

金属离子对嗜热菌 BF80 生长及苯酚降解的影响研究

杨峰晓 唐 赟*

(西华师范大学生命科学学院 南充 637002)

摘 要: 探测了 17 种金属离子对嗜热菌 BF80 菌生长和降解苯酚的影响。结果表明: 与对照相比, 0.01% 的 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Ag^{+} 和 Al^{3+} 对嗜热菌 BF80 有强抑制作用; Cr^{2+} 对嗜热菌 BF80 的苯酚降解特性有强抑制作用, 而其生长量只受到一定的抑制作用; Sn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Pn^{2+} 对嗜热菌 BF80 的生长和苯酚降解有一定抑制作用, 该作用随金属离子浓度的增加而增大; 低浓度 Mn^{2+} 和 Mo^{2+} 可以使其生长量增大且促进苯酚降解, 但超过 0.1% 的浓度则抑制其生长; Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 可以加速嗜热菌 BF80 的生长和降解苯酚的速率, 但对苯酚的最大降解率却几乎没有影响; Mo^{2+} 和 Mn^{2+} 的复合作用使嗜热菌 BF80 的生长量更大, 但是苯酚降解率却比分别单独添加 Mo^{2+} 和 Mn^{2+} 时低。

关键词: 金属离子, 嗜热菌 BF80, 苯酚, 生物降解

Effect of Metal Ions on Cell Growth and Phenol Degradation of a Thermophilic Strain BF80

YANG Feng-Xiao TANG Yun *

(College of Biological Sciences, China West Normal University, Nanchong 637002)

Abstract: The effect on the growth and phenol degradation of the thermophilic strain BF80 by seventeen different metal ions were studied. The results showed that the metal ions certainly affected the growth and phenol degradation of the strain BF80. At the concentration of 0.01%, contrasting to the comparison, the growth and phenol degradation of the strain BF80 were restrained intensively by the metal ions of Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Ba^{2+} , Hg^{2+} , Ni^{2+} , Ag^{+} , Al^{3+} . The metal ions of Cr^{2+} restrained the phenol degradation of BF80 strongly while Cr^{2+} restrained the growth of BF80 faintly. The metal ions of Sn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Pn^{2+} restrained the growth and phenol degradation of the strain BF80 at a certain concentration, and the effect of inhibition increased with the increase of the concentrations of the metal ions. At the low concentration of Mn^{2+} or Mo^{2+} , the growth and phenol degradation of the strain BF80 were increased, but if the concentration beyond the 0.1%, the growth and phenol degradation of the strain BF80 were inhibited. At the different concentration of Ca^{2+} or Mg^{2+} , the growth of the strain BF80 were increased and the phenol degradation were accelerated, but the max rate of phenol degradation by BF80 was not influenced obviously. When the medium was added the

mixture of metal ions of Mo^{2+} and Mn^{2+} , the strain BF80 grew better, but the rate of the phenol degradation was lower than that of single Mo^{2+} and Mn^{2+} .

Keywords: Metal ions, Thermophilic strain BF80, Phenol, Degradation

苯酚属芳香族化合物, 有毒, 难降解。在水体中, 5 mg/L~25 mg/L 的苯酚即可对鱼类的生存构成威胁。美国环保署把苯酚列入优先污染物和 65 种有毒污染物名单, 我国也把苯酚列入中国环境优先污染物黑名单之中, 含酚工业废水的治理在环保中具有重要意义。

嗜热菌 BF80 归属 *Geobacillus thermoglucosidasius*, 该菌的最适生长和苯酚降解温度为 60 ~ 65 , 并在较广的 pH 值范围(pH 5.5~pH 9.5)内保持较好的苯酚降解能力; 对苯酚的降解主要发生在该菌的对数生长期, 在接种量为 1% 时, 20 h 内可完全降解 3 mmol/L 苯酚, 并能耐受高达 12 mmol/L 的苯酚浓度, 在微生物处理废水中有开发潜力^[1]。

