

直链烷基苯磺酸盐 (LAS) 的生物降解性*

应启锋¹ 肖昌松² 纪树兰¹ 刘顺周¹

(北京工业大学环境与能源工程学院 北京 100022)¹

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)²

摘要: 阴离子表面活性剂直链烷基苯磺酸盐 (LAS) 在工业生产和人们生活中得到广泛应用, 但大量产生的含有 LAS 的污水在环境中造成的污染也日益严重, 因而引起了人们的高度重视。本文从 LAS 的好氧和厌氧生物降解以及 LAS 降解菌等诸多方面阐述了 LAS 生物降解性的研究进展。

关键词: 微生物, 降解, 直链烷基苯磺酸盐

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2002) 05-0085-05

* 北京市自然科学基金资助项目 (No. 8992004)

收稿日期: 2001-04-16, 修回日期: 2001-08-21

THE BIODEGRADATION OF LINEAR ALKYL BENZENESULPHONATE (LAS)

YING Qi-Feng¹ XIAO Chang-Song² JI Shu-Lan¹ LIN Shun-Zhou¹(College of Environment and Energy Engineering, Beijing Polytechnic University, Beijing 100022)¹(Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences Beijing 100080)²

Abstract: Because of the widely utilization of anionic surfactant linear alkylbenzenesulphonate (LAS) in industrial manufactures and daily lives, many researchers have conducted deeply investigations concentrating on the biodegradation of LAS. In this paper, the recent studies on LAS aerobic biodegradation, anaerobic biodegradation and the LAS degrading bacteria are reviewed.

Key words: Microorganism, Degradation, LAS

作为一种阴离子表面活性剂,直链烷基苯磺酸盐(linear alkylbenzenesulphonate, LAS)由于具有良好的去污以及乳化等特性,而得到广泛的应用,其产量约占世界洗涤总用量的40%。但LAS具有一定毒性,且不易生物降解,因此如何有效地处理含LAS的废水已经越来越引起环境保护工作者们的重视。

传统的处理方法包括混凝沉降法、泡沫分离法、催化氧化法以及活性污泥法等^[1],这些处理方法或由于效果不佳,或由于二次污染等原因,限制了它们的实际应用价值。利用微生物降解LAS并提高LAS的降解效率一直是国内外许多学者努力研究的课题。本文主要对LAS的生物降解性进行了研究回顾。

1 LAS的好氧生物降解

1.1 好氧降解途径 目前众多学者^[2]一致认为,LAS的好氧生物降解(如图1所示)主要包含3种作用机理:(1)通过 ω -氧化作用使烷基链上的末端甲基氧化以及通过 β 或 α -氧化作用使长链分子断开形成短链的磺基苯羧酸;(2)氧化开裂作用使苯环打开;(3)脱磺酸过程去除取代的磺酸盐。但关于这3种机理的先后作用顺序研究者们还没有达成一致的的观点。有学者曾报道^[3],对于目前最常用的以 C_{12} 为主的LAS混合物而言,其好氧生物降解首先是通过 ω -氧化作用和 β -氧化作用实现烷基链的降解,然后是苯环的开裂和脱磺酸过程,但目前的研究结果仍然不能确定后两者的先后作用顺序。

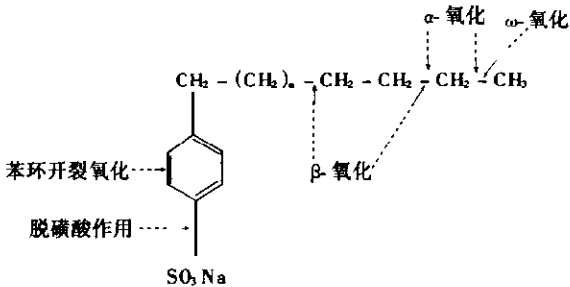


图1 LAS好氧生物降解途径示意图

LAS烷基链的降解过程类似于普通的脂肪酸的生物代谢过程。脂肪酸属生物易降解物质,且在其降解过程中涉及到的催化酶如加氧酶、脱氢酶等在微生物体内均比较常见,因此可以认为LAS分子中烷基链的降解是比较容易进行的。多数研究者所分离到的降解菌株也只能完成这种初级降解过程^[4]。

