

不同来源菌种对苯系化合物 生物降解性的比较*

赵丽辉 贾智萍 陈梅雪 陆 军 王菊思

(中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

摘要 研究了从城市污水处理场和石油化工废水处理场曝气池活性污泥中富集的混合菌种对苯、甲苯、乙基苯、邻二甲苯、间二甲苯和对二甲苯6种化合物的生物降解性。在相同的生物试验条件下, 比较了2类不同来源菌种对被试验化合物代谢过程在耐受化合物浓度、降解启动期、降解速率以及降解程度等方面的差异。结果表明, 在2种不同来源污泥的菌种体系中, 苯、甲苯、乙基苯、间二甲苯和对二甲苯均可得到不同程度的降解。在石化污泥菌种体系中同时共存可降解邻二甲苯、间二甲苯和对二甲苯的菌株, 3个异构体的降解率达到100%。依据降解速率, 给出了不同菌种体系下, 6种被试化合物生物降解易难的顺序。

关键词 苯系化合物, 生物降解, 城市污水, 石油化工废水。

苯系化合物是一类人工合成有机化合物, 在生产和使用过程中被排入环境, 由于它们的难生物降解性而长期残留在土壤和水体中, 对环境造成污染。至今人们不仅在自然界中找到了可以降解苯系化合物的微生物^[1-3], 还通过微生物对苯系化合物的代谢过程研究其降解产物和降解机理^[4,5]。

本文研究了不同来源的混合菌种对苯、甲苯、乙基苯、邻二甲苯、间二甲苯和对二甲苯6种化合物的可生物降解性。在相同的生物试验条件下, 比较了2类菌种对苯系化合物代谢过程中在耐受化合物浓度、降解启动期、降解速率及降解易难等方面的差异。

1 实验

1.1 菌种的采集与富集

分别从某城市污水处理场和石油化工废水处理场的曝气池中采集活性污泥(简称城市污泥和石化污泥), 取其悬浮液经24 h曝气后, 取5 ml加入到200 ml液体培养基中, 在摇床(100 r/min)上, 25℃培养24 h, 然后, 将此原始菌种用磷酸盐缓冲液清洗, 离心后, 制得菌悬液, 经适当稀释后, 即为生物降解试验用菌种。

1.2 生物降解试验

采用好氧振荡瓶法进行生物降解试验, 由在细菌代谢下化合物浓度所发生的变化来判断生物降解的程度。

以上述的菌种作为菌源, 以苯、甲苯、乙基苯、邻二甲苯、间二甲苯和对二甲苯为微生物的唯一碳源进行生物试验。2种不同菌种的生物降解试验均设不同浓度的实验组, 每个实验组由数10支试管组成。在装有一定浓度的化合物和无机盐营养液的分液漏斗中, 加入适量的菌种, 摇匀后, 分装至15 ml具塞玻璃刻度试管中(培养液体积为5 ml), 密封试管口, 然后将试管放入空气浴振荡器中, 开始计时时, 每个浓度组取出1支试管, 测定化合物的浓度, 作为该实验组的本底数据。计时后, 每隔24 h取出1支试管测定被试验化合物的浓度, 观察微生物对苯系化合物的降解情况。同时设空白组作对照, 空白组只加化合物和无机盐溶液, 不加菌种。

实验条件: 培养温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$; 细菌浓度 $10^6 - 10^7$ 个/ml; 无机盐营养液的配制见

* 国家自然科学基金资助项目

收稿日期: 1995-10-08

文献[6].

1.3 菌种的培养和观察

将从城市污水处理场和石化废水处理场活性污泥中富集的菌悬液,经适当稀释后,分别涂在平板培养基上,在培养箱(28℃)中,培养48 h后,观察其形态.

1.4 分析方法

被试验化合物的浓度采用气相色谱法测定.样品预处理方法如下:从摇床中取出试管,放入冰箱(4℃)1 h后取出,在试管中加入一定体积的正己烷,萃取后,取有机相进行气相色谱测定.

分析条件:GC-9A 气相色谱仪,装有氢火焰检测器,玻璃填充柱 2 m× ϕ 3 mm(i. d),内填 10%SE-30 固定相.检测器温度 250℃,柱温 130℃(苯和甲苯 80℃),进样口温度 250℃,高纯氮气作载气,流速为 50 ml/min.

细菌计数采用平板菌落计数法.

