

# 水溶性有机物对土壤中菲的生态毒性影响

占新华, 万寅婧, 周立祥\*

(南京农业大学资源与环境学院, 南京 210095, E-mail: lxzhou@njau.edu.cn)

**摘要:**采用生物培养和物理化学试验,研究了水溶性有机物(DOM)对土壤中 phe 生态毒性的影响。结果表明,本研究所用 DOM 均具有表面活性;小麦根 phe 毒害的敏感区间为 0~200 mg/kg, 200 mg/kg 是土壤中 phe 的 50% 小麦根伸长抑制率浓度。DOM 的存在会降低 phe 的生态毒性,但是降低程度与其疏水性馏分含量和表面活性有关,且 phe 生态毒性的降低程度随 DOM 浓度的增大而增大。本研究的结果说明 DOM 能减轻土壤中 phe 的生态毒性。

**关键词:**菲;水溶性有机物;根伸长抑制率;发芽指数;生态毒性

中图分类号:X53, R124 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2004)03-0120-05

## Influence of Dissolved Organic Matter on the Eco-toxicity of Phenanthrene in a Soil

ZHAN Xin-hua, WAN Yin-jing, ZHOU Li-xiang

(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China E-mail: lxzhou@njau.edu.cn)

**Abstract:** Biological and physico-chemistry experiments were conducted to study the effects of dissolved organic matter (DOM) on eco-toxicity of phenanthrene in a soil. The results showed that DOM was a kind of surfactant. The sensitive range of phe inhibiting wheat root elongation was from 0 to 200 mg/kg, and median inhibition concentration ( $IC_{50}$ ) was 200 mg/kg. In the presence of DOM, the eco-toxicity of phe could be alleviated and the inhibited degree was related to the content of hydrophobic components and surface activity. This effect could be strengthened by the high concentration of DOM. As a kind of hydrophobic organic compound, phe could reduce the moisture of topsoil, and DOM would slightly increase the moisture of topsoil polluted by phe. It was concluded that DOM could lighten the eco-toxicity of phe in soil.

**Key words:** phe; DOM; inhibition rate of root elongation; seed germination index; eco-toxicity

由于多环芳烃(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)在环境中广泛存在,具有难降解性、持久性和强的“三致”效应,因此,PAHs 在环境中的生物地球化学行为备受关注。现代石化工业、能源工业和交通运输业的快速发展以及工业三废的排放、垃圾农用和污灌等造成多环芳烃在土壤环境中高度富集<sup>[1,2]</sup>,这势必污染生长于其上的植物、食物链和地下水,直接或间接危害人体的健康。因此,如何正确有效地评价 PAHs 的生态风险已成为当前的研究热点。

普遍认为,疏水性有机物如 PAHs 等由于能被土壤优先吸附<sup>[3,4]</sup>因而在土壤中的活性和迁移性较差,然而大量的研究发现,在环境中若有表面活性剂存在,则能促进 PAHs 在水中的溶解,增加其在环境中的移动性<sup>[5,6]</sup>。土壤环境中水溶性有机物(Dissolved Organic Matter, DOM)是一类非常重要的活性有机质成分,在使用有机肥、秸秆还田和根际等的局部土壤环境中含量较高。DOM 因其含有亲水性和疏水性馏分<sup>[4,7]</sup>,一般推测 DOM 具有表面活性性

质。因此,有理由认为 DOM 对土壤中 PAHs 的环境生物化学行为和生态毒性必然有一定影响。虽然国内外已对 PAHs 的环境行为和生态毒性开展过大量的研究<sup>[8-12]</sup>,但 DOM 的存在对 PAHs 的环境行为和生态毒性有何影响国内外鲜有报道,尤其是 DOM 对 PAHs 生态毒性的影响。展开这方面研究对于更科学地进行 PAHs 生态风险评价具有极其重要的意义。

为此,本文以不同来源的 DOM 和常见的表面活性剂吐温(Tween-80)为材料,以菲(phe)为 PAHs 的代表,通过小麦种子萌发试验研究不同来源的 DOM 的存在下,PAHs 的生态毒性大小及可能的机理,为 PAHs 污染土壤的生态风险评价和植物修复提供理论依据和技术支撑。

收稿日期:2003-08-03;修订日期:2003-11-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20007001, 30170537, 20377024)

