门头沟煤矿区土壤有机污染特征与微生物特性

贾建丽[1],张岳[1],王晨[2],李东[1],刘博文[1],刘莹[1],赵乐[1],杨思齐[1]
(1. 中国矿业大学(北京)化学与环境工程学院,北京 100083; 2. 山西省长治市潞安集团,长治 046204)

摘要:以自动索氏提取、GC-MS 分析等复合方法体系对煤矿区土壤有机污染物特征、基本理化特性和微生物性质构成的土壤微生态环境进行了研究. 结果表明,煤矿区土壤受到了不同程度的有机物污染,其含量分布在 0.4 ~ 1.5 mg/g 干土之间,为同地区背景土样的 1.5 ~ 6 倍. 有机污染物中饱和烃和芳香烃等轻质组分含量超过 40%,以 C15 以上的链烃、烃类衍生物及少量芳烃为主,组成基本与煤矸石中有机物相似,有一定的同源性. 煤矿区土壤的理化性质除 pH 外,营养水平、含水率等均不利于微生物的生长与增殖,对微生物活性的发挥有一定的抑制性. 煤矿区有机污染土壤的微生物数量(干土中)总体较低,大致为 10^4 ~ 10^5 个/g 之间,FDA 活性(以荧光素/干土计)则为 2.0 ~ 2.9 mg/(g·min). 总体上,微生物数量和活性随有机污染物含量的增加而降低,但由于复合了 pH 值等理化性质的影响,有必要对其进行深入探讨.

关键词:门头沟;煤矿区土壤;有机污染特征;微生态环境;微生物活性
中图分类号:X171 **文献标识码**:A **文章编号**:0250-3301(2011)03-0875-05

Soil Organic Pollution Characteristics and Microbial Properties in Coal Mining Areas of Mentougou

JIA Jian-li[1], ZHANG Yue[1], WANG Chen[2], LI Dong[1], LIU Bo-wen[1], LIU Ying[1], ZHAO Le[1], YANG Si-qi[1]
(1. School of Chemical & Environmental Engineering, China University of Mining & Technology (Beijing), Beijing 100083, China; 2. Shanxi Lu'an Group, Changzhi 046204, China)

Abstract: Soil micro-ecosystem including organic pollution characteristics, basic physicochemical parameters, and microbial properties was analyzed which contaminated with organic pollutants in coal mining area. Results showed that the organic pollution level in coal mining area soils distributed from 0.4 to 1.5 mg/g dry soil, which was 1.5-6 times as much as the background sample. Furthermore, the column chromatography and GC-MS analysis revealed that content of lightly components including saturated and aromatic hydrocarbons exceeded 40%, specifically was alkenes (>C15), hydrocarbon derivatives, and a small amount aromatic hydrocarbons. Totally, the components of organic pollutants extracted in soils were similar to which in coal gangue samples, illustrating the source of soil pollution to a certain extent in coal mining areas. The physicochemical factors such as nutrient level and moisture contents were not conducive to the growth and reproduction of microbe except pH level, which might show inhibition to microbial activities. Microbial density of pollutant soils in coal mining areas was totally low, with specific amount 10^4-10^5 cell/g dry soil and FDA activity 2.0-2.9 mg/(g·min). Generally, the microbial density and activity were decreased as the enhancing pollution level. However, in-depth analysis was needed urgently because of the complex impact of environmental conditions like pH, moisture, and nutrition.

Key words: Mentougou; coal mining area; organic contaminated soils; micro-ecosystem; microbial activity

煤炭作为我国的主体支柱性能源,其在开采、运输、加工及使用等全生命周期中均存在对土壤环境的污染[1,2]. 除目前关注较多的重金属、硫化物、氟化物等无机物对土壤的污染之外,作为煤炭及其副产物中固有的组分[3],通过煤矸石堆积、大气沉降、污染水体排放等环节造成了煤矿区大面积土壤的有机污染亦开始受到国内外研究者的关注,对典型矿区土壤有机污染水平、来源与分布等进行了研究[4~6],为煤矿区土壤有机污染的程度、来源及其防控提供了一定的基础[7]. 但由于相关研究起步较晚,对有机污染对微生物的影响、煤矿区土壤微生态环境特性等均需要开展广泛、深入的研究.