金属离子是微生物生长和代谢产物合成的重要影响因子, 并且在生产过程中含酚废水伴随有一些重金属离子。正基于此, 研究重金属离子对降解苯酚的影响具有重要的理论和实用价值。作者探讨了不同重金属离子对嗜热菌嗜热菌 BF80 生长和降解苯酚的影响, 为其处理高温含酚废水工艺研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株: 嗜热菌 BF80, 由西华师范大学微生物实验室提供。

1.1.2 培养基: 无机盐培养基^[2]: NH_4Cl 1.0 g, $\text{Na}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.06 g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.23 g, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.092 g, KCl 0.4 g, 10 mL 微量元素溶液, 苯酚按实验需要量添加, 定容至 1 L, pH 7.0~7.2。微量元素溶液参见文献^[3]。培养基均在 1×10^5 Pa 下灭菌 20 min。

1.1.3 试剂: 将金属离子 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Sn^{2+} 、 Mo^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cr^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ag^+ 和 Al^{3+} 配置成 10% 的母液, 过滤除菌, 4 °C 冰箱保存。

1.2 方法

1.2.1 菌种活化: 取嗜热菌 BF80 菌苔一环于 20 mL LB 液体培养基中, 振荡培养 24 h, 离心分离菌体, 用生理盐水洗涤 2 次, 悬于 10 mL 的生理盐水中。

1.2.2 降解实验: 配置含 0.01%~0.5% 不同浓度金属离子的无机盐培养基, 分装 50 mL 于 250 mL 的三角瓶内, 将活化洗涤后的菌液以 1% 的接种量将菌悬液接种于培养基中, 同时以不接菌做对照, 60 , 180 r/min 每培养 5 h 测定菌液浓度和残余苯酚量。

1.2.3 菌体生长的测定: 在摇床上培养的菌液每隔 5 h 取 5 mL 的样, 离心弃上清, 用同体积灭菌水中重悬, 于紫外可见分光光度计 600 nm 处测定 OD 值。

1.2.4 苯酚含量的测定: 采用 4-氨基安替吡啉法^[4]。苯酚降解率(%)= (1-反应后苯酚浓度/苯酚起始浓度)×100%

2 结果与讨论

2.1 不同重金属离子对嗜热菌 BF80 苯酚降解菌的毒害作用

Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Ag^+ 和 Al^{3+} 重金属离子可使某些蛋白质性质的酶变性, 能强烈抑制该菌的生长^[5,6]。向培养基中添加 0.01% 的 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Ag^+ 进行实验发现, 该 8 种金属离子对嗜热菌 BF80 生长有强烈的抑制作用, 抑制作用强弱为 $\text{Ba}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Ag}^+ > \text{Cu}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Al}^{3+} > \text{Zn}^{2+}$ 。在这些重金属离子的作用下嗜热菌 BF80 的最大菌体浓度(OD_{600})不超过 0.151, 与未加金属离子的空白参照相差甚远, 添加这些金属离子后嗜热菌 BF80 基本上不生长, 所以对苯酚几乎没有降解作用。

2.2 Cr^{2+} 对嗜热菌 BF80 生长及降解苯酚的影响

Cr^{2+} 对嗜热菌 BF80 的苯酚降解能力表现出强烈的抑制作用, 在含 0.01%~0.3% Cr^{2+} 的无机盐培养基中, 30 h 内苯酚几乎没有降解。在 Cr^{2+} 的影响下, 嗜热菌 BF80 的生长量也有所下降, 生长水平随 Cr^{2+} 的浓度升高而降低, 最大生长量 $0.3\% < 0.1\% < 0.05\% < 0.01\%$, OD_{600} 值分别为 0.714、0.369、0.240、0.105 和 0.068。

