

一株十溴联苯醚高效好氧降解菌的筛选、 鉴定及降解特性

赵宇¹ 尹华^{2,3*} 龙焰¹ 叶锦韶¹ 彭辉¹ 秦华明¹ 何宝燕¹ 张娜¹

(1. 暨南大学 环境工程系 广东省高校水土环境毒害性污染防治与生物修复
重点实验室 广东 广州 510632)

(2. 华南理工大学 环境科学与工程学院 广东 广州 510006)

(3. 工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室 广东 广州 510006)

摘要: 【目的】从广东贵屿镇电子垃圾拆解地采集的沉积物样品中分离十溴联苯醚(BDE-209)高效好氧降解菌,并考察其对 BDE-209 的降解特性。【方法】通过生理生化实验和 16S rRNA 测序鉴定菌种,正交实验优化降解条件,并分析不同降解体系及影响因素对菌降解 BDE-209 的影响。【结果】鉴定结果显示,该 BDE-209 好氧降解菌为短短芽孢杆菌(*Brevibacillus brevis*)。 *B. brevis* 对 1 mg/L BDE-209 5 d 的降解率可达 54.38%。正交实验结果表明, *B. brevis* 降解 BDE-209 的最优条件为: pH 7, 投菌量 3 g/L, 温度 30 °C。降解特性研究结果显示 *B. brevis* 对 BDE-209 降解的最佳菌龄为 36 h, 最佳氮源为 (NH₄)₂SO₄, *B. brevis* 对 Cu²⁺、Cd²⁺ 有较好的耐受性, 但 Cu²⁺ 和 Cd²⁺ 的存在会影响其对 BDE-209 的降解。当 Cu²⁺ 浓度在 1–5 mg/L, Cd²⁺ 浓度在 0.3–0.5 mg/L 范围内时, *B. brevis* 对 BDE-209 降解均可达 50% 以上。【结论】 *B. brevis* 对 BDE-209 有很好的降解效率, 研究结果对 BDE-209 的好氧微生物降解及环境中 BDE-209 的生物修复具有较好的科学意义和应用价值。

关键词: 十溴联苯醚, 微生物降解, 筛选, 重金属, 特性

基金项目: 国家自然科学基金委-广东省联合基金重点项目(No. U0933002); 国家自然科学基金项目(No. 50978122); 广州市科技计划项目(No. 2011J4300075); 暨南大学科研培育与创新基金项目(No. 1612448)

*通讯作者: ✉: thyin@jnu.edu.cn

收稿日期: 2012-07-23; 接受日期: 2012-10-26

Screening, identification and characteristics of an effective decabromodiphenyl ether degrading aerobic strain

ZHAO Yu¹ YIN Hua^{2,3*} LONG Yan¹ YE Jin-Shao¹ PENG Hui¹
QIN Hua-Ming¹ HE Bao-Yan¹ ZHANG Na¹

(1. Department of Environmental Engineering, Jinan University, Laboratory of Water/Soil Toxic Pollutants Control and Bioremediation of Guangdong Higher Education Institutes, Guangzhou, Guangdong 510632, China)

(2. College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

(3. The Key Laboratory of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, Ministry of Education, Guangzhou, Guangdong 510006, China)

Abstract: **[Objective]** To isolate the aerobic strain with high-efficiency in degrading decabromodiphenyl ether (BDE-209) from sediment samples collected from Guiyu town in Guangdong Province, an e-waste recycling area, and investigate its degradation characteristics. **[Methods]** The strain was identified based on its physio-biochemical characteristics and 16S rRNA sequence analysis. The orthogonal experiment was conducted to determine the optimal degrading conditions, effects of different degradation systems and other factors on the degradation efficiency of the strain. **[Results]** The strain was identified as *Brevibacillus brevis* named as GY2. Its five-day degradation efficiency reached 54.38% when the initial concentration of BDE-209 was 1 mg/L. The optimum conditions for BDE-209 degradation were as follows: pH 7, bacterial dosage 3 g/L, and culturing temperature 30 °C. The study also showed that the optimal strain age was 36 h and the best nitrogen source was (NH₄)₂SO₄. *B. brevis* could tolerate the toxicity of Cu²⁺ and Cd²⁺, although the presence of these heavy metals posed certain influence on BDE-209 degradation. As the concentration of Cu²⁺ and Cd²⁺ were in the range of 1–5 mg/L and 0.3–0.5 mg/L, respectively, the degradation efficiency of BDE-209 was still over 50%. **[Conclusion]** *B. brevis* is effective in degrading BDE-209, the results are of significance and application importance in the study of aerobic microbial degradation and environment bioremediation of BDE-209.

