

土壤与水体有机污染的生物修复及其应用研究进展

王庆仁¹, 刘秀梅², 崔岩山¹, 董艺婷¹

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 山东农业大学资源与环境学院, 山东泰安 2711018)

摘要:系统论述了土壤、水有机污染物的主要来源、特点、有机污染生物修复的概念、应用范围、成功实例与研究进展等, 特别是对于泄漏石油污染的生物成功降解方法、效果, 土壤中易爆炸物如 TNT、废水中有机污染物的有效降解等, 评价了生物修复所具有的突出优势。对有机、无机污染物降解过程中植物、微生物筛选、基因修饰、分子克隆与转基因植物方面近年来所取得的惊人成果与突破性进展, 无疑正激励着人们开拓更大的应用范围。预计不久的将来, 更多具有环境净化与生物修复功能的商业性综合技术与高效性工程生物将投入应用。

关键词:生物修复; 有机污染; 生物降解; 土壤; 污水

Concept and advances of applied bioremediation for organic pollutants in soil and water

WANG Qing-Ren¹, LIU Xiu-Mei², CUI Yan-Shan¹, DONG Yi-Ting¹ (1. Research Center for Eco-Environmental Sci., Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. College of Resource and Environmental Sci., Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 2711018, China)

Abstract: Major sources and characteristics of organic pollutants in soil and water were systematically reviewed. It deals with the concept, application and advances of bioremediation. The success in biodegradation of petroleum spill, some hazardous pollutants, waste water treatment and other striking results in the field and laboratory were described. The advances in screening, gene modification and genetic engineering etc. have obtained some successful approaches. As more progress made in this area, it is estimated that integrated techniques with more effective engineered plants or microbes will meet peoples' requirement in the future.

Key words: bioremediation; organic pollutants; biodegradation; soil; wastewater

文章编号: 1000-0933(2001)01-0159-05 中图分类号: S154.1, X17 文献标识码: A

1 生物修复的概念及意义

生物修复(Bioremediation)是新近发展起来的一项清洁环境的低投资、高效益、便于应用、发展潜力较大的新兴技术。然而目前对于生物修复的概念尚无统一认识, Hamer 将生物修复的概念定义为“对环境肆虐的生物反应”, 即 Biological response to environmental abuse^[1]。作者认为, 确切的定义应该是: “利用特定的生物(植物、微生物或原生动)吸收、转化、清除或降解环境污染物, 实现环境净化、生态效应恢复的生物措施。”这一定义应该包括两个方面: 一是利用具有特殊生理生化功能的植物或特异微生物在原位修复污染场所(土壤或水体); 二是应用生物处理或生物循环过程, 通过精心设计与合理应用阻断或减少污染源向环境的直接排放。由此可见, 生物修复的作用是将过去曾受到污染的场所通过生物过程得以恢复或清除新近排放的污染物。这些污染物的主要来源是在有机、无机化工产品的生产、贮藏、运输或使用过程中偶然

基金项目: 中国科学院知识创新工程资助项目(KZCXZ-401-1)

收稿日期: 1999-09-22 修回日期: 2000-09-20

作者简介: 王庆仁(1956~), 男, 山东宁阳人, 博士, 副研究员。主要从事土壤污染防治与环境生态方面的研究。

或非偶然地释放到环境中所致。对无机(主要是重金属)污染的生物修复主要是通过植物途径,又称植物修复(Phytoremediation),而对有机污染的生物修复则主要靠微生物的降解、吸收与转化等途径。

虽然各国政府三令五申地强调限制性排放、加强废物管理、通过再利用、再循环等途径实现废弃物资源化,控制或减少直接排放所带来的环境压力,然而随着人口的持续增长,工农业的迅速发展以及都市化的不断扩大,对土壤与水体的有机污染仍呈大幅度增长趋势。特别是近年来大量使用生物异源物质(Xenobiotics),因抗性强、难以被微生物分解^[2],使污染环境的恢复更加困难。而难降解有机化合物因潜在的毒性强,难以清除,易产生诱变,具有生物富集、放大的特点,给人居环境所带来的压力不断增加。由此也激发了有机污染环境整治与修复技术的发展。而生物修复作为有效清除有机污染物、实现环境恢复与植被重建的新兴技术,给人们带来了新的希望与鼓舞。生物修复的特点是可将有机污染物部分或全部转化为微生物躯体或通过代谢作用,转变成对环境稳定的末端产物。

