

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)降解萘的动力学研究

方世纯, 郝瑞霞*, 鲁志强

(北京大学造山带与地壳演化重点实验室, 北京 100871)

摘要: 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) HBS-4是从油田中分离出来的一株能高效降解有机物萘的菌株。当萘的初始浓度为100 mg时, 该菌株在pH为8.0, 温度为40℃下具有较好的降解效果, 作用69 h能降解50%以上的萘。通过HBS-4菌株降解萘的动力学研究, 在Williams结构模型的基础上建立了HBS-4作用萘的四组分动力学模型, 并用此模型解释菌株HBS-4在降解萘的过程中, 葡萄糖含量、菌液浓度、pH、Eh随时间的变化特征。

关键词: 枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*); 萘; 降解; 动力学; 结构模型

中图分类号: P593

文献标识码: A

文章编号: 1006-7493 (2007) 04-0682-06

1 引言

萘 (Naphthalene) 分子式 $C_{10}H_8$, 结构式为, 易挥发, 其蒸汽与空气混合物爆炸极限为0.9%~5.9%, 是严重危害人类健康的一种有机物。大量的临床资料证明: 长期接触萘的人, 易发生喉癌、胃癌和结肠癌等癌症 (Rachel Carson, 1964; 吕瑞兰等, 1997)。目前有多种治理萘污染的方法, 主要有以悬浮态 TiO_2 为催化剂进行的光催化降解萘、干法脱萘、吸附脱萘以及三级脱萘等方法。

近年来, 随着生物技术的发展以及环保意识的增强, 利用微生物降解萘的方法越来越受到重视, 有关萘及其相关污染物的生物降解的微生物菌株的分离和鉴定工作已取得了良好的进展 (Kleinheinzl et al, 1997; Lory et al, 1999; Lu et al, 2002; Yu et al, 2005)。现今已经证明萘及其衍生物生物降解的两个重要步骤是脱氯和开环, 在好氧条件下, 存在先脱氯后开环和先开环再脱氯两种氧化脱氯方式。这些都为萘的微生物降解提供了理论依据, 从而促进了萘的生物降解技术的发展与完善。

2 材料与方法

本次实验选用的菌种是从油田中分离的枯草

芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) HBS-4。实验用培养基: NaCl: 5.0 g; $NaNO_3$: 0.5 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$: 0.01 g; NH_4Cl : 0.1 g; K_2HPO_4 : 2.7 g; 牛肉浸膏: 1.0 g; 蛋白胨: 3.0 g; 酵母膏: 0.5 g; 葡萄糖: 3.0 g; 蒸馏水: 1000 ml; pH=7.2。

2.1 最佳实验条件的确定

在三角瓶中加入200 mL普通培养基, 并加入100 mg萘, 用稀盐酸调节pH至7.2, 灭菌后接种已活化的菌液1 mL, 然后分别在30℃, 35℃, 40℃, 45℃, 50℃条件下培养48h后测量该菌株对萘的降解率。

配制普通培养基并加入100 mg萘, 用稀盐酸调节pH值分别为6.0, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 灭菌后接种已活化菌液1 mL, 40℃条件下培养48 h后测量该菌株对萘的降解率。

2.2 生长曲线的测定

采用紫外分光光度计在550 nm测定菌液的OD值 (细菌的光密度, 代表细菌的菌液浓度), 绘制细菌的生长曲线; 用酸度计测定细菌生长过程中菌液的pH和Eh值, 同时选用了紫外分光光度计测定葡萄糖溶液的吸光度、根据葡萄糖标准曲线计算出实际葡萄糖的含量 (瞿礼嘉, 1998; 沈萍等, 2000)。

2.3 萘的分析检测

采用了高效液相色谱法测定萘的含量。首先用

收稿日期: 2007-07-29; 修回日期: 2007-09-25

基金项目: 国家重点基础研究发展计划资助项目 (2007CB815601); 石油科技中青年创新基金资助项目

作者简介: 方世纯, 女, 1982年生, 硕士研究生, 从事于生物地球化学研究。*通讯作者: 郝瑞霞, E-mail: rxhao@pku.edu.cn

环己烷萃取, 将萃取液以层析法通过硅胶柱作预分离, 在以十八烷基硅烷为固定相的液相色谱柱中, 以甲醇/水为流动相, 把经预处理过的萘分离成单个化合物, 再用荧光分光检测器测定峰高或峰面积, 最后以外标法进行定量 (王正萍等, 2005)。