苯环与磺酸盐的生物降解需要多种酶系的共同参与,其过程比较复杂,因此也比较难于降解,不过也有少数学者分离到的菌株可以对它们进行生物代谢。如Schulz等人^[5]从自然界中分离到一株 *Delftia acidovorans* SPB1,该菌可以利用LAS初级降解的产物2-(4-磺基苯)丁酸作为其唯一碳源和能源,并生成4-磺基邻苯二酚的中间代谢产物,

而后者可以进一步被该菌利用并通过邻位开裂的方式实现苯环的降解; Kertesz 等人^[6]则分离到一株可以对 LAS 及其初级降解产物磺基苯羧酸进行脱磺酸作用的恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida* S-313, 他们在该菌对 LAS 的最终降解产物中没有检测到硫酸盐, 而通过质量恒算推断出磺酸盐最终被微生物利用并形成蛋氨酸与半胱氨酸等细胞蛋白质; 另外, 笔者在近期的研究中也从 LAS 生产废水中分离到一株杰氏棒杆菌 *Corynebacterium jeikeium* GZ6, 在其降解过程中, 采用电位滴定法和重铬酸钾法分别对 LAS 浓度和 COD 值进行了测定, 去除率均在 90% 以上, 这表明该单菌株也可以实现对 LAS 的完全降解。

1.2 分子结构对其好氧降解的影响 LAS 分子中含有烷基链、苯环、磺酸盐 3 种分子基团, 其磺酸盐在苯环上的取代位置以及苯环在烷基链上的取代位置的不同使得各种 LAS 分子结构千差万别, 这必然也会对 LAS 的生物降解产生一定的影响。

在烷基链的降解过程中, β -氧化会由于苯环以及磺酸盐的空间阻碍作用而受到抑制, 因而产生在烷基链上含若干碳原子数的中间代谢产物磺基苯羧酸 (SPC)。Eduardo 等人^[7]通过质谱技术对受 LAS 污染的海洋环境进行了监测, 结果显示以 $C_7 \sim C_{11}$ 的 SPC 居多, 这同此前的一些学者得出的 $C_6 \sim C_8$ SPC 是 LAS 的主要中间降解产物的研究结论有些差异。这种差异性则主要是由于苯环以及磺酸盐的空间结构不同进而对 β -氧化过程产生不同的抑制作用而造成的。

另外, 烷基链的长度以及苯环在烷基链上的取代位置也直接影响着 LAS 初级降解的速率。Carolyn 等人^[8]曾经对含不同烷基链碳原子数 ($C_{10} \sim C_{13}$) 以及相应不同苯环取代位置的多种 LAS 进行了降解实验, 结果表明, 当苯环在烷基链上的取代位置一致时, 随着 LAS 烷基链上碳原子数的增多降解速率增快; 而当烷基链碳原子数一定时, 苯环的取代位置越靠近链尾的 LAS 降解速率也相对更快。Knepper 等人^[9]通过研究也发现, 微生物完成对 C_{13} LAS 的初级降解过程只需要 2d 时间, 而对于碳链长度相对较短的 $C_{10} \sim C_{12}$ LAS 则需要 6 ~ 22d 的时间才能完成它们的初级降解过程。

2 LAS 的厌氧生物降解

目前大量针对 LAS 生物降解的研究主要集中在好氧降解方面, 采用厌氧条件降解 LAS 的研究很少。一般认为, 对烷基链起活化作用的 ω -氧化以及 α -氧化和 β -氧化都需要在氧气的参与下才能进行, 苯环的开裂氧化也需要在有氧的条件下才能形成二羧酸形式的中间降解产物, 而脱磺酸过程则更主要依赖多种加氧酶才能将 C-S 链断裂并形成 C-OH 链。还有一些学者^[10]在对密西西比河以及莱茵河河流底泥的污染监测中发现了高浓度的 LAS 存在, 从而为 LAS 不适于厌氧生物降解这一结论提供了进一步的证据。然而近年来也有若干学者报道了一些对 LAS 成功地进行厌氧生物降解的研究成果。

