

离子类型对石油污染含水层中微生物去除苯的影响

林国庆^{1,2)}, 初慧^{1,2)}, 朱恒华^{3,4)}, 杨丽芝³⁾, 唐晓梦^{1,2)},
苏胜^{1,2)}, 张丽春^{1,2)}

1) 中国海洋大学海洋环境与生态教育部重点实验室, 山东青岛, 266100;

2) 山东省海洋环境地质工程重点实验室, 山东青岛, 266100;

3) 山东省地质调查院, 济南, 250013; 4) 中国地质大学(武汉)环境学院, 武汉, 430074

内容提要: 近来利用微生物原位修复受石油污染的含水层已被广泛关注, 然而地下水含有许多离子成分, 这些无机离子对微生物降解有机污染物的影响机制还不清楚。本文采用批量实验研究了淄博齐鲁石化污染地下水中常见的 7 种无机离子(NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+})对微生物生长及生物降解苯的影响规律, 利用高通量测序技术进一步探究了苯降解菌的种群特征。结果表明: 7 种离子都存在一个最适宜微生物生长的离子浓度, 低于或超过该浓度苯的去除率明显降低, 其中 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 Fe^{3+} 最适宜浓度为 0.4 mmol/L, PO_4^{3-} 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 最适宜浓度分别为 0.2 mmol/L、0.1 mol/L、2.5 mmol/L、2 mmol/L; 从微生物含量及其变化幅度来看, 地下水环境中的 NO_3^- 离子对微生物的生长及苯的去除影响最显著, 其他离子的影响则较小, 但微生物对 Cl^- 的耐受浓度较高。高通量测序结果显示驯化出的苯降解菌主要属于脱硫弧菌属(*Desulfovibrio* sp.)、脱硫芽胞弯曲菌属(*Desulfosporosinus* sp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)和假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)中的菌株。研究结果可为石油污染地下水的原位生物修复提供一定的科学依据。

关键词: 无机离子; 含水层; 苯; 微生物

微生物修复受石油污染的含水层, 具有成本低、操作简便、降解效率高、不产生二次污染等优点(Yuan Jianmei et al., 2014), 但微生物的生长受场地环境因素的影响较大。微生物生长所必需的宏量和微量营养元素至少有 11 种(包括 N、P、K、Na、S、Ca、Mg、Fe、Mn、Zn 和 Cu)(Zhang Yuyan et al., 2016)。这些元素不仅能为其提供营养物质, 部分元素组成的无机盐离子还可以为微生物降解石油烃提供电子受体, 如 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 Fe^{3+} 等, 电子受体不同, 微生物的代谢方式也不同(Zhang Qian, 2009)。在地下水环境中这些元素主要以无机盐的形式存在, 必须保持一定的数量、形式和比例以维持微生物的生长。

能够降解石油烃的好氧微生物在环境中无处不在, 但在天然地下水环境下, 微生物降解石油烃的速

度缓慢, 为了激活土壤微生物, 提高石油烃的降解率, 学者们展开了一系列的研究。研究发现 N 和 P 是微生物降解石油烃所必需的营养元素, 特别是对于脂肪族化合物的降解(Atlas et al., 1981)。在添加适当的氮、磷无机盐后, 石油烃以相对较高的速率被微生物降解(Zhou Enning et al., 1995; Das et al., 2007)。除 N、P 外, 其它营养元素对微生物的降解也起到了重要的作用。研究表明硫酸盐对假单胞菌属降解苯的影响较大, 并且硫酸盐和磷酸盐对微生物降解苯的影响高于氯化铵, 当营养物浓度在较低范围内时, 细菌生长和苯的降解均受到限制(Jean et al., 2008)。研究还发现添加适当的盐可以刺激微生物降解石油烃, 但盐浓度过高时, 石油烃的降解反而被抑制(Ulrich et al., 2009)。目前的研究已经证明无机盐的添加可以提高微生物的活

注: 本文为国家基金委-山东省联合基金项目(编号 U1806210)、地方财政项目(编号淄(水资项目[2017]1 号)资助的成果。

收稿日期: 2019-07-31; 改回日期: 2019-09-15; 责任编辑: 黄敏。

作者简介: 林国庆, 男, 1977 年生, 中国海洋大学副教授, 主要从事地下水污染调查与修复方面的研究, Email: lingq@ouc.edu.cn。通讯作者: 朱恒华, 男, 1981 年生, 高级工程师, 主要从事水文水资源调查工作, Email: 67146398@qq.com。

引用本文: 林国庆, 初慧, 朱恒华, 杨丽芝, 唐晓梦, 苏胜, 张丽春. 2019. 离子类型对石油污染含水层中微生物去除苯的影响. 地质学报, 93(s1): 266~272. doi:10.19762/j.cnki.dizhixuebao.2019237.