作者简介:占新华(1972~),男,讲师,在职博士研究生,主要研究方向为环境污染化学。

\* 通讯联系人

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试材料

(1) 试剂 丙酮(分析纯)、Tween-80(化学纯)和菲(分析纯)购自 Fluka 公司,纯度 > 97%。

(2) 供试土壤和种子 供试土壤为下蜀黄土发

育的表层水稻土(0 ~ 20cm),采自南京市江宁区秣陵镇,其基本理化性质见表 1;小麦品种为南农 9918 (*Triticum Aestivum*)。

(3) 供试物料 绿肥(幼嫩蚕豆地上部分)、猪粪和污泥。

### 1.2 试验方法

表 1 供试土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the tested soil

土壤类型	pH (H <sub>2</sub> O)	有机碳 /g·kg <sup>-1</sup>	全 N(以 N 计) /g·kg <sup>-1</sup>	全 P(以 P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> 计) /g·kg <sup>-1</sup>	CEC /cmol·kg <sup>-1</sup>	粘粒含量/% ( < 0.002 mm)	砂粒含量/% ( > 0.05 mm)
水稻土	6.7	19.4	1.90	1.30	20.2	51.4	9.5

(1) 有机物料中水溶性有机物(DOM)的提取 绿肥、猪粪和污泥分别采用 1:40、1:10 和 1:6 的固液比(物料干重 g/超纯水体积 mL),在 25℃ 下 200r/min 的水平恒温振荡机上振荡 16h,然后以 12000 r/min 低温(4℃)离心 20min,上清液过 0.45μm 的滤膜,滤液中的有机物即为 DOM,其浓度采用 TOC 仪(TOC-5000A,岛津)测定<sup>[13]</sup>。

(2) Tween 及不同种类 DOM 溶液表面张力的测定(最大气泡法) 将已知表面张力的超纯水装入表面张力仪,使液面刚好与毛细管接触,打开抽气管活塞抽气并控制水滴的滴速,使毛细管口每 5s 左右出一个气泡,当气泡形成的频率稳定时,记录压力计上的最大压力差,即液柱的液位差,液位差越大,表面张力也越大,再以同样的方法测定不同有机物料 DOM 提取液和 Tween 的最大压力差,根据表面张力与压力差的定量关系计算出表面张力的大小<sup>[14]</sup>。

(3) phe 对小麦种子发芽与根伸长抑制试验 称取 50g 风干土壤于 90cm 直径的玻璃培养皿中,将一定浓度梯度的 phe 丙酮溶液均匀地加入培养皿中,放在暗处过夜使丙酮挥发至干,用去离子水调节土壤含水量至最大持水量的 60%,用医用镊子将小麦种子(已经用去离子水浸泡过夜)均匀放置于土壤表层,盖好玻璃培养皿,置于恒温培养箱中 25℃ 暗处培养至对照种子发芽率 > 65%(本试验小麦种子发芽率 > 80%),根长度 20mm 时,试验结束(约 72h)<sup>[15]</sup>。每处理为 15 粒种子,设 3 次重复,测定种子的发芽率、根伸长抑制率和发芽指数。发芽率 = (发芽种子数/总种子数) × 100%,根伸长抑制率 = [(对照种子平均根长 - 处理种子平均根长)/对照种子平均根长] × 100%,发芽指数 = (处理种子发芽率 × 处理种子平均根长)/(对照种子发芽率 × 对照种子平均根长)。

(4) 不同 DOM 对 phe 生态毒性的影响试验 DOM 和 Tween 的处理浓度以水溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)来表示,分别为 0、50、100、150、200、250、300 mg/kg 土,土壤中 phe 的浓度为 200 mg/kg 土(预备试验得知此浓度下,DOM 对小麦根伸长抑制率的影响最显著),其余步骤与(3)相同,测定各个处理的种子发芽指数和根伸长抑制率,为观测微生物对 DOM 存在下 phe 的小麦毒性影响,又进行了微生物对土壤中 phe 生态毒性的影响试验,土壤用氯仿熏蒸 24h 进行灭菌处理,然后让土壤中残留的氯仿在无菌条件下挥发完毕,接着按(3)方法进行小麦培养试验,土壤中 phe 和 DOM 的浓度均是 200 mg/kg 土(其中 DOM 为污泥 DOM 的提取液),同时用未灭菌土壤作对照。