土壤微生态环境包括微生物与其赖以生存的土壤理化环境,其特性总体上既影响土壤的水、肥、气、热状况,同时又会通过微生物酶活性的差异决定有机污染土壤生物修复的效率和模式. 基于煤矿区土壤特殊的区域环境特性和有机污染特征,其微生态环境的特异性则可能影响其土壤功能的发挥和修复. 本研究即从煤矿区典型污染物含量、水平及其环境理化性质分析入手,探讨其与微生物特性的关系,整体上分析煤矿区土壤微生态环境的特性,以期为煤矿区量大面广的有机污染土壤的修复及其功能的恢复提供依据.

收稿日期:2010-03-30;修订日期:2010-07-15
基金项目:中国矿业大学青年科研基金项目;中央高校基本科研业务费项目(2009QH09);中国水利水电科学研究院开放研究基金项目(IWHRKF200820)
作者简介:贾建丽(1977~),女,博士,副教授,主要研究方向为污染场地修复、环境微生物学,E-mail: jiajianli77@126.com

1 材料与方法

1.1 煤矿区有机污染土壤

供试土壤取自北京市门头沟区门头沟煤矿煤矸石堆积区,以无菌法取样,封好置于密封袋中,运回实验室后于4℃保存1周测定土壤微生物性质,土壤理化性质则于室温下保存测定. 同时取当地农田土样做对照(9号),另取煤矸石样品做对比(10号).

表1 煤矿区有机污染土壤样品基本信息

Table 1 Basic properties of the organic polluted soils in coal mining area

样品	样品位置		样品深度/cm	样品种类
1	N39°56′02.82″	E116°03′25.47″	0~20	污染土壤
2	N39°56′03.72″	E116°03′27.30″	0~20	污染土壤
3	N39°56′04.93″	E116°03′30.25″	0~20	污染土壤
4	N39°56′04.93″	E116°03′30.25″	20~40	污染土壤
5	N39°56′04.93″	E116°03′30.25″	40~60	污染土壤
6	N39°56′04.93″	E116°03′30.25″	100	污染土壤
7	N39°56′08.72″	E116°03′35.24″	0~20	污染土壤
8	N39°56′08.72″	E116°03′35.24″	20~40	污染土壤
9	N39°56′52.92″	E116°04′51.92″	0~20	对照土样
10	N39°56′53.25″	E116°04′45.47″	–	煤矸石

1.2 实验方法

1.2.1 矿区土壤有机污染物含量及组成测定

煤矿区土壤有机污染物含量以索氏提取法测定,土壤处理及测定过程见文献[8],其中索氏提取步骤在自动索氏提取器中进行. 有机污染物的组分以柱层析法进行分析[8],其具体的组分构成则以GC-MS(安捷伦6890N-2975C)进行识别,升温程序为:进样口温度280℃,溶剂延迟3.75 min,保温3 min,以10℃/min升温至250℃,再以5℃/min升温至280℃,保温5 min.

1.2.2 有机污染土壤微生物特性测定

土壤样品微生物数量以平板法(PCM)测定[7],培养基为牛肉蛋白胨,37℃下培养24 h测定计算. 微生物数量测定结果(以干土计)以个/g表示.

土壤样品微生物活性以FDA(荧光素双醋酸酯)法测定. 称取约0.5 g样品于100 mL锥形瓶中,加入15 mL磷酸缓冲液(pH=7.6),振荡混匀;加入0.2 mL 2 mg/mL FDA溶液(溶剂为丙酮)启动反应,于30℃下振荡培养30 min,立即加入5 mL氯仿/甲醇(2∶1,体积比)混合终止剂以终止反应. 以2 000 r/min转速下将混合液离心10 min,取上清液于490 nm处测吸光度(A). 结合荧光素钠标准曲线,按照下述公式计算煤矿区土壤的FDA活性:

$$U_{FDA} = \frac{(8.0583 \times A + 0.646) \times V}{m \times t}$$

式中,U_{FDA}、A、V、m和t分别为土壤FDA活性[以荧光素/干土计,mg/(g·min)]、混合液吸光度、FDA测定体系总体积(mL)、土壤样品重量(g,以干土为基准进行计算)和培养时间(min).

