

营养添加法治理石油污染土壤研究进展

孟娟^{1,2*}, 郑西来¹

(1. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 山东 青岛 266100;
2. 青岛理工大学安全工程系, 山东 青岛 266520)

摘要:介绍了在石油污染土壤中使用营养添加法促进石油生物降解的作用机理,总结了营养添加浓度、类型和环境变量对石油生物降解影响的研究近况,并对未来研究方向予以展望。

关键词:营养添加法;石油污染土壤;生物刺激

中图分类号:X55

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2016)03-0049-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2016.03.012

Research progress of treatment of oil contaminated soil by nutrient addition method

MENG Juan^{1,2*}, ZHENG Xi-lai¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China;
2. Department of Safety Engineering, Qingdao University of Technology, Qingdao 266520, China)

Abstract: The mechanism of oil biodegradation in contaminated soil by nutrient addition method is introduced. The effects of nutrient concentration, type and environment variables on the oil biodegradation are summarized. The research directions in the future are also prospected.

Key words: nutrient addition method; oil contaminated soil; bio-stimulation

石油泄漏造成土壤污染已成为全球普遍存在的环境问题,对生态系统造成巨大威胁。生物修复具有成本低、环保等优点,已成为治理石油污染土壤最好的策略之一^[1]。目前,生物修复治理石油污染土壤的方法有3种:生物添加、生物刺激和植物修复^[2]。其中,生物刺激法是指通过改性土壤的物理化学性质达到提高污染物生物降解的目的。改性土壤理化性质的方法有很多,其中最常见的方法之一是营养添加法,即向土壤中添加大量营养成分(主要是N和P)^[3]。本文中主要以生物刺激中的营养添加法为探讨对象,综述了营养添加法治理石油污染土壤的研究进展,包括营养添加法促进石油生物降解作用机理、营养添加浓度、类型和环境变量对石油生物降解影响,并在此基础上对未来研究方向予以展望。

1 营养添加促进石油生物降解作用机理

石油中大多数化合物是可被环境微生物降解的。石油生物修复过程中,微生物新陈代谢所需能量由有机碳提供,氮和磷也是必需的营养元素^[4]。在石油污染区,土壤中往往含有过多的碳源,此时石油烃的降解效率主要受限于土壤养分条件,营养盐缺乏成为阻止或减缓生物修复的重要因素^[5]。

向石油污染土壤中添加营养成分可有效促进石油生物降解。Raeid等^[6]基于呼吸测量法以石油矿化度表征其降解水平,研究发现,在88d实验期内,添加无机营养盐(NH_4Cl 、 NaH_2PO_4)导致沉积物中 CO_2 水平呈线性持续增加,说明实验期内石油矿化率和生物降解率持续提高。

营养添加促进石油生物降解的机理,从根本上说是因为刺激了参与降解石油微生物菌群的生长。营养添加使菌群数量、菌群活性和群落结构都得到提升和优化^[7]。Chong等^[8]研究了不同土壤环境下微生物的多样性,结果表明,随土壤含水量和含氮量的升高,微生物多样性增加。Yu等^[9]通过T-RFLP法分析细菌群落结构,研究结果表明,在140d的实验期内,控制组(未添加营养)细菌群落基本未发生变化,而营养组内由于存在多重生物刺激作用,观测到显著的细菌群落变化,其中 γ -变形菌纲的丰度在实验开始即由60%迅速增加到68%,70d后开始下降,到140d丰度仅为12%,与此相反, α -变形菌纲、拟杆菌纲、 β -变形菌纲的细菌丰度在实验后期才开始增加,营养组的总石油烃在实验期内降解效果显著,烃组分变化更显著,这表明营养添加显著影响菌群数量、群落结构等,从而改善石油生物修复效果。

