

生物表面活性剂对多环芳烃增溶及脱附作用

李祖义 施邑屏

(中国科学院上海有机所 上海 200032)

Lisa Sim, Owen P. Ward

(Department of Biology, University of Waterloo, N2L3G1, Canada)

摘要 用生物表面活性剂鼠李糖脂可以较好地脱附土壤及水溶液中的多环芳烃,以有利于多环芳烃的进一步生物降解或化学降解。研究了鼠李糖脂对多环芳烃增溶及脱附的各种最佳条件。

关键词 生物表面活性剂,多环芳烃(PAH),鼠李糖脂,脱附作用

随着石化,农药,塑料等工业的发展,各种芳烃类化合物如硝基芳烃化合物、含氯芳烃化合物以及各类的多环芳烃化合物通过溢出,不适当的运输,废物处理以及自然渗漏等途径进入土壤和地下水环境,造成土壤的主要污染源^[1,2]。处理芳烃污染土壤的方法有物理、化学法,例如热蒸发提取,水蒸气或热空气洗涤,化学氧化,洗涤剂提取等^[3]。而芳烃污染物的降解已被证明是一个有吸引力的方法。因为它降解效率高,经济性好及能降解各种芳烃。芳烃生物降解是由氧化芳烃的微生物进行的,由于芳烃类物质在水中的溶解度特低,它与土壤的界面张力也较大,因而吸附性也较强,从而影响了芳烃化合物降解的能力^[4]。许多微生物能产生表面活性剂,它可降低芳烃与水及土壤的界面张力,增加了亲油化合物在水中的溶解性及降低芳烃与土地的吸附力,使芳烃化合物更易与微生物直接接触,从而促进生物降解^[5~7]。本文研究了生物表面活性剂鼠李糖脂对多环芳烃化合物增溶及脱附的各种最佳条件。

1 材料与方 法

1.1 菌株及培养条件

1.1.1 菌株: 鼠李糖脂产生菌株由本实验室筛选得到,经鉴定为假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)

1.1.2 摇瓶及发酵罐用培养基(g/L): NaNO₃ 5.5; KH₂PO₄ 1.5, Na₂HPO₄ · 12H₂O 1.5, MgSO₄ · 7H₂O 1.0, MnSO₄ · 7H₂O 0.01, FeSO₄ · 7H₂O 0.01, 酵母膏 0.6。碳源为正烷烃(C₁₂~C₂₀)或植物油 40,蒸馏水定容,pH6.5,5L大摇瓶或发酵罐培养 30℃,96h,摇动频率 120r/min。

1.2 鼠李糖脂提取,结构测定及表面活性性能

提取步骤与文献[8]相同,结构测定及表面活性性能见文献[9]。本研究中用于多环

芳烃脱附试验中的鼠李糖脂为鼠李糖脂 R1 与 R2 的混合物,其中鼠李糖脂 R1 为 41%, R2 为 57%^[9]。

1.3 多环芳烃的提取与分析

1.3.1 多环芳烃, 芘(PYR), 二氢芘(ACE), 芴(FLR), 芝蒎(FLT), 并苯芘(Ben)购自 Sigma 公司,并储藏于低温冰箱中备用。以岛津 GC-14A 气相色谱仪定性,定量测定多环芳烃^[10]。

1.3.2 鼠李糖脂浓度对多环芳烃增溶影响:于一个含水系统中一式 3 份进行。在一个离心管中加入不同浓度的鼠李糖脂洗涤溶液 10ml 以及 200 μ g 芘,封好塞子后在室温下黑暗处以 200r/min 往复振荡 1h,然后提取并用气相色谱分析 PYR。

1.3.3 时间对增溶影响:在一个含水系统中一式 3 份进行,在一个离心管中加入相同浓度的生物表面活性剂溶液以及 200 μ g, PYR 封好塞子后在室温下黑暗处以 200r/min 往复振荡不同时间,然后提取并用气相色谱分析 PYR。

1.3.4 鼠李糖脂对不同多环芳烃化合物增溶影响:本实验在一个含水系统中一式 3 份进行。在一个离心管中,分别加入 0.1mg/ml 或 1mg/ml 鼠李糖脂洗涤溶液 10ml 以及 200 μ g 选定的某种多环芳烃,封好塞子后在室温下黑暗处以 200r/min 往复振荡 1h,然后提取并用气相色谱分析多环芳烃。

