

文章编号: 1006-9941(2018)04-0352-07

# 光合细菌球形红细菌降解 HMX

赵婷婷, 白红娟, 康鹏洲, 王寿艳

(中北大学环境与安全工程学院, 山西 太原 030051)

**摘要:** 研究了供氧光照、奥克托今(HMX)初始浓度、接种量、pH值和温度对驯化球形红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*)H菌株降解HMX能力的影响,对其降解动力学方程进行了拟合分析。通过改变1个影响因素,固定其它4个条件,确定了球形红细菌降解HMX的最适宜条件。用分光光度计对HMX浓度和球形红细菌细胞生物量进行了测定。结果表明,驯化后的球形红细菌可高效降解奥克托今,球形红细菌H菌株在不同供氧光照条件下均能很好生长并降解HMX,且降解率均达到70%以上,最佳降解条件为光照厌氧。该菌株降解HMX的最适条件为:HMX初始浓度为 $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、pH值为7.0、接种量为15%、温度为 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,在96h降解率达到最高,为88.9%。球形红细菌降解HMX的过程符合一级反应动力学方程。

**关键词:** 奥克托今(HMX); 球形红细菌; 微生物降解; 动力学方程

**中图分类号:** TJ55; X172

**文献标志码:** A

**DOI:** 10.11943/j.issn.1006-9941.2018.04.011

## 1 引言

奥克托今(HMX)具有八元环的硝胺结构,是现今综合性能最好的炸药,其具有良好的爆炸性能而被广泛应用于导弹、核武器和反坦克导弹的战斗部装药。生产使用HMX过程中的不恰当操作使工厂周围的环境受到严重污染,HMX具有显著的毒性,美国环境保护署已经将其列为优先控制污染物名单<sup>[1]</sup>。

国内外处理HMX废水的常用方法包括光催化<sup>[2]</sup>、超临界水氧化<sup>[3]</sup>、三维电解法<sup>[4]</sup>、纳米零价铁处理炸药废水<sup>[5]</sup>以及微生物处理等。物理化学方法一般仅适于浓度较高的有机废水处理,对浓度较低的有机废水处理效果差且成本高。微生物法具有高效、环境友好、处理成本低等特点,一直是研究的热点方向。目前已经分离得到降解HMX的菌种有:硫酸还原菌(*Desulfovibrio spp*)<sup>[6]</sup>、摩根菌摩氏菌(*Morgenella morgani*)和雷氏普罗威登斯菌(*Providencia rettgeri*)<sup>[7]</sup>和克氏梭状芽孢杆菌(*Clostridium kluyveri*)及曲霉菌(*Aspergillus niger*)<sup>[8]</sup>等。这些菌种均能降

解HMX,但只能在严格好氧或严格厌氧条件下进行,降解时间较长,而且还会引起其他物质的积累。因此,这些因素限制了它们进一步应用。

光合细菌在不同供氧光照的条件下均可降解有机物,而且它所要求的条件也不像一般的专属好氧菌和专属厌氧菌那样严格<sup>[9]</sup>。特别是紫色非硫细菌不仅能在厌氧光照的条件下进行光能异养生长,而且能在好氧黑暗条件下进行好气异养生长。光合细菌这种随着生存环境而灵活改变代谢类型的特性,较其他微生物材料具有优越性<sup>[10]</sup>。为此,国内外对光合细菌进行了广泛的研究,并成功处理了炸药(如:2,4,6-三硝基甲苯和2,4-二硝基甲苯)<sup>[11]</sup>、农药、含氯苯酚、氯苯<sup>[12-15]</sup>等废水。然而用光合细菌处理HMX的研究国内外却鲜见报道。本研究初次采用球形红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*)降解HMX,研究了不同理化因素对驯化的球形红细菌降解HMX能力的影响,并对其降解动力学过程进行了拟合分析,为该菌株在杂氮化合物废水污染治理中的应用提供参考。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料

菌种:球形红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*)H菌株系紫色非硫菌群红细菌属光合细菌,由山西大学光合细菌研究室分离、鉴定并保存<sup>[16]</sup>。

基础培养基:酵母膏1.0g,  $\text{MgSO}_4$  0.2g,  $\text{CaCl}_2$  0.07g,

收稿日期:2017-10-11;修回日期:2017-11-30

基金项目:山西省回国留学人员科研资助项目(2016-084)

作者简介:赵婷婷(1991-),女,研究生,主要从事环境微生物技术研究。e-mail:331478674@qq.com

通信联系人:白红娟(1969-),女,博士,教授,硕士生导师,主要从事环境微生物技术研究。e-mail:bhj44871@163.com

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  1.25 g, 苹果酸 2.5 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.6 g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.9 g, 蒸馏水 1000 mL, pH 7.0; 驯化培养基: 基础培养基加适量 HMX。

试剂: HMX, 99%, 购自阿拉丁公司。

## 2.2 方法

### 2.2.1 菌种的驯化

将 10% 原始菌液接入 HMX 含量为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的驯化培养基, 在  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、2500 lx 光照培养箱中厌氧驯化培养 10 d 作为驯化菌种。

