

B[a]P 累积污染对土壤呼吸强度的影响

郑彬, 马静静, 葛高飞, 郜红建*

(安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

摘要: Benzo(a)pyrene(B[a]P)是具有“三致”效应的有机污染物,正在以叠加的方式在土壤中逐步累积,对土壤环境质量造成严重威胁。采用叠加实验的方法模拟 B[a]P 在土壤中的累积过程,研究 B[a]P 累积污染后的有效性特征及其对土壤呼吸强度的影响。结果表明:在叠加和一次污染方式下,土壤 B[a]P 可提取含量和有效含量随培养时间的延长呈现初始(1~28 d)下降速率较快,而后(28~56 d)逐渐减缓的趋势。在叠加污染条件下,土壤 B[a]P 可提取量比一次污染条件下降低了 34.50%~57.29%,土壤 B[a]P 有效含量则比一次污染低 19.00%~43.80%。土壤呼吸强度随 B[a]P 培养时间的延长呈现出先减弱,而后逐渐恢复的规律。在两种污染方式下,土壤呼吸强度在前 7 d 比实验开始时(1 d)减弱了 14.38%~35.80%,在 8~56 d 逐渐恢复并稳定在 11.51~15.69 mg·kg⁻¹·h⁻¹ 之间。土壤呼吸强度随土壤 B[a]P 有效性的变化而改变,两者呈正相关。研究结果为土壤 B[a]P 叠加累积污染的生态毒性研究提供科学依据。

关键词: 苯并[a]芘(B[a]P); 累积污染; 一次污染; 有效性; 土壤呼吸强度

中图分类号: X53 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2013)02-0259-08 doi:10.11654/jaes.2013.02.008

Influences of Benzo(a)pyrene Superimposed Pollution on Soil Respiration Intensity

ZHENG Bin, MA Jing-jing, GE Gao-fei, GAO Hong-jian*

(School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: As one of the persistent organic pollutants with strong carcinogenic, teratogenic and mutagenic effect, benzo(a) pyrene(B[a]P) is gradually accumulating in soil and posing a serious threaten to soil environment quality. The B[a]P bioavailability and its impacts on soil respiration were investigated under simulated condition by using the superimposed method. Results indicated that contents of extractable and available B[a]P sharply declined in the first 28 d(0~28 d), and then slowly decreased between 28 d and 56 d incubation time under both superimposed and one-time pollution method. Soil extractable and available B[a]P in superimposed pollution tests were 34.50%~57.29% and 19.00%~43.80% lower than that in the one-time pollution method, respectively. Soil respiration intensity decreased by 14.38% to 35.80% in the first 7 d incubation period, and then gradually recovered and kept stable between 11.51 mg·kg⁻¹·h⁻¹ and 15.69 mg·kg⁻¹·h⁻¹ at the end of the incubation time. In both superimposed and one-time pollution tests, the positive correlation relationship between soil available B[a]P and soil respiration intensity was testified in the whole incubation period. Results from this work provide a crucial data for evaluating ecological toxicity of soil B[a]P accumulative pollution.

Keywords: benzo(a)pyrene(B[a]P); superimposed pollution; one-time pollution; bioavailability; soil respiration intensity

多环芳烃(PAHs)是典型的持久性有机污染物,由于具有强烈致癌、致畸变和致突变效应,被美国环保署(USEPA)列入 16 种优先控制的污染物名单,也是中国重点控制的环境污染物之一^[1]。PAHs 主要通

过化石燃料如煤、石油等不完全燃烧产生,在土壤、大气、水体和沉积物等环境介质中广泛存在^[2]。B[a]P(Benzo[a]pyrene)是 PAHs 中污染最广、致癌性最强的一种有机污染物,由于具有较高的辛醇-水分配系数,使得其在环境中比较稳定,难以降解^[3]。B[a]P 在农产品(如小麦、生菜、黄瓜等)有较高的检出率^[4],对农产品质量造成威胁,并通过食物链影响人体健康。B[a]P 对农产品质量和人体健康的影响,已引起广泛关注。环境中的 B[a]P 通过干湿沉降、污泥灌溉、污泥农用

收稿日期: 2012-07-22

基金项目: 国家自然科学基金(41071158)

作者简介: 郑彬(1986—),男,安徽淮北人,硕士研究生,主要从事土壤环境化学与污染毒理学方面的研究工作。

E-mail: zhengbin0206@163.com

* 通信作者: 郜红建 E-mail: hjgao@ahau.edu.cn

等途径进入土壤中,并逐步累积^[5-6],对土壤环境质量造成潜在威胁^[7]。土壤中的 B[a]P 可抑制小麦种子发芽、根伸长^[8];影响蚯蚓细胞色素 P450 含量、POD (Guaiacol peroxidases) 和 SOD (Superoxide dismutases) 活性^[9],改变土壤细菌群落结构和多酚氧化酶、过氧化氢酶活性,造成敏感细菌种类消失^[10],进而威胁土壤生态安全。当前的研究多通过一次污染的方法进行的,与土壤 B[a]P 逐步累积污染有较大差异,很难准确反应 B[a]P 的真实毒性。此外,一些研究以污染物提取总量而不是有效含量来评价土壤污染程度,势必高估了 B[a]P 的环境风险^[11]。

本实验采用叠加累积的方法模拟土壤 B[a]P 的污染过程,以高分子材料 Tenax-TA 提取表征土壤有效 B[a]P 的含量,研究土壤 B[a]P 叠加污染对有效性的变化规律及其对土壤呼吸强度的影响,为土壤中持久性有机污染物逐步累积的生态毒性评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 药品与主要仪器

