

# 生物炭对 $\text{Cu}^{2+}$ 污染土壤反硝化过程的影响\*

尹宇莹<sup>1</sup> 欧阳磊<sup>2</sup>

(1.湖南省洞庭湖生态环境监测中心,湖南 岳阳 414000;2.中国科学院华南植物园,广东 广州 510275)

**摘要** 反硝化过程会导致土壤系统中氮素的流失,而且产生温室气体 $\text{N}_2\text{O}$ ,有必要控制污染土壤的反硝化过程。研究了 $\text{Cu}^{2+}$ 污染土壤中添加生物炭对反硝化过程的抑制。结果表明, $\text{Cu}^{2+}$ 污染土壤的 $\text{NO}_3^-$ 浓度低于未污染土壤, $\text{N}_2\text{O}$ 释放速率大于未污染土壤,可见 $\text{Cu}^{2+}$ 污染土壤中的 $\text{Cu}^{2+}$ 可促进反硝化过程。添加生物炭可明显降低土壤中可提取 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度, $\text{N}_2\text{O}$ 释放速率降低, $\text{NO}_3^-$ 浓度升高,但 $\text{NO}_3^-$ 浓度的升高滞后于 $\text{N}_2\text{O}$ 释放速率的降低。生物炭添加量为5%(质量分数)时对反硝化作用的抑制效果最强。

**关键词**  $\text{Cu}^{2+}$  生物炭 反硝化过程  $\text{N}_2\text{O}$  土壤

DOI:10.15985/j.cnki.1001-3865.2018.03.010

**The effect of biochar on denitrification process in  $\text{Cu}^{2+}$  polluted soil** YIN Yuying<sup>1</sup>, OU-YANG Lei<sup>2</sup>. (1. Ecological and Environmental Monitoring Center of Dongting Lake of Hunan, Yueyang Hunan 414000; 2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou Guangdong 510275)

**Abstract:** Denitrification process leads to nitrogen loss in soil and greenhouse gas  $\text{N}_2\text{O}$  release in atmosphere. Therefore, it is necessary to control denitrification process in polluted soil. The inhibition effect of biochar on denitrification process in  $\text{Cu}^{2+}$  polluted soil was studied. Results showed that the concentration of  $\text{NO}_3^-$  in  $\text{Cu}^{2+}$  polluted soil was lower than that in unpolluted soil, and the  $\text{N}_2\text{O}$  releasing rate in  $\text{Cu}^{2+}$  polluted soil was higher than that in unpolluted soil. Thus,  $\text{Cu}^{2+}$  could promote denitrification process. However, the addition of biochar effectively reduced the concentration of extracted  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{N}_2\text{O}$  releasing rate, but increased the concentration of  $\text{NO}_3^-$ . The increase of the concentration of  $\text{NO}_3^-$  was later than the decrease of  $\text{N}_2\text{O}$  releasing rate. The inhibition effect reached strongest when biochar mass percentage was 5%.

**Keywords:**  $\text{Cu}^{2+}$ ; biochar; denitrification process;  $\text{N}_2\text{O}$ ; soil

反硝化过程会导致土壤系统中氮素的流失,而且产生温室气体 $\text{N}_2\text{O}$ ,其增温潜势是 $\text{CO}_2$ 的298倍,还会破坏臭氧层<sup>[1]</sup>。反硝化过程中的 $\text{NO}_2^-$ 还原酶和 $\text{N}_2\text{O}$ 还原酶都是以 $\text{Cu}^{2+}$ 作为亚基的酶。因此, $\text{Cu}^{2+}$ 污染土壤中的反硝化过程往往比其他土壤强烈。DAI等<sup>[2]</sup>研究表明, $\text{Cu}^{2+}$ 能够影响土壤氮的矿化。BÄÄTH<sup>[3]</sup>研究表明, $\text{Cu}^{2+}$ 能够通过影响土壤微生物的酶活性而影响微生物的各种生化过程。

生物炭是一种通过将生物质在缺氧或厌氧条件下进行热解而得到的含碳量较高的固体,具有多孔、比表面积大、富含含氧官能团等性质,在土壤污染修复方面具有巨大的潜力。在土壤中添加生物炭能够保持甚至提高土壤肥力<sup>[4]</sup>;其羧基、羟基等含氧官能团能够结合重金属离子<sup>[5]</sup>。因此,生物炭对于 $\text{Cu}^{2+}$ 污染土壤的修复可能有极好的效果,特别是对于其反硝化过程的抑制。

