

微生物降解 1,2,4-三氯苯研究进展^①

宋洋, 王芳, 蒋新*

(土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要: 1,2,4-三氯苯(1,2,4-TCB)的微生物降解机制包括好氧降解、还原脱氯和共代谢。本文简要综述了国内外对 1,2,4-TCB 微生物降解方面的研究进展,分析了其微生物降解的可行性,讨论了其好氧降解的微生物种类以及降解途径,阐述了厌氧条件下,混合菌群以及纯菌株对 1,2,4-TCB 还原脱氯的过程,目的是为 1,2,4-TCB 污染土壤的微生物修复提供依据。

关键词: 1,2,4-三氯苯; 好氧降解; 还原脱氯; 共代谢

中图分类号: S154.3; X5

1,2,4-三氯苯(1,2,4-TCB)属于氯苯类化合物,工业用途广泛,主要用作化学制造的溶剂、印染载体、农药合成、绝缘添加剂、脱油脂剂、润滑液和电解液等^[1]。2005年我国 TCB 的生产量为 5 000 t,欧盟仍生产 1,2,4-TCB 5 000 t/a^[2]。由于其广泛使用,1,2,4-TCB 已在土壤^[3]、地下水^[4]、废水^[5-6]、活性污泥^[7]、沉积物^[8]以及蔬菜^[9]中检出。由于其持久性、高毒性以及随食物链富集^[10],美国环境保护局(EPA)已将其列入 31 种环境优先控制污染物名单^[11]。

1,2,4-TCB 是三氯苯中用量最大的同分异构体,并且其苯环上的氯取代基存在邻位(*ortho*-)、间位(*meta*-)、对位(*para*-)3种空间结构。因此,1,2,4-TCB 作为氯苯类模式污染物,其在环境中的降解已引起广大学者的关注。高电负性的氯原子使苯环成为一个很难被氧化的疏电子环^[12],1,2,4-TCB 的光学和化学降解都很缓慢,生物降解就成为其降解的主要途径^[13]。微生物在长期接触氯苯类化合物过程中能够通过自身变异或通过形成诱导酶而逐步适应外界环境,进而能够降解或转化此类化合物^[12,14]。Field 等^[15]通过 Gibbs 自由能证实了,在好氧和厌氧条件下 1,2,4-TCB 生物降解的热力学可行性。本文简要介绍了近年来微生物降解 1,2,4-TCB 的研究进展,以期能为 1,2,4-TCB 污染修复提供依据。

1 1,2,4-TCB 生物降解的可行性

氯苯类化合物难以降解主要是因为高电负性的氯原子使其亲电反应活性下降^[16],化学性质相当稳定,并且由于 1,2,4-TCB 挥发作用强烈,不同学者对其降解研究得到不同结论。Freitag 等^[7]研究 1,2,4-TCB 在活性污泥中的降解时发现,只有少于 0.1% 的 1,2,4-TCB 矿化成 CO₂。Aelion 等^[17]报道了土壤蓄水层中 1,2,4-TCB 并没有显著矿化,经 8 个月的培养,矿化率不足 0.3%。Brunsbach 等^[18]报道了在土壤泥浆中,经 1 个月的培养,土著微生物不能降解初始浓度为 1 mmol/L 的 1,2,4-TCB。Dermietzel 等^[19]认为在好氧条件下,从污染水体中分离得到的微生物能够在无机盐培养基中降解很少量的 1,2,4-TCB。Marinucci 等^[20]研究了 1,2,4-TCB 在土壤中的降解,在 20℃时,1,2,4-TCB 的矿化速率仅为 1 nmol/(d·20 g 土),无机养分或共代谢不能促进其在土壤中的矿化。而 Schroll 等^[21]研究发现在污染土壤中,经过 23 天的培养后,土著微生物可将 62% 的 ¹⁴C-1,2,4-TCB 矿化为 ¹⁴CO₂。把污染土壤接种到农业土壤后亦可促进其矿化。国内,何耀武等^[22]研究了在好氧和厌氧条件下 1,2,4-TCB 在土壤中的降解。研究表明,1,2,4-TCB 在土壤中的降解符合一级反应动力学,并且好氧降解比厌氧降解迅速,降解半衰

①基金项目:国家自然科学基金项目(41030531, 20707028, 40921061, 40771104)和江苏省自然科学基金项目(BK2010608)资助。

* 通讯作者(jiangxin@issas.ac.cn)

作者简介:宋洋(1986—),男,山东济南人,博士研究生,主要从事土壤化学与污染控制技术研究。E-mail: ysong@issas.ac.cn

期分别为 1.89~5.86 天和 5.07~19.08 天; 在 100 $\mu\text{g/g}$ 浓度范围内, 降解速率随着 1,2,4-TCB 浓度的升高而加快。由此可见, 尽管有研究表明其矿化速率很低, 但近年来的研究亦表明了其生物降解的可行性。

