

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2013.09.006

岸滩模拟溢油生物降解条件下原油中 二环倍半萜变化规律*

侯伟^{1,2} 杨佰娟^{2,3**} 郑立² 詹天荣¹ 崔志松² 李倩² 高伟²

(1. 青岛科技大学化学与分子工程学院, 青岛, 266042; 2. 国家海洋局第一海洋研究所, 海洋生态研究中心, 青岛, 266061;
3. 中国海洋大学化学化工学院海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 青岛, 266100)

摘要 以渤西油田海上平台中质原油作为研究对象, 进行岸滩模拟溢油生物降解实验. 采用气相色谱与质谱联用技术(GC-MS)对原油中二环倍半萜化合物进行了分析, 探讨了不同生物降解条件下二环倍半萜化合物的分布规律, 并对该化合物诊断比值的变化规律以及稳定性进行了考察. 研究表明, 经过21 d的生物降解, 加入生物降解菌剂和营养盐的原油中二环倍半萜化合物的分布变化不大, 加入生物降解菌剂和缓释肥的原油中二环倍半萜化合物降解比较大. 经过 t 检验分析, 经过21 d短期生物降解, 二环倍半萜化合物诊断比值 DR_3 、 DR_6 、 DR_9 以及 DR_{10} , 可以用于判别生物降解前21 d内油样是否来自同一油源. 二环倍半萜化合物诊断比值对于溢油来源鉴别具有重要意义.

关键词 生物降解, 二环倍半萜, 诊断比值, 溢油鉴别.

随着海上石油运输业的发展, 溢油事故时有发生, 溢油不仅破坏生态平衡, 对环境造成严重污染, 而且严重威胁人类健康. 然而溢油进入环境后, 受蒸发、乳化、溶解、光化学氧化作用和生物降解等一系列风化作用的影响, 石油的物理和化学性质会发生变化^[1], 而海洋中存在各类微生物, 在溢油进入环境后必然会经历生物降解这一风化过程^[2]. 生物降解是导致原油中化合物含量和组成发生变化的主要原因之一^[3], 因此掌握生物降解对溢油化学指纹的影响具有重要意义.

二环倍半萜(Bicyclic sesquiterpenes, 简称BS)是一类重要的生物标志化合物, 由藿烷于成岩作用初期, 在微生物作用下, 发生降解、开环断裂, 形成带有官能团、具有双环结构的产物, 后经脱官能团、重排演化形成的具有十氢化萘碳骨架的多种异构体化合物^[4], 广泛存在于各类生物体以及石油沉积物中, 并且在燃料油以及柴油中也有存在^[5]. 该类化合物具有较强的抗生物降解性, 沸点较低, 有重要的地球化学意义^[6]. Alexander等对澳大利亚原油的研究确定了石油中桉叶烷以及补身烷等倍半萜的存在^[7]; Stout等^[8]成功采用二环倍半萜的相对含量对中质燃料油进行准确鉴别. 目前国内利用二环倍半萜化合物进行溢油鉴别的研究报道较少.

关于生物降解对生物标志物的影响, 目前已有多方报道, Prince等^[9]以 C_{30} 藿烷为内标, 发现生物降解对于多环芳烃的影响表现为同一类芳烃化合物中取代烷基数目越多, 生物降解对其影响越小; 徐晓琴^[10]研究了生物降解对被石油污染的海底沉积物和废油的影响, 发现在生物降解30 d内, 正构烷烃得到彻底降解, 但对姥鲛烷和植烷的影响很小. 但关于岸滩模拟生物降解对二环倍半萜含量以及诊断比值的影响少见报道.

本文通过模拟岸滩溢油环境, 进行了为期3周的生物降解实验, 以 5α -雄甾烷为内标对生物降解条件下原油中二环倍半萜化合物的含量以及诊断比值进行分析, 并采用 t 检验对诊断比值进行稳定性考察, 旨在揭示二环倍半萜化合物在生物降解条件下的变化规律, 进一步为溢油鉴别提供参考和科学依据.

2012年10月8日收稿.

* 国家自然科学基金(41106112); 所基本科研业务费专项资金项目(2012G27, 2012T07); 国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室资助项目(201009); 国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金(201106)资助.

