

地下水土著微生物菌群吸收维生素强化 微生物降解烷烃效率分析

徐威庆¹, 刘婷¹, 王吉利¹, 石宇佳^{1,2}, 迟崇哲², 张玉玲¹

(1. 吉林大学 新能源与环境学院, 长春 130021; 2. 长春黄金研究院有限公司, 长春 130012)

摘要: 针对我国东北某石油污染地下水低温、低氧和寡营养的环境特点, 开展微生物降解烷烃实验. 通过批序静态实验确定刺激土著微生物发挥降解作用的营养基质成分, 考察维生素 B(VB)、维生素 C(VC)和维生素 H(VH)对土著功能降解菌生长及微生物降解烷烃的影响. 实验结果表明: VB₁, VB₃, VC 和 VH 对土著微生物的生长有抑制作用, VB₆ 和 VB₁₂ 促进土著微生物生长; 维生素对微生物降解烷烃影响主要表现为 VB₆, VB₁₂ 和 VH 对烷烃降解在一定程度上有促进作用, 维生素组分优化后烷烃降解率为 73.91%~89.60%, 其中 VB₁₂ 促进作用最明显, 5 μg/L 的 VB₁₂ 促进微生物的生长效果最好; 当地下水中烷烃质量浓度为 10 mg/L 时, 在 10 °C、低氧条件下, 加入高效维生素的最佳营养基质 7 d 时烷烃降解率可达 91.17%; 烷烃的降解规律符合二级降解动力学方程, R² 均大于 0.900; 相比于未受营养基质刺激作用, 当优化后的维生素高效刺激土著菌降解烷烃时, 烷烃优势菌属的相对丰度显著提高.

关键词: 烷烃; 地下水; 生物刺激; 土著微生物; 维生素

中图分类号: X523 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-5489(2024)04-1008-08

Analysis of Efficiency of Vitamin on Enhancing Microbial Degradation of Alkanes by Indigenous Microbial Flora in Groundwater

XU Weiqing¹, LIU Ting¹, WANG Jili¹, SHI Yujia^{1,2}, CHI Chongzhe², ZHANG Yuling¹

(1. College of New Energy and Environment, Jilin University, Changchun 130021, China;

2. Changchun Gold Research Institute Co., Ltd., Changchun 130012, China)

Abstract: In view of the environmental characteristics of low temperature, low oxygen and oligotrophic groundwater polluted by oil in a certain area of Northeast China, an experiment on microbial degradation of alkanes was carried out. We determined the nutrient matrix components that stimulated the degradation of indigenous microorganisms through batch static experiments, and investigated the effects of vitamin B (VB), vitamin C (VC) and vitamin H (VH) on the growth of indigenous functional degrading bacteria and microbial degradation of alkanes. The experimental results show that VB₁, VB₃, VC and VH have inhibitory effects on the growth of indigenous microorganisms, VB₆ and VB₁₂ promote the growth of indigenous microorganisms. The main effects

收稿日期: 2023-11-13. 网络首发日期: 2024-03-08.

第一作者简介: 徐威庆(1998—), 男, 汉族, 硕士研究生, 从事地下水土控制 and 修复的研究, E-mail: 310829074@qq.com.

通信作者简介: 张玉玲(1973—), 女, 蒙古族, 博士, 教授, 从事地下水土控制 and 修复的研究, E-mail: lingling29@126.com;

石宇佳(1998—), 男, 汉族, 硕士, 从事地下水土污染控制 and 修复的研究, E-mail: shiyj1244060668@126.com.

基金项目: 国家重点研发计划项目(批准号: 2020YFC1808804).

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/22.1340.O.20240306.1218.002>.

ofvitamins on microbial degradation of alkanes are that VB₆, VB₁₂ and VH have a promoting effect on the degradation of alkanes to a certain extent, the degradation rate of alkanes is 73.91%—89.60% after the optimization ofvitamin components, among them, VB₁₂ has the most obvious promoting effect, and 5 μg/L VB₁₂ has the best promoting effect on the growth of microorganisms. When the mass concentration of alkane in groundwater is 10 mg/L, the degradation rate of alkanes can reach 91.17% after 7 d of adding the optimal nutrient matrix of high-efficiencyvitamins under 10 °C and low oxygen conditions. The degradation law of alkanes conforms to the second-order degradation kinetic equation, R² is above 0.900. Compared to the non nutrient matrix stimulation, the relative abundance of alkane-dominant bacteria is significantly increased when the optimizedvitamins effectively stimulate the degradation of alkanes by indigenous bacteria.

