

土著生物修复油污地下水的实验研究

陈 立^{1,3)}, 张发旺¹⁾, 张 胜¹⁾, 张娟娟²⁾

1) 中国地质科学院水文地质环境地质研究所, 河北正定, 050803; 2) 石家庄经济学院, 河北石家庄, 050000;
3) 中国地质大学(北京), 北京, 100083

1 引言

石油资源勘探与开采活动、运输与储藏过程的泄露以及生产加工过程中的废水排放等污染了地下水。国际上对修复石油类污染地下水的问题开展较早, 在 20 世纪 80 年代, 美国建立地下水土污染“超级基金”治理项目^[1,2], 其中绝大部分用于治理石油及其衍生物污染, 欧洲一些国家也在此方面大量投资进行修复, 并取得一定效益^[3-6]。国内地下水污染较重, 但大多侧重于对其污染物的成分分析以及对其迁移和转化进行模型预测的分析^[7-9], 而修复技术的研发起步较晚, 且大多集中在物理和化学方法^[10-12], 微生物的方法研究较少。微生物修复技术主要机理是石油烃直接参与了微生物的生化反应, 通过代谢作用降解土壤中的污染物^[13]。

本研究是通过对华北地区濮阳地区石油污染土壤与地下水调查采样, 利用优化筛选出的各类土著微生物菌群, 进行了地下水石油污染的室内模拟降解实验, 取得了一定效果。

2 实验材料和方法

2.1 材料

化学试剂: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 NH_4NO_3 、 CaCl_2 、 FeCl_3 、 KH_2PO_4 、 K_2HPO_4 、 KCl 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 CaCO_3 、 NaCl 、可溶性淀粉、蔗糖、乳酸、盐酸、琼脂、液体石蜡等, 上述试剂为培养基和实验添加成分。石油醚、三氯甲烷等分析石油用试剂, 均为分析纯。

原油: 中原油田采油五厂油田地下 2400m 采出。

培养基: 新鲜马铃薯;

菌种筛选水: 濮阳地区石油污染地下水样品;

试验用水: 蒸馏水(pH 为 7.2, TDS 为 370mg/L)。

2.2 石油含量测试方法

石油含量分析测试采样紫外分光光度法(GB/T5750.7—2006), 最低检测限为 0.005mg/L^[14]。pH 值采用 pHB-3 型 pH 计测定, TDS 用 DDB-303A 型电导率仪测定。

2.3 降解细菌的培养方法

石油降解细菌的培养优选方法如下: 地下水微生物细菌依照《水生微生物学实验法》^[15], 土壤微生物细菌培养采用《土壤微生物研究法》^[16]和参考文献^[167-18]介绍的方法, 细菌初步鉴定用《常见细菌系统鉴定手册》^[19]中的方法。

2.4 修复方法与步骤

2.4.1 石油降解菌的分离与优选

用细菌的选择性培养基和富集培养基, 对油田采油井周围石油污染地下水的样品进行菌种、菌群的培养分离, 优化选择出降解石油污染的菌种、菌群。试验选择优化出的细菌根据《常见细菌系统鉴定手册》中的方法初步鉴定主要为: 细菌类(A), 假单胞菌属、微球菌属; 放线菌类(B), 放线菌属; 真菌类(C), 青霉属、曲霉属等菌群。

将上述选出的优势菌群, 利用不同的培养基进行扩大培养。各类菌群培养 3~5d 后, 再按等份进行 3~7d 混合培养, 以便备用。

2.4.2 试验步骤

在 150ml 三角瓶分两批次实验, 每批次实验温度和石油含量不尽相同。第一批次选择温度为 25℃、20℃、15℃, 石油含量为 182.0mg/L, 每种温度样本各 7 瓶, 对照实验样本 7 瓶; 第二批次选择温度为: 35℃、30℃、25℃和 20℃, 石油含量为 862.5mg/L 和 1695.0mg/L, 每种温度每种浓度样本各 7 瓶, 无对照实验。

