



文章栏目：土壤污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.202303121 中图分类号 X53 文献标识码 A

张婉莹, 朱清禾, 杨洁. 强化氧化后污染源浅层地下水中氯苯类污染物的自然衰减与微生物群落演化[J]. 环境工程学报, 2023, 17(8): 2674-2683. [ZHANG Wanying, ZHU Qinghe, YANG Jie. Natural attenuation and microbial community evolution of chlorobenzene pollutants in shallow groundwater after enhanced oxidation[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2023, 17(8): 2674-2683.]

强化氧化后污染源浅层地下水中氯苯类污染物的自然衰减与微生物群落演化

张婉莹^{1,2}, 朱清禾^{1,2}, 杨洁^{1,2,✉}

1. 上海市环境科学研究院, 上海 200233; 2. 国家环境保护城市土壤污染控制与修复工程技术中心, 上海 200233

摘 要 监控自然衰减技术通常与其他地下水修复技术联用, 以降低修复成本、减少环境影响, 目前该技术在氯苯类污染地块的实践应用案例存在空白, 其效果及作用机制尚不明确。以原位臭氧氧化和化学氧化中试后的氯苯类污染地块为研究对象, 从实际工程案例的角度, 监测强化氧化措施后 2 年内的氯苯类化合物的降解速率、细菌组成, 评价不同修复措施后污染物自然衰减能力、探讨作用机制。结果显示, 经过 727 d 的自然衰减, 1,2-二氯苯和 1,4-二氯苯在臭氧氧化区和化学氧化区中的降解率都超过了 90%。臭氧氧化区地下水中 1,2-二氯苯和 1,4-二氯苯的一阶降解速率常数分别为 0.0052 d^{-1} ($R^2=0.857$) 和 0.0060 d^{-1} ($R^2=0.967$); 化学氧化区地下水中污染物质量浓度在 416 d 后出现回升, 不符合一阶衰减模型。细菌 16S rRNA 的高通量分析表明, 臭氧和过硫酸钠氧化改变了地下水中细菌群落结构, 在自然衰减过程中细菌群落结构逐渐恢复, 环境因子 S^{2-} 、ORP 和 pH 值与细菌群落结构显著相关。本地块 2 个区域中试后 416 d 内都以化学氧化和微生物好氧降解为主, 后向微生物厌氧降解转变。本研究可为氯苯类污染地下水修复工程的绿色高效实施提供参考。

关键词 氯苯类污染地块; 地下水修复; 自然衰减; 臭氧氧化; 化学氧化

氯苯类有机化合物是染料、农药、医药等行业中广泛应用的原料和有机溶剂, 也是产品合成的中间体, 已经成为我国化工场地常见的污染物之一^[1-2]。氯苯类化合物作为典型的重质非水相液体 (Dense Non-Aqueous Phase Liquids, DNAPLs), 进入土壤及地下水后, 易在重力作用下向深层地下水迁移并累积^[3], 因其毒性大, 化学性质稳定, 难降解, 早在 1990 年, 氯苯、1,2-二氯苯、1,4-二氯苯、和六氯苯已经被我国列入水中优先控制污染物^[4]。

目前针对土壤和地下水中氯苯类污染物的常用修复方法有化学氧化技术、热脱附技术和生物修复技术^[5]。活化过硫酸盐技术是目前修复氯苯类污染地下水最常用的技术, 其中包括热活化过硫酸盐、亚铁离子活化过硫酸盐^[6-7]。原位氧化等措施会改变原生土壤性质、微生物群落结构等, 甚至有可能产生有毒副产物^[8]。因此, 为了降低修复成本及环境影响, 对暂不利用开发地块的修复, 监控自然衰减 (monitored natural attenuation, MNA) 技术通常与其他修复技术联合使用。MNA 是一种成本低、对地块环境扰动小的被动修复技术, 主要通过原地块的微生物降解作用、稀释作用、吸附作用、蒸发作用和化学反应作用对污染物进行去除^[9-10]。

美国超级基金场地修复报告统计结果显示, 1990 年地下水修复案例中 MNA 的应用低于 10%, 1995 年增长至 30% 左右, 2012 至 2014 年该技术的应用比例进一步增加至 33%, 2015 至 2017 年

收稿日期: 2023-03-21; 录用日期: 2023-07-19

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2019YFC1805700, 2019YFC1805702); 上海市环境科学研究院青年创新基金 (CX2021140324)

第一作者: 张婉莹 (1994—), 女, 硕士, 工程师, zhangwanying94@sina.com; ✉通信作者: 杨洁 (1979—), 男, 博士, 正高级工程师, yangj@saes.sh.cn

MNA 占比为 20%, 2018 至 2020 年 MNA 占比为 31%^[11]。南京市六合区某工业污染场地 2012 年至 2016 年监测了场地内 1,2,4-三氯苯的脱氯转化, 初步探索了由 *Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 引导的降解机制^[12]。江苏某化工场地 2016 年至 2021 年监测了场地内氯代烃的自然衰减, 揭示了污染物的时空特征和不同区域微生物群落结构变化及其制约因素^[13-14]。国内该技术起步较晚, 监测时间较短, 应用案例较少, 且多用于氯代烃、石油烃、苯系物污染场地污染物质量浓度变化监测^[15-19]。针对氯苯类污染地块自然衰减机制及其影响因素, 目前研究还存在空白。

本研究以上海市某化工污染地块修复中试工程结束后 2 年的自然衰减监测为基础, 从时间角度出发, 探索 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的降解速率。通过典型地球化学指标的变化, 讨论其与地块微生物降解能力的关系, 对比不同时间地下水细菌多样性, 探讨其中可能存在的自然衰减规律和微生物群落结构变化的环境影响因素。

1 材料与方法

1.1 地块概述

本研究地块位于上海市奉贤区, 占地面积约为 16 500 m², 该地块化工企业生产历史长达 20 年, 2009 年原厂搬迁、拆除, 后地块闲置。经前期土壤和地下水污染状况调查和风险评估, 地下水污染严重, 主要污染物为 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯, 最大检出质量浓度分别为 41 300 和 9 050 μg·L⁻¹ (W2 地下水监测点), 对比《地下水质量标准》(GB/T 14848-2017) 中 IV 类标准^[20], 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯最大超标倍数分别为 20.65 倍和 15.08 倍。采用 kriging 插值法绘制的地下水污染合并范围见图 1。

地块地层从上至下分别为杂填土 (厚度约 1.5 m)、吹填土 (厚度约 1.2 m)、粘质粉土 (厚度约 10.0 m)、淤泥质粘土 (厚度约 3.8 m)、粘土 (未穿透), 地下水稳定水位埋深为 0.6~1.3 m, 流向自北向南, 水力坡度约为 0.6%。研究地区地下水最高水位一般发生在每年 11 月至次年 3 月, 地表易形成多个沼泽水洼, 最低水位一般发生在每年 6 月至 8 月, 地表沼泽水洼都已干涸。

