具多孔结构、含氧官能团和灰分矿物组分，能够通过表面络合、离子交换、静电吸附、表面沉淀与矿物共沉淀等多重机制降低金属活性，并在一定程度上改善土壤 pH、CEC 和有机碳状态^[30, 31]。然而，固定/稳定化技术并不意味着污染风险被永久消除，因为材料长期老化、酸雨淋洗、溶解性有机质增加、土壤氧化还原条件变化以及植物根系和微生物活动增强，均可能削弱材料对金属的固定能力，甚至引发已固定金属的再活化^[31, 32]。这也解释了为什么当前高水平研究越来越强调长期稳定性，多因素胁迫适应性和微生态协同效应^[12]，因为只有当材料在真实土壤环境中能够持续维持金属低活性状态，固定/稳定化修复才具备真正的工程可持续性。

1.1.3 园林废弃物资源化与水热碳材料的潜力

在城市化与园林绿化规模持续扩大的背景下，园林废弃物，尤其是城市绿地修剪物、落叶、枝条和草坪残体，具有来源分散、季节波动明显、含水率较高和传统处置效率偏低等特点^[33]，全国园林绿化废弃物年产生量高达 7000 万至 1 亿吨，但资源化利用率普遍低于 10%^[34]。现阶段主要依赖填埋、焚烧或简单堆置，不仅资源利用效率低，还可能带来温室气体排放、恶臭和二次污染问题，因此其高值资源化利用已成为城市固废管理的重要议题^[35, 36]。相较于传统热解要求原料预干燥、能耗较高的工艺路径，水热碳化能够在水相条件下直接处理高含水有机废弃物，并将其转化为富碳固体产物水热碳，这使其在园林废弃物等湿态生物质资源化方面具有天然优势^[36, 37]。已有研究证明，绿化废弃物可以成功制备具有较高产率和良好孔隙结构、灰分组成及表面官能团特征的水热碳，而且通过调控反应温度、停留时间和加热方式，还能够进一步优化其吸附性和环境功能属性，这为将低值园林废弃物转化为污染修复材料提供了现实基础^[38]。更进一步地，最新荟萃分析显示，水热碳在土壤重金属固定方面具备较好的总体应用潜力，但其效果会受到原料特征、工艺参数和土壤环境条件的显著影响，因此将具体原料定向开发为功能性水热碳材料，是现阶段研究的重要突破口之一^[39, 40]。对于本研究而言，法桐落叶等园林废弃物不仅数量大、获取方便，而且其资源化转化与污染土壤修复相结合，能够形成绿废减量—材料制备—土壤治理的闭环路径，使其兼具环境治理意义与资源循环价值^[36, 37]。

1.2 水热碳化技术研究进展

水热碳化 (Hydrothermal Carbonization, HTC) 是一种可持续的热化学转化技术, 通过高温高压的水热环境中将生物质分解并转化为富碳固体产物。该过程的反应温度通常维持在 180°C 至 260°C 之间^[41]。在此条件下, 充足的热输入能够破坏生物质大分子间的键合结构, 并促进水与纤维素、半纤维素及木质素等结构聚合物之间的相互作用, 进而使大分子链发生断裂, 形成小分子中间体, 为后续水解反应及其他化学转化创造了条件^[42, 43]。与此同时, 在系统自产压力下使水维持在亚临界状态^[44]。这种状态下水的离子积常数升高、黏度降低、溶解能力增强, 不仅提升了反应物在介质中的扩散效率, 也强化了水作为反应介质和活性组分的双重功能^[44, 45]。除了作为反应介质外, 水还直接参与了化学键的断裂、分子结构的重排及转化过程, 从而影响生物质的分解路径以及最终产物的组成与分布^[46]。在高温高压及缺氧环境中, 纤维素、半纤维素和木质素等生物质大分子组分经过一系列重组反应, 最终生成结构更为稳定、碳含量显著提升的水热碳^[47, 48]。

水热碳化过程主要涉及水解、脱水、脱羧及芳构化等反应路径^[49]。在 180°C 至 260°C 的反应区间内, 脱水和脱羧反应占主导, 导致生物质中的含氧官能团显著减少^[48]。与此同时, 这一过程促进了稠合芳香环结构的形成, 从而提高了水热碳的碳含量, 使其热值得以显著提升^[46]。Koprivica 等人^[50]以泡桐叶为原料, 通过水热碳化技术制备了具有潜在应用价值的能源材料泡桐叶水热碳。研究结果表明, 在较高反应温度下制备的水热碳展现出更优异的燃烧性能、更高的能量密度、更强的热稳定性, 以及由于着火点升高而具备的持久放热特性^[51, 52]。

芳构化与脱羧反应被认为是水热碳化过程中关键的二次转化步骤。芳构化是指脱水反应中间体中的碳原子发生重排, 形成高度稳定的芳香结构。这一转化主要发生在前序反应生成的糠醛、有机酸及酚类化合物之间^[53]。通过上述反应, 生成大分子芳香结构碎片、二氧化碳和水, 从而提升了最终炭化产物的结构稳定性与碳密度^[54, 55]。在较高温度下, 有机分子之间还会发生缩合与聚合反应, 形成更大、更稳定的分子结构。这些结构构成了水热碳的主体, 赋予其高含碳量与耐热性能^[56, 57]。经过上述一系列物理化学转变, 生物质最终转化为具有独特结构与功能特性的水热碳, 并表现出较高的比表面积、发达的孔隙结构以及优异的物理化学稳定性^[57]。

1.3 水热碳土壤重金属修复

1.3.1 水热碳对重金属的固定的影响因素

水热碳其表面极性、含氧官能团和灰分矿物特征不同于传统高温热解生物炭，在重金属固定行为上具有独特的界面化学属性^[40, 58]。水热碳对重金属的固定并不是由单一过程控制，而是表面络合、静电吸附、离子交换、孔隙富集、矿物沉淀以及微尺度包埋等多种机制共同作用的结果^[59]。从界面反应本质上看，水热碳表面的羧基、羟基、羰基和酚羟基等含氧官能团能够与 Pb、Cd、Ni、Cu、Cr 等金属离子形成内层络合或外层络合结构，从而实现有效的固定作用^[60]。除官能团络合外，水热碳表面灰分中的 Ca、Mg、Fe、Al、Si 和 P 等矿物组分还可作为沉淀成核位点^[61]，促进重金属形成碳酸盐、磷酸盐、氢氧化物或金属矿物复合物，从而实现从交换态向稳定态的转化^[62-64]。

土壤 pH 的改变往往是水热碳固定金属最直接，也最容易被观测到的环境效应，因为 pH 不仅决定金属溶解度，还控制表面电荷状态、官能团离解行为和沉淀反应阈值^[58, 59]。水热碳的酸碱性并非绝对，当水热碳在较低制备温度或采用低灰分植物原料会使得水热碳保留大量酸性含氧官能团，指示其 pH 呈酸性；相反的，较高的制备温度和高灰分原料会使得水热碳成中性或者碱性^[65, 66]。pH 对固定效果的影响并非单向增强，而是在不同土壤环境中呈现出更复杂的酸碱缓冲行为^[65, 67]。对于不同污染土壤而言，水热碳的 pH 并非越高越好，而需要与目标金属的化学形态、土壤初始酸碱度以及植物和微生物对环境条件的适应性共同匹配^[68]。

从材料结构来源看，原料类型决定了水热碳的元素组成、灰分矿物谱系和天然官能团背景，因此也决定了其对不同金属的亲亲和特征^[69]。富木质素、富纤维素和富灰分原料在水热碳化后的芳香化程度、氧元素保留水平和矿物富集特征差异明显，因此会分别表现出偏向络合、偏向沉淀或偏向交换的固定机制^[70-72]。工艺条件同样是决定水热碳性能的核心变量，其中温度通常是最关键因素，因为它直接影响碳骨架重组、含氧官能团保留、灰分浓缩和孔结构发育^[73]。较低温度下形成的水热碳往往保留更多含氧官能团和较高极性，更有利于离子交换与络合作用^[72]，而较高温度则通常导致芳香化和碳化程度提高、氧含量下降，但灰分和矿物活性位点相对富集^[74]，进而增强沉淀和包埋作用^[75]。也正因此，水热碳用于土壤重金属固定时往往存在一个结构与反应性的平衡窗口，即材料不能仅追求高比表面积或高碳化程度，而需要同时兼顾官能团密度、矿物有效性和环境稳定性^[74]。

单纯从吸附容量出发评价水热碳并不足以解释其在土壤中的真实行为，土壤是一个由矿物、有机质、微生物和孔隙水组成的复杂异质体系，重金属的吸附取决于多尺度界面上的连续反应与再分配^[68, 76]。因此，当前关于水热碳固定机制的研究重点已经从单一材料吸附性能逐步转向土壤—材料—微生物—植物的多界面耦合机制。

1.3.2 微生物对重金属固定途径

微生物是污染土壤中最活跃的生物因子之一，其对重金属的响应主要体现在耐受生存能力和对重金属形态转化和迁移过程的主动调节能力^[76, 77]。早期研究已经指出，微生物抗金属机制可概括为外排、隔离、转化和修复四类过程，其中最基础的是通过质膜或外膜上的金属外排系统将过量离子泵出胞外，以避免胞内毒性累积^[77-79]。在此基础上，细胞壁和胞外聚合物能够借助羧基、磷酸基、氨基和羟基等位点对金属进行被动生物吸附，使部分金属在进入胞内之前即被截留在细胞表面或胞外基质中^[80, 81]。这种由胞外聚合物主导的吸附和包埋效应不仅可以降低金属对细胞本身的毒害^[82]，还能够土壤颗粒和有机界面上形成新的金属固定库，因此在污染修复中具有重要意义^[80, 83]。

除被动吸附外，许多细菌和真菌还可通过胞内螯合剂、金属结合蛋白和谷胱甘肽等体系实现胞内隔离与解毒，使金属被限制在较低毒性的亚细胞区室中^[84]。微生物还可以通过氧化还原反应改变金属价态，例如，促进 Cr(VI)向 Cr(III)转化，从而显著降低其溶解性、迁移性和生态毒性^[85, 86]。微生物还可通过改变局部 pH、Eh 和配体环境，促进金属与磷酸根、硫化物或碳酸根形成沉淀，或者通过生物矿化将金属固定为更稳定的矿物相^[87-89]。

对于土壤重金属修复而言，土壤微生物并非只是单纯地耐受污染，而是在主动参与金属活性态的削减、稳定态的形成以及微环境条件的再塑造^[90]。不同微生物类群在这一过程中具有不同功能分工^[91]，部分菌株更偏向胞外吸附和生物膜形成^[92]，部分菌株更擅长价态转化和酶促还原^[93]，还有一部分则是在根际环境中通过促生和解毒作用间接增强植物对污染土壤的适应能力^[83, 94]。在对土壤微生物进行功能性筛选时，用于重金属修复的优势菌株需要同时具备耐金属性、定殖能力和环境适应性，不仅需要能够在实验条件下表现出短期去除能力，还应该在实际生活中保证长期高效的治理水平^[82, 95, 96]。这对于从理论试验走向产品化治理污染土壤原位修复尤为重要，外源商业菌剂在复杂土壤环境中往往会由于 pH 波动、离子强度变化、营养受限以及土著微生物竞争等多重胁迫，使得其活性和定殖效果显著低于实验室预期^[97, 98]。相较之下，从目标污染土壤中分离、纯

化并驯化得到的优势菌株通常更容易适应本底环境和目标污染压力，能够在持续修复和长期稳定化方面更具潜在优势^[99, 100]。微生物在重金属污染治理中的价值不仅在于对重金属物质的吸附效果，更在于其能否在目标环境中持续发挥作用并重构有利于稳定化的微生态过程^[101]。

1.3.3 炭基微生物菌剂、载体固定化与协同机制研究

微生物具有多样的重金属耐受和转化机制，但自由菌在土壤环境中的存活率、稳定性和功能持续性通常较低，因此载体固定化成为提高微生物修复效率的重要技术路径^[98, 99]。多孔碳基的载体适合用作固定化基质，因为其通常兼具较大的比表面积、丰富的附着位点、一定的孔隙庇护效应以及可调控的表面化学性质。这类载体不仅可提高微生物在污染环境中的定殖效率，还可通过减缓重金属对菌体的直接毒害来提高外源菌的存活率和稳定性^[102, 103]。

从协同机制上看，炭基微生物体系的优势并不是简单地通过材料吸附+微生物代谢，而是材料、微生物和土壤三者间形成的多层级互作网络^[104, 105]。炭材料可通过吸附和沉淀作用快速降低液相中自由金属浓度，从而缓冲金属胁迫并为微生物提供相对安全的附着环境，而微生物又能够通过胞外聚合物分泌、形态转化和局部环境调节强化炭表面的稳定化作用^[75]。当该体系引入植物后，根际分泌物、根系氧化还原活动和根际微生物相互作用进一步放大这种协同效应，炭—菌—植物三元体系是目前污染土壤修复研究的重要发展方向^[106, 107]。现有研究表明，炭基固定化微生物可改善污染土壤 pH、增加有机碳、提高酶活性并降低有效态金属含量^[108, 109]，说明炭基菌剂的作用对象不仅是污染金属本身，同时也包括整个土壤的生态过程^[110]。但炭基微生物菌剂距离大规模工程应用仍有不少瓶颈，其中最关键的问题包括菌体在载体上的负载效率、储存稳定性、菌体活性保持、投加后定殖持续性以及复杂土壤环境中的长期环境安全性^[97, 109, 111]。在实际土壤中，载体颗粒大小、孔径分布、表面电性和可溶性有机组分释放都可能直接或间接的影响菌体黏附、营养供给和传质条件^[112]，因此菌剂负载体的选择就成了一个关键的问题。对于水热碳而言，其含氧官能团更丰富、表面极性更强，在理论上更有利于微生物附着与固定，但其孔结构发育和材料稳定性不及部分高温热解炭^[75, 113]，所以判断水热碳能否作为优良微生物载体，需要结合原料性质和制备工艺进行检验。

水热碳来源广泛、种类复杂，以园林废弃物作为原料，其低成本，就地资源化和高湿原料适应性优势^[75]，以其基础的炭基微生物菌剂能够成为城市绿废高值利用和重金属

污染土壤治理的优秀方案。炭基微生物菌剂的关键不仅是将功能菌负载到炭上，更是要实现材料适配、菌株适配和污染场地适配^[114, 115]，也是炭基菌剂治理污染土壤体系的核心逻辑。综上所述，以园林废弃物制备水热炭，并与来源于重金属污染土壤、经分离纯化和驯化后的优势菌株进行复合，不仅能够在材料层面提升重金属固定能力，也能够从微生物生态层面增强长期稳定化效果。正基于此背景构成了本研究的主要理论依据与技术切入点。

1.4 研究目的与技术路线

1.4.1 研究目的

本研究以法桐落叶为原料制备水热炭，并结合从重金属污染土壤中分离、纯化和驯化获得的抗性菌株，构建水热炭基微生物菌剂，旨在探索园林废弃物资源化材料与功能微生物协同作用下对重金属污染土壤的修复潜力。研究的核心目的在于明确法桐落叶水热炭的理化结构特征及其对重金属固定的作用基础，筛选适宜的材料制备条件；验证水热炭负载抗性菌株后形成的炭基微生物菌剂是否能够提高菌体稳定性，并增强对污染土壤中重金属的固定与迁移控制能力；通过盆栽试验和淋溶试验系统评价该协同体系对土壤理化性质、重金属总量、形态转化及淋溶释放行为的影响；结合土壤微生物群落变化，从材料作用、微生物强化和土壤过程响应三个层面阐明炭—菌协同修复的作用机制。通过上述研究，期望为园林废弃物高值利用及重金属污染土壤的绿色稳定化修复提供理论依据和技术参考。

1.4.2 主要研究内容

本实验拟采用城市园林绿化废弃物—法桐落叶作为生物质原料，通过水热碳化方式，研发具有多活性位点、低成本及高吸附容量的吸附材料，探究水热炭对 Cr 的固定性能与机制；从受 Cr 污染的土壤中筛选分离纯化出能够有效固定 Cr 的功能微生物，基于水热炭的多孔结构及吸附性能通过固定化技术构建水热炭基微生物菌剂；同时明确水热炭基功能材料对土壤安全性的影响，以期获得适用于重金属污染场地的吸附/固化材料和联合修复技术。本论文将从以下几个方面开展研究工作：

（1）以园林废弃物法桐落叶为原料，通过水热碳化制备系列水热炭材料，系统考察反应温度对材料产率、元素组成、热稳定性、表面官能团、矿物相、孔隙结构及表面电性等特征的影响，明确不同制备条件下水热炭结构演化规律及其对重金属固定潜力的作用基础^[116, 117]。在此基础上，结合 SEM、FTIR、XRD、BET、Zeta 电位、元素分析和

热重分析等结果，筛选结构特征和界面性质较优的水热碳样品，为后续菌剂构建和修复试验提供材料基础^[118]。

(2) 从重金属污染土壤中分离培养微生物，采用梯度驯化与耐受性筛选等方法获得对目标重金属具有较强耐受能力的菌株，并完成纯化与保藏。在此基础上，通过分子生物学方法对菌株进行鉴定，并开展其生长特性与耐受特征评价；结合必要的功能性测试，明确功能菌可能参与重金属固定与稳定化过程的作用基础，为构建炭基微生物菌剂奠定生物学基础^[119, 120]。

(3) 采用盆栽试验评价水热碳及其与微生物、植物协同作用下对污染土壤理化性质和重金属行为的调控效果^[121]。试验从水热碳投加量、不同微生物菌剂复配、植物响应及复合污染修复四个层面展开，重点分析不同处理下土壤阳离子交换量（Cation Exchange Capacity, CEC）、有机质含量（Soil Organic Matter, SOM）以及重金属总量变化规律，比较单一材料、炭—菌复配和炭—菌—植物协同体系在单一 Cr 污染与 Pb—Ni—Cr 复合污染条件下的修复差异，从而阐明不同修复路径对土壤质量提升和重金属削减的贡献程度。

(4) 采用土柱淋溶试验进一步评估不同处理条件下重金属的迁移释放风险及其控制机制^[122]。通过监测淋溶液 pH、电导率（Electrical Conductivity, EC）、重金属浓度及累积淋失量，分析水热碳及水热碳基微生物菌剂对重金属迁移行为的抑制效果；同时结合 BCR 连续提取法（Community Bureau of Reference sequential extraction procedure, BCR），揭示淋溶过程中 Cr 由活性态向稳定态转化的动态规律，并通过宏基因组测序分析不同处理后淋溶土壤微生物群落组成变化，从材料界面作用、形态转化过程和微生态响应三个层面综合阐释炭—菌协同控制重金属迁移风险的作用机制。

1.4.3 技术路线

本研究的技术路线如图 1.1 所示。

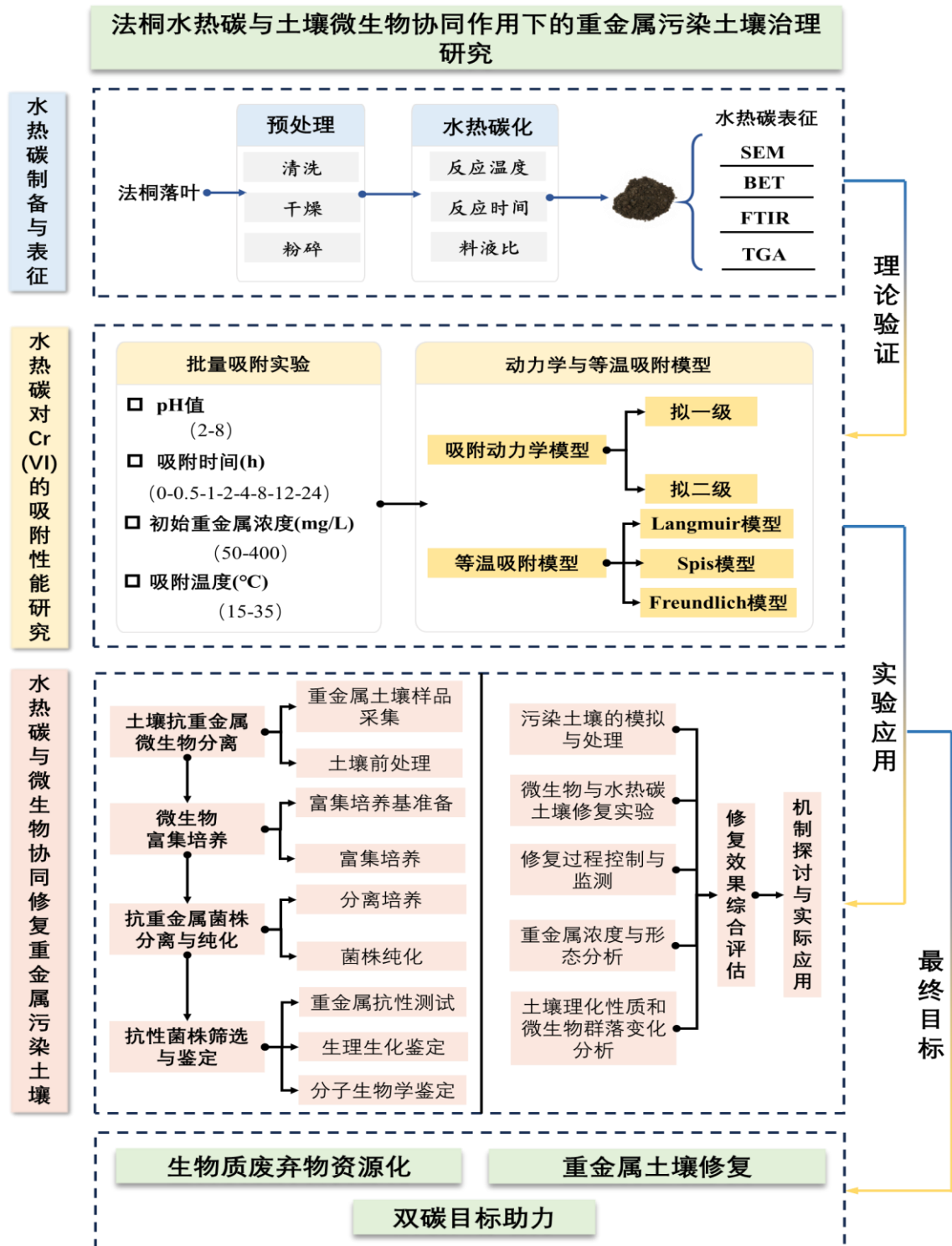


图1.1 技术路线图

第2章 材料与方法

2.1 实验材料与仪器

2.1.1 法桐落叶的采集与前处理

本实验所用的法桐落叶（二球悬铃木 *Platanus × acerifolia* (Aiton) Willd.）取自山东省济南市山东建筑大学（117° 11' 7" E, 36° 40' 52" N）道路景观植物秋冬季自然落叶。将法桐落叶用自来水冲洗，随后用去离子水进一步清洗。清洗完毕后，将法桐落叶放入烘箱，在 70℃条件下烘干。烘干后的法桐落叶通过粉碎机进行粉碎，并过 40 目筛，最后将粉碎好的样品装入密封袋中保存备用。

2.1.2 供试土壤与污染特征

本研究将构建 Cr 单一污染和 Pb–Ni–Cr 复合污染体系，主要用于模拟制革、电镀、金属表面处理及矿冶活动影响区域中常见的重金属污染情景。按照我国现行《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准（试行）》（GB 15618—2018）标准，根据土壤 pH 和用地类型设置土壤污染中浓度。

供试土壤选用泥炭土，去除表层，剔除杂物后，自然风干后过 20 目尼龙筛。通过外源添加的方式，使用 K₂Cr₂O₇、Pb(NO₃)₂、NiCl₂ 溶液分别向供试土壤中引入目标重金属污染物。设计试验土壤中 Cr、Pb、Ni 污染浓度如下：单一污染土壤中，Cr 的浓度为 250 mg/kg。复合污染土壤中，Cr、Pb、Ni 的浓度分别为 250 mg/kg、300 mg/kg 和 150 mg/kg。混合均匀后将其放置一个月使土壤性质稳定。供试土壤的基本性质见表 2.1 所示。

表2.1 供试土壤的基本性质

	pH	SOM	CEC	污染物浓度（mg/kg）		
				Cr	Pb	Ni
单一污染土壤	5.34±0.12	2.38±0.25	20.73±2.94	250±13.2	/	/
复合污染土壤	5.23±0.26	3.06±0.37	21.06±1.73	250±12.7	300±14.2	150±6.76

2.1.3 主要化学试剂

实验过程中主要用到的试剂见表 2.2 所示。

表2.2 主要化学试剂

编号	试剂名称	分子式	纯度	生产厂家
----	------	-----	----	------

编号	试剂名称	分子式	纯度	生产厂家
1	重铬酸钾	$K_2Cr_2O_7$	分析纯	天津市大茂化学试剂厂
2	硝酸铅	$Pb(NO_3)_2$	分析纯	天津市大茂化学试剂厂
3	氯化镍	$NiCl_2$	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
4	铬单元素溶液标准物质	Cr	标准物质	中科睿谱
5	铅单元素溶液标准物质	Pb	标准物质	中科睿谱
6	镍单元素溶液标准物质	Ni	标准物质	中科睿谱
7	硝酸	HNO_3	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司
8	盐酸	HCl	分析纯	天津市大茂化学试剂厂
9	氢氟酸	HF	分析纯	上海麦克林生化科技有限公司
10	高氯酸	$HClO_4$	分析纯	—
11	过氧化氢	H_2O_2	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司
12	盐酸羟胺	$NH_2OH \cdot HCl$	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司
13	乙酸	CH_3COOH	分析纯	天津市富宇精细化工有限公司
14	乙酸铵	CH_3COONH_4	分析纯	上海麦克林生化科技有限公司
15	氯化钙	$CaCl_2$	分析纯	上海麦克林生化科技有限公司
16	海藻酸钠	$(C_6H_7NaO_6)_n$	分析纯	上海麦克林生化科技有限公司
17	聚乙烯醇	$(C_2H_4O)_n$	化学纯	上海麦克林生化科技有限公司
18	二氧化硅	SiO_2	化学纯	上海麦克林生化科技有限公司
19	氢氧化钠	NaOH	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
20	乙醇	C_2H_5OH	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
21	氯化铵	NH_4Cl	分析纯	天津市科密欧化学试剂有限公司
22	三氯化六氨合钴	$[Co(NH_3)_6]Cl_3$	分析纯	上海麦克林生化科技有限公司
23	氯化钾	KCl	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
24	溴化钾	KBr	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
25	PDA 培养基	—	分析纯	青岛海博生物技术有限公司
26	硫酸汞	$HgSO_4$	分析纯	上海麦克林生化科技有限公司

2.1.4 主要仪器设备

试验过程中的主要设备及其型号如下表 2.3 所示。

表2.3 主要仪器设备

编号	仪器名称	型号	厂家
1	电子分析天平	ES-224DS	天津市德安特传感技术有限公司
2	pH 计	Sartorius PB-10	赛多利斯

编号	仪器名称	型号	厂家
3	真空干燥箱	BPZ-6090H3	上海一恒科学仪器有限公司
4	电热鼓风干燥箱	DHG-9070	上海一恒科学仪器有限公司
5	超声波清洗机	100ST	深圳市品凰科技有限公司
6	纯水机	RJK-20D-II	山东艾科信环保设备有限公司
7	高速离心机	Anke TDL-5-A	上海安亭科学仪器厂
8	石墨电热消解仪	DJL100	青岛得加利科技有限公司
9	电导率仪	PSTAR2125	Thermo Fisher
10	恒温培养箱		
11	齿轮泵	ZP200	BAINES
12	5L 间歇式水热反应釜	GSH-5L	威海环宇化工机械有限公司
13	恒温水浴摇床	SHA-BA	上海力辰仪器科技有限公司
14	恒温磁力搅拌水浴锅	科泰 DF-101Z	郑州科泰实验设备有限公司
15	高压蒸汽灭菌锅	BXM-30R	上海博迅医疗生物仪器股份有限公司
16	火焰原子吸收分光光度计	ICE 3500	Thermo Fisher
17	紫外可见分光光度计	普析 TU-1810	北京普析通用仪器有限责任公司
18	X 射线光电子能谱仪	ESCALAB Xi+	Thermo Fisher
19	X 射线衍射仪	D8 ADVANCE	Bruker
20	有机元素分析仪	UNICUBE	Elementary
21	热重分析仪	TG 209 F3 Tarsus	NETZSCH
22	傅里叶变换红外光谱仪	TENSOR II	Bruker
23	电动固体表面分析仪	SurPASS 3	Anton Paar
24	场发射扫描电子显微镜	SIGMA HD	ZEISS
25	场发射透射电子显微镜	JEM-F200	JEOL
26	宏基因组测序仪	NovaSeq6000	Illumina

注：所有接触过重金属的试验容器均经过 (1+9) 硝酸缸处理，最大程度去除可能残留的重金属。

2.2 实验设计与方法

2.2.1 法桐落叶水热碳制备

如图 2.1 所示为高温高压实验室反应釜，实验前用水反复清洗反应釜，洗去固体残渣及可能残留的有机物，并进行安全性检查。将 180g 预处理好的法桐落叶 (PA) 粉末放入烧杯中，加入 2700ml 去离子水 (固液比 1:15) 并充分搅拌至混合均匀后置于反应釜中。以 150V 的加热电压升温至目标制备温度 (180℃、200℃、220℃、240℃、260℃)，在目标温度下持续反应后停止加热。通入冷却水使反应釜冷却至室温，待压力表显示为

