

文章编号: 1672 - 058X(2009)05 - 0457 - 05

# 微生物降解多环芳烃的影响因素及机理研究进展

思显佩, 曹霞霞, 熊建功

(重庆工商大学 环境与生物工程学院, 重庆 400067)

**摘要:**多环芳烃是一类普遍存在的环境污染物,微生物的降解是 PAHs 去除的主要途径。介绍了多环芳烃性质及目前国内外研究状况,以及降解多环芳烃的微生物,阐述了三大因素:微生物活性、基质和环境因子等对微生物降解多环芳烃的影响,微生物降解多环芳烃的机理;并对今后的几个研究发展方向进行了展望。

**关键词:**多环芳烃;降解的影响因素;降解机理

**中图分类号:**Q936

**文献标志码:**A

多环芳烃 (Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是环境中普遍存在的一类有机污染物,是指两个或两个以上苯环以线状、角状或簇状排列的稠环化合物,是有机物不完全燃烧或高温裂解的副产物<sup>[1]</sup>。由于其在环境中的半衰期较长和致癌、致畸、致突变的性质而受到人们的重视<sup>[2]</sup>。这类化合物具有极低的水溶性,在环境中很难消除,因此,美国环保局在 20 世纪 80 年代初把 16 种未带分支的 PAHs 确定为环境中的优先污染物。国外有关土壤 PAHs 污染的研究主要集中于土壤中 PAHs 的含量、来源、分布和迁移转化特征, PAHs 物理化学性质与其环境行为间的关系,环境因素对 PAHs 的影响,风险评价和管理等方面<sup>[15]</sup>。我国也将其列入环境污染的黑名单中。但是近些年来,随着人类生产活动的加剧,破坏了其在环境中的动态平衡,使环境中的 PAHs 大量增加<sup>[1]</sup>。因此,寻找到高效多环芳烃降解菌及其从环境中去除的规律,加快 PAHs 在环境中的消除速度,减少 PAHs 对环境的污染等问题已日益引起人们的重视。

## 1 多环芳烃降解的影响因素

由于 PAHs 性质稳定,单纯靠自然界的降解是很慢的。因此,通过人为手段强化微生物降解多环芳烃的能力,改善降解微生物的生存条件,从而加以快速除去 PAHs,减少环境中的污染物<sup>[8]</sup>,就成为研究的主要目标。PAHs 生物降解性能的因素主要受到三大因素的影响,即微生物活性、基质和环境因子<sup>[1]</sup>。

### 1.1 多环芳烃降解菌的活性影响

#### 1.1.1 降解多环芳烃的微生物

迄今为止,已经发现的能够降解烃类的微生物有 70 多个属、200 余种,其中细菌和真菌占绝大多数。<sup>[3]</sup>在 PAHs 的微生物降解研究中,对最简单的 PAH 萘的研究最早,已经分离得到很多对萘有降解性的微生物。但是目前的研究表明,不同的细菌对不同 PAHs 的降解能力存在着很大的差别,假单胞菌是目前发现的降解

收稿日期: 2009 - 05 - 10; 修回日期: 2009 - 07 - 26。

作者简介: 思显佩 (1985-), 女, 云南人, 硕士研究生, 从事水污染生物治理。

菌种类最多、降解范围最广的菌属,已发现的假单胞菌可以降解几乎所有的四环以下的 PAHs<sup>[1]</sup>,如分枝杆菌、红球菌、黄杆菌、假单胞菌、糙皮侧耳、白瓶霉菌、雅致小克银汉霉、黑曲霉 *Gardona* sp., *Burkholderia cepacia*, *S. Yanoikuyae* 与 *Cycloclasticus* sp. 等<sup>[6]</sup>。

### 1.1.2 多环芳烃降解菌的筛选

从受污染的环境中分离并培养出 PAHs 降解优势菌株,然后再把它们投入 PAHs 污染环境,是 PAHs 污染生物修复的重要环节。因此,研究 PAHs 这一类难降解有机物的生物降解过程,首要问题是筛选并确定这些降解菌,使其最终能够应用于 PAHs 污染的生物修复中<sup>[5]</sup>。所以,筛选出好的菌种能够为微生物处理污染物技术更好的应用,提供一定的前提条件。苏丹,鞠京丽等以芘和苯并芘(BaP)污染土壤为介质从中筛选出具有高降解能力,同时具有高降解速率的菌株<sup>[7]</sup>。在无沉积物和沉积泥浆的条件下,由红树林沉积中富集而来的菌落具有很好的 PAHs 降解能力,它在生长 4 周后,在无沉积物的液体介质下可以 100% 降解苯丙氨酸<sup>[8]</sup>。徐虹等分离出能够降解 PAHs 的 14 种菌株,其中 10 株假单胞菌在芘,菲,葱和芘在混合系统中具有最大的降解能力<sup>[9]</sup>。