1.2.3 煤矿区土壤理化性质测定

煤矿区土壤基本理化性质常温下参考土壤农业化学分析方法及文献[8,9]测定,其中,氮、磷含量采用MgO-代氏合金蒸馏法和$NaHCO_3$浸提-钼锑抗比色法,土壤含水率测定采用烘干法,pH值测定采用电位法.

2 结果与分析

2.1 煤矿区土壤有机污染特征

煤矿区土壤有机污染物含量水平如图1所示.

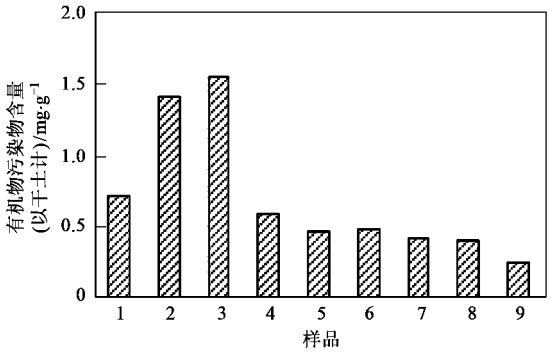

图1 煤矿区土壤有机污染含量

Fig. 1 Organic pollutant contents of coal mining area soils

由图1可知,煤矿区土壤中的有机污染物含量(以干土计,下同)分布在0.4~1.5 mg/g之间,均值为0.6 mg/g,为同地区背景土样(9号对照土样的有机污染物含量为250 mg/kg)的1.5~6倍,可见作为典型的煤矿区土壤类型,煤矸石堆积区受到了不同程度的有机污染,在进行土地功能区划及开发、应用时应按相应功能和标准、导则等进行相应评估及处理.

对提取的有机污染物进行柱层析分析,结果如图2所示,有机污染物的GC-MS分析结果如图3.

由图2可知,煤矸石样品提取的有机物其饱和烃和芳香烃所占比例较低,约为25%,而煤矿区土壤中有机污染物饱和烃和芳香烃含量大幅上升,其含量总和超过了40%. 可见,饱和烃、芳香烃等轻质

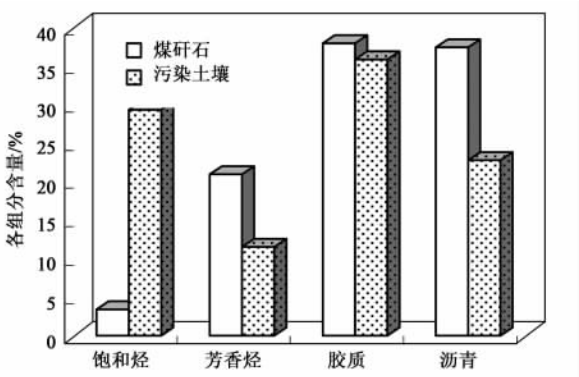

图 2　煤矿区土壤及煤矸石样品中有机物的柱层析组成

Fig. 2　Column chromatography analysis of organic pollutant contents in coal gangue and soils

组分易通过堆积、淋滤等途径进入土壤,造成对土壤的污染.

