

珍珠岩-磷酸化聚乙烯醇生物材料的制备及其降解阿特拉津特性

刘娜¹, 王柳¹, 邱华¹, 于莹¹, 王鹤¹, 朱博麟²

1. 吉林大学环境与资源学院, 长春 130021
2. 辽阳市环境监察局, 辽宁辽阳 111000

摘要 阿特拉津因其普遍性、高污染性和难降解性一直是历年来的研究热点。其降解方法很多, 其中基于阿特拉津降解菌、生物固定化和一些无机材料的生物降解是最有效的。本文利用磷酸交联剂对聚乙烯醇(PVA)进行改性, 以珍珠岩作为添加介质, 对阿特拉津降解菌——*Pseudomonas* W4 包埋固定, 制备出一种新型珍珠岩-磷酸化聚乙烯醇(PPVA)生物活性材料(简称珍珠岩-PPVA), 并对其最佳制备条件以及在不同反应条件下该材料降解阿特拉津的效果进行探讨。该材料最佳制备条件为, 珍珠岩(粒径为 0.60~2.00mm)/10% PVA(V/V)=35/65, *Pseudomonas* W4 包埋量 1.0g/L, 磷酸盐浓度 1.25mol/L; 外加碳源、磷源能够促进其降解阿特拉津; 珍珠岩-PPVA 在 pH 值为 5.99~9.03 时具有较好的降解效果, 其抗酸碱能力优于游离 W4 菌。说明珍珠岩-PPVA 可有效去除阿特拉津, 可以作为新型材料加以深入研究应用于废水或土壤中阿特拉津降解。

关键词 珍珠岩-PPVA; 聚乙烯醇; 降解; 阿特拉津

中图分类号 X505

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2013.14.001

Preparation of Perlite-phosphorylated Polyvinyl Alcohol and Its Degradation Characteristics of Atrazine

LIU Na¹, WANG Liu¹, QIU Hua¹, YU Ying¹, WANG He¹, ZHU Bolin²

1. College of Environment and Resources, Jilin University, Changchun 130021, China
2. Bureau Environmental Supervision of Liaoyang City, Liaoyang 111000, Liaoning Province, China

Abstract Atrazine has become a research hot spot for many years due to its universality, high pollution, and difficult degradation. In the recent years, much research has been done on Atrazine. All sorts of degradation methods have been found. Among them, the bio-degradation is the most effective. Based on atrazine-degrading bacterium, immobilization method, and some materials, a new study is conducted. A kind of biologically active material, namely, perlite-phosphorylated polyvinyl alcohol (perlite-PPVA) is prepared with modified polyvinyl alcohol (PVA) by using phosphate, perlite, and atrazine-degrading bacterium: *Pseudomonas* W4. The effect of the material on the degradation of atrazine is discussed under the optimal preparation conditions and the other different reactive conditions. The results show that the best preparation conditions are perlite (particle size is 0.60~2.00mm)/10% PVA(V/V) =35/65, *Pseudomonas* W4 embedded volume is 1.0g/L, phosphate density is 1.25mol/L of perlite-PPVA. External carbon source and phosphorus source are able to promote its degradation ability of atrazine. The effect of perlite-PPVA on the atrazine degradation is better when the pH is in the range of 5.99~9.03, its ability of anti-acid is also better than the free bacterium. It shows that perlite-PPVA is feasible for the removal of atrazine, and could be used as a new material applied to the degradation of atrazine in waste water or soil after further research.

Keywords perlite-PPVA; polyvinyl alcohol; degradation; atrazine

0 引言

阿特拉津($C_8H_{14}ClN_5$, atrazine, 简称 AT)又名莠去津, 其化

学名称为 2-氯-4-乙氨基-6-异丙氨基-1,3,5-三嗪, 是一种均三氮苯类除草剂^[1], 由于其相对低毒以及良好的除草效果而在

收稿日期: 2012-12-18; 修回日期: 2013-03-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(40702039, 41072170)

作者简介: 刘娜, 教授, 研究方向为环境生物技术, 电子信箱: liuna@jlu.edu.cn

世界范围内广泛应用。发达国家使用阿特拉津的历史较长,面积也较大;中国是一个农业大国,除草剂使用量很大,阿特拉津是从20世纪80年代开始使用,近年来使用面积不断扩大^[2]。施用后的阿特拉津可通过地表径流、淋溶、干沉降和湿沉降等途径由土壤进入地下水,加之其结构稳定、难以降解而导致土壤及地下水受到大面积污染;也有研究^[3]表明,阿特拉津制造厂排放的废水,农药容器和使用工具的洗涤也会造成水体污染。阿特拉津投入商业使用至今,该化合物及其降解产物已在目前世界许多国家和地区的地表水、地下水、雨水、大气中检测出来,如美国、瑞典、日本等^[2-9]。阿特拉津对粮食和食品安全构成潜在威胁,对生物体具有生殖、发育和免疫毒性,已被证明是一种潜在致癌物。美国、日本、欧共体均把它列为内分泌干扰物,联合国环境规划署将其列为持久性有毒化学污染物^[3]。所以,阿特拉津污染已成为一个全球性的生态问题,一直是近些年的研究热点。它的污染来源、历程、原理,降解途径及其降解产物,特别是降解过程都是研究的焦点,如何达到高效且无毒的降解更是研究者想要的结果。

