

污染土壤微生物修复技术主要研究内容和方法

杨国栋

(山西大学环境科学系, 山西 太原 030006)

摘要: 综述和介绍了污染土壤的生物修复技术研究现状和国外生物修复技术的最新研究内容和方法。

关键词: 污染土壤; 生物修复; 内容和方法

中图分类号: S154.39 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000 – 0267(2001)04 – 0286 – 03

New Contents and Methodologies on Microbial Remedy Technology for Contaminated Soil in Situ

YANG Guo-dong

(Department of Environmental Science, Shanxi University, Taiyuan 030006 China)

Abstract: Current research progress on bioremediation technologies of contaminated soil was reviewed and new study on contents and methodologies of bioremediation in situ abroad was described in the present paper.

Keywords: contaminated soil; bioremediation; content and method

生物修复(bioremediation)是利用微生物和植物等生物措施治理土壤污染的新的环保技术,其在治理土壤污染方面的作用越来越受到广泛的关注。美国能源部(DOE)生物和环境局下设的自然和加速生物修复研究(NABIR)计划与大学、环保研究机构 and 环保工程公司一道,对生物修复技术的基础理论和应用进行了系统的研究。目前一些生物修复技术已广泛应用于地下水、地表水和海洋污染的治理和恢复。国外在环保产业化方面,已成功地研发出各种生物制剂(微生物制剂),直接用于污染水体的治理,如用于海上原油泄漏的应急处理和试验场地污染的净化治理。

有关土壤生物修复技术研究及其前景文献^[1-8]曾有报道,但触及微生物修复技术的研究内容及方法的报道则很少。本文就近几年污染土壤的微生物修复技术的主要研究领域、研究内容和方法作简单介绍,同时给出了国外生物修复技术的有关因特网站点,供我国农业环保工作者深入该领域研究时参考。

1 微生物修复技术应用

微生物具有氧化、还原、分离以及转移和变换元素周期表中的大部分元素的能力。所谓的生物修复就是利用微生物的上述能力去除和解毒土壤、底泥沉积物和地下水中的污染物,从而使污染的土壤部分或完全恢复到原始状态。微生物修复技术方法目前主要有3种:原位修复技术、异位修复技术和原位—异位修复技术。

1.1 原位修复技术

收稿日期: 2000 – 07 – 29

作者简介: 杨国栋(1959—),男,山西大学环境科学系副教授,从事环境管理学及土壤环境学教学和科研。

原位修复技术是在不破坏土壤基本结构的情况下的微生物修复技术,有投菌法、生物培养法和生物通气法等,主要用于被有机污染物污染的土壤修复。

投菌法是直接向受到污染的土壤中接入外源污染物降解菌,同时投加微生物生长所需的营养物质,通过微生物对污染物的降解和代谢达到去除污染物的目的。生物培养法是定期向土壤中投加过氧化氢和营养物,过氧化氢则在代谢过程中作为电子受体,以满足土壤微生物代谢,将污染物彻底矿化为CO₂和H₂O。生物通气法是一种加压氧化的生物降解方法,它是在污染的土壤上打上几眼深井,安装鼓风机和抽真空机,将空气强行排入土壤中,然后抽出,土壤中的挥发性有机物也随之去除。在通入空气时,加入一定量的氨气,可为土壤中的降解菌提供所需要的氮源,提高微生物的活性,增加去除效率。

1.2 异位修复技术

异位修复处理污染土壤时,需要对污染的土壤进行大范围的扰动,主要技术包括预制床技术、生物反应器技术、厌氧处理和常规的堆肥法。

预制床技术是在平台上铺上砂子和石子,将污染的土壤以15—30 cm的厚度平铺其上,并加入营养液和水,必要时加入表面活性剂,定期翻动充氧,以满足土壤微生物对氧的需要,处理过程中流出的渗滤液,即时回灌于土层上,以彻底清除污染物。生物反应器技术是把污染的土壤移到生物反应器,加水混合成泥浆,调节适宜的pH值,同时加入一定量的营养物质和表面活性剂,底部鼓入空气充氧,满足微生物所需氧气的同时,使微生物与污染物充分接触,加速污染物的降解,降解完成后,过滤脱水。这种方法处理效果好,速度快,但仅仅适宜于小范围的污染治理。厌氧处理技术适于高浓度的有机污染的土壤处理,但处理条件难于控制。常规堆肥法是传统堆肥和生物治理

