

鼠李糖脂生物表面活性剂对多环芳烃的增溶作用*

郭利果^{1,2} 苏荣国^{1,2} 梁生康^{1,2,*} 赵 静³

(1 中国海洋大学化学化工学院; 2 中国海洋大学海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 青岛, 266100

3 青岛市环境保护局李沧分局, 青岛, 266041)

摘 要 考察了鼠李糖脂生物表面活性剂对多环芳烃类化合物(萘, 菲和芘)的增溶特性以及温度、盐度、pH 值等环境因子对增溶性能的影响. 结果表明, 鼠李糖脂浓度在临界胶束浓度(CMC)以上时, 多环芳烃化合物在水相中的溶解度随表面活性剂浓度的增大而线性增大, 摩尔增溶比(MSR)随被增溶物分子量的增大而减小, 即萘 > 菲 > 芘; 胶束/水分配系数(K_m)随被增溶物疏水性增大而增大, 即芘 > 菲 > 萘; $\lg K_m$ 与 $\lg K_{ow}$ 之间呈良好线性正相关性. 鼠李糖脂对菲的增溶作用随温度升高略有增大, 而随所添加 NaCl 浓度的增大显著增大, 鼠李糖脂对菲的增溶作用在 pH 值为 5.5 时达到最大, 然后随 pH 值的升高而不断下降, 在 pH 值达 7.5 后基本保持不变.

关键词 生物表面活性剂, 鼠李糖脂, 多环芳烃, 增溶.

利用表面活性剂的胶团化作用, 会显著提高疏水性有机化合物在水相中的表观溶解度, 从而提高其生物有效性^[1]. 但化学合成的表面活性剂由于其对微生物的毒害性和不易生物降解性, 容易在环境中造成二次污染, 使其在生物修复中的应用受到限制^[2]. 生物表面活性剂具有毒性小且易于生物降解等特性, 因而在提高疏水性有机污染物生物可降解性方面具有良好的应用前景^[3]. 已有研究大多集中于考察单一生物表面活性剂组分对多环芳烃的增溶作用, 这些单组分表面活性剂实际上是经过多步提纯得到的^[4,5]. 而生物表面活性剂一般通过生物发酵法制备, 往往是由多种相似结构的化合物组成的复杂混合物, 考察生物表面活性剂混合物对多环芳烃的增溶特性, 更具有实际应用意义.

本文以鼠李糖脂混合物为生物表面活性剂的代表, 系统研究其对多环芳烃萘、菲、芘的增溶作用, 同时考察了温度、pH 值及盐度等环境因子对菲增溶作用的影响.

1 实验方法

萘、菲、芘(纯度 > 98%)购于美国 Sigma 公司. 鼠李糖脂分离自铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)O-2-2 以 4% (W/V) 花生油为碳源, 去除菌体的培养液中, 提取和纯化步骤见文献 [6]. 该鼠李糖脂混合物中主要组分为 α -L-鼠李糖苷- β -羟基癸酰- β -羟基癸酸 和 2-O- α -L-鼠李糖苷- α -L-鼠李糖苷- β -羟基癸酰- β -羟基癸酸, 其平均分子量为 542.4, 在纯水中的临界胶束浓度为 $7.05 \times 10^{-2} \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ^[6].

在 25ml 磨口三角瓶中加入不同体积的过量多环芳烃 CH_2Cl_2 储备液, 待溶剂挥发后, 加入 10ml 含不同浓度鼠李糖脂的溶液, 然后加入 0.02% (W/V) 的 NaN_3 以抑制微生物的生长. 密封后, 于 25°C, $50 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 振荡 48h. 将溶液转移至离心管中, 25°C, $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15min 以除去未溶解的固态溶质, 取上清液用 $6 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 的盐酸溶液调节 pH 值为 2.0, 等体积的 CH_2Cl_2 萃取两次, 若水相和有机相界面出现乳化现象, 则在 $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 20min 以除去乳化层, 合并有机相, 无水 Na_2SO_4 干燥后, 浓缩至 1ml 用气相色谱测定多环芳烃的含量. 三次平行实验结果表明, 二氯甲烷对溶液中多环芳烃的回收率为 82.3% - 102.3%, 相对标准偏差为 5.7%.

