

表面活性剂对微生物脱除柴油中有机硫的影响

姜成英¹, 李磊², 杨永谭³, 邢建民¹, 刘会洲¹, 陈家镛¹

(1. 中国科学院过程工程研究所分离科学与工程青年实验室及生化工程国家重点实验室, 北京 100080;
2. 烟台大学化工系, 山东 烟台 264000; 3. 中石化石油化工科学研究院, 北京 100075)

摘要:采用假单胞菌(*Pseudomonas delafieldii*)菌株 R-8 和红色红球菌(*Rhodococcus erythropolis*)菌株 N1-36 研究了加氢精制柴油脱硫工艺, 两株菌脱除柴油中有机硫的活性相近. 添加表面活性剂能提高菌株对柴油的脱硫率; 当 Tween80 存在、搅拌转速为 250 r/min 时, 菌株 R-8 最高可脱除硫含量 < 300 mg/L 的柴油中 72% 的有机硫; 但当硫含量超过 1000 mg/L 时, 微生物脱硫率极低.

关键词:柴油; 微生物脱有机硫; 表面活性剂

中图分类号: Q819 文献标识码: A 文章编号: 1009-606X(2002)02-0122-05

1 前言

正在兴起的生物催化脱硫(Biocatalysis desulfurization, 简称 BDS)技术具有选择性高^[1-6]、副反应少、反应条件温和、设备简单、运行费用低、投资少、对燃料热值影响小和不造成二次污染等优点, 逐渐成为令人瞩目的清洁石油燃料生产技术, 有望成为传统加氢脱硫过程的辅助途径进行含硫燃料的精加工, 达到深度脱硫的要求, 引起了众多科学家和工程师的兴趣.

本研究利用筛选得到的能通过“选择性脱硫”途径脱除模型化合物中硫的微生物菌株, 处理不同来源的加氢柴油, 采用气相色谱-原子发射光谱仪分析经细菌处理后的加氢柴油中各种硫化物的变化. 研究了表面活性剂在不同条件下对加氢柴油进行微生物脱硫的影响, 以及微生物对不同加氢柴油作用的效果.

2 材料与方法

2.1 菌种

选取从炼油厂污水处理池耗氧活性污泥中筛选得到的德氏假单胞菌(*Pseudomonas delafieldii*)菌株 R-8^[7,8]及红色红球菌(*Rhodococcus erythropolis*)菌株 N1-36^[1]进行加氢柴油脱硫研究. R-8 菌体为直短杆状, 尺寸(0.6~0.8) μm \times (1.4~1.6) μm , 不形成孢子链或螺旋形, 能运动, 鞭毛单根极生, 不产生鞘或突起物, 革兰氏染色阴性, 抗酸染色阴性, 细胞壁不含二氨基庚二酸, 无特征性糖^[7].

2.2 仪器与试剂

仪器: HP GC6890 带电子压力控制(EPC)的分流/不分流进样口配原子发射光谱检测器(HP G2350A AED)和自动进样器(HP7683), 化学工作站(HP Chemstation Rev. A Plus Family7.01, 美国 Aligent 公司)用来进行数据分析和处理.

试剂与样品: 4,6-二甲基二苯并噻吩购买于日本 TCI 公司. 加氢精制 63[#]柴油及加氢柴油 RHS-B1, RHS-B2 及 RHS-B3 由中国石化总公司石油化工研究院提供.

培养基: 脱硫菌种的无机盐基础培养基(BSM)组成为(g/L): KH_2PO_4 2.44, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

收稿日期: 2001-05-17, 修回日期: 2001-09-13

基金项目: 国家重点基础研究专款资助项目(编号: G20000048004)

作者简介: 姜成英(1968-), 女, 内蒙古包头市人, 博士, 助理研究员, 化学工程专业.

14.03, NH_4Cl 2.00, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.36, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.001, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.001, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001; 微量元素(mg/L): CuCl_2 0.755, ZnCl_2 0.1, $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.02, H_3BO_4 0.3; 碳源: 葡萄糖 1~3 g/L(或甘油 0.2%, φ); 调节 pH 为 7.0~7.2.