** 通讯联系人, E-mail: ybj2008@fio.org.cn

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

GC 7890 A-MSD 5975 C 型气相色谱-质谱仪(美国 Agilent 公司);色谱柱:HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);Turbo Vap II 型氮吹浓缩仪(美国 Zymark, Palo Alto 公司);玻璃层析柱 (30 cm × 1.2 cm ID).

层析硅胶(100—200 目,青岛海洋化工厂):在 350 °C 下活化 4 h,加 5% 蒸馏水去活;无水硫酸钠(优级纯,天津科密欧公司):在 350 °C 下烘干 4 h;二氯甲烷、正己烷(色谱纯,美国 TEDIA 公司).

1.2 天津岸滩生物降解实验

采用天津中海油环保公司溢油污染生物修复中试基地,石油降解菌为我实验室课题组筛选,菌液制剂的制备详见文献[11].生物降解实验: T_1 (菌液制剂 + 营养盐)、 T_2 (菌液制剂 + 缓释肥)实验池示意图如图 1,沙池表层铺设一层厚度约为 10 cm 的细沙;沙斜面的坡度为 3°,将原油(渤西油田海上平台中质原油)用喷壶均匀铺设到沙斜面的表层底质上.铺油在进行各种处理的前一天下午进行,过夜晾干,使原油充分吸附到底质上.

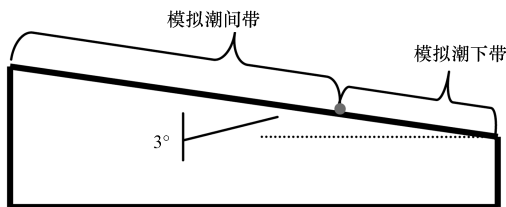


图 1 实验池岸滩模拟示意图

Fig. 1 The diagram of simulated beach of the ponds

(1)启动进水阀门,使海水泵入沙池,使海水刚好完全覆盖模拟岸滩沙斜面的上沿.

(2)每天更新 1 次海水以模拟潮汐,第一次处理后,隔 12 h 开始模拟潮汐,使海水水位降至标记点,过夜;隔 12 h 后取样,并注入新鲜海水,以此类推.

(3)采样频率为第 0 天、第 3 天、第 5 天、第 7 天、第 14 天、第 21 天,第 0 天样品在铺油之后、注入海水之前取得,之后的 5 次取样均在实验池水位排至标记点之后取得沉积物.

1.3 样品前处理

石油样品:用二氯甲烷将油样从沉积物中萃取出,于石油专用玻璃离心管中准确称取 0.2 g 萃取后油样,溶解于 10 mL 正己烷中,加入少量无水硫酸钠除水,摇匀后静止备用.

层析柱装填:采用干法装柱,层析柱内装填 3 g 硅胶,顶部放入高约 0.5 cm 的无水硫酸钠,层析柱用 20 mL 正己烷冲洗,弃掉流出液.待无水硫酸钠刚刚暴露于空气之前,加入 200 μL 油样溶液,加入 3 mL 的正己烷冲洗,弃掉流出液,再用 12 mL 的正己烷冲洗,收集洗出液,氮吹浓缩至 0.9 mL,再加入 0.1 mL 内标溶液,定容至 1 mL,进行 GC-MS 分析.

1.4 分析条件

气相色谱条件:载气为高纯氦气,流速为 1 mL·min⁻¹,进样口温度 280 °C,传输线温度为 280 °C,升温程序为:初温 50 °C,保持 2 min,以 6 °C·min⁻¹升到 300 °C,保持 16 min.不分流进样,进样量 1 μL.

质谱条件:离子源为 EI 源,倍增器电压 2276 V,离子源温度 230 °C,四极杆温度 150 °C,SIM 方式检测.选择离子为生物标志物 m/z 85,双环倍半萜 m/z 123、179、193、207,内标物 5α-雄甾烷 m/z 245.