Keywords: alkane; groundwater; biological stimulation; indigenous microorganisms; vitamin

地下水中的土著微生物广泛分布在地下水体、岩性介质表面和微孔等空间中,以兼性和厌氧微生物为主^[1-2]。由于其长期存在于地下水中,因此对地下环境的适应能力强,当地下水遭受有机污染后,以有机污染物为碳源或辅助代谢物的土著功能微生物常发生定向响应,降解有机污染物,使其在地下水系统中的含量降低。地下水环境具有低温、低氧和寡营养等特点,土著微生物不仅代谢缓慢,而且缺少降解反应发生的必要条件,导致其对有机污染物降解效率低^[3-4]。通过向含水层中投加微生物代谢必需的营养、能量和代谢过程所需的电子供/受体等物质,可强化土著功能微生物代谢能力和菌群丰度,加速烷烃的降解和转化作用,有利于降解地下水中的烷烃^[5-9]。

维生素作为一类生长因子和代谢辅助物质,不仅可提高微生物的代谢活性^[10-11],还能以辅酶的形式广泛参与到微生物的碳、氮、磷等元素的代谢循环途径中^[12]。如维生素C(VC)可以向各种酶促和非酶促反应提供电子,改善铁、钙和叶酸的利用;维生素H(VH)可通过改变细胞膜的通透性,促进谷氨酸向胞外分泌,从而降低了谷氨酸的反馈抑制作用^[13];维生素B₁(VB₁)可以促进碳水化合物和脂肪的代谢,在能量代谢中起辅助酶作用;维生素B₃(VB₃)可以加氢还原和脱氢氧化,在生物氧化过程中发挥递氢体的作用;维生素B₆(VB₆)在蛋白质代谢中参与氨基酸的代谢,可将色氨酸转化为烟酸;维生素B₁₂(VB₁₂)可参与生物DNA的合成并促进甲基化反应,作为辅酶以腺钴胺和甲钴胺形式参与微生物多种重要代谢活动,在许多微生物之间流通和交换,实现对微生物生长与代谢活动的调控^[10,14]。本文以烷烃污染地下水中的土著微生物菌群为研究对象,考察不同种类维生素的生物刺激效果,识别出能刺激土著微生物菌群高效降解烷烃的维生素种类及最佳含量,并分析各种维生素作用下土著微生物菌群的生长情况、烷烃降解效果以及微生物群落的响应特征。

1 实 验

1.1 主要仪器

Trace/ISQ 6890/5973 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo Scientific 公司); U-T3 型紫外可见分光光度计(上海屹谱公司); TGL-20M 型台式高速离心机(湖南湘仪公司); BSD-250 型恒温振荡培养箱(上海博迅实业有限公司); ETC 811 型荧光定量 PCR 仪(北京东胜创新生物科技有限公司)。

1.2 主要材料

维生素试剂:抗坏血酸(VC)、盐酸硫胺(VB₁)、烟酸(VB₃)、吡哆醇(VB₆)、钴胺素(VB₁₂)、生物素(VH)等生化试剂均购于上海国药集团化学试剂有限公司。

石油烃污染地下水:采集于中国东北地区某石油开采区,地下水的水化学类型为 HCO₃-Ca·Na,微偏碱性,pH=6.99~8.36,处于还原状态;溶解氧质量浓度为 0.3~0.7 mg/L,属厌氧环境;地下水中石油烃质量浓度为 10 mg/L,主要由烷烃和芳香烃组成,其中烷烃以 C₁₀~C₃₁ 为代表的正构烷烃、带支链烷烃以及环烷烃为主,芳香烃以菲和萘的取代物为主,除有机污染物外,地下水中还存在严重的 Fe、Mn、NH₃-N 超标问题。

微生物菌群: 石油烃污染地下水中存在的土著微生物菌群, 未进行刻意富集培养.

1.3 研究方法

1.3.1 维生素种类识别与最佳含量

取 58 mL 含有 10 mg/L 的烷烃污染溶液于 60 mL 密闭棕色玻璃瓶中, 分别加入不同种类的维生素, 使 VC, VB₁ 和 VB₃ 的质量浓度分别为 25, 50, 100, 200 μg/L, VB₆, VB₁₂ 和 VH 的质量浓度分别为 5, 10, 25, 50 μg/L. 同时设置空白对照组(有微生物和石油烃, 不添加维生素)和无菌对照组(有维生素和石油烃, 无微生物). 所有处理设置 3 个平行样, 在 10 °C 的黑暗环境中, 以 120 r/min 振荡培养, 7 d 后测定各样品中微生物量和石油烃质量浓度. 地下水中微生物量由紫外分光光度计测定 OD₆₀₀ 值确定. 石油烃质量浓度采用气质联用仪进行测试, 测试条件: 进样器和检测器的温度分别为 300, 330 °C, 进样量 0.2 μL, 载气为氦气, 流速 20 mL/min, 不分流进样. 使用 DB-624 色谱柱(20 m × 0.18 mm, 1.00 μm)进行分离, 先 60 °C 保持 2 min, 10 °C/min 上升至 250 °C, 保持 2 min, 以 20 °C/min 上升至 280 °C, 保持 10 min, 再继续以 30 °C/min 上升至 300 °C, 保持 30 min, 烷烃碎片设置为 57, 71, 85^[15].

1.3.2 维生素生物刺激效果分析

取 58 mL 含有 10 mg/L 的烷烃污染溶液于 60 mL 密闭棕色玻璃瓶中, 加入 1.3.1 节获得的最佳维生素组分, 同时设置空白对照组和无菌对照组, 所有处理设置 3 个平行样, 在 10 °C 的黑暗环境中, 以 120 r/min 振荡培养, 分别在第 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 天的相同时刻测定地下水中微生物量和石油烃质量浓度, 分别对维生素投加前、投加后 7 d 的地下水样本进行 16S rRNA 测序, 分析维生素投加下石油烃污染地下水中的土著微生物群落响应特征.

