

固定化农药降解酶对受污染水体的净化作用

林淦 韩萍 吴传兵 (襄樊学院化学与生物科学系, 湖北襄樊 441053)

摘要 以海藻酸钙固定化联苯菊酯降解酶液, 比较了固定化酶与游离酶对联苯菊酯的降解作用效果。结果表明: 理想条件下, 固定化酶的活性相当于游离酶活性的75%。温度、pH值、 Mg^{2+} 等条件的变化对固定化酶活性的影响较游离酶小; 利用2g固定化酶对受50ng/L联苯菊酯污染水体进行处理, 3d后检测, 水体中联苯菊酯的含量降低72%。

关键词 联苯菊酯; 海藻酸钙; 固定化酶; 净化

中图分类号 X171.5 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)17-4371-02

Effect of Immobilized Pesticide Degrading enzyme on the Purification of Polluted Water

LIN Gan et al (Department of Chemistry and Bioscience, Xiangfan University, Xiangfan, Hubei 441053)

Abstract Biphenthrin degrading enzyme was immobilized by Ca-alginate. Degradation ability for biphenthrin was studied between immobilization enzyme and crude enzyme. The results showed that with optimal conditions, immobilized enzyme had 75% vigor of crude enzyme. Temperature, pH and Mg^{2+} had lower influence on immobilized enzyme than that on crude enzyme. After the polluted water with 50 ng/L biphenthrin was treated with 2 grams immobilized enzyme after 3 days Biphenthrin remained 14 ng/L in water.

Key words Biphenthrin; Ca-alginate; Immobilized enzyme; Purification

农药常在环境中以低浓度稳定存在, 生物修复技术可以充分发挥微生物酶的降解能力, 有针对性地去除某种或某类难降解农药^[1]。现已提取到联苯菊酯降解酶液, 依据酶的底物专一性与高效催化性这两大特性, 对联苯菊酯进行了降解研究。由于酶属于蛋白质, 对于酶碱条件及温度都很敏感, 直接投加处理效果有限, 笔者尝试利用固定化技术包埋酶液净化受污染水体, 取得了较好的效果。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 HP6890 气相色谱仪, 美国惠普公司生产; 联苯菊酯降解酶液, 襄樊学院化学与生物科学系实验室提取; 联苯菊酯标样, 北京康林科技有限公司生产; 联苯菊酯乳油, 浙江威尔达化工有限公司生产; 海藻酸钠为化学纯。培养基配制方法见文献[2]。

1.2 联苯菊酯气相色谱测定条件 见文献[3]。

1.3 粗酶液的制备与降解能力的测定 胞内酶粗酶液的制备方法见文献[4]。酶活力测定方法见文献[5]。

1.4 固定化酶的制备 将海藻酸钠溶液与酶液以一定比例混合后, 以20滴/min的速度滴入10% $CaCl_2$ 溶液中, 固定化3h后漏斗过滤, 收集小球, 以无菌水冲洗2次后保存于灭菌袋中备用。

1.5 温度和pH值对固定化酶降解效果的影响 分别改变反应体系温度和pH值, 检测降解酶的活力^[5]。

1.6 Mg^{2+} 对固定化酶降解效果的影响 在处理废水液中添加0.1 ml/L $MgCl_2$, 检测其对酶活力的影响。

1.7 受污染水体的生物修复试验

1.7.1 受试水体的处理。 在pH值为6.8的磷酸缓冲液中加入联苯菊酯乳油, 使得水体中含有50 ng/L的联苯菊酯农药。

1.7.2 受污染水体的生物修复。 取新鲜配制的联苯菊酯农药缓冲液100 ml, 添加2g固定化酶, 于60 r/min的摇床中处理5d, 每24h测定联苯菊酯农药残留量, 确定固定化酶对受

