

厦门西海域表层水中 PAHs 污染与 PAHs 降解菌分布的关系

田 蕴¹, 郑天凌^{1*}, 王新红², 肖清江¹, 张 勇²

(1. 厦门大学生命科学学院应用与环境微生物研究所, 福建 厦门 361005;

2. 厦门大学环境科学研究中心, 福建 厦门 361005)

摘要:在厦门西海域设置 6 个站位, 于 2001 年 7 月和 10 月两个航次对各站位表层水中多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 的含量及几种常见 PAHs 的降解菌的数量进行调查, 结果表明: 表层水中 PAHs 的含量很不稳定, 存在明显的时间变化。在 7 月的调查中, 表层水中能检测到的 PAHs 以 2—3 环的为主, 而在 10 月以 4—6 环的为主。低分子量的 PAHs—芴和菲的含量与其降解菌的数量之间具有明显的正相关, 而高分子量的 PAHs—荧蒹和芘的含量与其降解菌的数量之间没有表现出相关性。

关键词:多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs); 表层水; PAHs 降解菌

中图分类号: X55 **文献标识码:** A

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是一类含有两个苯环以上的稠环化合物, 主要来源于各种化石燃料及有机化合物的不完全燃烧^[1], 由于结构特殊且具有很强的热力学稳定性, 在环境中可长期存在。随着人类的活动及能源的开发利用, PAHs 在环境中的积累越来越多^[2], 因此, PAHs 在环境中的来源、分布、归宿及去除问题已成为当今环境研究中的前沿课题。PAHs 在环境中的去除途径有光降解、化学氧化、挥发等, 但单种及混合微生物的代谢作用仍是其降解的主要途径^[3]。由于微生物具有数量庞大, 种类繁多, 细胞个体微小, 易于培养, 分裂时间短, 对环境的变化能迅速作出反应, 使种类组成、生物量、生产力等发生变化, 能在各种不同的自然环境中生长等特点, 被认为是环境变化最有效的指示生物^[4]。因此, 调查 PAHs 在环境中的含量以及能降解 PAHs 的微生物的数量分布, 对于了解 PAHs 在环境中的归宿及从环境中去除具有重要意义^[5]。我们在厦门西海域设置 6 个站位, 通过两个航次对厦门西海域表层水中 PAHs 的含量及几种常见 PAHs 的降解菌的数量分布进行了调查, 旨在为近海海域有机污染的治理和监测提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

二氯甲烷、甲醇、正己烷均为 HPLC 级 (Honeywell 公司产品)。多环芳烃—芴 (Flo)、

收稿日期: 2002-06-03; 修订日期: 2002-11-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30070157); 教育部科学技术研究重点基金项目 (99180)

作者简介: 田 蕴 (1967—), 女, 吉林省吉林市人, 讲师, 博士, 主要从事海洋有机污染生物修复的研究。

* 通讯作者. E-mail: wshwzh@jingxian.xmu.edu.cn

菲(Phe)、荧蒽(Fla)、芘(Pyr)均购于 Sigma 公司。

1.2 样品的采集

在厦门西海域设置 6 个站位(图 1), 站位 1 位于河海交互作用小、盐度相对较高的外海区; 站位 2 靠近嵩屿电厂; 站位 3 靠近员当湖排污口; 站位 4 靠近东渡码头; 站位 5 靠近宝珠屿养殖区; 站位 6 靠近马銮湾养殖区鱼排外侧。

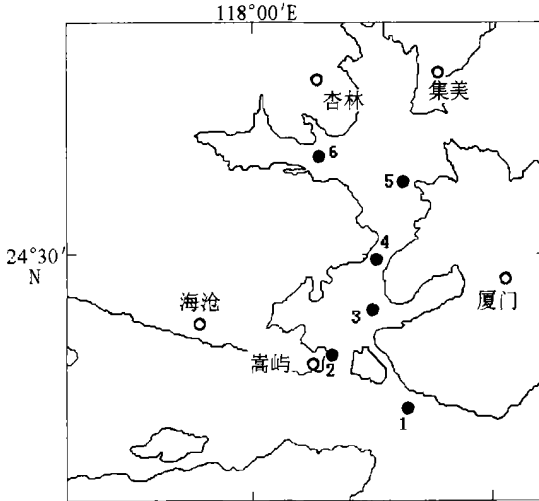


图 1 厦门西海域采样站位图

Fig. 1 Sampling stations established in sea area to the west of Xiamen

表层水采用无菌有机玻璃采水器采集, 用于 PAHs 分析的水样在采集后 24h 内进行前处理, 用于微生物分析的水样和沉积物在采集后 24h 内接种。

1.3 PAHs 分析

所有玻璃器皿经自来水和 Milli-Q 水洗涤后, 在 450 °C 的马弗炉中灼烧 4h。

水样的前处理采用液-液萃取法。取 1L 水样倒入分液漏斗, 加入一定量的内标及 100ml 的二氯甲烷萃取一次, 然后分别加入 50ml 的二氯甲烷再萃取两次, 合并萃取液, 经无水硫酸钠干燥后浓缩待测^[6, 7]。