2.3 Ca^{2+} 对嗜热菌 BF80 生长及降解苯酚的影响

由于 Ca^{2+} 在细胞的功能调节中有十分重要的作用, 对于细胞膜透性有关键性的调节作用, 增加浓度可以提高线粒体膜的膜电位使 ADP 磷酸化为 ATP

为细胞增殖提供能量基础从而促进菌株的生长^[7]。实验结果表明, Ca^{2+} 可促进嗜热菌BF80的生长, 在含0.05%、0.1%、0.3%和0.5%的 Ca^{2+} 无机盐培养基中, 随着浓度的增高, 嗜热菌BF80生长量随之增大, 当 Ca^{2+} 的浓度为0.5%时, 嗜热菌BF80的生长最好, 培养20 h后其 OD_{600} 可达1.02(如图1)。

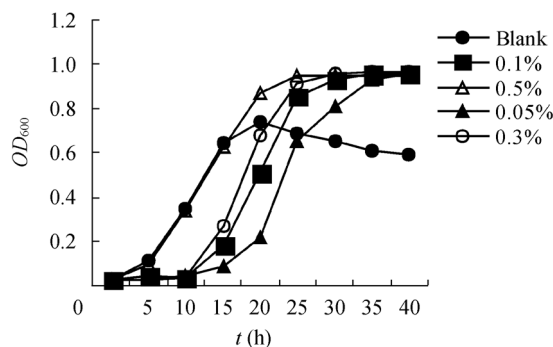


图1 不同浓度 Ca^{2+} 对BF80生长的影响

Fig. 1 Effect of different concentration Ca^{2+} on the growth of BF80

Ca^{2+} 对嗜热菌BF80的苯酚降解能力具有一定的抑制作用, 使嗜热菌BF80的苯酚降解速率降低, 其速率 $0.05\% < 0.1\% < 0.3\% < 0.1\%$ (如图2)参照图1分析, 可能是 Ca^{2+} 抑制作用主要体现在嗜热菌BF80的对数生长期阶段, 因为菌体在不同浓度 Ca^{2+} 影响下到达稳定期的时间不同, 所以苯酚降解情况不同。

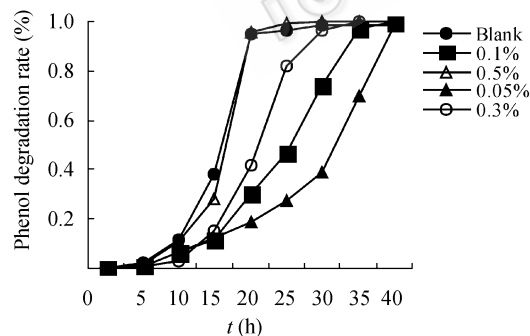


图2 不同浓度 Ca^{2+} 对BF80苯酚降解的影响

Fig. 2 Effect of different concentration Ca^{2+} on the phenol degradation of BF80

2.4 Mo^{2+} 对嗜热菌BF80生长及降解苯酚的影响

钼是不可缺少的一种微量元素, 少量的钼有利于微生物的活性和生长^[8]。在添加0.01%、0.05%和0.1%的 Mo^{2+} 无机盐培养基中, 与对照相比, 其菌体生长旺盛, 促进作用为 $0.01\% > 0.05\% > 0.1\%$, 但是当

添加0.3%的 Mo^{2+} 又对嗜热菌BF80生长有着较强的抑制作用, 菌体几乎没有生长(如图3)。 Mo^{2+} 对嗜热菌BF80的苯酚降解也有促进作用, 添加在0.01%、0.05%和0.1%的 Mo^{2+} 无机盐培养基中, 其苯酚能完全被降解, 降解速率 $0.01\% > 0.05\% > 0.1\%$, 但在0.3%的 Mo^{2+} 培养基中嗜热菌BF80对苯酚没有降解作用, 这与其高浓度的 Mo^{2+} 抑制菌体的生长相一致(如图4)。

