

油污土微生态环境非生物因子与微生物活性关系

贾建丽, 李广贺, 钟毅

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084, E-mail: jiajianli@mails.tsinghua.edu.cn)

摘要: 油污土微生态环境的非生物因子通过改变降解优势菌的含量及活性最终影响石油烃的生物降解速率及模式。本研究通过对我国北方部分油田和石油化工区的取样分析, 揭示油污土微生态环境的非生物因子与微生物活性的关系, 研究影响微生物活性和石油烃降解效率的环境及污染物等非生物因子。结果表明, 我国北方油田区及石油化工区土壤受到了不同程度的石油烃污染, 石油烃含量最高可达 34 000 mg/kg 干土。柱层析分析结果表明, 污染物中烷烃、芳烃等轻质组分含量超过 50%, 有利于微生物活性的提高。油田区土壤的 pH 值一般在 7.8 以上, 不利于石油烃降解微生物生长代谢; 油污土的营养水平普遍较低, 如可被生物利用的速效氮含量低于 30 mg/kg 干土, 速效磷含量低于 10 mg/kg 干土, 仅占土壤总氮、总磷的 5% 左右, 远远达不到石油烃生物降解所需的营养水平 (C:N:P=100:10:1)。毫无疑问, 调节土壤 pH 值, 增加对营养水平等非生物因子的调控对于提高微生物活性, 加快石油烃的降解有重要的意义。

关键词: 油污土; 微生态环境; 微生物活性; 非生物学因子

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)03-0110-05

The Relationship Between Abiotic Factors and Microbial Activities of Microbial Eco-system in Contaminated Soil with Petroleum Hydrocarbons

JIA Jian-li, LI Guang-he, ZHONG Yi

(Department of Environmental Science and Technology, Tsinghua University, Beijing 100084, China E-mail: jiajianli@mails.tsinghua.edu.cn)

Abstract: By means of the biostimulation and bioaugmentation in the microecological environment of contaminated soil with petrochemical hydrocarbons, the biodegradation rates and mode of the contaminants were significantly improved. Based on the investigations carried out in some oilfields and petrochemical industrial area of Northern China, the relationship between the abiotic factors such as nutrient, pH, contaminants, water content, alkalinity, etc., and microbial activities was interpreted and identified in this paper. The results from the investigations and indoor and in situ experiments conducted recent years indicated that the soils in the areas, to the extent, have been polluted by the different kinds of organic compounds composed of monoaromatic benzene, PAHs, chlorinated solvent, and alkanes, and the concentrations of the compounds mostly were elevated as compared to the background, with the highest 34 000 mg/kg dry soil. The column chromatography analysis results showed that the alkyl and aromatic compounds were accounted for more than 50% of the total hydrocarbon contents, which was readily degraded by degrading bacteria and improved the degrading microbe activities. The effective nitrogen and phosphorus encountered in the soil was less than 30 mg/kg dry soil and 10 mg/kg dry soil, only about 5% of total contents of them respectively. Based on the stoichiometric calculation and reasonable ratio of carbon to nutrient content regarding the biodegradation of organic compounds, the nutrient levels mainly composed of nitrogen and phosphorus in polluted soil as importantly limiting factors to degrading bacterial growth and activity were insufficient to the biodegradation of petrochemicals, and it is needed to add the nutrient for the bioremediation of contaminated soil. It is undoubted that the optimization of abiotic factors play significant role in increasing the microbial activity and improving the biodegradation rates.

Key words: contaminated soil with petroleum hydrocarbons; microbial eco-system; microbial activity; abiotic factors

油污土微生态环境是指以微生物为主体生物和非生物因子构成的复合系统, 其主要特性是在微生物群落主导下的非生物因子与生物因子间的相互作用与相互依存关系。在污染土壤生物修复过程中, 微生态环境作为微生物降解的非限定性因子制约着石油烃污染物的生物降解速率和降解动力学特性。在石油污染土壤治理技术发展过程中, 油污土的微生物生态环境研究受到广泛关注^[1~3], 但目前对油污土微生态环境的研究尚处于起步阶段。在以前的研究中, 研究者主要针对土壤组成及一些环境因子对

生物修复技术的影响进行了探讨, 优化出了如土层温度、含氧量、有效营养水平、合适的电子供受体等参数^[4,5]。但是, 对于油污土微生态环境对生物修复效率及过程的影响、作用途径等尚缺乏全面、准确的研究与认识, 如: 微生态环境非生物因子与微生物活性的关系、土壤介质中的传质作用及其对微生物活

收稿日期: 2003-07-19; 修订日期: 2003-09-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (40202025)

作者简介: 贾建丽 (1977~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为石油烃污染土壤的生物修复。

性的影响等方面的研究还很少.因此,研究石油烃生物降解过程中的油污土微生态环境,探讨提高微生物活性的机制,为除油微生物的生长代谢创造优化的土壤环境对提高油污土生物修复效率具有重要的意义.本研究通过国内北方部分油田和石油化工区的调研取样,对土壤微生物数量、活性、石油烃含量及特性和土壤环境因素等油污土微生态环境构成要素进行测定与分析,揭示微生态环境非生物因子与微生物活性之间的关系,探讨油污土壤的生物可降解性.

