

人工菌群 KI-TY2+KI-TY6+KI-TY8 协同降解苯酚和吲哚的性能优化研究

原凯毅^{1,2}, 端允¹, 袁进^{1,2}, 范晓军^{1,2*}

(1. 太原理工大学环境生态学院, 山西 晋中 030600;
2. 太原理工大学环保产业创新研究院, 山西 晋中 030600)

摘要: 以从焦化厂活性污泥中分离获得的3株功能菌 KI-TY2、KI-TY6 和 KI-TY8 为研究对象, 经分子生物学鉴定, 3株菌均为克雷伯氏菌属, 结合近缘菌株功能注释信息可推测, 3株菌在苯酚和吲哚降解过程中可能存在一定代谢互补。2³ 全因子设计结果表明, 菌株组合 KI-TY2+KI-TY6+KI-TY8 在 72 h 内对苯酚和吲哚的降解率均超过 90%, 综合降解性能优于单菌及双菌体系。进一步通过单因素试验和响应面法优化降解条件, 确定温度、pH 和苯酚初始浓度为主要影响因子, 预测最优条件约为 31.7℃、pH 7.03、苯酚 507.4 mg/L, 实测苯酚降解率达 91.78%。结果表明, 人工菌群 KI-TY2+KI-TY6+KI-TY8 具有较强的苯酚-吲哚协同降解能力, 可为焦化废水生物处理工艺优化提供参考。

关键词: 苯酚; 吲哚; 人工菌群; 响应面法; 生物降解

中图分类号: X703; X172

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2026)S2-0079-07

DOI: 10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2026.S2.015

Performance optimization of phenol and indole co-degradation by the synthetic microbial consortium KI-TY2+KI-TY6+KI-TY8

YUAN Kai-yi^{1,2}, DUAN Yun¹, YUAN Jin^{1,2}, FAN Xiao-jun^{1,2*}

(1. College of Environment and Ecology, Taiyuan University of Technology, Jinzhong 030600, China;
2. Innovation Institute of Environmental Industry, Taiyuan University of Technology, Jinzhong 030600, China)

Abstract: This study was conducted using three functional strains, KI-TY2, KI-TY6, and KI-TY8, which were isolated from activated sludge collected from a coking plant. Based on molecular biological identification, all three strains belong to the genus *Klebsiella*. Taking into account functional annotation information from closely related strains, it is hypothesized that the three strains may exhibit metabolic complementarity during the degradation of phenol and indole. The results of a 2³ full-factorial design showed that the consortium KI-TY2+KI-TY6+KI-TY8 achieved degradation rates of both phenol and indole exceeding 90% within 72 h, and its overall degradation performance was superior to those of single-strain and dual-strain systems. Furthermore, single-factor experiments and response surface methodology were employed to optimize the degradation conditions, and temperature, pH, and the initial phenol concentration were identified as the primary influencing factors. The predicted optimal conditions were approximately 31.7℃, pH 7.03, and an initial phenol concentration of 507.4 mg/L; under these conditions, the experimentally observed phenol degradation rate reached 91.78%. These results indicate that the synthetic microbial consortium KI-TY2 + KI-TY6 + KI-TY8 possesses strong synergistic capabilities for phenol-indole co-degradation, providing a reference for optimizing biological treatment processes for coking wastewater.

Key words: phenol; indole; synthetic microbial consortium; response surface method; biodegradation

焦化废水是一类典型的高浓度、成分复杂且生物毒性较强的工业废水^[1], 其中苯酚和吲哚是较具代表性的两类污染物^[2]。苯酚属于常见酚类有机物, 浓度较高时会对微生物生长和代谢产生明显抑制^[3]; 吲哚则属于含氮杂环芳香族化合物, 结构相对稳定, 在废水处理中同样具有较高去除难度^[4]。由于二者在焦化废水中常常共存, 其复合污染特征会进一步增加生物处理过程的复杂性^[5]。

近年来, 针对焦化废水中典型芳香族污染物的去除, 生物处理因其成本低、环境友好, 已成为焦化废水

处理中必不可少的选择方法^[6]。目前, *Pseudomonas*^[7]、*Acinetobacter*^[8] 及 *Bacillus*^[9] 等被认为是降解苯酚的主要菌属, *Comamonas*^[10]、*Bacillus*^[11]、*Acinetobacter*^[12] 等菌属在吲哚降解中表现出一定能力, 但降解效率普遍低于苯酚, 且对底物浓度敏感。同时, 人工菌群构建逐渐成为研究热点^[13-14], 通过不同菌株间的功能分工与代谢互补, 有望提高复杂污染物体系的降解效率和环境适应性^[15]。

尽管如此, 现有研究仍存在一些不足。一方面, 关于苯酚与吲哚共存条件下协同生物降解的研究相

收稿日期: 2026-04-17; 修回日期: 2026-06-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(52170045)

作者简介: 原凯毅(2000-), 男, 硕士生, 研究方向为环境微生物, yky86162@163.com; 范晓军(1980-), 男, 博士, 教授, 研究方向为微生态系统与工程、微生物应用技术、生物炼制与合成生物等, 通讯联系人, fanxiaojun@tyut.edu.cn。

对较少,尤其缺乏针对人工菌群构建、菌株组合筛选及关键影响因素优化的系统研究^[16];另一方面,复合底物条件下菌株间可能存在的代谢协同关系及其对体系稳定性的影响仍有待进一步明确^[17]。因此,有必要从实际污染背景出发,筛选适用于苯酚-吡啶体系的功能菌株,并建立具有协同降解潜力的人工菌群。