土壤中阿特拉津的主要降解途径包括化学途径和生物途径^[10],而生物降解又以微生物为主。生物修复由于其经济、高效、可将污染物直接矿化等特点已经被公认为最有前途的方法^[11]。但在微生物降解过程中,研究发现在游离微生物直接降解阿特拉津过程中,由于游离微生物密度小、强度低、颗粒直径小、易被水流冲走等原因而致效率低下,且培养基的带入容易引起二次污染^[12],因此可通过将微生物固定化解决上述弊端。

微生物固定化技术是指将游离微生物固定在载体上使其高度密集并保持生物活性的方法^[13,14],由于具有处理高效、对环境耐受力强等优点而在生物工程领域广泛应用。目前常用的固定化方法包括包埋法、吸附法和交联法^[15]。其中包埋法是最为常用且研究最为广泛的固定化方法^[16]。聚乙烯醇(PVA)、聚丙烯酰胺(ACAM)、海藻酸钠、蛭石、沙粒、活性炭等是目前使用较多的固定化载体。固定化微生物技术在很多方面如酚类、重金属、含油废水、氨氮、甲醇废水等都有很好的处理效果,选择合适的微生物及合适的固定化材料,处理效果会有很大的提高。Ehrhardt等^[17]采用活性炭固定 *Pseudomonas putida* P8 处理酚类的降解效果可达 360mg/h。Isaka等^[18]采用聚乙烯乙二醇(PEG)固定硝化细菌在 10℃时可得超过 0.71kgN/(m³·d)的高硝化效率。而 Matsumura等^[19]采用一种多孔性纤维素载体固定硝化细菌在 25℃时可达 12kgN/(m³·d)的快速硝化率。

聚乙烯醇(PVA)是一种高分子有机化合物,作为固定化载体具有价格低廉、亲水性、强韧性、平滑性、渗透性好等优点^[20]。目前,常用的聚乙烯醇微生物固定化方法有 PVA-H₃BO₃包埋法,但它存在 PVA 颗粒附聚、微生物活性低、颗粒膨胀、机械强度低等缺陷^[21-23]。近年来,针对以上缺点有大量关于 PVA-H₃BO₃包埋法改进的研究。如王建龙等^[21]研究得出在 PVA-H₃BO₃交联过程中加入适量海藻酸钠和 CaCl₂能提高其

机械强度并解决 PVA 颗粒附聚的问题;毕海涛等^[24]发现加入活性炭、蛭石等作为改性剂后能明显提高对阿特拉津的处理效率。研究发现装填固定有阿特拉津降解菌(*Pseudomonas* W4)的磷酸化聚乙烯醇生物活性材料介质作为新型生物可渗透反应墙(BPRB),能够长期稳定修复阿特拉津污染地下水^[25]。本文以磷酸盐替代硼酸作为交联剂对聚乙烯醇进行酸化,并加入珍珠岩作为添加剂制成新型珍珠岩-磷酸化聚乙烯醇(PPVA)生物活性材料,研究了其最佳制备条件及不同条件下降解阿特拉津的效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂

聚乙烯醇(PVA, 1750±50):国药集团化学试剂有限公司;工业级阿特拉津(纯度>92%):吉林市农药厂;阿特拉津分析标准(纯度98%):Chemistry Service;珍珠岩:吉林长岭。NaH₂PO₄·2H₂O、Na₂HPO₄·12H₂O等其他试剂均为分析纯。

1.1.2 菌株

研究所用菌株是阿特拉津降解菌(*Pseudomonas* W4),由笔者所在课题组分离鉴定^[21]。*Pseudomonas* W4以阿特拉津为唯一氮源。

1.1.3 培养基

阿特拉津液体培养基:0.9g/L KH₂PO₄,6.5g/L Na₂HPO₄·12H₂O,0.1g/L MgSO₄·7H₂O,1.0g/L 蔗糖,1.0mL/L 微量元素,阿特拉津浓度不定,pH值调节至7.0。

1.1.4 实验仪器

高速离心机(3K15,Sigma公司),pH计(PB-10,德国赛多利斯集团),电子天平(FA1004,上海舜宇恒平科学仪器有限公司),全温振荡器(HZQ-QX,哈尔滨东联电子技术开发有限公司),手提式压力蒸汽灭菌器(YXQ-LS-18SI,上海博迅实业有限公司),超纯水制备器(Milli-Q,美国Milli公司),高效液相色谱仪(1100,Agilent公司),扫描电镜(JSM-6700F,JEOL公司)。

1.2 方法

1.2.1 珍珠岩-PPVA制备条件的确定

通过摇瓶实验确定珍珠岩-PPVA的制备条件,包括*Pseudomonas* W4包埋量、珍珠岩添加量和珍珠岩粒径。各条件水平如下:

Pseudomonas W4包埋量:1.0、2.0、4.0、7.0、10.0g/L;

珍珠岩/10% PVA (V/V):5/95、10/90、20/80、25/75、30/70、35/65;

珍珠岩粒径:0.60~2.00,0.38~0.60,0.25~0.38,0.18~0.25,0.109~0.18mm。

1.2.2 珍珠岩-PPVA去除阿特拉津实验

在一批150mL阿特拉津液体培养基中分别加入2.0g珍珠岩-PPVA,于25℃摇床中振荡培养,定期取样检测阿特拉津浓度。同时研究以下条件对降解效果的影响。

(1) 碳源种类: 甲醇、葡萄糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖、可溶性淀粉。

(2) 最佳碳源浓度: 蔗糖浓度分别为 0、100、200、400、500、600、800mg/L。

(3) pH 值: 配制 $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液, 调节阿特拉津培养基至不同初始 pH 值。

