

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2014.09.010

## 一株微囊藻毒素-LR 降解菌的降解特性<sup>\*</sup>

肖巧巧<sup>1</sup> 尹 华<sup>2\*\*</sup> 叶锦韶<sup>1</sup> 彭 辉<sup>3</sup> 邓庭进<sup>1</sup>

(1. 暨南大学环境工程系, 广州市高校水土环境毒害性污染物防治与生物修复重点实验室, 广州, 510632;

2. 华南理工大学环境与能源学院, 工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室, 广州, 510006;

3. 暨南大学化学系, 广州, 510632)

**摘要** 研究了从某人工湖底泥中筛选出的1株能够降解微囊藻毒素-LR(MC-LR)的菌株JM13的降解特性。实验结果表明, 当加入50 mg·L<sup>-1</sup>淀粉作为外加碳源时, 菌株对初始浓度为0.5 mg·L<sup>-1</sup> MC-LR的降解率可达44.5%; 低浓度重金属Cu<sup>2+</sup>的加入可在一定程度上提高菌株对MC-LR的降解, 降解率可达到44.8%; 随着时间的延长, 菌株对MC-LR的降解率不断增大, 到第10天达到52.6%, 当投入菌龄为36 h的菌悬液时, 降解率可达到55.4%。对该菌株细胞表面疏水性(CSH)的测试结果显示, 在菌JM13细胞表面疏水性最大的情况下(即有机:相水相=3:4时), 添加淀粉及低浓度(0.5 mg·L<sup>-1</sup>) Cu<sup>2+</sup>可以在一定程度上抵御降解过程中细菌表面疏水性的降低, 使菌体细胞能更好地同污染物接触, 从而在一定程度上提高菌株对MC-LR的降解。

**关键词** 微囊藻毒素-LR, 生物降解, 细胞表面疏水性。

## Biodegradation characterization of a microcystin LR degrading bacteria

XIAO Qiaoqiao<sup>1</sup> YIN Hua<sup>2\*\*</sup> YE Jinshao<sup>1</sup> PENG Hui<sup>3</sup> DENG Tingjin<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Water/Soil Toxic Pollutants Control and Bioremediation of Guangdong Higher Education Institutes, Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou, 510632, China; 2. Key Laboratory of Ministry of Education on Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, College of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou, 510006, China; 3. Department of Chemistry, Jinan University, Guangzhou, 510632, China)

**Abstract:** A microcystin-LR (MC-LR) degrading strain JM13 was screened out from an artificial lake sediment in Guangzhou, and its ability in the biodegradation of MC-LR was investigated. The experimental results showed that when adding 50 mg·L<sup>-1</sup> starch as external carbon source, the degradation rate of MC-LR with an initial concentration of 0.5 mg·L<sup>-1</sup> reached 44.5%. The addition of low concentration Cu<sup>2+</sup> improved the degradation rate of MC-LR to a certain degree, with a degradation efficiency of 44.8%. The degradation capability increased with time and reached 52.6% on the 10<sup>th</sup> day. When a bacterial suspension at cell age of 36 h was added into the system, 52.4% degradation efficiency was achieved. The measurement experiment on cell surface hydrophobicity (CSH) change indicated that the addition of starch and low concentration (0.5 mg·L<sup>-1</sup>) Cu<sup>2+</sup> resisted the decrease of CSH to some extent, making it possible for strain JM13 to better contact the contaminant, thus increasing the degradation of MC-LR.

**Keywords:** microcystin-LR, biodegradation, cell surface hydrophobicity.

随着水体富营养化的日益加剧,有毒蓝藻水华在世界范围内频繁发生,蓝藻水华爆发带来的微囊藻毒素污染已成为一个全球关注的环境问题,世界卫生组织(WHO)及我国《生活饮用水卫生规范》均将饮用水中微囊藻毒素-LR(MC-LR)的标准限值设为1.0 μg·L<sup>-1</sup><sup>[1-2]</sup>。微囊藻毒素是一类单环七肽物质,其