### 1.3 数据统计

采用方差分析中的新复极差测验,成对数据 t-检验和回归与相关分析<sup>[16]</sup>。

## 2 结果与amp;讨论

### 2.1 不同来源 DOM 的表面活性

DOM 中含有亲水性和疏水性物质,因此,许多研究者据此推测 DOM 具有表面活性<sup>[7]</sup>,然而并未提供直接的证据,本文运用最大气泡法对不同来源 DOM 的表面活性进行了研究,结果如图 1。通常表面张力越大,说明溶液的表面活性越小<sup>[14]</sup>。污泥、猪粪、蚕豆的 DOM 溶液表面张力随 DOM 浓度的变化趋势与表面活性剂——吐温的趋势相似,随着 DOM 浓度的增大,溶液的表面张力逐渐降低,但 3 种 DOM 溶液随浓度的增大,降低幅度较缓,吐温则不同,其表面张力在稀浓度时随浓度的增加急剧降低,降至一定程度后,随溶液浓度的增加表面张力便下降很慢或不再下降,很显然,3 种供试的 DOM 溶液

具有表面活性,可称之为具有表面活性的物质,但还不是表面活性剂<sup>[14]</sup>.进一步发现,3种来源的DOM的表面活性大小具有一定的差异,但差异不显著( $p < 0.05$ ),可能是由于DOM溶液中离子的影响所致.从图1的表面张力曲线可看出,3种DOM溶液表面活性的大小趋势是猪粪 > 污泥 > 蚕豆,这与各

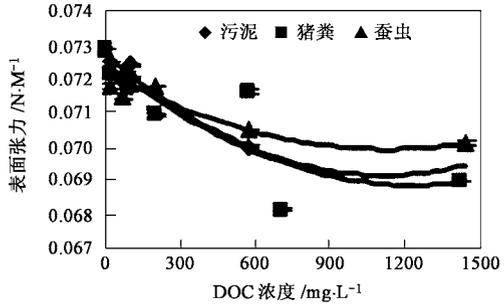
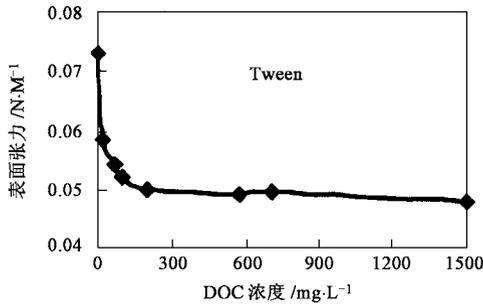


图 1 不同 DOM 溶液的表面张力

Fig.1 The surface tension of dissolved organic matter with different concentrations

脂肪族化合物更易于增溶<sup>[18]</sup>.

### 2.2 phe 对小麦种子发芽与根伸长抑制效应

phe 对小麦种子发芽指数与根伸长有明显的抑制效应.由图 2 可见,小麦种子根伸长抑制率与 phe 浓度呈显著相关关系( $R^2 = 0.9705, p < 0.05$ ).小麦种子发芽指数的下降与 phe 浓度也呈显著相关关系( $R^2 = 0.9708, p < 0.05$ ).当土壤中 phe 总量为 100 mg/kg 时,根伸长抑制率达 20% 以上,此时发芽指数为 80%;当土壤中 phe 总量为 200 mg/kg 时,根伸长抑制率为 50%,发芽指数为 50%;当土壤中 phe 总量为 400 mg/kg 时,根伸长受抑制率达到 70% 时,发芽指数为 25%.这一结果表明,phe 对小麦种子发芽指数的影响与根伸长抑制效应恰好相对应,且呈现相反的趋势.小麦根伸长抑制率和发芽指数在 phe 浓度为 0 ~ 200 mg/kg 区间内比 200 ~ 400 mg/kg 变化幅度大,分别为 50% 与 20% 和 25%,因此,可把 0 ~ 200 mg/kg 称作菲对小麦毒害的敏感区间.在根伸长抑制率和发芽指数指标中,似乎发芽指数更灵敏(因在 0 ~ 400 mg/kg 区间内,发芽指数的变化幅度大于根伸长抑制率).用根伸长抑制率的倒数( $1/IR\%$ ) - 土壤中 phe 浓度的倒数( $1/c$ )进行拟和可得方程  $1/IR\% = 3.73 \times 1/c + 0.00213$  ( $R^2 = 0.9411, p < 0.05$ ),据此可算得植物生长完全被抑制时土壤中 phe 的最低浓度.该方程对于不同土壤、不同植物是否适用还有待进一步的验证.