在地下水中氯苯类污染物质量浓度较低的区域进行电解臭氧氧化中试, 监测较低浓度的 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯 (W1 监测点原始质量浓度分别为 1 350 和 497 μg·L⁻¹) 的变化情况。通过电极井 D1 制造的臭氧氧化污染物, 臭氧电极共运行 10 d, 中试结束时 W1 地下水监测点的 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯质量浓度分别为 354 和 148 μg·L⁻¹。

选择 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯污染质量浓度最高的区域于 2021 年 12 月底开展原位化学氧化中试 (W2 监测点 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的原始质量浓度分别为 9.1、41.3 mg·L⁻¹), 在药剂注入点 Z1 注入了 700 L 3% 的七水硫酸亚铁溶液和 1 400 L 10% 的过硫酸钠溶液。中试运行结束时 W2 地下水监测点的 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯质量浓度分别为 12 425 和 3 015 μg·L⁻¹。

1.2 地下水样品采集

在中试开始前和结束后的当天 (第 0 天)、第 290 天、第 416 天、第 529 天、第 652 天、第 727 天分别在 W1 和 W2 地下水监测井 (地下 6 m) 采样, 地下水样品采集时避开降雨天气, 建井及采样方法满足《地下水环境监测技术规范》(HJ/T 164-2020) 中的相关要求^[21]。

在中试开始前和结束后的第 416 天、第 529 天、第 652 天、第 727 天, 在现场对 W1 和 W2 监

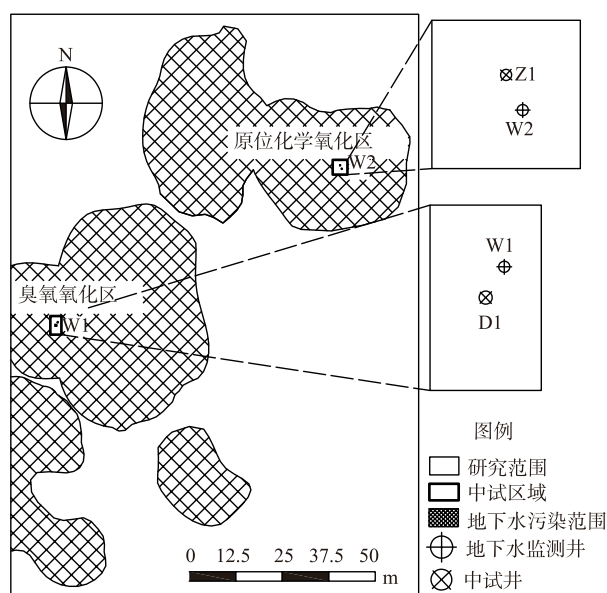


图 1 本研究场地地下水监测井分布图

Fig. 1 Groundwater monitoring well distribution map of this study site

测井分别采样,使用抽滤瓶将约1 L地下水微生物富集到0.22 μm 的滤膜上,每个样品2个平行,采集后立刻将滤膜用干冰保存送至商业实验室进行测序分析。

在地块周边选取了1个未受污染的对照点CK,采集地下水样品分析其中的污染物含量及微生物种类。

1.3 地下水样品分析测试和环境微生物多样性测序

地下水中的1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的分析测试参照《水质 挥发性有机物的测定 吹扫捕集气相色谱-质谱法》(HJ 639-2012)测定^[22]。参照国家相关测试方法对典型地球化学指标进行测定,包括pH值、氧化还原电位(ORP)、温度、总有机碳(TOC)、溶解氧(DO)、碱度、 CO_2 、 NO_3^- 、 Fe^{2+} 、 SO_4^{2-} 、 S^{2-} 、 Cl^- 等。环境微生物多样性测序方法见参考文献^[23-24]。

1.4 数据分析

使用fastp(version 0.19.6)进行质控,FLASH(version 1.2.11)软件进行pair-end双端序列拼接,剔除嵌合体并根据97%的相似度对拼接后的序列划分操作分类单元OTU(Operational taxonomic unit)。为了尽量减少测序深度对后续Alpha多样性和Beta多样性数据分析的影响,将所有样本序列数抽平至20306,抽平后,每个样本的平均序列覆盖率仍可达98.3%。利用R语言(version 3.3.1)软件进行群落组成分析、主坐标分析(PCoA)和冗余分析(RDA),群落组成组间差异性检验分析方法采用One-way ANOVA。使用BugBase表型预测进行16S rRNA功能预测分析。细菌多样性数据分析在majorbio平台(<http://www.majorbio.com/>)进行操作。

2 结果与讨论

2.1 地下水中氯苯类污染物随时间变化特征

中试开始之前、中试结束的当天(第0天)、第290天、第416天、第529天、第652天、第727天,臭氧氧化和原位化学氧化区地下水监测井中1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的质量浓度变化见图2(a)。臭氧氧化阶段1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的去除率分别为73.8%和70.2%,过硫酸盐氧化阶段1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的去除率分别为65.9%和70%。臭氧氧化过程主要由产生的羟基自由基氧化1,2-二氯苯、1,4-二氯苯^[25-26],而过硫酸盐降解污染物由活化产生的硫酸根自由基作为氧化剂,其氧化能力与羟基自由基等同但稳定性大于羟基自由基,氧化能力羟基自由基($E^0 = 2.7 \sim 2.8 \text{ V}$) $\approx$ 硫酸根自由基($E^0 = 2.6 \text{ V}$) $>$ 过硫酸根离子($E^0 = 2.1 \text{ V}$) $\approx$ 臭氧($E^0 = 2.07 \text{ V}$)^[27]。

在自然衰减阶段,整体上污染物质量浓度都呈现下降趋势,到中试后727 d,化学氧化区域1,2-二氯苯、1,4-二氯苯质量浓度降至1 000、286 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,臭氧氧化区1,2-二氯苯和1,4-二氯苯质量浓度降至14.1、2.6 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,臭氧氧化区中试后727 d的自然降解率分别为96.02%和98.24%,高于化学氧化区的91.95%和90.51%。原位化学氧化区W2监测井地下水中1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的初始