2 1,2,4-TCB 的好氧降解

对于 1,2,4-TCB 不能或只有少量被矿化的研究结果, 其部分原因是由于微生物适应期不足或者降解能力不够造成的^[21]。事实上, 近十几年来, 环境学者从活性污泥、污染土壤或水体中已经驯化、分离得到 1,2,4-TCB 的高效降解菌株, 并通过 16S rRNA 技术对其进行了鉴定 (表 1)。

表 1 已分离出的 1,2,4-TCB 好氧降解菌株
Table 1 Isolated strains of aerobic degradation of 1, 2, 4-TCB

降解菌	分离介质	时间	参考文献
假单胞菌	<i>Pseudomonas</i> sp.P51	底泥	1987 [23]
	<i>Pseudomonas</i> sp.Ps1	活性污泥	1993 [24]
	<i>Pseudomonas stutzeri</i> sp.THSH-1	污染土壤	2005 [25-26]
	<i>Pseudomonas nitroreducens</i> sp.J5-1	污染土壤	2005 [27]
	<i>Pseudomonas</i> sp.SA-6	污染土壤	2007 [10]
伯克霍尔德氏菌	<i>Burkholderia</i> sp. PS14	污染土壤	1999 [1,28-29]
红球菌	<i>Rhodococcus</i> sp.MS11	富集液	1999 [30]
博德特氏菌	<i>Bordetella</i> sp.E3; F2	污染土壤	2007 [31-32]
肠杆菌	<i>Enterobacter</i> sp.SA-2	污染土壤	2007 [10]
白腐真菌	<i>Trametes versicolor</i>		2009 [33]

2.1 细菌降解 1,2,4-TCB

Van Der Meer 等^[23]从莱茵河底泥中分离出一株能够降解 1,2,4-TCB 和所有二氯苯 (DCB) 的菌株, 并根据其生理特征命名为 *Pseudomonas* sp. P51。在土柱实验中, 将 P51 接种到未灭菌的土柱中, 并以含 10~1000 $\mu\text{g/L}$ 氯苯的莱茵河水淋洗, 结果表明只要有氯苯存在下 P51 至少能在土柱中存活 60 天而不失降解活性, 并且在距土柱上端 10 cm 处对 1,2,4-TCB 的去除率为 2.2 nmol/(d·cm)。

Sander 等^[28]从一个废弃物处理厂的土壤中分离得到两株氯苯降解菌, 并根据其生理特征鉴定为假单胞菌 *Pseudomonas* sp. PS12 和 *Pseudomonas* sp. PS14, 其中 PS12 能够利用一氯苯 (MCB)、所有 DCB 和 1,2,4-TCB 为碳源生长; PS14 还能降解 1,2,4,5-四氯苯 (1,2,4,5-TeCB)。Rapp 等^[1,29]通过 16S rRNA 技术, 将 *Pseudomonas* sp. PS14 重新鉴定为伯克霍尔德菌 *Burkholderia* sp. PS14, 它能将初始浓度为 500 nmol/L 的 1,2,4-TCB 在 1 h 内降解到检测线以下 (0.5 nmol/L), 矿化率达到 63%。在含 1,2,4-TCB 54.4 ng/g 的灭菌土壤中接种 PS14, 经 72 h 后矿化率可达 80%。Rapp 等^[30]又从 *Burkholderia* sp. PS14 的富集液中分离得到一株 1,2,4-TCB 降解菌, 并鉴定为红球菌 *Rhodococcus* sp. MS11。MS11 不仅能够降解 1,2,4-TCB, 还能降解

1,2,4-三溴苯, 1,2-、1,4-二碘苯, 也能利用 1,4-二氟苯生长, 表现出较宽的降解谱。

Adebusoye 等^[10]报道了从热带土壤中分离得到的两株多氯联苯降解菌并鉴定为肠杆菌 *Enterobacter* sp. SA-2 和假单胞菌 *Pseudomonas* sp. SA-6, 它们能够以 1,2,4-TCB 为唯一碳源和能源生长, 并可降解所有 DCB 和其他 TCB, 不能以 TeCB 为唯一碳源生长。这是首次报道的从热带土壤中分离的氯苯降解菌。

