



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.



# 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+KNO<sub>3</sub>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+KNO<sub>3</sub>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+KNO<sub>3</sub>、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 KNO<sub>3</sub> (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 KNO<sub>3</sub>, 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 KNO<sub>3</sub> 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 efficiencies of 0.849; however, the hydrocarbon biodegradation efficiencies or related with the number of soil microorganisms with the correlation coefficient of 0.849.

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

<sup>\*</sup>通信作者:吴蔓莉 E-mail:447005853@qq.com

基金项目:国家自然科学基金项目(52070154,21577109)

Project supported : The National Natural Science Foundation of China (52070154, 21577109)

2021年5月

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<sup>[1-2]</sup>。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<sup>[3-6]</sup>。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<sup>[7-9]</sup>。所采用的氮源包括无机氮源 NH4Cl、 KNO<sub>3</sub>、NH4NO<sub>3</sub>、(NH4)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和有机氮源尿素 CO(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> 等多种类型<sup>[10-13]</sup>。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<sup>[14]</sup>。

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<sup>[15]</sup>。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<sup>[16-18]</sup>。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<sup>[19-21]</sup>。

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,KNO<sub>3</sub>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<sup>[22-23]</sup>。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、KNO<sub>3</sub>、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<sup>-1</sup>),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<sup>1241</sup>和气相色谱法<sup>1251</sup>(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<sup>-1</sup> 和2 000 mg·kg<sup>-1</sup>。

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17746、12667 mg·kg<sup>-1</sup>和3567 mg·kg<sup>-1</sup>。

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
$TPH/(mg \cdot kg^{-1})$	17 746	超声萃取-质量法
总氮/(mg•kg <sup>-1</sup> )	1 020	紫外分光光度法
氨氮/(mg•kg <sup>-1</sup> )	13.2	靛酚蓝比色法
硝氮/(mg·kg <sup>-1</sup> )	0.24	紫外分光光度法
总磷/(mg•kg <sup>-1</sup> )	468	氢氧化钠熔融-钼锑 抗比色法
有效磷/(mg·kg <sup>-1</sup> )	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 <sup>-1</sup> )	2 585	浸提法-电导法
阳离子交换总量 CEC/ (cmol·kg <sup>-1</sup> )	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

www.ger.org.cn

#### 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<sup>[26]</sup>见表2)、KNO<sub>3</sub>、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150d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3d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5g待测土样置于通风橱风干研磨 后,准确称取3.0g干土壤于50mL离心管内,加入10 mL正己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10min,功率为180W。在-4℃ 条件下,以8000r·min<sup>-1</sup>的速度离心15min,过滤,收 集滤液于称质量后的30mL称量瓶内,重复上述操作 两次,每次加入10mL提取剂,合并滤液,将称量瓶置 于通风橱内风干至恒质量<sup>[27]</sup>。

1.3.2 土壤微生物数量的测定

采用稀释平板法<sup>[28]</sup>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<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 17.689 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.0 g, NH<sub>4</sub>Cl 1.0 g, NaCl 0.5 g, MgSO<sub>4</sub> 1 mL 1 mol·L<sup>-1</sup>, 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 10g,酵母浸膏5g,蛋白胨10g,纯水 1000mL,固体培养基加18g琼脂,pH值为7.0)于锥 形瓶中,按上述方法灭菌30min。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<sup>-4</sup>~10<sup>-7</sup>),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、葱0.1g、 芘0.1g,用二氯甲烷溶解并定容至100mL)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99.0mL灭菌蒸馏水的锥形 瓶内,振荡20min并静置30min后,分别移取150μL 上清液接种到MT2微孔板中,分别在每个微孔中加 入5μL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

-		• •		0.1
测定项目 Measurement item	pH值	含水量 Moisture content/%	硫酸钙含量 CaSO <sub>4</sub> content/%	其他成分 Others/%
数值Value	7.36	13.6	85.63	3.06