B[a]P 购于美国 Supelco 公司;Tenax-TA (60~80 目)购自北京康林科技有限责任公司;石油醚(分析纯)、丙酮(分析纯)、二氯甲烷(分析纯),均购于国药集团;液相色谱纯乙腈购于 Sigma 公司;硅藻土、佛罗里硅土购于阿拉丁公司。

加速溶剂萃取仪(ASE300,美国戴安公司);减压旋转蒸发仪(senco R 系列,上海申生科技有限公司);固相萃取柱(solid phase extraction, SPE);高效液相色谱仪(Waters 601 controlle);荧光检测器(Waters 2475 multi Fluorescence Detector),配有 PAHs 专用柱(25 cm×4.6 mm×5 μm)购于美国 Supelco 公司。

1.2 土壤样品的采集与前处理

供试土壤(0~20 cm 和 20~40 cm)采自安徽农业大学高新农业示范园内,土壤类型为黄褐土。土壤样品剔除植物根系和石砾后,自然风干,过 2 mm 尼龙筛。参照鲍士旦^[12]的方法测定理化性质,见表 1;土壤有机质采用重铬酸钾容量法测定;土壤 pH 采用电位法测定;土壤全氮采用凯式定氮法;碱解氮含量采用

扩散法测定;土壤有效磷用钼锑抗比色法测定;土壤速效钾采用 NH₄OAc 浸提火焰光度计法测定。新鲜土壤样品保存在 4℃ 冰箱中备用。

1.3 土壤 B[a]P 叠加污染方法

土壤污染多通过低剂量长期累积形成的,土壤中的多环芳烃通过干湿沉降、污泥灌溉、污泥农用等途径进入,并逐步累积^[6]。本实验通过改进慢性毒理中常用的剂量固定的 20 d 蓄积法^[13],利用叠加污染方法模拟 B[a]P 在土壤中的累积过程。具体方法:取一定量的风干土样制备成高浓度(1 mg·kg⁻¹)B[a]P 污染的土壤。叠加污染时,分别取 0~20 cm 和 20~40 cm 相当于 1 kg 风干土重的新鲜土样,高温灭菌后,加入一定量 B[a]P 高浓度污染(1 mg·kg⁻¹)的土壤,使 B[a]P 的初始污染浓度分别达 50 μg·kg⁻¹,充分混匀后移到无菌培养室内避光培养(25℃)。在第 2 周、4 周、6 周、8 周和 10 周结束后,采用相同的方法向原污染土壤中再添加 B[a]P,使土壤 B[a]P 的含量每次增加 50 μg·kg⁻¹,并充分混匀。B[a]P 的叠加污染浓度分别为 50、100、150、200、250、300 μg·kg⁻¹。当 B[a]P 叠加污染达到 300 μg·kg⁻¹ 时,制备 B[a]P 一次污染的土壤,分别向 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中一次加入高浓度 B[a]P 污染的土壤(1 mg·kg⁻¹),使 B[a]P 的污染浓度一次达到 300 μg·kg⁻¹。叠加污染条件下,当土壤中 B[a]P 浓度累积达到 300 μg·kg⁻¹ 时(向土壤第 6 次添加高浓度 B[a]P)为累积污染过程结束;在一次污染条件下,土壤 B[a]P 浓度一次添加并达到 300 μg·kg⁻¹ 时为污染过程结束。将叠加累积污染和一次污染后的土壤在恒温(25℃)下避光培养。培养期间,每 3 d 用称重差减法补充去离子水,以保持土壤含水量的恒定(田间最大持水量的 50%)。B[a]P 叠加污染和一次污染的土壤均设三次平行,同时以没有污染的 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤作为空白对照。

1.4 土壤 B[a]P 的提取与测定方法

1.4.1 土壤 B[a]P 可提取含量提取方法

在叠加污染和一次污染结束后第 1、7、14、28、56 d,分别取 100 g 污染土样风干研磨过 60 目筛。取 10 g 研磨土样与 5 g 硅藻土在 50 mL 烧杯中充分混匀,转移到 33 mL 萃取池,加速溶剂萃取仪提取条件为:

表 1 供试土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of test soils

采样深度/cm	pH	有机质/g·kg ⁻¹	全氮/g·kg ⁻¹	碱解氮/mg·kg ⁻¹	有效磷/mg·kg ⁻¹	速效钾/mg·kg ⁻¹	B[a]P/μg·kg ⁻¹
0~20	6.76	11.78	0.69	61.39	10.25	175.49	3.32
20~40	6.65	6.17	0.37	28.04	9.18	150.93	3.13

系统压力 10 MPa;提取温度 100 ℃;加热时间 5 min;静态萃取时间 5 min;萃取溶剂二氯甲烷:丙酮(V/V, 1:1);冲洗体积 60%(萃取池体积);N₂吹扫 10 MPa, 60 s,循环一次。得到萃取液后用减压旋转蒸发仪把萃取滤液浓缩至干,加入 5 mL 石油醚:二氯甲烷(V/V, 9:1)溶解洗脱,移至烧杯中。

1.4.2 土壤 B[a]P 有效含量的提取方法

土壤 B[a]P 有效含量的提取参考吕正勇等^[14]的方法。称取 2 g 风干土于 100 mL 三角瓶中,加入 70 mL 0.01 mol·L⁻¹ CaCl₂,再加入 0.2 g Tenax-TA,用封口膜封口后,在室温(20±2 ℃)条件下往复振荡 6 h。将振荡后的溶液转移到 250 mL 的分液漏斗中,静置 3 min,保留悬浮在上层的 Tenax-TA,分液除去水和沉在下层的土壤。用去离子水冲洗 Tenax-TA 2 次,以去除吸附在 Tenax-TA 上的土壤微粒。用 20 mL 丙酮将 Tenax-TA 冲洗至烧杯中,静置 5 min。加入 2 g K₂CO₃ 到烧杯中去除丙酮中水分,常压过滤,得到丙酮萃取液,并用减压旋转蒸发仪把丙酮萃取滤液浓缩至干,加入 5 mL 石油醚:二氯甲烷(V/V, 9:1)溶解洗脱,移至烧杯中。