### 2.2.2 球形红细菌 H 菌株降解 HMX 实验

球形红细菌生长与 HMX 降解实验均在密封无菌条件下进行, 将 10 mL 驯化后的菌悬液  $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 弃上清液, 菌体用磷酸缓冲液洗涤 2 次后, 用培养基制备成菌悬液, 备用。在 HMX 浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的基础培养基中, 接种 15 mL 的菌悬液 (细胞生物量 OD 值为 0.551), 用  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 HCl 和 NaOH 溶液分别调节 pH 至 7.0, 在温度  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , 厌氧光照条件 (血清瓶装培养物, 盖橡皮塞, 光照度: 2500 lx, 静置) 培养 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 h 后。离心菌体 10 min (转速  $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 测定上清液中剩余 HMX 浓度, 确定菌种对 HMX 的降解效率:

$$\eta = (C_0 - C) / C_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $\eta$  为去除率, %;  $C_0$  为初始浓度,  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $C$  为剩余浓度,  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用等量蒸馏水制备的菌悬液, 于波长 590 nm 处测定 OD 值, 以测定其生物量。同时, 为了证明球形红细菌可以降解 HMX, 设置不同体系: 分别进行 4 组平行试验: (1) 含有  $100 \text{ mg/L}$  HMX 和球形红细菌的培养基; (2) 只含有  $100 \text{ mg/L}$  HMX 的培养基; (3) 含有  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  HMX 和灭活球形红细菌的培养基; (4) 在蒸馏水中含有 HMX  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和球形红细菌。通过接种一定量的球形红细菌, 使培养基中的细菌数量达到  $1.5 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。用橡胶塞将血清瓶密封置于  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  的光照培养箱中, 光照强度为 lx 2500。每隔 12 h 取 2 mL 菌液,  $10000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min 取上清液。

供氧光照培养条件对菌株生长和降解 HMX 效率的影响: 按照上述的实验方法, 设置 4 种培养条件: 厌氧光照、厌氧黑暗、好氧光照和好氧黑暗, 光照度为 lx2500, 好氧时采用摇床 (振荡速度为  $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 黑暗 (用 7 层黑布包裹), 培养 96 h 后, 取样分析。

不同底物浓度、接种量 pH 值和温度对菌株降解 HMX 效率的影响: 按照前面介绍的实验方法, 分别考

察不同底物浓度 ( $75, 100, 125, 150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、接种量 (5%、10%、15%、20% 和 25%) 和 pH (5、6、7、8 和 9), 温度 ( $20, 25, 30, 35, 40 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 对菌株降解 HMX 的效率的影响及动力学过程。规定条件为: HMX 初始浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 7.0、接种量为 15% (体积分数)、温度为  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。实验过程中, 改变 1 个影响因素, 固定其它 3 个条件, 进而确定适宜降解条件。

### 2.3 测试方法

用 UV-2102PC 型紫外可见分光光度计 (UNICO) 在最大吸收波长 590 nm 处测定菌液浓度 ( $\text{OD}_{590 \text{ nm}}$ )。

用可见光分光光度法测定 HMX 的浓度<sup>[17]</sup>。

## 3 结果与讨论

### 3.1 球形红细菌 H 菌株对 HMX 的降解

球形红细菌 H 菌株在 HMX 初始质量浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  培养基中的生长情况及其降解 HMX 的关系如图 1。由图 1 可以看出, 当降解 24 h, HMX 质量浓度为  $72.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , HMX 的降解率为 30.0%; 当降解 48 h, HMX 质量浓度迅速降低为  $31.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 降解率达到 68.7%; 当降解 72 h, HMX 质量浓度明显降低, 为  $17.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 降解率达到 82.8%。随着菌株进入对数生长期 (36~72 h), HMX 的降解效率显著升高; 之后随着时间的增加, 降解效率趋于平稳, 到达 96 h 时, HMX 降解率达到了 88.9%。分析原因可能为由于营养成分的缺失和代谢物的增加, 菌株生长逐渐至衰退期, 对 HMX 的降解能力也随之下落, 降解曲线趋于平缓。

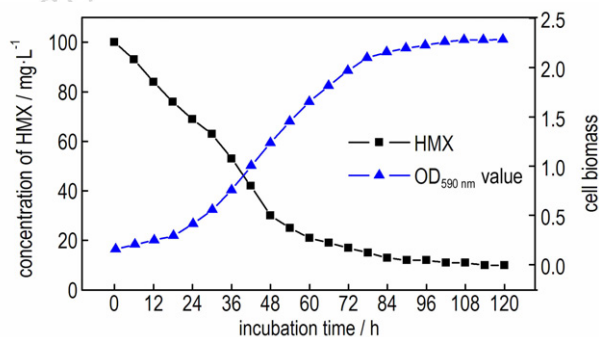


图 1 球形红细菌生长和降解 HMX 的曲线

Fig. 1 The curves of *Rhodobacter sphaeroides* growth and HMX degradation

四种体系 (在培养基中的球形红细菌; 只有培养基的条件; 灭活的球形红细菌; 在蒸馏水中球形红细菌) 对  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  HMX 的降解影响如图 2 所示。由