2 结果与讨论

2.1 维生素刺激下土著微生物生长状况

以最佳无机盐成分为基础进行维生素优化, 维生素刺激下微生物群落在 7 d 时的生长状况如图 1 所示. 由图 1 可见, VB₁, VB₃, VC 和 VH 对土著微生物的生长有抑制作用, 抑制程度由强到弱为 VC > VB₃ > VH > VB₁. 石油烃降解菌通常依赖氧化石油烃获得碳源和能量, 此类微生物使用氧化酶将石油烃氧化为可代谢产物, 从而实现石油烃分解^[16]. VC 具有抗氧化能力, 可中和氧化剂, 抑制氧化反应, 当 VC 存在于石油烃污染的地下水时, 可能会干扰土著微生物的氧化作用, 抑制它们对石油烃的降解过程; VB₃ 经代谢会生成尼克酸和尼克酸的衍生物, 这些代谢产物在高浓度下可对微生物产生毒性作用, 干扰它们的生长和代谢过程, 说明 VB₃ 会抑制微生物生长. 土著微生物的生长状况与 VB₁, VC 和 VH 质量浓度之间没有明显的相关性, 但与 VB₃ 的质量浓度在一定程度上呈负相关, 即随着 VB₃ 质量浓度的增加, 微生物的 OD₆₀₀ 值逐渐减小. 高质量浓度的 VB₃ 对一些微生物具有毒性, 当微生物环境中 VB₃ 的质量浓度过高时, 可干扰微生物的细胞代谢和生长, 导致微生物受到损害. VB₆ 和 VB₁₂ 对微生物的生长有促进作用, VB₁₂ 参与微生物 DNA 的合成和促进甲基化反应^[17], 可提高微生物对不同营养物质的利用能力, 从而实现促进微生物快速生长. 随着 VB₆ 和 VB₁₂ 质量浓度的增加, 土著

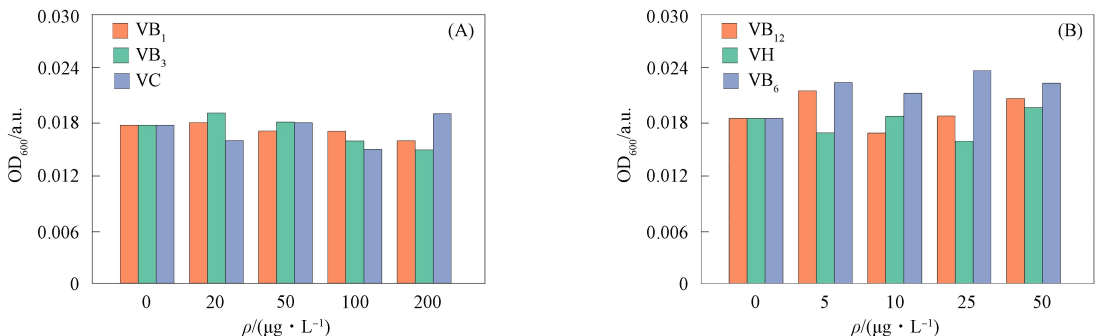


图 1 维生素刺激下微生物生长状况

Fig. 1 Microbial growth undervitamin stimulation

微生物的 OD₆₀₀ 值呈先增大后减小再增大最后趋于稳定的状态. VB₆ 和 VB₁₂ 在微生物中具有抗氧化作用, 有助于减轻氧化应激对微生物的不利影响, 对在降解石油烃的环境中生存和生长的土著微生物起重要作用. 5 μg/L VB₁₂ 和 25 μg/L VB₆ 条件下的微生物生长情况 (OD₆₀₀ = 0.020 92, 0.023 30) 相对较好, 表明 VB₁₂ 和 VB₆ 在这两个质量浓度下可能对微生物的生长有积极影响, 综合考虑经济成本, 选择 5 μg/L VB₁₂ 为最佳维生素质量浓度.

2.2 维生素刺激下土著微生物对正构烷烃降解效果的影响

维生素刺激下微生物降解烷烃规律如图 2 所示.

