

黄河水体石油类污染物生物降解模拟实验研究

夏星辉, 周劲松, 余晖, 杨志峰

(北京师范大学环境科学研究所 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100875)

摘要: 采用模拟实验的方法研究了自然条件下石油类污染物的生物降解规律. 结果表明, 向泥沙含量为 0 g/L 或 0.5 g/L 的黄河水样中加入大约 10 mg/L 的石油类污染物, 经过一星期左右的驯化期后, 石油降解菌菌落水平逐步升高; 当石油类污染物的初始浓度为 11.64 mg/L, 温度为 20℃ 时, 泥沙含量为 0.5 g/L 的黄河水样中大约 85% 的石油类污染物在 63 d 内能得到微生物降解; 水体中泥沙的含量和石油类污染物的初始浓度均显著影响石油类污染物的生物降解速率, 且在不同时段的影响不一; 水体中泥沙的存在亦影响到石油类污染物的生物降解动力学.

关键词: 石油类污染物; 生物降解; 水体颗粒物; 黄河

中图分类号: X143 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)01-0103-04

Simulation of Biodegradation of Petroleum Contaminants in Natural Waters of the Yellow River

XIA Xing-hui, ZHOU Jing-song, YU Hui, YANG Zhi-feng

(State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Institute of Environmental Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: Petroleum contaminants is one of the major pollutants in the Yellow River. Laboratory simulation experiments were carried out to study the natural biodegradation of the petroleum contaminants. When adding 10 mg/L petroleum contaminants to the Yellow River water samples containing 0 or 0.5 g/L sediment, the petroleum contaminants-degrading bacteria increased gradually after about one week of acclimatization. With the sediment content of 0.5 g/L, about 85% petroleum contaminants with the initial concentration of 11.64 mg/L in river water could be degraded within 63 days at 20℃. The biodegradation rate was greatly influenced by the sediment content and the initial concentration of petroleum contaminants, and such effect was different from one degradation stage to another. In addition, the existence of sediment affected the biodegradation kinetics of petroleum contaminants.

Key words: petroleum contaminants; biodegradation; sediment; Yellow River

石油类污染物是黄河水体的主要污染物之一, 根据 1999 年国家环保局在黄河干支流水体上设置的有石油类污染物监测项的 111 个水质监测站点的监测年均值来看, 黄河干流石油类污染物浓度变化范围在 0.025 mg/L ~ 21.50 mg/L 之间, 111 个水质监测站点中有 88 个站点的石油类污染物的浓度超过地表水水质三级标准(0.05 mg/L). 这些排入水体的石油类污染物对水生生态环境的影响与其自然生物降解规律密切相关.

目前, 有关石油类污染物自然生物降解规律的研究多集中在海洋环境^[1], 土壤环境和地下水环境中^[2,3], 对河流等地表水体中石油类污染物自然生物降解规律的研究甚少. 本文采用模拟实验的方法, 研究自然条件下黄河水体石油类污染物的生物降解规律, 探讨生物降解速率与石油降解菌生长速率之间的关系, 以及石油类污染物初始浓度对降解速率的影响. 为合理制定排污政策, 确定环境容量, 预测环境恢复程度提供理论依据.

1 研究方法

1.1 样品采集

兰州段是黄河石油类污染物的重要排放源之一, 因此本研究采集黄河干流兰州段排放的含石油类污染物的废水, 提取石油类污染物进行生物降解实验. 同时采集黄河干流包兰桥的水样和沉积物样品, 作为介质进行生物降解实验. 共采样 3 次, 时间分别为 2001-04-03, 2001-12-16 和 2002-04-13, 样品采回后, 立即进行模拟实验.

