

# 混合菌群强化去除泥浆体系中菲、芘的效果及影响因素<sup>①</sup>

刘一凡, 宗良纲\*, 史艳芙, 孙明明, 杜霞飞

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

**摘要:** 通过室内泥浆体系模拟试验, 研究了混合微生物菌群(嗜热菌和多环芳烃特异性降解菌), 在 40℃ 条件下(两类微生物均能较快生长繁殖), 对泥浆体系中代表性多环芳烃菲、芘的去除效果及其影响因素(水土比, 葡萄糖、淀粉、水杨酸及其浓度)。结果表明: 泥浆体系中混合微生物菌群对多环芳烃的去除效果显著( $P < 0.01$ ), 单日菲去除率最大可达 20.0%, 芘达 15.3%。随着反应进程的推进, 菲和芘的去除率提高, 去除速率则逐步降低, 菲的半衰期 1.8 天小于芘 4.9 天, 因此菲的去除较芘更快。试验得到该泥浆体系中混合微生物菌群去除多环芳烃最合适的水土比为 2:1, 碳源为葡萄糖, 浓度  $\text{TOC}_{\text{葡萄糖}}:\text{TOC}_{\text{PAHs}}$  为 2:1。该研究结果可为泥浆体系中混合微生物菌群强化修复多环芳烃污染土壤的技术研发提供理论基础和技术支撑。

**关键词:** 多环芳烃; 泥浆体系; 混合微生物; 水土比; 葡萄糖

**中图分类号:** X53

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是分子中具有两个或两个以上苯环结构的一类有机污染物, 具有疏水性, 容易被固体颗粒和腐殖质所吸附<sup>[1]</sup>。PAHs 在环境中广泛存在, 并且在土壤环境中会长期残留, 并不断积累<sup>[3]</sup>, 属于难降解的有毒有机污染物, 具有很强的“三致性”<sup>[4]</sup>。

修复 PAHs 污染土壤是当下环境治理的热点, 目前所采用的方法包括物理法(如土壤蒸汽浸提、热脱附)、化学法(如化学氧化、土壤淋洗)、以及生物法(如微生物修复、植物修复)。其中, 微生物修复技术以利用微生物来降解污染物为技术核心, 被认为是一类费用低、效率较高的修复方法。人们可以通过不同技术途径来实施微生物修复, 如生物泥浆反应技术是将受污染的土壤挖掘出来与水混合搅拌成泥浆, 在体系中接种微生物进行处理, 再将土壤经脱水后运回原地。生物泥浆反应技术作为微生物修复技术之一, 以水相为主要处理介质, 污染物、微生物、溶解氧和营养物的传递速度快, 具有处理周期短、降解条件易于控制和处理效果好的特点<sup>[5]</sup>。因此, 在高浓度、难降解有机物污染土壤的快速修复工程中具有良好的开发价值和广泛的应用前景。在自然界中, 一些微生物可以以 PAHs 作为碳源, 快速高效降解土壤中的 PAHs。

还有一类在绝大多数微生物无法生存的极端环境中仍然能够正常生长繁殖的微生物, 称为嗜极菌或极端微生物(extremophiles), 其中嗜热菌(thermophiles)是指在高温环境中生长的微生物, 具有高效降解环境有机污染物的潜力。嗜热菌在高温条件下降解有机污染物, 代谢速度快, 嗜温杂菌的竞争减少, 同时高温环境下一些难降解有机物的溶解度和生物可利用性大大提高, 有机污染物可得到快速、彻底降解<sup>[6]</sup>。

生物泥浆反应技术作为一种重要的环境处理技术, 在欧、美等发达国家受到广泛重视, 国内外利用该技术进行有机污染物的生物修复已有文献报道<sup>[7-10]</sup>, 而利用嗜热菌与 PAHs 特异性降解菌的混合微生物菌群降解泥浆体系中 PAHs 的研究还相对较少。因而, 本研究采用模拟泥浆体系, 利用嗜热菌群和 PAHs 特异性降解菌的混合微生物进行 PAHs 的去除效果研究, 探讨工艺参数和优化条件, 为混合微生物菌群泥浆修复技术的应用提供理论基础和技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试土壤为黄棕壤, 采自南京市下马坊公园林下

基金项目: 国家自然科学基金项目(41401345)资助。

\* 通讯作者(zonglg@njau.edu.cn)

作者简介: 刘一凡(1991—), 女, 河北衡水人, 硕士研究生, 主要研究方向为污染土壤生物修复。E-mail: 2013103043@njau.edu.cn

