



多环芳烃厌氧生物降解研究进展

孙娇, 张作涛, 郭海礁, 王慧*

清华大学环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084

摘要: 多环芳烃(PAHs)是环境中广泛分布的一类持久性有机污染物, 对生态环境和公众健康具有极大危害。微生物降解是环境中去除多环芳烃污染的有效途径, 近年来 PAHs 厌氧生物降解研究逐渐取代好氧降解成为人们关注的重点。本文从 PAHs 厌氧生物降解的研究背景出发, 从不同厌氧还原反应体系、厌氧降解微生物、PAHs 厌氧生物转化途径等方面阐述了 PAHs 厌氧生物降解的研究概况, 归纳了对 PAHs 厌氧生物降解有积极作用的影响因素, 提出了 PAHs 厌氧降解研究目前存在的问题, 并对该领域未来研究方向作了简述和展望。希望为多环芳烃厌氧生物降解与环境修复研究与实践提供参考。

关键词: 多环芳烃, 厌氧降解, 降解机制, 影响因素

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs), 是一类具有“三致”作用的有机污染物, 其高稳定性、强疏水性和难降解性使其在环境中呈不断累积的趋势, 严重危害生态环境和公众健康^[1-2]。上世纪, 由于大规模的工业活动发展与不正当的废物处理处置方式, 使 PAHs 物质广泛泄漏在环境中, PAHs 污染已成为目前亟待解决的重要环境问题之一。虽然 PAHs 污染可以通过物理或化学方法进行去除, 但是大量研究表明生物降解是环境中 PAHs 污染去除的主要机制^[3]。国内外研究学者对好氧条件下 PAHs 的降解研究较

为详尽, 富集并分离了多株 PAHs 降解菌群和细菌, 相应的生物转化机制也得到了阐明^[4-6]。近年来, 随着人们对厌氧微生物降解的逐渐认识, 发现 PAHs 厌氧生物降解现象在环境中是广泛存在的^[7-8]。在 PAHs 污染的江河、湖泊、海洋的沉积物与滩涂、土壤亚表层, 甚至未被 PAHs 污染的厌氧环境中, 均有具备 PAHs 降解能力的微生物被报道。许多兼性或严格厌氧的 PAHs 降解细菌被分离鉴定, 它们可以利用无机分子作为最终电子受体, 降解转化 PAHs。然而, 目前国内外对 PAHs 厌氧生物降解领域的大部分研究还处于起

基金项目: 国家自然科学基金(41573065, 41773082, 21337001); 国家水污染防治科技重大专项(2017ZX07202002)

*通信作者。Tel/Fax: +86-10-62772137; E-mail: wanghui@tsinghua.edu.cn

收稿日期: 2020-04-29; 修回日期: 2020-07-16; 网络出版日期: 2020-08-17

步阶段。因此, 本文旨在从多个方面对多环芳烃厌氧生物降解进行全面的总结介绍, 探明微生物厌氧降解 PAHs 的反应体系及降解机制, 揭示提高 PAHs 生物厌氧降解效率的关键调控因素, 为环境多环芳烃污染生物降解与环境修复技术的开展提供理论支持。

1 PAHs 在厌氧环境中具有持久性

PAHs 是由 2 个或 2 个以上苯环联结而成的一类碳氢化合物, 根据苯环含量的不同, PAHs 可以分为 2 种: 低分子量(low-molecular-weight,

LMW) 多环芳烃和高分子量 (high-molecular-weight, HMW) 多环芳烃。LMW PAHs 通常指含有 2 个或 3 个苯环的多环芳烃物质, 例如萘、茚、蒽和菲等; 而 HMW PAHs 指含有 4 个及 4 个以上苯环的多环芳烃物质, 如芘、苯并(a)芘和苯并(a)蒽等(图 1)^[2]。环境中的 PAHs 主要来源于矿物燃料燃烧和工业生产过程, 包括煤转化为焦炭和煤焦油、机动车燃料不完全燃烧以及森林火灾等过程^[2]。此外, 石油产品在开采及精炼、运输、储存和泄漏过程中也会产生 PAHs 污染^[9]。

PAHs 在环境中的行为很大程度上取决于其物理和化学性质。随着结构中苯环数量和分子量

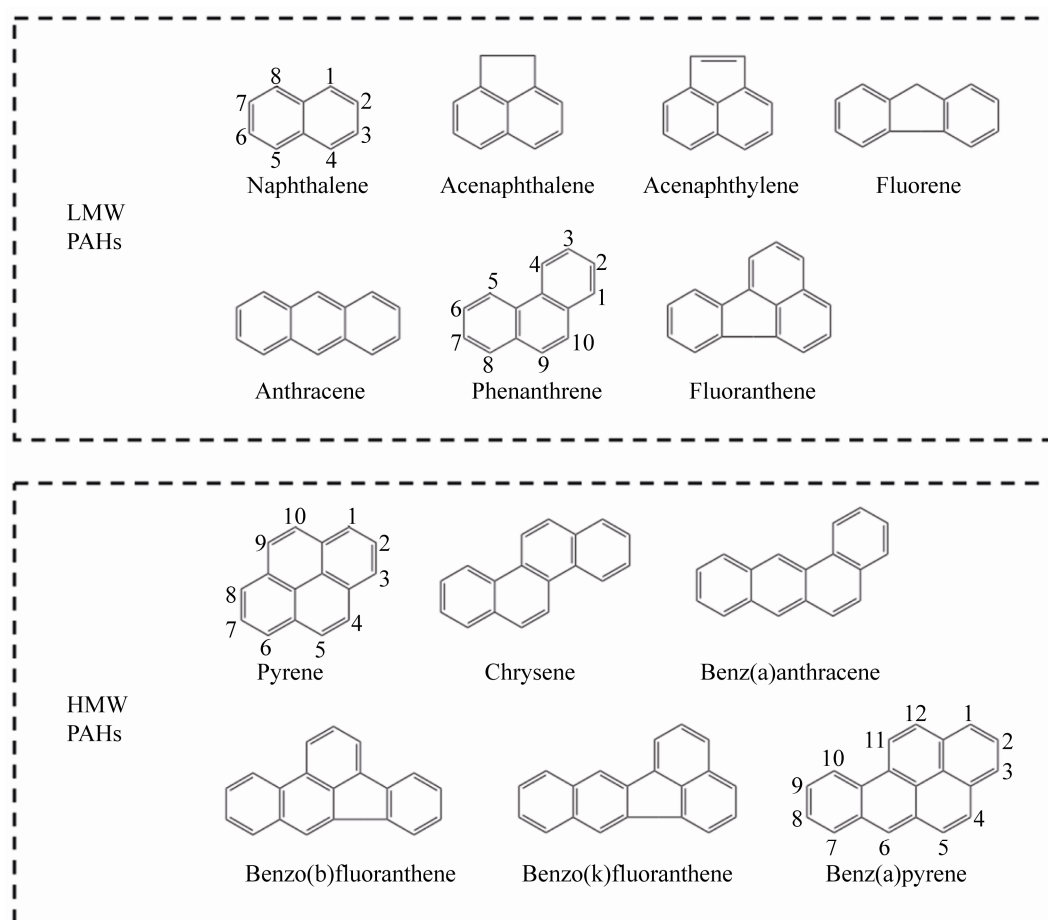


图 1. 多环芳烃的化学结构以及萘、菲、芘和苯并(a)芘的碳位编号^[2]

Figure 1. Chemical structures of the polycyclic aromatic hydrocarbons along with the ring numbering^[2].

