

微生物对几种水溶性聚合物的降解作用

张建峰, 姜慧敏, 李桂花, 王玉军, 杨俊诚, 张夫道

(中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 农业部作物营养与施肥重点开放实验室, 北京 100081)

摘要 针对缓/控释肥料包裹材料的广泛应用, 通过实验室微生物培养, 对几种水溶性聚合材料生物降解作用进行了测定。结果表明, 纳米-亚微米级聚乙醇混聚物、甲基丙烯酸羟乙酯混聚物在第 4 周最先开始降解, 废弃聚苯乙烯泡沫塑料混聚物第 8 周才开始降解。聚乙醇混聚物、聚苯乙烯泡沫塑料混聚物、丙烯酸酯类混聚物在 11~20 周完全降解, 苯乙烯-丙烯酸酯混聚物第 20 周后降解达 98%, 试验所用纳米-亚微米级聚乙醇混聚物等 7 种水溶性聚合物均可作为环境友好型缓释肥料包裹材料。

关键词 水溶性聚合物 微生物 生物降解

中图分类号 S145.6 **文献标志码** A **文章编号** 1672-2043(2009)05-0956-05

Microbial Degradation of Water-Soluble Polymer

ZHANG Jian-feng, JIANG Hui-min, LI Gui-hua, WANG Yu-jun, YANG Jun-cheng, ZHANG Fu-dao

(Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Science, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Crop Nutrition and Fertilization, Beijing 100081, China)

Abstract: Slow release fertilisers (SRFs) could improve fertilizer use efficiency and simultaneously reduce environmental pollution and coated fertilizer accounted for 85% of SRFs. Here seven coating materials of water soluble polymer were examined to investigate their biodegradation in soil. Results showed nano-subnano sized polyethylene alcohol mixture (CF2) and 2-Hydroxyethyl methacrylate mixture (JBQ) commenced the degradation from the 4th week, while polystyrene foam mixture (N-PS) from the 8th week. CF2, N-PS and acrylic ester mixture (N-BX) were degraded completely within 11~20 weeks. Polystyrene-Acrylate mixture (Sty-MM) needed 20 weeks to be degraded about 98% of it.

Keywords: water-soluble polymer; microorganisms; biodegradation

缓/控释肥料由于可延续和控制肥料氮的释放, 提高氮肥资源的利用率, 成为国内外肥料界的研究热点, 其中包膜型缓释肥料占 85% 以上。目前, 颗粒肥料所使用的包裹材料基本上为树脂和硫磺。树脂为溶剂性高分子材料, 在土壤中很难降解, 只有采用化学方法或在高压条件下方能分解或裂解^[1], 长期施用, 势必造成对土壤的污染。硫磺性能较脆, 包裹肥料时, 易出现微小裂缝, 包硫后仍需补包一层树脂, 称为 PSCU

技术^[2]。针对缓/控释肥料的包裹材料存在的突出问题, 本文研制了系列纳米-亚微米级水溶性聚合物, 作为肥料的缓释材料, 由于该类材料在国内外首次应用于缓释肥料生产中, 对其生物降解性能尚不清楚。本文探讨了微生物菌群对几种水溶性聚合物的降解作用, 以期阐明微生物对水溶性聚合物的降解机理, 为环境友好型的缓释材料研制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 微生物菌剂

在不同类型土壤中, 即使是同一种土壤, 在不同季节、不同含水量条件下, 所含微生物种群数量也不一样^[3]。马粪浓缩了细菌、真菌、放线菌等土壤中的所有的好氧微生物^[4], 且较稳定^[5], 所以本研究选择马粪水淋出液作为混合微生物菌剂。水: 马粪=5:1, 浸泡后用高速离心机 (2 万 $r \cdot \min^{-1}$) 离心 5 min, 取上清液, 即为

收稿日期 2008-12-31

基金项目 国家重点基础研究发展计划项目 (2007CB109308) ; 中央公益性科研院所专项基金 (801-14) ; 农业成果转化基金项目 (207GB2326386) ; 国家高技术研究发展计划 (2003AA217022)

作者简介 张建峰 (1979—), 男, 江苏徐州人, 助理研究员, 主要从事土壤环境和新型肥料研究。

通讯作者 张夫道 E-mail: fudaozhang@sohu.com

杨俊诚 E-mail: yangjch@263.net

微生物混合菌剂。

1.1.2 微生物培养基

牛肉膏 3 g, 蛋白胨 5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, NaCl 0.5 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g, KH_2PO_4 1.0 g, 可溶性淀粉 5 g, 琼脂 20 g, 去离子水 1 000 mL, pH 值 7.0。