1.5 定性方法

对于双环倍半萜类化合物的定性工作本实验室在前期已完成,本文研究对象为 10 种双环倍半萜类化合物,图 2 为原油中双环倍半萜化合物选择离子色谱图,表 1 为图 2 中峰号相对应的化合物名称、确认离子等信息^[12].

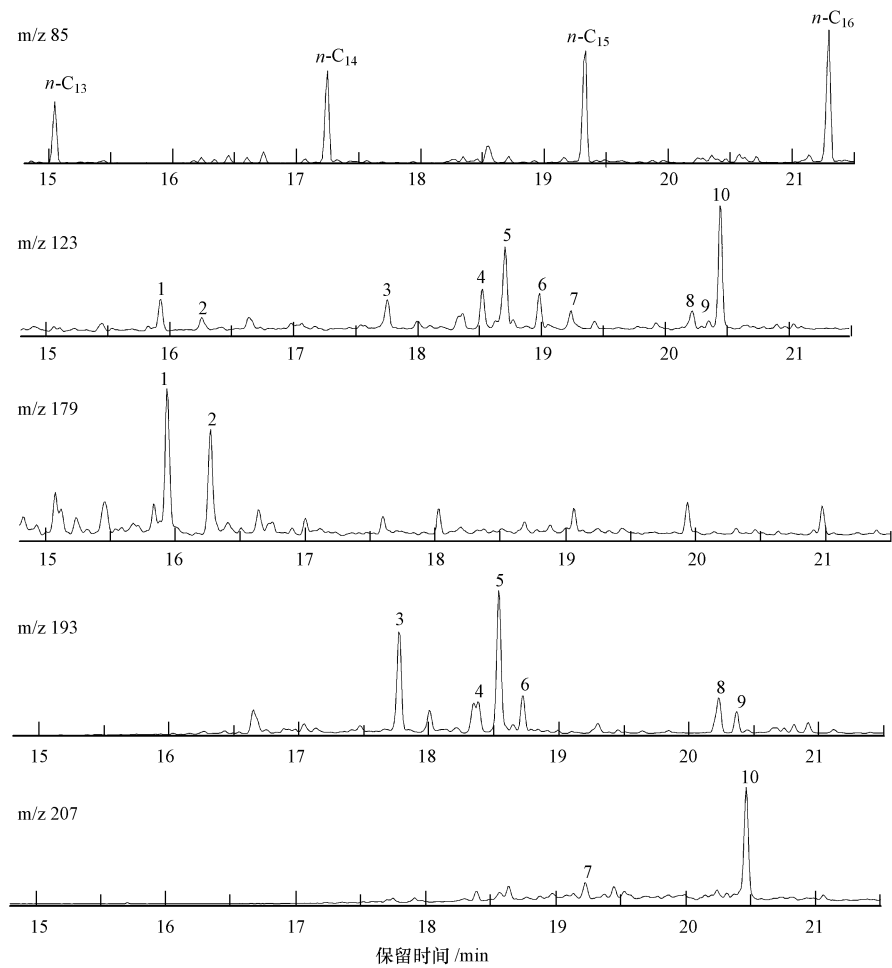


图 2 双环倍半萜 GC-MS 选择离子图

Fig. 2 GC-MS chromaograms of bicyclic sesquiterpanes

表 1 双环倍半萜化合物定性信息

Table 1 Qualitative information of bicyclic sesquiterpanes

化合物编号	化合物名称	分子式	确认离子
1	4,4,8,10-四甲基十氢化萜 C ₄ -decline	C ₁₄ H ₂₆	179
2	C ₁₄ sesquiterpane *	C ₁₄ H ₂₆	179
3	4,4,8,8,9-五甲基十氢化萜 C ₁₅ sesquiterpane	C ₁₅ H ₂₈	193
4	4,4,8,9,9-五甲基十氢化萜 C ₁₅ sesquiterpane	C ₁₅ H ₂₈	193
5	8β(H)-补身烷 8 β(H)-drimane	C ₁₅ H ₂₈	123
6	4,4,9,9,10-五甲基十氢化萜 C ₁₅ sesquiterpane	C ₁₅ H ₂₈	123
7	C ₁₆ sesquiterpane *	C ₁₆ H ₃₀	123
8	C ₁₆ sesquiterpane *	C ₁₆ H ₃₀	193
9	C ₁₆ sesquiterpane *	C ₁₆ H ₃₀	193
10	8β(H)-升补身烷 8β(H)-homodrimane	C ₁₆ H ₃₀	123

* 标注化合物为 C₁₄和 C₁₆ 双环倍半萜的同分异构体,其具体结构尚未确定.

