

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20220120001

黄盼盼, 陶宗鑫, 王佳佳, 等. 石油烃污染土壤中蚯蚓对 PAHs 富集研究[J]. 生态毒理学报, 2022, 17(4): 471-481

Huang P P, Tao Z X, Wang J J, et al. Enrichment of PAHs by earthworms in petroleum hydrocarbon contaminated soil [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2022, 17(4): 471-481 (in Chinese)

石油烃污染土壤中蚯蚓对 PAHs 富集研究

黄盼盼^{1,2}, 陶宗鑫², 王佳佳¹, 徐晶², 欧阳少虎^{2,*}

1. 东营市生态环境局, 东营 257000

2. 南开大学环境科学与工程学院, 环境污染过程与基准教育部重点实验室, 天津 300071

收稿日期: 2022-01-20 录用日期: 2022-04-09

摘要: 为探究石油烃污染胁迫下土壤生物对多环芳烃(PAHs)的富集作用,以赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)为受试生物,分别暴露于不同浓度(0~20 g·kg⁻¹)石油烃7、14、21和28 d,测定蚯蚓体内总 PAHs 及各环 PAHs 的生物富集量和生物富集系数(BCF),评价了石油污染土壤对蚯蚓的 PAHs 富集特征的影响。结果表明,与无石油烃暴露对照组相比,蚯蚓对总 PAHs 及各环 PAHs 的富集量均显著($P<0.05$)增长,且随石油烃染毒浓度和暴露时间增加而提高,表现出很强的富集效应。在同一浓度石油烃污染暴露下,蚯蚓对 PAHs 2 环、3 环和 4 环富集量显著($P<0.05$)大于 5 环和 6 环富集量,并且石油烃浓度越大,这种选择性富集特征越明显。而且,随着石油烃染毒浓度的增加,蚯蚓对总 PAHs 及各环 PAHs 的 BCF 呈现先增大后减小趋势。以上结果说明,蚯蚓对 PAHs 的生物富集量与 BCF 之间没有特别明显的相关关系。本研究结果为评估石油烃及 PAHs 污染对土壤生物生态健康风险提供了基础数据和参考依据。

关键词: 石油烃;多环芳烃;蚯蚓;富集效应;生态风险

文章编号: 1673-5897(2022)4-471-11 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Enrichment of PAHs by Earthworms in Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil

Huang Panpan^{1,2}, Tao Zongxin², Wang Jiajia¹, Xu Jing², Ouyang Shaohu^{2,*}

1. Environmental Protection Agency of Dongying City, Dongying 257000, China

2. Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria (Ministry of Education), College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China

Received 20 January 2022 accepted 9 April 2022

Abstract: To study the enrichment effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on soil organisms in petroleum-contaminated soil, the earthworm *Eisenia foetida* was selected as the test organisms. After exposure to petroleum with different concentrations (0~20 g·kg⁻¹) for 7, 14, 21 and 28 d, respectively, and then the bio-enrichment and bio-concentration factors (BCF) of total PAHs and various cyclic PAHs in earthworms were measured. Moreover, the effects of petroleum-contaminated soil on the enrichment characteristics of PAHs in earthworms were also evaluated. The results showed that the enrichment of total PAHs and various cyclic PAHs by earthworms was significantly ($P<0.05$) higher than

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2019YFC1804104); NSFC 山东联合基金资助项目(U1906222); 博士后面上项目(2020M680867); “国家级大学生创新创业训练计划”创新训练项目(202110055079); 高等学校学科创新引智计划资助项目(T2017002)

第一作者: 黄盼盼(1986—), 女, 硕士, 研究方向为生态毒理学, E-mail: huangpanpan0546@163.com

* **通讯作者** (Corresponding author), E-mail: ouyangshaohu@nankai.edu.cn

that of the control group, and was also increased with the increase of petroleum hydrocarbon concentration and exposure time, showing a strong enrichment effect. For the same concentration of petroleum hydrocarbon exposure, the bioaccumulation of two ring, three ring, four ring PAHs were higher than those five and six ring PAHs in earthworm. With the concentration of petroleum hydrocarbon increased, the above selective enrichment characteristics was more obvious. Additionally, the BCF of total PAHs and various cyclic PAHs in earthworm increased firstly and then decreased when the petroleum hydrocarbon concentration increased. These results indicated that there was no significant correlation between the bio-enrichment and BCF of PAHs in earthworm. The results provided a basic data and reference for assessing the ecological risk of petroleum hydrocarbon and PAHs pollution to soil organisms.

Keywords: petroleum hydrocarbon; PAHs; earthworms; enrichment effect; ecological risk

石油是当今世界的主要能源之一,被誉为“经济血液”和“黑色黄金”。人类对于石油需求的不断增长使得石油烃污染事故频发,日益受到广泛关注^[1-3]。石油及其产品的生产、运输和处置等过程中的意外排放是多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)的重要来源,也可以说发生石油污染时往往伴随着 PAHs 污染。此外,PAHs 是石油烃重要组成部分,虽然仅占到其烃类物质的 5%~9%,但因 PAHs 具有致突变、致癌、致畸和高富集性的特点,导致石油烃的危害绝大多数都是由于 PAHs 造成的^[4-6]。研究表明,石油烃污染土壤往往会伴生 PAHs 污染^[7],并且 PAHs 具有亲脂性和疏水性易被土壤颗粒吸附积累^[8],还能通过食物链在生物体内不断富集^[9-10]。因此,研究石油烃污染胁迫下土壤生物对 PAHs 富集特征对于土壤生态系统保护、修复和健康评估是很有必要的。

蚯蚓作为土壤污染的重要指示生物,它的生命活动会直接或间接影响 PAHs 在土壤中的迁移和转化^[11-12]。生物富集系数可以综合评价污染物在生物体内的富集趋势^[6,13],因而分析蚯蚓中 PAHs 的富集量和生物富集系数,可以间接地反映土壤被石油烃污染的状况。目前石油烃污染物在海洋生物和土壤生物体内的富集特征研究已有一些报道^[14-16],而关于石油污染伴随的 PAHs 污染中不同环数 PAHs 在蚯蚓体内的富集特征的研究则鲜有报道。因此,本文模拟土壤在不同污染浓度石油烃污染胁迫下蚯蚓对其伴随的 PAHs 富集量和富集系数研究,揭示不同环数 PAHs 在蚯蚓体内的富集规律,该研究成果可为土壤石油烃污染物中 PAHs 对土壤生物的生态健康评估提供数据支撑。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料

试验所用赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)为国际标

准(OECD 207)试验蚓种之一^[17],购于天津贾立明蚯蚓养殖有限公司。赤子爱胜蚓体长 35~70 mm,宽 3~5 mm。颜色不定,紫色、红色、暗红色或淡红褐色,有时在背部色素变少的节间区有黄褐色交替的带。挑选健康的个体,清肠 24 h 后用作正式实验测试生物。

