

金属离子对多环芳烃酶促降解的影响作用

吴蔓莉¹, 聂麦茜¹, 王晓昌¹, 郭 鹏², 杨刚柱¹

(1.西安建筑科技大学环境与市政工程学院 陕西 西安 710055; 2.陕西省环境监测中心站 陕西 西安 710055)

摘 要: 采用超声波细胞破碎仪破碎获得胞内酶、紫外分光光度法测定多环芳烃含量的方法研究了黄杆菌 FCN2 产生的胞内酶对多环芳烃蒽、菲、芘的酶促降解作用并对影响酶促降解的主要条件(pH、温度、金属离子的激活作用) 进行了优化。研究表明:(1) 对影响多环芳烃酶促降解的条件进行了优化。当 pH 为 6、温度为 32 时, 胞内酶粗酶液对多环芳烃蒽、菲、芘的降解效果最好。(2) 在 pH 为 6、最佳温度为 32 时, 研究了 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 6 种金属离子对胞内酶粗酶液降解活性的影响作用。研究表明, Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 两种金属离子对蒽、菲、芘的酶促降解都可起到激活作用。 Ca^{2+} 对胞内酶酶促降解不同底物的激活作用最为明显; 当向体系中加入的 Ca^{2+} 为 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 蒽、菲、芘的去除率可分别提高为不加金属离子时的 1.34 倍、1.59 倍、1.84 倍。(3) 通过测定米氏常数发现, 当不加金属离子时, 以蒽、菲、芘为底物时粗酶液的米氏常数分别为 2.69×10^{-4} 、 4.28×10^{-4} 、 $3.56 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 加入 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$ 时的米氏常数分别为 1.54×10^{-4} 、 3.58×10^{-4} 、 $2.46 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 说明金属离子的加入增大了粗酶液与底物的亲和力, 因此使得加入金属离子时蒽、菲、芘的去除率显著提高。

关键词: 黄杆菌属 FCN2; 胞内酶; 酶促降解; 多环芳烃

中图分类号: X172

文献标识码: A

文章编号: 1000-3770(2008)08-013-04

微生物降解多环芳烃(PAHs)是环境中污染物去除的主要途径^[1]。近年来对污染物微生物降解的研究已从寻找降解多环芳烃的优良菌株的研究转移到微生物降解多环芳烃机理的研究^[2-3]及提高多环芳烃生物降解转化率的研究上^[4-5]。微生物对多环芳烃的降解,其实质是依靠其产生的酶的氧化作用完成的。据文献报道,活体微生物及微生物产生的胞外或胞内酶都可有效地去除多环芳烃^[6-7]。目前多环芳烃生物降解存在的主要问题是多环芳烃的转化速率慢且转化率较低。因此,如何加快多环芳烃的转化速率并提高多环芳烃的去除效率,成为利用生物法去除多环芳烃亟需解决的问题之一。

课题组在前期研究工作中,经分离筛选出可降解多环芳烃蒽、菲、芘的黄杆菌属 FCN2,并对其生物降解特性进行了深入的研究^[8]。通过进一步的研究发现,在 FCN2 降解多环芳烃的过程中,起主要作用的是胞内酶^[9]。本文进一步研究了影响多环芳烃酶促降解

的主要因素,得出了酶促降解多环芳烃蒽、菲、芘的最佳 pH 和最适温度。并在最佳 pH 和最适温度条件下,研究了不同金属离子对多环芳烃的酶促降解的影响作用,找出了一种酶促降解多环芳烃的最佳金属离子激活剂。

1 材料和方法

1.1 试验材料

黄杆菌 FCN2:以焦化厂废水排水沟底泥为优良菌源,通过驯化筛选而得。

磷酸盐缓冲液: $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 21.75g, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 33.4g, KH_2PO_4 8.7g, NH_4Cl 5.0g, 蒸馏水 1000mL。

FCN2 菌悬液:将保存在斜面上的菌株接种于经高压水蒸汽灭菌的普通牛肉膏培养基上,32 好氧培养 48h,室温下 $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心分离菌体 30 min,以磷酸盐缓冲液洗涤菌体 3 次,收获菌

收稿日期:2008-05-08

基金项目:陕西省自然科学基金(2006 Z04),陕西省教育厅专项科研计划(07JK298)