的增加, PAHs 的水溶性不断降低, 抗氧化还原能力增强, 使其可生物利用性降低, 在环境中降解缓慢^[10]。LMW PAHs 微溶于水, 可以与地下水一起迁移, 能够造成大面积环境污染; HMW PAHs 难溶于水, 更容易在土壤和沉积物中积累, 在环境中造成持久性危害。研究发现 PAHs 的浓度会随土壤或沉积物深度(垂直距离 0–20 cm)增加而增加, 在此类环境中, 分子氧浓度几乎为零^[11]。PAHs 降解在好氧条件下具有降解效率高、降解速率快等优点, 但由于该过程的起始反应是通过单加氧酶或双加氧酶催化氧原子进入 PAHs 芳香环引起的, 因此在缺少氧气作为末端电子受体或开环酶底物的缺氧环境中, PAHs 的生物降解不能通过好氧微生物完成, 从而导致环境中的 PAHs 污染不断积累。

2 PAHs 厌氧生物降解

2.1 PAHs 厌氧生物降解体系

现已发现在缺氧或厌氧的情况下, 微生物可以利用其他无机盐离子或化合物作为最终电子

受体进行呼吸作用。厌氧条件下 PAHs 降解微生物可以利用硝酸盐、硫酸盐、三价铁以及高价锰等作为末端电子受体^[12–14], 氧化 PAHs 等有机物。而在没有其他物质作电子受体的条件下, 有研究发现厌氧产甲烷过程中存在 PAHs 的厌氧降解现象^[15]。在此基础上, 根据电子受体的不同, 微生物降解 PAHs 的主要反应体系可以分为硫酸盐还原反应体系、硝酸盐还原反应体系、金属离子还原反应体系和产甲烷还原反应体系(图 2)。表 1 列出了近年来, 多环芳烃在不同还原条件下被厌氧微生物降解的部分研究报道。

2.1.1 硝酸盐还原反应体系: 在缺氧或厌氧条件下, 有的微生物能利用硝酸盐作为最终电子受体进行呼吸代谢。在厌氧环境中硝酸盐离子存在的条件下, 硝酸盐被微生物体内硝酸盐还原酶还原成亚硝酸盐。从热力学角度, 在厌氧呼吸过程中, 硝酸盐还原条件下降解 PAHs 的 ΔG° 变化最接近于有氧呼吸过程^[16]。因此, 硝酸盐经常作为自然条件下厌氧降解的电子受体参与单环芳烃、多环芳烃和其他有机物的生物去除。

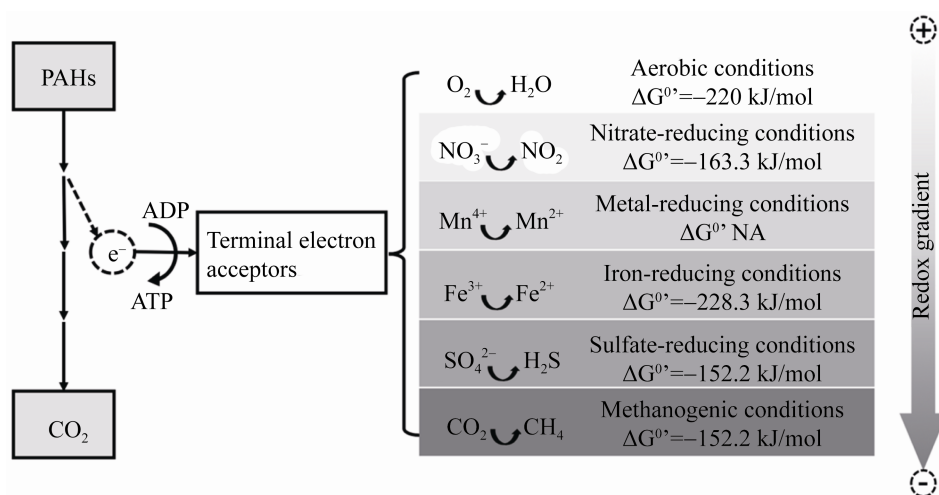


图 2. PAHs 厌氧生物降解的不同还原反应体系和其分别对应的氧化还原电对标准吉布斯自由能变化(ΔG°)^[16]
Figure 2. Anaerobic PAHs biodegradation under various reducing conditions and the standard Gibbs free energy changes (ΔG°) for the redox couples^[16]. NA: not available.

表 1. PAHs 在不同还原条件下被厌氧微生物降解实例

Table 1. Studies of anaerobic PAH biodegradation under different reducing conditions

Substrate PAHs	Initial PAH concentration/ ($\mu\text{mol/L}$)	Condition	Inoculum	Degradation rate/ $[\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{d})]$	References
Naphthrene	54.60	Nitrate-reducing	Soil-water	1.2	[17]
^{14}C Naphthrene	10.8 nCi	Sulfate-reducing	Enrichment culture	66% mineralized to radioactivity $^{14}\text{CO}_2$	[18]
Naphthrene	28.90	Nitrate-reducing	Mixed culture bacterial	0.78	[19]
Naphthrene	7.5 \pm 3.0	Iron-reducing	Enrichment culture N49	Produced (404 \pm 92) μmol ferrous iron	[20]
Anthracene	5.6 $\mu\text{mol/kg}$	Sulfate-reducing	Contaminated river sediment enrichment	0.08 $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$	[21]
Anthracene	5.6 $\mu\text{mol/kg}$	Methanogenic	Contaminated river sediment enrichment	0.7	[21]
Phenanthrene	5.6 $\mu\text{mol/kg}$	Nitrate-reducing	Contaminated river sediment enrichment	0.2 $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$	[21]
Phenanthrene	200	Methanogenic	Harbor sediment enrichment culture	0.95	[15]
Phenanthrene	23.10 \pm 1.15	Sulfate-reducing	Sediment-free enrichment culture	0.100 \pm 0.005	[12]
Phenanthrene	10 mg/kg	Iron-reducing	Mangrove sediment	11.5	[22]
Phenanthrene	NA	Sulfate-reducing	Enrichment culture TRIP1	2.14	[23]
Fluorene	30	Sulfate-reducing	Bacterial culture	1.28	[24]
Fluorene	5 $\mu\text{g/g}$	Methanogenic	Enriched bacteria	0.08	[25]
Fluoranthene	10 mg/kg	Iron-reducing	Mangrove sediment	1.1	[22]
Fluoranthene	10 $\mu\text{g/g}$	methanogenic	Enriched bacteria	0.06	[25]
Pyrene	4.9 $\mu\text{mol/kg}$	Nitrate-reducing	Contaminated river sediment enrichment	0.02 $\mu\text{mol}/(\text{kg}\cdot\text{d})$	[26]
Pyrene	49.44	Nitrate-reducing	Paracoccus denitrificans	1.22 (0–10 d), 1.63 (11–25 d)	[27]
Pyrene	100 mg/kg	Sulfate-reducing	Sediment enrichment	1.33 mg/(kg·d)	[28]
Pyrene	5 $\mu\text{g/g}$	Methanogenic	Enriched bacteria	0.05	[25]
2-MNAP	56.30	Methanogenic	Enrichment culture	3.83 $\mu\text{mol CH}_4/\text{d}$	[29]

NA: not available.

