

## 2种原油中烃类生物标志物生物降解性评价

郭利果<sup>1,2</sup>, 梁生康<sup>1,2\*</sup>, 陆金仁<sup>1,2</sup>, 杨仕美<sup>1,2</sup>, 苏荣国<sup>1,2</sup>, 陈宇<sup>3</sup>

(1. 中国海洋大学化学化工学院, 青岛 266100; 2. 中国海洋大学海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 青岛 266100; 3. 中海石油环保服务有限公司, 天津 300452)

**摘要:**通过室内微生物降解模拟实验,考察了海上中质原油 BZ34-1 和重质原油 SZ36-1 中类异戊二烯类、萜烷类和甾烷类生物标志物组分的生物降解性。结果表明,在 60 d 的实验周期内,2 种原油中类异戊二烯类生物标志物包括姥鲛烷和植烷都发生明显降解,其中,中质原油 BZ34-1 中姥鲛烷和植烷的降解率分别为 20.2% 和 15.0%,重质原油 SZ36-1 中姥鲛烷和植烷的降解率分别达到 95.6% 和 75.4%;但 2 种原油中类异戊二烯类生物标志物发生降解的阶段不同,重质原油 SZ36-1 中类异戊二烯类生物标志物在实验初期(20 d)就开始发生降解,中质原油 BZ34-1 中类异戊二烯类生物标志物的降解主要发生在中后期(20~60 d)。而 2 种原油中萜烷和甾烷类生物标志物在整个实验周期内均未发生明显降解。这表明在设定的实验周期内,植烷或姥鲛烷适用于评价降解初期的中质原油生物修复效果;而萜烷和甾烷类则适用于 2 种原油不同阶段生物修复效果评价。

**关键词:**原油;生物降解;生物标志物;姥鲛烷;植烷;藿烷;甾烷

中图分类号:X132 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)08-1897-07

## Evaluation on Biodegradability of Hydrocarbon Biomarkers in Two Crude Oils Under Laboratory Conditions

GUO Li-guo<sup>1,2</sup>, LIANG Sheng-kang<sup>1,2</sup>, LU Jin-ren<sup>1,2</sup>, YANG Shi-mei<sup>1,2</sup>, SU Rong-guo<sup>1,2</sup>, CHEN Yu<sup>3</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 2. Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, China; 3. China Offshore Environmental Service Ltd., Tianjin 300452, China)

**Abstract:** Biodegradabilities of several hydrocarbon biomarker groups, including isoprene, hopanes and steranes in a medium-crude oil BZ34-1 and a heavy-crude oil SZ36-1 from offshore, were determined under laboratory conditions. The results of GC-MS analysis showed that isoprene biomarkers such as pristane and phytane in both crude oils degraded obviously in 60-day experiment period. The degradation ratios of pristane and phytane in the medium-crude oil BZ34-1 reached 20.2% and 15.0%, respectively; while those in the heavy-crude oil SZ36-1 reached 95.6% and 75.4%, respectively. Pristane and phytane in the heavy-crude oil SZ36-1 were degraded in the early period of biodegradation, but these two biomarkers in the medium-crude oil BZ34-1 were degraded in middle and late biodegradation phases. However, hopanes and steranes in the both oils were not biodegraded obviously during the whole period. These results indicated that pristane and phytane could be used to evaluate bioremediation efficiency in the early biodegradation phase for light or medium oils, while hopanes and steranes could be used to evaluate bioremediation efficiency within the whole given experiment process.

**Key words:** crude oil; biodegradation; biomarker; pristane; phytane; hopane; sterane

溢油污染的生物降解受到多种物理和化学作用如扩散、蒸发、乳化、光氧化、波浪和潮“因素的影响,结果导致对生物降解效果评价变得很困难。尤其是现场实验,物理作用和化学作用均有可能对原油组分和浓度产生较大影响,导致同一污染源的污染点的差异性和不均一性显著。有鉴于此,原油中的非生物降解或生物降解缓慢组分——通常被称之为生物标志物,常常被用于确定溢油污染现场生物修复过程中污染物的生物降解,以降低现场的不确定性带来的影响<sup>[1-3]</sup>。

应用生物标志物评价生物修复过程中不同烃类化合物的降解,主要是基于生物标志物自身难以被

微生物降解这一假设<sup>[4]</sup>。但最近研究表明,在不同环境条件下,包括姥鲛烷、植烷、藿烷、甾烷在内的多种生物标志物亦可能被生物降解,从而可能低估生物降解作用<sup>[5,6]</sup>;而对于不同种类油品以及生物修复的不同阶段,各类生物标志物对微生物降解的敏感性又有很大差异,特别是在溢油污染的现场生物修复过程中。评价油品中各类生物标志物的生物降

收稿日期:2009-10-07;修订日期:2009-12-03

基金项目:山东省自然科学基金项目(Y2008B28);中国海洋大学与中海石油环保服务有限公司攻关项目(2006004)

作者简介:郭利果(1984~),女,硕士研究生,主要研究方向为持久性有机污染物分析检测和生物降解, E-mail: guoliguog632@126.com

\* 通讯联系人, E-mail: liangsk@ouc.edu.cn

解性,筛选出能够应用于现场生物修复的生物标志物,这对于准确评价污染环境的生物修复效果以及确定不同生物修复策略的作用效果都是十分必要的.