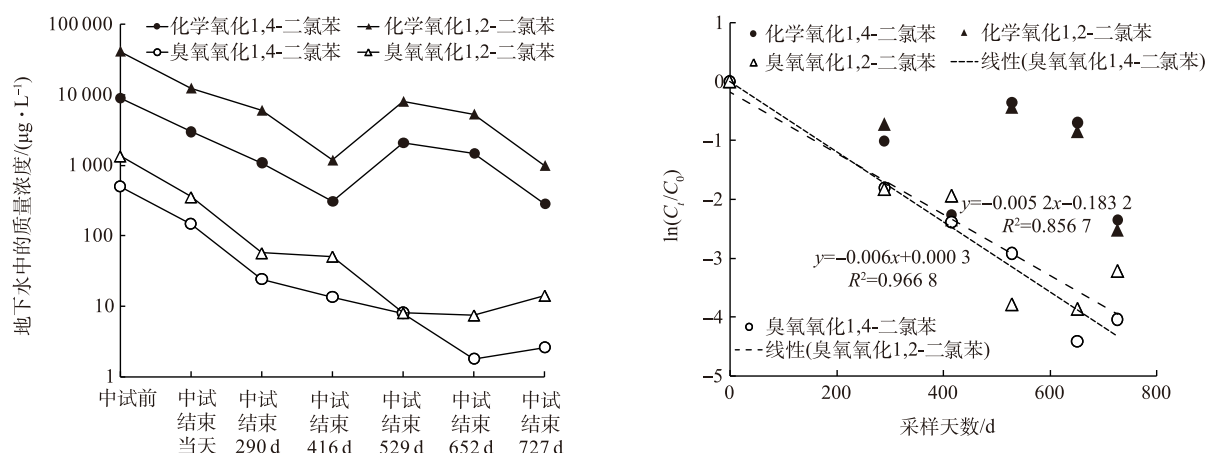


图2 臭氧氧化和化学氧化区中1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的质量浓度变化

Fig. 2 Time series concentrations of 1, 2-dichlorobenzene and 1, 4-dichlorobenzene in ozone oxidation or chemical oxidation zone

质量浓度较高，第 290 天、第 416 天监测数据持续下降，416 d 后质量浓度出现回升，可能与监测井周边高浓度污染物的回流有关(表 1)。臭氧氧化地块污染物自然衰减优于化学氧化地块，一方面，臭氧氧化区的污染物浓度低于化学氧化区，对于降解微生物的抑制作用较弱^[28]，更有利于污染物的去除；另一方面，化学氧化区的污染物浓度出现回升现象，可能与地块水文或地质情况相关^[29]，在 416 d 时，化学氧化区污染物的自然降解率可达 90%。

表 1 地下水中典型地球化学指标表
Table 1 Typical geochemical indexes in groundwater

样品 编号	NO ₃ ⁻ / (mg·L ⁻¹)	Fe ²⁺ / (mg·L ⁻¹)	SO ₄ ²⁻ / (mg·L ⁻¹)	S ²⁻ / (mg·L ⁻¹)	ORP/ mV	pH 值	TOC/ (mg·L ⁻¹)	CO ₂ / (mg·L ⁻¹)	DO/ (mg·L ⁻¹)	碱度/ (mg·L ⁻¹)	Cl ⁻ / (mg·L ⁻¹)	温度/ ℃
CK	10.6	<0.010	1 400	0.09	-131.4	6.8	41	113.8	<0.20	241	586.2	25.5
w1_ck	6.12	<0.010	442	8.8	-44.4	6.8	21.8	109.8	<0.20	386	49	24.6
w1_529d	<0.05	0.283	204	59.6	-350.4	8.4	492	118.2	<0.20	275	37.6	26.5
w1_652d	4.06	0.194	243	0.01	-251.6	8.2	212	<4.0	1.45	134.3	145.4	21.5
w1_727d	0.56	2.16	697	0.502	-157.1	7.5	124	47.4	1.89	93	221.5	13.7
w2_ck	5.58	<0.010	74.3	0.21	3.3	7	138	145.3	<0.20	454	43	25.7
w2_529d	9.6	0.095	406	53.9	-268.3	8.2	42.4	21.9	<0.20	210	379.7	25.6
w2_652d	0.78	0.728	634	<0.01	-97.1	7.6	25.6	<4.0	2.08	177.8	205.3	21.4
W2_727d	1.59	2.52	1 540	1.04	-79.9	7.2	15.9	84.6	3.5	486	149.1	11

在中试结束后的 727 d 内，臭氧氧化区中 1,2-二氯苯、1,4-二氯苯的质量浓度呈现持续下降趋势，符合一阶衰减模型^[30](图 2(b))。

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

(1)

式中： k 为有机物的降解速率常数， d^{-1} ； C_0 为有机物的初始质量浓度， $\mu g \cdot L^{-1}$ ； C_t 为有机物衰减后的质量浓度， $\mu g \cdot L^{-1}$ ； t 为降解时间， d 。

臭氧氧化区中 1,2-二氯苯的一阶降解速率常数为 $0.005\ 2\ d^{-1}$ ($R^2=0.857$)，1,4-二氯苯的一阶降解速率常数为 $0.006\ 0\ d^{-1}$ ($R^2=0.967$)。李岩云^[31]计算出在实验室条件下原状土介质中氯苯的降解速率常数为 $0.081\ d^{-1}$ ，且证明土壤介质的存在会加快氯苯降解速率。实验室柱迁移试验计算得到的 1,2,4-三氯苯的一阶降解速率常数为 $0.001\ 925\ d^{-1}$ ^[32]。江苏某农药污染场地原位化学氧化后 5 年自然衰减监测得到，浅层地下水中四氯化碳和氯仿的降解速率常数分别为 0.002 和 $0.001\ 3\ d^{-1}$ ^[34]，与本研究中得到一阶降解速率常数数量级相当。地层条件与地球物理化学性质对污染物衰减速率的影响很大，然而目前地下水氯苯类污染物的自然衰减数据仍然缺乏^[31,33]。

2.2 地下水中氯苯类污染物生物降解能力评价

本研究地块中试前后的地下水中典型地球化学指标监测数据见表 1，微生物降解能力得分见表 2，评价方法参考美国环保署制定的标准^[34]。根据标准，6~14 分为微生物降解证据有限，15~20 为微生物降解证据充足。w1-ck 和 w2-ck 代表了中试开始前污染地块样品，中试前的地下水微生物降解能力得分 11~14，其生物降解能力低于中试后 529 d 的地下水，臭氧氧化区和化学氧化区得分都是 17。

一方面，这与其注入的药剂改变了土壤和地下水的地球化学特性有关，中试后 529 d 地下水中硫离子的质量浓度由 $0.21\sim8.8\ mg \cdot L^{-1}$ 上升到 $53.9\sim59.6\ mg \cdot L^{-1}$ 。原位化学氧化中试后地下水中 SO_4^{2-} 和 S^{2-} 质量浓度都显著升高，注入的硫酸亚铁和过硫酸钠在降解污染物的过程中被还原为硫化物。臭氧氧化中试也会使地下水中原有的 SO_4^{2-} 作为电子受体被还原， SO_4^{2-} 质量浓度由 442 下降至 $204\ mg \cdot L^{-1}$ ，同时 S^{2-} 质量浓度由 8.8 上升至 $59.6\ mg \cdot L^{-1}$ 。与石油烃污染场地自然衰减监测发现

