

聚乙烯醇高效降解菌的筛选及降解特性研究

王能强^{1*} 邹小明² 陈华洪¹

(1. 湖南科技大学生命科学学院 湘潭 411201)

(2. 井冈山大学生命科学学院 吉安 343009)

摘要: 以聚乙烯醇为唯一碳源从环境中筛选获得了高效降解聚乙烯醇的微生物菌株 XT11, 初步鉴定为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)。对菌株 *Pseudomonas* XT11 的生长过程及 PVA 降解过程进行了研究, 发现该菌株在 54 h 内可将 1 g/L 的聚乙烯醇(PVA)降解。同时研究了温度、pH 值及酵母膏浓度对该菌株降解 PVA 的影响, 结果表明其最适温度、pH 值和酵母膏浓度分别为 30 、7.0 和 0.5 g/L。研究了 PVA 浓度对 PVA 降解率的影响, 发现随着 PVA 浓度的增大, PVA 的降解率降低。

关键词: 聚乙烯醇(PVA), 假单胞菌, 降解

Study on Screening and Degradation Character of Degrading Bacterium for Polyvinyl Alcohol

WANG Neng-Qiang^{1*} ZOU Xiao-Ming² CHEN Hua-Hong¹

(1. College of Life Science, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan 411201)

(2. College of Life Science, Jinggangshan University, Ji'an 343009)

Abstract: A strain XT11 was isolated from environment, which could degrade polyvinyl alcohol. It belongs to the genus of *Pseudomonas* sp. The course curve of growth and PVA degradation were discussed. The results showed that 1 g/L of PVA could be completely degraded after 54 h cultivation. The initial pH of fermentation medium, culture temperature and the concentration of yeast extract were also discussed. The results showed that the optimum initial pH, culture temperature and the concentration of yeast extract were 7.0, 30 and 0.5 g/L respectively. Effect of the concentration of PVA on PVA degradation was discussed. The results showed that PVA degradation decreased as the concentration of PVA increased.

Keywords: Polyvinyl alcohol (PVA), *Pseudomonas* sp., Degradation

聚乙烯醇(Polyvinyl alcohol, 简称PVA)是一种人工合成的水溶性高分子聚合物, 具有良好的粘性、浆膜强韧性和耐磨性, 是纺织工业用量较大的退浆液, 但是浆液中PVA的过量使用, 会导致棉纺企业排放的退浆废水中含有大量的PVA。PVA是一种难以生物降解的物质, 且分子化学性质稳定, 在

印染工序中以退浆废水的形式排入江河田野以后, 会在环境中大量积累, 使被污染的水体表面泡沫增多, 粘度加大^[1], 影响好气微生物的活动, 对水体的感官性能及水体的复氧行为极为不利。因此, 在排放退浆废水之前, 进行处理显得尤为必要。对含有PVA的退浆废水的处理方法主要有物化法和生化

* 通讯作者: ✉: wang_780214@126.com

收稿日期: 2007-07-09; 接受日期: 2007-08-02

法。物化法只用于处理那些组分单一且PVA浓度很高的废水时才有价值，而在一般情况下，PVA废水成分复杂，PVA浓度较低，水量较大，对材料、设备和处理成本而言，都难以采用该项技术。生物处理方法与物化法相比，具有降解效率高、无二次污染、成本低、工艺简单等优点，因此成为国内外处理退浆废水的主导性方法^[2]。国内外陆续报道了PVA生物降解条件、PVA降解菌的筛选等研究^[3-5]。已分离纯化到一些降解PVA的菌种，其中包括假单胞菌、芽孢杆菌、不动杆菌等^[6-9]。研究结果提示，PVA降解菌并不是广泛分布于自然界，而主要存在于一些特定的环境，这就造成广泛残留在环境中的PVA降解缓慢，如接种驯化的混合培养物 48 d后仅矿化了40%的PVA^[10]。因此，为提高环境中PVA的降解效率，进一步筛选高效降解PVA的菌种并研究其生物降解特性就具有重要的意义。本文通过对采自东莞市福安纺织印染公司和湘潭市万事达染织整理有限公司两处的样品进行分离筛选，获得能高效降解PVA的菌株，并对其降解特性进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 试剂

PVA(分析纯，平均聚合度 1750±50，纯度 97%以上，来源于湖南湘中地质实验研究所)。

1.2 土 样来源

东莞市福安纺织印染公司和湘潭市万事达染织整理有限公司污水排出口处土壤。

1.3 培养基

1.3.1 液体培养基(g/L)：PVA 1.0，(NH₄)₂SO₄ 1.0，K₂HPO₄·3H₂O 0.5，K₂HPO₄0.5，MgSO₄·7H₂O 0.2，NaCl 0.1，FeSO₄·7H₂O 0.01，酵母膏 1.0，微量元素液 10 μL，pH7.5。微量元素液：ZnSO₄·7H₂O 0.02，FeSO₄·7H₂O 0.2，H₃BO₃ 0.003，CuSO₄·5H₂O 0.04。