零时打开反应釜，通过真空抽滤机将水热碳分离出来，用纯水反复洗涤直至滤液呈现无色，置于 80℃烘箱中烘干 24h 至恒重，碾碎后过 80 目筛网即得到法桐落叶水热碳，记为 PHC。

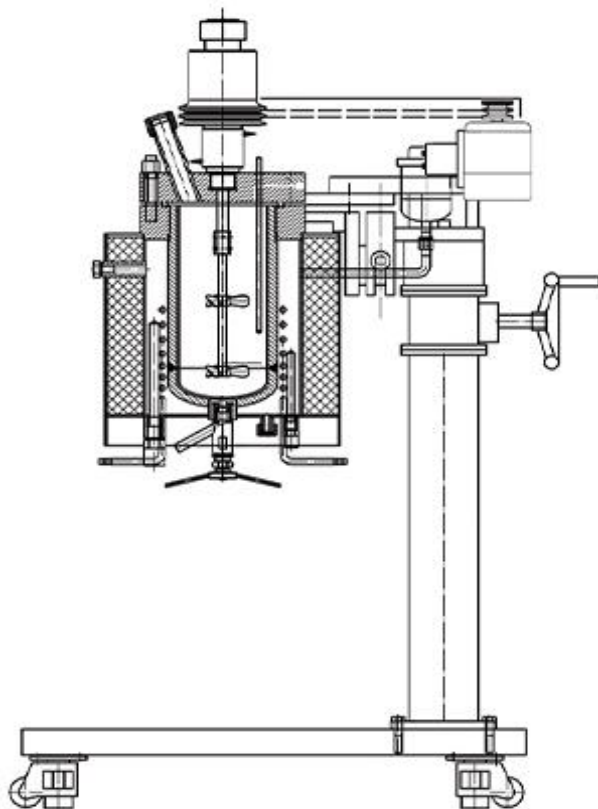


图2.1 5L 高温高压实验室反应釜

2.2.2 重金属抗性功能菌的分离、筛选与鉴定

2.2.2.1 重金属抗性菌株的分离纯化

称取污染土壤样品 10.0 g, 置于装有 90 mL 无菌生理盐水并含玻璃珠的 250 mL 三角瓶中, 于 30℃、180 r/min 振荡 30 min, 使土壤颗粒充分分散。静置 5~10 min 后, 取上清液作为 10^{-1} 稀释液。采用 10 倍梯度稀释法, 用无菌生理盐水依次稀释至 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 浓度梯度。分别吸取各稀释度的土壤悬液 1.0 mL, 接种于含有低浓度 (50 mg/L) Cr 重金属液体培养基中于 30℃、160 r/min 振荡培养 24-48 h。

取富集培养液 100 μ L 涂布于重金属 Cr 浓度为 50 mg/L 的 PDA 培养基固体平板, 分别倒置于温度 30℃, PDA 培养基培养 48-72 h。挑选形态差异明显的单菌落进行划线纯化, 重复纯化 2-3 次以获得纯培养物, 标记为 EM-1。纯化菌株用斜面短期保藏。

2.2.2.2 重金属抗性菌株的驯化

将纯化后的菌株用无菌接种环挑取单菌落，接种于各自液体培养基中，30℃、160 r/min 振荡培养至对数期（约 12-16 h， $OD_{600} \approx 0.6 \sim 0.8$ ）。用接种针点种，将各菌株依次点种在含重金属的固体平板上。每个菌株 3 次重复，30℃培养 24~48 h 后观察生长情况。当菌种在含较低浓度金属的液体培养基中培养至稳定生长后，逐步提高金属浓度，直至达到目标浓度或菌体无法适应。 Cr^{6+} 重金属浓度梯度设为 50、100、150、200、250、300、350 mg/L，将驯化至目标浓度的菌株进行菌种鉴定同时采用斜面短期保藏，每 1~2 个月转接一次。

2.2.3 水热碳基微生物菌剂的构建

2.2.3.1 水热碳基微生物菌剂制备

本研究选取 PHC-220 作为微生物固定化载体。使用前将水热碳研磨过 100 目筛，置于 105℃烘箱干燥至恒重，密封保存备用。部分实验需对水热碳进行灭菌处理，采用 121℃高压蒸汽灭菌 30 min。

选取筛选获得的重金属抗性功能菌株 EM，活化后接种于液体培养基中，30℃、160 r/min 振荡培养至对数生长期（ $OD_{600} \approx 0.8 \sim 1.2$ ）。将菌液于 8000 r/min 离心 10 min 收集菌体，弃上清，用无菌生理盐水洗涤 2~3 次，重悬于适量无菌生理盐水中，调整菌悬液浓度至 $10^7 \sim 10^9$ CFU/mL 备用。菌悬液浓度通过平板计数法进行标定。

取 3g 的灭菌后的水热碳与 30ml 菌悬液混合，将混合后的水热碳-菌液置于 30℃、150r/min 的恒温摇床中吸附 4h 备用；配置 4g/100mL SA（海藻酸钠）和 8g/100mL PVA（聚乙烯醇）溶液，并其用封口膜包扎高压灭菌后冷却至 40℃后 1:1 混合。将混合吸附后的水热碳-菌液倒入盛有 70mL SA-PVA 溶液的烧杯中，充分搅拌。用无菌注射器将混合液缓慢滴入无菌 4%（w/v） $CaCl_2$ -饱和硼酸溶液中。形成直径约 2~3 mm 的凝胶珠。将生成物放入 4℃的无菌冰箱中静置 12 h，并用无菌生理盐水清洗干净后过滤，4℃下保存备用。

2.2.3.2 水热碳基微生物菌剂参数测定

将 1g 固定后样品放入装有 10mL 无菌生理盐水的无菌管中。于 30℃、200 r/min 振荡 30 min，使菌体充分脱落。离心 6000 rpm，5 分钟，收集上清液，进行 10 倍梯度稀释，每组稀释液取 100 μ L 涂布在适宜的培养基平板上，30℃下培养 24 小时计数。采用公式 (2.1) 计算负载率。

$$\text{负载率}(\%) = \frac{\text{菌剂中活菌数量}(CFU/g) \times \text{载体质量}(g)}{\text{初始菌悬液中总菌数}(CFU) \times \text{菌液体积}(mL)} \quad (2.1)$$

将新鲜制备的 EM 与 PHC-EM 在 4℃ 条件下保存，分别于第 1、3、5、7、14、21、28 天取样测定活菌数，以初始负载活菌数为基准（100%），计算不同保存时间的相对存活率。并通过 Logistic 方程(2.3)进行衰亡曲线拟合。

$$\text{存活率}(\%) = \frac{\text{该时间点菌剂中活菌数}(CFU/g)}{\text{初始菌剂中活菌数}(CFU/g)} \times 100\% \quad (2.2)$$

$$y = \frac{A_2 + (A_1 - A_2)}{(1 + (x/x_0)^p)} \quad (2.3)$$

2.2.4 水热碳及菌剂吸附实验

所有批次实验均在 100m 离心管中进行。在 50mL 的 Cr 溶液中加入 50mg 的吸附材料，然后利用 0.5M 的 HCl 和 NaOH 调节 pH。将离心管置于摇床中，在 25℃ 下以 160rpm/min 的速度搅拌 24h。在不同时间（0.5、1、2、4、8、12、24h）对溶液进行取样，以测定溶液中 Cr 的浓度。

通过固定 Cr 的初始浓度（100 mg/L）和吸附材料的添加量（1 g/L），讨论了不同 pH（2-8）对 PHC 吸附性能的影响。

将得到的样品经 0.22μm 过滤器过滤，按照水质铬的测定火焰原子吸收分光光度法（HJ 757-2015）测定水中 Cr 浓度。为确保实验的准确性，每次实验都设置了三个平行实验组。Cr 的吸附容量（q，mg/g）和吸附效率（n，%）由公式(2.4)和(2.5)计算得出：

$$q = \frac{(c_0 - c_e)v}{m} \quad (2.4)$$

$$n = \frac{c_0 - c_e}{c_0} \times 100\% \quad (2.5)$$

其中 C_0 （mg/L）和 C_e （mg/L）为 Cr 溶液的初始浓度和残留浓度， v （mL）为 Cr 溶液的体积， m （mg）为吸附材料的添加量。

为深入研究 PHC 和 PHC-EM 的吸附行为，在初始浓度为 100 mg/L、pH 为 3 的条件下，以 1 g/L 的样品进行吸附动力学实验，并在不同时间取样测量，采用拟一级动力学和拟二级动力学模型与数据进行拟合，具体的拟合方程如公式(2.6)和(2.7)所示。

拟一级动力学模型：

$$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t}) \quad (2.6)$$

拟二级动力学模型:

$$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + q_e k_2 t} \quad (2.7)$$

其中, k_1 (1/min)、 k_2 (g·(mg/min)) 分别表示拟一级和拟二级速率常数, q_t (mg/g) 和 q_e (mg/g) 分别表示在不同吸附时间点和平衡状态下的吸附量。

为了进一步探讨 PHC 和 PHC-EM 对 Cr 的吸附过程, 在不同浓度 (50—400mg/L) 的 Cr 溶液中, 保持 pH 和吸附材料的添加量不变, 分别在 15℃、25℃和 35℃条件下进行等温吸附实验。所得结果将使用 Freundlich、Langmuir 和 Sips 吸附等温线模型进行拟合并分析, 具体的拟合方程如公式(2.8)、(2.9)和(2.10)所示。

Freundlich 吸附等温线模型:

$$q_e = k_F c_e^{1/n} \quad (2.8)$$

Langmuir 吸附等温线模型:

$$q_e = \frac{k_L Q_m c_e}{1 + c_e k_L} \quad (2.9)$$

Sips 吸附等温线模型:

$$q_e = \frac{Q_m (k_s c_e)^{1/m}}{1 + (k_s c_e)^{1/m}} \quad (2.10)$$

k_F 和 n 属于 Freundlich 吸附等温线模型常数, 分别代表吸附量和强度。 k_L 为 Langmuir 吸附等温线模型常数。其中, K_s (L/mg) 和 m 为 Sips 吸附等温线模型常数, Q_m (mg/g) 为理论饱和吸附能力, C_e (mg/L) 为 Cr 的残留浓度。

2.2.5 盆栽实验设计

采用盆栽试验方法来模拟实际土壤中 PHC 和 PHC-EM 的修复效果, 选取聚乙烯花盆作为容器, 规格为上口直径 160 mm、下口直径 120 mm、高 175 mm, 每盆装土约 1.5 kg。实验设置 4 个组别分别为水热碳添加量、不同微生物菌剂复配、植物响应及复合污染修复四类处理试验, 所有处理均设置 3 组平行重复。除复合污染组外, 其余各处理土壤均加标 Cr, 目标污染浓度为 250 mg/kg; 复合污染组土壤同时加标 Pb、Ni 和 Cr, 其目标浓度分别为 Pb 300 mg/kg、Ni 150 mg/kg 和 Cr 250 mg/kg。污染土壤配制完成后静置老化 30 d, 以提高污染体系的稳定性。所有样品均提前与土壤充分混匀的方式施加, 其中菌剂样品先同 PHC 负载后再与土壤混匀。

试验处理如下：水热碳添加量组，设置 CK、0.5%PHC、1%PHC、2%PHC 和 5%PHC；不同微生物菌剂+水热碳组，设置 PHC+*Bacillus subtilis*、PHC+*Trichoderma* 和 PHC+EM，样品添加量均为 1% w/w；植物组设置仅植物、植物+PHC 和植物+PHC-EM，其中种植植物种类为甜菜，样品添加量均为 1% w/w，每盆播种 10 粒种子；复合污染组设置 PHC、PHC-EM 和植物+PHC-EM，样品添加量均为 1% w/w。各处理培养周期为 49d，每 7d 采集一次土样进行指标测定。培养期间土壤含水率维持在田间持水量水平，其中植物组在人工气候箱内培养，培养条件为温度 25℃、相对湿度 75%、光暗周期 12h/12h，其余处理组均在室内常规条件下培养。试验期间主要测定土壤阳离子交换量（CEC）、土壤有机质（SOM）及重金属有效态变化情况，其中单一污染处理测定有效态 Cr 含量，复合污染处理同步测定 Pb、Ni 和 Cr 有效态量。

2.2.6 淋溶实验设计

采用淋溶试验方法来模拟实际土壤中在不同处理条件下重金属在土壤中的迁移释放效果，采用如图 2.2 由淋溶柱、蠕动泵和烧杯所构成的装置。选取淋溶柱尺寸为高 50cm、内径 10cm 的有机玻璃柱，柱底设置渗透板，并沿柱体高度方向每隔 5cm 开设 1 个直径 1.5cm 的取样孔，以便采集不同土层深度样品并分析重金属在柱体中的迁移分布。装柱前，首先在柱底铺设厚度为 5cm 的石英砂层，石英砂粒径由下至上逐渐减小，其上覆盖 1 层玻璃纤维滤纸和尼龙网，以防止细颗粒土壤随淋溶液流失并保证液体均匀下渗。随后向柱内填装约 5kg 污染土壤，控制土层高度使柱体上的 7 个取样孔均能够均匀分布于土层范围内；土壤装填完成后，在最上层再铺设 5cm 石英砂及滤纸，以减少进液扰动对土体结构的影响。淋溶试验共设置 4 个处理组，分别为 CK、复合重金属+PHC、PHC 和 PHC+EM。其中，CK 为空白对照组，Cr 浓度为 250mg/kg；“复合重金属+PHC”组复合重金属种类和浓度分别为 Pb 300 mg/kg、Ni 150 mg/kg 和 Cr 250 mg/kg，添加量为 1% w/w 的 PHC；“PHC”组 Cr 浓度为 250mg/kg，添加量为 1% w/w 的 PHC；“PHC+EM”组 Cr 浓度为 250mg/kg，添加量为 1% w/w 的 PHC-EM。

淋溶液采用去离子水，并参照 ISO 21268-1 推荐液固比 2L/kg 进行淋溶试验。单根淋溶柱按 5kg 土壤计，试验周期需 10L 水作为淋溶液，试验过程中每 5 天进行一次采样，连续淋溶 14 次，总试验周期为 70 天，故每日淋溶量约为 143ml/天。每次采集淋出液样品，测定其中重金属含量、pH 和 EC。同时，在每次淋溶开始前分别从各处理淋溶柱的

7 个取样孔处采集 5—10g 左右土壤样品，采用 BCR 连续提取法测定土壤中重金属各形态含量。



图2.2 淋溶装置图

2.3 分析与检测方法

2.3.1 土壤理化性质分析

实验所用土壤按照 HJ/T 166 的相关规定进行土壤样品的制备，包括样品的风干、缩分、粉碎和过筛。土壤干物质和水分的测定按照标准 HJ 613，在 $105 \pm 5^\circ\text{C}$ 烘干 1h、冷却后测定。土壤 pH 值按照 HJ 962 采用土壤和水 1:2.5 混合后采用 pH 计测定。土壤电导率按照 HJ 802 采用土壤和水 1:12.5 混合后采用电导率仪测定。

2.3.2 土壤阳离子交换量测定

称取过筛的风干土壤样品 $3.5 \pm 0.1\text{g}$ 置于 100ml 离心管中，加入 50.0ml 三氯化六氨合钴溶液 (0.166 cmol/L)，在 20°C 条件下振荡 30min，使土壤浸提液混合物在振荡过程中保持悬浮状态。以 4000r/min 离心 10min，取上清液于 475 nm 波长处测定吸光度。用相同质量的纯水作为空白试验。由于土壤本身存在颜色对浸提液颜色有明显影响，采取公式(2.11)对吸光度进行校正后，用公式(2.12)计算土壤阳离子交换量。

$$A = 1.025A_{475} - 0.205A_{380} \quad (2.11)$$

$$CEC = \frac{(A_0 - A) \times V \times 3}{b \times m \times w_{dm}} \quad (2.12)$$

CEC 为土壤样品阳离子交换量 (cm^+/L)； A_0 为空白试样吸光度； A 为试样吸光度； V 为浸提液体积 50mL；3 为 $[\text{Co}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ 的电荷数； b 为标准曲线斜率； m 为取样量； w_{dm} 为土壤样品干物质含量 (%)。

2.3.3 土壤有机质测定

称取 $0.200 \pm 0.050\text{g}$ 土壤样品，加入 100mL 具塞消解玻璃管中，避免沾壁。分别加入 0.1g 硫酸汞和 5.00ml 重铬酸钾溶液 (0.27mol/L)，摇匀后再缓慢加入 7.5mL 硫酸，摇匀。于 100°C 开始消解至温度达到 135°C 时开始计时消解 30min，水浴冷却至室温，用水定容至 100mL。在具塞消解玻璃管内直接静置 12h 至澄清，取上清液测量吸光度。并按照公式(2.13)计算土壤有机碳含量。采用公式(2.14)换算为土壤有机质含量。

$$W_{OC} = \frac{(A - A_0 - a)}{b \times m \times W_{dm}} \times 10 \quad (2.13)$$

$$W_{OM} = 1.724 \times W_{OC} \quad (2.14)$$

m 为试样中干物质的质量 (g)； W_{dm} 为土壤干物质含量； W_{oc} 为土壤样品中有机碳的含量 (%)； W_{OM} 为土壤样品中有机质的含量 (%)； A 为试样消解液的吸光度； A_0 为空白试验的吸光度； a 为校准曲线的截距； b 为校准曲线的斜率。

2.3.4 土壤重金属含量测定

称取 0.2g—0.3g (精确至 0.1mg) 土壤样品于 50ml 聚四氟乙烯消解管中，用水润湿后加入 5m 盐酸，于通风橱内石墨电热消解仪上 100°C 加热 45min。加入 9ml 硝酸加热 30min，加入 5m 氢氟酸加热 30min，稍冷，加入 2mL 高氯酸，加盖 120°C 加热 3h；开盖， 150°C 加热至冒白烟。 160°C 加热赶酸至内容物呈不流动的液珠状。加入 5mL (1+99) 硝酸溶液，温热溶解可溶性残渣，全量转移至 25mL 容量瓶中，用 (1+99) 硝酸溶液定容至标线，摇匀，静置，取上清液待测。按公式(2.15)计算土壤重金属的含量。

$$W_i = \frac{(\rho_i - \rho_{0i}) \times V}{m \times W_{dm}} \quad (2.15)$$

W_i 为土壤中元素的质量分数； ρ_i 为试样中元素的质量浓度； ρ_{0i} 空白试样中元素的质量浓度； V 消解后试样的定容体积； m 土壤样品的称样量； W_{dm} —土壤样品的干物质含量，%。

2.3.5 重金属有效性测定

本研究参照美国环保局制定的毒性特性浸出程序（Toxicity Characteristic Leaching Procedure, TCLP），对 Cr 开展毒性浸提实验并测定重金属有效态含量。将 5.7 mL 冰醋酸用去离子水配置成 1L，配制成 pH 值为 2.88 ± 0.05 的浸提液。称取 1g 土壤样品于 50ml 聚乙烯瓶中，按照 1:20 固液比加入 20mL 浸提液。在 25℃ 下，30r/min 的转速在振荡仪上振荡 18 小时，结束后收集浸提液用 0.45um 滤膜过滤并采用硝酸酸化至 $\text{pH} < 2$ ，测定浸提液中 Cr 浓度。Cr 的固定效率按公式(2.16)进行计算。

$$\text{Immobilization efficiency (\%)} = \frac{C_e - C_0}{C_0} \times 100\% \quad (2.16)$$

C_0 为土壤老化后对照组土壤浸提液中 Cr 的浓度（mg/L）， C_e 为处理组土壤浸提液中 Cr 的浓度。

2.3.6 重金属形态分析

采用 BCR 连续提取法测定土壤中 Cr 的不同形态，BCR 连续提取法可以分为四种化学形态，按提取顺序分别为弱酸提取态（F1）、可还原态（F2）、可氧化态（F3）和残渣态（F4），实验的具体操作流程如下^[123]：

称取 0.5 g 土壤样品，加入 20 mL 0.11 mol/L 乙酸（HAc）溶液，于 25 °C 下振荡提取 16 h。随后离心分离，取上清液测定 F1 含量；剩余固体残渣经去离子水洗涤后留存记为 R1。

向固体残渣 R1 中加入 20 mL 0.5 mol/L 盐酸羟胺（ $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ ）溶液，于 25 °C 下振荡提取 16 h。离心后取上清液测定 F2 含量；固体残渣经水洗后留存记为 R2。

向固体残渣 R2 加入 5 mL 30%过氧化氢（ H_2O_2 ），先于 25 °C 下消化 1 h，再于 85 °C 水浴中加热 1h，之后蒸发至近干。随后加入 25 mL 1 mol/L 乙酸铵（ NH_4Ac ）溶液，于 25 °C 下振荡提取 16 h。离心后取上清液测定 F3 含量；固体残渣经水洗后留存记为 R3

取蒸干研磨后的固体残渣 R3，采用微波消解法进行消解后，测定 F4 含量。

第3章 法桐落叶水热碳的理化性质与重金属固定潜力

3.1 概述

水热碳作为一种由湿态生物质经水热碳化过程制备得到的富碳材料，因其制备条件相对温和、原料来源广泛、表面结构可调控等特点，在重金属污染治理领域表现出良好的应用潜力。与传统热解炭相比，水热碳更适用于含水率较高的生物质原料，且在制备过程中能够保留较多含氧官能团和部分矿物组分，这使其在金属离子吸附、络合固定以及界面反应调控等方面具有一定优势。对于园林废弃物而言，采用水热碳化技术不仅能够实现废弃生物质的资源化利用，也为构建低成本、环境友好的土壤修复材料提供了新的思路。

水热碳的环境功能并非固定不变，其理化性质通常受原料组成及制备条件的显著影响，其中反应温度是决定材料结构演化和功能特征的关键因素。随着水热温度升高，生物质在脱水、脱羧和缩合等反应作用下，其元素组成、表面官能团、矿物相组成、孔隙结构及表面电性均会发生系统变化，进而影响材料对重金属的固定能力及其作为微生物载体的适用性^[124]。本章主要是为后续开展菌剂构建和污染土壤修复试验对法桐落叶水热碳的基础材料特性进行系统研究，明确不同水热温度下材料结构的变化规律，并筛选出综合性能最优的负载样品。

3.2 结果与讨论

3.2.1 碳回收、碳封存潜力及水热碳的稳定性

使用元素分析仪测定法桐落叶及其水热碳 C、H、N、S 的元素含量，O 含量从 100% 中扣除 C、H、N、S 及灰分含量。水热碳的碳封存能力通过 HTC 工艺回收的碳量、碳封存潜力及水热碳的稳定性来衡量。

水热碳产率公式如下：

$$Yield = \frac{\text{水热碳的质量}}{\text{初始重量}} \times 100\% \quad (3.1)$$

碳回收率（CR）为源自原料的碳量与保留在水热碳中的碳量，公式如下：

$$Carbonrecovery(CR) = \frac{C_{\text{水热碳}}}{C_{\text{生物质}}} \times Yield \quad (3.2)$$

平均停留时间（MRT）和 100 年后土壤中残留碳的比例（HC+100），H/C 代表氢与碳的原子比，公式如下：

$$MRT = 4501 \times e^{-3.2 \times \left(\frac{H}{C}\right)} \quad (3.3)$$

$$HC_{+100} = 1.05 - 0.616 \times \left(\frac{H}{C}\right) \quad (3.4)$$

R50 是用于表示水合物中碳的顽固性的指标，公式如下：

$$R_{50} = \frac{T_{50, \text{水热碳}}}{T_{50, \text{石墨}}} \quad (3.5)$$

其中 $T_{50, \text{水热碳}}$ 和 $T_{50, \text{石墨}}$ 为 TGA 分析(空气气氛)中水热碳和石墨失重 50%时的温度值，经水分和灰分含量校正。参照物质石墨（纯度 99.85%，100 目）购自国药集团化学试剂有限公司。

为了准确评估温度对水热碳碳封存潜力的影响，引入碳封存指数（CS），公式如下：

$$\text{Carbon sequestration}(CS) = R_{50} \times CR \quad (3.6)$$

PA 与 PHC 元素分析及相关计算结果，见表 3.1 及对应的范克雷夫伦图，见图 3.1，水热碳化能有效将落叶枫树叶片从富氧生物质转化为碳密度更高的水热碳。水热碳化技术可将落叶枫树叶片从富氧生物质高效转化为碳密度更高的水热碳。原料（PA）碳含量为 44.23%，氢氧含量相对较高分别为 5.41%和 39.31%，对应氢碳比与氧碳比分别为 1.47 和 0.67，具有新鲜木质纤维素生物质的典型特征。经 180-260℃高压热处理后，碳含量升至 54.91%—62.42%，氧含量降至 30.71—20.87%，氢含量微降至 4.66%—5.34%。随着高温热解温度升高，H/C 比值从 1.47 降至 0.95，O/C 比值从 0.67 降至 0.25。在范克雷夫伦图中，这些变化沿脱水轴与脱羧轴轨迹分布，脱甲烷作用贡献较小，表明不稳定含氧基团逐步脱除，芳香族 C-C 及 C=C 结构持续富集。≥220℃条件下制备的碳化物呈现 O/C≤0.4 与 H/C≤1.0 的收敛趋势，表明其正向更致密且难降解的碳域转变，该特性既有利于持久碳封存，又满足反复吸附—脱附循环所需的结构稳健性要求。

根据实验结果，随着水热碳化温度的升高，水热碳的碳回收率有所下降，但其碳封存潜力和稳定性显著增强。通过热重分析和 Van Krevelen 图的分析，可以清楚地看出温度对水热碳结构的影响，较高温度的水热碳表现出更强的碳稳定性、芳香性增加以及低氧化性，这些特性使其成为长期碳封存的理想材料。因此，优化水热碳化温度对提高水热碳的碳封存效能具有重要意义，尤其是在长期环境应用中，水热碳作为土壤改良剂或碳汇材料具有重要的应用前景。

表3.1 不同温度下水热碳的元素组成

名称	PA	180PA	200PA	220PA	240PA	260PA
C %	44.23	54.91	55.47	57.11	61.53	62.42
H %	5.41	5.34	5.30	4.66	4.99	4.94
N %	0.80	0.93	0.89	0.85	1.07	0.98
S %	0.26	0.53	0.00	0.11	0.08	0.00
O %	39.31	30.71	29.92	26.25	20.11	20.87
H/C	1.47	1.17	1.15	0.98	0.97	0.95
O/C	0.67	0.42	0.40	0.34	0.25	0.25
Yield %	/	57.48	54.17	51.53	50.1	47.64
Ash %	9.99	7.58	8.42	11.02	12.22	10.79
CR %	/	71.36	67.94	66.54	69.70	67.24
MRT y	40.92	107.74	114.86	196.12	200.03	215.12
HC+100 %	14.52	33.15	34.38	44.68	45.06	46.46
CS %	/	38.19	37.61	43.10	46.00	50.68
T ₅₀	/	428.10	442.93	518.19	528.05	603.02
Wt%	/	30.44	32.18	37.27	37.79	40.76
R ₅₀	/	0.54	0.55	0.65	0.66	0.75

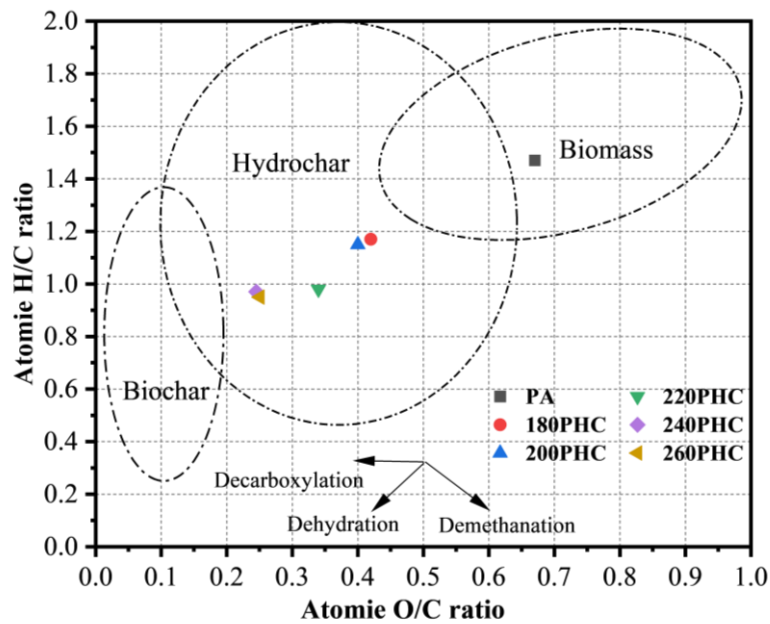


图3.1 PA 及其水热碳范式图

3.2.2 孔隙结构与比表面积特征

为揭示法桐落叶水热碳的孔隙结构演化规律及其对重金属固定的结构支撑作用，对不同温度条件下制备的样品进行了 N₂吸附—脱附测试，并结合 BET 与 DFT 模型分析其比表面积、孔容及孔径分布特征。如图 3.2 所示，各样品吸附—脱附曲线在低相对压力