本研究在不同 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度的土壤中添加生物炭,测量可提取 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度、 $\text{NO}_3^-$ 浓度和 $\text{N}_2\text{O}$ 释放速率观察生物炭对 $\text{Cu}^{2+}$ 污染土壤的反硝化作用影响,以期达到修复的效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验所用未污染土壤取自广东省华南农业大学水稻田基地,不含 $\text{Cu}^{2+}$ 。

生物炭的制备过程如下:采集牛粪,自然风干,过20目筛,置于舟形坩埚内在高纯氩气氛下加热。其中,升温程序如下:0~25 min,由0℃升至250℃;25~35 min,保持250℃;35~65 min,由250℃升至550℃;65~125 min,保持550℃;125~245 min,由550℃降至25℃。

土壤和生物炭的基本性质如表1所示。

第一作者:尹宇莹,女,1990年生,硕士,助理工程师,主要从事土壤污染修复研究。

\*国家自然科学基金资助项目(No.51039007、No.51179212);湖南省环保科技计划项目(No.2014-16)。

表 1 土壤和生物炭的基本性质<sup>1)</sup>  
Table 1 Basic properties of soil and biochar

实验材料	pH	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /(mg·kg <sup>-1</sup> )	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /(mg·kg <sup>-1</sup> )	C/%	N/%	C/N
土壤	7.0	110	0.53	1.21	0.08	15.1
生物炭	10.0	146	1.40	26.90	1.22	22.0

注:<sup>1)</sup>C 和 N 以质量分数计;C/N 为 C 和 N 的质量比。

### 1.2 实验设计

300 g 土壤中加入 CuCl<sub>2</sub> 使土壤 Cu<sup>2+</sup> 质量浓度为 0、150、500 mg/kg, 各 4 组, 调节土壤含水率为 60%, 放入 (25.0±0.2) °C 恒温箱中厌氧反硝化培养 30 d, 然后每组分别添加 0% (质量分数, 下同)、1%、5%、10% 的生物炭, 继续厌氧反硝化培养 60 d, 适时取土壤分析。各实验处理及编号如表 2 所示, 每个处理做 3 个平行, 结果取平均值。

表 2 实验处理及编号

Table 2 Experiment treatments and their serial numbers

处理	编号
土壤+0 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +0%生物炭	M0C0
土壤+0 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +1%生物炭	M0C1
土壤+0 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +5%生物炭	M0C5
土壤+0 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +10%生物炭	M0C10
土壤+150 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +0%生物炭	M150C0
土壤+150 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +1%生物炭	M150C1
土壤+150 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +5%生物炭	M150C5
土壤+150 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +10%生物炭	M150C10
土壤+500 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +0%生物炭	M500C0
土壤+500 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +1%生物炭	M500C1
土壤+500 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +5%生物炭	M500C5
土壤+500 mg/kg Cu <sup>2+</sup> +10%生物炭	M500C10

### 1.3 分析计算方法

NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 用酶标仪 (Bio-Tek1 ELx800, 美国) 在 540 nm 的波长处测定。C、N 用元素分析仪 (vario EL cube, 德国) 进行测定。

pH: 土壤按水土比为 5 mL : 1 g 进行混合, 生物炭按水与生物炭比为 5 mL : 1 g 进行混合, 振荡 1 h, 静置 1 h, 使用 pH 计 (Mettler FE20, 瑞士) 测定上清液。

可提取 Cu<sup>2+</sup>: 按 1 mol/L 的 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 与土壤的体积比为 5 : 1 在 150 r/min 的条件下振荡浸提 24 h, 然后以 3 000 r/min 的转速离心 15 min, 取上清液, 用稀盐酸调节 pH 为 2.0, 用电感耦合等离子发射光谱 (PerkinElmer Optima 5300 DV, 美国) 测定。

NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: 取 5 g 土壤置于离心管中, 加入 1 mol/L KCl 溶液 25 mL, 在 150 r/min 的条件下振荡 2 h, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液用 0.45 μm 滤膜过滤, 取 1 mL 滤液于 10 mL 比色管中稀释至刻度, 加入 0.8 mL 50 g/L 氨基磺酸铵和 0.2 mL 7.7% (体积分数) 盐酸溶液, 摇匀后用酶标仪在 275、220 nm 波长

