Journal of Modern Agriculture
October 2013, Volume 2, Issue 4, PP.63-68

Application Research of Enhanced in-situ micro-ecological Remediation for Oil Contaminated Soil

Sheng Zhang, Li Chen, Cuiyun Zhang, Ze He, MiyinYing, Zhuo Ning, Yaci Liu, Fawang Zhang#
Institute of Hydrogeology and Environmental Geology, CAGS Shijiazhuang, Hebei, 050061
#Email: fawangzhang@sina.com

Abstract

The reduction of the oil content in soil contaminated by the exploitation of oil field in Zhongyuan District that was then recovered for use has been realized in this paper, through the enhanced in-situ micro-ecological remediation method that is micro-ecological remediation technique, by which the cultivation of alfalfa is combined with the regulation of soil environmental factors by means of the enhanced in-situ microbial communities companied with physical and chemical means. The experimental results showed that the oil contents in the contaminated soil with the average 2898.25 mg/kg can be reduced to about 99.37% after the in-situ micro-ecological remediation after the above mentioned recovery for 99 days, which demonstrated the effectiveness of the in-situ micro-ecological remediation methods for oil contaminated soil in this district, meanwhile, the practical and feasible application of these methods have been explored in this paper.

Keywords: Zhongyuan District; Oil Contamination; Enhanced in-Situ; Micro-Ecological Remediation

原位强化微生态修复石油污染土壤的应用研究*

张胜，陈立，张翠云，何泽，殷密英，宁卓，刘雅慈，张发旺
中国地质科学院水文地质环境地质研究所，河北 石家庄 050061

摘　要：通过对中原石油污染土壤原位强化微生态修复方法的研究，利用强化原位微生物菌群，辅以物理和化学方法，种植苜蓿草与调控土壤环境因子相结合的微生态技术，进行了土壤中石油的降解与修复应用。结果显示，土壤中平均石油含量在 2898.25 mg/kg 时，经过 99 天强化原位微生态修复技术的修复，土壤中石油含量降为 18.36 mg/Kg 降解可达 99.37%，验证了原位强化微生态修复技术在中原地区土壤石油污染修复的有效性，探索了推广应用的可行性，具有较强的实用性。

关键词：中原地区；石油污染；原位强化；微生态修复

引言

石油资源的长期大量开采利用，造成原油的污染已危及土壤包气带的质量安全，已形成较为严重的环境问题。土壤石油污染的治理与修复已成为环境保护工作的热点。Jorgensen 的试验显示，经生物堆埋，石油污染的土壤中石油可降低 71%[1]。微生物修复技术主要出发点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[2]。土壤微生物修复技术的开发与研究已受到许多国家环境科学界的广泛关注[3-6]。据报道，目前已知能降解石油中各种烃类的微生物共有约有 100 余属 200 多种，它们分属于细菌、放线菌、霉菌、酵母以及藻类[7-10]。我们提出的微生态综合修复技术就是充分利用强化原位微生物菌群（土著微生物）辅以物理和化学方法，并与种植植物和调控土壤环境因子相结合的修复技术。以微观效应改变宏观环

*本文得到科技部国际合作项目（编号：2005DFA90200）和河南国土厅矿山环境治理类项目资助。

境为主的原位生态修复技术。应用该技术的关键是强化原位微生物和土壤环境的相互结合、相互依存、相互作用和调控环境因子。调控因子主要有温度、水、氧气、营养元素、土壤环境的改善等等。该技术可用于环境的原位治理与保护，提高元素的转化，降解有毒、有害物质，以促进营养物质更易被生物所吸收。具有处理方法简单、费用低、修复效果好、对环境影响小、无二次污染、可原位治理等等优点。本研究的创新之处就是在野外石油污染的土壤中开展了强化原位微生物与植物相结合的微生态综合修复技术的应用，为该技术的推广提供了技术支撑，具有重要的实际意义。