多环芳烃以气相色谱法测定. 仪器为美国 Agilent 公司的 GC6890 气相色谱仪, 配以火焰离子化检测器(FID)和 HP-5 (30m \times 0.32mm \times 0.25 μ m) 型色谱柱; 进样量为 1 μ l 无分流进样; 进样器和检测

2008 年 11 月 26 日收稿.

* 青岛市科技发展计划项目 (06-2-2-7-nsh) 和中国海洋大学与中海石油环保服务有限公司联合攻关项目 (266004) 联合资助.

** 通讯联系人.

器温度分别为 250°C 和 280°C; 程序升温, 以 $20^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 从 40°C 升至 180°C 保持 3min, 再以 $6^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 280°C, 保持 5min, 载气为氦气, 流速为 $1\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$. 对萘、菲、芘的检测限分别为 0.04、0.03 和 $0.01\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

表面张力以吊环法测定, 具体方法参照 Liu 等^[7]所述, 每个样测三次, 取其平均值.

2 结果与讨论

2.1 鼠李糖脂对多环芳烃的增溶作用

图 1 表示水相中萘、菲、芘表观溶解度随鼠李糖脂浓度的变化曲线. 图 1 可以看出, 当溶液中鼠李糖脂浓度低于 CMC 时, 多环芳烃化合物在水中的溶解度变化不大或只有轻微增加. 当溶液中鼠李糖脂浓度大于 CMC 时, 多环芳烃化合物的溶解度随表面活性剂浓度的增大而显著增大, 且呈正比关系, 这是由于表面活性剂浓度在大于 CMC 时形成胶束, 多环芳烃溶解度的增大是胶束增溶的结果.

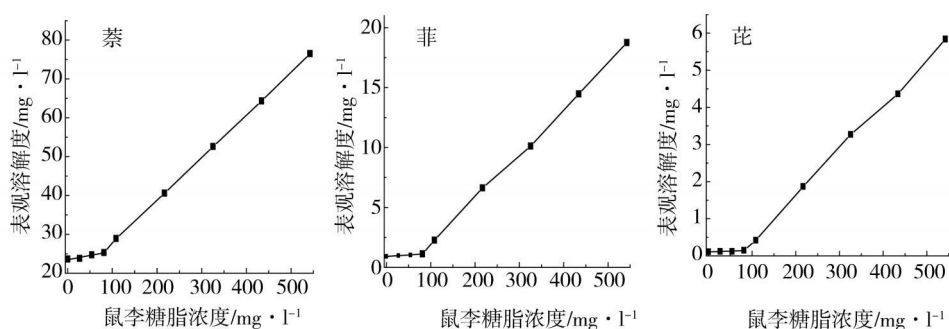


图 1 萘、菲、芘表观溶解度随鼠李糖脂浓度的变化曲线

Fig 1 Apparent solubility of naphthalene, phenanthrene and pyrene by rhamnolipid

Edwards 等^[8]提出的摩尔增溶比 (MSR) 和胶束相/水相分配系数 (K_m) 分别定量描述表面活性剂对多环芳烃化合物增溶能力及其在胶束中分配特征. 其中, MSR 可通过下式来计算:

$$\text{MSR} = (S_{\text{PAH, mic}} - S_{\text{PAH, cmc}}) / (C_{\text{surf}} - \text{CMC}) \quad (1)$$

其中, C_{surf} 表示任一高于 CMC 的表面活性剂溶液的浓度, $S_{\text{PAH, cmc}}$ 和 $S_{\text{PAH, mic}}$ 分别表示表面活性剂浓度为 CMC 和 C_{surf} 时多环芳烃的表观溶解度 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

K_m 可通过式 (2) 来计算:

$$K_m = X_m / X_a \quad (2)$$

其中, X_m 表示胶束相中溶质的摩尔分数, X_a 表示水相中溶质的摩尔分数.

