

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第5期

Vol.33 No.5

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

区域空气质量模拟中查表法的应用研究 谢旻,王体健,江飞,李树,蔡彦枫,庄炳亮(1409)

长江三角洲地区秸秆露天焚烧大气污染物排放清单及其在空气质量模式中的应用 苏继峰,朱彬,康汉青,王红磊,王体健(1418)

北京及周边城市一元脂肪酸大气颗粒物干沉降通量及来源分析研究 徐小娟,李杏茹,王跃思,刘晨书,潘月鹏,王英锋(1425)

上海大气超细颗粒物和工业纳米颗粒的表征及细胞毒性的比较研究 张睿,吕森林,尚羽,易飞,任晶晶,郝晓洁,安静,吴明红(1431)

青岛市大气PM_{2.5}元素组成及来源研究 李秀镇,盛立芳,徐华,屈文军(1438)

冬季天津家庭室内空气颗粒物中邻苯二甲酸酯污染研究 王夫美,陈丽,焦姣,张雷波,姬亚芹,白志鹏,张利文,孙增荣,张星梅(1446)

再悬浮装置在大气PM_{2.5}源谱分析中的应用 段恒轶,钱冉冉,吴水平,印红玲(1452)

黔西南煤燃烧产物微量元素分布特征及富集规律研究 魏晓飞,张国平,李玲,项萌,蔡永兵(1457)

三峡水库不同运行状态下支流澎溪河水-气界面温室气体通量特征初探 蒋滔,郭劲松,李哲,方芳,白镭,刘静(1463)

香溪河库湾夏季温室气体通量及影响因素分析 王亮,肖尚斌,刘德富,陈文重,王雨春,陈小燕,段玉杰(1471)

臭氧浓度升高与土壤湿度对农田土壤微生物呼吸温度敏感性的影响 陈书涛,张勇,胡正华,史艳妹,沈小帅(1476)

托木尔峰青冰滩72号冰川径流水化学特征初步研究 赵爱芳,张明军,李忠勤,王飞腾,王圣杰(1484)

五大连池水溶性有机磷矿化特性的研究 张斌,席北斗,赵越,魏自民,白雪,王曼林(1491)

7条环太湖河流沉积物氮含量沿程分布规律 卢少勇,远野,金相灿,焦伟,吴瑶洁,任德有,周羽化,陈雷(1497)

巢湖十五里河沉积物氮磷形态分布及生物有效性 李如忠,李峰,周爱佳,童芳,钱家忠(1503)

北运河系地表水近10年来水质变化及影响因素分析 郭婧,荆红卫,李金香,李令军(1511)

东莞运河排涝对东江河水水质影响分析 孙磊,毛献忠,黄旻旻(1519)

北京平原区地下水污染源识别与危害性分级 陆燕,何江涛,王俊杰,刘丽雅,张小亮(1526)

地下水曝气修复过程的三维数值模拟 李恒震,胡黎明,王建,武晓峰,刘培斌(1532)

垂向水动力扰动机的蓝藻控制效应数值实验研究 邹锐,周璟,孙永健,嵇晓燕,岳佳,刘永(1540)

新型生物岛栅中污染物去除的微生物机制研究 高明瑜,谢慧君,王文兴(1550)

营养盐水平对念珠藻胞外有机物产生的影响 齐飞,刘晓媛,徐冰冰,黄岳,封莉,张立秋(1556)

水网藻种植水对铜绿微囊藻生长的抑制作用研究 傅海燕,柴天,赵坤,刘智峰,张明真,侯明,许鹏成(1564)

酞酸酯在模拟海河菹草微宇宙中的消减和分布特征 迟杰,杨青(1570)

电子束辐射对铜绿微囊藻毒素产生和释放的抑制作用研究 刘书宇,吴明红,姜钦鹏(1575)

青铜峡灌区典型排水沟水污特征解析 李强坤,胡亚伟,罗良国(1579)

四溴双酚A的辐照降解研究 李杰,徐殿斗,马玲玲,吴明红(1587)

污泥基活性炭催化臭氧氧化降解水中微量布洛芬的效能研究 王红娟,齐飞,封莉,张立秋(1591)

高水力负荷对人工湿地处理精养虾塘排水效果的影响 李怀正,章星异,陈卫兵,叶剑峰(1597)

城市污水生物脱氮系统出水经氯胺消毒形成NDMA的影响因素研究 尚晓玲,李咏梅(1604)

利用淀粉基共混物作为反硝化固体碳源的研究 沈志强,吴为中,杨春平,陈佳利,王建龙(1609)

好氧污泥颗粒化过程中Zeta电位与EPS的变化特性 王浩宇,苏本生,黄丹,崔晓娟,竺建荣(1614)

活性污泥对病毒的生物吸附特性 周玉芬,郑祥,雷洋,陈迪(1621)

阴离子型聚丙烯酰胺在离子交换膜上的吸附规律 邓梦洁,于水利,时文歆,衣雪松(1625)

两性修饰膨润土对苯酚的吸附及热力学特征 李婷,孟昭福,张斌(1632)

表面活性剂对苯并[a]芘在黑炭表面吸附解吸的影响 张景环,陈春溶,张玮航,栗桂州(1639)

南京市4个污水处理厂的活性污泥中细菌的分离鉴定和抗生素耐药性分析 葛峰,郭坤,周广灿,张会娟,刘济宁,戴亦军(1646)

焦化废水中苯酚降解菌筛选及其降解性能 陈春,李文英,吴静文,李静(1652)

Xanthobacter flavus DT8降解二噁英的特性研究 金小君,陈东之,朱润晔,陈静,陈建孟(1657)

未开发油气田地表烃氧化菌空间定量分布 满鹏,齐鸿雁,呼庆,马安周,白志辉,庄国强(1663)

矿化垃圾中氧化甲烷兼性营养菌的筛选与生物特性研究 赵天涛,项锦欣,张丽杰,全学军,赵由才(1670)

