

稠油重质组分微生物降解作用研究进展

王新伟^{1, 2*}, 蔡婷², 刘宇², 谭希²

1. 油气污染防治北京市重点实验室, 中国石油大学(北京)地球科学学院, 北京 102249; 2. 中国石油大学(北京)地球科学学院, 北京 102249

摘要: 胶质、沥青质是稠油的重质组分, 由于结构复杂和生物可利用性低, 胶质、沥青质是稠油污染物进行微生物降解去除的瓶颈。在阐述胶质、沥青质化学结构和检测方法基础上, 总结国内外有关稠油重质组分胶质、沥青质的生物降解作用, 可为环境中稠油污染物的有效去除提供理论支持。调查表明: 稠油胶质与沥青质化学结构相似, 均含多个芳香核, O、N、S 等杂原子, 主要区别在于稠环芳烃的聚合度不同, 胶质中稠环的环数远小于沥青质; 胶质以稳定的胶体分散状态存在于原油中, 并与沥青质分子间形成络合物, 聚集成大分子聚集体。目前已经筛选出可降解胶质、沥青质的菌株, 包括细菌和真菌, 但所筛菌种降解率仅为10%左右。针对稠油污染物的生物降解机理研究十分有限, 多集中在稠油胶质、沥青质组分相对含量及功能基团的变化上。对于环境介质中相关组分环烷酸、吡啶类及噻吩类, 已获得一些生物降解规律和途径, 为胶质沥青质的生物去除提供了可能。鉴于生物表面活性剂对疏水性有机物在生物可利用性上具有增强作用, 生物表面活性剂对胶质、沥青质生物降解的促进作用也已得到证实, 报道的影响途径包括增加生物量、增强新陈代谢过程、改变摄取机制、参与共代谢以及影响细胞表面性质和菌体Zeta电位等, 生物表面活性剂可使稠油胶质降解率提高10%以上。综上, 未来应加强高效降解菌的筛选, 深入探索胶质与沥青质生物降解的分子机理和影响因素, 在提高其生物可利用性的作用途径上进行突破。

关键词: 稠油; 胶质; 沥青质; 生物降解; 生物表面活性剂

中图分类号: X172

文献标志码: A

文章编号: 1674-5906 (2013) 07-1255-08

引用格式: 王新伟, 蔡婷, 刘宇, 谭希. 稠油重质组分微生物降解作用研究进展[J]. 生态环境学报, 2013, 22(7): 1255-1262.
WANG Xinwei, CAI Ting, LIU Yu, TAN Xi. Research advances in microbial degradation of heavy components in heavy oil [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2013, 22(7): 1255-1262.

稠油是我国主要的非常规石油资源, 占石油总资源量的28%, 在我国资源保障上具有重要地位。稠油系指在原始油层温度下, 脱气原油黏度为 $100 \sim 10\,000 \text{ mPa}\cdot\text{s}^{-1}$ 或在 $15.6 \text{ }^\circ\text{C}$ 及 1 Pa 下密度为 $0.934 \sim 1.00 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ($10 \sim 20 \text{ API}$) 的原油; 而密度大于 $1.00 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ($< 10 \text{ API}$)、黏度大于 $10\,000 \text{ mPa}\cdot\text{s}^{-1}$ 的原油为特稠油^[1]。国外称稠油为重质原油 (heavy oil), 对粘度极高的重油称为沥青(Bitumen)或沥青砂油(Tar sand oil)。胶质和沥青质是稠油的重质组分, 是稠油中相对分子质量最大、极性最强的组分, 同时也是造成稠油高粘的主要因素之一。目前我国已有12个盆地70多个稠油油田开采, 年产量约1 300 万t。随着已探明储量越来越大, 世界范围内的稠油开发活动日趋活跃。稠油开采、加工及输送过程均会造成泄漏, 一般单井落地油产生量可达总产量的2%。这一背景下, 与稠油开采、炼制等相关的稠油污染问题日益突出^[2], 如何去除环境中稠油污染物是伴随稠油资源大量开发的现实问题, 而生物降解是环境介质中污染物去除的生态可持续途径。

1 稠油胶质、沥青质的化学结构

稠油中沥青质含量可达 10%~30%, 个别超稠油超过 50%, 胶质含量一般大于 20%。近年来, 高分辨率的核磁共振(NMR)、色谱-质谱联用(GC-MS)、傅里叶红外(FT IR)等分析仪器对稠油的化学结构有了较为明确的认识, 如胶质与沥青质化学结构相似, 主要区别在于稠环芳烃的聚合度不同, 胶质中稠环的环数远小于沥青质。不同油田不同区块沥青质和胶质的化学组成有很大差异, 但是其基本的结构单元的化学结构大同小异。

石油胶质一种油溶的、杂散的、无规则的、相对分子质量和极性较沥青质小的芳香稠环大分子非烃化合物, 外观呈深棕色至深褐色, 是极为粘稠不易流动的液体或无定形固体, 受热时熔融, 密度略小于 $1.0 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ^[3]。胶质分子中的基本单元是缩合的稠环芳烃片层, 环上及环与环之间有丰富的脂肪性结构单元, 碳链为 $\text{C}1 \sim \text{C}30$ ^[4], 主要是由 4~6 个亚甲基将芳香环连在一起, 并含有 O、N、S 等杂原子, 其平均分子量在 600~3 000 之间, 结构见图

基金项目: 中国石油大学(北京)科研基金项目(KYJ2012-01-24)

作者简介: 王新伟(1976年生), 女(蒙古族), 副教授, 博士, 研究方向为环境生物学、环境地球化学。E-mail: wangxinwei76@126.com