区 ($P/P_0 < 0.1$) 吸附量快速上升, 表明材料中存在一定微孔; 在中高相对压力区吸附量持续增加, 且在高相对压力区 ($P/P_0 > 0.8$) 出现明显上翘, 并伴随滞后环, 说明样品中同时存在介孔结构。综合曲线形态判断, 法桐落叶水热碳整体表现为以介孔特征为主、兼具微孔贡献的IV型等温线+H3 滞后环, 表明其孔结构属于微孔—介孔复合体系。该类结构有利于兼顾溶液中离子的传质扩散与表面活性位点暴露, 为后续重金属固定过程提供界面条件。

如表 3.2 所示, 温度对孔隙结构参数有显著的影响。当反应温度由 180°C 升高至 220°C 时, 样品比表面积由 $27.789\text{m}^2/\text{g}$ 增至 $37.461\text{m}^2/\text{g}$, 并进一步提高至 $51.931\text{m}^2/\text{g}$; 总孔容由 $0.079\text{cm}^3/\text{g}$ 增至 $0.114\text{cm}^3/\text{g}$ 和 $0.119\text{cm}^3/\text{g}$ 。该结果表明, 在 $180\text{--}220^{\circ}\text{C}$ 范围内, 温度升高促进了生物质组分分解与结构重构, 孔道逐步发育, 材料可接触界面明显增加。相比之下, 当温度进一步升高至 240°C 和 260°C 时, 比表面积分别下降至 $29.761\text{m}^2/\text{g}$ 和 $17.787\text{m}^2/\text{g}$, 总孔容分别降至 $0.071\text{cm}^3/\text{g}$ 和 $0.039\text{cm}^3/\text{g}$, 说明过高温度可能导致碳骨架收缩、孔壁塌陷或二次缩聚增强, 从而抑制孔结构进一步发育。

表3.2 不同温度条件下水热碳的孔径分析

	180PHC	200PHC	220PHC	240PHC	260PHC
比表面积 (m^2/g)	27.789	37.461	51.931	29.761	17.787
总孔体积 (cm^3/g)	0.079	0.114	0.119	0.071	0.039
DFT 孔径 (nm)	2.110	2.038	1.000	0.917	1.091
DFT 累计孔体积 (cm^3/g)	0.065	0.093	0.090	0.052	0.026
平均孔径 (nm)	11.415	12.208	8.975	9.600	8.750

孔径分布分析结果显示, 各样品 DFT 模态孔径主要集中于 $1.000\text{--}2.110\text{nm}$, 表明小孔径孔道对孔结构贡献较大; 同时结合累积孔容曲线可见, 样品在数纳米范围内仍具有一定孔容分布, 进一步说明其具有复合孔结构特征。平均孔径分别整体呈现温度升高后平均孔径减小的趋势, 与高温条件下结构致密化增强相一致。

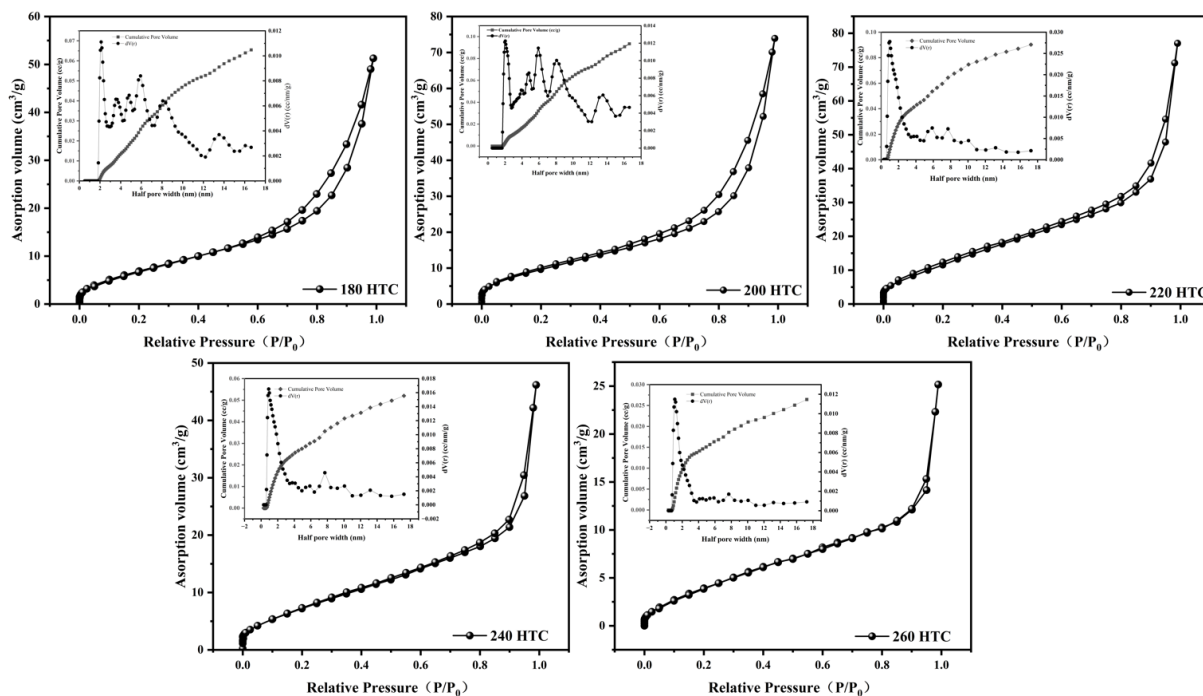


图3.2 不同温度下水热碳 BET 图

3.2.3 微观形貌与表面结构特征

为揭示不同水热温度下法桐落叶水热碳的微观结构演化规律，采用 SEM 对 PHC 样品进行观察，如图 3.3 所示。随着水热温度升高，材料由植物组织纤维结构逐步向碳化重构后的团聚化结构演变，并伴随表面粗糙度、孔隙与无机颗粒暴露程度的变化。

180-200PHC 为开始出现明显的颗粒化与团聚现象，表面粗糙度增加，并可见较多类球形颗粒与碎片状碳质基体共存。碳微球+基体的形貌特征常被视为水热碳化过程中溶解—缩聚—再沉积作用的直接结果，碳骨架从原始植物组织向二次碳相转化。部分颗粒表面附着细小亮点或结晶状颗粒，无机相在碳基体上发生富集或沉积。

220PHC 呈现更为明显的结构发育特征，碳基体表面由相对平整转为起伏更强、边缘更破碎，局部可见微孔与片层堆叠形成的孔隙空间，表现出更有利于界面反应的多级结构特征。对于重金属固定而言，该类结构能够提高溶液/孔隙水中离子的传质效率，增加与表面官能团/矿物相的接触机会；对于微生物载体功能而言，粗糙表面与多级孔隙也更有利于菌体附着与微环境庇护，从而增强定殖稳定性。

当温度进一步升高至更高温组 240-260PHC，样品形貌整体进一步团聚和局部致密化。部分区域出现更大尺度的颗粒团聚体或块状结构，表面虽仍粗糙，但可见更明显的结晶片状和颗粒状附着物，且局部结构趋于紧密，高温条件下二次缩聚与骨架收缩增强，孔壁塌陷或孔道堵塞的可能性增加。

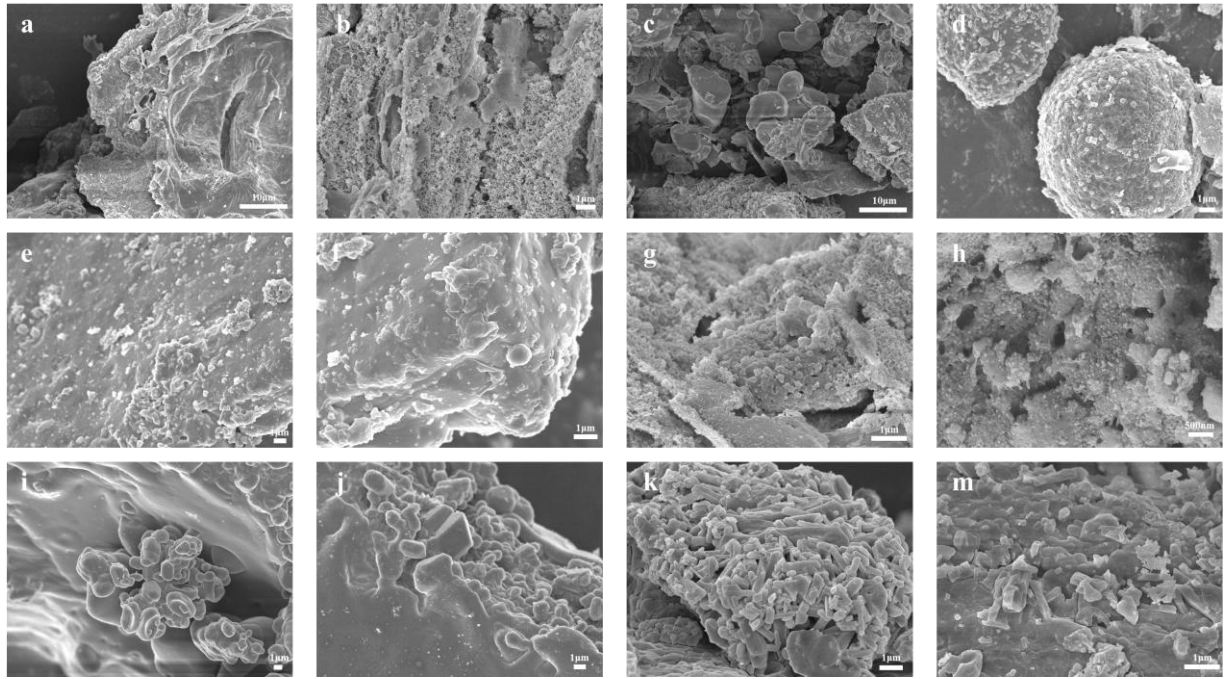


图3.3 不同温度水热碳 SEM 图 (a,b-180PHC;c,d-200PHC;e,f-220PHC;g,h-240PHC;i,j-260PHC)

3.2.4 晶相/矿物相特征

为明确法桐落叶水热碳中无机矿物的保留/转化特征，采用 XRD 对 180–260°C 制备样品进行晶相分析，结果如图 3.4 所示。各样品衍射谱均表现为“宽弥散背景+多个尖锐衍射峰”的组合特征：一方面，在低角度至中角度范围内可观察到较明显的弥散峰背景隆起，表明水热碳主体以无定形碳结构为主，芳香层片堆积有序度较低，符合水热碳化温度区间下碳骨架尚未高度石墨化的典型特征；另一方面，多组清晰且较窄的衍射峰说明样品中存在一定含量的结晶相无机组分，经过标准卡片对比主要衍射峰位置与 CaC_2O_4 （草酸钙，PDF#99-000-4290），草酸钙是植物组织中常见的钙储存形态。SEM 图像图 3.3k 和图 3.3m 观察到明显的棒状晶体显化。随着水热温度升高，各样品衍射峰强度与峰形呈现一定差异，低温样品峰形较为突出，而高温样品部分峰强可能出现弱化或相对背景增强的现象，表明温度提升促进有机基质进一步分解并伴随矿物相的重结晶、包覆或局部转化。

水热碳中保留的含钙矿物相可作为潜在反应的无机库，在土壤体系中可能通过释放 Ca^{2+} 、提供成核、沉淀界面或参与离子交换等过程，促进部分重金属向更稳定形态转化；同时，矿物颗粒与无定形碳基体的复合结构可在界面上形成有机官能团络合一无机相沉淀或共沉淀的协同固定条件。

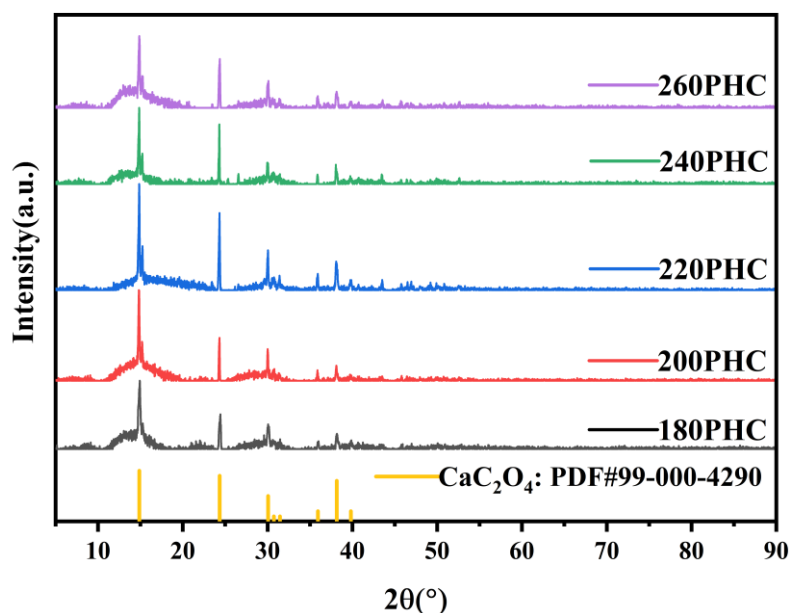


图3.4 不同温度水热碳 XRD 图

3.2.5 表面官能团特征

为阐明法桐落叶水热碳的表面化学组成及其随水热温度变化的演化规律，对 180-260℃ 样品开展 FTIR 测试。结果如图 3.5 所示，在 3700–3100 cm^{-1} 区间，各样品在约 3400 cm^{-1} 附近均出现宽峰，对应–OH 伸缩振动，并可与 N–H 伸缩振动发生叠加。该宽峰在低温样品（180PHC、200PHC）中更为明显，而在高温样品（240PHC、260PHC）中相对减弱，随着水热温度升高，材料表面羟基/结合水相关结构减少，与元素分析中 O 含量及 O/C 比随温度升高而下降的规律相互印证，以此证明高温促进水热碳的脱水与缩合，使极性含氧位点减少、碳骨架稳定性增强。

在 3000–2800 cm^{-1} 区间，样品在 2923–2927 cm^{-1} 附近存在脂肪族 C–H 伸缩振动信号，该峰在温度升高过程中整体趋于弱化，表明脂肪族链段逐步裂解并参与缩合，材料由向更高层次的芳香化/缩合结构演化。

在 1800–1500 cm^{-1} 区间，样品在 1676–1701 cm^{-1} 附近出现吸收峰，可归属为 C=O（羰基）相关振动；同时在 1615–1619 cm^{-1} 附近出现较稳定吸收峰，主要对应芳香环 C=C 骨架振动。其中，芳香 C=C 峰在各温度下均保持存在，表明水热碳骨架中芳香结构单元普遍形成并相对稳定；而羰基峰位在不同温度间存在一定移动，也进一步说明官能团类型与共轭环境发生调整，符合脱羧、重排、缩合驱动的表面化学重构过程。

在 1200–900 cm^{-1} 区间，样品出现明显 C–O/C–O–C 相关吸收带，反映醚键、酚羟基、多糖残余结构等含氧键的存在。水热过程中纤维素或半纤维素等结构的断裂与重排，并逐步形成更偏向于芳香醚和酚类的特征含氧键环境。

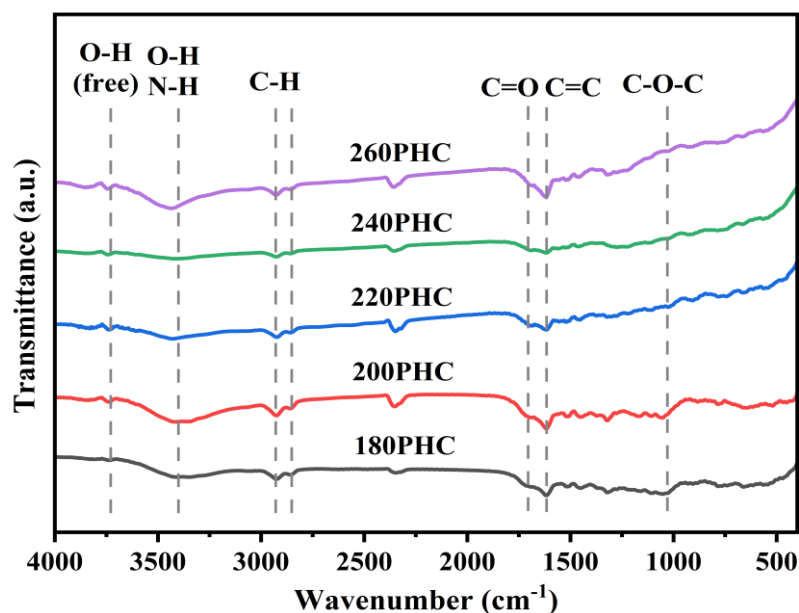


图3.5 不同温度水热碳 FTIR 图

3.2.6 表面电性与界面反应相关特征

为阐明法桐落叶水热碳在不同 pH 条件下的界面电荷行为及其对重金属固定的潜在影响, 对不同温度 HC 在 pH 3–8 范围内测定其 Zeta 电位, 结果如图 3.6 所示。水热碳 Zeta 电位均随 pH 升高呈下降趋势, 表明水热碳表面含氧官能随 pH 升高逐步去质子化, 表面负电荷增加, 体现出典型的 pH 依赖型界面电性特征。

不同温度样品的电性响应存在明显差异。180PHC、200PHC 和 220PHC 在低 pH 条件下接近零电位或仅轻微带正电, 随后快速转负, 并在 $\text{pH} > 4.5$ 后稳定维持在约 -14 至 -20 mV; 其中 220PHC 在 pH 4.6–8.0 范围内基本保持较稳定负电位约 -16.9 至 -18.4 mV, 表明其表面电荷状态较稳定。相比之下, 240PHC 和 260PHC 在酸性区正电性更强, 在 $\text{pH} = 2.65$ 左右时分别约为 +4.11 mV 和 +3.00 mV, 且随 pH 升高转负过程更缓, 至中性或弱碱性区负电位绝对值仍明显低于 220PHC。对于等电点位来说, 180–220°C 样品等电点较低, 约在 pH 2.6–2.9; 而 240–260°C 样品等电点相对升高, 约在 pH 3.7–4.0。

从界面反应角度看, Zeta 电位结果为水热碳对离子态污染物的吸附/固定机制提供了重要依据。当体系 pH 低于零电位点附近时, 水热碳表面更易带正电, 可能增强对阴离子形态污染物的静电吸附; 当 pH 高于零电位点时, 表面负电荷增加, 则更有利于阳离子金属的静电吸附与表面络合。说明 PHC 对不同离子形态污染物具有较强的界面适应性。尤其在重金属污染土壤体系中, 表面电性变化可与官能团络合、离子交换及沉淀化过程协同作用, 共同影响金属形态转化与迁移性。

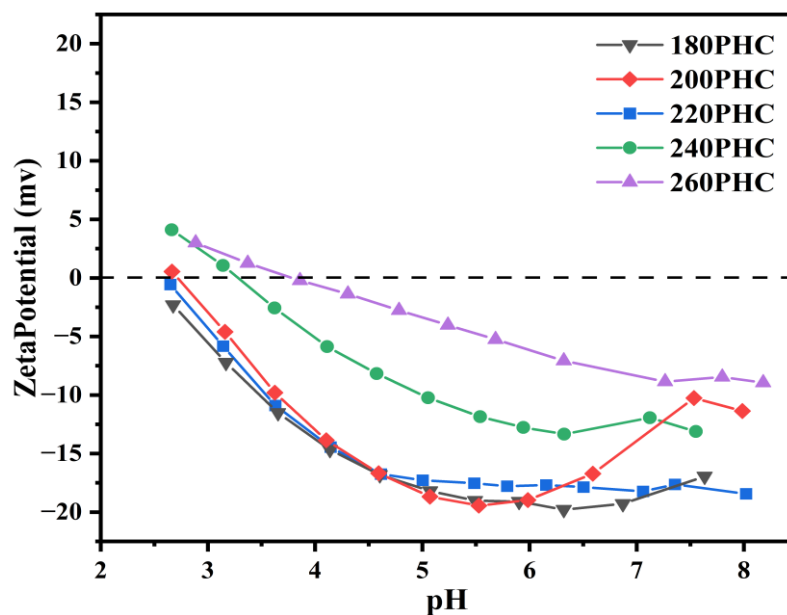


图3.6 不同温度水热碳 Zeta 电位图

3.2.7 热稳定性与结构演化特征

为评估不同水热温度水热碳的热稳定性与结构演化特征，对 180–260℃样品开展热重（TGA）与微分热重（DTG）分析。低温区失重较小，中温区出现主失重峰，高温区失重趋缓并形成较稳定残余，表明材料由“热不稳定有机组分+缩合碳骨架+无机灰分”共同构成。各样品低温区（<150℃）失重仅约 2.46%—2.78%，主要对应吸附水/弱结合水脱除。主失重集中 150–450℃的中区间：180、200℃样品该区间失重分别约 50.18%、48.23%，明显高于 220、240、260℃样品的 40.37%、39.52%、34.41%，是由于低温水热碳中仍含较多热不稳定组分，包括残余纤维素或半纤维素衍生结构与易裂解含氧官能团，而随水热温度升高，材料缩合度提高、可热裂解组分比例显著降低。450–800℃的高区间，各样品失重速率明显降低，TGA 曲线趋于平缓，表明残余物主要为更稳定的芳香化/缩合碳结构及灰分矿物相。为对比热稳定性，计算 T_{50} 及 800℃残余率，见表 3.1。结果表明随水热温度升高， T_{50} 显著升高，由 428.1℃上升到 603.0℃，且 800℃残余率也有所上升，由 30.44%上升到 40.76%，表明材料整体耐热性增强、缩合碳骨架与无机灰分相对富集。

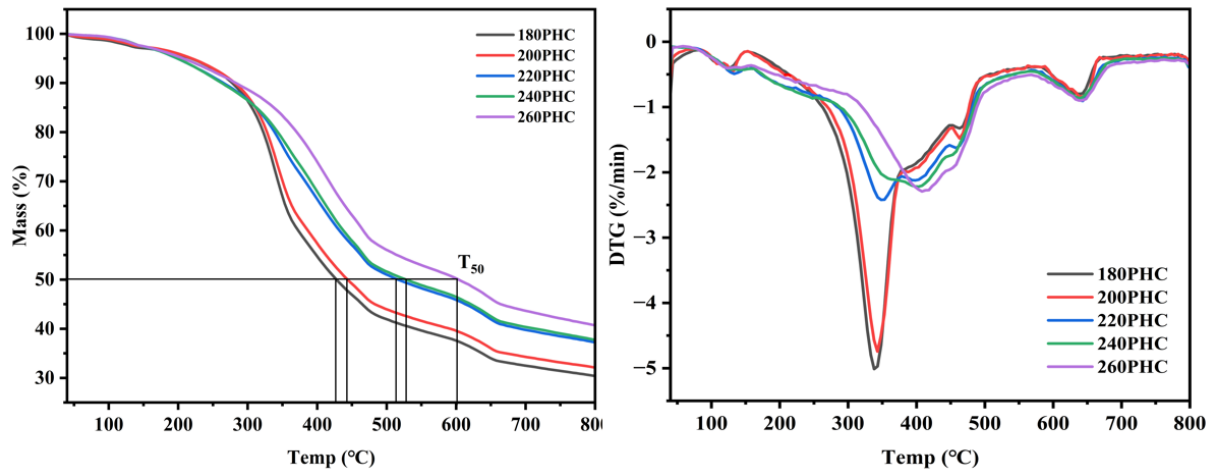


图3.7 不同温度水热碳热重分析图

3.3 水热碳对重金属固定的潜在机制分析

根据表征实验结果可知, PHC 属于典型的碳相—矿物相复合材料, 其对重金属的固定作用并非单一机制主导, 而是在土壤/孔隙水体系中由界面吸附—官能团络合—矿物相沉淀或共沉淀—微环境调控等过程协同实现, 最终表现为重金属生物有效性与迁移性降低。

(1) 孔结构与界面可达性

N_2 吸附结果表明各样品呈现以介孔特征为主、兼具微孔贡献的 IV 型等温线, 具备微孔—介孔复合孔结构。孔结构为金属离子扩散进入材料表面提供通道, 并显著提升单位质量材料的可接触界面。尤其 220 °C 样品比表面积 ($51.931 m^2/g$) 和总孔容 ($0.1191 cm^3/g$) 达到最高, 说明其界面可达性与潜在反应界面最充分; 与 SEM 中更明显的粗糙化、多级结构相一致。该证据表明, 在溶液/孔隙水条件下, 220 °C 水热碳更可能获得较高的“有效接触概率”, 为后续络合与沉淀等反应奠定结构基础。

(2) 表面官能团络合

FTIR 显示水热碳表面普遍存在 $-OH$ 、 $C=O$ 、 $C-O/C-O-C$ 及芳香 $C=C$ 等特征结构, 证明材料具备含氧官能团与芳香骨架共存的表面化学特征。结合元素分析, 随温度升高 C 含量增加而 O 含量下降, O/C 由 0.42 降至 0.25, 表明高温促进脱水、脱羧/脱羧与缩合, 使官能团总体减少但骨架稳定性增强。含氧官能团可作为金属离子配位/络合位点, 通过内配位络合或表面结合降低其可交换性; 芳香骨架增强则提升材料耐久性与固定作用持续性。因此, 官能团种类特性与骨架稳定性在温度变化中存在权衡, 而 220 °C 样品在孔结构最优的同时仍保留较明显含氧官能团信号 (O=26.25%, O/C=0.34), 既兼顾了炭材料表面的络合位点数量, 也保证了炭基材料结构的长期稳定性。

（3）表面电性调控

Zeta 结果显示各样品 Zeta 电位随 pH 升高降低，等电点整体较低，180-220℃样品约位于 pH2.6-2.9，而 240-260℃样品上移至约 pH3.7-4.0。在多数土壤常见 pH 下，水热碳表面以负电为主，有利于阳离子金属的静电吸附与界面富集，并促进其向官能团络合、沉淀路径转移。对于以阴离子形态存在的污染物，静电吸附更可能在酸性条件下增强，因此其固定更依赖于 pH 条件—表面电性—官能团和矿物相协同的耦合过程。220℃样品在 pH>4.5 后稳定维持约-17 至-18mV 的负电性，界面电荷状态较稳定，说明其在后续体系实验中更有利于获得可重复的界面反应行为。

（4）XRD 矿物相

XRD 表明各温度样品均存在与 CaC_2O_4 匹配的晶相，且随温度变化主晶相仍保持，说明钙基矿物相在水热碳中稳定保留。元素分析中灰分随温度总体升高 7.58%（180PHC）上升至 12.22%（240PHC）与 TGA 高温残余率从 30.44%上升至 40.76%相互印证，表明无机相在固相中相对富集。钙基矿物相可在土壤体系中提供成核与沉淀界面，促进金属以更稳定形态生成，并与碳表面官能团形成有机络合同无机沉淀或共沉淀的协同固定。该机制有利于提升固定的长期稳定性与抗淋溶能力，是材料稳定性和耐久性的重要保障。

（5）温度效应与样品选择

综合上述研究结果明确制备温度对炭基材料的影响机制，180-220℃阶段孔结构逐步发育，官能团仍较丰富，固定机制更偏向于界面富集和官能团络合为主；当温度上升至 240-260℃时，碳化与矿物富集增强，O/C 下降、 T_{50} 与残余率上升，材料更稳定但孔结构与官能团可达性降低，固定贡献可能更偏向矿物相沉淀或共沉淀与稳定化。因此，本研究选择 220℃样品作为后续主要材料，该温度下材料能够在孔结构可达性—官能团反应性—界面电性稳定—结构稳定性之间取得合理平衡，为后续盆栽与淋溶体系中固定效果与稳定性验证提供材料基础。

3.4 章节小结

本研究以园林废弃物法桐落叶为生物质原料，采用水热碳化法制备法桐水热碳（PHC）。围绕 PHC 的基础材料特性展开研究，重点考察水热温度变化对材料组成、结构及界面性质的影响。通过相应的表征手段，从碳化演变、结构特征和表面反应属性三个层面系统分析 PHC 的变化规律，并据此筛选适用于后续菌剂构建和土壤修复试验的代表性样品。

(1) 通过元素分析、Van Krevelen 图和热重分析对 PHC 的碳回收、碳封存潜力及稳定性进行分析, 结果表明, 随着水热温度升高, 水热碳产率和碳回收率总体下降, 材料碳含量持续升高, 碳化程度不断增强、碳骨架更加稳定。更有利于提高水热碳的碳封存潜力^[125]。

(2) 通过 SEM、XRD、FTIR 和 BET 等手段对 PHC 的微观形貌、矿物相组成、表面官能团及孔隙结构进行表征, 结果表明, PHC 均具有微孔—介孔复合孔结构, 表面保留了丰富的含氧官能团, 同时含有一定钙基矿物相, 为后续重金属络合、吸附和沉淀固定提供了结构基础^[126]。

(3) 通过 Zeta 电位分析法桐落叶水热碳的表面电性及界面反应特征, 结果表明, 各样品在中性至弱碱性条件下整体以负电性为主, 具备吸附和固定阳离子型重金属的界面基础。综合考量各 PHC 的结构稳定性、表面反应性和界面可达性, 选取 220°C 的水热碳作为后续水热碳基微生物菌剂构建及污染土壤修复试验的代表性材料。

第4章 水热碳基微生物菌剂构建及其稳定性

4.1 概述

第三章通过实验研究后选定 220PHC 作为本文的材料基础。然而,单一水热碳在污染土壤中的作用仍主要依赖吸附、络合和沉淀等物理化学过程,其对重金属迁移风险的长期控制效果容易受到土壤环境变化的制约。为进一步提升材料在实际体系中的持续修复能力,在 PHC 的基础上引入功能微生物,构建兼具材料固定和生物强化作用的复合菌剂体系。

