

不同氧化还原条件下氯乙烯的微生物脱氯

卢晓霞, 李广贺, 张旭, 章卫华 (清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要: 氯乙烯是土壤和地下水中存在的污染物, 其去除的有效途径之一为微生物降解. 本研究在温度 20 ℃、氯乙烯初始浓度 100 μmol/L 条件下, 对不同氧化还原条件下四氯乙烯、*cis*-二氯乙烯及一氯乙烯的微生物降解进行了实验. 结果表明, 在铁还原和碳酸氢盐存在条件下, 四氯乙烯以 0.26/d 和 0.31/d 的速率分别脱氯为三氯乙烯和 *cis*-二氯乙烯. 在脂肪酸存在条件下, 四氯乙烯、*cis*-二氯乙烯和一氯乙烯均完全脱氯为乙烯, 但后者脱氯速率 (0.04/d) 明显低于前者 (0.57/d). 在反硝化、锰还原及硫还原条件下, 不同取代氯乙烯降解均不明显. 当环境温度降至 12 ℃, 脱氯菌活性降低, 但氯乙烯完全脱氯还原过程仍可发生.

关键词: 氯乙烯; 微生物降解; 氧化还原; 脱氯

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2002)02-05-0029

Dechlorination of Chlorinated Ethenes under Different Redox Conditions

Lu Xiaoxia, Li Guanghe, Zhang Xu, Zhang Weihua (Dept. of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China E-mail: Luxx@mail.tsinghua.edu.cn)

Abstract: Chlorinated ethenes are pollutants in contaminated soil and groundwater, and one of the efficient way to remove them is biodegradation. In this paper, the microbial breakdown of PCE, *cis*-DCE and VC with initial concentrations of 100 μmol/L were studied under different redox conditions at temperature 20 ℃. The results showed that in the presence of ferric iron and carbon dioxide, PCE were dechlorinated to TCE (0.26/day) and *cis*-DCE (0.31/day), respectively. In the presence of fatty acids and without competition from inorganic electron acceptors, all the studied chlorinated compounds were completely dechlorinated to ethenes. However, the degradation rates of *cis*-DCE and VC (0.04/day) were much lower than that of PCE (0.57/day). Under denitrifying, manganese reducing and sulfate reducing conditions, no degradation of chloroethenes was observed. When the temperature was lowered to 12 ℃, the activities of dechlorinating microbes were also reduced, nevertheless, the completely reductive dechlorination of chloroethenes still occurred.

Keywords: chloroethenes; biodegradation; redox; dechlorination

土壤和地下水受有机氯污染是一个国内外普遍存在的严重的环境问题. 氯乙烯如四氯乙烯 (PCE)、三氯乙烯 (TCE) 等用常规地下水处理方法如抽提处理技术很难去除^[1]. 为寻找有效的治理技术, 在过去的十多年中, 国内外学者在室内外对氯乙烯的微生物降解进行了研究, 结果发现氯乙烯可被微生物利用作为电子给体或电子受体或通过共代谢而得到降解.^[2] 在厌氧条件下最重要的过程是还原性脱氯作用, 即氯乙烯作为电子受体, 经历还原过程. 在欧美国家一些污染场地氯乙烯羽流中已发现 PCE/TCE 脱氯中间体 *cis*-二氯乙烯 (*cis*-DCE)、一氯乙烯 (VC)、以及乙烯^[3~6]. 完全脱氯途径仅发生在极端还原条件 (如产甲烷菌体系), 和/或

有足够电子给体 (如乙酸盐、乙醇等) 的情况下. 在其它条件下, PCE/TCE 的脱氯过程是不完全的, 导致 *cis*-DCE 或 VC 的积累. 低氯取代乙烯亦可作为电子给体而被氧化为 CO₂ 或乙酸^[7,8]. Bradley 和 Chapelle 报道 *cis*-DCE 和 VC 在铁锰还原环境中被氧化为 CO₂^[9,10]. 在有氧条件下, 经氧酶催化氧化的降解也可发生^[11].

还原性和氧化性微生物降解对于污染土壤和地下水的原位修复均有很大意义. 已有产甲

基金项目: 国家重点基础研究专项经费资助项目 (G1999045711); 国家自然科学基金资助项目 (49972082); 中国博士后基金项目 (2000); 回国留学人员启动基金项目 (2001)

作者简介: 卢晓霞 (1972~), 女, 江西波阳人, 博士后, 主要研究方向为环境生物工程学.