Lin Guoqing, Chu Hui, Zhu Henghua, Yang Lizhi, Tang Xiaomeng, Su Sheng, Zhang Lichun, 2019. Effect of ion types on the removal of benzene by microorganisms in petroleum-contaminated aquifer. Acta Geologica Sinica, 93(s1): 266~272.

性,从而促进苯的生物降解(Lin Chiwen et al. , 2007),但在实际受污染含水层中,如何有效地激活场地微生物、寻找促进微生物降解苯的最佳无机盐条件还需进一步的研究。

本文利用深层岩溶裂隙灰岩中驯化出的微生物,研究了不同浓度的阴阳离子(NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+})对微生物活性的影响以及对微生物降解苯的影响规律,以评估场地地下水环境对微生物降解苯的适宜性,并通过高通量测序技术对可降解苯的微生物种群特征展开了进一步的探究。研究结果可为石油污染地下水原位生物修复提供基础的数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

研究区位于山东省淄博市临淄区(图 1),含水岩组由奥陶系碳酸盐岩组成,在石灰岩裸露区,地表和地下岩溶发育,地势南高北低,南部为低山丘壑河谷地形,北部接山前倾斜平原,区域内地貌的形成是地层岩性、地质构造、气象水文等因素综合作用的产物,按其形态可分为构造剥蚀岩溶低山丘陵、剥蚀堆积山麓坡地、河谷冲击平原和山前冲洪积平原(Liu Songlin, 2013)。采样区地下水中的主要有机污染物为苯,污染物浓度呈西高东低的特点,且污染范围不断扩大,地下水受污染情况严峻,保护与修复势在必行。

1.2 实验材料

实验仪器:离子色谱仪;气相色谱质谱仪(Agilent 7980A GC);SHZ-B 水浴恒温振荡器;紫外分光光度计。

化学试剂:苯(GR)、NaCl(GR)、 Na_2SO_4 (GR)、 KH_2PO_4 (GR)、 NaNO_3 (GR)、 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (GR)、 $\text{Mg}(\text{OH})_2$ (GR)、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (GR)。

实验所用的菌悬液是从当地深层岩溶裂隙含水层介质中培养驯化出的可降解苯的混合微生物,实验用水均为灭菌的去离子水。

1.3 实验方法

1.3.1 批量实验

在若干个 50mL 安捷伦瓶中,加入 5mL 在 600nm 紫外波长下吸光值相同(OD_{600})的菌悬液,后分别加入不同浓度的无机盐溶液(NO_3^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+})各 30mL,最后加入 5mL 浓度为 40mg/L 的苯溶液提供碳源。取少量溶液测定各瓶中苯的初始浓度后,放入几粒玻璃珠,用聚四氟乙烯膜密封后加盖,在 25℃下恒温避光震荡,另设置两组平行样。7d 后取出、静置 2h,取中间清液测定苯的浓度;因吸光值与细菌生长量成正比,所以再取适量溶液在 600nm 紫外波长下测定吸光值(OD_{600}),从而估计细菌的生长情况。

1.3.2 高通量测序

对可降解苯的菌悬液进行高通量测序,使用引物对 515F(GTGYCAGCMGCCGCGGTA A)-806R(GGACTACNVGGGTWTCTAAT)对细菌 16s rRNA 基因的 V4 区进行扩增,按其标准化程序进行检测。

