

光合细菌 PSB-1D 对 2-氯苯酚的降解特性研究

胡筱敏¹, 董怡华^{1,2*}, 李亮¹, 卢娟³, 和英滇¹, 高阳⁴

(1. 东北大学资源与土木工程学院, 沈阳 110004; 2. 沈阳大学生物与环境工程学院, 沈阳 110044; 3. 沈阳农业大学高等职业技术学院, 沈阳 110122; 4. 辽宁安科安全评价有限公司, 沈阳 110013)

摘要:从农药厂排污口下游底泥中分离筛选出 1 株可降解 2-氯苯酚的光合细菌 PSB-1D, 经过菌落形态特征、细胞形态特征、生理生化特性实验和特征吸收光谱扫描分析后, 初步鉴定该菌株为红假单胞菌 (*Rhodospseudomonas* sp.). PSB-1D 生长和 2-氯苯酚降解关系实验结果表明, 该菌能在含 2-氯苯酚 (50 mg/L) 的 PSB 液体培养基中降解 2-氯苯酚, 培养 7 d 后降解率可达 57.26%. 进一步实验研究表明不同供氧光照组合、培养基初始 pH 值、温度、光照度等环境因素对 PSB-1D 生长和降解 2-氯苯酚效果的影响较为显著. 在初始 pH 值为 7.0, 培养温度为 30℃, 光照度为 4 000 lx 的条件下, 将 PSB-1D 置于含 2-氯苯酚质量浓度为 50 mg/L 的 PSB 培养基中厌氧光照培养 7 d 后, 2-氯苯酚降解率可达到 62.08%. 在此基础上采用 Andrews 方程对 PSB-1D 降解 2-氯苯酚的动力学过程进行拟合. 结果表明 PSB-1D 降解 2-氯苯酚符合高浓度底物抑制的酶促反应类型, 其降解动力学参数为 $r_{\max} = 0.309 \text{ d}^{-1}$, $K_m = 2.733 \text{ mg/L}$, $K_i = 230.15 \text{ mg/L}$.

关键词:光合细菌; 2-氯苯酚; 生物降解; 降解特性; 降解动力学

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)07-1672-07

Biodegradation Characteristics of *o*-Chlorophenol with Photosynthetic Bacteria PSB-1D

HU Xiao-min¹, DONG Yi-hua^{1,2}, LI Liang¹, LU Juan³, HE Ying-dian¹, GAO Yang⁴

(1. College of Resources and Civil Engineering, Northeastern University, Shenyang 110004, China; 2. School of Biology and Environment Engineering, Shenyang University, Shenyang 110044, China; 3. College of Higher Vocational Technical, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110122, China; 4. Liaoning Anke Sagety Assessment Company of Limited, Shenyang 110013, China)

Abstract: A strain of photosynthetic bacteria named PSB-1D with degradation of *o*-chlorophenol (2-CP) was isolated and screened from the shallow substrate sludge in downstream side of the sewage outfall of an insecticide factory. The PSB-1D is identified preliminarily as *Rhodospseudomonas* sp. according to its colony and cell morphological properties, physiological biochemical characteristics and absorption spectrum analysis of living cells. The experiments results of relationship between PSB-1D growth and *o*-chlorophenol degradation showed that the degradation rate of *o*-chlorophenol was up to 57.26% after 7 days cultural time. The main environmental factors including way of illumination and oxygen, initial pH, cultural temperature, illumination intensity had distinctly influenced on the *o*-chlorophenol degradation with PSB-1D. The results showed that the optimum conditions were as following: an anaerobic light, pH 7.0, temperature 30℃, illumination intensity 4 000 lx, initial *o*-chlorophenol concentration 50 mg/L. Under that cultural condition, the degradation rate of *o*-chlorophenol could reach to 62.08%. The degradation kinetic data fitted the Andrews model well. In addition, the biodegradation process of *o*-chlorophenol can be well described by enzymatic reaction of high concentration inhibition, with the maximum substrate utilization rate 0.309 d^{-1} , Michaelis-Menten constant 2.733 mg/L, inhibitory constant 230.15 mg/L respectively.

Key words: photosynthetic bacteria; *o*-chlorophenol; biodegradation; degradation characteristics; degradation kinetics

氯酚是一类重要的有机化合物, 由于其具有广谱的抗、杀菌和杀虫功效而被广泛应用于染料、造纸、防腐剂、除草剂、杀菌剂等行业^[1~3]. 同时, 氯酚类有机物也是一类典型的有毒有害污染物, 其中很多化合物被认为具有“三致”(致癌、致畸、致突变)效应和遗传毒性^[4~7]. 因此美国、日本以及我国等世界很多国家都将氯酚类化合物列入了优先污染物名单^[8,9]. 氯酚类化合物的生物降解是其在环境中消除的重要途径, 一直是环境保护领域的学者的研究热点^[10~13].