国内对 1,2,4-TCB 的研究并不多, 但也分离出高效降解菌株。如从氯苯生产车间的土壤中分离的施氏假单胞菌 *Pseudomonas stutzeri* sp.THSH-1 和硝基还原假单胞菌 *Pseudomonas nitroreducens* sp. J5-1^[25-27]。在 THSH-1 中发现一大一小 40.2 kb 的质粒, 将其转化到 *E.coli*.JM109 中, 转化子能够以 1,2,4-TCB 为唯一碳源生长, 且有氯离子释放。J5-1 对 1,2,4-TCB 降解服从一级反应动力学, 当底物浓度由 4 mg/L 上升到 400 mg/L 时, 其降解速率常数逐渐增大, 降解半衰期逐渐缩短。王芳等^[31-32]采用同位素示踪法从受氯苯污染长达 25 年的土壤中分离得到能够矿化 1,2,4-TCB 的菌株 E3 和 F2, 并鉴定为博德特氏菌 *Bordetella* sp.。E3 和 F2 能够将 1,2,4-TCB 彻底降解成 $^{14}\text{CO}_2$, 30 天内降解率达到 90% 以上, 把 F2 接种到土壤 30 天后, 有 39% 的 1,2,4-TCB 矿化成 $^{14}\text{CO}_2$, 而未接种处理矿化率仅有 2%。

Asconabrera 等^[24]利用硅油和无机盐组成的双液相体系, 经 1 个月的驯化, 成功分离了一株 1,2,4-TCB 降解菌, 并根据生理特征鉴定为假单胞菌 *Pseudomonas* sp.Ps1, 研究发现有 50% 的微生物集中在双液相界面层中利用底物生长, 这种双液相体系显著缩短了分离菌株所需要的驯化时间。

2.2 真菌降解 1,2,4-TCB

对 1,2,4-TCB 的降解并不只限于细菌。Marco-Urrea 等^[33]首次报道了白腐真菌 *Trametes versicolor* 对氯苯类化合物的降解。当 1,2,4-TCB 浓度为 6 mg/L 时, 培养 4 天时降解速率为 2.49 nmol/(d·mg) 细胞干重, 7 天后降解率达 79.6%, 培养基中氯离子与 1,2,4-TCB 浓度比为 2.6:1, 表现出较强脱氯能力。

2.3 1,2,4-TCB 好氧降解途径

好氧条件下, 1,2,4-TCB 的降解途径分为先脱氯再开环和先开环再脱氯两种方式。

Marinucci 等^[20]研究了 1,2,4-TCB 在富集液中的降解, 通过对中间产物的测定推导出其可能的降解途径是先脱氯再开环, 即首先在单加氧酶的作用下脱除一个氯原子形成二氯代苯酚。Marinucci 等^[20]指出, 由于对位氯取代基的吸电子效应, 使相应的碳离子比较稳定, 反应活性降低, 因此, 首先脱除的应该是 1、2 位的氯原子。产物中有大量的 2,4-二氯酚存在, 而 2,5-

二氯酚和 2,6-二氯酚相对较少也证实了此观点。2,4-二氯酚再在单加氧酶作用下形成 3,5-邻苯二酚, 然后在邻苯二酚双加氧酶的作用下开环氧化。

多数分离的菌株对 1,2,4-TCB 的降解都是通过先开环后脱氯途径^[26,28,33-36]。如图 1 所示, 1,2,4-TCB 在双加氧酶的作用下产生环双氧化, 在苯环上插入氧原子形成环状氯代二醇, 再在脱氢酶的作用下, 脱去两个氢原子转化为 3,4,6-三氯邻苯二酚; 邻苯二酚在邻苯二酚 1,2 双加氧酶(II)的作用下氧化开环, 生成氯代粘康酸(2,3,5-三氯-2,4-己二烯二酸), 它能在环异构酶 II 的作用下产生内酯化脱去氯原子生成 2,5-二氯-2,4-二烯-1,4-内酯-己酸, 进而通过水解酶 II 生成 2,5-二氯-4-氧代-2-烯己二酸, 这种化合物可在 NADH 作用下打开双键, 形成饱和和脂肪酸, 同时脱去氯离子, 进而断裂形成琥珀酸和乙酸, 最终进入 TCA 循环。Marco-Urrea 等^[33]在研究真菌对 1,2,4-TCB 的降解时指出, 细胞色素 P450 单加氧酶参与了 1,2,4-TCB 第一步氧化, 即 1 个氧原子插入到 5,6 位 C=C 双键中, 然后再在环氧化物水解酶作用下生成环状氯代二醇, 后续降解途径与上述相似, 略有不同的是在 2,5-二氯-2,4-二烯-1,4-内酯-己酸水解时释放一个氯离子产生 5-氯-4-氧代-2-烯己二酸, 进而生成 5-氯-5-羟基-4-氧代-2-烯戊酸。

