

多环芳烃微生物降解机理研究进展^①

唐婷婷, 金卫根*

(东华理工大学化学生物与材料科学学院, 江西抚州 344000)

摘 要: 主要阐述了微生物降解 PAHs 的机理, 比较了典型微生物种类芽孢杆菌(*Bacillus*)和分支杆菌(*M.vanbaalenii* PYR-1)对同种 PAHs 菲的代谢过程不同之处, 并分析了分支杆菌(*M.vanbaalenii* PYR-1)对菲和芘的代谢机理, 指出微生物氧化降解 PAHs 主要从其 K 区和湾区开始, 而 K 区氧化是有毒 PAHs 降解的主要可能途径, 资料显示真菌比细菌对苯并[a]芘的降解能力更强, 同时给出了微生物代谢菲、芘和苯并[a]芘的降解图, 以便做进一步研究。

关键词: PAHs; 微生物降解; 机理

中图分类号: X53

多环芳烃 (PAHs) 是环境中普遍存在的一类持久性污染物, 它具有慢性毒性和致癌、致畸、致突变的“三致”作用, 对人类健康和生态环境造成了巨大危害^[1-2], PAHs 污染土壤修复已成为当前国内外环境科学界的共同话题和主攻热点, 利用微生物降解土壤 PAHs 是目前控制土壤 PAHs 污染的主要途径。

1 微生物降解 PAHs 的机理

微生物降解 PAHs 的基本过程是: PAHs 通过两种途径进入微生物 (包括真菌和细菌) 细胞中, 一种是真菌氧化, 真菌在其胞内酶细胞色素酶 Cyt P-450 作用下先将一个氧原子加到 PAHs 的 C-C 键上形成 C-O 键, 然后再以同样的方式加入另外一个氧原子, 从而生成芳烃氧化物, 芳烃氧化物在非酶促结构重组中失去一个氧原子变成酚类, 并在环氧化物水解酶作用下还原形成反-二醇; 另一种是氧分子在细菌双加氧酶作用下同时将两个氧原子加到 PAHs 上, 将 PAHs 氧化成芳烃过氧化物, 在芳烃过氧化物上加 H 得到顺-二醇, 两种过程产生的二羟基化合物——顺反二醇都代谢生成重要的中间产物邻苯二酚, 接着经过脱水等作用而使 C-C 键断裂、苯环断开, 进一步代谢为柠檬酸循环的中间产物醛或酸, 如琥珀酸、乙酸、丙酮酸和乙醛。有氧氧化是 PAHs 降解的主要方式^[3], 这些中间产物最终会在微生物细胞中被氧化分解为 H₂O 和 CO₂

(图 1)。

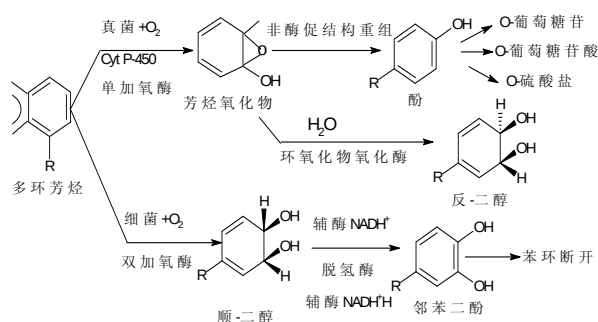


图 1 微生物氧化降解 PAHs 的过程^[4]

Fig. 1 Proposed pathways for degradation of PAHs by microorganism

2 微生物对菲的降解

2.1 芽孢杆菌 (*Bacillus*) 对菲的降解

细菌降解菲的两种不同途径过程中, 都须先将菲降解为中间物质 1-羟基-2-萘酸, 再降解 1-羟基-2-萘酸的过程就分化成两种途径, 如假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 降解 1-羟基-2-萘酸是通过萘异化途径进行的, 而气单胞菌属 (*Aeromonas*)、产碱杆菌属 (*Alcaligenes*)、微球菌属 (*Micrococcus* sp.) 则是通过邻苯二甲酸经由原儿茶酸途径降解的, 芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 通过后一种途径降解菲, 过程如图 2 所示, 从图 2 中降解产物可以看出芽孢杆菌 (*Bacillus*

