

生物修复石油污染土壤¹

丁克强 骆永明

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要 本文概述了石油污染土壤的生物降解机制,分析了生物修复土壤污染技术及其影响因子,提出了强化生物修复的措施及其在我国的应用前景。

关键词 生物修复;石油污染土壤

石油污染土壤的生物修复^[1],是指利用微生物及其他生物,将存在于土壤的石油污染物降解成二氧化碳和水或转化成为无害物质的工程技术系统。生物修复技术是传统的生物处理方法的发展,与物理、化学修复污染土壤技术相比,具有多种优点^[2]: 成本低于热处理及物理化学方法; 不破坏植物生长所需的土壤环境; 污染物氧化完全,没有二次污染; 处理效果好,对低分子量的污染物去除率非常高; 可原位处理,操作简单。本文结合近年国内外的最新研究成果,对生物修复技术在处理石油污染土壤的研究状况进行综述。

1 石油烃生物学降解的机理

1.1 微生物对烃的吸收

Bringman^[3]等认为,分解烃微生物是吸附在土粒上的。它们和烃液滴的相互作用是在土壤孔隙里的油水界面上进行的。有的烃能直接溶于细胞膜的亲脂区而进入膜内;另一些则是微生物在油滴界面处先生成表面活性剂使之溶解后吸收,气态烃要溶于水后才能被吸收^[4]。

1.2 烷、烯、炔烃的生物降解

烷烃降解的生化机理是 β -氧化和充氧作用^[5]。研究最多的正烷烃的降解途径如图 1。

在绝大多数情况下,正烷烃的生物降解最初是由与甲烷氧化酶类似的复杂的一氧化酶系统酶促进进行的。在此过程中,烷烃氧化成相应的伯醇^[6]。后者在 β -氧化酶、丁基脱氢酶和硫酸酯酶的作用下,经由醛而转化成羧酸。Mckenna 等人^[7]认为,羧酸很容易通过 β -氧化,降解成少两个碳链长度的乙酰基 CoA。后者再进入三羧循环,分解成 CO_2 和 H_2O ,并释放出能量;或再进入其它生化过程。关于烷烃降解过程中链烯是不是中间产物的问题仍存在着争论^[8]。Pareck^[9]等人发现,正十六碳烷嫌气细菌能将十六烷转化成相应的醇和烯。后来又发现,该过程在好气条件下亦能进行^[5]。有的微生物还可以通过亚

¹ 国家自然科学基金重点项目(49831070),国家重点基础研究发展规划项目(G1999011807)和中国科学院南京土壤研究所土壤与环境联合开放研究实验室项目资助。

终端氧化,使烷烃先生成酮,经氧化酶酶促生成酯、而后水解、再氧化为酸的途径来降解烷烃。

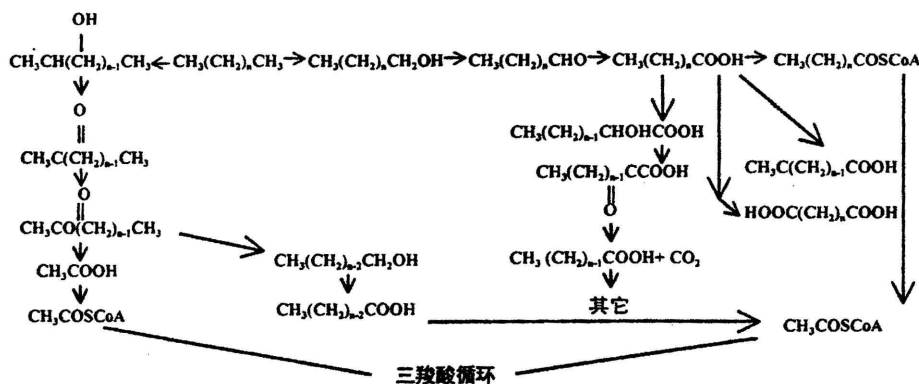


图 1 正烷烃的降解途径

目前对烯烃和炔烃的降解,了解不多。有的细菌如 *mycobacterium vaccae* 能将它们代谢为不饱和脂肪酸并产生某些双键的位移或产生甲基化,形成带支链的饱和脂肪酸^[10]。终端烯很容易被许多微生物降解^[11]。正烷烃一氧化酶能使烯酶促生成环氧化物。Abbotte 等人^[12]认为,离不饱和键较远一端甲基处的酶解,对这类化合物的降解可能具有更重要的意义。