*通信作者

收稿日期: 2012-04-10

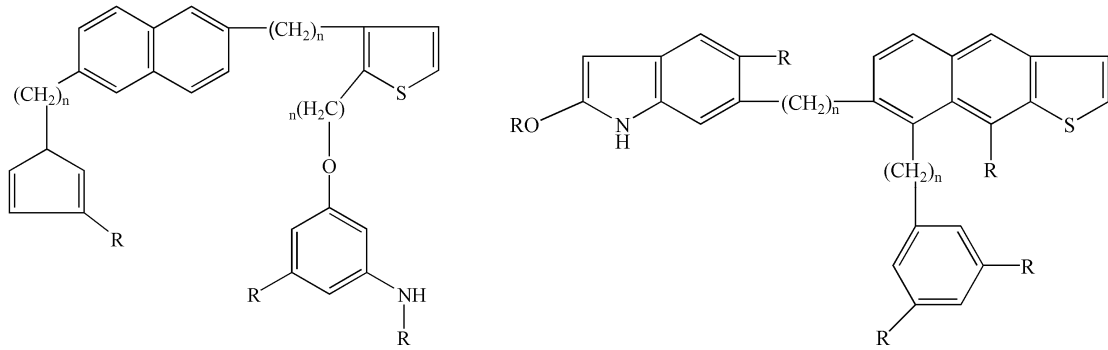


图1 胶质基本单元结构

Fig.1 Basic unit structure of resins

1^[5]。含氧化合物主要为芳香羧酸、醚类、胺类和酚类，含硫化合物有链状、环状和噻吩类，含氮杂环化合物有咪唑类等^[6]。其中的羧酸有正构烷基酸、三环类萘酸、二苯并噻吩(或咪喃)甲酸、蒽甲酸和五环烷酸等，由于大量羧酸的存在，使胶质以稳定的胶体分散状态存在于原油中，容易形成聚集状态稳定的分子聚集体。含有的杂原子使胶质分子之间或胶质分子与沥青质分子间形成络合物，这种络合物在稠环羧酸形成的稳定胶体分散状态下聚集成大分子聚集体^[5]。

沥青质为原油中正戊烷的不溶部分，通常在甲苯和苯中溶解，但在低分子量正烷烃中不溶解^[7]。沥青质是由芳香族、环烷族不同有机物的环构成的凝聚环状体系，成份并不固定，但含多芳香核，O、N、S等杂原子含量高，同时还络合有Ni、V、Fe等金属元素，含烷基侧链基团^[8]，沥青质中脂肪酸类化合物的类别与胶质基本相同^[9]。胶状沥青质组份中单元片(结构见图2)的基本结构是以多个芳香环组成的稠合芳香环系为核心，周围连接有若干个环烷环，芳香环和环烷环上都还有若干个长度不一的正构的或异构的烷基链，分子中还含有各种硫、氮、氧的基团^[5]。

2 稠油胶质、沥青质的分离、检测

受分析条件的限制，长期以来人们对稠油成分中的化合物认识水平远不及正常原油。胶质、沥青

质组成结构复杂，通常需要经过预处理分离成含氧、含氮及含硫化合物进行分析，在样品的预处理与分析检测方面存在许多困难。在有机地球化学领域应用较多，如Simoneit等^[10](2001)开展了含氧、含硫环状化合物的预处理及分析检测；汪双清等^[11](2001)研究出一套对沉积物和原油中常见含氧化合物的分离和GC-MS分析方法。

在化合物的检测鉴别方面，国内外比较通用的方法是色谱-质谱检测、红外光谱检测，但是目前对胶质非烃类化合物的色谱-质谱检测还远远不及饱和烃和芳烃化合物，其非挥发性使其不能被传统的气相色谱和质谱离子化仪器检测。在有机地球化学领域，利用传统方法进行过胶质中非烃类分子标志物研究，如王培荣等^[6](2004)、王占生等^[9](2004)曾开展了石油中中性、酸性NOS化合物及含氧化合物的组成、分布研究；Kim等^[12](2005)分析了正常原油和降解原油中多环烷酸、中性和酸性含氮极性化合物。红外光谱检测中可判别基团变化，但在化合物定性方面也存在不足，而许多化合物如甾酮类、芳香酸、萘类脂肪酸等，异构体繁多，鉴别难度很大，需要进一步探索。目前借助先进的分析技术如全二维飞行时间质谱^[13-14]和傅立叶变换离子回旋共振质谱(FT-ICR MS)等对稠油组成变化可进行精细剖析。FT-ICR MS不需要预先分离，电喷雾(ESI)结合傅立叶变换离子回旋质谱

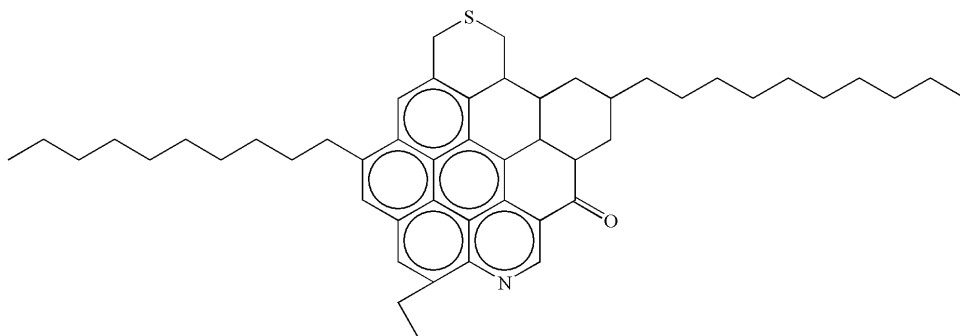


图2 胶状沥青质组份单元片结构模型示意图

Fig.2 Basic unit structure diagram of Colloidal asphaltene

(FT-ICR MS)可以准确检测胶质、沥青质中极性杂原子化合物的分子组成,因此开始应用于化学工程、有机地球化学领域,如 Qian 等^[15](2001)证明了负离子ESI-FT MS是石油酸分析的一种强大手段;最新研究中利用傅立叶变换离子回旋共振质谱对稠油中碱性氮化物、环烷酸、噻吩类含硫化合物进行了检测^[16-18]。