Keywords: Decabromodiphenyl ethers, Microbial degradation, Screening, Heavy metal, Characteristics

多溴联苯醚(Polybrominated diphenyl ethers, PBDEs)是一种常用阻燃剂,具有阻燃性能高,热稳定性好,所需添加量少,对材料性能影响小以及产品价格低廉等优点,因此被广泛应用于电

子、电器、化工、纺织以及建筑等领域^[1-2]。其中含溴量最高的十溴联苯醚(Decabromodiphenyl ether, BDE-209)是目前市场上需求量最大的一类,主要添加于各类纺织品、电路板聚酯(电视机和计

算机等电子产品)等中^[3-4]。BDE-209 为一种非反应添加型阻燃剂, 由于缺乏化学键的束缚, 其在学习、运输和添加到产品过程、以及在废弃物的存放、处理和处置过程中会不同程序地释放进入到环境中^[5]。目前, 在空气^[6]、土壤^[7-8]、水体及沉积物^[9-10]以及生物体^[11-12]中均已检出 BDE-209, 且其含量呈逐年增长的趋势^[13]。现有研究表明, BDE-209 具有许多潜在的生物毒性, 如潜在的致癌性及对子代免疫功能产生影响等^[14-15]。可见, 长期的生产、使用 BDE-209 导致其环境中的量不断积累, 已经对环境及人类健康安全造成严重威胁, 因此, BDE-209 的降解已经成为环保工作者关注的热点问题。目前关于 BDE-209 的降解研究主要集中在光降解^[16-17]、化学降解^[18]和微生物厌氧降解^[19-21]等方面。厌氧降解主要为还原脱溴的过程, 即不断脱去溴原子而产生低溴代联苯醚, 再进一步降解, 该过程所需时间较长。而好氧降解则主要为共代谢作用^[22], 耗时较短, 此外, 好氧降解还具有高效、廉价等优点, 但目前关于好氧降解的研究还较少。因此, 筛选高效的 BDE-209 好氧降解菌并探讨其降解特性对于拓宽 BDE-209 的降解途径具有重要的科学意义和应用价值。

本研究利用广东贵屿镇电子垃圾拆解地环境介质中 BDE-209 含量高, 有可能富集相应的高 BDE-209 耐受与降解菌的特性, 对所采集到的该地区沉积物样品中的微生物进行分离和筛选, 获得了一株 BDE-209 高效好氧降解菌, 并对该菌株的 BDE-209 降解特性进行了研究, 以期为 BDE-209 的好氧生物降解的研究提供基础数据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料和培养基

菌株分离所用沉积物样品采自广东贵屿镇电子垃圾拆解区附近河流。

BDE-209: 纯度 99%, 购于 Sigma Aldrich 公司。BDE-209 母液: 用 HPLC 级甲苯为溶剂, 将 BDE-209 制备成浓度为 1 000 mg/L 标准母液, 于 4 °C 冰箱保存备用。

其它试剂: HPLC 级正己烷购于 Sigma Aldrich 公司; AR 级二氯甲烷与正己烷购于天津进丰化学试剂厂; AR 级无水 Na₂SO₄、(NH₄)₂SO₄、KH₂PO₄、K₂HPO₄、NaCl 等试剂购自广州化学试剂厂。

牛肉膏蛋白胨培养基(g/L): 牛肉膏 3, 蛋白胨 10, NaCl 5, pH 7, 固体培养基加琼脂 1.5%–2.0%。用于菌株的分离富集及扩大培养。

基础无机盐培养基(MSM, g/L): NH₄NO₃ 1.0, KH₂PO₄ 1.5, K₂HPO₄ 3.0, NaCl 0.5, 微量元素 0.2% (MgSO₄ 4, CuSO₄ 1, MnSO₄ 1, FeSO₄·7H₂O 1, CaCl₂ 1)。

1.2 菌株的富集、分离与纯化

称取 1 g 沉积物样品加入到 BDE-209 浓度为 10 mg/L 的富集培养基中, 于 30 °C、130 r/min 恒温摇床中培养, 每 2 天转接 1 次, 每次转接的同时提高 10 mg/L 的 BDE-209 浓度, 直到 BDE-209 浓度达到 50 mg/L 后, 接种到以 50 mg/L BDE-209 为唯一碳源的 MSM 培养基中, 连续培养两周后, 再用梯度稀释法、平板涂布法对菌株进行分离纯化, 挑选生长较快、形态不同的菌落进行扩大培养, 并研究各菌对 BDE-209 的降解, 挑选出降解率高的菌株。

十溴联苯醚降解率计算方法如下:

$$\text{降解率 (\%)} = \frac{\text{对照样品残留量} - \text{处理样品残留量}}{\text{对照样品残留量}} \times 100$$

1.3 BDE-209 降解菌的鉴定

生理生化鉴定: 方法参照文献[23]。

16S rRNA 分子鉴定: 方法参照文献[24-25], 委托广东省微生物分析检测中心完成。

1.4 生长曲线

将菌株接种到牛肉膏蛋白胨培养基中, 分别于 0、2、6、12、24、30、36、48、72、96 和 120 h 取样, 以未接种的牛肉膏蛋白胨培养基为空白对照, 用分光光度计测定 600 nm 下的吸光值, 绘制其生长曲线。同时分别向 MSM 培养基降解体系中投入 3 g/L (湿重, 含水率 97.81%, 下同) 生长 12、24、30、36、48、72 和 96 h 的降解菌, 测定不同菌龄降解菌对 BDE-209 的降解。

1.5 BDE-209 降解条件的优化

采用正交实验设计方法对 pH (A)、投菌量 (B)、温度 (C)、降解时间 (D) 进行研究, 实验设计如表 1 所示, BDE-209 浓度为 1 mg/L。运用 SPSS 13.0 软件进行正交实验设计, 实验结果为 BDE-209 的降解率, 对实验结果进行方差分析后即可得到对菌降解 BDE-209 影响最显著的主效因子以及降解最优化条件。

