

# 生物降解作用对烷基萘异构体分布的影响 及其控制因素

俞 颀<sup>1</sup>, 崔志松<sup>2</sup>, 沈冰芳<sup>1</sup>, 李馨子<sup>2</sup>, 郑 立<sup>2</sup>, 孙永革<sup>1,3\*</sup>

(1. 浙江大学 地球科学系, 浙江 杭州 310027; 2. 国家海洋局 第一海洋研究所 海洋生态研究中心, 山东 青岛 266061; 3. 中国科学院 广州地球化学研究所 有机地球化学国家重点实验室, 广东 广州 510640)

**摘要:** 在受到溢油污染的海滩上采集不同时间序列的石油样品, 对芳烃组分烷基萘中的三甲基萘和四甲基萘各异构体的生物降解过程响应进行了详细分析。研究揭示, 三甲基萘比四甲基萘更易被生物降解, 其中1,2,7-三甲基萘、2,3,6-三甲基萘、2,3,6,7-四甲基萘、1,2,3,7-四甲基萘和1,3,5,7-四甲基萘等异构体具有相对较高的生物降解效率, 与最近 Ostojić 等利用理论模型计算所给出的降解序列十分一致, 进一步证实了烷基萘在表生环境中的降解主要受控于异构体萘环上取代基的数量和位置。研究结果对于表生环境中萘系物类多环芳烃污染的生物修复评价具有重要指导意义。

**关键词:** 烷基萘异构体; 生物降解速率; 溢油污染; 表生环境

中图分类号: P593 文献标识码: A 文章编号: 0379-1726(2014)02-0149-08

## The effect of biodegradation on distribution of alkyl naphthalene isomers and controlling factors

YU Di<sup>1</sup>, CUI Zhi-song<sup>2</sup>, SHEN Bing-fang<sup>1</sup>, LI Xin-zi<sup>2</sup>, ZHENG Li<sup>2</sup> and SUN Yong-ge<sup>1,3\*</sup>

1. Department of Earth Science, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China;

2. The First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266061, China;

3. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

**Abstract:** The time series of oil samples from the oil spill beach were collected to investigate the response of trimethylnaphthalenes and tetramethylnaphthalenes isomers of alkyl naphthalenes in the aromatic fractions to natural biodegradation process. The absolute concentration dynamics of alkyl naphthalenes along time sequence suggest that trimethylnaphthalenes are more easily biodegraded than tetramethylnaphthalenes, and the 1,2,7-trimethylnaphthalene, 2,3,6-trimethylnaphthalene, 2,3,6,7-tetramethylnaphthalene, 1,2,3,7-tetramethylnaphthalene, and 1,3,5,7-tetramethylnaphthalene isomers demonstrate a relatively high biodegradation efficiency. The results are in agreement with the theoretical model by Ostojić *et al.*, indicating that the degradation of alkyl naphthalenes in the surface environment is mainly controlled by the number and location of substituted methyl on the ring cycle. It is of important to imply for the bioremediation strategy-making in terms of polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in surface environment.

**Key words:** alkyl naphthalenes; biodegradation rate; oil spill; supergene environment

收稿日期(Received): 2013-05-24; 改回日期(Revised): 2013-07-24; 接受日期(Accepted): 2013-10-02

基金项目: 国家自然科学基金(41172112); 海洋公益性行业科研专项(200705011); 浙江大学海洋科学种子基金

作者简介: 俞颀(1989-), 女, 硕士研究生, 地球化学专业。E-mail: moguyudi@163.com

\* 通讯作者(Corresponding author): SUN Yong-ge, E-mail: ygsun@zju.edu.cn, Tel: +86-571-87951336

YU Di *et al.*: Biodegradation of alkyl naphthalene isomers and controlling factors

## 0 引言

萘与萘系物是一类常见的多环芳烃(图 1), 因萘环的疏水性导致其易于被微粒所吸附而广泛存在于环境中<sup>[1]</sup>, 其毒性和致癌性已备受关注<sup>[2-3]</sup>。萘的烷基取代异构体不仅是沉积有机质(包括石油、煤)的主要成分之一, 而且也是石油化工生产和加工过程中的主要产物之一, 如 1,6-二甲基萘、1,2,5-三甲基萘、1,2,3,5-四甲基萘、1,2,3,5,6-五甲基萘等<sup>[4]</sup>, 其生物致毒性与其母体分子相当或更强, 由此引起的污染一旦扩散到环境中, 将对区域生态环境造成巨大威胁<sup>[5]</sup>。

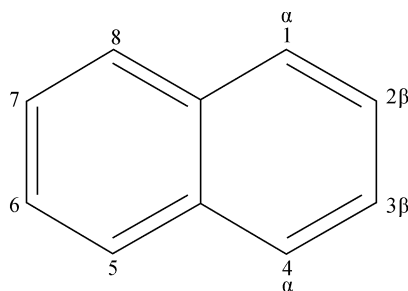


图 1 萘的分子结构和碳位编号

Fig. 1 Chemical structure and numbering of the naphthalene carbon skeleton

自然环境中, 烷基萘类多环芳烃的降解主要依靠细菌和真菌的生物作用<sup>[6]</sup>, 因此, 研究烷基萘在表生环境中的降解过程、效率、影响因素对于污染环境的生物修复具有重要指导意义。烷基萘的生物降解研究最早见于石油地球化学领域。20 世纪 80 年代初, Volkman *et al.*<sup>[7]</sup>利用色谱质谱技术, 研究了生物降解作用对石油中甲基萘和二甲基萘异构体分布的影响, 发现生物降解速率与烷基萘的取代基数量和位置有关, 取代基数量越多, 越难被降解; 相对于  $\alpha$  位取代萘,  $\beta$  位取代异构体更易被降解。Fisher *et al.*<sup>[8]</sup>的研究从实验现象上概括了烷基萘存在 1 号和 6 号位取代基的异构体易遭受生物降解的现象, 但未涉及烷基萘生物降解现象控制因素的本质。Huang *et al.*<sup>[9]</sup>通过一个自然降解油藏剖面的系统分析, 给出了烷基萘的生物降解顺序, 指出烷基化程度越高的异构体, 抗生物降解程度越高, 同时指出, 烷基萘生物降解过程不同于热力学降解过程, 热力学稳定的异构体更易遭到生物降解。所有这些研究表明, 烷基萘不同异构体之间的生物降解存在显著差异性, 而导致这种差异性的根本原因可能与烷基萘异构体分子结构有关, 内能低且结构紧密的异构

