

土壤提取液中汽油的毒性研究

丁克强 骆永明 刘世亮 李振高

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要 本文利用发光细菌法研究了土壤水提取液中 2 种汽油(90[#]和 93[#])的生物毒性。提取液中 90[#]和 93[#]汽油分别在 63.2~90.1mg/L 和 62.7~91.1 mg/L 范围内有较高的生物毒性,并随浓度的升高而增强,90[#]和 93[#]汽油的土壤水提液 EC₅₀ 值分别为 83.5 mg/L 和 83.7 mg/L,在土壤中的临界值为 2308 mg/kg 和 3678 mg/kg。这些结果为发光细菌毒性测定方法在石油产品污染土壤生物毒性评价中应用提供了可能性。

关键词 汽油;土壤污染;发光细菌法;生物毒性

中图分类号 S19; X53

随着石油工业的发展,在采油、炼油和石油运输与利用过程中导致了大面积的土壤被石油污染。例如,在辽河油田污染严重的区域,土壤中含油量达到 10000mg/kg,远远超过临界值 500mg/kg,致使油田区及周围地区上千亩土地受到严重污染^[1,2]。土壤石油污染会导致在粮食中有害组分的积累,影响品质,并通过食物链危及人体健康,也会破坏土壤结构,分散土壤颗粒,使土壤的透水性降低、肥力下降。在石油污染的耕地中,由于石油的反应基与无机氮、磷结合而限制硝化作用和脱磷酸作用,使土壤有效氮、磷的含量减少,农田土壤失去生产力^[4]。在汽车工业不断发展的今天,对汽油、柴油等的需求量在不断增加,石油污染的土壤面积在扩大,石油污染土壤的修复与清洁势在必行。

迄今,石油污染土壤的治理研究已有许多报道^[3],然而对石油污染土壤的毒性诊断,尤其是对常用的汽油、柴油等污染后的土壤生物毒性影响评价研究还鲜有报道。如何能够快速诊断土壤石油污染及其程度已备受关注。发光细菌的生物毒性测定方法是一个快速、经济、有效的环境毒性物质评价手段,已成功地应用于重金属污染土壤的生物毒性评价^[5,6]。发光细菌的生物毒性测定在水体污染毒性评价中也得到广泛的应用^[7]。但是,这种方法在石油污染土壤中的应用还未见报道。

本文利用发光细菌诊断被 2 种常用汽油污染的土壤的生物毒性,以探讨发光细菌毒性测定方法在石油产品污染土壤生物毒性评价中应用的可能性。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 土壤 供试土壤为河湖沉积物发育的水稻土(0~20cm),采自中国科学院南京土壤研究所常熟农业生态实验站,为潜育水耕人为土,俗称乌栅土,质地为粘土。其理化性质如下:有机质 36.3g/kg,全 N 2.25g/kg,全 P 0.75g/kg,全 K 17.4g/kg,阳离子交换量 21.59cmol/kg, pH 7.8。

1.1.2 供试汽油 供试的 2 种汽油为国内通用的 90[#]和 93[#]汽油。其性质见表 1。

表 1 供试汽油的理化性质
Table 1 Basic properties of tested gasoline

汽油	密度 (kg/m ³)	沸点 ()	蒸汽压 (KPa)	水分
90 [#]	0.7138	174	73	无水
93 [#]	0.7141	177	74	无水

1.1.3 仪器与菌剂 F2000 红外测油仪,吉林市科技开发公司制造;生物毒性测定仪为中国科学院南京土壤所研制的 DXY-2 型。菌剂为明亮发光杆菌(*Photobacterium phosphoreum*) T₃ 变种冻干粉。

1.2 方法

1.2.1 试验方法 采集的土壤经风干,过 2mm 尼龙筛,备用。先用丙酮分别溶解上述 2 种汽油,按不同的加入量将含汽油的丙酮溶液处理过 2mm 筛的风干土壤,处理浓度范围为 0~10000 mg/kg(干土计),共 10 个处理,3 次重复。在 20℃ 下培养、

平衡 2 天后,用无菌蒸馏水提取土壤溶液,用生物毒性测定仪测定水提取液的生物毒性。同时,按高 (100000 mg/kg, 用 H 表示) 中 (10000 mg/kg, 用 M 表示) 低 (1000 mg/kg, 用 L 表示) 3 个浓度水平,向土壤中添加汽油,测定土壤中汽油含量随时间的变化,研究汽油的动态挥发性。

1.2.2 石油污染土壤提取液的获取和生物毒性测定 按水土比 1:1 加入无菌蒸馏水,在 25℃ 下,在振荡机上往复振荡 (120r/min), 1h 后,离心 30min (4000r/min), 过滤。用发光细菌法测定滤液中 T_3 菌的发光度^[7]。