技术的结合,向土壤中掺入枯枝落叶或粪肥,加入石灰调节 pH 值,人工充氧,依靠其自然存在的微生物使有机物向稳定的腐殖质转化,是一种有机物高温降解的固相过程。

以上方法要想获得高的污染去除效率,关键是菌种的驯化和筛选。由于几乎每一种有机污染物或重金属都能找到多种有益的降解微生物,因此,寻找高效污染物降解菌是生物修复技术研究的热点。

2 微生物修复技术的主要研究内容和方法

微生物修复技术主要用于被有机污染物和重金属污染,当然也包括被氯化烃、金属复合试剂、放射性物质等污染土壤治理,通过适用性微生物修复技术的研究拟将其推广应用于解决各类环境污染问题。目前,该领域的主要研究内容包括以下几个方面。

2.1 生物转化和生物降解

从微生物学角度研究复合污染物生物转化和降解的机理和途径。如原位微生物修复过程中被固定重金属的长期稳定性研究;开发原位固定技术,包括利用微生物系统固定有机污染物、重金属和放射性核素等。这些研究是基于厌氧微生物还原可氧化、可溶金属及其金属氧化物 (Cr_2O_3 , UO_2) 以及硫化物(FeS , MnS , FeAsS , AsS_2 , MoS_2)和个别以元素形式存在的类金属(As , Se)的能力。如果在耕作层以下能维持还原状态,那么这些金属将是不可溶的。事实上没有人为扰动要维持耕作层以下的还原状态需要很长的时间。因此,需要结合实验室观察和研究被微生物还原作用所固定的金属和类金属的长期稳定性,并建立相应的数学模型。研究方法一般采用动态淋溶法,即在存在和缺乏微生物活性情况下,进行稳定化金属污染物的一维和二维淋溶实验,研究结果将用于地质化学模型的建立,用以模拟被固定金属的稳定性,该模型亦将适合非生物和微生物增强淋溶的动力学研究。

2.2 团体动力学和微生物学

主要研究生态系统中生命的和非生命的成分之间的相互作用和生态学过程,以便了解这种作用过程对混合污染物的降解持久性、可移动性和毒性的影响。研究内容包括影响生物修复作用的金属和微生物之间的生态学相互作用等。如通过对磷酸脂的分析评价微生物生物质量和群体结构,或者采用去性梯度胶分离基因产品(16ssrRNA),从中获取部分片段通过 PCR (polymerase chain reaction) 放大作用评价群体结构;通过 ^{14}C 的分解代谢评价微生物的活性。通过分析金属浓度对提取微生物群体的活性的影响,确定微生物对呼吸抑制剂(作为原位有效性金属的生物指示剂)的抗性水平和理解金属抗性的生理学机理。通过研究分析在污染土壤中微生物群体的多样性和活性。

上述研究便于①深入了解在重金属(铅、镉)、物理化学环境和微生物利用有机污染物能力之间的相互作用,以代替现行的经验方法;②利用微生物群体多样性和对重金属的耐性,确定污染位点“可生物有效的”(bio – available)金属的负荷。

2.3 分子生物学和分子生物工程

重点在生物修复的分子生物学和结构生物学方面。通过研究强化对于生物修复技术的理解和改善生物修复微生物的效能,筛选和鉴定新的修复基因和基因产品。放射性核素—有机复合物的生物降解的单分子研究是目前这一领域的研究重点,通过对生物修复活性酶分子学水平的研究,使人们有机会了解生物降解过程的基础。

研究表明,与络合剂(EDTA, NTA(Nitrilotriacetate), DTPA (Diethylenetriamine pentaacetate)) 复合的放射性核素在地下水中有很高的移动性,微生物对于络合剂的生物降解有助于环境中放射性核素的固定。研究人员已提纯了来自 NTA 降解微生物的 NTA 单氧化酶(Monooxygenase)和来自 EDTA 降解微生物的 EDTA 单氧化酶,并且正在利用一种新的单分子方法从分子水平利用这种单分子酶实验,试图通过化学筛选和从基因水平上对 NTA 单氧化酶和 EDTA 单氧化酶进行改良,改善生物修复活性酶以求获得更有效的酶系统。

