Water Pollution and Treatment 水污染及处理, 2013, 1, 7-11
http://dx.doi.org/10.12677/wpt.2013.11002 Published Online October 2013 (http://www.hanspub.org/journal/wpt.html)

Biosorption and Degradation of Benzopyren Contaminated Wastewater by Microorganisms*

Yusi Zhu, Shuyan Zang#, Haixuan Wu, Hailong Zhang, Shubo He, Liang Kong, Jing Guan

Shenyang University of Chemical Technology, Shenyang
Email: #zangshuyan@126.com

Received: Aug. 16th, 2013; revised: Aug. 19th, 2013; accepted: Aug. 21st, 2013

Copyright © 2013 Shuyan Zang et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Abstract: The biosorption and degradation of benzopyren (BaP) which is related to toxicity, mutagenesis and carcinogenesis were investigated through the fungus *Aspergillus niger* and *Pseudomonas* sp. Under the experimental conditions, the optimal concentration range of BaP was <160 μg/mL by biosorption of these two microorganisms, and <80 μg/mL by degradation. The most suitable temperature range for biosorption of BaP was 20˚C - 40˚C, and 25˚C - 30˚C for degradation. The suitable time of BaP biosorption for above two microorganisms was 60 min, and 6 d for BaP degradation. The experimental results provided a theoretical basis for rapid recovery and removal of persistent organic pollutants.

Keywords: Biosorption; Degradation; Bap; *Aspergillus niger*; *Pseudomonas*

微生物对污染废水中苯并(a)芘的吸附与降解研究*

朱雨思，臧淑艳#，吴海璇，张海龙，何树波，孔　亮，管　晶

沈阳化工大学应用化学学院，沈阳
Email: #zangshuyan@126.com

收稿日期：2013 年 8 月 16 日；修回日期：2013 年 8 月 19 日；录用日期：2013 年 8 月 21 日

摘　要：以具有致癌、致畸和致突变作用的苯并(a)芘(BaP)为目标污染物，研究真菌黑曲霉和细菌假单胞对污染废水中 BaP 的吸附与降解。实验条件下，BaP 的有效吸附浓度范围是 c(BaP) < 160 μg/mL，降解浓度范围是 c(BaP) < 80 μg/mL；对 BaP 有效吸附的温度范围是 20℃~40℃，适合的降解温度是 25℃~30℃；吸附平衡时间为 60 min，降解平衡期为 6 d。实验结果为难降解的持久有机污染物的快速回收与去除提供了理论依据。

关键词：吸附；降解；苯并(a)芘；黑曲霉；假单胞菌

1. 引言

随着工业的发展，从药物、石油化工、油脂、溶剂、农药以及其他工业向环境排放的有机污染物日益增多，并通过各种途径进入土壤/地下水，引起有机污染[1-3]。苯并(a)芘(BaP)是一种具有潜在的致癌、致畸和致突变作用的多环芳烃(PAHs)，能通过食物链生物富集，对土壤和地下水造成污染[4]。美国环保局将其列入优先控制有毒有机污染物的黑名单。

处理 BaP 的传统方法多为物理法和化学法，虽然

*基金项目：石油污染海域中苯并(a)芘和汞复合污染的强化修复原理及调控机制(F12-277-1-84)；辽宁省高等学校杰出青年学者成长计划(LJQ2011041)；辽宁省自然科学基金项目(201202176)。
#通讯作者。

各有优点但存在投资大、能耗高、操作困难、易产生二次污染等缺点[5]。随着生物技术的发展与应用，生物吸附法处理有机污水以其来源丰富、操作简单、成本低、吸附速率快、处理低浓度废水效果好、不造成二次污染等优点而备受关注[6]。由于微生物种类繁多、分布广、适应性强，微生物来源广泛且具有操作简单和易于工业化生产等特点，在去除污染废水方面具有广阔的应用前景[7]。Cerniglia 等运用小克银汉菌株，以葡萄糖为生长基质，投加 BaP 53.1 μmol•L^{-1} 的情况下培养 96 h，BaP 去除率达 18.4%；Woods 等运用酵母菌，以葡萄糖为生长基质，投加 BaP 5 mg • L^{-1}，培养 2 d，BaP 去除率达 68%；Stanley 等运用青霉菌，生长基质为麦芽糖、酵母膏、蛋白胨、右旋糖，投加 BaP 50 mg • L^{-1}，培养 56 d，BaP 去除率达 61%[8]。本文在前期研究结果的基础上，运用复合菌的协同作用，研究了黑曲霉和假单胞对实验室模拟废水中 BaP 的吸附与降解。

