

# 假单胞菌 23-1 菌株烃代谢产生表面活性剂的研究

刁虎欣 王 践 张心平 梁凤来 刘如林

(南开大学微生物学系 天津 300071)

**摘要:** *Pseudomonas* 23-1 菌株烃代谢产生一种胞外糖脂类表面活性剂。分析表明,糖脂的糖基为鼠李糖,脂肪酸是十碳癸酸。发酵液糖脂含量 11.5g/L,其临界胶束浓度(CMC)为 200mg/L,乳化性能稳定。产生糖脂类生物表面活性可能是该菌株微生物采油增油效果显著的主要原因。

**关键词:** 23-1 菌株,假单胞菌,糖脂,生物表面添生剂

**中图分类号:** Q93    **文献标识码:** A    **文章编号:** 0253-2654(2000)06-0413-04

---

收稿日期: 1999-09-15, 修回日期: 2000-01-17

## STUDIES ON A BIOSURFACTANT PRODUCED BY *PSEUDOMONAS* 23-1 THROUGH METABOLIZING HYDROCARBON

DIAO Hu-Xin WANG Jian ZHANG Xin-Ping LIANG Feng-Lai LIU Ru-Lin

(The Department of Microbiology, NanKai University, Tianjin 300071)

**Abstract:** *Pseudomonas* 23-1 Can metabolize hydrocarbon to produce the surfactant which is glycolipid outside the cell. The glycolipid, whose content is 1.25g / L, is composed of rhamnose and tencarbon fatty acid. It's critical micelle concentration is 200g/L. It has the good ability to emulsify the oil. The main reason of improving the product of oil, decreasing the viscosity and enhancing the flow of oil is the effect of surfactant-glycolipid.

**Key words:** 23-1 strain, *Pseudomonas*, Glycolipid, Biosurfactant

目前,微生物采油技术越来越引起石油开采界的高度重视。许多文献报道<sup>[1,2]</sup>,微生物产生的生物表面活性剂是提高原油产量的重要原因。假单胞菌 23-1 菌株是从高粘原油分离到的,经矿场应用试验有显著增油效果的采油微生物优良菌种。为探讨该菌株采油机理,对其产生的表面活性剂进行了研究,本文报道研究结果。

### 1 材料与方法

#### 1.1 菌种

*Pseudomonas* 23-1(简称 23-1),南开大学微生物系石油微生物室分离并保存。

#### 1.2 培养基与培养条件

培养基:原油(或液蜡)20g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  4g,  $\text{MgSO}_4$  0.7g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  3.4g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1.5g, 酵母粉 0.01g, 自来水配制 1L, pH 7.2~7.5。培养条件:250mL 锥形瓶分装 100mL, 两层棉布扎瓶口, 灭菌。以 5% 接种量将 23-1 液体菌种接入液体培养基, 250r/min 旋转摇床 37℃ 培养 5d。

#### 1.3 表面活性物质的分离与纯化

按文献[4,5],用溶剂法和硅胶柱法从 23-1 培养液中分离纯化表面活性物质。

#### 1.4 表面活性物质定性分析

按文献[3]对 23-1 表面活性物质进行硅胶

薄层层析,用类脂、糖脂特异显色剂确定 23-1 表面活性物质是类脂、糖脂;23-1 糖脂水溶液与鼠李糖标准品进行硅胶薄层层析,层析斑点用单糖显色剂显色,比较  $R_f$  值,确定糖脂中的糖基组分;23-1 糖脂水溶液和癸酸标准品按文献[7,8]处理后,用气相色谱法确定糖脂中的脂肪酸。

#### 1.5 糖脂类表面活性物质的定量分析及性能评价

采用萘酚比色法测糖脂含量<sup>[7]</sup>。以不同浓度糖脂的表面张力作图,测其临界束胶浓度<sup>[8]</sup>。

### 2 结果

#### 2.1 23-1 菌株表面活性物质定性分析

**2.1.1 糖脂的定性分析:**23-1 菌株表面活性物质经硅胶薄层层析,其层析斑经类脂特异性显色剂处理呈蓝色,经糖脂特异性显色剂处理呈暗黄色,表明 23-1 菌株产生的表面活性物质为类脂,且为糖脂。其表面活性物质硅胶薄层层析斑点特异性显色结果如图 1。

**2.1.2 糖脂中糖基的定性分析:**从图 2 看到,糖脂水解液中的糖基与鼠李糖标准样品经硅胶薄层层析后,其层析斑点经萘酚-硫酸显色后均呈亮黄色,  $R_f$  值均为 0.33,表明糖脂中的糖基为鼠李糖。如上样品经高压液相色谱分析,也证明糖脂分子中的糖基是鼠李糖。

