

高分子量多环芳烃 —— 苯并 [a] 芘的生物降解研究进展 *

郑天凌^{1,2,*} 骆苑蓉¹ 曹晓星¹ 黄栩¹ 胡忠^{1,2} 田蕴¹

(厦门大学¹生命科学学院应用与环境微生物研究所, 近海海洋环境科学国家重点实验室 福建厦门 361005)

摘要 多环芳烃 (PAHs) 是一类广泛分布于海洋环境中的含有两个以上苯环的有机化学污染物. 苯并 [a] 芘 (BaP) 是一种由 5 个苯环组成的分布广泛、致癌性极强的多环芳烃化合物, 人们将其作为多环芳烃的指示物, 通过研究其在环境中的产生、迁移、转化、降解及毒理作用来判断多环芳烃的污染情况. BaP 已成为国内外环境监测的重要指标之一. 本文综述了不同环境中 BaP 的来源与分布, BaP 在环境中的行为, 微生物对 BaP 的代谢途径, 以及微生物降解 BaP 的相关限制因子, 并结合作者在这方面研究的部分工作与目前国际研究的热点, 提出值得进一步探究的有关问题.

图 4 表 3 参 51

关键词 多环芳烃; 苯并 [a] 芘 (BaP); 生物降解

CLC X172

Advances in Research of Microbial Degradation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons-Benzo (a) pyrene *

ZHENG Tianling^{1,2,*}, LUO Yuanrong¹, CAO Xiaoxing¹, HUANG Xu¹, HU Zhong^{1,2} & TIAN Yun¹

¹Institute of Applied and Environmental Microbiology, School of Life Sciences,

²State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), a kind of organic chemical pollutants consisting of two or more fused benzene rings, are widely distributed in environment. PAHs, particularly the types with higher molecular weight, cause great environmental concern because of their mutagenic, teratogenic and carcinogenic properties. Benzo (a) pyrene (BaP) is a five-ring polycyclic aromatic compound with acute carcinogenicity. It is classified as a priority pollutant in environment assessment. This paper reviews the occurrence and distribution of BaP in environment, as well as the ability and pathway for BaP degradation by microorganisms. In addition, approaches for improving microbial degradation of BaP are discussed. Fig 4, Tab 3, Ref 51

Keywords polycyclic aromatic hydrocarbons; benzo (a) pyrene (BaP); microbial degradation

CLC X172

多环芳烃 (PAHs) 是一类广泛分布并稳定存在于自然环境中的含两个以上苯环的有毒有机污染物. 多环芳烃具有三致作用——致癌、致畸、致突变, 对人类健康和生态环境具有很大的潜在危害. 美国环保局在 20 世纪 80 年代初把 16 种未带分支的多环芳烃确定为环境中的优先污染物, 我国也把多环芳烃列入环境污染的黑名单中.

致癌性最强的多环芳烃有苯并 [a] 芘 (Benzo (a) pyrene, BaP)、1, 12-二甲苯蒽、二苯并 (A, H) 蒽及 3-甲基胆蒽等. 由于 BaP 分布广泛, 性质稳定, 致癌性强, 人们将其作为多环芳烃的指示物, 通过研究其在环境中的产生、迁移、转化、降解及毒理作用来判断多环芳烃的污染情况; BaP 已成为

国内外环境监测的重要指标之一.

BaP (图 1) 是由 5 个苯环组成的一种多环芳烃化合物, 致癌性极强, Ames 实验显示阳性, 能够导致染色体畸变, 染色体交换以及无序的 DNA 合成^[1]. 世界卫生组织国际癌症研究中心经大量的动物试验以及临床观察分析, 指定其为一级致癌物质. BaP 是一种黄色针状结晶体, 分子式为 C₂₀H₁₂, 分子量为 252, 熔点 179, 沸点 496, 不溶于水, 易溶于苯、乙醚、氯仿、丙酮等有机溶剂. BaP 是一切含碳燃料和有机物热解过程中的产物, 一般认为在 800~1200 供氧不足的燃烧中产生最多.

了解多环芳烃在环境中的来源、分布、归宿及去除问题, 已成为当今环境研究中的前沿课题. 本文以 BaP 为多环芳烃的代表, 综述不同环境中 BaP 的来源与分布, BaP 在环境中的行为, 微生物对 BaP 的代谢途径, 以及微生物降解 BaP 的相关限制因子, 并结合我们在这方面研究的部分工作及目前国际研究的热点, 提出值得进一步开展和进一步探讨的有关问题.

收稿日期: 2005-06-01 接受日期: 2005-08-08

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 40576054, 40476047, 40206015, 30530150) Supported by the National Natural Science Foundation of China (NSFC No. 40576054, 40476047, 40206015, 30530150)

* * 通讯作者 Corresponding author (E-mail: wshwzh@jingxian.xmu.edu.cn)

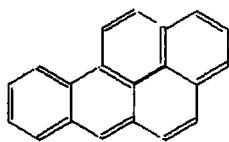


图1 苯并[a]芘 (BaP)
Fig 1 Benzo(a)pyrene (BaP)

1 环境中的 BaP

BaP在大气、土壤与海洋环境中均普遍存在,其污染程度随人类活动程度的不同而有相当大的差别;大气中主要来源于煤和石油的不完全燃烧,土壤中的主要来源是工业漏渗、固体废物和大气沉降。因为各种途径释放到大气中的粉尘,最终几乎都要沉降到地面上,因此大气污染严重的地区,土壤中 BaP的含量也较高。不同区域的土壤中 BaP的含量不同,自然区土壤中 BaP的含量为 $1.5 \sim 28.0 \mu\text{g}/\text{kg}$;石油污水灌溉 10余年的土壤 BaP含量为 $50 \sim 150 \mu\text{g}/\text{kg}$;工业区特别是老工业区的土壤含量一般为 $350 \sim 560 \mu\text{g}/\text{kg}$;老的炼油厂区的土壤中高达 $12\,000 \mu\text{g}/\text{kg}$;烟囱附近的土壤含量在 $350 \sim 2\,000 \mu\text{g}/\text{kg}$;飞机场附近的植被和土壤中 PAHs含量要比其它的控制污染区高 $8 \sim 9$ 倍^[1]。

