

多环芳烃污染土壤的生物泥浆法修复

巩宗强¹, 李培军¹, 郭书海¹, 井欣², 王新³, 张海荣¹ (1. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110015, E-mail: gong_zq@yahoo.com; 2. 中国环境监测总站, 北京 100029; 3. 沈阳工业大学理学院, 沈阳 110023)

摘要: 通过小型泥浆反应器的运行, 确定了生物泥浆法修复多环芳烃污染土壤的温度、水土比和通气量参数。采用 2:1 的水土比, 控制温度、通气量分别为 20℃~25℃, 60 L/h 可以达到较好的修复效果。用从污染土壤中分离出的真菌在纯培养条件下对多环芳烃进行降解, 经 34d 的培养, 镰刀菌对芘和苯并蒽的降解率为 90% 和 33.3%, 毛霉可以分别降解 81.5% 和 49.2%, 青霉可以分别降解 52% 和 46%。

关键词: 泥浆法; 生物修复; 污染土壤; 多环芳烃(PAHs)

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2001)05-05-0112

Bioslurry Remediation of Soil Contaminated with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

Gong Zongqiang¹, Li Peijun¹, Guo Shuhai¹, Jing Xin², Wang Xin³, Zhang Hairong¹ (1. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China E-mail: gong_zq@yahoo.com; 2. General Environmental Monitoring Station of China, Beijing 100029; 3. School of Science, Shenyang University of Technology, Shenyang 110023)

Abstract: Through the operation of the pilot-scale slurry reactor, the operational parameters of bioslurry remediation for soil contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs), including temperature, ratio of water to soil, aeration flux, were determined. As the operational condition was that the ratio of water to soil was 2:1, the temperature was 20℃~25℃ and aeration flux was 60 L/h, a good result of the remediation could be achieved. With the fungi isolated from contaminated soil as pure culture to degrade PAHs, after 34 days incubation, 90% of pyrene and 33.3% of benz[a]anthracene were degraded by *Fusarium*, 81.5% of pyrene and 49.2% of benz[a]anthracene were degraded by *Mucor*, 52% of pyrene and of 46% of benz[a]anthracene were degraded by *Penicillium*.

Key words: bioslurry; bioremediation; contaminated soil; polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs)

目前土壤受多环芳烃污染已成为一个普遍问题,多环芳烃来源于煤炭汽化过程、木材保存,以及石油制品的生产过程,因其具有致癌性、致畸性、致突变性,美国环保局已把 16 种多环芳烃列入优先控制有毒有机污染物黑名单中^[1,2]。由于多环芳烃毒性效应的差别,目前生物修复的目的不仅在于控制多环芳烃的总量,而且还要针对具体某种多环芳烃的降解。已有报道证明生物泥浆法处理污染土壤得到的多环芳烃降解率比其他处理方法得出的降解率高^[3],因此本实验室自制了生物泥浆反应器,

来处理多环芳烃污染土壤。本文确定了用小型泥浆反应器进行典型多环芳烃(菲和芘)污染土壤的生物修复的最佳条件,并研究了纯培养条件下,泥浆内真菌对高分子量多环芳烃(芘和苯并蒽)的降解。

基金项目: 国家自然科学基金项目(29977021), 中国科学院知识创新项目(KZCX2-401)资助

作者简介: 巩宗强(1975~), 男, 硕士研究生, 主要从事生态环境工程研究

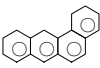
收稿日期: 2000-11-27

1 材料与方法

1.1 供试化学品

菲 (phenanthrene), 芘 (pyrene), 苯并蒽 (benz[a]anthracene), 均为 Fluka 公司产品, 二氯甲烷(分析纯), 甲醇(色谱纯). 供试多环芳烃的结构特征和毒理学特性见表 1.

表 1 供试多环芳烃的结构特征和毒理学特性^[4]

Table 1 Structure and toxicological properties of PAHs investigated				
多环芳烃	分子量	结构式	遗传毒性	致癌性 ¹⁾
菲 (phenanthrene)	169			
芘 (pyrene)	193		+ Ames	+ UDS, + SCE
苯并蒽 (benz[a]anthracene)	219		+ Ames	+ CA, + CARCINO

1) CA 染色体畸变;SCE 姐妹染色体交换;UDS 无序的 DNA 合成;CARCINO 致癌性.