本研究通过室内模拟实验,考察了混合石油烃降解菌对 2 种性质不同的海上原油中异戊二烯类、萜烷和甾烷类生物标志物组分的生物降解性,以期确定可用于现场生物修复效果评价的生物标志物提供基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 试剂

正己烷 (HPLC 级, Merck 公司)、二氯甲烷 (HPLC 级, B&J 公司)、正构烷烃混合标准 ( $n\text{-C}_8 \sim n\text{-C}_{41}$  包括姥鲛烷、植烷; sepulco 公司)、 $5\alpha$ -雄甾烷 (sepulco 公司).

层析硅胶 (100 ~ 200 目, 青岛海洋化工厂), 使用前用 1:1 (体积比) 正己烷/二氯甲烷混合溶剂索氏提取 48 h, 待溶剂挥发后 110℃ 活化 2 h, 置于干燥器中备用.

#### 1.1.2 原油样品

实验中所用 2 种海上原油均由中海石油环保服务有限公司提供, 各种原油的主要理化性质见表 1. 其中, BZ34-1 原油属于低黏度高蜡中质原油, SZ36-1 属于高黏度低蜡重质原油.

表 1 2 种原油主要理化性质

| 理化性质                                           | BZ34-1              | SZ36-1              |
|------------------------------------------------|---------------------|---------------------|
| 密度 (20℃) / $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$     | $8.934 \times 10^2$ | $9.589 \times 10^2$ |
| API 度                                          | 26.9                | 15.6                |
| 凝点 / $^{\circ}\text{C}$                        | 27                  | -2                  |
| 动力黏性 (50℃) / $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ | 24.16               | 50.21               |
| 含水率 / %                                        | 0.80                | 0.31                |
| 蜡含量 / %                                        | 14.57               | 2.78                |
| 树脂含量 / %                                       | 19.79               | 21.44               |
| 沥青 / %                                         | 1.54                | 1.95                |
| 硫含量 / %                                        | 0.22                | 0.23                |

#### 1.1.3 基础海水培养基<sup>[7]</sup>

1 L 清洁海水中加入 0.2 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1.0 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 1.0 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ .

#### 1.1.4 石油烃降解菌

用于降解实验的混合石油烃降解菌筛选于天津港 6 号码头沉积物中. 初步鉴定和分析结果表明, 该混合菌中的优势菌有 6 种, 其中 4 株属于芽孢杆菌

属 (*Bacillus* sp.), 另外 2 株分属于不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.) 和海杆菌属 (*Oceanobacillus* sp.)<sup>[8]</sup>. 该混合菌在以 BZ34-1 为碳源的基础海水培养基中培养 96 h 后, 取培养液在 5 000 r/min 离心 15 min, 用 100 mL 基础海水培养基洗涤菌体 2 次, 再将菌体细胞悬浮于基础培养基中得到菌悬液, 使其在 600 nm 处的吸光度为 0.5, 此菌悬液作为降解实验的接种物.

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 原油的生物降解实验

原油生物降解实验在 250 mL 锥形瓶中进行. 分别取 BZ34-1 和 SZ36-1 原油的油样 1.00 g, 加入少许正己烷溶解后, 均匀平铺于已灭菌的锥形瓶底, 待正己烷挥发后, 加入经高温灭菌的基础无机盐培养基 100 mL, 按 5% (体积分数) 的接种量接入石油烃混合降解菌, 置于摇床内在 25℃、150 r·min<sup>-1</sup> 下培养. 以不接菌液的含油培养基为对照, 以确定非生物降解因素所引起的损失. 实验周期为 60 d, 分别在 0、10、20、40 和 60 d 时取样分析石油烃和生物标志物组分. 应用公式 (1) 来计算各生物标志物的降解率 ( $\eta$ ):

$$\eta(\%) = \frac{\omega_0 - \omega_x}{\omega_0} \times 100 \quad (1)$$

式中,  $\omega_0$  表示未加菌剂的对照培养液中各生物标志物含量;  $\omega_x$  表示添加菌剂的各培养液中残余生物标志物含量.

#### 1.2.2 原油中生物标志物的测定

取 1.2.1 节中培养液用等体积正己烷萃取 5 次, 合并有机相, 用无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  干燥后减压蒸馏除去有机溶剂并用氮气吹干后, 溶解并定容; 然后参考文献[9,10]进行柱层析分离: 准确移取萃取液 1.00 mL (约含 10 ~ 30 mg 石油烃) 转移到填充有 3.0 g 硅胶的层析柱内, 用 20 mL 的正己烷洗脱, 得到正构烷烃和生物标志物组分.

