

天然地下水环境四氯乙烯的强化生物降解

李 焱^{1,2}, 刘 菲^{2*}, 鲁安怀¹

1. 北京大学地球与空间科学学院, 北京 100871

2. 中国地质大学水资源与环境工程北京市重点实验室, 北京 100083

摘要: 采用批实验方法, 以天然地下水为基础培养液, 利用在实验室条件下培养驯化的微生物, 以醋酸作为共代谢基质, 加入酵母粉提供氮源, 研究了四氯乙烯(PCE)的降解效果. 研究表明, 通过强化影响 PCE 降解的某些因素, 在 20 °C 的地下水环境中, PCE 可以很快转化为三氯乙烯(TCE), 并可以进一步转化为二氯乙烯(DCEs), 但没有检测到 DCEs 的脱氯产物. PCE 的脱氯速率为 0.1848 d⁻¹, 半衰期为 3.75 d. 亦研究了低温环境下 PCE 的降解效果. 结果表明, 在低温环境下, PCE 也可以发生生物降解, 但是脱氯速率相对较慢, 为 0.0761 d⁻¹, 半衰期为 9.11 d 且终产物为 TCE.

关键词: 四氯乙烯; 强化生物降解; 天然地下水.

中图分类号: X131

文章编号: 1000-2383(2009)05-0870-07

收稿日期: 2008-12-20

Enhanced Biodegradation Potential of Tetrachloroethylene under Natural Groundwater Environment

LI Ye^{1,2}, LIU Fei^{2*}, LU An-huai¹

1. School of Geoscience and Space Science, Peking University, Beijing 100871, China

2. Beijing Key Laboratory of Water Resources & Environmental Engineering, China University of Geosciences, Beijing 100083, China

Abstract In order to investigate tetrachloroethylene (PCE) biodegradation potential by some enhanced factors, the experiment was carried out under natural groundwater condition by batch experiment. Microorganism cultured in the laboratory was added to the microcosm with acetic acid as electron donor and yeast powder as nitrogen source. Experimental results indicate that PCE could be dechlorinated to trichloroethylene (TCE) and dichloroethylene (DCEs) under 20 °C. TCE was the primary dehalogenation product, and small amounts of dichloroethylenes (DCEs) were also detected. No significant further DCEs degradation was detected. The degradation rate of PCE was 0.1848 d⁻¹, and the half life was 3.75 d. Under 12 °C condition, PCE biodegradation could occur; however, the terminal product was only TCE without DCEs, and degradation rate of PCE was 0.0761 d⁻¹, which was relatively slow compared to that under 20 °C.

Key words: tetrachloroethylene; enhanced biodegradation; natural groundwater.

0 引言

氯代烯被广泛地用于干洗、脱脂和其他生产过程, 在土壤和地下水中经常会有这些物质检出, 其中四氯乙烯(PCE)是最常见的污染物之一(Lee *et al.*, 1997). PCE 及其降解产物被确认或怀疑具有致癌作用, 被美国 EPA 作为优先控制的污染物之一, 严格限制饮用水中 PCE 的浓度不得超过 5 μg/L

(Kao and Lei, 2000), 因此如何对这些污染物进行有效地修复引起了广泛关注. 目前的处理方法有物理方法、化学方法和生物方法, 与物理方法和化学方法相比, 生物处理方法最大的优势是可以将有害 PCE 转化为无害的终产物(Aulenta *et al.*, 2004).

氯代烃在天然条件下可以发生生物降解, 然而土著微生物生长速度太慢, 代谢活性不高, 而且污染物负荷高还会造成土著微生物的数量下降, 因此天

基金项目: 国家自然科学基金(No. 40572146); 国家重点基础研究发展“973”计划(No. 2007CB815602).

作者简介: 李焱(1974-), 女, 博士后, 主要研究方向为水污染控制与修复. E-mail: liye601@126.com.

*通讯作者: 刘菲, E-mail: feiliu@cugb.edu.cn

然环境中氯代烃的降解速度很慢, PCE 的半衰期在空气中为 47 d, 在地下水中为 108 d (Wang, 2001; Pietari, 2002). 强化生物修复技术是通过向污染场地提供适宜的降解微生物、营养物质、电子受体及改善其他限制生物修复速度的因素, 达到提高生物修复速度、加速污染物降解的目的 (甘丽华等, 2005; 秦华明, 2007). 大多数研究者认为强化生物修复技术是修复治理大面积污染区域的一种有价值的方法, 但该技术的具体实施应用也有其局限性 (Skubal, 1999; 马长文等, 2007). 因此, 许多学者通过改变影响氯代烃降解的因素, 在实验室开展了这方面的研究工作 (Aulenta *et al.*, 2005).