1.2 仪器设备

独轴旋转式摇床, KQ-250B 型超声水浴箱, 离心机, HP-1090 II 高效液相色谱仪, 生物泥浆反应器, 反应器配有通气、搅拌、空气调节装置, 见示意图 1.

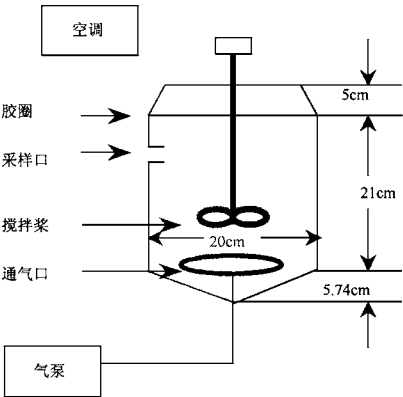


图 1 生物泥浆反应器示意图

Fig.1 Sketch map of bioslurry reactor

1.3 供试土壤

采自中国科学院沈阳生态站 0cm ~ 20cm 表层清洁土壤. 土壤为草甸棕壤. 其理化性质见表 2.

1.4 供试微生物

选用微生物为本实验室从石油污染土壤中分离出的真菌, 并经液体培养证明能够降解多环芳烃, 经鉴定微生物为: 镰刀菌(*Fusarium*)、毛霉(*Mucor*)、青霉(*Penicillium*)^[5].

表 2 供试土壤理化性质/ %

Table 2 Physical and chemical properties of the soil for experiment				
pH	TP	TK	KN	OC
7	0.04	0.593	0.11	1.78

1.5 色谱条件

惠普 1090- II 高效液相色谱仪, 配有二极管阵列检测器(Diode Array Detector, DAD), 色谱柱为 C18 烷基硅胶柱, 柱温 38 ℃, 流动相: 甲醇: 水 = 90: 10, 流速 1 ml/ min, 进样量 20μl, 检测波长: 菲 251 nm, 芘 240 nm, 苯并蒽 265 nm.

1.6 小型泥浆反应器的运行

取一定量的土壤, 按设定初始浓度移取多环芳烃(菲和芘)/ 甲醇溶液均匀滴在土壤上, 将土壤转入泥浆反应器搅拌均匀. 按设定水土比加入马铃薯液体培养基^[6], 搅拌形成泥浆, 从采样口取泥浆分析测定.

1.7 纯培养条件下泥浆修复法的运行

取 500 ml 三角瓶, 投入 75 g 灭菌后土壤, 准确移取多环芳烃(芘和苯并蒽)/ 甲醇溶液均匀滴在土壤上, 接入事先培养好的真菌菌悬液, 将三角瓶放在摇床上培养, 采样分析.

1.8 土样中多环芳烃的分析方法^[7]

取 10 ml 混合泥浆放入玻璃离心管离心 5 ~ 15 min, 转速 3000 ~ 3500r/ min, 离心后土样风干、研磨后保存. 取 2g 左右待测土样置于 100 ml 玻璃离心管中, 加入 20 ml 二氯甲烷, 将离心管盖好放入超声水浴箱提取 2h, 水浴过程中温度控制在 40 ℃以下. 取离心后上清液经硅胶柱净化后放入 KD 浓缩器中, 用 N₂ 吹干, 甲

醇定容后移入色谱进样瓶。

2 结果与讨论

2.1 反应器内水土比对生物泥浆法修复的效果影响

图 2、图 3 是不同水土比条件下菲和芘的降解曲线图。结果表明不同水土比对菲和芘的降解影响差别不大。因此利用生物泥浆反应器进行多环芳烃污染土壤的生物修复可以采用 2:1 的水土比,这样既可以节约用水,又能保证运行期内土壤不至于结块,也可以充分的利用泥浆反应器的空间,增加单位体积反应器处理土壤的量。