1996 年 Denger 等人^[11]从城市污水处理厂的厌氧消化池中分离到一株拜氏梭菌 *Clostridium beijerinckii* EV4, 他们在严格厌氧的条件下对该菌进行了培养, 结果表明, 该菌可以利用 LAS 初级降解产物磺基苯丁酸以及甲苯磺酸盐作为唯一硫源生长, 并同好氧生物降解途径一样能最终生成蛋氨酸与半胱氨酸等细胞蛋白质。

1999 年 Denger 等人^[12]又从城市污水处理厂的厌氧消化池中分离到一株菌 *γ-proteobacteria* RZLAS, 该菌不仅可以利用磺基苯丁酸作为唯一硫源生长, 同时也可以利用

C₈ LAS、C₁₁ LAS 以及 C₁₂ LAS 中 S 元素参与细胞蛋白物质的合成, 在该菌的最终降解产物中没有检测到任何硫化物的存在。

除此之外, 还有一些学者经过实验研究也得出了类似的结论。这些研究成果均为 LAS 的厌氧生物降解途径的存在提供了有利的证据。但这些都是些初步的研究成果, 至于 LAS 厌氧生物降解的具体途径如何还有待研究者们进一步深入的研究。

3 LAS 降解微生物

3.1 菌种及其降解能力 一些学者在摸索 LAS 生物降解机理的同时, 也对若干纯菌株的 LAS 降解能力进行了研究。国外有研究者^[2]曾利用 19 个属的 34 个种当中的 45 株菌分别对 LAS 进行了降解能力的实验; 国内也有若干学者^[13-14]在利用纯微生物进行降解 LAS 应用方面的研究。以下列举出部分实验者采用的或是分离到的纯菌株及其对 LAS 的降解能力。

表 1 LAS 降解菌及其降解能力

菌株名称	LAS 浓度 (mg/L)	接种 菌量	降解持续 时间 (d)	降解率 (%)
<i>Alcaligenes</i> sp. TP1-2	50	≈ 1%	0.5	9
<i>Azotobacter agilis</i> ATCC 7494	20	1%	1	70
<i>Bacillus</i> sp. TP1-1	50	≈ 1%	0.5	80
<i>Chromobacterium lividum</i> ATCC 12473	10	1%	3	93
<i>Corynebacterium jeikeium</i> G26	400	1%	1	99
<i>Escherichia coli</i> K-12	10	1%	3	61
<i>Flavobacterium dehydrogenans</i> ATCC 13930	4	1%	2	93
<i>Microbacterium flavum</i> ATCC 10340	4	1%	3	78
<i>Micrococcus cinnabareus</i> LA.2.1	4	1%	1	67
<i>Mima polymorpha</i> ATCC 9957	4	1%	1	32
<i>Mycobacterium smegmatis</i> M	4	1%	3	81
<i>Nocardia corallina</i> M	10	1%	3	67
<i>Plesiomonas</i> sp. 90-1	20	≈ 1%	3	44
<i>Plesiomonas</i> sp. 90-3	20	≈ 1%	3	55
<i>Proteus vulgaris</i> E	10	1%	1	98
<i>Pseudomonas</i> sp. MICRO-C	245	≈ 1%	6	94
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	10	1%	3	74
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 274	10	1%	1	88
<i>Staphylococcus albus</i> M	10	1%	1	87
<i>Vibrio cuneatus</i> ATCC 6972	10	1%	1	94
<i>Xanthomonas</i> sp. 94-4	20	≈ 1%	3	96

从表 1 可以看出, 许多种类的纯菌株都可以在一定程度上对 LAS 进行降解, 这也为 LAS 之所以没有在中环境中得以积累这一现象提供了较为合理的解释。但值得注意的是, 这些菌株对 LAS 的降解浓度从 4 ~ 400mg/L 相差很大, 降解所需时间也存在较大悬殊, 而且大部分的菌株都不能实现对 LAS 的完全降解。因此对于解决高浓度 LAS 生产废水带来的污染问题来说, 选取能完全降解 LAS 且能力较强的单菌