体相对容易被生物降解<sup>[10]</sup>。最近, Ostojić *et al.*<sup>[11]</sup>利用目标化合物化学势、偶极距、极化率等与生物降解率的关系, 通过密度泛函理论和极化连续模型, 对三甲基萘各个异构体的极化率和偶极矩进行了计算, 结果显示, 三甲基萘各个异构体电离能基本相等, 而静态偶极极化率平均值从  $\alpha, \alpha, \alpha$ -三甲基萘到  $\beta, \beta, \beta$ -三甲基萘的取代基变化过程中不断增加, 说明色散力和电感力对三甲基萘异构体和细菌特定酶的活性位点的亲和力有影响。据此, Ostojić *et al.*<sup>[11]</sup>提出可以利用三甲基萘异构体极化率对其生物降解率进行预测, 并从理论上给出了表生环境中烷基萘异构体的可能降解顺序。

尽管 Ostojić *et al.*<sup>[11]</sup>的预测结果与地质油藏所观察到的烷基萘降解过程有较好的相似性, 但与表生好氧环境相比, 地质油藏中石油的降解主要属于厌氧过程<sup>[12]</sup>, 因此, Ostojić *et al.*<sup>[11]</sup>的推测是否存在于表生环境仍是一个未知数。本研究利用受溢油污染海滩不同时间序列残留石油样品, 通过烷基萘的定量分析, 主要探讨:(1) 三甲基萘和四甲基萘各异构体在不同时间序列中的含量水平;(2) 三甲基萘和四甲基萘各异构体降解速率变化特征及其与取代基位置、数量的相关性。研究结果不仅是对 Ostojić *et al.*<sup>[11]</sup>理论预测的实际验证, 同时对表生环境中萘系物类多环芳烃污染的生物修复效果评价具有重要指导作用。

## 1 样品和实验

### 1.1 样品背景

原油样品取自中国大连“七·一六”溢油事故所污染的砾石滩, 研究人员<sup>[13]</sup>发现此残留砾石滩时离“七·一六”溢油事故已有 34 天, 为了获得一组自然降解序列, 该砾石滩被要求继续保留近两个月, 分别在发现后的第 0 天、3 天、15 天、32 天和 52 天采集残留溢油样品, 并将其带回实验室冷冻处理待用。

### 1.2 实验条件

分别对第 0 天、3 天、15 天、32 天和 52 天残留溢油样品用二氯甲烷浸泡, 并过无水硫酸钠柱以除去水、泥、砂等杂质, 获得纯净残留油。用过量石油醚沉淀获得沥青质组分, 非沥青质组采用硅胶/氧化铝层析柱, 依次以石油醚、苯、乙醇作洗脱液, 获得饱和烃、芳烃、非烃三个组分。

饱和烃和芳烃组分进行气相色谱-质谱分析, 仪器为 Agilent 5975C 气相色谱质谱联用仪。色谱柱为弹性石英毛细柱(Agilent DB-1M, 60 m×0.32 mm×0.25 μm)。升温程序为始温 60 °C, 恒温 3 min, 然后以 3 °C/min 的升温速率升至 300 °C, 恒温 30 min。进样口温度为 280 °C, 载气为氦气, 流速为 1.0 mL/min, 恒速。EI 模式, 电离能量为 70 eV, 离子源温度 200 °C。全扫描检测, 质量扫描范围为 50~550 u。烷基萘异构体的鉴定依据文献和保留时间确定<sup>[1,4]</sup>, 用氘代菲内标定量。

## 2 结果和讨论

### 2.1 生物降解作用程度

表生环境中, 光氧化降解、水洗、挥发和生物作用对原油中各组分分布均有影响, 导致原油的物理性质和化学组成发生变化, 但这些过程发生的机理有所不同, 使得原油的最终面貌表现出差异性。考虑到原油低分子量组分的挥发性, 研究中没有对萘、甲基萘、二甲基萘作讨论(实际上萘和甲基萘已在检测限以下)。水洗作用主要是选择性地溶解亲水性有机化合物, 如芳香烃、极性杂原子化合物等。随着原油在海滩暴露时间的增加, 研究样品中非烃沥青的含量显著升高, 揭示水洗作用并不是引起原油组分变化的主要原因(表 1)。而光氧化降解过程的最大特点是使原油在量上发生显著改变, 但总体烃类色谱特征在光氧化降解前后并不会发生明显变化, 特别是不会出现生物降解作用所致的 UCM 鼓包。并且与生物降解作用相比, 光氧化降解对烃类化合物的选择性并不明显, 同一系列化合物不同异构体间分异性较弱。大连“七一六”溢油原始油样含有完整的正构烷烃分布, 以及微弱的 UCM 分布<sup>[14]</sup>, 而后期所获得样品有着强烈 UCM 特征, 表明其生物降解作用占有主导地位。

表 1 各个组分含量百分比和回收率  
Table 1 Percentage of each component content and recovery

样号	EP-0D	EP-3D	EP-15D	EP-32D	EP-52D
饱和烃(%)	32.89	28.69	28.79	24.69	26.90
芳烃(%)	28.95	27.69	26.63	19.26	25.89
非烃沥青质(%)	32.02	32.47	34.98	46.17	35.79
回收率(%)	93.86	88.84	90.40	90.12	88.58