(4) 抗酸碱条件冲击能力: 调节 pH 值分别为 2.0、3.0、4.0、10.0、11.0、12.0 进行实验, 并做游离 *Pseudomonas* W4 对照实验。

1.2.3 阿特拉津浓度的测定

水系微孔滤膜(0.20 μm)过滤降解液后利用高效液相色谱仪测定。操作条件: 检测器为紫外可见检测器; 色谱柱为 C8 柱(250mm \times 46mm \times 10mm); 流动相为乙腈: 水(V/V, 非缓冲体系)=40:60; 流速 1mL/min; 检测波长 218nm^[26]。利用该方法, 对阿特拉津浓度为 5mg/L 的水样进行连续 7 次测定, 获得阿特拉津的回收率为 98.3%~101.0%, 精密度为 0.58%。

2 结果与分析

2.1 珍珠岩-PPVA 的制备

2.1.1 *Pseudomonas* W4 包埋量的选择

微生物的包埋量增加, 一方面可提高污染物的去除效果, 另一方面也会影响固定化材料的渗透性能和传质性能, 使污染物的去除效果降低。如图 1 所示, *Pseudomonas* W4 包埋量在 1.0~10.0g/L 时, 包埋量越大, 珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效率越高。包埋量为 1.0g/L 时, 该材料 84h 对阿特拉津的去除率已达 86.81%。但随着包埋量的增大, 珍珠岩-PPVA 对阿特拉津的去除率增长不明显。因此为了降低工作量与成本, 研究选择 1.0g/L 离心收集的 *Pseudomonas* W4 作为珍珠岩-PPVA 制备的最合适包埋量。

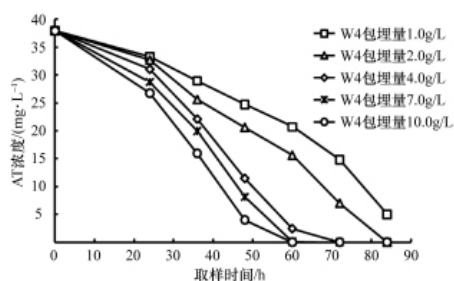


图 1 W4 包埋量对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响

Fig. 1 Effect of W4 embedded volume on atrazine removal by perlite-PPVA

2.1.2 珍珠岩粒径及珍珠岩/10%PVA(V/V)的选择

本研究选择珍珠岩矿物作为磷酸化聚乙烯醇的无机添加介质, 其粒径大小和添加量可直接影响凝胶的孔隙发育和机械强度。由图 2 可以看出, 珍珠岩粒径越大, 阿特拉津去除率越高, 当粒径为 0.60~2.00mm 时, 48h 去除率即可以达到 91.29%。珍珠岩添加量对该材料去除阿特拉津效果的影响如图 3 所示, 珍珠岩/10%PVA(V/V)越大, 阿特拉津的去除效果越好, 最好的比例为 35/65。考虑成本及珍珠岩-PPVA 的性

能, 研究选择粒径为 0.60~2.00mm 的珍珠岩, 同时按珍珠岩/10%PVA(V/V)为 35/65 的条件制备珍珠岩-PPVA。

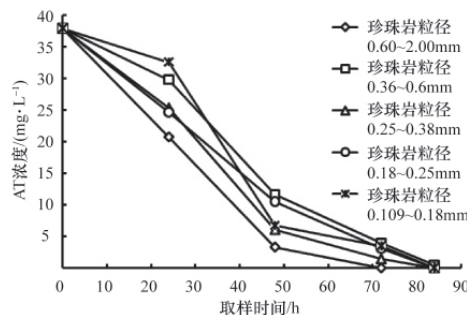


图 2 珍珠岩粒径对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响

Fig. 2 Effect of perlite particle size on atrazine removal by perlite-PPVA

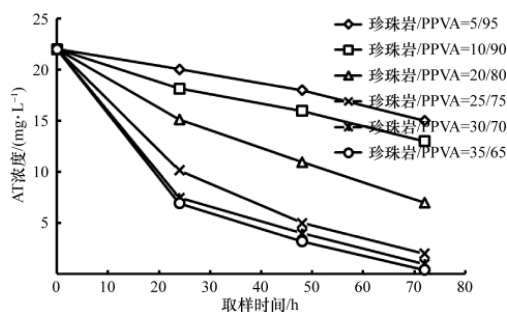


图 3 珍珠岩添加量对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响

Fig. 3 Effect of perlite adding amount on atrazine removal by perlite-PPVA

2.1.3 新型微生物固定化材料的扫描电镜分析

基于以上最佳条件, 按照珍珠岩(0.60~2.00mm)/10%PVA=35/65(V/V)的比例制成混合物, 加入 1.0g/L 离心收集的 *Pseudomonas* W4, 混匀后倒入塑料托盘中(厚度约为 5mm), 然后在其表面喷射含有 1.25mol/L NaH_2PO_4 和 1.25mol/L Na_2HPO_4 的无菌磷酸盐溶液(约 5mm), 用塑料薄膜密封, 于 30 $^\circ\text{C}$ 放置 24h 后, 切成 5mm \times 5mm 的小块。