长江中游干流及22条支流表层水中多氯联苯的分布特征及其潜在风险 李昆,赵高峰,周怀东,曾敏,廖柏寒,吴正勇,张盼伟,郝红(1676)

典型血吸虫病区表层水中酚类化合物的污染特征及潜在风险 吴正勇,赵高峰,周怀东,李科林,曾敏,李昆,张盼伟,郝红(1682)

闽江福州段沉积物中多环芳烃的空间分布异质性研究 陈卫锋,倪进治,杨红玉,魏然,杨玉盛(1687)

三峡库区蓄水运用期表层沉积物重金属污染及其潜在生态风险评价 王健康,高博,周怀东,陆瑾,王雨春,殷淑华,郝红,袁浩(1693)

典型电器工业区河涌沉积物中重金属的分布和潜在生态风险 邓代永,孙国萍,郭俊,张宏涛,张琴,许玫英(1700)

密云水库上游金属矿区土壤中重金属形态分布及风险评价 高彦鑫,冯金国,唐磊,朱先芳,刘文清,季宏兵(1707)

湘西花垣矿区土壤重金属污染及其生物有效性 杨胜香,袁志忠,李朝阳,龙华,唐文杰(1718)

基于GIS的某训练场土壤重金属污染评价 刘玉通,方振东,杨琴,谢朝新,王大勇,毛华军(1725)

土壤质地和湿度对SVE技术修复苯污染土壤的影响 刘少卿,姜林,姚玉君,李艳霞,刘希涛,林春野(1731)

蒙脱土、高岭土和针铁矿对DNA吸附与解吸特征 王慎阳,饶伟,王代长,张亚楠,李腾,唐冰培,杨世杰(1736)

LNAPL在砂质含水层中动态迁移的电阻率法监测试验研究 潘玉英,贾永刚,郭磊,李进军,单红仙(1744)

亚临界水解预处理稻草秸秆制备活性炭及表征 董宇,申哲民,雷阳明,王茜,刘婷婷(1753)

蓝藻好氧堆肥及其氮素损失控制的研究 任云,崔春红,刘奋武,占新华,周立祥(1760)

固定化微生物技术修复PAHs污染土壤的研究进展 钱林波,元妙新,陈宝梁(1767)

《环境科学》征订启事(1483) 《环境科学》征稿简则(1620) 信息(1490,1496,1586,1743)

焦化废水中苯酚降解菌筛选及其降解性能

陈春^{1,2}, 李文英^{1,2*}, 吴静文¹, 李静¹

(1. 太原理工大学煤科学与技术教育部和山西省重点实验室, 太原 030024; 2. 山西省煤科学与技术省部共建国家重点实验室培育基地, 太原 030024)

摘要: 焦化废水中苯酚类及其衍生物的降解率高低是焦化废水 COD 是否达标排放的关键. 采用不同培养基和菌种驯化方法, 从焦化废水厂活性污泥中分离筛选获得 4 株苯酚降解菌, 经生理生化和 16S rDNA 分子鉴定, A1 为球杆菌属 *Sphaerobacter*, C1 为鲍曼不动杆菌 *Acinetobacter baumannii*; D2 为鞣丸酮丛毛单胞菌 *Comamonas testosteroni*; D3 为 *Novosphingobium naphthalenivorans*. 4 株降解菌均具有较高的苯酚耐受力 and 降解效率, 是生物法处理酚类污染废水优质的种质资源. 菌株 D2 不仅对苯酚具较高耐受力达到 $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、且在 48 h 内可将初始浓度为 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的苯酚完全降解. 环境因子考察研究表明, pH 为 7.5~8.5, 温度为 30~40℃ 范围内, 转速为 $150\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 是菌株 D2 的最优降解条件, 本研究结果为构建高效处理焦化废水基因工程菌提供了微生物基础.

关键词: 焦化废水; 苯酚; 降解菌; 筛选; 降解率

中图分类号: X703; X172 文献标识码: 文章编号: 0250-3301(2012)05-1652-05

Screening and Characterization of Phenol Degrading Bacteria for the Coking Wastewater Treatment

CHEN Chun^{1,2}, LI Wen-ying^{1,2}, WU Jing-wen¹, LI Jing¹

(1. Key Laboratory of Coal Science and Technology for Ministry of Education and Shanxi Province, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China; 2. Training Base of State Key Laboratory of Coal Science and Technology Jointly Constructed by Shanxi Province and Ministry of Science and Technology, Taiyuan 030024, China)

Abstract: Phenolic compounds removal is a key issue for the coking wastewater discharge on COD index requirements. Using different media and methods to domesticate species, we have successfully screened and isolated four phenol-degrading bacteria from the activated sludge in the coking plant. Four phenol-degrading bacteria are identified through traditional methods of physiological and biochemical analysis and 16S rDNA identification. Strain A1 belongs to *Sphaerobacter*, strain C1 belongs to *Acinetobacter baumannii*, strain D2 belongs to *Comamonas testosteroni*, strain D3 belongs to *Novosphingobium naphthalenivorans*. All four phenol-degrading bacteria have the high tolerance to coking wastewater and degradation efficiency of phenol. Results showed that they are the high-quality germplasm resources used in phenolic pollution wastewater biological treatment. It was found that strain D2 did not only have higher phenol tolerance up to $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ but also had higher efficiency of phenol degradation, the phenol with $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ initial concentration would be totally degraded in 48 h. By investigating environmental factors, the optimal conditions for phenol degradation by the strain D2 was 30-40℃, pH 7.5-8.5 at more than $150\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ of shaking rate, it possesses an optimal application in reality. The results provide the microbial basis for construction of gene engineering bacteria used in the coking wastewater treatment.

Key words: coking wastewater; phenol; phenol-degrading bacteria; screening; phenol degradation rate

焦化废水中苯酚类及其衍生物是焦化废水中含量最高的有机污染物, 占焦化废水中总有机物的质量百分比高达 60% 以上^[1], 是 COD 主要贡献者^[2-7].