研究表明, PCE 为唯一碳源时不能被降解或降解速度很慢, 大多数是通过共代谢方式, 逐级脱氯发生生物降解 (Magnuson *et al.*, 1998). 所谓共代谢降解是指在有外加碳源存在时, 一些微生物在利用外加碳源进行新陈代谢等生命活动时, 将这些碳源分解提供电子 (即氢原子), 使目标污染物发生降解 (周少奇, 2003; 毛莉等, 2007). 在野外和实验室很容易观测到 PCE 被降解为 TCE 和 cDCE, 但是 cDCE 进一步转化为 VC 和乙烯通常会受到限制 (Isalou, 1998; 杨琦等, 2007). PCE 在发生厌氧生物降解时, 会受许多因素的影响, 如 pH 值、温度、氧化还原电位、电子受体、电子供体和氢分压等 (卢晓霞, 2002). 本文以天然地下水为基础培养液, 以醋酸为共代谢基质, 以酵母粉提供氮源, 加入实验室培养的可以使 PCE 发生降解的微生物, 研究在实验室条件下, 通过强化这些因素之后 PCE 的降解效果.

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

- (1) 菌种来源: 北京市某肉联厂的厌氧消化污泥.
- (2) 实验用水: 中国地质大学 (北京) 地下水, 其成分见表 1.
- (3) 化学试剂: PCE ($\geq 99.0\%$) 分析纯, 天津市化学试剂一厂; 醋酸 ($\geq 99.5\%$) 分析纯, 天津市化学试剂六厂; 酵母粉, 北京奥博星生物技术责任有限公司.
- (4) 仪器: HP6890 气相色谱仪、HP7694 自动进样器、恒温水浴箱、厌氧培养箱、生化培养箱和紫外分光光度计.

1.2 试验方法

- (1) 微生物的培养、驯化和 PCE 降解. 以北京市某肉联厂的厌氧消化污泥为菌种, 接种到盛有取自

表 1 地下水成分

Table 1 Compositions of groundwater

常规离子	浓度 (mg/L)	微量元素	浓度 ($\mu\text{g/L}$)	微量元素	浓度 ($\mu\text{g/L}$)
F ⁻	0.28	Ti	210.00	As	3.72
Cl ⁻	17.99	Co	1.76	Cr	8.24
NO ₃ ⁻	5.52	Rb	36.56	Cu	16.52
SO ₄ ²⁻	31.99	Bi	0.24	Ba	207.00
HCO ₃ ⁻	148.60	V	4.36	Mn	52.16
K ⁺	3.49	Ni	40.88	Zn	64.48
Na ⁺	8.38	Sr	852.00	Pb	2.56
Mg ²⁺	15.94				
Ca ²⁺	34.75				

以上数据由中国地质大学 (北京) 地学实验中心提供.

表 2 驯化过程的 PCE 浓度

Table 2 PCE concentrations during acclimation

	第 1 周期	第 2 周期	第 3 周期	第 4 周期	第 5 周期
I	10.00	30.00	60.00	90.00	120.00
II	60.31	180.90	361.90	542.80	723.80

I. PCE ($\mu\text{g/L}$); II. PCE (nmol/L).

某花园的土壤 (地下 50.00 ~ 60.00 cm) 和地下水 2.50 L 的棕色广口瓶中. 水土比约为 3 : 2, 加入葡萄糖和酵母粉提供碳源和氮源, 两者的浓度均为 $1.00 \times 10^3 \text{ mg/L}$. 以上所有操作均在厌氧培养箱进行, 在实验前将厌氧箱充满氮气 60 h 以上. 以 COD 的去除率作为微生物生长的衡量指标, 定期测定 COD 的浓度, 当后一个周期明显高于前一周期的 COD 去除率时, 加入 PCE (浓度由低向高) 进行驯化, 见表 2.

将培养好的菌液 (取 200.0 mL 棕色瓶中的水土混和物) 和酵母粉加入到盛有 300.0 mL 地下水的 650.0 mL 玻璃培养瓶中, 使瓶中水土混和物的体积保持在 500.0 mL. 在驯化过程中, 选择醋酸为共代谢基质, PCE 与醋酸的摩尔浓度比为 1 : 4, 加入的酵母粉浓度为 200.0 mg/L. 将溶于醋酸的 PCE 储备液 (实验前一天制备) 加入培养瓶中, 迅速用双层隔膜 (下层为聚四氟乙烯膜, 上层为橡胶塞) 塞住瓶口, 将培养瓶置于 20 °C 恒温水浴箱 (150 rpm) 进行驯化. 当培养瓶中的微生物数量和活性都较强时, 重新接种菌液到新的培养液中, 相应地加大 PCE 的初始浓度. 考虑到研究区的 PCE 浓度一般在 100 $\mu\text{g/L}$ 以下, 驯化过程的最大理论浓度选择 120 $\mu\text{g/L}$.