1 实验与方法

1.1 超声波加索氏抽提法测定土样含油率

土样的含油率以超声波加索氏抽提法测定.称取 2g 土样,加入适量无水硫酸镁脱水,加入 50 mL 三氯甲烷,超声波萃取 30 min.将上述混合物转移至索氏抽提器中,于 75℃水浴中抽提 6~8 h 至抽提筒中三氯甲烷无色.于 60℃烘箱中挥去三氯甲烷,冷却称重.以抽提前后的重量差来计算单位土样的含油率.

1.2 MPN 三管法测定土样微生物数量

土样的微生物数量以 MPN 三管法测定^[6].其中土壤样品的总微生物数量以牛肉蛋白胨为培养基 37℃培养 72 h 测定,除油微生物以液体石蜡为碳源 37℃培养 168 h 测定.

1.3 土样 FDA 活性测定

以 FDA(荧光素双醋酸酯)法测定了土样的 FDA 活性.称取 2g 土样,放入 50 mL 灭菌后 pH=7 的磷酸缓冲液中,于 30℃、200 r/min 的摇床中分散 15 min,之后加入 2 mg/mL 的 FDA 溶液 1 mL,于摇床中显色 1.75 h.于 490 nm 波长处测定吸光度 abs,计算单位重量土样的 FDA 活性.

1.4 土样柱层析分析

根据中华人民共和国石油天然气行业标准 SY/T5119-1995:《原油族组分柱层析分析方法》^[7],对土样的烷烃、芳烃、胶质及沥青的百分含量进行柱层析测定.

1.5 土样 GC-MS 分析

以 HP 5890 II GC-5922 MSD 对以 1.1 中所述方法抽提的石油烃进行了 GC-MS 分析.工作条件及升温程序为:初始温度 100℃,保温 3 min,10℃/min 升温至 250℃,再以 5℃/min 升温至 280℃.

1.6 土样基本性质测定

土样的基本性质测定参照土壤农业化学分析方

法^[8].其中土样 pH 值测定采用电位法,溶液为 pH=6 的 0.01 mol/L CaCl₂,水土比为 2.5:1.有机质测定采用低温外热重铬酸钾氧化-比色法.土样总氮含量以开氏消煮法测定,速效氮测定采用 MgO-代氏合金蒸馏法,总磷测定采用钼锑抗比色法,速效磷测定采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法.

2 结果与讨论

2.1 土壤污染水平与微生物活性

2.1.1 土壤石油烃含量与微生物活性关系

对我国北方部分油田和石油化工区污染土壤的含油率测定(如表 1 所示).由表 1 可知,几大油田及石油化工区土壤均受到了不同程度的石油烃污染,其石油烃含量远远高于各油田背景值水平.

从不同油田及石油化工区的土样含油率比较来看,1 号油田土壤含油率普遍比其它油田要低,石油化工废水造成的 4 号石油化工区土壤污染严重,含油量高,严重影响了土层的理化及功能特性,作为直接和间接污染导致地下水中石油烃含量的大量积累.在各油田中,采油井含油率有从井口向外递减的辐射趋势,在 2 号油田中,采油井井口土样的含油率达 20 539 mg/kg 干土,而距井口 1 m 的土样其含油率则降到了 11 354 mg/kg 干土,距井口 15 m 的土壤含油率为 10 728 mg/kg 干土.由于油类物质较轻,主要集中在表层土壤中,各油田表层土壤的含油率可达下层的 10 倍.

表 1 油田土壤的油类背景值与监测值比较¹⁾/mg·kg⁻¹

Table 1 The background and measured value of oil in some oil field soil / mg·kg⁻¹

油类数值	1 号油田	2 号油田	3 号油田	4 号石油化工区
背景值	48.36	35.19	40.6	
监测值	4 774	20 539	21 730	34 000

1)表中油田土壤油类背景值为中国石油天然气股份有限公司环境监测总站监测结果

同时进行了不同油田土样微生物数量及 FDA 活性的测定,结果以 MPN 数值取对数与 FDA 吸光度作图如图 1.