Geng 等^[10]提出双重莫诺动力学模型 BIOB, 定量描述营养添加对石油生物降解的影响, 模型假设石油生物降解速度与生物量增长呈正比, 影响生物量浓度的主要参数为生物量增长率, 生物量增长率大小受石油生物利用度、营养成分、最大持水量等因素制约。生物量产出控制方程如下:

$$dX/dt = (u - k_d)X + (X/h)(dh/dt) \quad (1)$$

式中, X 为生物量浓度; u 为生物量增长率; k_d 为内在生物量衰减率, 常数值。

式(1)中, 生物量增长率 u 计算方程如下:

$$u = u_{\max} (1 - X/X_{\max}) [S/(K_s + S)] [N/(K_N + N)] \quad (2)$$

式中, u_{\max} 为最大生物量增长率; X_{\max} 为最大生物量浓度; S 为石油碳氢化合物浓度; K_s 为石油碳氢化合物半饱和浓度; N 为氮基营养浓度(硝氮 + 亚硝氮 + 氨氮); K_N 为氮基营养半饱和浓度; 方程假设磷基营养浓度不受限。

Geng 等^[10]同时利用 BIOB 模型进行石油泄漏实验模拟, 结果表明, 使用模型参数得到的预测值与实际观测值类似, 营养添加与生物量增长以及石油降解速度的关系可被定量表征。

2 营养添加浓度对石油生物降解影响

在生物修复策略实施过程中, 需要充分优化营养添加浓度, 因为养分浓度过高或过低都可能会抑制微生物活性, 最终导致微生物降解活动受限^[11]。

首先, 在大部分石油泄漏污染区, 营养成分本底浓度过低成为限制石油生物降解的主要因素, 因此营养添加成为生物修复治理石油污染的关键步骤^[5]。Boufadel 等^[12]应用沙滩溢油模拟装置研究了正十七烷生物降解率与养分浓度之间的关系, 结果表明, 为保证生物修复效果, 最低 N 浓度值应为 2 ~ 10 mg/L。Geng 等^[10]应用动力学模型 BIOB 模拟低溶解度石油烃生物修复过程, 结果显示, 随着养分浓度增加石油清除效率加快, 当养分浓度从 0.2 mg/L 增加到 2 mg/L 时, 生物降解率提高了 3 ~ 4 倍, 营养添加有效提高了石油的生物降解效率。

其次, 在保证营养最低浓度的前提下, 营养元素比例也会极大影响生物修复效果。多个研究认为, 在对石油污染土壤实施营养添加时, C:N:P 浓度比值 100:10:1 是促进生物降解的最佳添加比例^[13]。许多生物修复方案设定营养添加比例时常直接引用这一比值。然而, 越来越多的研究得到不同结论。Martínez 等^[3]采用响应面法(RSM)评估卡列尼南极站石油污染土壤生物修复治理时最优氮磷水平值,

研究表明, C:N:P 浓度比值为 100:17.6:1.73 时生物修复效果最佳。夏文香等^[14]研究了采用生物柴油-营养盐联合修复油污沙滩时氮磷比对多环芳烃(PAHs)去除的影响, 结果表明, 处理系统中石油降解菌和异养菌总数分别在 N:P 浓度比值为 5:1 和 10:1 时达最高; 在萘的生物降解过程中, N:P 浓度比值为 5:1 时的速率常数分别是当浓度比值为 10:1 和 1:1 时的 1.3 和 2.9 倍, 蒽的生物降解结果与此类似, 不同的 NP 浓度比对芘的降解速率几乎没有影响。Pao - Wen 等^[11]采用无机营养源(NH_4NO_3 、 K_2HPO_4)处理石油烃污染土壤的结果也表明, 当采用 C:N:P 浓度比值为 100:11:3.7 时石油生物降解效果较好, 35 d 后石油清除率即达到 69.8%。

由此可见, 在考虑对石油污染物进行生物修复时, 优化营养水平至关重要。土壤中氮磷水平过高也会对生物修复过程产生负面影响, 如生物抑制作用、减少土壤水分、降低石油生物利用度等^[15]。最常被报道的添加比例 C:N:P(100:10:1) 仅可作为参考, 不同石油污染土壤生物修复时的最佳营养浓度水平应经测试确定。土壤生物系统的复杂性使得普遍适用的解决方案不可能在任何情况下都有效^[16]。

