

细菌降解非离子表面活性剂的研究*

林 力 杨惠芳

夏星辉** 许嘉琳

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080) (北京师范大学环境科学研究所, 北京 100875)

摘要 从石油污染的土壤中分离到2株能利用非离子表面活性剂 AEO-9 和 SA-20 作为唯一碳源生长的细菌。这2株菌被定名为假单胞杆菌 52 (*Pseudomonas* 52) 和 *Weeksella* 6。最适于这2株菌利用非离子表面活性剂 AEO-9 的培养条件是乙酸胺作为氮源, pH 7, 30℃; 添加少量葡萄糖能促进表面活性剂的降解。降解速率的研究表明, 当 AEO-9 的初始浓度为 5000 mg/L 时, 52 号菌和 6 号菌都能在 2 周内将其去除 85%, 并在 4 周内将其去除 95%。52 号菌的休眠细胞能在 pH 7, 30℃ 和细胞浓度(湿重) 200 mg/ml 的条件下, 在 6.5 h 内将同样初始浓度的 AEO-9 降解 60%。

关键词 假单胞杆菌 52 (*pseudomonas* 52), *Weeksella* 6, 非离子表面活性剂 AEO-9, SA-20, 生物降解。

最近的研究表明, 非离子表面活性剂能乳化包气带中的石油烃, 增强其迁移能力, 从而增加烃类污染物与微生物接触的机会, 提高其生物可用性^[1]; 它还能增强微生物细胞膜的通透性, 从而加快石油烃的微生物降解^[2]。但是, 应用表面活性剂促进微生物对石油烃的降解, 有可能引起二次污染。美国肥皂和洗涤剂协会的 M. Masner 用半连续性活性污泥法研究了脂肪醇聚氧乙烯醚类表面活性剂的生物降解。7 d 内能将初始浓度为 10—20 mg/L 的表活剂降解 90%^[3]。细菌降解非离子表面活性剂鲜见报道。本实验研究了细菌降解脂肪醇聚氧乙烯醚类非离子表面活性剂的能力和条件。

1 实验材料和方法

(1) 菌种 试验用菌假单胞杆菌 52 (*Pseudomonas* 52) 和 *Weeksella* 6 是由中国科学院微生物研究所环境微生物组从石油污染的土壤中分离得到。

(2) 无机盐基础培养基(%) $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.1, KH_2PO_4 0.1, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05, NH_4NO_3 0.1, $CaCl_2$ 0.002, $FeCl_3$ 痕量。实验时加入适量表面活性剂作为碳源。112℃湿热灭菌 30 min 备用。

(3) 表面活性剂生物降解试验 生长细胞: 新鲜培养物一环, 接种于含 5000 mg/L AEO-9 的无机盐培养基中, 30℃振荡培养 72 h, 比浊测定生长。休眠细胞(resting cell): 取 72 h 培养物, 10000 ×g 离心 20 min, 收集细胞。用 pH 7 的 0.067 mol/L 磷酸盐缓冲液洗涤 2 次。反应时, 向缓冲液加入浓度为 5000 mg/L 的 AEO-9, 一定菌体浓度下保温一定时间, 测定反应液中的表面活性剂含量。

(4) 细菌生长量的测定 使用 721 型分光光度计在波长 460 nm 处测定培养液的 OD 值, 以测得的浊度表示菌体的生长量。

(5) 表面活性剂来源及测定方法 非离子表面活性剂属脂肪醇聚氧乙烯醚类, 商品名为 AEO-9 和 SA-20; 阴离子表面活性剂属脂肪醇聚氧乙烯醚硫酸脂钠盐型, 商品名为 AES。3 种表面活性剂均由天津助剂厂生产。

以最大泡压法^[4]测出溶液的表面张力, 据此计算出溶液中表面活性剂的含量。

* 国家“八五”科技攻关项目

** 现在北京大学城市环境系

收稿日期: 1996-05-15

2 结果与讨论

2.1 细菌利用表活剂的能力

(1) 不同表活剂对细菌生长的影响(见图 1)

