

吐温 80 对苏云金芽孢杆菌降解三苯基锡的促进机制

黄捷¹, 叶锦韶^{1*}, 尹华², 彭辉¹, 马嘉雯¹, 唐立涛¹, 王惜若¹

(1. 暨南大学环境工程系, 广东省高校水土环境毒害性污染物防治与生物修复重点实验室, 广州 510632; 2. 华南理工大学环境与能源学院, 工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室, 广州 510006)

摘要: 有关内分泌干扰物三苯基锡(TPhT)生物降解的强化措施和降解机制的报道较少, TPhT降解过程中脱苯反应是同步还是逐步发生还不明确。为阐明这些问题, 研究了吐温 80 对苏云金芽孢杆菌降解 TPhT 及其降解产物的影响。结果表明, 吐温 80 能明显提高 TPhT 在水中的溶解度。苏云金芽孢杆菌和 80 mg·L⁻¹ 吐温 80 共同处理 1 mg·L⁻¹ TPhT 2 d 后, TPhT 残余浓度降至 48.4%。降解过程, 吐温 80 可显著地减少细胞内 Na⁺、NH₄⁺ 和 Mg²⁺ 向胞外的释放, 增加对细胞外 Cl⁻、PO₄³⁻ 和 K⁺ 的吸收。代谢产物分析表明, 苯基锡的生物降解始于苯环裂解, 而不是苯环和锡原子之间共价键的分裂。TPhT 中各苯环的开环反应可以单独进行, 亦可同步发生, 进而生成二苯基锡、一苯基锡和无机锡。

关键词: 三苯基锡; 吐温 80; 生物降解; 降解途径; 有机锡

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2014)05-1974-07 DOI: 10.13227/j.hjkx.2014.05.049

Enhancing Effect of Tween 80 on Degradation of Triphenyltin by *Bacillus thuringiensis*

HUANG Jie¹, YE Jin-shao¹, YIN Hua², PENG Hui¹, MA Jia-wen¹, TANG Li-tao¹, WANG Xi-rouo¹

(1. Key Laboratory of Water/Soil Toxic Pollutants Control and Bioremediation of Guangdong Higher Education Institutes, Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Key Laboratory of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industry Clusters, Ministry of Education, College of Environment and Energy, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China)

Abstract: So far, the information regarding enhanced degradation and biodegradation mechanisms of TPhT, an endocrine disruptor, is severely limited. Whether dearylation during TPhT degradation occurs successively or synchronously is not revealed clearly. To deal with these problems, this study focused on the biodegradation of TPhT and its metabolites by *Bacillus thuringiensis* through the acceleration of Tween 80. The results showed that Tween 80 obviously increased the TPhT solubility. After degradation by cells in the presence of 80 mg·L⁻¹ Tween 80 for 2 d, the residual TPhT at 1 mg·L⁻¹ initially was decreased to 48.4%. During the biodegradation process, Tween 80 significantly reduced intracellular Na⁺, NH₄⁺ and Mg²⁺ release, and increased extracellular Cl⁻, PO₄³⁻ and K⁺ utilization. Metabolites analysis revealed that phenyltin biodegradation initially proceeded by cleaving the aromatic ring, not by splitting the covalent bonds between the benzene rings and tin atom. Ring-cleavage reactions in the benzenes of TPhT occurred individually and synchronously, producing diphenyltin, monophenyltin and tin accordingly.

Key words: triphenyltin(TPhT); Tween 80; biodegradation; degradation pathway; organotin

有机锡类化合物(organic tin compounds, OTC)是目前已知唯一的金属化合物类内分泌干扰物, 也是人为引入水环境中最毒的化学物质之一^[1]。有机锡作为塑料稳定剂、防腐剂、海洋建筑和船舶防污涂料等大量使用, 导致了全球性的水体和沉积物污染。其中, 在环境中残留量及毒性最大的 OTC 是三丁基锡(TBT)和三苯基锡(TPhT), 其高毒性和持久性使水体有机锡污染受到广泛关注^[2,3]。

在适宜条件下, OTC 可通过光解、化学降解及生物降解等途径从环境中去除。而那些不暴露于紫外线下的 OTC 的去除主要靠微生物作用^[4,5]。对于 OTC 等疏水性有机污染物而言, 其低水溶性极大地限制了其微生物降解和污染环境生物修复。目前

OTC 的微生物降解研究大多关注于菌种选育、降解过程中环境及其他影响因素的优化和降解产物检测方法改进等方面^[6~8]。然而, 有关 TPhT 生物降解机制和通过表面活性剂增强其降解性能的报道较少, TPhT 降解与菌体营养代谢的关系, 以及 TPhT 降解过程中各苯环的脱苯是同步还是逐步发生还不明确。为解决这些问题, 从而阐明降解菌降解 TPhT 的速效机制, 本研究以 TPhT 作为对象, 选用在食品工