1988年, Mihelcic 和 Luthy 首次证明了 PAHs 在硝酸盐还原条件下的微生物降解, 他们使用土壤样品为接种物, 在没有外源电子受体的情况下, 厌氧培养基中萘的浓度没有变化; 而向培养基中添加 75 mg 硝酸盐后, 14 d 后培养基中的萘被完全降解^[17]。之后的大量研究表明, 硝酸盐还原条件下 PAHs 的厌氧降解现象在自然界中广泛存在。Rockne 等从海洋沉积物中分离得到了一株萘厌氧降解菌群, 以此为研究对象评估了硝酸盐还原条件下不同 PAHs 的生物矿化程度, 观察发

现同位素标记的菲几乎完全被生物转化成为 CO_2 , 矿化率高达 96%, 同时在底物降解的过程中还有 N_2O 气体产生, 证明 PAHs 的降解与反硝化过程相关^[30]。此外也有研究发现, 在一定浓度范围内向反硝化降解体系中投加硝酸盐可以促进萘的厌氧降解。Dou 等将不同剂量的硝酸盐分别添加到萘厌氧降解菌群的培养基中, 实验结果证明了萘的降解效果与硝酸盐的投加量呈正相关, 同时他们还比较了该菌群分别在硝酸盐还原和硫酸盐还原条件下对二至三环 PAHs 物质的生

物转化能力,结果显示硝酸盐还原条件下底物降解速率更高^[19]。硝酸盐还原系统中也存在 HMW PAHs 降解现象, Qin 等分离得到一株反硝化微杆菌(CSW2 *Cellulosimicrobium cellulans*),该菌对苯并(a)芘具有高效降解能力,培养 14 d 后底物中 70%的苯并(a)芘(0.5 mg/L)可被菌株 CSW2 降解去除^[31]。值得一提的是,在这项研究中使用菲或芘作为苯并(a)芘的共代谢底物,能够明显增加底物中苯并(a)芘的去除率;然而,使用葡萄糖或乳糖等小分子营养物质作为共代谢底物时,培养体系中苯并(a)芘的含量没有变化。

2.1.2 硫酸盐还原反应体系:研究表明硫酸盐还原菌可在严格厌氧的条件下降解 PAHs 等有机污染物。在硫酸盐还原反应体系中,厌氧微生物氧化 PAHs 污染物,还原硫酸盐离子生成 S^{2-} ,该过程的 ΔG^0 略低于反硝化过程。硫酸盐离子易溶于水,且在许多厌氧系统中都含量丰富(如海洋沉积物、火山沉积物等),因此硫酸盐显著地影响着厌氧环境中的微生物活动^[32]。

目前,大部分研究集中在以硫酸盐为电子受体的 PAHs 厌氧生物降解上。1997 年,Coates 等从受污染的海港沉积物中富集得到了萘和菲的厌氧降解菌群,并发现该菌群在硫酸盐离子存在的情况下,可以厌氧降解萘、甲基萘、芴和芘等 PAHs 物质^[33]。Bedessem 等用 3 年时间从杂酚油污染的含水层沉积物中富集得到了萘的硫酸盐还原菌群,该菌群培养 13 d 后可将培养基中 66%的 $[^{14}C]$ 标记的萘完全矿化为 $^{14}CO_2$,且硫酸盐的加入可以明显促进底物萘的生物降解^[18]。Tsai 等以养猪厂废水厌氧消化污泥为接种物,研究了硫酸盐还原菌在厌氧条件下对菲的降解能力,培养 21 d 后约 65%的菲(5 mg/L)和 88%的芴(5 mg/L)

被生物转化^[24]。同时,他们测定了培养基中硫酸盐浓度和生物量的变化,结果显示硫酸盐消耗率与菲的生物转化程度具有显著正相关,微生物生物量也随硫酸盐离子的消耗而增加。协同代谢现象不仅存在于 PAHs 硝酸盐还原体系中,还在许多 PAHs 硫酸盐还原降解菌群的富集培养实验中得到证实。Chang 等分别使用来自城市污水处理厂的污泥和活性石化污泥作接种物,对菲、蒽、芴、芘和芘单独或混合作为底物进行降解,研究发现当 PAHs 物质作混合底物时,其生物降解率比单独作底物时更高。同时,只有向反应体系中添加 20 mol/L 硫酸盐离子后,降解反应才能进行,说明硫酸盐还原菌在 PAHs 降解的过程中起了重要作用^[21]。研究发现在无 PAHs 污染的沉积物中,也有 PAHs 厌氧降解微生物, Lu 等分别在硫酸盐还原和硝酸盐还原条件下研究了无 PAHs 污染的海洋沉积物对 16 种 PAHs 混合物的降解能力,结果显示在培养 30 d 后,约有 42%–77%的 LMW PAHs 被生物降解,而 HMW PAHs 浓度没有明显变化,因而指出高分子量 PAHs 更难被微生物降解利用,要准确检测到 HMW PAHs 的降解可能需要更长的培养时间^[28]。此外,该研究还发现以硝酸盐作最终电子受体时,底物 PAHs 的生物转化效率要高于硫酸盐作电子受体时,特别是对于二环、三环和四环 PAHs 物质。

2.1.3 金属离子还原反应体系:金属离子还原反应体系是指在厌氧条件下,微生物以金属离子(Fe^{3+} 或 Mn^{4+})为呼吸作用的末端电子受体,氧化 PAHs 等有机物的过程,其中 Fe^{3+} 被还原为 Fe^{2+} , Mn^{4+} 被还原为 Mn^{2+} 。铁是地壳中含量最丰富的元素之一,大量研究表明铁离子还原菌参与有机污染物(如酚类等)的厌氧生物降解,然而关于 PAHs

