



第五章

污染土壤的生物（微生物）修复

生物修复是通过利用营养和其他化学品来激活微生物，使它们能够快速分解和破坏污染物。作用的原理是通过土著微生物或外源微生物提供最佳的营养条件及必需的化学物质，保持其代谢活动的良好状态。

生物修复技术的分类

- 异位生物修复 (Ex-situ bioremediation)
- 原位生物修复 (In situ bioremediation)

异位生物修复

- 异位生物修复是指将被污染介质（土壤、水体）搬动或输送到它处进行的生物修复处理，但这里的搬动和输送是低限底的、而且更强调人为控制和创造更加优化的降解环境
- 此方法有更多的人为调控和优化处理

堆肥法 (Composting)

包括:

- 风道式堆肥处理 (Windrow composting): 堆肥料置于称为风道的平行排列的长通道上, 靠机械翻动来控制温度.
- 好气静态堆肥处理 (Aerated static piles composting): 堆肥料被置于有鼓风机和管道的好气系统上, 通过管道供氧和控制湿度.
- 机械堆肥处理 (Mechanical composting): 堆肥在密封的容器中进行, 过程易于得到控制, 间歇或连续运行.

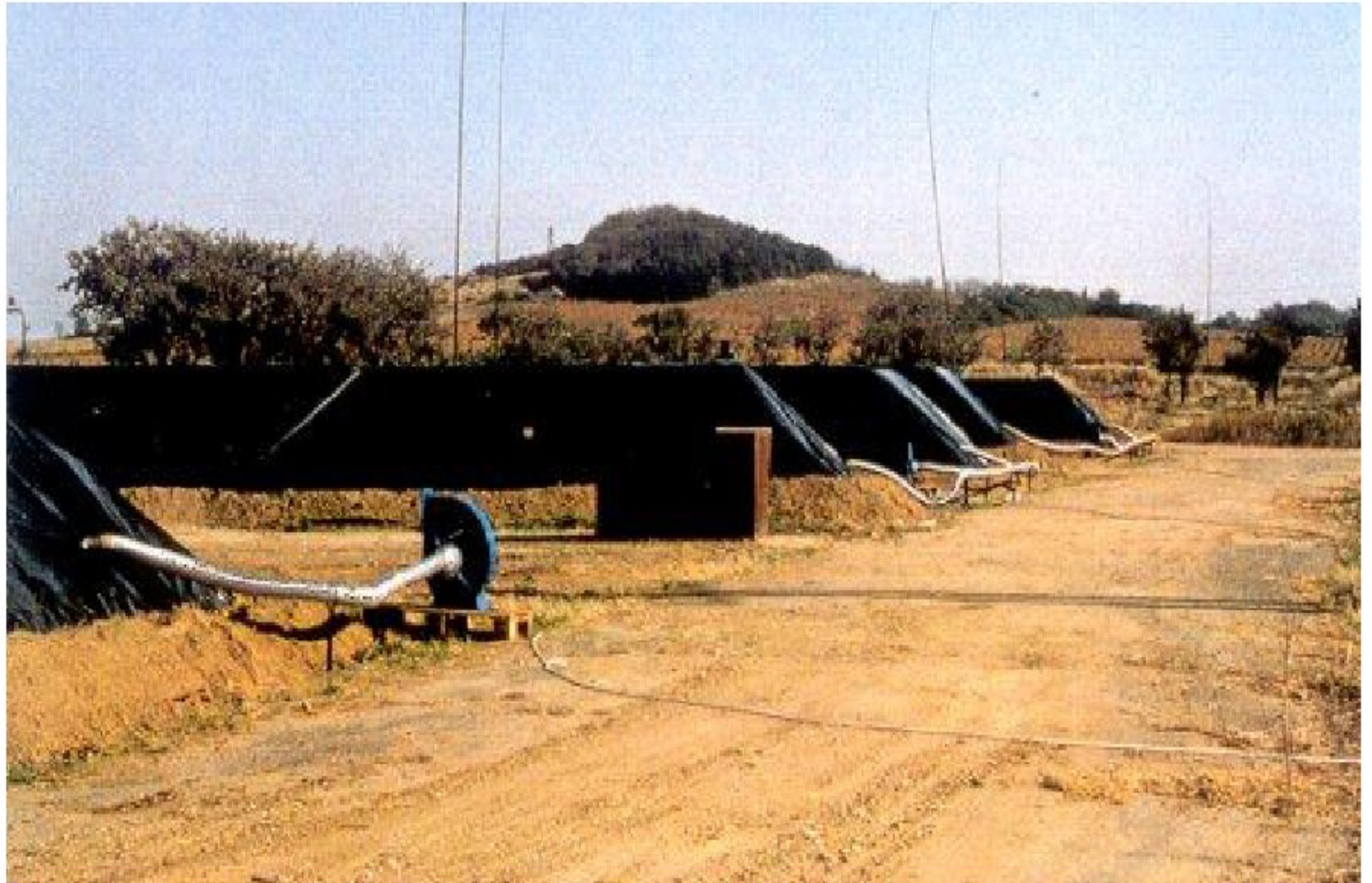
例如：将污染土壤与水(达到至少35%含水量)、营养物、泥炭、稻草和动物粪便混合后，使用机械或压气系统充氧，同时加石灰以调节pH。经过一段时间的发酵处理，大部分污染物被降解，标志着堆肥完成。经处理消除污染的土壤可返回原地或用于农业生产。





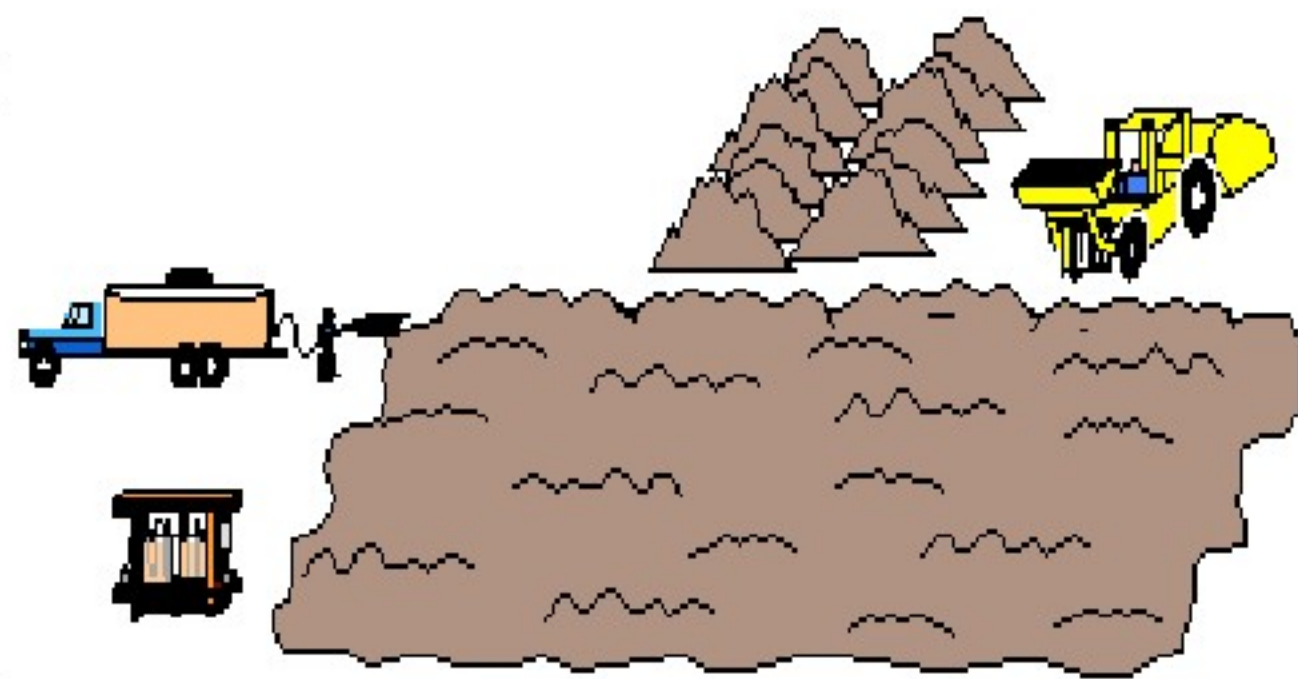
Tanks at Hanford

Biopile with vacuum Manifold



就地耕作法 (In Situ Landfarming)

该方法是指在被污染的土壤范围内，通过有规律地把污染土壤和肥料、木屑、锯末、牛粪、剁碎的稻草或向日葵壳等进行机械的混合，从而使土壤中的污染物有效降解。由于该方法是在被污染地进行的就地处理，而无需将污染土壤挖出，这样大大降低了处理费用，即使在城区人口、建筑密集区也可使用该方法，并且可同时处理包气带和地下水的污染。所以就地耕作法是处理污染物的应用较广的一种生物恢复技术。