3 稠油胶质、沥青质的生物降解作用

3.1 胶质、沥青质的生物可降解性

稠油胶质、沥青质结构复杂,能否被生物降解一度存有争议。一些研究结果提出,胶质、沥青质与高分子量的芳香烃类化合物一样极难降解,如 Chaineau 等^[19](1995)发现,饱和烃和芳烃几乎全部微生物降解时,沥青质完全保留;Uraizee 等^[20](1998)认为高含量的沥青质会阻碍油滴中可降解组分向油和微生物接触面的传质,因此会降低其它可降解组分的降解速率及降解程度。

目前胶质、沥青质的生物可降解性得以证明。很多研究者筛选出了能降解胶质、沥青质的微生物,如Pineda-Flores等^[21](2004)证明了以沥青质为唯一碳源和能源的可降解沥青质细菌组存在;Hao等^[22](2009)分别发现异源菌、嗜盐菌可以降解芳烃、胶质、沥青质;Uribe-Alvarez等^[23](2011)及Lavania等^[24](2012)均提出以沥青质为唯一碳源菌可优先降解沥青质和芳烃化合物,其中的真菌新萨托菌(*Neosartorya fischeri*)也可去除石油卟啉;王海峰等^[25](2011)发现微生物菌群可提高稠油总降解率;Ogbo等^[26](2008)揭示有共代谢基质存在下,胶质降解作用增强,如真菌虎奶菇(*Pleurotus tuber-regium*)。已发现的稠油胶质、沥青质优势降解菌见表1。

与饱和烃、芳烃组分生物降解率相比,胶质、沥青质的生物降解率不高。Potter等^[34](2001)对Cerro Negro稠油沥青质进行微生物降解,沥青质降解率为40%;Rojas-Avelizapa 等^[35](2002)报道沥青质的降解率可达50%;近期筛选的菌种降解率更低,如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)对胶质沥青质降解率分别为8%、11.0%^[27];真菌新萨托菌(*Neosartorya fischeri*)对沥青质降解率为15.5%^[23];芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)能够减少稠油中5.4%胶质含量^[31];QB26-地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)可使胶质相对含量降低5.1%、沥青质降低2.7%^[32]。

3.2 胶质、沥青质的生物降解机理

3.2.1 胶质、沥青质的生物降解规律

稠油油藏多为生物成因,在厌氧的地球化学演化过程中,氧原子随着生物降解作用会不断减少,在2~4级生物降解作用下N/C比不断增加,羧酸类、酚类及醇类生物降解产物形成了新的胶质组分,也可成为沥青质增加的部分^[36]。

开采后进入地表的稠油如何进一步转化引起环境学者的关注。分子机理是阐明稠油生物降解作用的重要方面,对稠油重质组分研究很多集中在相对含量及功能基团的变化上。李凤梅等^[33](2006)、王春明等^[37](2007)均进行了原油的生物降解实验,揭示了非烃、沥青质、饱和烃及芳香烃相对含量的变化规律;任妍君等^[38](2012)对弯曲芽孢杆菌(*Bacillus flexus*)菌株降解前后稠油族组成分析表明,稠油经菌株作用后,饱和烃、芳香烃含量分别降低67.40%、69.29%,而非烃、沥青质的含量有所增加,可能是菌株对稠油中不同组分的代谢利用具有选择性,代谢过程中产生了大量高碳有机酸等非

表1 稠油胶质、沥青质的优势降解菌
Table 1 Degrading bacteria on resins and asphaltenes in heavy oil

菌株	来源	胶质	沥青质	生物表面活性剂	文献
<i>Bacillus subtilis</i>	原油污染土壤	+	+	+	[27]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	原油污染土壤	+	+	+	[27]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	生物公司	+	+	鼠李糖脂	[28]
<i>Pseudomonas</i> sp.	原油	+	+	糖脂类	[29]
<i>Rhodococcus</i> sp.	原油污染土壤	+	+	糖脂类	[29]
<i>Halophilic coccus</i>	油田油泥池	+	+	—	[22]
Bacteria					
<i>Corynebacterium</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>revibacillus</i> sp. <i>Staphylococcus</i> sp.	原油	—	+	—	[21]
<i>Nocardia otitidiscaviarum</i>	油污染海水	+	+	糖脂类	[30]
<i>Bacillus licheniformis</i>	油田地层水	+	—	—	[31-32]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	油田污染土壤	+(复配)	—	+	[31]
<i>Aspergillus flavus</i> Link	油田污染土壤	+	+	—	[33]
Fungi					
<i>Neosartorya fischeri</i>	海底输油管道	—	+	—	[23]
<i>Pleurotus tuber-regium</i>	原油	—	+	—	[26]

烃类物质,且稠油中的正构烷烃的含量较低,使得微生物从培养初期就大量利用重质成分。边岩庆等^[39](2010)对稠油的微生物降解实验发现,胶质在降解过程中有 CH_3- 、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{C}=\text{N}$ 、 $\text{S}=\text{O}$ 键的振动吸收,分子结构中 $\text{C}=\text{N}$ 、 $\text{C}=\text{O}$ 、 $\text{S}=\text{O}$ 基团在逐渐减少,而 $-\text{OH}$ 基团明显增加;而沥青质在降解过程中芳香 $\text{C}=\text{C}$ 伸缩振动和 CH_3- 反对称变形振动减弱, $-\text{OH}$ 和 $\text{C}=\text{O}$ 基团的吸收峰增高,羧酸类组分明显增加,总体上,胶质的分子结构变化比沥青质明显。微生物降解作用可引起胶质、沥青质内含氧基团和甲基、亚甲基的出现或含量增加,使原油中胶质、沥青质相对含量降低,同时生成新的轻质芳香烃组分^[32]。此外,地质大分子在好氧菌作用下侧链可以被氧化,线性骨架比支链和环状骨架优先降解^[40];原油氮、氧极性化合物中芳香核和烷基侧链也可发生生物降解^[12]。