小麦种子在 phe 污染的土壤上不仅根伸长受抑

制,而且出现明显的毒害症状:根明显变细,根毛稀少,根呈线状生长于土壤表面而不向下扎.这可能是由于水分、养分传输障碍和土壤有机污染物的挥发使土-气界面受到污染而影响小麦种子的呼吸所致.至于 phe 对小麦毒害的具体机理还需进一步的试验来探究.通过本试验,可以确定土壤中 phe 对小麦种子根伸长抑制率达到 50% 的浓度是 200 mg/kg.

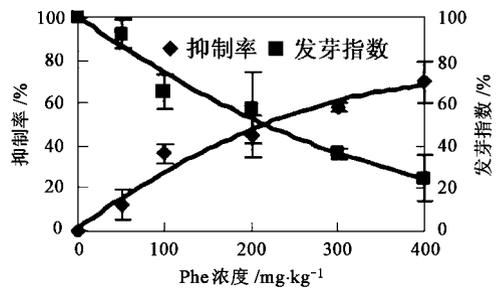


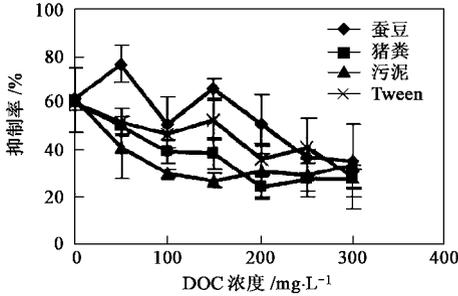
图 2 Phe 污染对小麦根伸长抑制率和种子发芽指数的影响

Fig.2 Effects of phe pollution on the inhibition rate of root elongation and the seed germination index of *Triticum*

### 2.3 不同 DOM 对 phe 生态毒性的影响

Tween 和不同 DOM 对 phe 生态毒性的影响见图 3. 总体上看,加入 Tween 和不同 DOM 后,phe 对小麦根伸长的抑制明显减轻,且随处理浓度的增加,根伸长抑制的减轻程度也随之增加.但 Tween 处理的根伸长抑制率随 Tween 浓度增加近似线性下降,而 DOM 处理为曲线下降;发芽指数的变化则与根伸长抑制率的变化趋势相反,随处理浓度的增

加而增大(图3)。在0~300 mg/kg 浓度范围内,同浓度处理 phe 的抑制率:污泥 DOM < 猪粪 < Tween < 蚕豆,且差异显著(成对数据 t 检验,  $p < 0.05$ )。当浓度为 300 mg/kg 时,各处理 phe 的小麦根伸长抑制率近似相等。不同 DOM 处理在 0~100 mg/kg 浓度范围内,抑制率下降幅度比较大,>100 mg/kg 抑制率下降幅度较缓。DOM 处理对根伸长抑制率的



影响与 DOM 中疏水性组分的含量有关,疏水性组分含量越高,处理后 phe 的小麦根伸长抑制率越低。从以上分析可知,表面活性剂和 DOM 的加入降低了土壤中 phe 对小麦的生态毒性。这与预期结果相矛盾:表面活性剂和 DOM 的加入能促进 PAHs 的水溶性,活化土壤中的 PAHs,其生态毒性应增大。

笔者推测,phe对小麦的生长抑制可能是由于

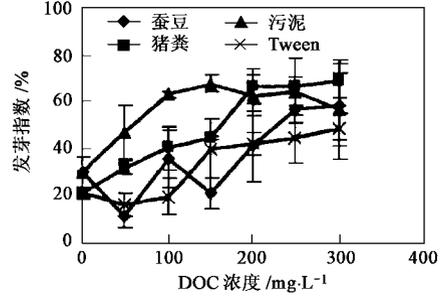


图3 不同浓度的 DOM 和 Tween 溶液对小麦根伸长抑制率和种子发芽指数的影响

Fig. 3 Changes of the inhibition rate of root elongation and the germination index of *Triticum* with DOM and Tween concentrations

其疏水性降低了土壤的土水势,毛管水上升受阻,表层土含水量低,致使位于土壤表层的小麦种子生长受抑制。当向土壤中加入 DOM 之后,其疏水组分作为迁移载体促进 phe 的解吸和水溶性提高,导致 phe 的疏水性降低,从而提高了土壤的水势,使 phe 对小麦根伸长的抑制率亦随之下降,发芽指数则相应上升;或是由于 DOM 的加入,激发了微生物的活性,促进微生物对 phe 的降解,从而降低了其生态毒性。为了验证此推测,在培养试验结束以后,又进行了表层土壤含水量测定、毛细管模拟试验和微生物对土壤中的 phe 生态毒性的影响试验。

