

苯二甲酸酯的微生物降解与转化

庞金梅 池宝亮 段亚利

(山西省农科院,太原 030031)

摘要 综述国内外有关苯二甲酸酯(PAEs)化合物对环境的污染以及微生物对该类物质的降解与转化。指出:①PAEs 已在全球范围的大气、水体、土壤中达到了普遍检出的程度;②微生物能够降解利用 PAEs;③PAEs 的微生物降解反应速率符合一级反应动力学方程;④混合微生物的联合代谢作用较纯培养降解 PAEs 效果好;⑤PAEs 在微生物酶的作用下,先水解生成单酯与苯二甲酸,然后在好气条件下进行代谢与转化,最终可生成 CO_2 和水。

关键词 苯二甲酸酯、微生物、酶、降解、转化。

苯二甲酸酯(PAEs)是工业增塑剂中最重要的品种,它们占世界增塑剂年消费量约 300 万 t 的 80%—85%^[1]。由于大量生产,广泛应用,PAEs 已在全球各主要工业国的生态环境中达到了普遍检出的程度。且对生物生长繁殖有一定的影响,高剂量会使哺乳动物突变。畸变、癌变^[2]。被人们称为“第二个全球性 PCB 污染物”^[3]。

通常认为,在多数情况下,进行生物处理能消除其毒性,或转变成无毒形态,或通过矿化作用降解其为 CO_2 和水。但鉴于其化学结构和分子量的差异,生物处理方式和微生物种类以及环境中物理、化学、生物等因素的不同,去除效果存在很大差异。近年来,国内外的研究表明,使用适当选择的微生物群落,创造和保持最宜的环境条件,是能够有效地降解和转化 PAEs 的。

1 PAEs 在环境中的广泛分布

PAEs 对环境的污染除了喷涂涂料、焚烧塑料垃圾、农用薄膜中增塑剂的挥发等污染大气外,工业污水的排放是导致许多国家水体、污泥和土壤污染的主要污染源。有资料报道^[4],在玻利维亚拉巴斯空旷无人的山区,苯二甲酸二-2-乙基己酯(DOP)浓度为 17—20 ng/m³,苯二甲酸二丁酯(DBP)为 19—36 ng/m³。工业城市中这些物质的含量要高得多。如在焚烧炉附近的空气中曾测得 DOP 为 300 ng/m³,DBP 为 700 ng/m³。在生产人造革和聚氯乙烯(PVC)膜的工厂、车间空气中,PAEs 的蒸气浓度可达 1.7—66 mg/m³。我国的北京、兰州和比利时的安特卫普等城市,从空气颗粒物中检出的 DBP 和 DOP 含量为 150—250 ng/m³。

PAEs 在水中的溶解度高于有机氯代烃类。工业区的雨水、河水 and 海水中的 PAEs 含量可比多氯联苯高出 10—1000 倍。目前,全球地面水中 PAEs 含量一般为 10^{-9} 级,在接近工业区的水域含量较高。如美国密西西比河河口 DOP 浓度达 0.6×10^{-6} ,苏必利尔湖湾的水样中 DOP 为 0.3×10^{-6} 。我国太湖水中 DIBP、DOP、DNBP 的含量达 3.62 μg/L,并在无锡市的饮用水中检出微量 DNBP、DIBP、DMP^[5]。黄河水样中也含有 DBP、DOP 等。北京高

碑店地区的浅井水样中也检出了 DNBP 和 DOP。高碑店污灌水中的 DNBP 为 80—258 μg/L, DOP 为 39—218 μg/L。在增塑剂生产厂污水中 DBP 达 5715 μg/L, DOP 达 4239 μg/L。北京燕山地区 3 条主要河流中都不同程度地含有 6 种 PAEs^[5]。地面水中 PAEs 十分稳定,不易分解,主要来自工农业废水、地表径流和空气颗粒物沉降等。

