



文章栏目：水污染防治

DOI 10.12030/j.cjee.202108083

中图分类号 X523

文献标识码 A

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.

FAN Tingting, XIA Feiyang, KONG Lingya, et al. Natural attenuation mechanism of chloromethane hydrocarbons in groundwater of a typical pesticide contaminated site[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2021, 15(12): 3934-3945.

场地地下水中氯代甲烷烃自然衰减机制

范婷婷^{1,2}, 夏菲洋^{1,2}, 孔令雅^{1,2}, 王荐^{1,2}, 姜登登^{1,2}, 杨璐^{1,2}, 张胜田^{1,2}, 邓绍坡^{1,2,✉}

1. 生态环境部南京环境科学研究所, 南京 210042

2. 国家环境保护土壤环境管理与污染控制重点实验室, 南京 210042

第一作者: 范婷婷 (1991—), 女, 博士。研究方向: 污染场地调查与修复等。E-mail: bluebird3602@126.com

✉通信作者: 邓绍坡 (1981—), 男, 博士, 副研究员。研究方向: 污染场地风险评估等。E-mail: dsp@nies.org

摘要 自然衰减监控技术在农药污染场地的实践应用较少, 作用机制尚不明确。为此, 以农药污染场地监控自然衰减实际工程案例为基础, 对地下水中氯代甲烷烃的自然衰减能力、作用机制及降解时间进行了分析。Mann-Kendall 趋势检验结果表明, 作为污染源的 MW1-17 点位地下水中的四氯化碳和氯仿随时间呈现下降趋势, 在 4 a 内降解率分别在 95% 和 94% 以上。经计算, 四氯化碳和氯仿的降解速率常数分别为 0.002 d^{-1} 和 0.0013 d^{-1} 。随着时间的延长, 有充足的证据表明 MW1-17 点位存在微生物降解。四氯化碳与 NO_3^- 、DOC 的相关性分析结果表明, MW1-17 的四氯化碳在 2016 年 8 月—2018 年 12 月期间以微生物共代谢降解为主, 而在 2018 年 12 月以后以还原脱氯降解为主。微生物多样性的结果也表明, 从 2016 年到 2021 年, 地下水中微生物群落结构发生变化, 逐渐向厌氧型转化, 还原脱氯功能细菌丰度有所增加。

关键词 农药污染场地; 地下水; 氯代甲烷烃; 自然衰减

氯代烃类有机物作为一种重要的有机溶剂和产品中间体, 在很多工业生产中被广泛使用。随着“退二进三”、“退城进园”、“产业转移”等城市发展策略的实施, 我国当前正面临大量工业企业关停或转移产生的疑似污染地块, 其中氯代烃类是常见的污染物之一, 包括氯代烃甲烷烃、氯代乙烷烃和氯代乙烯烃^[1]。本研究团队梳理了长三角农药场地的特征污染物, 发现氯代烃是农药场地地下水中主要的特征污染物。同样, 在我国诸多城市的地下水水质调查中也发现了较高的氯代烃检出^[2]。由于氯代烃类污染物具有致癌、致畸和致突变等毒性作用, 是我国水环境中 58 种优先控制污染物之一。若受氯代烃污染的土壤或地下水未能得到有效地控制和修复, 将会对人体健康产生较高风险。

可渗透反应墙、监控自然衰减 (monitored natural attenuation, MNA)、抽出处理和多相抽提等是常用的地下水污染风险管控与修复技术。相较于其他修复技术, 监控自然衰减技术具有费用较低、对污染场地周围环境无破坏性等优势, 在国外广泛使用^[3]。监控自然衰减也是目前恢复和控制浅层地下水氯代烃污染比较有效和可行的技术之一。在所有修复技术中, 自然衰减是一种被动的修复

收稿日期: 2021-08-13; 录用日期: 2021-11-18

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFC1803100); 江苏省自然科学基金 (BK 20180112); 国家自然科学基金项目 (41807473)

技术, 主要包括微生物降解作用、稀释作用、吸附作用、蒸发作用和化学反应作用, 其中微生物降解可以彻底去除污染物, 是非常重要的自然衰减技术^[4-5]。在美国有超过 100 个超级基金场地采用了该项技术, 在国内也有一些研究团队开展了这方面的研究, 但他们更多关注在石油烃污染场地中苯系物 (BTEX) 或石油烃类物质的自然衰减^[6-9]。

此外, 也有部分研究者开展了地下水中氯代烃自然衰减过程的研究。WITT 等^[10]对多佛空军基地地下水中氯代烃开展长期监测并证实了自然衰减过程的发生。NIJENHUIS 等^[11]在德国比特菲尔德某化工类 (以氯代烃产品为主) 场地中通过稳定性同位素、微生物以及分子生物标记等方法发现了位于厌氧条件下地下水中氯代乙烯烃自然衰减的证据。在国内, 也有研究者陆续开展对化工场地地下水氯代烃自然衰减的研究^[12-13]。朱瑞利等^[14]证实了上海某场地地下水中存在 1,1,1-三氯乙烷的自然衰减, 并计算了三氯乙烷的自然衰减系数为 0.005 d^{-1} 。微生物降解是自然衰减中的重要途径之一, 而国内大多数关于微生物降解氯代烃的研究均是在实验室条件下开展的模拟实验, 缺乏在实际工程中复杂环境下自然衰减过程中生物降解机制及其变化过程的研究。

综上所述, 本研究以南通某农药场地地下水的监控自然衰减管控工程案例为基础, 从不同层级提出自然衰减中微生物降解存在的证据及不同时间下可能的微生物机制变化, 通过对地下水中的氯代甲烷烃 (四氯化碳 (carbon tetrachloride, CT)、氯仿 (trichloromethane, CF)、二氯甲烷 (dichloromethane, DCM)、氯甲烷 (chloromethane, CM)) 以及其他地球化学指标为期 4 a 的长期监测, 分析了其随时间的变化趋势; 通过微生物降解判定的评分表和地球化学指标的变化评价了地下水中生物降解能力; 通过对不同时间地下水样品中微生物多样性的分析, 探讨了其中可能存在的微生物降解机制及变化过程。

