

邻苯二甲酸二丁酯的微生物降解*

曾 锋 傅家谟 盛国英

(中国科学院广州地球化学研究所有机地球化学国家重点实验室和广东省环境资源利用与保护重点实验室, 广州 510640)

杨惠芳

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 通过驯化富集培养, 从处理石化厂废水的活性污泥中分离出 1 株邻苯二甲酸酯降解菌 FS1, 研究了邻苯二甲酸酯菌 FS1 对邻苯二甲酸二丁酯的生物降解特性. 邻苯二甲酸酯降解菌 FS1 降解最适酸度为 pH 6.5 ~ 8.0, 温度为 20 ~ 35 °C. 菌株 FS1 对邻苯二甲酸二丁酯的生物降解反应速率遵循一级反应动力学模式. 试验结果表明, 菌株 FS1 对邻苯二甲酸二丁酯具有高效降解作用.

关键词 邻苯二甲酸二丁酯, 微生物, 生物降解, 降解动力学.

Biodegradation of Di-n-butyl Phthalate*

Zeng Feng Fu Jiamo Sheng Guoying

(State Key Lab. of Organic Geochemistry, Guangdong Key Lab. of Environ. Protection and Resources Utilization, Guangzhou Institute of Geochemistry, CAS, Guangzhou 510640, China)

Yang Huifang

(Institute of Microbiology, CAS, Beijing 100080, China)

Abstract The microbial degradative characteristics of Di-n-Butyl Phthalate (DBP) was investigated by a strain FS1 that was isolated from the activated sludge at a petrochemical factory. The optimum pH and temperature of the strain FS1 for degrading of DBP are 6.5 ~ 8.0 and 20 ~ 35 °C, respectively. The degradation of Di-n-butyl phthalate can be described by the first-order reaction model. The experimental results demonstrated that the strain FS1 has strong ability of degrading DBP.

Keywords biodegradation, degradative kinetics, microorganism, Di-n-butyl phthalate.

邻苯二甲酸酯类化合物是世界上生产量大、应用面广的人工合成有机化合物之一^[1]. 它的环境行为和生态效应研究表明, 该类化合物已成为一种全球性的环境有机污染物, 广泛存在于水体^[2]、土壤^[3]及物体^[4]中, 特别是对水环境的污染已引起世界各国的普遍重视. 据报道, 生物降解是处理邻苯二甲酸酯类化合物的主要途径之一^[5~9]. 目前, 对邻苯二甲酸酯类污染物的生物降解处理仍有待于筛选高效专性或兼性的降解菌, 以提高其降解率. 本试验从处理石化厂废水的活性污泥中分离出 1 株邻苯二甲酸酯降解菌 FS1, 研究了该菌株对邻苯二甲酸二丁酯 (Di-n-butyl phthalate, DBP) 的降解条件及

其降解反应动力学.

1 实验材料和方法

1.1 培养基

$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1g/L, NaCl 1g/L, NH_4NO_3 0.5g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.4g/L, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.1g/L, $FeCl_3$ 0.01g/L, pH7, 121 °C 湿热灭菌 30min. DBP.

1.2 菌种

* 国家自然科学基金重点基金资助项目 (Project Supported by the National Natural Science Foundation of China): 49632060, 广东省自然科学基金资助项目 (963043) 曾锋: 男, 34 岁, 理学博士生, 讲师
收稿日期: 1998-12-07

取处理石化厂废水的活性污泥于含 60mg/L 邻苯二甲酸酯(邻苯二甲酸二甲酯, 邻苯二甲酸二乙酯, 邻苯二甲酸二丁酯, 邻苯二甲酸二异丁酯, 邻苯二甲酸二正辛酯, 邻苯二甲酸二(乙基己基)酯各为 10mg/L)的无机盐培养液中 30°C 振荡培养 7d , 逐步转接至 120mg/L 、 240mg/L 、 360mg/L ~ 1200mg/L 邻苯二甲酸酯的无机盐培养液后, 平板划线, 获得 1 株邻苯二甲酸酯降解菌 FS1.

1.3 生物降解试验

取菌株 1 环于 100ml 活化富集培养基中 (3g/L 牛肉膏、 5g/L 蛋白胨、 NaCl 5g/L 、 $\text{pH}7$, 121°C 湿热灭菌 30min) 振荡培养 12h , 离心分离 (10000r/min) 5min , 收集菌体, $\text{pH}7$ 、 0.02mol/L 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液洗涤 3 次, 用 0.02mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液将菌体配成 $\text{pH}7$ 的菌悬液.

