

唐顺 杨琦 尚海涛 等. 2011. 苯为好氧共代谢基质的 1,1-二氯乙烯的生物降解研究[J]. 环境科学学报, 31(10): 2146-2153

Tang S, Yang Q, Shang H T, et al. 2011. Biodegradation of 1,1-dichloroethene using benzene as aerobic cometabolism substrate[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 31(10): 2146-2153

苯为好氧共代谢基质的 1,1-二氯乙烯的生物降解研究

唐顺 杨琦* 尚海涛 郝春博

中国地质大学(北京) 水资源与环境学院, 北京 100083

收稿日期: 2010-12-02

修回日期: 2011-01-11

录用日期: 2011-01-20

摘要:为更好地去除地下水中常见的混合污染物苯与 1,1-二氯乙烯(1,1-DCE), 从用苯与 1,1-DCE 驯化的好氧共代谢活性污泥中筛选获得 6 株菌株, 并利用 16S rDNA 技术鉴定菌株属性. 通过研究 6 株菌株的降解特性获得优势菌株, 并进一步探讨优势菌株的最佳生长因素. 结果表明, 筛选的 6 株菌株中 4 株属于产碱杆菌科, 另外 2 株属于放线菌纲, 且 6 株菌株均能降解苯和 1,1-DCE. 菌株 DB-II 为优势菌株, 且在苯初始浓度 $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、1,1-DCE 初始浓度 $0.60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、菌悬液吸光度 0.400、pH=7、温度为 25°C 时的降解效果最好. 菌株 DB-II 在不同温度下对苯和 1,1-DCE 的降解符合一级反应动力学, 且在 $10 \sim 25^\circ\text{C}$ 内, 菌株对苯和 1,1-DCE 生物降解的活化能分别为 $41.97 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $53.10 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

关键词: 1,1-二氯乙烯; 苯; 生物降解; 共代谢; 动力学; 活化能

文章编号: 0253-2468(2011)10-2146-08

中图分类号: X703.1

文献标识码: A

Biodegradation of 1,1-dichloroethene using benzene as aerobic cometabolism substrate

TANG Shun, YANG Qi*, SHANG Haitao, HAO Chunbo

School of Water Resources and Environment, China University of Geosciences, Beijing 100083

Received 2 December 2010;

received in revised form 11 January 2011;

accepted 20 January 2011

Abstract: In order to find a more effective way to remove commonly mixed contaminants in groundwater, six cometabolic strains were screened from aerobic cometabolism sludge acclimatized to benzene and 1,1-dichloroethene (1,1-DCE). The strains' properties were identified by 16S rDNA and their degradation characteristics were investigated to identify the dominant strain. It was demonstrated that four strains were *Alcaligenaceae* and the other two were *Actinobacteria*. The six cometabolism strains could degrade benzene and 1,1-DCE and DB-II was the dominant strain. The optimum reaction conditions for strain DB-II were as follows: initial concentration of benzene and 1,1-DCE up to $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, OD_{600} of 0.400, a neutral pH of 7 and 25°C . The removals of benzene and 1,1-DCE by strain DB-II fit first-order reaction kinetics at different temperatures. The biodegradation activation energies of benzene and 1,1-DCE from 10 to 25°C were $41.97 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ and $53.10 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, respectively.

Keywords: 1,1-dichloroethene; benzene; biodegradation; cometabolism; kinetics; activation energy

1 引言(Introduction)

挥发性氯代烃和石油烃类污染是地下水体中最常见的混合污染类型(Vesela et al. 2006; Beeman et al. 2002). 三氯乙烯和四氯乙烯是地下水中常见

的氯代烃类污染物,经微生物作用可转变为中间产物二氯乙烯和氯乙烯,其毒性比母体更大. 其中, 1,1-DCE 是合成聚偏二氯乙烯树脂的重要单体,广泛用于制作食品器具、容器、包装盒等,并已在大气、土壤、水和食物中被检出(Anna et al. 2003).

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 40102027, 50578151); 北京市自然科学基金项目(No. 8052017); 北京市产学研项目(No. 51900265005); 国家科技重大专项(No. 2009ZX07207-008, 2009ZX07419-002, 2009ZX07207-001); 中央高校基本科研业务专项基金(No. 2011YXL016)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 40102027, 50578151), the Beijing Natural Science Foundation Project (No. 8052017), the Beijing Municipal Education Commission School-Enterprise Cooperation Projects (No. 51900265005), the National Science and Technology Major Project of China (No. 2009ZX07207-008, 2009ZX07419-002, 2009ZX07207-001) and the Basic Scientific Research and Business Foundation Project of China University (No. 2011YXL016)

作者简介: 唐顺(1986—), 女, E-mail: tshun860422@126.com; * 通讯作者(责任作者), E-mail: yq@cugb.edu.cn

Biography: TANG Shun(1986—) female, E-mail: tshun860422@126.com; * **Corresponding author**, E-mail: yq@cugb.edu.cn

苯、甲苯、乙苯和二甲苯是石油烃中典型的污染物,而苯比甲苯、乙苯、二甲苯更稳定,因而更难以去除。目前,1,1-DCE 和苯已成为地下水中常见的共同存在且难降解的有机物,因此,进行 1,1-DCE 与苯的共代谢研究具有重要意义。