2 结果

2.1 地下水无机离子特征

依据研究场地地下水监测的主要指标及影响微生物生长的主要营养元素,选择了 7 种无机离子进

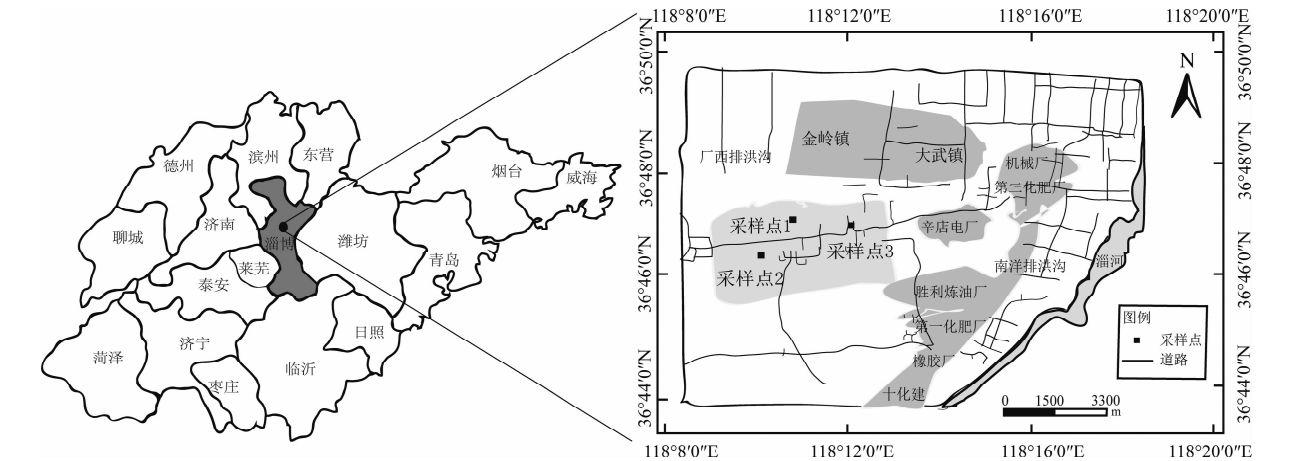


图 1 淄博市取样点地理位置图

Fig. 1 Location map of sampling points in Zibo

行分析,监测数据如表 1 所示。分析发现各采样点水样中的无机离子浓度变化不大,均符合地下水质量标准(GB/T14848-2017)中的Ⅲ类标准,但其中的 Cl^- 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 浓度较高,可以从侧面反映地下

水受到了石油污染。研究发现,地下水中有機污染物浓度越高,越容易分解产生大量 CO_2 ,与岩土中的 CaCO_3 、 MgCO_3 作用生成 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} ,使水中 Ca 、 Mg 浓度升高(Wu Xudong,1998)。

表 1 场地地下水的无机离子浓度

Table 1 Inorganic ion concentrations in groundwater

采样点	NO_3^- (mmol/L)	PO_4^{3-} (mmol/L)	SO_4^{2-} (mmol/L)	Cl^- (mmol/L)	Fe^{3+} (mmol/L)	Ca^{2+} (mmol/L)	Mg^{2+} (mmol/L)
1	0.31	0.03	0.63	1.47	0.005	4.42	1.92
2	0.28	0.05	0.90	2.74	0.005	3.45	1.43
3	0.30	0.04	1.00	2.45	0.003	4.93	1.41
平均值	0.30	0.04	0.84	2.22	0.004	4.27	1.59

2.2 阴离子对生物降解苯的影响

图 2a 所示,随着 NO_3^- 浓度逐渐增加,微生物含量 OD_{600} 值迅速增大,由 0.2 mmol/L 时的 0.02 增加到 0.05,与之相对应,苯的去除率也由 47% 快速增加到 67%;当 NO_3^- 浓度超过 0.4mmol/L 后, OD_{600} 值和苯的去除率均开始下降,说明微生物降解苯的最适 NO_3^- 浓度在 0.4mmol/L 左右。场地地下水中 NO_3^- 浓度在 0.30mmol/L,接近最适浓度,

适宜微生物的生存。苯的去除率、微生物含量及其变化幅度同样显示, NO_3^- 不仅是微生物生长的重要氮源,同时也是微生物降解苯的主要电子受体(Hugo et al. , 2019)。 PO_4^{3-} 可为微生物的生长提供重要的营养元素,是主要的营养盐之一。图 2b 所示 PO_4^{3-} 浓度为 0.2 mmol/L 时, OD_{600} 值最大,但并不是去除苯的最佳浓度。场地地下水中 PO_4^{3-} 浓度约为 0.04mmol/L,远低于微生物生长和苯去除

