

# LAS 高抗菌株的降解性能研究

陈宏伟, 朱蕴兰, 苏贤岩, 邵影, 梁峙, 曹泽红, 林进 (1. 徐州工程学院生物工程学院, 江苏徐州 221008; 2. 徐州工程学院环境工程学院, 江苏徐州 221008; 3. 安徽省农业科学院植物保护研究所, 安徽合肥 230031)

**摘要** 从徐州汉高洗涤剂厂排水沟中污物筛选出了一株能以LAS为唯一碳源生长的高抗性LAS降解菌, 对其降解特性进行了研究。结果表明, LAS降解菌的最佳降解条件是30 ℃、pH 6.0、装液量150 ml/500 ml三角瓶、120 r/min、LAS浓度为200~600 ng/L, 24 h生长量达0.443(OD<sub>460</sub>)、最大降解率达89.4%, 其最高LAS耐受力可达1 200 ng/L。

**关键词** 直链烷基苯磺酸钠(LAS); 表面活性剂; 降解菌; 分离; 生物降解

中图分类号 Q939.9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)07-01885-02

## Studies on Degradation Characteristic of LAS High-resistance Strain

CHEN Hong-wei et al (School of Biological Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou, Jiangsu 221008)

**Abstract** A LAS degradation strain with high resistance, which could take linear alkylbenzene sulfonate (LAS) as only carbon origin for growth, was isolated from the drain canal of Hango Washing Plant of Xuzhou. Results showed that the optimum conditions of this strain growth for degradation of LAS were 30 ℃, pH 6.0, oxygen supply 150 ml/500 ml triangle vase, 120 r/min, LAS concentration of 200~600 ng/L. The cell growth amount was up to 0.443(OD<sub>460</sub>) and the degrading rate up to 89.4%. The ability of the strain to degrade LAS could be restrained when the concentration of 1 200 ng/L.

**Key words** Linear alkylbenzene sulfonate (LAS); Surfactant; Degradation strain; Isolation; Biodegradation

表面活性剂由于具有良好的洗涤、湿润、乳化以及增溶等特性而得到了广泛的使用。直链烷基苯磺酸盐(Linear Alkylbenzene sulfonate, 简称LAS)是一类阴离子表面活性剂, 为合成洗涤剂的主要成分, 具有一定的毒性, 随着合成洗涤剂的大量使用, 其对生物体、水域、土壤等环境造成了严重的影响<sup>[1-3]</sup>。生物法降解LAS具有理化方法无可比拟的优点<sup>[4-13]</sup>, 是处理LAS污染物的最佳选择。利用生物法降解LAS已有不少研究<sup>[5-16]</sup>, 但多数是针对低浓度的LAS, 而对于100 ng/kg以上的高浓度LAS的研究较少。笔者从环境中筛选出一株能以LAS为唯一碳源生长的高抗性LAS降解菌株, 对其降解特性进行了研究, 以便将其应用于LAS污染物的净化中, 发挥净化环境的作用。

## 1 材料与方 法

**1.1 菌株来源** 以徐州汉高洗涤剂厂排水沟中污物作为降解菌筛选的样品来源。

### 1.2 培养基

**1.2.1 富集培养基。** MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.14 g, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.000 5 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.33 g, KCl 0.06 g, 酵母膏 1.2 g, LAS 0.05 g, pH 值 7.0, 加蒸馏水 1 000 ml。

**1.2.2 筛选培养基。** 梯度平板上层培养基。MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.014%, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.000 05%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.033%, KCl 0.006%, LAS 0.002 5%, NH<sub>4</sub>Cl 0.3%, 琼脂 2%, pH 值 7.0;

梯度平板底层培养基。2% 葡萄糖, 2% 琼脂, LAS 为 0, 其余同梯度平板上层培养基; 发酵培养基。除 LAS 含量不同外, 其余同富集培养基。

## 1.3 方 法

**1.3.1 样品的富集。** 吸取 10 ml 水样加入富集培养基中, 25 ℃, 120 r/min 摇瓶培养 2 d。

**1.3.2 抗性菌株的筛选。** 吸取 1 ml 富集培养液于筛选培养平板上, 25 ℃ 培养 2 d, 选择生长快、菌苔丰厚的单菌落, 反复

划线纯化后接种于试管斜面上保存; 按照上述方法使 LAS 的筛选浓度分别为 100、200、400、600、800、1 000、1 200、1 400 ng/L, 进行反复筛选。

