DOI:10.15928/j.1674-3075.2020.03.014

外加碳源及固定化对荧蒽降解菌降解性能的强化作用

黄秀秀[1],左宇环[1],李腾飞[1],张朝晖[1,2],王 亮[1,2],赵 斌[1,2],李君敬[1,2],李晓峰[1]

(1.天津工业大学环境科学与工程学院,天津 300387;
2.天津工业大学省部共建分离膜与膜过程国家重点实验室,天津 300387)

摘要:从受PAHs污染的河道底泥中筛选分离出一株荧蒽降解菌,经16S rDNA序列分析确定为青霉素菌DTQ-HK1。试验研究了外加碳源和菌种固定化对DTQ-HK1降解荧蒽的影响。结果表明,经连续42 d培养后,单独DTQ-HK1对水相中荧蒽的降解率达到52.22%;按照体系中$C_{荧蒽}:C_{麦芽糖}=5:3$投加麦芽糖后,荧蒽的降解率提高到81.75%。在此基础上,采用粒径10目的玉米芯对DTQ-HK1进行吸附固定化,并投加在菖蒲根际圈进行强化修复试验。90 d的降解试验结果证明,在菖蒲根际投加吸附固定化菌的荧蒽降解效率比直接投加悬浮菌液略有提高;外加碳源麦芽糖能明显提高固定化菌对荧蒽的降解效果,90 d的荧蒽去除率可达100%。降解动力学及产物分析表明,对DTQ-HK1菌株进行固定化处理能在一定程度上提高该菌种对荧蒽的降解速率,尤其是外加碳源辅助可使DTQ-HK1对荧蒽的降解速率增加1.3倍,而且降解过程更加彻底,产物以开链化合物为主。

关键词:固定化菌;荧蒽;河道底泥,外加碳源;生物降解

中图分类号:X592 **文献标志码**:A **文章编号**:1674-3075(2020)03-0107-08

多环芳烃(PAHs)指由2个或2个以上苯环以稠环方式相连的化合物,是广泛存在于环境中的一类典型持久性的有机污染物。目前,我国一些主要河流、湖泊的底泥中都普遍存在着PAHs污染问题,特别是底泥中高分子量的PAHs(H-PAHs,含四环及四环以上的多环芳烃),由于其具有高脂溶性、低水溶性、难降解性以及更强的毒性和稳定性(Juhasz,2000;Zhang,et al,2012),已经成为PAHs污染修复的重点和难点。据文献报道,长江、辽河、黄河、天津市海河、大沽排污河等河道底泥中都普遍存在H-PAHs污染问题(许士奋等,2000;刘现明等,2001;袁旭音等,2004;罗雪梅等,2005;杨雪贞等,2007)。目前,关于河道底泥中H-PAHs污染的研究,特别是利用植物根际圈作用下强化修复河道底泥H-PAHs污染的研究比较少见。

植物根际圈为微生物增殖提供了理想的微环境,致使微生物活性增强,数量和种类增多(陈嫣等,2005;赵金宝等,2010),从而能强化植物根际附近H-PAHs的去除能力。荧蒽作为H-PAHs代表物质,其去除一直是研究的热点。许晓毅等(2015)从表层沉积物中筛选出以荧蒽为碳源的菌株CJ1和CJ2,其对荧蒽的30 d降解率最高分别为58.2%和49.9%;杨秀虹等(2012)从PAHs污染土壤中筛选出菌株PE1501-1,对土壤中荧蒽15 d降解率仅为14%。以上研究荧蒽的降解率相对较低。大量研究都显示微生物经固定化处理后可以提高微生物对污染物的降解效率,增强微生物对外界不良环境的抗冲击能力,同时固定化载体对污染物的富集效应也能够进一步强化微生物对污染物的降解效率(张闻等,2012)。Su等(2006)将固定化后的真菌吸附在玉米棒上修复污染的土壤,发现经过固定化的菌种对环境有更好的适应力、而且反应启动速度比没固定化更快;Dzul-Puc等(2005)分别以松针粉末和甘蔗渣作为黄孢原毛平革菌的生长基质,修复B[a]P污染的土壤,发现甘蔗渣作载体时的B[a]P降解速率更快;王鑫等(2011)研究土壤中的B[a]P降解动态表明,以蛭石为载体吸附固定化混合菌,不仅有良好的传质性,其对B[a]P的降解率也要比游离菌高大约20%。这些都说明固定化技术在污染物降解方面有很好的强化作用。

本研究以在河道底泥中检出频率和丰度都很高的荧蒽作为目标污染物,从生长在被荧蒽污染的河道底泥中的水生植物菖蒲(*Acorus calamus*)根际筛选出典型荧蒽降解菌,考察外加碳源对该菌种荧蒽

收稿日期:2017-11-23 **修回日期**:2018-11-14

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51678408,51508385);国家重点研发计划(2016YFC0400506);天津自然科学基金(14JCQNJC09000)。

