

# 生物修复中有机污染物的生物可利用性

罗启仕, 张锡辉, 王 慧, 钱 易

清华大学环境科学与工程系, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084

摘要: 论述了土壤和地下水生物修复中有机污染物的生物可利用性。污染物的可利用性对生物修复速率和生物强化效率有重要影响。生物可利用性是指土壤和地下水中的微生物或其胞外酶对有机污染物的可接近性, 它受土壤理化性质、污染物和微生物性质、污染接触时间等许多因素的综合影响。污染物的介质吸附、多相分配、老化和形成非水相基质, 以及土壤微生物的吸附、过滤和沉降作用降低了污染物的可利用性。促进土壤中污染物和微生物的解吸附, 增强非水相基质的溶解, 加速土壤污染物与微生物之间的质量传递, 可以增强污染物的可利用性和生物降解的速率。施用表面活性剂和电动力学方法可有效地增强污染物的生物可利用性。

关键词: 生物可利用性; 有机污染物; 生物修复; 生物降解

中图分类号: X172

文献标识码: A

文章编号: 1672-2175 (2004) 01-0085-03

污染物的生物可利用性对生物修复、污染物生态毒性和环境风险评价有重要影响<sup>[1]</sup>。生物可利用性涉及生物周围环境的污染物与生物吸收利用的污染物之间的各种关系, 并受到生物系统、污染物性质和环境因素的综合影响<sup>[2, 3]</sup>。本文主要阐述生物修复中有机污染物对于土壤微生物的可利用性, 包括生物可利用性的涵义, 主要影响机理和强化方法, 以及生物可利用性对生物修复的影响。

## 1 生物可利用性的涵义

有机污染物进入地下环境后, 首先吸附在土壤大孔隙及各种有机无机颗粒表面, 然后逐渐扩散到土壤微孔中。随着与土壤接触时间增加, 有机物缓慢扩散到微生物无法进入的极小孔隙中, 或者分配进土壤有机质 (SOM) 内。部分有机物也以纯固体或非水相 (NAP) 物质存在。然而, 土壤微生物主要以附着态存在<sup>[1]</sup>。附着在含水层固体上的微生物比自由态微生物大 10~1000 倍<sup>[3]</sup>。土壤微生物主要分布在 0.8~3 μm 孔隙中, 而污染物的吸附大多发生在小于 1 μm 的微孔内, 所以微生物无法直接利用大多数被吸附的污染物。土壤微生物也可能无法直接利用 SOM 内的污染物以及 NAP 物质。尽管有些微生物 (尤其是真菌) 可以通过分泌胞外酶降解污染物, 但是酶分子比污染物分子大许多倍, 在土壤中扩散得相当慢或者根本不扩散<sup>[4]</sup>。因此, 一般认为土壤微生物主要利用水相污染物而不是吸附态和 NAP 物质。

有机污染物作为微生物生长的基质, 根据与可利用性的关系可分为: (1) 可直接利用的基质, 包括水相基质和“直接接触”被利用的少量吸附态基质; (2) 潜在可利用基质, 指与可直接利用基质之间存在动态平衡的基质, 如吸附态和 NAP 基质; (3) 不可利用基质, 包括土壤微孔和部分 SOM 内的老化基质和少量隔离态 NAP 基质。在此基础上, 本文认为, 污染物的生物可利用性是指土壤和地下水中的微生物或胞外酶对有机基质的可接近性, 它受到可直接利用的基质浓度和潜在可利用基质向直接可利用基质的转化速度控制。图 1 概括地表示了土壤和地下水中有机污染物存在形态与生物可利用性的关系。

