

石油污染土壤物化修复前后生物毒性效应

廉景燕¹, 哈莹¹, 黄磊¹, 居易¹, 石烁¹, 刘雷¹, 张瑞玲³, 隋红^{3*}, 李鑫钢^{2,3}

(1. 天津理工大学化学化工学院, 天津 300384; 2. 天津大学化工学院化工研究所, 天津 300072; 3. 天津大学精馏技术国家工程中心, 天津 300072)

摘要:采用作物种子的发芽率作为生态指标对石油污染土壤进行毒性分析,并以蚯蚓为实验生物,研究了石油污染物的生物效应及其对土壤生态系统的影响。结果表明,不同的作物种子对石油污染表现出不同的耐受性,对照清洁土壤,大多数作物种子的萌发都明显受到石油污染的抑制,其中受石油污染影响最严重的是黄豆、蚕豆、玉米。相比之下,在不同石油污染水平下绿豆具有较高的耐受性,且种子发芽率均在90%以上。蚯蚓在受到污染胁迫时,在生理水平上会发生明显的变化,进而影响其存活和生长能力,实验观测到随着石油污染加重蚯蚓存活时间显著下降。在高污染水平石油污染的土壤中(石油污染水平 > 30 000 mg·kg⁻¹),蚯蚓的耐受性降低,仅可以存活5 d左右,说明石油烃对蚯蚓的毒性较大,主要是因为蚯蚓直接与石油接触导致其中毒脱水而死亡。处理后油田污染土,即使在污染水平很低(≈30 mg·kg⁻¹)的情况下,蚯蚓存活时间依然很短(3 d左右),是因为经过石油醚处理过的土壤,其营养物质也随着石油而被处理掉,而土壤中有有机质等营养物对蚯蚓的生存具有很大影响。

关键词:土壤;石油污染;毒性分析;修复;作物;蚯蚓

中图分类号:X53 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2011)03-0870-05

Biological Toxicity Effect of Petroleum Contaminated Soil Before and After Physicochemical Remediation

LIAN Jing-yan¹, HA Ying¹, HUANG Lei¹, JU Yi¹, SHI Shuo¹, LIU Lei¹, ZHANG Rui-ling³, SUI Hong³, LI Xin-gang^{2,3}

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384, China; 2. Research Institute of Chemical Engineering, School of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 3. National Engineering Research Center of Distillation Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Toxicity analysis was studied from using seed germination as an ecological indicator, and the earthworm was considered as a suitable biomonitor animal to determine the ecological hazard of polluted soil. The main results are as follows: These crop seeds have significantly different responses to petroleum pollution. Compared with those plants in clean soil, the germination of most crop seeds planted in contaminated soils is obviously inhibited. Soybean, horse bean and maize are the crop affected most adversely. Fortunately, strong endurance is observed for green soybean under 4 different levels of petroleum pollution, and the seed germination rate are all above 90%. When exposed to pollutants, earthworms could be changed obviously on the level of physiology. That might affect the survival and growth capacity of earthworms, and changed population finally. In high petroleum contaminated soil (concentration of petroleum > 30 000 mg/kg) earthworms can only survive about 5 days. The results suggest that petroleum pollution has great poison to earthworms and can kill earthworms finally. Because pollutants make them dehydrate. Even on the low pollution level, the survival time of earthworm is still very short (3 d or so) in the treated petroleum-contaminated soil. Because after a petroleum ether-treated, the nutrients of soil are disposed with the oil, and the organic matter and other nutrients of the soil have a great impact on the survival of earthworms.

