

聚合物驱采出水中聚丙烯酰胺的微生物联合降解作用研究

常帆¹ 陈立¹ 陈亮² 田应天³ 陈五岭^{1*}

(1. 西北大学生命科学学院, 西安 710069; 2. 河南工业大学生物工程学院, 郑州 450001;
3. 中石油长庆油田公司第一采气厂, 靖边 718500)

摘要 通过对2株细菌的培养降解实验研究聚丙烯酰胺(hydrolyzed polyacrylamide, HPAM)降解菌对水环境下聚丙烯酰胺的降解作用, 讨论协同降解机理。2株降解聚丙烯酰胺的菌株假单胞菌 CJ419、枯草芽孢杆菌 FA16 在初始 30℃ 废水样品上培养, 定期测量细菌生物量和 HPAM 降解率。培养 30 d 后 CJ419 和 FA16 对聚合物的降解率最大值分别达到 30.4% 和 25%, 而以 1:1 比例的混合菌降解率最大值达到 80.3%。对 2 株菌胞外各组分研究表明: 混合菌降解 HPAM 的机理主要由胞外降解酶系水解聚合物侧链基团导致 HPAM 降解为小分子物质, 同时生长过程中降解菌还会释放非蛋白还原性物质引发氧化反应共同参与 HPAM 降解。

关键词 部分水解聚丙烯酰胺 假单胞菌 枯草芽孢杆菌 复合菌 生物降解机理 胞外酶 还原性物质

中图分类号 X172 文献标识码 A 文章编号 1673-9108(2010)11-2466-07

Study on biodegradation of hydrolyzed polyacrylamide in polymer flooding produced wastewater

Chang Fan¹ Chen Li¹ Chen Liang² Tian Yingtian³ Chen Wuling¹

(1. Life Sciences Institute, Northwest University, Xi'an 710069, China;
2. Bio-Engineering Institute, Henan Industrial University, Zhengzhou 450001, China;
3. CNPC Changqing Oilfield Company No. 1 Gas Plant, Jingbian 718500, China)

Abstract The effect of 2 hydrolyzed polyacrylamide (HPAM) for degrading bacteria was studied in polyacrylamide. HPAM degrading bacteria CJ419 and *Bacillus subtilis* FA16 cultured in wastewater at 30℃. Bacterial biomass and HPAM degradation rate were investigated. After 30 d CJ419 and FA16 maximum polyacrylamide degrading rates were 30.4% and 25%, respectively. Mixed bacteria reached the maximum degradation rate of 80.3%. Biochemical mechanism of degrading HPAM is that HPAM is hydrolyzed into small molecules by extracellular enzyme. Degrading bacteria also release non-protein inducing substances to participate in HPAM degradation.

Key words hydrolyzed polyacrylamide; *Pseudomonas migula*; *Bacillus subtilis*; mixed bacteria; bio-degradation mechanism; extracellular enzyme; reducing substances

部分水解聚丙烯酰胺(hydrolyzed polyacrylamide, HPAM), 是一种油田采油广泛使用的添加剂。在三次采油的过程中, HPAM 作为驱油用的聚合物在采油过程中注入油层, 使原油与水溶液之间流度比下降, 降低水的粘性指数, 从而提高原油采收率^[1]。但污水中含有的 HPAM 不仅会改变水的理化性质, 使原油乳化导致水中含油量增高, 粘度增大且成分复杂难以降解, 同时 HPAM 降解后产生的单体丙烯酰胺也会对人 and 动物的周围神经系统产生不可修复的损害^[2]。如何降解 HPAM 是油田在聚丙烯酰胺驱油中非常关注的问题^[3]。

聚丙烯酰胺在自然条件下自发降解缓慢, 目前认为生物降解是聚合物无害化长效处理的新途径^[4]。近年来有关微生物降解 HPAM 的机理的研究主要集中在水解酶和胞外物质等方面^[5-7], 有研究认为微生物能产生水解 HPAM 中酰胺基的还原

基金项目: 陕西省重大科技创新项目(2009ZKC04-16)