如图 2 所示, 海滩发现原始溢油样(第 0 天)显示出重质稠油特征, 正构烷烃几乎消耗殆尽, 气相色

谱质谱总离子流图所揭示饱和烃分布特征优势组分为类异戊二烯烃(姥鲛烷和植烷)和环烷烃。众所周知, 在轻微至中等强度生物降解过程中, Pr/nC<sub>17</sub>, Ph/nC<sub>18</sub><sup>[15-17]</sup>可以作为指示参数, 用于判定原油的生物降解程度, 由于样品中 nC<sub>17</sub>和 nC<sub>18</sub>几乎全部消失, 而姥鲛烷(Pr)、植烷(Ph)保持相对较高的丰度, 即 Pr/nC<sub>17</sub>、Ph/nC<sub>18</sub> 比值趋于无穷大, 说明样品至少遭受了中等强度的生物降解作用, 根据 Peters *et al.*<sup>[15]</sup>对生物降解程度的判别标准, 达到 3 级降解程度。随着溢油样品在表生环境暴露时间的增长, 油组分中饱和烃和芳烃的相对含量明显变小(表 1)。相对于第 0 天样品和第 52 天样品的饱和烃、芳烃含量分别下降了 18.21%和 10.57%, 而非沥青质含量则上升了 23.72%。饱和烃中类异戊二烯烃姥鲛烷、植烷降解显著。芳烃组分也开始遭到不同程度的降解, 第 52 天后菲和甲基菲的降解率分别为 87.71%和 71.42%, 三甲基萘的降解率为 79.24%, 四甲基萘的降解率 20.53%(表 2)。Fisher *et al.*<sup>[18]</sup>在对降解原油、受污染的潮间带沉积物和海底表层沉积物的生物降解研究中, 采用三甲基萘(TBR = 1,3,6-/1,2,4-TMN)和四甲基萘(TeBR = 1,3,6,7-/1,3,5,7-TeMN)比值作为生物降解程度参数, 发现在生物降解等级为 3~5 级时三甲基萘比值(TBR)变化显著, 而四甲基萘比值(TeBR)则在生物降解等级为 5~6 级时才有明显变化。同时, 基于三芳甾烷(TAS)的强抗生物降解性, 利用菲与三芳甾烷(P/TAS)的比值<sup>[19]</sup>和三芳甾烷与芳烃总量(TAS/Aro)的比值<sup>[9]</sup>也可以用于指示生物降解等级, 并且常作为高等级生物降解的指示参数。如表 3 和图 3 所示, 为 TBR、TeBR、P/TAS 和 TAS/Aro 四组生物降解参数的变化趋势, TAS/Aro 和 TeBR 变化很小, 而 TBR 和 P/TAS 随降解时间推移变化很大。TAS/Aro 曲线较为平稳说明, 样品尚未遭受剧烈生物降解, 三芳甾烷没有实质性消耗, TeBR 的微量变化确定了样品总体的生物降解程度不超过 5 级。

### 2.2 生物降解作用过程中烷基萘异构体的分布特征

稠环芳烃的生物降解作用在很大程度上取决于其分子结构, 包括化合物的芳环数量, 取代基数量和位置<sup>[20]</sup>。三甲基萘和四甲基萘异构体的芳环结构相同(同为萘环), 所以烷基取代基数量和位置对其生物降解起主要作用。已有研究表明, 烷基萘同系物的取代基数量越多, 其生物降解抗性越大, 从最易降解到最难降解表现为: 二甲基萘 > 三甲基萘 > 四甲基萘<sup>[7-9]</sup>。对于有相同数量取代基的烷基萘, 取

代基的位置对其生物降解程度影响重大,如2,3-DMN和1,8-DMN是抗生物降解能力最强的二甲基萘异构体<sup>[7]</sup>,2,3,6-TMN是最易降解三甲基萘异构体之一<sup>[9]</sup>。

图4所示为三甲基萘和四甲基萘分布特征,发现在降解过程中,烷基萘各个异构体均存在着不同程度的变化。图5所示为烷基萘异构体取代基数量和位置与其生物降解率之间的关系,总体上可以观察到三甲基萘和四甲基萘降解率随时间推移而增大的趋势。由图5可知,四甲基萘在前15天的生物降解作用比较小,三甲基萘异构体的降解速率明显高于四甲基萘异构体,揭示取代基数量相对少的烷基萘异构体受生物降解影响较大。同时,在三甲基萘和四甲基萘中,各异构体 $\alpha$ 位取代基数量越多,对生物降解抗性越大, $\beta$ 位取代基数量越多,对生物降解敏感性越强,与Ostojić *et al.*<sup>[11]</sup>计算获得的三甲基萘异构体平均极化率顺序一致。三甲基萘异构体对生物降解的敏感性程度由大到小为: $\beta,\beta,\beta- > \alpha,\beta,\beta- > \alpha,\alpha,\beta-$ TMNs,四甲基萘异构体则表现为: $\beta,\beta,\beta,\beta- >$

(a)

$\alpha,\alpha,\beta,\beta- > \alpha,\alpha,\alpha,\beta-$  TeMNs,较好地反映了烷基萘生物降解作用程度与其取代基位置的相关性。

