腐殖酸与活性污泥对污染土壤联合修复研究

于红艳，张昕欣

（台州职业技术学院 生物与化学工程系，浙江 台州 318000）

摘　要：采用正交试验的方法，研究了表面活性剂溶出和微生物降解联合作用对重金属铜、锌、铅和多环芳烃菲、萘、芘人工老化污染土壤的修复效率。选择腐殖酸为表面活性剂，强化微生物对有机污染物的降解性能，将高效降解菌的降解能力有效地发挥出来；用驯化的活性污泥为土壤生物修复剂，强化腐殖酸对重金属的洗提作用，旨在降低重金属和多环芳烃在土壤中的污染作用，提高修复效率。结果表明，接种 2.0% 活性污泥，温度为 35 ℃，pH 值为 6.5，腐殖酸加入量为 5 mg/g 的土壤为最佳修复条件，在此条件下菲、萘、芘的总修复率分别为 73.4%，80.5%和 68.2%；重金属离子 Cu^{2+}，Zn^{2+}，Pb^{3+} 的总修复率分别为75.5%，64.2%和 71.7%。添加腐殖酸和驯化活性污泥可明显提高土壤中重金属和多环芳烃的修复效率，表明化学溶出与生物降解同时作用于复合污染土壤具有较好的协同作用。

关键词：腐殖酸；活性污泥；土壤修复；重金属；多环芳烃

文献标识码：B　　**文章编号**：1000-288X(2012)05-0248-05　　**中图分类号**：X131.3

Combined Remediation of Contaminated Soil by Humic Acid and Activated Sludge

YU Hong-yan, ZHANG Xin-xin

(*Department of Biological and Chemical Engineering, Taizhou Vocational & Technical College, Taizhou, Zhejiang* 318000, *China*)

Abstract: An orthogonal experiment was conducted to study the effects of chemical dissolution and biodegradation on the remediation efficiency for artificially contaminated soil by heavy metals Cu, Zn and Pb, as well as phenanthrene, naphthalene and pyrene. Humic acid(HA) was selected as eluent to strengthen the performance of microbial degradation of organic pollutants, which can effectively improve the degradation efficiency of degrading strain. Activated sludge was selected as degradation agent to strengthen the HA elution of heavy metals. The goal of this study was to reduce the polluted effect of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in soil and increase the remediation efficiency. Results showed that the optimal conditions for remediation were temperature 35 ℃, pH 6.5, inoculation amount of activated sludge 2.0% and humic acid 5 mg/g. In this condition, the remediation efficiencies for phenanthrene, naphthalene and pyrene were 73.4%, 80.5% and 68.2%, and for Cu^{2+}, Zn^{2+} and Pb^{3+}, 75.5%, 64.2% and 71.7%, respectively. The addition of HA and activated sludge could significantly enhance the remediation of contaminated soil. It showed well the synergistic effect between chemical dissolution and biodegradation to remediate contaminated soil.

Keywords: **humic acid; activated sludge; soil remediation; heavy metals; PAHs**

目前，土壤修复技术主要有物理修复、化学修复和生物修复。物理修复土壤污染成本昂贵，易造成地下水等环境介质的次生污染，不适合大规模应用[1]；化学修复法只要选择合适的表面活性剂，可以同时去除土壤中大量的无机和有机污染物，有着广泛的应用前景[2]，但是引入修复剂次生风险相对较高；生物修复具有污染物降解效率高等优点，然而，单纯生物修复周期长。近年的调查研究表明，许多场地都呈现出重金属和有机污染物复合污染的趋势[3-4]，由于土壤环境的复杂性，用原有的物理、化学、生物等单一的方法对复合污染进行修复，都很难达到较好的效果，因此，如何将各种修复技术进行合理的结合，真正在土壤污染修复方面取得突破性进展，成为现阶段的研究热点之一[5]。

理想的修复方式是强化微生物对有机污染物的降解性能，将高效降解菌的降解能力有效地发挥出

收稿日期：2012-04-19　　修回日期：2012-05-23

资助项目：浙江省科技计划项目“腐殖酸的特性及其对固废拆解地复合污染土壤淋洗修复的关键技术研究”(2010C33181)