2013年12月18日收稿。

\* 国家自然科学基金委-广东联合基金重点项目(U0933002)资助。

\*\* 通讯联系人,E-mail: huayin@scut.edu.cn

中普遍存在且含量最多的是 MC-LR、MC-RR、MC-YR, 这 3 种中又以 MC-LR 的毒性最强<sup>[3]</sup>。MCs 具有水溶性和耐热性, 加热煮沸都不会被破坏; 易溶于水、甲醇和丙酮, 不挥发, 抗 pH 变化, 其化学性质相当稳定, 自然降解过程十分缓慢, 传统的水处理工艺<sup>[4]</sup> 很难将 MC-LR 从水中完全去除。但在自然界中存在着一些微生物, 它们能够产生相关的降解 MCs 的酶<sup>[5]</sup>, 从而对 MCs 有一定的降解作用。目前国内外研究工作大多以分离、鉴定能够高效降解 MC-LR 的纯菌种为主, 已经分离出 40 余株降解菌, 主要包括鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas* sp.)<sup>[6]</sup>, 嗜甲基菌 (*Methylobacillus* sp.)<sup>[7]</sup>, 假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.)<sup>[8]</sup>, 乳酸杆菌 (*Lactobacillus* sp.)<sup>[9]</sup>, 短杆菌 (*Brevibacterium* sp.)<sup>[10]</sup>, 芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.)<sup>[11]</sup>, 青枯菌 (*Ralstonia* sp.), 食酸戴尔福特菌 (*Delftia acidovorans*)<sup>[12]</sup> 等。其中周洁等<sup>[12]</sup> 筛选出的食酸戴尔福特菌是目前报道的降解 MCs 能力最强的菌株。尽管国内外有关去除 MCs 的研究已取得了一些进展, 但尚存一些不足, 水体中 MCs 的含量为  $\mu\text{g}$  级, 筛选出能够降解低浓度 MC-LR 的菌株, 更具有现实意义。

本研究从广州市某发生水华的人工湖底泥中筛选出 1 株能够降解低浓度 MC-LR 的菌种, 探讨了其对 MC-LR 的降解特性, 以期为治理含微囊藻毒素微污染水源水提供一定的科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

MC-LR 降解菌 JM13: 采自广州市某发生水华的人工湖。通过 16S rDNA 比对, 确定微生物样品 JM13 为 *Pseudomonas* sp. (假单胞菌属), 其中与 *Pseudomonas putida* (恶臭假单胞菌) 的 16S rDNA 序列最为相似, 达到 100%。

培养基:蛋白胨 10 g, 牛肉膏 3 g, NaCl 5 g, 双蒸水 1000 mL, pH 7.0—7.2。

无机盐液体培养基: K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 20 mg, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 mg, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 50 mg, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 50 mg, CaCl<sub>2</sub> 50 mg, 双蒸水 1000 mL。

标准品 MC-LR (分子式 C<sub>49</sub>H<sub>74</sub>N<sub>10</sub>O<sub>12</sub>, 分子量: 995.2) 购自以色列 ACROS 公司, 纯度在 95% 以上。标准储备液的配制按国标法配制<sup>[13]</sup>。

降解用 MC-LR: 降解所用 MC-LR 由实验室培养的铜绿微囊藻 (*Microcystis aeruginosa*) 经过 C18 固相萃取柱提取纯化获得。藻种购买于中国科学院武汉水生生物研究所, 藻种号为 FACHB905。

### 1.2 实验方法

外加碳源对 MC-LR 降解的影响: 在 MC-LR 初始浓度为 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 的无机盐体系中, 分别加入 50 mg·L<sup>-1</sup> 的果糖、葡萄糖、蔗糖、乳糖和淀粉, 以不加任何外加碳源为对照, 投菌量 (湿重) 为 1 g·L<sup>-1</sup>。于 30 °C, 130 r·min<sup>-1</sup> 条件下避光振荡降解 5 d 后, 离心取上清液, 过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜后利用 HPLC 检测 MC-LR 的残余量。

重金属对 MC-LR 降解的影响: 在 MC-LR 浓度为 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 的降解体系中分别加入 10 mg·L<sup>-1</sup> 的 Fe<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Cd<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup> 离子, 以不加任何重金属为空白对照, 降解 5 d, 考察不同重金属离子对 MC-LR 降解的影响。考察 Cu<sup>2+</sup> 浓度对 MC-LR 降解率的影响时, 体系中 Cu<sup>2+</sup> 浓度分别设定为 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 mg·L<sup>-1</sup>, 其他条件同上。

菌龄对 MC-LR 降解的影响: 将菌龄为 12、24、36、48、60、72 h 的菌 JM13 配制成菌悬液 (1 g·L<sup>-1</sup>), 分别投加到含有 0.5 mg·L<sup>-1</sup> MC-LR 的无机盐培养基中, 培养方法与检测方法同上。