注: 本文为科技部国际合作重点项目(2005DFA90200)和河南省国土资源厅基金项目(濮阳市油田区土壤修复项目)的成果。

收稿日期: 2013-03-13; 改回日期: 2013-03-31; 责任编辑: 刘恋。

作者简介: 陈立, 男, 1974 年生, 宁夏盐池人。在读博士, 助理研究员。从事矿山地质环境和土壤修复方面研究。

- (1) 121℃三角瓶灭菌 30min，每个瓶中加入 20ml 地下水配制的无菌培养液。
- (2) 石油含量制造：用石油醚作为乳化剂稀释石油，第一批次三角瓶中加入含 1%石油的石油醚乳剂 20ml，与无菌培养液混合后用氮气吹脱石油醚；第二批次石油含量为 862.5mg/l 三角瓶中加入含 10%石油的石油醚乳剂 10ml，石油含量为 1695.0mg/l 三角瓶中加入含 10%石油的石油醚乳剂 20ml，与无菌培养液混合后用氮气吹脱石油醚。
- (3) 每瓶按 1.5%接入菌液制剂，用棉塞封口。
- (4) 每天以转速 50r/min 摇床培养 2h。
- (5) 一定的时间各取出一瓶样品，分析石油含量。

3 结果与讨论

3.1 石油污染物的去除率

第一批次降解实验时间为 2007 年 3 月 30 日至 4 月 27 日，实验结果见表 1。

表 1 显示, 加入菌剂对地下水中石油污染物有降解作用，说明实验取得了初步成功，由于模拟实验温度的不同导致实验效果不同。在选择 3 个温度中，25℃的实验效果要好于 15℃和 20℃的实验效果，20℃的实验效果要优于 15℃的效果。对照样品中的石油含量变化不大，在 5%以内，说明在同等温度无菌条件下短时间内地下水中石油降解是缓慢的。

表 1 第一次实验中石油污染物降解率随时间变化结果 (%)

温度 (℃)	T=0	3	5	7	10	13	28
25	0	22.25	30.22	31.04	42.91	49.12	53.46
20	0	11.26	15.93	17.03	34.84	36.54	41.21
15	0	7.97	12.36	14.95	16.48	19.62	27.47
20(对照)	0	0.16	0.88	1.04	2.42	3.74	4.95

注： T 为降解天数，单位 d。

表 2 第二次实验中石油污染物降解率随时间变化结果 (%)

浓度	温度 (℃)	T=0	8	15	19	25	30	37
862.5 mg/l	30	0	30.38	42.58	55.14	64.64	67.83	70.87
	35	0	14.04	33.36	42.61	50.44	52.8	56.34
	25	0	17.1	28.41	34.49	43.48	50.72	52.59
	20	0	11.59	25.04	30.43	40.87	49.86	52.14
1695.0 mg/l	30	0	19.04	35.9	45.18	51.6	55.46	58.19
	35	0	12.98	26.84	38.64	45.13	51.33	51.6
	25	0	9.44	18.88	29.59	36.28	43.56	47.56
	20	0	7.96	18.29	28.02	35.85	40.41	41.86
对照	20	0	0.08	0.33	0.63	1.63	1.9	2.24

注： T 为降解天数，单位 d。

第一次实验发现，随温度升高，石油污染物累计降解率也在升高。因此，第二次实验增加了两个温度的设置，且石油污染物的浓度加大，实验时间延长，结果见表 2。

实验结果，进一步验证了微生态细菌在地下水石油污染中的修复作用。在选择 4 个温度中，30℃的实验效果要好于 35℃，25℃和 20℃的实验效

果；浓度为 862.5mg/l 温度为 30℃的实验瓶中，第 37d 时累计去除率达 70.87%。在同等条件的平行实验效果也基本一致，得到了相互验证的效果，验证了实验数据的可靠性。

3.2 温度对石油污染物去除率的影响

温度是影响微生物生存的重要因素之一，微生物的活动强度、生化作用都与此相关，环境中的微生物均在一定的温度范围内生存，温度的适中可使

细菌细胞中的生物化学反应速率加快。

由两次实验可知,第一批次实验效果不明显,石油污染物在 20℃下,经过 28d 后累计去除率仅为 41%。同样天数,25℃下石油污染物的累计降解率达到 53.46%;第二批次实验两种浓度中,30℃实验瓶中石油污染物的累计降解率达到 70.87%和 58.19%,这比 25℃和 35℃情况下效果都好,说明 30℃是本次所选菌剂最佳生长温度。在此温度下,去除石油污染物效果最佳。