1.6 菌对 BDE-209 的降解性能

不同降解体系中菌对 BDE-209 的降解: 分别选用蒸馏水 (Z)、天然湖水 (L)、灭菌的天然湖水 [L(M)]、MSM 培养基 (W)、天然湖水与 MSM 培养基以 1:1 (V:V) 混合未灭菌水 (WL)、天然湖水与 MSM 培养基以 1:1 (V:V) 混合后灭菌水 [WL(M)] 6 种不同水质的水作为降解体系, BDE-209 浓度为 1 mg/L, 投菌量为 3 g/L, 以不加菌的降解体系为空白对照, 30 °C、130 r/min 恒温摇床培养 5 d 后,

考察不同降解体系中菌对 BDE-209 的降解情况。

不同氮源下菌对 BDE-209 的降解: 分别选择 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NH_4NO_3 、 NaNO_3 、 $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 、 $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ 做为 MSM 培养基的唯一氮源, 浓度均设置为 1 g/L, BDE-209 浓度为 1 mg/L, 投菌量为 3 g/L, 培养方式同上, 考察不同氮源下菌对 BDE-209 的降解情况。

不同浓度 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 存在下菌对 BDE-209 的降解: 重金属是除 PBDEs 外伴随电子垃圾拆解过程进入环境的另一类主要污染物, 例如 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} 等^[26]。本实验选取较有代表性的 Cu^{2+} 及 Cd^{2+} , 向 MSM 培养基中分别加入 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 与 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, 使 Cu^{2+} 浓度分别为 0、0.5、1、2、5、10、20、30 mg/L, Cd^{2+} 浓度分别为 0、0.05、0.1、0.3、0.5、1.0 mg/L, BDE-209 浓度为 1 mg/L, 投菌量为 3 g/L, 培养方式同上, 研究不同浓度 Cu^{2+} 与 Cd^{2+} 对菌降解 BDE-209 的影响。

2 结果与分析

2.1 BDE-209 降解菌的分离与鉴定

经过菌株的分离与纯化, 获得了一株能以 BDE-209 为唯一碳源生长的降解菌, 将该菌加入 BDE-209 浓度为 1 mg/L 的 MSM 培养基中培养 5 d 后, 其对 BDE-209 的降解率可达到 54.38%。将该菌命名为 GY2, 并进行生理生化实验, 结果见表 2。

表 1 正交实验设计
Table 1 Orthogonal experimental design

Factors	pH (A)	投菌量 Concentration of bacteria (B, g/L)	温度 Temperature (C, °C)	降解时间 Time (D, d)
Level 1	4.0	0.5	15	2
Level 2	6.0	1.0	20	4
Level 3	7.0	2.0	25	5
Level 4	8.0	3.0	30	6
Level 5	10.0	5.0	35	8

表 2 生理生化特性
Table 2 Physiological and biochemical characteristics

测定项目 Items	结果 Results	测定项目 Items	结果 Results
革兰氏染色 Gram-staining	-	过氧化氢酶 Catalase	+
芽孢染色 Spore staining	+	柠檬酸盐 Citrate	+
葡萄糖氧化发酵 Glucose oxidation fermentation	-	M. R.	-
淀粉水解 Starch hydrolysis	-	V-P Diacetyl	-

注: +: 结果为阳性; -: 结果为阴性。

Note: +: Positive; -: Negative.

由表 2 可知, 该菌为革兰氏阴性菌, 观察外部形态, 其有芽孢, 呈短杆状, 在牛肉膏蛋白胨琼脂平板上于 30 °C 培养 36 h 后, 呈湿润光滑、边缘整齐、表面隆起的乳白色不透明圆形菌落。根据伯杰氏手册, 初步判定为芽孢杆菌科芽孢杆菌属(*Bacillus*)。

将菌株 GY2 的 16S rRNA 序列(GY2 在 GenBank 的登录号为 JX394220)与 GenBank 中已有序列进行比对, 发现菌株 GY2 与菌株 *Brevibacillus brevis* (短短芽孢杆菌)同源性最高, 达 100%。基于 GY2 菌株的 16S rRNA 序列构建的系统发育树见图 1。

2.2 不同菌龄 *B. brevis* 对降解 BDE-209 的影响

B. brevis 生长曲线及不同菌龄的 *B. brevis* 对 BDE-209 降解情况见图 2。

B. brevis 在接入牛肉膏蛋白胨培养液后, 经过约 6 h 的调整期后进入对数生长期, 并在 36 h 达到最大生长量, 之后进入比较长时间的稳定期。从图 2 还可以看出, 不同菌龄的 *B. brevis* 对 BDE-209 的降解效果也不同。随着降解菌的生长进入对数期, 其对 BDE-209 的降解呈现先上升后下降的趋势, 当菌龄为 36 h 时, BDE-209 的降解率达最高值, 为 59.17%。这是因为, 处于对数生长期的菌酶活高、合成代谢旺盛, 所产生的新生

菌体多, 新生菌体的数量显著多于凋亡菌体, 利用碳源 BDE-209 的能力强; 而在稳定期, 菌体合成代谢速率较对数期减弱, 对碳源 BDE-209 的利用能力也相对减弱, 菌体的生长速率与凋亡速率基本相等, 与相同生物量的对数期菌体相比, 所含凋亡的菌体数量增多, 菌体因凋亡而释放的胞内物增多, 活菌体可利用的碳源种类更多, 从而进一步削弱了 BDE-209 的降解。

