

# 噬氨副球菌 HPD-2 固体发酵条件优化 及其对PAHs污染土壤的修复效果<sup>①</sup>

刘增俊<sup>1,2</sup>, 滕 应<sup>1</sup>, 骆永明<sup>1,2\*</sup>, 赵 静<sup>1</sup>, 李振高<sup>1</sup>

(1 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘 要:** 选用有机肥A、有机肥B和紫花苜蓿粉 3 种有机物料作为菌剂载体, 探讨了固体发酵过程中物料量、接种量、固水比和发酵时间对噬氨副球菌HPD-2 生长的影响, 以及固体发酵菌剂对PAHs污染土壤的修复效果。结果表明, 3 种发酵载体中, 以有机肥A的效果最好。噬氨副球菌HPD-2 以有机肥A为载体的固体发酵最佳条件为物料量 20 g、接种量 5%、固水比 1:1、发酵时间 144 h。菌剂施入土壤 28 天后, 土壤中PAHs总含量由初始的 9.96 mg/kg 下降到 7.64 mg/kg, 其去除率达 22.8%。不同环数 PAHs 的去除率高低顺序为 3 环>5 环>6 环和 4 环, 分别下降了 35.1%、27.0%、20.7%、20.4%。该菌剂对PAHs污染土壤有一定的修复效果。

**关键词:** 多环芳烃; 有机物料; 噬氨副球菌 HPD-2; 固体发酵; 生物修复

**中图分类号:** X172

多环芳烃 (PAHs) 污染农田土壤的修复已成为人们日益关注的农业环境问题, 关系到农产品质量和人体健康<sup>[1]</sup>。目前生物修复是一种经济、简便、环境友好的农田污染土壤修复方法, 尤其是微生物修复。据报道降解 PAHs 的细菌主要包括红球菌属 (*Rhodococcus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、丛毛单胞菌属 (*Comamonas*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*)、拜叶林克氏菌属 (*Beijerinckia*)、产碱菌属 (*Alcaligenes*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、蓝细菌 (*Cyanobacteria*)、微球菌属 (*Micrococcus*)、寡养单胞菌属 (*Stomatococcus*)、诺卡氏菌属 (*Nocardia*) 和弧菌属 (*Vibrio*) 等<sup>[2]</sup>, 这些微生物的发现为PAHs 污染土壤的生物修复提供了宝贵资源。

目前常用的增强微生物修复能力的方法主要有生物强化和生物刺激, 生物强化是通过加入能够降解有机污染物的外源微生物以达到降解土壤中污染物的方法<sup>[3]</sup>。但是, 在应用中微生物修复的效果往往受到污

染物类型、浓度及其生物可利用性、土壤养分、土壤污染时间长短以及微生物本身的稳定性等多因素的影响<sup>[4]</sup>。尤其是土壤中微生物数量或活性的不稳定性是影响微生物修复效果的关键因素, 主要表现在外源功能微生物不适应土壤环境条件, 难以同土著微生物竞争, 其数量或活性易于衰减、菌体易流失、降解反应速度慢等问题。近年来, 本实验室从长江三角洲某地 PAHs 重度污染农田土壤中筛选到一株能够降解 PAHs 的噬氨副球菌 HPD-2<sup>[5]</sup>, 对高分子量 PAHs 有良好的降解能力。为了克服上述微生物修复过程中微生物数量或活性的不稳定性, 以便使该菌株能实际应用于修复 PAHs 污染的农田土壤, 本文拟优化噬氨副球菌的固体发酵条件并初步探讨该菌剂对 PAHs 污染土壤的修复效果, 为进一步研发 PAHs 污染农田土壤噬氨副球菌修复技术提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤 采自长江三角洲某地 PAHs 复合污染土壤, 其基本理化性质为: pH 6.4、有机质 19.2

①基金项目: 中国科学院知识创新工程项目 (KZCX2-YW-404, KSCX2-YM-GO53, CXTD-Z2005-4) 和国家“863”计划项目 (2007AA061101, 2004AA649210) 资助。

\* 通讯作者 (ymluo@issas.ac.cn)

作者简介: 刘增俊 (1980—), 男, 河南封丘人, 博士研究生, 主要从事土壤环境生物修复方面研究。E-mail: zjliu@issas.ac.cn

g/kg、全 N 1.0 g/kg、全 P 0.5 g/kg、全 K 14.2 g/kg、阳离子交换量 21.5 cmol/kg。土壤样品过 2 mm 筛后, 于暗处 4℃ 保存。

