

利用微生物解决土壤 PVA 塑料残留污染研究

李任杰 黄 淦 侯尧珍 / 河北省保定市保定外国语学校
指导教师 王占利 陈梅梅

◎ 简介

地膜覆盖栽培技术的使用与大力推广为农业增产做出了巨大贡献，但在粮食和经济作物产量增加的同时，土壤中大量难以降解的塑料地膜残余物逐年上升，造成了环境污染，影响了生态平衡。大多农民使用的地膜厚度薄、强度差、易老化、难回收，非常容易残留在地里，导致“白色污染”。每年有几百万吨的地膜被弃于土壤中，是一个不可忽视的污染源。据调查，连续3~5年覆膜的土地，其中的废弃地膜可使小麦减产5%~9%，蔬菜减产2%~10%，玉米产量下降10%，棉花产量下降10%~23%。此外，牛羊误食残膜碎片，可导致肠胃功能失调，严重时造成死亡。

调查结果引起了我们的震惊和思索：能不能找到合适的方法加速降解农田土壤中日益增多的残留农膜呢？我们学校的科技辅导员帮我们查阅了资料，并介绍了从事微生物研究的科研机构 and 辅导老师，确定了项目的可行性。于是，我们开始了关于农膜降解的研究。

◎ 研究过程

③ 技术路线

研究技术路线见图1。

③ 菌源样品

5份菌源样品分别采自生活小区垃圾堆、保定市垃圾处理厂、保定市纺织厂排水沟、保定市区河流底泥及郊区农田土壤。用采样铲采集垃圾、污泥及农田地表土壤以下10~15cm深处土样各约100g于牛皮纸袋中，记录采样时间、地点等信息并标号，风干、过40目筛，4℃冰箱放置备用，采样时间为2010年7月，要求所有样品在3周内

处理完毕。

③ 实验方法

◆ 高效PVA（聚乙烯醇）降解菌株的分离筛选。实验共采集了保定市郊垃圾处理厂、纺织厂排水沟土壤、河流底泥等5个土壤样品，每个样品筛选3批，共进行了15批次的驯化与分离。

