

糖脂类生物表面活性剂的特性及其对白腐真菌降解蒽的强化作用

吴涓* 左珊珊

(安徽大学资源与环境工程学院 安徽 合肥 230601)

摘要:【目的】对铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)所产生物表面活性剂的稳定性进行分析,考察该生物表面活性剂对乳白耙齿菌 F17 (*Irpex lacteus* F17)降解蒽的强化作用。【方法】采用三氯甲烷萃取的方法从铜绿假单胞菌的发酵液中提取生物表面活性剂,采用表/界面张力仪测定该生物表面活性剂在不同条件下的表面张力值,对其进行稳定性研究。在乳白耙齿菌 F17 降解蒽的过程中加入适量的生物表面活性剂,测定蒽的降解率,探讨其对蒽生物降解的强化作用。【结果】铜绿假单胞菌所产生物表面活性剂的临界胶束浓度为 40 mg/L,在 15–150 °C 及 pH 6.0–13.0 范围内表现出优良的稳定性,对盐浓度的耐受性也很高。在蒽的生物降解过程中,生物表面活性剂能极大地促进蒽的降解,在生物表面活性剂浓度为 50 mg/L 时,第 15 天蒽的降解率达到了 82.9%。生物表面活性剂在接种乳白耙齿菌 F17 前 1 天加入培养基中,能更好地促进蒽的降解。与化学表面活性剂相比,生物表面活性剂对蒽降解的强化作用更显著。【结论】该生物表面活性剂性能优良、稳定性好,能够显著强化乳白耙齿菌 F17 对蒽的降解,具有良好的应用前景。

关键词: 生物表面活性剂, 稳定性, 生物降解, 强化, 蒽, 降解率

Characteristics of glycolipids biosurfactant and its enhancement role in the biodegradation of anthracene by White Rot Fungi

WU Juan* ZUO Shan-Shan

(School of Resources and Environmental Engineering, Anhui University, Hefei, Anhui 230601, China)

Abstract: [Objective] We studied the stability properties of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa*. And we also investigated the enhancement role of this biosurfactant in the biodegradation of anthracene by *Irpex lacteus* F17. [Methods] The biosurfactant was extracted using trichloromethane from the fermented broth of *Pseudomonas aeruginosa*. In order to analyze the stability of the biosurfactant, we determined the surface tension values of the biosurfactant under different conditions using surface/interface tensiometer. During the biodegradation of anthracene by

Foundation item: Key Research Projects of Education Department of Anhui Province (No. KJ2012A006)

*Corresponding author: E-mail: wujuan@ustc.edu

Received: September 08, 2016; **Accepted:** November 16, 2016; **Published online** (www.cnki.net): November 29, 2016
基金项目: 安徽省教育厅重点科研项目(No. KJ2012A006)

*通讯作者: E-mail: wujuan@ustc.edu

收稿日期: 2016-09-08; 接受日期: 2016-11-16; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-11-29

Irpex lacteus F17, we added the biosurfactant to investigate the enhancement role of this biosurfactant. **[Results]** The result showed that the Critical Micelle Concentration (CMC) of this biosurfactant was 40 mg/L. We observed good stabilities of this biosurfactant in the range of 15–150 °C and pH 6.0–13.0, and this biosurfactant could bear high salt concentration. Using biosurfactant could enhance the biodegradation of anthracene greatly. The degradation rate of 82.9% was obtained after 15 days using 50 mg/L biosurfactant. The biodegradation was enhanced more efficiently when the biosurfactant was added one day before inoculum of degrading strain *Irpex lacteus* F17. Compared with chemical surfactants, biosurfactant exhibited a more excellent efficacy in enhancing the biodegradation of anthracene. **[Conclusion]** The excellent surface properties and stabilities and more efficient enhancement in the biodegradation were beneficial to the application of biosurfactant in bioremediation.

Keywords: Biosurfactant, Stability, Biodegradation, Enhancement, Anthracene, Degradation rate

生物表面活性剂(Biosurfactants, BS)是在一定培养条件下,由微生物、植物或动物产生的具有表面活性的天然产物及其衍生物^[1]。BS除了具有增溶、发泡、稳定乳液、降低表面张力等一般化学表面活性剂所具有的特性外,还具有无毒、可生物降解、无二次污染等优点,具有良好的环境相容性^[2]。与化学表面活性剂相比,BS还具有用量少的优势^[3]。

多环芳烃因其致癌、致突变和难降解而成为一类重要的污染物,而其中的萘、蒽、菲、芘等又是石油烃中最难降解的组分之一^[4-6]。某些细菌、真菌具有降解石油中正构烷烃及多环芳烃的能力^[7-9],然而对于降解菌而言,这些有机污染物的生物可利用性或者有机污染物的溶解性则是生物降解的限制因素^[10-11]。多环芳烃是一类具有高度疏水性的物质,但添加表面活性剂可改善其增溶性,从而强化其生物降解作用^[12-13]。Shin等在利用鼠李糖脂和Tween 80去除沙土中菲和柴油的实验研究中发现,鼠李糖脂能够提高两种污染物的去除效率,其效果优于Tween 80^[14]。

虽然化学表面活性剂用于强化有机污染物的降解已有报道,但由于生物表面活性剂良好的环境相容性,将其用于强化白腐真菌降解对多环芳烃的降解具有更大的研究意义和应用价值。本研究在前期分离得到一株高效的生物表面活性剂产生菌——铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的基础上,从铜绿假单胞菌的发酵液中提取了生物表面活性剂,对其稳定性进行考察。以多环芳烃中的三环化