2.4 DOM 的存在对 phe 污染土壤土水势的影响

不同处理土壤表层含水量的变化趋势是(图4):空白土壤的含水量 > 对照土壤(加入 phe 200 mg/kg 土) > 含有 DOM 的土壤(加入 200 mg/kg phe, 200 mg/kg DOM),其中空白与其余 2 处理间差异显著( $p < 0.05$ ),而 phe 与 phe + DOM 处理间差异未达显著水平( $p < 0.05$ )。可见,phe 的存在的确降低了土壤的土水势,而 DOM 的加入在一定程度上提高了土水势。

采用玻璃毛细管试验来模拟土壤水分的毛细现象,分别设空白(超纯水)、对照(phe 200 mg/L)、含 phe 200 mg/L 与 DOC 200 mg/L 的混合液 3 种处理,每处理 3 次重复,然后插入毛细管,测量毛细管中溶液上升的高度,所得结果如图 4。不同溶液在毛细管作用下,上升高度依次为:空白(1.60 ± 0) > phe 与

DOM 混合液(1.27 ± 0.058) > 对照(1.23 ± 0.058),空白与其他处理差异极显著( $p < 0.01$ ),而 Phe + DOM 与对照间差异不显著( $p < 0.05$ )。这一结果与表层土壤含水量的结果一致,从而进一步证实了土壤中 phe 的存在确实降低了土壤的土水势,使表层土含水量下降,但 DOM 的加入对提高土壤水势的作用不是很明显。

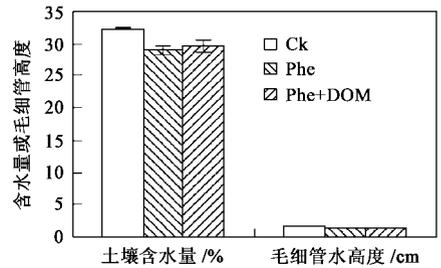


图4 phe 与 DOM 对表层土含水量和毛细管水上升高度的影响

Fig. 4 Effects of phe and DOM on the moisture of topsoil and the height of solution with capillarity action

2.5 微生物对土壤中 phe 生态毒性的影响

土壤中存在各种微生物,而且有关研究表明,对于土壤中 3 环以下的 PAHs 类化合物,微生物可用其作为唯一碳源和能源代谢<sup>[19]</sup>,即土壤中的微生物本身会降解 phe,从而可能降低 phe 的生态毒性。本研究的结果如图 5 所示,土壤中 phe 对小麦根伸长抑制率为:灭菌土 < 未灭菌土;加入 (C/ DOM) 200 mg/kg 之后,土壤中 phe 对小麦根伸长抑制率也

是灭菌土 < 未灭菌土, 且灭菌和未灭菌处理的试验结果差异显著 ( $p < 0.05$ ). 这说明灭菌处理后, phe 的生态毒性不但没有增大, 反而有所下降. 由小麦发

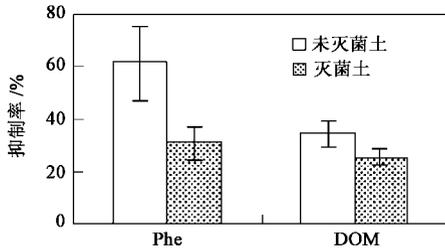


图 5 微生物对土壤中 phe 生态毒性的影响

Fig. 5 Influence of microorganisms on the ecotoxicity of phe in soil

对于灭菌土壤, 加 DOM 处理比不加 DOM 处理的抑制率要低, 这可能是由于 DOM 促进了土壤中 phe 的溶解或 DOM 与 phe 配合物的毒性低于 phe 亦或 DOM 本身能促进植物根伸长所致, 具体原因有待进一步深入探究.

### 3 结论

(1) DOM 具有表面活性, 是表面活性物质.

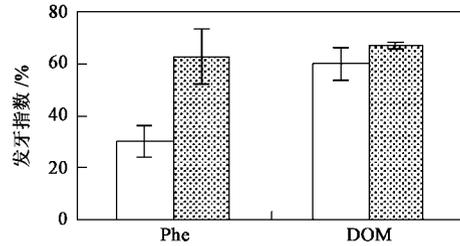
(2) phe 对小麦根伸长有明显的抑制作用, phe 浓度越大, 抑制效果越显著. 0 ~ 200 mg/kg 是小麦根 phe 毒害的敏感区间, 200 mg/kg 是土壤中 phe 的 50% 小麦根伸长抑制率浓度.

