

# PBDEs 好氧微生物降解动力学过程及热力学机制研究<sup>①</sup>

程吟文<sup>1,2</sup>, 谷成刚<sup>1\*</sup>, 刘总堂<sup>1,2</sup>, 朱梦荣<sup>1,2</sup>, 刘畅<sup>1,2</sup>,  
叶茂<sup>1</sup>, 卞永荣<sup>1</sup>, 杨兴伦<sup>1</sup>, 蒋新<sup>1</sup>

(1 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要:** 多溴联苯醚 (PBDEs) 是一种曾在全球范围内被广泛使用的溴代阻燃剂, 具有半挥发性、生物蓄积性、神经毒性和内分泌干扰效应等, 严重威胁生态环境和人体健康安全。本研究选择典型好氧降解菌伯克氏菌属 LB400, 对环境中普遍检出的中低溴联苯醚开展了降解动力学过程研究, 探讨了外加碳源作为共代谢底物对降解性能的影响, 模拟计算了降解中关键反应路径热力学状态函数性质变化, 以揭示其与表现降解速率常数  $k$  之间的相关关系。结果表明: 联苯作为共代谢底物时 PBDEs 的去除效率最高, 在降解菌的作用下, 0~120 h 内中低溴代 PBDEs 均能够发生降解, 降解过程符合一级反应动力学。羟基化反应可能是 PBDEs 微生物降解过程的速控步骤, 相比于间/对位取代, 活性氧自由基·OH 更倾向于攻击苯环碳原子的邻/间位置, 这为揭示 PBDEs 好氧微生物降解的分子作用机制, 促进土壤中高效好氧降解菌的选育与污染修复应用提供了科学依据。

**关键词:** 多溴联苯醚; 共代谢; 降解动力学; 羟基化; 热力学机制

中图分类号: X13; X592 文献标识码: A

多溴联苯醚 (PBDEs) 作为一种典型的添加型溴代阻燃剂, 由于其热稳定性好、价格低廉等优点, 曾被大量应用于各种电子电器、建材纺织和石油化工等工业领域中<sup>[1-2]</sup>。然而, 随着溴代阻燃剂使用量的不断上升, 目前全球范围内包括土壤、水、大气、沉积物与底泥, 以及不同生物组织等多种环境介质中均有 PBDEs 的检出<sup>[3-8]</sup>。PBDEs 化学性质稳定, 具有半挥发性和生物蓄积性, 可通过食物链传递作用进入人体并产生生物累积与生物放大效应<sup>[9-10]</sup>。据大量文献报道, PBDEs 作为一种典型的内分泌干扰物<sup>[11]</sup>, 可干扰生物体雌激素和甲状腺激素代谢水平<sup>[9-10]</sup>, 且具有神经毒性<sup>[12-16]</sup>、生殖毒性和胚胎毒性等<sup>[17-19]</sup>, 严重威胁人体健康安全。由于商用五溴联苯醚和八溴联苯醚在 2009 年《斯德哥尔摩公约》中被新增列入“持久性有机污染物 (POPs)”受控名单, PBDEs 污染所带来的环境问题备受关注。

微生物降解是环境中有机污染物自然消减的主要方法, 也是 PBDEs 污染消除的重要途径之一, 包括好氧、厌氧与混合功能微生物降解技术<sup>[20-25]</sup>。其

中, 好氧微生物降解周期短、成本低、能够彻底开环并矿化完全, 已成为微生物降解研究领域的新热点。研究表明, 好氧微生物如鞘氨醇单胞菌 *Sphingomonas* sp. PH-07<sup>[26]</sup>、铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*<sup>[27]</sup>、红球菌 *Rhodococcus jostii* RHA1 和伯克氏菌 *Brkholderia xenovorans* LB400<sup>[28]</sup> 均可在联苯醚等不同碳源存在的情况下, 发生共代谢降解 PBDEs, 其降解性能除受底物水溶性、温度、pH 和外加碳源种类的影响外<sup>[29]</sup>, 更取决于 PBDEs 中溴原子取代位置和数量: 随着溴取代基数目的增加, PBDEs 降解性能下降, 且降解开环反应更容易发生在没有溴原子取代的苯环上<sup>[28]</sup>。与结构相似的多氯联苯 (PCBs) 类似, PBDEs 好氧微生物降解过程亦可能受联苯代谢基因 (*bph* 途径) 及其编码酶——联苯双加氧酶 (BPDO) 的催化调控而优先羟基化, 继而脱氢, 环裂解和水解矿化为小分子物质<sup>[30-31]</sup>。然而, 由于现已分筛的 PBDEs 高效降解菌相对匮乏, 加之实际降解过程复杂、影响因素繁多而使得降解产物和中间体捕获鉴定分析困难, PBDEs 好氧降解机理的认识还处于初始阶段, 尤其羟基化反应的发生机

基金项目: 国家自然科学基金项目 (21377138)、国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 项目 (2014CB441105)、国家自然科学基金项目 (41271327 和 41271464) 和中科院“一三五”计划和领域前沿项目 (ISSASIP1618) 资助。

\* 通讯作者 (cggu@issas.ac.cn)

