

田德,王婧,刘旭辉,等.外源氮对生物炭修复滨海石油污染土壤的影响[J].环境科学与技术,2025,48(5):173-182. Tian De, Wang Jing, Liu Xuhui, et al. Regulatory effects of exogenous nitrogen on the bioremediation of oil-polluted coastal soil by biochar[J]. Environmental Science & Technology, 2025, 48(5): 173-182.

外源氮对生物炭修复滨海石油污染土壤的影响

田德¹, 王婧², 刘旭辉³, 郭小彪⁴, 李曜宇²,
范成博¹, 李淑辉¹, 孔露露^{2*}

- (1. 河北省地质环境监测院, 河北省地质资源环境监测与保护重点实验室, 河北 石家庄 050011;
2. 河北地质大学地球科学学院, 河北省战略性关键矿产资源重点实验室, 河北 石家庄 050031;
3. 石家庄学院地理科学与环境学院, 河北 石家庄 050035;
4. 河北省地质实验测试中心, 河北省矿产资源与生态环境监测重点实验室, 河北 保定 071051)

摘要:文章选用不同形态外源氮(硝酸钠、硫酸铵和尿素)协同麦秆生物炭进行石油污染土壤修复试验,考察外源氮类型及土壤碳氮比(C/N, 100/15、100/10和100/5)对石油烃修复效果的影响并探究其作用机制。结果表明,生物炭联合外源氮处理组(BC+N)中,石油烃在外源氮为硝酸钠、土壤C/N为100/5条件下修复效果最佳。其中长链烷烃(LCAs)去除率(77.24%)高于对照组(CK)和生物炭处理组(BC),而多环芳烃(PAHs)去除率(59.76%)高于CK,却低于BC。生物炭联合外源氮配施产生协同效应,强化了LCAs生物降解效率,但外源氮可与PAHs产生竞争性吸附,导致PAHs去除率偏低。外源氮类型和土壤C/N对石油烃降解均具有显著影响。硝酸钠通过促进硝酸盐还原耦合石油烃氧化,提高石油烃降解效率。生物炭联合无机氮处理在土壤C/N为100/5条件下石油烃去除率最佳,而生物炭联合有机氮(尿素)在土壤C/N为100/15达到较好去除效果。

关键词:生物炭; 外源氮; 石油污染土壤; 生物修复; 土壤碳氮比

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **doi:**10.19672/j.cnki.1003-6504.2116.24.338 **文章编号:**1003-6504(2025)05-0173-10

Regulatory Effects of Exogenous Nitrogen on the Bioremediation of Oil-polluted Coastal Soil by Biochar

TIAN De¹, WANG Jing², LIU Xuhui³, GUO Xiaobiao⁴, LI Yaoyu²,
FAN Chengbo¹, LI Shuhui¹, KONG Lulu^{2*}

- (1. Hebei Key Laboratory of Geological Resources and Environment Monitoring and Protection, Hebei Geological Environment Monitoring Institute, Shijiazhuang 050011, China;
2. Hebei Key Laboratory of Strategic Critical Mineral Resources, School of Earth Sciences, Hebei GEO University, Shijiazhuang 050031, China;
3. College of Geography and Environmental Science, Shijiazhuang University, Shijiazhuang 050035, China;
4. Hebei Key Laboratory of Mineral Resources and Ecological Environment Monitoring, Hebei Research Center for Geoanalysis, Baoding 071051, China)

Abstract: Wheat straw biochar was used for the soil microcosm experiments with different forms of exogenous N (sodium nitrate, ammonium sulfate, urea) added and the soil C/N ratio (100/15, 100/10, and 100/5) adjusted, aiming to investigate the regulatory role of nitrogen forms and soil C/N ratio in the biodegradation of petroleum hydrocarbon (PHs). The removal of PHs was enhanced in biochar-treated soil with sodium nitrate at a soil C/N ratio of 100/5 (BC5+N1), compared to other biochar and exogenous nitrogen co-applied treatments (BC+N). Under the optimal biodegradation conditions of BC5+N1, a higher long-chain alkanes (LCA) removal efficiency was observed compared to CK and BC treatment. In terms of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), its degradation potential was higher with comparison to CK treatment, but lower than BC treatment. Such promoted removal of LCAs could be ascribed to the synergistic effects of biochar and exogenous nitrogen. The reduced degradation of PAHs is likely due to competition between the exogenous nitrogen and PAHs for similar sorption

《环境科学与技术》编辑部: (网址)http://fjks.chinajournal.net.cn (电话)027-87643502 (电子信箱)hjkxyjs@vip.126.com

收稿日期:2024-12-03;修回 2025-02-18

基金项目:国家自然科学基金项目(42207267);河北省自然科学基金项目(D2021206004);河北省地质资源环境监测与保护重点实验室开放课题(JCYKT202102);河北省“三三三人才工程”项目(C20231054)

作者简介:田德(1982-),男,学士,研究方向为水文地质与地质灾害,(电子信箱)tiande946@163.com;*通讯作者,(电子信箱)lucakong127@hotmail.com。

sites on the biochar surface. This study emphasizes the critical roles that both the form of exogenous nitrogen and the soil C/N ratio play in determining PAHs removal efficiencies. The amendment of biochar with sodium nitrate led to improved hydrocarbon removal, likely due to the coupling of nitrate reduction with PAHs biodegradation through electron transfer. Co-application of biochar with inorganic nitrogen sources in oil-contaminated soil resulted in better PAHs removal at a soil C/N ratio of 100/5, while biochar combined with organic nitrogen (urea) was more effective at a soil C/N ratio of 100/15.

Key words: biochar; exogenous nitrogen; oil-contaminated soil; bioremediation; soil C/N ratio

石油是现代工业社会的重要支柱能源,在其开采、炼制、贮存以及运输过程中所发生的溢油和泄露会对土壤造成严重污染。作为世界上最大的发展中国家以及石油生产和消费大国之一,我国每年约有近 6×10^5 t 石油汇入环境,导致 3.3×10^6 hm²的土壤受到石油污染^[1]。石油污染物包括烷烃、芳香烃以及难降解的沥青质和极性组分等,具有很强的生物毒性和环境破坏性^[2]。特别是其重要组分多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs),作为一种全球性的持久性有机污染物,广泛存在于土壤、沉积物和大气等环境中,具有极强的致癌、致畸和致突变性,并可通过食物链在生物体内逐级富集^[3]。因此,研究石油污染土壤的治理对于改善生态环境、保护公众健康具有重要的理论和现实意义。