### 1.1.3 多环芳烃的降解基因

生物降解的成功与否很大程度上取决于降解微生物群落在环境中的数量及生长繁殖速率。许多情况下,微生物会逐渐适应 PAHs 污染区的特定条件,为了缩短适应期限,提高菌种的降解活性,加快 PAHs 的降解速度,常通过人工的方法来改变菌种的基因,然后再把它们用于 PAHs 污染环境的生物降解<sup>[1]</sup>。编码降解多环芳烃关键酶的基因有的位于染色体上,有的位于质粒上。位于染色体上的基因较为稳定且基因承载量大。质粒是染色体外的遗传因子,具有复制和控制机构,能够在细胞质中独立自主地进行自身复制,并使子代细胞保持他们恒定的拷贝数。到目前为止,国际上从自然界分离的菌株中发现的天然降解性质粒共约有 30 种<sup>[4]</sup>。随着现代分子生物学的发展,新的生物技术手段不断被应用于 PAHs 污染的生物修复,PCR 技术的成熟和发展使发现更多的代谢基因成为可能,通过构建 PAHs 的高效降解菌,寻找新的 PAHs 降解途径,有一定的使用价值<sup>[4]</sup>。

## 1.2 基质的影响

基质的影响主要是指 PAHs 的生物可利用性。污染物的浓度、化学结构、毒性、溶解性和吸附性能都影响 PAHs 的生物可利用性。生物降解过程中微生物对污染物的转化率依赖于生物对污染物的吸收、代谢及物质转化程度。由于多环芳烃特别是 3 环以上高分子量的 PAHs 具有亲脂的特性,使其极易吸附在颗粒上,这使得他们在生物降解过程中传质成为限制因子。但是,可以通过共溶剂或表面活性剂的添加,可以减少或消除这方面的限制<sup>[10]</sup>。例如,Volkering 等针对低水溶性的萘和菲研究了 4 种非离子表面活性剂对其生物处理过程的影响,表明这些物质的添加增加了萘、菲的溶解速率,并由此提高了降解菌的生长速率<sup>[11]</sup>。

## 1.3 环境因子的影响

影响 PAHs 生物降解的环境因子包括 PAHs 的存在状态、温度、溶解氧、营养盐、pH 等<sup>[1,12]</sup>。

PAHs 在实际的环境系统中多是以混合物的形式存在的,复杂的多底物混合状态势必会影响微生物的生理生态以及微生物对混合组分中单个底物的利用动力学,进而会影响降解效率<sup>[1]</sup>。PAHs 混合物可能导致抑制、共代谢以及增大等效应,这也是 PAHs 混合物降解研究中观察到的最普遍的现象。Tiehm 和 Fritzsche 用添加了表面活性剂的培养基培养一株芘降解菌 *Mycobacterium* sp., 发现在菲存在时芘的降解得到了增加<sup>[12]</sup>。

温度对 PAHs 生物降解的影响主要表现在其对 PAHs 的理化性质、化学组成、微生物对 PAHs 的代谢以及微生物群落结构等的影响。低温下由于酶活性的降低使 PAHs 的生物降解受到抑制。在 30 ~ 40 范围内,高温可以提高 PAHs 代谢率达到最大值。但超过这个温度范围,PAHs 的膜毒性会增高<sup>[1]</sup>。

在一般条件下,PAHs 的生物降解需要氧气的参与,为提高降解率,往往需要人为增加氧的浓度。细菌和真菌对 PAHs 代谢的都需要氧气。厌氧条件下,一般增加硝酸盐、硫酸盐类电子受体。环境中的氧气对微

生物而言是一个极为重要的限制因子,首先是氧气的含量决定微生物群落的结构<sup>[11]</sup>。Hayes研究表明环境中微生物接触污染物时间的长短是 PAHs 能否发生无氧降解的关键因素<sup>[13]</sup>。