土壤中的 PAEs 通常来自工业烟尘沉降、污水灌溉、堆积的塑料废品、农田塑料薄膜等,长期受雨水浸淋对土壤局部的严重污染。如日本爱媛县表层土壤中的 PAEs 含量为 $22-780 \times 10^{-9}$ ^[4],中国北京郊区的表层土壤中的 DOP 为 0.23×10^{-6} , DBP 为 1.1×10^{-6} , DIBP 为 0.21×10^{-6} ,北京市工业污灌区土壤中 DBP 和 DOP 的含量分别为对照区的 50 和 73 倍。笔者测定了 PVC 塑膜覆盖(60d)表层(0—5cm)土壤中的 DOP 含量为 1.34×10^{-6} 。河流底质由于水中 PAEs 的沉淀,底泥的吸附和交换作用,含量可积累到相当高的程度。山西一化工农药厂排污出口处的底泥中检出 DOP 含量高达 8‰。美国俄亥俄河下游底泥中的 PAEs 为 0.8‰^[4]。这些 PAEs 在水质发生变化时可再释放出来,与水中含量呈动态平衡,并污染底栖动物。

总之,PAEs 已严重污染环境。尽管它们在环境中的残留量不大,杀伤力不强,但生物对其有极强的富集作用。当它们一旦进入水体-土壤-动(植)物体这一生态系统中,对公众健康带来的危害是无法估计的。为此,世界各国的有关部门及科学家们已对这一污染物的环境公害引起关注。近年来,利用微生物对 PAEs 进行了生物降解的试验研究。

2 微生物对 PAEs 的降解与转化

2.1 微生物对 PAEs 的降解

PAEs 是人工合成的有机化合物,与天然存在的化合物相比,环境中的微生物是否能使它们降解,确是一个使人关注的问题。其原因是人工合成的新化合物,自然界中

原来不可能存在有作用于它们的微生物和酶。1954—1972 年的试验研究指出,PAEs 尤其是最常使用且在环境中易被检出的 DOP 不容易被微生物利用(Mathur, 1974)。然而,Mathur 通过 14 周的试验后认为,微生物可以利用 PAEs。原因是:①PAEs 广泛存在于自然界中;②苯二甲酸和大多数短链醇能被生物降解;③在不同的生态系统中存在有各种各样的酯酶^[6]。以后的许多试验也证实了积累在环境中引起污染的 PAEs 有机化合物,最初能抗微生物袭击,难以被降解。而当环境条件发生变化后,某些微生物增强了对环境变化的适应能力,包括自发地产生突变菌株和形成新的诱导酶体系^[7]。正如 Audus 所言,任何有机化合物在土壤中完全不受某些微生物的最终侵蚀是不可能的。^[8]

人们对微生物降解 PAEs 研究较多的是生产上用量最大,环境中检出量较多的 DOP 和 DBP。吉田秋比古等人报道^[9],他们分离到 2 株能降解 DBP 和 DOP 的分解菌,是自然界中广泛存在的菌种,它们都属于棒状杆菌(*C. Pseudodiphtheriticum*)。NO. 33 可分解 DBP,它能将加入 1% 的 DBP,在 4d 内分解 65%;NO. 75 能将添加 1% 的 DOP 在 3d 内分解 79%。程桂荪等^[10]分离的荧光假单孢菌(*Pseudomonas fluorescens*),野油菜黄单孢菌(*Xanthomonas campestris*)都是 DNBP 降解菌。在加入 DNBP 的灭菌土壤中接种,培养 50d 测定,DNBP 的降解率分别为 72.2% 和 82.7%。叶常明(1989)^[11]对 5 种 PAEs 进行了降解动力学研究,接种氮单孢菌属(*Azomonas*)培养 28d 分析测定,除 DOP 分子量较大外,降解率都在 98% 以上。笔者(1991)* 在灭菌与未灭菌土壤中加入 DOP 培养 7 周。灭菌土壤中的 DOP 基本上不被降解;而培养 5 周时,未灭菌土壤中的 DOP 降解率已达到 99.17%。Richard^[12]对天然水、活性污泥、积水土壤和一定含水介质中有限数量的 14 种商用 PAEs 化合物,采用稍加改进的 CO₂ 释出法进行了生物降解能力的研究。结果指出,从初始生物降解到 CO₂ 释出百分数看,所有 PAEs 都被迅速地生物降解。28d 的初始生物降解,除 DBP、BBP 和 DTDP 分别为 68%—99%,59%—89%,>50% 外,其余均>99%。由最终生物降解数据也可得出类似的结论,除 BBP 和 DTDP 外,用富集的适应性接种物测定的所有 PAEs,在 28d 时都>50% 的 CO₂ 理论释出量,前两者分别是 43% 和 37%。但 BBP 和 DTDP 在 28d 时仍然降解。Johnson 等^[13]发现,湿土中加入 46% 的 ¹⁴C-DBP,在 22℃ 24h 好气降解为苯二甲酸单丁酯。5d 后这种标记物消散掉 98%;在厌氧条件下,消散 98% 则需 30d;将土壤灭菌则观察不到显著的降解。可见,DBP 主要是由于微生物的降解。