图 2 可见,在球形红细菌的作用下可降解 HMX,在 96 h 降解率达到 88.9%;灭活的 H 菌株并未对降解 HMX 产生显著的影响;在只有培养基的对照试验中,HMX 含量也无较大变化。由此可认为,降解 HMX 并不是由培养基或细胞吸附引起的,降解 HMX 主要是通过球形红细菌的生物降解过程。

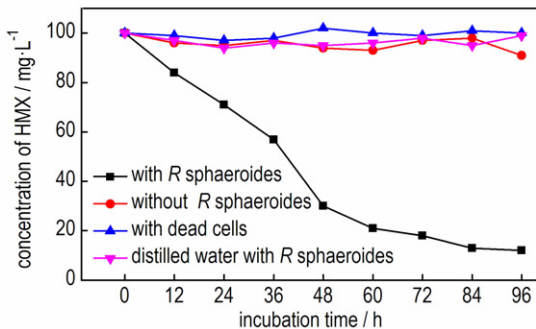


图 2 不同体系对 HMX 降解的影响

Fig.2 Removal of HMX in different systems

### 3.2 不同供氧光照对 H 菌株生长及 HMX 降解的影响

在 HMX 初始浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 值为 7, 温度为  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  和接种量为 15% 的条件下,在 96 h 不同的光照和供氧对球形红细菌的生长和 HMX 的降解效果影响见表 1。由表 1 可见球形红细菌在不同供氧光照条件下均可以降解 HMX。在厌氧光照条件下,96 h 菌株对 HMX 的降解率达到最高,为 88.9%,且菌体生长最好,OD 值达到 2.128;其他条件下,96 h 菌株对 HMX 的降解率也达到 70% 以上,菌体生长 OD 值均达到 1.1 以上。分析原因可能为,球形红细菌在不同生长环境下具有灵活改变代谢的特性<sup>[18]</sup>,最适降解条件为厌氧光照。因此选择在厌氧光照的培养条件下进行降解实验。

表 1 不同光照供氧对 H 菌株生长及 HMX 降解率的影响

Table 1 Effect of different illumination and oxygen supply on H strain growth and HMX degradation

| illumination and oxygen       | OD <sub>590 nm</sub> value | degradation efficiency/% |
|-------------------------------|----------------------------|--------------------------|
| anaerobic and illumination    | 2.128                      | 88.9                     |
| anaerobic and dark            | 1.238                      | 76.5                     |
| microaerobic and illumination | 1.785                      | 80.6                     |
| aerobic and dark              | 1.112                      | 70.4                     |

### 3.3 不同理化条件对球形红细菌 H 菌株降解 HMX 的影响

#### 3.3.1 不同初始浓度对 HMX 降解的影响

HMX 在不同初始浓度下对降解的影响见图 3。

由图 3 可见,HMX 浓度变化对球形红细菌降解 HMX 效率的影响十分显著。当 HMX 的初始浓度由  $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  升高到  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,降解速率随着时间的变化在升高。初始浓度从  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  升高到  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  降解速率逐渐随降低。在初始浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时降解效率最佳为 88.9%。在 96 h 各浓度的降解率分别为 74.7%、88.9%、60.0% 和 20.0%。分析原因可能为两种,其一球形红细菌的数量是有限的,降解效率不会随着 HMX 浓度的增加而一直增长<sup>[19]</sup>;其二 HMX 在低浓度时可作为碳源、氮源,利于细胞生长,当 HMX 浓度进一步升高为  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,H 菌株降解 HMX 能力大幅度下降,说明过高浓度的 HMX 可能会抑制菌群的生长。因此选择降解 HMX 的最适初始浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