2 结果与讨论

2.1 短期生物降解对双环倍半萜含量的影响

本文以 5α-雄甾烷为内标,采用半定量分析方法,考察双环倍半萜的含量变化规律. 半定量计算公式如下:

$$C = \frac{M_s \cdot A_i}{M_i \cdot A_s} \tag{1}$$

式中, C 为化合物半定量浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), M_s 为所用内标质量 (μg), M_i 为所用样品质量 (g), A_s 为内标峰面积, A_i 为样品组分峰面积.

图 3 为不同降解时间下 T_1 、 T_2 油样中双环倍半萜类化合物含量变化图, 由图 3 可以看出, 降解 3 d, 油样 T_1 中双环倍半萜的相对含量较原始油样 (降解 0 d) 中双环倍半萜含量减少, 1—5 号化合物, 即 4,4,8,10-四甲基十氢化萜、 C_{14} sesquiterpane、4,4,8,8,9-五甲基十氢化萜、4,4,8,9,9-五甲基十氢化萜和 $8\beta(\text{H})$ -补身烷这 5 种化合物含量下降明显, 而其余 5 种化合物含量下降幅度不大, 其中化合物 $8\beta(\text{H})$ -补身烷降解最多, 含量约降至原始油样的 83.3%. 究其原因可能为, 在模拟实验中, 油样在喷洒于沙质底层, 经一晚充分吸附后注入海水, 1—5 号化合物降解 3 d 含量明显变化的主要原因是风化作用; 而其余 5 种化合物含量降低不明显, 结合气相色谱出峰顺序, 可能与化合物的沸点有关. 降解 5 d, 油样中双环倍半萜含量与降解 3 d 时油样中化合物含量几乎相同. 到降解 7 d 时, 各化合物含量降低, 约占原油中化合物含量的 60%, 降解 14 d, 油样中各倍半萜含量与降解 7 d 时大致相同, 降解 21 d, 油样中除 1 号化合物 4,4,8,10-四甲基十氢化萜外, 其余双环倍半萜浓度有上升趋势, 原因可能是, 在短期的生物降解过程中, 由蒸发引起原油中低沸点组分的损失^[13] 导致所测化合物浓度增加.

T_2 油样中双环倍半萜化合物的降解规律与 T_1 油样中的大致相同, 8 号与 9 号化合物 C_{16} sesquiterpane 在降解规律上与 T_1 油样不一致. T_2 油样中降解 3 d 后, 8 号和 9 号化合物含量下降明显, 在第 3 天, T_2 油样中各双环倍半萜的含量降低较为明显, 之后双环倍半萜化合物含量持续下降, 到第 21 天, 各双环倍半萜类化合物的含量降低了 70% 以上.

造成 T_1 和 T_2 油样中部分双环倍半萜化合物含量变化规律不一致的原因可能是: T_1 油样中加入的是营养盐, 在开始的时间内油样中营养盐丰富, 菌群数量增多, 之后随着营养盐流失, 菌群数量开始减少. 而 T_2 中加入的是缓释肥, 营养物质逐渐释放, 使得菌群数量趋于稳定状态.