作者简介:吴蔓莉(1974-),女,讲师,博士研究生,主要从事陌生性环境有机污染物的微生物降解研究工作

联系电话:13060375894, E-mail: wumanli@xauat.edu.cn

联系作者:聂麦茜,联系电话:029-82202554, E-mail: niemaiqian@xauat.edu.cn

体,用同一缓冲液制成菌悬液,并将菌悬液浓度调至光密度 $OD=0.420$ (620 nm 处测定),备用。

胞内酶的提取^[9]:将 20mL 光密度 $OD=0.420$ (620 nm 处测定)的 FCN2 菌悬液,置于 0 的冰-水混合水浴中,用 JY88-II 型超声波细胞破碎机间歇处理 20 次,每次 2 min。破碎功率为 450 W。 $10000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心分离 20 min,除去细胞壁碎片,上清液为胞内酶粗酶液。

1.2 试验方法

pH 值对蒽、菲、芘的酶促降解影响试验方法:取系列反应瓶,分别加入 18.9 mL 蒸馏水 $5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蒽(或菲、芘)的丙酮溶液 0.10 mL,曝气 30 min 除去丙酮,用 NaOH 和 HCl 依次调节溶液的 pH 值分别为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0。向每个瓶中各加入 1.0 mL 胞内粗酶液,在温度为 32 的条件下,反应 30 min 后取出,加 1 mL 浓 HCl 终止反应,将所取样品用环己烷萃取 3 次,合并萃取液并定容至 10.0 mL,以不加多环芳烃的粗酶水溶液的环己烷萃取液为参比,分别在 254、252、242 nm 处测定蒽、菲、芘的吸光度,用标准曲线校正,并计算多环芳烃的浓度。同时设不加酶的对照组。每个体系进行 3 个平行试验。

温度对蒽、菲、芘的酶促降解的影响试验:在 pH 为 6 的条件下,向系列反应瓶中各加入 18.9 mL 蒸馏水 $5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蒽(菲、芘)的丙酮液 0.10 mL,使反应瓶中蒽(菲、芘)的初始浓度为 $25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,曝气 30 min 去除丙酮后,向每个瓶中各加入 1.0 mL 胞内粗酶液,分别测定在不同反应温度 18、30、35、40、50 下,蒽、(菲、芘)的浓度(萃取及测定方法同上)。同时设不加酶的对照组。每种体系进行 3 个平行试验。

不同金属离子对蒽、菲、芘的酶促降解的影响试验:在 pH 为 6、温度为 32 的条件下,向系列反应瓶各加入 18.9 mL 蒸馏水 $5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蒽、菲、芘的丙酮液 0.10 mL,曝气 30 min 去除丙酮后,向每个瓶中加入不同种类、不同浓度的金属离子(分别研究 Cu^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 6 种金属离子的影响作用),再向每个瓶中各加入 1 mL 胞内酶粗酶液,反应 30 min 后,测定未转化的 PAHs 并计算 PAHs 的去除率(萃取及测定方法同上)。每个体系进行 3 个平行试验,同时设不加酶的对照组。

胞内粗提酶的米氏常数测定试验方法^[14]:分别取 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00 mL 的 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 蒽(或菲、芘)的丙酮溶液于 10 mL 比色管中,曝气 30 min 后,各管中分别加入 1.0 mL 胞内粗酶液,用水

稀释至 10.0 mL,在 pH 为 6、温度 32 的条件下,水浴中好氧反应 10 min,加 1 mL 浓 HCl 终止反应,测定反应瓶中蒽、菲、芘的浓度。根据测定结果计算米氏常数;另取相同的降解体系,各管中分别加入 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$,测定加入 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Ca}^{2+}$ 的米氏常数。每个体系进行 3 个平行试验。

2 试验结果

2.1 pH 值对蒽、菲、芘的酶促降解影响

pH 值对蒽、菲、芘的酶促降解影响结果如图 1 所示。胞内酶降解蒽、菲、芘的最适 pH 值为 6,在 pH 5.0~7.0 之间对蒽、菲、芘的好氧降解活性最高。在 pH 值为 6 的条件下,相同初始浓度的胞内酶对蒽、菲、芘的去除率分别为 65.36%、34.64%、46.12%。