表层(0~20 cm)。土样自然风干后粉碎过 2 mm 筛,一部分经高温高压(121.0℃, 30 min)灭菌处理,作为

供试灭菌土样备用;另一部分作为供试自然土样装瓶备用。土壤的基本性质见表 1。

表 1 供试土壤基本理化性质  
Table 1 Physical and chemical properties of the experimental soil

土壤类型	pH	有机质 (g/kg)	全氮 (g/kg)	全磷 (g/kg)	全钾 (g/kg)	质地	机械组成(g/kg)		
							黏粒	粉粒	砂砾
黄棕壤	6.82	18.53	1.07	0.43	30.70	壤质黏土	293	402	305

供试微生物为嗜热菌和降解菌。嗜热菌由江苏宜兴国豪生物环保有限公司提供,为该公司餐厨垃圾高温快速堆肥化反应器所用菌剂,分离菌种并鉴定其主要微生物为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)和嗜热脂肪芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus*)。降解菌由中国科学院南京土壤研究所土壤环境化学与环境保护研究室提供,为鞘氨醇单胞菌<sup>[11]</sup>(*Sphingobium* sp.)No. CCTCC AB 2010361。

化学试剂:菲、芘购自上海 Aladdin 公司,纯度为 97%;二氯甲烷、正己烷、丙酮、无水硫酸钠和层析用硅胶(100 目)均为分析纯;甲醇为色谱纯。

## 1.2 试验仪器

立式压力蒸汽灭菌器(LDZX-30KBS),恒温培养振荡器(ZWY-240),高速冷冻离心机(CT14RD),超净工作台(SW-CJ-ID),冷冻干燥器(SIGMA),旋转蒸发器(RE2000B),超声波清洗器(KQ5200B)和高效液相色谱仪(Agilent 1200)。

## 1.3 试验方法

污染土壤的制备:配制菲、芘的丙酮溶液,均匀加入到供试自然土壤和灭菌土壤中,待丙酮挥发完全后混匀,用未污染土样调节,使土壤中菲、芘含量均为 5 mg/kg,制得的菲、芘污染土壤避光储存备用。

菌株的活化与菌悬液的制备:取出冰箱中保存的嗜热菌和 PAHs 特异性降解菌,在无菌条件下,接入到牛肉膏蛋白胨液体培养基中,40℃ 150 r/min 恒温振荡培养 24 h 后,8 000 r/min 离心 5 min,用经过高温高压灭菌的无机盐培养基冲洗菌体 3 次,收集菌体,用无机盐培养基稀释,使菌悬液在 600 nm 处 OD 值约为 1.0。

泥浆体系中混合微生物菌群去除 PAHs 试验:本研究对泥浆体系的强化调控因子有 3 个,分别是微生物,水土比(2:1、2.5:1 和 3:1)以及不同浓度的碳源(葡萄糖、淀粉和水杨酸)。取 20.0 g 人工制备的污染土壤于 150 ml 三角瓶中,依据不同的实验目的设置灭菌不添加混合微生物菌群的污染土壤和不灭

菌添加混合微生物菌群的污染土壤,研究混合微生物菌群对 PAHs 的降解效果,并确定合适的修复时间;设置不同水土比的泥浆体系,选择最合适的水土比;在体系中添加不同种类的碳源标准液,使体系中 TOC<sub>外加碳源</sub>:TOC<sub>PAHs</sub> 为 1:1、2:1、5:1 和 10:1。混合微生物按 5%(v/v)的接种量接种,选择嗜热菌和常温降解菌都能够较快速生长繁殖的温度 40℃<sup>[6]</sup>,于 150 r/min 避光条件下模拟生物泥浆反应器恒温振荡,定时取样。试验所用的所有容器及培养液都经过高温高压灭菌处理。

泥浆体系中 PAHs 的测定<sup>[13]</sup>将样品转移至 50 ml 玻璃离心管中,3 000 r/min 离心 30 min,上清液和等体积甲醇混合,过 0.22 μm 孔径滤膜,4℃ 保存供 PAHs 含量测定(经过测定,上清液中 PAHs 的含量很少,无法测出)。土壤样品经冷冻干燥后过 60 目筛,取 2.0 g 上述制备的土壤样品于 50 ml 玻璃离心管中,加入 2.0 g 无水硫酸钠,充分混匀。然后加入 10.0 ml 二氯甲烷,盖紧后超声萃取 1 h,4 000 r/min 离心 5 min;取 3.0 ml 上清液过硅胶柱净化,并用体积比为 1:1 的二氯甲烷和正己烷溶液洗脱;洗脱液收集至旋转蒸发瓶后,40℃ 下浓缩至干,用甲醇定容到 2.0 ml,过 0.22 μm 孔径滤膜后,-20℃ 保存供 PAHs 含量测定。经检测,该提取方法菲的回收率达到 93.2%,芘的回收率达到 90.7%。