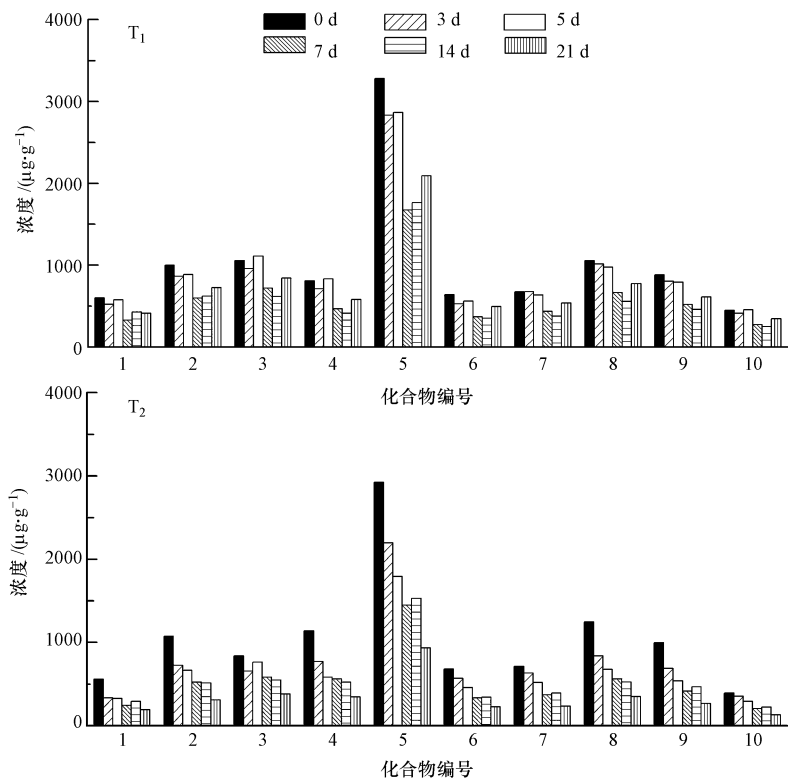


图 3 不同降解时间下 T_1 和 T_2 油样中双环倍半萜浓度分布图

Fig. 3 Concentration distribution of bicyclic sesquiterpenes in T_1 and T_2 oil samples after different degradation time

2.2 生物降解对双环倍半萜诊断比值的影响

诊断比值 (Diagnostic ratio, 简称 DR), 是指油品中某些特定组分之间的比值, 它能够表征不同油样各自的化学组成, 用于鉴别两个油样来源是否一致. 通常, 诊断比值要具有独特性和差异性, 且基本不受或者受风化影响较小^[2].

根据 Nordtest 溢油鉴别系统中对生物标志化合物特征比值的定义, 对双环倍半萜化合物特征比值进行如下定义:

$$DR = 100 \times \frac{A}{A + B}$$

(2)

式中, DR 是两种化合物的特征比值, A、B 是两种化合物的色谱峰面积.

基于已检测到的 10 种双环倍半萜化合物, 可以获得多个诊断比值. 本文根据 Wang^[14] 选取的 9 个双环倍半萜 DR 值, 对 DR 值重新进行定义, 根据公式 (2) 对化合物的诊断比值进行计算, 并对其生物降解规律进行研究. 生物降解 21 d 后, 10 个双环倍半萜诊断比值具体信息及稳定性考察结果见表 2. 经过不同时间的生物降解, 所选 10 个双环倍半萜诊断比值的相对标准偏差均小于 3.5%. 为了比较不同生物降解条件下 (T₁、T₂) 诊断比值是否具有显著性差异, 进行了 *t* 检验分析. 结果表明, T₁ 以及 T₂ 油样中双环倍半萜诊断比值 DR₃、DR₄、DR₆、DR₉、DR₁₀ 无明显差异. 说明双环倍半萜化合物诊断比值具有较好的稳定性, 油样在经历短期生物降解后诊断比值无明显变化.

t 检验分析法: 首先根据公式 (2) 对样品 *t* 值进行计算.

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \times \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

(3)

其中, $\bar{x}$ 样品的平均值, *n* 为实验的次数, *s* 为每个样本的相对标准偏差.

计算总自由度 $f = n_1 + n_2 - 2$, 选择置信度 (一般为 $P = 0.10$), 在 *t* 检验表中查出, 如果 *t* 实值大于 *t* 表值, 则认为存在显著性差异, 否则不存在显著性差异. 本实验的总自由度 *f* 为 10, 选择置信度 *P* 为 0.10, 查 *t* 检验表得 *t*_表 = 1.81, 从表 2 中可以看出 DR₃、DR₄、DR₆、DR₉、DR₁₀ 的 *t* 值均小于 *t*_表 值.

