

利用改进的生物反应器研究不同通气条件下 土壤中菲的降解*

克强^{1, 2} 骆永明^{1†} 刘世亮¹ 邢维芹¹ 吴龙华¹ 宋静¹ 李振高¹

(1 中国科学院南京土壤研究所土壤与环境生物修复研究中心, 南京 210008)

(2 南京工程学院, 南京 210013)

摘要 利用自行设计的生物反应器进行多环芳烃菲污染土壤的生物修复研究。在控制土壤水分、养分的情况下, 设 6 个通气处理, 分析测定各处理的土壤菲降解率、微生物量、多酚氧化酶以及土壤酸度的动态变化。为期 60 天的试验结果表明, 通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ 时, 菲的降解率最高, 达 72.6%; 与对照相比, 微生物量最多, 其中细菌、真菌都显著高于对照; 多酚氧化酶活性也最高。通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ 处理还可以控制土壤中酸度的变化, 保持土壤中 pH 的稳定, 从而更快地降解污染土壤中的菲。较高的菲降解率与通气改变土壤条件有关。在本实验的条件下, 反应器中土壤细菌、真菌数量增加, 多酚氧化酶活性提高, 土壤保持稳定的 pH 值是土壤中菲降解率提高的主要原因。因而, 改进的反应器具有较高的降解效果。本研究还表明, 利用生物反应器能够快速、高效地消除土壤中的有机污染物, 实现有机污染土壤的离位生物修复。

关键词 生物反应器; 菲; 通气速率; 生物修复

中图分类号 X171.5 文献标识码 A

多环芳烃(PAHs) 进入土壤后, 一般的去向为: 挥发、吸附、淋滤、积累(植物)和生物降解。土壤中 PAHs 的主要归宿为表面吸附, 3 环以上的 PAHs 被牢固地吸附到土壤中^[1]。因为低水溶性和 3 环以上的 PAHs 有非常低的蒸汽压^[2], 因此, 淋滤和挥发都是一个不显著的过程。进入土壤中的 PAHs 类物质, 可以被植物吸收, 并在植物体内迁移、代谢和积累, 进而通过食物链危及人类健康^[3]。因此, 对 PAHs 的研究一直受到人们的关注, 并对其在土壤、水环境中的各种物理、化学和生物学行为进行了研究^[4]。

生物降解是去除土壤中 PAHs 的主要途径。利用微生物的作用来降解污染物是一个低费用、高效率的生物修复方法。真菌、细菌都能够降解 PAHs^[5, 6]。生物修复包括通过受污染土壤中存在的微生物有效利用污染物和将微生物投加到一个新的环境中来降解污染物。生物降解已经被成功地利用修复石油烃类污染的土壤, 并恢复其生产力^[7]。人们可以通过不同技术来实施生物修复, 如生物反应

器方法主要是指生物泥浆反应器, 将受污染的土壤挖掘起来与水混合搅拌成泥浆, 在接种了微生物的反应器中进行处理, 处理后的土壤与水分离后, 经过脱水处理再运回原地^[8]。目前, 国外利用生物泥浆反应器进行有机污染物的生物修复已有文献报道^[9, 10], 但国内对此技术的研究还刚开始^[11, 12]。

本研究利用生物泥浆反应器的特点, 自行设计生物反应器, 控制土壤的污染物浓度、水分、温度、营养物、通气等条件, 避免形成泥浆, 保持土壤固体状态, 尽可能减少对土壤性质的破坏, 研究污染土壤的生物修复机制, 为开发有机物污染土壤的实用化生物修复技术提供实验科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

供试土壤采自中国科学院南京土壤研究所常熟生态实验站, 为河湖沉积物发育的水稻土, 土壤系统分类名称为潜育水耕人为土^[13], 质地为粘土。其理化性质如下: 有机碳 15.8 g kg^{-1} , 全氮 1.59 g kg^{-1} ,

* 国家自然科学基金重点项目(40031010)、国家重点基础研究发展规划项目(2002CB410809)和中国科学院知识创新工程项目(KZCX3-SW-429)资助

† 通讯作者

作者简介: 丁克强(1968-), 男, 博士, 从事土壤有机污染物生物修复方面的研究

收稿日期: 2002-11-21; 收到修改稿日期: 2003-06-09

全磷 0.78 g kg^{-1} , 全钾 15.11 g kg^{-1} , 阳离子交换量 $21.6 \text{ cmol kg}^{-1}$, pH 7.8。土壤风干后, 过 2 mm 筛备用。膨松剂用锯末与稻壳(重量比 4:1), 以 50 g kg^{-1} 土(重量比)添加入土中。