由图 1 可知,3 大油田不同污染程度的石油烃污染土壤中含有不同数量的微生物,其活性也表现出了与数量较好的相关性,即微生物数量多的土样其活性也高.但比较 4 号石油化工区可知,其土壤微生物的数量最多,FDA 活性却有所下降,这可能是由于石油化工区与油田区的油污土微生态环境差异

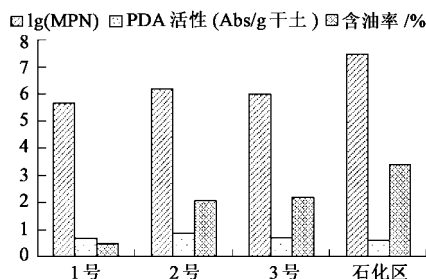


图1 不同油田及石油化工区土壤含油率与微生物数量及 FDA 活性比较

Fig.1 The microbial amount, activity oil content and in oil polluted soil

(其在环境因子如 pH 值、营养水平等方面的差异见 2.2) 及因此可能导致的土壤微生物种类及形态有所不同所致。对油污土的除油微生物进行富集与筛选, 辅以优化的生态环境将有利于生物修复的开展。

研究表明^[9], 一定量的石油烃会对微生物的生长产生刺激作用, 同时在污染物的诱导下会产生微生物的种类选择和优势菌的富集, 但当污染物含量超过一定范围时, 又会产生毒性而抑制微生物的活性。在石油化工废水严重污染的淄河滩, 其土壤中微生物以杆菌和球菌为主。向土壤中加入富集的上述微生物, 并优化油污土的微生物生态环境, 提高土壤除油微生物数量至 10^8 个/g 干土时, 土壤中石油烃污染物的半衰期与自然降解相比下降至几十分之一。

2.1.2 石油烃构成特性与微生物活性关系

对 2 号油田的新污染土壤和经过一年自然降解土壤样品提取的石油烃分别进行了柱层析分离, 结果如图 2 所示, 与之对应的油污土样品微生物数量及 FDA 活性如图 3。

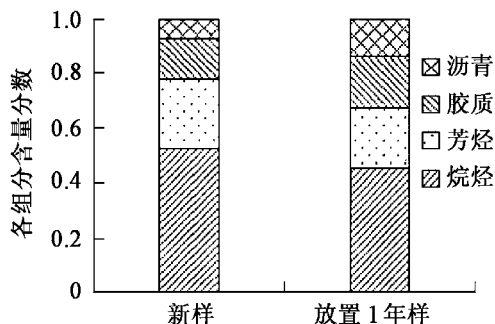


图2 2号油田油污土壤柱层析结果

Fig.2 The column chromatography analysis of oil contaminated soil in No. 2 oil field

由图 2 可见经过一年的自然衰减, 土壤中的烷

烃和芳烃等轻质组分百分含量降低, 胶质和沥青等重质组分百分含量升高, 但仍以轻质组分为主。也就是说经过一年的自然降解, 石油烃中的轻质组份得到更多的去除。由图 3 可知, 新污染土壤样品中, 好氧菌的数量比除油菌高近 4 个数量级, 而经过一年的驯化与适应, 土壤中的微生物对油污土的微生态环境有了更好的适应, 基本上以除油微生物为主, 微生物活性也有一定提高。但在石油烃的降解过程中, 由于有效氮、磷等营养的消耗, 微生物不易利用和毒性较高的重质组分百分含量增加等, 使油污土的微生态环境不利于石油烃的生物降解。

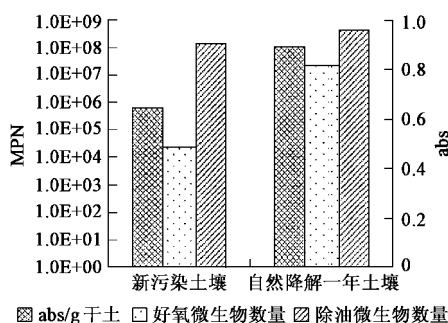


图3 2号油田油污土微生物数量与其 FDA 活性

Fig.3 The microbe amount and microbial activity in No. 2 oil field

同时对其中较为典型的 2 号油田油污土提取的石油烃进行了 GC-MS 分析。由图 4 可知, 2 号油田油污土壤石油烃类以烷烃等易降解组分为主, 有利于生物修复的开展, 可作为进一步的生物治理与净化工艺的选择基础与依据。同样其它油田油污土的分析也可得出类似的规律。由此可见, 我国的石油烃污染土壤中均含有一定数量与活性的除油微生物, 其石油烃含量水平与组成特性均有一定的生物降解性, 改善油污土的微生态环境非生物因子, 可取得较为理想的生物治理效果。