或是混菌来进行应用研究, 是取得良好处理效果的前提保障。

3.2 LAS 降解菌分子遗传学研究 Assinder 等人^[5]以及较早的一些学者在研究中发现, 许多人造化合物的芳香环的间位开裂氧化过程都是通过质粒编码的基因来控制完成的。根据这一研究发现, 一些学者猜测在 LAS 的降解过程中菌体产生的其它降解酶如脱磺酸酶也是由质粒编码的基因来合成的。国内张蔚文等人^[14]通过对 3 株协同降解 LAS 的纯菌株分别进行质粒消除后发现, 3 株单菌均完全失去了降解 LAS 的能力, 这表明在这 3 株菌中 LAS 的各种降解酶都是依赖质粒而存在; Cain 等人的研究小组^[3]在研究假单胞杆菌对芳香基磺酸盐的降解过程中也发现了降解质粒的存在, 他们将有 LAS 降解能力菌株细胞内的降解质粒分离出来并转入其它无 LAS 降解能力的菌株细胞内, 使后者也

获得了脱磺酸盐基团的能力。

上述研究成果均成功地表明了在某些 LAS 降解菌的细胞内存在 LAS 的降解质粒, 然而后续的一些利用其它 LAS 降解菌进行的相关研究^[3] 并没有进一步揭示出质粒 DNA 与 LAS 降解能力之间明确的关系。因此在 LAS 的降解过程中, 质粒编码的基因所涉及的程度还有待更深入的研究。

目前国内外在利用基因工程技术来提高难降解污染物处理效率等方面已取得显著成效。如 Kelenc 等人利用细胞融合技术将甲苯降解菌体内的降解质粒转入嗜冷性微生物体内, 在温度低至 0℃ 时, 新的工程菌株仍可利用甲苯 (1000mg/L) 为唯一碳源, 有很高的实际应用价值; 我国学者李尔场用来自乙二醇降解菌和甲醇降解菌的 DNA 转化能降解苯甲酸和苯的纯菌株的原生质体, 获得的重组子可同时降解苯甲酸、苯、甲醇和乙二醇, 适合于多种废水的混合处理。不过目前尚未见关于构建降解 LAS 的基因工程菌的研究报道。但是可以预见, 微生物降解 LAS 以求达到环境保护将是一个方兴未艾的课题, 而且随着对微生物酶的代谢机理以及基因工程安全问题的进一步深入研究, 基因工程技术将成为今后解决高浓度 LAS 环境污染问题的有力工具。

参 考 文 献

- [1] Karsa D R. Biodegradability of surfactants: Blackie Academic & Professional, 1995.
- [2] Schramm L. Surfactants: Fundamentals and applications in the petroleum industry, New York: Cambridge University Press, 2000.
- [3] Colin R. Biochemistry of microbial degradation, Boston: Kluwer, 1994.
- [4] Schleheck D, Wenbo D, Denger K, *et al.* Applied and Environmental Microbiology, 2000, **66** (5): 1911 ~ 1916.
- [5] Schulz S, WenBo D, Groth U, *et al.* Applied and Environmental Microbiology, 2000, **66** (5): 1905 ~ 1910.
- [6] Kertesz M A, Pius K, Hermann S, *et al.* Applied and Environmental Microbiology, 1994, **60** (7): 2296 ~ 2303.
- [7] Eduardo G A, Maarten H, Damia B, *et al.* Environmental Science and Technology, 1997, **31**: 504 ~ 510.
- [8] Carolyn J K, Larry B, David W, *et al.* Environmental Science and Technology, 1998, **32**: 1134 ~ 1142.
- [9] Knepper T P, Kruse M. Tenside Surfactants Detergents, 2000, **37** (1): 41 ~ 47.
- [10] Tabor C F, Barber L B. Environmental Science and Technology, 1996, **30**: 161 ~ 171.
- [11] Denger K, Dertesz M A, Vock E H, *et al.* Applied and Environmental Microbiology, 1996, **62** (5): 1526 ~ 1530.
- [12] Denger K, Cook A M. Journal of Applied Microbiology, 1999, **86**: 165 ~ 168.
- [13] 刘秀荣, 吕晓猛, 纪树兰, 等. 北京工业大学学报, 1995, **21** (4): 103 ~ 108.
- [14] 张蔚文, 张 灼. 环境科学与技术, 1991, **3**: 2 ~ 6.
- [15] Assubder S J, Williams P A. Adv Microbial Physiol, 1990, **31**: 61 ~ 69.