

黑麦草对多环芳烃污染土壤的修复作用及机制

高彦征^{1,2}, 凌婉婷¹, 朱利中², 沈其荣¹

(1.南京农业大学资源与环境学院, 江苏 南京 210095; 2.浙江大学环境与资源学院, 浙江 杭州 310029)

摘要:采用盆栽试验方法,研究了黑麦草(*Lolium multiflorum* Lam)对土壤中菲和芘的修复作用。供试污染土壤中菲和芘的起始浓度分别为 0~456.5 和 0~488.7 mg·kg⁻¹。结果表明,黑麦草可明显促进土壤中菲和芘的降解。45 d 后,种植黑麦草的土壤中菲和芘的去除率分别为 85.80%~90.79%和 44.32%~89.21%,均显著高于无植物对照;而残留浓度则比对照约低 53.6%和 78.3%。修复过程中,尽管黑麦草本身可吸收积累菲和芘,且根和茎叶中菲和芘的含量均随土壤中菲和芘浓度的提高而明显增大,但植物吸收积累并不是黑麦草促进土壤中菲和芘降解的主要原因,其贡献小于 0.54%;与微生物对照相比,植物修复效率明显提高,主要是植物促进了土著微生物对土壤中菲和芘的降解作用。

关键词:植物修复; 多环芳烃; 土壤; 植物吸收

中图分类号:X502 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2005)03-0498-05

Ryegrass-Accelerating Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons(PAHs) in Soils

GAO Yan-zheng^{1,2}, LING Wan-ting¹, ZHU Li-zhong², SHEN Qi-rong¹

(1. College of Natural Resource and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The prospect of using vegetation to enhance the degradation of organic contaminants such as PAHs in soil systems is an attractive cost-effective alternative to traditional engineering approaches. The principle contributions of plants to phytoremediation are either stimulation of soil microbial activity and degradation of contaminants, or plant direct uptake and accumulation of the PAHs. However, information is scant on plant uptake of these chemicals from soils. As a consequence, there are difficulties to evaluate the plant contribution to phytoremediation process. Thus, the mechanisms of phytoremediation for soil PAH pollutants were elucidated in this study based on investigation of plant uptake of these chemicals in soils. Phytoremediation for soil phenanthrene and pyrene with ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam) was investigated using a greenhouse study. The initial concentrations of phenanthrene and pyrene in soils were in a range of 0~456.5 and 0~488.7 mg·kg⁻¹, respectively. It has been found that ryegrass significantly promoted the degradation of these PAHs in the soils. At the end of the experiment after 45 days, about 85.80%~90.79% and 44.32%~89.21% of added respective phenanthrene and pyrene were disappeared from soils with ryegrass, which were higher than those in unplanted control soils. While the residual concentrations of phenanthrene and pyrene in the soils were in a range of 53.6% and 78.3%, lower than those in unplanted soils. Although uptake and accumulation of these PAHs by ryegrass were obvious, and the root or shoot concentrations monotonically increased with the increase of the soil PAH concentrations, plant off-take only accounted for less than 0.54% of dissipation enhancement for phenanthrene and pyrene in planted versus unplanted control soils, whereas plant-promoting biodegradation was the predominant contribution of remediation enhancement of these soil PAHs in the presence of ryegrass.

Keywords: phytoremediation; polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); soil; plant uptake

多环芳烃(PAHs)是土壤中多见的一类重要有机污染物,在一些重污染区,土壤中 PAHs 含量每千克可达上万微克,严重危害土壤的生产和生态功能、农

产品安全和人类健康。如何修复 PAHs 污染土壤受到国内外广泛关注^[1]。

人们试图采用物理、化学和微生物方法来修复 PAHs 污染的土壤。物理化学修复技术成本昂贵、易造成地下水等的次生污染,不适合大规模应用,而微生物修复往往需要向土壤中引入外源微生物,这些被引入的专性降解菌或基因工程菌降解 PAHs 的效果易

收稿日期:2004-09-16

基金项目:国家杰出青年科学基金(20125719);国家自然科学基金重点
项目(20330710)

