

微生物降解石油烃类污染物的研究进展

赵东宇

(厦门大学生命科学学院 福建厦门 361005)

摘要 :石油作为重要的能源之一,在被大量开采、运输和使用的同时,带来了严重的污染。利用微生物降解石油烃类污染物是当前治理石油污染最为理想的有效方法。介绍了降解石油烃的微生物种类和降解机理,并分析了固定化、表面活性剂、低温条件等对降解过程的影响。

关键词 :石油污染 ;石油降解菌 ;固定化 ;表面活性剂 ;低温

Abstract : Petroleum is one of the most important energy, while the vast amounts of oil mining, transportation and utilization, which also caused serious pollution. The biological method is an ideal method to the degradation of petroleum hydrocarbon pollutants. This paper summarized the microorganism species of oil-degrading and degradation mechanism, analyzed the influences of immobilization, surfactant and low-temperature condition on degradation process.

Keyword : oil pollution ;oil-degrading bacteria ;immobilization ;surfactant ;low temperature

中图分类号 :X172

文献标识码 :A

文章编号 :1674-1021(2012)04-0048-04

1 引言

石油作为一种应用范围不断拓展、消耗量日趋增大的重要能源,在开采、炼制、贮运和使用过程中应严格防范其对环境的污染,但由于目前受工艺水平和处理技术的限制,含石油类物质的废水、废渣不可避免地排入土壤,严重地影响了整个土壤生态系统。石油烃类物质具有较高的生物学毒性。在环境中的残留时间较长且危害较大,如何对受其污染的环境进行有效修复正在日益受到关注。微生物修复具有费用低、可现场处理污染土壤或水体、能够最大限度地降低污染物浓度和环境负面影响等特点,因此相关方面的研究也越来越多。本文主要阐述了固定化微生物技术、表面活性剂和生物表面活性剂及低温甚至极端的条件下微生物降解石油烃类污染物的研究进展。

2 降解石油烃的微生物种类

自然界中能够降解石油污染物质的微生物分布广泛,到目前为止已发现约有100余属、200多种,多存在于被石油污染的土壤环境和水体环境之中。分属于细菌、真菌、放线菌、霉菌、酵母以及藻类,它们的细胞均含有改变了的脂肪酸组分和较多的核糖体,并常将烃类累积在细胞质膜上,同时它们也能合成较多的磷脂^[1]。一般认为,细菌更能有效地降解原

油,其数目最多,约有40多个属,在生态系统中占据首要的地位^[2-4]。

(1)细菌:包括假单胞菌属、黄杆菌属、棒状杆菌属、无色杆菌属、节杆菌属、小球菌属、孤菌属等属的某些菌株。其中最常见的是假单胞菌,它对短链及长链烷烃、芳烃均有降解能力,而且能彻底降解烷烃^[5]。Muthuswamy等^[6]研究了芽孢杆菌(*Bacillus sp.*) IOS1-7、棒杆菌(*Corynebacterium sp.*) BPS2-6、假单胞菌(*Pseudomonas sp.*) HPS2-5、假单胞菌(*Pseudomonas sp.*) BPS1-8等菌株对石油烃的降解效果,结果显示石油烃的降解率均达85%。

(2)真菌:主要包括金色担子菌属、假丝酵母属、红酵母属、掷孢酵母属、曲霉属、毛霉属、镰刀霉属、青霉属、木霉属、被孢霉属等。在土壤环境中,真菌的种类比细菌的种属还要多。韩慧龙等^[7]采用真菌—细菌微生物制剂对中原油田不同类型的石油污染土壤进行原位修复,柴油、润滑油和石油的总石油烃(TPH)降解率分别为61.0%、48.3%、38.3%。

(3)放线菌:一般为诺卡氏菌(*Nocardia sp.*)和分歧杆菌。其中以诺卡氏菌为多,但它对烷烃降解不彻底,有中间物积累。也有报道说诺卡氏菌还可以对石油进行生物脱硫反应。

(4)霉菌和酵母菌:常见霉菌有曲霉、青霉、枝孢霉

收稿日期:2012-03-14;修订日期:2012-03-31。

作者简介:赵东宇,男,1990年生,本科生在读,主要研究方向为环境微生物。

等属中的菌株。酵母菌有假丝酵母属(*Candida*)、红酵母属(*Rhodocetula*)、球拟酵母属(*Torulopsis*)和酵母属(*Saccharomyces*)。其中假丝酵母的应用最为广泛。