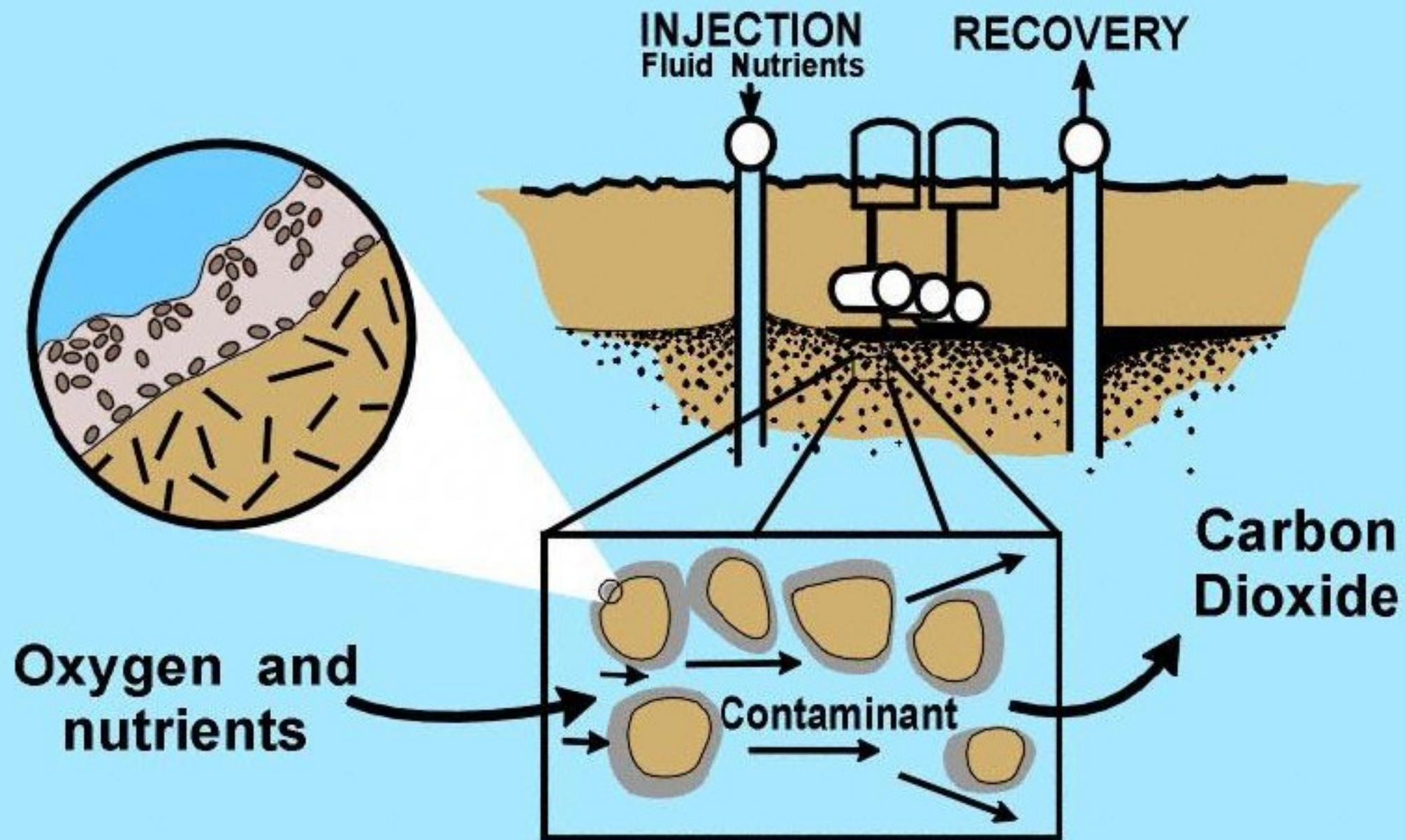


Landfarm style Soil Biotreatment

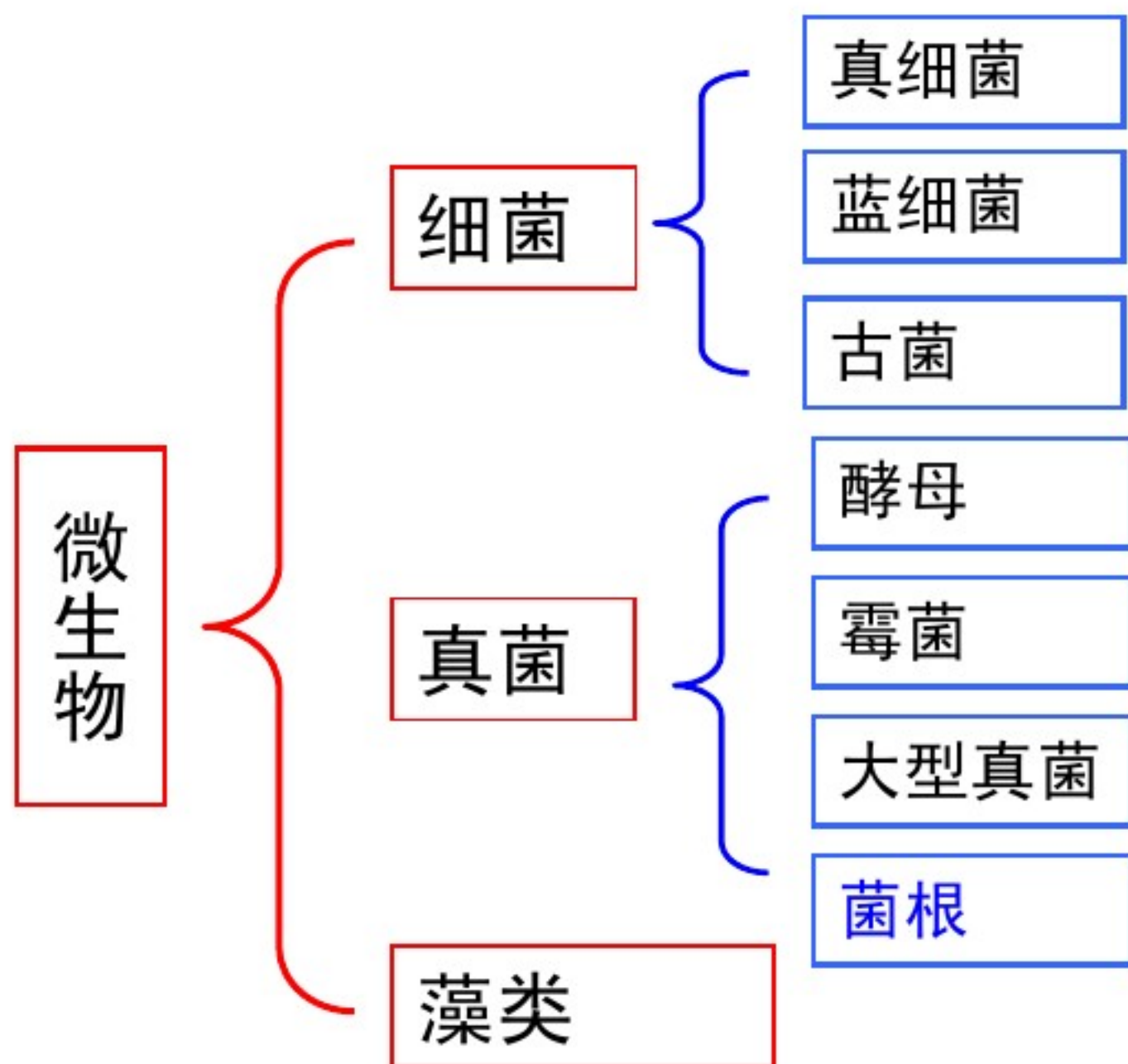
原位生物修复的基本条件

- ✓ 碳源及能源
- ✓ 能高效降解污染物的微生物种群
- ✓ 提供微生物代谢所需的无机营养物
- ✓ 环境介质中合适可利用的水量
- ✓ 适宜的温度
- ✓ 适宜的pH值

Bioremediation



生物修复可能利用到的微生物



微生物对污染物的简单代谢的生理过程

向基质接近



对固体基质的吸附



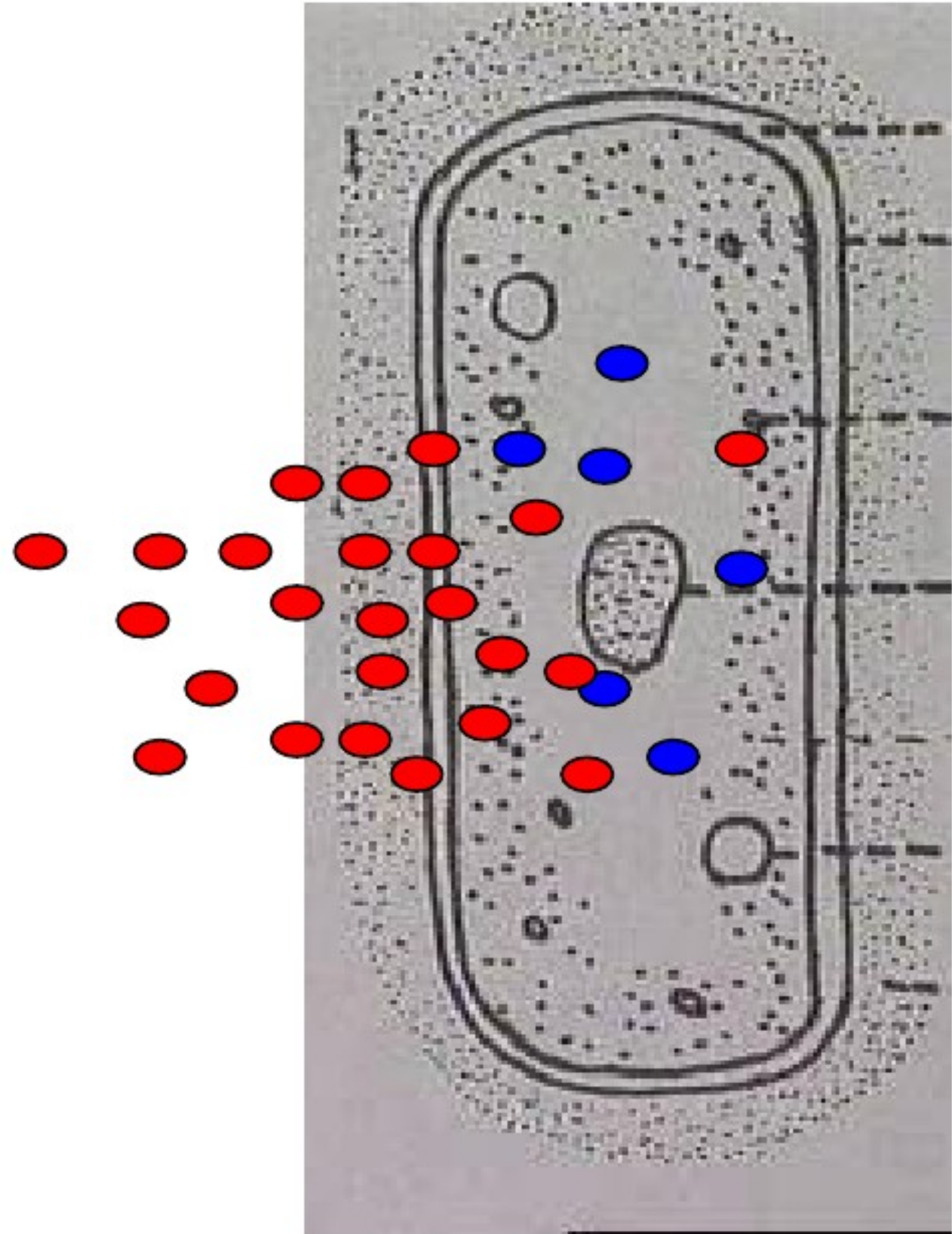
分泌胞外酶

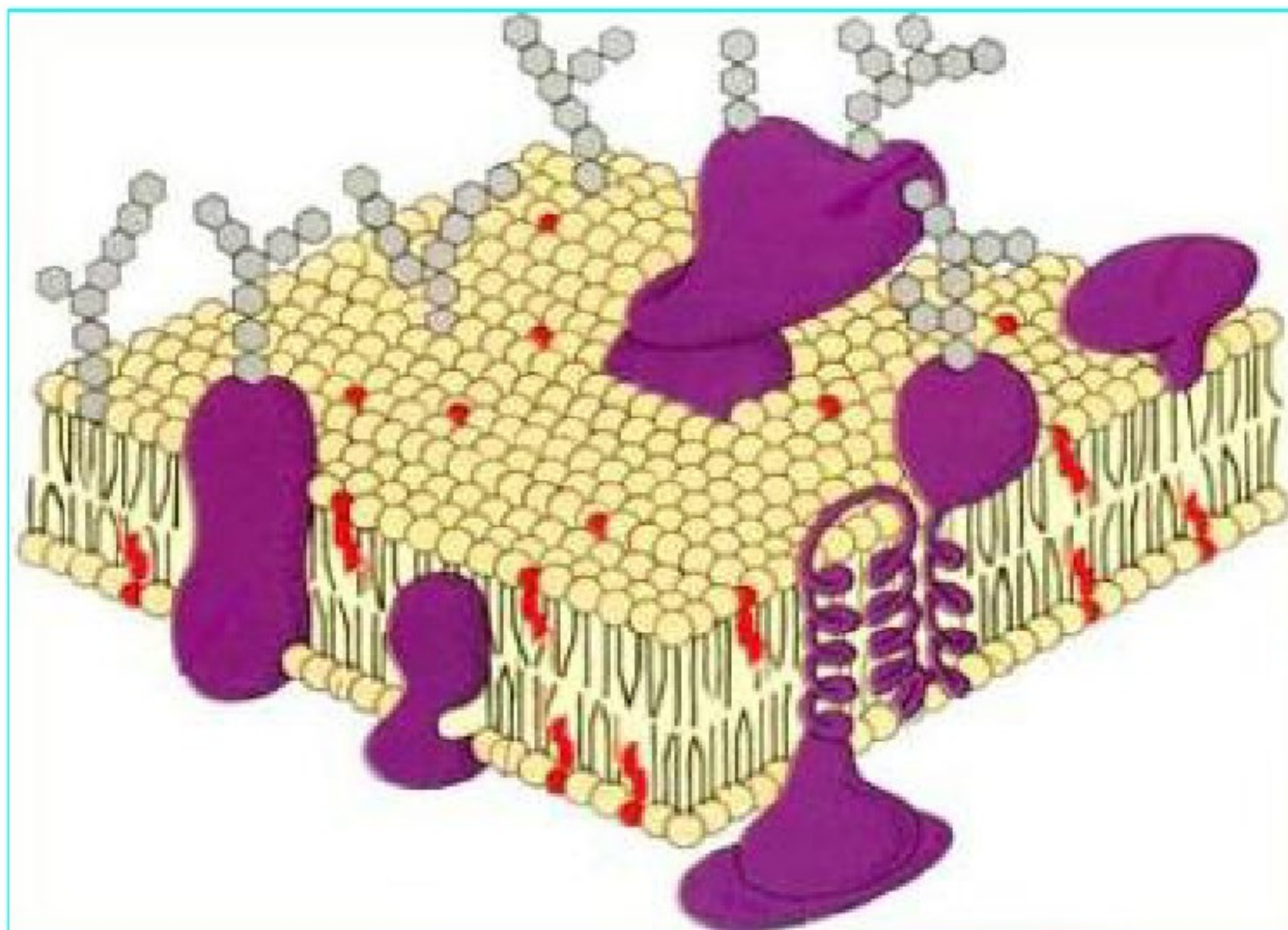


污染物质的吸收



胞内代谢





污染物透过细胞膜的方式

1. 被动转运：主要包括简单扩散和滤过两种方式。

✓ 简单扩散：任何溶解的化学物质若浓集于溶液的某一部分，它必将逐渐扩展，直到其分子均匀分布在整個溶液中，此过程称为扩散。简单扩散中化学物不与生物膜起反应，也不需要细胞提供能量。