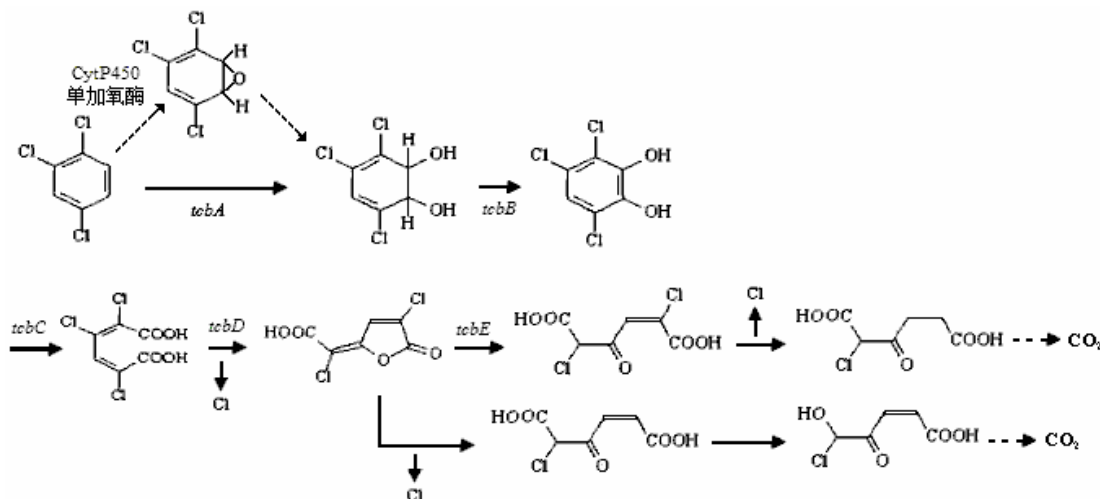


图 1 1,2,4-TCB 好氧降解途径^[26,28,33-36]

Fig. 1 Pathway of aerobic degradation of 1, 2, 4-TCB

2.4 1,2,4-TCB 的降解基因

1,2,4-TCB 的降解是由多个降解基因和酶共同作用实现的。van der Meer 等^[34-36]通过杂交的方法研究 P51 对 1,2,4-TCB 的降解, 在一大一小 110 kb 的降解质

粒中检测到两个基因簇, 并在 *E.coli*, *A.eutrophus* 和 *P.putida* 中克隆了该降解基因, 结果表明两个基因簇分别编码 1,2,4-TCB 上游和下游的降解途径(图 1)。其中 *tcbA* 和 *tcbB* 负责编码 1,2,4-TCB 上游降解, 即将

1,2,4-TCB 在双加氧酶系统和脱氢酶作用下转化成氯代邻苯二酚; *tcbC*、 *tcbD* 和 *tcbE* 负责下游降解, 分别编码邻苯二酚 1,2 双加氧酶(II) (CC12O)、环异构酶 II 和水解酶 II。Rapp 等^[30]采用 PCR 方法检测到 MS11 含有编码氯苯双氧化酶的基因。宋蕾等^[27]从 J5-1 基因组 DNA 中克隆得到了 CC12O 基因并命名为 *tcbC*。根据 11 个 CC12O 基因的进化树分析得出 *tcbC* 与来自 *Pseudomonas* sp. P51 的 *tcbC* 同源性最高。

3 1,2,4-TCB 的还原脱氯

卤代有机化合物在厌氧微生物代谢过程中可以起到 3 种作用: ①作为碳源或能源或二者都是; ②作为共代谢基质; ③作为最终电子受体^[37]。研究表明, 厌氧条件下, 微生物可以通过脱氯共呼吸作用, 将氯苯类化合物还原脱氯^[38]。在此过程中, 氯苯类化合物作为最终电子受体, 微生物在转移电子的同时合成自身生长所需要的能量(ATP)。其中, 葡萄糖、甲醇、乙醇、甲酸盐、乙酸盐、丙酸盐、乳酸和氢等均能作为良好的电子供体(表 2)。从 Gibbs 自由能 ΔG^0 角度, 1,2,4-TCB 发生还原脱氯反应的产物顺序应该是 1,4-DCB>1,3-DCB>1,2-DCB, 即 1, 2 位的氯离子最容易脱掉^[47]。但也有研究报道, 在对海洋沉积物的厌氧培养中, 1,2-DCB 生成速率最快, 2 位和 4 位的氯离子释放速率比 1 位快 10 倍^[39]。

Ramanand 等^[40]报道了产甲烷条件下, 接种可以降

解 1,2,4-TCB 的微生物菌群于土壤泥浆中, 30 天内可以将初始浓度 1 500 $\mu\text{mol/L}$ 的 1,2,4-TCB 降解 63%, 142 天时残留浓度为 8.7 $\mu\text{mol/L}$, 脱氯产物主要是 1,4-DCB 和少量的 1,3-DCB。Middeldorp 等^[42]报道了产甲烷菌群在 4 天内能够将大于 20 $\mu\text{mol/L}$ 的 1,2,4-TCB 完全降解为 1,4-DCB 进而继续脱氯生成 MCB, 乳酸盐、葡萄糖、乙醇、甲醇、丙酸盐、乙酸盐、氢气均能作为脱氯过程中的电子供体, 但甲酸盐不能。很多学者在研究六氯苯还原脱氯时表明 1,2,4-TCB 作为六氯苯还原脱氯的中间产物, 还可以继续厌氧脱氯^[41-48]。