作者简介:高彦征(1975—),男,博士。E-mail:gaoyanzheng@njau.edu.cn

受到土著微生物竞争的影响,而且外源菌的引入也存在潜在的土壤生态风险^[2]。事实上,迄今尚缺乏经济有效的 PAHs 污染土壤的修复技术。近来,植物修复有机污染土壤受到广泛关注^[3,4],然而,目前由于植物对 PAHs 的吸收积累作用很不清楚,无法明确植物吸收积累、土著微生物降解土壤 PAHs 的相对贡献率,植物修复机制尚待深入研究。本文以菲和芘^[5,6]为代表物,研究黑麦草对 PAHs 污染土壤的修复作用及机制,为拟订经济、高效、安全的 PAHs 污染土壤修复技术提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

菲和芘购自 Aldrich chemical Co., 纯度>98%;二氯甲烷、丙酮、正己烷、无水硫酸钠、层析用硅胶(200~300 目)为分析纯;甲醇为色谱醇。主要仪器:KQ-300DE 医用数控超声波清洗器, RM-3 旋转浓缩蒸发

器, Jouan VXE 38Q 超低温冰箱, Agilent-1100 高效液相色谱仪(HPLC)。

1.2 试验方法

供试潮土采自旱地表层(0~20 cm), 有机质含量为 1.45%, pH 为 5.05。土样采集后, 风干、过 3 mm 筛, 均匀加入菲和芘的丙酮溶液, 待丙酮挥发后, 用未污染土不断稀释, 多次搅拌、混匀, 制得菲和芘含量不同(见表 1)的污染土样。分别称取 500 g 于盆钵中, 50% 田间持水量下平衡 4 d 后待用。黑麦草(*Lolium multiflorum* Lam)经催芽后播于盆钵中, 出芽 7~10 d 后间苗, 留苗 8 株·盆⁻¹。同时做无植物对照和灭菌无植物对照(土样用 0.5% 的 HgCl₂ 溶液调节含水量^[6])。各处理均做 3 个平行。土壤水分维持在田间持水量的 50%, 每 2 周施无机肥一次^[4]。45 d 后采样, 植物根和茎叶采集后, 用蒸馏水充分淋洗, 再用滤纸蘸干表面水分, 于-65 ℃低温冰箱中保存, 待分析; 土样采集后, 充分混匀, 过 20 目筛后置于低温冰箱中待分析。

表 1 供试土样中菲和芘的起始浓度 (mg·kg⁻¹, 干重计)
Table 1 Initial concentrations of phenanthrene and pyrene in the treated soils

样号	S0*	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
菲	ND	7.450	13.08	33.80	65.75	101.5	133.3	261.2	456.5
芘	ND	8.010	17.22	48.74	92.66	130.9	171.5	289.6	488.7

注: * 为未污染土, ND 为未检出。

1.3 土壤和植物样品中菲和芘分析^[6]

植物样品粉碎后混匀。取定量于 25 mL 玻璃离心管中, 用 30 mL 1:1 的丙酮和正己烷溶液分 3 次、每次 10 mL 并超声萃取 30 min; 萃取液收集后过无水硫酸钠柱, 转移到 50 mL 圆底烧瓶中, 40 ℃恒温下浓缩至干, 用正己烷定容到 2 mL; 取 1 mL 过 2 g 硅胶柱, 用 1:1 的二氯甲烷和正己烷溶液洗脱; 洗脱液收集后浓缩至干, 用甲醇定容到 2 mL, 过 0.22 μm 孔径滤膜后, HPLC 分析。

取 2 g 土样于 25 mL 玻璃离心管中, 加入 2 g 无水硫酸钠, 混匀; 加入 10 mL 二氯甲烷, 盖紧后, 超声萃取 1 h; 4 000 r·min⁻¹ 下离心; 取 3 mL 上清液过 2 g 硅胶柱, 用 1:1 的二氯甲烷和正己烷溶液洗脱; 洗脱液收集后 40 ℃下浓缩至干, 用甲醇定容到 2 mL, 过 0.22 μm 孔径滤膜后 HPLC 分析。

2 结果与讨论

2.1 植物生物量

不同处理土壤中黑麦草根和茎叶的生物量(干重计)如图 1 所示。土壤中菲和芘的浓度低时, 根和茎叶

生物量与对照植物(生长于 S0)无显著差异($P < 0.05$; 图 1 中字母相同表示无显著差异); 当污染强度高时(如 S6~S8), 根和茎叶生物量显著低于对照, 且随污染强度提高, 生物量趋于减小, 生长于 S6、S7 和 S8 的根生物量分别为 0.61、0.58 和 0.55 g·pot⁻¹ (干重计), 茎叶生物量则为 1.41、1.39 和 1.27 g·pot⁻¹。须指出, 除生物量有所差异外, 生长于污染土样的供试黑麦草长势良好, 并没有其他表观胁迫或毒害效应。

