

文章编号: 0529-6579 (2000) 04-0057-04

DEHP 的微生物降解性研究^{*}

柴素芬¹, 曾 锋², 傅家谟³, 盛国英³, 杨惠芳⁴

(1. 惠州大学生物系, 广东 惠州 516015;

2. 中山大学 化学与化学工程学院, 广东 广州 510275;

3. 中国科学院广州地球化学研究所, 广东 广州 510640;

4. 中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘 要: 从处理石化厂废水的活性污泥中分离出 1 株荧光假单胞菌 FS1 和处理焦化厂废水的活性污泥中分离出 1 株铜绿假单胞菌 FS2 和 1 株短杆菌 FS3. 研究了 FS1、FS2 和 FS3 对邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP) 的适宜降解条件, 比较了其降解特性. *Pseudomonas fluorescens* (FS1), *Pseudomonas aeruginosa* (FS2) 和 *Brevibacterium* sp. (FS3) 适宜酸度 (pH) 分别为 6.5~8.0、7.0~8.0 和 7.0~8.0, 温度为 20~35、15~35 和 15~35 °C. FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 降解反应符合一级动力学特征, 半寿期: FS1<FS2<FS3; FS1 是 1 株高效的 DEHP 降解菌.

关键词: 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP); 微生物; 生物降解; 降解动力学

中图分类号: X172 **文献标识码:** A

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^[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、土壤及生物体中^[2]. 由于生物降解是处理环境中邻苯二甲酸酯类污染物的重要过程^[3~8]; 因此, 为提高邻苯二甲酸酯类有机污染物的降解率, 目前对邻苯二甲酸酯类有机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. 从处理石化厂废水的活性污泥中分离出 1 株荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* (FS1), 及处理焦化厂废水的活性污泥中分离出 1 株铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa* (FS2) 和 1 株短杆菌 *Brevibacterium* sp. (FS3) 已对邻苯二甲酸二异丁酯生物降解性进行了研究^[9]. 本试验对邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP) 的最适降解条件及其降解特性进行了比较.

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金重点基金资助项目 (49632060); 广东省自然科学基金资助项目 (963043)

收稿日期: 1999-11-16; 作者简介: 柴素芬 (1964~), 女, 讲师; 通信联系人: 曾锋.

1 材料和方法

1.1 培养基

$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 1 g/L, NaCl 1 g/L, NH_4NO_3 0.5 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g/L, FeCl_3 0.01 g/L, pH 7, 121 °C 湿热灭菌 30 min. DEHP.

1.2 菌种

分别取处理石化厂废水的活性污泥、焦化厂废水的活性污泥于含 60 mg/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（2-乙基己基）酯各为 10 mg/L）的无机盐培养液中，30 °C 下振荡培养 7 d，逐步转接至 120、240、360 ~ 1 200 mg/L 邻苯二甲酸酯的无机盐培养液后，平板划线纯化，从处理石化厂废水的活性污泥获得 1 株荧光假单胞菌 FS1；从处理焦化厂废水的活性污泥获得 1 株铜绿假单胞菌 FS2 和 1 株短杆菌 FS3（菌种由中国科学院微生物研究所鉴定）。

1.3 生物降解试验

取菌株于 100 mL 活化富集培养基中（3 g/L 牛肉膏、5 g/L 蛋白胨、 NaCl 5 g/L、pH 7, 121 °C 湿热灭菌 30 min）振荡培养 12 ~ 24 h，离心分离（10 000 r/min）5 min，收集菌体，pH 7 0.02 mol/L 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液洗涤 3 次，用 0.02 mol/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液将菌体配成 pH 7 的菌悬液。

吸取 1 mL ρ 为 20% 的菌悬液于含 100 mg/L DEHP 的 50 mL 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

1.4.1 样品处理 于试样瓶中加入 20 mL 二氯甲烷，振荡萃取 10 min，收集有机相。水相再用 20 mL 二氯甲烷萃取 3 次，合并有机相，无水 Na_2SO_4 干燥，浓缩至 5 mL。用 HP6890 型气相色谱仪测定 DEHP 含量。