3.2.2 分离组分的生物降解规律

近年来,研究发现了环境介质中相关组分环烷酸、咪唑类及噻吩类的生物降解途径。

环烷酸是一类一元饱和羧酸,一般分子中含有一个或多个饱和环,不含有环状结构的环烷酸也含有很多烷基链分枝。环烷酸自然存在于原油和油砂中,前者中环烷酸的质量分数一般为 $10\sim 20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,后者中的平均质量分数大约为 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[41]。Holowenko等^[42](2001)、Clemente等^[43](2004)及Scott等^[44](2005)研究了油砂尾矿筛选出的微生物对环烷酸的降解作用,得出了一些环烷酸的降解规律:低分子量组分优先降解;环数少的组分优先降解但能降解;烷基链分枝化程度低的组分优先降解^[45]。但高分子量、多饱和环、烷基链分枝化程度高的菌株筛选方面还有待开展,这方面研究在国外已成为一个新的研究热点^[41]。

含氮化合物中咪唑类杂环芳烃的生物降解研究已经取得了一定的进展,许多咪唑降解菌株被分离鉴定^[46-49],如鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)、假单胞菌属(*Pseudomonas resinovorans*)、分枝杆菌(*Mycobacterium*)及雷尔氏菌(*Ralstonia*)等。其中假单胞菌属(*Pseudomonas resinovorans*)CA10菌株的降解途径研究较为清楚。咪唑降解途径都是起始于含氮杂环的氧化裂解形成2'-氨基联苯2,3-二羟基,由咪唑1,9-双加氧酶、邻裂酶和邻裂化合物脱氢酶催化咪唑降解的前三步反应。第三步催化形成的产物邻氨基苯甲酸由双加氧酶催化形成邻苯二酚;第三步裂解形成的另一个产物2-羟基-戊-2,4-己二烯酸甲酯由CarDEF催化形成丙酮酸盐和乙酰 CoA ^[49]。

含硫化合物研究主要以二苯并噻吩(DBT)作

为模式组分,已筛选培育出一批能有效降解DBT的菌株,如红球菌属(*Rhodococcus erythropolis*)、分支杆菌属(*Mycobacterium phlei*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)、拜叶林克氏菌(*Beijerinckia*)、不动杆菌(*Acinetobacter*)和根瘤菌(*Rhizobium*)等^[50-51]。DBT的主要降解方式可分为3种^[51-53],一种只将DBT中的 $\text{C}-\text{S}$ 键断裂,使DBT降解成2-羟基联苯和硫酸盐,反应的硫中间体分别是DBT-亚砷、DBT-砷、DBT-羟基磺酸,有机硫则以硫酸根的形式从有机物中除去的,其降解历程称为4-S路线;第二种是菌株将DBT中的一个苯环破坏,而 $\text{C}-\text{S}$ 键保存,含硫部分变为水溶性有机物,此过程并没有破坏含硫化合物基体,其降解历程称为Kodama路线;第三种是角度双加氧途径,DBT先在五元环上的S进行氧化,然后在C4,4a位进行角度双加氧反应,在此途径中DBT被完全矿化,DBT的S元素以亚硫酸盐的形式释放出来,并被氧化生成硫酸盐。Kodama降解途径是环境中微生物降解DBT污染物的主要途径。

可见,胶质、沥青质的有效降解是稠油污染物在环境介质中去除的难点。目前可以降解胶质、沥青质的菌株已获得培养,但所筛菌种降解周期长,降解率不高,究其原因,主要是由于其水溶性低和生物可利用性低,因此,提高稠油胶质、沥青质的生物可利用性是生物降解中迫切解决的关键问题。

4 生物表面活性剂对稠油胶质、沥青质的作用研究

4.1 疏水性污染物生物可利用性的增强机理

生物可利用性是疏水性污染物生物降解的决定性条件。生物可利用性主要受两个因素限制:一是污染物从不可被微生物利用的非水相到可被利用水相的传质速率;二是污染物暴露于细胞膜的浓度^[54]。目前在提高生物可利用性上研究广泛,揭示了多种方式,如微生物可采用分泌表面活性剂^[55-56]、形成生物膜^[57-58]以及产胞外多糖的方式^[59],其中,以生物表面活性剂的作用研究最广泛。

生物表面活性剂是微生物在特定条件下分泌的具有表面活性的代谢产物,其分子结构通常由极性亲水基团(糖类、氨基酸、环肽、磷酸或羧酸基团等)和非极性亲油基团(长链脂肪酸,8~22个碳原子脂肪酰基链等)两部分组成。目前,生物表面活性剂对于疏水性有机物的作用已经引起人们广泛的关注,在结构鉴定^[60]、发酵条件优化^[61]及促进作用机理上取得了显著的进展,查明的生物表面活性剂类型为:糖脂类、脂肽类、磷脂类、脂多糖类、脂肪酸、中性脂以及多糖蛋白复合物等,具有良好的环境兼容性优点。

生物表面活性剂对疏水性有机物生物可利用率的促进作用研究较为深入,提出的四种途径:一是降低界面张力,促进乳化作用^[62-63];二是增溶作用,将疏水性物质分子加溶于表面活性剂所形成的胶束中,实现有机相在水相的分散^[64-65];三是调节微生物细胞表面、污染物及环境介质之间的界面作用^[66-67];四是生物表面活性剂改变细胞膜的结构和性质并促成了一种新的污染物摄取模式^[68]。