1.1.2 培养基 无机盐培养基:  $K_2HPO_4$  6.0 g、 $KH_2PO_4$  5.5 g、 $Na_2SO_4$  2.0 g、KCl 2.0 g、 $NH_4NO_3$  2.0 g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 g、微量金属盐溶液 1 ml<sup>[6]</sup>、蒸馏水 1 000 ml, pH 7.0。牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 3 g、蛋白胨 5 g、蒸馏水 1 000 ml, pH 7.0。

1.1.3 供试菌株 噬氨副球菌 (*Paracoccus aminovorans* HPD-2)<sup>[5]</sup>。

1.1.4 有机物料 分别采用有机肥 A (有机质 563.6 g/kg、全 N 20.3 g/kg、全 P 15.5 g/kg、全 K 15.5 g/kg)、有机肥 B (有机质 547.0 g/kg、全 N 23.6 g/kg、全 P 29.7 g/kg、全 K 22.8 g/kg)、紫花苜蓿粉 (有机质 710.6 g/kg、全 N 29.4 g/kg、全 P 3.8 g/kg、全 K 21.7 g/kg) 3 种物料。

## 1.2 试验方法

1.2.1 菌液制备 将菌株自斜面培养基挑取 2 ~ 3 环转接于牛肉膏蛋白胨平板培养基上, 30℃ 培养活化 48 h, 然后挑取一环接入牛肉膏蛋白胨液体培养基中, 30℃、200 r/min, 培养 48 h 得到菌液。

1.2.2 菌剂载体筛选及发酵条件优化 选取物料量、接种量、固水比和发酵时间 4 个发酵参数, 每个参数设 3 个水平。分别为物料量 (A): 10、20、30 g; 接种量 (B): 5%、10%、15%; 固水比 (C): 1:0.5、1:1、1:1.5; 发酵时间 (D): 48 h、96 h、144 h。采用正交试验法, 选用  $L_9(3^4)$  正交表。有机肥 A、有机肥 B 和紫花苜蓿粉 3 种有机物料, 分别按照试验设计加去离子水, 充分混匀后, 121℃ 灭菌 1 h, 温度下降到 60℃ 左右震荡散成颗粒状, 冷却至室温后按照试验设计接种菌液, 混匀散成颗粒状, 于 30℃ 静止培养, 按照试验设计取样后计活菌数量。菌数测定采用 MPN 稀释法<sup>[7]</sup>。

1.2.3 固体发酵 从 3 种有机物料中筛选出较为理想的发酵载体, 按照上述正交试验确定的最佳条件进行菌剂制备, 以供 PAHs 污染土壤的修复效应验证。

1.2.4 PAHs 复合污染土壤的菌剂修复试验 称取 1.0 kg PAHs 复合污染土壤, 按照土壤质量的 4% 加入菌剂, 混合均匀, 代号为 H。以加入等量灭活菌剂处理作为对照 (CK), 每个处理设 3 次重复。将土壤水分保持在田间持水量的 60%, 于 30℃ 下避光培养。28 天后取样, 冷冻干燥后, 过 2 mm 筛, -18℃ 冷冻保存用于 PAHs 分析。

1.2.5 土壤中 PAHs 的分析 土壤中 PAHs 的提取

与分析方法参见文献[8]。用 Class-VP5X Shimadzu HPLC 测定 PAHs。流动相为乙腈/水 (60/40)。液相色谱为日本岛津 Class-vp 高效液相色谱分析系统, 配荧光检测器 RF-10AXL、柱温箱 OTO-10ASVP、二元梯度泵 LC-10AT, 色谱分离柱为美国 Varian 公司的 ChromSpher 5 PAH。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌剂载体的筛选及发酵条件优化

