

炼油厂含油污泥生物强化修复试验研究

刘伟¹, 刘永军^{1*}, 贾海燕², 赵永明², 曹中利¹, 韩薇¹

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西 西安 710055;

2. 陕西延长石油(集团)有限责任公司, 陕西 延安 727406)

摘要:利用植物-微生物联合修复炼油厂的含油污泥,分析了修复过程中总石油烃质量分数、脱氢酶活性和生物毒性的变化。结果表明,植物-微生物联合修复的总石油烃降解率比自然修复提高了30.49%,在修复过程中,其脱氢酶活性最高为198.48 μg/(g·h),是自然修复[46.8 μg/(g·h)]的4.24倍。植物-微生物联合修复的生物毒性(苯酚的毒性当量浓度)由最初值7 793 mg/kg降低至2 691 mg/kg。因此,植物-微生物联合修复是处理含油污泥的有效方法,可应用于生产实际。

关键词:含油污泥;生物修复;脱氢酶;生物毒性

中图分类号:X53

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2017)05-0089-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2017.05.021

Study on enhanced bioremediation effect of refinery oily sludge

LIU Wei¹, LIU Yong-jun^{1*}, JIA Hai-yan², ZHAO Yong-ming², CAO Zhong-li¹, HAN Wei¹

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China; 2. Shaanxi Yanchang Petroleum (Group) Co., Ltd., Yan'an 727406, China)

Abstract: Using plant-microbe associated bioremediation to treat with oily sludge in the refinery is studied and the changes of total petroleum hydrocarbons mass fraction, dehydrogenase activity and biological toxicity in the bioremediation process have been analyzed. The results show that the degradation rate of total petroleum hydrocarbons with plant-microbe associated bioremediation is 30.49% higher than that of natural remediation, and the highest dehydrogenase activity during the bioremediation reaches 198.48 μg/(g·h), 4.24 times of 46.8 μg/(g·h) in using natural remediation. The biotoxicity of plant-microbe associated bioremediation, referred to the toxicity equivalence of phenol, reduces from an initial value of 7 793 mg/kg to 2 691 mg/kg. The plant-microbe associated bioremediation is an effective way to treat with oily sludge and can be applied to practical production.

Key words: oily sludge; bioremediation; dehydrogenase; biological toxicity

在石油的开采、运输、精炼和储存过程中会不可避免地产生含油污泥^[1],通常包含水、油和有毒有害的固体^[2-3]。目前,对含油污泥的处理主要包括物理法(高温分解、高温蒸汽法、溶剂萃取法等)、化学法(加氯氧化、臭氧氧化、湿空气氧化等)和生物修复(微生物修复和植物修复)。与生物修复相比,传统的物理、化学修复方法费用较高并且会破坏污染场地的理化性质,造成环境的二次污染,对于污染面积大且污染程度较轻的土壤基本上难以应用和奏效^[4]。因此,在各种修复技术中,生物修复得到公众的广泛认可^[5]。

生物修复是一种低耗、高效和环境安全的技术,它主要依靠细菌、真菌甚至高等植物的自然代谢过程降解、去除环境中的污染物质。生物修复的形式包括微生物修复、植物修复、土地耕作、堆肥、土壤/泥浆处理^[6]。植物修复可直接或间接地吸收、分离或降解有机污染物,从而有效去除含油土壤中的总石油烃(total petroleum hydrocarbons, TPH)。在植物生长的过程中,其根际微生物也可和植物协同降解

有机污染物^[7]。目前,植物-微生物联合修复技术可以将植物修复与微生物修复两种方法的优点相结合,从而强化根际对有机污染物的降解效果。

笔者通过驯化筛选石油降解微生物,采用植物-微生物联合修复含油污泥,分析了修复过程中总石油烃含量、脱氢酶活性和生物毒性的变化,为含油污泥的治理提供了可行的方案。

1 材料与方法

1.1 油泥的来源与性质

供试油泥取自陕西延长石油(集团)有限责任公司。其理化性质如表1所示,TPH质量分数为22 843 mg/kg。

1.2 细菌的驯化与筛选

供试细菌分离自该炼油厂,在实验室用培养基进行驯化。所用的液体培养基配方如下:NaCl 10 g, MgSO₄ 0.5 g, NH₄Cl 0.5 g, CaCl₂ 0.2 g, K₂HPO₄ 1.0 g, KH₂PO₄ 0.5 g, KCl 0.1 g, FeCl₃·6H₂O 0.03 g, 1 000 mL 超纯水, pH 7.0^[8]。固体培养基:

收稿日期:2016-11-27

基金项目:国家科技部科技惠民计划项目(2012GS610203)

作者简介:刘伟(1988-),男,硕士,主要研究方向为含油污泥的生物修复,903607126@qq.com;刘永军(1969-),男,博士,教授,主要研究领域为污水生物处理理论与技术,污染环境的生物修复,通讯联系人,liuyongjun@xauat.edu.com。

在液体培养基的基础上加入 1.5% ~ 2.0% 的琼脂粉。将含有菌源的污泥接入装有 100 mL 培养基的 250 mL 三角瓶中,在 37℃、180 r/min 条件下于摇床(水浴恒温振荡器,SHZ-82 型)中培养 7 d;然后取一定量的上述培养液,接入装有 100 mL 新鲜培养基的 250 mL 三角瓶中,37℃、180 r/min 条件下于摇床中培养 7 d;如此反复 3 次。用接种环沾取富集培养液于固体平板上划线;经过多次划线纯化后,将得到的纯菌接种至装有 100 mL 新鲜培养基的 250 mL 三角瓶中,并向其中添加 0.5 g/L 原油,在 37℃、180 r/min 条件下于摇床中培养 7 d,如此驯化至微生物能适应 4 g/L 质量浓度的原油。将驯化后的微生物保存在斜面培养基上。

1.3 含油污泥生物强化修复试验方案

根据供试油泥的基本理化性质,本次处理的油泥 pH 和含水率均较高,氮、磷质量分数较低,油泥的 TPH 质量分数较高,不适合用生物法直接对其处理。采用先向其中投加锯末来增加污泥的保水能力和增大石油与微生物的接触面积,还可以与石油形成共降解。添加锯末的质量与湿污泥的质量比是 3:10,并按照 $w(\text{总有机碳}):w(\text{水解氮}):w(\text{水解磷})$ 为 100:10:1 向其中投加氮、磷,氮源采用 NH_4Cl ,磷源采用 KH_2PO_4 。

预处理之后油泥的理化性质如表 1 所示。

表 1 油泥的理化性质

油泥	含水率/%	$w(\text{水解氮})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	$w(\text{水解磷})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$
原泥	80.18	585	15.52
预处理之后	58.46	38898	134.95

油泥	pH	$w(\text{TPH})/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	$w(\text{总有机碳})/(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$
原泥	8.05	22843	53
预处理之后	7.15	17459	47

预处理后,分别向花盆中加入相同质量的油泥,并向花盆中加入适量过硫酸钾浸泡的黑麦草种子。试验设置如下:对照组只有油泥;实验组 1 为油泥 + 锯末;实验组 2 为油泥 + 锯末 + 混合菌液;实验组 3 为油泥 + 锯末 + 黑麦草;实验组 4 为油泥 + 锯末 + 混合菌液 + 黑麦草。

1.4 分析方法

含油量检测方法:采用气相色谱测定 TPH 质量分数。取 5.0 g 油泥样品于 100 mL 锥形瓶,加入 20 mL 二氯甲烷和 20 mL 超纯水,在摇床上以 180 r/min 振荡 12 h。在数控超声波清洗器中以

40 kHz 功率超声 2 h,然后使含有二氯甲烷的石油溶液经过无水 Na_2SO_4 滤纸,并多次用二氯甲烷润洗,最终定容于 50 mL 容量瓶。TPH 质量分数采用安捷伦气相色谱(GC 6890A 型,美国生产)进行测定,测定条件如下^[9]:色谱柱初始温度为 40℃,保持 0.5 min;以 15℃/min 升温至 150℃,保持 2 min;以 10℃/min 升温至 290℃,保持 5 min;进样口温度为 300℃,FID 检测器温度为 300℃;分流进样,分流比为 5:1,进样量为 1 μL ;氢气流量为 30 mL/min;空气流量为 300 mL/min;载气 N_2 速度 28 mL/min。