生物表面活性剂新的作用途径也不断被研究发现,如表面活性剂本身被生物降解,增加能量和生物量、通过共代谢提高降解速率^[69]。也有研究者提出相反的作用机理,如添加的表面活性剂可能对微生物存在毒性或被优先降解而对石油烃的降解无效果,有的甚至存在抑制作用^[70]。

4.2 生物表面活性剂对稠油胶质、沥青质的促进作用

生物表面活性剂对稠油污染物降解的影响研究已从饱和烃转向难生物降解的高环芳烃上^[71],初期多以物化作用研究为主^[72-73],近年来微生物菌体的变化研究增多^[67,74]。

稠油中含有疏水和亲水的结构单元^[75],为生物表面活性剂的应用提供了可能,已经报道了一些生物表面活性剂及产生菌对胶质、沥青质生物降解的促进作用,如Das Kishore等^[27](2007)、Assadi等^[76](2010)研究表明,生物表面活性剂能增加复杂烃类如沥青质、胶质等的生物降解作用;产生物表面活性剂的肠杆菌,可高效降解稠油污水,去除率为19.1%~76.3%^[77];芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)与产生鼠李糖脂表面活性剂的假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)复配,可使稠油胶质降解率提高10%^[31]。

生物表面活性剂对胶质、沥青质的影响研究刚刚起步,如可增加生物量和新陈代谢过程^[69];鼠李糖脂表面活性剂对细胞表面性质和菌体 Zeta 电位产生影响^[74];可能改变土壤中微生物对稠油的摄取机制,或参与了微生物对稠油降解的共代谢过程,从而使稠油的降解效果加强^[78]。而 Uraizee 等^[20](1998)提出,降解体系中温度,沥青质含量、表面活性剂类型都影响沥青质的生物降解作用,高含量沥青质限制污染物运移;Warne 等^[79](2010)研究发现胶质、沥青质也可以使烃液滴表面负电荷减少,从而降低微生物对烃的粘附。

表面活性剂对极性化合物苯酚生物降解的促进作用也有开展,如热带假丝酵母(*C. tropicalis*)可释放多糖表面活性剂,降低苯酚毒性,具有高效降解苯酚能力^[80];丁莹等^[81](2010)研究表明,生物表面活性剂可共同作为碳源促进菌体生长,提高苯酚降解速率,减弱苯酚对菌体的毒性;Liu 等^[82]

(2012)发现,生物表面活性剂增加青霉菌(*P. simplicissimum*)对苯酚的吸附、增加菌体 Zeta 电位和细胞疏水性、改变细胞表面官能团、元素含量和显微结构;在漆酶催化下,可增加漆酶活性高效促进水中苯酚的去除^[83]。

以上研究表明,生物表面活性剂对于胶质、沥青质生物降解过程的促进作用已得到证实,但在生物降解过程中的作用途径和作用强度研究薄弱,胶质、沥青质可生物降解组分的变化规律还未明确;除苯酚外,胶质和沥青质中含有的芳香羧酸、胺类、吡啶类及噻吩类其它极性组分与生物表面活性剂的具体作用机理鲜见报道。

5 研究展望

稠油胶质、沥青质组分结构复杂和生物可利用性低,影响了其生物地球化学循环过程和和环境介质中的有效去除。如何提高稠油胶质、沥青质的生物降解作用,将对碳元素生物地球化学循环的能源高效转化具有重要意义,也将突破稠油污染环境生物修复的瓶颈。未来研究应注重以下几点:(1)对稠油胶质、沥青质高效降解菌的筛选有待开展。与稠油轻质组分相比,以稠油为唯一碳源筛选出的降解菌对稠油胶质沥青质的降解率不高;(2)在提高生物可利用性方面,增强微生物对胶质、沥青质利用的机理研究不足,尤其是较强极性组分的具体作用机理有待揭示;(3)受检测条件限制,胶质、沥青质可生物降解组分的定性、定量研究十分薄弱,致使稠油污染物生物降解的分子机理不够全面和深入。

参考文献:

- [1] 胡守志,张冬梅,唐静,等.稠油成因研究综述[J].地质科技情报,2009,28(2):94-97.
- [2] 温军杰,贾永刚,刘杰,等.环渤海湾海滨土稠油污染特征调查[J].化工学报,2011,62(1):237-242.
- [3] 陈兰萍,李崇瑛,杨晶,等.石油中胶质化学组成分析及结构特征的研究概况[J].广州化工,2012,4(2):51-53.
- [4] BOUKIR A, ARIES E, GUILIANO M, et al. Subfractionation, characterization and photooxidation of crude oil resins[J]. Chemosphere, 2001, 43: 279-286.
- [5] 关润伶.稠油组分的结构分析及降粘剂的研制[D].北京:北京交通大学,2006:5-7.
- [6] 王培荣,赵红,朱翠山,等.非烃地球化学及其应用概述[J].沉积学报,2004,22(增刊):98-105.
- [7] 刘越君,郭福君,姜贵,等.石油沥青质的化学结构研究进展[J].内蒙古石油化工,2008(4):11-15.
- [8] 廖泽文,耿安松.油藏开发中沥青质的研究进展[J].科学通报,1999,44(19):1-10.
- [9] 王占生,王培荣,林壬子,等.沥青质和非烃中脂肪酸的组成差异[J].石油勘探与开发,2004,31(3):65-68.