共代谢是一种有效的新兴水处理方式,因其可将污染物转化为无毒物质或彻底降解而成为近年来研究的热点(唐有能等,2004)。国内外学者对氯代烯烃的共代谢进行了广泛的研究,其中,甲醇、甲酸盐、乙酸盐、乳酸盐、丙酮酸盐、丁酸盐、醋酸盐、葡萄糖和蔗糖等可作为四氯乙烯的厌氧共代谢基质(杨琦等,2006;李惠娣等,2006),而甲烷、乙烷、丙烷、丁烷、苯酚、甲苯、苯、乙酸、乙醇、丙酸、甲酚、氯苯、氯酚、氨、芳香烃、异戊二烯、醋酸盐、色氨酸、乳酸盐、甲醇、丁酸盐、谷氨酸盐、1,2-丙二醇、甲苯、丙酸盐、氯酚等可作为三氯乙烯厌氧或好氧的共代谢基质(陈翠柏等,2003)。二氯乙烯在氨水、甲烷、丙烷、丁烷、丙烯、葡萄糖、甲苯、苯酚或氯乙烯作为生长基质时可进行好氧生物降解(周雪等,2010)。目前,国内外关于氯代烯烃类物质的共代谢研究较多,但涉及物质主要为四氯乙烯、三氯乙烯、1,2-二氯乙烯及氯乙烯,而关于 1,1-DCE 与苯的好氧共代谢降解的研究较少。

因此,本文从用苯与 1,1-DCE 驯化的活性污泥中筛选获得 6 株共代谢菌种,对各菌株进行基因鉴定,随后进行菌体的活化扩大培养,研究各共代谢菌株对苯与 1,1-DCE 的降解特性,并探讨优势菌株的最佳降解环境及降解动力学,以期对 1,1-DCE 与苯的去除研究提供新思路,同时也为更有效地去除土壤和地下水中的石油类污染物提供理论依据与数据支持。

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 共代谢菌株的来源

共代谢菌株由北京市某污水处理厂二沉池的好氧活性污泥经 1,1-DCE 与苯的驯化培养后筛选获得。

2.2 实验试剂与仪器

苯为分析纯(汕头化工),1,1-DCE 纯度大于 99.5% (Floka)。SHA-B 恒温水浴振荡器,722s 分光光度计,自动电热压力蒸汽灭菌锅,气密型医用注射器,微孔过滤器,医用玻璃瓶,2mL 顶空瓶,250 μ L 气体微量进样器,琼脂糖凝胶回收试剂盒,基因全

长扩增、构建克隆文库常用生化试剂。

2.3 苯与 1,1-DCE 测定方法

苯与 1,1-DCE 的测定采用 GC-2014 气相色谱仪(日本岛津),RT-624 毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 1.4 μ m),火焰原子检测器。进样口温度 240 $^{\circ}$ C,炉温 100 $^{\circ}$ C,检测器温度 240 $^{\circ}$ C,辅助流量 30 mL $\cdot$ min $^{-1}$,柱流量 1 mL $\cdot$ min $^{-1}$,进样量 100 μ L。外标法定量。停留时间:1,1-DCE 为 2.31 min,苯为 3.45 min。

2.4 菌种的分离与鉴定

分离培养基(g $\cdot$ L $^{-1}$): Na₂HPO₄·12H₂O 1.36, (NH₄)₂SO₄ 0.50, KH₂PO₄ 5.37, MgSO₄·7H₂O 0.20, 酵母膏 0.01, 1,1-DCE 0.02, 苯 0.09, 琼脂 15, 微量元素 5 mL $\cdot$ L $^{-1}$, pH=7.0~7.2。

微量元素(g $\cdot$ L $^{-1}$): FeCl₂·4H₂O 1.50, CoCl₂·6H₂O 0.19, MnSO₄·7H₂O 0.10, ZnCl₂ 0.07, NiCl₂·6H₂O 0.024, Na₂MoO₄·2H₂O 0.024, MnCl₂·4H₂O 0.006, CuCl₂·2H₂O 0.002。

利用稀释平板分离法(周群英等,2003)将不同稀释倍数(10¹~10⁸)的活性污泥接种到分离培养基中,根据不同的菌落特征划分菌种。利用平板划线分离法(周群英等,2003)纯化菌株,纯化 5 次。

菌株的鉴定:利用 CTAB 法(Zhou *et al.*, 1996)提取菌株的 DNA,用细菌通用引物 16S1(5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3')和 16S2(5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3')经 PCR 扩增(95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s; 53 $^{\circ}$ C 退火 30 s; 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min, 共 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min)后得到大约 1.5 kb 的 DNA 片段,将片段用胶回收试剂盒回收后送至上海生物工程有限公司进行测序,经 GenBank 的 BLAST 程序比对后,并用 PHYLIP(菲利普)软件绘制系统发育树,从而获得菌株属性。

2.5 菌株的活化生长实验

于 285 mL 医用橡胶玻璃瓶中配制 100 mL 无机盐溶液(不含琼脂、1,1-DCE 与苯的分离培养基)并对其进行高压灭菌,在紫外灭菌后的洁净工作台上用无菌接种环从斜面上挑取一环菌株放入无菌液体培养基,添加一定量的 1,1-DCE 与苯,使得 1,1-DCE 浓度为 0.30 mg $\cdot$ L $^{-1}$,苯浓度为 90 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 。然后将其放入温度 30 $^{\circ}$ C、转速 150 r $\cdot$ min $^{-1}$ 的恒温水浴振荡箱中进行培养。为了促进菌株增长,活化时每天添加一定量的 1,1-DCE 与苯。菌株的数量可用 600 nm 下的吸光度(OD₆₀₀)来表征(王新新等,

2009)。

2.6 降解特性与影响因素测定实验

降解特性实验: 活化后的菌悬液先在 $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 10 min, 再用高压灭菌后的无机盐溶液洗涤并离心 2 次, 最后加入无菌的无机盐培养液经磁力搅拌稀释至其 OD_{600} 为 0.200. 往无菌的 135 mL 医用玻璃瓶中依次添加 120 mL 吸光度为 0.200 的不同菌株的菌悬液, 并对其进行充氧排空约 1 min, 移取一定体积的苯和 1,1-DCE, 使得苯初始浓度为 $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 1,1-DCE 初始浓度为 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 随后迅速用带有聚四氟乙烯膜包裹的橡胶塞封住瓶口. 将玻璃瓶放入温度 30°C 、转速 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的恒温水浴振荡箱中, 取样时间分别为 0.5、1、2、3、4、5、6、8、10、12、24 h.