洗脱液 0.5 mL 直接用 GC-MS 测定正构烷烃、姥鲛烷和植烷含量, 剩余部分经浓缩定容至 0.5 mL 后, GC-MS 测定藿烷和甾烷含量. GC-MS 分析所用仪器为 Agilent 6890N/5975B, 配以 HP-5MS 毛细管色谱柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25  $\mu\text{m}$ ); 载气为 He, 载气流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 无分流自动进样, 进样量 1.00  $\mu\text{L}$ ; 升温程序为 50℃ 保持 2 min, 以 6  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升温至 300℃, 保持 15 min; 进样口和检测器温度分别为 280℃ 和 300℃; 质谱检测器采用 EI 离子源; 离子源温度为 230℃; 定性采用 Scan 扫描方

式;定量采用 SIM 扫描方式.

## 2 结果与讨论

### 2.1 类异戊二烯生物标志物生物降解性

#### 2.1.1 姥鲨烷植烷组分变化

图 1 给出了 BZ34-1、SZ36-1 原油在 60 d 降解周期内饱和烷烃组分(包括姥鲨烷和植烷)的变化.可以看出,在开始降解时,BZ34-1 原油中正构烷烃组分较为丰富,达  $292.3 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,其  $\text{C}_{17}/\text{Pr}$  和  $\text{C}_{18}/\text{Ph}$  值分别达到 3.27 和 3.37,而 SZ36-1 原油中正构烷烃

组分含量仅为  $55.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,只相当于 BZ34-1 原油中的 20% 左右,而其  $\text{C}_{17}/\text{Pr}$  和  $\text{C}_{18}/\text{Ph}$  值分别为 0.69 和 0.58,比 BZ34-1 原油低 3.7 和 4.5 倍(表 2),这表明 BZ34-1 原油中正构烷烃组分比支链烷烃要丰富.随降解时间的增长,2 种油品中正构烷烃组分含量迅速降低,60 d 时 BZ34-1 原油中的  $\text{C}_{17}/\text{Pr}$  和  $\text{C}_{18}/\text{Ph}$  值分别只有 0.22 和 0.33,较实验初期分别下降了 13.9 倍和 9.9 倍;而 SZ36-1 原油中正十七烷和正十八烷则完全降解,这表明正构烷烃的降解率明显高于支链烷烃.

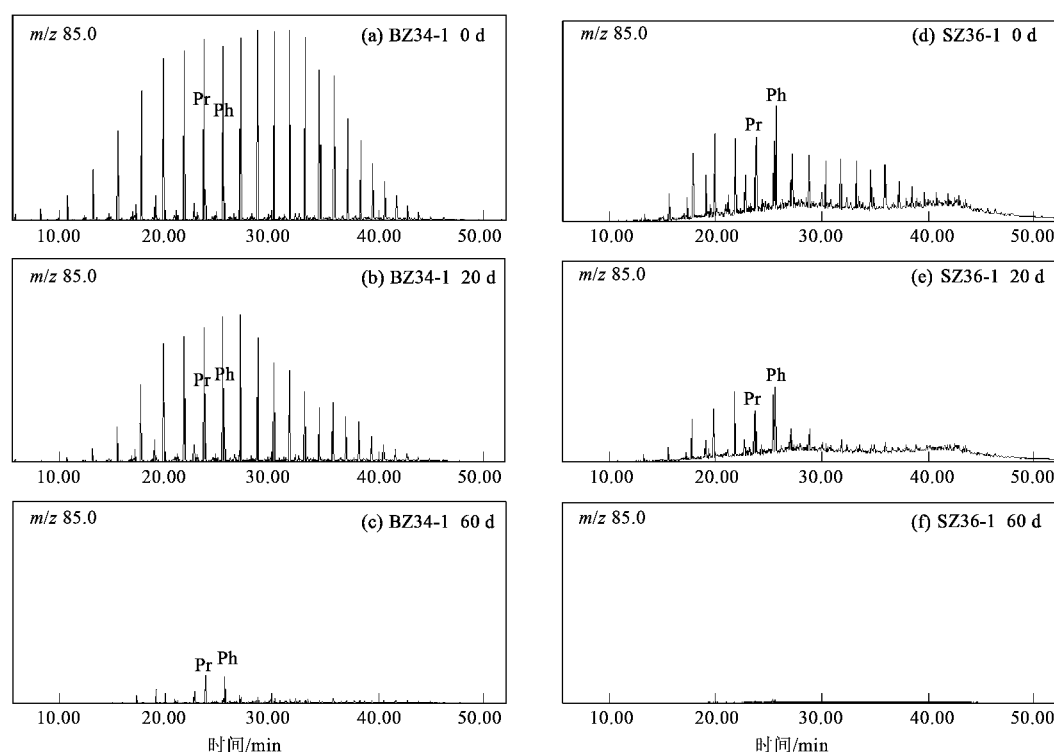


图 1 2 种原油在生物降解不同阶段残余石油烃 GC-MS 谱图

Fig. 1 GC-MS chromatograms of saturate fractions for the two crude oils at the different biodegradation stages

