

微生物共代谢在氯代有机物生物降解中的作用*

沈东升 徐向阳 冯孝善

(浙江农业大学环保系, 杭州 310029)

摘要 概述了微生物共代谢的生化机制、研究进展以及在氯代有机物生物降解中的作用, 提出了微生物共代谢这种尚未被人们透彻了解的生物过程在氯代有机物等难降解化合物生物处理中的应用前景。

关键词 共代谢, 氯代有机物, 生物降解。

废水或固体废物的生物处理主要是利用微生物分解代谢有机物的能力。其中, 一部分有机物作为能源和碳源, 另一部分用于合成新的细胞物质。这种生物转化作用在好氧环境中以分子氧作为电子受体, 而在厌氧环境中则以硝酸盐、硫酸盐、二氧化碳或其它有机物作为电子受体。目前, 对上述这种以取得能量为目的的微生物代谢过程及环境条件对代谢途径、终产物和反应速率的影响有了比较深入的了解, 并已广泛地应用于生物处理系统中。然而, 在有机物的生物转化中还存在着另一种尚未被人们透彻了解的生物过程——共代谢(co-metabolism)。本文主要就微生物共代谢的生化机制、作用及其应用前景作一些概述。

1 参与共代谢的微生物和有机物

所谓微生物共代谢, 现在一般定义为: 只有在初级能源物质存在时, 才能进行的有机化合物的生物降解过程。这一过程最初由 Lead better 和 Foster 提出^[1], 并称之为共氧化(co-oxidation), 以后由 Jensen 进一步修正为更一般化的术语“共代谢”, 它包括由微生物完成的各种脱氯反应。因此, 共代谢不但包括微生物在正常生长代谢过程中对非生长基质的共同氧化, 而且也描述了休止细胞(resting cells)对不可利用基质的氧化代谢。

共代谢广泛存在于人工合成有机物的微生物降解过程^[2], 表 1 和表 2 分别列出了部分具有共代谢功能的微生物和有机化合物。

2 共代谢的生化机制

微生物的共代谢作用向微生物学家提出了

一种新的生物氧化机制问题: 为什么微生物能氧化一种化合物, 而又不能从中获取生长所必需的碳源和能源? 针对这一现象, 许多学者提出了各种假设, 主要有:

(1) Foster 认为微生物不能在某种基质上生长的原因并不是由于微生物无法分解代谢这种物质, 而是由于微生物本身缺乏吸收、同化其氧

表 1 具有共代谢功能的微生物

微生物名称	拉丁名
无色杆菌	<i>Achromobacter</i> sp.
节杆菌	<i>Arthrobacter</i> sp.
黑曲霉	<i>Aspergillus niger</i>
固氮菌	<i>Azotobacter vinelandii</i>
巨大芽孢杆菌	<i>Bacillus megaterium</i>
芽孢杆菌	<i>Bacillus</i> sp.
短杆菌	<i>Brevibacterium</i> sp.
黄色杆菌	<i>Flavobacterium</i> sp.
氢假单胞菌	<i>Hydrogenomonas</i> sp.
红色微球菌	<i>Micrococcus cerificans</i>
微球菌	<i>Micrococcus</i> sp.
微杆菌	<i>Microbacterium</i> sp.
红色诺卡氏菌	<i>Nocardia erythropolis</i>
诺卡氏菌	<i>Nocardia</i> sp.
荧光假单胞菌	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
青霉	<i>P. Methanica</i>
恶臭假单胞菌	<i>P. Putida</i>
假单胞杆菌	<i>Pseudomonas</i> sp.
黄色链霉菌	<i>Streptomyces aureofaciens</i>
绿色木霉	<i>trichoderma virida</i>
弧菌	<i>Vibrio</i> sp.
黄色假单胞菌	<i>xanthomonas</i> sp.

