

白腐真菌生物降解五氯苯酚的动力学研究

黄俊, 余刚, 成捷, 刘莉, 郑叶青

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要: 采用室内培养方法, 研究了白腐真菌的典型菌种——黄孢原毛平革菌对典型浓度的五氯苯酚 (PCP) 溶液的好氧生物降解。结果表明, 在常温条件下, 经过 6 d 时间, 初始浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PCP 接近完全降解, 效果非常显著。对实验所获得的时间序列数据进行动力学分析, 发现黄孢原毛平革菌对 PCP 的生物降解反应遵循准一级动力学。

关键词: 五氯苯酚; 白腐真菌; 生物降解

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2004)01-0167-03

Kinetic Analysis for Biodegradation Process of Pentachlorophenol in the Presence of White Rot Fungus

HUANG Jun, YU Gang, CHENG Jie, LIU Li, ZHENG Ye-qing

(Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: Biodegradation of pentachlorophenol (PCP) in the presence of white rot fungi was studied in this paper. The result showed a significant decrease of PCP concentration after a period of six days. By contrasting different incubation condition in which the degradation takes place, we analyzed the effects of temperature and vibration, respectively. From the kinetic standpoint, the results proved that the biodegradation process of PCP in the presence of the white rot fungi fits the pseudo first order equation very well.

Keywords: pentachlorophenol; white rot fungi; biodegradation

五氯苯酚 (pentachlorophenol, 缩写为 PCP) 自 20 世纪 30 年代以来在全世界范围内被广泛用作果树杀虫剂、木材防腐剂以及杀真菌剂, 具有很好的效果。但是近年来研究发现, PCP 具有很强的“三致”(致癌、致畸、致突变)效应^[1], 并且能够在生物体中累积富集, 同时在环境中能够存留相当长的时间。因此, PCP 已被美国国家环保局 (USEPA) 列为优先污染物, 并被北美和加拿大列入地区控制的持久性有机污染物黑名单中^[2]。基于上述原因, 近年来发达国家 PCP 的生产量和使用量都大幅削减。目前我国已成为目前世界上最大的 PCP 生产和消费国, 年产 PCP 及其钠盐达 10 万 t, 占全球总产量的 1/5, 主要是用作血吸虫病防治区灭钉螺药^[3]。

当 PCP 作为灭钉螺剂被广泛地洒入河流、湖泊和田间后, 一方面达到了灭螺防病的目的, 另一方面却由于其在环境中具有一定的持久性和生物累积性,

残留的 PCP 极易通过各种途径而进入生物体, 对包括人类在内的生物体产生危害。因此, 如何有效而经济地降解环境中残留的 PCP 成为一个众多研究者感兴趣的研究课题, 其中生物修复方法受到了广泛的关注^[4]。但是许多研究发现, 尽管 PCP 可以在好氧或厌氧条件下发生一定程度的降解, 其速度和矿化程度通常都很不理想^[5], 其重要的原因就在于 PCP 本身所具有的毒性以及其高氯取代的分子结构的稳定性。

自 1984 年美国犹他大学 Aust S. D. 教授领导的研究组在《Science》上发表关于白腐真菌降解持久性环境污染物以来^[6], 白腐真菌技术就成为一个环境研究的热点。研究表明, 白腐真菌能够有效地降解其它微生物难以处理的许多有机污染物, 包括多氯联苯 (PCBs)^[7]、多环芳烃 (PAHs)^[8]、农药^[9]及炸药^[10]等。已有研究者进行了白腐真菌对 PCP 的降解试验^[11], 但采用的思路是以 30 d 作为试验周期来看最终的降解效果, 而未涉及对降解动力学的考察以及降解时间的优化, 而这对于技术的工程可行性是至关重要的。

1 实验部分

1.1 微生物及其培养

收稿日期: 2003-01-19

基金项目: 国家重点基础研究专项经费资助 (G1999045711), 清华大学博士创新基金资助项目 (092407058)

作者简介: 黄俊 (1976—), 男, 博士研究生, 研究方向为持久性有机污染物控制技术。

本研究采用的白腐真菌为其典型菌种——黄孢原平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*),购自中国科学院微生物所菌种保藏中心。采用 PDA(土豆 - 葡萄糖 - 琼脂) 固体培养基进行平板扩增,于 SPX - 150B 生化培养箱(上海跃进医疗器械厂) 中于 30 ℃ 下培养 1 周后备用。

1.2 五氯苯酚的分析方法

五氯苯酚的含量通过高压液相色谱方法测定,采用标准曲线法按峰面积进行定量,具体的色谱条件如下:

(1) 色谱仪: SHIMADZU 10A 液相色谱仪(日本岛津公司)。

(2) 流动相: 甲醇(HPLC 级, 天津四友试剂公司) 与 pH = 2.0 的磷酸盐缓冲溶液按体积比 80: 20 混合配制而成。

(3) 流速: 1.0 mL · min⁻¹。

(4) 色谱数据处理: CS2010 型色谱数据工作站(北京汇博精瑞科技有限公司)。

1.3 白腐真菌降解 PCP 实验方法

采用摇瓶试验方法,取 4 个 150 mL 锥形瓶,各加入 150 mL 浓度为 25 mg · L⁻¹ 的 PCP 溶液,编号依次为 0 ~ 3 号,其中 0 号为不加菌,作为对照; 1 ~ 3 号: 均按 3 g · L⁻¹ 的比例投加白腐真菌。然后将 0 号和 1 号放入 SPX - 150B 生化培养箱中于 30 ℃ 下静置培养, 2 号和 3 号放入 Z - 2DH 恒温振荡培养箱(北京沃德创意技贸有限公司) 中振荡培养, 转速设定为 160 r · min⁻¹。在同一恒温摇床中将 3 号样置于加热单元进气口旁, 因此其温度会比 2 号样略高, 以便定性地考察温度对降解效果的影响。每隔 12 h 取样 1 次, 用 HPLC 测定 PCP 的含量。

2 结果与讨论

2.1 白腐真菌降解 PCP 的时间序列

按 1.3 中进行生物降解试验, 所得到的 PCP 降解的时间序列列于表 1 中。

根据表 1 中的数据绘制 PCP 浓度随时间变化曲线, 如图 1 所示。由上面的数据和曲线可以看出:

(1) 如图 1 中 L0 曲线所示, PCP 在无菌的条件下能够稳定存在, 不会发生降解。

(2) 白腐真菌对 PCP 具有很好的降解能力, 6 d 实验周期内 PCP 浓度由初始 25 mg · L⁻¹ 降至接近 0 的水平(1 号样的 PCP 降解率大于 96%, 而 2 号和 3 号样 PCP 降解率大于 98%)。

表 1 生物降解 PCP 的时间序列

Table 1 Biodegradation of PCP in the presence of white rot fungi added various different amounts				
时间 /h	0 号浓度 /mg · L ⁻¹	1 号浓度 /mg · L ⁻¹	2 号浓度 /mg · L ⁻¹	3 号浓度 /mg · L ⁻¹
0	25	25	25	25
12	24.8	13.7	5.0	2.5
24	24.8	12.0	3.4	2.4
36	25.4	6.4	0.9	0.6
60	25.1	3.6	0.4	0.4
72	24.5	3.3	0.4	0.6
84	24.7	1.9	0.3	0.4
96	23.7	2.1	0.5	0.4
108	24.5	2.1	0.5	0.4
120	25.8	1.2	0.5	0.3
132	24.5	0.7	0.4	0.3
144	24.6	1.1	0.3	0.3

注: 测定所采用的标准曲线为 $A = -9\,919.43 + 11\,306.98 C$ 相关系数为 $r = 0.999\,7$ 式中 A 为峰面积 ($\mu V \cdot ms$), 而 C 为浓度 ($mg \cdot L^{-1}$)。

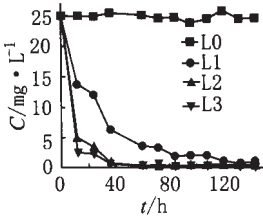


图 1 白腐真菌降解 PCP 的时间序列

Figure 1 Biodegradation of PCP in the presence of white rot fungi at different temperatures

(3) 比较图 1 中 L1 和 L2、L3 的降解曲线可知, 摇床培养相比于静培养而言, 具有更好的降解效果, 并且降解速度更快。推测其原因是由于振荡条件下, 白腐真菌在营养限制条件下能够产生更多的酶, 并且更容易分散到体系中与 PCP 发生反应。

(4) 比较图 1 中 L2 和 L3 的降解曲线可知, 温度对于降解效果有一定影响, 温度略高的 3 号比 2 号在降解的开始阶段(第一数据点) 的效果要好一些, 但是经过 36 h 后, 这种差异逐渐减小。考虑到工程的实用性, 有理由认为尽管白腐真菌的最适宜生长温度为 39 ℃, 但是考虑到实际的环境条件, 目前实验所采用的 30 ℃ 是较为合适的。

2.2 PCP 生物降解过程的动力学研究

在前面的研究中我们发现^[12], 白腐真菌降解三硝基甲苯(TNT)的过程遵循的是一级动力学。在此, 我们按照前面所建立的思路对白腐真菌降解 PCP 的过程进行类似的动力学分析, 以验证其是否亦符合一