优势菌株影响因素测定实验: 测定苯初始浓度、1,1-DCE 初始浓度、菌悬液浓度、溶液 pH 与温

度对优势菌株降解性能的影响. 每次实验只改变 1 个影响因素, 其他参数及步骤与降解特性实验相同.

取样过程: 用医用气密型注射器量取水样, 经 $0.45 \mu\text{m}$ 滤膜过滤后倒入 2 mL 气相色谱专用顶空瓶中, 使得过滤后的终体积为 0.5 mL, 用带聚四氟乙烯衬垫的盖子密封瓶口, 随后放入 30°C 恒温水浴振荡箱摇匀 40 min. 用气体微量注射器量取 $100 \mu\text{L}$ 顶空气体测定苯与 1,1-DCE 的浓度.

3 结果(Results)

3.1 菌株的分离与鉴定

从用苯与 1,1-DCE 驯化后的活性污泥中筛选纯化获得 6 株菌株, 依次命名为 DB-I、DB-II、DB-III、DB-IV、DB-V、DB-VI. 6 株菌株的菌落都呈圆形, 然而各菌株的颜色与直径大小不同. 菌株鉴定的系统发育树如图 1.

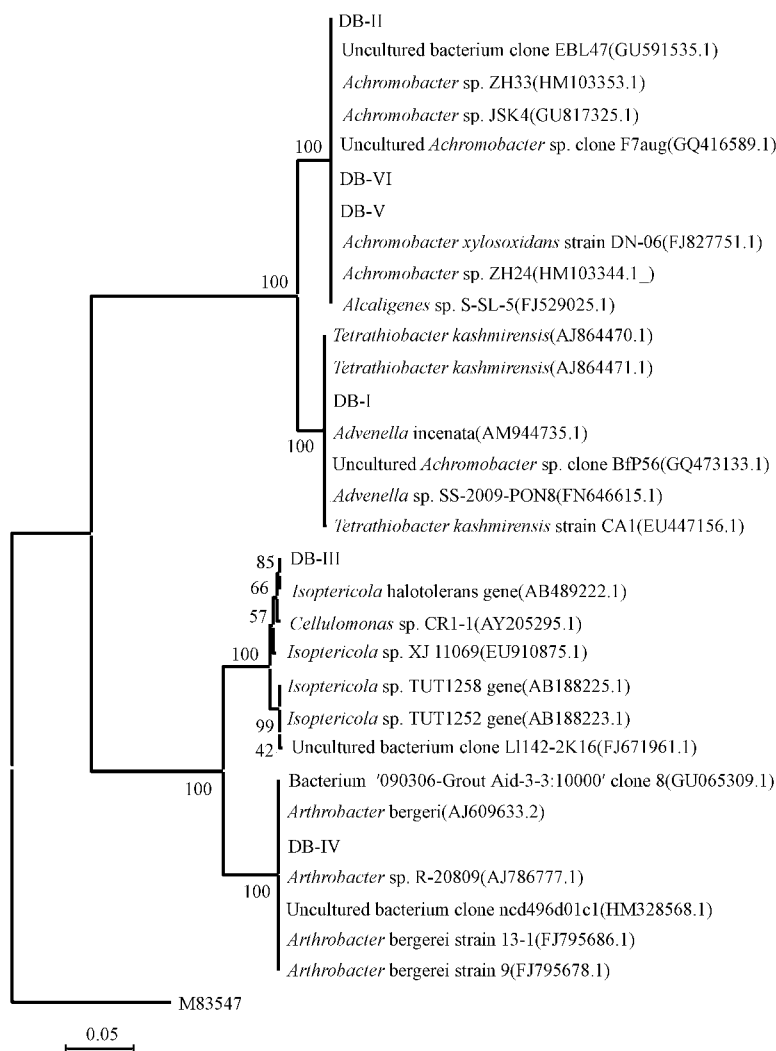


图 1 共代谢菌株的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of cometabolic strains

由图 1 可知, DB-I 与 *Tetrathibacter* sp. 的序列同源性为 100%, 与菌株 DB-II、DB-V、DB-VI 同源性较高的序列多数为 *Achromobacter* sp., 同源性为 100%, DB-III 与 *Isophtericola* sp. 属于同一分支, 同源性为 99%, DB-IV 属于 *Arthrobacter* sp., 同源性为 100%。其中, *Tetrathibacter* sp. 与 *Achromobacter* sp. 同属于伯克氏菌目 (*Burkholderiales*) 产碱菌科 (*Alcaligenaceae*) *Isophtericola* sp. 与 *Arthrobacter* sp. 同属于放线菌纲 (*Actinobacteria*)。