合物蒽作为代表物,利用白腐真菌——乳白耙齿菌F17为降解菌株,探讨BS的投加时间和投加量对乳白耙齿菌F17降解蒽的影响,并比较不同表面活性剂对蒽生物降解的强化程度。本研究旨在考察BS对乳白耙齿菌F17降解蒽的强化作用,以期为多环芳烃的微生物修复提供科学依据和实践基础。

1 材料与方法

1.1 实验菌种

降解菌为乳白耙齿菌F17(*Irpex lacteus* F17),属白腐真菌,由安徽大学生命科学学院提供。生物表面活性剂是从铜绿假单胞菌A3(*P. aeruginosa* A3)的发酵液中提取。该菌为本实验室自行筛选的菌株,所产生物表面活性剂属于糖脂类^[15]。

1.2 培养基

平板培养基(g/L):葡萄糖 20.0, KH₂PO₄ 3.0, MgSO₄·7H₂O 1.5, 马铃薯汁 1.0 L, 琼脂 20.0, pH 4.5–5.0。

发酵培养基(g/L):葡萄糖 2.0, (NH₄)₂SO₄ 5.0, MgSO₄·7H₂O 0.5, KCl 1.1, NaCl 1.1, KH₂PO₄ 1.5, FeSO₄·7H₂O 0.028, K₂HPO₄ 1.5, 酵母粉 0.5, 微量元素溶液 5.0 mL, pH 4.5–5.0。

微量元素溶液(g/L): ZnSO₄ 0.029, CuSO₄ 0.025, CaCl₂ 0.024, MgSO₄ 0.017。

无机盐培养基(g/L): KH₂PO₄ 0.5, NH₄NO₃ 3.0, K₂HPO₄·3H₂O 0.5, 无机盐溶液 2.0 mL, pH 4.5–5.0。

无机盐溶液(g/L): CuSO₄·5H₂O 1.0, MnSO₄·H₂O 1.0, MgSO₄·7H₂O 4.0, CaCl₂·2H₂O 1.0,

FeSO₄·7H₂O 1.0。

1.3 主要试剂和仪器

培养基中的试剂均为分析纯,二氯甲烷、三氯甲烷和甲醇为色谱级。恒温培养箱(ZHWY-100B型),上海智斌分析仪器制造有限公司;旋转蒸发器(RE-52型),上海亚荣生化仪器厂;冷冻干燥机(FD5-25E型),美国西蒙公司;表/界面张力仪(QBZY-1型),上海方瑞仪器有限公司;数显恒温水浴锅(HH-2型),金坛市朗博仪器制造有限公司;高效液相色谱仪(Waters 2695型),美国 Agilent 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 BS 的提取:将 BS 产生菌,即铜绿假单胞菌接种至发酵培养基中,于 30 °C、120 r/min 条件下恒温振荡培养 5 d。将发酵液离心(12 000 r/min, 30 min, 4 °C),取上清液用等体积三氯甲烷反复萃取 3 次,合并有机相。再进行旋转蒸发(120 r/min, 40 °C),得棕色粘稠物,将粘稠物冷冻干燥即得纯品^[16]。称取 1 mg 冷冻干燥后的 BS,将其溶解在 100 mL 去离子水中,配置成 10 mg/L 的 BS 溶液,用于测定稳定性的实验。

1.4.2 临界胶束浓度(Critical micelle concentration, CMC)的测定:将 25 mg 生物表面活性剂溶于 100 mL 去离子水中,配成 250 mg/L 的生物表面活性剂溶液,再分别稀释至不同浓度(125.0、100.0、50.0、40.0、25.0、12.5、5.0、2.0 和 1.0 mg/L),采用表/界面张力仪分别测量其表面张力值。以表面张力值对生物表面活性剂浓度作图,确定 CMC 值。

1.4.3 稳定性测定:配制 10 mg/L 的 BS 溶液,将其分别放入 15–150 °C 的恒温水浴锅中水浴加热 2 h,取出放至室温后测量其表面张力值。另取配制好的 BS 溶液,用 1 mol/L 的 HCl 溶液和 1 mol/L 的 NaOH 溶液分别将其 pH 调至不同的值(pH 1.0–13.0),测量其表面张力值。再取配制好的 BS 溶液,加入 NaCl,使其浓度从 0 g/L 变化至 260 g/L,测量不同盐浓度下的表面张力值。

1.4.4 BS 强化乳白耙齿菌 F17 降解葱的实验:将 0.2 mg 的葱用 10 μL 的二氯甲烷溶解,再通过

0.22 μm 的滤膜加入到 20 mL 培养基中,使葱在培养基中的浓度为 10 mg/L。将乳白耙齿菌 F17 接入平板培养基,于 30 °C 静置培养 3 d 后,从平板上取乳白耙齿菌 F17 接入含有葱的无机盐培养基中,加入提取的 BS,30 °C、120 r/min 摇床避光培养。从第 5 天开始取样测定葱的浓度,直到第 15 天。

以二氯甲烷为萃取剂来萃取样品中的葱。取 20 mL 培养液,将其 pH 值调节至 2.0,然后转移至 125 mL 的梨形分液漏斗中。将已倒出培养液的空三角烧瓶用二氯甲烷洗涤,洗涤液同样也转移至梨形分液漏斗中,反复振荡 5 min 左右,然后静置分层。将下层有机相收集后,经无水硫酸钠脱水,收集于鸡心瓶内;上层液再用同等体积的二氯甲烷重复萃取一次,同样将下层有机相脱水,收集于鸡心瓶内。用旋转蒸发器在 40 °C 减压蒸发、浓缩,最后用甲醇将鸡心瓶内壁黏附物洗下,移至 10 mL 容量瓶中,再用甲醇稀释定容至 10 mL,过 0.22 μm 滤膜加入 1.5 mL 色谱进样瓶中,立即测定葱的浓度。