3 结果与讨论

3.1 生长特征

枯草芽孢杆菌 HBS-4 为革兰氏阳性杆菌 (图 1), 大小为 $(0.7\sim 0.8)\mu\text{m} \times (2.5\sim 4.0)\mu\text{m}$ 。将菌株接种于液体培养基, 菌液浑浊, 有少量白色絮状沉淀, 细胞运动, 密度可达 10^8 个/mL, 最高可达 10^9 个/mL。细胞在对数生长期以单体或成对出现, 在对数生长晚期和稳定期时呈链状和团状出现。细菌在 $20\sim 58^\circ\text{C}$ 温度范围内生长良好, 最佳生长温度为 $32\sim 48^\circ\text{C}$ 。在 pH 5.5~8.5 时生长良好 (郝瑞霞等, 2002)。

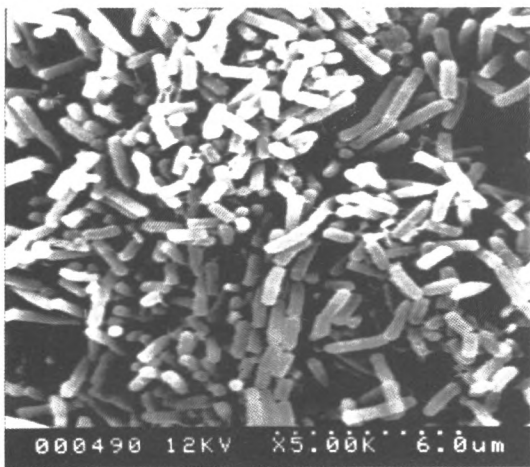


图1 枯草芽孢杆菌 HBS-4 的扫描电子显微照片

Fig. 1 SEM photo of *Bacillus subtilis* HBS-4

3.2 最佳降解条件的确定

将枯草芽孢杆菌 HBS-4 分别在 30°C , 35°C , 40°C , 45°C , 50°C 温度条件下反应 48 h 后, 得到了对萘的降解动力学变化曲线。如图 2 所示, 温度上升时, 反应速率和生长速率加快, 从而萘的降解率增加; 但随着温度升高的同时, 菌株的蛋白质、核酸也会被破坏, 不利于反应的进行。因此, 实验结果得出, 在温度 40°C 时, 菌株 HBS-4 对萘的降解率最高。

通过实验测量还得出, 枯草芽孢杆菌 HBS-4 在

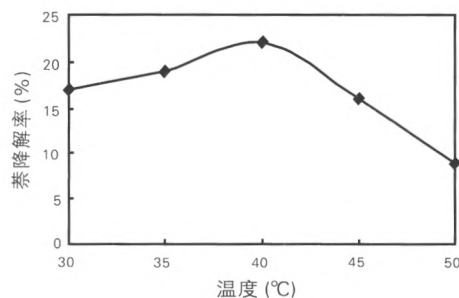


图2 温度对菌株降解萘的影响

Fig. 2 Effect of temperature on degradation ratio

pH 值分别为 6.0, 7.0, 7.5, 8.0 和 8.5 条件下, 反应 48 h 后对萘的降解动力学变化曲线 (图 3)。枯草芽孢杆菌 HBS-4 生长的 pH 范围为 5.5~8.5, 而不同的培养基以及反应条件等都可能影响测试结果。由图 3 可以看出, 普通培养基 pH=8 时枯草芽孢杆菌 HBS-4 降解萘的效果相对最佳, 因而选用 pH 值 8。

