

# 某污染场地地下水石油烃的健康风险评估及其微生物群落分析

张皓辉<sup>1,2</sup>, 史俊祥<sup>2</sup>, 姜永海<sup>2</sup>, 贾永锋<sup>2</sup>, 李秀金<sup>1\*</sup>

1. 北京化工大学化学工程学院, 北京 100029

2. 中国环境科学研究院, 国家环境保护地下水污染模拟与控制重点实验室, 北京 100012

**摘要:** 有机污染场地地下水石油烃污染问题较为普遍, 对周边环境和人体健康造成一定影响. 为探究污染场地地下水环境中石油烃含量、健康风险及其与微生物群落分布关系, 对天津市某污染场地地下水石油烃开展健康风险评估调查, 使用气相色谱法分析石油烃浓度, 利用污染场地健康与环境风险评估软件进行健康风险评估, 利用高通量测序技术进行地下水微生物群落特征分析. 结果表明: ①5 个监测井的石油烃污染情况有显著差异, A1 ~ A4 监测井石油烃浓度较低, 健康风险处于可接受水平; A5 监测井石油烃浓度是其他 4 个监测井的 60 ~ 100 倍, 总石油烃危害商为 44.990, 为可接受值的 45 倍, 健康风险较高. ②4 个监测井地下水中均含有变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes), 说明这两种细菌对石油烃污染有一定耐受能力. A5 监测井细菌 Chao 指数和 Shannon-Wiener 指数最高, 说明细菌多样性和丰富度最高, 且该监测井变形菌门 (Proteobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 绝对丰度均较高, 说明一定浓度石油烃的存在会促进具有降解石油烃功能的细菌生长. 研究显示, 一定浓度石油烃的存在使石油烃降解菌绝对丰度增加, 从而增加了对石油烃的降解能力, 增强了石油烃的自然衰减能力, 有利于降低人体健康风险.

**关键词:** 地下水; 石油烃; 健康风险; 微生物群落

中图分类号: X53

文章编号: 1001-6929(2022)04-1063-09

文献标志码: A

DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2021.09.10

## Health Risk Assessment and Microbial Community Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Groundwater of A Contaminated Site

ZHANG Haohui<sup>1,2</sup>, SHI Junxiang<sup>2</sup>, JIANG Yonghai<sup>2</sup>, JIA Yongfeng<sup>2</sup>, LI Xiujin<sup>1\*</sup>

1. College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

2. State Environmental Protection Key Laboratory of Simulation and Control of Groundwater Pollution, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China

**Abstract:** Groundwater petroleum hydrocarbon pollution frequently occurs in organic pollutant contaminated sites, which has certain impacts on the surrounding environment and human health. In order to explore the relationship between the distribution of petroleum hydrocarbon pollutants, health risks and microbial communities, a health risk assessment of groundwater petroleum hydrocarbons in a contaminated site in Tianjin was carried out. A software named Health and Environmental Risk Assessment was used for health risk assessment. Microbial community characteristics in the groundwater were analyzed by high-throughput sequencing technology. The results showed that: (1) It was found that the groundwater petroleum hydrocarbon pollution of five monitoring wells was quite different. The concentration of petroleum hydrocarbons in A1-A4 monitoring wells was quite low, and the health risk was at an acceptable level. The concentration of A5 monitoring well was about 60-100 times higher than the other four monitoring wells. The total petroleum hydrocarbon hazard quotient was 44.990, which is 45 times of acceptable value. The health risk was relatively high, and it was likely to pose adverse impact on human health. (2) The groundwater of the four monitoring wells was rich in Proteobacteria and Firmicutes, indicating that these two bacteria have a certain tolerance to petroleum hydrocarbon pollution. The Chao index and Shannon-Wiener index of the bacteria in A5

收稿日期: 2021-06-22 修订日期: 2021-09-08

作者简介: 张皓辉(1995-), 男, 黑龙江哈尔滨人, zhanghh1995@126.com.

\* 责任作者, 李秀金(1964-), 男, 安徽滁州人, 教授, 博士, 博导, 主要从事固体废物处理与资源化、生物质燃气转化与高值利用研究, xjli@mail.buct.edu.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目 (No.2019YFC1806204)

Supported by National Key Research and Development Project of China (No.2019YFC1806204)

monitoring well were the highest, indicating that the microbial diversity and absolute abundance are the highest. And there were more Proteobacteria and Firmicutes in A5 monitoring well, indicating that a certain concentration of petroleum hydrocarbon pollution will promote the growth of microorganisms that degrade petroleum hydrocarbons. The study has shown that the natural selection effect of a certain concentration of petroleum hydrocarbons will make the microorganisms that degrade petroleum hydrocarbons more abundant, promote the degradation and natural attenuation of the petroleum hydrocarbons, and reduce human health risks.

**Keywords:** groundwater; petroleum hydrocarbon; health risk; microbial community

近年来,被誉为“工业血液”的石油工业迅猛发展,为经济社会发展做出了重大贡献.但石油产品由于开采、运输、贮存和使用过程中的不规范操作和意外情况的发生不断泄漏进入自然环境,严重污染土壤、地表水和地下水,导致健康风险升高,对人体健康产生不可忽视的影响,石油污染已经成为全球范围内的环境问题<sup>[1-2]</sup>.石油烃污染物具有毒性、疏水性,且迁移能力较强<sup>[3]</sup>,被许多国家列为优先控制污染物.它们不仅会吸附在土壤介质中,破坏土壤有机质组成和结构的平衡<sup>[4]</sup>,同时还会进入地表水和地下水,造成水环境质量恶化,毒害水生生物.大量具有“三致”危害的石油烃类可能通过食物链的层级传导、呼吸作用和皮肤接触等途径进入人体,危害人体健康.因此,需要进行场地地下水石油烃健康风险评估.

