

优势短杆菌对多环芳烃的降解性能

聂麦茜, 张志杰, 雷萍(西安建筑科技大学环境工程系, 西安 710055)

摘要:本研究从长期被焦化废水污染的污泥中分离出一株优势短杆菌, 研究该菌株及其在无机离子存在下对蒽、菲、芘的降解性能。结果发现该菌株对蒽、菲、芘均有良好的降解效果, Fe^{3+} 对降解过程有促进作用, 反应 10h 后, 蒽、菲、芘转化率分别可达约 75%, 87%, 及 62%。总有机碳(TOC)的测定结果表明, 该菌株在 106h 内能分别将反应瓶中加入的蒽、菲、芘所产生的总有机碳去除 50%, 90% 及 50%。

关键词:短杆菌; 生物降解; 多环芳烃

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2001)06-03-0083

Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by A Preponderant *Brevibacterium*

Nie Maiqian, Zhang Zhijie, Lei Ping(Department of Environmental Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: A preponderant brevibacterium was isolated from the sludge contaminated by coke-plant waste water for a long time. The bacterium was effective on the degradation and transformation of anthracene, phenanthrene and pyrene. The degradation process can be accelerated by ferric ions. 10 hours after aeration, the removing rates of anthracene, phenanthrene and pyrene by the brevibacterium were about 75%, 87% and 62% respectively. 106 hours after aeration, the removing rates of total organic carbon (TOC) caused by anthracene, phenanthrene and pyrene were 50%, 90%, and 50% respectively.

Key words: brevibacterium; biodegradation; polycyclic aromatic hydrocarbons

有文献报道^[1,2], 白腐菌(White-rot fungi)对多环芳烃具有普遍的降解能力, 文献[3]中分离出一株酵母菌对菲有良好的降解效果。Andrew J. P. 的研究工作^[4]证明, 户外堆肥消解体系中存在降解多环芳烃的优势菌。在前人的研究报道中, 分离筛选的优势菌多是以某一多环芳烃为唯一碳源的。为解决成分复杂的焦化废水处理过程中二沉池出水因含多环芳烃类化合而不能达标排放及原油污染物净化等问题, 本研究从长期被焦化废水污染的污泥中, 分离筛选出一株能以蒽、菲、芘及其它多环芳烃为碳源的优势短杆菌; 并研究了该菌对蒽、菲、芘的降解性能; 同时研究了一些无机离子对其降解过程的影响。

1 材料与方法

1.1 菌种分离、鉴定及菌液制备

采用间歇式、定时、定量逐步提高碳源浓度的方法, 在 28℃, 好氧振荡条件下, 以萘为唯一碳源驯化长期被焦化废水污染的污泥, 7 周后, 经反复平板划线分离获得纯菌种。

参照文献[5]中的培养基, 但驯化所用碳源为萘。

菌种的鉴定, 本研究采取一般分类方法, 根据细菌的形态特征及生理生化特征, 先将菌种鉴定到科, 再按各分科检索鉴定到属。

纯菌液的制备: 菌种接于普通牛肉汁培养基上, 28℃好氧振荡培养 48h, 离心, 用磷酸缓冲液冲洗几次后, 再用磷酸缓冲液稀释, 将细菌浓度调至 8×10^8 个细胞/ml, 备用。

基金项目: 陕西省自然科学基金资助项目 (99S M18); 原冶金部基础研究项目: (BJ97-03-02)

作者简介: 聂麦茜(1960~), 女, 陕西人, 副教授, 在职博士研究生, 主要从事难降解有机物的生物净化研究及水化学的教学工作。

收稿日期: 2000-11-09

1.2 菌株降解蒽、菲、芘时耗氧量测定

利用瓦氏呼吸仪测量呼吸量,向各反应瓶中分别加入浓度均为 120 mg/L 的蒽、菲、芘水溶液(将研粉碎的蒽、菲、芘溶于蒸馏水中,用时将其摇匀)1.0 ml,上述制备的菌液 1.0 ml,缓冲液 1.0 ml,在 30℃ 下好氧振荡,定时测其耗氧量.另外在蒽、菲及 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} (反应瓶中浓度均为 0.2 mg/L)存在下测量耗氧量,研究驯化过程中使用的这几种金属离子,对该菌种好氧呼吸的影响,除加入无机离子外,其它条件与上述耗氧量测定条件相同.