对异构烷烃的代谢研究得很少。因为 -氧化酶一般不能酶促支链烷的氧化,所以绝大多数能降解正烷烃的微生物不能降解异构烃。单支链烷烃的氧化多从离支点最远的甲基处开始^[10]。但其降解的中间产物可能累积起来而不被进一步降解。

1.3 芳烃和脂环烃的生物降解

苯与短链烷基苯在脱氢酶及氧化还原酶的参与下,经二醇的中间过程代谢成邻苯二酚和取代基邻苯二酚,后者可在邻位或间位处断裂,形成羧酸^[13]。多环芳烃在原油中的含量虽然只占 0.1%左右,但由于它们的致癌活性和许多植物和微生物均能合成此化合物,因此它们在环境中的行为和归宿不容忽视^[14]。降解 PAHs 的机理参阅文献^[15]。

具有脂环结构的饱和烃在自然界中广泛存在。不仅原油中有,植物也能合成大量萜烯类烃。这类化合物相对说来虽较难降解,但土壤及天然水中却很少见其累积,说明它们还是能被生物降解的。其降解机理,多认为是共同代谢作用首先将环烷烃变成相应的醇和酮,后者再进一步氧化^[5]。烷烃取代的脂环烃比不含取代基的母体更易降解。Beam 等人^[16]发现,能利用长链环乙烷的微生物只能氧化侧链 C 原子数为奇数的环。环氧化的途径有二:一是嫌气条件下饱和环不加氧的断裂^[17];二是环的芳香化^[18]。萜烯的氧化,最初也是在环或取代甲基上进行的,其分解途径与简单脂环烃的类似。

2 影响石油烃生物学降解的因素

石油烃的生物降解的程度取决于油的化学组成、微生物的种类和数量以及影响有关生化过程的环境参数。

2.1 油的化学组成和浓度

实验室和田间研究的结果^[19]都证明,同系物的抗氧化稳定性随 C 原子数的增加而增强;饱和烃比不饱和烃、直链化合物比支链化合物都较易被降解;环烷烃及多环化合物较难降解;沥青烃及极性化合物对生物降解最不敏感;含硫芳香化合物的降解速度比不含硫同系物的低一倍。Davis^[20]等人报道,即使在单位重量的原油分解了 45~62%后,其组分中除烷烃外,其它组分均没有多大的变化。正烷烃中 C₁₀~C₁₈ 最易降解。短链的液态烃因在水箱中较易溶解,并能使细胞质膜改组,所以不是微生物的很好的基质^[21]。因此,饱和烃含量高, S 含量低的原油最易降解;芳烃及 S 含量高的油最难降解。轻质油比重质油容易降解,尽管其中的低沸点组分因其溶脂作用在低温时会延续微生物生长^[5]。

取代基的位置和数量也影响烃的降解程度。Mckenna^[7]等人报道,直链上有一个甲基就会降低烃的利用程度;二甲基特别是新戊基能明显减低微生物对烃的利用。末端有苯基的烷烃比中部有苯基的更容易被利用得多。甲基苯会随着芳环上甲基数量的增多而抑制或促进环烷烃分解^[22]。

当油的浓度相对低时,所有的组分都能被降解;但浓度高时,降解率便相应降低。这可能与油的毒性增大有关^[5]。Jenson^[23]等研究了含油废弃物与土壤的重量百分比在 0~30% 范围内时油的浓度对生物降解活性的影响,发现浓度为 5% 时, O₂ 的吸收率最高。这与 dibble^[24]等的结果一致。