收稿日期: 2000-12-27; 修订日期: 2001-03-23

烷和硫还原条件下 PCE/TCE 的脱氯还原的研究,但对氯乙烯在反硝化和铁锰还原条件下的生物转化却知之甚少.本文主要研究不同氧化还原如反硝化、铁锰还原、硫还原、及产甲烷等条件下有机氯乙烯的微生物降解,并阐述其降解机理,讨论氢浓度效应,以及温度对氯乙烯降解的影响.

1 材料和方法

1.1 化学试剂

PCE ($\geq 99.8\%$)、cis-DCE ($\geq 95.0\%$) 及 VC ($\geq 99.5\%$) 作为微生物基质.电子受体储备液为: NaHCO_3 (1 mol/L)、 Na_2SO_4 (1 mol/L)、 NaNO_3 (1 mol/L)、 MnO_2 (0.5 mol/L) 和 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (0.4 mol/L). 电子给体储备液为: FAs (脂肪酸混合液,由乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸及异戊酸按一定比例配制,总浓度为 1 mol/L).

1.2 降解试验

共进行 3 组氯乙烯的降解试验,分别以

PCE、cis-DCE 和 VC 作为基质.每组试验为 7 个摇瓶,其中 6 个分别加入不同的电子受体或给体,1 个灭菌作对照,见表 1. 在充满氮气的厌氧箱中准备摇瓶,摇瓶体积 600 ml,内盛 250 ml 基础培养液,用双层隔膜(下层为氟化橡胶,上层为橡皮)塞住瓶口,外加螺旋瓶盖.基础培养液组成如下: NH_4Cl (1.0 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.1 g/L), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.05 g/L), 酵母膏 (0.1 g/L), 微量金属液 (1.0 ml/L), 维他命液 (1.0 ml/L), 1 mol/L 磷酸缓冲液 (20 ml/L, pH7), 和 0.1% 氧化还原指示剂 (1.0 ml/L). 各摇瓶中氯乙烯初始浓度(气液两相总浓度)为 $100\mu\text{mol/L}$, 电子受体或给体初始浓度为 5 mmol/L ($\text{Fe}(\text{OH})_3$ 除外,为 10 mmol/L), 并接种 3 ml 在相似还原环境下培养驯化 1 年的菌液(混合菌种,含脱氯化菌,源于氯乙烯污染场地). 所有摇瓶置于控温室 (20 °C) 的振荡器 (100r/min) 上培养.

表 1 降解试验的实验组成

Table 1 Setup of the batch experiments on degradation

氯乙烯	电子受体/给体						
	NaNO_3 (5)	MnO_2 (5)	$\text{Fe}(\text{OH})_3$ (10)	Na_2SO_4 (5)	NaHCO_3 (5)	FAs(5)	-
PCE (0.1)	+	+	+	+	+	+	+
cis-DCE (0.1)	+	+	+	+	+	+	+
VC (0.1)	+	+	+	+	+	+	+

+ :摇瓶,括号内为所加物质的浓度(单位: mmol/L)

1.3 化学分析

有机氯乙烯及其降解产物用 Varian Genesis 气相色谱测定,色谱柱类型为 Porapak Q(直径 0.32 mm,长度 25 m,膜厚 $5\mu\text{m}$),检测器为火焰离子检测器(FID),检测温度为 300 °C. 气相色谱柱炉温度程序如下: 35 °C 持续 3 min; 按 10 °C/min 速度升温至 250 °C; 在 250 °C 持续 5.5 min. 氦气作为载体,流速 14 ml/min.

硝酸盐、硫酸盐、氯化物和磷酸盐用 DX-100 Dionex 离子色谱测定,色谱柱类型为 Ionpac AS9-SC 分析柱,载液为 1.8 mmol/L Na_2CO_3 -1.7 mmol/L NaHCO_3 , 流速 1.5 ml/min. 脂肪酸用 CP9001 气相色谱测定,检测器为电子捕获检测器(ECD),检测温度为 275 °C.

铁、锰和硫化物分别根据相应的显色法用分光光度计测定. 氢用 RGA3 还原气相分析仪测定 (RGD; 检测温度 265 °C; 柱温 105 °C). CO_2 用气相色谱测定,色谱柱类型为 CarboPlot P7 柱,热导检测器(TCD,检测温度、柱温均 81 °C). pH 值用酸碱指示试纸测定.

1.4 数据处理

用名义浓度(摇瓶中气液两相总浓度)来表征氯乙烯及其产物的变化. 根据质量守恒和亨利定律,名义浓度计算公式如下:

$$M = \frac{c_w V_w + c_g V_g}{V_w} = c_w \left[1 + H_c \cdot \frac{V_g}{V_w} \right] \quad (1)$$

式中, c_w , c_g 分别为物质的水相浓度和气相浓

度(mol/ L) , V_w , V_g 分别为摇瓶中水体积和气体积(ml) , H_c 为亨利定律常数(无量纲) .