从表 1 可知, 以活菌数为试验指标, 有机肥 A 为载体的固体发酵极差大小顺序为  $R_D > R_C > R_B > R_A$ , 即发酵时间是影响菌剂中活菌数量的最主要因素, 固水比次之, 接种量相对影响较小, 物料量影响最小。方差分析结果表明, 发酵时间之间差异对菌体的生长亦产生极显著影响 ( $F=20.45 > F_{0.01(2,18)}=6.01$ )。这一方面与发酵时间过长会导致菌体营养供应的缺乏而影响菌体的生长, 而另一方面发酵时间过短则会导致菌体未充分利用营养而达到最优的生长量有关。分析结果也表明, 固水比之间差异对菌体的生长产生极显著影响 ( $F=16.58 > F_{0.01(2,18)}=6.01$ ), 这可能是由于物料含水量是影响固体发酵的主要因素之一, 固体基质含水量过高或者过低都会对菌体生长产生重要影响<sup>[9]</sup>。同时, 过高的含水量影响固体颗粒之间的松散性, 使固体基质成团, 从而影响氧的传递和发酵热的散失, 并且过多游离水充满空隙, 亦妨碍氧气流动, 导致氧气浓度降低; 而含水量过低会影响营养物质的溶解和传递以及载体颗粒的润涨等, 直接影响到菌体对营养物质的利用而阻碍菌株生长<sup>[10-12]</sup>。而物料量和接种量对菌体生长的影响不显著。对不同处理而言, 处理 2、处理 3 和处理 4 之间无显著差异, 且显著高于其他处理。但与处理 2 和处理 3 相比, 处理 4 中以较少的接种量制备了较多的菌剂。考虑到规模生产的经济成本及菌剂的可用性, 认为菌体发酵的最优条件为  $A_2B_1C_2D_3$ , 即物料量为 20 g、接种量为 5%、固水比为 1:1、发酵时间为 144 h。

从表 2 可以看出, 对有机肥 B 而言, 固水比是影响菌剂中活菌数量的最主要因素, 发酵时间次之, 接种量相对影响较小, 物料量影响最小。由极差分析可知以有机肥 B 为载体的固体发酵优化条件为  $A_1B_2C_2D_2$ , 即物料量为 10 g、接种量为 10%、固水比为 1:1、发酵时间为 96 h。方差分析结果表明, 固水比和发酵时间对菌体生长影响显著 ( $p < 0.05$ ), 而物料量和接种量对菌体生长影响不显著。

由表 3 可知, 对紫花苜蓿粉而言, 固水比亦是影

表 1 不同优化发酵条件下有机肥 A 中噬氨副球菌的活菌数

Table 1 Number of HPD-2 in organic manure A under different fermentation conditions

处理号	因素				活菌数 ( $\times 10^8$ CFU/g 菌剂)
	物料量 (A, g)	接种量 (B, %)	固水比 (C)	发酵时间 (D, h)	
1	10	5	1:0.5	48	5.27 $\pm$ 1.29 ef
2	10	10	1:1	96	11.01 $\pm$ 1.06 abc
3	10	15	1:1.5	144	13.93 $\pm$ 0.79 a
4	20	5	1:1	144	12.61 $\pm$ 4.65 ab
5	20	10	1:1.5	48	9.16 $\pm$ 0.82 cd
6	20	15	1:0.5	96	3.42 $\pm$ 0.34 f
7	30	5	1:1.5	96	8.97 $\pm$ 1.42 cd
8	30	10	1:0.5	144	10.15 $\pm$ 1.08 bcd
9	30	15	1:1	48	7.40 $\pm$ 0.38 de
T <sub>1</sub>	30.21	26.85	18.84	21.84	
T <sub>2</sub>	25.2	30.32	31.02	23.4	
T <sub>3</sub>	26.52	24.76	32.06	36.69	
R	5.01	5.56	13.22	14.86	

注: T: 各因素不同水平活菌数量之和; R: 极差, 各因素不同水平活菌数和中最大值与最小值之差, 下表同。

表 2 不同优化发酵条件下有机肥 B 中噬氨副球菌的活菌数

Table 2 Number of HPD-2 in organic manure B under different fermentation conditions

处理号	因素				活菌数 ( $\times 10^8$ CFU/g 菌剂)
	物料量 (A, g)	接种量 (B, %)	固水比 (C)	发酵时间 (D, h)	
1	10	5	1:0.5	48	2.09 $\pm$ 1.74 d
2	10	10	1:1	96	11.50 $\pm$ 0.71 a
3	10	15	1:1.5	144	9.31 $\pm$ 0.33 ab
4	20	5	1:1	144	10.61 $\pm$ 1.41 a
5	20	10	1:1.5	48	8.62 $\pm$ 4.09 abc
6	20	15	1:0.5	96	5.71 $\pm$ 1.44 c
7	30	5	1:1.5	96	9.67 $\pm$ 0.94 ab
8	30	10	1:0.5	144	6.59 $\pm$ 1.13 bc
9	30	15	1:1	48	6.73 $\pm$ 1.51 bc
T <sub>1</sub>	22.90	22.36	14.39	17.44	
T <sub>2</sub>	24.93	26.71	28.84	26.87	
T <sub>3</sub>	22.99	21.75	27.60	26.51	
R	2.03	4.96	14.45	9.43	