1.4 仪器分析条件

PAHs 分析用 HP 6890 Plus 气相色谱, 配以 HP5973 型质谱检测器(MSD)。色谱柱: 30m × 0.25mm × 0.25μm HP-5MS 低流失毛细管柱; 最初炉温: 60 °C; 样口温度: 250 °C; 检测器温度: 280 °C; EI 电子轰击: 70eV; 离子源温度: 250 °C; 四极杆温度: 200 °C; 光电倍增管电压: 1380V; 调协: Autotune; 程序升温: 60 °C 保持 2min, 以 10 °C · min⁻¹ 升至 120 °C, 再以 4 °C · min⁻¹ 升至 300 °C, 保持 10min; 载气: 高纯氦, 流速为 1ml · min⁻¹; 扫描模式: SIM; 扫描质量范围: 30—550; 进样量: HP7683 自动进样器, 无分流进样 2μl; 数据处理系统 HP3365 chemstation 处理。

1.5 PAHs 降解菌的计数

采用单层平板方格法, 分别以芴(Flu)、菲(Phe)、荧蒽(Fla)、芘(Pyr) 为唯一碳源调查 PAHs 降解菌。无机培养基(MSM) (mg · L⁻¹): (NH₄)₂SO₄ (1000), Na₂HPO₄ (800),

KH_2PO_4 (200), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (200), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (100), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (5), $(\text{NH}_4)_6\text{M}_2\text{O}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1), pH 为 7.2, 121 °C 灭菌 15 min。固体琼脂无机培养基 (SSM): MSM; 琼脂 15g, 121 °C 灭菌 15 min。

取 1 ml 水样, 按 10 倍稀释法将接种液稀释成 10^{-1} 、 10^{-2} 至 10^{-5} 等梯度的菌悬液。

在培养皿底部平均划分 6 个方格, 灭菌后将无机培养基倒入培养皿中, 过夜。在方格中滴加 PAHs-丙酮溶液, 待有机溶液充分挥发后, 在 PAHs 表面滴加 20 μl 样品溶液。每个稀释度作 3 个平行样, 并作空白对照。

将平板放于 25 °C 生化培养箱中, 黑暗培养 1—3 星期后, 观察培养皿上菌落的生长情况, 计数。菌落周围带有透明圈的为 PAHs 降解菌^[8]。

2 结果与讨论

2.1 厦门西海域表层水中 PAHs 的污染特征

如表 1 所示, 在 7 月航次的调查中, 厦门西海域表层水中能检测到的 PAHs 以 2—3 环的为主, PAHs 总浓度的最高值 ($551.2 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) 出现在站位 2, 可能与站位 2 靠近嵩屿电厂并位于主航道有关。在 10 月航次的调查中, 检测到的 PAHs 以 4—6 环的为主, 最高值 ($478.8 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) 出现在位于员当湖排污口的站位 3。

许多研究表明, 在海域内的 PAHs 含量会受到诸如水动力、溶解力、吸附力、颗粒大小及季节变化等因素的影响, 而季节改变所引起的海水温度、盐度和 pH 等的变化也会直接影响 PAHs 的溶解力、吸附力。比较 7、10 月两个航次的调查结果, 我们发现表层海水中 PAHs 的含量和组成存在明显的时间差异, 表明表层海水中 PAHs 的含量很不稳定。

表 1 厦门西海域表层水中 PAHs 的含量

Tab. 1 Concentrations of PAHs in surface water of sea area to the west of Xiamen

站位	16 种 PAHs / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$		4—6 环 PAHs 含量 / %		芴 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$		菲 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$		荧蒹 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$		苊 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	
	7 月	10 月	7 月	10 月	7 月	10 月	7 月	10 月	7 月	10 月	7 月	10 月
1	144.8	241.7	64.8	72.9	10.1	5.1	4.2	21.1	2.6	ND	2.8	29.9
2	551.2	333.7	10.6	69.7	50.2	7.0	25.1	37.2	4.2	ND	4.7	14.2
3	243.0	478.8	32.1	78.3	25.4	17.0	24.0	3.0	5.0	ND	6.2	26.7
4	228.7	259.1	25.8	78.1	24.8	4.9	7.6	21.7	1.8	ND	2.0	7.6
5	186.6	312.5	26.8	73.2	23.3	4.8	3.2	24.3	2.3	ND	2.6	10.6
6	99.0	284.9	32.1	72.3	12.3	5.0	13.6	24.4	2.8	ND	3.0	10.5