(5)藻类:如颤藻属(*Oscillatoria*)、鞘藻属(*Microcoleus*)、鱼腥藻(*Anabaena*)、念珠藻(*Nostoc*)、隐球藻(*Aphanocapsa*)、小球藻(*Chlorella*)、杜氏氏藻(*Dunaliella*)、衣藻(*Chlamydomonas*)、石纯藻(*Ulva*)、细柱藻(*Cylindrotheca*)等。

微生物对石油类物质的降解能力因种属而异,且降解的石油成分也不尽相同,即便同一属中的不同菌株对不同烃类的利用能力也有较大的差别。*Kieseler*^[8]研究细菌和霉菌对石油降解能力时发现细菌 *Acinetobacter calcoeticus* 只能降解 $C_{22}\sim C_{30}$ 的石油烃并对石油有乳化作用,而 *Serratia marcescens* 只降解 $C_{20}\sim C_{28}$ 的石油烃并且对石油有较大的吸附能力,霉菌 *Candida tropicalis* 能降解 $C_{12}\sim C_{32}$ 的石油物质,还有较大的乳化石油的能力。因此,目前的研究更加趋于利用混合菌种来处理石油类污染物,何丽媛等^[9]从污染土壤中筛选到4株石油组分降解菌组建混合菌体系,包括:烷烃降解菌洋葱伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia cepacia*)GS3C、萘降解菌鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas sp.*)GY2B、苊降解菌 GP3、假单胞菌(*Pseudomonas sp.*)GP3A 和伯克菌科的菌株(*Pandoraeapnomenus*)GP3B。通过比较得到降解原油的最佳组合 G8(GS3C+GY2B+GP3B),总去除率达到 69.20%,混合菌 G8 对原油的总去除率比单菌提高了近 30%,并且对烷烃类和芳烃类化合物都表现出较强的降解能力。

正常情况下,降解石油烃的微生物种类和数量非常少,而当菌群处于石油污染环境时,利用烃类化合物的微生物数量将急剧增长,在受石油烃污染的水体和底部沉积物中,菌体浓度可达 $10^2\sim 10^6$ 个/mL,比未受污染地区高出 1~2 个数量级^[8]。但是当分离出降解速率较高的优势菌株投入到环境中,受自然环境的限制,种类依旧很少或者降解效果不显著。因此,接种微生物是否可以提高石油降解速度,还是个颇有争议的问题。

总的说来,“土著”微生物目前用的较多,具有经济性,但效果较差;接种选育的优势菌种到土壤中,收效快、效果好,但影响因素较多^[10]。

3 微生物降解石油烃的机理

石油是以链烷烃、环烷烃、芳香烃以及少量非烃类化合物为主要成分的复杂混合物。微生物降解就是

微生物利用石油烃类作为碳源和能源,经过一系列氧化、还原、分解、合成等生化作用,将石油污染物最终矿化转变为无害的无机物质(CO_2 和 H_2O)的过程。

3.1 烷烃的降解

烷烃的降解主要有单一末端氧化、双末端氧化或 ω -氧化、次末端氧化3种方式。单一末端氧化最常见的是直链烷烃的好氧代谢途径,即首先通过氧化烷烃末端的一个甲基转变为相应的醇,然后再依次氧化为相应的醛和脂肪酸。另一种情况是经历 ω 羟基化形成 ω 羟基脂肪酸,然后在非专一羟基酶的参与下被氧化为二羧酸,最后再经历 β -氧化序列,这种氧化途径称之为双末端氧化或 ω -氧化。次末端氧化首先在链内的碳原子上插入氧,生成仲醇,再进一步氧化生成甲基酮,进而代谢为酯,酯键裂解生成伯醇和脂肪酸,醇可继续氧化生成羧酸,羧酸则通过 β -氧化进一步代谢。

3.2 芳香烃的降解

芳香烃是重要的原油组分,相对于烷烃来说稍难降解,芳香烃的有氧代谢必须有分子氧参加,同时需要加氧酶的催化。细菌通过过氧化物酶将分子氧的两个氧原子结合进芳香烃中,形成顺式构型的二氢二醇,顺式二氢二醇在另外一种过氧化物酶的催化下将芳香环破裂成邻苯二酚。与细菌相反,真菌通过 P450 催化单氧化酶和环氧化物水解酶使芳烃转化为反式构型二氢二醇。