作者简介：于红艳(1976—)，女(汉族)，浙江省温岭市人，副教授，主要从事废弃物处理处置及污染土壤治理研究工作。E-mail：yu8hy26@126.com。

来,同时,又能去除土壤中的重金属,使重金属和有机污染物在土壤中的浓度有效降低,提高修复效率。重金属和多环芳烃是环境中的两类典型污染物,是经常同时被发现的两种对土壤构成危险的污染物[6-7]。本文选择重金属铜、锌、铅,多环芳烃菲、萘、芘为污染物研究对象,选择表面活性剂腐殖酸为土壤化学修复剂,强化微生物对有机污染物的降解性能,将高效降解菌的降解能力有效地发挥出来,用驯化的活性污泥为土壤生物修复剂,强化腐殖酸对重金属的洗提作用,旨在降低无机污染物重金属和持久性污染物多环芳烃在土壤中的污染作用,提高修复效率。

1　材料与方法

1.1　试验材料

供试土壤。洁净土壤取自台州路桥农田未污染土壤,pH 值为 6.80,总有机碳为 10.13 g/kg,CEC 为 45.04 mg/kg。去除杂物后自然风干,过 2.0 mm 筛,依次投加菲、萘、芘的甲醇溶液和硫酸铜、氯化锌、硝酸铅的水溶液,供试土壤铜、锌、铅、菲、萘、芘等污染物浓度分别为 800,600,400,300,100,200 mg/kg,尽量模拟当地固体废弃物拆解场水稻土中重金属和多环芳烃的污染水平,将处理的供试土壤充分混匀,敞口放置以挥发掉甲醇和水分,待溶剂挥发完毕后灭菌置于 25 ℃培养箱中恒温振荡培养老化 15 d,冷冻干燥保存备用。

腐殖酸。腐殖酸购买于上海臣枫化学科技有限公司。

驯化的活性污泥。取 2.0 g 台州路桥污水处理厂活性污泥,置于灭菌的三角瓶中,加入 50 ml 灭菌的培养基,培养基包括以下成份的重量百分数:葡萄糖:0.5%～4.0%;胰蛋白胨:0.5%～4.0%;酵母粉:0.5%～3.0%。培养基事先加入少量腐殖酸,余量为蒸馏水。在驯化活性污泥前期先不加污染物,培养 2～3 d,使活性污泥适应并更具有活性,之后硫酸铜、氯化锌、硝酸铅浓度按照 20,40,60 mg/L 每日增加,直至达到 80 mg/L,使培养基中铜、锌、铅离子的最终加入量达到 200 mg/L。菲、萘、芘浓度按照 10,20,30 mg/L 每日增加,直至达到 40 mg/L,使培养基中菲、萘、芘的最终加入量各为 100 mg/L。置于摇床中振荡培养(摇床速度为 200 r/min),菌株培养温度为 35 ℃,培养 7～8 d 后取出三角瓶,即得到耐重金属的富含混合降解菌的驯化活性污泥。

主要试剂和仪器。95%乙醇、氢氧化钠、盐酸、硫酸铜、氯化锌、硝酸铅、菲、萘、芘、甲醇等;多环芳烃(PAHs)标准品由上海安谱科学仪器有限公司提供,溶于甲苯溶剂中。pHS-2C 数显酸度计;电磁搅拌器;2.0 mm 筛;JJ2000 型精密电子天平;THZ-82 恒温振荡器;R501 旋转蒸发器;LD4-2 型离心机;KG-250DE 型超声器;原子吸收分光光度计;岛津 LC-10A 高效液相色谱仪等。

1.2　研究方法

1.2.1　*活性污泥驯化效果的分析*　将一定量的未驯化和驯化的活性污泥分别加入 100 g 配制的污染土壤中,加入去离子水定容至 200 ml,放入恒温振荡器中常温振荡,振荡后收集上清液和土壤残留物中的污染物,测定活性污泥驯化效果。

1.2.2　*温度、pH 值和腐殖酸加入量对复合污染土壤修复效果的影响*　将一定量的腐殖酸加入 100 g 配制的污染土壤中,加入去离子水定容至 200 ml,控制 pH 值、振荡温度与腐殖酸的加入量,其他操作同活性污泥驯化效果的分析。正交试验选用 $L_{18}(3^3)$,设计如表 1—2 所示。