注: ND 表示未检测到。

水体中 PAHs 污染可导致鱼类及贝类的富集, 进而影响食用者的身体健康。国际生物学组织或国家制定了水体 PAHs 安全标准^[7], 厦门西海域水体 PAHs 的含量与此相比虽未超标, 但已达到生态毒理评价标准 (表 2)。

表 2 国际生物学组织或国家制定的水体 PAHs 安全标准⁷⁾ $\mu\text{g L}^{-1}$

Tab. 2 Safety guidelines of PAHs proposed by international biology organizations

 $\mu\text{g L}^{-1}$

PAHs	荷兰	加拿大	美国	丹麦	欧盟	奥斯陆和巴黎委员会	本研究
	最大 允许浓度	水质 评价标准	环境 质量标准	水质 评价标准	最大 允许浓度	生态毒理 评价标准	7月—10月 <i>n</i> = 6
Anthracene		0.12		0.01		0.005—0.05	0.005—0.002
Benzo(a) Anthracene	0.2						0.007—0.006
Benzo(a) Pyrene	0.1	0.008				0.01—0.1	0.003—0.014
Benzo(k)fluoranthene	0.1						0.003—0.005
Benzo(ghi)perylene	0.02						0.006—0.033
Fluoranthene	0.5					0.05—0.5	0.003—ND
Naphthalene		11.0		1.0		1.0—10.0	0.007—0.034
Phenanthrene	2.0	0.8	4.6				0.013—0.022

注: ND 表示未检测到。

2.2 厦门西海域表层水中 PAHs 降解菌的数量

受 PAHs 污染的环境中普遍存在着 PAHs 的降解微生物, 以污染的水样或沉积物外加单种或混合 PAHs 为碳源进行培养, 降解微生物的数量增加, 可以获得 PAHs 的降解菌株^[9, 10]。在我们的研究中, 以几种常见的 PAHs 作为唯一碳源, 对厦门西海域表层水中芘、荧蒹、菲和芴降解菌进行培养、计数, 结果列于表 3。

表 3 厦门西海域表层水中 PAHs 降解菌数量

 $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$

Tab. 3 Number (CFU/ml) of PAHs-degrading bacteria in surface water of sea area to the west of Xiamen

 $\text{CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$

站位	菲降解菌		芴降解菌		荧蒹降解菌		芘降解菌	
	7月	10月	7月	10月	7月	10月	7月	10月
1	1.67×10^3	7.33×10^2	1.33×10^3	1.0×10^3	8.27×10^3	9.0×10^2	7.0×10^3	1.33×10^3
2	4.13×10^3	8.67×10^2	5.93×10^3	6.7×10^2	1.23×10^3	6.67×10^2	1.6×10^3	2.33×10^2
3	5.97×10^3	0	2.27×10^3	3.0×10^3	1.23×10^3	6.0×10^2	1.5×10^3	4.67×10^2
4	1.27×10^3	5.33×10^2	1.8×10^3	2.33×10^2	1.63×10^3	5.33×10^2	3.73×10^3	4.47×10^4
5	1.0×10^3	6.67×10^2	2.93×10^3	3.33×10^2	2.3×10^3	1.0×10^2	2.53×10^3	2.33×10^2
6	2.93×10^3	7.67×10^2	0.77×10^3	5.33×10^2	0.2×10^3	1.4×10^2	0.53×10^3	1.67×10^3

从表 3 可以看出, 各站位 4 种 PAHs 降解菌的数量在 7 月比 10 月的高, 而比较两个航次 4 种 PAHs 的含量, 并未发现明显的差异。这说明环境中 PAHs 降解菌数量受到季节变化的影响。

2.3 表层水中 PAHs 含量与 PAHs 降解菌数量的关系

环境中 PAHs 降解微生物与 PAHs 的含量密切相关。Bogardt 采用双层平板法调查 PAHs 降解微生物在环境中的分布, 在受 PAHs 污染的区域, 如汽油、柴油及杂酚油污染的土壤, 降解微生物的数量达到 10^5 以上, 而在未受 PAHs 污染的土壤中, 如水库、沙漠, 降解微生物的含量在检测限以下^[10]。在我们的研究中发现, 荧蒹和芘在表层水中的含量与