Adrian 等^[43]通过 39 次连续转接, 从流化床生物反应器中分离得到能够还原脱氯的厌氧混合菌群, 在以丙酮酸盐为碳源和能源, 以 Ti(III) 为还原剂的培养基中, 菌群可以在 14 天内将 20 $\mu\text{mol/L}$ 的 1,2,4-TCB 完全脱氯降解, 高浓度的硫酸盐显著抑制脱氯反应, 但当硫酸盐还原完全后, 1,2,4-TCB 脱氯重新开始。反应过程中甲酸盐作为直接电子供体提供电子给三氯苯, 而氢气不能作为电子供体。Adrian 等^[44]对上述菌群进行了进一步的转接, 在 10 mmol/L 丁酸盐和柠檬酸钛共存的培养基中, 经 7~9 天培养, 可将 15 $\mu\text{mol/L}$ 的 1,2,4-TCB 完全转化成 1,4-和 1,3-DCB。菌群的生长受 1,2,4-TCB 浓度的限制, 脱氯能力与三氯苯浓度线性相关。与前期研究结果不同的是转接后的菌群还可以利用氢气作为电子供体。

表 2 厌氧微生物对 1,2,4-TCB 的还原脱氯降解

Table 2 Reductive dechlorination of 1, 2, 4-TCB by anaerobic microcosms and strains

菌体来源	电子供体	脱氯产物	参考文献
海洋沉积物		1,2-DCB, 1,4-DCB, 1,3-DCB	[39]
泥浆富集液		1,4-DCB, 1,3-DCB, MCB	[40]
活性污泥		1,2-DCB, 1,3-DCB, 1,4-DCB	[41]
河流沉积物+活性污泥	乳酸盐、葡萄糖、乙醇、甲醇、丙酸盐、乙酸盐、氢气	1,4-DCB, MCB	[42]
流化床生物反应器	丙酮酸盐或甲酸盐	1,4-DCB, 1,3-DCB	[43]
流化床生物反应器	丙酮酸盐或氢气	1,4-DCB, 1,3-DCB	[44]
<i>Dehalococcoides</i> sp.CBDB1	氢气	1,4-DCB, 1,3-DCB	[45]
<i>Staphylococcus epidermidis</i> Strain A	氢气 NADPH	1,2-DCB, 1,4-DCB, 1,3-DCB, MCB	[46]

1,2,4-TCB 的厌氧降解多数情况是混合菌群作用结果, 纯菌株的分离一直是难点所在, 而只有分离出纯菌株才能明晰 1,2,4-TCB 的还原脱氯过程。2000 年 Adrian 等^[45]第一次分离出能够在严格厌氧环境下降解

氯苯类化合物的菌株 *Dehalococcoides* sp.CBDB1, 它能在氢气共存条件下将 1,2,3-TCB、1,2,4-TCB、1,2,3,4-TeCB、1,2,3,5-TeCB 和 1,2,4,5-TeCB 还原脱氯, 并能通过“脱氯共呼吸”作用满足其对能量的需求。

菌株 14 ~ 21 天内能将 1,2,4-TCB 降解成 72% 的 1,4-DCB 和 28% 的 1,3-DCB, 但它对氧气极为敏感, 在好氧条件下暴露几秒钟即失去脱氯能力。 *Dehalococcoides* sp. CBDB1 的细胞提取物还能降解五氯苯和六氯苯^[49], 但通过破碎细胞并没有提高三氯苯的降解速率, 作者推断其还原降解三氯苯的酶可能来自细胞膜外。

4 共代谢

Jensen^[50]将共代谢的概念定义为只有在初级能源物质存在时才能进行的化合物的生物降解过程。微生物对非生长基质的降解无论是氧化作用还是还原作用都是共代谢。迄今为止对 1,2,4-TCB 共代谢降解报道不多。Brunsach 等^[18]报道了在土壤泥浆中, 接种能够降解 MCB 和 1,4-DCB 的菌株 *Pseudomonas aeruginosa* strain RHO1, 在 10 mmol/L 乙醇或乙酸盐共存下, RHO1 能够降解 0.5 mmol/L 浓度的 1,2,4-TCB 并释放出 1.47 mmol/L 的氯离子。并且当初级生长物质降解完全后, 1,2,4-TCB 的降解也停止。1,2,4-TCB 的存在使得该菌对 MCB 和 1,4-DCB 的降解产生滞后, 降低其降解速率, 说明两种基质的代谢之间存在着相互作用^[12]。共代谢还存在另外一种机制, 即生长基质被完全消耗时处于内源呼吸状态的微生物对非生长基质的转化^[50]。瞿福平等^[46]研究发现, 当分别用 CB、1,2-DCB 和 1,3-DCB 驯化污泥 30 天后, 处于内源呼吸状态的微生物不能降解 1,2,4-TCB, 而 1,4-DCB 驯化的污泥能够降解 1,2,4-TCB。这是因为 1,4-DCB 与 1,2,4-TCB 结构上存在相似的“连续两空结构”, 与 CB 等存在的“连续三空结构”不同, 所以诱导的酶对底物要求不同, 降解能力也就不同^[46]。