- [10] SIMONEIT B R T, ELIAS V O. Detecting organic tracers from biomass burning in the atmosphere[J]. Marine Pollution Bulletin, 2001, 42(10): 805-810.
- [11] 汪双清, 王培荣. 沉积物和原油中常见含氧化合物的分离分析[J]. 分析化学, 2001, 29(3): 276-279.
- [12] KIM S, STANFORD L A, RODGERS R P, et al. Microbial alteration of the acidic and neutral polar NSO compounds revealed by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. Organic Geochemistry, 2005, 36(8): 1117-1134.
- [13] 王汇彤, 翁娜, 张水昌, 等. 全二维气相色谱/飞行时间质谱与常规色质分析的地球化学参数对比[J]. 中国科学: 地球科学, 2011, 41(11): 1586-1595.
- [14] 王汇彤, 翁娜, 张水昌, 等. 稠油中饱和烃复杂混合物成分解析及其意义[J]. 中国科学: 化学, 2012, 42(10): 1469-1478.
- [15] QIAN K N, ROBBINS W K, HUGHEY C A, et al. Resolution and identification of elemental compositions for more than 3000 crude acids in heavy petroleum by negative-ion microelectrospray highfield Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. Energy & Fuels, 2001, 15(6): 1505-1511.
- [16] SHI Q, HOU D J, CHUNG K H. Characterization of heteroatom compounds in a crude oil and its saturates, aromatics, resins, and asphaltenes (SARA) and non-basic nitrogen fractions analyzed by negative-ion electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. Energy & Fuels, 2010, 24: 2545-2553.
- [17] 胡秋玲, 刘颖荣, 刘泽龙, 等. 电喷雾-傅立叶变换离子回旋共振质谱分析原油中的碱性氮化物[J]. 分析化学, 2010, 38(4): 564-568.
- [18] TONG J H, LIU J G, HAN X W, et al. Characterization of nitrogen-containing species in Huadian shale oil by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry[J]. Fuel, 2013, 104: 365-37.
- [19] CHAINEAU C, MOREL J and OUDOT J. Microbial Degradation in Soil Microcosms of Fuel oil Hydrocarbons from Drilling Cuttings[J]. Environmental Science & Technology, 1995, 29(6): 1615-1621.
- [20] URAIZEE F A, ALBERT D, SUIDAN V M T. A Model for diffusion controlled bioavailability of crude oil components[J]. Biodegradation, 1998, 8: 287-296.
- [21] PINEDA-FLORES G, BOLL-ARGÜELLO G, LIRA-GALEANA C, et al. A microbial consortium isolated from a crude oil sample that uses asphaltenes as a carbon and energy source[J]. Biodegradation, 2004, 15(3): 145-151.
- [22] HAO R X, LU A H. Biodegradation of heavy oils by halophilic bacterium[J]. Progress in Natural Science, 2009, 19: 997-1001.
- [23] URIBE-ALVAREZ C, AYALA M, PEREZGASGA L, et al. First evidence of mineralization of petroleum asphaltenes by a strain of *Neosartorya fischeri*[J]. Microbial Biotechnology, 2011, 4(5): 663-672.
- [24] LAVANIA M, CHEEMA S, SARMA P M, et al. Biodegradation of asphalt by *Garciaella petrolearia* TERIG02 for viscosity reduction of heavy oil[J]. Biodegradation, 2012, 23(1): 15-24.
- [25] 王海峰, 李阳, 赵丽萍, 等. 稠油降解菌的筛选、鉴定与菌群构建[J]. 环境工程学报, 2011, 5(4): 925-929.
- [26] OGBO E M, OKHUOYA J A. Biodegradation of aliphatic, aromatic, resinic and asphaltic fractions of crude oil contaminated soils by *Pleurotus tuber-regium* Fr. Singer-a white rot fungus[J]. African Journal of Biotechnology, 2008, 7(23): 4291-4297.
- [27] DAS K, MUKHERJEE A K. Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India[J]. Bioresource Technology, 2007, 98: 1339-1345.
- [28] YAN P, LU M, GUAN Y M, et al. Remediation of oil-based drill cuttings through a biosurfactant-based washing followed by a biodegradation treatment[J]. Bioresource Technology, 2011, 102: 10252-10259.
- [29] KUMARI B, SINGH S N, SINGH D P. Characterization of two biosurfactant producing strains in crude oil degradation[J]. Process Biochemistry, 2012, 47: 2463-2471.
- [30] VYAS T K, DAVE B P. Production of biosurfactant by *Nocardia otitidiscaviarum* and its role in biodegradation of crude oil[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2011, 8(2): 425-432.
- [31] 齐义彬, 王大威, 吴萌萌, 等. 胶质降解和生物乳化在稠油降黏中的作用[J]. 石油学报, 2012, 33(4): 670-675.
- [32] 王大威, 张健, 齐义彬, 等. 稠油降解菌的筛选及其对胶质降解作用[J]. 微生物学报, 2012, 52(3): 353-359.
- [33] 李凤梅, 郭书海, 牛之欣, 等. 稠油降解菌的筛选及其对胶质和沥青质生物降解[J]. 土壤通报, 2006, 37(4): 764-767.
- [34] POTTER T L, CERRO D B. Cerro Negro bitumen degradation by a consortium of marine benthic microorganisms [J]. Environmental Science & Technology, 2001, 35(1): 76-83.
- [35] ROJAS-AVELIZAPA N G, CERVANTES-GONZALEZ E, CRUZ-CAMARILLO R. Degradation of aromatic and asphaltic fractions by *Serratia liquefaciens* and *Bacillus* sp [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2002, 69: 835-842.
- [36] LIAO Y H, GENG A S, HUANG H P. The influence of biodegradation on resins and asphaltenes in the Liaohe Basin[J]. Organic Geochemistry, 2009, 40: 312-320.
- [37] 王春明, 李大平, 刘世贵. 稠油开采微生物的生理生化特征及其对原油特性的影响[J]. 石油学报, 2007, 28(5): 89-92.
- [38] 任妍君, 陈梅梅, 岳勇, 等. 高效稠油降解菌 DL1-G 的筛选及降解特性[J]. 中国环境科学, 2012, 32(6): 1080-1086.
- [39] 边岩庆, 陶文. 石油的微生物降解过程中胶质沥青质的分子结构变化[J]. 长江大学学报: 自然科学版, 2010, 7(1): 177-180.
- [40] JENISCH-ANTON A, ADAM P, MICHAELIS W, et al. Molecular evidence for biodegradation of geomacromolecules[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2000, 64(20): 3525-3537.
- [41] 肖梓军, 张新惠, 郝日诗, 等. 环烷酸降解技术研究进展[J]. 长春理工大学学报: 自然科学版, 2010, 33(2): 94-98.
- [42] HOLOWENKO F M, MACKINNON M D, FEDORAK P M. Naphthenic acids and surrogate naphthenic acids in methanogenic microcosms[J]. Water Research, 2001, 35(11): 2595-2606.
- [43] CLEMENTE J S, MACKINNON M D, FEDORAK P M. Aerobic biodegradation of two commercial naphthenic acids preparations[J]. Environmental Science & Technology, 2004, 38(4): 1009-1016.
- [44] SCOTT A C, MACKINNON M D, FEDORAK P M. Naphthenic acids in Athabasca oil sands tailingswaters are less biodegradable than commercial naphthenic acids[J]. Environmental Science & Technology,