级动力学。

对于一级动力学反应

$$A \xrightarrow{k} B$$
$$t = 0 : \quad C_0 \qquad 0$$
$$t = t : \quad C \qquad C_0 - C$$
$$\text{有} \frac{dC}{dt} = -kC \tag{1}$$

$$\text{两边积分有} \ln \frac{C_0}{C} = kt \tag{2}$$

式中： k 为反应常数。

从公式(2)可以看出,如果白腐真菌对 PCP 的生物降解过程遵循一级动力学的话,那么降解前后 PCP 的含量比的对数值 $\ln(C_0/C)$ 一定会与降解时间 t 之间存在线性相关。

以 1 号试样的数据进行处理,计算各时间点对应的降解前后 PCP 浓度比的对数值,如表 2 所示。

由于后面 PCP 浓度过低,降解已进入终止平台,因此只需取表 2 中前 11 个点作 $\ln(C_0/C) \sim t$ 的线性回归,得到回归方程如下:

$$\ln \frac{C_0}{C} = 0.2622 + 0.02396 \cdot t, \quad r = 0.9797 \tag{3}$$

表 2 各时间点对应的 $\ln(C_0/C)$

Table 2 Change of the concentration of PCP at different times against initial concentration

时间/h	0	12	24	36	60	72	84	96	108	120	132	144
$\ln(C_0/C)$	0	0.593	0.726	1.378	1.942	2.055	2.565	2.424	2.457	3.068	3.555	3.107

同法处理 2 号、3 号试样的时间序列,考虑到 2 号、3 号的降解速度较快,在第 5 个时间点已进入终止平台,故只需取前 5 点进行回归分析,回归方程分别如下:

对于 2 号:

$$\ln \frac{C_0}{C} = 0.4329 + 0.06724 \cdot t, \quad r = 0.9671 \tag{4}$$

对于 3 号:

$$\ln \frac{C_0}{C} = 0.85 + 0.064 \cdot t, \quad r = 0.9092 \tag{5}$$

由回归方程(3)~(5)可以看出,相关系数均在 0.9 以上,由此可知 $\ln(C_0/C) \sim t$ 之间存在较好的线性关系,这清楚地表明白腐真菌降解 PCP 的过程的确符合一级动力学。但是 PCP 生物降解过程所得的动力学与理想的一级动力学情况即方程(2)并不完全吻合,回归直线并不通过原点,而是在纵轴上有一截距,因此是假一级动力反应。这主要是由于实验的误差以及白腐真菌的降解存在一个启动过程所造成的。

3 结论

(1)通过实验证明了白腐真菌的典型菌种——黄孢原毛平革菌可以成功地降解 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度的 PCP 水溶液,经过 6 d 其降解率达 98%,接近完全。

(2)振荡条件有利于白腐真菌对 PCP 的降解,其原因在于该条件下胞外酶能够更容易地扩散,从而与底物更充分地接触。

(3)动力学研究表明白腐真菌降解 PCP 遵循假

一级动力学模型。

参考文献:

[1] U. S. Department of Health and Human Services. Public Health Service, Agency for Toxics Substance and Disease Registry. Toxicological profile for pentachlorophenol. Atlanta, Georgia. August 1999. 13 – 82.

[2] 余刚,黄俊,张彭义. 持久性有机污染物:备受关注的全球性环境问题[J]. 环境保护, 2001, (4): 37 – 39.

[3] 黄俊,余刚,钱易. 我国的持久性有机污染物(POPs)问题与研究对策[J]. 环境保护, 2001, (11): 3 – 6.

[4] 沈德中. 污染环境的生物修复[M]. 北京:化学工业出版社, 2002. 295 – 310.

[5] Sammaiah P, Robert P C. Reactor development for biodegradation of pentachlorophenol[J]. *Catalysis Today*, 1998, 40: 103 – 111.

[6] Bumpus J A, Tien M, Wright D, Aust S D. Oxidation of persistent environmental pollutants by white rot fungus[J]. *Science*, 1985, 228: 1434 – 1436.

[7] Yadav J S, et al. Degradation of polychlorinated biphenyl mixtures (Aroclors 1242, 1254, and 1260) by the white rot fungus Phanerochaete chrysosporium as evidenced by congener – specific analysis[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, 61: 2560 – 2565.

[8] Aust S D, Bumpus J A. Process for the degradation of coal tar and its constituents by white rot fungi. U. S. Patent 5597730. Jan. 1987.

[9] Mougin C, et al., Biotransformation of the insecticide lindane by the white rot basidiomycete Phanerochaete chrysosporium[J]. *Pestic Sci*, 1996, 47: 51 – 5.

[10] Sublette K L, Ganapthy E V. Degradation of munition wastes by phanerochaete chrysosporium[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 1992, (34 – 35): 709 – 723.

[11] 李慧蓉,陈建海. 黄孢原毛平革菌对五氯苯酚生物降解研究[J]. 江苏石油化工学院学报, 1999, 11(2): 24 – 27.

[12] 黄俊,周申范. 白腐真菌生物降解 TNT 装药废水的研究[J]. 环境科学与技术, 1999, (3): 17 – 19.