

中文核心期刊/CSCD

请通过网上投稿系统投稿 网址: http://www.aes.org.cn

不同污染时长土壤中石油烃的生物去除特性及影响因素

侯爽爽, 吴蔓莉, 肖贺月, 段旭红, 易宁

引用本文:

侯爽爽, 吴蔓莉, 肖贺月, 等. 不同污染时长土壤中石油烃的生物去除特性及影响因素[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 1034–1042.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1260

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

生物修复对黄土壤中石油烃的去除作用及影响因素

吴蔓莉, 张晨, 祁燕云, 叶茜琼, 祝长成

农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1159-1165 https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1549

生物质材料与营养物配施对石油污染土壤的修复

王艳杰, 李法云, 荣湘民, 陈佳勃, 石丽芳

农业环境科学学报. 2018, 37(2): 232-238 https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1058

生物修复对石油污染土壤微生物活性的影响

陈凯丽, 吴蔓莉, 叶茜琼, 李炜, 袁婧

农业环境科学学报. 2017, 36(2): 279-285 https://doi.org/10.11654/jaes.2016-0991

微生物强化对石油污染土壤的修复特性研究

王娣, 马闯, 高欢, 刘恒, 徐会宁, 吴蔓莉

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2798-2805 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0534

石油降解菌群的构建及其对混合烃的降解特性

范瑞娟,郭书海,李凤梅

农业环境科学学报. 2017, 36(3): 522-530 https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1266



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

侯爽爽, 吴蔓莉, 肖贺月, 等. 不同污染时长土壤中石油烃的生物去除特性及影响因素[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 1034-1042.

HOU Shuang-shuang, WU Man-li, XIAO He-yue, et al. Biological removal efficiency and influencing factors of petroleum hydrocarbons in soil with different polluted time[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(5): 1034–1042.



王放科学 OSID

不同污染时长土壤中石油烃的生物去除特性及影响因素

侯爽爽, 吴蔓莉*, 肖贺月, 段旭红, 易宁

(陕西省环境工程重点实验室,西北水资源与环境生态教育部重点实验室,西安建筑科技大学环境与市政工程学院,西安 710055)

摘 要:利用生物刺激法修复不同污染时长的土壤,比较了向新污染(污染7d)和陈旧性污染(污染5a以上)土壤中加入有机肥、有机肥+KNO3复合物(C:N=100:10)、脱硫石膏等处理剂对土壤中石油烃的去除效果。结果表明:对于新污染黄绵土,向土壤中加入有机肥、有机肥+KNO3对土壤中石油烃去除效果较好,修复150d时土壤中石油烃去除率分别为60.13%、56.09%;对于陈旧性污染土壤,施入有机肥+KNO3、脱硫石膏对石油烃去除效果较好,修复150d时土壤中石油烃的去除率分别为36.62%、36.61%;生物刺激对新污染土壤中石油烃的去除效率高于陈旧性污染土壤。两种不同污染时长土壤中的石油烃生物降解均符合伪一级动力学。生物刺激修复使土壤的pH值由8.50~8.56降低至7.35~7.91。新污染土壤中石油烃的降解率与pH值呈显著负相关(相关系数为-0.789),与微生物数量呈显著正相关(相关系数为0.849);陈旧性污染土壤中石油烃降解率与土壤pH值呈显著负相关(相关系数为-0.683)。研究表明,土壤受到石油污染后立即进行生物刺激修复有利于土壤中石油烃的去除,影响不同污染时长土壤中石油烃生物降解的关键因素并不相同。

关键词:生物刺激修复;修复剂;石油烃;土壤;污染时长

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)05-1034-09 doi:10.11654/jaes.2020-1260

Biological removal efficiency and influencing factors of petroleum hydrocarbons in soil with different polluted time

HOU Shuang-shuang, WU Man-li*, XIAO He-yue, DUAN Xu-hong, YI Ning

(Shaanxi Key Laboratory of Environmental Engineering, Key Laboratory of Northwest Water Resource, Environment and Ecology, School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: Petroleum hydrocarbon removal efficiencies in freshly/aged contaminated loessal soil were analyzed by adding organic fertilizer, organic fertilizer plus KNO₃ (C: N=100: 10), and desulfurized gypsum as biostimulant agents. Results showed that after 150 days of remediation, petroleum hydrocarbon removal efficiencies were 60.13% and 56.09% in the freshly contaminated soils treated with organic fertilizer and organic fertilizer plus KNO₃, respectively, which were higher than that of treated with desulfurized gypsum. In the aged contaminated soil, the hydrocarbon removal efficiencies were 36.62% and 36.61% in the soils treated with organic fertilizer plus KNO₃ and desulfurized gypsum, respectively. The petroleum removal efficiencies were higher in the freshly contaminated soil than those in the aged contaminated soil. In both the freshly and aged contaminated soil, the petroleum hydrocarbon biodegradation efficiencies conformed to pseudo first-order kinetics. Soil pH decreased from 8.50~8.56 to 7.35~7.91 owing to bioremediation. In the freshly contaminated soil, hydrocarbon biodegradation efficiency positively correlated with the number of soil microorganisms with the correlation coefficient of 0.849; however, the hydrocarbon biodegradation efficiency negatively correlated with pH with the correlation coefficient of -0.789. In the aged

收稿日期:2020-11-01 录用日期:2020-12-14

作者简介:侯爽爽(1996—),女,山东菏泽人,硕士研究生,主要从事石油污染土壤的微生物修复技术研究。E-mail:1961458788@qq.com

^{*}通信作者:吴蔓莉 E-mail:447005853@qq.com

contaminated soil, the hydrocarbon biodegradation efficiency negatively correlated with pH, and the correlation coefficient was - 0.683. These results indicate that biostimulation remediation is more effective for hydrocarbon removal in the freshly contaminated loessal soil than that in the aged contaminated soil. The key factors affecting petroleum hydrocarbon biodegradation in soils with different pollution time frames are different.