收稿日期: 2013-09-18; 修订日期: 2013-11-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(21377047, 21007020); 广东省自然科学基金项目(S2013010012662); 广州市珠江科技新星专项(2012J2200056)

作者简介: 黄捷(1987~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水环境生物修复技术, E-mail:hj7062538@163.com

* 通讯联系人, E-mail:jsye@jnu.edu.cn

业、化妆品和医药工业中广泛应用的非离子表面活性剂吐温 80 为增溶剂, 考察吐温 80 对 TPhT 的增溶作用, 探究 TPhT 和降解菌之间的相互影响, 分析降解过程菌体的离子释放和吸收, 通过产物分析探索 TPhT 的降解途径。

1 材料与方法

1.1 实验材料

TPhT 储备液: 称取 1 g TPhT, 溶于 1 L 色谱级甲醇, 即得 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TPhT 储备液, 4℃下保存待用。

实验菌种: TPhT 降解菌由本课题组于有机锡污染的环境中筛选获得。

牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g, NaCl 5 g, 蒸馏水 1 000 mL, 调节 pH 至 7.2~7.4。

无机盐培养基: $\text{NaHPO}_4 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、 NH_4Cl 和 MgSO_4 的浓度分别为 150、50、30 和 $15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2 吐温 80 对 TPhT 的增溶作用

在 50 mL 锥形瓶中, 加入 200 μL $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TPhT 标准使用液, 待甲醇挥发后加入一定量的吐温 80 母液, 补充双蒸水使得体系为 20 mL, 吐温 80 的浓度分别为 0、5、10、20、30、40、50 和 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 将各溶液超声水浴 30 min 后, 置于 30℃, $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的摇床振荡 24 h, 然后静置平衡 12 h, 于 $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 移取 10 mL 离心的上清液, 用等体积的乙酸乙酯超声辅助萃取 2 次, 用流动相定容后进行高效液相色谱检测。实验中每一处理设 3 个平行, 重复 2 次。

1.3 TPhT 的生物降解实验

1.3.1 菌悬液配制

将降解菌接种于牛肉膏蛋白胨培养液中, 于 30℃, $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的摇床中活化 24 h, 再次接种到牛肉膏蛋白胨培养液扩大培养 12 h 后, $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 获得菌体。菌体用无菌蒸馏水清洗 3 次, 配成干重为 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的菌悬液待用。

1.3.2 吐温 80 对 TPhT 降解的影响

在锥形瓶中加入 TPhT 待甲醇挥发后加入菌悬液, 并加入一定量的吐温 80 母液, 补充无机盐培养基至降解体系总体积为 20 mL, 使得 TPhT 的浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 投菌量干重为 $0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 吐温 80 的浓度为 0、5、10、20、30、40、50 和 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 在 30℃、 $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的摇床振荡降解 48 h。

1.4 菌体降解 TPhT 过程对 Biolog ECO 板碳源的利用效果

分别取降解 TPhT 1 h 和 48 h 的样品稀释后加入 Biolog ECO 板中, 于 30℃ 恒温培养, 在 0~168 h 内每间隔 24 h 测定其在 590 nm 处的吸光度值, 考察不同条件下菌体降解 TPhT 过程中对碳源的利用能力, 并设置不加污染物的对照实验, 每组设 3 个平行。

1.5 菌体降解 TPhT 过程中的离子代谢

取实验 1.3.2 节中降解 TPhT 48 h 的实验体系于 $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 所得上清液过 $0.22 \mu\text{m}$ 的滤膜, 使用 ICS-900 离子色谱仪检测 Cl^- 、 PO_4^{3-} 、 Na^+ 、 NH_4^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 浓度, 设置不加 TPhT 作为对照, 每组 3 个平行。

1.6 TPhT 降解产物的检测

样品的预处理: $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TPhT 在投菌量为 $0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 20 mL 降解体系中分别降解 1~7 d 后, 用 20 mL 正己烷超声萃取 2 次, 合并有机相在 25℃ 下旋转蒸发, 加入 5 mL 甲醇洗脱, 加入 5 mL 醋酸钠/冰乙酸缓冲溶液 ($\text{pH}=4.5$) 和 2 mL 2% 的四乙基硼化钠溶液, 超声 15 min, 加入 5 mL 正己烷, 超声 15 min, 静置分层, 取上层有机相进行 GC-MS 分析。

GC 条件: DB-5MS 色谱柱 ($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$); 柱温采用程序升温。升温程序: 初温 50℃, 保持 1.5 min 后以 $10 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速率升至 300℃, 保持 4 min; 进样口温度 280℃; 载气为高纯氮(纯度 >99.999%), 流速 $1.1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 不分流进样, 1.0 min 后开阀; 进样量为 1 μL 。

