

文章编号: 1673 1689(2010)05-0788-08

假单胞菌 L-3 对氧化乐果降解条件的优化

王立东¹, 阮长青^{* 2}, 郎双静²

(1. 黑龙江省农产品加工工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319; 2. 黑龙江八一农垦大学 食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘 要: 为确定氧化乐果降解菌假单胞菌 L-3 最佳的降解培养基配比及最适的环境条件, 在含一定质量浓度氧化乐果的分离培养基中, 对在不同碳源、氮源和磷源条件下的培养基进行降解实验, 并通过正交旋转组合实验优化设计, 优选出最适的碳源、氮源和磷源及其质量浓度; 对菌株在不同的温度、pH 值、接种体积分数、初始氧化乐果质量浓度环境条件下进行降解, 通过测定降解率优化出最适的环境条件。结果表明, 菌株 L-3 最适降解条件为: 蔗糖 1.7 g/dL, 牛肉蛋白胨 0.92 g/dL, KH_2PO_4 0.184 g/dL; 最佳的降解环境条件为 pH 7、30 ℃、接种体积分数 3%、初始氧化乐果质量浓度为 50 mg/L; 优化后对氧化乐果的降解率高达 82.59%。

关键词: 氧化乐果; 菌株 L-3; 降解条件; 优化; 环境条件

中图分类号: TQ 920.1

文献标识码: A

Study on Degrading Condition of Folimat Degradation Strain *Pseudomonas* L-3

WANG Lirong¹, RUAN Changqing^{* 2}, LANG Shuangjing²

(1. Agri Food Processing Development Center of Heilongjiang, Daqing 163319, China; 2. College of Food Science, Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing 163319, China)

Abstract: The aim of this study is to determine the optimum nutrient and environmental conditions for folimat degradation by strain pseudomonas L-3. For this, the single factor experiment was applied and the optimum conditions were listed as follows: L-3 was 1.7% cane sugar, 0.92% beef peptone, 0.184% KH_2PO_4 . The optimal degradation environmental condition was pH 7.0, 30 ℃, 3% inoculum size, 50 mg/L initial folimat concentration. With the optimum conditions, the degradation rate reached at 82.59%.

Key words: folimat, L-3 strains, degrading condition, optimization, environic condition

氧化乐果是目前中国常用的大吨位农药品种之一, 虽然该农药的使用为保证农作物的丰收起到

了重要的作用, 但其高毒、对农产品和环境存在较严重的污染等问题, 越来越引起人们的重视^[1]。微

收稿日期: 2009-10-08

作者简介: 王立东(1978-), 男, 黑龙江兰西人, 工学硕士, 实习研究员, 主要从事农产品加工方面的研究。

Email: wanglirong-521@163.com

* 通信作者: 阮长青(1968-), 男, 河南正阳人, 教授, 工学博士, 硕导, 主要从事食品营养与安全方面的研究。

Email: cqruan@163.com

生物降解是消除有机磷农药污染最主要的途径,国外从 20 世纪 50 年代开始研究有机磷农药的治理技术,确认微生物降解有机磷农药具有费用省、环境影响少、可最大限度降低污染物浓度、可用于其他技术难以应用的场地等优点^[2-3]。Wackett 等^[4]从土壤中分离出一株假单胞菌能降解除草剂阿特拉津,能以阿特拉津为惟一氮源,在 90 min 内使 100 mg/L 阿特拉津完全降解。杨惠芳等^[5]研究发现,添加降解菌可促进土壤中杀虫剂单甲咪的降解。由此可见,用微生物控制农药污染的生物修复技术显示出广阔的应用前景,但是由于农药污染环境的化合物组成很不稳定,环境中温度、pH 值及通气量等波动也较大,有可能抑制特定优势微生物的生长。另外,投放到环境中去的特定微生物种群还会受到该环境土著微生物种群的影响,甚至受到拮抗而不能在该环境中成为优势种群^[6-8]。

作者通过对实验室筛选出的菌株 L-3 对氧化乐果降解培养基及环境条件的优化,希望探寻更有利于菌体生长的条件,从而提高对氧化乐果的降解效果,为氧化乐果降解试验的进一步研究提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验仪器

GC-9900 气相色谱仪:上海科创色谱仪器有限公司制造;NDP-9052 型电热恒温培养箱、TGL-16B 台式离心机、722S 型分光光度计:上海精密科学仪器有限公司生产;LRH-280 型微电脑控制生化培养箱:广东省医疗器械厂制造;SG2 型 pH 计:梅特勒-托利多仪器上海有限公司生产。