2.2 微生物的种类和数量

据报道,能降解烃的微生物有 70 个属(其中细菌 28 个属,真菌属 30 个),200 多个种^[25]。它们的细胞均含有改变了的脂肪酸组分和较多的核糖体,并常将烃类累积在细胞质膜上,它们也能合成较多的磷脂^[26]。一般认为,细菌分解原油比真菌、放线菌容易的多^[27]。但 Cerniglia 和 Perry^[28]认为,真菌比细菌更能有效地降解原油。降解原油的微生物大量的存在于污染地区,在严重油污染的水和底部沉积物中,其数量可达到 10²~10⁶ 个/毫升^[26],比非污染地区高出 1~2 个数量级^[5]。

2.3 环境参数

2.3.1 氧环境的提供 据报道^[5],好气性微生物能够将土壤有机碳的 20~40% 转化为细胞物质,而厌氧微生物只能转化 2~5%。Vanlooche 等人^[26]认为,任何情况下,厌氧微生物降解率低于好氧微生物。因此提供足够的氧很可能是提高生物降解率的最重要的条件。土壤中的氧的量常常是制约高速降解的限制因素。通过土壤耕作、空气注入和添加过氧化物可改善微生物降解条件而提高石油降解率^[29]。

2.3.2 营养元素调节 大多数土壤类型的 N、P 的储量都较低。当 C 源大量增加时,N、P 含量,特别是可给性 N、P 就会成为生物降解的限制因子。许多研究认为,施加无机肥可以促进石油烃的降解^[26]。Dibble 等人^[24]的研究表明,C:N 为 60:1、C:P 为 800:1、C:K 为 400:1 时微生物的降解率最高。Borger 等人^[30]发现在 C:N:P 为 100:10:1 时,油的降解率最高,单加 N 或 P 均不能提高降解率^[5,31]。

2.3.3 温度 温度的变化对石油烃的微生物降解影响很大,低温度会抑制烃的降解^[26]。在 -2~72 °C 间,都有微生物的降解^[25,26]。在 0~10 °C 范围内,温度升高,微生物增多,降解率增高,温度从 20 °C 升至 30 °C 时,正构烷烃的降解率可增加 1 倍;而温度由 20 °C 降至 10 °C 时,重质油的降解率减低 50~60%,轻质油减低 30~40%^[5]。

2.3.4 土壤的 pH 土壤 pH 的变化也影响微生物的活性。Vanlooche 等^[26]认为,降解烃

的最适 pH 为 7.4~7.8;Borgen 等^[30]认为 pH 为 6~7.5 最适;Fusey 等^[32]认为 pH 为 4 对降解有利。pH 的作用,部分在于它对土壤营养状况的影响。一般认为,低的 pH 值会影响 N 的转化,当 pH 稍高于中性时,对硝化作用及 N 的进一步转化均有利,而 P 的有效性在 pH6~8 时很高。

2.3.5 其它土壤的性质 目前还很少对土壤质地、化学组成、Eh、粘粒的含量等对烃的降解率进行系统的研究,但土壤的状况决定着优势微生物的种类,从而影响着烃的不同组分的降解。同时,土壤某些重金属离子的存在会抑制微生物的活性。

3 石油污染土壤的治理方法

生物修复石油污染土壤的技术主要有 3 种类型,即原位处理(in situ)、现场处理(on site)和生物反应器(bioreactor)。

3.1 原位处理

最常用的原位处理方式是进入土壤饱和带的污染物生物处理。采取添加营养,供氧和接种特异工程菌等措施提高其降解力,并通过一系列贯穿于污染区的井,直接注入配好的溶液来完成。亦可采用把地下水抽至地表,进行生物处理后,再注入土壤中进行再循环的方式改良土壤。据报道,一个炼油厂土壤及地下水石油污染的生物处理,去除率可>86%^[33]。