2. 实验材料与方法

2.1. 药品

硝酸铵、水合硫酸镁、二水氯化钙、七水硫酸亚铁、磷酸二氢钾、十二水磷酸氢二钠、一水硫酸锰、葡萄糖、甲醇、丙酮、乙酸乙酯、蔗糖、二氯甲烷、水杨酸、邻苯二甲酸、琥珀酸钠均为市售分析纯化学试剂，BaP 购自 Fluka 公司，纯度大于 97%。

制备真菌培养基：NH_4NO_3，1 g；$MgSO_4 \cdot 7H_2O$，0.2 g；$CaCl_2 \cdot 2H_2O$，0.01 g；$FeSO_4 \cdot 7H_2O$，0.01 g；KH_2PO_4，0.4 g；$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$，0.6 g；$MnSO_4 \cdot H_2O$，0.02 g；葡萄糖，0.5 g；以蒸馏水定容至 1.0 L，pH 自然(pH 7.0)。

制备细菌培养基：$MgSO_4 \cdot 7H_2O$，0.2 g；$CaCl_2 \cdot 2H_2O$，0.01 g；$FeSO_4 \cdot 7H_2O$，0.01 g；KH_2PO_4，0.4 g；$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$，0.6 g；$MnSO_4 \cdot H_2O$，0.02 g；NH_4NO_3，1 g；葡萄糖，0.5 g；以蒸馏水定容至 1.0L，pH 7.0~7.6，121℃蒸汽灭菌 30 min。

实验所用微生物为真菌黑曲霉和细菌假单胞(从辽河油田石油污染土壤中分离而得)，并经细菌培养用 BaP 驯化。

2.2. 主要仪器

自动手提式灭菌器，YXQ-LS-18SI 型，上海博讯实业有限公司医疗设备厂；净化工作台，SW-CJ-1D(1G)型，苏州净化设备有限公司；伍丰高效液相色谱仪，LC-100，上海伍丰科学仪器有限公司；数显双层气浴振荡器，ZD-85 型，金坛市杰瑞电器有限公司。

3. 实验方法

250 mL 锥形瓶中加入 40 mL 的培养基，调节 pH 值至 6.5~7.0 范围内，加入一定量 BaP（微量丙酮助溶）后高温灭菌，按 10%(V/V)的量进行接种，即制成黑曲霉和假单胞菌各加 5%(V/V)的菌悬液。30℃，调整摇床转数然后放于振荡器培养，一定时间后取样测定。

BaP 的定性与定量：定时定量取样，以二氯甲烷超声萃取残留目标污染物，合并提取液。用微量移液管取 0.10 0mL 于 K. D.浓缩器，氮气吹干后，再以甲醇定容到 1.00 mL。当 BaP 含量很低时，将合并的提取液，用旋转蒸发仪浓缩近干，再以甲醇定容到 1.00 mL，移入色谱进样瓶，用高效液相色谱测定[9]。检测波长为 290 nm；柱温 38℃；流动相为 100%甲醇，流速：0.5 mL/min；进样量：10 μL。以 BaP 的纯品做定性，用外标法定量。

3.1. 黑曲霉与假单胞菌对 BaP 吸附降解能力

为确定不同 BaP 浓度下黑曲霉与假单胞菌对 BaP 的吸附能力，我们设计了 8 组实验，各组 BaP 的浓度分别为 0 μg/mL、40 μg/mL、60 μg/mL、80 μg/mL、100 μg/mL、140 μg/mL、160 μg/mL、200 μg/mL，60min (主要是考察两个菌种对不同浓度的 BaP 的吸附)和 8d 主要是考察两个菌种对不同浓度的 BaP 的降解)分别取样，其他同 2.1。

