

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
52(8):931-939; 4 August 2012
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>

厌氧微生物降解多环芳烃研究进展

孙明明^{1,3}, 滕应^{1,3}, 骆永明^{1,2,3*}

¹中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室, 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008

²中国科学院烟台海岸带研究所, 烟台 264003

³中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要:多环芳烃(PAHs)是一类普遍存在于环境介质中的难降解有机污染物,相对于好氧微生物降解PAHs的研究,厌氧微生物降解PAHs的研究则相对较少。本文从厌氧微生物降解PAHs的研究背景,厌氧降解微生物的特点和不同厌氧降解还原反应体系的角度综述了厌氧微生物降解PAHs的概况;结合厌氧微生物降解萘和菲转化途径的介绍,推断了其降解机制的内在原因;同时通过总结影响厌氧微生物降解PAHs的主要因素(包括:PAHs的生物可利用性、外源营养物质的添加、外源电子受体的添加、特定厌氧降解菌的筛选强化和部分环境因素等),指出了制约降解进程的潜在限制因子;并对厌氧微生物降解PAHs研究目前存在的问题和未来的发展方向作了简述与展望。

关键词:厌氧降解, 多环芳烃, 微生物, 降解机制

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209 (2012)08-0931-09

多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是一类国际上极为关注的典型有机污染物,具有高毒性、持久性以及生物富集效应^[1]。自然界中广泛存在的PAHs污染已成为人类亟需解决的重要环境问题之一。20世纪90年代末之前,国内外学者普遍认为,由于PAHs在环境介质中的持久性、高毒性和稳定性等特点,其微生物降解矿化过程主要在好氧条件下完成,而厌氧条件下微生物降解过程则很难进行。但近年来,随着人们对厌氧微生物生存环境的深入认识,有研究发现,在厌氧条件下,特定功能微生物可将部分2环和3环的PAHs作为唯一碳源或能源,并将其完全降解或矿化,并指出自

然界厌氧环境中特定的微生物菌株或菌群对降解PAHs具有巨大的修复潜力^[2]。目前,国内外学者对于在好氧条件下,运用微生物以PAHs为唯一碳源或共代谢的方式降解已开展了较为深入的研究^[3],然而对在厌氧条件下,环境介质(如海岸沉积物、河道湖泊底泥及土壤亚表层中等)中PAHs的微生物降解研究则少有报道^[4]。因此,为了探明自然界中厌氧微生物降解PAHs机理和过程,为环境污染治理提供更有效的修复技术,开展在厌氧环境中微生物高效降解PAHs的机制与调控研究具有重要的理论和现实意义。

基金项目:国家高技术研究发展计划(863计划)(2007AA061101);江苏省自然科学基金项目(BK2009016);中国科学院知识创新工程项目(KSCX2-YM-G071)

* 通信作者。Tel: +86-535-2109007; Fax: +86-535-2109000; E-mail: ymluo@issas.ac.cn

作者简介:孙明明(1987-),女,安徽蚌埠人,博士研究生,主要从事土壤环境微生物修复方面研究。E-mail: mmsun@issas.ac.cn

收稿日期:2012-03-02; **修回日期:**2012-05-14

1 多环芳烃厌氧微生物降解

1.1 PAHs 的厌氧降解微生物

从自然界中分离、培养和驯化 PAHs 的厌氧降解微生物资源是研究厌氧微生物降解 PAHs 机理和过程的首要步骤。目前,国内外学者已主要从海相沉积物中分离到了部分具有降解低环 PAHs 能力的微生物菌株或菌群。Musat^[2] 等从近海岸带表层底泥中分离到 2 株能够厌氧降解萘的硫酸盐还原海洋细菌——NaphS2 和 NaphS3, 16S rDNA 测序结果表明 NaphS2 和 NaphS3 同源性高度相似(99.8%), 同属于 δ -变形菌纲(Deltaproteobacteria) 脱硫杆菌科(Desulfobacteriaceae)。Lu 等^[5] 从海洋沉积物富集培养获得了 1 组能够厌氧降解 PAHs 的混合菌群, 包括 19 株 γ -变形菌纲(γ -Proteobacteria) 细菌和 4 株放线杆菌纲(Actinobacteria) 细菌, 并在纯培养条件下, 证明该菌群对萘的最大降解率为 96.3%。Li 等^[6] 在海岸带红树林亚表层沉积物中分离培养获得降解 PAHs 的厌氧微生物菌群, 此菌群由 2 株鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*) 细菌、1 株微杆菌属(*Microbacterium*) 细菌、1 株红球菌属(*Rhodococcus*) 细菌及 2 株未知细菌组成, 并证明此菌群在厌氧条件下可以对菲、芴、荧蒹和芘都有一定程度的降解作用, 其降解率在 10% ~ 35% 之间。