第 5 个驯化周期结束后开始进行 PCE 的降解实验. 在 143 mL 的玻璃瓶中, 加入天然地下水和酵母粉 (浓度为 $1.00 \times 10^3 \text{ mg/L}$), 接种驯化好的菌液 15.00 mL, 之后加入 PCE 和醋酸, PCE 的理论浓度

为 $100.0 \mu\text{g/L}$, 立即用聚四氟乙烯膜和橡胶盖封口. 玻璃瓶中液体的体积为 138.0 mL , 顶空体积为 5.00 mL . 同时做一组控制实验, 与以上操作一致, 只是再加入 5.00% 的 NaN_3 灭菌, 以确定瓶中挥发的 PCE 量. 做 7 组 PCE 降解和控制实验平行样. 每隔 $2 \sim 3 \text{ d}$ 取样, 测试 PCE 及其降解产物后, 测 pH 值和浊度等指标, 之后将培养瓶丢弃. 另取培养瓶将其水平放置 (尽量减小挥发) 在生化培养箱静置培养, 温度设置为 20°C .

(2) 测试方法. PCE 及其降解产物的测定: 采用气相色谱仪测试. 采用 HP-624 弹性石英毛细管色谱柱; 进样口温度, 160°C ; ECD 检测器, 温度 250°C ; 炉温初始温度 50°C , 以 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 70°C , 之后以 $10^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 100°C , 保留 2 min , Post Run, 240°C , 保留 2 min ; 色谱柱流速, $3.0 \text{ mL}/\text{min}$; 分流比, $5:1$; 以氮气为载气, 载气流量约 $30 \text{ mL}/\text{min}$. 顶空部分: 瓶区, 50°C ; 定量环, 60°C ; 传输线, 70°C ; 注射时间, 1.00 min ; 振荡时间, 5 min . PCE、TCE 和 DCEs 的方法检出限为 $0.05 \mu\text{g/L}$. 微生物生长的测定: 以浊度作为微生物生长的指标, 用紫外分光光度计测微生物培养液 600 nm 处的吸光度 (Boopathy, 2002).

2 结果与讨论

2.1 微生物培养

培养实验进行了 4 个周期, 每个周期加入同样浓度的葡萄糖和酵母粉, COD 初始浓度在 4000 mg/L 左右, 共进行了 45 d , 每次取上清液测试 COD 时, 测定平行样, COD 变化见图 1. 从图 1 可以看出, 前 3 个周期 COD 去除率达到 90.00% 以上均需 10 d 以上的时间, 第 4 个周期为 8 d , 可见 COD 去除率达到 90.00% 以上所需的时间越来越短, 说明经过一

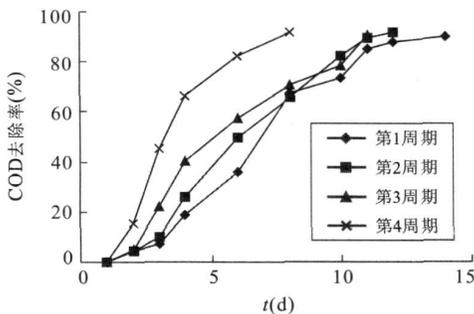


图 1 培养阶段的 COD 去除率

段时间的调整和适应, 系统中的微生物的数量和活性都有所增强, 可以在此基础上进行驯化实验.

2.2 微生物驯化

微生物的驯化共分 5 个周期, 每个周期均为 13 d , 其间测定了微生物的生长变化以及 PCE 的降解情况. 图 2 为驯化过程中由吸光度反映的微生物的数量增长状况, 可以看出, 随着驯化时间的延长, 培养液中的微生物数量呈增加趋势, 到第 11 d 基本达到最大值, 此后微生物数量随时间的变化不再明显. 因此可粗略认为微生物的生长已达到稳定期, 可以用此阶段的菌液作为下一个驯化周期的接种物.

在微生物驯化过程中, 同时监测了 PCE 的降解情况, 在各驯化周期的第 $11 \sim 13 \text{ d}$, 培养液中 PCE 的去除率基本上都达到了 90% 以上, 但 PCE 的去除以挥发为主. 在后两个周期, 检测到了 PCE 的降解产物 TCE, 说明部分微生物已经可以适应新的环境, 并且可以使 PCE 发生降解. 因此, 第 5 个驯化周期结束之后, 开始进行微生物降解实验.