作者简介:黄秀秀,1992生,女,硕士研究生,研究方向为河道底泥中荧蒽污染的修复。E-mail:xiuxiuhuang15@126.com

通信作者:张朝晖,女,博士,副教授。E-mail:zzh7448@126.com

降解性能的影响，并以环境友好型植物残体玉米芯作为固定化载体，探讨菌种经吸附固定化后对河道底泥中荧蒽的植物-微生物联合修复的强化效应，并对降解动力学和降解产物进行深入分析。

1 试验材料及方法

1.1 材料

底泥为天津市大沽排污河下游河段表层受PAHs污染的沉积物，荧蒽浓度为(0.97±0.38) mg/kg，经风干，破碎，过100目筛。植物选择为经试验室长期培养筛选并对荧蒽具有降解作用的水生修复植物菖蒲。

无机盐培养基(MSM培养基)组成：硫酸铵1 g，磷酸二氢钾0.8 g，磷酸氢二钾0.2 g，氯化镁0.05 g，氯化钙0.05 g，氯化铁0.01 g，氯化钠5 g。溶于1 L超纯水，用NaOH或者HCl调节pH至7。于121℃灭菌30 min。

LB固体培养基组成：蛋白胨10 g，酵母提取物5 g，NaCl 10 g。溶于超纯水，用NaOH调节pH至7，于121℃灭菌30 min。制固体培养基时加入15 g琼脂粉121℃灭菌30 min。

Lee等学者研究表明适当投加一些碳源能够明显提高微生物对萘的降解效率(Lee，et，al，2003；尹春芹等，2012)。试验选择微生物易利用基质葡萄糖、麦芽糖，天然有机物腐殖酸(HA)，蒽-菲混合物作为荧蒽生物降解过程中的外加碳源。

1.2 菌株的筛选和鉴定

取5 g表层底泥接种于50 mL含荧蒽的MSM培养基中，在30℃、120 r/min摇床避光培养条件下，进行连续4阶段的富集培养过程。将菌液稀释并在含有荧蒽的LB固体培养基上进行划线分离，在30℃下恒温恒湿培养箱中培养3～5 d，挑取不同形态的成型菌落分别接种到新的LB培养基上进行纯化，重复划线分离，直至得到纯化的单一菌落，再取纯化后的单菌接种到荧蒽浓度为100 mg/L的MSM液体培养基中，(30±1)℃下避光振荡培养14 d后测定培养基中荧蒽的最终浓度。

取5 mL培养后的纯菌培养液，经10 000 r/min离心，弃去上清液，加入200 μL缓冲液GA混悬菌落，加入20 μL Proteinase K溶液混匀，完成菌株DNA的提取过程。然后以提取到的菌株DNA为模板，进行PCR扩增及测序。PCR反应体系为：2x Taq mix 10 μL，PrimerF(20 pm) 1 μL，PrimerR(20 pm) 1 μL，template 1 μL，灭菌蒸馏水定容至20 μL。PCR反应条件为：94℃预变性3 min，94℃变性30 s，55℃退火30 s，72℃延伸40 s，此过程进行35次循环，最后72℃延伸10 min。

1.3 吸附固定化菌的制备

将$OD_{600}=1$的菌液与粒径为10目玉米芯按照$v:m=50:1$混合，(30±1)℃、120 r/min条件下避光振荡吸附24 h，使菌种吸附挂膜，制成吸附固定化菌。

1.4 试验方法

1.4.1 底泥环境制备 将取自大沽排污河的底泥风干，过筛后用高效液相色谱仪测定底泥中荧蒽的含量，为了方便试验和检测，人为投加荧蒽使底泥中荧蒽浓度稳定在100 mg/kg，并将根系发达的水生植物菖蒲以盆栽的方式种植到2 L被荧蒽污染的底泥中，底泥含水率为(93.1±3.10)%，盆栽置于室内通光处。

1.4.2 水相中荧蒽的降解试验 向50 mL无机盐液体培养基中加入一定量荧蒽的丙酮溶液，使荧蒽浓度为50 mg/L，静置使丙酮挥发后，接种2 mL、$OD_{600}=1$的DTQ-HK1于培养基中，样品在120 r/min、30℃条件下避光振荡培养一段时间后，每隔7 d测定体系中荧蒽的含量，每次做3组平行试验。

1.4.3 水相中荧蒽的提取测定 取50 mL待测样品于250 mL分液漏斗中，分3次向其中加入共50 mL的乙酸乙酯，每次震荡3 min。收集3次萃取提取液，过无水硫酸钠去除水分后旋转蒸发浓缩至2 mL左右，加入一定量甲醇进行溶剂替换后于50 mL容量瓶定容，取一定量溶液于样品瓶中。利用高效液相色谱测定荧蒽的含量，高效液相色谱工作条件：检测波长324 nm，色谱柱(150 mm×4.6 mm，5 μm)，柱温30℃，流动相为甲醇，流速1 mL/min，进样量为20 μL。