MS 条件: 电离方式为电子轰击; 电子能量 70 eV, 离子源温度 250℃, 溶剂延迟 2.6 min, 根据各种苯基锡化合物的保留时间及特征离子峰进行定量分析。

2 结果与分析

2.1 吐温 80 对 TPhT 的增溶作用

图 1 显示 TPhT 的溶解度随着吐温 80 浓度的增加而增加, 吐温 80 浓度为 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, TPhT 的溶解度最大。非离子型表面活性剂的稳定性高, 不易受无机盐干扰, 在水与有机溶剂中常有较好的溶解性能。在污染环境修复中, 非离子型表面活性剂是被采用最多的一类表面活性剂。吐温 80 是一种非离子表面活性剂, 由于其毒性低、用量小等特点已被广泛用作增溶剂、乳化剂等, 其临界胶束浓度为 $13 \sim 15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[9,10]。

当表面活性剂的质量浓度较低时, 主要以单体的形式存在; 当浓度增大到一定值后, 活性剂分子

会形成球状、层状或棒状的胶束，亲油基团彼此靠在一起，而亲水基团向外伸向水相^[1]。溶液中的表面活性剂胶束和单体对有机物具有增溶作用，可大大提高有机污染物在溶液中的溶解度^[12]。吐温 80 对 TPhT 的增溶作用有利于菌体对其生物降解。

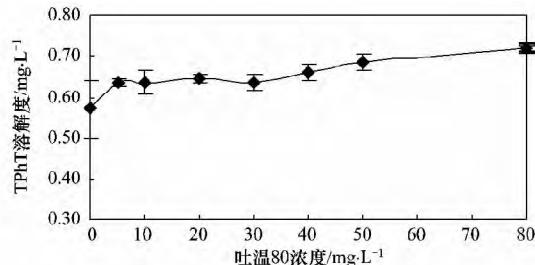


图 1 吐温 80 对 TPhT 的增溶作用
Fig. 1 Solubilization effect of Tween 80 on TPhT

2.2 吐温 80 对 TPhT 降解的影响

TPhT 水溶性差、生物有效性差等特点导致了其生物降解延缓。研究^[13,14]发现 TPhT 需要经过较长的时间才能被降解得较完全。因此添加一定浓度的吐温 80，增大 TPhT 在水中的溶解度，从而快速提高 TPhT 的降解。图 2 所示，体系中加入吐温 80 后，降解 2 d 后 TPhT 的残余浓度均低于菌体单独降解 TPhT 的对照组。并且当吐温 80 浓度为 80 mg·L⁻¹ 时，降解效果最好，20、50 mg·L⁻¹ 时次之，但相差不大，TPhT 残余浓度为 50% 左右。考虑到 80 mg·L⁻¹ 的浓度偏大，故后续实验中吐温 80 浓度定为 50 mg·L⁻¹。

吐温 80 对苏云金芽孢杆菌降解 TPhT 的促进作用与如下原因有关。首先，吐温 80 提高了 TPhT 溶解度(图 1)，从而有利于菌体吸附溶解的 TPhT，并进一步通过膜运输使之进入细胞内。由于 TPhT 的生物降解主要发生在细胞内，因此，该促进作用有助

于提高 TPhT 的降解率^[8,15]。吐温 80 对三丁基锡的处理也达到了类似的效果，1 单位临界胶束浓度的吐温 80 可以将三丁基锡的溶解度提高 13%^[16]。此外，吐温 80 能调节细胞表面的疏水性，提高菌体和 TPhT 的亲和性，从而增加 TPhT 的生物降解。除了这些原因，在本实验中使用的表面活性剂也可作为碳源供细胞新陈代谢过程中使用^[8]。

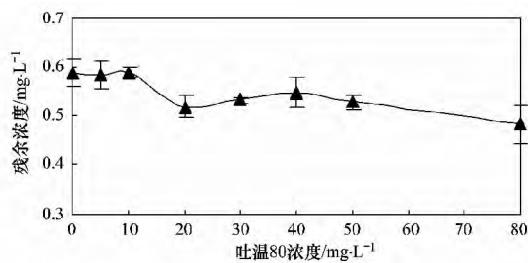


图 2 吐温 80 对 TPhT 降解的影响
Fig. 2 Effect of Tween 80 on TPhT degradation

2.3 菌体降解 TPhT 过程对 Biolog-ECO 板碳源的利用效果

图 3 为降解 TPhT 1 h 和 48 h 后菌体对碳源的利用效果。每孔平均吸光度变化 (AWCD) 是 Biolog-ECO 板上 31 种底物碳源平均颜色变化率，反映微生物群落代谢的总体活性，是衡量微生物利用碳源能力的重要指标^[17~19]。