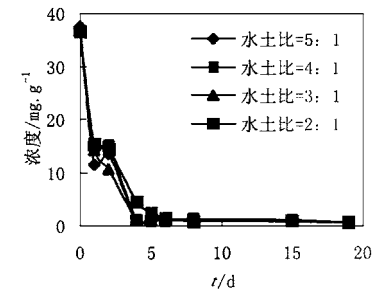


图 2 不同水土比下菲的降解率

Fig.2 Degradation of phenanthrene under different ratio of water to soil

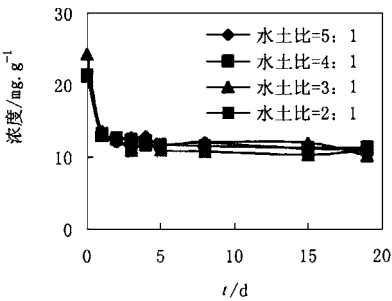


图 3 不同水土比下芘的降解率

Fig.3 Degradation of pyrene under different ratio of water to soil

2.2 温度对生物泥浆法修复的效果影响

温度是影响生物修复的一个重要因子,适宜的温度是微生物生长的必要条件。同时多环芳烃从土壤颗粒上的解吸过程是一个吸热过程,升高温度有利于解吸过程的进行,加速降

解。从图 4、图 5 不同温度下菲和芘的降解曲线上可以看出,在 20℃ 和 30℃ 下菲和芘的降解明显比 10℃ 快,而 20℃ 和 30℃ 下菲和芘的降解速率基本一致。综合考虑能源消耗等因素,在利用生物泥浆反应器进行污染土壤的生物修复时控制温度为 20℃ ~ 25℃ 比较合适。这个温度与 Castldi 在研究利用生物泥浆反应器处理石油烃污染的淤泥时,以及 Zappi, Lauch 在类似的研究中采用的温度基本一致^[8~10]。

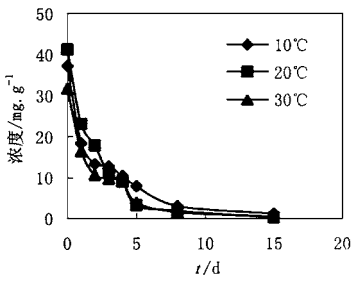


图 4 不同温度下菲的降解率

Fig.4 Degradation of phenanthrene under different temperature

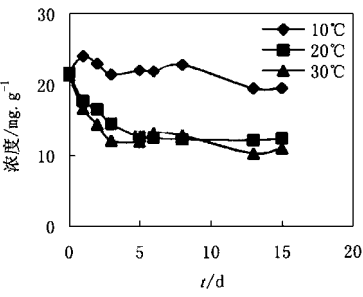


图 5 不同温度下芘的降解

Fig.5 Degradation of pyrene under different temperature

2.3 通气量对生物泥浆法修复的效果影响

土壤内微生物对多环芳烃的降解都是一个好氧过程,无论是细菌还是真菌都是在加氧酶的作用下在多环芳烃的苯环上加上氧原子开始降解过程^[11]。因此通气量对多环芳烃的生物降解有重要的影响。本研究设置了 4 组通气量,分别为 200L/h, 100L/h, 60L/h, 无通气。从图 6、图 7 可以看出菲和芘的降解率在有通气和无通气条件下的差别很大,但有通气量的 3 个处理之间差别不大,证明恰当的通气是泥

浆法的重要因素. 采用 60 L/h 的通气量可以达到相对较好的效果, 并且有利于系统的稳定运行, 因此确定通气量参数指标为 60 L/h.

