

# 植物根际强化修复石油污染土壤的研究

鲁莽<sup>1</sup>, 张忠智<sup>1\*</sup>, 孙珊珊<sup>1</sup>, 乔玮<sup>1</sup>, 刘晓<sup>2</sup>

(1. 中国石油大学化学科学与工程学院, 北京 102249; 2. 清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

**摘要:**采用室内盆栽方式,研究了高羊茅对烃降解的影响,测定了土壤中烃的降解、微生物数量、荧光素二乙酸酯活性、过氧化氢酶活性及脱氢酶活性。结果表明,总石油烃在根际土壤体系比非根际土壤消失得更快。在试验进行 10 周后,非根际与根际土壤总石油烃降解率分别为 11.8% 和 27.4%。试验过程中挥发的石油烃损失很少。根际土壤微生物平板计数及酶活性显著高于非根际土壤。石油化合物对荧光素二乙酸酯水解具有显著影响。相比无草被体系,种植有高羊茅的体系显著增加了石油烃降解的一级速率常数。因比母体化合物降解缓慢,4 种氧化态多环芳烃 1-二氢芘酮、9-芘酮、蒽醌、苯并芘酮,在处理过程中浓度不断增加,说明其是在处理过程中形成,并具有持久性。

**关键词:**生物修复;高羊茅;过氧化氢酶;多环芳烃

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)12-3703-07

## Rhizosphere Enhanced Remediation of Petroleum Contaminated Soil

LU Mang<sup>1</sup>, ZHANG Zhong-zhi<sup>1</sup>, SUN Shan-shan<sup>1</sup>, QIAO Wei<sup>1</sup>, LIU Xiao<sup>2</sup>

(1. Faculty of Chemical Science and Engineering, China University of Petroleum, Beijing 102249, China; 2. Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

**Abstract:**The effects of growing tall fescue on the biodegradation of hydrocarbons was studied in laboratory scale pots. Degradation of hydrocarbons as well as microbial counts, soil fluorescein diacetate activity, catalase activity and dehydrogenase activity were determined. The results showed that, in the rhizosphere soil system, total petroleum hydrocarbons disappeared faster than that in unvegetated pots soil. After 10 weeks, 11.8% and 27.4% of spiked petroleum hydrocarbons disappeared from the bulk and rhizosphere soils respectively. Abiotic loss of petroleum hydrocarbons by evaporation was of minor significance in the test. The microbial plate counts and soil enzyme activities were significantly higher in the rhizosphere than in the bulk soil. Petroleum compounds had significant effect on fluorescein diacetate hydrolyzing activity. Vegetation resulted in significantly greater first-order decay constants compared to the unvegetated control. Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons that were present in the soil were generally degraded more slowly than the parent compounds, suggesting that they were formed during the treatment or that they are more persistent. Four oxidation products of polycyclic aromatic hydrocarbons, 1-acenaphthenone, 9-fluorenone, anthraquinone, and benzfluorenone were found at significantly higher concentrations at the end of the study.

**Key words:** bioremediation; tall fescue; catalase; polycyclic aromatic hydrocarbons

石油开采、输送、储存等过程中存在着不可避免的泄露,造成土壤和水体的污染。在主要的产油国,因石油污染引起的生态破坏日益严重。土壤中的石油类污染物会随着食物链进入到动物和人体,影响人们健康,尤其是多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)具有潜在的致癌、致畸和致突变效应,更显治理石油污染的迫切性。传统上治理石油污染土壤有多种方法,近 20 年来,又兴起了一种新的修复技术——植物修复。植物修复是利用植物来去除、控制环境污染物或使其无害化,被认为是一种绿色的生物技术,能加速土壤和沉积物中污染物的去除<sup>[1]</sup>。国内外开展的实验室、温室以及现场试验等诸多研究也表明,相比无种植体系,种植有合适植物的土壤体系能够加快污染物的去除<sup>[2-5]</sup>。

到目前为止,有关植物促进烃类污染物降解的研究多集中在多环芳烃,且多采用模型 PAHs 污染

土壤<sup>[2,4,6-8]</sup>。而实际中这种污染情况是少见的,多数烃类污染都是混合态的。某些烃类物质,尤其是多环芳烃,需要依靠共代谢基质的存在才能实现降解和矿化<sup>[9]</sup>。此外,有关植物修复石油污染的某些过程及机制尚待深入系统地研究<sup>[10,11]</sup>。原油中烃类物质种类繁多,尤其是多环芳烃种类丰富,因此以原油为模拟污染物进行的降解相比用纯粹的多环芳烃更具有代表性。本研究以原油为污染物,分析植物根际促进石油烃降解的机制,追踪代表性多环芳烃的降解与去向,建立适当的宏观降解模型,以期阐明石油类污染物在植物根际的各种行为以及石油污染土壤的修复提供理论依据。