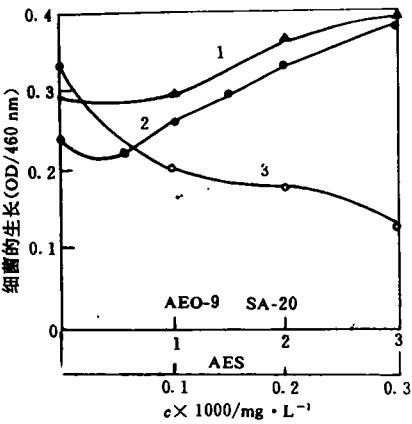


图 1 不同表活剂对 52 号细菌生长的影响
1. SA-20 2. AEO-9 3. AES

在含 1% 葡萄糖的培养基中, 分别加入不同浓度的 AEO-9、SA-20 和 AES 3 种表活剂, 测定 48 h 培养液菌的生长情况. 如图 1 所示, 非离子表活剂 AEO-9 和 SA-20 能促进 52 号菌的生长, 阴离子表活剂 AES 抑制该菌的生长. 当 AEO-9 和 SA-20 浓度为 30000 mg/L 时, 52 号菌的生长量增加了 27% 和 20%, 然而, AES 仅为 3000 mg/L 时, 52 号菌生长的抑制率已达 54%. 可见, 不同类型的表活剂对细菌生长的影响不同.

(2) 2 株细菌对非离子表活剂 AEO-9 的利用 观察以 AEO-9 为碳源的 72 h 培养液中 2 株细菌的生长(表 1), 可见 6 号菌和 52 号菌都能利用 AEO-9 为唯一碳源生长. 当 AEO-9 浓度为 10000—40000 mg/L 时, 52 号菌的生长随 AEO-9 浓度增加, 当其浓度大于 40000 mg/L 时, 52 号菌的生长才开始被抑制. 6 号菌利用 AEO-9 的能力较弱, 生长较差. 比较 2 株菌在不同浓度 AEO-9 的生长量, 6 号菌明显低于 52 号菌. 但是, 6 号菌在实验的 AEO-9 浓度范围内, 尚未观察到生长出现抑制的现象. 结果表明, 菌株不同, 对 AEO-9 的利用能力是不同的.

表 1 表活剂 AEO-9 对细菌生长的影响

AEO-9 浓度 /mg · L ⁻¹	菌生长(OD 460 nm)	
	6 号	52 号
0	0	0
10000	0.10	0.32
20000	0.14	0.53
30000	0.18	0.80
40000	0.21	0.88
50000	0.23	0.83

2.2 细菌降解非离子表活剂 AEO-9 的条件

(1) 氮源 以 AEO-9 为碳源, 试验了几种不同氮源对细菌降解利用 AEO-9 的影响. 培养基中含氮量为 350 mg/L. 图 2 所示为 72 h 培养物中菌的生长和表活剂剩余量. 乙酸胺作为氮源表活剂的降解最佳, 52 号菌和 6 号菌的生长也最好.

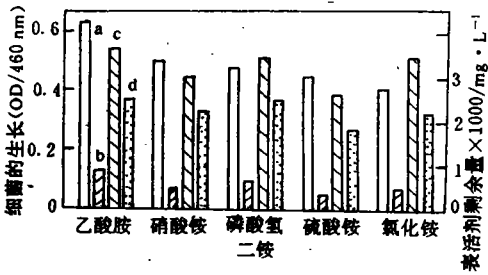


图 2 不同氮源对表活剂降解菌生长及表活剂去除影响
细菌生长: a. 52 号菌 b. 6 号菌
表活剂剩余量: c. 52 号菌 d. 6 号菌

(2) 温度和 pH 72 h 静止培养条件下, 观察温度对降解菌生长的影响. 2 株菌的最适生长温度都是 30℃, 在 20—37℃ 都能良好生长, 5—15℃ 也能观察到生长. 生长温度范围较宽.

表 2 结果表明, 6 号菌和 52 号菌生长和表活剂降解的最适初始 pH 分别是 9 和 7. 当初始 pH 逐渐增高时, 6 号菌的生长和表活剂去除都逐渐提高. 72 h 后, 6 号菌培养液的终 pH 有明显下降. 表明在利用 AEO-9 时, 6 号菌对其降解较不完全, 产生较多酸性中间代谢产物, 本实验中 6 号菌初始 pH 为 9 时, 利于该菌生长与降解 AEO-9, 是培养过程中大量产酸所致.