• 国家自然科学基金资助项目
1993 年 8 月 23 日收到修改稿

表 2 参与共代谢的有机物及产物

基 质	产 物
乙烷	乙酸
丙烷	丙酸、丙酮
丁烷	丁酸、甲基乙基酮
间氯苯甲酸(盐)	4-氯儿茶酚、3-氯儿茶酚
邻氯苯甲酸(盐)	3-氯儿茶酚、氟乙酸
2-氟-4-硝基苯甲酸(盐)	2-氟原儿茶酚酸(盐)
4-氯儿茶酚	2-羟基-4-氯己二烯半醛
3,5-二氯儿茶酚	2-羟基-3,5-二氯己二烯半醛
3-甲基儿茶酚	2-羟基-3-甲基己二烯半醛
邻二甲苯	邻甲苯酸
对二甲苯	对甲苯酸、2,3-二羟基-对甲苯酸
吡咯烷	谷氨酸
正丁苯	苯乙酸
乙基苯	苯乙酸
正丙苯	?
对异丙基甲苯	对异丙基苯甲酸
正丁基环己烷	环己烷乙酸
2,3,6-三氯苯甲酸	3,5-二氯儿茶酚
2,4,5-三氯酚氧乙酸	3,5-二氯儿茶酚
P,P'-二氯二苯甲烷	对-氯苯乙酸
1,1-二苯基-2,2,2	2-苯基-3,3,3-三氯丙酸
-三氯乙烷	

化产物的能力^[3]。

(2) Hughes 提出, 卤代芳烃化合物的共代谢可能是由于微生物无法从苯环上脱去卤素取代基, 并把芳香环基质导向碳吸收同化的节点^[4]。这一机制得到了 Kenedy 和 Fewsen 的实验支持^[5]。他们发现: 具有苯甲酸氧化酶的微生物只能氧化苯甲酸和单氯苯甲酸(因为氟和氢的范德华半径相近), 而氯、溴、碘取代基却使基质失去活性。显然, 这一机制无法解释已发现的许多氯、溴、碘代苯甲酸的脱卤作用, 以及脂肪烃, 芳香烃类化合物的共代谢现象。

(3) Tranter 和 Cain 把具有氧化代谢卤代芳烃化合物功能的细菌不能在该基质上生长的原因归结于有毒产物的积累^[6]。Horvath 证实 2,3,6-三氯苯甲酸的共代谢会导致 3,5-二氯儿茶酚的积累, 最终形成对细胞有毒害的环境^[2]。但这一机制仅能应用于芳烃化合物, 无法解释氧化产物积累有毒环境形成的直接原因。

(4) Gibson、Koch、Schuld 和 Kallio 等提出了各种共代谢的酶学解释^[7]。他们认为, 由于卤代

二羟基苯与催化芳香核加氧作用的酶活性中心的铁离子发生螯合作用, 抑制了酶系统的活性。支持该解释的主要实验依据是: 在苯甲酸基质中生长的细胞能立即氧化代谢间氯苯甲酸, 没有滞留期; 当细胞和其它卤代同系物预培养一定时间后, 能诱导细胞代谢苯甲酸和间氯苯甲酸; 当非诱导细胞分别和这 2 种化合物培养时, 在氧的吸收方面表现出相同的滞留期, 积累产物 4-氯儿茶酚并不抑制苯甲酸的氧化代谢, 这就排除了共代谢产物对酶的抑制作用和毒性。由此可以推断: 苯甲酸氧化酶具有相对的非专一性, 而芳香环裂解酶则具有专一性。但是, 这种螯合作用抑制酶活性的机制无法解释微生物对乙烷、卤代苯甲酸(盐)、卤代儿茶酚、烷基芳烃化合物(如乙苯、丙苯等)的共代谢作用。

3 氯代有机物降解过程中的共代谢

氯代有机物代表一类大量生产和广泛应用于工农业生产中的化学物质。长期来, 因无法分离到利用这类化合物作为单一碳源和能源的微生物, 因而一直被认为是生物难降解物质。现有的研究表明, 微生物可以通过共代谢途径代谢大多数卤代有机物, 还原或氧化共代谢是这类有机氯代化合物微生物降解的第一步。

3.1 氧化脱氯

1959 年, Lead better 和 Foster 研究发现, 甲烷营养型微生物具有氧化大多数短链氯代烷烃类化合物的能力。当有其它初级能源物质存在时, 有些细菌也具有相似的作用^[1]。Wilson 证实甲烷营养型的好氧富集培养物能生物转化三氯乙烯。Janssen 等鉴定了三氯乙烯的氧化中间产物是 1,2(t)-二氯乙烯氧化物, 并确证这是氯代烷烃氧化代谢的第一步^[8]。Little 等研究还发现, 在以甲烷和甲醇作为初级能源物质时, 甲烷营养型的纯培养物可以共代谢氧化三氯乙烯, 并观察到乙醛酸和二氯乙酸等中间产物的出现^[9]。Fogel 和 Hensen 等在研究了甲烷营养型富集培养物共代谢氯代烃类化合物的范围和相对氧化速率后指出: 氯代乙烷、甲烷和乙烯均可被共代谢氧化, 氧化速率随氯代程度的降低而加快。四氯乙烷、