1　修复区的基本概况

修复区位于河南省濮阳市东南约 30Km 处胡状乡，该污染区为 1991 年因输油管线爆裂油层高盐水和原油严重污染的土壤，当时漏出原油和高盐油层水约 $200m^3$--$300m^3$，被灌农田 10 余亩，灌入深度平均 30 多 cm，油管破裂处深 2m 左右。该处为中原油田石油污染土壤较为严重的典型区，因此作为我们此次强化生物修复场地，具有很好的代表性。

修复前对修复区进行基本数据的采取：首先取得修复区表层土壤样品，土壤岩性为土黄色粉土土壤，土中含有少量 2--10mm 的小砾石或小姜石，土壤湿容重为：$1.72g/cm^3$；自然含水量：16.3%；pH 为：7.4--7.9;含盐量为：1416mg/kg--18650mg/kg，表层土壤本底石油含量为 767.7 mg/kg --5028.8mg/kg，平均为 2898.25mg/kg;土壤下部 25cm--50cm，石油含量为 313.6mg/kg。pH:8.5；含盐量为：203mg/kg。测试数据见表 1、表 2。

表 1 修复前取样测含水率、湿容重、干容重

编号	采样深度(cm)	含水率(%)	湿容重(g/cm^3)	干容重(g/cm^3)
PT0906--6	0--25	16.3	1.72	1.48

表 2 修复前取样测 pH、EC、TDS、盐度、石油含量(mg/kg)

编号	采样深度(cm)	pH	EC(μs/cm)	TDS(mg/l)	盐度(%)	石油含量(mg/kg)
PT0906--5	0--25	7.4	37300	18650	1.86	5028.8
PT0906--6	0--25	7.9	2846	1416	0.14	767.7
PT0906--7	25--50	8.5	406	203	0.02	313.6

修复场地的平整与分区。修复区的选取，以输油管线爆裂处为中心，方圆约 3 亩多地。将修复区分为 5 个不同修复条件的修复小区：修复 1 区，约 1 亩、修复 2 区，约 0.4 亩、修复 3 区，约 0.4 亩、修复 4 区，约 0.6 亩、修复 5 区，约 0.6 亩等。修复设计深度 0--25 cm 最后检测至 50cm。本文选择修复 4 区的修复概况进行介绍分析。

2　材料与分析方法

2.1 材料

化学试剂： $MgSO_4.7H_2O$, NH_4NO_3, $CaCl_2$, $FeCl_3$, KH_2PO_4, K_2HPO_4, KCl、盐酸、石油醚、三氯甲烷等均为分析纯，主要由北京北化精细化学品公司和天津市四通化工厂生产，生化试剂主要为北京陆桥技术有限责任公司购置。

填加剂：麦糠与少量短小麦秸（主要为当地种植的冬小麦）等等。

营养液的主要成分：$MgSO_4$, NH_4NO_3, $CaCl_2$, $FeCl_3$, KH_2PO_4, K_2HPO_4

主要仪器：QZD--1 型电磁振荡器、KQ218 超声波清洗器、生物恒温箱、高速离心机、高压蒸汽灭菌器、无菌实验室、生化培养箱、752N 紫外可见光光栅分光光度计、pHB--3 型 pH 计、DDB--303A 型电导率仪、电热干燥箱及各种化学分析用玻璃仪器。