1.4.3 土壤 B[a]P 的纯化与测定方法

取 5 mL 的固相萃取柱(solid phase extraction, SPE),依次装入 0.5 g Al₂O₃ 和 1.5 g 弗罗里硅土;SPE 柱先用 5 mL 石油醚淋洗,弃去淋洗液,再将 B[a]P 的萃取液转移到 SPE 柱中,使提取液缓慢通过 SPE 柱,再用 20 mL 石油醚:二氯甲烷(V/V, 9:1)淋洗 SPE 柱,收集淋洗液,在旋转蒸发仪上(40 ℃)浓缩至约 1 mL,经 N₂ 吹干,用乙腈溶解定容至 1.0 mL,过 0.45 μm 的有机滤膜后待测。

B[a]P 采用 Supelco PAHs 专用色谱柱进行分离分析。HPLC 设定为荧光检测器检测,用乙腈和去离子水梯度淋洗。分析的色谱条件为:在 0~12 min 时,乙腈和水的流动体积比为 40%:60%,12~22 min 乙腈和水的流动体积比为 70%:30%,22~25 min 乙腈体积提高为 100%,25~37 min 乙腈和水的流动体积比降为 40%:60%。流速 1.5 mL·min⁻¹,柱温 30 ℃,进样量 10 μL,激发和发射波长为 294/430 nm,外标法定量分析。

1.5 土壤呼吸的测定方法

土壤呼吸采用室内密闭培养碱液吸收法^[15]进行测定。取 500 mL 广口瓶,瓶内盛 20 mL 0.1 mol·L⁻¹ 的氢氧化钠溶液。置相当于 20 g 风干土的新鲜土壤与瓶塞空隙处,用纱布蒙住,塞紧瓶塞,于 28 ℃ 恒温暗

培养 24 h。然后取出土壤,向剩下的碱液中,加入 2 滴酚酞指示剂,立刻用 0.05 mol·L⁻¹ 的盐酸滴定至无色(V₁),再加入 2 滴甲基橙指示剂,用 0.05 mol·L⁻¹ 的盐酸继续滴定至溶液为橙色 30 s 不退色(V₂)。同时做无土空白(V₀)。土壤呼吸强度计算的方法如下:

$$\text{呼吸强度}(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1})=\frac{(V_2-V_1-V_0)\times C\times 44\times 1000}{24\times 20}$$

式中:C 为标定后的盐酸的浓度。

1.6 数据处理方法

土壤中 B[a]P 可提取含量和有效含量以每 kg 风干土中所含 B[a]P 的 μg 数表示(μg·kg⁻¹),每个处理中土壤可提取 B[a]P 和有效 B[a]P 的提取、纯化和测定均设置三次重复,取三次重复的平均值。土壤呼吸强度以每 kg 土壤每小时呼出二氧化碳的 mg 数来表示(mg·kg⁻¹·h⁻¹)。

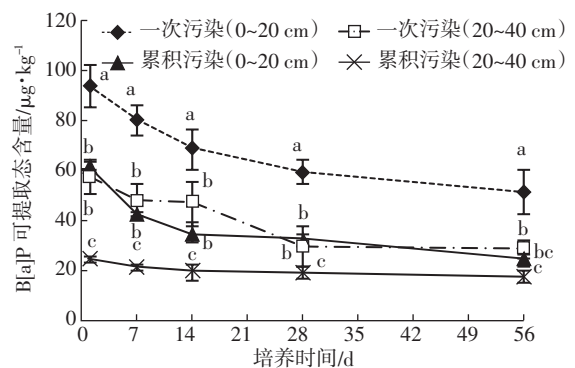
数据和图表经 Excel2003 和 SPSS11.5 的进行统计分析,单因素方差分析采用 Duncan 检验。

2 结果与分析

2.1 土壤 B[a]P 含量随时间的变化规律

2.1.1 土壤 B[a]P 可提取含量随时间变化规律

在叠加累积污染和一次污染条件下,土壤 B[a]P 可提取含量随培养时间的延长呈现初始(1~28 d)下降速率较快,而后(28~56 d)逐渐减缓的趋势(图 1)。在培养开始的第 28 d,叠加污染时,0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取量(33.23、19.83 μg·kg⁻¹),分别比初始添加量(300 μg·kg⁻¹)降低了 88.92%和 93.39%;一次污染时,0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取量(60.03、30.32 μg·kg⁻¹)分别比



图中 a、b、c 字母表示相同时间,不同处理间 B[a]P 可提取含量差异显著性(P<0.05),下同

图 1 土壤 B[a]P 可提取含量随时间变化规律

Figure 1 Changes of soil extractable B[a]P contents with time

初始添加量($300 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)降低了 79.99%和 89.89%。在 56 d 内, 叠加污染和一次污染条件下, 0~20 cm 土壤中 B[a]P 可提取含量($24.95\sim 61.92 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $52.00\sim 94.53 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)分别比 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取量高 27.24%~59.04%和 31.48%~49.50%。这可能与 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤有机质含量不同有关。郝荣^[16]的实验也证实土壤中 PAHs 的质量分数呈现 $W(5\sim 20 \text{ cm}) > W(0\sim 5 \text{ cm}) > W(20\sim 40 \text{ cm}) > W(40\sim 100 \text{ cm})$ 的分布规律, 与本文的研究结果一致, 即结果中 B[a]P 在 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中, B[a]P 质量分数不同, 并且 0~20 cm 土壤中 B[a]P 可提取含量大于 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取含量。