2 结果与讨论

2.1 不同来源菌种对不同浓度化合物的生物降解性

图 1 和图 2 分别给出了从城市污泥和石化污泥中富集的混合菌种对浓度为 40—60 mg/L 时的苯系化合物的生物降解情况.从图 1 可看出,在城市污泥菌种的实验中,除邻二甲苯和乙基苯外,其它 4 种化合物均在 60 h 内完全降解.从图 2 中可以看出,苯系化合物在石化污泥菌种的作用下,当化合物浓度高于城市污泥菌种实验的 20 mg/L 时,除邻二甲苯外,其余 5 种化合物在 60 h 内均可达到 90% 以上的降解,间二甲苯和对二甲苯可完全降解.邻二甲苯在 200 h 内未见明显降解,但在其后的 20 h 内,可完全解释.比较图 1 和图 2 可清楚地看到,在不同菌种的作用下,较易降解的化合物浓度接近时,其降解情况相近;较难降解的邻二甲苯和乙基苯表现了明显的差别,在城市污泥菌种中根本不降解的邻二甲苯和乙基苯,在石化污泥菌种中分别在 100 h 和 230 h 之内完全降解.当化合物的浓度更高时,2 类菌种对被试验化合

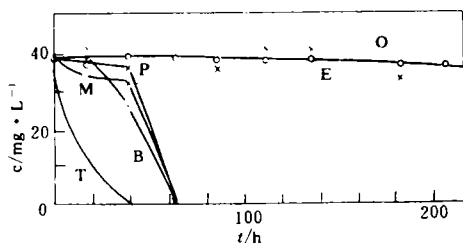


图 1 城市污泥菌种对苯系化合物的生物降解

B. 苯 O. 邻二甲苯 P. 对二甲苯

T. 甲苯 M. 间二甲苯 E. 乙基苯

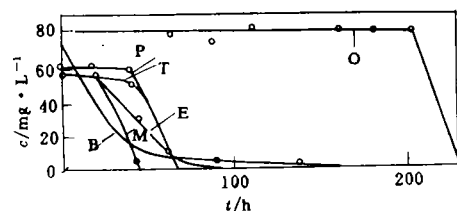


图 2 石化污泥菌种对苯系化合物的生物降解

B. 苯 O. 邻二甲苯 P. 对二甲苯

T. 甲苯 M. 间二甲苯 E. 乙基苯

物的降解作用的差异就更为明显.在石化污泥菌种试验中,6 种被试化合物浓度接近或高于城市污泥菌种实验中的浓度,其降解情况前者优于后者.例如,间二甲苯和对二甲苯在石化污泥菌种中均可较城市污泥菌种实验条件下提前 50—100 h 完全降解,说明石化污泥菌种对苯系化合物的降解能力强于城市污泥菌种,因为石油化工污水中含有这类被试化合物,污水处理场的活性污泥经长期的驯化,已培养出能适应和分解这类化合物的微生物,因而,从石化污泥中富集的菌种,能较快地分解苯系化合物,并能耐受和分解较高浓度的这类化合物.有的菌种可以降解数种化合物,但仍有其选择性,能降解苯、甲苯、间二甲苯和对二甲苯的菌种不能降解乙基苯和邻二甲苯.

2.2 被试化合物在不同菌种作用下的降解率

图 3, 4 分别给出了在不同来源菌种的作用下,不同浓度(100—150 mg/L)被试化合物的降解率.从不同菌种实验的降解率与时间的关系可以看出,不仅在 2 种体系中被试化合物的降解程度上有差异,就是同在石化污泥菌种的

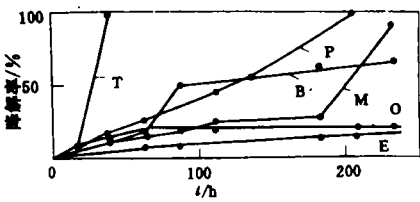


图3 在城市污泥菌种中苯系化合物浓度
(高浓度)与降解率的关系
B. 苯 O. 邻二甲苯 P. 对二甲苯
T. 甲苯 M. 间二甲苯 E. 乙基苯

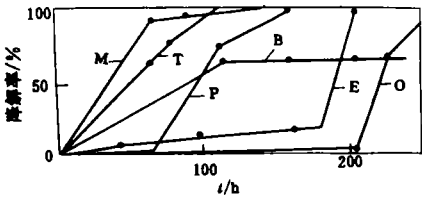


图4 在石化污泥菌种中苯系化合物浓度
(高浓度)与降解率的关系
B. 苯 O. 邻二甲苯 P. 对二甲苯
T. 甲苯 M. 间二甲苯 E. 乙基苯

实验中, 6 种化合物达到 100%降解率所需的时间也有了较大的差异. 图 3 和 4 表明, 当化合物的浓度较高时, 在石化污泥菌种实验中, 除苯外, 5 种化合物达到 100%降解率的时间比低浓

度时大大地延长了. 这种差异可以作为化合物降解难易的一种标志, 易降解的化合物即使浓度升高, 降解率无变化或变化较小; 而难降解的化合物浓度升高时, 降解率下降, 且降解时间延长. 这种差别是由化合物的化学组成和结构这一内在因素决定的.