生物炭(biochar,BC)被证实可调控土壤理化性质及微生物群落结构,有效提高石油污染土壤的生物修复效率^[4-6]。生物炭是生物质残体在限氧或无氧条件下热解产生的一类富含碳的高聚产物^[7]。面对盐碱化程度普遍较高的石油污染场地,生物炭在强化修复的同时还兼具土壤改良的作用^[8],且可以有效减少碳足迹、推进我国“双碳”目标的实现。石油污染土壤中氮匮乏是制约石油烃生物降解效率、造成修复进程缓慢的瓶颈问题^[9,10]。当土壤碳氮比(有机碳/总氮,C/N)适当(如100/10)时,微生物对石油烃的去除效果最好^[11]。石油污染打破了土壤原有的碳氮平衡,造成土壤C/N显著提高^[12]。而生物炭的施加将进一步提升土壤C/N,可能对其修复作用产生消极影响^[13]。

近年来,有研究尝试评估生物炭与限制性营养物质配合施用对有机污染场地修复进程的影响^[14]。氮是合成生物体蛋白质和核酸等关键细胞成分的必需营养元素,可以有效促进土壤微生物生长、提高代谢活性^[15]。为了达到较好的修复效果,多定期向土壤中投加外源氮,以达到持续刺激土壤中微生物的作用^[16]。然而添加营养物质需要耗费大量的化学品或能源,且理论计算与实际操作存在偏差,导致很难达到预期的

修复效果,易造成大量的资源浪费和二次污染等问题^[17]。研究发现,生物炭因其独特的理化性质,能够吸附土壤中的游离NH₃、NH₄⁺和NO₃⁻,还会对土壤氮循环过程以及相关功能微生物产生重要影响^[18]。因此,采用生物炭联合外源氮强化生物修复石油污染土壤,不仅可以有效抑制土壤中无机氮的淋失,还为提高石油烃降解效率提供了新的机遇。

目前,已有研究采用生物炭联合外源氮强化生物修复石油污染土壤,然而关于石油烃的去除效果及作用机制观点不一^[14]。有关外源氮种类及土壤C/N对石油烃的生物降解作用影响的探究相对较少。因此,本文选择生态脆弱的冀东油田石油污染场地作为研究对象,采用生物炭联合外源氮修复石油污染土壤,通过测定土壤石油烃浓度变化规律,探究外源氮素类型及土壤C/N对石油烃降解的调控作用,揭示生物炭与外源氮对石油烃生物降解的联合作用机制,以期对石油污染土壤的高效原位修复提供理论基础与科学依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集

石油污染土壤和清洁土壤均采自河北省唐山市冀东油田污染土暂存场。冀东油田所在区域属于大陆性季风气候,具有明显的暖温带半湿润季风气候特征。采集石油污染土壤和周边清洁土壤(表层0~15 cm),去除动植物残体及大颗粒。按照比例充分混合,制备总石油烃(total petroleum hydrocarbons, TPHs)质量分数为6%的供试土壤。部分放置于阴暗通风处风干,过20目筛后收集以测定土壤基本理化性质;部分放置于4℃保存,供土壤微宇宙实验采用。

供试石油污染土壤的基本理化性质见表1, pH为8.31,属于弱碱性土壤,土壤类型为砂质壤土。土壤有机质(SOM)、土壤总有机碳(TOC)和总碳(TC)含量较高,而总磷(TP)和总氮(TN)含量偏低,分别为436.67 mg/kg和506.67 mg/kg。土壤C/N为109.75。

表 1 供试石油污染土壤基本理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the target oil-contaminated soil

样品	pH	TC/%	SOM/(g·kg ⁻¹)	TOC/(g·kg ⁻¹)	TP/(mg·kg ⁻¹)	TN/(mg·kg ⁻¹)	C/N
石油污染土壤	8.31±0.04	5.65±0.038	95.87±0.29	55.61±0.16	436.67±8.08	506.67±5.77	109.75±1.13

1.2 生物炭制备与表征

基于前期研究结果^[19],本文选择修复效果较好的500℃热解制备的麦秆生物炭进行土壤微宇宙实验。将小麦秸秆洗涤、晾干后,在50~60℃烘箱中烘干12 h。将其破碎,过100目筛后加入坩埚,密封后放置于马弗炉中500℃炭化3 h。冷却至室温后取出并过100目筛,装于棕色瓶中备用,标记为WS500。

生物炭样品元素组成(C、H、N、S)采用元素分析仪(Vario EL cube,Elementar,德国)进行分析,O元素含量通过差重法测定。比表面积及孔径分布采用综合吸附仪(ASAP 2460 3.01,Micromeritics,美国)测定。表面官能团采用傅立叶红外光谱仪(FTIR,L1600400 Spectrum TWO DTGS,PerkinElmer,美国)扫描定性。采用X射线衍射仪(XPS,Rigaku Smartlab SE,日本)进行材料物相分析。

1.3 土壤微宇宙实验

采用麦秆生物炭(WS500)进行土壤微宇宙实验,处理组设置见表2。共设置3组处理:(1)对照组(CK),即石油污染土壤(TPHs质量分数为6%);(2)生物炭处理组(BC),即石油污染土壤(TPHs质量分数为6%)+WS500,WS500施加量分别为1%、2%和5%;(3)生物炭联合外源氮处理组(BC+N),WS500质量分数为5%,外源氮分别为NO₃⁻-N(NaNO₃)、NH₄⁺-N((NH₄)₂SO₄)和NH₂-N(CO(NH₂)₂),土壤C/N比分别为100/15、100/10和100/5。每处理组设置3个平行试验。

表2 土壤微宇宙实验处理组
Table 2 Setup of soil microcosm experiment

处理组	生物炭/%	外源氮
CK	CK	/
BC	BC1	1
	BC2	2
	BC5	5
BC+N	BC5+N1	NaNO ₃
	BC5+N2	(NH ₄) ₂ SO ₄
	BC5+N3	CO(NH ₂) ₂

实验开始前,将土壤水分调节至田间持水量的40%,放在(25±1)℃且黑暗的人工气候箱内预培养7 d,目的为激活并保持土壤中微生物的活性。将500 g(以干重计)已预培养的土壤加入套有封口膜的烧杯中,按照实验处理添加生物炭和不同类型外源氮。调节土壤含水量为田间持水量的60%,并用玻璃棒充分混匀。将烧杯放置于人工气候箱,调节环境参数(光周期为12 h光照/12 h黑暗,温度为(25±1)℃)。每3 d通过称重法检查水分的损失,加入超纯水保持土壤含水量。84 d后试验结束,将土壤样品放于棕色样品瓶于-20℃保存,用于土壤石油烃含量测定。