3.2. 黑曲霉与假单胞菌对 BaP 吸附降解反应温度

实验设为 5 组，每组的温度分别为 20℃、25℃、30℃、35℃和 40℃；各组 BaP 的浓度是在 2.1 实验后确定的最佳值，其他同上。

3.3. 黑曲霉与假单胞菌对 BaP 吸附降解反应时间

设计 5 组实验，取样时间分别为 0 min、20 min、40 min、60 min、2 d、4 d、6 d、8 d，温度和浓度均

Copyright © 2013 Hanspub

为上述实验结果的最佳值，其他同上。

3.4. 黑曲霉与假单胞菌吸附降解 BaP 时空气浴振荡器转数

实验分为 5 组，空气浴振荡器转数分别为 50 rpm、100 rpm、150 rpm、200 rpm 和 250 rpm，温度、浓度、取样时间和复合菌加菌量均为上述实验结果的最佳值，其他同上。

4. 结果与讨论

4.1. BaP 浓度对吸附和降解的影响

污染物质浓度对吸附率和降解率有很大影响。由图 1 可以看出，在一定实验浓度范围内(0~200 μg/mL)，随着 BaP 浓度的增加，黑曲霉和假单胞菌对 BaP 的吸附率也呈现增加趋势，基本符合单分子层吸附行为。但是当浓度大于 160 μg/mL 时，2 株菌对 BaP 的吸附率降低。160 μg/mL 对 BaP 是最佳实验浓度；从 BaP 的微生物降解的角度而言，BaP 浓度在 80 μg/mL 降解率为最大。

4.2. 反应温度对吸附和降解的影响

温度对污染物质的微生物吸附与降解都有一定的影响。有些微生物只能在适宜的温度下才能具有活性。

由图 2 可以看出，20℃~40℃范围内，微生物对 BaP 的吸附率变化整体看趋势比较平稳，随着温度升高，吸附率略有增大(47.4%~54.7%)；微生物对 BaP 的降解率变化较大：当温度从 20℃升到 30℃，BaP 降解率迅速提高(48.67~73.8%)，当 BaP 的降解温度再升高时降解率增大变缓，40℃时，BaP 降解率开始下降。

4.3. 反应时间对微生物去除 BaP 的影响

取样时间对微生物吸附和降解 BaP 的影响较大，就吸附而言，时间短，吸附不完全；时间过长则原有吸附位点的 BaP 可能随着培养摇床的转动被解吸下来，所以适合的吸附时间要经试验得出。