2 生物修复的类型与方法

对环境污染物的生物处理、修复技术大致可分作两类:原位生物降解和离位堆积或在一定的生物反应器中进行降解。原位降解技术的关键是筛选出高效吸收或降解污染物的生物突变体,能在污染土壤、沉积物、地表水或地下水中表现出对有机污染物较高的吸收能力或降解效率,而离位降解技术需将污染物(通常是土壤或沉积物)移入具有一定生物反应条件的容器、池塘中或进行生物堆积。有机污染物的原位修复技术需激活土著微生物群落的降解活性,或接种外源微生物种,添加营养成分如 N、P 等或在厌氧条件下提供外源电子受体(如 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 等)。尤其对于海上贮油罐泄漏,往往形成具有一定疏水层的海洋污染环境,主要成分是碳氢化合物。如在海上运输过程中常因事故导致原油严重泄漏。在这种情况下,不仅需要提供一些养分促进微生物对碳氢化合物的降解,而且还需要提供一个好氧环境以加速污染物的渗漏。否则,一方面不利于好氧微生物的活动,而且这些化合物漂浮于水面易于向异地迁移。离位修复技术也是一个好氧过程,通常采用固相或流体系统进行。土壤或沉积物若采用生物堆积时需添加一定的堆积辅料,如秸秆、碎木片等以增加堆积物对水分、空气的保持力,同时也可改善其物理性能而便于操作。对规模较大的工程性堆积,往往需要设置专用管道通入堆积物中以定时注入空气。必要时还需补充养分并接种高效微生物菌种。该项堆积技术适用于严重污染的场所且对于受爆炸物如 TNT、RDX 和 Teteryl 等污染军事基地的生物修复,取得了一定的成功经验^[3]。

3 生物修复在清除石油污染中的应用实例与效果

对于石油污染生物修复技术的应用实际上开始于 90 年代初,此前只是一些实验室研究和有限的野外试验。原因是 1989 年 3 月 24 日,美国的 Exxon Valdez 号油船触礁,41000 t 原油在阿拉斯加的 William Sound 王子岛泄漏。随水漂移后,2100 km 的海岸线(占阿拉斯加湾总海岸线的 15%)遭受污染。为了尽可能减少对该区野生动物和渔业资源的危害以及向其他海岸线迁移,迫切需要清除这些高浓度的原油。为此,美国政府 1989 年曾调动人员 11000 名,派出 1400 艘船只和 84 架直升机来尽快解决这一问题但难度很大^[4]。为此,Exxon 公司和美国环境保护协会(EPA)的科学家们联合提议尝试采用生物修复技术的可行性。在大量试验的基础上,首先在 120 km 的海岸线上进行了尝试。到 1990 年,海岸的油污明显减少,生物修复成为主要措施并发挥了巨大作用。1992 年美联邦调查组确认油污已基本清除,残留的油污可以靠微生物自行消解^[4]。

在决定采用生物修复技术以前,第一步是确认具有可降解石油的微生物在阿拉斯加水域丰富可得。于是立刻进行了大规模研究,发现在所有海洋环境样品中都有该类微生物,且近石油泄漏区的可降解微生物数量明显高于无污染的海区,原因是由于污染导致大量树木死亡与腐解,为微生物提供了丰富的碳源而加速了繁殖。同时,科学家们发现,某些“好油性”特异微生物群落在原油污染的地方表现出繁殖速度明显加快,其数量由总微生物群落的 $<0.1\%$ 增加到 $1\% \sim 10\%$ ^[4],由此激发起人们利用微生物修复石油污染海岸的兴趣。

为了提高石油降解微生物的繁殖率,增加降解能力,有必要为微生物繁殖提供一定的营养成分。于是迫切需要研制一种能够在潮间带存留一定时间而不被海水冲走的肥料。Inipol EPA-22 满足了这一要