1.2 标准油的制备

用二氯甲烷试剂萃取石化废水中的石油类污染物, 制备原始标准油溶液; 以原始标准油溶液为基础, 在 60℃ 下蒸除二氯甲烷溶剂, 再在 100℃ 下挥发

收稿日期: 2003-01-11; 修订日期: 2003-06-05

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(G1999043605); 国家自然科学基金项目(40201046); 国家自然科学基金委员会, 水利部黄河水利委员会联合研究基金项目(50239010)

作者简介: 夏星辉(1971~), 博士, 副教授, 主要研究方向为水环境化学.

48 h,除掉石油类污染物中易挥发的物质,制得无挥发性的标准油溶液.

1.3 实验设计

将石油类污染物加入到一系列装有 100 mL 河水水样的烧杯中,配制成具有一定初始浓度的溶液,并加入一定量的泥沙,烧杯口覆盖 8 层纱布,以防止外界细菌的进入,在恒温(20 ℃)振荡培养箱中培养,振荡频率为 150 次/min,每间隔一定时间取出烧杯测定石油类污染物的总量、在各相的浓度和石油降解菌的数量.在高温灭菌的培养介质中加入 1 mL HgCl₂ 溶液进行对照实验,确定石油类污染物的生物降解速率.所有样品都设计了平行实验.

1.4 分析方法

采用荧光光度法测定水相和固相上的石油类污染物,所用测量仪器为日立 F-4010 型荧光分光光度计(HITACHI Fluorescence Spectrophotometer).标准回收实验表明,水相石油类污染物的回收率为 98.5%,固相石油类污染物的回收率为 97.8%,符合实验室质量控制标准.

采用高压液相色谱法测定兰州石化废水中石油类污染物的多环芳烃(PAH)组成,所用仪器为惠普 1100 型高压液相色谱仪,色谱柱类型为 C¹⁸ 反相高压液相色谱柱,流动相组成为 95% 的甲醇和 5% 的水,柱温为 24 ℃,采用荧光和紫外检测器进行检测,用外标法对 PAH 进行定量研究.

本研究采用气质联用测定石油类污染物的烃类组成,所用测量仪器:Trace 2000 Series GC,柱型为 CP-sil 5 CB(25 m×0.53 mm×1.00 μm),进样口温度为 250 ℃;起始柱温为 60 ℃,升温速度为 5 ℃/min,最后柱温为 250 ℃;检测器温度为 250 ℃.

沉积物粒径组成分析方法为比重计法;土壤有机质分析实验方法为高温外热重铬酸钾法(即电热板-重铬酸钾法)

石油降解菌菌落水平采用平板混匀法测定^[4],以石蜡油为碳源.

2 结果与讨论

2.1 石油类污染物自然生物降解模拟系统特征分析

2.1.1 石油类污染物组分分析

(1)石油类污染物中多环芳烃的组成 对兰州石化废水进行高压液相色谱分析,检出的多环芳烃(PAH)组分为:萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、芘、䓛、茚并(1,2,3-cd)芘、荧蒽、苯并(a)蒽、苯并(b)荧蒽、苯并

(k)荧蒽、苯并(a)芘、二苯并(a,h)蒽和苯并(ghi)䓛共 16 种物质,PAH 在石化废水中的含量大约为 32.14 μg/L.而在 1 L 石化废水中,石油类污染物的总量约为 300 mg 或者更高,由此可见 PAH 物质在兰州石化废水石油类污染物中的比重较轻.

(2)石油类污染物中烷烃的组成 如表 1 所示,兰州石化废水中烷烃的主要组成有 19 种,包括正十二烷到正二十四烷间不同分子量、不同碳链长度的烷烃.石油类污染物中无挥发性组分占总油的质量分数为 58.82%.根据对无挥发性石油类污染物(经挥发实验处理过的石油类污染物)的气质谱联用实验分析和气相色谱分析,可知主链碳原子数小于 16 的组分均已挥发殆尽.