MC-LR 降解率随时间的变化: 在含有 0.5 mg·L<sup>-1</sup> MC-LR 的无机盐培养基中加入 50 mg·L<sup>-1</sup> 的淀粉溶液以及菌龄为 36 h 的菌悬液, 于 30 °C, 130 r·min<sup>-1</sup> 条件下避光振荡培养, 每天定时取样, 观察 MC-LR 降解率随时间的变化。

降解过程中细胞表面疏水性变化的测定: 将降解体系 (降解体系设置: (1) 菌体细胞空白、0.5 mg·L<sup>-1</sup> MC-LR+菌、50 mg·L<sup>-1</sup> 淀粉+菌、50 mg·L<sup>-1</sup> 淀粉+0.5 mg·L<sup>-1</sup> MC-LR+菌; (2) 0.5 mg·L<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup>+菌、0.5 mg·L<sup>-1</sup> MC-LR+菌、0.5 mg·L<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup>+0.5 mg·L<sup>-1</sup> MC-LR+菌、50 mg·L<sup>-1</sup> Cu<sup>2+</sup>+0.5 mg·L<sup>-1</sup> MC-LR+菌) 于 6000 r·min<sup>-1</sup>、30 °C 离心 10 min, 弃上清液, 菌体用无菌水洗 2 次, 用 pH 7.0 的磷酸缓冲液重悬成 OD<sub>600</sub>=0.53—0.54 的悬浊液。取 8 mL 菌悬液于圆底具塞刻度试管中, 分别加入 1、2、4、6、8、10、12

mL 分析纯二甲苯,以不加二甲苯作为空白对照。室温下剧烈振荡 1 min, 静置分层(约 20 min), 用滴管迅速取出下层水相,于 600 nm 处测定其吸光度<sup>[14]</sup>。CSH 计算公式如下:

$$\text{CSH} = \frac{A_1 - A_2}{A_2} \times 100\%$$

式中,  $A_1$  为空白对照的吸光度值;  $A_2$  为样品的吸光度值。

### 1.3 MC-LR 的提取及分析

将培养在三角瓶中的藻液于 25 ℃, 6000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 获得藻浆, 藻浆用蒸馏水清洗 3 次后收集于平板上, 置于冷冻干燥器中干燥 24 h 获得藻粉。称取 0.2 g 藻粉, 加入 40% 的甲醇, 超声萃取 40 min 后, 于 4 ℃, 6000 r·min<sup>-1</sup> 条件下离心 15 min, 收集上清液, 调节 pH 值至 4.0 左右, 静置 60 min, 使藻胆蛋白等沉淀下来<sup>[15]</sup>, 离心收集上清液, 将 pH 值调回 7.0, 以上步骤重复 2 次, 合并上清液, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 得到 MC-LR 粗提液。用甲醇和高纯水活化 SPE 小柱, 加入 MC-LR 粗提液, 20% 甲醇淋洗小柱, 至淋洗液近无色, 用 10 mL 90% 的甲醇溶液洗脱, 收集洗脱液, 于 60 ℃ 旋转蒸发至干, 2 mL 甲醇定容得到纯化后的 MC-LR, -20 ℃ 保存待用。

MC-LR 的分析采用高效液相色谱法(HPLC)<sup>[16]</sup>, 色谱柱为 WondaSil C18 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇:水(含 0.05% 三氟乙酸)=66:34(V:V), 流速为 1 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温为 25 ℃, 检测波长为 238 nm, 进样量为 20 μL。该方法的 MC-LR 最低检出限(LOD) 为 0.044 μg·L<sup>-1</sup>。

### 1.4 数据分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行实验结果的数据整理和统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 外加碳源对 MC-LR 降解的影响

图 1 显示了有/无外加碳源时 MC-LR 的降解情况。外加碳源均在不同程度上提高了 MC-LR 的降解率。其中, 淀粉的促进作用最为明显, 降解率为 44.5%, 相较于空白体系(33.5%)提高了 24.7%, 而葡萄糖的促进作用最弱<sup>[17]</sup>, 降解率仅提高了 12.8%。由图 1 可见多糖、二糖、单糖对菌 JM13 降解 MC-LR 的影响大小顺序:多糖(淀粉)>二糖(乳糖, 蔗糖)>单糖(葡萄糖, 果糖)。糖类是各种生物体的能量来源, 可作为生物体组成的物质原料, 它们的存在可以不同程度地提高菌体细胞的代谢活性, 促进菌体细胞的生长。淀粉是最为普遍的多糖, 可水解成为二糖, 进而水解为单糖; 乳糖和蔗糖是典型的二糖, 可水解成单糖, 同时是淀粉的酶促分解产物, 具有较高级的结构, 而游离的二糖大多是代谢分解的产物。由此可推测, 淀粉和乳糖, 蔗糖较葡萄糖和果糖更容易作为能量为菌 JM13 所利用, 从而促进降解菌的生长, 达到加速 MC-LR 降解的目的。