收稿日期: 2009-09-17; 修订日期: 2009-12-07

作者简介: 常帆(1984~), 男, 硕士研究生, 主要从事微生物分离鉴定及生理生化研究工作。E-mail: fox387@163.com

* 通讯联系人, E-mail: wuling.chen@263.net

酶类,参与氧化反应,长链 HPAM 断裂成短链、可被微生物吸收的小分子有机物,用于合成蛋白质等微生物生长必需物质;其他研究还表明一部分微生物能释放非蛋白类还原性物质作用于聚合物,引发氧化反应导致聚合物链断裂;目前对混合微生物的降解机制研究认为,混合生长的微生物可能构成了某种微生物生态系统,各类微生物在系统中相互配合共同作用,而对混合菌具体协同机制有待研究。使用假单胞菌和枯草芽孢杆菌对 HPAM 降解效果进行研究,重点检测两种菌协同生长情况和联合降解效果,并初步探讨了两种菌协同降解聚合物的机理。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌种来源

菌种由陕西长庆 43-1 号油田泥浆池废液和 4-23 号油田废弃泥浆池周围土壤中分别分离筛选得到。查阅《常见细菌鉴定手册》进行形态学观察和生理生化鉴定,通过从平板上菌落形态的观察鉴定细菌群体形态特征;通过革兰氏染色;采用吡啶实验、接触酶反应等分别进行两菌株的生理生化测定。

陕西长庆 43-1 号油田泥浆池废液中分离的菌种革兰氏染色为阴性,菌株细胞呈小杆状,运动;在牛肉膏蛋白胨培养基上为乳白色菌落,光滑。经 16S rDNA 序列进行 PCR 扩增,测序,通过同源性比对确定该菌为假单胞菌(*Pseudomonas migula*),命名为 CJ419,如图 1 所示。

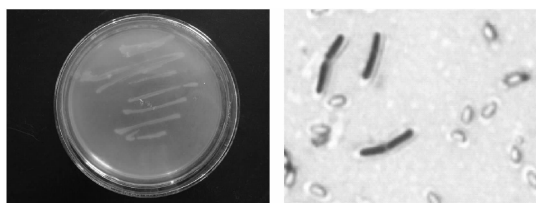


图 1 假单胞菌菌落及显微形态

Fig. 1 *Pseudomonas migula* colony and microscopic morphology

4-23 号油田泥浆池废液中富集分离的菌种革兰氏染色为阳性,菌体为短杆状,在牛肉膏蛋白胨培养基上为白色菌落,菌落不规则生长、表面有褶皱。经 16S rDNA 序列同源性分析鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),命名为 FA16,如图 2 所示。

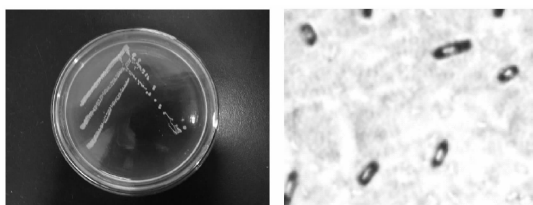


图 2 枯草芽孢杆菌菌落及细胞形态

Fig. 2 *Bacillus subtilis* colony and microscopic morphology

1.1.2 材料与培养基

改进型 API 培养基^[8]。其组成如下:乳酸钠 4 mL, KH_2PO_4 0.02 g, NaCl 10 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 为 0.2 g, 维生素 C 0.2 g, 酵母膏 1.0 g, 模拟水为 1 000 mL 的 1 g/L HPAM。灭菌冷却后加入经紫外灭菌的 $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。

实验原废水样品为陕西长庆油田某污水处理站经过沉降砂滤处理后的出水,水温 35 ~ 40 °C,含烃类物质总量质量浓度 < 10 mg/L,悬浮物 < 10 mg/L, COD 600 ~ 650 mg/L, 聚合物质量浓度 500 mg/L, HPAM 分子量 0.6 ~ 2.0 $\times 10^7$,浊度 30 ~ 80 NTU。