1.2.3 土壤和水提取液中石油的测定 利用 F2000 红外测油仪测定土壤和水提取液中汽油的含量,分析方法参见文献^[8]。

2 结 果

2.1 土壤中汽油的挥发性与加入浓度的关系

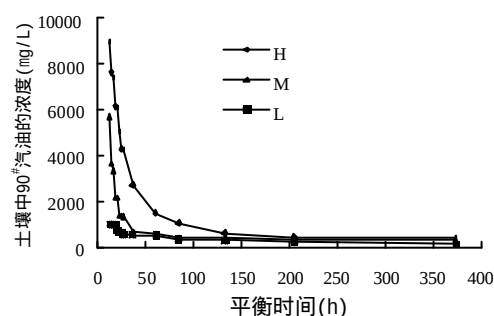
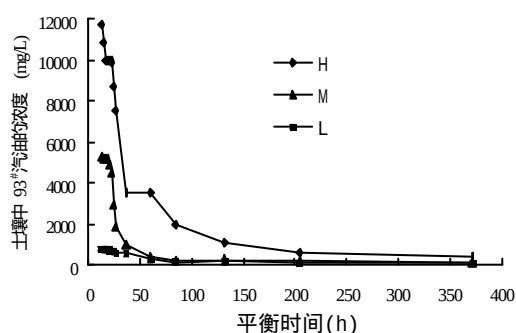


图 1 土壤中汽油浓度与平衡时间的关系

Fig. 1 Relationship between gasoline concentration in soil and equilibrium time

2.3 土壤水提取液中汽油浓度的生物毒性

如图 3 所示,发光菌相对发光强度随土壤水提取液中汽油浓度增加表现出抑制 - 刺激 - 再抑制 - 再刺激 - 毒害的变化过程。当在土壤水提取液中汽油的浓度从 0~33.5 mg/L (90#) 和 0~32.5 mg/L (93#) 时表现为毒害作用;从 33.5~55.3 mg/L (90#) 和 32.5~47.8 mg/L (93#) 时繁殖生长,表现为刺激作用;从 55.3~59.5 mg/L (90#) 和 47.8~59.5 mg/L (93#) 时相对发光度又显著下降,表现为抑制作用;在 55.3~63.2 mg/L (90#) 和 47.8~62.7 mg/L (93#) 浓度范围又表现为刺激作用;在 63.2~90.1 mg/L (90#) 和 62.7~91.1 mg/L (93#) 范围内, T_3 菌的相对发光度很快减弱,表现为较强的毒害作用。

从图 1 可见,土壤中高、中、低 3 个浓度的汽油在培养条件下前 36h 的挥发性很强,而后出现一个弱挥发阶段,150h 后逐渐进入平缓阶段。2 种汽油的挥发规律基本一致。

2.2 土壤水提取液汽油浓度与土壤中汽油浓度的关系

由图 2 可以看出,土壤中添加汽油浓度与其水提取液中汽油浓度的关系可分成 3 个阶段。第 1 个阶段是土壤添加汽油浓度在 0~200 mg/kg 范围,在这个范围内水提取液中汽油的浓度随着土壤中汽油浓度的增加呈线性增加趋势,90# 汽油从 0~55.3 mg/kg 和 93# 汽油从 0~51.9 mg/kg;第 2 个阶段是在 200~5000 mg/kg 范围,随着土壤中汽油浓度的增加,水提取液中汽油的浓度平稳增加,90# 从 55.3~89.3 mg/kg 和 93# 从 51.9~84.8 mg/kg;第 3 个阶段是在 5000~10000 mg/kg 范围,虽然土壤中汽油浓度不断增加,但是水提取液中汽油的浓度变化很小,两种汽油分别为 90.1 mg/kg (90#) 和 91.1 mg/kg (93#)。

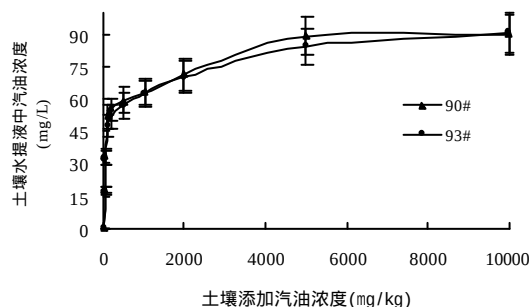


图 2 土壤水提取液中汽油浓度与土壤中添加汽油浓度的关系

Fig. 2 Relationship between gasoline concentration in soil extracting solution and concentration of gasoline added

