

有机物在土壤水环境中生物降解规律实验研究

刘 凌 ,崔广柏

(河海大学水文水资源及环境学院 ,江苏 南京 210098)

摘要 :以有机物苯、甲苯和萘为实验对象 ,研究有机物在土壤水环境中生物降解的规律 .实验内容包括 吸附过程与吸附平衡实验、有机物在水相中生物降解实验以及在土壤水环境中生物降解实验 .实验结果显示 ,三种物质的吸附能力为 苯 < 甲苯 < 萘 ,吸附等温线均可表示为线性等温线 ;有机物在水相中的生物降解速度为 甲苯 > 萘 > 苯 ,有机物在土壤水环境中生物降解速度为 苯 > 甲苯 > 萘 ;有机物在土壤水环境中总的生物降解速度是其在土壤颗粒内部吸附 /解吸速度与在外部水溶液中生物降解速度相互影响的综合结果 .

关键词 :有机物 ;土壤水环境 ;生物降解 ;实验研究

中图分类号 :X131 文献标识码 :A 文章编号 :1000-198X(2000)06-0006-05

土地生物处理是利用土壤水环境中固有微生物 ,在适宜的生物降解条件下 ,降解土壤中有机污染物的一种处理方法^[1] ,这种方法相比于其它处理方法如 :废物填埋、焚烧或土壤洗涤等来说 ,对环境破坏性小 ,经济有效 ,因而近年来已引起人们广泛的重视 ,并在许多国家得到了有效的应用^[2,3] .但是 ,有机污染物在土壤水环境中生物降解的过程非常复杂^[4] ,影响因素很多 ,目前人们对大多数有机物在土壤水环境中生物降解的规律还没有完全了解 ,尤其在我国 ,至今为止还没有大规模的土地生物处理工程的应用 ,为了能够有效地使用这一处理方法 ,首先必须探索有机物在土壤水环境中生物降解的规律 .目前出现在土壤及地下水中最主要的一类有机污染物是苯、甲苯和萘等可溶性芳香烃类有机物 ,因此 ,本文拟以苯、甲苯和萘三种有机物为对象 ,通过实验研究 ,探索有机物在土壤水环境中生物降解的规律 ,为土地生物处理工程奠定基础 .

1 实 验 材 料

1.1 土 壤

采取表土层 0 ~ 30 cm 处土壤样品 ,放在厚纸上摊开 ,趁半干状态将土样轻轻压碎 ,去掉大的植物根茎 ,摊成薄层 ,让其在阴凉处慢慢风干 .风干后的样品过尼龙筛 ,以去掉 2 mm 以上的沙砾 .对土壤样品进行物理和化学性质分析 ,其结果见表 1 所示 .

表 1 土壤样品性质
Table 1 Characteristics of the soil samples

参数	数值
土壤深度 /cm	0 ~ 30
粘土 /%	23.1
粉沙土 /%	60.6
沙土 /%	16.3
有机碳含量 /%	1.06
细菌数 /10 ⁶ · g ⁻¹	14.4
pH	6.9

表 2 营养液的组成
Table 2 Composition of nutrient solution

物质种类	作用	浓度 / (mg · L ⁻¹)	物质种类	作用	浓度 / (mg · L ⁻¹)
O ₂	电子接受体	8 ~ 10(饱和)	FeCl ₂ · 4H ₂ O	无机营养物	1.0
KH ₂ PO ₄	缓冲溶液 (pH = 7.1)	8.5	MnCl ₂ · 4H ₂ O	无机营养物	0.125
K ₂ HPO ₄	缓冲溶液 (pH = 7.1)	21.8	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	无机营养物	0.025
Na ₂ HPO ₄ · 7H ₂ O	缓冲溶液 (pH = 7.1)	33.4	CuCl ₂	无机营养物	0.007 5
NH ₄ Cl	无机营养物	29.8	Na ₂ SeO ₃	无机营养物	0.005
MgSO ₄ · 7H ₂ O	无机营养物	22.5	H ₃ BO ₃	无机营养物	0.012 5
Na ₂ SO ₄	无机营养物	1.85	ZnCl ₂	无机营养物	0.012 5
NaNO ₃	无机营养物	13.8	AlCl ₃	无机营养物	0.012 5
CaCl ₂	无机营养物	27.5	CoCl ₂ · 6H ₂ O	无机营养物	0.012 5
NaHCO ₃	无机营养物	20	N[(NO ₃) ₂	无机营养物	0.012 5
FeCl ₃ · 6H ₂ O	无机营养物	0.25			