尽管大多数的研究主要集中在分离培养海洋沉积物中的菌群, 也有学者在淡水河道底泥中筛选出具有降解 PAHs 能力的微生物群落, 甚至发现即使在未被污染的场地亚表层土壤中也存在具有降解 PAHs 潜力的微生物群落。Selesi 等^[7] 从 PAHs 污染的淡水河道底泥中, 富集培养获得了 1 组具有降解 2-甲基萘的厌氧微生物菌群 N47, 并证明其组成主要由与脱硫杆菌属(*Desulfobacterium*) 细菌十分接近的菌株构成。总体上来看, 现阶段分离得到的 PAHs 厌氧降解微生物特点主要表现为: 低环 PAHs 易于微生物降解和矿化, 且降解反应速率较快, 而对高环 PAHs (4 环或 4 环以上) 其降解能力相对较弱, PAHs 的分子量与它的降解速率普遍呈负相关, 同时不同的厌氧还原体系对微生物降解 PAHs 的效果影响也不尽相同。分析推测具有降解 PAHs 潜在功能的厌氧微生物, 可能主要集中在某些变形菌纲或放线菌纲中的脱硫杆菌科, 这也可能是今后主要集中研究

的类群。

1.2 厌氧微生物降解 PAHs 的反应体系

有研究表明, 可根据不同厌氧还原体系中电子传递受体的差异, 将厌氧微生物降解 PAHs 的反应体系划分为反硝化还原反应体系、硫酸盐还原反应体系、金属还原反应体系和产生甲烷还原反应体系等。表 1 列出了近年来, 厌氧微生物在不同还原反应体系中成功降解 PAHs 的部分实例。从表 1 可发现, 无论是在海洋沉积物中或淡水体系的河道底泥中, 甚至在未受污染的亚表层土壤中都存在不同类型的 PAHs 厌氧降解微生物; 并且针对同一类型的 PAHs 和相同的电子受体时, 不同类型的 PAHs 厌氧降解微生物其降解速率差异依然十分显著。

1.2.1 反硝化还原反应体系: 反硝化还原反应体系是指反硝化细菌通过将降解过程中产生的大量自由电子传递给不同类型的硝酸盐受体, 从而完成厌氧微生物降解 PAHs 电子传递和能量传导的过程体系。1988 年 Miheleic 等^[8] 首次观察到在反硝化还原反应体系下萘的降解现象, 随之越来越多的反硝化菌株或菌群逐渐被分离, 并被证明可以参与到 PAHs 的降解过程之中。Rockne 等^[9] 从海洋沉积物的流动床系统中分离出 1 株具有降解萘能力的菌株, 发现此菌株对硝酸盐具有专性需求, 当硝酸盐供给充足时, 萘的最大降解率在 70% ~ 90% 之间, 菲的最大降解率为 96%, 并且发现此系统有 N_2O 的气体产生, 证明反硝化细菌在降解过程中起到了重要作用。Dou 等^[10] 通过在人工控制的厌氧条件下, 对从土壤中分离得到的萘降解菌进行纯培养实验, 发现合理控制硝酸盐的投加量对萘的降解总量和降解速率都有一定程度的促进作用。此外, 也有学者发现, 在反硝化还原体系中也存在一定程度的 3 环和 4 环 PAHs 的降解。McNally 等^[11] 运用 3 株反硝化细菌, 在严格的厌氧纯培养条件下, 发现 PAHs 降解速率依次为蒹 > 菲 > 芘。Ambrosoli 等^[12] 在未受 PAHs 污染的水稻土壤亚表层中, 分离到 1 组可以对 PAHs 进行厌氧降解的混合菌群, 发现此菌群对于菲、芴和芘的最大降解效率在 30% ~ 55% 之间, 并且指出若向反硝化还原反应体系中, 添加固液比为 1:4, 质量浓度为 10g/L 的葡萄糖或醋酸钠作为共代谢底物时, 则硝酸盐的反应消耗量也会明显增加, PAHs 降解效果也更加显著。Chang 等^[13] 也发现, 土壤中 5 种 PAHs 菲、芘、蒹、芴、二轻芘在降解的同

表 1 厌氧微生物在不同还原体系中成功降解 PAHs 实例

Table 1 Successful microcosm studies in identifying anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons

PAH	Electron acceptor	Inoculum	Degradation rate/ ($\mu\text{mol/L/d}$)	Reference
Acenaphthene	Nitrate	Uncontaminated soil	0.12	8
Acenaphthene	Nitrate	Uncontaminated soil	0.03	9
Naphthalene	Nitrate	Soil	14.1	37
Naphthalene	Nitrate	River sediment	384	20
Naphthalene	Mn (IV)	River sediment	120	20
Naphthalene	Sulfate	River sediment	336	20
Naphthalene	Sulfate	Marine sediment	0.075	38
Naphthalene	Sulfate	Marine sediment	0.12	18
Naphthalene	Sulfate	Marine sediment	2.5	15
Naphthalene	Sulfate	Aquifer material	0.246	11
Phenanthrene	Sulfate	Marine sediment	0.1	38
Phenanthrene	Sulfate	Marine sediment	0.11	18
Phenanthrene	Fe (III) /Nitrate/Sulfate	Mangrove sediment	11.5	23
Phenanthrene	Methane	Uncontaminated soil	1.6	27
Phenanthrene	Nitrate	Uncontaminated soil	0.363	13
Phenanthrene	Sulfate	Uncontaminated soil	1.05	39
Anthracene	Methane	Uncontaminated soil	0.5	27
Anthracene	Sulfate	Uncontaminated soil	0.2	39
Fluoranthene	Sulfate	Marine sediment	0.014	18
Fluoranthene	Methane	Aquifer material	0.276	25
Fluoranthene	Fe (III) /Nitrate/Sulfate	Mangrove sediment	1.1	23
Fluoranthene	Methane	Uncontaminated soil	1.0	27
Fluorene	Nitrate	Uncontaminated soil	0.424	13
Fluorene	Sulfate	Marine sediment	0.06	18
Fluorene	Fe (III) /Nitrate/Sulfate	Mangrove sediment	22.6	23
Fluorene	Methane	Uncontaminated soil	1.9	27
Pyrene	Methane	Uncontaminated soil	0.2	27
Pyrene	Nitrate	Uncontaminated soil	0.189	13
Pyrene	Sulfate	Uncontaminated soil	0.01	39
Pyrene	Fe (III) /Nitrate/Sulfate	Mangrove sediment	0.81	23