3 营养添加类型对石油生物降解影响

按照营养成分来源, 营养添加类型主要有无机营养盐和有机质营养 2 大类。无机营养盐(NH_4NO_3 、 Na_2HPO_4 、 KH_2PO_4 等)添加已被证明可促进石油污染土壤生物修复过程^[17-18]。然而随着研究的不断深入, 无机营养物质的应用缺陷逐渐显露。无机营养成分易受淋溶作用而从土壤环境中流失, 多次添加营养又可能导致富营养化, 对土壤环境造成二次污染。过量添加无机 N 和 P 可能会将 N:H₂O 比值提升到过高水平, 也会使环境 pH 高于中性水平, 这些都会对微生物的生长产生负面影响^[15,19]。因此近些年有机质营养添加逐渐成为研究热点。

尿素是最常用的营养氮源之一。但是以尿素作为氮源时, 不当的碳氮比可能导致一些负面影响, 如显著的 pH 升高、细菌生存能力下降和快速硝化反应^[20]。Wang 等^[21]以尿素为 N 源采用 C:N:P = 100:10:1 的营养添加比例对胜利油田油泥进行生物刺激治理, 结果表明, 在实验期的第一个 100 h, 营养添加组的 AWCD 值和香农指数均低于对照组(无任何添加), 这说明在该研究中添加营养物质反而抑

制了微生物代谢活动和多样性,这可能是由于营养组分中尿素添入比例不当导致。尿素能够降低土壤的呼吸率、ATP含量和微生物量碳,特别是当它的添加浓度超过临界值时。向大多数环境介质中加入尿素都将导致pH的升高,环境pH的改变和有毒物质的积累等因素最终导致微生物活性被抑制。

亚甲基尿素由于具有氮养分释放缓慢、对土壤pH影响小等优点,可成为尿素的良好替代^[20]。Sari等^[22]研究了不同氮源(尿素、亚甲基尿素)在相同添加比例(100 C:10 N:1 P)下对石油污染土壤生物修复效果,结果表明,尿素处理组土壤pH(pH 7.8)显著高于控制组(pH 6.6),亚甲基尿素处理组pH(pH 6.6)则无变化。Peltola等^[20]大量使用亚甲基尿素作为氮源治理石油污染农场,结果未对微生物生长产生负面影响,可有效提高石油生物降解率。

Nikolopoulou等^[23]考察了不同养分添加策略对石油生物修复的影响,研究结果表明,NPK组(无机养分组, $\text{KNO}_3 + \text{K}_2\text{HPO}_4$)石油降解速度和数量均远小于ULR组(有机养分组,尿酸+卵磷脂+生物表面活性剂鼠李糖脂),在60 d的实验周期内,NPK组仅清除了约20%的正烷烃,而ULR组在15 d内正烷烃降解率即高达97%,这可能是因为微生物菌群对亲脂性有机营养源的利用度更高。Nikolopoulou等^[23]进一步采用MPN计数法观察营养添加对石油降解菌的生长刺激作用,发现在15 d内ULR组烃降解菌群达到 10^6 数量级,这说明亲脂性有机营养源对石油降解菌生长有显著刺激作用。

Romina等^[24]研究了不同营养源对长期受柴油污染南极土壤的生物修复效果,结果表明,NSS组(无机营养源, $\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{Na}_2\text{HPO}_4 + \text{KH}_2\text{PO}_4$),FM组(有机营养源,鱼粉)均对异养菌生长产生刺激作用,但刺激效果显著不同。NSS组内异养菌总数在15 d后趋于稳定,而FM组内营养对微生物刺激作用持续时间长达45 d,这说明复杂有机营养源如鱼粉对土壤细菌生长产生强刺激作用,这是由于有机营养成分作用更持久,可为土壤微生物降解有机分子提供长期来源。

Agota等^[25]研究了有机营养成分对MC252风化石油降解过程的影响,结果表明,添加极少的有机营养成分即可有效提高石油生物修复效果,这降低了环境富营养化风险。Agota等^[25]还观察到有机营养组1(动物有机质,鱼粉)在实验期前21 d石油降解速度更快,对线性和支链烷烃降解效果显著;有机营养组2(植物有机质,沼泽禾草)降解速度虽较慢

但直至实验期(42 d)结束石油矿化仍持续进行,因此他们认为针对不同的土壤环境,选择合适的有机营养物质是实现高矿化率和生物降解率的关键,如需达到快速降解目的,应选动物有机质作为营养源。