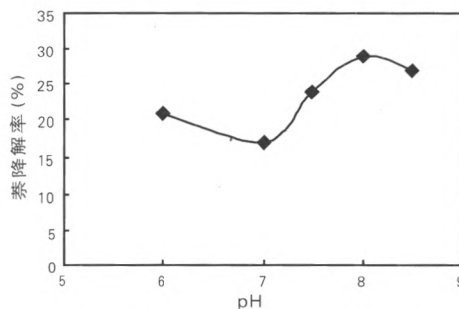
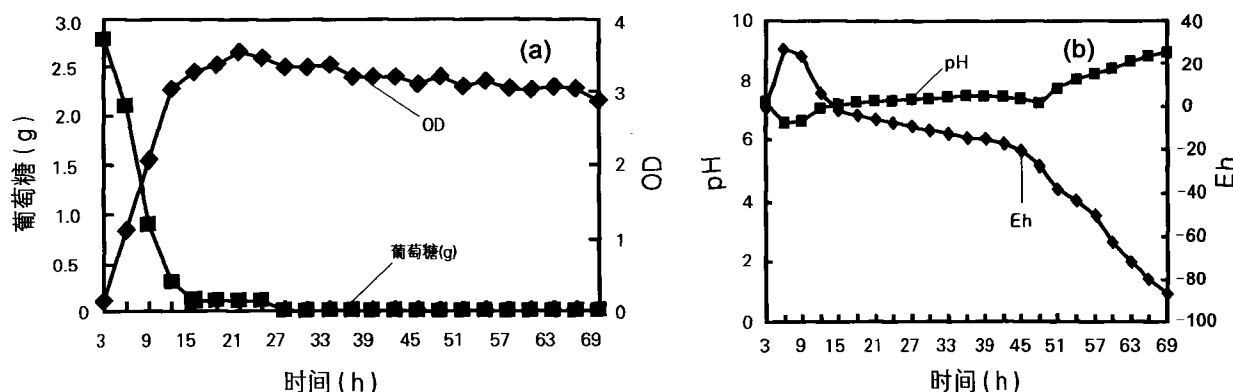


图3 pH 值对菌株降解萘的影响

Fig. 3 Effect of pH on degradation ratio

3.3 菌株 HBS-4 的生长情况

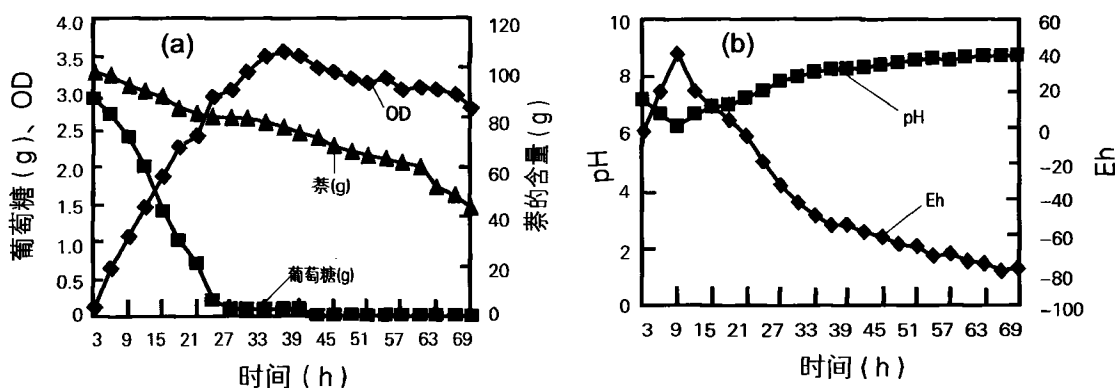
图 4 为不加萘时枯草芽孢杆菌 HBS-4 在生产过程中的葡萄糖、OD 值, pH 值和 Eh 值的变化; 图 5 为加入萘以后枯草芽孢杆菌 HBS-4 的生长变化, 以及作用 69 h 以后的相应萘含量。细菌的生长变化一般都分为四个阶段: 延迟期、对数生长期、稳定期和衰亡期。当菌体被接入新鲜的培养基后, 在起初的一个培养阶段内, 菌体体积增长较快, 但单位体积培养基中的菌体数量并未出现较大变化, 菌株处于对新环境的适应期, 生长较为缓慢, 即为延迟期 (Li et al, 2000; 马文漪等, 1998)。但由图 4 和图 5 代表细菌数目的 OD 值发现, 细菌生长并未有一个缓慢时期, 而是直接迅速上升直至进入一个生长速率相对稳定的高速生长阶段。由于接种的细菌是新活化后的菌液, 已经适应了该培养环境, 所以观测到的是直接进入