时也伴随着大量的硝酸盐电子受体被还原为亚硝酸盐的过程。

1.2.2 硫酸盐还原反应体系:硫酸盐还原反应体系是指在硫酸盐作为电子受体时,可以激活硫酸盐还原菌的硫酸盐还原活性,促进电子传递和能量传导,加快体系中 PAHs 的降解。Bedessem 等^[14]通过¹⁴C 同位素标记的方法证明在纯厌氧培养体系中硫酸盐的加入可以显著促进海水沉积物中萘的降解,并且发现硫酸盐的还原消耗量与萘的矿化程度具有显著相关性。Hayes 等^[15]通过向海洋沉积物中添加硫酸盐抑制剂,发现沉积物中 PAHs 不再降解,证明硫酸盐是决定降解进程的关键因素,并指出沉积物中 PAHs 与硫酸盐共存时间的长短将显著影响厌氧微生物对于污染环境的适应性和降解能力。Tsai 等^[16]从厌氧废水残渣中富集获得了 1 组硫酸盐还原菌群,经过 21d 的培养降解,发现有 88% 的芘和

65% 的菲可以被生物转化,同时检测到硫酸盐的还原消耗量和芘、菲生物降解转化量协同进行。Coates 等^[17]研究了某海洋沉积物中硫酸盐还原菌对 PAHs 降解能力,发现其中芘、菲和荧蒹较容易发生降解矿化,而未检测到芘和苯并[a]芘的降解。Rothermich 等^[18]运用¹⁴C 标记的方法,在海洋沉积物硫酸盐还原反应体系下,首次检测到苯并[a]芘的降解,并发现低环 PAHs 的降解速率要快于高环 PAHs 的降解速率,同时指出要准确监测到高环 PAHs 的降解往往需要更长的培养时间。此外,也有研究表明^[13],相比较反硝化还原反应体系与硫酸盐还原反应体系,硫酸盐作为电子受体和硫酸盐还原菌共同降解 PAHs 的能力要优于硝酸盐作为电子受体和反硝化细菌共同降解 PAHs 的能力。

1.2.3 金属还原反应体系:金属还原反应体系是指在厌氧条件下,厌氧微生物通过将降解过程中产生

的大量自由电子传递给作为终端电子受体的某些金属离子,从而完成厌氧微生物降解 PAHs 电子传递和能量传导的过程体系。目前对于金属离子作为电子受体的研究相对较少,主要集中在 Mn(IV) 和 Fe(III) 的研究上。Langenhoff 等^[19]通过土柱厌氧培养实验,并运用¹⁴C 标记方法研究了萘的厌氧降解作用,发现在添加 Mn(IV) 溶液条件下,约有 60% 的萘可发生降解转化并最终矿化生成¹⁴CO₂。Anderson 等^[20]发现在淡水湖泊底泥中当有 Fe(III) 作为电子受体存在时,萘可以部分程度被降解矿化,并且指出 Fe(III) 浓度越高的底泥区域,萘的降解总量越显著。Yan 等^[21]发现通过设置厌氧微生物燃料电池,向太湖底泥中添加相当于底泥质量 1% 的无定型氢氧化铁,240d 后,菲和芘的最大降解率约可达到 99% 和 94%。但也有研究发现在近海岸带红树林沉积物中,当作为电子受体的硫酸盐含量非常丰富时,Fe(III) 的添加对红树林沉积物中 4 种 PAHs 化合物芘、菲、荧蒹和芘的厌氧微生物降解并无显著性影响^[22]。

1.2.4 产生甲烷还原反应体系:产生甲烷还原反应体系是指某些产甲烷细菌在厌氧还原体系中同样具有一定降解或者促进其他厌氧微生物降解 PAHs 能力的体系^[23]。Fuchedzhieva 等^[24]从市政污水处理厂的废水中分离出 1 株具有厌氧降解 PAHs 能力的蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*),在产生甲烷还原反应的互营体系中,培养 7d 后,发现添加质量浓度为 100mg/L 的十二烷基苯磺酸钠有助于显著促进体系中荧蒹的降解,并检测到在 12d 后去除率达到最大,约可达 40%。Christensen 等^[25]在污泥处理系统中,筛选到 3 组产甲烷菌群,发现其对 PAHs 具有良好的降解效果,其中萘的最大降解率能达到 60%。此外,也有学者将产生甲烷还原反应、反硝化还原反应和硫酸盐还原反应这 3 种体系对于促进 5 种 PAHs 降解效果的能力进行比较,发现其促进能力高低依次为:硫酸盐还原反应体系 > 产甲烷还原反应体系 > 硝酸盐还原反应体系,5 种 PAHs 化合物降解速率常数高低依次为:菲 > 芘 > 蒹 > 芴 > 二轻茈^[13,23]。