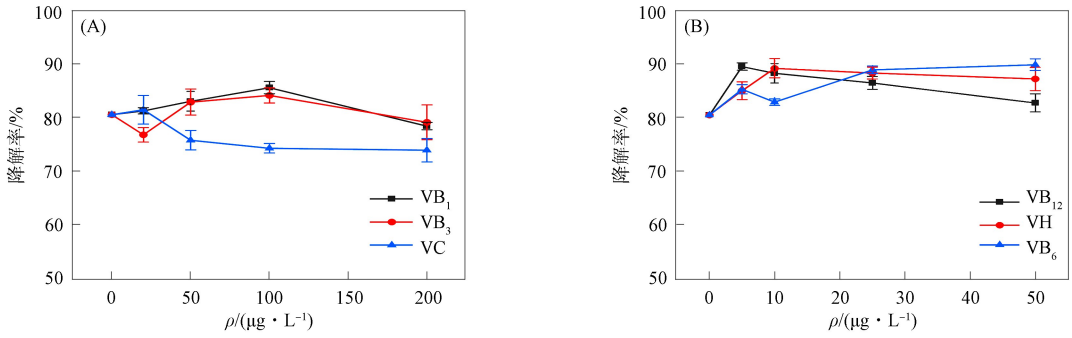
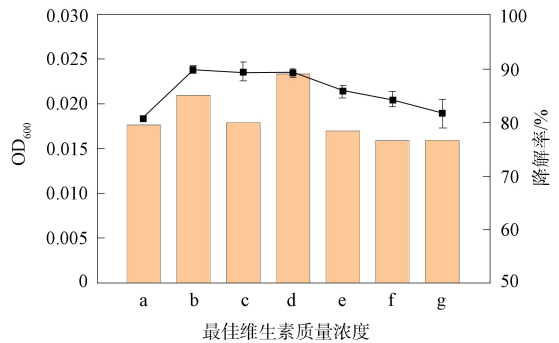


图 2 维生素刺激下微生物降解烷烃规律

Fig. 2 Microbial degradation of alkanes undervitamin stimulation

由图 2 可见, 添加维生素对正构烷烃的降解率有影响, 在不同维生素的不同质量浓度条件下, 降解率存在差异, 随着维生素质量浓度的增加, 正构烷烃的降解率一般呈上升趋势. 不同质量浓度的 VB₁, VB₃ 和 VC 刺激微生物降解正构烷烃的降解率为 73.91%~85.56%, 其中 100 μg/L VB₁ 条件下的正构烷烃降解率最高, 表明维生素 VB₁ 对正构烷烃降解具有显著的促进作用, 200 μg/L VC 条件下的正构烷烃降解率最低, 比未添加维生素略低, 可见 VC 有抑制作用, 这是由于微生物降解烷烃的营养基质主要通过各种无机盐参与, VC 在中性和碱性条件下, 易受光线、金属离子铁和铜的影响而被破坏所致. 因此, VC 对正构烷烃降解无明显影响^[18]. 虽然 VB₁ 对微生物的生长和代谢通常是必需的, 但在大多数自然环境中, 微生物可获得足够的 VB₁ 满足其生长需求, 而无需额外供应, 说明 VB₁ 的供应通常不会成为限制微生物降解石油烃的因素. 5 μg/L VB₁₂, 10 μg/L VH 和 25 μg/L VB₆ 条件下的降解率分别为 89.60%, 89.27% 和 88.97%, 说明 VB₁₂, VH 和 VB₆ 在特定质量浓度下对正构烷烃降解在一定程度上有促进作用. VB₁₂ 促进作用最明显, 主要原因为: 1) VB₁₂ 是以辅酶的形式存在, 它可增加叶酸的利用率, 促进脂肪、碳水化合物和蛋白质的新陈代谢, 进而促进土著微生物的生长, 提高烷烃降解率; 2) VB₁₂ 含有钴元素, 钴是一些微生物酶的辅因子, 这些酶在降解石油烃的过程中发挥作用, 适量的 VB₁₂ 可作为钴的来源, 有助于维持此类酶的活性, 提高微生物降解石油烃的能力^[10,19]. 石油烃降解菌通常具有多样的代谢途径, VB₆ 可能促进了这些不同代谢途径中酶的活性, 从而提高了微生物对多种石油烃的降解效率.

最佳质量浓度维生素刺激下微生物生长状况和降解烷烃规律如图 3 所示. 综合土著降解菌的生长规律、烷烃降解效果以及经济成本, 5 μg/L VB₁₂ 的效果相对最好, 维生素组分优化后烷烃降解率为 73.91%~89.60%, 综上考虑选用 5 μg/L VB₁₂ 作为微生物生长营养基质的成分.



a. 未添加维生素; b. 5 μg/L VB₁₂; c. 10 μg/L VH; d. 25 μg/L VB₆; e. 100 μg/L VB₁; f. 100 μg/L VB₃; g. 20 μg/L VC.

图 3 最佳维生素质量浓度刺激下微生物生长状况和降解烷烃规律

Fig. 3 Microbial growth and degradation of alkanes under stimulation of optimal mass concentration vitamins