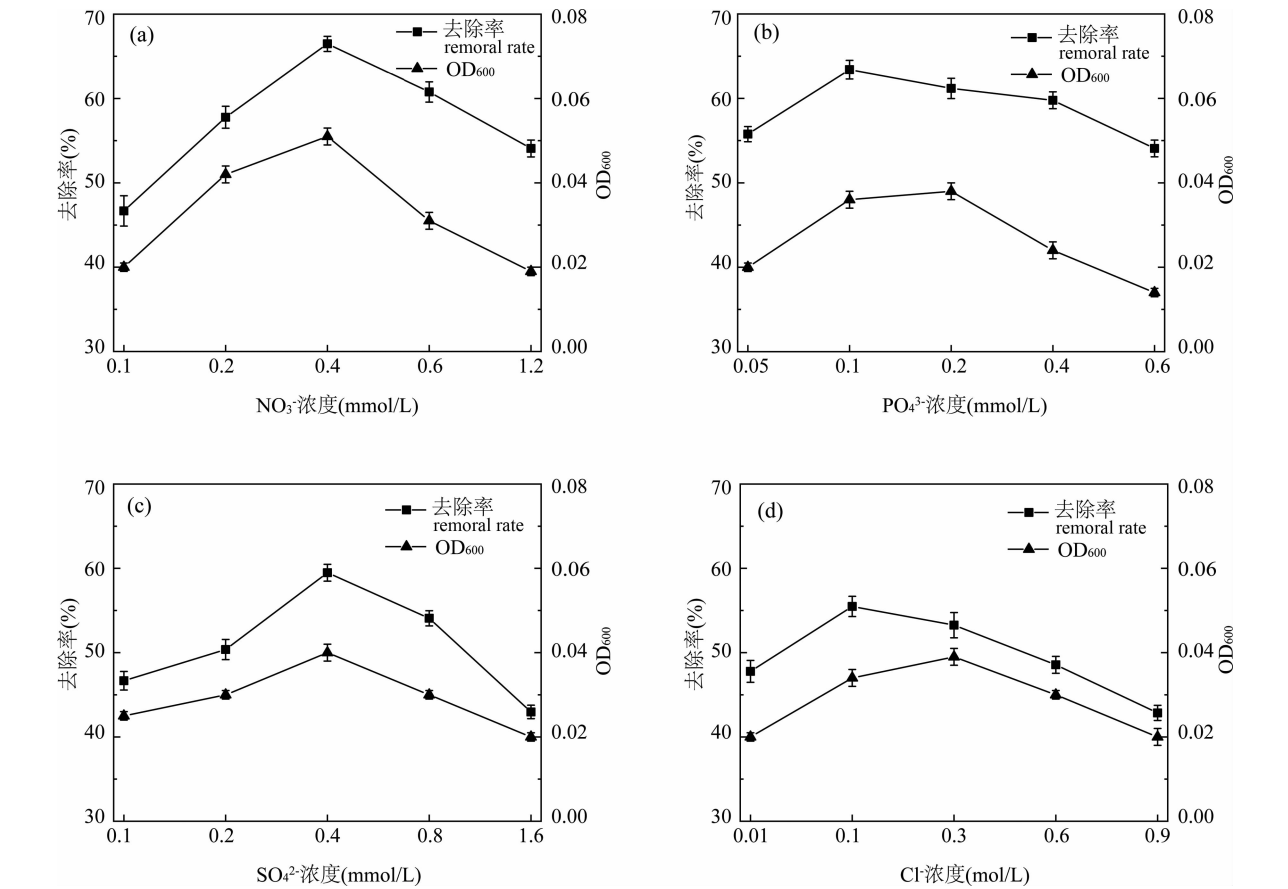


图 2 无机阴离子浓度对微生物降解苯的影响

Fig. 2 Effect of inorganic anion concentration on microbial degradation of benzene

的最佳浓度。 NO_3^- 和 PO_4^{3-} 的实验结果与已有的结论相似(Wang Wei, 2012),即高浓度的 NO_3^- 和 PO_4^{3-} 对微生物降解苯起到抑制作用; PO_4^{3-} 对微生物生长的促进作用并不明显,高浓度时的抑制作用更显著。

图 2c 所示, SO_4^{2-} 浓度在 0.4mmol/L 左右时为微生物生长的最适浓度,场地地下水中 SO_4^{2-} 浓度在 0.6~1mmol/L,均超过最适浓度,微生物的生长及对苯的降解均受到了一定程度的抑制。图 2d 所示,微生物对 Cl^- 的耐受程度在 0.3mol/L 左右,超过这一耐受度后, OD_{600} 值明显下降,苯的去除率随之减少。场地各采样点的地下水中 Cl^- 浓度远低于 0.3mol/L,说明污染场地微生物生长未受到 Cl^- 的影响。