基于此,本研究以焦化厂活性污泥中分离获得的功能菌株为对象,围绕苯酚和吡啶复合污染体系开展研究。通过菌株鉴定与组合筛选确定优势人工菌群,进一步考察环境因子对其降解性能的影响,并采用响应面法对关键条件进行优化,同时结合近缘菌株信息对其潜在协同降解机制进行初步分析。该研究可为焦化废水中典型含氮芳香族污染物的生物处理及人工菌群强化应用提供理论依据和参考。

1 材料与试剂

1.1 样品与菌株

本研究用水样及污泥来源于山西太原市某焦化废水处理厂,用于前期功能菌株的分离与保存。所用菌株为课题组前期工作中从该活性污泥中筛选获得的人工菌群 K1-TY2、K1-TY6 和 K1-TY8,菌株保藏于-80℃冰箱中。

1.2 培养基及试剂

富集培养基(LB):胰蛋白胨 10 g/L,酵母提取物 5 g/L,NaCl 10 g/L,pH 7.0±0.2。

无机盐培养基(MSM):(NH₄)₂SO₄ 0.472 g/L,K₂HPO₄ 0.200 g/L,MgSO₄·7H₂O 0.050 g/L,MnSO₄·4H₂O 0.010 g/L,FeSO₄ 0.010 g/L,NaCl 0.120 g/L,pH 7.0±0.2。

磷酸盐缓冲溶液(PBS):NaCl 8.0 g/L,KCl 0.2 g/L,KH₂PO₄ 0.24 g/L,Na₂HPO₄ 1.44 g/L,pH 7.0±0.2。

5 g 苯酚溶于 100 mL 超纯水制成苯酚储备液,50 g 吡啶溶于 100 mL 甲醇制成吡啶储备液,将储备液添加至 MSM 中提供碳源。

固体培养基在上述培养基的基础上添加 2% 的琼脂。所有培养基在使用前都需要在 121℃ 的高压下湿热灭菌 30 min,冷却至室温后再进行后续实验。

2 实验方法

2.1 菌株分子生物学鉴定

将保藏的菌株 K1-TY2、K1-TY6 和 K1-TY8 复

苏扩培待培养到对数期后,取适量菌液,在 4℃ 下,以 8 000 r/min 离心 10 分钟收集菌体沉淀,委托北京诺禾致源科技股份有限公司进行 16S rDNA 测序,并将测序结果提交至 NCBI 数据库进行 BLAST 比对,利用 MEGA 11.0 软件构建系统发育树。

2.2 基于近缘菌株信息的代谢通路推测

根据菌株 16S rDNA 鉴定结果,结合 NCBI 数据库中近缘菌株的公开注释信息,对 K1-TY2、K1-TY6 和 K1-TY8 可能参与的苯酚与吡啶降解过程进行初步分析。重点参考近缘菌株在芳香族化合物氧化、开环裂解及下游代谢方面的相关信息,并结合苯酚、吡啶的常见生物降解途径,对人工菌群 K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8 的潜在协同降解过程进行推测,据此绘制代谢通路示意图。

2.3 人工菌群全因子实验

为系统比较菌株 K1-TY2、K1-TY6 和 K1-TY8 在苯酚-吡啶体系中的单独及协同降解能力,以三株菌是否接种为自变量,采用 2³ 全因子设计构建不同组合。共得到 8 种组合:3 个单菌体系(K1-TY2、K1-TY6、K1-TY8)、3 个双菌体系(K1-TY2+K1-TY6、K1-TY2+K1-TY8、K1-TY6+K1-TY8)、1 个三菌体系(K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8)以及 1 个空白对照(不接种)。各组合接种至含 500 mg/L 苯酚和 200 mg/L 吡啶的 MSM 中,在 30℃、150 r/min 条件下振荡培养 72 h,分别取 0 h 和 72 h 样品测定苯酚及吡啶浓度,计算降解率。

2.4 单因素实验

采用单因素实验对影响人工菌群协同降解效果的主要因素进行考察。结合前期实验结果及相关研究基础,选取温度、pH、苯酚初始浓度、吡啶初始浓度、接种量以及接种比例作为考察因素。各因素梯度分别设置为:温度 20、25、30、35、40℃;pH=4、5、6、7、8、9 和 10;苯酚初始浓度 300、400、500、600、700 mg/L;吡啶初始浓度 100、150、200、250、300 mg/L;接种量 1%、3%、5%、7%、9%;菌株 K1-TY2、K1-TY6 和 K1-TY8 的接种比例为 1:1:1、2:1:1、1:2:1、1:1:2、2:2:1、2:1:2 和 1:2:2。

2.5 响应面优化设计

在单因素实验基础上,因温度、pH 和苯酚初始浓度对人工菌群 K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8 的降解性能影响较为显著,选取上述 3 个因素作为响应面优化变量。由于人工菌群对吡啶的降解效果较好且波动较小,而苯酚降解更易受环境条件影响,是限制

复合体系处理效果的关键因素,故本研究以苯酚降解率作为响应值进行响应面优化。

基于 Box-Behnken 设计 (BBD) 框架,采用三因素三水平 (-1, 0, +1) 响应面法系统优化菌株组合 K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8 的苯酚降解条件^[18-19]。自变量包括:温度 (25、30、35℃)、pH (5、7、9) 和苯酚初始浓度 (400、500、600 mg/L), 通过 Design-Expert 13 软件生成 17 组实验矩阵 (含 5 个中心点重复), 实验设计矩阵及水平编码见表 1。