表 1 石油类污染物中烷烃的相对丰度

Table 1 The alkane contents of petroleum contaminants	
烷烃组分名称	丰度/ %
正十二烷	1.51
2,6-二甲基十一烷	1.911
7-甲基十三烷	4.15
正十四烷	3.23
2,6,10-三甲基十二烷	6.53
2,6,10-三甲基十三烷	5.50
2,6,10-三甲基十四烷	1.68
正十五烷	8.78
正十六烷	7.79
2,6,10-三甲基十五烷	6.54
正十七烷	7.61
2,6,10,14-四甲基十五烷	8.82
正十八烷	6.56
2,6,10,14-四甲基十六烷	11.66
正十九烷	5.82
正二十烷	4.75
正二十一烷	3.42
正二十二烷	2.37
正二十四烷	1.35

2.1.2 模拟实验所用河水特性和泥沙样品理化特征分析

用于模拟实验的包兰桥河水的化学组成如表 2 所示.泥沙粒径组成分析结果见表 3,泥沙粒径较大,根据国际制土壤质地分类法,可判定该泥沙属砂土类的紧砂土,其具体特性大致如下:比表面积较小(即相同质量的砂壤土的总表面积比壤土、粘土的小);紧密性较差;大孔隙较多;通透性强.泥沙样品中有机质含量为 0.8%,相对含量较低.

2.2 石油类污染物生物降解效率分析

当石油类污染物的初始浓度为 11.64 mg/L,如表 4 所示,体系泥沙含量不同时,其降解效率亦不同.当泥沙含量分别为 0g/L、0.5g/L 和 2.0g/L 时,

表 2 包兰桥河水化学组成成分

Table 2 Chemical composition of river water at Baolanqiao

离子种类	浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	离子种类	浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
溶解氧	8.8	$\text{K}^{+} + \text{Na}^{+}$	31.6
NH_3^{+}N	0.61	Cl^{-}	25.49
NO_2^{-}N	0.029	SO_4^{2-}	53.61
NO_3^{-}N	1.5	HCO_3^{-}	178.71
Ca^{2+}	49.45	离子总量	362.09
Mg^{2+}	15.74	pH	8.2

表 3 泥沙粒径组成分析

Table 3 Distribution of the sediment size

粒径组成	质量分数/ %	粒径组成	质量分数/ %
$> 0.25\text{ mm}$	51.3	$0.01 \sim 0.005\text{ mm}$	1.0
$0.25 \sim 0.05\text{ mm}$	42.3	$0.005 \sim 0.001\text{ mm}$	1.0
$0.05 \sim 0.01\text{ mm}$	4.0	$< 0.001\text{ mm}$	0.4

在降解的第 1 阶段,随着泥沙含量的升高,石油类污染物的降解效率有增加的趋势,如在 21 d 内的降解效率分别为 36.5 %、29.7 %和 48.4 %;在降解的第 2 阶段,随着泥沙含量的升高,石油类污染物的降解效率有降低的趋势,如在 41 d 内的降解效率分别为 73.2 %、71.6 %和 57.5 %;在降解的第 3 阶段,随着泥沙含量的升高,石油类污染物的降解效率有增加的趋势,如在 63 d 内的降解效率分别为 80.2 %、84.2 %和 91.4 %。泥沙的存在将影响石油类污染物在固-液两相的分配和影响石油降解菌的增长速率,另外,石油类污染物在固液两相的降解过程也不同,有关泥沙对石油类污染物降解效率的影响机理见文献[5]。

表 4 石油类污染物生物降解效率¹⁾/ %

Table 4 Biodegradation efficiency of petroleum contaminants/ %

培养时间/ d	泥沙含量/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		
	0	0.5	2.0
21	36.5	29.7	48.4
41	73.2	71.6	57.5
63	80.2	84.2	91.4

1) $c_0 = 11.64\text{ mg/L}$

2.3 石油类污染物生物降解与微生物菌落水平的关系

由图 1 可见:当体系泥沙含量为 0.5 g/L 和石油类污染物初始浓度为 11.64 mg/L 时,石油降解菌经过一星期左右的驯化期后,随着石油降解菌菌落水平的升高,石油类污染物的含量逐渐降低;在不含泥沙颗粒物的模拟系统中,亦存在上述变化趋势。但当泥沙含量为 2 g/L 时,石油降解菌几乎不存在驯化期。就泥沙含量为 0.5 g/L 的降解系统而言,在