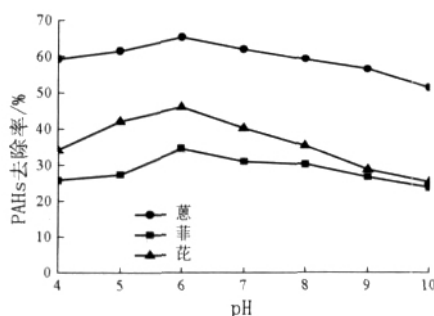


图1 pH对多环芳烃酶促降解的影响

Fig.1 Effect of pH on enzymatic degradation of PAHs

2.2 温度对蒽、菲、芘的酶促降解影响

温度对蒽、菲、芘的酶促降解实验结果如图 2 所示。酶促反应最适温度为 32,在 30~35 之间胞内酶保持较高的降解活性。相同条件下,蒽、菲、芘的初始浓度相同时,相同浓度的胞内酶对蒽、菲、芘的降解转化率的关系为:蒽 > 芘 > 菲(不加酶的对照组中,蒽、菲、芘的回收率分别为 92.4%、94.0%、90.4%)。

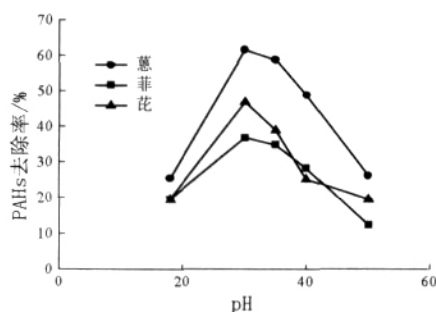


图2 温度对多环芳烃酶促降解的影响

Fig.2 Effect of temperature on enzymatic degradation of PAHs

2.3 不同金属离子对蒽、菲、芘的酶促降解影响

6 种不同金属离子对蒽的酶促降解影响试验结

果如图 3 所示。试验结果表明: Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 对蒽的酶促降解有促进作用, 其最佳浓度分别为 0.5、0.05、0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 的最佳浓度下, 蒽的去除率分别为 81.32%、68.27%、67.91%。相应的不加金属离子时蒽的去除率分为 62.33%、63.65%、60.92%。即在加入 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 3 种金属离子的最佳浓度条件下, 蒽的去除率分别为不加金属离子降解时的 1.30 倍、1.07 倍和 1.11 倍。 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 3 种金属离子对蒽的酶促降解作用影响不大。(在不加酶的对照试验中, 蒽的回收率为 95.4%, 因此可确定蒽的减少是由于降解酶的作用引起的。)

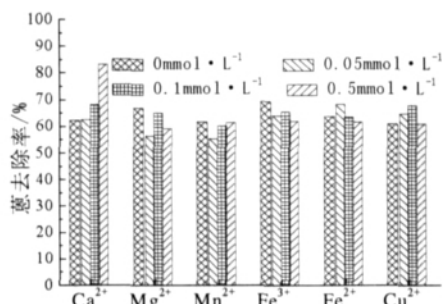


图 3 不同金属离子对蒽酶促降解的影响

Fig.3 Effect of various metals on enzymatic degradation of anthracene

6 种不同金属离子对菲的酶促降解影响试验结果如图 4 所示。 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 4 种金属离子可以促进菲的酶促降解, 其最佳浓度分别为 0.5、0.1、0.1、0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 的最佳浓度下, 菲的去除率分别为 54.90%、43.38%、48.51%、43.01%。相应的不加金属离子时菲的去除率分为 34.34%、34.12%、34.67%、34.54%。在 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 最佳浓度下, 菲的去除率分别为不加金属离子降解时的 1.60 倍、1.27 倍、1.40 倍、1.25 倍。 Mg^{2+} 、 Fe^{2+} 两种金属离子对菲的酶促降解有弱抑制作用。(在不加酶的对照试验中, 菲的回收率为 91.23%, 因此可确定菲的减少是由于降解酶的作用引起的。)

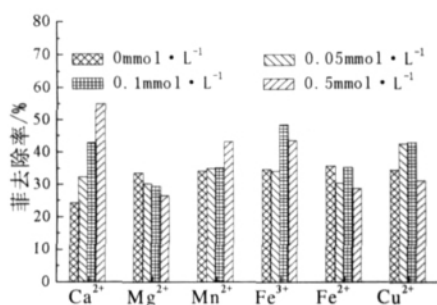


图 4 不同金属离子对菲酶促降解的影响

Fig.4 Effect of various metals on enzymatic degradation of phenanthrene

6 种不同金属离子对芘的酶促降解影响试验结果如图 5 所示。对芘的酶促降解有促进作用的金属离子包括 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 5 种金属离子。其最佳激活浓度分别为 0.5、0.1、0.1、0.1、0.1 mmol/L 。在 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 的最佳浓度下, 芘的去除率分别为 87.23%、85.16%、66.26%、69.29%、52.83%。相应的不加金属离子时芘的去除率分别为 47.17%、50.72%、45.98%、49.02%、46.48%。在 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Cu^{2+} 的最佳浓度下, 芘的去除率分别为不加金属离子降解时的 1.85 倍、1.68 倍、1.44 倍、1.41 倍、1.14 倍; Fe^{2+} 对芘的酶促降解有抑制作用。(在不加酶的对照试验中, 芘的回收率为 96.8%, 因此可确定芘的减少是由于降解酶的作用引起的。)