1.2 细菌的培养

取 50 g 土壤样品浸入到 500 mL 营养液中 ,营养液的组成如表 2 所示 ,在营养液中同时加入 0.5 mg 有机物 萘 ,培养时间为 30 d.30 d 后 ,取 10 mL 上清液加入到 500 mL 新鲜营养液中 ,同时加入有机物 萘 ,使其浓度达到 5 mg/L ,由此得到降解有机物 萘 所需的细菌接种液 ,在此接种液中 ,细菌浓度约为 7×10^7 CFU/mL (CFU 代表菌落数) ,将接种液在 4℃ 下保存 ,以备用 .重复上述步骤 ,用同样方法分别得到有机物 苯 和 甲苯 的细菌接种液 ,其中 ,苯 和 甲苯 的浓度分别为 10 mg/L .

1.3 有机物

本实验中 ,共选择 3 种有机物 :苯、甲苯和萘 进行实验 ,其性质如表 3 所示 .

表 3 有机物及其性质

Table 3 Organic chemicals in this study and their characteristics

有机物	分子式	分子量	溶解度(mg·L ⁻¹)	LogKow
苯	C ₆ H ₆	78.1	1910	2.13
甲苯	C ₇ H ₈	92.1	515	2.69
萘	C ₁₀ H ₈	128.2	31.5	3.36

2 实验方法

2.1 吸附过程和吸附平衡实验

吸附过程实验如下 (a)将一定量土壤样品加入到 5 mL 安玻瓶中 (b)对土壤样品和安玻瓶高压灭菌两次 ,每次 60 min (c)在安玻瓶中加入一定量有机物 (用同位素 ¹⁴C 标记) (d)在安玻瓶中加入无菌水 ,其中含有 10⁻² mol/L 的 NaCl (e)用 Teflon 隔膜密封安玻瓶 ; (f)将土壤样品和水溶液在 22 ± 0.5℃ 下培养 ,使之达到平衡 .有机物达到吸附平衡的过程 ,可通过定时监测有机物在固相和水相的浓度得知 .有机物在平衡时的吸附量 ,可在培养 30 d、样品充分达到平衡后测定得出 .定期将安玻瓶中土壤和水离心分离 ,离心时可在 6000 r/min 的转速下旋转 30 min ,然后取 1 mL 上清液 ,采用放射性同位素示踪仪 ,测定水样中 ¹⁴C 浓度 ,由此得出水溶液和土壤中有机物 ¹⁴C 的含量 .

2.2 有机物在水相中生物降解实验

在好氧、没有土壤存在的条件下 ,在纯水相中进行有机物生物降解实验 ,采用的实验方法如下 :将水曝气 12 h ,使得水中溶解氧达到 8 ~ 10 mg/L ,将细菌接种液加到曝气过的水中 ,使水溶液中细菌浓度达到 10⁶ CFU/mL ,将一定量经过 ¹⁴C 标记过的有机物用气闭针加到上述接种过细菌的水溶液中 ,使有机物在水溶液的初始浓度分别达到 :苯 3.9 mg/L、甲苯 4.6 mg/L 和 萘 1.28 mg/L ;再将上述水溶液充满 20 mL 安玻瓶中 (不留死体积) ,用 Teflon 隔膜和铝盖密封 ,将安玻瓶放在黑暗中 ,在 22 ± 0.5℃ 下培养一定的时间 .