降解 TPhT 1 h 后菌体对碳源的利用效果如图 3 (a) 所示，随着培养时间的延长，AWCD 值呈现先增加后逐渐趋于稳定的趋势。在 TPhT 存在的情况下，菌体对 31 种底物碳源的综合利用能力均强于对照组，说明 TPhT 在一定程度上刺激了菌体的活性，从而促进了菌体对 ECO 板底物碳源的利用。而添加了吐温 80 的实验组，其 AWCD 值低于不加吐温 80 的实验组，说明在吐温 80 存在的情况下，菌体将吐温 80 作为碳源加以利用，而对底物碳源的利用有所

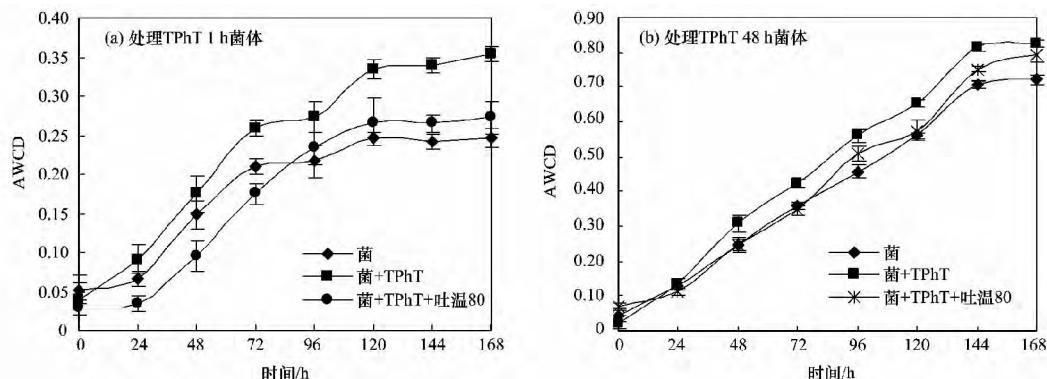


图 3 处理 TPhT 1 h 和 48 h 后菌体对碳源的利用效果
Fig. 3 Utilization of carbon nutrients by cells after degradation of TPhT for 1 h and 48 h

降低。

降解 TPhT 48 h 后, AWCD 值也是随时间延长先增加再趋于稳定, 但到达平衡的时间有所延长, 而且平衡时的 AWCD 值高于降解 TPhT 1 h 后的菌体。该结果说明在 48 h 的降解过程中, 菌体已适应了 TPhT 的毒性, 并能够利用 TPhT 做为能源物质进行新陈代谢, 使得体系中菌体含量多于仅短时间接触 TPhT 的实验组。

2.4 菌体降解 TPhT 过程中的离子代谢

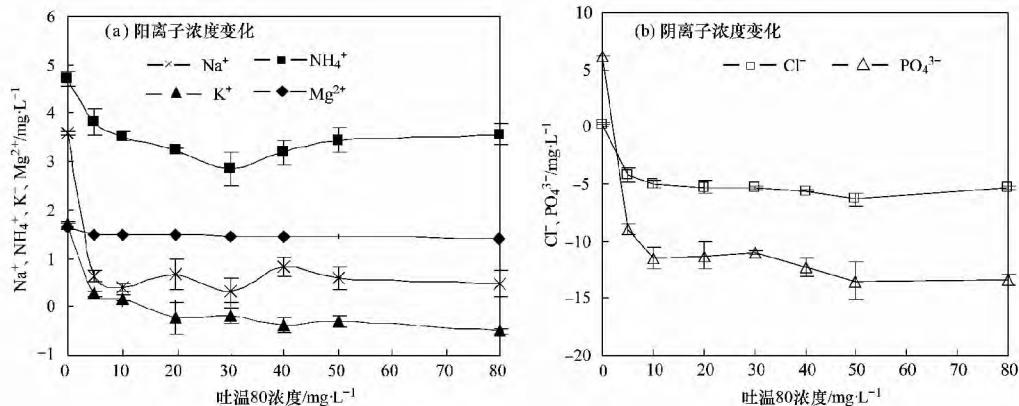
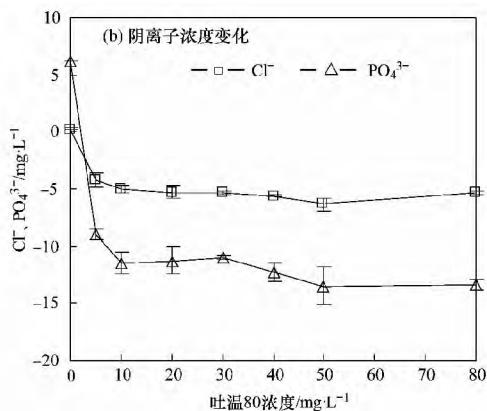


图 4 吐温 80 对 TPhT 降解过程中阴阳离子的影响
Fig. 4 Effect of Tween 80 on ions release during TPhT degradation