在正构烷烃降解过程中,2 种原油中异戊二烯类生物标志物姥鲨烷和植烷也发生明显降解,但不同原油中发生降解的阶段有所不同(图 2).具体地讲,对于中质原油 BZ34-1,其姥鲨烷和植烷含量呈现出先保持不变然后逐渐降低趋势,在实验前 20 d 内未发生明显变化,之后才逐渐降低,60 d 时的降解率达到 20.2% 和 15.0%;对于重质原油 SZ36-1,其姥鲨烷和植烷含量在整个生物降解过程中呈逐渐降低趋势,60 d 的降解率分别达到 95.6% 和 75.4%.进一步分析表明,姥鲨烷和植烷的降解率随原油密度和黏度的增加而增大,而随原油的 API 度增大而呈减小.这可能与不同油品中石油烃组分

不同密切相关.对于中质原油 BZ34-1,其中正构烷烃组分含量较高,在生物降解开始时,BZ34-1 油品中含有大量可被微生物优先降解的正构烷烃,对类异戊二烯烃基本不利用或利用很少;当大部分正构烷烃降解完后才开始利用类异戊二烯烃,整体上类异戊二烯烃的降解程度滞后于正构烷烃.这与包建平等<sup>[11]</sup>的研究结果是一致的.而对于重质原油 SZ36-1,正构烷烃组分的缺乏使得微生物从起始阶段就大量利用类异戊二烯烃,导致其含量不断降低.

以上分析表明,对于正构烷烃含量丰富的原油 BZ34-1,以姥鲨烷和植烷作为评价生物降解效果的

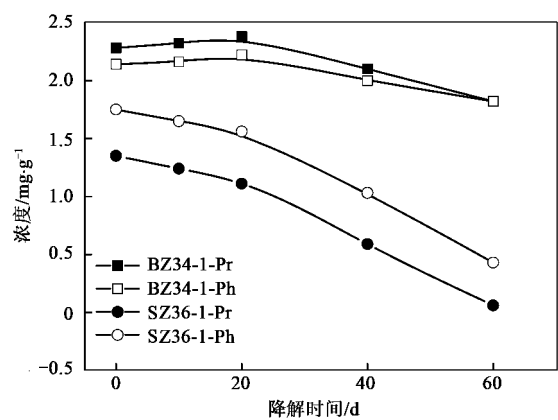


图2 BZ34-1 和 SZ36-1 原油中残留姥鲛烷和植烷浓度随降解时间的变化

Fig. 2 Concentrations profile of pristane and phytane in BZ34-1 and SZ36-1 residue oils at the different degradation stages

生物标志物,只适用于生物降解的初期(前 20 d);在生物降解的中后期,以姥鲛烷和植烷作为生物标志物,则有可能低估生物降解效率;而对于重质原油 SZ36-1,植烷和姥鲛烷在实验的开始阶段即发生明显降解,因而在整个实验周期中都不适用于作为评价生物降解效果的生物标志物。

2.1.2 姥鲛烷和植烷比值(Pr/Ph)的变化

Pr/Ph 具有重要的地球化学指示意义,可作为评价原油成熟度的重要指标<sup>[12]</sup>。由于分子体积和化合物空间结构差异,微生物对原油组分的降解是有选择性的,因此可以用生物标志物特征比值来判断

其是否发生生物降解<sup>[13]</sup>。

从表 2 可以看出,在 60 d 的实验周期内,BZ34-1 原油的 Pr/Ph 比值从 0.95 降到 0.79,SZ36-1 原油的 Pr/Ph 比值从 0.78 降到 0.13,同属于类异戊二烯烃且分子结构十分接近的姥鲛烷和植烷,其生物降解程度也有所差异。这不仅表现在同一油品的不同降解阶段,也表现在不同油品之间,BZ34-1 的 Pr/Ph 值在前期(前 20 d)基本不变,而在中后期有所降低,而 SZ36-1 的 Pr/Ph 值从生物降解开始就有所下降。这表明姥鲛烷和植烷对生物降解作用的敏感程度存在一定差异,这种差异与油品中正构烷烃的含量有关。在实验前期正构烷烃含量较高时,姥鲛烷和植烷的抗生物降解性基本相同;而在后期,当姥鲛烷和植烷含量处于优势时,姥鲛烷对生物降解作用的响应较植烷更为敏感。即当生物降解作用进行到一定程度时,细菌优先消耗姥鲛烷,姥鲛烷的降解速率大于植烷。上述分析表明,对于中质原油,在生物降解的前期,姥鲛烷和植烷没有发生明显降解,可以作为评价生物降解的生物标志物。

2.2 甾萜类生物标志物生物降解性分析

原油中甾萜类生物标志物可为石油地球化学提供很多重要信息,可用于油源对比、沉积环境、成熟度评价等<sup>[14]</sup>。原油中甾烷和萜类化合物的分布具有明显的特征,以降解 0 d 时 BZ34-1 原油为例,根据其萜类和甾烷类生物标志物谱图(图 3)特征,结合质谱图中离子碎片信息进行定性确认,共确定了 28