同时, 饱和烃和芳香烃亦是生物可利用和代谢的主要成分, 可为煤矿区有机污染土壤的生物修复提供基础. 由图 3 的 GC-MS 分析结果可知,煤矿区土壤中有机物以 C15 以上的链烃、烃类衍生物及少量芳烃为主,而对比煤矸石中提取有机物的分析,其有机物的物质组成基本与煤矸石中有机物相似,即煤矸石堆积区土壤中有机污染物的组成与煤矸石中的有机物有一定的同源性,类似结果文献中亦有报道[4,10]. 初步估计峰面积较大者集中于 C15 ~ C25 的烷烃及其衍生物组分,而其他组分的含量则相应减少,可见,在从煤矸石中迁移与外渗过程中,一定分子量和组成的有机物得到了优先迁出. 而综合柱层析和 GC-MS 结果,矿区土壤中的有机污染物对微生物活性有一定的抑制性与生物毒性,同时有机物亦可作为碳源被特定微生物利用,或某些微生物对其具有不同程度的耐性,因此其会对土壤的微生物区系产生不确定性影响, 进而对土壤的发育和状况产生制约,在生物修复等过程中均需进行深入研究.

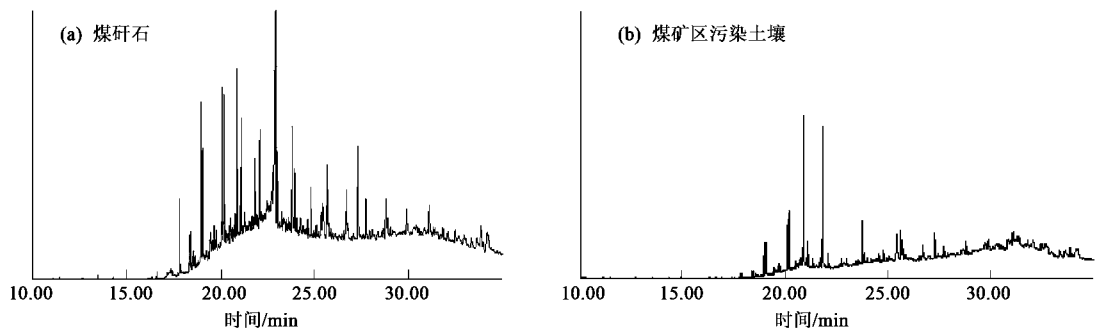

图 3　煤矿区土壤及煤矸石样品中有机污染物的 GC-MS 分析

Fig. 3　GC-MS profile of organic pollutant contents in coal gangue and soils

2.2　煤矿区土壤基本理化性质

煤矿区有机污染土壤的基本理化性质如表 2 所示.

由表 2 可知,门头沟煤矿区有机污染土壤以粉壤土为主,另有 6 号样为砂壤土,从土壤质地与类型上对微生物增殖较为有利. 速效氮(EN)与速效磷(EP)分析结果表明,煤矿区土壤中的供植物与微生物直接利用的营养物含量水平较低,其中 EN 含量(以干土计)水平为 30 ~ 80 mg/kg, 平均值为 43 mg/kg;EP 含量(以干土计)则普遍低于 10 mg/kg. 对比其他地区农田土壤的营养水平[11,12],煤矿区土壤中 EN 和 EP 的含量较低,主要原因可能是其受到煤矸石堆积和风化的影响, 使其成土母质中营养水

表 2　煤矿区有机污染土壤基本理化性质性质

Table 2　Physical chemical properties of organic contaminated soils in coal mining area

样品	土壤质地	含水率/%	速效氮含量(干土)/mg·kg^{-1}	速效磷含量(干土)/mg·kg^{-1}	pH
1	粉壤土	7. 98	35. 6	5. 7	6. 76
2	粉壤土	3. 28	57. 8	8. 5	7. 13
3	粉壤土	1. 78	65. 1	7. 2	4. 97
4	粉壤土	1. 27	67. 7	8. 6	6. 94
5	粉壤土	1. 4	79. 1	7. 6	7. 16
6	砂壤土	2. 84	75. 3	3. 8	6. 94
7	粉壤土	8. 68	43. 6	4. 9	7. 03
8	粉壤土	7. 21	50. 4	7. 1	6. 68

平偏低,加上此类地区大部分未开发,没有施肥等管理措施所致. 矿区土壤的含水率分布在 1.2% ~8% 之间,整体处于较低水平. 而 pH 值大部分为中性范围,只有 6 号样品 pH <5,总体上对微生物增殖影响不大. 总体说来,煤矿区土壤的理化性质除 pH 外,营养水平、含水率等均不利于微生物的生长与增殖,加上高生物毒性的有机物和一定的重金属元素的存在,对微生物活性的发挥有一定的抑制性,因此对其微生物活性水平及其测定方法进行优化很有必要.