3.2 菌株的活化生长曲线

利用各菌株菌悬液的 OD_{600} 绘制活化生长曲线, 结果如图 2 所示。从图 2 可知, 各菌株菌悬液的吸光度随着时间的延长而逐渐增大, 表明共代谢菌株的数量随着时间的增加而逐渐增多。其中, 菌株 DB-III、DB-IV、DB-V 和 DB-VI 的吸光度从第 4 d 后快速增长, 在第 15 d 达到最大值后逐渐下降并趋于稳定, 表明菌种在经历较长的适应期后迅速增长, 并由于菌种间对基质的竞争而使得菌种数量减少最终达到平衡。而菌株 DB-I 与 DB-II 的适应期比较长, 第 10 d 后菌种开始增长。由于活化时各菌株的接种量仅一环且接种前菌株一直保存在 4 °C 的冰箱中, 因此, 各菌株的适应期较长。菌种类别的不同导致各菌株的适应期长短不同。同时, 活化生长实验表明, 各共代谢菌株可以生长在含有苯与 1,1-DCE 的环境中。

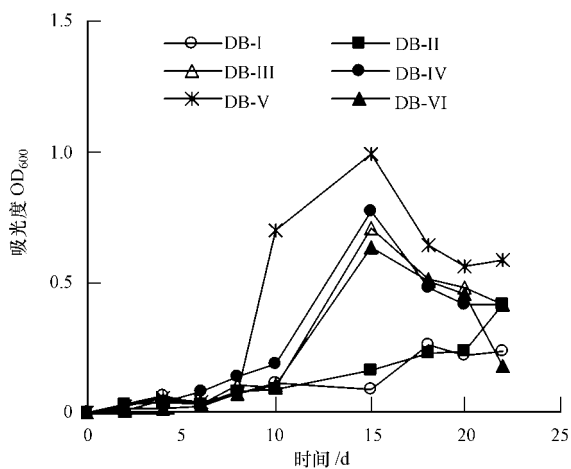


图 2 共代谢菌株的活化生长曲线

Fig. 2 Growth curve of cometabolic strains

3.3 菌株对苯与 1,1-DCE 的降解

当苯初始浓度为 $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、1,1-DCE 初始浓度为 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 各共代谢菌株对苯与 1,1-DCE 的降解曲线如图 3 所示。从图 3 可知, 苯与

1,1-DCE 浓度随时间延长而不断降低, 且降解主要发生在实验开始后的 12 h 内, 之后降解不明显。从空白对照实验可知, 各共代谢菌株均能同时降解苯与 1,1-DCE。然而各菌株的对苯与 1,1-DCE 的降解性能不同。图中显示各菌株对苯的降解性能依次为 DB-II > DB-IV > DB-III > DB-I > DB-V > DB-VI, 对 1,1-DCE 的降解性能为 DB-II > DB-III > DB-V > DB-I > DB-IV > DB-VI。24 h 后菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的去除率分别为 64.27% 和 71.62%, 均超过 60%, 且菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的降解性能明显优于其他菌株。与其他学者的研究对比发现 (Azizian et al., 2007; Broholm et al., 2005; Coleman et al., 2002; Semprini et al., 2007; Yong et al., 2008), 菌株 DB-II 是能够高效且同时降解苯与 1,1-DCE 的优势菌株。

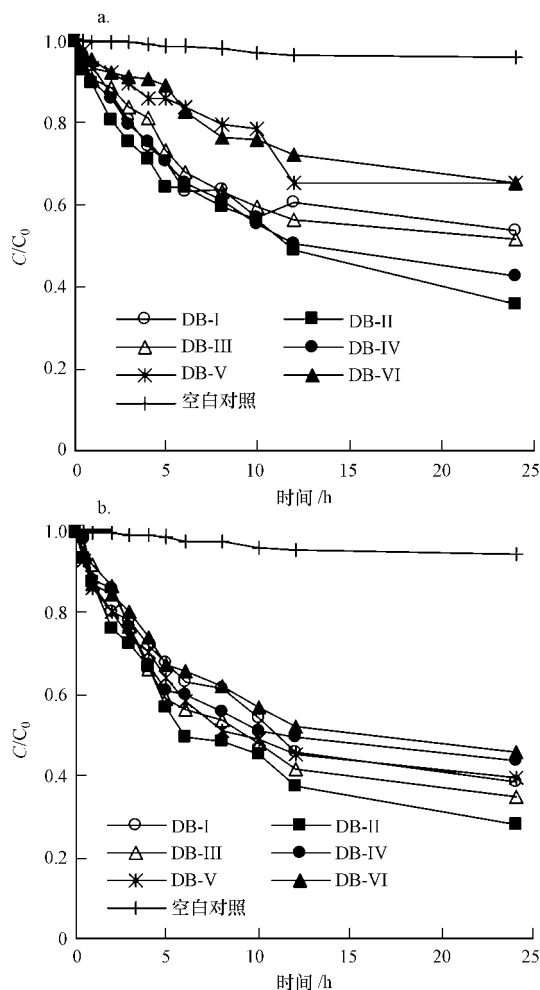


图 3 共代谢菌株对苯(a)和 1,1-DCE(b)的降解曲线

Fig. 3 Degradation curve of benzene (a) and 1,1-DCE (b) by cometabolic strains

3.4 基质浓度对优势菌株的影响

3.4.1 苯初始浓度的影响 当 1,1-DCE 的初始浓度为 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,苯的初始浓度分别为 10、25、45、90、135、180、250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,不同苯初始浓度下菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的去除率如图 4 所示.从图 4 可知,菌株对苯的降解能力较强,随着苯初始浓度的增加,菌株 DB-II 对苯的去除率逐渐降低,从苯初始浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 87.82% 降到 $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 32.11%,这是由于在微生物数量不变而苯浓度增加的情况下,微生物可降解污染物的量一定,去除量一定而初始浓度大,因此,去除率会逐渐降低;同时,底物浓度过大时对微生物会产生抑制作用,所以,苯浓度大于 $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的去除率下降速度较快.1,1-DCE 初始浓度维持不变(即 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),菌株 DB-II 对 1,1-DCE 的去除率随苯初始浓度的增加先增加后减少,最大去除率为 69.78%.这是因为苯浓度增加,底物充足因而微生物的活性增强,对共代谢基质 1,1-DCE 的去除率增加,但随着苯浓度的继续增加,微生物可降解的量一定,这使得菌株 DB-II 对苯的去除效率快速下降,而且还同时降低对 1,1-DCE 的去除率.由此可知,菌株 DB-II 是以苯作为生长基质共代谢降解 1,1-DCE.总体而言,最佳苯初始浓度为 $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

