

ICS 点击此处添加 ICS 号

CCS 点击此处添加 CCS 号

T/GRM

中关村绿色矿山产业联盟团体标准

T/XXX XXXX—XXXX

干旱半干旱地区土壤重金属污染微生物修复技术要求

Technical requirements for microbial remediation of heavy metal contaminated soil
in arid and semi-arid areas

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

中关村绿色矿山产业联盟 发 布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 风险管控和修复工作流程 2

 4.1 风险管控和修复工作流程 2

 4.2 修复工作流程 2

5 环境质量调查及风险评估 2

 5.1 资料收集和分析 2

 5.2 区域确定及污染识别 3

 5.3 土壤污染风险评估 3

 5.4 分区分单元 3

6 微生物修复技术要点 3

 6.1 修复菌剂的菌种 3

 6.2 菌剂的扩培 3

 6.3 施入助剂 3

 6.4 辅助设施的铺设 3

 6.5 菌剂的活化及扩培 4

 6.6 菌剂的喷洒 4

 6.7 菌剂与土壤的混合 4

7 修复效果评估 4

 7.1 修复效果评估内容和范围确定 4

 7.2 采样布点方案 4

 7.3 样品采集与分析 4

 7.4 修复效果评估 5

附录 A（资料性） 土壤污染风险级别评估方法 6

附录 B（资料性） 土壤修复效果估方法 7

 B.1 重金属浸出毒性测定 7

 B.2 重金属形态测定（Tessier 五步提取法） 7

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由内蒙古科技大学矿区生态评价与修复团队提出。

本文件由中关村绿色矿山产业联盟归口。

本文件起草单位：内蒙古科技大学，内蒙古自治区生态环境科学研究院，上海第二工业大学，浙江工业大学，内蒙古自治区地质调查研究院，辽宁省物测勘查院有限责任公司。

本文件主要起草人：郑春丽、陈敏洁、霍晓君、周燕、王维大、许欣、樊丽、刘诺、苏瑞景、吴俊、潘响亮、何崧飞、杨宇亮、武利文、钟仁、岳林浩、包凤琴、张永旺、白昕冉、陈军典、韩晓涛、曹丹、庞浩、徐梓洋、白晶晶。

干旱半干旱地区土壤重金属污染微生物修复技术要求

1 范围

本文件规定了干旱半干旱地区土壤重金属污染微生物修复的术语和定义、风险管控和修复工作流程、环境质量调查及风险评估和修复效果评估等。

本标准适用于干旱半干旱、高盐碱土壤范围内重金属污染农田土壤的微生物原位修复项目工程。包括矿山开采、工业废水灌溉及垃圾渗滤液等造成的农田土壤重金属污染的微生物修复工程。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

NY/T 395 农田土壤环境监测技术规范
NY/T 3034 土壤调理剂 通用要求
NY/T 3343 耕地污染治理效果评价准则
DB13/T 2206—2015 河北省农田土壤重金属污染修复技术规范
DB44/T 2263.1—2020 耕地土壤重金属污染风险管控与修复 总则
DB44/T 2263.2—2020 耕地土壤重金属污染风险管控与修复 风险评价
DB44/T 2263.3—2020 耕地土壤重金属污染风险管控与修复 安全利用技术
DB44/T 2263.4—2020 耕地土壤重金属污染风险管控与修复 严格管控技术
DB44/T 2264—2020 稻田土壤镉、砷污染生理阻隔技术规范
DB45/T 2145—2020 农田土壤重金属污染修复技术规范
HJ/T 166—2004 土壤环境监测技术规范

3 术语和定义

请选择适当的引导语

3.1

土壤重金属污染 (Heavy metal contamination in soil)

人为因素使土壤中重金属的含量和（或）有效性升高，导致土壤物理、化学、生物等方面性质的改变，影响土壤功能和利用，危害公众健康或者破坏生态安全。

3.2

微生物修复 (Microbial remediation technique)

向土壤中添加功能性微生物及辅助材料，微生物通过新陈代谢活动，改变重金属在土壤中的赋存形态，以降低重金属在土壤中移动性和生物有效性的技术。

3.3

风险分类分级 (Risk of heavy metal contamination in soil)