2.3 阳离子对生物降解苯的影响

如图 3a 所示, Fe^{3+} 浓度对微生物降解苯的影响较小, OD_{600} 值随 Fe^{3+} 浓度增大而增大,超过 0.4mmol/L 后,微生物的生长和苯的去除率均呈缓慢下降的趋势,说明高浓度的 Fe^{3+} 对微生物的生长

有一定的抑制作用,但影响较小。场地地下水环境中 Fe^{3+} 浓度约为 0.004mmol/L,远低于微生物生长的最适浓度,对微生物降解苯的影响也较小。

场地地下水中 Ca^{2+} 浓度约为 4.27mmol/L, Mg^{2+} 浓度约为 1.59mmol/L。图 3b 所示,随着 Ca^{2+} 浓度超过 2.5mmol/L, OD_{600} 值呈下降的趋势,苯的去除率随之降低。图 3c 中 Mg^{2+} 浓度达到 2.0~3.0mmol/L 时,微生物生长的最好,超过最适浓度后,微生物的生长受到了抑制,与研究发现的高浓度 Mg^{2+} 可以抑制生物膜形成,影响微生物生长的结果一致(Zhou Gang et al. , 2014)。

2.4 高通量测序

菌悬液的高通量测序结果,经分类学鉴定分属 2 个门 3 个纲 3 个目 4 个科及 4 个属。结果显示菌悬液中可降解苯的微生物主要属于脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio* sp.)、脱硫芽胞弯曲菌属 (*Desulfosporosinus* sp.)、不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.)和假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.)中的菌株。不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.)和