作者简介: 程吟文 (1992—), 女, 安徽合肥人, 硕士研究生, 研究方向为 PBDEs 好氧微生物降解及其分子作用机制。E-mail: ywcheng@issas.ac.cn

制与意义也不清晰。因此,本研究选择对 中低溴代联苯醚具有一定降解能力的伯克氏菌 *Brkholderia xenovorans* LB400, 开展典型 PBDEs 好氧微生物降解动力学过程和底物影响研究, 模拟计算关键反应路径的热力学函数性质变化, 探讨微生物表观降解性能与羟基化、脱氢等反应热力学函数变化之间的关系, 并阐释相关作用机制, 以期从热力学受控性角度反映羟基化反应对于整个好氧降解通道的决定性意义, 从而为 PBDEs 高效好氧降解菌的选育与污染修复应用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂

试验选取 6 种典型 PBDEs, 包括 2-溴联苯醚 (BDE-1), 2,2'-二溴联苯醚 (BDE-4), 2,4,4'-三溴联苯醚 (BDE-28), 2,2',4,4'-四溴联苯醚 (BDE-47), 2,2',3,4,4'-五溴联苯醚 (BDE-85) 和 2,2',3,4,4',5'-六溴联苯醚 (BDE-138), 纯度均为 99.5%, 购于美国 AccuStandard 公司; 色谱纯正己烷购于德国 Merck KgaA 公司; 试验中使用的无水乙醇、乙酸乙酯、丙酮、无水硫酸钠等试剂, 均为分析纯, 购于国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 菌种与培养条件

实验用菌种选择对 PCBs 具有广谱降解能力的优势菌 *B. xenovorans* LB400<sup>[32]</sup>, 购自德国菌种保藏中心 (DSMZ no. 17367)。LB400 菌株活化和培养采用胰蛋白胨大豆肉汤培养基 (TSB) 作为碳源, 购自青岛希望生物技术有限公司。称取 6 g TSB, 加水 200 ml 配制 TSB 液体培养基, 灭菌后取少量加入安瓿瓶内, 活化 LB400 冻干粉。称取 6 g TSB、3 g 琼脂, 加入 200 ml 水于三角烧瓶中, 灭菌冷却后于超净工作台中倒平板, 制作 TSB 固体培养基。用平板划线法将菌株接种至 TSB 固体培养基, 置于 30°C 恒温培养箱中培养。3 d 后, 取一环单菌落至 TSB 液体培养基中进行放大培养 (30°C 恒温水浴, 150 r/min)。当微生物生长至对数生长期时, 取菌液离心 (20 min、3 000 r/min), 并用磷酸盐缓冲溶液清洗 2 遍, 接种至无机盐培养基 (DSMZ medium no.457) 中, 加入共代谢底物在恒温水浴中条件下继续培养 (30°C, 150 r/min)。培养基中其他无机盐化合物均为分析纯, 购自南京化学试剂有限公司。所有培养基在使用前均经过 121°C、20 min 高温高压灭菌处理。菌液生长的对数期通过紫外可见分光光度计在 600 nm 波长下测定吸光度值 (OD600) 获得。

### 1.3 PBDEs 共代谢底物筛选与降解动力学实验

PBDEs 好氧微生物降解一般是通过外加碳源共代谢的方式来完成的。分别以 10 mmol/L 的联苯、乙醇和乙酸乙酯作为外加碳源加入降解体系中, 并设置一组不加共代谢底物的空白对照。设置 BDE-47 在降解体系中的初始浓度为 100 μg/L, 分别在降解体系建立后的 0、3、9、24、48、72 h 进行取样, 测定溶液体系中 BDE-47 随时间变化的降解残留, 并计算 BDE-47 在不同底物存在下的去除效果。

在 PBDEs 好氧降解动力学实验体系中, 以 10 mmol/L 的联苯作为底物, 利用好氧降解菌 LB400 对 BDE-1、BDE-4、BDE-28、BDE-85 和 BDE-138 进行降解动力学研究。实验中选用单标化合物溶于异辛烷中并调节溶液浓度为 50 μg/ml, 用移液枪移取 10 μl 于 12 ml 玻璃样品瓶中, 置通风橱中待溶剂挥发。5 min 后, 接种无机盐培养基中处于对数生长期的菌液 (OD600 约为 0.26 ~ 0.27) 5 ml 于样品瓶中, 无菌透气封口膜封口, 降解初始浓度为 100 μg/L。设置空白对照组, 在污染物中加入 5 ml 灭菌后的无机盐培养基, 使浓度同样为 100 μg/L。为了避免偶然误差, 所有处理组和对照组均设置 3 个平行。所有的样品置于恒温水浴中振荡培养 (30°C, 150 r/min)<sup>[28]</sup>。由于不同溴代模式 PBDEs 降解周期不同, 对于每种化合物的取样时间点设置也不相同。