- 2005, 39(21): 8388-8394.
- [45] HAN X, SCOTT A C, FEDORAK P M, et al. Influence of molecular structure on the biodegradability of naphthenic acids[J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(4): 1290-1295.
- [46] SANTOS S C, ALVIANO D S, ALVIANO C S, et al. Characterization of *Gordonia* sp. strain F. 5. 25. 8 capable of dibenzothiophene desulfurization and carbazole utilization[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 71(3): 355-362.
- [47] 郭维强, 胡吉军, 陈元芬, 等. 稳定混合菌协同降解咔唑研究[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(5): 654-657.
- [48] 张小凡, 何义亮. 1株咔唑降解菌的分离、鉴定及其降解特性研究[J]. 环境科学, 2010, 31(9): 2166-2170.
- [49] 杨美英. 咔唑降解菌株的筛选及其邻裂双加氧酶的克隆与鉴定[D]. 长春: 东北师范大学, 2011: 3-4.
- [50] 史德青, 赵金生, 杨金荣, 等. 施氏假单胞菌对二苯并噻吩的降解[J]. 中国环境科学, 2004, 24(6): 730-733.
- [51] 宋静. 二苯并噻吩脱硫菌的筛选及其代谢途径研究[D]. 广州: 华中科技大学, 2011: 5-7.
- [52] KOBAYASHI M, ONAKA T, ISHII Y, et al. Desulfurization of alkylated forms of both dibenzothiophene and benzothiophene by a single bacterial strain [J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 187(2): 123-126.
- [53] KAYSER K J, CLEVELAND H S, PARK J H, et al. Isolation and characterization of a moderate thermophile *Mycobacterium phlei* GTIS10, capable of dibenzothiophene desulfurization [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2002, 59(6): 737-745.
- [54] 梁生康, 王修林, 单宝田. 生物表面活性剂强化疏水性有机污染物生物降解研究进展[J]. 化工环保, 2005, 25(4): 276-280.
- [55] YUSTE L, CORBELLA M E, TURIÉGANO M J, et al. Characterization of bacterial strains able to grow on high molecular mass residues from crude oil processing[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000, 32: 69-75.
- [56] 马爱青, 陈连喜, 包木太. 表面活性剂对原油生物降解的强化作用[J]. 油田化学, 2011, 28(2): 224-228.
- [57] WICK LY, WATTIAU P, HARMS H. Influence of the growth substrate on the mycolic acid profiles of *mycobacteria*[J]. Environmental Microbiology, 2002, 4(10): 612-616.
- [58] HICKEY A M, GORDON L, DOBSON A D, et al. Effect of surfactants on fluoranthene degradation by *Pseudomonas alcaligenes* PA-10[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 74(4): 851-856.
- [59] JOHNSEN A R, KARLSON U. Evaluation of bacterial strategies to promote the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 63(4): 452-459.
- [60] BIRIA D. Purification and characterization of a novel biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* MS3[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2010, 26(5): 871-878.
- [61] LIU, J, HUANG X F, LU L J, et al. Optimization of biodemulsifier production from *Alcaligenes* sp S-XJ-1 and its application in breaking crude oil emulsion[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 183(1/3): 466-473.
- [62] VOLKERING F, BREURE A M, VAN ANDEL J G, et al. Influence of nonionic surfactants on bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995, 61(5): 1699-1705.
- [63] ZHANG XS, XU D J, ZHU CY, et al. Isolation and identification of biosurfactant producing and crude oil degrading *Pseudomonas aeruginosa* strains[J]. Chemical Engineering Journal, 2012, 209: 138-146.
- [64] EDWARDS D A, LUTHY R G, LUI Z. Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar nonionic surfactant solutions[J]. Environmental Science & Technology, 1991, 25(1): 127-133.
- [65] ZHANG Y M, MAIER W J, MILLER R M. Effect of rhamnolipid on the dissolution, bioavailability, and biodegradation of phenanthrene[J]. Environmental Science & Technology, 1997, 31(8): 2211-2217.
- [66] 黄英, 马挺, 顾晓波, 等. 脂肽类生物表面活性剂对细菌表面亲疏水性和粘附性的影响[J]. 南开大学学报: 自然科学版, 2006, 39(5): 74-78.
- [67] 姜萍萍, 党志, 卢桂宁, 等. 鼠李糖脂对假单胞菌GP3A降解芘的性能及细胞表面性质的影响[J]. 环境科学学报, 2011, 31(3): 485-491.
- [68] SCHIPPERS C, GEBER K, MÜLLER T, et al. Microbial degradation of phenanthrene by addition of a sophorolipid mixture[J]. Journal of Biotechnology, 2000, 83(3): 189-198.
- [69] FERNANDEZ C, LABRADOR H, MENDOZA K, et al. Recalcitrant compound biodegradation coming from crude extra-heavy applying technical ones of bioremediation[J]. Revista Tecnica De La Facultad De Ingenieria Universidad Ad Del Zulia, 2012, 35(3): 215-223.
- [70] LIU Z, JACOBSON A M, LUTHY R G. Biodegradation of naphthalene in aqueous nonionic surfactant systems[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1995, 61 (1): 145-151.
- [71] 张银萍, 王芳, 杨兴伦, 等. 土壤中高环多环芳烃微生物降解的研究进展[J]. 微生物学通报, 2010, 37(2): 280-288.
- [72] BORDAS F, Lafrance P, Villemur R. Conditions for effective removal of pyrene from an artificially contaminated soil using *Pseudomonas aeruginosa* 57SJ rhamnolipids [J]. Environmental Pollution, 2005, 138 (1): 69-76.
- [73] BORDOLOI N K, KONWAR B K. Bacterial biosurfactant in enhancing solubility and metabolism of petroleum hydrocarbons[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 170(1): 495-505.
- [74] KACZOREK E. Effect of External Addition of Rhamnolipids Biosurfactant on the Modification of Gram Positive and Gram Negative Bacteria Cell Surfaces during Biodegradation of Hydrocarbon Fuel Contamination[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2012, 21(4): 901-909.
- [75] STRAUZ O P, MOJELSKY T W, FARAJI F, et al. Additional structural details on Athabasca asphaltene and their ramifications [J]. Energy & Fuels, 1999, 13: 207-227.
- [76] ASSADI M M, TABATABAEE M S. Biosurfactants and their Use in Upgrading Petroleum Vacuum Distillation Residue: A Review[J]. International Journal of Environmental Research, 2010, 4(4): 549-572.
- [77] PARVIZ D, DARIUSH M, SHAHAB A. Biodegradation of heavy crude oil in wastewater by an efficient strain, ERCPP1-1[J]. Desalination and Water Treatment, 2011, 28(1-3): 46-54.
- [78] 伏亚萍, 李鱼, 王健, 等. 稠油降解菌的筛选及其生物表面活性剂的特性[J]. 吉林大学学报: 理学版, 2007, 45(1): 148-152.

