生态学杂志 Chinese Journal of Ecology 2014,33(9):2567-2573

DOI:10.13292/j.1000-4890.2014.0175

填埋场甲烷生物氧化过程及甲烷氧化菌的研究进展*

梅 娟[1,2**] 赵由才[2]

([1] 苏州科技学院环境科学与工程学院,江苏苏州 215009; [2]同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室,上海 200092)

摘 要 生活垃圾填埋场甲烷排放量约占全球甲烷排放总量的6%~12%,是大气甲烷的重要生物源之一。生活垃圾填埋场覆土中的甲烷氧化菌能氧化填埋气中的甲烷,是填埋场甲烷排放控制的重要途径。本文综述了填埋场覆盖层甲烷生物氧化的微生物机理、覆土甲烷生物氧化强化工艺和技术、填埋场环境中甲烷氧化微生物研究的最新进展。现有研究有效提高了填埋场覆盖层甲烷生物氧化的性能,但对占填埋场甲烷产生总量很大比重的封场前甲烷排放控制关注较少,因此,今后应加强封场前甲烷排放的研究,提高日覆盖和中间覆盖材料的甲烷氧化率并加快其甲烷氧化启动。

关键词 甲烷生物氧化; 填埋场; 甲烷氧化菌

中图分类号 X131.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2014)9-2567-07

Research progress on methane bio-oxidation process and methanotrophs in landfill. MEI Juan[1,2**], ZHAO You-cai[2] ([1]*School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou* 215009, *Jiangsu, China*; [2] *State Key Laboratory of Pollution Control & Resources Reuse, Tongji University, Shanghai* 200092, *China*). *Chinese Journal of Ecology*, 2014, **33**(9): 2567-2573.

Abstract: Refuse landfill sites are one of the important methane emission sources, contributing 6%-12% of the anthropogenic emission of methane. The promotion of feasible methane emission-reduction techniques is an imminent challenge. Most recently, methane bio-oxidation through methanotrophs involved in landfill cover soil has been regarded as a potential strategy to mitigate fugitive methane emission from landfill. In this study, the recent developments of microbial mechanisms of methane bio-oxidation by landfill cover, modified methane bio-oxidation technologies and microorganisms associated with methane oxidation in landfill environment were critically summarized. According to the literature review, few studies have been carried out to decrease the methane release during landfill operation, which accounts for a great part of the total methane emission. Future research efforts should be thus dedicated to modification of methane oxidation capacities of the daily and middle covers.

Key words: methane bio-oxidation; landfill site; methanotrophs.

大气中的 CH_4 是仅次于 CO_2 的重要温室气体,是导致全球变暖的重要因素。1750—1998 年全球的平均 CH_4 浓度增长了约 150%,据估算,2000 年全球 CH_4 排放总量约为 3×10^{11} kg。生活垃圾填埋场甲烷排放量占全球甲烷排放总量的 6%~12%,是大气甲烷的重要生物源之一(IPCC,2000)。控制和减少生活垃圾填埋场的甲烷排放量,对减少全球的温室气体排放有重要意义。中国的城市生活垃圾大部分采用填埋方式处置。截至 2012 年,全国城镇共有生活垃圾处理厂(场)2125 座,全年处理生活垃圾 1.97×10^{11} kg,其中采用填埋方式处置 1.75×10^{11} kg,占总处理量的 88%。因此,研究适用于生活垃圾填埋场的甲烷等温室气体减排技术对控制温室气体排放十分重要。

现有填埋场甲烷减排技术主要有准好氧填埋和填埋气回收。准好氧填埋是 20 世纪 80 年代兴起的生活垃圾填埋技术,用导气管和不满流设计的渗滤液收集管使空气自然流通到填埋场内部,通过增大填埋结构中好氧区的面积使填埋场中 CH_4 产生量

* 国家高技术研究发展计划项目(2007AA06Z349)和江苏省建设系统科技项目(201207180015)资助。

** 通讯作者 E-mail: susie_mei@163.com

收稿日期: 2014-01-06 接受日期: 2014-05-19

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

比厌氧填埋场中的少(Onay & Poholand,1998;张正安等,2006)。但准好氧填埋的技术要求和费用较高,施工和管理复杂,在中国推广使用存在一定问题。填埋气回收可以利用填埋气的热值,是一种理想的减排方式,世界上已有20多个国家的垃圾填埋场开展了填埋气的回收利用(李克兵,2009)。由于中国生活垃圾填埋起步晚,大部分填埋场不符合卫生填埋标准,设施落后,缺少合适的填埋气体收集装置,限制了该技术在中国的应用。尤其对老龄和中小型生活垃圾填埋场,其填埋气产生量少且甲烷浓度低,回收利用难度较大。