1.3.5 鼠李糖脂对除去土壤中不同多环芳烃化合物的效果试验:土壤采用 Waterloo 地区的土壤,pH 为 6.1,有机物含量为 1.2%。上述土壤 5g 经 120 $^{\circ}$ C 灭菌后放于 50ml 三角瓶中,再加入 200 μ g 不同的多环芳烃,混合均匀后放于室温黑暗处,保持一个星期。然后再加入 15ml 1mg/ml 鼠李糖脂溶液在黑暗中以 200r/min 振荡,分别 0, 1, 5 和 24h 来洗涤土壤,样品提取后由气相色谱分析结果,本试验一式二份进行。

2 结果与讨论

2.1 生物表面活性剂鼠李糖脂的表面特性

用滴体积分法^[11]测定了发酵后经分离提取纯的鼠李糖脂的表面特性,蒸馏水的表面张力从 71.5dynes/cm 降至 27.1dynes/cm,其临界胶束浓度(CMC)为 22 μ g/ml。

2.2 鼠李糖脂的浓度对增溶作用的影响

利用多环芳烃来试验纯的鼠李糖脂增溶亲脂化化合物的能力。鼠李糖脂不同浓度的影响用 PYR 进行观察,研究了 0, 0.01, 0.03, 0.1 和 1mg/ml 不同浓度的鼠李糖脂,结果见图 1 所示。在鼠李糖脂 0.1mg/ml 浓度时,有 8.58% 的芘被增溶溶解,而在鼠李糖脂溶液的浓度在 1mg/ml 时,有 55.2% 的 PYR 被增溶溶解。由此看出,生物表面活性剂浓度对多环芳烃增溶溶解作用明显。

2.3 时间对增溶溶解的影响

观察了在相同鼠李糖脂及芘浓度下(1mg/ml)不同时间的影响,结果见图 2。时间对芘增溶溶解无明显影响。

2.4 鼠李糖脂对不同多环芳烃化合物增溶溶解的影响

研究了生物表面活性剂鼠李糖脂对五种多环芳烃化合物(即 ACE, FLR, FLT, PYR 和 Ben)增溶溶解的有效性。结果见图 3 及表 1。

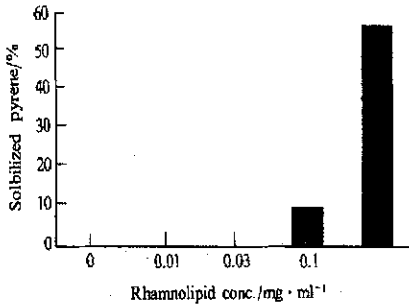


图 1 生物表面活性剂浓度对芘增溶作用的影响

Fig. 1 Effect of biosurfactant concentration on the solubilization of pyrene.

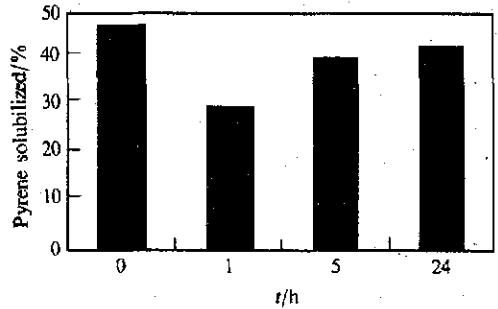


图 2 时间对芘增溶作用的影响

Fig. 2 Effect of time on the solubilization of pyrene.

从图 3 及表 1 可知,生物表面活性剂鼠李糖脂对 5 种不同的多环芳烃类化合物都有较好的增溶作用,其中以 1mg/ml 鼠李糖脂对 FLR,FLT,PYR 增溶效果更为明显。

2.5 鼠李糖脂对除去土壤中不同多环芳烃化合物的效果

研究了由无菌未污染土壤和 5 种不同多环芳烃混合后进行的鼠李糖脂脱附效果的试验。结果见表 2 和图 4。

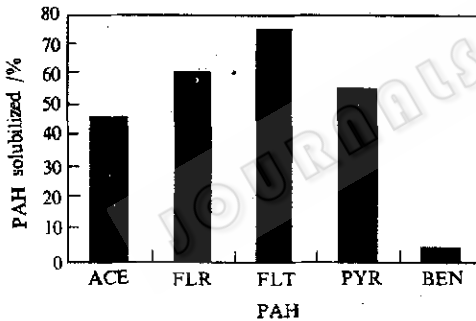


图 3 鼠李糖脂溶液(1mg/ml)对 5 种多环芳烃的增溶作用

Fig. 1 Solubilization of five PAHs by 1mg/ml solutions of rhamnolipids.