**1.3.3 菌种活化。** 将筛选到的菌株接种于含有梯度平板上层培养基的斜面上, 25 ℃ 培养 2 d。

**1.3.4 菌种培养。** 将活化后的菌种接种到发酵培养基中, 25 ℃, 120 r/min 下进行培养。

**1.3.5 菌体生长量和 LAS 降解率的测定。** 将活化后的菌株接种于发酵培养基中摇瓶培养, 测定菌体生长量(OD<sub>460</sub>)和 LAS 降解率。生长量以菌悬液的 OD<sub>460</sub> 值表示, 以不接菌种的相同培养基为空白对照。

$$C_{LAS} = \frac{OD_{652} \times 1\,000}{\text{标准曲线斜率} \times \text{水样体积}}$$

式中, C<sub>LAS</sub> 为 LAS 浓度(ng/L); OD<sub>652</sub> 为 652 nm 处的吸光值。LAS 降解率测定方法参照文献[17], 采用亚甲蓝比色法(美蓝法), 用分光光度计进行测定。计算公式为:

$$D = \frac{C_0 - (C_1 + C)}{C_0} \times 100\%$$

式中, D 为 LAS 降解率; C<sub>0</sub> 为振荡开始时的起始 LAS 浓度(ng/L); C<sub>1</sub> 为振荡培养若干小时后的残留 LAS 浓度(ng/L); C 为未接菌液的空白对照经培养后 LAS 减少量(ng/L)。

## 2 结果与分析

**2.1 温度对菌体生长和 LAS 降解率的影响** 由图 1、2 可知, 在 25~35 ℃ 条件下, 菌株的生长和 LAS 降解率均比较稳定, 其中以 30 ℃ 时最佳。试验发现, 菌体培养 24 h 后菌体生长量(OD<sub>460</sub>)达到最大(0.387), 此时 LAS 降解率为 66.9%, 说明菌体生长量与降解率变化一致。

**2.2 pH 值对菌体生长和 LAS 降解率的影响** 由图 3、4 可知, 菌株的细胞生长量(OD<sub>460</sub>)与 LAS 降解率均能说明该菌株有较宽的 pH 值适应范围, 其中在 pH 值为 6.0 时效果最佳。试验发现, 菌体培养 24 h 后菌体细胞的生长量(OD<sub>460</sub>)达到最大(0.34), 此时 LAS 降解率达到 88.23%, 说明该菌株能在偏酸性环境下很好的生长和利用 LAS。