表 2 地下水生物降解能力得分表
Table 2 Biodegradability scores in groundwater

样品 编号	分项指标得分												生物降解 能力得分*
	NO ₃ ⁻	Fe ²⁺	SO ₄ ²⁻	S ²⁻	ORP	pH值	TOC	CO ₂	DO	碱度	Cl ⁻	温度	
w1_ck	0	0	0	3	1	0	2	0	3	0	0	1	14
w1_529d	2	0	0	3	2	0	2	0	3	0	0	1	17
w1_652d	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	2	1	11
w1_727d	2	3	0	0	2	0	2	0	0	0	2	0	15
w2_ck	0	0	0	0	1	0	2	0	3	0	0	1	11
w2_529d	0	0	0	3	2	0	2	0	3	0	2	1	17
w2_652d	2	0	0	0	1	0	2	0	0	0	2	1	8
w2_727d	0	3	0	3	1	0	0	0	0	0	2	0	13

注：*参考EPA评分方法^[33]，因本地块关注污染物为氯苯类，挥发性脂肪酸和苯系物浓度指标都满足得分要求，统一总分加4，在此不单列。

SO₄²⁻、Fe (III) 和 NO₃⁻都发生还原现象不同^[35]，本地块中试后 727 d，SO₄²⁻浓度升高，S²⁻浓度下降，Fe²⁺浓度升高。地下水中的 DO 质量浓度在 529 d 内一直<0.20 mg·L⁻¹，后升高，ORP 由中试前的-44.4~3.3 mV 先降低至-350.4~-268.3 mV 后升高，这也与氯代烷烃类污染场地的自然衰减一直维持厌氧还原状态不同^[14,36]。

另一方面，中试注入的药剂可以强化刺激微生物生长，增强对污染物的降解^[37]。硫酸亚铁、过硫酸钠和臭氧使低氯代苯氧化开环，中间产物自由基为土著微生物降解提供了电子供体，促进微生物共代谢降解和还原脱氯代谢^[31,38]。污染物自然衰减前的强化氧化虽然会使土著微生物暂时性的减少，但微生物的数量和降解能力能逐渐恢复^[37]。相反，强化氧化对后续微生物的降解有着促进作用，其不但可以降低污染物对微生物的毒性，还可以提高污染物的生物可利用性，产生生物可利用和可降解的氧化产物，给污染物的好氧生物代谢提供氧气^[39]。

2.3 地下水中细菌组成及多样性

门分类水平下的微生物群落结构构成如图 3 (a) 所示，细菌 OTU 分配为 67 个门，193 个纲，1637 个属。在自然衰减的 652 d 内，相对丰度较高的变形菌门 Proteobacteria、厚壁菌门 Firmicutes 在臭氧氧化区随时间呈现增加趋势，在化学氧化区变化无规律，可能与药剂的注入和污染物浓度的回升有关。

常见的有机物脱氯降解菌的相对丰度变化如图 3 (b) 所示，本研究选取的 11 种有机物脱氯降解

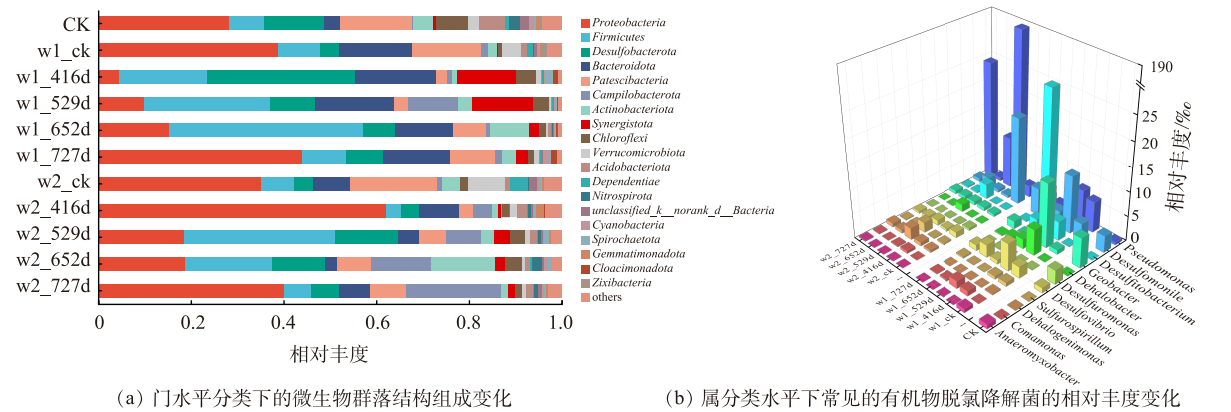


图 3 地下水中的微生物群落结构组成变化
Fig. 3 Changes in microbial community structure in groundwater

菌参考以往文献^[13,31]。中试后臭氧氧化区的常见有机物脱氯降解菌 *Comamonas*、*Desulfovibrio*、*Dehalobacter*、*Geobacter*、*Desulfitobacterium*、*Desulfomonile* 的相对丰度从 0~3.27‰ 达到最高时的 28.98‰，且相对丰度的最高值大部分出现在中试后 416 d 时；中试后化学氧化区的 *Dehalogenimonas*、*Sulfurospirillum*、*Desulfitobacterium*、*Desulfomonile*、*Pseudomonas* 的相对丰度从 0.02~18.07‰ 达到最高时 189.08‰，且最高相对丰度大部分出现在中试后 416 d 和 529 d 时。化学氧化区的 *Pseudomonas* 的相对丰度在中试后 416 d 增加了 80 倍，*Desulfitobacterium* 的相对丰度在中试后 529 d 增加了 391 倍，本研究地块可能的降解优势菌属在化学氧化中试后的自然过程中从 *Desulfomonile* 转变为 *Pseudomonas*。与化学氧化区相比，臭氧氧化区降解菌群的增长趋势更为均匀，可能的降解优势菌属从 416 d 的 *Geobacter*、*Desulfomonile* 和 *Pseudomonas* 转变为 *Desulfitobacterium* 再到 *Desulfomonile*。此外，*Pseudomonas* sp. P51、*Burkholderia* sp. JS150、*Ralstonia* sp. JS705、*Pseudomonas putida*、*Escherichia hermanii* 等在自然界中被发现可以降解低氯代苯^[40-42]。

