

营养平衡因子在石油降解中的促进作用*

张云波 刘海涛 赵雅坤

(中国石油大学(华东)化学工程学院)

摘 要 营养平衡因子是影响微生物降解石油效果的关键因素之一。通过考察不同的氮源和磷源、氮磷比以及钙镁离子含量、NaCl 添加量对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的促进作用后发现:无机氮源优于有机氮源,胺态氮优于硝态氮, NH_4Cl 和 KH_2PO_4 分别作为氮源和磷源,氮磷质量比为 5:1 时,对 UM1 石油降解促进作用明显。 CaCl_2 和 MgSO_4 质量浓度分别为 30 mg/L 和 500 mg/L 时,UM1 的石油降解率迅速增至最大,分别为 65.86% 和 65.12%。通过 1 L 培养基添加 3 g NaCl,能有效促进石油的降解。

关键词 石油降解;营养平衡因子;促进作用

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 1005-3158(2013)06-0043-04

0 引 言

微生物降解石油的过程中,降解效果受到许多因子的影响,主要可以归结为环境因子、营养平衡因子和生物因子的作用。营养平衡因子是影响微生物降解石油的关键因素之一,只有环境中的营养元素满足一定条件时,石油降解微生物才能最大限度的发挥石油降解能力。

1 实 验

1.1 材 料

石油:采自新疆百口泉井区,密度 0.792 g/cm^3 ,黏度 $1\,923.14 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ (50°C),饱和烃含量 71.17%,芳香分含量 18.42%,胶质含量 9.89%,沥青质含量 0.52%。

无机盐培养基 (MSM)^[1]: Na_2HPO_4 0.6 g, KH_2PO_4 0.2 g, NaNO_3 4.0 g, MgSO_4 0.3 g, CaCl_2 0.01 g, FeSO_4 0.01 g, 酵母粉 0.5 g, 蒸馏水 1 000 mL, 调整 pH 值至 7.0。

LB 培养基:胰蛋白胨 10.0 g/L, 酵母浸出膏 5.0 g/L, NaCl 5.0 g/L, 琼脂 20.0 g/L (固体培养基用), pH 值 7.2~7.4。

主要仪器: OIL-510 型全自动红外分光测油仪; HZQ-QX 型全温振荡器。

菌种: 高效耐高温石油降解混合菌 UM1, 最适生长温度为 47.5°C 。

1.2 方 法

将高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的菌悬液按体积比 3% 接种到石油浓度为 1% 的 100 mL 无菌 MSM 中, 在初始 pH 为 7.0、振荡速度为 160 r/min、温度 47.5°C 的条件下培养, 同时做空白与平行对照实验, 培养 6 d 后测定培养基中的残留石油含量, 计算其石油降解率。以此考察不同的氮源和磷源、氮磷比以及钙镁离子含量、NaCl 添加量对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的促进作用。

1.3 石油降解率的测定

初始石油含量通过培养基添加石油前后的质量差求得。培养后培养基中的石油含量, 采用 OIL-510 型全自动红外分光测油仪测定。实验依据 HJ 637—2012《水质 石油类和动植物油的测定 红外分光光度法》, 并稍做改进。萃取液移入铺有 15 mm 厚的无水 Na_2SO_4 的砂芯漏斗中, 砂芯漏斗与抽滤瓶相连, 采用循环水式真空泵将萃取液抽入抽滤瓶中^[2]。

2 结果与讨论

2.1 氮源种类对石油降解的促进作用

霍丹群^[3]等研究认为营养元素对微生物降解石油污染物的效率有明显的作用, 只有环境中的营养元素满足微生物生长代谢的需要时, 微生物才能充分发挥降解石油的能力, 从而提高石油污染物的降解率。氮是微生物生长必需的营养元素^[4], 也是影响石油降

* 基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金资助, 项目编号 11CX06048A。

张云波, 1992 年毕业于山东大学微生物专业, 副教授, 现在中国石油大学(华东)化学工程学院环境与安全工程系从事环境工程教学和科研工作。
通信地址: 山东省青岛市经济技术开发区长江西路 66 号中国石油大学化学工程学院环境与安全工程系, 266580

解菌降解效率的重要营养物质^[5]。不同氮源对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的促进作用,如图 1 所示。