1.2 培养基与试剂

普通培养基:牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 10.0 g, NaCl 5.0 g,蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0。

基础培养基:NaCl 0.5 g, KH₂PO₄ 0.5 g, K₂HPO₄ 1.5 g, MgSO₄ 0.5 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0。

分离培养基 A: NH₄NO₃ 0.5 g, Na₂HPO₄ 1.19 g, KH₂PO₄ 0.45 g, MgSO₄ 0.45 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0, 使用前加入 500 mg/L 氧化乐果溶液。

分离培养基 B: NaNO₃ 2 g, KCl 0.5 g, MgSO₄ 0.5 g, MnSO₄ 0.10 g, BaCl₂ 0.05 g, CaCl₂ 0.05 g, 琼脂 15 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0, 使用前加入 500 mg/L 氧化乐果溶液。

发酵培养基:蔗糖 17 g, 牛肉蛋白胨 9.2 g,

KH₂PO₄ 1.84 g, KCl 1.0 g, MgSO₄ 0.50 g, MnSO₄ 0.10 g, BaCl₂ 0.05 g, CaCl₂ 0.05 g, 蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0, 氧化乐果 500 mg/L。

菌种:黑龙江八一农垦大学食品学院实验室分离制得,鉴定为假单胞菌,命名为 L-3。

农药试剂:40% 氧化乐果乳油,北京金宏大生化有限公司产品。

1.3 菌株活化的方法

接种菌株于普通培养基中,30 ℃ 下于 160 r/min 振荡培养 12~18 h,备用^[8]。

1.4 气相色谱的检测条件、方法及降解率的计算方法

1.4.1 检测条件 GC-9900 气相色谱仪。条件:不锈钢柱 SE-30 (4 mm × 1 m)。柱温 180 ℃、气化室 225 ℃、检测器温度 220 ℃;氮气流量 50 mL/min, 氢气流量 60 mL/min, 空气流量 46 mL/min;检测器为 FPD。

1.4.2 检测方法 采用国标 GB/T 14552-2003 的方法进行测定。

1.4.3 降解率计算

$$\text{氧化乐果质量浓度} = \frac{\text{样品峰高}}{\text{标样峰高}} \times \text{标样氧化乐果质量浓度} \times \text{稀释倍数}$$

$$\text{氧化乐果降解率}(\%) = \frac{\text{对照质量浓度} - \text{处理质量浓度}}{\text{对照质量浓度}} \times 100\%$$

1.5 试验方法

1.5.1 碳源的选择及其质量浓度对氧化乐果降解的影响 在含 500 mg/L 氧化乐果的分离培养基 A 中分别加入 0.5 g/dL 的不同碳源,并将制备好的菌悬液以 3% 的接种体积分数接入到培养液中,在 pH 7.0、30 ℃、160 r/min 振荡培养 3 d,用气相色谱法测定降解前后氧化乐果的质量浓度,计算降解率,同时测定 OD₆₀₀ 值。

将优选出最适碳源以不同质量浓度添加到含 500 mg/L 氧化乐果的分离培养基 A 中,测定不同底物质量浓度条件下氧化乐果的降解率,选出最适碳源质量浓度。

1.5.2 氮源的选择及质量浓度对氧化乐果降解的影响 以相同质量浓度的其它氮源代替含 500 mg/L 氧化乐果的分离培养基 B 中的 NaNO₃,并将制备好的菌悬液以 3% 的接种体积分数接入到培养液中,在 pH 7.0、30 ℃、160 r/min 振荡培养 3 d,用气相色谱法测定降解前后氧化乐果的体积分数,计算降解率,同时测定 OD₆₀₀ 值。

将优选出最适氮源以不同质量浓度添加到含

500 mg/L 氧化乐果的分离培养基 B 中, 测定不同氮源质量浓度条件下氧化乐果的降解率, 选出最适氮源质量浓度。

1.5.3 磷源的选择及质量浓度对氧化乐果降解的影响 在含 500 mg/L 氧化乐果的分离培养基 A 和分离培养基 B 中加入一定的蔗糖, 接种培养 3 d 后, 测定不同培养基中氧化乐果的降解率, 并过对培养基中成分进行分析。