在铁还原条件下的厌氧生物降解报道却较少。

1999年, Anderson 和 Lovley 在受石油污染的含水沉积物中发现萘的厌氧生物降解程度与底泥中 Fe^{3+} 离子浓度相关, 并指出 Fe^{3+} 是萘厌氧降解过程中的最终电子受体^[34]。Kleemann 和 Meckenstock 从被焦油污染的土壤含水层中, 以 Fe^{3+} 为电子受体, 富集得到了一个萘的厌氧降解菌群 N49, 研究发现菌群 N49 能够以 1-甲基萘、2-甲基萘、1-萘甲酸或 2-萘甲酸为底物进行生长, 却不能降解转化蒽、菲等三环及三环以上 PAHs 物质^[20]。在菌群 N49 降解底物 PAHs 的过程中, 培养基中 Fe^{2+} 浓度不断增加, 证明铁还原细菌在 PAHs 降解的过程中起到了重要作用。Yan 等从被 PAHs 污染的河流沉积物中分离得到了一株兼性 PAHs 铁还原降解菌氢噬胞菌 PYR1 (*Hydrogenophaga* sp.), 该菌能分别在好氧和铁离子还原(厌氧)两种条件下降解芘和苯并(a)芘, 其最大底物降解率为 30%–50%, 初步提出了菌株 PYR1 降解苯并(a)芘的可能途径^[27]。铁离子还原反应体系中也存在 HMW PAHs 的降解, Li 等利用富集得到的 PAHs 降解菌群降解芴、菲、荧蒽和芘等高分子量 PAHs 物质, 发现添加 40 mmol Fe^{3+} 离子的实验组底物转化率远高于未添加 Fe^{3+} 离子的对照组, 证明铁还原细菌在这些高分子量 PAHs 的降解过程中起到了重要作用^[22]。然而, 在此项研究中, 研究人员向菌群培养基中额外添加 Fe^{3+} 离子后发现, 4 种 HMW PAHs 的降解量和降解速率均没有明显提高。Li 等用同样的方法研究了在高价锰离子还原条件下 PAHs 的厌氧生物降解, 向培养基中额外添加 Mn^{4+} 后发现底物 PAHs 的厌氧降解被抑制, 他们指出 Mn^{4+} 离子对微生物有毒性, 因此过量的 Mn^{4+} 离子添加不能促进菌群对 PAHs 的生物转

化^[35]。根据这两篇报道, Li 等认为金属离子添加法可能不适用于环境中 PAHs 污染的生物去除。

2.1.4 产甲烷还原反应体系: 在没有电子受体的条件下, 有研究发现厌氧产甲烷过程中也有 PAHs 的厌氧降解现象, 因此展开了对产甲烷条件下 PAHs 厌氧降解的研究。产甲烷还原反应体系是一个互养体系, 由产甲烷微生物和降解微生物组成, 在此过程中具有降解能力的微生物氧化 PAHs, 通过氢或甲酸盐扩散将电子传递给产甲烷微生物产生甲烷气体^[36]。因此在产甲烷还原反应体系中, PAHs 的降解过程伴随着甲烷气体的产生^[37]。已有研究表明产甲烷还原条件下 PAHs 的降解反应虽然为放热反应, 但是放热较少、产能较低, 这在热力学上对于微生物的生长繁殖来说, 似乎是不利的^[38]。但是由于研究较少, 反应体系复杂, 所以还产甲烷还原 PAHs 体系的反应热力学分析尚不明确。

PAHs 广泛存在于受石油等燃料污染的沉积物、油库、深层土壤和地下含水层中, 在这类环境中往往不存在高浓度的硫酸根和硝酸根, 但是 CO_2 是广泛存在于厌氧环境中的, 所以产甲烷条件下 PAHs 的降解可能是厌氧环境中微生物降解 PAHs 的重要途径。到目前为止, 已有报道称在受污染的土壤、污水、污泥以及沉积物中发现了 LMW PAHs 在产甲烷条件下降解的现象。2006 年, Chang 等在没有向培养基中添加任何外部电子受体的情况下, 用海港沉积物富集得到了能够分别降解萘和菲的 PAHs 厌氧降解菌群, 并发现在底物降解的过程中有甲烷气体生成。随后, 他们分别在该菌群降解萘和菲的降解过程中, 向反应体系中投加产甲烷抑制剂(溴乙烷磺酸钠, BES), 两种 PAHs 的降解过程均受到了明显的抑制, 表

明菌群通过产甲烷还原反应体系转化 PAHs^[15]。在厌氧封闭体系中, 甲烷产量也可以作为底物的转化指标, Berdugo-Clavijo 等以此考察了产甲烷富集菌群对萘和甲基化萘的生物降解能力, 当以 2-甲基萘和 2,6-二甲基萘为底物时, 实验组相对于未加菌的对照组产生了近 400 μmol 的甲烷气体。也有研究考察了向 PAHs 的产甲烷还原降解反应体系中投加外源 Na_2CO_3 (即 CO_2) 对底物 PAHs 降解速率的影响^[29]。Li 等从红树林沉积物中富集得到一个 PAHs 厌氧降解菌群, 以 4 种混合 PAHs 物质(芴、菲、荧蒹和芘)为降解底物, 考察了 Na_2CO_3 的投加量对菌群转化底物的影响, 结果显示额外添加 Na_2CO_3 后, 降解体系内混合 PAHs 的降解量和降解速率没有明显变化^[25]。由于环境中 CO_2 含量充足, 因此不能通过增加最终电子受体 CO_2 浓度促进产甲烷还原菌群对 PAHs 的降解。

2.2 PAHs 厌氧降解微生物

PAHs 在厌氧条件下的降解研究大多采用经典生态学方法, 以单一或混合 PAHs 为电子供体, 向培养基中投加特定末端电子受体, 从自然界中富集或分离 PAHs 厌氧降解菌群或纯培养细菌。目前国内外研究学者从不同环境中富集或分离得到的 PAHs 降解微生物较多, 但主要集中在以萘、甲基萘和菲等低分子量 PAHs 为底物的实验中。2000 年 Meckenstock 从受污染含水层土壤中分离得到的硫酸盐还原菌群 N47, 是目前研究最为透彻的 PAHs 降解菌群之一^[39]。菌群 N47 可利用萘及 2-甲基萘为唯一碳源及能源进行生长, 菌群结构分析显示菌群 N47 主要由脱硫菌属 N47 (*Desulfobacterium* strain N47) 组成, 其 16S rRNA 序列与一株甲酚降解菌相似度高 92.7%。