Keywords: biostimulation; stimulating agents; petroleum hydrocarbon; soil; pollution time

生物刺激修复是目前广为采用的土壤有机污染修复技术[1-2]。石油污染土壤中由于外碳源的大量输入,造成氮磷营养相对缺乏,制约了土著微生物的代谢活性及其对石油烃的降解能力。向土壤中补充氮磷营养或添加调理剂是一种常用的生物刺激修复方式[3-6]。一些研究对加入外源氮修复石油污染土壤进行了详细报道[7-9]。所采用的氮源包括无机氮源NH4Cl、KNO3、NH4NO3、(NH4)2SO4和有机氮源尿素CO(NH2)2等多种类型[10-13]。研究认为,当土壤C/N/P接近100/10/1时,土壤微生物活性最好,对石油烃的去除能力最强[14]。

微生物修复对石油烃的去除效果不仅与土壤pH值、湿度、养分、土壤微生物活性和数量有关,还与土壤污染时长有关[15]。一些研究认为新污染土壤中存在的大量轻质烃具有较好的生物可利用性,容易被土壤微生物降解代谢。然而,也有研究认为在新污染土壤中,降解菌数量少且活性低,石油污染使得土壤土著微生物处于"扰动期",菌群结构的不稳定降低了石油烃的生物去除效率[16-18]。陈旧性污染土壤中存在的稳定菌群和数量较多的功能降解菌有利于石油烃的去除,但老化石油烃可能会被土壤有机质吸附锁定,导致其生物可利用性变差[19-21]。

我们在前期研究中发现,向陕北采油区污染土壤中加入有机肥可有效去除土壤中的石油烃。通过对比几种无机氮源发现,KNO3对污染土壤中石油烃的去除有较好的促进作用。脱硫石膏作为常用的土壤调理剂,可以调节土壤pH值并改善土壤的持水性[22-23]。因此本文选取上述3种物质作为生物刺激剂,比较施入有机肥、KNO3、脱硫石膏对不同污染时长土壤的修复效果,同时对土壤微生态变化情况进行研究,结果可为明确土壤受到污染后的最佳修复时期及影响因素提供一定的理论基础和参考依据。

1 材料与方法

1.1 石油污染土壤

在陕北子长某油井附近取受石油污染5a以上的表层黄绵土(0~20 cm),并在附近取洁净的未受污染

土壤(土壤中石油烃背景值低于500 mg·kg⁻¹),密封储存于聚乙烯袋中带回实验室。两种土样分别经风干、除杂、破碎、过2 mm筛混匀后备用。石油污染黄绵土的土壤质地和主要理化性质如表1 所示。

新污染土壤的制备:向 6.5 kg 洁净土壤中加入 130 g原油,原油取自陕北子长油田区,原油中总烃含量为 81.24%,沥青和胶质含量低于 1%,其他非烃化合物含量约为 17.76%,石油烃组分的测定方法为柱层析法[^{24]}和气相色谱法^[25](对 16 种多环芳烃进行测定)。将土壤与原油利用灭菌铲搅拌混匀,自然条件下放置7 d后进行修复处理,土壤中总石油烃、烷烃和多环芳烃的含量分别为 16 847、13 067 mg·kg⁻¹和 2 000 mg·kg⁻¹。

陈旧性污染土壤:称取 6.5 kg从陕北子长采集的 陈旧性污染土壤,土壤中总石油烃、烷烃和多环芳烃 的含量分别为 17 746、12 667 mg·kg⁻¹和 3 567 mg·kg⁻¹。

表 1 石油污染黄绵土的基本理化性质及土壤质地
Table 1 Physicochemical properties and soil textures of oil
contaminated loessal soil

 测定指标	数值	测定方法
Measurement index	Value	Measurement method
TPH/(mg•kg ⁻¹)	17 746	超声萃取-质量法
总氮/(mg·kg ⁻¹)	1 020	紫外分光光度法
氨氮/(mg·kg ⁻¹)	13.2	靛酚蓝比色法
硝氮/(mg·kg ⁻¹)	0.24	紫外分光光度法
总磷/(mg·kg ⁻¹)	468	氢氧化钠熔融-钼锑 抗比色法
有效磷/(mg·kg ⁻¹)	15.56	碳酸氢钠浸提-钼锑 抗比色法
pH值	8.38	pH电极法
有机质/%	1.76	TOC分析仪
全盐量/(mg·kg ⁻¹)	2 585	浸提法-电导法
阳离子交换总量CEC/ (cmol·kg ⁻¹)	4.87	NaOAc法
细沙(0.050~0.250 mm)/%	13.5	激光粒度仪法
粗粉砂(0.010~0.050 mm)/%	50.6	激光粒度仪法
中粉粒(0.005~0.010 mm)/%	14.7	激光粒度仪法
细粉粒(0.002~0.005 mm)/%	11.8	激光粒度仪法
粗黏粒(0.001~0.002 mm)/%	5.52	激光粒度仪法
细黏粒(<0.002 mm)/%	3.85	激光粒度仪法