表 1 响应面优化试验因素及水平

水平	因素		
	A-温度/℃	B-pH	C-苯酚浓度/(mg·L ⁻¹)
-1	25	5	400
0	30	7	500
1	35	9	600

2.6 分析方法

苯酚的高效液相色谱分析条件如下:流动相为乙腈:水,体积比为 60:40,总流速为 1 mL/min^[20]。紫外波长为 280 nm。

吡啶的高效液相色谱分析条件如下:流动相为乙腈:水,体积比为 80:20,总流速为 1 mL/min。紫外波长为 270 nm。

苯酚和吡啶的去除效果以降解率表示,按式 (1) 计算。

$$R = [(C_0 - C_n) / C_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中, R 为污染物去除率, %; C₀ 和 C_n 为污染物初始浓度和中间浓度, mg/L。

菌体浓度采用全波长酶标仪测定菌悬液在 600 nm 处的吸光度 (OD₆₀₀) 来表征。

3 结果与分析

3.1 菌株鉴定结果

将各菌株的 16S rDNA 序列, 通过 NCBI 进行 Blast 比对, 菌株 K1-TY2、K1-TY6 和 K1-TY8 均与克雷伯氏菌属 (*Klebsiella*) 的 16S rDNA 序列相似性达 98% 以上, 采用 MEGA 11.0 软件构建各菌株的系统发育树如图 1 所示。菌株 K1-TY2 序列与 *Klebsiella pneumoniae* 相似度最高, 因此鉴定为肺炎克雷伯氏菌 (*Klebsiella pneumoniae*), 菌株 K1-TY6 和 K1-TY8 序列均与 *Klebsiella pasteurii* 相似度最高, 鉴定为巴斯德克雷伯氏菌 (*Klebsiella pasteurii*)。

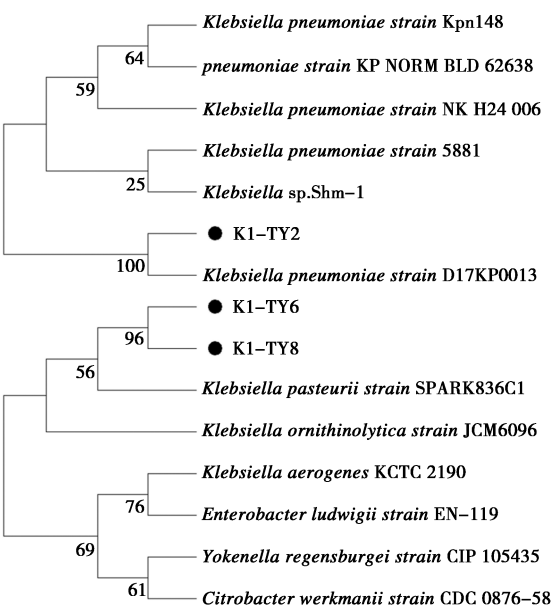


图 1 各菌株系统发育树图

3.2 人工菌群苯酚-吡啶协同降解潜在代谢通路推测

根据 16S rDNA 鉴定结果, K1-TY2、K1-TY6 和 K1-TY8 均与克雷伯氏菌属近缘菌株具有较高相似性, 其中 K1-TY2 与肺炎克雷伯氏菌近缘, K1-TY6 和 K1-TY8 与巴斯德克雷伯氏菌近缘。结合 NCBI 数据库中近缘菌株的公开注释信息, 并参考苯酚和吡啶常见生物降解途径, 可推测这 3 株菌均具备一定的芳香族化合物转化能力。

由图 2 可知, 苯酚可能先转化为儿茶酚, 再经开环反应生成开环中间产物; 吡啶则可能先转化为芳香族中间体, 随后进入开环裂解途径, 最终生成小分子有机酸并进入 TCA 循环。说明人工菌群 K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8 可能通过共享芳香族化合物降解主通路并形成一定代谢互补, 实现对苯酚和吡啶的协同降解。

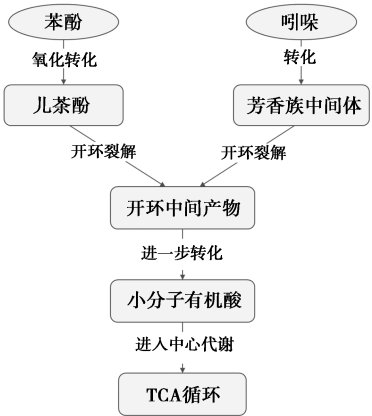


图 2 基于近缘菌株信息的代谢通路推测图

3.3 全因子实验结果

人工菌群全因子实验结果如表 2 所示。

表 2 全因子实验结果

菌株组合	72 h 苯酚 降解率/%	72 h 吡啶 降解率/%
KI-TY2	78.16±1.12	97.98±0.24
KI-TY6	81.76±1.85	96.01±0.24
KI-TY8	85.28±0.89	98.02±0.34
KI-TY2+KI-TY6	78.56±0.97	97.67±0.56
KI-TY2+KI-TY8	81.98±0.88	97.58±0.38
KI-TY6+KI-TY8	88.61±1.32	97.64±0.13
KI-TY2+KI-TY6+KI-TY8	91.56±1.05	98.09±0.16
空白	3.06±1.05	1.23±0.13