化学品菲(Phenanthrene, 纯度 $\geq 97\%$) 为德国 Fluka 公司产品。其它试剂均为国产分析纯品。

1.2 研究方法

反应器设计见图 1, 在侧面有 2 个取样口, 在内部均匀设置 6 个排气管, 用 200 目不锈钢丝网包裹, 以防土壤颗粒堵塞。

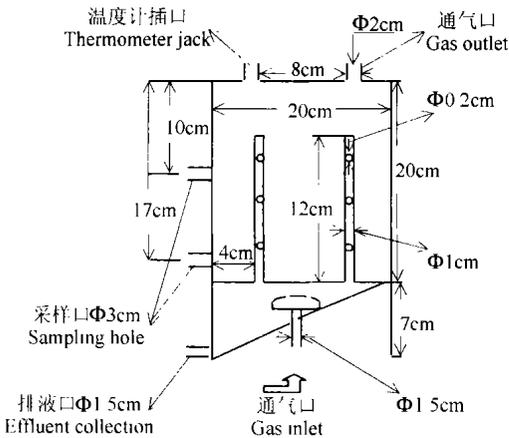


图 1 通气装置示意图

Fig. 1 Diagram of the experimental installation

反应器中, 装入供试土样 4000 g (按烘干计)。另取供试土壤 100 g , 用丙酮溶解供试化学品菲 800 mg (使土壤菲的浓度为 200 mg kg^{-1}), 然后添加到土壤中, 待丙酮挥发掉, 拌入反应器土壤中, 充分搅拌均匀, 以后每天搅拌一次, 持续 2 周以平衡。在土壤中加入 50 g kg^{-1} (重量比)膨松剂、尿素 100 g 和 K_2HPO_4 2.8 g , 充分搅拌均匀。水分按最大持水量的 60% 加入, 通气设计见表 1, 每间隔 30 min 通气 30 min, 在室内温度为 25°C 下, 试验各处理, 重复 3 次。分别从顶部、侧面的 2 个取样口取土样各 10 g , 三部分混合后, 进行样品分析。同时, 选择降解率最好的通气处理, 观测土壤中微生物动态、酶活性和 pH 的变化。

表 1 通气设计

Table 1 Design of aeration ($\text{m}^3 \text{ h}^{-1}$)

| 编号 No. | A | B | C | D | E | F |
|----------------------|------|------|------|------|------|------|
| 通气量 Aeration rate | 0.00 | 0.02 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 0.10 |

1.3 分析方法

细菌采用牛肉膏蛋白胨琼脂平板涂布法; 真菌

采用马丁氏(Martin)培养基平板涂布法; 放线菌采用改良高氏一号培养基平板涂布法, 详见《土壤微生物研究法》^[14]。

土壤 pH 值的测定: 参见《土壤农业化学分析方法》^[15]。

土壤酶活性的测定: 脱氢酶、过氧化氢酶、多酚氧化酶的测定方法参见《土壤酶及其研究方法》^[16]。

土壤菲的分析方法: 参考宋玉芳方法^[17], 具体方法: 称取 5 g 土壤样品, 置于 100 ml 的离心管中, 加入 20 ml 的二氯甲烷, 水浴超声提取 2 h (每半小时换一次水, 保持温度小于 40°C)。然后取出, 以 2500 r min^{-1} 离心 5 min , 取上清液 10 ml 进入蒸馏瓶, 用旋转蒸发仪浓缩置干, 环己烷定容至 2 ml , 取 $500 \mu\text{l}$ 转移到装有 1.0 g 的硅胶柱中, 再用 1 ml 正己烷/二氯甲烷(1:1)混合液洗脱, 弃取第一组分 1 ml 的洗脱液, 收集 2 ml 第二组分的洗脱液, 以氮气吹干, 乙腈定容至 2 ml , 待 HPLC 分析。液相色谱条件: LG-10A VP 色谱仪, RF-10A XL 荧光检测器, ex: 250 nm , em: 370 nm 。