1.4 土壤理化性质检测

分别采用重铬酸钾-浓硫酸消解法测定土壤有机

质(SOM)含量,凯氏定氮法测定总氮(TN)。采用Van Bemmelen系数对SOM含量和土壤总有机碳(TOC)含量进行换算^[20]。采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES,Vista-MPX,Agilent,美国)对土壤总磷(TP)含量进行了分析。土壤C/N是土壤总有机碳(TOC)与总氮(TN)的含量比值^[21]。

1.5 土壤石油烃含量检测

土壤样品经冷冻干燥、萃取等前处理后,将土样萃取液在旋转蒸发仪上进行浓缩,采用正己烷进行溶剂替换,采用湿法装柱进行层析柱的制备。将样品的正己烷溶液加入层析柱净化、分离,以分别获得饱和烃和芳香烃的淋洗液。淋洗液经旋转蒸发浓缩后,在高纯氮气流下吹干。采用色谱纯正己烷定容,进入气相色谱串联质谱(GC-MS,Agilent,美国)测定长链烷烃(long-chain alkanes,LCA_s,C₁₀~C₄₀)和16种环境优先控制PAHs的含量^[22]。

对土壤石油烃降解动力学曲线进行一级动力学方程拟合,土壤剩余石油烃含量时间变化动力学模型回归方程为:

$$\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right)=kt$$

(1)

式中,C_t和C₀分别为目标物的瞬时浓度和初始浓度,mg/kg;t为时间,d;k为降解速率常数,d⁻¹;通过拟合的k可以计算半衰期t_{1/2}=ln2/k,d。

1.6 数据处理

本文所有处理均设置了3个平行试验。通过SPSS 22进行数据统计分析,采用单因素方差分析(ANOVA)以及最小显著差数法(LSD)对不同处理间的差异显著性进行分析,P<0.05时认为处理间差异显著。采用Origin Pro 8.5制图。

2 结果与讨论

2.1 生物炭理化性质

500℃下热解制备的麦秆生物炭(WS500)元素组成和孔隙结构如表3所示,其中C元素含量最高(56.97%),其次是O元素(37.57%),其他元素含量均偏低,H、N、S的含量依次分别为2.94%、1.72%、0.81%。O/C和H/C分别为0.66和0.051。WS500比表面积(BET SA)为16.01 m²/g,总孔容积(TPV)为0.011 cm³/g,平均孔径为2.82 nm。

利用FTIR对WS500的表面官能团进行表征(图1(a))。由图可见,WS500在3 440 cm⁻¹处有明显的吸收峰,表明醇、酚羟基或羧基中—OH的存在^[23];在1 571 cm⁻¹处存在明显的吸收峰,这可能是芳香族中C=C或者共轭醌和酮上C=O伸缩振动引起的^[24];

表3 麦秆生物炭(WS500)元素组成和孔隙结构
Table 3 The elemental composition and pore structure of WS500

生物炭	C/%	H/%	N/%	S/%	O/%	O/C	H/C	BET SA/(m ² ·g ⁻¹)	TPV/(cm ³ ·g ⁻¹)
WS500	56.97	2.94	1.72	0.81	37.57	0.66	0.051	16.01	0.011

在 1 115 cm⁻¹处的吸收峰可能与C—O和C—O—C吸收峰相关^[25];在 464 cm⁻¹有特征衍射峰的存在,可能归因于Si—O—Si吸收峰的存在。

WS500的XRD光谱分析结果显示(图1(b)),WS500在 2θ=25°~30°存在明显的特征衍射峰,这可能是石墨碳层衍射引起的^[26]。

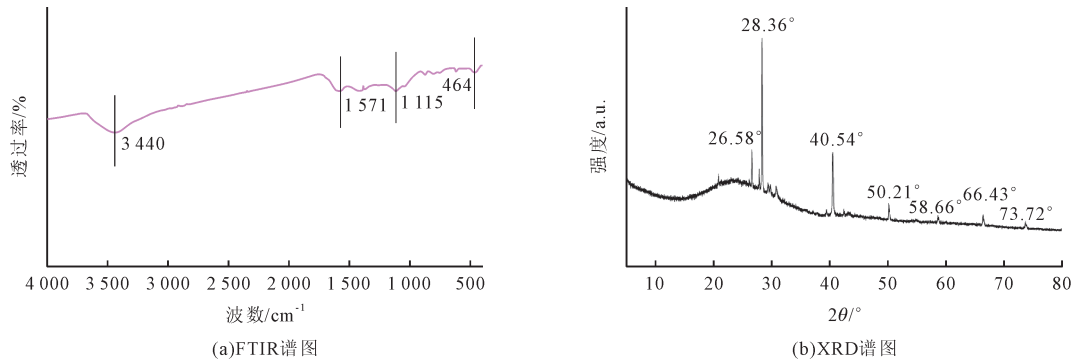


图1 麦秆生物炭(WS500)的FTIR谱图和XRD谱图
Fig.1 FTIR and XRD spectra of wheat straw biochar prepared under 500 °C(WS500)

2.2 生物炭对土壤石油烃降解的强化作用

通过添加麦秆生物炭(WS500)进行石油污染土壤微宇宙实验,经过 84 d 修复周期,添加不同含量生物炭(1%、2%和 5%)的 BC 和 CK 处理组中 LCAs(C₁₀~C₄₀)和 16 种 PAHs 总量变化如图 2 所示。CK 处理组 LCAs 和 PAHs 浓度由初始值 8 173.25 mg/kg 和 47.19 mg/kg 分别降低至 2 825.88 mg/kg 和 32.18 mg/kg,去除率分别为 65.43% 和 31.81%。该处理组中石油烃含量降低主要来自石油烃自然衰减,即挥发、水解和生物降解作用等^[7]。

去除率 ($P<0.05$)。随着生物炭添加量的增多,LCAs (C₁₀~C₄₀)和 PAHs 的去除率表现为上升趋势,添加质量分数 5% 生物炭处理组(BC5)土壤中 LCAs 和 PAHs 降解率分别高达 72.53% 和 72.16%,这表明生物炭添加可有效提高土壤石油烃特别是其重要组分 PAHs 的生物降解率。