生物法处理焦化废水中酚类物质的关键是提高微生物对苯酚的降解效率, 筛选得到高效降解菌从而优化降解菌群. 国外诸多学者已经分离出多种能够高效降解苯酚的好氧微生物资源, 如恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida* MTCC1194^[8], 根瘤菌 *Rhizobium CCNWTB 701*^[9], 芽孢杆菌 *Bacillus brevis*^[10], 长矛孔菌 *Funalia trogii*^[11], *Ralstonia taiwanensis*^[12], 热带假丝酵母 *Candida tropicalis*

Z-04^[13], 棒杆菌 *Corynebacterium* sp. JY03^[14], 假单胞菌 *Pseudomonas putida* BCRC 14365^[15] 等, 其中恶臭假单胞 BCRC14365 是降解苯酚性能最高的菌株, 结合使用微孔膜生物反应器可以实现 76 h 降解 $3\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的苯酚. 同时, 国内学者对降解菌的研究也很多^[16-23], 筛选出如假单胞菌 *Pseudomonas* sp.^[16], 芽孢杆菌 *Bacillus* sp. JY01^[17], 杆菌属菌株 GXY-

收稿日期: 2011-07-30; 修订日期: 2011-09-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(91010018); 长江学者奖励计划项目(2009); 山西省回国留学人员重点项目(2010-2)

作者简介: 陈春(1981~), 女, 工程师, 主要研究方向煤焦化废水处理技术.

* 通讯联系人, E-mail: ying@tyut.edu.cn

¹[18], 麦芽糖假丝酵母菌 *Yest Pd6*^[19], 鲁氏不动杆菌 *Acinetobacter lwoffii* UW7^[20] 等, 通过比较发现从焦化废水处理系统中筛选获得的鲁氏不动杆菌 *Acinetobacter lwoffii* UW7 对苯酚的降解能力最高. 上述筛选获得的降酚菌株均存在对高浓度含酚废水耐受力较低的问题, 一般 $< 1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[18, 20, 21], 在对焦化废水中酚类化合物生物处理工程中, 当实现高的降解率同时是以较长的降解周期为代价, 这在实际处理废水时很不经济, 因此本研究希望通过筛选对苯酚耐受力较高的降酚菌, 同时实现对焦化废水中苯酚具有较高降解效率, 以期基因工程菌运用在焦化废水规模化处理提供微生物基础.

1 材料与方 法

1.1 实验材料

1.1.1 实验菌源和用水

实验所用活性污泥和焦化废水样品均取自太原市煤气化公司第二焦化厂废水生物处理系统. 污泥来自曝气池, 废水水样来自曝气池入水口.

1.1.2 培养基

(1) 筛选方案(一)培养基

富集培养基: 蛋白胨 $0.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, K_2HPO_4 $0.1\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, MgSO_4 $0.05\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, H_2O $1\ 000\ \text{mL}$, 按照实际需要量添加相应浓度的苯酚.

分离培养基: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $1.0\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, K_2HPO_4 $0.2\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, MgSO_4 $0.05\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, H_2O $1\ 000\ \text{mL}$, 苯酚浓度 $500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

(2) 筛选方案(二)培养基

富集培养基: 采用无机盐培养基, K_2HPO_4 $0.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $0.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, CaCl_2 $0.1\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, NaCl $0.2\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{MnSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$ $0.01\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.01\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, NH_4NO_3 $1.0\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, H_2O $1\ 000\ \text{mL}$, 根据实际需要量添加相应浓度的苯酚.

分离培养基: 使用牛肉膏蛋白胨培养基, 牛肉膏 $5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 蛋白胨 $10\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 氯化钠 $5\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 琼脂 $20\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; H_2O $1\ 000\ \text{mL}$; 苯酚浓度 $500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

1.2 实验方法

1.2.1 菌株的富集、分离、纯化

实验用 2 种筛选方案即不同的液固培养基和筛选步骤旨在获得种类较多且菌株差异较大的苯酚降解菌.

筛选方案(一) 取 $5\ \text{mL}$ 活性污泥菌液转接至

$100\ \text{mL}$ 添加苯酚的富集培养液, 30°C , 摇床 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 培养 $24\ \text{h}$; 按照上面方法, 连续转接 6 次, 不断提高苯酚在富集培养液中的浓度, 苯酚的浓度分别为 500 、 700 、 800 、 $1\ 000$ 、 $1\ 200$ 、 $1\ 500$ 、 $1\ 800$ 、 $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 菌株在苯酚浓度为 $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时培养液不能变浑浊, 所以将浓度为 $1\ 800\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养液涂布固体平板, 30°C 恒温培养 $48\ \text{h}$ 后, 待培养基长出菌落后, 挑取单菌落划线分离培养 3 次后获单菌株.

筛选方案(二) 取污泥 $5\ \text{mL}$ 新鲜污泥, 加到有 $100\ \text{mL}$ 苯酚浓度为 $500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为唯一碳源的无机盐培养液 $250\ \text{mL}$ 三角瓶中, 在 30°C 、 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下连续培养 $24\ \text{h}$, 继续吸取 $5\ \text{mL}$ 后再次转入同浓度苯酚的培养液, 摇床继续培养 $24\ \text{h}$, 即同浓度转接 2 次, 共培养 $48\ \text{h}$; 方法同上, 连续转接 5 次, 苯酚浓度依次为 500 、 $1\ 000$ 、 $1\ 500$ 、 $2\ 000$ 、 $2\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 菌株在苯酚浓度为 $2\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养液不能变浑浊, 所以将浓度为 $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养液涂布固体平板, 30°C 恒温培养 $48\ \text{h}$ 后, 待培养基长出菌落后, 挑取单菌落划线分离培养多次后获单菌株.

1.2.2 菌株鉴定

通过传统的生理生化实验进行菌株鉴定. 主要包括甲基红试验、过氧化氢酶试验、淀粉试验等结合菌株染色后的显微形态观察结果对筛选获得的降酚菌株进行初步鉴定.

1.2.3 苯酚浓度的测定

采用 4-氨基安替比林法^[24]测定苯酚的浓度.