海洋是陆地及大气一切“废污”的最后“收容所”^[2]。PAHs这类化合物由于具有低水溶性及高的辛醇-水分配系数,在水中的浓度非常低。然而,由于其疏水特性,易在沉积物尤其是有机碳颗粒中富集^[3]。因此,沉积物中的 PAHs的浓度要高出水中浓度几个数量级。同时,水中以低分子量的 PAHs占主导,而在沉积物中则以较高分子量的 PAHs占主导,这是因为 PAHs在水中的溶解度低,且溶解度随其分子量的增加而降低。Witt (1995)^[4]研究表明,在波罗的海,与表层水相比,表层沉积物中的 PAHs含量要高出 $10^5 \sim 10^6$,海水中以 2~3环的 PAHs(萘、蒽、菲)占主导,而在其沉积物中则以 BaP等 5~6环的 PAHs占主导。沉积物中高浓度 PAHs主要来源于大气沉降、海上石油泄漏、近岸工业废水、生活污水的排放以及轮船运输过程中石油烃的不完全燃烧等等^[5-7]。

一般常见的多环芳烃包括菲、荧蒽、芘、萘、BaP等均在我国海岸地区检出。在珠江河口区^[8]、长江河口区^[9]、渤海海峡地区^[10]、厦门西海域^[11], BaP、苯并[b]荧蒽等强致癌性化合物都有不同程度的检出。本文作者在厦门西海域的持续几个季度不同航次的调查中,设置不同站位对厦门西海域的表层海水及沉积物中的 16种优先监控的多环芳烃的含量、组成进行调查,结合环境特点对其污染特征进行来源分析,提出相关的生物修复研究建议。根据研究结果,厦门西港表层海水^[12, 13]主要来源于石油类物质的输入,厦门西港表层海水中各种 PAHs的含量与国际生物学组织或国家制定的评价水生生物暴露于水体的安全食用标准相比虽未超标,但个别组分如蒽, BaP的含量已达到生态毒理评价标准。而厦门西港沉积物^[11, 12, 14, 15]中检出的 PAHs均以 4~6环的为主,其中荧蒽和芘在不同航次及不同站位均为优势组分。PAHs的总含量变化不明显,但高分子量的 PAHs(5~6环)的含量却有升高的趋势。厦门西港沉积物中的 PAHs主要来源于矿物的不完全燃烧,与 1993年调查结果相比,厦门西港沉积物中 PAHs的含量有所减少,与国内外其他相似地区相比属中等水平。

2 BaP对生物的危害

在世界范围内每年有约 43 000 t PAHs释放到大气中,同时有 230 000 t进入海洋环境^[16]。由于其较高的亲脂性,进入海洋环境中的 PAHs易分配到生物体和沉积物中,并通过食物链进入人体,对人类健康和生态环境具有很大的潜在危害,已引起各国环境科学家的极大重视。PAHs并非是直接致癌物质,必须经细胞微粒体中的混合功能氧化酶激活后才具有致癌性。BaP进入机体后,除少部分以原形态随排泄物排出外,还有一部分经肝、肺细胞微粒体中混合功能氧化酶激活,转化为数十种代谢产物。其中转化为羟基化合物或醌类者,是解毒反应。转化为环氧化合物的,特别是 7,8环氧化物,则是一种活化反应。因为 7,8环氧化物再代谢产生的 7,8-二氢二醇-9,10环氧化合物,便可能成为最终致癌物^[17]。

3 微生物对 BaP的代谢

BaP在环境中的行为包括挥发、吸附、光化学氧化、生物转化、及微生物降解等。

研究表明,微生物具有很强的分解代谢能力及种类多样性和较高的代谢速率,在污染物的迁移转化乃至最终消失中占有重要地位,是沉积物环境中 PAHs去除的最主要途径。微生物具有很强的分解代谢能力和较高的代谢速率,能将 BaP完全矿化,最终转化为无毒、无害的无机物质 CO_2 和水。

许多细菌、真菌、藻类具有降解多环芳烃的能力。随着苯环数目增多,芳香烃的降解速率逐步减慢。低分子量多环芳烃(萘、菲、蒽等)在环境中存在的时间较短,能较快地被降解,对其降解机制的了解也比较深入;而高分子量多环芳烃则在环境中较稳定,难以降解,能以其为唯一碳源和能源进行矿化的微生物报道甚少。

我们从九龙江口凤林湾红树林区、厦门近海海域、热带太平洋中部和东部的多金属结核区深海沉积物中分离得到 39组能利用 BaP作为唯一碳源和能源的混合菌。经高效液相色谱(HPLC)分析,60 d后它们对 BaP的降解率从 5.15%到 52.43%不一,其中深海微生物在低温环境(15℃)下表现出较好的降解特性。

3.1 降解 BaP的微生物

自然界中能降解 BaP的微生物有几十种。表 1、表 2、表 3分别记录了文献报道的降解细菌、真菌及藻类。

由表 1~3可知,微生物对 BaP的去除率各不相同,既有 168 h内去除 5%的,也有 24 h去除 95%的。它们都是在有其它生长基质的作用下达到对 BaP的矿化或降解。

3.2 共代谢

一般说来,随着 PAHs苯环数量的增加,其生物降解速率越来越低。许多微生物能以低分子量的 PAHs(4环以内)作为唯一的碳源和能源,并将其完全矿化。然而,对于高分子量的 PAHs,即 4环以上的,由于其化学结构的复杂性以及在水环境中的低溶解度,难以被微生物直接降解。研究表明,大多数微生物对 4环以上的高分子量 PAHs的降解是以共代谢(co-metabolism)的方式进行的。真菌对 3环以上的 PAHs的代谢也属于共代谢^[19]。

表 1 降解 BaP 的细菌^[18]
Table 1 Benzo[a]pyrene degradation by bacterial isolates^[18]