2.3 维生素刺激下微生物生长过程及石油烃降解特征

2.3.1 维生素刺激下微生物生长过程

维生素刺激前后土著微生物菌群生长和烷烃降解规律如图 4 所示. 由图 4(A)可见: 微生物刺激前, 0~2 d 时微生物快速生长, OD_{600} 值逐渐升高, 第 2 天达到 0.0167, 表明前期养分充足, 有利于微生物大量繁殖, 处于对数增长期, 之后 OD_{600} 值变化较小, 说明微生物处于稳定增长期; 维生素刺激后, 微生物在 0~2 d 内快速生长, 菌密度大幅度提升, 与维生素刺激前微生物生长规律相似, 但土著微生物菌群生长速度更快, OD_{600} 值达到 0.0273, 是营养基质优化前的 1.63 倍. 由图 4(B)可见: 维生素刺激前, 在降解初期降解率迅速提高, 大约 3 d 达到稳定, 7 d 微生物对烷烃的降解率为 49.82%~51.39%, 说明基础营养盐能有效刺激土著微生物菌群增长, 持续发挥降解烷烃作用; 维生素刺激后, 降解规律与刺激前相似, 在降解初期降解率迅速提高, 约 3 d 基本达到稳定, 与微生物生长曲线相符, 7 d 微生物降解烷烃的降解率约为 91.17%, 表明基础营养盐能有效刺激土著微生物菌群增长, 持续发挥降解烷烃作用, 随着土著菌量的增加, 烷烃降解效率增加.

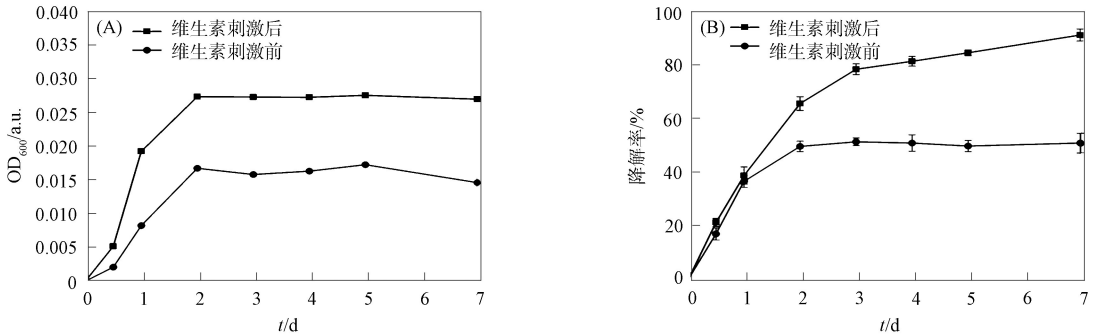


图 4 维生素刺激前后微生物生长状况(A)和降解烷烃规律(B)

Fig. 4 Microbial growth (A) and degradation of alkanes (B) before and after vitamin stimulation

2.3.2 维生素刺激下土著微生物菌群对石油烃的降解特征

用烷烃质量浓度和降解时间拟合降解动力学方程, 结果列于表 1. 由表 1 可见, 微生物对烷烃的降解过程符合二级动力学方程^[20], R^2 均大于 0.900, 拟合曲线如图 5 所示.

表 1 土著微生物降解烷烃动力学规律拟合结果

Table 1 Fitting results of kinetic law of degradation of alkanes by indigenous microorganisms

物质	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀
K	6.759 0	2.748 8	3.640 8	2.520 4	1.797 7	0.523 0	5.065 4	7.815 8	5.064 4	6.561 1	8.317 2
R^2	0.926 4	0.902 5	0.908 4	0.917 2	0.941 3	0.907 6	0.917 9	0.922 1	0.921 5	0.934 8	0.904 1
物质	C ₂₁	C ₂₂	C ₂₃	C ₂₄	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁
K	3.172 7	2.057 3	1.123 9	0.639 5	0.974 3	4.607 6	11.466 0	17.648 0	14.657 0	6.436 8	2.229 0
R^2	0.929 3	0.912 5	0.930 9	0.949 5	0.928 2	0.940 0	0.922 7	0.956 0	0.963 4	0.900 9	0.912 9

2.3.3 维生素刺激下土著微生物群落响应特征分析

微生物质量浓度和 Alpha 多样性指数列于表 2. 由表 2 可见, 经最佳维生素刺激后(A1), 微生物质量浓度为 2.28 mg/L, 而原生地下水中的微生物质量浓度为 0.56 mg/L, 增加了 3.07 倍, 表明优化后的维生素对微生物生长有显著促进作用, 提供了更多种类和量的营养物质, 为不同类型的土著微生物提供了更多的资源, 使它们更容易找到所需的营养物质, 从而促进其生长和繁殖. Chao 值为 108.59、Ace 值为 118.59, 物种总数减少, 原因是不同微生物种群之间存在竞争和合作作用, 而优化后可能会改变这些相互作用的动态, 对某些微生物的生存和繁殖产生积极或消极影响, 表明营养基质对土著微生物菌群的组成具有选择性. Shannon 指数为 1.86、Simpson 指数为 0.32, 说明优化后生物多样性降低, 通常提供更多种类和量的营养物质后, 微生物之间的竞争更激烈, 某些微生物可能更有效地利用这些资源, 而其他微生物在竞争中受到排挤, 只有少数种类能在激烈的竞争中存活, 最终导致微生物群体的多样性降低, 与 Chao 值和 Ace 值的结果一致. 在烷烃降解反应发生后(A2), 微生物

的质量浓度为 9.54 mg/L, 是降解前的 4.18 倍, A2 的操作分类单位(OTUs)数量也增加, 表明土著微生物的物种总数增加, 菌群多样性提高, 说明烷烃降解反应对微生物菌群的丰富度有积极促进作用。