受到渗透压或其他胁迫及培养基成分变化时, 细胞会开放膜通道, 使得细胞内外的营养物质或离子发生运输^[21,22]。不同价态离子的膜通道可被众多不同的因素激活, 如胞内和胞外信使、化学试剂和渗透压等^[23]。因此, 在没有 TPhT 和吐温 80 的空白对照体系中, 细菌向体系释放 Cl⁻、PO₄³⁻、Na⁺、NH₄⁺、K⁺ 和 Mg²⁺, 这可能是因为 TPhT 的膜通透性作用, 对菌体产生了一定的毒性影响, 从而促进了胞内离子的释放。在以脂质膜和红细胞膜为代表物开展的研究中, 也证实了 TPhT 可以与细胞膜中的脂质和蛋白质等成分发生作用, 并改变膜结构^[24,25]。实验结果表明, 吐温 80 的投加导致这些离子的释放量减少或吸收量增加, 其中, 菌体对 Cl⁻、PO₄³⁻ 和 K⁺ 呈现了吸收的趋势。随着表面活性剂浓度的增加, 这些离子浓度的变化趋势呈现一定的差异。

由于 Na⁺ 和 K⁺ 在细胞中含量丰富, 其释放被看做是膜通透性改变的标志^[26]。例如, TPhT 对假丝酵母的毒性评估依据就是 K⁺ 的释放和膜流动性的改变^[27]。图 4(a) 显示, 吐温 80 致使 Na⁺ 和 K⁺ 的释放显著减少, 说明吐温 80 减轻了 TPhT 对菌体的毒性作用, 避免了菌体大量死亡或膜通透性过大出现

TPhT 的高脂溶性导致了其易于与细胞接触并侵入细胞^[20], 进而引起细胞内外阴阳离子的变化。同时, 由于 TPhT 微生物降解是代谢依赖过程, TPhT 的降解效果在一定程度上与营养物质的利用相关。为了分析 TPhT 生物降解与离子代谢的关系, 本实验检测了降解 2 d 后体系中几种常规定代谢离子的浓度。图 4 中的离子浓度是减去对照后的结果, 故正值表示菌体释放离子, 负值意味着细菌从无机盐体系中吸收离子。



的胞内离子大量外流。K⁺ 的吸收则进一步说明了吐温 80 改善了菌体在降解 TPhT 过程的代谢。该改善作用也与吐温 80 对菌体降解 TPhT 的促进有关。菌体对 TPhT 降解量的增加相应地也需要增加对胞外离子的吸收。5 mg·L⁻¹ 的吐温 80 使得 Mg²⁺ 释放量略有减少, 之后随着吐温 80 浓度的增加而保持稳定状态。在许多生物过程中, Mg²⁺ 是不可或缺的辅助因子, 特别在酶活性、代谢调控和维持核酸结构稳定性等方面^[28,29]。Mg²⁺ 释放量的减少有利于维持菌体的正常生理代谢。NH₄⁺ 是菌体蛋白 N 末端结构域的组成成分, 这些成分可以降解产生氨基酸残基和 NH₄⁺。而 NH₄⁺ 的释放可能是因为 TPhT 导致部分含 NH₄⁺ 的细胞分子降解引起的。图 4(b) 证实所有检测的离子中, PO₄³⁻ 的浓度变化最为明显, 未加吐温 80 时菌体向体系释放 PO₄³⁻, 添加吐温 80 后, 菌体从体系中吸收 PO₄³⁻, 且 PO₄³⁻ 的吸收量随着吐温 80 的浓度增加而增加。细胞内存在大量的磷酸盐, 如磷酸肌酸、磷酸肌酐、ATP 和 ADP 等^[30]。在细胞内磷酸化反应中, 活细胞可以通过细胞膜吸收 PO₄³⁻。菌体从体系中吸收 PO₄³⁻ 说明细胞在降解 TPhT 的过程中需要大量的能量。Cl⁻ 的变化

规律与 PO_4^{3-} 相似。有报道称有机锡化合物可以调节卤化物和其他无机阴离子通过生物膜的交换扩散^[3], 还可以通过氯化物的交换扩散机制运输有机阴离子通过脂双层^[15]。表 1 的相关性分析显示, 吐

温 80 浓度与 Mg^{2+} 在 0.05 水平上显著负相关。此外, 这些离子相互之间在 0.01 水平上具有显著性, 意味着一些离子的释放可能同其他离子的外排相耦合。

表 1 吐温 80 的浓度与各离子浓度变化的相关关系¹⁾

Table 1 Correlation between Tween 80 concentration and ion concentration

	Tween 80	Cl^-	PO_4^{3-}	Na^+	NH_4^+	K^+	Mg^{2+}
Tween 80	1						
Cl^-	-0.576	1					
PO_4^{3-}	-0.599	0.988 **	1				
Na^+	-0.442	0.942 **	0.964 **	1			
NH_4^+	-0.415	0.882 **	0.851 **	0.853 **	1		
K^+	-0.697	0.967 **	0.975 **	0.913 **	0.877 **	1	
Mg^{2+}	-0.739 *	0.960 **	0.970 **	0.906 **	0.839 **	0.990 **	1