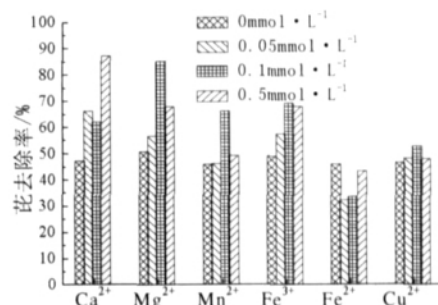


图 5 不同金属离子对芘酶促降解的影响

Fig.5 Effect of various metals on enzymatic degradation of pyrene

6 种金属离子中, Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 对 3 种结构不同的多环芳烃蒽、菲、芘的酶促降解均有较强的促进作用。当酶促降解蒽、菲、芘的体系中加入 0.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 时, 蒽、菲、芘的去除率分别增大为不加金属离子降解时的 1.34 倍、1.59 倍、1.85 倍; 当降解体系中加入 0.1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cu^{2+} 时, 蒽、菲、芘的去除率分别增大为不加金属离子降解时的 1.11 倍、1.25 倍、1.14 倍。

2.4 胞内粗提酶的米氏常数和最大反应速率

根据方程 $v = -K_m v / [S] + v_{\text{max}}$ (将米氏方程两边分别乘以 $K_m + [S]/[S]$ 即得到该方程; 式中 v 为反应速率, K_m 为米氏常数, $[S]$ 为底物浓度, v_{max} 为最大反应速率) 做 Eadie-Hoffstee 图^[10]。结果列于表 1。

在未加入金属离子的酶促降解体系中, 底物为蒽、菲、芘时胞内粗提酶的米氏常数值大小分别是 2.69×10^{-4} 、 4.28×10^{-4} 、 $3.56 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 当向酶促降解体系中均加入 0.5 mmol/L Ca^{2+} 时, 各体系的米氏常数值都有所降低: 相应的底物为蒽、菲、芘时的米氏常数值变为 1.54×10^{-4} 、 3.58×10^{-4} 、 $2.46 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 1 粗提酶的米氏常数测定结果

Table 1 The Km determination of anthracene, phenanthrene and pyrene

PAHs	米氏常数 K_m 值 / $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	
	不加金属离子	$\text{Ca}^{2+}=0.5\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
蒽	2.69×10^{-4}	1.54×10^{-4}
菲	4.28×10^{-4}	3.58×10^{-4}
芘	3.56×10^{-4}	2.46×10^{-4}

3 讨 论

通过试验研究发现,胞内酶粗酶液可有效地降解分子结构不同的多环芳烃蒽、菲、芘。最佳温度为 32℃,最适 pH 为 6;在最佳 pH 和温度下,用相同的粗酶液降解不同的多环芳烃时,6 种金属离子所起的作用并不完全相同。对于蒽的酶促降解,起促进作用的只有 Ca^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 3 种金属离子(其中 Fe^{2+} 对胞内酶的激活作用很弱),其他 3 种金属离子对蒽的酶促降解作用较小;对芘的酶促降解,除 Fe^{2+} 外,其他 5 种金属离子对降解均有促进作用。尤其是 Ca^{2+} 的加入,可使芘的去除率增大,为不加金属离子时的 2 倍左右;对菲的酶促降解起促进作用的金属离子有 4 种。 Ca^{2+} 是一种对蒽、菲、芘的酶促降解都起较强促进作用的金属离子。从 Ca^{2+} 离子对多环芳烃酶促降解影响作用的大小看, Ca^{2+} 对芘与菲的酶促降解的激活作用强于对蒽的酶促降解的激活作用。