### 1.4 测定方法

降解体系中 PBDEs 残留的提取采用正己烷 (1:1, v/v) 液-液萃取方法。待萃取完全, 转移 2 ml 有机相至离心管中, 加入 0.5 ml 无水硫酸钠, 12 000 r/min 下离心 1 min 以去除水分和细菌残留, 静置 30 min, 转移 1 ml 至 GC 棕色进样瓶中, 等待进样测定。PBDEs 定量分析采用 Agilent 7890A-ECD 气相色谱仪。选择 DB-5 毛细管色谱柱 (30.0 m × 0.32 mm × 0.25 μm), 进样口和检测器的温度分别设为 265°C 和 300°C, 设计升温程序如下: 初始温度为 140°C, 保持 2 min; 后以 5°C/min 的速度升至 180°C, 保持 5 min; 再以 5°C/min 的速度升至 260°C, 保持 2 min; 最后以 15°C/min 的速度升至 315°C, 保持 21 min。载气为 N<sub>2</sub>, 采用不分流进样, 进样量 1 μl。试验中 PBDEs 的残留浓度采用外标法测定, 获得各单标 PBDEs 化合物标准曲线, R<sup>2</sup> 均大于 0.999。溶液体系中 PBDEs 的回收率在 84% ~ 128%。

### 1.5 理论计算与数据分析

为揭示 PBDEs 好氧微生物降解过程的热力学受控性, 围绕降解过程中关键反应步骤, 假定邻 (*ortho*) / 间 (*meta*) 位-、间 (*meta*) / 对 (*para*) 位-双加氧, 即羟基亲

核加成反应和脱氢反应历经通道分别如图 1(a~c), 采用量子化学半经验分子轨道 AM1 计算方法对 PBDEs 与活性氧自由基 HO· 以及反应中间体 IM1、IM2 和 IM1' 等(图 1)进行结构优化和频率分析, 并计算热力学状态函数——反应吉布斯自由能变化( $\Delta_r G$ ), 即 *ortho/meta*-羟基化和脱氢反应吉布斯自由能变  $\Delta_r G_1$  和  $\Delta_r G_2$ , 以及 *meta/para*-羟基化反应吉布斯自由能变  $\Delta_r G_1$ 。其中,  $\Delta_r G$  为产物吉布斯自由能与反应物吉布斯自由能的差值, 即  $\Delta_r G = \sum(\epsilon_0 + G_{\text{corr}})_{\text{products}} - \sum(\epsilon_0 + G_{\text{corr}})_{\text{reactants}}$  ( $\epsilon_0$  和  $G_{\text{corr}}$  分别为总电子能和吉布斯自由能校正值)。结构优化和频率分析以 Gaussian 03 软件完成<sup>[33]</sup>。实验数据差异性比较分析采用 *t* 检验或单因子方差分析方法(ANOVA), 以 SPSS19.0 统计分析软件完成。

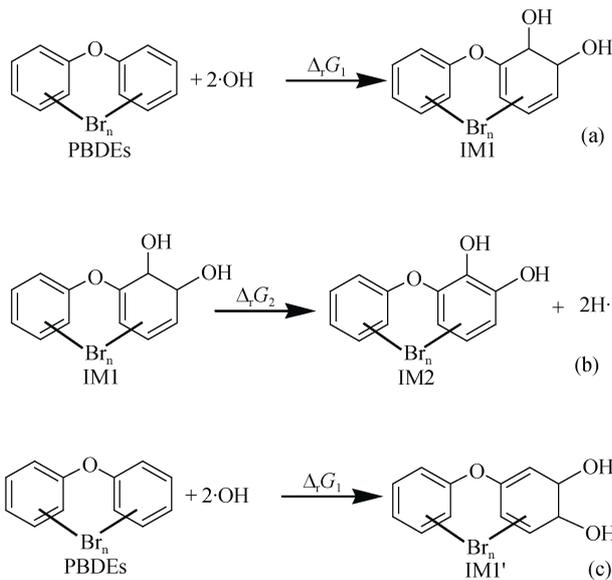


图 1 PBDEs 好氧降解中理论假定起始反应通道

Fig. 1 Initial reaction routes theoretically hypothesized for PBDEs aerobic biodegradation

## 2 结果与讨论

### 2.1 PBDEs 好氧微生物降解的底物选择性与降解动力学

前人研究表明, 选择合适的外加碳源作为共代谢底物能够显著提高微生物对 PBDEs 的降解效率<sup>[34]</sup>。10 mmol/L 联苯、乙醇和乙酸乙酯分别作为底物时, BDE-47 的加标回收率分别在 87.1%~93.7%, 如表 1 所示。方差分析显示, 3 种底物对 BDE-47 的回收率不存在显著性差异( $P>0.05$ ), 表明加入底物不会对 PBDEs 的提取效率造成显著影响。然而, 加入底物能够对 BDE-47 的降解效率产生显著影响。在 72 h 范围内, 较 BDE-47 为唯一碳源时, 加入不同的底物

能够提高 BDE-47 的降解效率(图 2), 这可能是由于 BDE-47 的水溶性较低, LB400 难以直接利用其作为生长底物而进行自身代谢增殖, 相反加入水溶解度较大的乙醇等底物时, 可以作为能量碳源而为微生物生长利用, 促进 BDE-47 的降解。不同底物相较而言, 联苯最能提高 BDE-47 的降解效率(53.07%), 其次分别为乙醇(37.39%)和乙酸乙酯(25.28%)(表 1), 这可能是由于联苯作为代谢底物时, 其与 BDE-47 的结构相似性能够激发微生物降解反应中相关酶的活性, 从而提高降解效率<sup>[34]</sup>。