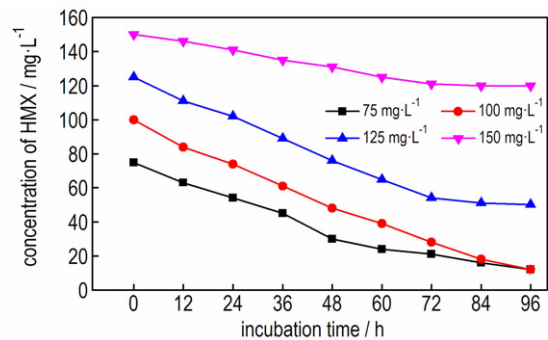


图 3 HMX 不同浓度对降解的影响

Fig.3 Effects of different concentrations of HMX on the degradation

#### 3.3.2 不同接种量对 HMX 降解的影响

不同接种量对 HMX 降解的影响见图 4。由图 4 可见当接种量由 5% 增加到 10% 时,随着时间的增加,HMX 降解率也随之增加。当接种量从 10% 增加到 15% 时,HMX 的降解率上升并在 15% 时达最高,为 88%。当接种量从 15% 增加到 25% 时,HMX 的降解率逐渐降低。分析原因可能为当接种量低于 10% 时,细胞依靠培养基中的营养成分生长,细胞需要较长时间来产生大量感应信号分子来满足激活应答的浓度要求,导致菌株降解 HMX 的效率低下。当接种量从 10% 到 15% 时,球形红细菌在一定程度上能以 HMX 作为其生长的营养成分,进行共代谢。继续增大接种量,HMX 降解率基本趋于稳定状态,此时接种量已不再是影响 HMX 降解率的主要因素,这可能由于细菌群感效应造成的,细胞之间的信息交流与浓度有着密



切的关系,只有当细胞产生的感应信号分子达到一定浓度的时候,才能激活细胞对环境的应答<sup>[20]</sup>。

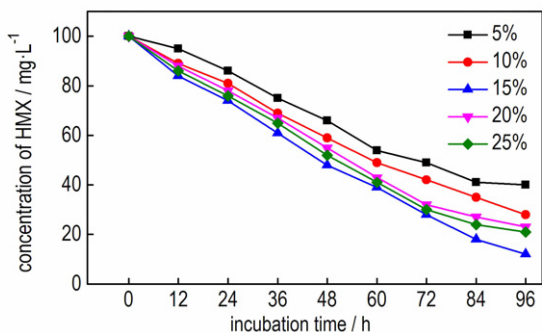


图4 不同接种量对 HMX 降解的影响

Fig.4 Effects of different inoculation quantity on the degradation of HMX

### 3.3.3 不同 pH 值对 HMX 降解的影响

不同 pH 值对 HMX 降解效果的影响见图 5。由图 5 可见,当 pH 值为 5.0 和 9.0 时,球形红细菌对 HMX 降解几乎没有作用,pH 值为 6.0~8.0,HMX 的降解率都大于 80%,当 pH 值为 7.0 时,96 h 菌株 H 对 HMX 降解率达到 88.9%。结果表明,厌氧微生物在 pH 值为 6.0~8.0 时能达到最佳生长条件<sup>[21]</sup>。球形红细菌对 pH 值敏感,过酸或过碱的条件都不利于球形红细菌的生长和对 HMX 降解。分析其原因可能有两点,其一由于 pH 值改变,引起细菌表面电荷改变,进而影响细菌对 HMX 的降解;其二,氢离子浓度也会影响代谢过程中酶的活性<sup>[22]</sup>。pH 值对微生物的生长代谢具有重要作用,能够影响微生物细胞内的酶活性及代谢产物的生物活性<sup>[23]</sup>。所以确定菌群降解 HMX 的最适 pH 值是必要的。因此,降解 HMX 的最佳 pH 值为 7.0。

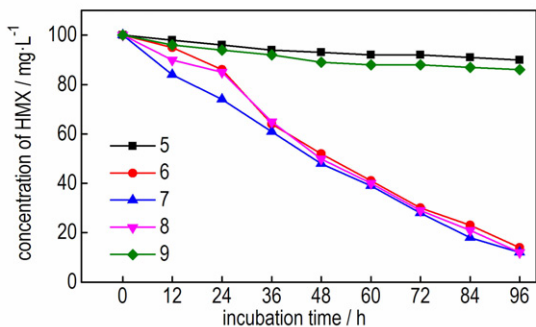


图5 不同 pH 值对 HMX 降解的影响

Fig.5 Effects of different pH values on the degradation of HMX

### 3.3.4 不同温度对 HMX 降解的影响

不同温度对 HMX 降解效果的影响见图 6。由图 6 可见,在 HMX 初始浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,pH 值为 7.0,培养 96 h 情况下,当温度为  $20^\circ\text{C}$  和  $40^\circ\text{C}$  时,球形红细菌对 HMX 的降解几乎没有影响;当温度为  $30^\circ\text{C}$  时,降解率可达 88.9%;当温度低于  $25^\circ\text{C}$  或者高于  $35^\circ\text{C}$  时,降解率出现了明显的下降。球形红细菌降解 HMX 的最适温度为  $30^\circ\text{C}$  左右。分析原因可能是温度与菌株的生长情况有一定正相关性,即在适宜温度条件下,生长较好的菌株产生较多的降解酶,加速电子传递。此外,温度的变化还会引起细胞生存稳定性的改变<sup>[24]</sup>。低温或者高温体系可能会使降解酶失活甚至变性,进而影响 HMX 的处理效果,这可能是由于环境温度会影响微生物膜的液晶结构、酶及蛋白质的合成与活性,进而影响微生物的生命活动<sup>[25]</sup>。因此,对于球形红细菌 H 菌株降解 HMX 的适宜温度是  $30\sim 35^\circ\text{C}$ 。这与屈超<sup>[26]</sup>等人的研究结果一致。