1.4.4 底泥中荧蒽的提取 取适量测试底泥，风干后研磨过80目筛后备用。取5 g处理好的干泥于离心管中，向其中加入20 mL萃取剂(二氯甲烷、正己烷体积比1∶1)后，放置于超声仪中超声30 min，再置于离心机中2 000 r/min离心5 min，收集上清液于圆底烧瓶中。上述过程重复3次。将3次收集到的上清液进行浓缩净化定容后，取一定量溶液于样品瓶中，利用高效液相色谱测定荧蒽的含量。

1.5 降解动力学模型

有机物动力学降解方程(Simkivs et al，1984；Schmidt et al，1987)：

$$C = C_0 e^{-kt} \quad (1)$$

由公式(1)经典一级动力学降解模型可以得到时间与基质浓度之间的关系式：

$$\ln C = a + k_1 t \quad (2)$$

由零级动力学降解模型可以得到时间与基质浓度之间的关系式：

$$C = b + k_2 t \quad (3)$$

式(1)～(3)中，a，b 为常数；C_0 为荧蒽初始浓度，单位 mg/L；C 为取样时荧蒽浓度，单位 mg/L；k_1，k_2 为反应速率常数；t 为不同取样时间。

1.6　降解产物分析

取 50 mL 待测荧蒽降解产物的培养基于 250 mL分液漏斗中，并加入 50 mL 二氯甲烷振荡 10 min，取有机相溶液过无水硫酸钠除去水分后取样于样品瓶中进行 GC-MS 产物分析。GC-MS 测试条件：色谱柱为 HP－5，进样口温度 260℃，进样方式采用不分流进样，进样量 1.0 μL，氦气流速为 1 mL/min。升温程序：起始温度为 50℃ 保持 3 min，以 5.0℃/min 升温至 250℃，保持 2 min，总运行时间为 45 min，溶剂延迟 3 min 进样。质谱条件：电子轰击(EI)离子源，电子轰击能量 70 eV，离子源温度 250℃，四极杆温度 150℃，扫描方式：选择离子(SIM)模式。

1.7　数据分析

对菌种筛选、外加碳源种类及其投加量的影响进行差异显著性分析。数据用 Origin Pro 8.5 和 SPSS 17.0 软件系统处理，采用方差分析(ANOVA)和新复极差法检验(Duncan′s Method)来处理数据间差异的显著性($P<0.05$)，所有数据为 3 次重复的平均值。

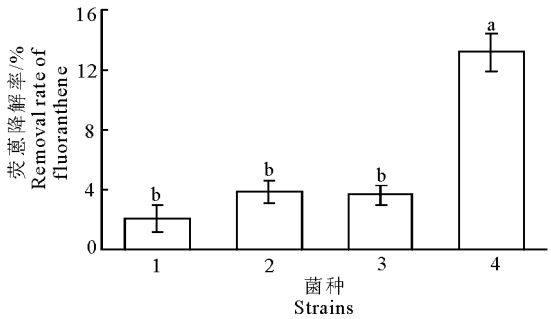
2　结果与分析

2.1　菌株的筛选与鉴定

本试验从河道底泥中的水生植物菖蒲根际提取、分离、纯化、经荧蒽培养基筛选得到 4 种能在荧蒽环境中生长情况较好的菌株，编号 1#～4#。4 种菌株对荧蒽的降解能力见图 1。

经过 14 d 的培养，1#、2#、3# 菌株对荧蒽的降解率分别为 2.10%、3.86%、3.65%，而 4# 菌株降解率为 13.18%。1#～3# 菌株为荧蒽耐受菌，4# 菌株对荧蒽的降解作用明显，为荧蒽降解菌。进一步对 4# 菌株进行电镜形貌分析及菌株 16S rDNA 系统发育树鉴定，如图 2、图 3。

在扫描电镜(2500 倍)下观察，菌株菌体有丝状



小写字母(a、b)表示不同菌株在 0.05 水平上的差异

图 1　4 种菌株对荧蒽的降解效果

The lowercase letter on each column shows the difference of each train at the level of **0.05**.

Fig.1　Removal efficiency of fluoranthene by four strains isolated from the rhizosphere of calamus