由图6可见,无论是三甲基萘还是四甲基萘,其主要降解过程均发生在0~32天,在这之后的20天中几乎不发生显著变化,生物降解率趋于平稳。暴露32天后,三甲基萘各异构体对生物降解作用的敏感程度由强到弱的表现为:2,3,6-、1,2,7-、1,3,7- $>$ 1,3,6- $>$ 1,2,5- $>$ 1,6,7+1,2,6- $>$ 1,3,5+1,4,6- $>$ 1,2,4-三甲基萘,而至第15天时,则敏感度差异性更为显著:1,2,7- $>$ 2,3,6- $>$ 1,3,7- $>$ 1,3,6- $>$ 1,2,4- $>$ 1,3,5+1,4,6- $>$ 1,6,7+1,2,6-、1,2,5-三甲基萘(图6a)。在这一降解阶段,1,3,7-、1,2,5-、1,6,7+1,2,6-TMNs降解速率相对稳定或呈下降趋势,而1,2,4-、1,2,7-、1,3,5+1,4,6-TMNs的降解速率明显升高,导致上述现象的原因可能是1,2,5-TMN和1,6,7+1,2,6-TMNs存在邻位取代基会使异构体的空间位阻增加而不易被细菌攻击;而1,2,4-TMN中虽然有存在两个 $\alpha$ 位取代基和邻位取代基,但是由于该异构体中存在一个未被取代的环,增加了细菌攻击机率<sup>[7]</sup>,破坏异

(b)

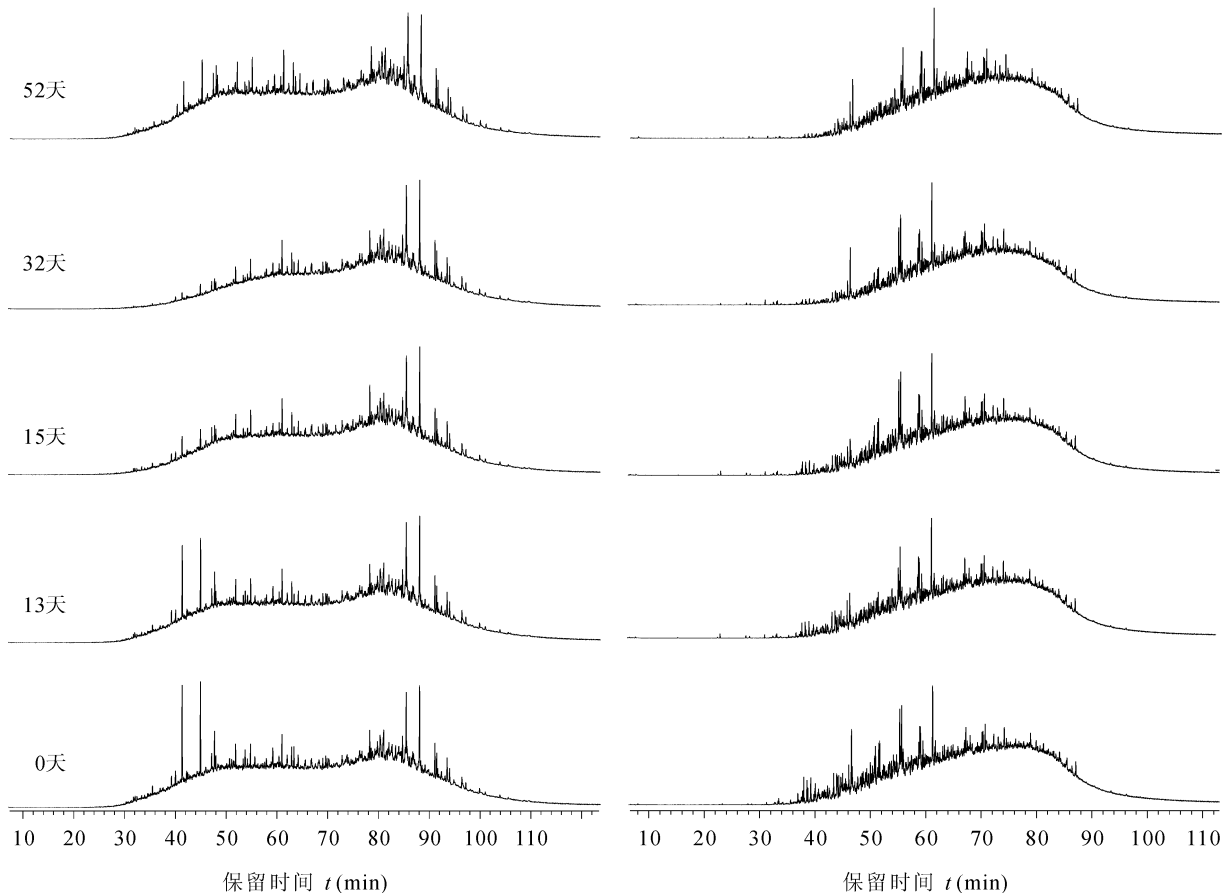


图2 饱和烃(a)和芳烃(b)总离子流图

Fig.2 The total ion chromatograms of saturated hydrocarbons (a) and aromatic hydrocarbons (b)

表 2 类异戊二烯烃、烷基萘、菲和烷基菲化合物含量 ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )  
Table 2 Content of isoprenoids, alkyl naphthalene, phenanthrene, and alkyl phenanthrene compounds

样号	EP-0D	EP-3D	EP-15D	EP-32D	EP-52D
Pr	0.2187	0.1529	0.0380	0.0155	0.0515
Ph	0.1501	0.1057	0.0269	0.0177	0.0479
1,3,7-TMN	0.0102	0.0049	0.0045	0.0015	0.0010
1,3,6-TMN	0.0232	0.0127	0.0108	0.0031	0.0025
1,3,5-/1,4,6-TMN	0.0194	0.0128	0.0102	0.0029	0.0027
2,3,6-TMN	0.0135	0.0062	0.0052	0.0019	0.0011
1,2,7-TMN	0.0038	0.0018	0.0012	0.0005	0.0003
1,6,7-/1,2,6-TMN	0.0227	0.0140	0.0127	0.0037	0.0030
1,2,4-TMN	0.0034	0.0025	0.0017	0.0007	0.0009
1,2,5-TMN	0.0122	0.0070	0.0068	0.0019	0.0015
1,3,5,7-TeMN	0.0138	0.0115	0.0088	0.0037	0.0055
1,3,6,7-TeMN	0.0148	0.0124	0.0104	0.0042	0.0058
1246/1247/1467-TeMN	0.0173	0.0161	0.0127	0.0055	0.0088
1,2,5,7-TeMN	0.0103	0.0094	0.0073	0.0034	0.0054
2,3,6,7-TeMN	0.0045	0.0037	0.0034	0.0014	0.0020
1,2,6,7-TeMN	0.0076	0.0068	0.0056	0.0025	0.0036
1,2,3,7-TeMN	0.0034	0.0025	0.0024	0.0009	0.0011
1,2,3,6-TeMN	0.0114	0.0099	0.0083	0.0035	0.0052
1256/1235-TeMN	0.0114	0.0102	0.0086	0.0039	0.0061
P	0.0307	0.0186	0.0099	0.0071	0.0038
3-P	0.0306	0.0222	0.0100	0.0089	0.0039
2-P	0.0371	0.0322	0.0113	0.0120	0.0049
9-P	0.0483	0.0412	0.0181	0.0173	0.0079
1-P	0.0423	0.0369	0.0222	0.0156	0.0095
TAS	0.1698	0.1586	0.1593	0.1177	0.1372