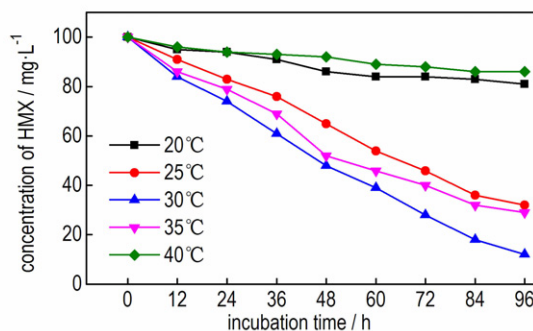


图6 不同温度值对 HMX 降解的影响

Fig.6 Effects of different temperature values on the degradation of HMX

### 3.4 H 菌株对 HMX 降解的动力学方程

一级动力学方程在污染物的生物降解研究中被广泛应用<sup>[27]</sup>。本研究选用一级动力学模型来模拟对 HMX 降解的动力学过程。

$$c_t/c_0 = e^{-kt} \quad (2)$$

式中,  $c_0$  为初始 HMX 浓度,  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $c_t$  为  $t$  时刻 HMX 浓度,  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;  $t$  为降解时间,  $\text{h}$ ;  $k$  为反应速率常数,  $\text{h}^{-1}$ 。方程拟合度由  $R^2$  进行评估。将不同条件下动力学实验数据通过一级动力学模型进行拟合,可得到不同条件下 H 菌株对 HMX 降解的动力学方程,结果见表 2。

由表 2 可看出本试验条件下的降解动力学在一定程度上符合一级动力学特征。随着初始浓度的稳步增加,从  $75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,降解率常数迅

速从 0.2405 减小到 0.0304 h<sup>-1</sup>, 而半衰期从 2.9 增加到 22.8 h。当 HMX 浓度为 100 mg · L<sup>-1</sup> 时, 速率常数最大, T<sub>1/2</sub> 仅为 2.5 h; HMX 浓度为 125 mg · L<sup>-1</sup>, k 降低, T<sub>1/2</sub> 增至 5.4 h; HMX 质量浓度为 150 mg · L<sup>-1</sup> 时, 降解效果出现明显下降, k 迅速降至 0.0340 h<sup>-1</sup>。结果也表明, 在 HMX 的生物降解过程中, HMX 既是反应的基质, 同时也是抑制剂。

不同接种量下球形红细菌对 HMX 降解动力学参数结果见表 3。由表 3 可见接种量的降解率常数与半衰期呈相反的变化趋势, 接种量从 5% 增至 15% 可以显著提高球形红细菌对 HMX 的降解率。在接种量为 15% 时, 降解速率常数最大, T<sub>1/2</sub> 是最小。同样, 由不同 pH 值下球形红细菌降解 HMX 的动力学参数结果见表 4, 当初始 pH 值从 5.0 增加到 7.0 再到 9.0, 速率常数从 0.0112 h<sup>-1</sup> 增加到 0.2766 h<sup>-1</sup> 最后下降到 0.0115 h<sup>-1</sup>, 半衰期由 61.9 h 降至 2.5 h 再增至 44.7 h。在 pH 值为 7 时, 速率常数最大, 半衰期最小。可见当 pH 值为 7 时, 降解率最高, 说明 HMX 降解的最适 pH 值为 7。由表 5 可见, 当温度从 20 °C 升高到 30 °C 降解率常数逐渐增大, 在 30 °C 时, 速率常数最高, 而从 30 °C 下降到 40 °C 逐渐减少, 速率常数明显下降。当温度为 30 °C 时降解明显。

表 2 HMX 在不同初始浓度下球形红细菌降解 HMX 的动力学方程和动力学参数

Table 2 Kinetic equations and kinetic parameters of the degradation of HMX under different initial concentration by *Rhodobacter sphaeroides*

| initial concentration / mg · L <sup>-1</sup> | k/h <sup>-1</sup> | T <sub>1/2</sub> /h | R <sup>2</sup> | c=c <sub>0</sub> e <sup>-kt</sup> |
|--|-------------------|---------------------|----------------|-----------------------------------|
| 75   | 0.2405            | 2.9                 | 0.9522         | c=74.65e <sup>-0.2405t</sup>      |
| 100  | 0.2766            | 2.5                 | 0.9908         | c=101.23e <sup>-0.2766t</sup>     |
| 125  | 0.1274            | 5.4                 | 0.9617         | c=124.52e <sup>-0.274t</sup>      |
| 150  | 0.0304            | 22.8                | 0.9531         | c=149.10e <sup>-0.0304t</sup>     |