2.3 煤矿区土壤微生物特性

煤矿区有机污染土壤的微生物数量和 FDA 活性如图 4 所示.

由图 4 可知,煤矿区有机污染土壤的微生物数量分布在 10^4 ~ 10^5 个/g 之间,1 号样品甚至只有 10^3 个/g,与农田土壤、根际区土壤、底泥等微生物数量较高的底质相比[13~15],其微生物数量低 2 ~3 个数量级. 煤矿区有机污染土壤的 FDA 活性则为 2.0 ~2.9 mg /(g·min),且与微生物数量有较好的一致性. 总体上,煤矿区有机污染土壤具有一定数量和活性水平的微生物,可为污染土壤的微生物修复提供功能基础.

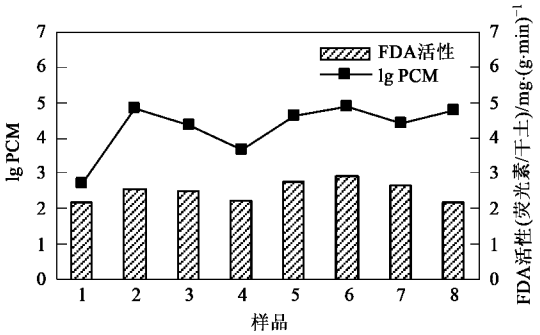

图 4 煤矿区土壤微生物数量与 FDA 活性

Fig. 4 Microbial amounts and FDA activities of the soils in coal mining area

2.4 煤矿区土壤有机污染物对微生物特性的制约

基于对矿区土壤中有机污染物含量和物质组成可能对土壤微生物造成的抑制和影响,对有机物含量与土壤微生物数量和 FDA 活性的关系进行考察,结果如图 5 所示.

由图 5 可知,煤矿区土壤微生物数量和活性随着土壤中有机污染物含量的增加,总体呈下降趋势,可见其对于微生物的抑制是存在的. 在有机污染物含量低于 0.5 mg/g 时,微生物数量随有机物含量增加下降很明显,随后进入持平期,而本研究中当有机物含量达到 1.5 mg/g 时,微生物数量则急剧下降,但结合该样品的理化性质分析可知,其 pH 值仅为 4.97,因此,其微生物数量的降低可能于土壤酸度有一定关系,有必要对高有机物含量对微生物的影响进行深入探讨. 微生物 FDA 活性与有机污染物的关系与微生物数量相似,只是在低有机物含量范围内存在一定的波动性. 另外,由本研究煤矿区土壤理化性质分析可知,由于煤矿区土壤氮、磷等营养水平普遍较低,故也对微生物的生长、增殖有不一定的抵制作用. 综上,有必要对煤矿区特殊微生态环境下的土壤微生物特性及其受煤矿开采活动的影响加以深入探讨.

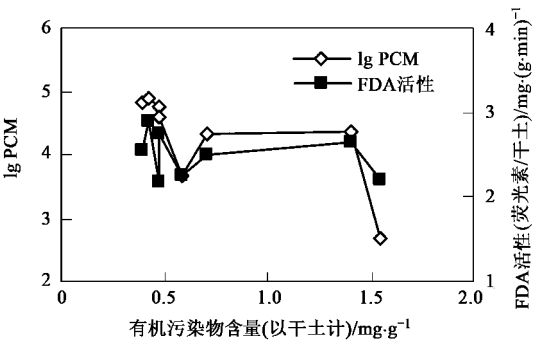

图 5 煤矿区土壤有机污染物含量对微生物特性的影响

Fig. 5 Influence of organic pollutants content to microbial properties in soils of coal mining area

3 结论

(1)煤矿区土壤有机污染物含量分布在 0.4 ~ 1.5 mg/g 之间,均值为 0.6 mg/g,为同地区背景土样的 1.5 ~6 倍. 有机污染物中饱和烃和芳香烃等轻质组分含量超过 40%,与煤矸石样品相比大大提高;煤矿区土壤中有机物中以 C15 以上的链烃、烃类衍生物及少量芳烃为主,组成基本与煤矸石中有机物相似,有一定的同源性.