下测定吸光度, 根据标准曲线计算 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度。

N<sub>2</sub>O 释放速率: 取 20 g 土壤置于 500 mL 棕色瓶中, 用带有 1 个进气口和 1 个出气口的橡胶塞塞紧, 涂凡士林密封, 将棕色瓶置于 (25.0±0.2) °C 恒温箱中厌氧反硝化培养 2 h。用注射器采集初始气体和培养后气体, 用气相色谱仪 (Shimadzu GC 2014, 日本) 测定 N<sub>2</sub>O 浓度, 用式 (1) 计算 N<sub>2</sub>O 释放速率。

$$F = \frac{(\Delta C / \Delta t) \rho V (T_1 / T_2) (P_1 / P_2)}{m} \quad (1)$$

式中: F 为 N<sub>2</sub>O 释放速率, μg/(g·h); ΔC 为培养前后 N<sub>2</sub>O 的摩尔分数变化; Δt 为培养时间, h; ρ 为标准状态下 N<sub>2</sub>O 的密度, 1.964×10<sup>3</sup> g/m<sup>3</sup>; V 为棕色瓶容积, mL; T<sub>1</sub> 为标准状态温度, 273 K; T<sub>2</sub> 为实际温度, K; P<sub>1</sub> 为标准状态大气压, 1.013×10<sup>5</sup> Pa; P<sub>2</sub> 为实际大气压, Pa; m 为土壤质量, g。

## 2 结果与讨论

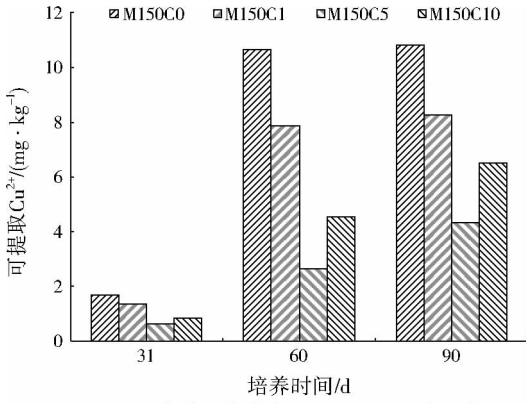
### 2.1 生物炭对 Cu<sup>2+</sup> 污染土壤可提取 Cu<sup>2+</sup> 浓度的影响

由图 1 可见, 与不添加生物炭相比, 添加生物炭可明显降低 Cu<sup>2+</sup> 污染土壤中可提取 Cu<sup>2+</sup> 浓度, 且最佳生物炭添加量均为 5%; 添加生物炭后 1 d 可提取 Cu<sup>2+</sup> 浓度降至最低, 而后又会有一定的回升。添加 10% 的生物炭对 Cu<sup>2+</sup> 的固定能力反而低于添加 5% 的生物炭, 这可能是由于随着生物炭添加量的增大, 可溶性有机质也增多, 与 Cu<sup>2+</sup> 形成络合物使其不易被沉淀, 从而导致随着生物炭添加量的增加, 土壤中可提取 Cu<sup>2+</sup> 含量增加。

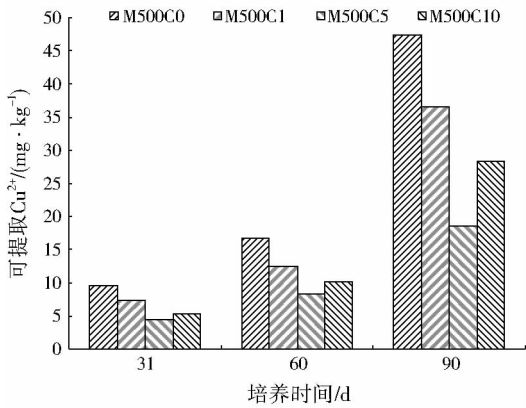
### 2.2 生物炭对 Cu<sup>2+</sup> 污染土壤 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的影响

由图 2 可见, Cu<sup>2+</sup> 污染土壤的 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度低于未污染土壤, 这是由于反硝化过程中 NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 还原酶和 N<sub>2</sub>O 还原酶都需要 Cu<sup>2+</sup>, 因此 Cu<sup>2+</sup> 能够增强反硝化作用, 从而使 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度降低; 随着时间的延长, Cu<sup>2+</sup> 逐渐被消耗, 30 d 后可能 Cu<sup>2+</sup> 浓度已消耗至很低水平, 所以 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 浓度随培养时间的延长先升高而后几乎不变。