光合细菌 (photosynthetic bacteria, PSB) 是具有

原始光能合成体系的原核生物的总称, 它们不仅能在厌氧光照条件下以低级脂肪酸、多种二羧酸、醇类、糖类、芳香族化合物等低分子有机物作为光合作用的电子供体进行光能异养生长, 而且能在黑暗有氧条件下以有机物为呼吸基质进行好氧异养生长^[14]. 此外, PSB 工艺设备简单、有机质负荷高、耗

收稿日期: 2009-09-11; 修订日期: 2009-12-01

基金项目: 国家重点基础研究发展规划 (973) 项目 (2004CB418500, 2004CB418505)

作者简介: 胡筱敏 (1958 ~), 男, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为水污染控制与治理技术, E-mail: hxmin_jj@163.com

* 通讯联系人, E-mail: harvesttime@163.com

能少、菌体可综合利用、不造成二次污染。基于此,近年来国内外对光合细菌进行了较为广泛的研究,并对味精废水^[15]、炼焦废水^[16]、啤酒废水^[17]、农药废水^[18]及其他多种工业废水^[19,20]作了成功的处理,然而采用光合细菌处理含氯酚废水的研究国内外却鲜见报道。

本实验从农药厂排污口底泥样品中筛选分离出 1 株能降解 2-氯苯酚(*o*-chlorophenol, 2-CP)的光合细菌,分析该菌对 2-CP 的降解特性,并探索光合细菌降解 2-CP 的动力学过程,以期深入了解 2-CP 的生物降解机制和含酚废水的生化处理提供理论依据和实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验试剂

试剂:2-氯苯酚为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司;甲醇为色谱纯,购自 Fisher Scientific。其余药剂均为国产分析纯。

1.2 培养基

富集培养基: NH_4Cl 1.0 g, CH_3COONa 3.5 g, MgCl_2 0.1 g, CaCl_2 0.1 g, KH_2PO_4 0.6 g, K_2HPO_4 0.4 g, 酵母膏 0.1 g, 微量元素(Zn, Mn, Co, Mo) 1 mL, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0 ~ 7.2。在上述液体培养基中加入 2% ~ 3% 的琼脂即得相应得固体分离培养基。

PSB 培养基: NH_4Cl 0.05 g, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COONa}$ 3.0 g, MgCl_2 0.1 g, CaCl_2 0.1 g, KH_2PO_4 0.6 g, K_2HPO_4 0.4 g, 酵母膏 0.5 g, 微量元素(Zn, Mn, Co, Mo) 1 mL, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0。

1.3 菌株的富集、驯化和分离

污泥样品采自沈阳市某农药厂排污口下游水体浅层底泥。取 2 g 污泥样品置于含 2-CP 质量浓度为 25 mg/L 的 100 mL 富集培养基中,于 30℃ 光照培养箱中厌氧培养,当观察到培养瓶中培养基变红棕色,取出培养液 1 mL,再次置于含有 2-CP 质量浓度为 75 mg/L 的 100 mL 富集培养基中,同样条件下光照厌氧培养 5 ~ 7 d。依照前面的方法,连续培养 5 ~ 7 次,2-CP 的质量浓度也渐渐提高到 320 mg/L。经过驯化培养后,取富集液用稀释涂布平板法分离,采用焦性没食子酸去氧法进行厌氧光照培养,7 d 后获得单菌落。平板稀释涂布法反复分离 3 次以上,直到镜检为纯菌。

1.4 鉴定方法

在分离纯化的基础上,观察单菌落形态特征,并

镜检菌体细胞形态,进行其主要的生理生化特性的初步检验与鉴定。

1.5 不同环境因素对降解效果的影响

取培养 70 h 左右的光合细菌种子液以 5% 的接种至含有 2-CP 质量浓度为 50 mg/L 的无菌 PSB 液体培养基中,加无菌水定容至 100 mL,改变不同的供氧光照条件、培养基的初始 pH 值、培养温度、光照度等因素,测定细菌生长量和 2-CP 的降解率,每种条件设 3 个平行。

1.6 分析方法与检测手段

细菌生长量的测定:采用 WTW SpectroFlex6600 紫外-可见分光光度计,于 560 nm 固定波长下测定菌的光密度值(D_{560}),以表示菌株的生长质量浓度。

活细胞吸收光谱的测定^[21]:用 $\omega = 60\%$ 蔗糖水溶液将培养 70 h 左右的光合细菌培养液以转速 10 000 r/min 离心 10 min 洗涤处理 3 次后,将离心后菌体细胞悬浮于蔗糖水溶液中。用紫外-可见分光光度计在波长 300 ~ 650 nm 扫描。