1.3.2 固体培养基：在分离培养基成分的基础上，加入琼脂粉 20，pH7.5。

1.4 高效降解 PVA 菌株的筛选

1.4.1 初筛：取土壤样品 1 g，加适量水稀释，震荡

静置。取 1 mL土壤水溶液于液体培养基中，30 培养 48 h。取 0.5 mL培养液于 4.5 mL无菌蒸馏水中制成菌悬液，再按上述方法稀释。分别取 10⁻⁶、10⁻⁵、10⁻⁴的稀释液各 0.2 mL涂布于固体培养基上，30 培养 48 h。向长有单菌落的培养基平板倒入 8mL碘-硼酸试剂，暗处反应 10 min，察看菌落周围产生透明圈的情况。挑取产生大透明圈的单菌落转至新鲜固体培养基上培养 48 h后于 4 ℃冰箱保存。

1.4.2 复筛：将初筛获得的菌株接入液体培养基中，30 培养 48 h，取一定量的降解液，离心取上清液。通过分光光度法测定降解液中聚乙烯醇的残留量，计算聚乙烯醇的降解率。从而获得聚乙烯醇降解率高的菌株。

1.5 细菌的鉴定方法

对筛选获得的菌株进行菌落形态观察及一系列生理生化试验。

1.6 分析方法

1.6.1 菌体量的测定：采用比浊法测定 620 nm 处的光吸收值。

1.6.2 PVA 降解率的测定：碘-硼酸试剂法：取一定量的降解液，5000 r/min 离心 20 min，取上清液，在碘-硼酸试剂体系中，反应生成绿色溶液，然后于 690 nm 处测定其吸光度值。与标准曲线进行换算，再乘以稀释度得出残留 PVA 浓度。

降解率计算：降解率(%)=[(A₀-A₁)/A₀]×100 (%)。式中A₀为空白试样(未接种的降解基本培养基)的吸光值，A₁为降解试样的吸光值。

2 结果与讨论

2.1 PVA 高效降解菌的筛选及初步鉴定

测量各菌落透明圈的大小，选出了 16 株透明圈较大的菌株，然后进行复筛，获得了 1 株对 PVA 的降解能力较强的菌株 XT11，48 h PVA 降解率为 90.9%。对该菌株进行菌落形态观察及一系列生理生化试验。其结果见表 1。由表 1 结果且查伯杰细菌鉴定手册初步确定菌株 XT11 为假单胞菌属。

表 1 菌株 XT11 的细胞形态及生理生化实验鉴定结果														
Table 1 Appraisal results of strain XT11 by cell morphology, physiology and biochemistry														
革兰氏染色	淀粉水解	VP 试验	甲基红 试验	水解 明胶	氧化酶 测定	硫化 氢	产生吲 哚试验	过氧化 氢酶	好氧 性	酪素 水解	柠檬酸 盐利用	硝酸盐 试验	细胞形 态特征	鉴定 结果
G ⁻	-	+	-	-	+	-	-	+	好氧	+	+	+	杆状	假单胞菌

2.2 降解特性研究

2.2.1 *Pseudomonas* XT11 生长曲线及PVA降解过程: 将菌株*Pseudomonas* XT11 接种于液体培养基中, 置于 30℃ 培养, 每隔 6 h 取样测定 OD_{620} 和发酵液中 PVA 残留浓度, 结果见图 1。

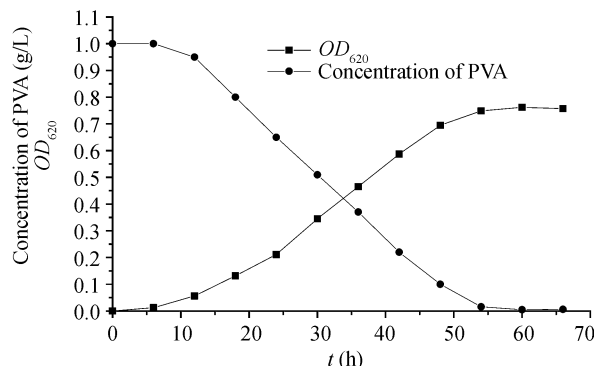


图 1 菌株 *Pseudomonas* XT11 生长过程及 PVA 降解过程

Fig. 1 The course curve of growth and PVA degradation

图 1 表明, *Pseudomonas* XT11 菌株经过大约 12 h 的生长延迟期后进入对数生长期, 48 h 左右菌体浓度处于最大值, 然后进入稳定期; 菌株降解 PVA 情况: 该菌株在 54 h 内可将 1 g/L 的聚乙烯醇 (PVA) 降解。