OTU 水平下的微生物群落主坐标分析见图 4，PC1、PC2 (图 4 (a))、PC3 (图 4 (b)) 贡献率分别为 22.6%、16.61% 和 10.17%。通过 Bray-Curtis 距离算法，得到臭氧氧化区的 w1-416d、w1-529d、w1-652d、w1-727d 与无污染区域 CK 的距离分别为 0.913 ± 0.013 、 0.883 ± 0.009 、 0.892 ± 0.006 、 0.872 ± 0.004 ，化学氧化区的 w2-416d、w2-529d、w2-652d、w2-727d 与 CK 的距离分别为 0.830 ± 0.029 、 0.820 ± 0.018 、 0.813 ± 0.012 、 0.817 ± 0.008 。臭氧氧化区相较于无污染对照组的距离随着时间推移呈现显著缩小趋势，而化学氧化区变化趋势较小。对比中试实施前 w1-ck、w2-ck 与 CK 的距离 (分别为 0.827 ± 0.012 和 0.801 ± 0.020)，说明中试的实施加剧了地下水中微生物群落结构的变化，在中试后群落结构逐渐恢复。

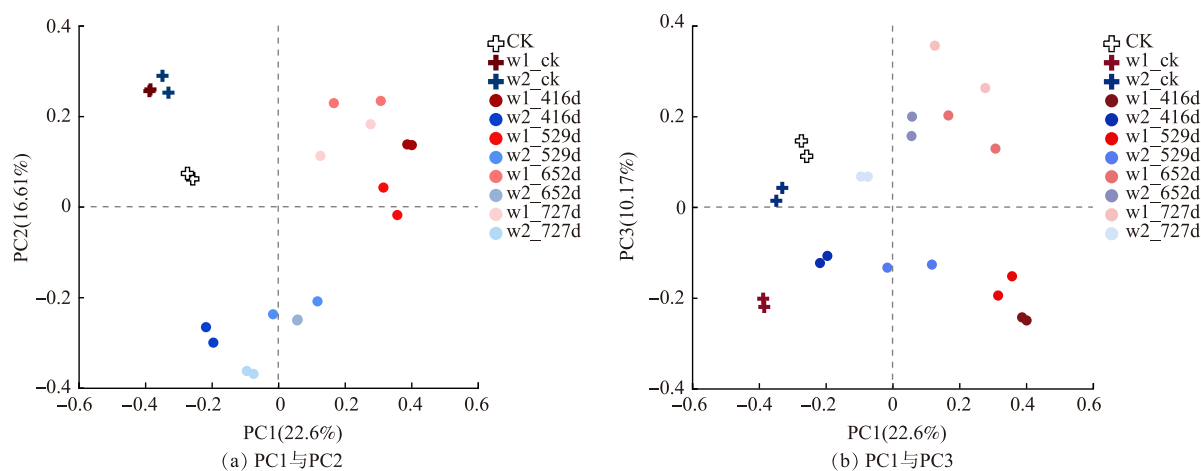


图 4 地下水中微生物 OTU 水平下主坐标分析 (PCoA, Bray-Curtis 距离算法)

Fig. 4 Principal coordinate analysis (PCoA) based on Bray-Curtis dissimilarity between groundwater samples

地下水中细菌的多样性统计结果见表 3。对比中试修复前和中试后的数据，2 个区域中试后 416 d 的 Sobs 指数 (观测到的 OTU 数)、群落多样性指数 Shannon 指数、群落丰富度指数 Chao1 指数、ACE 指数都比中试前高，最接近未污染区域，416 d 后数据有所回落。其中臭氧氧化区的 Sobs 指数、Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数在 529 d 时对比中试前都显著降低；化学氧化区的样品 Sobs 指数、Shannon 指数、ACE 指数和 Chao1 指数在中试后 727 d 的数据都显著高于中试前。研究结果说明中试的实施有利于该污染区域微生物群落多样性的恢复，但在 416 d 后的自然衰减过程中受降解机制的影响，多样性下降，优势菌丰度增加。

2.4 环境因子对地下水中微生物多样性的影响

基于本研究的氯苯类污染地块特性，探究地块环境因子对地下水中微生物群落的影响关系，其中 S^{2-} ($R^2 = 0.714$, $p = 0.022$)、ORP ($R^2 = 0.859$, $p = 0.002$) 和 pH 值 ($R^2 = 0.818$, $p = 0.005$) 与微生物群落结构有显著性相关关系 (图 5)。之前的研究表明污染物浓度和 Mn 显著性影响氯代烃类污染

表 3 地下水中微生物高通量数据统计结果 (每组样品 2 个平行)

Table 3 Statistical results of high-throughput data in groundwater. Data are given as mean $\pm$ SD (n = 2)

生物多样性指数	CK	臭氧氧化区					化学氧化区				
		w1_ck	w1_416d	w1_529d	w1_652d	w1_727d	w2_ck	w2_416d	w2_529d	w2_652d	w2_727d
Sobs	2 910 $\pm$ 129	2 909 $\pm$ 86	2 928 $\pm$ 215	1 160 $\pm$ 24	1 281 $\pm$ 5	1 336 $\pm$ 66	1 470 $\pm$ 15	2 315 $\pm$ 440	2 025 $\pm$ 224	1 884 $\pm$ 106	2 132 $\pm$ 231
Shannon	6.576 $\pm$ 0.082	5.949 $\pm$ 0.089	6.755 $\pm$ 0.190	4.800 $\pm$ 0.107	4.888 $\pm$ 0.155	5.470 $\pm$ 0.004	4.988 $\pm$ 0.322	5.362 $\pm$ 0.675	5.656 $\pm$ 0.424	5.492 $\pm$ 0.378	5.313 $\pm$ 0.198
Simpson	0.005 $\pm$ 0.000	0.022 $\pm$ 0.003	0.004 $\pm$ 0.001	0.027 $\pm$ 0.004	0.029 $\pm$ 0.011	0.014 $\pm$ 0.001	0.031 $\pm$ 0.016	0.040 $\pm$ 0.027	0.016 $\pm$ 0.007	0.022 $\pm$ 0.013	0.030 $\pm$ 0.002
Ace	5 025.511 $\pm$ 955.310	5 559.222 $\pm$ 190.421	4 221.697 $\pm$ 176.298	2 064.522 $\pm$ 551.197	2 753.818 $\pm$ 78.807	2 071.863 $\pm$ 158.779	2 390.025 $\pm$ 374.372	5 036.760 $\pm$ 350.807	3 804.575 $\pm$ 845.100	3 683.329 $\pm$ 76.485	3 641.956 $\pm$ 221.255
Chao1	4 335.848 $\pm$ 318.077	4 430.149 $\pm$ 146.028	4 189.969 $\pm$ 113.361	1 822.019 $\pm$ 226.129	2 100.149 $\pm$ 104.771	1 913.870 $\pm$ 37.079	2 042.517 $\pm$ 45.985	3 820.097 $\pm$ 468.199	3 280.057 $\pm$ 141.228	2 980.934 $\pm$ 114.267	3 027.674 $\pm$ 199.119
Coverage	0.939 $\pm$ 0.004	0.937 $\pm$ 0.003	0.944 $\pm$ 0.002	0.977 $\pm$ 0.003	0.972 $\pm$ 0.001	0.976 $\pm$ 0.001	0.972 $\pm$ 0.002	0.946 $\pm$ 0.007	0.956 $\pm$ 0.002	0.959 $\pm$ 0.001	0.955 $\pm$ 0.003