收稿日期: 2009-01-03; 修订日期: 2009-03-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(40672211)

作者简介: 鲁莽(1976~),男,博士研究生,主要研究方向为环境污染治理, E-mail: bjmanlu@163.com

\* 通讯联系人, E-mail: zzhang@cup.edu.cn

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂

原油取自大港油田, 族组成为: 饱和烃 65.14%, 芳烃 24.37%, 非烃 9.02%, 沥青质 1.47%. 二氯甲烷、丙酮、正己烷、层析用硅胶和氧化铝(100~200目), 荧光素二乙酸酯, 红四氮唑, 均为分析纯级.

### 1.2 供试土壤与植物

土壤采自中国石油大学校园草坪表层(0~20 cm), 基本理化性质为: pH 7.21, 总有机质 3.28%, 总氮 0.126%, 总磷 0.046%. 采集的土壤风干后过 2 mm 筛, 研磨均匀, 室温下保存备用. 高羊茅(*tall fescue*) 分布广泛, 适应性强, 耐旱和践踏, 喜光, 耐半阴, 抗逆性强, 耐酸、耐瘠薄, 抗病性强, 且根系发达, 因此以高羊茅为试验用植物, 种子购自北京百绿公司.

### 1.3 试验设计

将原油在 60 °C 烘箱中挥发 72 h, 以除去易挥发组分. 按每 kg 土含 6 000 mg 总石油烃(*total petroleum hydrocarbon*, TPH) 和每 100 g  $\pm$  35 mL 二氯甲烷的量比, 将原油溶解后加入试验用土, 搅拌均匀, 通风橱中挥尽溶剂. 平皿种子毒性试验表明, 土壤 TPH 浓度为 6 000 mg/kg 时, 高羊茅种子发芽率是在无油土壤发芽率的 90%, 因此这个浓度是合适的, 油浓度过高抑制植株生长.

试验设 3 个处理: ①含油土壤湿热灭菌(121 °C, 60 min), 加入 2% 的 HgCl<sub>2</sub>, 作为无菌对照; ②含油土壤不种植, 作为非根际土壤对照; ③含油土壤种植高羊茅草. 每个处理 3 次重复.

草种 4 °C 存放, 播种前 24 h 取出放于室温下. 用 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浸泡 30 min 以杀灭种子表面携带的微生物, 后用无菌水冲洗 5 次. 播种前种子经过发芽率测试, 确保发芽率在 90% 以上. 采用花盆进行盆栽试验, 盆高 20 cm, 土层高 15 cm. 播种前土壤保持 15%~20% 的湿度平衡 7 d. 为增强处理效果, 采用高密度种植, 按 4 粒/cm<sup>2</sup> 播撒种子, 每盆总计约 400 粒. 这样土壤根密度相当大, 因此表面以下的土壤均可视为根际土壤.

播种后花盆放于人工气候箱中, 培养条件: 白天 16 h, 温度 24 °C, 光照强度 6 000 lx, 湿度 80%; 黑夜 8 h, 温度 20 °C, 湿度 80%.

试验期间, 每 3 d 每盆喷洒 Hoagland's 营养液 40 mL, 保持 13%~18% 的湿度. 每 2 d 随机交换盆钵位

置. 盆内垫有尼龙纱布, 取样时将整个纱布连土提起, 用灭菌的不锈钢小勺从土墩侧面横向挖开约 1 cm 深再取内部土壤. 每次从土表下 5 cm 和 10 cm 处分别采集等量土壤, 混匀, 存于 4 °C 冰箱待分析.

### 1.4 土壤微生物活性与酶活性测定

以荧光素二乙酸酯(*fluorescein diacetate*, FDA) 水解法测定土壤总微生物活性, 参照文献[12]的方法, 以灭菌(121 °C, 60 min)后的土壤加 FDA 储备液水解替代其中的对照与空白, 以每 g 干土水解产生的荧光素质量为单位, 即  $\mu\text{g} \cdot (\text{g} \cdot 3\text{h})^{-1}$ . 过氧化氢酶活性按文献[13]的方法测定, 以每 g 干土所需 KMnO<sub>4</sub> 物质的量为单位, 即  $\mu\text{mol} \cdot (\text{g} \cdot \text{min})^{-1}$ . 脱氢酶活性测定依照文献[14]的方法, 以每 g 干土水解产生的三苯基甲胍(*triphenyl formazone*, TPF) 质量为单位, 即  $\mu\text{g} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}$ .