金属离子对酶促降解的激活作用,主要是由于金属离子在底物与酶之间起到了某种搭桥作用,它先与酶结合,再与底物结合,形成酶-金属-底物的复合物^[11]。 Ca^{2+} 对芘与菲的酶促降解激活作用强于对蒽的酶促降解的激活作用,说明角形结构的底物分子更易于 Ca^{2+} 和酶结合形成复合物,因此激活作用明显;而蒽为线性结构,不易形成酶-金属-底物的复合物,因此使得金属离子的激活作用较弱。

对于粗酶液降解体系来说,降解转化率仅受活性酶的亲和力、生物氧化等过程的影响。米氏常数的大小能够反映酶与底物之间亲和力的大小,米氏常数值越小,则说明酶与底物的亲和力越大。通过实验测得蒽、菲、芘的米氏常数值发现,蒽的米氏常数值最小,为 $2.69 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,说明蒽与粗酶液的亲和力最大;菲的米氏常数值最大,为 $4.28 \times 10^{-4} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,说明菲与粗酶液的亲和力最小;所得米氏常数的测定结果与相同条件下用粗酶液降解蒽、菲、芘的去除效率一致,说明粗酶液降解多环芳烃体系的降解转化率的高低受活性酶对不同底物亲和力大小的影响。

当粗酶液降解体系中加入 $0.5\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Ca^{2+} 时,由于金属离子对粗酶液的激活作用,使得蒽、菲、

芘的米氏常数值均减小。说明金属离子的加入增大了粗酶液与底物的亲和力,因此使得加入金属离子时蒽、菲、芘的去除率显著提高。

4 结 论

胞内酶降解蒽、菲、芘的最适 pH 值为 6,最适温度为 32℃,在 pH5.0~7.0 之间对蒽、菲、芘的好氧降解活性最高,在 30~35℃ 之间胞内酶保持较高的降解活性。

在 pH 为 5、温度为 32℃ 的条件下, Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 两种金属离子对蒽、菲、芘的酶促降解都可起到激活作用。 Ca^{2+} 对胞内酶酶促降解不同底物的激活作用最为明显,当向体系中加入的 Ca^{2+} 为 $0.5 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,蒽、菲、芘的去除率可分别提高为不加金属离子时的 1.34 倍、1.59 倍、1.84 倍。

参考文献:

- [1] Strobel B W. Influence of vegetation on low-molecular-weight carboxylic acids in soil: Solution-a review[J]. Geoderma, 2001, 99: 169-176.
- [2] Natalia V B, Irina A K, Nicolai P, et al. Phenanthrene metabolism by pseudomonas and burkholderia strains [J]. Process Biochemistry, 1999, 35: 291-296.
- [3] Elza Nelkenbaum, Ishai Dror, Brian Berkowitz. Reductive hydrogenation of polycyclic aromatic hydrocarbons catalyzed by metalloporphyrins[J]. Chemosphere, 2007, 68: 210-217.
- [4] Sridhar V, Brent M. P, Lee A R, et al. Solubilization, solution equilibria, and biodegradation of PAH's under thermophilic conditions[J]. Chemosphere, 2007, 66: 1094-1106.
- [5] Stehr J, Muller T, Svensson K, et al. Basic examinations on chemical pre-oxidation by ozone for enhancing bioremediation of phenanthrene contaminated soils[J]. Appl Microbiol Biot., 2001, 57: 803-809.
- [6] Tekere M, Read J S, Mattiasson B. Polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in extracellular fluid and static batch cultures of selected sub-tropical white rot fungi [J]. Journal of Biotechnology, 2005, 115: 367-377.
- [7] LLOYD-JONES G, LAURIE A D, HUNTER D, et al. Analysis of catabolic genes for naphthalene and phenanthrene degradation in contaminated New Zealand soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1999, 29: 69-79.
- [8] 聂麦茜,张志杰,孙先锋,等.特效黄杆菌对蒽、菲、芘降解性能研究[J].微生物学通报,2001,28(5):32-36.
- [9] 聂麦茜,吴蔓莉,王晓昌,等.一株黄杆菌及其粗酶液对芘降解的动力学特征研究[J].环境科学学报,2006,26(2):181-185.
- [10] 施巧琴. 酶工程[M].北京:科学出版社,2005:30-31.
- [11] 周群英,高廷耀.环境工程微生物学[M].北京:高等教育出版社,2003:86-87.