扩散的速度与生物膜的厚度、扩散的范围、生物膜两侧该物质分子的浓度差别，扩散常数以及该物质在脂质中的溶解度等有关。

✓ 滤过是化学物质通过生物膜上的亲水性孔道的转运过程

污染物透过细胞膜的方式

2. 特殊转运，可分为主动转运和易化扩散。

特殊转运的特点是被转运的污染物必须与生物膜组成成分发生可逆性结合，并形成复合物。参加形成复合物的生物膜组成成份可认为一种载体，载体将被转运的化合物从膜一侧移向另一侧，然后将被转运的化合物释放，完成化合物透过生物膜的过程。载体本身又将回到膜的另一侧，继续其载体作用。

主动运转：是指化合物透过生物膜由低浓度处向高浓度处移动并消耗能量的过程。其最主要特点是逆浓度梯度进行，并消耗一定的代谢能量。另外还有以下几点：

- ✓ 需要有载体参加。
- ✓ 载体既然是生物膜组成成分，所以有一定的容量；当化合物浓度达到一定程度时，载体可以饱和，转运即达到极限。
- ✓ 主动转运系统有一定选择性，
- ✓ 两种基本相似化合物在生物转运过程中需要同一转运系统，可出现竞争，并可出现竞争性抑制。
- ✓ 主动转运的最主要特点是在转运过程中化合物可逆浓度梯度而转运，即可由浓度低的部位向浓度高的部位转运，并因此需要消耗一定的能量。

易化扩散：指某些不易溶于脂质的亲水化合物，透过生物膜从高浓度向低浓度移动的过程，也称之为促进扩散。

其特点为：

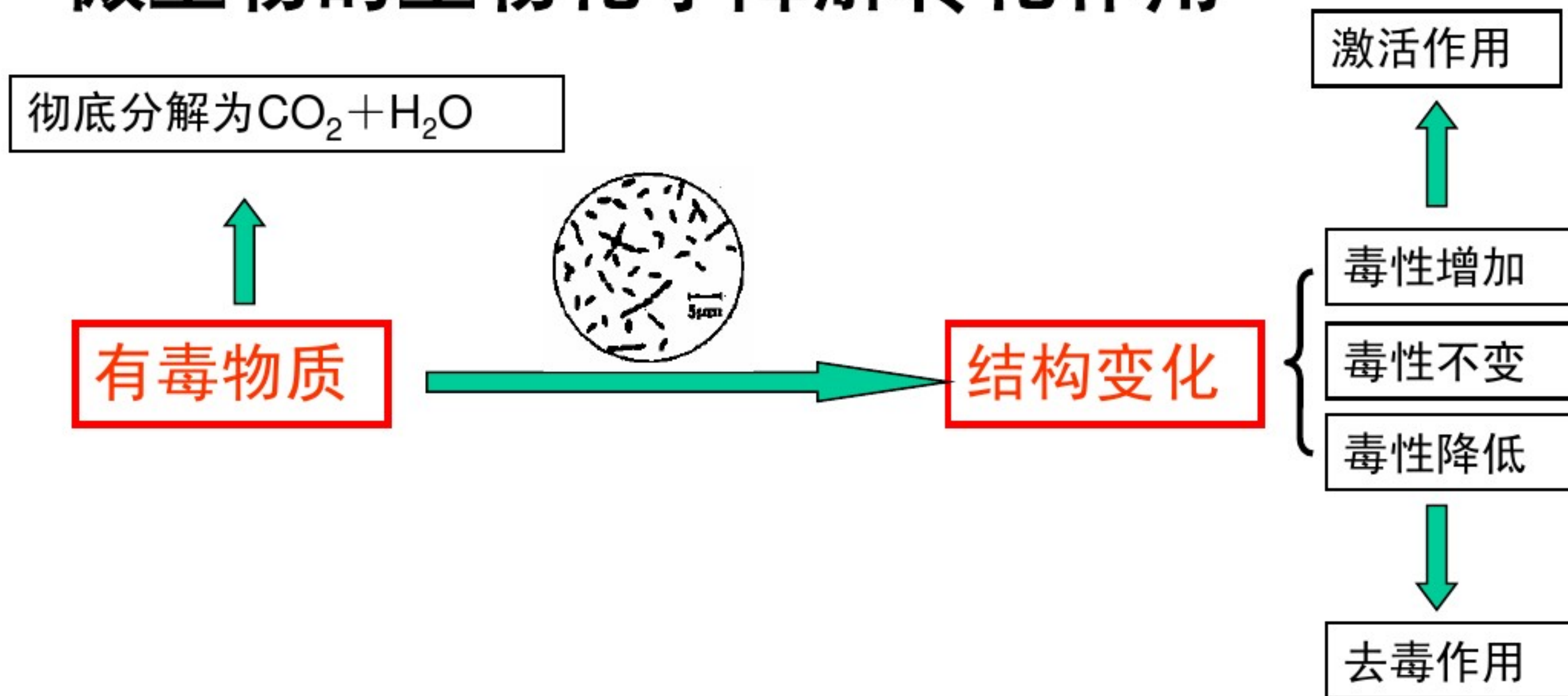
- ✓ 顺浓度梯度进行，即从高浓度处向低浓度处，不需要能量同简易扩散；
- ✓ 有载体参加，同主动扩散
- ✓ 例葡萄糖在体内即通过此途径转运。

污染物透过细胞膜的方式

3. 胞饮作用：由于生物膜具有可塑性和流动性，因此，对颗粒状物质和液粒，细胞可通过细胞膜的变形移动和收缩，把它们包围起来最后摄入细胞内。这就是胞饮作用和吞噬作用。

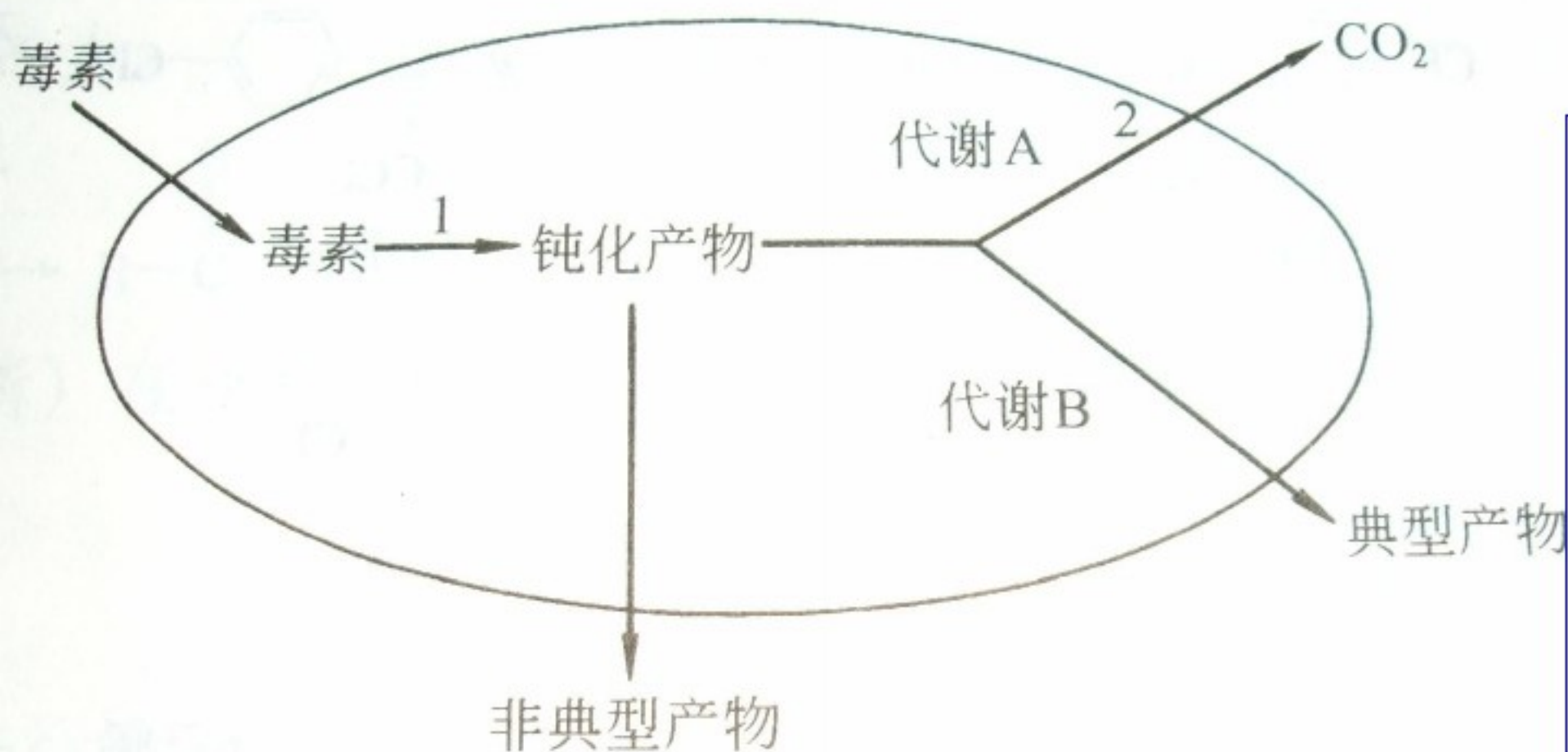
污染物以何种方式通过细胞膜，主要取决于污染物本身的化学结构、理化性质及各种组织细胞膜的结构特征。

微生物的生物化学降解转化作用



去毒作用：微生物使污染物的分子结构发生变化，从而降低或去除其对敏感物种的有害性。敏感物种包括动物、植物、微生物和人。

去毒作用的产物



去毒作用的产物去向:

- ✓ 直接分泌到细胞外。
- ✓ 经过几步代谢，以有机废物的形式排除。
- ✓ 经过代谢，以CO₂的形式释放。

图 3-4 被去毒的化学品的转归

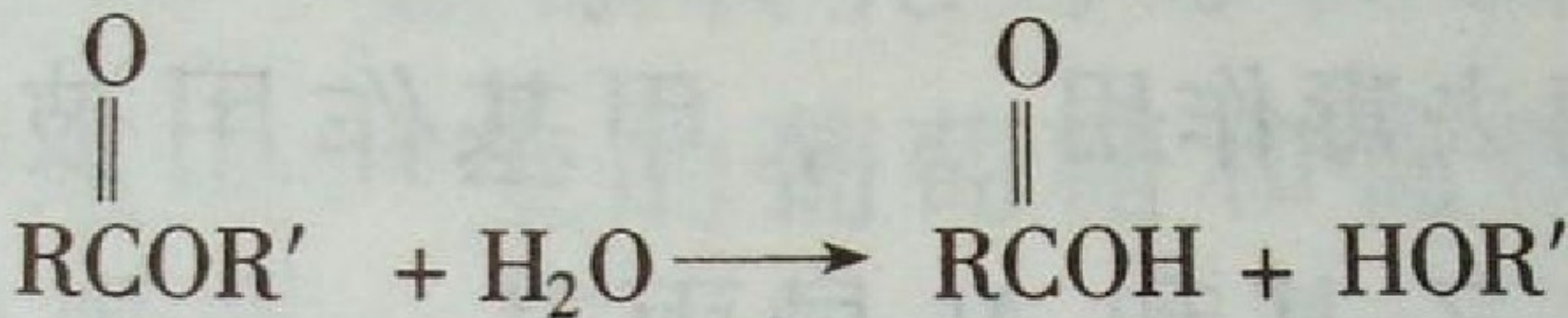
1—去毒反应（产物的结构通常与母体化合物相似）；

2—矿化作用

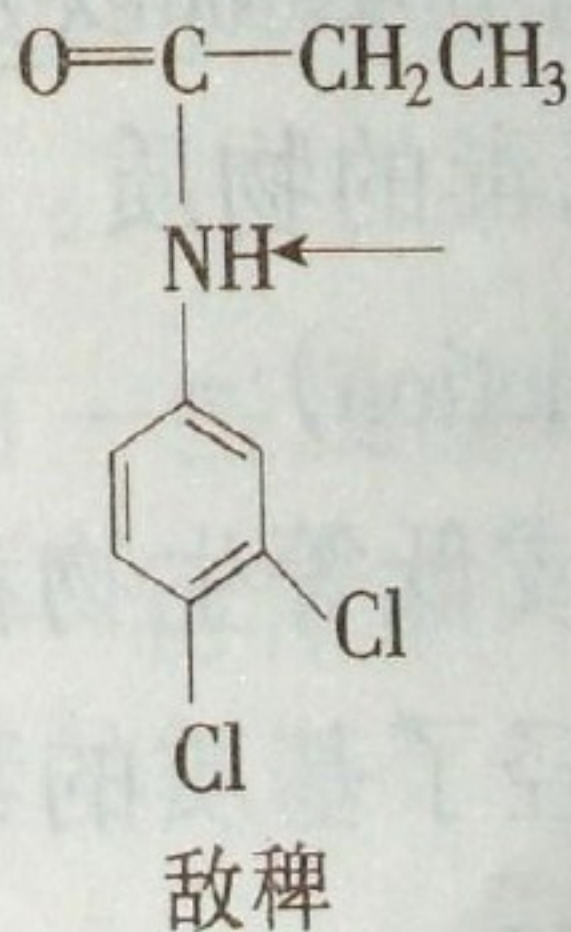
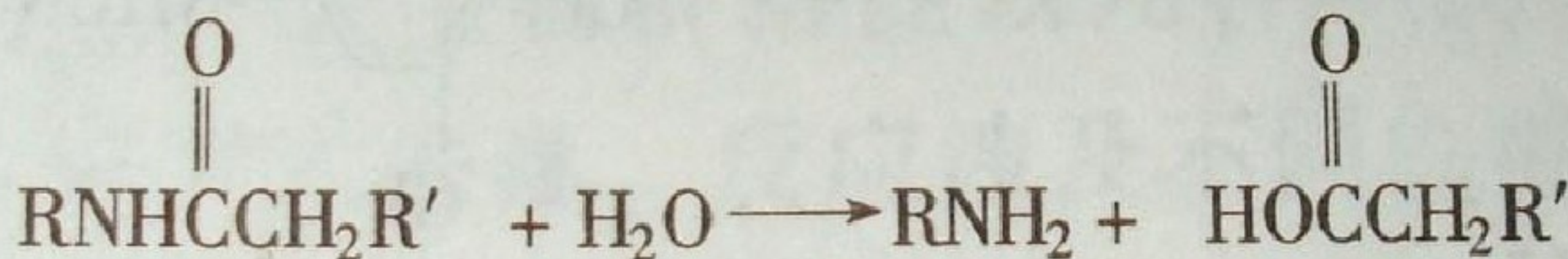
去毒作用—水解作用

在微生物的作用下，酯键和酰胺键水解，使有机物的毒性减小。

羧酸酯酶水解的通式



酰胺酯酶水解的通式



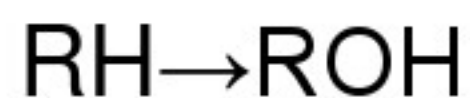
除草剂敌稗的水解

酰胺类除草剂由美国孟山都公司开发：

- 防治禾本科杂草的效果好
- 以土壤处理为主
- 持效期长
- 植物体内分解快
- 利用吸收和传导差异、体内降解差异等方式的选择作用

去毒作用—羟基化作用

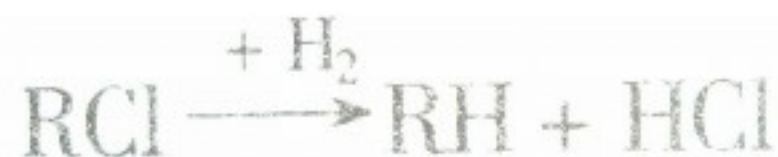
苯环或脂肪链上发生羟基化，使OH取代H而使毒物失去毒性。



去毒作用—脱卤作用

通过脱卤素酶的作用，卤原子被其他的元素或基团取代，降低污染物的毒性

氢代脱卤



还原脱卤

羟代脱卤

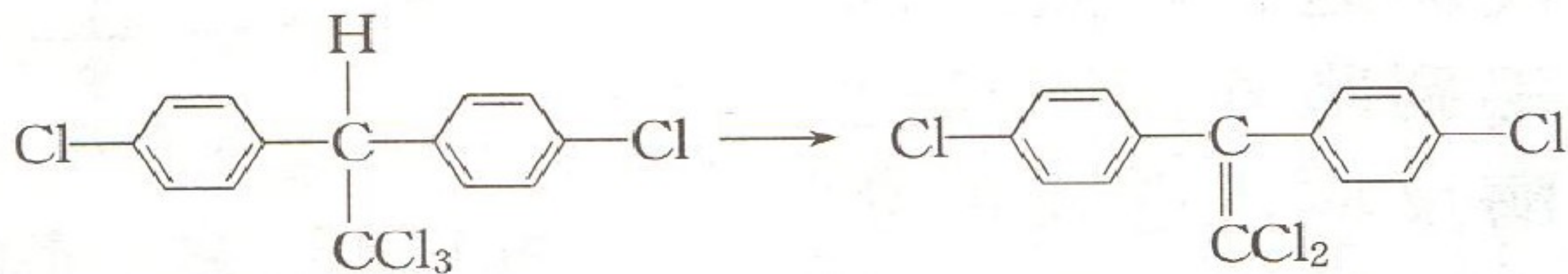


氧化脱卤

氢卤同时

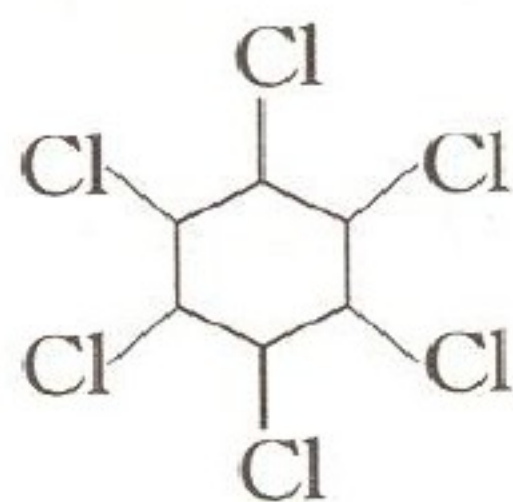


脱氢脱卤

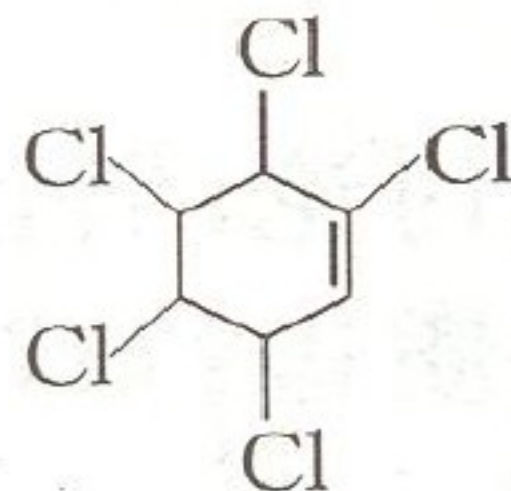


DDT

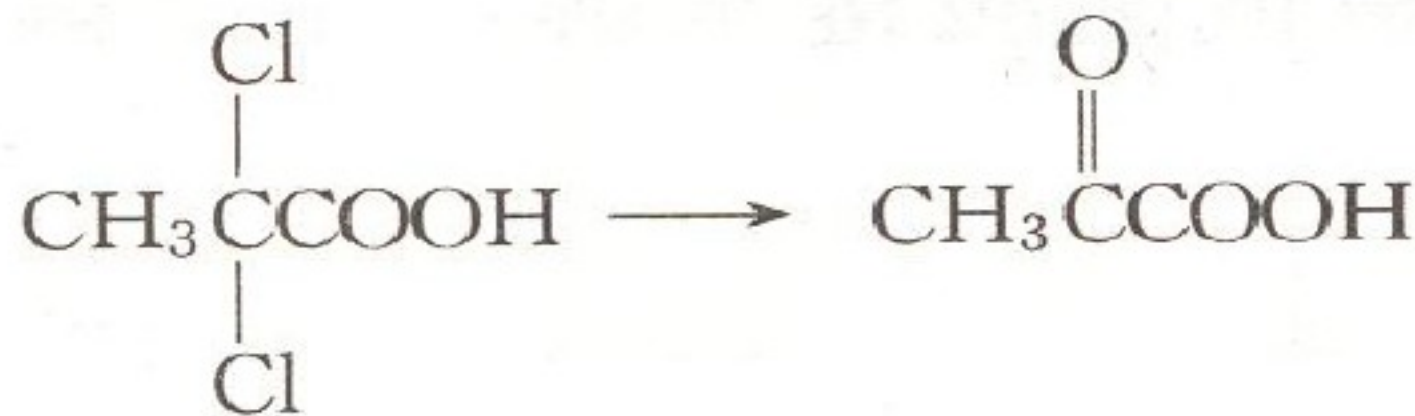
DDE



林丹



2,3,4,5,6-五氯-1-环己烯



茅草枯

丙酮酸

图 11-17 几种有代表性的脱卤去毒作用

去毒作用—去烃基作用

有的农药含有和S、N、O等原子相连的烃基，微生物能脱去这些烃基，使其毒性下降。

去甲基或去烷基作用

许多杀虫剂含有甲基或烷基, 这些烷基与N、O、S相连, 在微生物的作用下, 会脱去这些集团, 变为无毒

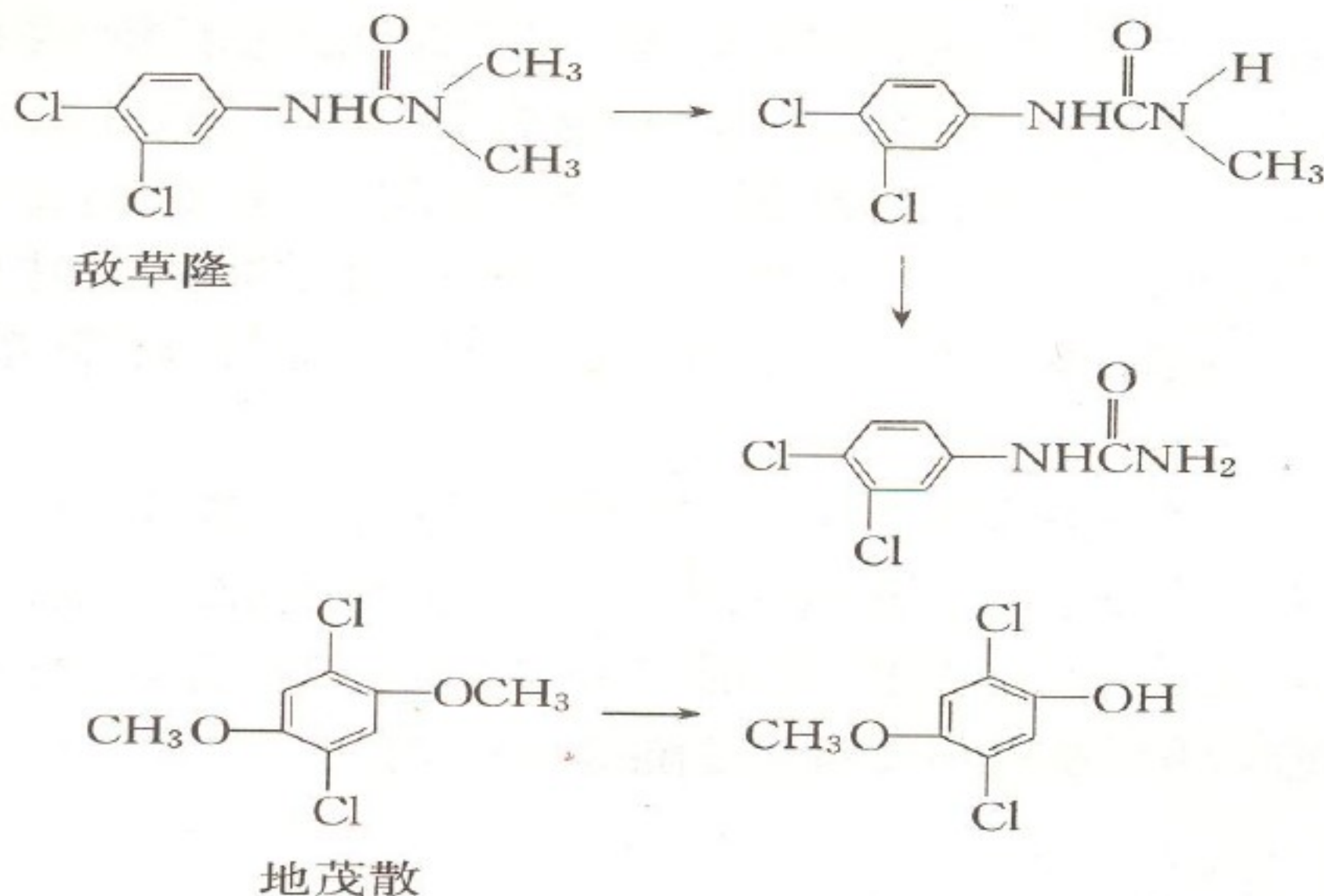
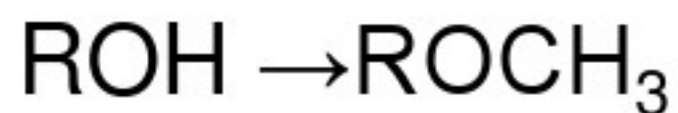