Adrian 等^[47]认为, 在厌氧条件下如果脱氯反应对微生物生长没有影响, 那么这一过程也属于共代谢过程。如从老鼠肠内分离得到的兼性厌氧菌表皮葡萄球菌 *Staphylococcus epidermidis* strain A 能够在氢气共存的厌氧条件下将 1,2,4-TCB 还原脱氯, 但 DCB 的生成速率只有 6.8 nmol/(mg (细胞干重)·d)^[51]。脱氯过程与细菌生长关系不大, 并且好氧条件下菌株生长更旺盛。这是唯一在厌氧条件下共代谢降解 1,2,4-TCB 的菌株。

5 展望

随着六氯苯、五氯苯先后被列为持久性有机污染物, 人们对环境中氯苯类化合物的消除将更为关注。

在实验室可控条件下已经分离得到多株 1,2,4-TCB 降解菌, 但对其在自然环境下的修复潜力研究较少。自然环境在污染物浓度、环境温度、pH 等方面与实验室条件截然不同, 如何完成特定微生物在自然环境中的定殖行为而不失其降解活性以及基因工程菌的构建, 是今后亟待解决的问题。随着厌氧菌株在特定培养基上分离成功, 厌氧微生物对 1,2,4-TCB 等氯苯类化合物的还原脱氯降解机制将更为清晰, 能否分离出更多厌氧降解菌; 在多大程度上能刺激或加速厌氧微生物在沉积物以及地下水等环境中对氯苯类化合物的生物修复将得到更广泛的关注。

参考文献:

- [1] Rapp P. Multiphasic kinetics of transformation of 1,2,4-trichlorobenzene at nano- and micromolar concentrations by *Burkholderia* sp strain PS14. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(8): 3 496-3 500
- [2] ECB. 1,2,4-Trichlorobenzene European Union Risk Assessment Report. European Commission Joint Research Centre, 2003, EUR 20540 EN
- [3] Zolezzi M, Cattaneo C, Tarazona JV. Probabilistic ecological risk assessment of 1,2,4-trichlorobenzene at a former industrial contaminated site. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(9): 2 920-2 926
- [4] Boyd EM, Killham K, Wright J, Rumford S, Hetheridge M, Cumming R, Meharg AA. Toxicity assessment of xenobiotic contaminated groundwater using *lux* modified *Pseudomonas fluorescens*. *Chemosphere*, 1997, 35(9): 1 967-1 985
- [5] Oliver BG, Nicol KD. Chlorobenzenes in sediments, water, and selected fish from Lakes Superior, Huron, Erie, and Ontario. *Environmental Science & Technology*, 1982, 16(8): 532-536
- [6] Monferrán MV, Echenique JR, Wunderlin DA. Degradation of chlorobenzenes by a strain of *Acidovorax avenae* isolated from a polluted aquifer. *Chemosphere*, 2005, 61(1): 98-106
- [7] Freitag D, Ballhorn L, Geyer H, Korte F. Environmental hazard profile of organic chemicals an experimental method for the assessment of the behavior of organic chemicals in the ecosphere by means of simple laboratory tests with ¹⁴C labelled chemicals. *Chemosphere*, 1985, 14(10): 1 589-1 616
- [8] Gaffney PE. Carpet and rug industry case-study. II. Biological effects. *Journal Water Pollution Control Federation*, 1976, 48(12): 2 731-2 737
- [9] Zhang JY, Zhao W, Pan J, Qiu LM, Zhu YM. Tissue-dependent distribution and accumulation of chlorobenzenes by vegetables in