1.1.3 水溶性聚合物

水溶性聚合物为本实验室自制, 各种材料性质见表 1。

表 1 供试材料的性质

Table 1 The physical and chemical characters of nano-subnano composites

材料名称	pH	固形物含量/%	粒径/nm	颜色
CF2	7.0	18.5	10~80	米黄色
N-KL	7.0	35.0	30~160	灰白色
JBQ	7.0	28.5	140~317	黄棕色
N-FZ	7.0	41.5	110~316	浅黑色
N-PS	7.0	45.0	105~403	白色
N-BX	7.0	46.8	32~93	泛蓝光白色
Sty-MM	7.0	62.5	58~135	白色

CF2: 聚乙烯醇混聚物; N-KL: 粘土-聚酯混聚物; JBQ: 甲基丙烯酸羟乙酯混聚物; N-FZ: 腐植酸混聚物; N-PS: 废弃聚苯乙烯泡沫塑料混聚物; N-BX: 丙烯酸酯类混聚物; Sty-MM: 苯乙烯-丙烯酸酯混聚物。水溶性聚合物粒径用激光粒度分析仪测试。

1.2 试验方法

本试验选择 250 mL 三角瓶, 加入通用淀粉琼脂培养基 150 mL, 水溶性聚合物稀释至固形物含量 10%, 每个三角瓶中加入 20 g 稀释后的水溶性聚合物溶液, 重复 20 次, 灭菌并冷却至室温后, 每瓶接种混合菌剂 1 mL。

培养温度: 真菌生长的最适温度为 20~28 °C, 细菌生长的最适温度为 28~37 °C, 为了照顾两类微生物种群的生长温度需要, 本试验选择 28 °C±1 °C, 在恒温箱中培养。每周 (7 d) 测定 1 次。

1.3 测定方法

1.3.1 聚乙烯醇混聚物 (CF2) 降解产物的测定方法

通过对聚乙烯醇缩醛的醋酸根含量测定, 可检测聚乙烯醇混聚物的降解作用。方法要点是: 试样用乙醇溶解, 以酚酞作指示剂, 用稀碱溶液中和, 然后用氢氧化钾-乙醇溶液水解聚合物分子中残存的醋酸乙烯酯单元, 过剩的氢氧化钾用盐酸标准溶液回滴。以此可计算出降解率, 测定方法详见参考文献[6]。

1.3.2 粘土-聚酯混聚物 (N-KL) 降解产物和甲基丙烯酸羟乙酯混聚物 (JBQ) 的测定方法

粘土-聚酯混聚物中的高岭土或蒙脱土不存在污染问题, 主要是观察不饱和聚酯和丙烯酸羟乙酯降解过程。不饱和聚酯是以二元酸 (包括饱和二元酸和不饱和二元酸) 和二元醇为主要原料, 经缩聚反应而得到的线型聚合物在烯烃类活性单体中的溶液。丙烯酸羟乙酯在分子主链中同时含有酯键和不饱和双键, 在引发剂作用下与烯烃类活性单体共聚交联而得到梯形结构的热固性树脂, 经微乳化后成为胶结型缓释剂。通过测定 COD 的变化, 确定不饱和聚酯和甲基丙烯酸羟乙酯降解情况^[7]。

1.3.3 腐植酸混聚物 (N-FZ) 降解产物的测定方法

腐植酸混聚物中含有腐植酸共聚物, 丙烯腈接枝直链淀粉, 只要测定单体丙烯腈的含量, 就可推算其降解情况。采用气相色谱仪测定^[6]。

1.3.4 废弃聚苯乙烯泡沫塑料混聚物 (N-PS) 降解产物的测定方法

聚苯乙烯泡沫塑料是以过氧化苯甲酰为引发剂, 羟乙基纤维素为分散剂, 将苯乙烯和水加入装有搅拌器的反应釜中, 在 85~90 °C 下首先引发剂分解产生自由基, 以链式反应方式加上多个单体单元, 迅速形成大分子通过悬浮聚合而成。由于含纤维素和自由基中 N=N 键, 可降解为单体或片断, 采用硫醇加成法测定^[6]。

1.3.5 丙烯酸酯类混聚物 (N-BX) 降解产物的测定方法

丙烯酸酯混聚物单体之间靠自由基连接, 只要将自由基中 N=N 键降解, 单体就会从混聚物中游离出来。测定方法要点: 聚丙烯酸酯混聚物的游离单体与一定的过量十二烷基硫醇起加成反应, 过量的硫醇可在酸性条件下, 用硝酸银标准溶液进行电位滴定, 由空白和试样滴定时硝酸银溶液的消耗体积计算游离单体的含量。