表 2 不同降解条件下双环倍半萜 DR 值比较 ($n_1 = n_2 = 6, f = 10$)

Table 2 Comparison of bicyclic sesquiterpenes DR under different biodegradable conditions ($n_1 = n_2 = 6, f = 10$)

编号	DR 值公式	定义	T ₁		T ₂		显著性检验 <i>t</i> (置信度 90%, <i>t</i> _表 = 1.81)
			平均值	RSD/%	平均值	RSD/%	
DR ₁	P ₁ /(P ₁ + P ₂)	C ₁₄ 峰群中:第1峰/(第1峰+第2峰)	37.93	2.03	34.16	1.86	3.35
DR ₂	P ₂ /(P ₁ + P ₂)	C ₁₄ 峰群中:第2峰/(第1峰+第2峰)	62.07	2.03	65.84	1.86	3.35
DR ₃	P ₃ /(P ₃ + P ₅)	C ₁₅ 峰群中:第3峰/(第3峰+第5峰)	26.91	0.93	27.67	1.07	1.32
DR ₄	P ₄ /(P ₄ + P ₅)	C ₁₅ 峰群中:第4峰/(第4峰+第5峰)	21.04	0.93	21.78	0.49	1.72
DR ₅	P ₆ /(P ₆ + P ₅)	C ₁₅ 峰群中:第6峰/(第6峰+第5峰)	16.91	0.88	19.53	1.80	3.20
DR ₆	P ₈ /(P ₈ + P ₁₀)	C ₁₆ 峰群中:第8峰/(第8峰+第10峰)	66.96	3.24	67.33	2.87	0.21
DR ₇	P ₁ /(P ₃ + P ₁)	峰群间:第1峰/(第1峰+第3峰)	34.88	2.70	31.14	1.84	2.81
DR ₈	P ₁ /(P ₅ + P ₁)	峰群间:第1峰/(第1峰+第5峰)	16.48	1.46	14.75	0.97	2.42
DR ₉	P ₃ /(P ₃ + P ₁₀)	峰群间:第3峰/(第3峰+第10峰)	68.92	2.85	68.75	2.82	0.10
DR ₁₀	P ₅ /(P ₅ + P ₁₀)	峰群间:第5峰/(第10峰+第5峰)	85.76	1.35	85.15	1.93	0.63

2.3 短期生物降解对双环倍半萜诊断比值的影响

本研究采用 *t* 检验对同一原油但不同生物降解程度油样进行相关性分析, 以此考察其是否适合用于短期海面溢油来源鉴别. 分别对 T₁、T₂ 两种不同生物降解方式生物降解 0 d 和生物降解 21 d 的两个油样进行了 *t* 检验分析. 表 3 为 T₁、T₂ 两种油样中的双环倍半萜化合物诊断比值的重复性实验误差测定结果, 图 4 与图 5 分别为不同置信度下 T₁、T₂ 油样诊断比值的 *t* 检验分析图. 根据表 3 可以看出, 在不同降解条件下, 本文所考察的双环倍半萜诊断比值的相对标准偏差 (RSD) 均小于 3%, 具有较好的重现性. 对比图 4 以及图 5 可以看出, 置信度为 95% 和 98% 时, 所考察诊断比值中 DR₃、DR₆、DR₉ 以及 DR₁₀ 的误差棒能较好的跨过 *Y* = *X* 拟合线, 具有较强一致性, 初步判断可用于判别 21 d 内短期生物降解条件下油

样来源是否相同; T_2 油样中的诊断比值 DR_4 也可用于判别 21 d 内短期生物降解条件下油样来源是否相同,而 T_1 油样中需谨慎使用,可以认为在菌群数量稳定的情况下诊断比值 DR_4 也可用于溢油鉴别;诊断比值 DR_1 、 DR_2 、 DR_3 、 DR_7 、 DR_8 的误差棒均匀分布在 $Y = X$ 拟合线两侧,进行溢油鉴别时需慎重使用.