萘、菲、芘在鼠李糖脂溶液中的 MSR 及 K_m 值见表 1. 从表 1 可以看, MSR 值的大小顺序为萘 > 菲 > 芘, 说明鼠李糖脂对多环芳烃的增溶作用随化合物分子量的增大而减小, 这与杨建刚等^[9]考察非离子表面活性剂对多环芳烃化合物的增溶作用的结果一致. 生物表面活性剂鼠李糖脂对菲、芘增溶作用的值远远高于阴离子表面活性剂 SDS^[10]. Thanganani 等^[11]对比了生物表面活性剂鼠李糖脂和十二烷基苯磺酸钠对多介质环境中正十六烷的增溶能力, 结果发现前者的 MSR 是后者的 20 倍. Page 等^[12]在利用表面活性剂提高多环芳烃向水相的传质速率时发现, 红球菌 (*Rhodococcus* sp.) H13-A 所产生生物表面活性剂的效能是化学合成表面活性剂吐温-80 的 35 倍. 生物表面活性剂对多环芳烃较强的增溶能力不仅是由于它们具有较低的 CMC, 而且与其胶束结构特性有关. Bai 等^[5]认为, 由于鼠李糖脂同系物的一些分子中含有两个疏水烷基, 这些碳链占据较大的空间, 使得鼠李糖脂所形成的胶束不可能为球状, 而可能为圆柱状或棒状, 这种胶团内径较大, 能够容纳较多的多环芳烃化合物分子. 另外, 鼠李糖脂亲水亲油平衡值 (HLB) 为 11, 远小于 SDS 的 HLB 值 40, 对憎水性有机物具有较强的乳化增溶能力. Doong 等^[13]也认为, 与非离子表面活性剂相比, 阴离子表面活性剂对多环芳烃的增溶能力较小是由于具有较大的 HLB 值.

表 1 25℃下鼠李糖脂对多环芳烃的增溶性能
Table 1 Rhamnolipid solubilizing capacities to PAH compounds at 25℃

多环芳烃	多环芳烃的溶解度 / $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$		MSR	K_m
	纯水中	鼠李糖脂浓度为 CMC 时		
萘	23.64	25.31	0.467	4.95
菲	0.91	1.02	0.115	6.02
芘	0.10	0.12	0.033	6.47

从表 1 还可以看出, 多环芳烃化合物在胶束相/水相中分配系数 K_m 为芘 > 菲 > 萘. 以多环芳烃化合物的辛醇/水分配系数 K_{ow} 对 K_m 作图, 可以看出, 两者之间具有很好的线性正相关性 ($R^2 = 0.998$), 表明 K_m 随被增溶化合物的疏水性增强而增大. 这与 An 等^[14]的研究结果一致.

2.2 不同温度条件下鼠李糖脂对菲的增溶作用

以菲为代表考察了温度对鼠李糖脂增溶作用的影响, 将含 $542.4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 鼠李糖脂溶液和多环芳烃的三角烧瓶置于振荡器上, 分别于 15℃, 20℃, 25℃, 30℃ 和 35℃ 下振荡后测定水相中多环芳烃的含量, 结果见图 2. 由图 2 可以看出, 当温度由 15℃ 上升到 35℃ 时, 菲在水中的溶解度由 $15.23 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 逐步升高到 $21.03 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. 增溶作用随温度的升高而逐渐升高可能是由于增加温度, 使得表面活性剂分子的热运动加快, 从而加大了胶团的加溶空间.

2.3 不同 pH 值条件下鼠李糖脂对菲的增溶作用

以菲为代表考察了 25℃ 时, 不同 pH 值条件对鼠李糖脂增溶作用的影响. 用 $1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 的盐酸或氢氧化钠溶液调节 $542.4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 鼠李糖脂溶液的 pH 值分别为 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5 和 9.0. 振荡后测定水相中多环芳烃的含量, 由于当 $\text{pH} < 5.0$ 时, 鼠李糖脂溶液 ($> 108.5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) 不稳定而出现沉淀, 因此没有考察 $\text{pH} < 5.0$ 时对鼠李糖脂增溶作用的影响. 实验结果见图 3. 图 3 可以看出, pH 值对增溶作用有较大的影响. 在 pH 值为 5.5 时, 鼠李糖脂对菲的增溶作用最大, 达 $23.25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, 然后菲的溶解度随 pH 值的升高而不断下降, 在 pH 达 7.5 以后, 菲的溶解度随 pH 值的变化不太明显, 溶液 pH 值从 5.5 升高到 7.5, 菲的溶解度减小了一半. Shin 等^[15]的研究结果也表明, $240 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的鼠李糖脂溶液在 pH 值为 5.5 时对菲的增溶作用是 pH 值为 7.0 时的 4.8 倍. 鼠李糖脂对菲的增溶作用随 pH 值的变化特点与其胶束结构随 pH 值的变化有关. Champion 等^[4]利用电子显微镜研究了鼠李糖脂胶束结构随 pH 值的变化, 结果表明, 溶液 pH 值从 5.5 增加到 8.0, 鼠李糖脂的胶束结构从较大的层状胶团变成较小的棒状胶团再转变成更小的胶束. 鼠李糖脂的这种胶束结构随 pH 值的变化可能与表面活性剂分子所带电荷有关. pH 值增大, 表面活性剂分子所带负电荷增多, 因而分子之间排斥力增大, 使得胶团结构变小.