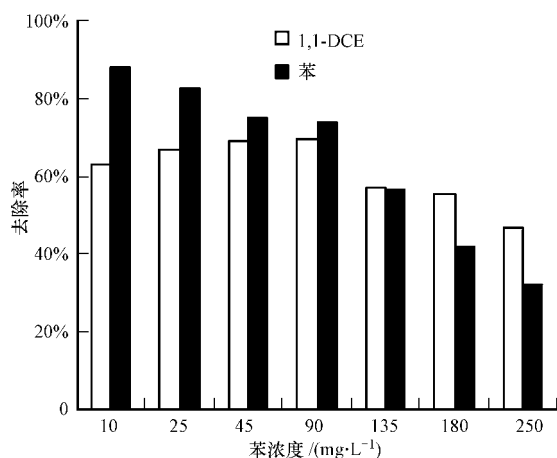


图4 苯初始浓度对菌株 DB-II 降解效果的影响

Fig. 4 Effect of initial benzene concentration on strain DB-II

3.4.2 1,1-DCE 初始浓度的影响 当苯初始浓度为 $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,1,1-DCE 初始浓度分别为 0.15、0.30、0.60、1.20、15、30、75、120 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,菌株 DB-II 对苯与 1,1-DCE 的去除率如图 5 所示.由图 5 可知,随着 1,1-DCE 初始浓度的增加,菌株 DB-II 对苯的去除率逐渐降低,由 $0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 80.43% 降至

$120 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的 45.13%,这是因为 1,1-DCE 作为共代谢基质,其初始浓度的增加会减弱微生物对苯的降解性能,从而使苯的去除率降低.但是,菌株 DB-II 对 1,1-DCE 的去除率随着 1,1-DCE 初始浓度的增加先增加后减少,最大值为 73.35%.这是因为 1,1-DCE 的浓度会影响其与降解酶结合的可能性,当 1,1-DCE 初始浓度小于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,1,1-DCE 初始浓度的增加会使微生物与 1,1-DCE 结合的可能性增大,从而提高 1,1-DCE 的去除率,继续增加 1,1-DCE 浓度会使结合达到饱和从而降低去除率.综合来看,最佳 1,1-DCE 初始浓度为 $0.60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

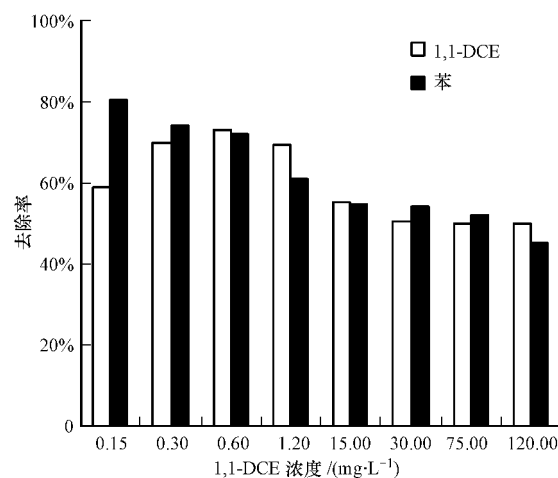


图5 1,1-DCE 初始浓度对菌株 DB-II 降解效果的影响

Fig. 5 Effect of initial 1,1-DCE concentration on strain DB-II

3.5 环境因素对优势菌株的影响

3.5.1 菌悬液浓度的影响 菌悬液初始 OD₆₀₀ 分别为 0.100、0.150、0.200、0.250、0.300、0.350、0.400

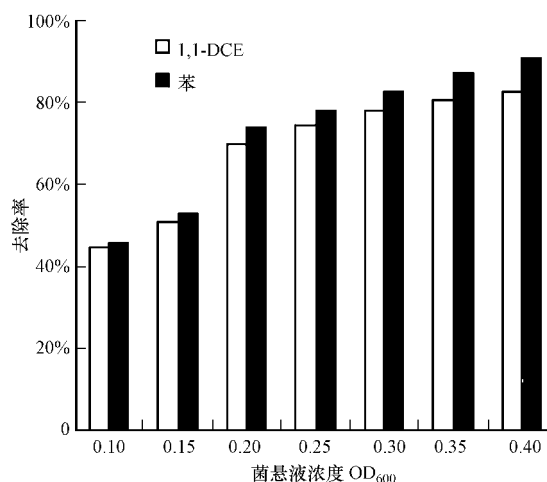


图6 菌悬液浓度(OD₆₀₀)对菌株 DB-II 的影响

Fig. 6 Effect of OD₆₀₀ on strain DB-II

时,菌株 DB-II 对苯与 1,1-DCE 的去除率如图 6 所示. 图 6 结果表明,菌株 DB-II 对苯与 1,1-DCE 的去除率随着菌悬液浓度的增加而逐渐增加,增加速度在吸光度为 0.200 处逐渐减慢. 当初始菌悬液的吸光度为 0.400 时,苯与 1,1-DCE 的去除率达到最大值,分别为 90.91% 与 82.81%. 微生物数量是影响污染物降解的一个重要因素,微生物数量增多可使污染物降解量增加,从而提高去除率,但微生物数量过多时会产生竞争,从而影响污染物的降解速率,最终导致去除率的增加速度减慢.

