

皮氏伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia pickettii*) 降解喹啉动力学的研究

韩力平, 王建龙, 施汉昌, 钱 易 (清华大学环境科学与工程系, 环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 通过控制微生物培养条件, 分离得到一株能够在好氧条件下利用喹啉作为唯一碳源、氮源和能源的革兰氏阴性菌——皮氏伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia pickettii*)。研究了在不同喹啉初始浓度条件下该菌降解喹啉的过程。结果表明该菌可以很快地降解喹啉。喹啉浓度为 100 和 200 mg/L 时, 完全降解只需 1 h 和 2 h。500 mg/L 的喹啉可以在 7 h 内完全降解。通过动力学数据分析, 认为该菌对喹啉的生物降解符合抑制动力学 Haldane 方程。利用 GC-MS 技术分析了喹啉降解过程, 其主要的中间产物为 2-羟基喹啉。

关键词: 喹啉; 生物降解; 动力学; GC-MS 分析

Kinetic studies of quinoline biodegradation by *Burkholderia pickettii*

HAN Liping, WANG Jianlong, SHI Hanchang, QIAN Yi (State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract: *Burkholderia pickettii*, which can use quinoline as the sole carbon, nitrogen and energy sources, was isolated from the aeration tank of A²/O process for coke-plant wastewater treatment. It is a gram negative rod-shaped aerobe. The results of quinoline biodegradation tests suggested that biodegradation of quinoline can be described by Haldane equation kinetically. GC-MS analysis showed that the main metabolite of quinoline biodegradation is 2-hydroxy-quinoline.

Key words: quinoline; biodegradation; kinetics; GC-MS analysis

喹啉是一种常见的芳香族有机化合物, 在工业生产中用途很广。它进入环境后会对动植物生长发育产生不良影响, 对人也有三致作用^[1]。由于它的水溶性较好, 在自然界中分布极广。因此, 喹啉的生物降解越来越得到人们的重视^[2]。目前已经有学者分离得到一些能够利用喹啉生长的微生物, 包括细菌、霉菌等, 并研究了在不同环境条件下 (包括厌氧、好氧等) 喹啉的生物降解过程^[3, 4]。本文通过富集培养筛选得到喹啉降解菌, 并研究喹啉的降解过程。采用 GC-MS 方法检测喹啉降解的中间产物。

1 材料与方 法

1.1 菌种的富集、纯化和鉴定

取一定量的本实验室正常运行的 A²/O 复合生物反应器的好氧段污泥, 加入用无机盐溶液配成一定浓度的富集培养液和一定量的喹啉, 使喹啉浓度为 100 mg/L。富集培养液经过 3 次转移 (大约共培养 2 周左右) 后, 用含喹啉的无机盐琼脂培养基进行细菌的分离、纯化。将得

收稿日期: 2000-04-15; 修订日期: 2000-06-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (批准号: 29637010)

作者简介: 韩力平 (1972—), 男, 讲师 (博士研究生)

到的纯菌移入斜面培养基中保存,待用.

细菌的鉴定采用美国 Biolog 微生物自动鉴定系统.

1.2 喹啉降解试验

将少量菌体移入营养肉汤培养基中放大培养,5 天后离心收集菌体.在 5 个不同喹啉初始浓度条件下,进行降解试验,每隔一定时间取样,离心后测上清液中喹啉浓度.

1.3 分析方法

喹啉的浓度分析采用高压液相色谱法.设备型号为 HP 5050.色谱柱为 HP 公司 Zorbax C¹⁸反相柱,流动相为甲醇 水 = 60 40(V/V),流速 1 mL/min,测定波长为 275 nm.

取喹啉降解过程中不同时间的样品进行 GC-MS 分析. GC 采用 HP5M-S 型色谱柱,设备型号为 HP5890/5972 型.

2 结果与讨论

2.1 喹啉降解菌及其特点

通过富集培养,分离得到了一株能够利用喹啉作为唯一碳源、氮源和能源的革兰氏阴性菌,菌落形态表现为表面光滑、平整、圆形、乳黄色.利用 Biolog 系统鉴定该菌为皮氏伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia pickettii*).电镜照片显示该菌呈杆状,长度约为 4.6 μm .

2.2 喹啉降解动力学

该菌放大培养后分别降解初始浓度为 50、100、200、500 和 750 mg/L 的喹啉,不同浓度的喹啉降解曲线见图 1.

在喹啉初始浓度不高的条件下,该菌可以很快将喹啉完全降解,不存在延滞期.例如,该菌完全降解 100 及 200 mg/L 喹啉分别只需 1 及 2 h. 500 mg/L 的喹啉在 7h 内可以完全降解.这与已有的报道比较,是相当快的.