### 2.2 不同重金属对 MC-LR 降解的影响

如图 2 所示, 与未添加重金属的降解体系比较, 10 mg·L<sup>-1</sup> Fe<sup>2+</sup> 和 Cu<sup>2+</sup> 的加入均对 MC-LR 的降解具有促进作用, 其中 Cu<sup>2+</sup> 的促进作用更为明显, 降解率达到 44.8%。微生物在生长与繁殖的过程中, 不仅需要 N、P 及 S 等主要营养元素, 还需要铜、镍及锌等微量元素。对于贫相关元素的环境, 相应重金属的介入可以一定程度上促进微生物的生长, 进而促进难降解有机物的生物降解, 这也为许多研究结果<sup>[18]</sup> 所证实。然而, Cd<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup> 的加入对菌体降解 MC-LR 有一定的抑制作用。造成这一结果可能有以下几个原因:(1)某些金属离子在一定浓度下能够影响菌体的生长和代谢能力, 从而抑制其对有机污染物的降解作用<sup>[19]</sup>;(2)重金属还可能与环境中的有机物发生配合作用, 形成配合物。该配合物的生物可利用性可能与目前化合物的不相同。Francis 等<sup>[20]</sup> 从垃圾渗滤液中分离出能降解柠檬酸的一株细菌(*P. fluorescens*), 但当 Cd<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>、Ni<sup>2+</sup> 及 Pb<sup>2+</sup> 等离子与柠檬酸共存时, 会与其形成配合物, 具有很小的生物可利用性, 从而表现出该菌对重金属共存条件下柠檬酸生物降解的抑制;(3)微生物降解有机污染物的实质是其分泌的降解酶对污染物的催化作用, 而某些金属离子对于功能酶活性具有一定的抑制作用, 从而导致菌体降解能力的减弱。Bourne 等<sup>[21]</sup> 发现, 至少有 3 种酶参与了 MC-LR 降解的代谢过程, 其中有两种酶都是金属蛋白酶。由此推测 Cd<sup>2+</sup>、Pb<sup>2+</sup>、Mn<sup>2+</sup> 对菌降解 MC-LR 的抑制作用可能源于这 3 种金属

离子均不是 JM13 降解 MC-LR 相关酶的辅因子,反而其可能对上述金属蛋白酶的活性有一定的抑制作用,最终影响 JM13 对 MC-LR 的降解。此外,周洁等<sup>[22]</sup>对食酸戴尔福特菌 USTB04 生物降解 MCs 活性的研究发现,Mn<sup>2+</sup>对 MCs 的降解具有促进作用,而 Cu<sup>2+</sup>则有一定的抑制作用,这可能是因为酶催化降解 MCs 的机理因菌种类型不同而异。因此,JM13 催化降解 MC-LR 的功能蛋白可能与其他菌株产生的降解酶不同,具体机理还有待于进一步的研究。