1.3 降解反应

采用静态反应瓶曝气,单基质蒽、菲、芘降解时,反应瓶中加入 400 ml 蒸馏水,加入浓度为 5.0 g/L 的单基质丙酮溶液 3.2 ml,使反应瓶中蒽、菲、芘浓度均为 40 mg/L,加入上述制备的菌液,使反应瓶中悬浮菌浓度达到 1.0×10^8 个细胞/ml.在无机离子存在下,进行降解试验时,反应瓶中,其它条件同前,所加入的 Fe^{3+} 、 Ca^{2+} 及 Mg^{2+} 等离子浓度为 0.2 mg/L.在 25℃ 条件下曝气,定时定量分析水样

1.4 蒽、菲、芘的测定方法

定时、定量采取反应瓶中水样,用环己烷萃取之,萃取液用硅胶 G 薄层色谱板分离,以蒽、菲、芘标准液作参照,石油醚作展开剂,碘蒸气为显色剂.刮下色谱板上分离后的蒽、菲、芘样点,以石油醚溶解之,用紫外分光光度计测吸光度,查找标准曲线,从而得知反应瓶中某时刻蒽、菲、芘的浓度.测蒽、菲、芘吸光度时,工作波长分别为 254 nm,252 nm,242 nm.

1.5 TOC 测定

曝气反应 106 h 后,从各反应瓶中采取水样,然后,用 16000 r/min 的离心机,离心 1 h 后,测定各水样上清液中的总有机碳值,测定值与加入的蒽、菲、芘的理论 TOC 值相比较,用以说明优势菌对蒽、菲、芘所产生的总有机碳的去除效果.

2 结果

2.1 细菌鉴定结果

经鉴定,该菌为一株短杆菌.

2.2 瓦呼仪耗氧量测试结果

按照 1.2 中的方法进行实验,结果如图 1 所示.在分别以蒽、菲、芘为唯一碳源时,该短杆菌累积耗氧曲线均在其内源呼吸线以上,说明该短杆菌对这 3 种多环芳烃能够降解,图中结果也表明,在该菌存在下,菲最易被降解,蒽次之,而芘最难.

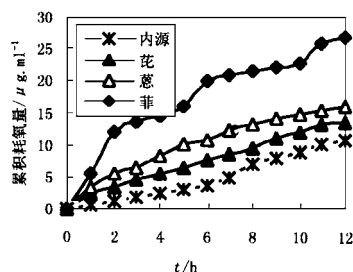


图 1 菌株对蒽、菲、芘的累积耗氧曲线

Fig.1 The accumulative oxygen consumed curves of anthracene, phenanthrene and pyrene by the strain of brevibacterium

图 2 图 3 分别为以菲、蒽为唯一碳源时, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 离子的加入,对其耗氧量的影响情况,其中 Fe^{3+} 的促进作用最大,以菲为唯一碳源时,加入 Fe^{3+} 离子,12 h 每 ml 菌悬液的累积耗氧量与未加 Fe^{3+} 离子相比,增加 $10.5 \mu\text{g}$,以蒽为唯一碳源时,加入 Fe^{3+} 离子,12 h 每 ml 菌悬液累积耗氧量相应增加 $8.5 \mu\text{g}$.

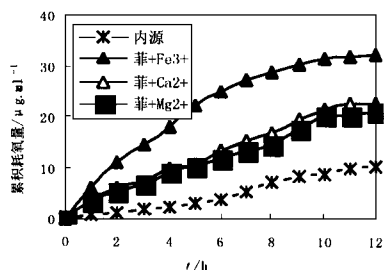


图 2 无机离子存在下菌株对菲的累积耗氧曲线
Fig.2 The accumulative oxygen consumed curves of phenanthrene under the existence of inorganic ions by the strain of brevibacterium

2.3 降解试验结果

按照 2.3 方法进行试验,结果如图 4 所示.在相同实验条件下,反应进行 10 h 反应瓶中菲、蒽、芘浓度从起始 40 mg/L,分别降至 15.2 mg/L

L 19.8 mg/L 和 28.0 mg/L.从图 4 中也可看出 Fe^{3+} 的加入对 3 种多环芳烃的降解有明显的促进作用.加 Fe^{3+} 后,相同实验条件下,10h 后,反应瓶中菲的浓度降至 5.0 mg/L,蒽降至 9.8 mg/L,芘则降至 15.8 mg/L.