(a) 葡萄糖、OD随时间的变化曲线; (b) pH、Eh随时间的变化曲线
(a) The variation curve of glucose and OD; (b) The variation curve of pH and Eh

图4 不加萘的枯草芽孢杆菌HBS-4生长变化曲线

Fig. 4 The growth curve of *Bacillus subtilis* HBS-4 without naphthalene



(a) 葡萄糖、OD、萘的含量随时间的变化曲线; (b) pH、Eh随时间的变化曲线
(a) The variation curve of glucose, OD and naphthalene contents; (b) The variation curve of pH and Eh

图5 加入萘的枯草芽孢杆菌HBS-4生长变化曲线

Fig. 5 The growth curve of *Bacillus subtilis* HBS-4 with naphthalene

了对数生长期,而略去了延迟期。由图中OD值的变化可以看出,处于对数期的枯草芽孢杆菌,其细菌数目以 $1 \rightarrow 2 \rightarrow 4 \rightarrow 8 \dots$ 的方式呈几何级数增长,也即一个枯草芽孢杆菌繁殖 n 代产生 2^n 个子代菌体。随着培养时间的延长,生长达到一定阶段后,生长速率又表现为逐渐降低的趋势,随后出现一个细胞数目相对稳定的阶段。由图4和图5可以看出,不加萘的枯草芽孢杆菌在12 h后、加入萘的在24 h后菌株的生长速率逐渐变慢,但依旧是呈上升趋势,分别在21 h和36 h的时候趋于平衡,进入稳定生长期。细菌的生长随着培养基的耗尽,最终都会进入一个衰老死亡期,由图并没有看出其衰亡期,说明枯草芽孢杆菌的衰亡期在69 h以后,因为本文侧重讨论菌株的生长动力学情况,所以并没有对其后的生长进行探讨。图5a中

萘的含量变化表明,在pH为8,温度为40℃条件下作用69 h以后萘降解了50%以上。图4与图5对比后明显看出,萘的存在会抑制枯草芽孢杆菌HBS-4的生长,加入萘以后菌株HBS-4的生长减缓,对数生长期持续到24 h,比不加萘的对数生长期晚了12 h (图4a, 图5a);相应地,葡萄糖的消耗速度、pH值的降低速度和Eh值的升高速度比不加萘时均减慢(图4b, 图5b)。图5a中的葡萄糖与萘的变化趋势并不一致,从中可以得知萘并不是枯草芽孢杆菌HBS-4的碳源。

3.4 菌株HBS-4降解萘的动力学研究

根据枯草芽孢杆菌HBS-4降解萘的实验结果可以看出,菌数的增长与糖消耗之间有一定的时间差,菌数增长明显呈现滞后,图5a中OD达到最高值明显的比葡萄糖消耗完全要落后十几小时。因

此, 可以认为葡萄糖是先被同化成组分A (合成前体及RNA组分), 然后才进一步形成与菌数成正比的结构组分B。Luthy (1982) 等人将枯草芽孢杆菌的生长过程分为细胞生长与芽孢形成两个阶段。由于孢子数是根据脱落的芽孢计数的, 当菌数增至最大值后, 因芽孢形成后需要一定的时间才脱落, 导致芽孢增长曲线与实际的芽孢形成情况相比有一定的滞后; 又因计数时将芽孢未脱落时的菌体和正在形成的芽孢计为一个菌体, 因此拟采用考虑了细胞内部物质变化的结构模型来进行描述 (关雄, 1997; 苏丹等, 2007; Williams, 1967)。Willianms模型是较成熟的结构模型, 采用该模型为基础来描述枯草芽孢杆菌HBS-4降解苯的动力学能比较真实地反映和揭示生化过程的本质。其基本假设为:

(1) 细胞被分为两种组分: 合成组分A (比如前体分子和RNA) 和结构组分B (比如蛋白质和DNA): $C_X = C_{XA} + C_{XB}$, 其中 C_X 等于 $1/V$, 并且是一个常数, 因此 $dC_X/dt = 0$ 。

(2) 组分A由碳源S形成, 组分B由合成组分A形成, 即: $S \rightarrow A \rightarrow B$ 。则反应的速度与底物和细胞的浓度成正比: $\gamma_{XA} = k C_S C_X$ 。