Key words: soil; petroleum contamination; toxicity analysis; remediation; crop; earthworms

石油是维持各国经济发展的主要能源,但在开采、运输和加工处理过程中,石油也造成了大面积的污染^[1],石油烃是一类普遍存在于环境中的优先有毒有机污染物,在环境中的持久性很强,危害性也较大,不仅具有强烈的致癌、致畸和致突变毒性^[2~5],还能通过食物链在动植物体内逐级富集和放大,进而对人体健康造成严重的威胁^[6~8]。石油烃由于不溶于水且难于降解,因此很难从土壤中去掉^[9,10]。

以高等植物种子发芽率进行土壤污染生态毒理效应研究,是从生态毒理学角度衡量土壤环境质量和土壤污染的重要方法。目前,污染土壤中种子的发芽

收稿日期:2010-03-30;修订日期:2010-08-30

基金项目:国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA061202)

作者简介:廉景燕(1960~),女,硕士,副教授,硕士生导师,主要研究方向为化工传质与分离、环境工程土壤修复, E-mail: swzy@tjut.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: suihong@tju.edu.cn

试验已得到广泛的应用^[11~15]。豆科及禾本植物物种繁多,对土壤环境反应各异,从中筛选出对污染土壤反应敏感的植物,则将为植物修复开辟一条新的途径^[16,17]。蚯蚓是土壤中生物量最大的动物类群之一,在维持土壤生态系统功能中起着不可替代的作用^[18]。同时,由于蚯蚓处于食物链的底端,与土壤中各种污染物密切接触,并且具有对毒物敏感、体型较大、分布广泛、易于养殖等特点,因此,常被视为土壤区系的代表类群而被用于指示、监测土壤污染^[19~22]。笔者针对我国油田区高浓度石油污染,选用3种豆科植物、3种禾本科植物和蚯蚓,以华北地区土壤为研究对象进行室内盆栽和蚯蚓培养实验,以期评价石油污染物修复前后对土壤生态环境影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

主要实验试剂:石油醚(分析纯)。实验用石油污染土壤采自油田区的典型高浓度石油污染土壤,石油污染物质量分数在10%~14%,研磨后过40目筛自然风干备用。实验用清洁土壤及原油均采自上述油田区。实验植物种子及动物均购于天津市花鸟鱼虫有限责任公司,包括蚕豆、黄豆^[23]、绿豆、水萝卜、玉米、白菜种子及蚯蚓。

1.2 实验方法

1.2.1 污染土壤的制备及植物盆栽实验

设置5个石油污染土壤污染水平:0、1 000、4 000、7 000、10 000 mg·kg⁻¹。将实验用清洁土壤风干,压碎过40目筛。按上述实验设计的污染水平加入原油,混合均匀,放置48 h使其与土壤充分混合,之后自然风干备用。

在室内环境中进行盆栽实验,光照时间:8 h,温度25℃。取40 g上述配置后的污染土壤装入花盆中,并浇水至70%花盆持水量下,平衡3 h后进行播种,播种量为蚕豆5粒,黄豆10粒,绿豆20粒,水萝卜10粒,玉米10粒,白菜20粒,播种后于种子上层盖上约

2~3 mm厚污染土壤。设置4组石油污染水平和一组清洁对照,每组处理重复2次,共68个处理。定期为植物补充水分(平均每2d浇水1次,5 mL/盆)。对未植物的对照土样进行同样的灌溉处理。每天定时记载,统计种子发芽数,并计算发芽率。

1.2.2 污染土壤的净化、制备及蚯蚓培养实验

将称量后的石油污染土壤放入1 000 mL大烧杯中,加入5倍于土壤质量的萃取剂石油醚。在室温下超声波洗涤1 h后,进行抽真空过滤。过滤后,将滤液中的石油醚进行回收,将滤饼即处理后污染土壤自然风干48 h得到洗涤1次土壤。对油田污染土进行6种不同程度的净化处理,洗涤次数分别为1、3、5、7、9、11次,之后分别测定其石油烃含量;并设置一组自然土作为对照组;每组放入5条蚯蚓,共计7组实验。

将清洁土壤与原油混合,按照1.2.1节所述方法制备污染土壤,设置6个石油污染水平:0、10 000、30 000、35 000、50 000和70 000 mg·kg⁻¹,其中0 mg·kg⁻¹为对照组,每组放入5条蚯蚓,共计7组实验。