由扫描电镜(图 4)可以看出, 珍珠岩-PPVA 内部孔隙充分发育形成相互联通的孔道及错综复杂的空间网络, 为 *Pseudomonas* W4 的生长繁殖提供空间, 并为营养物质的进入和代谢产物的流出提供通道。

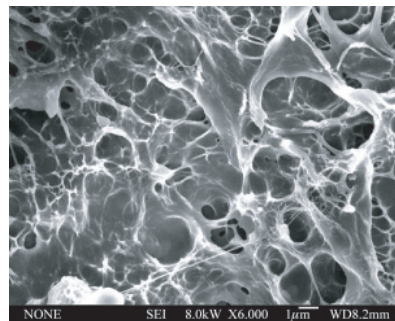


图 4 珍珠岩-PPVA 与菌种混合处理后扫描电镜图

Fig. 4 SEM picture of perlite-PPVA after treatment with *Pseudomonas* W4

2.2 珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津最佳条件优化

2.2.1 碳源种类对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响

研究所用菌 *Pseudomonas* W4 的生长可以以阿特拉津为唯一氮源,在研究过程中需额外添加碳源保证其正常生长繁殖^[23]。从图 5 可以看出,外加碳源可以促进阿特拉津的降解。不添加碳源时,珍珠岩-PPVA 对阿特拉津 48h 去除率为 49.31%;外加碳源后,该材料去除阿特拉津的速率明显加快,48h 可以基本降解完全。双糖蔗糖作为碳源时,珍珠岩-PPVA 对阿特拉津的去除速率最快,实验进行 36h 后未检出阿特拉津,其次为葡萄糖,麦芽糖和乳糖。甲醇和可溶性淀粉作为碳源时去除率较低。说明该菌以双糖为优先碳源。故研究选取蔗糖作为最佳碳源。

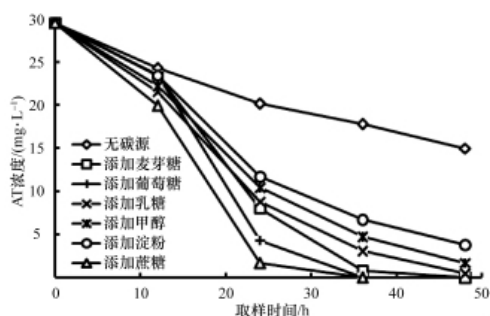


图 5 碳源种类对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响
Fig. 5 Effect of carbon source type on atrazine removal by perlite-PPVA

2.2.2 最佳碳源浓度对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响

从图 6 可以看出,添加蔗糖可以提高珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津的效率。不添加蔗糖时,珍珠岩-PPVA 对阿特拉津 48h 的去除率为 90.69%;增大蔗糖浓度,去除率可以提高,但提高不明显。当蔗糖浓度达到 100mg/L 时,珍珠岩-PPVA 对阿特拉津 36h 去除率即可达到 99.42%。蔗糖浓度为 300mg/L 时,去除效果最好。考虑到蔗糖浓度为 100mg/L 和 300mg/L 时,珍珠岩-PPVA 对阿特拉津的去除效果基本相同,再从减少成本出发,研究选择蔗糖浓度为 100mg/L。

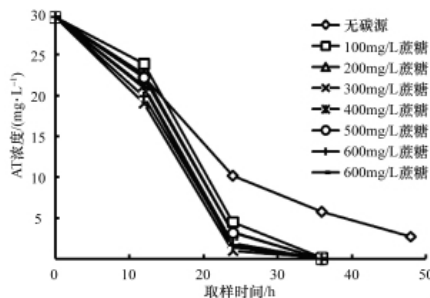
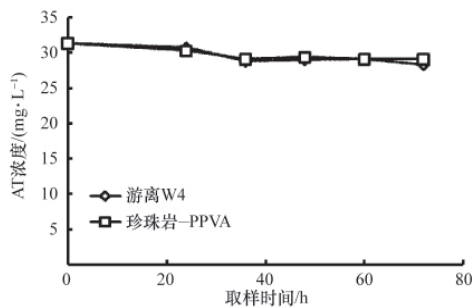


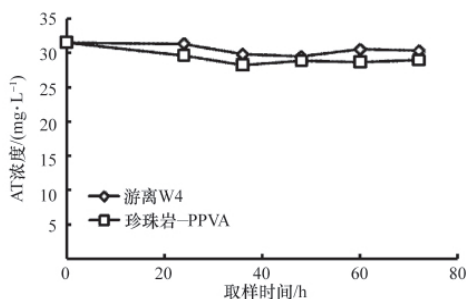
图 6 蔗糖浓度对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响
Fig. 6 Effect of sucrose concentration on atrazine removal by perlite-PPVA

2.2.3 外加碳源、磷源对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响

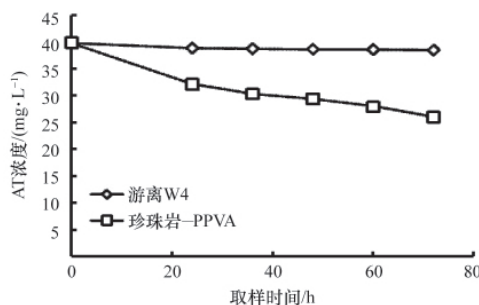
对比图 7(a)和图 7(b),无外加碳源、无外加磷源和无外加磷源、有外加碳源时,珍珠岩-PPVA 和游离 W4 对阿特拉津几乎都无降解。说明外加的碳源没有降解阿特拉津的作用,材料降解阿特拉津是通过促进细菌生长完成。而图 7(c)无外加碳源、有外加磷源时珍珠岩-PPVA 对阿特拉津的降解效果明显优于游离细菌。