表 2 不同降解阶段 2 种原油甾萜类化合物的特征比值<sup>1)</sup>

Table 2 Comparison of diagnostic biomarker ratios of two crude oils at the different biodegradation stages

| 生物标志物    | 特征比值                                                                              | BZ34-1 |       |       | SZ36-1 |       |       |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|
|          |                                                                                   | 0      | 20    | 60    | 0      | 20    | 60    |
| 异戊二烯类化合物 | C <sub>17</sub> /Pr                                                               | 3.27   | 2.46  | 0.22  | 0.69   | 0.79  | 0.00  |
|          | C <sub>18</sub> /Ph                                                               | 3.37   | 2.80  | 0.31  | 0.58   | 0.70  | 0.00  |
|          | Pr/Ph                                                                             | 0.95   | 1.02  | 0.79  | 0.78   | 0.71  | 0.13  |
| 萜类化合物    | C <sub>23</sub> /C <sub>24</sub>                                                  | 1.48   | 1.61  | 1.46  | 1.45   | 1.46  | 1.46  |
|          | Ts/Tm                                                                             | 1.67   | 1.63  | 1.70  | 0.73   | 0.73  | 0.74  |
|          | C <sub>29</sub> /C <sub>30</sub>                                                  | 0.33   | 0.33  | 0.32  | 0.46   | 0.46  | 0.44  |
|          | C <sub>31</sub> (S)/C <sub>31</sub> (R)                                           | 1.29   | 1.30  | 1.32  | 1.25   | 1.25  | 1.29  |
|          | C <sub>32</sub> (S)/C <sub>32</sub> (R)                                           | 1.33   | 1.33  | 1.37  | 1.22   | 1.24  | 1.36  |
|          | C <sub>33</sub> (S)/C <sub>33</sub> (R)                                           | 1.40   | 1.37  | 1.38  | 1.36   | 1.37  | 1.43  |
|          | C <sub>34</sub> (S)/C <sub>34</sub> (R)                                           | 1.70   | 1.65  | 1.70  | 1.12   | 1.08  | 1.02  |
|          | ∑(C <sub>31</sub> -C <sub>34</sub> )/C <sub>30</sub>                              | 1.70   | 1.65  | 1.70  | 1.12   | 1.08  | 1.02  |
| 甾烷类化合物   | C <sub>27</sub> αββ/C <sub>29</sub> αββ                                           | 1.30   | 1.29  | 1.34  | 0.93   | 0.94  | 1.06  |
|          | C <sub>27</sub> αββ/(C <sub>27</sub> αββ+C <sub>28</sub> αββ+C <sub>29</sub> αββ) | 0.44   | 0.43  | 0.44  | 0.37   | 0.37  | 0.40  |
|          | C <sub>28</sub> αββ/(C <sub>27</sub> αββ+C <sub>28</sub> αββ+C <sub>29</sub> αββ) | 0.23   | 0.23  | 0.24  | 0.24   | 0.24  | 0.22  |
|          | C <sub>29</sub> αββ/(C <sub>27</sub> αββ+C <sub>28</sub> αββ+C <sub>29</sub> αββ) | 0.33   | 0.34  | 0.33  | 0.39   | 0.39  | 0.38  |
| 比值合计     |                                                                                   | 13.16  | 12.93 | 13.40 | 11.24  | 11.28 | 11.58 |
| 比值 RSD/% |                                                                                   |        | 1.47  |       |        | 1.63  |       |