2.2 PAEs 微生物降解的联合代谢

先前的研究指出,在纯培养研究中不能明显改变的物质常常在混合培养条件下会降解或转化。即不同微生物之间存在着相互作用。当一种化合物不能作为碳源或能源被代谢时,会被微生物利用另一些类似化合物时而将其附带地转化。其次,一种微生物最初转化的产生可能会被另一类微生物作用,使之成为被常规代谢途径所转化的物质^[14]。吉田秋比古等用分离菌降解 DBP,4d 内分解 65%^[9]。而 Johnson 在未灭菌土壤中加入 ¹⁴C-DBP,5d 后标记物消散掉 98%^[13]。叶常明在纯培养研究中,接种氮单孢菌(*Azomonas*),降解 DOP,半寿期为 18.7d^[11];笔者在多种微生物类群存在的未灭菌土壤中加入 DOP,其半寿期仅为 5.13d*。由此可见,用纯培养研究预言环境中物质的归宿大概是不合适的,只有通过微生物的联合代谢作用才能达到理想的结果。

微生物降解 PAEs 污染物的研究起步较晚。目前认为能对 PAEs 降解的微生物种属主要有:氮单孢菌属(*Azomonas*)、假单孢菌属(*Pseudomonas*),黄单孢菌属(*Xanthomonas*),棒状杆菌属(*Corynebacterium*),芽孢杆菌属(*Bacillus*),节细菌属(*Artrobacter*),诺卡氏菌属(*Nocardia*),产碱菌属(*Alcaligenes*),镰刀霉属(*Fusarium*),青霉属(*Penicillium*),木霉属(*Trichoderma*)等^{[9-11]**}。在 PAEs 污染区域最常被分离到的有假单孢菌、无色杆菌、分节孢子杆菌、短颈细菌、棒状杆菌和产黄菌属。棒状杆菌被认为是断裂杂环化合物和碳氢化合物链的主要菌种。假单孢菌似乎普遍存在,它够适应许多人工合成的有机化合物。

2.3 PAEs 的生物降解速率

描述 PAEs 的生物降解过程一般应用反应速度方程。叶常明等研究了 PAEs 的生物降解动力学^[11]。指出 PAEs 的生物降解反应速率符合一级反应动力学方程:

$$C = C_0 e^{-kt} \quad \text{即} \quad \ln C = \ln C_0 - kt$$

方程的相关系数达 0.96—0.99。Richard^[13]、庞金梅等* 用同样的方法拟合了各自的降解资料,吻合程度良好。

PAEs 在土壤中的降解过程表现为一种联合代谢降解曲线。没有迟缓期,降解速度从高浓度下的零级反应速转为低浓度下的一级反应速直至测不出来。微生物适应生长降解曲线也是有机化合物生物降解的一种主要类型,但这可能表现在纯培养的生物降解情况。尽管一些研究者已分离筛选出能降解某种 PAEs 的菌种,但纯接种对 PAEs 的降解过程尚缺乏细致的研究。一般来说,参与

* 庞金梅. 全国环境微生物学学术研讨会论文摘要集. 厦门, 1992:10

** 张春桂. 全国环境微生物学学术研讨会论文摘要集. 厦门, 1992:30

降解的微生物的增殖与降解速度的增加,既与微生物数量成正比,也与 PAEs 的浓度或微生物适应 PAEs 之后引起的降解速度增加成正比。当 PAEs 浓度逐渐降低或缺乏时,微生物增殖随之而减慢,降解速率也相应减缓。

Larson 曾认为^[12],在报道和比较生物降解结果时,速率常数是一种较好的方法。叶常明等用改进的 CO₂ 鼓泡衰变装置对我国目前广泛使用的 5 种 PAEs (CMP、DEP、DBP、DAP、DOP) 进行了水中生物降解反应动力学研究。结果表明,其降解反应速率随酯类化合物分子量的增大而减小,半寿期相应增大。这种现象可能是由于分子量增加,增大了分子对生物反应的位阻效应。Richard 等用摇瓶培养法测定了 14 种 PAEs 的生物降解,其结果亦有类似趋势,并指出反应速率常数还随化合物(如 DIOP、DOP)支链增加而降低。