(a) 无外加碳源和无外加磷源条件
(a) Without external carbon and phosphorus sources



(b) 无外加磷源和有外加碳源条件
(b) Without external phosphorus source but with external carbon source



(c) 无外加碳源和有外加磷源条件
(c) Without external carbon source but with external phosphorus source

图 7 珍珠岩-PPVA 和游离 W4 对阿特拉津的去除效果
Fig. 7 Effect of perlite-PPVA and free W4 on atrazine removal

2.2.4 pH 值对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响

pH 值是影响微生物生长及污染物降解的重要因素,适宜的 pH 值有利于微生物的生长及污染物的去除。从图 8 可以看出,珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津的效果因初始 pH 值不同各异;当初始 pH 值为 5.99~9.03 时,36h 后均未检出阿特拉津;但当初始 pH 值为 5.03 时,珍珠岩-PPVA 对阿特拉津的 36h 去除率虽为 82.04%,但明显低于其他 pH 值条件下的,其反应最佳 pH 值为 8.00。说明珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津最好是在中性或者弱酸碱性环境中。

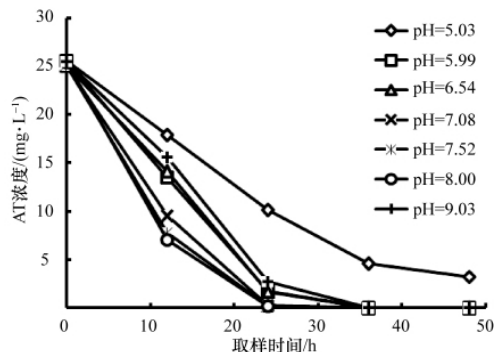


图 8 pH 值对珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果的影响

Fig. 8 Effect of pH on atrazine removal by perlite-PPVA

2.3 珍珠岩-PPVA 抗酸碱条件冲击能力

包埋固定化材料对微生物具有一定的保护作用,使微生物抗酸碱环境冲击能力增强。为考查本研究制备的材料对微生物的保护性能,研究将初始 pH 值调节为 2.0、3.0、4.0、10.0、11.0 和 12.0,同时以游离 W4 菌为对照,研究其抗过酸、过碱环境的能力。由图 9 可以看出,不同 pH 值条件下,珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津的效率差异很大。最佳 pH 值是 10.02,36h 去除率可达到近似 100%。而过酸或者过碱的条件都对其去除效果有抑制作用,如 pH 值为 1.99、3.03 和 12.00 时,去除效率不到 20%。由图 10 可以看出,游离 W4 菌对阿特拉津降解的最佳 pH 也是 10.02,其他 pH 值条件下,几乎均无降解。但比较来说,36h 时珍珠岩-PPVA 对阿特拉津的去除

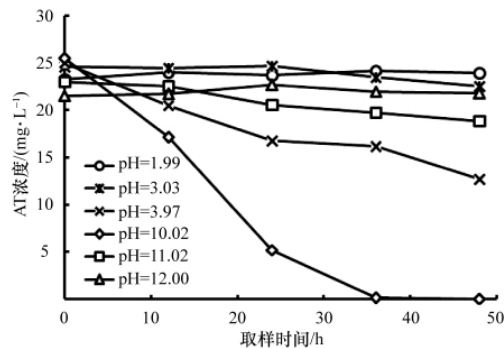


图 9 不同 pH 值条件下珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津的效果

Fig. 9 Effect of different pH values on atrazine removal by perlite-PPVA

率比游离 W4 菌提高了 94.96%。说明新材料珍珠岩-PPVA 对阿特拉津的降解效果是比较可观的,并且在过酸碱条件下降解效果依然很好,进而说明珍珠岩-PPVA 的抗酸碱条件冲击能力明显优于游离 W4 菌。

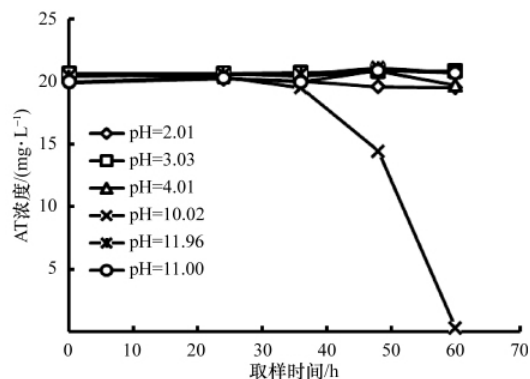


图 10 不同 pH 值条件下游离 W4 去除阿特拉津的效果

Fig. 10 Effect of free W4 on atrazine removal with different pH values

3 讨论

3.1 珍珠岩-PPVA 的制备

本文以酸化磷酸盐代替硼酸作为交联剂,并以珍珠岩作为添加剂包埋固定阿特拉津降解菌制成新型珍珠岩-磷酸化聚乙烯醇(PPVA)生物活性材料,其制备主要控制条件有细菌的包埋量、珍珠岩粒径、珍珠岩/10%PVA(V/V)。本文研究发现该生物材料的最佳制备条件为,细菌包埋量 1.0g/L,珍珠岩粒径 0.60~2.00mm,珍珠岩/10%PVA(V/V)=35/65。