响菌剂中噬氨副球菌活菌数量的主要因素, 发酵时间次之, 物料量相对影响较小, 接种量影响最小。由极差分析可知以紫花苜蓿粉为载体的固体发酵优化条件

为 A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>, 即物料量为 10 g、接种量为 15%、固水比为 1:1.5、发酵时间为 144 h, 其噬氨副球菌活菌数量显著高于其他处理 ( $p < 0.05$ )。

表3 不同优化发酵条件下紫花苜蓿粉中噬氨副球菌的活菌数

Table 3 Number of HPD-2 in alfalfa powder under different fermentation conditions

处理号	因素				活菌数 ( $\times 10^8$ CFU/g菌剂)
	物料量 (A, g)	接种量 (B, %)	固水比 (C)	发酵时间 (D, h)	
1	10	5	1:0.5	48	0.05 $\pm$ 0.01 c
2	10	10	1:1	96	1.66 $\pm$ 0.31 bc
3	10	15	1:1.5	144	4.05 $\pm$ 1.15 a
4	20	5	1:1	144	1.68 $\pm$ 1.52 bc
5	20	10	1:1.5	48	1.56 $\pm$ 2.49 bc
6	20	15	1:0.5	96	0.10 $\pm$ 0.03 c
7	30	5	1:1.5	96	2.79 $\pm$ 0.23 ab
8	30	10	1:0.5	144	0.93 $\pm$ 1.39 bc
9	30	15	1:1	48	0.12 $\pm$ 0.02 c
T <sub>1</sub>	5.77	4.52	1.08	1.73	
T <sub>2</sub>	3.34	4.15	3.47	4.55	
T <sub>3</sub>	3.83	4.28	8.40	6.66	
R	2.43	0.38	7.31	4.93	

综上所述,以有机肥A、有机肥B和紫花苜蓿粉为菌剂载体的最佳发酵条件下,其噬氨副球菌数量分别为  $12.61 \times 10^8$ 、 $11.50 \times 10^8$  和  $4.05 \times 10^8$  CFU/g菌剂,并且其差异达到了显著水平 ( $p < 0.05$ ),这可能与不同载体本身的养分含量及其比例有关。所以初步选定以有机肥A为噬氨副球菌固体发酵载体,并以确定的最佳条件制备菌剂,用于PAHs污染土壤的修复效果验证。

## 2.2 优化条件下菌剂对 PAHs 污染土壤的修复效果

### 2.2.1 供试土壤中PAHs组分及含量变化

菌剂施用前后不同处理土壤中 15 种PAHs组分及含量如表 4 所示。从表 4 可以看出,初始土壤中除萘以外其他组分均有检出,不同PAHs的含量范围为 52 ~ 2 061  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,其中萘和荧蒽的含量最高,分别为 2 061 和 1 528  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,占总含量的 20.7% 和 15.3%。无论是加菌剂处理(H)还是对照处理(CK),PAHs含量都有不同程度的降低。加菌剂处理中,PAHs总量为 7 638  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,较原始土壤降低了 22.8%。原始土壤中含量最高的荧蒽和萘的含量已显著降低,分别降低了 19.9% 和 21.4%。芘去除率最高,修复后的土壤中未能检测到,而其他PAHs含量也有不同程度的下降,其中芴降低了 87.6%、菲为 22.4%、蒽为 43.6%、苯并[a]蒽为 29.6%、屈为 12.4%、苯并[b]荧蒽为 22.1%、苯并

[k]荧蒽为 26.6%、苯并[a]芘为 29.0%、二苯并[a,h]蒽为 34.8%、苯并[g,h,i]芘为 29.1%,但屈修复前后的含量并没有显著差异。菌剂施用后土壤中芘并[1,2,3-cd]芘含量为 447  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,与修复前相比,其含量基本没有降低,这可能是由于土壤中PAHs分布不均匀、降解菌的缺乏及土壤颗粒结合的PAHs释放所致。有研究表明土壤中部分PAHs很难降解<sup>[13]</sup>,且PAHs的生物可利用性受污染物本身与土壤性质的影响很大。CK处理中,PAHs总含量为 9 351  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,与原始土壤PAHs含量无显著差异。高分子量PAHs,如苯并[g,h,i]芘、芘并[1,2,3-cd]芘和苯并[a]芘等,虽然含量有所降低,但与原始土壤相比同样差异不显著。这可能是高分子量PAHs生物降解的高抗性以及污染土壤老化过程中PAHs与土壤颗粒结合而导致的生物可利用性降低引起的。