污染土壤中石油烃去除作用的提升被归因于生物炭的生物刺激作用(biostimulation)^[19]。生物炭表面结构特殊,不仅可以改善土壤理化性质(土壤通气程度、阳离子交换量等)和营养水平,还将影响土壤中微生物的群落结构,进而改变污染物的微生物降解速率^[6]。多项研究提出生物炭可通过分配和表面吸附作用固定土壤中的有机污染物,降低其生物有效性^[27]。然而,污染场地土壤中生物炭因孔隙阻塞等原因导致其对石油烃的吸附效果下降^[28,29]。此外,低温生物炭对石油烃的吸附性主要表现为配位作用,不仅为增加微生物和石油烃的接触发挥重要作用,且这种吸附态的石油烃可以被微生物有效分解代谢^[30]。低温生物炭还能够释放出较多的可溶性有机碳和有效态氮磷^[31],有助于达到高效快速降解土壤中石油烃的目的。

随着修复时间延长,BC5 处理组中石油烃组分 LCAs(C₁₀~C₄₀)和 16 种 PAHs 含量逐渐降低(图 3(a))。其中,各处理组 LCAs 在 14~28 d 降解速率最高,在修复初期和后期去除率变化较小;PAHs 在 0~5 d 和 56~84 d 降解速率最高,在修复中期阶段去除率变化较小。添加 5% 生物炭处理组中 LCAs 和 PAHs 降解符合一级反应动力学,反应速率常数 k 分别为 0.02 d⁻¹ 和

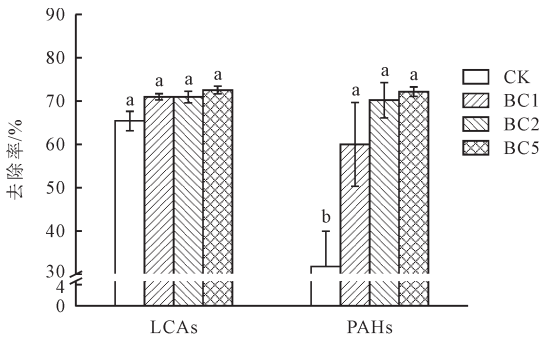


图2 实验84 d后, BC和CK处理组土壤LCAs和PAHs去除率变化
Fig.2 Removal efficiency of LCAs and PAHs in BC and CK treatments after 84 d incubation

经过 84 d 修复期后,施加质量分数为 1%、2% 和 5% 的生物炭处理组(BC1、BC2、BC5)土壤 LCAs 总浓度发生下降,分别下降至 2 372.96、2 376.03 和 2 244.88 mg/kg,去除率为 70.97%~72.53%,高于对照组的烷烃去除率 ($P>0.05$)。16 种 PAHs 总量也呈现下降趋势,分别降低至 18.87、14.06 和 12.47 mg/kg,去除率为 60.02%~72.16%,显著高于对照组的 PAHs

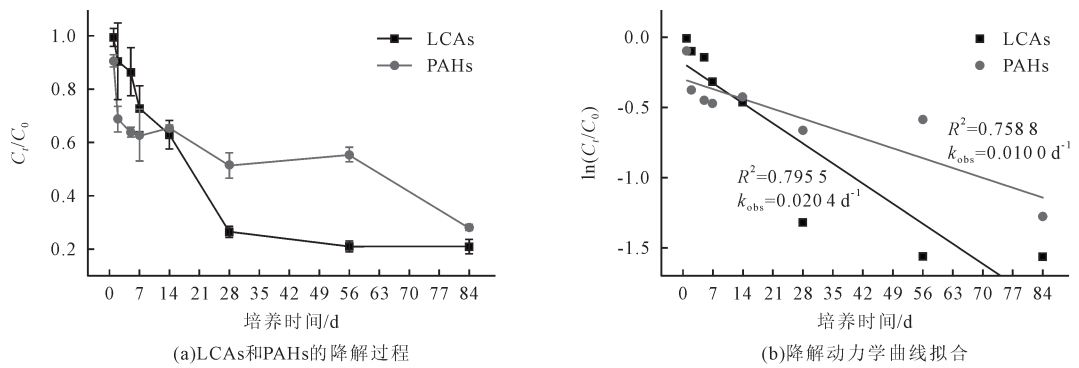


图3 BC5处理组土壤样品中LCAs和PAHs的降解过程和降解动力学曲线拟合
Fig.3 Degradation process and kinetics of the total contents for LCAs and PAHs in BC5 treatment

0.01 d⁻¹,半衰期分别为33.97 d和69.30 d(图3(b))。该结果与石丽芳等^[32]探究生物质炭对辽河油田石油污染土壤修复效果的结果一致,去除率随时间的变化差异被归因于石油烃不同组分的毒性与结构不同。

2.3 外源氮对石油烃的生物炭强化生物降解的影响

为进一步评价生物炭联合外源氮施用对土壤石油烃污染修复效果的影响,本研究对修复84 d后CK、BC和BC+N处理组石油烃去除率进行了比较,结果见表4。施加生物炭与外源氮的混合体系中,选择硝酸钠作为外源氮并调控土壤C/N为100/5,土壤石油烃污染修复效果最佳,LCAs和PAHs去除率分别为77.24%和59.76%。在最佳修复条件下,BC+N处理组中LCAs去除率高于CK($P<0.05$)和BC处理组($P>0.05$),然而PAHs去除率显著高于CK处理组($P<0.05$),却显著低于BC处理组($P<0.05$)。

表4 不同处理组石油烃的去除率
Table 4 Removal efficiencies of petroleum hydrocarbons in treatment CK, BC5 and BC5+N1

处理组	去除率/%		
	CK	BC5	BC5+N1
LCAs	65.43 b	72.53 ab	77.24 a
PAHs	31.81 c	72.16 a	59.76 b

注:BC5和BC5+N1中,BC质量分数均为5%,外源氮为硝酸钠,不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

生物炭联合外源氮施加对土壤石油烃作用效果产生差异,可能与外源氮类型和施加量、污染物理化性质、土壤环境因子、土壤微生物群落等相关。氮是微生物生长繁殖过程中遗传物质合成所必需的营养元素^[15]。本文目标场地石油污染土壤TN和TP较低(表1),可能会影响微生物的生长和繁殖,从而影响石油烃的生物降解效率。最佳修复条件下,BC+N处理组LCAs的去除效果最佳,可能是由于联合施加产生协同效应,既可以提供微生物生长所需的碳源和氮源,又通过改善土壤环境促进了微生物对石油烃的降解^[33]。多项研究发现相似结果,与仅使用生物炭或养分改良土壤相比,同时使用生物炭和养分改良土壤的碳氢化合物去除率更高^[14]。Wang等^[33]发现,同时添加