- urban area. *Environment International*, 2005, 31(6): 855-860
- [10] Adebuseye SA, Picardal FW, Ilori MO, Amund OO, Fuqua C, Grindle N. Aerobic degradation of di- and trichlorobenzenes by two bacteria isolated from polluted tropical soils. *Chemosphere*, 2007, 66(10): 1 939-1 946
- [11] EPA. Priority Chemicals. [2010-3-5]. <http://www.epa.gov/epawaste/hazard/wastemin/priority.htm>
- [12] 甘平, 朱婷婷, 樊耀波, 王敏健. 氯苯类化合物的生物降解. *环境污染治理技术与设备*, 2000, 1(4): 1-12
- [13] Barber JL, Sweetman AJ, van Wijk D, Jones KC. Hexachlorobenzene in the global environment: Emissions, levels, distribution, trends and processes. *Science of The Total Environment*, 2005, 349(1/3): 1-44
- [14] Wu QZ, Milliken CE, Meier GP, Watts JEM, Sowers KR, May HD. Dechlorination of chlorobenzenes by a culture containing bacterium DF-1, a PCB dechlorinating microorganism. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(15): 3 290-3 294
- [15] Field JA, Sierra-Alvarez R. Microbial degradation of chlorinated benzenes. *Biodegradation*, 2008, 19(4): 463-480
- [16] 徐向阳, 任艳红, 黄绚, 郑平. 典型有机污染物微生物降解及其分子生物学机理的研究进展. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2004, 30(6): 684-689
- [17] Aelion CM, Swindoll CM, Pfaender FK. Adaption to and biodegradation of xenobiotic compounds by microbial communities from a pristine aquifer. *Applied and Environmental Microbiology*, 1987, 53(9): 2 212-2 217
- [18] Brunsbach FR, Reineke W. Degradation of chlorobenzenes in soil slurry by a specialized organism. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1994, 42(2/3): 415-420
- [19] Dermietzel J, Vieth A. Chloroaromatics in groundwater: chances of bioremediation. *Environmental Geology*, 2002, 41(6): 683-689
- [20] Marinucci AC, Bartha R. Biodegradation of 1,2,3-Trichlorobenzene and 1,2,4-Trichlorobenzene in soil and in liquid enrichment culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 1979, 38(5): 811-817
- [21] Schroll R, Brahusi F, Dörfler U, Kuhn S, Fekete J, Munch JC. Biomineralisation of 1,2,4-trichlorobenzene in soils by an adapted microbial population. *Environmental Pollution*, 2004, 127(3): 395-401
- [22] 何耀武, 孙铁珩. 1,2,4-三氯苯在土壤中的降解. *应用生态学报*, 1996, 7(4): 429-434
- [23] van der Meer JR, Roelofsen W, Schraa G, Zehnder AJB. Degradation of low concentrations of dichlorobenzenes and 1,2,4-trichlorobenzene by *Pseudomonas* sp. strain P51 in nonsterile soil columns. *FEMS Microbiology Letters*, 1987, 45(6): 333-341
- [24] Asconcabrera M, Lebeault JM. Selection of xenobiotic-degrading microorganisms in a biphasic aqueous-organic system. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(6): 1 717-1 724
- [25] 宋蕾, 王慧, 施汉昌, 胡洪营. 1,2,4-三氯苯降解菌的分离及其降解质粒的研究. *中国环境科学*, 2005, 25(4): 385-388
- [26] 宋蕾, 王慧, 施汉昌. 质粒 pT7 降解三氯苯的功能研究. *中国环境科学*, 2007, 27(1): 121-124
- [27] 宋蕾, 王慧, 姜健, 高静思, 施汉昌. 降解 1,2,4-三氯苯的硝基还原假单胞菌 J5-1 的分离鉴定和邻苯二酚 1,2-双加氧酶基因的克隆. *环境科学*, 2007, 28(8): 1 878-1 881
- [28] Sander P, Wittich RM, Fortnagel P, Wilkes H, Francke W. Degradation of 1,2,4-Trichlorobenzene and 1,2,4,5-Tetrachlorobenzene by *Pseudomonas* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(5): 1 430-1 440
- [29] Rapp P, Timmis KN. Degradation of chlorobenzenes at nanomolar concentrations by *Burkholderia* sp. strain PS14 in liquid cultures and in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(6): 2 547-2 552
- [30] Rapp P, Gabriel-Jurgens LHE. Degradation of alkanes and highly chlorinated benzenes, and production of biosurfactants, by a psychrophilic *Rhodococcus* sp and genetic characterization of its chlorobenzene dioxygenase. *Microbiology*, 2003, 149: 2 879-2 890
- [31] 王芳, Dörfler U, Schmid M, Grundmann S, Munch JC, 蒋新, Schroll R. 1,2,4-三氯苯矿化菌的鉴定与功能分析. *环境科学*, 2007, 28(5): 1 082-1 087
- [32] Wang F, Grundmann S, Schmid M, Döfler U, Roherer S, Munch JC, Hartmann A, Jiang X, Schroll R. Isolation and characterization of 1,2,4-trichlorobenzene mineralizing *Bordetella* sp. and its bioremediation potential in soil. *Chemosphere*, 2007, 67(5): 896-902
- [33] Marco-Urrea E, Perez-Trujillo M, Caminal G, Vicent T. Dechlorination of 1,2,3-and 1,2,4-trichlorobenzene by the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 166(2-3): 1 141-1 147
- [34] van der Meer JR, van Neerven ARW, De Vries EJ, De Vos WM, Zehnder AJB. Cloning and characterization of plasmid-encoded genes for the degradation of 1,2-dichloro- 1,4-dichloro- and 1,2,4-trichlorobenzene of *Pseudomonas* sp. strain P51. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(1): 6-15
- [35] van der Meer JR, Eggen RIL, Zehnder AJB, De Vos WM. Sequence analysis of the *Pseudomonas* sp. strain P51 tcb gene