**2.3 装液量对菌体生长和 LAS 降解率的影响** 由图 5、6 可知, 摇瓶中装液量对菌株的细胞生长量及其降解 LAS 的效果

基金项目 徐州市自然科学基金项目(X2004424-1)。

作者简介 陈宏伟(1963-), 男, 黑龙江克山人, 博士, 教授, 从事资源微生物与生物工程研究。

收稿日期 2006-11-24

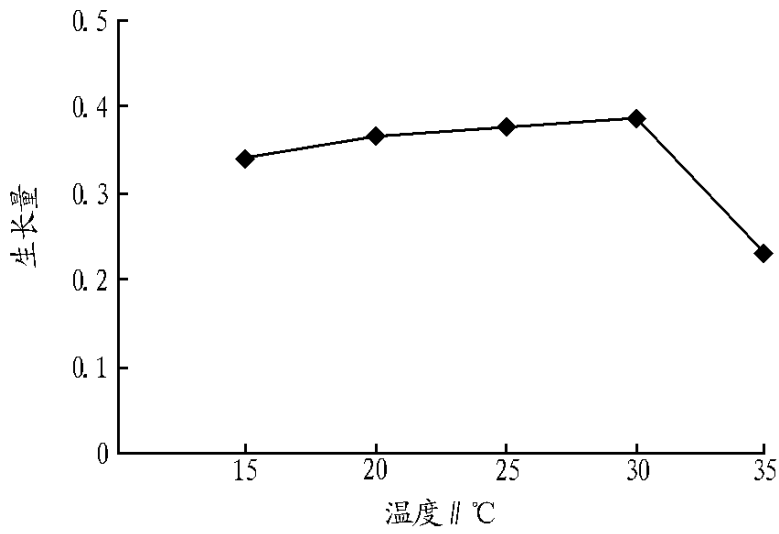


图1 温度对菌体细胞生长量的影响

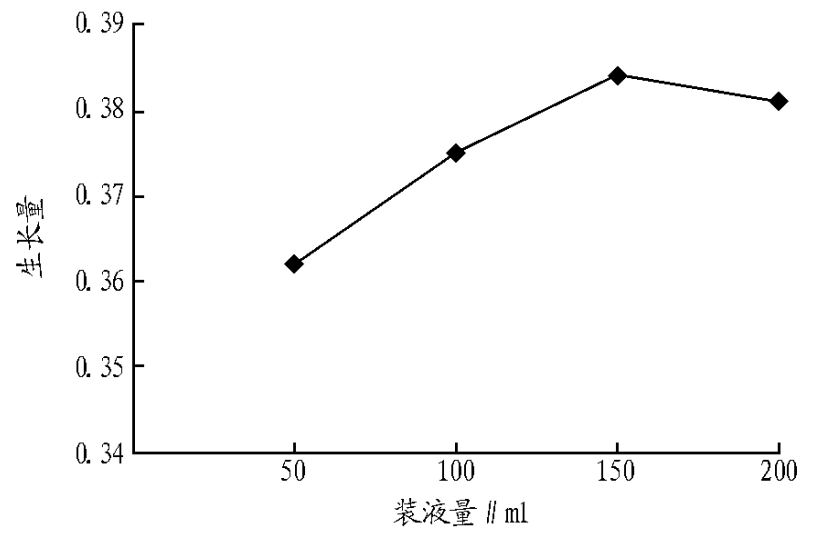


图5 装液量对菌体细胞生长量的影响

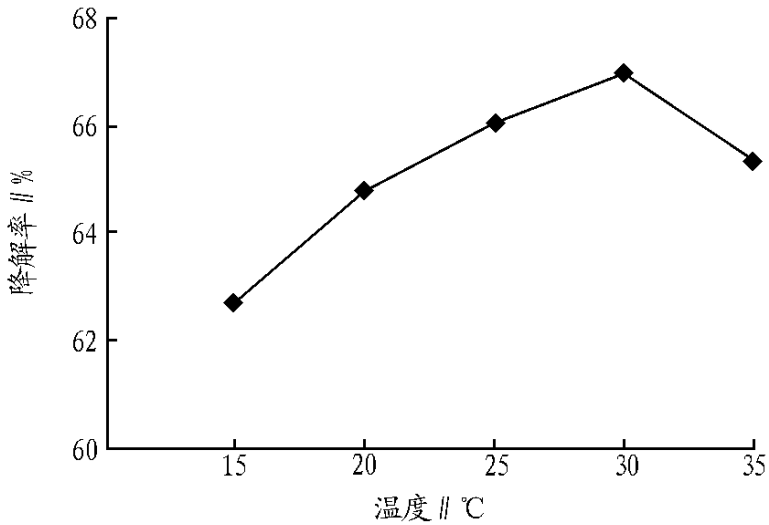


图2 温度对LAS降解率的影响