微生物修复作为一种绿色修复途径,能够通过细胞表面吸附、胞外聚合物络合、微环境调节及形态转化等方式降低重金属活性,在污染土壤治理中具有重要潜力。但自由菌直接施入土壤后,常受到重金属毒性、营养限制及环境波动等多重胁迫,其存活率、定殖能力和持续作用效果均难以保证^[127]。以多孔碳材料作为载体固定微生物,为菌体提供附着位点和保护空间的同时还可通过炭材料的界面缓冲作用减轻重金属胁迫,从而提高功能菌的稳定性和应用可行性。因此,构建水热碳基微生物菌剂,是生物修复污染土壤的发挥重要作用^[127, 128]。

本章从重金属污染土壤中分离、纯化并驯化抗性菌株,完成菌株的分子鉴定和系统发育分析,明确其分类地位及作为功能菌的应用基础;随后通过负载固定方式构建水热碳基微生物菌剂,并结合扫描电镜观察菌体在载体表面的附着、延伸和包被特征;明确法桐落叶水热碳作为微生物载体的适用性,为炭-菌协同修复重金属污染土壤提供了可行的途径和理论基础。

4.2 结果与讨论

4.2.1 功能性菌种确定

为明确从重金属污染土壤中分离获得菌株 EM 的分类地位,对其 ITS 序列进行了测定,并结合 NCBI 数据库进行 BLAST 同源性比对,同时采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ)构建系统发育树进行系统发育分析。结果表明,菌株 EM 的 ITS 序列长度约为 586 bp, BLAST 比对结果显示其与 *Talaromyces* 属真菌具有较高同源性。其中,与 *Talaromyces* sp. strain CF4 的序列同源性可达 100%,与 *Talaromyces verruculosus* isolate FLWW18、*Talaromyces funiculosus* isolate CF00162 等序列也表现出 100%或接近 100%的相似性,说明该菌株在分子水平上与 *Talaromyces* 属成员具有极近的亲缘关系。

进一步的系统发育树分析表明, 菌株 EM 与多株 *Talaromyces* 属已报道菌株聚为同一分支, 且与 *Talaromyces verruculosus*、*Talaromyces funiculosus* 及部分未定种的 *Talaromyces* sp. 分支距离较近, 明显区别于外群 *Penicillium* 相关序列, 进一步证实其应归属于 *Talaromyces* 属。由于该菌株在 ITS 序列水平上同时与多个近缘种表现出极高相似性, 而系统发育树中其与 *T. verruculosus* 和 *T. funiculosus* 等近缘种之间分支分辨率有限, 因此仅依据 ITS 序列尚不足以对其进行完全可靠的种水平界定。本研究将该菌株暂定为 *Talaromyces* sp. EM。

Talaromyces 属真菌广泛分布于土壤、植物残体及污染环境中, 具有较强的环境适应能力和代谢活性。已有研究表明, 该属部分菌株能够通过菌丝表面吸附、胞外代谢产物络合、微环境 pH 调节及矿物沉淀等方式参与金属离子的固定与转化。因此, 本研究从污染土壤中筛选获得的菌株 EM 被认为具有潜在的重金属耐受与修复应用价值。

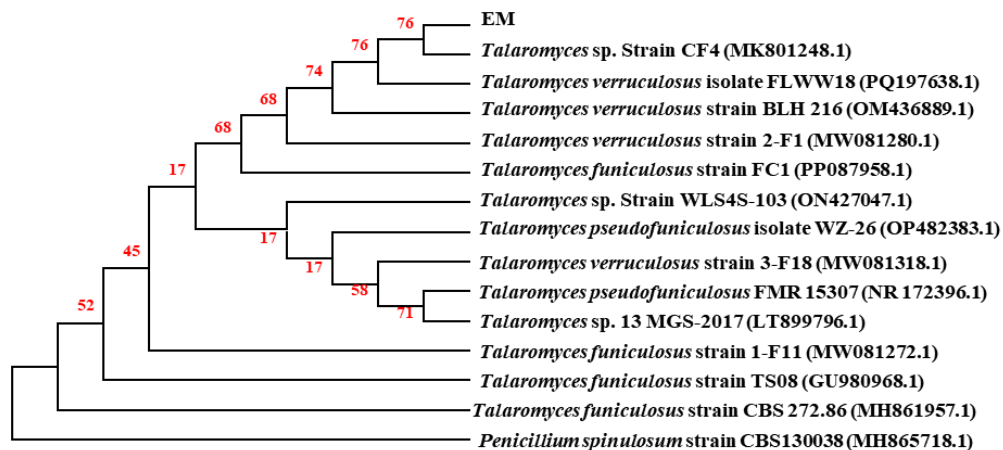


图4.1 基于菌株 EM 和其他选定序列的邻接系统发育树

4.2.2 水热碳基微生物菌剂微观形貌与表面结构特征

为明确水热碳基真菌菌剂的构建效果及其微观结构特征, 对菌剂样品进行了 SEM 观察。结果表明如图 4.2, 菌剂整体呈现出典型的水热碳载体—真菌菌丝—菌体附着体复合结构。水热碳基体表面较为粗糙, 具有一定的片层纹理、褶皱和沟槽结构, 可为微生物附着提供较大的比表面积和空间支撑。

从整体形貌看, 图 4.2a 中可清晰地观察到细长丝状结构分布于水热碳表面, 并沿载体表面延伸、交织, 局部形成缠绕和包被特征。丝状结构符合真菌菌丝的典型形貌, 说明真菌并非仅以孤立颗粒形式附着, 而是在水热碳表面形成了较为稳定的菌丝网络。菌

丝与载体之间结合紧密，部分菌丝沿表面纹理方向伸展，表明水热碳表面结构能够为真菌提供适宜的附着和生长界面。

水热碳表面及沟槽区域还存在明显的团聚状附着体（图 4.2b），部分呈颗粒状或絮状分布，并与载体表面凹陷区域紧密结合。在菌剂构建过程中，真菌不仅能够通过菌丝与载体实现机械嵌合，还可能伴随胞外聚合物以及菌体团聚结构的形成，从而增强其在载体表面的固定稳定性。此类结构有利于减少菌体脱附，提高菌剂在后续储存和应用过程中的保持能力。

从结构功能关系看，水热碳表面的粗糙基体、沟槽结构及局部孔隙为真菌菌丝附着和扩展提供了物理基础，而菌丝网络及团聚体的形成则进一步增加了炭—菌复合界面的有效接触面积。不仅有利于提高菌剂的稳定性，也为后续 Cr 的吸附、络合和界面转化提供更多活性位点。

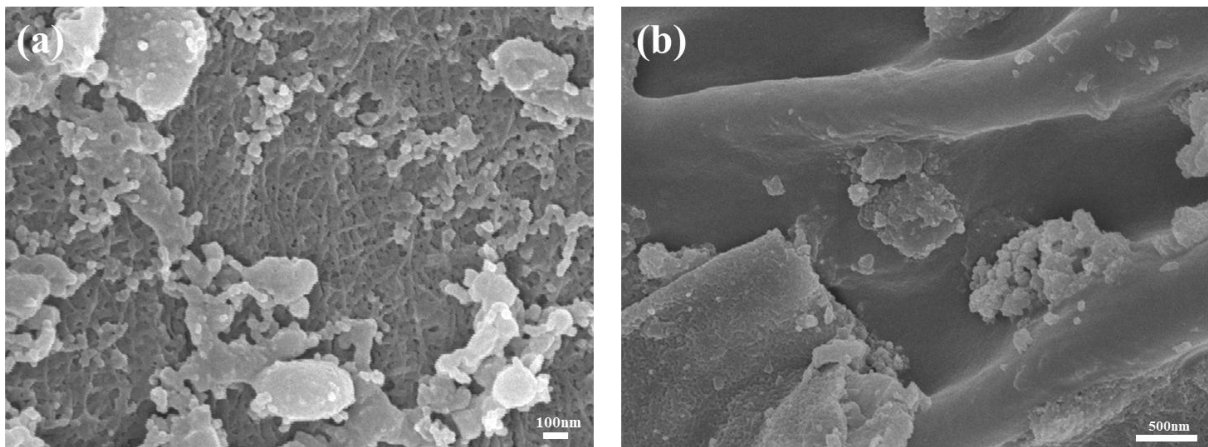


图4.2 水热碳基微生物菌剂 SEM 图像

4.2.3 水热碳基微生物菌剂的稳定性研究

为评价水热碳负载对菌剂储存稳定性的影响，将游离菌 EM 和水热碳基微生物菌剂 PHC-EM 于 4 °C 条件下保存，并在第 1、3、5、7、14、21 和 28 d 测定活菌数，以初始活菌数为基准计算相对存活率，结果如图 4.3 所示。

EM 在储存前期衰减较快，由第 1 d 的 87.46% 降至第 7 d 的 67.23%，28 d 时进一步降至 60.24%；而 PHC-EM 在整个储存过程中下降幅度较小，第 1 d 存活率为 95.37%，第 7 d 为 83.35%，28 d 时仍保持 80.12%。与 EM 相比，PHC-EM 在 28 d 时存活率提高了 19.88 个百分点，说明水热碳负载能够显著减缓菌体在低温储存过程中的衰亡，提高菌剂的保存稳定性。为进一步表征菌剂储存过程中的衰减规律，采用 Logistic 方程对 EM 和 PHC-EM 的存活率变化进行拟合。结果表明，两组数据均能较好地符合 Logistic 衰减

模型, 其中 EM 和 PHC-EM 的拟合相关系数分别为 0.9754 和 0.9891, 实现了较好的拟合效果。从拟合曲线可以看出, EM 的衰减速率较快, 后期平台值较低; PHC-EM 曲线整体下降较缓, 且维持在较高平台水平。表明水热碳负载后, 菌体在储存过程中能够保持更高比例的活性细胞, 衰亡过程得到有效延缓。由此可见, PHC 作为载体对 EM 具有明显的稳定化作用。

水热碳对菌体保存稳定性的提升主要与其孔结构和表面特性有关。一方面, 水热碳较发达的孔隙结构和粗糙表面为菌体提供了附着与庇护空间, 有利于减弱低温储存过程中外界环境变化对菌体的影响; 另一方面, 水热碳表面含有一定数量的含氧官能团和较稳定的界面电性, 有助于增强菌体与载体之间的相互作用, 减少菌体脱附和失活。此外, 水热碳还可在一定程度上缓冲局部环境变化, 为菌体提供相对稳定的微环境。

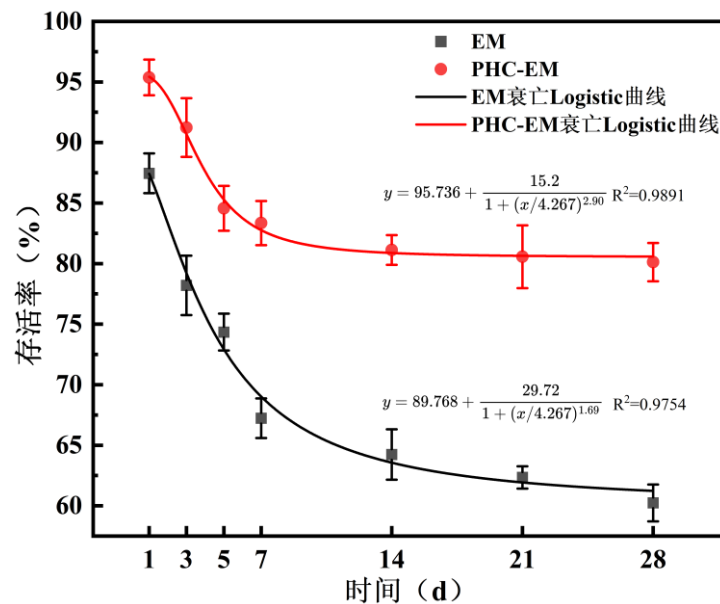


图4.3 EM 与 PHC-EM 的衰亡 Logistic 曲线

4.2.4 初始 pH 对 Cr 去除的影响

初始 pH 是影响 PHC 和 PHC-EM 去除 Cr 效果的重要因素。由图 4.4 可知, 两种材料对 Cr 的去除量均随初始 pH 变化呈现先升高后降低的趋势, 并均在 pH 3 条件下达到最大值。其中, PHC 的去除量由 pH 2 时的约 29.471 mg/g 增至 pH 3 时的 35.886 mg/g, 随后随 pH 升高持续下降至 pH 8 时的 6.374 mg/g; PHC-EM 的最大去除量则在 pH 3 时达到 58.095 mg/g, 其最低吸附量为 pH 7 时的 33.238 mg/g, 且在整个测试范围内始终高于 PHC, 表明菌体负载显著增强了体系对 Cr 的去除能力。随着初始 pH 继续升高至中性

和弱碱性范围,两组材料的去除量均明显降低,但 PHC-EM 下降幅度相对较缓,表明炭-菌复合体系对 pH 波动具有更强的适应性。

去除效率主要与 Cr(VI)的溶液形态、材料表面电性以及界面反应过程的共同作用有关。首先,在酸性条件下,Cr(VI)主要以 HCrO_4^- 形式存在,该形态反应活性较高;同时,PHC 及 PHC-EM 表面的含氧官能团易发生质子化,使材料表面正电性增强或负电性减弱,从而有利于对阴离子型 Cr(VI) 的静电吸引。由 Zeta 电位结果可知,水热碳在低 pH 条件下更接近等电点,部分条件下甚至表现出正电性,因此更有利于 Cr(VI)向材料表面富集。其次,当 pH 进一步降低至 2 时,体系中 H^+ 浓度过高,可能与 Cr(VI)竞争表面活性位点,削弱有效吸附与结合过程,因此去除效果未进一步提高。由此说明,pH 3 兼顾了表面质子化增强与 H^+ 竞争尚未过强的双重条件,更有利于 Cr 的去除。

当初始 pH 升高至 4 以上时,Cr(VI) 在溶液中逐渐向 CrO_4^{2-} 等二价阴离子形态转化,而材料表面也因去质子化增强而逐步带有更强负电荷,导致静电排斥作用增强,从而削弱 Cr(VI) 的表面富集与吸附。同时, OH^- 浓度增加也会与表面活性位点形成竞争,进一步降低材料对 Cr 的结合能力。因此,pH 升高后 Cr 去除量下降,是阴离子形态变化与材料表面负电性增强共同作用的结果。

PHC-EM 在各 pH 条件下均表现出高于 PHC 的去除能力,且在 pH 3 条件下优势最为明显。按最大去除量计算,PHC-EM 较 PHC 提高约 61.9%,说明菌体引入显著强化了 Cr 的固定过程。其原因可能是由于菌体细胞壁及胞外聚合物中含有丰富的羟基、羧基、氨基等活性基团,可为 Cr 提供额外结合位点;同时,炭-菌复合界面能够改善局部微环境,增强 Cr(VI)的富集与稳定化。对于微生物体系而言,还可能存在一定的局部还原作用,即将毒性较强、迁移性较高的 Cr(VI)转化为更稳定的 Cr(III),从而进一步提高去除效率。PHC-EM 在酸性条件下显著优于 PHC,说明炭-菌协同作用不仅体现在吸附位点增加上,也可能涉及更复杂的界面生物化学过程。

此外,实验中 pH 的变化强化均出现减缓,表明材料在反应过程中对体系具有一定缓冲作用。这一现象与表面质子消耗、矿物组分溶出以及菌体代谢活动有关,也说明 PHC 和 PHC-EM 对 Cr 的去除并非单纯的物理吸附,而是伴随表面化学反应与界面环境调控共同发生。

综上,pH 3 是本体体系去除 Cr 的最适条件。在该条件下,Cr(VI)以更易反应的 HCrO_4^- 形态存在,材料表面质子化程度适宜, H^+ 竞争作用尚未过强,同时炭-菌复合界面对 Cr

的富集和固定作用最为显著。因此，后续吸附条件优化及机理研究以 pH 3 作为关键反应条件具有充分依据。

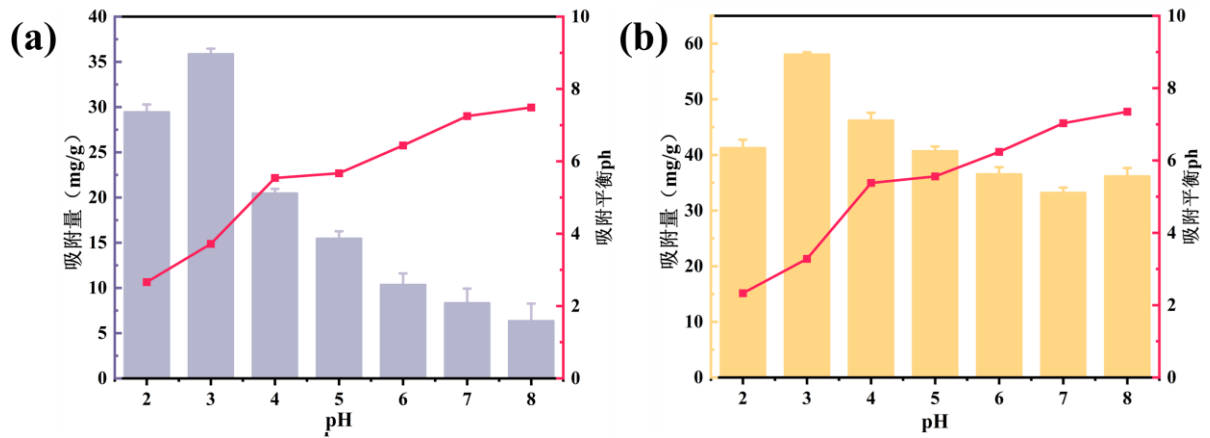


图4.4 初始 pH 对 PHC 和 PHC-EM 去除 Cr 的影响

4.2.5 吸附等温线

为进一步明确 PHC 与 PHC-EM 对 Cr 的吸附特性，在初始 pH 为 3、添加量恒定条件下，分别于 15℃、25℃和 35℃下进行了等温吸附实验，并采用 Freundlich、Langmuir 和 Sips 模型对实验数据进行拟合，结果见图 4.5 和表 4.1。

PHC 和 PHC-EM 对 Cr 的吸附量均随平衡浓度增加而逐渐升高，并在高浓度区趋于平缓，表明材料表面活性位点逐步被占据，吸附过程由快速增加转入缓慢饱和阶段。与 PHC 相比，PHC-EM 在各温度和各平衡浓度条件下均表现出更高的吸附容量，说明菌体负载显著增强了材料对 Cr 的去除能力。温度升高亦有利于吸附过程进行，两种材料在 35℃条件下的吸附量均高于 15℃和 25℃，表明该吸附过程具有一定的吸热特征。尤其对于 PHC-EM，温度升高带来的增幅更加明显，在高浓度区表现出更强的吸附潜力，说明炭-菌复合体系对温度响应更为敏感。

模型拟合结果表明，PHC 的吸附行为更符合 Langmuir 模型，其相关系数 R^2 为 0.9809–0.9966，高于 Freundlich 模型，说明 PHC 对 Cr 的吸附以单分子层吸附为主，表面活性位点相对均一。Langmuir 模型计算得到 PHC 在 15–35℃下的最大吸附量 q_m 分别为 62.992、69.163 和 87.459 mg/g，进一步说明升温有利于提高其吸附能力。

相比之下，PHC-EM 的吸附数据更符合 Freundlich 和 Sips 模型。Freundlich 模型的 R^2 为 0.974–0.9990，Sips 模型的 R^2 为 0.9693–0.9982，均高于 Langmuir 模型，表面位点分布不均一，多层吸附和异质吸附特征更加明显。Freundlich 常数 K_F 由 24.116 增加到 47.426，表明温度升高显著增强了 PHC-EM 的吸附强度；同时，Freundlich 模型中 $1/n$ 均

小于 1，说明吸附过程易于进行，且 PHC-EM 对 Cr 具有较好的亲和性。Sips 模型对 PHC-EM 的良好拟合进一步表明，该体系兼具 Langmuir 单层吸附与 Freundlich 非均相吸附的双重特征，更符合炭—菌复合表面“多活性位点、多作用机制并存”的实际情况。

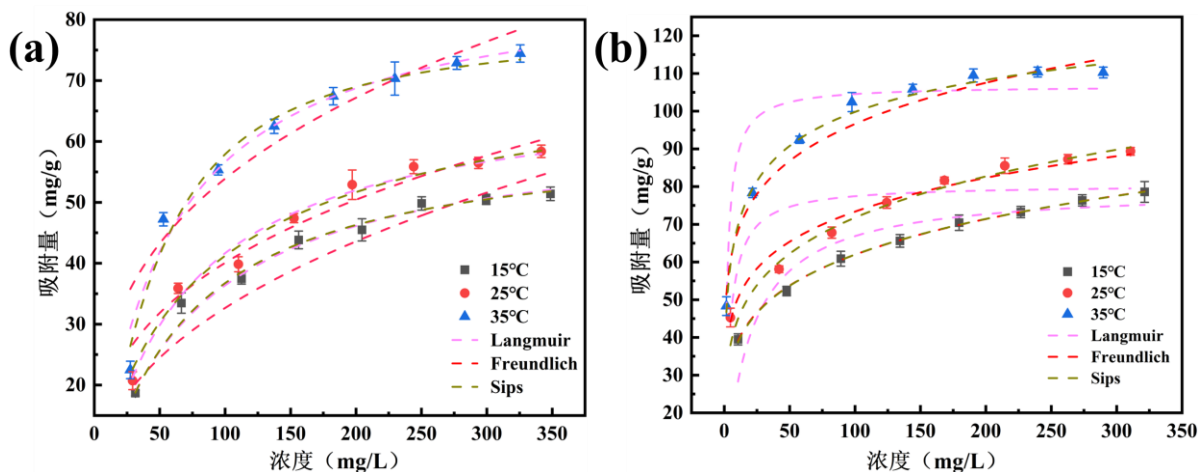


图4.5 PHC 和 PHC-EM 的吸附等温线曲线

表4.1 PHC 和 PHC-EM 吸附 Cr 的等温线参数

样品	温度/°C	Freundlich			
		K _F	1/n	R ²	
PHC	15	4.805	0.416	0.9706	
	25	8.694	0.332	0.9614	
	35	12.476	0.318	0.8934	
PHC-EM	15	24.116	0.205	0.9990	
	25	34.114	0.166	0.9829	
	35	47.426	0.155	0.974	
		Langmuir			
		q _m	K _L	R ²	
PHC	15	62.992	0.014	0.9966	
	25	69.163	0.015	0.9809	
	35	87.459	0.018	0.9666	
PHC-EM	15	79.623	0.052	0.8655	
	25	80.499	0.254	0.836	
	35	106.789	0.465	0.954	
		Sips			
		q _m	K _s	n _s	R ²
PHC	15	60.903	0.015	1.059	0.9967
	25	76.419	0.012	0.834	0.9832
	35	79.152	0.021	1.313	0.9744

样品	温度/°C	Freundlich			
PHC-EM	15	897.913	7.81×10^{-8}	0.221	0.9982
	25	1129.749	4.74×10^{-8}	3.919	0.9693
	35	157.800	0.048	1.499	0.9886

4.2.6 吸附动力学

为考察 PHC 和 PHC-EM 对 Cr 的吸附速率及其动力学特征，在初始 Cr 浓度为 100mg/L、pH 为 3、添加量为 1g/L 的条件下进行了吸附动力学实验，并采用拟一级动力学模型和拟二级动力学模型对实验数据进行拟合，结果见图 4.6 和表 4.2。

PHC 与 PHC-EM 对 Cr 的吸附均表现为先快后慢。0–2h 内吸附量迅速增加，随后增长趋缓，8h 后基本接近平衡，24h 达到稳定。PHC-EM 在各时间点的吸附量均高于 PHC，24h 时 PHC 和 PHC-EM 的平衡吸附量分别为 35.8865mg/g 和 58.0955mg/g，菌体的负载显著提高了水热碳基材料对 Cr 的吸附能力。同时，模型拟合结果表明，拟一级和拟二级动力学模型均能较好地描述吸附过程，但拟二级动力学模型的拟合效果更优。PHC 的拟一级和拟二级动力学模型相关系数分别为 0.9865 和 0.9979，PHC-EM 分别为 0.9948 和 0.9978。综上所述，PHC 和 PHC-EM 对 Cr 的吸附并非单纯由物理扩散控制，而更可能涉及表面官能团络合、静电吸附以及界面反应等过程的共同作用。

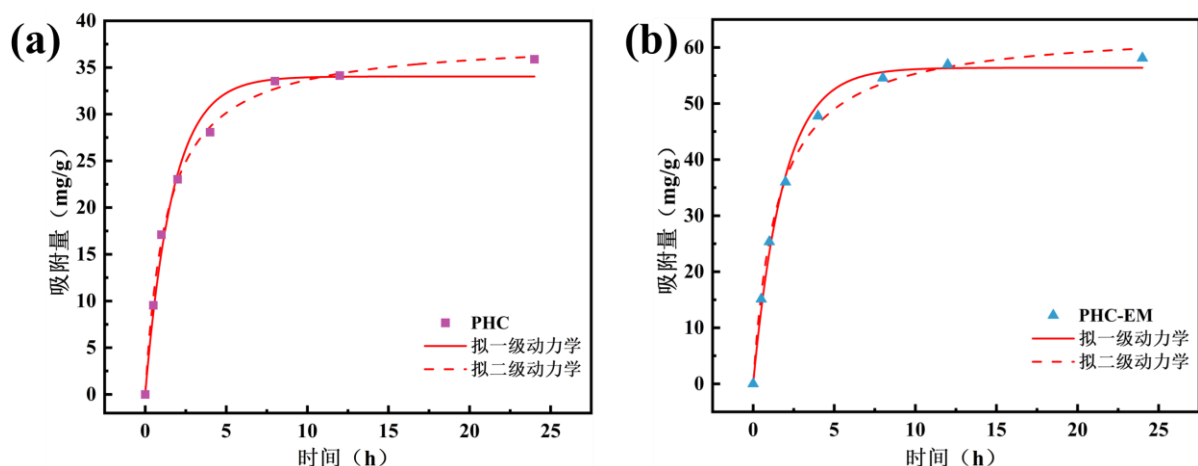


图4.6 PHC 和 PHC-EM 的吸附动力学曲线

表4.2 PHC 和 PHC-EM 的吸附动力学模型参数

样品	拟一级动力学模型			拟二级动力学模型		
	q _e	k ₁	R ²	q _e	k ₂	R ²
PHC	34.037	0.590	0.9865	38.158	0.020	0.9979
PHC-EM	56.386	0.537	0.9948	63.501	0.011	0.9978

4.2.7 吸附机理

结合上述结果, PHC 及 PHC-EM 对 Cr 的去除并非由单一作用控制, 而是多项功能作用共同参与的结果。pH 对吸附过程具有显著影响, 两种材料在酸性条件下均表现出更高的去除能力, 溶液中 Cr(VI)的存在形态与材料表面电性之间存在较强耦合关系。在 pH 3 条件下, Cr(VI)主要以 HCrO_4^- 形式存在, 而水热碳表面含氧官能团易发生质子化, 表面负电性减弱, 从而有利于阴离子型 Cr(VI)向材料表面富集并发生后续固定。随着 pH 升高, 材料表面逐渐去质子化, Cr(VI)亦更多以 CrO_4^{2-} 等形式存在, 静电排斥作用增强, 同时 OH^- 对活性位点的竞争加剧, 最终导致吸附容量下降。

PHC 对 Cr 的固定作用来源于其自身的结构特征和表面化学性质。PHC 在吸附过程中通过孔隙结构提供扩散通道和滞留空间, 通过表面活性基团与 Cr 发生络合和静电吸附, 并且矿物相能够参与局部沉淀或共沉淀过程, 进一步促进 Cr 稳定化。动力学拟合结果也表明该过程界面化学作用占据主导地位。

PHC-EM 的强化作用则主要体现在炭-菌复合界面的形成及功能互作效应。真菌能够稳定附着于水热碳表面, 菌丝在载体表面延伸、缠绕并形成局部包被结构, 使材料表面由相对单一的炭界面转变为具有多层次反应位点的炭-菌复合界面。真菌细胞壁及胞外聚合物中丰富的羧基、羟基、氨基及多糖类活性结构组分为 Cr 提供了额外的结合位点, 并通过络合、吸附和表面包埋等方式增强其固定作用。菌丝延伸和局部包被使炭颗粒表面形成相对稳定的微区环境, 减缓 Cr 的解吸和再迁移, 并促进其在炭-菌接触区持续富集。

4.3 章节小结

本章从重金属污染土壤中分离、纯化并驯化获得优势真菌菌株 EM, 并以第三章筛选得到的法桐落叶水热碳 PHC 为载体, 成功构建了水热碳基微生物菌剂 PHC-EM。围绕菌株鉴定、菌剂构建、储存稳定性及 Cr 去除性能开展研究, 明确了 PHC-EM 在稳定性和界面固定能力方面的优势。具体结论如下:

(1) 分离获得的功能菌株 EM 经菌株鉴定确定为 *Talaromyces* sp., 并采用微生物固定化技术实现 EM 菌株的负载, 真菌菌丝在 PHC 表面完成附着、延伸和局部包被, 同时 PHC 为菌体定殖提供良好载体界面, 验证 PHC-EM 构建的可行性方案。