2.3 启动期和降解速率

表 1 给出了在较高化合物浓度下, 不同菌种对 6 种化合物的启动期和降解速率. 从表 1 中数据可看到, 在 2 个菌种体系下, 尽管石化污泥菌种实验中的化合物浓度高于城市污泥菌种体系, 但在启动期、完全降解时间、启动期后降解速率及平均降解速率等参数上都优于城市污泥菌种体系. 通过平均降解速率参数值的比较, 可以判断在相同体系下, 不同化合物的可生物降解性易难的程度与它们彼此之间的顺序. 在石化污泥菌种体系中, 甲苯>对二甲苯>间二甲苯>乙基苯>苯>邻二甲苯; 在城市污泥菌种体系中, 甲苯>对二甲苯>间二甲苯>苯>乙基苯>邻二甲苯. 在不同来源菌种的体系中, 6 种苯系化合物表现了相似的降解易难顺序, 说明化合物的生物降解易难是由化合物的化学组成、结构这一内在因素决定的^[7].

2.4 不同来源菌种的比较

表 1 不同菌种实验下化合物浓度与生物降解启动期和降解速率

菌种来源	化合物名称	浓度 /mg · L ⁻¹	启动期 /h	完全降解时间 /h	启动期后降解速率 /mg · L ⁻¹ · h ⁻¹	平均降解速率 /mg · L ⁻¹ · h ⁻¹
石化污泥	苯	135.9	20	>230	0.65	0.62
	甲苯	144.6	40	114	1.95	1.27
	邻二甲苯	90.0	220	277	0.57	0.32
	间二甲苯	129.3	40	138	1.32	0.94
	对二甲苯	142.6	40	138	1.46	1.03
	乙基苯	114.1	40	138	1.27	0.83
城市污泥	苯	142.4	39	>543	0.29	0.29
	甲苯	181.9	39	255	0.77	0.71
	邻二甲苯	95.4	>543			
	间二甲苯	80.2	207	255	1.21	0.32
	对二甲苯	84.6	87	183	0.73	0.46
	乙基苯	79.9	303	327	0.26	0.24

表 2 中给出了在不同污泥中筛选、分离可降解苯系化合物菌株的结果. 菌株的种、属的鉴

定有待进一步研究. 实验中已分离出 20 株降解苯系化合物的单一菌株, 从石化污泥中分离出

表 2 从不同污泥中筛选和分离降解苯系化合物优势降解菌的结果

菌 源	菌株数目/株				
	甲苯	乙基苯	邻二甲苯	间二甲苯	对二甲苯
城市污泥	3	1	0	2	0
石化污泥	5	3	2	3	1

了能降解邻二甲苯的 2 株菌株. 在混合菌种的体系中能同时找到可降解二甲苯 3 个异构体的菌株, 可能是新的发现. 从实验中发现, 在城市污泥菌种的实验中, 邻二甲苯在长达 500 h 的实验期内, 根本不降解; 而在石化污泥菌种的实验中, 邻二甲苯虽需较长的适应期, 但最终可以得到完全地降解, 也说明了从石油化工污水场活性污泥中分离出降解邻二甲苯的纯菌株是有依据的.

3 结论

(1) 在 2 种来源不同污泥的菌种体系中, 苯、甲苯、间二甲苯、对二甲苯和乙基苯均可得到不同程度的降解. 在城市污泥富集的菌种实验中, 邻二甲苯不被降解, 在石油化工污泥富集的菌种实验中, 邻二甲苯可完全被降解.

(2) 从石化污泥中可以筛选出较城市污泥更多的降解苯系化合物的优势菌种, 例如在石油化工污泥中同时共存可降解邻二甲苯、间二甲苯和对二甲苯的菌株, 对 3 个二甲苯异构体的降解率可达 100%, 而在城市污泥中则筛选不到对邻苯二甲酸有降解能力的菌株.

(3) 依据降解速率, 在不同菌种体系下, 6 种化合物的生物降解易难顺序为: 在石化污泥菌种体系中, 甲苯>对二甲苯>间二甲苯>乙基苯>苯>邻二甲苯; 在城市污泥菌种体系中, 甲苯>对二甲苯>间二甲苯>苯>乙基苯>邻二甲苯.