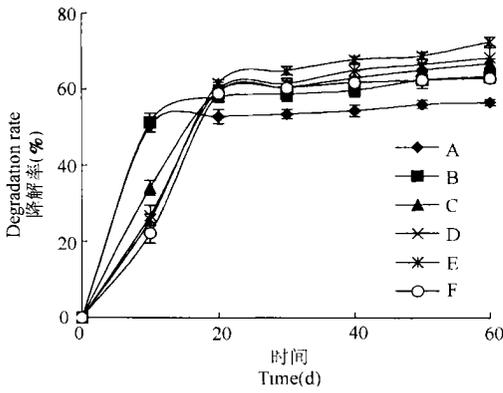
1.4 统计分析

数据用 EXCEL2000 软件分析和新复极差法进行多重比较。

2 结果

2.1 通气对土壤中菲生物降解率的影响

图 2 描述了在不同通气量下, 土壤中菲的降解率随时间的动态变化。在处理后的第 10 天, 反应器内土壤中菲都有明显的降解, 其降解变幅为 $22.2\% \sim 51.2\%$, A、B、C、D、E、F 6 个不同通气量处理的降解率分别为 50.3% 、 51.2% 、 34.2% 、 26.8% 、 25.8% 、 22.2% 。在第 20 天反应器中菲降解率与第 10 天有所不同, 对照(A)的降解率与第 10 天比较, 变化很小, 而其它通气处理的降解率都有明显的提高, A、B、C、D、E、F 6 个不同处理的降解率分别为 52.8% 、 58.0% 、 59.5% 、 59.9% 、 61.6% 、 58.8% 。除 A、B 处理的降解率变化较小以外, C、D、E、F 4 个处理的增幅在 $25.3\% \sim 36.7\%$, 其中处理 E、F 的降解率增加最快。在试验结束的第 60 天时, A、B、C、D、E、F 6 个处理的降解率分别达到 56.5% 、 63.4% 、 66.7% 、 68.3% 、 72.6% 、 62.8% 。其顺序为 $\text{E} > \text{D} > \text{C} > \text{B} > \text{F} > \text{A}$, 其中 E 处理(通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$)降解率最高。



A: $0 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; B: $0.02 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; C: $0.04 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; D: $0.06 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; E: $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; F: $0.10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$

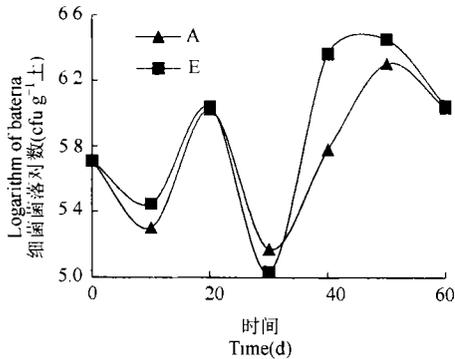
图 2 不同通气条件下土壤中菲的降解率的动态

Fig. 2 Phenanthrene degradation in soil at different aeration rates

2.2 通气对菲污染土壤中微生物的影响

2.2.1 通气对土壤细菌的影响 如图 3 所示, 在处理的第 40 天和 50 天时, 土壤的细菌数通气处理高于对照处理 ($p < 0.05$), 其它各点两者相差不明显。

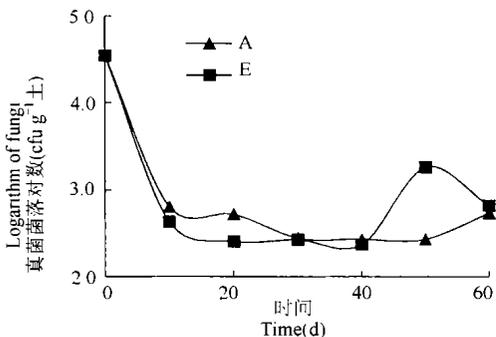
2.2.2 通气对土壤真菌的影响 如图 4 所示, 在



A: $0 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; E: $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$

图 3 土壤细菌数量的动态

Fig. 3 The number of bacteria in soil at two aeration rates



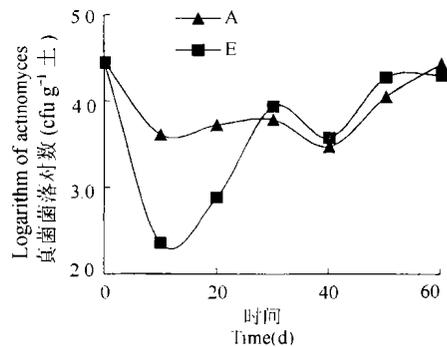
A: $0 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; E: $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$