2.3 *B. brevis* 降解 BDE-209 条件的优化

按照正交设计表 1 的设计进行实验, 分别测定正交设计得到的 25 组实验中 BDE-209 的降解率。对实验结果进行分析, 得到各因素的极差 R 以及方差分析结果分别见表 3、4。

从表 3 中 R 值及表 4 中各因素 F 值可以看出, pH 及投菌量对 BDE-209 的降解有显著影响, 其中投菌量对 BDE-209 降解的影响最大。各因素对 BDE-209 影响的顺序为: 投菌量 > pH > 时间 > 温度。各因素下 BDE-209 的最优降解条件为: pH 7, 投菌量 3 g/L, 温度 30 °C。

2.4 *B. brevis* 降解 BDE-209 的特性

2.4.1 BDE-209 在不同降解体系中的降解: 采用不同类型水质作为降解体系, 考察 *B. brevis* 在不同降解体系中对 BDE-209 的降解, 实验结果见图 3。

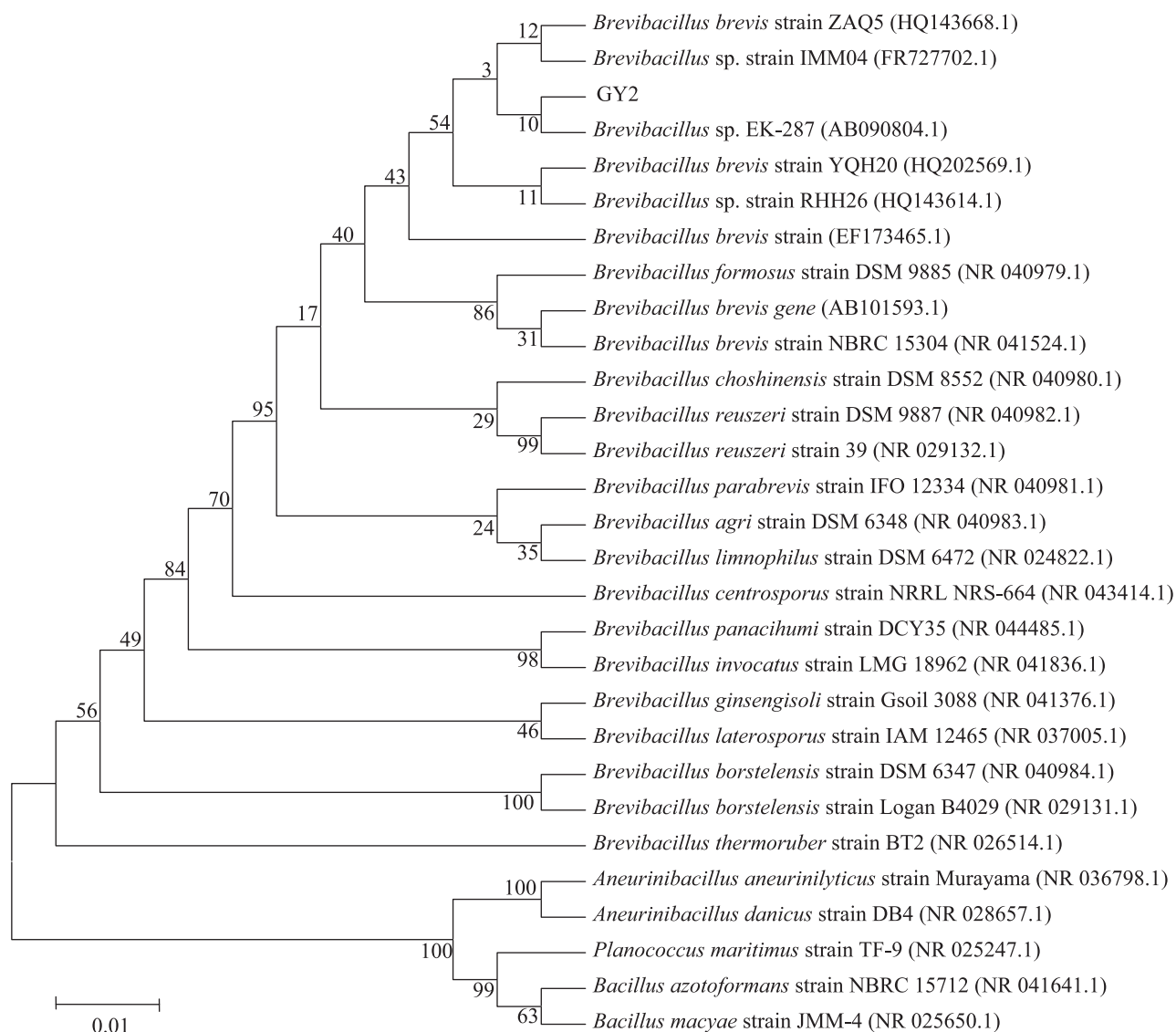


图 1 基于 16S rRNA 基因序列构建的 GY2 系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree of strain GY2 based on 16S rRNA sequence analysis

注: 括号中的序号为 GenBank 登录号; 分支点上的数字为计算 1 000 次聚类到一起的几率; 比例尺为 1% 的序列差异.

Note: Numbers in parentheses represent the sequences' accession number in GenBank. Numbers at the nodes indicate the percentage of occurrence in 1 000 boot-strapped trees. Bar 0.01 represent sequence divergence.