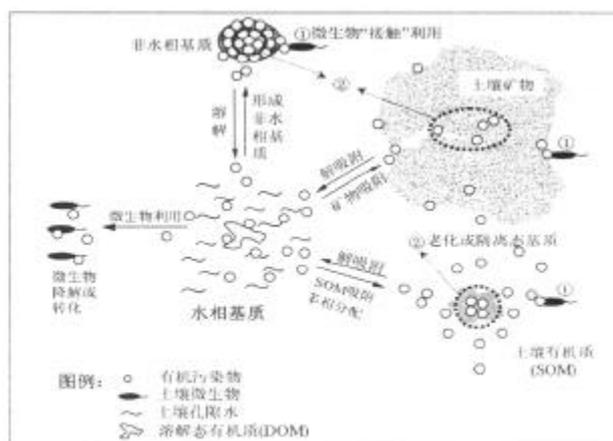


图 1 土壤和地下水中有机污染物存在形态与生物可利用性

## 2 生物可利用性的影响机理

在生物修复中有机污染物的分解转化主要在水相中进行<sup>[1, 3]</sup>。水相基质浓度和生物量浓度直接影响有机基质的利用速率<sup>[3]</sup>, 因而任何影响水相污染物浓度和微生物量的因素都会使污染物的生物可利用性降低。

### 2.1 污染物水相浓度对生物可利用性的影响

有机物进入土壤和地下水后, 通过各种物理、化学和生物过程被强烈地吸附在土壤介质表面, 或者形成 NAP 基质, 或者隔离在多孔介质内部, 大大降低了污染物的水相浓度。

#### 2.1.1 介质吸附与多相分配

介质吸附是土壤污染物水相浓度降低的主要途径。介质吸附程度与有机物的结构和性质有关。生物修复中大多数有机污染物都是非极性的, 水溶性低, 其吸附程度主要受疏水性控制<sup>[3]</sup>。介质吸附受吸附剂类型的强烈影响。土壤和地下水中的吸附剂包括无机矿物和 SOM。疏水性有机物的吸附程度主要取决于 SOM 质量分数和类型。当 SOM 质量分数大于 0.2%~0.4% 时, 无机矿物吸附可以忽略<sup>[5]</sup>。SOM 包括非腐殖质和腐殖质, 大多数土壤的腐殖质的质量分数占

基金项目: 国家科技部重大科技项目 (9550610400-05-03); 日本地球环境产业技术机构资助项目

作者简介: 罗启仕 (1971 - ) 男, 博士研究生, 从事环境污染控制与修复研究。E-mail: lqs01@mails.tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2003-09-05

SOM 总质量分数的 70%~80%，对疏水性有机物的吸附起主要作用<sup>[5]</sup>。另外，溶解态有机质和由人类活动影响而进入土壤的各种有机溶剂、油类和煤焦油等 NAP 液体物质等也会影响介质吸附<sup>[6]</sup>。

Weber 等<sup>[7]</sup>将土壤颗粒视为由三类有吸附活性的有机和无机成分组成的异质性复合体，称为土壤颗粒三域模型。该模型认为，有吸附活性的土壤颗粒包含三类吸附域：外露矿物域（I）、无定型 SOM 域（II）和稠密 SOM 域（III）。不同吸附域对疏水性有机污染物的吸附能、吸附速率和机理是不同的。Luthy 等<sup>[6]</sup>总结了各种吸附剂对疏水性有机物的吸附行为和特征。此处将与三域吸附相关的部分内容列于表 1。

表 1 疏水性有机物三域吸附特征比较

	矿物域( )	无定型 SOM 域( )	稠密 SOM 域( )
吸附动力学	快	颗粒分散时吸附快	慢(多于数天); 存在吸附-解吸附滞后现象
吸附等温线	线性	线性	平衡时间非常长时, 可能为线性; 介质空间排列有差异时, 为非线性
活化能	低	低	高
吸附热	低	低	中到高, 随有机质密度的增加而增加
吸附竞争性	无	无	有
溶剂可萃取性	高	高	低

另外，多相分配作用也会降低有机物的可利用性。土壤中非水相液体（NAPL）和颗粒态残留有机碳物质的存在增强了污染物的多相分配程度。疏水性有机物分配进入 NAPL 后，生物降解速率降低，其原因可能在于<sup>[1, 3]</sup>：污染物的水相浓度进一步降低，污染物从 NAPL 分配到水相的速率慢，微生物优先利用 NAPL 物质，NAPL 物质有毒性作用等。