一般来说,随着埋菌量的增加,目标污染物的去除率也随之提高^[7],但菌体包埋量过高时,固定化材料的机械强度会逐渐降低,发生溶胀、破损,菌体丢失,会对污染物的降解起到反作用。同时,投放到环境中去的降解菌还会受到抑制物的影响,或受到该环境中原有菌群的影响,甚至受到拮抗作用而不能生长等,这些都可能造成接种的微生物不能成为优势菌从而失去对农药的降解作用^[8]。所以,埋菌量增大到一定程度,细菌之间的竞争可能会使细菌的存活率升高不明显,从而对阿特拉津的去除效果也不明显。考虑到去除效果、成本、工作量等诸多方面的因素,选择合适的埋菌量非常重要。

添加无机矿物可增强磷酸化聚乙烯醇的机械强度,使凝胶内部孔隙充分发育,形成复杂而相互连接的空间网络。珍珠岩是一种多孔矿物,常被用做微生物的固定化材料。毕海涛等^[2]采用珍珠岩对 PVA-H₃BO₃ 固定化方法进行改进,包埋固定已筛选的阿特拉津降解菌,制成生物微球内部孔隙较小且未发生溶胀现象,且对 AT 120h 的去除率为 98.62%。因此,珍珠岩在固定微生物时可作为磷酸改性聚乙烯醇的支架被包埋在凝胶中,粒径越大,支撑效果越好,污染物传质性能越强,珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津效果越好。范玉超等^[20]研究发

现,采用环境友好材料竹炭为主要载体,壳聚糖和海藻酸钠为辅助载体,固定从污泥中分离出的阿特拉津降解菌株,竹炭粒径越小,固定化效果越好,过小粒径竹炭制成的固定化微生物颗粒在田间施用时困难,最终选择粒径 0.80mm 的竹炭为固定载体。这与本研究选择的粒径相似。另一方面,无机矿物的添加量对污染物的去除效果也有很大影响。珍珠岩添加量少使 PPVA 内部孔隙不能充分发育,但是由于珍珠岩的空间阻隔作用,添加太多,PPVA 凝胶结构不能形成有效的连接网络,制成的珍珠岩-PPVA 结构松散。

3.2 珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津最佳条件

生物的生长需要在特定环境中,不同生物对环境有不同的要求,微生物也不例外,环境因素包括温度、湿度、酸碱度、营养物质等,通过影响微生物的生长进而对农药的微生物降解有很大影响^[5]。本文研究发现,外加蔗糖作为碳源可以促进珍珠岩-PPVA 对阿特拉津的降解,蔗糖浓度为 100mg/L 时,该材料对阿特拉津 36h 的去除率即可达到 99.42%,并且该材料去除阿特拉津最好是在中性或弱酸性环境中。

固定化材料去除目标污染物是通过固定相应的降解细菌,由细菌来降解污染物实现的,所以材料发挥作用的最佳条件即是细菌生长的最适宜条件。外加碳源对农药的微生物降解具有促进作用^[30]。刘爱菊^[30]研究发现,添加蔗糖可以促进阿特拉津降解菌的生长,但蔗糖浓度过高,细菌生长量反而降低,这与本研究结果基本一致。添加磷源也可以促进珍珠岩-PPVA 降解阿特拉津。同时,在确定研究条件下 *Pseudomonas W4* 可以吸收珍珠岩-PPVA 中的磷,吸收的磷为微生物提供了营养物质,促进了微生物生长而使降解效率提高。因此,想要提高材料对阿特拉津的去除,完全可以通过控制某些条件促进微生物生长来达到。

pH 值对微生物的生命活动有很大影响,不同微生物对 pH 值条件的要求各不相同,它们只能在一定的 pH 值范围内生长,这个 pH 值范围有宽、有窄,对 pH 值条件的不同要求在一定程度上反映出微生物对环境的适应能力^[31]。本研究发现珍珠岩-PPVA 在 pH 值为 5.99~9.03 时,36h 后可以将阿特拉津去除完全。刘爱菊^[30]研究发现,适宜降解菌生长及其对阿特拉津降解的 pH 值范围为 6.0~9.0。

3.3 珍珠岩-PPVA 抗酸碱条件冲击能力

固定化材料对内部的微生物来说,颗粒形成了一个微环境,对外部环境起缓冲作用,颗粒的微环境有利于微生物增殖,易于形成优势菌群,有利于人工接种微生物的存活^[32]。珍珠岩-PPVA 在 pH 值为 10.02 时对阿特拉津的降解效果最好。其他 pH 值条件下,由于生物活性降低、微生物细胞膜电荷发生改变而影响对营养物质的吸收等导致阿特拉津降解效果不好。对比游离 W4 菌实验还发现,珍珠岩-PPVA 对环境 pH 值变化的耐受性和适应性要好于游离 W4 菌。这主要是因为游离 W4 菌直接接触极端 pH 值环境,对自身伤害较大,当 pH 值环境不适宜其生长时不能继续降解阿特拉津,而

珍珠岩-PPVA 中的 *Pseudomonas W4* 相对富集,且包埋物对其起到一定的保护作用,故而在极端 pH 值环境中仍具有一定的降解能力。珍珠岩-PPVA 在去除阿特拉津方面是比较有前途的。