16 种优先控制的多环芳烃 PAHs(萘、苊、二氢苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]蒽、屈、苯并[b]荧蒽、苯并[k]荧蒽、苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒽、茚并[1,2,3-cd]芘和苯并[g,h,i]芘)标准样品(初始浓度 2 mg·mL⁻¹),购自美国 J&K Acros 公司。色谱纯二氯甲烷和正己烷购买自天津市康科德科技有限公司,中性氧化铝、层析用硅胶和无水硫酸钠购买自天津市化学试剂厂。

试验所用石油污染和清洁表层土壤(0~20 cm)分别采自山东省胜利油田现河采油厂(37°7'N,118°22'E)及其附近无污染的农田。将土壤样品自然风干,过 2 mm 筛,测定其 pH 值为 8.3~8.4,石油污染土壤和清洁土壤中有机质含量分别为 275.3 g·kg⁻¹和 59.0 g·kg⁻¹。

1.2 土壤中总石油烃含量和 PAHs 含量的测定

采用重量法中的索氏萃取法来测定土壤中总石油烃含量^[18]。称取 5.0 g 过筛后的石油污染土样,用滤纸包好后放入索氏提取器中。加入 150 mL 二氯甲烷,于 55 °C 恒温水浴萃取 24 h。萃取结束后,取下圆底烧瓶,55 °C 旋转蒸发至干,在通风橱内挥发至恒重,称量质量。经测定,石油污染土壤中总石油烃的含量为 110.0 g·kg⁻¹。将上述石油烃萃取液过硅胶层析柱(12 cm 硅胶,6 cm 氧化铝和 1 cm 无水硫酸钠填充),加入 70 mL 正己烷与二氯甲烷 1:1 混合液洗脱,此时得到含有 PAHs 洗脱液。将洗脱液再次旋蒸,待样品剩余 2 mL 时停止旋蒸,氮吹仪吹扫至近干。用色谱纯的正己烷定容至 10 mL,取 1 mL 于气

相小瓶中,待测,采用气相色谱质谱联用法(GC-MS)对石油污染土壤中 16 种 PAHs 进行定量分析。

1.3 蚯蚓石油烃污染土壤暴露富集实验

综合考虑石油烃在实际污染土壤中的浓度($110.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)及其对蚯蚓 14 d-LC₅₀ 浓度($21.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[9],将过筛后的石油烃污染土壤与清洁土壤按不同比例充分混合,配制成不同浓度(0、0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 和 $20.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)的石油烃污染土壤用于蚯蚓染毒,暴露试验按照 OECD (2004)推荐的标准方法进行^[9]。染毒实验选用 1 L 的烧杯,每个烧杯中加入 500 g 混匀的不同浓度石油烃污染土壤样品,每个试验浓度设置 3 个重复,试验期间调节土壤含水量为最大持水量的 60%。平衡 24 h 后将土壤搅拌均匀,每个烧杯中放入 10 条已经清肠的蚯蚓,置于 20 ℃ 的人工气候培养箱中黑暗避光培养。分别暴露 7、14、21 和 28 d 时,从每个烧杯中取出 2 条蚯蚓,用蒸馏水洗净、清肠、称量质量、编号,于 -80 ℃ 超低温冰箱中保存,用于后续实验测定。

1.4 PAHs 含量的测定

目前分析 PAHs 含量的主要方法有高效液相色谱法、纸色谱荧光光度法、气相色谱法和气相色谱质谱联用法等^[20]。本文使用 GC-MS 法对石油污染土

壤和蚯蚓样品体内 16 种 PAHs 进行定量分析。

1.4.1 蚯蚓样品体内 PAHs 的提取与富集

称取一定质量冷冻干燥 48 h 磨成粉末状的蚯蚓样品,用滤纸将蚯蚓样品包好,采用和 1.2 中完全一样的索氏提取方法提取和富集蚯蚓体内的 PAHs。待富集到蚯蚓样品中的 PAHs 萃取液后,经氮吹后用色谱纯的正己烷定容至 10 mL,取 1 mL 于气相小瓶中用 GC-MS 测定。

1.4.2 GC-MS 测定 PAHs 仪器分析条件

利用 GC-MS D5975 气质联用仪(Agilent, 美国)的 SIM 模式测定土壤和蚯蚓体内的 PAHs。色谱条件如下:色谱柱为 TR5-MS 色谱柱($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$),载气为高纯度氦气(99.999%),进样口温度为 280 ℃,进样体积为 1 μL ,无分流自动进样。柱温箱升温程序:初始温度 70 ℃,保持 2 min,然后以 $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 上升至 260 ℃,保持 8 min,最后以 $5 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 上升至 300 ℃,保持 5 min。采用外标法对 PAHs 进行定量分析,以 16 种 PAHs 标准样品在相同色谱条件下样品中 C10 ~ C35 之间所出的色谱峰进行积分,从而获得定量分析结果。16 种 PAHs 的保留时间及特征离子如表 1 所示,标准样品色谱图如图 1 所示。

表 1 16 种多环芳烃 (PAHs) 标准样品的结构参数及 GC-MS 测定参数

Table 1 Structural parameters and GC-MS determination parameters of 16 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) standard samples

出峰顺序 Peaks order	化学物名称 Chemical name	特征离子 Characteristic ion	保留时间/min Retention time/min	含量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$ Content/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$
1	萘 Naphthalene	128/127,129,102	7.95	1 000
2	苊 Acenaphthylene	152/151,153,76	11.67	1 000
3	二氢苊 Acenaphthene	154/153,152	12.07	1 000
4	芴 Fluorene	166/139,165	13.32	1 000
5	菲 Phenanthrene	178/165,163,82,176	15.67	1 000
6	蒽 Anthracene	178/179,176,89	15.79	1 000
7	荧蒽 Fluoranthene	202/200,101,203	18.56	1 000
8	芘 Pyrene	202/200,201,101,203	19.11	1 000
9	苯并[a]蒽 Benzo [a] anthracene	228/226,229	22.48	1 000
10	屈 Chrysene	228/226,230,113	22.62	1 000
11	苯并[b]荧蒽 Benzo [b] fluoranthene	252/250,253,126	27.14	1 000
12	苯并[k]荧蒽 Benzo [k] fluoranthene	252/253,250,126	27.27	1 000
13	苯并[a]芘 Benzo [a] pyrene	252/207,253,250,126	28.55	1 000
14	二苯并[a,h]蒽 Dibenzo [a,h] anthracene	278/279,139,276	32.94	1 000
15	茚并[1,2,3-cd]芘 Indeno [1,2,3-cd] pyrene	276/276,279,138	33.09	1 000
16	苯并[g,h,i]芘 Benzo [g,h,i] perylene	276/138,137,277	34.03	1 000