表 1 共代谢底物选择对 BDE-47 降解效率的影响(%)  
Table 1 Degradation ratios of BDE-47 under different substrates

底物	BDE-47 回收率	BDE-47 去除效率
空白	92.1 ± 2.3	5.2
联苯	87.1 ± 2.9	53.07
乙醇	90.4 ± 3.1	37.39
乙酸乙酯	93.7 ± 2.2	25.28

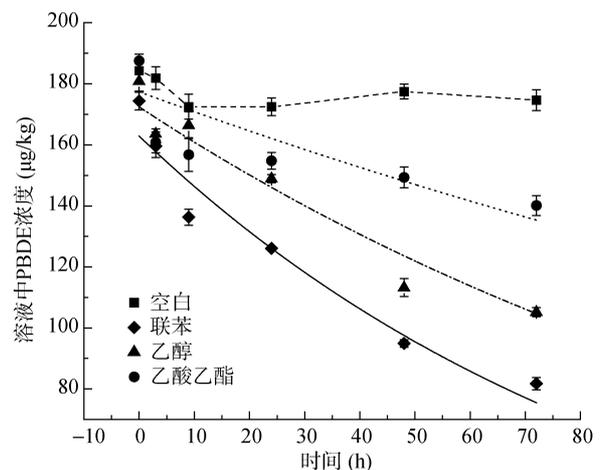


图 2 降解周期内 BDE-47 在不同共代谢底物作用下的降解动力学

Fig. 2 Biodegradation kinetics of BDE-47 under different substrates in its degradation period

在未经微生物处理的空白对照组中, 对不同时间点下 PBDEs 残留量进行了测定。根据单因素方差分析, 随着时间推移, 各空白对照组溶液体系中 PBDEs 的残留量没有显著性变化( $P>0.05$ , 图 3), 说明实验周期内 PBDEs 的化学转化与挥发作用等因素可以忽略不计; 相反, 在微生物处理下 PBDEs 的残留变化, 可推断其源自微生物的降解作用。LB400 处理下, 不同 PBDEs 异构体化合物的残留浓度随时间延长而显著下降( $P<0.05$ ), 其降解动力学过程如图 4 所示。图 4 显示, PBDEs 好氧微生物降解过程在 120 h 范围内均能够达到平衡状态; 然而, 随着溴代程度的提高, 降解平衡时间延长, 降解效率下降, 如从 BDE1 到

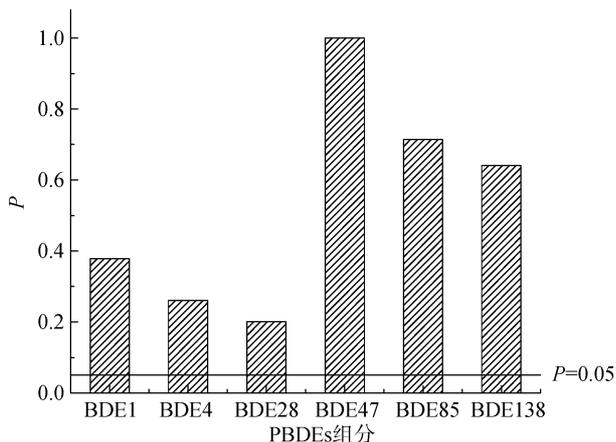


图 3 微生物空白对照组 PBDEs 残留变化方差分析 P 值  
Fig. 3 p values given by One-way ANOVA of PBDEs concentration in control group

BDE138, 降解效率从 100% 降低为 48.4%, 与前人的研究结果相一致<sup>[28]</sup>。这可能是由于溴原子取代使 PBDEs 分子体积增大, 与联苯双加氧酶 BphA1 蛋白接触并发生有效亲合作用的难度增大, 从而导致降解

效率降低, 降解周期相对延长。

前人研究发现<sup>[34]</sup>, 好氧降解菌施氏假单胞菌 *Pseudomonas stutzeri* BFR-01 能够有效降解 BDE-47, 两周内的降解效率达 97.94%, 降解过程符合一级反应动力学规律。为此, 本研究以一级反应动力学方程  $\ln(C/C_0) = -kt + a$  (式中:  $t$  为降解时间,  $h$ ;  $C_0$  和  $C$  分别为 PBDEs 初始与时间  $t$  下的浓度,  $\mu\text{g/L}$ ;  $k$  为一级反应动力学常数,  $\text{h}^{-1}$ ;  $a$  为常数项) 对 LB400 降解 PBDEs 动力学过程进行了拟合。从线性拟合结果来看, 一级反应动力学方程能够较好地反映菌株对 PBDEs 的降解趋势(线性拟合决定系数  $R^2$  在 0.910 ~ 0.991, 图 4), LB400 对 PBDEs 的降解过程符合一级反应动力学特征, BDE-1、BDE-4、BDE-28、BDE-47、BDE-85 和 BDE-138 降解速率常数  $k$  分别为 0.754、0.218、0.028、0.009 7、0.007 5 和 0.006 2  $\text{h}^{-1}$ 。与溴代数目的相关性分析可以看出, 降解速率与溴代数目呈现显著的负相关关系( $R^2$  达 0.998), 即随溴代数的增加, 呈现一级指数衰减趋势。