表 3 正交实验结果
Table 3 Orthogonal experimental result

	均值 1 x_1	均值 2 x_2	均值 3 x_3	均值 4 x_4	均值 5 x_5	极差 R Range (R)
A	11.88	22.21	29.64	25.70	18.27	17.77
B	7.61	22.02	25.07	27.01	25.98	19.39
C	20.99	19.06	23.50	23.62	20.53	4.56
D	18.43	18.01	20.81	23.32	27.13	9.13

表 4 正交结果方差分析
Table 4 ANOVA of orthogonal experimental results

源 Source	平方和 Squares	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F	显著性 Sig.
Model	2 693.229	16	168.327	6.383	0.006
Intercept	11 598.859	1	1 1598.859	439.805	0.000
A	937.056	4	234.264	8.883	0.005
B	1 279.521	4	319.880	12.129	0.002
C	68.943	4	17.236	0.654	0.641
D	224.965	4	56.241	2.133	0.168
Error	210.982	8	26.373		
Total	14 503.070	25			
Total lack of fit	2 904.211	24			

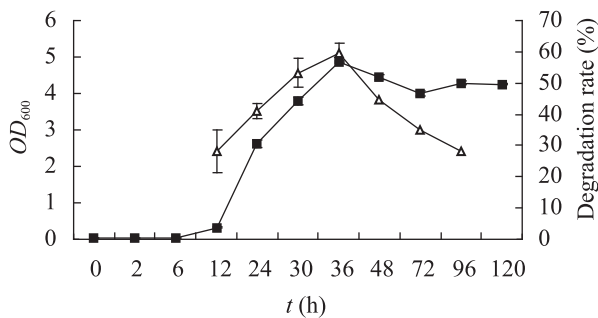


图 2 不同菌龄的 *B. brevis* 对 BDE-209 降解的影响
Fig. 2 Effects of bacteria age on BDE-209 degradation

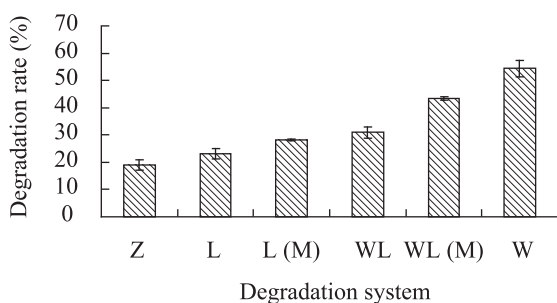


图 3 BDE-209 在不同降解体系中的降解
Fig. 3 Degradation of BDE-209 in different degradation systems

注: Z: 蒸馏水; L: 天然湖水; L (M): 灭菌的天然湖水; W: MSM 培养基; WL: L 与 W 为 1:1 (V/V, 未灭菌); WL (M): 天然湖水与 MSM 培养基 1:1 (V/V, 灭菌).

Note: Z: Aquadistillate; L: Natural lake; L (M): Sterilized natural lake; W: MSM medium; WL: L and W 1:1 (V/V, non sterilized); WL (M): L and W 1:1 (V/V, sterilized).

由图 3 可以看出, MSM 培养基最有利于 *B. brevis* 对 BDE-209 的降解, 其次是灭菌的湖水与 MSM 培养基为 1:1 (V/V) 构成的体系, 之后是未灭菌的该体系以及灭菌的湖水体系, 降解效果最差的是蒸馏水体系。

不同类型的水质中所含营养物质不同, 导致菌对 BDE-209 的降解差异。蒸馏水体系中不含营养物质, 仅有 BDE-209, 不能满足 *B. brevis* 生长代谢需求, 从而阻碍了 BDE-209 的降解。而天然湖水中含有菌体生长所需的营养物质, 包括一些比较容易被微生物利用的碳源等, 所以 *B. brevis* 会首先利用这些易生物降解的碳源进行生长代谢, 从而导致菌对 BDE-209 的降解率不高。从图 3 中还可以看出, 在灭菌的体系相比未灭菌的同类型体系中, 菌对 BDE-209 的降解率高, 这说明 *B. brevis* 与天然湖水中的土著微生物存在一定的营养竞争关系, 从而阻碍了菌对 BDE-209 的降解。MSM 培养基是根据微生物生长所必需的营养物质配制而成, 里面含有微生物生长所需的氮源及无机盐, BDE-209 在 MSM 培养基中作为唯一碳源, *B. brevis* 需充分利用 BDE-209 作为碳源来维持其生长代谢, 所以 MSM 培养基中菌对 BDE-209 降解率最高。

2.4.2 不同氮源条件下 *B. brevis* 对 BDE-209 的降解: 氮源是构成细胞原生质和酶蛋白的主要原料, 因此, 不同氮源对微生物生长代谢会有所影响, 在不同氮源下 *B. brevis* 对 BDE-209 的降解结果见图 4。