添加生物炭后 Cu<sup>2+</sup> 污染土壤中 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的浓度变化如图 3 所示。当 Cu<sup>2+</sup> 质量浓度小于等于 150



(a) Cu<sup>2+</sup>质量浓度为150 mg/kg的污染土壤



(b) Cu<sup>2+</sup>质量浓度为500 mg/kg的污染土壤

图1 生物炭对 Cu<sup>2+</sup> 污染土壤可提取 Cu<sup>2+</sup> 的影响

Fig.1 Effect of biochar on extracted Cu<sup>2+</sup> in Cu<sup>2+</sup> polluted soil

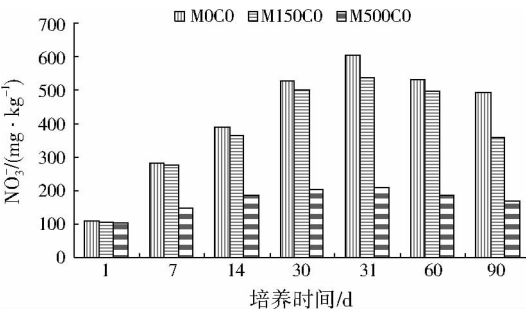


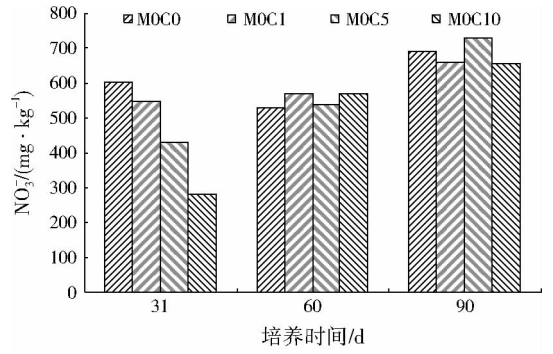
图2 Cu<sup>2+</sup> 对 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的影响

Fig.2 Effect of Cu<sup>2+</sup> on NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

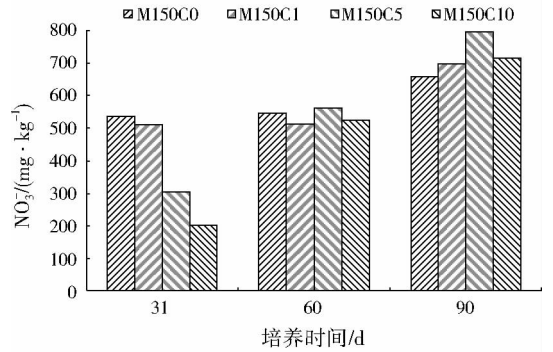
mg/kg时,添加生物炭后 1 d 不能立即抑制反硝化过程使NO<sub>3</sub><sup>-</sup>增加,而是逐渐显现出对反硝化的抑制作用并且抑制作用不明显;当 Cu<sup>2+</sup> 质量浓度等于 500 mg/kg时,添加生物炭后 1 d 就立即显现出抑制反硝化作用,并且抑制作用随培养时间的延长不断增强,至培养时间为 90 d 时抑制作用非常明显且生物炭添加量为 5% 的抑制效果最明显。

### 2.3 生物炭对 Cu<sup>2+</sup> 污染土壤 N<sub>2</sub>O 释放速率的影响

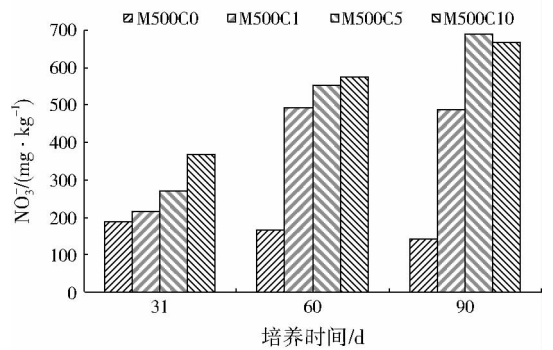
Cu<sup>2+</sup> 能够增强土壤反硝化过程,因此图 4 中 Cu<sup>2+</sup> 对 N<sub>2</sub>O 释放速率的影响与图 2 的结果一致。Cu<sup>2+</sup>



(a) Cu<sup>2+</sup>质量浓度为0 mg/kg的污染土壤



(b) Cu<sup>2+</sup>质量浓度为150 mg/kg的污染土壤



(c) Cu<sup>2+</sup>质量浓度为500 mg/kg的污染土壤

图3 生物炭对 Cu<sup>2+</sup> 污染土壤 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的影响