2.3 PCE 的微生物降解

在进行微生物降解 PCE 实验时, 选择 PCE 的初始浓度为 $100 \mu\text{g/L}$. 定期测定 PCE 及其降解产物的变化 (图 3). 从图 3 可以看出, 在微生物培养液中加入 PCE 1 d 后, 取样测试就有 TCE 的产生, 说明 PCE 的降解和 TCE 的产生没有滞后, 产生的 TCE 从实验开始就逐渐增加. 实验进行到第 17 d , PCE 的去除率达到 96.2% . 在实验的第 13 d 有 DCEs 的产生, 但 DCEs 产生的量较少, 因此在实验结束时, TCE 的量没有下降.

从 PCE 的降解产物来看, PCE 的去除属于还原脱氯, 即由一个氢原子取代一个氯原子, 这与许多研究结果 (Ferguson and Pietari, 2000; Pietari, 2002) 一致. 在此实验条件下, PCE 的降解产物为

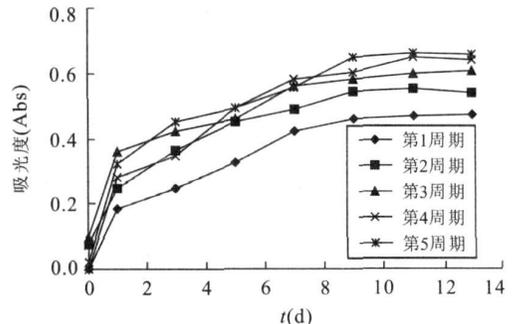


图 2 驯化过程中的微生物数量变化

Fig. 1 Removal efficiency of COD during culture

Fig. 2 Bacterial growth during acclimation

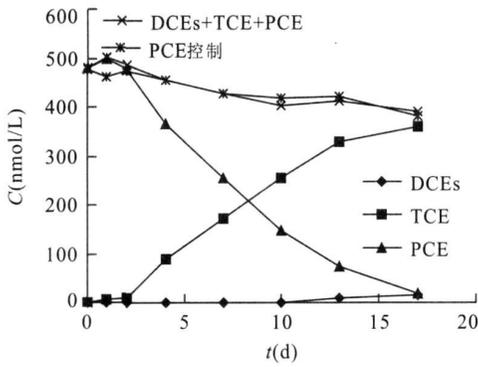


图 3 实验过程中液相中 PCE 及其降解产物
Fig. 3 Results of degradation products of PCE

表 3 液相中 PCE 的降解碳平衡

Table 3 Carbon balance of PCE degradation in liquid phase

反应时间 (d)	控制样 (nmol/L)	反应液			降解碳平衡 (%)
		I	II	III	
0	475.8	—	—	481.10	100.00
1	461.6	—	4.64	497.70	104.40
2	473.2	—	8.83	476.60	100.90
4	455.6	—	90.41	365.00	94.65
7	428.6	—	171.80	254.40	88.59
10	417.1	—	255.80	146.90	83.70
13	422.2	7.84	330.40	73.57	85.59
17	381.0	14.95	358.60	18.21	81.43

“—”表示低于方法检出限; DCEs 和 TCE 的检出限均为 0.05 μg/L; I. DCEs (nmol/L); II. TCE (nmol/L); III. PCE (nmol/L).

TCE 和 DCEs. 到实验结束时, PCE 减少量要大于产生的 TCE 和 DCEs 之和, 质量平衡可以达到 90% 以上(表 3).

碳平衡表明污染物的变化趋势, 按照物质不灭原理, 污染物中有多少摩尔的碳就应该在降解产物中回收同样量的碳; 同时说明实验控制得越好, 碳平衡就越接近 100%, 对于氯代烃这样的挥发组分来说, 80% ~ 120% 的碳平衡是非常正常的(刘菲和李焯, 2006). 在实验过程, 降解碳平衡在 81.43% ~ 104.4% 之间, 在实验的第 1 d 碳平衡达到了 104.4%, 可能是由于刚加入 PCE 时, PCE 并没有在溶液中充分混和, 第 1 d 达到平衡, 因此测得液相中的 PCE 浓度较高. 到实验结束前, 反应瓶中所剩余的 PCE 占总碳的 3.78%, 主要产物是 TCE, 占总碳的 74.54%, DCEs 占总碳的 3.11%, 碳平衡为 81.43%, 损失的碳约为 20.00%, 根据 PCE 控制样计算, 到实验结束时, PCE 的挥发量占 19.92%, 说明损失的碳大部分应为挥发所致.