实验结果表明, 菌对 BDE-209 降解过程中, 无机氮源优于有机氮源, NH_4^+ 优于 NO_3^- 。当氮源为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 时, 菌对 BDE-209 降解效果最好, 可达 59.97%。不同微生物生长代谢对氮源的需求与利用情况有所不同, 但一般来说无机氮比有机氮更容易被微生物吸收, NH_4^+ 和 NO_3^- 可以直接被菌吸收用于自身的生长代谢, 而有机氮则需分解代谢后才可利用, 所以导致无机氮源中 BDE-209 降解效果好于有机氮源。 NH_4^+ 被微生物吸收后可经过酶的作用直接用于细胞氨基酸及蛋白质的合成, NO_3^- 则需要经还原成为 NH_4^+ 后再利用, 因此 NH_4^+ 比 NO_3^- 更有利于该菌体的生长代谢。

2.4.3 Cu^{2+} 对 BDE-209 降解的影响: 不同浓度 Cu^{2+} 存在时, 菌对 BDE-209 的降解情况见图 5。

由图 5 可以看出, 在较大 Cu^{2+} 浓度范围内, *B. brevis* 均可对 BDE-209 有一定的降解作用, 说明该菌对 Cu^{2+} 有较好的耐受性。随着 Cu^{2+} 浓度的

升高, BDE-209 的降解率呈现先上升后下降的趋势, 在 Cu^{2+} 浓度为 2.0 mg/L 时降解率达最大, 为 53.68%。这是因为 Cu^{2+} 是微生物生长代谢的必需元素, 其可在微生物生化反应中起到催化剂作用, 如它是多酚氧化酶的组成成分, 也是羧化酶作用所必需元素^[27]。因此低浓度 Cu^{2+} 的加入促进了菌体的生长代谢, 从而使菌对 BDE-209 的降解提高。当 Cu^{2+} 在微生物细胞中过量存在时, 则会对菌体细胞产生毒害作用, 从而抑制菌对 BDE-209 的降解, 导致 BDE-209 降解率的降低。

2.4.4 Cd^{2+} 对 BDE-209 降解的影响: 不同浓度 Cd^{2+} 存在时, 菌对 BDE-209 降解情况见图 6。

由图 6 可知, 当降解体系中加入 Cd^{2+} 之后, 随着 Cd^{2+} 浓度的增加, *B. brevis* 对 BDE-209 的降解呈现一个先增加后下降的趋势。当 Cd^{2+} 加入量为 0.50 mg/L 时, 降解率达到最大值, 略大于没有 Cd^{2+} 时的降解率。

文献报道, 重金属对微生物质膜的破坏并非简单的机械损伤, 而是对细胞酶系的改变与物质合成位点的抑制, 从而使菌体原生质膜发生成分与通透性的改变^[28]。通过本实验结果可以推测, 当较低浓度 Cd^{2+} 存在时, 菌体细胞膜受 Cd^{2+} 毒害作用, 使 BDE-209 吸附及进入细胞能力下降。但

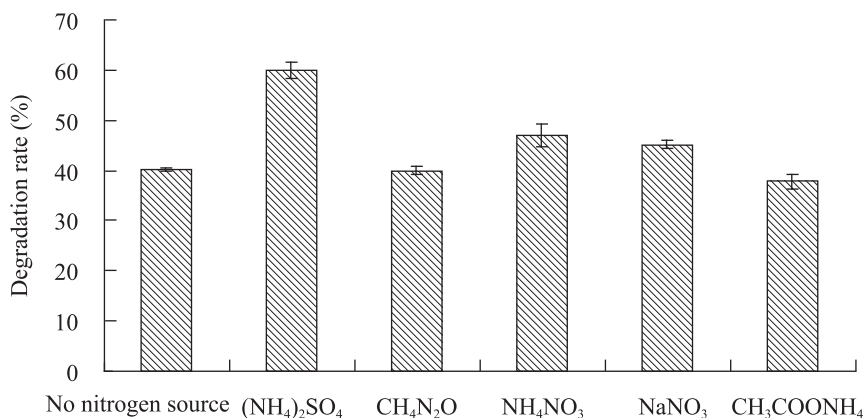


图 4 不同氮源条件下菌对 BDE-209 的降解

Fig. 4 Degradation of BDE-209 in different nitrogen sources

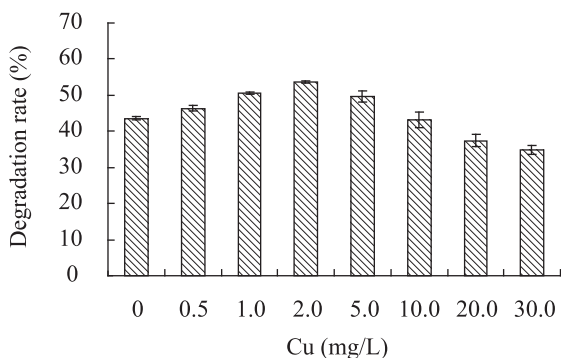


图5 Cu²⁺对 BDE-209 降解的影响
Fig. 5 Effects of Cu²⁺ on degradation of BDE-209

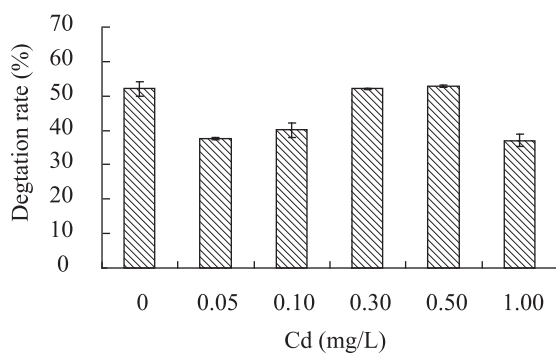


图6 Cd²⁺对 BDE-209 降解的影响
Fig. 6 Effects of Cd²⁺ on degradation of BDE-209

随着浓度的增加,其毒害作用加深,细胞膜进一步破坏,使 BDE-209 可以直接进入细胞内被降解,但当 Cd²⁺浓度进一步升高(如大于 0.50 mg/L)后,对菌体产生更进一步的毒害作用,导致菌对 BDE-209 降解率再次下降。