1 材料与方法

1.1 场地概述

研究对象为某农药污染场地, 占地面积约 $67\,500 \text{ m}^2$, 原农药企业生产历史长达 40 a, 主要产品有甲霜灵、霜霉威、辛硫磷、丙溴磷、毒死蜱等农药及化工中间体五硫化二磷、乙基氯化物、氯丙酸、2,6-二甲基苯胺系列产品以及约 27 个品种的农药乳剂、农药粉剂。该地块于 2009—2010 年停产并拆除设备, 并于 2010 年 10 月完成场地环境调查与风险评估。前期调查结果表明, 该场地土壤主要污染物为苯系物、氯代烃类、氯苯类、毒死蜱等, 其中氯代甲烷烃的检出率较高且含量相对较大, 其中四氯化碳、二氯甲烷、氯甲烷的检出最大值分别为 $1\,590$ 、 3.44 、 $1.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。同时, 场地地下水高风险污染物主要有苯系物和氯代烃等, 其中二氯甲烷和 1,2-二氯乙烷的超标倍数分别为 10 倍和 8 倍。场地中的氯代甲烷烃污染主要来源于原企业的生产过程中使用的原辅材料和产生的副产品。2013 年 5 月对 MW1-17 所在区域污染土壤采取原位化学氧化, 其他区域污染土壤采取原地异位热解析技术进行处理后回填。该场地浅层污染土壤 (6 m) 在 2016 年修复完成后以绿化涵养为主, 同时对该地块地下水中的氯代烃污染情况展开长期监测。

在勘探深度范围内, 研究区地层自上而下分别为杂填土 (厚度约 1.2 m)、粉土 (厚度约 4.0 m)、粉砂 (厚度约 20.0 m)、粉土夹粉质黏土 (厚度约 10.0 m) 和粉砂 (厚度大于 15.0 m)。地下水潜水含水层直接受大气降水补给, 地下水位变化不大, 水力坡度极小, 地下水径流缓慢。勘探期间初见水位在自然地面下 1.60 m 左右; 稳定地下水埋深约 1.50 m。研究区地下水最高水位一般发生在每年 7—9 月, 最低地下水位一般发生在每年 12 月至次年 2 月, 地下水流向为西北至东南。

1.2 监测井布设

考虑到原企业生产功能布局、该地块的水文特征以及原场地调查时土壤污染物的分布情况, 在研究区内布设了 7 口长期监测井, 监测井布设图如图 1 所示。监测井深度为 21 m, 井结构设置为地表以下至 -1.5 m 为白管, -1.5 m 以下为筛管。

1.3 地下水样品采集

采用便携气囊式低流量采样泵 (QED, MP 50) 对每口地下水监测井进行分层取样, 每口水井均采集地下 8 m 和地下 14 m 地下水样品。2 层采样位置分别对应地块所处区域的 2 个含水层。地勘资料显示, 8 m 处地下水层水流径流流速为 $1.01 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$, 14 m 处地下水层水流径流流速为 $1.64 \times 10^{-5} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 。地下水样品采集时避开降雨天气, 并在 2 h 内完成, 出水流速不超过 $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.4 地下水样品测试分析

地下水样品采集时利用水质多参数流通槽 71790 型, 同时对 pH、水温、电导率、Eh 等进行测定。参照国家相关测试方法对典型地球化学指标进行测定, 包括电子受体 (O_2 、 NO_3^- 、DOC、 SO_4^{2-})、还原产物 (Fe^{2+} 、 CH_4 、乙炔 (chloride, CE)、 Cl^-)、降解中间产物浓度等。

采用吹扫捕集-气相色谱质谱仪 (Atomx-安捷伦 7890B/5977A) 对地下水样品中氯代烃样品进行定性定量分析, 色谱柱为 DB-VRX 石英毛细管柱, 调谐模式为 DFTPP 调谐。色谱条件: 载气为高纯氦气, 流速为 $1.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 以 15:1 分流进样, 前进样口温度为 $230 \text{ }^\circ\text{C}$, 柱箱温度为 $40 \text{ }^\circ\text{C}$, 升温程序以 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 保持 2 min, 以 $20 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $250 \text{ }^\circ\text{C}$ 保持 3 min。质谱条件: 离子源温度为 $230 \text{ }^\circ\text{C}$, 接口温度为 $250 \text{ }^\circ\text{C}$, 溶剂延迟时间为 0.5 min, 离子检测 SCAN 模式。

1.5 DNA 提取与多样性测序

根据数据分析结果, 分别在 2016 年和 2021 年 MW1-17 监测井中 8 m 处各采集 1 次地下水样品开展微生物多样性分析, 每次采集 3 份平行样。用 E.Z.N.A.® soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 提取地下水样品中微生物总基因组 DNA, 并利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 完成对 DNA 的纯化。纯化后的 DNA 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。对 16S DNA 高变区序列进行测序, 测序区域为 V3~V4。使用 fastp、FLASH 软件对 Miseq 测序数据进行处理获得干净数据: 1) 过滤 read 尾部质量值 20 以下的碱基。设置 50 bp 的窗口, 如果窗口内的平均值低于 20 bp, 从窗口开始截去后端碱基, 过滤质控后 50 bp 以下的 read; 2) 根据 PReads 之间的 overlap 关系, 将成对 reads 拼接 (merge) 成一条序列, 最小 overlap 长度为 10 bp; 3) 拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2, 筛选不符合序列; 4) 检测序列末端 box 序列, 最小错配数为 0 将起始端包括 box 的序列进行反向互补, 并去除 box; 5) 检测序列上的 barcode 并区分样品, barcode 错配数为 0, 最大引物错配数为 2。16S 多样性数据分析在 majorbio 平台 (<http://www.majorbio.com/>) 进行分析。

1.6 数据分析

Mann-Kendall 检验法是世界气象组织推荐并被广泛用于实际研究的非参数检验方法, 是时间序列趋势分析方法之一。该方法近年来被广泛应用于分析径流、气温、降水和水质等要素时间序列的变化趋势^[15]。该分析方法不受污染在季节性质量浓度的变化。本研究利用 python 3.7 软件对 4 a 监测数据开展 Mann-Kendall 趋势检验, 在 python 3.7 中使用统计函数库 scipy.stats 中 scipy.stats.kendalltau 模块, 函数返回 Z 值和 P 值。Z 值反映 2 个序列的相关性, 接近 1 表示强烈的正相关, 接

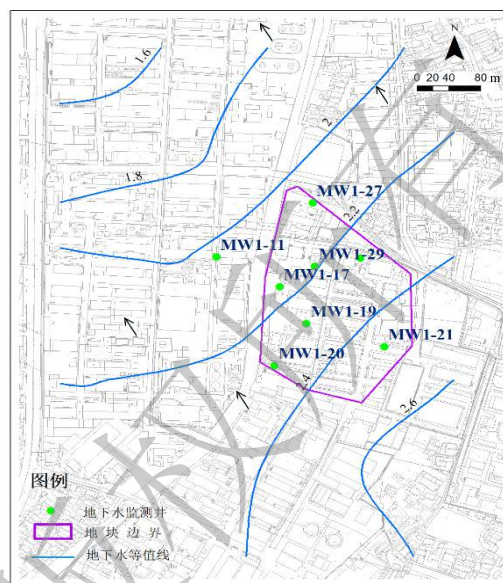


图 1 地下水监测点位分布图 (2016 年 1 月)