它们的降解菌数量之间没有相关性, 而芴和菲的含量与其降解菌数量之间却存在正相关关系(图 2), 两个航次的情况相似。

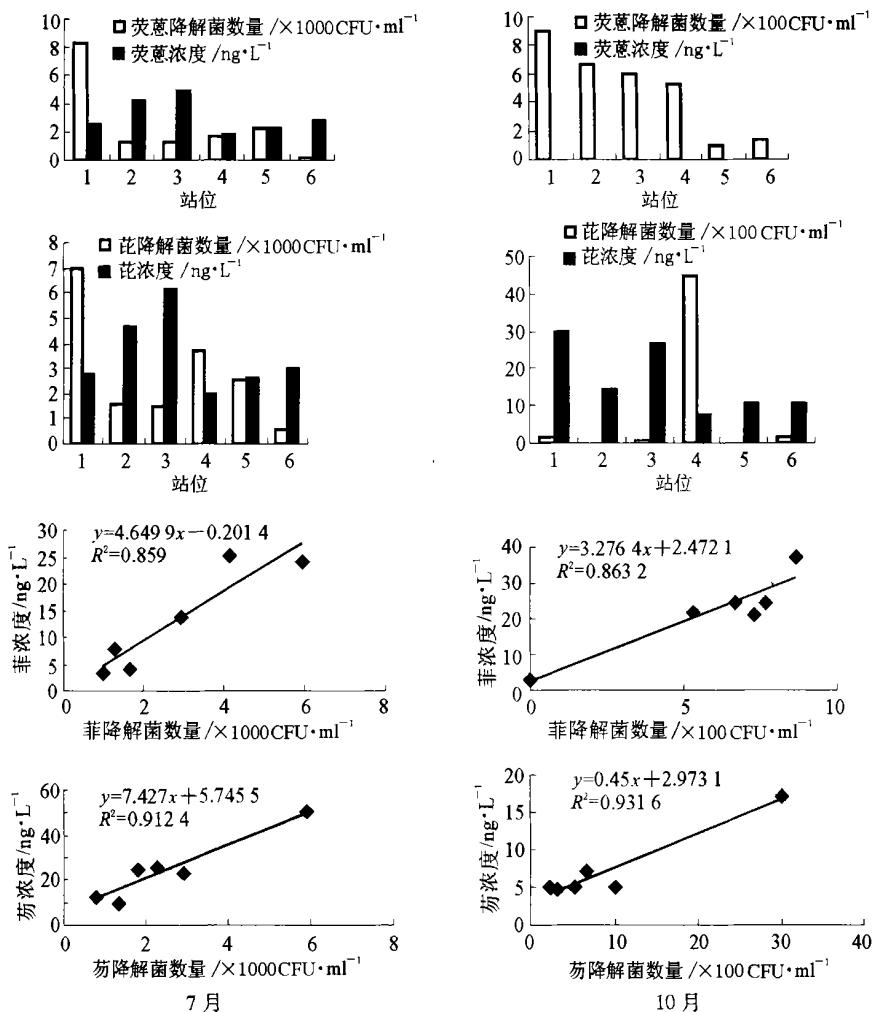


图 2 厦门西海域表层水中多环芳烃的含量与多环芳烃降解菌数量的关系

Fig. 2 Relationship between PAHs-degrading bacterium number and PAHs concentration in surface water of sea area to the west of Xiamen

Cerniglia^[3]的研究表明, 环境中微生物对 PAHs 的降解会受到诸如温度、pH、溶解氧、营养盐水平、PAHs 的理化性质、浓度、微生物的适应性以及暴露时间等因素的影响。一般来说, 随着 PAHs 苯环数量的增加, 其生物有效性越来越低。因此, 小分子量的 PAHs 在环境中能较容易被微生物利用; 而高分子量的 PAHs 则难于被微生物利用。在我们 7 月航次的调查中, 芴在表层水中的含量为 $1.8-5.0 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 芴为 $2.0-6.2 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 10 月航次的调查中未检测到芴, 芴的含量为 $7.6-29.9 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。芴和芴为四环的 PAHs, 分子量同为 202.3, 属于高分子量的 PAHs 成分。我们认为由于表层水中这两种 PAHs 的浓度很低, 表层水的不稳定性以及高分子量 PAHs 的疏水性使微生物暴露于多环芳烃的时间很短, 高分子量 PAHs 对微生物的诱导作用因此而受到限制。所以表层水