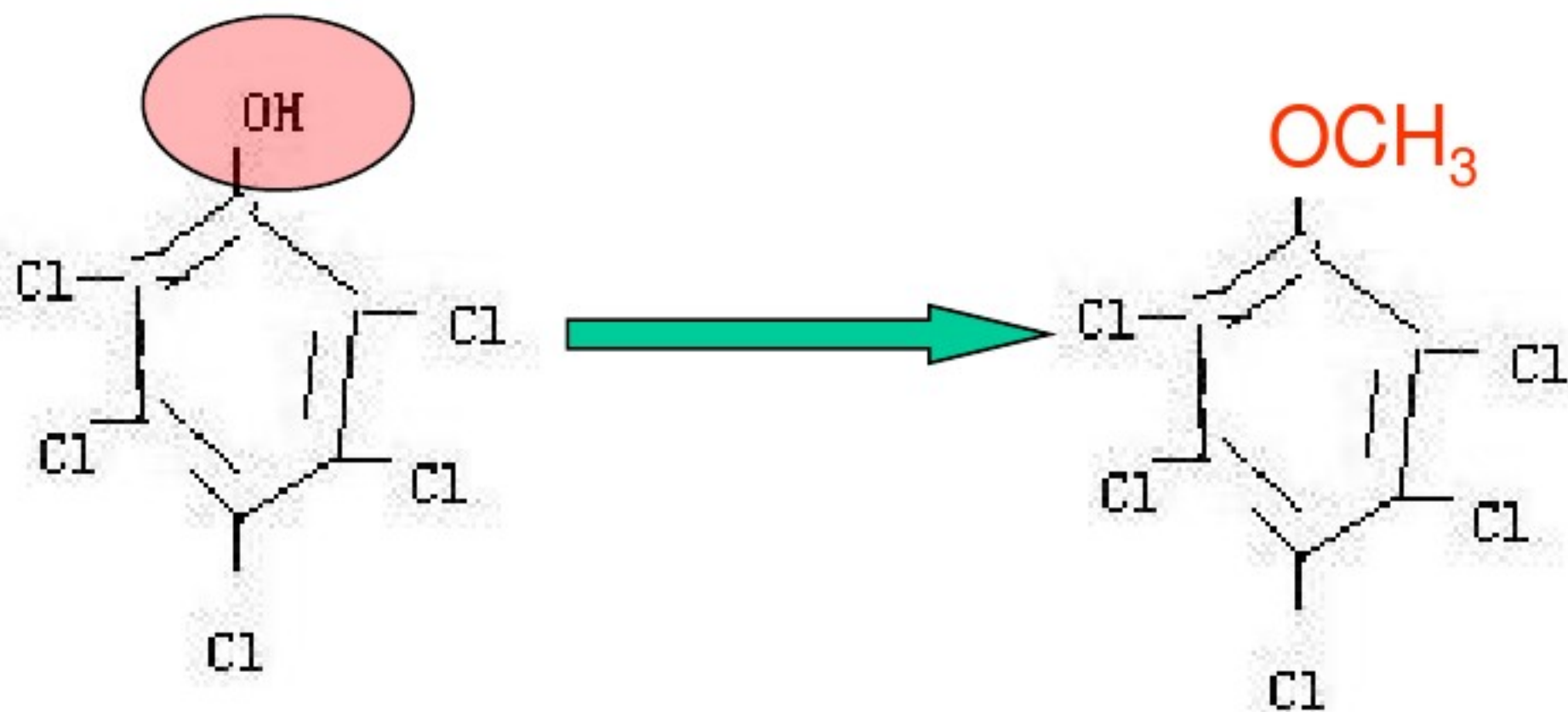
图 11-18 两种杀虫剂去烷基作用

去毒作用—甲基化作用

对一些酚类加入甲基，可以使其钝化。

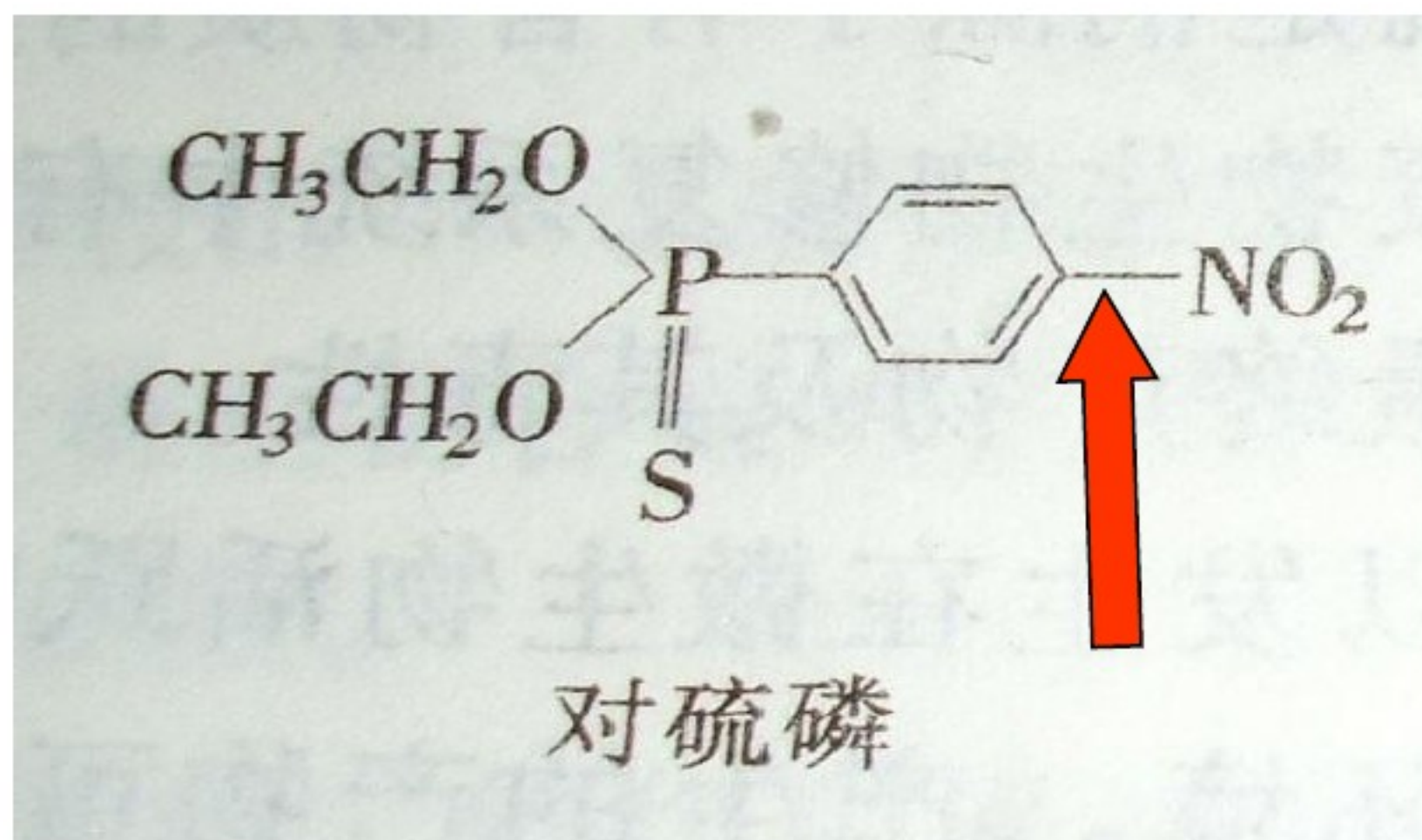
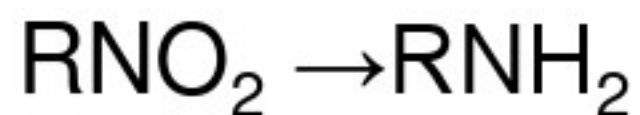