一般认为, PCE 部分脱氯的原因是高氯代化合物(氧化性较强)比低氯代化合物更易还原脱氯, 随

着氯代程度降低, 还原脱氯速率也会降低(Haston and McCarty, 1999; Lomheim, 2002). 因此, 在 PCE 的厌氧脱氯过程中, 会产生一系列的中间产物, 如 DCEs 和 VC; 在微生物的作用下, DCEs 有可能转化为 VC 和乙烯, 其中 VC 比 PCE 的毒性还强, 这是不希望出现的中间产物, 需要特别引起注意. 而且, VC 转化为乙烯通常是 PCE 降解的限速步骤(Distefano, 1999; Aulenta *et al.*, 2002; Boopathy, 2002). 在本实验过程中产生的 DCEs 量较少, 且其浓度变化不大, 从理论上讲, 产生 VC 和乙烯的可能性不大. 但在本实验过程中, 没有检测这两种物质, 因此无法确定 PCE 是否最终降解为 VC 和乙烯, 和在其中所占的百分比.

根据液相中的 PCE 浓度(C)随时间(t)的变化情况作降解动力学回归曲线(图 4). $C = 678.74e^{-0.1848t}$ ($n=8, R^2=0.9369$), 反应速率常数 K 为 $0.1848 d^{-1}$, 半衰期为 $t_{1/2} = \ln 2 / K = 3.75 d$. 对 PCE 降解时产生的 TCE 作回归曲线(图 5), 回归结果为 $C = 7.2494e^{0.3466t}$, ($n=6, R^2=0.8065$), 反映了 PCE 降解时产生 TCE 的速率, 反应速率常数为 $0.3466 d^{-1}$. 从回归结果可以看出, PCE 的去除和 TCE 的产生都符合准一级反应动力学方程.

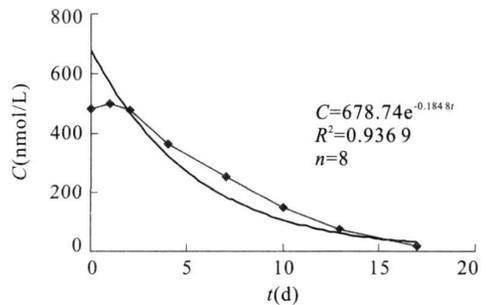


图 4 PCE 降解的回归曲线

Fig. 4 Regression curve of PCE degradation

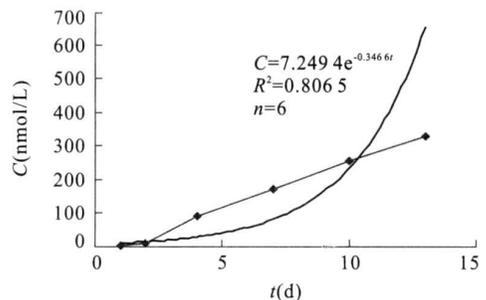
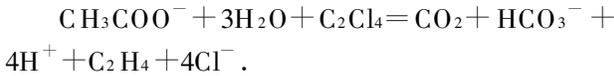
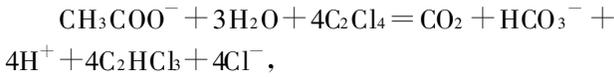


图 5 生成 TCE 的回归曲线

Fig. 5 Regression curve of TCE produced

以醋酸为电子供体,在厌氧条件下,PCE 降解为 TCE 和乙烯的反应式如下:



理论上,1 mol 醋酸可以使 4 mol 的 PCE 还原脱氯为 TCE,可以使 1 mol 的 PCE 完全脱氯为乙烯,而在实验过程中,醋酸与 PCE 的摩尔浓度比为 4:1.因此,所添加的电子供体处于过剩状态,不仅完全可以满足 PCE 脱氯(李焯等,2006),而且有利于反应向脱氯方向进行.另外,在此条件下,PCE 降解为 TCE 的吉布斯 $\Delta G_0 = -215 \text{ kJ/mol}$.因此,反应相对容易进行(Wang, 2001).

李惠娣等(2004a, 2004b)用厌氧富集培养基,以甲醇、葡萄糖、乳酸盐和醋酸盐作为共代谢基质研究 PCE 的降解性能时,降解速率分别为 0.899 d^{-1} 、 0.640 d^{-1} 、 0.849 d^{-1} 和 0.3524 d^{-1} ,半衰期分别为 0.77 d、1.08 d、0.82 d 和 1.97 d.本文的结果与上述结果相比要小,原因可能是本研究加入的电子供体量较少,仅为目标污染物的 4 倍,而前者加入的电子供体量为目标污染物的 1 000 倍左右;另一方面,本研究是以天然地下水为基础培养液,没有加入额外的无机离子,而前者是利用实验室配制的基础培养液,无机离子和微量元素的浓度相对要高.因此,电子供体加入量少和无机离子浓度低,可能是造成本实验反应速率低的原因.但具体原因需作进一步研究,在后面的研究中还需对这些因素进行综合分析,以期达到 PCE 更高的去除速率.