HPLC 分析条件:色谱柱为 4.6 mm × 150 mm 烷基 C18 反相柱;流动相为甲醇:水=90:10,流速 1 ml/min;柱温为 30℃;进样量 20 μl;检测波长菲为 254 nm,芘为 240 nm。

## 2 结果与分析

### 2.1 混合微生物菌群对泥浆体系中菲和芘的去除效果

图 1 是灭菌不添加混合微生物菌群和灭菌添加混合微生物菌群的两种泥浆体系中菲和芘的去除率曲线,可见,经过灭菌处理的泥浆体系经过 30 天恒温振荡培养,菲的去除率不足 50.0%,芘的去除率也仅为 31.7%,体系中菲和芘去除作用的原因可能是

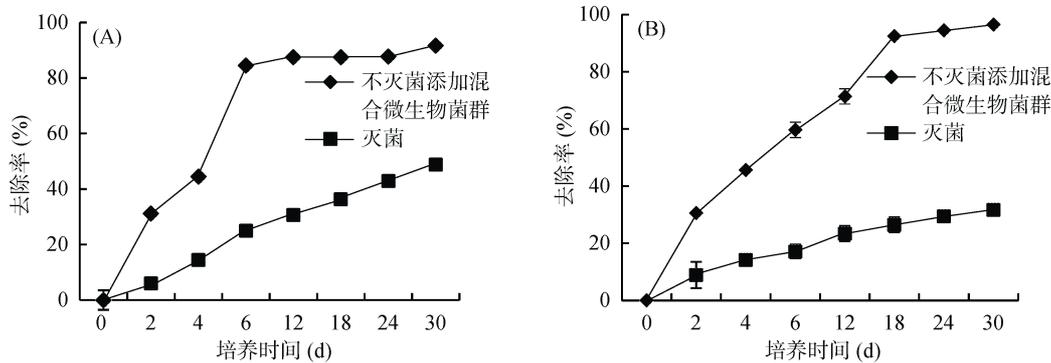


图 1 灭菌体系与不灭菌添加混合微生物菌群体系中菲(A)和芘(B)的去除曲线

Fig. 1 Removal curves of phenanthrene (A) and pyrene (B) in soil slurry with time in sterilization system and mixed microbes system

土著微生物得到了一定程度的恢复促进了菲、芘的降解,或是由于泥浆体系的升温过程使得部分 PAHs 挥发所致;而未灭菌添加混合微生物菌群的泥浆体系经过 18 天恒温振荡培养,菲的去除率达 87.6%,芘的去除率为 92.5%。结果表明,在未灭菌泥浆体系中混合微生物菌群处理对 PAHs 的去除效果显著( $P < 0.01$ )。根据单因素方差分析,培养 12 天和 18 天,菲的去除率已经没有任何显著性差异( $P > 0.05$ );培养 18 天和 24 天,芘的去除率也没有显著性差异( $P > 0.05$ )。因此在后续试验中,将体系运行时间确定为 18 天,既可以较为深度地修复菲和芘污染土壤,又可以有效节约处理成本。

菲和芘的降解动力学方程采用一级动力学模型进行拟合:  $C = C_0 e^{-\lambda t}$ , 式中:  $C$  为  $t$  时间土壤中菲或芘的浓度;  $C_0$  为土壤中菲或芘的初始浓度;  $\lambda$  为反应速率常数。采用最小二乘法和拟牛顿法,对土壤中菲或芘降解的动力学方程进行拟合,可以得到降解动力学模型中的各个参数值,结果见表 2。

表 2 灭菌体系与不灭菌添加混合微生物菌群体系中菲和芘的降解动力学方程和模型参数

Table 2 Degradation kinetic equations and parameters for phenanthrene and pyrene in sterilization system and mixed microbes system

体系	PAHs	降解动力学方程	$R^2$	半衰期(d)
灭菌	菲	$C = 5.549e^{-0.021t}$	0.95	29.8
	芘	$C = 5.763e^{-0.011t}$	0.89	55.6
不灭菌添加混合微生物菌群	菲	$C = 3.388e^{-0.074t}$	0.72	1.8
	芘	$C = 5.490e^{-0.114t}$	0.97	4.9