土著微生物会通过自身代谢作用降解石油烃,因此土著微生物群落的生物降解通常被认为是石油烃自然衰减的主要机制,可以有效控制其健康风险.微生物群落长时间暴露在石油烃中会改变它们的活动、结构和多样性<sup>[5]</sup>,由于不同污染场地污染物种类和环境因子的差异,土著微生物种类也会有所不同.石油烃的生物可利用度和化学性质的复杂程度会影响微生物的降解能力<sup>[6]</sup>.欧美国家在 20 世纪 80 年代逐渐建立了针对各自国家实际情况的场地风险评估体系<sup>[7]</sup>.中国科学院南京土壤研究所陈梦舫研究团队针对我国污染场地实际情况,自主开发出我国首款污染场地健康与环境风险评估软件 HERA (Health and Environmental Risk Assessment)<sup>[8]</sup>.HERA 包含多种模型和美国环境保护局发布的土壤污染物毒性参数数据库,评估结论对场地是否会给人体健康带来潜在风险具有重要的理论和现实意义<sup>[9]</sup>.

该文以天津市某污染场地为研究对象,选取石油烃为关注污染物,利用 HERA 软件,开展地下水石油烃健康风险评估,并进行地下水微生物群落特征分析,以为污染场地土壤和地下水中石油烃的存在水平、分布特征和健康风险评估,以及评价微生物对石油烃的降解能力提供参考.

## 1 材料与方法

### 1.1 场地概况

场地位于天津市海河沿岸,20 世纪 90 年代作为农业用地受化肥及农药施用污染,21 世纪初引进电子厂、配件加工厂、精密电子公司等,原料储存运输过程及生产加工过程中对场地造成污染.通过污染识别判断,地块内潜在污染源主要包括氯代烃类和苯系物等挥发性有机物,总石油烃和多环芳烃等半挥发性有机物,汞、砷、铜等重金属,以及有机氯农药等.目前,各工厂已拆除,该场地基本为堆土,仅场地南侧有一食品加工厂.场地周边有人居住,定义为敏感用地,因此可能通过经口摄入、皮肤接触和吸入地下水蒸气等暴露途径对人体健康产生一定影响.

场地包气带厚度为 0.45 ~ 4.76 m,岩性以素填土、杂填土为主.包气带在场地内连续稳定存在,防污性能较弱.场地内潜水含水层地下水水位埋深在 0.45 ~ 3.76 m 之间,平均水位埋深为 2.51 m,水位标高在 0.25 ~ 1.37 m 之间,平均水位标高为 0.856 m.场地地下水由西南向东北流动,工作区水力坡度约为 0.56‰.

### 1.2 样品采集

地块采用专业判断布点法,共布设地下水监测井 5 个(A1、A2、A3、A4、A5,见图 1),以污染物的主要泄漏点 A5 监测井为中心,按地下水流向分布布设

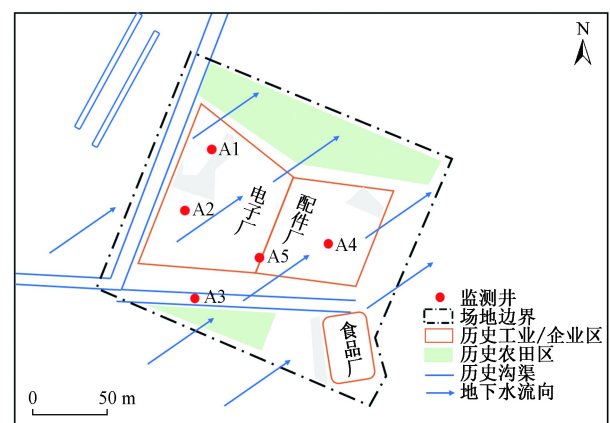


图 1 研究区监测井点位分布

Fig.1 The location of monitoring wells in study area

上游 A3 监测井、下游 A4 监测井和侧向 A1、A2 监测井。按照《地下水环境监测技术规范》(HJ 164—2020) 采集地下水,放入带有干冰的保温箱( $\leq 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 运回实验室,进行石油烃浓度分析和微生物群落分析。

### 1.3 石油烃浓度分析

根据《水质可萃取性石油烃( $C_{10}\sim C_{40}$ )的测定气相色谱法》(HJ 894—2017) 检测石油烃浓度。地下水经二氯甲烷进行萃取、浓缩、净化、定容后,用气相色谱-火焰离子化检测器(GC-FID)(Agilent 7890B, 安捷伦, 美国) 进行纯化和分析。进样温度设置  $320\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 色谱柱流速为  $2.0\text{ mL/min}$ 。柱箱保持  $1\text{ min}$  初始温度  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 以  $8\text{ }^{\circ}\text{C/min}$  升至  $290\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 再以  $30\text{ }^{\circ}\text{C/min}$  升至  $320\text{ }^{\circ}\text{C}$  后保持  $7\text{ min}$ 。FID 检测器设置为  $330\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 氢气流量为  $40.0\text{ mL/min}$ , 空气流量为  $350.0\text{ mL/min}$ , 尾吹气流量为  $30.0\text{ mL/min}$ 。进样不分流, 进样体积为  $1.0\text{ }\mu\text{L}$ ,  $0.75\text{ min}$  后以  $30:1$  比例分流。根据色谱图组分保留时间, 计算目标化合物总峰面积, 由外标法得出目标化合物总浓度。石油烃馏分的碳数与沸点有关, 沸点与色谱图的保留时间有关, 根据保留时间将石油烃馏分分段积分, 石油烃分段为  $C_{10}\sim C_{12}$ 、 $C_{12}\sim C_{16}$ 、 $C_{16}\sim C_{21}$ 、 $C_{21}\sim C_{35}$ 。

### 1.4 微生物高通量测序

将  $2\text{ L}$  地下水样中微生物用  $0.22\text{ }\mu\text{m}$  滤膜滤出, 至滤膜表面有可见覆盖物, 使用 FastDNA<sup>®</sup> Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, 美国) 提取总 DNA, 使用引物 338F ( $5'\text{-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3}'$ ) 和 806R ( $5'\text{-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3}'$ ) 对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序。使用 UPARSE 软件 (<http://drive5.com/uparse>, version 7.1), 根据 97% 的相似度<sup>[10-11]</sup> 对序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体。利用 RDP classifier<sup>[12]</sup> (<http://rdp.cme.msu.edu>, version 2.2) 对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 16S rRNA 数据库 (v138), 设置比对阈值为 70%。