1.3.6 苯乙烯-丙烯酸酯混聚物 (Sty-MM) 降解产物的测定方法

同丙烯酸酯类混聚物降解产物的测定方法。

2 结果与讨论

2.1 试验结果

试样测定结果见图 1, 由此可见:

(I) 聚乙烯醇混聚物处理从第 4 周开始醋酸根减少 4.55%, 有可能微生物在 4 周内只分解或利用 CF2 中的淀粉和酰胺化合物。从第 4~6 周, 每隔 1 周醋酸

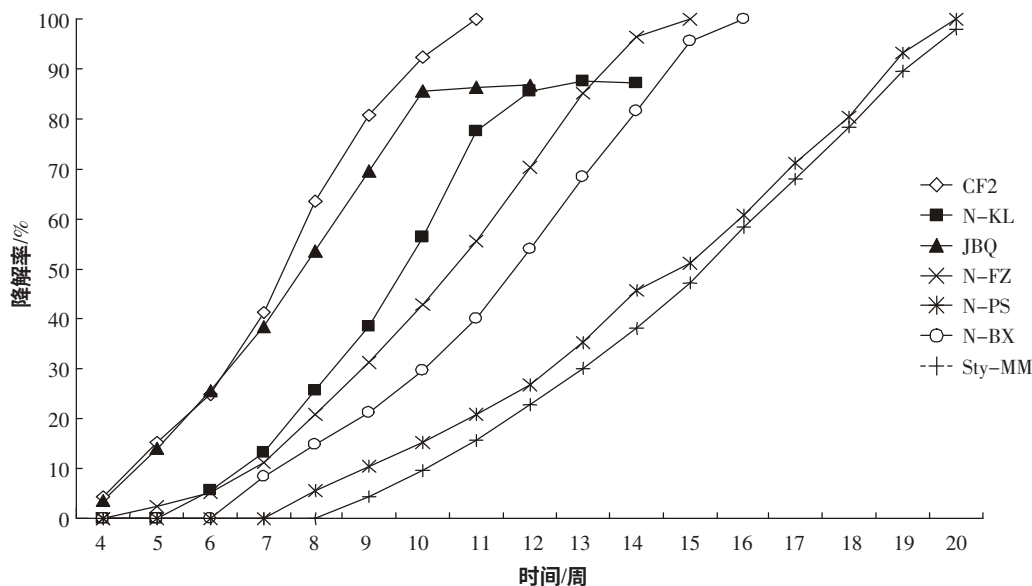


图 1 各种水溶性聚合物在不同时间的累积降解率 (%)

Figure 1 Total degradation rate of water soluble polymer with time (%)

根大约减少 10% 左右;从第 7~9 周每隔 1 周,醋酸根减少速度直线上升至 20% 以上;至 11 周已检测不出醋酸根,说明聚乙烯醇混聚物已全部降解。

(2) 粘土-聚酯混聚物处理从第 6 周后开始检测出 COD 减少 5.60%,第 7~10 周,每周 COD 减少量较均匀地增加;第 10~11 周,COD 减少量猛增至 10%;第 12 周开始,COD 减少量基本上不变,保持在同一水平上,聚酯降解率为 85.24%~85.70%。

(3) 甲基丙烯酸羟乙酯混聚物处理在第 4 周末 COD 即开始减少,减少率 3.60%;第 5~10 周,每周均以较匀速的速度降解,COD 减少率均在 10% 以上;第 10 周开始,COD 变化不大,基本保持在同一水平上,甲基丙烯酸羟乙酯混聚物降解率为 85.50%~86.65%。

(4) 腐植酸混聚物处理前 4 周末发生任何变化,第 5 周检测出丙烯腈,占丙烯腈总量的 2.45%;第 7~11 周,丙烯腈检出量每周均以 10% 左右速度增加;第 11~13 周丙烯腈检出累积率以每周 15% 的速度增长,第 15 周丙烯腈检出率已达 100%,说明丙烯腈接枝淀粉已全部降解。

(5) 废弃聚苯乙烯泡沫塑料混聚物处理在第 8 周后检测出苯乙烯片断,占苯乙烯总量的 5.52%;第 9~12 周,累积检出率以每周 5% 左右速度增加;第 12~19 周,每周以 10% 左右的速度增加,第 20 周检出率 100%,说明废弃聚苯乙烯泡沫塑料混聚物已全部降解。