表 1　土壤修复试验的因素水平

水平	温度/℃	pH 值	腐殖酸加入量/(mg·g^{-1})
1	18	6.5	1.0
2	26	7.5	3.0
3	35	8.5	5.0

表 2　正交试验原始条件

试验号	pH 值	温度/℃	腐殖酸加入量/(mg·g^{-1})	试验号	pH 值	温度/℃	腐殖酸加入量/(mg·g^{-1})
1	6.5	18	1.0	10	6.5	18	5.0
2	6.5	26	3.0	11	6.5	26	1.0
3	6.5	35	5.0	12	6.5	35	3.0
4	7.5	18	1.0	13	7.5	18	3.0
5	7.5	26	3.0	14	7.5	26	5.0
6	7.5	35	5.0	15	7.5	35	1.0
7	8.5	18	3.0	16	8.5	18	5.0
8	8.5	26	5.0	17	8.5	26	1.0
9	8.5	35	1.0	18	8.5	35	3.0

1.2.3 污染物的测定 振荡后所有上清液装入试管中，以 5 000 r/min 的速度离心 10 min，过滤后测定上清液重金属和多环芳烃含量，此为溶出的重金属和多环芳烃含量；再将土壤残留物烘干除去水份，用 1 mol/L HCl浸提土壤重金属，用原子吸收光谱法测定，此为土壤中残留有效态重金属含量；将土壤残留物用丙酮/正己烷(1∶2)混合液萃取，过滤后，多环芳烃等有机污染物在旋转蒸发器中去除有机溶剂，再溶于 CH_2Cl_2 溶液中，用含有正己烷的硅胶柱纯化洗提，浓缩后溶于甲醇中用 HPLC 对多环芳烃菲、萘、芘进行分析，此为土壤中残留的多环芳烃含量。

1.3 修复效率的计算方法

污染物溶出率(%)＝污染物的溶出量/修复前土壤中污染物含量水平×100%

污染物残留率(%)＝修复后土壤中污染物含量水平/修复前土壤中污染物含量水平×100%

污染物降解率(%)＝(修复前土壤中污染物含量水平－修复后土壤中污染物含量水平－污染物的溶出量)/修复前土壤中污染物含量水平×100%

污染物总修复率(%)＝(修复前土壤中污染物含量水平－修复后土壤中污染物含量水平)/修复前土壤中污染物含量水平×100%

2 结果与分析

2.1 活性污泥驯化效果的分析

驯化与未驯化活性污泥相比，对多环芳烃(包括菲、萘、芘)的降解效果明显(图 1)。在未经驯化的活性污泥的体系中，活性污泥对菲、萘、芘的降解率都较低，处理 1 d 后，菲、萘、芘的降解率为 1.5%，0.5%，4.4%，表明未经驯化的活性污泥在重金属存在体系中，微生物的活性受到抑制，重金属对活性污泥的影响机制较为复杂[8]。

处理 5 d 后最大降解率为18.0%，经过 48 h 的重新培养，暴露于铜、锌、铅 3 种重金属中的活性污泥可以部分地恢复活性，但是对多环芳烃的降解效率仍较低。