填埋场覆土中的好氧甲烷氧化对生活垃圾填埋场的甲烷排放具有天然的调控作用,可以明显减少甲烷的排放量。对于我国大部分生活垃圾填埋场,利用覆盖层的甲烷生物氧化控制甲烷排放是现实可行的方法。本文主要介绍了目前填埋场甲烷生物氧化技术及填埋场甲烷氧化菌的研究进展,并对今后填埋场甲烷减排生物技术研究的重点和方向提出自己的观点。

1 生活垃圾填埋场的甲烷产生和排放过程

国内外发展了多种估算填埋场甲烷产生量的方法,主要有理论计算法、动力学模型法和实测法等。按照现有研究结果,填埋气从垃圾填埋后3个月开始,共持续约20~25 a,但填埋场的产气高峰期仅5 a左右。填埋气回收系统较只在产气高峰期适合运行,封场前和封场后期的甲烷排放均较难控制(赵天涛等,2009)。现有填埋场甲烷减排的研究多针对封场后填埋气产生量大的阶段,对封场前的作业期及产气高峰期之后较长时间内的甲烷排放关注不多。

1.1 填埋作业初期的甲烷排放问题

生活垃圾填入填埋场后3个月左右就开始产生甲烷,1年后即可达到产气高峰。现有填埋技术在填埋过程中对生活垃圾作压实处理,造成垃圾体系中氧气相对较少,达到产气高峰的时间会更短。而填埋气收集系统一般在填埋单元终场覆盖之后建立,封场前将有大量的甲烷释放到大气中,无法得到有效的收集和控制(黄文雄等,2006;朱英,2007)。另外,我国生活垃圾没有实现分类收集,垃圾中易降解的瓜果蔬菜较多,产气峰值期来得早,更增加了填埋过程中的甲烷排放量。

一般填埋场的服务年限都超过10 a,封场前的甲烷排放实际占填埋场甲烷排放总量比例较高。下面选用Gardner和Probert(1993)提出的甲烷排放量估算模式对封场前的甲烷产生量进行计算,部分参数参考徐新华(1997)对全国垃圾甲烷气资源估算研究中所用的参数。

Gardner和Probert提出的填埋场甲烷排放量估算模式:

$$P = C_d X \sum_i F_i (1 - e^{-K_i t})$$

式中,P为单位重量垃圾时间t内的甲烷排放量,C_d为垃圾中可降解的有机碳百分率,X为填埋场产气中CH_4的分额,F_i为各降解组分占有机碳的含量,K_i为各降解组分的降解系数(a^{-1}),t为填埋时间(a)。

对规模100×10^7 kg、库容量15年的垃圾填埋场,参照徐新华(1997)生活垃圾组成的数据估算其甲烷排放量(表1)。X按实际情况取0.58;C_d根据IPCC推荐取0.15。估算出填埋场封场前作业过程中的甲烷产生量为70.08×10^7 kg,而填埋场生活垃圾的累计甲烷总产生量约为122.7×10^7 kg,则封场前的甲烷产生量占填埋场垃圾甲烷总产生量的57.12%。因此,填埋场封场前的甲烷产生量是填埋场甲烷排放控制研究中不可忽视的重要部分。

1.2 填埋场运营后期的甲烷排放问题

过了产气高峰期的填埋气回收效率低,不适于填埋气发电技术,因此,填埋场运营后期不适宜资源化的填埋气是填埋气发电技术难以解决的问题。

在生活垃圾稳定化过程中,填埋气体的组成和产率将随填埋时间的推移而呈现阶段性变化规律。根据朱英(2007)的预测,污泥填埋后甲烷气体的产生潜能约为60 kg·m^{-3}。不同的预测方法都表明填埋5年的时间内,甲烷的产生率会快速降低,5年后甲烷的产生率将低于可以回收利用的水平,填埋场的甲烷减排难以用填埋气回收技术解决。填埋场运营后期已经封场,覆盖层的生物甲烷氧化可以在此时发挥作用,现有的生物减排技术也多针对封场后的覆盖层生物甲烷氧化强化。

表1 城市生活垃圾组成
Table 1 Composition of municipal refuse

分类	半衰期(a)	降解系数K_i(a^{-1})	F_i(%)
易降解组分	1	0.693	11.39
一般降解组分	5	0.139	84.36
难降解组分	15	0.064	4.25

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2　填埋场覆盖层的甲烷氧化过程

2.1　覆盖层甲烷氧化的微生物机理

甲烷氧化菌是一种特殊的以甲烷为唯一碳源和能源的甲基营养型微生物(王云龙等,2007),分布范围很广,在全球甲烷消耗中起了重要作用。甲烷氧化菌能够将 CH_4 作为能源和碳源,O_2 作为电子受体,通过甲烷单加氧酶、甲醇脱氢酶、甲醛脱氢酶和甲酸脱氢酶四步催化反应,将垃圾填埋气中的 CH_4 最终氧化为 H_2O 和 CO_2,并形成细胞质(张相锋,2006)。Whittenbury 和 Phillips(1970)分离和鉴定了 100 多种能利用甲烷的细菌。依照形态差异、休眠阶段类型、胞质内膜精细结构和一些生理特征的不同,分为甲基单胞菌属(*Methylomonas*)、甲基细菌属(*Methylobacter*)、甲基球菌属(*Methylococcus*)、甲基孢囊菌属(*Methylocystis*)、甲基弯曲菌属(*Methylosinus*)、甲基微菌属(*Methylomicrobium*)、甲基暖菌属(*Methylocaldum*)和甲基球形菌属(*Methylosphaera*)(Hanson & Hanson,1996; Dedysh & Deradshani,2001)。