2.2 其他非生物学因子对微生物活性的影响

对油污土样品进行分析测定, 以考察环境因素对除油微生物活性的影响, 并试图给出较优的油污土微生态环境条件。主要测定与分析数据包括油污土的理化性质与有机质、营养水平等, 分析结果见表 2 至表 3。

从 3 大油田的 pH 值数据和可溶盐含量可知, 其土壤基本上都属于盐碱土, 对微生物的生长有一定的抑制作用。研究表明, 石油烃降解微生物生长代谢的最佳 pH 值约为 7.5 ~ 7.8^[12], 因此选用上述土

壤进行残油的生物降解研究要调节土壤的 pH 值，为微生物的生长代谢创造有利的环境。

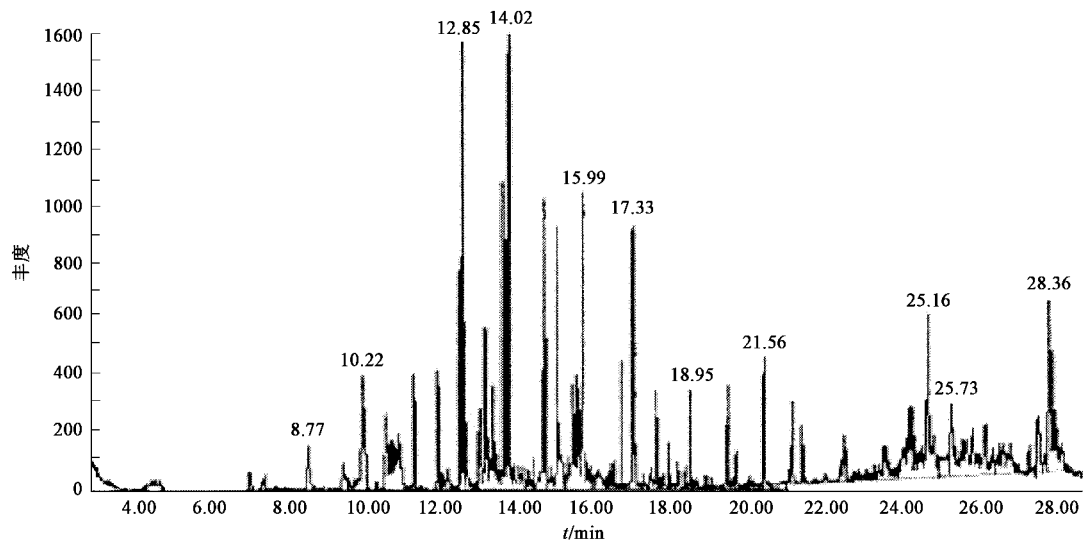


图 4 2 号油田油泥沙石油污染物 GC/ MS 检测图谱
Fig.4 GC/ MS of oil hydrocarbon in No. 2 oil field

表 2 不同油田土样基本性质			
Table 2 The soil properties of differential oil fields			
土样	含水率/ %	pH 值	有机质/ g·kg ⁻¹
1 号油田	18.7	8.51	14.6
2 号油田	12.95	7.96	23.9
3 号油田	39.61	7.82	37.1
4 号石油化工区	12.8	6.83	-

由 3 大油田的营养元素含量可知油污土的营养水平很低,其可供微生物生长利用的 3 大营养元素(氮、磷、钾)的速效量仅为其总量的 5 %左右,远远

达不到石油烃生物降解所需的营养水平(C: N: P = 100: 10: 1).这可能是因为由于生物降解或水土流失油污土中可被微生物利用的营养物已经非常之少,这时营养组分就会成为石油烃生物降解的限制性因素.因此在石油烃生物降解过程中,投加适量的营养物会促进微生物的生长,提高污染物的降解效率.

与油田区相比较,4 号石油化工区的油污土基本上为中性土壤,营养水平也比油田区高近十倍,因此可为微生物生长提供相对较优的环境条件.但要达到石油烃生物降解较优的微生态环境还需进一步提高营养水平,改善微生物的生长环境.