3.3 厌氧代谢

以往认为微生物代谢烃类必须有氧气,然而随着研究的深入,发现烃类的生物降解在好氧环境和厌氧环境中均可发生,但在厌氧环境中,烃类的生物降解速率有所下降,而且降解烃的种类也少^[11]。

烷烃类物质在缺氧情况下的降解过程首先从脱氢开始变成烯烃,烯烃再羟基化过程形成伯醇,而后氧化形成脂肪酸,脂肪酸发生还原脱羧作用,如果进入有氧环境则发生 β -氧化。芳香烃在无氧或缺氧时,水解开环形成直链羧酸,随后通过末端氧化和 β -氧化等途径矿化为 CH_4 和 CO_2 。*Grishchenkov* 分离到能够还原硝酸盐并且能以石油为唯一碳源和能源的7株细菌,它们在好氧和厌氧环境下都能降解土壤中石油烃类并分泌生物表面活性剂以增加石油类的可溶性和可生物降解性^[12]。

4 固定化微生物

固定化微生物技术是指利用物理或化学手段将

游离的微生物或者酶在限定的空间区域内定位,使其保持活性,并且在适宜的条件下还可以增殖以满足应用之需的反复使用的生物技术^[13]。固定化微生物技术是一种高效低耗、运转管理容易和十分有前途的污染治理技术,具有微生物密度高、反应迅速、微生物流失少、产物易分离、反应过程易控制的优点。固定化方法按照载体与作用方式的不同可分为:吸附法、包埋法、交联法和共价结合法^[14-15]。

李伟光等^[16]采用人工固定化生物活性炭处理含油废水,其对油的去除效率在80%~95%之间,COD平均去除率达到53%,出水中油质量浓度小于5 mg/L。试验结果表明该工艺对污染物的去除效果明显高于颗粒活性炭和传统的二级气浮工艺。邵娟等^[17]用秸秆做载体固定嗜碱芽孢杆菌(*Bacillus alcalophilus* SG)降解原油,其原油去除率为73.88%,高于单纯投加菌液或者菌液与秸秆的混合物的原油去除率。张辉等^[18]从辽河油田受石油污染的河床底泥中筛选出一株芽孢杆菌(*Bacillus sp.*)和一株黄杆菌(*Flavobacterium sp.*),采用二次交联化学方法对2株细菌单独及混合固定,结果表明,固定化混合菌对自然地表中油的降解率达94.5%,对地表水中COD的去除率达89.6%。而且实验也证明固定化混合菌对油的降解效果明显优于固定化单株菌,而且都优于游离菌。

5 表面活性剂对微生物降解的影响

表面活性剂指具有固定的亲水亲油基团,能使表面张力显著下降的化合物,表面活性剂能促进吸附和溶解,提高生物可利用性和微生物的除油效果。一般来说,只要不对石油烃降解菌株产生毒性,添加表面活性剂能促进微生物对石油烃的降解^[18-19]。

目前主要研究的是阴离子表面活性剂、非离子表面活性剂和生物表面活性剂对生物降解的影响。而非离子表面活性剂稳定性高、不易受无机酸碱盐干扰,在水和有机溶剂中有较好的溶解性能等优势,因此研究居多。另外,由于阳离子表面活性剂对细菌的生长造成危害,所以通常不用于石油烃的生物降解^[20]。生物表面活性剂因其独特的两亲分子结构及对微生物无毒、无害的特点,使生物表面活性剂在食品、农业和工业中都得到了广泛的应用。

Bento等^[21]从柴油污染的土壤中分离到12株产表面活性剂的菌株,产生的表面活性剂使柴油的平均表面张力降低41 mN/m。郑金秀等^[22]从石油化

工厂附近的污染土壤中分离到1株产表面活性剂的石油烃降解菌,经鉴定为假单胞菌,生物表面活性剂的产量为0.53 g/L。将表面活性剂产生菌分别与其他2株不产表面活性剂的菌株组合,使石油烃降解率分别提高了7.38%和18.33%。陈静等^[23]研究4种表面活性剂吐温80(Tween 80)、曲拉通100(Triton X-100)、十二烷基苯磺酸钠(LAS)、十二烷基硫酸钠(SDS)对白腐真菌降解水溶液和土水系统中多环芳烃(PAHs)的影响,结果显示,在水溶液中(无土)加入4种表面活性剂均降低溶液中PAHs的降解。在土水系统中,Triton X-100和SDS抑制PAHs降解,而Tween 80和LAS低浓度时也有微弱的抑制作用,但浓度适当时对土壤中PAHs降解的促进作用随着浓度的增大而逐渐增大,而过高浓度的Tween 80和LAS没有表现出对PAHs降解起到更大的促进作用。姚伟静^[24]选取表面活性剂脂肪醇聚氧乙烯醚(JFC)和SDS、烷基多苷(APG)和SDS、Tween 80和SDS,分别以比例4:1、3:1、2:1、1:1进行复配,结果表明,Tween 80和SDS的比例为1:1时,菌株对油的降解率最高,达52.64%;JFC和SDS复配比例为2:1时,降解率最高达46.52%;APG和SDS的复配比例为4:1时,降解率最高,达44.20%。