Kleemann 等对 Fe^{3+} 还原 PAHs 降解菌群 N49 和菌群 T-RFLP 的 16S rRNA 序列分析得知该菌群主要由消化球菌(*Peptococcaceae* sp.) 组成, 该菌科属于革兰氏阳性菌, 且 16S rRNA 与铁还原降解菌群 BF 中的苯降解菌相似度高达 99%, 该结果首次证明革兰氏阳性菌在 PAHs 厌氧降解中也可发挥重要作用^[20]。Kummel 等从受污染地下水和蓄水层沉积物中富集得到 5 个萘的硫酸盐降解菌群: SobN1、MicN1、GoÖIN1、EgN1 和 EgN2^[40]。PAHs 厌氧降解纯培养细菌的报道较少, 早期被分离鉴定的 3 株在硫酸盐还原条件下降解萘的纯菌, 分别命名为 NaphS2、NaphS3 及 NaphS6^[41–42]。NaphS2 与 NaphS3 分别分离自北海和地中海泄湖沉积物, 两株菌具有密切的亲缘关系, 16S rRNA 序列相似度高 99.8%, 均属于脱硫杆菌科 (*Deltaproteobacteria*)。NaphS6 属于脱硫杆菌属 (*Desulfobacterium*), 与 NaphS2 和 NaphS3 亲缘关系较近。NaphS2 能够将萘完全降解, 还能够利用 2-萘甲酸、苯甲酸等碳源生长; NaphS3 和 NaphS6 能够利用 2-甲基萘作为唯一碳源生长。

直到最近, 一些能够降解 HMW PAHs 的富集菌群和纯培养细菌才被发现。Himmelberg 等从土壤中富集得到一个菲的硫酸盐还原降解菌群 TRIP1, 并证明其主要由脱硫杆菌属(*Desulfobacteraceae*) 的细菌组成^[23]。Li 等在红树林沉积物中富集得到 PAHs 厌氧降解菌群, 发现该菌群在厌氧条件下对高分子量 PAHs (菲、芴、荧蒹、芘等) 都有一定程度的降解作用, 并从该菌群中分离出 6 株降解细菌, 经过鉴定分别为鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*) 细菌、微杆菌属(*Microbacteria*) 细菌、红球菌属(*Rhodococcus*) 细菌和 3 株未知的潜在新菌属^[25]。Liang 等从河流沉积物中分离得到一株反硝化假

单胞菌 JP1 (*Pseudomonas* sp.), 该菌能够以苯并(a)芘、荧蒽和菲为唯一碳源进行生长; 同样的, Yang 等也从河流沉积物中分离得到一株芘降解细菌 (*Paracoccus denitrificans*)^[27,43]。Qin 等分别从焦化厂污染土壤中分离得到一株纤维素杆菌 CWS2 (*Cellulosimicrobium cellulans* CWS2) 和一株微杆菌 (*Microbacterium* sp. strain), 并证明这两株细菌都能在反硝化条件下利用苯并(a)芘作为碳源进行生长^[31,44]。

总的来说, 微生物生长缓慢是开展 PAHs 厌氧生物降解研究工作的主要困难, LMW PAHs 物质易于被微生物降解利用, 细菌生长较快, 生物量大, 易于后续研究的进行; 相反的, HMW PAHs 物质较难被生物转化, 细菌生长慢, 不易被富集或分离。因此, 从环境中富集和筛选具有高效 HMW PAHs 降解能力的微生物是今后 PAHs 厌氧生物降解研究的重点。

3 PAHs 厌氧生物降解的机理

好氧条件下 PAHs 的生物降解是通过向底物分子上的某个苯环上添加分子氧来启动苯环活化反应, 该过程削弱了苯环 C-C 键的稳定性, 使底物分子易于被裂解, 并逐步转化为易于被生物利用的小分子物质。因此, 在厌氧条件下, PAHs 的 C-C 键和 C-H 键结构更为稳定, 更难被微生物降解转化。然而, 厌氧微生物通过其他反应途径起始 PAHs 的苯环活化反应, 反应途径和机理也在苯系物及萘、甲基萘等物质的厌氧降解研究中得到证实。

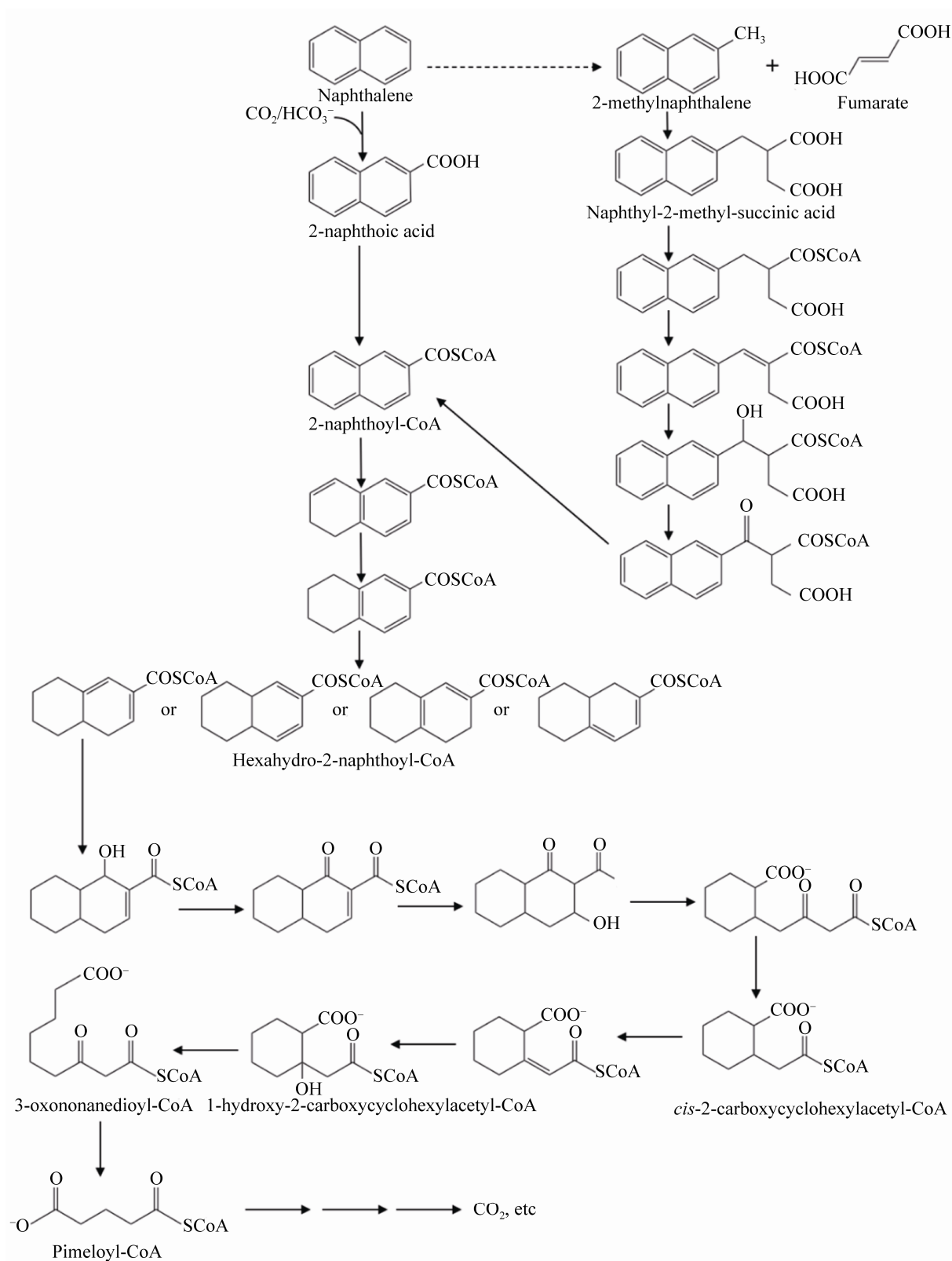
国内外对于 PAHs 厌氧生物转化机制的研究还处于初始阶段, 仅有萘和 2-甲基萘的生物降解