许多研究证明,填埋场覆土有较高的甲烷氧化率,可以明显减少填埋场的甲烷排放量。Pratt 等(2013)研究含火山灰土的填埋场覆盖层发现,封场 10 年后的覆盖层在实验室条件下距表面 60 cm 的范围内甲烷去除率为 70% ~100%,平均去除率为 72%。Schuetz 等(2003)研究发现,日覆盖区域的甲烷排放量为 24.2 $g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$,而终场覆盖区域甲烷排放量为 -0.005 ~24.2 $g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$,终场覆盖层能明显降低甲烷排放量。填埋场覆盖层的好氧区域存在大量的甲烷氧化菌,覆盖土的甲烷氧化速率最大可达 290 $g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$(Ogner *et al.*,1997; De Visscher *et al.*,1999)。

2.2　覆盖层甲烷氧化的影响因素

影响填埋场覆土甲烷氧化的因素有很多,主要有温度、湿度、孔隙率、植被、甲烷负荷等,现有研究针对物理因素的较多,为填埋场覆土的甲烷氧化能力调控奠定了基础。

甲烷的微生物氧化主要发生在相对较浅的次表层土壤,通常是 5 ~10 cm 深,此深度土壤里甲烷氧化菌数量最大,活性也最强。此甲烷氧化活性区域在土层中的位置受到土壤类型和土壤结构的影响。土壤的质地、含水量、土壤表面植被种类及覆盖物厚度等因素均会影响土壤透气性(梁战备等,2004),进而决定大气层中的氧气向土壤深处的扩散速度和扩散通量,增加覆盖层的透气性有利于增加甲烷氧化活性区域的深度。湿度过高会降低土壤孔隙率,对氧气的扩散不利,Whalen 等(1990)研究发现,土壤湿度为 10% ~20% (W/W)时甲烷氧化的效果最佳,当土壤湿度达到 35% 时甲烷氧化速率极低。

温度对甲烷氧化速率有较大的影响,土壤温度在 2 ~25 ℃时,甲烷氧化速率以指数形式增长,在 30 ℃时达到最大值(Brjesson *et al.*,2004)。当温度达到或超过 40 ℃以后,甲烷氧化速率明显下降。冬季垃圾填埋场甲烷的氧化速率要明显低于夏季,但甲烷氧化菌仍可以有效地氧化甲烷,减少垃圾填埋场的甲烷排放量。有研究发现,在土壤温度 2 ℃时,依然有甲烷氧化效果(Schuetz *et al.*,2003; Scheutz & Kjeldsen,2005)。

覆盖层中有机质的含量对甲烷氧化的活性也有影响,有机质含量增加有利于甲烷氧化菌的活动。Schuetz 和 Kjeldsen(2004,2005)测定了相同进气量条件下不同有机质含量的填埋场覆土的最大甲烷氧化率,发现,有机质含量为 1% 的覆土中甲烷最大氧化速率只有 192 $g\ CH_4 \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$,有机质含量为 1.7% 的覆土甲烷的平均氧化速率为 240 $g\ CH_4 \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$,最大的甲烷氧化速率达到 288 $g\ CH_4 \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$。Mancebo 等(2014)研究发现,生物过滤器中材料的可溶性有机物含量、比耗氧速率、交换性氮含量等均对甲烷氧化率有明显影响。对于不同的多孔性生物材料,低可溶性有机物、比耗氧速率、交换性氮时具有最好的甲烷氧化性能。

许多研究关注填埋气甲烷负荷对甲烷氧化菌活动的影响,如,Li 等(2014)研究了甲烷和氧气浓度对生物覆盖层中甲烷氧化菌种群结构和基因表达的协同作用,结果发现,在一定填埋气甲烷浓度条件下,氧含量增加可以提高甲烷氧化率。因此,在高甲烷负荷的条件下,如果能提供较高的氧气浓度,将有利于增强覆盖层的甲烷去除能力。

3　填埋场覆盖层甲烷氧化的强化技术

对覆盖层甲烷氧化过程的强化可以通过采用新的覆盖材料和新的覆盖方式及设施来实现。覆盖材料的研究主要涉及堆肥、矿化垃圾等材料,以及用沙土、木屑等对堆肥进行改性(Einola *et al.*,2008; Park *et al.*,2008; Moon *et al.*,2010)。新的覆盖方式及设施包括采用生物过滤器、生物覆盖层方法来设计日