4 营养添加环境变量对石油生物降解影响

采用营养添加法进行石油生物降解时,环境变量如温度、含水量、pH、氧气含量等也会影响最终生物修复效果。Coulon等^[26]建议在治理南极石油污染土壤时可采取加热土壤的措施。Chang等^[27]认为营养添加与其他因素结合可以更有效促进石油生物降解,如土壤中和、耕作等。

Mair等^[28]研究了不同温度下(10、20℃)生物刺激策略对总石油烃(TPH)降解率、微生物活性和群落组成的影响,结果显示,总石油烃降解率受温度影响极大,高温时添加营养成分对生物修复过程的刺激作用显著优于低温,20℃时添加亲油肥料Inipol EAP22使得TPH污染几乎完全被清除,清除率高达92.7%,而10℃时TPH清除率仅为69%。亲油肥料在10℃时表现不佳,这可能是由于低温时一些有机组分溶解度过低导致。Mair等^[28]的研究结果同时表明,当温度不同时营养添加对微生物群落组成变化影响不同,温度为10℃时添加营养导致土壤中真菌富集,在20℃时则导致革兰氏阴性菌富集。

5 结语

大部分石油污染区土壤中缺乏微生物新陈代谢必需的营养元素(主要是N和P),这导致微生物对石油生物降解速度缓慢。营养添加法是石油生物修复的关键步骤。向石油污染土壤中添加营养元素(N和P)可以刺激微生物生长,提高微生物活性和优化微生物群落结构。目前对营养添加法的研究主要集中在营养添加浓度和营养添加类型2方面。随着研究的不断深入,优化营养水平的重要性、无机营养盐的应用局限性已逐渐为人们所认识。效率更高、环境影响更小的有机质营养添加逐渐成为研究热点。由于有机质营养添加的研究仍处探索阶段,有关有机质影响微生物生长和生物修复效果的规律和机理尚未完全探明,在以后的研究中应加强相关研究。营养添加促进石油生物降解效果同时受环境变量(温度、含水量、氧气等)制约,营养元素与环境变量对石油生物修复效果的协同交互作用缺乏深入探讨,在以后的研究中也应予以加强。