求^[5],它是一种外表微乳化而内含 N、P 养分的肥料。因油性的表面易于与残油粘在一起,所以又称作“喜油肥(Oleophilic fertilizer)”。研究结果表明,施用该种肥料后,油的降解速率可提高 6~9 倍。特别是在阿拉斯加海湾鹅卵石很多的海滩上,机械或人工清除都很难实施的情况下,应用该种肥料取得了很好的效果。如在 Snug 港撒施 Inipol 8~10d 后,处理区油污可见明显减少,特别是鹅卵石表面的油污消失较快。对该区的生态监测结果表明,与相邻区比较,处理区海水中养分浓度并未增加,对浮游植物的调查分析说明,施用该种肥料后并未影响藻类生长,叶绿素结果均在期望值以内,施肥并未造成生态系统的任何不利影响^[4]。

美国所获得的这些结果足以证明生物修复是安全有效的措施。这一利用土著微生物,通过补充养分提高生物降解速率而清除石油污染的成功实例也受到其他国家的认可与采纳。如阿根廷 1992 年 10 月曾在 Puerto Rosales 集散地施用富含养分的肥料,靠土著微生物清除了 700 t 油罐的泄漏;科委特因石油泄漏污染了大片土地,科学家采用微生物技术成功地进行了降解。其中主要是 *Cellulomonas flavigena*, *Rhodococcus erythropolis* 和 *Arthrobacter* sp.。特别是蚕豆(*Vicia faba*)根际周围的 *C. flavigena* 可吸收大量的脂肪族和芳香族碳氢化合物^[6]。

4 生物修复在处理危险、有毒残留有机化合物中的应用

4.1 生物修复在降解土壤残留 TNT 中的应用

除可清除石油污染外,生物修复技术还成功地应用于其他化合物污染的修复。如原美军基地中军用化学物 2,4,6-三硝基甲苯(TNT)严重污染了当地的土壤。采用生物修复技术较传统的焚化脱污法显然具有价廉、适应性强、操作简单、避免了挖出土体而耗资费力且破坏自然景观与土层构造、加重环境负担的优点。因 TNT 的好氧性生物转化会导致中间产物偶氮键的形成,从而产生二聚化或多聚化作用而不是进行降解,但在厌氧条件下,不稳定的中间产物没有机会形成偶氮键,相反在生物降解过程中,首先是硝基依次被还原为氨基,然后才是芳香环的降解^[7]。在特定的厌氧条件下,检测结果说明,随着 TNT 浓度下降,最早出现的是 4-氨基-2,6-二硝基甲苯(4A26DNT),然后随着 4A26DNT 减少,2,4-二氨基-6 硝基甲苯(24DA6NT)开始出现。由此证明在连续反应体系中,硝基被依次还原的反应模式。进一步试验证明,不仅接种甲烷菌、调节 pH 7.0 时可以明显提高 TNT 的降解速率,而且适当振摇也可明显促进 TNT 的降解速率^[7]。类似的方法也曾用于除草剂二硝基丁酚(地乐酚)污染土壤的修复。

然而,不仅微生物,某些植物也可降解土壤中的 TNT。如据 Best 等报道,对受美国依阿华陆军弹药厂爆炸物所污染的地表水进行水生植物和湿地植物修复的筛选与应用研究中发现, 属植物(*Myriophyllum aquaticum* Vell. verdc)的效果甚佳^[8]。Roxanne 等研究了受 TNT 污染地表水的植物修复技术,在所用浓度为 1,5,10 mg/kg 的土壤条件下,与对照相比,利用植物的降解、移除量可达到 100%^[9]。另据 Peterson 等报道,在全美的原军事基地中,大约有 82 万 m³ 的土壤遭受了爆炸物污染,主要污染物是 TNT 及其降解的中间产物,利用植物-柳枝稷(*Panicum virgatum*)进行降解和修复是一有效途径^[10]。Burken 等报道了用¹⁴C 技术研究杂交杨对残留在土壤中莠去净的净化效果,认为通过杨树截干(平茬)可清除大部分所应用的莠去净且对树木生长没有任何副作用^[11]。