2 厌氧微生物降解 PAHs 的一般途径

厌氧微生物降解 PAHs 的难易程度往往取决于目标污染物化学结构的复杂性,如不同种类的 PAHs

在溶解度、环的数目、取代基种类和数量、取代基的位置以及杂环原子的性质差异等。此外,厌氧微生物自身分泌降解酶对于目标污染物的适应程度也是决定降解进程的重要因素之一,如某些厌氧微生物可以直接降解芘、菲等小分子 PAHs,而对于芘或更高环数的 PAHs,厌氧微生物往往需要以共代谢方式进行转化,研究表明共代谢作用可以显著提高厌氧微生物降解 PAHs 的效率,改变厌氧微生物碳源与能源的底物结构,提高厌氧微生物对碳源和能源的选择范围,从而提高厌氧微生物对于高环 PAHs 降解的潜力^[12]。总而言之,不同还原条件下厌氧微生物对各种类型 PAHs 的厌氧降解机制差异较大。近年来研究得比较清楚的代谢途径只有萘、菲等低环的 PAHs,而四环和四环以上 PAHs 的厌氧微生物降解途径至今仍是环境微生物代谢组学研究领域的热点。

2.1 厌氧微生物降解萘的一般途径

目前,国内外学者主要认为,好氧微生物主要是通过直接在苯环上羟基化或羧基化来实现萘的开环降解^[26],而厌氧微生物对于萘的降解则需要不同的辅酶作用逐渐开环,并且萘的起始激活反应也不相同,可根据厌氧微生物对萘降解的起始反应差异分为两种:一种是萘双环结构位置 2 的羧基化,如图 1 所示,位置 2 的 C 原子在苯环中具有最强的负电性,因此可以形成亲电取代反应或者由一个假定的萘碳负离子发起亲核攻击^[28]。Zhang 等^[29]通过¹³C 标记的萘进行示踪降解实验,得到萘的代谢产物 2-萘甲酸(2-naphthoic acid),证明萘的羧基化是激活反应的起始步骤,在完成初始激活反应后,由反应体系中的加氢辅酶对萘的苯环进行 2 次加氢作用,再接着进行萘的羧基化开环作用,最后逐渐变为较易被厌氧微生物降解利用的化合物结构。

另一种反应途径是引入富马酸之后萘的甲基化(见图 1)。Safinowski 等^[30]在运用厌氧微生物 N47 对 2-甲基萘降解途径研究的过程中,检测到大量的特异性中间产物和酶活,并证明这些中间代谢产物仅可能由富马酸添加后的甲基化反应生成,从而进一步支持了第二种起始途径假设。此外,Musat 等^[31]也发现从海洋沉积物中分离出来厌氧细菌 NaphS2 仅在有萘的环境中培养时,同样检测出 2-甲基萘,并认为该代谢产物的存在是 2-甲基萘降解途径的逆向,即从 2-萘甲酸为起始物质,经过脱氢辅

酶多次作用,再生成萘的羧基化产物,最后通过加氢辅酶的作用,合并到第一种降解途径相似的过程中。

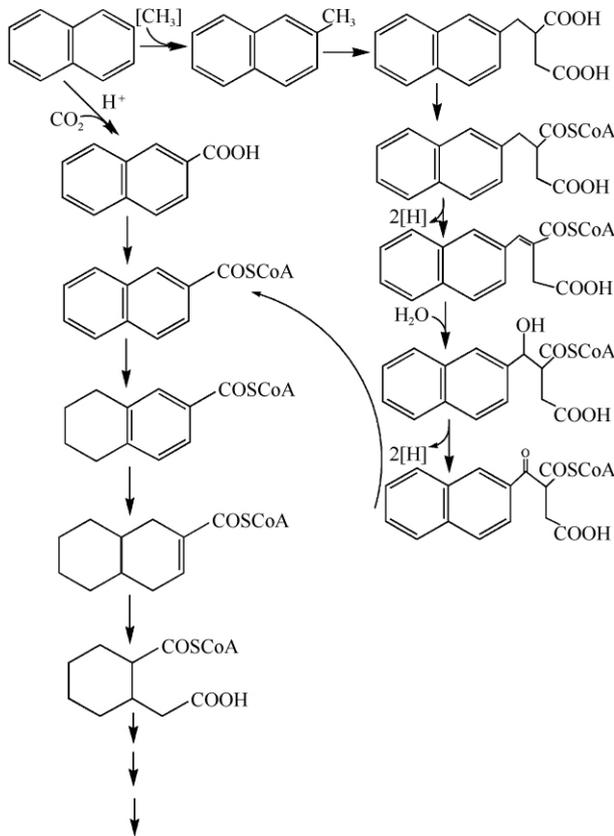


图1 萘的微生物厌氧降解途径^[31]

Fig.1 Proposed naphthalene anaerobic degradation pathways^[31].