Organism	Growth substrate	Initial BaP concentration	Removal (r/%)	Incubation time	References
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Fluoranthene		5	168 h	Ye <i>et al</i> (1996)
<i>Mycobacterium</i> sp. strain RGI II-135	Yeast extract, peptone, starch	0.4 mg L ⁻¹	40	32 d	Schneider <i>et al</i> (1996)
<i>Beijerinckia</i> strain B-836	Succinate biphenyl	75 mg L ⁻¹		48 h	Gibson <i>et al</i> (1975)
Mixed culture F2 (<i>P. putida</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Flavobacterium</i> sp.)	Fluoranthene yeast extract	10 mg L ⁻¹	19	12 d	Trzesicka - Mlynarz and Ward (1995)
Marine bacterium	Peptone, yeast extract, starch	500 µg L ⁻¹	25	2 wk	Heitkamp and Cemiglia (1998)
<i>P. saccharophila</i> P15	Phenanthrene, salicylate, succinate	10 mmol		48 h	Chen and Aitken (1999)
<i>Burkholderia cepacia</i>	Pyrene	50 mg L ⁻¹	1.4 ~ 6.2	56 d	Juhasz <i>et al</i> (1997)
<i>B. cepacia</i>	Pyrene	50 mg L ⁻¹	20 ~ 30	63 d	Juhasz <i>et al</i> (1996, 1997)
<i>Rhodococcus</i> sp. UW1	Pyrene	250 mg L ⁻¹	11	2 wk	Walter <i>et al</i> (1991)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Pyrene	50 mg L ⁻¹		70 d	Juhasz (1998)
<i>S. maltophilia</i>	Pyrene	50 mg L ⁻¹		56 d	Stanley <i>et al</i> (1999)
<i>Pseudomonas</i> , <i>Agrobacterium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Sphingomonas</i>	Phenanthrene	Aqueous solubility		24 h	Aitken <i>et al</i> (1998)

表 2 降解 BaP 的真菌^[18]
Table 2 Benzo[a]pyrene degradation by fungal isolates^[18]

Organism	Growth substrate	Initial BaP concentration	Removal (r/%)	Incubation time	References
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Glucose	150 nmol	90	168 h	Sanglard <i>et al</i> (1986)
<i>P. chrysosporium</i>	Glucose ± veratryl alcohol	50 nmol	44 ~ 60	2 h	Haemmerli <i>et al</i> (1986)
<i>P. chrysosporium</i>	Glucose	1.25 nmol		30 d	Bumpus <i>et al</i> (1985)
<i>P. chrysosporium</i>	Glycerol	76 µg L ⁻¹		24 d	Barclay <i>et al</i> (1995)
<i>Cunninghamella elegans</i>	Sabouraud dextrose broth	53.1 µmol	18.4	96 h	Cemiglia and Gibson (1980a)
<i>C. elegans</i>	Sabouraud dextrose broth	53.1 µmol		48 h	Cemiglia and Gibson (1980b)
<i>C. elegans</i>	Sabouraud dextrose broth	53.1 µmol		24 h	Cemiglia and Gibson (1980c)
<i>Pleurotus ostreatus</i>				11 d	Bezalel <i>et al</i> (1996)
<i>Pleurotus</i> sp. Florida	Wheat straw	5 ~ 125 mg kg ⁻¹		15 wk	Wolter <i>et al</i> (1997)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Sucrose, comsteep liquor	80 µmol		16 ~ 18 h	Ghosh <i>et al</i> (1983)
<i>A. ochraceus</i>		0.4 mmol		48 h	Datta and Samanta (1988)
<i>Trametes versicolor</i>	Glucose	20 mg L ⁻¹		24 h	Collins <i>et al</i> (1996)
<i>T. versicolor</i>	1-Hydroxy benzotriazole	25 µmol	90	72 h	Majcherzyk <i>et al</i> (1998)
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>		0.1 mmol	95	24 h	Rama <i>et al</i> (1998)
<i>Beijerinckia</i> sp. strain BOS55	Malt extract, glucose	10 mg L ⁻¹	83	28 d	Field <i>et al</i> (1992)
<i>Beijerinckia</i> sp. strain BOS55	Glucose	50 mg L ⁻¹	47 ~ 98	3 ~ 4 d	Kottemann <i>et al</i> (1998)
<i>Penicillium janthinellum</i>	Malt extract, yeast extract, peptone and dextrose		61	56 d	Stanley <i>et al</i> (1999)
<i>P. janthinellum</i>		100 mg L ⁻¹		7 d	Launen <i>et al</i> (1995)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glucose	5 mg L ⁻¹		48 h	Wiseman and Woods (1979)
<i>S. cerevisiae</i>	Glucose	5 mg L ⁻¹			Woods and Wiseman (1979)
<i>Neurospora crassa</i>	Sucrose, glycerol	1 - 20 mg L ⁻¹			Lin and Kapoor (1979)
<i>Candida lipolytica</i>	Glucose	200 mg L ⁻¹		48 h	Cemiglia and Crow (1981)
<i>Syncephalastnum racemosum</i>	Malt extract, yeast extract, peptone and dextrose	100 mg L ⁻¹		7 d	Launen <i>et al</i> (1995)
<i>Neotoloma frowardii</i>	Glucose	10 mg L ⁻¹	54	168 h	Sack <i>et al</i> (1997)
<i>N. frowardii</i>	Glucose	10 mg L ⁻¹	99	168 h	Sack <i>et al</i> (1997)

表 3 降解 BaP 的藻类^[18]
Table 3 Benzo[a]pyrene degradation by algal isolates^[18]

Organism	Growth substrate	Initial BaP concentration	Removal (r/%)	Incubation time	References
<i>Selenastrium capricornutum</i>	Glucose yeast extract	1.2 mg L ⁻¹		4 d	Lindquist and Warshawsky (1985)
<i>S. capricornutum</i>	Glucose yeast extract	0.4 mg L ⁻¹		24 h	Warshawsky <i>et al</i> (1988)

共代谢的存在大大增加了一些难降解物质在环境中被生物降解的可能性. 共代谢作用可以提高微生物降解 PAHs 的效率, 改变微生物碳源与能源的底物结构, 扩大微生物对碳源和能源的选择范围, 从而达到难降解的 PAHs 最终被微生物降解利用的目的. 如 Chen and Aitken (1999)^[20] 将在菲、水杨酸中预先培养的 *Pseudomonas saccharophila* P15 降解 BaP 与未经处理直接降解 BaP 的进行比较, 48 h 后, BaP 的矿化率分别是未经处理的 22 倍和 33 倍.