1.2 修复方案

分别利用有机肥(取自西北农林科技大学,以干质量比1:2的猪粪:稻壳并加入5.0%的木炭渣经堆制腐解而成,基本性质[26]见表2)、KNO3、脱硫石膏(GYP,取自西安热电阳光热力有限公司,理化性质见表3)作为生物刺激剂对新污染和陈旧性污染土壤进行连续150 d修复,具体修复方案如表4所示。每个处理3个平行。定期向土壤中加入灭菌纯水以保持土壤含水率为15%,每3 d翻动一次进行通氧。

分别于修复的第 15、30、45、60、90、120、150 d取样,对土壤中的石油烃含量、pH值、微生物数量及微生物活性进行测定。

1.3 分析测定方法

1.3.1 石油烃的提取和测定

利用超声波萃取土壤中的总石油烃并用质量法进行测定。称取 5 g 待测土样置于通风橱风干研磨后,准确称取 3.0 g干土壤于 50 mL离心管内,加入 10 mL正已烷和二氯甲烷的等体积混合液,冰浴条件下利用超声波破碎仪(JY96-ⅡN,宁波新芝生物科技股份有限公司)超声萃取 10 min,功率为 180 W。在-4℃条件下,以 8 000 r·min⁻¹的速度离心 15 min,过滤,收集滤液于称质量后的 30 mL称量瓶内,重复上述操作两次,每次加入 10 mL 提取剂,合并滤液,将称量瓶置于通风橱内风干至恒质量^[27]。

1.3.2 土壤微牛物数量的测定

采用稀释平板法^[28]对土壤中的微生物数量进行测定,主要测定步骤如下:

土壤中微生物的提取:配制足够量的无机盐液体培养基($Na_2HPO_4 \cdot H_2O$ 17.689 g, KH_2PO_4 3.0 g, NH_4Cl 1.0 g, NaCl 0.5 g, $MgSO_4$ 1 mL 1 mol· L^{-1} , 微量元素 2.5 mL, 纯水 1 000 mL) 于锥形瓶中, 将锥形瓶用封口膜

封住,放入高压蒸汽灭菌锅,在121 ℃、103.4 kPa条件下灭菌30 min。待培养基冷却至室温后,准确称取1.0 g土壤放入离心管内,加入9.0 mL灭菌的无机盐培养基,涡旋振荡1 min后,静置20 min,滗析获得上清液即为土壤中的微生物悬液。

土壤中微生物数量的测定:配制适量的LB固体培养基(NaCl 10 g,酵母浸膏 5 g,蛋白胨 10 g,纯水 1 000 mL,固体培养基加18 g琼脂,pH值为7.0)于锥形瓶中,按上述方法灭菌30 min。灭菌完成后,在无菌条件下将冷却至60℃左右的LB培养基倒入培养皿中,冷却待用。

将上述滗析获得土壤微生物悬液在 10 mL 离心管中进行梯度稀释(稀释至 10⁻⁴~10⁻⁷),吸取 100 μL的稀释液于培养皿中,在酒精灯附近用涂布棒进行涂布。将涂布好的培养皿倒置在 30 ℃的电热恒温培养箱中 48 h后,选取菌落数在 30~300 之间的平板进行计数。

1.3.3 降解菌活性测定

利用原油、3种多环芳烃混合物(菲1g、蒽0.1g、芘0.1g,用二氯甲烷溶解并定容至100 mL)作为两种自定义碳源。利用Biolog-MT2板对石油烃降解菌活性进行测定,具体步骤为:准确称取各取样周期的干土壤样品1.0g放入含有99.0 mL灭菌蒸馏水的锥形瓶内,振荡20 min并静置30 min后,分别移取150 μL上清液接种到 MT2 微孔板中,分别在每个微孔中加入5 μL原油和多环芳烃作为自定义碳源,以不添加

表 3 脱硫石膏的理化性质

Table 3 Physicochemical properties of desulfurized gypsum

测定项目 Measurement item	pH值	含水量 Moisture content/%	硫酸钙含量 CaSO ₄ content/%	其他成分 Others/%
数值 Value	7.36	13.6	85.63	3.06

表2 有机肥的基本性质(mg·kg⁻¹)

Table 2 Selected chemical characteristics of the organic fertilizer (mg·kg⁻¹)

指标 Index	С	N	P	K	Na	Ca	Mg	Al	S	Cu	Fe	Mn
数值 Value	185 600	20 400	6 500	36 200	3 810	21 300	2 420	1 330	1 575	400	1 615	284

表 4 石油污染土壤生物刺激修复方案

Table 4 Experiment design for biostimulation of oil contaminated soil

样品编号Sample ID	新污染土壤 Freshed contaminated soil	陈旧性污染土壤 Aged contaminated soil
自然衰减(CK)	1 kg新污染土壤,自然条件下放置	1 kg 陈旧性污染土壤,自然条件下放置
有机肥(Y)	560 g新污染土壤+85 g有机肥	560 g 陈旧性污染土壤+85 g 有机肥
有机肥+KNO ₃ (Y+N)	560 g新污染土壤+85 g有机肥+KNO3(调节C:N=100:10)	560 g 陈旧性污染土壤+85 g 有机肥+KNO3(调节 C:N=100:10)
脱硫石膏(GYP)	1 kg新污染土壤+200 g GYP	1 kg 陈旧性污染土壤+200 g GYP

