

# *Ochrobactrum anthropi* 对苯胺的降解特性\*

韦朝海 任源 吴超飞

(华南理工大学化工学院, 广州 510641 E-mail: cechwei@scut.edu.cn)

**摘要** 利用自行筛选驯化的苯胺降解菌苍白杆菌(*Ochrobactrum anthropi*)对影响苯胺降解的各种主要因素进行了研究,发现降解菌在 35 ℃, pH6.5 下及苯胺初始浓度 200—800mg/L 的范围内保持高活性, 最大降解速率达到 10.05mg · (L · h)<sup>-1</sup>. 振荡速率在 0—120r · min<sup>-1</sup>时, 苯胺降解速率线性增加, 振荡速率大于 120r · min<sup>-1</sup>时, 苯胺降解速率趋于稳定. 底物浓度在 0—200mg/L 内, 平均降解速率急剧上升; 底物浓度在 200—800mg/L 内, 生物保持较高活性, 平均降解速率为 9.30—10.05mg · (L · h)<sup>-1</sup>; 底物浓度大于 800mg/L 时, 平均降解速率线性下降. 当接种量(菌悬液/反应液)为 20ml/100ml 时苯胺的降解是高效与经济的.

**关键词** 苯胺, 降解速率, 专性好氧菌, 振荡速率, 底物浓度, 接种量.

## The Characteristics of Aniline Biodegradation by *Ochrobactrum anthropi*

Wei Chaohai Ren Yuan Wu Chaofei

(College of Chem. Eng., South China University of Technology, Guangzhou 510641 E-mail: cechwei@scut.edu.cn)

**Abstract** The main factors affecting the biodegradation rate of aniline using *Ochrobactrum anthropi* from screening and acclimating have been studied. The results indicated that the maximum rate biodegradation is 10.05mg · (L · h)<sup>-1</sup> when the initial concentration of aniline are between 200 and 800mg/L at pH6.5 and 35 ℃. The biodegradation ratio increases liner when the oscillation rate is 0—120r · min<sup>-1</sup>, and it will be steady when the oscillation rate is beyond 120 r · min<sup>-1</sup>. The average degradation rate increases rapidly when the substrate concentration is between 0 and 200 mg/L, and it will decrease liner when the concentration is beyond 800mg/L. It is efficient that 20ml bacteria degrade 100ml solution containing aniline.

**Keywords** aniline, biodegradation rate, obligate aerobic bacteria, oscillation rate, substrate concentration, inoculation amount.

排水中的苯胺及其衍生物, 针对浓度的高低可分别选用萃取法和吸附法的处理技术<sup>[1]</sup>. 根据文献报道, 在厌氧污泥中 24d 可使苯胺从 70.7mg/L 降低到 29.2mg/L<sup>[2]</sup>, 专性好氧菌降解苯胺的最高速率达到 37.5mg/(L · h)<sup>[3,4]</sup>, 而鲜见应用于含苯胺类废水处理的工程菌种的报道. 本文围绕着提高苯胺的降解速率, 筛选出工程化菌种, 研究其对含苯胺废水的降解特性, 为氯霉素及染料生产厂等苯胺类废水处理的工程化应用打下基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验菌液来源

由某药厂下水道活性污泥经多次驯化得到专性高效苯胺降解菌, 制成约 3g/L(湿菌体)的

菌悬液作为实验用菌液. 菌种经法国梅里埃公司提供的微生物全自动鉴定仪进行鉴定<sup>[5]</sup>.

### 1.2 降解过程随时间的变化

选择苯胺初始浓度 40mg/L, 以 1 : 5(V/V)加入菌悬液, 每隔一定时间测定苯胺浓度和反应液光密度(OD)值, 考察苯胺降解随时间的变化情况.

### 1.3 各种因素对降解的影响

(1) pH 选择苯胺初始浓度相同, 改变 pH 分别为 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5, 在 35 ℃, 120r · min<sup>-1</sup>下振荡培养, 测定苯胺浓度, 计算

\* 国家自然科学基金和广东省自然科学基金资助项目 (Project Supported by National Natural Science Foundation of China and Guangdong Province): 29407051, 940758  
韦朝海: 男, 35岁, 博士, 副教授  
收稿日期: 1998-01-08

苯胺降解率, 确定最佳降解 pH.

(2) 温度 苯胺初始浓度约为 40mg/L, 接种量 20%, pH6.5, 温度分别设定为 25、30、35、40, 120r·min<sup>-1</sup> 振荡培养 8h 后, 测定苯胺浓度, 计算苯胺降解率, 确定最佳降解温度.