1.2.4 菌株降解特性分析

对筛选获得菌株在苯酚浓度分别为 500 、 $1\ 000$ 、 $1\ 500$ 、 $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 初始 pH 为 7.0 , 温度为 30°C , 摇床转速为 $120\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的条件下测定菌株的降酚率. 降酚能力最好的菌株进一步完成环境因子包括温度、酸碱度、摇床转速对降酚率的影响实验, 从而实现降解参数的优化, 并测定菌株对焦化废水中酚类的实际降解能力. 苯酚降解率计算公式如下:

$$\text{苯酚降解率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{降解后溶液中苯酚浓度}}{\text{初始溶液中苯酚浓度}}\right) \times 100$$

2 结果与讨论

2.1 降酚菌的筛选和鉴定

通过两种不同的筛选方案, 方案(一)获得菌株 A1, 方案(二)获得 C1、D2、D3, 共计 4 株不同菌株.

从筛选过程可知菌株 A1 苯酚的耐受浓度为1 800 mg·L⁻¹,菌株 C1、D2、D3 苯酚耐受浓度为2 000 mg·L⁻¹.

根据菌落的形态、显微观察结果(见表1)和细菌的生理生化实验结果(见表2),比对文献[25]初步鉴定,A1 是球杆菌属 *Sphaerobacter*; C1 是从毛单胞菌属 *Comamonas*; D2 为不动杆菌属 *Acinetobacter*; D3 是新鞘脂菌属 *Novosphingobium*.

表1 菌落形态特征和显微观察

Table 1 Colony morphology characteristics

菌株编号	菌落形态	显微形态	革兰氏染色
A1	乳白色、边缘不规则、表面干燥、凹陷、菌落较薄	短杆状	阳性 G+
C1	白色、边缘光滑、圆形、湿润、有厚度	短杆状	阴性 G-
D2	透明无色、边缘光滑、圆形、菌落很薄	长杆状	阴性 G-
D3	金黄色、边缘光滑、圆形、有一定厚度	不规则短杆	阴性 G-

表2 细菌生理生化试验

Table 2 Physiological and biochemical tests of bacteria

试验项目	A1	C1	D2	D3
过氧化氢酶试验	+	-	+	-
产吡啶试验	-	-	-	-
甲基红试验(MR 试验)	-	+	-	-
V.P 试验	-	-	-	-
细菌动力学试验	-	-	-	+
细菌生长与氧的关系	需氧	需氧	需氧	
明胶试验	-	-	-	+
淀粉水解试验	-	+	+	-

委托北京基诺莱普生物技术有限公司对4株菌进行16S rDNA 分子鉴定.由于未能成功提取细菌A1的目标DNA,所以对A1分子鉴定失败.其他3株菌的测序结果如表3所示,为下一步构建基因工程菌并实现生物强化处理技术运用在焦化废水规模化处理提供了基因信息^[26~28].

表3 细菌菌种鉴定信息表

Table 3 Bacterial strain identification information by 16S rDNA

编号	细菌名称	NCBI 登录号	相似性/%
C1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	CP001921	99
D2	<i>Comamonas testosteroni</i>	FJ639332	99
D3	<i>Novosphingobium naphthalenivorans</i>	AB177883	98

2.2 降酚菌对不同苯酚初始浓度的降酚率

由图1可知随着苯酚浓度的升高,4株苯酚降解菌的降解效率显著降低,苯酚浓度的增加对菌株的降酚能力产生了抑制作用.在较低苯酚浓度500 mg·L⁻¹时,菌株A1、C1、D2可在36 h内实现完全降

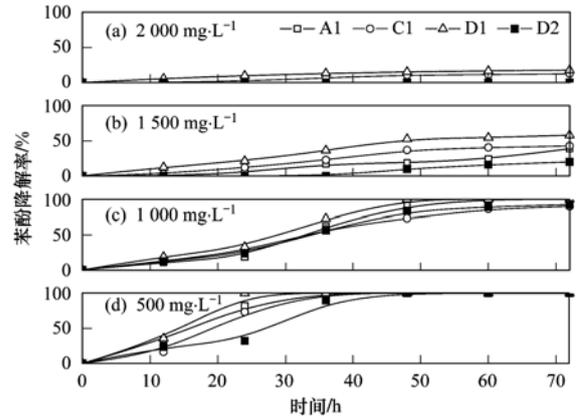


图1 降酚菌株对不同苯酚初始浓度的苯酚降解率

Fig. 1 Phenol degradation rate at different phenol concentrations

解;苯酚浓度为1 000 mg·L⁻¹时4株菌株均可实现72 h内对苯酚的完全降解;当苯酚浓度升高至1 500 mg·L⁻¹时,菌株的降酚效率显著下降,高浓度的苯酚对细菌产生了毒害作用,或是苯酚降解菌在降解苯酚的过程中产生的酸性代谢产物使苯酚降解菌中毒;在苯酚浓度为2 000 mg·L⁻¹时,菌株A1、D3无法对高浓度的苯酚实现降解,推测菌株很可能无法生存而死亡,而菌株C1、D2仍能作用于高浓度的苯酚,但降解效率很低.由此可见,菌株D2在所考察的苯酚浓度范围的苯酚降解效率最高.

2.3 菌株D2的生长过程与苯酚降解过程的关系

图2为菌株D2的生长曲线与对苯酚降解过程的关系图.由图可见,菌株D2的对数生长期在12~36 h,从36 h开始进入稳定生长期至72 h,菌株D2对苯酚的高效降解,主要发生在菌株的对数生长期,即48 h之前.