降解的初期(第 1 周、第 2 周),石油类污染物降解速度较低,这种现象是由于较高浓度的石油类污染物本身对微生物的抑制作用所造成的。在第 3 周、第 4 周内降解速度加快,如经过 4 周左右的恒温培养,石油类污染物浓度可大致下降一半,这是由于石油类污染物本身浓度的降低和对微生物的驯化过程已经在前 2 周完成,在这一时间段内,石油降解菌菌落水平的提高,导致石油类污染物的降解过程相应加速。第 6 周以后石油类污染物降解速度有放慢的趋势,此时石油降解菌菌落水平虽然仍保持在一个相当高的水平上,但由于石油类污染物浓度的降低,致使其降解速度逐步减慢。到第 9 周左右,污染物浓度可降低约 80 %。

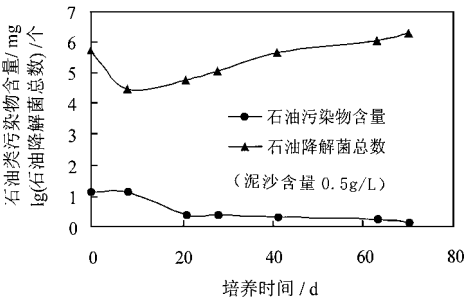


图 1 生物降解过程中石油类污染物含量与石油降解菌总数的关系
Fig.1 Relationship between petroleum contaminant content and bacteria number(with the sediment content of 0.5 g/L)

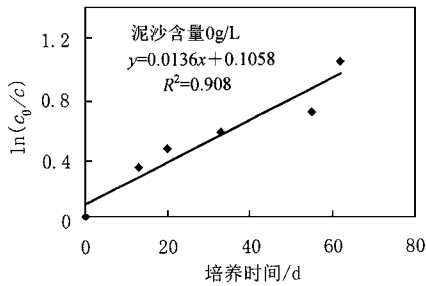
2.4 石油类污染物生物降解动力学

对石油类污染物的浓度变化进行幂指数动力学拟合^[4],发现当体系中泥沙含量为 0 g/L 时,去掉其驯化期,石油类污染物的生物降解遵循一级动力学规律(图 2)。当体系中泥沙含量为 2 g/L 时,石油类污染物的生物降解遵循 3/4 级动力学规律(图 2)。表明泥沙的存在影响到石油类污染物的生物降解动力学过程。

2.5 石油类污染物初始浓度对其生物降解效率的影响

由表 5 可见,当体系泥沙含量为 0.5 g/L 时,不同初始浓度的石油类污染物在不同时间段里的降解效率有较明显的差异。在生物降解的前 50 d 左右这段时间内,石油类污染物初始浓度为 200 mg/L 的系统仅降解了约 40 %的污染物质,而石油类污染物初始浓度为 11.64 mg/L 的系统已降解了约 85 %的污染物。但在整个 80 d 左右的降解时间段内,污染物初始浓度高的系统降解了约 96 %的污染物,污染物初始浓度低的系统降解了约 94 %的污染物,两者相差不大。如果以最后 30 d 的降解过程来看,石油类污染

物初始浓度高的系统降解了约 55 % 的污染物,而初始浓度低的系统仅降解了约 9 % 的污染物,前者显



著大于后者。
在最初培养阶段,加入水体中的石油类污染物

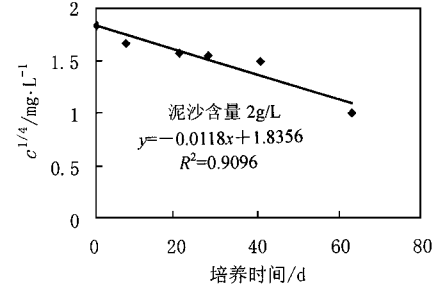


图 2 不同含沙量情况下石油类污染物的生物降解动力学

Fig.2 Biodegradation kinetics of petroleum contaminants under different sediment content