3.3 BaP 代谢机理研究

BaP 的微生物降解机理是: 细菌启动双加氧酶将氧分子中的两个氧原子同时结合进入苯环分子产生二氧化合物中间体, 继而氧化为顺式-二氢二醇 BaP 和二羟基化合物, 然后再转化为细胞蛋白质, 或者转化为 CO₂ 和水; 真菌通过分泌单加氧酶将氧分子中的一个氧原子引入苯环产生环氧化合物中间体, 然后通过水分子的加入形成反式-二氢二醇 BaP 和酚类; 藻类代谢 BaP 的途径与细菌类似, 经双加氧酶加氧氧化为顺式二羟基化合物^[21].

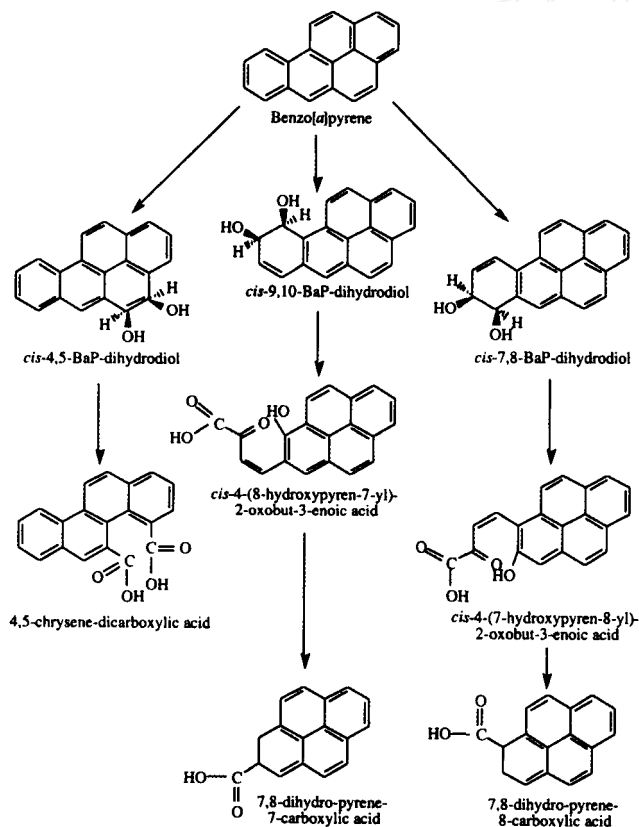


图 2 细菌降解 BaP 的可能途径^[18]

Fig 2 Proposed pathway for the degradation of BaP by bacteria^[18] 其中箭头代表的并非单一反应, 而是多个反应过程 Arrows indicate multiple steps not single reactions

3.3.1 细菌对 BaP 的代谢 细菌降解多环芳烃的第一步往往是由双加氧酶启动的, 将氧分子中的两个氧原子同时结合进入苯环分子, 将多环芳烃转化为容易利用的羧酸, 然后再转化为细胞蛋白质, 或者转化为 CO₂ 和水. 其控制性步骤是环的初始氧化, 此后的氧化反应过程进行得比较快, 中间代谢产物的积累比较少, 分离难度也相应比较大, 只有少数研究分离到 BaP 代谢的中间产物. Gibson 等 (1975)^[22] 在 *Beijemickia* strain

B836 降解 BaP 的研究中, 将细菌预先在琥珀酸盐中培养, 在联苯的存在下, 将 BaP 氧化成邻位二羟基的混合物, 经鉴定主要是顺式-9,10-二氢二醇 BaP 化合物, 这个结果表明, 尽管 B-836 不能以 BaP 作为碳源, 但在不同底物上的生长却能诱导五环 PAH 降解酶的合成. Schneider 等 (1996)^[23] 虽然没有分离到以上产物, 但在分离到 4,5-羧酸屈和顺式-4-(8-羟芘基-7-yl)-2-氧化-3-丁羧酸后, 亦可推断出上述中间产物的产生.

3.3.2 真菌对 BaP 的代谢 在真菌代谢 PAHs 方面, 现有的认识主要有以下几个方面^[24]: 1) 许多真菌可以降解 2~6 环的 PAHs; 2) 真菌不能利用 PAHs 作为唯一碳源和能源, 培养基中必须添加另外的碳源; 3) 非担子菌类的真菌对 PAHs 最初的代谢只是氧化 PAHs, 一般而言, 这些菌无法矿化 PAHs; 4) 某些白腐菌可以溶解苯环, 并矿化 PAHs; 5) 一般说来, 非木质素溶解菌将 PAHs 代谢为二醇、酚、醌及二醇环氧化物; 结合类产物如葡萄糖苷酸、木糖苷、糖苷及硫酸盐亦有报道; 这种结合途径使 PAHs 达到解毒目的, 然而其氧化产物如醌、二醇环氧化物可能具有生物活性与毒性; 这种代谢并不能达到最终矿化的目的; 6) 真菌代谢 PAHs 的过程中包含许多酶系统, 包括细胞内的细胞色素 P450, 细胞外的木质素过氧化物酶、锰过氧化物酶及漆酶等; 7) 真菌对 PAHs 的代谢是全方位、立体型的, 在许多方面与哺乳动物的代谢方式极其相似; 8) 真菌降解速度不如细菌快速; 9) 如果最初的环境氧化反应是细菌降解 PAHs 的限制因子, 那么真菌羟基化中间产物的产生将是 PAHs 污染地区生物修复的重要步骤, 因为它能加速这些化合物的矿化; 10) 除了矿化 PAHs, 真菌还能产生一些水溶性更高的代谢物质, 增加化学反应能力, 从而增强土壤土著微生物对 PAHs 的矿化作用.