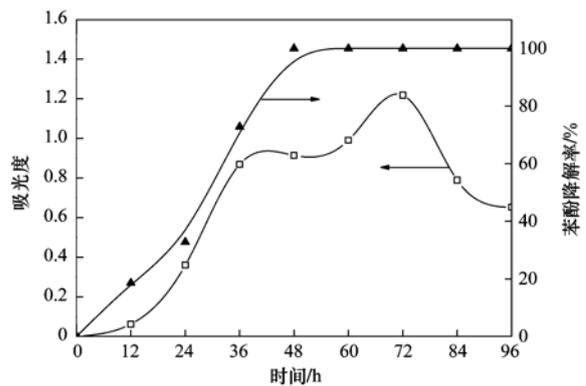


图2 菌株D2的生长过程与苯酚降解过程的关系

Fig. 2 Growth curve and phenol degradation of strain D2

2.4 环境因子对菌株D2降酚率的影响

将平板培养36 h的菌株D2,转接至苯酚为唯一碳源的无机盐培养液,苯酚浓度为1 000 mg·L⁻¹,调pH为7.0,摇床转速120 r·min⁻¹,温度为30℃条

件下培养 48 h 后,以 10% 的接种量接种于无机盐培养液,测试不同环境因子与苯酚降解率的关系。

2.4.1 温度对菌株 D2 降酚率的影响

由图 3 可知,在温度为 30~40℃ 区间内菌株 D2 对苯酚降解效率会随着温度的升高而升高,当温度为 45℃ 时苯酚降解率最低,这是由于代谢过程所需的酶因高温失活或变性,导致无法实现对苯酚的代谢。

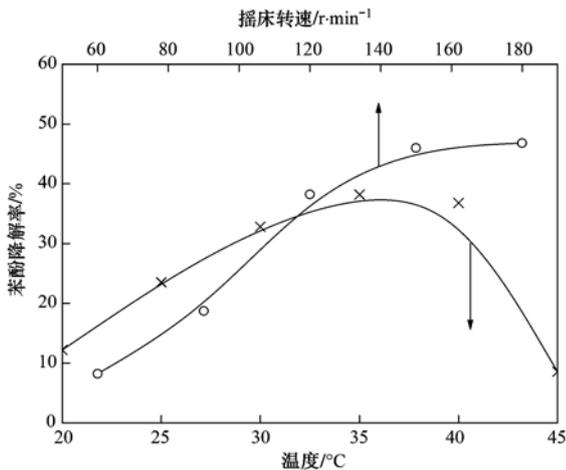


图 3 温度、摇床转速对菌株 D2 降酚率的影响

Fig. 3 Influence of temperature and rotation rate on phenol degradation with strain D2

2.4.2 摇床转速对菌株 D2 降酚率的影响

在转速为 60~180 r·min⁻¹ 范围内,30℃ 的条件下培养 24 h 后测定苯酚降解率。从图 3 可知菌株 D2 的降酚率随着摇床转速的升高而逐渐升高,当转速为 150 r·min⁻¹ 时苯酚降解率达最高,为 47%。

2.4.3 酸碱度对菌株 D2 降酚率的影响

调节酸碱度,测试 D2 菌株 24 h 的苯酚降解率。由图 4 可知,随着时间的推移,降解溶液的酸性增强,酸性条件不利于菌株 D2 降解苯酚。在 pH 为 7.5~8.5 时苯酚降解率基本保持平稳;发现在初始浓

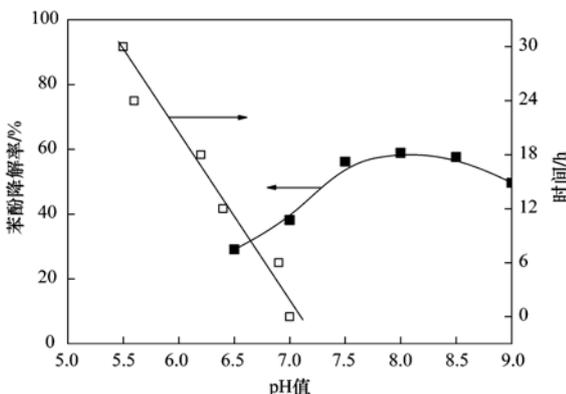


图 4 酸碱度对菌株 D2 降酚率的影响

Fig. 4 The pH value on phenol degradation with strain D2

度 pH 7.0 的培养液中,降酚菌在降酚过程中会产生酸性代谢产物导致菌体生长环境的 pH 在降解过程中显著下降,菌体受环境和自身代谢产物的双重作用,导致降酚率低;反之,当环境的 pH 逐渐升高,自身代谢物的酸性得到中和而减弱对降酚作用的影响。在 pH < 8.5 的范围内伴随碱性的增加,降酚率升高;当环境 pH > 8.5 时,由于环境碱性远大于降酚菌产生的酸性代谢物的酸性,降酚菌胞体受到碱性侵害,正常的生理活动受到影响,从而导致降酚率下降。

2.5 单菌株和复合菌对焦化废水的降解

为进一步了解所筛选的降酚菌株对实际焦化废水中的酚类的处理能力,取焦化厂废水处理车间好氧池入口处的焦化废水 100 mL,重点比对单菌株 D2、驯化培养后的混合菌株和来自曝气池不加降解菌的活性污泥对其实际处理效果。以 10% 接种量接种于废水,实验结果如图 5 所示。很明显,不加降解菌的活性污泥对焦化废水中的酚类化合物降解不论在处理时间上还是处理效果上均低于单菌株 D2 和驯化培养后的混合菌株的降酚率,要达到与加筛选降酚菌相同的降酚率需要更长的时间。曝气池入口处焦化废水的初始酚浓度为 355 mg·L⁻¹,经过菌株 D2 或混合菌株的生物降解均可以实现 36 h 内脱除 95%,焦化废水 12 h 处理过程中,混合菌降解优于单菌株,12~24 h 时菌株 D2 降解效率优于混合菌。可见菌株 D2 对成分复杂的焦化废水同样具有较高的降解效率,因此有很高的实际应用潜力。