①基金项目: 江西省教育厅科技项目 (GJJ10276) 资助。

* 通讯作者 (wgjin@ecit.edu.cn)

作者简介: 唐婷婷 (1984—), 女, 湖北枣阳人, 硕士研究生, 主要从事环境生态学方面研究。E-mail: velmatang@163.com

sp.) 只是从 3,4 位开始降解菲, 降解位点较少, 但是可以将菲完全降解掉。

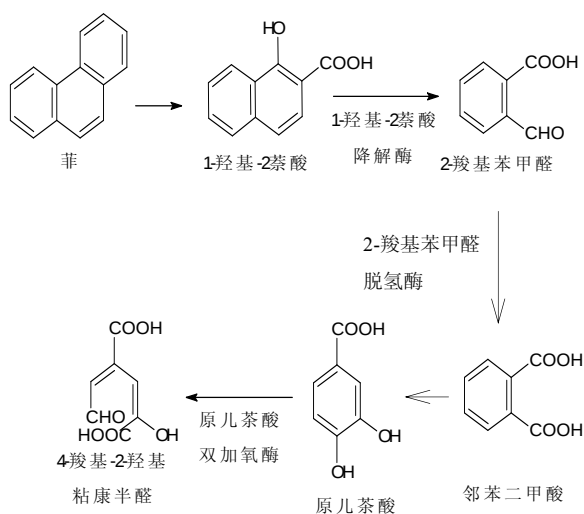


图2 芽孢杆菌 (*Bacillus*) 降解菲的可能途径^[5]

Fig. 2 Proposed pathways for degradation by *Bacillus* sp.

芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 降解菲过程中有 3 种酶表现出很高的活性, 即 1-羟基-2-萘酸降解酶 (1-hydroxy-2-naphthoate degradation enzyme)、2-羧基苯甲醛脱氢酶 (2-carboxy benzaldehyde dehydrogenase)、原儿茶酸双加氧酶 (protocatechuate dioxygenase), 其中 3 种原儿茶酸双加氧酶中原儿茶酸-4,5-双加氧酶 (protocatechuate-4,5-dioxygenase) 活性最高, 其他两种均未表现出酶活性^[5]。Zeinali 等^[6]第一次报道 *N.otitidiscaviarum* strain TSH1 降解菲过程中检测到苯酸、4-羟基苯乙酸、邻羟基苯乙酸等中间物质, 且 *N.otitidiscaviarum* strain TSH1 降解菲的过程与已知芽孢杆菌 (*Bacillus*) 类似。贾玉红等^[7]在一株伯克霍尔德氏菌 (*Burkholderia* sp. AFF) 降解菲的实验中得到了邻苯二酚-2,3-双加氧酶的粗提物, 并进行了分离纯化, 回收到了 27.6% 的蛋白质, 表明邻苯二酚可以在邻苯二酚-2,3-双加氧酶作用下失去毒性, 并形成二甲氧基邻苯二酚。

2.2 *M.vanbaalenii* PYR-1 对菲的降解

与芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 降解菲不同的是, *M.vanbaalenii* PYR-1 对菲的降解, 包括邻位切割 (ortho-cleavage) 与间位切割 (meta-cleavage) 两种环开裂反应, 即可以从 3 个位点 1,2 位、3,4 位、9,10 位开始降解菲, 这样就会产生大量二羧酸物质^[8], *Mycobacterium* PYR-1 对菲的主要降解位点是 9,10 碳位的 K 区氧化^[9], 而芽孢杆菌 (*Bacillus* sp.) 对菲的降解是湾区氧化的结果, 湾区双氧化是低环 PAHs 的主要