另外,通过对原始和受污染底层微生物群体基因表达的比较,研究金属存在是否会对基因表达产生影响,以及金属抗性基因表达在金属胁迫时是否增加了微生物的群体抗性和多样性。

2.4 生物地球化学动力学

研究原位地球化学、地质学、水力学和微生物学过程之间的动态关系。

通过地球化学和酶反应过程研究,深入了解微生物诱导有毒金属和放射性核素的还原作用。研究重点集中在微生物的直接还原作用及对诱导 Cr 和 Co – EDTA 还原代谢产物的影响,评估 Cr(VI) 或 Co(III) – EDTA 是否是直接异化过程诱导的或与厌氧微生物代谢物质(如硫化物或二价铁)二次反应诱导的。确定一定环境条件下还原作用的速率和机理,同时利用电化学、色谱学和光谱学方法测定液相和固相中的反应产物,这样便于确定什么条件下微生物学或化学机理会影响 Co(III) EDTA 和 Cr(VI) 的还原,并对控制 Cr 和 Co 移动性的还原速率和机理量化。

2.5 生物修复技术评价

研究和开发监测和验证生物修复技术的生物和地球化学方法。

研究内容包括:①定量确定底层微生物代谢活性,研究信息将用于生物修复战略的可行性评价。目前广泛采用单井抽排法以获取微生物的代谢活性,单井抽排试验法是一个获取地下水中微生物信息的全新和有力的原位测试方法。田间实验证明,抽排实验法是量化受重金属、碳氢化合物和氯化溶剂污染位点好氧呼吸作用和脱氮作用非常有用的方法;②选择和优化能替代硝基苯的酶基质,以便原位测定具有代谢活性的微生物的生物量和 Fe(III) 和硫酸盐的还原活性;③选择和优化电子给予体、电子受体和抑制剂的浓度和组合。

2.6 细菌运移

研究营养物质和微生物的流动和运移,重点开发用于加速和优化生物修复速率的有效方法。目前主要研究异质性和生长对饱和和多孔介质微生物运移的影响和对金属氧化物化学异

质性效果的评价。

2.6.1 异质性和生长对饱和和多孔介质微生物运移的影响研究

有机络合剂同放射性核素的共处置会导致这些危险废物的极强的可移动性。从物理和化学角度讲,对这些复合物的生物地球化学上改变的成功与否,最终受到异质多孔介质里细菌运移和分布的控制。细菌的运移在非生长状态下呈惰性生物胶体,研究表明在地下水中增强水相中的细菌浓度与增强细菌运移有极强的相似性。因此,为了准确地表达在原有生物修复期间细菌的运移,必须将生长过程合并和关联到一个易变的微生物群体当中。

通过异质多孔介质里控制运移原始过程的受控实验,将获得有关①微生物在最初运移过程中的生长和繁殖;②在异质多孔介质中控制细菌运移的主要过程;③用于预测大田条件下这些关联的、非线性过程的有效定位方法等方面的资料。

2.6.2 好氧和厌氧环境条件下细菌运移的增强和对金属氧化物化学异质性的效果评估

主要研究①细菌优先附着于 Fe 氧化物的潜力;②确定细菌在不同渗透带中的移动距离及附着作用;③通过减少异化 Fe 还原细菌和其它细菌的附着,在增强细菌运移中微生物对 Fe 还原作用的潜在影响。

研究在实验室和大田条件下进行。利用放射性标记细菌研究 Fe、Mn 氧化物对细菌附着的作用。采用液体闪烁记数和自动射线照相术测定细菌的宏观分布。实验观察到的细菌分布将同使用电子显微镜扫描得到的 Fe 和 Mn 氧化物显微成像分布图进行比较。大田研究主要是对需氧和厌氧流场中被 C 和 N 同位素标记的土著细菌菌株主动运移的定量化。为了确定细菌运移过程的附着和化学异质性的重要性,在厌氧基质下,采用注射实验对一种野生类型细菌的相对移动距离和用二种同位素标记(C 和 N)的同一土著附着缺陷变异细菌菌株进行比较研究。了解影响运移的因素后,通过控制环境或注射细菌菌株,便于随时通过污染带有效地分散细菌。