注: Pr 为姥鲛烷; Ph 为植烷; TMN 为三甲萘; TeMN 为四甲基萘; P 为菲; TAS 为三芳甾烷。

表 3 生物降解参数

Table 3 Parameters of biodegradation

样号	EP-0D	EP-15D	EP-3D	EP-32D	EP-52D
$(\text{TAS}/\text{Aro}) \times 10^{-3}$	5.8750	5.7248	5.9878	6.1009	5.2978
P/TAS	4.1203	3.1318	7.5236	2.4375	1.0828
1,3,6-/1,2,4-TMN	6.7514	5.1444	6.4405	4.3731	2.6990
1,3,6,7-/1,3,5,7-TeMN	1.0725	1.0771	1.1749	1.1376	1.0564

构体结构; 1,3,5+1,4,6-TMN 的结构有两个  $\alpha$  取代基, 且无邻位取代, 故而相对于 1,2,5-TMN 和 1,6,7+1,2,6-TMN 其空间位阻较小, 降解速率较高。令人不解的是, 1,2,4-TMN 降解速率在 32 天后逐渐下降, 可能在生物降解过程中存在缓慢轻微的甲基化过程<sup>[4]</sup>, 易生成邻位和对位取代基异构体, 但是, 其成因还有待讨论。

同等条件下, 四甲基萘与三甲萘相比, 生物

降解率较低(图 6b), 由于样品遭受的生物降解等级为 3~5 级, 四甲基萘生物降解参数(TeBR)变化并不明显, 导致四甲基萘各个异构体的生物降解趋势相对一致。样品在暴露 3 天后, 四甲基萘各个异构体的降解顺序(从大到小)为: 1,2,3,7- > 1,3,6,7-、1,3,5,7-、2,3,6,7- > 1,2,3,6- > 1,2,5,6-+1,2,3,5-、1,2,6,7-、1,2,5,7- > 1,2,4,6-+1,2,4,7-+1,4,6,7-TeMNs, 而到第 15 天时, 1,3,5,7-TeMN 降解率明显高于其他异构体, 至 52 天时, 能明显看出  $\alpha$  取代数量较多的异构体降解率较低。1,2,3,7-TeMN 优先降解的原因可能是其本身内能较低并且 7 号位置是烷基取代基的三号位和五号位的重合位置, 使其反应活性较高<sup>[4]</sup>, 更容易遭到生物攻击所致, 但其优先降解原因仍值得探讨。

### 2.3 烷基萘生物降解作用控制因素

从本质上讲, 表生环境条件和烷基萘异构体结构这两个因素制约着烷基萘的生物降解程度, 其中外部环境的温度和盐度、pH 值等因子是生物降解的先决条件。Bernard *et al.*<sup>[21]</sup>认为高盐度油源中低于 80 °C 条件下有利于生物降解, 并随着温度的升高生物降解程度减小。Yuan *et al.*<sup>[22]</sup>在烷基萘降解中, 研究了外部环境对样品生物降解的影响, 发现 30 °C 条件下, pH = 6~8 的情况下, 烷基萘的生物降解速率较高。本研究样品采集实验区域为海水冲刷不到的潮上带溢油污染区, 相对干燥且土壤盐度较高, 采集季节为八月, 日平均气温 30~32 °C, 对微生物生长十分有利。