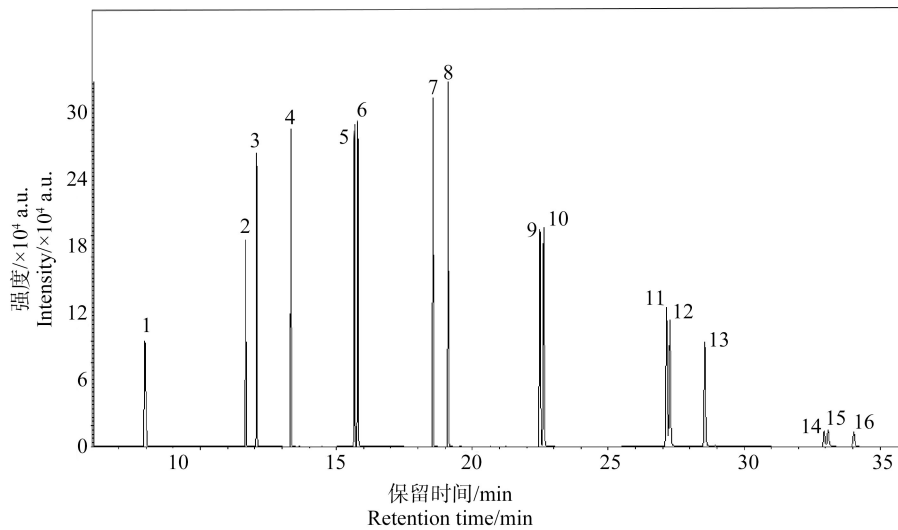


图1 PAHs标准样品的GC色谱图

Fig. 1 GC diagram of PAHs standard sample

1.5 数据统计和实验数据分析

对总 PAHs 在蚯蚓体内的生物富集系数 (bio-concentration factors, BCF) 进行计算, 公式如下:

$$BCF = C_e / C_m \quad (1)$$

式中: C_m 为暴露土壤介质中 PAHs 的浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$); C_e 为蚯蚓中 PAHs 富集浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)。

所有的实验组均设置 3 个实验组平行, 结果用平均值 \pm 标准偏差表示, 数据作图用 Origin 2021b 软件处理。实验数据使用 SPSS 20.0 统计软件进行单因素方差 (ANOVA) 分析, $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 为显著性差异。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 石油烃污染土壤中 PAHs 的含量及其组分特征

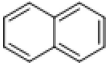


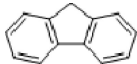
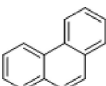
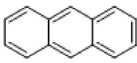
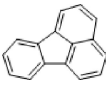
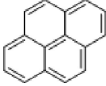
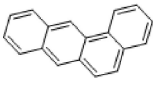
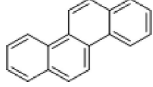
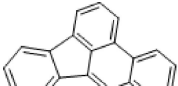
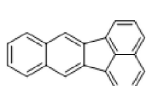
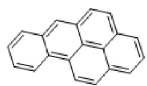
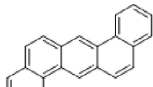
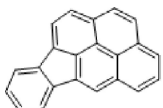
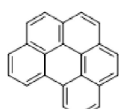
结果表明, 石油污染附近农田表层清洁土壤中 16 种 PAHs 总含量为 $0.56 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而石油烃污染表层土壤中 16 种 PAHs 总含量高达 $20\,070 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。根据 Maliszewska-Kordybach^[21] 提出的土壤 PAHs 污染评价标准, 可将土壤中 PAHs 的残留浓度分为 4 个等级: 未污染 ($< 200 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、轻度污染 ($200 \sim 600 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、中度污染 ($600 \sim 1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和严重污染 ($> 1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。本研究区表层清洁土壤属于未污染土壤, 而石油污染土壤中 PAHs 的平均含量超过严重污染标准 20 倍, 说明该地区土壤已受到 PAHs 超级严重污染。此外, 与国内外其他地区 PAHs 污染严重土壤相比, 如中国安徽芜湖市交通区土壤 PAHs 含量 ($5\,030 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、俄罗斯莫斯科

国家公园交通区土壤 ($264\,030 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和印度尼西亚南加里曼丹煤炭储存地土壤 ($11\,720 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[22-24], 本研究污染土壤中 PAHs 含量都明显偏高。根据以上结果分析, 可以充分表明本地区人类石油烃开采活动对土壤 PAHs 超高水平污染的影响, 因此急需开展 PAHs 治理与毒性评估工作。

土壤中 PAHs 环数的组成可反映其组分特征, 同时也代表其不同的污染来源, 在后期 PAHs 源解析中起着至关重要的基础数据支撑作用^[25]。因此, 根据 16 种 PAHs 环数组成可以将其分为 2 环 (萘、蒽、二氢蒽和芴)、3 环 (菲、蒎和荧蒎)、4 环 (芘、苯并[a]蒎、屈、苯并[b]荧蒎和苯并[k]荧蒎)、5 环 (苯并[a]芘、二苯并[a,h]蒎和茚并[1,2,3-cd]芘) 和 6 环 (苯并[g,h,i]芘) PAHs, 其相应的结构式如表 2 所示。由表 2 可知, 本研究石油烃污染土壤中 2 个苯环的 PAHs 含量为 $3.43 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 3 个苯环的 PAHs 含量为 $12.13 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 4 个苯环的 PAHs 含量为 $3.80 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 5 个苯环和 6 个苯环的 PAHs 含量分别为 $0.41 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.30 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。PAHs 环数占比依次为 3 环 (60.44%) > 4 环 (18.93%) > 2 环 (17.10%) > 5 环 (2.04%) > 6 环 (1.49%)。由此可见, 石油烃 PAHs 污染土壤中 3 环和 4 环 PAHs 占有较大比例 (>79%), 这与国内其他 PAHs 污染地区的组分特征研究结果保持一致^[26-27]。石油烃污染土壤中含量最高的是菲, 达到 $11.21 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 其次 $> 1.00 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 的依次是芴 $1.58 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 屈 $1.27 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 芘 $1.22 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 萘 $1.1533 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表2 石油烃污染土壤中16种PAHs的GC-MS测定参数及结果

Table 2 Determination parameters and results of 16 PAHs in petroleum hydrocarbon contaminated soil by GC-MS