2.2 分析测试方法

石油、NO_3^-为紫外分光光度法、NH_4^+为纳氏试剂比色法、pH 用 pHB--3 型 pH 计，TDS 用 DDB--303A

型电导率仪换算得出。

细菌总数和降解石油菌数分析方法：用《土壤微生物研究法》[11]，和参考文献[12]—[14]介绍的方法。

3 修复步骤

首先要将待修复场地平整好，将添加剂按每亩麦糠 700kg 左右，均匀撒入各修复区，经拖拉机多次翻耕，使加入的添加剂均匀混入修复层中。

第二步，将准备好的营养液，用喷雾器按每亩 50L 均匀喷入。

第三步，每亩均匀撒入化肥尿素 100kg 和硝酸磷钾 50kg。

第四步，拖拉机多次旋耕使加入的化肥等等均匀混入修复层中。

第五步，将修复区按设计要求种上苜蓿草。

第六步，浇灌，因刚刚降过 30mm 左右的雨，土壤含水量较大，则没有浇水，另一方面该修复区周边没有灌溉用井也造成没有灌溉的原因。

修复区土壤含水量自然保持。在一定时间间隔取样，取样方法是在各区以梅花状取 5 个不同点的同一深度土样，而后充分混合后 4 分法取样测试。各区同时取样测试，测试成分为：石油量、pH、土壤易溶盐、含水量、NH_4^+、NO_3^-等等。并同时监测地表及试验土壤温度。试验期完成后分别对各区试验层下部分层取样。

4 修复结果与讨论

4.1 修复结果

修复结果见表 3、4。从整个修复过程和方法上可得出如下主要结论：通过对输油管线爆裂油层高盐水和原油严重污染的土壤，利用营养液刺激强化原位微生物菌群和种植苜蓿草，辅以物理和化学方法与土壤环境相结合的综合微生态修复技术。对修复区土壤营养元素、土壤环境因子改善等等的调控，修复结果显示，土壤中修复前平均石油含量在 2898.25mg/kg 时，经过 99 天原位强化微生态修复，土壤中石油含量降为 18.36 mg/Kg 降解可达 99.37 %。由于修复区周边没有可利用的水源，则在修复初期没能很好的对土壤中高盐进行洗排，造成土壤中含盐量不稳定，给苜宿草的生长带来影响，可在下一步修复中完善。但是，整体来说修复效果是显著的，同时使严重石油类污染的土壤恢复了生态功能。验证了微生物细菌与苜蓿草综合修复技术在中原油田土壤石油污染修复的实效性。

表 3 修复区土壤中石油含量随时间变化测试结果 (mg/Kg)

取样日期(月/日)	本底值	7/7	7/15	7/23	8/3	8/11	8/19	9/2	9/22	10/15
试验天数(d)		3	10	18	28	36	44	56	76	99
数值	2898.25	159.0	179.4	42.53	40.33	10.05	77.76	-	64.03	18.36

表 4 修复微生态修复土壤中石油随时间的去除率(%)

取样日期(月/日)	本底值	7/7	7/15	7/23	8/3	8/11	8/19	9/2	9/22	10/15
试验天数(d)		3	10	18	28	36	44	56	76	99
数值	0	94.51	93.81	98.53	98.61	99.65	97.32	-	97.79	99.37

4.2 讨论

4.2.1 土壤中石油的去除率

由表 3、4 可知：通过野外现场上述修复，修复区在加入的各种营养元素和添加剂后，并种植了苜蓿草。土壤中石油残油的去除率大多为 95%以上，只不过是在修复初期营养液对微生物细菌的刺激有一个过程，活性稍稍慢一点儿，在夏季表层土壤温度较高（25°C--30°C 左右）微生物活性在营养液的刺激下一般有 1--5 天会进入生长对数期，活性加大。修复至 99 天时则去除率达 99.37%。从数据上看，修复区的修复效果与其它修复区的基本一致。而且因为苜蓿草中有根瘤，能为根部提供氮素营养也可增加土壤细菌的活性，从而增加