在合适的表生环境中, 烷基萘的生物降解程度取决于其自身化学结构特性, 对其生物降解作用起

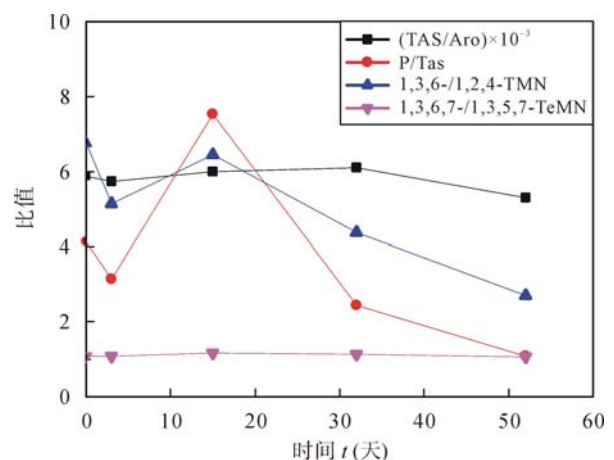


图 3 生物降解参数变化趋势

Fig.3 The trends of biodegradation parameters

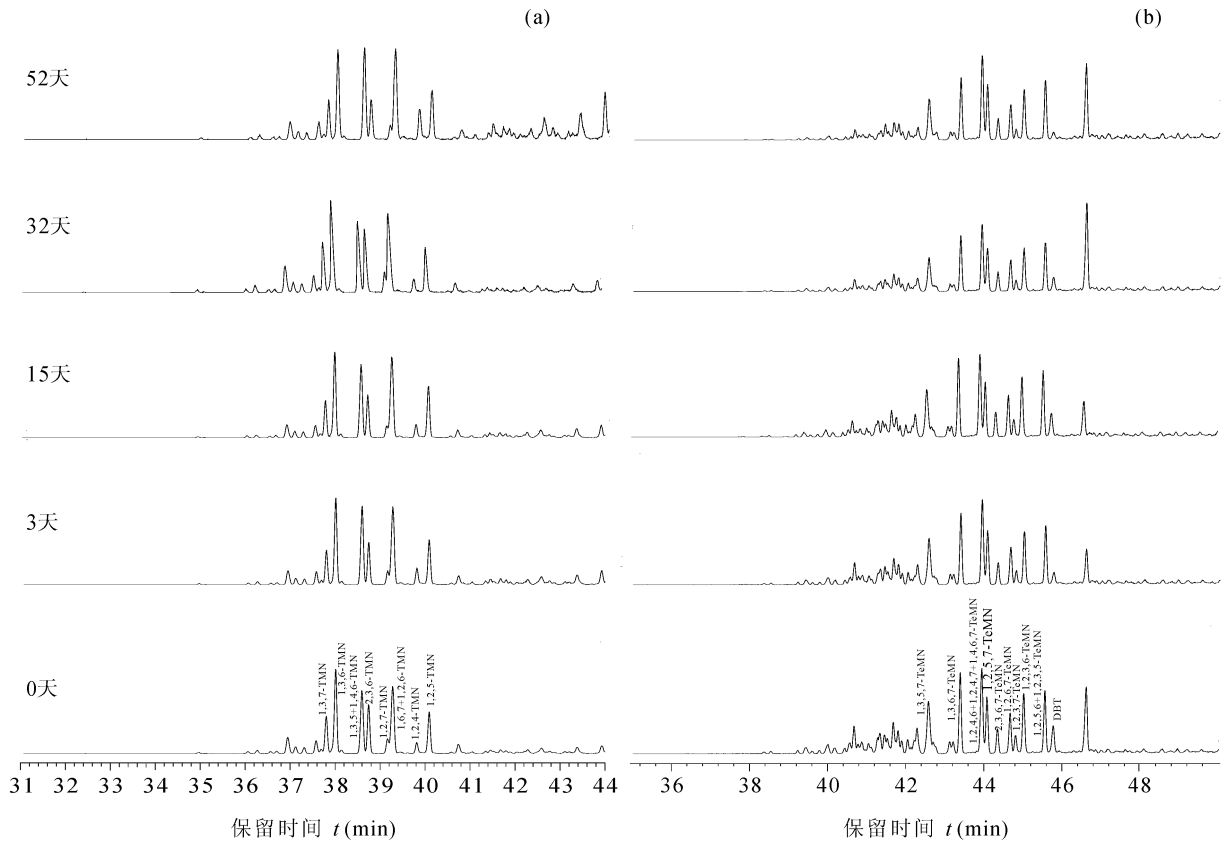


图4 生物降解原油中三甲基萘(TMNs) (a)和四甲基萘(TeMNs) (b)分布特征

Fig.4 The distribution of trimethylnaphthalenes (TMNs) (a) and tetramethylnaphthalenes (TeMNs) (b) in biodegraded oil

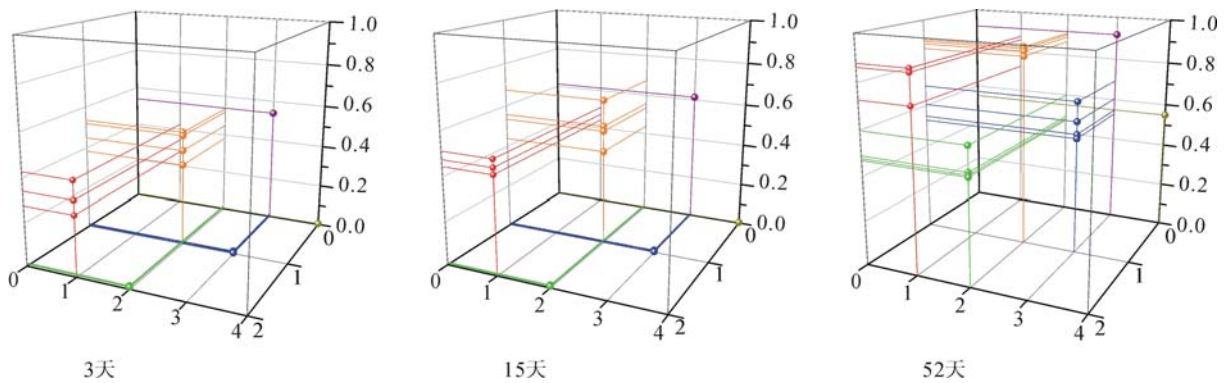


图5 三甲基萘(TMNs)和四甲基萘(TeMNs)取代基位置和数量与其生物降解率关系

Fig.5 The relationship between substituent position and number of trimethylnaphthalenes (TMNs) and tetramethylnaphthalenes (TeMNs) and their biodegradation rates

红色球表示 α,α,β- TMNs; 橙色球表示 α,β,β- TMNs; 紫色球表示 β,β,β-TMNs; 绿色球表示 α,α,α,β-TeMNs; 蓝色球表示 α,α,β,β-TeMNs; 黄色球表示 β,β,β,β-TeMNs。

The red balls for α,α,β- TMNs; the orange balls for α, β,β- TMNs; the purple balls for β, β,β-TMNs; the green balls for α,α,α,β- TeMNs; the blue balls for α,α,β,β-TeMNs and the yellow balls for β,β,β,β-TeMNs.