### 2.1.2 形成非水相基质

有机物可利用性降低的另一种途径是形成 NAP 基质<sup>[1, 3]</sup>。NAP 物质与水基本上不能混溶，在地下环境中以分离态物质存在。如果 NAP 物质密度比水小（如汽油和石油类污染物），则会分离进入土壤和地下水的飘浮相中；如果密度比水大（如氯代脂肪烃），则会向土壤底层迁移。被截留的 NAP 物质会逐渐溶解，相当于地下环境的长期污染源。

土壤微生物对 NAP 基质的利用主要依赖于 NAP 物质的水溶性。BTEX 类物质水溶性最高，溶解速度最快，因而最容易被微生物利用。某些微生物能够直接附着在 NAP 物质-水界面，直接摄取能够降解的基质。微生物非常靠近 NAP 物质-水界面，污染物从 NAP 物质扩散到细胞的距离减小，质量传递阻力降低。有人认为，微生物“直接接触”获取基质时，有机物没溶解到水相而是直接转移到微生物细胞内<sup>[3]</sup>。

### 2.1.3 污染物隔离和老化

隔离是指污染物与其它物质结合或者不可逆地转化为其它相（或状态）而使其环境活性降低的过程。隔离对污染物的归宿、迁移和生物可利用性有重要影响。疏水性有机物的隔离程度随着污染物与土壤接触时间增加而明显增加，这个过程称为污染物老化或风化<sup>[2, 8]</sup>。污染物老化过程包括化学氧化将污染物结合到 SOM 中，污染物在土壤微孔内和 SOM 内扩散，或者隔离在 NAPL 物质内等<sup>[9]</sup>。老化过程并不包括改变分子结构的反应，如聚合反应、与腐殖质共价键结

合等。有人认为，老化现象是有机物向 SOM 分配和向小孔隙中渗透的反应<sup>[10]</sup>。影响老化的因素包括：SOM 数量和性质；土壤孔隙大小和结构；污染物浓度；土壤变湿变干过程；不可逆吸附等。粘土矿物吸附有机分子后，如果晶格结构受到破坏，吸附在晶格内的污染物也会成为老化基质<sup>[8-10]</sup>。

隔离和老化使污染物从易进入的土壤隔室转移到不易进入或不能进入的隔室，使其可交换性及生物可利用性降低<sup>[9]</sup>。Theng 等<sup>[11]</sup>的研究表明，菲进入蒙脱土的晶格层后被 *Burkholderia sp.* 和 *Sphingomonas sp.* 细菌利用的可能性几乎为零。许多研究表明，疏水性有机物与土壤接触时间增加，结合态污染物解吸附阻力增加，生物转化速率降低。

### 2.2 微生物移动性对生物可利用性的影响

土壤微生物的移动性是影响污染物的生物可利用性的另一重要方面。微生物移动性大，或者具有降解能力的细菌主动或被动地向吸附态污染物运移，则可提高污染物的可利用性和生物降解速率。

微生物在土壤中的吸附/解吸、过滤和沉降等过程会显著地阻止或延迟微生物的运移<sup>[3]</sup>。吸附过程涉及到各种复杂的生物、物理和化学现象，其中包括静电吸附、憎水反应及微生物排泄物的吸附作用。普遍的静电效应是微生物与土壤矿物表面吸附的关键因素。土壤对微生物的吸附是可逆的。微生物沉降和过滤也会一定程度地限制微生物的运移，降低土壤污染物被利用的可能性。

### 3 增强生物可利用性的主要措施

根据图 1，增强有机物可利用性的途径包括：（1）增强吸附态污染物的解吸附和 NAP 基质的溶解；（2）强化污染物与微生物间的质量传递。目前采取的主要措施包括：施用表面活性剂，电动力学强化，使用共溶剂和乳化剂，热处理，水裂和气裂，超声波处理，机械搅动等。此处主要介绍前两种方法及其相关问题。

#### 3.1 施用表面活性剂

表面活性剂由亲水基和疏水基组成。浓度低时活性剂分子在水溶液中以单体存在，浓度超过一定值（称为临界胶束浓度，CMC）时就聚集形成胶束。有机物分配进入胶束中称为胶束增溶作用。胶束增溶过程只是将有机物分子分配进胶束相中，但并没有使它变成真正的水溶性组分，又称为“伪溶解”。实际上，真正的可溶性组分分配到胶束相后，其水相浓度通常被降低<sup>[3]</sup>。