取40 g污染土样装入花盆中,并浇水至30%花盆持水量下,平衡1 h后放入蚯蚓,每组放入5条蚯蚓,培养条件为:温度为20℃±1℃,湿度适中,黑暗环境。每天定时浇水保持土壤湿润。每天定时观察蚯蚓死亡数及中毒症状。蚯蚓对针刺无反应判为死亡。

2 结果与讨论

2.1 石油污染土壤对不同作物的影响

观察结果显示,不同植物种类之间对同一石油污染水平有不同的响应,表1列出了不同植物在石油污染胁迫下的种子发芽率。其中横向表示同一石油烃污染水平胁迫下植物种子的发芽率,纵向表示同一种类植物在不同石油烃污染水平胁迫下植物发芽率。将所测得的数据分别进行方差分析。发芽率以平均数±标准偏差表示。

表1 不同石油污染水平土壤栽培的豆科及禾本科种子发芽率

Table1 Result of legume and crop seed germination in various polluted concentration of petroleum						
土壤中石油污染物含量 / mg·kg ⁻¹	实验植物/%					
	蚕豆	黄豆	绿豆	水萝卜	玉米	白菜
0	100±0.00	75±35.36	95±0.00	35±7.07	90±14.10	57.5±10.61
1 000	90±14.14	75±7.07	94±10.61	35±7.07	75±7.07	52.5±3.54
4 000	80±14.14	70±0.00	94±3.54	30±7.07	70±14.10	50±7.07
7 000	80±0.00	55±7.07	93±0.00	20±28.28	70±14.10	50±7.07
10 000	70±14.14	40±28.28	92±0.00	15±21.21	65±7.07	30±14.14

从表 1 可以看出,6 种植物的种子发芽率随石油烃污染水平的增加呈现不同的变化趋势。在无污染对照处理中,由于植物种类的不同,其发芽率也会有所差异,蚕豆、绿豆、玉米的发芽率均在 90% 以上,其中蚕豆的发芽率最高,达到了 100%,黄豆、白菜的发芽率次之,分别为 75%、57.5%,而水萝卜的发芽率仅为 0%。当石油烃污染水平为4 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,与清洁土壤相比,6 种植物种子的发芽率下降了 0%~30%,当石油烃污染水平升高到10 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,其发芽率下降了 0%~35%。可见,特定污染水平下各实验植物种子的抑制率分布范围较广,不同植物种子对石油烃的耐性存在很大的差异性^[24]。

将生长于不同石油污染水平土壤的植物种子发芽率纵向对比可以得出,6 种植物的发芽率随石油烃

污染水平的增加而下降,受石油污染物影响较小的是绿豆,其在 5 个污染水平下发芽率的变化不是很大,与清洁土壤对照组发芽率相比,几乎没有受到影响;而其它植物种子都受到较为明显的抑制作用,其中黄豆在污染水平为 7 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 10 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的条件下,其发芽率相比清洁土壤分别下降了 20% 和 35%。说明在该污染水平范围内绿豆的耐受能力明显要高于其他植物,而黄豆对毒性最为敏感。

2.2 石油污染土壤对作物发芽时间的影响
观测结果表明各种植物种子萌发时间对石油烃污染暴露水平表现出不同的反应。图 1 列出了在不同水平石油污染胁迫下不同植物的种子的萌发时间。其中横向表示发芽时间,纵向表示发芽率。