2.4 温度对 PCE 降解性能的影响

温度是影响生物降解的重要环境因素,它通过改变生长速率、酶的活性、细胞成分等对微生物起直接作用(Ferguson and Pietari, 2000).一般认为,当温度在 30°C 左右时,脱氯效率最高;当温度在 15°C 以下时,脱氯速度较慢(Eisenbeis *et al.*, 1997; Chang *et al.*, 2001).国外许多学者对低温下 PCE 的厌氧生物降解进行了研究,因为地下水的温度都较低,低温下 PCE 的厌氧生物处理对地下水的生物修复更有意义(杨琦等,2006).Carter and Jewell (1993)研究表明,在 15°C 的环境中,用蔗糖作电子供体,PCE 可以脱氯为 TCE、cis-DCE、VC 和乙烯;McDade(2002)研究表明,当温度为 8°C 时,脱氯速度特别慢;Ferguson and Pietari(2000)研究结果表明,温度对 PCE 生物降解影响较大;从 10°C 的地下水中

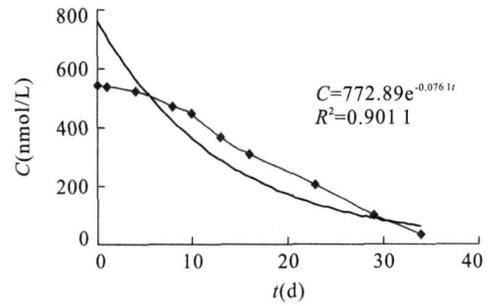


图 6 12°C 环境条件下 PCE 降解的回归曲线

Fig. 6 Regression curve of PCE degradation under 12°C condition

获得的微生物培养基比在 30°C 生物降解活性低,而 30°C 的培养基生物降解在 10°C 没有生物活性.

考虑到地下水温度大多在 12°C 左右,因此本文对环境温度为 12°C 时的 PCE 的微生物降解情况进行了研究,利用 20°C 环境中培养驯化的微生物.与 PCE 降解实验所有的操作步骤一样,只是最后将其置于 12°C 环境的生化培养箱中.定期取样分析培养液中 PCE 及其还原产物的变化,结果显示,在 12°C 相对低温的环境中,PCE 也可以被还原脱氯为 TCE,而且终产物只有 TCE,未检测到 DCEs,但速率明显要低于 20°C 时的降解速率,PCE 在 12°C 条件下的回归曲线见图 6.

经过 34 d 时间,PCE 的去除率达到 94.0%,反应速率常数 K 为 0.076 d^{-1} ,半衰期为 9.11 d.温度为 20°C 时,PCE 的降解速率常数是温度为 12°C 时 PCE 降解速率常数的 2.4 倍.由于是利用 20°C 条件下培养驯化的微生物进行降解实验,因此在 12°C 条件下微生物的活性有所降低,但是 PCE 仍可以被降解为 TCE,说明微生物仍有生物活性.在地下水环境中,温度大多在 12°C 左右,半衰期为 108 d,本研究通过强化影响 PCE 降解的一些因素,可以使 PCE 降解为 TCE,并将半衰期降低 12 倍左右,这一研究具有积极意义,为污染地下水的就地修复提供了理论依据.

3 结论

(1)在实验室培养驯化的微生物可以使 PCE 发生降解,天然地下水中的无机离子和微量元素可以满足 PCE 脱氯微生物的生长需求;(2)在天然地下水环境中,通过强化某些影响因素,可以促进 PCE 的还原脱氯,反应终产物为 TCE 和 DCEs,反应速

率常数 K 为 0.1848 d^{-1} , 半衰期为 3.75 d , 在加入 PCE 的第 1 d 就有 TCE 产生, 没有滞后期; (3) 温度为 $12 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 时, PCE 也可以发生还原脱氯, 反应终产物为 TCE, 但降解速率要低于 $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 时的速率. 经过 32 d 时间, PCE 的去除率达到了 94.0% , 降解速率常数 K 为 0.0761 d^{-1} , 半衰期为 9.11 d .