任何碳源的 A1~H4 微孔为对照。将接种好的 MT2 板 放入恒温培养箱(25 ℃)中培养168 h,每24 h记录一 次数据,并记录微孔的平均颜色变化率(Average well color development, AWCD), AWCD 计算公式如下:

$$AWCD = \frac{\sum_{i=1,j=1}^{4} (C_i - R_j)}{4}$$
 (1)

式中:C为第i个反应孔的光度值,R为第i个对照孔 的光度值。

1.3.4 土壤 pH 值的测定

向50 mL离心管中加入10 g待测土样及25 mL无 二氧化碳蒸馏水,磁力搅拌1 min 后,静置30 min,澄 清后利用校准过的pH计(PHS-3CT,上海雷磁)进行 测定。

1.4 降解动力学研究

利用零级、一级、伪一级、二级动力学方程对石油 烃降解随时间变化情况进行拟合,相关系数最大者为 反应的降解动力学模型。降解动力学方程如下:

零级降解动力学方程:

$$c_t = -kt + c_0 \tag{2}$$

一级降解动力学方程:

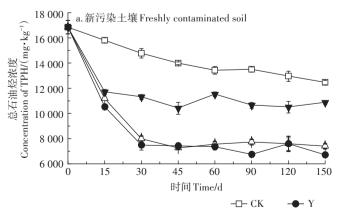
$$\ln c_t = -k_1 t + c_0 \tag{3}$$

二级降解动力学方程:

$$\frac{1}{c_t} = k_2 t + \frac{1}{c_0} \tag{4}$$

式中: c_1 为随时间变化的污染物浓度, $mg \cdot kg^{-1}$; c_0 为污 染物初始浓度,mg·kg-1;k为零级降解动力学速率常 数;t为降解时间,d;k₁为一级降解速率常数,d⁻¹;k₂为 二级降解速率常数,d-1。

对于石油烃降解率随时间的变化可参考伪一级 动力学方程:



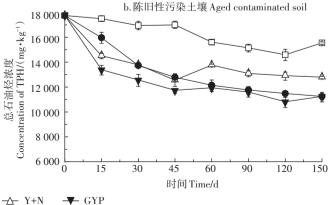


图 1 不同污染时长土壤中石油烃的生物刺激去除效果

Figure 1 Effects of biostimulation on the petroleum hydrocarbons removal in soils with different duration

$$y=a(1-e^{-k't}) \tag{5}$$

式中:γ为石油烃降解率,%;a为由非线性回归曲线求 得的常数:t为修复时间,d:k'为反应速率常数, d^{-1} 。

1.5 数据统计分析

利用 SPSS 18.0 软件对石油烃降解率、pH 值、微 生物数量及硝氮、氨氮的测定结果进行相关性分 析[29-30]。

结果与分析

2.1 土壤中石油烃的去除效果

新污染土壤(污染7d)和陈旧性污染土壤(污染 5 a以上)中石油烃的去除效果如图1所示。

新污染土壤中石油烃初始含量为16847 mg·kg⁻¹。 经150 d的修复处理,CK、Y、Y+N、GYP处理中的石油 烃含量分别变为12646、6716、7398、10882 mg·kg⁻¹, 石油烃降解率分别为24.94%、60.13%、56.09%、 35.40%。加入有机肥和有机肥与硝酸钾混合物对新 污染土壤中石油烃的去除效果较好(图 1a)。

加入生物刺激剂对陈旧性污染土壤中石油烃的 去除效果如图 1b 所示。经过 150 d 的修复, Y、GYP、 Y+N处理中石油烃含量由17746 mg·kg-1分别降低至 11 248、11 249、12 797 mg·kg⁻¹,石油烃去除率分别为 36.62%、36.61%、27.88%。对于陈旧性污染土壤,加 入有机肥或脱硫石膏对土壤中石油烃的去除效果较 好。

2.2 石油烃生物降解的动力学特征

分别利用零级、一级、伪一级、二级动力学方程对 石油烃降解随时间变化的趋势进行拟合,拟合参数见 表5和表6。

根据表5和表6可知,新污染和陈旧性污染土壤

中石油烃的生物降解均符合伪一级动力学方程。利用伪一级动力学方程对石油烃降解率随时间变化趋势进行拟合,得到图2。根据图2可知,不同修复处理的土壤中石油烃生物降解随时间变化均符合伪一级动力学方程,相关系数R²在0.9以上。

2.3 生物刺激修复对土壤微生态环境的影响

2.3.1 土壤 pH 值

图 3 为修复过程中土壤 pH值的变化曲线。相比 CK 土壤,经生物刺激修复处理的土壤 pH值明显降低,土壤 pH值由 8.50~8.56 降低至 7.35~7.91。 pH值接近中性时土壤微生物活性最大,pH值过高或过低都会抑制微生物的生长。本研究中的污染土壤为碱