2.3 实验方法

2.3.1 静止细胞的制备

细胞在以二甲亚砜为唯一硫源的无机盐基础培养基中培养至对数后期停止培养, 菌悬液离心分离, 用 pH 为 7 的 0.1 mmol/L 磷酸缓冲液洗 2 次并离心. 将下层菌相浓缩悬浮于同样的磷酸缓冲液中, 置于 -20°C 冰箱保存.

2.3.2 静止细胞催化柴油脱硫实验

3 个 300 ml 锥形瓶中各加入 25 ml 充氧灭菌的柴油, 再在其中分别加入 0.175 g Tween80, Span80 和 TrintonX-100, 摇匀, 然后各加入 25 ml BSM 及 R-8 的静止细胞磷酸缓冲液悬浮液, 使 OD_{600} 为 0.4. 另 1 个含有 0.175 g Tween80 的锥形瓶中加入 25 ml BSM 和菌株 N1-36 的静止细胞悬浮液. 用不加表面活性剂和不加菌悬液的样品作为无菌对照. 将各锥形瓶置于 170 r/min、恒温 32°C 的振荡培养箱中反应 72 h.

3 个 300 ml 锥形瓶中分别加入 25 ml 灭菌充氧的柴油, 再分别加入 0.175 g Tween80, 25 ml BSM 及冰箱保存的菌株 R-8 静止细胞悬浮液, 使 OD_{600} 为 0.4. 然后分别在转速 170, 250, 350 r/min 及 32°C 恒温下反应 72 h.

不同的加氢柴油加入 Tween80 及 BSM 和 R-8 静止细胞磷酸缓冲液悬浮液, 在 170 r/min 及 32°C 时恒温反应 72 h.

2.3.3 柴油中硫含量及含硫化合物分布的测定

将柴油及反应后的样品离心分离得到的油相用气相色谱-原子发射光谱仪(GC-AED)分析, 分离柱为 PONA 柱(50 m \times 0.20 mm \times 0.5 μm 液膜厚度), 直接接到石英放电管上. 柱温从 120°C 起以 $1.5^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升至 270°C 保持 10 min. 进样口温度 280°C , 载气为高纯氦气(99.9999%), 以流速 0.8 ml/min 恒流操作. AED 传输管线(xfer line)的温度为 280°C , 腔体(cavity)的温度为 280°C , H_2 , O_2 为试剂气. 数据的采集速率为 5 Hz. 碳元素检测波长 193 nm, 硫元素检测波长 181 nm. 通过元素分析及与标准化合物谱图对照确定杂环含硫化合物, 用苯并噻吩作为定量响应因子进行各含硫化合物中硫含量和总硫的定量分析.

3 结果与讨论

3.1 不同表面活性剂的影响

由于摇床转速较低, 锥形瓶中油水相混合效果差, 所以添加不同的表面活性剂, 以使油水相形成微乳液. 表 1 为低硫 63#加氢精制柴油在不同细菌(R-8 和 N1-36)或同种菌种、不同表面活性剂存在时, 进行生物脱硫后各主要含硫化合物的分布. 图 1 为该柴油在不同条件下生物脱硫后, 含硫化合物变化的 GC-AED 图. 结果表明: 菌株 R-8 生物催化脱硫率在表面活性剂存在的条件下, 可依赖于形成的适宜的微乳液而增强. 相同浓度的不同表面活性剂对脱硫效果影响不同, Tween80 更适于柴油催化脱硫过程. 无表面活性剂存在时, 菌株 R-8 也可以脱硫, 这可能是由于其代谢含硫化合物过程中可产生磺酸盐表面活性剂, 这些表面活性剂的产生有利于油水相形成微乳液, 但静止细胞产生的表面活性剂量太少, 油水相乳化不好, 所以脱硫效果不好. 相同菌种添加不同表面活性剂, 对不同含硫化合物中硫的脱除率不同, 这表明表面活性剂的加入会改变菌种的选择性.