当微生物不容易从最初物质相（如吸附态和 NAP 基质）而更容易从胶束相中获取基质时，或者污染物以胶束相形式被迁移时，胶束增溶作用就能增强有机污染物的生物可利用性<sup>[5]</sup>。Yeom 等<sup>[12]</sup>研究发现，Triton X-100 能显著地增强老化态菲和萘的释放速率。Aronstein 等<sup>[13]</sup>报道，存在活性剂 Alfontic 810-60 时，土著微生物对菲的降解率约为 50%，而没有活性剂时仅为 4.8%。

但是研究表明，某些活性剂的浓度超过 CMC 时，这些活性剂就对微生物表现出毒性作用。过度胶束化使自由态基质浓度降低，可能会抑制生物过程。另外，微生物也可能无法直接利用胶束内的污染物。近年来，生物表面活性剂在生物修复中逐渐得到应用<sup>[14]</sup>。

#### 3.2 电动力学强化

该方法是在受污染土壤和地下水中施加微弱直流电形

成电场,利用产生的电渗析、电迁移和电泳等电动力学效应促进吸附态污染物的解吸附,并加速污染物与微生物间的质量传递<sup>[15]</sup>。电渗析是指土壤孔隙水的运动,电迁移指孔隙水中的电解质运动,电泳则是指荷电胶体的运动。在低渗透性粘土中,电迁移和电渗析是占主要的,但施用表面活性剂时电泳就成为一种重要机理<sup>[5]</sup>。电动力学迁移的污染物可以是极性的和非极性的。极性物质会向极性相反的电极运动;非极性物质则会随电渗析流而移动,施加表面活性剂可以增强非极性有机物的迁移<sup>[5]</sup>。土壤微生物也会受到电动力学作用的影响。带负电荷的微生物能以电泳方式向阳极运动,但也能随电渗析流迁移。但是,电极反应会对土壤微生物和土壤性质产生不利影响。

Acar 等<sup>[16]</sup>研究发现,在电动力学作用下高岭土中苯酚的解吸附和迁移几乎是同时进行的,苯酚没有表现出阻滞现象。Bruell 等<sup>[17]</sup>表明,用电动力学方法可以将粘土中的 TCE 和 BTEX 类物质去除至溶解度以下。Jackman 等<sup>[18]</sup>和 Lee 等<sup>[19]</sup>的研究表明,用电动力学方法能够显著地增强土壤中 2,4-二氯苯氧乙酸和柴油燃料的生物降解速率。

#### 4 结语

随着生物修复技术从室内研究向田间应用转移,有机物可利用性的研究变得相当重要。近年来对污染物老化和解吸附的研究,以及许多新的环境微生物技术的应用,促进了对生物可利用性的理解。但还有许多问题需要深入研究,例如,区分污染物毒性和生物可利用性对生物修复的影响;生物可利用性的动态性的评估方法;建立更加有效的生物可利用性分析方法等。

#### 参考文献:

- [1] JUHASZ A L, MEGHARAJ M, NAIDU R. Bioavailability: the major challenge (constraint) to bioremediation of organically contaminated soils[A]. In: WISE D L, *et al.*, eds. Bioremediation of Contaminated Soils[C]. New York: Marcel Dekker Inc, 2000: 217-241.
- [2] CHUNG N, ALEXANDER M. Effect of soil properties on bioavailability and extractability of phenanthrene and atrazine sequestered in soil[J]. *Chemosphere*, 2002, 48: 109-115.
- [3] RITTMANN B E, MCCARTY P L. Environmental biotechnology: principles and applications[M]. New York: McGraw-Hill Com Inc, 2001: 695-730.
- [4] PIGNATELLO J J, XING B. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles[J]. *Environ Sci Technol*, 1996, 30: 1-11.