由实验结果分析后拟对Willianms结构模型作出分析与修正, 得出枯草芽孢杆菌HBS-4的四组分结构模型: 细胞由三个组分组成, 即合成组分A、结构组分B1及B2, 合成组分A及结构组分B1的定义与Willianms的双组分模型一致。结构组分B2由结构组分B1转化而来, 是指胞内孢子正向孢子转化的物质。孢子组分C完全从结构组分B2转化得到, 四组分结构模型见图6。

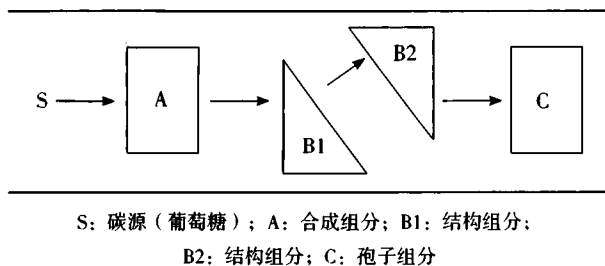


图6 枯草芽孢杆菌HBS-4的结构模型

Fig. 6 The structure model of *Bacillus subtilis* HBS-4

碳源S先转化为合成组分A, A的合成速率与胞外碳源浓度 C_S 及生物相浓度 C_X 成正比。结构组

分B1由合成组分A合成, B1的合成速率与组分A及B1的生物相浓度成正比。结构组分B2由B1转化得到, B2的生成速率与B1的浓度成正比, 同时受到胞外碳源浓度 C_S 及胞内合成组分A的浓度 C_{XA} 的抑制。孢子C完全由结构组分B2转化得到, C的生成速率与B2浓度成正比。单位体积降解液的细胞数与结构组分B1与B2之和成正比, 即结构组分的质量倍增时, 细胞才会发生分裂。

根据以上得出各组分的生成速率表达式为:

$$\gamma_{XA} = k_1 \bar{C}_S \hat{C}_X, \quad \gamma_{XB1} = k_2 \hat{C}_{XA} \hat{C}_{XB1}, \quad \gamma_{XC} = k_4 \hat{C}_{XB2}$$

$$\gamma_{XB2} = k_3 \hat{C}_{XB1} / \left[1 + \left(\frac{m\hat{V}}{V} C_{XA} + \frac{V-m\hat{V}}{V} C_S \right) / K \right]$$

在间歇培养中, 生物相第 j 组分的浓度随时间的变化可以表示为: $\frac{d(m\hat{V}C_{Xj})}{dt} = m\hat{V} \sum_{j=1}^p \gamma_{Xj}$ 。

设生物相的比体积 $\hat{V}$ (单位: m^3/kg) 为常数, 上式可以重排为: $\frac{d\hat{C}_{Xj}}{dt} = \sum_{j=1}^p \gamma_{Xj} - \frac{1}{m} \frac{dm}{dt} \hat{C}_{Xj}$ 。

以 $\hat{C}$ 表示生物相中的细胞浓度, $\bar{C}$ 表示非生物相中的浓度, 它们与表观浓度 C (即包括非生物相与生物相发酵液总体积 V 中的浓度) 的关系为:

$$C = \frac{m\hat{V}}{V} \hat{C}, \quad C = \frac{V-m\hat{V}}{V} \bar{C}。$$

综合推导得:

$$\frac{d\hat{C}_S}{dt} = \frac{k_1}{Y_{XS}} \bar{C}_S \hat{C}_X,$$

$$\frac{dC_S}{dt} = -\left(\frac{V}{V-m\hat{V}}\right) \frac{k_1}{Y_{XS}} C_S C_X;$$

$$\frac{d\hat{C}_{XA}}{dt} = k_1 \bar{C}_S \hat{C}_X - k_2 \hat{C}_{XA} \hat{C}_{XB1} - \frac{1}{m} \frac{dm}{dt} \hat{C}_{XA},$$

$$\frac{dC_{XA}}{dt} = \left(\frac{V}{V-m\hat{V}}\right) k_1 \bar{C}_S C_X - \frac{V}{m\hat{V}} k_2 C_{XA} C_{XB1};$$