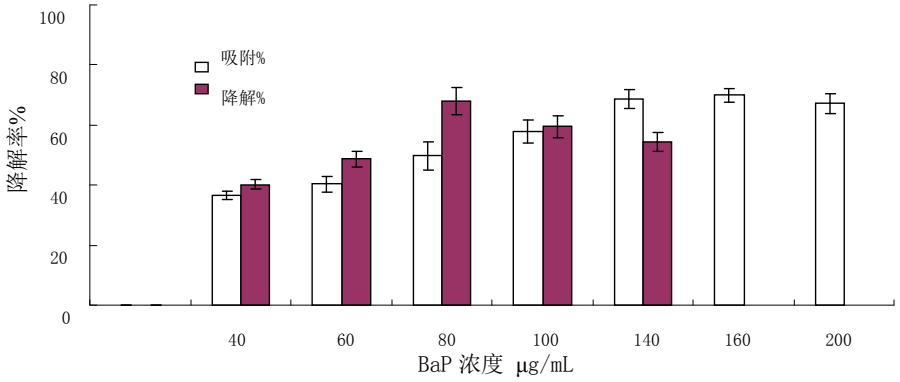


Figure 1. The BaP concentration choice
图 1. BaP 浓度的选择

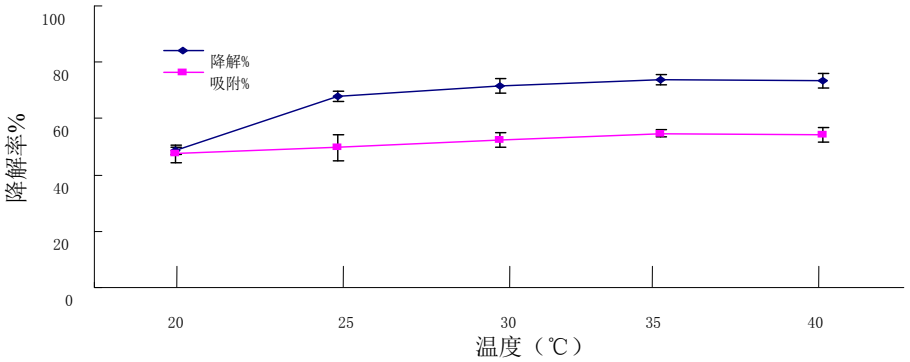


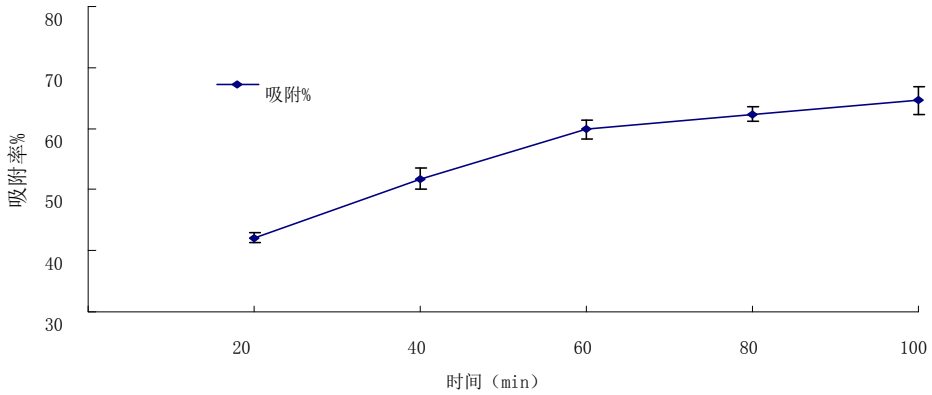
Figure 2. The influence of temperature on the adsorption and degradation of BaP
图 2. 温度对 BaP 吸附与降解的影响

Copyright © 2013 Hanspub

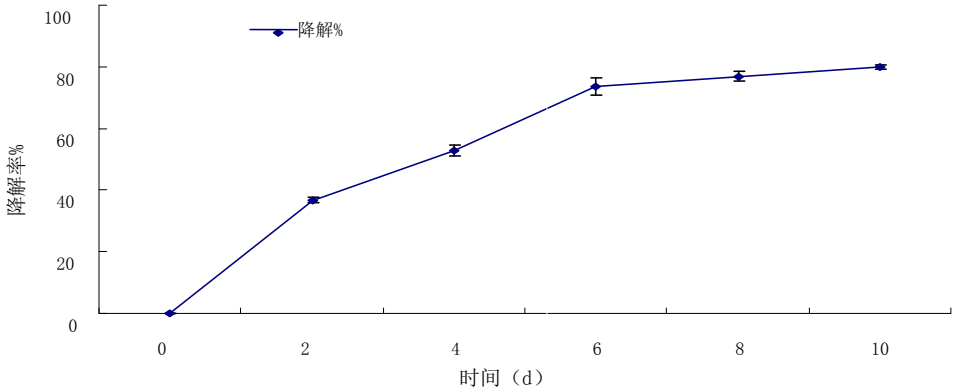
由图 3(a)可以看出，本实验所用的复合微生物从 20~60 min 迅速吸附 BaP，大于 60 min 后，吸附率呈缓慢递增趋势。由图 3(b)可以看出，降解时间从 0~6 d 内迅速提高，6 d 后提升缓慢。

4.4. 空气振荡器转数对去除 BaP 的影响

空气浴振荡器对以摇瓶培养的微生物的含氧量有很大影响。而 BaP 的微生物吸附和转数有关，转数太低表面接触机会较少，转数太高则刚吸附的物质容易被甩下来。由图 4 可以看出，转数从 50r 到 200r，吸附率上升较快，当转数大于 200r 时，吸附率反而比较低。对于 BaP 的降解而言，转数从 50~150r 范围内，BaP 的降解速率上升较快；当转数达到 200r 时，BaP 的降解率几乎没有变化。



(a)



(b)

Figure 3. (a) sorption equilibrium time (b) degradation time of choice
图 3. (a) 吸附平衡时间 (b) 降解时间的选择