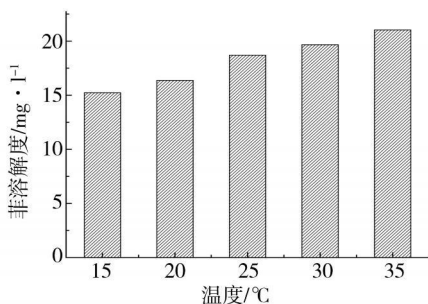


图 2 温度对鼠李糖脂增溶作用的影响

Fig. 2 Effect of temperature on solubilization of phenanthrene by rhamnolipid

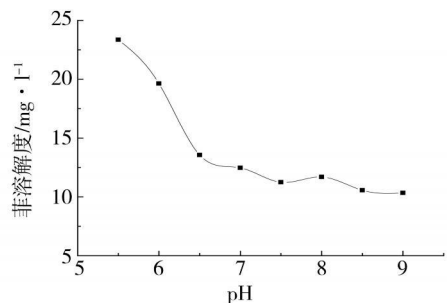


图 3 pH 值对鼠李糖脂增溶作用的影响

Fig. 3 Effect of pH on solubilization of phenanthrene by rhamnolipid

2.4 盐度对鼠李糖脂增溶作用的影响

为考察盐度对表面活性剂增溶作用的影响, 在 $542.4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 鼠李糖脂溶液中加入 NaCl, 使 NaCl

浓度分别达 0、10、20、40、80 和 120 mmol · l⁻¹, 振荡后分别测定水相中多环芳烃的含量(图 4)。结果表明, 菲在水相中的溶解度随 NaCl 浓度的增大而增大, 相比较而言, 低浓度的 NaCl 比高浓度的 NaCl 的增强效应更明显。Bai 等^[5]的研究结果也表明, 溶液中所存在的 Na⁺ 使鼠李糖脂对正十六烷的增溶作用明显增大。一般认为, 对离子型表面活性剂, 电解质的存在使胶团的双电层压缩, 减少了表面活性剂离子头之间的相互排斥作用, 从而使得更多的表面活性剂离子进入胶团中, 胶团聚集数大大增多, CMC 值大大降低, 胶团增溶作用随之增大。

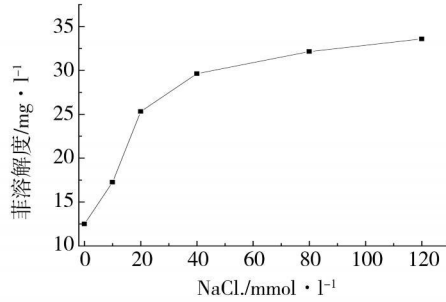


图 4 NaCl 对鼠李糖脂增溶作用的影响

Fig 4 Effect of the presence of NaCl on solubilization of phenanthrene by rhamnolipid

3 结论

(1) 鼠李糖脂对多环芳烃的增溶作用与被增溶物的特性有关, 随被增溶物分子大小的增大而减小, K_m 随被增溶物疏水性增大而增大。

(2) 鼠李糖脂对菲的增溶作用随温度的升高而增大; 溶液的 pH 值对增溶作用有较大影响, 在 pH 值为 5.5 时增溶作用最大, 然后随 pH 值的升高而降低; 增溶作用随盐度的增大而显著增大。因此可以通过调控温度、pH 值及盐度等环境因子来提高生物表面活性剂增溶效率。

