

## 堆肥化过程中有机污染物生物降解的研究进展\*

牛俊玲 崔宗均 王丽莉 李国学\*\* 李彦明

(中国农业大学资源与环境学院 北京 100094)

**摘要** 简介了卤代烃、多环芳烃、农药类及石油烃类等几种有机污染物在堆肥过程中的生物降解及其机理研究进展,并指出今后应重点加强高效降解微生物的分离培养、基因工程菌的开发、表面活性剂对生物降解的强化作用以及适合有机污染物降解的堆肥条件和有机污染物在堆制过程中降解的中间产物及终产物等方面研究。

**关键词** 堆肥 有机污染物 降解 微生物

**Biodegradation of organic pollutant in composting process**. NIU Jun-Ling, CUI Zong-Jun, WANG Li-Li, LI Guo-Xue, LI Yan-Ming(College of Resources and Environment, China Agricultural University, Beijing 100094, China), *CJEA*, 2006,14(1):152~155

**Abstract** The biodegradation process and mechanism of halogen hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons, pesticide and petroleum hydrocarbons are stated. Then it is pointed out that for the future the main developing directions in the research field of organic pollutant biodegradation during the process of composition are the isolation and cultivation of high effective degradating microorganism, the exploitation of genetic engineering microorganism, the strengthening of the function of superficial active reagents on the biodegradation, the suitable composting condition for organic pollutants and the analysis of the substances produced by biodegradation of organic pollutants.

**Key words** Composting, Organic pollutant, Degradation, Microorganism

(Received Nov. 10, 2004; revised Dec. 26, 2004)

### 1 堆肥中几种有机污染物的生物降解过程及机理

卤代有机物的降解。卤代有机物在地面水和土壤污染中普遍存在,是危险废品和垃圾提取物的重要组成部分。随着人造化学剂如制冷剂、灭火剂、油漆、溶剂、除草剂和农药的广泛使用,其对环境的污染日趋严重。该类污染物最初一般采用物理化学方法如气提、萃取、土埋、活性炭吸附、焚烧等治理,但这些方法只是污染物的转移,不能从根本上治理,且易造成二次污染,成本也较高,对食品、调味品中存在类似污染就更无能为力了。生物降解能通过微生物作用将有毒物质转化为无毒物质,投资少且无二次污染,近年来已成为各国研究的热点。对城市固体废物、城市固体废物 城市污泥的堆肥产物进行分析表明,氯化酚化合物(CPs)如三氯代酚( $T_3CP$ )、四氯代酚( $T_4CP$ )、五氯酚(PCP)等,其含氯原子数越多则含量越高,表明低氯原子数的氯化酚化合物较易降解,而高氯原子数的氯化酚化合物较难降解。但五氯酚(PCP)同分异构体分布发生了变化,并转化为PCDDs,在堆肥产物中五氯酚与PCDDs的浓度比降低了2个数量级。Minna Laine进行稻草、污泥和木屑的堆肥研究也得出类似结论。同时显示堆肥化过程中氯化酚化合物浓度随时间的变化情况较为复杂,与堆肥材料有关。仅木屑堆肥中氯化酚化合物浓度随发酵时间而降低,降解或转化较为明显;而污泥和稻草堆肥中到第72d后氯化酚化合物的浓度反而显著提高,到第175d后又显著降低,但与初始浓度相比有的降低明显,有的则不明显,甚至还会提高<sup>[9]</sup>。卤代有机化合物在环境中均非常稳定,表现出较难降解的特性。但在微生物作用下,许多卤代有机化合物均能不同程度被降解,但不同物质的生物降解性则不相同。一些卤代有机化合物可作为微生物的纯培养基质,微生物可将其彻底代谢氧化为CO<sub>2</sub>和水,这些物质如3-氯苯甲酸、3-氯邻二酚、4-氯邻二酚、3,5-二氯邻二酚等,被微生物彻底氧化后释放出氯离子<sup>[11]</sup>。但