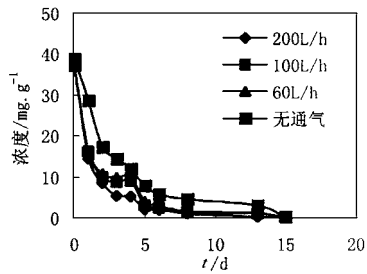


图 6 不同通气量下菲的降解率

Fig. 6 Degradation of phenanthrene under different aeration flux

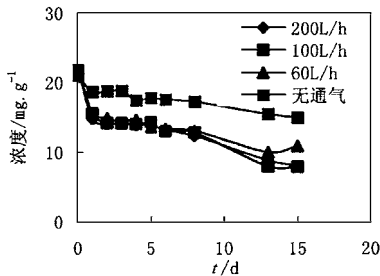


图 7 不同通气量下芘的降解率

Fig. 7 Degradation of pyrene under different aeration flux

2.4 菲和芘的生物可降解性比较

从以上 3 个参数确定过程中可以看出含有 3 个苯环的菲比较容易被微生物降解, 对反应条件要求较低, 而含有 4 个苯环的高分子量的芘的生物可降解性低, 条件不合适不易从土壤中被去除. 而多环芳烃的种类复杂, 高分子量多环芳烃占有一定比例, 且有较明显的毒理特征, 因此生物泥浆法修复多环芳烃污染土壤应着重于对高分子量多环芳烃的控制.

2.5 多环芳烃的非生物损失

多环芳烃在土壤中的消失主要是通过生物降解作用, 为了确定非生物损失作用对多环芳烃消失速率的影响, 设了一个对照来监测灭菌土壤中多环芳烃的浓度变化, 实验在黑暗条件下进行. 结论证明多环芳烃在土壤中是不易挥发和水解的有机化合物, 34 天以后, 还有 92.1 % 和 90.6 % 的芘和苯并蒽残留.

2.6 真菌对高分子量多环芳烃的降解

图 8 ~ 10 是灭菌土壤接种真菌菌悬液后纯培养条件下多环芳烃的降解曲线. 比较 3 种真菌对多环芳烃的降解率可发现镰刀菌降解芘的效果好, 经 34d 培养芘的降解率可达到 90 %, 毛霉可降解 81.5 %, 而青霉只降解 52 %. 从这 3 个降解曲线图可以看出虽然同是含有 4 个苯环的高分子量多环芳烃, 但由于分子结构的区别, 生物可降解性也有很大差别. 苯并蒽更不容易被微生物降解. 经 34d 的培养, 镰刀菌降解了 33.3 % 的苯并蒽, 而毛霉和青霉分别降解了 49.2 % 和 46 %.

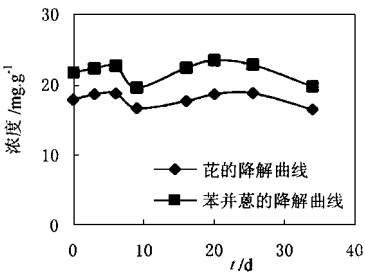


图 8 芘和苯并蒽的非生物损失

Fig. 8 Abiotic loss of pyrene and benz[a]anthracene

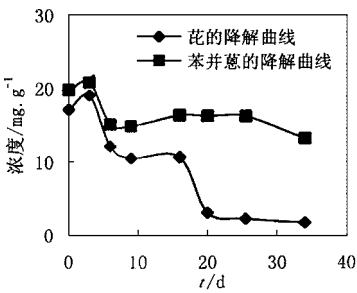


图 9 镰刀菌对芘和苯并蒽的降解

Fig. 9 Degradation of pyrene and benz[a]anthracene by *Fusarium*

报道真菌对多环芳烃进行降解的文献较多, 真菌对多环芳烃的氧化最初是通过细胞色素 P₄₅₀ 单加氧酶的作用, 使氧原子加入到苯环 C—C 键上形成芳烃氧化物, 然后再经过非酶促结构重组或经环氧化物水解酶的作用断开苯环. 多环芳烃还可以通过和其他分子的结合作用而脱毒, 这些真菌产生的结合体包括硫酸盐、

葡萄糖苷、葡萄糖苷酸等^[11]。宋玉芳也曾报道多环芳烃污染土壤中的优势菌中含有多种真菌,它们是土壤中多环芳烃迅速降解的动因^[12]。马瑛也曾采用堆肥技术引入原毛平革菌,用于多环芳烃污染土壤的生物修复^[13]。因此分离能有效降解多环芳烃的真菌,把它用于多环芳烃污染的土壤的生物修复是可行的方法。本研究所采用的真菌对多环芳烃显示出了不同降解能力,而且对某种多环芳烃还表现出了特异性,这可能和真菌所产生的酶有关。但采用纯培养的条件并不一定能达到最佳效果,另外在操作上也不易控制。因此根据污染土壤中多环芳烃的种类,因地制宜的选用混合微生物菌群,并能保证它们在原有土著微生物环境下良好生长,那么泥浆法生物修复会有更好的效果。