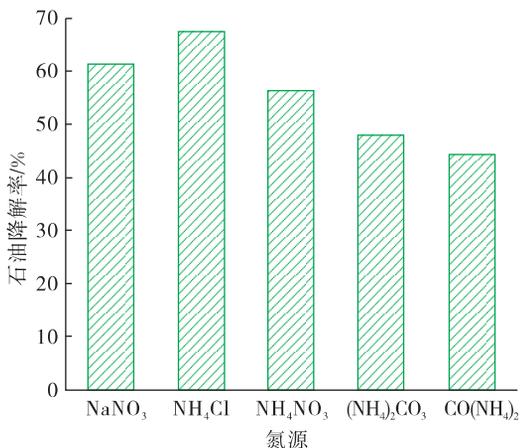


图 1 氮源对石油降解的促进作用

由图 1 可看出,无机氮源优于有机氮源,胺态氮优于硝态氮,酰胺态氮效果最差。这是因为有机氮源同时作为碳源,将优先于石油组分被高效耐高温石油降解混合菌 UM1 利用,从而妨碍了石油降解效果,同时胺态氮水解具有缓冲作用,有利于保持培养基 pH 值的稳定。NH₄Cl 作为氮源时高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解率最高,促进效果显著。

2.2 磷源种类对石油降解的促进作用

磷也是微生物生长必需的营养元素^[6],同样影响微生物降解石油的效率。磷不仅是合成核酸、核蛋白、磷脂及其他含磷化合物的重要元素,而且是多种辅酶的必要元素,同时磷酸盐还是重要的缓冲剂,能够调节 pH 值。磷在细胞的生长、繁殖、代谢中都起到很重要的作用,几乎所有的微生物都需要磷。不同磷源对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的促进作用如图 2 所示。

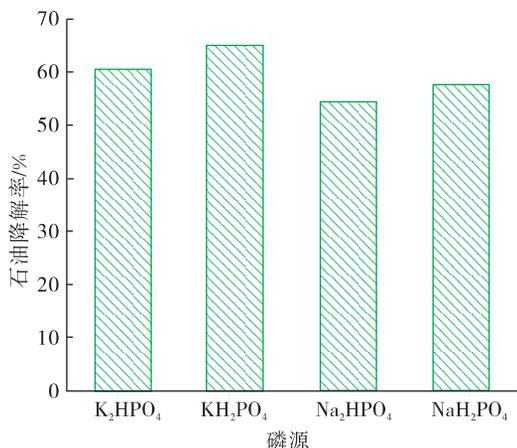


图 2 磷源对石油降解的促进作用

由图 2 可知, KH₂PO₄、K₂HPO₄、NaH₂PO₄ 和 Na₂HPO₄ 均对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解具有一定的促进作用,但 KH₂PO₄ 和 K₂HPO₄ 作为磷源的促进效果优于 Na₂HPO₄,这可能是前者还含有一定量的钾元素造成的。KH₂PO₄ 作为磷源时,促进效果最为显著。

2.3 氮磷比对石油降解的促进作用

从微生物的细胞组成元素来看,氮和磷是构成菌体成分的重要元素,且相互间需满足一定比例,若比例失调,则会影响微生物的正常生长繁殖,使微生物的生物活性及各种性能受到影响^[7-8],因此氮磷比可作为石油降解中重要的控制条件之一。不同氮磷比对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的促进作用,如图 3 所示。

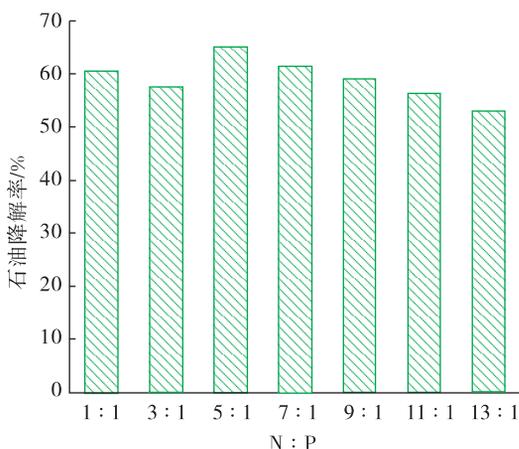


图 3 氮磷比对石油降解的促进作用

由图 3 可看出,随着氮磷比的增加,高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解率呈上升趋势,具有显著的促进效果,当氮磷比为 5:1 时,石油降解效果最好,降解率达到最高 65.01%。氮磷比继续增加,石油降解率便出现下降。由此可看出,氮磷的添加并不是越多越好,高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的生长与氮磷营养盐的量存在最佳的匹配值。

2.4 钙离子对石油降解的促进作用

钙是微生物重要的阳离子,是蛋白酶的激活剂,是细菌芽孢的重要组分。钙离子在细菌芽孢的热稳定性中起着关键性的作用,并且与细胞壁的稳定性的有关^[9]。钙离子浓度对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的促进作用,如图 4 所示。