实验用部分水解聚丙烯酰胺分子量 1.7 ~ 2.2 $\times 10^7$,水解度 18.6% ~ 29.3%,高效 pH 范围 4 ~ 13,固含量 $\geq 90\%$,残单 0.05% ~ 0.15%,白色颗粒粉末,由巩义市拓普净水材料有限公司提供。

实验用模拟水成分如下: CaCl_2 0.11 g, NaCl 0.06 g, NaHCO_3 1.38 g, Na_2SO_4 0.07 g, 蒸馏水 1 000 mL。HPAM 降解培养基使用模拟水加入 1 g/L 的高分 HPAM 配制,高分 HPAM 的分子量为 1.7 ~ 2.2 $\times 10^7$ 。

1.2 实验方法

1.2.1 降解菌的活化培养

取出冰箱中存放的从长庆油田现场取样纯化富集的两菌株经 API 培养基活化后以体积比为 2% 的比例接种到 HPAM 降解培养基中^[9],30 °C 恒温培养 24 h 后再按同样比例接种一次,连续活化 4 ~ 5 次,测量菌数至 10^7 cells/mL 以上,取此液作为实验菌液。

1.2.2 对照组设置方法

以 120 °C 灭菌 30 min 的实验废水样品作为对照组。初始温度 30 °C 摇瓶培养 25 d,定期测定 HPAM 质量浓度的变化,同时检测微生物生物量。

1.2.3 假单胞菌单独降解 HPAM 研究

挑取一定量经活化的假单胞菌 CJ419 于 30 °C

条件下在灭菌的实验废水样品中摇瓶培养 25 d, 定期测量细菌生物量的变化; 同时定期检测聚丙烯酰胺质量浓度的变化, 分析假单胞菌在不同生长阶段对 HPAM 降解的情况。

1.2.4 枯草芽孢杆菌单独降解 HPAM 研究

挑取一定量经活化的枯草芽孢杆菌 FA16 于 30℃ 条件下在灭菌的实验废水样品中摇瓶培养 25 d, 测量总菌数的变化; 同时定期检测聚丙烯酰胺质量浓度的变化, 研究枯草芽孢杆菌在不同生长阶段对 HPAM 降解的情况。

1.2.5 假单胞菌-枯草芽孢杆菌联合降解 HPAM 研究

挑取一定量活化的假单胞菌 CJ419 和枯草芽孢杆菌 FA16, 30℃ 条件下 1:1 接种于灭菌的实验废水样品中摇瓶培养 25 d, 测量各菌数随时间的变化; 同时定期检测聚丙烯酰胺质量浓度的变化, 得到混合菌在不同的生长阶段对 HPAM 降解的情况。

使用灭菌的 HPAM 降解培养基作为降解样品平行设置一组混合菌联合降解实验, 其余条件同上实验, 对比混合菌在理想和实际降解环境下的降解行为差异。

1.2.6 联合降解过程中样品中烃类总量变化测定

在联合降解过程中定期测定废水样品中烃类总量的变化, 考察混合菌群对废水样品中残留的烃类物质的降解能力。

1.2.7 降解菌各产物降解能力的测定

将 2 种降解菌分别接种至 100 mL 牛肉膏蛋白胨培养基, 摇瓶培养 48 h 后分作 A1、A2、B1 和 B2 4 份, 制备下列降解菌产物。

(1) 活菌对照: 两菌株菌液 A1、A2 保留作为对照;

(2) 胞外物质: 菌液 B1、B2 于 4 000 r/min 离心 30 min 取上清液, 得到两菌株的胞外物质 C1、C2;

(3) 胞外蛋白产物: 菌液 B1、B2 于 4 000 r/min 离心 30 min 取上清液。上清液加入饱和度 10% 硫酸铵以 12 000 r/min 离心分离沉淀蛋白后, 在原有上清液中继续加入 20%、30% 直至 100% 10 个梯度的硫酸铵。收集 10% ~ 100% 共 10 个硫酸铵梯度的全部盐析产物, 为胞外蛋白产物 B1a、B2a;

(4) 胞外非蛋白产物: 步骤(3)盐析除去蛋白后的上清液样品为胞外非蛋白产物 B1b、B2b;