Fig. 1 Distribution of groundwater monitoring sites(2016-01)

近-1 表示强烈的负相关; P 值反映显著性水平, $P < 0.05$ 为显著。

2 结果与讨论

2.1 地下水中氯代甲烷烃随时间变化特征

2016 年 8 月—2020 年 6 月各监测井在浅层 (8 m) 和深层 (14 m) 处氯代甲烷烃的质量浓度检测结果见图 2。就检出污染物种类来看, 主要检出的是四氯化碳 ($0 \sim 5\,200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、氯仿 ($0 \sim 69\,900 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 和二氯甲烷 ($0 \sim 20\,600 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 无氯甲烷检出。这可能是由于氯甲烷在常温状态下为气体, 易挥发。4 a 的监测结果表明, MW1-17 点位氯代甲烷烃持续检出且质量浓度均较高 (氯代甲烷烃为 $0 \sim 74\,400 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), MW1-21 点位无氯代甲烷烃检出, 而其他点位的氯代甲烷烃偶有检出且质量浓度均较低 ($0 \sim 32 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), 说明 MW1-17 点位是该研究区的污染核心点位。MW1-17 点位地下水中较高质量

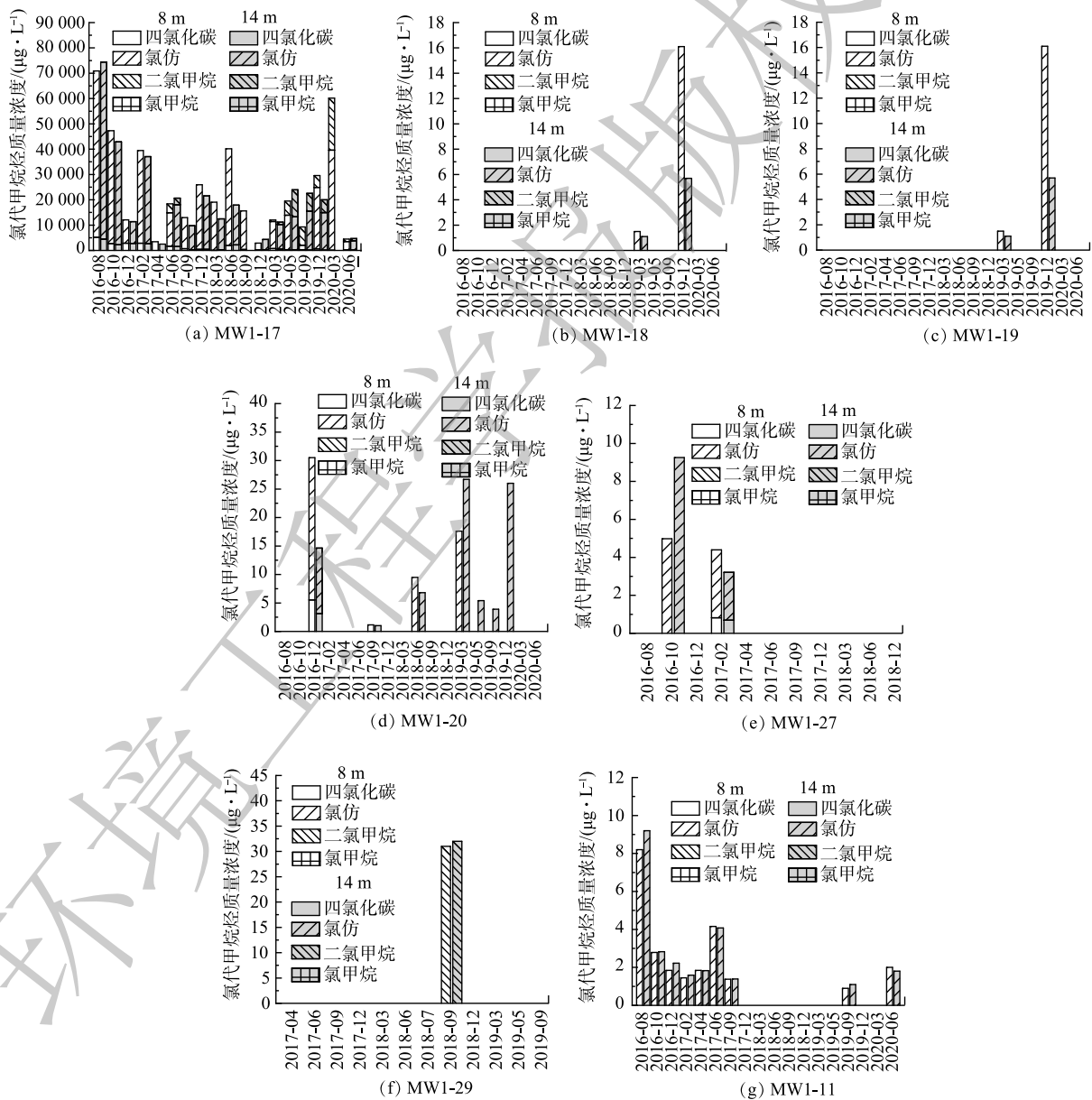


图 2 各点位在 8 m 和 14 m 处氯代甲烷烃的质量浓度随监测时间的变化

Fig. 2 Changes in chloromethane hydrocarbons concentrations at 8 m and 14 m away from each site with monitoring time

浓度的氯代甲烷烃与前期调查中该点位土壤中的氯代甲烷烃质量浓度较高具有一致性。就点位距离而言, MW1-21 点位距离 MW1-17 点位最远, 为 158 m, 其他点位到 MW1-17 点位的距离为 54~126 m。由此说明, 在该场地地质条件下, 即较小的水力坡度作用下, 地下水径流缓慢, 氯代甲烷烃向周围扩散的能力也较弱。

就时间尺度而言, 随着时间的延长, MW1-17 点位浅层 (8 m) 和深层 (14 m) 地下水中四氯化碳和氯仿的质量浓度显著下降, 尤其是在 2018 年 12 月左右降到最低, 其后又开始升高, 然后再呈现下降趋势; 而二氯甲烷质量浓度则主要在 2018 年 12 月之后呈现增加趋势。在 2016 年 8 月至 2020 年 6 月期间, MW1-17 点位在浅层 8 m 地下水中四氯化碳的质量浓度由 $5\ 200\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到 $190\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 降低了 96.35%; 氯仿的质量浓度由 $65\ 700\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到 $3\ 280\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 降低了 95.01%; 二氯甲烷质量浓度由 $0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $1\ 020\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 特别是在 2020 年 3 月增加到 $39\ 500\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。在同样时间段内, 该点位在深层 14 m 处地下水中四氯化碳的质量浓度由 $4\ 500\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到 $220\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 降低了 95.11%; 氯仿的质量浓度由 $69\ 900\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到 $3\ 600\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 降低了 94.85%; 二氯甲烷质量浓度由 $0\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $873\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 特别是在 2019 年 5 月增加至 $10\ 700\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