$$\frac{d\hat{C}_{XB1}}{dt} = k_2 \hat{C}_{XA} \hat{C}_{XB1} - \frac{k_3 \hat{C}_{XB1}}{1 + \left(\frac{m\hat{V}}{V} \hat{C}_{XA} + \frac{V-m\hat{V}}{V} \bar{C}_S \right) / K} - \frac{1}{m} \frac{dm}{dt} \hat{C}_{XB1},$$

$$\frac{dC_{XB1}}{dt} = \frac{V}{m\hat{V}} k_2 C_{XA} C_{XB1} - \frac{k_3 C_{XB1}}{1 + (C_{XA} + C_S) / K};$$

$$\frac{d\hat{C}_{XB2}}{dt} = \frac{k_3 C}{1 + \left(\frac{m\hat{V}}{V} \hat{C}_{XA} + \frac{V-m\hat{V}}{V} \hat{C}_S \right) / K} - \frac{1}{m} \frac{dm}{dt} \hat{C}_{XB} - k_4 \hat{C}_{XB2},$$

$$\frac{dC_{XB2}}{dt} = \frac{k_3 C_{XB1}}{1 + (C_{XA} + C_S) / K} - k_4 C_{XB2};$$

$$\frac{d\hat{C}_{XC}}{dt} = k_4 \frac{m\hat{V}}{V-m\hat{V}} \hat{C}_{XB2}, \quad \frac{dC_{XC}}{dt} = k_4 C_{XB2};$$

$$\hat{C}_X = \hat{C}_{XA} + \hat{C}_{XB1} + \hat{C}_{XB2}, \quad C_X = C_{XA} + C_{XB1} + C_{XB2}.$$

根据假设, 单位体积发酵液中的细胞数 N 与 B1 及 B2 组分的和成正比, 即

$$C_{nX} = \frac{N}{V} = \alpha \frac{m\hat{V}}{V} (\hat{C}_{XB1} + \hat{C}_{XB2}) = C_{XB1} + C_{XB2}.$$

$$\text{令, } C_{nX} = \frac{1}{\rho} (C_{XB1} + C_{XB2}), \quad \rho \text{ 表示每个结构单元}$$

的质量 ($\text{g}/10^{12}$ 个), 假设为常数, 推出:

$$\frac{dC_{nX}}{dt} = \frac{1}{\rho} \frac{dC_{XB1}}{dt} + \frac{1}{\rho} \frac{dC_{XB2}}{dt} = \left(\frac{V}{m\hat{V}} k_2 C_{XA} C_{XB1} - k_4 C_{XB2} \right) / \rho.$$

$$\text{同理, 对于孢子: } \frac{dC_{nX}}{dt} = \frac{1}{\rho} \frac{dC_{XC}}{dt} = \frac{k_4}{\rho} C_{XB2}.$$

在发酵液中, 细胞的体积与发酵液总体积相比很小, 可以忽略不计, 因此:

$$V - m\hat{V} \cong V, \quad \frac{V}{V - m\hat{V}} = 1, \quad \frac{V}{m} = \frac{1}{m/V} = \frac{1}{C_X}.$$

将以上各公式合并得出最终动力学公式为:

$$\frac{dC_S}{dt} = -\frac{k_1}{Y_{XS}} C_S C_X, \quad \frac{dC_{XA}}{dt} = k_1 C_S C_X - k_2 C_{XA} C_{XB1} / C_X,$$

$$\frac{dC_{XB1}}{dt} = k_2 C_{XA} C_{XB1} / C_X - \frac{k_3 C_{XB1}}{1 + (C_{XA} + C_S) / K},$$

$$\frac{dC_{XB2}}{dt} = \frac{k_3 C_{XB1}}{1 + (C_{XA} + C_S) / K} - k_4 C_{XB2},$$

$$\frac{dC_{XC}}{dt} = Y_{SP/X} k_4 C_{XB2}, \quad C_{nX} = \frac{1}{\rho} (C_{XB1} + C_{XB2}),$$