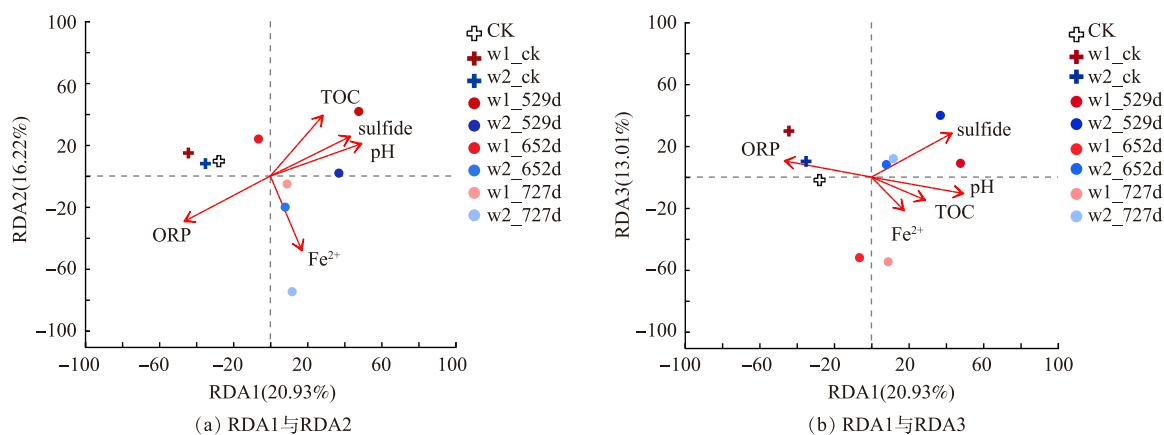


图 5 基于属分类水平下的地下水微生物群落和环境因子的冗余分析 (RDA)

Fig. 5 Redundancy analysis (RDA) of groundwater microbial community (symbols) and environmental characteristics (arrows) at genus level.

场地地下水中微生物群落结构^[13], 溶解性有机碳、 SO_4^{2-} 、和污染物浓度显著性影响溴代烃类污染场地地下水中微生物群落结构^[43]。

此外, 对地下水中微生物表型结果进行了预测, 见表 4。中试后 416 d 内 2 个区域都以有氧型细菌为主, 后逐渐向厌氧型转变。通常氯苯类污染物的厌氧降解的速率低于好氧降解, 这也意味着在中试后 727 d 内, 氯苯类污染物的自然衰减速率先增加再降低, 这与一阶自然衰减模型趋势一致。氯代烃自然衰减污染场地中微生物表型预测细菌群落逐渐向厌氧型转化, 其 ORP 也是逐渐降低^[14]。虽然本地块地下水中 ORP 变化与微生物表型预测结果的变化相反, 这可能是受到了氧化中试注入的影响, 但是本地块的 ORP 也一直维持较低的数值。

从地下水微生物群落与环境因子、污染物质量浓度相关性分析可以看出, Sobs 指数、Shannon 指数、Simpson 指数和 ACE 指数分别与 pH 值、TOC、 Cl^- 呈现显著线性相关关系 (图 6)。本地块地下水中微生物群落 Alpha 多样性指数与污染物质量浓度无显著线性相关关系, 之前的研究表明石油烃和氯代烃污染场地污染物浓度越高, 微生物多样性降低, 优势菌群丰度增加^[13,28]。本研究 416 d 后臭氧氧化区域污染物浓度降低, 但同时多样性也降低, 说明优势菌群丰度增加, 这可能与 416 d 后厌氧菌丰度大幅增加有关, 416 d 后由厌氧菌主导氯苯类污染物的厌氧降解, 有机物脱氯降解菌 *Desulfitobacterium* 在 416 d 后相对丰度突增也与此规律一致。

表 4 地下水中微生物表型预测相对丰度结果 (每组样品 2 个平行)

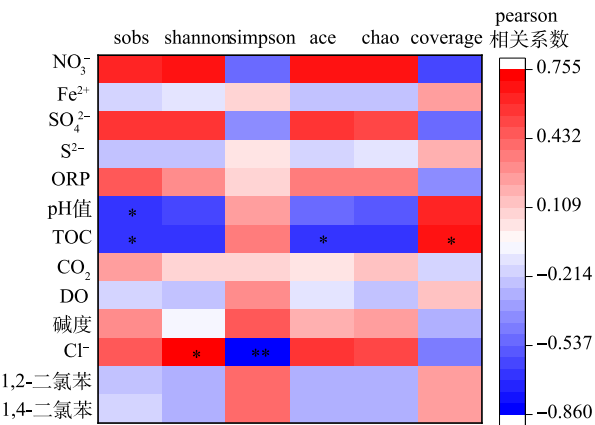
Table 4 Predicted relative abundance results of microbial phenotype in groundwater. Data are given as mean±SD (n = 2)

微生物表型预测	CK	臭氧氧化区					化学氧化区				
		w1_ck	w1_416d	w1_529d	w1_652d	w1_727d	w2_ck	w2_416d	w2_529d	w2_652d	w2_727d
有氧菌	0.295±0.028	0.337±0.023	0.265±0.032	0.049±0.012	0.088±0.027	0.191±0.098	0.249±0.114	0.582±0.096	0.206±0.122	0.218±0.026	0.399±0.031
厌氧菌	0.294±0.05	0.148±0.002	0.174±0.003	0.822±0.002	0.691±0.068	0.534±0.115	0.280±0.153	0.197±0.065	0.568±0.142	0.391±0.010	0.331±0.044
兼性厌氧菌	0.072±0.014	0.365±0.026	0.220±0.004	0.028±0.003	0.051±0.015	0.073±0.059	0.055±0.017	0.074±0.003	0.089±0.013	0.063±0.002	0.101±0.022
革兰氏阴性菌	0.874±0.027	0.933±0.007	0.849±0.016	0.928±0.010	0.836±0.034	0.708±0.064	0.913±0.016	0.958±0.019	0.754±0.083	0.793±0.006	0.958±0.008
革兰氏阳性菌	0.126±0.027	0.067±0.007	0.151±0.016	0.072±0.010	0.164±0.034	0.292±0.064	0.087±0.016	0.042±0.019	0.246±0.083	0.207±0.006	0.042±0.008

