

文章编号: 1005-8893 (2004) 01-0043-03

## XL-02 菌株对石油烃的降解研究

肖连冬<sup>1</sup>, 唐和清<sup>1</sup>, 胡汉峰<sup>2</sup>, 刘宏芳<sup>1</sup>

(1. 华中科技大学 化学系, 湖北 武汉 430074; 2. 常州制药厂 生产技术部, 江苏 常州 213018)

**摘要:** 报告了从油田分离到的 XL-02 菌株对石油烃的降解, 探讨了 pH 值、接种量、油质量浓度及温度对菌体生长和降油率的影响。结果表明, XL-02 菌株对 pH 值具有较宽的适应范围, 且 pH 值在 7.0~7.5 时, 降油效果最好; 随着接种量的增加降油率逐步增加; 相对较低的含油量和在 30~35℃ 下除油率高。

**关键词:** 石油污染; 除油率; 石油降解

**中图分类号:** TE 991.2

**文献标识码:** A

在石油及其产品的生产、储存和运输过程中所造成的环境污染已日益严重并威胁到人类和其它生物的生存和发展, 因而引起人们的高度重视。在自然界, 已知的具有降解和转化石油污染物的微生物有数百种 70 多属, 主要有细菌、真菌和藻类等 3 大类型的生物。它们能降解石油烃类为无毒的产物 (CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O)<sup>[1]</sup>。微生物的石油降解能力是对石油污染进行生物修复的生物学基础, 直接决定生物修复的效率。因此分离培养可高效降解石油烃的微生物, 消除和减少石油烃在环境中滞留, 是维护和创造高质量的人类生存环境的有效措施。

本文对我们所分离出的 XL-02 微生物菌株对石油烃的降解特性进行了研究, 探讨了微生物降解石油的适宜条件, 为微生物降解石油在环境保护上的应用提供一定的科学依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 菌株

XL-02 菌株是从油田污水中分离得到。用以原油为唯一碳源的矿质培养基对样品进行浓度梯度驯化培养, 然后涂平板分离出单菌落, 通过筛选并加以纯化, 得到该菌株。XL-02 菌株为兼性厌氧、革兰氏阴性、无芽孢杆菌, 端生鞭毛, 单个或成对存在。经对其生理生化特征研究, 结合形态观

察, 初步鉴定 XL-02 为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)。

#### 1.2 培养基

种子培养基: NH<sub>4</sub>Cl 2.5 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.6 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.25 g, NaCl 0.35 g, 酵母膏, 蒸馏水 1 000 mL。

降油培养基: NH<sub>4</sub>Cl 4.0 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.6 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 2.5 g, MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.25 g, NaCl 0.35 g, 石油 (长庆原油) 若干, 蒸馏水 1 000 mL。

#### 1.3 菌体生长量测定

培养液用石油醚将油萃取后, 其萃取液用 721 分光光度计在 550 nm 下测定其光密度值 (OD), 来表示菌体量的变化。

#### 1.4 石油含量测定

采用紫外分光光度法<sup>[2]</sup>。

#### 1.5 实验方法

以降油培养基为基础, 分别改变培养 pH、接种量、油质量浓度及温度等因素, 170 r/min 震荡培养 9 天, 测定菌体生长的 OD 值和残油含量, 研

收稿日期: 2003-09-05

作者简介: 肖连冬 (1964—), 女, 河南南阳人, 副教授。

究其对石油降解菌生长和降油影响。原油降油率以初始油质量下降的百分率来计算(理化降油量因对降油规律研究影响较小,这里暂没有考虑)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 pH 值对菌体生长和降油的影响

配制油质量浓度为 5 000 mg/L、初始 pH 分别为 6.0、6.5、7.0、7.5 和 8.0 的降油培养基,按 10% 接种量,进行降油试验。对菌体生长和降油率影响结果见表 1。

表 1 pH 对菌体生长和降油率的影响

pH	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0
总降油率, %	18.50	33.61	55.26	56.80	47.01
菌体生长 (OD)	0.181	0.201	0.303	0.320	0.299

从表 1 中可知, pH 在 6.5~8.0 之间对菌株降油率总体上影响不很大,而 pH 在 7.0~7.5 时,降油率最高,效果最好。在 pH 低于 6.5 条件下,菌株的降油能力明显下降。菌体的积累量在 pH=7.0~8.0 间最高,即菌体生长较好。这说明,菌体的生长要求的 pH 和有效降油 pH 是比较吻合的。另外,从降油率和菌体量变化趋势可以看出,菌体的数量与降油能力的大小有密切关系。

### 2.2 菌液投加量与菌体生长和降油的关系

我们分别选择了 5%、10%、15%、20% 的接种量,在油质量浓度为 5 000 mg/L、pH 为 7.2 条件下进行降油实验,其结果见图 1。

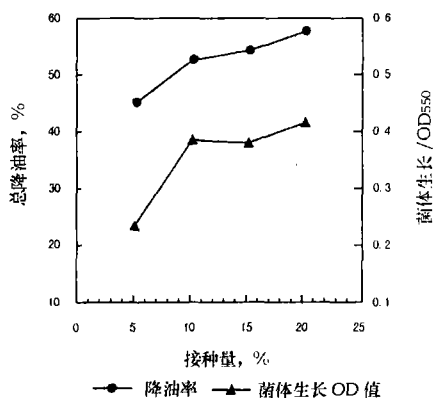


图 1 接种量对菌株生长和降油的影响

从图 1 我们看出该菌株对石油的降解率随接种量的增加而增加。而对于菌体生长影响情况可以看出,只有当接种量很低时对其影响较大,而在 10% 至 20% 间,菌体量基本上没有变化。因此可