6 低温条件下石油烃的微生物降解

温度是影响微生物降解石油烃类污染物的重要制约因素之一,低温微生物按其生长温度可分为2类^[25]:

(1)嗜冷菌(*psychrophiles*),指必须生活在低温条件下,在0℃下生长繁殖,最高生长温度≤20℃,最适生长温度≤15℃的微生物。

(2)耐冷菌(*psychrotrophs*),指能在低温条件下生长,在0℃进行细胞分裂,最适生长温度>15℃,最高生长温度>20℃的微生物。

由于自然环境下土著微生物的局限性,通过接种低温石油烃降解菌和添加营养物质、添加表面活性剂、添加电子受体等生物强化措施,能显著提高石油类污染物的去除率^[26]。

在我国北方地区漫长的冬季,低温强烈地抑制了降油微生物对石油的降解效果。而且全球不少于80%的生物圈为常年低于5℃的永久低温地区,因而从北极、高山、南极的土壤,以及阿拉斯加的地下水、南极海水和海冰等低温环境中获取石油烃降解微生物已成为研究热点^[27-29]。

郑洲^[30]等从 385 株南极海洋细菌中筛选出 2 株石油烃降解菌 NJ276 和 NJ341, 以柴油为唯一碳源进行降解实验。结果表明, 5 °C 时降解率分别达到 23.47% 和 32.15%; 15 °C 时降解率分别达到 43.95% 和 62.47%, 菌株 NJ276 属于假交替单胞菌属(*Pseudalteromonas*), 菌株 NJ341 属于科尔韦氏氏属(*Collwellia*)。林学政等^[31]从中国第二次北极科学考察采集的海洋沉积物中分离筛选得到了 26 株石油降解菌, 研究表明, 分离到的石油降解菌均可在以石油为唯一碳源和能源的无机营养盐培养基中生长, 其中菌株 P18、P28 和 P29 生长最佳, 对石油降解率可分别达到 30.96%、34.85% 和 51.28%, 其中 25 株降解菌能分泌胞外脂肪酶, 表明其石油降解能力与产脂肪酶能力有着较强的相关性, 分离到的石油降解菌以假交替单胞菌属为优势菌群, 其比例可达 42%。

与单菌降解相比, 混合菌能降解更宽范围的石油烃。Deppe 等^[32]研究了北极海域中分离的 9 株细菌的共生体(*consortium*)对原油的降解潜力。研究发现, 细菌共生体可以降解不同的烷烃, 包括直链烷烃(C24 和 C36)、支链烷烃(植烷和姥姣烷), 还能降解芳烃(乙苯、二甲苯和萘)。其中获得纯培养的 5 株细菌都不具备降解原油的能力, 这表明了另外 4 株无法获得纯培养的细菌在降解中的重要性。