油泥的生物毒性监测方法:油泥的生物毒性采用明亮发光细菌(Photobacterium phosphoreum)法检测^[10-11]。具体如下:①土壤二氯甲烷浸提液:称 5.0 g 过 2 mm 筛的风干土壤样品,用二氯甲烷索氏提取 16 h,减压旋转浓缩至 5 mL,加入 5 mL 二甲基亚砜,然后将该混合物继续浓缩至 5 mL 备用^[10]。②分别向 96 微孔板中将 100 μL 样品溶液暴露于 100 μL 新培养的处于对数期的菌液中,放入微孔板生物发光检测仪中,高速振荡 30 s,摇匀,暴露 15 min 后测其发光值。③计算用阳性对照(苯酚-phenol)的当量浓度表示。为了便于不同样品间进行比较,用产生相同抑制率阳对照-苯酚浓度表示。先求出样品的 EC_{50} ,再根据苯酚的 EC_{50} 值进行折算。

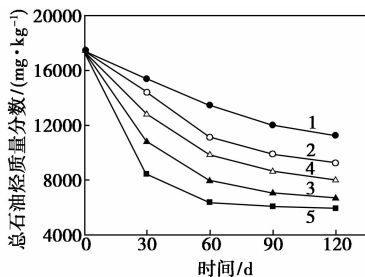
油泥的脱氢酶活性检测方法:油泥的脱氢酶量采用氯化三苯基四氮唑(TTC)方法来检测^[12]。

2 结果与讨论

2.1 强化生物修复对 TPH 质量分数及各组分的影响

强化修复过程中含油质量分数的变化情况如图 1 所示。由图 1 可以看出,所有实验组油泥含油质量分数都有一定下降,但下降的幅度不同。经过 120 d 的修复,自然修复(对照)、添加营养助剂、微生物修复、植物修复、植物-微生物联合修复对 TPH 的降解率分别为 35.61%、46.94%、61.65%、54.20%、66.10%,实验组比自然修复分别提高了 11.33%、26.04%、18.59%、30.49%。微生物修复对 TPH 的降解率比添加营养助剂提高了 14.91%,植物-微生物联合修复比植物修复提高了 1.90%,这是因为微生物一般通过接触并吸附石油、分泌胞外酶、石油污染物的吸收及胞内代谢完成对石油污染物代谢,因此微生物修复含油污泥的作用明显^[13-14];植物修复比添加营养助剂提高 7.26%,植物-微生物联合修复比微生物修复提高了 4.45%,

这是由于植物在对 TPH 的吸收、转运和代谢过程中起到重要的作用^[15]。强化修复前后 TPH 各组分质量分数如表 2 所示。结果表明,采用植物-微生物联合修复来降解含油污泥明显优于自然修复。经过 120 d 的修复,自然修复和植物-微生物联合修复各组分质量分数都有一定的降低,但各组分降解的程度不同。石油烃的碳链较短组分($C_{11} \sim C_{15}$),自然修复和植物-微生物联合修复的质量分数都较低,植物-微生物联合修复仅仅比自然修复提高了 0~7.78% (0~60.6 mg/kg),原因是浇水的冲刷作用和少量空气中细菌的降解以及总石油烃的挥发共同作用的结果。在石油烃的碳链中等长度组分($C_{16} \sim C_{25}$),植物-微生物联合修复比自然修复提高了 13.88%~67.83% (137.2~787.6 mg/kg),其原因



1—对照;2—营养助剂;3—微生物修复;4—植物修复;
5—植物-微生物修复

图 1 强化修复过程中含油质量分数的变化

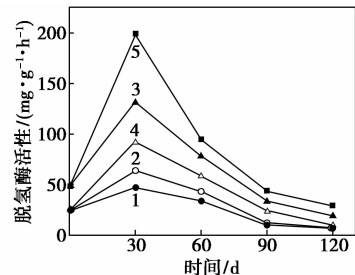
表 2 强化修复前后石油各组分的变化

碳原子数	各组分质量分数/(mg·kg ⁻¹)		
	修复前	修复后的对照	植物-微生物修复后
11	175	0	0
12	478.34343	57.71402	26.40637
13	779.57403	167.35593	106.73236
14	780.91139	244.18430	214.51776
15	900.38682	185.54733	162.84981
16	1197.46567	492.27398	156.06339
17	794.44735	694.53780	155.70173
18	916.36180	335.27058	208.07525
19	992.88984	460.04951	123.98994
20	1031.32059	524.39279	129.80974
21	945.58468	637.84903	150.64906
22	999.08953	606.22486	135.44073
23	1018.05175	798.11029	155.56795
24	1188.34334	1065.28734	277.71937
25	886.17170	824.05063	371.26128
26	1098.71931	1050.05252	906.77760
27	1156.32528	1018.63633	987.38477
28	1238.53448	1135.07050	855.86554
29	881.22731	832.72589	794.43616