### 2.2.2 供试土壤中不同环数 PAHs 的去除率

由图 1 可以看出,加菌剂处理中,不同环数 PAHs 去除率相对较高,其中以 3 环 PAHs 的去除率最高,为 35.1%;其次是 5 环 PAHs,为 27.0%,4 环与 6 环 PAHs 的去除率最低,分别为 20.7% 和 20.4%,这可能与原来针对 5 环 PAHs 降解菌的筛选有关。可见,施入菌剂能够对土壤中的 PAHs 有一定的修复效果。

表 4 不同处理土壤中 PAHs 的含量及去除率

Table 4 Concentrations and removal rates of PAHs in soils under different treatments

PAHs	原始土壤含量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	菌剂处理 (H)		CK	
		含量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	去除率 (%)	含量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	去除率 (%)
萘	-	-	-	-	-
苊	$52 \pm 3$ a	-	$100.0 \pm 0$	$54 \pm 2$ a	$0 \pm 3$
芴	$55 \pm 7$ a	$7 \pm 1$ b	$87.6 \pm 1$	$54 \pm 1$ a	$2.9 \pm 2$
菲	$583 \pm 16$ a	$452 \pm 56$ b	$22.4 \pm 2$	$587 \pm 23$ a	$0 \pm 4$
葱	$133 \pm 2$ a	$75 \pm 23$ b	$43.6 \pm 1$	$123 \pm 3$ a	$7.3 \pm 3$
荧葱	$1\,528 \pm 31$ a	$1\,225 \pm 80$ b	$19.9 \pm 2$	$1\,505 \pm 64$ a	$1.5 \pm 4$
芘	$2\,061 \pm 35$ a	$1\,619 \pm 84$ b	$21.4 \pm 1$	$1\,946 \pm 22$ a	$5.6 \pm 1$
苯并[a]葱	$963 \pm 28$ a	$677 \pm 34$ c	$29.6 \pm 2$	$787 \pm 19$ b	$18.2 \pm 2$
屈	$1\,062 \pm 25$ a	$930 \pm 9$ a	$12.4 \pm 2$	$1\,021 \pm 67$ a	$3.9 \pm 6$
苯并[b]荧葱	$657 \pm 24$ a	$525 \pm 9$ b	$22.1 \pm 3$	$573 \pm 51$ ab	$15.1 \pm 8$
苯并[k]荧葱	$392 \pm 14$ a	$287 \pm 9$ b	$26.6 \pm 3$	$333 \pm 14$ ab	$15.0 \pm 4$
苯并[a]芘	$1\,099 \pm 96$ a	$777 \pm 33$ b	$29.0 \pm 6$	$1\,046 \pm 61$ a	$3.1 \pm 6$
二苯并[a,h]葱	$118 \pm 1$ a	$77 \pm 2$ c	$34.8 \pm 1$	$98 \pm 5$ b	$17.4 \pm 4$
苯并[g,h,i]芘	$761 \pm 31$ a	$539 \pm 3$ b	$29.1 \pm 3$	$730 \pm 9$ a	$4.0 \pm 1$
茚并[1,2,3-cd]芘	$478 \pm 45$ a	$447 \pm 18$ a	$6.1 \pm 9$	$476 \pm 27$ a	$0.4 \pm 6$
总量	$9\,959 \pm 91$ a	$7\,638 \pm 286$ b	$22.8 \pm 1$	$9\,351 \pm 224$ a	$6.1 \pm 2$

注: 去除率 (%) = (原始含量 - 菌剂施后的含量)  $\times$  100/原始含量。

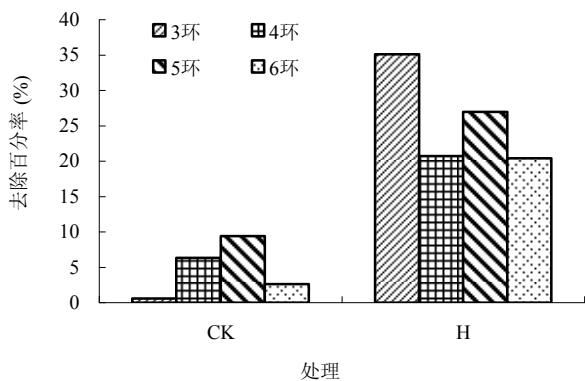


图 1 不同环数 PAHs 的去除百分率

Fig. 1 Percentage of removal for PAHs with different number of rings

### 3 结论

以噬氨副球菌活菌数为指标, 3 种有机物料中有机肥 A 更适宜该菌的生长; 其噬氨副球菌的固体发酵最佳条件为物料量(有机肥 A)为 20 g、接种量为 5%、固水比为 1:1、发酵时间为 144 h。施用该菌剂后土壤中 PAHs 总量的去除率为 22.8%, 其中 3 环 PAHs 去除率最高, 其次是 5 环, 最后是 4 环和 6 环 PAHs。可见, 该菌剂对污染土壤中 PAHs 特别是高分子量 PAHs 有一