表 3 不同接种量下球形红细菌对 HMX 降解动力学参数

Table 3 Kinetic parameters of the degradation of HMX under different inoculation quantity by *Rhodobacter sphaeroides*

| inoculation quantity/% | k/h <sup>-1</sup> | T <sub>1/2</sub> /h | R <sup>2</sup> | c=c <sub>0</sub> e <sup>-kt</sup> |
|------------------------|-------------------|---------------------|----------------|-----------------------------------|
| 5                      | 0.1328            | 5.2                 | 0.9784         | c=101.23e <sup>-0.1328t</sup>     |
| 10                     | 0.1663            | 4.2                 | 0.9916         | c=101.23e <sup>-0.1663t</sup>     |
| 15                     | 0.2766            | 2.5                 | 0.9908         | c=101.23e <sup>-0.2766t</sup>     |
| 20                     | 0.2043            | 3.4                 | 0.9832         | c=101.23e <sup>-0.2043t</sup>     |
| 25                     | 0.2165            | 3.2                 | 0.9808         | c=101.2e <sup>-0.2165t</sup>      |

表 4 不同 pH 值下球形红细菌降解 HMX 的动力学参数

Table 4 Kinetic parameters of the degradation of HMX under different initial pH by *Rhodobacter sphaeroides*

| pH value | k/h <sup>-1</sup> | T <sub>1/2</sub> /h | R <sup>2</sup> | c=c <sub>0</sub> e <sup>-kt</sup> |
|----------|-------------------|---------------------|----------------|-----------------------------------|
| 5.0      | 0.0112            | 61.9                | 0.9240         | c=101.23e <sup>-0.112t</sup>      |
| 6.0      | 0.2680            | 2.6                 | 0.9804         | c=101.23e <sup>-0.2680t</sup>     |
| 7.0      | 0.2766            | 2.5                 | 0.9908         | c=101.23e <sup>-0.2766t</sup>     |
| 8.0      | 0.2826            | 2.4                 | 0.9851         | c=101.23e <sup>-0.2826t</sup>     |
| 9.0      | 0.0155            | 44.7                | 0.9007         | c=101.23e <sup>-0.0155t</sup>     |

表 5 不同温度下球形红细菌降解 HMX 的动力学参数

Table 5 Kinetic parameters of the degradation of HMX under different temperature by *Rhodobacter sphaeroides*

| T/°C | k/h <sup>-1</sup> | T <sub>1/2</sub> /h | R <sup>2</sup> | c=c <sub>0</sub> e <sup>-kt</sup> |
|------|-------------------|---------------------|----------------|-----------------------------------|
| 20   | 0.0238            | 61.9                | 0.9270         | c=101.23e <sup>-0.0238t</sup>     |
| 25   | 0.1570            | 3.6                 | 0.9945         | c=101.23e <sup>-0.1570t</sup>     |
| 30   | 0.2766            | 2.5                 | 0.9908         | c=101.23e <sup>-0.2766t</sup>     |
| 35   | 0.1653            | 3.0                 | 0.9708         | c=101.23e <sup>-0.1653t</sup>     |
| 40   | 0.0168            | 44.7                | 0.9567         | c=101.23e <sup>-0.0168t</sup>     |

## 4 结 论

(1) 驯化后的光合细菌球形红细菌 H 菌株具有较高的细胞活性, 能高效降解 HMX。该菌株在不同供氧光照条件下均可以降解 HMX, 但是, 在厌氧光照条件下, 降解最佳。H 菌株降解 HMX 主要是通过球形红细菌的生物降解过程。

(2) 初始 HMX 浓度、接种量、pH 值和温度对 HMX 降解效果有不同程度的影响。该菌株降解 HMX 的最适条件为: 在厌氧光照的条件下, 初始浓度为 100 mg · L<sup>-1</sup>、pH 7.0、接种量为 15% 和温度为 30 °C, HMX 的降解率达到 88.9%。

(3) 在初始浓度为 75~150 mg · L<sup>-1</sup>、接种量为 5%~25%、pH 值为 5~9、20~40 °C, 光合细菌球形红细菌降解 HMX 的规律符合一级反应动力学方程。

## 参考文献:

- [1] 周宁一. 2,4-二硝基甲苯的生物降解[J]. 微生物学通报, 2013, 40(9): 1733-1733.  
ZHOU Ning-yi. Biodegradation of 2,4-dinitrotoluene[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(9): 1733-1733.
- [2] 刘宗宽, 朱晓玲. HMX 废水的纳米 TiO<sub>2</sub> 光催化处理[J]. 榆林学院学报, 2008, 18(6): 55-58.  
LIU Zong-kuan, ZHU Xiao-ling. Photocatalytic treatment of HMX wastewater by nano-TiO<sub>2</sub>[J]. *Journal of Yulin College*, 2008, 18(6): 55-58.
- [3] 高森, 刘玉存, 郝晓婷. 超临界水氧化处理 HMX 废水[J]. 天津