### 1.5 根际微生物计数

根际土壤中的 4 种微生物, 即总异养细菌、总真菌、烃降解细菌、烃降解真菌的平皿计数参照文献[15]的方法, 以 0 号柴油为碳源.

### 1.6 土壤石油烃分析

以二氯甲烷为溶剂, 索氏抽提法提取土壤中的石油类物质, 并按照文献[16]的方法进行组分分离. 分离后得到的烃组分挥尽溶剂按重量法计算土壤中的 TPH 含量. 加入 D-二苯并噻吩作为芳烃的内标物, 进行色谱-质谱分析.

色谱条件: Thermo-Finnigan SSQ710 色谱-质谱联用仪, HP-5MS 弹性硅胶毛细管色谱柱(60 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ ). 进样体积 1  $\mu\text{L}$ . 载气为氦气, 压力 37 kPa. 流速 1 mL/min. 升温条件: 初温 50 °C, 保温 1 min; 以 20 °C/min 的速率升温到 120 °C, 再以 4 °C/min 的速率升到终温 310 °C, 并保温 30 min. 质谱条件: EI 电离, 电子电压 70 eV, 灯丝电流 100  $\mu\text{A}$ , 倍增器电压 1 200 V, 扫描质量范围 35~500 u.

### 1.7 降解动力学模型

本研究以改进 Nocentini 等<sup>[17]</sup>描述的一级衰减方程来表征土壤中 TPH 降解速率:

$$c_t = c_0 e^{-kt} + y_0 \quad (1)$$

式中,  $c_t$  为  $t$  时刻土壤中的 TPH 浓度,  $c_0$  是起始时刻的 TPH 浓度,  $k$  是一级降解速率常数,  $y_0$  表示未降解的组分.

### 1.8 数据处理

土壤污染前 1 d 为试验开始计时日, 记为“0 周”. 所有数据测定进行 3 次重复, 以 105 °C 烘箱干燥 24 h 的土重为基准. 利用 Microsoft Excel 2003、SPSS

## 12.0 进行数据统计分析.

## 2 结果与讨论

### 2.1 土壤微生物活性变化

酶活力被广泛用来监测土壤污染与修复过程, 用于监测烃降解的酶类有脂肪酶、脱氢酶、过氧化氢酶和尿酶等. 无菌对照土壤经湿热灭菌, 试验中微生物活性很低, 所以数据未列出. 石油污染会导致土壤微生物活性发生显著和复杂的变化(图 1). 土壤被污染后第 1 周, 土壤 FDA、脱氢酶及过氧化氢酶活性均显著下降. Margesin 等<sup>[18]</sup> 以柴油为污染物进行模拟试验, 发现被污染后土壤 FDA、脱氢酶及过氧化氢酶活性均立即增加, 而无下降的过程. Frankenberger 等<sup>[19]</sup> 以各种油源对土壤进行污染研究发现, 油料本身的化学组成对污染后的土壤酶活性有一定影响. 而 Megharaj 等<sup>[20]</sup> 的研究发现, 中等程度的石油烃污染(4 000~8 000 mg/kg) 能明显抑制脱氢酶活性. 本研究所用原油可能含有某些微生物抑制物质, 而使土壤微生物活性在被污染后下降.

FDA 水解作用在细菌、真菌和其它分解者中广泛分布, FDA 能被多种酶水解, 如蛋白酶、脂酶和酯酶. 这些酶在胞外亦能起作用, 并能与土壤胶体形成稳定的复合物<sup>[21]</sup>. 因此, 测得的 FDA 活性实际包括了部分胞外酶及其与土壤粒子复合物的贡献. 本试验所用的原油相比柴油更黏稠, 在刚污染土壤时, 胞外酶可能有一部分被油膜覆盖而导致无法催化 FDA 的水解. 当前测定土壤 FDA 活性的方法大多未考虑土壤理化性质的影响, Riis 等<sup>[22]</sup> 研究发现, 经湿热灭菌后的土壤产生的 FDA 活性仅是未灭活土壤的 2%, 因而将其忽略. 但本研究中发现, 灭菌后的 1g 干土在同样反应条件下产生的  $D_{490}$  值在 0.300 左右, 要远大于纯粹 FDA 溶液自然水解值( $D_{490}$  0.035) 和土壤本底值( $D_{490}$  0.018) 之和, 但经马弗炉焚烧(500 °C, 6 h) 的土壤则无此现象, 因而是土壤非生物有机质所致. 此外 Riis 等<sup>[22]</sup> 所测为无污染土壤, 而本试验土壤具有中等程度的原油污染, 原油中某些成分可能影响 FDA 水解, 具体原因尚待进一步研究. 另测定表明, 二氯甲烷对土壤的短暂作用对微生物活性影响很小, 可忽略.