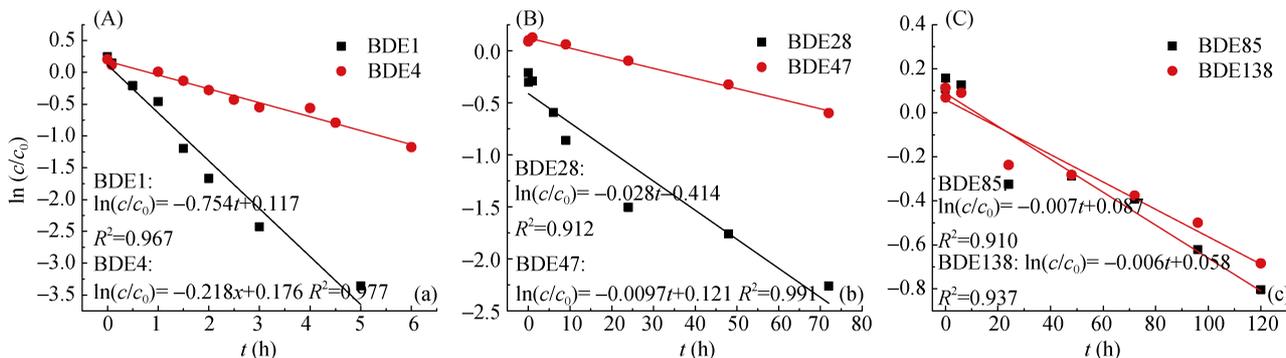


图 4 PBDEs 好氧微生物降解动力学过程及线性拟合  
Fig. 4 Process of aerobic biodegradation kinetics of PBDEs and their linear fit analyses

## 2.2 PBDEs 好氧微生物降解的热力学受控性

受联苯调控途径 *bph* 基因及其编码酶的酶促作用, PBDEs 好氧微生物降解过程中也可能起始发生 *ortho/meta*-位、*meta/para*-位羟基化和脱氢反应, 为此本研究计算了 PBDEs 及其不同位置羟基化和

脱氢反应中间体的热力学性质和标准摩尔生成吉布斯自由能, 并由此得到相应的活化吉布斯自由能变  $\Delta_r G$ 。根据 PBDEs 好氧微生物降解反应通道的理论假定, 起始反应步骤的吉布斯自由能变计算值见表 2。

表 2 PBDEs 好氧降解过程中羟基化与脱氢反应  $\Delta_r G$  计算值(kJ/mol)  
Table 2 Calculation of  $\Delta_r G$  of hydroxylation and dehydrogenation of PBDEs in aerobic biodegradation

PBDEs	$G_{\text{PBDE}}$	$G_{\text{IM1}}$	$\Delta_r G_1$	$G_{\text{IM2}}$	$\Delta_r G_2$	$G_{\text{IM1}'}$	$\Delta_r G_1'$
BDE-1	496.61	191.36	-265.162	155.27	-61.50	190.11	-301.25
BDE-4	493.41	191.35	-261.978	155.83	-60.93	194.49	-297.49
BDE-28	472.39	173.29	-259.013	137.07	-61.64	196.19	-295.24
BDE-47	471.09	173.65	-257.35	139.31	-59.76	227.42	-291.70
BDE-85	464.78	168.11	-256.58	133.869	-59.66	224.80	-290.82
BDE-138	457.13	161.50	-255.54	122.2853	-64.63	219.10	-197.94

PBDEs 好氧微生物降解是由一系列复杂的基元反应组成的,其表观降解速率常数  $k$  是各基元反应降解速率常数的线性或非线性组合。然而,由于调控各基元反应发生的蛋白酶结构不同、功能各异,其对活化能降低和整个降解过程速率的调节与贡献也各不相同。类似于一般化学反应, PBDEs 好氧微生物降解具有热力学受控性。根据反应过渡态理论<sup>[35]</sup>,基元反应吉布斯自由能变与其反应速率常数  $\ln k_n$  之间

呈线性关系,即  $k_n = \frac{k_B T}{h C^\theta} \exp\left(-\frac{\Delta_r^\ddagger G_n^\theta}{RT}\right)$ , 其中,  $n=1, 2, \dots, \frac{k_B T}{h C^\theta}$  是常数。

因此,以基元反应过程的活化吉布斯自由能变来表征其反应速率并探讨与表观速率常数之间的关系,量化其对表观速率常数的贡献,可从热力学角度揭示降解途径中各反应步骤对总反应速率的影响,有助于明晰降解途径的分子作用机制。研究表明, *bph* 上游基因编码酶 BphA 调控羟基化的过程是 PBDEs 好氧微生物降解的起始反应<sup>[36]</sup>。当 PBDEs 苯环的