为了考察 PAEs 生物降解反应速率常数(K_b)的变化规律,叶常明等利用线性自由能关系式对实验数据进行了分析,获得速率常数 K_b 与水解常数 K_{on} 的关系式^[11]:

$$\lg K_b = 1.10 \lg K_{on} + 1.60 \quad (r = 0.97)$$

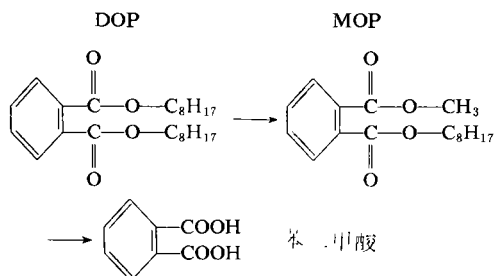
这进一步探讨了 PAEs 的生物降解反应速率与其化学结构的关系。

然而,由于各研究者采用的实验方法和介质条件不同,从各自的结果就速率常数进行比较是困难的,数据往往存在较大差异。

PAEs 的生物降解除受微生物种类、数量、PAEs 的浓度、分子量和化学结构的影响外,还受其它因素的影响。众多研究者业已证实,PAEs 在好气条件下分解。另外,在一定范围内,营养盐对 PAEs 的生物降解速率有明显的影响,如氮单孢菌属在降解 PAEs 过程中,在 1ml/L 营养加量之内,营养盐浓度越高,降解度越大。

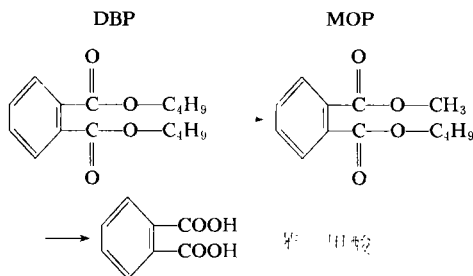
2.4 PAEs 的生物降解与转化途径

由于 PAEs 的毒性,人们十分关注 PAEs 的生物降解的转化产物。Johannes L. 等^[15]研究了室内和室外土壤植物系统中¹⁴C 标记 DOP 的去向。认为 DOP 在土壤中的转化途径为:首先水解形成单酯,然后游离出苯二甲酸。



由于 DOP 的非生物水解极慢(30℃ pH6 时,半衰期为

100 年)。因此,它们在土壤中较快速地初始降解是在微生物作用下的酯酶水解过程。Pierce 等(1980)在实验室接种细菌的试验中也观察到 MOP 和苯二甲酸的生成。吉田秋比古等从 PAEs 分解菌的分离、培养到培养物的确定,研究了 DOP 和 DBP 的微生物分解。表明,DOP 降解途径同前所述,DBP 的降解途径也属同种类型。图式为:



随后的代谢途径为:芳香化合物在加氧酶作用下生成原儿茶酸等双酚中间产物;双酚化合物在双氧酶作用下使芳香环开裂,成为相应的有机酸,进而转化为丙酮酸、琥珀酸、延胡索酸等进入三羧酸循环,最终氧化为 CO₂ 和水。

3 结语

PAEs 的环境污染问题已引起人们的关注。国内外一些学者的研究表明,PAEs 的污染处理需依靠微生物的降解。尽管土壤中存在许多能降解 PAEs 的菌类,但其自然降解能力并不能满足环境治理的需要。对 PAEs 污染物的生物降解处理仍有待于筛选高效专性或兼性的降解菌并提供有效的生物处理方法。

参考文献

- 1 石万聪. 增塑剂. 北京: 化学工业出版社, 1989, 60
- 2 John Autian and William Kluwe et al., Environ. Health perspectives. 1982, 45: 115
- 3 魏爱雪. 环境科学丛刊. 1986, 7(6): 74
- 4 许征帆. 中国大百科全书《环境科学》. 北京: 中国大百科全书出版社, 1983: 473
- 5 赵振华. 环境科学丛刊. 1986, 7(5): 50
- 6 Fairbanks B C et al. J. Environ. Qual. 1985, 14(4): 479
- 7 王宗玲. 环境微生物学. 北京: 高等教育出版社, 1988: 89
- 8 顾宗灏. 土壤学进展. 1980, (2): 13
- 9 吉田秋比古等. Seikatsu Eisei (Japan). 1979, 23(6): 199
- 10 程桂荪等. 环境科学. 1986, 7(6): 25
- 11 叶常明等. 环境科学学报. 1989, 9(1): 37
- 12 Richard H. Applied and Environ. Microbiology Apr. 1984: 601
- 13 Johnson B T et al., Jour. Fish Res. Board Can. 1975, 32: 333
- 14 广奉译. 环境科学丛刊. 1982, 3(6): 60
- 15 Johannes L et al. J. Agric. Food chem. 1988, 36: 210

Abstracts

Chinese Journal of Environmental Science

such a function, the possible paths of such a degradation and their kinetic models, the biodegradabilities of various components of chlorinated aliphatics, and an evaluation on the reactors which have been used for such a biodegradation.