- cluster which encodes metabolism of chlorinated catechols evidence for specialization of catechol 1,2-dioxygenases for chlorinated substrates. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(8): 2 425-2 434
- [36] van der Meer JR, Frijters ACJ, Leveau JHJ, Eggen RIL, Zehnder AJB, De Vos WM. Characterization of the *Pseudomonas* sp. strain P51 gene tcbR, a lysR-type transcriptional activator of the tcbCDEF chlorocatechol oxidative operon and analysis of the regulatory region. *Journal of Bacteriology*, 1991, 173(12): 3 700-3 708
- [37] Häggblom MM, Bossert ID. Dehalogenation Microbial Processes and Environmental Applications. USA: Rutgers University, 2003:116
- [38] Holliger C, Wohlfarth G, Diekert G. Reductive dechlorination in the energy metabolism of anaerobic bacteria. *FEMS Microbiol Reviews*, 1999, 22(5): 383-398
- [39] Yhonezawa Y, Fukui M, Masunaga S, Urushigawa Y. Dechlorination of 1,2,4-trichlorobenzene in the sediment of Ise Bay. *Chemosphere*, 1994, 28(12): 2 179-2 184
- [40] Ramanand K, Balba MT, Duffy J. Reductive dehalogenation of chlorinated benzenes and tolenes under methanogenic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(10): 3 266-3 272
- [41] Fathepure BZ, Tiedje JM, Boyd SA. Reductive dechlorination of hexachlorobenzene to tri and dichlorobenzene in anaerobic sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54(2): 327-330
- [42] Middeldorp PJM, deWolf J, Zehnder AJB, Schraa G. Enrichment and properties of a 1,2,4-trichlorobenzene-dechlorinating methanogenic microbial consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(4): 1 225-1 229
- [43] Adrian L, Manz W, Szewzyk U, Gorisch H. Physiological characterization of a bacterial consortium reductively dechlorinating 1,2,3- and 1,2,4-trichlorobenzene. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(2): 496-503
- [44] Adrian L, Szewzyk U, Gorisch H. Bacterial growth based on reductive dechlorination of trichlorobenzenes. *Biodegradation*, 2000, 11(1): 73-81
- [45] Adrian L, Szewzyk U, Wecke J, Gorisch H. Bacterial dehalorespiration with chlorinated benzenes. *Nature*, 2000, 408(6812): 580-583
- [46] 瞿福平, 张晓健, 何苗, 顾夏声. 氯苯类有机物生物降解性及共代谢作用研究. *中国环境科学*, 1997, 17(2): 142-145
- [47] Adrian L, Görisch L. Microbial transformation of chlorinated benzenes under anaerobic conditions. *Research in Microbiology*, 2002, 153(3): 131-137
- [48] Pavlostathis SG, Prytula MT. Kinetics of the sequential microbial reductive dechlorination of hexachlorobenzene. *Environmental Science & Technology*, 2000, 34(18): 4 001-4 009
- [49] Höelscher T, Goerisch H, Adrian L. Reductive dehalogenation of chlorobenzene congeners in cell extracts of *Dehalococcoides* sp. strain CBDB1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(5): 2 999-3 001
- [50] Jensen HL. Carbon nutrition of some microorganisms decomposing halogen substituted aliphatic acids. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 1963, 13(4): 404-412
- [51] Tsuchiya T, Yamaha T. Reductive dechlorination of 1,2,4-Trichlorobenzene by *Staphylococcus epidermidis* isolated from intestinal contents of rats. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1984, 48(6): 1 545-1 550

Microbial Degradation of 1,2,4-Trichlorobenzene: A review

SONG Yang, WANG Fang, JIANG Xin

(State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China)

Abstract: The mechanism of microbial degradation of 1,2,4-trichlorobenzene includes aerobic degradation, reductive dechlorination and co-metabolism. This paper provided a brief review of the research progress in the biodegradation of 1,2,4-TCB. The potential biodegradability was analyzed. The pathway of aerobic degradation of 1,2,4-TCB and the related microbial strains, as well as the reductive dechlorination of 1,2,4-TCB by microbial community or single strain were discussed. The aim of this paper is to provide a guide for microbial remediation of 1,2,4-TCB contaminated soil.

Key words: 1,2,4-Trichlorobenzene, Aerobic degradation, Dechlorination, Co-metabolism