参 考 文 献

- [1] Aronstein B N, Alexander M. Effect of a Nonionic Surfactant Added to the Soil Surface on the Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons within the Soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1993, **39**: 386—397
- [2] Mulligan, C N, Yong R N, Gibbs B E. Surfactant-Enhanced Remediation of Contaminated Soil—a Review. *Engineering Geology*, 2001, **60**: 371—380
- [3] Banat I M, Makkar R S, Canotia S S. Potential Commercial Applications of Microbial Surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2000, **53** (5): 495—508
- [4] Champion J T, Gilery J C, Lanpanski H et al., Electron Microscopy of Rhamnolipid (Biosurfactant) Morphology: Effect of pH, Calcium, and Octadecane. *Journal of Colloid Interface Science*, 1995, **170**: 569—574
- [5] Bai G Y, Brusseau M L, Miller R M. Influence of Cation Type, Ionic Strength, and pH on Solubilization and Mobilization of Residual Hydrocarbon by a Biosurfactant. *Journal of Contaminant Hydrology*, 1998, **30**: 265—279
- [6] 梁生康, 王修林, 单宝田等, 假单胞菌 O-2-2 利用油脂废水生产鼠李糖脂研究. *现代化工*, 2005, **25** (增): 192—196
- [7] Liu Z, Laha S, Luthy R G. Surfactant Solubilization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds in Soil/Water Suspensions. *Water Science and Technology*, 1991, **23**: 475—485
- [8] Edwards D A, Luthy R G, Liu Z. Solubilization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Micellar Nonionic Surfactant Solutions. *Environmental Science and Technology*, 1991, **25**: 127—133
- [9] 杨建刚, 刘翔, 余刚, 非离子表面活性剂溶液中多环芳烃的溶解特性. *环境科学*, 2003, **24** (6): 79—82
- [10] Valisraj K T, Thibodeaux L J. Relationships between Micelle-Water and Octanol-Water Partition Constants for Hydrophobic Organics of Environmental Interest. *Water Research*, 1989, **23**: 183—189
- [11] Thangamani S, Shreve G S. Effect of Anionic Biosurfactant on Hexadecane Partitioning in Multiphase Systems. *Environmental Science and Technology*, 1994, **28**: 1993—2000
- [12] Page C A, Bonner J S, Kanga S A et al., Biosurfactant Solubilization of PAHs. *Environmental Engineering Science*, 1992, **16**: 465—474
- [13] Doong R A, Leiw G. Solubilization and Mineralization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by *Pseudomonas putida* in the Presence of Surfactant. *Journal of Hazardous Materials*, 2003, **96** (B): 15—27

- [14] An Y J, Canaryway E R, Schlu tman M A, Solubilization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Perfluorinated Surfactant Micelles *Water Research*, 2002, **36**: 300–308
- [15] Shin K H, Kim K W, Seagren E A, Combined Effects of pH and Biosurfactant Addition on Solubilization and Biodegradation of Phenanthrene *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, **65**: 336–343

SOLUBILIZATION OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS BY RHAMNOLIPID BIOSURFACTANT

GUO Li-guo^{1, 2} SU Rong-guo^{1, 2} LIANG Sheng-kang^{1, 2} ZHAO Jing³

(1 College of Chemistry and Chemical Engineering Ocean University of China; 2 Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education of the People's Republic of China; Ocean University of China, Qingdao, 266100, China;

3 Licang Substation of Qingdao Environmental Protection Bureau, Qingdao, 266041, China)

ABSTRACT

Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by rhamnolipid mixtures (Rhamix) was investigated. The effect of temperature, pH and salinity on solubilization capacity of Rhamix for phenanthrene was also investigated. The results showed that the solubilities of naphthalene, phenanthrene and pyrene increased linearly with Rhamix dose at the surfactant concentration in excess of CMC. The molar solubilization ratio (MSR) values decreased with increasing solute molecule, i.e. naphthalene > phenanthrene > pyrene. The micelle-phase / aqueous-phase partition coefficient (K_m) increased with increasing hydrophobicity of PAHs, i.e. pyrene > phenanthrene > naphthalene. $\lg K_m$ for three PAHs were shown to be linearly correlated with the $\lg K_{ow}$. The solubility of phenanthrene in rhamnolipid solution increased with temperature and salinity. The solubility of phenanthrene reached maximum at pH 5.5, then decreased with increasing pH value.

Keywords biosurfactant; rhamnolipid; polycyclic aromatic hydrocarbons; solubilization