菌株 R-8 和 N1-36 脱硫率的比较表明, 相同条件下, 从自然界筛选得到的菌株 R-8 的脱硫活性与参考菌株 N1-36 相近, 且对生长条件要求不苛刻, 具有工业化应用的前景。

表 1 63#加氢柴油生物脱硫前、后主要含硫化合物的分布
Table 1 Distribution of main sulfur-containing compounds in 63# hydrogenated diesel oil before and after biodesulfurization

Main heterocyclic organic sulfur compounds	Sulfur content (mg/L)				
	Diesel oil	R-8, Tween80	R-8, Span80	R-8, TrintonX-100	N1-36, Tween80
Dibenzothiophene(DBT)		—	5.3	3.1	—
4-MDBT	7.2	2.9	3.1	3.2	2.2
4,6-DMDBT	22	12.6	13.2	13.6	12.3
2,4-DMDBT	5	3.2	3	2.9	2.9
2,8-DMDBT	8	3.4	4.7	3.3	3.3
1,2-DMDBT	15	7.8	8	7.2	7.2
2,4,6-TMDBT	6.5	7.1	7.1	5.2	6.2
C ₃ -DBT	41	27	28.5	34.3	24.1
Total sulfur	111	64	73.6	80	61.0
Desulfurization (%)		42.3	33.7	27.9	45.4

Note: Desulfurization= $[(X-X_0)/X_0]$, X and X₀ are the sulfur contents of diesel oil after and before biodesulfurization, respectively; oil:BSM=1:1, 32°C, 170 r/min, OD₆₀₀=0.4.

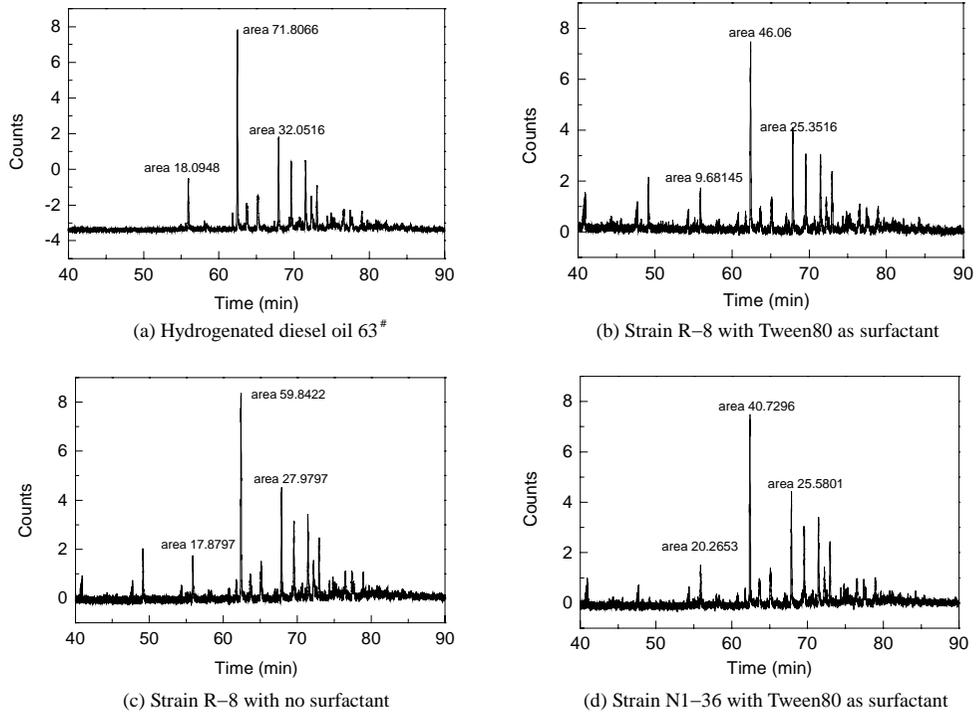


图 1 63#加氢柴油生物脱硫前后含硫化合物变化的 GC-AED 图
Fig.1 GC-AED graphs of main sulfur-containing compounds in 63# hydrogenated diesel oil before and after biodesulfurization

3.2 不同搅拌转速下的脱硫结果

表 2 为不同转速下加氢精制柴油 RHS-B3 经菌株 R-8 生物脱硫的结果 表明 Tween80 存在时, 适当提高转速有利于提高脱硫率, 转速为 250 r/min 时脱硫率是转速为 170 r/min 时的 1.3 倍。因为转速增大使表面活性剂作用下油水相形成的微乳液的液滴尺寸减小, 适宜的微乳液液滴尺寸增加

了油水相接触界面, 增强了生物催化脱硫作用. 而当转速继续增大时, 油水相进一步密切接触, 限制了微生物催化剂与油品的作用.