$$C_{nS} = \frac{1}{\rho} C_{XC}.$$

以上公式中: $\hat{C}$ 表示细胞浓度, 单位体积生物相质量, 单位为 kg/m^3 ; $\hat{C}_{XA}$, $\hat{C}_{XB1}$, $\hat{C}_{XB2}$, $\hat{C}_{XC}$ 分别表示细胞 A, B1, B2 和 C 的组分浓度, 单位体积生物相质量, 单位为 kg/m^3 ; $\bar{C}_S$, C_X , C_{XA} , C_{XB1} , C_{XB2} 分别表示非生物相底物浓度、细胞数量密度、A 组分表观密度、B1 组分表观密度和 B2 组分表观密度, 单位体积生物相质量, 单位为 kg/m^3 ; C_{S_0} , C_{XB1_0} , C_{XB2_0} 分别表示底物、B1 组分和 B2 组分表观

密度初值, 单位体积细胞质量, 单位为 kg/m^3 ; k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , K 分别表示底物向 A 组分生成速率常数, A 组分向 B1 组分生成速率常数, B1 组分向 B2 组分生成速率常数, B2 向芽孢 C 组分生成速率常数和底物抑制常数; m 表示生物质量, 单位为 kg ; n_X , n_S 分别表示细胞数量和芽孢数量; $Y_{X/S}$, $Y_{SP/X}$ 分别表示底物得率常数、相对于菌体量的孢子得率; γ_{XA} , γ_{XB1} , γ_{XB2} , γ_{XC} 分别表示底物向 A 组分生成速率, A 组分向 B1 组分生成速率, B1 组分向 B2 组分生成速率和 B2 组分向芽孢组分生成速率。

由最终推导公式可以看出葡萄糖 (碳源) 的消耗速率与葡萄糖的浓度成正比。随着反应的进行, 葡萄糖逐渐消耗、浓度也相应降低, 则其消耗速率不断降低, 由图 5a 中看出, 葡萄糖的降低速率先是很快, 后来则变得比较慢, 到最后快消耗完时降低速率基本趋近于零, 变化趋于直线, 直至葡萄糖完全消耗完毕。OD 值代表菌数, 菌数与结构组分成正比, 而由于芽孢的形成与脱落需要一定的时间, 导致计数时芽孢未脱落的菌数和正在形成的芽孢是计为一个菌落的, 因而也与孢子数相关。降解过程中, 由碳源 $\rightarrow$ 合成组分 $\rightarrow$ 结构组分 $\rightarrow$ 孢子组分的生成过程是连续的, 碳源还未消耗完时结合组分及孢子已经开始生成了。因而枯草芽孢杆菌 HBS-4 生长曲线与多种因素相关, 应该由几个反应式综合来考虑其反应速率。反应初期, 主要是消耗碳源形成组分 A, 同时有少量的结构组分 B 生成, 因而反应初期菌数较少、生长较慢, 为生长的延迟期; 随着反应的进行, 碳源逐渐减少结构组分以及孢子增长加快, 从而过渡到了反应的对数生长期。由上述几个反应关系式, 可以看出生长速率是几种物质 (A, B1, B2, C) 浓度的一种关系式, 当进行到一定的阶段时, 几种物质逐渐达到一种平衡状态, 使得其生长曲线趋于直线, 为反应的稳定期。而组分 C 物质的浓度与 B2 的浓度成正比, 而反应进行最后 B2 消耗完全, 从而反应也逐渐减慢, 所以生长曲线最后为衰亡期。

4 结论

本文通过实验探讨了枯草芽孢杆菌 HBS-4 生长变化特征及其降解蔡的动力学特征, 主要得出以下结论:

(1) 枯草芽孢杆菌HBS-4降解萘的最佳条件为: pH=8, 温度为40℃, 69 h可以降解50%以上的萘。

(2) 萘的存在会抑制枯草芽孢杆菌HBS-4的生长, 加入萘以后枯草芽孢杆菌HBS-4的生长减缓; 葡萄糖含量降低得明显变慢; pH值的降低速度和Eh值的升高速度亦减慢。葡萄糖、萘的变化趋势的不一致表示萘可能不是枯草芽孢杆菌HBS-4的碳源。

(3) 根据Williams结构模型, 通过实验分析修正并建立了枯草芽孢杆菌HBS-4的四组分动力学结构模型, 并以此来解释枯草芽孢杆菌HBS-4降解萘的过程。

参考文献 [References] :