在本实验条件下,灭菌的泥浆体系中菲和芘的半衰期分别为 29.8 天和 55.6 天,而不灭菌添加混合微生物菌群的泥浆体系中菲和芘的半衰期分别为 1.8 天和 4.9 天。这说明混合微生物菌群的存在大大加速了泥浆体系中菲和芘的去除速率,缩短了菲和芘的半衰期,证明了泥浆体系中利用混合微生物菌群降解

PAHs 的可行性。从表 2 中还可以看出菲的拟合相关性相对较弱(拟合  $R^2 = 0.72$ ),这可能是由于土壤中的菲在 6 天之内基本就被微生物降解,之后土壤中残余的少量菲去除速率很小的缘故。

## 2.2 水土比对泥浆体系中菲和芘去除效果的影响

将污染土壤和水均匀地搅拌成泥浆便于泥浆体系中 PAHs 与微生物、营养物质、氧气等充分接触,使生物降解更彻底。其中适宜的水土比是生物反应器中的重要参数之一。本实验中设计了不同水土比研究其对泥浆体系中菲和芘去除效果的影响,见图 2。由图 2 可见,相同时间不同的水土比,分析其对泥浆体系中菲和芘的去除效果略有不同,经过 2 天培养,水土比为 2:1 的泥浆体系菲的去除率明显高于 2.5:1 和 3:1 的泥浆体系;经过 4 天和 6 天培养,水土比为 2:1 的泥浆体系芘的去除率明显高于 2.5:1 和 3:1,造成这种现象的原因可能是由于水土比低的泥浆体系中微生物、营养物质的浓度高而有利于微生物的快速生长繁殖,进而加速了体系中菲和芘的去除。而在体系运行至 12 天时,不同水土比的泥浆体系中菲和芘的去除率差别不大,这可能是由于试验进行到后期,不同水土比的泥浆体系中菲和芘已经得到较充分的去除。

利用 18 天内土壤中菲和芘的含量数据对菲和芘的降解动力学方程采用上述一级动力学模型进行拟合,可以得到降解动力学模型中的各个参数值,结果见表 3。

由表 3 可知,菲在 2:1 水土比条件下的半衰期最短为 3.1 天,2.5:1 和 3:1 水土比条件下的菲的半衰期分别为 3.6 天和 3.9 天,随着水土比的增大,菲的半衰期稍有增长;芘在 2:1 水土比条件下的半衰期最短为 5.0 天,2.5:1 和 3:1 水土比条件下的芘的半衰期分别为 5.8 天和 5.9 天,随着水土比的增大,芘的半衰期也稍有延长。

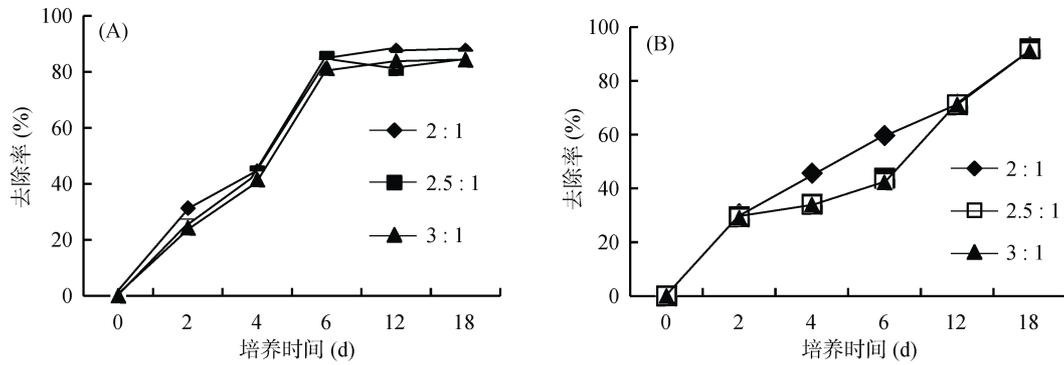


图 2 不同水土比对泥浆体系中菲(A)和芘(B)去除效果的影响  
Fig. 2 Influence of water/soil ratio on the degradation of phenanthrene (A) and pyrene (B)

表 3 不同水土比体系中菲和芘的降解动力学方程和模型参数

Table 3 Degradation kinetic equations and parameters for phenanthrene and pyrene in different water/soil ratios