将优选出磷源以不同质量浓度添加到含 500 mg/L 氧化乐果的分离培养基 B 中, 测定不同磷源质量浓度条件下氧化乐果的降解率, 选出最适磷源质量浓度。

1.5.4 二次回归正交旋转实验确定降解培养基 降解培养基中 C、N、P 最佳质量浓度的确定采用二次回归正交旋转组合设计, 实验因子的水平及编码见表 1^[9]。数据统计分析: 采用 DPS 软件(3.01 专业版) 进行数据统计分析。

表 1 实验因素与水平
Tab. 1 Test facts and levels

X_j 实验水平	X_1 碳源 质量浓度/ (g/dL)	X_2 氮源 质量浓度/ (g/dL)	X_3 磷源 质量浓度/ (g/dL)
1.682	1.70	0.92	0.184
1	1.50	0.75	0.150
0	1.20	0.50	0.100
-1	0.90	0.25	0.050
-1.682	0.70	0.08	0.016
Δ_j	0.30	0.25	0.050

1.5.5 不同环境条件对降解的影响

1) 不同 pH 值对降解效率的影响: 制备菌悬液, 以 3% 的接种体积分数接种于优化的降解培养液中, 调 pH 值依次为 5、6、7、8、9、10, 添加 500 mg/L 氧化乐果, 设不接菌的空白为对照, 每处理重复 3 次, 测定降解率。

2) 不同温度对降解效率的影响: 制备菌悬液, 以 3% 的接种体积分数接种于含 500 mg/L 氧化乐果的 100 mL 优化的降解培养液(pH 7.0) 中, 同时设不接菌的空白对照, 分别于 15、20、25、30、35、40 ℃控温摇床培养 72 h, 摇床转速 160 r/min, 每处理重复 3 次, 测定降解率。

3) 不同接种接体积分数对降解效率的影响: 制备菌悬液, 分别以 1%、2%、3%、4%、5% 的接种体积分数接种于含 500 mg/L 氧化乐果的 100 mL 优化的降解培养液(pH 7) 中, 30 ℃、160 r/min, 摇床

培养 72 h, 设不接菌的空白对照, 每处理重复 3 次, 测定降解率。

4) 不同初始氧化乐果的质量浓度对菌株 L-3 降解效率的影响: 制备菌悬液, 分别接种于含 50、100、200、400、800 mg/L 氧化乐果的 100 mL 优化的降解培养液中, 30 ℃、160 r/min 振荡培养, 每隔 24 h 测定氧化乐果的降解率, 绘制生长曲线。

2 结果与讨论

2.1 不同碳源对 L-3 菌落降解氧化乐果能力的影响

不同碳源对氧化乐果降解效率的影响见图 1。由图 1 可以看出, 添加的碳源中, 蔗糖的降解率最高, 降解率高达 72.03%, 添加葡萄糖、果糖、乳糖的培养液也能够降解氧化乐果, 但稍低于蔗糖, 添加可溶性淀粉的培养液对氧化乐果的降解率很低, 所以选择蔗糖作为培养液的碳源; 培养基中菌体的生长状况与对氧化乐果降解情况一致, 即在碳源为蔗糖时菌体的生长量也达到最大。