Fig.3 Effect of biochar on NO<sub>3</sub><sup>-</sup> in Cu<sup>2+</sup> polluted soils

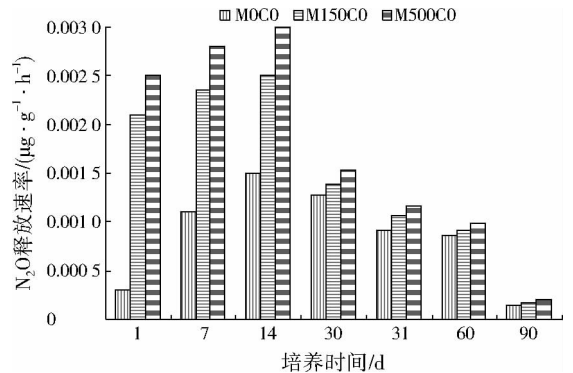


图4 Cu<sup>2+</sup> 对 N<sub>2</sub>O 释放速率的影响

Fig.4 Effect of Cu<sup>2+</sup> on N<sub>2</sub>O releasing rate

污染土壤的 N<sub>2</sub>O 释放速率大于未污染土壤; N<sub>2</sub>O 释放速率随培养时间的延长先升高后降低。

添加生物炭后 Cu<sup>2+</sup> 污染土壤中 N<sub>2</sub>O 释放速率变化如图 5 所示。添加生物炭后 1 d 就能观察到

$N_2O$ 释放速率明显降低,但 $NO_3^-$ 浓度的升高有一定时间的延滞。随着培养时间的延长,生物炭对反硝化作用的抑制作用增强, $N_2O$ 释放速率降低。前已述及,由于随着生物炭添加量的增大,可溶性有机质与 $Cu^{2+}$ 形成络合物使土壤中可提取 $Cu^{2+}$ 含量增加,因此培养时间为90 d时5%生物炭添加量的 $N_2O$ 释放速率低于10%生物炭添加量。

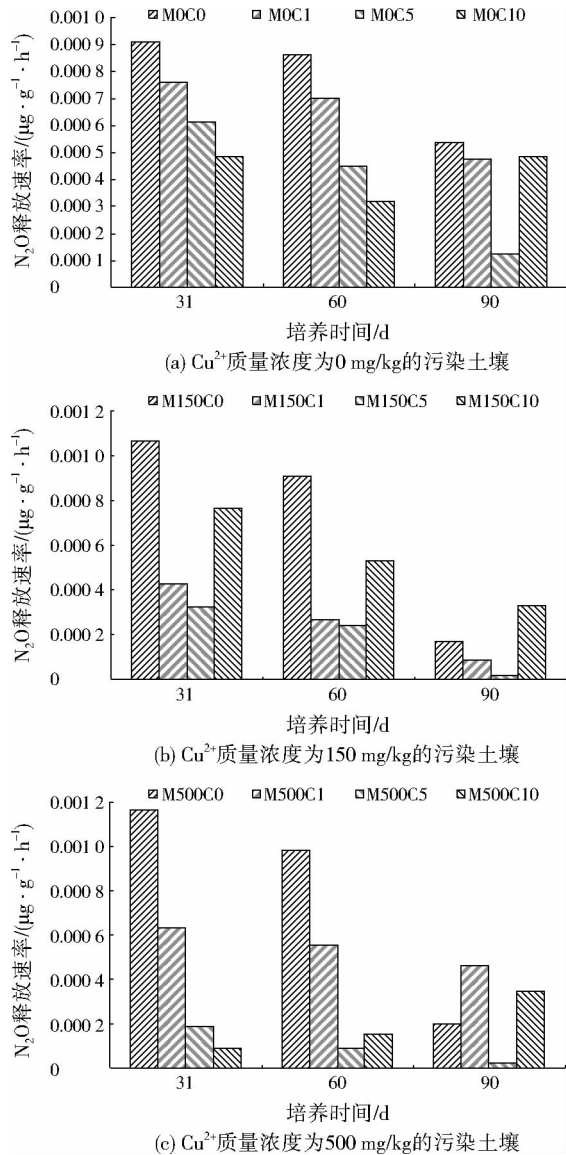


图5 生物炭对 $Cu^{2+}$ 污染土壤 $N_2O$ 释放速率的影响  
Fig.5 Effect of biochar on  $N_2O$  releasing rate in  $Cu^{2+}$  polluted soil