氧化方式, 也是报道较多的典型的双加氧方法。

M.vanbaalenii PYR-1 对菲的降解形式受到不同碳位的影响, PAHs 主要降解途径是微生物通过 K 区的氧化方式即间位切割 (meta-cleavage) 环开裂^[8], PAHs 的 K 区在被微生物降解后, 其毒性消失, 微生物可以彻底地将其氧化分解, 即无 K 区的 PAHs 氧化分解是微生物细胞对 PAHs 的主要降解方式。*M.vanbaalenii* PYR-1 对菲的降解过程如图 3 所示, 分别从 1,2 位、3,4 位、9,10 位 3 个位点开始降解菲, 主要降解位点还是 3,4 碳位和 9,10 碳位^[9], *M.vanbaalenii* PYR-1 在 3,4 位降解菲是其湾区氧化的结果^[10-11], 9,10 位为菲的 K 区结构, 4,5 位是菲的湾区结构, 也是其形成环状氧化物的位点, 具有致癌作用, 其中菲经 9,10 位间位切割环开裂即 K 区降解后形成单环芳烃, 已经没有致癌作用, 其他位点的降解产物均为二环以上芳烃, K 区或湾区结构还存在, 对生物还有“三致”作用, 由此可以看出 K 区氧化方式是有毒 PAHs 降解的主要途径。

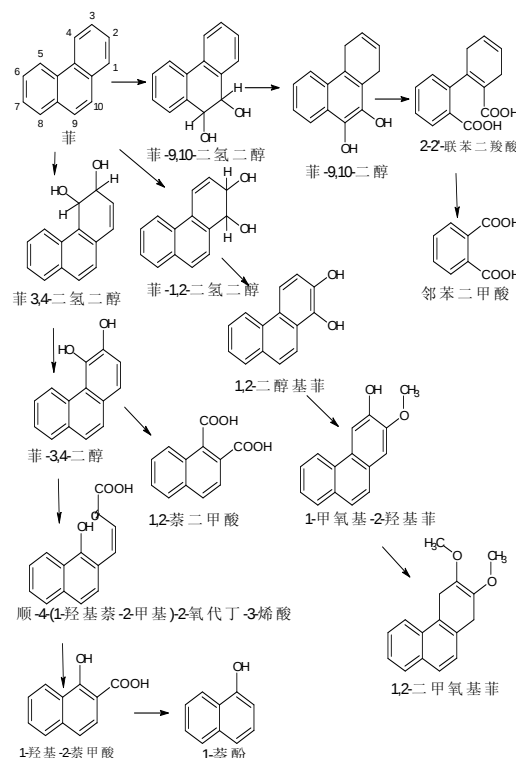


图3 *M.vanbaalenii* PYR-1 降解菲的可能途径^[9]

Fig. 3 Proposed pathways for degradation of phenanthrene by *M.vanbaalenii* PYR-1

3 微生物对芘的降解

芘是一种 4 环 PAHs, *M.vanbaalenii* PYR-1 从芘的 4,5 位和 1,2 位开始降解, 其中 4,5 位是芘的 K 区结构, 这两个位点分别双加氧后, 都会形成一种芘的二氢二

醇化合物, 这种二氢二醇蒽会转化成一种有毒中间体二羧蒽, 与 *M.vanbaalenii* PYR-1 对菲的降解相似, 蒽 1,2 位通过形成不代谢的二甲氧基蒽来解除二羧蒽的毒性^[9], 蒽 4,5 位K区氧化后间位开裂为三环化合物菲-4,5-二羧酸 (phenanthrene-4,5-dicarboxylic acid), *M.vanbaalenii* PYR-1 接着从菲 9,10 位的K区将其间位开裂和湾区邻位开裂后的 3,4 位开始降解, 最终将蒽降解为邻苯二甲酸, 从而再次证明PAHs的K区氧化是其失去毒性并最终从环境中消失的主要途径。 *M.vanbaalenii* PYR-1 之所以从K区和湾区降解PAHs, 主要是因为其要以K区和湾区的碳作为碳源和能源生长^[9], *M.vanbaalenii* PYR-1 降解蒽的主要过程如图 4 所示。