- 化工, 2011, 25(1): 60-62.
- GAO Sen, LIU Yu-cun, HAO Xiao-ting. Treatment of HMX wastewater by supercritical water oxidation[J]. *Tianjin Chemical Industry*, 2011, 25(1): 60-62.
- [4] ZHANG Guo-zhen, HE Chun-sheng, CUI Bin. Study of TNT wastewater treatment by three-dimensional electrolytic in methanol[J]. *Journal of water resources&Water Engineering*, 2008, 19(6): 28-31.
- [5] SHI Jiny, WANG San-fan, GAO Xiao-dong. Pretreatment of wastewater from explosive production by iron-carbon, micro-electrolysis process[J]. *China Water&Wastewater*, 2009, 25(7): 59-61.
- [6] Boopathy R, Gurgas M, Ullian J, et al. Metabolism of explosive compounds by sulfate-reducing bacteria[J]. *Current Microbiology*, 1998, 37(2): 127.
- [7] Kitts C L, Cunningham D P, Unkefer P J. Isolation of three hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine-degrading species of the family enterobacteriaceae from nitramine explosive-contaminated soil[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1994, 60(12): 4608-11.
- [8] Bhart Bhushan, Annamaria Halasz, Jim Spain, et al. Biotransformation of hexahydro-1,3,5-tetranitro-1,3,5-triazine catalyzed by a NADPH: nitrate oxidoreductase from *Aspergillus niger*[J]. *Environmental Science and Technology*, 2002, 36(14): 3104-3108.
- [9] Dong Y, Hu X, Zhang Y, et al. Biodegradation of o-chlorophenol by embedded immobilized *Rhodospseudomonas palustris*[J]. *Zhongnan Daxue Xuebao*, 2014, 45(4): 1369-1377.
- [10] 龙思思, 谢数涛, 段舜山, 等. 光合细菌及其应用现状[J]. *生态科学*, 2002, 21(1): 91-94.
- LONG Si-si, XIE Shu-tao, DUAN Shun-shan. Photosynthetic bacteria and their application status[J]. *Ecological Science*, 2002, 21(1): 91-94.
- [11] 柳广飞, 周集体, 王竞, 等. 细菌对偶氮染料的降解及偶氮还原酶的研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2006, 29(4): 112-114.
- LIU Guang-fei, ZHOU Ji-ti, WANG Jing, et al. Research progress on degradation of azo dyes by bacteria and azo reductase[J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 29(4): 112-114.
- [12] 张松柏, 张德咏, 罗香文, 等. 一株降解吡啶磺隆光合细菌的分离鉴定及其降解特性[J]. *生态环境学报*, 2008, 17(5): 62-65.
- ZHANG Song-bai, ZHANG De-yong, LOU Xiang-wen, et al. Isolation and Identification of a Biodegradable Bensulfuron-methyl Photosynthetic Bacterium and Its Degradation Characteristics[J]. *Journal of Ecology and Environment*, 2008, 17(5): 62-65.
- [13] 贺雅静, 白红娟. 沼泽红假单胞菌降解 TNT 废水的研究[J]. *化工中间体*, 2012(5): 19-23.
- HE Ya-jing, BAI Hong-juan. Study on degradation of TNT wastewater by *Rhodospseudomonas*[J]. *Chemical Intermediates*, 2012(5): 19-23.
- [14] 姚斌, 金赞芳, 胡忠策. 光合细菌对 2,4,6-三氯苯酚的降解特性研究[J]. *中国环境科学*, 2011, 10: 1669-1675.
- YAO Bin, JIN Zan-fang, HU Zhong-ce, et al. Study on degradation characteristics of 2,4,6-trichlorophenol by *Photosynthetic Bacteria*[J]. *China Environment Science*, 2011, 10: 1669-1675.
- [15] 王玉芬, 张肇铭, 胡筱敏, 等. 球形红细菌好氧降解氯代苯研究[J]. *环境工程学报*, 2011, 5(5): 1187-1193.
- WANG Yu-fen, ZHANG Zhao-ming, HU Xiao-min, et al. Aerobic Degradation of chlorobenzenes by *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Journal of Environmental Engineering*, 2011, 5(5): 1187-1193.
- [16] Iman S, Noguera D R, Donobue T J. Global insights into energetic and metabolic networks in *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *BMC Systems biology*, 2013, 7(89): 1-16.
- [17] 白红娟, 张景林. 废水中微量残留炸药奥克托今、黑索今测定方法的研究[J]. *中国安全科学学报*, 2003, 13(10): 38-40.
- BAI Hong-juan, ZHANG Jing-lin. Study on the method of determining the determination of HMX, RDX in the wastewater[J]. *China Safety Science Journal*, 2003, 13(10): 38-40.
- [18] 白红娟, 王珊, 柴春镜, 等. 球形红细菌降解 RDX 的动力学及其机理研究[J]. *火炸药学报*, 2015(6): 51-55.
- BAI Hong-juan, WANG Shan, CHAI Chun-jing. Study on the dynamics and mechanism of RDX degradation of *Rhodobacter sphaeroides*[J]. *Chinese Journal of Explosives&Propellants*, 2015(6): 51-55.
- [19] 屈超, 边阔, 周勇. 沼泽红假单胞菌处理 HMX 研究[J]. *山西化工*, 2012, 32(2): 8-10.
- QU Chao, BIAN Kuo, ZHOU Yong. Study on HMX treated by *Rhodospseudomonas palustris*[J]. *Shanxi Chemical Industry*, 2012, 32(2): 8-10.
- [20] 齐枝花, 于鑫, 余萍, 等. 细菌细胞间通讯的群感效应[J]. *微生物学通报*, 2005, 32(2): 128-133.
- QI Zhi-hua, YU Xin, YU Ping, et al. Quorum-sensing: a mechanism of bacterial cell-to-cell communication[J]. *Microbiology China*, 2005, 32(2): 128-133.
- [21] 张浩, 白红娟. 沼泽红假单胞菌降解黑索今的实验研究[J]. *化工中间体*, 2013(2): 38-43.
- ZHANG Hao, BAI Hong-juan. Experimental study on degradation of RDX[J]. *Chemical Intermediates*, 2013(2): 38-43.
- [22] 胡筱敏, 董怡华, 李亮, 等. 光合细菌 PSB-1D 对 2-氯苯酚的降解特性研究[J]. *环境科学*, 2010, 31(7): 1672-1678.
- HU Xiao-min, DONG Yi-hua, LI Liang. Study on the degradation characteristics of 2-chlorophenol by photosynthetic Bacteria PSB-1D[J]. *Environmental Science*, 2010, 31(7): 1672-1678.
- [23] 周楚莹, 吴秉奇, 刘淑杰, 等. 近海柴油降解菌群的构建及其对柴油的降解特性[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(12): 2308-2320.
- ZHOU Chu-ying, WU Bing-qi, LIU Shu-jie, et al. Construction of offshore diesel degradation bacteria and its degradation characteristics for diesel Oil[J]. *Microbiology China*, 2015, 42(12): 2308-2320.
- [24] 何熙璞, 刘鸿杰, 张敏, 等. 苯酚降解菌 F5-2 的分离鉴定及其降解特性[J]. *高校化学工程学报*, 2012(6): 1001-1008.
- HE Xi-pu, LIU Hong-jie, ZHANG Min, et al. Isolation and Identification of phenol-degrading strain F5-2 and its degradation characteristics[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2012(6): 1001-1008.
- [25] 冯钟敏, 胡筱敏, 董怡华, 等. 光合细菌黑暗好氧降解 2-氯酚的特性研究[J]. *环境科学与技术*, 2010, 33(12): 47-51.
- FENG Zhong-min, HU Xiao-min, DONG Yi-hua, et al. Study on