3 讨论

近年来关于 PBDEs 的微生物降解研究报道越来越多,虽然主要集中于厌氧微生物降解^[2],但好氧微生物降解也以其优势逐渐受到了研究人员的关注,研究显示白腐真菌、蜡状芽孢杆菌复合菌以及苏云金芽孢杆菌都可以降解 BDE-209。Zhou 等^[29]研究了表面活性剂环糊精和 Tween 80 的加入对白腐真菌降解 BDE-209 的影响,证明了该两种表面活性剂的加入可以增加

BDE-209 的表观溶解度,促进白腐真菌对 BDE-209 的降解;熊士昌等^[30]研究了重金属 Cd、Pb、Cu 对白腐真菌降解十溴联苯醚的影响,发现低浓度的重金属(≤ 1 mg/L)时可促进白腐菌对 BDE-209 的降解,7 d 内对 BDE-209 (1 mg/L)的降解率可达 69.7%,但高浓度的重金属会抑制 BDE-209 的降解,重金属主要通过作用于白腐真菌胞外酶来影响 BDE-209 的降解。王婷等^[31]发现蜡状芽孢杆菌(XPB、XPC)复合菌对 BDE-209 有高效的脱溴能力,在 1 d 的时间内,在不加入重金属物质时脱溴能力达到 14.16%,在加入重金属过后,该复合菌的脱溴能力也达到 13.9%,但过量的重金属存在会造成 BDE-209 降解率的降低。江虹等^[32]分离出了一株苏云金芽孢杆菌,其对 BDE-209 的降解率可以达到 50%以上,最高可达 73%。

本研究从电子垃圾拆解地的沉积物样品中筛选 BDE-209 高效降解菌,分离得到一株能以 BDE-209 为唯一碳源的好氧降解菌 *Brevibacillus brevis*,此类菌株对 BDE-209 的降解尚未见报道。通过正交实验优化了 *B. brevis* 对 BDE-209 的降解条件为 pH 7,投菌量 3 g/L,温度 30 °C。降解特性实验表明 *B. brevis* 降解 BDE-209 的最佳菌龄为 36 h,最佳氮源为(NH₄)₂SO₄。*B. brevis* 对 Cu²⁺、Cd²⁺有很好的耐受性,但 Cu²⁺和 Cd²⁺的存在会影响 *B. brevis* 对 BDE-209 的降解,当 Cu²⁺浓度在 1–5 mg/L, Cd²⁺浓度在 0.3–0.5 mg/L 范围内,*B. brevis* 对 BDE-209 的降解效果较好,均可达 50%以上。

BDE-209 微生物降解及生物修复研究目前仍处于初期阶段,高效菌株的缺乏,代谢机制的不明确及实际应用工作的开展等问题仍是研究的焦点,因此本研究采用所筛选的 *B. brevis* 对 BDE-209 进行微生物降解,研究结果具有潜在的实际应用价值。*B. brevis* 对 BDE-209 的降解研

究目前还处于起步阶段, 所以其它环境因素对其降解 BDE-209 的影响、该菌对 BDE-209 降解的代谢机制以及如何应用到实际环境中 BDE-209 污染的修复还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Xia CH, Lam JCW, Wu XG, et al. Levels and distribution of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in marine fishes from Chinese coastal waters[J]. *Chemosphere*, 2011, 82(1): 18–24.
- [2] Alae M, Arias P, Sjödin A, et al. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release[J]. *Environment International*, 2003, 29(6): 683–689.
- [3] De Wit CA. An overview of brominated flame retardants in the environment[J]. *Chemosphere*, 2002, 46(5): 583–624.
- [4] La Guardia MJ, Hale RC, Harvey E. Detailed polybrominated diphenyl ether (PBDE) congener composition of the widely used penta-, octa-, and deca-PBDE technical flame-retardant mixtures[J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(20): 6247–6254.
- [5] 刘汉霞, 张庆华, 江桂斌, 等. 多溴联苯醚及其环境问题[J]. *化学进展*, 2005, 17(3): 554–562.
- [6] Lee RGM, Thomas GO, Jones KC. PBDEs in the atmosphere of three locations in western Europe[J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38(3): 699–706.
- [7] 金军, 王英, 刘伟志, 等. 莱州湾地区土壤及底泥中多溴联苯醚水平及其分布[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(7): 1463–1468.
- [8] Ethel E, Goran M, Ana L, et al. Effect of sewage sludges contaminated with polybrominated diphenylethers on agricultural soils[J]. *Chemosphere*, 2008, 71(6): 1079–1086.
- [9] Samara F, Tsai CW, Aga DS. Determination of potential sources of PCBs and PBDEs in sediments of the Niagara river[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 139(3): 489–497.
- [10] 陈社军, 麦碧娴, 曾永平, 等. 珠江三角洲及南海北部海域表层沉积物中多溴联苯醚的分布特征[J]. *环境科学学报*, 2005, 25(9): 1265–1271.
- [11] Meng XZ, Zeng EY, Yu LP, et al. Assessment of human exposure to polybrominated diphenyl ethers in China via fish consumption and inhalation[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(14): 4882–4 887.
- [12] Gallego E, Grimalt JO, Bartrons M, et al. Altitudinal gradients of PBDEs and PCBs in fish from European high mountain lakes[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(7): 2196–2202.
- [13] Lindberg P, Sellstrom U, Haggberg L, et al. Higher brominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane found in eggs of peregrine falcons (*Falco peregrinus*) breeding in Sweden[J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38(1): 93–96.
- [14] 周俊, 陈敦金, 廖秦平, 等. 孕期、哺乳期暴露十溴联苯醚对子代大鼠免疫功能的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2006, 26(6): 738–741.
- [15] Vonderheide AP, Mueller KE, Meija J, et al. Polybrominated diphenyl ethers: causes for concern and knowledge gaps regarding environmental distribution, fate and toxicity[J]. *The Science of the Total Environment*, 2008, 400(1/3): 425–436.
- [16] Eriksson J, Green N, Marsh G, et al. Photochemical decomposition of 15 polybrominated diphenyl ether congeners in methanol/water[J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38(11): 3119–3125.
- [17] 祖耕武, 文晟, 傅家谟, 等. 颗粒物上十溴联苯醚的光降解反应[J]. *生态环境学报*, 2009, 18(1): 205–209.
- [18] 明磊强, 何义亮, 章敏, 等. 零价铁降解多溴联苯醚影响条件的研究[J]. *净水技术*, 2010, 29(2): 49–52.
- [19] Sierra R, Michael GI, MacMurray DW. Anaerobic microbial and photochemical degradation of 4, 4'-dibromodiphenyl ether[J]. *Water Research*, 2003, 37(3): 551–560.