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

覆盖、中间和终场覆盖层以降低填埋场的甲烷排放量(Streese & Stegman,2003; Perdikea *et al.*,2008)。

3.1 填埋场覆盖层强化甲烷氧化的调控技术

调控影响覆盖层甲烷氧化过程的各种因素,可以促进甲烷氧化过程(Ménard *et al.*,2012)。Barlaz 等(2004)利用堆肥改良填埋覆土,改良覆土区的甲烷氧化速率达到55%,普通粘土区的只有21%。Hilger 等(2000)发现,向填埋覆土层中添加石灰可以明显提高甲烷氧化速率,但由于垃圾填埋覆土层具有很强的 pH 缓冲能力,其影响也就相对减弱了。Jugnia 等(2012)研究发现,向覆盖土中添加除尿素之外的含氮盐可以促进甲烷氧化,而添加氮磷钾肥有更好的效果。该研究认为,P 元素对甲烷氧化比较重要,尤其是在低温条件下。

Reichenauer 等(2010)研究了不同植物对覆盖层内 CH_4、CO_2、O_2 等气体浓度的影响,发现,植物对维持稳定的甲烷氧化是必要的。植物根部形态对甲烷氧化的影响可能是由植物根部可以使氧气向更深层扩散并调节含水率引起的,具有发达根系可以生长到更深处的植物比浅根系的草类更能促进甲烷氧化。Chi 等(2012)采用在填埋场的生物覆盖层中布设空气扩散系统的方法,有效提高了整个覆盖层中的氧气浓度,覆盖层中 I 型甲烷氧化菌的数量明显提高,覆盖层的最高甲烷氧化率达到了 501.4 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$。

因此,调节覆盖材料的含水率、增加有机质含量、种植深根系类的植物,使土壤条件有利于甲烷氧化菌的生长和活动,可以达到强化甲烷氧化效果的目的。

3.2 填埋场生物覆盖材料的改良

很多材料被用来制备填埋场的生物覆盖层,以提高覆盖层的甲烷氧化能力。新型覆盖材料的研究从开始的农业土壤、花园土壤等一般土壤和其他土壤的混合材料逐渐扩展到使用废弃物制作改性材料。用于材料改性的有沙子、木屑、活性炭和泥煤等物质,以及各种垃圾的新鲜或成熟堆肥产物与土壤的复配材料(Chang *et al.*,2010; Jung *et al.*,2010; Scheutz *et al.*,2011)。Perdikea 等(2008)发现,在进气负荷为 9.4 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$ 时,用 0~10% 质量分数的木屑与堆肥混合而成的含水率 52%、厚度 30 cm 的生物覆盖层可以长期保持 100% 的甲烷氧化率。Gebert 和 Groengroef(2006)研究了多层复合型覆盖层,从上到下依次为 0.1 m 的潮湿表层土壤、0.02 m 的沙子、0.02 m 的砂砾、0.67 m 的粘土以及 0.1~0.3 m 的砂砾,在进气负荷为 0~6000 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$ 时,复合型覆盖层的甲烷氧化速率可高达 1900 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$。Einola 等(2008)采用机械生物处理市政垃圾(MBT)残余物作生物覆盖层,检测到 2~25 °C 条件下甲烷氧化率为 12.2~82.3 g $CH_4 \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$,材料的甲烷氧化能力在实验的 124 d 内逐渐增加,5 °C 时从<1.6 到最大值 104 μg $CH_4 \cdot g^{-1}$ 干重 $\cdot h^{-1}$,23 °C 时为 578 μg $CH_4 \cdot g^{-1}$ 干重 $\cdot h^{-1}$。MBT 残余物可以用作生物甲烷氧化的支撑物,包括低温条件。很多研究表明,堆肥用作覆盖层材料有很好的甲烷氧化效果,主要原因是堆肥具有大孔径且富含有机质,能在给甲烷氧化菌提供营养的同时提供良好的通气条件(Streese & Stegman,2003; Jung *et al.*,2010)。

可以用蚯蚓粪与其他材料(如与水稻土)混合制备生物覆盖层和生物过滤器材料去除甲烷,加入蚯蚓粪后,水稻土的甲烷氧化率从 4.9 μg $\cdot g^{-1}$ 干土 $\cdot h^{-1}$ 堪提高到 25.1 μg $\cdot g^{-1}$ 干土 $\cdot h^{-1}$。分子生物学的分析表明,混合材料中细菌和甲烷氧化菌种群分别来自水稻土和蚯蚓粪,富集的材料中 I 型(主要是 *Methylocaldum*)和 II 型(主要是 *Methylocystis*)甲烷氧化菌均对甲烷氧化起重要作用(Moon *et al.*,2010)。