土壤 B[a]P 可提取含量的下降速率在 1~28 d 内较高, 在随后的 28~56 d 内逐渐降低。叠加累积污染时, 土壤 B[a]P 可提取含量在 0~28 d 内的下降速率低于一次污染, 但在随后的 28~56 d 内, 叠加累积污染与一次污染下土壤 B[a]P 可提取含量的下降速率差异不显著($P>0.05$)。在初始的 0~28 d 内, 叠加污染时 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取含量的下降速率分别为 1.02 、 $0.198 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$; 而在一次污染时的下降速率分别为 1.23 、 $0.98 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 。在随后的 28~56 d 内, 叠加污染时 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取含量的下降速率分别为 0.29 、 $0.06 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$; 而在一次污染时的下降速率分别为 0.28 、 $0.04 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 。叠加污染时, 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取含量在初始的 0~28 d 内的下降速率分别是 28~56 d 的 3.52 倍和 3.30 倍, 而在一次污染条件下, 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取含量下降速率分别是 28~56 d 的 4.39 倍和 24.50 倍。这与苏丹等^[17]的结果相似。

在 56 d 的培养时间内, 叠加污染条件下 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 可提取含量($24.94\sim 61.92 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、 $18.15\sim 25.36 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)分别比一次污染条件下降低了 34.50%~52.03%和 34.59%~57.29%。这可能与不同污染方式下 B[a]P 和土壤相互作用不同有关。叠加污染方式下, B[a]P 与土壤颗粒相互作用时间较长, 老化作用强, 使 B[a]P 被分布到土壤强吸附位点, 或 B[a]P 与土壤组分形成共价键或者被土壤中有机质和晶格的物理“俘获”^[18], 土壤可提取 B[a]P 的数量减少。而一次污染的方式下, B[a]P 与土壤相互作用时间相对较短, 老化作用较弱。同时土壤中 B[a]P 浓度较高, 土壤强吸附位点有限^[19], B[a]P 被土壤颗粒吸附或“俘获”的数量较少所致。

2.1.2 土壤 B[a]P 有效含量随时间变化规律

在叠加累积污染和一次污染条件下, 土壤中 B[a]P 有效含量随培养时间的延长呈现初始(0~28 d)下降速率较快, 而后(28~56 d)逐渐减缓的趋势(图 2)。

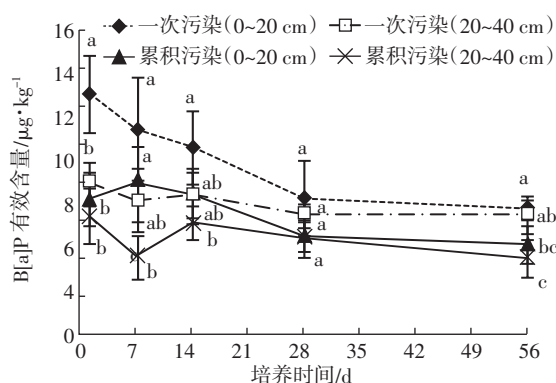


图2 土壤 B[a]P 有效含量随时间变化规律

Figure 2 Changes of soil available B[a]P contents with time

在培养开始的 28 d 内, 叠加污染时, 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 有效含量(5.17 、 $5.00 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)比初始(1 d)含量(7.12 、 $6.22 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)分别降低 27.39%和 19.61%; 一次污染时, 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 有效含量(7.18 、 $6.24 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)比初始(1 d)含量(12.67 、 $7.92 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)分别降低了 43.33%和 21.21%。在 56 d 内, 叠加污染和一次污染条件下, 0~20 cm 土壤中 B[a]P 有效含量($4.74\sim 7.12$ 、 $6.56\sim 12.67 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)分别比 20~40 cm 土壤中 B[a]P 有效含量高 3.04%~48.83%和 4.11%~37.44%。这可能与 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤有机质含量不同有关。

土壤 B[a]P 有效含量在 1~28 d 内的下降速率较大, 在随后的 28~56 d 内下降速率较小。土壤中 B[a]P 有效含量的下降速率在 1~28 d 内叠加污染小于一次污染, 而在随后的 28~56 d 内, 两种污染方式下 B[a]P 有效含量的下降速率差异不显著($P>0.05$)。叠加污染和一次污染条件下, 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 有效含量在 1~28 d 内的下降速率分别为 0.07 、 $0.04 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 和 0.2 、 $0.06 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$; 而在随后的 28~56 d 内, 叠加污染和一次污染时, 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中 B[a]P 有效含量下降速率分别为 0.014 、 $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 和 0.02 、 $0 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$ 。叠加污染时, 0~20 cm 土壤中 B[a]P 有效含量在前 28 d 内的下降速率是后 28 d 的 5 倍; 而一次污染时, 0~20 cm 土壤中 B[a]P 有效含量前 28 d 内的下降速率是后 28 d 的 10 倍。

叠加污染条件下 0~20 cm 和 20~40 cm 土壤中

B[a]P有效含量(4.74~7.12 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、4~6.22 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)分别比一次污染条件下低 25.84%~43.80%和 19.00%~36.43%。这可能与土壤中 B[a]P 的污染方式不同有关。叠加污染时,B[a]P 与土壤颗粒相互作用时间较长,老化作用充分,B[a]P 被土壤吸附、捕获或者形成结合残留态,降低了 B[a]P 生物可利用性^[20],有效含量减少。而一次污染方式时,B[a]P 与土壤颗粒相互作用时间短,老化作用弱,土壤中 B[a]P 有效含量高于叠加污染。