3.3 浓度对石油污染物去除率的影响

第二批次实验中设置了 862.5mg/l 和 1695.0mg/l 两种浓度。从实验结果看,同等温度下,小浓度的实验瓶中石油污染物的累计去除率比大浓度的大。除 30℃外,小浓度的其他温度实验瓶的石油污染物的去除率比大浓度的 35℃的累计去除率都大。另外,第一次实验 28 天后 25℃实验瓶中的石油去除率为 53.46%,而第二次实验 30 天后 25℃实验瓶中的石油去除率为 52.59%。可见浓度对实验效果有很大影响。这是因为加入同等数量的菌剂,其可以消耗掉的石油污染物的数量是相同的。

4 结论

利用优化土著微生物菌群的微生物技术,进行了华北地区石油污染地下水的微生物修复实验研究。在两次实验过程中,加入经过筛选放大培养的菌剂,分别经过 28 天和 37 天后,石油污染物累计去除率最大分别为 53.46%和 70.87%,说明本次所选菌剂对修复油污地下水具有明显效果。通过设置不同温度,可以得出 30℃是该菌群的最佳生长温度,对油污地下水的效果最明显。另外,同等菌剂量的情况下,石油污染物的浓度越大其去除率越低。而无菌对照实验的石油含量变化在 5%以内,说明在自然条件下地下水中石油降解较缓慢。

参考文献 / References

- Clark L. Groundwater and subsurface remediation: research strategies for in situ technology[J]. Journal of Environmental Pollution, 1996, 94: 101~102.
- Younger P L. Groundwater and subsurface remediation: research strategies for in situ technology[J]. Journal of Hydrology, 1997, 192: 383-386.
- Rugner H, Finkel M, Kaschl A, Bittens M. Application of monitored natural attenuation in contaminated land management—A review and recommended approach for Europe [J]. Environmental Science & Policy, 2006, 9: 568.
- Morkin M, Devlin J F, Barker J F, Butler B J. In situ sequential treatment of a mixed contaminant plume [J]. Journal of Contaminant Hydrology, 2000, 45: 283.
- Warith M, Fernandes L, Gaudet N. Design of in-situ microbial filter for the remediation of naphthalene [J]. Waste Management, 1999, 19: 9.
- Kermanshahi A, Karamanev D, Margaritis A. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in an immobilized cell airlift bioreactor [J]. Water Research, 2005, 39: 3704.
- 陈余道, 朱学愚, 武三三. 淄博市临淄地区地下水源地石油烃污染特征 [J]. 中国岩溶, 1997, 16(1): 35~40.
- 郭华明, 王焰新, 陈艳玲, 等. 地下水有机污染的水文地质球化学标志物探讨—以河南油田为例 [J]. 地球科学—中国地质大学学报, 2001, 26(3): 304~308.
- 薛强, 梁冰, 冯夏庭, 等. 石油污染物在地下水环境系统中运移的多相流数值模型 [J]. 化学学报, 2005, 56(5): 920~924.
- 金彪, 余琦, 李广贺. 臭氧氧化含油地下水实验研究. 上海环境科学, 2000, 19 (4): 187~190.
- 崔俊芳, 郑西来, 林国庆. 地下水有机污染处理的渗透性反应墙技术 [J]. 水科学进展, 2003, 14(3): 363~367.
- 张莹, 张玉玲, 张晟瑞, 等. 修复石油类污染物地下水的 PRB 反应介质研究 [J]. 吉林大学学报 (地球科学版), 2010, 40(2): 399~404.
- Debontj A M. Solvent-tolerant Bacteria in Biocatalysis [J]. Trends Biotechnol, 1998, 16: 493~499.
- 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会, 2006, 12, 29 发布, 2007, 7, 1 实施. 中华人民共和国国家标准, 生活饮用水标准, 生活饮用水标准检验方法, GB5749-2006, GB/T5750.1—5750.13-2006, 第一版, 北京, 中国标准出版社出版, 2007, 207~209.
- 陈绍铭, 郑福寿, 编著. 水生微生物学实验法 [M]. 第一版, 北京: 海洋出版社, 1985, 1~351.
- 林力, 杨惠芳, 贾省芬. 石油污染土壤的生物整治研究 [J]. 上海环境科学, 2000, No. 7, 325~329.
- 张海荣, 李培军, 孙铁珩等. 四种石油污染土壤生物修复技术研究 [J]. 农业环境保护, 2001, 20(2): 78~80.
- 何翊, 吴海, 魏薇. 石油污染土壤菌剂修复技术研究 [J]. 土壤, 2005, 37(3): 338~340.
- 东秀珠, 蔡妙英编著. 常见细菌系统鉴定手册 [M]. 第一版, 北京: 科学出版社, 2001, 1~419.