营养盐的缺乏对微生物的生长和种群的维持都是重要的限制因素。为了使污染物达到完全的降解,适当添加营养物可以明显地促进污染物的降解。目前,营养盐主要用于受石油烃化合物污染环境的生物修复。尽管添加营养盐已被广泛接受并用于一些污染环境的生物修复中,但关于外加营养盐是否对土著微生物种群及生物修复过程产生影响还缺乏深入的研究。Lewis 等研究表明,通过维持污染环境中 C N P 的正常比例,可促进 PAHs 的稳定降解<sup>[11]</sup>。

除极端环境外,环境中的 pH 值对大多数微生物都是适合的,气候和季节的变化对 pH 值会产生一定的影响。不同的环境中,微生物生长的最适 pH 值不一定相同<sup>[11]</sup>。Walters 在研究 *Rhodococcus* sp. 降解萘时,最适 pH 值是 7.0~7.2; Law 研究马六甲港湾环境烃类化合物的降解微生物 AR-3,结果表明其最适 pH 值是 8.0<sup>[11]</sup>。

## 2 多环芳烃降解的机理

自然界中存在的许多细菌、真菌及藻类都具有降解多环芳烃的能力。一般来说,随着多环芳烃苯环数量的增加,降解速率会越来越低。因此,低分子量的多环芳烃在环境中能较快被降解,在环境中存在的时间较短;而高分子量的多环芳烃则难于降解,能长期存在于环境中<sup>[11]</sup>。虽然 PAHs 是一种极为稳定的难降解物质,但因其分布广泛,一些环境中的微生物可以经过适应和诱导,对 PAHs 进行代谢分解,甚至矿化<sup>[11]</sup>。微生物主要有两种代谢方式:一种是以 PAHs 为唯一碳源和能源;另一种是与其它有机质共代谢<sup>[3]</sup>。其中,微生物的共代谢作用对于难降解污染物 PAHs 的彻底分解或矿化起主导作用<sup>[4]</sup>。

### 2.1 以多环芳烃为唯一碳源和氮源的代谢机理

在多环芳烃的诱导和微生物分泌的单加氧酶或双加氧酶的催化作用下,把氧加到苯环上,形成 C-O 键,再经过加氢、脱水等作用使 C-C 键断裂,苯环数减少。其中细菌产生双加氧酶,真菌产生单加氧酶。不同的途径有不一样的中间产物,邻苯二酚是常见的中间产物,具体的化合物依赖于羟基组的位置,有正、对或其它<sup>[4]</sup>。邻苯二酚又有邻位和间位 2 种代谢途径。降解过程会产生:顺,顺-己二烯二酸、酮己二酸、丁二酸或 2-羟基己二烯酸半醛、2-酮-4-戊烯酸、丙酮酸与乙醛等,它们都能被微生物合成细胞蛋白,最后产物是二氧化碳和水<sup>[4]</sup>。Bouchez 等分离出 6 种细菌,这些细菌至少能以 6 种多芳烃,即:萘、芴、菲、蒽、荧蒽、芘中的一种为碳源和氮源<sup>[14]</sup>。

### 2.2 多环芳烃的共代谢机理

所谓的共代谢是指利用一种容易降解的物质作为支持微生物生长繁殖的营养物质,而同时降解另一种物质,但后一种物质的降解和转化并不能使共代谢的微生物获得能量、碳源或其它的任何营养物质<sup>[14]</sup>。PAHs 苯环的断开主要是靠加氧酶的作用:加氧酶把氧加到 C-C 键上形成 C-O 键,经加氢、脱水等作用使 C-C 键断裂,苯环数减少。PAHs 降解的程度受加氧酶的活性影响。由于 PAHs 代谢酶的可诱导性,故可选择投加基质类似物的方法来提高酶的活性,增强降解作用。基质类似物(诱导物)的选择还需要考虑各方面的因素(如毒性要较低,价格低廉,容易获得又不被其他非 PAHs 降解菌利用,能提高微生物内加氧酶的含量和活性)<sup>[3]</sup>。Bezalet 发现萘的降解最初在 4,5 位(K 区)上形成环氧化合物,然后水化生成反-4,5-二氢二萘醇,且以 R 旋光异构体为主<sup>[3]</sup>。Michael 以苯酚为共代谢底物进行了氯酚的共代谢降解研究,他不但提出了二者之间存在着共代谢关系,还以氯酚和共代谢底物之间的比值为参数定量描述了氯酚的降解模式<sup>[14]</sup>。微生物加氧酶对多环芳烃的作用见图 1。