途径和机理的研究较为透彻。硫酸盐还原条件下萘和 2-甲基萘的厌氧降解途径通过羧基化或甲基化途径来完成, 菲的厌氧降解途径与萘和 2-甲基萘相似。然而, 在几株反硝化和铁还原细菌中发现的 HMW PAHs 物质(如芘)的降解途径与萘和 2-甲基萘完全不同。这种差异可能是由于 PAHs 物质结构不同(LMW PAHs 与 HMW PAHs)、还原条件不同(硝酸盐还原与硫酸盐还原)或微生物体特异性导致的。针对目前的研究现状, 下文对萘、菲、芘和苯并(a)芘的厌氧生物转化途径分别进行介绍。

3.1 萘厌氧降解的一般途径

萘和 2-甲基萘厌氧降解途径和机理信息主要来源于对两个硫酸盐还原纯菌(NaphS2、NaphS3)和一个硫酸盐还原菌群(N47)的研究结果, 具体降解过程如图 3 所示, 由于 2 位 C 原子在整个萘分子电负性最强, 因而初始反应往往发生在此位置上^[45]。

Zhang 等在加入 ¹³C 标记的碳酸氢钠缓冲溶液的培养基中发现 ¹³C 标记的羧基结合到了主要的中间物 2-萘甲酸上, 证明萘的羧基化是活化反应的起始步骤。萘的羧基化反应也在硫酸盐还原菌群 N47 的粗酶提取物中得到了证实, 萘羧基化酶(UbiD)催化了 ¹³C 标记的碳酸氢盐和 ¹²C 标记的 2-萘甲酸的羧基之间的同位素交换, 也同时证明了该酶催化反应是可逆的^[46]。在完成初始活化反应后, 2-萘甲酸转化为 2-萘甲酸辅酶 A, 接着加氢辅酶逐步对苯环进行加氢作用, 还原芳香环, 随后进行开环作用形成羟基化合物, 最后逐渐变为较易被厌氧微生物降解利用的化合物结构。

图 3. 萘的微生物厌氧降解途径^[45-46]Figure 3. Proposed naphthalene anaerobic biodegradation pathways^[45-46].

然而, Safinowski 等在研究一个经过长期高度富集的菌群 N47 (主要为脱硫杆菌属细菌)降解氧化萘的过程中, 监测到产物中被同位素标记的 2-萘甲基琥珀酸和 2-萘亚甲基琥珀酸等特异性代谢产物, 并证明这些中间代谢产物仅可能由添加富马酸(反丁烯二酸)后萘的甲基化反应生成的, 从而提出了萘的第二条生物转化途径——萘的甲基化^[47]。萘甲基化为 2-甲基萘后, 经过合成酶、转移酶、脱氢酶和水合酶多次作用, 最后通过硫解酶作用生成萘的羧基化产物——2-萘甲酸辅酶 A, 合并到与第一种降解途径(萘的羧基化降解途径)相似的过程中。富集菌群 N47 的基因组测序分析发现多种潜在基因产物与甲苯或苯甲酸厌氧降解过程中的一些酶较为相似^[48], Eberlein 等从菌群 N47 的细胞粗酶液中检测出了两个新酶, 分别催化萘羧基化途径中 2-萘甲酰辅酶 A 向 5,6,7,8 四氢-2-萘甲酰辅酶 A, 以及继续转化为六氢-2-萘甲酰辅酶 A 过程, 从而在基因组和酶学层面上揭示了 PAHs 厌氧降解机理^[49]。

不过, 甲基化途径自发现以来一直受到很多质疑。Musat 等在研究 PAHs 厌氧降解纯菌 Naph3 时发现, 尽管 Naph3 能够降解萘和 2-甲基萘, 但是萘的存在不能诱导其降解 2-甲基萘的能力, 利用比对变性凝胶电泳分离其萘降解酶时也发现 2-甲基萘活化酶只存在于当 Naph3 暴露于含 2-甲基萘的培养基中^[42]。他推测 Naph3 降解萘并不经过甲基化途径, 而是羧基化途径。Raymond 等发表了 NaphS2 基因组序列分析结果, 认为萘的降解并不经过 2-甲基萘, 推测 NaphS2 可能拥有两条平行的降解途径, 分别用于降解萘和 2-甲基萘^[50]。

3.2 菲厌氧降解的一般途径

菲的厌氧降解途径也在 PAHs 的硫酸盐还原

菌群和硝酸盐还原菌群的研究中得到证实。菲的厌氧降解过程如图 4 所示, 同样的 2 号位 C 原子在整个菲分子电负性最强, 因而羧基化反应也发生在此位置上。

1997 年, Zhang 等在研究一个硫酸盐 PAHs 厌氧降解菌群降解菲的过程中检测到了菲降解的重要中间产物——2-菲甲酸, 且菲甲酸中的羧基来自培养基中添加的重碳酸根($[^{13}\text{C}]\text{-HCO}_3$)。菲在厌氧条件下降解的起始羧基化反应分别在两个不同的硫酸盐还原菌群中得到证实^[46]。Himmelberg 等在研究降解菌群 TRIP1 降解菲的过程中, 通过 GCMS 分析检测到除了 2-菲甲酸之外的其他菲羧基化代谢产物, 提出了 2-菲甲酸逐步环还原向十氢-2-菲甲酸转化的过程, 几种菲的苯环还原产物得到了鉴定, 表明还原辅酶对苯环进行了加氢作用, 使得后期的苯环裂解反应成为可能^[22]。Kraiselburd 等对菌群 TRIP1 基因组测序分析, 鉴定了编码菲的羧基化和苯环脱芳香化编码基因, 运用转录组和蛋白质组学分析证实了菲与萘的羧基化代谢机制相同^[51]。羧基化菲和 CoA 连接后逐步进行苯环还原和开环过程, 由加氢辅酶将苯环还原成环己烷环, 随后经由一系列反应逐步变为较易被微生物降解利用的化合物结构(如苯系物等), 最后将菲彻底厌氧降解。

与萘的起始甲基化降解途径相同, 菲的起始甲基化反应途径在硝酸盐还原体系中被发现。清华大学王慧教授课题组在培养菲的硝酸盐还原降解菌群 PheN9 时, 检测到培养基 2-甲基菲产物的积累和甲基转移酶(UbiE)活性, 因此提出了菲的甲基化反应途径^[13]。随后 2-甲基菲被逐步氧化为 2-菲甲酸, 合并到与羧基化降解途径相似的过程中。值得关注的是, 在菲降解的下游代谢产物