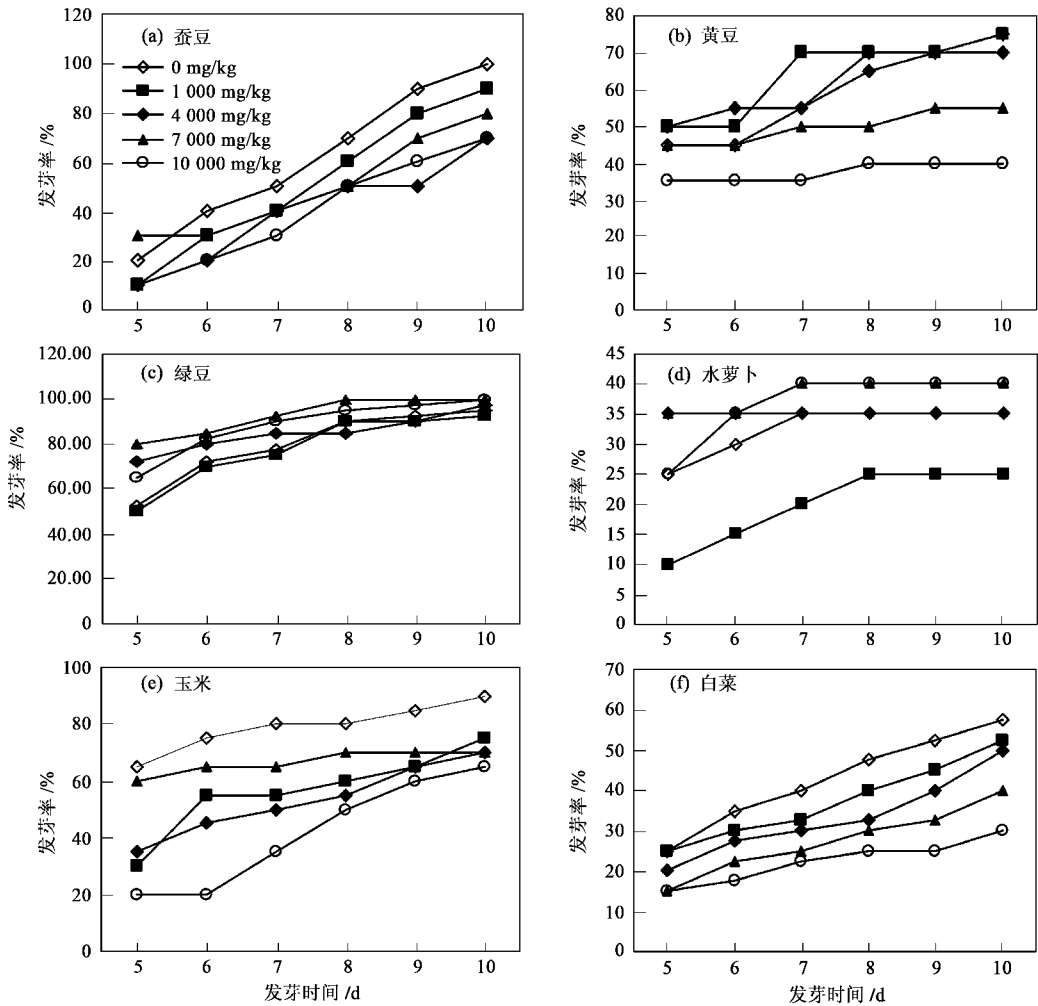


图 1 不同石油污染水平土壤对豆科及禾本科植物发芽时间的影响
Fig. 1 Influence of difference concentrations of petroleum hydrocarbons on the germination time of legume and crop compared with that in clean soil

由于植物种子的外壳结构能够有效阻止有毒物质的进入,因而土壤污染对种子发芽的毒害作用在一定范围内仅表现为部分抑制,只有在土壤受到严重污染时,植物种子发芽才会被完全抑制^[25]。白菜种子整个实验周期都表现为石油烃暴露水平越高,其种子萌发时间越长;玉米在实验开始的前 9 d 也表现为石油暴露水平越高,其萌发时间越长;其它则基本不受石油污染水平的制约。