赵由才等(2009)利用矿化垃圾作覆盖材料加强填埋场的甲烷氧化发现,矿化垃圾具有良好的氧化甲烷性能,适宜用作填埋场覆盖材料来控制甲烷排放。矿化垃圾培养 14 d 的总甲烷氧化率最高达到 56.72%,加 NMS 营养液培养 7 d 的总甲烷氧化率达到 52.93% ~93.96%。模拟填埋场试验结果表明,在添加 NMS 营养液条件下,23 d 后矿化垃圾的甲烷氧化速率最高达到 484 μL $CH_4 \cdot g^{-1}$ 干基 $\cdot h^{-1}$,甲烷去除率达到 75% 左右。Long 等(2013)证明,填埋气中的 H_2S 有可能会抑制甲烷氧化,而与普通土壤相比矿化垃圾更能够适应填埋场环境因而具有较高的甲烷氧化率。

3.3 填埋场覆盖工艺的改进

生物过滤法作为一种传统的废气生物处理技术,与常规的物理、化学方法相比,具有设备简单、投资和运行费用低、无二次污染等优点。生物过滤技术可以用来强化覆盖层甲烷氧化过程(姜晨竞等,2008; Chang *et al.*,2010)。

生物过滤器可分为密闭式和敞开式 2 种类型。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

在密闭式生物过滤器系统中,空气由强制通风系统供给。国外有研究将通风设备安装在生物过滤器的顶部,来模拟垃圾填埋场覆土的自然情况,在此运行模式下得到的最大甲烷氧化量为 325 ~ 400 $g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$。在这种体系中,甲烷进气负荷是影响甲烷氧化率的重要参数之一,当进气负荷低于 186 $g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$ 时,甲烷的氧化率可达到 100%; 当进气负荷高达 300 $g \cdot m^{-2} \cdot d^{-1}$ 时,甲烷的氧化率为 50%(姜晨竞等,2008)。

敞开式生物过滤器是开放系统,滤床中的污染气体从下向上流动,氧气随周围的空气进入过滤器,属被动通风形式,因此,氧气的迁移扩散是限制整体运行状况的重要因素。敞开式生物过滤器的成本较低,主要缺点是难以控制运行参数,如温度和水分等。Plessis 等(2003)研究了空床停留时间对敞开式生物过滤器甲烷氧化效果的影响,当空床停留时间高于 1 h 时甲烷氧化率可以达到 60%。填埋场现场生物过滤器在被动通风条件下的甲烷绝对去除量与进入的甲烷量呈线性相关,甲烷去除率峰值可以达到 80 $g \cdot m^{-3} \cdot h^{-1}$,根据生物过滤器的甲烷氧化能力,它可以去除 62% 的年甲烷释放量(Gebert & Gröngröft,2006)。Dever 等(2010)在 2004—2008 年研究了中低甲烷排放规模的填埋场现场甲烷排放和生物过滤效果,4 年间被动通风过滤器在温带气候条件下达到的最大氧化率高于 90%,平均超过 50%。

生物过滤法通过在填埋场建设生物窗系统促进甲烷减排。Scheutz 等(2011)将总面积 5000 m^2 的 10 个生物窗建在 12 hm^2 覆盖层上,检测表明,大部分情况下生物窗区域的甲烷几乎全被氧化。对甲烷的区域排放量及总体排放研究表明,该区域的甲烷年排放量减少了 28%,同位素检测表明甲烷氧化率从 16% 提高到 41%。还可用高透性覆盖层可以增加空气进入量以降低甲烷的排放。对于传统的填埋气收集系统,低透性中间覆盖层有利于甲烷的收集和减排。而对没有收集系统的填埋场,近表层高透性覆盖层的设置可以降低表层覆盖材料裂缝,增加氧气的透入和减少甲烷的释放。近表层高透性覆盖层的设置还有利于表层覆盖土均匀高效的甲烷氧化(Jung *et al.*,2010)。

生物防水布可以代替常规填埋操作中日覆盖层来控制填埋单元近表层的甲烷排放(Adams *et al.*,2011)。植入甲烷氧化菌的多种合成材料中,由航空防水布等织物交互构成的多层材料可以去除通过甲烷量的 16%,在防水布中添加覆盖土、堆肥和页岩,去除率能提高到 32%。填埋场的现场测量表明多层和改良生物防水布构造都可以减少甲烷排放。

4　填埋场环境中的甲烷氧化菌

4.1　甲烷氧化菌的分子生物学研究方法

甲烷氧化菌中的大部分都不能培养,因此,分子生物学技术大大促进了不同环境中甲烷氧化菌的研究。现有研究针对甲烷氧化菌的各种功能基因设计出不同的 PCR 引物,如针对 *pmo*A 基因的 PCR 引物已被广泛用于环境样品中甲烷氧化菌的检测。基于功能基因 pMMO 的探针和基于 sMMO 基因建立的 PCR 技术在对铜离子缺乏环境中的甲烷氧化菌研究中应用较多(Chang *et al.*,2010; Bodrossy *et al.*,2003)。另有具潜在价值的标志基因 *mxaF*,用专一扩增 *mxaF* 基因上一个 550 bp 片段的 PCR 引物,对甲烷氧化菌的 *mxaF* 序列进行延伸而构建的数据库可以鉴定海洋、土壤、湿地等样品的 *mxaF* 序列(Mcdonald,1997)。分子生物学检测技术大大扩展了我们对自然环境中甲烷氧化菌的认知。