Sanglard 等 (1986)^[25] 和 Barelay 等 (1995)^[26] 报道了 *Phanerochaete chrysosporium* 培养物在葡萄糖或原生和纯化后的 *Phanerochaete chrysosporium* 胞外木质素酶上生长后可以矿化 BaP. Wolter 等 (1997)^[27] 指出固相发酵时, *Pleurotus* sp. Florida 可矿化 BaP: 在用麦杆培养 15 wk 后, 90%~99% 的 BaP 被矿化. 尽管真菌代谢 BaP 的能力是有限的, 不少研究发现真菌可将 BaP 转化为极性代谢物. Rana 等 (1998)^[28], Majcherczyk 等 (1998)^[29] 观察到在与 *Phanerochaete chrysosporium*, *Pycnoporus cinnabamus* 共培养后, BaP 减少了 90%~99%.

真菌氧化 BaP 的许多机制与在哺乳动物中观察到的相似, 氧化结果产生的反式-二氢二醇化合物支持了真菌氧化 BaP 是由细胞色素 P450 介导的假设. 在 BaP 初始氧化产物中测得了反式-7,8-二氢二醇-BaP 和反式-9,10-二氢二醇 BaP^[30]. 进一步氧化形成 9,10-环氧二醇-BaP, 该化合物水解形成四氧化合物. 真菌单加氧酶也可氧化 BaP 形成环氧及二氢二醇化合物, 这些代谢物的积累具有潜在的致癌性^[31].

3.3.3 藻类对 BaP 的代谢 藻类降解 BaP 的报道很少. Warshawsky 等 (1988)^[32] 发现, 绿藻 *Selenastrum capricornutum* 对 BaP 的氧化, 降解结果形成顺式-4,5-,7,8-,10-11,12-二氢二醇 BaP. 这些结果表明, *S. capricornutum* 通过双加氧酶途径形成顺式-邻位二氢二醇. 双加氧酶是细菌代谢途径的特征之一, 与真菌经由单加氧酶的代谢途径是不同的.

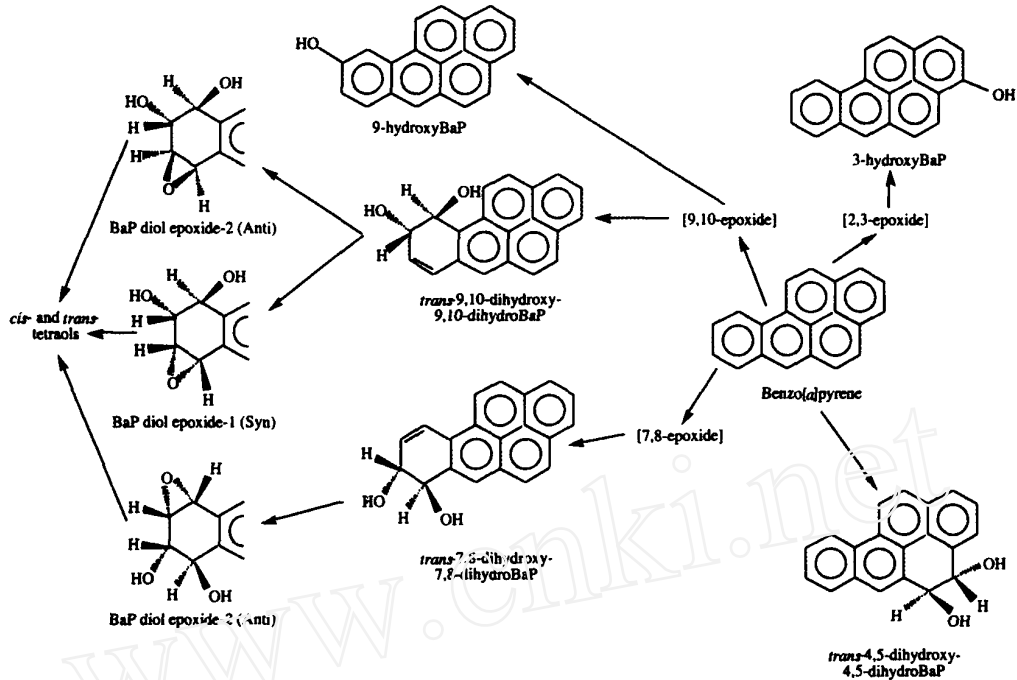


图 3 真菌代谢 BaP的途径^[18]

Fig 3 Fungal transformation products of BaP^[18]

经 BaP 环氧化形成 BaP 羟基化物和 BaP 二氢醇。二氢醇可能转化成二环氧氧化物,进一步可能形成顺式及反式 四氧化醇 The formation of hydroxylated benzo [a] pyrenes and BaP dihydrodiols occurs via BaP epoxides. Dihydrodiols may be transformed to diol epoxides, which may undergo further transformation to form *cis*- and *trans*-tetraols

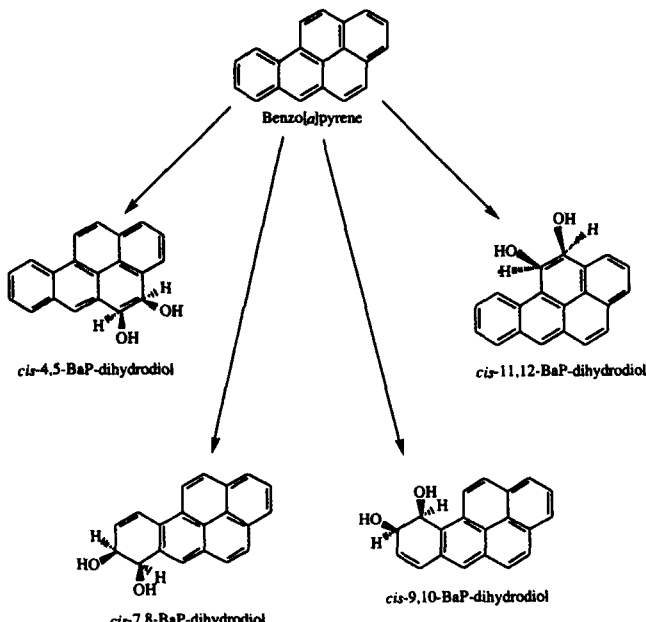


图 4 藻类代谢 BaP 的可能途径^[18]