4.2 生物修复在汞污染治理中的应用

无机汞在污染土壤和沉积物中是相对较难移动的,且通过生物或化学过程可以转变成毒性很强、生物有效性很高的甲基汞。传统治理汞污染土壤造价昂贵、且需要挖出土体。为此,Heaton 等^[2]采用一种转基因水生植物——盐蒿和陆生植物拟南芥、烟草去除土壤中的无机 Hg 和甲基 Hg,这些植物携有经修饰的细菌 Hg 还原酶基因 merA,可将根系吸收的 Hg²⁺转化成低毒的 Hg⁰ 从植物体中挥发出来。而转入能表达细菌有机 Hg 裂解酶基因 merB 的植物可以将根系所吸收的甲基 Hg 转化成巯基结合态 Hg²⁺,拥有这两种基因的植物可有效地将离子态 Hg 和甲基 Hg 皆可转化成 Hg⁰ 而通过植物气孔挥发释入大气,但目前转基因植物方面的研究仍局限于模式植物拟南芥和烟草。

4.3 生物修复在治理 PAH、TCE 等有机污染中的应用

利用植物修复与修复多环芳烃(PAH)污染的土壤。如 Pradhan 等研究了原煤气生产厂污染土壤的植物修复技术,用 3 种植物进行了 6 个月的实验室研究,发现其中应用苜蓿(*Medicago sativa*)和柳枝稷

处理,6 个月后土壤中总 PAH 浓度减少了 57%,然后,再用苜蓿可进一步减少 PAH 总量的 15%^[13]。

William 等研究了植物对三氯乙烯(TCE)污染浅层地下水的气化、代谢效应,发现地下水中 TCE 的浓度远低于植物,范围是 0.4~90 mg/L,利用一种玻璃箱收集植物对 TCE 分解的蒸腾气体,采集植物的茎、叶、根分析 TCE 及 3 种代谢物:2,2,2-三氯乙烷(TCEt),2,2,2-三氯乙酸(TCAA)和 2,2-二氯乙酸(DCAA)。结果发现,污染场所中所有样品都可检测出 TCE 的气化挥发以及上述 3 种中间产物^[14]。

Aitchison 等用 ¹⁴C 研究了在水培和模拟土壤条件下杂交杨对 1,4-二氧六环化合物的降解、去除效果,发现水培条件下杂交杨茎、叶可快速去除污染物,8d 内平均清除率达 54%,但从模拟土壤中的清除较慢,18d 仅有 24%。其途径皆是由蒸腾吸收后通过叶片表面产生气化、挥发。而应用放线菌 CB1190 在未加土壤的培养下 1 个月可降解 100 mg/L,且杨树根系可增加微生物的降解活性,45d 内清除率达 100%^[15]。

5 生物修复技术在污水处理生物反应器中的应用

利用好氧微生物处理污水的不足之处是污泥的产生量过大,原因是好氧微生物的产量高、生长速率快。而厌氧菌生长速率和产菌量皆低于好氧菌,所以污泥的产量相对较低。Lettinga 等设计了一种上流式浸没反应器(Uplow submerged filter reactor),又称作逆流厌氧淤泥毯(Uplow anaerobic sludge blanket 即 UASB)式反应器。目前在全世界广为用作污水处理^[16]。主要原理是污水从底部进入后流经颗粒(直径 0.5~3mm 为宜)型淤泥床,床内由厌氧菌组成,通过自固定或加入少量的固体材料,如无机沉积物等而形成致密结构的颗粒,淤泥粒。当含有生物可降解有机物污水在 UASB 反应器中通过时,甲烷(CH₄)和 CO₂ 就会通过生物发酵(甲烷菌)反应释放出来。发酵菌在胞外酶或细胞结合态水解酶的作用下,将有机高分子化合物溶解成寡聚体或单体。这些寡聚体和单体由发酵微生物代谢产生乙酸盐、少量其他短链挥发性脂肪酸、氢气、CO₂、极少量的酒精和其他微量的发酵产物。挥发性脂肪酸、酒精和其他微量发酵物在乙酸菌作用下氧化成乙酸盐、氢气和 CO₂,而乙酸盐和氢气又可在解乙酸、氢营养型甲烷菌的作用下转化成 CH₄ 和 CO₂。