3.5.2 pH 的影响 当溶液 pH 分别为 4、5、6、7、8、9、10 时,菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的去除率如图 7 所示. 图 7 显示,溶液 pH 对苯和 1,1-DCE 去除率的影响比较相似,溶液 pH 为 7 时,菌株 DB-II 对苯与 1,1-DCE 的降解效果最佳,偏酸或偏碱环境都会严重影响菌株 DB-II 的降解活性; pH 为 4 时,苯和 1,1-DCE 的去除率分别为 29.11% 和 26.27%; pH 为 10 时,苯和 1,1-DCE 的去除率分别为 24.71% 和 22.63%. 研究表明,溶液的 pH 会影响降解酶的活性,酶是一种温和型的蛋白质类生物催化剂,大多数的酶都适宜于中性的环境(周群英等,2003). 溶液偏酸或偏碱时,溶液中的氢离子或氢氧根离子容易与酶的胺基或羧基结合,从而改变酶原有的结构特性,进而改变酶对苯和 1,1-DCE 的结合能力,最终使苯和 1,1-DCE 的去除率降低.

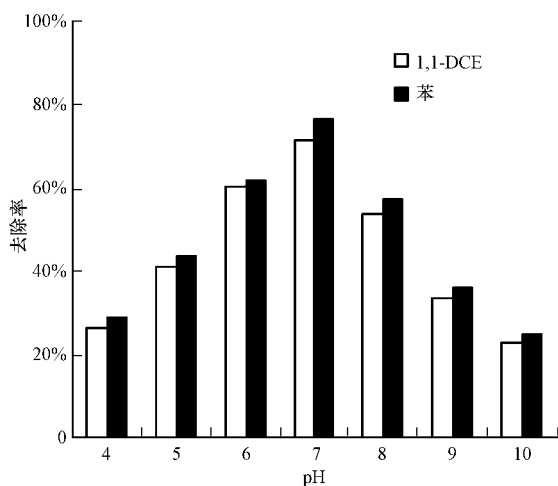


图 7 pH 对菌株 DB-II 降解效果的影响

Fig. 7 Effect of pH on strain DB-II

3.5.3 温度的影响 反应温度分别为 10、15、20、25、30、35、40 °C 时,菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的去除率如图 8 所示. 图 8 显示,温度对苯和 1,1-DCE 去除率的影响与 pH 的影响效果图比较相似: 呈现

两端去除率低中间去除率高的特征. 与 pH 相似,温度也是影响酶活性的一个重要因素,过高或过低温度条件下菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的去除率都降低,但影响幅度较小. 在 10 ~ 40 °C 范围内,24h 后菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的去除率均超过 50%,且 25 °C 时菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的降解效果最佳,去除率分别为 87.24% 和 85.61%,均超过 80%. 这说明菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 有很强的降解能力,且菌株 DB-II 降解苯和 1,1-DCE 时对温度的适应能力较强.

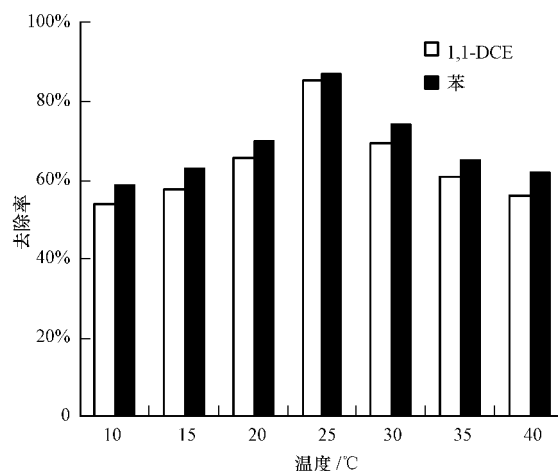


图 8 温度对菌株 DB-II 降解效果的影响

Fig. 8 Effect of temperature on strain DB-II

3.6 优势菌株不同温度下的降解动力学分析

根据不同温度下菌株 DB-II 的降解曲线发现,实验开始的 12h 内,苯与 1,1-DCE 的降解曲线近似于直线,符合一级反应动力学,具体拟合曲线如图 9. 动力学方程见表 1. 从表 1 可知, $\ln(C/C_0)$ 与时间 t 的拟合度较好,说明菌株 DB-II 在不同温度下对苯和 1,1-DCE 的降解符合一级动力学. 王雪莲(2006)研究了 3 氯乙烯在苯、甲苯、氯苯、苯酚、苯甲酸或苯胺下的共代谢,结果表明,生长基质与三氯乙烯的降解均符合一级反应动力学. Tom Kuo 等(2004)以甲苯蒸汽为生长基质共代谢三氯乙烯时发现,三氯乙烯的共代谢降解符合一级动力学. 从半衰期可以看出,苯与 1,1-DCE 的降解受到温度的影响,且在同一温度下菌株 DB-II 对苯的降解效果比 1,1-DCE 好. 苯和 1,1-DCE 去除效率的不同主要是因为苯是菌株的生长基质,而 1,1-DCE 则是其非生长基质,微生物对生长基质的利用率要大于对非生长基质的利用率.