*ortho/meta*-位置被羟基自由基进攻时,生成溴代 2,3-二羟基联苯醚,其活化吉布斯自由能变  $\Delta_r G_1$  与表观速率常数  $\ln k$  的关系如图 5a 所示。从图 5a 中可以看出,二者之间有着较强的线性关系,  $R^2$  达到了 0.981, 暗示 *ortho/meta*-位羟基化反应速率与表观速率密切相关,对 PBDEs 好氧微生物降解反应的限制与调控,具有重要意义。这可能是由于 BphA, 尤其是  $\alpha$  亚基 BphA1 的底物选择范围通常窄于降解途径中的其他酶,从而限制了羟基化反应的进行。PBDEs 双加氧的过程还需催化脱氢反应步骤。由表 2 可知,催化脱氢反应步骤的活化吉布斯自由能变相对较小,意味反应进行所需翻跃的势能垒较低,反应速率较快。催化脱氢活化吉布斯自由能变  $\Delta_r G_2$  与表观反应速率常数  $\ln k$  之间的关系,如图 5B 所示。由图 5B 分析可知,催化脱氢活化吉布斯自由能变与  $\ln k$  间无显著的负相关关系,说明催化脱氢反应步骤进行较快,对表观速率常数的影响较弱而不属限速步骤;相较而言, *ortho/meta*-位羟基化反应可能属于限速步骤。

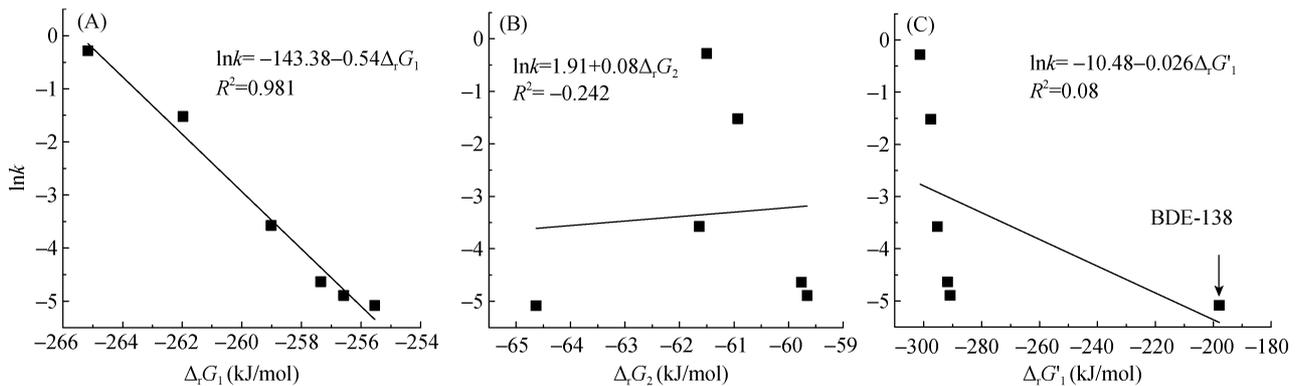


图 5 PBDEs 好氧微生物降解表观反应速率常数与吉布斯自由能变的相关关系

Fig. 5 Correlations between aerobic biodegradation kinetics constants of PBDEs and Gibbs free energy change

若 PBDEs 苯环的 *meta/para*-位置发生羟基自由基的进攻反应,其反应活化吉布斯自由能变  $\Delta_r G_1'$  与表观速率常数  $\ln k$  之间没有很好的线性相关关系,  $R^2$  仅为 0.008, 如图 5C, 说明 PBDEs 好氧微生物降解速率与 *meta/para*-位羟基化反应速率的相关性较差。值得注意的是, 当图 5C 中将 BDE-138 化合物剔除时, 其他 5 种 PBDEs 羟基化反应吉布斯自由能变与其  $\ln k$  间的线性关系大为改善。从结构上可以看出, 相比于其他 BDE 化合物, BDE-138 溴代程度更高、立体空间位阻更大, 从而使其与 BphA1 蛋白的活性位点接触难度变大; 且 BDE-138 的 *meta*-位有两个位置被 Br 原子取代, 而其他化合物中只有 BDE-85 有一个

*meta*-位被取代,  $\cdot\text{OH}$  很难与苯环碳原子发生亲核加成, 导致 *meta*-位羟基化反应很难发生。

因此, 从羟基化反应活化吉布斯自由能变与  $\ln k$  的线性负相关关系来看, *ortho/meta*-位羟基化反应发生的可能性明显优于 *meta/para*-位取代模式, 这在一定程度上与 PBDEs 好氧微生物降解中 2,3-二羟基-4-苯氧基-4,6-己二烯产物的检出很好地吻合<sup>[26]</sup>。可以推断, PBDEs 好氧微生物降解过程中, 活性氧自由基  $\cdot\text{OH}$  可攻击苯环碳原子而发生亲核加成并优先在 *ortho/meta*-位发生羟基化反应, 随后发生催化脱氢反应。其中, 羟基化反应为整个降解途径各基元反应的限速步骤。

### 3 结论

1) 利用 LB400 好氧降解菌, 联苯作为共代谢底物时, PBDEs 的降解去除效率最高。LB400 作用下, 中低溴代 PBDEs 均能够发生不同程度的降解, 降解过程符合一级化学反应动力学, 且降解效率随着溴取代基数目的增加而降低。