根据污染物种类、浓度和种植条件对示范区进行区域划分，通过分区对比修复，不断优化修复模式，寻求适合当地经济水平和需求、可复制、可推广的重金属污染农田修复模式。依据DB44/T 2263.2—2020划分的土壤重金属污染风险，包括优先保护类、安全利用类和严格管控类三类风险和Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ和Ⅴ五级风险等级。

3.4

矿化修复 (Mineralized remediation)

有色行业不规范的采选冶过程导致矿区土壤重金属污染严重。生物矿化可以通过生物体自身代谢、细胞或胞外基质将金属离子转变为稳定的固相矿物，是绿色长效的土壤修复技术。其按作用形式主要可分为生物控制矿化和生物诱导矿化。

4 风险管控和修复工作流程

4.1 风险管控和修复工作流程

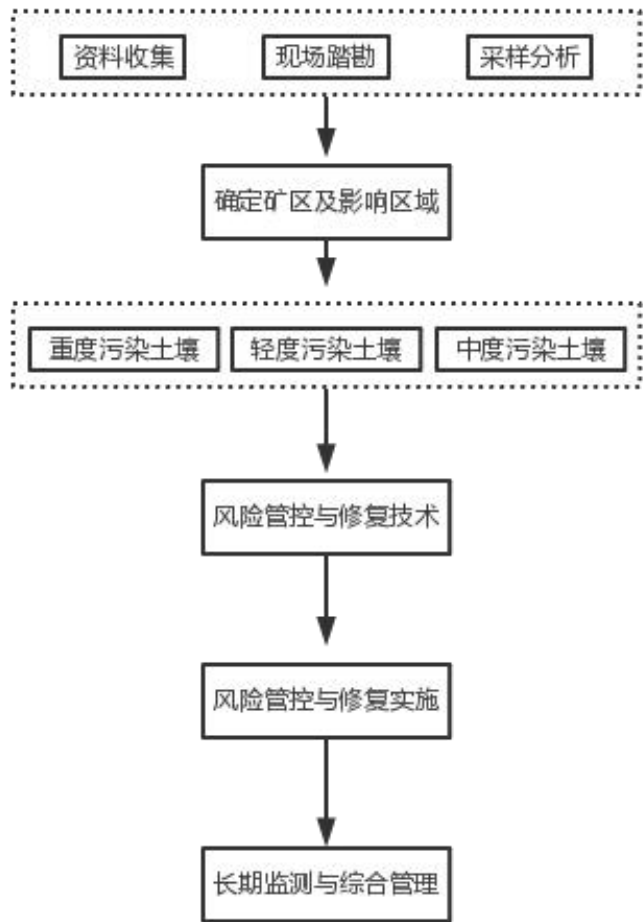


图 1 风险管控和修复工作流程图

4.2 修复工作流程

- 4.2.1 采样之前先用全球定位系统确定样点经纬度，做好记录。
- 4.2.2 采集方法为在 1 m²范围内采集 5 个土壤子样品混合成一个土壤样品。现场采样范围内随机布设多个样本采集点，采集表层（0-200 mm）土壤。土壤样品采集前，去除土壤表面覆盖物，采集适量土壤样品放入样品袋中，做好记录。
- 4.2.3 样品运回实验室后，在制样室内避光自然风干，风干后碾碎大块土块并挑出杂物，充分混匀后用四分法取样，过筛（20 目）。
- 4.2.4 后续根据实验需要，将样品进行筛分，样品采用四分法取两份，一份用于实验测定，另一份留存。

5 环境质量调查及风险评估

5.1 资料收集和分析

收集调查矿区及周边自然条件、矿山开发历史、生产状况、土壤重金属污染状况、土壤环境质量状况等图件和调查报告。核实和分析资料的完整性、有效性。

5.2 区域确定及污染识别

基于高分遥感数据识别主要环境风险源、主要敏感点及敏感点周边影响区域。根据收集的资料、现场踏勘及文献分析等方式，结合现场快速检测设备检测，初步确定矿区内污染来源、矿区内工业场地历史和生产工艺及周边敏感受体，判断场地潜在污染区域，分析识别污染物、污染程度及分布情况。

5.3 土壤污染风险评估

5.3.1 风险评价标准

根据重度污染土壤、中度污染土壤、轻度污染土壤现状，包括污染物、污染程度及污染范围、污染物空间分布、迁移状况与污染边界等详细情况，结合调查各区域空间位置及浓度分布等信息，分析源-径-汇关系，为污染范围的确定及污染土方的估算及后续风险评价、污染管控、修复治理提供基础资料。