性土,加入生物刺激剂降低了土壤的pH值,为土著微生物的生长和代谢活性提供了有利条件。

2.3.2 土壤微生物数量

土壤微生物数量变化见图 4。对新污染土壤修复 150 d, CK、Y、Y+N和 GYP 4种处理中的微生物数量分别为 4.7×10⁴、8.1×10⁶、6.9×10⁶、5.2×10⁵ cfu·g⁻¹土(图 4a)。经 CK、Y、Y+N和 GYP 处理的陈旧性污染土壤中微生物数量分别为 5.3×10⁴、8.6×10⁶、1.3×10⁷、4.0×10⁵ cfu·g⁻¹土(图 4b)。Y和 Y+N 修复的土壤中微生物数量最多,比 CK和 GYP 处理的土壤中高出约 2个数量级。因此,向不同污染时长土壤中加入有机肥可促进土壤微生物的增殖,且陈旧性污染土壤中微生

表 5 新污染土壤中石油烃降解的动力学参数

Table 5 Kinetic parameters of petroleum hydrocarbon biodegradation in the freshly contaminated soil

奏级动力学		一级动力学 First-order dynamics			及动力学 order dynamics	二级动力学 Second-order dynamics		
Treatment	k/d^{-1}	R^2	$k_1/{\rm d}^{-1}$	R^2	k'/d^{-1}	R^2	k_2/d^{-1}	R^2
CK	20.989 4	0.800 5	0.001 5	0.603 8	0.003 1	0.976 2	1.09E-07	0.850 9
Y	16.388 5	0.266 2	0.002 0	0.704 1	0.008 2	0.986 3	2.40E-07	0.322 9
Y+N	15.535 0	0.172 4	0.001 7	0.321 8	0.007 8	0.985 5	1.90E-07	0.183 8
GYP	5.751 8	0.164 4	0.000 5	0.700 2	0.016 2	0.965 6	4.60E-08	0.146 6

表6 陈旧性污染土壤中石油烃降解的动力学参数

Table 6 Kinetic parameters of petroleum hydrocarbon biodegradation in the aged contaminated soil

处理	Zero-order dynamics		一级动力学 First-order dynamics			的力学 order dynamics	二级动力学 Second-order dynamics	
Treatment -	k/d^{-1}	R^2	k_1/d^{-1}	R^2	k'/d^{-1}	R^2	k_2/d^{-1}	R^2
CK	18.187 0	0.609 6	0.001 1	0.603 8	0.008 2	0.972 5	2.47E-08	0.013 3
Y	28.396 9	0.654 9	0.002 2	0.704 1	0.029 0	0.987 7	4.92E-08	0.610 7
Y+N	9.385 2	0.330 2	0.000 7	0.321 8	0.074 0	0.940 6	5.63E-08	0.054 5
GYP	14.922 1	0.687 6	0.001 2	0.700 2	0.066 6	0.972 6	9.21E-08	0.294 7

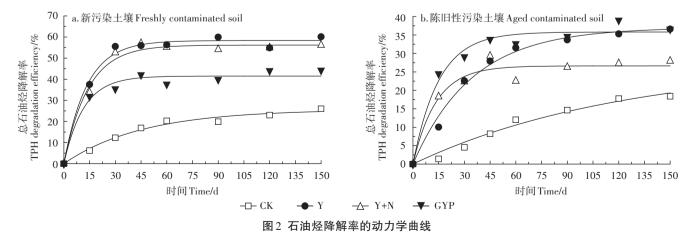


Figure 2 Kinetic curves of petroleum hydrocarbon degradation rates

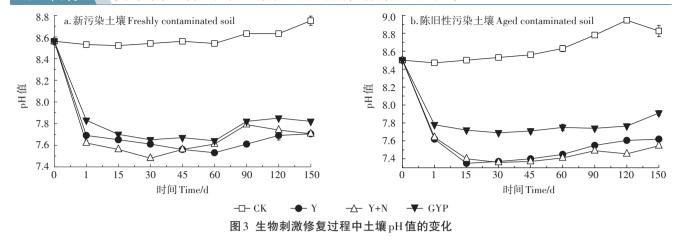


Figure 3 Changes of soil pH during biostimulation

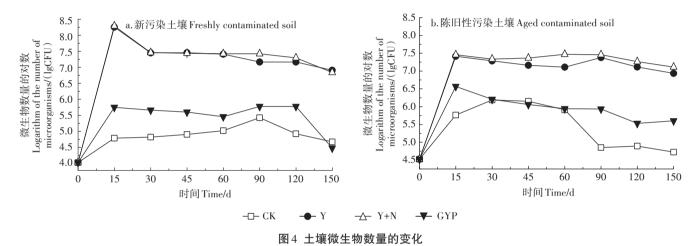


Figure 4 Number of soil microorganisms in different treatments

物数量略多于新污染土壤。

2.3.3 降解菌的代谢活性

以石油烃和多环芳烃为自定义碳源,利用Biolog 法测定了新污染土壤和陈旧性污染土壤中石油烃和 多环芳烃降解菌的代谢活性,测定结果如图5所示。

以石油烃为唯一碳源时,新污染和陈旧性污染土壤的 AWCD 值范围分别为 0.08~0.51 和 0.06~0.49。不同污染时长土壤中微生物对石油烃的代谢活性相差较小。新污染土壤分别在 CK 和 Y 修复 30 d 和 45 d 时,土壤微生物对石油烃的代谢活性最大,此后逐渐降低。陈旧性污染土壤均在 Y 和 Y+N 修复 15 d 时,土壤微生物的代谢活性最大,此后活性随培养时间的增加而逐渐降低。