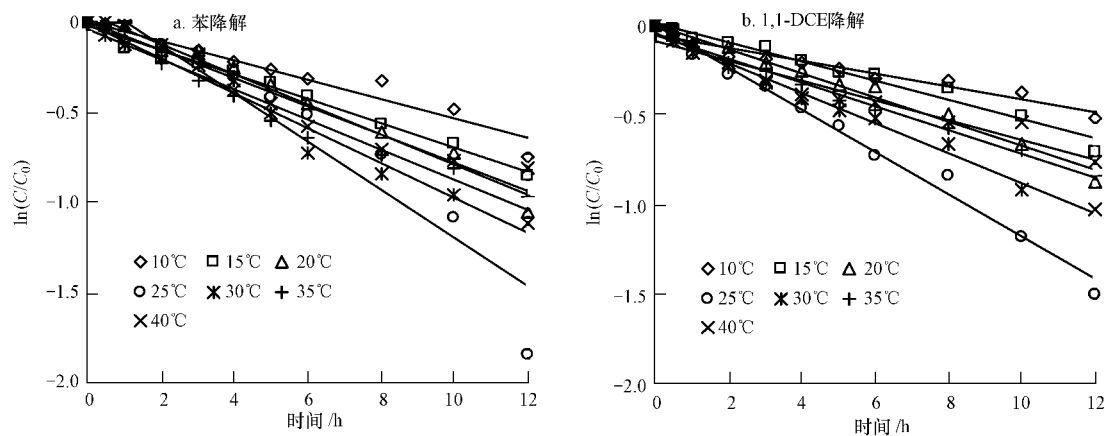


图 9 不同温度下菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的降解曲线
Fig. 9 Degradation curve of benzene and 1,1-DCE by strain DB-II

表 1 不同温度下菌株 DB-II 对苯与 1,1-DCE 的降解动力学
Table 1 Degradation kinetics of benzene and 1,1-DCE by strain DB-II

温度/℃	基质	一级反应降解动力学方程	R ²	速率常数 k/h ⁻¹	半衰期/h
10	苯	ln(C/C ₀) = -0.0529t	0.9415	0.0529	13.10
	1,1-DCE	ln(C/C ₀) = -0.0359t	0.9426	0.0359	19.31
15	苯	ln(C/C ₀) = -0.0672t	0.9889	0.0672	10.31
	1,1-DCE	ln(C/C ₀) = -0.0541t	0.9752	0.0541	12.81
20	苯	ln(C/C ₀) = -0.0840t	0.9824	0.0840	8.25
	1,1-DCE	ln(C/C ₀) = -0.0675t	0.9851	0.0675	10.27
25	苯	ln(C/C ₀) = -0.1334t	0.9098	0.1334	5.20
	1,1-DCE	ln(C/C ₀) = -0.1179t	0.9898	0.1179	5.88
30	苯	ln(C/C ₀) = -0.0966t	0.9769	0.0966	7.18
	1,1-DCE	ln(C/C ₀) = -0.0838t	0.9898	0.0838	8.27
35	苯	ln(C/C ₀) = -0.0831t	0.9611	0.0831	8.34
	1,1-DCE	ln(C/C ₀) = -0.0664t	0.9909	0.0664	10.44
40	苯	ln(C/C ₀) = -0.0775t	0.9475	0.0775	8.94
	1,1-DCE	ln(C/C ₀) = -0.0558t	0.9394	0.0558	12.42

随着温度的升高,苯和 1,1-DCE 的速率常数先增加后降低,利用 10 ~ 25 °C 之间的速率常数与阿伦

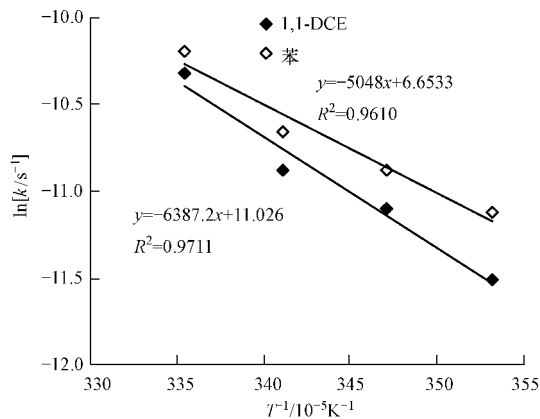


图 10 菌株 DB-II 降解苯与 1,1-DCE 的活化能
Fig. 10 The activation energy of benzene and 1,1-DCE by strain DB-II

尼乌斯公式求解菌株 DB-II 生物降解苯和 1,1-DCE 的活化能,结果如图 10 所示. 根据图 10 中方程的斜率求得,在 10 ~ 25 °C 范围内,菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 生物降解的活化能分别为 41.97 kJ·mol⁻¹ 和 53.10 kJ·mol⁻¹. 一般化学反应的活化能为 40 ~ 420 kJ·mol⁻¹ (Tang *et al.*, 2010),说明该生化反应活化能较低,菌株 DB-II 对苯和 1,1-DCE 的生物降解反应较易发生.

4 结论(Conclusions)

- 1) 从用苯与 1,1-DCE 驯化的活性污泥中筛选获得了 6 株细菌,其中, DB-I 为 *Tetrathibacter* sp., DB-II、DB-V 和 DB-VI 为 *Achromobacter* sp., DB-III 为 *Isotrichicola* sp., DB-IV 为 *Arthrobacter* sp..
- 2) 各菌株活化时的适应期均较长,但随后增长迅速,且均能适应含有苯和 1,1-DCE 的环境.

3) 菌株 DB-II 是降解苯和 1,1-DCE 的优势菌株 菌株 DB-II 的最佳降解条件为: 苯初始浓度为 $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 1,1-DCE 初始浓度为 $0.60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 菌悬液 OD_{600} 为 0.400, pH 为 7, 温度为 25°C 。

4) 菌株 DB-II 降解苯和 1,1-DCE 的活化能分别为 $41.97 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 与 $53.10 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

责任作者简介: 杨琦 (1966—), 男, 博士, 中国地质大学(北京) 水资源与环境学院教授, 博士生导师, 主要研究方向水处理技术、环境生物修复。E-mail: yq@cugb.edu.cn.