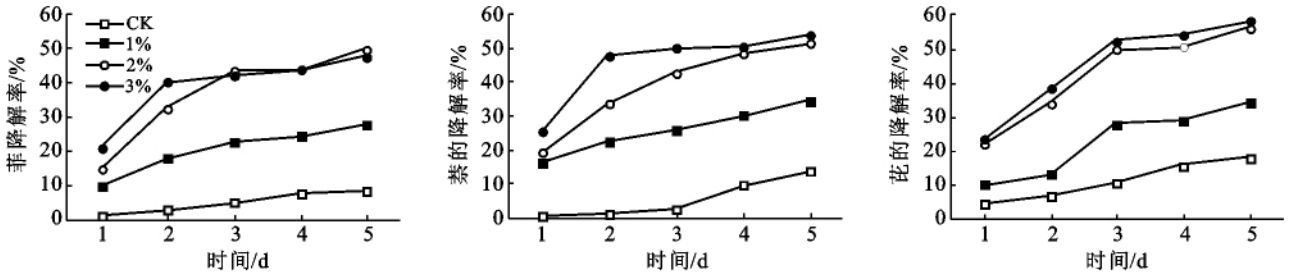


图 1 驯化活性污泥对多环芳烃降解率的影响

从图 1 中可以看出，接种 1%活性污泥的体系中，降解率缓慢上升，反应至 5 d 菲、萘、芘的降解率分别为 28.0%，34.5%和 34.3%，在线性范围内污染物降解率与降解时间成正比关系。而添加 2%活性污泥的体系中，反应至 3 d 菲、萘、芘就已降解43.8%，42.6%和 49.8%，此后也有缓慢的降解，至 5 d 3 个污染物的降解率分别为 50.0%，51.2%和56.2%。添加 3%活性污泥的体系中，第 1 d 对多环芳烃的降解率相对较好，经过 2～5 d 的降解，对 3 个污染物的降解率分别为 47.8%，53.8%，58.4%，但从第 2 d 开始，降解速率下降。经过比较，选用 2%的驯化活性污泥作生物降解剂。经驯化的活性污泥具有较强的耐重金属性和对多环芳烃的降解性，是一种很有效的强化手段。

2.2 修复影响因素正交试验结果分析

表 3 列出了 18 组正交试验的多环芳烃菲、萘、芘的平均降解率、溶出率和土壤有效态重金属残留率结果，表明在合适修复条件下，多环芳烃和重金属复合污染土壤取得良好修复效果。表 4 给出了多环芳烃降解率、溶出率和重金属残留率的正交试验极差。由表 4 的极差分析可知，各因素对多环芳烃的降解率的影响程度为：温度＞腐殖酸加入量＞pH 值。其中温度的极差远大于腐殖酸加入量和 pH 值。表明温度的控制对整个多环芳烃的降解影响很大，低温(16 ℃)时多环芳烃降解率平均为 56.4%，而 35 ℃时多环芳烃降解率达到 75.1%，低温下由于酶活性的降低使多环芳烃的生物降解受到抑制，且不能充分发挥腐殖酸对重金属的溶出作用；高温可以提高多环芳烃代谢率达到最大值，但超过这个温度范围，多环芳烃的膜毒性会增高[9]，所以控制修复时温度可以显著提高多环芳烃的降解率。同时，多环芳烃在土壤中具有一定的挥发性的，随着温度的升高挥发速率和挥发量都有所增加，这部分土壤修复效率因难以测定而归于多环芳烃的降解率中，这也是温度对多环芳烃降解率影响极差高于其他因素的原因之一。本文增加腐殖酸加入量对多环芳烃的降解具有促进作用，而 pH 值的极差最小，且和其他 2 个因素相差很大，相比 pH 值对多环芳烃降解的影响较小。

表 3　正交试验计算结果　　%

试验号	多环芳烃降解率	多环芳烃溶出率	土壤重金属残留率	试验号	多环芳烃降解率	多环芳烃溶出率	土壤重金属残留率
1	50.2	3.4	22.8	10	68.6	4.4	8.6
2	62.4	8.3	18.6	11	58.8	8.6	5.1
3	82.8	8.9	12.6	12	75.2	5.1	5.8
4	50.4	5.5	30.2	13	52.6	5.8	5.9
5	61.0	6.1	22.7	14	71.6	5.9	7.8
6	78.9	8.9	15.7	15	64.2	7.8	4.4
7	59.1	6.7	22.9	16	57.2	4.4	7.2
8	70.6	8.0	20.2	17	57.4	7.2	5.2
9	74.0	4.4	33.7	18	75.6	5.2	5.6

从多环芳烃溶出率正交试验结果可以看出,腐殖酸可通过配位交换、疏水作用和氢键作用吸附络合有机污染物菲、萘、芘[10],因此腐殖酸的加入量对多环芳烃的溶出率影响最大,在线性范围内腐殖酸加入量与菲、萘、芘的溶出率成正比关系。从表 4 中可以看出,温度和 pH 值二者极差均较小,表明这两个因素对多环芳烃的溶出影响不大,过酸或过碱环境不利于菲、萘、芘从污染土壤中解析出来[11],但总体而言在试验的 3 个 pH 值条件下腐殖酸对多环芳烃的溶出并无明显影响。

表 4　污染物降解率及残留率正交试验极差分析

污染物修复率	试验号	pH 值	温度/℃	腐殖酸加入量/(mg·g^{-1})
多环芳烃降解率	k_1	66.3	56.4	59.2
	k_2	63.1	63.6	64.3
	k_3	65.6	75.1	71.6
	极差	3.2	18.7	12.4
多环芳烃溶出率	k_1	6.7	6.2	4.7
	k_2	6.4	6.8	6.4
	k_3	6.2	6.3	8.2
	极差	0.5	0.6	3.5
重金属残留率	k_1	19.0	22.4	28.0
	k_2	24.0	24.0	23.2
	k_3	25.3	21.9	17.1
	极差	6.3	2.1	10.9