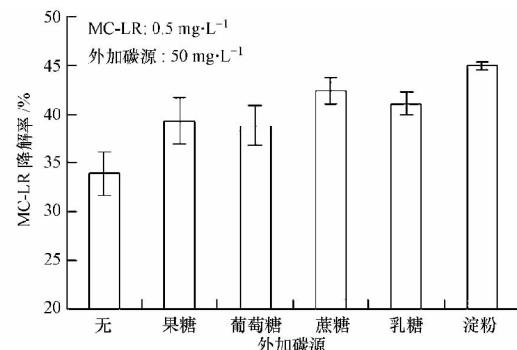


图 1 不同外加碳源对 MC-LR 降解率的影响

**Fig. 1** Effect of different carbon sources on the degradation rate of MC-LR by strain JM13

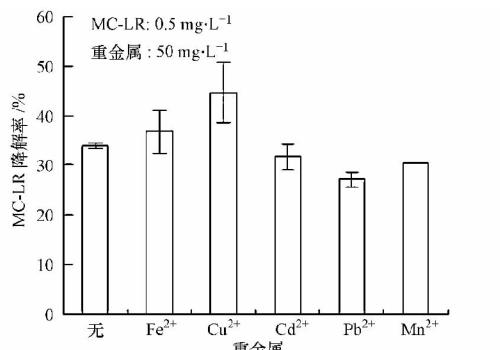


图 2 不同重金属对 MC-LR 降解率的影响

**Fig. 2** Effect of different heavy metals on the degradation rate of MC-LR by strain JM13

图 3、4 分别表示不同 Cu<sup>2+</sup> 浓度对 MC-LR 降解率和 JM13 生长量的影响。结果表明,低浓度 Cu<sup>2+</sup> 的加入可以促进菌体的生长代谢,从而使 JM13 对 MC-LR 的降解率增加。随着体系中 Cu<sup>2+</sup> 浓度的不断增加,菌体细胞受到一定的毒害作用,进而抑制菌的生长,使其对 MC-LR 降解率的促进作用不显著。

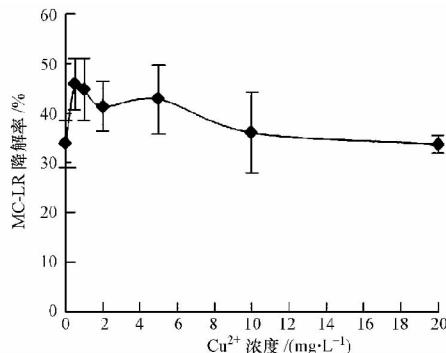


图 3 不同浓度 Cu<sup>2+</sup> 对 MC-LR 降解率的影响

**Fig. 3** Effect of Cu<sup>2+</sup> concentrations on the degradation rate of MC-LR by strain JM13

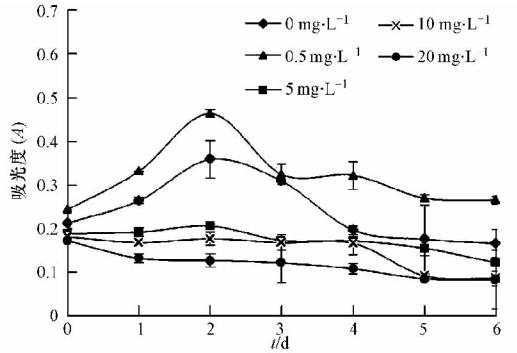


图 4 不同浓度 Cu<sup>2+</sup> 对 JM13 生长量的影响

**Fig. 4** Effect of Cu<sup>2+</sup> concentrations on the growth of JM13

### 2.3 菌龄对 MC-LR 降解的影响

微生物菌龄对 MC-LR 的降解有较大影响(图 5)。菌龄从 24—36 h, MC-LR 降解率都维持在 49% 以上, 菌龄为 36 h 时, 降解效果最佳(55.4%), 此后, MC-LR 降解率随菌龄的延长逐渐降低。出现这种变化的原因在于, 菌龄为 24 h 时, JM13 正处于其对数生长期, 已分泌一定数量的酶, 并且酶活性也处于较为良好的状态; 菌龄为 36 h 时, JM13 分泌的酶数量最多且酶活性最佳, 合成代谢最为旺盛, 因此降解效果最好(图 6)。此后, 随时间的延长, 菌 JM13 逐渐进入稳定期后期及衰亡期, 其分泌与降解 MC-LR 有关酶的能力减弱, 因此 MC-LR 降解率下降。由此可知, 实验中应选择合适的接种时间, 以达到最佳的降解效果。

### 2.4 时间对降解率的影响

如图 7 所示, 随着时间的延长, 菌种对 MC-LR 的降解率不断增加, 第 3 天即达到 36.2%, 此后降解

率的增加趋于平缓,到第 10 天时,降解率达到 52.6%。这与降解体系中菌体生物量变化趋势基本对应。由此可见,菌株 JM13 对低浓度 MC-LR 有较好的去除能力。