(3) 振荡速率 pH6.5, 苯胺初始浓度相同, 振荡速率分别设定为 0、40、60、80、100、120、140r·min<sup>-1</sup>, 35 培养 8h 后测定苯胺浓度, 计算苯胺降解率, 确定最佳振荡速率.

(4) 底物浓度 pH6.5, 苯胺初始浓度分别为 20、40、60、80、100、300、500、800、1000mg/L, 在 35, 120r·min<sup>-1</sup> 下振荡培养, 每隔一定时间测定苯胺浓度, 计算苯胺降解速率, 确定合适的苯胺初始浓度范围.

(5) 接种量 选择初始苯胺浓度相同, 分别加入菌悬液 10、15、20、25、30ml, 使反应液总体积为 100ml, 在 pH6.5、35, 120r·min<sup>-1</sup> 下振荡培养, 每隔一定时间测定苯胺浓度, 计算苯胺降解速率, 确定合适的接种量.

## 2 结果与讨论

### 2.1 苯胺浓度和反应液 OD 值随时间的变化

从图 1 可以看出, 苯胺浓度随着反应时间逐渐降低, 菌种适应期很短, 降解速度越来越快, 在第 5—8h 达到高峰, 与此同时, 菌量以对数增长. 当苯胺浓度为 0 后, 菌量仍继续增长, 在第 12h 左右达到最大值, 此后开始下降, 说明菌量的增长略滞后于苯胺浓度的降低, 这是由于苯胺在降解过程中先被吸附在微生物上, 然后再被利用. 当苯胺全部被用完后, 微生物在内源呼吸作用下, 一些老化的菌体死亡、自溶、菌体量开始减少.

### 2.2 pH 值对降解速率的影响

试验中采用 pH S-3C 型精密 pH 计控制反应液 pH 值, 实验结果如图 2 所示. 可以看出, 在反应过程中相同时间内以 pH6.5 时的降解率最大. 此 pH 值与 *Ochrobactrum anthropi* 生长条件的正交实验结果相符<sup>[7]</sup>, 说明此菌的生长和代谢均以中性或微酸性条件为好. 反应液的 pH 值影响酶促反应的速度, 环境中的氢离

子浓度如果超过了微生物酶的适应范围就会引起微生物原生质膜的电荷变化, 影响微生物对营养物质的吸收和酶的活性. 因此, 废水生物降解过程中介质 pH 值的控制显得很重要.

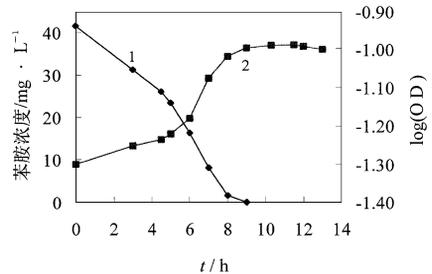


图 1 苯胺浓度和菌量随时间变化曲线

1. 苯胺浓度 2. OD 值对数

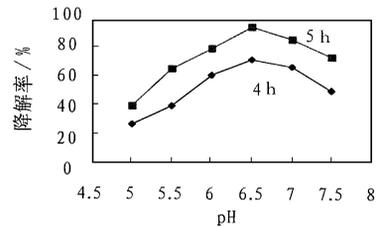


图 2 pH 值对苯胺降解率的影响

### 2.3 苯胺初始浓度与温度对降解速率的影响

从表 1 可以看出, 在低于 35 时, 相同初始浓度下温度越高, 降解速率越快, 而高于 35 后, 速度反而下降, 这是由于微生物所产生的酶也有最适温度, 它的活性是随着温度的提高而增加, 当温度超过最适温度范围之后, 酶就逐渐变性、失活, 反应速率也就相应下降. 另外, 从图 3 可以看到, 在一定范围内, 苯胺的好氧降解速率随苯胺初始浓度的提高而提高, 这是因为该菌对于苯胺在很大的浓度范围内均有相当的适应能力, 在间歇反应中, 底物初始浓度越高, 微生物产量越大, 微生物数量越大, 催化反应的酶越多, 则降解速率越快. 而当苯胺浓度过高(在本研究中超过 1000mg/L)时, 它对微生物的毒性开始显现, 使得微生物的降解速度下降, 但此时仍能达到 100% 的降解. 将浓度提高到 1700mg/L 以上时, 降解速度下降至最高值的 70% 左右. 因此, 选择能耐受较高苯胺浓度