所有数据在 Excel 中进行处理 .

2 结果和讨论

2.1 不同氧化还原条件下 PCE 的微生物降解

试验期间定时取样分析 PCE 及其降解产物,电子受体及其还原产物,氢浓度, CO_2 浓度,以及 pH 值.从电子受体变化看,除 $NaHCO_3$ 外,其它均有不同程度的还原,其中铁还原过程最为强烈.在加入 $NaHCO_3$ 的摇瓶中,产甲烷环境没有形成,其原因可能与体系中的氢被脱氯菌消耗,氢压过低使产甲烷菌活性受抑制有关^[8].在厌氧条件下,分子氢(H_2)是有机物微生物氧化过程中的一个重要中间产物,其水平在很大程度上反映了目标污染物的降解情况^[12-14].

本研究中,PCE 在 $NaHCO_3$ 和 $Fe(OH)_3$ 存

在条件下分别降解为 cis-DCE 和 TCE,如图 1a 和 1b 所示.试验初期(培养 2d 后), $NaHCO_3$ 摇瓶中 H_2 浓度达 57.6 nmol/L (来自培养基酵母膏的发酵),随后 H_2 迅速被降低,第 21 天降至 2.5 nmol/L .经过 2 周培养,PCE 迅速脱氯为 cis-DCE,其一级反应动力学速率为 $0.31/\text{d}$.摇瓶中产甲烷菌不活跃,cis-DCE 没有进一步降解.在铁还原条件下,PCE 以 $0.26/\text{d}$ 的速率转化为 TCE.试验头 2 周内, H_2 浓度由初期的 195 nmol/L 迅速降至 0.2 nmol/L ,这部分 H_2 可能同时被 PCE 脱氯化菌和铁还原菌利用.为了促进 TCE 的进一步降解,在第 50 天加入 1 mmol/L FAs 作为电子给体,但直至试验结束,TCE 无明显降解,而铁还原作用强烈,在第 70 天有高达 8 mmol/L 的亚铁产生,可见 FAs 发酵产生的 H_2 大多被铁还原菌竞争利用了.

在加入 FAs 的摇瓶中(不存在无机电子受

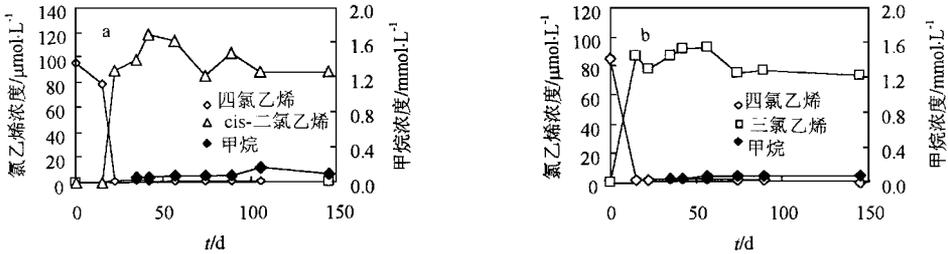


图 1 $NaHCO_3$ (a) 和 $Fe(OH)_3$ (b) 存在摇瓶中 PCE 的降解

Fig.1 Biodegradation of PCE in the presence of $NaHCO_3$ (a) and $Fe(OH)_3$ (b)

体),PCE 经过顺序脱氯还原过程,彻底降解为乙烯,如图 2a 所示.PCE 到 cis-DCE 的转变速率为 $0.57/\text{day}$,明显高于 $NaHCO_3$ 摇瓶中 PCE 的降解速率,此阶段 H_2 浓度从 292 nmol/L 降至 150 nmol/L ,见图 2b.随着 cis-DCE 进一步被降解, H_2 浓度降至 0.6 nmol/L .低 H_2 分压促进了 FAs 的发酵释氢,使 H_2 浓度又逐渐升高,随后多种反应发生,包括 cis-DCE 和 VC 还原以及产甲烷(速率均约 $0.04/\text{day}$).PCE 被完全脱氯为乙烯后,产甲烷菌成为优势菌,产氢与耗氢在 13 nmol/L 水平达到平衡.