(5) 胞内蛋白: 步骤(2)离心所获菌体沉淀经磷

酸缓冲液冲洗后超声破碎, 12 000 r/min 离心 10 min 除去细胞碎片后得到两菌株胞内蛋白 B1c、B2c。

将得到的各组分分为以下几组: A1, A2, A1 + A2, B1a, B2a, B1b, B2b, B1a + B2b, B2a + B1b, B1a + B1b + B2b + B2a, B1c, B2c, C1, C2, C1 + C2。

将 HPAM 模拟水溶液加入以上各类菌液、上清液组分, 使溶液最终体积均为 100 mL。38℃ 条件下反应 72 h 后, 测定聚合物平均相对分子量, 以判断各组分解活性。

1.3 分析方法

1.3.1 微生物生物量分析

采用细菌测试瓶绝迹稀释法^[10]研究最大可能菌量, 细菌测试瓶由北京中西远大科技有限公司提供。

1.3.2 HPAM 降解率分析

用 722 型分光光度计测定其吸光度, 绘制质量浓度-吸光度标准曲线, 以此确定溶液中聚丙烯酰胺的质量浓度。采用淀粉-碘化镉方法^[11]测定聚丙烯酰胺的质量浓度, 生物降解率 η (%) 的表达式为:

$$\eta = (\rho_0 - \rho_1) / \rho_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: ρ_0 表示降解前聚丙烯酰胺的质量浓度 (mg/L); ρ_1 表示降解后聚丙烯酰胺的质量浓度 (mg/L)。实验中计算生物降解率时必须扣除空白溶液中因剪切作用而导致的聚丙烯酰胺含量的变化。由(1)式计算聚丙烯酰胺的降解率, 从而得到不同的生长阶段对 HPAM 降解的情况。

1.3.3 相对分子量分析

使用粘度法测量 HPAM 相对分子量^[12]。粘度法测定高分子聚合物相对分子量的经验公式为麦克非 (H. Mark) 线性方程即:

$$[\eta] = KM^a \quad (2)$$

式中, $[\eta]$ 为特性粘度, 或叫极限粘度; M 为平均相对分子量; 在一定温度下, 对一定高分子聚合物-溶剂体系, K 和 a 为常数且可在有关文献中查得。因此, 只要测得特性粘度 $[\eta]$, 就可以根据式(2)计算出高聚物的相对分子量 M 。

1.3.4 烃类物质总量分析

样品中的烃类物质总量测定按照中华人民共和国石油天然气行业标准 SY/T 0530-1993《油田污水中含油量测定方法——分光光度法》使用 722 型分光光度计进行。

2 实验结果与分析

2.1 HPAM 自发降解效果与微生物残留检测

对照组灭菌的实验废水样品经摇瓶培养后,样品中的 HPAM 表现出了自发降解行为,25 d 之内的自发降解效果如图 3 所示。

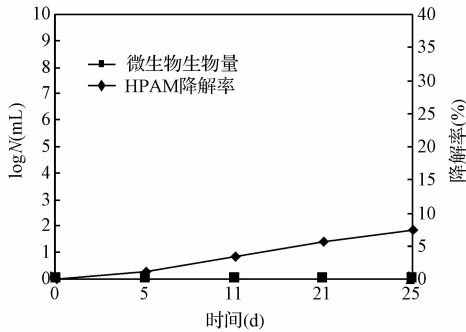


图 3 对照组微生物生物量和 HPAM 自发降解率

Fig. 3 Control group microorganism biomass and HPAM spontaneous degradation rate

灭菌的实验废水样品中 30 °C 时 HPAM 摇瓶自发降解,25 d 降解率可达到 7.4%。过程中未检测到微生物残留。分析在摇瓶培养初期 HPAM 接触一定量的氧气会导致聚合物的氧化降解,同时在摇瓶的过程中 HPAM 液体与瓶壁摩擦,由于流体流动过程中的剪切作用,使 HPAM 发生机械降解,分子量降低。