表 2 初始 pH 对表活剂降解菌生长和表活剂去除的影响

初始 pH		最终 pH		菌生长(OD 460 nm)		表活剂剩余量/mg · L ⁻¹	
6 号	52 号	6 号	52 号	6 号	52 号	6 号	52 号
5		4	5.7	0.01	0.40	4250	3457
6		5	5.8	0.05	0.46	3257	3260
7		6	6.3	0.05	0.56	2701	1764
8		6.7	7.1	0.18	0.53	2499	2381
9		7	7.6	0.25	0.49	2381	2654

(3) 充氧量 以摇瓶装液量不同的方法, 测验了充氧量对表活剂降解的影响. 如图 3 所示, 52 号菌在摇瓶装液量为 25 ml 时生长最好, 随装液量增多充氧量降低, 该菌的生长减弱, 降解表活剂的能力亦下降. 6 号菌在装液量为 50 ml 时, 生长最好, 表活剂去除率亦高. 装液量为 25 ml 或 75 ml 时, 菌的生长及表活剂去除皆比装液量为 50 ml 时差. 表明 52 号菌对氧的需求多于 6 号菌. 在实际应用中, 若混合使用这 2 株菌, 可以适应较广泛的环境供氧状态.

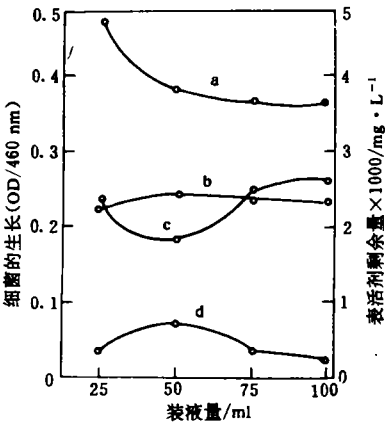


图 3 供氧量对表活剂降解菌的生长及表活剂降解的影响
细菌生长: a. 52 号菌 d. 6 号菌
表活剂剩余量: b. 52 号菌 c. 6 号菌

(4) 有机物对菌降解表活剂的影响 实验发现, 加入适量葡萄糖后, 菌的生长和表活剂的去除率都有提高(见图 4).

培养 3 d 观察到的结果显示, 添加 1000 mg/L 葡萄糖对降解表活剂 AEO-9 最为适宜. 如果葡萄糖的添加量增至 3000 mg/L, 尽管菌的生长仍继续增多, 表活剂去除率却不能同时提高. 可见, 这 2 株菌在降解表活剂时, 既能单

独利用它作为碳源和能源, 又能与葡萄糖共代谢完成降解. 加入低浓度葡萄糖后, 降解菌数量的增多, 提高了表活剂 AEO-9 的去除率. 但是, 若易降解底物葡萄糖浓度过高, 则不利于表活剂的降解.

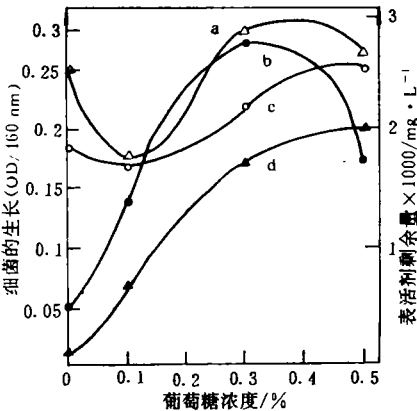


图 4 补充葡萄糖对表活剂降解菌生长及表活剂降解的影响
细菌生长: b. 52 号菌 d. 6 号菌
表活剂剩余量: a. 6 号菌 c. 52 号菌

2.3 细菌降解非离子表活剂 AEO-9 的能力和速率

(1) 生长细胞的降解速率 在以上选择的最适降解条件下, 连续测定了培养过程中菌的生长和表活剂剩余量的变化. 2 株菌利用 AEO-9 作为碳源生长的速度是不同的(见图 5). 52 号菌在培养初期生长较快, 培养 15 d 时达到最大生物量后菌体浓度开始下降. 6 号菌培养 15 d 时其生物量仅为最大值的一半, 30 d 时观察到最大生物量. 与生物量的变化相对应, 观察到当初浓度为 5000 mg/L 时, AEO-9 去除 50% 的时间, 52 号菌为 4 d, 6 号菌为 8 d. 经过 2 周的培养 2 株菌的表活剂去除率均能达到 85%,

培养时间延至 4 周, 则它们的表活剂去除率分别为 95% 左右. 在培养的初始阶段, 6 号菌的降解速率低于 52 号菌, 培养 12 d 时 2 者持平, 30 d 时其对表活剂的降解率略高于 52 号菌. 实验表明, 6 号菌降解 AEO-9, 需要一个较长的驯化过程.