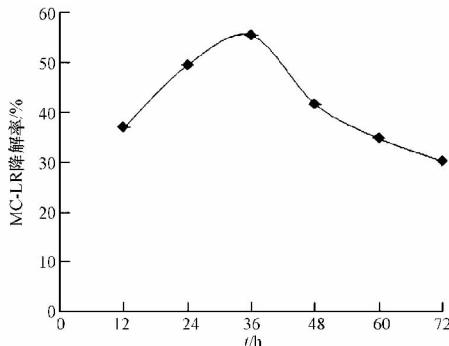


图 5 菌龄对 MC-LR 降解率的影响

Fig. 5 Effect of cell age on the degradation rate of MC-LR by strain JM13

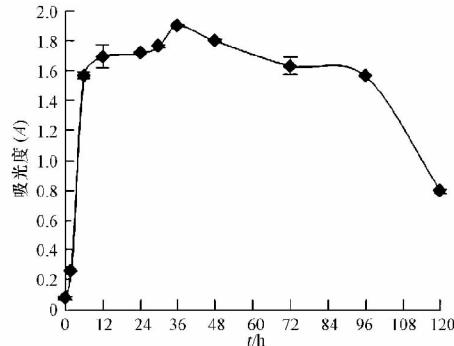


图 6 菌 JM13 的生长曲线

Fig. 6 Growth curve of JM13

## 2.5 细胞表面疏水性变化

### 2.5.1 菌体细胞表面疏水性

图 8 所示为 JM13 细胞表面疏水性 (CSH) 随有机相体积增加的变化。当有机相与水相比不同时,菌体细胞 CSH 呈现随着有机相体积的增加而先增加后减小的趋势。当二甲苯体积为 6 mL, 即有机相与水相的体积比为 3:4 时, 菌体 CSH 达到最大值 (85.4%)。由此可知, 菌体本身具有较高的表面疏水性<sup>[23]</sup>, 可以与有机污染物较好地发生作用, 使其有吸附、降解有机污染物的可能。当二甲苯的加入量过高时, 由于二甲苯本身的毒性, 会对菌体表面产生毒害作用, 导致菌体细胞 CSH 下降。因此, 以下疏水性实验选取有机相与水相(菌悬液)体积比为 3:4。

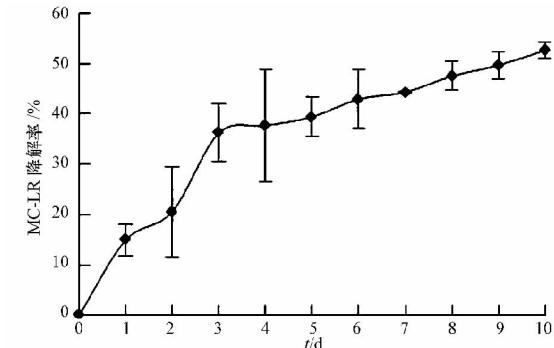


图 7 培养时间对 MC-LR 降解率的影响

Fig. 7 Effect of incubation time on the degradation rate of MC-LR by strain JM13

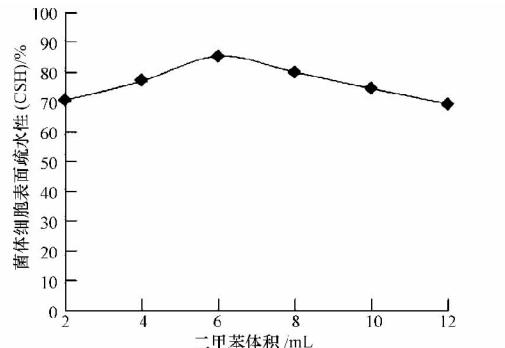


图 8 菌 JM13 细胞表面疏水性随二甲苯体积的变化

Fig. 8 Change of cell surface hydrophobicity of JM13 with xylene

### 2.5.2 污染物对菌 JM13 细胞表面疏水性的影响

疏水性是细菌表面特性之一, 其大小将影响菌体与疏水性有机污染物的接触情况<sup>[24]</sup>。为了解菌体 JM13 与 MC-LR 在接触面上的分配行为, 本实验研究了不同污染体系中 CSH 的变化(图 9)。实验结果表明, 从 4 h 到 72 h, 不同污染体系中菌体的 CSH 变化不很明显, 大致在 73.8%—86.0%, 之后随着降解时间的推移, 菌体 JM13 的 CSH 开始逐渐下降, 其中对照菌体 120 h 后 CSH 下降至 48.2%, 推测可能由于对照体系中碳源等营养物质不足, 随着降解时间的延长, 菌体活性降低, 从而导致其 CSH 降低。单独加入  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  MC-LR 的体系中, 菌体与污染物相互作用, 使细胞表面的某些基团发生了改变<sup>[14]</sup>, MC-LR 与细胞表面憎水基团结合, 占据了菌体表面的疏水区, 从而导致菌体 CSH 明显下降, 120 h 后疏水性

降低到35.4%。淀粉的加入会缓解MC-LR降解过程中菌体CSH的下降,单独加入 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 淀粉及其与MC-LR复合加入的体系中,120 h后菌体的CSH分别为59.7%和63.8%,推测由于淀粉的加入,为降解体系补充了碳源等营养物质,提高了菌体的细胞活性,从而使CSH保持在较高水平。