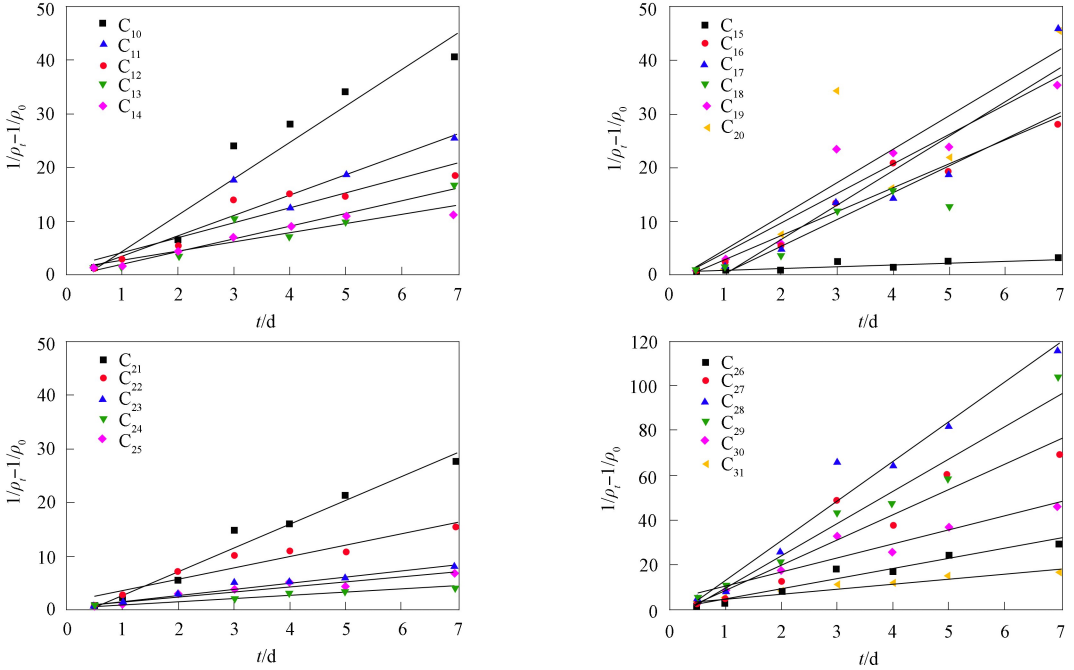


图 5 烷烃 C₁₀ ~ C₃₁ 的二级降解动力学方程拟合规律

Fig. 5 Fitting law of second-order degradation kinetic equations of alkanes C₁₀—C₃₁

表 2 微生物质量浓度和 Alpha 多样性指数统计数据

Table 2 Statistical data of microbial mass concentration and Alpha diversity indexes

样品	质量浓度/(mg · L ⁻¹)	数量	OTUs	Shannon	Chao	Ace	Simpson
A1	2.28	26 394	95	1.86	108.59	118.59	0.32
A2	9.54	48 626	159	2.93	159.75	159.86	0.11

图 6 为维生素刺激前后土著微生物菌群的相对丰度。由图 6(A)可见, 门水平下, 在石油烃降解过程中, 由于不同微生物种类的生长和代谢反应, 可能会导致某些菌门的相对丰度增加, 而其他菌门的相对丰度减少, 因此这种变化可反映不同微生物群体的相对活跃性和适应性。维生素刺激后 *Proteobacteria* (变形菌) 菌群相对丰度为 38.58%, *Firmicutes* (厚壁菌) 菌群相对丰度为 58.19%, 说明营养基质优化后改变了土著菌的菌群丰度, *Firmicutes* 高于 *Proteobacteria* 对营养基质的响应程度, *Proteobacteria* 和 *Firmicutes* 菌门包含较多常见的石油烃降解菌, 表明营养基质配方能成功刺激出具

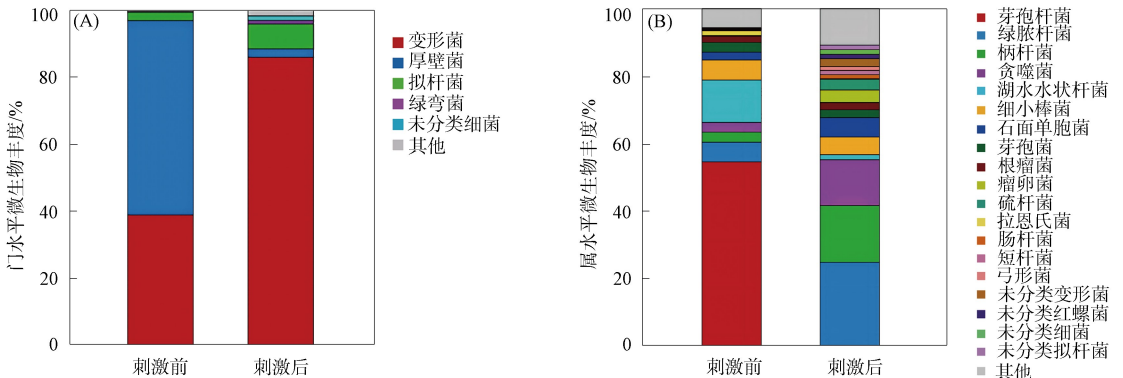


图 6 维生素刺激前后土著微生物菌群的相对丰度

Fig. 6 Relative abundance of indigenous microbial flora before and after vitamin stimulation