由表 2 可知,各组合均能在 72 h 内对苯酚和吡啶产生明显去除效果,而空白对照组苯酚和吡啶降解率仅为 $3.06\% \pm 1.05\%$ 和 $1.23\% \pm 0.13\%$,基本无生物降解发生。单菌体系中,KI-TY2、KI-TY6 和 KI-TY8 对苯酚的 72 h 降解率分别为 $78.16\% \pm 1.12\%$ 、 $81.76\% \pm 1.85\%$ 和 $85.28\% \pm 0.89\%$,对吡啶的降解率则均在 96%~98% 左右。双菌组合 KI-TY2+KI-TY6、KI-TY2+KI-TY8 和 KI-TY6+KI-TY8 在苯酚降解方面整体优于或接近单菌,其中 KI-TY6+KI-TY8 苯酚降解率达到 $88.61\% \pm 1.32\%$ 。三菌组合 KI-TY2+KI-TY6+KI-TY8 综合表现最佳,72 h 苯酚和吡啶降解率分别为 $91.56\% \pm 1.05\%$ 和 $98.09\% \pm 0.16\%$,明显高于单菌及大部分双菌组合,显示出一定的协同降解效应。

3.4 单因素实验结果

3.4.1 温度和 pH

由图 3(a)可知,温度对人工菌群降解苯酚和吡啶的能力影响显著。随着温度由 20℃ 升高至 30℃,苯酚降解率由 9.17% 显著提高至 90.16%,吡啶降解率也由 87.89% 提高至 97.69%,同时 OD_{600} 由 0.105 升高至 0.302,表明适宜升温有利于菌群生长及降解酶活性的发挥。当温度进一步升高至 35℃ 时,苯酚降解率略降至 83.06%,40℃ 时苯酚和吡啶降解率分别仅为 2.68% 和 6.62%, OD_{600} 也降至 0.058,说明过高温度对菌群活性具有明显抑制作用。因此,30℃ 可作为较适宜的培养温度。

由图 3(b)可知,pH 对人工菌群降解性能也具有一定影响。在 pH 4~7 范围内,苯酚降解率整体维持在较高水平,并在 pH 7 时达到最大值 89.87%,

对应 OD_{600} 也达到最高值 0.315,说明中性条件更有利于人工菌群生长及苯酚降解。相比之下,吡啶在不同 pH 条件下均保持较高降解率,整体波动较小,说明人工菌群对吡啶降解的 pH 适应范围相对较宽。当 pH 升高至 9 和 10 时,苯酚降解率分别下降至 74.82% 和 16.92%,表明偏碱环境会明显削弱菌群对苯酚的去除能力。因此,后续实验选取 pH 7 作为适宜条件。

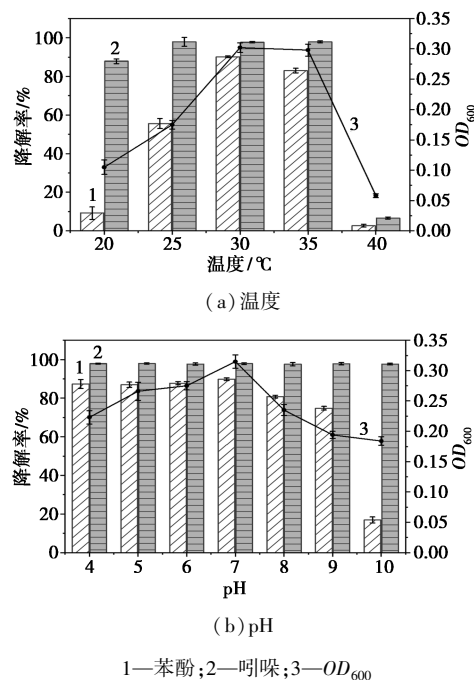


图 3 单因素实验

3.4.2 苯酚浓度吡啶浓度

由图 4(a)可知,苯酚初始浓度对人工菌群降解性能具有较明显影响。在 300~500 mg/L 范围内,苯酚降解率分别为 88.03%、86.06% 和 89.50%,变化不大,说明菌群在该浓度范围内具有较好的适应性;当苯酚浓度升高至 600 mg/L 和 700 mg/L 时,苯酚降解率分别下降至 79.87% 和 65.95%,同时 OD_{600} 也由 0.300 下降至 0.288 和 0.187,说明过高苯酚浓度会因毒性增强而抑制菌群生长及降解活性。与此同时,吡啶降解率在各苯酚浓度下均保持在 97.6% 以上,表明苯酚浓度变化对吡啶去除影响较小。综合考虑,500 mg/L 可作为后续实验中较适宜的苯酚初始浓度。

由图 4(b)可知,吡啶初始浓度对人工菌群降解性能亦有一定影响。在 100~200 mg/L 范围内,苯酚降解率分别为 91.26%、89.94% 和 90.68%,吡啶降解率均保持在 97.69% 以上, OD_{600} 也维持在较高水平,说明人工菌群在该浓度范围内具有良好的降

解能力和适应性。当吡啶浓度升高至 250 mg/L 时,苯酚降解率下降至 75.83%;继续升高至 300 mg/L 时,苯酚降解率进一步降至 22.17%, OD_{600} 也下降至 0.194,表明高浓度吡啶会显著抑制人工菌群活性及苯酚降解过程。相比之下,吡啶自身降解率在各浓度条件下仍维持较高水平。综合考虑,200 mg/L 可作为较适宜的吡啶初始浓度。