2.2 假单胞菌单独降解 HPAM 效果分析

假单胞菌 CJ419 于 30 °C 培养条件下在灭菌的实验废水样品中摇瓶培养 25 d,菌株的生长情况与 HPAM 降解的结果如图 4 所示。

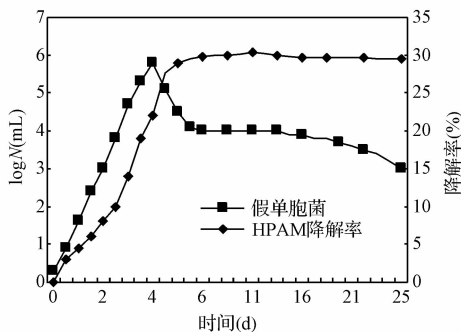


图 4 假单胞菌生长与 HPAM 降解的关系

Fig. 4 *Pseudomonas migula* growth and HPAM degradation rate

细菌经过短暂的迟滞期后迅速进入对数生长期,第 4 d 生长量达到最大值 10^6 个,4 d 后细菌生长曲线回落,因为体系中的营养物质及与细菌生长密切相关的离子等物质因菌体大量生长迅速减少,导致菌体死亡。6 d 达到稳定,进入稳定生长期,在较长时间内维持细菌生长死亡的平衡。稳定后维持在 10^4 个左右,而对 HPAM 的降解率随着菌体生长快速上升,最大可以达到 30.4%。降解率和菌体量并不完全正相关,随着菌体量的下降,降解率还能保持相对稳定。假单胞菌在降解过程中一方面加快聚合物酰胺基水解,增加聚合物链、聚合物分子间的排斥力,另一方面以聚合物为营养源,分泌降解酶破坏聚合物结构,使链分解。

2.3 枯草芽孢杆菌单独降解 HPAM 效果分析

枯草芽孢杆菌 30 °C 条件下在灭菌的实验废水样品中摇瓶培养 25 d,菌株的生长情况与 HPAM 降解的结果如图 5 所示。

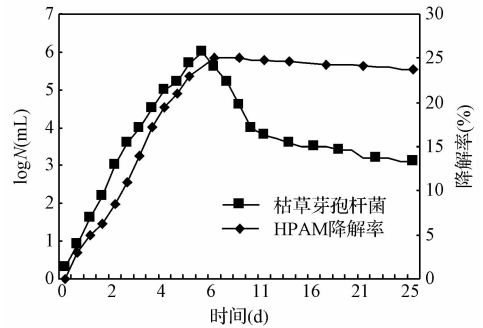


图 5 枯草芽孢杆菌生长与 HPAM 降解的关系

Fig. 5 *Bacillus subtilis* growth and HPAM degradation rate

枯草芽孢杆菌 FA16 接种到废水样品中后经过短暂延滞期后旺盛生长,对数期持续 6 d,最大菌量达到 10^6 个。11 d 达到稳定期,HPAM 降解率随之上升,对 HPAM 的降解率最大达到 25%。分析枯草芽孢杆菌首先向胞外分泌各种水解酶类,分解酶再将高分子链分解成低分子链或使其侧链基团脱落。酶对高分子链的链端进行攻击,而链端常埋藏于聚合物分子线团之中,分解酶只能缓慢地接近作用,所以 HPAM 降解率上升缓慢。