本实验中 ,需要测定以下参数 :有机物浓度、CO₂ 产量、细胞产量和中间产物产量 .为了使实验结果准确 ,将加到水中的有机物经过同位素 ¹⁴C 标记 .在初始状态下加入到水中的有机物 ¹⁴C ,经过生物降解后 ,在水溶液中共有 4 种存在方式 :¹⁴CO₂ (反应产物)、¹⁴C-新细胞 (反应产物)、¹⁴C-中间产物 (如有机酸等) 和 ¹⁴C-残余有机物 (指残留在水中没有反应的有机物) ,采用放射性同位素示踪仪 ,只能测定水中 ¹⁴C 的总量 ,为了能够分别测出水中各种成分 ¹⁴C 的含量 ,采用表 4 所示的实验方法 .

表 4 放射性同位素示踪仪法测定水溶液中有机物的生物降解过程

Table 4 Methods of radiotracer assay for organic chemical biodegradation in water sample

样品号	1 #	2 #	3 #	4 #
pH	12	12	1	1
过滤	否	否	否	是
鼓气	否	是	是	是
	¹⁴ CO ₂	¹⁴ CO ₂	无	无
所测定的	¹⁴ C-新细胞	¹⁴ C-新细胞	¹⁴ C-新细胞	无
水中 ¹⁴ C 的	¹⁴ C-中间产物	¹⁴ C-中间产物	¹⁴ C-中间产物	¹⁴ C-中间产物
组成	¹⁴ C-残余有机物	无	无	无
	¹⁴ C-残余有机物 = 1 # - 2 #			
	¹⁴ CO ₂ = 2 # - 3 #			
	¹⁴ C-新细胞 = 3 # - 4 #			
结果	¹⁴ C-中间产物 = 4 #			

如表 4 所示 ,将反应后的样品分成 4 份 :1 #、2 #、3 #、4 # ,分别进行测试 ,步骤如下 :将 1 # 样品的 pH 调到强碱性 (pH = 12) ,在此条件下 ,水中的 ¹⁴CO₂ 以稳定的碳酸盐类形式存在 ,其它三种形式的 ¹⁴C 不受影响 ,用放射性同位素示踪仪测定 1 # 水中 ¹⁴C 总量 ,得到的是水中 ¹⁴C-残余有机物、¹⁴CO₂、¹⁴C-新细胞和 ¹⁴C-中间产物四种成分的总量 ;将 2 # 样品 pH 也调到强碱性 (pH = 12) ,并同时向水中鼓气 ,因为水中 ¹⁴C-残余有机物 苯、甲苯 和 萘 是挥发性有机物 ,因此在鼓气条件下均溢出水面 ,而水

中 ¹⁴CO₂ 是以稳定的碳酸盐类形式存在 ,所以仍然留在水中 ,水中另外两种形式的 ¹⁴C ,即 ¹⁴C-新细胞和 ¹⁴C-中间产物 不受影响 ,因此用同位素示踪仪测定 2 # 水中 ¹⁴C 总量 ,得到的是水中 ¹⁴CO₂、¹⁴C-中间产物和 ¹⁴C-新细胞

三种成分的总量,将 3# 样品的 pH 调到强酸性($\text{pH} = 1$),并同时向水中鼓气,这时水中 $^{14}\text{CO}_2$ 和 ^{14}C -残余有机物均溢出水面,其它两种形式的 ^{14}C 不受影响,用同位素示踪仪测定 3# 水中 ^{14}C 总量,得到的是水中两种成分: ^{14}C -中间产物和 ^{14}C -新细胞的总量,将 4# 样品的 pH 调到强酸性($\text{pH} = 1$),向水中鼓气,然后让样品通过微孔过滤器,以除去水中的微生物细胞,即 ^{14}C -新细胞,这时水中只剩下 ^{14}C -中间产物,用同位素示踪仪测定 4# 水中 ^{14}C 的总量,得到的是水中 ^{14}C -中间产物这一种成分的含量.下面即可分别计算 4 种成分的含量: ^{14}C -残余有机物的含量 = 1# 样品 ^{14}C 总量 - 2# 样品 ^{14}C 总量; $^{14}\text{CO}_2$ 产量 = 2# 样品 ^{14}C 总量 - 3# 样品 ^{14}C 总量; ^{14}C -新细胞产量 = 3# 样品 ^{14}C 总量 - 4# 样品 ^{14}C 总量; ^{14}C -中间产物产量 = 4# 样品 ^{14}C 总量.