相对于其他系统而言,UASB 反应器有许多优点。例如,污水中所存在的有机物降解后主要被转化成生物气体(CH₄ 和 CO₂ 的混合物),可作为能源进一步利用。另外,由于大部分有机碳不是用作生物生产,从而较好氧处理过程大量减少了过多污泥的产生。此外,淤泥颗粒物非常稳定、可贮藏数年并可以再生使用^[17]。为此,以厌氧微生物处理为主的 UASB 反应器在全世界得到广泛应用。成功的例子有制糖厂、马铃薯加工厂、啤酒厂、冰淇淋厂、屠宰厂等^[18]。甚至对于含有许多人为化学物质的污水,如造纸废水、酚类等也有良好的处理效果。如试验研究表明,反应器中加入含有一定矿质盐、3.0 mg/L 的五氯苯酚和 15 mg/L 的酚,在第一反应器中加入 0.9 g/L 葡萄糖作为微生物的碳源,4d 后大约 75%的五氯苯酚已消失,10d 后在加入葡萄糖反应器出口处检测不到五氯苯酚(检测限为 20×10⁻⁹)。同位素试验表明,使用颗粒型污泥,对五氯苯酚降解反应器接种后,90%的 ¹⁴C-五氯苯酚在第 3 反应器中以 CH₄ 和 CO₂ 的形态得到回收^[19]。

6 结论与展望

总之,生物修复在土壤、水有机污染物的降解与环境修复中具有重要意义。利用植物或微生物进行有机污染物的生物降解是一项经济、有效、对环境具有美化效应的新兴技术,末端产物通常对环境无害,不会导致二次污染。为此,生物修复技术近年来得到了越来越广泛的应用。特别是对于残留在土壤或水体中的危险、有毒污染物,如 TNT、石油、农药、甲基汞等,生物修复技术具有独特的、不可替代的作用。

我国在有机污染环境生物修复方面也曾进行过大量的基础性工作,如丁树荣^[20]、程树培等^[21]用植物进行了净化废水的研究,孙铁珩研究了水葫芦对污水的净化效果^[22],金 等曾从石油污染土壤中分离出可降解机油的 3 株细菌,最高除油率达 90.5%~100%^[23]。赵荫薇从石油污染的水域中分离出 10 株除油菌,单菌除油率为 20%~50%,混合菌除油率达 71.4%^[24]。

近年来,生物修复技术在国内外皆得到较快发展,一批具有特殊生理生化功能的植物、微生物应运而生,基因修饰、改造,克隆与基因转移等现代生物技术的渗透,推动了生物修复技术的进一步应用与发展,同时也给人带来数据大的希望。预计随着研究水平的不断提高,范围不断扩大,一些更加有效、适应性更强的工程植物、微生物将会诞生出来并将产生更大的自然、经济、社会效益。