农药污染水体的生物修复作用。

1.7.3 取样及测试方法。 见文献[3]。

2 结果与分析

2.1 粗酶液与固定化酶对联苯菊酯的降解效果

2.1.1 温度对降解作用的影响。 改变反应体系温度(15、20、25、30、35、40、45、50、55、60), 反应时间为6h, 其余测试条件相同, 测定结果见图1。由图1可见, 粗酶液对温度敏感性很高, 当温度升高或降低时, 降解活性下降幅度较大, 而酶经固定化后, 包埋剂提供了相对稳定的内环境, 因此固定化酶具有较好的热稳定性, 在20~50范围内都有较高的活性, 对联苯菊酯的降解率均在20%以上。

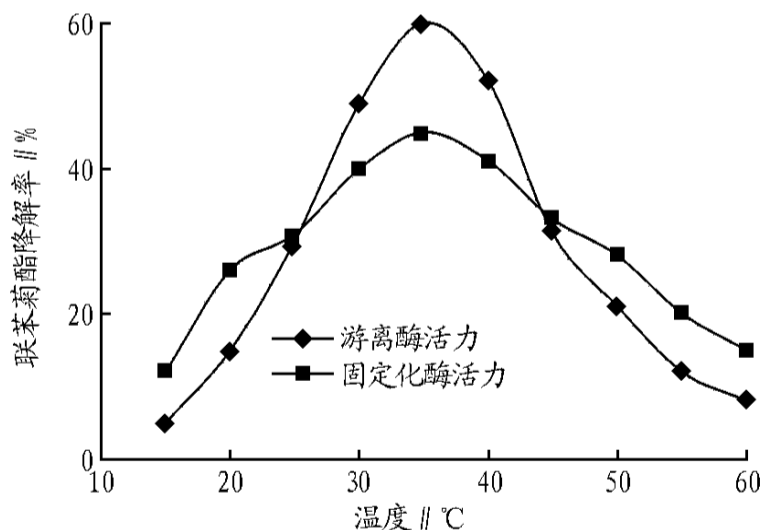


图1 温度对游离酶和固定化酶活力的影响

2.1.2 pH值对降解作用的影响。 改变反应体系pH值(4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0), 反应时间为6h, 其余测试条件相同, 结果见图2。由图2可知, 固定化酶在pH值5~8.5范围内都有较稳定的降解效果, 说明固定化酶对环境酸碱条件的变化耐受性更强, 对联苯菊酯的降解率均在30%以上。

2.1.3 Mg^{2+} 对降解作用的影响。 添加0.1 ml/L $MgCl_2$, 在最优的反应条件(pH值6.8, 35)下反应6h, 测定游离酶和固定化酶的活力, 结果见表1。由表1可知, 固定化酶相对于游离酶对金属离子具有更强的稳定性。

2.2 固定化酶对受试水体的生物修复作用 将制作好的固定化酶小球体2g添加到含有50 ng/L联苯菊酯100 ml液体培养液中, 连续反应5d, 结果如图3所示。由图3可知, 在第