由图 4 可知,增加钙离子的含量,对促进高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解作用明显,随着培养基中 CaCl₂ 浓度的增加,高效耐高温石油降解

混合菌 UM1 的石油降解率迅速升高,在 30 mg/L 时达到最高,为 65.86%,随后钙离子浓度继续增加,石油降解率反而有所下降,因此,CaCl₂ 浓度为 30 mg/L 时对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解具有促进作用。

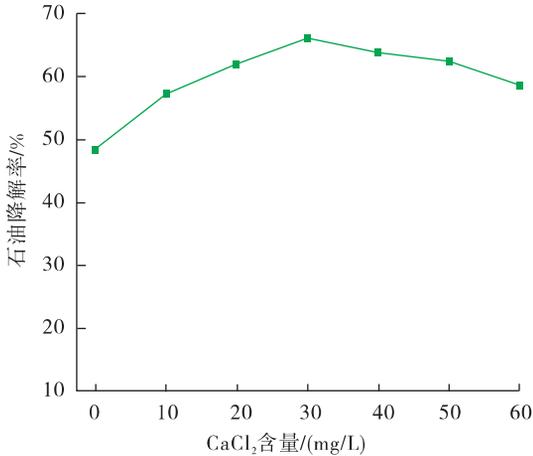


图4 CaCl₂对石油降解的促进作用

2.5 镁离子对石油降解的促进作用

镁是己糖磷酸化酶、肽酶、羟化酶等的活化体。酶在细胞中起到稳定核糖体、细胞质和核酸的作用。镁的缺乏会导致核糖体和细胞质膜遭到破坏,微生物生长停止^[10]。镁离子浓度对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的促进作用,如图 5 所示。

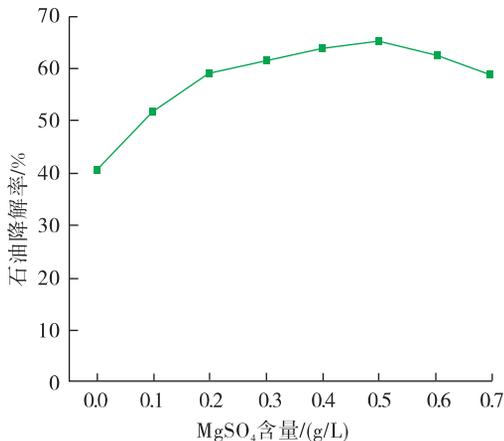


图5 MgSO₄对石油降解的促进作用

由图 5 可知,初期增加镁离子的含量,对促进高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解作用效果明显,随着培养基中 MgSO₄ 浓度的增加,高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解率迅速攀升,在 0.5 g/L 时达到顶峰,石油降解率为 65.12%,随后过量的镁离子有可能导致高效耐高温石油降解混合菌 UM1 中毒,从而影响其对石油的降解,石油降解率开始下

降,因此,MgSO₄ 浓度为 0.5 g/L 对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 石油降解具有促进作用。

2.6 NaCl 浓度对混合菌石油降解率的影响

NaCl 能够为微生物提供无机离子,是微生物生长需要的一种非常重要的营养元素,具有参与酶的组成,影响酶的性质,调节细胞氧化还原电位等功能^[11]。而且 NaCl 也能通过渗透压^[12]影响微生物的生长。中渗溶液中,微生物正常生长繁殖;高渗溶液中,细胞失水收缩,抑制其生长繁殖;低渗溶液中,细胞吸水膨胀,有可能发生裂解,使菌体死亡。NaCl 浓度对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的促进作用,如图 6 所示。

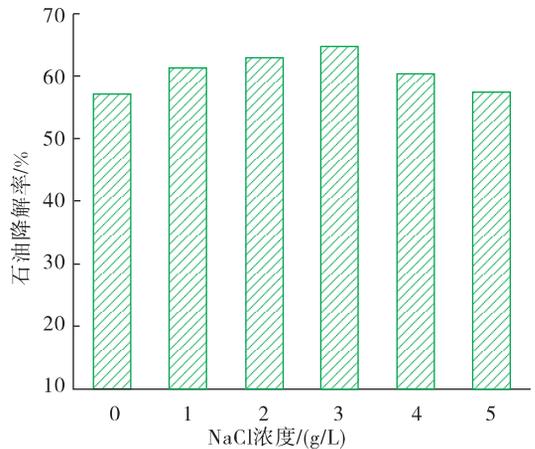


图6 NaCl浓度对石油降解的促进作用

由图 6 可知,NaCl 浓度为 3 g/L 时,对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解的促进作用效果明显,石油降解率达到最高的 64.62%。这是由于 NaCl 具有促进多环芳烃降解的作用,此外培养基内盐度为 0.83%,接近培养微生物细胞时 0.85% 生理盐水的盐度。可见通过添加 NaCl 对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解具有一定的促进作用。