由表 4 的极差分析可知,各因素对土壤重金属的残留率的影响程度为:腐殖酸加入量>pH 值>温度。当腐殖酸加入量为 5 mg/g 土样时,重金属铜、锌、铅的溶出量最大,表明腐殖酸作为活性剂对吸附络合土壤重金属起着重要的作用。pH 值也影响着土壤重金属的溶出效率,试验表明,pH 值为 7.5 时,溶出效果最好,过酸情况下表明活性剂腐殖酸会产生沉淀,从而使淋洗剂有效性降低,而当淋洗环境过碱情况下,铜、锌、铅倾向与 OH^- 形成沉淀,难以淋洗出,故淋出率又呈下降趋势。

2.3　复合污染土壤修复影响因素分析

从图 2 可以看出,3 个指标都是腐殖酸加入量为 5 mg/g 土样时好,因此确定腐殖酸加入量为 5 mg/g 土样。对于多环芳烃降解率,温度是最主要的因素,在确定优水平时重点考虑。对于多环芳烃溶出率和重金属残留率来说,温度的影响不大,所以根据多数倾向和温度对不同指标的重要程度,确定 35 ℃为最适运行温度。

对于多环芳烃溶出率和重金属残留率,取 pH 值 6.5 和 pH 值 7.5 基本相同,对于多环芳烃降解率取 pH 值 6.5 好,因此选择 pH 值 6.5 为复合污染土壤联合修复时的 pH 值。综合上述的分析,最优方案为 pH 值 6.5,温度 35 ℃,腐殖酸加入量为5 mg/g土样。

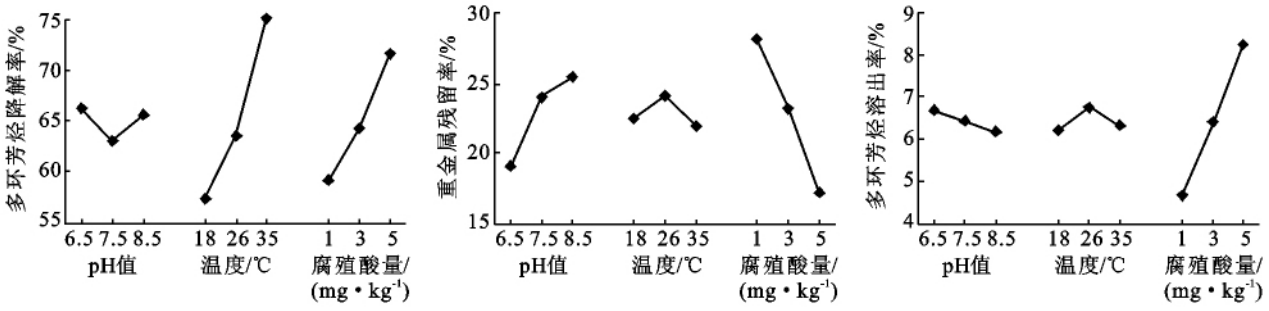


图 2　复合污染土壤修复多因素趋势

2.4　腐殖酸与驯化活性污泥对复合污染土壤修复效果的影响

将 5 mg/g 土样的腐殖酸与 2%活性污泥加入 100 g 配制的污染土壤中,加入去离子水定容至 200 mL,控制 pH 值为 6.5 值、振荡温度为 35 ℃,放入恒温振荡器中振荡一定时间,振荡后收集上清液和

土壤残留物中的污染物，测定复合污染土壤修复效果。从表 5 中可以看出，腐殖酸与驯化活性污泥对复合污染土壤的修复效果较好，土壤中重金属的残留率低，对多环芳烃的降解效果明显，说明腐殖酸与活性污泥联合对复合污染土壤进行修复达到较好的重金属溶出和多环芳烃降解的效果。菲、萘、芘的总修复率分别为 73.4%，80.5%和 68.2%；重金属离子 Cu^{2+}，Zn^{2+} 和 Pb^{3+} 的总修复率分别为 75.5%，64.2%和 71.7%。表明化学溶出与生物降解同时作用于污染土壤具有较好的协同作用。