多氯乙烯等氯代度较高的化合物不能被利用。有些研究者还发现某些分解代谢酚或甲苯的细菌也具有共代谢降解三氯乙烯、1,1-二氯乙烯、顺-1,2-二氯乙烯的能力;还有一种生长于柠檬酸介质中的细菌也具有降解多氯乙烯和三氯乙烯的能力^[11]。

近来的研究还表明,某些微生物能氧化共代谢氯代芳香类化合物。这已引起了各国学者的广泛兴趣。大量的研究进一步证实在氯代芳香族化合物的共代谢氧化中,开环和脱氯往往是同时进行的^[11]。

3.2 还原脱氯

在兼性或厌氧环境中,还原脱氯是氯代有机物生物降解的第一步,产甲烷条件有利于氯乙烯和氯乙烷的生物转化。Belay 和 Daniles 发现在产甲烷菌的纯培养中,氯乙烯和氯乙烷也会发生还原脱氯,Vogel 和 McCarty 报道了混合培养时,多氯乙烯到三氯乙烯、二氯乙烯、氯乙烯的还原脱氯过程,并发现其中约有 12%—14% 的多氯乙烯碳被氧化成二氧化碳。

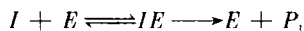
近 20 年来的研究发现,在厌氧条件下,许多好氧难降解的氯代芳烃化合物也同时先经还原脱氯反应,形成毒性较小,更易降解的部分脱氯中间产物,这些中间产物可以在其它微生物的协同作用下彻底矿化^[12]。现已发现的能产生富集微生物种群的基质主要有:3-氯苯甲酸、2,4-二氯酚氧乙酸、2,4,5-三氯酚氧乙酸、氯代树脂酚等。各种氯酚(包括五氯酚)、部分六氯苯和多氯联苯也同样经过共代谢还原脱氯途径。一般而言,随着化合物氯代程度的增加,还原脱氯反应速率趋向更快。

3.3 反应速率

出于对生物处理反应器大小和停留时间的考虑,有机废物生物处理工程设计中常常需要一些有关反应速率的参数。对于微生物可以直接利用的有机物降解速率及其影响因素已有较多的研究,有些已作为废水废物生物处理系统设计的基础而得到广泛应用。但是,有关影响共代谢降解速率及次级基质(secondary substrate)利用速率的因素还知之甚少。

鉴于维持共代谢所必需的酶来自于初级基质的利用,作为次级基质利用的共代谢也就只能在初级基质消耗时发生,除此之外,有些微生物在初级基质缺少时,通过内源代谢来维持上述酶活性,此时次级基质的转化仍可进行。这样,在一个同时存在着 2 种基质的系统内,必然存在着代谢过程中必需酶的竞争作用,2 种基质的代谢速率之间也就存在着相互作用,反应动力学将变得更为复杂。研究次级基质利用的一种有效方法是把这种利用速率和单独的初级基质利用速率相比较。一般而言,甲烷营养型微生物对氯代烃类化合物的利用速率随单位碳原子所含氯原子数的减少而增加,而在产甲烷系统中,情况则正好相反。这样,氯乙烯在好氧环境中可以很快转化,而在厌氧系统中则很慢;另一方面,四氯化碳、多氯乙烯在厌氧产甲烷系统中降解很快,而在好氧甲烷营养型系统中则不出现快速氧化。由此可以推断:对于氯代程度较高的烃类化合物的混合液,厌氧-好氧联合处理系统可能是一种行之有效的处理方法。

由于基质之间存在竞争作用,在有些情况下,如甲烷单氧酶既是甲烷氧化的第一步,也是其它化合物共代谢的第一步酶,因此它的反应动力学可以用具有竞争作用的酶动力学来描述:



如果把共代谢化合物当做抑制物,则初级基质利用速率可以表达为:

$$-\frac{ds}{dt} = KX \frac{S}{S + K_s(1 + I/K_i)}$$

上式表明,初级基质的实际利用速率与最大反应速率之比值(R/R_{max})随相对初级基质浓度(S/K_s)和相对共代谢物浓度(I/K_i)而变化,共代谢物不影响初级基质的最大利用速率,但却减小了给定初级基质浓度的利用速率。对于次级基质而言,情形正好相反,把初级基质当作“抑制剂”,而把次级基质(共代谢物)当作基质,这样,较高的初级基质浓度反而会降低共代谢物的利用速率。因此,共代谢化合物的利用速率必须通过维持适当的初级基质浓度来达到最优化^[13]。

4 共代谢与生物难降解物质

通常研究确定有机污染物生物可降解性的 3 种方法(矿质盐离子介质中微生物的生长能力试验、逐渐消失试验和选择性培养试验)均侧重于选择能利用供试化合物作为单一碳源和能源物质的微生物,而不考虑微生物是否有活性、有能力地共代谢降解这些化合物,因此,利用上述 3 种方法确定的生物难降解物质(指微生物不能降解或在任何环境条件下不能以足够快的降解速度阻止它在环境中的积累)就有必要进行重新评价,评价时必须把共代谢作用考虑在内。在上述 3 种方法中,矿质盐介质中的微生物生长能力试验和选择性培养试验都无法考虑共代谢作用。如果以气相色谱、液相色谱替代通常的光谱分析和紫外吸收法,则逐渐消失试验可以用于监测供试化合物的共代谢降解作用的存在与否^[2]。

5 微生物共代谢的应用

共代谢过程不但提出了一种新的代谢现象,而且已被作为一种生化技术在芳香族化合物生物解研究中得到应用。Gibson 等以共代谢为手段,分离和确定了卤代苯和对氯甲苯的假单胞菌的氧化产物,这有助于研究氧进入芳香环的机制。Focht 和 Alexander 等应用共代谢技术建立了 DDT 的环断裂机制^[14]。Horvath 利用共代谢反应步骤少的优点,分别确定了 2,3,6-三氯苯甲酸降解过程中所含的氧化、脱羟和脱卤反应,从而发现了无色杆菌(*Achromobacter*)代谢 2,3,6-三氯苯甲酸的途径^[2]。Hanne、Jaakko、Woods、Mary 等利用厌氧反应器中存在共代谢的原理,通过添加初级基质来处理含氯酚的废水,使氯酚这种有毒的“难降解物质”得到生物净化^[15-18]。

现代的环境污染迫切需要人们更充分地利用微生物的降解活性。不幸的是有些化合物含有

高度抗酶分解的结构元素或取代基。尽管环境微生物具有逐渐进化、适应的功能,但酶催化途径的自然进化需要多种基因成分的改变,速度很慢,不能适应现代环境保护的要求。通过共代谢等各种生化技术的应用,在搞清微生物降解环境污染物的能力和途径的基础上,应用现代基因工程技术,扩展微生物酶对基质的专一性和代谢途径,更有效地处理和降解各种污染物,更好地保护环境。

参考文献

- 1 Lead better E R et al. . Arch. Biochem. Biophys. . 1959, **82**: 491
- 2 Horvath R S. Bacter. Rev. . 1972, **36**(2):146
- 3 Foster J W. J. Microbio. Serol. . 1962, **28**:241
- 4 Hugus D E. Biochem. J. . 1965, **96**:181
- 5 Kennedy S I T et al. . J. Gen. Microbiol. . 1968, **53**:259
- 6 Tranter E K et al. . Biochem. J. . 1967, **103**:22
- 7 Gibson D T. Biochemistry. 1968, **7**:3795
- 8 Janssen D B et al, O M Neijssel et al eds. Toxicity of chlorinated aliphatic hydrocarbons and degradation by methanotrophic consortia, In proceedings of the Fourth European congress on Biotechnology. Amsterdam; Elsevier Publishers, 1987. **3**:515
- 9 Little D et al. . Appl. Environ. Microbiol. . 1988, **54**(4):951
- 10 Fogel M M et al. . Appl. Environ. Microbiol. . 1986, **51**(4): 720
- 11 Healy J B. Appl. Environ. Microbiol. . 1979, **38**(1):84
- 12 Vogel T M et al. . Appl. Environ. microbiol. . 1985, **49**(5): 1080
- 13 McCarty P L, G. S. Omenn eds. Bioengineering issues related to in situ remediation of contaminated soils and groundwater. In Environ-Biotech. Reducing risks from environ. chemicals through biotech. . New York: Plenum Press, 1987: 143—162
- 14 Focht D D et al. . J. Agr. food Chem. . 1971, **19**:20
- 15 Hendriksen H V. Appl. Environ. Microbiol. . 1992, **58**(1): 365
- 16 Puhakka J A et al. . Wat. Res. 1992, **26**(6):765
- 17 Krumme M L. Wat. Res. . 1988, **22**(2):171
- 18 Woods S L. Environ. Sci. technol. . 1989, **23**(1):62

Key words: miniaturized watercolumn barometer, mercury pollution, saturated water vapor pressure, ambient temperature.