2.2.2 温度的影响: 将接种了的液体培养基置于不同温度下 (25、30、35、40) 培养 48 h, 然后测定培养基中残留 PVA 的浓度, 计算菌株对 PVA 的降解率, 以考察温度对微生物 *Pseudomonas* XT11 降解 PVA 的影响, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, 菌株 *Pseudomonas* XT11 降解 PVA 的最适温度为 30℃。

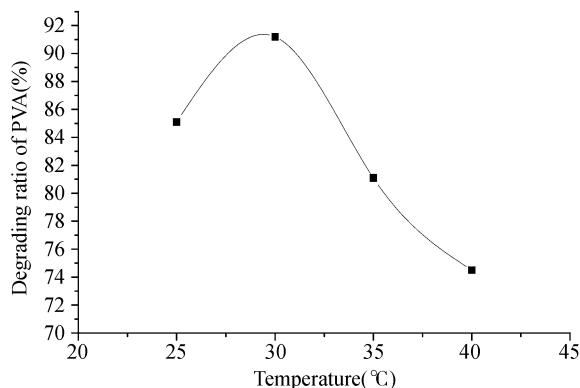


图 2 温度对 PVA 降解的影响

Fig. 2 Effect of temperature on PVA degradation

2.2.3 pH 的影响: 采用不同初始 pH (5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、9.0) 的液体培养基培养 48 h, 然后测定培养基中残留 PVA 的浓度, 计算菌株对 PVA 的降解率, 以考察初始 pH 对微生物 *Pseudomonas* XT11 降解 PVA 的影响, 结果如图 3 所示。由图 3 可知, 菌株 *Pseudomonas* XT11 降解 PVA 的最适 pH 为 7.0, 此时 PVA 降解率为 93.2%。

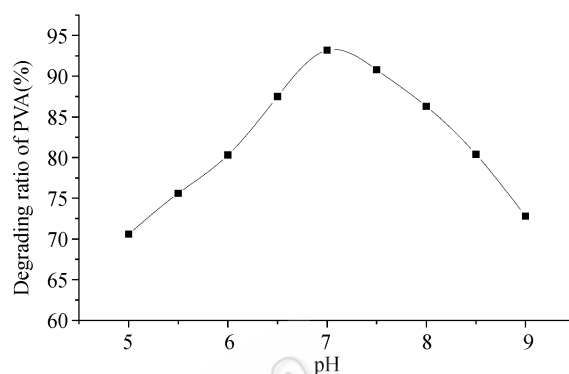


图 3 pH 值对 PVA 降解的影响

Fig. 3 Effect of initial pH of fermentation medium on PVA degradation

2.2.4 PVA 浓度对 PVA 降解的影响: 将菌株 *Pseudomonas* XT11 接种于含不同浓度的 PVA (0.5 g/L、1.0 g/L、1.5 g/L、2.0 g/L、3.0 g/L) 的液体培养基中, 置于 30℃ 培养 48 h, 然后测定培养基中残留 PVA 的浓度, 计算菌株对 PVA 的降解率, 以考察不同浓度的 PVA 对降解率的影响, 结果如图 4 所示。由图 4 可知, 随着 PVA 浓度的增大, PVA 的降解率降低, 当 PVA 浓度为 3.0 g/L 时, PVA 的降解率下降至 61.2%。

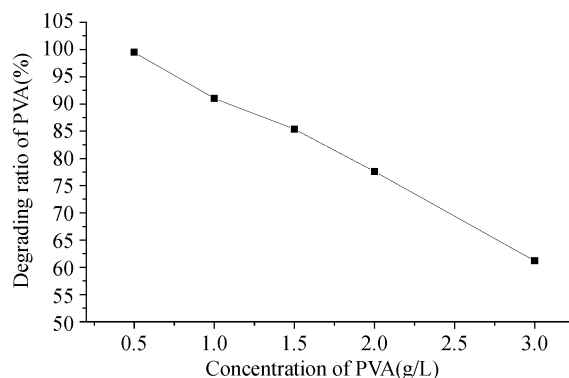


图 4 PVA 浓度对 PVA 降解的影响

Fig. 4 Effect of the concentration of PVA on PVA degradation

2.2.5 酵母膏浓度对 PVA 降解的影响: 将菌株 *Pseudomonas* XT11 接种于含不同浓度的 PVA (0.05 g/L、0.1 g/L、0.2 g/L、0.5 g/L、1.0 g/L、2.0 g/L) 的液体培养基中, 置于 30℃ 培养 48h, 然后测定培养基中残留 PVA 的浓度, 计算菌株对 PVA 的降解率, 以考察不同浓度的酵母膏对 PVA 降解率的影响, 结果如图 5 所示。由图 5 可知, PVA 降解的最适酵母膏浓度为 0.5 g/L。