◆ 菌株的种属鉴定。根据《常见细菌系统鉴定手册》，分为形态观察、生理生化实验和16SrDNA序列分析3

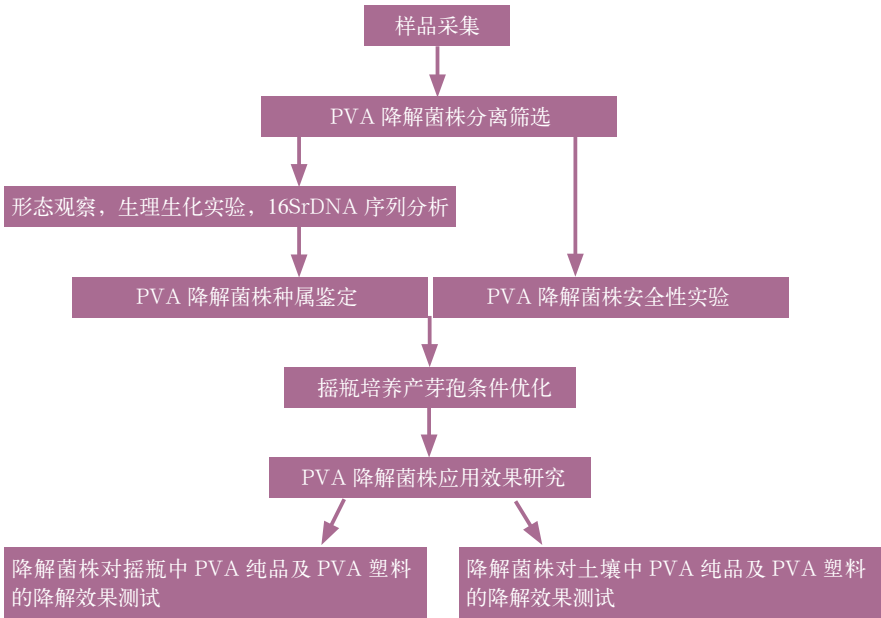


图1 研究技术路线

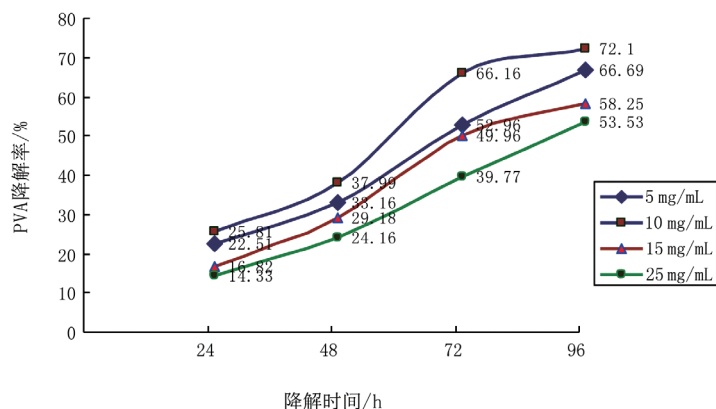


图3 摇瓶状态下菌液对不同浓度的 PVA 降解情况

方面进行。

◆ 高效 PVA 降解菌株培养条件优化（产芽孢工艺研究）。内容包括斜面菌种活化、种子制备、液体培养等。

◆ 菌株对 PVA 的降解效果研究，包括菌株芽孢液制备、摇瓶中的降解实验、土壤模拟降解实验等。

◎ 实验结果与分析

③ 土样中 PVA 降解细菌的分离筛选

为了提高筛选效率，采用 PVA 平板透明圈初筛的方法，经初筛共得到 8 株呈现透明圈亦即具备降解 PVA 能力的菌株（见图 2），分别为 1-16、1-21、2-1、2-2、3-3、3-4、3-9 和 4-2 菌株。

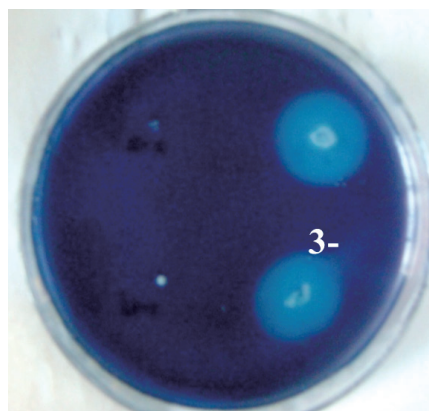
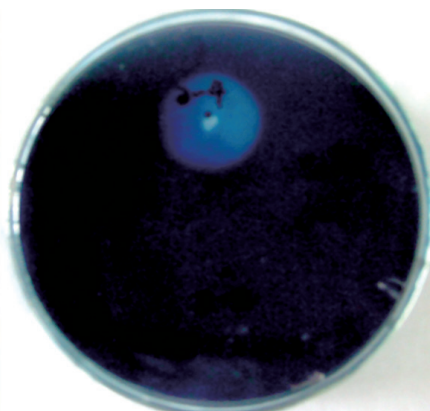


图2 菌株 3-4 在碘 - 硼酸板上的脱色圈

对初筛所得 8 株菌株进行培养，然后测定各菌株对发酵液中的 PVA 降解率。结果显示，3-4 菌株的降解率最高，48h 后达到 35.43%。

③ 3-4 菌株的种属鉴定

经基因组提取、扩增和序列测定，得到该菌株及相应标准菌株的进化距离并构建了系统发育树。将 3-4 菌株的形态及生理生化特征与《常见细菌系统鉴定手册》中相应属、种的有关性状相对照，发现 3-4 菌株形态及生理生化特征与解淀粉芽孢杆菌较为一致，因此鉴定菌株 3-4 为解淀粉芽孢杆菌（液化淀粉芽孢杆菌 *Bacillus amyloliquefaciens*）。经科技查新，国



内报道中尚未见过该菌株用于 PVA 降解的报道。

③ 解淀粉芽孢杆菌 3-4 菌株的产芽孢条件优化

实验结果表明，PVA 降解菌株的摇瓶培养产芽孢条件为：2% 麸皮，0.5% 玉米浆，0.05% KH_2PO_4 ，0.3% ZnCl_2 ， $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 0.4%。最佳的发酵参数为 pH8.0，种龄 14h，装瓶量 50mL/250mL 三角瓶，30℃，200r/min。在此优化条件下，其芽孢产率可达 95% 以上，总生物量为 2.69×10^9 CFU。

