泥浆体系中受喹啉污染土壤的生物修复

韩力平, 王建龙, 刘恒, 施汉昌, 钱易(清华大学环境科学与工程系环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084, E-m ail: lp. h@ 263. net)

摘要: 将受喹啉污染的土壤(污染量为 1 m g/g 土) 与一定量的水混合形成泥浆, 通过引入专性喹啉降解菌——皮氏伯克霍尔德氏菌($Burkholderia\ pickettii$) 进行土壤的生物修复. 结果表明, 采用引入喹啉降解菌的生物强化技术进行受喹啉污染的土壤的生物修复是可行的. 喹啉降解菌的引入大大加快了喹啉的生物降解过程. 最快只需 6h 就可将喹啉完全去除. 考察比较了投菌量, 泥浆中的含水量及营养元素(N, P) 的存在对生物修复效果的影响. 土壤对难降解有机物喹啉的吸附等温线符合弗兰德里希方程.

关键词: 生物修复; 生物强化; 生物降解; 喹啉; 泥浆

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)06-03-0089

Biorem ediation of Quinoline-Contam inated Soil in Slurry Phase

Han Liping, Wang Jianlong, Liu Heng, Shi Hanchang, Qian Yi (State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China E-mail: lp. h@ 263. net)

Abstract B iorem ediation experiments were carried out in slurry consisted of quinoline-contam inated soil and water. After the addition of quinoline degrader, Burkholderia pickettii, which can use quinoline as sole carbon, nitrogen and energy source, the biodegradation of quinoline in slurry was improved greatly. For example, quinoline can be removed completely within 6 hours from slurry. It was assumed that bioaugmentation is effective for bioremediation of soil polluted by quinoline. Some important factors, such as the roles of indigenous and introduced microorganisms, the inoculum size, the ratio of water to soil in slurry and the existence of nutrients(N, P) were also considered for achieving good bioremediation results. The describing isotherm of quinoline adsorption on soil was found to be fitted in Freandlich equation.

Keywords: b iorem ediation; b ioaugm entation; b iodeg radation; qu in oline; s lu rry

含氮杂环化合物(NHAs)是公认的难降解有机物,而喹啉是最为典型的一种,是构成其它含氮化合物的骨架[1]. 喹啉在化工、医药、农药制造等行业用途很广,由于它的水溶性及扩散性很好,已成为土壤及水体中的常见污染物[2],一些研究认为喹啉对生物体有毒害作用,有一定的致畸和致癌性[3]. 近年来已有一些喹啉生物降解方面的研究报道,但多数研究集中在微生物的筛选、降解途径的研究等方面[4,5],在受喹啉污染的土壤的生物修复方面很少有报道. 本文在泥浆体系中利用生物强化技术对受喹啉污染的土壤进行了生物修复. 在综合考察各方面影响因素的基础上提出了可行的修复方案、为今后大规模现场应用提供依据.

1 材料和方法

1.1 菌种

生物强化试验中投加的专性喹啉降解菌从本实验室正常运行的处理焦化废水的 A^2/O 工艺曝气池污泥中筛选分离得到,鉴定为皮氏伯克霍尔德氏菌($Burkholderia\ pickettii$)

1.2 土壤的性质

本研究所用土壤采自清华园, 深度在地面下 10^{20} 20 cm, 土壤特性参见文献[6]. 土壤经 2 m m 过筛后备用. 土壤中微生物平板计数结果表明, 每 g 土壤中含有 1×10^{7} 个微生物.

1.3 测定喹啉吸附等温线

在 6 个 250m 1 三角瓶中分别加入 50m 1 喹啉浓度 为 30、50、100、200、300 和 500m g/L 的标准溶液和 5g

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29637010)

作者简介: 韩力平(1972~), 男, 博士生, 主要从事难降解有机

物生物处理方面的研究

收稿日期: 2000-01-17

土样,放入恒温(30°C)摇床中振荡混合,摇床转速为180 r/m in,10h 后取样,用HPLC测喹啉的平衡浓度.

1.4 生物修复试验

生物修复试验在摇床中进行, 摇床条件为 30°C, 180 r/m in, 试验方案见表 1.

表 1 生物修复试验方案

序号	土壤类型	投加菌量/个	无菌水/m l	营养元素 溶液/m1
1	灭菌土		20	
2	灭菌土	3×10^{9}	20	
3	原土		20	
4	原土	3×10^{9}	20	
5	原土	1×10^{9}	20	
6	原土	3×10^{9}		20
7	原土	3× 10 ⁹	40	

试验方案说明:

- (1)土壤受喹啉污染程度为 1 mg 喹啉/g 土,每个试样取 5 g 土壤. 原土指采集到的土壤在恒温培养箱中 30 °C 保持的土样,灭菌土指原土样经过湿热灭菌 (121 °C,30 min)后的土样.
- (2) 营养元素溶液中主要含有 N 和 P, 其组成为 (g/L): Na₂H PO₄4. 26, KH₂PO₄2. 65, NH₄C11.

1.5 分析方法

喹啉的定量分析采用 HPLC(美国 HP 公司), 色谱柱为 $ZORBAX C^{18}$ 反相柱, 流动相为甲醇: 水= 60: 40(V/V), 流速 1m Vm in, 测定波长为 275nm.