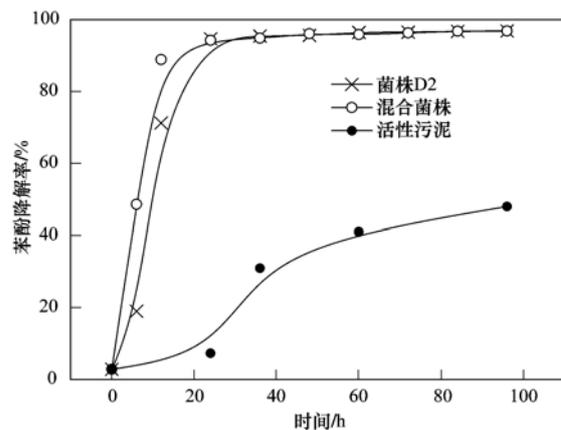


图 5 筛选菌株与活性污泥对焦化废水苯酚降解对比

Fig. 5 Comparison of screened strains or activated sludge on phenol degradation in the coking wastewater treatment

3 结论

(1) 筛选获得 4 株苯酚降解菌,进一步丰富了降酚菌的微生物类型,为构建高效的焦化废水基因

工程菌提供了微生物基础。

(2) 筛选获得 4 株菌株对苯酚的耐受力普遍较高均在 $1\ 800\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上, 其中菌株 D2 对苯酚的耐受浓度为 $2\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上。

(3) 菌株 D2 降酚优化条件为 pH 7.5 ~ 8.5, 温度为 $35\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内, 转速为 $150\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。对焦化厂废水处理系统曝气池入口处的焦化废水处理 36 h 可降解酚 95% 以上, 该菌株具有应用于焦化废水生物强化处理技术的潜力。

参考文献:

- [1] 吴高明. 焦化废水(液)物化处理技术研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- [2] 马东祝, 张玲, 黄渊, 等. 膜生物反应器在焦化废水处理中的应用[J]. 煤炭技术, 2011, **30**(8): 250-251.
- [3] 王喜全, 胡筱敏, 马英群, 等. 焦化废水中氨氮及 COD 降解技术[J]. 环境工程, 2011, **29**(1): 26-27.
- [4] 李文英, 花吉锋, 荆洁颖, 等. 移动床生物膜反应器中两种填料氧传质性能的比较[J]. 太原理工大学学报(自然科学版), 2010, **41**(5): 487-491.
- [5] 由培远, 陆晓华. 焦化生化外排水电絮凝和化学混凝的深度处理[J]. 环境科学与技术, 2010, **33**(6E): 337-340.
- [6] 周静, 李素芹, 裴琦. 新物化法深度处理焦化废水[J]. 环境污染与防治, 2009, **31**(9): 64-67.
- [7] 周集体, 邢礼娜, 张劲松. 多级 A/O VTBR 组合工艺处理焦化废水[J]. 环境工程, 2010, **28**(3): 26-29.
- [8] Arinjay K, Shashi K, Surendra K. Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194[J]. Biochemical Engineering Journal, 2005, **22**(2): 151-159.
- [9] Wei G H, Yu J F, Zhu Y H, et al. Characterization of phenol degradation by *Rhizobium* sp. CCNWTB 701 isolated from *Astragalus chrysopteru* in mining tailing region[J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, **151**(1): 111-117.
- [10] Arutchelvan V, Kanakasabai V, Elangovan R, et al. Kinetics of high strength phenol degradation using *Bacillus brevis* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2006, **129**(1-3): 216-222.
- [11] Gulay B, Ihsan G, Yagmur T, et al. Biosorption of phenol and 2-chlorophenol by *Funalia trogii* pellets [J]. Bioresource Technology, 2009, **100**(10): 2685-2691.
- [12] Chen B Y, Chen W M, Chang J S. Optimal biostimulation strategy for phenol degradation with indigenous rhizobium *Ralstonia taiwanensis*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, **139**(2): 232-237.
- [13] 周江亚, 李娟, 于晓娟, 等. 高浓度苯酚降解菌 *Candida tropicalis* Z-04 的鉴定及其对苯酚降解条件的优化[J]. 环境污染与防治, 2011, **33**(2): 12-17, 22.
- [14] 姜立春, 阮期平, 袁利娟, 等. 高效降酚菌株 JY03 的筛选及其降解特性研究[J]. 环境工程学报, 2011, **5**(8): 1912-1916.
- [15] Juang R S, Chung T P, Wang M L, et al. Experimental observations on the effect of added dispersing agent on phenol biodegradation in a microporous membrane bioreactor [J]. Journal of Hazardous Materials, 2008, **151**(2-3): 746-752.
- [16] 刘广金, 张袖丽. 苯酚高效降解菌的筛选及其降解特性的研究[J]. 现代农业科技, 2007, (11): 202, 205.
- [17] 袁利娟, 姜立春, 彭正松, 等. 高效降酚菌 *Bacillus* sp. JY01 的固定化及降解特性研究[J]. 环境科学与技术, 2010, **33**(4): 49-52, 56.
- [18] 周集体, 关晓燕, 曲媛媛, 等. 苯酚降解菌株 GXY-1 分离鉴定, 降解及其粗酶特性研究[J]. 大连理工大学学报, 2010, (3): 340-345.
- [19] 江红, 蔡宁, 乔传令. 苯酚降解酵母 Pd6 的分离及对酚类化合物的降解[J]. 应用与环境生物学报, 2010, **16**(3): 385-389.
- [20] 刘国生, 郝晓洁, 段佩玲, 等. 苯酚降解菌 UW7 的鉴定及对苯酚的降解作用[J]. 应用与环境生物学报, 2011, **17**(1): 118-120.
- [21] Xu Y Q, Chen M, Zhang W, et al. Genetic organization of genes encoding phenol hydroxylase, benzoate 1, 2-dioxygenase alpha subunit and its regulatory proteins in *Acinetobacter calcoaceticus* PHEA-2[J]. Current Microbiology, 2003, **46**(4): 235-240.
- [22] 谢青, 杨广笑, 何光源. 苯酚降解菌 PN6-15 的分离及其苯酚降解特性[J]. 华中科技大学学报(自然科学版), 2009, **37**(8): 129-132.
- [23] 曲媛媛, 周豪, 王平, 等. 一株耐盐苯酚降解菌的分离、鉴定及特性研究[J]. 大连理工大学学报, 2011, **51**(1): 25-30.
- [24] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [25] 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.
- [26] 刘春, 黄霞, 杨景亮. 废水生物强化中基因工程菌的流失和环境生存状况研究[J]. 环境科学, 2008, **29**(9): 2571-2575.
- [27] 王晨, 马放, 山丹, 等. 用于煤气废水深度处理的脱酚菌的特性[J]. 江苏大学学报(自然科学版), 2008, **29**(3): 255-259.
- [28] 胡学伟, 李爱民, 范俊, 等. 选择性生物强化处理二元互抑体系中苯胺和硝基苯[J]. 环境科学, 2008, **29**(6): 1562-1566.