生物炭和无机养分(K_2HPO_4 和 $(NH_4)_2SO_4$)的土壤石油烃去除率比单独添加生物炭高出9.4%。Wei等^[9]研究生物炭配合氮施加对石油烃降解的影响也发现相似的研究结果。然而,本文所有BC+N处理组PAHs的去除效果均低于BC处理组,这可能与目标污染物理化性质相关。外源氮加入可能会与石油烃特别是PAHs在生物炭表面发生竞争性吸附^[28],降低PAHs的固定效果及其与土壤微生物的接触机会。

2.3.1 外源氮类型

选用质量分数为5%麦秆生物炭,添加硝酸钠、硫酸铵、尿素作为外源氮(BC5-N1,BC5+N2,BC5+N3),在不同土壤C/N(100/5、100/10、100/15)条件下,BC+N处理组土壤LCAs和PAHs的去除率见图4。结果表明,当土壤C/N保持不变时,施加不同外源氮处理组土壤中石油烃去除率呈现显著变化。土壤C/N为100/5和100/10时,添加硝酸钠和硫酸铵的处理组中土壤PAHs去除率为41.99%~59.76%,均高于尿素处理组(35.75%~36.88%)。而当土壤C/N为100/15时,尿素处理组土壤PAHs残留量急剧下降,去除率达到44.85%,显著高于2种无机氮源(硝酸钠和硫酸铵)处理组(分别为28.49%和35.76%, $P<0.05$)。对于LCAs而言,当土壤C/N为100/5,添加无机氮和有机氮处理组土壤LCAs去除率没有显著区别,介于72.55%~77.24%。随着土壤C/N降低,2组无机氮源处理组土壤中LCAs去除率急剧降低,显著低于尿素处理组($P<0.05$)。综上所述,外源氮类型显著影响石油烃的生物降解率。

硝酸钠和硫酸铵作为典型的无机氮,被认为是土壤微生物生长的主要营养源,但二者具有截然不同的特性,普遍认为土壤中的异养微生物更倾向于选择铵作为营养源^[34,35],进而可能促进石油烃矿化(图5①)。可能的原因在于以下两点:一方面,与硝态氮等其他形态的无机氮素相比,铵态氮以还原态存在于土壤中,在被微生物同化转化为氨基酸时消耗的能量较少,更容易被土壤微生物利用^[36]。Gao等^[37]通过运用

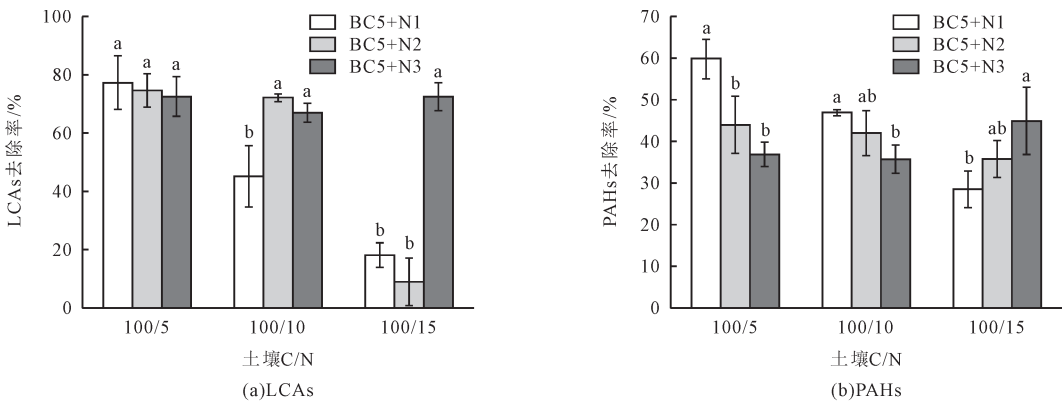


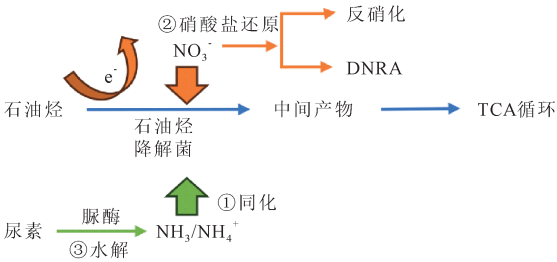
图4 实验84 d后, BC+N处理组土壤LCAs和PAHs去除率
Fig.4 Removal efficiencies of LCAs and PAHs in BC+N treatment after 84 d incubation

宏基因组学方法探究了外源氮施加对土壤石油烃降解的影响,提出土壤氮循环与石油烃降解互相耦合,其中关键通路为以铵作为底物转化形成谷氨酸再到谷氨酰胺,进而进入三羧酸(tricarboxylic acid, TCA)循环。另一方面,当土壤铵态氮浓度较高时,可能会对硝酸盐同化产生抑制作用^[36,38]。

然而,也有研究发现,相较于尿素、硫酸铵和硝酸钾,施加硝酸盐后土壤石油烃降解效果更佳^[39]。硝酸钠不仅可以作为土壤微生物生长的营养源,还可以促进微生物分泌表面活性剂^[40],提高土壤石油烃的生物可利用性。此外,本文研究对象滨海湿地盐碱土壤存在透气性差、易板结等特点,特别是石油污染进一步阻碍了土壤气体交流,使土壤环境特别是深层土壤形成厌氧环境。在此环境下,一些兼性或专性厌氧细菌能够与除氧气之外的电子受体耦合厌氧降解石油烃,如 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 Fe^{3+} 、 Mn^{4+} 、 CO_2 等^[41,42]。其中, NO_3^- 具有最大的氧化还原电位,夺取电子能力仅次于 O_2 ^[43,44]。越来越多的研究表明,厌氧条件下硝酸盐的加入可以促进硝酸盐还原菌通过硝酸盐还原通路耦合芳香族化合物降解^[45](图5②)。此外,硝酸盐还原功能微生物也被证实在石油烃降解过程中发挥着不可忽视的作用^[46]。因此,相较于铵氮,硝酸盐可能更有利于推动湿地土壤石油烃的生物修复进程,然而这一结论有待更多土壤微生物群落和功能相关研究数据的验证。

尿素属酰胺态氮肥,在脲酶的催化作用下会部分水解为 $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ 和碳酸^[47]。如上所述,这一部分铵态氮及其通过硝化作用产生的硝态氮能为大多数微生物的新陈代谢所直接利用,且可以通过氮同化作用或硝酸盐还原作用与石油烃进一步耦合(图5③)。然而当尿素施加量较低时(即土壤C/N为100/5或100/10),土壤中大量存在的生物炭因其强吸附性可能会降低土壤脲酶活性^[48],抑制土壤有机氮矿化作用,从而阻碍石油烃的生物降解进程。Luo等^[48]考察了花生壳生