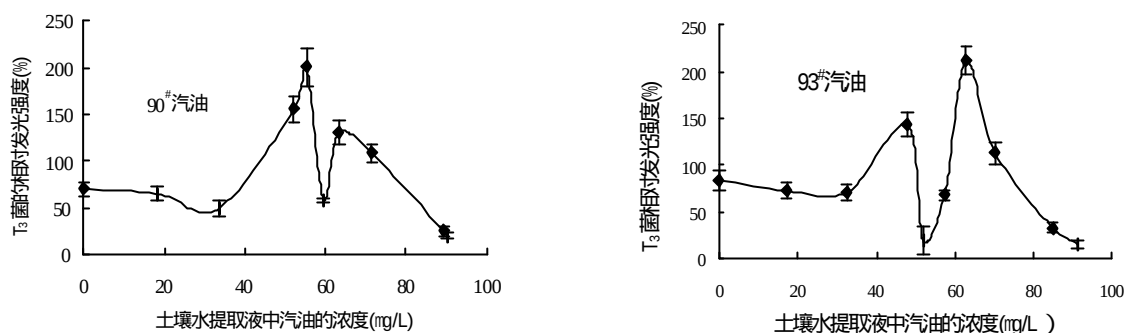


图 3 发光细菌相对发光强度与土壤水提取液中汽油浓度的关系

Fig. 3 Relationship between luminescence intensity of luminous bacteria and concentration of gasoline in the soil extracting solution

3 讨论

3.1 土壤中添加的不同汽油浓度的挥发性

污染物加入土壤后需要平衡, 才能对土壤进行水浸提^[9]。本研究通过在不同的时间测定土壤中汽油的含量(图 1), 来验证土壤中汽油的挥发性与时间的动态关系。时间与不同添加浓度的关系(Y 代表土壤中汽油的浓度, X 代表时间)为: $Y_{90\#H} = 114355X^{-1.0249}$, $r^2 = 0.9788$; $Y_{90\#M} = 24058X^{-0.8347}$, $r^2 = 0.8600$; $Y_{90\#L} = 4010.4X^{-0.5557}$, $r^2 = 0.9662$ 和 $Y_{93\#H} = 199769X^{-1.0466}$, $r^2 = 0.9759$; $Y_{93\#M} = 159237X^{-1.2984}$, $r^2 = 0.9165$; $Y_{93\#L} = 6080.8X^{-0.7432}$, $r^2 = 0.9623$ 。根据这些曲线关系, 本试验选择挥发 2d 以后的汽油污染土壤进行毒性试验研究, 这样既可以较真实反映土壤的汽油污染情况, 又可以缩短试验周期, 从而能快速评价石油污染土壤的生物毒性。

3.2 土壤中汽油浓度与水提取液汽油浓度的关系

应用发光菌法检测污染土壤的生物毒性需要获取土壤水浸出液。土壤中不同的汽油含量反映在水浸出液中的汽油含量也不同。本试验分别选取高、中、低 3 个不同的汽油污染水平, 动态地研究了浸出液中汽油的含量与土壤中汽油含量的关系。发现水提取液中的汽油浓度与土壤中汽油浓度增加之间的关系有 3 个不同阶段(图 2), 即呈线性增加阶段、平稳增加阶段和不再增加阶段。这说明用水提取土壤中的汽油是有一定的含量响应范围的。当土壤中汽油浓度超过 5000mg/kg 时, 水提取液中汽油的浓度将不能客观地反映土壤中汽油的浓度或污染程度。在供试的 2 种汽油的 5000mg/kg 浓度范围内, 土壤水提取液的汽油含量能较好地反映供试土壤中汽油的污染状况。

3.3 土壤水提取液中汽油浓度的生物毒性

本试验观察到土壤水提取液中汽油浓度对发光菌相对发光强度的影响时正时负的现象: 随浓度增加表现出抑制 - 刺激 - 再抑制 - 再刺激 - 毒害的变化过程(图 3)。这与顾宗濂等^[7]和杨翠芬等^[9]报道重金属浓度对发光菌生物毒性呈现显著负相关的结果有所不同。汽油对 T_3 发光菌的作用机制可能不同于重金属的作用机制, 这有待进一步的探明。本试验中, 在 63.2~90.1mg/L (90#) 和 62.7~91.1mg/L (93#) 汽油浓度范围内, T_3 菌的相对发光强度随着浓度的增加很快减弱, 呈现毒性加强趋势。此时, 发光菌的相对发光强度(Y)与水提取液中汽油的浓度(X)呈现显著的线性负相关: $Y_{90\#} = -4.22X + 402.81$, $r^2 = 0.9901$ 和 $Y_{93\#} = -6.66X + 607.41$, $r^2 = 0.9365$, 可以很好的反映土壤中汽油的毒性变化。在此范围里, 水提取液中汽油的浓度(Y)与土壤中汽油的浓度(X)关系为: $Y_{90\#} = 12.741\ln(X) - 24.16$, $r^2 = 0.933$ 和 $Y_{93\#} = 12.826\ln(X) - 26.17$, $r^2 = 0.9901$, 呈现显著的对数关系。