图 4 土壤真菌数量的动态

Fig. 4 The number of fungi in soil at two aeration rates

处理的第 50 天时, 土壤的真菌数通气处理高于对照处理 ($p < 0.05$), 到 60 天结束时, 通气处理的真菌数有所降低, 接近对照处理的真菌数。说明土壤中有能够很好利用菲的真菌, 到处理进行 50 天时, 通气处理的真菌大量的繁殖, 数量高于对照处理。

2.2.3 通气对土壤放线菌的影响 如图 5 所示, 在处理的第 10 天和 20 天时, 土壤的放线菌数通气处理低于对照处理 ($p < 0.01$), 其它各点两者相差不明显。说明土壤放线菌中没有能够有效降解菲的菌落, 而且在处理前期还表现出菲的较强的毒性, 土壤放线菌活性受到抑制。



A: $0 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; E: $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$

图 5 土壤放线菌数量的动态

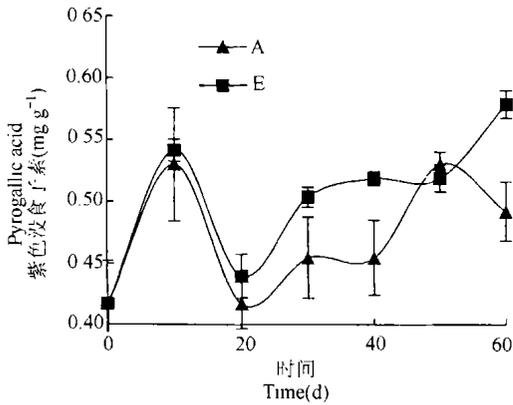
Fig. 5 The number of actinomycetes in soil at two aeration rates

2.3 通气对菲污染土壤多酚氧化酶活性的影响

本文进一步研究了通气对土壤酶活性的影响, 以探讨土壤酶活性对微生物降解菲的影响状况。土壤中脱氢酶、过氧化氢酶、多酚氧化酶是人们常研究的土壤氧化还原酶, 其参与有机物的分解过程。从本试验的结果分析, 脱氢酶、过氧化氢酶与对照之间在试验过程中无显著差异。在本试验中这些酶对目标物不敏感(数据未列出), 所以本文选择土壤多酚氧化酶为例。如图 6 所示, 当通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ (E 处理) 时, 土壤中多酚氧化酶在一开始就高于对照, 直到试验结束; 只有在处理第 50 天时与对照接近, E 处理小于对照 (A 处理), 但未达到显著水平 ($p > 0.05$)。

2.4 通气对菲污染土壤 pH 的影响

为进一步探讨反应器中微生物活性的动态变化, 本试验还分析了土壤中与微生物活性相关的土壤 pH 值的动态变化。如图 7 所示, 经过 60 天的处理, 在没有通气的对照中, 污染土壤中 pH 值明显下降; 而在通气量 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ 的处理中, 污染土壤中

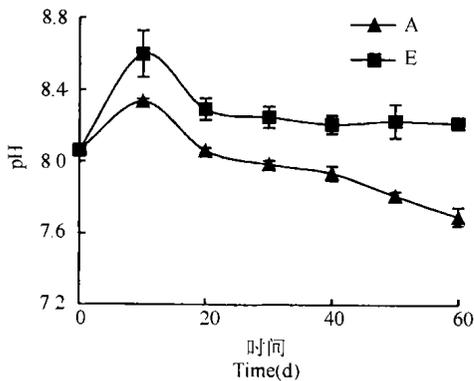


A: $0 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; E: $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$

图6 土壤多酚氧化酶的动态

Fig. 6 Activity of polyphenol oxidase in soil at two aeration rates

pH 值却没有发生明显的变化, 除在处理 10 天时的 pH 为 8.60 外, 以后各点在 8.2~ 8.3 范围内变动。



A: $0 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; E: $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$