表 5 不同初始浓度石油类污染物的生物降解效率对照

Table 5 Influence of the initial concentration of petroleum contaminants on the biodegradation efficiency

降解时间 / d	项目	初始浓度	初始浓度
		(200 mg·L ⁻¹)	(11.64 mg·L ⁻¹)
55	剩余含量/ mg·L ⁻¹	119.8	1.55
	降解百分率/ %	40.1	85.4
85	剩余含量/ mg·L ⁻¹	6.98	0.62
	降解百分率/ %	96.5	94.2

由于其生物毒性作用对污染物的降解有明显的抑制作用^[7],加入的量越多,抑制作用愈明显^[8].因此,在降解的起始阶段,初始浓度为 200 mg/ L 的石油类污染物的降解速率小于初始浓度为 11.64 mg/ L 的石油类污染物;但当生物驯化阶段完成后,由于加入的石油类污染物的量直接影响到降解生物的种群增长上限,加入的污染物越多,种群增长上限越高^[9],从而使加入石油类污染物量较多的系统在降解的后阶段中表现出较高的降解效率.

3 结论

向泥沙含量为 0g/ L 或 0.5g/ L 的黄河水样中加入大约 10 mg/ L 的石油类污染物,经过一星期左右的驯化期后,石油降解菌菌落水平逐步升高,与此同时,石油类污染物的浓度逐渐降低.当石油类污染物的初始浓度为 11.64 mg/ L,培养温度为 20℃时,泥沙含量为 0.5g/ L 的黄河水样中大约 85 % 的石油类污染物在 63d 内能得到生物降解.体系中泥沙的存在显著影响石油类污染物的生物降解速率,且在

不同时段的影响不一.当体系中不存在泥沙时,去掉驯化期后,石油类污染物的生物降解可用一级动力学拟合,而当体系中泥沙含量为 2g/ L 时,石油类污染物的生物降解可用 3/4 级动力学拟合.石油类污染物的初始浓度影响其生物降解效率,初始浓度小的在前期降解相对较快,而在后期降解相对较慢.

参考文献:

[1] Dutta T K, Harayama Shigeaki. Fate of crude oil by the combination of photooxidation and biodegradation[J]. Environmental Science & Technology, 2000, 34(8): 1500 ~ 1505.

[2] Levine A D, Libelo E L, Bugna G, et al. Biogeochemical assessment of natural attenuation of JP-4 contaminated ground water in the presence of fluorinated surfactants[J]. The Science of the Total Environment, 1997, 208(3): 179 ~ 195.

[3] Stapleton R D, Asyler G S, Boggs M J, et al. Changes in subsurface catabolic gene frequencies during natural attenuation of petroleum hydrocarbons[J]. Environ. Sci. Technol., 2000, 34(10): 1991 ~ 1999.

[4] 王家玲.环境微生物学实验[M].北京:高等教育出版社, 1988. 67 ~ 69, 131 ~ 134.

[5] 夏星辉,周劲松,余晖,等.黄河水体颗粒物对石油类污染物生物降解过程的影响研究[J].环境科学学报, 2003, 23(5): 603 ~ 607.

[6] 金志刚,张彤,朱怀兰.污染物生物降解[M].上海:华东理工大学出版社, 1997. 55 ~ 63.

[7] 王家玲,臧向莹,王志通.环境微生物学[M].北京:高等教育出版社, 1988. 95 ~ 99.

[8] 童智尤,周集体,陈毓琛.有机污染物在大连近海海水中生物降解速度的研究[M].环境科学, 1997, 18(4): 41 ~ 44.

[9] 孙儒泳,李博,诸葛阳,等.普通生态学[M].北京:高等教育出版社, 1993. 52 ~ 74.