- 关雄.1997.苏云金芽孢杆菌8010的研究.北京:科学出版社.193.
[Guan Xiong. 1997. *Bacillus Thuringiensis* 8010 Research. Beijing: Science Press, 193. (in Chinese)]
- 郝瑞霞, 鲁安环, 王关玉. 2002. 枯草芽孢杆菌对原油的初探. 石油学报, 18 (5): 14–20.
[Hao Ruixia, Lu Anhuai, Wang Guanyu. 2002. Properties and effect on crude oil of biosurfactant produced by *Bacillus* HBS-4. *Oil Journal*, 18 (5): 14–20. (in Chinese with English abstract)]
- Kleinheinzl G T, Bagley S T. 1997. A filter-plate method for the recovery and cultivation of microorganism utilizing volatile organic compounds. *Journal of Microbiological Methods*. 29: 139–144.
- Li G H, Huang W, Zhang X. 2000. Enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons in polluted soil. *Enviromental Science and Health*,

Part A, 35 (2): 177–188.

- Lory A H, Kelly P N, Derek R. 1999. Role of prior exposure on anaerobic degradation of naphthalene and phenanthrene in marine harbor sediments. *Organic Geochemistry*, 30: 937–945.
- Lu Xiaoxia, Li Guanghe. 2002. Volatile fatty acids as electron donors for the reductive dechlorination of hlboroethenes. *Journal of Environmental Science and Health*, Part A. 37 (4): 439–449.
- 马文漪, 杨柳燕. 1998. 环境微生物工程. 南京: 南京大学出版社. 270.
[Ma Wenyi, Yang Liuyan. 1998. Environmental Microbiology Engineering. Nanjing: Nanjing University Press, 270. (in Chinese)]
- 瞿礼嘉, 顾红雅, 胡萍, 等. 1998. 现代生物技术导论. 北京: 高等教育出版社. 508.
- [Qu Lijia, Gu Hongya, Hu Ping, et al. 1998. Introduction of Modern Biotechnology. Beijing: Higher Education Press. 508. (in Chinese)]
- Rachel Carson. 1964. 寂静的春天. 吕瑞兰, 李长生译. 1997. 吉林: 吉林人民出版社. 19354.
[Rachel Carson. 1964. Lv Ruilan and Li Changsheng translated. 1997. Silent Spring. Jilin: Jilin University Press. 19345. (in Chinese)]
- 沈萍. 2000. 微生物学. 北京: 高等教育出版社. 7470.
[Shen Ping. 2000. Microbiology. Beijing: Higher Education Press. 7470.]
- 苏丹, 李培军, 王鑫, 等. 2007. 3株细菌对土壤中萘和苯并芘的降解及其动力学. 环境科学, 28 (4): 913–917.
[Su Dan, Li Peijun, Wang Xin, et al. 2007. Degradation and kinetics of pyrene and benzo [a] pyrene by three Bacteria in contaminated soil. *Environmental Science*, 28 (4): 913–917. (in Chinese with English abstract)]
- 王正萍, 周雯. 2002. 环境有机污染物监测分析. 北京: 化学工业出版社.
- [Wang Zhengping, Zhou Wen. 2002. Environmental Monitoring of Organics. Beijing: Chemical Industry Press. (in Chinese)]
- Yu S H, Ke L, Wong Y S. 2005. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterial consortium enriched from mangrove sediments. *Environment International*. 31 (2): 149–154.

Dynamics of Degrading Naphthalene by *Bacillus subtilis*

FANG Shi-chun, HAO Rui-xia^{*}, LU Zhi-qiang

(School of Earth and Space Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: *Bacillus subtilis* HBS-4, isolated from oil, can effectively degrade naphthalene. The research results indicate: when the initial concentrations of naphthalene was 100mg/kg, *Bacillus subtilis* HBS-4 could degrade more than 50% of naphthalene within 69 hours under pH=8 and 40℃. Based on the experimental data of *Bacillus subtilis* HBS-4, the Williams configuration model was modified, and a dynamic model of degrading naphthalene by strain HBS-4 was established. The glucose content, OD value, pH and Eh values changed with time, and these changes were interpreted by the new model.

Key word: *Bacillus subtilis*; naphthalene; degradation; dynamics; configuration model