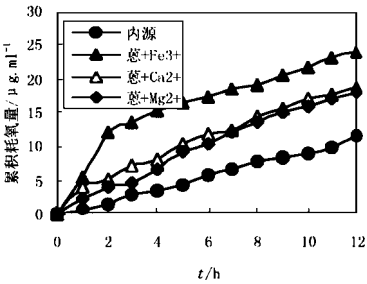


图 3 无机离子存在下菌株对蒽的累积耗氧曲线

Fig.3 The accumulative oxygen consumed curves of anthracene under the existence of inorganic ions by the strain of brevivacterium

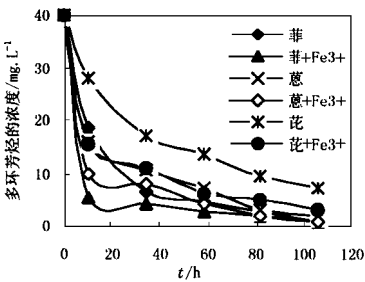


图 4 菌株对蒽、菲、芘的降解实验结果

Fig.4 The degradation results of anthracene, phenanthrene and pyrene by the strain of brevivacterium

2.4 TOC 测定结果

按 2.4 实验方法,测定结果如表 1 所示.与加入的理论 TOC 比较,反应开始所加入菲的 TOC 去除率为 90%,所加入的蒽与芘的 TOC 去除率均 50%.

表 1 水样中 TOC 测量结果/ mg·L⁻¹

Table 1 The measuring results of TOC

多环芳烃	理论值	菌液 + Fe ³⁺	菌液 + Ca ²⁺	菌液 + Mg ²⁺	菌液
蒽	37.6	17.3	19.2	16.5	15.9
菲	37.6	3.3	3.2	5.3	4.32
芘	38.2	15.8	18.9	17.2	20.2

3 讨论

实验结果表明,该菌也能以蒽、菲、芘为碳

源,这说明该菌有打开芳环的功能,所以很有可能对大多数多环芳烃均有降解能力.

在获得图 4 的数据时,萃取水样,发现油水分层常伴有乳化现象,起初,这种现象不明显,当反应进行 34,58 及 82h 时,采样萃取,乳化相对严重,再往后乳化就不明显了.并且,一般来说,加入金属离子尤其是 Fe^{3+} ,这种现象更加明显.这说明该短杆菌在降解蒽、菲、芘时,能产生一种具有乳化能力的物质,很可能,正是由于乳化剂的产生,增溶了蒽、菲、芘,使它们的生物可利用性增大,这与国外的一些报道结果符合^[6,7].只是本实验并没有加入这类具有乳化能力的物质,而是细菌产生的.另外, Fe^{3+} 的加入有助于这种有乳化能力的物质的产生.

在降解过程中,反应瓶中起初因加入蒽、菲、芘而呈乳白色不透明液体,大约经过 58h,开始澄清,透明,到 106h 时基本上透明,且观察到反应瓶中长出发体.

4 结论

本研究筛选分离的短杆菌,能降解实验中涉及的蒽、菲、芘、萘等多环芳烃,降解程度各不相同,一般来说,分子中环的个数越少,越易被降解,能有效地去除反应体系中蒽、菲、芘所产生的总有机碳; Fe^{3+} 对该短杆菌降解多环芳烃反应过程有促进作用.

参考文献:

- 1 Bill W B, Richard T L. Polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading capabilities of *phanerochaete laevis* HHB1625 and its extra-cellular ligninolytic enzymes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, **62**(5): 1597~1603.
- 2 Barr D P, Aust S D. Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants. *Environ. Sci. Technol.*, 1994, **28**(1): 78A~87A.
- 3 Romero M G, Cazau M C. Phenanthrene degradation by microorganisms isolated from a contaminated stream. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1997, **63**(1): 237~241.
- 4 Jerome F J, Chikashi S, Raul C, Rao Y S. Composting of polycyclic aromatic hydrocarbons in simulated municipal solid waste. *Water Environ. Res.*, 1998, **70**(3): 356~361.
- 5 陆军,王菊思,赵丽辉等.苯系化合物好氧降解菌的驯化和筛选. *环境科学*, 1996, **17**(6): 1~4.
- 6 Liu Z B, Annette M J, Richard G L. Biodegradation of naphthalene in aqueous nonionic surfactant systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, **61**(1): 145~151.
- 7 Stephanie L T, Michael A, Frankenberger W T. Influence of surfactants on pyrene desorption and degradation in soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, **62**(1): 283~287.