采用 Waters 2695 高效液相色谱仪测定发酵液中葱的浓度。分析条件:使用紫外检测器,检测波长为 254 nm;分离柱为反相柱 C₁₈ (150 mm);流动相甲醇/水(体积比):85/15,流速:0.8 mL/min;分析时间:10 min;进样量:20 μL。采用外标法定量检测。

实验设定 3 个不同的 BS 投加时间:在接种乳白耙齿菌 F17 的前 1 天加入;与乳白耙齿菌 F17 同时加入;在接种乳白耙齿菌 F17 的 1 d 后加入。考察 BS 的投加时间对乳白耙齿菌 F17 降解葱的影响。

同时也考察 BS 投加量对葱生物降解的影响,在降解体系中 BS 的浓度梯度为 0、20、50、100、150 mg/L。

为了考察不同表面活性剂对葱降解的影响,将实验分为 3 个平行组进行,每组均接种葱降解菌乳白耙齿菌 F17。第 1 组加入非离子型表面活性剂 Tween 20,第 2 组加入离子型表面活性剂十二烷基硫酸钠,第 3 组加入生物表面活性剂,每组均以不

加任何表面活性剂为对照。3 组降解实验中的表面活性剂浓度均为各自的 CMC 值,其他条件均相同,即蕈初始浓度为 10 mg/L, 30 °C、120 r/min 避光培养。测定第 15 天蕈的浓度, 计算降解率。

在本文的所有实验中, 每个样品均做 3 次平行实验, 取其平均值为最终结果。

2 结果与分析

2.1 生物表面活性剂的稳定性研究

2.1.1 临界胶束浓度: 将提取的生物表面活性剂样品配制成不同浓度的水溶液, 分别测定其表面张力值。图 1 表明, 当生物表面活性剂的浓度低于 40 mg/L 时, 随着浓度的增大, 溶液的表面张力显著降低。当浓度超过 40 mg/L 时, 溶液的表面张力值逐渐趋于稳定, 保持在 30 mN/m 左右不变。因此铜绿假单胞菌所产 BS 的 CMC 值为 40 mg/L, 此时发酵液的表面张力值最低, 为 29.4 mN/m。该生物表面活性剂的 CMC 值远远低于常用的化学表面活性剂十二烷基硫酸钠, 后者的 CMC 值高达 2 100 mg/L^[17]。李政等^[18]研究发现, 一株铜绿假单胞菌所产 BS 的 CMC 值为 85.82 mg/L, 能将水溶液的表面张力降至 26.6 mN/m。罗娜等^[19]从原油污染样品中分离获得一株产生物表面活性剂的铜绿假单胞菌 XJ601, 其 CMC 值为 90 mg/L。强婧等^[20]研究了一株铜绿假单胞菌 S6 分泌的生物表面活性剂的

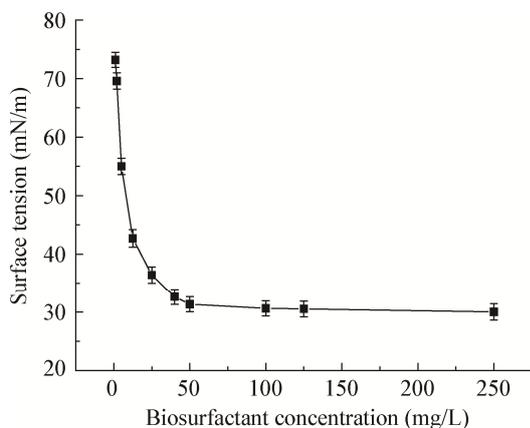


图 1 生物表面活性剂浓度与表面张力的关系
Figure 1 Relationship between biosurfactant concentration and surface tension

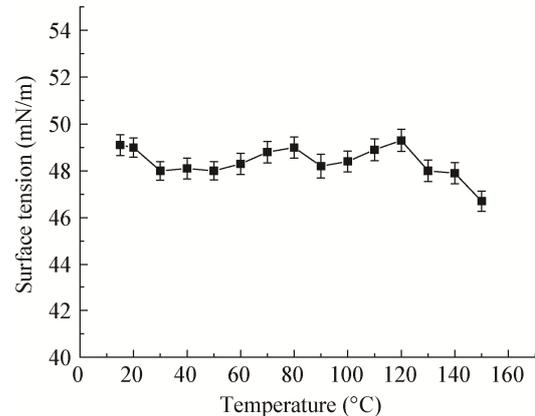


图 2 温度对 BS 表面张力的影响
Figure 2 Effect of temperature on surface tension of biosurfactant

理化性质, 该生物表面活性剂的 CMC 值为 50 mg/L, 此时其表面张力为 29.3 mN/m。由此可见, 本文中铜绿假单胞菌所产生物表面活性剂具有良好的表面活性。

2.1.2 温度稳定性: 如图 2 所示, 在 15–150 °C 范围内, 表面张力值的变化不大, 稳定在 46–49 mN/m 范围内。可见, 该 BS 对温度有很强的耐受性, 可耐受高达 150 °C 的温度同时仍保持活性。包木太等^[21]从油田分离到一株铜绿假单胞菌, 其所产脂肽类 BS 在 0–100 °C 范围内性能稳定。