因是植物(黑麦草)的吸附或富集作用、细菌的降解和转化作用以及一些微生物对植物生长的促进作用使得植物修复的效果有所提高^[16]。在对照组和实验组中,石油烃碳链较长组分($C_{26} \sim C_{29}$)的质量分数均变化不大,这是由于经过驯化的细菌对其降解能力很差且植物也无法吸附这些组分的石油^[17]。

2.2 强化修复过程中脱氢酶活性变化

实验过程中脱氢酶的活性变化如图 2 所示。由图 2 可以看出,脱氢酶的活性在 0 d 到 30 d 急剧增长,在 30 d 到 120 d 急剧降低并逐步趋于稳定。在修复的第 30 d,所有实验的脱氢酶活性都达到了最大值,植物-微生物联合修复的脱氢酶的活性最高 [198.48 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$],是自然修复 [46.8 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$] 的 4.24 倍,是微生物修复 [131.52 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$] 的 1.51 倍,是植物修复 [92.16 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$] 的 2.15 倍。



1—对照;2—营养助剂;3—微生物修复;4—植物修复;
5—植物-微生物修复

图 2 强化修复过程中脱氢酶活性变化

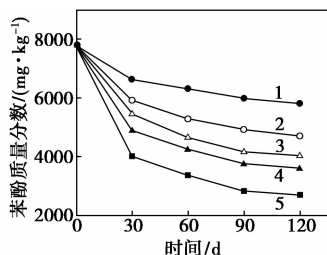
有研究表明:微生物对石油污染物的降解或转化从脱氢酶开始,因此可以利用脱氢酶的活性反映石油降解微生物的活性。由于微生物体内含有能够催化 TPH 进行氧化反应的多种酶类,其中包括氧化酶和脱氢酶 2 大类,脱氢酶使 TPH 的氢原子活化并传递给特定的受氢体,从而实现 TPH 的氧化和转化^[18]。这与本实验的结果相一致,在 0 d 到 30 d,污泥中含有大量的 TPH,再加上前期投加了足量的氮磷肥,营养条件充足,微生物经过短暂的适应期,迅速达到对数期,微生物总数急剧增加,脱氢酶的活性随之急剧升高,从而使总 TPH 的质量分数急剧减少;而在 30 d 到 120 d,由于营养条件不充分和土壤中难降解的物质的累加,微生物由对数期逐渐进入了稳定期甚至是衰亡期,此时微生物总数保持不变甚至有所降低,导致脱氢酶的活性急剧下降,从而使 TPH 的降解速度不断下降。

2.3 强化修复过程中油泥生物毒性的变化

目前,许多国家以土壤中 TPH 总量作为土壤受

石油污染程度的评价标准。但土壤中 TPH 总量不足以反映土壤的真实毒性。因此,在评价植物对油泥的修复效果时,综合考虑 TPH 总量和油泥生物毒性对监控和评价植物修复结果更具意义。

经过 120 d 植物修复后的油泥生物毒性如图 3 所示。从图 3 可以看出,随着实验的进行,各个实验组含油污泥的生物毒性都在逐步的降低。在 0 d 到 30 d,自然修复的生物毒性变化不大,这是因为污泥中原有的微生物不能较快速的降解石油,而实验组生物毒性有了一定的降低,特别是植物-微生物联合修复生物毒性由最初的 7 793 mg/kg 降低为 4 604 mg/kg,原因是植物根系可以向根际释放一些酶类,如多酚氧化酶、脱氢酶等,直接或间接地参与污染物的降解或脱毒^[19]。但是在 30 d 到 120 d,生物毒性变化速率降低,这说明,经过 120 d 的修复,石油成分中能被生物降解的部分已不多,包括一些长链烷烃和微生物难以降解的沥青、胶质等,故生物毒性变化不大。在 120 d 时,植物-微生物联合修复的生物毒性数值最低,为 2 691 mg/kg(同时期自然修复的生物毒性是 5 987 mg/kg),大约是最初的 35%。微生物修复比植物修复能够更快地降低生物毒性,这是由于对于生物毒性来说主要是由于有机物引起的,而植物对有机物的吸附效果比细菌对有机物的降解效果要差一些。因此,植物-微生物联合修复与植物修复或微生物修复相比,可以较快地降低生物毒性。