出峰顺序 Peaks order	化学物名称 Chemical name	结构式 Structural formula	环数 Ring number	保留时间/min Retention time/min	含量/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Content/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
1	萘 Naphthalene		2	7.95	1.15±0.58
2	茚 Acenaphthylene		3	11.67	0.24±0.20
3	二氢茚 Acenaphthene		3	12.07	0.46±0.55
4	芴 Fluorene		3	13.33	1.58±0.55
5	菲 Phenanthrene		3	15.67	11.21±1.19
6	蒽 Anthracene		3	15.78	0.48±0.03
7	荧蒽 Fluoranthene		4	18.56	0.44±0.50
8	芘 Pyrene		4	19.11	1.22±0.01
9	苯并[a]蒽 Benzo [a] anthracene		4	22.48	0.32±0.25
10	屈 Chrysene		4	22.62	1.27±0.18
11	苯并[b]荧蒽 Benzo [b] fluoranthene		5	27.14	0.34±0.80
12	苯并[k]荧蒽 Benzo [k] fluoranthene		5	27.271	0.65±0.23
13	苯并[a]芘 Benzo [a] pyrene		5	28.55	0.27±0.06
14	二苯并[a,h]蒽 Dibenzo [a,h] anthracene		5	32.94	0.09±0.01
15	茚并[1,2,3-cd]芘 Indeno [1,2,3-cd] pyrene		6	33.09	0.05±0.03
16	苯并[g,h,i]芘 Benzo [g,h,i] perylene		6	34.03	0.30±0.03

2.2 无石油烃污染胁迫时总 PAHs 及各环 PAHs 在蚯蚓体内的富集变化

据报道,不同环数的 PAHs 在蚯蚓体内的富集量是不同的^[28-29]。如图 2 所示,在无石油烃污染暴露时,16 种 PAHs 在蚯蚓体内也有不同程度的积累,达 $0.21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。而且,在暴露 7 d 与暴露 14~28 d 相比,总 PAHs 和各环 PAHs 在蚯蚓的体内富集浓度没有显著性差异($P<0.05$),说明在 7 d 内蚯蚓对 PAHs 的富集已达到平衡。此外,暴露 7 d 时,蚯蚓对不同环数 PAHs 的富集量排序为:2 环 PAHs($0.11 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)>5 环 PAHs($0.05 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)>4 环 PAHs($0.03 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)>3 环 PAHs($0.02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)>6 环 PAHs($0.01 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),本研究结果也证实了不同环数的 PAHs 在蚯蚓体内的富集量确实有差异。此外,如表 3 所示,暴露 28 d 时,蚯蚓对不同环数 PAHs 的生物富集系数排序为:5 环 PAHs(0.58)>4 环 PAHs(0.46)>3 环 PAHs(0.44)>2 环 PAHs(0.32)>6 环 PAHs(0.24)。这表明,除了 2 环 PAHs 外,蚯蚓对其他多环 PAHs 富集量与富集系数保持一致的规律。

2.3 石油烃污染胁迫下伴随的总 PAHs 及各环 PAHs 在蚯蚓体内的富集变化

在石油烃胁迫污染下 7~28 d 后,总 PAHs 及各

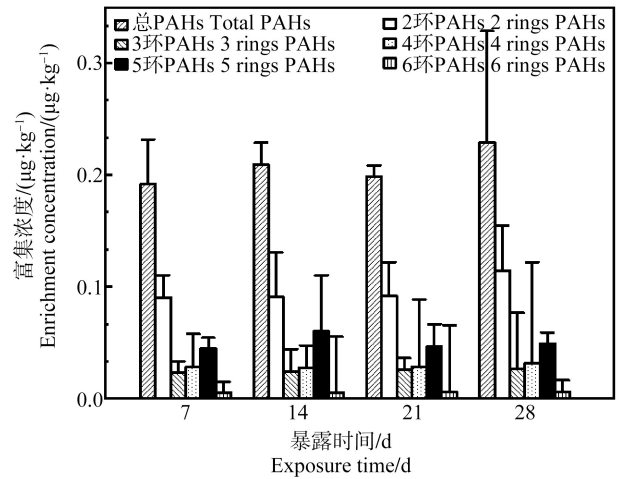


图 2 未污染土壤中总 PAHs 及各环 PAHs 在蚯蚓体内的富集量

Fig. 2 Enrichment of total PAHs and various cyclic PAHs in uncontaminated soil by earthworms

表 3 不同暴露时间、暴露浓度下总 PAHs 及各环 PAHs 在蚯蚓体内的生物富集系数 (BCFs)

Table 3 Bio-concentration factors (BCFs) of total PAHs and various cyclic PAHs at different exposure duration and concentration in earthworms

石油烃浓度/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Petroleum hydrocarbon concentration/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	总 PAHs 的生物富集系数 BCFs of total PAHs				2 环 PAHs 的生物富集系数 BCFs of 2 rings PAHs				3 环 PAHs 的生物富集系数 BCFs of 3 rings PAHs			
	7 d	14 d	21 d	28 d	7 d	14 d	21 d	28 d	7 d	14 d	21 d	28 d
0	0.44	0.34	0.26	0.54	0.32	0.54	0.45	0.32	0.55	0.66	0.44	0.44
0.5	14.31	15.59	14.83	17.06	22.10	23.19	30.15	23.20	2.25	2.03	1.98	3.45
1	23.58	20.70	21.42	28.78	48.80	50.32	51.16	52.19	7.75	9.55	10.81	16.25
2.5	12.27	11.18	13.57	19.35	27.23	26.46	27.92	28.16	4.51	4.88	5.83	11.49
5	5.07	4.74	5.701	8.94	11.29	11.57	12.35	14.94	2.77	2.25	2.83	4.83
10	3.26	2.24	3.06	4.51	7.49	7.78	7.94	8.09	1.90	1.29	1.50	1.87
20	1.78	1.54	1.96	2.54	3.68	4.17	5.19	5.37	0.97	0.80	0.89	1.11
石油烃浓度/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) Petroleum hydrocarbon concentration/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	4 环 PAHs 的生物富集系数 BCFs of 4 rings PAHs				5 环 PAHs 的生物富集系数 BCFs of 5 rings PAHs				6 环 PAHs 的生物富集系数 BCFs of 6 rings PAHs			
	7 d	14 d	21 d	28 d	7 d	14 d	21 d	28 d	7 d	14 d	21 d	28 d
0	0.47	0.66	0.42	0.46	0.55	0.55	1.55	0.58	0.55	0.58	0.79	0.24
0.5	8.32	10.11	12.22	23.03	3.96	9.75	6.83	5.67	50.19	30.67	39.54	58.68
1	26.17	24.07	19.44	43.53	75.71	63.64	91.19	191.03	21.43	9.17	18.74	26.72
2.5	13.94	14.41	23.06	23.37	57.3	41.02	57.59	106.03	10.29	9.73	4.01	16.39
5	5.82	6.07	9.59	9.63	29.48	16.08	21.85	45.12	1.66	3.16	3.82	9.26
10	3.44	3.97	5.43	6.61	1.97	9.36	7.35	25.22	1.74	2.70	2.76	4.99
20	2.42	2.19	3.33	4.04	1.06	2.01	4.07	7.60	1.52	1.30	2.06	2.86