表 2 搅拌转速对主要含硫化合物分布的影响

Table 2 Effect of agitation speed on removal of main sulfur-containing compounds

Main heterocyclic organic sulfur compounds	Sulfur content (mg/L)			
	Diesel oil	Agitation speed (r/min)		
		170	250	350
4-MDBT	10.2	3.8	4.2	4.8
3-MDBT	1.8	—	—	—
4-EDBT	4.1	1.8	1.9	2.2
4,6-DMDBT	45.9	23.2	15.7	16.9
2,4-DMDBT	10.4	4.8	3.9	4.1
2,8-DMDBT	12.5	8	5.4	4.7
1,2-DMDBT	24.4	20.5	7.8	7.6
2,4,6-TMDBT	17.3	13.1	7.15	6.3
C ₃ -DBT	13.5	10.7	6.9	7.2
C ₄ -DBT	10.2	5.8	4.3	13.6
Total sulfur	261	120	73	81
Desulfurization (%)		54	72	69

Note: Reaction conditions: oil/BSM=1, 32°C, OD₆₀₀=0.4, surfactant Tween80, diesel oil RHS-B3, using strain R-8, reaction time 72 h.

3.3 不同加氢柴油的生物脱硫

随分子结构、反应温度、催化剂及工艺条件的不同, 石油馏份中硫化物加氢分解后硫含量和硫的分布不同. 对于硫含量相当的柴油馏份, 在相同的催化剂和工艺条件下, 硫的脱除效率差别很大. 因此, 仅用柴油馏份中总硫的信息不能决定微生物脱硫与加氢脱硫的协同作用. 表 3 为不同加氢条件下加氢柴油用菌株 R-8 生物脱硫的结果. 结合表 1 可以看出, 相同反应条件下, 添加 Tween80 后, 以低硫含量(<300 mg/L)的加氢柴油为原料, 采用生物脱硫技术可大大降低硫含量, 脱硫率最高可达 65%; 而对硫含量为 925 mg/L 的加氢柴油采用生物脱硫技术, 脱硫率只有 41%, 对于硫含量更高的加氢柴油, 所选菌株的脱硫率很低. 因此要实现工业化应用, 需进一步提高菌种的活性和对柴油的耐受性或改变生物脱硫过程中的反应条件, 才能达到深度脱硫的目的.

表 3 不同的加氢柴油脱硫前、后主要含硫化合物的分布
Table 3 Distribution of main sulfur-containing compounds before and after biodesulfurization for different diesel oils

Main heterocyclic organic sulfur compounds	Sulfur content (mg/L)					
	RHS-B1	Biodesulfurized	RHS-B2	Biodesulfurized	RHS-B3	Biodesulfurized
DBT	15.0	10.1	2.5	—	—	—
4-MDBT	113.9	148.9	50.2	43.2	10.2	—
3-MDBT	45.2	55.8	12.3	—	1.8	—
4-EDBT	31.7	42.5	17.6	14.8	4.1	1.9
4,6-DMDBT	88.1	112.6	85.0	79.3	45.9	16.9
2,4-DMDBT	106.2	155.6	47.5	41.3	10.4	4.1
2,8-DMDBT	103.8	142.8	63.5	56.6	12.5	4.7
1,2-DMDBT	46.2	60.8	45.0	40.8	24.4	7.6
2,4,6-TMDBT	84.1	62.1	52.2	31.3	17.3	6.3
C ₃ -DBT	54.6	41.7	49.2	40.9	13.5	7.2
C ₄ -DBT	92.2	74.8	51.9	18.1	10.2	4.8
Total sulfur	1550	1363	925	545	261	91
Desulfurization (%)		8.8		41		65

Note: Reaction condition: oil/BSM=1, 32°C, agitation speed 170 r/min, OD₆₀₀=0.4, surfactant Tween80, RHS-B1, RHS-B2 and RHS-B3 as diesel oil sample, using strain R-8.