- [79] WARNE Z C, GHOSHAL S, TUFENKJI N. Bacterial adhesion to hydrocarbons: Role of asphaltenes and resins[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010, 79: 219-226.
- [80] ROCHA L L, DE AGUIAR C R, CAVALCANTE R M, et al. Isolation and characterization of phenol-degrading yeasts from an oil refinery wastewater in Brazil[J]. *Mycopathologia*, 2007, 164(4): 183-188
- [81] 丁莹, 袁兴中, 曾光明, 等. 表面活性剂对热带假丝酵母降解苯酚的影响[J]. *环境科学*, 2010, 31(4): 1047-1052.
- [82] LIU Z F, ZENG G M, ZHONG H et al. Effect of dirhamnolipid on the removal of phenol catalyzed by laccase in aqueous solution[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2012, 28(1): 175-181.
- [83] LIU Z F, ZENG Z T, ZENG G M et al. Influence of rhamnolipids and Triton X-100 on adsorption of phenol by *Penicillium simplicissimum* [J]. *Bioresource Technology*, 2012, 110: 468-473.

Research advances in microbial degradation of heavy components in heavy oil

WANG Xinwei^{1,2*}, CAI Ting², LIU Yu², TAN Xi²

1. Beijing Key Laboratory of Petroleum Pollution & Prevention, China University of Petroleum, Beijing 102249, China;

2. College of Geosciences, China University of Petroleum, Beijing 102249, China

Abstract: Resins, asphaltenes are heavy components in heavy oil, as the complexity in structure and the low bioavailability, resins and asphaltenes are the bottle neck problems to the microbial-degradation for the removal of heavy oil pollutant. Based on expounding the chemical structure and test method of resins and asphaltenes and on combining the home and abroad research results related to biodegradation of resins and asphaltenes as heavy components in heavy oil, it could be provided as a theoretical support for the effective removal of viscous pollutant in the environment. As survey indicates: heavy oil's resins and asphaltenes are similar in chemical structural substance, both contain multiple aromatic nucleuses, and atoms O, N, S, etc., key distinction of which is at the different degree of polymerization of their polycyclic aromatic hydrocarbon, where the content of condensed rings in resins is far less than such content in asphaltenes; resins is in a state of stable resinsal dispersion in the crude oil, which could form the complex compound with asphaltenes molecules, further they could be conglomerated to macromolecular aggregates. Currently the bacterial strain for degradation of resins and asphaltenes has been screened out to use, including bacteria and fungoid, but the degradation rate of such kind of selected strain is around 10%. The researches on the biodegradation mechanism to heavy oil pollutant is much limited, most of which focus on the relative content of components in resins, asphaltenes and on the change in their functional groups. For relevant components in environmental media such as naphthenic acid, carbazole and thiophene, some biodegradation rules and approaches have been developed, which give the opportunity to the bio-removal of resins and asphaltenes. Since the biosurfactant could be an enhancement for the bioavailability of hydrophobic organism, its stimulation to the biodegradation of resins and asphaltene has been evident. The influencing manners reported including to, increase biomass, enhance metabolism process, change intake mechanism, participate in co-metabolism and impact on the surface property of cell and on the bacteria's Zeta electric potential, etc.. Biosurfactant can raise the degradation rate of viscous oil resins up to 10% and above. As the above concluded, in the future it should be strengthened in the screening of bacteria and fungoid of highly efficient degradation, further to research on the molecular mechanism and influencing factors for the biodegradation of resins and asphaltenes, to break through and develop the bioavailability of resins and asphaltenes to a remarkable extent.

Key words: heavy oil; resins; asphaltenes; biodegradation; biosurfactants