为进一步验证 MW1-17 点位中的污染物质量浓度随时间下降的趋势, 本研究利用 Mann-Kendall 趋势检验方法检验了 MW1-17 点位地下水中的四氯化碳和氯仿的质量浓度随时间的变化趋势^[15-16], 结果见表 1。由表 1 可以看出, 四氯化碳在 8 m 和 14 m 的 Z 值分别为 -0.538 ($P<0.01$) 和 -0.612 ($P<0.01$), 说明 2 个含水层的四氯化碳在 4 a 内发生了显著的下降; 而氯仿在 8 m 和 14 m 处的 Z 值分别为 -0.190 ($P=0.294$) 和 -0.343 ($P<0.05$), 说明 2 个含水层的氯仿在 4 a 内也存在下降的趋势, 但相对于四氯化碳的下降趋势不明显, 尤其是在 8 m 处。

由于在 MW1-17 点位周围的监测井未能检出较高氯代甲烷烃类, 说明 MW1-17 的四氯化碳和氯仿未向周边扩散, 主要是在 MW1-17 点位发生降解。另外, 二氯甲烷的质量浓度在 2018 年 12 月之后开始出现显著增长, 故可推测, 二氯甲烷可能是由氯化程度较高的四氯化碳或氯仿在自然状态下还原脱氯产生的降解产物^[16]。有研究^[17]表明, 氯代甲烷系列污染物存在按顺序逐级脱掉氯原子的规律, 并生成相应的低氯化度产物。

2.2 地下水中氯代甲烷烃衰减速率

一级速率常数计算是评价地下水污染场地自然衰减过程的重要参数^[18]。浓度与时间的速率常数可用于估算在某个地点达到修复目标的速度。其计算公式如式 (1) 所示。

$$k = \frac{\ln(C_0/C_t)}{t} \quad (1)$$

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

7 口监测井中氯代甲烷烃的监测结果表明, 仅 MW1-17 点位的四氯化碳和氯仿浓度在 4 a 内有明显的下降趋势。因此, 本次仅计算 MW1-17 浅层 (8 m) 和深层 (14 m) 井中氯仿和四氯化碳自然衰减系数, 结果见图 3。MW1-17 浅层井四氯化碳降解速率常数为 $0.002\ \text{d}^{-1}$, 氯仿降解速率常数为 $0.001\ 3\ \text{d}^{-1}$, 而深层井四氯化碳和氯仿的降解速率与浅层井相同。通过计算可得, 四氯化碳和氯仿的半衰期分别为 346.5 d 和 533.08 d (表 2)。由此说明, 四氯化碳的降解速率快于氯仿的降解速率。

表 1 MW1-17 点位四氯化碳和氯仿质量浓度随时间变化趋势 Mann-Kendall 检验

Table 1 Tendency of the concentrations of CT and CF with time in MW1-17 calculated by Mann-Kendall test

污染物	8 m深处		14 m深处	
	P值	Z值	P值	Z值
四氯化碳	0.001 9	-0.538	0.000 4	-0.612
氯仿	0.294	-0.19	0.048 3	-0.343

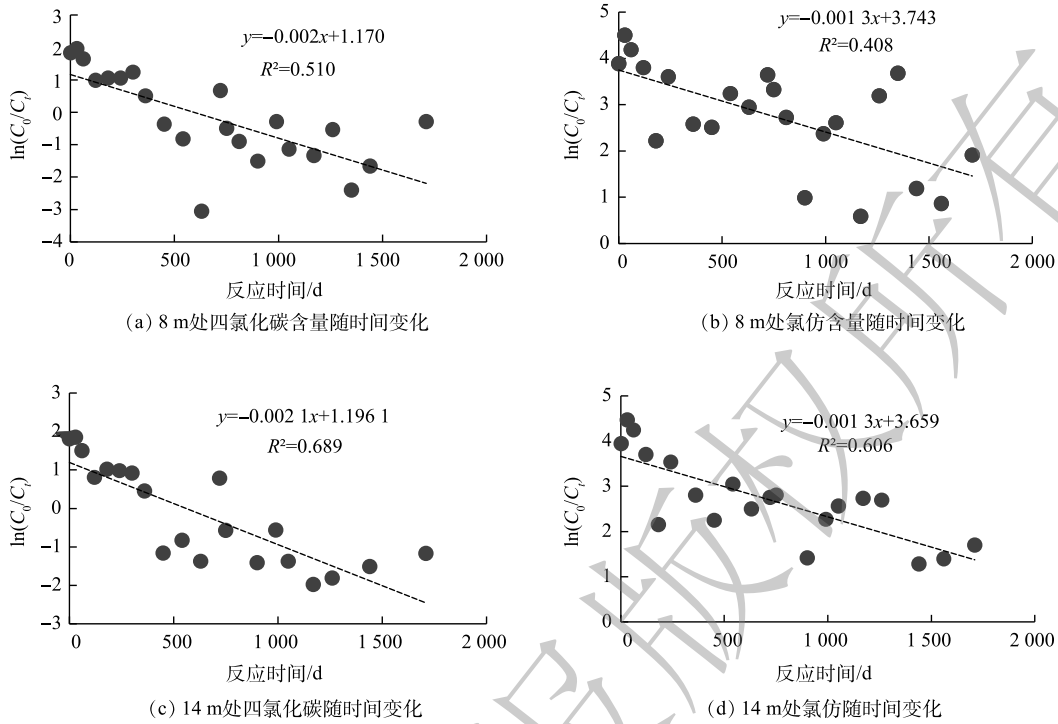


图 3 MW1-17 点位 8 m 和 14 m 处污染物质量浓度随时间变化关系

Fig. 3 Change in contaminant concentration over time at 8 m and 14 m away from MW1-17

而这一结果也与吴德礼等^[17]的研究结果一致，即氯代甲烷类污染物中氯化程度越高，还原脱氯速率越快，脱氯反应也越容易进行。由于 MW1-17 点位浅层 (8 m) 和深层 (14 m) 井中氯仿和四氯化碳在 2016 年 8 月初始质量浓度接近，因此，经过计算该点位地下水氯仿和四氯化碳通过自然衰减达到修复目标 (氯仿为 $13 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，四氯化碳为 $5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) 所需要的时间分别约为 11.5 a 和 23.5 a。生物降解可以彻底去除地下水