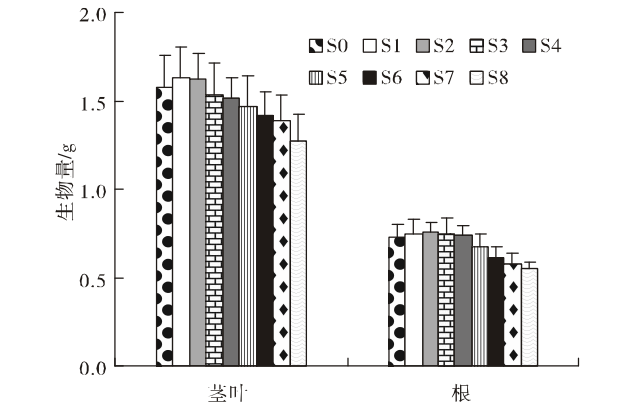


图 1 45 d 后不同处理土壤中黑麦草生物量
Figure 1 Biomass of ryegrass growing in the soil after 45 days

2.2 修复作用

图2为45 d后不同处理土壤中菲和芘的残留浓度。植黑麦草土壤中菲和芘的残留浓度分别比无植物对照低约53.6%和约78.3%。尽管在高污染负荷土壤中,黑麦草生物量较小(如土样S8),种植黑麦草土壤中菲和芘的残留浓度仍然明显低于对照。需指出,45 d后,供试各黑麦草土壤中菲的去除率为85.80%~90.79%;芘起始浓度低时(土样S1~S3),去除率为82.06%~89.21%,但当起始浓度高时(土样S5~S8),芘的去除率明显降低(44.32%~70.19%),但均显著高于无植物对照。上述结果表明黑麦草能显著提高污染土壤中菲和芘的降解,植物修复菲和芘污染土壤的效果明显。另外,由于芘的分子量大,较菲难于降解,在土壤中持留性强^[1,4,8],相同起始浓度下,同处理土壤中芘的残留浓度要远高于菲。

3环以上高分子量的PAHs(包括菲和芘)一般在土壤中难于降解、易持留,可长期危害农产品安全和人类健康,如何强化这类PAHs在土壤中的降解一直受到研究者的关注^[1,4,7]。本研究结果表明,种植植物的土壤中菲和芘的去除率高,植物对土壤中菲和芘降解的促进作用明显,供试污染强度下植物生长良好;上述这些现象说明利用植物修复技术来治理菲芘污染土壤是有效、可行的。

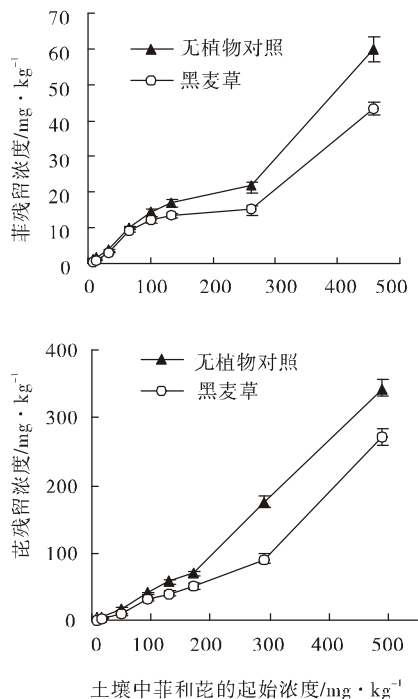


图2 黑麦草对土壤中菲和芘的修复作用

Figure 2 Ryegrass promoting dissipation of phenanthrene and pyrene in the soils

2.3 植物吸收

事实上,植物修复中植物本身可吸收积累有机污染物,这一方面会造成植物本身污染^[7],另一方面可去除环境污染物。搞清植物修复中植物对污染物的吸收积累作用,对于针对性地选择修复植物、合理利用土壤资源、在污染区有效生产农产品意义重大。然而,迄今有关植物吸收与PAHs污染强度的关系、植物不同部位对PAHs的积累能力及其与污染物性质的关系等诸多问题,尚很不清楚。