研究获得的完整数据用于一维模型的建立,以便确定吸附/解吸作用参数。大田研究获得的数据将用于描述和建立细菌运移的三维高解析计算机模型。

2.7 微生物修复的系统工程、预测和优化

开发用于描述复合地质系统中生物修复方法的完整组成和参数化评价模型,作为微生物修复技术集成、预测和优化的工具。

由于重金属在地下水系统中的移动和传输明显受生物活动的影响,因此,生物方法可以用来固定痕量重金属或通过交替变化使其重新变为可移动金属,以便加速污染位点的清除。目前的研究重点集中在地下水系统中影响痕量金属的生物学和地球化学方法,通过实验室和大田研究,采用非线性数学方法对获取的实验研究数据进行筛选,找出关键的变量和相关系数,用于构建可信度很高的评价模型。

3 因特网生物修复技术信息资源

生物修复、教育、科学和技术(BEST—Bioremediation, Education, Science and Technology) <http://Mendel.Berkeley.edu/BEST/>。生物修复技术讨论组(Bioremediation Discussion Group) <http://biogroup.gzea.com/>。生物在线出版物 <http://www.bdt.org.br/bioline/>。因特网上的生物修复资源 <http://gwrp.cciw.ca/internet/bioremediation/>。生物技术工业组织(Biotechnology Industry Organization) <http://www.lbl.gov/nabir/help/>。生物处理新闻(Biotreatment News) <http://www.bio.org/news/bnt.dgw/>。犹他大学环境技术中心(Center for Environmental Technology at UT Knoxville) <http://www.ra.utk.edu/ceb/home.htm>。有害废物清洁信息(CLU—IN Hazardous Waste Clean—up information) <http://clu-in.com/>。环境信息资源(EnvironInfo) <http://www.deb.uminho.pt/fontes/enviroinfo/enviroinfo.htm>。哈佛大学生物学实验室生物科学资源主页(Harvard Biological Labs Biosciences Resources Page) <http://golgi.harvard.edu/biopages.html>。微生物生态学国际学会(International Society for Microbial Ecology) <http://microbes.org/>。极端环境中的生命(Life in Extreme Environments (LEExEn) <http://www.nsf.gov/home/crssprgm/lexen/start.htm>。超级基金基础研究计划(Superfund Basic Research Program) <http://www.niehs.nih.gov/sbrp/home.htm>。TIGR 微生物数据库(TIGR Microbial Database) <http://www.tigr.org/tdb/mdb/mdb.html>。UC 生物技术计划(UC Biotechnology STAR Project) <http://www-biotech.berkeley.edu/>。明尼苏达大学生物催化/生物降解数据库(University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database) <http://dragon.labmed.umn.edu/~lynda/index.html>。华盛顿大学海洋生物修复计划 <http://weber.u.washington.edu/~uwmbp/hmmbp.html>。

参考文献:

- [1] 赵爱芬, 赵雪, 常学社. 植物对污染土壤修复作用研究进展[J]. 土壤通报, 2000, 31(1): 43—46.
- [2] 宋静, 朱萌涓. 土壤重金属污染修复技术[J]. 农业环境保护, 1998, 17(6): 271—273.
- [3] 龚月桦, 王俊儒, 高俊凤. 植物修复技术及其在环境保护中的应用[J]. 农业环境保护, 1998, 17(6): 268—270.
- [4] 蒋先军, 骆永明, 赵其国. 土壤重金属污染的植物提取修复技术及其应用前景[J]. 农业环境保护, 2000, 19(3): 179—183.
- [5] 张春桂. 污染土壤生物修复技术[J]. 生态学杂志, 1997, 16(4): 52—58.
- [6] 李静, 张甲耀, 夏盛林, 等. 污染地下水的生物修复技术[J]. 农业环境保护, 1997, 16(6): 283—285.
- [7] 张甲耀. 生物修复技术研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 1996, 2(2): 193—199.
- [8] 唐世荣. 污染土壤的植物修复技术及其研究进展[J]. 上海环境科学, 1995, 14(12): 37—39.