2.2 厌氧微生物降解菲的一般途径

好氧微生物对于菲的降解途径主要是通过苯环上多次甲基化和羟基化直接实现开环,并逐渐由三环开环至较低环数的化合物结构^[26]。而目前国内外学者对于厌氧微生物降解菲的途径阐述仍不是非常清晰,主要工作集中在特定硫酸盐还原细菌对于菲的降解研究。Tsai等^[16]在研究硫酸盐还原细菌降解菲的过程中,使用GC-MS分离检测到降解中间产物对甲酚和酚,并推断对甲酚的甲基组分是发生羟基化后再生成酚。具体步骤如图2所示^[17]:首先菲在硫酸盐还原菌的作用下生成对甲酚,但此步骤的具体过程尚待学者详细阐明,随后对甲酚的甲基组分再发生羟基化作用,生成对羟基苯甲醇或对羟基苯甲醛,对羟基苯甲醛接着再进一步转化为对羟基苯甲酸和酚,最后经由一系列的水合作用和水解作用发生脱羧反应,将菲彻底厌氧降解。

3 影响厌氧微生物降解 PAHs 的主要因素

3.1 PAHs 的生物可利用性

不同种类的 PAHs 在不同厌氧还原反应体系中的生物可利用性是影响厌氧微生物降解进程的重要因素之一。由于 PAHs 的高疏水性和亲脂性,许多环境介质,如海洋沉积物、淡水湖泊河道底泥或亚表层土壤对 PAHs 都有强烈的吸附作用,因而 PAHs 从固相转移到水相溶解态的解吸过程是限制多数厌氧微生物能够顺利降解的关键因子^[32]。有研究表明,自然老化的污染沉积物或底泥中 PAHs 厌氧降解难度要大于人为新添加的 PAHs,通过向反应体系中添加特定的共代谢底物或表面活性剂,从而提高 PAHs 的生物可利用性,是有助于加快 PAHs 降解过程的一种有效手段^[33]。Fuchedzhieva 等^[24]研究了在产生甲烷还原反应体系下,添加生物表面活性剂(鼠李糖脂)和化学表面活性剂(线性烷基苯)后,发现线性烷基苯比鼠李糖脂可以更好的降低反应体系固液相的界面张力,促进 PAHs 从土壤向溶液的解吸过程,提高 PAHs 的生物可利用性,更有利于厌氧微生物的生长,从而将荧蒽的降解率由 40% 提升到 58%。Bach 等^[33]发现向河道底泥中添加一定剂量的氮磷缓释肥或乳酸后,PAHs 在水相中的溶解度增加,这不仅加速了 PAHs 厌氧降解的速率,而且某些高环 PAHs (如屈、苯并[a]芘)都有一定程度的降解,并指出提高 PAHs 在海洋沉积物中的生物可利用性是促进厌氧微生物对 PAHs 降解的有效途径。

3.2 外源营养物质的添加

在厌氧微生物降解 PAHs 的进程中,外源营养物质的缺乏常常是限制厌氧微生物生长和种群繁殖的重要因素。因而有较多研究表明添加适当的外源营养物质可以显著促进 PAHs 的进一步降解和矿化。Teng 等^[32]发现向长三角地区的水稻土中添加 0.2 g/kg 和 5g/kg 的葡萄糖,淹水厌氧培养 90d 后,有助于加快土壤中菲和苯并[a]芘的降解,菲的最大降解率在 28% ~ 35% 之间,苯并[a]芘的最大降解率在 15% ~ 25% 之间。邹等^[3]发现在向 PAHs 污染的渗水耕层土壤中添加相当于土壤质量 1/100 的淀粉后,淹水培养 3 个月,土壤中菲的最大降解率约为