了其去除率。但整体来说营养液加上苜蓿草的共同作用对土壤中石油残油的降解修复效果还是很好的。

4.2.2 土壤 pH、易溶盐(TDS)、NH4+ 、NO3-、降解菌数、细菌总数含量分析

表 5 修复区土壤 pH、易溶盐、NH4+、NO3-、降解菌数、细菌总数含量随时间变化测试结果

取样日期(月/日)	本底值	7/7	7/15	7/23	8/3	8/11	8/19	9/2	9/22	10/15
试验天数(d)		3	10	18	28	36	44	56	76	99
pH	7.4	7.5	7.7	7.7	7.0	6.9	7.5	7.1	7.6	7.2
易溶盐(mg/Kg)	18650	1978	1245	1030	1789	1080	943	445	848	92
NH4+ (mg/Kg)	56.74	631.2	178.49	94.56	142.7	108.26	46.74	64.66	69.71	9.18
NO3- (mg/Kg)	28.14	28.3	29.02	29.66	127.71	503.98	52.17	82.18	68.88	322.1
降解菌数(cfu/g)	2.5×10^7	1.1×10^7	1.3×10^6	2.0×10^6	2.0×10^5	1.1×10^6	1.4×10^4	8.5×10^4	3.3×10^5	4×10^4
细菌总数(cfu/g)	1.5×10^6	2.8×10^7	2.7×10^6	2.1×10^6	1．0×10^6	3.6×10^6	5.0×10^5	1.5×10^5	1.3×10^5	6×10^5

由表 5 的 pH 值监测可知，营养液中含有较多的磷酸盐，因而使修复区土壤中加入了一定量的磷酸盐缓冲剂使 pH 值保持在 6.9--7.7，大多在 7.5 左右，而大部分石油降解菌最适环境为中偏碱性。苜蓿草适应性广，可以在各种地形、土壤中生长。但最适宜的条件是土质松软的沙质壤土，pH 值为 6.5--7.5。因此修复区的 pH 值范围内对此次修复影响不大，加入的磷酸盐也主要是为微生物、苜蓿草的生长增加营养元素。

在修复区要使土壤保证需要的含水量，水是细胞生存不可少的物质，也是微生物和植物对石油污染物降解过程中的重要介质和氧的来源。因此修复区土壤需要保证一定的含水量，一般应保持在 20%左右，我们选择的修复时间段刚好为当地的雨季有一定的降水补给，因此调控了修复区土壤含水量促进了微生物与苜蓿草对石油的降解作用。但是，因修复区周边没有可利用的水源浇灌，对土壤中的高盐排盐不利，加上苗期生长慢，造成修复区局部返盐使苜蓿草的生长受到影响。土壤中含盐量的高低对微生物的生长一般影响不大，但是对普通植物的生长是有较大的影响，含量高到一定程度则造成植物不能生长或死亡。易溶盐(TDS)含量是反映土壤含盐量的主要指标，从表 5 中看到，修复区含盐量修复前是很高的，通过添加麦糠翻耕等等修复后是有较大的降低，但不太稳定，随降水的作用时高时低，有待下一步修复时完善，应首先进行洗盐和降盐工作。

表 5 中修复区易溶盐、NH4+ 、NO3-含量随试验过程的变化，可见修复区于 7 月 5 日补充了各种营养元素，反映出随修复进程微生物活动增强和苜蓿草的生长将石油及各类元素利用、降解、转化的过程。表中显示微生物细菌的活动强度（数量）也是随着添加营养的增高而活性强度增大，该过程验证了本次试验调控添加的营养元素是比较适度，石油降解的效果是显著的。

5 原位强化修复的影响因素分析

原位强化微生态修复中需要添加各种营养物质，如氧、氮、磷、钾、铁、微量元素、生物素、维生素等等都是控制微生物活性的重要因素，添加一定的营养物，比接种特殊的微生物更为重要。有资料显示，调节石油污染土壤的 C:N:P 比，可有效地促进土著微生物对石油的降解作用。微生物氧化 1mg 烃需要氧 3.4mg，每氧化 1mg 石油大约需要 0.056mg 的氮。虽然可以在理论上估算氮、磷等的需要量，但无法预料的因素很多，理论上的估算与实际值相差悬殊。例如，同样是石油污染土壤的微生物修复，不同的研究者得到的 C:N:P 的比值分别为 800:60:1、100:10:1 和 70:50:1 等等不同的比值，差别很大，有的差出一个数量级。因此，对添加剂和营养物的添加量要根据污染修复场地的实际情况进行分析和试验来确定。需考虑的因素有：土壤中石油污染物的含量、种类、污染的时间，污染的深度，土壤的岩性、物理化学性质，营养物含量，含水量，以及所添加的添加剂的性质，营养盐的性质，长效性、安全性，各种植物的需求量、生长期、季节等等，要有充分的分析并考虑是否需要维护等。