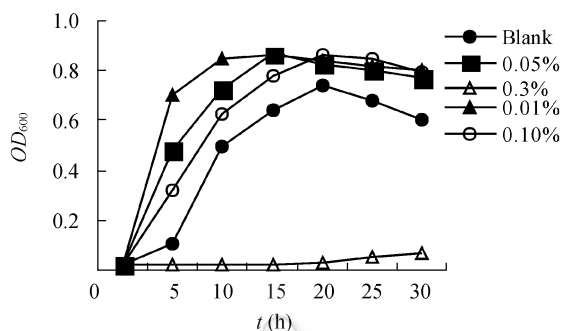


图3 不同浓度 Mo^{2+} 对BF80生长的影响

Fig. 3 Effect of different concentration Mo^{2+} on the growth of BF80

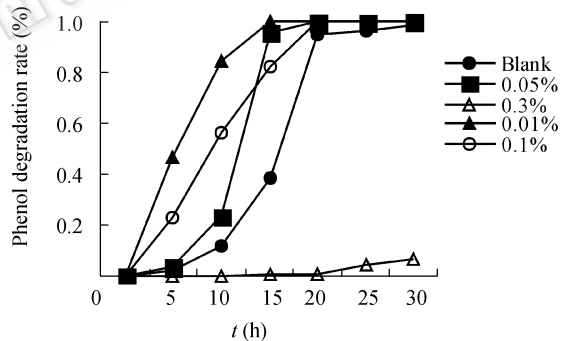


图4 不同浓度 Mo^{2+} 对BF80苯酚降解的影响

Fig. 4 Effect of different concentration Mo^{2+} on the phenol degradation of BF80

2.5 Mn^{2+} 对嗜热菌BF80生长及降解苯酚的影响

锰参与细菌超氧化物歧化酶的活动, 是Mn-超氧化物歧化酶、丙酮酸羧化酶、精氨酸酶等的辅助因子, 是腺嘌呤核苷酸酶和一些水解酶的激活剂^[9]。 Mn^{2+} 对嗜热菌BF80生长作用与 Mo^{2+} 相似, 低浓度时存在促进作用, 高浓度时存在抑制作用^[10]。当无机盐培养基里 Mn^{2+} 的浓度为0.01%和0.05%时促进嗜热菌BF80生长, 促进作用 $0.01\% > 0.05\%$; 当 Mn^{2+} 的浓度为0.1%和0.3%时表现为抑制菌体生长, 抑制作用 $0.3\% > 0.1\%$ (如图5)。低浓度0.01%的 Mn^{2+} 促

进嗜热菌BF80降解苯酚, 15 h培养的苯酚降解率可以达到 98.02%, 高于此浓度的 Mn^{2+} 对嗜热菌BF80的苯酚降解表现出抑制作用, 抑制作用 $0.3\% > 0.1\% > 0.05\%$ (如图6)。

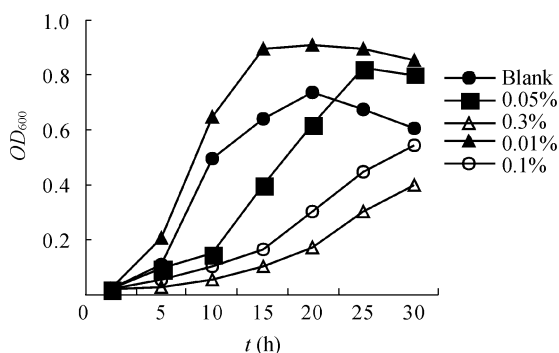


图5 不同浓度 Mn^{2+} 对BF80生长的影响

Fig. 5 Effect of different concentration Mn^{2+} on the growth of BF80

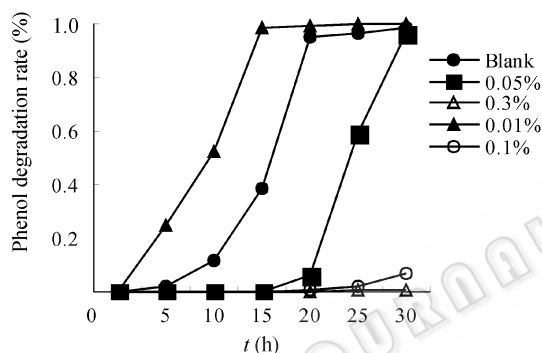


图6 不同浓度 Mn^{2+} 对BF80苯酚降解的影响

Fig. 6 Effect of different concentration Mn^{2+} on the phenol degradation of BF80