参 考 文 献

1 Derek R L and Debra J L. Anaerobic oxidation of toluene, phenol, and p-cresol by the dissimilatory iron-reducing organism, GS-15. *Applied and Environmental Microbiology*. 1987, **53**: 254—260

2 Edwards E A and Wills L E et al. . Anaerobic degradation of toluene and xylene by aquifer microorganisms under sulfate-reducing conditions. *Applied and Environmental Microbiology*. 1992, **58**: 2969—2974

3 Stephen R H and Guy W S et al. . Biodegradation of aromatic hydrocarbons by aquifer microorganisms under denitrifying conditions. *Environ. Sci. technol.*, 1991, **25**: 68—76

4 Patrick J E and Willam L et al. . Metabolites formed during anaerobic transformation fo toluene and o-xylene and their proposed relationship to the initial steps of tolene mineralization. *Applied and Environmental Microbiology.*, 1992, **58**: 496—501

5 Gibson D T and Gschwendt B et al. . Initial reactions in the oxidation of ethylbenzene by pseudomonas phtida. *Biochemistry*. 1973, **12**(8): 1520—1528

6 赵丽辉等. 苯甲酸类化合物好氧生物降解性研究. *环境化学*, 1993, **12**(3): 173—178

7 王菊思等. 苯系化合物好氧生物降解性研究. *环境化学*, 1993, **12**(5): 394—400

organic substances, 23 organic substances were studied with this PCD test, and their indexes of biodegradation were calculated. A classification of biodegradability of the organic substances according to the indexes of biodegradation was suggested.

Key words: organic compounds, biodegradation, production of carbon dioxide.

Comparison of Biodegradability of Aromatic Hydrocarbons by Mixed Bacteria from Different Sources. Zhao Lihui et al. (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(3), 1996, pp. 15–18

The biodegradability of benzene, toluene, ethylbenzene, o-, m- and p-xylene by mixed cultures enriched from two activated sludges was studied. The sludges were obtained from two wastewater treatment plants receiving municipal and petrochemical wastewater respectively. The different of biodegradability represented on the lag time, the degraded ratio and the biodegradable degree in both cultures under the same biotest condition with different tested compounds concentration were discussed. The results indicated that the six tested compounds can be biodegraded in different degree in both cultures. The special bacteria for degradation o-, m- and p-xylene were separated from enriched activated sludge of the petrochemical wastewater treatment plant, and the ratio of degradation of three xylenes could reach a hundred percent. The degradable order of the six tested compounds in both culture was ranked according to the rate of degradation.

Key words: biodegradability, aromatic hydrocarbons, active sludge, bacteria.

Adsorption of Organic Pollutants on Particles of Land/Inland Ecotones in Bai Yang Dian Area.

Liu Jiang, Wang Yizhong and Tang Hongxiao (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(3), 1996, pp. 19–22

The adsorption rule of solvophobic phenol and hydrophobic p-chlorophenol in Bai Yang Dian land/inland ecotones was studied by using batch equilibrium method. For solvophobic organics, the adsorption rules follow the Langmuir type equation, and there is a linear relationship between the logarithm of equilibrium concentration

c_e and adsorption coefficient q ; but for hydrophobic organics, the relationship between equilibrium concentration c_e and adsorption coefficient q_1 follows the Linear-type equation, and adsorption amount is higher than that the hydrophobic organic does.

Key words: organic pollutants, particles, adsorption, Bai Yang Dian area, soil of land/inland ecotones.

The Correlation between Selenate Reduction and Nitrate Denitrification in Soil. Piao Hechun et al. (State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(3), 1996, pp. 23–26

In order to investigate the correlation between selenate reduction and nitrate denitrification, a series of related experiments were carried out in different soil-water systems, in which a given amounts of KNO_3 and Na_2SeO_4 solution were added, and the transformation processes of chemical speciation of selenate and nitrate were studied. The results indicated that the processes of selenate reduction and nitrate denitrification are identical in temporal and spatial changes, and the transformation of their chemical speciation relates not only to a kind of organic carbon compounds and temperature, but also closely to action of nitrate reductase.

Key words: selenate, nitrate, denitrification, nitrate reductase, organic carbon compounds.

Investigation on the Removal of NO and NO_x from Flue Gas Using a Pulsed Corona Discharge Accounting for Flyash and Humidity Effects. Zhao Zhibin et al. (Institute of Electrostatic and Specific Power Generator, Dalian University of Technology, Dalian 116024); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(3), 1996, pp. 27–30

The removal of NO and NO_x from flue gas was investigated experimentally using a pulsed corona discharge. The results showed that flyash in flue gas not only removes NO and NO_x about 2%–4% by adsorption, but restrains the pulsed corona discharge and induces a trend of the decreasing removal efficiency of NO and NO_x. Increasing the content of H₂O in flue gas enhances the chemical adsorption of flyash particle surface and when the water vapor content of 15% (V/V) of flue gas and energy consumption of 3 Wh/Nm³ removal efficiency for NO and NO_x were raised to 5%–