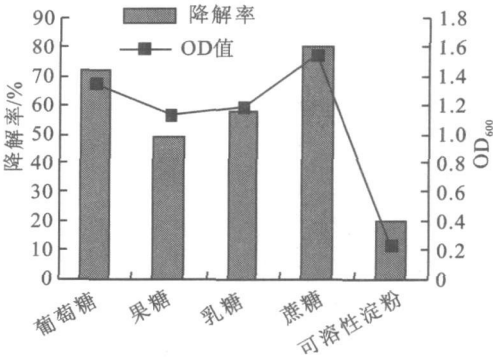


图 1 碳源对氧化乐果降解的影响
Fig.1 Influence of different carbon source during degradation

2.2 蔗糖质量浓度对 L-3 菌降解氧化乐果的影响 不同的蔗糖质量浓度对氧化乐果降解效果的影响见图 2。

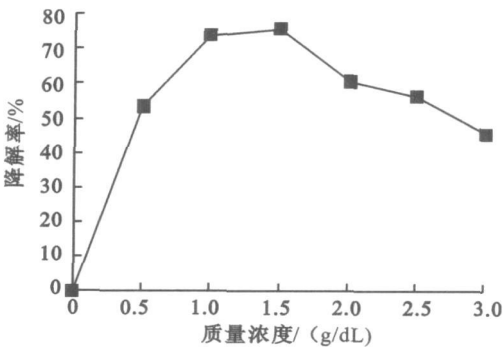


图 2 不同蔗糖质量浓度对氧化乐果降解的影响
Fig.2 Effect of sucrose concentration on degradation rate

从图 2 可以看出, 在氧化乐果质量浓度一定的条件下, 无蔗糖的存在, 菌株不能降解氧化乐果, 随着蔗糖质量浓度的升高, 菌株对氧化乐果的降解率明显提高, 菌株含量在 1% ~ 1.5% 的范围时, 氧化乐果的降解率最高, 随着蔗糖质量浓度进一步升高, 降解率反而下降。

2 3 不同氮源对 L-3 菌落降解氧化乐果能力的影响

不同的氮源对氧化乐果降解效率的影响见图 3。从图 3 可以看出, 有机氮比其它无机氮有利于菌体的生长, 降解效果好。在有机氮中, 牛肉蛋白胨的降解效果高于胰蛋白胨和酵母浸粉, 为最适的氮源; 培养基中菌体的生长状况与对氧化乐果的降解情况一致, 即在氮源为牛肉蛋白胨时菌体的生长量达到最大。

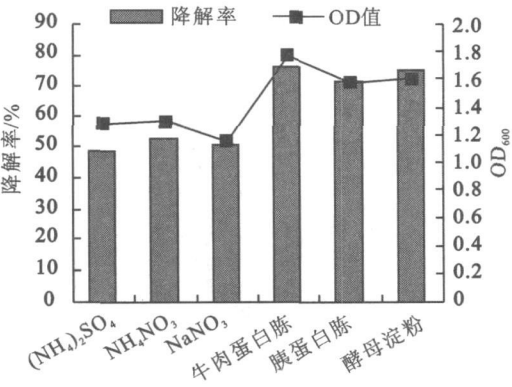


图 3 不同氮源对氧化乐果降解率的影响

Fig. 3 Influence of different nitrogen source during degradation

2 4 牛肉蛋白胨质量浓度对 L-3 菌降解氧化乐果的影响

不同的牛肉蛋白胨质量浓度对氧化乐果降解效果的影响见图 4。

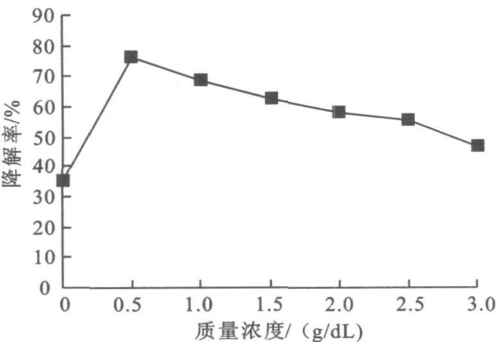


图 4 不同牛肉蛋白胨质量浓度对氧化乐果降解率的影响

Fig. 4 Effect of different beef peptone concentration on degradation rate

从图 4 可以看出, 在未添加外加氮源时, 菌株能够降解氧化乐果, 说明菌株能以氧化乐果为惟一氮源生长。当牛肉蛋白胨的质量浓度为 0.5 g/dL 时, 降解效果最好, 降解率高达 76.32%, 随着牛肉蛋白胨质量浓度的增加, 降解率有所下降。

2 5 KH₂PO₄ 质量浓度对 L-3 菌降解氧化乐果的影响

不同磷源培养基中氧化乐果的降解率见表 2。通过表 2 可以看出, 接种 3 d 后的分离培养基 A 中的氧化乐果的降解率为 74.34%, 分离培养基 B 中的降解率为 45.67%, 分离培养基 A 比分离培养基 B 高出相差 28.67%。同时分离培养基 B 中不含磷元素, 说明菌株能够以氧化乐果为惟一磷源, 磷钼蓝分光光度法检测发酵液无磷酸生成。

表 2 不同磷源培养基中氧化乐果的降解率

Tab. 2 Degradation rate of different phosphorus source medium

培养基	降解率/%
分离培养基 A	74.34
分离培养基 B	45.67

KH₂PO₄ 质量浓度对氧化乐果降解率的影响见图 5。由图 5 可以看出, 加入一定量的 KH₂PO₄ 对降解有促进作用, 当 KH₂PO₄ 的质量浓度为 0.1 g/dL 时, 降解效果最好, 降解率高达 78.58%, 随着 KH₂PO₄ 质量浓度的增大, 降解率有所下降。