3.2 现场处理

近年国外石油污染处理的例子有:土壤耕作法^[34]是一种常用的处理土壤污染的方法,需要监测土壤水分和补充无机营养物(N、P、K),耕作机械定期使废物与营养物、菌和空气充分接触,使 30~40cm 的处理带,保持好氧状态。这是一项节省成本的方法,最适于处理石油工业废物及污水处理厂的污泥。美国环保局于 1989 年在阿拉斯加威廉王子湾海滩实施的原油污染生物清洁项目,采用的就是土壤耕作法^[35]。土壤堆腐法^[36]就是将受污染的土壤从污染地区挖掘起来,防止污染物向地下水或更大的地域扩散,运输到一个经过处理的地点(布置防渗漏底层、通风管道等)堆放,形成上升的斜坡,并进行生物处理。Al Daher 等^[37]在科威特 Burgan 油田采用长条形堆腐方法处理石油污染土壤,在连续十个月的运行后,土壤中的石油污染物基本被降解。

3.3 生物反应器法

美国东南部的一家木材厂,最近使用反应器处理杂酚油污染土壤,安装了四个半间歇式生物泥浆反应器,并接种细菌,每周可处理 100 吨受污染土壤,使菲和蒽混合物的含量从 300000mg/kg 降低到 65 mg/kg,苯并[a]芘从 1100 mg/kg 降低到检测线以下(3mg/kg),五氯酚的含量从 13000 mg/kg 降低到 40 mg/kg^[38]。荷兰的一家公司研制出回转式生物反应器,这种设备的特点是把要处理的石油污染土壤装入圆桶内,借助于反应器的回转运动,使土壤得以与微生物充分接触。利用此设备对含油量为 1000~6000mg/kg 的石油污染土壤在温度 22℃ 条件下,处理 17 天后,土壤含油量降至 50~250 mg/kg^[33]。

4 强化生物修复技术的途径

为了强化石油污染土壤的生化治理过程,目前有以下几种途径。

4.1 适当的电子受体

在土壤中,特别是石油污染浓度高时,氧的供给就成为生物降解的控制因素。微生物氧化还原反应一般以氧为电子受体,可以直接采用氧气,或压缩空气,或用 H_2O_2 分解产生,另外有机物分解的中间产物和无机酸根也可作为最终的电子受体。最近在密执安州的 Fsaveerse 城用 NO_3^- 代替氧作为电子受体降解甲苯、二甲苯和乙苯已获得成功^[39]。

4.2 营养物的添加及量的配比

氮、磷元素的缺乏是影响细菌生长繁殖的主要原因。研究表明氮、磷元素的配比以 5:1~10:1 比较合适,但需结合实际处理的污染土壤确定。N 源主要利用 NH_4^+ , P 源主要利用 PO_4^{3-} 。也有的研究者用有机 N 源代替无机的 N 源^[40]。

4.3 接种和基因工程菌的开发

从土壤中分离出的对烃类有很强分解能力的降解菌,制成干菌剂;或利用遗传工程方法,使微生物的遗传基因发生变异,以得到降解能力强的变异菌种。在需要时,向污染土壤接种,接种所受影响因素很多,例如。对烃类的适应性要强,遗传稳定性要好,休眠后仍有活力,使用时能快速增殖并对土著菌种有一定竞争力等^[41]。

4.4 工程设计

烃类污染生物治理系统的特点^[34]是: 系统是一个多相体系; 系统内各类物质均可能具有不同的相态; 系统内部物质之间及内外部物质之间均有可能发生反应; 气液在系统内部运动形成动态平衡; 微生物不断生长,增殖和死亡。在这样一个复杂的条件下,降解过程得到顺利进行的一个必要条件是,系统内微生物与被降解物质应有尽可能大的接触机会。所以,工程设计就对强化过程有很大作用。