参考文献

- [1] 张子间, 刘勇弟, 孟庆梅, 等. 微生物降解石油烃污染物的研究进展[J]. 化工环保, 2009, 29(3):193-198.
- [2] 李习武, 刘志培. 石油烃类的微生物降解[J]. 微生物学报, 2002, 42(6):764-767.
- [3] 卢显妍, 尹华, 彭辉. 石油降解菌筛选及其降解能力的研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, 4(12):12-16.
- [4] 徐怀恕, 张晓华. 海洋微生物技术[J]. 青岛海洋大学学报, 1998, 28(4):573-581.
- [5] 孙远军. 降解石油烃优势菌的筛选、分离及性能研究[D]. 西安:西安建筑科技大学, 2006.
- [6] Muthuswamy Sathishkumar, Arthur Raj Binupriya, Baik Sang Ho, et al. Biodegradation of crude oil by individual bacterial strains and a mixed bacterial consortium isolated from hydrocarbon contaminated areas. Clean, 2008, 36(1):92-96.
- [7] 韩慧龙, 王镇. 真菌-细菌协同修复石油污染土壤的场地试验[J]. 环境科学, 2008, 29(2):454-461.
- [8] Kiesele L. U. Efficient and cost-effective purification of groundwater polluted by polycyclic aromatic hydrocarbons experience with a cokeplant hazardous waste site[J]. Atlasten Spektrum, 1997, 6(5):214-217.
- [9] 何丽媛, 党志, 唐霞, 等. 混合菌对原油的降解及其降解性能的研究[J]. 环境科学学报, 2010, 30(6):1220-1227.
- [10] Shi H-L, Zhao Y-H, Ji J-P. Advance on Treatment Technology of Chlrophenols Polluted[J]. Waste Water, Bull Chem Chin, 1998(8):1-4.
- [11] Coates J D, Woodward J. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum contaminated marine harbor sediments[J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63:3589-3593.
- [12] Grishchenkov V G, Townsend R T. Degradation of petroleum hydrocarbons by facultative anaerobic bacteria under aerobic and anaerobic conditions[J]. Process Biochemistry, 2000, 35:889-896.
- [13] 王建龙. 生物固定化技术与水污染控制[M]. 北京:科学出版社, 2002.
- [14] 崔明超, 陈繁忠, 傅家谟, 等. 固定化微生物技术在废水处理中的研究进展[J]. 化工环保, 2003, 23(5):261-264.
- [15] 曹亚莉, 田沈, 赵军, 等. 固定化微生物细胞技术在废水处理中的应用[J]. 微生物学通报, 2003, 30(3):77-81.
- [16] 李伟光, 李欣, 朱文芳. 固定化生物活性炭处理含油废水的试验研究[J]. 哈尔滨商业大学学报, 2004, 20(2):187-190.
- [17] 邵娟, 尹华, 彭辉, 等. 秸秆固定化石油降解菌降解原油的初步研究[J]. 环境污染与防治, 2006, 28(8):565-568.
- [18] Z. Q. Ou, A. Yediler, Y. W. He. Adsorption of linear alkylbenzene sulfonate(LAS) on soils[J]. Chemosphere, 1996, 32(5):827-839.
- [19] G. Saumyen, R. J. Peter, C. A. Peters. Bioavailability of mixtures of PAHs partitioned into the micellar phase of a nonionic surfactant[J]. Environmental Science and Technology, 1998, 32(15):2317-2324.
- [20] 杜海. 表面活性剂增强生物降解柴油的基础研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2005, 16-21.
- [21] Bento F. M. de Oliveir F. A. Okeke B C, et al. Diversity of biosurfactant producing microorganisms isolated from soils contaminated with diesel oil [J]. Microbiol Res, 2005, 160(10):249-255.
- [22] 郑金秀, 彭祺, 张甲耀, 等. 产表面活性剂的石油降解菌降解特性研究[J]. 环境科学与技术, 2007, 30(1):5-7.
- [23] 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.
- [24] 姚伟静. 高效除油微生物菌株的筛选及表面活性剂增强生物降解石油烃的研究[D]. 重庆:重庆大学, 2007, 62-73.
- [25] 刘芳明. 南极海洋石油烃低温降解菌的筛选、鉴定及其低温降解特性的研究[D]. 青岛:国家海洋局第一海洋研究所, 2008, 24-28.
- [26] 王世杰, 王翔, 卢桂兰, 等. 低温微生物修复石油烃类污染土壤研究进展[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4):1082-1088.
- [27] Margesin R, Schinner F. Bioremediation(natural attenuation and biostimulation)of diesel oil contaminated soil in an alpine glacier skiing area[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67:3127-3133.
- [28] Margesin R, Schinner F. Biological decontamination of oil spills in cold environments[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1999, 74:381-389.
- [29] Atlas RM. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective[J]. Microbiological Reviews, 1981, 45:180-209.
- [30] 郑洲, 刘芳明, 张波涛, 等. 南极石油烃降解嗜冷菌的筛选及其降解特性的研究[J]. 海洋科学进展, 2007, 25(3):311-315.
- [31] 林学政, 沈继红, 杜宁, 等. 北极海洋沉积物石油降解菌的筛选及系统发育分析[J]. 环境科学学报, 2009, 29(3):536-541.
- [32] Deppe Uta, Richnow Hans-Hermann, Michaelis-Walter et al. Degradation of crude oil by an arctic microbial consortium[J]. Extremophiles, 2005(9):461-470.