(2) PHC 的引入显著提高了菌剂的稳定性和存活率。在 4℃ 条件下储存 28 天后, 游离菌 EM 的相对存活率降至 60.24%, 而 PHC-EM 仍保持 80.12%, 说明水热碳载体能够有效延缓菌体失活并增强菌剂的储存性能。

(3) PHC-EM 对 Cr 的去除能力明显优于单独 PHC, 且两者均在 pH 3 条件下表现出最佳去除效果。动力学结果表明, 24h 时 PHC 和 PHC-EM 的平衡吸附量分别为 35.89mg/g 和 58.10mg/g, 且对于拟二级动力学模型拟合效果更优, 表明吸附过程主要受表面活性位点参与控制。

(4) 等温吸附结果表明, 升高温度有利于 Cr 的固定, PHC-EM 在 35℃ 条件下表现出更高的吸附潜力。PHC 的吸附行为更接近单层吸附, 而 PHC-EM 更符合异质化、多位点吸附特征, 表明真菌负载后显著增强了复合体系的界面反应能力。

第5章 水热碳基微生物菌剂对铬污染土壤修复机制研究

5.1 概述

第4章已完成水热碳基微生物菌剂的构建与基础性能评价,结果表明,PHC-EM不仅具有较好的储存稳定性,而且在Cr去除能力上明显优于单独PHC。溶液体系中的吸附优势并不能直接等同于土壤中的修复效果,土壤作为一个由矿物颗粒、有机质、微生物和植物共同构成的复杂体系,Cr的环境固定行为同时受到多种因素的钳制,且实际Cr污染土壤大多是以复合污染的形式存在^[127, 129]。因此,需要针对土壤实际情况,系统分析PHC-EM对铬污染土壤的修复作用及其内在机制。

本章研究的核心目的,是在前述材料和菌剂筛选的基础上,进一步明确PHC-EM在复杂情况下进入土壤后的作用途径,重点回答两个问题:1)在复杂条件下,炭基菌剂作为外援补充性材料,在添加过程中是否会对土壤理化性质产生影响。2)原生菌与外源菌负载炭基材料对土壤的影响差异。围绕以上目标,本章将设立不同添加量组、不同微生物菌剂复配组、复合污染组和植物协同组,探究不同条件下水热碳基功能材料对土壤有机质、CEC和土壤Cr固定效果的影响。

5.2 结果与讨论

5.2.1 土壤阳离子交换量

土壤阳离子交换量(CEC)是反映土壤胶体表面活性、养分保持能力及重金属缓冲能力的重要指标。由图5.1可知,不同处理下土壤CEC随培养时间总体呈现先升高后下降的变化趋势,多数处理在14天或21天达到峰值,随后逐渐降低,但整体仍高于初始水平。不同处理间的提升幅度和维持能力存在明显差异,表明PHC、PHC-EM及植物参与均可不同程度改善土壤交换性能,其中炭-菌-植物协同处理效果最为显著。

5.2.1.1 不同水热碳添加量

不同PHC添加量(0.5%、1%、3%、5%)处理下土壤CEC随培养时间的变化如图5.1a所示。整体来看,各处理CEC均随培养时间呈波动变化,但添加PHC后土壤CEC较对照(CK)有显著提升,且提升幅度与PHC添加量呈正相关。培养第7天,各处理CEC差异较小,在短期内PHC对CEC的促进作用尚未完全显现。第14天起,高添加量处理优势逐渐明显,5%处理CEC迅速升至 $90.04\text{cmol}^+/\text{kg}$,显著高于CK和低添加量

处理, 约为同期 CK 的 2.2 倍; 第 21 天至 49 天, 各处理 CEC 总体呈下降趋势, 但 5% 处理始终高于其他处理, 仍达 $50.36\text{cmol}^+/\text{kg}$, 较 CK 提高约 39.9%。

5.2.1.2 不同微生物菌剂复配

在 1% PHC 添加量基础上, 分别负载外购菌剂枯草芽孢杆菌 (BS) 和哈茨木霉 (TH) 同 PHC-EM 对比, 研究不同菌剂对 CEC 的协同提升效果, 结果如图 5.1b 所示。与单独施用 1% PHC 相比, 复合菌剂处理后土壤 CEC 均显著提高, 且不同菌剂效果差异明显。前 7 天, 负载微生物的 PHC 对 CEC 的提升并不显著, 第 14 天时, 各处理 CEC 均大幅上升, PHC-EM 最大可达到 $98.47\text{cmol}^+/\text{kg}$, 较单独 PHC 提高 44.2%; 此后至第 49 天, 各处理 CEC 逐渐降低, 但 PHC-EM 始终最高。在 49 天时, 仍具有较高的 CEC 含量 $77.91\text{cmol}^+/\text{kg}$, 较 PHC 提高约 72.0%。

5.2.1.3 多重金属污染干扰

在复合污染组中, 土壤 CEC 变化如图 5.1c 所示 PHC、PHC-EM 和 PHC-EM-P 处理均可提升土壤 CEC, 但不同处理间差异更加明显。PHC-EM-P 组处理始终保持最高水平, 第 14 天时达到 $107.70\text{cmol}^+/\text{kg}$, 分别较 PHC 和 PHC-EM 提高 110.1%和 34.8%; 至 49 天时仍比 PHC 和 PHC-EM 分别高出 49.8%和 42.0%。复合污染会减少说明在复合污染条件下, 单一材料处理虽能改善土壤交换性能, 但炭-菌-植物协同体系对 CEC 的提升和维持作用更为显著。

5.2.1.4 植物协同处理

在种植甜菜植株条件下, 设置仅种植甜菜 (P)、P+PHC 和 PHC-EM-P 三个处理, 土壤 CEC 变化如图 5.1d 所示。结果表明, 植物的引入本身即可提高土壤 CEC, 而与 PHC 和 PHC-EM 联用后效果更为显著。第 7 天, 种植植物的组别均高于同期无植物处理的。第 14 天, PHC-EM-P 组 CEC 急剧升至 $124.92\text{cmol}^+/\text{kg}$, 远高于 P 组和 PHC-P 组, 其增长量为 178.8%和 60.4%, 且在培养后期仍维持较高水平。该现象是由于植物根系分泌物与 EM 菌协同作用促进了土壤团聚体的形成。

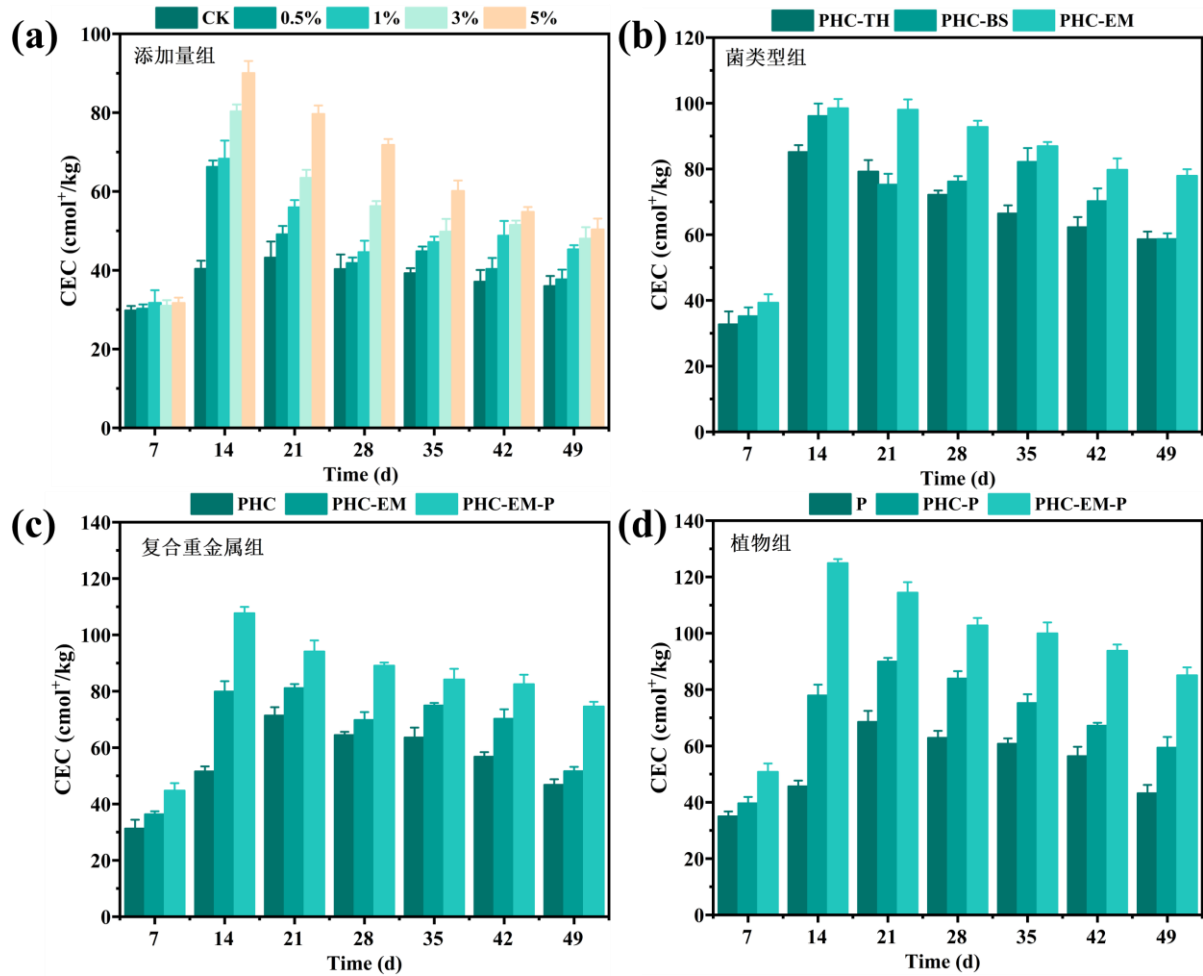


图5.1 PHC 添加量(a)、菌类型(b)、复合重金属(c)、植物种植(d)对土壤 CEC 的影响

5.2.2 土壤有机质

土壤有机质(SOM)是反映土壤肥力水平、碳源供给能力及界面反应活性的重要指标,也是评价水热碳及微生物菌剂改良效果的关键参数。由图 5.2 可知,不同处理下土壤 SOM 含量随培养时间总体均呈现前期升高、后期下降并趋于稳定的变化规律,峰值多集中在 14–21d。与对照相比,PHC、PHC-EM 及植物参与处理均能不同程度提高土壤 SOM,和 CEC 结果相同的是炭—菌—植物协同处理效果最为明显。

5.2.2.1 不同水热碳添加量

不同水热碳添加量组,结果如图 5.2a 所示,各 PHC 处理的 SOM 含量整体高于 CK,且随投加量增加呈一定上升趋势。CK 组 SOM 由 7 天的 3.30%升至 28 天的 6.02%后在 49 天时降至 3.72%。相比之下,高添加量下 5%PHC 处理在 14d 时达到 8.75%,较同期 CK 提高约 99.3%;其后虽逐渐下降,但 49 天时仍保持 5.04%,较 CK 提高 35.5%。其余

投加量处理中, 1%—3%PHC 的提升效果均明显优于 0.5%PHC, 说明 PHC 的加入能够显著增加土壤有机质含量, 高投加量处理更有利于 SOM 的积累和维持。

5.2.2.2 不同微生物菌剂复配

不同微生物菌剂复配组, 结果如图 5.2b 所示, 与单独施加 1%PHC 相比, 三种菌剂复配均可进一步提高土壤 SOM, 且不同菌剂间也存在明显差异。1%PHC 处理在 21 天时 SOM 为 8.07%, 而 PHC-TH、PHC-BS 和 PHC-EM 分别达到 7.71%、7.34%和 8.72%, 其中仅 PHC-EM 高于单独 PHC, PHC-TH 和 PHC-BS 则低于 1%PHC。在后续的实验中, PHC 处理在部分时期仍高于 PHC-TH 和 PHC-BS, 主要原因在于 PHC 本身可直接作为外源稳定碳源提高土壤有机质含量, 而外源微生物加入后, 一方面可以促进有机质积累, 另一方面也会加快部分活性有机组分的分解和矿化, 从而使 SOM 表现出阶段性下降, 从而出现低于单独 PHC 的情况。

5.2.2.3 多重金属污染干扰

在复合污染组中, 其结果如图 5.2c 所示, 各处理 SOM 含量同样表现出先升高后下降的趋势。但与单一 Cr 污染条件相比, 其整体提升幅度和后期维持能力均有所减弱。PHC 和植物+PHC-EM 处理中, 在复合污染下的 SOM 提升效果明显弱于单一 Cr 污染条件下的对应处理, 最高分别下降了约 8.4%和 17.7%; 对于 PHC-EM 处理, 复合污染组在前中期虽仍保持较高水平, 但后期提升优势减弱。其主要原因可以归结为在复合污染体系中多种重金属对土壤环境的胁迫更强。一方面, Pb、Ni 和 Cr 共存会提高土壤毒性水平, 抑制微生物生长、酶活性及有机残体转化过程, 从而削弱 SOM 的积累; 另一方面, 多种金属离子之间会竞争 PHC 表面的吸附位点和交换位点, 降低材料对单一金属的缓冲与固定效率, 也削弱了 PHC 对微生物的保护作用, 进一步减少了土壤有机质的积累。

5.2.2.4 植物协同处理

在植物组中, 其结果如图 5.2d 所示, 炭—菌—植物的体系显著促进了土壤 SOM 的提高。当仅种植植物时最高的 SOM 为 6.26%, 在引入炭和菌后土壤中 SOM 分别提高了约 23.1%和 58.5%。当时间进行到 49 天的培养后期, 仅植物处理 SOM 降至 4.33%, 植物+PHC 为 4.80%, 而植物+PHC-EM 仍保持 6.05%, 对 SOM 的维持时间更长, 分别较仅植物和植物+PHC 高 39.7%和 26.0%。其原因主要在于植物可以通过根系分泌物、根系脱落物以及根际微生物活化共同促进了有机质积累; PHC 则可提供稳定碳源和界面附着

位点,同时 PHC-EM 在此基础上引入的外援功能性菌 EM 增强根际微生物活性和有机残体转化效率。

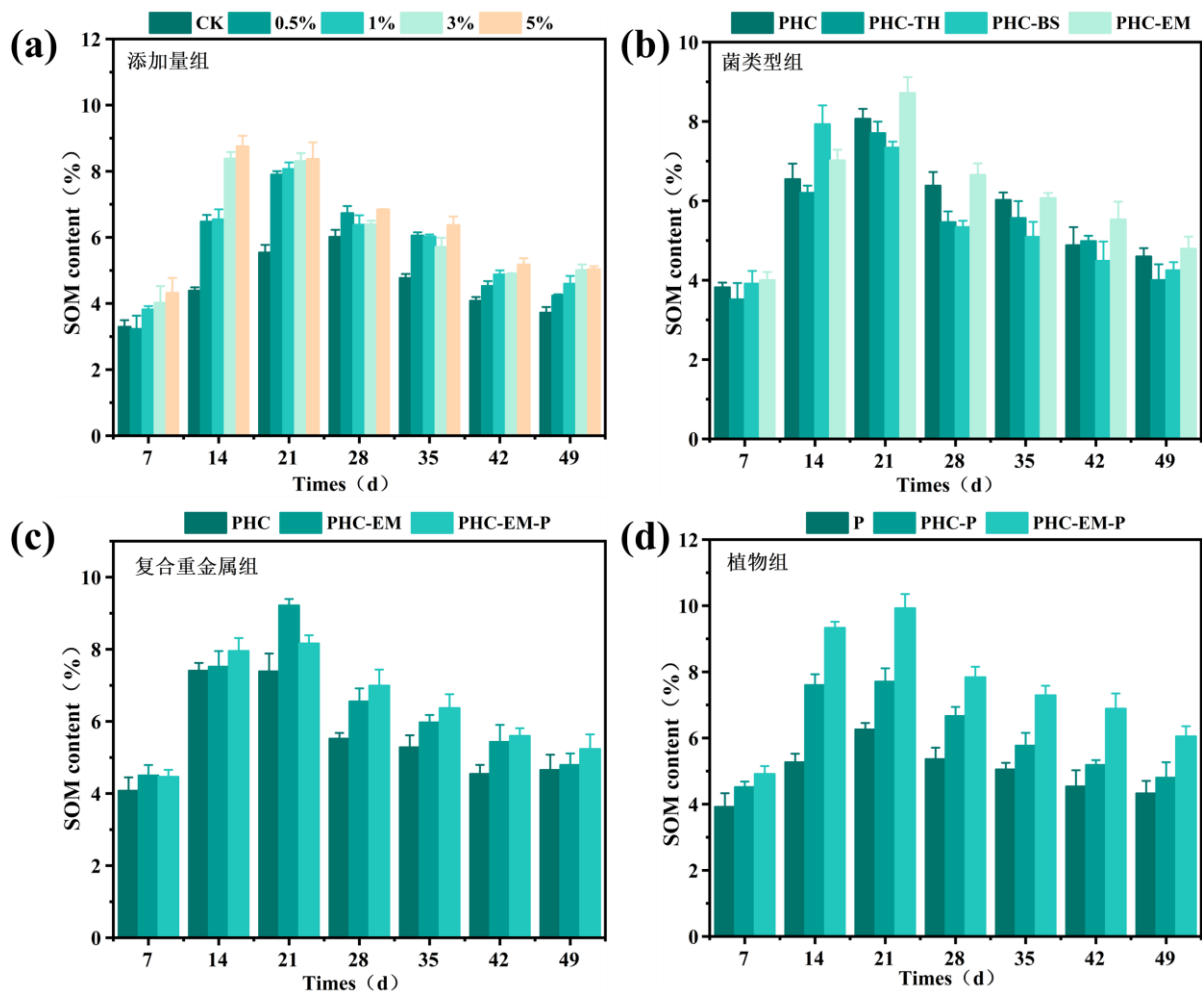


图5.2 PHC 添加量(a)、菌类型(b)、复合重金属(c)、植物(d)对土壤 SOM 的影响

5.2.3 不同条件处理下对 Cr 污染土壤的修复

在单一 Cr 污染土壤中,各处理的有效态 Cr 固定率均随培养时间延长而增加,并在中后期逐渐趋于稳定,但不同修复路径的固定幅度存在明显差异,如图 5.3 所示。就添加量组而言,PHC 投加后与 CK 相比具有明显的效果,且总体表现出随投加量增加而增强的趋势,在 14 天时 CK 组仅为 2.62%,而 0.5%、1%、3%和 5%PHC 已分别提高至 8.20%、13.90%、15.75%和 19.46%,到 49d 时 5%PHC 仍保持 27.70%的最高固定率,明显高于 1%PHC 的 17.94%;在此基础上进一步比较菌剂复配组可以发现,相同投加量下微生物的引入比单纯提高材料用量更具增效性,其中 14 天时 PHC-TH 和 PHC-BS 分别为 18.12%和 19.06%,虽均高于 1%PHC,但提升幅度相对有限,而 PHC-EM 则达到 38.00%,至 49 天仍保持 35.88%,显著高于 PHC-TH 和 PHC-BS。表明从污染土壤中分离、纯化并经

驯化获得的优势菌株，其长期处于重金属胁迫环境中，因而对 Cr 污染体系具有更强的环境适应性、耐受性和定殖能力；当植物因素进一步引入后，这种差异被继续放大，仅植物处理在 14 天时为 21.78%，植物+1%PHC 提高至 36.74%，而植物+1%PHC-EM 则达到 43.73%，至 21 天升至全组最高值 59.34%，49d 仍保持 53.05%的较高水平，显著高于仅植物和植物+1%PHC 处理，表明根际作用能够进一步促进 PHC-EM 对 Cr 的稳定化过程。由此可见，单一 Cr 污染土壤中有效态 Cr 的削减效果并非简单依赖材料投加量，而更加依赖于多因素的协同作用—由 PHC 提供基础固定作用，再复配微生物强化界面反应，最后植物参与进一步放大协同效应的递进规律。

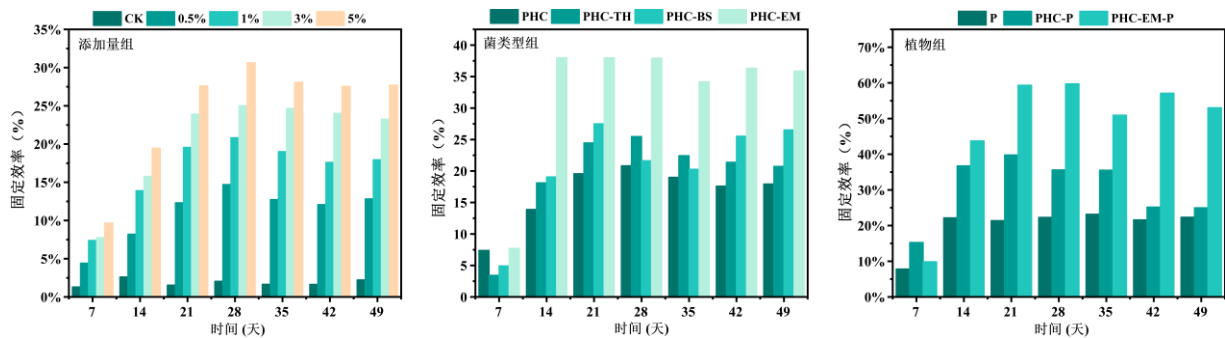


图5.3 不同添加量、菌类型和植物对土壤重金属的影响

5.2.4 不同条件处理下对复合污染土壤的修复

在复合重金属污染土壤中，PHC、PHC-EM 和植物+PHC-EM 处理均能够提高 Pb、Ni 和 Cr 的固定效率，结果如图 5.4 所示。但若与单一 Cr 污染体系进行对比可以发现，复合污染条件下整体修复效果明显减弱，且不同处理的优势格局也发生了变化。在复合污染体系中，Cr 固定率仅为 13.14%、16.85%和 14.92%。其中，PHC 在两种体系中的差异相对较小，而 PHC-EM 和植物+PHC-EM 的下降更为显著，尤其是植物+PHC-EM，由单一污染时的 53.05%降至复合污染时的 14.92%。多金属共存明显削弱了炭—菌—植物协同体系对 Cr 的削减能力。其主要原因在于，Pb、Ni 和 Cr 共存后会共同竞争 PHC 和菌体表面的吸附、络合及交换位点，从而降低材料对单一 Cr 的固定效率；同时，多种金属叠加还会增强对微生物和植物根系的毒性胁迫，削弱菌体活性、根系分泌及根际协同过程。

从复合污染组内部比较，不同金属的响应也存在差异。49 天时，在 PHC-EM 处理中，Pb、Ni 和 Cr 的固定率分别为 25.08%、19.45%和 16.85%，表现为 Pb>Ni>Cr，该体系对 Pb 的固定效果最强，而对 Cr 相对较弱。复合污染不仅降低了 Cr 的总体固定效率，也改变了不同金属在体系中的竞争关系和优先固定顺序。Pb 更容易与 PHC 及菌体表面的含

氧官能团发生络合或沉淀固定，因此在复合污染中仍保持较高固定率；Ni 次之；而 Cr 由于常以阴离子形态存在，在多金属共存条件下更容易受到表面位点竞争和界面环境变化的影响，其固定效率下降更为明显。与此同时，在单一 Cr 污染体系中，植物的引入能够显著放大 PHC-EM 的修复效果，而在复合污染体系中，PHC-EM 反而优于植物+PHC-EM。其主要原因可能由于在多金属联合胁迫下抑制了植物根系生长和根际碳输入，进而削弱了植物对微生物定殖和界面反应的促进作用。总体来看，复合污染土壤的修复难度明显高于单一 Cr 污染土壤，其本质在于多种金属间的位点竞争、联合毒性效应以及对植物—微生物协同体系的抑制。尽管如此，PHC-EM 在复合污染条件下仍保持了三种处理中最高且最稳定的固定效率。

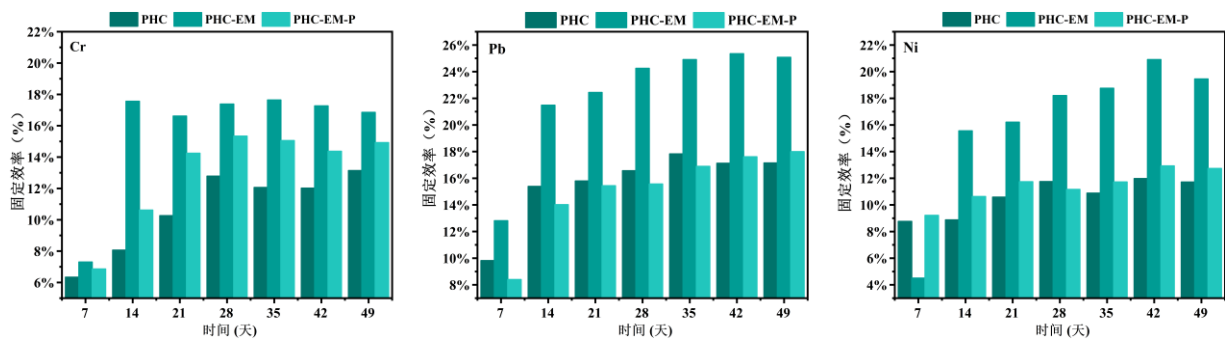


图5.4 复合重金属污染土壤中各重金属固定效率

5.3 章节小结

本章以铬污染土壤为研究对象，围绕水热碳基微生物菌剂在土壤体系中的修复作用展开分析，重点考察了其对土壤理化性质、有效态 Cr 变化及修复过程的影响，并结合前述结果对其作用机制进行了归纳。研究结果表明，PHC-EM 进入土壤后不仅能够改善土壤界面环境，还能够增强 Cr 的固定与稳定化过程，其修复效果整体优于单独 PHC。具体结论如下：

(1) PHC-EM 处理能够显著改善铬污染土壤的理化性质，表现为土壤阳离子交换量和有机质含量均高于未处理土壤及单独 PHC 处理，说明炭—菌复合体系在提高土壤表面交换能力和碳源供给水平方面更具优势。该结果表明，PHC-EM 能够为重金属固定提供更有利的界面条件和物质基础。

(2) PHC-EM 对铬污染土壤中有效态 Cr 的削减效果明显优于单独 PHC，培养 49d 时有效态 Cr 固定率达到 35.88%，显著高于 1%PHC 的 17.94%。这说明功能菌的引入有效放大了水热碳对 Cr 的固定作用，使复合体系在土壤中的修复能力得到进一步增强。

(3) PHC-EM 的修复作用本质上来源于材料固定效应与生物强化效应的协同。一方面, PHC 通过多孔结构、表面官能团和矿物组分增强 Cr 的吸附、络合与滞留; 另一方面, EM 通过菌体表面活性位点、胞外聚合物及微环境调节进一步促进 Cr 的稳定化转化, 最终实现由单一材料固定向炭-菌协同修复的强化。

第6章 水热碳基微生物菌剂对重金属迁移风险控制效果与机制

6.1 概述

第 5 章通过盆栽试验验证水热碳基微生物菌剂对重金属污染土壤的修复作用, PHC-EM 在改善土壤理化性质、促进重金属削减及增强稳定化效果方面具有明显优势。盆栽试验更多反映的是材料对污染土壤的整体调控效应, 对于重金属在土壤中迁移释放行为及其长期环境风险控制能力仍缺乏依据。对于重金属污染土壤而言, 真正决定其环境安全性的并不只是土壤中金属总量的变化, 而是在降雨或下渗的情况下重金属是否会迁移进入地下水或周边水体, 能否在持续扰动的情況下保持稳定状态^[121]。

本章通过淋溶柱试验, 模拟不同处理条件下污染土壤在持续水分输入过程中的重金属释放与迁移行为, 重点分析 PHC、PHC-EM 及复合污染条件下材料对体系酸碱环境、离子迁移强度和重金属淋失过程的调控作用。主要针对淋溶液 pH 和电导率的动态变化情况、淋溶液中重金属浓度及累积淋失量的变化规律、淋溶柱中 Cr 形态的时空变化特征。

与第 5 章侧重土壤修复效果评价不同, 本章更加侧重于土壤重金属迁移的风险控制。当材料与菌剂进入土壤后, 通过调节淋溶体系的 pH 和离子环境、降低活性态金属比例、抑制金属持续释放并促进其向稳定形态转化, 来实现对重金属迁移风险的有效削减。通过本章研究, 从对 PHC-EM 静态修复效果推进到动态迁移控制层面, 为后续全面阐释水热碳基微生物菌剂在重金属污染土壤中的环境作用机制提供更完整的证据支撑。

6.2 结果与讨论

6.2.1 淋溶液 pH 值

在本次淋溶试验中, 不同处理组的土壤溶液 pH 值随着时间的推移呈现出显著的变化, 结果如图 6.1 所示。CK 组在实验初期的 pH 值为 7.08, 随后升高至 25d 的 7.49, 此后逐步回落, 70d 时降至 6.88, 说明在未添加修复材料的条件下, 淋溶初期土壤中可溶性盐分和交换性组分的释放使体系短暂趋于中性偏碱, 而随着淋溶持续进行, 土壤缓冲组分逐渐流失, 体系酸化趋势开始显现。与 CK 相比, PHC 组在前期 pH 变化更为明显, 15d 时升至 7.39, 30 天进一步达到 7.47, 但随后持续下降, 至 70 天时仅为 6.66, 不仅低于同期 CK, 也低于其自身初始水平, 单独施加 PHC 虽可在淋溶前期通过表面官能团质子交换、灰分矿物溶出及碱性组分释放提高溶液 pH, 但这种调节作用随淋溶进行逐渐减弱, 后期对体系酸化的缓冲能力不足。PHC-EM 组整体表现出更高的 pH 稳定性, 其数值由 5 天的 6.97 快速升至 15d 的 7.49, 之后虽有小幅波动, 但始终维持在 7.07–7.38 之