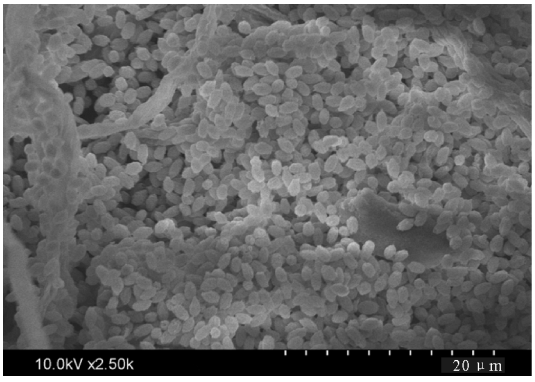


图 2　菌株电镜形貌

Fig.2　SEM photo of strain DTQ-HK1

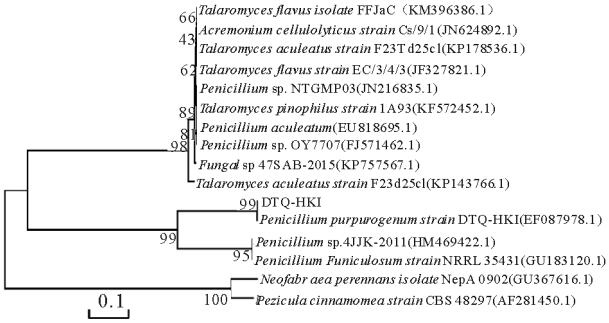


图 3　菌株电镜系统发育树

Fig.3　16S rDNA phylogenetic tree of strain DTQ-HK1

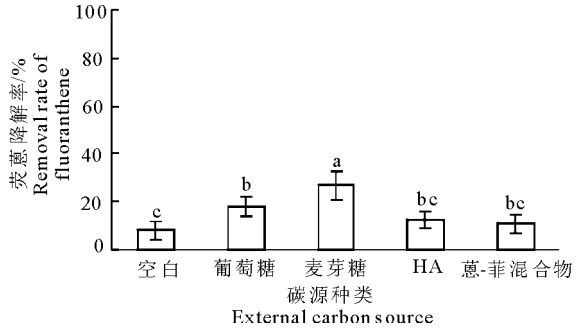
结构，并且为 1 μm 左右的圆形结构，可以初步确定为真菌。测序结果利用 GenBank Blast 软件进行序列同源性比较，显示菌株的 16S rDNA 基因序列与多种 *Penicillium* sp.(青霉菌属)具有高度同源性。从 GenBank 基因数据库中下载与菌株序列相似性大于 97%的及部分模式菌株的 16S rDNA 基因序列，通过 ClustalX 软件进行聚类分析后，利用 MEGA 5.0 软件以 Neighbor-Joining 计算方式生成系统发育树示，菌株与 *Penicillium* sp.有 99%的同

源性，可以确定菌株为青霉菌属，并且在青霉菌属中与 *Penicillium purpurogenum strain* DTQ-HK1 有99%的同源性。因此可以认定菌株为 *Penicillium purpurogenum strain* DTQ-HK1。

2.2 投加外加碳源对 DTQ-HK1 降解荧蒽的影响

在荧蒽的水相降解体系中，投加外加碳源与荧蒽浓度为1∶1，培养7 d后，测定体系中荧蒽的含量结果如图4。

几种物质的投加对荧蒽的降解效果相比于空白组都有一定程度的提高。效果最好的是麦芽糖，比空白组提高了18.76%；葡萄糖使荧蒽的降解率提高了9.80%，相比于麦芽糖强化作用更低；而HA、蒽-菲混合物的加入降解率仅提高4.07%、2.87%，强化作用并不明显。差异显著性分析结果表明，HA、蒽-菲混合物之间的差异不显著（$P>0.05$），而麦芽糖投加与其他组之间差异显著（$P<0.05$）。上述结论与Dean-Ross(2002)和Mcnally等(1999)学者的研究结果相一致，他们认为蒽、菲等L-PAHs的存在可能会抑制微生物对H-PAHs荧蒽和芘等的降解。Tejeda等(2014)学者研究结果表明HA的投加可以促进PAHs从晶体态向溶解态的转移，并被HA吸附富集，进而随HA一起传递给微生物，提高PAHs的生物可利用性。但由于HA属于大分子有机物，微生物对其自身利用能力较差，进而通过共代谢去除HA吸附的PAHs效果更差。这很好地解释了本试验中投加HA后强化荧蒽降解的效果并不明显。相比于其他3种外加碳源，麦芽糖对DTQ-HK1降解荧蒽的影响是最有利的，效果最好。



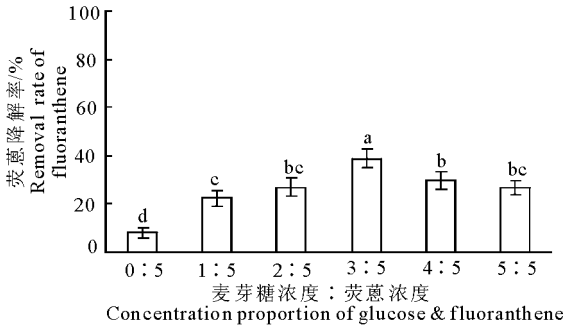
图中小写字母(a、b和c)表示不同外加碳源在0.05水平上的差异

图4 不同外加碳源对荧蒽的强化降解效果

The lowercase letter on each column shows the difference of the treatments by adding different external carbon sources at the level of 0.05.

Fig.4 Fluoranthene degradation efficiency of the DTQ-HK1 strain by adding different external carbon sources

为进一步研究外加碳源的不同投加量对其强化降解荧蒽的影响，选取强化效果最好的麦芽糖作为研究对象，在水相中荧蒽的降解体系中，投加不同比例麦芽糖（$C_{麦芽糖}$∶$C_{荧蒽}$=0∶5、1∶5、2∶5、3∶5、4∶5、5∶5），研究不同投加比例的麦芽糖对荧蒽降解的强化效果，如图5。



图中小写字母(a、b、c和d)表示不同麦芽糖投加量在0.05水平上的差异

图5 不同投加量的麦芽糖对荧蒽降解的强化效果

The lowercase letter on each column shows the difference of the treatments by adding different maltose dosage at the level of 0.05.

