

石油污染包气带中降解微生物的分布特性

李广贺¹, 张旭¹, 黄巍² (1. 清华大学环境科学与工程系, 北京 100084, E-mail: ligh@mail.tsinghua.edu.cn; 2. 英国谢菲尔德大学土木与结构工程系, 谢菲尔德 Mappin 街 S1 3JD)

摘要: 包气带土层系统中油类污染物的性质和降解微生物的分布特性是影响污染物自然衰减和污染包气带强化生物治理的重要自然和生物学因素。对淄河滩油污染层的石油类污染物的含量、污染物质组成的分析, 以及微生物的分离和培养的研究结果表明, 饱和烷烃、环烷烃和多环芳烃构成淄河滩油污染层中主要烃类污染组分, 其含量高达 $90 \sim 200 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干土。淄河滩石油污染土层中降解菌主要为好氧异养菌, 菌群数量高达 $10^6 \sim 10^7$ 个 $\cdot \text{g}^{-1}$ 干土。为包气带土层石油类污染物的自然衰减和净化提供了良好的生物条件。

关键词: 淄河滩; 石油污染; 包气带; 降解微生物

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)04-0061-04

Characteristics of Degrading Microorganism Distribution in Polluted Soil with Petroleum Hydrocarbons

Guanghe Li¹, Xu Zhang¹, Wei Huang² (1. Dept. of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China E-mail: ligh@mail.tsinghua.edu.cn; 2. Dept. of Civil and Structural Engineering, University of Sheffield, Mappin Street, Sheffield S1 3JD, UK)

Abstract: Properties of the hydrocarbon contaminants and distribution of the degrading microbes are significant factors influencing the natural attenuation of the pollutants and the enhanced bioremediation of the polluted soil. Through the analysis of the concentration and compounds of the hydrocarbon contaminants, as well as the culture and the isolation of the microbes in the polluted soil, the results indicate that the soil was polluted with petroleum hydrocarbons at concentrations up to $200 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ dry soil, and the petrochemicals in polluted soil at Zihe valley mainly were saturated alkanes, PAHs and cycloalkanes. Total number of the degrading microbes in polluted soil reached 2.9×10^7 microbial cells $\cdot \text{g}^{-1}$ dry soil, and aerobic degrading bacteria concentrations of $10^6 \sim 10^7$ cells $\cdot \text{g}^{-1}$ dry soil at different layers of the soil, which provides favourable circumstance for the natural attenuation and bioremediation of the petroleum hydrocarbons in polluted soil of the valley.

Keywords: Zihe valley; petroleum pollution; aeration zone; degrading microorganism

包气带土层是微生物的主要栖息地, 微生物量一般为 $10^7 \sim 10^9$ 个/g 土。在肥沃的土层中, 由于微生物的大量繁殖, 生物量可占土层质量的 $0.015\% \sim 0.5\%$ 。研究表明, 大多数未污染的包气带土层中的复杂的微生物群落均具天然降解菌群^[1-3]。这种固有的特性使大多数包气带土层系统具有较高的烃代谢能力。

1922 年 Baldwin 发现, 在一种耕作的土壤中, 好氧细菌的数量由于原油的加入而增加, 但好氧生物种类的多样性却降低了, 而厌氧群落受到的影响微乎其微。表明污染的包气带土层

选择性地富集那些适应和利用新底物的微生物群落。石油类污染物的毒性对于微生物群落也具有显著的选择性。

Oudot 也曾报道^[4]在原油污染的尼日利亚砂质土壤中, 微生物的数量和呼吸作用最初是下降的。但在 6 周以后, 烃类降解菌群的数量有选择的增加, 而且, 在以后的 6 个月内, 微生物

基金项目: 国家自然科学基金项目(49972082); 环境模拟与污染控制国家联合实验室基金项目, 编号: 9703

作者简介: 李广贺(1959~), 男, 博士, 副教授。主要研究方向为地下水污染控制和治理。

收稿日期: 1999-09-07

的数量和活性均保持在较高的水平。

污染土层的生物学特性的研究进一步证实,石油污染的土层与未污染的土层相比,由于环境的选择性,其细菌种属的多样性明显较低,而污染土层中微生物的数量和活性均很高^[5-7]。