表2 7	与机肥的基本性质(mg・kg	$r^{-1}$
------	----------------	----------

Table 2 Selected chemical characteristics of the organic fertilizer(mg*kg)												
指标 Index	С	Ν	Р	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)	560g新污染土壤+85g有机肥	560g陈旧性污染土壤+85g有机肥
有机肥+KNO <sub>3</sub> (Y+N)	560g新污染土壤+85g有机肥+KNO3(调节C:N=100:10)	560g陈旧性污染土壤+85g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

#### 农业环境科学学报 第40卷第5期

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:

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

式中:Ci为第i个反应孔的光度值,Ri为第i个对照孔 的光度值。

1.3.4 土壤 pH 值的测定

向50mL离心管中加入10g待测土样及25mL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:

$c_t = -kt + c_0$	(2)
一级降解动力学方程:	
$\ln c_t = -k_1 t + c_0$	(3)
二级降解动力学方程:	
$\frac{1}{k_2t+1}$	(4)
$C_t = C_0$	

式中:c<sub>1</sub>为随时间变化的污染物浓度,mg·kg<sup>-1</sup>;c<sub>0</sub>为污 染物初始浓度,mg·kg<sup>-1</sup>;k为零级降解动力学速率常 数;t为降解时间,d; $k_1$ 为一级降解速率常数, $d^{-1}$ ; $k_2$ 为 二级降解速率常数,d<sup>-1</sup>。

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:

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

(5)

式中:v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<sup>-1</sup>。

#### 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<sup>[29-30]</sup>。

#### 结果与分析 2

#### 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<sup>-1</sup>。 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<sup>-1</sup>, 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150d的修复,Y、GYP、 Y+N处理中石油烃含量由17746 mg·kg<sup>-1</sup>分别降低至 11 248、11 249、12 797 mg·kg<sup>-1</sup>,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



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

www.aer.org.cn

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R<sup>2</sup>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GYP4种处理中的微生物数 量分别为4.7×10<sup>4</sup>、8.1×10<sup>6</sup>、6.9×10<sup>6</sup>、5.2×10<sup>5</sup> cfu·g<sup>-1</sup>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5.3×10<sup>4</sup>、8.6×10<sup>6</sup>、1.3×10<sup>7</sup>、  $4.0 \times 10^5$  cfu·g<sup>-1</sup> 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

	Table 5 Kine	tic parameters	s of petroleum	hydrocarbon h	iodegradation i	n the freshly cont	aminated soil	
处理	零级动力学 Zero-order dynamics		—级动力学 First-order dynamics		伪一级动力学 Pseudo-first-order dynamics		二级动力学 Second-order dynamics	
Treatment	$k/\mathrm{d}^{-1}$	$R^2$	$k_1/\mathrm{d}^{-1}$	$R^2$	$k'/d^{-1}$	$R^2$	$k_2/\mathrm{d}^{-1}$	$R^2$
СК	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5 新污染土壤中石油烃降解的动力学参数

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	零级动力学 Zero-order dynamics		—级动力学 First–order dynamics		伪一级动力学 Pseudo-first-order dynamics		二级动力学 Second-order dynamics	
Treatment	$k/\mathrm{d}^{-1}$	$R^2$	$k_1/\mathrm{d}^{-1}$	$R^2$	$k'/d^{-1}$	$R^2$	$k_2/\mathrm{d}^{-1}$	$R^2$
СК	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



图2 石油烃降解率的动力学曲线

Figure 2 Kinetic curves of petroleum hydrocarbon degradation rates



图 3 生物刺激修复过程中土壤 pH 值的变化

Figure 3 Changes of soil pH during biostimulation



图4 土壤微生物数量的变化



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30d和45d 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15d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120d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。

www.aer.org.cn

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	新污染土壤 Freshly contaminated soil					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<sup>[31]</sup>。Wellman等<sup>[32]</sup>的研究发现,对于石油烃浓度为5000 mg·kg<sup>-1</sup>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<sup>[33-35]</sup>,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。

### 4 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150d,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:

- 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):157-164.
- [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):1159-1165.
- [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

www.gev.org.cn

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 petroleum-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.

#### 农业环境科学学报 第40卷第5期

- [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 extractiongravimetric 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.