当相对发光强度降低 50% 时, 水提取液中汽油的 EC_{50} 值为 83.5mg/L (90#) 和 83.7mg/L (93#), 2 种汽油的 EC_{50} 值接近, 这说明它们在此范围内对发光菌的生物毒性相同。吴留松等^[10]用同样的方法得到重金属污染土壤的水提取液的 EC_{50} 值, 其中 Cu 为 10.8mg/L, Pb 为 7.7mg/L, Cd 为 15.5mg/L, As 为 6.1mg/L。从本实验得到的水提取溶液中汽油的 EC_{50} 值明显地高于报道的重金属 EC_{50} ^[10], 这说明汽油对发光菌的毒性低于重金属的毒性。顾宗濂等^[11]根据土壤添加重金属含量与其对应 T_3 菌相对发光强度的负相关性提出 LD_{20} (相对 T_3 菌发光度 80%) 临界发光度, 并以此确立重金属污染红壤的临界值。

从本实验结果, 可以计算出与 EC_{50} 值相对应的土壤中汽油浓度为: 4676 mg/kg (90[#]) 和 5249 mg/kg (93[#]), 90[#]和 93[#]汽油污染土壤的临界值 (LD_{20}) 分别为 2308 mg/kg 和 3678 mg/kg。

4 结 论

土壤被汽油污染后会产生生物毒性。土壤水提取液中 90[#]和 93[#]汽油分别在 63.2~90.1mg/L 和 62.7~91.1mg/L 范围内有较高的生物毒性, 并随浓度的升高而增强, 90[#]和 93[#]汽油的土壤水提液 EC_{50} 值分别为 83.5mg/L 和 83.7mg/L, 在土壤中的临界值为 2308mg/kg 和 3678mg/kg。今后汽油污染土壤的问题, 应该引起足够的重视。发光细菌毒性测定方法, 快速、简便, 为今后该技术在石油产品污染土壤生物毒性评价中的应用提供了可能性。

参考文献

- 1 丁克强等. 通气对石油污染土壤生物修复的影响. 土壤, 2001, 33 : 185~188

- 2 姜常亮等. 石油污染土壤长料堆式异位生物修复技术研究. 应用生态学报, 2001, 12 (2): 279~282
- 3 丁克强等. 石油污染土壤的生物降解研究. 生态学杂志, 2001, 20: 16~18
- 4 丁克强等. 石油污染土壤的生物修复技术. 生态学杂志, 2000, 19: 50~55
- 5 吴留松等. 添加物对土壤提取中铜、镉生物毒性的影响. 土壤学报, 1992, 29: 377~381
- 6 史艇等. 利用发光杆菌发光度指示土壤重金属污染. 农业环境保护, 1993, 12: 101~104,
- 7 顾宗濂等. 用生物发光计测定污染水体生物毒性. 环境科学, 1983, 4: 30~33
- 8 城乡建设环境保护部环境保护局编. 环境监测分析方法. 北京: 中国环境科学出版社, 1986, 329~332
- 9 杨翠芬等. 重金属 Cd 污染土壤毒性的发光菌法评价. 应用与环境生物学报, 1999, 5 (增刊): 49~51
- 10 吴留松等. 影响土壤重金属生物毒性的若干因子. 环境科学, 1991, 12(3): 12~18
- 11 顾宗濂等. 土壤中镉、砷、铅的微生物效应及其临界值. 土壤学报, 1987, 24: 318~323

TOXICITY OF GASOLINE IN SOIL EXTRACTING SOLUTION

Ding Keqiang Luo Yongming Liu Shiliang Li Zhengao

(Institute of Soil Science, Chinese Academic of Sciences , Nanjing 210008)

Abstract Biological toxicity of two kinds of gasoline (90[#] and 93[#]) in soil extracting solution was studied with the help of luminous bacteria. It was high when the concentration of 90[#] and 93[#] in the soil extracting solution reached 63.2~90.1 mg/L and 62.7~91.1 mg/L, respectively, and increased with the concentration. EC_{50} of 90[#] and 93[#] in the soil extracting solution was 83.5 mg/L and 83.7 mg/L, respectively. The critical concentration of 90[#] and 93[#] in the soil was 2308 mg/kg and 3678 mg/kg, respectively. The results of the study make possible the application of the method of using luminous bacteria to assess biological toxicity of petro-products polluting the soil.

Key words Gasoline; Soil contamination; Luminous bacteria; Biological toxicity.