参考文献

- [1] Bhatnagar S, Kumari R. Bioremediation: A sustainable tool for environmental management-A review [J]. *Annual Review & Research in Biology*, 2013, 3(4): 974 - 993.
- [2] Zhou Q X, Cai Z, Zhang Z N, *et al.* Ecological remediation of hydrocarbon contaminated soils with weed plants [J]. *Journal of Resources and Ecology*, 2011, 2(2): 97 - 105.
- [3] Martínez Álvarez L M, Balbo A L, Cormack W P M, *et al.* Bioremediation of a petroleum hydrocarbon contaminated Antarctic soil; Optimization of a biostimulation strategy using response surface methodology (RSM) [J]. *Cold Regions Science and Technology*, 2015, DOI:10.1016/j.coldregions.2015.07.005.
- [4] Atlas R M, Hazen T C. Oil biodegradation and bioremediation: A tale of the two worst spills in U. S. History [J]. *Environmental Science and Technology*, 2011, 45(16): 6709 - 6715.
- [5] Shin W, Pardue J, Jackson W, *et al.* Nutrient enhanced biodegradation of crude oil in tropical salt marshes [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2001, 131(1/2/3/4): 135 - 152.
- [6] Raeid M M A, Jamal A S, Fatema A M, *et al.* Characterization of hydrocarbon-degrading bacteria isolated from oil-contaminated sediments in the Sultanate of Oman and evaluation of bioaugmentation and biostimulation approaches in microcosm experiments [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2014, 89: 58 - 66.
- [7] Flavia F E, Alexandre S R, Gina V S, *et al.* Impact of oil contamination and biostimulation on the diversity of indigenous bacterial communities in soil microcosms [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 49(2): 295 - 305.
- [8] Chong C W, Annie T G Y, Wong R C S, *et al.* DGGE fingerprinting of bacteria in soils from eight ecologically different sites around Casey Station, Antarctica [J]. *Polar Biology*, 2009, 32(6): 853 - 860.
- [9] Yu S, Li S, Tang Y, *et al.* Succession of bacterial community along with the removal of heavy crude oil pollutants by multiple biostimulation treatments in the Yellow River Delta, China [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 23(9): 1533 - 1543.
- [10] Geng X, Michel C B, Yves R P, *et al.* BIOB: A mathematical model for the biodegradation of low solubility Hydrocarbons [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 83(1): 138 - 147.
- [11] Pao-Wen G L, Tsung C C, Liang-Ming W, *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.
- [12] Boufadel M C, Reeser P, Suidan M T, *et al.* Optimal nitrate concentration for the biodegradation of *n*-heptadecane in a variably-saturated sand column [J]. *Environmental Technology*, 1999, 20(2): 191 - 199.
- [13] Liebeg E W, Cutright T J. The investigation of enhanced bioremediation through the addition of macro and micro nutrients in a PAH contaminated soil [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 1999, 44(1): 55 - 64.
- [14] 夏文香, 张丹峰, 李金成, 等. 氮磷比对石油污染沙滩中 PAHs 去除的影响 [J]. *环境工程学报*, 2015, 9(7): 3519 - 3524.
- [15] Walworth J, Pond A, Snape I, *et al.* Nitrogen requirements for maximizing petroleum bioremediation in a sub-Antarctic soil [J]. *Cold Regions Science and Technology*, 2007, 48(2): 84 - 91.
- [16] Ruberto L A M, Mac C W P, Giulietti A M, *et al.* Microcosms: A key tools for the scaling up of soil bio/phytoremediation processes [C]//Justin A D. *Advances in Environmental Research*. New York: Nova Publishers, 2013: 201 - 228.
- [17] Couto M N P F S, Monteiro E, Vasconcelos M T S D. Mesocosm trials of bioremediation of contaminated soil of a petroleum refinery: Comparison of natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2010, 17(7): 1339 - 1346.
- [18] Horel A, Mortazavi B, Sobecky P. Responses of microbial community from Northern Gulf of Mexico sandy sediments following exposure to Deepwater Horizon crude oil [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2012, 31(5): 1004 - 1011.
- [19] Rabalais N N, Turner R E, Diaz R J, *et al.* Global change and eutrophication of coastal waters [J]. *ICES Journal of Marine Science*, 2009, 66(7): 1528 - 1537.
- [20] Peltola R, Salkinoja-Salonen M, Pulkkinen J, *et al.* Nitrification in polluted soil fertilized with fast- and slow-releasing nitrogen: A case study at a refinery land farming site [J]. *Environmental Pollution*, 2006, 143(2): 247 - 253.
- [21] Wang X, Wang Q, Wang S, *et al.* Effect of biostimulation on community level physiological profiles of microorganisms in field-scale biopiles composed of aged oil sludge [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 111: 308 - 315.
- [22] Sari K, Aki S, Martin R. Enhancing bioremediation of diesel-fuel-contaminated soil in a boreal climate: Comparison of biostimulation and bioaugmentation [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2011, 65(2): 359 - 368.
- [23] Nikolopoulou M, Pasadakis N, Kalogerakis N. Evaluation of autochthonous bioaugmentation and biostimulation during microcosm-simulated oil spills [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2013, 72(1): 165 - 173.
- [24] Romina L D, Lucas R, Edgardo H, *et al.* Bioremediation of an aged diesel oil-contaminated Antarctic soil; Evaluation of the "on site" biostimulation strategy using different nutrient sources [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2012, 75: 96 - 103.
- [25] Agota H, Behzad M, Patricia A S. Biostimulation of weathered MC252 crude oil in northern gulf of mexico sandy sediments [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2014, 93: 1 - 9.
- [26] Coulon F, Pelletier E, Gourhant L, *et al.* Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-Antarctic soil [J]. *Chemosphere*, 2005, 58(10): 1439 - 1448.
- [27] Chang W, Dyen M, Spagnuolo L, *et al.* Biodegradation of semi- and non-volatile petroleum hydrocarbons in aged, contaminated soils from a sub-Arctic site: Laboratory pilot-scale experiments at site temperatures [J]. *Chemosphere*, 2010, 80(3): 319 - 326.
- [28] Mair J, Schinner F, Margesin R. A feasibility study on the bioremediation of hydrocarbon-contaminated soil from an alpine former military site: Effects of temperature and biostimulation [J]. *Cold Regions Science and Technology*, 2013, 96: 122 - 128. ■