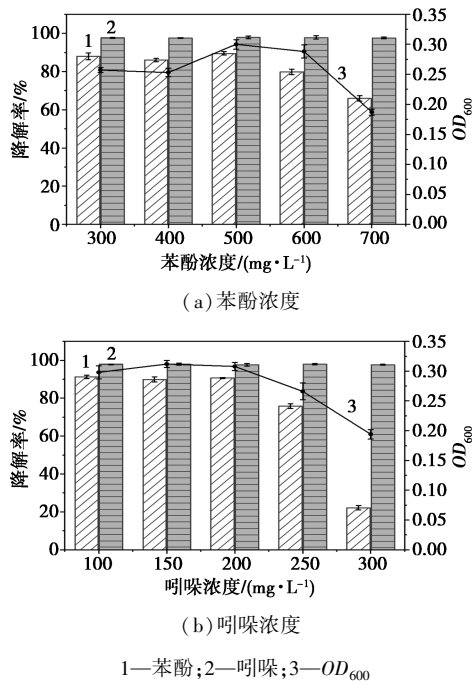


图 4 单因素实验

3.4.3 接种量和接种比例

由图 5(a)可知,接种量对人工菌群降解效果具有显著影响。当接种量由 1%提高至 7%时,苯酚降解率由 5.87%显著提高至 91.74%,吡啶降解率由 3.75%提高至 97.94%,说明增加接种量有利于缩短菌群适应期并提高污染物去除效率。当接种量继续增加至 9%时,苯酚降解率基本保持不变,为 91.74%,而 OD_{600} 由 0.256 下降至 0.214,表明进一步提高接种量并未明显改善降解效果。因此,从降解性能和经济性两方面考虑,选择 7%作为较适宜的接种量。

由图 5(b)可知,不同菌株接种比例对人工菌群降解性能影响明显。各比例条件下,吡啶降解率总体均维持在 97.6%以上,变化幅度较小;相比之下,苯酚降解率差异较为明显。其中,KI-TY2:KI-TY6:KI-TY8为 1:1:1时苯酚降解率最高,达到 91.59%, OD_{600} 为 0.275;1:2:1和 1:2:2条件下苯酚降解率也分别达到 91.41%和 91.46%。而当比例为 1:1:2和 2:1:2时,苯酚降解率分别降至 75.69%和 70.38%,

说明菌株 KI-TY8 比例过高时不利于体系对苯酚的降解。综合比较各组结果,选择 KI-TY2:KI-TY6:KI-TY8=1:1:1作为后续优化实验的菌株配比。

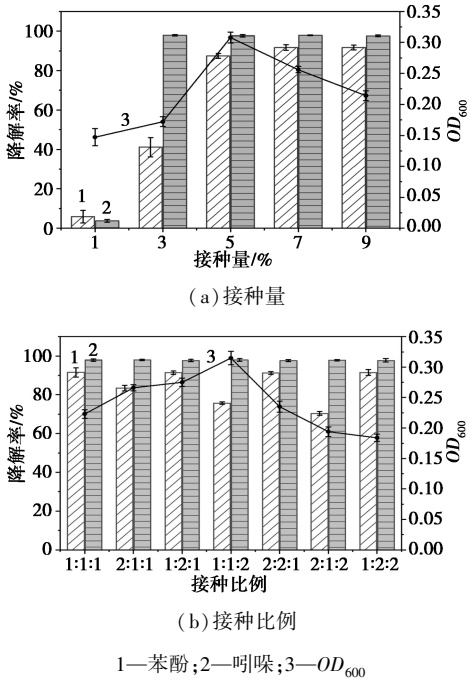


图 5 单因素实验

综合各单因素实验结果可知,人工菌群 KI-TY2+KI-TY6+KI-TY8 对吡啶的降解能力整体较强,而苯酚降解对环境条件和运行参数变化更为敏感,因此选择苯酚降解率为后续响应面优化的响应值。结合单因素实验结果,后续响应面优化选取温度、pH 和苯酚初始浓度作为考察因素,并分别以 30℃、pH 7 和 500 mg/L 作为中心水平。

3.5 响应面优化实验

3.5.1 实验结果及方差分析

实验设计及结果见表 3。

表 3 响应面实验设计和结果

序号	A	B	C	响应值/%
1	-1	1	0	67.92
2	-1	0	-1	63.81
3	1	-1	0	81.85
4	1	0	1	75.02
5	-1	-1	0	58.24
6	0	-1	-1	79.62
7	0	0	0	91.41
8	0	1	-1	73.30
9	0	0	0	90.32
10	0	-1	1	68.73

续表

序号	A	B	C	响应值/%
11	0	0	0	90.46
12	0	1	1	70.49
13	1	0	-1	76.75
14	0	0	0	91.51
15	-1	0	1	56.59
16	1	1	0	75.09
17	0	0	0	89.62

基于实验结果,采用 Design-Expert 13 软件对数据进行二次多项式回归分析,建立苯酚降解率与各因素之间的回归模型如式(2)所示。

$$Y = 90.66 + 7.7X_1 - 0.205X_2 - 2.83X_3 - 4.11X_1 \cdot X_2 + 1.37X_1 \cdot X_3 + 2.02X_2 \cdot X_3 - 12.44X_1^2 - 7.45X_2^2 - 10.18X_3^2 \quad (2)$$

式中, Y 为苯酚降解率, X_1 、 X_2 和 X_3 分别为温度、pH和苯酚初始浓度。

方差分析结果见表 4。

表 4 苯酚二次降解模型的方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	2107.05	9	234.12	132.38	<0.0001
A	482.83	1	482.83	273.01	<0.0001
B	0.3362	1	0.3362	0.1901	0.676
C	64.13	1	64.13	36.26	0.0005
AB	67.57	1	67.57	38.21	0.0005
AC	7.54	1	7.54	4.26	0.0779
BC	16.32	1	16.32	9.23	0.0189
A ²	651.67	1	651.67	368.48	<0.0001
B ²	233.58	1	233.58	132.08	<0.0001
C ²	436.41	1	436.41	246.76	<0.0001
残差	12.38	7	1.77		
失拟项	9.86	3	3.29	5.21	0.0723
纯误差	2.52	4	0.6305		
总计	2119.43	16			
R ²	0.9942				
R _{adj} ²	0.9866				
R _{pred} ²	0.9237				