- [20] Cho HS, Moon HS, Kim M, et al. Biodegradability and biodegradation rate of poly (caprolactone)-starch blend and poly (butylene succinate) biodegradable polymer under aerobic and anaerobic environment[J]. *Waste Management*, 2011, 31(3): 475–480.
- [21] Geredke AC, Hartmann PC, Heeb NV. Anaerobic degradation of decabromodiphenyl ether[J]. *Environmental Science and Technology*, 2005, 39(4): 1078–1083.
- [22] Robrock KR, Coelhan M, Sedlak DL, et al. Aerobic biotransformation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) by bacterial isolates[J]. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43(15): 5705–5711.
- [23] 肖琳, 杨柳燕, 尹大强, 等. 环境微生物实验技术[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 49–55.
- [24] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 DW. 分子克隆实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [25] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
- [26] Guo Y, Huang CJ, Zhang H, et al. Heavy metal contamination from electronic waste recycling at Guiyu, southeastern China[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2009, 38(4): 1617–1626.
- [27] Pauza NL, Cotti MJP, Godar L, et al. Disturbances on Delta aminolevulinate dehydratase (ALA-D) enzyme activity by Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Na^{+} , K^{+} and Li^{+} : analysis based on coordination geometry and acid-base Lewis capacity[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2005, 99(2): 409–414.
- [28] Mario G, Luis L, Maury L, et al. A gene cluster involved in metal homeostasis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803[J]. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(6): 1507–1514.
- [29] Zhou J, Jiang WY, Ding J, et al. Effect of Tween 80 and β -cyclodextrin on degradation of decabromodiphenyl ether (BDE-209) by white rot fungi[J]. *Chemosphere*, 2007, 70(2): 172–177.
- [30] 熊士昌, 尹华, 彭辉, 等. 重金属对白腐菌降解十溴联苯醚的影响[J]. *环境科学*, 2012, 33(3): 1008–1014.
- [31] 王婷, 尹华, 彭辉, 等. 低浓度重金属对蜡状芽孢杆菌复合菌降解 BDE209性能的影响[J]. *环境科学*, 2008, 29(7): 1967–1972.
- [32] 江虹, 尹华, 彭辉, 等. BDE209好氧降解菌的筛选及降解特性研究[J]. *安全与环境学报*, 2010, 10(2): 49–52.

稿件书写规范

专论与综述论文的撰写要点

专论与综述是本刊重要栏目之一, 主要反映国内外微生物学及相关领域学科研究最新成果和进展, 其内容要求新颖丰富, 观点明确, 论述恰当, 应包含作者自己的工作内容和见解。因此, 作者在动笔之前必须明确选题, 一般原则上应选择理论和实践中具有重要意义的学科专题进行论述。围绕专题所涉及的各个方面, 在综合分析和评价已有资料基础上提出其演变规律和趋势, 即掌握其内在的精髓, 深入到专题研究的本质, 论述其发展前景。作者通过回顾、观察和展望, 提出合乎逻辑并具有启迪性的看法和建议。另外, 作者也可以采用以汇集文献资料为主的写作方法, 辅以注释, 客观而有少量评述, 使读者对该专题的过去、现在和将来有一个全面、足够的认识。

需要特别说明的是: (1) 本刊要求作者投稿时在正文前写上主要作者的简介, 并指出自己的工作(已发表的文章)在综述中的体现。(2) 在专论与综述中引用的文献应该主要是近 5 年内国内外正式发表的研究论文, 引用文献数量不限。