MC-LR与不同浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 存在下菌体细胞表面疏水性的变化情况如图10所示。加入 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  $\text{Cu}^{2+}$ 会缓解MC-LR降解过程中菌体CSH的下降,单独加入 $\text{Cu}^{2+}$ 以及与MC-LR复合加入的体系中120 h后菌体CSH分别为42.6%和57.9%,这是由于 $\text{Cu}^{2+}$ 是微生物生长代谢的必需元素,它可以与细胞表面的某些活性蛋白结合,激发酶蛋白的催化活性<sup>[25-26]</sup>,改变细胞表面的电荷及膜电位,使细胞表面内外侧的一些亲水/憎水基团发生转化,从而改变细胞表面的疏水性<sup>[26]</sup>,使菌体细胞能更好地同污染物接触,以致在一定程度上提高菌株对MC-LR的降解。结果显示, $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  $\text{Cu}^{2+}$ 与MC-LR单独存在时CSH变化接近,同时存在时CSH高于二者单独存在。

图10还显示不同浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 对菌体CSH的影响不同, $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  $\text{Cu}^{2+}$ 与 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ MC-LR复合体系中菌体CSH比空白对照(即只有MC-LR和菌JM13的体系)菌体CSH略高,但当在这个复合体系中 $\text{Cu}^{2+}$ 浓度升高到 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其菌体CSH最低,既低于空白对照菌体CSH,也低于低浓度( $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) $\text{Cu}^{2+}$ 与MC-LR复合体系中的细胞CSH,以及单独投加低浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 时的CSH。这说明,虽然 $\text{Cu}^{2+}$ 在微生物生理生化过程中有参与酶的组成、调节酶的活性等重要作用,但当其浓度超过微生物生长所需的适应范围时,作为一种重金属,它会改变酶蛋白的活性,破坏细胞的生理生化过程,从而对菌体产生毒害作用。

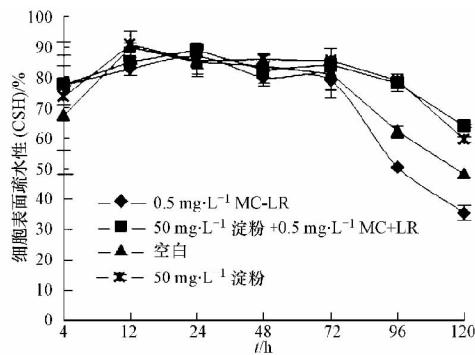


图9 MC-LR与淀粉存在下菌JM13 CSH的变化

Fig.9 Effect of MC-LR and starch on CSH of JM13

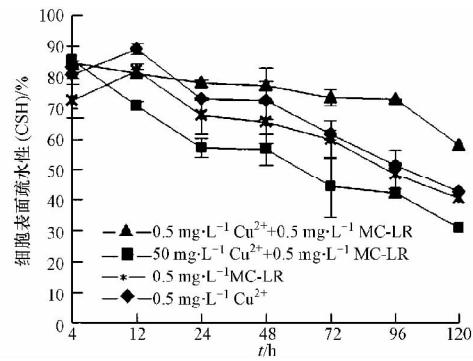


图10 MC-LR与 $\text{Cu}^{2+}$ 存在下菌JM13 CSH的变化

Fig.10 Effect of MC-LR and  $\text{Cu}^{2+}$  on CSH of JM13

### 3 结论

(1) 利用前期已筛选出的1株对MC-LR具有降解作用的菌JM13,该菌对MC-LR的降解率随时间的延长而增加。

(2) 外加碳源和重金属能够不同程度地影响MC-LR的降解率;菌龄对MC-LR的降解率也有较大影响。

(3) 淀粉及低浓度 $\text{Cu}^{2+}$ 可以抵御降解MC-LR过程中菌体细胞CSH的降低,它们作为菌体生长过程中的营养物质以及生长代谢所需的必要元素,提高了细胞活性,使细胞表面内外侧的一些亲水/憎水基团发生转化,从而改变细胞表面的疏水性。

### 参 考 文 献

- [1] WHO. Guide lines for drinking-water quality, 2<sup>nd</sup> edition: Addendum to volume 2-health criteria and other supporting information [S]. Geneva WHO, 1998: 95-110
- [2] 中华人民共和国卫生部.生活饮用水卫生规范 [S]. 2001
- [3] 闫海,潘纲,张明明.微囊藻毒素的研究进展 [J].生态学报,2002,22(11):189-197
- [4] 朱光灿,吕锡武.藻毒素在传统净水工艺中的去除特性 [J].环境化学,2002,21(6):584-588
- [5] 吴鹏飞,王俊峰,陈建,等.微囊藻毒素降解菌的分子鉴定和特性研究 [J].环境科学与技术,2010,33(8):6-10