2.1.3 pH 稳定性: 从图 3 中可以看出, pH 值在 1.0–6.0 范围内, 表面张力值呈现出一定的增大趋

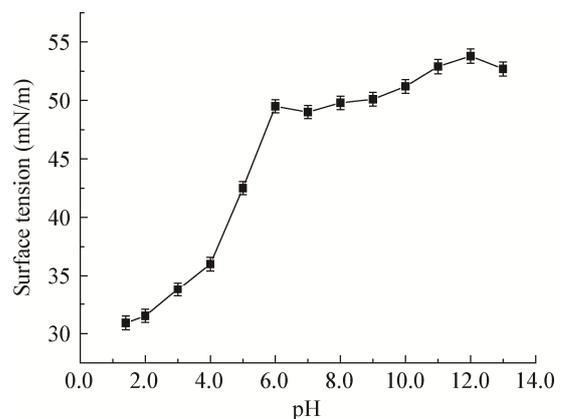


图 3 pH 值对 BS 表面张力的影响
Figure 3 Effect of pH value on surface tension of biosurfactant

势,从 pH 6.0 到 pH 13.0 则趋于稳定。可见,该 BS 在弱酸性至碱性范围内表现出优良的稳定性能。BS 可分为糖脂、脂肽、脂蛋白、磷脂及中性类脂衍生物等五类,化学性质不同的 BS 对酸碱度的耐受能力是不同的。张翠竹等^[22]发现一株地衣芽孢杆菌 NK-X₃ 可以合成一种脂肽类 BS,该 BS 在 pH 4.0–12.0 范围内仍能保持原有的表面活性。本实验中的铜绿假单胞菌所合成的 BS,在前期的研究中已确定属于糖脂类^[15]。

2.1.4 NaCl 稳定性: 溶液的表面张力值随 NaCl 浓度的变化如图 4 所示。由图 4 可知,当 NaCl 由 0 g/L 增加至 260 g/L 时,表面张力的值基本上保持在 37–42 mN/m 范围内,波动范围很小,说明该 BS 对盐浓度的耐受性很强。

2.2 生物表面活性剂对乳白耙齿菌 F17 降解蒽的强化

2.2.1 BS 投加量的影响: BS 的投加量对蒽生物降解的影响如图 5 所示。从图 5 中可以看出,当不投加 BS 时,第 15 天时蒽降解率只有 59.0%;但随着 BS 的投加量增大至 50 mg/L,蒽的降解率显著提高,第 15 天时蒽的降解率为 82.9%,比不投加 BS 时提高了 23.9%。这一结果表明,BS 的加入对蒽的生物降解起到了显著的强化作用。蒽是一种疏水性很强的化合物,而降解酶是水溶性的,BS 的加入对蒽

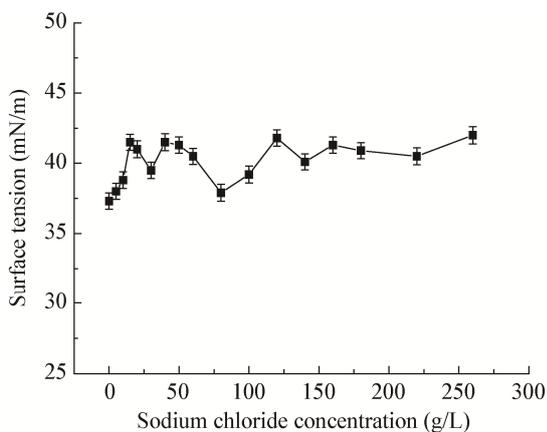


图 4 NaCl 浓度对 BS 表面张力的影响

Figure 4 Effect of sodium chloride concentration on surface tension of biosurfactant

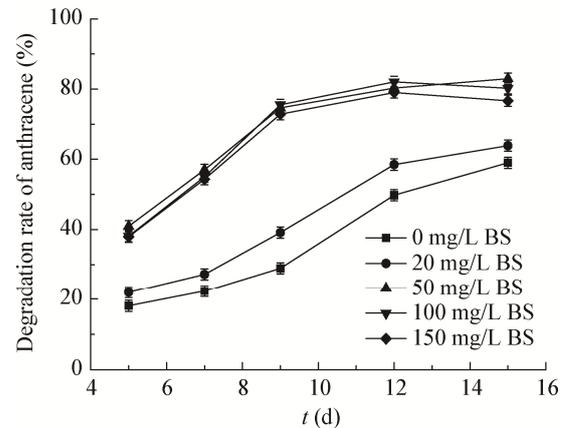


图 5 生物表面活性剂浓度对蒽降解的影响

Figure 5 Effect of biosurfactant concentration on degradation of anthracene

起到了良好的增溶作用,从而有效地促进了酶对蒽的生物降解。后面实验中的 BS 浓度均采用 50 mg/L。

从图 5 中还可以发现,当 BS 浓度大于 50 mg/L 时,蒽的降解率变化不大且略有下降。这是因为一方面,表面活性剂在达到其临界胶束浓度时即具有增溶作用,其增溶效果并不会随着表面活性剂浓度的增大而显著增加^[23];另一方面,BS 本身是一种生物可利用的物质,当其浓度过高时,微生物可能会大量利用表面活性剂而不利用污染物,从而导致降解率下降^[24]。因此,在降解过程中没有必要添加过量的生物表面活性剂以避免浪费。