绘制了黑麦草根和茎叶中菲和芘的含量与土壤中菲和芘浓度的关系曲线(图3)。随土壤中菲和芘浓度提高,黑麦草根中菲和芘含量明显增大。即使在污染强度较小的土样中(如土样S1),根对菲和芘的吸收积累作用也很明显(菲和芘含量分别为0.137和0.456 mg · kg⁻¹);而在高污染负荷土壤中,根对菲和芘的积累作用很强,如45 d后生长于土样S8的根中菲和芘含量分别高达4.684和42.05 mg · kg⁻¹。另外,有研究者指出,非极性($K_{ow} > 10^4$)有机污染物主要分配到根表皮,分配进入根的能力与污染物的 K_{ow} 有关^[3];一般非极性强的污染物(K_{ow} 大)在根中含量也较高^[8]。显然,本研究中根中芘含量明显大于菲,根对土壤芘的吸收积累作用强于菲,这与芘的 K_{ow} 较大有关(菲和芘的lg K_{ow} 分别为4.46和4.88)^[9]。

由图3可见,茎叶中菲和芘的含量也随土壤浓度的提高而增大。供试土壤浓度范围内(土样S1~S8),45 d后黑麦草茎叶中菲和芘的含量分别为0.047~1.376 mg · kg⁻¹和0.060~2.305 mg · kg⁻¹。同一处理的茎叶中菲和芘的含量要远小于根,这主要是由于在根向茎叶传输的过程中,菲和芘由植物水相向植物有机相(特别是脂肪)的分配损失所致^[1]。

2.4 植物修复机制

进一步计算了植物吸收积累对植物修复菲芘污染土壤的贡献率。种植植物的土壤中菲和芘的去除包括渗滤(Leaching)、非生物性损失(Abiotic loss,如吸附、光解、挥发等)、微生物降解、植物吸收积累等途径;而无植物对照土壤中菲和芘的去除则包括渗滤、非生物性损失、微生物降解。本试验中,有或无植物的盆钵中都没有发现菲和芘的渗滤损失。Reilley等报道,检测不到盆钵渗滤液中的蒽和芘^[4];Trapp等报道,植物代谢的PAHs量并不高^[8];也有研究得出,有无植物土壤中PAHs的非生物性损失没有显著差异^[4]。本试验灭菌无植物对照土壤中菲和芘的降解率,即非生物性损失,分别为7.68%和3.76%,显然非生物性损

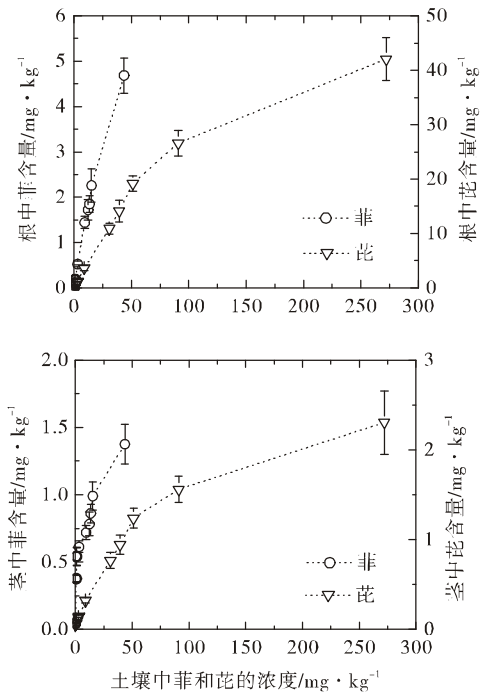


图 3 根和茎叶中菲和芘含量与土壤浓度的关系曲线
Figure 3 Concentrations of phenanthrene and pyrene in the root and shoot of ryegrass against the contents in the soils