2-CP 的质量浓度测定:采用日立(Hitachi) L-2000 高效液相色谱仪(HPLC)测定,其分析条件为: C18 反相柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),柱温 30℃; 紫外检测 ϵ 测波长 273 nm;流动相为甲醇 45%,高纯水 55%;流速 1.0 mL/min;进样量 25 μL 。采用 Anke TGL-16GB 高速离心机将样品于 10 000 r/min 高速离心 10 min,取上清液经 0.22 μm 微滤膜过滤后进行测定。

2-CP 降解率的计算:降解率 $E(\%) = [(\text{培养基初始 2-CP 质量浓度} - \text{培养 7 d 后培养基 2-CP 质量浓度}) / \text{培养基初始 2-CP 质量浓度}] \times 100\%$

光照度值的测定:采用 TES-1330A 数位式光照度计进行测定。

2 结果与分析

2.1 2-CP 降解菌的筛选鉴定

从富集、驯化的样品中分离筛选得到 1 株对 2-CP 具有降解作用的菌株,暂命名为 PSB-1D。采用焦性没食子酸去氧法对该菌进行固体培养基厌氧光照培养,(30 ± 1)℃ 培养 7 d 后观察菌落呈紫红色,圆形,直径为 1 mm 左右,边缘整齐,表面微凸,光滑湿润;该菌体细胞经镜检呈杆状,稍弯,革兰氏染色为阴性,二分分裂,分裂前呈 H 状,以极生鞭毛运动,扫描电镜如图 1 所示。生理特征见表 1。微生物对碳源的利用范围因种而异,是种的分类依据之一,见表 2。

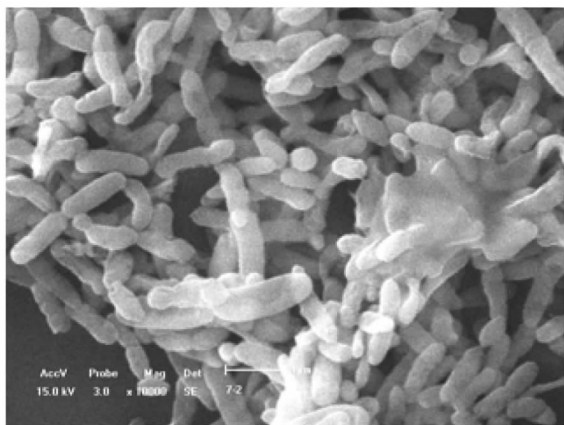


图 1 菌株 PSB-1D 的电镜扫描

Fig. 1 SEM photo of bacteria PSB-1

表 1 菌株 PSB-1D 的生理生化特性

Table 1 Physiological and biochemical characteristic of strains PSB-1D

革兰氏染色	接触酶试验	H ₂ S 生成试验	i 试验	明胶液化试验	硝酸盐还原试验
-	+	-	+	-	+

表 2 菌株 PSB-1D 对碳源的利用特性¹⁾

Table 2 Utilization of carbon source of strain PSB-1D

试验项目	结果	试验项目	结果
硫代硫酸钠	-	果糖	-
乙酸钠	++	乙醇	-
丙酸钠	++	蛋白胨	+
柠檬酸钠	++	谷氨酸钠	+
苹果酸	++	酒石酸钾钠	-
葡萄糖	+	蔗糖	-
苯甲酸	-	可溶性淀粉	++

1) ++ 为生长良好, + 为能够生长, - 为不能生长

菌株 PSB-1D 活细胞在 300 ~ 650 nm 波长范围有 3 个特征吸收峰, 分别位于 375、498、590 nm (如图 2)。其中, 375 nm 和 590 nm 处为细菌叶绿素 a 的特征吸收峰, 498 nm 处为类胡萝卜素的特征吸收峰^[22]。由此认为菌株 PSB-1D 活细胞中含有细菌叶绿素 a 和类胡萝卜素, 即 PSB-1D 具有光合细菌典型吸收特性。

综合以上实验结果, 查对《伯杰细菌鉴定手册》(第八版), 该菌株的主要特征符合红假单胞菌属的种属特性, 故初步鉴定菌株 PSB-1D 为红假单胞菌属 (*Rhodopseudomonas* sp.)。

2.2 PSB-1D 的生长曲线与 2-CP 降解曲线

将培养 72 h 的 PSB-1D 种子液按 5% 的接种量接入含 2-CP 质量浓度为 50 mg/L 的 100 mL 无菌 PSB 培养基中。在培养温度为 30℃、光照度 3 000 lx 的条件下厌氧光照培养, 定时测定菌株的生长量