2.2.2 BS 投加时间的影响: 分别设定 3 个不同的 BS 投加时间,实验结果表明,BS 的投加时间对蒽的降解也有一定的影响。如图 6 所示,3 种投加时间均表现出较好的降解效果。在接种降解菌前 1 天投加 BS 时,蒽的降解率略高于其他两种投加时间的降解率,其他两者在第 7 天以后降解率才出现较大幅度的增大。由于 BS 对蒽有增溶作用,提前 1 d 加入 BS 可以提高蒽的生物可利用性,进而使乳白耙齿菌 F17 能够更有效地降解蒽;而当 BS 与乳白耙齿菌 F17 同时加入无机盐培养基时,由于蒽无法立即有效地溶解,因而乳白耙齿菌 F17 对蒽的利用有一个滞后过程。由此可见,在适当的时间加入 BS 可以更好地促进蒽的溶解,提高乳白耙齿菌 F17 对蒽的利用率,进而强化蒽的降解。

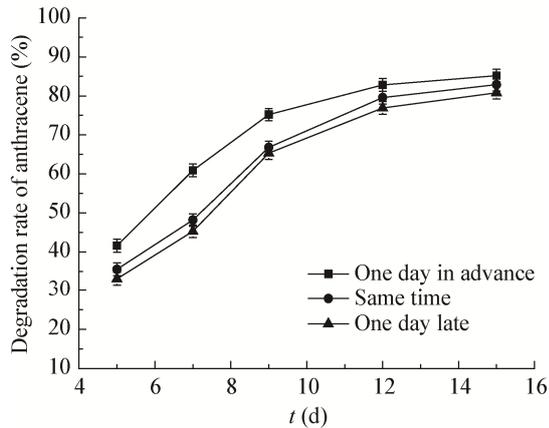


图6 生物表面活性剂的不同投加时间对蒽降解的影响
Figure 6 Effect of different adding time of biosurfactant on anthracene degradation

2.2.3 不同表面活性剂的影响: 表面活性剂可以对疏水性有机物起到一定的增溶作用, 从而促进有机物的生物降解^[25]。肖鹏飞等^[26]研究发现, Tween 60 和十二烷基硫酸钠能够强化白腐真菌对 DDT 污染土壤的修复。本实验选择了 3 种不同性质的表面活性剂, 即生物表面活性剂(BS)、十二烷基硫酸钠(离子型表面活性剂, SDS)及 Tween 20 (非离子型表面活性剂), 比较它们对乳白耙齿菌 F17 降解蒽的强化程度。因十二烷基硫酸钠和 Tween 20 的 CMC 值分别为 2 100 mg/L 和 600 mg/L^[27], 本文中的生物表面活性剂的 CMC 值为 40 mg/L, 为便于比较, 在本降解实验中将表面活性剂浓度分别设定为各自的 CMC 值。

如图 7 所示, 与不加表面活性剂相比, 所加入的 3 种表面活性剂对蒽的生物降解都有强化作用, 因为在降解过程中, 降解效果不仅取决于降解菌的降解能力, 还取决于蒽在水相中的溶解程度, 而表面活性剂则可以对疏水性有机物起到增溶作用。

从图 7 中可以发现, BS 对蒽降解的强化作用明显优于化学表面活性剂, 表现为: (1) 在 3 种表面活性剂的浓度均为各自的 CMC 值时, BS 对蒽降解的强化作用最为显著, 蒽的降解率远高于其他两者。降解到第 15 天时, 3 组实验的降解率分别为 64.6% (SDS)、73.2% (Tween 20) 和 83.0% (BS), 以

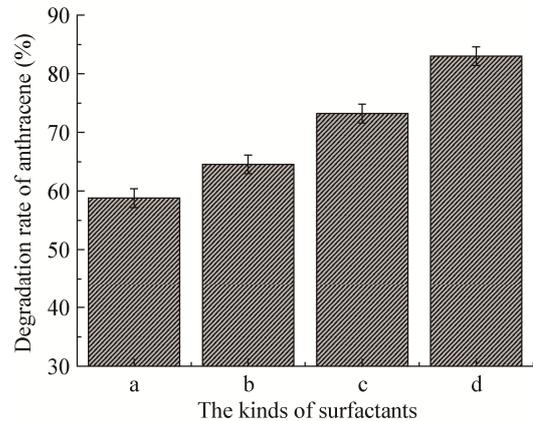


图7 不同表面活性剂对蒽降解的影响
Figure 7 Effect of different surfactants on anthracene biodegradation
Note: a: No surfactant; b: Sodium lauryl sulfate; c: Tween 20; d: Biosurfactant.

BS 的强化作用最为有效, 其次是 Tween 20。(2) 在降解第 15 天时, BS 用量最少而蒽降解率最高。实验中 BS 为 40 mg/L, 比 Tween 20 的用量低 1 个数量级, 比 SDS 的用量低 2 个数量级。这一结果表明, 该 BS 具有更好的表面活性, 在浓度较低时即可有效地强化蒽的降解。

图 7 中的所有数据均以平均值±标准偏差表示。数据之间的统计学差异使用 SPSS 19.0 进行分析, 控制组与实验组之间指标的差异采用单因子方差分析(One-Way ANOVA)进行判定。选择 LSD 为检验方法, 若 $P < 0.05$ 则认定为有统计学差异。对本实验数据的分析结果为 $P < 0.05$, 表明存在显著性差异。

3 讨论

BS 产生于微生物、动物或植物的代谢过程中, 属次级代谢产物。BS 以其良好的表面化学特性和环境友好性, 逐渐在各行业得到广泛应用, 特别是在地下水、土壤中疏水性有机物污染的生物修复技术中表现出很大的潜力。