中的污染物，是非常重要的自然衰减途径，因此，下文着重对自然衰减中的生物降解过程进行分析。

2.3 地下水中氯代烃天然生物降解现状评价

本研究中，依据 WIEDEMEIER 等^[19]总结的地下水中氯代烃微生物降解的判定标准，对监测井中微生物降解能力进行评价。由于部分监测数据有所缺失，采用部分指标保守地对研究区的 7 口监测井在不同时期的地下水中微生物降解能力进行评价，结果见表 3。当总分为 0~5 时，微生物降解证据不足；6~14 为微生物降解证据有限；15~20 为微生物降解证据充足；总分大于 20 时，微生物降解证据十分充分。由表 3 可以看出，自 2016 年监测初期，地下水中氯代烃的微生物降解证据不足，随着时间的延长，微生物降解的证据逐渐增加。尤其是对于 MW1-17，2018 年 12 月之前该点位存在有限的微生物降解证据，而在 2018 年之后微生物降解能力突然变弱，但随后开始增加，直至 2020 年 6 月出现充足的证据表明存在微生物降解。由此可推测，在 2018 年 12 月前后可能发生了微生物降解机制的转换。对比表 3 中 8 m 和 14 m 处的生物降解能力得分可以发现，浅层 (8 m) 地下水中氯代烃微生物降解的证据强于深层 (14 m)，且浅层地下水出现微生物降解充分证据的时

表 2 MW1-17 的一级降解速率常数及半衰期

Table 2 First-order attenuation rate constant and half-life of MW1-17

深度/m	污染物种类	降解速率常数/ d^{-1}	半衰期/d
8	四氯化碳	0.002	4 278
	氯仿	0.001 3	8 533
14	四氯化碳	0.002	4 205
	氯仿	0.001 3	8 581

表3 不同监测时间在8 m和14 m处6口监测井生物降解能力得分
Table 3 Scores of biodegraded capabilities in 6 monitoring wells of 8 m and 14 m at different time

监测时间	8 m						14 m					
	MW1-17	MW1-18	MW1-19	MW1-20	MW1-27	MW1-29	MW1-17	MW1-18	MW1-19	MW1-20	MW1-27	MW1-29
2016-08	8	1	3	5	5		7	1	2	4		
2016-10	7	1	2	0	3		3	1	4	0	1	
2016-12	4	-2	2	4	2		2	-2	4	2	-2	
2017-02	7	0	2	2	2		4	0	2	4	0	
2017-04	9	0	4	6	0	5	5	0	4	4	0	
2017-06	10	2	3	4	2	2	5	2	2	2	2	
2017-09	9	2	5	5	2	2	5	2	5	3	2	2
2017-12	11	-2	0	0	-3	2	6	1	0	0	0	0
2018-06	10	1	3	2	0	1	4	0	1	4	1	1
2018-12	3	-2	2	0		-3	1	-3	2	0		-2
2019-03	2	-2	0	9		-2	2	-2	6	9		-2
2019-05	7	1	0	1		-2	2	0	0	1		-2
2019-09	11	-1	0	0		0	7	0	0	7		0
2020-03	13	9	-1	9			2	6	2	9		
2020-06	16	7	5	1			13	7	5	3		

间短于深层。由此说明氯代烃在浅层地下水中微生物降解现象更显著。

2.4 地下水中地球化学参数的变化特征

考虑到监测的地球化学指标较多,本节仅选择部分典型地球化学指标 Eh、pH、硝酸盐和总有机碳进行讨论。MW1-17 点位地下水中的 Eh 和 pH 在 4 a 监测周期中变化规律见图 4。由图 4(a) 中可以看出,8 m 处和 14 m 处的地下水的氧化还原性随着时间的变化规律具有一致性,但 14 m 处的地下水总体上呈现相对较强的还原性。该点位地下水自 2017 年 4 月后的 Eh 大部分小于 100 mV,且大多情况下为负值,说明随着时间的延长地下水开始从氧化环境逐渐转变为还原环境^[20]。图 4(b) 表明,地下水整体 pH 为 5~9。在 2016 年 8 月至 2017 年 4 月之间,地下水的 pH 随着时间的延长由

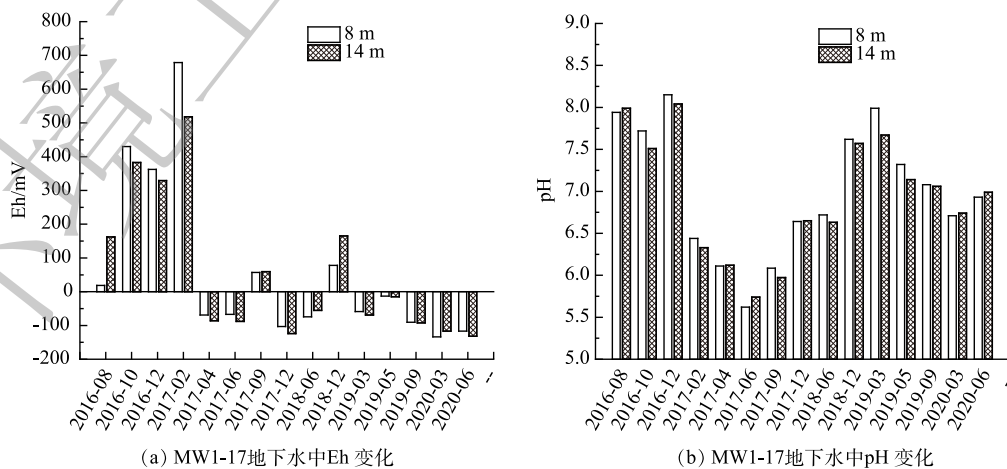


图4 MW1-17 点位地下水中的 Eh 和 pH 随时间的变化

Fig. 4 Eh and pH of groundwater of MW1-17 at different time

8.0 左右逐渐降低至 5.5 附近, 说明地下水逐渐酸化; 随后 pH 又逐渐回升, 在 2019 年 3 月达到 8.0 左右后又开始下降。

由于实际监测时 14 m 处地下水中的地球化学指标监测频次不够, 因此, 本部分仅对 8 m 处地下水中的硝酸盐 (NO_3^-) 和溶解性有机碳 (DOC) 质量浓度变化进行讨论, 结果如图 5 所示。总体而言, 硝酸盐质量浓度与总有机碳质量浓度呈现一致的变化规律, 即随着时间的延长其质量浓度逐渐下降, 至 2019 年 3 月时质量浓度又突然增加。这可能是由于 2019 年 3 月该地块周边有新的开发建设活动, 对该地区的地下水流向产生了较大影响。