以多环芳烃为唯一碳源时,新污染和陈旧性污染土壤的 AWCD 值分别为 0.01~0.11 和 0.01~0.27。陈旧性污染土壤中微生物对多环芳烃的代谢活性总体大于新污染土壤。经过 120 d 的修复,新污染土壤中

Y处理对多环芳烃的代谢活性最大,CK和Y+N处理次之,GYP处理中微生物对多环芳烃的代谢活性最低;陈旧性污染土壤中微生物对多环芳烃的代谢活性由高到低顺序为Y>Y+N>CK>GYP,与新污染土壤趋势基本一致。结果表明,加入脱硫石膏修复处理的土壤中微生物对多环芳烃的代谢活性最差。

2.4 石油烃降解与硝氮、氨氮、pH值及微生物数量的相关性分析

对石油烃降解率、pH值、微生物数量及硝氮、氨氮进行相关性分析所得的结果如表7所示。

由表7可知,对污染时长不同的土壤,影响石油 烃降解的关键因素不同。新污染土壤中的石油烃降 解率与硝氮、pH值、微生物数量呈极显著相关,相关 系数分别为0.686、-0.789、0.849(P<0.01),与氨氮的 相关性不显著。陈旧性污染土壤中石油烃降解率与 土壤 pH值呈极显著相关,相关系数为-0.683(P<0.01),与微生物数量及氮素含量无显著相关关系。 **1040** 农业环境科学学报 第40卷第5期

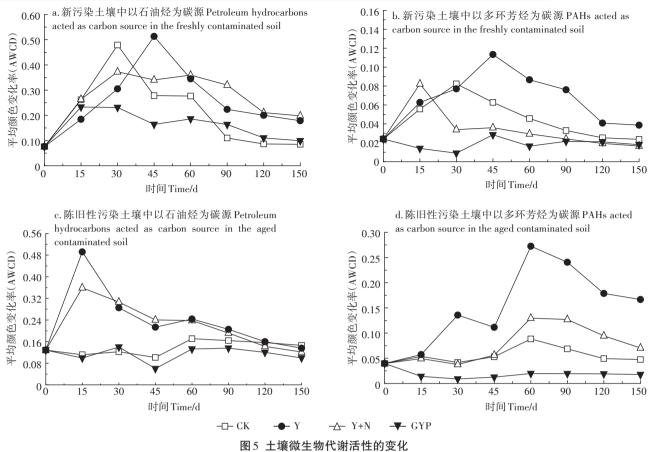


Figure 5 Changes of soil microbial metabolic activity towards hydrocarbons

表7 石油污染土壤生物刺激处理的各项指标相关性分析

Table 7 Correlation analysis of biological stimulation treatments of petroleum contaminated soil

参数		新污染土地	襄 Freshly c	ontaminated s	oil	陈旧性污染土壤 Aged contaminated soil					
Parameter	降解率	硝氮	氨氮	pH值	微生物数量	降解率	硝氮	氨氮	pH值	微生物数量	
降解率	1	0.686**	0.136	-0.789**	0.849**	1	0.118	0.310	-0.683**	0.180	
硝氮		1	0.376	-0.486	0.869**		1	0.156	-0.628**	0.906**	
氨氮			1	-0.080	0.391			1	-0.571*	0.414	
pH值				1	-0.592				1	-0.692**	
微生物数量					1					1	

注:**表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关;*表示 在 0.05 水平(双侧)上显著相关。

Note: ** indicates a significant correlation at the 0.01 level(two-sided); * indicates a significant correlation at the 0.05 level(two-sided).

3 讨论

向污染土壤中施入有机肥进行修复处理是一种环保经济的修复方法。有研究表明,向 Cd 和 Pb 污染的稻田土壤施用生物有机肥可以提高土壤 pH 值以及土壤养分含量,并显著降低土壤有效态 Cd 和 Pb 的含量[31]。Wellman等[32]的研究发现,对于石油烃浓度为 5 000 mg·kg⁻¹的污染土壤,施加有机肥修复 41 d后,石油烃去除率高出对照组 49%。本研究中,相比

脱硫石膏,施入有机肥对不同污染时长土壤中的石油 烃均有较好的去除效果。

有机肥中含有较高的有机质和丰富的养分,向污染土壤中施入有机肥,可为土壤土著微生物提供丰富的养分。此外,有机肥的保水、保温和透气性能可为微生物的生长增殖提供有利的环境条件。本研究中,向不同污染时长的土壤中施入有机肥进行修复处理,显著提高了土壤中微生物数量和代谢活性,进而提高了土壤中石油烃的去除效率。

生物刺激修复对新污染土壤中石油烃的去除效 率高于陈旧性污染土壤,不同污染时长土壤中影响 石油烃降解的关键因素存在差异。影响新污染土壤 中石油烃降解效率的主要因素包括土壤硝氮含量和 微生物数量。可能是由于在新污染土壤中,进入土 壤中的石油烃使土壤微生物群落结构发生变化,土 壤土著菌群处于"扰动期",此时向土壤中补充养分 或者增加土壤微生物数量均可提高降解菌对石油烃 的代谢活性。