2.3 有机物在土壤水环境中的生物降解实验

有机物在土壤水环境,即土壤—水—微生物系统中生物降解过程实验如下 (a)将一定量土壤样品加入到 5 mL 安玻瓶中 (b)对土壤样品和安玻瓶高压灭菌两次,每次 60 min (c)在安玻瓶中加入一定量的有机物(用同位素 ^{14}C 标记),使有机物在水溶液的初始浓度达到:苯 3.9 mg/L、甲苯 4.6 mg/L、萘 1.28 mg/L (d)在安玻瓶中加入无菌水,其中含有 10^{-2} mol/L 的 NaCl (e)用 Teflon 隔膜将安玻瓶密封 (f)将土壤样品和水溶液在 $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 下培养 30 d,使之达到平衡 (g)30 d 后,打开安玻瓶盖子,加入 100 μL 细菌接种液,使得其中细菌初始浓度达到 10^6 CFU/mL,重新密封安玻瓶 (h)每隔一定时间取水样分析有机物浓度,取样前用离心机离心含样品的安玻瓶(离心速度为 6000r/min,离心时间 30 min),然后取少量上清液,用放射性同位素测定仪,测定水样中有机物 ^{14}C 浓度,测定方法同表 4.

3 实验结果

3.1 吸附实验结果

有机物苯、甲苯和萘吸附过程实验结果如图 1、2 和 3 所示,图中 S 表示 t 时刻土壤固定相中有机物浓度, S_e 表示吸附平衡时有机物在土壤固定相的浓度.本实验中,土壤系统的土水比为 0.12 kg/L,水溶液中有有机物初始浓度分别为:苯 3.9 mg/L、甲苯 4.6 mg/L、萘 1.28 mg/L.

由图可以看出,苯达到吸附平衡需 72 h,甲苯达到吸附平衡需 150 h,而萘达到吸附平衡需 240 h,这说明三种物质吸附能力大小顺序为:苯 < 甲苯 < 萘.