4.2　填埋场环境中的甲烷氧化菌

湿地、海洋以及水稻田等环境是重要的大气 CH_4 释放源,在这些环境中普遍存在的甲烷氧化菌(Niswati *et al.*,2004)。填埋场作为产生的 CH_4 环境,对其中甲烷氧化菌的研究有助于极端环境高甲烷氧化能力甲烷氧化菌的筛选。Stralis-Pavese 等(2006)分析了不同植被覆盖条件下垃圾填埋场覆盖土中的甲烷氧化菌,发现优势种属为 *Methylobacter* 和 *Methylocystis*。Uz 等(2003)从填埋场发现了属于 I 型甲烷氧化菌的 *Methylobacter* 和 II 型甲烷氧化菌的 *Methylocystis*、*Methylosinus*。温带酸性土壤的填埋场覆盖土中甲烷氧化菌的种群多样性研究表明,I 型甲烷氧化菌与 *Methylobacter* sp. strain BB5.1 的基因序列相似度高,II 型甲烷氧化菌的基因序列与 *Methylocystis echinoides*、*Methylocystis parvus* 和 *Methylocystis* 的同一性高(Wise *et al.*,1999)。

不仅填埋场覆盖层中有甲烷氧化菌,在填埋场内部也发现有甲烷氧化菌的存在。矿化垃圾具有良好甲烷氧化性能,填埋 8 年以上的矿化垃圾含有丰富的甲烷氧化菌。Mei 等(2011)利用引物对 mb661 和 A189gc 从矿化垃圾的 DNA 提取物中扩增出长度约 470 ~ 510 bp 的 *pmoA* 基因片段,通过测序鉴定发

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

现，矿化垃圾中的甲烷氧化菌主要是属于I型甲烷氧化菌的 *Methylocaldum* 和 *Methylobacte* 2 个种属，尤其是属于 *Methylocaldum* 的甲烷氧化菌占绝对优势，样品中与 *Methylocaldum* 相似度高的克隆序列占文库克隆总数的比例分别为97%和80%。II型甲烷氧化菌不占优势，只在加入污泥的矿化垃圾样品中检出，占文库克隆总数的比例只有6%（梅娟等，2009; Mei *et al.*，2011）。

填埋场环境，尤其是矿化垃圾中甲烷氧化菌的发现丰富了现有对环境甲烷氧化微生物的认识，有利于对适应极端环境的高效甲烷氧化菌的筛选。同时，进一步对填埋场环境甲烷氧化微生物的研究，将有利于加深对填埋场碳循环过程和自然界甲烷氧化过程的理解和认识，为填埋场甲烷通量的调控提供新方向。

5 展 望

生活垃圾填埋场是大气甲烷的重要生物排放源之一，减少其甲烷排放量对控制全球的温室气体排放有重要意义。填埋场覆土中的甲烷氧化菌能够氧化填埋气中的甲烷，对生活垃圾填埋场的甲烷排放具有天然调控作用。已有研究多针对填埋场的终场覆盖，研制出具有良好甲烷氧化性能的生物覆盖材料和新型覆盖方式和设施。而根据甲烷的产生规律，填埋场封场前的甲烷产生量占总产生量的50%以上，是填埋场甲烷排放控制中不可忽视的部分。因此，研究甲烷氧化率高且甲烷氧化启动快速的日覆盖和中间覆盖材料对降低填埋场温室气体有重要意义。此外，矿化垃圾中甲烷氧化菌及填埋场甲烷厌氧氧化过程的研究表明，今后还应加强填埋场内部甲烷氧化过程及机理的研究，筛选能适应极端环境的高效甲烷氧化菌，为填埋场甲烷减排提供新的途径与方法。

参考文献

黄文雄，彭绪亚，阎 利. 2006. 垃圾填埋场气体产生及其模型研究. 中国工程科学，**8**(9)：74-79.

姜晨竞，何 若，沈东升. 2008. 生物过滤法净化垃圾填埋场温室气体甲烷的研究进展. 环境污染与防治，**30**(10)：75-79.

李克兵. 2009. 从垃圾填埋气中净化回收甲烷的工艺及其工业化应用. 天然气化工，**34**(1)：51-53.

梁战备，史 奕，岳 进. 2004. 甲烷氧化菌研究进展. 生态学杂志，**23**(5)：198-205.

梅 娟，赵由才，王 莉. 2009. 利用矿化垃圾富集和培养甲烷氧化菌的研究. 有色冶金设计与研究，**30**(6)：101-103

王云龙，郝永俊，吴伟祥，等. 2007. 填埋覆土甲烷氧化微生物及甲烷氧化作用机理研究进展. 应用生态学报，**18**(1)：199-204.