有石油烃降解能力的土著微生物. 在烷烃降解反应发生后多样性增加, *Proteobacteria* 菌群相对丰度为 85.85%, 相对丰度显著增加, 表明它们在降解过程中的活性显著提高, 在降解石油烃的过程中, 优势菌门由 *Firmicutes* 和 *Proteobacteria* 变为 *Proteobacteria* 和 *Bacteroidetes* (拟杆菌). *Proteobacteria* 在石油烃降解过程中生物活性被激发, 发挥主导降解作用. *Proteobacteria* 菌群在石油烃降解中的高相对丰度反映了它们在该过程中的重要性.

由图 6(B)可见, 属水平下, 经维生素刺激后, *Bacillus*(芽孢杆菌)菌群的相对丰度为 54.56%, *Aquabacterium*(湖水水状杆菌)菌群的相对丰度为 12.58%, 与维生素刺激前相比, 菌群相对丰度发生了显著变化, 表明营养基质优化后刺激了土著烷烃降解菌的活性. 在烷烃降解反应发生后, 菌群多样性增加, 主要以 *Pseudomonas*(绿脓杆菌), *Caulobacter*(柄杆菌)和 *Variovorax*(贪噬菌)为优势菌属, *Pseudomonas*, *Caulobacter* 和 *Variovorax* 等菌属是常见的烷烃降解菌属, 它们在烷烃降解中具有较高的降解能力, 这些菌属在刺激后相对丰度增加, 从而增加了它们在微生物群体中的重要性. 优化的营养基质可能提供更多种类和数量的营养物质, 有助于支持优势菌属的生长和代谢, 它们在烷烃降解过程中的生物活性被激发, 证明了营养基质对刺激土著降解菌生长的可靠作用, 适量营养物质的供应会激发优势菌属的生物活性, 从而促进烷烃降解过程.

3 结 论

1) 在最佳营养基质基础上, 向石油污染地下水中添加不同种类和质量浓度的维生素进行 7 d 生物修复, 发现不同种类维生素对石油烃生物降解刺激效果不同. VB_1 , VB_3 , VC 和 VH 对微生物的生长有抑制作用, VB_6 和 VB_{12} 对微生物的生长有促进作用, VC , VB_1 和 VB_3 对正构烷烃降解率无明显影响, VB_6 , VB_{12} 和 VH 在一定程度上促进了正构烷烃的降解.

2) 当地下水中烷烃质量浓度为 10 mg/L 时, 在 10 °C、低氧条件下, 加入 5 $\mu\text{g/L}$ 维生素 VB_{12} 的最佳营养基质, 7 d 时烷烃降解率可达 91.17%, 烷烃的降解规律符合二级降解动力学方程, R^2 均大于 0.900.

3) 加入最佳营养基质后, 菌群相对丰度显著提高, 表明加入高效维生素后的营养基质刺激了土著烷烃降解菌的活性, 生物活性在烷烃降解过程中被激发, 证明了营养基质对刺激土著降解菌生长的可靠作用.

参 考 文 献

- [1] WANG J L, ZHANG Y L, WANG X, et al. Natural Polysaccharide Polymer Network for Sustained Nutrient Release to Stimulate the Activity of Aromatic Hydrocarbon-Degrading Indigenous Microflora Present in Groundwater [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 892: 164669-1-164669-15.
- [2] WANG J L, ZHANG Y L, DING Y, et al. Comparing the Indigenous Microorganism System in Typical Petroleum-Contaminated Groundwater [J]. *Chemosphere*, 2023, 311: 137173-1-137173-14.
- [3] OMOIKE A I, HADMON D. Slow-Releasing Permanganate Ions from Permanganate Core-Manganese Oxide Shell Particles for the Oxidative Degradation of an Algae Odorant in Water [J]. *Chemosphere*, 2019, 223: 391-398.
- [4] WANG J L, ZHANG Y L, DING Y, et al. Analysis of Microbial Community Resistance Mechanisms in Groundwater Contaminated with SAs and High NH_4^+ -Fe-Mn [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 817: 153036-1-153036-14.
- [5] LI J, MA N, HAO B Y, et al. Coupling Biostimulation and Phytoremediation for the Restoration of Petroleum Hydrocarbon-Contaminated Soil [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2022, 25(6): 706-716.
- [6] SHIHI A, AYDIN S, INCE B, et al. Reconstruction of Bacterial Community Structure and Variation for Enhanced Petroleum Hydrocarbons Degradation through Biostimulation of Oil Contaminated Soil [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2016, 306: 60-66.