环 PAHs 在蚯蚓体内的富集量如图 3 所示。总体而言,与无石油烃胁迫土壤相比(图 2),石油烃污染土壤蚯蚓体内总 PAHs(图 3(a))和各环 PAHs(图 3(b)~3(f))的富集量都显著($P<0.05$)提高,且随石油烃染毒浓度和暴露时间增加而提高。这说明蚯蚓在石油烃暴露下体内蓄积的 PAHs 主要来源是石油烃中 PAHs。通常,PAHs 在蚯蚓体内的富集与土壤中的 PAHs 浓度及组成有着极大的关系,因而有必要进一步考察石油烃胁迫下其伴随的 PAHs 含量。如表 3 所示,测得石油烃污染土壤中 16 种 PAHs 总含量为 $20.07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,石油烃含量为 0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 和 $20.0 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的土壤中 PAHs 的总含量依次为 0.09、0.18、0.46、0.91、1.82 和 $3.65 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。特别是在高浓度($20 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)暴露下这一规律显得尤为显著。例如,在 $20 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 石油烃污染土壤中,总 PAHs 在蚯蚓 7、14、21 和 28 d 富集量分别为 3.55、4.59、5.57 和 $7.05 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,28 d 富集量是 7 d 富集量的 1.99 倍,差异显著($P<0.01$)。同样的趋势还出现蚯蚓对 3 环、4 环、5 环和 6 环 PAHs 的体内富集中(图 3(c)~3(f))。结果表明,在相同的石油烃暴露浓度下,蚯蚓对 PAHs 的 2 环、3 环和 4 环富集量显著($P<0.05$)大于 5 环和 6 环富集量,并且土壤中石油烃暴露浓度越大,这种富集效果越明显。以上结果说明,蚯蚓对各环 PAHs 的富集量受到 PAHs 暴露浓度和暴露时间的影响。蚯蚓对 PAHs 的富集平衡时间与石油烃暴露的浓度存在一定关联,当无石油烃暴露时,蚯蚓在 7 d 内即可达到富集平衡,而当高浓度石油烃暴露时,蚯蚓对石油烃污染土壤伴随的 PAHs 的富集平衡时间延长了,14~28 d 内都未达到富集平衡。随着石油烃暴露时间的增大(如 28 d 时),蚯蚓对 PAHs 的富集速率随其环数的增加而降低,这可能是由于 PAHs 进入土壤后与土壤中活性物质如有机质发生相互作用而引起的老化过程导致的,有研究表明 PAHs 在不同的老化时间,蚯蚓对低环数 PAHs 的吸收率和 BCF 都大于高环数 PAHs(表 3),表明高环数 PAHs 的生物有效性小于低环数 PAHs^[30]。污染物起始暴露浓度对生物的富集有很大影响^[6,31],本研究土壤中的 2 环 PAHs、3 环 PAHs 以及 4 环 PAHs 的初始暴露含量远高于 5 环和 6 环 PAHs(表 3),这可能是造成上述趋势的原因之一。此外,PAHs 的辛醇水分配系数(K_{ow})也是影响 PAHs 生物有效性的关键因素之一,PAHs 的环数不同,其辛醇水分配系数也不相同,低环数(2~4 环)PAHs 的辛醇-水分配系数

(如萘, $\log K_{ow}=3.4$)小于高环数(5~6 环)PAHs(如苯并[a]芘, $\log K_{ow}=6.3$),所以低环数(2~4 环)PAHs 更容易进入土壤空隙水中,从而容易被蚯蚓以被动扩散的方式吸收,而辛醇-水分配系数较高的高环 PAHs(5~6 环)则容易被土壤颗粒中黏粒组分吸附并结合,从而使得蚯蚓表现出较低的生物有效性,研究表明那些溶解于水相或者弱吸附状态的低环数(2~4 环)PAHs(如萘)才更可能通过表皮或者肠道吸收的方式进入蚯蚓体内,从而增加其在蚯蚓体内富集^[32-33]。Cuypers 等^[34]的研究表明当 PAHs 的环数从 2 环增加到 6 环时,PAHs 分子直径相应地从 0.5 nm 增加到 0.9 nm,而高环数大粒径的 PAHs 相对于低环数小粒径的 PAHs 更难进入生物体内并在其体内积累。

通过公式(1)计算不同暴露时间和石油烃暴露浓度下伴随的 PAHs 在蚯蚓体内的 BCF,结果如表 3 所示。结果表明,在 6 种不同浓度石油烃污染的土壤中,不同培养时间对蚯蚓体内总 PAHs 及各环 PAHs 富集量的影响均表现出显著性($P<0.05$)差异(如对于 $1 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 石油烃污染的土壤,7 d 总 PAHs BCF 为 23.58;对于 $2.5 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 石油烃污染的土壤,28 d 5 环 PAHs BCF=106.03;对于 $20.0 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 石油烃污染的土壤,21 d 2 环 PAHs BCF 为 5.19)。除了 3 环 PAHs 在 7~21 d 时 BCF<1 外,其他所有石油烃的处理组中 BCF 都>1,说明蚯蚓可以较好地富集 PAHs。在同一浓度石油烃暴露下,随着染毒时间的增加,蚯蚓体内总 PAHs 及各环 PAHs 的 BCF 总体呈增大趋势,这可能因为 PAHs 在蚯蚓体内的富集,而使土壤中的含量降低,使得 BCF 增大。对同一暴露时间而言,随着石油烃染毒浓度的增加,蚯蚓体内总 PAHs 及各环 PAHs 的 BCF 呈现先增大后减小的趋势,这主要是因为当石油烃染毒浓度较低时,蚯蚓对其适应性较强,可以较好地对 PAHs 进行富集,并且富集量很快达到阈值,使得蚯蚓 PAHs 中毒或者抗氧化酶活性降低,从而对 PAHs 的富集量保持不变或者下降,导致 BCF 呈下降趋势^[6,35]。通过对比不同环数 PAHs 的 BCF 发现,在 $1 \text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 石油烃污染的土壤暴露 28 d 后 5 环 PAHs 的 BCF 最大(191.03),表明蚯蚓可以很好地富集 5 环 PAHs。