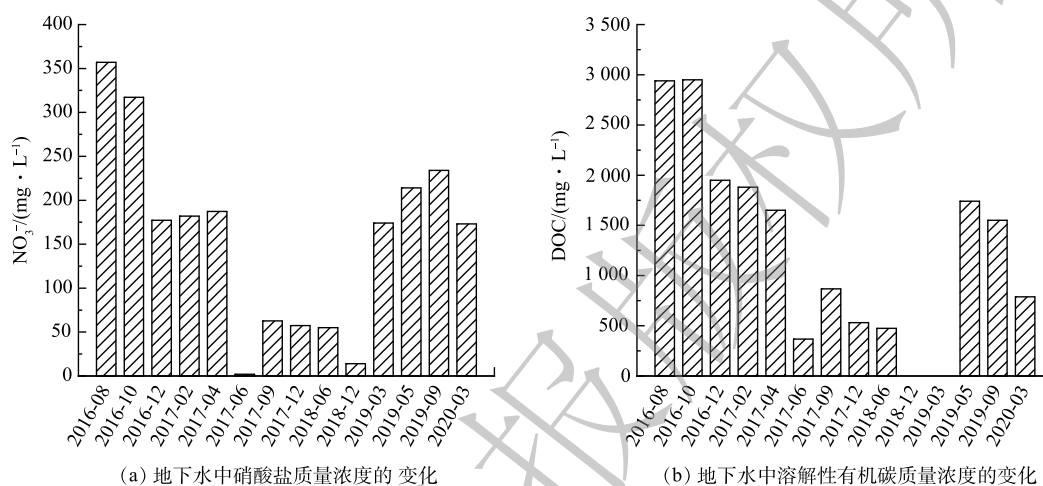


图 5 不同时间 MW1-17 点位地下水中的 NO_3^- 和 DOC 质量浓度

Fig. 5 Concentrations of NO_3^- and DOC in groundwater of MW1-17 at different time

通过对地下水环境的分析并结合地下水中硝酸盐 (NO_3^-) 和有机碳 (DOC) 质量浓度的变化, 可推测 MW1-17 点位的氯代甲烷烃在初期氧化环境中先通过共代谢发生降解。生长基质如苯系物类 (BTEX)、DOC 作为电子供体, 而地下水系统中的 NO_3^- 、溶解氧、Fe(III)、硫酸盐等作为电子受体, 发生氧化还原反应, 微生物所产生的酶对氯代烃产生作用^[21]。由于地下水中生物降解作用的加强, 地下水 Eh 逐渐下降^[20]。随着地下水环境逐渐变为强还原状态后, MW1-17 点位的氯代甲烷烃又开始通过还原脱氯的形式进行降解^[16]。

此外, 对不同时间周期四氯化碳与 DOC 和 NO_3^- 之间的相关性进行了分析, 结果见表 4。对比不同时期地下水中四氯化碳与 DOC 和 NO_3^- 质量浓度之间的相关性可以发现, 在 2016 年 8 月—2018 年 12 月, 地下水中的四氯化碳与 DOC 质量浓度呈显著正相关 ($r=0.784$, $P=0.012$), 四氯化碳与地下水中的 NO_3^- 呈显著正相关 ($r=0.821$, $P=0.007$), 均表现为随着时间的延长浓度显著降低; 而在 2018 年 12 月—2020 年 6 月, 地下水中的四氯化碳仅与 DOC 的相关性显著, 而与 NO_3^- 的相关性并不显著。由此推测, 该点位的四氯化碳在 2016 年 8 月—2018 年 12 月可能以微生物共代谢降解为主, 而在 2018 年 12 月以后以还原脱氯降解为主。

2.5 地下水中微生物多样性的表征

通过 Illumina MiSeq 平台对 2016 年和 2021 年 MW1-17 监测井中 8 m 地下水样品进行了高通量

表 4 不同时间周期中四氯化碳与 DOC 和 NO_3^- 之间的相关性

Table 4 Correlation between TC and DOC, TC and NO_3^- at different time period

监测时间	DOC		NO_3^-	
	r	P	r	P
2016-08—2018-12	0.784	0.012*	0.821	0.007**
2018-12—2020-06	0.999	0.035*	0.153	0.806

注: r 为 Pearson 积矩相关系数; *表示在 $P < 0.05$ 水平显著相关; **表示在 $P < 0.01$ 水平显著相关。

测序,共产生 238 840 条序列,数据统计结果见表 5。测序结果表明,不同时间下每组样品的平均长度差异较小,而碱基数、OTU 数等相差较大,从而间接反映了各组样品微生物种类和数量均具有差异。2016 年样品的 OTU 数平均为 514,低于 2021 年的 679.7,说明 2016 年地下水样品中微生物种类较少。所有样品测序数据的平均覆盖率为 99.4%,其测序量能够充分反映该区域细菌群落的种类和结构。

表 5 MW1-17 地下水样品高通量数据统计结果

Table 5 Statistical results of high-throughput data of groundwater sampled from MW1-17 in 2016 and 2021

样品编号	序列数量	碱基数量	平均长度	OTU	覆盖率/%	ace	simpson
2021_1	41 797	17 239 410	412.455 7	704	99.2	856.17	0.034 0
2021_2	37 376	15 475 237	414.042 1	666	99.3	795.85	0.037 1
2021_3	48 304	20 007 114	414.191 7	669	99.4	822.55	0.035 8
2016_1	37 941	15 549 286	409.828 0	518	99.5	703.89	0.056 3
2016_2	33 411	13 668 651	409.106 3	519	99.5	683.33	0.053 0
2016_3	40 011	16 628 897	415.608 1	505	99.5	763.49	0.098 7

对 MW1-17 地下水样品中微生物进行高通量测序,发现在所有被注释的 OTUs 聚类结果中,细菌 OTU 分配为 31 个门,85 个纲,365 个属。属分类水平下的微生物群落组成如图 6 所示。在 2016 年的样品中以假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、*Sporobacter*、*Sedimentibacter* 为主要的优势菌属;2021 年样品中毛螺菌属 (*Lachnospiraceae*)、脱亚硫酸菌属 (*Desulfitobacterium*)、*g_norank_f_Spirochaetaceae*(螺旋科)为主要的优势菌属。从 2016 到 2021 年 MW1-17 地下水样品中的微生物群落组成发生了显著变化。