体系	PAHs	降解动力学方程	R <sup>2</sup>	半衰期(d)
2 : 1	菲	$C = 4.309e^{-0.121t}$	0.75	3.1
	芘	$C = 6.033e^{-0.131t}$	0.96	5.0
2.5 : 1	菲	$C = 4.299e^{-0.103t}$	0.68	3.6
	芘	$C = 6.717e^{-0.132t}$	0.96	5.8
3 : 1	菲	$C = 4.508e^{-0.108t}$	0.74	3.9
	芘	$C = 6.641e^{-0.127t}$	0.97	5.9

根据上述结果分析，水土比对泥浆体系中菲和芘的去除效果有一定的影响，但是反应后期，不同水土比条件下菲和芘的去除效果差异不显著( $P>0.05$ )，在有利于搅拌通气的前提下，尽量采用最小的水土比，可以有效利用反应器的容积，增加单位体积处理污染土壤的数量，因此本实验选择最适宜的水土比是 2 : 1。

### 2.3 碳源对泥浆体系中菲和芘去除效果的影响

选择 3 种常见易获取的葡萄糖、淀粉和水杨酸作为碳源，对泥浆体系进行强化，其添加量为 TOC 外加碳源：TOC<sub>PAHs</sub> 为 1 : 1、2 : 1、5 : 1 和 10 : 1，即为 5、10、25 和 50 mg/L。为了比较不同碳源对修复过程中菲和芘去除效果的影响，选择对 12 天各体系中菲和芘的去除率进行比较。根据表 4 和表 5 显示结果，在体系中添加一定浓度的不同碳源，对菲的去除率均有不同程度的提高，其中向体系中添加 10 mg/L 的葡萄糖对菲的去除率的提高最有效；向体系中添加淀粉和低浓度的水杨酸(5 mg/L)作为碳源，对芘的去除率没有显著影响( $P>0.05$ )，而向体系中添加高浓度的水杨酸，会对芘的去除产生抑制作用，且水杨酸的浓度越高，对芘去除的抑制作用越大，低浓度的葡萄糖(5、10 mg/L)对芘去除有促进作用，而高浓度的葡萄糖对芘去除有抑制作用，这可能是由于 PAHs 降解菌较容

表 4 添加不同碳源的泥浆体系中菲的去除率(%)  
Table 4 Removal rate of phenanthrene from soil sully with different carbon sources

碳源	TOC 浓度(mg/L)			
	5	10	25	50
不添加碳源	87.6 ± 1.1 fF			
葡萄糖	90.5 ± 0.2 cC	94.7 ± 0.3 aA	89.5 ± 0.0 deDE	89.6 ± 0.0 deCDE
淀粉	89.6 ± 0.1 dCDE	89.5 ± 0.3 deDE	90.1 ± 0.4 cdCD	93.2 ± 0.1 bB
水杨酸	89.5 ± 0.5 deDE	89.5 ± 0.2 deDE	88.9 ± 0.1 eE	89.9 ± 0.1 cdCDE

注：用 t 检验法进行分析，所有处理组与不添加碳源相比，表中不同小写字表示处理组间差异显著( $P<0.05$ )；不同大写字母表示处理组间差异极显著( $P<0.01$ )，下表同。

表 5 添加不同碳源的泥浆体系中芘的去除率(%)  
Table 5 Removal rate of pyrene from soil sully with different carbon sources

碳源	TOC 浓度(mg/L)			
	5	10	25	50
不添加碳源	71.4 ± 2.5 bB			
葡萄糖	77.1 ± 0.4 aA	80.6 ± 0.3 aA	67.7 ± 0.5 bB	70.2 ± 0.8 bB
淀粉	69.2 ± 0.1 bB	68.8 ± 1.7 bB	68.7 ± 0.3 bB	69.2 ± 2.5 bB
水杨酸	67.5 ± 1.1 bB	62.5 ± 5.2 cC	61.0 ± 4.8 cdC	57.8 ± 1.4 dC

易利用速效碳源物质葡萄糖,抑制了微生物对芘的利用,从而造成了降解率的下降。考虑到碳源种类和浓度对 PAHs 去除效果的影响,在实际应用中应该选择向泥浆体系中添加适量的葡萄糖,使  $\text{TOC}_{\text{葡萄糖}} : \text{TOC}_{\text{PAHs}}$  为 2 : 1。

### 3 讨论

微生物降解是 PAHs 污染土壤最有效的修复技术之一。降解 PAHs 的微生物主要为细菌和真菌<sup>[14]</sup>。本研究中,未灭菌添加混合微生物体系与灭菌体系相比,PAHs 的去除率显著提高,这说明微生物降解是泥浆体系中 PAHs 去除的主要途径。这与张巧巧<sup>[16]</sup>等和刘巍巍等<sup>[17]</sup>的研究结论一致。这表明,在有机污染土壤中人为投加适合降解该污染物的、与土著微生物有很好相容性的高效菌株,可以明显促进土壤中有机污染物的降解。