- [6] Valerla A M, Ricardo E J, Stephan P, et al. Degradation of microcystin-RR by *Sphingomonas* sp. CBA4 isolated from San Roque reservoir (Cordoba-Argentina) [J]. Biodegradation, 2006, 17: 448–455
- [7] Hu L B, Yang J D, Zhou W, et al. Isolation of a *Methylobacillus* sp. that degrades microcystin toxins associated with cyanobacteria [J]. New Biotechnology, 2009, 26 (3/4) : 205–211
- [8] Takenaka S, Watanabe M F. Microcystin-LR degradation by *Pseudomonas aeruginosa* alkaline protease [J]. Chemosphere, 1997, 34: 749–757
- [9] 张茜, 张娟, 堵国成, 等. 具有微囊藻毒素清除能力的乳酸菌的分离筛选及其影响因素 [J]. 应用与环境生物学报, 2012, 18 (5) : 745–751
- [10] Manage P M, Edwards C, Singh B K, et al. Isolation and identification of novel microcystin-degrading bacteria [J]. Applied Environmental Microbiology, 2009, 75 (21) : 6924–6928
- [11] Alamri S A. Biodegradation of microcystin by a new *Bacillus* sp. Isolated from a Saudi freshwater lake [J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9 (39) : 6552–6559
- [12] 周洁, 何宏盛, 闫海, 等. 滇池底泥微生物菌群对微囊藻毒素的生物降解 [J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7 (4) : 30–34
- [13] GB/T 20466—2006. 水中微囊藻毒素的测定 [S]
- [14] 陈烁娜, 尹华, 叶锦韶, 等. 嗜麦芽窄食单胞菌处理苯并[a]芘-铜复合污染过程中细胞表面特性的变化 [J]. 化工学报, 2012, 63 (5) : 1593–1598
- [15] 卫涛, 向铮, 张婧婧. 微囊藻毒素的提取纯化及制备方法研究 [J]. 上海环境科学, 2008, 27 (1) : 17–32
- [16] 李铮, 杜克久, 赵兴茹, 等. 高效液相色谱法测定天然水体中微囊藻毒素方法优化 [J]. 环境化学, 2012, 31 (4) : 545–551
- [17] 吴小燕. 微囊藻毒素降解菌 CJ5 厌氧降解 MC-LR 过程的研究 [D]. 武汉: 武汉理工大学硕士学位论文, 2012
- [18] Lin C W, Cheng Y W, Tsai S L. Influences of metals on kinetics of methyl tert-butyl ether biodegradation by *Ochrobactrum cytisi* [J]. Chemosphere, 2007, 69 (9) : 1485–1491
- [19] Hong H B, Nam I H, Kim Y M, Chang Y S, Schmidt S. Effect of heavy metals on the biodegradation of dibenzofuran in liquid medium [J]. Journal of Hazardous Materials, 140 (1/2) : 145–148
- [20] Francis A J, Dodge C J, Gillow J B. Biodegradation of metal citrate complexes and implications for toxic-metal mobility [J]. Nature, 1992, 356: 140–142
- [21] Bourne D G, Riddles P, Jones G J, et al. Characterisation of a gene cluster involved in bacterial degradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR [J]. Environment Toxicol, 2001, 16: 523–534
- [22] 周洁, 闫海, 何宏盛, 等. 食酸戴尔福特菌 USTB04 生物降解微囊藻毒素的活性研究 [J]. 科学技术与工程, 2006, 6 (2) : 166–170
- [23] Rosenberg M. Bacterial adherence to polystyrene: A replicamethod of screening for bacterial hydrophobicity [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1981, 42 (2) : 375–377
- [24] 赵宇. 十溴联苯醚高效降解菌的筛选、降解性能与机理 [D]. 广州: 暨南大学硕士学位论文, 2013
- [25] Ye J S, Yin H, Mai B X, et al. Biosorption of chromium from aqueous solution and electroplating wastewater using mixture of *Candida lipolytica* and dewatered sewage sludge [J]. Bioresource Technology, 2010, 101: 3893–3902
- [26] Ye J S, Yin H, Qiang J, et al. Biodegradation of anthracene by *Aspergillus fumigatus* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 185: 174–181