- [7] SHIHI A, AYDIN S, INCE B, et al. Evaluation of Microbial Population and Functional Genes during the Bioremediation of Petroleum-Contaminated Soil as an Effective Monitoring Approach [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 125: 153-160.
- [8] WU M L, WU J L, ZHANG X H, et al. Effect of Bioaugmentation and Biostimulation on Hydrocarbon Degradation and Microbial Community Composition in Petroleum-Contaminated Loessal Soil [J]. *Chemosphere*, 2019, 237: 124456-1-124456-8.
- [9] ZENELI A, KASTANAKI E, SIMANTIRAKI F, et al. Monitoring the Biodegradation of TPH and PAHs in Refinery Solid Waste by Biostimulation and Bioaugmentation [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2019, 7(3): 103054-1-103054-7.
- [10] 石丽华. 维生素 B₁₂ 类似物对食品微生物的抑菌机理研究 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018. (SHI L H. Antibacterial Mechanism of Vitamin B₁₂ Analogues in Food Microbes [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2018.)
- [11] 欧阳经鑫, 李秋粉, 周华, 等. 维生素 B₆ 的生物学功能及其抗炎作用机制 [J]. *动物营养学报*, 2023, 35(5): 2738-2747. (OUYANG J X, LI Q F, ZHOU H, et al. Biological Function and Anti-inflammatory Mechanism of Vitamin B₆ [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(5): 2738-2747.)
- [12] 吴小杰, 左凯梯, 刘艳丽. 维生素对微生物絮凝剂 REA-11 合成的影响 [J]. *湖南工程学院学报(自然科学版)*, 2013, 23(4): 59-61. (WU X J, ZUO K D, LIU Y L. Preliminary Study on Effect of Vitamins on Production of Bioflocculant REA-11 [J]. *Journal of Hunan Institute of Engineering (Natural Science Edition)*, 2013, 23(4): 59-61.)
- [13] 李海军, 林建群, 林建强, 等. 氮源与维生素对鼠李糖乳杆菌 (*Lactobacillus rhamnosus*) 高效生产 L-乳酸影响的研究 [J]. *食品与发酵工业*, 2007(2): 22-26. (LI H J, LIN J Q, LIN J Q, et al. Effects of Nitrogen Sources and Vitamins on Production of L-Lactic Acid with High Efficiency Using *Lactobacillus rhamnosus* [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2007(2): 22-26.)
- [14] 林桐梅, 赵慧艳. 叶酸和维生素 B₆、B₁₂ 对不稳定型心绞痛并高同型半胱氨酸患者预后的影响 [J]. *中国临床保健杂志*, 2011, 14(3): 301-303. (LIN T M, ZHAO H Y. Effect of Folic Acid, Vitamin B₆, B₁₂ on Prognosis of Patients with Unstable Angina Pectoris and High Homocysteine [J]. *Chinese Journal of Clinical Health Care*, 2011, 14(3): 301-303.)
- [15] 苟德国. 吹扫捕集-气相色谱法同步测定水样中苯系物和卤代烃的方法研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2014. (GOU D G. Simultaneous Determination Method of BTEX and Vhh in Water by Purge-and-Trap-Gas Chromatography [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.)
- [16] 苏俊涛, 石家萱, 孙爱丽, 等. 石油烃降解菌 LYC-1 和 LYC-2 的筛选及其降解效能研究 [J]. *给水排水*, 2022, 48(增刊 2): 311-318. (SU J T, SHI J X, SUN A L, et al. Screening Identification and Degradation Characteristics of Petroleum Hydrocarbon Degrading Bacteria [J]. *Water & Wastewater Engineering*, 2022, 48(Suppl 2): 311-318.)
- [17] 张煜伟, 张赛, 涂悦, 等. 叶酸和维生素 B₆ 及维生素 B₁₂ 缺乏对脑梗死大鼠甲基代谢及认知功能的影响 [J]. *中国医药*, 2018, 13(12): 1882-1885. (ZHANG Y W, ZHANG S, TU Y, et al. Effect of Folic Acid, Vitamin B₆ and B₁₂ Deficiency on Methylation Metabolism and Cognitive Function in Cerebral Infarction Rats [J]. *China Medicine*, 2018, 13(12): 1882-1885.)
- [18] 焦迎晖, 张惟材, 谢莉, 等. 维生素 C 发酵中伴生菌对氧化葡萄糖杆菌的影响 [J]. *微生物学报*, 2002, 29(5): 35-38. (JIAO Y H, ZHANG W C, XIE L, et al. Effects of Bacillus Ceries on Gluconobacter Oxydans in Vitamin C Fermentation Process [J]. *Microbiology Bulletin*, 2002, 29(5): 35-38.)
- [19] RENATA K, OLIVIER C. Vitamin B12 Absorption: Mammalian Physiology and Acquired and Inherited Disorders [J]. *Biochimie*, 2013, 95(5): 1002-1007.
- [20] 朱煜. 过氧化钙缓释氧剂对微生物降解苯系物的强化效能和机理研究 [J]. *应用化工*, 2020, 49(4): 916-920. (ZHU Y. Improvement and Mechanism of CaO₂-Based Oxygen Slow-Releasing Granular on Microbial Degradation of BTEX [J]. *Applied Chemical Industry*, 2020, 49(4): 916-920.)