Fig.5 Influence of dosage of maltose on fluoranthene removal

随着麦芽糖浓度的升高，麦芽糖对DTQ-HK1降解荧蒽的强化作用呈升高趋势，麦芽糖浓度为30 mg/L时，表现出对DTQ-HK1降解荧蒽最好的增强作用，荧蒽的降解率可达到38.79%；而麦芽糖浓度高于30 mg/L时，对荧蒽的强化降解作用有明显降低，说明体系中麦芽糖对DTQ-HK1降解荧蒽的增强作用最适浓度为30 mg/L，即麦芽糖浓度:荧蒽浓度为3∶5，以此比例投加对荧蒽降解的增强作用最强。对于不同浓度比的麦芽糖差异显著性分析，麦芽糖浓度:荧蒽浓度为3∶5时，与其他投加量之间差异性显著（$P<0.05$）。

基于上述研究结果可知，投加麦芽糖浓度:荧蒽浓度为3∶5时，对DTQ-HK1降解荧蒽的强化作用最好，为此，进一步研究在麦芽糖长期作用下DTQ-HK1对荧蒽42 d的降解效果，结果如图6。

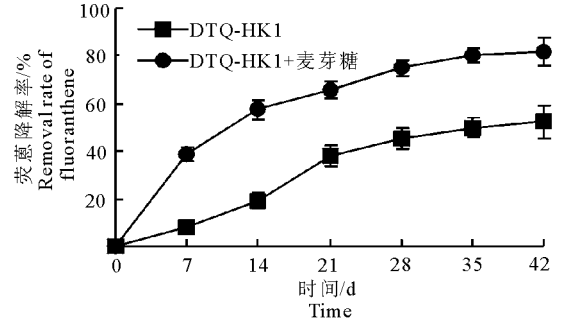


图6 外加碳源对DTQ-HK1降解荧蒽的长期影响

Fig.6 Comparison of fluoranthene degradation rate by DTQ-HK1 strain and DTQ-HK1 strain with maltosee

经过 42 d 的培养，不投加麦芽糖的条件下，DTQ-HK1 使无机盐培养液中的荧蒽浓度从 50 mg/L下降到 23.89 mg/L，降解率为 52.22%，降解效果不太理想，而且第 21 天后 DTQ-HK1 对荧蒽的降解率趋于稳定，说明荧蒽作为微生物基质的可利用性较差，以荧蒽作为微生物的唯一碳源时很难实现对其高效去除；投加麦芽糖的条件下，经过 42 d，DTQ-HK1 对荧蒽降解率达到 81.75%，与未加碳源的降解率(52.22%)相比提高了 29.53%，说明在长期作用下，投加麦芽糖能使荧蒽降解效果明显提高，也进一步说明外加碳源能提高 DTQ-HK1 对荧蒽的利用率，提高降解效果。

2.3　对河道底泥中荧蒽的降解效果

将 50 mL、OD_{600}=1 的悬浮 DTQ-HK1 投加到制备好的菖蒲根际底泥中，并将 50 mL 经玉米芯载体吸附固定化后的 DTQ-HK1 投加到含有麦芽糖和不含麦芽糖的菖蒲根际底泥中，考察固定化菌及外加碳源在菖蒲根际圈作用下对底泥中荧蒽的降解效果，每 15 d 对底泥中荧蒽的含量进行测定，结果如图 7。

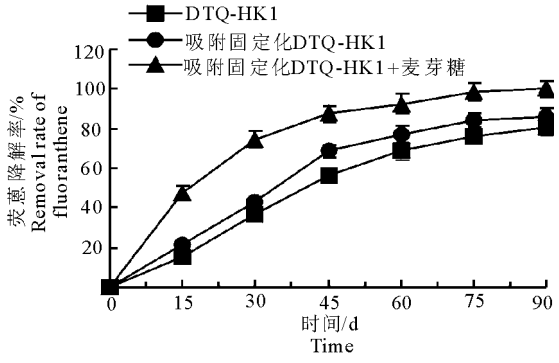


图 7　吸附固定化菌及投加外加碳源对底泥中荧蒽的降解效果

Fig.7　Comparison of fluoranthene degradation rate in sediment by DTQ-HK1 strain, immobilized DTQ-HK1 and immobilized DTQ-HK1 with maltose