五氯酚的甲基化



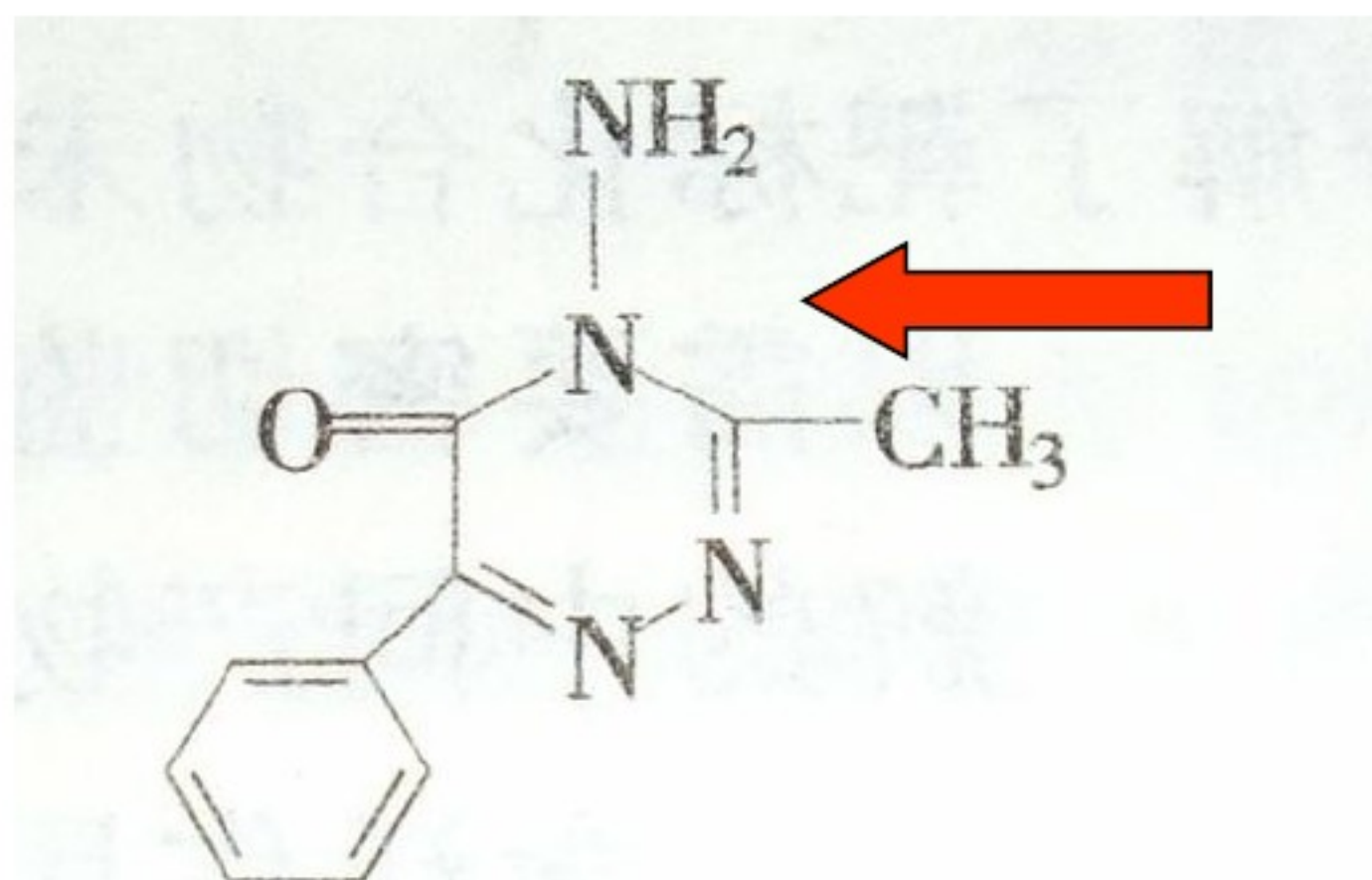
去毒作用—硝基还原作用

一些硝基化合物都具有生物毒性，将硝基还原为氨基能降低其生物毒性。



去毒作用—去氨基作用

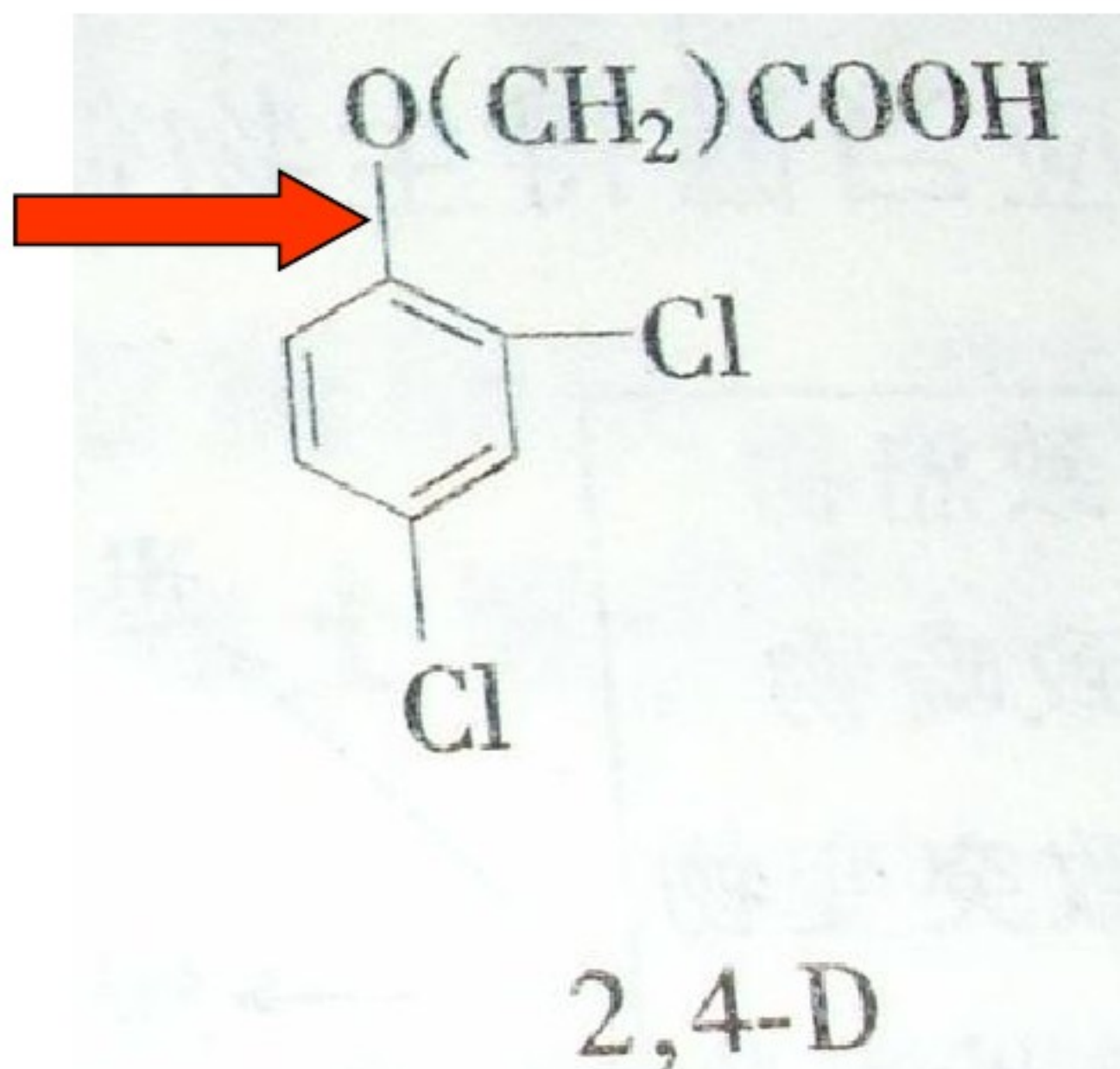
某些有机化合物的生物活性位点是氨基，去氨基作用则能使其失去生物活性。



醚草通

去毒作用—醚键断裂作用

苯氧羧酸类除草剂含有醚键，醚键断裂能消除其植物毒性。



去毒作用—腈转化为酰胺

苯氧羧酸类除草剂含有醚键，醚键断裂能消除其植物毒性。



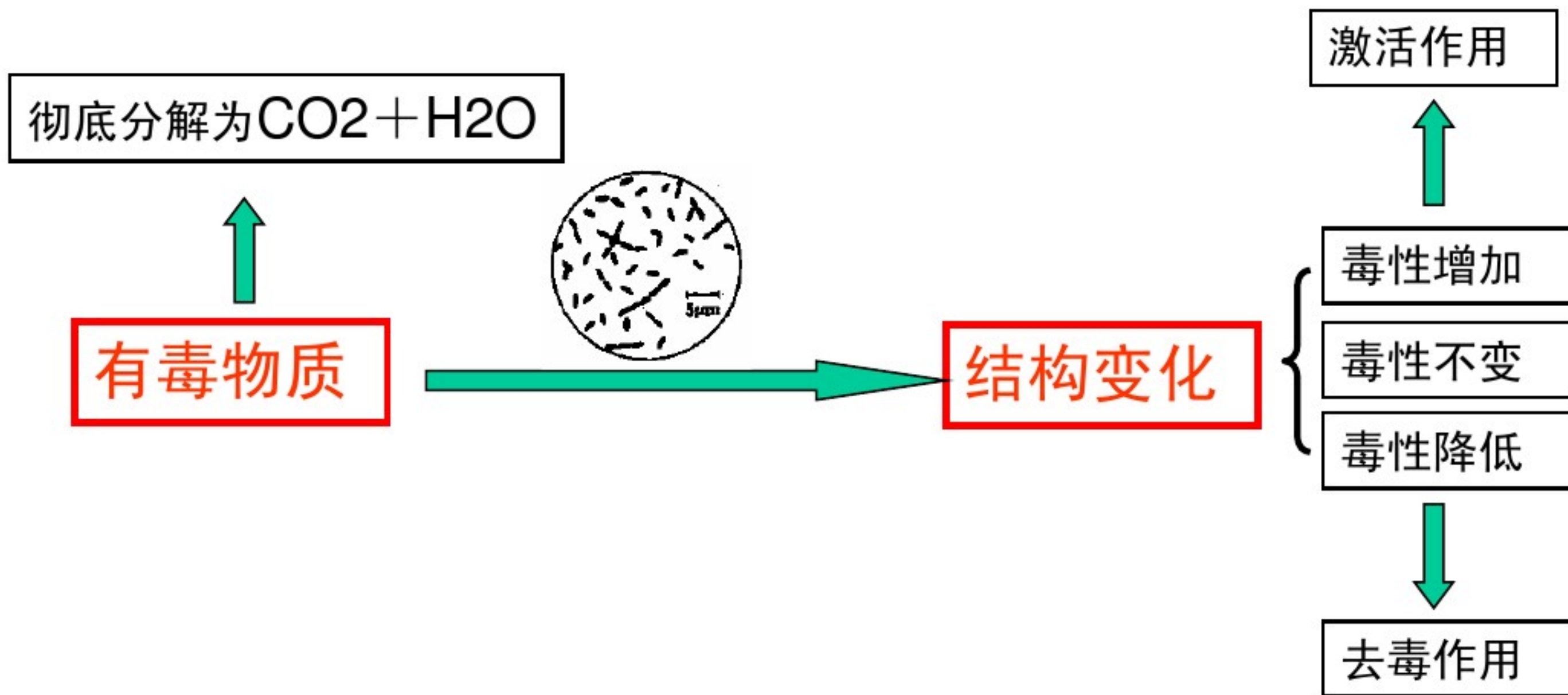
去毒作用—轭合作用

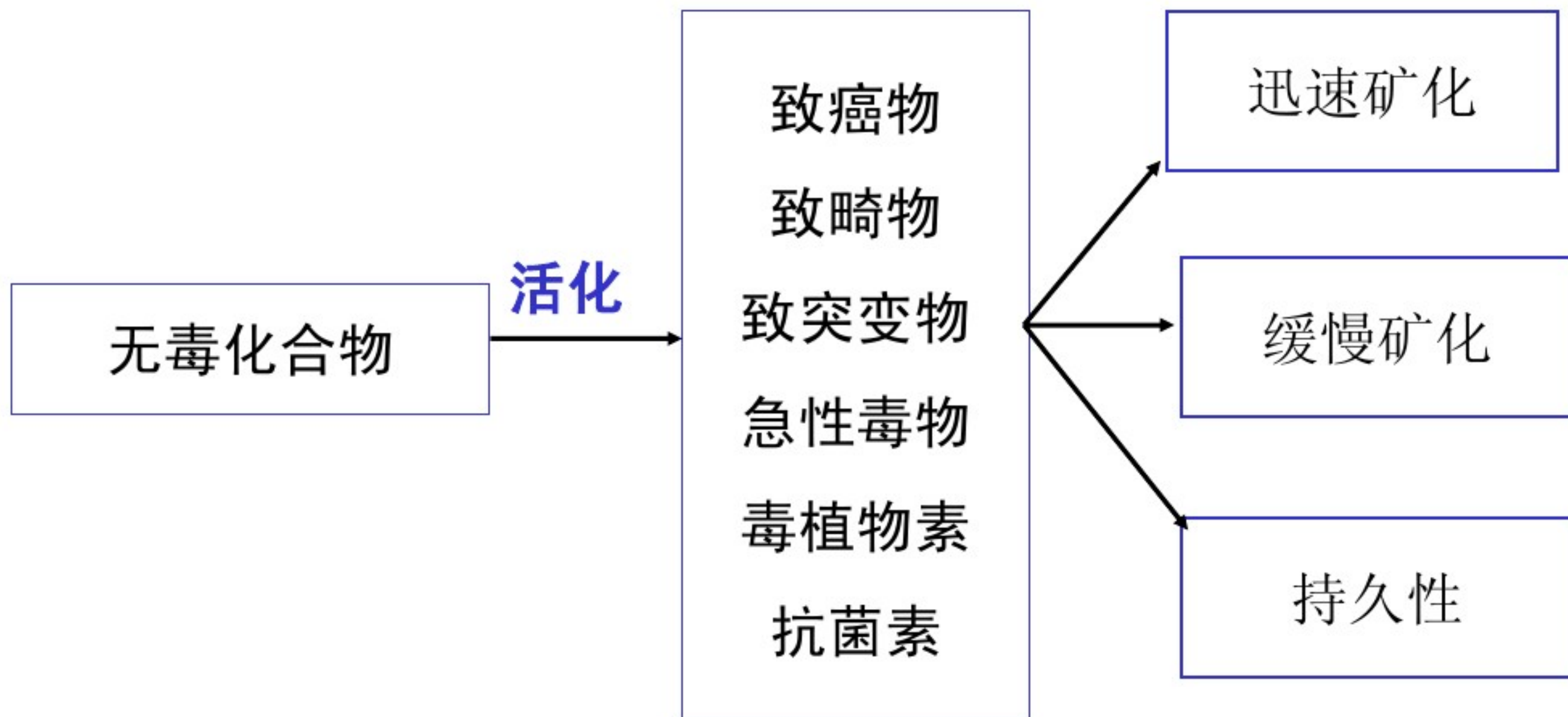
有毒物质和生物体内的一些代谢产物和小分子物质发生合成反应，使以有毒物质毒性降低的现象为轭合作用。