吸取 1ml 20% 的菌悬液于含 100mg/L 邻苯二甲酸二丁酯的 50ml 无机盐培养液中, 30°C 振荡培养, 并用不加菌体的培养液进行了对照试验.

1.4 分析方法

样品处理: 于试样瓶中加入 20ml 二氯甲烷, 振荡萃取 10min , 收集有机相. 水相再用 20ml 二氯甲烷萃取 3 次, 合并有机相, 无水 Na_2SO_4 干燥, 浓缩至 5ml . 用 HP6890 型气相色谱仪测定邻苯二甲酸二丁酯的含量.

HP6890 型气相色谱仪条件: HP5 柱 ($30\text{m} \times 320\mu\text{m} \times 0.25\mu\text{m}$), 柱温从 60°C 以 $35^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升到 230°C ; FID 检测器, 温度 300°C ; 进样口温度 260°C , 进样量 $1\mu\text{l}$.

2 结果与讨论

2.1 菌株 FS1 对 DBP 的降解条件

(1) pH 影响 菌株 FS1 在 $\text{pH}6.0$, 6.5 , 8.0 , 8.5 时对 DBP 的降解率结果见图 1.

由图 1 可知, 菌株 FS1 在 $\text{pH}6.5 \sim 8.0$ 之间对 DBP 具有较高的降解率.

(2) 菌种量影响 试验结果见图 2.

由图 2 可知, 随菌株 FS1 量的增加, 对

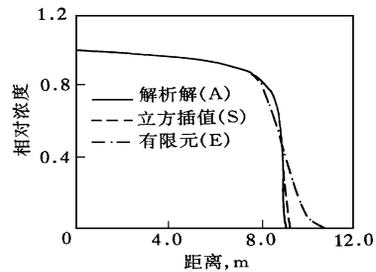


图 1 酸度影响

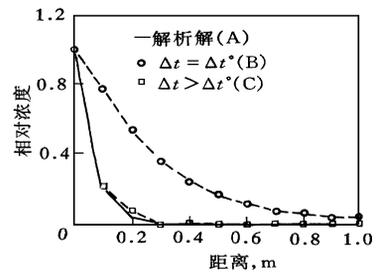


图 2 菌种量影响

DBP 的降解率增大; 当菌株 FS1 量大于 0.02% 时, DBP 的降解率基本不变, 但菌种量过大, DBP 的降解率下降.

(3) 温度影响 试验结果见图 3.

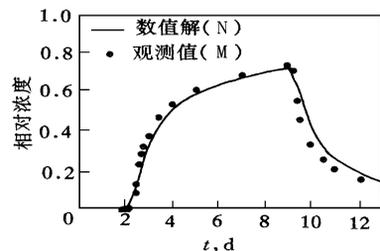


图 3 温度影响

由图 3 可知, 菌株 FS1 对 DBP 降解的最适温度为 $20 \sim 35^\circ\text{C}$.

(4) 振荡速率影响 试验结果见图 4.

由图 4 可知, 菌株 FS1 对 DBP 的降解适合于较低速度下振荡培养.

2.2 降解动力学的初步分析

为了解邻苯二甲酸酯菌 FS1 降解 DBP 的动力学性质, 试验在一定的菌种量条件下, 考察菌株 FS1 对初始浓度为 25mg/L 、 50mg/L 、 100mg/L 、 200mg/L 、 300mg/L 、 400mg/L 、 500mg/L 的 DBP 降解率, 结果见图 5.

假设菌株 FS1 对 DBP 的生物降解遵循一

级反应动力学方程, 即:

$$\ln c = -kt + A$$

式中 k 系表征 DBP 降解速率的动力学常数.

根据图 5 结果可得表 1 动力学方程.