土壤中含盐量的高低对微生物的生长一般影响不大，但是对植物的生长是有较大的影响，含量高到一定程度则造成植物不能生长或死亡。易溶盐(TDS)含量是反映土壤含盐量的主要指标，表 5 显示修复区含盐量在修复前是很高的，通过添加麦糠翻耕等等修复后是有较大的降低，但不太稳定，随降水的作用时高时低，

有待下一步修复时完善，首先应开展降盐工作。

营养元素是参与微生物细胞组成、构成酶的活性成分、物质运输系统以及提供生理活动所需的能量。微生物细胞的组成主要元素是 C、H、O、N、P 等等，其中 C、H 来自有机物如石油污染物。氧来自水和空气及其他调控的氧源。而氮和磷及 S、K、Ca、Mg、Fe 微量元素等等作为营养物质需要进行补充和调控。因此我们对修复区土壤进行了 N、P、S、K、Ca、Mg、Fe 等元素的补充和调控。另外苜蓿草中有根瘤，能为根部提供氮素营养也可增加土壤细菌的活性。并利用当地麦糠作为添加剂补充其它生物素和营养盐，而且麦糠对土壤进行了改良使土壤蓬松透气，吸附大量的盐类物质，降低高盐对植物的生长的影响。表 5 中反映出随修复进程微生物活动增强和苜蓿草的生长将石油降解、转化的过程。该过程验证了本次试验调控添加的营养元素是比较适度，石油降解的效果是显著的[15-18]。

6　修复过程对下层土壤的影响

表 6 修复后下层土壤中石油、pH、易溶盐(TDS)、NH4+ 、NO3-、降解菌数、细菌总数含量测试结果

修复区下部	石油(mg/Kg)	pH	易溶盐(mg/Kg)	NH_4^+ (mg/Kg)	NO_3^- (mg/Kg)	降解菌数(cfu/g)	细菌总数(cfu/g)
深 50cm	29．36	7．8	473	14.68	155.61	3.5×10^4	6.5×10^4

表 6 是修复期后对修复区下部 50cm 深度进行了石油、pH、易溶盐(TDS)、NH4+、NO3-、降解菌数、细菌总数含量测试。从结果可见修复层的下层土壤石油含量也有明显的减少，与初始相同深度土壤残油含量的 313.6mg/kg 对比减少了约 90%以上。说明修复层土壤中石油没有向下扩散均被降解。从易溶盐、NH4+、NO3-、降解菌数、细菌总数含量变化不是很大有一定的增高，也就是说氮、磷等等易溶盐营养物质只有小部分随水而进入下部土层，促成了下部土壤石油的降解。该结果为今后此类修复工作对营养的要求有较好的借鉴作用。

7　结论

从整个修复过程和方法上可得出如下主要结论：通过对石油开采区输油管线爆裂油层高盐水和原油严重污染的土壤，利用营养液刺激原位土壤土著微生物菌群与种植苜蓿草，并辅以物理和化学方法与土壤环境相结合的综合微生态技术。对修复区土壤营养元素、土壤环境因子改善等等的调控，修复结果显示，土壤中修复前平均石油含量在 2898.25mg/kg 时，经过 99 天原位微生物修复，土壤中石油含量降为 18.36 mg/Kg 降解可达 99.37 %。由于修复区周边没有可利用的水源，则在修复初期没能很好的对土壤中高盐进行洗排，造成土壤中含盐量不稳定，给苜宿草的生长带来影响，可在下一步修复中完善。但是，整体来说修复效果是显著的，使严重石油类污染的土壤恢复了生态功能。验证了微生态与苜蓿草共同修复技术在中原油田土壤石油污染修复的有效性，探索了推广应用的可行性和实用性。