从图 1 可以看出,随着时间的延长,菲和芘的去除率逐渐提高,而去除速率则逐渐减小。在试验前期,混合微生物菌群对泥浆体系中 PAHs 的生物降解能力较强,随着时间的延长去除率逐渐升高,但试验进行到后期,去除速率逐渐降低,最终混合微生物菌群的去除率基本保持稳定,说明降解过程基本停止。这一现象与陈海英等<sup>[18]</sup>以及李培军等<sup>[5]</sup>的研究结果相似。产生这种现象的原因是 PAHs 的生物有效性降低<sup>[19]</sup>以及养分含量减少<sup>[20]</sup>。泥浆体系中剩余较低浓度的菲和芘很难为微生物所利用,要去除这部分菲和芘,必须提供其他的降解条件。

菲和芘分别代表典型的 3 环和 4 环的 PAHs 类有机污染物,其分子结构和物理化学性质都有明显不同,被微生物分解的难易程度也不同。从表 2 和表 3 可看出,菲的半衰期比芘短,这说明菲的去除较芘更快。有研究<sup>[21]</sup>表明,随着分子量的增加,PAHs 的生物降解率大体呈现出减小的趋势。这主要是由于随着分子量的增大,PAHs 的憎水性增强,挥发性减小,PAHs 的沉积物-水分配系数增大,容易被固体颗粒和腐殖质表面吸附,PAHs 从土壤中释放的速度也越慢,且 PAHs 环状结构越复杂,越不易被微生物分解。但这种规律并非绝对,付登强等<sup>[23]</sup>人研究表明,酸性土壤中 PAHs 的去除率大小顺序为六环>五环>三环>四环;而中性和碱性土壤中 PAHs 的去除率大小顺序为六环>三环>五环>四环。

将污染土壤和水均匀地搅拌成泥浆有利于微生物的深度降解过程,其中水土比是生物反应器中的重要参数之一,可以显著影响 PAHs 的生物有效性。土壤中 PAHs 的吸附-解吸过程是控制其生物有效性及

其降解的主要过程之一<sup>[24]</sup>。在本研究中,试验初期 2 : 1 的水土比对土壤中菲和芘的去除率较高,而在试验进行至 12 天,不同水土比的泥浆体系中混合微生物菌群对菲和芘的去除率差别不大。Doick 和 Semple<sup>[26]</sup>研究了泥浆反应器的水土比对菲矿化的影响,发现在一定范围内增加水土比,菲矿化率增加,水土比在 2 : 1 到 5 : 1 之间菲的矿化率最高。巩宗强等<sup>[27]</sup>、许华夏等<sup>[28]</sup>以菲和芘为供试污染物,以水土比为调控因子,进行生物泥浆反应器对 PAHs 微生物降解研究,发现不同水土比(2 : 1、3 : 1、4 : 1 和 5 : 1)对微生物数量及 PAHs 的降解率均影响不大。

特定土壤微生物能够利用 PAHs 作为唯一碳源和能源或利用其他物质作为共代谢底物对 PAHs 进行深度降解,这是微生物强化降解去除土壤中 PAHs 的重要途径之一。目前已有利用有机废弃物、葡萄糖和淀粉等碳源物质来提高 PAHs 降解效率的相关研究<sup>[29]</sup>。在本研究中,在泥浆体系中添加一定量的不同碳源,对菲的去除率均有不同程度的提高,而对芘的去除率既有促进也有抑制。对菲和芘的去除率提高最有效的碳源是葡萄糖,浓度为  $\text{TOC}_{\text{葡萄糖}} : \text{TOC}_{\text{PAHs}} = 2 : 1$ 。Zhang 等<sup>[29]</sup>研究了有机废弃物污泥和牛粪对紫花苜蓿-微生物去除土壤中 PAHs 的影响,发现加入污泥和牛粪可有效增加紫花苜蓿-微生物对土壤中 PAHs 的去除。邹德勋等<sup>[30]</sup>以急性毒性较强的菲和遗传毒性较强的苯并[a]芘为代表性 PAHs 污染物研究了 PAHs 长期污染土壤的微生物强化修复,结果表明,添加碳源(淀粉和葡萄糖)提高了土壤 PAHs 的降解率。王蕾等<sup>[31]</sup>研究也表明外源添加碳源——邻苯二甲酸和葡萄糖对芘的降解效率有不同程度的提高。添加的碳源一方面改善了土壤微生物的营养条件,另一方面可以作为 PAHs 共代谢底物,因此对微生物降解 PAHs 有促进作用。碳源与目标污染物之间需要保持适当的浓度比例,否则高浓度的碳源会存在竞争而对 PAHs 的降解产生抑制。