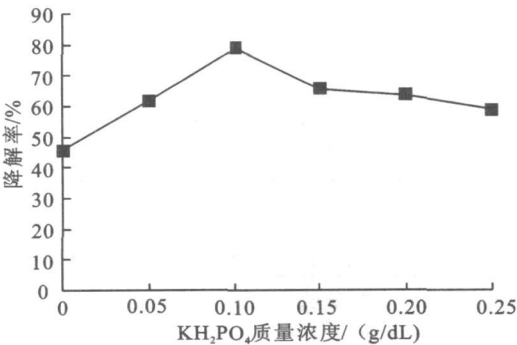


图 5 KH₂PO₄ 质量浓度对氧化乐果降解率的影响

Fig. 5 Effect of KH₂PO₄ concentration on degradation rate

2 6 二次正交实验结果与分析

通过以上的单因素实验研究了培养基的 C, N, P 组分对降解的影响, 最佳 C, N, P 质量浓度为: 蔗糖 1.50 g/dL, 牛肉蛋白胨 0.5 g/dL, KH₂PO₄ 0.1 g/dL。根据单因素最佳 C, N, P 含量确定因素的上下限, 从而进一步通过二次正交实验确定降解培养基的组成。各处理的降解率的测定结果见表 3。

2. 6. 1 回归方程的建立 为考察各因素对氧化乐

果降解的影响, 根据表 3 中试验结果, 以降解率为指标, 对实验结果进行分析, 见表 4, 可得出三因素与降解率之间的回归方程为:

$$Y=79.84+0.5237X_1+1.601X_2-0.4621X_3-$$

$$2.108X_1^2-2.967X_2^2-1.061X_3^2+2.056X_1X_2+1.061X_1X_3+2.428X_2X_3$$

表 3 培养基中 C、N、P 含量对降解率的影响

Tab. 3 Effect of carbon, nitrogen and phosphorsources ondegradation rate

试验号	X_0	X_1	X_2	X_3	X_1X_2	X_1X_3	X_2X_3	X'_1	X'_2	X'_3	Y(降解率)
1	1	1	1	1	1	1	1	0.406	0.406	0.406	80.06
2	1	1	1	-1	1	-1	-1	0.406	0.406	0.406	77.20
3	1	1	-1	1	-1	1	-1	0.406	0.406	0.406	69.34
4	1	1	-1	-1	-1	-1	1	0.406	0.406	0.406	72.12
5	1	-1	1	1	-1	-1	1	0.406	0.406	0.406	73.78
6	1	-1	1	-1	-1	1	-1	0.406	0.406	0.406	71.09
7	1	-1	-1	1	1	-1	-1	0.406	0.406	0.406	67.21
8	1	-1	-1	-1	1	1	1	0.406	0.406	0.406	78.31
9	1	-1.682	0	0	0	0	0	2.234	-0.594	-0.594	74.32
10	1	1.682	0	0	0	0	0	2.234	-0.594	-0.594	73.62
11	1	0	-1.682	0	0	0	0	-0.594	2.234	-0.594	69.54
12	1	0	1.682	0	0	0	0	-0.594	2.234	-0.594	73.54
13	1	0	0	-1.682	0	0	0	-0.594	-0.594	2.234	76.33
14	1	0	0	1.682	0	0	0	-0.594	-0.594	2.234	77.53
15	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	79.28
16	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	81.53
17	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	79.77
18	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	79.1
19	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	81.81
20	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	79.6
21	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	78.62
22	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	79.68
23	1	0	0	0	0	0	0	-0.594	-0.594	-0.594	79.15

表 4 回归旋转正交组合计算结果

Tab. 4 Calculating results of two revolving orthogonal experiment

变异来源	B	d	b	Q	备注
x_0	1752.53	23	76.20		
x_1	7.153	13.66	0.524	3.748	$B=\sum xy$
x_2	21.88	13.66	1.602	30.052	
x_3	-6.31	13.66	-0.462	2.915	$d=\sum x^2$
x_1x_2	16.45	8	2.056	33.821	
x_1x_3	8.49	8	1.061	9.008	$b=B/d$
x_2x_3	19.43	8	2.429	47.196	
x'_1	-33.52	15.89	-2.110	70.727	$Q=Bb$
x'_2	-47.27	15.89	-2.975	140.629	
x'_3	-16.78	15.89	-1.056	17.72	