失不是土壤菲和芘去除的主要途径。

由此,可用以下公式表述有植物和无植物对照土壤中菲和芘的去除:

$$T_p = T_l + T_a + T_b + P_{ac} \tag{1}$$
$$T_{up} = T_l + T_a + T_b' \tag{2}$$

式中: T_p 和 T_{up} 分别为有和无植物土壤中菲(或芘)总去除量 ($\text{mg}\cdot\text{pot}^{-1}$); T_l 渗滤损失; T_a 为非生物性损失; T_b 和 T_b' 为有和无植物土壤中菲和芘的微生物降解损失; P_{ac} 为植物吸收量(包括植物积累量和代谢量),忽略植物对污染物代谢作用; P_{ac} 值约等于植物积累量。显然,植物对土壤中菲和芘的贡献(T_d)则为:

$$T_d = T_p - T_{up} = T_{bp} + P_{ac} \tag{3}$$
$$T_{bp} = T_b - T_b' \tag{4}$$

植物促进土壤中菲和芘的降解主要体现在两个方面:植物直接吸收污染物(P_{ac});植物促进土著微生物对污染物的降解作用(T_{bp})。

计算了黑麦草修复各污染土壤的 P_{ac} 和 T_d 值(表 2),一般 P_{ac} 要比 T_{bp} 低 2~3 个数量级;另外,菲和芘的 P_{ac}/T_d 值均小于 0.54%。

上述结果表明,即使考虑植物修复过程中植物对污染物的少量代谢作用,植物吸收也不是植物促进土壤中菲和芘降解的主要原因,这与重金属污染土壤的植物修复机制明显不同^[3];与微生物对照相比,植物修复效率明显提高,主要是植物促进了土著微生物对污染物的降解作用。以往大量研究表明,根际土壤中微生物数量远多于非根际土壤^[2,3];根系分泌物输入根际环境,也可刺激微生物对有机污染物的矿化作用;本实验中,植物对土壤菲和芘降解的促进作用与这些因素密切相关。

表 2 植物修复机制
Table 2 Mechanism of phytoremediation for the contaminated soils by PAHs

样号	T_d -菲 /mg	T_d -芘 /mg	P_{ac} -菲 /μg	P_{ac} -芘 /μg	A-菲 /‰	A-芘 /‰
S1	0.374	1.557	0.717	0.491	0.192	0.032
S2	0.349	1.383	1.019	1.015	0.292	0.073
S3	0.322	3.623	1.332	3.209	0.414	0.089
S4	0.400	5.150	2.155	9.223	0.539	0.179
S5	1.160	9.146	2.321	10.96	0.200	0.120
S6	1.873	9.435	2.343	13.44	0.125	0.142
S7	3.270	42.24	2.686	17.61	0.082	0.042
S8	8.120	32.11	4.324	26.06	0.053	0.081

注: $A=P_{ac}/T_d$

3 结论

(1)黑麦草可促进土壤中菲和芘的降解。经 45 d 处理,黑麦草土壤中菲和芘的去除率显著高于无植物对照,分别为 85.80%~90.79%和 44.32%~89.21%;而残留浓度则比对照约低 53.6%和 78.3%。

(2)植物修复中,黑麦草明显吸收积累土壤中的菲和芘,且根和茎叶中菲和芘的含量均随土壤中浓度的提高而明显增大。

(3)植物吸收积累不是植物促进土壤中菲和芘降解的主要原因,其贡献小于 0.54%;与微生物对照相比,植物修复效率明显提高,主要是植物促进了土著微生物对土壤中菲和芘的降解作用。

参考文献:

[1] Zhu L Z, Gao Y Z. Prediction of phenanthrene uptake by plants with a partition-limited model[J]. *Environmental Pollution*, 2004,131:505-508.

[2] 程国玲,李培军,王凤友,周启星,台培东,韩桂云,张海荣.多环芳烃污染土壤的植物与微生物修复研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备,2003,4:30-36.

[3] Gao Y Z, Zhu L Z. Phytoremediation and its models for organic contaminated soils[J]. *Journal of Environmental Science*, 2003,15:302-310.

[4] Reilley K A, Banks M K, Schwab A P. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere[J]. *Journal of Environmental Quality*, 1996,25:212-218.

[5] 高彦征,朱利中,胡辰剑,陈宝梁.Tween80 对植物吸收菲和芘的影响[J].环境科学学报,2004,24:714-718.

[6] Gao Y Z, Zhu L Z. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils[J]. *Chemosphere*, 2004,55:1169-1178.

[7] Sung K, Corapcioglu M Y, Draw M C, Munster C L. Plant contamination by organic pollutants in phytoremediation[J]. *Journal of Environmental Quality*,2001,30:2081-2090.

[8] Trapp S, Matthies M, Scheunert I, Topp E M. Modeling the bioconcentration of organic chemicals in plants[J]. *Environmental Science and Technology*, 1990,24:1246-1252.