2.2 土壤呼吸强度随时间变化规律

在叠加累积污染和一次污染条件下,土壤呼吸强度随培养时间的延长呈现出先减弱、后逐渐恢复的规律(图 3)。在实验开始的 1~7 d 内,两种污染方式下土壤呼吸强度均呈减弱趋势,但差异不显著($P>0.05$),在随后的 7~56 d 内,土壤呼吸强度均有一定程度的恢复性升高。累积污染时,0~20 cm 和 20~40 cm 土层的土壤呼吸强度在第 7 d (11.78、10.58 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)比第 1 d (13.76、16.48 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)分别减弱了 14.38% 和 35.80%。一次污染时,0~20 cm 和 20~40 cm 土层中的土壤呼吸强度在第 7 d (11.03、9.10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)比第 1 d (17.04、11.61 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)分别减弱了 35.27% 和 21.62%。在第 14 d,叠加污染和一次污染时,0~20 cm 和 20~40 cm 土层中的土壤呼吸强度分别比第 7 d 增加了 4.88%、5.13%和 21.73%、57.01%。在第 56 d,叠加污染和一次污染条件下 0~20 cm 和 20~40 cm 土层中的土壤呼吸强度分别稳定在 11.51、11.57 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 和 15.69、15.42 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

2.3 土壤 B[a]P 含量与土壤呼吸强度的关系

进一步分析土壤呼吸强度与土壤 B[a]P 有效含量(以 0~20 cm 土壤为例)之间的关系表明:在叠加污

染和一次污染条件下,土壤呼吸强度随着土壤 B[a]P 有效含量的减少而减弱(图 4)。

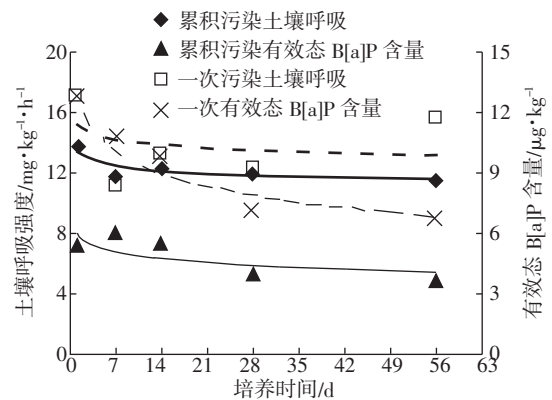


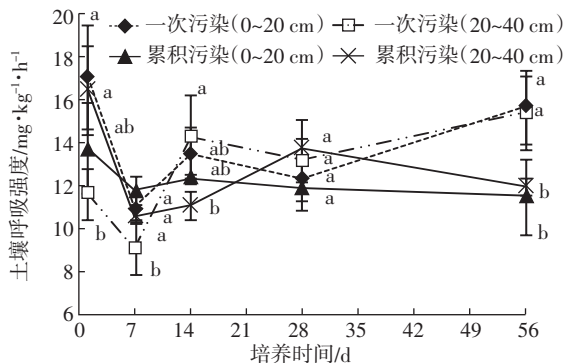
图 4 土壤呼吸强度与有效态 B[a]P 含量之间的关系

Figure 4 Relationship between soil respiration intensity and contents of available B[a]P

在初始的 1~28 d 内,两种污染条件下土壤 B[a]P 有效含量与土壤呼吸强度均下降迅速,两者呈正相关性($R^2=0.564$);在随后的 28~56 d 内,土壤 B[a]P 有效含量下降速度减小,土壤呼吸强度减弱速率也趋于平缓($R^2=0.520$)。这可能与土壤有效态 B[a]P 含量减少,土壤 B[a]P 的生物有效性降低有关。叠加污染条件下的土壤呼吸强度低于一次污染,这可能与不同污染方式下 B[a]P 的有效性和毒性不同有关。

3 讨论

土壤 B[a]P 可提取和有效含量随培养时间的延长而逐渐减少,生物有效性逐步降低,呈初始下降速率大,而后减少的规律,这与前人的研究结果一致。高学晟等^[21]的研究发现,多环芳烃的生物有效性与其在土壤中的停留时间成反比,且下降速率逐渐减小。张静等^[22]的研究表明,菲、芘在土壤中的可提取率随着时间的延长而逐渐降低,并呈现开始老化速率较快,而后老化速率减慢的趋势,菲、芘与土壤颗粒接触时间越长,其生物有效性越低。有机质含量是影响土壤中多环芳烃有效性的主要因素^[23-24];Luthy 等^[25]研究表明,土壤有机质与有机污染物存在着不可逆吸附部分。Bollag 等^[26]的研究证实,有机污染物与土壤有机质间通过氧化-还原作用力结合,形成一种结构稳定的高分子量聚合体,不易解吸或解吸附速率较慢,也不易被化学物质浸提。本文的结果证实,在培养的初始阶段,土壤 B[a]P 可提取含量和有效含量较高,随后逐渐降低,这可能与 B[a]P 被土壤组分(如有机质



图中 a、b、c 字母表示相同时间,不同处理间土壤呼吸强度差异显著性($P<0.05$)