参考文献 (References):

- Azizian M F, Istok J D, Semprini L. 2007. Evaluation of the in-situ aerobic cometabolism of chlorinated ethenes by toluene-utilizing microorganisms using push-pull tests [J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 90(1/2): 105-124
- Beeman R E, Bleckmann C A. 2002. Sequential anaerobic aerobic treatment of an aquifer contaminated by halogenated organics: field results [J]. *Journal of Contaminant Hydrology*, 57(3/4): 147-159
- Broholm K, Ludvigsen L, Thorkild F J, et al. 2005. Aerobic biodegradation of vinyl chloride and cis-1,2-dichloroethylene in aquifer sediments [J]. *Chemosphere*, 60(11): 1555-1564
- 陈翠柏 杨琦 沈照理. 2003. 地下水三氯乙烯 (TCE) 生物修复的研究进展 [J]. *华东地质学院学报*, 26(1): 10-14
- Chen C B, Yang Q, Shen Z L. 2003. Foreign progression on trichloroethylene (TCE) bioremediation in groundwater [J]. *Journal of East China Geological Institute*, 26(1): 10-14 (in Chinese)
- Coleman N V, Matts T E, Gossett J M, et al. 2002. Biodegradation of cis-dichloroethene as a sole carbon sources by a β -proteobacterium [J]. *Appl Environ Microbiol*, 68(6): 2726-2730
- Fan A M, Alexeeff G V. 2003. Public Health Goal for 1,1-dichloroethylene in Drinking Water. California Public Health Goal [M]. California: California Environmental Protection Agency. 3-7
- 李惠娣 杨琦 尚海涛. 2006. 不同基质作为电子供体是四氯乙烯的降解研究 [J]. *安全与环境工程*, 13(4): 45-49
- Li H D, Yang Q, Shang H T. 2006. Study on biodegradation of tetrachloroethylene with various substrates as electron donors [J]. *Safety and Environmental Engineering*, 13(4): 45-49 (in Chinese)
- Semprini L, Dolan M E, Mathias M A, et al. 2007. Bioaugmentation of butane-utilizing microorganisms for the in situ cometabolic treatment of 1,1-dichloroethene, 1,1-dichloroethane and 1,1,1-trichloroethane [J]. *European Journal of Soil Biology*, 43(5/6): 322-327
- Tang S, Yang Q, Shang H T, et al. 2010. Removal of nitrate by autotrophic denitrifying bacteria: optimization, kinetics and thermodynamics study [J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 19(12): 3193-3198
- 唐有能 程晓如 王辉. 2004. 共代谢及其在废水处理中的应用 [J]. *工程与技术*, 10: 22-25
- Tang Y N, Cheng X R, Wang H. 2004. Cometabolism and its application in wastewater treatment [J]. *Engineering and Technology*, 10: 22-25 (in Chinese)
- Tom Kuo M C, Liang K F, Han Y L, et al. 2004. Pilot studies for in-suit aerobic cometabolism of trichloroethylene using toluene-vapor as the primary substrate [J]. *Water Research*, 38(9): 4125-4130
- Vesela L, Nemecek J, Siglova M, et al. 2006. The biofiltration permeable reactive barrier: practical experience from Synthesia [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 58(3/4): 224-230
- 王雪莲. 2006. 三氯乙烯的好氧共代谢与挥发模型研究 [D]. 北京: 中国地质大学(北京). 37-50
- Wang X L. 2006. A study on trichloroethylene degradation by aerobic cometabolism and volatile model [D]. Beijing: China University of Geosciences (Beijing). 37-50 (in Chinese)
- 王新新 张颖 李慧 等. 2009. 三氯乙烯降解菌 FT17 的分离、鉴定及其降解特性研究 [J]. *微生物学通报*, 36(4): 563-568
- Wang X X, Zhang Y, Li H, et al. 2009. Isolation, identification and characteristics of a trichloroethylene degrading bacterium FT17 [J]. *Microbiology*, 36(4): 563-568 (in Chinese)
- 杨琦 尚海涛 李惠娣. 2006. 四氯乙烯 (PCE) 厌氧生物修复的国外研究进展 [J]. *中国沼气*, 24(2): 16-20
- Yang Q, Shang H T, Li H D. 2006. Progress on tetrachloroethylene (PCE) anaerobic bioremediation [J]. *China Biogas*, 24(2): 16-20 (in Chinese)
- Young K, Istok J D, Semprini L. 2008. Single-well, gas-sparging tests for evaluating the in situ aerobic cometabolism of cis-1,2-dichloroethene and trichloroethene [J]. *Chemosphere*, 71(9): 1654-1664
- Zhou J Z, Mary A B, James M T. 1996. DNA recovery from soils of diverse composition [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(2): 316-322
- 周群英 高廷耀. 2003. 环境工程微生物学 [M]. 北京: 高等教育出版社. 82-87; 294-305
- Zhou Q Y, Gao T Y. 2003. Microbiology of Environmental Engineering [M]. Beijing: Higher Education Press. 82-87; 294-305 (in Chinese)
- 周雪 唐顺 李冬梅 等. 2010. 1,1-二氯乙烯降解菌的分离鉴定及降解特性 [J]. *环境工程学报*, 5(4): 983-987
- Zhou X, Tang S, Li D M, et al. 2010. Isolation and identification of a 1,1-dichloroethylene-degrading bacterial strain and its degradation characteristics [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 5(4): 983-987 (in Chinese)