由表 4 可知,所建立的苯酚二次降解模型极显著,且失拟项不显著,说明模型拟合良好,可用于人工菌群 K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8 苯酚降解过程的分析与条件优化。同时,模型的相关系数 R^2 为

0.994 2,调整相关系数 R_{adj}^2 为 0.986 6,预测相关系数 R_{pred}^2 为 0.923 7,表明该模型具有较高的拟合度和较好的预测能力^[21],能够较准确反映各因素与苯酚降解率之间的关系。

从一次项分析结果来看,温度和苯酚初始浓度对苯酚降解率具有显著影响,其中温度影响最为显著,而 pH 的一次项影响不显著,说明在本实验范围内其线性作用较弱。结合 F 值可知,温度是影响人工菌群苯酚降解性能的主导因素。

从交互作用来看,温度与 pH、pH 与苯酚初始浓度之间均存在显著交互作用,而温度与苯酚初始浓度之间的交互作用不显著,表明二者之间的联合作用相对较弱。此外, A^2 、 B^2 和 C^2 均达到极显著水平,说明温度、pH 和苯酚初始浓度与苯酚降解率之间均存在明显的非线性关系。

综合来看,温度、pH 和苯酚初始浓度均会影响人工菌群对苯酚的降解效果,其中温度为最主要因素,苯酚初始浓度次之,该结果与单因素实验趋势基本一致。

3.5.2 交互作用分析及验证

进一步结合响应面等高线图和三维曲面图对各因素间的交互作用进行分析,结果见图 6~图 8。一般而言,响应面越陡峭,说明该因素对响应值的影响越显著;等高线越接近椭圆形,说明两因素之间的交互作用越明显,而接近圆形则表明交互作用较弱。

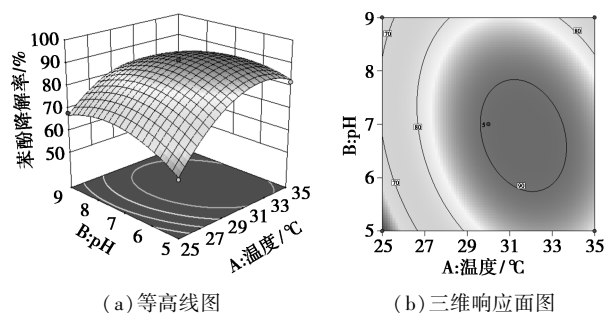


图 6 温度与 pH 交互作用的等高线图和三维响应面图

由图 6 可知,温度和 pH 对苯酚降解率存在较明显的交互影响。随着温度由低水平升高至中间水平,苯酚降解率明显提高,并在中性附近达到较高值;当温度或 pH 继续偏离适宜范围时,苯酚降解率均呈下降趋势。图中响应面变化较为明显,等高线呈椭圆趋势,说明温度与 pH 之间存在一定交互作用,该结果表明,适宜温度条件下,中性环境更有利于人工菌群维持较高的苯酚降解活性。

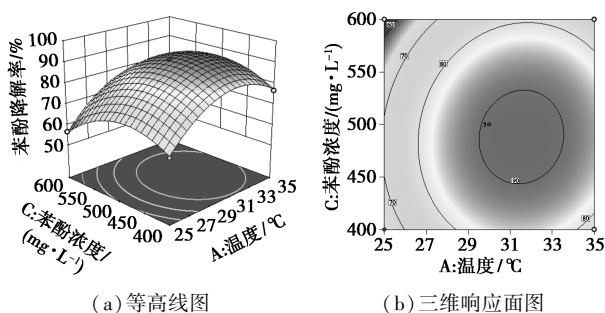


图 7 温度与苯酚浓度交互作用的等高线图和三维响应面图

由图 7 可知,温度和苯酚初始浓度对苯酚降解率也具有共同影响。随着温度升高,苯酚降解率先升高后降低;随着苯酚初始浓度增加,响应值同样表现出先升高后下降的趋势。整体来看,响应面变化较明显,但等高线形状相对较圆,说明二者虽然共同影响苯酚降解率,但交互作用相对较弱。说明在本实验范围内,温度和苯酚初始浓度主要以各自独立作用影响人工菌群的降解性能。

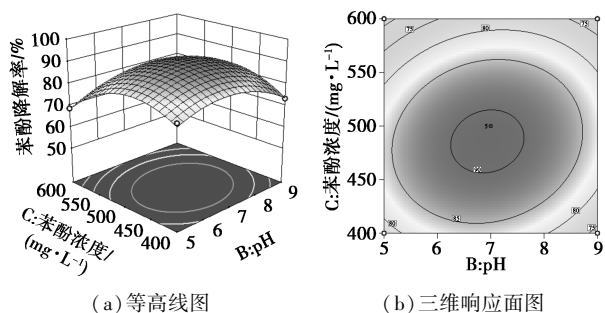


图 8 pH 与苯酚浓度交互作用的等高线图和三维响应面图

由图 8 可知,pH 和苯酚初始浓度之间同样存在一定交互作用。苯酚降解率在中性 pH 和中等苯酚浓度附近达到较高值,而在偏酸、偏碱或较高底物浓度条件下均出现下降。图中等高线呈一定椭圆趋势,响应面具有较明显的弯曲变化,说明 pH 与苯酚初始浓度之间存在显著交互影响。该结果表明,适宜的 pH 条件能够在一定程度上缓解较高苯酚浓度对菌群降解活性的抑制作用,但当两者同时偏离最适范围时,体系降解性能明显下降。