(3) DOM 的存在会降低 phe 的生态毒性. 含疏水性组分多的 DOM 对 phe 生态毒性的降低程度也越大. 同一 DOM, 浓度越高, 其降低 phe 毒性的程度越大.

#### 参考文献:

- [1] 宋玉芳, 常士俊, 李利, 等. 污灌土壤中多环芳烃的积累与动态变化研究[J]. 应用生态学报, 1997, 8(1): 93 ~ 98.
- [2] Bakker M I, Casado B, Koerselman J W, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in soil and plant samples from the vicinity of an oil refinery[J]. The Science of The Total Environment, 2000, 263(1 ~ 3): 91 ~ 100.
- [3] Kögel-Knabner I, Kai UT, Bernd R. Desorption of PAHs from soil in the presence of dissolved organic matter: Effect of solution composition and aging[J]. J. Environ. Qual., 2000, 29(3): 906 ~ 916.
- [4] Raber B, Ingrid K. Influence of origin and properties of dissolved organic matter on partition of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. European Journal of Soil Science, 1997, 48: 443 ~ 455.
- [5] 朱利中, 冯少良. 混合表面活性剂对多环芳烃的增溶作用及机理[J]. 环境科学学报, 2002, 22(6): 774 ~ 778.
- [6] 宋玉芳, 孙铁珩, 许华夏. 表面活性剂 TW-80 对土壤中多环芳烃生物降解的影响[J]. 应用生态学报, 1999, 10(2): 230 ~

芽指数的结果也可得出同样的结论. 因此, 在本试验条件下, 微生物对土壤中 phe 生态毒性的影响不起作用.



232.

- [7] Kögel-Knabner I, Totsche K N. Influence of dissolved and colloidal phase humic substances on the transport of hydrophobic organic contaminants in soils[J]. Phys. Chem. Earth, 1998, 23(2): 179 ~ 185.
- [8] Shabad L M. Circulation of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in the human environment and cancer prevention[J]. J. Natl. Cancer Inst., 1980, 64(3): 405 ~ 410.
- [9] Hartmann R. Polycyclic aromatic hydrocarbons in forest soil: critical evaluation of a new analytical procedure[J]. J. Environ. Anal. Chem., 1996, 62: 161 ~ 173.
- [10] Cuypers C, Tim G, Jan J, *et al.* Rapid persulfate oxidation predicts PAH bioavailability in soils and sediments[J]. Environ. Sci. Technol., 2000, 34: 2057 ~ 2063.
- [11] Poerschmann J, Frank-Dieter K. Sorption of very hydrophobic organic compounds on dissolved humic organic matter. 2. Measurement of sorption and application of a flory-huggins concept to interpret the data[J]. Environ. Sci. Technol., 2001, 35: 1142 ~ 1148.
- [12] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 菲、芘、1,2,4-三氯苯对土壤高等植物根伸长抑制的生态毒性效应[J]. 生态学报, 2002, 22(11): 1945 ~ 1950.
- [13] 占新华, 周立祥, 沈其荣, 等. 污泥堆肥过程中水溶性有机物光谱学变化特征[J]. 环境科学学报, 2001, 21(4): 471 ~ 475.
- [14] 赵国玺编. 表面活性剂物理化学(修订版)[M]. 北京: 北京大学出版社, 1991. 1 ~ 34.
- [15] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍, 等. 土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应[J]. 环境科学, 2002, 23(1): 103 ~ 107.
- [16] 南京农业大学主编. 田间试验和统计方法(第二版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999. 63 ~ 233.
- [17] Zhou L X, Wong J W C. Behavior of heavy metals in soil: Effect of dissolved organic matter. In Geochemical and hydrological reactivity of heavy metals in soils[M]. CRC Press LLC, 2003. 245 ~ 269.
- [18] 沈钟, 王果庭. 胶体与表面化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 1991. 363 ~ 379.
- [19] 姜霞, 井欣, 高学晟, 区自清. 表面活性剂对土壤中多环芳烃生物有效性影响的研究进展[J]. 应用生态学报, 2001, 13(9): 1179 ~ 1186.