Fig 4 Supposed pathway for the degradation of BaP by algae^[18]

3.4 PAHs混合物中 BaP的降解研究

一些研究表明,当 BaP 与其它 PAHs 混合时,可以被一些纯培养菌落所降解。Grifoll 等 (1995)^[33] 在杂酚油 PAHs 混合物中观察到 BaP 的降解。在基础无机培养基上,假单胞菌 *Pseudomonas cepacia* F297 可同时降解低分子量和高分子量 PAHs, 28 d 里 BaP 浓度下降了 41.5% (1.19 mg L⁻¹)。

Juhasz (1998)^[34] 观察到含有 PAHs 混合物的培养基上,低分子量和高分子量 PAHs (3 环至 7 环) 可同时被 *Stenotrophomonos maltophilia* 所降解, 42 d 后, BaP 浓度从 50 mg L⁻¹ 下降至 31.6 mg L⁻¹。此外,加入低分子量 PAHs 可促进 BaP 的降解: 以 PAH 混合物作为底物比起以 BaP 作为单一底物,每毫克蛋白中 BaP 的降解量前者是后者的 2.8 倍。Juhasz 推断, BaP 降解的改善是由于低分子量 PAHs 的易降解性提高了代谢活性所致。

相反地,许多研究也表明,低分子量 PAHs 不一定对 BaP 的降解有促进作用,有的甚至会有抑制作用。巩宗强等 (2001)^[35] 研究了真菌对土壤中 BaP 的共代谢降解,结果显示,茈 (浓度 80 mg kg⁻¹ 土壤) 可以促进镰刀菌、毛霉对 BaP 的降解,并认为这是共代谢作用的结果;菲 (浓度 150 mg kg⁻¹ 土壤) 也可以促进镰刀菌对 BaP 的降解,但抑制了毛霉和青霉对 BaP 的降解。巩宗强等 (2002)^[36] 通过用多种其它多环芳烃对 BaP 污染土壤进行预处理,结果表明,经菲预处理的土壤对 BaP 的降解有促进作用,而葱、茈及苯并葱对 BaP 不但没有促进作用,且苯并葱对其降解还有一定程度的抑制作用。可见,低分子量 PAHs 的降解与 BaP 降解并不一定是简单的促进关系,他们在降解机制上的联系,需要进一步研究阐明。

接种真菌至 PAHs 污染的土壤中可改善 BaP 的清除。Eggen 和 Majherczky (1998)^[37] 在受杂酚油污染的陈年土壤中加入 *Pleurotus osteratus* 并检测 BaP 的浓度。1 mo 内, BaP 浓度降低了 28%,然而,进一步培养对 BaP 去除却没有明显的影响。在 PAHs 污染的土壤中接种真菌可转化 BaP 形成结合残余物。Mcfarland 和 Qiu (1995)^[38] 指出,在受 PAHs 污染的土壤的分

解系统中接种 *Phanerochaete chrysosporium* 后, 结合残余物的形成是 BaP 的主要转化机制。尽管上述研究显示了 BaP 在液体培养基和土壤基质中的生物可降解性, 许多研究却表明 BaP 耐受微生物攻击。Park 等 (1990)^[39] 观察到土著微生物能降解 2 环和 3 环 PAHs, 土壤中的 4、5、6 环 PAHs 浓度却不受影响。其它研究中, *Phanerochaete chrysosporium* 或 *Phanerochaete sordida* 可对 PAHs 污染的土壤进行生物修复, 但对 BaP 浓度无显著影响^[40, 41]。这是由于不利的环境条件, BaP 生物可利用性 (bioavailability) 的缺乏或降解酶的低量诱导、表达造成的。

4 极端环境微生物在 PAHs 污染环境生物修复领域中的应用

多环芳烃的生物降解已经见诸于各种不同的陆地及海洋的寒冷环境中, 包括北极、高山及南极的土壤, 阿拉斯加的地面水以及南极海水^[42, 43], 但相比较而言, 这方面的研究还相对薄弱, 只对一些低环的多环芳烃进行研究, 如 Whyte 等 (1996)^[44] 研究显示, 耐冷型假单胞菌在低温 (5~10 °C) 下可降解甲苯和萘。Alvarez HM (1997)^[45]、Margesin R 等 (1997)^[46] 研究也表明, 嗜冷菌在消除海洋和高山低温环境油污过程中能起到重要的作用。因此利用嗜冷菌的这种特性, 可以达到原位清除寒冷地区石油污染的目的。

我们通过测定分离自热带太平洋中部和东部的多金属结核区深海沉积物的微生物对 BaP 的降解能力, 发现在低温条件下 (15 °C) 以 BaP 作为唯一碳源与能源, 几组深海微生物 DS2、DS10 60 d 后分别对 BaP 代谢了 40.87%、41.39%, 另外还有多组混合菌 (DS8、DS24、DS26) 降解率都接近 40%, 由此可见开展低温微生物在寒冷地区生物修复 BaP 污染的研究具有一定的可行性^[47]。

5 微生物降解 BaP 的限制因子

许多物理、化学、生物或环境因子可能影响 BaP 降解的速率和程度。在缺乏必要营养物质 (氮、磷、钾等) 或生长底物、亚最适温度、供氧量或 pH 时, BaP 降解都有可能不发生。BaP 在一定浓度可能对生物产生毒性。此外, BaP 可能无法作为可利用酶的底物, 或者无法有效诱导转移或降解酶的产生。而当上述因素都不成为制约因子时, 生物可利用性将是 BaP 降解的决定性因子, 这也是当前研究的难点。