微生物共代谢有机物的原因是:缺少进一步降解的酶系,中间产物的抑制作用,需要另外的基质诱导代谢酶或提供细胞反应中不充分供应的物质<sup>[3]</sup>。

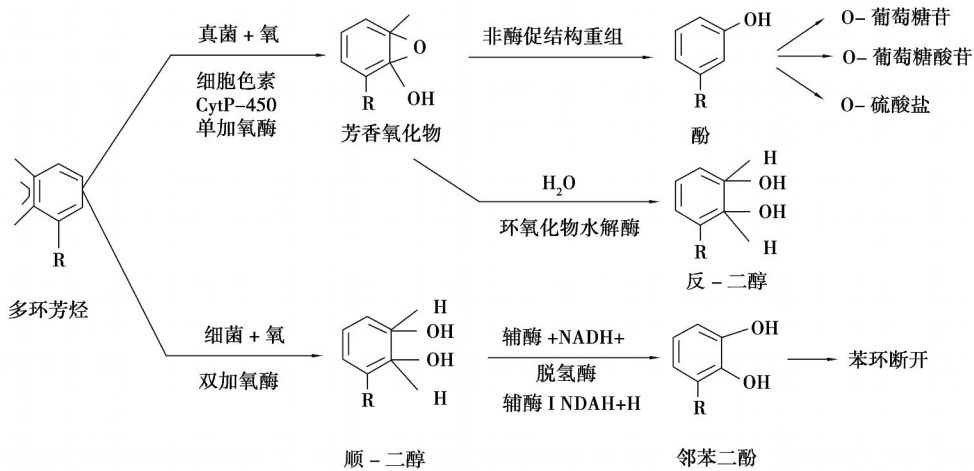


图 1 微生物在加氧酶的作用下氧化多环芳烃的途径

### 3 展 望

尽管微生物修复是清除土壤多环芳烃污染的最有效的手段,但是该技术要成功应用于污染土壤的修复,还是受到多种因素的限制。多环芳烃结构的特殊性及其低的水溶性限制了它们被土著微生物的降解。值得深入研究的方向是:

- (1) 分离筛选新的降解菌,特别是能降解四环和四环以上多环芳烃的高效降解菌;
- (2) 不同分子量多环芳烃对碳源和氮源的选择及其规律。在最优条件下培养菌种,不仅能减少能源的浪费,使资源变废为宝;还可以提高生物菌种的降解能力;
- (3) 多环芳烃微生物的降解途径和机理。由于大分子多环芳烃的结构使微生物的酶催化多环芳烃的降解可发生在不同的位点,使多环芳烃的降解过程有多种途径;
- (4) 研究多环芳烃微生物降解过程中的共代谢机理,降解过程的中间步骤和降解过程的中间产物的结构性质,深入研究某些降解产物的毒性。

#### 参考文献:

- [1] 谭文捷,李宗良,丁爱中,等.土壤和地下水中多环芳烃生物降解研究进展[J].生态环境,2007,16(4):1310-1317
- [2] 毛健,骆永明,滕应,等.一株高分子量多环芳烃降解菌的筛选、鉴定及降解特性研究[J].微生物学通报,2008,35(7):1011-1015
- [3] 史兵方,杨秀培,张会有.土壤中多环芳烃污染的研究进展.安徽农业科学,2007,35(6):1735-1737,1744
- [4] 郑乐,刘苑,李培军.多环芳烃微生物降解基因的研究进展.生态学杂志,2007,26(3):449-454
- [5] 王春明,李大平,刘世贵.4株多环芳烃降解菌的分离及鉴定[J].应用与环境生物学报,2007,13(4):546-550
- [6] 陶雪琴,党志,卢桂宁,等.污染土壤中多环芳烃的微生物降解及其机理研究进展[J].矿物岩石地球化学通报,2003(2):356-360
- [7] 苏丹,李培军,王鑫,等.3株细菌对土壤中萘和苯并萘的降解及其动力学[J].环境科学,2007,28(4):913-917
- [8] SHU Y, LI K. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a bacterial consortium enriched from mangrove sediment [J]. Environmental International. 2005, 31: 149-154
- [9] XU H. Isolation and identification of PAH degradation strains and their degradation capability [J]. Marine Environmental Science, 2004, 23: 61-64
- [10] BOOPATHY M J. A laboratory study of the bioremediation of 2,4,6-trinitrotoluene-contaminated soil using aerobic anaerobic soil slurry reactor [J]. Water Environmental Research, 1998, 70: 80-86