物炭对黄河三角洲滨海湿地土壤有机氮矿化的影响,发现土壤的净氮累积矿化量发生显著降低。土壤脲酶活性下降被归因于以下三方面:(1)酶通过H键、阳离子交换作用吸附于生物炭表面,导致构象改变、活性位点减少。(2)生物炭对底物具有吸附作用,导致其难以被土壤酶所分解代谢。(3)生物炭施加引起土壤理化性质发生改变,可能会抑制酶反应。此外,尿素的水解产物属不稳定化合物,在一定条件下部分氮将会以氨气的形式逸散^[49]。



注: DNRA, 异化硝酸盐还原成铵; TCA循环, 三羧酸循环。

图5 外源氮转化耦合石油烃降解示意图

Fig.5 A conceptual schema of the potential coupling of nitrogen transformation to PHs degradation

2.3.2 土壤C/N

本研究中,生物炭联合无机氮处理组在土壤C/N为100/5时PAHs去除率最高,硝酸钠和硫酸铵处理组土壤PAHs去除率分别为59.80%和43.95%;随着土壤C/N逐渐降低,PAHs去除率呈现下降趋势。对于有机氮(尿素)处理组而言,PAHs去除率随尿素施加量的增加呈现上升趋势,去除率在土壤C/N为100/15时最高,达44.85%。无机氮处理组中LCAs残留量变化趋势与PAHs相似,即随着土壤C/N逐渐降低,LCAs去除率呈现下降趋势;而尿素处理组土壤LCAs残留量随着土壤C/N降低没有显著变化,去除率介于66.92%~72.55%(图4)。以上结果表明,土壤C/N对石油烃生物修复效果具有显著影响,生物炭联合无机氮处理在土壤C/N为100/5条件下石油烃去除效果最

佳,而生物炭联合有机氮(尿素)在土壤C/N为100/15条件下更具优势。

通过调整土壤营养物质比例提升微生物对有机污染物的降解效率,是目前针对有机污染土壤修复的一项非常实用的技术^[37]。在陆地生态系统中,土壤C/N一般介于8/1~15/1,而石油污染的土壤C/N较高,可达到20/1~60/1^[12]。本研究石油污染土壤C/N高达109.75(表1)。营养元素计量比与微生物生物量C/N/P的失衡反映了特定养分对微生物活性的限制^[17]。土壤C/N若达到不到微生物代谢所需比例,就会限制其代谢速度、制约石油烃降解。尽管有大量关于最佳土壤C/N的研究,但在石油污染土壤的生物修复过程中,由于地区差异、污染物类型、污染程度、氮素类型等因素的不同,最佳土壤C/N有很大的可变性^[51]。Gao等^[37]通过室内模拟实验,发现调节土壤C/N为100/7时有利于修复柴油污染(12 000 mg/kg)的沙质土壤。Yu等^[52]则发现在生物炭和氮素联合施加下,石油烃去除率在C/N为100/15时达到最高。

本研究结果表明,外源修复材料(如生物炭)和外源氮种类会影响石油烃生物降解的最佳土壤C/N。对于生物炭联合无机氮处理组,随着外源无机氮添加超量,可能会使土壤酸度有不同程度的增大,降低土壤微生物活性^[53],进而影响有机污染物的降解效率。相较于硫酸铵,生物炭联合硝酸钠处理组中土壤C/N对石油烃特别是PAHs去除率的影响更为显著。可能的原因在于,大量硝酸盐添加可能会导致土壤中亚硝酸盐的积累,对硝酸盐还原菌产生抑制作用^[54],进而影响土壤中石油烃降解率。此外,土壤C/N可能通过影响耦合石油烃降解的硝酸盐还原通路,进而影响石油烃降解作用。在土壤厌氧环境下,反硝化过程是硝酸盐还原的主要途径,然而硝酸盐也可在微生物介导下异化还原成铵(dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA)^[55,56]。DNRA与反硝化作为2个竞争性的硝酸盐还原过程,在土壤厌氧环境下同时存在。相较于反硝化过程生成N₂和N₂O增加氮损失风险,加剧温室效应, DNRA过程能够生成更易于被植物利用的NH₄⁺^[57]。研究发现,土壤溶解氧、碳源、氮源、土壤C/N、温度、pH值等都会不同程度地影响反硝化与DNRA过程之间的竞争,其中土壤氧化还原状态和C/N被认为是两大重要因素^[57]。前期研究也发现,石油污染土壤中石油烃降解与DNRA通路互相耦合,这被归因于高土壤C/N^[22]。本文BC+N处理组高土壤C/N(即土壤C/N为100/5或100/10)条件可能导致DNRA过程占优。理论上每摩尔NO₃⁻在DNRA过程中传递电子效率高于反硝化过程^[58],因此DNRA过程

占优可能更有利于推动土壤石油烃的降解。生物炭对尿素态氮具有吸附能力,这可能是高土壤C/N条件下石油烃去除率较低的原因。然而,随着尿素施加量增加,生物炭无法提供足够的吸附位点,可能会减缓其对土壤脲酶活性和脲酶底物的抑制作用,从而促进土壤石油烃的生物降解进程。

3 结论

(1)生物炭可有效提高土壤石油烃特别是PAHs的生物降解效率,这被归因于生物刺激作用。

(2)生物炭联合不同形态氮(BC+N)处理组中,石油烃在外源氮为硝酸钠、土壤C/N为100/5条件下修复效果最佳。其中,LCA s去除率高于CK和BC处理组,而PAHs去除率高于CK处理组,却低于BC处理组。生物炭和外源氮联合施用产生协同效应,进而强化LCA s生物降解效率。外源氮还可能与石油烃特别是PAHs产生竞争性吸附,导致PAHs去除率偏低。

(3)外源氮类型显著影响石油烃修复效果,其中生物炭联合硝酸钠处理组石油烃降解效果最佳。硝酸钠可以为土壤微生物提供营养源,促进微生物分泌表面活性剂,还可能通过硝酸盐还原通路耦合石油烃氧化,进而促进土壤石油烃的去除。这一结论有待更多土壤微生物群落和功能相关研究数据的验证。

(4)生物炭联合无机氮处理在土壤C/N为100/5条件下石油烃去除效果最佳,而生物炭联合有机氮(尿素)在土壤C/N为100/15条件下达到较好去除效果。可能的原因在于外源氮含量变化会影响土壤理化性质及氮转化通路,但该微生物学作用机制还需要进一步探究。

[参考文献]

[1] Zhou Q X, Sun F H, Liu R. Joint chemical flushing of soils contaminated with petroleum hydrocarbons[J]. Environment International, 2005,31(6):835-839.