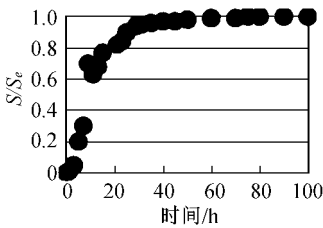


图 1 苯的吸附过程实验

Fig.1 Sorption experiment for benzene

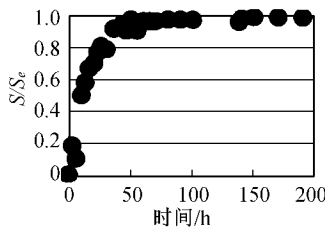


图 2 甲苯的吸附过程实验

Fig.2 Sorption experiment for toluene

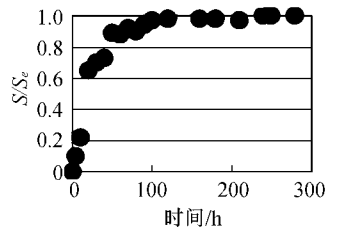


图 3 萘的吸附过程实验

Fig.3 Sorption experiment for naphthalene

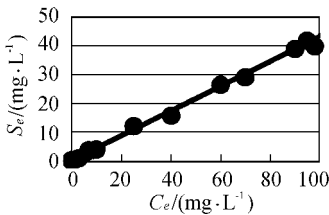


图 4 苯的吸附平衡实验

Fig.4 Sorption Equilibrium experiment for benzene

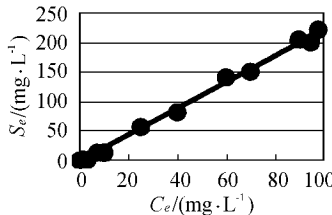


图 5 甲苯的吸附平衡实验

Fig.5 Sorption equilibrium experiment for toluene

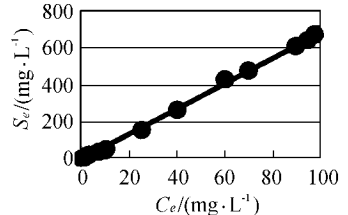


图 6 萘的吸附平衡实验

Fig.6 Sorption equilibrium experiment for naphthalene

使用不同浓度有机物,进行有机物在土壤系统中的吸附平衡实验.有机物在水溶液的初始浓度范围为 1 ~ 100 mg/L,在充分平衡 30 d 后,测定水相和固定相有机物平衡浓度 C_e 和 S_e ,实验结果如图 4、5 和 6 所示.由图可以看出,有机物的平衡浓度 C_e 和 S_e 成线性关系,这说明三种有机物的吸附等温线均可概化为线性等温

线,即 $S_e = K_d \times C_e$ 根据吸附等温线的斜率,可得出三种有机物的土壤—水吸附分配系数 K_d 分别为:苯 0.43 L/kg,甲苯 2.34 L/kg,萘 6.71 L/kg,此结果与三种物质吸附能力的大小相符.

3.2 有机物在水相中生物降解实验结果

有机物在水溶液中生物降解过程实验结果如图 7、8 和 9 所示,图中 C 表示 t 时刻水溶液中有机物浓度, C_0 表示水溶液中有机物初始浓度,分别为苯 3.9 mg/L、甲苯 4.6 mg/L 和萘 1.28 mg/L.

由图 7、8 和 9 可以看出,降解 50% 的甲苯约需 13 h,降解 50% 的萘约需 16 h,而降解 50% 的苯约需 24 h 的时间,这说明三种有机物在水溶液中生物降解速度的大小顺序为:甲苯 > 萘 > 苯.此结果与三种有机物的化学稳定性是一致的,在三种有机物中,甲苯的结构式是在苯环上加了一个甲基官能团,它在三种物质中是最不稳定的,因此甲苯在水相中生物降解速度也就最快,而苯是完全对称的环状结构,它在三种物质中最稳定,因此它在水相中的生物降解速度也就最慢.

3.3 有机物在土壤水环境中生物降解实验结果

有机物在土壤水环境,即土壤—水—微生物系统中生物降解实验结果如图 10、11 和 12 所示,在图中, C 表示 t 时刻水溶液中有机物浓度, C_0 表示水溶液中有机物初始浓度,分别为:苯 3.9 mg/L、甲苯 4.6 mg/L、萘 1.28 mg/L,土壤系统的土水比为 1.07 kg/L.