4 结论

以磷酸盐替代硼酸作为交联剂对聚乙烯醇进行酸化,并加入珍珠岩作为添加剂制成新型珍珠岩-磷酸化聚乙烯醇 (PPVA) 生物活性材料,且针对其最佳制备条件、不同条件下降解阿特拉津的效果及其抗酸碱冲击能力,得出下述结论。

(1) 珍珠岩-PPVA 的最佳制备条件。珍珠岩(粒径为 0.60~2.00mm)/10%PVA(V/V)=35/65, *Pseudomonas W4* 的包埋量为 1.0g/L,磷酸盐浓度为 1.25mol/L NaH_2PO_4 +1.25mol/L Na_2HPO_4 。

(2) 珍珠岩-PPVA 以蔗糖作为外加碳源时,对阿特拉津的去除速率最快。当蔗糖浓度为 100mg/L 时,珍珠岩-PPVA 对阿特拉津 36h 去除率即达到 99.42%。外加磷源也可以提高材料去除阿特拉津的效果。

(3) 珍珠岩-PPVA 去除阿特拉津最好是在中性或者弱酸性环境中,最佳反应 pH 值为 8.00。

(4) 珍珠岩-PPVA 抗酸碱冲击能力明显优于游离 W4 菌。并且最合适条件下珍珠岩-PPVA 对阿特拉津 36h 的去除率比游离 W4 菌提高了 94.96%。

综上所述,利用磷酸交联剂对聚乙烯醇(PVA)进行改性,以珍珠岩作为添加介质,对 *Pseudomonas W4* 进行包埋固定,制备出新型珍珠岩-磷酸化聚乙烯醇 (PPVA) 生物活性材料(珍珠岩-PPVA)是可行的,它有很好的去除阿特拉津的效果。但这只是在实验室条件下进行的,应用到实际情况,如废水或者土壤中阿特拉津的降解,则需要进一步的研究完善。

参考文献 (References)

- [1] 徐冬英,吕锡武,王志雄. 微生物降解阿特拉津试验研究[J]. 绍兴文理学院学报, 2005, 25(10): 38-41.
Xu Dongying, Lü Xiwu, Wang Zhixiong. Journal of Shaoxing University, 2005, 25(10): 38-41.
- [2] 万年升,顾继东,段舜山. 阿特拉津生态毒性与生物降解的研究[J]. 环境科学学报, 2006, 26(4): 552-560.
Wan Niansheng, Gu Jidong, Duan Shunshan. Acta Scientiae Circumstantiae, 2006, 26(4): 552-560.
- [3] 连小莹,李先宁. 环境中的阿特拉津污染及防治[J/OL]. 中国科技论文在线, 2007[2013-02-02]. <http://www.paper.edu.cn>.
Lian Xiaoying, Li Xianning. Pollution and control of atrazine in the environment [J/OL]. Science Paper Online, 2007 [2013-02-02]. <http://www.paper.edu.cn>.
- [4] Moreau C, Mouvet C. Sorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, and hydroxyatrazine by soil and aquifer solids[J]. Journal of Environment Quality, 1997, 26(2): 416-424.
- [5] 管仪庆,张丹蓉. 土壤中阿特拉津降解实验研究[J]. 河海大学学报:自