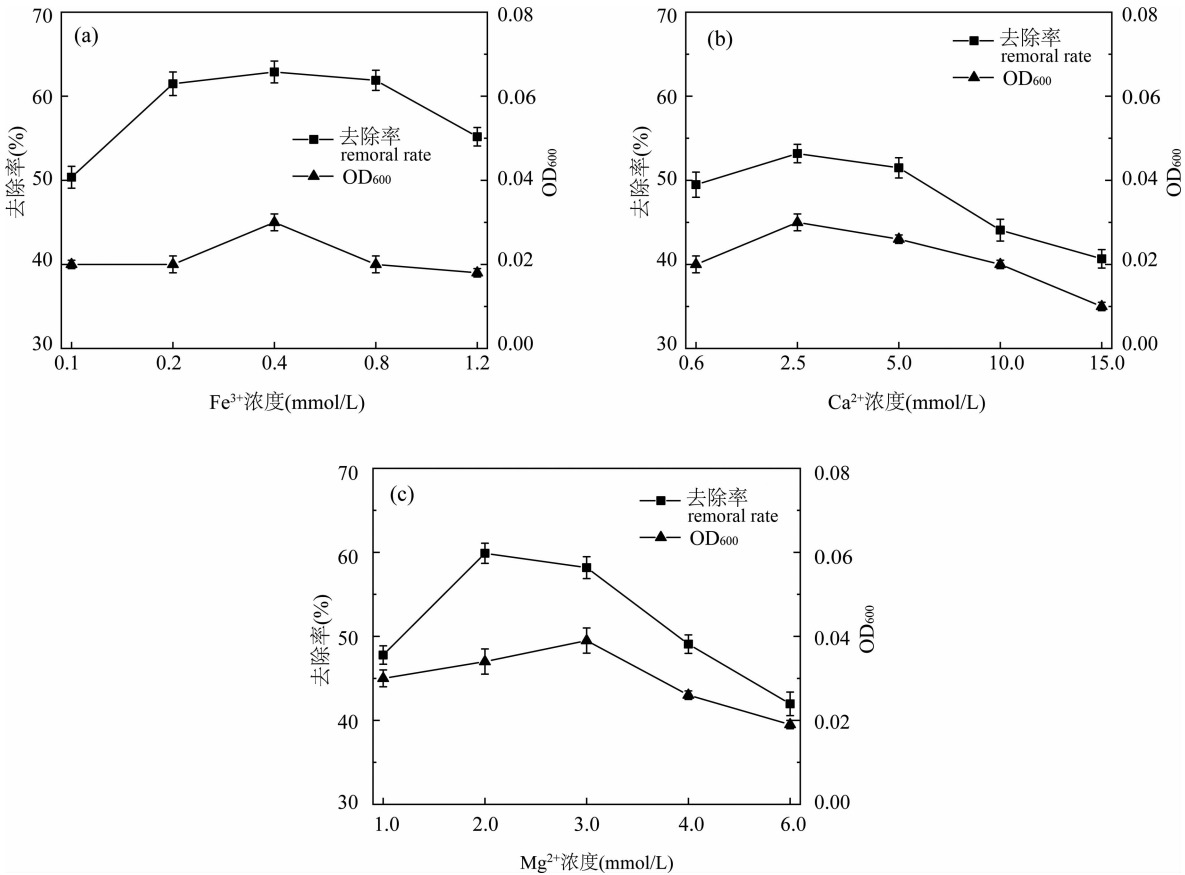


图 3 无机阳离子对微生物降解苯的影响

Fig. 3 Effects of inorganic cations on microbial degradation of benzene

假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)等都是石油烃降解中常见的微生物(Varjani et al., 2017)。基于 16S rRNA 基因的高通量测序技术揭示了菌悬液中苯降解菌的多样性,可为探索含水层中苯降解微生物的种群特征奠定基础,也可为进一步研究微生物生长的适宜环境提供参考。

3 讨论

维持微生物的生长繁殖需一定量的营养物质,碳源的供给是非常重要的,石油烃可为微生物生长提供充足的碳源。环境中 N、P 元素的缺乏是影响污染场地微生物生长繁殖的主要原因之一。当氮磷的投加比例接近细胞中氮磷元素的比例时,可以显著提高有机污染物的降解效率(He Liangju et al., 2014)。比如,以 NH_4Cl 为氮源, K_2HPO_4 和 KH_2PO_4 的混合物(2:1)为磷源时,微生物生长良好(Feng Jinyang et al., 2010)。同样地,高浓度的 NO_3^- 和 PO_4^{3-} 对微生物降解苯会起到抑制作用。场地地下水中的 NO_3^- 浓度低于适宜浓度, PO_4^{3-} 浓度过低,不利于场地微生物的生长繁殖。

除微生物生长所必须的 C、N、P 外,其它元素的缺乏也可能使污染物的降解难以进行。研究发现, SO_4^{2-} 除为微生物生长提供重要的营养元素外,还可作为电子受体将苯降解为 CO_2 (Edwards et al., 1992)。部分微生物还可利用 Fe^{3+} 为电子受体来降解苯(Kunapuli et al., 2007)。另外, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对细菌生物膜的形成非常重要,也是微生物生长所需的营养元素,它们可以通过相互的静电作用直接影响生物膜的形成,并作为重要的细胞阳离子和酶辅助因子间接影响生物膜的形成(Geeseey et al., 2000; Song Bo et al., 2006)。 Cl^- 不属于微生物生长所必需的营养元素,但地下水中 Cl^- 的存在会对微生物降解苯起到抑制作用。 SO_4^{2-} 、 Fe^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cl^- 、 PO_4^{3-} 均未达到最佳浓度,影响了微生物的生长繁殖,限制了地下水中苯的生物降解。

另外,高通量测序的结果表明,脱硫弧菌属(*Desulfovibrio* sp.)和脱硫芽胞弯曲菌属(*Desulfosporosinus* sp.)的微生物占比较高。菌悬液中存在的脱硫弧菌属(*Desulfovibrio* sp.)和脱硫芽胞弯曲菌属(*Desulfosporosinus* sp.)可利用 SO_4^{2-} 、 NO_3^- ,通过硫酸盐还原和硝酸盐还原降解饱和烃和芳烃(Widdel et al., 2001; Robertson et al., 2001)。当 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 浓度均达到 0.4 mmol/L 时,微生物的生长和苯的去除率也都达到最大值,

但场地地下水中 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 的浓度均未达到最适浓度,对苯的生物降解有所限制。

4 结论

本文分析了不同无机离子对岩溶裂隙灰岩含水层中苯降解菌的影响,评估了场地地下水环境对微生物生长的适宜性,进一步探究了苯降解菌的种群特征,得出以下结论:

(1)苯降解菌的最适无机离子浓度为: NO_3^- (0.4 mmol/L)、 PO_4^{3-} (0.2 mmol/L)、 SO_4^{2-} (0.4 mmol/L)、 Cl^- (0.1 mmol/L)、 Fe^{3+} (0.4 mmol/L)、 Ca^{2+} (2.5 mmol/L)、 Mg^{2+} (2 mmol/L);超过最适的无机离子浓度,微生物的生长均出现了不同程度的抑制,苯的去除率也随之降低。