之前的研究认为氯苯类污染物的生物降解可能更接近石油烃类的好氧降解，而非氯代烃类的厌氧降解^[44]，但氯苯类污染物的微生物降解过程可能更复杂。结合本地块环境因子和微生物表型预测的变化，本地块 2 个区域中试后 416 d 内都以化学氧化和微生物好氧降解为主，后向微生物厌氧降解转变。这也可能是由于氧化中试使氯苯类污染物的前期自然降解受到了人为影响。氯苯类污染物分子水平的自然降解机制有待进一步研究。本研究结论可为氯苯类污染地下水修复工程的绿色高效实施提供参考依据，控制发挥地块自身降解能力以经济效益最大化，同时也可指导自然衰减监测的精准实施，为进一步探究氯苯类污染物的自然衰减机制奠定基础。

3 结论

1) 氯苯类污染地块臭氧氧化区地下水中 1,2-二氯苯和 1,4-二氯苯的一阶降解速率常数分别为 0.005 2 和 0.006 0 d⁻¹。化学氧化区地下水中污染物自然降解 416 d 后质量浓度出现回升，不符合一阶衰减模型。2) 在实施臭氧氧化和化学氧化中试后的 529 d 内，微生物降解能力有所提高，注入药剂改变了土壤和地下水的地球化学特性，同时可强化刺激微生物对污染物的降解。3) 中试的实施加剧了地下水中微生物群落结构的变化，在中试后群落结构逐渐恢复，环境因子中的 S²⁻、ORP 和 pH 与本研究氯苯类污染地块地下水微生物群落结构有显著线性相关关系。氧化中试后 416 d 内，本地块地下水都以化学氧化和微生物好氧降解为主，后向微生物厌氧降解转变。



注：*代表p<0.05，**代表p<0.01。

图 6 地下水微生物群落与环境因子、污染物质量浓度相关性分析

Fig. 6 Correlation analysis of groundwater microbial community with environmental characteristics and pollutant concentration

参 考 文 献

- [1] 李佳斌. 北京某染料厂污染地块土壤和地下水6种氯苯类化合物的分布特征及迁移转化分析[J]. 环境工程学报, 2022, 16(7): 2296-2307.
- [2] 孟宪荣, 许伟, 张建荣. 化工污染场地氯苯分布特征[J]. 土壤, 2019, 51(6): 1144-1150.
- [3] 张婉莹. 基于EVS的上海某化工污染场地中1, 4-二氯苯空间分布模拟研究[J]. 环境卫生工程, 2021, 29(3): 31-38.
- [4] 周文敏, 傅德黔, 孙宗光. 水中优先控制污染物黑名单[J]. 中国环境监测, 1990(4): 1-3.
- [5] 刘乐, 张国良, 王芳, 等. 氯苯类化合物污染现状及其修复技术研究进展[J]. 湖北农业科学, 2022, 61(5): 91-97.
- [6] 刘小宁. 利用热活化过硫酸盐修复氯苯污染地下水的研究[D]. 硕士, 华东理工大学, 2013.
- [7] 王继鹏, 虞敏达, 蔡小波, 等. Fe~(2+)活化过硫酸钠原位修复氯苯污染地下水[J]. 环境工程学报, 2016, 10(3): 1276-1280.
- [8] 侯德义. 我国工业场地地下水污染防治十大科技难题[J]. 环境科学研究, 2022, 35(9): 2015-2025.
- [9] US EPA. Use of Monitored Natural Attenuation at Superfund, RCRA Corrective Action, and Underground Storage Tank Sites[S]. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA 20460.
- [10] 李元杰, 王森杰, 张敏, 等. 土壤和地下水污染的监控自然衰减修复技术研究进展[J]. 中国环境科学, 2018, 38(3): 1185-1193.
- [11] US EPA. Superfund Remedy Report 17th Edition[R]. EPA-542-R-23-001 2023, Office of Land and Emergency Management.
- [12] QIAO W, LUO F, LOMHEIM L, MACK E E, et al. Natural Attenuation and Anaerobic Benzene Detoxification Processes at a Chlorobenzene-Contaminated Industrial Site Inferred from Field Investigations and Microcosm Studies[J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(1): 22-31.
- [13] FAN T, YANG M, LI Q, et al. A new insight into the influencing factors of natural attenuation of chlorinated hydrocarbons contaminated groundwater: A long-term field study of a retired pesticide site[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 439: 129595.
- [14] 范婷婷, 夏菲洋, 孔令雅, 等. 场地地下水中氯代甲烷烃自然衰减机制[J]. 环境工程学报, 2021, 15(12): 3934-3945.
- [15] CHIU H Y, VERPOORT F, LIU J K, et al. Using intrinsic bioremediation for petroleum-hydrocarbon contaminated groundwater cleanup and migration containment: Effectiveness and mechanism evaluation[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineer, 2017, 72: 53-61.
- [16] LV H, SU X, WANG Y, et al. Effectiveness and mechanism of natural attenuation at a petroleum-hydrocarbon contaminated site[J]. Chemosphere, 2018, 206: 293-301.
- [17] 马欣程, 徐红霞, 孙媛媛, 等. 氯代烃污染场地生物自然衰减修复研究进展[J]. 中国环境科学, 2022, 42(11): 5285-5298.
- [18] 周睿, 赵勇胜, 任何军, 等. BTEX在地下环境中的自然衰减[J]. 环境科学, 2009, 30(9): 2804-612808.
- [19] 周艳, 姜登登, 孔令雅, 等. 典型农药污染场地地下水中苯系物监控自然衰减研究[J]. 环境科学学报, 2022, 42(7): 380-388.
- [20] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. 地下水质量标准: GB/T 14848-2017 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2017.
- [21] 生态环境部. 地下水环境监测技术规范: HJ/T 164-2020 [S]. 北京: 中国环境出版集团, 2020.
- [22] 生态环境部. 水质 挥发性有机物的测定 吹扫捕集/气相色谱-质谱法: HJ 639-2012 [S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2012.
- [23] EDGAR, ROBERT C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads.[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [24] LIU C, ZHAO D, MA W, et al. Denitrifying sulfide removal process on high-salinity wastewaters in the presence of Halomonas sp[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2016, 100(3): 1421-1426.
- [25] 黄先锋. 酸性条件下臭氧强化氧化缺电子芳香类和富电子胺类化合物的特性与机理[D]. 博士, 南京大学, 2016.
- [26] 刘芬, 魏东洋, 许振成, 等. 催化臭氧降解氯苯类化合物的研究进展[J]. 广东化工, 2009, 36(9): 62-63,99.
- [27] 王冠群. 地下水中1, 2, 4-三氯苯污染的化学修复研究[D]. 硕士, 南京大学, 2015.
- [28] NING Z, ZHANG M, HE Z, et al. Spatial Pattern of Bacterial Community Diversity Formed in Different Groundwater Field Corresponding to Electron Donors and Acceptors Distributions at a Petroleum-Contaminated Site[J]. Water, 2018, 10(7): 842.
- [29] 李坡. 活化过硫酸盐原位修复苯胺污染地下水研究[D]. 硕士, 常州大学, 2022.
- [30] US EPA. Calculation and Use of First-Order Rate Constants for Monitored Natural Attenuation Studies[S]. United States Environmental Protection Agency, 2002.
- [31] 李岩云. 低渗透粘土介质中微生物介导的氯苯降解研究[D]. 武汉: 中国地质大学, 2021.
- [32] DONG W, ZHANG Y, LIN X, et al. Prediction of 1, 2, 4-trichlorobenzene natural attenuation in groundwater at a landfill in Kaifeng, China[J]. Environmental Earth Sciences, 2014, 72(3): 941-948.
- [33] DONG W H, ZHANG P, LIN X Y, et al. Natural attenuation of 1, 2, 4-trichlorobenzene in shallow aquifer at the Luhagang's landfill site, Kaifeng, China[J]. Science of the Total Environment, 2015, 505: 216-222.
- [34] WIEDEMEIER T H, SWANSON M A, MOUTOUX D E, et al. Technical Protocol for Evaluating Natural Attenuation of Chlorinated Solvents in Ground Water[S]. United States Environmental Protection Agency, 1998.
- [35] ZHANG M, GUO C, SHI C, et al. A Quantitative Redox Zonation Model for Developing Natural Attenuation-Based Remediation Strategy in Hydrocarbon-Contaminated Aquifers[J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 290(8): 125743.
- [36] 郑昭贤, 苏小四, 王翔, 等. 浅层地下水中氯代烷烃生物降解的地下水化学响应规律研究[J]. 地球学报, 2014, 35(2): 230-238.
- [37] 罗俊鹏, 赵一澍, 廖晓勇, 等. 化学预氧化-生物强化-生物刺激对土壤中菲降解的联合效应[J]. 环境工程学报, 2019, 13(10): 2521-2529.
- [38] AULENTA F, MAJONE M, TANDOI V. Enhanced anaerobic bioremediation of chlorinated solvents: environmental factors influencing microbial activity and their relevance under field