徐新华. 1997. 垃圾中甲烷产率计算及全国垃圾甲烷气资源估算. 自然资源学报，**12**(1)：89-93.

张相锋. 2006. 垃圾填埋场覆盖层的甲烷氧化. 中国沼气，**24**(3)：24-26.

张正安，黄启飞，屈 明，等. 2006. 准好氧填埋工艺氧气浓度对甲烷与二氧化碳浓度的影响研究. 环境科学研究，**19**(6)：82-85.

赵天涛，阎 宁，赵由才. 2009. 环境工程领域温室气体减排与控制技术. 北京：化学工业出版社.

赵由才，赵天涛，韩 丹. 2009. 生活垃圾卫生填埋场甲烷减排与控制技术研究. 环境污染与防治，**31**(12)：48-52.

朱 英. 2007. 卫生填埋场中污泥降解与稳定化过程研究（博士学位论文）. 上海：同济大学.

Adams BL, Besnard F, Bogner J, *et al.* 2011. Bio-tarp alternative daily cover prototypes for methane oxidation atop open landfill cells. *Waste Management*, **31**: 1065-1073.

Barlaz MA, Green RB, Chanton JP, *et al.* 2004. Evaluation of a biologically active cover for mitigation of landfill gas emissions. *Environmental Science and Technology*, **38**: 4891-4899.

Bodrossy L, Stralis-Pavese NJ, Murrell C, *et al.* 2003. Development and validation of a diagnostic microbial microarray for methanotrophs. *Environmental Microbiology*, **7**: 566-582.

Brjesson G, Sundh I, Svensson B. 2004. Microbial oxidation of CH_4 at different temperatures in landfill cover soils. *FEMS Microbiology Ecology*, **48**: 305-312.

Chang CY, Tung HH, Tseng IC, *et al.* 2010. Dynamics of methanotrophic communities in tropical alkaline landfill upland soil. *Applied Soil Ecology*, **46**: 192-199.

Chi ZF, Lu WJ, Mou ZS, *et al.* 2012. Effect of biocover equipped with a novel passive air diffusion system on microbial methane oxidation and community of methanotrophs. *Journal of the Air and Waste Management Association*, **62**: 278-286.

De Visscher A, Thomas D, Boeckx P, *et al.* 1999. Methane oxidation in simulated landfill cover soil environments. *Environmental Science & Technology*, **33**: 1854-1859.

Dedysh SN, Deradshani M. 2001. Detection and enumeration of metnanotrophs in acidic *Sphagnum* peat by 16S rRNA fluorescence *in situ* hybridization, including the use of a newly developed oligonucleotide probe for *Methylocell apalustris*. *Applied and Environmental Microbiology*, **67**: 4850-4857.

Dever SA, Swarbrick GE, Stuetz RM. 2010. Passive drainage and biofiltration of landfill gas: Results of Australian field trial. *Waste Management*, **11**: 399-407.

Einola JM, Karhu AE, Rintala JA. 2008. Mechanically-biologically treated municipal solid waste as a support medium for microbial methane oxidation to mitigate landfill greenhouse emissions. *Waste Management*, **28**: 97-111.

Gardner N, Probert SD. 1993. Forecasting landfill gas yields. *Applied Energy*, **44**: 582-591.

Gebert J, Groengroeft A. 2006. Passive landfill gas emission-Influence of atmospheric pressure and implications for the operation of methane-oxidizing biofilters. *Waste Management*, **26**: 245-251.

Gebert J, Gröngröft A. 2006. Performance of a passively vented

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

field-scale biofilter for the microbial oxidation of landfill methane. *Waste Management*, **26**: 399-407.

Hanson R, Hanson T. 1996. Methanotrophic bacteria. *Microbiological Reviews*, **60**: 439-471.

Hilger HA, Wollum AG, Barlaz MA. 2000. Landfill methane oxidation response to vegetation, fertilization and liming. *Journal of Environmental Quality*, **29**: 324-334.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2000. Emissions scenarios, special report of the intergovernmental panel on climate change. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Jugnia LB, Mottiar Y, Djuikom EC, *et al.* 2012. Effect of compost, nitrogen salts, and NPK fertilizers on methane oxidation potential at different temperatures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **93**: 2633-2643.

Jung Y, Imhoff PT, Augenstein D, *et al.* 2010. Mitigating methane emissions and air intrusion in heterogeneous landfills with a high permeability layer. *Waste Management*, **31**: 1049-1058.

Li H, Chi Zf, Lu WJ, *et al.* 2014. Sensitivity of methanotrophic community structure, abundance, and gene expression to CH_4 and O_2 in simulated landfill biocover soil. *Environmental Pollution*, **184**: 347-353.

Long YY, Liao Y, Zhang K, *et al.* 2013. Can H_2S affect the methane oxidation in a landfill. *Ecological Engineering*, **60**: 438-444.