5.3.2 风险级别判定

在重度污染土壤、中度污染土壤、轻度污染土壤地区，根据场地内的风险因子存在与否确定单个场地污染风险分级。然后，通过评估各个场地内污染物到达敏感受体的可能性大小来判定整体环境污染风险分级。

5.4 分区分单元

针对于每个特殊生境而言，单一的微生物修复方法并不能满足要求，需要采用多样的修复方法进行修复，依据前期污染程度的区分，在每一个大区进行小单元的精准修复，既要保证修复效果又要实现最低的能耗，所以需要每一个污染场地实现进一步修复方法的单元划分。

6 微生物修复技术要点

6.1 修复菌剂的菌种

试验用尿素营养肉汤培养基（UNB）进行菌种的富集培养，菌种的分离与筛选选用产脲酶微生物筛选培养基，通过稀释涂布平板法、平板划线分离的方法挑取培养基周围变红的菌株进行培养，获得只含有某一种或某一株碳酸盐矿化菌。通过单因素实验探究温度、pH、尿素浓度、离子浓度、培养基中营养物质对产脲酶微生物生长及脲酶活性的影响，找到产脲酶微生物 MICP 最佳培养基。通过一系列菌株矿化效果验证实验，挑选出产脲酶活性高、诱导碳酸钙沉积能力强、矿化效果好的产脲酶微生物。

6.2 菌剂的扩培

针对于修复工程所需要的的菌剂量，使用菌粉接种，按照一定的接种量将菌粉接种到桶中进行菌剂的扩繁和培育。通过比较巴氏芽孢杆菌在糖蜜培养基和果葡糖浆培养基中的生长情况和两种培养基最适浓度下活菌数的测定结果，来确定巴氏芽孢杆菌工业培养基（摇瓶发酵实验）的最优碳源，结果表明使用糖蜜培养基时生长效果更好，最高有效活菌数达到 1.40×10^{12} CFU/mL。巴氏芽孢杆菌培养温度在37℃时，菌种生长最好、活体计数数量最高；pH 值范围 7.2-7.3 的菌种长势最好，且生长速度最快；培养温度为 37℃最佳。

6.3 施入助剂

MTBC 助剂的施入，首先要保证微生物技术的修复效果，其次并不会对于土壤原有的理化性质产生不良影响，最好可以对土壤的性质有一定的改善作用，所以助剂的施入，需要在前期进行大量的助剂调研，确定最佳的施入量和施入方式，如：粉末状，考虑是与菌剂一起进行投加，还是修复前将待修复的区域铺洒好，利用大型旋耕机进行助剂与土壤的混拌。

6.4 辅助设施的铺设

根据待修复区的地形及后期作物需求选择合适的浇灌方式，常见的浇灌方式有：漫灌、滴管、喷灌等，喷灌是利用管道将有压喷头分散成细小水滴，均匀地喷洒到田间，对作物进行灌溉；(1)节水效果显著，水的利用率可达80 %。一般情况下，喷灌与地面灌溉相比，1 m³水可以当2 m³水用。(2)灌水均匀，土壤不板结，有利于抢季节、保全苗；改善了田间小气候和农业生态环境。(3)大大减少了田间渠系建设及管理维护和平整土地等的工作量。滴灌是利用塑料管道将水通过直径约10 mm毛管上的孔口或滴头送到作物根部进行局部灌溉。是目前干旱缺水地区最有效的一种节水灌溉方式，其水的利用率可达95 %。滴灌较喷灌具有更高的节水增产效果，同时可以结合施肥，提高肥效一倍以上。所以水路的铺设既要保证整个修复过程菌剂的下渗效果其次是要保证后期植物的种植。

6.5 菌剂的活化及扩培

试验用尿素营养肉汤培养基（UNB）进行菌种的富集培养，将微生物菌粉按照一定比例接种至有营养物质的发酵桶中，待菌粉与营养物质充分均匀混合后，再将一定比例的胶结液倒至菌液中，充分混合后即可进行菌剂喷洒工作。