为验证响应面模型预测结果的可靠性,在上述最优条件下进行了 3 组平行验证实验。结果表明,苯酚实际降解率为 91.78%,与模型预测值 91.54% 较为接近,误差为 0.8%,说明模型预测值与实验实测值具有较好一致性,所建立的响应面模型能够较准确地预测人工菌群 K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8 的苯酚降解性能,具有较好的可靠性和实用性。

4 结论

(1)从焦化废水活性污泥中分离的菌株 K1-TY2、K1-TY6 和 K1-TY8 经 16S rDNA 鉴定均为克雷伯氏菌属。结合近缘菌株信息及常见降解途径分析可推测,3 株菌可能共享芳香族化合物降解主通路,并在苯酚和吡啶转化过程中形成一定代谢互补,说明该属菌在典型含氮芳香族污染物生物去除中具有较好应用潜力。

(2) 2^3 全因子实验结果表明,在相同底物负荷下,三菌组合 K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8 在 72 h 内对苯酚和吡啶的去除率均超过 90%,综合降解性能优于单菌及双菌体系,体现出复合菌群在实现苯酚-吡啶协同降解方面的优势。

(3)通过单因素和响应面法优化,确定最优条件为 31.7℃、pH 7.03、苯酚初始浓度 507.4 mg/L,在此条件下苯酚实际降解率为 91.78%,与模型预测值高度一致,说明模型可靠。

(4)综合来看,人工菌群 K1-TY2+K1-TY6+K1-TY8 在适宜工况下可实现高效苯酚-吡啶协同降解,为焦化废水等含苯酚-吡啶废水的生物处理工艺优化提供了一定参考,但仍需在真实废水和更复杂工况下进一步验证。

参考文献

- [1] 赵文博,苏冰琴,李瑞.高铁酸盐活化过硫酸盐预处理焦化废水的反应机制研究[J].现代化工,2025,45(3):106-112.
- [2] Wang L J,Sun Z Y,Shi J R,*et al.*Selective oxidation of nitrogenous heterocyclic compounds by heat/peroxymonosulfate in phenol-rich wastewater[J].Water Research,2025,269:122804.
- [3] 王凯.代谢重编程改造大肠杆菌高效合成水杨酸[D].无锡:江南大学,2025.
- [4] Garbe T R,Kobayashi M,Yukawa H.Indole-inducible proteins in bacteria suggest membrane and oxidant toxicity[J].Archives of Microbiology,2000,173(1):78-82.
- [5] Yang J,Ma F,Dai C X,*et al.*Indole metabolism by phenol-stimulated activated sludges:Performance,microbial communities and network analysis[J].Environmental Research,2022,207:112660.
- [6] 江优优,涂辉,王婷,等.硫自养反硝化脱氮滤池在处理焦化废水中的应用[J].环境工程学报,2025,19(5):1259-1270.
- [7] 李秀芬.石油化工废水处理中的生物组合工艺研究[J].石化技术,2025,32(12):67-69.
- [8] Abd-El-Haleem D.AraC transcriptional regulator, aspartate semialdehyde dehydrogenase and acyltransferase:Three putative genes in phenol catabolic pathway of *Acinetobacter* sp. Strain DF4[J].Journal,Genetic Engineering & Biotechnology,2024,22(1):100349.

(下转第 92 页)