1.4.2 气相色谱仪条件 HP5 柱（30 m×320 μm ×0.25 μm ），柱温从 80 °C 以 35 °C/min 的速率升到 290 °C；FID 检测器，温度 300 °C；进样口温度 260 °C，进样量 1 μL 。

2 结果与讨论

2.1 FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 降解的适宜条件

按试验方法，分别以 FS1、FS2 和 FS3，测定在不同 pH 值、温度、菌种量、振荡速率等条件下，对 DEHP 降解的影响。FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 降解的适宜条件，见表 1。

表 1 FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 降解的适宜条件

Tab. 1 The optimum conditions for DEHP biodegradation by *Pseudomonas fluorescens* FS1, *Pseudomonas aeruginosa* FS2 and *Brevibacterium* sp. FS3

菌种	pH	θ /°C	菌种量/%	振荡速率/($\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$)
FS1	6.5~8.0	20~35	0.02~4.5	60~135
FS2	7.0~8.0	15~35	0.02~4.5	60~135
FS3	7.0~8.0	15~35	0.02~4.5	60~135

2.2 FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 降解反应的动力学分析

为了解 FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 降解反应的动力学性质, 试验在一定条件下, 考察了 FS1、FS2 和 FS3 对初始浓度为 12.5、25、50、100、150、200 mg/L DEHP 降解率, 结果见图 1.

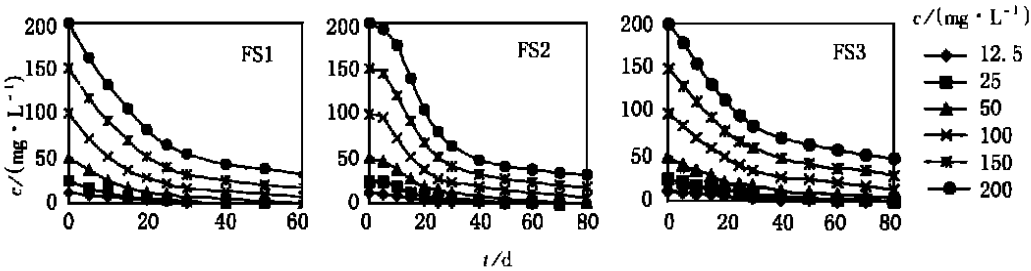


图 1 FS1、FS2 和 FS3 对不同浓度 DEHP 的降解(30 °C)

Fig.1 Biodegradation of different concentrations by FS1,FS2,FS3(30°C)

假设 FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 的生物降解遵循一级反应动力学方程, 即

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

式中, k 为 DEHP 降解速率的动力学常数, c 为 DEHP 浓度, t 为 DEHP 生物降解时间, A 为常数.

当 DEHP 的生物降解过程符合一级反应动力学模型时, 降解反应的半寿期为

$$t_{1/2} = \ln 2 / k$$

根据图 1 结果可得表 2 的动力学方程.

表 2 FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 生物降解反应动力学方程

Tab.2 Kinetic equations of DEHP biodegradation by FS1, FS2 and FS3

菌株	$c(\text{DEHP})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	动力学方程	$t_{1/2}/\text{d}$	r
FS1	12.5	$\ln c = -0.0723t + 2.53$	9.59	0.9658
	25	$\ln c = -0.0716t + 3.22$	9.68	0.9264
	50	$\ln c = -0.0698t + 3.91$	10.00	0.9715
	100	$\ln c = -0.0615t + 4.61$	11.26	0.9746
	150	$\ln c = -0.0501t + 5.01$	13.83	0.9385
	200	$\ln c = -0.0408t + 5.30$	16.99	0.9477
FS2	12.5	$\ln c = -0.0460t + 2.53$	15.07	0.9387
	25	$\ln c = -0.0460t + 3.22$	15.07	0.9516
	50	$\ln c = -0.0434t + 3.91$	15.97	0.9428
	100	$\ln c = -0.0400t + 4.61$	17.32	0.9283
	150	$\ln c = -0.0358t + 5.01$	19.35	0.9469
	200	$\ln c = -0.0312t + 5.30$	22.21	0.9614
FS3	12.5	$\ln c = -0.0361t + 2.53$	19.20	0.9536
	25	$\ln c = -0.0358t + 3.22$	19.35	0.9384
	50	$\ln c = -0.0340t + 3.91$	20.38	0.9457
	100	$\ln c = -0.0318t + 4.61$	21.79	0.9718
	150	$\ln c = -0.0304t + 5.01$	22.80	0.9369
	200	$\ln c = -0.0280t + 5.30$	24.75	0.9725