2.4 假单胞菌和枯草芽孢杆菌对 HPAM 的联合降解及石油烃类物质对降解效果的影响

挑取的假单胞菌和枯草芽孢杆菌 1:1 接种于灭菌的实验废水样品中摇瓶共培养 25 d,各个菌株的

生长情况与 HPAM 降解的结果如图 6 所示。

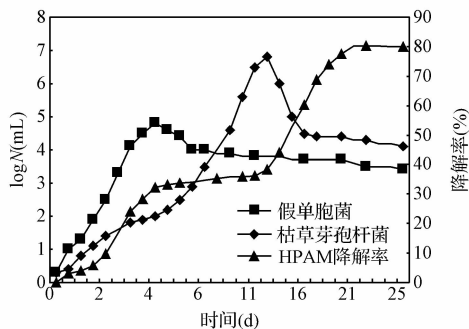


图 6 混合菌生长与 HPAM 降解的关系

Fig. 6 Mixed bacteria growth and HPAM degradation rate

2 种菌共同接入灭菌的废水样品培养基后,表现为 2 种菌生长迟滞期都相对延长,其中假单胞菌初期生长相对迅速,4 d 可达到最大值,但是生物量与假单胞菌单独降解 HPAM 时有明显的下降,最大菌数达 10^5 个。枯草芽孢杆菌生长对数期推迟,在假单胞菌进入衰亡期时枯草芽孢杆菌进入对数生长,11 d 时最大菌数达到 10^7 个。

HPAM 的降解出现 2 个峰值,假单胞菌首先生长降解 HPAM,第 5 d 降解率达到 35.6%,5 d 后假单胞菌与枯草芽孢杆菌共同生长作用降解聚合物,21 d 对 HPAM 降解率达到 80.3%。

混合菌进入系统后假单胞菌首先适应环境快速生长,HPAM 初步降解,产生小分子降解产物。假单胞菌利用小分子物质生长繁殖,释放各种胞外物质促进 HPAM 的进一步降解,降解的结果又为假单胞菌的生长繁殖提供更多的营养物质。假单胞菌对数生长期期间,抑制枯草芽孢杆菌的生长。当假单胞菌进入衰亡期时枯草芽孢杆菌进入对数生长期,一方面是因为假单胞菌大量死亡,枯草芽孢杆菌利用 HPAM 部分降解产物与细胞破碎释放的胞内物质大量繁殖;另一方面,图 6 显示枯草芽孢杆菌生物量与单独生长时相比有明显增加,证明了假单胞菌分泌的代谢产物对其生长有促进作用。

为了考察混合菌株在理想状态下单独对 HPAM 的降解行为,特设置平行实验组使用 HPAM 降解培养基作为降解样品,对联合降解效果在无杂质干扰的情况下进行了考察。平行实验组中混合菌对 HPAM 的降解效果和混合菌生长情况如图 7 所示。

联合降解 25 d 后,假单胞菌 4 d 最大菌数达

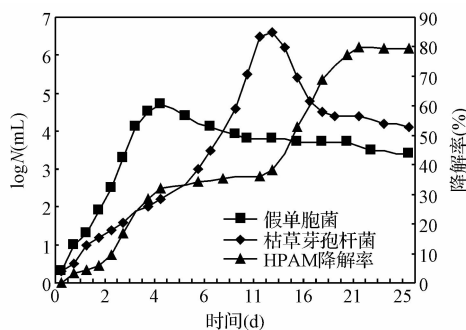


图 7 HPAM 降解培养基中混合菌生长与 HPAM 降解的关系

Fig. 7 Mixed bacteria growth and HPAM degradation rate in HPAM degradation culture medium

10^5 个左右。枯草芽孢杆菌生长 11 d 时最大菌数在 $10^6 \sim 10^7$ 个之间,HPAM 的降解率达到 79.7%。图 7 中菌株联合降解行为与图 6 中降解曲线趋势基本相同,这个结果可以表明,混合菌株在废水样品和理想状态下的降解行为无明显差异,包括烃类物质在内的其他废水中成分对于菌株对 HPAM 的降解效果无明显影响。

实验中同时对联合降解过程中废水样品中烃类物质含量进行了跟踪检测分析,25 d 之内的烃类总量变化结果如图 8 所示。

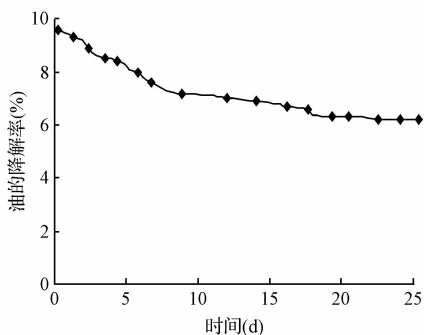


图 8 混合菌降解废水样品中烃类物质的降解率

Fig. 8 Mix fungus hydrocarbon degradation rate in wastewater culture medium

混合菌联合降解 25 d 后,烃类物质质量浓度由降解前的 9.6 mg/L 降至 6.2 mg/L。分析微生物在生长过程中会产生表面活性剂,通过乳化作用增加烃类化合物的溶解度。在 HPAM 降解过程中生长旺盛的菌体在细微油滴周围形成局部的过饱和态,从而使烃类物质与微生物细胞有效接触而被利用,被分解的烃类物质为微生物生长提供了碳源。废水