Key words: biodegradation, chlorinated aliphatics, biological wastewater treatment.

Biodegradation and Transformation of Phthalic Acid Esters. Pang Jinmei et al. (Shanxi Academy of agri. Sci., Tai Yuan 030031); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15** (3), 1994, pp. 88—90

The environmental Pollution by phthalic acid esters (PAEs) and their degradation and transformation by micro-organism reported at home and abroad, were

reviewed with the following conclusions; (1) PAEs have been ubiquitously detected in air, ground, river, drinking water and other waters in the world; (2) Micro-organisms can degrade PAEs and utilize them; (3) Reaction rate of microbial PAEs degradation can follow the first order reaction kinetics; (4) Combined meta- bolization of mixed micro-organisms in PAEs biodegradation is better than pure culture effect; (5) PAEs are hydrolyzed by microbial enzymes to monoester and phthalic acid, then can be metabolized and transformed under aerobic conditions, at last degraded to CO₂ and water.

Key words: phthalic acid esters, micro- organism, enzymes, degradation, transformation.

(上接第 46 页)低扩散参数值越大。拟合扩散参数所反映的高度比国标和 Briggs 扩散参数的高度要高,因此拟合扩散参数要小于国标和 Briggs 扩散参数是合理的。

在某些稳定度下,拟合扩散参数大于国标和 Briggs 扩散参数,这与实测资料有关。出现这种情况的原因有待于进一步研究。

本套拟合扩散参数一般适应于 100m 以上的高架源扩散情况。

拟合扩散参数曲线基本上与 Briggs 扩散参数曲线一致,与国标扩散参数曲线存在一定的差异,国标扩散参数曲线的倾角大于拟合扩散参数曲线的倾角。而实测扩散参数曲线大多都和拟合

扩散参数曲线接近,这表明拟合扩散参数曲线基本符合实际情况。

致谢 本文得到徐大海先生的指导和帮助,特此感谢。

参考文献

- 1 李卫英,王华聪,蔡存福. 大气科学. 1985, **9**(4), 434
- 2 黄志丹. 环境科学技术. 1989, **9**(1), 45
- 3 王景书,余秀芬,陈竹舟. 环境科学学报. 1989, **9**(1), 100
- 4 蒋维楣,周朝辅,李宗恺,潘云仙. 环境科学学报. 1985, **5**(2), 112
- 5 李宗恺,潘云仙,孙润桥. 空气污染气象学原理及应用. 北京:气象出版社, 1985, 278
- 6 林红,陈家宜. 大气污染物总量控制管理. 北京:海洋出版社, 1990, 56

欢迎订阅《中国小造纸、小印染和高浓度有机废水治理技术交流会论文汇编》

《中国小造纸、小印染和高浓度有机废水治理技术交流会论文汇编》(《环境科学》增刊)已于近期出版,《汇编》精选了由国家环保局科技标准司科研处主持的“小造纸厂污染防治技术交流会”和“小印染、高浓度有机废水污染防治技术交流会”交流的优秀科技论文 39 篇,介绍了适用性强、投资少、成本低和能耗低的新型治理工艺、新设备、新药剂等,包括小造纸厂黑液碱回收,木素综合利用产品开发,石灰法草浆厌氧处理技术,处理高浓度有机

废水的厌氧生物技术和处理印染废水的兼氧-好氧-生物炭技术,高压脉冲电解法新设备等。

《汇编》约 20 万字,定价 8 元/册(含邮资)。欲订购者请将书款汇到北京 2871 信箱(邮编 100085)《环境科学》编辑部,并请用正楷在汇款单上写清双方地址、邮政编码、姓名、款数、所购书名及数量,切勿多寄或少寄书款及在信中夹邮书款,也可携款到编辑部购买,联系电话: 2545511—2138