CONTENTS

Using Look-up Table Method in the Simulation of Regional Atmospheric Environment	XIE Min, WANG Ti-jian, JIANG Fei, <i>et al.</i> (1409)
Applications of Pollutants Released from Crop Residues at Open Burning in Yangtze River Delta Region in Air Quality Model	SU Ji-feng, ZHU Bin, KANG Han-qing, <i>et al.</i> (1418)
Atmospheric Dry Deposition Flux and Sources of Monocarboxylic Acids in Beijing and Surrounding Cities	XU Xiao-juan, LI Xing-ru, WANG Yue-si, <i>et al.</i> (1425)
Comparison of Physicochemical Characterization of Shanghai Ambient Ultrafine Particles and Engineered Nano Particles and Their Cytotoxicity	ZHANG Rui, LÜ Sen-lin, SHANG Yu, <i>et al.</i> (1431)
Element Compositions and Source of PM _{2.5} Aerosols in Qingdao	LI Xiu-zhen, SHENG Li-fang, XU Hua, <i>et al.</i> (1438)
Phthalate Esters Pollution in Household Indoor Air Particles of Tianjin in Winter	WANG Fu-mei, CHEN Li, JIAO Jiao, <i>et al.</i> (1446)
Application of a Resuspension Test Chamber in PM _{2.5} Source Profile Analysis	DUAN Heng-yi, QIAN Ran-ran, WU Shui-ping, <i>et al.</i> (1452)
Distribution and Enrichment of Trace Elements in Coal Combustion Products from Southwestern Guizhou	WEI Xiao-fei, ZHANG Guo-ping, LI Ling, <i>et al.</i> (1457)
Air-Water Surface Greenhouse Gas Flux in Pengxi River at Different Operational Stages of the Three Gorges Reservoir	JIANG Tao, GUO Jing-song, LI Zhe, <i>et al.</i> (1463)
Fluxes of Greenhouse Gases from Xiangxi River in Summer and Their Influencing Factors	WANG Liang, XIAO Shang-bin, LIU De-fu, <i>et al.</i> (1471)
Effects of Elevated Ozone Concentration and Soil Moisture on Temperature Sensitivity of Soil Microbial Respiration in a Cropland	CHEN Shu-tao, ZHANG Yong, HU Zheng-hua, <i>et al.</i> (1476)
Hydrochemical Characteristics in the Glacier No. 72 of Qingbingtan, Tomur Peak	ZHAO Ai-fang, ZHANG Ming-jun, LI Zhong-qin, <i>et al.</i> (1484)
Mineralization Characteristics of Dissolved Organic Phosphorous in Wudalianchi Lake, China	ZHANG Bin, XI Bei-dou, ZHAO Yue, <i>et al.</i> (1491)
Speciation Distribution of Nitrogen in Sediments of 7 Rivers around Taihu Lake	LU Shao-yong, YUAN Ye, JIN Xiang-can, <i>et al.</i> (1497)
Distribution and Bioavailability of Nitrogen and Phosphorus Species in the Sediments from Shiwuli Stream in Lake Chaohu	LI Ru-zhong, LI Feng, ZHOU Ai-jia, <i>et al.</i> (1503)
Surface Water Quality of Beiyun Rivers Basin and the Analysis of Acting Factors for the Recent Ten Years	GUO Jing, JING Hong-wei, LI Jin-xiang, <i>et al.</i> (1511)
Water Quality Impact of Dongjiang River Network Caused by Dongguan Canal Drainage	SUN Lei, MAO Xian-zhong, HUANG Min-min (1519)
Groundwater Pollution Sources Identification and Grading in Beijing Plain	LU Yan, HE Jiang-tao, WANG Jun-jie, <i>et al.</i> (1526)
3D Numerical Simulation of Air Sparging Remediation Process	LI Heng-zhen, HU Li-ming, WANG Jian, <i>et al.</i> (1532)
Numerical Experiment Study on the Algae Suppression Effect of Vertical Hydrodynamic Mixers	ZOU Rui, ZHOU Jing, SUN Yong-jian, <i>et al.</i> (1540)
Microbial Mechanism of Pollutants Removal in New Biological Island Grid	GAO Ming-yu, XIE Hui-jun, WANG Wen-xing (1550)
Effect of Nutrition Level of Phosphorus and Nitrogen on the Metabolism of the Extracellular Organic Matter of <i>Nostoc flagelliforme</i>	QI Fei, LIU Xiao-yuan, XU Bing-bing, <i>et al.</i> (1556)
Inhibitory Effects of Liquor Cultured with <i>Hydrodictyon reticulatum</i> on the Growth of <i>Microcystis aeruginosa</i>	FU Hai-yan, CHAI Tian, ZHAO Kun, <i>et al.</i> (1564)
Removal and Distribution of Phthalate Acid Esters in <i>Potamogeton crispus</i> L. Microcosm of Haihe River	CHI Jie, YANG Qing (1570)
Control and Removal of Microcystin Production of <i>Microcystis aeruginosa</i> by Irradiation of Electron Beam	LIU Shu-yu, WU Ming-hong, JIANG Qin-peng (1575)
Source Characteristics Analysis of Discharge and Pollutants in Typical Drainage Ditch of Qingtongxia Irrigation District	LI Qiang-kun, HU Ya-wei, LUO Liang-guo (1579)
Degradation of TBBPA by Electron Beam Radiolysis	LI Jie, XU Dian-dou, XU Gang, <i>et al.</i> (1587)
Catalytic Ozonation of Ibuprofen in Aqueous Solution by Activated Carbon Made from Sludge and Corn Cob	WANG Hong-juan, QI Fei, FENG Li, <i>et al.</i> (1591)
Effect of High Hydraulic Loading on Intensive Shrimp Aquaculture Wastewater Treatment Performance in Constructed Wetland	LI Huai-zheng, ZHANG Xing-yi, CHEN Wei-bing, <i>et al.</i> (1597)