[2] Ajona M, Vasanthi P. Bioremediation of petroleum contaminated soils: a review[J]. Materials Today :Proceedings, 2021, 45:7117-7122.

[3] 平立凤, 骆永明. 有机质对多环芳烃环境行为影响的研究进展[J]. 土壤, 2005,37(4):362-369.

 Ping Lifeng, Luo Yongming. Effects of organic matter on environmental behaviors of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Soils, 2005,37(4):362-369.

[4] Qin G, Gong D, Fan M Y. Bioremediation of petroleum-contaminated soil by biostimulation amended with biochar [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 85:150-155.

[5] Zhang H R, Tang J C, Wang L, et al. A novel bioremedia-

- tion strategy for petroleum hydrocarbon pollutants using salt tolerant *Corynebacterium variabile* HRJ4 and biochar[J]. Journal of Environmental Sciences, 2016,47:7-13.
- [6] Lehmann J, Rillig M C, Thies J, et al. Biochar effects on soil biota: a review[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011,43(9):1812-1836.
- [7] 孔露露,周启星. 生物炭输入土壤对其石油烃微生物降解力的影响[J]. 环境科学学报, 2016,36(11):4199-4207.
- Kong Lulu, Zhou Qixing. Effects of biochar input on biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2016,36(11):4199-4207.
- [8] Chaganti V N, Crohn D M. Evaluating the relative contribution of physiochemical and biological factors in ameliorating a saline-sodic soil amended with composts and biochar and leached with reclaimed water[J]. Geoderma, 2015,259:45-55.
- [9] 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.
- [10] Atlas R M, Hazen T C. Oil biodegradation and bioremediation: a tale of the two worst spills in US history[J]. Environmental Science and Technology, 2011,45(16):6709-6715.
- [11] 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.
- [12] Wang X Y, Feng J, Zhao J M. Effects of crude oil residuals on soil chemical properties in oil sites, Momoge Wetland, China[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2010,161(1):271-280.
- [13] García-Delgado C, Alfaro-Barta I, Eymar E. Combination of biochar amendment and mycoremediation for polycyclic aromatic hydrocarbons immobilization and biodegradation in creosote-contaminated soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2015,285:259-266.
- [14] Dike C C, Hakeem I G, Rani A, et al. The co-application of biochar with bioremediation for the removal of petroleum hydrocarbons from contaminated soil[J]. Science of the Total Environment, 2022,849:157753.
- [15] Liao X H, Zhao J, Yi Q, et al. Metagenomic insights into the effects of organic and inorganic agricultural managements on soil phosphorus cycling[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2023,343:108281.
- [16] Hoang S A, Sarkar B, Seshadri B, et al. Mitigation of petroleum-hydrocarbon-contaminated hazardous soils using organic amendments: a review[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,416:125702.
- [17] Li J, Sang C P, Yang J Y, et al. Stoichiometric imbalance and microbial community regulate microbial elements use efficiencies under nitrogen addition[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021,156:108207.
- [18] Gul S, Whalen J K. Biochemical cycling of nitrogen and phosphorus in biochar-amended soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016,103:1-15.
- [19] Kong L L, Gao Y Y, Zhou Q X, et al. Biochar accelerates PAHs biodegradation in petroleum-polluted soil by biostimulation strategy[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018,343:276-284.
- [20] Minasny B, McBratney A B, Wadoux A M J C, et al. Precocious 19th century soil carbon science[J]. Geoderma Regional, 2020,22:e00306.
- [21] Lou Y L, Xu M G, Chen X N, et al. Stratification of soil organic C, N and C:N ratio as affected by conservation tillage in two maize fields of China[J]. Catena, 2012,95:124-130.
- [22] Kong L L, Xu T B, Wang Z P, et al. Metagenomic analysis of petroleum biodegradation coupled to specific N-cycling process in oil-contaminated soil[J]. Applied Soil Ecology, 2024,193:105144.
- [23] 熊江磊,罗嘉豪,严群. 改性蓝藻生物炭促进生物电化学系统阴极氢自养反硝化过程研究[J]. 环境工程技术学报, 2022,12(5):1640-1646.
- Xiong Jianglei, Luo Jiahao, Yan Qun. Research on modified cyanobacterial biochar promoting cathodic hydrogen autotrophic denitrification in bioelectrochemical system[J]. Journal of Environmental Engineering Technology, 2022,12(5):1640-1646.
- [24] Zhao B, O'Connor D, Zhang J L, et al. Effect of pyrolysis temperature, heating rate, and residence time on rapeseed stem derived biochar[J]. Journal of Cleaner Production, 2018,174:977-987.
- [25] Xiao X, Chen B L, Zhu L Z. Transformation, morphology, and dissolution of silicon and carbon in rice straw-derived biochars under different pyrolytic temperatures[J]. Environmental Science and Technology, 2014,48(6):3411-3419.
- [26] Hu X H, Xu J Y, Wu M S, et al. Effects of biomass pre-pyrolysis and pyrolysis temperature on magnetic biochar properties[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2017,127:196-202.
- [27] Pignatello J J, Xing B S. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles[J]. Environmental Science and Technology, 1996,30(1):1-11.
- [28] 孔露露,周启星. 新制备生物炭的特性表征及其对石油烃污染土壤的吸附效果[J]. 环境工程学报, 2015,9(5):2462-