2) PBDEs 好氧微生物降解的热力学受控性分析表明, 羟基化反应是 PBDEs 微生物降解反应的速控步骤, 这可能是由于联苯双加氧酶的  $\alpha$  亚基-BphA1 的底物选择范围通常窄于降解途径中的其他酶, 在一定程度上阻碍了反应的快速进行。

3) 相比于间/对位取代, 活性氧自由基如·OH 更倾向于攻击苯环的邻/间位置而发生亲核加成反应, 与 PBDEs 好氧微生物降解中关键产物的检出相吻合。这为明晰 PBDEs 好氧微生物降解的分子作用机制, 进而促进高效好氧降解菌的选育与污染修复应用提供了科学依据。

#### 参考文献：

- [1] Vonderheide A P, Mueller K E, Meija J, et al. Polybrominated diphenyl ethers: Causes for concern and knowledge gaps regarding environmental distribution, fate and toxicity[J]. *Science of the Total Environment*, 2008, 400(1/2/3): 425–436
- [2] Alae M, Arias P, Sjodin A, et al. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release[J]. *Environment International*, 2003, 29(6): 683–689
- [3] Birgul A, Katsoyiannis A, Gioia R, et al. Atmospheric polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the United Kingdom[J]. *Environ Pollut*, 2012, 169: 105–111
- [4] Hale R C, Alae M, Manchester-Neesvig J B, et al. Polybrominated diphenyl ether flame retardants in the North American environment[J]. *Environment International*, 2003, 29(6): 771–779
- [5] Law R J, Allchin C R, de Boer J, et al. Levels and trends of brominated flame retardants in the European environment[J]. *Chemosphere*, 2006, 64(2): 187–208
- [6] Luo Y, Luo X J, Lin Z, et al. Polybrominated diphenyl ethers in road and farmland soils from an e-waste recycling region in Southern China: Concentrations, source profiles, and potential dispersion and deposition[J]. *Science of the Total Environment*, 2009, 407(3): 1105–1113
- [7] Yang S W, Fu Q, Teng M, et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediment and fish tissues from Lake Chaohu, central eastern China[J]. *Archives of Environmental Protection*, 2015, 41(2): 12–20
- [8] 曾光明, 刘敏茹, 陈耀宁, 等. 土壤中多溴联苯醚研究进展[J]. *土壤学报*, 2014, 51(5): 934–943
- [9] Erratico C, Currier H, Szeitz A, et al. Levels of PBDEs in plasma of juvenile starlings (*Sturnus vulgaris*) from British Columbia, Canada and assessment of PBDE metabolism by avian liver microsomes[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 518: 31–37
- [10] Hoydal K S, Letcher R J, Blair D A D, et al. Legacy and emerging organic pollutants in liver and plasma of long-finned pilot whales (*Globicephala melas*) from waters surrounding the Faroe Islands[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 520: 270–285
- [11] 万斌, 郭良宏. 多溴联苯醚的环境毒理学研究进展[J]. *环境化学*, 2011, 30(1): 143–152
- [12] Peters A K, Nijmeijer S, Gradin K, et al. Interactions of polybrominated diphenyl ethers with the aryl hydrocarbon receptor pathway[J]. *Toxicological Sciences*, 2006, 92(1): 133–142
- [13] Politi R, Rusyn I, Tropsha A. Prediction of binding affinity and efficacy of thyroid hormone receptor ligands using QSAR and structure-based modeling methods[J]. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2014, 280(1): 177–189
- [14] Yang W, Mu Y, Giesy J P, et al. Anti-androgen activity of polybrominated diphenyl ethers determined by comparative molecular similarity indices and molecular docking[J]. *Chemosphere*, 2009, 75(9): 1159–1164
- [15] Chen G, Bunce N J. Polybrominated diphenyl ethers as Ah receptor agonists and antagonists[J]. *Toxicol. Sci.*, 2003, 76(2): 310–320
- [16] 王赢利, 陈建松, 阳宇翔, 等. 十溴联苯醚对秀丽隐杆线虫毒性研究[J]. *土壤学报*, 2015, 52(5): 1116–1123
- [17] Costa L G, Giordano G. Developmental neurotoxicity of polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants[J]. *Neurotoxicology*, 2007, 28(6): 1047–1067
- [18] McDonald T A. A perspective on the potential health risks of PBDEs[J]. *Chemosphere*, 2002, 46(5): 745–755
- [19] Yang J, Chan K M. Evaluation of the toxic effects of brominated compounds (BDE-47, 99, 209, TBBPA) and bisphenol A (BPA) using a zebrafish liver cell line, ZFL[J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 159: 138–147
- [20] Hamers T, Kamstra J H, Sonneveld E, et al. Biotransformation of brominated flame retardants into potentially endocrine-disrupting metabolites, with special attention to 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47)[J]. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2008, 52(2): 284–298
- [21] Lagalante A F, Shedden C S, Greenbacker P W. Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in dust from personal automobiles in conjunction with studies on the photochemical degradation of decabromodiphenyl ether (BDE-209)[J]. *Environment International*, 2011, 37(5): 899–906
- [22] Liu Z T, Gu C G, Ye M, et al. Debromination of polybrominated diphenyl ethers by attapulgite-supported Fe/Ni bimetallic nanoparticles: Influencing factors, kinetics and mechanism[J]. *J Hazard Mater*, 2015, 298: 328–337
- [23] Mas S, de Juan A, Lacorte S, et al. Photodegradation study of decabromodiphenyl ether by UV spectrophotometry and