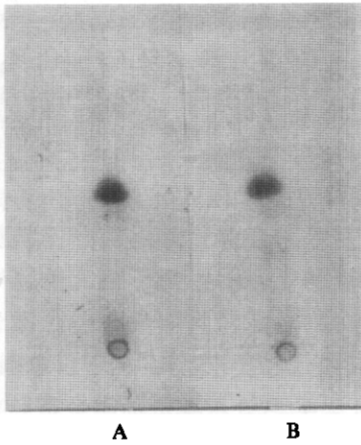


图1 生物表面活性剂纯品硅胶薄层层析斑点的特异性显色  
A 经类脂特异性显色剂处理呈现蓝色,  
B 经糖脂特异性显色剂处理呈现暗黄色

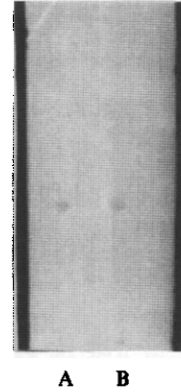


图2 糖脂中糖基组分的硅胶薄层层析  
A 1%鼠李糖标准样品溶液,  
B 糖脂水解液中的糖基样品

2.1.3 糖脂中脂肪酸的定性分析:糖脂水解液醚相中的脂肪酸和癸酸标准样品气相色谱分析

酸有酰基存在,结合气相色谱癸酸分析结果,证明糖脂的脂肪酸部分有癸酰癸酸结构。

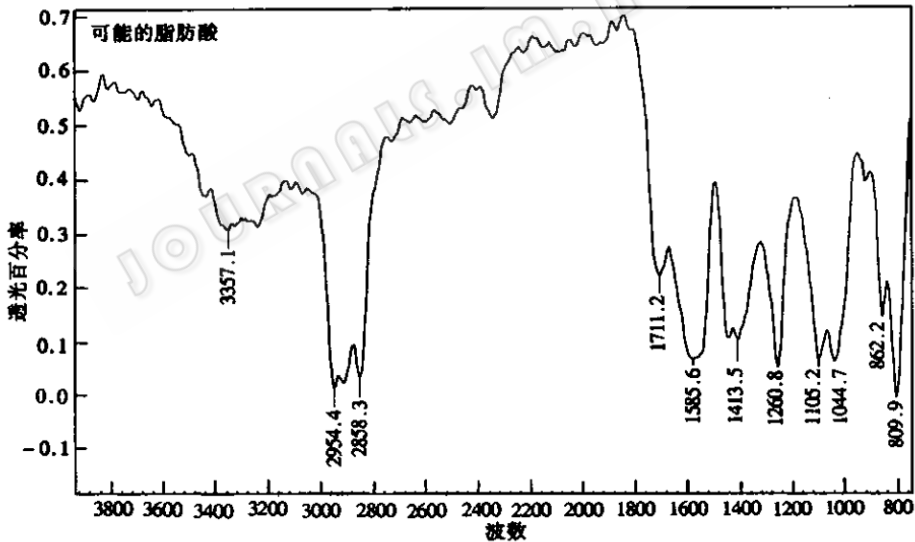


图3 糖脂红外光谱分析图谱

2.2 糖脂类表面活性物质的定量分析与性能评价

利用糖浓度与萘酮试剂反应标准曲线,测得23-1糖脂含量为11.5g/L,其最低表面张力为38mN/m,临界束胶浓度(CMC)值200mg/L。

显著,可能是由于该菌株经代谢产生糖脂类生物表面活性剂。该糖脂能促进油、水乳化,降低原油粘度,增加流动性,提高原油产量。该糖脂是23-1菌株增油效果显著的主要原因。该研究为阐明微生物采油机理提供了一定的科学依据。

3 讨论

参 考 文 献

23-1菌株经矿场应用试验之所以增油效果

[1] Donaldson E. Dovel In *Petrololum Science*, 1991, 22:  
© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

- 37~44.
- [2] Kock A, Kappeki, Flechter A *et al.* *J. Bacterial*, 1991, 173:4212~4217.
- [3] 曹治权. 《层析显色试剂手册》. 北京: 中国商业出版社, 1986.
- [4] 薛燕芬, 王修垣. *微生物学报*, 1982, 36(2): 121~125.
- [5] 王修垣. *微生物学报*, 1982, 22(3): 269~275.
- [6] 史乐文. *微生物学杂志*, 1986, 6(4): 51~54.
- [7] 齐凤兰, 韩英素, 赵金海. *色谱*, 1987, 5(6): 382~384.
- [8] 柳庸行, 张树明. *色谱*, 1987, 5(6): 384~387.
- [9] Zhana Y, Miller R. *Appl Environmental Microol*, 1992, 10: 3276~3282.