2.6 Mg^{2+} 对嗜热菌BF80生长及降解苯酚的影响

镁在糖酵解、呼吸、氧化磷酸化等过程中起重要作用, 是各种激酶、柠檬酸裂合酶、异柠檬酸脱氢酶、碱(酸)性磷酸酶等的辅助因子, 是多种激酶的激活剂^[11,12]。实验结果发现, 在0.05%~0.5%的 Mg^{2+} 无机盐培养基中, Mg^{2+} 对嗜热菌BF80的生长具有促进作用, 随 Mg^{2+} 浓度的增加其促进作用越强, $0.5\% > 0.3\% > 0.1\% > 0.05\%$ 。在0.5%的 Mg^{2+} 的条件下, 菌体生长最好, 培养20 h其 OD_{600} 值达到1.046。同时, Mg^{2+} 的浓度越高, 嗜热菌BF80对苯酚的降解效果越好(如图7)。

2.7 Sn^{2+} 对嗜热菌BF80生长及降解苯酚的影响

锡作为一种重金属元素对嗜热菌BF80的生长

存在一定的抑制作用^[13]。在含0.01%~0.3% Sn^{2+} 的无机盐培养基里, Sn^{2+} 浓度越高嗜热菌BF80的生长量越低, 最大 OD_{600} 值 $0.3\% < 0.1\% < 0.05\% < 0.01\% < 0\%$ 。随着菌体生长量的减小, 嗜热菌BF80的苯酚降解能力也逐渐下降, 含 Sn^{2+} 0.1%、0.3%的无机盐培养基中的苯酚几乎没有降解(如图8)。

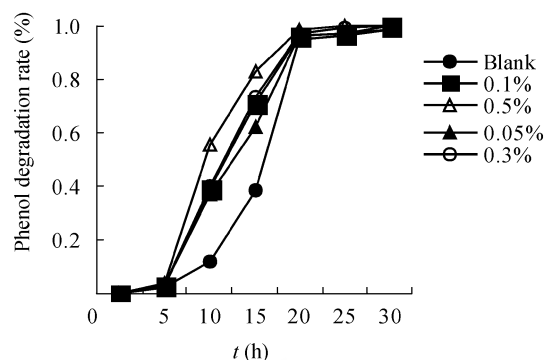


图7 不同浓度 Mg^{2+} 对BF80苯酚降解的影响

Fig. 7 Effect of different concentration Mg^{2+} on the phenol degradation of BF80

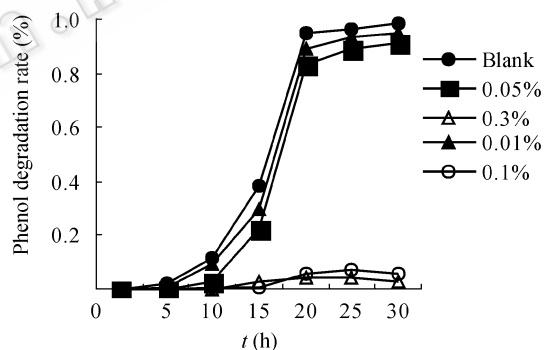


图8 不同浓度 Sn^{2+} 对BF80苯酚降解的影响

Fig. 8 Effect of different concentration Sn^{2+} on the phenol degradation of BF80

2.8 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 对嗜热菌BF80生长及降解苯酚的影响

铁离子不仅对嗜热菌BF80的生长有害, 并且对其降解苯酚有一定抑制作用。在0.01%~0.3% Fe^{2+} 的无机盐培养基里, 嗜热菌BF80的生长和降解苯酚能力随着 Fe^{2+} 浓度升高而显出降低的趋势, 抑制作用 $0.3\% > 0.1\% > 0.05\% > 0.01\%$ (如图9、10)。 Fe^{3+} 对BF80的影响与 Fe^{2+} 几乎相同, 其生长和降解苯酚能力随着 Fe^{3+} 浓度升高而降低, 可能是由于 Fe^{2+} 在培养基被氧化成 Fe^{3+} 的结果。