第 2 周后土壤 FDA 活性波动增加, 在第 9 周达到  $538 \mu\text{g} \cdot (\text{g} \cdot 3\text{h})^{-1}$  的高点. 而非根际土壤 FDA 活性的增长则相对缓慢. 根际及非根际土壤中, 脱氢酶及过氧化氢酶活性在第 4 周后均有所下降, 这可能是石油烃在降解过程中产生了某些具有强烈毒性的中

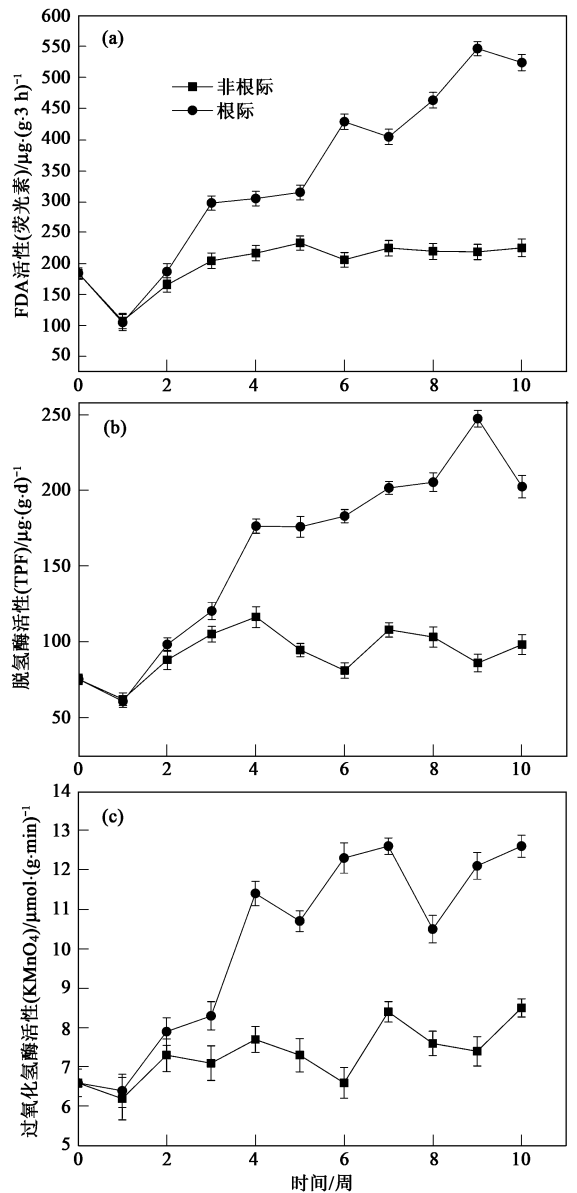


图 1 微生物活性变化

Fig. 1 Changes in microbial activities

间产物而对微生物产生抑制所致. Gibson 等<sup>[23]</sup> 在研究中就发现, 某些烃尤其是 PAHs 的氧化中间产物具有比母本烃更强的生物毒性. 微生物在生长过程中不断分泌一些胞外酶释放到土壤体系中, 且死亡的细胞只要酶未被破坏也能催化 FDA 水解, 因此这些酶在一定程度上可不断积累, 这也许是 FDA 活性受到的抑制影响不明显的原因. 而脱氢酶和过氧化氢酶反映的是活体微生物活性, 一旦活体微生物数量有变化, 则相应的酶活性亦会变化<sup>[24]</sup>.

总体而言, 根际与非根际土壤微生物活性在第 2 周后开始有显著差异( $p < 0.05$ ), 这是因为高羊茅在第 2 周后开始旺盛生长, 植物根部不断分泌酶, 以