表 3 双环倍半萜诊断比值重复性实验误差(RSD)测定结果

	T_1		T_2	
	0 d	21 d	0 d	21 d
DR_1	0.63	1.08	1.30	0.50
DR_2	0.44	0.53	0.69	0.22
DR_3	1.48	0.75	1.33	2.04
DR_4	0.57	2.27	0.32	2.57
DR_5	1.63	1.08	0.30	1.89
DR_6	0.29	0.44	0.17	0.45
DR_7	1.17	1.18	0.57	1.34
DR_8	0.58	0.63	2.20	1.32
DR_9	0.57	0.45	0.43	0.52
DR_{10}	0.04	0.13	0.06	0.16

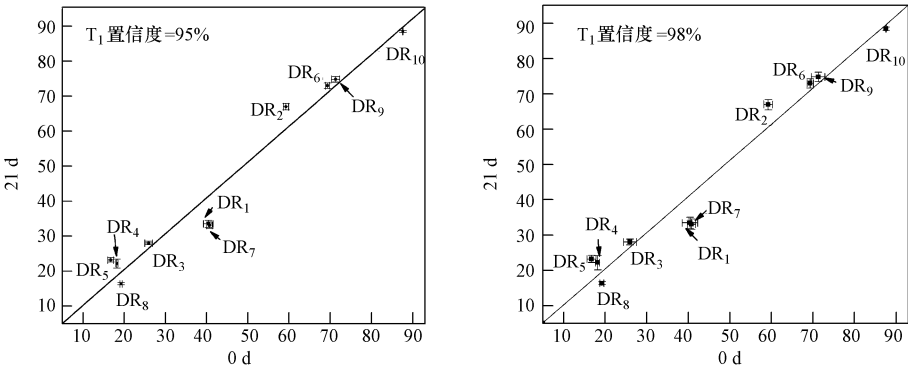


图 4 生物降解 21 d 条件下 T_1 油样诊断比值 t 检验分析

Fig. 4 T-test analysis of diagnosis ratio for T_1 oil sample after 21 d biodegradation

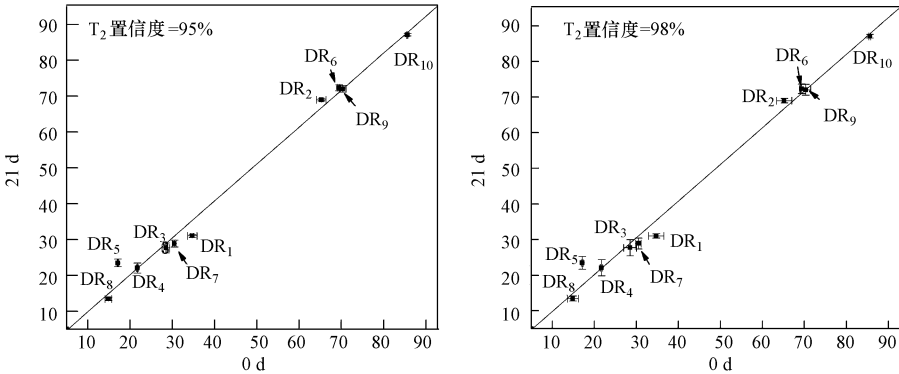


图 5 生物降解 21 d 条件下 T_2 油样诊断比值 t 检验分析图

Fig. 5 T-test analysis of diagnosis ratio for T_2 oil sample after 21 d biodegradation

3 结论

(1) 生物降解油样的分析证明,短期降解时间内(小于 21 d)双环倍半萜化合物具有较好的抗生物降解性. 经过 21 d 的生物降解,加入生物降解菌剂和营养盐的原油中双环倍半萜化合物的分布变化不

大,加入生物降解菌剂和缓释肥的原油中双环倍半萜化合物降解率较大。

(2) 短期生物降解条件下,同一来源的油样中双环倍半萜化合物含量与诊断指标具有相似性,可依此进行油源的鉴别。不同的生物降解时间内,同一油样中各种双环倍半萜化合物含量变化规律基本相同,降解 21 d 内,所选取诊断比值相对标准偏差均小于 3%,具有一定稳定性。经过 t 检验分析,经初步判定,双环倍半萜化合物诊断比值 DR_3 、 DR_6 、 DR_9 和 DR_{10} 可以用于判别生物降解 21 d 内油样是否来自同一油源,其余诊断比值在应用时需慎重。