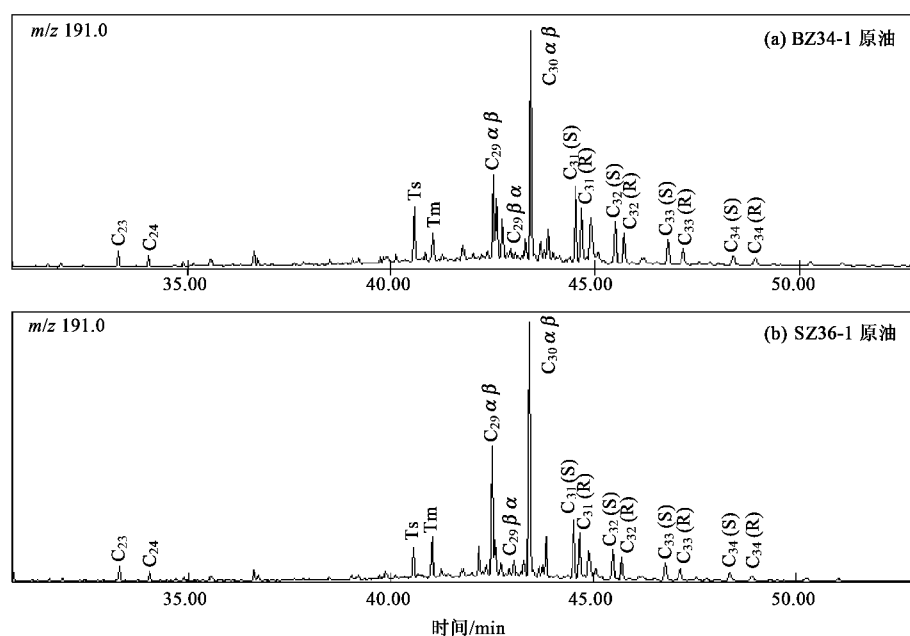
1) 表中各比值均为各组分的峰面积比值

种萜类(图3)和21种甾烷类化合物(图4)。从谱图上可以看出,2种原油中甾烷类生物标志物组分无论是种类还是丰度均较为丰富,说明甾烷类化合物在原油中普遍存在。

进一步比较了BZ34-1和SZ36-1油品中甾烷类生物标志物特征比值在60 d的实验周期内的变化(表2)。可以看出,2种油品BZ34-1和SZ36-1的甾烷类生物标志物各个特征比值均没有明显变化,其甾烷类化合物特征比值总计的相对标准偏差分别为1.47%和1.63%,说明在生物降解过程中,甾烷类化合物特征比值没有明显变化,表明甾烷类生物标志物在实验条件下没有发生明显降解。这与Venosaa等<sup>[15]</sup>的研究结果基本一致,他们考察了美国Delaware海湾岸线溢油污染生物修复过程中藿烷类生物标志物的降解,发现藿烷的损失不是由于生物降解而主要是由挥发所导致的,因而将藿烷经校正后用于评价溢油现场生物修复的效果。但Frontera-Suau等<sup>[16]</sup>的研究表明甾烷类生物标志物对温度较敏感,他们考察了在不同温度梯度下混合菌剂对Bonny中质原油的降解性,发现温度为30℃时C<sub>30</sub>

17 $\alpha$ (H)和21 $\beta$ (H)-藿烷和C<sub>31</sub>-C<sub>34</sub>藿烷均发生了不同程度的生物降解。本实验结果显示甾烷类化合物在实验期间并未发生明显降解,因此可以用丰度较高的组分作为评价生物降解效果的生物标志物,如丰度最高的17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-藿烷。事实上,17 $\alpha$ (H)和21 $\beta$ (H)-藿烷作为生物标志物成功地应用于Exxon Valdez溢油现场后,许多研究者开始用17 $\alpha$ (H)和21 $\beta$ (H)-藿烷作为评价生物修复效果的生物标志物并成功地应用于许多溢油事件<sup>[17~19]</sup>。

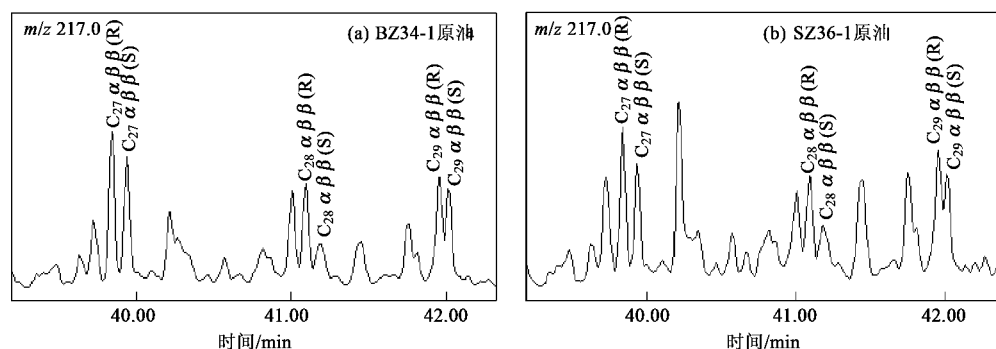
甾烷类生物标志物来自生物,且在地质成油过程中保持着稳定的C骨架和基本的结构特征及其组成含量的相对关系,保留着原始有机质的信息,因此在油源对比中成为理想的指标,具有“指纹化石”的意义<sup>[20]</sup>。如人们通常通过Ts/(Ts+Tm)、C<sub>29</sub> $\alpha\beta$ /(C<sub>30</sub> $\alpha\beta$ +C<sub>29</sub> $\alpha\beta$ )、C<sub>31</sub>S/(S+R)、C<sub>32</sub> $\alpha\beta$ S/(S+R)、C<sub>33</sub> $\alpha\beta$ S/(S+R)、C<sub>27</sub> $\alpha\beta\beta$ /( $\alpha\beta\beta$ + $\alpha\alpha\alpha$ )、C<sub>28</sub> $\alpha\beta\beta$ /( $\alpha\beta\beta$ + $\alpha\alpha\alpha$ )和C<sub>29</sub> $\alpha\beta\beta$ /( $\alpha\beta\beta$ + $\alpha\alpha\alpha$ )等比值进行溢油鉴定工作<sup>[14]</sup>。但当甾烷类化合物发生生物降解后,其特征比值便失去参考意义。本实验中甾烷类化