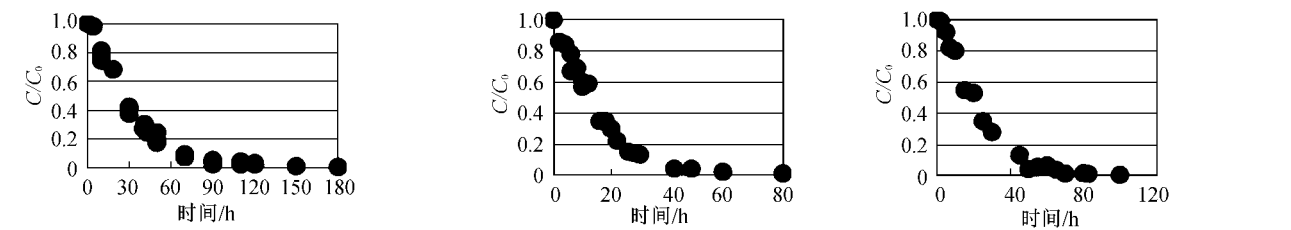


图 7 苯在水溶液中生物降解实验

Fig.7 Benzene biodegradation experiment in water sample

图 8 甲苯在水溶液中生物降解实验

Fig.8 Toluene biodegradation experiment in water sample

图 9 萘在水溶液中生物降解实验

Fig.9 Naphthalene biodegradation experiment in water sample

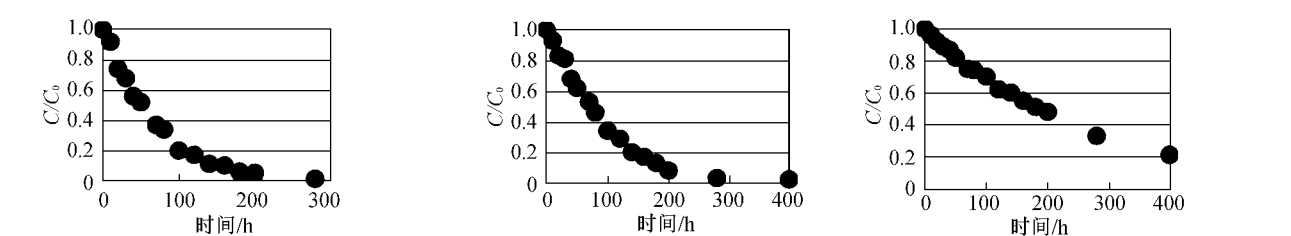


图 10 苯在土壤水溶液中生物降解实验

Fig.10 Benzene biodegradation experiment in soil/water system

图 11 甲苯在土壤水溶液中生物降解实验

Fig.11 Toluene biodegradation experiment in soil/water system

图 12 萘在土壤水溶液中生物降解实验

Fig.12 Naphthalene biodegradation experiment in soil/water system

由图可见,采用生物处理方法可以将这三种芳香烃降解为 CO_2 和 H_2O ,所需时间分别为:苯 10 d、甲苯 14 d、萘 25 d.另外可以看出,有机物在土壤水环境中生物降解实验结果与在水溶液中生物降解实验结果不同,主要表现在以下几个方面:(a)有机物在土壤水环境中生物降解速度远比在水溶液中慢,要使土壤水环境中有机物浓度降低 50%,苯需 50 h,甲苯需 74 h,萘需 225 h,而在单纯的水溶液中降解有机物,所需时间分别为:苯 24 h,甲苯 13 h,萘 16 h;(b)有机物在土壤水环境中生物降解速度大小顺序改变为:苯 > 甲苯 > 萘.有机物在土壤水环境中生物降解速度减慢的原因,是由于有机物在土壤颗粒内部吸附/解吸过程及扩散过程的影响.由于微生物的体积通常超过土壤颗粒内部孔隙直径^[5],因而微生物不能直接降解吸附在土壤颗粒内部的有机物,这些被吸附的有机物必须首先从土壤颗粒内部固定相解吸到内孔隙水相,然后再从内孔隙水相扩散到外部水环境,这样才能被外部水环境中微生物降解^[6],这种降解和扩散过程使得有机物在土壤水环境中生物降解速度比在纯水相中大为减慢.