\* 国家高技术(863)发展计划项目(2002AA245031)及“十五”国家科技攻关项目(2004BA516A03)资助

\*\* 通讯作者

收稿日期:2004-11-10 改回日期:2004-12-26

有些卤代化合物则不能作为纯培养基质而被微生物全部氧化,完全降解为  $\text{CO}_2$  和水则需环境中多种微生物的共同作用。有些则不能直接作为基质被微生物降解,而只能作为共基质才能被微生物利用,如多氯联苯。微生物必须借其他生长基质的诱导,产生一种能适应多氯联苯的酶并改变多氯联苯的结构,最终达到降解多氯联苯的目的。像多氯联苯一样,许多氯代芳香化合物都是人工合成的,自然界并不存在,因此微生物并不能直接降解,但可诱导微生物或者对微生物进行驯化,使其适应化学物质的特征。如用 2-氯酚驯化污泥时,该污泥条件下可降解性顺序为 2-氯酚 > 4-氯酚 > 3-氯酚;当用 3-氯酚驯化污泥时,其可降解顺序为 3-氯酚 > 4-氯酚 > 2-氯酚;而用 4-氯酚驯化污泥时,其可降解性顺序为 4-氯酚 > 3-氯酚 > 2-氯酚<sup>[2]</sup>。与一般芳香化合物相比,卤代芳香化合物可降解性大大降低,这是因为卤素原子引起了分子特性的改变。故卤代芳香化合物降解中最重要的一步是卤素取代基的脱除。

多环芳烃的降解。多环芳烃(PAHs)是指含有 2 个或 2 个以上苯环的稠环化合物,是土壤、水体和空气环境中广泛存在的一类污染物。所含苯环个数低于 4 的多环芳烃称为小分子多环芳烃,含有 4 个或 4 个以上苯环的多环芳烃称为大分子多环芳烃。据报道,多环芳烃主要来源于石化燃料的燃烧过程。石油泄漏、火山爆发、森林火灾以及细菌对动、植物的转化作用也能产生多环芳烃。石油、天然气、焦化和木材防腐工业区周围环境中多环芳烃浓度极高。多环芳烃水溶性差,化学性质稳定,且具有致癌、致突变、致畸作用,是一类被很多国家列入黑名单的有机污染物。长期以来如何有效清除多环芳烃造成的环境污染是 1 个世界性的热点与难题。小分子多环芳烃是一类相对较易被微生物降解的有机污染物,其降解程度与环数有关,环数越多则越难降解,可降解的微生物有细菌和真菌 2 类。环较少的多环芳烃接种降解菌比不接种的有较明显降解效果。与未加降解菌的堆肥比较,在堆肥中加入降解菌可迅速进入升温期,并对多环芳烃有较好的降解效果,说明降解菌对多环芳烃有明显的降解作用,其中又以白腐真菌降解效果为佳。多环芳烃的生物降解由 1 个环发生二羟基化和开环开始,进一步降解为丙酮酸和  $\text{CO}_2$ ,之后第 2 个环以同样方式分解。蔡全英等<sup>[3]</sup>对污泥堆肥的研究表明,大多数化合物降解均较明显,降解率 > 50%。堆肥化过程中温度、供氧量、水分含量等也会影响污泥中多环芳烃的降解和转化。微生物降解多环芳烃的活性与  $\text{O}_2$  量及水分含量密切相关,当堆肥中  $\text{O}_2$  含量少 (< 18%)、水分含量高 (> 75%) 时,堆肥就从好氧条件转化为厌氧条件。该研究也表明,翻堆方式堆肥水分含量较高且  $\text{O}_2$  不足(翻堆提供的  $\text{O}_2$  30min 即被耗尽),不利于多环芳烃的完全降解,而通气方式尤其是间歇通气的堆肥供氧充足且有效性高,因而多环芳烃降解效果更佳。此外 C/N 值也影响多环芳烃的降解效果,张文娟等研究表明 C/N 值变化对 4~6 环芳烃降解有一定影响,堆制适宜的 C/N 值范围为 25:1~40:1,且 C/N 值为 25:1 的处理对多环芳烃的降解效果优于 C/N 值为 40:1 的处理效果。马瑛<sup>[4]</sup>等研究原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)在堆肥化过程中对多环芳烃的降解作用,经过 42d 的处理,蒽含量由 5800mg/kg 降为 1967.36mg/kg,去除率为 66.08%,表明原毛平革菌可有效用于多环芳烃类有害废弃物的堆肥化处理。聂麦茜等<sup>[5]</sup>筛选分离的短杆菌(*Brevibacterium*)能降解实验中涉及的蒽、菲、芘、萘等多环芳烃,但降解程度各不相同,一般分子中环个数越少则越易被降解,能有效去除反应体系中蒽、菲、芘所产生的总有机碳; $\text{Fe}^{3+}$  对该短杆菌降解多环芳烃反应过程有促进作用。目前人们已分离出以多环芳烃为唯一 C 源和能源的微生物有气单胞菌、产碱菌、芽孢杆菌、拜叶林克氏菌、氰基细菌、棒状杆菌、黄杆菌、微球菌、分枝杆菌、诺卡氏菌、假单胞菌、球形红假单胞菌和弧菌等;将多环芳烃与其他有机物一起进行共代谢的微生物主要有白腐菌、烟管菌和小克银汉雷菌等。若能在适当条件下将这些微生物接种到堆肥反应堆中,对多环芳烃降解效果会更好。