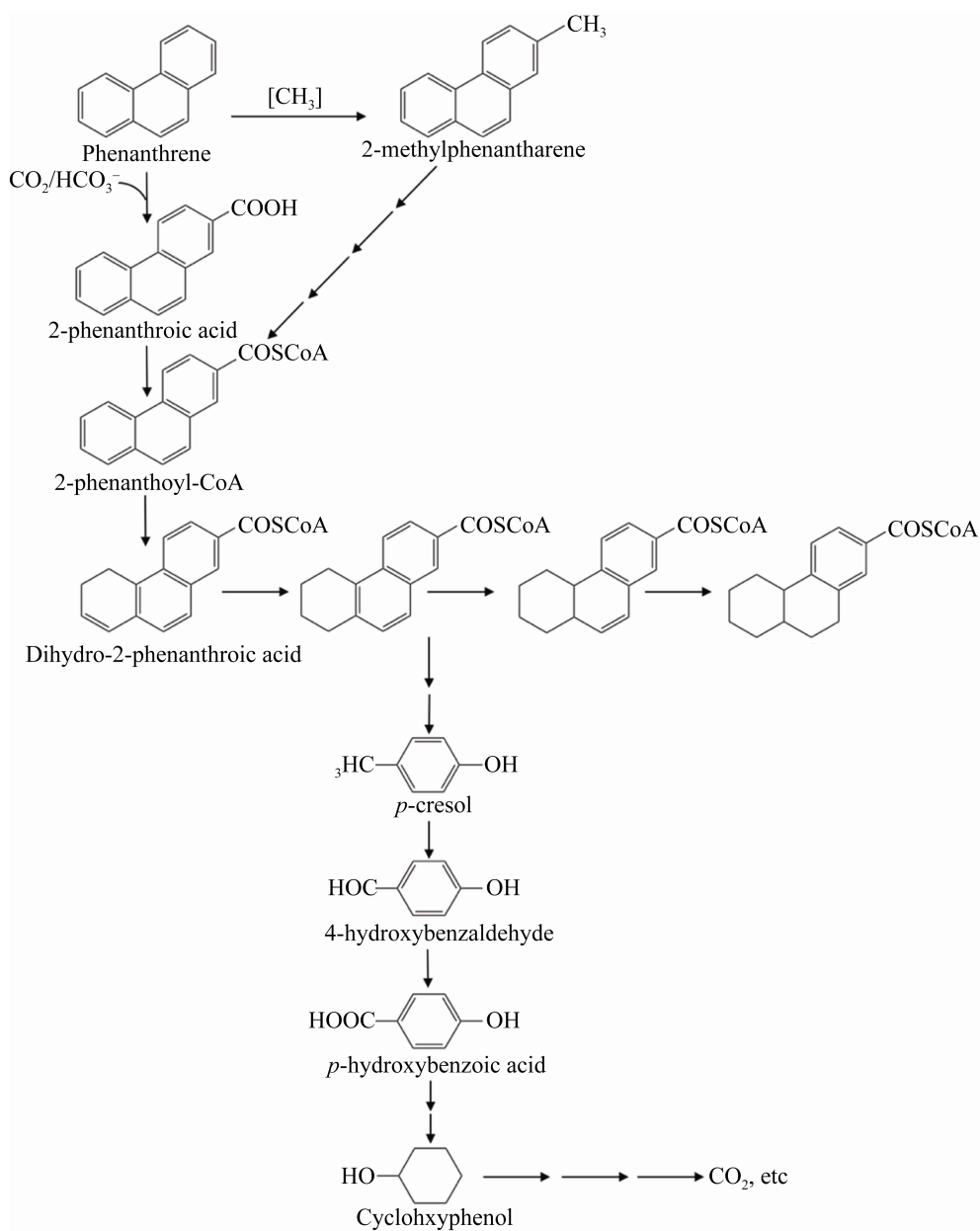


图 4. 菲的微生物厌氧降解途径^[13,23,46]

Figure 4. Proposed phenanthrene anaerobic biodegradation pathways^[13,23,46].

中还检测到了对苯甲酚、4-羟基苯甲醛、对羟基苯甲酸和环己基苯酚等苯系物，证明菲的甲基化反应最终合并到羧基化途径中。

3.3 芘和苯并(a)芘厌氧降解的一般途径

芘的厌氧降解途径来自 Liang 等的报道，

他们在研究一株反硝化假单胞菌 JP1 降解芘的过程中，检测到降解中间产物 4,5-二甲基菲、4-甲基菲和菲，并推断芘的生物降解是随着第四个苯环的环活化和裂解反应启动的，经过一系列反应转化为菲，随后通过水解反应起始菲的厌氧降解

(图 5)^[43]。然而, 芘的厌氧生物降解途径还需要更多的实验数据来完善。苯并(a)芘的降解途径在两株硝酸盐还原菌和一株铁还原菌的研究中得到证实。迄今为止检测到的苯并(a)芘厌氧降解代谢产物较为零散, 在以上研究中均没有苯并(a)芘的初始单羧基化或单甲基化产物被报道, 表明苯并(a)芘的降解途径可能与萘和菲不同, 具体可能的降解途径如图 5 所示。

Liang 等在研究假单胞菌 JP1 时, 检测到了下游代谢产物 1,12-二甲基苯并(a)蒽和 5-乙基蒽,

分别表明苯并(a)芘的第二个苯环或第五个苯环在降解过程中先发生开环作用; 此外, 还发现了还原产物 7,8,9,10-四氢苯并(a)芘, 表明苯并(a)芘降解的起始反应可能是还原反应^[43]。Yan 等在研究铁还原菌 PYR1 降解苯并(a)芘的过程中也检测到了起始还原产物 7,8,9,10-四氢苯并(a)芘, 但他指出在进行还原反应前, 苯环可能先通过羧基化或甲基化反应被激活^[52]。Qin 等在研究一株微杆菌 M.CSW3 时, 证实了还原反应是苯并(a)芘降解的起始活化反应, 随后逐步开环转化为低环