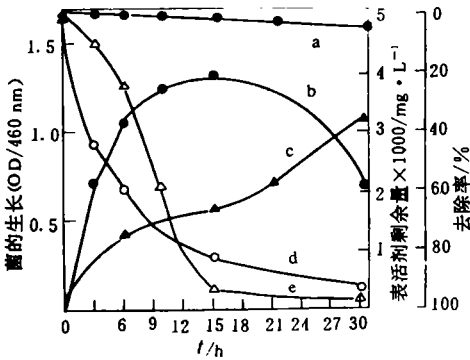


图 5 表活剂降解菌的生长和表活剂的去除

a. 未接种细菌对照 细菌生长; b. 52 号菌号菌 e. 6 号菌
表活剂剩余量; d. 52 号菌 c. 6 号菌

(2) 休眠细胞的降解速率 在最适反应条件下, 测定了 52 号菌休眠细胞的降解速率. 在 pH7, 30℃ 和菌体浓度(湿重)为 200 mg/ml 的条件下, 该菌休眠细胞能在 6.5 h 内, 将初始浓度为 5000 mg/L 的 AEO-9 降解 60%(见图 6).

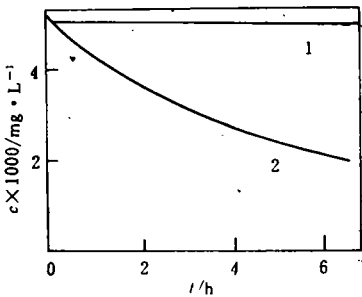


图 6 52 号细菌休眠细胞条件下表活剂的降解曲线

1. 无细胞缓冲液 2. 细胞反应液

(3) 模拟混合配水中表活剂的去除 采用适于 AEO-9 生物降解的条件, 降解 AEO-9 与 AS-20 混合配水. 当 AEO-9 与 AS-20 混合配水

浓度为 1000 mg/L 与 200 mg/L 时, 培养 15 d 后的去除效果如表 3 所示. 6 号菌和 52 号菌不仅能有效地降解非离子表活剂, 也能降解非离子和阴离子表活剂混合配水. 培养 15 d 时, 52 号菌降解表活剂多于 6 号菌, 混合使用 2 株菌的去除率略高于分别单独使用它们.

表 3 细菌降解表活剂混合配水的效果

菌株	菌生长 (OD 460 nm)	表活剂剩余量 /mg · L ⁻¹	去除率 /%
6	0.8	263	79
52	0.8	95.3	92
6+52	0.9	83	93

3 结论

(1) 假单胞菌 52 号 (*Pseudomonas* 52) 和 *Weeksella* 6 能利用非离子表活剂 AEO-9 和 SA-20 作为唯一碳源生长. 52 号菌利用 AEO-9 的能力高于 6 号菌. 当 AEO-9 浓度超过 40000 mg/L 时, 52 号菌的生长才受到抑制, 6 号菌在 AEO-9 浓度达 50000 mg/L 时, 尚未观察到明显地抑制生长现象.

(2) 最适降解条件为生长细胞 pH7, 30℃, 乙酸胺作为氮源. 添加适量葡萄糖能促进表活剂的降解. 休眠细胞的降解条件与生长细胞相似, 反应的细菌细胞浓度(湿重)为 200 mg/ml.

(3) AEO-9 初始浓度为 5000 mg/L 时, 生长细胞可以在 4—8 d 内将其降解 50%, 15 d 降解 85%, 30 d 降解 95%. 休眠细胞可以在 6.5 h 内, 将同样初始浓度的 AEO-9 降解 60%.

参 考 文 献

1 Aronstein B N et al. . Appl. Microbiol. Biotechnol. , 1993, 39(3): 386
2 Auger et al. . J. Hazard. Mater. , 1995, 43(3): 263
3 Mausner M et al. . J. Am. Oil Chemists' Soc. , 1969, 46: 432
4 赵国玺. 表面活性剂物理化学. 北京: 北京大学出版社. 1984: 191—193

Isolation of Bacteria for Degradation Benzene Homologue under Aerobic Condition. Lu Jun, Wang Jusi et al. (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(6), 1996, pp. 1—4

In order to sift for bacteria of degrading benzene homologue compounds, 25 strains degrading toluene, ethylbenzene, o-, m- and p-xylene and trimethylbenzene were isolated by selective enrichment from activated sludges of petrochemical and municipal wastewater treatment plants. The strain species are able to degrade the benzene homologue compounds as the sole source of carbon and energy. The results indicated that most of the 25 strains have strong capability of biodegrading benzene homologue compounds under aerobic condition.