农药类的降解。农药是人们主动投放于环境中数量最大、毒性最广的化学物质。据统计 20 世纪 60 年代农药已成为世界范围内土壤主要污染源之一。很多种农药如有机氯、有机磷等具有很强的毒性,分别对高等动物的神经系统、大脑、心脏、脂肪组织造成损伤,有的农药有诱变性,有的甚至是三致物质,威胁人畜的健康安全。堆肥处理是农药污染土壤的一种常用生物修复方法。与城市垃圾的堆肥相似,土壤堆肥也是利用堆肥过程中培养料中微生物的活动达到降解污染物的目的。微生物对农药的降解作用主要是通过一系列水解方式进行,如荧光假单胞菌对于对硫磷的降解。由于大多数农药带有卤素、氨基、硝基及其他各种取代物等,这些取代基的种类和数量往往会影响农药的微生物可降解性,且农药的微生物降解很多属于共代谢类型。农药降解基因大部分定位于质粒上,目前已分离到一些能够降解农药的质粒,如 2,4-D 质粒和六六六质粒等。而假单胞菌 192 和 195, S55 菌株降解 AT 的酶可能定位于细菌染色体上<sup>[10]</sup>。目前对农药降解微生物的研究正方兴未艾。但大部分工作尚不能完全使农药降解菌从实验室走向实际应用,其原因是受农药污染的环境不能集中统一处理,尤其是受农药污染的食品不能进行有效处理;农药污染环境的化合物

组成很不稳定,经常波动,不利于农药降解菌的生长,温度、pH及湿度波动也较大,有可能抑制降解菌生长;直接从环境中筛选获得的农药降解菌降解速度慢,不能满足实际需要或经常发生变异导致降解能力丧失,不能继续降解农药;投放到环境中去的降解菌还会受到该环境原有菌群的影响,甚至受到拮抗而不能在该环境中长期生存,农药降解菌在受污染环境不能成为优势菌等。李国学等<sup>[6]</sup>研究高温堆肥对六六六和滴滴涕及其衍生物的降解结果表明,适宜堆制条件下,高温堆肥对六六六及其异构体、滴滴涕及其衍生物均有不同程度降解效果,且高温堆肥处理更有利于滴滴涕及其衍生物的生物降解。六六六的4种异构体的去除率大小顺序均为 $\gamma$ -六六六 $>$  $\delta$ -六六六 $>$  $\beta$ -六六六 $>$  $\alpha$ -六六六。4种异构体的降解性能随污染物在原料中含量的增加而降低,添加化肥的堆肥处理对六六六的去除率大于未添加化肥处理,前者对 $\gamma$ -六六六的去除率为96.4%,后者仅为40.7%。高温堆肥对滴滴涕及其衍生物的生物降解能力相对较强,其中 $o,p$ -DDT、 $p,p$ -DDD和 $p,p$ -DDT经堆肥化后去除率可达100%。

石油烃类的降解。石油烃是土壤最普遍的污染物之一,石油对土壤的污染主要是在勘探、开采、运输以及储存过程中引起的,油田周围大面积土壤一般均受到严重污染。石油在土壤中与土粒粘连,影响土壤的通透性,其对土壤的污染程度直接影响到农作物的生长状况。其主要化学成分是烷烃、苯、甲苯、二甲苯和复杂芳香烃,这些物质中有的毒性很大,可能有致癌、致突变、致畸变作用,被列为重点污染物。在利用堆肥化处理石油类污染物过程中,易降解有机物在堆料中所占比例对堆肥化处理效果有很大影响,主要是因为易降解有机物为微生物生长提供充足的C源和能源,以维持堆料中微生物活性和必要的高温,同时多样的C源为共代谢降解石油类污染物提供了物质基础,增强了堆肥生物降解的潜力。但过多的易降解有机物反而会降低污染物的降解速率,因此需确定1个适宜的范围,找到最适堆料比将有助于有害废弃物的工程化处理效率。张甲耀<sup>[7]</sup>等采用高温好氧堆肥化技术,发现当石油烃废弃物/易降解有机物(堆料比)为1/30时为最适堆料比,该条件下废弃物中的石油烃经28d堆肥化处理后去除率可达59.12%。石油污染土壤中最常见的芳香烃污染物包括苯、甲苯、乙苯及二甲苯的同系物,利用堆肥化技术对其进行生物修复效果较佳。Kamnikar将牛粪、羊粪与锯木屑混合制成有机肥,再与被石油污染的土壤按污染土:有机肥为(3.5~4.0):1比例混合,堆放高度为1.5~1.8m,中间放置多孔软管以便排水及通气,对1个约420m<sup>3</sup>、被燃料油和柴油污染了的土壤处理结果表明,处理70d后土壤中未检出苯、甲苯及二甲苯。处理效果好的原因是动物粪便提供了微生物生长必需的营养物,加入锯屑不仅能保持温度,且由于其具有一定的堆积孔隙,提供了O<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>迁移交换的有利条件。Aldaher R等<sup>[11]</sup>在科威特Burgan油田采用长条形堆肥法处理原油污染土壤,测定土壤样品中芳香烃含量、微生物种群数量等,在连续运转10个月后,土壤中的石油污染物基本被降解完全。从堆肥化过程中分离的石油降解菌有*Pseudallescheria boydii*、*Candida* sp. M23-2、真菌、胶菌属(*Zoogloes* sp.)、氮单胞菌属(*Azomonas* sp.)和假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)等,其中以真菌中的白腐真菌(White rot fungi)为主要菌属。故石油烃类降解采用堆肥化生物修复技术,同时创造良好的微生物生长繁殖条件,必要时接种对石油类污染物具有良好降解特性的微生物能起到事半功倍的效果。