到决定性作用, 表现为以下 4 个方面: (1) 取代基数量较多的烷基萘化合物对生物降解抗性较强, 由图 5 可知, 三甲基萘生物降解速率明显高于四甲基萘, 与前人<sup>[7-9]</sup>研究发现烷基萘的生物降解速率趋势相符(从最易降解到最难降解)——二甲基萘 > 三甲基萘 > 四甲基萘; (2) 在取代基数量相同的情况下,

邻位取代会导致烷基萘分子空间位阻增大, 会导致化合物不易被生物降解, 如图 6 所示, 1,2,5-TMN 和 1,6,7+1,2,6-TMNs 存在邻位取代基会使异构体的空间位阻增加而不易被细菌攻击; (3) 若烷基取代基都分布在同一环上, 另一个未被取代的环会遭受细菌攻击而被降解<sup>[4]</sup>, 如 1,2,4-TMN, 同环取代会导致



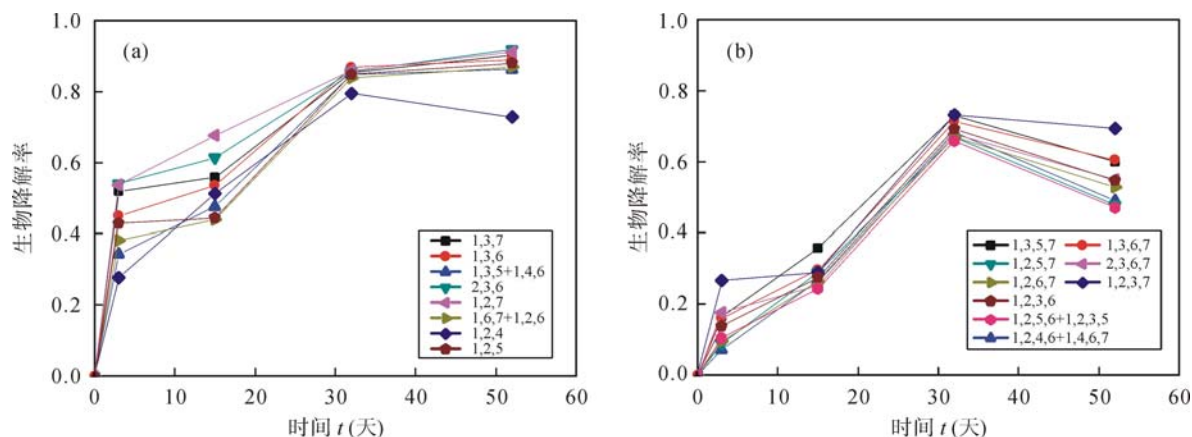


图 6 三甲基萘(a)和四甲基萘(b)生物降解率与时间关系

Fig.6 The variation in biodegradation rates of trimethylnaphthalenes (a) and tetramethylnaphthalenes (b) with time

整个烷基萘分子极化程度增加,增加了细菌攻击未取代环的几率;(4) 烷基萘  $\alpha$  位取代比  $\beta$  位取代抗生物降解能力更强。萘分子中的  $\alpha$  位比  $\beta$  位的碳原子电子云密度高,  $\alpha$  位取代基与其相邻碳原子上的氢原子间距较小,空间位阻较大<sup>[23]</sup>,导致  $\alpha$  取代烷基萘不易遭到细菌攻击,由本研究可知,三甲基萘表现为:  $\beta,\beta,\beta- > \alpha,\beta,\beta- > \alpha,\alpha,\beta-$ TMNs, 四甲基萘异构体则表现为:  $\beta,\beta,\beta,\beta- > \alpha,\alpha,\beta,\beta- > \alpha,\alpha,\alpha,\beta-$ TeMNs, 印证了  $\alpha$  取代比  $\beta$  取代烷基萘抗生物降解能力更强<sup>[4]</sup>这一观点。因此,表生环境现场实验较好地再现了烷基萘的取代基数量和位置共同影响其分子空间位阻和极化程度,控制着烷基萘异构体的生物降解作用效率。

### 3 结 论

烷基萘异构体的生物降解作用是多种因素共同控制的结果,包括取代基数量和位置。取代基数量越多抗生物降解能力越高,即(从最容易降解到最难降解)三甲基萘 > 四甲基萘。而拥有相同取代基数量的烷基萘,其降解规律与取代基位置有关。根据对三甲基萘、四甲基萘的生物降解作用分析,得知 1,2,7-三甲基萘( $\alpha\beta\beta$  取代)、2,3,6-三甲基萘( $\beta\beta\beta$  取代)、2,3,6,7-四甲基萘( $\beta\beta\beta\beta$  取代)、1,2,3,7-四甲基萘( $\alpha\beta\beta\beta$  取代)和 1,3,5,7-四甲基萘( $\alpha\beta\alpha\beta$  取代)的降解效果显著,这可以说明,生物降解程度与化合物空间位阻有关,即  $\beta$  取代较多且空间位阻小的烷基萘异构体易降解。