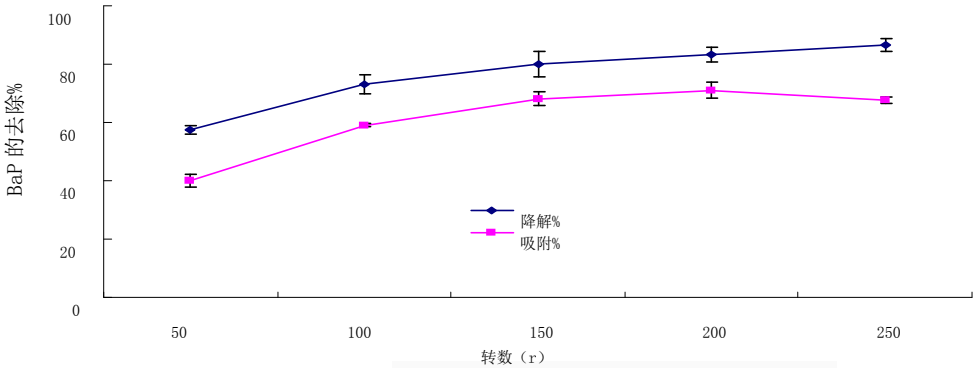


Figure 4. Air oscillator the influence of the revolution
图 4. 空气振荡器转数的影响

Copyright © 2013 Hanspub

5. 结论

本文是以复合微生物（黑曲霉和假单胞菌）对模拟海水中的 BaP 进行去除研究。同时考察了 BaP 的微生物吸附和降解效果。结果表明：采用复合微生物以吸附的方式对 BaP 进行去除的最佳浓度为 160 μg/mL；当以降解的方式对 BaP 进行去除的最佳浓度是 80 μg/mL。当采用黑曲霉和假单胞菌以吸附的方法去除 BaP 时，适宜温度为 20℃~40℃；当采用黑曲霉和假单胞菌以微生物降解 BaP 时，宜采用的温度范围是 25℃~30℃。BaP 的微生物降解时间采用 6 d。从 BaP 的去除效果和节约能源的角度而言，空气振荡器的转数宜采用 150 rpm。

BaP 是一种具有致畸、致癌和致突变作用的多环芳烃化合物，在环境中分布很广，人们通过大气、水、食品、吸烟等都能摄取。因此，以后的研究宜运用我国特定地域筛选出的菌株，同时研究 BaP 的微生物降解和吸附，优化其参数，在实际环境中，可以更好地为指导实地污染的治理与修复提供依据。

参考文献 (References)

[1] Y.-P. Lei, Y. Shi. Adsorption of benzo(a)pyrene from waste water by organobentonite. Multipurpose Utilization of Mineral Resources, 2007, 6: 23-27.

[2] 金文娟, 程鹏, 胡志雄, 齐玉堂, 谢明, 张维农. 食用油烹饪过程中苯并(a)芘(BaP)含量的变化[J]. 武汉工业学院学报, 2012, (4): 9-13.

[3] 漆叶琼, 张佳涛, 潘向辉, 裴家伟. 张柏林乳杆菌吸附苯并(a)芘的特性[J]. 微生物学报, 2011, (7): 956-964.

[4] 信维平. 苯并芘的致癌性及快速检测[J]. 研究与实验, 2000, (2): 16-17.

[5] 蔡佳亮, 黄艺, 礼晓. 生物吸附剂对污染物吸附的细胞学机理[J]. 生态学志, 2008, 27(6): 1005-1011.

[6] R. A. Kanaly, R. Bartha, K. Watanabc, et al. Rapid mineralizetion of benzo(a)pyrene by a microbial consortium growing on diesel fuel. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(10): 4205-4211.

[7] A. R. Jeremy, J. J. Pedro and J. L. Alvarez. Benzo(a)pyrene degradation by Sphingomonas yanoikuyae JAR02. Environment Pollution, 2008, 151(3): 669-667.

[8] 张玉刚, 龙新宪, 陈雪梅. 微生物处理重金属废水的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2008, 31: 58-63.

[9] 蔡佳亮, 黄艺, 郑维爽. 生物吸附剂对废水重金属污染物的吸附过程和影响因子研究进展[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27: 1297-1305.

Copyright © 2013 Hanspub