(2)从微生物含量及其变化幅度来看,地下水环境中的 NO_3^- 离子对微生物的生长及苯的去除影响最显著,其他离子的影响则较小。地下水环境中的 NO_3^- 可为微生物提供充足的氮源和电子受体, Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cl^- 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 Ca^{2+} 均未达到最佳浓度,对微生物的生长及苯的降解有不同程度的限制。从微生物的耐盐浓度来看,驯化出的场地微生物对 Cl^- 的耐受浓度较高。

(3)高通量测序结果显示:场地驯化出的苯降解菌主要属于脱硫弧菌属(*Desulfovibrio* sp.)、脱硫芽胞弯曲菌属(*Desulfosporosinus* sp.)、不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)和假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)中的菌株,对苯的生物降解起到了重要的作用。

References

- Atlas R M. 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiological Reviews*, 45(1): 180~209.
- Das K, Mukherjee A K. 2007. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India. *Bioresource Technology*, 98(7): 1339~1345.
- Edwards E A, Grbić-Galić D. 1992. Complete mineralization of benzene by aquifer microorganisms under strictly anaerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8): 2663~2666.
- Feng Jinyang, Zhou Xiaode. 2010. Experimental study on factors affecting biodegradation of crude oil. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 4(12): 2815~2818. (in Chinese with English abstract).
- Geeseey G G, Wigglesworth-Cooksey, Barbara, Cooksey K E. 2000. Influence of calcium and other cations on surface adhesion of bacteria and diatoms: A review. *Biofouling*, 15(1-3): 195~205.
- Hugo R, Gomes D S J, Joao J, Catarina M, Joana M D, Anthony S D. 2019. Biodegradation of biodiesel and toluene under nitrate-reducing conditions and the impact on bacterial community structure. *Journal of Soils and Sediments*, 19(1): 439~450.

- He Liangju, Li Peijie, Wei Dezhou, Wang Dianzuo. 2004. Nutritional balance and degradation mechanism of microbial degradation of petroleum hydrocarbons. *Environmental Science*, 25(01):91~94. (in Chinese with English abstract).
- Jean J S, Lee M K, Wang S M, Pabitra C, Jyoti P M. 2008. Effects of inorganic nutrient levels on the biodegradation of benzene, toluene, and xylene (BTX) by *Pseudomonas* spp. in a laboratory porous mediasand aquifer model. *Bioresource Technology*, 99(16):7807~7815.
- Kunapuli U, Lueders T, Meckenstock R U. 2007. The use of stable isotope probing to identify key iron-reducing microorganisms involved in anaerobic benzene degradation. *ISME Journal*, 1(7):643~653.
- Lin C W, Cheng Y W, Tsai S L. 2007. Multi-substrate biodegradation kinetics of MTBE and BTEX mixtures by *Pseudomonas aeruginosa*. *Process Biochemistry*, 42(8):1211~1217.
- Liu Songlin. 2013. Analysis of groundwater quality evolution law and prediction of pollution trend in Dawu Water Source Area of Zibo City. China University of Geosciences (Beijing). (in Chinese with English abstract).
- Robertson W, Bowman J, Franzmann P, Mee B. 2001. *Desulfosporosinus meridiei* sp. nov. a spore-forming sulfate-reducing bacterium isolated from gasoline-contaminated groundwater. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 51(1):133~140.
- Song Bo, Leff L G. 2006. Influence of magnesium ions on biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiological Research*, 161(4):355~361.
- Ulrich A C, Guigard S E, Foght J M, Semple K M, Pooley K, Armstrong J E. 2009. Effect of salt on aerobic biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated groundwater. *Biodegradation*, 20(1):27~38.
- Varjani S J. 2017. Microbialdegradation of petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 223:277~286.
- Wang Wei. 2012. Study on mechanism of migration and transformation of petroleum characteristic contaminants in shallow groundwater. Jilin University. (in Chinese with English abstract).
- Widdel F, Rabus R. 2001. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(3):259~276.
- Wu Xudong. 1998. Discussion on the mechanism of the increase of hardness, chloride, sulfate and total solids in shallow and middle groundwater in Handan City. *Hydrogeology & Engineering Geology*, 9(05):34~36. (in Chinese with English abstract).
- Yuan Jianmei, Yang Demin, Xia Hong, Chen Lu. 2014. Research progress on bioremediation of petroleum contaminated soil. *Environmental Engineering*, 32(S1):797~800. (in Chinese with English abstract).
- Zhang Qian. 2009. Distribution characteristics of organic pollutants in typical oil contaminated sites and analysis of influencing factors. China University of Geosciences (Beijing). (in Chinese with English abstract).
- Zhang Yuyan, Liu Hongxu, Xiu Xiaoqian. 2016. Preliminary study on microbial and uranium mineralization of interlayer oxidation zone sandstone-type uranium deposits in northwestern China. *Acta Geologica Sinica*, 90(12):3508~3518. (in Chinese with English abstract).
- Zhou E, Crawford R L. 1995. Effects of oxygen, nitrogen, and temperature on gasoline biodegradation in soil. *Biodegradation*, 6(2):127~140.
- Zhou G, Li L J, Shi Q S, Ouyang Y S, Chen Y B, Hu W F. 2014. Efficacy of metal ions and isothiazolones in inhibiting enterobacter cloacae BF-17 biofilm formation. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(1):5~14.