图7 通气条件下土壤 pH 的变化

Fig. 7 Changes of soil pH at two aeration rates

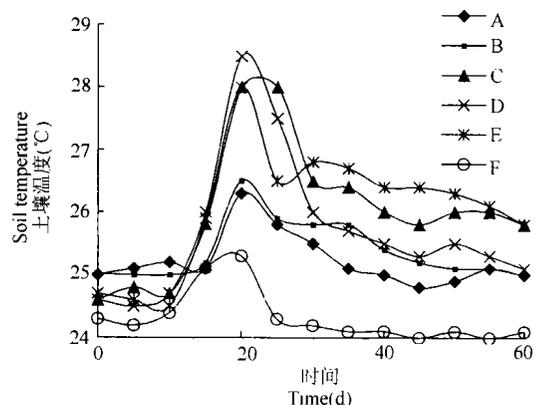
3 讨论

3.1 反应器中菲的降解作用

生物反应器中土壤的堆腐是好氧生物修复过程。利用该生物反应器可以控制污染物的浓度、温度、空气流量、水分等对生物修复的影响, 进而能更好地研究多环芳烃的生物修复技术。微生物降解有机物的巨大潜力是生物修复的基础。土壤中经常存在着各种各样的微生物, 在受到有毒有害的有机物污染后, 实际上就存在着一个驯化过程。一些特异的微生物在污染物的诱导下产生分解污染物的酶系, 进而将污染物降解转化^[7]。通气供氧改善多环芳烃污染土壤的微生物处理效果机制可能包括两个方面: 一是直接氧化作用, 加入到土壤中的氧气可以

直接氧化一部分污染土壤中的烃类化合物; 二是对降解烃类物质微生物的促进作用, 加入到土壤中的氧气为微生物的繁殖及对烃类物质的降解过程提供充足的电子受体^[18]。本研究就是利用污染土壤中的土著微生物, 在人为控制的条件下, 考察通气对微生物降解多环芳烃的作用。微生物在有氧条件下, 利用菲作为碳源和能源进行代谢合成自身的物质, 提供充分的氧能够促进有机物生物降解率的提高。由图 2 所见, 在第 10 天, A 处理(对照)和 B 处理(低通气量, $0.02 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$)的降解率最高, A 处理和 B 处理两者无显著差异($p > 0.05$), 但与其它处理比较存在极显著差异($p < 0.01$)。这说明, 土壤中存在降解菲的微生物, 能够利用多环芳烃菲作为碳源和能源进行分解代谢合成自身的物质。

如图 8 所示, 在反应器中, 不同的通气条件下, 由于微生物代谢作用的差异, 使得土壤中温度有小幅度变化(与室温比较)。土壤中微生物的活性高, 代谢作用强, 表现出土壤温度较高; 反之, 土壤中微生物活性低, 表现为土壤温度较低。在试验初期, 可能由于土著微生物刚开始经过驯化进入繁殖状态, 耗氧较少, 产热少, 过多流量的空气把土壤中的热量带走, 使得土壤中温度降低, 不利于温度的保持(见图 8), 影响微生物的生长, 导致空气流量越大降解率越低。在第 20 天时, 通气处理与没有通气的对照比较, 降解率明显高出($p < 0.05$), 表现出通气对降解率的促进作用, 可以说提供足够的空气, 满足微生物对氧的需要, 有利于土壤微生物对菲的降解。在试验结束时, 经过通气处理的土壤中菲的降解率都高于对照处理, 其中 E 处理(通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$)



A: $0 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; B: $0.02 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; C: $0.04 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; D: $0.06 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; E: $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$; F: $0.10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$

图8 不同通气条件下土壤温度的变化

Fig. 8 Changes of soil temperature at different aeration rates

的降解率最高(72.6%),和对照(56.5%)比较存在极显著差异($p < 0.01$)。有试验表明,在不外加通气的自然土壤堆肥情况下,土壤菲在516天后降解率仅为55.8%^[19];而在通气条件下,堆肥土壤中菲的降解速率明显加快,在56天时间内通气处理比自然条件处理菲的降解率高出15.5%^[20]。许华夏等^[21]在生物泥浆反应器降解菲和芘的研究中认为,通气量在 $0.06 \sim 0.10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ 为最佳,在5天后,泥浆反应器中菲的降解率达89.5%。本研究的通气量与其相近,而降解率低于泥浆反应器的处理,这是由于泥浆反应器把水和土壤混合搅拌,利于微生物与目标物的充分接触,条件也容易调控;但需要消耗水资源,增加投入,并会产生处理后水的二次污染。本试验针对泥浆反应器存在的问题,吸收了污染土壤的堆肥处理工艺,设计此反应器,可以直接利用被污染土壤进行处理,与泥浆反应器相比减少了与水混合过程,降低了费用。由图2还可见,适当的通气量能够发挥土壤微生物的降解潜力,通气量过高或过低都不利于微生物的生长。这可能是太高的通气量影响土壤温度,使微生物分解有机物释放的能量不足补偿通气对温度降低的作用,从而降低降解率。温度是影响土壤微生物活性的一个重要因素,较高的温度可以提高菲的土壤溶解度,增加微生物的可利用性;同时菲从土壤颗粒的解吸过程是一个吸热过程,温度太低不利于解吸;另外,保持适宜的温度会促进微生物的生长繁殖^[11]。