表 5 复合污染土壤联合修复的效率

污染物	修复前污染含量/(mg·kg^{-1})	溶出量/(mg·kg^{-1})	溶出率/%	残留量/(mg·kg^{-1})	残留率/%	总修复量/(mg·kg^{-1})	总修复率/%
菲	300.0	12.6	4.2	79.8	26.6	220.2	73.4
萘	100.0	8.3	8.3	39.0	19.5	80.5	80.5
芘	200.0	12.4	6.2	63.6	31.8	136.4	68.2
Cu^{2+}	800.0	594.4	74.3	196.0	24.5	604.0	75.5
Zn^{2+}	600.0	375.0	62.5	214.8	35.8	385.2	64.2
Pb^{3+}	400.0	281.6	70.4	113.2	28.3	286.8	71.7

3 结论

(1) 活性污泥经驯化处理后，对多环芳烃(包括菲、萘、芘)的降解效果明显。接种 1%活性污泥多环芳烃菲、萘、芘分别为：28.0%，34.5%和 34.3%，而添加 2%活性污泥的体系中，至 5 d 这 3 个污染物的降解率分别为 50.0%，51.2%和 56.2%，活性污泥量再增加没有明显效果。经过比较，选用 2%的驯化活性污泥作生物降解剂。添加用目标物质驯化的活性污泥可以显著提高降解速率，是一种很有效的强化手段。

(2) 各修复条件对多环芳烃降解率影响由大到小依次为：温度＞腐殖酸加入量＞pH 值；对多环芳烃溶出率影响由大到小依次为：腐殖酸加入量＞温度＞pH 值；对重金属溶出率影响由大到小依次为：腐殖酸加入量＞pH 值＞温度。经过多指标综合平衡分析，最适修复条件为：驯化活性污泥接种量 2.0%，腐殖酸加入量 5 mg/g 土样，温度 35 ℃，pH 值为 6.5。

(3) 在合适的修复条件下，多环芳烃和重金属复合污染土壤取得良好修复效果。菲、萘、芘的总修复率分别为：73.4%，80.5%和 68.2%，重金属离子 Cu^{2+}，Zn^{2+} 和 Pb^{3+} 的总修复率分别为 75.5%，64.2%和 71.7%，表明化学溶出与生物降解同时作用于污染土壤具有较好的协同作用。

[参 考 文 献]

[1] Gao Y Z, Zhu L Z. Phytoremediation and its models for organic contaminated soils[J]. Journal of Environmental Sciences, 2003,15(3):302-310.

[2] 巩宗强，李培军，台培东，等. 污染土壤的淋洗法修复研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备，2002,3(7):45-50.

[3] 樊广萍，仓龙，徐慧，等. 重金属—有机复合污染土壤的电动强化修复研究[J]. 农业环境科学学报，2010,29(6):1098-1104.

[4] Khodadoust A P, Redd K R, Maturi K. Removal of nickel and phenanthrene from kaolin soil using different extractants [J]. Environmental Engineering Science, 2004,21(6):691-704.

[5] 庄绪亮. 土壤复合污染的联合修复技术研究进展[J]. 生态学报，2007,27(11):4871-4876.

[6] Irha N, Slet J, Petersell V. Effect of heavy metals and PAHs on soil assessed via dehydrogenase assay[J]. Environment International, 2003,28(8):779-782.

[7] 沈国清，陆贻通，周培，等. 土壤环境中重金属和多环芳烃复合污染研究进展[J]. 上海交通大学学报，2005,23(1):102-106.

[8] Stasinakis A S, Thomaidis N S, Mamais D, et al. Effect of chromium (Ⅵ) addition on the activated sludge process[J]. Water Research, 2003, 37(9):2140-2148.

[9] 谭文捷，李宗良，丁爱中，等. 土壤和地下水中多环芳烃生物降解研究进展[J]. 生态环境，2007,16(4):1310-1317.

[10] Kachert T, Haupt T K, Garms C, et al. Structural characterisation of humic acid-bound PAH residues in soil by 13C-CPMAS-NMR-spectroscopy: evidence of covalent bonds[J]. Chemosphere, 2002, 48(1): 117-131.

[11] Miguel I A, Juan C, Diege G, et al. Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting[J]. Biodegradation, 2002, 13(6): 361-371.