感谢浙江大学地球科学系谢柳娟博士在实验过程中的指导和帮助。感谢审稿者提出的意见和建议,

提高了文章的质量。

### 参考文献(References):

- [1] Brown D G, Knightes C D, Peters C A. Risk assessment for polycyclic aromatic hydrocarbon NAPLs using component fractions [J]. *Environ Sci Technol*, 1999, 33(24): 4357-4363.
- [2] Bjorseth A, Ramdahl T. Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons [M]. New York: Marcel Dekker, 1983: 1-416.
- [3] Hosokawa R, Nagai M, Morikawa M, Okuyama H. Autochthonous bioaugmentation and its possible application to oil spills [J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2009, 25(9): 1519-1528.
- [4] Bastow T P, Alexander R, Fisher S J, Singh R K, van Aarssen B G K, Kagi R I. Geosynthesis of organic compounds, Part V — Methylation of alkyl-naphthalenes [J]. *Org Geochem*, 2000, 31(6): 523-534.
- [5] Malley V P O, Abrajano T A Jr, Hellou J. Determination of the  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ratios of individual PAH from environment samples: Can PAH sources be apportioned [J]. *Org Geochem*, 1994, 21(6/7): 809-822.
- [6] Niqui-Arroyo J L, Bueno-Montes M, Ortega-Calvo J J. Biodegradation of anthropogenic organic compounds in natural environments [C]//Xing B S, Senesi N, Huang P M. Biophysico-Chemical Processes of Anthropogenic Organic Compounds in Environmental Systems. IUPAC Series on Biophysico-Chemical Processes in Environmental Systems. Chichester: John Wiley, 2011, 3: 483-501.
- [7] Volkman J K, Alexander R, Kagi R I, Rowland S J, Sheppard P N. Biodegradation of aromatic hydrocarbons in crude oils from the Barrow Sub-basin of Western Australia [J]. *Org Geochem*, 1984, 6: 619-632.
- [8] Fisher S J, Alexander R, Kagi R I. Biodegradation of alkyl-naphthalenes in sediment adjacent to an offshore petroleum production platform [J]. *Polycyc Aromat Compound*, 1996, 11(1-4): 35-42.
- [9] Huang H P, Bowler B F J, Oldenburg T B P, Larter S R. The effect of biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in reservoir oils from the Liao He basin, NE China [J]. *Org*

- Geochem, 2004, 35(11/12): 1619–1634.
- [10] 黄海平, 杨杰, Larter S R. 生物降解作用对储层抽提物中多甲基取代萘分布的影响[J]. 地球科学, 2003, 28(3): 281–288.  
Huang Hai-Ping, Yang Jie, Larter S R. Biodegradation effect on distributions of multiple methylated naphthalenes in reservoir extracts [J]. Earth Sci, 2003, 28(3): 281–288 (in Chinese with English abstract).
- [11] Ostojić B D, Đorđević D S. The electronic properties of trimethylnaphthalenes as properties for the prediction of biodegradation rates: Ab initio and DFT study [J]. Chemosphere, 2012, 88(1): 91–97.
- [12] Widdel F, Rabus R. Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons [J]. Curr Opin Biotechnol, 2001, 12(3): 259–276.
- [13] 郑立, 崔志松, 高伟, 韩彬, 杨佰娟, 王绍良, 李倩, 周文俊, 张魁英, 曹磊. 海洋石油降解菌剂在大连溢油污染岸滩修复中的应用研究[J]. 海洋学报, 2012, 34(3): 163–172.  
Zheng Li, Cui Zhi-song, Gao Wei, Han Bin, Yang Bai-juan, Wang Shao-liang, Li Qian, Zhou Wen-jun, Zhang Kui-ying, Cao Lei. Field study of the bioremediation of oil-contaminated Dalian beach by marine oil-degrading bacterial agent [J]. Acta Oceanol Sinica, 2012, 34(3): 163–172 (in Chinese with English abstract).
- [14] 刘星, 王震, 马新东, 林志胜, 徐恒振, 姚子伟. 海面溢油样品指纹解析[J]. 环境化学, 2012, 31(7): 952–957.  
Liu Xing, Wang Zhen, Ma Xin-dong, Lin Zhong-sheng, Xu Heng-zhen, Yao Zi-wei. Fingerprint analysis of oil spill sample [J]. Environ Chem, 2012, 31(7): 952–957 (in Chinese with English abstract).
- [15] Perters K E, Moldwan J M. 生物标记化合物指南——古代沉积物和石油中分子化石的解释[M]. 姜乃煌, 张水长, 林永汉, 译. 北京: 石油工业出版社, 1995: 1–150.  
Peters K E, Molewan J M. Biomarker Guide: Interpretation of Molecular Fossils in Ancient Sediment and Petroleum [M]. Jiang Nai-huang, Zhang Shui-chang, Lin Yong-han, tr. Beijing: Petroleum Industry Press, 1995: 1–150.
- [16] Marcano N, Larter S, Mayer B. The impact of biodegradation on molecular and stable (C, H, N, S) isotopic compositions of oils in the Alberta Basin, Canada [J]. Org Geochem, 2013, 59: 114–132.
- [17] Huang H P, Bowler B F J, Zhang Z W, Oldenburg T B P, Larter S R. Influence of biodegradation on carbazole and benzo-carbazole distributions in oil columns from the Liao He basin, NE China [J]. Org Geochem, 2003, 34(7): 951–969.
- [18] Fisher S J, Alexander R, Kagi R I, Oliver G A. Aromatic hydrocarbons as indicators of biodegradation in North Western Australian reservoirs [C]//Purcell P G, Purcell R R. Sedimentary Basins of Western Australia (vol.2): Australian Basins Symposium, Petroleum Exploration Society of Australia. Perth Australia: Branch W A, 1998: 185–194.
- [19] Chen J F, Zhang H, Huang H P, Li X, Shi S B, Liu F F, Chen L. Impact of anaerobic biodegradation on alkylphenanthrenes in crude oil [J]. Org Geochem, 2013, 61: 6–14.
- [20] Connan J. Biodegradation of crude oils in reservoirs [C]//Brooks J, Welte D H. Advances in Petroleum Geochemistry (vol.1). London: Academic Press, 1984: 299–335.
- [21] Bernard F P, Connan J. Indigenous microorganisms in connate waters of many oil fields: A new tool in exploration and production techniques [C]//Proceeding of In 67<sup>th</sup> Annual Technical Conference and Exhibition of the Society of Petroleum Engineers. Washington D C: Society of Petroleum Engineers, 1992: 467–476.
- [22] Yuan S Y, Wei S H, Chang B V. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by a mixed culture [J]. Chemosphere, 2000, 41(9): 1463–1468.
- [23] 徐寿昌. 有机化学[M]. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 1993: 144–150.  
Xu Shou-chang. Organic Chemistry [M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 1993: 144–150 (in Chinese).