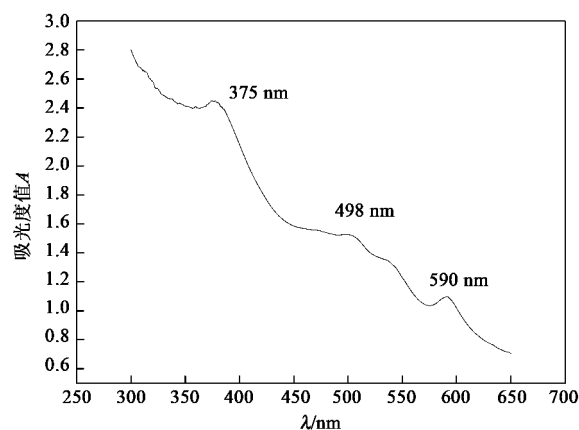


图 2 PSB-1D 菌体活细胞吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectrogram of living PSB-1D cell

(D_{560}) 和 2-CP 降解率。实验结果如图 3 所示。由图 3 可知, 菌株 PSB-1D 的生长情况与 2-CP 的降解情况是正相关的。在培养第 1 ~ 2 d 内, 菌液的 D_{560} 快速上升, 说明此时的 PSB-1D 正处于对数生长期, 与此同时 2-CP 降解率也开始快速提高。培养到第 4 d 时, PSB-1D 生长量达到最大值, D_{560} 为 1.97, 之后随着培养时间延长菌体生长趋于缓慢。而由于培养基中始终有菌体活细胞存在, 致使 2-CP 降解率仍然不断提高。培养 7 d 后菌体生长进入衰亡期, 菌体细胞大量死亡, 此时 2-CP 的降解趋于缓慢。根据实验结果可知, 培养 7 d 的 2-CP 降解率可达 57.26%, 之后降解率提高幅度不大, 因此 7 d 作为 PSB-1D 的最佳培养时间。

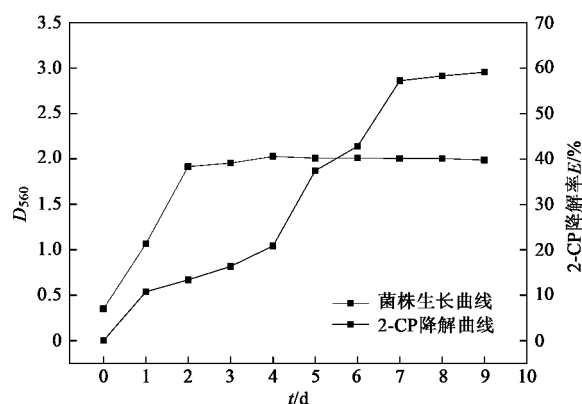


图 3 PSB-1D 的生长曲线和 2-CP 降解曲线

Fig. 3 Relationship between growing curve of PSB-1D and o-chlorophenol degradation

2.3 不同供氧光照对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响

红假单胞菌属内的种均属于兼性好氧菌, 既可

在无氧条件下进行光能异养作用,又能在黑暗好氧条件下进行氧化代谢作用.本实验为了考察光照和氧气组合对光合细菌生长和降解 2-CP 的影响,将对数期的 PSB-1D 种子液接入含 2-CP 质量浓度为 50 mg/L 的培养液中,分别在:①黑暗好氧;②黑暗厌氧;③光照好氧;④光照厌氧条件下培养 7 d 后,分别测定各种条件下菌体生长量和 2-CP 降解率,结果如表 3 所示.

表 3 不同供氧光照对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响

Table 3 Influence of way of illumination and oxygen on PSB-1D growth and <i>o</i> -chlorophenol degradation		
培养条件	D_{560}	2-CP 降解率 $E/\%$
好氧黑暗	1.236	50.42
好氧光照	0.971	38.03
厌氧黑暗	0.243	15.68
厌氧光照	1.867	56.74

实验结果表明,光合细菌 PSB-1D 在黑暗厌氧、黑暗好氧、光照厌氧或光照好氧的条件下均可生长,其中在光照厌氧条件下菌体生长最好(D_{560} 为 1.867),其次是黑暗好氧(D_{560} 为 1.236),而厌氧黑暗条件下菌体生长最差(D_{560} 为 0.243).此外,实验中观察到光照条件下的培养物培养初始呈淡红色,培养后期变成紫红至褐红色,而黑暗条件下的培养物从无色到淡粉色.黑暗条件下光合细菌培养液的颜色相对光照条件下培养液颜色明显变浅,这是由于光合细菌和绿色植物一样,是在光照条件下利用体内叶绿素进行合成作用的,黑暗条件下抑制了细菌叶绿素和类胡萝卜素的生成,使光合细菌无法产生色素,由此可解释菌液颜色上的差别.

不同供氧光照条件对 2-氯苯酚降解效果影响的结果表明,PSB-1D 在光照厌氧和黑暗好氧条件下都能对 2-氯苯酚进行代谢,分别为 56.74% 和 50.42%,由此验证了光合细菌可以根据环境条件变化灵活改变代谢途径的这一优良特性.此外在光照厌氧条件下 2-氯酚的降解效果好于黑暗条件,正如文献[23]所述:光合细菌一般是在厌氧光照条件下进行光合磷酸化和光氧化还原反应.因此,在后续实验中,选择光照厌氧进行培养 PSB-1D.