(6) 丙烯酸酯混聚物处理在第 7 周开始降解,降解率 8.50%;第 8~11 周,每周的降解率保持在 6.50%~10.00% 之间;至第 12 周,降解率升至 26.09%;之后开始下降,每周降解率为 13%~14%;第 16 周已全部降解。

(7) 苯乙烯-丙烯酸酯混聚物处理在第 9 周后开始出现游离单体,占单体总量的 4.35%;第 9~20 周,基本上以每周逐渐递增的趋势降解,第 20 周后降解 98%。

2.2 讨论

2.2.1 水溶性聚合物中的淀粉在生物降解中的作用

本试验所采用的缓释复合材料中,淀粉有两种形态,一是交联淀粉,二是接枝直链淀粉,它们除了与氮、磷、钾养分结合在一起,使这些养分缓慢释放外,还为微生物生长提供了丰富的碳源。微生物首先将淀粉分解,同时又将淀粉作为繁殖生长的基地,在其繁殖的过程中,又分泌出一系列的酶,然后降解水溶性聚合物胶团。由此看出,淀粉的作用一是阻止微生物对水溶性胶团的快速降解,二是为微生物提供营养物质,作为微生物生长和繁殖的基地。

2.2.2 脂肪族水溶性聚合物的微生物降解机理

脂肪族水溶性聚合物是指主要生产原料为广义的脂肪族化合物,例如二元酸化合物,醇类化合物及其它们的共聚物。脂肪族水溶性聚合物的生物降解包括微生物降解和酶降解两个过程。

A、微生物降解 脂肪族水溶性聚合物中含有肽键、酰胺键、氨基键时,微生物利用其中的碳源和氮源将这些键打断,使其分解,这些键断裂后,聚合物将生成大小不等的片断,有利于进一步降解。

B、酶水解 脂肪族水溶性聚合物基本上都含有酯键,微生物分泌的脂肪酶对聚合物中的酯键进行水解。以脂肪酸的酶降解为例可表示为:

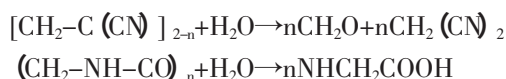


继而 β -C 断裂形成两个碳的乙酰辅酶 A 和类似于脂肪族结构的辅酶 A 衍生物。如此反复进行,最后形成两个碳的辅酶 A 进入柠檬酸循环,成为微生物的碳能源。而多元醇经脱氢酶作用后变成 β -二酮,再经水解酶水解为羧酸和酮,最后再与上述类似的羧酸酶降解成为微生物的碳能源。试验发现,微生物酶易于分解的化合物结构为 $\text{C}-\text{NH}_2$, $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{C}-\text{O}-$, $-\text{C}-\text{S}-$, $-\text{C}-\text{N}-$, $\text{C}=\text{O}$ 等。

在自然界,特别在土壤和畜禽粪便中存在大量可分解脂肪族水溶性聚合物的微生物,包括细菌和霉菌,这些微生物可在细胞外分泌聚合物分解酶,将聚合物分解为低聚物、单体,最后分解为 CO_2 和 H_2O 。

2.2.3 水溶性丙烯酸酯聚合物的微生物降解机理

水溶性丙烯酸酯聚合物含有羧基 ($-\text{COO}-$)、胺基 ($-\text{NH}_2$)、酰胺基 ($-\text{CONH}_2$)、羰基 ($\text{C}=\text{O}$)、酯键等,微生物首先利用 $-\text{NH}_2$, 然后水解酶破坏羧基键,酰胺键,羰基键和酯键,第二步是分解活性 $\text{C}-\text{C}$ 结合高分子,水解反应如下^[8]:



第三步是水解苯乙烯化合物,如果在土壤中降解,苯乙烯化合物在微生物和酶的作用下,将转化为苯系化合物,成为腐殖质的组分^[9]。

2.2.4 水溶性废弃聚苯乙烯泡沫塑料混聚物的微生物降解机理

水溶性废弃聚苯乙烯泡沫塑料混聚物由 3 部分组成:交联直链淀粉、乳化剂、聚苯乙烯胶团。交联直链淀粉和乳化剂均是微生物生长的营养源。由于泡沫塑料中含有羟乙基纤维素,聚合时使用过氧化苯甲酰为引发剂,所以含有羰基 ($\text{C}=\text{O}$), 首先,应该是纤维分解菌和纤维素酶分解羟乙基纤维素,然后在微生物活性作用下,酶进入大分子的活性位置,渗透到羰基作用点,使大分子发生解聚反应,大分子骨架结构断裂成小的链段,最终被降解为稳定的小分子产物。在土壤中,在微生物和酶的作用下,这些小分子片断将进