6.6 菌剂的喷洒

采用菌剂喷洒装置将扩培后的菌液均匀的喷洒在待修复的区域，菌剂喷洒装置包括水箱，水箱底部固定连接有设备箱，设备箱内部的左侧固定连接有电源，设备箱内壁的右侧固定连接有水泵，水泵的顶部贯穿水箱的底部，水泵的正面固定连接有喷管，喷管远离水泵的一端延伸至设备箱外部并固定连接有喷头。依据前期设计区域所需要的的剂量进行菌剂的喷洒。待菌剂喷洒完成后对于土壤中重金属的固化效果进行监测，确定是否进行第二次菌剂的投加。

6.7 菌剂与土壤的混合

助剂的施入，首先要保证微生物技术的修复效果，同时需要避免对环境造成二次污染，其次要充分考虑土壤类型、理化性质以及改良剂对土壤结构、土壤原有的理化性质产生不良影响，最好可以对土壤的性质有一定的改善作用，通过在喷洒菌剂之前将碳基材料助剂、矿物材料助剂按照每亩地1.5 t量均匀撒入相应区域，后利用旋耕机进行翻耕，将助剂与0-20 cm表层土壤均匀混合。

7 修复效果评估

修复完成后，参照NY/T 3343对于旱半干旱地区土壤重金属污染土壤的修复效果进行评估。

7.1 修复效果评估内容和范围确定

7.1.1 修复效果评估内容

根据不同污染土壤类别、不同修复技术确定修复效果评估内容：

——对于优先保护类土壤，以评估农作物可食部分中重金属含量达标情况为主要内容；

——对于安全利用类土壤，以评估农作物可食部分中重金属含量达标情况和农作物产量为主要内容。结合不同的修复技术，辅以重金属全量、有效态含量变化等内容；

——对于严格管控类土壤，根据采取的修复技术确定评估内容，重要是考虑采取修复技术后所取得的生态效益、经济效益和社会效益，兼顾考虑周边地下水和地表水重金属含量。

7.1.2 修复效果评估范围

修复效果评估范围应与修复技术方案中确定的不同程度的重金属污染修复范围一致。如果修复范围有变更，实施单位需提交修复范围变更申请并获得同意，且应在当地环境保护部门备案。

7.2 采样布点方案

修复过程和修复结束后，应对重金属污染土壤，当季农作物(可食部分)以及农业投入品采样监测。土壤和农作物的布点方法执行NY/T 3343中治理效果评价点位布设技术要求，同时布设被污染土壤和农作物对照点。同点位布设农作物对照点。农业投入品采样按NY/T 3034规定要求执行。

7.3 样品采集与分析

修复过程和修复结束后，应对重金属污染土壤，当季农作物（可食部分）以及农业投入品采样检测。根据采样布点方案，土壤的采样方法和检测方法参照HJ/T 166相关技术规定执行，农作物的采样方法和检测方法参照NY/T 395相关技术规定执行，农业投入品的采样方法和检测方法参照NY/T 3034相关技术规定执行。

7.4 修复效果评估

7.4.1 修复效果评估标准

按照修复方案中确定的评估标准作为修复效果评估标准。

7.4.2 修复效果评估报告编制

修复效果达到修复目标后编制干旱半干旱地区土壤重金属污染微生物修复技术要求评估报告，若修复效果未能达到修复目标，分析其原因，并重新评定修复技术的可行性。

附录 A
(资料性)
土壤污染风险级别评估方法

采用内梅罗污染指数法对污染地块按照污染程度进行一个污染程度的分区：

a) 单项重金属污染指数计算公式如下：

$$P_i = \frac{C_i}{S_i} \dots\dots\dots (A.1)$$

式中：

- P_i — 重金属 i 单因子指数；
- C_i — 重金属 i 测定值；
- S_i — 重金属 i 标准值，本文以国家土壤环境质量标准农用地土壤标准为标准值。

b) 内梅罗污染指数：

$$P_n = \sqrt{\frac{P_{均}^2 + P_{最大}^2}{2}} \dots\dots\dots (A.2)$$

式中：

- P_n — 综合污染指数；
- $P_{均}$ — 平均单项污染指数；
- $P_{最大}$ — 最大单项污染指数。

表 A.1 土壤污染风险评价标准分级标准

| 单项污染指数 | 污染风险 | 内梅罗污染指数 | 土壤质量等级 |
|----------------------|------|----------------------|--------|
| $P_i \leq 1.0$ | 无污染 | $P_n \leq 0.7$ | 清洁（安全） |
| $1.0 < P_i \leq 1.5$ | 轻污染 | $0.7 < P_n \leq 1.0$ | 警戒线 |
| $1.5 < P_i \leq 2.0$ | 中污染 | $1.0 < P_n \leq 2.0$ | 轻污染 |
| $2.0 < P_i \leq 2.5$ | 高污染 | $2.0 < P_n \leq 3.0$ | 中污染 |
| $P_i > 2.5$ | 重污染 | $P_n > 3.0$ | 重污染 |