由此可见,微生物在污染土层中的分布特性是影响有机污染物自然衰减和强化生物降解的重要生物学因素。污染土层对于生物的选择性增强了微生物的适应性和降解能力,提高了降解菌群的数量和活性。基于此,本文通过对淄博市淄河滩石油化工污染土层中微生物分布和污染物的性质特征研究,确定了污染包气带中的微生物空间分布,为石油烃类污染物的生物降解潜力的评价提供了重要的生物学依据。

1 包气带土层中污染物的来源

淄河属于季节性河流,作为淄博市大武地下水源地的主要补给区对于水源地的运行起到至关重要的作用。1970~1989年间,位于淄博市临淄区的淄河滩南杨段,每年接纳未经任何处理的炼油厂含油污水 900 万 m^3 *。除极少部分溶解在水中的石油烃类随污水渗入含水层外,大量的非水溶相(LNAPL 和 DNAPL)石油烃类污染物沉积在淄河滩包气带土层表面。由于长期的积累,在淄河滩包气带表层形成厚度达 1.5m 的油污土层,面积高达 0.5 km^2 。自 1989 年含油污水处理排海以后,河滩干涸,包气带表层残油由于扩散、挥发、生物降解、植物吸收,部分易挥发、易溶和易降解的油类污染物含量显著降低,土层中主要残留的为难挥发、难降解的油类污染物。

2 油污土层的水力学特性

2.1 土层渗透性能

油污土层的渗透能力决定了石油烃类污染物释放迁移进入下部含水层,对地下水水质影响的程度,是包气带土层对于地下水含水层保护能力的重要的评价指标。本次利用经典的双环法对油污土层的渗透性能进行了现场测定。基

本原理可用下式表示:

$$v = K(H_k + h_0 + Z)/Z$$

式中, K 为渗透系数(L/T); v 为渗透速度(L/T); H_k 为水历经距离(L); h_0 为环中水头(L); Z 为包气带厚度(L)。

当 $Z \gg H_k + h_0$ 时, $v = K$; 根据现场渗透实验,油污土层的渗透系数 K 为 17.9m/d,表明土层具有较强的渗透性能,油类污染物极易通过包气带土层迁移进入含水层,造成地下水的污染。

2.2 土层含水率

油污土层的含水率是影响土层降解微生物生长和降解性能的关键参数。淄河滩表层油污土层的下部为砂层和砂砾层。本次评价的目的层仅为油污土层,便于对比分析,将其分为 3 层,分别命名为上层土(0~0.5m)、中层土(0.5~1.0m)和下层土(1.0~1.5m),厚度均为 0.5m 左右。每层土分别采样 10kg 左右,密封后,在室内测定土层的含水率。由于土壤中的油含量很高,且易挥发,若不先将油除去,则所测含水率中将包括油含量,从而引起较大的误差。因此,在测定含水率的过程中,去除油污染物的含量,含水量的测定结果列在表 1 中。

3 土层含油率及组成

土壤中油含量的测定采用重量法。结果表明,此方法简单易行,不需作标准曲线,且灵敏度、准确度和精密度均较高,适于土壤中油含量的测定,测定结果如表 1 中所示。

表 1 包气带土层的含油率和含水率

| 测定项目 | 上层土样 | 中层土样 | 下层土样 |
|---|------|------|------|
| 含油率/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干土 | 90 | 221 | 110 |
| 含水率/% | 12.8 | 24.1 | 24.1 |

为了确定土层中石油污染物的组成成分特征,为微生物的培养和菌群数量的确定提供依

* 清华大学环境科学与工程系. 淄博市大武水源地东部地下水石油污染机理及防治措施研究. 山东省科委项目研究报告, 1997, 20~50

据. 对河滩土壤样品, 用 Soxhlet 抽提法, 二氯甲烷作溶剂, 抽提 8~10h, 用 GC-MS 分析其组分和相对含量. 其结果如表 2 所示.