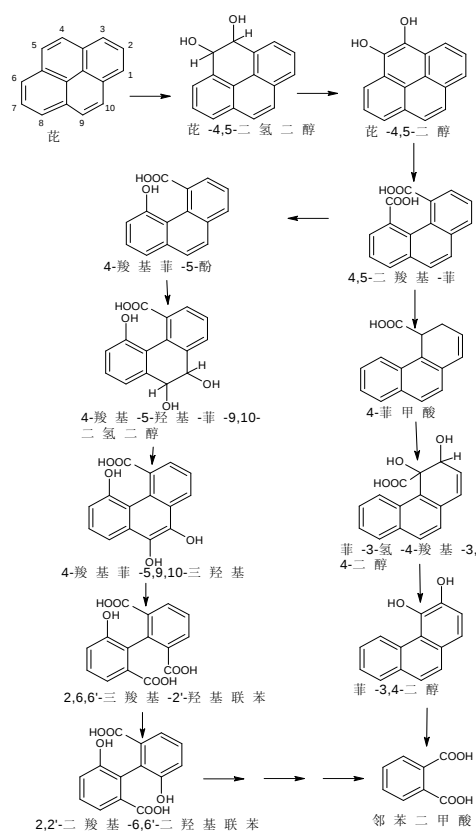


图 4 *M.vanbaalenii* PYR-1 降解蒽的可能途径^[9]

Fig. 4 Proposed pathways for degradation of pyrene by *M.vanbaalenii* PYR-1

Mycobacterium 菌属对蒽的中间代谢产物除与菲相同的以外还产生菲-4,5-二羧酸 (phenanthrene-4,5-dicarboxylic acid)、Z-9-羧甲基芴-1-羧酸 (Z-9-carboxymethylenefluorene-1-carboxylic acid) 等三环化合物^[8]。菲-4,5-二羧酸 (phenanthrene-4,5-dicarboxylic acid) 等中间代谢产物比未降解的原始 PAHs 具有更大的反应能力和生物可利用性^[12], PAHs 代谢产生的联苯甲酸 (diphenic acid) 和 6,6'-二羟基-2,2'-联苯二羧酸

(6,6'-dihydroxy-2,2'-biphenyldicarboxylic acid) 等这些联苯化合物, 其微生物的降解机理还不是很清楚^[13-14]。

对于联苯的降解机理, 近来也有一些突破^[15-16]。PAHs降解过程的第一步就是微生物细胞中编码双加氧酶的加氧酶基因组启动, 编码出双加氧酶使PAHs形成二氢二醇结构, 有研究人员^[15]第一次报道了 *Sphingobium yanoikuyae* B1 可以编码联苯的双加氧酶基因。鞘鞍醇单胞菌 (*Sphingomonas aromaticivorans* sp.) 的表面细胞中有种特别的膜结构称为“超级通道”^[17], 可以简化大分子进入细胞的程序, 加快细胞对PAHs的降解速率。

4 微生物对苯并[a]蒽的降解

4.1 细菌对苯并[a]蒽的降解

能够降解苯并[a]蒽 (B[a]P) 的细菌很少, 报道较多的就是 *Mycobacterium* sp. 菌属^[9,18], 毛健等^[19-20]筛选出的一株副球菌也可高效降解苯并[a]蒽, 细菌的细胞色素酶 Cyt P-450 对苯并[a]蒽的矿化没起到重要作用, 但可以显示苯并[a]蒽的氧化水平^[18], 细菌对苯并[a]蒽的降解率最高不超过 50%^[21], 说明毒性最大的苯并[a]蒽对细菌的活性产生了巨大的影响, 苯并[a]蒽的主要降解位点有 4,5 位, 7,8 位, 9,10 位, 其中 7,8 位, 9,10 位降解后都形成了一种蒽的酸性化合物。细菌对苯并[a]蒽的降解过程如图 5 所示。苯并[a]蒽首先在细菌双