见,菌株对原油的有效降解首先必须有足够的接种量,否则,由于菌体质量浓度低,生长迟缓期长,在新的培养基环境中很难快速适应而影响其生长,从而影响降油;其次还要注意在达到一定接种量后,再增加接种量对菌体的增加量没有太大影响,若过多,反而会造成新增细胞减少而使整体活力下降,其降油后劲不足,短期内降油速度较快,但持续降解能力下降,而会最终影响降油能力的大小。

### 2.3 油的质量浓度对菌体生长和降油的影响

将 4 个原油初始质量浓度分别为 1 000 mg/L、3 000 mg/L、5 000 mg/L 和 7 000 mg/L 的培养基,在 pH7.2、接种量取 10% 条件下进行降油试验。其结果见图 2。

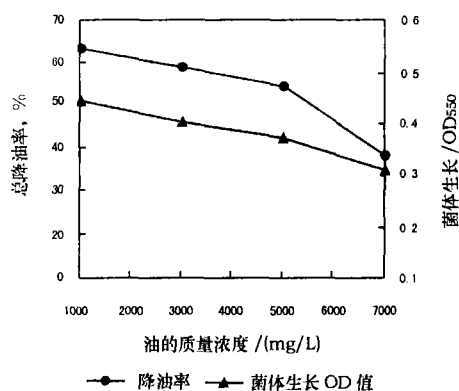


图 2 油的质量浓度对菌株生长和降油的影响

从图 2 可见,该菌株的菌体生长量和降油率均随油质量浓度提高而降低,且油质量浓度超过 5 000 mg/L 时降油率下降较快。说明该菌株在相对较低油的质量浓度下降油能力更强,这与该菌株耐油程度有关,即在高质量浓度下因菌体生长受到抑制而影响对石油烃的降解。

### 2.4 温度对降油的影响

为确定菌株降油的最适温度分别选择在 20 ℃、25 ℃、30 ℃和 35 ℃下进行降油试验(pH7.2、接种量取 10%、油质量浓度 5 000 mg/L, 170 r/min 震荡培养 9 天)。由表 2 可以看出,该菌株在 30~35 ℃降油效果较好,随着温度的降低降油率也随之降低。

表 2 温度对降油率的影响

温度/℃	20	25	30	35
总降油率, %	23.91	31.47	54.18	57.77

### 3 结 论

初步研究结果表明,我们从油田污水中分离出的 XL-02 菌株具有较好的降解石油的能力,可以用来治理石油及其产品所造成的水污染。

该菌株具有相对较宽的 pH 值适应范围,使其具有重要的实际应用价值。在使用该菌株治理环境污染时可以不必要过多考虑环境中的酸碱度,从而简化操作步骤,降低治理成本。

关于 XL-02 菌株对不同烃类的利用情况研究正在进行中。并通过对其营养条件的优化及采取有效的菌种选育手段,使该菌株对石油的降解效率进一步提高。有关 XL-02 菌株的形态和分类等内容将在另文报道。

### 参考文献:

- [1] 阿特拉斯 R M. 石油微生物学 [M]. 黄第藩,译. 北京:石油工业出版社,1991.
- [2] 污染源的统一监测方法编写组. 污染源的统一监测方法(废水部分) [M]. 北京:教育出版社出版,1985.
- [3] 布坎南 R E, 古本斯 N E. 白杰细菌鉴定手册 [M]. 第八版. 北京:科学出版社,1984.
- [4] Sorkhoh N A, Ibrahim A S, Stretton R J, et al. Crude Oil and Hydrocarbon of Hydrocarbons in Soil [J]. Environmental Pollution, 1990, 67 (3): 249-258.
- [5] James G, Mueller E, Suzanne E Lants. Strategy Using Bioreactors and Specially Selected Microorganisms for Bioremediation of Groundwater Contaminated with Craosote and Pentahlorophend [J]. Environ Sci Technol, 1993, 27 (6): 691-697.
- [6] 丁明宇, 黄健, 李永祺. 海洋微生物降解石油的研究 [J]. 环境科学学报, 2001, 21 (1): 84-88.

### Study on Degradation of Petroleum Hydrocarbon by XL-02 Strain

XIAO Lian-dong<sup>1</sup>, TANG He-qing<sup>1</sup>, HU Han-feng<sup>2</sup>, LIU Hong-fang<sup>1</sup>

- (1. Department of Chemistry, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;
2. Department of Production and Technology, Changzhou Pharmaceutical Factory, Changzhou 213018, China)

**Abstract:** It was reported that XL-02 strain isolated from sludge of oil field degraded petroleum. The wide range of pH had less influence on XL-02 strain, but pH 7.0-7.5 was optimum. The rate of degrading oil of XL-02 increased with the amount of inoculia and it reduced with the increase in concentrations of oil. The optimum temperature is 30-35 °C.

**Key words:** oil pollution; rate of degrading oil; petroleum degradation