有些 BS 在极端温度、pH、盐度等条件下表现出了良好的耐受性。胡申才等^[28]利用一株假单胞菌合成了脂肽类生物表面活性剂, 在 pH 2.0–10.0 范围内, 表面张力均比较稳定; 在 20–120 °C 范围内, 表面张力无明显变化, 可以耐受 120 °C 的高温 2 h,

具有很强的耐高温性。罗娜等^[19]对铜绿假单胞菌 XJ601 所产生表面活性剂(鼠李糖脂)的稳定性进行了研究,发现在 10–120 °C 范围内鼠李糖脂溶液的表面张力会有略微的波动,但相对较为稳定;当 pH 处于 3.0–11.0 时,鼠李糖脂的表面活性基本没有变化,当 pH 大于 11.0 时,其表面张力逐渐升高;当 NaCl 的质量浓度低于 25 g/L 时,鼠李糖脂的表面张力基本稳定不变,但随着盐浓度的增加,其表面张力会有略微的波动。本研究中的 BS 属糖脂类,可耐受的温度范围更宽,在 15–150 °C 范围内均能保持良好的表面活性;可耐受的碱度更高,在 pH 4.0–12.0 范围内仍能保持原有的表面活性;当 NaCl 由 0 g/L 增加至 260 g/L 时,表面张力的值基本上保持在 37–42 mN/m 范围内。不同的生物表面活性剂由于其结构组成和化学性质的差异表现出不同的稳定性。由于 BS 在极端温度、pH、盐度等条件下具有比化学表面活性剂更好的选择性和专一性,且结构多样,因而适用于某些特殊领域^[12,19]。

多环芳烃的低水溶性和强吸附能力限制了微生物对它的利用,而 BS 一方面能显著降低两相的界面张力,使烃类在水溶液中有效扩散;另一方面可以通过调节细胞表面的疏水性来影响微生物细胞与烃类之间的亲和力,促进难溶底物的分散与吸收,从而促进微生物对烃类的降解。花莉等^[29]从油泥中分离出一株产 BS 的石油降解菌,在优化条件下对石油的降解率为 66.94%。然而在降解体系中 BS 的浓度过高反而不利于有机物的降解,因为生物表面活性剂很有可能还作为微生物的碳源,影响大分子烃的降解。同时在降解过程中添加过量的 BS 也增加了处理成本^[30]。因此在烃类的降解过程中选择适宜的 BS 投加量是十分重要的,要根据有机污染物和 BS 的性质来确定 BS 的投加量。本研究中,在 BS 浓度为 50 mg/L 时,第 15 天时葱的降解率达到了 82.9%。

有关表面活性剂在去除难降解有机污染物中的应用目前已有较多报道,但大多采用的是化学表面活性剂。与化学合成的表面活性剂相比,BS 具有无毒、可生物降解、稳定性好、用量少等优点,

可以有效避免环境中化学试剂的大量使用所造成的污染积累,使环境中烃类物质的去除工艺更具安全性和环境可持续性。强婧等^[24]通过 HPLC 图谱分析了葱降解过程中 BS 成分的变化,证实了 BS 是能够被微生物利用的,从而表明了其在环境中应用的安全性,是一种环境友好制剂。陈静等^[31]指出,表面活性剂的浓度、性质及多环芳烃的性质、赋存状态均可以影响土壤对多环芳烃的有效降解。龙涛等^[32]利用了化学表面活性剂 Tween 80 强化对菲的降解。这些研究中使用的表面活性剂浓度都较高,约为 100–1 200 mg/L,甚至更高;而本研究中所采用的 BS 浓度仅为 50 mg/L 时便可达到比较理想的效果,这也是 BS 优于化学合成表面活性剂的一个重要方面。

4 结论

铜绿假单胞菌所产 BS 的临界胶束浓度为 40 mN/m。该 BS 不仅对高温有很强的耐受性,而且所能适应的温度范围很广。该 BS 不仅在 pH 6.0–13.0 的环境条件下能够保持良好的稳定性,而且对盐浓度也有很高的耐受性。

BS 的加入对葱的生物降解有显著的强化作用。在 BS 浓度为 50 mg/L 时,第 15 天时葱的降解率达到了 82.9%,比不加入 BS 时提高了 23.9%。BS 的投加时间对葱的生物降解有一定的影响。BS 在接种乳白耙齿菌 F17 的前 1 天加入培养基中,能更好地改善葱在水相中的溶解性,从而强化葱的降解。

在葱的生物降解过程中,BS 对葱的增溶作用及对葱降解的强化作用明显优于化学表面活性剂。BS 作为一种绿色环保的表面活性剂,在强化疏水性有机污染物降解过程中的作用将会逐渐受到广泛关注。

参 考 文 献

- [1] Pacwa-Płociniczak M, Płaza GA, Piotrowska-Seget Z, et al. Environmental applications of biosurfactants: recent advances[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12(1): 633-654
- [2] Mulligan CN. Environmental applications for biosurfactants[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 133(2): 183-198
- [3] Batista SB, Mounteer AH, Amorim FR, et al. Isolation and characterization of biosurfactant/bioemulsifier-producing bacteria from petroleum contaminated sites[J]. *Bioresource*