图 3 土壤呼吸强度随时间的变化趋势

Figure 3 Changes of soil respiration intensity with time

等)吸附固定,形成结合残留态及结合残留 B[a]P 缓慢解吸动态变化有关。Reid 等^[27]研究表明,老化后的物质中可能存在能够迅速解吸和比较缓慢解吸的物质组分。Dec 等^[28-29]实验表明,在外界环境发生改变或者自身新陈代谢作用,钝化物质能够重新释放到土壤溶液。Brusseau 等^[30]用大量疏水性有机物证明了内部有机质扩散(IOMD)是非平衡吸附的原因。Comelissen 等^[31]实验证明,土壤有机质可显著增加有机污染物在土壤中的解吸释放。当外界环境发生改变,结合残留态 B[a]P 可能会缓慢解吸,重新释放到土壤溶液中。本研究结果证实,在叠加与一次污染条件下,0~20 cm 土层土壤中 B[a]P 含量高于 20~40 cm 土层,这可能与供试土壤 0~20 cm 土层中有机质高,增加了结合残留态 B[a]P 的解吸释放有关。

B[a]P 进入土壤的途径和方式也是影响其生物有效性的因素^[32]。累积污染条件下,B[a]P 以叠加累积的方式进入土壤,其与土壤颗粒的相互作用是逐步进行的,随着叠加时间延长,每次进入土壤中的 B[a]P 均能与土壤充分接触。老化作用完全,B[a]P 可分布到土壤强吸附位点或与土壤组分形成共价键^[33],吸附结合程度高,被土壤有机质和晶格的物理“捕获”的量也更多,B[a]P 有效含量减少,生物有效性降低^[20,34]。而在一次污染条件下,B[a]P 以一次方式进入土壤后,B[a]P 与土壤颗粒相互作用时间短,与土壤颗粒接触不充分,老化作用不完全。B[a]P 与土壤组分结合程度低,被有机质固定的少,土壤中 B[a]P 可提取含量和有效含量较高,生物有效性高。

随着 B[a]P 进入土壤的时间延长,土壤呼吸强度呈现先减弱、后逐渐恢复的规律。这与前人研究其他有机污染物对土壤呼吸的结果一致。骆英爱等^[35]的研究表明,低剂量的氟啶胺加入土壤后,土壤呼吸作用随时间变化呈现先抑制后激活恢复的规律。金彩霞等^[36]的研究表明,磺胺间甲氧嘧啶对土壤呼吸作用也呈现抑制、激活、恢复的规律。土壤呼吸的这种变化可能与有机污染物毒性有关。氟啶胺、磺胺间甲氧嘧啶及抗生素^[37]等加入土壤后抑制一些微生物的活性,土壤呼吸强度受到抑制;随着时间增长,有机污染物浓度降低,部分土壤微生物对有机污染物毒性产生了耐受性,可以利用有机污染物作为碳源,促进自身生长,土壤呼吸得到恢复。Iovieno 等^[38]的研究表明,改变微生物群落结构也可影响土壤呼吸强度。而张晶等^[10]研究表明,多环芳烃污染使土壤细菌群落发生改变,高浓度多环芳烃污染造成一些敏感细菌种类消失;沈国

清等^[39]的研究发现,菲污染抑制了土壤细菌、放线菌和真菌的生长。B[a]P 作为一种典型的多环芳烃污染物,能够抑制微生物的生长,改变群落结构^[40],进而影响土壤呼吸强度。本文的结果表明,在叠加污染和一次污染条件下,土壤呼吸呈现先减弱,尔后逐渐恢复的规律,这可能与初始时较高浓度的 B[a]P 加入土壤抑制了微生物的活性与生长,改变了群落结构,抑制了土壤呼吸,尔后部分微生物对 B[a]P 产生了耐受性,微生物活性恢复有关。

土壤呼吸强度也会随土壤 B[a]P 有效性的变化而改变。当 B[a]P 新进入土壤时,被吸附固定数量较少,有效含量较高,生物有效性较高,对微生物产生的毒害作用较大,土壤呼吸强度弱;随着培养时间的增长,土壤中有效 B[a]P 的含量逐渐降低时,土壤 B[a]P 生物有效性降低,B[a]P 对微生物产生毒害作用也减弱,部分微生物可能对 B[a]P 逐步适应。B[a]P 在简单有机物(水杨酸、邻苯二甲酸)的存在下能被微生物共代谢利用^[41],从而增强微生物呼吸作用。

4 结论

(1)随着培养时间的延长,土壤 B[a]P 可提取量和有效含量减少,生物有效性降低,并呈现前期(1~28 d)减少的速率大,后期(28~56 d)减少的速率小的规律。

(2)在叠加污染条件下,土壤 B[a]P 可提取量比一次污染条件下降低了 34.50%~57.29%,土壤 B[a]P 有效含量则比一次污染低 19.00%~43.80%。

(3)在叠加和一次污染方式下,土壤呼吸强度随 B[a]P 培养时间的延长呈现出先减弱,尔后逐渐恢复的规律。叠加污染条件下,0~20 cm 土层中土壤呼吸强度比一次污染低 26.50%~19.25%。土壤 B[a]P 有效含量与呼吸强度呈正相关($R^2=0.564$)。

参考文献:

- [1] 周岩梅,张 琼,汤鸿霄.多环芳烃类有机物在腐植酸上的吸附行为研究[J].环境科学学报,2010,30(8):1564-1571.
ZHOU Yan-mei, ZHANG Qiong, TANG Hong-xiao. Sorption behavior of polycyclic aromatic hydrocarbons on to humic acid particulates[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(8):1564-1571.
- [2] 王 伟,朱若华.环境样品中多环芳烃类物质的研究进展[J].北京教育学院报(自然科学版),2008,22(4):8-13.
WANG Wei, ZHU Ruo-hua. development of polycyclic aromatic hydrocarbons in environment matrix [J]. *Journal of Beijing Institute of Education(Natural Science)*, 2008, 22(4):8-13.
- [3] 刘世亮,骆永明,丁克强,等.黑麦草对苯并[a]芘污染土壤根际修复