1) * 表示在 $P=0.05$ 水平时的相关性; ** 表示在 $P=0.01$ 水平时的相关性

2.5 TPhT 降解产物分析及机制研究

图 5 显示, 在 7 d 内 TPhT 逐渐被菌体降解转化成毒性较小的二苯基锡 (DPhT) 和一苯基锡 (MPhT)。但是在降解后的溶液中, 没有检测到苯, 这意味着苏云金芽孢杆菌对 TPhT 的降解是从裂解苯环开始的, 而不是始于苯环和锡原子之间共价键的断裂。第 3 ~ 7 d TPhT 的降解速度明显低于前两天。造成该结果的原因主要与以下 3 个方面原因有关: ① 随着浓度的下降, 残余的 TPhT 接触细胞并与官能团或酶等结合的机会也相应减少; ② 随着 TPhT 的降解, 无机盐营养体系中养分被消耗而逐渐减少, 图 4 已证实了体系离子浓度的变化情况; ③ 菌体的生物量和细胞代谢活性受到 TPhT 的负面影响。在短芽孢杆菌对 TPhT 的生物降解中已经发现在 TPhT 和其代谢产物作用下一些细胞发生了凋亡^[8]。

随着时间的延长, DPhT 的浓度几乎呈线性下降, 说明 TPhT 转化为 DPhT 后被进一步降解。然而, MPhT 的初始浓度较低, 大概在 $0.08 \sim 0.11 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这有可能是因为 MPhT 快速转化为无机锡, 又或者是在第一天 TPhT 和 DPhT 降解为 MPhT 的速率缓慢。降解 3 d 后, MPhT 的浓度高于 DPhT。由于 TPhT 的结构中 3 个苯环均直接与锡原子相连接, 所以这些苯环可能同步裂解或是分别裂解, 从而导致了 TPhT 可以同时降解成 DPhT 和 MPhT; 而且 DPhT 也可以降解为 MPhT, 从而导致了此时 MPhT 的累积。

为了验证上述推论, 用苏云金芽孢杆菌分别降解了初始浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPhT 和 MPhT(图 6)。图 6 表明, 苏云金芽孢杆菌不仅能降解 TPhT, 而且

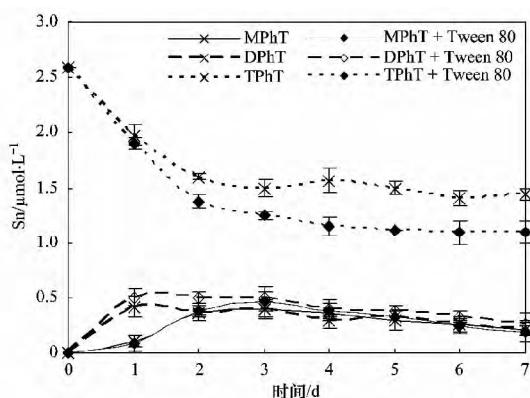


图 5 三苯基锡及其降解产物的浓度随时间的变化

Fig. 5 Changes in the concentration of TPhT and its degradation products with time

能降解其产物 DPhT 和 MPhT。从图 6(b)可以看出菌体在降解 DPhT 的过程中会产生 MPhT, 且随着降解时间的推移, 生成的 MPhT 又被进一步降解。而自第 3 d 起 MPhT 的浓度便逐渐降低, 说明 MPhT 的降解速率要高于生成速率, 因此, MPhT 被生物转化成无机锡的过程不是 TPhT 降解的限速步骤。MPhT 在第 3 d 的累积(图 5)证实了 MPhT 是 DPhT 的降解产物外, 还有一部分 MPhT 是由 TPhT 直接降解而成的。相对于 TPhT 而已, MPhT 的毒性较低。此外, 就 3 种苯基锡的分子结构复杂程度来说, TPhT 的结构最复杂, 分子最大, 菌体对其利用不如 DPhT、MPhT 容易。故随着降解时间的延长, MPhT 降解率显示逐渐增加的趋势。