2.6.2 回归方程的显著性检验 为了检验回归方程的显著性, 计算各类偏差平方和, 结果见表 5。

表 5 回归旋转正交组合方差分析

Tab.5 Error analysis of two revolving orthogonal experiment

变异来源	平方和 SS	自由度 Df	均方 MS	F 值	临界值
x_1	3 746 2	1	3 746 2	0 554 4	
x_2	35 045 5	1	35 045 5	14 540 8	
x_3	2 917 2	1	2 917 2	0 210 4	
x_1x_2	68 792 7	1	68 792 7	28 543 0	
x_1x_3	137. 885 2	1	137 885 2	57 210 4	
x_2x_3	16 758 5	1	16 758 5	6 953 3	
x_1^2	33 825 3	1	33 825 3	14 034 6	
x_2^2	9 010 0	1	9 010 0	3 738 4	
x_3^2	47 190 6	1	47 190 6	19 580 0	
回归	357. 673 5	9	39. 741 5	$F_2=MS_{回}/MS_{剩}=16 49$	$F_{0.05}(9, 13)=2 72$
剩余	31 331 8	13	2 410 1	$F_1=MS_{拟}/MS_{误}=3 60$	$F_{0.05}(8, 5)=4 82$
误差	21 681 1	5	4 336 2		
失拟	9 650 8	8	1 206 3		
总和	389. 005 5	22			

首先, 用 F_1 来检验回归方程拟合情况, 由表 5 可知, $F_1=3 60<F_{0.05}(8, 5)=4.82$ 是不显著的, 说明回归方程拟合较好, 故可进一步用统计量 F_2 进行检验。 $F_2=16 49>F_{0.05}(9, 13)=2 72$, 方程在 $\alpha=0.05$ 水平上显著, 说明在各个处理水平的结果之间存在差异, 二次回归方程与实际情况拟合的较好, 可以作为实验操作的数学模型, 即可以通过计算降解率来表示氧化乐果的降解情况。

2.6.3 回归方程系数的显著性检验 由于是正交旋转设计, 可用各偏回归平方和 Q 进行 F 检验或 t 检验, 实验中选择 t 检验剔除回归方程的不显著项。 经 t 检验可知, 回归方程中 t_1 、 t_3 不显著, 被剔除, 其他回归系数均在不同程度上显著, 因此回归方程可写为:

$$Y=79.84128+1.60192x_2-2.10831x_1^2-2.96744x_2^2-1.06179x_3^2-2.05625x_1x_2+1.06125x_1x_3+2.42875x_2x_3$$

2.6.4 回归方程的优化分析 方程局部最优点是最佳的实验水平, 利用求偏导数的方法求解最优水平, 对回归方程求一阶偏导, 并当到达局部最优点时, 导数为零, 此计算点为驻点, 可能为回归方程的极值, 再计算回归方程在其定义域内各端点的函数值进行比较, 则其中的最大值为回归方程的最优值。 求偏导解方程组得到: $x_1=0.717, x_2=0.812,$

$x_3=0.718$, 计算驻点 $f(0.717, 0.812, 0.718)$ 及回归方程在其定义域内各端点值发现, 其中端点 $f(1.682, -1.682, 1.682)$ 为最大值, 将编码值换算成实际值时, 按 $Z_j=Z_{0j}+x_j\Delta_j$ 进行计算, 确定优化条件。

即当蔗糖为 1.7 g/dL, 牛肉蛋白胨为 0.92 g/dL, KH_2PO_4 为 0.184 g/dL, 菌株降解氧化乐果的能力最强, 此时培养基组成为优化的降解培养基组成。

最适培养基降解效果验证试验: 在优化培养基中, 菌种培养 3 d 氧化乐果的降解率为 82.59%, 测定结果均高于三元二次旋转正交设计实施的 23 次实验。

2.6.5 各因素重要性分析 对于由实验数据所建立的二次回归方程, 可利用对二次方程系数的检验结果, 来判断因素对氧化乐果降解率的影响, 即求出方程各因素对指标的贡献率大小。