及有机营养物质如糖类等促进了根际微生物的繁殖。

## 2.2 微生物平皿计数

试验期间,与微生物活性类似,通过平皿计数体现的微生物数量变化显著(图2)。试验第10周,根际土壤总异养菌数量(以干土计,下同)为 $1.48 \times 10^9$  CFU/g,显著高于非根际土壤的 $1.86 \times 10^7$  CFU/g ( $p < 0.05$ )。与脱氢酶活性类似,在第1周,根际与非根际土壤异养菌数量均明显下降,之后逐渐恢复。从第2周开始,根际与非根际土壤中的细菌数量差异越来越大。根际与非根际土壤中,烃降解细菌从最初的 $2.57 \times 10^3$  CFU/g分别增加到最后的 $7.08 \times 10^8$ 和 $2.40 \times 10^6$  CFU/g,差异是显著的( $p < 0.05$ )。以第10周根际与非根际土壤总异养菌CFU之比表示的高

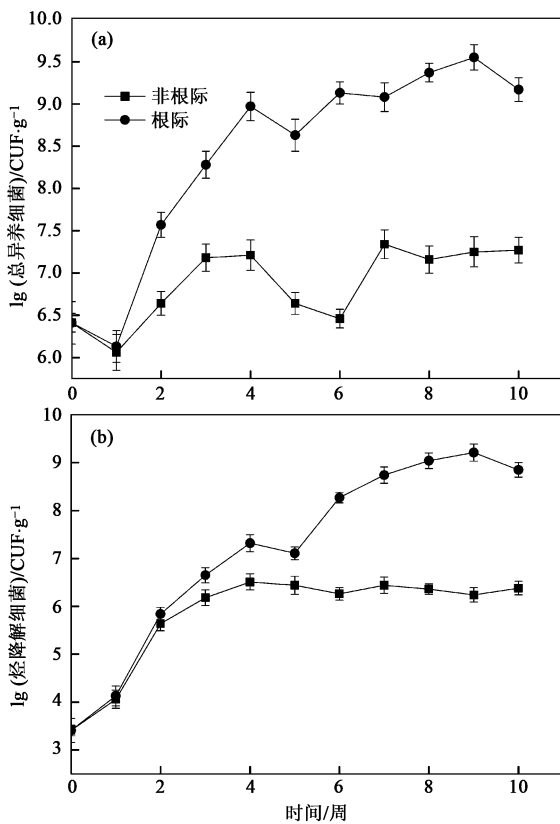


图2 微生物数量变化

Fig.2 Changes in microbial plate counts

羊茅草的根际效应为80。根际与非根际土壤中,总真菌数量从最初的 $3.41 \times 10^3$  CFU/g分别增加到第10周的 $4.63 \times 10^4$ 与 $5.21 \times 10^5$  CFU/g,而烃降解真菌数量则从 $4.32 \times 10^2$  CFU/g分别增加到 $4.07 \times 10^4$ 和 $4.94 \times 10^4$  CFU/g。

高羊茅草自发芽后生长正常,第8周时有少量植株开始枯黄但未枯死,这可能是烃的代谢产物毒性所致。Siciliano等<sup>[25]</sup>研究表明,高羊茅能极大地刺激土壤微生物的异化代谢,本研究结果与此结论较一致。在根际与非根际土壤间,真菌数量差异要比细菌小得多,这可能是由于采用的稀释及涂板方法更有利于那些能够产生较多孢子的真菌生长,或是更利于细菌生长所致<sup>[15]</sup>。依土壤、植物和取样方法不同,根际真菌数量可比非根际多3~200倍<sup>[15]</sup>。近年来,有关构建真菌-细菌群体协同修复石油污染土壤的研究不断见报道,如韩惠龙等<sup>[26]</sup>对石油污染土壤进行的现场修复试验表明,真菌-细菌微生物制剂对饱和烃、芳烃、胶质及非烃物质均有较好的降解能力。所以,真菌数量的增长亦有利于污染物的降解。

比较图1(b)与图2(a)发现,脱氢酶活性与异养菌数量有较一致的变化趋势。Taylor等<sup>[24]</sup>研究认为,脱氢酶分析是一种精确测定土壤微生物氧化活性的方法,与总的可培养微生物有直接联系,并发现脱氢酶与平皿计数、显微直接计数、生物碳之间有显著的相关性( $r^2 > 0.95$ )。

## 2.3 石油烃降解动力学模型验证

各处理TPH浓度变化如表1所示。高压蒸汽灭菌造成的烃损失较少,这是由于配制含油土壤之前,所用原油已经挥发掉大部分轻质组分。灭菌空白土壤中,所能提取出的石油烃含量一直在缓慢减少,这一方面是挥发所致,另一方面随着石油烃不断进入土壤粒子内部的微孔及与土壤有机质发生化学键结合,而导致索氏提取效率降低<sup>[27]</sup>。另外,由于提取效率的原因,按6000 mg/kg土配制的浓度,提取出的只有5644 mg/kg土。从第8周开始,根际与非根际TPH去除率出现显著差异,10周后TPH去除率,非根际土壤为11.8%,根际土壤为27.4% ( $p < 0.05$ )。