2.4 石油烃暴露浓度与蚯蚓体内 PAHs 生物富集特征相关性分析

已有研究表明,经过 11 d,不同浓度石油烃污染物在污染土壤和蚯蚓之间均达到了动态分配稳态平衡^[36],所以在富集的第 28 天,蚯蚓对土壤中的石油

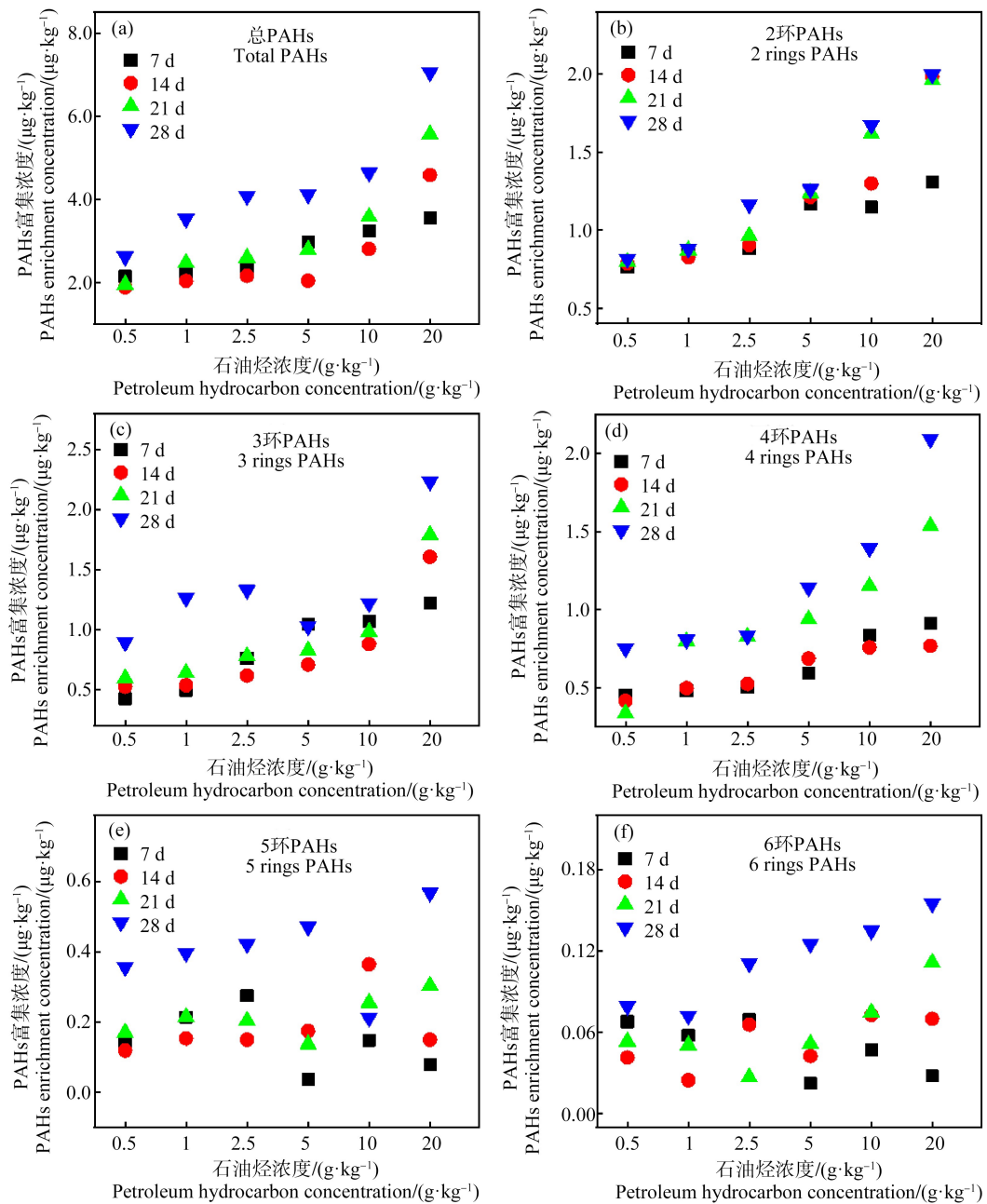


图3 石油烃胁迫污染下总PAHs及各环PAHs在蚯蚓体内的富集量

Fig. 3 Accumulation of total PAHs and cyclic PAHs in earthworms under petroleum hydrocarbon stress

烃的PAHs富集已达到平衡,基本上不再随时间变化而发生显著变化。因此,为了进一步深入揭示石油烃污染对蚯蚓PAHs生物富集特征的影响,对28 d石油烃污染后暴露浓度与蚯蚓PAHs富集量及BCF的相关性进行了分析,结果如图4所示。由图4(a)和4(b)可知,石油烃暴露浓度与蚯蚓体内总PAHs和各环PAHs富集量的关系呈良好的正线性关系。经过28 d的富集,不同石油烃暴露浓度与总PAHs、2环PAHs、3环PAHs、4环PAHs、5环PAHs

和6环PAHs的相关系数(r^2)分别为0.93、0.93、0.96、0.84、0.64和0.83。以上结果说明石油烃暴露浓度和蚯蚓体内总PAHs富集量之间存在着正相关关系,而且PAHs环数越低,整体的正向相关性越好。此外,在同一暴露时间28 d下,线性拟合的斜率(K)值越大,说明富集速率越大。由此可知,蚯蚓对不同环数PAHs的富集速率大小依次为:2环PAHs($K=0.059$)>3环PAHs($K=0.059$)>4环PAHs($K=0.049$)>5环PAHs($K=0.0064$)>6环PAHs($K=0.0039$)。这说明

蚯蚓在石油烃胁迫 28 d 后对 PAHs 的吸收速率随其环数的增加而降低。

暴露 28 d 后,不同石油烃浓度与蚯蚓体内总 PAHs 和各环 PAHs 的 BCF 线性相关关系如图 4(c)~4(d)所示。在低浓度($0.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)石油烃暴露下,蚯蚓对总 PAHs 与各环(除 6 环)PAHs 的 BCF 呈显著的正相关,随着石油烃暴露浓度增加,BCF 值逐渐增大。在 $1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 石油烃暴露下,蚯蚓对总 PAHs、2 环 PAHs、3 环 PAHs、4 环 PAHs 和 5 环 PAHs 的 BCF 都达到最大值,分别为 28.78、52.19、16.25、43.53 和 191.03(表 3 和图 3(c)~3(d))。与之相反的是在高浓度石油烃暴露($2.5 \sim 20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)下,暴露浓度与 BCF 之间的关系呈现负线性相关关系,随着暴露浓度的增大,总 PAHs 和各环 PAHs 的 BCF 值呈不断减小趋势。而且,当暴露石油烃浓度 $>10 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,蚯蚓对总 PAHs 和各环 PAHs 的 BCF 趋向缓慢降低至无明显变化。以上结果表明,随着石油烃暴露浓度的增加,在石油烃胁迫下蚯蚓对各环 PAHs 的富集水平具有一定的选择性,且随着高浓度石油

烃暴露的浓度增加,蚯蚓对总 PAHs 和各环 PAHs 的富集能力也下降。此外,对比富集量和 BCF 与暴露浓度之间的关系(图 4),还发现蚯蚓对总 PAHs 和各环 PAHs 的富集量与 BCF 的线性相关性不大,这与之前其他研究报道的结论类似^[37]。