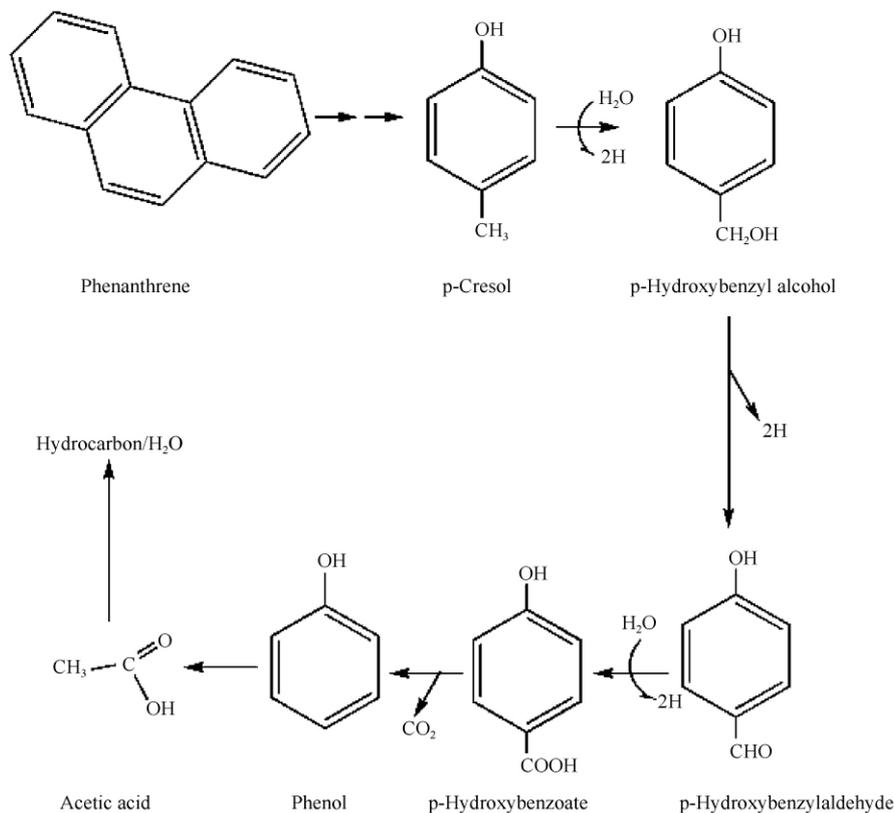


图2 菲的微生物厌氧降解途径^[17]

Fig. 2 Proposed anaerobic biotransformation pathways of phenanthrene^[17].

45%，苯并[a]芘的最大降解率约为13%，同时监测到培养后期土壤中PAHs厌氧降解菌和微生物总量都显著增加。Chang等^[13,23]发现在反硝化还原反应体系中，添加一定量的醋酸盐、乳酸盐或丙酮酸盐可以不同程度的促进菲、芘、蒽、芴和二轻茈的降解速率和降解总量。Kim等^[35]在研究淡水河道底泥中厌氧微生物降解PAHs过程时发现添加1%（W/V）的乳酸盐对PAHs的降解量能够提高4~8倍。

3.3 外源电子受体的添加

在不同的厌氧还原反应体系中，外源电子受体的供给量是决定厌氧微生物降解PAHs的另一个重要因素。有研究表明，不同的厌氧还原反应体系对于特定外源电子受体的需求量往往在某一最适范围内，才会对PAHs降解产生促进效果，外源电子受体的供给量过高或过低都会抑制降解进程。此外，在同一厌氧还原反应体系中，添加不同的外源电子受体都会对整体PAHs降解产生一定的促进作用，但是往往以硫酸盐作为电子受体比金属离子作为电子受体对PAHs的降解促进作用更为明显，而以金属离子作为电子受体比硝酸盐作为电子受体对

PAHs的降解促进效果更加显著^[10]。

3.4 特定厌氧降解菌的筛选与强化

在自然环境介质中，厌氧微生物降解PAHs的能力常受到其他土著菌群的干扰，难以在短期之内占据优势菌群的地位，往往造成降解进程存在一个较长的滞后期（lag phase）。因而，能否筛选、培养和驯化具有降解能力的厌氧细菌并强化其在不同还原反应体系中的适应生存能力也将显著影响PAHs污染介质的修复效果。近年来随着分子生物学技术的发展，采用细胞融合技术等遗传工程手段可以将多种降解基因转入同一微生物中，使之获得广谱性的降解能力，即合成基因工程菌。目前，此技术在实验室纯培养条件下已获得较好效果，但是应用于实际自然厌氧环境时，发现这种基因工程菌的适应存活能力较差，仍有待于进一步深入研究。

3.5 其它影响因素

影响厌氧微生物降解PAHs的其它主要因素还包括：污染物的初始浓度、不同厌氧还原反应体系的pH值和温度等。Dou等^[10]发现在反硝化还原反应体系中萘的初始浓度在一定范围内越高，其降解速

率越快,矿化程度越高,并且较高的初始浓度对硝酸盐作为电子受体的响应程度越灵敏。不同类型的厌氧降解菌对环境介质的 pH 值和温度的最适要求也不相同,且随着季节和气候的变化,不同厌氧还原反应体系中的 pH 值和温度也在改变,而温度的影响主要体现在对 PAHs 生物可利用性的改变程度和对厌氧微生物群落结构和功能酶活性上的差异等。Lv 等^[5]发现当海洋反硝化细菌对萘的厌氧降解最适 pH 值为 7.0,温度为 25℃ 时,其降解率达到最大。Chang 等^[13]研究土壤亚表层厌氧微生物降解 PAHs 的最适 pH 值为 8.0,温度为 30℃,过高或过低的 pH 和温度都不利于降解反应的发生。但近年来也有研究表明,在长期寒冷厌氧的土壤环境中也存在着 PAHs 的微生物降解活动,Eriksson 等^[36]在北欧的几种污染土壤中发现,低温并不是限制厌氧微生物降解 PAHs 的主要原因,反硝化还原反应体系才是决定 PAHs 降解进程的限制因素。

4 厌氧微生物降解 PAHs 研究存在问题和展望

尽管近年来厌氧微生物降解 PAHs 的研究受到了越来越多学者的关注,但是比起好氧微生物降解 PAHs 的研究还显得相对薄弱,仍然存在一些关键科学问题需要阐明:

(1) 目前大多数研究仅限于针对 2 环和 3 环 PAHs 厌氧降解菌的分离和培养,而针对 4 环以上高分子量、高毒性的 PAHs,高效厌氧降解菌株或菌群的成功筛选工作和研究发现甚少。