Advances in Physical and Chemical Technologies for Decolorization of Dye Wastewater. Yu Gang, Yang Zhihua et al. (Dept. of Environ. Eng., Tsinghua University, Beijing 100084); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15**(4), 1994, pp. 75—79

A review was made on the current status and development of physical and chemical technologies for decolorization of dye wastewater, including adsorption, coagulation and flocculation, chemical oxidation, ion exchange, ultrafiltration, and others.

Key words: dye wastewater, technology for decolorization, physical and chemical processes.

Applications of Polymerase Chain Reaction to Environmental Microbiology. Hu Wenqi and Zhang Zhiguang (Department of Biology, Hunan Normal University, Changsha 410006); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15**(4), 1994, pp. 80—83

Because of its high sensitivity, high specificity and simplicity, Polymerase Chain Reaction (PCR) has been widely used to detect pathogenic bacteria,

indicator bacteria and viruses in environmental samples since its creation in 1985. A review was made on the fundamental principles, methodology and current status of the applications of PCR to environmental microbiology.

Key words: polymerase chain reaction, environmental microbiology, detection application.

Role of Microbial Co-metabolism in the Biodegradation of Chlorinated Organic Compounds.

Shen Dongsheng et al. (Dept. of Environ. Sci., Zhejiang University of Agriculture, Hangzhou 310029); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15**(4), 1994, pp. 84—87

Biochemical mechanism of microbial co-metabolism, progress in its research, and its role in the biodegradation of chlorinated organic compounds were dealt with in this article. The prospect of microbial co-metabolism, a biological process which has not yet been fully understood, to be applied in the treatment of refractory compounds such as chlorinated organic compounds was also suggested.

Key words: co-metabolism, chlorinated organic compounds, biodegradation.

SPACEMAN 特别推荐

全中文高档微机地理信息系统 SPACEMAN4.0

SPACEMAN 是一套专为地学及环境专家设计的 GIS 软件工具,国内用户已近 200 家,遍及著名的高等院校及科研院所,该系统以其功能齐全、操作方便、价格适宜及全中文面向用户的开放式设计,赢得了广泛好评。部分成果已打入国际市场,并在国际上获奖。

SPACEMAN4.0 主要特点:

中文管理、操作便捷、一看就懂、一用就会
面向用户设计,无需编程,可实现二次开发
空间模型自动生成,地学专家好帮手
立体地形任意角度生成,替代地图及沙盘
千种图案,矢量汉字,任意缩放,旋转注记
栅格矢量共存、相互转换、应用面广
精美彩色制图,进入二维/三维制图新天地
图表文及排版一体化管理、实现信息现代化
工作站的效率,微机的价格

可选软件配置: SPACEMAN-scanner; GIS 扫描输入系统,

SPACEMAN-mapper; 遥感地图制做系统, SPACEMAN-ptofessor; GIS 教学演示系统。

SPACEMAN 提供下列服务:提供各类 GIS 硬件及负责软硬件接口,常年举办 GIS 专业培训班,承接专题图件录入、专题及遥感制图及 GIS 项目设计、软件开发等业务,欢迎垂询!

国内首家 GIS 专业企业

北京天维资源环境新技术研究所

地址:北京市北京大学畅春园一号二楼 邮编:100080 寻呼热线:2048888—22342

电话:2559461—2168(或 2163) 2571135 2594114—6318(晚) 6895629—419(晚)

基本软件配置:

图形图像采集编辑模块、图形图像分析管理模块
属性数据库管理模块、图形图像彩色打印制图模块
图形彩色绘图制图模块
数字地形(DTM)制作模块、统计制图制表模块
空间模型自动生成运行模块
应用界面辅助生成模块
图表文及排版综合管理模块

硬件配置:数字化仪、绘图仪、彩色打印机、喷墨绘图仪、喷墨打印机及各类微型机。