在反硝化和锰、硫酸盐还原条件下,PCE 降解不明显,与对照瓶(灭菌)中情况基本一致.理论上,由于锰还原和反硝化半反应的吉布斯自

由能(-58.9 、 $-41.7\text{ kJ/mol electrons}$) 分别低于和接近 PCE 还原半反应的吉布斯自由能($-55.3\text{ kJ/mol electrons}$),因此锰还原菌和反硝化菌对 H_2 的竞争能力大于脱氯化菌,不利于 PCE 的脱氯.关于硫酸盐对有机氯代烃脱氯化过程的影响,目前存在不同报道,例如, Bagley 和 Gossett 认为硫还原条件下,氯代烃的脱氯化反应可能发生^[15],而 Gerritse 发现硫酸盐对脱氯化菌有抑制作用^[16].本研究中,硫还原作用较为强烈(产生的硫化物达 0.62 mmol/L),PCE 的降解可能受到了硫还原菌的抑制.

2.2 不同氧化还原条件下 cis-DCE 和 VC 的微生物降解

从化学结构上看,cis-DCE 和 VC 处于中间

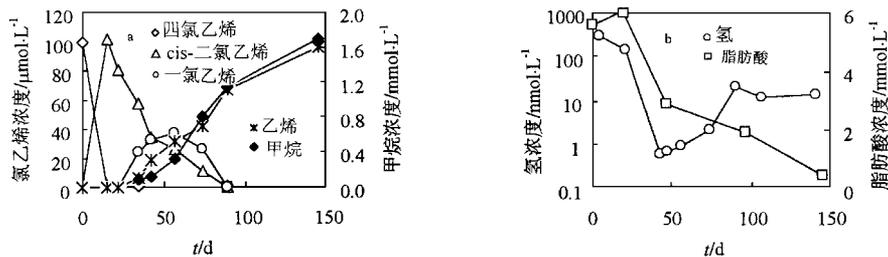


图2 FAs存在摇瓶中PCE的降解(a)及 H_2 和FAs的变化(b)

Fig. 2 Biodegradation of PCE (a) and variation of H_2 and FAs (b) in PCE/FAs bottle

还原态,进一步氧化和还原的潜力都存在(VC氧化潜力大于cis-DCE).然而在本研究中,尽管温度、营养物及pH值均被调节至合适状态,但各种氧化还原条件下均未观察到cis-DCE和VC的氧化性降解.显然,在经过近一年的厌氧培养驯化之后,摇瓶中仍未产生可厌氧氧化降解cis-DCE和VC的微生物.

相比之下,脱氯还原作用较为显著,如图3a和3b所示.以cis-DCE为例,在 $NaHCO_3$ 和FAs

存在摇瓶中,cis-DCE降解最终产物分别为VC和ethene,前者发生速率低于后者.与PCE相比,cis-DCE的脱氯还原较难发生,即便有足够电子给体(FAs)存在,脱氯菌也需经过较长时间(40天)的驯化才开始降解cis-DCE.在 $NaHCO_3$ 摇瓶中,cis-DCE降解的滞后期长达5个月.同样,在以VC为基质、FAs为电子给体的摇瓶中,VC被脱氯还原为乙烯,但该事件发生经过了长达6个月的培养期.

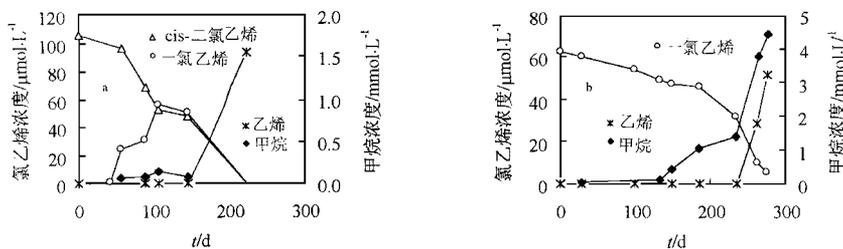


图3 FAs存在摇瓶中cis-DCE的降解(a)及VC的降解(b)

Fig. 3 Biodegradation of lower chlorinated ethenes in cis-DCE/FAs bottle (a) and VC/FAs bottle (b)

2.3 温度对氯乙烯脱氯还原过程的影响

为了检验温度对还原性脱氯过程的影响,在FAs/PCE摇瓶中再次加入 $100\mu\text{mol/L}$ PCE和 5mmol/L FAs(原有PCE和FAs已完全被消耗),摇瓶倒置放在 12°C 冰柜中培养(无振荡).在随后的3个月中,定期取样分析PCE及其还原产物的变化,结果显示在低温条件下,PCE也可被顺序地脱氯并最终转变为乙烯,但各过程的速率与 20°C 时观察到的数值相比明显降低,如表2所示.

在地下水环境中,温度大多在 12°C 左右.