自然界中固态物质如粘土或腐殖质对 BaP 的吸收或与其共价结合影响了这种化合物在环境中的生物可利用性、转运、生物学活性和降解^[48]。

PAHs 与土壤中有机的关系也会使 PAH 的降解速率和程度降低, 这是由于 PAH 从土壤有机质中解吸附近进入土壤水相所致^[49]。吸附过程可能涉及很多机制, 如范德华力、阳离子桥、化学结合、氢键、离子交换、共价结合或配体结合等^[50], 然而, 对这些机制的了解仍然不是非常清楚。

环境因子如 pH、温度、土壤的种类和质量以及有机物的含量等也能影响 BaP 的吸收。此外, 污染物在环境中的持久性与辛醇-水 (K_{ow}) 分配系数和土壤中有机的含量直接相关。由于 BaP 的 K_{ow} 值很高, 它被土壤有机物吸收利用的可能性就较小。

6 结语

生物降解是环境去除 BaP 的主要途径, 是现场生物修复 PAHs 的重要基础^[51], 然而, 对于微生物如何利用 BaP 的途径、机理和过程, 人们还知之甚少, 许多研究还刚刚起步。结合国际研究的问题, 以下几个方面问题仍有待于今后进一步探讨: 1) 高效 BaP 降解菌株的获得及已有的降解菌株对不同 PAHs 及其它有机污染物降解特性的研究, 扩大降解菌的降解谱; 2) 深入研究微生物降解污染物降解途径、降解条件优化以及降解产物的分析, 探知 BaP 降解的酶系及相关基因 (簇); 3) 降解菌在生物降解过程中相关功能基因的克隆、表达, 利用生物技术手段构建高效的遗传工程菌并应用于环境污染的治理。

References

- 1 王连生. 多环芳烃分析技术. 南京: 南京大学出版社, 1988
- 2 Zheng TL (郑天凌), Zhuang TC (庄铁诚), Cai LZ (蔡立哲), Tian Y (田蕴), Guo CL (郭楚玲), Xu MZ (徐美珠), Li SJ (李少菁). The role of microbes in bioremediation of marine polluted environment *J Xiamen Univ Nat Sci* (厦门大学学报), 2001, **40** (2): 524~534
- 3 Meador JP, Stein JE, Reichert WL, Varanase U. Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms *Rev Environ Contam & Toxicol*, 1995, **143**: 79~165
- 4 Witt G. Polycyclic aromatic hydrocarbons in water and sediment of the Baltic Sea *Mar Poll Bull*, 1995, **31**: 237~248
- 5 Baumard P, Budzinski H, Garrigues P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the western Mediterranean Sea *Environ Toxicol & Chem*, 1998, **15**: 765~776
- 6 Yunker MB, MacDonald RW, Cretney WJ, Fowler B. R., McLaughlin FA. Alkane, terpene and polycyclic aromatic hydrocarbon geochemistry of the Mackenzie River and Mackenzie Shelf: riverine contributions to Beaufort Sea coastal sediment *Geochim et Cosmochim Acta*, 1993, **57**: 3041~3061
- 7 Shiaris MP, Jambar - Sweet D. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surficial sediments of Boston Harbour, MA, USA. *Mar Poll Bull*, 1986, **17**: 469~472
- 8 Mai BX (麦碧娴), Lin Z (林峥), Zhang G (张干), Sheng GY (盛国英), Min YS (闵育顺), Fu JM (傅家谟). Organic contaminants in surface sediments from rivers of the Pearl River Delta and Estuary—The distributions and characteristics of PAHs and organochlorine pesticides *Acta Sci Circumst* (环境科学学报), 2000, **20** (2): 192~197
- 9 Liu M, Hou LJ, Yang Y, Zou HX, Lu JH, Wang XR. Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in intertidal flat surface sediments from the Yangtze Estuary, China *Environ Geol*, 2001, **41**: 90~95
- 10 Wu Y (吴莹), Zhang J (张经). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon in core sediments of the Bohai Strait *Environ Sci* (环境科学), 2001, **22** (3): 74~77
- 11 Tian Y (田蕴), Zheng TL (郑天凌), Wang XH (王新红), Luo YR (骆苑蓉), Zhang Y (张勇). Contamination characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons and bioremediation strategy in sediments of Western Xiamen Harbor and its adjacent sea area *J Oceanogr Taiwan Strait* (台湾海峡), 2003, **22** (2): 192~200
- 12 Tian Y, Zheng TL, Wang XH. PAHs contamination and PAH-degrading bacteria in Xiamen Western Sea *Chan Spec & Bioavailabil*, 2003, **14**: 25~33
- 13 Tian Y (田蕴), Zheng TL (郑天凌), Wang XH (王新红). Concentration, composition and origin of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water of Xiamen Harbor *Acta Sci Circumst* (环境科学学报), 2004, **24** (1): 50~55