### 1.5 健康风险评估

利用 HERA 软件进行 2 个层次的健康风险评估: 首先选择合适的场地模型, 设置参数, 计算原场地地下水中石油烃污染物的筛选值; 然后, 结合暴露途径, 调整场地概念模型, 计算石油烃污染物在原场条件下的危害商, 对地下水石油烃进行原场健康风险评估<sup>[13]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 地下水石油烃分布特征

各监测井地下水石油烃浓度如表 1 所示。由表 1

可见, A3 监测井石油烃浓度 ( $0.06\text{ mg/L}$ ) 最低, A5 监测井石油烃浓度 ( $6.61\text{ mg/L}$ ) 最高, A1~A4 监测井石油烃浓度差别不显著, A5 监测井石油烃浓度约是其他 4 个监测井的 60~100 倍。A3 监测井石油烃浓度最低可能是距离污染源较远所致, 污染物浓度随迁移距离增加而降低, 且地下水由西南向东北流动, A3 监测井位于地下水流向上游区, 所以石油烃浓度最低。A5 监测井位于多污染源交汇处, 受多个污染物泄漏点影响, 因此石油烃浓度最高。5 个监测井石油烃分布呈由低碳数到高碳数逐渐升高的趋势(见表 1)。已有研究<sup>[14]</sup> 表明, 石油烃碳数越多, 结构越复杂, 越不容易降解, 对人体危害越大。

表 1 地下水石油烃浓度分布

Table 1 Groundwater petroleum hydrocarbon concentration

监测井	石油烃浓度/(mg/L)				
	$C_{10}\sim C_{40}$	$C_{10}\sim C_{12}$	$C_{12}\sim C_{16}$	$C_{16}\sim C_{21}$	$C_{21}\sim C_{35}$
A1	0.1	ND	0.021	0.027	0.043
A2	0.09	ND	0.011	0.015	0.059
A3	0.06	ND	ND	0.014	0.032
A4	0.08	ND	ND	0.013	0.048
A5	6.61	0.013	0.481	1.78	4.24

注: ND 为低于检出限  $0.01\text{ mg/L}$ , 呈未检出状态。下同。

### 2.2 地下水石油烃健康风险评估

#### 2.2.1 筛选值评估

确定污染物和暴露途径。根据场地污染物分析结果, 确定石油烃( $C_{10}\sim C_{40}$ ) 为目标污染物, 影响对象为场地周边范围内的成人和儿童。具体暴露途径包括土壤中经口摄入、皮肤接触、吸入室内土壤颗粒物、吸入室外土壤颗粒物、吸入表层土壤室外蒸汽、吸入下层土壤室外蒸汽、吸入下层土壤室内蒸汽和土壤淋滤到地下水<sup>[15]</sup>、地下水中吸入地下水室外蒸汽和吸入地下水室内蒸汽。

模型构建。选用的模型有 C-RAG、ASTM、Johnson-Ettinger 等。模型参数从场地信息调查报告中获取, 主要包括地下水中污染物浓度、地下水埋深、地下水混合区厚度、含水层有效孔隙度等水文地质参数, 以及暴露期、暴露频率等受体暴露参数, 其他参数采用《污染场地风险评估技术导则》(HJ 25.3—2019) 中的推荐值。

筛选值分析。目前颁布的《地下水质量标准》(GB/T 14848—2017) 中, 没有石油烃类限值说明, 《地表水质量标准》(GB 3838—2002) IV 类标准中石油烃类限值为  $0.5\text{ mg/L}$ 。使用 HERA 软件综合分析石油烃分段毒性和理化性质, 对各分段石油烃计算筛选值

(见表 2)。经过比较, 选用 HERA 结果作为筛选值。将各点位石油烃浓度数据与筛选值进行对比发现, A1~A4 监测井的分段石油烃浓度均低于筛选值, 所以健康风险可以忽略; A5 监测井中 C<sub>10</sub>~C<sub>12</sub> 浓度低于筛选值, 但 C<sub>12</sub>~C<sub>16</sub>、C<sub>16</sub>~C<sub>21</sub>、C<sub>21</sub>~C<sub>35</sub> 浓度均高于筛选值, 因此 A5 监测井的石油烃存在一定的环境健康风险, 需要利用 HERA 软件进行第二层次分析, 并计算出石油烃污染物在所选暴露途径下的危害商, 以确定石油烃的健康风险。

表 2 健康风险评估 HERA 分析结果

Table 2 HERA analysis results of health risk assessment

分段石油烃	筛选值/ (mg/L)	非致癌危害商				
		A1	A2	A3	A4	A5
C <sub>10</sub> ~C <sub>12</sub>	0.190	ND	ND	ND	ND	0.069
C <sub>12</sub> ~C <sub>16</sub>	0.190	0.111	0.058	ND	ND	2.540
C <sub>16</sub> ~C <sub>21</sub>	0.142	0.190	0.106	0.099	0.092	12.531
C <sub>21</sub> ~C <sub>35</sub>	0.142	0.303	0.415	0.225	0.338	29.850

### 2.2.2 危害商评估

调整模型。进行危害商计算时, 需调整模型参数、修改暴露途径、更新场地概念模型、输入污染物浓度<sup>[16]</sup>, 对场地地下水石油烃污染物的致癌风险与非致癌风险进行分析。