表1 土壤(干)TPH变化/mg·kg<sup>-1</sup>

Table 1 Changes in TPH/mg·kg<sup>-1</sup>

土壤	0周	2周	4周	6周	8周	10周
灭菌空白	5 587±95	5 501±82	5 425±112	5 386±103	5 337±84	5 285±93
非根际	5 644±87	5 383±94	5 235±82	5 142±101	5 048±85	4 975±81
根际	5 644±106	5 265±91	5 009±79	4 831±84	4 420±90	4 093±97

设初始 TPH 浓度为 100, 将不同时间土壤中的 TPH 浓度扣除由灭菌空白样得到的挥发及老化损失, 并标准化, 代入方程(1), 进行指数衰减非线性回归, 结果如表 2 所示. 种植高羊茅对降解速率常数  $k$  有显著影响, 对  $y_0$  没有显著影响( $p < 0.05$ ), 但却加速了石油烃的降解, 体现在石油烃降解方面的根际效应是显著的.

表 2 模型参数验证

Table 2 Parameter estimation and model validation

土壤	$c_0$	$y_0$	降解速率常数 $k$ /周 <sup>-1</sup>	残差平方和( $R^2$ )
非根际	16.1	84.0	0.1167	0.9916
根际	12.9	86.8	0.2591	0.9848

## 2.4 多环芳烃降解与去向

当前处理 PAHs 污染土壤主要采取生物、化学方法或两者结合. 这些方法已能有效降低土壤 PAHs 污染水平, 但污染物的去向很少被提及. 土壤中的 PAHs 是被完全矿化了还是在处理过程中积累了持

久性的转化产物这个问题不明确. 因极性相差很小, 普通的色谱柱无法将芳烃与其代谢产物进行分离, 但在气相色谱仪的毛细管色谱柱中可以分离, 故在色谱-质谱图中可对芳烃代谢产物进行分析.

在第 0、6、10 周, 对各土样提取出的芳烃组分进行色谱-质谱分析, 结果如表 3 所示. 其中列有 13 种检出的美国 EPA 优先控制的 PAHs 及 4 种主要的氧化态多环芳烃 (oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons, oxy-PAHs). 13 种 PAHs 的 10 周降解率在非根际与根际土壤分别为 20.1%、24.9%, 差异不显著, 且五环及六环 PAHs 降解很少. 实际上, 由于本实验是用新鲜原油配制的土壤, 在试验的 10 周内, PAHs 的老化与锁定程度是很小的. 因此这些多环 PAHs 的难降解不仅因为从土壤解吸速度降低, 还有一些别的原因. 很多 PAHs 是通过共代谢过程完成矿化的, 当相应的微生物群落没有形成或数量不足时, 降解是困难的. 由于本实验只进行了 10 周, 特异性的微生物群落还没有充分形成, 导致这些高分子量的 PAHs 基本没有降解.

表 3 干土样 PAHs 及氧化产物浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Table 3 PAHs and oxy-PAHs concentrations in dry soil/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 

化合物	0 周	第 6 周		第 10 周	
		非根际	根际	非根际	根际
萘	77.38±2.37	56.53±1.63	46.47±2.17	41.27±1.48	32.36±1.51
蒽	34.36±1.16	26.51±1.22	21.34±1.27	22.37±1.36	18.63±0.75
芴	36.49±1.25	32.47±1.54	30.45±1.62	29.31±0.78	27.63±0.85
葱	46.53±1.42	41.42±1.27	39.64±1.19	38.75±1.61	35.26±2.42
菲	96.15±2.35	71.82±2.28	63.85±2.17	62.76±1.81	56.39±2.36
荧葱	53.48±2.25	48.43±1.85	46.97±2.21	44.27±2.05	42.61±1.74
芘	86.51±0.87	72.35±1.31	75.48±2.04	66.31±1.72	64.17±2.26
苯并[a]芴	52.63±2.34	48.84±1.75	45.16±0.86	44.25±1.37	41.62±1.72
苯并[a]芘	42.25±1.26	38.65±0.71	34.35±0.65	34.13±0.92	30.24±1.25
苯并[a]蒽	47.42±1.27	45.29±1.51	45.84±1.45	46.57±1.29	46.16±1.83
苯并[g,h,i]芘	56.75±2.18	54.16±2.07	53.27±2.21	55.38±1.93	54.61±2.32
茚并[1,2,3-cd]嵌二萘	58.34±1.84	56.73±1.67	55.38±0.88	53.81±1.54	54.39±1.71
二苯并[a,n]葱	60.23±2.33	58.34±2.52	58.61±1.86	59.47±1.65	58.41±1.24
总和	748.52±22.89	651.54±21.33	616.81±20.58	598.65±19.51	562.48±21.96
1-二氢蒽酮	1.37±0.03	3.62±0.03	3.41±0.04	2.58±0.03	4.83±0.03
9-芴酮	3.15±0.02	6.81±0.04	9.34±0.03	13.26±0.04	20.37±0.04
葱醌	2.38±0.02	15.43±0.02	13.52±0.04	21.34±0.05	24.69±0.04
苯并芴酮	6.38±0.04	13.37±0.05	10.24±0.03	15.46±0.04	16.51±0.05