2.4 2-CP 挥发性的干扰实验

2-CP 的蒸气压为 0.13 kPa (12.1℃),沸点为 174.5℃,根据世界卫生组织(world health organization,WHO)定义,该有机物属于挥发性有机化合物(volatile organic compounds,VOC).本实验中以不接菌含 2-CP 培养液作为对照,采用具塞的磨口

细口瓶进行厌氧光照培养,考察 2-CP 被光合细菌降解时其挥发作用对降解效果干扰的影响,每种条件设 3 个平行,结果如图 4 所示.由图 4 可知,在无菌条件下放置 7 d 的厌氧瓶中,2-氯苯酚因挥发所造成的损失为 4.7%.实验结果表明,厌氧光照条件下 2-CP 的挥发性对其被光合细菌降解效果的干扰并不大,分析原因可能是由于厌氧条件下隔绝空气,蒸气压较小,造成 2-氯苯酚挥发较小.故在后续的厌氧光照实验中忽略 2-CP 挥发作用的影响.

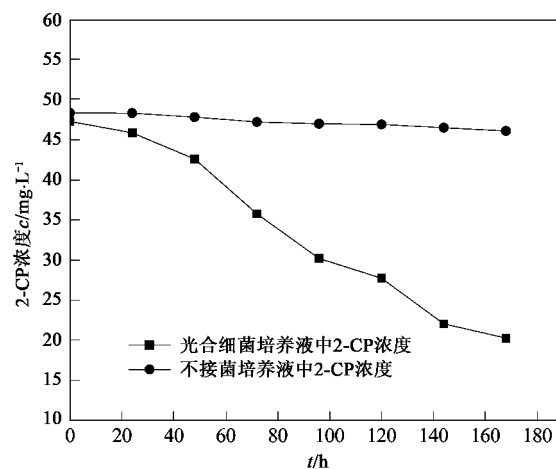


图 4 2-CP 挥发性的干扰实验

Fig. 4 Influence of volatility of *o*-chlorophenol on its degradation

2.5 pH 对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响

微生物的生命活动、物质代谢与其生长环境的 pH 值密切关系.不同的微生物要求不同的 pH 环境.改变培养液的初始 pH,考察初始 pH 对 PSB-1D 生长及降解 2-CP 效果的影响.实验结果见图 5.从图 5 中可以看出,在初始 pH 值为 6.0~10.0 时菌体都能良好生长.而当 pH 值为 7.0 时,菌株 PSB-1D

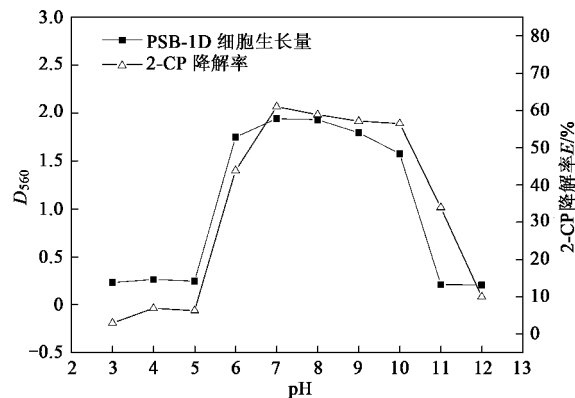


图 5 初始 pH 对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响

Fig. 5 Influence of initial pH value on PSB-1D growth and *o*-chlorophenol degradation

对 2-CP 的降解率达到最大,为 60.99%。初始 pH 值过高或过低时,降解效果都不好,尤其在 pH 值 < 7 的酸性条件下, pH 值越低, 2-CP 的降解效果越差。这说明 PSB-1D 对碱性环境的适应性强于酸性。可见,培养液的酸碱度对生物降解效果有明显影响。当溶液中的 pH 值超过了生物酶的适应范围就有可能改变酶蛋白结构,从而抑制酶的活性。

2.6 温度对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响

温度对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响见图 6。由图 6 可以看出,温度对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响较为显著。当温度 < 30℃ 时,菌体生长与 2-CP 的降解率随温度的升高而增大; 30 ~ 35℃ 范围内,菌体生长及 2-CP 降解率趋于稳定;进一步提高温度,菌体生长与 2-CP 降解率随温度升高迅速降低。其中, 30℃ 时, D_{560} 达到最大,此时 2-CP 降解率也最高。这可能是由于微生物体内发挥降解作用的酶有其最适温度;当环境温度低于该最适温度时,微生物生长缓慢,代谢活性差,酶无法发挥其功能;而当温度过高,酶可能失活,降解率便开始下降。因此, 30℃ 作为 PSB-1D 菌体生长和降酚的最适温度。