危害商分析。《建设用地土壤污染风险评估技术导则》(HJ 25.3—2019) 规定, 危害商是污染物每日摄入量与参考剂量的比值, 用于表征人体经单一途径暴露于非致癌污染物而受到危害的水平, 单一污染物的总危害商由各途径危害商加和得到, 不同暴露途径的危害商按照 HJ 25.3—2019 附录中公式[A.13~A.20, 见式(1)~(6)]由 HERA 软件自动计算得出。对受体人群的健康影响, 包括致癌风险和非致癌风险, 根据计算结果发现, 此次风险评估可不考虑选定暴露途径下的致癌风险, 非致癌危害商如表 2 所示, 单一污染物的非致癌可接受危害商为 1。由表 2 可见, 非致癌风险随碳链长度的增加而增高。A1~A4 监测井的总石油烃和分段石油烃的危害商均小于 1, 健康风险为可接受水平; A5 监测井 C<sub>10</sub>~C<sub>12</sub> 的危害商小于 1, 但是 C<sub>12</sub>~C<sub>16</sub>、C<sub>16</sub>~C<sub>21</sub>、C<sub>21</sub>~C<sub>35</sub> 的危害商均高于 1, 总石油烃危害商为 44.990, 是可接受值的 45 倍, 表示 A5 监测井的风险较高, 对人体健康可能造成损害。

$$\text{IOVER}_{\text{ca3}} = \text{VF}_{\text{gwoa}} \times \left( \frac{\text{DAIR}_{\text{c}} \times \text{EFO}_{\text{c}} \times \text{ED}_{\text{c}}}{\text{BW}_{\text{c}} \times \text{AT}_{\text{ca}}} + \frac{\text{DAIR}_{\text{a}} \times \text{EFO}_{\text{a}} \times \text{ED}_{\text{a}}}{\text{BW}_{\text{a}} \times \text{AT}_{\text{ca}}} \right) \quad (1)$$

式中: IOVER<sub>ca3</sub>为吸入室外空气中来自地下水的气态

污染物对应的地下水暴露量(致癌效应), L/(kg·d); VF<sub>gwoa</sub>为地下水中污染物扩散进入室外空气的挥发因子, L/m<sup>3</sup>; DAIR<sub>c</sub>为儿童空气呼吸量, m<sup>3</sup>/d; DAIR<sub>a</sub>为成人空气呼吸量, m<sup>3</sup>/d; EFO<sub>c</sub>为儿童的室外暴露频率, d/a; EFO<sub>a</sub>为成人的室外暴露频率, d/a; ED<sub>c</sub>为儿童暴露期, a; BW<sub>c</sub>为儿童体质量, kg; ED<sub>a</sub>为成人暴露期, a; BW<sub>a</sub>为成人质量, kg; AT<sub>ca</sub>为致癌效应平均时间, d。

$$\text{IOVER}_{\text{nc3}} = \text{VF}_{\text{gwoa}} \times \frac{\text{DAIR}_{\text{c}} \times \text{EFO}_{\text{c}} \times \text{ED}_{\text{c}}}{\text{BW}_{\text{c}} \times \text{AT}_{\text{nc}}} \quad (2)$$

式中: IOVER<sub>nc3</sub>为吸入室外空气中来自地下水的气态污染物对应的地下水暴露量(非致癌效应), L/(kg·d); AT<sub>nc</sub>为非致癌效应平均时间, d。

$$\text{IIVER}_{\text{ca2}} = \text{VF}_{\text{gwia}} \times \left( \frac{\text{DAIR}_{\text{c}} \times \text{EFI}_{\text{c}} \times \text{ED}_{\text{c}}}{\text{BW}_{\text{c}} \times \text{AT}_{\text{ca}}} + \frac{\text{DAIR}_{\text{a}} \times \text{EFI}_{\text{a}} \times \text{ED}_{\text{a}}}{\text{BW}_{\text{a}} \times \text{AT}_{\text{ca}}} \right) \quad (3)$$

式中: IIVER<sub>ca2</sub>为吸入室内空气来自地下水的气态污染物对应的地下水暴露量(致癌效应), L/(kg·d); VF<sub>gwia</sub>为地下水中污染物扩散进入室内空气的挥发因子, L/m<sup>3</sup>; EFI<sub>c</sub>为儿童的室内暴露频率, d/a; EFI<sub>a</sub>为成人的室内暴露频率, d/a。

$$\text{IIVER}_{\text{nc2}} = \text{VF}_{\text{gwia}} \times \frac{\text{DAIR}_{\text{c}} \times \text{EFI}_{\text{c}} \times \text{ED}_{\text{c}}}{\text{BW}_{\text{c}} \times \text{AT}_{\text{nc}}} \quad (4)$$

式中: IIVER<sub>nc2</sub>为吸入室内空气来自地下水的气态污染物对应的地下水暴露量(非致癌效应), L/(kg·d)。

$$\text{CGWER}_{\text{ca}} = \frac{\text{GWCR}_{\text{c}} \times \text{EF}_{\text{c}} \times \text{ED}_{\text{c}}}{\text{BW}_{\text{c}} \times \text{AT}_{\text{ca}}} + \frac{\text{GWCR}_{\text{a}} \times \text{EF}_{\text{a}} \times \text{ED}_{\text{a}}}{\text{BW}_{\text{a}} \times \text{AT}_{\text{ca}}} \quad (5)$$

式中: CGWER<sub>ca</sub>为饮用受影响地下水对应的地下水的暴露量(致癌效应), L/(kg·d); GWCR<sub>c</sub>为儿童每日饮水量, L/d; GWCR<sub>a</sub>为成人每日饮水量, L/d; EF<sub>c</sub>为儿童暴露频率, d/a; EF<sub>a</sub>为成人暴露频率, d/a。

$$\text{CGWER}_{\text{nc}} = \frac{\text{GWCR}_{\text{c}} \times \text{EF}_{\text{c}} \times \text{ED}_{\text{c}}}{\text{BW}_{\text{c}} \times \text{AT}_{\text{nc}}} \quad (6)$$

式中: CGWER<sub>nc</sub>为饮用受影响地下水对应的地下水的暴露量(非致癌效应), L/(kg·d)。

## 2.3 地下水微生物分析

### 2.3.1 微生物门水平和属水平分析

微生物群落结构的变化可以反映微生物的分布情况<sup>[17]</sup>。基于 16SrRNA 的微生物群落高通量测序结果, 探讨了地下水微生物种类丰富程度与石油烃健康风险之间的关系。A3 监测井地下水样品未用 0.22 μm 滤膜滤出足量的微生物, 因此缺失其微生物数据, 其他 4 个监测井地下水中细菌门分类水平上优势菌群