- 及其酶学机理研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2): 526-532.
- LIU Shi-liang, LUO Yong-ming, DING Ke-qiang, et al. Rhizosphere remediation and its mechanism of benzo[a]pyrene-contaminated soil by growing ryegrass[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(2): 526-532.
- [4] 张天彬, 万洪富, 杨国义, 等. 珠江三角洲典型城市农业土壤及蔬菜中多环芳烃分布[J]. 环境科学学报, 2008, 28(11): 2375-2384.
- ZHANG Tian-bin, WAN Hong-fu, YANG Guo-yi, et al. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soil and vegetables of Foshan city in the Pearl River delta[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(11): 2375-2384.
- [5] 杜文超, 孙媛媛, 曹璐, 等. 野外 Lysimeter 试验 ^{14}C 同位素示踪研究土壤-小麦系统多环芳烃的环境归趋[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(8): 1557-1561.
- DU Wen-chao, SUN Yuan-yuan, CAO Lu, et al. Fate of ^{14}C -labeled naphthalene in field lysimeter with growth of wheat plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(8): 1557-1561.
- [6] Tao S, Cui Y H, Xu F L, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables from Tianjin[J]. *The Science of the Total Environment*, 2004, 320(1): 11-24.
- [7] 陈素媛, 何江涛, 金爱芳, 等. 多环芳烃在不同灌区土壤剖面的分布特征研究[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(10): 10-14.
- CHEN Su-nuan, HE Jiang-tao, JIN Ai-fang, et al. Distribution characteristics of PAHs in soil profiles of different irrigation areas[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 33(10): 10-14.
- [8] 丁克强, 骆永明, 刘世亮. 多环芳烃对土壤中小麦发育的生态毒性效应[J]. 南京工程学院学报(自然科学版), 2008, 6(2): 52-56.
- DING Ke-qiang, LUO Yong-ming, LIU Shi-liang. Ecotoxicity effect of polycyclic aromatic hydrocarbons on wheat growth[J]. *Journal of Nanjing Institute of Technology(Natural Science Edition)*, 2008, 6(2): 52-56.
- [9] 王磊, 宋玉芳, 张薇, 等. 蚯蚓细胞色素 P450 及抗氧化酶系对环境浓度苯并(a)芘的响应[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(2): 337-342.
- WANG Lei, SONG Yu-fang, ZHANG Wei, et al. Influence of benzo(a)pyrene on cytochrome P450 and antioxidant enzymes in earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(2): 337-342.
- [10] 张晶, 张惠文, 李新宇, 等. 多环芳烃胁迫下稻田土壤细菌及分支杆菌种群多样性研究[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(2): 405-410.
- ZHANG Jing, ZHANG Hui-wen, LI Xin-yu, et al. Bacterium and mycobacterium diversity in paddy soils under PAHs stress[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2008, 16(2): 405-410.
- [11] 徐慧, 仓龙, 周东美, 等. 土壤中多环芳烃生物有效性的化学评价方法研究进展[J]. 广东农业科学, 2010(5): 81-84.
- XU Hui, CANG Long, ZHOU Dong-mei, et al. Progress on the chemical assessment methods of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) bioavailability in soil [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2010(5): 81-84.
- [12] 鲍士旦. 土壤与农化分析[M]. 第三版. 北京: 中国农业出版社, 2010: 25-114.
- BAO Shi-dan. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3th Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2010: 25-114.
- [13] 史志诚. 生态毒理学概论[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 93-98.
- SHI Zhi-cheng. Introduction to ecotoxicology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2005: 93-98.
- [14] 吕正勇, 杨兴伦, 王芳, 等. Tenax 提取预测老化土壤中多环芳烃的生物有效性[J]. 中国环境科学, 2011, 31(4): 647-656.
- LV Zheng-yong, YANG Xing-lun, WANG Fang, et al. The tenax extraction technique to predict the bioavailability of aged PAHs in soil[J]. *China Environmental Science*, 2011, 31(4): 647-656.
- [15] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986: 226-228.
- XU Guang-hui, ZHENG Hong-yuan. Soil microbial analysis handbook [M]. Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1986: 226-228.
- [16] 郝蓉, 彭少麟, 宋艳敏, 等. 汕头经济特区土壤中优控 PAHs 的分布[J]. 生态环境, 2004, 13(3): 323-326.
- HAO Rong, PENG Shao-lin, SONG Yan-tun, et al. Distribution of priority polycyclic aromatic hydrocarbons in soils in Shantou Specific Economic Zone[J]. *Ecology and Environment*, 2004, 13(3): 323-326.
- [17] 苏丹, 李培军, 王鑫, 等. 3 株细菌对土壤中芘和苯并芘的降解及其动力学[J]. 环境科学, 2007, 28(4): 913-917.
- SU Dan, LI Pei-jun, WANG Xin, et al. Degradation and kinetics of pyrene and benzo[a]pyrene by three bacteria in contaminated soil[J]. *Environment Science*, 2007, 28(4): 913-917.
- [18] 邵建建, 蒋新. 土壤中结合残留态农药的生态环境效应[J]. 生态环境, 2004, 13(3): 399-402, 413.
- GAO Hong-jian, JIANG Xin. Eco-environmental impacts of bound pesticide residues in soil: A review[J]. *Ecology and Environment*, 2004, 13(3): 399-402, 413.
- [19] 孙红文, 霍崇, 王翠萍. 土壤中多环芳烃的 SPMD 辅助解吸行为研究[J]. 环境科学, 2007, 28(8): 1481-1486.
- SUN Hong-wen, HUO Chong, WANG Cui-ping. Desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils assisted by SPMD[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(8): 1481-1486.
- [20] 李俊国, 李存国, 孙红文. 老化对土壤中芘的生物有效性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊): 77-80.
- LI Jun-guo, LI Cun-guo, SUN Hong-wen. Effects of aging on bioavailability of pyrene[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(Sup.): 77-80.
- [21] 高学晟, 姜霞, 区自清. 多环芳烃在土壤中的行为[J]. 应用生态学报, 2002, 13(4): 501-504.
- GAO Xue-sheng, JIANG Xia, OU Zi-qing. Behaviors of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(4): 501-504.
- [22] 张静, 马丽丽, 焦加国, 等. 菲、芘在单一和复合污染条件下不同老化阶段的提取速率及其生物有效性[J]. 土壤, 2010, 42(3): 385-389.
- ZHANG Jing, MA Li-li, JIAO Jia-guo, et al. Effects of aging on extractability and bioavailability of phenanthrene and pyrene[J]. *Soils*, 2010, 42(3): 385-389.
- [23] 李久海, 潘根兴. 土壤中有机污染物的老化及其环境意义[J]. 土壤