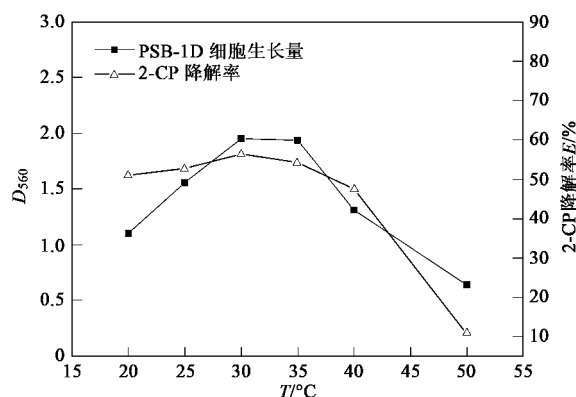


图 6 培养温度对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响

Fig. 6 Influence of culture temperature on PSB-1D growth and *o*-chlorophenol degradation

2.7 光照度对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响

图 7 为不同光照强度下 PSB-1D 的生长情况和 2-CP 的降解情况。由图 7 可见,在温度 30℃,光照强度为 2 000 ~ 5 000 lx (日光灯波长为 400 ~ 750 nm) 时,该光合细菌均保持旺盛的生长势头。而在实验培养中发现,光照度在 5 000 lx 以上菌体生长迅速,菌液快速转红,但是细胞老化较快,出现细胞附壁现象。此外,光照度在 2 000 ~ 5 000 lx 范围内, 2-CP 降

解率随着光照强度的增加而增加,在 4 410 lx,降解率达到最大值 (62.08%),之后降解率随着光照强度进一步增加开始下降。分析其原因, PSB-1D 需要光照来完成一种嗜光的三羧酸循环,光合细菌的活性随着光照强度的增加而增加,光照强度不足会强烈抑制光合细菌的生长;当光照强度到达一定值之后,继续增加光照强度对细菌生长影响不大,即达到了光饱和;而 2-CP 降解率的光饱和度高于菌体生长的光饱和度,推测其原因可能是由于更高的光照强度对共代谢作用机制的特殊酶有促进作用。综上,选择 4 000 lx 左右作为该光合细菌的最适光照度。

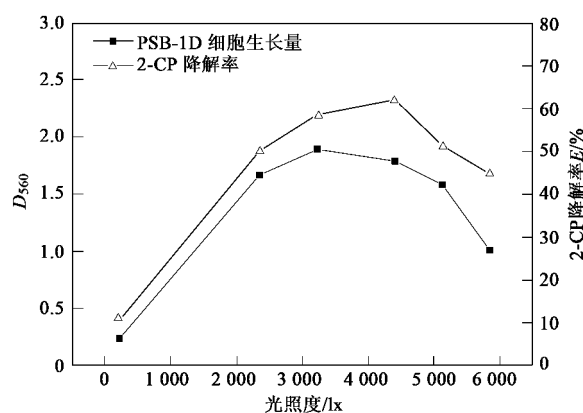


图 7 光照度对 PSB-1D 生长及 2-CP 降解效果的影响

Fig. 7 Influence of illumination on PSB-1D growth and *o*-chlorophenol degradation

3 2-CP 降解动力学分析

动力学研究可以优化生化处理的工艺条件及调控方式,并通过建立降解动力学模型,模拟最适当的工艺流程和工艺参数,预测微生物降解废水趋势。微生物降解动力学行为表现为以下 3 个方面:一是细胞生长消耗,用以合成新的细胞;二是细胞维持基本生命活动的基质消耗;三是用以合成代谢产物的基质消耗^[24]。

为考察 PSB-1D 降解 2-CP 的动力学方程,本实验通过 2-CP 在 0 ~ 40 mg/L 左右的质量浓度下进行底物浓度的酶动力学反应。结果显示不同初始质量浓度下 PSB-1D 的降解符合一级动力学特征,故对 $\ln[2-CP]$ 和 t 做线性拟合,拟合结果显示了良好的线性关系,见图 8。

表 4 列出了酶促反应速率常数、半衰期以及相关系数。结果表明,在低浓度时, PSB-1 反应速率随 2-CP 质量浓度的增大而增大,当 2-CP 质量浓度达到一定值后,反应速率达到最大值;之后,继续增加