C<sub>23</sub>表示C<sub>23</sub>-13 $\beta$ (H), 14 $\alpha$ (H)-C<sub>23</sub>三环藿烷;C<sub>24</sub>表示C<sub>24</sub>-13 $\beta$ (H), 14 $\alpha$ (H)-C<sub>24</sub>三环藿烷;Ts表示Ts-18 $\alpha$ (H)-22, 29, 30三降藿烷;Tm表示Tm-17 $\alpha$ (H)-22, 29, 30三降藿烷;C<sub>29</sub> $\alpha\beta$ 表示C<sub>29</sub> $\alpha\beta$ -17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30降藿烷;C<sub>29</sub> $\beta\alpha$ 表示C<sub>29</sub> $\beta\alpha$ -17 $\beta$ (H), 21 $\alpha$ (H)-30降藿烷;C<sub>30</sub> $\alpha\beta$ 表示C<sub>30</sub> $\alpha\beta$ -17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-藿烷;C<sub>31</sub>(S)表示C<sub>31</sub>(S)-17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30升藿烷(22S);C<sub>31</sub>(R)表示C<sub>31</sub>(R)-17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30升藿烷(22R);C<sub>32</sub>(S)表示C<sub>32</sub>(S)-17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30, 31二升藿烷(22S);C<sub>32</sub>(R)表示C<sub>32</sub>(R)-17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30, 31二升藿烷(22R);C<sub>33</sub>(S)表示C<sub>33</sub>(S)-17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30, 31, 32三升藿烷(22S);C<sub>33</sub>(R)表示C<sub>33</sub>(R)-17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30, 31, 32三升藿烷(22R);C<sub>34</sub>(S)表示C<sub>34</sub>(S)-17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30, 31, 32, 33四升藿烷(22S);C<sub>34</sub>(R)表示C<sub>34</sub>(R)-17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30, 31, 32, 33四升藿烷(22R)

图3 降解0 d时2种原油中藿烷类化合物GC-MS图谱

Fig. 3 GC-MS chromatograms of hopane fractions for the two crude oils at 0 d



$C_{27}\alpha\beta\beta(R)$  表示  $C_{27}\alpha\beta\beta(R)$ -5 $\alpha(H)$ , 14 $\beta(H)$ , 17 $\beta(H)$ -胆甾烷(20R);  $C_{27}\alpha\beta\beta(S)$  表示  $C_{27}\alpha\beta\beta(S)$ -5 $\alpha(H)$ , 14 $\beta(H)$ , 17 $\beta(H)$ -胆甾烷(20S);  $C_{28}\alpha\beta\beta(R)$  表示  $C_{28}\alpha\beta\beta(R)$ -24-甲基, 5 $\alpha(H)$ , 14 $\beta(H)$ , 17 $\beta(H)$ -胆甾烷(20R);  $C_{28}\alpha\beta\beta(S)$  表示  $C_{28}\alpha\beta\beta(S)$ -24-甲基, 5 $\alpha(H)$ , 14 $\beta(H)$ , 17 $\beta(H)$ -胆甾烷(20S);  $C_{29}\alpha\beta\beta(R)$  表示  $C_{29}\alpha\beta\beta(R)$ -24-甲基, 5 $\alpha(H)$ , 14 $\beta(H)$ , 17 $\beta(H)$ -胆甾烷(20R);  $C_{29}\alpha\beta\beta(S)$  表示  $C_{29}\alpha\beta\beta(S)$ -24-甲基, 5 $\alpha(H)$ , 14 $\beta(H)$ , 17 $\beta(H)$ -胆甾烷(20S)

图 4 降解 0 d 时 2 种原油中甾烷类化合物的 GC-MS 图谱

Fig. 4 GC-MS chromatograms of sterane fractions for the two crude oils at 0 d

合物没有发生明显生物降解, 仍可作为有用的地球化学参数应用于溢油鉴定、成熟度评价等, 如对 BZ34-1 原油来说, 其  $T_s/(T_s + T_m)$  比值为 0.63,  $C_{31}S/(S + R)$  为 0.57, 均指示该原油属成熟原油; 对 SZ36-1 原油来说, 其  $T_s/(T_s + T_m)$  比值为 0.42,  $C_{31}S/(S + R)$  比值为 0.56, 接近成熟油指标, 整个生物降解过程中, 生物标志物特征比值仍可作为有用的地球化学参数。

### 3 结论

(1) 异戊二烯烃的抗生物降解能力明显强于正构烷烃, 但是否可用作评价生物修复效果的生物标志物, 需根据油品的性质来确定。对于正构烷烃含量高的中质原油 BZ34-1, 其姥鲛烷和植烷在生物降解初期(前 20 d)没有发生明显降解, 在正构烷烃被大量降解后, 也随之逐渐被生物降解; 而正构烷烃含量低的重质原油 SZ36-1, 其姥鲛烷和植烷在生物降解初期就发生了明显降解, 这表明对于中质原油 BZ34-1, 生物降解初期可以用植烷作为评价生物修复效果的生物标志物。

(2) 在 60 d 的实验周期内, 2 种原油中的甾萜类生物标志物特征比值在生物降解模拟实验过程中没有发生明显变化, 表明甾萜类生物标志物没有发生明显生物降解, 因此, 在整个实验过程中, 以丰度较高的化合物如 17 $\alpha(H)$ , 21 $\beta(H)$ -藿烷作为评价生物修复效果的生物标志物是合适的。

### 参考文献:

- [1] Douglas G S, Prince R C, Butler E L, *et al.* The use of internal

chemical indicators in petroleum and refined products to evaluate the extent of biodegradation [A]. In: Hinchey R E, Callemann B, Hoeppe R E, *et al.* (eds). *Hydrocarbon Bioremediation* [C]. Boca Raton, FL: Lewis Publishers, Inc., 1994. 219-236.