- LDHs 催化剂及其催化 Suzuki 反应的研究[J]. 化学与黏合, 2016, 38(6): 405-408, 416.
- [21] Duan K, Chen B, Zhu T, *et al.* Mn promoted Pd/TiO₂-Al₂O₃ catalyst for the selective catalytic reduction of NO_x by H₂ [J]. Applied Catalysis B: Environment and Energy, 2015, 176/177: 618-626.
- [22] Peng Z, Li Z, Liu Y Q, *et al.* Supported Pd nanoclusters with enhanced hydrogen spillover for NO_x removal via H₂-SCR: The elimination of "volcano-type" behaviour [J]. Chemical Communications, 2017, 53(44): 5958-5961.
- [23] Xu S, Zhang Y, Hardacre C, *et al.* Enhanced catalytic activity of Pd supported on TiO₂ nanowire for the H₂-SCR of NO_x in the presence of oxygen [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2023, 11(28): 10453-10461.
- [24] 杨敏, 段新伟, 吴俊宏, 等. Sm₂O₃/γ-Al₂O₃ 催化剂的 COS 催化水解性能及失活机制[J]. 化工学报, 2025: 1-15.
- [25] Pan F, Lu X, Wang T, *et al.* Synthesis of large-mesoporous γ-Al₂O₃ from coal-series kaolin at room temperature [J]. Materials Letters, 2013, 91: 136-138.
- [26] 吴春杰. 微波辅助合成 Pd/γ-Al₂O₃ 催化剂用于 α-甲基苯乙烯加氢制备异丙苯的研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2025.
- [27] 黄振中, 解从霞, 于凤丽, 等. Pd/C-N@SiO₂ 催化剂的制备、表征及其催化松香歧化反应性能[J]. 林产化学与工业, 2025, 45(1): 107-114.
- [28] Ouyang L, Tian P F, Da G J, *et al.* The origin of active sites for direct synthesis of H₂O₂ on Pd/TiO₂ catalysts: Interfaces of Pd and PdO domains [J]. Journal of Catalysis, 2014, 321: 70-80.
- [29] Hsu C, Huang C, Hao Y, *et al.* Au/Pd core-shell nanoparticles for enhanced electrocatalytic activity and durability [J]. Electrochemistry Communications, 2012, 23: 133-136.
- [30] Yan Q, Xiao J, Gui R, *et al.* Insights into enhancement of NH₃-SCR activity and N₂ selectivity of LDHs-derived NiMnAlO_x catalysts: Combination of experiments and DFT calculations [J]. Applied Catalysis B: Environment and Energy, 2023, 343: 123489. ■
-
- (上接第 78 页)
- [18] Rao R N, Chanda K. 2-aminopyridine-an unsung hero in drug discovery [J]. Chemical Communications, 2022, 58(3): 343-382.
- [19] 范娜娜, 罗伟, 白忠祥. 润滑油添加剂及其发展趋势[J]. 合成材料老化与应用, 2021, 50(1): 140-143.
- [20] 李明, 潘珍, 梁雪梅, 等. 氨氮与 2-氨基吡啶在三维催化氧化降解中的竞争[J]. 化工进展, 2015, 34(1): 273-277.
- [21] 成健, 刘祖亮, 姚其正, 等. 2-氨基-3,5-二硝基吡啶-1-氧化物的氧化胺化反应[J]. 火炸药学报, 2009, 32(5): 5-7, 28.
- [22] 胡琳琳, 张蒙蒙, 王友兵, 等. ANPyO 合成及性能研究进展[J]. 广州化工, 2014, 42(11): 29-31.
- [23] Chichibabin A E, Zeide O A. New reaction for compounds containing the pyridine nucleus [J]. Russian Journal of Physical Chemistry, 1914, 46: 1216-1236.
- [24] 顾可权. 重要有机化学反应 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1983: 645.
- [25] Tao J Q, Jia Y J, Bai T Y, *et al.* Study on the catalytic performance of Fe in-situ modified small crystallite silicalite-1 zeolite in chichibabin condensation reaction [J]. Journal of Fuel Chemistry and Technology, 2024, 52(9): 1280-1289.
- [26] Soleymani M, Emamian S. A molecular electron density theory study on the chichibabin reaction: The origin of regioselectivity [J]. Journal of Molecular Graphics and Modelling, 2022, 116: 108240.
- [27] 张在明, 魏玉峰. 相转移催化技术的发展及其在化工领域的应用[J]. 广州化工, 2012, 40(13): 43-44, 51.
- [28] Schettini R, Acocella M R. State of the art of supported phase transfer-catalysts onium salt-based [J]. ChemCatChem, 2024, 16(11): e202301425.
- [29] Frisch M J, Trucks G W, Schlegel H B, *et al.* Gaussian 09, Revision D.01 [CP/OL]. Wallingford, CT: Gaussian, Inc., 2009.
- [30] Marenich A V, Cramer C J, Truhlar D G. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2009, 113(18): 6378-6396.
- [31] 杜雪遥, 范鸿霞, 李文英. 吡啶氨基化反应及相转移催化剂与溶剂的影响规律研究[J]. 现代化工, 2023, 43(12): 117-122, 129. ■
-

(上接第 85 页)

- [9] 滕木兰, 刘羽, 范飞飞, 等. 固定化芽孢杆菌的制备及苯酚降解性能研究[J]. 山东化工, 2024, 53(8): 49-52.
- [10] Ma Q, Qu Y Y, Zhang X W, *et al.* Systematic investigation and microbial community profile of indole degradation processes in two aerobic activated sludge systems [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 17674.
- [11] 邵栓, 常娟, 王平, 等. 复合微生物制剂的研制及对猪粪便中吡啉的降解作用[J]. 畜牧与兽医, 2019, 51(8): 30-36.
- [12] Yeo C S, Sudheer P, Choi K Y. Co-production of biosurfactant and indigo using wild-type *Acinetobacter* sp. isolated from soil [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2024, 29(6): 993-1002.
- [13] 罗鹏宏, 唐艳葵, 黄怡婷, 等. 石油烃降解菌群构建及其在污染土壤修复中的应用研究进展[J]. 应用化工, 2023, 52(2): 566-572.
- [14] Matu A, Valverde A, Cason E, *et al.* Microbial consortia in mine water bioremediation: Principles, design and practical applications [J]. Water Research, 2026, 289: 124956.
- [15] McCarty N S, Ledesma-Amaro R. Synthetic biology tools to engineer microbial communities for biotechnology [J]. Trends in Biotechnology, 2019, 37(2): 181-197.
- [16] San León D, Nogales J. Toward merging bottom-up and top-down model-based designing of synthetic microbial communities [J]. Current Opinion in Microbiology, 2022, 69: 102169.
- [17] Chen W, Huang S, Song H J, *et al.* Unraveling algae-bacteria synergistic mechanisms in algae-based high phenol wastewater treatment: Carbon emission and economic analyses [J]. Journal of Cleaner Production, 2025, 530: 146881.
- [18] 岳佳怡, 杨兰文, 方柏森, 等. 响应面法优化玉米秸秆生物炭的改性工艺[J]. 现代化工, 2024, 44(S1): 172-178, 184.
- [19] Wang J L, Chen P Z, Li S P, *et al.* Mutagenesis of high-efficiency heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacterium *Rhodococcus* sp. strain CPZ 24 [J]. Bioresource Technology, 2022, 361: 127692.
- [20] 徐玲莉, 刘玉香, 董静, 等. 苯酚高效降解菌群的群落结构及其代谢产物研究[J]. 工业水处理, 2024, 44(9): 85-90.
- [21] Drost S M, Rutgers M, Wouterse M, *et al.* Decomposition of mixtures of cover crop residues increases microbial functional diversity [J]. Geoderma, 2020, 361: 114060. ■