培养基中烃类物质质量浓度很低(烃类物质总量质量浓度 $< 10 \text{ mg/L}$),而混合菌株对烃类物质有一定程度的降解作用但并不十分显著,因此,烃类物质的降解对联合降解过程没有明显的影响。

2.5 降解菌降解 HPAM 生化机理的研究

测定降解菌发酵液各组成部分对聚合物的作用效果,结果如表 1 所示。2 种菌的胞外物质对 HPAM 的降解效果较好,降解后 HPAM 分子量分别降至 7.0×10^6 和 8.3×10^6 ,而胞内蛋白基本没有作用。

HPAM 溶解在水中时,HPAM 的侧链基团主要为 $-\text{CONH}_2$ 和 $-\text{COO}^-$,在微生物的作用下,一部分 $-\text{CONH}_2$ 基团被微生物分泌的胞外蛋白水解为

$-\text{COOH}$ 和 $-\text{NH}_3$,氨基被微生物吸收为氮源供微生物生长所需,而 $-\text{COOH}$ 进一步电离为 $-\text{COO}^-$ 和 H^+ ,使 pH 降低。同时可以看出细菌菌液胞外无菌体物质的降解能力相当,而胞内蛋白对 HPAM 基本没有降解作用,这证明细菌降解 HPAM 是通过分解胞外物质的方式进行的,而无法将聚合物包裹或吸收到细胞内进行降解。从胞外蛋白产物和胞外物质的降解能力得出,细菌胞外分泌的蛋白不能明显降低聚合物的相对分子质量,降解需要胞外非蛋白产物的共同参与才能完成。当两菌株混合进行降解时,会大大提高降解效果,菌体间协同作用表现明显,所以进一步考察两菌株协同作用下聚合物的降解机理。

表 1 假单胞菌(A1)和枯草芽孢杆菌(A2)各组分对 HPAM 的降解效果

Table 1 *Pseudomonas migula* (A1) and *Bacillus subtilis* (A2) of each component of HPAM degradation

	实验前	细菌菌液		胞外蛋白产物		胞外非蛋白产物		胞外物质		胞内蛋白	
		A1	A2	B1a	B2a	B1b	B2b	C1	C2	B1c	B2c
pH	7.4	6.3	6.5	6.6	6.5	7.1	7.2	6.4	6.3	7.3	7.4
HPAM 相对分子质量 ($\times 10^6$) MW	18.2	4.7	6.1	17.5	17.2	15.8	16.4	7.0	8.3	17.9	17.8

对两菌株不同胞外蛋白及非蛋白组分组合结果如表 2 所示。

表 2 两菌株组分混合对 HPAM 的降解效果

Table 2 Effects of two strains on HPAM degradation

	实验前	A1 + A2	C1 + C2	B1a + B2b	B2a + B1b
pH	7.4	6.1	6.2	6.4	6.6
HPAM 相对分子质量 ($\times 10^6$) MW	18.2	3.2	8.1	8.2	7.9

由表 2 得出结论,两菌混合协同降解时降解能力明显提高,聚合物相对分子质量明显下降,而对 2 种菌不同的胞外蛋白和非蛋白物质组合可以看出,2 种菌的降解效果相当,说明胞外还原酶类的酶解作用和非蛋白物质没有相关性,非蛋白物质中一部分为还原性物质,与 HPAM 自动氧化产生的初级自由基反应,引发连锁自动氧化反应,使 HPAM 的 C—C 键断裂,形成短链聚合物。有菌体的降解组(A1 + A2)降解效果明显高于只有胞外物质的降解组(C1 + C2)。菌液与胞外物质的共同降解实验说明,微生物对聚合物的降解作用主要由胞外酶进行,但微生物体本身也参与了聚合物的降解作用。首先通过