从表 2 中可以看出, 河滩油污土壤的特点是: ①土壤的有机物几乎全是残油, 分子量大, 大多数油组分的分子量都在 200~600 之间; ②残油的挥发性小, 残油组分主要是难降解的饱和烷烃, 环烷烃和多环芳烃.

由于土壤含油主要是饱和烷烃、环烷烃和多环芳烃, 因此, 在进行试验室内的细菌分析试验中主要选择液体石蜡代表饱和烷烃和环烷烃, 因为液体石蜡一般为石蜡烃和环烷烃的饱和成分组成(C₁₆~C₃₈); 主要选择萘代表多环芳烃.

表 2 油污土层中污染物组成

| | |
|-----------------|----------------------|
| 十二烷 | 4, 7-二甲基-2, 3-二氢茚 |
| 十一烷 | 1, 3, 5-三甲基-2, 3-二氢茚 |
| 三十三烷 | 1, 2, 3, 4-四氢萘 |
| 二十一烷 | 1, 4 二甲基-2-乙基苯 |
| 甲基苯 | 4-异丙基甲苯 |
| 二十二烷 | 1-甲基-3-异丙基甲苯 |
| 三十七烷 | 3-甲基十六烷 |
| 二甲基苯 | 5-甲基-5-丙基壬烷 |
| 十六烷 | 3, 3 二甲基癸烷 |
| 1-甲基萘 | 1-十六烯 |
| 2-甲基萘 | 2, 6-二甲基十七烷 |
| N-萘基-2-萘胺 | 1-十八烯 |
| 二十六烷 | 2 甲基十九烷 |
| 1-异丙基-4-甲基环己烷 | 2, 6, 10, 15-四甲基-十九烷 |
| 1, 2, 3-三甲基苯 | 二十七烷 |
| 1, 8-二甲基萘 | 二十五烷 |
| 2, 3-二甲基萘 | 11-癸基-二十一烷 |
| 1, 2, 3, 4-四甲基萘 | 9-辛基-二十六烷 |
| 1-乙基-2-丙烯基苯 | 11-癸基-二十二烷 |
| 1, 3-二甲基-5-甲基基苯 | 三十五烷 |

4 污染土层中微生物生态

淄河滩油污土层中菌群分离结果表明, 土层中的降解菌均为好氧降解菌, 由此细菌量的测定是在牛肉汁蛋白胨培养液和唯一碳源是液体石蜡的培养基中采用 MPN 稀释三管法计数. 此方法具有操作简单、对实验设备要求不高、精确度较高的特点, 适于现有实验室条件下

的操作. 另外, 采用了常用的细菌分离方法既平板分离法. 此方法有简单易行的特点, 操作方便, 效率高. 分离后采用相应碳源(液体石蜡和萘)的培养基进行富集培养.

4.1 实验方法

根据所测定的油污土层中的微生物种类, 制作相应碳源的液体培养基. 在无菌操作下, 取待测土样 5g, 接种于 50ml 缓冲液中, 放置少量灭菌后的玻璃珠, 放入摇床振荡, 取浸出液 1.0ml. 将浸出液依次稀释 10 倍, MPN 三管法进行菌量计数.

4.2 实验结果分析

在上、中、下层土中总好氧异养菌总量 MPN 计数和可降解液体石蜡的细菌总量 MPN 计数, 如图 1、2 和 3 所示.

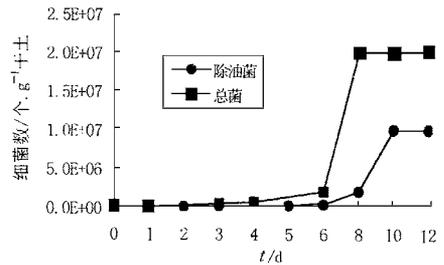


图 1 表层土好氧异养菌 MPN 计数

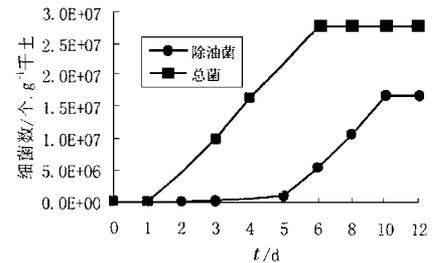


图 2 中层土好氧异养菌 MPN 计数

土层中细菌总体比较如表 3 所示.