参 考 文 献

- [1] 刘芳明,郑洲,缪锦来,等. 极地海洋石油烃污染物的生物降解研究进展[J]. 极地研究,2007,19(3):221-230
- [2] 孙培艳,高振会,崔文林,等. 油指纹鉴别技术发展及应用[M]. 北京:海洋出版社,2007:105-114,116-119
- [3] 黄海平,周树青,初振森,等. 生物降解作用对原油中烷基菲分布的影响[J]. 现代地质,2005,19(3):416-424
- [4] 徐真,张春明,刘强,等. 冀中凹陷文安油田双环倍半萜的分布及其意义[J]. 地球科学与环境学报,2010,32(4):368-371
- [5] Yang Chun, Wang Zhendi, Hollebone B P, et al. Characteristics of bicyclic sesquiterpanes in crude oils and petroleum products [J]. Journal of Chromatography A, 2009, (1216): 4475-4484
- [6] 师彦平主编. 单萜与倍半萜化学[M]. 《天然产物化学》. 北京:化学工业出版社,2008:91-110
- [7] Alexander R, Kagi R I, Noble R, et al. Identification of some bicyclic alkanes in petroleum[J]. Org Geochem,1988,14(6):63-72
- [8] Stouta S A, Uhlera A D, McCarthy K J. Middle distillate fuel fingerprinting using drimane-based bicyclic sesquiterpanes [J]. Environmental Forensics, 2005, 6(3): 241-251
- [9] Prince R C, Owens E H, Sergy G A. Weathering of an Arctic oil spill over 20 years; The BIOS experiment revisited[J]. Marine Pollution Bulletin, 2002, 44(11):1236-1242
- [10] 徐晓琴. 海洋环境中有机污染物的分析与示踪技术研究[D]. 厦门:厦门大学化学化工学院博士论文,2007:163
- [11] 郑立,崔志松,高伟,等. 海洋石油降解菌剂在大连溢油污染岸滩修复中的应用研究[J]. 海洋学报,2012,34(3):164-172
- [12] 杨佰娟,郑立,张魁英,等. 原油中双环倍半萜指纹的内标法分析[J]. 分析测试学报,2012,31(11):1421-1425
- [13] 詹天荣,张魁英,杨佰娟,等. 自然风化条件下原油中金刚烷的风化规律[J]. 环境化学,2012,31(2):202-207
- [14] Wang Z D, Christensen J H. Environmental Forensics: A Contaminant Specific Approach [M]. New York: Elsevier, 2006:409-464

Change of bicyclic sesquiterpenes distribution in crude oils by simulated coastal oil spill biodegradation

HOU Wei^{1,2} YANG Baijuan^{2,3*} ZHENG Li² ZHAN Tianrong¹
CUI Zhisong² LI Qian² GAO Wei²

(1. College of Chemistry and Molecular Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao, 266042, China;

2. Research Center for Marine Ecology, The First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao, 266061, China;

3. Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, College of Chemistry and Chemical Engineering, Ocean University of China, Qingdao, 266100, China)

ABSTRACT

Using the middle crude oil from the west offshore platform of the Bohai sea, coastal oil spill biodegradation was simulated. Based on the GC-MS analytical results, the distribution pattern of bicyclic sesquiterpene during short-term biodegradation was investigated, and the change and stability of the diagnosis ratios of these compounds were evaluated. The results show that the patterns of bicyclic sesquiterpene in the crude oils changed greatly after 21 d biodegradation with the use of oil-degrading agent and slow release fertilizer (SRF). By comparison, the distribution of bicyclic sesquiterpene without the addition of oil-degrading agent and SRF changed little. After t -test analysis, the diagnosis ratios DR_3 , DR_6 , DR_9 and DR_{10} had no apparent change, and therefore could be used as an indicator to decide whether the source of the oil samples during the first 21 days biodegradation are the same. The results suggest that the bicyclic sesquiterpenes can be used as a diagnostic tool for oil spill source identification.

Keywords: biodegradation, bicyclic sesquiterpenes, diagnosis ratio, oil spill identification.