5 生物修复技术的不足及发展前景

生物修复技术虽然已经取得很大的发展,但由于受生物特性的限制,其还存在许多的局限性^[1]。

5.1 生物修复技术的不足

1 微生物不能降解污染环境中的所有污染物,污染物的难降解性、不溶解性及污染物土壤腐殖质和泥土结合在一起常使生物修复难以进行。

2 一些低渗透性土壤往往不宜采用生物修复技术。

3 特定的微生物只能够降解特定的化合物类型,化合物形态一旦变化就难以被原有的微生物酶系降解。

4 微生物活性易受温度和其他环境条件的影响。

5 有些情况下,生物修复不能将污染物全部去除,因为当污染物浓度太低不足以维持一定数量的降解菌时,残余的污染物就会留在土壤中。

5.2 生物修复技术的发展前景

污染土壤的生物修复技术虽然已取得一些成果,但仍很不完善,主要是处理后污染物的残留不能符合环境指标要求。还需要在以下几个方面进行深入研究。

1 共存物质(如重金属)对微生物降解的抑制效应及外源物质(如表面活性剂)对微生物的促进效应。

2 高分子有机污染物降解过程中的共代谢机理。

3 通过遗传基因工程构建高效降解菌。

4 生物降解潜力的指标与生物修复水平的评价。

5 生物修复技术的环境风险水平及其评价。

6 白腐真菌对许多有机物污染有很好的降解效果^[42], 应进一步开发其对石油污染土壤生物修复技术。

7 我国是经济飞速发展的国家, 土壤石油污染正在不断扩大, 而生物降解石油作为一种高效、低费用的治理技术, 适应我国的国情, 应大力推广此技术。

6 结 论

1 生物修复处理技术都采用好氧过程。其主要原因是^[34], 好氧系统对降解石油烃类是非常有效的, 降解速度比厌氧系统快得多; 厌氧系统要隔绝空气, 对于处理土壤, 这一条件要求很难达到, 而好氧系统则无此特殊要求; 好氧系统最终产物为 CO_2 和 H_2O , 对人体无害, 而厌氧系统的产物 CH_4 、 H_2O 对环境会造成新的污染。

2 污染土壤生物修复技术是治理石油污染最有生命力的方法^[2]。

3 研究污染物微生物降解性及作用机理, 降解菌的选育与生物工程菌的应用, 是提高处理效果的关键, 亦是该技术深入研究的重要课题。

4 影响污染土壤生物修复技术的环境因子的选择与调控是该技术达到稳定地运行状态, 获得最高处理效果的保证。

参 考 文 献

- 1 马文漪, 杨柳燕. 环境微生物工程. 南京: 南京大学出版社, 1998, 250~267
- 2 张春桂等, 污染土壤生物恢复技术. 生态学杂志, 1997, 16(4): 52~28
- 3 Bringman G. and Kuhn, R. Gesundheits Ingenieur, 1972, 93(1): 271~275
- 4 Vanlooocke R. *et al.* J. Environmental Studies, 1975, 8(1): 99~105
- 5 Higgings I. J. *et al.* Oil Ind. Microb. Ecosyst., Proc. Meet., 1978, 80~84
- 6 Cardini G. *et al.* J. Biol. Chem., 1970, 245(6): 2789~2795
- 7 Me Kenna E. *et al.* Annual Review of Microbiology, 1965, 19(1): 183~187
- 8 Senez J. *et al.* Biochim. Biophys. Acta, 1961, 47(1): 307~315
- 9 Pareck V. R. *et al.* Appl. Environ. Microbiol, 1977, 33(1): 881~897
- 10 King D. H. *et al.* J. Microbiol, 1975, 21(1): 85~90
- 11 Klug M. J. *et al.* Adv. micrbiol. Physiol, 1971, 5(1): 1~6
- 12 Abbott B. J. *et al.* Appl. Microbiol, 1972, 26(1): 86~92
- 13 Hopper D. J. *et al.* Applied Science, London, 1977
- 14 Zobell C. E. API/EPA/USCG, 1971, 441~451
- 15 丁克强等, 多环芳烃污染土壤的生物修复. 土壤, 2000, 33(4): 1~10
- 16 Beam H. W. *et al.* J. Bacteriol, 1974, 118(1): 394~398
- 17 Dutton P. L. *et al.* J. Biochem, 1969, 113(2): 525~531
- 18 Blakiey E. R. *et al.* J. Microbiol, 1975, 20(4): 1297
- 19 Ratledge C. Applied Science, London, 1977
- 20 Davis J. B. *et al.* Petroleum Microbiology. New York, 1967
- 21 Miger R. The Microbial Degradation of Oil Pollutants, Louisiana State University, 1973