研究结果表明, 在实验室研究条件下, 通过强化某些影响因素, 可以提高 PCE 的降解速率, 是很有应用前景的原位修复技术; 而在野外实际应用时, 是否可以通过强化生物修复, 改变某些因素刺激土著微生物或将驯化后的微生物群落引入污染场地来促进目标污染物的降解, 在很大程度上取决于微生物的适应性和周围的环境因素(温度、pH/Eh 和营养盐等), 这仍有待进一步研究.

References

- Aulenta, F., Bianchi, A., Majone, M., et al., 2005. Assessment of natural or enhanced in situ bioremediation at a chlorinated solvent-contaminated aquifer in Italy: A microcosm study. *Environment International*, 31(2): 185–190.
- Aulenta, F., Majone, M., Verbo, P., et al., 2002. Complete dechlorination of tetrachloroethene to ethene in presence of methanogenesis and acetogenesis by an anaerobic sediment microcosm. *Biodegradation*, 13(6): 411–424.
- Aulenta, F., Rossetti, S., Majone, M., et al., 2004. Detection and quantitative estimation of *Dehalococcoides* spp. in a dechlorinating bioreactor by a combination of fluorescent in situ hybridisation (FISH) and kinetic analysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(2): 206–212.
- Boopathy, R., 2002. Anaerobic biotransformation of carbon tetrachloride under various electron acceptor conditions. *Bioresource Technology*, 84(1): 69–73.
- Carter, S. R., Jewell, W. J., 1993. Biotransformation of tetrachloroethylene by anaerobic attached-films at low temperatures. *Water Research*, 27(4): 607–615.
- Chang, Y. C., Okeke, B. C., Hatsu, M., et al., 2001. In vitro dehalogenation of tetrachloroethylene (PCE) by cell free extracts of *Clostridium bifermentans* DPH-1. *Bioresource Technology*, 78(2): 141–147.
- Distefano, T. D., 1999. The effect of tetrachloroethene on biological dechlorination of vinyl chloride: Potential implication for natural bioattenuation. *Wat. Res.*, 33(7): 1688–1694.
- Eisenbeis, M., Bauer-Kreisel, P., Scholz-Muramatsu, H., 1997. Studies on the dechlorination of tetrachloroethylene to cis-1, 2-dichloroethene by dehalospirillum multivorans in biofilms. *Wat. Sci. Tech.*, 36(1): 191–198.
- Ferguson, J. F., Pietari, J. M. H., 2000. Anaerobic transformations and bioremediation of chlorinated solvents. *Environmental Pollution*, 107(2): 209–215.
- Gan, L. H., Wu, H., Guo, S. F., 2005. Application on bio-augmenting technology in environmental treatment. *China Environmental Protection Industry*, 5: 37–39 (in Chinese with English abstract).
- Haston, Z. C., McCarty, P. L., 1999. Chlorinated ethene half-velocity coefficients (K_s) for reductive dehalogenation. *Environ. Sci. Technol.*, 33(2): 223–226.
- Isalou, M., 1998. Sequential anaerobic-aerobic biodegradation of tetrachloroethylene (PCE) [Dissertation]. Graduate Department, Civil Engineering University of Toronto, Toronto, Canada.
- Kao, C. M., Lei, S. E., 2000. Using a peat biobarrier to remediate PCE/TCE contaminated aquifers. *Wat. Res.*, 34(3): 835–845.
- Lee, T. H., Yoshimi, M., Ike, M., et al., 1997. Characterization of an anaerobic soil enrichment capable of dechlorinating high concentrations of tetrachloroethylene. *Wat. Sci. Tech.*, 36(6–7): 117–124.
- Li, H. D., Yang, Q., Shang, H. T., 2004a. Anaerobic biodegradation of tetrachloroethylene with methanol as co-metabolism substrate. *Environmental Science*, 25(3): 84–88 (in Chinese with English abstract).
- Li, H. D., Yang, Q., Shang, H. T., 2004b. Study on anaerobic biodegradation of tetrachloroethylene with different co-metabolism substrates. *Environmental Pollution and Control*, 26(5): 326–328, 354 (in Chinese with English abstract).
- Li, Y., Liu, F., Shi, J. H., et al., 2006. A preliminary study of anaerobic biodegradation of tetrachloroethylene with acetic acid as co-metabolism substrate. *Hydrogeology & Engineering Geology*, 33(3): 7–10, 96 (in Chinese with English abstract).
- Liu, F., Li, Y., 2006. The cometabolism degradation of tetrachloroethylene under Fe reducing environment. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 25(4): 330–334 (in Chinese with English abstract).
- Lomheim, L. S., 2002. Anaerobic biodegradation of high concentrations tetrachloroethylene (PCE) and 1, 2-dichloroethane (1, 2-DCA) [Dissertation]. University of Toronto, Toronto, Canada.
- Lu, X. X., Li, G. H., Zhang, X. et al., 2002. Oxidative degradation of chlorinated hydrocarbons under anaerobic con-