间，70d 时仍保持 7.11，明显高于 PHC 组的 6.66，也高于 CK 组的 6.88，微生物的负载不仅增强了水热碳对酸碱环境的调节能力，还提高了体系在持续淋溶条件下的稳定性。导致这种现象的原因可能与微生物代谢过程中对 H^+ 的消耗、胞外聚合物对离子的缓冲作用以及炭-菌复合界面促进土壤胶体表面交换反应有关，使 PHC-EM 在淋溶后期仍能维持较为稳定的中性环境。复合重金属处理组 HM-PHC 的 pH 变化则呈现另一特点，其在整个试验期内始终保持最高水平，20–30 天达到 7.51–7.57，70 天时仍有 7.26，显著高于 CK、PHC 和 PHC-EM 组。在 Pb、Ni、Cr 共存条件下，PHC 对多金属体系的酸碱缓冲作用更强。一方面，多种金属离子与水热碳表面含氧官能团、矿物组分之间的络合、交换和沉淀过程会消耗部分游离 H^+ ，从而抬升淋溶液 pH；另一方面，复合污染条件下更多阳离子参与界面反应，也可能促进土壤中碱性位点的激活和释放，因此 HM-PHC 组在整个淋溶周期中表现出更高且更稳定的 pH 水平。

总体来看，单独 PHC 对淋溶液 pH 的提升主要体现在前期，而后期稳定性不足；PHC-EM 虽在绝对 pH 值上略低于 HM-PHC，但在单一 Cr 污染体系中表现出更好的长期缓冲能力；复合污染条件下 HM-PHC 的 pH 始终最高，说明多金属共存改变了水热碳与土壤界面的反应模式。由于淋溶液 pH 的升高通常有利于重金属由活性态向沉淀态或吸附态转化，因此上述结果也从侧面说明，PHC 及其复合体系能够通过调节土壤溶液酸碱环境抑制重金属迁移，而 PHC-EM 在维持长期界面稳定性方面更具优势。

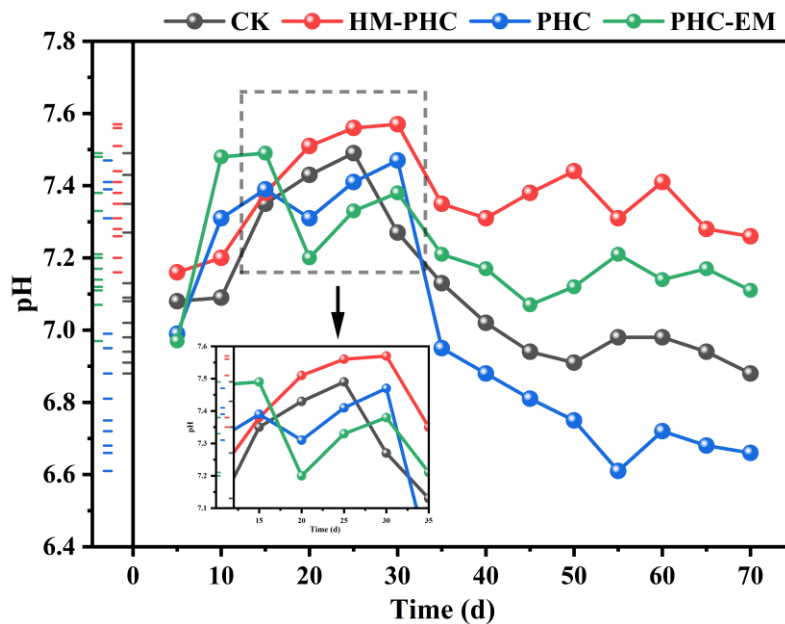


图6.1 水热碳基材料对土壤淋溶液 pH 变化影响

6.2.2 淋溶液 EC 值

淋溶液电导率 (EC) 能够表征体系中可溶性离子总量及其迁移活性, 其变化规律可在一定程度上反映土壤中盐分、重金属及相关反应产物的释放与固定过程。由图 6.2 可知, 在各处理下 EC 均随淋溶时间延长而下降, 但不同处理的初始水平、下降速率及后期稳定状态存在明显差异。CK 组初始 EC 为 9.31mS/cm, 在 10d 内迅速降至 3.77mS/cm, 之后继续缓慢下降, 至 70 天时稳定在 0.618mS/cm, 在未添加修复材料时, 土壤中原有可溶性盐分及交换性离子在淋溶初期大量释放, 随后随持续淋洗而逐步耗竭。PHC 组初始 EC 明显较低, 仅为 5.08mS/cm, 且下降速度更快, 20 天时降至 1.83mS/cm, 40 天后基本维持在 0.45–0.76mS/cm 范围内, 70 天时为 0.485mS/cm, 低于同期 CK 的 0.618mS/cm。单独施加 PHC 能够有效减少体系中可迁移性离子含量, 通过水热碳表面官能团吸附、离子交换以及矿物组分促进沉淀固定来发挥作用, 从而降低淋溶液导电性。PHC-EM 组初始 EC 为 5.94mS/cm, 略高于 PHC, 但在前 20 天内下降幅度最大, 由 5.94mS/cm 快速降至 1.27mS/cm, 40 天后进一步降至 0.60mS/cm 以下, 70 天时仅为 0.122mS/cm, 为所有处理中的最低值, 分别较 CK、HM-PHC 和 PHC 低 80.3%、86.7%和 74.8%, 表明 PHC-EM 对土壤中可溶性离子的控制效果最强, 也说明炭—菌复合体系在抑制离子迁移、促进离子固定方面具有更优的长期稳定性。相比之下, HM-PHC 组在整个试验期间始终保持最高 EC 水平, 初始值高达 12.44mS/cm, 显著高于 CK、PHC 和 PHC-EM, 10 天时仍有 5.34mS/cm, 至 70 天时为 0.920mS/cm, 虽然同样表现出持续下降趋势, 但整体高于其余各组。在 Pb–Ni–Cr 复合污染条件下, 体系中可溶性离子种类和数量明显增加, 多种金属离子及其伴生阴离子共同提高了淋溶液离子强度, 即使加入 PHC 后仍难以在短期内完全抑制其释放。

由此可见, EC 的变化不仅反映了淋溶过程中土壤可溶性组分的逐步流失, 也揭示了不同处理对离子迁移风险的控制差异。PHC 可在一定程度上降低淋溶液离子强度, PHC-EM 则进一步增强了这一作用, 而复合污染背景下 HM-PHC 处理始终较高的 EC 表明多金属共存显著增加了体系中可迁移离子的释放压力。结合前述 pH 变化结果可以认为, PHC-EM 在维持较稳定酸碱环境的同时, 更有效地降低了淋溶液中的离子活度, 因此在控制重金属迁移风险方面表现出更好的综合优势。

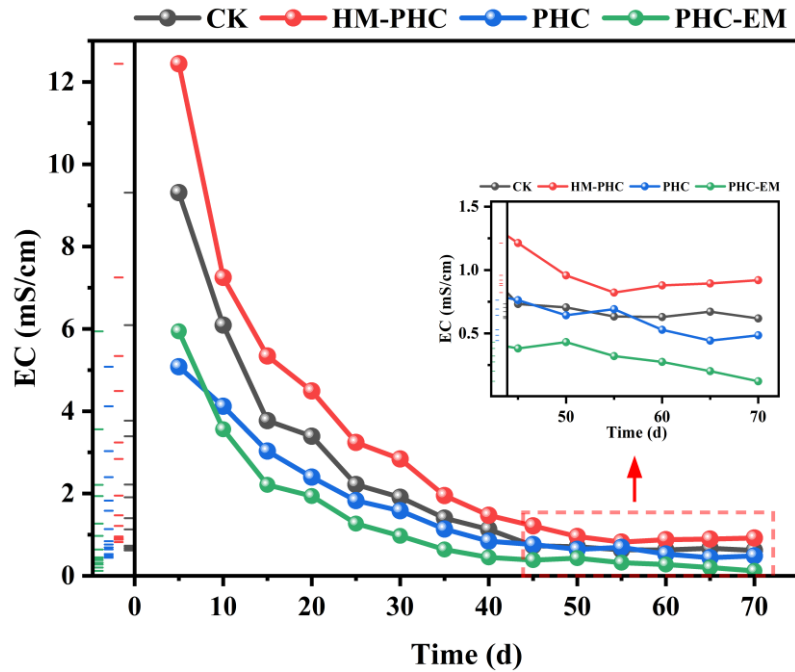


图6.2 水热碳基材料对土壤淋溶液 EC 变化影响

6.2.3 淋溶液中重金属浓度变化与累积淋失量

淋溶液中重金属浓度及其累积淋失量能够直接反映出污染土壤中重金属的迁移释放强度及处理材料对迁移风险的控制效果。由图 6.3 可知, 各处理淋溶液中重金属浓度均随淋溶时间延长呈明显下降趋势, 累积淋失量则持续增加, 重金属迁移释放主要集中在淋溶初期, 后期逐渐转入缓释阶段, 但不同处理对这一过程的抑制能力存在显著差异。在单一 Cr 污染体系中, CK 组首轮淋出液中 Cr 浓度最高, 为 2.35mg/L, 15 天已降至 0.75mg/L, 之后基本维持在 0.30–0.48mg/L 范围内波动, 70 天时累积淋失量达到 8.48mg/L, 在无任何处理措施的污染土壤中活性 Cr 在淋溶前期被快速释放。经 PHC 处理后, Cr 初始淋出浓度下降至 1.6412mg/L, 较 CK 下降 30.1%, 70 天时累积淋失量为 6.30mg/L, 较 CK 减少 25.8%, 能够表明 PHC 有效降低 Cr 的迁移活性。PHC-EM 组的抑制作用更为突出, 其首轮淋出浓度仅为 1.2905mg/L, 20 天后迅速降至 0.0997mg/L, 并在后续阶段稳定在 0.04–0.15mg/L 的低水平, 70 天时累积淋失量仅为 3.591mg/L, 与 CK 和 PHC 相比分别下降 57.7%和 43.0%。在复合污染条件下 Cr 的迁移风险明显增强。HM-Cr 组首轮淋出浓度升至 2.84mg/L, 不仅高于 PHC 和 PHC-EM, 也高于单一污染 CK 组; 70 天时累积淋失量达到 9.87mg/L, 分别较单一污染下的 PHC、PHC-EM 和 CK 高出 56.7%、174.8%和 16.3%, 因此, 在 Pb、Ni 与 Cr 共存时, 多金属之间的竞争吸附和位点占据削弱了 PHC 对 Cr 的固定能力, 使得 Cr 更易淋失。在 HM 组中不同金属的淋失行为也存在明显差别, Pb 和 Ni 的迁移强度整体高于 Cr。Pb 在 10 天达到最大淋出浓度 2.36mg/L, 之后逐渐下

降, 在 70 天时累积淋失量达到 12.86mg/L; Ni 的淋出液在第 5 天达到 3.26mg/L, 70 天时累积淋失量进一步升至 15.99mg/L, 显著高于 Pb 和 Cr, 整体表现为 Ni>Pb>Cr。在复合污染条件下, Ni 的迁移活性最强, Pb 次之, 而 Cr 相对较易被土壤及材料界面固定。

综上, PHC 能够在一定程度上降低单一 Cr 的淋失风险, 而 PHC-EM 在控制 Cr 初始释放和累积淋失方面表现出最优效果; 复合污染则显著放大了金属迁移风险, 尤其使 Cr 的控制效果明显弱化, 同时导致 Pb 和 Ni 出现更高的累积淋失量, 在多金属共存背景下, 仅依靠单一材料难以实现对迁移风险的充分抑制, 而炭-菌协同体系虽然仍具有调控作用, 但仍需培养其对复合污染的抗性。

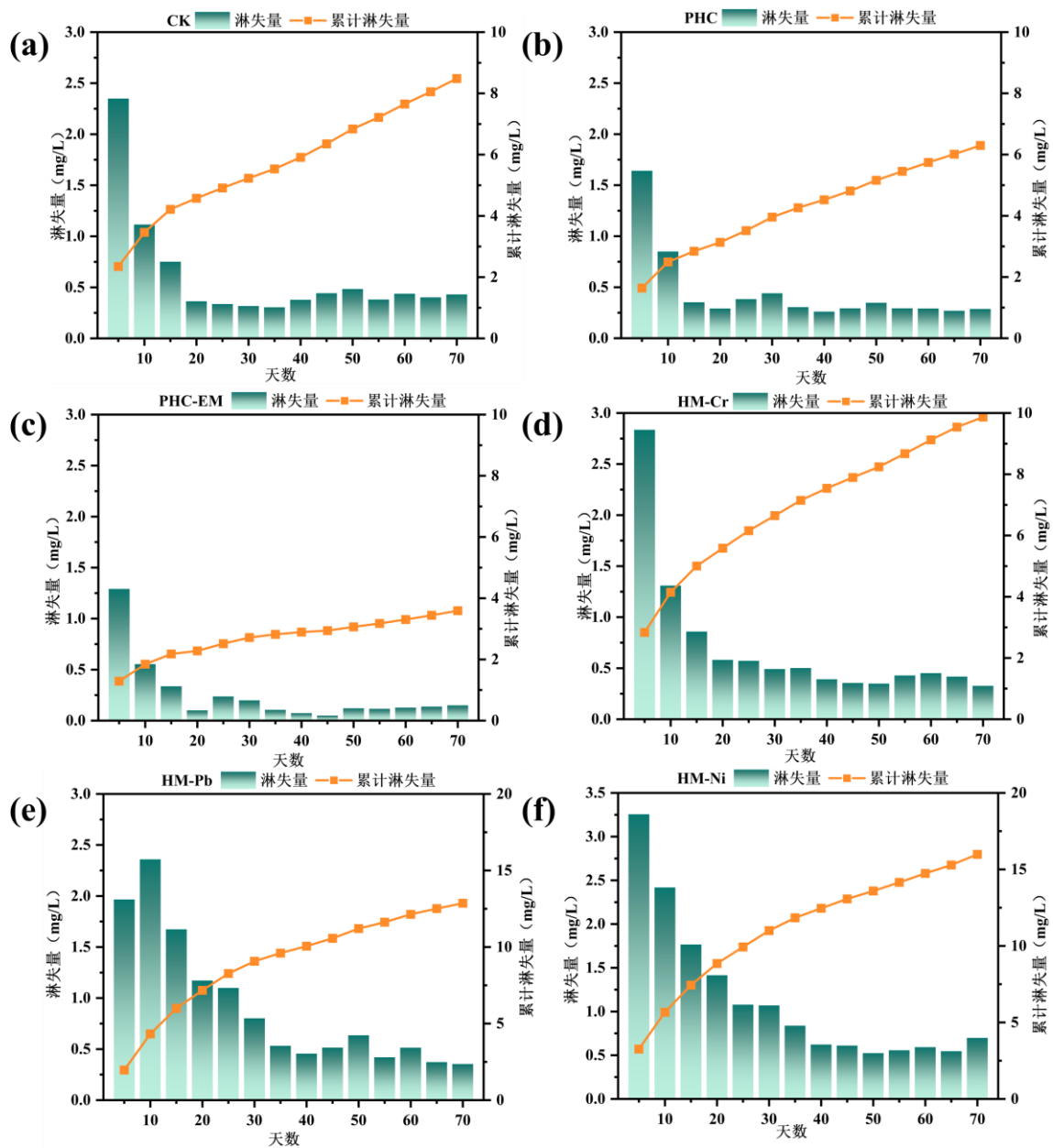


图6.3 淋溶液中重金属浓度变化与累积淋失量

注: CK 组(a),PHC 组(b),PHC-EM(c),HM 组 Cr 浓度(d),HM 组 Pb 浓度(e),HM 组 Ni 浓度(f)

6.2.4 淋溶土壤中 Cr 形态变化影响

采用 BCR 连续提取法对淋溶结束后不同处理土壤中 Cr 的形态分布进行分析,各处理均表现出由活性较高形态向相对稳定形态转化的总体趋势,但转化幅度和转化路径存在明显差异。由图 6.4 可知,未淋溶土壤中 Cr 以 F1 和 F2 为主,其中 CK 的 F1、F2、F3 和 F4 分别为 40.90%、25.13%、22.93%和 11.03%,初始污染土壤中仍有较高比例 Cr 处于活性较强、易迁移和易被生物利用的形态。

从 CK 组变化看,F1-Cr 由初次淋溶时的 40.90%降至末次淋溶时的 16.02%,可能是由于土壤在淋溶过程中将土壤中 F1-Cr 淋溶出土,导致 F1 占比减少。与此同时,F3 由 22.93%升高至第 65 天的 57.21%,F4 也由 11.03%提高至 17.30%左右。这说明即使在未添加修复材料的条件下,持续淋溶过程也会促使部分活性 Cr 向较稳定形态转化,但其 F1 和 F2 比例在后期仍保持较高水平,表明体系中仍存在潜在释放风险。

PHC 处理对 Cr 形态稳定化的促进作用较为明显。首次淋溶时 PHC 组 F1 相较 CK 的 40.90%下降了 7.33%,F3 升至 28.68%,说明 PHC 在淋溶初期便已促使部分 Cr 向较稳定形态迁移。随着淋溶进行,这一趋势进一步增强,第 20 天 PHC 组 F1 降至 11.51%,较同期 CK 明显降低;到末次淋溶,PHC 组 F1 仅为 4.95%,F2 为 11.55%,F3 高达 67.13%,F4 为 16.37%。由此可以说明,PHC 能够持续减少 F1 向外淋失并促进 Cr 由 F1 和 F2 向 F3 和 F4 转化。从而显著降低其迁移性与生物有效性。

与 PHC 相比,PHC-EM 处理在部分时期表现出更强的活性态削减效应。首次淋溶时 PHC-EM 组 F1 为 34.10%,与 PHC 接近,但在淋溶中期下降更快,第 20 至 45 天均低于同期 PHC 组;末次淋溶时,PHC-EM 组 F1 降至 4.51%,为全部处理中的最低水平之一。与此同时,PHC-EM 组 F3 比例显著提高,第 30 天达到 58.97%,明显高于 PHC 组的 50.51%;在第 65 天进一步达到 70.11%,为整个试验中的最高值,由此也可表明炭-菌协同体系对 Cr 稳定化具有更强的促进作用。PHC-EM 组 F4 比例在后期也维持在较高水平,高于同期 CK 和 PHC 处理,说明部分 Cr 已进一步由 F3 向更难释放的 F4 迁移,PHC-EM 不仅增强了 Cr 的短期固定,而且提高了其长期稳定化程度。

将单一污染与复合污染条件进行比较可见,复合污染体系中 Cr 的稳定化程度整体低于 PHC 和 PHC-EM 处理的单一 Cr 污染体系。HM 组在末次淋溶的 F1 和 F2 之和仍接近 28%,明显高于 PHC 组,而 F3 和 F4 之和则低于 PHC 与 PHC-EM。表明 Pb、Ni 的共存削弱了 PHC 对 Cr 的界面固定作用,也使 Cr 更难向高稳定性形态完全转化,其根本原因在于多金属离子对有限吸附位点和络合位点的竞争,以及复合污染条件下离子强度和界

面化学环境的改变。复合污染背景下 Cr 的形态转化更复杂，其迁移风险控制难度明显高于单一 Cr 污染体系。

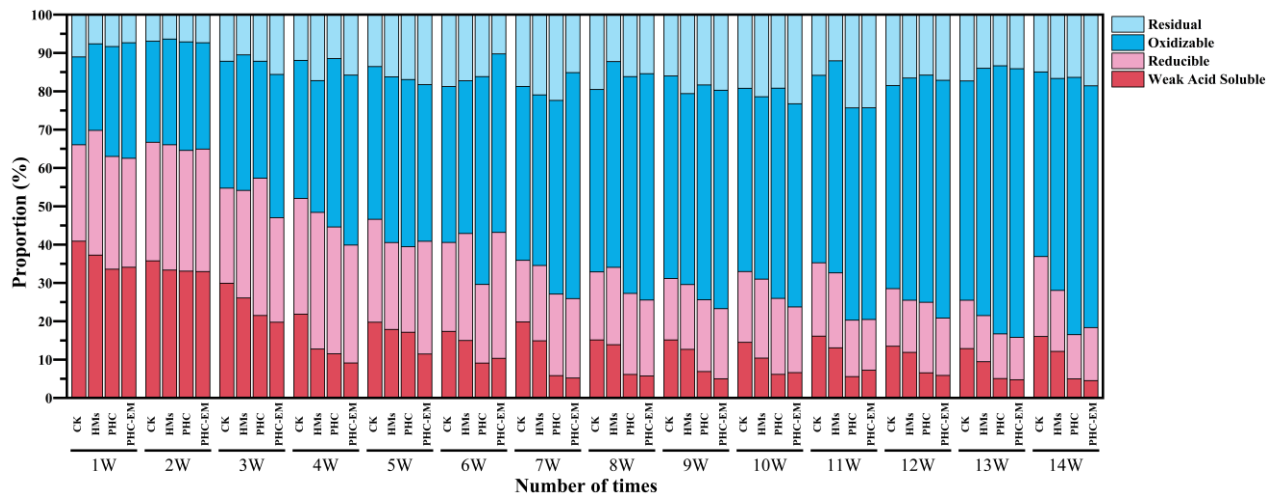


图6.4 不同处理后淋溶土壤中 Cr 形态的变化情况

6.3 章节小结

本章基于淋溶柱试验，系统分析了 PHC、PHC-EM 及复合污染条件下重金属在持续淋溶过程中的迁移释放行为，并结合 Cr 形态转化结果，对水热碳基微生物菌剂的迁移风险控制作用进行了评价。研究表明，PHC-EM 不仅能够调节淋溶体系的酸碱环境和离子强度，还能够有效抑制 Cr 的释放与迁移，并促进其向稳定形态转化。综合本章结果，可得到以下结论：

(1) 不同处理下淋溶液 pH 和 EC 均随淋溶时间发生明显变化，其中 PHC 和 PHC-EM 对体系具有较好的调节作用。相比单独 PHC，PHC-EM 在单一 Cr 污染体系中表现出更强的长期缓冲能力和更明显的离子迁移抑制效果。

(2) 在单一 Cr 污染土壤中，PHC 可明显降低淋溶液中 Cr 浓度及累积淋失量，而 PHC-EM 的控制效果进一步增强；与单一污染相比，复合污染条件下 Cr、Pb 和 Ni 的淋失风险整体更高，且表现为 Ni>Pb>Cr，多金属共存的复合污染下会削弱材料对单一金属的固定效率，并加剧位点竞争和迁移释放过程。

(3) BCR 连续提取结果表明，淋溶过程中 Cr 整体呈现由弱酸态、可还原态向可氧化态和残渣态转化的趋势，其中 PHC 和 PHC-EM 处理对活性态 Cr 的削减效果均明显优于 CK 和复合污染处理。表明水热碳基材料能够促进 Cr 由高迁移性形态向低迁移性形态转化，负载了功能性微生物的 PHC-EM 在增强长期稳定化方面表现出更明显的优势。

第7章 淋溶土壤微生物功能性基因研究

7.1 概述

第6章从淋溶液 pH、EC、重金属浓度、累积淋失量及 Cr 形态转化方面分析了 PHC 和 PHC-EM 对重金属迁移风险的控制效果，并验证了炭-菌协同体系在抑制 Cr 释放、促进其向稳定态转化方面具有明显优势。重金属在土壤中的迁移与稳定化并不单单局限于材料吸附和化学转化，同时还会受到土壤微生物的持续影响，微生物所表现的与金属耐受相关的功能性基因，能够直接参与到土壤中重金属的固定化过程中。因此，为完善炭基菌剂对重金属的固定化机理，将从研究功能基因层面，进一步揭示不同处理后对土壤微生物功能性表达的变化特征。

本章在淋溶试验后的土壤样品进行宏基因组测序结果，重点分析不同处理下微生物群落在门、属等分类水平上的组成差异；并结合 KEGG 和 BacMet 数据库注释微生物群落金属耐受和转化相关的功能基因响应情况。研究重点并不在于单纯描述微生物群落组成的变化，而在于明确不同处理下金属转运、氧化还原调节、细胞防御、胞外络合及有机质代谢相关功能基因的表达，并进一步分析这些功能响应与重金属形态转化、淋失削减及迁移风险控制之间的对应关系^[130]。

本章研究的意义在于，将炭基材料作用、土壤形态转化和淋溶行为联通微生态响应层面，从而实现对 PHC-EM 修复机制的多维解释。水热碳基微生物菌剂对重金属迁移风险的控制并非仅依赖材料本身的吸附与固定能力，而是与土壤微生物群落的重组及其潜在生态功能变化密切相关。这将有助于深化对炭-菌协同修复机制的认识，同时为后续水热碳基微生物菌剂在复杂污染土壤中的应用提供生态学依据。

7.2 结果与讨论

7.2.1 土壤微生物群落组成特征

土壤微生物是维系生态系统平衡的关键要素。其群落对外界干扰的响应敏感性，使其成为评估土壤生态质量与健康状态的重要指示指标。在土壤修复研究中，深入解析微生物群落多样性及其抗性功能基因，从微观层面阐明水热碳基功能材料在还原修复污染土壤过程中的内在作用机制。通过对各样本中的优势物种（此处取总体丰度前 30 位的物种）在各分类水平的组成绘制柱状图，如图 7.1 所示。

门水平上(图 7.1a)，各组主要优势菌门包括 *Proteobacteria* (变形菌门)、*Bacteroidetes* (拟杆菌门)、*Acidobacteria* (酸杆菌门)、*Verrucomicrobia* (疣微菌门)、*Firmicutes*

（厚壁菌门）和 *Chloroflexi*（绿弯菌门）等，表明在 Cr 污染背景下，土壤中已形成较为稳定的核心微生物群落框架。与 CK 相比，HM-PHC、PHC 和 PHC-EM 组中 *Proteobacteria*（变形菌门）的相对丰度均呈升高趋势，而 *Verrucomicrobia*（疣微菌门）在 HM-PHC 和 PHC 组中有所下降，在 PHC-EM 组中则表现出一定恢复；*Acidobacteria*（酸杆菌门）在 PHC-EM 中的相对丰度相对较高。

属水平上（图 7.1b），各处理组的主要优势菌属包括 *Opitutus*（*Opitutus* 属）、*Bradyrhizobium*（慢生根瘤菌属）、*Solimonas*（土壤单胞菌属）、*Thiobacillus*（硫杆菌属）、*Paenibacillus*（类芽孢杆菌属）、*Cellulomonas*（纤维单胞菌属）和 *Bacteroides*（拟杆菌属）等。其中，*Opitutus* 在 CK 中丰度较高，在 HM-PHC 和 PHC 中下降，而在 HCM 中明显回升；*Solimonas* 在 HM-PHC 中升高最为明显，在 PHC-EM 中亦维持较高水平；*Paenibacillus* 和 *Bacillus* 在 PHC-EM 中均表现出更高丰度，而 *Thiobacillus* 在 PHC 中较高、在 PHC-EM 中相对下降。

Solimonas 在 HM-PHC 中的显著富集，表明复合重金属污染施加了更强的环境筛选压力，使部分胁迫适应型菌群占据优势。*Paenibacillus* 和 *Bacillus* 在 PHC-EM 中的增加，这两类菌通常具有较强的逆境耐受能力，并可通过分泌胞外酶、胞外聚合物及代谢活性物质参与有机质转化、微环境调节和污染缓冲，因此其富集意味着 PHC-EM 更有利于构建具有潜在修复功能的微生物群落。