- 然科学版, 2005, 33(4): 357-360.
Guan Yiqing, Zhang Danrong. Journal of Hohai University: Natural Sciences Edition, 2005, 33(4): 357-360.
- [6] Margaret S M, Thurman E M. Preferential dealkylation reactions of striazine herbicides in the unsaturated zone [J]. Environment Science Technology, 1994, 28(4): 600-605.
- [7] Schottler S P, Eisenreich S J, Capel P D. Atrazine, alachlor, and cyanazine in a large agricultural river system [J]. Environment Science Technology, 1994, 28(6): 1079-1089.
- [8] Mandelbaum R T, Allan D L, Wackett L P. Isolation and characterization of a *pseudomonas* sp. that mineralizes the s-triazine herbicide atrazine[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(4): 1451-1457.
- [9] 蔡宝立, 黄今勇. 除草剂阿特拉津生物降解研究进展 [J]. 生物工程进展, 1999, 19(3): 7-11.
Cai Baoli, Huang Jinyong. Biological Engineering Progress, 1999, 19(3): 7-11.
- [10] 乔雄梧, 马利平, Hummel H E. 阿特拉津在土壤中的降解途径及其对持留性的影响[J]. 农村生态环境, 1995, 11(4): 5-8.
Qiao Xiongwu, Ma Liping, Hummel H E. Rural Eco-Environment, 1995, 11(4): 5-8.
- [11] Umar A F, Tahir F, Larkin M, et al. In-Situ bio-stimulatory effect of selected organic wastes on bacterial atrazine biodegradation [J]. Advances in Microbiology, 2012, 2(4): 587-592.
- [12] 陈文宾, 殷磊, 胡庆昊, 等. 海藻酸钠固定化鞘氨醇单胞菌净化连云港养殖海水中铅的研究[J]. 江苏农业科学, 2011(1): 375-377.
Chen Wenbin, Yin Lei, Hu Qinghao, et al. Journal of Jiangsu Agriculture Science, 2011(1): 375-377.
- [13] 肖亦, 钟飞, 潘献晓. 固定化微生物技术在废水处理中的应用研究进展[J]. 环境科学与管理, 2009, 34(6): 82-84.
Xiao Yi, Zhong Fei, Pan Xianxiao. Environmental Science and Management, 2009, 34(6): 82-84.
- [14] 张蕾, 段连生. 微生物固定化技术在废水处理中应用的研究进展[J]. 湖北第二师范学院学报, 2009, 26(2): 39-42.
Zhang Lei, Duan Liansheng. Journal of Hubei University of Education, 2009, 26(2): 39-42.
- [15] 马尧. 高效阿特拉津降解菌的固定化方法筛选与优化[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
Ma Yao. Study on the immobilized methods of the high effect atrazine degradation strains[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2010.
- [16] 李静, 谭月臣, 洪剑明. 固定化微生物技术处理废水[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(25): 13981-13983.
Li Jing, Tan Yuechen, Hong Jianming. Journal of Anhui Agriculture Science, 2010, 38(25): 13981-13983.
- [17] Ehrhardt H M, Rehm H J. Semi-continuous and continuous degradation of phenol by *Pseudomonas putida*P8 adsorbed on activated carbon[J]. Applied and Microbiology Biotechnology, 1989, 30(3): 312-317.
- [18] Isaka K, Yoshie S, Sumino T, et al. Nitrification of landfill leachate using immobilized nitrifying bacteria at low temperatures [J]. Biochemical Engineering Journal, 2007, 37(1): 49-55.
- [19] Matsumura M, Yamamoto T, Wang P C, et al. Rapid nitrification with immobilized cell using macro-porous cellulose carrier [J]. Elsevier Science, 1997, 31(5): 1027-1034.
- [20] 李旭, 樊金红, 马鲁铭. 聚乙烯醇降解微生物研究进展[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(3): 74-77.
Li Xu, Fan Jinhong, Ma Luming. Environmental Science & Technology, 2009, 32(3): 74-77.
- [21] 王建龙, 施汉昌. 聚乙烯醇包埋固定化微生物的研究及进展[J]. 工业微生物, 1998, 28(2): 35-39.
Wang Jianlong, Shi Hanchang. Industrial Microbial, 1998, 28 (2): 35-39.
- [22] 毕海涛, 张兰英, 刘娜, 等. 无机材料对 PVA-H₃BO₃ 包埋固定化方法的改进[J]. 吉林大学学报: 地球科学版, 2011, 41(1): 241-246.
Bi Haitao, Zhang Lanying, Liu Na, et al. Journal of Jilin University: Earth Science Edition, 2011, 41(1): 241-246.
- [23] 李花子, 王建龙, 文湘华, 等. 聚乙烯醇-硼酸固定化方法的改进[J]. 环境科学研究, 2002, 15(5): 25-27.
Li Huazi, Wang Jianlong, Wen Xianghua, et al. Research of Environmental Sciences, 2002, 15(5): 25-27.
- [24] Bi H, Zhang L, Liu N, et al. Preparation of bio-beads and their atrazine degradation characteristics [J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2011, 27(3): 407-412.
- [25] 朱博麟, 邱华, 李海军, 等. 室内模拟 BPRB 修复阿特拉津污染地下水[J]. 黄金, 2012, 33(9): 56-60.
Zhu Bolin, Qiu Hua, Li Haijun, et al. Gold, 2012, 33(9): 56-60.
- [26] 刘娜, 毕海涛, 任何军, 等. 阿特拉津低温降解菌的筛选及降解机理研究[J]. 吉林大学学报: 地球科学版, 2009, 39(5): 893-898.
Liu Na, Bi Haitao, Ren Hejun, et al. Journal of Jilin University: Earth Science Edition, 2009, 39(5): 893-898.
- [27] 包木太, 巩元娇, 李一鸣. 固定化微生物在降解含油污水中的应用[J]. 武汉大学学报: 理学版, 2010, 56(1): 109-114.
Bao Mutai, Gong Yuanjiao, Li Yiming. Journal of Wuhan University: Natural Science Edition, 2010, 56(1): 109-114.
- [28] 习志江, 李秋果. 农药的微生物降解技术研究 [J]. 长江大学学报: 自然科学版, 2007, 4(2): 87-90.
Xi Zhijiang, Li Qiuguo. Journal of Yangtze University: Natural Science Edition, 2007, 4(2): 87-90.
- [29] 范玉超, 刘文文, 司友斌, 等. 竹炭固定化微生物对土壤中阿特拉津的降解研究[J]. 土壤, 2011, 43(6): 954-960.
Fan Yuchao, Liu Wenwen, Si Youbin, et al. Soils, 2011, 43(6): 954-960.
- [30] 刘爱菊. 阿特拉津高效降解细菌的筛选及其降解特性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2003.
Liu Aiju. The isolation of atrazine degrading microbe and the research of its metabolic characterization [D]. Taian: Shandong Agriculture University, 2003.
- [31] 陈燕飞. pH 对微生物的影响 [J]. 太原师范学院学报: 自然科学版, 2009, 8(3): 121-124.
Chen Yanfei. Journal of Taiyuan Normal University: Natural Science Edition, 2009, 8(3): 121-124.
- [32] 韩梅, 李天华, 彭帅, 等. 微生物肥料的包埋固定化研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(4): 999-1005.
Han Mei, Li Tianhua, Peng Shuai, et al. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(4): 999-1005.

(责任编辑 吴晓丽)