### 4 结论

1) 40℃的泥浆体系中,利用两种优势微生物的混合接种方式可有效改善 PAHs 的去除效果,显著缩短菲和芘的半衰期。随着反应进程进行,菲和芘的去除率逐渐提高,而去除速率逐步降低,其中菲的去除较芘相对更快。确定该体系运行时间为 18 天,既可以充分修复菲和芘污染土壤,又可以节约处理成本。

2) 水土比对泥浆体系中 PAHs 的去除效果有影响,反应初期 2 : 1 的水土比对体系中菲和芘的去除率均较高,而在试验进行至 12 天,不同水土比的泥

浆体系中混合微生物菌群对菲和芘的去除效果差异不显著,因此,确定该反应体系最适宜的水土比为 2 : 1。

3) 在泥浆体系中添加一定量的不同碳源,对菲的去除率均有不同程度的提高,而对芘的去除率既有促进也有抑制,其中对菲和芘的去除率提高最有效的碳源是葡萄糖,浓度为  $\text{TOC}_{\text{葡萄糖}} : \text{TOC}_{\text{PAHs}} = 2 : 1$ 。

#### 参考文献：

- [1] Hadibarata T, Kristanti R A. Fate and cometabolic degradation of benzo[a]pyrene by white-rot fungus *Armillaria* sp. F022[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 107: 314–318
- [2] Quilliam R S, Rangecroft S, Emmett B A, et al. Is biochar a source or sink for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) compounds in agricultural soils?[J]. *Global Change Biology Bioenergy*, 2013, 5(2): 96–103
- [3] 付登强, 滕应, 骆永明, 等. 土壤 pH、水分及温度对长期污染土壤中苯并[a]芘动态变化的影响初探[J]. *土壤*, 2012, 44(3): 444–449
- [4] Chen S C, Liao C M. Health risk assessment on human exposed to environmental polycyclic aromatic hydrocarbons pollution sources[J]. *Science of the Total Environment*, 2006, 366(1): 112–123
- [5] 李培军, 巩宗强, 井欣, 等. 生物反应器法处理 PAHs 污染土壤的研究 [J]. *应用生态学报*, 2002, 13(3): 327–330
- [6] 崔静岚, 陈晨, 秦智慧, 等. 嗜热菌对有机污染物的降解及其应用研究进展[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(11): 3 218–3 226
- [7] Nasseri S, Kalantary R R, Nourieh N, et al. Influence of bioaugmentation in biodegradation of PAHs-contaminated soil in bio-slurry phase reactor[J]. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 2010, 7(3): 199–208
- [8] Moscoso F, Tejjiz I, Deive FJ, et al. Efficient PAHs biodegradation by a bacterial consortium at flask and bioreactor scale[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 119: 270–276
- [9] 谯华, 沈东升, 王何灵, 等. 生物泥浆反应器修复炸药污染土壤的影响因素[J]. *科技通报*, 2009, 25(2): 238–242
- [10] 魏连爽, 谢文娟, 林爱军. 两相分配生物反应器治理高浓度有机污染研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2012, 18(3): 511–517
- [11] Zhang Y, Wang F, Yang X, et al. Extracellular polymeric substances enhanced mass transfer of polycyclic aromatic hydrocarbons in the two-liquid-phase system for biodegradation[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 90(3): 1 063–1 071
- [12] Zhang Y, Wang F, Wei H, et al. Enhanced biodegradation of poorly available polycyclic aromatic hydrocarbons by easily available one[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 84: 72–78
- [13] 高彦征, 凌婉婷, 朱利中, 等. 黑麦草对多环芳烃污染土壤的修复作用及机制[J]. *农业环境科学学报*, 2005, 24(3): 498–502
- [14] Zeng J, Lin X, Jing Z, et al. Isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-degrading *Mycobacterium* spp. and the degradation in soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 183(1/2/3): 718–723
- [15] Balachandran C, Duraipandiyar V, Balakrishna K, et al. Petroleum and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) degradation and naphthalene metabolism in *Streptomyces* sp. (ERI-CPDA-1) isolated from oil contaminated soil[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 112(3): 83–90
- [16] 张巧巧, 赵叶君, 杨超光, 等. 一株芘降解菌的分离鉴定及其降解效果[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(7): 1 851–1 858
- [17] 刘魏魏, 尹睿, 林先贵, 等. 生物表面活性剂强化微生物修复多环芳烃污染土壤的初探[J]. *土壤学报*, 2010, 47(6): 1 118–1 125
- [18] 陈海英, 丁爱中, 豆俊峰, 等. 混合菌降解土壤中多环芳烃的实验研究[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(6): 1 111–1 116
- [19] Allan I J, Semple K T, Hare R, et al. Cyclodextrin enhanced biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and phenols in contaminated soil slurries[J]. *Environmental Sciences and Technology*, 2007, 41(15): 5 498–5 504
- [20] Teng Y, Luo Y M, Ping L F, et al. Effects of soil amendment with different carbon sources and other factors on the bioremediation of an aged PAH-contaminated soil[J]. *Biodegradation*, 2010, 21(2): 167–178
- [21] 毛健, 骆永明, 滕应, 等. 高分子量多环芳烃污染土壤的菌群修复研究[J]. *土壤学报*, 2010, 47(1): 163–167
- [22] Gennaro P D, Franzetti A, Bestetti G, et al. Slurry phase bioremediation of PAHs in industrial landfill samples at laboratory scale[J]. *Waste Management*, 2008, 28: 1 338–1 345
- [23] 付登强, 滕应, 骆永明, 等. 酸碱调控对泥浆反应去除土壤中多环芳烃的影响研究[J]. *土壤*, 2012, 44(5): 794–800
- [24] Wilcke W. Polycyclic aromatic hydrocarbons PAHs in soil: A review[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2000, 163: 229–248
- [25] 陈珊, 许宜平, 王子健. 有机污染物生物有效性的评价方法[J]. *环境化学*, 2011, 30(1): 158–164
- [26] Doick K J, Semple K T. The effect of soil water ratios on the internalization of phenanthrene LNAPL mixtures in soil[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 220: 29–33
- [27] 巩宗强, 李培军, 郭书海, 等. 多环芳烃污染土壤的生物泥浆法修复[J]. *环境科学*, 2001, 22(5): 112–116
- [28] 许华夏, 宋玉芳, 井欣, 等. 生物泥浆反应器中多环芳烃微生物降解调控因子研究[J]. *生态学杂志*, 2001, 20(2): 23–26
- [29] Zhang J, Lin X, Liu W, et al. Effect of organic wastes on the plant-microbe remediation for removal of aged PAHs in soils[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2012, 24(8): 1 476–1 482
- [30] 邹德勋, 骆永明, 滕应, 等. 多环芳烃长期污染土壤的微生物强化修复初步研究[J]. *土壤*, 2006, 38(5): 652–656
- [31] 王蕾, 聂麦茜, 王志盈, 等. 外加碳源对优良菌降解芘的影响研究[J]. *水处理技术*, 2009, 35(6): 24–31