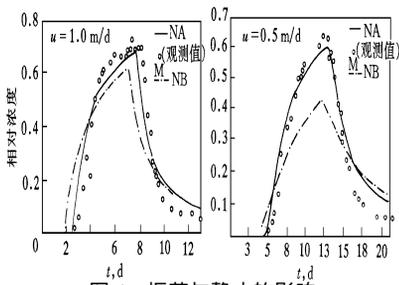


图 4 振荡与静止的影响

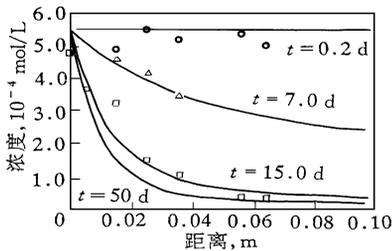


图 5 菌株 FS1 对不同初始浓度 DBP 的降解 (30)

表 1 DBP 降解动力学方程

初始 DBP 浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	动力学方程	半寿期 $t_{1/2}/\text{h}$	r
25	$\ln c = -0.067t + 3.22$	10.34	0.9462
50	$\ln c = -0.065t + 3.91$	10.66	0.9634
100	$\ln c = -0.064t + 4.61$	10.83	0.9317
200	$\ln c = -0.063t + 5.30$	10.98	0.9508
300	$\ln c = -0.053t + 5.70$	13.12	0.9334
400	$\ln c = -0.045t + 5.99$	15.40	0.9463
500	$\ln c = -0.040t + 6.21$	17.33	0.9615

由表 1 可知, 邻苯二甲酸酯菌株 FS1 对 DBP 的降解符合一级动力学特征, 并具有高效的降解作用, 是一株高效的 DBP 降解菌^[10, 11]. 当 DBP 的初始浓度大于 200mg/L 时, 降解速率常数 k 值随初始的 DBP 浓度增加而降低, 说明高浓度的 DBP 对其降解有抑制作用, 且随 DBP 初始浓度增加而增加.

3 小结

(1) 筛选的邻苯二甲酸酯菌 FS1 能以 DBP

作为唯一碳源和能源生长. 菌株 FS1 降解最适酸度为 pH 6.5 ~ 8.0, 温度为 20 ~ 35, 菌种量、振荡速率对 DBP 的降解有一定的影响.

(2) 邻苯二甲酸酯菌株 FS1 对 DBP 的降解符合一级动力学特征, 并具有高效的降解作用, 是一株高效的 DBP 降解菌. 当 DBP 的初始浓度大于 200mg/L 时, 降解速率常数 k 值随初始的 DBP 浓度增加而降低, 说明高浓度的 DBP 对其降解有抑制作用, 且随 DBP 初始浓度增加而增加.

参 考 文 献

- 1 Ye Changming. Phthalate Esters in Environment. Advance in Environmental Science, 1993, 1(2): 36
- 2 Cadogan D F et al. An Assessment of the Release, Occurrence and Possible Effect of Plasticizer in Environment. Progress in Rubber and Plastics Technology, 1993, 10(1): 1
- 3 Meng Pingrui et al. Determination and Distribution of Phthalate Alkyl Esters in Soil in Jinan. Environment Chemistry, 1996, 15(5): 427
- 4 Zhao Zhenhua. Review of Environmental and Human Health Hazards of Phthalate Esters. Environment Chemistry, 1991, 10(3): 64
- 5 Chauret C. Biotransformation at 10 of Di-n-Butyl Phthalate in Subsurface Microcosms- Ground Water, 1996, 34(5): 791
- 6 Kurane R. Microbial Degradation of Phthalate Esters. Microbiological Science, 1986, 3(3): 92
- 7 Kurane R et al. Isolation of Microorganisms Growing on Phthalate Esters and Degradation of Phthalate Esters by *Pseudomonas acidovorans* 256-1. Agric. Biol. Chem., 1977, 41(11): 2119
- 8 Johanne L S et al. Fate of Bis (2-ethylhexyl) [¹⁴C] Phthalate in Laboratory and Outdoor Soil-Plant Systems. J. Agril. Food Chem., 1988, 36(1): 210
- 9 Wang Jinglong et al. Biodegradation of Phthalic Acid Esters in Soil by Indigenous and Introduced Microorganisms. Chemosphere, 1997, 35(8): 1747
- 10 Charles A S et al. The Environmental Fate of Phthalate Ester: A Literature Review. Chemosphere, 1997, 35(4): 667
- 11 王建龙, 吴立波, 施汉昌, 钱易. 驯化活性污泥降解邻苯二甲酸酯类化合物的研究. 环境科学, 1998, 19(1): 18 ~ 20