综上,本实验通过对蚯蚓在不同浓度石油烃($0 \sim 20 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和暴露时间(7~28 d)下对 PAHs 在体内的富集量和 BCF 进行分析,得出蚯蚓对于 PAHs 具有很强的富集效应,且对不同环数 PAHs 具有较好的选择性富集能力,因而,蚯蚓能够成为研究采油区土壤 PAHs 污染的指示生物。

综上所述,本研究表明:(1)蚯蚓能从石油烃污染土壤中吸收 PAHs,与无石油烃污染空白对照组相比,蚯蚓对总 PAHs 和各环 PAHs 的富集作用有显著提升。(2)通过对蚯蚓对总 PAHs 和各环 PAHs 富集量研究发现,随着石油烃暴露浓度和暴露时间不断增加,蚯蚓对其中伴随的总 PAHs 和各环 PAHs 的富集量也显著性增加。此外,蚯蚓对不同环数 PAHs 具有明显的选择性富集特征,相比于高环数(5~6 环)

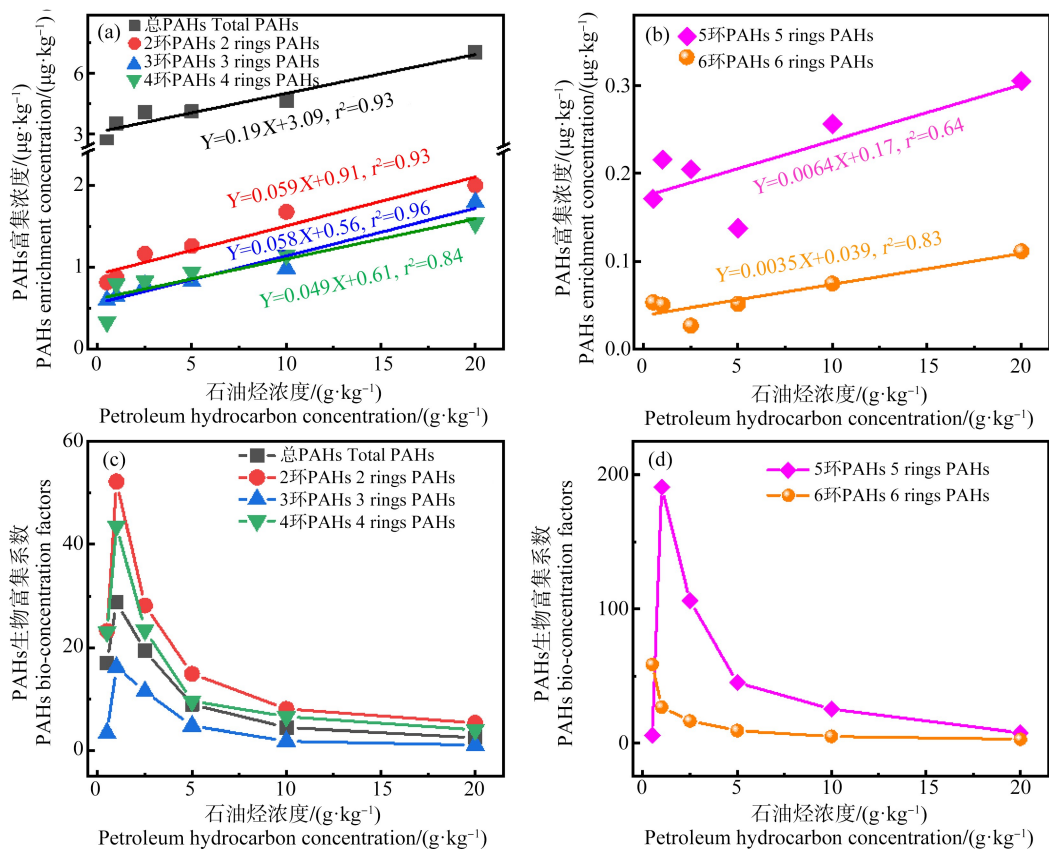


图 4 总 PAHs 及各环 PAHs 在蚯蚓体内的富集量和 BCF 与石油烃浓度的相关性分析

Fig. 4 The correlation analysis between petroleum hydrocarbon concentration and the enrichment and BCFs of total PAHs and various cyclic PAHs in earthworms

PAHs,低环数(2~4)PAHs 更容易被蚯蚓富集。而且暴露 28 d 后,蚯蚓对 PAHs 的富集速率随其环数的增加而降低。(3)通过对蚯蚓对总 PAHs 和各环 PAHs 的 BCF 研究发现,在同一浓度石油烃暴露下,随着染毒时间的增加,BCF 值增大;对同一暴露时间而言,BCF 的值随着石油烃染毒浓度的增加呈现先增大后减小的趋势。然而,蚯蚓对总 PAHs 和各环 PAHs 的 BCF 与其富集量之间没有特别明显的线性相关关系,未来研究中,有关富集量和富集系数的关系有待进一步研究。

通讯作者简介:欧阳少虎(1989—),男,博士,助理研究员,主要研究方向为纳米颗粒生物效应和生态毒理学。

参考文献(References):