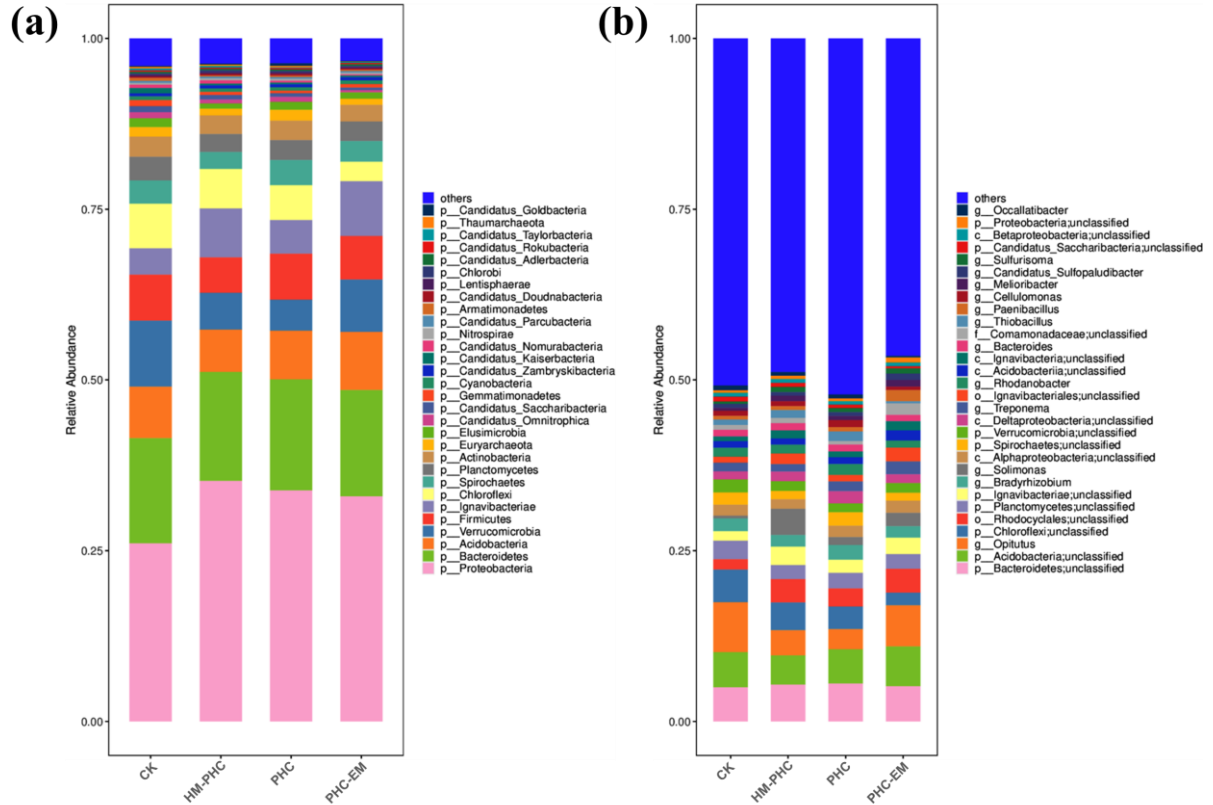


图7.1 不同处理下门和属水平微生物群落结构

7.2.2 土壤微生物群落整体结构差异

为从整体上揭示不同处理组微生物群落结构的变化特征，进一步对宏基因组数据进行了 PCoA、PCA 和 NMDS 排序分析，结果如图 7.2 所示。不同处理组在二维排序空间中均呈现出较为清晰的分离趋势。PCoA 分析显示，第一主坐标轴 (PCoA1) 和第二主坐标轴 (PCoA2) 对群落差异的解释率分别为 55.10% 和 28.02%，累计解释率达到 83.12%。PCA 分析结果与 PCoA 基本一致。第一主成分 (PCA1) 和第二主成分 (PCA2) 对群落差异的解释率分别为 47.39% 和 30.64%，累计解释率为 78.03%。与此同时，非计量多维标度 (NMDS) 分析在 Bray-Curtis、Jaccard、Gower 及 altGower 等多种距离算法下均呈现与 PCoA 相似的分布模式，进一步验证了不同处理组间群落分异的稳定性。

从解释度和分离模式两方面综合分析可以看出，PCoA 和 PCA 前两轴累计解释率分别达到 83.12% 和 78.03%。PCoA1 和 PCA1 主要反映了 CK 与其余处理组之间的整体偏移，说明 PHC、PHC-EM 及复合重金属输入均可显著改变基础 Cr 胁迫下的群落结构；而 PCoA2 和 PCA2 则更突出地反映了 PHC 与 PHC-EM 之间的分离，PHC 和 PHC-EM 对微生物群落的重构并非简单强弱差异，而是对应两种不同的生态调控路径。HM-PHC 多

位于 CK 与 PHC/PHC-EM 之间，复合重金属污染会影响 PHC 的修复作用，使土壤微生物群落形成了一种介于重金属胁迫和材料调控之间的中间状态。

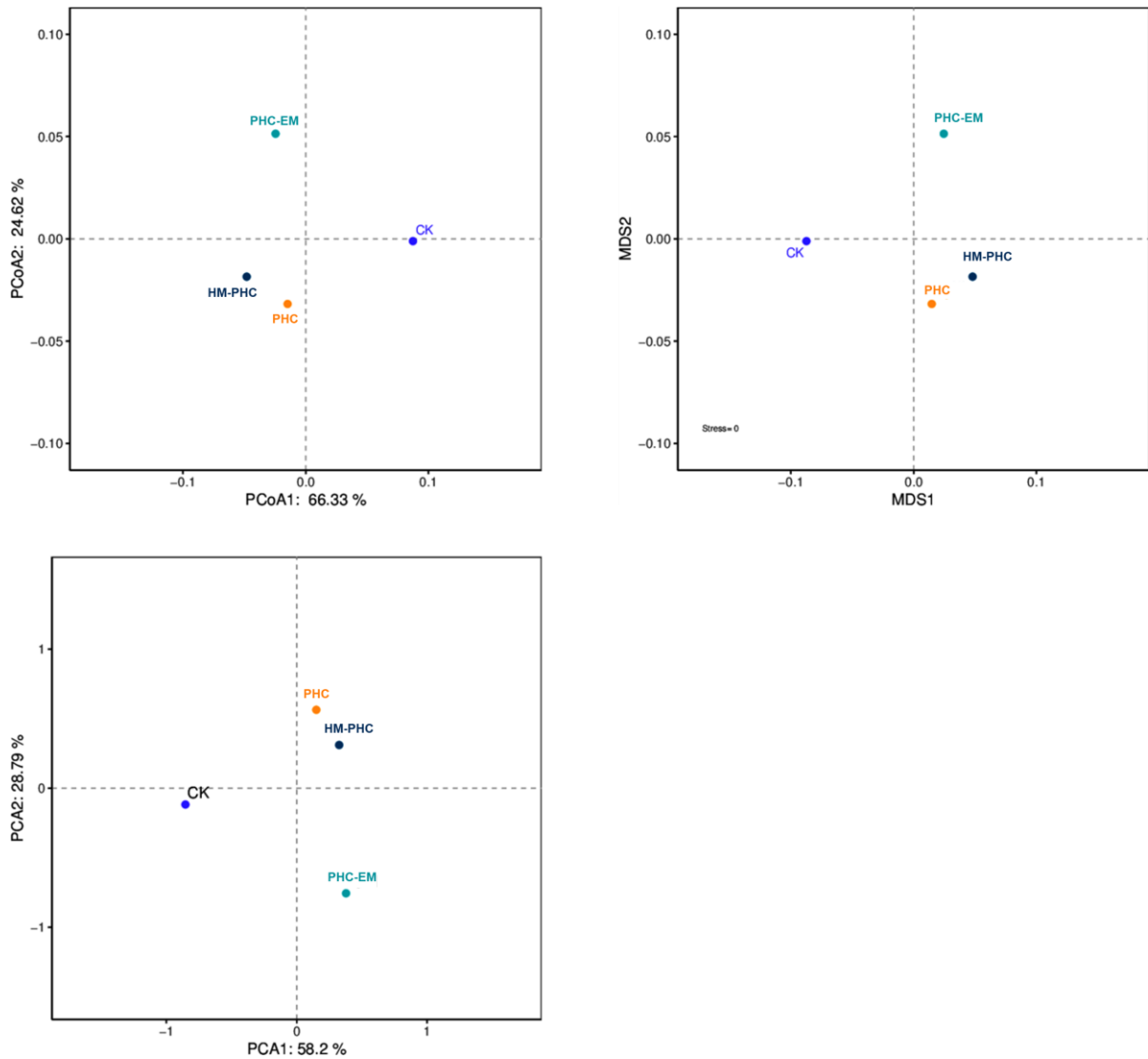


图7.2 不同处理土壤微生物群落结构排序分析

7.2.3 土壤微生物群落功能组成特征

为揭示不同处理对土壤微生物功能潜力的影响，基于 KEGG 数据库对宏基因组数据进行了功能注释，并选取二级功能分类（Level B）和三级功能通路分类（Level C）中丰度排名前 50 的功能单元进行标准化热图分析，如图 7.3 和图 7.4 所示。

从 Level B 功能分类来看，在单一 Cr 胁迫条件下，微生物群落主要通过维持基本生长代谢和遗传稳定性来适应污染环境。HM-PHC 组则在膜转运、外源化合物降解与代谢、抗性相关功能及细胞运动等方面表现更为突出。PHC 组主要表现为碳水化合物代谢、氨基酸代谢和能量代谢等功能增强，表明 PHC 处理促进了群落对底物利用和能量转化能力

的提升。相比之下，PHC-EM 组除保留较高的代谢功能外，还在信号转导、膜转运和原核生物群落互作等方面表现出更强富集趋势。

从 Level C 功能通路来看，CK 组主要功能重点在于维持蛋白质合成和遗传稳定。HM-PHC 组则更偏向在复合污染条件下更强的防御和修复需求。PHC 组在糖酵解/糖异生、丙酮酸代谢、三羧酸循环及淀粉和蔗糖代谢等中心碳代谢通路上更为突出，说明 PHC 主要促进了微生物代谢活性提升。PHC-EM 处理后的群落具备更高的环境感知、跨膜运输、群体协同和主动适应能力。

造成上述差异的根本原因在于不同处理对土壤微环境和微生物生态位的塑造作用不同。CK 组仅受单一 Cr 胁迫，因此群落功能主要围绕基本生长和损伤修复展开；HM-PHC 组由于叠加了 Pb 和 Ni 胁迫，使环境选择压力显著增强，因而微生物更依赖运输、防御和修复功能的功能模块；PHC 作为碳质材料改善了微生物附着和底物利用条件，从而促进群落代谢功能增强；PHC-EM 组则在 PHC 的基础上进一步引入了功能微生物，形成了材料载体作用与微生物调控作用的双重驱动，因此不仅提升了代谢活性，还同步增强了环境感知、物质运输和群落协同能力。PHC-EM 处理并非单纯提高某一类代谢功能，而是推动微生物群落由单一的污染耐受向代谢增强—环境响应—协同适应的一体化方向演替。

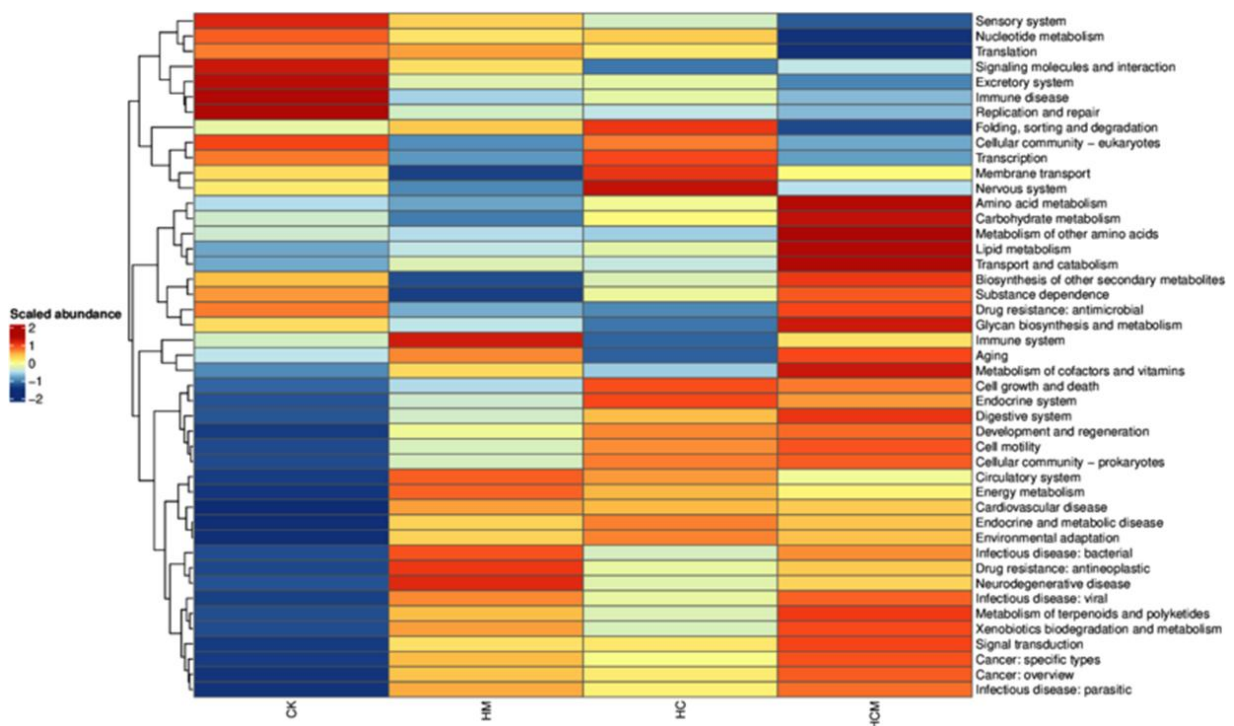
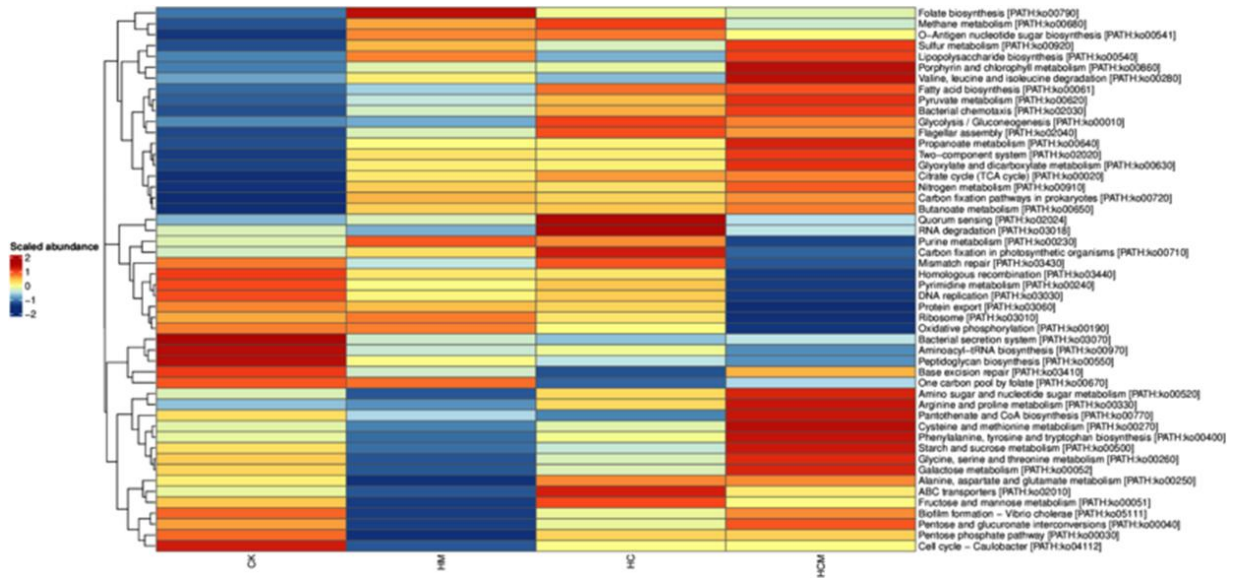


图7.3 不同处理土壤微生物群落 KEGG-LEVELB 功能分类特征



7.2.4 金属抗性相关功能基因响应特征

基于 BACMET 数据库对各组土壤微生物群落的金属抗性相关功能基因进行了分析，结果如图 7.5 所示。CK 组的抗性基因功能主要表现为维持基础金属耐受和细胞稳态调节，在单一 Cr 胁迫背景下，土壤微生物群落已经形成了一定的基础抗性储备，其主要作用是保障细胞在持续污染环境中的基本生存能力。HM-PHC 组则更突出地表现为跨膜转运、毒性缓冲和环境防御相关功能增强，在 Pb、Ni 和 Cr 复合胁迫条件下，微生物群落需要依赖更强的物质外排和毒性响应机制来降低多金属共同作用造成的细胞损伤。PHC 组的抗性功能则更多体现为细胞稳态维持、抗氧化防御和损伤修复能力的提升。在经过 PHC 处理后，微生物群落在适应金属胁迫的同时，更倾向于通过增强细胞内部调节和修复功能来维持活性。相比之下，PHC-EM 组表现出更加综合的抗性功能特征，即在保持较高基础耐受能力的同时，进一步强化了跨膜运输、金属稳态调节和胁迫适应功能，表明 PHC-EM 更有利于构建一个兼具耐受性和功能活性的微生物群落体系。

从功能层面看，不同处理组的差异并不只是抗性强弱的不同，而是体现在抗性功能分配方向上的不同。CK 偏向基础耐受维持，HM-PHC 偏向复合污染防御，PHC 偏向细胞修复与稳态维持，而 PHC-EM 则表现为耐受、防御与适应协同增强。PHC-EM 处理对污染土壤微生物群落的作用并非局限于提高单一抗性水平，而是推动群落形成更加完整和高效的重金属应答功能体系，从而为重金属迁移风险控制提供更稳定的生物学支撑。

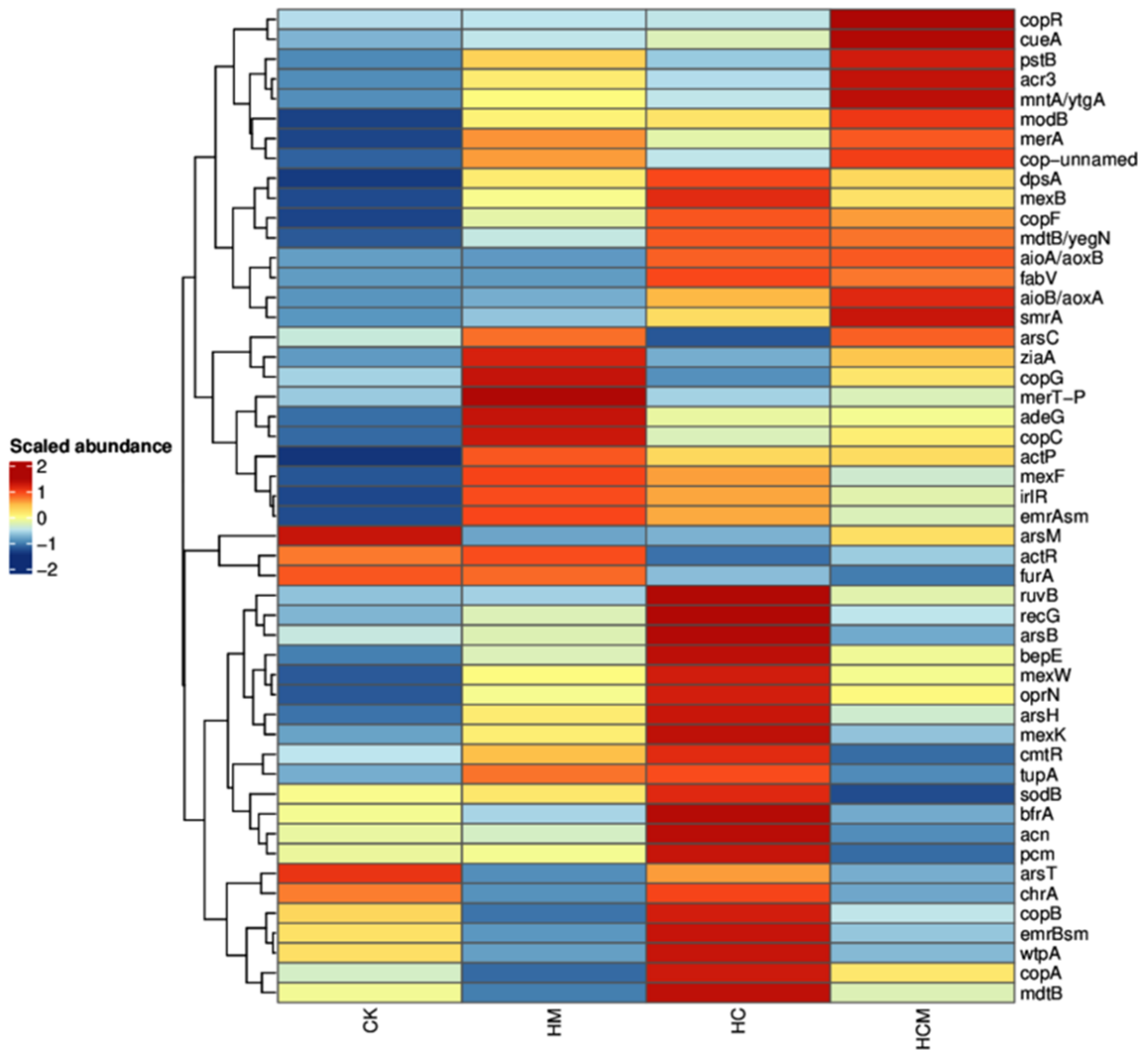


图7.5 不同处理土壤微生物群落中金属抗性相关基因组成与分布

7.3 章节小结

本章基于宏基因组测序结果，从群落组成、群落整体分异、功能组成及金属抗性相关功能基因响应四个层面，分析了不同处理后土壤微生物组学特征及其与重金属迁移风险控制之间的关系。实验证明 PHC 和 PHC-EM 均能够重塑污染土壤微生物群落，但 PHC-EM 对群落结构和功能潜力的调控作用更为明显，而复合重金属处理则表现出更强的胁迫筛选效应。

(1) 土壤中微生物群落在 Cr 胁迫条件下形成了相对稳定的核心群落框架，但不同处理条件能够明显使得优势类种群开始重新分配。PHC-EM 所代表的炭—菌复合体系能够在重金属胁迫下重塑更有利于稳定化过程的微生物群落组成，且明显区别于 PHC 的群

落构成。由此表明真菌负载并非通过单独增强 PHC 的作用强度，而是形成新的生态调控路径。

（2）依照 KEGG 功能基因注释，CK 组主要维持基本生长代谢和遗传稳定性；在复合重金属胁迫下，群落功能会转向群落防御和修复需求的功能性基因表达；PHC 主要通过改善附着条件和底物利用能力提升群落代谢活性；PHC-EM 的施加使得群落由单纯的代谢促进发展为对群落功能网络的系统性重构。

（3）依照 BACMET 重金属抗性基因注释，CK 组主要维持基础金属耐受和细胞稳态调节；在复合污染背景下，微生物则依赖于更强的外排与防御机制来缓解多金属联合胁迫；外加 PHC 使得群落重金属抗性基因更偏向于细胞稳态维持、抗氧化防御和损伤修复；PHC-EM 组在保持较高基础耐受能力的同时，强化跨膜运输、金属稳态调节和胁迫适应功能，实现耐受、防御与适应的协同增强。

第8章 结论与展望

8.1 结论

本研究以修复重金属 Cr 污染土壤为研究目标,以制备绿色低碳、经济效益高、处理效益好的高效炭基菌剂材料为核心。本研究以法桐落叶为原料制备水热碳,并结合从 Cr 污染土壤中分离筛选的优势真菌构建炭基微生物菌剂,围绕材料构建、菌剂稳定、土壤修复、迁移控制和微生态响应等方面开展系统研究。结果表明,PHC 与功能微生物的协同作用并非简单的相互叠加,水热碳为重金属固定提供了多位点反应界面,为微生物定殖提供了相对安全的附着空间;功能菌通过生物吸附、胞外聚合物分泌和微环境调节加强 Cr 固定与稳定态转化;二者进入土壤后,又通过改善土壤交换性能、有机质状态和群落功能分配,最终构建炭—菌—土三者协同的修复体系。主要结论如下:

(1) 水热温度直接决定了法桐落叶生物质中木质纤维素组分的脱水、脱羧和缩合程度,并同步影响孔隙形成、官能团含量和表面电性。温度偏低时,材料保留较多极性基团,但孔隙发育不足、结构稳定性较弱;温度过高时,碳骨架芳香化程度增强,表面含氧官能团减少,不利于金属络合与离子交换。220 °C 样品兼具较高比表面积、适宜孔容、具有丰富的含氧官能团及稳定的负电表面,能够同时发挥孔隙富集、静电吸附和表面络合等作用,为 Cr 固定和微生物负载提供了更适宜的材料基础。

(2) 从 Cr 污染土壤中筛选获得的优势真菌 *Talaromyces* sp. EM 具有较强的重金属耐受性,PHC 的多孔结构和表面活性基团为菌体附着、菌丝延展和局部包埋提供了适宜的场所。PHC 先通过吸附和络合作用降低周围自由 Cr 浓度,减轻重金属对菌体的直接毒害作用,从而提升菌剂稳定性;负载后的真菌则进一步通过细胞壁官能团、胞外聚合物分泌及局部微环境调节提供新的活性位点;同时,PHC-EM 能够在储存过程中保持更高的活性,并且其固定过程也由相对单一的表面吸附发展为更复杂的多层吸附和异质界面反应,进而提高 Cr 的固定效果。

(3) 在土壤体系中,Cr 的行为受土壤团聚体、SOM、CEC 及根际活动等多种因素影响,单纯依赖材料吸附难以维持长期稳定效果。PHC-EM 进入土壤后,能够通过 PHC 表面的官能团和矿物位点固定 Cr,还可以通过提高土壤 CEC 和 SOM 增强土壤对重金属的交换、络合和缓冲能力,从而削弱 Cr 的迁移性和生物有效性。植物根际分泌物和根际微生物互作强化了炭—菌协同效应,使得在有植物协作的条件下 PHC-EM 表现出更高的 Cr 固定效率。

(4) 探究 PHC-EM 对重金属迁移风险的应用研究表明, PHC-EM 能够显著降低体系中可迁移离子的释放强度, 并使 Cr 由弱结合、易释放形态逐步转化为更稳定的结合形态。宏基因组分析表明, PHC-EM 推动土壤微生物群落功能由基础代谢维持向跨膜运输、金属稳态调节、抗氧化防御和环境胁迫适应方向增强, 从微生态层面使得 Cr 稳定化与迁移风险削减。PHC-EM 的本质是一种由材料固定、菌体强化和群落功能重组共同驱动的多界面稳定化修复体系。

8.2 展望

本研究从材料构建、菌剂协同及土壤微生态等方面系统揭示了炭基微生物菌剂在 Cr 污染土壤中的稳定化修复机制, 为重金属的绿色可持续修复提供了相应的理论基础。然而, 本研究还存在一定的局限性, 仍需进一步完善:

(1) 在现有室内研究基础上, 进一步拓展至典型污染场地开展中试或原位应用, 系统评估不同土壤类型、环境条件及植物根际作用下 PHC-EM 的适用性与稳定性。同时延长实验周期, 重点关注环境扰动条件下的重金属再释放风险与长期稳定化效果。

(2) 本研究土柱淋溶试验采用去离子水作为淋溶液, 主要目的是在相对可控条件下排除外源离子干扰, 突出水热碳及水热碳基微生物菌剂对 Cr 迁移释放行为的调控作用。后续研究可设置中性降雨、弱酸性降雨和典型酸雨等不同淋溶情景, 结合 $\text{SO}_4^{2-}/\text{NO}_3^-$ 比例、降雨强度和干湿交替过程, 进一步评价水热碳基微生物菌剂在真实气候扰动下的长期稳定性和工程适用性。

(3) 现阶段对于土壤中的重金属无法被彻底去除, 只能通过相应的修复手段减少其迁移能力。因此, 需要引入超富集植物, 同时构建炭材料、功能微生物、土壤微环境和超富集植物之间的耦合作用机制, 有望利用炭—菌—土—植体系将重金属从土壤中去除。

参考文献

- [1] Wuana R A, Okieimen F E. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation [J]. International Scholarly Research Notices, 2011, 2011(1): 402647.
- [2] Hou D, Jia X, Wang L, et al. Global soil pollution by toxic metals threatens agriculture and human health [J]. Science, 2025, 388(6744): 316-321.
- [3] Xu D-M, Fu R-B, Wang J-X, et al. Chemical stabilization remediation for heavy metals in contaminated soils on the latest decade: Available stabilizing materials and associated evaluation methods-A critical review [J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 321: 128730.
- [4] Li Z, Ma Z, van der Kuijp T J, et al. A review of soil heavy metal pollution from mines in China: Pollution and health risk assessment [J]. Science of The Total Environment, 2014, 468-469: 843-853.
- [5] Yang Q, Li Z, Lu X, et al. A review of soil heavy metal pollution from industrial and agricultural regions in China: Pollution and risk assessment [J]. Science of The Total Environment, 2018, 642: 690-700.
- [6] Xie P, Liu Z, Li J, et al. Pollution and health-risk assessments of Cr-contaminated soils from a tannery waste lagoon, Hebei, north China: With emphasis on Cr speciation [J]. Chemosphere, 2023, 317: 137908.
- [7] Huang H, Gao Y J, Cao Z X, et al. Ecotoxicity of hexavalent chromium [Cr (VI)] in soil presents predominate threats to agricultural production with the increase of soil Cr contamination [J]. JOURNAL OF HAZARDOUS MATERIALS, 2024, 476.
- [8] Li Y, Pan S, Wang L, et al. Soil Chromium Accumulation in Industrial Regions across China: Pollution and Health Risk Assessment, Spatial Pattern, and Temporal Trend (2002 – 2021) [J]. Toxics, 2023, 11(4): 363.
- [9] Chen Y N, Luo M W, Li Y P, et al. Photoactive and self-sustaining: How soil organic matter drives the natural remediation of Cr(VI) via photochemical pathways at the soil-water interface [J]. WATER RESEARCH, 2026, 300.
- [10] 芮大虎, 武迎飞, 陈雪, 等. 复合冻融与淋洗方法修复重金属污染黏性土的研究 [J]. 岩土工程学报, 2019, 41(02): 286-293.
- [11] Fu Q X, Liu Z, Zeng L J, et al. Unveiling colloid-mediated mobilization of Cd/As/Cr by low-molecular-weight organic acids in high geological background soils [J]. JOURNAL OF HAZARDOUS

MATERIALS, 2026, 510.