经过 90 d，悬浮菌对底泥中荧蒽的降解率为 80.58%，投加吸附固定化菌对底泥中荧蒽的降解率可达到 86.14%，投加麦芽糖的吸附固定化菌对底泥中荧蒽的降解率可达到 100%，吸附固定化菌比悬浮菌对底泥中荧蒽的降解率提高了 5.56%。投加麦芽糖比不投加麦芽糖的吸附固定化菌对荧蒽的降解率提高了 13.86%，说明吸附固定化能使 DTQ-HK1 对河道底泥中的荧蒽降解率有一定的提升，而投加外加碳源能更进一步地提高底泥中荧蒽的降解率，90 d 底泥中的荧蒽几乎完全被去除。

2.4　底泥中荧蒽的降解动力学分析

针对上述底泥中荧蒽的降解效果，荧蒽的降解曲线分别由方式(2)(3)做一级动力学和零级动力学降解拟合分析，结果如图 8。

由动力学参数表 1 可知对于底泥中悬浮菌降解荧蒽的一级动力学拟合和零级动力学拟合 R^2 分别为 0.98898、0.91351，吸附固定化菌的 R^2 分别为 0.96473、0.85980，投加麦芽糖的吸附固定化菌的 R^2 分别为 0.93253、0.79632，由 R^2 可知底泥中荧蒽的降解都符合一级动力学降解过程。在一级动力学拟合条件下，悬浮菌的降解速率常数为 0.02024，吸附固定化菌的降解速率常数为 0.02461，投加麦芽糖后的吸附固定化菌的降解速率常数为 0.05557。由此证明，吸附固定化菌对底泥中荧蒽的速率比悬浮菌的更快，降解更有效，同时投加麦芽糖能更进一步加快吸附固定化菌对底泥中荧蒽的降解效果，从而高效去除底泥中荧蒽的污染。

2.5　荧蒽的降解产物分析

由于土壤中有机物含量复杂，很难辨析哪些是荧蒽的降解产物，所以为了更清楚地了解固定化菌及外加碳源对荧蒽降解程度的影响，试验选择在液体培养基中对固定化菌及外加碳源的投加进行荧蒽降解产物分析。

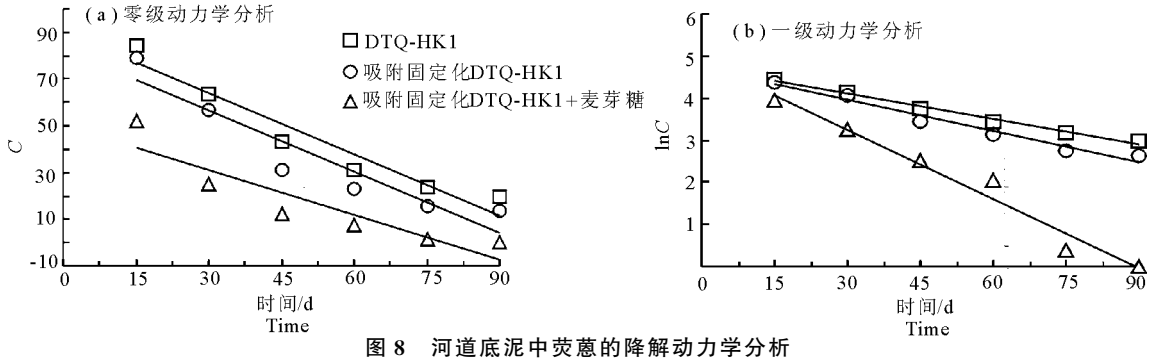


图 8　河道底泥中荧蒽的降解动力学分析

Fig.8　Degradation kinetic models of fluoranthene in sediment

表1　动力学参数

Tab.1　Degradation kinetic parameters of zero-order and one-order kinetics

参数	DTQ-HK1	吸附固定化DTQ-HK1	吸附固定化DTQ-HK1＋麦芽糖
R^2(一级动力学)	0.98898	0.96473	0.93253
R^2(零级动力学)	0.91351	0.85980	0.79632
K_1	0.02024	0.02461	0.05557
K_2	0.87034	0.87257	0.64353

将制备好的固定化菌及麦芽糖加入到含有一定荧蒽浓度的无机盐液体培养基中，经过42 d的培养，对上述未投加菌株(空白)、投加固定化菌及投加麦芽糖后的的固定化菌3种体系中荧蒽的降解产物进行了对比分析，结果如图9。在未投加菌株时体系中的物质只有荧蒽；在加入固定化菌后可以发现，荧蒽的含量有不同程度的减少，产物峰有明显的增多；在加入麦芽糖后可以发现荧蒽的含量进一步减少，且出峰位置有明显的不同，可见投加麦芽糖之后比单独固定化菌对荧蒽的降解效果更加明显，且降解产物发生改变，降解更彻底。对不同降解体系中荧蒽的降解产物结构分析如表2。空白组中只有荧蒽，而投加固定化菌之后，降解产物有脂类、酮类、醇类、酚类、烯烃类等含苯环或者杂环类物质，可以确定荧蒽被固定化菌降解，但是降解不充分；而在投加麦芽糖后的固定化菌降解体系中，可以发现体系中相比于未投加麦芽糖荧蒽的含量大大减少，而且降解产物基本为开环的醇类、烯烃类等，大多数环类结构基本被打开，降解产物以开链化合物为主。上述结论说明固定化菌荧蒽降解的作用明显，且外加碳源的投加能进一步提高固定化菌对荧蒽的降解效率，使荧蒽的降解更彻底。