- ✓ 动物产生金属硫蛋白与重金属结合
- ✓ 植物产生植物络合素与重金属结合
- ✓ 一些微生物体内葡萄糖和茈结合

✓生物体内的有毒物质的解毒和排泄的过程是一个非常复杂的过程，是多种酶和多种反应机制共同作用的结果，往往是在不同的酶和不同的反应过程共同作用下，生物体将有毒物质排泄初体外或使其变为无毒的形式在体内进一步利用。

微生物激活作用





激活作用及其特点

- ✓ 激活作用可以发生在微生物活跃的土壤、水和其他任何环境。产生的产物可能是短暂的，是矿化过程的中间产物，也可能持续时间很长，甚至引起环境问题
- ✓ 激活作用的结果是生物合成致癌物、致畸物、致突变物、神经毒物、毒植物素、抗菌素等

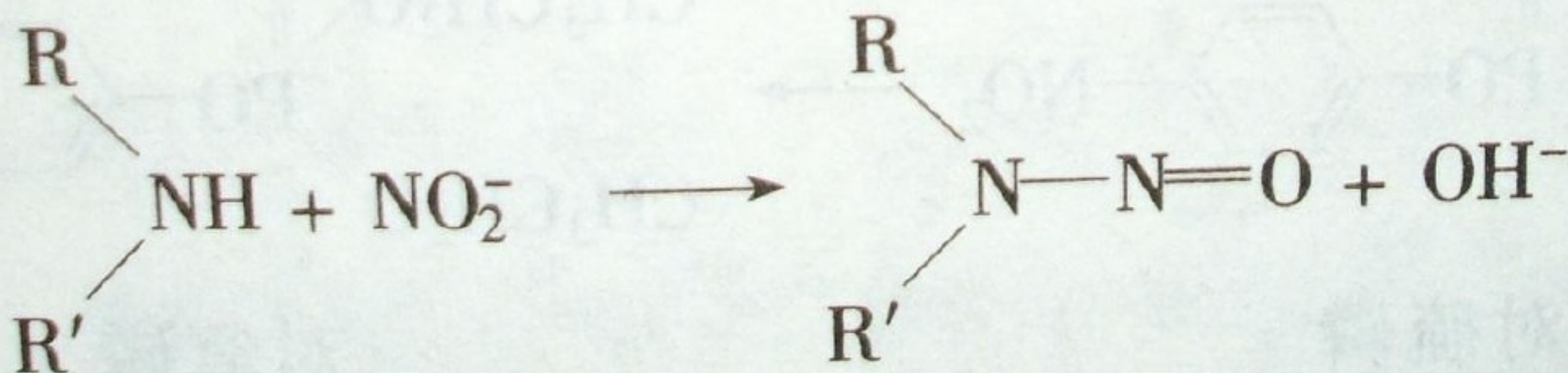
激活反应—脱卤作用

三氯乙烯（TCE）在微生物的作用下能脱卤生成氯乙烯，氯乙烯是强致癌物质；TCE在甲烷营养的培养物中不进行脱卤反应，不形成氯乙烯，而是形成氯乙醛，氯乙醛既是强致癌物质，又有急性毒性，如果和乙醇等饮料一起摄入会立即失去知觉。



激活反应—形成亚硝胺

亚硝胺是很强的致癌、致畸和致突变物，亚硝胺的形成是仲胺的N—亚硝化作用，形成高毒性的N—亚硝基化合物。

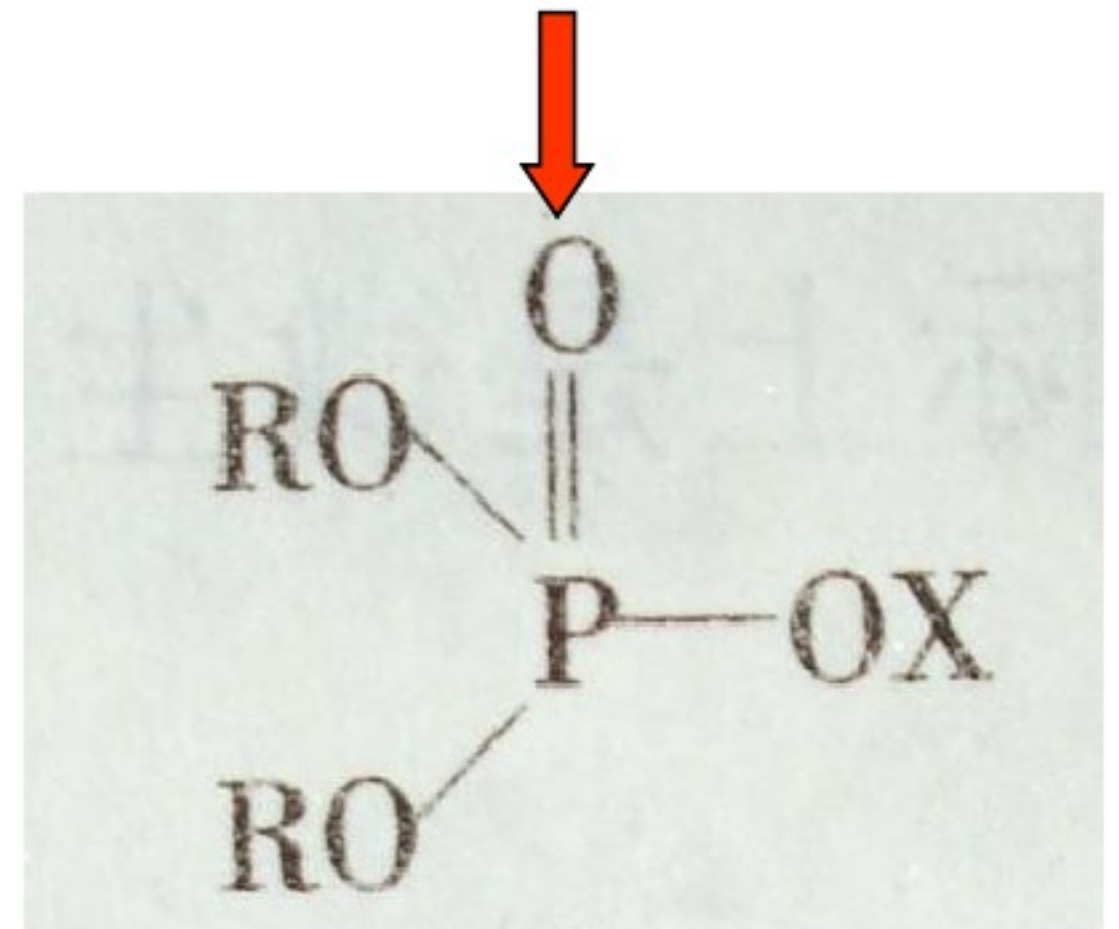
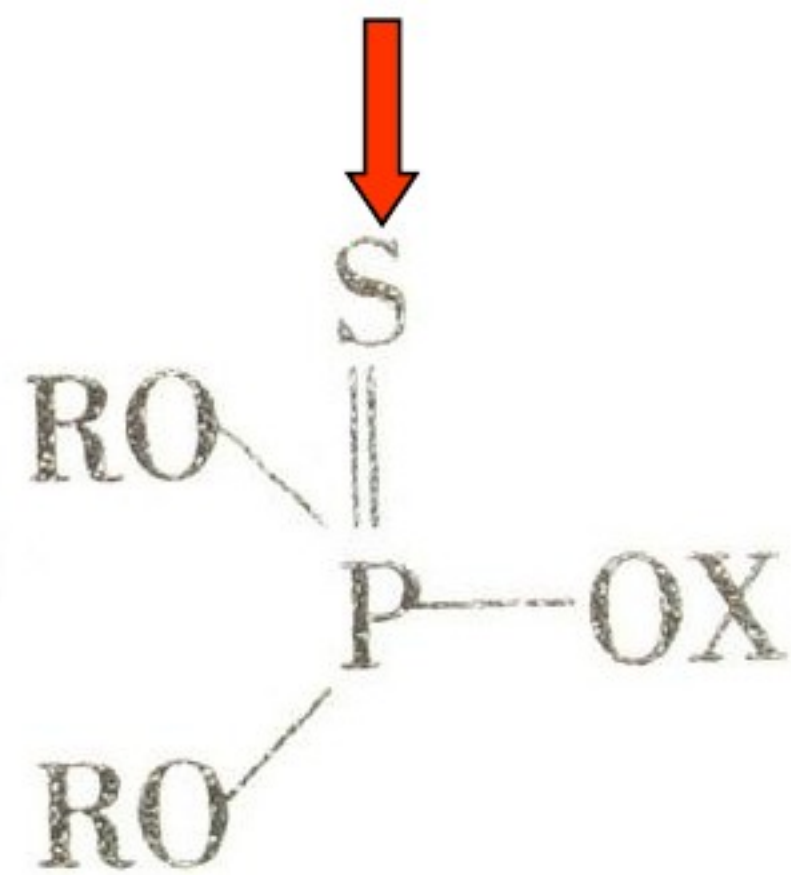


激活反应—环氧化作用

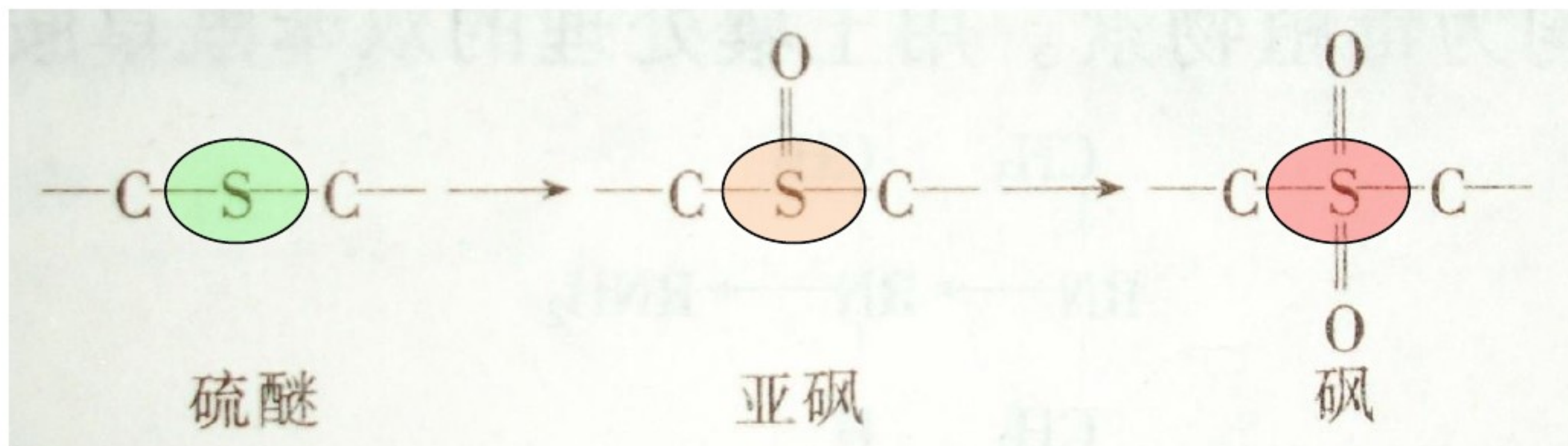
微生物能使一些带双键的化合物形成环氧化物，使其毒性增加，如一些农药的产物比母体的动物毒性更大。