[12] Bolan N, Kunhikrishnan A, Thangarajan R, et al. Remediation of heavy metal(loid)s contaminated soils – To mobilize or to immobilize? [J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 266: 141-166.

[13] Rajendran S, Priya T A K, Khoo K S, et al. A critical review on various remediation approaches for heavy metal contaminants removal from contaminated soils [J]. Chemosphere, 2022, 287(Pt 4): 132369.

[14] Liu L, Wang J, Zhai J, et al. Regional disparities and technological approaches in heavy metal remediation: A comprehensive analysis of soil contamination in Asia [J]. Chemosphere, 2024, 366: 143485.

[15] Hassan M, Wang B, Wu P, et al. Engineered biochar for in-situ and ex-situ remediation of contaminants from soil and water [J]. Science of The Total Environment, 2024, 957: 177384.

[16] Ding N, Dong Z, Chen L. A Review on In Situ Remediation of NAPLs Contaminated Soil: Methods and Development Prospects; proceedings of the Advances in Energy Resources and Environmental Engineering, Cham, F 2024//, 2024 [C]. Springer International Publishing.

[17] 梁欣. 旧厂房改造土壤重金属污染的原位与异位修复技术进展 [J]. 中国资源综合利用, 2018, 36(05): 85-87.

[18] 施培俊, 王冠华, 陈亚华, 等. 原位化学钝化技术在重金属污染土壤修复中的研究进展 [J]. 环境科学导刊, 2016, 35(S1): 121-124.

[19] Mir N R, Mir B A, Mavi M S, et al. Revitalizing soil – biochar's battle against heavy metal menace in plants: A review [J]. Pedosphere, 2026, 36(1): 240-253.

[20] Yu Z, Li C, Yang M, et al. Response of vegetation restoration and soil reconstitution to coupled manure application in alpine mining areas: A comprehensive assessment [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2026, 14(2): 121177.

[21] 水新芳, 赵元艺, 王强. 矿山重金属污染土壤修复技术进展及展望 [J]. 地质论评, 2021, 67(03): 752-766.

[22] 旷远文 温, 周国逸. 有机物及重金属植物修复研究进展 [J]. 生态学杂志, 2004, (01): 90-96.

[23] Li S, Song Y, Yang P, et al. Ligand-enhanced electro-Fenton soil remediation: Decoupling electrode surface catalysis via cathodic electron pumping [J]. Chemical Engineering Journal, 2026, 535: 175257.

[24] Dai Y-D, Hsueh Y-S, Yuan C. Remediation of Cu-, Zn-, and Pb-contaminated soil by Fe/Al oxidation electrodes in an in-situ electrokinetic system: Investigation of electrode configurations and metal binding

forms [J]. Separation and Purification Technology, 2025, 377: 134450.

[25] Shao G, Dong J, Zhang W, et al. In situ bioelectrochemical remediation of contaminated soil and groundwater: A review [J]. Environmental Pollution, 2025, 374: 126250.

[26] 吴耀楣. 中国土壤重金属污染修复技术的专利文献计量分析 [J]. 生态环境学报, 2013, 22(05): 901-904.

[27] Rai P K. Agricultural waste-derived biochar in heavy metals remediation of soil-food crops for human health and sustainable agriculture [J]. Biomass Futures, 2026, 1: 100015.

[28] Yang Z, Li L, Qing Z, et al. Evaluating the effect of Mg source precursor selection on the synergistic recovery of ammonium and phosphate by modified biochar: Dual potential as slow-release fertilizer and soil heavy metal immobilizer [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2026, 14(2): 122047.

[29] Ren T, Feng H, Wan Mahari W A, et al. Biochar and microbial synergy: enhancing tobacco plant resistance and soil remediation under cadmium stress [J]. Biochar, 2025, 7(1): 119.

[30] Palansooriya K N, Li J, Dissanayake P D, et al. Prediction of Soil Heavy Metal Immobilization by Biochar Using Machine Learning [J]. Environ Sci Technol, 2022, 56(7): 4187-4198.

[31] Wang Y, Liu Y, Zhan W, et al. Stabilization of heavy metal-contaminated soils by biochar: Challenges and recommendations [J]. Science of The Total Environment, 2020, 729: 139060.

[32] Wang J, Shi L, Zhai L, et al. Analysis of the long-term effectiveness of biochar immobilization remediation on heavy metal contaminated soil and the potential environmental factors weakening the remediation effect: A review [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 207: 111261.

[33] Cavali M, Libardi Junior N, de Sena J D, et al. A review on hydrothermal carbonization of potential biomass wastes, characterization and environmental applications of hydrochar, and biorefinery perspectives of the process [J]. Science of The Total Environment, 2023, 857: 159627.

[34] 孙向阳 李, 任学勇,王辉,李雅琳,王迪,李雯君. 园林绿化废弃物资源化利用研究进展 [J]. 林业科学, 2025, 61(7): 100-113.

[35] Langsdorf A, Volkmar M, Holtmann D, et al. Material utilization of green waste: a review on potential valorization methods [J]. Bioresources and Bioprocessing, 2021, 8(1): 19.

[36] Petrović J, Ercegović M, Simić M, et al. Hydrothermal Carbonization of Waste Biomass: A Review of Hydrochar Preparation and Environmental Application [J]. Processes, 2024, 12(1): 207.

- [37] Cavali M, Libardi Junior N, de Sena J D, et al. A review on hydrothermal carbonization of potential biomass wastes, characterization and environmental applications of hydrochar, and biorefinery perspectives of the process [J]. *Sci Total Environ*, 2023, 857(Pt 3): 159627.
- [38] Shao Y, Tan H, Shen D, et al. Synthesis of improved hydrochar by microwave hydrothermal carbonization of green waste [J]. *Fuel*, 2020, 266: 117146.
- [39] Xia Y, Liu H, Guo Y, et al. Immobilization of heavy metals in contaminated soils by modified hydrochar: Efficiency, risk assessment and potential mechanisms [J]. *Sci Total Environ*, 2019, 685: 1201-1208.
- [40] Kravchenko E, Yan W H, Privizentseva D, et al. Hydrochar as an adsorbent for heavy metals in soil: A meta-analysis [J]. *Sustainable Materials and Technologies*, 2024, 41: e01057.
- [41] 刘振刚, 夏宇, 孟芋含, 等. 生物质炭材料修复重金属污染土壤的研究进展: 修复机理及研究热点分析 [J]. *环境工程学报*, 2021, 15(4): 1140-1148.
- [42] Zhang C, Zhang R, Shao Y, et al. Recent Advances in Hydrothermal Carbonization of Biomass: The Role of Process Parameters and the Applications of Hydrochar [J]. *Journal of Renewable Materials*, 2026, 14(1).
- [43] Gezae Daful A, Chandraratne M R. Hydrothermal Conversion of Lignocellulosic Biomass to Hydrochar: Production, Characterization, and Applications [M]//JACOB-LOPES E, QUEIROZ ZEPKA L, DIAS R R. *From Biomass to Biobased Products*. London; IntechOpen. 2023.
- [44] Mahata S, Periyavaram S R, Akkupalli N K, et al. A review on Co-Hydrothermal carbonization of sludge: Effect of process parameters, reaction pathway, and pollutant transport [J]. *Journal of the Energy Institute*, 2023, 110: 101340.
- [45] Nunes L F, Ugalde G A, Anschau K F, et al. Clean Production of Sugars from Brewer' s Spent Grains Using Subcritical Water Hydrolysis and Steam Explosion [J]. *Sustainable Chemistry*, 2024, 5(4): 308-323.
- [46] Toor S S, Rosendahl L, Rudolf A. Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies [J]. *Energy*, 2011, 36(5): 2328-2342.
- [47] Xie S, Zhang T, You S, et al. Applied machine learning for predicting the properties and carbon and phosphorus fate of pristine and engineered hydrochar [J]. *Biochar*, 2025, 7(1): 19.
- [48] 宋瑞珍, 杨晓阳, 张鹏, 等. 低阶煤和生物质水热碳化特性及水热炭功能化改性研究进展 [J].

洁净煤技术, 2024, 30(03): 72-85.

[49] Madusari S, Jamari S S, Nordin N I A A, et al. Hybrid Hydrothermal Carbonization and Ultrasound Technology on Oil Palm Biomass for Hydrochar Production [J]. ChemBioEng Reviews, 2023, 10(1): 37-54.

[50] Koprivica M, Petrović J, Ercegović M, et al. Improvement of combustible characteristics of Paulownia leaves via hydrothermal carbonization [J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2024, 14(3): 3975-3985.

[51] Portilla-Amaguaña A, Barraza-Burgos J, Guerrero-Perez J, et al. Combustion Reactivity of Hydrochars Derived from Sugarcane Green Harvesting Residues via Hydrothermal Carbonization [J]. BioEnergy Research, 2025, 18(1): 97.

[52] Chen C, Liang W, Fan F, et al. The Effect of Temperature on the Properties of Hydrochars Obtained by Hydrothermal Carbonization of Waste Camellia oleifera Shells [J]. ACS Omega, 2021, 6(25): 16546-16552.

[53] Yu S, Dong X, Zhao P, et al. Decoupled temperature and pressure hydrothermal synthesis of carbon sub-micron spheres from cellulose [J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 3616.

[54] Palomino A, Slodczyk A, Canizarès A, et al. Monitoring the hydrothermal carbonization of biomass derived compounds by in-situ high-temperature-high-pressure Raman spectroscopy [J]. Carbon, 2026, 251: 121360.

[55] Gkalipidou E, Koukoura A, Savvanidou I, et al. Evaluation of a pilot system coupling thermal and ultrasound pretreatment, anaerobic digestion and hydrothermal carbonization for sewage sludge treatment and per- and polyfluoroalkyl substances removal [J]. Chemical Engineering Journal, 2026, 532: 174358.

[56] Chen Z, Guo Y, Luo L, et al. A critical review of hydrochar based photocatalysts by hydrothermal carbonization: synthesis, mechanisms, and applications [J]. Biochar, 2024, 6(1): 74.

[57] Zhang J, Zhang B, Xia A, et al. Production of carbon dots, biofuels, bio-adsorbents, and biological nutrients via hydrothermal conversion of Chlorella pyrenoidosa and oilseed rape straw [J]. Biochar, 2025, 7(1): 109.

[58] Khanzada A K, Al-Hazmi H E, Kurniawan T A, et al. Hydrochar as a bio-based adsorbent for heavy metals removal: A review of production processes, adsorption mechanisms, kinetic models, regeneration and reusability [J]. Science of The Total Environment, 2024, 945: 173972.

[59] Li Q, Wang Y, Li Y, et al. Speciation of heavy metals in soils and their immobilization at micro-scale interfaces among diverse soil components [J]. Science of The Total Environment, 2022, 825: 153862.

- [60] Xia Y, Liu H, Guo Y, et al. Immobilization of heavy metals in contaminated soils by modified hydrochar: Efficiency, risk assessment and potential mechanisms [J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 685: 1201-1208.
- [61] Hongbo L, Yi Z, Haonan Z, et al. Mechanism for the application of biochar in remediation of heavy metal contaminated farmland and its research advances [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2020, 36(13): 173-185.
- [62] Teng F, Zhang Y, Wang D, et al. Iron-modified rice husk hydrochar and its immobilization effect for Pb and Sb in contaminated soil [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 398: 122977.
- [63] Han R, Gao Y, Jia Y, et al. Heterogeneous precipitation behavior and mechanism during the adsorption of cationic heavy metals by biochar: Roles of inorganic components [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 480: 136322.
- [64] Bingyu W, Cenyao S, Huifang X, et al. Unraveling natural aging-induced properties change of sludge-derived hydrochar and enhanced cadmium sorption site heterogeneity [J]. *Biochar*, 2022, 4(1): 34-34.
- [65] Zhao Q, Guo W, Zhu Y, et al. Soil – plant-microbial evidence for the available phosphorus generation and utilization of Ca/Mg salts conditioned hydrochar from sewage sludge [J]. *Carbon Research*, 2025, 4(1): 64.
- [66] 钱黎黎, 王彦鑫, 倪俊, 等. 生物质水热炭改性方法及应用研究进展 [J]. *煤炭学报*, 2023, 48(06): 2279-2290.
- [67] Liu S, Cen B, Yu Z, et al. The key role of biochar in amending acidic soil: reducing soil acidity and improving soil acid buffering capacity [J]. *Biochar*, 2025, 7(1): 52.
- [68] Ouyang P, Narayanan M, Shi X, et al. Integrating biochar and bacteria for sustainable remediation of metal-contaminated soils [J]. *Biochar*, 2023, 5(1): 63.
- [69] Fang J, Gao B, Chen J, et al. Hydrochars derived from plant biomass under various conditions: Characterization and potential applications and impacts [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 267: 253-259.
- [70] Nzediegwu C, Naeth M A, Chang S X. Carbonization temperature and feedstock type interactively affect chemical, fuel, and surface properties of hydrochars [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 330: 124976.

- [71] 薛香玉, 陈德珍, 戴晓虎, 等. 污泥水热反应产物特性与水热温度选择 [J]. 中国电机工程学报, 2016, 36(19): 5254-5262+5407.
- [72] 王雪, 徐期勇, 张超. 木质纤维素类生物质水热炭化机理及水热炭应用进展 [J]. 化工进展, 2023, 42(05): 2536-2545.
- [73] Kang S, Li X, Fan J, et al. Characterization of Hydrochars Produced by Hydrothermal Carbonization of Lignin, Cellulose, d-Xylose, and Wood Meal [J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2012, 51(26): 9023-9031.
- [74] Yao Y, Xia P, Zhao L, et al. Effects of Temperature and Duration on the Combustion Characteristics of Hydrochar Prepared From Traditional Chinese Medicine Residues Using Hydrothermal Carbonization Process [J]. International Journal of Energy Research, 2024, 2024(1): 3595643.
- [75] 曾祥荣, 廖传华, 汪明星, 等. 水热炭化技术研究进展 [J]. 农业工程, 2023, 13(05): 56-68.
- [76] Pande V, Pandey S C, Sati D, et al. Microbial Interventions in Bioremediation of Heavy Metal Contaminants in Agroecosystem [J]. Front Microbiol, 2022, 13: 824084.
- [77] Nies D H. Microbial heavy-metal resistance [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1999, 51(6): 730-750.
- [78] Nies D H. Efflux-mediated heavy metal resistance in prokaryotes [J]. FEMS Microbiol Rev, 2003, 27(2-3): 313-339.
- [79] Sun S, Zhang M, Yang G, et al. A review on the mechanisms and applications of bacteria in responding, adsorbing and transporting heavy metals [J]. Archives of Microbiology, 2025, 207(11): 286.
- [80] Verma L, Ekka A, Banjara R A, et al. A Review on Bacterial Exopolysaccharides for Heavy Metal Remediation: Mechanisms, Challenges, and Sustainable Applications [J]. Water Environ Res, 2025, 97(10): e70184.
- [81] Chai W S, Tan W G, Halimatul Munawaroh H S, et al. Multifaceted roles of microalgae in the application of wastewater biotreatment: A review [J]. Environmental Pollution, 2021, 269: 116236.
- [82] Manikandan S K, Pallavi P, Shetty K, et al. Effective Usage of Biochar and Microorganisms for the Removal of Heavy Metal Ions and Pesticides [J]. Molecules, 2023, 28(2).
- [83] Li H, Cui X, Sun Y, et al. Advances in Microbial Remediation of Heavy Metal-Contaminated Soils: Mechanisms, Synergistic Technologies, Field Applications and Future Perspectives [J]. Toxics, 2025, 13(12).

- [84] Nnaji N D, Anyanwu C U, Miri T, et al. Mechanisms of Heavy Metal Tolerance in Bacteria: A Review [J]. Sustainability, 2024, 16(24): 11124.
- [85] An Y, Li X, Liu L, et al. Remediation mechanism of *Sporosarcina pasteurii* XL-1 for removal of Cr(VI) and Cr(III) by induced carbonate precipitation [J]. Biochemical Engineering Journal, 2026, 225: 109933.
- [86] Ramli N N, Othman A R, Kurniawan S B, et al. Metabolic pathway of Cr(VI) reduction by bacteria: A review [J]. Microbiological Research, 2023, 268: 127288.
- [87] Stewart D I, Vasconcelos E J R, Burke I T, et al. Metagenomes from microbial populations beneath a chromium waste tip give insight into the mechanism of Cr (VI) reduction [J]. Science of The Total Environment, 2024, 931: 172507.
- [88] Garg A, Ali M, Ahmad A, et al. Survival tactics of *Bacillus licheniformis* KNP under hexavalent chromium stress: a study of detoxification and chemotactic responses [J]. Frontiers in Microbiology, 2025, Volume 16 - 2025.
- [89] 叶莎, 张雪滢, 丰俊, 等. 油菜紫云英间作对土壤环境及微生物群落的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2025, 30(12): 252-264.
- [90] 张银玲. 土壤微生物调控存在的问题及策略 [J]. 农村科学实验, 2025, (20): 112-114.
- [91] 李交昆, 余黄, 曾伟民, 等. 根际促生菌强化植物修复重金属污染土壤的研究进展 [J]. 生命科学, 2017, 29(05): 434-442.
- [92] 周可欣, 王小瑞, 米世灿, 等. 土壤污染根际修复研究进展 [J]. 中国生态农业学报(中英文), 2025, 33(4): 769-782.
- [93] Joshi S, Gangola S, Bhandari G, et al. Rhizospheric bacteria: the key to sustainable heavy metal detoxification strategies [J]. Frontiers in Microbiology, 2023, Volume 14 - 2023.
- [94] Karnwal A, Kumar G, Din Mahmoud A E, et al. Eco-engineered remediation: Microbial and rhizosphere-based strategies for heavy metal detoxification [J]. Current Research in Biotechnology, 2025, 9: 100297.
- [95] Khan I, Wang M, Shang L, et al. The role of mineralization bacteria in the immobilization of cadmium and lead in aqueous solutions [J]. Journal of Hazardous Materials, 2025, 499: 140187.
- [96] De Santis A, Bevilacqua A, Conceição S, et al. Phenotypic and functional characterization of soil *Pseudomonas* strains reveals multi-metal tolerance and bioremediation potential [J]. Frontiers in

Microbiology, 2025, Volume 16 - 2025.

[97] 张理, 张若琳, 马志远, 等. 红壤区作物根际合成菌群构建策略与作用机制 [J]. 土壤, 2025, 57(06): 1268-1275.

[98] Copeland C, Schulze-Lefert P, Ma K-W. Potential and challenges for application of microbiomes in agriculture [J]. The Plant Cell, 2025, 37(8).

[99] Wang B, Liu B, Liu G, et al. Synergistic Mechanisms of Biochar and Microorganisms in Soil Remediation: From Heavy Metal Immobilization to Sustainable Agriculture [J]. International Journal of Environmental Research, 2025, 20(1): 12.

[100] 朱伟, 安家乐, 高中才. 重金属污染对土壤微生物活性的影响研究 [J]. 工业微生物, 2025, 55(06): 13-15.

[101] 王秀丽 徐, 姚槐应, 谢正苗. 重金属铜、锌、镉、铅复合污染对土壤环境微生物群落的影响 [J]. 环境科学学报, 2003, (01): 22-27.

[102] 邱若琪, 赵欣鑫, 刘惠, 等. 微生物-生物炭协同修复土壤重金属复合污染互作机制与应用进展 [J]. 应用化工: 1-10.

[103] 邱若琪, 赵欣鑫, 张少华, 等. 矿化微生物-生物炭修复土壤重金属的效应与机制研究进展 [J]. 岩矿测试: 1-15.

[104] 姜凤, 林志远, 罗雨瑶, 等. 生物炭与微生物对农田土壤重金属形态转化影响机制研究进展 [J]. 广东农业科学, 2025, 52(2): 44-57.

[105] 兰宇, 孟军, 韩晓日, 等. 生物炭基产品及其对土壤培肥改良效应的研究进展 [J]. 植物营养与肥料学报, 2024, 30(7): 1396-1412.

[106] Chojnacka K, Moustakas K, Mikulewicz M. The combined rhizoremediation by a triad: plant-microorganism-functional materials [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(39): 90500-90521.

[107] Anbuganesan V, Vishnupradeep R, Mehnaz N, et al. Synergistic effect of biochar and plant growth promoting bacteria improve the growth and phytostabilization potential of Sorghum bicolor in Cd and Zn contaminated soils [J]. Rhizosphere, 2024, 29: 100844.

[108] 孙漱玉, 黄梦鑫, 孔强, 等. 生物炭固定化菌复合材料在环境修复中的应用研究进展 [J]. 环境科学, 2024, 45(04): 2185-2194.

- [109] Peng S, Ya F, Yin J, et al. Enhanced immobilization of cadmium, lead, and antimony with improved soil fertility using sulfate-reducing bacteria@nano zero-valent iron-modified biochar: coupled chemisorption and microbial mechanisms [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2026, Volume 16 - 2025.
- [110] Kayoumu M, Mei Y, Liu Y, et al. Synergistic cadmium immobilization and maize growth promotion by chitosan modified biochar loaded with *Bacillus subtilis* composites: mechanistic insights and life-cycle assessment [J]. *Bioresource Technology*, 2026, 441: 133618.
- [111] Zhang S, Cui C, Huang S, et al. Application and mechanisms of biochar-immobilized enzymes in environmental remediation: a review [J]. *Biochar*, 2026, 8(1): 4.
- [112] 胡亚茹 李 马 郭 李. 一种改性黄腐酸-生物炭固定化菌剂及其制备方法和应用: 中国. 2025.05.09-.
- [113] 王鹤潼, GALLIANE J, 吴迪, 等. 缺陷短波单胞菌 W1 和水热炭对风沙土质地结构的影响 [J]. *吉林农业大学学报*: 1-9.
- [114] 王燕杉, 朱小超, 宋英今, 等. 草屑厌氧消化预处理耦合水热炭化研究 [J]. *化工学报*, 2022, 73(02): 904-913.
- [115] Long Y J, Zhu N, Zhu Y Y, et al. Hydrochar drives reduction in bioavailability of heavy metals during composting via promoting humification and microbial community evolution [J]. *Bioresource Technology*, 2024, 395.
- [116] Rijo B, Dias A P S. Recent advances in the characterization and applications of biochar and hydrochar [J]. *New Carbon Materials*, 2026, 41(2): 276-298.
- [117] Choukoud A, El Farissi H, Abdelouahed L, et al. High-quality biochar from the catalytic pyrolysis of *Brachychiton* seeds: Optimization and characterization [J]. *Fuel Processing Technology*, 2026, 283: 108410.
- [118] Biney M, Gusiati M Z. Biochar from Co-Pyrolyzed Municipal Sewage Sludge (MSS): Part 2: Biochar Characterization and Application in the Remediation of Heavy Metal-Contaminated Soils [J]. *MATERIALS*, 2024, 17(15).
- [119] Liu Z, Zhang X, Xu Z, et al. Effects of *Paenibacillus polymyxa* WZ14 inoculation on phytoextraction efficiency and rhizosphere soil bacterial characteristics in multi-heavy metals contaminated soil [J]. *Environmental Research*, 2025, 279: 121751.
- [120] Yu F, He Z, Xin X, et al. Evidence that beneficial microbial inoculation enhances heavy

metal-contaminated soil remediation: Variations in plant endophyte communities [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 480: 135883.

[121] Mariuzza D, Lin J-C, Volpe M, et al. Impact of Co-Hydrothermal carbonization of animal and agricultural waste on hydrochars' soil amendment and solid fuel properties [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2022, 157: 106329.

[122] Zhang W, Chi D, Chen T, et al. Biochar-mediated soil phosphorus leaching and distribution behaviors in AWD paddy fields of a Northeast China alluvial plain [J]. *Agricultural Water Management*, 2026, 324: 110155.

[123] 刘昱辛. 新型水热炭基功能材料构建及其对土壤 Cr (VI) 固化机制研究 [D]; 中国科学院大学 (中国科学院东北地理与农业生态研究所), 2024.

[124] Pantelopoulos A, Aronsson H. Organic waste and their respective hydrochars: Characteristics, carbon stability and nutrient release dynamics in soil [J]. *Journal of Environmental Management*, 2026, 400: 128674.

[125] Khan N, Mohan S, Dinesha P. Regimes of hydrochar yield from hydrothermal degradation of various lignocellulosic biomass: A review [J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 288: 125629.

[126] Wang M, Zhang M, Chen X, et al. Hydrothermal conversion of Chinese cabbage residue for sustainable agriculture: Influence of process parameters on hydrochar and hydrolysate [J]. *Science of The Total Environment*, 2022, 812: 152478.

[127] Kavindi G A G, Lei Z, Yuan T, et al. Use of hydrochar from hydrothermal co-carbonization of rice straw and sewage sludge for Cr(VI) bioremediation in soil [J]. *Bioresource Technology Reports*, 2022, 18: 101052.

[128] Teng Z, Zhao X, Jia B, et al. Bioremediation system consisted with *Leclercia adecarboxylata* and nZVI@Carbon/Phosphate for lead immobilization: The passivation mechanisms of chemical reaction and biological metabolism in soil [J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 340: 117888.

[129] Sihua Z, Yuzhu Z, Hua L. Simultaneous preparation of carbon quantum dots and hydrothermal carbon from mangosteen peel waste for integrated detection and removal of Cr(VI) [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2025, 13(6): 119285.

[130] Yang L, Chen J, Chen Z, et al. Integrated metagenomic and metabolomic analyses reveal that nitrogen

fertilizer reduction combined with biochar application improves the soil microenvironment of *Phoebe bournei* seedlings [J]. *Journal of Environmental Management*, 2025, 395: 127954.

致谢

这次的毕业论文写到此也算是完成，我并没有别人所说的那种如释重负。往前翻翻，虽说字字辛苦，终究不过是故纸堆里拾人牙慧，于学林无所补，于世道无甚益。三年里头，为这几十页纸耗掉的精神，如今想来，也未必值当。只是路走到了这一步，总要交出点什么，算作交代。

导师刘兵先生，是真正有水平的人。确实带我见过不少世面。开会、研讨、结识各路人物，会议桌上、办公桌上听来的掌故比课堂上学到的活泛。先生器重我，我自然明白。当然，该剥削的也一点没客气——课题、杂务、跑腿的差事，样样落不下。但平心而论，先生在学术上也确实下了功夫。每次拿着写好的材料去请教，再忙也会抽出时间，一页页翻过去，哪里论证不周，哪里材料单薄，指得清清楚楚。有时候为了一两个问题，能从下午谈到天黑，直到办公室只剩我们两个人。如今回头看，见世面是真，被使唤也是真，学术上的指点更是真。三笔账轧一轧，也分不清哪笔更重些。可惜我天分有限，终究没能写出像样的东西。

我父母忙忙碌碌了一辈子。他们不懂我在城里研究的是什么课题，只知道读书是正事。有时候跟他们说起读书的苦，他们也不知道该怎么回应，只是反复说“坚持”，或许我没有和他们说过“放弃”。如今我快要毕业了，他们却老了。这篇论文他们不会看，也看不大懂，但我想他们晓得我完成了，总会高兴的。

还有几位同窗，平时一起骂这实验难做、论文难写，骂完了又各自埋头。资料借来借去，稿子互相挑毛病，深夜手机上的碰面，都是一屏苦水。这些日子过去了，恐怕再难有。还有个要好的师兄，如今已经更上一层楼，开始了海外博士的生活，隔着一片大洋，偶尔在手机上看见他的消息，也不知道自己将来是不是也要走上这条路。至于实验室，就留给师弟师妹们罢。他们各自有各自的命数，我担心也没用。

说到底，这篇论文不过是一块敲门砖。敲开了门，砖也就没用了。里头那些见解，我自己也知道，多半是人云亦云，算不得什么发明。若是侥幸能对后来的人有一点点用处，那就是额外的福分。

写到这里，天已经微亮了。窗外滚轮与地面的声音，大约是离校的。我也快了。

攻读硕士学位期间论文发表及科研情况

论文发表

1. **Wang B**, Liu B, Liu G, et al. Synergistic Mechanisms of Biochar and Microorganisms in Soil Remediation: From Heavy Metal Immobilization to Sustainable Agriculture [J]. International Journal of Environmental Research, 2025, 20(1): 12. 第一作者

参加会议

1. 2023 年中日青年科技人文交流计划学术交流会, 2023.11.25, 科技部国际合作司, 山东济南
2. 第 19 届全国循环经济与生态工业学术研讨会, 2025.7.11, 中国生态经济学学会工业生态经济与技术专业委员会/中国生态经济学学会循环经济专业委员会/齐鲁工业大学(山东省科学院)/山东省循环经济协会, 山东济南

专利发表

1. 山东建筑大学, 一种基于水热碳的微生物固定化材料及其制备方法和应用, 发明专利, 申请号: CN202511369143.4 [P], 2025-09-24, 第 1 位 [受理中]
2. 山东建筑大学, 一种工业园区碳排放计算方法及系统, 发明专利, 申请号: CN202411790084.3 [P], 2024-26-06, 第 6 位 [受理中]

获奖情况

1. 第十五届山东省大学生科技节, 山东省大学生环保创意大赛, 2023.9, 省三等奖, 第 4 位
2. 第十六届山东省大学生科技节, 山东省大学生节能减排社会实践与科技竞赛, 2024.12, 省二等奖, 第 2 位