表 3 不同油田土样有机质含量与营养物含量						
Table 3 The organic and nutrient content in differential oil contaminated soil						
土样	总 N/ g·kg ⁻¹	总 P/ g·kg ⁻¹	总 K/ g·kg ⁻¹	速效 N/ mg·kg ⁻¹	速效 P/ mg·kg ⁻¹	速效 K/ mg·kg ⁻¹
1 号油田	0.62	0.1985	19.662	27.857	9.60	57.233
2 号油田	0.97	0.4366	15.03	12.857	3.84	178.74
3 号油田	0.49	0.5185	17.812	12.857	7.29	453.46
4 号石油化工区	3.7	3.28		43.6	56.8	

在本研究中,各油田及石油化工区的气候、地理及地质条件各不相同,同时又受土壤污染物含量、组成等影响,使不同地区的油污土微生态环境差异较大,因此进行石油烃污染土壤的生物修复要根据当地的具体条件,分析土壤微生态环境,并对其进行调控,使除油微生物处于最高的活性周期,加快土层石

油烃污染物的去除。

3 结论

我国北方部分油田及石油化工区土壤受到了不同程度的石油烃污染,其微生物的数量和活性也各不相同,且石油烃的存在对微生物有一定的诱导与

刺激作用;柱层析分析结果表明,石油烃污染物中烷烃、芳烃等轻质组分含量超过 50%,经过 1 年的自然降解,轻质组分百分含量降低,为主要生物降解组分。同时除油微生物数量明显增加,其 FDA 活性也有所提高。

油田区土壤的 pH 值一般均高于微生物生长代谢的最佳 pH 值,营养水平普遍较低,可被生物利用的速效氮磷含量仅占土壤总氮、总磷的 5%左右,在油污土的生物修复过程中可能会对微生物活性产生抑制,从而成为石油烃生物降解的限制性因子。因此通过调节土壤 pH 值,增加营养水平等措施优化油污土的微生态环境,对于提高土壤微生物活性、加快石油烃的降解有重要的意义。

基于对油污土微生态环境非生物因子与微生物活性影响的研究,结合各油田及石油化工区的气候及地理条件,对油污土微生态环境的生物与非生物因子进行合理的调控与优化,可取得较优的石油烃生物降解效果。

参考文献:

- [1] Balba M T, Al-Awadhi N, Al-Daher R. Bioremediation of oil-contaminated soil: microbiological methods for feasibility assess-

ment and field evaluation[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1998, **32**: 155 ~ 164.

- [2] Whyte L G, Goalen B, Hawari J, *et al.* Bioremediation treatment assessment of hydrocarbon-contaminated soils from Eureka, Nunavut[J]. *Cold Regions and Technology*, 2001, **32**: 121 ~ 132.
- [3] 姚德明, 许华夏, 张海荣, 等. 石油污染土壤生物修复过程中微生物生态研究[J]. *生态学杂志*, 2002, **21**(1): 26 ~ 28.
- [4] Farhad Nadim, George E Hoag, Shili Liu, *et al.* Detection and Remediation of Soil and Aquifer Systems Contaminated with Petroleum Products: and Overview[J]. *J. Petrol. Sci. and Eng.*, 2000, **26**: 169 ~ 178.
- [5] 张旭, 李广贺, 黄巍. 包气带土层中石油污染物生物降解的温度效应[J]. *环境科学*, 2001, **22**(4): 108 ~ 110.
- [6] 俞毓馨, 吴国庆, 孟宪庭. 环境工程微生物检验手册[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 138 ~ 142.
- [7] 中华人民共和国石油天然气行业标准. 可溶性有机物和原油族组分柱层析分析方法: SY 5119, 1995.
- [8] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 南京: 中国农业科技出版社, 1999. 13 ~ 165.
- [9] Atlas D M. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective[J]. *Microbiol. Rev.*, 1981, **45**: 129 ~ 180.
- [10] 顾夏声. 水处理微生物学[M]. 北京: 中国建筑工业出版社, 1998. 36.

欢迎邮购《中国基层环境管理指南》

最新出版的《中国基层环境管理指南》由中国环境科学学会组织编写,任官平先生担任主编,中国环境科学出版社出版。该书比较全面、系统地介绍了环境管理的理论与实践,回顾了国际国内的发展历程。从环境法制、环境管理制度、环境污染与防治、生态环境保护与建设、环境监督监理、环境宣传与教育、环保科技与环保产业、环境认证管理等几方面进行了详细阐述。它既是一本科普读物又可作为一本工具书,是基层环境管理和各级环保机构工作者的重要参考书。

本书为 16 开精装,上下两册。定价:450 元/套;邮购地址:北京市双清路 18 号《环境科学》编辑部;邮编:100085;邮购电话:010-62941102;款到后编辑部将书和发票一并寄出。