陈旧性污染土壤中石油烃降解与微生物数量及 氮素含量无显著相关关系。一些研究认为[33-35],影响 陈旧性污染土壤中石油烃降解的主要因素是土壤有 机质对石油烃的吸附锁定。陈旧性污染土壤中的石 油烃经过长时间的迁移转化,会缓慢进入有机质中的 玻璃态刚性区域,污染物一旦进入介质孔隙内部,很 难被微生物接触利用,一部分污染物形成结合残留态 而直接被锁定,几乎不能被降解。

结论

- (1)向石油污染黄绵土中加入有机肥可提高土壤 微生物数量和活性,进而促进土壤中石油烃的去除。 加入有机肥修复150 d,对新污染与陈旧性污染土壤 中的总石油烃去除率分别为60.13%和36.62%。不同 污染时长的土壤中石油烃的生物降解均符合伪一级 动力学。
- (2)新污染土壤中石油烃的去除效率与降解菌数 量呈显著正相关关系,影响新污染土壤中石油烃降解 的关键因素为土壤中降解菌数量和硝氮含量。陈旧 性污染土壤中的石油烃降解率与微生物数量及氮含 量无显著相关关系。生物刺激修复处理使不同污染 时长的土壤pH值降低,为微生物的生长和活性提高 提供了有利的环境条件。

参考文献:

- [1] 王建刚, 王婷, 卞卫国, 等. 生物刺激法对石油污染荒漠土的修复效 应[J]. 环境化学, 2014, 33(12): 2214-2215. WANG Jian-gang, WANG Ting, BIAN Wei-guo, et al. The remediation effect of biostimulation method on petroleum contaminated desert soil[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(12):2214-2215.
- [2] Shahi A, Aydin S, Ince B, et al. Reconstruction of bacterial community structure and variation for enhanced petroleum hydrocarbons degradation through biostimulation of oil contaminated soil[J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 306:60-66.
- [3] Dias R L. Hydrocarbon removed and bacterial community structure in on-site biostimulated biopile systems designed for bioremediation of

- diesel-contaminated antaretic soil[J]. Polar Biology, 2015, 38 (5): 677-687.
- [4] Atlas R M, Hazen T C. Oil biodegradation and bioremediation: A tale of the two worst spills in US. History[J]. Environmental Science and Technology, 2011, 45(16):6709-6715.
- [5] 孙万虹, 陈丽华, 徐红伟. 氮磷含量对微生物修复油污土壤的影响 [J]. 生物技术通报, 2015, 31(6):157-164. SUN Wan-hong, CHEN Li-hua, XU Hong-wei. Effects of nitrogen and phosphorus contents on the oil degradation rate[J]. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(6):157-
- [6] 王艳杰, 李法云, 荣湘民, 等. 生物质材料与营养物配施对石油污染 土壤的修复[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(2): 232-238. WANG Yan-jie, LI Fa-yun, RONG Xiang-min, et al. Remediation of petroleum-contaminated soils by combined application of biomass materials and nutrients[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37(2): 232-238.
- [7] Carriere P. Enhanced biodegradation of creosote-contaminated soil[J]. Waste Management, 1995, 15(8):579-583.
- [8] 王静兰. 石油污染盐碱土壤生物修复模式研究[D]. 天津:天津理工 大学, 2015. WANG Jing-lan. Study on bioremediation mode of saline soil contaminated by petroleum[D]. Tianjin: Tianjin University of Technology, 2015.
- [9] 叶茜琼. 微生物修复对石油烃的去除特性及土壤微生态环境变化 研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2018. YE Xi-qiong. Impacts of bioremediation on soil micro-ecological environment and petroleum hydrocarbons degradation[D]. Xi' an: Xi' an University of Architecture and Technology, 2018.
- [10] Liu P, Chang T C, Whang L M, et al. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift[J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2011, 65(8):1119-1127.
- [11] Qin G, Gong D, Fan M Y. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by biostimulation amended with biochar[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 85:150-155.
- [12] 王晓宇. 胜利油田采油区石油污染生物修复效果试验研究[D]. 青 岛:中国海洋大学, 2013. WANG Xiao-yu. Experimental research on the bioremediation effects of the Shengli oil field's oil pollution [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [13] 何良菊, 李培杰, 魏德洲, 等. 石油烃微生物降解的营养平衡及降 解机理[J]. 环境科学, 2004, 25(1):91-94. HE Liang-ju, LI Peijie, WEI De-zhou, et al. Nutrient balance and mechanism of biological degradation of oil[J]. Environmental Science, 2004, 25(1):91-94.
- [14] 吴蔓莉, 张晨, 祁燕云, 等. 生物修复对黄土壤中石油烃的去除作 用及影响因素[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(6):1159-1165. WU Man-li, ZHANG Chen, QI Yan-yun, et al. Degradation of petroleum hydrocarbons during the bioremediation of cultivated loessial soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37 (6): 1159-
- [15] Golueke C G, Diaz L F. Biological treatment for hazardous wastes[J]. Biocycle, 1989:58-63.
- [16] 叶茜琼, 吴蔓莉, 陈凯丽, 等. 微生物修复油污土壤过程中氮素的