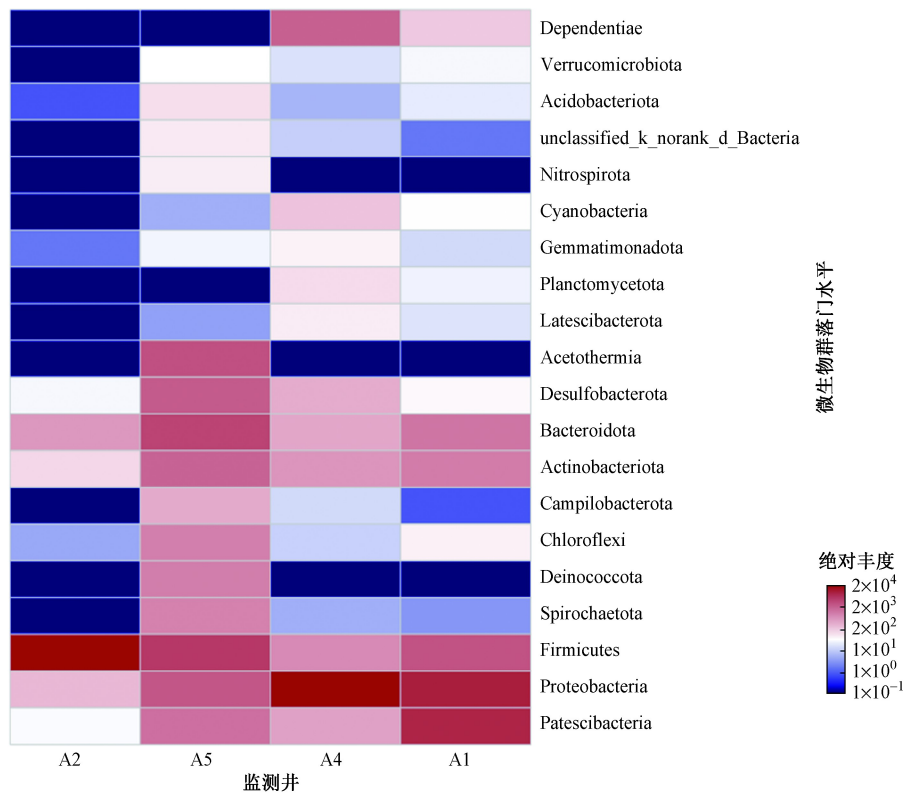


图 2 各监测井微生物群落门水平的绝对丰度

Fig.2 Absolute abundance of microbial community phylum horizontal of all monitoring wells heat map

的绝对丰度见图 2。由图 2 可见, A1 监测井中细菌门分类水平上绝对丰度由高到低依次为 Patescibacteria、变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门, A2 监测井中依次为厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门, A4 监测井中依次为变形菌门、Dependentiae、Patescibacteria 和厚壁菌门, A5 监测井中依次为厚壁菌门、拟杆菌门、Patescibacteria 和变形菌门。A1~A5(除 A3 外) 监测井中均含有丰富的变形菌门和厚壁菌门, 与已有研究发现变形菌门和厚壁菌门是石油烃降解优势类群的结果<sup>[18-19]</sup>一致。拟杆菌门是一种发酵和硫酸盐还原微生物, 能降解各种碳氢化合物并产生短链有机酸、乙酸和 H<sub>2</sub>。4 个监测井中其他种类细菌含量较少, 可能与这些菌类的耐受性较低有关。

4 个监测井 (A1、A2、A4、A5) 地下水中细菌属分类水平上优势菌群的绝对丰度位如图 3 所示。由图 3 可见: A1 和 A4 监测井中优势菌属是未知分类属; A2 监测井中优势菌属为 *Agathobacter*; A5 监测井含有的分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)<sup>[20]</sup> 和湖水水杆状菌属 (*Aquabacterium*)<sup>[21]</sup>, 二者都有降解石油烃的功能。A1 和 A4 监测井细菌属水平种类较多, A2 和 A5 监测井细菌属水平种类较少, 且 4 个监测井的优势菌

属有所差异, 相关性不明显, 可能与各监测井中其他种类污染物有关。细菌的差异性表明, 石油烃对具有石油烃降解能力的细菌具有选择性<sup>[6]</sup>。微生物群落的演替是环境选择的结果<sup>[22]</sup>, 但微生物群落的具体演替规律还有待进一步研究。

### 2.3.2 细菌 α 多样性分析

不同监测井中微生物的 α 多样性指数如表 3 所示。Chao 指数和 Shannon-Wiener 指数分别指示物种丰富度和多样性, 数值越高表明样品的物种丰富度和多样性越高<sup>[23-24]</sup>。用 Simpson 指数评价物种均匀性, 当 Simpson 指数越接近 1 时, 说明微生物群落分布越均匀。A5 监测井 Chao 指数和 Shannon-Wiener 指数最高 (见表 3), 说明该点物种丰富度最高; Simpson 指数最低, 说明该点微生物群落分布种类多样。而 A1、A2、A4 监测井的 Simpson 指数更接近 1 (见表 3), 说明微生物群落均一性高, 但 Chao 指数和 Shannon-Wiener 指数均较低, 说明 A2、A4 监测井物种丰富度均较低。因此, 一定范围内石油烃浓度的增加, 利于石油烃降解功能微生物的生长, 使降解菌丰富度升高。微生物群落结构的多样性和丰富度与石油烃的降解有关<sup>[25]</sup>, A5 监测井的微生物丰富度最高, 也对应 A5