characteristics of photosynthetic bacteria degradation of 2 - chlorophenol by dark aerobic [J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, 33(12): 47-51.

[26] Rath B P, Das S, Mohapatra P K D, et al. Optimization of extracellular chromate reductase production by *Bacillus amyloliquefaciens* (CSB 9) isolated from chromite mine environment [J]. *Bio-*

*catalysis & Agricultural Biotechnology*, 2014, 3(3): 35-41.

[27] 任磊, 史延华, 贾阳, 等. 菌株 *Arthrobacter sp.* CN2 降解对硝基苯酚的特性与动力学 [J]. *环境科学*, 2015(5): 1757-1762.

REN Lei, SHI Yan-hua, JIA Yang, et al. Degradation of *p*-nitrophenol by strain *Arthrobacter sp.* CN2 and its kinetics [J]. *Environmental Science*, 2015(5): 1757-1762.

## Degradation of HMX by Photosynthetic Bacteria *Rhodobacter sphaeroides*

ZHAO Ting-ting, BAI Hong-juan, KANG Peng-zhou, WANG Shou-yan

(School of Environment and Safety Engineering, North University of China, Taiyuan, 030051, China)

**Abstract:** The effects of oxygen supply and illumination, initial concentration of HMX, inoculation quantity, pH value and temperature on the degradation ability of HMX by domesticated *Rhodobacter sphaeroides* H strain were studied. Its kinetic equation of degradation was fitted and analyzed. The optimum conditions for the degradation of HMX by *Rhodobacter sphaeroides* were determined by changing one influencing factor and fixing the other four conditions. The concentration of HMX and the cell amount of *Rhodobacter sphaeroides* were measured by a spectrophotometer. The results show that domesticated *Rhodobacter sphaeroides* can efficiently degrade HMX, *Rhodobacter sphaeroides* H strain can grow commendably and degrade HMX under different conditions of oxygen supply and illumination, and the degradation rate reaches more than 70%. The best degradation condition is anaerobic illumination. The optimum conditions for the degradation of HMX are initial concentration of  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\text{pH} = 7$ , inoculation quantity of 15% and temperature of  $30 \text{ }^\circ\text{C}$ , the degradation rate of HMX is the highest, reaching 88.9%. The degradation process of HMX by *Rhodobacter sphaeroides* is consistent with the first order kinetic equation.

**Key words:** octogen(HMX); *Rhodobacter sphaeroides*; microbial degradation; kinetic equation

**CLC number:** TJ55; X172

**Document code:** A

**DOI:** 10.11943/j.issn.1006-9941.2018.04.011