胞外酶的作用,聚合物被降解成小分子物质,降低了分子量,从而被微生物进一步利用转化降解,同时生长迅速的菌体又产生大量的胞外物质促进 HPAM 的降解作用。

推测 2 种菌共同作用机理是:假单胞菌首先优势生长,通过胞外酶和胞外还原性物质部分分解 HPAM,形成的小分子降解产物,为枯草芽孢杆菌生长提供了营养物质。此时短链 HPAM 结构松散,链端从聚合物中露出,枯草芽孢杆菌分泌胞外酶更容易攻击链端导致 HPAM 进一步分解。同时混合菌产生多种胞外非蛋白物质与胞外酶系协同作用,使后期降解效果大大提高。

3 结 论

假单胞菌和枯草芽孢杆菌联合降解 HPAM 的研究显示,2 种菌混合培养 25 d 时降解率可达到 80.3%,远高于假单胞菌 30.4% 和枯草芽孢杆菌 25% 的单独降解率,证明假单胞菌和枯草芽孢杆菌的协同作用可以大大提高废水样品中 HPAM 的降解率。样品中的烃类物质对混合菌的降解行为没有明显影响,而混合菌对烃类物质显示了一定的降解能力。

对2种菌胞外各组分分析研究表明,混合菌对HPAM降解的主要机制是菌体在生长过程中分泌胞外蛋白,2种菌的胞外蛋白组成混合降解酶系协同作用降解HPAM;同时混合菌释放胞外非蛋白产物对HPAM进行自氧化作用,2种降解机制以各自独立的方式协同进行,将聚合物降解为提供混合菌生长的小分子物质。降解菌之间底物的利用关系、协同生长作用有待进一步的研究。

参考文献

- [1] 刘德新,赵修太,邱广敏. 驱油用聚丙烯酰胺降解研究进展. 高分子材料科学与工程, **2008**, 24(9): 27-31
- [2] 高年发,杨磊,魏呐,等. 部分水解聚丙烯酰胺生物降解的初步研究. 天津科技大学学报, **2006**, 21(4): 41-43
- [3] 李宜强,沈传海,景贵成,等. 微生物降解HPAM的机理及应用. 石油勘探与开发, **2006**, 33(6): 738-743
- [4] 李蔚,刘如林,梁凤来,等. 一株聚丙烯酰胺降解菌降解聚丙烯酰胺及原油性能研究. 环境科学学报, **2004**, 24(6): 1116-1121
- [5] 刘永建,郝春雷,胡绍斌,等. 一株聚丙烯酰胺降解菌的降解性能和机理. 环境科学学报, **2008**, 28(11): 2221-2227
- [6] 黄峰,卢献忠. 硫酸盐还原菌在含水解聚丙烯酰胺介质中的生长繁殖. 武汉科技大学学报(自然科学版), **2002**, 25(1): 45-48
- [7] 易绍金. 细菌瓶法用于石油烃降解菌菌数测定. 油田化学, **2001**, 18(4): 372-374
- [8] 田利,邹明珠,许宏鼎,等. 采油污水中部分水解聚丙烯酰胺浓度的测定. 吉林大学学报(理学版), **2003**, 41(2): 224-227
- [9] 郑力会,刘东,万永生,等. 粘度法测量高聚物钻井液处理剂相对分子量的数据处理新方法. 石油天然气学报(江汉石油学院学报), **2007**, 29(2): 117-119
- [10] Mehmetoglu T., Donmez S. Application of microbial enhanced oil recovery technology to a Turkish heavy oil. Applied Microbiology Technology, **1992**, 36(6): 833-835
- [11] 包木太,陈庆国,王娜,等. 油田污水中聚丙烯酰胺(HPAM)的降解机理研究. 高分子通报, **2008**, (2): 1-9
- [12] SY/T-5329-94 碎屑岩油藏注水水质推荐指标及分析方法, **1995**