参 考 文 献

- 冯晋阳,周孝德. 2010. 影响原油生物降解因素的实验研究. *环境工程学报*, 4(12):2815~2818.
- 刘松霖. 2013. 淄博市大武水源地地下水水质演化规律分析及污染趋势预测. 中国地质大学(北京)硕士学位论文.
- 吴旭东. 1998. 蚌埠市区浅层、中层地下水硬度、氯化物、硫酸盐、溶解性总固体增高机理探讨. *水文地质工程地质*, 9(05):34~36.
- 王威. 2012. 浅层地下水中石油类特征污染物迁移转化机理研究. 吉林大学博士学位论文.
- 何良菊,李培杰,魏德洲,王淀佐. 2004. 石油烃微生物降解的营养平衡及降解机理. *环境科学*, 25(01):91~94.
- 袁建梅,杨德敏,夏宏,陈璐. 2014. 石油污染土壤生物修复研究进展. *环境工程*, 32(S1):797~800.
- 张倩. 2009. 典型石油污染场地有机污染物分布特征及其影响因素分析. 中国地质大学(北京)硕士学位论文.
- 张玉燕,刘红旭,修晓茜. 2016. 我国北西部地区层间氧化带砂岩型铀矿床微生物与铀成矿作用研究初探. *地质学报*, 90(12):3508~3518.

Effect of ion types on the removal of benzene by microorganisms in petroleum-contaminated aquifer

LIN Guoqing^{1,2)}, CHU Hui^{1,2)}, ZHU Henghua^{* 3,4)}, YANG Lizhi³⁾,
TANG Xiaomeng^{1,2)}, SU Sheng^{1,2)}, ZHANG Lichun^{1,2)}

1) *Key Laboratory of Marine Environment and Ecology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao, Shandong, 266100;*

2) *Key Laboratory of Marine Environmental Geology Engineering of Shandong Province, School of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao, Shandong, 266100;*

3) *Shandong Institute of Geological Survey, Jinan, 250013;*

4) *School of Environmental Studies, China University of Geosciences, Wuhan, 430074*

** Corresponding author: 67146398@qq.com*

Abstract

Microbial in situ remediation for petroleum-contaminated aquifers has been widely concerned in recent years. However, there are much ionic components in groundwater, effect of which on these inorganic ions for microbial degradation of organic pollutants is still unclear. A batch of experiment was conducted to investigate the effect of seven inorganic ions (NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} and Fe^{3+}) commonly found in the contaminated groundwater of Zibo Qilu Petrochemical on microbial growth and biodegradation of benzene. The population characteristics of benzene-degrading bacteria were further explored using high-throughput sequencing technology. The results show that seven ions exist in a suitable ion concentration for the growth of microorganisms below or above which the removal rate of benzene is significantly reduced. Among them, the optimum concentration of NO_3^- , SO_4^{2-} and Fe^{3+} is 0.4 mmol/L, the optimum concentrations of PO_4^{3-} , Cl^- , Ca^{2+} and Mg^{2+} are 0.2 mmol/L, 0.1 mol/L, 2.5 mmol/L and 2 mmol/L, respectively. From the perspective of microbial content and its range of variation, NO_3^- ions in groundwater have the most significant effects on microbial growth and benzene removal, while other ions have less effect. Microbial tolerance to Cl^- is the highest. The high-throughput sequencing results show that the domesticated benzene-degrading bacteria mainly belong to the strains of *Desulfovibrio sp.*, *Desulfosporosinus sp.*, *Acinetobacter sp.* and *Pseudomonas sp.* The results provide a scientific basis for in-situ bioremediation of groundwater contaminated by oil.

Key words: inorganic ions; aquifer; benzene; microbe