## 2 堆肥中有机污染物微生物降解的研究方向

高效降解微生物的分离培养。利用堆制原料中的土著微生物降解有机污染物处理时间较长,需要数十天甚至百余天。现代堆制研究中则常采用接种特种微生物的方法来缩短微生物适应期限,以提高有机污染物的生物降解速率。Mcfarland等在实验中接种了10%的白腐真菌处理被石油污染的土壤,堆制30d后接种过的苯并芘去除率可达1.58mg/kg·d,远大于对照中的最大去除率0.73mg/kg·d。国内关于高温堆肥中微生物对有机污染物的降解大多集中在利用土著微生物研究污染物的可降解性方面,如陈勇等<sup>[8]</sup>利用已分离的细菌和白腐真菌研究其对堆肥中多环芳烃的降解表明,白腐真菌降解效果较佳。张文娟等用实验室模拟方法,研究了堆肥处理对污染土壤中4~6环芳烃的降解结果表明,其去除率顺序为茱萸>苯并茱萸>苯并芘>苯并茱萸>苯并芘,且随污染负荷增加,高浓度污染物对微生物产生极大毒害作用,也会抑制微生物对污染物的降解。研究发现混合培养菌的降解效果明显高于单株培养菌,这种具有协同降解作用的微生物群称为共生菌群(Consortia)。但目前对于具有协同关系的菌株的筛选和组合还是1个随机过程,其协同作用机制尚待进一步研究。Biotrol公司使用明尼苏达大学的专利技术,用以黄杆菌(*Flavobacterium*)为主的共生菌作为强化菌剂,成功处理了被五氯酚钠(PCP)污染的土壤。故在堆肥有机污染物降解研究中,要利用微生物的共代谢作用,加强对共生菌群的分离筛选与构建方面的研究。

基因工程菌的开发。微生物育种方法主要有诱变育种、原生质体融合和基因工程,其中诱变在污染物高效降解工程研制中应用较少,以原生质体融合和基因工程技术定向较为准确,效率最高。Chakrabayty 最早采用基因工程手段,在同 1 菌株中组入 4 种假单胞菌的遗传基因,这些细菌分别带有 CAM、OCT、SAL 和 NAH 降解质粒(分别降解苯、甲苯、辛烷和樟脑),得到的工程菌能同时降解脂肪烃、芳烃、萜和多环芳烃,降解石油的速度快、效率高,几小时内能降解海上溢油中 2/3 的烃类,而自然菌种则需 1 年多时间<sup>[12]</sup>。此后解烃抗汞质粒菌的构建、高效降解三氯苯氧基醋酸的 *Pseudomonas putida* ACl100 的构建、降解 2 种染料的脱色工程菌的构建以及同时降解二氯苯氧基醋酸和三氯苯氧基醋酸的微生物菌种的构建,为组建带有多个质粒的新菌株展示了广阔应用前景。因此构建含有目的基因,具有较强竞争力的基因工程菌(GEM)是现代环境生物技术的主要目标之一。用于构建有机污染物生物降解基因工程菌的生物技术有降解性质粒 DNA 的体外重组、质粒分子育种、原生质体融合等。