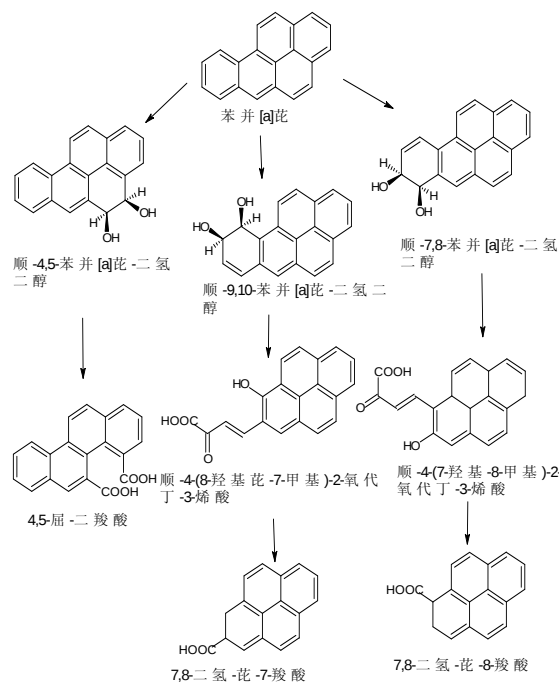


图 5 细菌降解苯并[a]蒽的可能途径^[22]

Fig. 5 Proposed pathways for degradation of B[a]P by bacteria
加氧酶的作用下形成二氢二醇化合物, 接着可能在某

种酶的作用下发生脱氢反应形成苯并[a]芘的二醇化合物,这种化合物在反应途径中存在时间很短,二醇形成位点也是苯环断开的位置,如此高环 PAHs 就会降解为低环 PAHs,直至单环苯环断裂。

4.2 真菌对苯并[a]芘的降解

真菌能高效降解高环PAHs报道有很多,在PAHs污染土壤中真菌、细菌、放线菌数目都会增加,但是在恶劣环境条件下,真菌降解PAHs起了重要作用^[23-24],特别是对毒性很高的苯并[a]芘,真菌对苯并[a]芘的降解率比细菌高出很多^[20],其中应用得最多的是白腐真菌。真菌可以通过细胞色素Cyt P-450 单加氧酶降解PAHs,也可以通过胞外酶木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶、漆酶降解PAHs^[25]。真菌对苯并[a]芘的降解过程如图6所示,真菌在细胞内细胞色素P450 酶作用下,首先一个一个地向苯并[a]芘上加入氧原子形成环氧化物中间体,然后再断开形成二氢二醇苯并[a]芘化合物,在真菌作用下二氢二醇苯并[a]芘化合物转化成一种四氢四醇苯并[a]芘化合物,接着发生去氢反应使苯环断开,变成一种芘的化合物,随后再按芘的结构代谢。

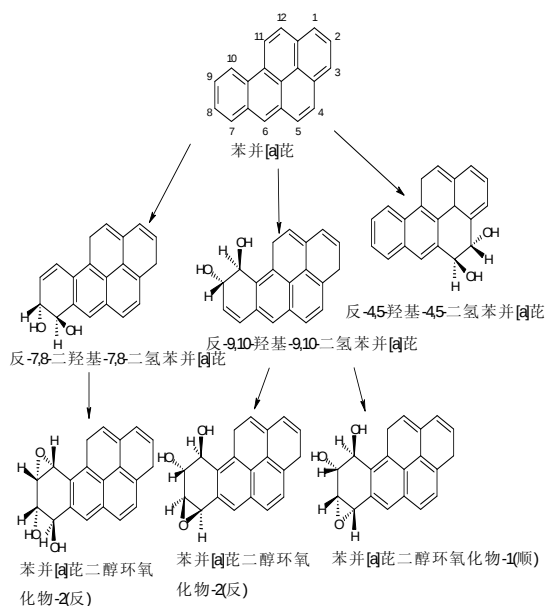


图6 真菌降解苯并[a]芘的可能途径^[22]

Fig. 6 Proposed pathways for degradation of B[a]P by fungal

真菌细胞色素P450是一种很重要的单加氧酶,其浓度水平变化可以表明土壤中 PAHs 等有毒有害物质是否过量,还反映出其降解 PAHs 的能力^[26],不同苯并[a]芘浓度对细胞色素P-450、过氧化氢酶和过氧化物酶影响不同,当苯并[a]芘浓度越高,暴露在环境中时间越长,细胞色素P-450的活性就越高,其他的酶在高