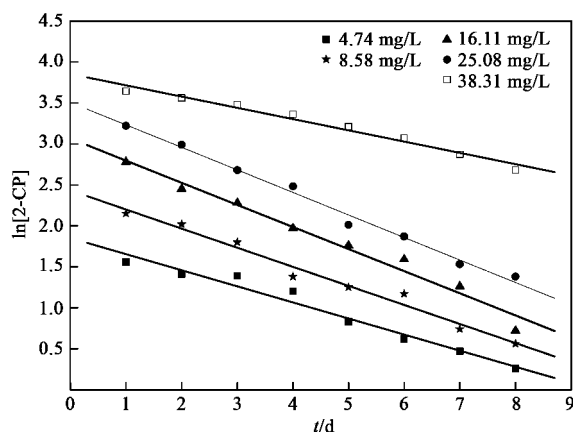


图 8 2-CP 降解动力学拟合曲线

Fig. 8 Model fit of *o*-chlorophenol degrading kinetics

2-CP 质量浓度,反应速率开始下降.因此,对 2-CP 的生物降解过程,2-CP 既是反应的共代谢基质,同时也是抑制剂. PSB-1D 降解 2-CP 符合高浓度底物抑制的酶促反应类型,故采用 Andrews 方程模拟其基质降解动力学过程^[25,26]:

$$r_i = \frac{r_{\max}}{1 + \frac{K_m}{c} + \frac{c}{K_i}}$$

式中, c 为 2-CP 在溶液中的质量浓度 (mg/L); r_i 为存在抑制剂时的酶促反应速率 (d^{-1}); $r_{\max}$ 为不存在抑制剂时的最大酶促反应速率常数 (d^{-1}); K_m 为米氏常数 (mg/L); K_i 为抑制常数 (mg/L).

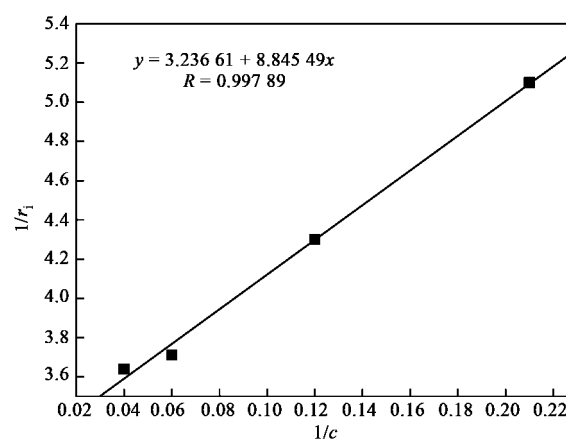
表 4 PSB-1D 降解不同初始浓度 2-CP 的实验结果分析

Table 4 Analytical result of degradation of *o*-chlorophenol under different initial concentrations by culture PSB-1D

2-CP 浓度 c / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	反应速率常数 r_i / d^{-1}	相关系数 R	半衰期 t / d^{-1}
4.74	0.196 19	0.984 73	5.033
8.58	0.232 74	0.989 88	4.188
16.11	0.269 64	0.988 54	3.628
25.08	0.274 76	0.991 65	3.558
38.31	0.137 5	0.987 44	6.545

当底物浓度较低时,以 $1/r_i$ 对 $1/c$ 作图,如图 9.从图 9 中的直线斜率和截距求得动力学参数 $r_{\max} = 0.309 \text{ d}^{-1}$;米氏常数 $K_m = 2.733 \text{ mg/L}$.当反应速率达到最大时,即 c 为 25.08 mg/L , $c^2 = K_m \times K_i$,估算抑制常数 $K_i = c^2/K_m = 230.15 \text{ mg/L}$.因而得到 PSB-1D 降解 2-CP 的动力学方程为:

$$r_i = \frac{0.309}{1 + \frac{2.733}{c} + \frac{c}{230.15}}$$

图 9 PSB-1D 在低浓度 2-CP 下 $1/c$ 与 $1/r_i$ 之间的关系Fig. 9 Relationship between $1/c$ and $1/r_i$ during low initial concentrations *o*-chlorophenol by culture PSB-1D

4 结论

(1)从农药厂排污口下游水体浅层底泥中富集、驯化、筛选、分离出 1 株能降解 2-氯苯酚的光合细菌 PSB-1D,经初步鉴定为红假单胞菌属 (*Rhodopseudomonas* sp.).

(2)不同环境因素条件下对 PSB-1D 菌株降解 2-氯苯酚的特性研究实验结果表明,在初始 pH 值为 7.0,培养温度为 30°C ,光照度为 $4\,000 \text{ lx}$ 左右的条件下,将 PSB-1D 置于含 2-氯苯酚质量浓度为 50 mg/L 的 PSB 培养基中厌氧光照培养 7 d 后,2-氯苯酚降解率可达到 62.08%.

(3)PSB-1D 菌株降解 2-氯苯酚的动力学方程符合高浓度底物抑制的酶促反应类型.