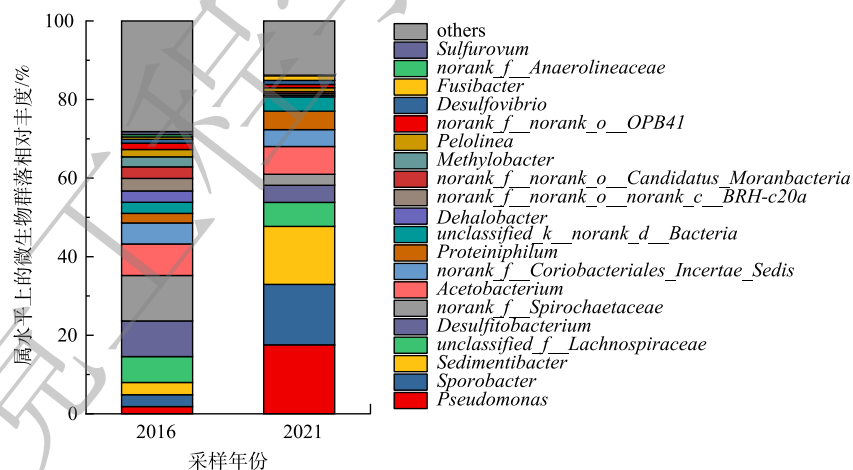


图 6 2016 和 2021 年地下水样品中属水平分类下的微生物群落结构组成

Fig. 6 Microbial community structure in groundwater sampled from MW1-17 in 2016 and 2021 at genus level

为了更全面地分析不同时间下 MW1-17 地下水样品中的生物差异性,对 2016 年和 2021 年 2 组样本进行 Student *t* 检验,结果如表 6 所示。结果表明,可能参与共代谢降解的具有硫酸盐还原功能的螺旋菌 (*Sporobacter*)^[22] 丰度在 2016—2021 年显著下降,而具有还原脱氯功能的 *Dehalobacter*^[23-25] 和 *g_norank_f_norank_o_Candidatus_Moranbacteria*^[24] 的丰度显著增加。对地下水中地球化学参数进行分析发现,随着时间的推移,地下水中硫酸盐等物质质量浓度逐渐降低。此外,微生物多样

表 6 2016 年和 2021 年 MW1-17 地下水中属水平上物种相对丰度差异性检验

Table 6 Student's *t*-test of relative abundance on genus level in groundwater sampled from MW1-17 in 2016 and 2021

菌种名称	2016年	2021年	平均差异量
<i>Sporobacter</i>	15.400	4.324	11.080**
unclassified_f_Lachnospiraceae	6.083	12.630	-6.547**
<i>Sedimentibacter</i>	14.640	3.337	11.300**
<i>Desulfitobacterium</i>	4.368	11.830	-7.462**
norank_f_Spirochaetaceae	2.826	11.080	-8.254**
<i>Acetobacterium</i>	7.190	1.680	5.510**
<i>Proteiniphilum</i>	4.689	2.164	2.525*
<i>Dehalobacter</i>	0.395	3.845	-3.450**
norank_f_norank_o_norank_c_BRH-c20a	0.428	3.116	-2.688**
norank_f_norank_o_Candidatus_Moranbacteria	0.491	2.095	-1.604**
<i>Methylobacter</i>	0.00	2.555	-2.555**
<i>Trichlorobacter</i>	1.001	0.403	0.598**
norank_f_Anaerolineaceae	0.130	1.253	-1.123*
<i>Fusibacter</i>	1.214	0.026	1.188**
<i>Anaerofustis</i>	0.394	0.846	-0.453**

注: *表示在 $P<0.05$ 水平显著相关; **表示在 $P<0.01$ 水平显著相关。

性结果也表明, 具有硫酸盐还原功能的微生物丰度也在降低, 而具有还原脱氯功能的微生物丰度逐渐增加。由此可见, 随着时间的推移, 地下水中氯代甲烷烃的微生物降解由以共代谢为主逐渐转变为以还原脱氯为主。

对 2016 年和 2021 年 MW1-17 监测井中地下水样品中微生物表型结果进行了预测 (表 7)。结果表明, 2016 年 MW1-17 地下水样品中有氧细菌的平均相对丰度为 0.146, 而 2021 年有氧细菌的相对丰度降为 0.064; 相对地, 2016 年 MW1-17 地下水样品中厌氧细菌的平均相对丰度为 0.569, 而 2021 年厌氧细菌的相对丰度为 0.690。由此可见, 在 2016—2021 年, MW1-17 地下水样品中的细菌群落逐渐向厌氧型转化。这与地球化学指标中 Eh 降低的变化规律一致。

3 结论

1) 该研究场地中 MW1-17 点位的氯代甲烷烃质量浓度最高, 以四氯化碳和氯仿为主, 且无向周边扩散的趋势, 是研究区的污染核心点位。经过 Mann-Kendall 趋势检验, MW1-17 点位 8 m 和 14 m 处的四氯化碳和氯仿的浓度均随着时间的延长下降, 均降低了 94% 以上, 尤其是在 14 m 处下降趋势显著。

2) MW1-17 点位 8 m 处地下水中四氯化碳和氯仿的降解速率常数分别为 0.002 d^{-1} 和 0.0013 d^{-1} , 14 m 处 2 种污染物的降解速率常数与浅井相同。以 2016 年 8 月为初始值计算, 该点位地下水若要

表 7 2016 和 2021 年 MW1-17 地下水中微生物表型预测结果

Table 7 Prediction of microbial phenotypes in groundwater sampled from MW1-17 in 2016 and 2021

样品编号	有氧	厌氧
2021_1	0.055 16	0.637 851
2021_2	0.072 301	0.735 692
2021_3	0.064 446	0.695 955
平均值	0.063 969	0.689 833
2016_1	0.130 294	0.530 455
2016_2	0.019 166	0.689 108
2016_3	0.288 592	0.488 335
平均值	0.146 017	0.569 299

达到修复目标需分别经过 11.5 a 和 23.5 a 左右。

3) 通过对天然条件下地下水中氯代烃的生物降解判定, 随着时间的延长, MW1-17 点位中氯代甲烷烃天然生物降解的证据逐渐充足。MW1-17 点位地下水从氧化环境转变至还原环境, 该点位的四氯化碳在 2016 年 8 月—2018 年 12 月以微生物共代谢降解为主, 而在 2018 年 12 月以后以还原脱氯降解为主。

4) 对 2016 和 2021 年 MW1-17 点位 8 m 处地下水样品中微生物多样性的分析结果表明, 随着时间的推移该点位的微生物群落结构发生变化, 逐渐向厌氧型转化, 其地下水中氯代甲烷烃的生物降解作用由以共代谢为主逐渐向还原脱氯为主转变。