3.2 反应器中微生物群落的变化

虽然PAHs可以通过化学氧化、光解及挥发而被去除,但是微生物降解过程依然是去除环境中,尤其是土壤环境中PAHs的主要过程。利用生物反应器可以人为控制土壤的环境条件如温度、水分、营养、通气量等,较好地进行了有机物污染的机制研究。本研究结果表明,土壤中细菌、真菌较多,而放线菌少,这与刘期松等^[22]在石油污灌区微生物种群的报道类同。在该土壤中可能有大量的细菌能够降解菲,合适的通气能够供给细菌的生长利用,使得与对照相比E处理($0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$)的细菌数在经过一个适应期后有一个明显的增加,达到 $2.82 \times 10^6 \text{ cfu g}^{-1}$ 干土;在60天时,可能是随着多环芳烃菲的降解,可利用的菲减少,不足以供给微生物的生长,导致细菌的数量减少。对于真菌,在经过50天的适应驯化期以后,其数量有显著的增加,达到 $1.82 \times 10^3 \text{ cfu g}^{-1}$ 干土;在60天时,亦出现与细菌相同的趋势,数量减少。表明土壤中存在能够降解菲的真菌,同时亦

是菲降解的重要贡献者,为今后的进一步分离、筛选高效多环芳烃降解菌提供了信息。放线菌对于菲的降解没有作用,相反,土壤中高浓度的菲对放线菌有毒害作用,通气处理导致土壤温度降低,前期表现为明显的抑制作用,随着土壤中菲的降解、放线菌对土壤的适应,同时,细菌、真菌的大量生长繁殖,微生物的生活环境得到改善,放线菌的数量逐渐回升超出对照。说明土壤中三大菌在污染土壤中的变化受到通气的影响。最佳的通气有利于微生物的生长,进而提高菲的降解率,促进污染土壤的生物修复。

3.3 反应器中土壤酶活性和土壤pH的变化

土壤酶是一类比较稳定的蛋白质。与一般蛋白质不同,酶具有特殊的催化能力,属于生物催化剂。酶的催化能力比无机催化剂要大十几倍、几十倍乃至数百倍。酶活性能够被某些物质激活,也能被某些物质抑制。土壤中酶活性的变化可以反映土壤中微生物和植物根系的降解活性。多酚氧化酶是土壤中重要的氧化还原酶,它能够参与芳香族类化合物的分解转化过程^[6]。如图6表明,通气处理的酶活性明显高于对照,说明给污染土壤提供充足的氧可以提高微生物活性,促进微生物大量繁殖生长产生更多的多酚氧化酶,加快土壤中菲的分解,提高反应器中菲的降解率。在处理60天结束时,通气处理与对照相比多酚氧化酶活性继续高出;而对于处理50天时,通气处理与对照相近的原因,还需要做进一步研究。

微生物的生长需要适宜的pH值。当生存环境中的pH值不适宜时,微生物的生长会受到影响。因此,本实验选择在最佳通气条件下(通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$),对污染土壤中pH值变化情况进行分析。测定结果表明,在未通气的对照中,经过60天的处理,污染土壤中pH值有了明显的下降;而在最佳通气条件的处理中,污染土壤中的pH值却没有发生明显变化。前者可能是在缺乏电子受体的情况下,微生物对脂肪酸的氧化难于进行,不能将烃类化合物完全氧化,从而使一些短链烃的脂肪酸在土壤中积累,致使土壤中的酸性增加,土壤pH值下降;进行通气处理后,为微生物氧化烃类化合物提供了充足的电子受体 O_2 ,可能使微生物将烃类物质完全氧化为 CO_2 和 H_2O ,从而避免了土壤中酸类物质的积累,使土壤pH值保持稳定^[11]。上述结果说明,反应器中污染土壤的pH值保持稳定,有利于微生物的生长繁殖,增强了微生物的活性,促进了多环芳烃的降解。因此,通气对污染土壤pH值的稳定作用,也