基金项目 湖北省教育厅科学技术研究项目(Q200625003); 襄樊学院基金项目(KJ04043)。

作者简介 林淦(1978-), 男, 福建福州人, 硕士, 讲师, 从事分子生态学研究。

收稿日期 2006-04-09

3 d 即可将受污染水体中联苯菊酯含量降低72%以上。

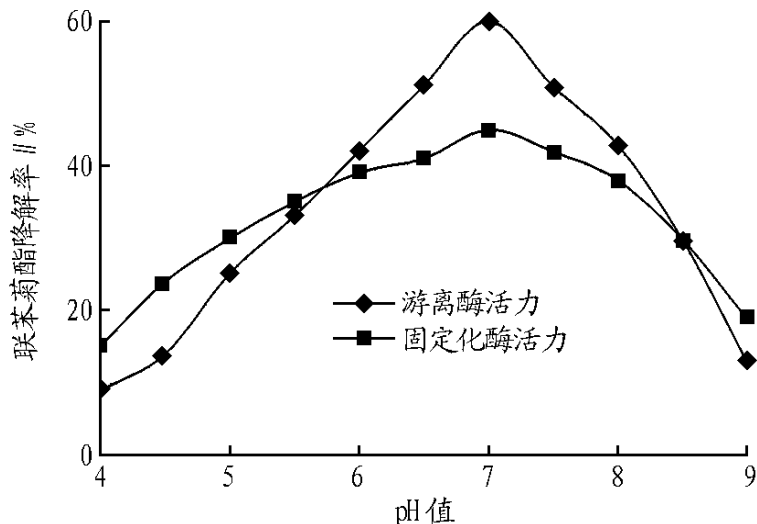


图2 pH 值对游离酶和固定化酶活力的影响

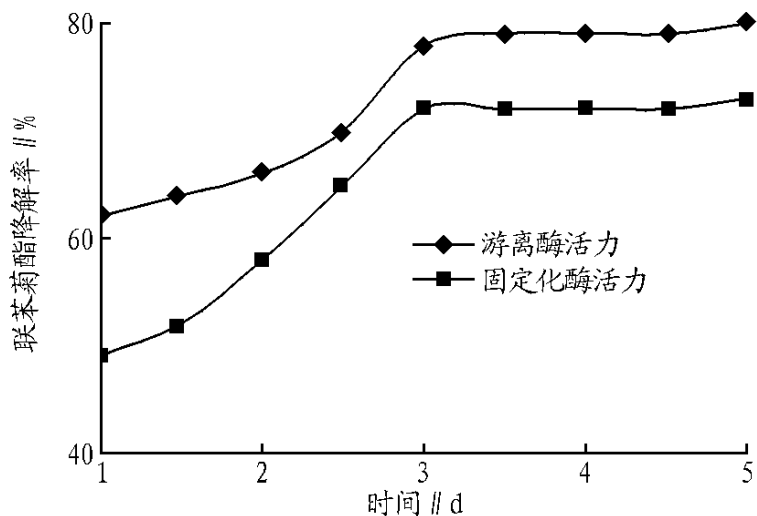


图3 固定化酶和游离酶对受试水体的生物修复作用

3 小结

水体中农药污染的生物修复技术,已经成为该领域研究

表1 Mg^{2+} 对游离酶和固定化酶活力的影响

	Mg^{2+}	联苯菊酯降解率 %
游离酶活力	-	60
	+	43
固定化酶活力	-	45
	+	43

注:- 表示不添加; + 表示添加。

的热点^[6]。该研究采用具有农药降解能力的固定化酶处理联苯菊酯,确定了: 最佳包埋条件为20 滴/min 速度滴入静止状态下的10% $CaCl_2$ 溶液中, 固化时间3 h。固定化酶在20~50 μ m pH 值5~8.5 范围内有较稳定的降解活性,与游离酶液的最适温度相同,最适pH 值相似,在最适条件下固定化酶的活性略低于游离酶液。生物修复试验连续测定3 d,结果表明,其可以降解水体中72%的50 mg/L 的联苯菊酯。

参考文献

- [1] 王兆守, 林淦, 尤民生, 等. 拟除虫菊酯降解菌的分离、筛选及鉴定[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2003, 32(2): 176-180.
- [2] 林淦, 刘法彬. 混合培养微生物降解氯氰菊酯的特性研究[J]. 化学与生物工程, 2005(8): 40-42.
- [3] 林淦, 王兆守, 林海清, 等. 联苯菊酯的酶促降解[J]. 襄樊学院学报, 2005, 26(2): 36-39.
- [4] 林淦, 王兆守, 尤民生. 甲氰菊酯的酶促降解[J]. 化学与生物工程, 2005(3): 13-15.
- [5] 刘玉焕, 钟英长. 真菌的有机磷农药降解酶产酶条件和一般性质[J]. 微生物学通报, 2000, 27(3): 162-165.
- [6] 杨雪梅, 张兰英, 张蕾, 等. 固定化酶在高浓度有机废水处理中的应用[J]. 吉林大学学报: 地球科学版, 2005, 35(3): 398-402.