运用动力学模型中常用的准一级动力学方程和准二级动力学方程对 MPhT、DPhT、TPhT 这 3 种苯基锡的降解过程进行拟合, 发现准二级动力学方程

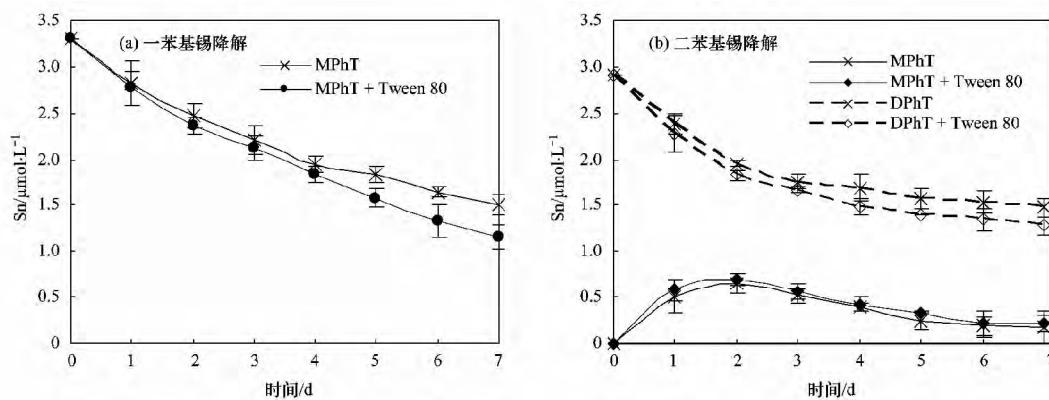


图 6 一苯基锡和二苯基锡的生物降解效果
Fig. 6 Changes in the concentration of MPhT and DPhT with time

能够很好地描述 3 种苯基锡的降解规律(表 2), 其中 r^2 值均大于 0.960。而拟合结果表明可以利用准

二级动力学模型预测菌体在不同时间里对 3 种苯基锡的降解规律。

表 2 3 种有机锡微生物降解过程的动力学方程拟合参数

Table 2 Parameters of the kinetic models used to describe the biodegradation of three kinds of OTC

处理	准一级动力学方程			准二级动力学方程		
	k	q_e	r^2	k	q_e	r^2
MPhT	0.429	0.008	0.967	15.963	0.011	0.994
MPhT + Tween 80	0.421	0.010	0.929	10.343	0.014	0.960
DPhT	0.537	0.005	0.988	67.427	0.006	0.983
DPhT + Tween 80	0.535	0.006	0.996	60.961	0.007	0.994
TPT	0.475	0.002	0.815	255.886	0.004	0.985
TPhT + Tween 80	0.850	0.006	0.995	117.948	0.006	0.984

3 结论

(1) 投加量在 5~80 mg·L⁻¹ 范围内, TPhT 的溶解度随着吐温 80 浓度的增加而增加。苏云金芽孢杆菌和吐温 80 共同处理 1 mg·L⁻¹ TPhT 2 d 后, TPhT 残余浓度降为 48.4%。

(2) 菌体处理 TPhT 过程会向无机盐体系释放一定量的 Na⁺、NH₄⁺、K⁺、Mg²⁺、PO₄³⁻ 和 Cl⁻, 吐温 80 的加入可显著地降低细胞内 Na⁺、NH₄⁺ 和 Mg²⁺ 的释放, 增加菌体对细胞外 Cl⁻、PO₄³⁻ 和 K⁺ 的吸收。

(3) 苯基锡的生物降解始于苯环裂解, TPhT 中各苯环的开环反应可以单独进行, 亦可同步发生, 进而产生 DPhT、MPhT 和无机锡。

参考文献:

- [1] Cruz A, Caetano T, Suzuki S, et al. *Aeromonas veronii*, a tributyltin (TBT)-degrading bacterium isolated from an estuarine environment, Ria de Aveiro in Portugal [J]. *Marine Environmental Research*, 2007, **64**(5): 639-650.
- [2] Rantakokko P, Hallikainen A, Airaksinen R, et al.
- [3] Sakultantimetha A, Keenan H E, Beattie T K, et al. Acceleration of tributyltin biodegradation by sediment microorganisms under optimized environmental conditions [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2010, **64**(6): 467-473.
- [4] Dubey S K, Roy U. Biodegradation of tributyltins (organotins) by marine bacteria [J]. *Applied Organometallic Chemistry*, 2003, **17**(1): 3-8.
- [5] Stasinakis A S, Thomaidis N S, Nikolaou A, et al. Aerobic biodegradation of organotin compounds in activated sludge batch reactors [J]. *Environmental Pollution*, 2005, **134**(3): 434-438.
- [6] Liscio C, Carro M D, Magi E. Comparison of two analytical methods for the determination of organotin compounds in marine organisms [J]. *Comptes Rendus Chimie*, 2009, **12**(8): 831-840.
- [7] Zachariadis G A, Rosenberg E. Speciation of organotin compounds in urine by GC-MIP-AED and GC-MS after ethylation and liquid-liquid extraction [J]. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*,