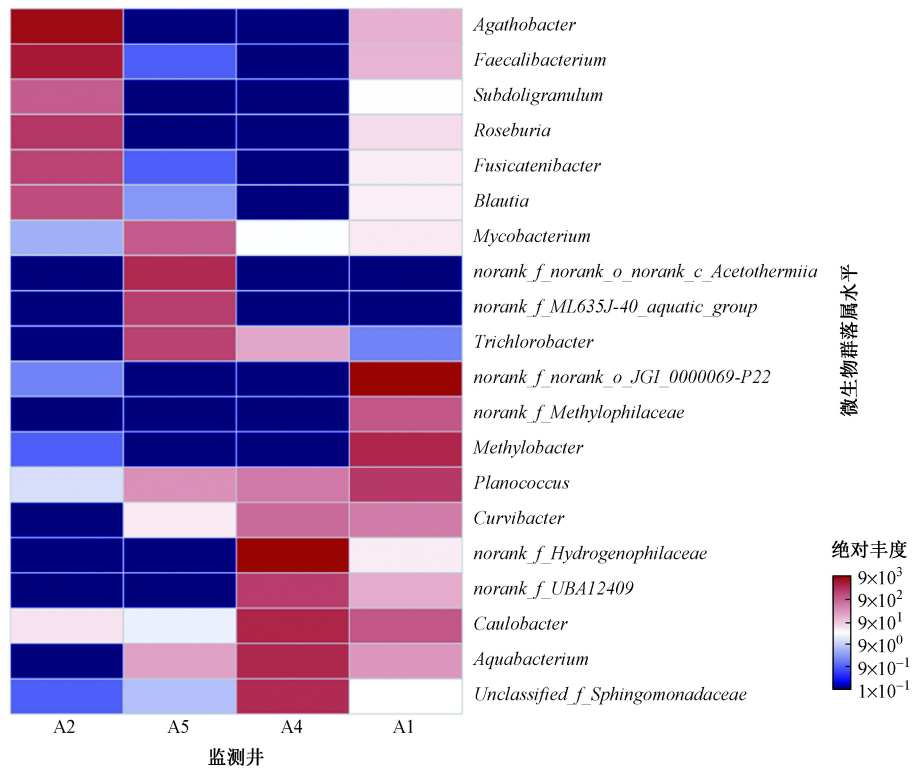


图 3 各监测井微生物群落属水平的绝对丰度

Fig.3 Absolute abundance of microbial community gene horizontal of all monitoring wells heat map

表 3 监测井中微生物的 α 多样性指数

Table 3 The α diversity index of microorganism of all monitoring wells

监测井	Shannon-Wiener指数	Simpson指数	Ace指数	Chao指数
A1	3.06	0.14	409.89	407.00
A2	2.98	0.11	211.07	187.63
A4	3.08	0.12	304.20	300.94
A5	4.60	0.03	617.81	618.30

监测井的石油烃降解能力较强(见图 4)。4 个监测井含有丰富的变形菌门和厚壁菌门(见图 4),二者相对丰度占细菌群落总数的 50% 以上,有利于石油烃的生物降解。研究<sup>[26]</sup>表明,油水界面上微生物相互作用具有混合表面润湿性,油水相互作用会受到微生物生物量的显著影响,并且总生物量与油水乳化液质量成正比。污染环境物种丰富度和多样性水平的提高有助于微生物种群特殊功能的实现<sup>[27]</sup>,利于污染物衰减。

2.4 微生物生化作用对石油烃健康风险的影响

风险管控的原理指采取各种措施和方法削减、清除、固定污染源,保护风险受体,控制其健康风险<sup>[28]</sup>。本地微生物菌群在石油烃的生物降解和生物修

复过程中发挥了重要作用<sup>[29]</sup>。石油烃污染使环境发生了微妙的变化,表现出对石油烃降解菌的选择性<sup>[6]</sup>,可能减少一些对石油烃不耐受微生物的数量<sup>[4]</sup>,增加具有石油烃降解功能微生物数量,群落组成向石油烃优势降解菌种群非均匀转变<sup>[30]</sup>。这种微生物群落动态变化可以提高对石油烃的生物降解性能,从而提高自然衰减效率,所以适量浓度的石油烃会富集石油烃降解功能菌,从而正向刺激石油烃的自然衰减效率<sup>[25]</sup>。各种细菌、真菌参与石油烃降解,可通过自身代谢作用,将石油烃污染物降解成 H<sub>2</sub>O、CO<sub>2</sub> 等无毒无害物质。一些细菌可以产生生物表面活性剂来正向辅助降解石油烃,生物表面活性剂可以乳化石油,使大分子油团分散成小分子油滴,包裹小油滴进入水相,增加石油烃与微生物细胞膜的接触面积,从而提高降解效率<sup>[31-32]</sup>。Varjani 等<sup>[33]</sup>报道了假单胞菌产生的生物表面活性剂(鼠李糖脂)能有效去除石油烃污染物。这些细菌是有效的石油烃修复剂。自然环境中石油烃降解功能菌仅占群落总数的不到 1%,石油烃污染环境中石油烃降解功能菌比例可能在 10% 左右<sup>[34]</sup>。多数石油烃降解菌都有负责降解目标底物的酶<sup>[35]</sup>,由于缺少某些酶,很少有微生物能够降解多种类的复杂石油烃,所以微生物群落结构的稳定性和多样性是影响石