- 通报, 2006, 37(2): 376-382.
- LI Jiu-hai, PAN Gen-xing. Aging of organic pollutants in soil and its environmental significance[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, 37(2): 376-382.
- [24] Gao Y Z, Xiong W, Ling W T, et al. Impact of exotic and inherent dissolved organic matter on sorption of phenanthrene by soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2006, 134(1): 8-18.
- [25] Luthy R G, Aiken G R, Bruseau M L. Sequestration of hydrophobic organic contaminants by geosorbents [J]. *Environ Sci Technol*, 1997, 31(12): 3341-3347.
- [26] Bollag J M, Loll M J. Incorporation of xenobiotics into soil humus[J]. *Experientia*, 1983, 39(11): 1221-1231.
- [27] Reid B J, Jones K C, Semple K T. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments: A perspective on mechanisms, consequences and assessment[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 108: 103-112.
- [28] Dec J, Bollag J M. Determination of covalent and non-covalent binding interactions between xenobiotic chemical and soil[J]. *Soil Science*, 1997, 162: 857-874.
- [29] Dec J, Bollag J M. Microbial release and degradation of catechol and chlorophenols bound to synthetic humic acids[J]. *Soil Science Society American Journal*, 1988, 52: 1366-1371.
- [30] Bruseau M L, Jessup R E, Rao S C. Nonequilibrium sorption of organic chemicals: Elucidation of rate-limiting processes[J]. *Environmental Science and Technology*, 1991, 25: 134-142.
- [31] Comelissen G, Van N P, Govers H. Mechanism of slow desorption of organic compounds from sediments: A study using model sorbents[J]. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32(20): 3124-3131.
- [32] Yang Y, Zhang N, Xue M, et al. Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158: 2170-2174.
- [33] Geva B, Semple K T, Minard R D. Bound pesticide residues in soils: A review[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 108: 3-14.
- [34] Sverdrup L E, Jensen J, Krogh P H, et al. Studies on the effect of soil aging on the toxicity of pyrene and phenanthrene to a soil-dwelling springtail[J]. *Environ Toxicol Chem*, 2002, 21(3): 489-492.
- [35] 骆英爱, 余向阳. 氟啶胺对土壤中蔗糖酶活性及呼吸作用的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2011, 19(4): 902-906.
- LUO Ying-ai, YU Xiang-yang. Effects of fluazinam on soil sucrase activity and respiration[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2011, 19(4): 902-906.
- [36] 金彩霞, 刘军军, 陈秋颖, 等. 兽药磺胺间甲氧嘧啶对土壤呼吸及酶活性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2010, 29(2): 314-318.
- JIN Cai-xia, LIU Jun-jun, CHEN Qiu-ying, et al. Effects of sulfamonomethoxine on soil respiration and enzyme activity[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(2): 314-318.
- [37] 王金花, 朱鲁生, 王 军, 等. 四种典型抗生素对土壤微生物呼吸的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(11): 2232-2236.
- WANG Jin-hua, ZHU Lu-sheng, WANG Jun, et al. Effects of four typical antibiotics on soil microbial respiration[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(11): 2232-2236.
- [38] Iovieno P, Morra L, Leone A, et al. Effect of organic and mineral fertilizers on soil respiration and enzyme activities of two Mediterranean horticultural soils[J]. *Biol Fertil Soils*, 2009, 5(45): 555-561.
- [39] 沈国清, 陆贻通, 洪静波, 等. 菲和镉复合污染对土壤微生物的生态毒理效应[J]. *环境化学*, 2005, 24(6): 662-665.
- SHEN Guo-qing, LU Yi-tong, HONG Jing-bo, et al. Ecotoxicological effect of phenanthrene and Cd combined pollution on soil microbe[J]. *Environmental Chemistry*, 2005, 24(6): 662-665.
- [40] 彭静静, 张又驰, 侯艳伟, 等. 炼油厂周边 PAHs 污染土壤中微生物群落结构多样性研究[J]. *生态环境学报*, 2011, 20(5): 962-965.
- PENG Jing-jing, ZHANG You-chi, HOU Yan-wei, et al. Application of T-RFLP to study microbial diversity in PAHs polluted soil around oil refinery[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(5): 962-965.
- [41] 刘世亮, 骆永明, 吴龙华, 等. 污染土壤中苯并[a]芘的微生物代谢修复[J]. *土壤学报*, 2010, 47(2): 364-369.
- LIU Shi-liang, LUO Yong-ming, WU Long-hua, et al. Remediation of benzo [a]pyrene contaminated soil through its co-metabolism with soil microbes[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47(2): 364-369.