- [2] Bragg J R, Prince R C, Harner E J, *et al.* Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill [J]. *Nature*, 1994, **368**: 413-418.
- [3] McIntyre C P, Harvey P M, Ferguson S H, *et al.* Determining the extent of biodegradation of fuels using the diastereomers of acyclic isoprenoids [J]. *Environ Sci Technol*, 2007, **41** (7): 2452-2458.
- [4] Peters J, Moldowan J M. *The biomarker Guide. Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments* [R]. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall. 1993.
- [5] Elmendorf D L, Haith C E, Douglas G S, *et al.* Relative rates of biodegradation of substituted polycyclic aromatic hydrocarbons [A]. In: Hinchey R E, Leeson A, Semprini L, *et al.* (eds). *Bioremediation of Chlorinated and Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds* [C]. Ann Arbor, MI: Lewis Publishers, 1994. 188-202.
- [6] Venosa A D, Haines J R, Holder E L. Rates of hydrocarbon biodegradation in the field compared to the laboratory [A]. In: *In-situ and On-site Bioremediation* [C]. Columbus, OH: Battelle Press, 1997. 359-364.
- [7] 陈碧娥, 刘祖同. 海洋烃细菌的分离及其特性 [J]. *石油学报(石油加工)*, 2002, **18** (5): 9-10.
- [8] 杨仕美, 张翼霄, 高光军, 等. 不同碳源富集的石油烃降解菌群结构的分析 [J]. *海洋科学*, 2009, **33** (8): 87-92.
- [9] Wang Z D, Fingas M, Li K. Fractionation of a light crude oil and identification and quantitation of aliphatic, aromatic and biomarker compounds by GC-FID and GC-MS, part I [J]. *J Chromatogr Sci*, 1994, **32** (9): 361-382.
- [10] US EPA, Method 8270C: Semivolatile organic compounds by gas

- chromatography/mass spectrometry (GC-MS) [S]. 1996, 600/R-93/123a and b.
- [11] 包建平, 朱俊章, 朱翠山, 等. 原油生物降解模拟实验[J]. 石油勘探与开发, 2007, **34**(1): 43-47.
- [12] Powell T G, Mckirdy D M. Relationship between ratio of pristane to phytane, crude oil composition and geological environments in Australia [J]. Nature, 1973, **243**: 37-39.
- [13] McIntyre C P, Harvey P M, Ferguson S, *et al.* Determining the extent of weathering of spilled fuel in contaminated soil using the diastereomers of pristane and phytane [J]. Org Geochem, 2007, **38**(12): 2131-2134.
- [14] Wang Z D, Stout S A. Oil spill environmental forensics: fingerprinting and source identification [M]. Boston, MA: Elsevier/Academic Press, 2007. 80-120.
- [15] Venosaa D, Suidan M T, King D, *et al.* Use of hopane as a conservative biomarker for monitoring the bioremediation effectiveness of crude oil contaminating a sandy beach. [J]. J Ind Microbiol Biot, 1997, **18**(2-3): 131-139.
- [16] Frontera-Suau B, Bost F D, McDonald T D, *et al.* Aerobic biodegradation of hopanes and other biomarkers by crude oil-degrading enrichment cultures [J]. Environ Sci Technol, 2002, **36**(21): 4585-4592.
- [17] Prince R C, Clark J R, Lindstrom J E, *et al.* Bioremediation of the Exxon Valdez oil spill: monitoring safety and efficacy [A]. In: Hinchee R E, Miller R N. (Eds.). Hydrocarbon bioremediation [C]. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, 1994. 107-124.
- [18] Venosa A D, Suidan M T, Wrenn B A *et al.* Bioremediation of experimental oil spill on the shoreline of Delaware Bay [J]. Environ Sci Technol, 1996, **30**(5): 1764-1775.
- [19] Huesemann M H, Hausmann T S, Fortman T J. Biodegradation of hopane prevents use as conservative biomarker during bioremediation of PAHs in petroleum contaminated soils [J]. Bioremediation Journal, 2003, **5**(2): 111-117.
- [20] 马安来, 张水昌, 张大江, 等. 生物降解原油地球化学研究新进展[J]. 地球科学进展, 2005, **20**(4): 449-454.

## 《环境科学》再获“百种中国杰出学术期刊”称号

2009 年 11 月 27 日,中国科学技术信息研究所在中国科技论文统计结果发布会上公布了 2008 年“百种中国杰出学术期刊”评选结果.《环境科学》再次荣获“百种中国杰出学术期刊”的称号,这也是自首次评选以来连续 8 次获此殊荣.

“百种中国杰出学术期刊”是根据中国科技学术期刊综合评价指标体系进行评定.该体系利用总被引频次、影响因子、基金论文比、他引总引比等多个文献计量学指标进行统计分析,对期刊分学科进行评比,其评价结果客观公正,为我国科技界公认,并具有广泛影响.