中高分子量 PAHs 的含量与其降解菌数量之间没有表现出相关性。

芴和菲为三环的 PAHs, 分子量分别为 166. 2 和 178. 2, 相对于四环的 PAHs 具有较高的水溶性, 因此尽管在相同的水环境中, 低分子量的 PAHs 对微生物的诱导作用以及微生物对 PAHs 的适应性相对于高分子量的 PAHs 要强, 因此表层水中低分子量 PAHs 的含量与其降解菌数量之间表现出一定的相关性。

3 小 结

(1) 厦门西海域表层水中多环芳烃的含量很不稳定, 存在明显的时间变化, 在 7 月的调查中, 表层水中检测到的 PAHs 以 2—3 环的低分子量成分为主, 而在 10 月以 4—6 环的高分子量成分为主。

(2) 与国际生物学组织或国家制定的水体 PAHs 安全标准相比, 厦门西海域表层水中 PAHs 的含量虽未超标, 但已达到生态毒理评价标准。

(3) 由于高分子量的多环芳烃具有较低的水溶性和极强的热力学稳定性, 加之在表层水中的含量低, 对微生物的诱导作用很弱, 因此表层水中高分子量 PAHs 的含量与其降解菌数量之间没有表现出相关性。而表层水中低分子量多环芳烃降解菌的数量在一定程度上可以指示低分子量多环芳烃的污染程度。

参考文献:

- [1] Jacob J, Karcher W. Polycyclic aromatic hydrocarbons of environmental and occupational importance[J]. *Fresenius. Z. Anal. Chem.*, 1986, **323**: 1—10.
- [2] Johnson A C, Larsen D. The distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in the surficial sediments of Penobscot Bay (Maine, USA) in relation to possible sources and to other sites worldwide[J]. *Mar. Environm. Res.*, 1985, **15**: 1—16.
- [3] Cemiglia C E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Biodegradation*. 1992, **3**: 351—368.
- [4] 郑天凌, 庄铁城, 蔡立哲, 等. 微生物在海洋环境中的生物修复作用[J]. *厦门大学学报*, 2001, **40**(2): 524—534.
- [5] 郭楚铃, 哈里德, 郑天凌, 等. 海洋微生物对多环芳烃的降解[J]. *台湾海峡*, 2001, **20**(1): 43—47.
- [6] Witt G. Polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of the Baltic Sea[J]. *Marine Pollution Bulletin*. 1995, **31**(4—12): 237—248.
- [7] Law R J, Dawes V J, Woodhead R J, *et al.* Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Seawater around England Wales[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 1997, **34**(5): 306—322.
- [8] K stner M, Mahro B. Enumeration and characterization of the soil microflora from hydrocarbon-contaminated soil sites able to mineralize polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1994, **41**: 257—273.
- [9] Wang X, Yu X, Bartha R. Effect of bioremediation on polycyclic aromatic hydrocarbon residues in soil[J]. *Environ Sci Technol.*, 1990, **24**: 1086—1089.
- [10] Bogardt A H. Enumeration of Phenanthrene-degrading bacteria by an overlayer technique and its use in evaluation of petroleum-contaminated sites[J]. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, **58**: 2579—2582.

PAHs CONTAMINATION AND PAHs-DEGRADING BACTERIA IN SURFACE WATER OF SEA AREA TO THE WEST OF XIAMEN

TIAN Yun¹, ZHENG Tian-ling¹, WANG Xin-hong², XIAO Qing-jiang¹, ZHANG Yong²

(1. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Environmental Science Research Centre, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Six stations were established in the sea area to the west of Xiamen ($24^{\circ}29' N$, $118^{\circ}04' E$) in Jul. and Oct. of 2001 to investigate the level of PAHs and PAHs-degrading bacteria in the surface water. PAHs in the surface water were mainly dominated by PAHs compounds of low molecular weight (PAHs with 2—3 rings) in July and of high molecular weight (PAHs with 4—6 rings) in October. No correlation was found between the number of fluoranthene-degrading bacteria and fluoranthene concentration in the surface water samples collected on the two occasions. The same situation occurred between the number of pyrene-degrading bacteria and pyrene concentration. But the numbers of Fluorene- and Phenanthrene-degrading bacteria were positively related to the concentrations of fluorene and phenanthrene respectively.

Key words: PAHs(polycyclic aromatic hydrocarbons); surface water; PAHs-degrading bacterium