(2) 厌氧微生物对萘和菲的降解途径和机理已有相关研究,但是对于在不同厌氧还原条件下,高环 PAHs 的降解途径报道较少。因此运用分子生物学或稳定性同位素探针等技术来研究不同类型厌氧微生物酶促反应对 PAHs 开环的影响机理和中间产物鉴定工作尚需深入。

(3) 自然界中,厌氧微生物在特定还原反应条件下(如,硫酸盐还原反应体系、金属还原反应体系和产甲烷还原反应体系等)降解 PAHs 过程中,产生的地球化学元素物质循环与能量传递之间的有机-无机耦合关系仍需进一步探明。

(4) 在自然厌氧条件下,多种环境因子、营养元素和电子受体往往会对 PAHs 降解进程产生协同影

响。因而研究厌氧降解 PAHs 过程的人为调控措施,利用最优条件,提高厌氧降解菌的存活率和降解能力,仍是今后的关注热点。

致谢 衷心感谢中国科学院南京土壤研究所李振高研究员和贾仲君研究员在本文的撰写和修改过程中给予的学术指导和帮助。

参考文献

- [1] Jia YL, Dave S, Wang WT, Schrlau J, Tao S, Simonich SLM. Estimated reduction in cancer risk due to PAH exposures if source control measures during the 2008 Beijing Olympics were sustained. *Environmental Health Perspectives*, 2011, 119: 815-820.
- [2] Musat F, Galushko A, Jacob J, Widdel F, Kube M, Reinhardt R, Wilkes H, Schink B, Rabus R. Anaerobic degradation of naphthalene and 2-methylnaphthalene by strains of marine sulfate-reducing bacteria. *Environmental Microbiology*, 2009, 11: 209-219.
- [3] 邹德勋, 骆永明, 滕应, 平立凤, 刘五星, 李振高. 多环芳烃长期污染土壤的微生物强化修复初步研究. *土壤 (Soil)*, 2006, 38 (5): 652-656.
- [4] Julia F. Anaerobic biodegradation of aromatic hydrocarbons: pathways and prospects. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 2008, 15: 93-120.
- [5] Lu XY, Zhang T, Fang HHP, Leung KMY, Zhang G. Biodegradation of naphthalene by enriched marine denitrifying bacteria. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2011, 65: 204-211.
- [6] Li CH, Zhou HW, Wong YS, Nora FYT. Vertical distribution and anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove sediments in Hong Kong, South China. *Science of the Total Environment*, 2009, 407: 5772-5779.
- [7] Selesi D, Jehmlich N, Bergen M, Schmidt F, Rattei T, Tischler P, Lueders T, Meckenstock RU. Combined genomic and proteomic approaches identify gene clusters involved in anaerobic 2-methylnaphthalene degradation in the sulfate-reducing enrichment culture N47. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192: 295-306.
- [8] Mihelcic JR and Luthy RG. Microbial degradation of acenaphthalene and naphthalene under denitrification conditions in soil-water systems. *Applied Environmental Microbiology*, 1988, 54: 1188-1198.
- [9] Rockne KJ, Sanford JCC, Sanford RA, Hedlund BP, Staley JT, Strand SE. Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate-reducing conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66 (4): 1595-1561.