1—对照;2—营养助剂;3—微生物修复;4—植物修复;
5—植物-微生物修复

图 3 强化修复过程中生物毒性的变化

3 结论

通过植物-微生物联合修复炼油厂的含油污泥,其 TPH 的降解率比自然修复提高了 30.49%,且大于植物修复和微生物修复。

在植物-微生物联合修复过程中,其脱氢酶活性最高为 198.48 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,是自然修复[46.8 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$]的 4.24 倍,大于植物修复和微生物修复,说明植物-微生物可协同去除 TPH,具有良好的

修复效果。

通过植物-微生物联合修复的油泥的生物毒性为 2 691 mg/kg,约是初始值的三分之一,低于植物修复和微生物修复,因此植物-微生物联合修复处理含油污泥的有效方法可应用于生产实际。

参考文献

- [1] Zubaidy E A H, Abouelnasr D M. Fuel recovery from waste oily sludge using solvent extraction[J]. Process Safety & Environmental Protection, 2010, 88(5): 318-326.
- [2] Saikia N, Sengupta P, Gogoi P K, et al. Kinetics of dehydroxylation of kaolin in presence of oil field effluent treatment plant sludge [J]. Applied Clay Science, 2002, 22(3): 93-102.
- [3] Hu G, Li J, Zeng G. Recent development in the treatment of oily sludge from petroleum industry: A review[J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 261(13): 470-490.
- [4] 周启星,魏树和,刁春燕. 污染土壤生态修复基本原理及研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(2): 419-424.
- [5] Zhang Z, Du W, Wan Y, et al. Status quo of soil petroleum contamination and evolution of bioremediation [J]. Petroleum Science, 2011, 08(4): 502-514.
- [6] Srinivasarao Naik B, Mishra I M, Bhattacharya S D. Biodegradation of total petroleum hydrocarbons from oily sludge [J]. Bioremediation Journal, 2011, 15(3): 140-147.
- [7] Jordahl J L, Foster L, Schnoor J L, et al. Effect of hybrid poplar trees on microbial populations important to hazardous waste bioremediation [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 1997, 16(6): 1318-1321.
- [8] Yan S, Wang Q, Qu L, et al. Characterization of oil-degrading bacteria from oil-contaminated soil and activity of their enzymes [J]. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 2014, 27(4): 3932-3938.
- [9] Xu J, Xin L, Huang T. Enhanced bioremediation of oil contaminated soil by graded modified Fenton oxidation [J]. Journal of Environmental Sciences, 2011, 23(11): 1873-1879.
- [10] 刘五星, 骆永明, 滕应, 等. 石油污染土壤的生态风险评价和生物修复 II. 石油污染土壤的理化性质和微生物生态变化研究 [J]. 土壤学报, 2007, 44(5): 848-853.
- [11] 马晓妍, 闫志刚, 刘永军, 等. 污水的青海弧菌 Q67 生物毒性检测及影响因素分析 [J]. 环境科学, 2011, 32(6): 1632-1637.
- [12] 唐景春, 王斐, 褚洪蕊, 等. 玉米草 (Zea Mexicana) 与海藻寡糖联合修复 TPH 污染土壤的研究 [J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(11): 2107-2113.
- [13] 刘继朝, 崔岩山, 张燕平, 等. 植物与微生物对石油污染土壤修复的影响 [J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(2): 80-83.
- [14] 刘国良, 苏幼明, 顾书敏, 等. 石油污染土壤生物修复研究新进展 [J]. 化学与生物工程, 2008, 25(8): 1-4.
- [15] 王亚男, 程立娟, 周启星. 植物修复石油烃污染土壤的机制 [J]. 生态学杂志, 2016, 35(4): 1080-1088.
- [16] Gurska J, Wang W, Gerhardt K E, et al. Three year field test of a plant growth promoting rhizobacteria enhanced phytoremediation system at a land farm for treatment of hydrocarbon waste [J]. Environmental Science & Technology, 2009, 43(12): 4472-4479.
- [17] 欧阳威, 刘红, 于勇勇, 等. 微生物强化处理与堆制强化处理含油污泥对比试验 [J]. 环境科学, 2006, 27(1): 160-164.
- [18] 雒晓芳, 陈丽华, 杨成波, 等. 植物-微生物联合修复石油污染土壤的实验模拟 [J]. 中国酿造, 2014, 51(8): 411-417.
- [19] Abhilash P C, Jamil S, Singh N. Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics [J]. Biotechnology Advances, 2009, 27(4): 474-488. ■