参考文献

- [1] Hamer G. Bioremediation: a response to gross environmental abuse. *Trends Biotechnol.*, 1993, **11**: 317~319.
- [2] Baker K H and Herson D S. Microbiology and biodegradation. In: Baker KH and Herson DS Eds. *Bioremediation*. New York: McGraw-Hill. 1994, 9~60.
- [3] Williams R T, Zeigenfuss P S, Mohrman G B, *et al.* The application of composting techniques for bioremediation of highly contaminated sites. In: *Air and Waste Management Association*. Hazardous waste treatment; Biosystems for pollution control. PA USA; Pittsburgh. 1989, 269~281.
- [4] Lessard R R, Wilkinson J B, Prince R C, *et al.* Bioremediation application in the clean up of the 1989 Alaska oil spill. In: Schepart B S Ed. *Bioremediation of pollutants in soil and water*. Philadelphia USA: ASTM. 1995, 207~225.
- [5] Ladousse A and Tramier B. Results of 12 years of research in spilled oil bioremediation: Inipol EAP-22. In: *Proceedings of the 1991 Int. Oil Spill Conf.* March 4~7, 1997, California USA: San Diego. 577~581.
- [6] Randwan S S, Al-Awadhi H, Sorkhoh N A, *et al.* Rhizospheric hydrocarbon-utilizing microorganisms as potential contributors to phytoremediation for the oily Kuwaiti desert. *Microbiol. Res.*, 1998, **153**(3): 247~251.
- [7] Daniel B P, Korus R A and Crauford D L. Anaerobic bioremediation of munitions-contaminated soil. In: Schepart B S Ed. *Bioremediation of pollutants in soil and water*. Philadelphia USA: ASTM. 1995, 161~176.
- [8] Best E P H, Zappi M E, Fredrickson H L, *et al.* Screening of aquatic and wetland plant species for phytoremediation of explosive-contaminated ground water from the Iowa army ammunition plant. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1997, **829**: 179~194.
- [9] Roxanne R, Medina V F, Larson S L, *et al.* Phytotreatment of TNT-contaminated ground water. *J. Soil Contam.*, 1998, **7**(4): 511~529.
- [10] Peterson M M, Horst G L, Shea P J, *et al.* Germination and seedling development of switchgrass and smooth brome grass exposed to 2,4, 6-trinitrotoluene. *Environ. Pollut.*, 1998, **99**(1): 53~59.
- [11] Burken J G and Schnoor J L. Phytoremediation: Plant uptake of atrazine and role of root exudates. *J. Environ.*, 1996, **122**(11): 958~963.
- [12] Heaton A C P, Rugh C L, Wang N, *et al.* Phytoremediation of mercury- and methylmercury-polluted soils using genetically engineered plants. *J. Soil Contam.*, 1998, **7**(4): 497~509.
- [13] Pradhan S P, Conrad J R, Paterek J R, *et al.* Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil and MGP sites. *J. Soil Contam.*, 1998, **7**(4): 467~480.
- [14] Docette W J, Bugbee B, Hayhurst S, *et al.* Phytoremediation of dissolved-phase trichloroethylene using mature vegetation. In: Wickranana-yak G B and Hinchee R E Eds. *Bioremediation, phytoremediation Int. Conf. Rem. Chlorinated Recalcitrant Compd.* Columibus, Ohio: Battelle press. 1998, 251~256.
- [15] Aitchison E W, Kelley S L, Schnoor J L, *et al.* Phytoremediation of 1,4-dioxane by hybrid polars. *Proc. - WEFTCE'97, Water Environ. Fed. Annu. Conf. Expo.*, 1997, **3**(70): 101~107.
- [16] Lettinga G and Hulshof L W. UASB process design for various types of wastewaters. In: Malina J F Jr and Pohland F G Eds. *Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes*. Water quality management library, vol. 7, Pennsylvania USA: Technomic publishing.
- [17] Hendriksen H V, Larsen S and Ahning B K. Influence of a supplemental carbon source of anaerobic dechlorination of pentachlorophenol in granular sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, **58**: 365~370.
- [18] Schmidt J E and Ahning B K. Review-granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnol. Bieng.*, 1996, **49**: 229~246.
- [19] Wu W M, Bhatnagar L and Zeikus J G. Anaerobic degradation of benzaldehyde in methanogenic granular sludge: the influence of additional substrate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1992, **38**: 417~420.
- [20] 丁树荣. 利用人工基质无土栽培多花黑麦草净化缙丝废水的研究. *中国环境科学*, 1992, **12**(1): 9~15.
- [21] 程树培, 丁树荣, 胡志明. 利用人工基质无土栽培水菹菜净化缙丝废水研究. *环境科学*, 1992, **12**(4): 47~51.
- [22] 孙铁珩. 水葫芦在污水生态处理系统中的作用及其利用途径. *生态学杂志*, 1984, **5**: 36~40.
- [23] 金, 谢思琴, 顾宗瀛. 石油降解菌的分离、鉴定及其降解能力的研究. *应用与环境生物学报*, 1995, 增刊: 127~129.
- [24] 赵荫薇, 王世明, 张建法. 石油污染地表水的微生物处理——应用研究. *应用生态学报*, 1998, **9**(2): 209~212.