附 录 B
(资料性)
土壤修复效果估方法

B.1 重金属浸出毒性测定**B.1.1 固体废物水平震荡法**

将经不同方式处理的土壤烘干后，称取 10 g 于锥形瓶中，并按液固比为 10:1 (L/kg) 的比例加入去离子水，将锥形瓶口封闭后固定在水平震荡摇床上，调节摇床的振荡频率为 110 ± 10 次/min、振幅为 40 mm，在室温下振荡 8 h 后取下锥形瓶，静置 16 h。将样品过滤得上清液，并采用火焰原子吸收法测定重金属的含量。

B.1.2 EDTA-2Na 浸提

将风干后的土壤样品采用 2 mm 的筛子进行筛分，并称取 25 g 筛分后的土壤样品置 100 mL 塑料锥形瓶中，再加入 50.0 mL 0.05 mol/L 的 EDTA-2Na (乙二胺四乙酸二钠) 溶液，在水平震荡摇床上以 180 次/min 的速率下振荡 1.5 h，振荡完成后静止并过滤得上清液，采用火焰原子吸收法测定重金属的含量。

B.2 重金属形态测定 (Tessier 五步提取法)**B.2.1 可交换态**

将 1.0000 g (0.0003 以内) 土样加入到 50 mL 的塑料离心管中，同时向管中加入 8 mL 1 mol/L 的氯化镁 ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)，室温下振荡 1 h (200 r/min)，离心 10 min (4000 r/min)，移出上清液，将移出的溶液过滤，用 50 mL 的容量瓶定容。

B.2.2 碳酸盐结合态

经 B.2.1 处理后的残余物在室温下用 8 mL 1 mol/L 的乙酸钠 (NaAc) 提取，提取前用醋酸 (HAc) 把 pH 调至 5.0，振荡 8 h (200 r/min)，离心 10 min (4000 r/min)，移出上清液，将移出的溶液过滤，用 50 mL 的容量瓶定容。

B.2.3 铁锰氧化态

在经 B.2.2 处理后的残余物中加入 20 mL 0.04 mol/L 盐酸羟胺 ($\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$) 的 25% (v/v) 的醋酸 (HAC) 溶液进行提取，提取温度在 96 ± 3 °C，时间为 4 h，离心 10 min (4000 r/min)，移出上清液，将移出的溶液过滤，用 50 mL 的容量瓶定容。

B.2.4 有机态

经 B.2.3 处理的残余物中，加入 3 mL 0.02 mol/L 硝酸 (HNO_3) 和 5 mL 30% (V/V) 过氧化氢 (H_2O_2)，然后用硝酸 (HNO_3) 调节 pH 至 2，将混合物加热至 85 ± 2 °C，保温 2 小时，并在加热中间振荡几次。再加入 5 mL 过氧化氢 (H_2O_2)，调 pH 至 2，再将混合物加热至 85 ± 2 °C，保温 3 小时，并间断振荡。冷却后，加入 5 mL 3.2 mol/L 醋酸铵 (NH_4Ac)，用 20 % (V/V) 硝酸溶液稀释到 20 mL，振荡 30 min。离心 10 min (4000 r/min)，移出上清液，将移出的溶液过滤，用 50 mL 的容量瓶定容。

B.2.5 残渣态

对步骤 B.2.4 处理后的残余物，利用硝酸-氢氟酸-高氯酸消解法消解分析。用 10 % 的硝酸将离心管中的残余物洗到坩埚中，加热消煮，直至溶液剩余 3 mL 左右，加入 HNO_3 15 mL、HF 10 mL、 HClO_4 45 mL，并轻轻摇动，继续加热蒸至白烟冒尽，最终使土壤样品变成白色或淡黄色的胶块状 (若消解不完全则，加入 5 mL HF 继续消解至完全)。用 0.5 % 的稀硝酸冲洗坩埚内壁，温热溶解，冷却后转移至 50 mL 容量瓶定容。