- Technology, 2006, 97(6): 868-875
- [4] Marcon R, Bestetti G, Frati F, et al. Naphthalene and biphenyl oxidation by two marine *Pseudomonas* strains isolated from Venice Lagoon sediment[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, 59(1): 25-31
- [5] Pagnout C, Frache G, Poupin P, et al. Isolation and characterization of a gene cluster involved in PAH degradation in *Mycobacterium* sp. strain SNP11: expression in *Mycobacterium smegmatis* mc2155[J]. Research in Microbiology, 2007, 158(2): 175-186
- [6] Wang BC, Wang QH, Zhu LC, et al. Degrade naphthalene using cells immobilized combining with low-intensity ultrasonic technique[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007, 57(1): 17-21
- [7] Jacques RJS, Santos EC, Bento FM, et al. Anthracene biodegradation by *Pseudomonas* sp. isolated from a petrochemical sludge landfarming site[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2005, 56(3): 143-150
- [8] Liu F, Liang JS, Sun Y, et al. Isolation and degradation characteristics of a HMW PAHs-degrading strain LD29[J]. Environmental Science, 2011, 32(6): 1799-1804 (in Chinese)
刘芳, 梁金松, 孙英, 等. 高分子量多环芳烃降解菌 LD29 的筛选及降解特性研究[J]. 环境科学, 2011, 32(6): 1799-1804
- [9] Cao J, Xu ZH, Li LZ, et al. Biosurfactant-producing petroleum-degrader *Acinetobacter* BHSN[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2009, 25(1): 73-78 (in Chinese)
曹娟, 徐志辉, 李凌之, 等. 产生物表面活性剂的石油降解菌 *Acinetobacter* BHSN 的研究[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(1): 73-78
- [10] Kaplan CW, Kitts CL. Bacterial succession in a petroleum land treatment unit[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(3): 1777-1786
- [11] Paria S. Surfactant-enhanced remediation of organic contaminated soil and water[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2008, 138(1): 24-58
- [12] Ma C, Liu GQ, Zhao L, et al. The application of surfactant in oil-polluted soil remediation[J]. Pollution Control Technology, 2013, 26(5): 55-59 (in Chinese)
马超, 刘光全, 赵林, 等. 表面活性剂在油污土壤修复中的应用[J]. 污染防治技术, 2013, 26(5): 55-59
- [13] Ouyang K, Zhang JY, Qi Q, et al. Difference of biodegradation processes of anthracene in the presence of biosurfactants and chemical surfactants[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2004, 23(4): 806-809 (in Chinese)
欧阳科, 张甲耀, 戚琪, 等. 生物表面活性剂和化学表面活性剂对多环芳烃的生物降解作用研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(4): 806-809
- [14] Shin KH, Kim KW. A biosurfactant-enhanced soil flushing for the removal of phenanthrene and diesel in sand[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2004, 26(1): 5-11
- [15] Zuo SS, Wu J. Optimization of biosurfactants synthesis conditions and extraction methods[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(6): 3325-3329 (in Chinese)
左姗姗, 吴涓. 生物表面活性剂合成条件的优化及提取方法[J]. 环境工程学报, 2016, 10(6): 3325-3329
- [16] Velraeds MMC, van der Mei HC, Reid G, et al. Physicochemical and biochemical characterization of biosurfactants released by *Lactobacillus* strains[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1996, 8(1/2): 51-61
- [17] Chen J, Wang XJ, Hu JD, et al. Effect of surfactants on biodegradation of PAHs by white-rot fungi[J]. Environmental Science, 2006, 27(1): 154-159 (in Chinese)
陈静, 王学军, 胡俊栋, 等. 表面活性剂对白腐真菌降解多环芳烃的影响[J]. 环境科学, 2006, 27(1): 154-159
- [18] Li Z, Gao YW, Gu GZ, et al. Identification and fermentation conditions optimization of a biosurfactant producing bacterium[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(5): 2714-2718 (in Chinese)
李政, 高艺文, 顾贵洲, 等. 一株生物表面活性剂产生菌的鉴定及发酵条件优化[J]. 环境工程学报, 2016, 10(5): 2714-2718
- [19] Luo N, Dong W, He CQ, et al. Effects of medium components on rhamnolipid production and its stability by *Pseudomonas aeruginosa* XJ601[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2016, 14(3): 75-80 (in Chinese)
罗娜, 董文, 何春秋, 等. 铜绿假单胞菌 XJ601 产鼠李糖脂的优化培养及其稳定性[J]. 生物加工过程, 2016, 14(3): 75-80
- [20] Qiang J, Yin H, Peng H, et al. Characteristics of a biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* S6[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2009, 29(1): 102-110 (in Chinese)
强婧, 尹华, 彭辉, 等. 铜绿假单胞菌 S6 分泌的生物表面活性剂特性[J]. 环境科学学报, 2009, 29(1): 102-110
- [21] Bao MT, Cui DY, Liang SK, et al. Application of rhamnolipid biosurfactant in heavy oil viscosity reduction[J]. Modern Chemical Industry, 2009, 29(S2): 138-140 (in Chinese)
包木太, 崔东阳, 梁生康, 等. 鼠李糖脂生物表面活性剂在稠油降黏中的应用初探[J]. 现代化工, 2009, 29(S2): 138-140
- [22] Zhang CZ, Liang FL, Zhang XP, et al. Physico-chemical properties and effect on crude oil of a bacterium-produced lipopeptide biosurfactant[J]. Oilfield Chemistry, 2000, 17(2): 172-176 (in Chinese)
张翠竹, 梁凤来, 张心平, 等. 一种脂肽类生物表面活性剂的理化性质及其对原油的作用[J]. 油田化学, 2000, 17(2): 172-176
- [23] Abouseoud M, Yataghene A, Amrane A, et al. Effect of pH and salinity on the emulsifying capacity and naphthalene solubility of a biosurfactant produced by *Pseudomonas fluorescens*[J]. Journal of Hazardous Material, 2010, 180(1/2/3): 131-136
- [24] Qiang J, Yin H, Peng H, et al. Effect of biosurfactant and degrading strain on anthracene biodegradation[J]. Environmental Chemistry, 2010, 29(1): 58-62 (in Chinese)
强婧, 尹华, 彭辉, 等. 生物表面活性剂与萘降解菌的协同降解效应[J]. 环境化学, 2010, 29(1): 58-62
- [25] Bai J, Zhao YS, Zhou B, et al. Laboratory investigation of solubilization of naphthalene by nonionic surfactant Tween 80[J]. China Environmental Science, 2013, 33(11): 1993-1998 (in Chinese)
白静, 赵勇胜, 周冰, 等. 非离子表面活性剂 Tween 80 增溶萘实验模拟[J]. 中国环境科学, 2013, 33(11): 1993-1998
- [26] Xiao PF, Li YW, Kondo R. Enhancement of Tween 60 and SDS for bioremediation of DDT-contaminated soil by white rot fungus[J]. China Environmental Science, 2015, 35(12): 3737-3743 (in Chinese)
肖鹏飞, 李玉文, Kondo R. Tween 60 和 SDS 强化白腐真菌修复 DDT 污染土壤[J]. 中国环境科学, 2015, 35(12): 3737-3743
- [27] Wang DM, Chen LH, Zhou LH, et al. Effects of rhamnolipid on petroleum degradation of compound microbial inoculant[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013, 7(10): 4121-4126 (in Chinese)
王冬梅, 陈丽华, 周立辉, 等. 鼠李糖脂对微生物菌剂降解石油的影响[J]. 环境工程学报, 2013, 7(10): 4121-4126
- [28] Hu SC, Zhou YF, Zhang B. Isolation and characterization of microbes producing lipopeptide surfactant[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2009, 48(11): 2719-2721 (in Chinese)