(下转第 37 页)

- (8):18-21.
- [3] 周本省.冷却水系统中控制微生物的杀菌剂[J].化工机械,1995,22(5):301-306.
- [4] 黄文氢,管宇.缓蚀型水处理剂的综合介绍[J].化工进展,2000(6):28-30.
- [5] 孙保兴,李莉.发展中的季铵盐杀菌剂[J].精细化工,1990,7(1):8-11.
- [6] 包永照.季铵盐的研究进展[J].精细化工,2002,19(B8):14-16.
- [7] 何铁林.水处理化学品手册[M].北京:化学工业出版社,2000.
- [8] 于世林,李寅蔚.波谱分析法(第二版)[M].重庆:重庆大学出版社,1999.
- [9] 周德庆.微生物学教程[M].北京:高等教育出版社,1998.
- [10] 王秀茹.预防医学微生物学及检验技术[M].北京:人民卫生出版社,2002.
- [11] 范秀容.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,1989.

STUDY ON THE SYNTHESIS AND CHARACTERISTIC OF HEXADECYLLDIMETHYL (2-SULPHITE) ETHYL AMMONIUM

Ji Bao-xia^{1,2}, Li Hai-hua^{2,3}, Li Xiao-hui^{2,3}, TIAN Cai-li^{2,3}

(1. The Institute of Biology of Hebei Province, Shijiazhuang 050081, China;

2. The Institute of Energy Sources of Hebei Province, Shijiazhuang 050081, China;

3. Hebei Engineering Research Center for Water Saving in Industry, Shijiazhuang 050081, China)

Abstract: Hexadecylldimethyl (2-sulphite) ethyl ammonium was synthesized and its biodegradability and bactericidal ability were analyzed by oxygen consumption, suspension quantitative and minimal inhibitory concentration methods, respectively. The results indicated that hexadecylldimethyl (2-sulphite) ethyl ammonium has good biodegradability which rate of biodegradation got 85 % after 28 days, and good effect on sterilizing the sulphate-reducing bacteria, iron bacteria and heterotrophic bacteria in the circulating cooling water system, the optimal bactericidal concentration are 8, 12 and 40 mg·L⁻¹.

Keywords: hexadecylldimethyl (2-sulphite) ethyl ammonium; biodegradability; sterilization

(上接第 16 页)

STUDY ON ENZYMATIC DEGRADATION AND ENHANCEMENT OF COARSE ENDOENZYME ACTIVITY EXCRETED FROM FLAVOBACTERIUM SP FCN2

WU Man-li¹, NIE Mai-qian¹, WANG Xiao-chang¹, GUO peng², YANG Gang-zhu¹

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China;

2. Shaanxi Environmental Monitoring Center, Xi'an 710055, China)

Abstract: The enhancement of coarse endoenzyme activity excreted from flavobacterium sp FCN2 for PAHs degradation was investigated. The results showed: (1) Coarse endoenzyme excreted from flavobacterium sp FCN2 could degrade anthracene, phenanthrene and pyrene effectively. Within 30 minutes, the removal rates of the three PAHs were 61.14% ± 3.03%, 30.63% ± 4.85%, and 40.53% ± 3.97%, respectively, indicating that the coarse endoenzyme had the highest removal efficiency for anthracene, and then pyrene and phenanthrene. (2) At 32 °C and pH 6, the endoenzyme was the most active. The coarse endoenzyme of flavobacterium strains FCN2 had higher activity for degrading anthracene, phenanthrene, pyrene in weak acid medium at a temperature between 30 °C and 35 °C. (3) Under the above mentioned optimal condition, various metal ions were investigated as additives which could potentially enhance enzyme activity. It was found that Ca²⁺ could markedly activate the coarse enzymes. As 0.5mmol/L Ca²⁺ was added, the removal rates of anthracene, phenanthrene and pyrene were improved by 1.34, 1.59 and 1.85 times, respectively. The Michaelis constants were 1.54 × 10⁻⁴ mol·L⁻¹, 3.58 × 10⁻⁴ mol·L⁻¹ and 2.46 × 10⁻⁴ mol·L⁻¹, respectively as 0.5mmol/L Ca²⁺ was added comparing with 2.69 × 10⁻⁴ mol·L⁻¹, 4.28 × 10⁻⁴ mol·L⁻¹ and 3.56 × 10⁻⁴ mol·L⁻¹, respectively, without Ca²⁺ addition. PAHs enzymatic degradation accelerated by calcium addition can thus be proposed as an effective method for bioremediation of PAHs pollution.

Keywords: flavobacterium sp FCN2; endoenzyme; enzymatic-degradation; PAHs

加强节水宣传, 树立节水意识