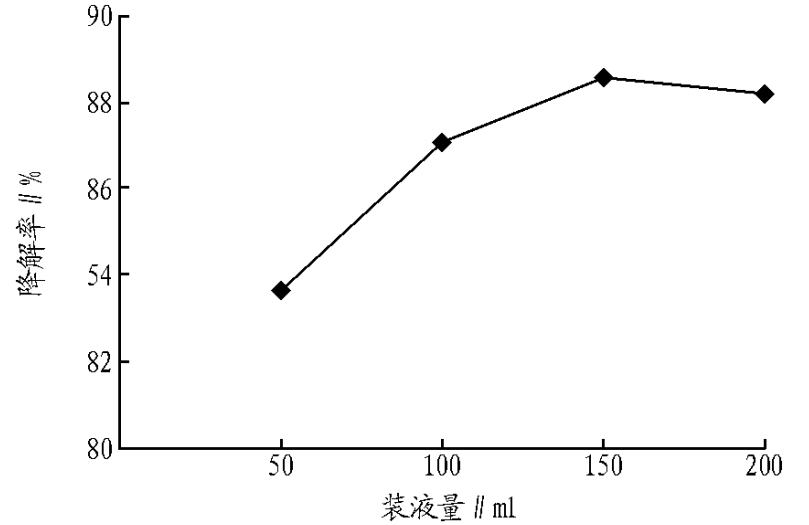


图6 装液量对LAS降解率的影响

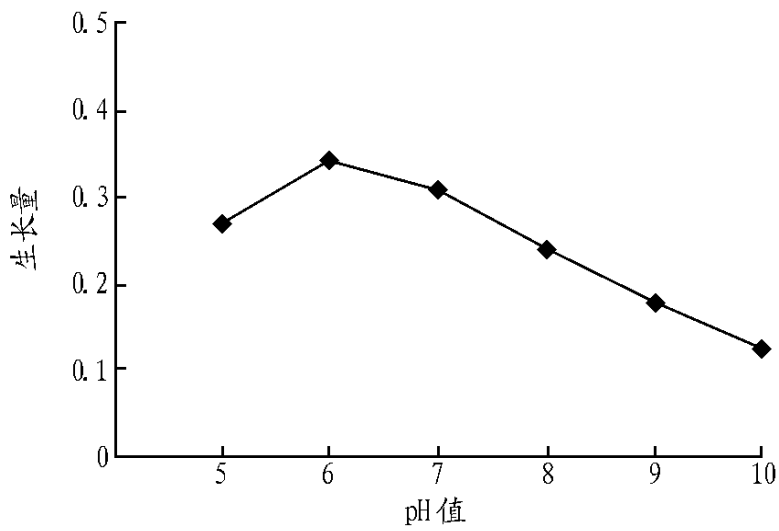


图3 pH值对菌体细胞生长量的影响

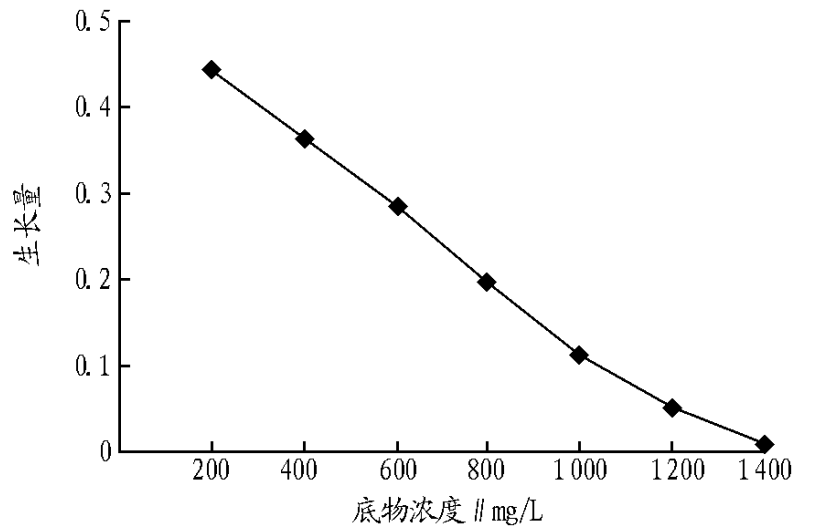


图7 底物LAS浓度对菌体细胞生长量的影响

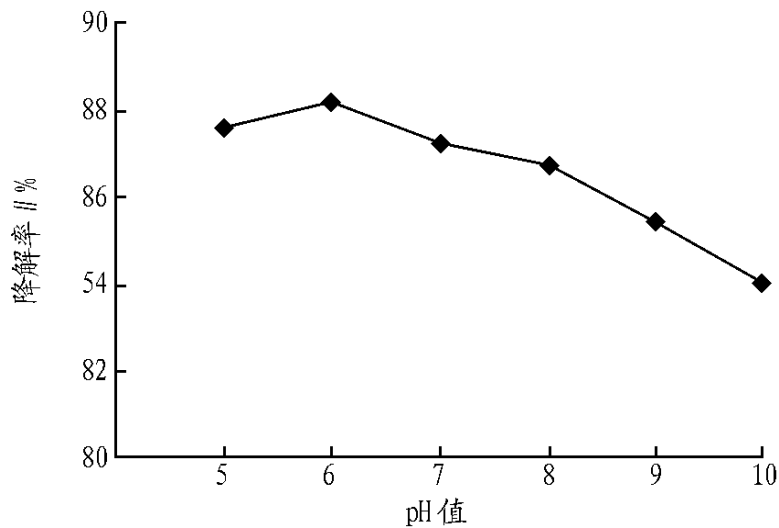


图4 pH值对LAS降解率的影响

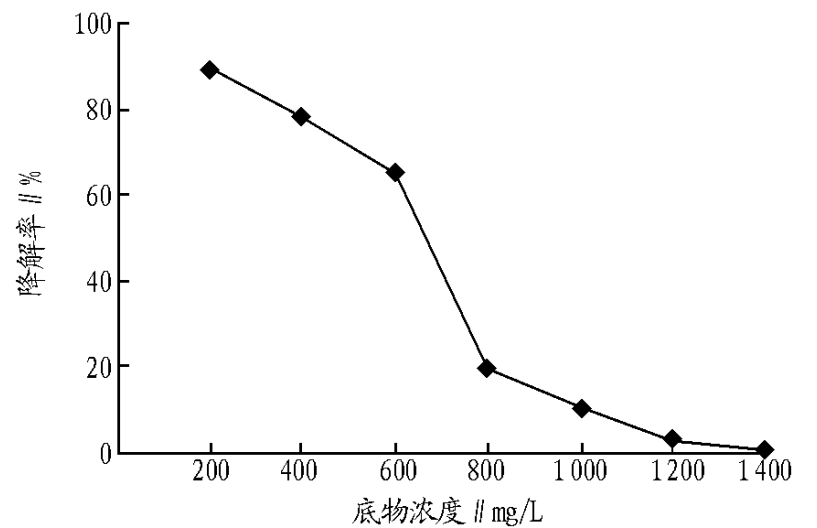


图8 底物LAS浓度对LAS降解率的影响

均有一定的影响。在摇瓶中装液量为150 ml/ 500 ml 三角瓶时, 菌体生长活性和降解活性最高, 细胞生长量( OD<sub>460</sub>) 和对LAS的降解率分别为0.384和88.68%。试验发现, 该菌株的生长活性和降解活性随含氧量的降低而增大, 但是其生长需消耗氧气, 说明该菌株为微氧型微生物。

2.4 底物浓度对菌体生长和LAS降解率的影响 由图7、8

可知, 随着底物浓度的增加, LAS毒性增强, 菌株的LAS降解率逐渐减小, 同时该菌株的细胞生长量也随之呈明显下降的趋势。在底物LAS浓度为200 ng/L时, 菌株生长量和LAS降解率均达到最大, 分别为0.443和89.4%; 在底物LAS浓度为1200 ng/L时, 菌株生长极度缓慢, LAS降解率和细胞生长量

(下转第1888页)

(上接第1886页)