Factors Influencing the Formation of NDMA During Chloramination Disinfection of Effluent from Biological Nitrogen Removal System for the Treatment of Municipal Sewage	SHANG Xiao-ling, LI Yong-mei (1604)
Denitrification Using Starch/PCL Blends as Solid Carbon Source	SHEN Zhi-qiang, WU Wei-zhong, YANG Chun-ping, <i>et al.</i> (1609)
Profiles of Zeta Potential and EPS in Granulation Process of Aerobic Sludge	WANG Hao-yu, SU Ben-sheng, HUANG Dan, <i>et al.</i> (1614)
Biosorption Characteristics of f2 Bacteriophage onto Activated Sludge	ZHOU Yu-fen, ZHENG Xiang, LEI Yang, <i>et al.</i> (1621)
Adsorption of Anionic Polyacrylamide on the Surface of Ion Exchange Membranes	DENG Meng-jie, YU Shui-li, SHI Wen-xin, <i>et al.</i> (1625)
Adsorption of Amphoteric Modified Bentonites to Phenol and Its Thermodynamics	LI Ting, MENG Zhao-fu, ZHANG Bin (1632)
Effect of Surfactants on Sorption and Desorption of Benzo[a]pyrene onto Black Carbon	ZHANG Jing-huan, CHEN Chun-rong, ZHANG Wei-hang, <i>et al.</i> (1639)
Isolation and Identification of Bacteria in the Activated Sludge from Four Sewage Treatment Plants in Nanjing City and Its Antibiotic Resistance Analysis	GE Feng, GUO Kun, ZHOU Guang-can, <i>et al.</i> (1646)
Screening and Characterization of Phenol Degrading Bacteria for the Coking Wastewater Treatment	CHEN Chun, LI Wen-ying, WU Jing-wen, <i>et al.</i> (1652)
Characteristics of 1,4-Dioxane Degradation by <i>Xanthobacter flavus</i> DTS	JIN Xiao-jun, CHEN Dong-zhi, ZHU Run-ye, <i>et al.</i> (1657)
Spatial Quantitative Distribution of Hydrocarbon-Oxidizing Bacteria of Unexploited Oil and Gas Fields	MAN Peng, QI Hong-yan, HU Qing, <i>et al.</i> (1663)
Screening and Biological Characteristics of Amphitrophic Methane-Oxidizing Bacteria from Aged-Refuse	ZHAO Tian-tao, XIANG Jin-xin, ZHANG Li-jie, <i>et al.</i> (1670)
Distribution Characteristics and Potential Risk of PCBs in Surface Water from 22 Tributaries and Mainstream in Middle Reaches of Yangtze River	LI Kun, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1676)
Pollution Characteristics and Potential Risks of Phenolic Compounds in Schistosomiasis Epidemic Areas	WU Zheng-yong, ZHAO Gao-feng, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1682)
Spatial Heterogeneity and Autocorrelation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Sediment of Minjiang River in Fuzhou City	CHEN Wei-feng, NI Jin-zhi, YANG Hong-yu, <i>et al.</i> (1687)
Heavy Metals Pollution and Its Potential Ecological Risk of the Sediments in Three Gorges Reservoir During Its Impounding Period	WANG Jian-kang, GAO Bo, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (1693)
Investigation on the Distribution and Potential Ecological Risk of Heavy Metal in the Sediments from Typical Electrical Industrial Zone	DENG Dai-yong, SUN Guo-ping, GUO Ju, <i>et al.</i> (1700)
Fraction Distribution and Risk Assessment of Heavy Metals in Iron and Gold Mine Soil of Miyun Reservoir Upstream	GAO Yan-xin, FENG Jin-guo, TANG Lei, <i>et al.</i> (1707)
Heavy Metal Contamination and Bioavailability in Huayuan Manganese and Lead/Zinc Mineland, Xiangxi	YANG Sheng-xiang, YUAN Zhi-zhong, LI Zhao-yang, <i>et al.</i> (1718)
Evaluation of Heavy Metal Pollution in Soils from a Training Ground Based on GIS	LIU Yu-tong, FANG Zhen-dong, YANG Qin, <i>et al.</i> (1725)
Effects of Soil Texture and Water Content on Remediation of SVE on Soils Contaminated by Benzene	LIU Shao-qing, JIANG Lin, YAO Yu-jun, <i>et al.</i> (1731)
Characteristics of DNA Adsorption and Desorption in Montmorillonite, Kaoline and Goethite	WANG Shen-yang, RAO Wei, WANG Dai-zhang, <i>et al.</i> (1736)
LNAPL Migration Monitoring in Simulated Sand Aquifer Using Resistivity Method	PAN Yu-ying, JIA Yong-gang, GUO Lei, <i>et al.</i> (1744)
Preparation and Characterization of Activated Carbon from Rice Straw Pre-treated by the Subcritical Hydrolysis	DONG Yu, SHEN Zhe-min, LEI Yang-ming, <i>et al.</i> (1753)
Study on Composting of Cyanobacteria Amended with Different N Loss Inhibitor	REN Yun, CUI Chun-hong, LIU Fen-wu, <i>et al.</i> (1760)
Research Progress About Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Contaminated Soil with Immobilized Microorganism Technique	QIAN Lin-bo, YUAN Miao-xin, CHEN Bao-liang (1767)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2012年5月15日 33卷 第5期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 5 May 15, 2012

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行