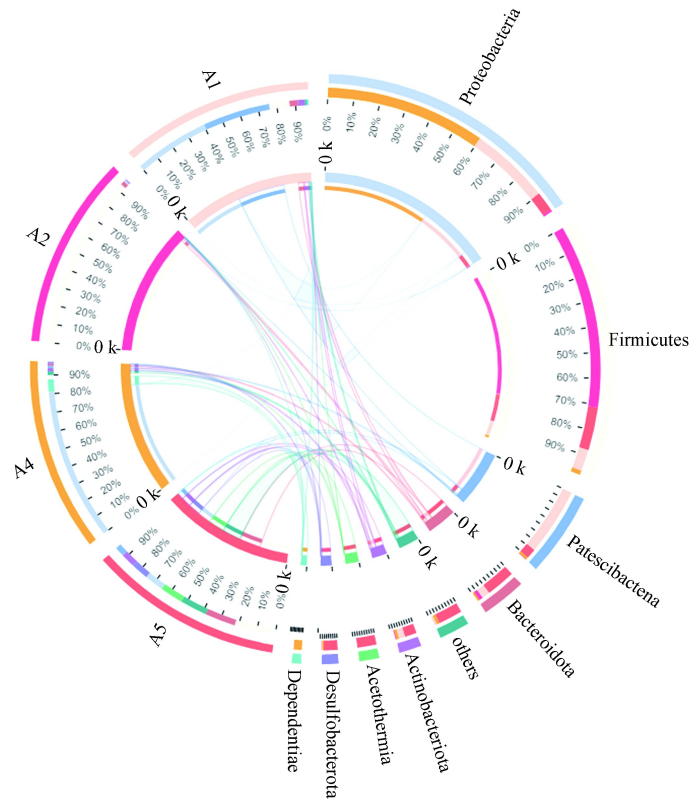


图4 微生物物种关系 Circos 图

Fig.4 Microorganism species relationship Circos diagram

油烃生物降解性能的重要因素,协同微生物群落呈现出更多的优势,如更多分解代谢基因和共代谢作用,利于石油烃污染物的自然衰减作用,可以降低石油烃的健康风险<sup>[36-37]</sup>。

### 3 结论

a) A3 监测井石油烃浓度 (0.06 mg/L) 最低, A5 监测井石油烃浓度 (6.61 mg/L) 最高, A1 ~ A4 监测井石油烃浓度差别不显著, A5 监测井石油烃浓度约为其他监测井的 60 ~ 100 倍。

b) 利用 HERA 软件以石油烃为目标污染物进行健康风险评估,结果表明,该场地  $C_{10} \sim C_{12}$ 、 $C_{12} \sim C_{16}$  的筛选值均为 0.190 mg/L,  $C_{16} \sim C_{21}$ 、 $C_{21} \sim C_{35}$  的筛选值均为 0.142 mg/L。A1 ~ A4 监测井的健康风险在可接受水平。A5 监测井总石油烃危害商为 44.990,是可接受值的 45 倍,表示 A5 监测井的风险较高,对场地周边人群的健康损害风险较大。在同一场地条件下,石油烃浓度越高,其健康风险越高。建议根据不同监测井的健康风险选用合适的修复技术对场地进行经济有效的修复。例如风险较高的监测井采取抽出处理技术、化学氧化技术、可渗透反应墙技术等,风险在可接受范围内的监测井采取监测自然衰减技术。

c) 4 个监测井的微生物群落组成略有差异, A1、

A2、A4、A5 监测井均含有变形菌门和厚壁菌门,且在 A5 监测井中绝对丰度较高,说明一定范围内较高的石油烃污染会刺激有石油烃降解功能的微生物生长,如变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门,对污染物有更好的抵抗能力和降解能力,从而正向提高对石油烃的生物降解能力,降低石油烃健康风险。不同种类石油烃降解菌对石油烃的降解机制是今后的研究重点。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] PETROV A M,VERSIONING A A,KARIMULLIN L K,et al. Dynamics of ecological and biological characteristics of soddy-podzolic soils under long-term oil pollution[J].*Eurasian Soil Science*,2016,49(7):784-791.
- [ 2 ] WANG Y P,LIANG J D,WANG J X,et al. Combining stable carbon isotope analysis and petroleum-fingerprinting to evaluate petroleum contamination in the Yanchang oilfield located on loess plateau in China[J].*Environmental Science and Pollution Research*,2018,25(3):2830-2841.
- [ 3 ] QIAN H,ZHANG Y L,WANG J L,et al. Characteristics of petroleum-contaminated groundwater during natural attenuation:a case study in northeast China[J].*Environmental Monitoring and Assessment*,2018,190(2):1-11.
- [ 4 ] FENG L Y,JIANG X P,HUANG Y N,et al. Petroleum hydrocarbon-