入土壤有机-无机复合胶体^[10]。

3 结论

模拟土壤微生物种群,选择马粪提取液作为混合微生物菌剂,在含有定量水溶性聚合物的培养基中接种混合微生物菌剂,微生物混合菌剂在 $\text{pH}=7$ 条件下可降解水溶性聚合物,结论如下:

(1) 聚乙烯醇混聚物在第 4 周开始降解,第 11 周全部降解;

(2) 高岭土-聚酯混聚物在第 6 周开始降解,第 12 周降解率为 85.7%,此后降解率保持同一水平;

(3) 甲基丙烯酸羟乙酯混合物在第 4 周开始降解,第 10 周降解率为 86.65%;

(4) 腐植酸混聚物在第 5 周开始降解,第 15 周全部降解;

(5) 废弃聚苯乙烯泡沫塑料混聚物在第 8 周开始降解,第 20 周全部降解;

(6) 丙烯酸酯类混聚物在第 7 周开始降解,第 16 周全部降解;

(7) 聚苯乙烯-丙烯酸酯混聚物在第 9 周开始降解,第 20 周降解率为 98%。

参考文献:

- [1] 黄发荣, 陈 涛, 沈学宁. 高分子材料的循环利用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 292.
HUANG Fa-rong, CHEN Tao, SHEN Xue-ning. Recycling and utilizing macromolecular material[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 292.
- [2] 张夫道, 王玉军. 我国缓/控释肥料的现状和发展方向[J]. 中国土壤与肥料, 2008(4): 1-4.
ZHANG Fu-dao, WANG Yu-jun. Current situation and development trend of slow/controlled-release fertilizer in China[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2008(4): 1-4.
- [3] 张夫道. 中国土壤生物演变及安全评价[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 34-36.
ZHANG Fu-dao. Biology evolution and security assessment on soil of China[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2006: 34-36.
- [4] 姜隆后. 微生物在土壤养分中转化的作用[M]. 北京: 科学技术出版社, 1962: 55-67.
LOU Long-hou. Effects of microorganism on the conversion of soil nutrient[M]. Beijing: Science Press, 1962: 55-67.
- [5] 张夫道, 张树清, 王玉军, 等. 有机物料高温快速连续发酵除臭技术研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(4): 796-800.
ZHANG Fu-dao, ZHANG Shu-qing, WANG Yu-jun, et al. Deodorization techniques on fleeting continuous zymosis of organic feces with high temperature[J]. Journal of Agro-Environmental Science, 2004, 23(4): 796-800.

- [6] 龚云表, 石安富. 合成树脂与塑料手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 661–662, 628, 630–631.
GONG Yun-biao, SHI An-fu. Resin and plastic handbook[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1993: 661–662, 628, 630–631.
- [7] 饶少敏. 分光光度法测定废水中 COD[J]. 分析测试技术与仪器, 2005, 11(2): 111–113.
RAO Shao-min. Determination COD in wastewater using spectrophotometry[J]. *Analysis and Testing Technology and Instruments*, 2005, 11(2): 111–113.
- [8] 任 杰. 可降解与吸收材料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 43–45.
REN Jie. Degradable and absorbable material[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003: 43–45.
- [9] 张夫道. 长期施肥条件下土壤养分的动态和平衡——II. 对土壤氮的有效性和腐殖质氮组成的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1996, 2(1): 39–48.
ZHANG Fu-dao. Dynamic and balance of soil nutrients under long-term fertilization conditions II. effect on N availability and composition of humus N[J]. *Plant Nutrition and Fertilizing Science*, 1996, 2(1): 39–48.
- [10] 刘秀梅, 冯兆斌, 张树清, 等. 纳米-亚微米级复合材料对褐潮土有机无机复合体含量及各粒径复合体中 C、N、P 含量与分布的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(1): 57–63.
LIU Xiu-mei, FENG Zhao-bin, ZHANG Shu-qing, et al. Effect of nano-subnanocomposites on contents and distribution of organic C, total N and P in soil organic-mineral granules in drab fluvo-aquic soil[J]. *Plant Nutrition and Fertilizing Science*, 2007, 13(1): 57–63.

致谢 本研究工作得到中国农业科学院土壤质量重点开放实验室提供的试验条件支持。