有机物在水溶液中生物降解速度大小顺序为:甲苯 > 萘 > 苯,而在土壤水环境中生物降解速度大小顺序改变为:苯 > 甲苯 > 萘.相比之下,苯的降解速度在土壤水环境中相对说来提高了.分析其原因,虽然苯在土壤颗粒外部水溶液中生物降解速度最低,但其在土壤中吸附能力也最低,即解吸能力最强,因此苯所受到的

解吸阻力限制最小,这使得它在土壤水环境系统中生物降解速度最快,超过了甲苯和萘,成为最强,这也说明,在土壤水环境中,有机物的解吸能力对其在系统中总的生物降解速度影响很大;对甲苯来说,虽然它在土壤颗粒外部水溶液中生物降解速度最大,但在土壤中解吸能力次强,所以综合起来在土壤水环境中总的生物降解速度次快;对萘来说,它在土壤中吸附能力最强,即解吸能力最弱,虽然它在土壤颗粒外部水溶液中生物降解能力次强,但综合起来它在土壤水环境中总的生物降解速度成为最慢。由此可以看出,有机物在土壤水环境中总的生物降解速度受两方面因素所控制,一是有机物在土壤颗粒内部的吸附/解吸速度,另一是有机物在土壤颗粒外部水溶液中生物降解速度,总速度是这两种因素相互影响的综合结果。

4 总 结

从实验的角度研究有机物在土壤水环境中生物降解的规律,本文以有机物苯、甲苯和萘为对象,进行了有机物在土壤—水系统的吸附过程实验、吸附平衡实验、有机物在纯水相中生物降解实验以及有机物在土壤水环境系统的生物降解实验的研究。实验结果显示:有机物的吸附能力大小为:苯 < 甲苯 < 萘,吸附等温线均可表示为线性等温线;有机物在纯水相中生物降解速度为:甲苯 > 萘 > 苯;有机物在土壤水环境中生物降解速度为:苯 > 甲苯 > 萘;三种芳香烃有机物在土壤水环境系统中均可被降解为最终产物,但有机物在土壤水环境中生物降解速度比在纯水相中速度大为减慢,其原因是由于有机物在土壤颗粒内部吸附/解吸过程及扩散过程的影响;有机物在土壤水环境系统中总的生物降解速度受两方面因素所控制,一是有机物在土壤颗粒内部的吸附/解吸速度,另一是有机物在土壤颗粒外部水溶液中的生物降解速度,总速度是这两种因素相互影响制约的综合结果。

参考文献:

- [1] Gibson D T. Microbial degradation of organic compounds[M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1984. 530 ~ 535.
- [2] Alexander M. Biodegradation and bioremediation[M]. San Diego: Academic Press, 1994. 123 ~ 170.
- [3] Schwefer H J. Latest Development of Biological In-Situ Remedial Action Techniques Portrayed by Examples from Europe and U S A [A]. Contaminated Soil ' 88[C]. New York: Kluwer Academic Publishers, 1988. 48 ~ 60.
- [4] Flathman P E, Jerger D E, Exner J H. Bioremediation: field experience[M]. Michigan: Lewis Publishers, 1994. 12 ~ 30.
- [5] Alexander M. Introduction to soil microbiology. Second Edition[M]. New York: John Wiley & Sons, 1977. 4 ~ 35.
- [6] Jones W L, Dockery J D, Vogel C R. Diffusion and reaction within porous packing media: A phenomenological model[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1993, 41: 947 ~ 956.

Experimental Study about Organic Chemical Biodegradation in Soil-Water-Microbes System

LIU Ling, CUI Guang-bai

(College of Water Resources and Environment, Hohai Univ., Nanjing 210098, China)

Abstract: For the study of biodegradation regularities of organic chemicals benzene, toluene and naphthalene, bench-scale experiments for sorption in soil/water system, biodegradation in pure water phase, and biodegradation in the soil-water-microbes system are conducted. The results observed in this study indicate that the sorption abilities of three compounds follow such a sequence: benzene < toluene < naphthalene, and that sorption isotherms are linear. Besides, the sequence of biodegradation rates changeds from toluene > naphthalene > benzene in water to benzene > toluene > naphthalene in the soil-water-microbes system. It is concluded that the overall organic chemical biodegradation rate in soil-water-microbes system is controlled by two factors: the organic desorption rate inside the soil particle and the organic biodegradation rate in the bulk phase.

Key words: organic chemical; soil-water-microbes system; biodegradation; experimental study