- 胡申才, 周焱富, 张宝. 脂肪类生物表面活性剂微生物合成菌的筛选[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(11): 2719-2721
- [29] Hua L, Luo JJ, Peng XY, et al. The research on products properties and oil degradation capability of strains producing surfactant[J]. Ecology and Environmental Science, 2013, 22(12): 1945-1950 (in Chinese)
- 花莉, 洛晶晶, 彭香玉, 等. 产表面活性剂降解石油菌株产物性质及降解性能研究[J]. 生态环境学报, 2013, 22(12): 1945-1950
- [30] Zhang LF, Xiao H, Wei DZ. Effect of surfactants on biodegradation of petroleum-contaminated soil[J]. Liaoning Chemical Industry, 2002, 31(12): 509-513 (in Chinese)
- 张丽芳, 肖红, 魏德洲. 表面活性剂对土壤石油污染物微生物降解的影响[J]. 辽宁化工, 2002, 31(12): 509-513
- [31] Chen J, Hu JD, Wang XJ, et al. Desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil in presence of surfactants[J]. Environmental Science, 2006, 27(2): 361-365 (in Chinese)
- 陈静, 胡俊栋, 王学军, 等. 表面活性剂对土壤中多环芳烃解吸行为的影响[J]. 环境科学, 2006, 27(2): 361-365
- [32] Long T, Liu X, Yang JG, et al. Study on biodegradation of phenanthrene enhanced by nonionic surfactant Tween 80[J]. Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control, 2003, 4(5): 1-4 (in Chinese)
- 龙涛, 刘翔, 杨建刚, 等. 非离子型表面活性剂吐温 80 增溶条件下菲的生物降解[J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, 4(5): 1-4

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果, 产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、显微世界、专栏、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登录我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿须知”。

3 写作要求

来稿要求论点明确, 数据可靠, 简明通顺, 重点突出。

3.1 参考文献

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码, 未公开发表的资料请勿引用。我刊参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出, 多于 3 人时列出前 3 人, 后加“等”或“et al.”, 作者姓前、名后, 名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名必须写完整, 不用缩写, 不用斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

- [1] Marcella C, Claudia E, Pier GR, et al. Oxidation of cystine to cysteic acid in proteins by peroxyacids as monitored by immobilized pH gradients[J]. Electrophoresis, 1991, 12(5): 376-377
- [2] Wang BJ, Liu SJ. Perspectives on the cultivability of environmental microorganisms[J]. Microbiology China, 2013, 40(1): 6-17 (in Chinese)
- 王保军, 刘双江. 环境微生物培养新技术的研究进展[J]. 微生物学通报, 2013, 40(1): 6-17
- [3] Shen T, Wang JY. Biochemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 1990: 87 (in Chinese)
- 沈同, 王镜岩. 生物化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990: 87
- [4] Liu X. Diversity and temporal-spatial variability of sediment bacterial communities in Jiaozhou Bay[D]. Qingdao: Doctoral Dissertation of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2010 (in Chinese)
- 刘欣. 胶州湾沉积物细菌多样性及菌群时空分布规律[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所博士学位论文, 2010

3.2 脚注(正文首页下方)

Foundation item:

*Corresponding author: Tel: ; Fax: ; E-mail:

Received: January 01, 20xx; Accepted: March 01, 20xx; Published online (www.cnki.net): March 31, 20xx

基金项目: 基金项目(No.)

*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 20xx-00-00; 接受日期: 20xx-00-00; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 20xx-00-00

(下转 p.1321)