### 3 结论

$Cu^{2+}$ 污染土壤的 $NO_3^-$ 浓度低于未污染土壤, $N_2O$ 释放速率大于未污染土壤,可见 $Cu^{2+}$ 污染土壤中的 $Cu^{2+}$ 可促进反硝化过程。添加生物炭可明显降低土壤中可提取 $Cu^{2+}$ 浓度, $N_2O$ 释放速率降低, $NO_3^-$ 浓度升高,但 $NO_3^-$ 浓度的升高滞后于 $N_2O$ 释放

速率的降低。生物炭添加量为5%时对反硝化作用的抑制效果最强。

### 参考文献:

[1] DICKINSON R E, CICERONE R J. Future global warming from atmospheric trace gases[J]. Nature, 1986, 319 (6049): 109-115.

[2] DAI J, BECQUER T, ROUILLER J H, et al. Influence of heavy metals on C and N mineralisation and microbial biomass in Zn-, Pb-, Cu-, and Cd-contaminated soils[J]. Applied Soil Ecology, 2004, 25(2): 99-109.

[3] BÄÄTH E. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review) [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 1989, 47(3/4): 335-379.

[4] LAIRD D, FLEMING P, WANG B, et al. Biochar impact on nutrient leaching from a Midwestern agricultural soil[J]. Geoderma, 2010, 158(3): 436-442.

[5] UCHIMIYA M, CHANG S C, KLASSON K T. Screening biochars for heavy metal retention in soil: role of oxygen functional groups[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 190(1/2/3): 432-441.

编辑:陈锡超 (收稿日期:2016-12-29)

.....

(上接第286页)

[15] HJ 618—2011, 环境空气  $PM_{10}$  和  $PM_{2.5}$  的测定 重量法[S].

[16] 龚巍巍, 赵亚娟, 栾胜基. 中国5省份农村室内空气  $PM_{1.0}$  和 CO 污染特征[J]. 科学通报, 2014, 59(16): 1553-1563.

[17] 樊景森, 邵龙义, 王静, 等. 云南宣威燃煤室内可吸入颗粒物质量浓度变化特征[J]. 中国环境科学, 2012, 32(8): 1379-1383.

[18] 吴可嘉, 潘军, 董泽琴. 贵州农村冬季不同燃料燃烧产生的室内外  $PM_{2.5}$  研究[J]. 环保科技, 2012, 18(2): 40-44.

[19] 顾庆平, 高翔, 陈洋, 等. 江苏农村地区室内  $PM_{2.5}$  浓度特征分析[J]. 复旦学报(自然科学版), 2009, 48(5): 593-597.

[20] 范德龙, 曹素珍, 张亚群, 等. 兰州市采暖期居民室内  $PM_{2.5}$  污染水平初步研究[J]. 环境与健康杂志, 2014, 31(3): 232-234.

[21] MONN C, FUCHS A, HÖGGER D, et al. Particulate matter less than  $10\ \mu\text{m}$  ( $PM_{10}$ ) and fine particles less than  $2.5\ \mu\text{m}$  ( $PM_{2.5}$ ): relationships between indoor, outdoor and personal concentrations[J]. Science of the Total Environment, 1997, 208(1/2): 15-21.

[22] CHAO C Y, CHENG E C. Source apportionment of indoor  $PM_{2.5}$  and  $PM_{10}$  in homes[J]. Indoor & Built Environment, 2002, 11(1): 27-37.

[23] 周震峰, 刘康, 孙英兰. 苏南农村地区大气  $PM_{2.5}$  元素组成特征及其来源分析[J]. 环境科学研究, 2006, 19(3): 24-28.

[24] 马利英, 董泽琴, 吴可嘉, 等. 贵州农村地区室内空气质量及细颗粒物污染特征[J]. 中国环境监测, 2015, 31(1): 28-33.

[25] 钟俊俊. 农村室内空气中颗粒物和 PAHs 污染及人体暴露方法初探[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2011.

[26] NIRMALKAR J, DESHMUKH D K, DEB M K, et al. Mass loading and episodic variation of molecular markers in  $PM_{2.5}$  aerosols over a rural area in eastern central India[J]. Atmospheric Environment, 2015, 117: 41-50.

[27] SEMMENS E O, NOONAN C W, ALLEN R W, et al. Indoor particulate matter in rural, wood stove heated homes[J]. Environmental Research, 2015, 138: 93-100.