2 结果与讨论

2.1 喹啉吸附等温线

吸附等温线的测定结果见图 1, 从图 1 可以归纳出

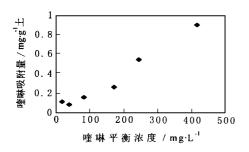


图 1 喹啉的吸附等温线

喹啉在土壤中的吸附遵循弗兰德里希方程:

$$X/M = kc^{1/n} \tag{1}$$

其中: X/M 为每 g 土壤吸附的喹啉量, m g/g; c 为喹啉的平衡浓度, m g/L; k, 1/n 为实验条件下的常数.

对吸附等温线的对数方程进行线性回归得到常数 k=0.009, n=1.39(r=0.92).

2.2 土壤的生物修复试验

通过测定无菌土和原土在没有投加喹啉降解菌的情况下的喹啉降解情况,可以考察原土中存在的原生微生物对喹啉的降解情况,实验结果见图 2. 从中可以看出实验开始后喹啉浓度都有所降低,这主要是土壤吸附的结果. 土壤中存在的原生微生物对喹啉的降解贡献不大.

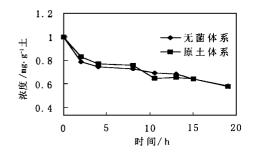


图 2 土壤中原生微生物对喹啉的降解

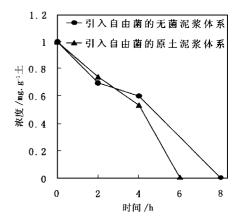


图 3 不同泥浆体系的生物强化

图 3 给出了在灭菌土和原土泥浆体系中投加专性喹啉降解菌后喹啉的降解情况. 可以看出, 加入喹啉降解菌后, 喹啉的生物降解速率大大提高. 在灭菌土和原土泥浆体系中完全去除喹啉分别只需 8h 和 6h 左右. 同时可以看出, 原土泥浆体系中喹啉的降解情况明显好于灭菌土泥浆体系, 这说明虽然原生微生物对喹啉降解贡献不大, 但土壤中存在能利用喹啉降解中间产物的微生物及相应的酶系, 从而加速了喹啉的转化. 另外投加的喹啉降解菌与原生微生物之间的基因交换而导致的降解性能的扩散也可能起到一定的作用, 这有待进一步试验证实.

投菌量是生物强化技术应用的一个关键,图 4 给出了投菌量相差 3 倍情况下原土泥浆体系中喹啉的降解情况. 从图 4 可以看出,当投菌量增加 3 倍时,喹啉降解速率有一定提高,完全去除喹啉的时间从 8h 缩短

到 6h, 但从实际大规模应用角度讲, 加大投菌量无疑会大大提高生物修复的成本, 因此在达到一定的处理效果条件下应选取一个合适的投菌量.

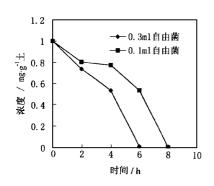


图 4 投菌量对喹啉降解的影响

一些研究认为, 营养元素, 如 N、P 的存在对某些土壤的生物修复有很好的促进作用, 这主要是因为土壤是一个相对贫脊的环境, 投加的生物强化微生物可能会由于营养元素的缺乏而很难大量繁殖发挥作用. 本实验也验证了这一点. 图 5 显示了在有无外加营养元素条件下喹啉的降解情况. 从中可以看出, 营养元素的存在的确可以促进喹啉降解菌的繁殖, 从而加快了喹啉的生物降解, 但这也同样存在一个处理成本的问题, 在什么条件下补充营养元素, 补充多少对不同的生物修复项目来说要综合考虑.

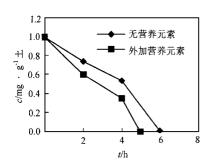


图 5 营养元素的存在对喹啉降解的影响

本实验还研究了泥浆中含水量的不同对喹啉降解的影响. 图 6 显示了含水量相差一倍时的喹啉降解情况,可以看出喹啉的降解情况没有受到太大的影响,喹啉完全降解所需时间基本相同.

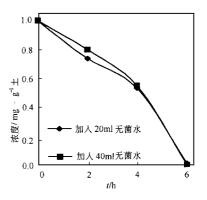


图 6 泥浆含水量的不同对喹啉降解的影响

3 结论

参考文献:

- (1) 喹啉在土壤中的吸附遵循弗兰德里希方程. 投加专性喹啉降解菌可以大大加快土壤中喹啉的生物降解, 说明生物强化技术用于受喹啉污染土壤的生物修复是可行的.
- (2)投菌量、营养元素(N、P)的存在及泥浆的含水量都会对生物修复的效果产生一定的影响,大规模应用时应综合考虑以上各因素.
- Sutton S D et al Aerobic biodegradation of 4-methylquinoline by a soil bacterium. Appl. Environ. Microbiol., 1996, 62(8): 2910~2914.
- Pereira W E et al. M icrobial hydroxylation of quinoline in contam inated groundwater: evidence for incorporation of the oxygen atom of water. Appl. Environ. M icrobiol., 1988, 54(3): 827~829.
- 3 Shukla O P. M icrobiological degradation of quinoline by Pseudomonas stutzeri: the coumarin pathway of quinoline catabolism. M icrobios. 1989, 59(1): 47~63.
- 4 A is lab ie J A et al. M icrobial degradation of quinoline and methylquinolines. Appl. Environ. M icrobiol., 1990, 56
 (2): 345~351.
- 5 Brockman F J et al. Isolation and characterization of quinoline-degrading bacteria from subsurface sediments. Appl. Environ. M icrobiol., 1989, 55(4): 1029~1032.
- 6 Wang Jianlong et al. Biodegradation of phthalic acid esters in soil by indigenous and introduced m icroorganisms. Chem osphere, 1997, 35(8): 1747~ 1754.