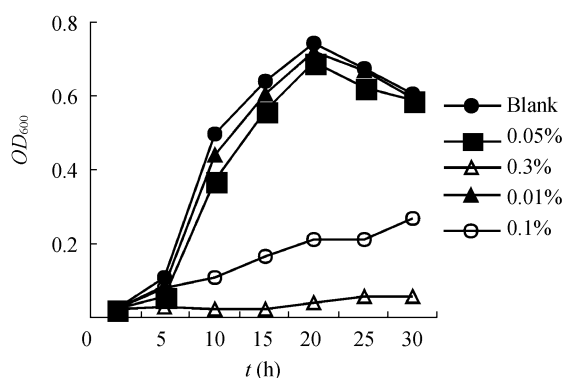
图9 不同浓度 Fe^{2+} 对BF80生长的影响

Fig. 9 Effect of different concentration Fe^{2+} on the growth of BF80

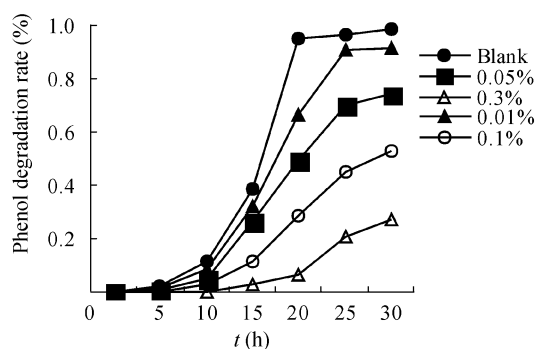
图10 不同浓度 Fe^{2+} 对BF80苯酚降解的影响

Fig. 10 Effect of different concentration Fe^{2+} on the phenol degradation of BF80

2.9 Pb^{2+} 对嗜热菌BF80生长及降解苯酚影响

Pb^{2+} 是一种对大多微生物具有强烈抑制作用的重金属离子,但本实验发现嗜热菌BF80菌对低浓度的 Pb^{2+} 表现出一定的耐受性。在0.01%至0.05%的浓度下,嗜热菌BF80的生长和降解苯酚能力随着 Pb^{2+} 浓度升高而显出降低的趋势,此时 Pb^{2+} 对该菌的生长和苯酚降解抑制作用不强,但超过0.05%的 Pb^{2+} 出现明显的抑制作用(如图11,12)。

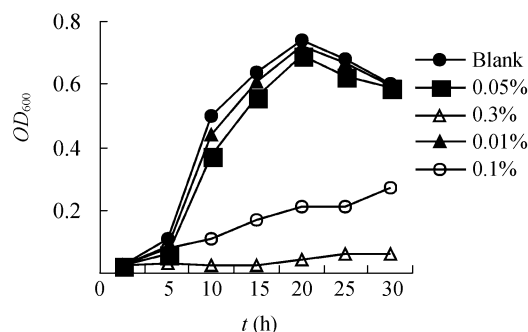
图11 不同浓度 Pb^{2+} 对BF80生长的影响

Fig. 11 Effect of different concentration Pb^{2+} on the growth of BF80

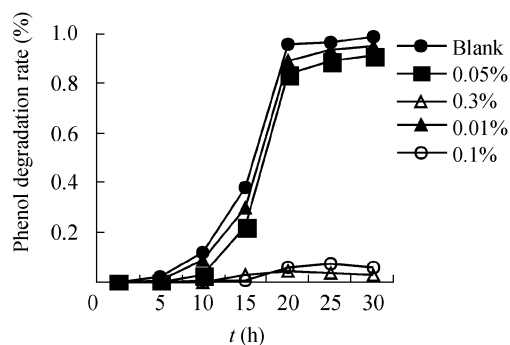
图12 不同浓度 Pb^{2+} 对BF80苯酚降解的影响

Fig. 12 Effect of different concentration Pb^{2+} on the phenol degradation of BF80