Key words: benzene homologue compounds, aerobic degradation, bacteria, isolation.

Analysis of Economic Loss from Ecological Deterioration in Typical Ecological Regions and Division Districts of China. Wang Junsan and Cai Xinde (South China Institute of Environmental Sciences, NEPA, Guangzhou 510655); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(6), 1996, pp. 5—8

In Order to find out that the expressing situation of various ecological environmental deterioration during the process of economic development at present in China and assessing comprehensively the ecological environmental impact which was made by mankind activities, the method of quantitative and semi-quantitative conversion was applied. The economic loss from ecological deterioration of including Guangdong, Hainan etc. 11 provinces and regions was analyzed and evaluated. Based on the analytic results, the interrelation model and the diagnosis model about economic loss of 11 provinces and regions have been established. The interrelation model and parameters of assessing economic loss can be applied in the similar conditions of ecological environmental and economic development intensity. The economic loss of some regions can be evaluated using the diagnosis model and the amount of various ecological deterioration. The division districts of ecological deterioration of whole country have been made. The basic situation of various districts of ecological deterioration and the distributional characteristics which include the serious deterioration areas and the intensity deterioration areas have been summed up. The proportion of various ecological deterioration areas to national land areas have been calculated.

Key words: ecological deterioration, economic loss, region districts, interrelation model, diagnosis model.

Study on Kinetics of Biofilm Suspension Reactor. Zhou Ping and Qian Yi (Dept. of Environ. Eng. Tsinghua University, Beijing 100084); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(6), 1996, pp. 9—12

Study on the liquid circulation velocity, organic matter degradation kinetics and biofilm detachment rate in airlift biofilm suspension reactor was conducted. The results showed that the inner circulation velocity is proportional to the reactor height and the 0.5 power of the superficial gas velocity in the riser. The reactor can be treated as CSTR when inner circulation flux is high. The biofilm detachment rate is proportional to the first power of superficial gas velocity in riser and the biofilm thickness and the 2/3 power of carrier quantity in reactor, respectively. **Key words:** airlift biofilm suspension reactor, inner circulation velocity, organic matter degradation kinetics, dimensional analysis, biofilm detachment rate.

Two-Phase Anaerobic Digestion of Water Hyacinth Pretreated with Dilute Sulphuric Acid. Zhou Yuexi et al. (Chinese Research Academy of Environmental Science, Beijing, 100012); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(6), 1996, pp. 13—16

In this paper, diphasic fermentation of water hyacinth pretreated with dilute sulphuric acid was studied. Experimental results demonstrated that specific biogas yield of 134 litre per kilogram fresh water hyacinth was obtained with methane content of biogas about 75.1%. Effluent COD_{Cr}, SS were less than 320 mg/L, 40 mg/L respectively. And microbiological mechanism was also studied.

Key words: water hyacinth, pretreat, two-phase, anaerobic.

Study on Biodegradation of Nonionic Surfactant by Bacteria. Lin Li and Huifeng Yang (Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080), Xia Xinghui and Xu Jialin (Institute of Environmental Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875); *Chin. J. Environ. Sci.*, 17(6), 1996, pp. 17—20

Two strains isolated from soil contaminated by petroleum chemicals, *Pseudomonas* sp. strain 52 and *Weeksella* sp. strain 6 could utilize nonionic surfactants (AEO-9 and SA-20) as sole source of carbon for growth. The experiment results showed that the optimum source of nitrogen was ammonium acetate, the optimum pH and temperature for the degradation were 7.0 and 30°C. It was found that addition of glucose enhanced biodegradation of AEO-9. With the initial concentration of 5 000 mg/L the growth cells of the two strains had an AEO-9 removal efficiency of 85% and 95% within 2 weeks or 4 weeks, respectively. The biodegradation rate of AEO-9, in the same initial concentration, by resting cells of strain 52 was 60% within 6.5 hours under the optimum degradation condition in which pH, temperature and cell density (wet weight/volume) was 7.0, 30°C and 20%, respectively.

Key words: *Pseudomonas* sp. 52, *Weeksella* sp. 6, nonionic surfactant, biodegradation.

The Influence of Extra Gases in Degradation of CF₂ClBr