浓度的苯并[a]芘胁迫下总体酶活性降低^[27-28]。苏丹等^[29-30]对3株细菌和6株真菌在同样实验条件下比较了它们对芘和苯并[a]芘的降解率,指出供试细菌中芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)对高环PAHs有着较高的降解率,为40%左右,而供试的6种真菌对芘的降解率均在80%以上,对苯并[a]芘的降解率均在70%以上,其中木霉(*Trichoderma* sp.)和毛霉(*Mucor* sp.)降解速度最快,说明真菌对PAHs的降解潜力是巨大的。

5 结语

PAHs 在环境中广泛存在,具有环境持久性、稳定性和危害性。低环 PAHs 比较容易去除,但是高分子量 PAHs 的降解就困难得多,特别是5环的苯并[a]芘,目前还没有找到行之有效的方法,应进一步从以下两个方面考虑:①全面了解 PAHs 的结构特点,PAHs 的K区和湾区结构与其致癌性密切相关,试找到可以改变其结构的方法,降低毒性;②可以降解苯并[a]芘的微生物很少,相比细菌来说,真菌对苯并[a]芘的降解能力更高。

参考文献:

- [1] Gómez J, Solar DR, Pzaos M, Sanroman MÁ. Applicability of *Coriopsis rigida* for biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biotechnol. Lett.*, 2006, 28: 1 013-1 017
- [2] Gondek K, Kopec M, Chmiel M, Spaček I. Response of zea maize and microorganisms to soil pollution with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Polish. J. Environ. Stud.*, 2008, 17(6): 875-880
- [3] Saidl OB, Urriza MSG, Bour MEM., Dellali M, Aissa P and Duran R. Characterization of aerobic polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria from Bizerte lagoon sediments, Tunisia. *J. Appl. Microbiol.*, 2008, 104: 987-997
- [4] Cerniglia, Heitkamp CE and MA. Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment // Varanasi U. *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc., 1989: 42-68
- [5] Doddamani HP, Ninnekar HZ. Biodegradation of phenanthrene by a *Bacillus* species. *Curr. Microbiol.*, 2000, 41: 11-14
- [6] Zeinali M, Vossoughi M and Ardestani SK. Degradation of phenanthrene and anthracene by *Nocardia otitidiscaviarum* strain TSH1, a moderately thermophilic bacterium. *J. Appl. Microbiol.*, 2008, 105: 398-406
- [7] 贾玉红, 曲媛媛, 周集体, 李昂, 艾芳芳. 非降解菌的特性及