激活反应—硫代磷酸酯转为磷酸酯



激活反应—硫醚的氧化



激活反应—酯的水解

一些除草剂被植物吸收后进入植物体内，在水解酶的作用下，生成游离酸，才能发挥作用。如禾草灵和新燕灵等。

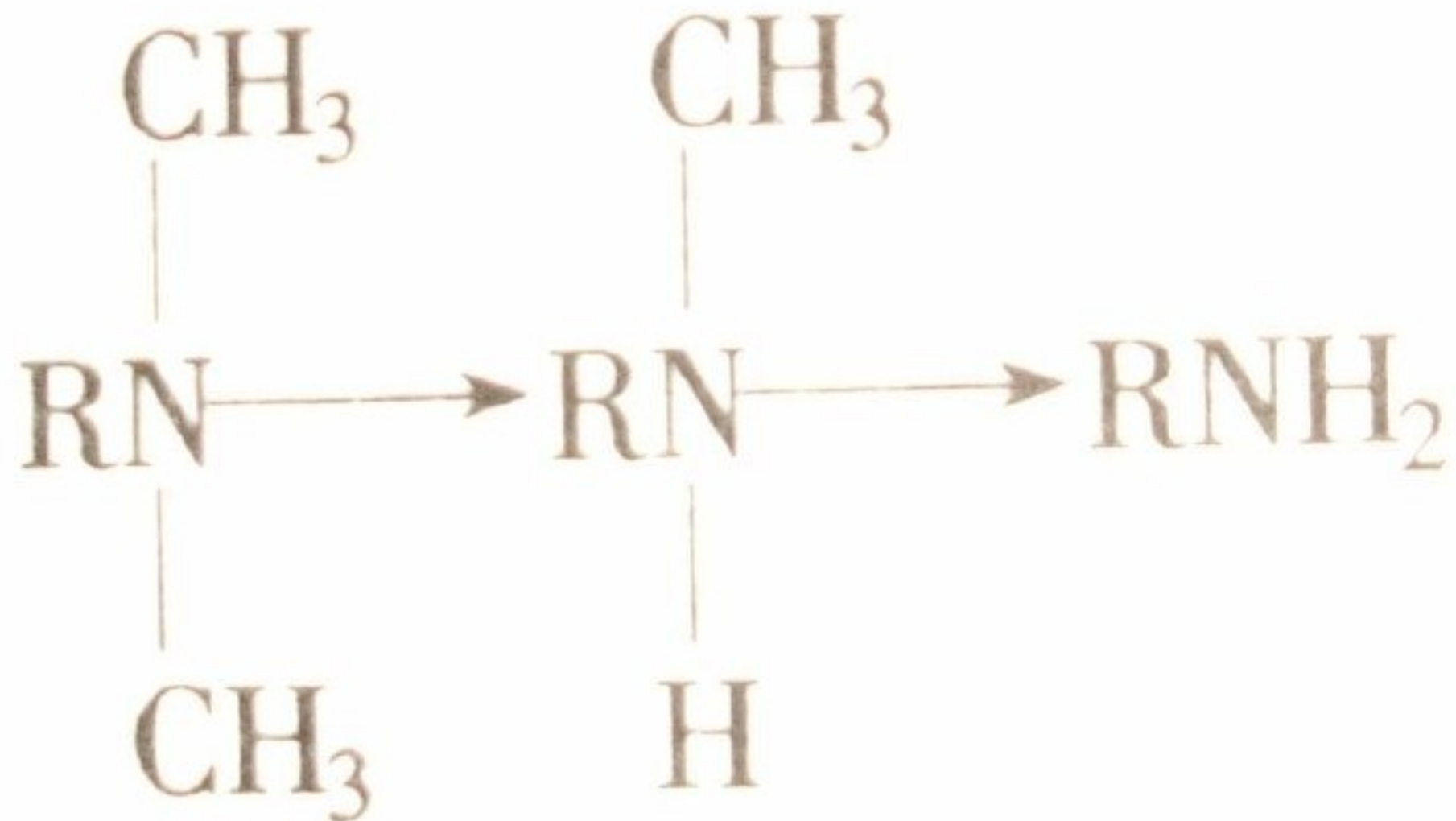


激活反应—甲基化

一些无机物能在微生物的作用下发生甲基化，其脂溶性增加，引起毒性增加，而且更易于在生物体内积累。如Hg、As、Sn等。

激活反应—去甲基化

一些真菌能使双苯酰草胺（N，N—二甲基—2，2—二苯基乙酰胺）脱去甲基生成无甲基的二苯基乙酰胺，是一种植物毒素。



激活反应的类型

典型激活：主要是前面提到的一些激活反应，也是严格意义上的激活，其产物往往毒性更强，而且持久性和迁移性也往往会加强，引起的环境毒性更大。

缓解：有时一种化合物A会有两种前途，它可以转化为更有毒化合物B，即激活；也可以转化为无毒化合物C，由于A向C转化，避免了A向B的激活，因此成为缓解。

生物毒性谱的变化：对一类生物有毒的化合物，在分子结构改变以后会对完全不同的另一类生物有害，这就是毒性谱发生了改变。**它不是严格意义上的激活，而是对另一类生物为激活。**

有机物变化

1、氧化作用

- (1) 醇：如乙醇—乙酸，可由醋化醋杆菌 (*Acetobacter aceti*) 进行此反应；丙二醇到乳酸可有氧化节杆菌 (*Arthrobacter oxydans*) 进行
- (2) 醛：乙醛—乙酸，可由铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*)
- (3) 甲基：甲苯—安息香酸，由 *Pseudomonas aeruginosa* 进行

(4) 氨: $\text{NH}_3\text{—NO}_2^-$

(5) 亚硝酸: $\text{NO}_2^-\text{—NO}_3^-$

(6) 硫: 氧化硫硫杆菌 (*Thiobacillus thiooxidans*)

(7) 铁: 氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans*)

2、还原作用

(1) 乙烯基：延胡索酸—琥珀酸，大肠杆菌 (*Escherichiacoli*)

(2) 醇：乳酸—丙酸 丙酸梭菌 (*Clostridium propionicum*)

(3) 硝酸根： NO_3^- — NH_3 许多土壤微生物可进行

(4) 硫酸： H_2SO_4 — H_2S 脱硫弧菌 (*Desulfovibrio desulfuricans*)

3、脱羧作用

$-\text{CH}_2-\text{COOH}-\text{CH}_3$ ，琥珀酸—丙酸 戊糖丙酸杆菌
(*Propionibacterium pentosaceum*)

4、脱氨基作用

$-\text{CH}-\text{NH}_2-\text{CH}_2+\text{NH}_3$ ，丙氨酸—丙酸 腐败芽孢
杆菌 (*Bacillus putrificus*)

5、水解作用

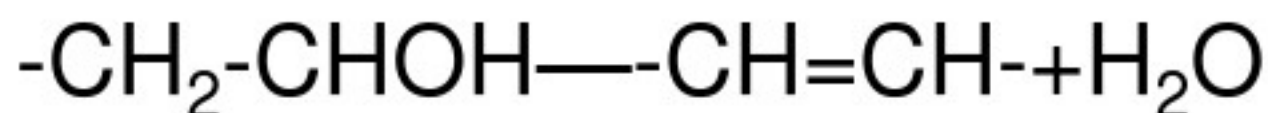
酯类的水解

6、酯化作用



乳酸—乳酸酯，异常汉逊酵母 (*Hansenula anomola*)

7、脱水作用



甘油—丙烯醛，芽孢杆菌 (*Bacillus*)

8、缩合作用



乙醛可在某些微生物作用下缩合成3-羟基丙酮

9、氨化反应



丙酮酸在一些酵母菌作用下发生氨化反应，生成丙氨酸

10、乙酰化反应

-NH₂—NH-CO-CH₃ 克氏梭菌 (*Clostridium kluyveri*)

共代谢途径

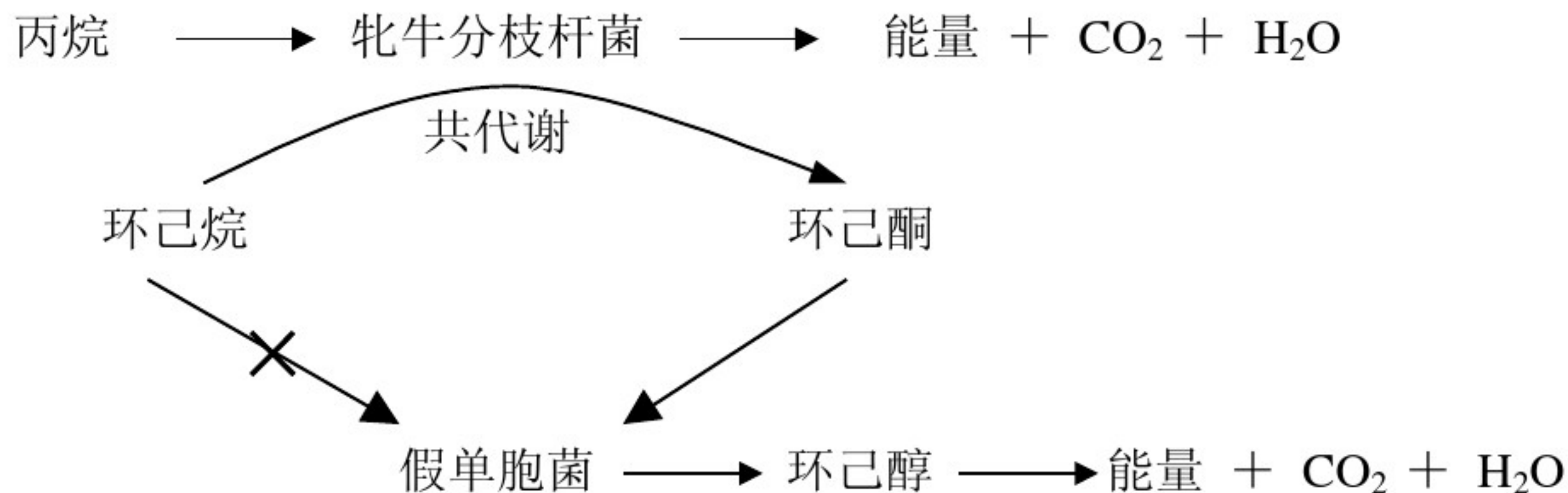
- ✓ 一般是指原本不能被代谢的物质在外界提供碳源和能源的情况下被代谢的现象。其中外界提供的碳源称为一级基质，用于微生物细胞增长并为微生物细胞活动提供能量。被共代谢的物质称为二级基质，不用于微生物细胞增长，也不能为微生物细胞活动提供能量。
- ✓ 也就是说，有些不能作为唯一碳源与能源被微生物降解的有机物。当提供给其它有机物作为碳源或能源时，这一有机物就有可能因共代谢而被降解。

微生物的共代谢作用可能存在以下几种情况：

- 靠降解其它有机物提供能源或碳源
- 通过与其它微生物的协同作用，发生共代谢，降解污染物
- 由其它物质的诱导产生相应的酶系，发生共代谢作用

环己烷的共代谢分解

牻牛分枝杆菌（*Mycobacterium vaccea*）在丙烷上生长的同时，有能力共代谢环己烷，将环己烷氧化成能被假单胞菌种群利用的环己酮，而这些假单胞菌没有能力直接利用环己烷。



共代谢的原因

- 缺少进一步降解的酶系
- 中间产物的抑制作用
- 需要另外的基质，或必须和其它微生物联合作用

共代谢的环境意义

- 共代谢微生物生长缓慢，物质转化效率低
- 容易引起一些有毒物质的积累
- 共代谢机制的存在，大大拓展了微生物对难降解有机污染物的作用范围
- 环境修复或筛选高效微生物的过程中要考虑共代谢的影响

有些不易降解的农药，它们并不能支持微生物的生长，但它们有可能通过几种微生物的共代谢作用而得到部分的或全部的降解。例如，通过产气气杆菌（*Aerobacter aerogenes*）和氢单胞菌（*Hydrogenomonas sp.*）的共代谢作用，可将DDT转变成对氯苯乙酸，后者可由其他微生物进一步分解。可见微生物的共代谢作用在自然界难降解物质的分解中具有极其重要的意义。