由于石油污染胁迫,减慢了植物种子的萌发速率,进而延长了它们的萌发时间。特别值得注意的是,植物种子耐性不同,石油胁迫的影响程度表现为明显的差别。耐性较强的植物种子,其发芽速率和发芽时间基本不受污染胁迫的影响或影响较小;而对石油污染敏感的植物其种子的萌发受污染影响较大。如蚕豆在实验前期的发芽率不是很高,只有 10% ~ 30%,种子萌发受到了明显的抑制,而在实验后期发芽率逐渐上升,达到 60% ~ 80%,石油污染对其的抑制作用变得逐渐不明显。黄豆在实验前期的发芽率只有 30% ~ 50%,种子萌发受到了明显的抑制,而在

实验后期发芽率逐渐上升到 35% ~ 70%,同样石油污染对其的抑制作用变得逐渐不明显。而白菜在整个实验过程中种子的萌发受到的明显的抑制。在实验前期的发芽率只有 15% ~ 25%,种子萌发受到了明显的抑制,而在实验后期发芽率达到 22.5% ~ 47.5%,石油污染对其的抑制作用依然明显。

- 2.3 石油污染土壤对蚯蚓存活时间的影响
- 观察结果显示,蚯蚓存活时间存在明显梯度,存活时间随着石油污染水平的增加而显著下降,说明石油对蚯蚓的毒性较大。在配置的污染土中,蚯蚓的死亡时间与石油污染水平有关,在石油污染水平为 10 000 ~ 30 000 mg·kg⁻¹时,蚯蚓的耐性较强,可以存活 10 d 以上,而在石油污染水平为 30 000 mg·kg⁻¹以上时,蚯蚓的耐性降低,仅可以存活 5 d 左右。制备的不同水平石油污染土壤对蚯蚓存活时间影响见表 2。
- 2.4 修复的石油污染土壤对蚯蚓存活时间的影响
- 修复后的不同水平石油污染土壤对蚯蚓存活时间影响见表 3。

表 2 制备的不同石油污染水平土壤对蚯蚓存活时间的影响

Table 2 Influence of different concentration levels of petroleum on growing development of earthworms

石油污染水平/mg·kg ⁻¹	0	10 000	30 000	35 000	50 000	70 000	90 000
存活时间/d	15	13	10	7	6	5	5

表 3 净化后石油污染土壤对蚯蚓存活时间的影响

Table 3 Influence of different concentration levels of petroleum on growing development of earthworms

项目	洗涤次数						自然土
	1	3	5	7	9	11	
石油污染水平/mg·kg ⁻¹	29 800	2 200	1 350	560	230	30	0
存活时间/d	1	2	3	3	3	3	15

通过实验可以发现,蚯蚓在用石油醚处理过的污染土中的存活率均不高,生存时间明显小于在制备土壤中和清洁土壤中的生存时间;即使是在石油污染水平很低的情况下,存活时间依然很短,如:洗涤 11 次的污染土,石油污染水平仅为 30 mg·kg⁻¹,然而其存活时间为 3 d,远远小于对照组自然土中的存活时间 15 d。这说明石油醚在清洗石油的过程中同时也带走了蚯蚓生长发育所必需的营养物质,而营养物质对蚯蚓生长发育起着主导作用。

3 结论

(1)不同的作物种子对石油污染表现出不同的耐受性,其中受石油烃污染影响最严重的是黄豆、蚕豆、玉米。而绿豆在各组污染水平下均具有较高的

耐受性和种子发芽率,因此具有修复石油污染土壤的潜力。

(2)从制备的石油污染土壤中观察到的蚯蚓存活时间存在明显梯度,存活时间随着石油烃浓度的增加而显著下降,说明石油烃对蚯蚓的毒性较大;净化后的石油污染土,即使在污染水平很低的情况下,蚯蚓存活时间依然很短,说明经过石油醚处理过的土壤,其营养物质也随着石油而被处理掉,且土壤理化性质改变,包括土壤粒径分步、孔隙率、载水率等。

(3)土壤有机质等营养物对蚯蚓的生存具有很大影响,因此可以推断植物在修复后的土壤中的生存势必受到严重威胁,这为工业处理石油污染土壤后期提供一定科学参考。

参考文献：

[1] Huang X D, El-Alawi Y, Gurska J, *et al.* A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils [J]. *Microchemical Journal*, 2005, **81**(1):139-147.