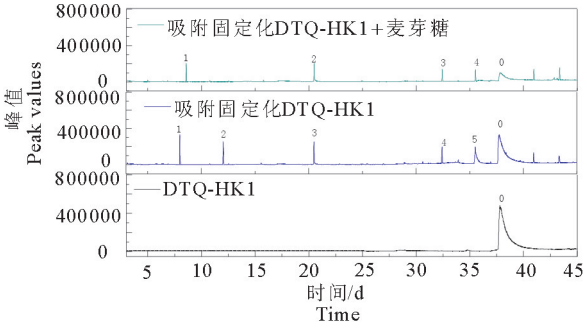


图9　荧蒽降解产物峰

Fig.9　GC-MS spectrum for degradation products of fluoranthene by DTQ-HK1 strain, immobilized DTQ-HK1 and immobilized DTQ-HK1 with maltose

表2　GC-MS图中降解产物结构式

Tab.2　Molecular structure of degradation products in GC-MS

降解体系	峰值	降解产物结构式
吸附固定化DTQ-HK1	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
吸附固定化DTQ-HK1＋麦芽糖	1	
	2	
	3	
	4	

3　讨论

本研究从受PAHs污染的河道底泥中分离出来1株荧蒽降解菌，经16S rDNA序列分析后确定该菌株为青霉素菌DTQ-HK1，对该菌株进行短期(14 d)的荧蒽降解试验发现其对荧蒽的降解效率可达13.1%；对降解体系中投加麦芽糖，经过42 d试验，能够使DTQ-HK1对荧蒽的降解率提高29.53%。结果进一步证实外加碳源能够使荧蒽通过某种方式增加其在介质中的溶解度，同时外加碳源的投加能够促进降解菌在降解过程中的共代谢作用，从而提高降解菌对荧蒽的降解效率。

通过研究DTQ-HK1对底泥中荧蒽的降解效率，发现其在菖蒲根际圈的作用下，经过90 d的试验，DTQ-HK1对底泥中荧蒽降解率为80.58%。由此可见相比于一般环境而言，菖蒲根际圈能够给降解菌提供有利于生存或者降解的微环境，从而能够加快其降解速率。通过对其降解动力学分析也说明在菖蒲根际圈的作用下，能加快降解，在此前提下投加麦芽糖，能够使其对荧蒽的降解率达到100%，也再一次证实外加碳源对荧蒽降解效率的提高作用。而降解动力学分析同样能够证明麦芽糖的加入，能够对降解菌的降解速率有明显的提升，说明外加碳源在降解菌降解荧蒽的过程中起着至关重要的作用。

分析固定化菌及外加碳源对荧蒽的降解产物种类，发现固定化菌对荧蒽的降解极不充分，产物分为6类以含苯环或杂环类物质为主，说明荧蒽在固定化菌降解后产物为分子量相对较高的状态，没有转化为低分子量的简单化合物。而投加外加碳源后，大多数环类结构基本都被打开，降解产物以开链化合物为主，降解产物由之前的苯环和杂环类的高分子量结构复杂的物质，降解成了相对分子量较小的单链等产物，说明在投加外加碳源后降解菌对荧蒽的降解更彻底。

参考文献

陈嫣，李广贺，张旭，等，2005. 石油污染土壤植物根际微生态环境与降解效应[J]. 清华大学学报(自然科学版)，45(6)：784－787.

刘现明，徐学仁，张笑天，等，2001. 大连湾沉积物中 PAHs 的初步研究[J]. 环境科学学报，21(4)：507－509.

罗雪梅，刘昌明，何孟常，2005. 黄河沉积物中多环芳烃的分布特征及来源分析[J]. 环境科学研究，18(2)：48－50，65.

王鑫，苏丹，李海波，2011. 固定化微生物对土壤中苯并芘的降解[J]. 生态环境学报，20(3)：532－537.

许士奋，蒋新，2000. 长江和辽河沉积物中的多环芳烃类污染物[J]. 中国环境科学，20(2)：128－131.

许晓毅，苏攀，姬宇，等，2015. 沉积物中 2 株多环芳烃降解菌的分离鉴定及其对菲、荧蒽的降解特性[J]. 环境工程学报，9(3)：1513－1518.

杨秀虹，汤婉环，李适宇，2012. 一株菲降解菌的生长特性及其对荧蒽和芘的降解能力[J]. 中山大学学报(自然科学版)，51(1)：107－113.

杨雪贞，樊曙先，汤莉莉，等，2007. 外秦淮河疏浚后底泥中多环芳烃分布特征及其变化[J].环境科学研究，21(4)：114－118.

尹春芹，蒋新，王芳，等，2012. 不同碳源刺激对老化污染土壤中 PAHs 降解研究[J]. 环境科学，33(2)：633－639.