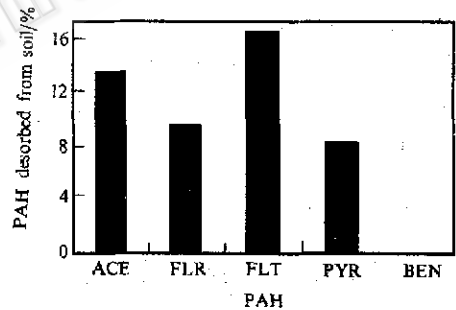


图 4 鼠李糖脂从土壤中脱附不同多环芳烃的结果

Fig. 4 Effect of rhamnolipid on the desorption of various PAH compounds from soil.

The % PAH desorbed from soil is relative to a water control (Shaking for 8h).

表 1 鼠李糖脂对不同多环芳烃的增溶作用
Table 1 Solubilization of various PAHs by rhamnolipid

Compound	Control	Rhamnolipids /0.1mg. ml ⁻¹	Control	Rhamnolipids /1mg. ml ⁻¹
Acenaphthene	45.98	57.59	68.86	91.97
Fluorene	14.31	16.74	8.225	122.4
Fluoranthene	2.708	13.24	4.312	150.9
Pyrene	0	21.46	0	138.1
Benzo(a)pyrene	0	0	0	5.269

Amount of PAH solubilized a water control, is give in μg.

表 2 1mg/ml 鼠李糖脂在不同时间下对土壤中多环芳烃的脱附作用
Table 2 Desorption of soil by 1mg/ml rhamnolipid over a series of incubation times

t /h	ACE /mg	FLR /mg	FLT /mg	PYR /mg	Ben /mg
0	0	20.1	34.0	16.8	0
1	0	0	23.9	12.2	0
5	0	8.3	21.1	13.8	0
24	28.0	0	13.6	9.9	0

Amount of each compound desorbed, against a water control, is given in μg units.

表 2 图 4 结果表明,生物表面活性剂鼠李糖脂从土壤中脱附多种多环芳烃的效果是不同的,对 FLT 脱附作用最强,其次 ACE, FLR 和 PYR,而对 Ben 没有脱附作用。

生物表面活性剂是一类性能优良的化合物,它能增加多环芳烃的溶解性及脱附性,有利于进一步的生物降解,显示了它在生物处理污染中的巨大潜力。

参 考 文 献

- [1] Keith L H, Telliard W A. *Environ Sci Technol*, 1979, 13:416~423.
- [2] Morgan P, Watkinson R T. *Crit Rev Biotechnol*, 1989, 8:305~333.
- [3] Shailubhai K. *Trends Biotechnol*, 1986, 4:202~206.
- [4] Rosenberg E, Legmann R, Kushmaro A. *Biodegradation*, 1992, 3:337~350.
- [5] Bury S J, Miller C A. *Environ Sci Tehnol*, 1993, 27(1):104~110.
- [6] Thomns J M, Yordy J R, Amador J A. *Appl Environ Microbiol*, 1986, 52(2):290~296.
- [7] Van Dyke M I, Gulley S L, Lee H. *J Ind Microbiol*, 1993, 11:163~170.
- [8] 李祖义, 许兴妹, 李江云. *生物工程学报*, 1986, 2(2):62~66.
- [9] 李祖义, 徐永珍, 李江云. *化学学报*, 1988, 46:264~268.
- [10] Cerniglia C E. *Biodegradation*, 1992, 3:351~368.
- [11] 赵国玺. *表面活性剂物理化学*, 北京:北京大学出版社, 1984, pp. 13~18.

The Solubilization and Desorption of Biosurfactants to Bioremediation

Li Zuyi Shi Yiping

(Shanghai Institute of Organic Chemistry, Academia Sinica, Shanghai 200032)

Lisa Sim, Owen P. Ward

(Department of Biology, University of Waterloo, N2L 3G1, Canada)

Abstract This paper presents better results of rhamnolipid as biosurfactant on the desorption of various polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) compounds in the aqueous and soil system and it will be useful for further biodegradation or chemical degradation. The optimum conditions of solubilization and desorption of PAHs by rhamnolipids were investigated.

Key words Biosurfactant, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), rhamnolipid desorption.