3 结论

营养平衡因子能够直接影响高效耐高温石油降解混合菌 UM1 降解石油的效果,其中,无机氮源优于有机氮源,胺态氮优于硝态氮,NH₄Cl 和 KH₂PO₄ 分别作为氮源和磷源,氮磷质量比为 5:1 时,对高效耐高温石油降解混合菌 UM1 石油降解促进作用明显。一定浓度的钙镁离子,均能促进高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解,CaCl₂ 和 MgSO₄ 浓度分别为 30 mg/L 和 500 mg/L 时,高效耐高温石油降解混合菌 UM1 的石油降解率迅速增至最大,分别为 65.86% 和 65.12%,但过高的钙镁离子含量也会对

其石油降解效果产生负面影响。通过 1 L 培养基添加 3 g NaCl,使总盐度接近微生物用生理盐水的浓度,能有效促进石油降解。

参考文献

[1] 李政,赵朝成,张云波,等.耐热石油降解混合菌群的降解性能研究[J].化学与生物工程,2011(12):37-42.

[2] 刘其友,宗明月,张云波.耐热石油降解混合菌的筛选及其群落结构分析[J].生态环境学报,2012,21(8):1468-1472.

[3] 霍丹群,秦力,杨丽敏.N、P源对微生物法处理石油烃效果的影响[J].后勤工程学院学报,2006(3):33-35.

[4] 何良菊,李培杰,魏德洲,等.石油烃微生物降解的营养平衡及降解机理[J].环境科学,2004,25(1):91-94.

[5] 张璐.高效石油降解菌的分离、鉴定、菌群构建及其在生物修复中的强化作用的研究[D].南京:南京农业大学,2008.

[6] Chaillan F, Chaîneau C H, Point V, et al. Factors Inhibiting Bioremediation of Soil Contaminated with Weathered Oils and Drill Cuttings [J]. Environmental Pollution, 2006, 144:255-265.

[7] 唐受印,戴友芝,汪大翠,等.废水处理工程[M].北京:化学工业出版社,2004.

[8] Chaîneau C H, Rougeux G, Yépémian C, et al. Effects of Nutrient Concentration on the Biodegradation of Crude Oil and Associated Microbial Populations in the Soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(8):1490-1497.

[9] 周群英,王士芬.环境工程微生物学(第三版)[M].北京:高等教育出版社,2008.

[10] 余素林,赵桂芳,刘芳,等.石油污染土壤微生物治理技术发展方向[J].中国农业科技导报,2007,9(4):55-60.

[11] 张子间,刘勇弟,孟庆梅,等.微生物降解石油烃污染物的研究进展[J].化工环保,2009,29(3):193-198.

[12] Chen Jing, Yang Qiuyan, Huang Taipeng, et al. Enhanced Bioremediation of Soil Contaminated with Viscous Oil through Microbial Consortium Construction and Ultraviolet Mutation [J]. World J Microbiol Biotechnol, 2011(27):1381-1389.

(收稿日期 2013-04-03)

(编辑 张爽)

油气田环境保护

ENVIRONMENTAL PROTECTION OF OIL & GAS FIELDS

中国科技核心期刊

《油气田环境保护》由中国石油集团安全环保技术研究院、中国石油天然气集团公司安全环保与节能部、中国石油天然气股份有限公司安全环保与节能部主办;是国内外公开发行的环境保护类科学技术性期刊;是中国科技核心期刊。期刊重点报道油气田及石油炼化领域的污染现状、治理技术、管理方法、试验研究、监测手段等方面的新成果、新技术、先进经验以及国内外现行标准与发展动态,是中国石油对内对外进行宣传、技术交流的重要窗口以及中国石油、中国石化、中国海洋石油、高等院校、科研院所等广大环保工作者互相学习、互通信息的桥梁和纽带。

《油气田环境保护》为双月刊,国际标准开本。国际刊号:ISSN 1005-3158,国内刊号CN 11-3369/X,全年定价108元。

《油气田环境保护》设有广告部,刊登国内外广告,欢迎前来洽谈广告业务。

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告

电话:010-80169839, 80169850, 80169852

邮箱:YQT111@cnpc.com.cn