Mancebo U, Hettiaratchi JPA, Hurtado OD. 2014. Study on the correlation between dissolved organic carbon, specific oxygen uptake rate, and exchangeable nitrogen and the performance of granular materials as support media for methanotrophic biofiltration. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, **18**: 11-15.

Mcdonald IR. 1997. The methanol dehydrogenase structural gene *mxaF* and its use as a functional gene probe for methanotrophs and methylotrophs. *Applied and Environmental Microbiology*, **63**: 3218-3224.

Mei J, Wang L, Han D, *et al.* 2011. Methanotrophic community structure of aged refuse and its capability for methane bio-oxidation. *Journal of Environmental Sciences*, **23**: 868-874.

Ménard C, Ramirez AA, Nikiema J, *et al.* 2012. Biofiltration of methane and trace gases from landfills: A review. *Environmental Reviews*, **20**: 40-53.

Moon KE, Lee SY, Lee SH, *et al.* 2010. Earthworm cast as a promising filter bed material and its methanotrophic contribution to methane removal. *Journal of Hazardous Materials*, **176**: 131-138.

Niswati A, Murase J, Asakawa S, *et al.* 2004. Analysis of communities of ammonia oxidizers, methanotrophs, and methanogens associated with micro crustaceans in the floodwater of a rice field microcosm. *Soil Science and Plant Nutrition*, **3**: 447-455.

Ogner JE, Spokas KA, Burton EA. 1997. Kinetics of methane oxidation in a landfill cover soil: Temporal variations, a whole landfill oxidation experiment, and modeling of net CH_4 emissions. *Environmental Science & Technology*, **31**: 2504-2514.

Onay TT, Poholand FG. 1998. In situ nitrogen management in controlled bioreactor landfills. *Water Research*, **32**: 1383-1392.

Park S, Lee I, Cho C, *et al.* 2008. Effects of earthworm cast and powdered activated carbon on methane removal capacity of landfill cover soils. *Chemosphere*, **70**: 1117-1123.

Perdikea K, Mehrotraa AK, Patrick AJ. 2008. Study of thin biocovers (TBC) for oxidizing uncaptured methane emissions in bioreactor landfills. *Waste Management*, **28**: 1364-1374.

Plessis CA, Strauss JM, Sebapaloe MT, *et al.* 2003. Empirical model for methane oxidation using a composted pine bark biofilter. *Fuel*, **82**: 1359-1365.

Pratt C, Walcroft AS, Deslippe J, *et al.* 2013. CH_4/CO_2 ratios indicate highly efficient methane oxidation by a pumice landfill cover soil. *Waste Management*, **33**: 412-419.

Reichenauer TG, Watzinger A, Riesing J, *et al.* 2010. Impact of different plants on the gas profile of a landfill cover. *Waste Management*, **25**: 1-17.

Scheutz C, Fredenslund AM, Chanton J, *et al.* 2011. Mitigation of methane emission from Fakse landfill using a biowindow system. *Waste Management*, **31**: 1018-1028.

Scheutz C, Kjeldsen P. 2004. Environmental factors influencing attenuation of methane and hydrochlorofluorocarbons in landfill cover soils. *Journal of Environmental Quality*, **33**: 72-79.

Scheutz C, Kjeldsen P. 2005. Biodegradation of trace gases in simulated landfill soil cover systems. *Journal of the Air and Waste Management Association*, **55**: 878-885.

Schuetz C, Bogner J, Chanton J, *et al.* 2003. Comparative oxidation and net emissions of methane and selected nonmethane organic compounds in landfill cover soils. *Environmental Science & Technology*, **37**: 5150-5158.

Stralis-Pavese N, Bodrossy L, Reichenauer TG. 2006. 16S rRNA based T-RFLP analysis of methane oxidising bacte-ria: Assessment, critical evaluation of methodology performance and application for landfill site cover soils. *Applied Soil Ecology*, **31**: 251-266.

Streese J, Stegman N. 2003. Microbial oxidation of methane from old landfills in biofilters. *Waste Management*, **23**: 573-580.

Uz I, Rasche ME, Townsend T, *et al.* 2003. Characterization of methangenic and methanotrophic assemblages in landfill samples. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **270**: 202-205.

Whalen SC, Reeburgh WS, Sandbeck KA. 1990. Rapid methane oxidation in a landfill top cover soil. *Applied and Environmental Microbiology*, **56**: 3405-3411.

Whittenbury R, Phillips KC. 1970. Enrichment, isolation and some properties of methane utilizating bacteria. *Journal of General Microbiology*, **61**: 205-218.

Wise MG, McArthur JV, Shimkets LJ. 1999. Methanotroph diversity in landfill soil: Isolation of novel type Ⅰ and type Ⅱ methanotrophs whose presence was suggested by culture-independent 16S ribosomal DNA analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, **65**: 4887-4897.

作者简介　梅　娟,女,1976 年生,博士,讲师,从事环境污染控制微生物技术方面的研究。E-mail: susie_mei@163.com

责任编辑　魏中青

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net