表面活性剂对生物降解的强化作用。很多有机物被强烈吸附在土壤上,使用表面活性剂能促进憎水性有机物的亲水性和生物可利用性。使用合成表面活性剂时浓度要合适,浓度过高不经济,又可能抑制微生物活性;且不要在环境中引入新的化学品污染。魏得洲与 Hind Johns 等分别研究表面活性剂对石油降解能力的影响表明,微生物对污染物的生物降解主要通过微生物酶的作用进行,而许多酶并不是胞外酶,污染物只有与微生物相接触,才能被微生物降解,生物表面活性剂能吸收烃类污染物,增加微生物与污染物接触几率,提高微生物降解石油的能力。Texas Research Institute(TRI)对表面活性剂在石油污染土壤堆肥化处理过程中的作用进行广泛研究发现,阴离子表面活性剂(Richonate-YLA)和非离子表面活性剂(HyonicPE-90)联合作用最为有效,可使 80% 的石油残余物从土壤表面脱除,而研究使用的其他几种表面活性剂则形成粘性乳浊液,导致低的流动率和脱除。生物表面活性剂的应用目前尚处于试验性阶段,主要问题是如何将具有特定代谢功能的微生物接种于污染现场,并保证其能产生有效增强生物降解的生物表面活性剂。

有机污染物堆肥化处理的研究方向。有机污染物堆肥化处理的研究方向首先是要进一步研究适合有机污染物降解的堆肥条件,其中包括温度、水分含量、通气性、C/N 值、膨胀剂和调理剂种类等。Susan C. 等(1993)通过改变环境条件来改变微生物降解污染物的速率,从而得出保持微生物降解活力的适宜条件。其次是分析有机污染物在堆制过程中降解的中间产物及终产物,有机污染物在堆肥处理过程中变化较复杂,一方面可通过微生物的作用而降解;另一方面会衍生其他中间产物,这些中间产物具有较大的迁移性,在某些条件下可形成比目标污染物毒性更大的有机污染物,因此关于中间产物和终产物的分析确定是评估生物降解的重要指标,并由此确立有机污染物降解动力学,寻求低生物毒性的代谢途径。

总之,单一种的细菌、真菌、放线菌,无论其活性多高,在加快堆肥化进程、实现堆肥产品无害化、防止出现二次污染方面的作用均低于多种微生物群体的共同作用。根据微生物之间的协同关系,有目的地组合功能微生物和伴生菌,构建分解效率高、优势强和效果稳定的微生物组合,并对其在堆肥环境中适应能力及其功能深入研究,对推进我国有机废弃物资源无害化进程具有重要意义。

## 参 考 文 献

- 1 夏北成. 环境污染物生物降解. 北京:化学工业出版社,2002. 314~330
- 2 瞿福平, 张晓健, 吕 昕等. 氯代芳香化合物的生物降解性研究进展. 环境科学学报, 1997, (2): 74~96
- 3 蔡全英, 莫测辉等. 城市污泥堆肥处理过程中有机污染物的变化. 农业环境保护, 2001, 20(3): 186~189
- 4 马 瑛, 张甲耀等. 原毛平革菌堆肥化处理有害废弃物的可行性. 环境科学, 1999, 20(6): 66~70
- 5 聂麦茜, 张志杰等. 优势短杆菌对多环芳烃的降解性能. 环境科学, 2001, 22(6): 83~85
- 6 李国学, 孙 英. 高温堆肥对六六六(HCH)和滴滴涕(DDT)的降解作用研究. 农业环境保护, 2000, 19(3): 141~144
- 7 张甲耀等. 不同物料比对石油废弃物堆肥处理效率的影响. 环境科学, 1999, 20(5): 86~89
- 8 陈 勇, 郑向群等. 降解菌对堆肥中多环芳烃降解作用的初步研究. 农业环境保护, 2000, 19(1): 53~55
- 9 Laine M. M., Jurgensen K. S. Effective and safe composting of chlorophenol contaminated soil in pilot scale. Environmental Science and Technology, 1997, 31: 271~278
- 10 Perkovich B. S., Anderson T. A., Kruger E. L., et al. Enhanced mineralization of C-14 atrazine in *Kochia scoparia* rhizo sphere soil from a pesticide contaminated soil. Pesticide Science, 1996, 46: 391~396
- 11 Aldaher R., Alawadhi N., Einawawy A. Bioremediation of damaged desert environment using the windrow soil pile system in Kuwait. Environment, 1998, 24(2): 175~180
- 12 Truax D., Brittu R., Sherrard J. H. Bench-scale studies of reactor-based treatment of fuel-contaminated soils. Waste Management, 1999, 16(5): 351~357