- contaminated soil bioremediation assisted by isolated bacterial consortium and sophorolipid[J].*Environmental Pollution*,2021, 273:116476.
- [ 5 ] HELMY Q,LAKSMONO R,KARDENA E.Bioremediation of aged petroleum oil contaminated soil:from laboratory scale to full scale application[J].*Procedia Chemistry*,2015,14:326-333.
- [ 6 ] WEI Z,WANG J J,GASTON L A,et al.Remediation of crude oil-contaminated coastal marsh soil:integrated effect of biochar, rhamnolipid biosurfactant and nitrogen application[J].*Journal of Hazardous Materials*,2020,396:122595.
- [ 7 ] 张丽娜,姜林,钟茂生,等.基于用地规划的大型污染场地健康风险评估[J].*环境科学研究*,2015,28(5):788-795.  
ZHANG L N,JIANG L,ZHONG M S,et al.Risk assessment based on planning scenarios for a large-scale contaminated site[J].*Research of Environmental Sciences*,2015,28(5):788-795.
- [ 8 ] 陈梦舫.污染场地健康与环境风险评估软件(HERA)[J].*中国科学院院刊*,2014,29(3):344,335,399.
- [ 9 ] 符小菲,袁艺,黄世霞,等.HERA和RBCA模型在土壤筛选值推导中的应用比较[J].*池州学院学报*,2019,33(3):57-60.  
FU X F,YUAN Y,HUANG S X,et al.Comparison of HERA and RBCA models in derivation of soil screening level[J].*Journal of Chizhou University*,2019,33(3):57-60.
- [ 10 ] EDGAR R C.UPARSE:highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J].*Nature Methods*,2013,10(10):996-998.
- [ 11 ] STACKEBRANDT E,GOEBEL B M.Taxonomic note:a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology[J].*International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*,1994,44(4):846-849.
- [ 12 ] WANG Q,GARRITY G M,TIEDJE J M,et al.Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J].*Applied and Environmental Microbiology*, 2007,73(16):5261-5267.
- [ 13 ] 史俊祥,郑娟,杨洋,等.基于HERA土壤分层风险评估的SVE修复方案优化[J].*环境工程学报*,2019,13(12):2954-2962.  
SHI J X,ZHENG J,YANG Y,et al.Optimization of SVE remediation project based on soil layer risk assessment with HERA model[J].*Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2019,13(12):2954-2962.
- [ 14 ] BOONCHAN S,BRITZ M L,STANLEY G A.Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures[J].*Applied and Environmental Microbiology*,2000,66(3):1007-1019.
- [ 15 ] UGOCHUKWU U C,OCHONOGOR A,JIDERE C M,et al. Exposure risks to polycyclic aromatic hydrocarbons by humans and livestock (cattle) due to hydrocarbon spill from petroleum products in Niger-delta wetland[J].*Environment International*, 2018,115:38-47.
- [ 16 ] OYETIBO G O,IGE O O,OBINANI P K,et al.Ecological risk potentials of petroleum hydrocarbons and heavy metals shape the bacterial communities of marine hydrosphere at Atlantic Ocean, Atlas Cove,Nigeria[J].*Journal of Environmental Management*, 2021,289:112563.
- [ 17 ] SU H F,LIN J F,CHEN H,et al.Production of a novel slow-release coal fly ash microbial fertilizer for restoration of mine vegetation [J].*Waste Management*,2021,124:185-194.
- [ 18 ] LASHER C,DYSZYNSKI G,EVERETT K,et al.The diverse bacterial community in intertidal,anaerobic sediments at sapelo island,Georgia[J].*Microbial Ecology*,2009,58(2):244-261.
- [ 19 ] YANG S Z,WEN X,ZHAO L,et al.Crude oil treatment leads to shift of bacterial communities in soils from the deep active layer and upper permafrost along the China-Russia Crude Oil Pipeline route[J].*PLoS One*,2014,9(5):e96552.
- [ 20 ] 孙娟,王宁,陈宏坤,等.石油污染土壤微生物群落分布特征[J].*石油学报(石油加工)*,2021,37(2):372-383.  
SUN J,WANG N,CHEN H K,et al.Distribution characteristics of the microbial community in oil-contaminated soil[J].*Acta Petrolei Sinica (Petroleum Processing Section)*,2021,37(2):372-383.
- [ 21 ] CHEN W M,WANG F,ZENG L,et al.Bioremediation of petroleum-contaminated soil by semi-aerobic aged refuse biofilter: optimization and mechanism[J].*Journal of Cleaner Production*, 2021,294:125354.
- [ 22 ] PENG J J,ZHANG Y,SU J Q,et al.Bacterial communities predominant in the degradation of <sup>13</sup>C<sub>4-4,5,9,10</sub>-pyrene during composting[J].*Bioresource Technology*,2013,143:608-614.
- [ 23 ] CHAO A.Nonparametric estimation of the number of classes in a population[J].*Scandinavian Journal of Statistics*,1984,11(4):265-270.
- [ 24 ] SHANNON C E.A mathematical theory of communication[J].*Bell System Technical Journal*,1948,27(3):379-423.
- [ 25 ] WU M L,WU J L,ZHANG X H,et al.Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleum-contaminated loessal soil[J].*Chemosphere*,2019,237:124456.
- [ 26 ] KASTER K M,HIORTH A,KJEILEN-EILERTSEN G,et al. Mechanisms involved in microbially enhanced oil recovery[J].*Transport in Porous Media*,2012,91(1):59-79.
- [ 27 ] SHE S Y,NIU J J,ZHANG C,et al.Significant relationship between soil bacterial community structure and incidence of bacterial wilt disease under continuous cropping system[J].*Archives of Microbiology*,2017,199(2):267-275.

- [ 28 ] 范婧婧,周友亚,王淑萍,等.基于DIN测试的场地土壤PAHs生物可给性及健康风险研究[J].环境科学研究,2020,33(11):2629-2638.  
FAN J J,ZHOU Y Y,WANG S P,et al.Bioaccessibility and health risk of PAHs in site soil based on DIN test[J].Research of Environmental Sciences,2020,33(11):2629-2638.
- [ 29 ] AGNELLO A C,BAGARD M,van HULLEBUSCH E D,et al. Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation,bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation[J].Science of the Total Environment,2016, 563/564:693-703.
- [ 30 ] CATANIA V,CAPPELLO S,DI-GIORGI V,et al.Microbial communities of polluted sub-surface marine sediments[J].Marine Pollution Bulletin,2018,131:396-406.
- [ 31 ] LIAO C J,LIANG X J,LU G N,et al.Effect of surfactant amendment to PAHs-contaminated soil for phytoremediation by maize (*Zea mays* L.)[J].Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015,112:1-6.
- [ 32 ] POSADA-BAQUERO R,GRIFOLL M,ORTEGA-CALVO J J. Rhamnolipid-enhanced solubilization and biodegradation of PAHs in soils after conventional bioremediation[J].Science of the Total Environment,2019,668:790-796.
- [ 33 ] VARJANI S J,UPASANI V N.Biodegradation of petroleum hydrocarbons by oleophilic strain of *Pseudomonas aeruginosa* NCIM 5514[J].Bioresource Technology,2016,222:195-201.
- [ 34 ] ATLAS R M.Microbial degradation of petroleum hydrocarbons:an environmental perspective[J].Microbiological Reviews,1981, 45(1):180-209.
- [ 35 ] XU X J,LIU W M,TIAN S H,et al.Petroleum hydrocarbon-degrading bacteria for the remediation of oil pollution under aerobic conditions:a perspective analysis[J].Frontiers in Microbiology,2018,9:2885.
- [ 36 ] 姜林,梁竞,钟茂生,等.复杂污染场地的风险管理挑战及应对[J].环境科学研究,2021,34(2):458-467.  
JIANG L,LIANG J,ZHONG M S,et al.Challenges and response to risk management of complex contaminated sites[J].Research of Environmental Sciences,2021,34(2):458-467.
- [ 37 ] 张坤锋,昌盛,赵少延,等.克鲁伦河流域地下水饮用水水源中挥发性有机物的污染特征与风险评价[J].环境工程技术学报, 2021,11(6):1083-1091.  
ZHANG K F,CHANG S,ZHAO S Y,et al.Pollution characteristics and risk assessment of volatile organic compounds in groundwater drinking water sources in Klulun River Basin[J].Journal of Environmental Engineering Technology,2021,11(6):1083-1091.

(责任编辑:张蕊,刘方)