将不同浓度的喹啉降解初速度,即比基质去除速率与喹啉浓度作图,见图 2. 由图 2 可见,当喹啉浓度较低时,比基质去除速率随喹啉的浓度升高而增大,但当达到某一值后(200 mg/L 左右),比基质去除速率开始下降.这时喹啉的存在对该菌的降解活性有一定的抑制作用.这一过程可以用抑制动力学 Haldane 方程来描述:

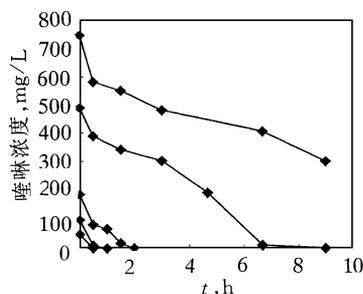


图 1 喹啉的生物降解

Fig. 1 Biodegradation of quinoline

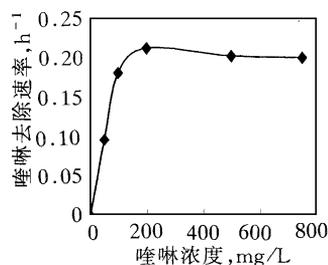


图 2 喹啉生物降解动力学

Fig. 2 Kinetics of quinoline biodegradation

$$v = \frac{v_{\max}}{1 + \frac{K_S}{S} + \frac{S}{K_i}}$$

式中: v 为比基质去除速率(h^{-1}); S 为喹啉浓度(mg/L); K_S 为饱和常数(mg/L); K_i 为抑制常数(mg/L); v_{\max} 为最大比基质去除速率(h^{-1}).

通过计算可得: $v_{\max} = 0.4395 \text{ h}^{-1}$; $K_S = 166.7 \text{ mg/L}$; $K_i = 650 \text{ mg/L}$.

因此喹啉降解动力学方程可以用下式来表示:

$$v = \frac{0.4395}{1 + \frac{166.7}{S} + \frac{S}{650}}$$

2.3 喹啉降解过程 GC-MS 分析

分析喹啉降解过程的 HPLC 图谱可知,皮氏伯克霍尔德氏菌降解喹啉的过程中产生一种主要的中间产物,见图 3. 图中停留时间为 5.94 min 的出峰物质为喹啉,停留时间为 3.96 min 的出峰物质是喹啉降解过程中的主要中间产物. 通过 GC-MS 分析可知,这一喹啉降解过程中的主要中间产物为 2-羟基喹啉. 在喹啉开始降解时,即有 2-羟基喹啉积累,喹啉降解完成仍有一部分 2-羟基喹啉未完全转化,需一定时间分解为最终产物.

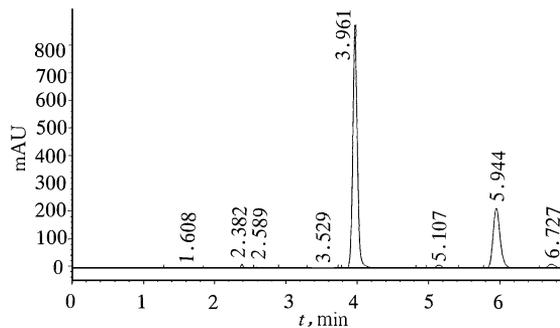


图 3 喹啉降解过程的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC analysis of quinoline biodegradation

3 结论

通过富集培养分离得到一株能够利用喹啉作为唯一碳源、氮源和能源的好氧菌-皮氏伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia pickettii*). 该菌可以很快地降解喹啉. 喹啉降解的动力学可以用 Haldane 方程来描述. 通过 GC-MS 分析可知喹啉降解过程中的主要中间产物为 2-羟基喹啉.

参考文献:

- [1] Shukla O P. Microbiological degradation of quinoline by *Pseudomonas stutzeri*: the coumarin pathway of quinoline catabolism [J]. Microbios, 1989, 59(1): 47—63
- [2] Miethling R, et al. Microbial degradation of quinoline: kinetic studies with *Comamonas acidovorans* DSM 6426 [J]. Biotechnol Bioeng, 1993, 42(5): 589—595
- [3] Aislabie J A, et al. Microbial degradation of quinoline and methylquinolines [J]. Appl Environ Microbiol, 1990, 56(2): 345—351
- [4] Brockman F J, et al. Isolation and characterization of quinoline-degrading bacteria from subsurface sediments [J]. Appl Environ Microbiol, 1989, 55(4): 1029—1032