2.10 Mo^{2+} 和 Mn^{2+} 对嗜热菌BF80生长及降解苯酚的复合影响

前面已谈到,0.01%、0.05%和0.1%的 Mo^{2+} 和0.01% Mn^{2+} 对嗜热菌BF80的生长和降解苯酚都有促进作用,我们进一步研究了加入这两种离子的混合物时对该菌生长及苯酚降解的影响。在 Mo^{2+} 和 Mn^{2+} 的复合影响下嗜热菌BF80的生长量超过空白参照和 Mo^{2+} , Mn^{2+} 单独添加时的生长量,其中以添加0.01% Mo^{2+} 和0.01% Mn^{2+} 的混合物时嗜热菌BF80生长量最大, OD_{600} 值达到1.094,然后随着 Mn^{2+} 的比重加大菌体的生长量降低,0.01% Mo^{2+} +0.01% Mn^{2+} >0.05% Mo^{2+} +0.01% Mn^{2+} >0.1% Mo^{2+} +0.01% Mn^{2+} >0.01% Mo^{2+} >0.01% Mn^{2+} >空白参照,如图13。然而 Mo^{2+} 和 Mn^{2+} 对促进嗜热菌BF80苯酚

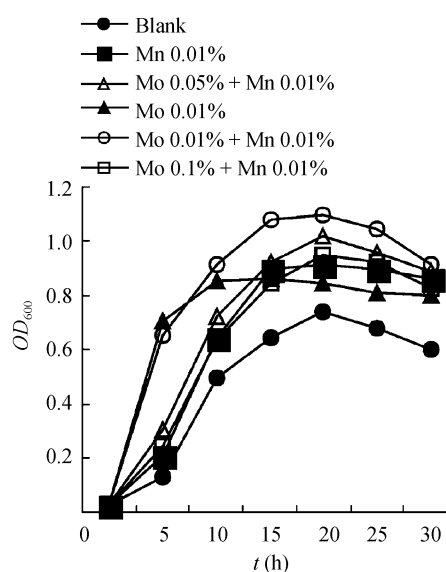
图13 不同浓度 Mo^{2+} , Mn^{2+} 对BF80生长的影响

Fig. 13 Effect of different concentration Mo^{2+} , Mn^{2+} on the growth of BF80

降解的共同作用却弱于 Mo^{2+} , Mn^{2+} 单独促进的作用, 当添加 0.1% Mo^{2+} +0.01% Mn^{2+} 时嗜热菌BF80 的苯酚降解率甚至低于空白参照(如图 14)。

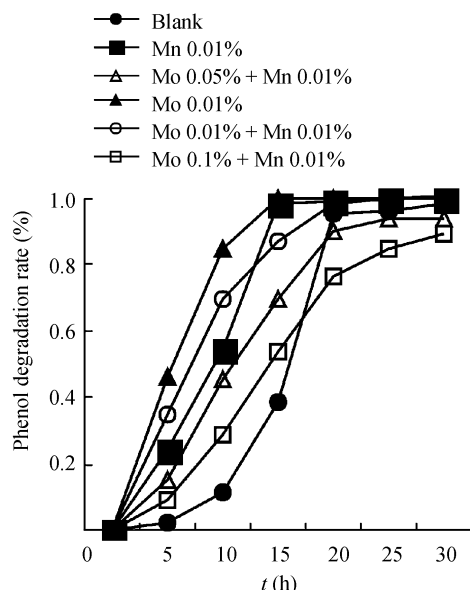


图 14 不同浓度 Mo^{2+} , Mn^{2+} 对BF80 苯酚降解的影响
Fig. 14 Effect of different concentration Mo^{2+} , Mn^{2+} on the phenol degradation of BF80