参考文献

- [1] 宋震宇, 杨伟, 王文茜, 等. 氯代烃污染地下水修复技术研究进展[J]. *环境科学与管理*, 2014, 39(4): 95-99.
- [2] 谢辉. 某市东部地区地下水系统氯代烃迁移转化机理研究[D]. 济南: 济南大学, 2015.
- [3] 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(30): 1185-1193.
- [4] US EPA. Use of Monitored Natural Attenuation at Superfund, RCRA Corrective Action, and Underground Storage Tank Sites[R/OL]. [2021-08-01]. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA 20460. <https://semspub.epa.gov/work/HQ/159152.pdf>.
- [5] 环境保护部. 污染场地修复技术目录(第一批). 环境保护部[Z]. 2004.
- [6] CHEN Y, JIANG Y, ZHU Y, et al. Fate and transport of ethanol-blended dissolved BTEX hydrocarbons: A quantitative tracing study of a sand tank experiment[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2012, 70: 49-56.
- [7] 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 Engineers*, 2017, 72: 53-61.
- [8] HANG L, SU X, YAN W, et al. Effectiveness and mechanism of natural attenuation at a petroleum-hydrocarbon contaminated site[J]. *Chemosphere*, 2018, 206: 293-301.
- [9] 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): 2804-2808.
- [10] WITT M E, KLECKA G M, LUTZ E J, et al. Natural attenuation of chlorinated solvents at Area 6, Dover Air Force Base: groundwater biogeochemistry[J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2002, 57: 61-80.
- [11] NIJENHUIS I, NIKOLAUSZ M, KOETH A, et al. Assessment of the natural attenuation of chlorinated ethenes in an anaerobic contaminated aquifer in the Bitterfeld/Wolfen area using stable isotope techniques, microcosm studies and molecular biomarkers[J]. *Chemosphere*, 2007, 67(2): 300-311.
- [12] 郭琳. 上海某污染场地浅层地下水中氯代烃自然降解机制及能力研究[J]. *环境科技*, 2013, 26(3): 9-13.
- [13] 朱瑞利. 上海某污染场地地下水中三氯乙烷的自然衰减机制研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2014.
- [14] 朱瑞利, 张施阳, 李辉, 等. 上海浦东浅层地下水环境三氯乙烷自然衰减规律及过程模拟[J]. *华东理工大学学报(自然科学版)*, 2015, 41(3): 342-348.
- [15] 普发贵. Mann-Kendall检验法在抚仙湖水质趋势分析中的应用[J]. *环境科学导刊*, 2014(6): 39-40.
- [16] DEP. Use of monitored natural attenuation for groundwater remediation[EB/OL]. [2021-08-05]. Government of Western Australia, https://www.der.wa.gov.au/images/documents/your-environment/contaminated-sites/guidelines/use_of_monitored_natural_attenuation_for_groundwater_remediation.pdf, 2004.
- [17] 吴德礼, 马鲁铭, 王铮. 氯代有机物结构性质对还原脱氯速率的影响[J]. *工业用水与废水*, 2005, 36(1): 22-25.
- [18] EWELL C J, RIFAI H S, WILSON J T, et al. Ground water issue - calculation and use of first-order rate constants for monitored natural attenuation studies[EB/OL]. [2021-08-05]. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/540/S-02/500. <https://archive.epa.gov/ada/web/pdf/10004674.pdf>, 2002.
- [19] WIEDEMEIER T H, SWANSON M A, MOUTOUX D E, et al. Technical protocol for evaluating natural attenuation of chlorinated solvents in ground water[EB/OL]. [2021-08-05]. U. S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-98/128. <https://semspub.epa.gov/work/06/668746.pdf>, 1998.
- [20] 郑昭贤, 苏小四, 王鼎, 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.
- [21] 何江涛, 史敬华, 崔卫华, 等. 浅层地下水氯代烃污染天然生物降解的判别依据[J]. *地球科学*, 2004, 29(3): 357-362.
- [22] 赵阳国. 生态因子对硫酸盐还原系统中微生物群落动态影响的表征[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2006.
- [23] ZHANG X, LUO M, DENG S, et al. Field study of microbial community structure and dechlorination activity in a multi-solvents co-

- contaminated site undergoing natural attenuation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 423: 127010.
- [24] DOESBURG W, VAN EEKERT M, MIDDELDROP P, et al. Reductive dechlorination of β -hexachlorocyclohexane (β -HCH) by a *Dehalobacter* species in coculture with a *Sedimentibacter* sp.[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005(1): 87-95.
- [25] 刘帅. 氯代烷烃在垃圾填埋场覆盖层中的迁移转化及降解机制研究[D]. 重庆: 重庆理工大学, 2019.
- (责任编辑: 曲娜)

Natural attenuation mechanism of chloromethane hydrocarbons in groundwater of a typical pesticide contaminated site

FAN Tingting^{1,2}, XIA Feiyang^{1,2}, KONG Lingya^{1,2}, WANG Jian^{1,2}, JIANG Dengdeng^{1,2}, YANG Lu^{1,2}, ZHANG Shengtian^{1,2}, DENG Shaopo^{1,2,*}

1. Nanjing Institute of Environmental Science, Ministry of Ecology and Environment, Nanjing 210042, China

2. Key Laboratory of Soil Environmental Management and Pollution Control, Ministry of Ecology and Environment, Nanjing 210042, China

*Corresponding author, E-mail: dsp@nies.org

Abstract Natural attenuation monitoring technology is rarely used in the pesticide contaminated site, and its mechanism is still unclear. In this study, on the basis of a practical engineering case of monitoring natural attenuation in a pesticide contaminated site, the ability, mechanism and degradation time of natural attenuation of chloromethane hydrocarbons in groundwater were analyzed. The result of Mann-Kendall trend test showed that carbon tetrachloride (CT) and trichloromethane (CF) in MW1-17 well, being the core contamination point, had descending trend over time, and their degradation rates were above 95% and 94% within 4 monitored years, respectively. The calculated degradation rates of CT and CF were 0.002 d^{-1} and 0.0013 d^{-1} , respectively. The degradation evidence of MW1-17 became gradually sufficient over time, which confirmed the occurrence of biodegradation. According to the correlation analysis between geochemical indicators (NO_3^- , DOC) and CT in MW1-17, the main CT degradation process was co-metabolism from August 2016 to December 2018, and was mainly reductive dechlorination process after December 2018. Furthermore, the result of microbial diversity also showed from 2016 to 2021, the microbial community structure in groundwater changed, and gradually converted to anaerobic bacteria, and the abundance of reductively dechlorinating bacteria increased thereafter.

Keywords pesticide contaminated site; groundwater; chloromethane hydrocarbons; natural attenuation