- 14 Tian Y (田蕴), Zheng TL (郑天凌), Wang XH (王新红), Luo YR (骆苑蓉). Contamination characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons in Maluan Bay mariculture area of Xiamen. *Mar Environ Sci (海洋环境科学)*, 2003, **22** (1): 29~33
- 15 Tian Y (田蕴), Zheng TL (郑天凌), Wang XH (王新红). Concentration, distribution and source of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of Xiamen Western Harbor. *Oceanol et Limnol Sin (海洋与湖沼)*, 2004, **35** (1): 15~20
- 16 Zhang JL (张金丽), Zheng TL (郑天凌). The pollution control of polycyclic aromatic hydrocarbons and the research prospect of bioremediation. *Fujian Environ (福建环境)*, 2002, **19** (2): 26~29
- 17 胡望均. 常见有毒化学品环境事故应急处置技术与监测方法. 北京: 中国环境科学出版社, 1993
- 18 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
- 19 Rittmann BE, McCarty PL. Environmental biotechnology: principles and applications. New York: McGraw-Hill companies Inc., 2001
- 20 Chen SH, Aitken MD, Salicylate stimulates the degradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas saccharophila* P15. *Environ Sci & Technol*, 1999, **33**: 435~439
- 21 Mueller JG, Chapman PJ, Pritchard PH. Action of fluoranthene-utilizing bacterial community on polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote. *Appl Environ Microbiol*, 1989, **55**: 3085~3090
- 22 Gibson DT, Mahadevan V, Jerina RM, Yagi H, Yeh HJC. Oxidation of the carcinogen benzo[a]pyrene and benzo[a]anthracene to dihydrodiols by a bacterium. *Science*, 1975, **189**: 295~297
- 23 Schneider J, Gresser R, Jayasimhulu K, Xue W, Warshawsky D. Degradation of pyrene, benzo[a]anthracene and benzo[a]pyrene by *Mycobacterium* sp. strain RJGIF135, isolated from a former coal gasification site. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62**: 13~19
- 24 Cemiglia CE. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future applications in bioremediation. *J Ind Microbiol & Biotechnol*, 1997, **19**: 324~333
- 25 Sanglard D, Leisola MSA, Flechter A. Role of extracellular ligninases in biodegradation of benzo[a]pyrene by *Phanerochaete chrysosporium*. *Enzyme Microbial Technol*, 1986, **8**: 209~212
- 26 Barclay CD, Farquhar GF, Legge RL. Biodegradation and sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Biotechnol*, 1995, **42**: 958~963
- 27 Wolter M, Zadrzil F, Martens R, Bahadir M. Degradation of eight highly condensed polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pleurotus* sp. Florida in solid wheat straw substrate. *Appl Environ Microbiol*, 1997, **48**: 398~404
- 28 Rama R, Mougin C, Boyer FD, Kolmann A, Mabosse C, Sigollet JC. Biotransformation of benzo[a]pyrene in bench scale reactor using laccase of *Pycnoporus cinnabamum*. *Biotechnology Lett*, 1998, **20**: 1101~1104
- 29 Majcherzyk A, Johannes C, Huttemann A. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by laccase of *Trametes versicolor*. *Enzyme Microbial Technol*, 1998, **22**: 335~341
- 30 Datta D, Samanta TB. Effects of inducers of metabolism of benzo[a]pyrene in vivo and vitro: analysis by high pressure liquid chromatography. *Biochem & Biophys Res Commun*, 1988, **155**: 493~502
- 31 Sutherland JB. Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. *J Ind Microbiol*, 1992, **9**: 53~62
- 32 Warshawsky D, Radike M, Jayasimbulu K, Cody T. Metabolism of benzo[a]pyrene by a dioxygenase enzyme system of the freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*. *Biochem & Biophys Res Commun*, 1988, **152**: 479~484
- 33 Grifoll M, Selifonov SA, Gatlin CV, Chapman PJ. Actions of a versatile fluorine-degrading bacterial isolate on polycyclic aromatic compounds. *Appl Environ Microbiol*, 1995, **61**: 3711~3723
- 34 Juhasz AL. Microbial degradation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons. [Ph D Thesis]. Melbourne, Australia: Victoria University of Technology, 1998
- 35 Gong ZQ (巩宗强), Li PJ (李培军), Wang X (王新), Zhang HR (张海荣), Zhang CG (张春桂), Xu HX (许华夏). Cometabolic degradation of benzo[a]pyrene in the soil by the introduced fungi. *Res Environ Sci (环境科学研究)*, 2001, **14** (6): 36~39
- 36 Gong ZQ (巩宗强), Li PJ (李培军), Wang X (王新), Tai PD (台培东), Zhang HR (张海荣). Effects of aromatics on the degradation of benzo(a)pyrene in slurry reactors. *Environ Sci (环境科学)*, 2002, **23** (6): 69~73
- 37 Eggen T, Majcherzyk A. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Internat Biodeterior & Biodegr*, 1998, **41**: 111~117
- 38 McFarland MJ, Qiu XI. Removal of benzo[a]pyrene in soil composting system amended with the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *J Hazardous Mat*, 1995, **42**: 61~70
- 39 Park KS, Sim RC, Dupont RR, Doucette WJ, Matthews JE. Fate of PAH compounds in two soil types: influence of volatilization, abiotic loss and biological activity. *Environ Toxicol Chem*, 1990, **9**: 187~195
- 40 May R, Schroder P, Sandemann JH. Ex-situ process for treating PAH-contaminated soil with *Phanerochaete chrysosporium*. *Environ Sci & Technol*, 1997, **31**: 2626~2633
- 41 Davis MW, Glaser JA, Evans JW, Lamar RT. Field evaluation of the lignin-degrading fungus *Phanerochaete sordida* to treat creosote-contaminated soil. *Environ Sci & Technol*, 1993, **27**: 2572~2576
- 42 Atlas RM. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiol Rev*, 1981, **45**: 180~209
- 43 Margesin R, Schinner F. Biological decontamination of oil spills in cold environments (review). *J Chem Technol & Biotechnol*, 1999, **74**: 1~9
- 44 Whyte LG. Assessment of the biodegradation potential of psychrotrophic microorganisms. *Can J Microbiol*, 1996, **42**: 99~106
- 45 Alvarez HM, Pucci OH, Steinbuchel A. Lipid storage compounds in marine bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1997, **47**: 132~139
- 46 Margesin R, Schinner F. Bioremediation of diesel-oil-contaminated alpine soils at low temperatures. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1997, **47**: 462~468
- 47 Luo YR (骆苑蓉). Preliminary study on Biodegradation of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons—Benzo[a]pyrene in Marine Environment. [Master Thesis]. Xiamen (厦门): Xiamen University (厦门大学), 2004
- 48 Pignatelli JJ, Xing B. Mechanism of slow sorption of organic chemicals to natural particulates. *Environ Sci & Technol*, 1996, **30**: 1~11
- 49 Guthrie EA, Pfaender FK. Reduced pyrene bioavailability in microbially active soil. *Environ Sci & Technol*, 1998, **32**: 501~508
- 50 Koskinen WC, Harper SS. The retention process: mechanisms. In: Chang HH eds. Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling. Madison, America: Soil Science Society of America, 1990. 51~77
- 51 Tian Y (田蕴), Zheng TL (郑天凌), Hu Z (胡忠). Advances on microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in marine environment. *Chin J Appl Environ Biol (应用与环境生物学报)*, 2003, **9** (4): 439~443