- ditions. *Environmental Science*, 23(4): 37–41 (in Chinese with English abstract).
- Ma, C. W., Wu, Y. Q., Sun, C. X., 2007. Remediation of groundwater contaminated by chlorinated hydrocarbons. *Environmental Protection Science*, 33(3): 23–25 (in Chinese with English abstract).
- Magnuson, J. K., Stern, R. V., Gossett, J. M., et al., 1998. Reductive dechlorination of tetrachloroethylene to ethene by a two-component enzyme pathway. *Applied and Environment Microbiology*, 64(4): 1270–1275.
- Mao, L., Tang, Y. B., Chen, F. Y., et al., 2007. Progress in bioremediation of waters polluted by refractory organics. *Water Purification Technology*, 26(1): 34–38 (in Chinese with English abstract).
- McDade, J., 2002. Demonstration-scale analysis of anaerobic bioremediation of tetrachloroethene DNAPL source zone using bioaugmentation and electron donor delivery [Dissertation]. Rice University, Houston, U. S. A. .
- Pietari, J. M. H., 2002. Characterization of PCE dechlorinating cultures and isolation of a novel PCE to cis-1, 2-DCE halo-respiring bacterium [Dissertation]. University of Washington Graduate School, Washington, U. S. A. .
- Qin, H. M., Yin, H., Zhang, N., et al., 2007. Treatment of oil and grease wastewater by bioaugmentation technology. *Technology of Water Treatment*, 33(3): 33–35 (in Chinese with English abstract).
- Skubal, K. L., 1999. Natural and enhanced bioattenuation potential of an aquifer contaminated by mixed wastes [Dissertation]. The University of Michigan Detroit, U. S. A. .
- Wang, L., 2001. Tetrachloroethylene (PCE) and trichloroethylene (TCE) biodegradation with bioreactors [Dissertation]. The Faculty of the Graduate School University of Missouri Columbia, Columbia, U. S. A. .
- Yang, Q., Shang, H. T., Li, H. D., 2006. Progress on tetrachloroethylene (PCE) anaerobic bioremediation. *China Biogas*, 24(2): 16–20, 24 (in Chinese with English abstract).
- Yang, Q., Xi, H. B., Shang, H. T., et al., 2007. Biosorption and anaerobic degradation of tetrachloroethylene. *Geoscience*, 21(1): 170–174 (in Chinese with English abstract).
- Zhou, S. Q., 2003. Environmental biotech. Science Press, Beijing (in Chinese).

附中文参考文献

- 甘丽华, 吴昊, 郭树凡, 2005. 生物强化技术在环境治理中的应用. 中国环保产业, 5: 37–39.
- 李惠娣, 杨琦, 尚海涛, 2004a. 甲醇为共代谢基质时四氯乙烯的厌氧生物降解. 环境科学, 25(3): 84–88.
- 李惠娣, 杨琦, 尚海涛, 2004b. 不同共代谢基质下四氯乙烯厌氧生物降解研究. 环境污染与防治, 26(5): 326–328, 354.
- 李焯, 刘菲, 史敬华, 等, 2006. 以醋酸为共代谢基质时四氯乙烯的生物降解初步研究. 水文地质工程地质, 33(3): 7–10, 96.
- 刘菲, 李焯, 2006. 铁还原环境下四氯乙烯的共代谢降解. 矿物岩石地球化学通报, 25(4): 330–334.
- 卢晓霞, 李广贺, 张旭, 等, 2002. 厌氧条件下有机氯代烃污染物的氧化降解. 环境科学, 23(4): 37–41.
- 马长文, 仵彦卿, 孙承兴, 2007. 受氯代烃类污染的地下水环境修复研究进展. 环境保护科学, 33(3): 23–25.
- 毛莉, 唐玉斌, 陈芳艳, 等, 2007. 难降解有机物污染水体微生物修复研究进展. 净水技术, 26(1): 34–38.
- 秦华明, 尹华, 张娜, 等, 2007. 生物强化技术处理含油脂废水的研究. 水处理技术, 33(3): 33–35.
- 杨琦, 尚海涛, 李惠娣, 2006. 四氯乙烯(PCE)厌氧生物修复的国外研究进展. 中国沼气, 24(2): 16–20, 24.
- 杨琦, 席宏波, 尚海涛, 等, 2007. 四氯乙烯的生物吸附和厌氧生物降解研究. 现代地质, 21(1): 170–174.
- 周少奇, 2003. 环境生物技术. 北京: 科学出版社.