定的去除效果, 并进一步验证了噬氨副球菌固体发酵菌剂的应用潜力。但其田间修复实际效果有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Wilcke W. Global patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. *Geoderma*, 2007, 141: 157-166
- [2] Juhasz AL, Naidu R. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2000, 45 (1/2): 57-88
- [3] Odokuma LO, Dickson AA. Bioremediation of a crude oil polluted tropical rain forest soil. *Global Journal of Environmental Sciences*, 2003, 2: 29-40
- [4] D'Annibale A, Ricci M, Leonardi V, Quarantino D, Mincione E, Petruccioli M. Degradation of aromatic hydrocarbons by white-rot fungi in a historically contaminated soil. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005, 90: 723-731
- [5] 毛健, 骆永明, 滕应, 李振高, 吴宇澄. 一株高分子量多环芳烃降解菌的筛选、鉴定及降解特性研究. *微生物通报*, 2008, 35(7): 1 011-1 015
- [6] 吴宇澄, 骆永明, 滕应, 刘五星, 李振高. 石油污染土壤中芳

- 烃降解菌及邻苯二酚 2, 3 双加氧酶的克隆. 土壤, 2006, 38(5): 640-644
- [7] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法. 北京: 科学出版社, 2008: 92-93
- [8] 钱薇, 倪进治, 骆永明, 李秀华, 邹德勋. 高效液相色谱-荧光检测法测定土壤中的多环芳烃. 色谱, 2007, 25(2): 221-225
- [9] Sekar C, Balaraman K. Optimization studies on the production of cyclosporine A by solid state fermentation. Bioprocess Engineering, 1998, 8: 293-296
- [10] Singhania RR, Patel AK, Soccol CR, Pandey A. Recent advances in solid-state fermentation. Biochem. Eng. J., 2009, 44(1): 13-18
- [11] Pandey A, Solid-state fermentation. Biochem. Eng. J., 2003, 13: 81-84
- [12] Jackson AM, Whipps JM, Lynch JM. Effects of temperature, pH and water potential on growth of the four fungi with disease biocontrol potential. World Microbial Biotechnol, 1991, 7(2): 494-501
- [13] Parrish ZD, Banks MK, Schwab AP. Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon impacted soil. Environ. Pollut., 2005, 137: 187-197

## Optimal Conditions of Solid State Fermentation on *Paracoccus aminovorans* HPD-2 and Its Remediation Potential in PAH-contaminated Soil

LIU Zeng-jun<sup>1,2</sup>, TENG Ying<sup>1</sup>, LUO Yong-ming<sup>1,2</sup>, ZHAO Jing<sup>1</sup>, LI Zhen-gao<sup>1</sup>

(1 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China;

2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** The optimal conditions of solid state fermentation of *Paracoccus aminovorans* HPD-2 and the remediation effect of microbial agents on PAH-contaminated soil were studied. As for the solid state fermentation, we selected three kinds of organic materials included organic manure A, organic manure B and alfalfa, and discussed the effects of the amount of solid matrix, inoculum size, moisture content, incubation time and its remediation potential in PAH-contaminated soil. The results showed the best organic material was organic manure A and the optimal conditions for the bacteria growth in the solid state fermentation included 20 g solid matrix and 5% inoculum size, and 1:1 moisture content (w/v) with 144 h of incubation period. After 28 days, bioaugmented microcosms of microbial agents showed a 22.8% decrease in total PAHs, with the concentration declined from 9.96 mg/kg to 7.64 mg/kg. The degradation percentage of 3-ring, 5-ring, 4-ring and 6-ring PAH were 35.1%, 27.0%, 20.7%, 20.4% respectively. This microbial agent had some extent remediation potential in PAH-contaminated soil.

**Key words:** Polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs), Organic material, *Paracoccus aminovorans* HPD-2, Solid state fermentation, Bioremediation