- [5] CHANG J H. Removal of selected nonionic organic compounds from soils by electrokinetic process[D]. Delaware: Delaware Univ, 2000: 35-47.
- [6] LUTHY R G, AIKEN G R, BRUSSEAU M L, *et al.* Sequestration of hydrophobic organic contaminants by geosorbents[J]. *Environ Sci Technol*, 1997, 31: 3 341-3 347.
- [7] WEBER W J, HUANG W. A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments: 4. intraparticle heterogeneity and phase-distribution relationships under nonequilibrium conditions[J]. *Environ Sci Technol*, 1996, 30: 881-888.
- [8] REID B J, JONES H C. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments—a perspective on mechanisms, consequences and assessment[J]. *Environ Pollution*, 2000, 108: 103-112.
- [9] HATZINGER P B, ALEXANDER M. Effect of ageing of chemicals in soil on their biodegradability and extractability[J]. *Environ Sci Technol*, 1995, 29: 537-545.
- [10] NAM K, KIM J Y. Role of loosely bound humic substances and humin in the bioavailability of phenanthrene aged in soil[J]. *Environ Pollution*, 2002, 118: 427-433.
- [11] THENG B K G, AISLABIE J, FRASER R. Bioavailability of phenanthrene intercalated into analkylammonium -montmorillonite clay[J]. *Soil Biol Biochem*, 2001, 33: 845-848.
- [12] YEOM I T. Mass transfer limitation in PAH-contaminated soil remediation[J]. *Wat Sci Tech*, 1998, 37(8): 111-119.
- [13] ARONSTEIN B N, ALEXANDER M. Effect of a non-ionic surfactant added to the soil surface on the biodegradation of aromatic hydrocarbons within the soil[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1998, 39: 386-390.
- [14] NOORDMAN W H, JI W, BRUSSEAU M L, *et al.* Effects of Rahamnonlipid biosurfactants on removal of phenanthrene from soil[J]. *Environ Sci Technol*, 1998, 32: 1 806-1 812.
- [15] ALSHAWABKEH A N, BRICKA R M. Basics and Application of Electrokinetics Remediation [A]. In: WISE D L, *et al.*, eds. Remediation Engineering of Contaminated Soils[C]. New York: Marcel Dekker Inc, 2000: 95-111.
- [16] ACAR Y B, LI H, GALE R J. Phenol removal from kaolinite by electrokinetics[J]. *J Geotech Eng*, 1997, 118: 1 837-1 851.
- [17] BRUELL C J, SEGALL B A, WALSH H T. Electro-osmotic removal of gasoline hydrocarbons and TCE from clay[J]. *J Environ Eng*, 1992, 118: 84-100.
- [18] JACKMAN S A, MAINI G, SHARMAN A K, *et al.* Electrokinetic movement and biodegradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in silt soil[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2001, 74(1): 40-48.
- [19] LEE K S, LEE K. Bioremediation of diesel-contaminated soil by bacterial cells transported by electrokinetics[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2001, 11(6): 1 038-1 045.

## Bioavailability of organic contaminants during bioremediation

LUO Qi-shi, ZHANG Xi-hui, WANG Hui, QIAN Yi

State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control,  
Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China

**Abstract:** This paper discussed the bioavailability of organic contaminants to bacteria during bioremediation of polluted soils and groundwater. The availability of organic contaminants as substrates to microorganisms in contaminated sites frequently determines the rate of bioremediation and the efficiency of bioaugmentation. The term of bioavailability herein is referred to the accessibility of organic pollutants to bacteria or bacterial extracellular enzymes in subsurface, which is often dependent upon the combined effect of the soil physicochemical properties, the characteristics of the pollutants and bacteria in subsurface, and the contact duration of pollutants to soils, and so on. The availability of organic contaminants to bacteria is lowered mainly through the matrix sorption, multiphase partitioning, aging or sequestration, and formation into non-aqueous phase of contaminants, and also through the adhesion, filtration and deposition of bacteria in subsurface. Greater bioavailability and higher biodegradation rate can be produced by accelerating the desorption of sorbed pollutants and bacteria from the surface of soil particles, simulating the dissolution of non-aqueous phase organics into pore fluids, or enhancing the mass transfer between the contaminants and the bacteria in soils. Surfactants and electrokinetic technology, if properly used, can effectively enhance the bioavailability in the process of bioremediation.

**Key words:** bioavailability; organic contaminant; bioremediation; biodegradation