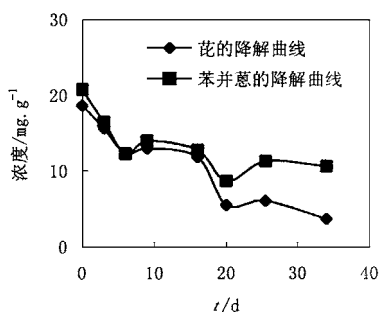


图 10 毛霉对芘和苯并蒽的降解

Fig.10 Degradation of pyrene and benz[a]anthracene by *Mucor*

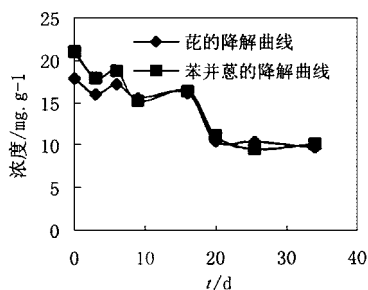


图 11 青霉对芘和苯并蒽的降解

Fig.11 Degradation of pyrene and benz[a]anthracene by *Penicillium*

3 结论

(1) 生物泥浆法修复多环芳烃污染土壤适宜条件为:水土比 2:1, 温度 20℃~25℃, 通气量为 60L/h。

(2) 真菌纯培养条件下, 镰刀菌对芘和苯并蒽可以降解 90% 和 33.3%, 毛霉可以分别降解 81.5% 和 49.2%, 青霉可以分别降解 52% 和 46%。

参考文献:

- 1 Wilson S C, Jones K C. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons: a review. *Environmental Pollution*, 1993, **81**:229~249.
- 2 Keith L H, Telliard W A. Priority pollutants I: a perspective review. *Environmental Science and Technology*, 1979, **13**: 416~423.
- 3 Rittman B E, Johnson N W. Rapid biological cleanup of soils contaminated with lubricating oil. *Water Science and Technology*, 1989, **21**:209~219.
- 4 Park K S, Sims R C, Dupont R R. Fate of PAH compounds in two soil types: influence of volatilization, abiotic loss and biological activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1990, **9**:187~195.
- 5 中国科学院微生物研究所. 常用与常见真菌. 北京: 科学出版社, 1978. 55~56, 182~183, 228~230.
- 6 范秀容, 李广武, 沈萍. 微生物学实验. 第二版. 北京: 高等教育出版社, 1989. 262.
- 7 宋玉芳, 区自清, 孙铁珩. 土壤和植物样品中多环芳烃的分析方法研究. *应用生态学报*, 1995, **6**(1): 92~96.
- 8 Castaldi F J, Ford D L. Bioremediation of petrochemical water sludges. *Water Science and Technology*, 1992, **25**(3): 207~212.
- 9 Zappi M E, Rogress B A, Teeter C L. Bioslurry treatment of soil contaminated with concentrations of total petroleum hydrocarbons. *Journals of Hazardous Materials*, 1996, **46**:1~12.
- 10 Lauch R P, Herrmann J G. Removal of creosote from soil by bioslurry reactors. *Environmental Progress*, 1992, **11**(4): 265~271.
- 11 Münchrovó L, Augustin J. Fungal metabolism and detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Bioresource Technology*, 1994, **48**:97~106.
- 12 宋玉芳, 孙铁珩, 许华夏. 表面活性剂 TW-80 对土壤中多环芳烃的生物降解的影响. *应用生态学报*, 1999, **10**(2): 230~232.
- 13 马瑛, 张甲耀, 管筱武. 原毛平革菌堆肥化处理有害废弃物的可行性. *环境科学*, 1999, **20**(6): 66~70.