在本研究中, 未考虑植物对烃的吸收作用. 实际上, 植物对土壤中烃的吸收量是很少的, 如 Champagne 等<sup>[28]</sup>以玉米种植在燃料油含量 1.2% 的土壤中, 110

d 后在植物组织中未检出饱和烃和芳烃. Binet 等<sup>[2]</sup>研究发现, 只有土壤初始浓度 0.003‰~0.16‰ 的 PAHs 被黑麦草组织吸收, 根际土壤中污染物的降低

绝大部分是由于生物降解或生物转化所致。另外众多的研究也表明,在烃污染土壤的植物修复过程中,与根际作用相比,植物通过吸收作用导致的土壤污染物浓度的降低程度是较弱的。

在实验开始时,1-二氢芘酮、9-芴酮、蒽醌、苯并芴酮均可检出,这是因为芳环上的饱和碳原子很容易被非酶作用氧化<sup>[29]</sup>。实验期间,这4种 $oxy$ -PAHs的浓度一直增加。芴、芴、蒽、苯并芴降解后大部分形成了对应的 $oxy$ -PAHs,且逐步积累,进一步的降解很少,说明 $oxy$ -PAHs通常比其母体芳烃和具有同等数量的稠环芳烃降解要慢。 $oxy$ -PAHs在土壤修复过程中的积累已有报道。在某些情况下只有短期的积累,有时却会积累一些持续性的物质,导致试验结束时存在高浓度的 $oxy$ -PAHs。如 Saponaro 等<sup>[30]</sup>在生物泥浆处理煤气厂土壤时发现 anthracene-9,10-dione 和 benzanthracenone 的2种同分异构体存在大量的积累。特定 $oxy$ -PAHs的形成及持续性程度受到许多因素影响,如土壤类型,污染物组成,降解过程及微生物等。因此,要确定是哪种因素导致 $oxy$ -PAHs的积累是很困难的。对于 $oxy$ -PAHs的积累及去向尚需长期和广泛的研究。

### 3 结论

(1) 种植高羊茅具有强化石油污染土壤修复的作用,高羊茅能强化饱和烃的降解,但对多环芳烃降解的促进作用不明显。

(2) 根际土壤中微生物活性及数量要显著高于非根际土壤,但有一定波动变化。

(3) 土壤基质、污染物组成对荧光素二乙酸酯水解具有显著影响,测定土壤 FDA 活性时需要灭菌空白对照。

(4) 多环芳烃降解过程中,氧化态多环芳烃存在积累。

#### 参考文献:

[1] Escalante Espinosa E, Gallegos-Martinez M E, Favela-Torres E, *et al.* Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. inoculated with a microbial consortium in a model system [J]. Chemosphere, 2005, **59**: 405-413.

[2] Binet P, Portal J M, Leyval C. Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in the rhizosphere and mycorrhizosphere of ryegrass[J]. Plant Soil, 2000, **227**: 207-213.

[3] Phillips L A, Greer C W, Germida J J. Culture-based and culture-independent assessment of the impact of mixed and single plant treatments on rhizosphere microbial communities in hydrocarbon contaminated flare pit soil[J]. Soil Biol Biochem, 2006, **38**: 2823-

2833.

[4] 范淑秀,李培军,巩宗强,等.苜蓿对多环芳烃非污染土壤的修复作用研究[J].环境科学,2007,**28**(9):2080-2084.

[5] 滕应,骆永明,高军,等.多氯联苯污染土壤菌根真菌-紫花苜蓿-根瘤菌联合修复效应[J].环境科学,2008,**29**(10):2925-2930.

[6] Binet P, Portal J M, Leyval C. Dissipation of 3-6-ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass[J]. Soil Biol Biochem, 2000, **32**:2011-2017.