- 2468.
- Kong Lulu, Zhou Qixing. Characterization of new-prepared biochars and their adsorption effectiveness on petroleum hydrocarbon contaminated soil[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2015,9(5):2462-2468.
- [29] Uchimiya M, Lima I M, Klasson K T, et al. Contaminant immobilization and nutrient release by biochar soil amendment: roles of natural organic matter[J]. Chemosphere, 2010,80(8): 935-940.
- [30] Mukome F N D, Buelow M C, Shang J T, et al. Biochar amendment as a remediation strategy for surface soils impacted by crude oil[J]. Environmental Pollution, 2020,265: 115006.
- [31] 邵翼飞,张鹏,刘爱菊. 生物炭对噻虫胺在土壤中吸附和降解的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019,38(11):2520-2527.
- Shao Yifei, Zhang Peng, Liu Aiju. Effects of biochar on the adsorption and degradation of clothianidin in soil[J]. Journal of Agro-environment Science, 2019,38(11):2520-2527.
- [32] 石丽芳,李法云,王艳杰,等. 不同生物炭对辽河油田石油污染土壤总烃及各组分修复效果研究[J]. 生态环境学报, 2019,28(1):199-206.
- Shi Lifang, Li Fayun, Wang Yanjie, et al. Removal of total petroleum hydrocarbons and specific components by various biochars in petroleum contaminated soil from Liaohe oilfield [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2019,28(1): 199-206.
- [33] Wang Y J, Li F Y, Rong X M, et al. Remediation of petroleum-contaminated soil using bulrush straw powder, biochar and nutrients[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2017,98(5):690-697.
- [34] Myrold D D, Posavatz N R. Potential importance of bacteria and fungi in nitrate assimilation in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007,39(7):1737-1743.
- [35] Urakawa H, Rajan S, Feeney M E, et al. Ecological response of nitrification to oil spills and its impact on the nitrogen cycle[J]. Environmental Microbiology, 2019,21(1):18-33.
- [36] Murphy D V, Recous S, Stockdale E A, et al. Gross nitrogen fluxes in soil: theory measurement and application of ^{15}N pool dilution techniques[J]. Advances in Agronomy, 2003, 79:69-118.
- [37] Gao Y C, Du J H, Bahar M M, et al. Metagenomics analysis identifies nitrogen metabolic pathway in bioremediation of diesel contaminated soil[J]. Chemosphere, 2021,271:129566.
- [38] Romero C M, Engel R, Chen C C, et al. Microbial immobilization of nitrogen- 15 labelled ammonium and nitrate in an agricultural soil[J]. Soil Science Society of America Journal, 2015,79(2):595-602.
- [39] 兰贵红,杜娇,孟广伟,等. 不同氮源和改良剂对石油污染土壤的微生物修复研究[J]. 环境工程, 2018.
- Lan Guihong, Du Jiao, Meng Guangwei, et al. Study on bioremediation of oil-contaminated soils with different nitrogen sources and modifiers[J]. Environmental Engineering, 2018, 36: 272-275.
- [40] Varjani S J, Upasani V N. A new look on factors affecting microbial degradation of petroleum hydrocarbon pollutants [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, 120:71-83.
- [41] Chakraborty R, Coates J D. Anaerobic degradation of monoaromatic hydrocarbons[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004,64(4):437-446.
- [42] 黎霞,承磊,邓宇,等. 石油烃厌氧生物降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2008,14(2):283-289.
- Li Xia, Cheng Lei, Deng Yu, et al. Advances in anaerobic biodegradation of hydrocarbon[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2008,14(2):283-289.
- [43] 钱柚粉,邓通初,陈乐天,等. 水体沉积物中微生物厌氧呼吸耦合多环芳烃降解的研究进展[J]. 微生物学通报, 2019,46(1):162-171.
- Qian Youfen, Deng Tongchu, Chen Letian, et al. Progress in microbial anaerobic respiration coupling degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aquatic sediment[J]. Microbiology China, 2019,46(1):162-171.
- [44] Lu X Y, Zhang T, Fang H H. Bacteria-mediated PAH degradation in soil and sediment[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011,89(5):1357-1371.
- [45] Dou J F, Liu X, Ding A Z. Anaerobic degradation of naphthalene by the mixed bacteria under nitrate reducing conditions[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009,165(1/2/3): 325-331.
- [46] Ribeiro H, de Sousa T, Santos J P, et al. Potential of dissimilatory nitrate reduction pathways in polycyclic aromatic hydrocarbon degradation[J]. Chemosphere, 2018,199:54-67.
- [47] Sigurdarson J J, Svane S, Karring H. The molecular processes of urea hydrolysis in relation to ammonia emissions from agriculture[J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2018,17(2):241-258.
- [48] Luo X X, Chen L, Zheng H, et al. Biochar addition reduced net N mineralization of a coastal wetland soil in the Yellow River Delta, China[J]. Geoderma, 2016,282:120-128.
- [49] 叶茜琼,吴蔓莉,陈凯丽,等. 微生物修复油污土壤过程中氮素的变化及菌群生态效应[J]. 环境科学, 2017,38(2):728-734.
- Ye Qianqiong, Wu Manli, Chen Kaili, et al. Impacts of bio-

remediation on microbial communities and different forms of nitrogen in petroleum contaminated soil [J]. Environmental Science, 2017,38(2):728-734.

[50] Chapin F Stuart, Matson Pamela A, Vitousek Peter M. Nutrient Cycling[M]. New York:Springer New York, 2011.

[51] 刘五星,骆永明,滕应,等. 石油污染土壤的生物修复研究进展[J]. 土壤, 2006,38(5):634-639.

Liu Wuxing, Luo Yongming, Teng Ying, et al. Advances in bioremediation of petroleum contaminated soil[J]. Soils, 2006, 38(5):634-639.

[52] Yu W H, Zheng J, Song Q W, et al. Bio-char influenced indigenous microbial stimulation for oil contaminated soil remediation in northwest China[J]. Petroleum Science and Technology, 2019,37(11):1338-1345.

[53] 汪吉东,许仙菊,宁运旺,等. 土壤加速酸化的主要农业驱动因素研究进展[J]. 土壤, 2015,47(4):627-633.

Wang Jidong, Xu Xianju, Ning Yunwang, et al. Progresses in agricultural driving factors on accelerated acidification of soils[J]. Soils, 2015,47(4):627-633.

[54] Zhou N, Yang Z Y, Zhang J, et al. The negative effects of the excessive nitrite accumulation raised by anaerobic bio-augmentation on bioremediation of PAH-contaminated soil [J]. Bioresource Technology, 2024,393:130090.

[55] 万雨轩,王鑫. 废水处理中异化硝酸盐还原为铵的研究进展[J]. 土木与环境工程学报(中英文), 2021,43(6):134-144.

Wan Yuxuan, Wang Xin. Research progress of dissimilatory nitrate reduction to ammonium in wastewater treatment [J]. Journal of Civil and Environmental Engineering, 2021,43(6): 134-144.

[56] 贺纪正,张丽梅. 土壤氮素转化的关键微生物过程及机制[J]. 微生物学通报, 2013,40(1):98-108.

He Jizheng, Zhang Limei. Key processes and microbial mechanisms of soil nitrogen transformation[J]. Microbiology China, 2013,40(1):98-108.

[57] Pandey C B, Kumar U, Kaviraj M, et al. DNRA : a short-circuit in biological N-cycling to conserve nitrogen in terrestrial ecosystems[J]. Science of the Total Environment, 2020, 738:139710.

[58] Kraft B, Tegetmeyer H E, Sharma R, et al. Nitrogen cycling. The environmental controls that govern the end product of bacterial nitrate respiration[J]. Science, 2014, 345(6197): 676-679.