- 其降解酶纯化研究. 环境科学与技术, 2009, 32(5): 21-25
- [8] López Z, Vila J, Julio J, Calvo O, Grifoll M. Simultaneous biodegradation of creosote-polycyclic aromatic hydrocarbons by a pyrene-degrading *Mycobacterium*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2008, 78: 165-172
- [9] Kim YH, Freeman JP, Moody JD, Engesser KH, Cerniglia CE. Effects of pH on the degradation of phenanthrene and pyrene by *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2005, 67: 275-285
- [10] Moody JD, Freeman JP, Doerge DR, Cerniglia CE. Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of *Mycobacterium* sp. Strain PYR-1. Appl. Environ. Microbiol., 2001, 67: 1 476-1 483
- [11] Stingley RL, Khan AA, Cerniglia CE. Molecular characterization of a phenanthrene degradation pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2004, 322: 133-146
- [12] Cerniglia CE. Recent advances in the biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Mycobacterium* species. The utilization of bioremediation to reduce soil contamination: Problems and solutions // Šašek V, Glaser JA, Baveye P. NATO Science Series IV. Earth Environmental Sciences. Boston: Kluwer, 2000: 19
- [13] López Z, Vila J, Minguillón C, Grifoll M. Metabolism of fluoranthene by *Mycobacterium* sp. strain AP1. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2006, 70: 747-756
- [14] López Z, Vila J, Grifoll M. Metabolism of fluoranthene by mycobacterial strains isolated by their capacity of growing in fluoranthene and pyrene. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2005, 32: 455-464
- [15] Chadhain SMN, Moritz EM, Kim E, Zylstra GJ. Identification, cloning and characterization of a multicomponent biphenyl dioxygenase from *Sphingobium yanoikuyae* B1. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 2007, 34: 605-613
- [16] Sakai M, Ezaki S, Suzuki N, Kurane R. Isolation and characterization of a novel polychlorinated biphenyl-degrading bacterium, *Paenibacillus* sp. KBC101. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2005, 68: 111-116
- [17] 赵渝, 高林, 徐亚同, 郭鲁申, 陆貽通. 高效菲降解菌的分离鉴定及细胞表面结构研究. 华东师范大学学报(自然科学版), 2008(2): 92-99
- [18] Bogan BW, Lahner LM, Sullivan WR and Paterek JR. Degradation of straight-chain aliphatic and high-molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a strain of *Mycobacterium austroafricanum*. J. Appl. Microbiol., 2003, 94: 230-239
- [19] 毛健, 骆永明, 腾应, 李振高. 一株副球菌对污染土壤中多环芳烃的降解研究. 土壤, 2009, 41(3): 448-453
- [20] 毛健, 骆永明, 腾应, 李振高, 吴宇澄. 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. 微生物学通报, 2008, 35(7): 1011-1015
- [21] 郑天凌, 骆苑蓉, 曹晓星, 黄栩, 胡忠, 田蕴. 高分子量多环芳烃—苯并[a]芘的生物降解研究进展. 应用与环境生物学报, 2006, 12(6): 884-890
- [22] Juhasz AL, Naidu R. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. Internat Biodeterior & Biodegr, 2000, 45: 57-88
- [23] Lecureur V, Ferrec EL, N'diaye M, Vee ML, Gardyn C, Gilot D, Fardel O. ERK-dependent induction of TNF α expression by the environmental contaminant benzo(a)pyrene in primary human macrophages. FEBS Lett., 2005, 579: 1 904-1 910
- [24] 周德勋, 骆永明, 徐凤花, 腾应, 李振高. 土壤环境中多环芳烃的微生物降解及联合生物修复. 土壤, 2007, 39(3): 334-340
- [25] Erlean CM, Marchant R, Banat IM. An evaluation of soil colonisation potential of selected fungi and their production of ligninolytic enzymes for use in soil bioremediation applications. Antonie van Leeuwenhoek, 2006, 90: 147-158
- [26] 许华夏, 李培军, 刘宛, 台培东, 王新. 真菌细胞色素 P450 多环芳烃浓度及降解率的相互关系. 农业环境科学学报, 2004, 23(5): 972-976
- [27] 王磊, 宋玉芳, 张薇, 陈朗, Freestone D, Ackland ML. 蚯蚓 (*Eisenia fetida*) 细胞色素 P450 及抗氧化酶系对环境浓度苯并[a]芘的响应. 农业环境科学学报, 2009, 28(2): 337-342
- [28] 李春玉, 石利利, 单正军, 孔德洋. 苯并[a]芘和二苯并[a, h]蒽的土壤降解特性及其影响因素. 生态与农村环境学报, 2008, 24(4): 83-86
- [29] 苏丹, 李培军, 王鑫, 许华夏. 3 株细菌对土壤中芘和苯并芘的降解及其动力学. 中国环境科学, 2007, 28(4): 913-917
- [30] 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. 中国环境科学, 2006, 26(2): 188-191

Mechanism of Microbial Degradation for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons

TANG Ting-ting, JIN Wei-gen

(East China Institute of Technology, College of Biology, Chemistry and Material Science, Fuzhou, Jiangxi 344000, China)

Abstract: This paper introduced the mechanism of microbial degradation PAHs in the soil, compared the different degradation metabolic processes for phenanthrene by *Bacillus* sp. and *Mycobacterium* sp., analyzed the metabolic processes for phenanthrene and pyrene by *M.vanbaalenii* PYR-1, stated that the degradation for PAHs by microbial oxidation mainly begin from K- and Bay- region, and the degradation of the toxic PAHs is mainly attributed to the oxidation of K- region. Fungi have stronger degradation ability to the benzo[a]pyrene comparing to bacteria. Also this paper gave the proposed pathways for phenanthrene, pyrene and benzo[a]pyrene for the further research.

Key words: PAHs, Microorganism degradation, Mechanism