- 变化及菌群生态效应[J]. 环境科学, 2017, 38(2):728-734. YE Xi-qiong, WU Man-li, CHEN Kai-li, et al. Impacts of bioremediation on microbial communities and different forms of nitrogen in petroleum contaminated soil[J]. Environmental Science, 2017, 38(2):728-734.
- [17] Wu M L, Ye X Q, Chen K L, et al. Bacterial community shift and hydrocarbon transformation during bioremediation of short-term petro-leum-contaminated soil[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 223:657–664.
- [18] Khan M I, Cheema S A, Shen C, et al. Assessment of phenanthrene bioavailability in aged and unaged soils by mild extraction[J]. Environmental Monitoring and Assessment: An International Journal, 2012, 184(1):549-559.
- [19] Kauppi S. Enhancing bioremediation of diesel-fuel-contaminated soil in a boreal climate; Comparison of biostimulation and bioaugmentation [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65 (2): 359-368
- [20] 陈虹. 石油烃在土壤上的吸附行为及对其他有机污染物吸附的影响[D]. 大连:大连理工大学, 2009. CHEN Hong. Sorption of petroleum hydrocarbons on soil and sorption of selected organic pollutants on petroleum contaminated soil[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2009.
- [21] Jia J L, Zong S, Hu L, et al. The dynamic change of microbial communities in crude oil-contaminated soils from oil fields in China[J]. *Journal of Soil Contamination*, 2017, 26(2):171–183.
- [22] 王静, 肖国举, 许兴. 脱硫石膏对植物和土壤的影响[J]. 农学学报, 2015, 5(11): 44-48. WANG Jing, XIAO Guo-ju, XU Xing. Effect of flue gas desulphurization gypsum on soil and plant[J]. *Journal of* Agriculture, 2015, 5(11): 44-48.
- [23] Tian Y Q, Chen L M, Gao L H, et al. Composting of waste paint sludge containing melamine resin as affected by nutrients and gypsum addition and microbial inoculation[J]. *Environmental Pollution*, 2012, 162:129-137.
- [24] Yeh G C. Treatment and separation of petroleums and related materials[P]. US, US4515685,1985-05-07.
- [25] Turgay O C, Erdogan E E, Karaca A. Effect of humic deposit (leonardite) on degradation of semivolatile and heavy hydrocarbons and soil quality in crude-oil-contaminated soil[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2010, 170(1):45-58.
- [26] 吴蔓莉, 陈凯丽, 叶茜琼, 等. 堆肥-生物强化对重度石油污染土壤的修复作用[J]. 环境科学, 2017, 38(10):4412-4419. WU Manli, CHEN Kai-li, YE Xi-qiong, et al. Remediation of petroleum-contaminated soil using a bioaugmented compost technique[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(10):4412-4419.

- [27] 王如刚, 王敏, 牛晓伟, 等. 超声-索氏萃取-重量法测定土壤中总石油烃含量[J]. 分析化学研究简报, 2010, 38(3):417-420. WANG Ru-gang, WANG Min, NIU Xiao-wei, et al. Determination of total petroleum hydrocarbons content in soil by ultrasonic-soxhlet extraction-gravimetric analysis[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2010, 38(3):417-420.
- [28] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学试验[M]. 三版. 北京: 高等教育出版社, 1999: 92. SHEN Ping, FAN Xiu-rong, LI Guang-wu. Microbiology experiment[M]. 3th Edition. Beijing: Higher Education Press, 1999: 92.
- [29] 李政, 梁昌峰, 赵朝成, 等. 应用 SPSS 软件分析石油污染土壤微生态环境[J]. 石油学报(石油加工), 2012, 28(2): 345-351. LI Zheng, LIANG Chang-feng, ZHAO Chao-cheng, et al. Analysis of microbial ecosystem in petroleum polluted soils by statistic analysis software SPSS[J]. Acta Petrolei Sinica (Petroleum Processing Section), 2012, 28(2): 345-351.
- [30] 乔俊, 李志芬, 费鹏, 等. 石油污染土壤生物修复过程中影响修复效果和土壤毒性的因素分析[J]. 石油学报(石油加工), 2017, 33 (6):1237-1244. QIAO Jun, LI Zhi-fen, FEI Peng, et al. Actors analysis of affecting soil toxicity and bioremediation efficiency in bioremediation of petroleum contaminated soil[J]. Acta Petrolei Sinica (Petroleum Processing Section), 2017, 33(6):1237-1244.
- [31] 马铁铮, 马友华, 付欢欢, 等. 生物有机肥和生物炭对 Cd 和 Pb 污染稻田土壤修复的研究[J]. 农业资源与环境学报, 2015, 32(1): 14-19. MA Tie-zheng, MA You-hua, FU Huan-huan, et al. Remediation of biological organic fertilizer and biochar in paddy soil contaminated by Cd and Pb[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2015, 32(1):14-19.
- [32] Wellman D E, Ulery A L, Barcellona M P, et al. Animal waste-enhanced degradation of hydrocarbon-contaminated soil[J]. Soil and Sediment Contamination, 2001, 10(5):511-523.
- [33] Cornelissen G, van der Pal M, van Noort P C M. Competitive effects on the slow desorption of organic compounds from sediments[J]. Chemosphere, 1999, 39(11):1971-1981.
- [34] Bogan B W, Trbovic V. Effect of sequestration on PAH degradability with Fenton's reagent; Roles of total organic carbon, humin, and soil porosity[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2003, 100(1/2/3):285– 300
- [35] 平立凤, 骆永明. 有机质对多环芳烃环境行为影响的研究进展[J]. 土壤, 2005, 37(4):362-369. PING Li-feng, LUO Yong-ming. Effects of organic matter on environmental behaviors of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Soils, 2005, 37(4):362-369.