OD<sub>460</sub> 值几乎都降为0;当底物LAS浓度大于1 200 ng/L时,菌株停止生长。

**2.5 培养时间对LAS降解率的影响** 由图9可知,菌株降解LAS的最佳时间为24 h,虽然延长培养时间LAS的降解率有所增加,但效果不明显。

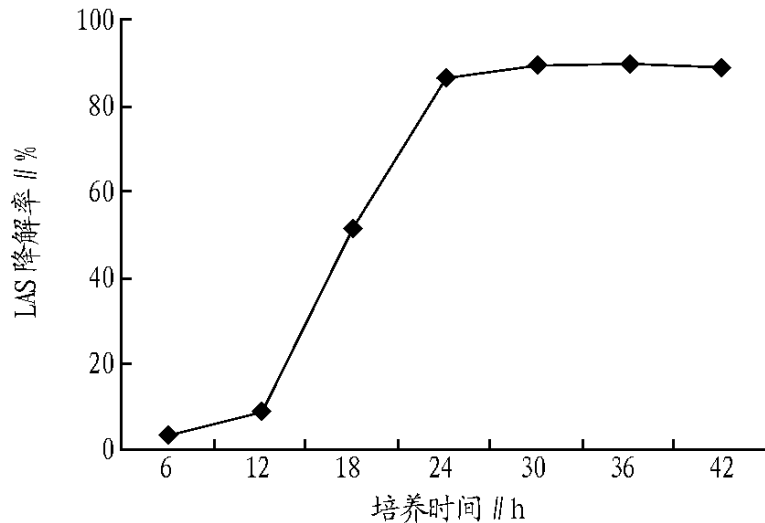


图9 培养时间对LAS降解率的影响

### 3 结论

试验表明,LAS降解菌的最佳降解条件为温度30℃、pH值6.0、150 ml装液量、转速120 r/min、底物LAS浓度200~600 ng/L、培养时间24 h。该条件下LAS降解菌的生长量和降解率均达最大,分别为0.443 OD<sub>460</sub>、89.4%。LAS降解菌株最高LAS耐受力可达1 200 ng/L。

### 参考文献

- [1] 袁倩,张悦.烷基苯磺酸钠对水生动物的生物效应研究[J].城市环境与城市生态,1999,12(3):11-13.
- [2] 陈钦耀,魏晓飞,廖红梅.LAS和5种洗衣粉对多刺裸腹蚤的毒性研究[J].生物学杂志,1998,15(1):21-23.
- [3] 范凤申,张忠祥,孙孝然.直链烷基苯磺酸钠(LAS)的可生物处理性及大型蚤毒性研究[J].环境科学,1988,9(6):2-8.
- [4] 李轶,王栋,周集体.我国表面活性剂LAS废水的处理技术进展[J].环境污染治理技术与设备,2000,1(1):65-71.
- [5] 王国惠.表面活性剂LAS高效降解菌的筛选及降解性能的研究[J].给水排水,2004,30(10):43-45.
- [6] 应启锋,肖昌松,纪树兰,等.直链烷基苯磺酸盐LAS的生物降解性[J].微生物学通报,2002,29(5):85-89.
- [7] 应启锋,肖昌松,纪树兰.直链烷基苯磺酸钠(LAS)降解菌的筛选及其降解特性的初步研究[J].微生物学通报,2002,29(1):1-5.
- [8] MCKIM J M. Toxicity of a linear alkylate sulfonate detergent to larvae of four species of fresh water fish[J]. Bulletin of Environment Contamination and Toxicology, 1975,4(1):1-7.
- [9] DOLAN J M. The lethality of an intact and graded LAS mixture to bluegill sunfish and a snail[J]. Water Pollution Federation Control Journal, 1976,48(11):2570-2577.
- [10] BHARGAVA R. Removal of detergent from wastewater by adsorption on fly ash[J]. Indian Journal of Environment Health, 1974,16(2):109-120.
- [11] 张蔚文,张灼.微生物降解洗涤剂直链烷基苯磺酸钠[J].上海环境科学,1992,11(2):14-18.
- [12] 张蔚文,张灼.降解直链烷基苯磺酸钠真菌的分离鉴定及其降解特性[J].微生物学通报,1992,19(3):146-150.
- [13] BEAUBIEN A. Apple[J]. Environ Microbiol, 1987,53(10):2567.
- [14] SCHRAMML. Surfactants: Fundamentals and application in the petroleum industry[M]. New York: Cambridge University Press, 2000.
- [15] 刘秀荣,吕小猛,纪树兰,等.微生物降解直链十二烷基苯磺酸钠的研究[J].北京工业大学学报,1995,21(4):103-108.
- [16] 陈宏伟,李在春.直链烷基苯磺酸钠降解菌的降解特性[J].齐齐哈尔大学学报,2000,16(4):84-86.
- [17] 王家玲.环境微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,1988.