的微生物不仅可以提高反应器效率,而且对冲击负荷的抵抗力也会提高。

表 1 温度对苯胺平均降解速度的影响

| 苯胺初始浓度<br>/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ | 平均降解速率 <sup>1)</sup> / $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ |      |      |      |
|---|---|------|------|------|
|   | 25  | 30   | 35   | 40   |
| 20.57                                       | 2.85  | 3.36 | 3.82 | 2.85 |
| 41.98                                       | 3.65  | 5.10 | 5.06 | 4.20 |
| 62.79                                       | 5.15  | 6.80 | 6.90 | 5.60 |
| 85.42                                       | 6.10  | 7.84 | 8.14 | 6.73 |
| 109.18                                      | 6.82  | 8.67 | 8.73 | 7.69 |

1) 自接种至苯胺浓度检测为 0 这段时间的速率

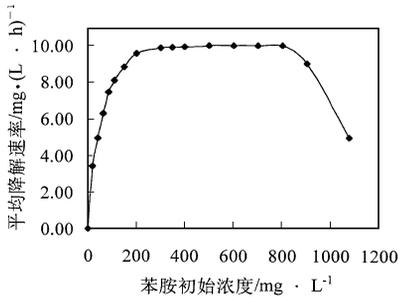


图 3 35 时平均降解速率随苯胺初始浓度的变化

## 2.4 振荡速率对降解率的影响

微生物对苯胺的降解是好氧过程,在底物充足的情况下,氧气的供应速度成为反应的限制因素.在静止过程中,氧的传递仅靠液面的有限面积,氧交换速度较慢,所以在本研究控制的 8h 中,仅降解了 28.1%,而随着振荡速率的增加,充氧速度也大大增加,在相同的反应时间里,降解速率越来越大;当氧气的供应足够甚至超过微生物的需求之后,反应速率的增加就渐趋平缓(见图 4),此时微生物利用氧气进行新陈代谢的速率就不再成为反应的限制因素,过多的氧气对反应速度的提高并无贡献.在本研究的范围内控制摇床转速为  $120\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ .

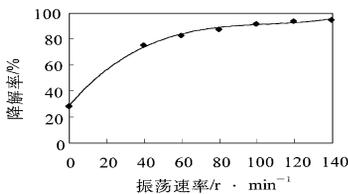


图 4 振荡速率对苯胺降解率的影响

## 2.5 接种量对降解速率的影响

从表 2 可以看出,平均降解速率随接种量的增加而提高,当菌悬液体积由 10ml 增加到 15ml 和 20ml 时,反应速率相应提高了 5% 和 10%;而当菌悬液体积从 20ml 再相应增加 5ml、10ml 时,相应的反应速率才分别提高 11% 和 12%,与 20ml 时相近,此时菌量的增加对提高反应速率的贡献已经很小.因此,在间歇反应过程中,菌量并不是越多越好,而应考虑在能达到反应速率要求的情况下尽可能减少微生物用量.在本研究中确定的接种量(菌悬液/反应液)为 0.20ml/ml.

表 2 接种量对平均降解速率的影响

| 菌悬液量/ml   | 10    | 15    | 20    | 25    | 30    |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|
| 苯胺初始浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$                  | 65.67 | 65.67 | 65.67 | 65.67 | 65.67 |
| 平均降解速率 / $\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ | 5.97  | 6.25  | 6.57  | 6.63  | 6.70  |
| 相对速率  | 1.00  | 1.05  | 1.10  | 1.11  | 1.12  |

## 3 结论

(1) 苯胺初始浓度、温度、pH 值、供氧速率、接种量都能影响苯胺的生物降解速率。

(2) 在本研究条件下,苯胺浓度低于  $1000.00\text{mg/L}$  时均能被完全降解,平均降解速率随初始浓度、供氧速率、接种量的增加而提高。

(3) 温度 35 及 pH6.5 为 *Ochrobactrum anthraci* 菌对苯胺降解的最适条件,此时的平均降解速率可达  $10.05\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 。

## 参 考 文 献

- 1 杨义燕,苏海佳等.络合萃取法处理工业苯胺废水.化工进展,1995,(2):24—27
- 2 Bykova S P et al. Anaerobic digestion of waste activated sludge. Khim. Technol. Vody, 1979, 1(2):70—78
- 3 Alexander M. Biodegradation of organic chemicals of environmental concern. Science, 1981, 211: 132\_138
- 4 Spangord R T et al. Biodegradation of 2,4-dinitrotoluene by *Pseudomonas* sp. Appl. Environ. Microbiol., 1991, 57(11):3200\_3205
- 5 俞毓馨等编.环境工程微生物检验手册.北京:中国环境科学出版社,1990:144
- 6 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会编.水和废水监测分析方法(第一版).北京:中国环境科学出版社,1989:421—424
- 7 任源,韦朝海.苯胺分解菌的驯化筛选研究.环境科学,1998,(4):4—6