利用贡献率判断因素主次, 对二次方程按如下公式求得回归系数方差比 $F(j)$ 、 $F(jj)$ 、 $F(j\ddot{y})$ 。

$$\begin{cases} \delta=0 & F<1 \\ \delta=1-\frac{1}{F} & F>1 \end{cases}$$

$$\Delta_j=\delta_j+\frac{1}{2}\sum_{i=1}^m\delta_{ij}+\delta_{\ddot{y}}$$

$$\Delta_1 = \delta_1 + \frac{1}{2}(\delta_2 + \delta_3) + \delta_1 = 2.06$$
$$\Delta_2 = \delta_2 + \frac{1}{2}(\delta_1 + \delta_3) + \delta_2 = 1.87$$
$$\Delta_3 = \delta_3 + \frac{1}{2}(\delta_1 + \delta_2) + \delta_3 = 1.03$$

由以上计算可知: $\Delta_1 > \Delta_2 > \Delta_3$, 所以对于氧化乐果降解的过程中, 得到各个不同因素的影响效果顺序为: 碳源 > 氮源 > 磷源。

2 7 不同环境条件对氧化乐果降解的影响

2 7 1 pH 值对降解效率的影响 不同 pH 条件下菌株 L-3 对氧化乐果的降解效果见图 6。

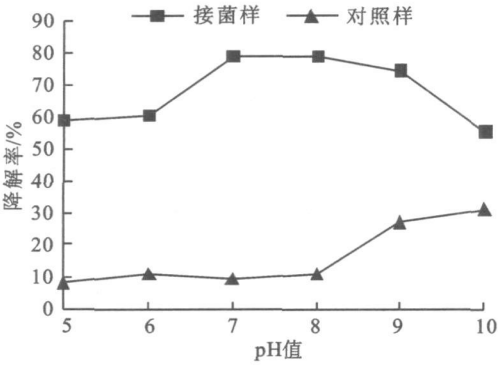


图 6 L-3 在不同 pH 值条件下对氧化乐果的降解效果
Fig. 6 Degradations of omethoate by isolate L-3 under different culture pH

由图 6 可以看出, 在 pH 5~ 10 范围内, 氧化乐果都能降解, 以 pH 7 效果最好。在较强的碱性条件下(pH 9~ 10), 氧化乐果有一部分自然降解, 可知氧化乐果在弱酸和中性的条件下生长稳定。

2 7 2 温度对降解效率的影响 不同温度条件下菌株 L-3 对氧化乐果的降解效果见图 7。

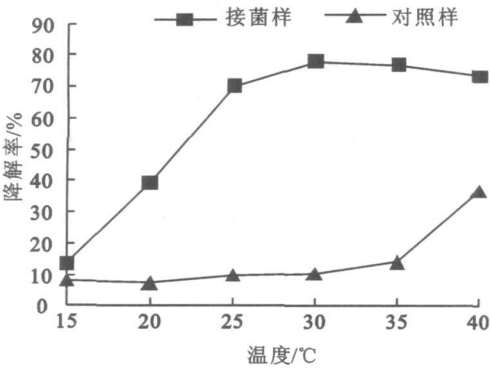


图 7 培养温度对菌株降解效果的影响
Fig. 7 Degradations of omethoate by isolate L-3 under different culture temperature

由图 7 可以看出, 在 15~ 25 °C 范围内, 氧化乐果的降解率偏低, 说明低温条件不利于氧化乐果的降解; 在 25~ 40 °C 范围内, 氧化乐果的降解效果较

好, 30 °C 时降解率最高。L-3 菌株降解氧化乐果的最适温度与其最适生长温度是一致的。在较高的温度条件下 35~ 40 °C 氧化乐果有一部分自然降解。

2 7 3 不同接种种体积分数对降解效率的影响 不同接种体积分数条件下菌株 L-3 对氧化乐果的降解效果见图 8。

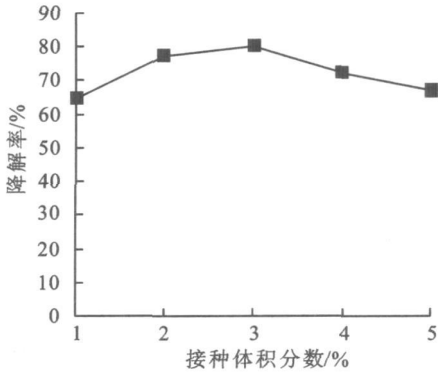


图 8 接种体积分数对氧化乐果降解效果的影响
Fig. 8 Degradation of omethoate by isolate L-3 with different inocula quantities