③ 菌株的降解应用效果

◆ 摇瓶发酵降解实验。在摇瓶降解基础培养基中加入不同浓度的 PVA 及一定量菌株芽孢液，30℃、200r/min 条件下摇床培养 96h，不同时间测定残留量绘制降解率曲线见图 3。结果表明，菌液对摇瓶中添加不同浓度的 PVA 均有降解效果，在浓度为 10mg/mL 时降解率最高，在 96h 时达到 72.10%；浓度为 25mg/mL 时，96h 降解率为 53.59%；菌液对 PVA 塑料的降解率要低于对纯品 PVA 的降解，分析可能是由于 PVA 塑料除含有 PVA 外还有淀粉基体等其他物质，因此降解得相对

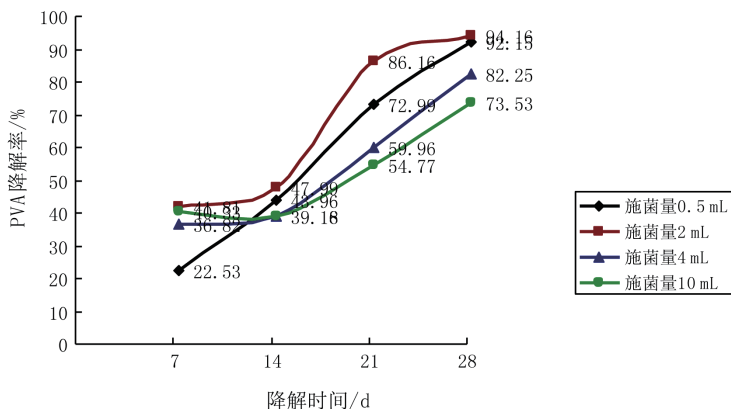


图4 菌液对土壤中PVA纯品的降解情况

缓慢。

◆ 模拟土壤降解实验。菌液对土壤中PVA纯品的降解实验结果见图4。由图可知,随着时间的延长,菌液对土壤中的PVA降解率呈增加趋势,在降解28天时,土壤中的大部分PVA可被降解。菌液对土壤中PVA塑料的降解实验结果表明,菌株的施入量对PVA塑料的降解速率有一定影响,菌液加入量越多降解就越快,达到一定值时降解速率的增加则不再明显。在菌剂加入为4mL时,28天可将PVA塑料降解63.25%。实验证实,从微生物方面讲,菌液不会引起不良生态效应;菌液对受试土壤理化指标无明显影响,表明该菌株具有良好的大规模应用前景。

◎ 本研究创新点及推广前景

◆ 分离筛选出高效降解PVA的新菌株解淀粉芽孢杆菌3-4。经科技查新,该菌应用于PVA的微生物降解在国内文献尚未见报道。

◆ 首次进行了PVA降解菌株(解淀粉芽孢杆菌3-4菌株)的生产工艺研究。研究结果为利用微生物菌剂降解残留PVA农膜奠定了前期科学基础。经科技查新,目前国内未见PVA菌剂

菌株生产工艺的研究及解淀粉芽孢杆菌产芽孢条件的研究。

◆ 探明了所研制菌液降解PVA及PVA塑料的适用条件和实际降解效果,为PVA环境污染的微生物修复奠定了科学基础。

◆ 本研究所获的PVA降解菌株降解效率高,菌液生产工艺完善、成本低廉,降解效果明确。此菌株及其菌液生产和实际降解工艺,在PVA农膜污染治理方面有较大的应用推广价值,在其他行业的含PV污染治理方面也具有广阔的应用前景。

◎ 下一步工作设想

◆ 所获得的供试菌株为自然界的野生菌株,应具备较大的产酶及降解活性的提高空间,因此可对其开展产酶特性的研究,使其降解潜力得以充分发挥;还可考虑对其实施诱变、基因工程育种等手段,进一步提高其PVA降解能力。

◆ 应尽快以小白鼠为供试动物考察菌株安全性,确保菌株的使用安全,不会对环境产生新的危害。

◆ 可进一步研究菌剂的大生产工艺和固定化工艺等,为功能菌株的大规模应用奠定基础,并深入研究适合的工

艺和设备,提高其降解效率和其实用性。

◆ 进一步考察此菌株在其他PVA污染治理中的应用潜力,如对纺织废水中PVA的降解。

该项目获得第27届全国青少年科技创新大赛创新成果竞赛项目中学组环境科学一等奖。

专家评语

该项目方法科学,技术路线可行,研究具有理论和应用价值;研究发现了降解PVA塑料的新菌株,探明了菌液降解PVA塑料的适用条件和实际降解效果,研究有创新意义。建议今后进一步研究菌种选育和菌株在更大范围治理PVA污染等方面的科学问题。■