由表 2 可知,当 DEHP 初始浓度小于 100 mg/L 时,FS1、FS2 对 DEHP 的生物降解反应符合一级动力学特征,其动力学方程为:FS1, $\ln c = -0.0688t + A$; FS2, $\ln c = -0.0439t + A$. 半寿期 $t_{1/2}$ 分别为:FS1, $t_{1/2} = 10.07$ d; FS2, $t_{1/2} = 16.12$ d. 对于 FS3,当 DEHP 初始浓度小于 150 mg/L 时,其生物降解反应符合一级动力学特征,动力学方程为:FS3, $\ln c = -0.0336t + A$; 半寿期 $t_{1/2} = 20.63$ d. FS1、FS2 和 FS3 对 DEHP 生物降解反应半寿期 $t_{1/2}$: FS1 < FS2 < FS3. 荧光假单胞菌 FS1 对 DEHP 具有高效的降解作用.

参考文献:

- [1] 叶常明. 环境中的邻苯二甲酸酯[J]. 环境科学进展, 1993, 1(2): 36~47.
- [2] CHARLES A S, PETERSON D R, PARKERTON T F, et al. The environmental fate of phthalate esters: a literature review[J]. Chemosphere, 1997, 35(4): 667~749.
- [3] 曾锋, 傅家谟, 盛国英, 等. 邻苯二甲酸二甲酯的微生物降解研究[J]. 环境科学研究, 1999, 12(4): 12~14.
- [4] 曾锋, 傅家谟, 盛国英, 等. 邻苯二甲酸二丁酯的微生物降解[J]. 环境科学, 1999, 20(5): 49~51.
- [5] 陈英旭, 沈东升, 胡志强. 酞酸酯类有机毒物在土壤降解规律的研究[J]. 环境科学学报, 1997, 17(3): 340~345.
- [6] WANG J L, LIU P, SHI H C, et al. Biodegradation of phthalic acid ester in soil by indigenous and introduced microorganisms[J]. Chemosphere, 1997, 35(8): 1747~1754.
- [7] IRVINE R L, EARLEY J P, KEHRBERGER G J, et al. Bioremediation of soils contaminated with bis-(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP) in a soil sludge-sequencing batch reactor[J]. Environ Prog, 1993, 12(1): 39~44.
- [8] CHAURET G, INISS W E, MAYFIELD C L. Biotransformation at 10°C of di-*n*-butyl phthalate in subsurface microcosms[J]. Ground Water, 1996, 34(5): 791~794.
- [9] 曾锋, 傅家谟, 盛国英, 等. 不同菌源的微生物对邻苯二甲酸二异丁酯生物降解性的比较[J]. 中国环境科学, 1999, 19(4): 322~324.

Study of Biodegradability of Di(2-Ethylhexyl) Phthalate

CHAI Su-fen^{*}, ZENG Feng, FU Jia-mo, SHENG Guo-ying, YANG Hui-fang

Abstract: The microbial degradation characteristics of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) was investigated by strains *Pseudomonas fluorescens* FS1, *Pseudomonas aeruginosa* FS2 and *Brevibacterium* sp. FS3 that were isolated from the activated sludge at a petrochemical factory (FS1) and a pyrochemical factory (FS2 and FS3), respectively. The optimum pH values of FS1, FS2 and FS3 for degrading of DEHP are 6.5~8.0, 7.0~8.0 and 7.0~8.0, the temperatures are 20~35, 15~35 and 15~35 °C, respectively. The degradation of DEHP by FS1 and FS3 can be described by the first-order reaction model. Primary biodegradation half-lives of DEHP are FS1 < FS2 < FS3. The experimental results demonstrated that the strain FS1 has strong ability to degrade DEHP.

Keywords: biodegradation; degradation kinetics; microorganism; di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)

^{*} Department of Biology, Huizhou University, Guangdong, Huizhou 516015, China