(下转 196 页)

3 小 结

加石英砂使土壤质地变粗,在 EDTA 存在条件下的淋洗初期能显著降低 TOC 和 Cu、Zn、Pb、Cd 的淋失量,随着淋洗量的增加,TOC 和重金属元素的每次淋溶淋失量逐渐下降,各处理间差异缩小。

经淋溶 12 次(用水 2244 ml/kg 土)后,土壤 Cu、Zn、Pb、Cd 全量随土壤质地变粗而下降。除 Pb 元素外,其余 3 种重金属的土壤全量变化受土壤质地显著影响。

参 考 文 献

- 1 Blaylock M. J. *et al.* Environmental Science & Technology, 1997, 31(3): 860~865
- 2 吴龙华等. 铜污染土壤修复的有机调控研究 II. 根际土壤铜的有机活化效应. 土壤, 2000, 32(2): 67~70
- 3 Huang J. W. *et al.* Environmental Science and Technology, 1997, 31(3): 800~805
- 4 骆永明. 强化植物修复的螯合诱导技术及其环境风险. 土壤, 2000, 32(2): 57~611
- 5 吴龙华等. 有机络合强化植物修复的环境风险研究 I. EDTA 在太湖水稻土上的降解行为. 土壤, 2001, 33(4): 189~192
- 6 Kedziorek M. A. M. *et al.* Environmental Science and Technology, 1998, 32(11): 1609~1614

(上接 184 页)

- 22 Hunt P. G. AD Report, 1972, 74(6): 2674~26
- 23 Jenson Y. *et al.* Agric. Biol. Chem, 1975, 39(5): 1781~1785
- 24 Dibble J. T. *et al.* App. Environ. Microbiol, 1979, 37(4): 729~735
- 25 Zobell C. E. LSU-SG-73-01, 1973
- 26 Vanlooocke R. *et al.* J. Environmental Studies, 1975, 8(1): 99~105
- 27 Cehtomaki M. *et al.* AMBIO, 1977, 4(3): 126~131
- 28 Cerniglia C.E. *et al.* Z. All. Microbiologie, 1973, 13(1): 229~234
- 29 Devinny J. S. *et al.* Hazardous Waste and Hazardous Materials, 1989, 6(4): 421~425
- 30 Borgen R. *et al.* Biol. Sol., 1978, 15(4): 445~449
- 31 Odu C. T. Environ. Pollut. 1978, 15(1): 235~239
- 32 Fusey P. *et al.* Mat.Organismen, 1975, 10(2): 109~112
- 33 郑远扬编译, 石油污染生化治理进展. 国外环境科技技术, 1993, 72(3): 46~50
- 34 America Petroleum Institute. the Land Treatability of Appendix Weshington, D.C. 1984
- 35 沈得中, 污染物的原位生物处理-生物清消技术. 环境科学进展, 1993, 1(5): 55~59
- 36 Morgean P. *et al.* Biotechnology, 1989, 8: 305~333
- 37 Al-Daher R. *et al.* Environ. Int. 1998, 24(2): 175~180
- 38 Zitrides T. G. *et al.* Pollution Engineering, 1990, 22(5): 57~62
- 39 Zappi M. E. *et al.* J. Hazardous Materials, 1996, 46(1): 1~12
- 40 Audrew R. *et al.* Environment Progress, 1992, 11(4): 318~322
- 41 焦瑞身等编著, 生物工程概论. 化学工业出版社, 1991, 85~87
- 42 李慧荣, 白腐真菌的研究进展. 环境科学进展, 1996, 4(6): 69~77