- conditions[J]. *Journal of Chemical Technology And Biotechnology*, 2006, 81: 1463-1474.
- [39] SUTTON N B, GROTEHUIS J T C, LANGENHOFF A A M, et al. Efforts to improve coupled in situ chemical oxidation with bioremediation: a review of optimization strategies[J]. *Journal of Soils And Sediments*, 2011, 11: 129-140.
- [40] 甘平, 樊耀波, 王敏健. 氯苯类化合物的生物降解[J]. *环境科学*, 2001(3): 93-96.
- [41] MULLER T A, WERLEN C, SPAIN J, et al. Evolution of a chlorobenzene degradative pathway among bacteria in a contaminated groundwater mediated by a genomic island in *Ralstonia*[J]. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(3): 1462-2920.
- [42] HAIGLER B E, PETTIGREW C A, SPAIN J C. Biodegradation of Mixtures of Substituted Benzenes by *Pseudomonas* sp. strain JS150[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(7): 2237-2244.
- [43] BALABEN N, YANKELZON I, ADAR E, et al. The spatial distribution of the microbial community in a contaminated aquitard below an industrial zone[J]. *Water*, 2019, 11(10): 2128.
- [44] ZOHRE K and JIM C S. Biodegradation of Chlorobenzene, 1, 2-Dichlorobenzene, and 1, 4-Dichlorobenzene in the Vadose Zone[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47: 3846-6854.

(责任编辑: 金曙光)

Natural attenuation and microbial community evolution of chlorobenzene pollutants in shallow groundwater after enhanced oxidation

ZHANG Wanying^{1,2}, ZHU Qinghe^{1,2}, YANG Jie^{1,2,*}

1. Shanghai Academy of Environmental Sciences, Shanghai 200233, China; 2. State Environmental Protection Engineering Center for Urban Soil Contamination Control and Remediation, Shanghai 200233, China

*Corresponding author, E-mail: yangjie@saes.sh.cn

Abstract The monitored natural attenuation technique is usually used in conjunction with other groundwater remediation technologies to reduce remediation costs and environmental impacts. However, there is still a gap in its practical application cases in chlorobenzenes contaminated sites, and the natural attenuation mechanism of chlorobenzenes is not clear. Therefore, this study took chlorobenzenes contaminated sites after pilot tests of in situ ozone oxidation or chemical oxidation as the research object. From the perspective of practical engineering cases, the bacterial composition of groundwater and degradation rate of chlorobenzene compounds in the two years after the intensified oxidation measures were monitored, the natural attenuation capacity of pollutants after different remediation measures were evaluated, and the mechanism of action was discussed. The results showed that after 727 days of natural decay, the degradation rates of 1, 2-dichlorobenzene and 1, 4-dichlorobenzene in the ozone oxidation zone and chemical oxidation zone both exceeded 90%. The first-order degradation rate constants of 1, 2-dichlorobenzene and 1, 4-dichlorobenzene in ozonation zone were $0.005\ 2\ d^{-1}$ ($R^2=0.857$) and $0.006\ 0\ d^{-1}$ ($R^2=0.967$), respectively. The concentration of pollutants in the groundwater in the chemical oxidation zone rose after 416 days, which was inconsistent with the one-order attenuation model. The results of bacterial 16S rRNA showed that ozone and sodium persulfate oxidation changed the bacterial community structure in groundwater, and the bacterial community structure gradually recovered during natural decay. The S^{2-} , ORP and pH values of environmental factors were significantly correlated with bacterial community structure of groundwater in chlorobenzenes contaminated sites in this study. In 416 days after the pilot test, chemical oxidation and microbial aerobic degradation were dominant in two zones, and then changed to microbial anaerobic degradation. This study provides a reference for the green and efficient implementation of chlorobenzene contaminated groundwater remediation projects.

Keywords chlorobenzenes contaminated site; groundwater remediation; natural attenuation; ozone oxidation; chemical oxidation.