- a hybrid hard- and soft-modelling approach[J]. *Anal. Chim. Acta*, 2008, 618(1): 18–28
- [24] 刘翠英, 王艳玲, 蒋新. 六氯苯在土壤中的主要迁移转化过程[J]. *土壤*, 2014, 46(1): 29–34
- [25] 唐婷婷, 金卫根. 多环芳烃微生物降解机理研究进展[J]. *土壤*, 2010, 42(6): 876–881
- [26] Kim Y M, Nam I H, Murugesan K, et al. Biodegradation of diphenyl ether and transformation of selected brominated congeners by *Sphingomonas* sp. PH-07[J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2007, 77(1): 187–194
- [27] Shi G Y, Yin H, Ye J S, et al. Aerobic biotransformation of decabromodiphenyl ether (PBDE-209) by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Chemosphere*, 2013, 93(8): 1487–1493
- [28] Robrock K R, Coelhan M, Sedlak D L, et al. Aerobic Biotransformation of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) by Bacterial Isolates[J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2009, 43(15): 5705–5711
- [29] 杨志浩, 吴鹏, 吴梅林, 等. 多溴联苯醚的微生物降解研究进展[J]. *生态科学*, 2014, 6): 1224–1230
- [30] Robrock K R, Mohn W W, Eltis L D, et al. Biphenyl and Ethylbenzene Dioxygenases of *Rhodococcus jostii* RHA1 Transform PBDEs[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2011, 108(2): 313–321
- [31] Suenaga H, Goto M, Furukawa K. Active-site engineering of biphenyl dioxygenase: Effect of substituted amino acids on substrate specificity and regioselectivity[J]. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 71(2): 168–176
- [32] Goris J, De Vos P, Caballero-Mellado J, et al. Classification of the biphenyl- and polychlorinated biphenyl-degrading strain LB400T and relatives as *Burkholderia xenovorans* sp. nov[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(5): 1677–1681
- [33] Frisch M J, Trucks G W, Schlegel H B, et al. Gaussian 03, revision B. 03[J]. Gaussian Inc, Pittsburgh, PA, 2003
- [34] Zhang S W, Xia X H, Xia N, et al. Identification and biodegradation efficiency of a newly isolated 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) aerobic degrading bacterial strain[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2013, 76: 24–31
- [35] McQuarrie D A, Simon J D. *Physical chemistry: a molecular approach*[M]. Sterling Publishing Company, 1997
- [36] Yamazoe A, Yagi O, Oyaizu H. Biotransformation of fluorene, diphenyl ether, dibenzo-p-dioxin and carbazole by *Janibacter* sp.[J]. *Biotechnology letters*, 2004, 26(6): 479–486

## Research on Aerobic Biodegradation Kinetics Process and Thermodynamic Mechanism of PBDEs

CHENG Yinwen<sup>1,2</sup>, GU Chenggang<sup>1\*</sup>, LIU Zongtang<sup>1,2</sup>, ZHU Mengrong<sup>1,2</sup>, LIU Chang<sup>1,2</sup>, YE Mao<sup>1</sup>, BIAN Yongrong<sup>1</sup>, YANG Xinglun<sup>1</sup>, JIANG Xin<sup>1</sup>

(1 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) are typified as kinds of brominated flame retardants which are widely used around the world. They have some characteristics like semi-volatilization, bioaccumulation, neurotoxicology and endocrine disrupting effects, which severely threaten the ecological system and human health. In this study, a typical aerobic biodegradation strain LB400 was chosen for the performance of degradation kinetics process of lower and middling PBDEs congeners, which are widely detected in the environment. The influence of extra carbon sources as the co-metabolism substrates on degradation performance was discussed. With the simulative computation of variation of thermodynamical state function of key reaction path during degradation, the relationship between the calculated thermodynamics and biodegradation kinetics constant was revealed as well. It is indicated that the highest degradation rate would be obtained if biphenyl were added as the carbon source. Within 0–120 h, all tested PBDEs could be effectively degraded by LB400, and the process could be well described by the first-order kinetics. Relatively, the initial hydroxylation of PBDEs might be the rate-limiting step in the degradation process, and such reactive oxygen radicals as  $\cdot\text{OH}$  prefers the nucleophilic addition at *ortho/meta* position to that occurred at *meta/para* sites of benzene ring. This study could help deeply understand the molecular mechanics of PBDEs aerobic biodegradation, provide some scientific proofs on the selection of highly efficient degradation strains in the soil as well as the application in the soil contaminated remediation.

**Key words:** PBDEs; Co-metabolism; Degradation kinetics; Hydroxylation; Thermodynamic mechanism