- [1] Ossai I C, Ahmed A, Hassan A, et al. Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, 17: 100526
- [2] 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
- [3] 黄盼盼,周启星.石油污染土壤对蚯蚓的致死效应及回避行为的影响[J].*生态毒理学报*,2012,7(3):312-316
Huang P P, Zhou Q X. Effects of petroleum-contaminated soil on lethality and avoidance behavior of the earthworm *Eisenia foetida* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2012, 7(3): 312-316 (in Chinese)
- [4] Avci A, Kaçmaz M, Durak İ. Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to a petroleum refinery industry [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, 60(1): 101-105
- [5] 李香,魏海峰,刘长发,等.2种烷基多环芳烃对仿刺参 CYP450 和 p53 基因表达的影响研究[J].*生态毒理学报*,2019,14(1):83-89
Li X, Wei H F, Liu C F, et al. Effects of 2 kinds of alkyl-PAHs on the expression of CYP450 and p53 genes of *Apostichopus japonicus* [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2019, 14(1): 83-89 (in Chinese)
- [6] 周启星.生态毒理学[M].北京:科学出版社,2004:9-100
- [7] Czarny J, Staninska-Pięta J, Piotrowska-Cyplik A, et al. *Acinetobacter* sp. as the key player in diesel oil degrading community exposed to PAHs and heavy metals [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 383: 121168
- [8] 冉宗信,陈靖宇,王亚婷,等.典型工业区土壤多环芳烃污染特征及影响因素[J].*环境科学*,2019,40(10):4594-4603
Ran Z X, Chen J Y, Wang Y T, et al. Characteristics and influencing factors of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface soils from typical industrial areas of Chengdu [J]. *Environmental Science*, 2019, 40(10): 4594-4603 (in Chinese)
- [9] Yang W X, Hadibarata T, Mahmoud A H, et al. Biotransformation of pyrene in soil in the presence of earthworm *Eisenia fetida* [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, 18: 100701
- [10] Zhou Q X, Cheng Y, Zhang Q R, et al. Quantitative analyses of relationships between ecotoxicological effects and combined pollution [J]. *Science in China Series C, Life Sciences*, 2004, 47(4): 332-339
- [11] Shi Z M, Wang C Y, Zhao Y H. Effects of surfactants on the fractionation, vermiaccumulation, and removal of fluoranthene by earthworms in soil [J]. *Chemosphere*, 2020, 250: 126332
- [12] Li Y B, Wang X, Sun Z J. Ecotoxicological effects of petroleum-contaminated soil on the earthworm *Eisenia fetida* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 393: 122384
- [13] Liu L N, Song Z L, Li Q, et al. Accumulation and partitioning of toxic trace metal(loid)s in phytoliths of wheat grown in a multi-element contaminated soil [J]. *Environmental Pollution*, 2022, 294: 118645
- [14] Noh J, Kim H, Lee C, et al. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by the marine clam, *Macra veneriformis*, chronically exposed to oil-suspended particulate matter aggregates [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(14): 7910-7920
- [15] Sørensen L, Hansen B H, Farkas J, et al. Accumulation and toxicity of monoaromatic petroleum hydrocarbons in early life stages of cod and haddock [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 251: 212-220
- [16] Zhao H, Zhao X, Xue S, et al. Bioaccumulation and transformation of petroleum hydrocarbon in *Perinereis aibuhitensis* exposed to crude oil [J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2018, 27(12A): 9091-9102
- [17] Teng Y, Zhou Q X. Bioavailability and toxicity variation of benzo(a)pyrene in three soil-wheat systems: Indicators of soil quality [J]. *Land Degradation & Development*, 2021, 32(14): 3847-3855
- [18] Cheng L J, Zhou Q X, Yu B B. Responses and roles of roots, microbes, and degrading genes in rhizosphere during phytoremediation of petroleum hydrocarbons contaminated soil [J]. *International Journal of Phytoremediation*,

- 2019, 21(12): 1161-1169
- [19] Jiang X F, Chang Y Q, Zhang T, et al. Toxicological effects of polystyrene microplastics on earthworm (*Eisenia fetida*) [J]. Environmental Pollution, 2020, 259: 113896
- [20] Pandey S K, Kim K H, Brown R J C. A review of techniques for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in air [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2011, 30(11): 1716-1739
- [21] Maliszewska-Kordybach B. Polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils in Poland: Preliminary proposals for criteria to evaluate the level of soil contamination [J]. Applied Geochemistry, 1996, 11(1-2): 121-127
- [22] 华德武, 汪青, 徐红, 等. 芜湖市交通区表层土壤多环芳烃与黑碳研究[J]. 中国环境科学, 2018, 38(6): 2253-2263
- Hua D W, Wang Q, Xu H, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and black carbon in surface soil from traffic areas in Wuhu, China [J]. China Environmental Science, 2018, 38(6): 2253-2263 (in Chinese)
- [23] Zavgorodnyaya Y A, Chikidova A L, Biryukov M V, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulate depositions and urban soils of Moscow, Russia [J]. Journal of Soils and Sediments, 2019, 19(8): 3155-3165
- [24] Mizwar A, Priatmadi B J, Abdi C, et al. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contamination in surface soil of coal stockpile sites in South Kalimantan, Indonesia [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2016, 188(3): 152
- [25] Ouyang Z Z, Gao L M, Yang C. Distribution, sources and influence factors of polycyclic aromatic hydrocarbon at different depths of the soil and sediments of two typical coal mining subsidence areas in Huainan, China [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 163: 255-265
- [26] Wang D, Zhu S L, Wang L J, et al. Distribution, origins and hazardous effects of polycyclic aromatic hydrocarbons in topsoil surrounding oil fields: A case study on the loess plateau, China [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(4): 1390
- [27] Chen Y N, Zhang J Q, Zhang F, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons in farmland soils around main reservoirs of Jilin Province, China: Occurrence, sources and potential human health risk [J]. Environmental Geochemistry and Health, 2018, 40(2): 791-802
- [28] Jonker M T O, Van der Heijden S A, Kreitinger J P, et al. Predicting PAH bioaccumulation and toxicity in earthworms exposed to manufactured gas plant soils with solid-phase microextraction [J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(21): 7472-7478
- [29] Eijsackers H, Van Gestel C A, De Jonge S, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon-polluted dredged peat sediments and earthworms: A mutual interference [J]. Ecotoxicology, 2001, 10(1): 35-50
- [30] Ma L L, Zhang J, Han L S, et al. The effects of aging time on the fraction distribution and bioavailability of PAH [J]. Chemosphere, 2012, 86(10): 1072-1078
- [31] Zhang J D, Li Y N, Liu C Y, et al. Concentration levels, biological enrichment capacities and potential health risk assessment of trace elements in *Eichhornia crassipes* from Honghu Lake, China [J]. Scientific Reports, 2019, 9: 2431
- [32] Su D, Li P J, Wang X, et al. Biodegradation of benzo[a]pyrene in soil by immobilized fungus [J]. Environmental Engineering Science, 2008, 25(8): 1181-1188
- [33] 张亚楠, 杨兴伦, 卞永荣, 等. 化学提取法表征污染土壤中 PAHs 老化规律和蚯蚓富集特征[J]. 环境科学, 2015, 36(12): 4582-4590
- Zhang Y N, Yang X L, Bian Y R, et al. Aging law of PAHs in contaminated soil and their enrichment in earthworms characterized by chemical extraction techniques [J]. Environmental Science, 2015, 36(12): 4582-4590 (in Chinese)
- [34] Cuypers C, Pancras T, Grotenhuis T, et al. The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Triton X-100 extraction techniques [J]. Chemosphere, 2002, 46(8): 1235-1245
- [35] Zhou Q X, Hu X G. Systemic stress and recovery patterns of rice roots in response to graphene oxide nanosheets [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51(4): 2022-2030
- [36] Šmídová K, Hofman J. Uptake kinetics of five hydrophobic organic pollutants in the earthworm *Eisenia fetida* in six different soils [J]. Journal of Hazardous Materials, 2014, 267: 175-182
- [37] 吴尔苗, 王军良, 赵士良, 等. 菲和芘单一及复合污染对蚯蚓抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响[J]. 环境科学学报, 2011, 31(5): 1077-1085
- Wu E M, Wang J L, Zhao S L, et al. Effect of single and combined pollution of Phe, Pyr on SOD, CAT activities and MDA content of *Eisenia foetida* in soils [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2011, 31(5): 1077-1085 (in Chinese) ◆