是提高多环芳烃污染土壤微生物治理效果的原因之一。

4 结 论

在多环芳烃菲污染土壤的反应器处理中,进行通气处理,改变了土壤原有的培养条件,可能为降解菌提供了良好的生存环境,可以明显提高微生物对烃类化合物的去除效果,加快菲污染土壤的清洁速度。

在自行设计的反应器中,当通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ 时,菲的降解率最高,处理 60 天达到 72.6%。在相同的温度、水分、营养条件下,该处理(通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$)中微生物的菌落数最多,其中细菌、真菌都高于对照,可以进行降解菌的筛选和分离工作。此处理(通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$)中多酚氧化酶的量也最多,这也是降解率高的一个原因。

同时,该处理(通气量为 $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$)还可以控制土壤中酸度的变化,较好地保持了污染土壤中 pH 值稳定,防止土壤中酸类物质的积累,从而提高了微生物的活性及其降解烃类物质的能力,促进了多环芳烃污染土壤的快速生物修复。

参 考 文 献

- [1] Knox R C, Cassidy M B. Subsurface transport and fate processes. Boca Raton, FL: Lewis Publ., 1993
- [2] Park K S, Sim R C, Dupont R R, *et al.* Fate of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in two soil types: Influence of volatilization, abiotic loss and biological activity. *Environ. Tox. Chem.*, 1990, 9: 187~ 195
- [3] 高学晟,姜霞,区自清. 多环芳烃在土壤中的行为. *应用生态学报*, 2002, 13(4): 501~ 504. Gao X S, Jiang X, Ou Z Q. Behaviors of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the soil (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(4): 501~ 504
- [4] Baqar R Z, Syed H I. Factors affecting microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons phenanthrene in the Caribbean Coastal water. *Mar. Pollut. Bull.*, 1999, 38(8): 737~ 742
- [5] 张春桂,许华夏,姜晴楠. 污染土壤生物恢复技术. *生态学杂志*, 1997, 16(4): 52~ 58. Zhang C G, Xu H X, Jiang Q N. Bioremediation of contaminated soil (In Chinese). *Chinese Journal of Ecology*, 1997, 16(4): 52~ 58
- [6] Petra Kucerova. The ability of different plant species to remove polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls from incubation media. *Biotechnology Letters*, 2001, 23: 1355~ 1359
- [7] Mahmood S K, Rao P R. Microbial abundance and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1993, 50: 486~ 491
- [8] 马文漪,杨柳燕主编. 环境微生物工程. 南京: 南京大学出版社, 1998. 254~ 267. Ma W Q, Yang L Y. ed. *Engineer of Environmental Microorganism (In Chinese)*. Nanjing: Nanjing University Press, 1998. 254~ 267
- [9] Dirk B, Huang J W. Bioremediation of diesel contaminated soil in a rotary bioreactor. II. On line monitoring pollutants. *Chem. Eng. Technol.*, 1998, 21(3): 272~ 275
- [10] James G M, Carbs G. Bench scale evaluation of alternative biological treatment processes for the remediation of pentachlorophenol and creosote contaminated materials: Slurry phase bioremediation. *Environ. Sci. Technol.*, 1991, 25(3): 1055~ 1061
- [11] 李培军,巩宗强,井欣,等. 生物反应器法处理 PAHs 污染土壤的研究. *应用生态学报*, 2002, 13(3): 327~ 330. Li P J, Gong Z Q, Jing X, *et al.* Bioremediation of PAHs contaminated soil using bio-slurry reactor process (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(3): 327~ 330
- [12] 丁克强,骆永明,孙铁珩,等. 通气对石油污染土壤生物修复的影响. *土壤*, 2001, 33(4): 185~ 188. Ding K Q, Luo Y M, Sun T H, *et al.* Effect of aeration on bioremediation of petroleum polluted soil (In Chinese). *Soils*, 2001, 33(4): 185~ 188
- [13] 龚子同编著. 中国土壤系统分类—理论·方法·实践. 北京: 科学出版社, 1999. 165~ 167. Gong Z T. ed. *Chinese Soil Taxonomy—Theory, Methodology and Application (In Chinese)*. Beijing: Science Press, 1999. 165~ 167
- [14] 中国科学院南京土壤研究所微生物室编著. 土壤微生物研究法. 北京: 科学出版社, 1985. 40~ 47. Microbiological Department, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. ed. *Research Method of Soil Microorganism*. Beijing: Science Press, 1985. 40~ 47
- [15] 鲁如坤主编. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 12~ 14. Lu R K. ed. *Analytical Method for Soil Agricultural Chemistry*. Beijing: Agricultural Science and Technology Press of China, 1999. 12~ 14
- [16] 关松荫编著. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986. 323~ 328. Guan S Y. ed. *Soil Enzyme and Research Method*. Beijing: Agricultural Press, 1986. 323~ 328
- [17] 宋玉芳,区自清,孙铁珩. 土壤、植物样品中多环芳烃(PAHs)分析方法研究. *应用生态学报*, 1995, 6(1): 92~ 96. Song Y F, Ou Z Q, Sun T H. Analytical method of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil and plant specimen (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1995, 6(1): 92~ 96
- [18] 魏德洲,秦煜民. H_2O_2 在石油污染土壤微生物治理过程中的作用. *中国环境科学*, 1997, 17(5): 429~ 431. Wei D Z, Qin Y M. Effect of H_2O_2 in bioremediation of petroleum contaminated soil (In Chinese). *China Environmental Science*, 1997, 17(5): 429~ 431
- [19] Brian J R, Terry R F, Kirk T S. Induction of PAH catabolism in mushroom compost and its use in the biodegradation of soil associated phenanthrene. *Environmental Pollution*, 2002, 118: 65~ 73
- [20] 莫测辉,蔡全英,吴启堂,等. 城市污泥与稻草堆肥中多环芳烃的研究. *环境化学*, 2002, 21(2): 132~ 138. Mo C H, Cai Q Y, Wu Q T, *et al.* A study on PAHs in compost of municipal sludge and