(2)煤矿区土壤中可供植物与微生物直接利用的营养物含量水平较低,其中 EN 含量水平为 30 ~ 80 mg/kg、EP 含量则普遍低于 10 mg/kg,含水率分布在 1.2% ~8% 之间, pH 值大部分为中性范围. 煤矿区土壤的理化性质除 pH 外,营养水平、含水率等均不利于微生物的生长与增殖,对微生物活性的发挥有一定的抵制性.

(3)煤矿区有机污染土壤的微生物数量总体较低,大致为 10^4 ~ 10^5 个/g 之间,FDA 活性则为 2.0 ~2.9 mg/(g·min),且与微生物数量有较好的一致

性. 土壤有机污染物对微生物性现出一定的抑制性,但由于 pH 值、低营养水平等理化性质的复合影响,其变化规律比较复杂,有必要对其进行深入探讨,以便为微生物修复奠定基础.

参考文献:

[1] Quer ol X, Izquierdo M, Monfort E, *et al*. Environmental characterization of burnt coal gangue banks at Yangquan, Shanxi Province, China[J]. International Journal of Coal Geology, 2008, **75**: 93-104.

[2] 毕银丽,全文智,柳博会. 煤矸石堆放的环境问题及其生物综合治理对策[J]. 金属矿山,2005,**12**:61-64.

[3] 张双全,吴国光. 煤化学 [M]. 徐州:中国矿业大学出版社,2004.

[4] 杨策,钟宁宁,王新伟,等. 煤矿区表层土壤中饱和烃污染物的组成与分布[J]. 土壤学报,2007,**44**(4):629-636.

[5] 樊景森. 峰峰矿区煤矸石山对环境的污染分析 [D]. 邯郸:河北工程大学,2007.

[6] Dick D P, Knicker H, Avila L G, *et al*. Organic matter in constructed soils from a coal mining area in southern Brazil [J]. Organic Geochemistry, 2006, **37**: 1537-1545.

[7] Hánel L. Development of soil nematode communities on coal-mining dumps in two different landscapes and reclamation practices [J]. European Journal of Soil Biology, 2002, **38**: 167-171.

[8] 贾建丽,刘莹,李广贺,等. 油田区土壤石油污染特性及理化性质关系[J]. 化工学报,2009,**60**(3):726-732.

[9] 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.

[10] 杨策,钟宁宁,陈党义,等. 煤矿区表层土壤中芳香烃组成、分布特征及标志化合物研究 [J]. 环境科学学报,2007,**27**(3):445-451.

[11] 尹升,赵军,谷思玉,等. 黑土区典型县域农田土壤氮素动态分析 [J]. 干旱地区农业研究,2009,**27**(1):42-46.

[12] 郭希敏. 新民市农田土壤有效氮、磷、钾含量变化分析[J]. 农业科技与装备,2009,**2**:14-16.

[13] Workneh F, Van Bruggen A H C. Microbial density, composition, and diversity in organically and conventionally managed rhizosphere soil in relation to suppression of corky root of tomatoes [J]. Applied Soil Ecology, 1994, **1**(3):219-230.

[14] Perez-Piqueres A, Edel-Hermann V, Alabouvette C, *et al*. Response of soil microbial communities to compost amendments [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2006, **38**:460-470.

[15] 田家怡,李甲亮,陈印平,等. 黄河三角洲外来入侵物种米草对底泥微生物群落的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2009, **4**: 157-162.