- [10] Dou JF, Liu X, Ding AZ. Anaerobic degradation of naphthalene by the mixed bacteria under nitrate reducing conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 165: 325-331.
- [11] Menally DL, Mihelcic JR, Lueking DR. Biodegradation of three- and four-ring polycyclic aromatic hydrocarbons under aerobic and denitrifying conditions. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32: 2633-2639.
- [12] Ambrosoli R, Petruzzelli L, Minati JL, Marsan FA. Anaerobic PAH degradation in soil by a mixed bacterial consortium under denitrifying conditions. *Chemosphere*, 2005, 60: 1231-1236.
- [13] Chang BV, Shiung LC, Yuan SY. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil. *Chemosphere*, 2002, 48: 717-724.
- [14] Bedessem ME, Colberg NGS, Colberg PJS. Naphthalene mineralization coupled to sulfate reduction in aquifer-derived enrichments. *FEMS Microbiology Letters*, 1997, 152: 213-218.
- [15] Hayes LA, Nevin KP, Lovely DR. Role of prior exposure on anaerobic degradation of naphthalene and phenanthrene in marine harbor sediments. *Organic Geochemistry*, 1999, 30: 937-945.
- [16] Tsai JC, Kumar M, Lin JG. Anaerobic biotransformation of fluorene and phenanthrene by sulfate-reducing bacteria and identification of biotransformation pathway. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 164: 847-855.
- [17] Coates JD, Woodward J, Allen J, Philp P, Lovley DR. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkenes in petroleum contaminated marine harbor sediments. *Applied Environmental Microbiology*, 1997, 63: 3589-3593.
- [18] Rothermich MM, Hayes LA, Lovely DR. Anaerobic, sulfate-dependent degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum-contaminated harbor sediment. *Environmental Science and Technology*, 2002, 36: 4811-4817.
- [19] Langenhoff AAM, Zehnder AJB, Schraa G. Behavior of toluene, benzene, and naphthalene under anaerobic conditions in sediment columns. *Biodegradation*, 1996, 7: 267-274.
- [20] Anderson RT, Lovely DR. Naphthalene and benzene degradation under Fe (III) reducing conditions in petroleum-contaminated aquifers. *Bioremediation Journal*, 1999, 3: 121-135.
- [21] Yan ZS, Song N, Cai HY, Tay JH, Jiang HL. Enhanced degradation of phenanthrene and pyrene in freshwater sediments by combined employment of sediment microbial fuel cell and amorphous ferric hydroxide. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 199-200: 217-225.
- [22] Li CH, Wong YH, Nora FYT. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons with amendment of iron (III) in mangrove sediment slurry. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 8083-8092.
- [23] Chang W, Um Y, Holoman TRP. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degradation coupled to methanogenesis. *Biotechnology Letters*, 2006, 28: 425-430.
- [24] Fuchedzhieva N, Karakashev D, Angelidaki I. Anaerobic biodegradation of fluoranthene under methanogenic conditions in presence of surface-active compounds. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 153: 123-127.
- [25] Christensen N, Batstone DJ, He Z, Angelidaki I, Schmidt JE. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from sewage sludge by anaerobic degradation. *Water Science and Technology*, 2004, 50: 237-244.
- [26] Peng RH, Xiong AS, Xue Y, Fu XY, Gao F, Zhao W, Tian YS, Yao QH. Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiol Review*, 2008, 32: 927-955.
- [27] Yuan SY, Chang BV. Anaerobic degradation of five polycyclic aromatic hydrocarbons from river sediment in Taiwan. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2007, 42: 63-69.
- [28] Meckenstock RU and Housna M. Anaerobic degradation of non-substituted hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22: 406-414.
- [29] Zhang X, Young LY. Carboxylation as an initial reaction in the anaerobic metabolism of naphthalene and phenanthrene by sulfidogenic consortia. *Applied Environmental Microbiology*, 1997, 63: 4759-4764.
- [30] Safinowski M, Meckenstock RU. Methylation is the initial reaction in anaerobic naphthalene degradation by a sulfate-reducing enrichment culture. *Environmental Microbiology*, 2006, 8: 347-352.
- [31] Musat F, Galushko A, Jacob J, Widdel F, Kube M, Reinhard R, Wilkes H, Schink B, Rabus R. Anaerobic degradation of naphthalene and 2-methylnaphthalene by strains of marine sulfate-reducing bacteria. *Environmental Microbiology*, 2009, 11: 209-219.
- [32] Teng Y, Luo YM, Ping LF, Zou DX, Li ZG, Christie P. Effect of soil amendment with different carbon sources and other factors on the bioremediation of an aged PAH-contaminated soil. *Biodegradation*, 2010, 21: 127-178.
- [33] Bach QD, Kim SJ, Choi SC, Oh YS. Enhancing the intrinsic bioremediation of PAH-contaminated anoxic estuarine sediments with biostimulating agents. *The Journal of Microbiology*, 2005, 43: 319-324.

- [34] Chang VB, Chang IT, Yuan SY. Anaerobic degradation of phenanthrene and pyrene in mangrove sediment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 80: 145-149.
- [35] Kim M, Bae SS, Seol M, Lee JH, Oh YS. Monitoring nutrient impact on bacterial community composition during bioremediation of anoxic PAH-contaminated sediment. *The Journal of Microbiology*, 2008, 46: 615-623.
- [36] Eriksson M, Sodersten E, Yu ZT, Dalhammar G, Mohn WW. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons at low temperature under aerobic and nitrate-reducing conditions in enrichment cultures from northern soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69: 275-284.
- [37] Bilal AB, Cseh T, Leduc R, Samson R. Effect of soil/contaminant interactions on the biodegradation of naphthalene in flooded soil under denitrifying conditions. *Applied Microbiological Biotechnology*, 1990, 34: 414-419.
- [38] Coates JD, Anderson RT and Lovley DR. Oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon under sulfate-reducing conditions. *Applied Environmental Microbiology*, 1996, 62: 1099-1101.
- [39] 谭文杰, 丁爱中, 王金生. 硫酸盐还原条件下多环芳烃在土壤中的迁移转化. *环境科学研究 (Research of Environmental Sciences)*, 2009, 22 (2): 236-240.

Progresses in anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons—A review

Mingming Sun^{1,3}, Ying Teng^{1,3}, Yongming Luo^{1,2,3*}

¹ Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

² Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China

³ Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 10049, China

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a recalcitrant group of contaminants in the environment. PAHs degradation has been extensively studied and well understood under aerobic conditions, whereas little is known about anaerobic degradation of PAHs. Here, we reviewed recent progress in anaerobic degradation of PAHs. We focused on naphthalene and phenanthrene as model compounds. We addressed the main rate-limiting factors involved, including the bioaccessibility of PAHs, the amendment of nutrients and electron acceptors, the degrading microorganisms, and the biochemistry of the initial activation and subsequent enzyme reaction involved in the pathway. Prospects on this field are also discussed.

Keywords: Anaerobic biodegradation, polycyclic aromatic hydrocarbons, microorganisms, mechanism

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Programs for High Technology Research and Development of China (863 Program) (2007AA061101), by the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK2009016) and by the Knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences (KSCX2-YM-G071)

* Corresponding author. Tel: +86-535-2109007; Fax: +86-535-2109000; E-mail: ymluo@issas.ac.cn

Received: 2 March 2012/Revised: 14 May 2012