3 结 论

通过不同金属离子对嗜热菌 BF80 生长和苯酚降解率的影响研究发现:(1) Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Ag^{+} 和 Al^{3+} 对嗜热菌BF80 有强抑制作用, 0.01%的添加量就使该菌不生长或生长量极低, 抑制作用 $\text{Ba}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Hg}^{2+} > \text{Ag}^{+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Al}^{3+} > \text{Zn}^{2+}$; 在添加该 8 种重金属离子的培养基中, 嗜热菌 BF80 对苯酚几乎没有降解作用;(2) Cr^{2+} 对嗜热菌 BF80 的苯酚降解特性有强抑制作用, 0.01%~0.3%的浓度下培养基中的苯酚都没有被降解, 而生长量则随该离子的浓度增大而降低;(3) Sn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Pn^{2+} 对嗜热菌BF80 的生长有一定抑制作用, 在 0.01%~0.3%的条件下, 嗜热菌BF80 的生长量和苯酚降解率随着浓度的升高而降低;(4) 低浓度的 Mn^{2+} 和 Mo^{2+} 对嗜热菌BF80 的生长有促进作用, 但 Mn^{2+} 浓度超过 0.1%和 Mo^{2+} 超过 0.3%的条件下则抑制其生长。在低浓度下, Mn^{2+} 和 Mo^{2+} 可提高嗜热菌 BF80 的苯酚降解率;(5) Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 对嗜热菌BF80

生长有促进作用, 二者对嗜热菌BF80 的最大苯酚降解率几乎没有影响, 但 Ca^{2+} 降低其降解速率, 而 Mg^{2+} 可提高嗜热菌BF80 的苯酚降解速率;(5) 在 Mo^{2+} 和 Mn^{2+} 的复合影响下嗜热菌BF80 的生长量超过空白参照和 Mo^{2+} 和 Mn^{2+} 单独添加时的生长量, 当添加 0.01% Mo^{2+} 和 0.01% Mn^{2+} 的复合离子时嗜热菌 BF80 生长量最大, 但是对苯酚降解率的促进作用却不及 Mo^{2+} 和 Mn^{2+} 分别影响的效果。

参 考 文 献

- [1] 唐 赟, 刘沐之, 梁凤来, 等. 一株嗜热菌的分离鉴定及其苯酚降解特性. 微生物学通报, 2006, 33(5): 39-44.
- [2] Mutzel A, Reinscheid UM, Antranikian G, *et al.* Isolation, properties and kinetics of growth of a thermophilic bacillus. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1996, 46 (5-6): 593-596.
- [3] Balch WE, Fox G, Margrum LJ, *et al.* Isolation and characterization of a thermophilic bacillus strain. *Microbiol Rev*, 1979, 43(2): 260-296.
- [4] 水和废水监测分析方法编委会. 水和废水监测分析方法. 北京: 中国环境科学出版社, 1997, pp.408-410.
- [5] 刘 慧, 杨柳燕, 肖 琳, 等. 重金属离子对酵母降解苯酚的影响. 环境化学, 2004, 23(5): 494-500.
- [6] Guangyu Yan, Thiruvengkatachari Viraraghavan. Heavy-metal removal from aqueous solution by fungus *Mucor rouxii*. *Water Research*, 2003, 37(18): 4486-4490.
- [7] Gao Junfa, Qiao Hua. Research and development of activation agent for wastewater treatment. *Shanxi Environment*, 2000, 7(3): 41-43.
- [8] 王秀衡, 任南琪, 王爱杰, 等. 铁锰离子对硝化反应的影响效应研究. 哈尔滨工业大学学报, 2003, 35(1): 122-125.
- [9] 曹相生, 龙滕锐, 孟雪征, 等. Mn^{2+} , Mo^{6+} 和 Zn^{2+} 对活性污泥内胞外聚合物组分的影响. 环境科学报, 2004, 25(2): 70-73.
- [10] 谢 冰. 重金属对活性污泥微生物的影响. 上海化工, 2004, 29(2): 13-16.
- [11] 孟雪征, 赖震宏, 龙腾锐. 金属离子对好氧活性污泥活性的影响. 安全与环境学报, 2004, 4(6): 43-45.
- [12] 周崇松, 兰昌云, 范必威, 等. 金属离子在生命过程中的作用机制. 广州化学, 2005, 30(1): 58-6.
- [13] 胡常英, 马清河, 刘丽娜, 等. 金属离子与生命活动. 生物学通报, 2005, 40(8): 6-8.