- [11] 陈春云,岳珂,陈振明,等. 微生物降解多环芳烃的研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2007, 27(6): 100 - 103
- [12] TIEHM A, FRITZSCHE C. Utilization of solubilized and crystalline mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons by a *Mycobacterium* sp [J]. Applied Microbial Biotechnology, 1995, 42: 964 - 968
- [13] HAYES L A. Role of prior exposure on anaerobic degradation of naphthalene and phenanthrene in marine harbor sediments [J]. Organic Geochemistry, 1999, 30: 937 - 945
- [14] VOLKERN G F, BREURE A M, VAN ANDEL J G, et al. Influence of nonionic surfactants on bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Applied Environmental Microbiology, 1995, 61: 1699 - 1705
- [14] 巩宗强,李培军,王新,等. 污染土壤中多环芳烃的共代谢降解过程 [J]. 生态学杂志, 2000, 19(6): 40 - 45
- [15] 刘世荣. 微生物在多环芳烃降解应用中的机理及其研究趋势 [J]. 现代商贸工业, 2008(8): 379 - 380
- [16] JLNA J. Integrating Biodegradation and Electrosynthesis for the Enhanced Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Creosote-Polluted Soils [J]. J Environ Qual, 2007, 36: 1444 - 1451
- [17] 苏丹,李培军,鞠京丽. 六株真菌对土壤中芘和苯并芘的降解及其动力学 [J]. 中国环境科学, 2006, 26(2): 188 - 191
- [18] 展惠英. 多环芳烃类污染物在土壤中的研究进展 [J]. 甘肃科技, 2007, 23(1): 143 - 145
- [19] 周宏伟,吴锦雅. 氮磷营养元素对多环芳烃降解的影响研究 [J]. 科技咨询导报, 2007, 22: 2 - 3
- [20] RAN X, J P. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Oil-Contaminated Beach Sediments Treated with Nutrient Amendments [J]. J Environ Qual, 2004, 33: 861 - 867
- [21] APOSTOLOS P. Prediction of Microbial Accessibility of Carbon-14-Phenanthrene in Soil in the Presence of Pyrene or Benzo[a]pyrene using an Aqueous Cyclodextrin Extraction Technique [J]. Environ Qual, 2007, 36: 1385 - 1391
- [22] 陶雪琴,卢杜宁,党志,等. 降解多环芳烃的微生物的分离、鉴定方法及应用 [J]. 化工环保, 2007, 27(5): 431 - 434
- [23] 王新,李培军,巩宗强,等. 多环芳烃高效降解菌的筛选 [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(增刊): 92 - 96
- [24] 于萍萍,张进忠,林存刚. 多环芳烃在环境中的微生物降解的研究进展 [J]. 资源环境与发展, 2006(3): 35 - 39
- [25] 陈金发,崔亚伟. 多环芳烃 (PAHs) 处理技术研究进展 [J]. 广西师范学院学报: 自然科学版, 2008, 25(1): 92 - 96

## Research progress in influencing factors and mechanism of microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon

**SI Xian-pei, SHAO Cheng-bin, CAO Xia-xia, XIONG Jian-gong**

(School of Environment and Biotechnology, Chongqing Technology and Business University,  
Chongqing 400067, China)

**Abstract:** PAHs are a class of widespread pollutants in the environment, microbial degradation is the main way of removing PAH. This article presented the nature of the polycyclic aromatic hydrocarbon and the research situation at home and abroad, and the microbial of degrading polycyclic aromatic hydrocarbon, analyzed the three factors, such as microbial activity, and matrix environmental factors, the effects of microbial degradation on polycyclic aromatic hydrocarbon, and the mechanism of microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon. Finally, the author forecasted a few research directions of future development.

**Key words:** polycyclic aromatic hydrocarbon; degradation factors; degradation mechanism

责任编辑:田静