表2 不同温度条件下有机氯乙烯的脱氯化过程比较

脱氯化过程	20 °C		12 °C	
	降解速率 /d ⁻¹	半衰期 /d	降解速率 /d ⁻¹	半衰期 /d
PCE → cis-DCE	0.57	1.2	0.16	4.2
cis-DCE → VC	0.03	23	0.02	35
VC → ethene	0.04	17	0.02	35

在该温度条件下,尽管脱氯化菌活性降低,但有机氯乙烯仍可能被降解至乙烯.这一发现具有积

极意义,它为污染地下水系统的现场修复提供了理论依据.

3 结论

在反硝化、锰还原及硫酸盐还原条件下,三种取代氯乙烯脱氯均不明显;在铁还原和碳酸氢盐存在条件下,四氯乙烯经过不完全脱氯过程,分别以 0.26/d 和 0.31/d 的速率转变为三氯乙烯和顺-二氯乙烯.在脂肪酸存在且未有无机电子受体竞争条件下,各种氯乙烯均可经过完全脱氯过程转变为乙烯,但低氯取代乙烯如顺-二氯乙烯和一氯乙烯的降解速率(0.04/d)明显低于高氯乙烯(0.57/d).当环境温度降至 12℃时,脱氯菌活性比 20℃时降低,但有机氯乙烯完全脱氯还原过程仍可发生.

参考文献:

- 1 McCarty P L. Breathing with chlorinated solvents. *Science*, 1997, **276**: 1521 ~ 1522.
- 2 Bruin W P, Kotterman M J, Posthumus M A et al. Complete Biological Reductive Transformation of Tetrachloroethene to Ethane. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, **58**: 1996 ~ 2000.
- 3 Freedman D L, Gossett J M. Biological reductive dechlorination of tetrachloroethylene and trichloroethylenes to ethylene under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, **55**: 2144 ~ 2151.
- 4 Gerritse J, Renard V, Gomes T M, Lawson P A, Collins M D, Gottschal J C. *Desulfobacterium* sp. Strain PCE1, and anaerobic bacterium that can grow by reductive dechlorination of tetrachloroethene or ortho-chlorinated phenols. *Archives of Microbiology*. 1996, **165**: 132 ~ 140.
- 5 Magnuson J K, Stern R V, Gossett J M et al. Reductive dechlorination of tetrachloroethene to ethene by a two component enzyme pathway. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, **64**: 1270 ~ 1275.
- 6 Vogel T M, McCarty P L. Biotransformation of tetrachloroethylenen to trichloroethylene, dichloroethylene, vinyl chloride, and carbon dioxide under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985, **49**: 1080 ~ 1083.
- 7 Vogel T M, Criddle C S, McCarty P L. Transformation of halogenated aliphatic compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 1987, **21**: 722 ~ 736.
- 8 Bradley P M, Chapelle F H. Microbial mineralization of VC and DCE under different terminal electron accepting conditions. *Anaerobe*, 1998, **4**: 81 ~ 87.
- 9 Rijnaarts H H M, Best J H, Liere H C et al. Intrinsic biodegradation of chlorinated solvents: from thermodynamics to field. TNO report. 1998, TNO-MEP-R 98/130
- 10 Bradley P M, Chapelle F H. Anaerobic mineralization of vinyl chloride in Fe(III)-reducing aquifer sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 1996, **40**: 2048 ~ 2086.
- 11 Bradley P M, Chapelle F H. Kinetics of DCE and VC mineralization under methanogenic and Fe(III)-reducing conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 1997, **31**: 2692 ~ 2696.
- 12 Lovley D R, Chappelle F H, Woodward J C. Use of dissolved H₂ concentrations to determine distribution of microbially catalyzed redox reactions in anoxic groundwater. *Environ. Sci. Technol.*, 1994, **28**: 1205 ~ 1210.
- 13 Jakobsen R, Albrechtsen H J, Rasmussen M et al. H₂ concentrations in a landfill leachate plume (Grindsted, Denmark): In situ energetics of terminal electron acceptor processes. *Environ. Sci. Technol.*, 1998, **32**: 2141 ~ 2148.
- 14 Meer J T, Gerritse J, Mauro C et al. Hydrogen as indicator for in-situ redox condition and dechlorination. TNO report, 1999, TNO-MEP-R99/341
- 15 Bagley D M, Gossett J M. Tetrachloroethene transformation to trichloroethene and cis-1,2-dichloroethene by sulfate-reducing enrichment cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1990, **56**: 2511 ~ 2516.
- 16 Gerritse J, Drzyzga O, Kloetstra G et al. Influence of different electron donors and acceptors on dehalorespiration of tetrachloroethene by *Desulfobacterium frappieri* TCE1. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**: 5212 ~ 5221.