REFERENCES

[1] Jorgensen K S, Puustinen J, Suortti A M. Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil by Composting in Biopiles [J]. Environmental Pollution,2000,107(2):245--254.

[2] Debontj A M. Solvent-tolerant Bacteria in Biocatalysis[J].Trends Biotechnol,1998,16:493--499.

[3] Sanjee Mishra, Jeevan Jyot. In Situ Bioremediation Potential of an Oily Sludge-Degrading Bacterial Consortium. Current Microbiology,2001,43 :328--335

[4] Jose L R Gallego, Jorge Loredo, Juan F L lamas. Bioremediation of Diesel-Contaminated Soil: Evaluation of Potential in Situ Techniques by Study of Bacterial Degradation. B iodegradation,2001,12 325--335 .

[5] Widdl E. The Genome Sequence of an Anaerobic Aromatic-degrading Denitrifying Bacterium Strain EbN1 [J]. Archives of Microbiology, 2005,183:27--36.

[6] Mar n S, Khodijah Tazaiki. Bioremediation of Coastal Areas 5 Years after the Nakhodka Oil Spill in the Sea of Japan: Isolation and Characterization of Hydrocarbon-degrading Bacteria [J]. International Biodeterioration and Biodegradation, 2004, 30 (7): 911--922.

[7] 沈铁孟，黄国强，李凌等．石油污染土壤的原位修复技术，环境科学动态[J], 2002, No.3, P13—15.

[8] 林力，杨惠芳，贾省芬．石油污染土壤的生物整治研究，上海环境科学[J], 2000, No.7, P325—329.

[9] 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，农业环境保护[J], 2001, 20(2):78—80.

[10] 何翊，吴海，魏薇，石油污染土壤菌剂修复技术研究，土壤[J], 2005, 37(3):338—340.

[11] 中国科学院南京土壤研究所微生物室．土壤微生物研究法[M]．北京:科学出版社, 1985, 1-353.

[12] 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.

[13] 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.

[14] 姚治华,王红旗,刘敬奇等．石油污染土壤中苯降解菌的筛选及降解特性研究[J].农业环境科学学报, 2006, 25 (6): 1498--1503.

[15] 张胜，毕二平，陈立等．微生物修复石油污染地下水的实验研究[J]，现代地质, 2009, Vol，等 23(1):P120—124.

[16] 张胜，陈立，张发旺等．陕北黄土区石油污染土壤原位微生态修复试验研究[J]，农业环境科学学报, 2008, Vol.27(5).

[17] 张胜，陈立，李政红等．中原地区微生物修复石油污染土壤的实验研究[J]，南水北调与水利科技, 2010，第六期 P46—49.

[18] 张胜，陈立,李政红等．中原石油污染土壤原位微生物生态修复技术的应用[J]，微生物学通报，2011，Vol38. No4. P615—620.

【作者简介】

张胜（1956- ），男，研究员，研究方向为微生物地球化学及环境地质等。作为负责人和主要参加者承担了国家“863”课题、国家高技术项目，科技部国际合作重点项目、国家自然科学基金项目，国家专项，部重点项目，地调项目等 30 余项。发表论文 110 余篇。合作发表专著 8 本。获省、部科技成果一等奖 2 项，二等奖 1 项，三等奖 6 项。

Email: zshenghb@sina.com

张发旺（1965- ），男，研究员，从事水文矿山环境地质研究工作。E-mail: fawangzhang@sina.com