- rice straw. *Environmental Chemistry*, 2002, 21(2): 132~ 138
- [21] 许华夏, 宋玉芳, 井欣, 等. 生物泥浆反应器中多环芳烃微生物降解调控因子研究. *生态学杂志*, 2001, 20(2): 23~ 26. Xu H X, Song Y F, Jing X, *et al.* Microbiology degradation control of PAHs in bio-slurry reactor (In Chinese). *Chinese Journal of Ecology*, 2001, 20(2): 23~ 26
- [22] 刘期松, 杨桂芬, 张春桂, 等. 污灌土壤中多环芳烃自净的微生物效应. *环境科学学报*, 1984, 4(2): 185~ 192. Liu Q S, Yang G F, Zhang C G, *et al.* Self purification of polyaromatic hydrocarbons and effect of microbes in soils with sewage irrigation (In Chinese). *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1984, 4(2): 185~ 192

DEGRADATION OF PHENANTHRENE IN SOIL AT DIFFERENT AERATION RATES USING MODIFIED BIOLOGICAL REACTOR

Ding Keqiang^{1,2} Luo Yongming¹ Liu Shiliang¹ Xing Weiqin¹ Wu Longhua¹ Song Jing¹ Li Zhengao¹

(1 *Soil and Environment Bioremediation Research Centre (SEBC), Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China*)

(2 *Nanjing Institute of Technology, Nanjing 210013, China*)

Abstract A new bioreactor was designed to study the effect of aeration on biodegradation of phenanthrene in soil. The phenanthrene mixed previously with a little soil sample was added to the paddy soil sample in the reactor to make a phenanthrene concentration of 200 mg kg^{-1} . The sample was stirred frequently and allowed to equilibrate for two weeks. Six aeration rates were used in this experiment: 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 and $0.10 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. Bioreactors were incubated at 25°C and water content was adjusted to 60% of the water holding capacity (WHC). Changes of phenanthrene degradation rate, number of soil microbes, activity of polyphenol oxidase and soil pH were measured during the 60-day incubation. Results showed that aeration at $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ had the highest phenanthrene degradation rate (72.6%). Compared to the control, the number of bacteria and fungi were significantly higher than that of the control. Aeration at $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ also had the highest activity of polyphenol oxidase in soil. At this aeration rate, accumulation of acidic matter in soil was avoided and consequently soil pH remained constant which favored biodegradation of phenanthrene in soil. The high phenanthrene degradation rate achieved in the present study (when soil was aerated at $0.08 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) can be attributed to the increase in the quantities of bacteria and fungi in soil, the rise in the activity of polyphenol oxidase and rather stable soil pH. The new bioreactor can be further developed and used *ex situ* for rapid and efficient removal of organic pollutants in solid phase of soil.

Key words Biological reactor; Phenanthrene; Aeration rate; Bioremediation