表 3 淄河滩各层土壤细菌计数

| 土层 | 除油细菌数 | 好氧细菌总数 |
|-----|-----------------|-----------------|
| 上层土 | 10 ⁷ | 10 ⁷ |
| 中层土 | 10 ⁷ | 10 ⁷ |
| 下层土 | 10 ⁶ | 10 ⁷ |

由图 1~3 可以发现土壤中除油细菌的变化是, 上、中层土> 下层土, 从细菌可利用的底

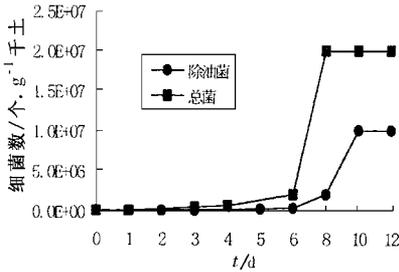


图3 下层土中好氧异养菌 MPN 计数

物来看, 残油的浓度是中层土> 上层土, 表明除油细菌的好氧性, 氧是残油代谢的电子受体, 上层土壤中除油细菌与总菌基本相等, 这说明由于长期的废油排放, 在直接受污染的上层土壤中目前可生存的细菌基本都可降解石蜡烃, 除此之外, 由 GC-MS 分析的结果可以看出, 土壤中可供养细菌的碳源只有残油类物质。

5 小结

(1) 淄河滩的有机物主要是残油, 其分布是: 中层土> 下层土> 上层土, 上层土残油含量相对较少可能由以下原因造成残油随水带动下迁移; 上层土好氧条件较好, 细菌除油速率相对较快。

(2) 残油的主要成分是高碳烷烃、环烷烃和芳烃, 淄河滩土壤可降解残油的微生物是好氧异养细菌, 未发现可降解残油的真菌和酵母菌, 土壤有潜在降解残油的能力。

(3) 由于除油细菌主要是好氧菌, 上层土氧

气相对充分, 土壤除油菌的分布为: 上、中土> 下层土。

(4) 在土层中的好氧降解微生物量为 $10^6 \sim 10^7$ 个·g⁻¹干土, 除下层土中降解微生物量与微生物总量相差一个数量级外, 上、中层土中的降解微生物量基本上接近土层中的微生物总量, 表明了由于污染物的抑制性确定了微生物的选择性分布, 证实了油污土层中微生物对于石油烃类污染物的降解能力和潜力。

参考文献:

- 1 Anderson J P. Measurement of Bacteria and Fungal Contributions to Respiration of Selected Agriculture and Forest Soil. *Can. J. Microbiol.*, 1975, 21: 314~ 322.
- 2 Pinholt Y. Microbial Charges during Oil Degradation in Soil. *Holarctic Ecol.*, 1979, 2: 195~ 200.
- 3 Jobson A. Microbial Utilization of Crude Oil. *Appl. Microbiol.*, 1972, 23: 1082~ 1089.
- 4 Oudot J. Hydrocarbon Infiltration and Biodegradation in a Landfarming Experiment. *Environ. Pollu.*, 1989, 59: 17~ 40.
- 5 Trzesickam lynarz-D. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a mixed culture and its component pure cultures, obtained from PAH-contaminated soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 1995, 41(6): 470~ 476.
- 6 Duncan K. Managed bioremediation of soil contaminated with crude oil-soil chemistry and microbial ecology three years later. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1997, 63(5): 879~ 889.
- 7 Davis G B. Estimation of biodegradation rates using respiration tests during in situ bioremediation of weathered diesel NAPL. *Spring 1998, GWMR*, 123~ 132.