4 结论

(1) 相同条件下,从自然界筛选得到的菌株 R-8 的脱硫活性与参考菌株 N1-36 相近,具有工业化应用的前景

(2) 不同的表面活性剂对微生物脱硫效果的影响不同. 搅拌转速为 170 r/min、温度为 32°C 时,表面活性剂为 Tween80 的微生物脱硫率高于表面活性剂为 Span80 和 TrintonX-100 的脱硫率.

(3) 柴油的硫含量、硫分布影响微生物的脱硫率. 加氢柴油硫含量低于 1000 mg/L 时,微生物脱硫率较高. 硫含量为 925 mg/L 时,脱硫率为 41%;硫含量为 261 mg/L 时,脱硫率为 65%. 当硫含量超过 1000 mg/L 时,微生物脱硫率极低.

(4) 搅拌转速对于加氢柴油的脱硫有明显影响. 非离子表面活性剂 Tween80 存在时,搅拌转速提高,柴油中硫脱除率提高. 当搅拌转速为 250 r/min 时,微生物脱硫率达到最大值 72%. 转速进一步增大将抑制微生物脱硫作用.

参考文献:

- [1] WANG P, Krawiec S. Desulfurization of Dibenzothiophene to 2-hydroxybiphenyl by Some Newly Isolated Bacterial Strains [J]. Arch. Microbiol., 1994, 161: 266-271.
- [2] Monticello D J. Riding the Fossil Fuel Biotransformation Wave: "Catch a Wave and You're Sitting on Top of the World" [J]. Chemtech., 1998, 7: 38-45.
- [3] Omori T, Monna L. Desulfurization of Dibenzothiophene by *Corynebacterium* sp. Strain SY1 [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1992, 58: 911-915.
- [4] Constanti M, Giralt J. Desulfurization of Dibenzothiophene by Bacteria [J]. World J. Microbiol. Biotechnol., 1994, 10: 510-516.
- [5] JIANG C Y, LIU H Z. Biotransformation of Dibenzothiophene by the Strain of *Nocardia Globerula* R-9 [A]. Proceedings of Third Joint China/USA Chemical Engineering Conference [C]. 2000. 119-122.
- [6] 姜成英,王蓉,刘会洲,等. 石油和煤微生物脱硫技术的研究进展 [J]. 过程工程学报, 2001, 1(1): 80-85.
- [7] 姜成英. 微生物催化脱除柴油中含硫化化合物的研究 [D]. 北京: 中国科学院过程工程研究所, 2001. 58-61.
- [8] 姜成英,刘会洲,邢建民,等. 德氏假单胞菌菌株及其在脱除含硫有机化合物中硫的应用 [P]. 中国专利: 01115921.9. 2001-05-28.

Effect of Surfactants on Microbial Removal of Organic Sulfur in Diesel oil

JIANG Cheng-ying¹, LI Lei², YANG Yong-tan³, XING Jian-min¹, LIU Hui-zhou¹, CHEN Jia-yong¹

(1. Youth Lab. Sep. Sci. & Eng., State Key Lab. Biochem. Eng., Inst. Pro. Eng., CAS, Beijing 100080, China;

2. Dept. Chem. Technol., Yantai Univ., Yantai, Shandong 264000; 3. Res. Inst. Petro. Pro., SINOPEC, Beijing 100083)

Abstract: The *pseudomonas delafieldii* strain R-8 and *Rhodococcus erythropolis* N1-36 were used to remove the sulfur from hydrogenated diesel oil. Both strains utilize the organic sulfur compounds from diesel oils with approximate activities. Surfactants can increase the desulfurization rate. When agitating rate was 250 r/min with Tween80 present, the strain can remove 72% of the organic sulfur from low sulfur diesel oil ($S < 300$ mg/L) in 72 h. But when sulfur concentration was higher than 1000 mg/L, the sulfur removal rate of diesel oil by strain R-8 is very low.

Key words: diesel oil; biodesulfurization of organic sulfur; surfactant