[2] 岳战林, 蒋平安. 石油类污染物的特性及环境行为[J]. *石化技术与应用*, 2006, **24**(4):307-308.

[3] 张巍, 窦森. 石油污染土壤的生物修复技术[J]. *北方环境*, 2010, **22**(2):28-30.

[4] 张士萍, 郑广宏, 王磊. 石油污染的修复与处理技术[J]. *四川环境*, 2007, **26**(4):76-82.

[5] 常慧萍. 石油烃污染土壤的生物修复[J]. *生物学杂志*, 2008, **25**(1):55-56.

[6] 赵玉霞, 杨珂. 石油污染土壤修复技术研究综述[J]. *环境科技*, 2009, **22**(A01):60-63.

[7] 张学佳, 纪巍, 康志军, 等. 石油类污染物对土壤生态环境的危害[J]. *化工科技*, 2008, **16**(6):60-65.

[8] 马强, 张旭红, 林爱军, 等. 土壤石油烃污染的植物毒性及植物-微生物联合降解[J]. *环境工程学报*, 2009, **3**(3):544-548.

[9] Kottler B D, Alexander M. Relationship of properties of polycyclic aromatic hydrocarbons to sequestration in soil [J]. *Environmental Pollution*, 2001, **113**(3):293-298.

[10] 周启星, 宋玉芳. 污染土壤修复原理与方法[M]. 北京: 科学出版社, 2004. 22-42.

[11] Adam G, Duncan H. Influence of diesel fuel on seed germination [J]. *Environmental Pollution*, 2002, **120**(2):363-370.

[12] Smith M J, Flowers T H, Duncan H J, *et al.* Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues [J]. *Environmental Pollution*, 2006, **141**(3):519-525.

[13] Lin D H, Xing B S. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth [J]. *Environmental Pollution*, 2007, **150**(2):243-250.

[14] 张松林, 赵首彩, 顾娟. 土壤柴油污染对紫花苜蓿种子发芽率的影响[J]. *环境科学与技术*, 2002, **27**(5):88-90.

[15] Malallah G, Afzal M, Kurian M, *et al.* Impact of oil pollution on some desert plants [J]. *Environment International*, 1998, **24**(8):919-924.

[16] 刘家女, 周启星, 孙挺, 等. 花卉植物应用于污染土壤修复的可行性研究[J]. *应用生态学报*, 2007, **18**(7):1617-1623.

[17] 傅声雷. 土壤生物多样性的研究概况与发展趋势[J]. *生物多样性*, 2007, **15**(2):109-115.

[18] 王邵军, 阮宏华. 土壤生物对地上生物的反馈作用及其机制[J]. *生物多样性*, 2008, **16**(4):407-416.

[19] 秦文弟. 应用土壤生物监测复合污染对土壤的交互作用[J]. *安徽农业科学*, 2008, **36**(5):1952-1954, 1985.

[20] 李典友. 蚯蚓的生物学特性及其对土壤环境质量的指示和改造作用[J]. *现代农业科学*, 2008, **15**(5):36-37.

[21] 张广柱, 杨蕾, 王繁业. 蚯蚓对污染土壤的生物修复研究进展[J]. *化工科技市场*, 2009, **32**(3):27-30.

[22] 卜元卿, 骆永明, 滕应, 等. 铜暴露下赤子爱胜蚓 (*Eisenia foetida*) 活体基因的损伤研究[J]. *生态毒理学报*, 2006, **1**(3):228-235.

[23] 李春荣, 王文科, 曹玉清. 石油污染土壤对黄豆生长的影响[J]. *安全与环境学报*, 2007, **7**(4):28-30.

[24] 孙清, 陆秀君, 梁成华. 土壤的石油污染研究进展[J]. *沈阳农业大学学报*, 2002, **35**(5):390-393.

[25] 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.