参考文献:

- [1] Yuan S H, Lu X H. Comparison treatment of various chlorophenols by electro-Fenton method: relationship between chlorine content and degradation [J]. J Hazard Mater, 2005, **118**:85-92.
- [2] Lee C Y, Lee Y P. Degradation of 4-chlorophenol by enriched mixed cultures utilizing phenol and glucose as added growth substrate [J]. World J Microb Biot, 2007, **23**:383-391.
- [3] Fakhruddin A N M, Quilty B. The influence of glucose and fructose on the degradation of 2-chlorophenol by *Pseudomonas putida* CP1 [J]. World J Microb Biot, 2005, **21**:1541-1548.
- [4] Grazia B, Lucia C, Priscilla F, et al. Chlorophenol removal from soil suspensions: effects of a specialized microbial inoculum and a degradable analogue [J]. Biodegradat, 2004, **15**:153-160.
- [5] Atuanya E I, Chakrabarti T. Bioremediation and kinetics of UASB reactor to mixtures of chlorophenol pollutants [J]. Environ Monit Assess, 2003, **83**:283-294.
- [6] Akane M, Tsutomu A, Hotaka S, et al. Acute toxicity of

- chlorophenols to earthworms using a simple paper contact method and comparison with toxicities to freshwater organisms [J]. *Chemosphere*, 2002, **47**:65-69.
- [7] 魏雪涛,蒋建军,林静芳,等. 五氯酚钠诱导小鼠遗传损伤的研究[J]. *中国公共卫生*, 2004, **20**(8):950-952.
- [8] United States Environmental Protection Agency. Report EPA 822-R-02-047[R]. Washington D C: National recommended water quality criteria, 2002.
- [9] WHO (World Health Organization). Environmental health criteria for pentachloro-phenol [M]. Supplement Draft, WHO: Geneva, 1986.
- [10] Wen J P, Li H M, Bai J, *et al.* Biodegradation of 4-chlorophenol by candida albicans PDY-07 under anaerobic conditions [J]. *Chinese J Chem Eng*, 2006, **14**:790-795.
- [11] Vroumsia T, Steiman R, Fseigle M. Fungal bioeronsion of 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid (2, 4-D) and 2, 4-dichlorophenol (2, 4-DCP) [J]. *Chemosphere*, 2005, **60**:1471-1480.
- [12] 周洪波,陈坚,邱冠周,等. 厌氧颗粒污泥对五氯苯酚脱氯过程中的影响因素[J]. *应用与环境生物学报*, 2006, **12**(6):846-849.
- [13] Fen X Y, Dong S S. Acclimation of anaerobic sludge degrading chlorophenols and the biodegradation on kinetics during acclimation period[J]. *Chemosphere*, 2004, **54**:1573-1580.
- [14] Wanna C, Piyyarat T, Jarin T, *et al.* Identification and cultivation of photosynthetic bacteria in wastewater from a concentrated latex processing factory[J]. *Biotech Lett*, 2002, **24**:1055-1058.
- [15] 谢娟,艾翠玲. 光合细菌对味精废水处理效果的影响研究[J]. *工业安全与环保*, 2006, **32**(4):16-18.
- [16] 崔双科,郭战英,于翔. 优势光合细菌处理炼焦废水的研究[J]. *四川大学学报(自然科学版)*, 2005, **42**(5):1001-1004.
- [17] 谢红刚,王三反,褚润. 光合细菌对啤酒废水处理的研究[J]. *工业用水与废水*, 2006, **37**(5):38-40.
- [18] 张松柏,张德咏,罗香文,等. 一株降解苄嘧磺隆光合细菌的分离鉴定及其降解特性[J]. *生态环境*, 2008, **17**(5):1774-1777.
- [19] 宋晓东,张琨,黄建新. 光合细菌处理皂素生产废水实验研究[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2009, **39**(4):620-623.
- [20] 黄宝兴,李兰生,赵亮,等. 固定化海洋光合细菌处理生活污水的研究[J]. *海洋湖沼通报*, 2006, **2**:69-74.
- [21] 周洪波,刘飞飞,邱冠周. 一株光合细菌的分离鉴定及污水处理能力研究[J]. *生态环境*, 2006, **15**(5):901-904.
- [22] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社, 2001. 211-212.
- [23] 朱核光,赵琦琳,史家梁. 光合细菌 *Rhodopseudomonas* 产氢的影响因子实验研究[J]. *应用生态学报*, 1997, **8**(2):194-198.
- [24] Ji X L, Zhang J L, Li W, *et al.* Effect of substrate permeation on kinetics of phenol[J]. *Chinese J Chem Eng*, 2003, **11**(2):151-155.
- [25] Zheng C L, Zhou J T, Wang J, *et al.* Isolation and characterization of a nitrobenzene degrading yeast strain from activated sludge[J]. *J Hazard Mater*, 2008, **160**:194-199.
- [26] 张杏青,朱妙军,胡勤海,等. 甲基叔丁基醚(MTBE)降解菌株的分离鉴定及降解动力学研究[J]. *环境科学*, 2009, **30**(6):1785-1790.