袁旭音，李阿梅，王禹，等，2004. 太湖表层沉积物中的多环芳烃及其毒性评估[J].河海大学学报：自然科学版，32(6)：607－610.

张闻，陈贯虹，高永超，等，2012. 石油和重金属污染土壤的微生物修复研究进展[J]. 环境科学与技术，35(12J)：175－176.

赵金宝，崔玉波，孙红杰，等，2010. 含多环芳烃污泥的植物修复研究进展[J]. 辽宁化工，39：1250－1253.

Dean-R D，Moody J，Cerniglia C E，2002. Utilization of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria isolated from contaminated sediment[J]. FEMS Microbiology Ecology，41(1)：1－7.

Dzul-Puc JD，Esparza-Garcia F，Barajas-Aceves M，2005. benzo[a]pyrene removal from soil by Phanerochaete chrysosporium grown on sugarcane bagasse and pine sawdust[J]. Chemosphere，588(1)：1－7.

Juhasz A L，Naidu R，2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons：a review of the microbial degradation of benzo [a] pyrene[J]. International biodeterioration & biodegradation，45(1)：57－88.

Lee K，Park J W，Ahn I S，2003. Effect of additional carbon source on naphthalene biodegradation by Pseudomonas putida G7[J]. Journal of Hazardous Materials，105(1)：157－167.

Mcnally D L，Mihelcic J R，Lueking D R，1999. Biodegradation of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons under aerobic and nitrate-reducing conditions[J]. Chemosphere，38(6)：1313－1321.

SU D，LI P J，Stagnitti F，2006. Biodegradation of benzo[a]pyrene in soil by Mucor sp.SF06 and Bacillus sp.SB02 co-immobolized on vermiculite[J]. Journal of Environmental Sciences，18(6)：1204－1209.

Simkivs S，Alexander M，1984. Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density[J]. Applied and Environmental Microbiology，47(6)：1299－1306.

Schmidt S K，Scow K M，Alexander M，1987. Kinetics of p-nitrophenol mineralization by a Pseudomonas sp.：effects of second substrates[J]. Applied and Environmental Microbiology，53(11)：2617－2623.

Tejeda-Agredano M C，Mayer P，Ortega-Calvo J J，2014. The effect of humic acids on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons depends on the exposure regime [J]. Environmental Pollution，184(SI)：435－442.

Zhang J，Lin X，Liu W，2012. Effect of organic wastes on the plant-microbe remediation for removal of aged PAHs in soils[J]. Journal of Environmental Sciences，24(8)：1476－1482.

（责任编辑　张俊友　郑金秀）

Increasing the Effectiveness of a Fluoranthene-Degrading Microorganism by Immobilization and Adding a Carbon Source

HUANG Xiu-xiu[1], ZUO Yu-huan[1], LI Teng-fei[1], ZHANG Zhao-hui[1,2], WANG Liang[1,2], ZHAO Bin[1,2], LI Jun-jing[1,2], LI Xiao-feng[1]

(1.Department of Environmental Science and Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, P.R.China;
2.State Key Laboratory of Separation Membranes and Membrane Processes, Tianjin 300387, P.R.China)

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) pollution of sediments in rivers and lakes is widespread in China, particularly the high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons (H-PAHs). To date, few studies have been conducted on use of the plant rhizosphere to promote respiration in river sediments with H-PAH pollution. In our study, fluoranthene was selected as the target pollutant. A typical fluoranthene degrading strain was screened from the rhizosphere of calamus growing in the river sediment contaminated by fluoranthene. The strain labeled as DTQ-HK1 was identified as *Penicillium purpurogenum* through morphological observation and 16S rDNA sequence homology analysis. The strain was adsorbed and immobilized on pulverized corn cob and the effect of adding an external carbon source on fluoranthene degradation by DTQ-HK1 and plant-microorganism remediation of fluoranthene contaminated river sediment were studied. Degradation products were identified and degradation kinetics were analyzed. After being cultured in a liquid medium for 42 days, 52.22% of the fluoranthene was degraded. When maltose was added as an external carbon source (fluoranthene:maltose=5∶3), the extent of fluoranthene degradation increased to 81.75%. The degradation performance of the plant-microorganism combination then studied in a 90-day experiment. DTQ-HK1 was immobilized on pulverized corn cob passed through a 10 mesh sieve and added to sediment near calamus roots. The degradation efficiency of immobilized DTQ-HK1 in sediment near calamus roots was slightly higher than for free DTQ-HK1 and the degradation efficiency was significantly improved by adding maltose, reaching 100% at 90 days. Analysis of degradation kinetics and products showed that the degradation rate of fluoranthene by DTQ-HK1 was enhanced by immobilization and the degradation rate with an external carbon source was 1.3 times that of DTQ-HK1 alone. The degradation process was more complete and the degradation products were mainly open-chain substances. The results show that immobilization and addition of an external carbon source can enhance PAH degradation when using a plant-microorganism system for remediation.

Key words: immobilized bacteria; fluoranthene; river sediment; external carbon source; biodegradation