- 2009, **877** (11–12) : 1140–1144.
- [8] Ye J S, Yin H, Peng H, et al. Biosorption and biodegradation of triphenyltin by *Brevibacillus brevis* [J]. *Bioresource Technology*, 2013, **129** : 236–241.
- [9] Kim I S, Park J S, Kim K W. Enhanced biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons using nonionic surfactants in soil slurry [J]. *Applied Geochemistry*, 2001, **16** (11–12) : 1419–1428.
- [10] 支银芳, 陈家军, 杨官光, 等. 表面活性剂溶液清洗油污土壤试验研究 [J]. *土壤*, 2007, **39** (2) : 252–256.
- [11] 马满英, 刘有势, 施周. 生物与化学表面活性剂对多氯联苯的协同增溶作用 [J]. *生态环境*, 2008, **17** (2) : 466–470.
- [12] 赵保卫. 增效试剂对难降解有机物的增溶作用、机理及生物可利用性影响 [D]. 杭州: 浙江大学, 2004. 4–5.
- [13] Heroult J, Nia Y, Denaix L, et al. Kinetic degradation processes of butyl-and phenyltins in soils [J]. *Chemosphere*, 2008, **72** (6) : 940–946.
- [14] Marcic G, Hecho I L, Denaix L, et al. TBT and TPhT persistence in a sludged soil [J]. *Chemosphere*, 2006, **65** (11) : 2322–2332.
- [15] Ortiz A, Teruel J A, Aranda F J. Effect of triorganotin compounds on membrane permeability [J]. *Biochimica et Biophysica Acta BBA-Biomembranes*, 2005, **1720** (1–2) : 137–142.
- [16] Sakultantimetha A, Keenan H E, Beattie T K, et al. Bioremediation of tributyltin contaminated sediment: degradation enhancement and improvement of bioavailability to promote treatment processes [J]. *Chemosphere*, 2011, **83** (5) : 680–686.
- [17] 王强, 戴九兰, 吴大千, 等. 微生物生态研究中基于 BIOLOG 方法的数据分析 [J]. *生态学报*, 2010, **30** (3) : 817–823.
- [18] 叶锦韶, 田云, 尹华, 等. 三苯基锡的微生物降解及其对降解菌的影响 [J]. *环境科学*, 2013, **34** (9) : 3607–3612.
- [19] 李跃鹏, 尹华, 叶锦韶, 等. 外源微生物对土壤中镉形态及微生物多样性的影响 [J]. *化工学报*, 2012, **63** (6) : 1850–1858.
- [20] Gadd G M. Microbial interactions with tributyltin compounds: detoxification, accumulation, and environmental fate [J]. *Science of the Total Environment*, 2000, **258** (1–2) : 119–127.
- [21] Monti J L E, Montes M R, Rossi R C. Alternative cycling modes of the Na⁺/K⁺-ATPase in the presence of either Na⁺ or Rb⁺ [J]. *Biochimica et Biophysica Acta BBA-Biomembranes*, 2013, **1828** (5) : 1374–1383.
- [22] Gopalani N K, Meena R N, Prasad D N, et al. Cooperativity between inhibition of cytosolic K⁺ efflux and AMPK activation during suppression of hypoxia-induced cellular apoptosis [J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2012, **44** (1) : 211–223.
- [23] Song H D, Beck T L. Temperature dependence of gramicidin channel transport and structure [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2013, **117** (8) : 3701–3712.
- [24] Man D. Fluidity of liposome membranes doped with organic tin compounds: ESR study [J]. *Journal of Liposome Research*, 2008, **18** (3) : 225–234.
- [25] Bonarska-Kujawa D, Kleszczyńska H, Przestalski S. The location of organotins within the erythrocyte membrane in relation to their toxicity [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, **78** (1) : 232–238.
- [26] Buckel W, Thauer R K. Energy conservation via electron bifurcating ferredoxin reduction and proton/Na⁺ translocating ferredoxin oxidation [J]. *Biochimica et Biophysica Acta BBA-Bioenergetics*, 2013, **1827** (2) : 94–113.
- [27] White J S, Tobin J M. Role of speciation in organotin toxicity to the yeast *Candida maltosa* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, **38** (14) : 3877–3884.
- [28] Zorbas Y G, Kakuris K K, Federenko Y F, et al. Utilization of magnesium during hypokinesia and magnesium supplementation in healthy subjects [J]. *Nutrition*, 2010, **26** (11–12) : 1134–1138.
- [29] Romani A. Regulation of magnesium homeostasis and transport in mammalian cells [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2007, **458** (1) : 90–102.
- [30] Barat R, Montoya T, Borrás L, et al. Interactions between calcium precipitation and the polyphosphate-accumulating bacteria metabolism [J]. *Water Research*, 2008, **42** (13) : 3415–3424.
- [31] Gabrielska J, Kral T, Langner M, et al. Different effects of di- and triphenyltin compounds on lipid bilayer dithionite permeabilization [J]. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 2000, **55** (9–10) : 758–763.