[7] Lee S H, Lee W S, Lee C H, *et al.* Degradation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere of grasses and legumes[J]. J Hazard Mater, 2008, **153**: 892-898.

[8] Korade D L, Fulekar M H. Remediation of anthracene in mycorrhizospheric soil using ryegrass[J]. Afr J Environ Sci Technol, 2008, **2**(9): 249-256.

[9] Bouchez M, Blanchet D, Vandecasteele J P. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by pure strains and by defined strain associations: inhibition phenomena and cometabolism [J]. Appl Microbiol Biot, 1995, **43**:156-164.

[10] Merkl N, Schultze-Kraft R, Infante C. Phytoremediation of petroleum contaminated soils in the tropics: preselection of plant species from eastern Venezuela[J]. J Appl Bot Food Qual, 2004, **78**(3): 185-192.

[11] Van Epps A. Phytoremediation of petroleum hydrocarbons [R]. Washington: USEPA, 2006.

[12] Green V S, Stott D E, Diack M. Assay for fluorescein diacetate hydrolytic activity: optimization for soil samples [J]. Soil Biol Biochem, 2006, **38**:693-701.

[13] Trasar-Cepeda C, Camina F, Leir s M C, *et al.* An improved method to measure catalase activity in soils[J]. Soil Biol Biochem, 1999, **31**: 483-485.

[14] Casida L E. Microbial metabolic activity in soil as measured by dehydrogenase determinations[J]. Appl Environ Microb, 1977, **34**(6): 630-636.

[15] Kirk J L, Klironomos J N, Lee H, *et al.* The effects of perennial ryegrass and alfalfa on microbial abundance and diversity in petroleum contaminated soil[J]. Environ Pollut, 2005, **133**(3):455-465.

[16] 徐世平,孙永革.一种适用于沉积有机质族组分分离的微型柱色谱法[J].地球化学,2006,**35**(6):681-688.

[17] Nocentini M, Pinelli D, Fava F. Bioremediation of a soil contaminated by hydrocarbon mixtures: the residual concentration problem[J]. Chemosphere, 2000, **41**: 1115-1123.

[18] Margesin R, Zimmerbauer A, Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities[J]. Chemosphere, 2000, **40**: 339-346.

[19] Frankenberger W T, Johanson J B. Influence of crude oil and refined petroleum products on soil dehydrogenase activity [J]. J Environ Qual, 1982, **11**: 602-607.

[20] Megharaj M, Singleton I, McClure N C, *et al.* Influence of petroleum hydrocarbon contamination on microalgae and microbial activities in a long-term contaminated soil[J]. Arch Environ Con

- Tox, 2000, **38**:439-445.
- [21] Schnierer J, Rosswall T. Fluorescence in diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter[J]. *Appl Environ Microb*, 1982, **43**(6): 1256-1261.
- [22] Riis V, Lorbeer H, Babel W. Extraction of microorganisms from soil: evaluation of the efficiency by counting methods and activity measurements[J]. *Soil Biol Biochem*, 1998, **30**: 1573-1581.
- [23] Gibson D T, Subramanian V. Microbial degradation of organic compounds[M]. New York: Marcel Dekker Inc, 1984. 181-252.
- [24] Taylor J P, Wilson B, Mills M S, *et al.* Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques[J]. *Soil Biol Biochem*, 2002, **34**: 387-401.
- [25] Siciliano S, Gemita J J, Banks K, *et al.* Changes in microbial community composition and function during a polycyclic aromatic hydrocarbon phytoremediation field trial[J]. *Appl Environ Microb*, 2003, **69**: 483-489.
- [26] 韩慧龙, 陈镇, 杨健民, 等. 真菌-细菌协同修复石油污染土壤的场地试验[J]. *环境科学*, 2008, **29**(2): 454-461.
- [27] 李晓军, 李培军, 蔺昕, 等. 土壤中有机污染物老化的概念探讨[J]. *应用生态学报*, 2007, **18**(8): 1894-1896.
- [28] Champagne CH, Morel JL. Phytotoxicity and plant uptake of fuel oil hydrocarbons[J]. *J Environ Qual*, 1997, **26**(1): 1478-1483.
- [29] Ramdahl T. Polycyclic aromatic ketones in environmental samples[J]. *Environ Sci Technol*, 1983, **17**: 666-670.
- [30] Saponaro S, Bonomo L, Petruzzelli G, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) slurry phase bioremediation of a manufacturing gas plant (MGP) site aged soil[J]. *Water Air Soil Poll*, 2002, **135**: 219-236.