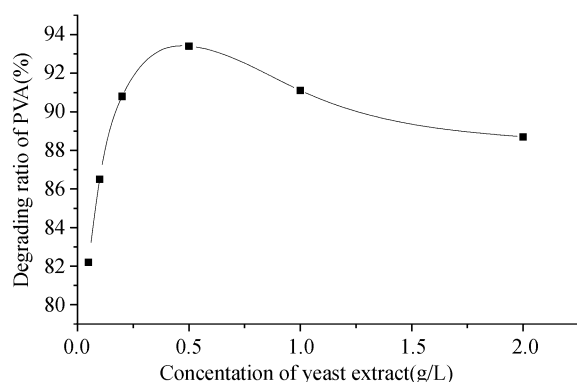


图 5 酵母膏浓度对 PVA 降解的影响

Fig. 5 Effect of the concentration of yeast extract on PVA degradation

3 结论

通过对采自东莞市福安纺织印染公司和湘潭市万事达染织整理有限公司污水排出口处的土样进行分离筛选, 得到了 1 株高效降解 PVA 的菌株, 并对其进行了初步鉴定, 确定为 *Pseudomonas* XT11。对该菌株的生长过程及 PVA 降解过程进行了研究, 发现该菌株在 54 h 内可将 1 g/L 的聚乙烯醇(PVA)降解。研究了温度、pH 值及酵母膏浓度对该菌株降解 PVA 的影响, 结果表明其最适温度、pH 值和酵母膏浓度分别为 30℃、7.0 和 0.5 g/L。研究了 PVA 浓度

对 PVA 降解率的影响, 发现随着 PVA 浓度的增大, PVA 的降解率降低。

参 考 文 献

- [1] 顾鼎言. 印染废水处理. 北京: 中国建筑工业出版社, 1985, p.17.
- [2] 甘平, 樊耀波, 王民健. 印染助剂. 重庆环境科学, 1996, **18**(3): 68.
- [3] Shimao M, Saimoto H, Kato N, Sakazawa C. Properties and role of bacterial symbionts of polyvinyl alcohol-utilizing mixed cultures. *Appl Environ Microbiol*, 1983, **46**: 605–610.
- [4] Hashimoto S, Fujita M. Isolation of a bacterium requiring three amino acids for polyvinyl alcohol degradation. *J Ferment Technol*, 1985, **63**: 471–474.
- [5] Kim BC, Sohn CK, Lim SK, et al. Degradation of polyvinyl alcohol by *Sphingomonas* sp.SA3 and its symbiote. *J Ind Microbiol Biot*, 2003, **30**: 70–74.
- [6] Lee JA, Kima MN. Isolation of new and potent polyvinyl alcohol degrading strains and their degradation activity. *Polymer Degradation and Stability*, 2003, **81**: 303–308.
- [7] Shimao M, Niomiya K, Kuno O, et al. Existence of a novel enzyme, pyrroloquinoline quinonedependent polyvinyl alcohol dehydrogenase, in a bacterial symbiont, *Pseudomonas* sp. Strain VMI5C. *Appl Environ Microbiol*, 1986, **51**(2): 268–275.
- [8] Shimao M, Tamogami T, Nishi K, et al. Cloning and characterization of the gene encoding pyrroloquinoline quinonedependent polyvinyl alcohol dehydrogenase of *Pseudomonas* sp strain VMI5C. *Biosci Biotech Biochem*, 1996, **60**(7): 1056–1062.
- [9] Shimao M, Tamogami T, Harayama S. The gene pvaB encodes oxidized polyvinyl alcohol hydrolase of *Pseudomonas* sp strain VMI5C and forms an operon with the polyvinyl alcohol dehydrogenase gene pvaA. *Microbiology*, 2000, **146**: 649–657.
- [10] Salario R, Corti A, Chiellini E. Biodegradation of polyvinyl alcohol with different molecular weights and degree of hydrolysis. *Polym Adv Technol*, 2000, **11**: 873–878.

稿件书写规范

论文中统计学符号书写规则

统计学符号一般用斜体。本刊常用统计学符号介绍如下, 希望作者参照执行。

样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} , 不用大写 X , 也不用 $Mean$ 。标准差用英文小写 s , 不用 SD 。标准误用英文小写 $s_{\bar{x}}$, 不用 $S E$ 。t 检验用英文小写 t 。F 检验用英文大写 F 。卡方检验用希文小写 χ^2 。相关系数用英文小写 r 。样本数用英文小写 n 。概率用英文大写 P 。