## Removal of Phenanthrene and Pyrene from Soil Slurry by Mixed Microbes and Its Influencing Factors

LIU Yifan, ZONG Lianggang\*, SHI Yanfu, SUN Mingming, DU Xiafei

(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Phenanthrene and pyrene were used as representative polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to investigate their removal efficiencies from soil slurry by mixed microbes of thermophilic bacteria and PAHs degrading bacteria and their influencing factors of soil/water ratio, and the concentrations of glucose, starch and salicylic acid with indoor simulated experiments. The experiments were conducted at 40°C. At this temperature, the two kinds of microbes grow and reproduce quickly. The results showed that the removal rates of the two PAHs from soil slurry by the mixed microbes were significantly greater than those in control ( $P < 0.01$ ). The maximum removal rates of phenanthrene in a single day was 20%, and that of pyrene was 15.3%. With the progress of the reaction, the removal rates of phenanthrene and pyrene increased significantly, but the removal reaction rate gradually decreased. The half-life of phenanthrene was 1.8 d, and less than 4.9 d of pyrene. Therefore, the removal of phenanthrene was faster than that of pyrene. The most appropriate water/soil ratio for the removal of the PAHs by the mixed microbes in soil slurry was 2 : 1, and the carbon source was glucose with  $\text{TOC}_{\text{glucose}}/\text{TOC}_{\text{PAHs}}$  ratio of 2 : 1. The results presented in this study can provide theoretical basis and technical support for remediation of PAHs contaminated soil by mixed microbes.

**Key words:** PAHs; Soil slurry; Mixed microbes; Soil water ratio; Glucose