由图 8 可以得出, 随着接种体积分数的增加, 菌株 L-3 对氧化乐果的降解率呈先升后降的趋势, 当菌体接种体积分数为 3% 时, 氧化乐果的降解率最高, 达 80. 16%。

2 7 4 菌株 L-3 对不同初始质量浓度氧化乐果的降解 菌株 L-3 对不同初始氧化乐果浓度的降解效果见图 9。

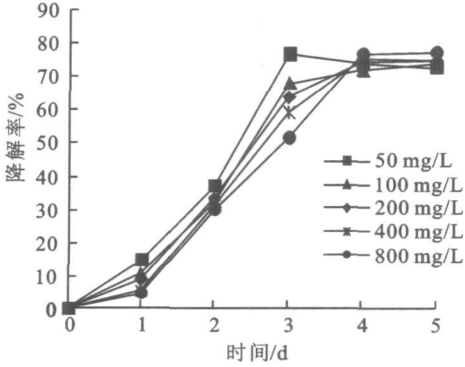


图 9 不同初始质量浓度氧化乐果对降解率的影响
Fig. 9 Effect of different omethoate concentration on degradation rate

从图 9 可以看出, 经过 5 d 的培养, 降解率为 72. 58%~ 77. 71%。50 mg/L 的氧化乐果降解速度相对较快, 3 d 后降解基本稳定, 最终降解率为 72. 58%; 其它几种质量浓度氧化乐果的降解趋势基本相似, 5 d 后降解趋于稳定。

3 结 语

作者对从农药生产厂污泥中筛选出能够高效降解氧化乐果的假单胞菌 L-3 的降解条件进行优化,并对环境条件对氧化乐果降解效果的影响进行了研究,得出菌株 L-3 最适的降解条件:碳源为蔗糖、氮源为牛肉蛋白胨、磷源为 KH_2PO_4 ;二次正

交回归设计得出最佳的降解条件为蔗糖质量浓度为 1.7 g/dL、牛肉蛋白胨质量浓度为 0.92 g/dL、 KH_2PO_4 质量浓度为 0.184 g/dL,在优化的培养基中对氧化乐果进行降解,其降解率高达 82.59%;最适的环境条件为 pH 7~8,温度 30℃,接种体积分数 3%,初始氧化乐果质量浓度为 50 mg/L;优化后氧化乐果的降解率高达 82.59%。

参考文献(References):

[1] 仲维科,郝戡,孙梅心,等.我国食品的农药污染问题[J].农药,2000,39(7):1-3.
ZHONG Wei ke, HAO Ji, SUN Muir xin, et al. Pestides residues in food in China[J]. **Pesticides**, 2000, 39(7): 1- 3. (in Chinese)

[2] Donna Chaw, Ulrica Stoklas. Composting of cattle manure and hydrocarbon contaminated flare pit soil[J]. **Compost Science and Utilization**, 2001, 9(4): 322- 335.

[3] Harruta S, Cui Z, Huang Z. Constr uction of a stable microbial community with high cellulose degradation ability[J]. **Appl Microbiol Biotechnology**, 2002, 59: 529- 534.

[4] Wackett, Prenafeta Bold F X, Opsteeg J L, et al. Biodegradation of azo hyes in coculture of anaerobic granular sludge with aerobic aromatic amine degrading enrichment culture[J]. **Appl Microbil Biotechnol**, 1999, 51: 865- 871.

[5] 王保军,刘志培,杨慧芳.甲单咪农药的微生物降解代谢研究[J].环境科学学报,1998,18(3):298- 302.
WANG Bao jun, LIU Zhi pei, YANG Hui fang. Microbiological deterioration metabolism of jdm pesticide[J]. **Environ mental Science Journal**, 1998, 18(3) :298- 302. (in Chinese)

[6] Kauatner M, Mahro B. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the orgnic matix of compost[J]. **Appl Microbil Biotechnol**, 1996,44: 668- 675.

[7] Filippi C, Bedini S, Levi Minzi R, et al. Cocomposting of olive oil mill by product is: chemcial and mocrodiological evaluations[J]. **Compost Science and Utilization**, 2002, 10(1): 63- 71.

[8] Fang M, Wong M H, Wong J W C. Digestion activity of thermophilic bacterial isolated from ashr amended sewage sludge compost[J]. **Water, Air and Soil Pollution**, 2001, 126: 8- 12.

(责任编辑:李春丽)