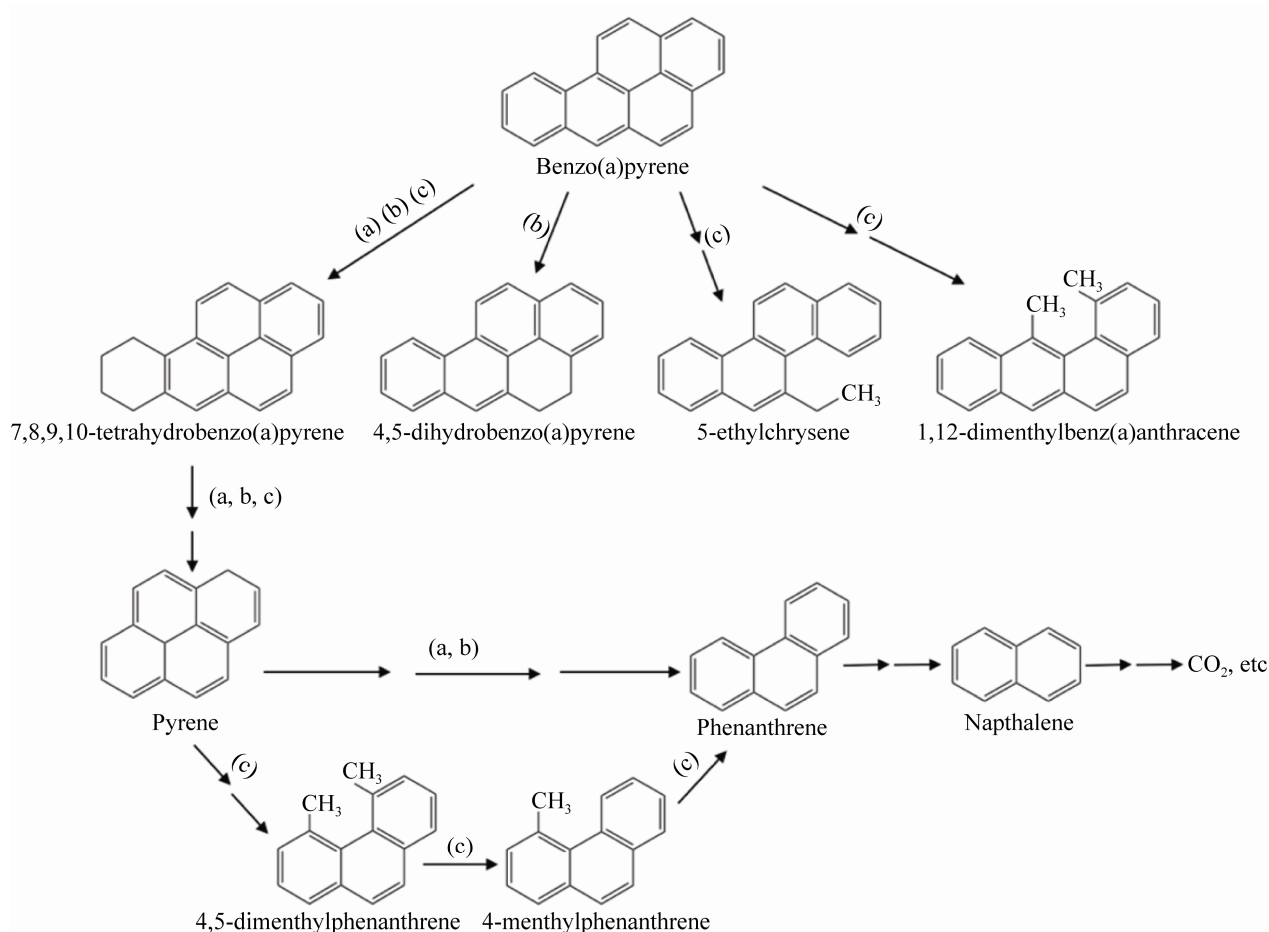


图 5 芘和苯并(a)芘的可能的微生物厌氧降解途径

Figure 5. Proposed pyrene and benzo(a)pyrene anaerobic biodegradation pathways. (a) refers to Yan et al.^[52]; (b) refers to Qin et al.^[44]; (c) refers to Liang et al.^[43].

PAHs 及其衍生物^[44]。以上研究结果证实了苯并(a)芘降解过程遵循渐进式开环模式,这一结果与 LMW PAHs 生物转化途径相一致,但是还需要进一步在基因组和酶学层面上揭示苯并(a)芘的厌氧降解机理,建立将代谢产物与反应关键作用酶联系起来的苯并(a)芘生物转化途径。

4 促进 PAHs 厌氧生物降解的因素

环境中 PAHs 生物降解受到多种因素的影响,除了 PAHs 本身的物理化学性质外,菌体本身具有适应性降解酶类和污染场地的一些特性,如有机质含量、土壤或沉积物结构、pH、温度、盐度、末端电子受体浓度和氧化还原电位等,也会影响 PAHs 的生物降解^[53]。因此明确能够促进 PAHs 厌氧生物降解的关键因子,对于污染场地 PAHs 污染的修复具有理论和现实意义。

4.1 协同作用

PAHs 厌氧生物降解的最终目的是通过生物作用,将环境中的 PAHs 污染物完全矿化为 CO₂ 和水,从环境中完全去除。以往的少数研究已经证明菲或芘可以被完全矿化为 CO₂,但大部分研究仅提供了 PAHs 作为底物时浓度降低的实验结果,不能证明 PAHs 被微生物完全矿化成为无机物。2015 年, Kiel 和 Engesser 提出 PAHs 的不完全生物降解(或转化)会导致有毒中间代谢产物的积累,并证明中间代谢产物可能对降解细菌有抑制作用,但可以被环境中的其他细菌或微生物利用^[54]。因此,与单个纯培养降解细菌相比,环境中微生物间的协同作用使得 PAHs 生物转化更为彻底。此外,产甲烷条件下 PAHs 的降解过程不能由纯培养细菌完成,也证实了微生物菌群降解

PAHs 等有机污染物的协同作用在环境中是广泛存在的。

4.2 外源电子受体添加

在不同的还原降解体系中,外源电子受体的浓度是影响 PAHs 生物降解的重要因素之一。有研究表明将硝酸盐或硫酸盐作为末端电子受体添加到受 PAHs 污染的缺氧环境中,有助于增强原位生物修复作用。Rocken 等在研究一株反硝化细菌时发现,当培养基中的硝酸盐耗尽时,细菌对底物萘和菲的生物转化作用也停止了,而在这种情况下,向培养体系中补充硝酸盐能够恢复微生物对底物 PAHs 的生物转化^[30]。Rothermich 等向被 PAHs 污染的沉积物中分别添加可溶性和难溶性的硫酸盐,都促进了萘和 2-甲基萘的原位生物降解^[55]。因此原位修复场地投加硫酸根离子作为外源电子受体时,可以采用不易溶形式的硫酸盐,既有助于促进 PAHs 厌氧降解,又不会额外增加系统中的硫酸盐浓度。

然而,在金属离子还原反应体系中, Mn⁴⁺ 的浓度过高会对微生物产生毒性作用,从而抑制 PAHs 的生物降解,外源金属离子添加法可能不适用于环境中 PAHs 污染的厌氧生物去除。同样的,硝酸盐和亚硝酸盐的过量也会影响生物多样性和生态系统。因此,在实际应用中应仔细确认对受污染沉积物投加外源硝酸盐的用量,以免过量的氮毒性对生态环境产生危害。此外,由于 CO₂ 在厌氧环境中普遍存在,且其他生物活动也会增加厌氧环境中的 CO₂ 气体,因此目前普遍认为不能通过添加碳酸氢盐来促进产甲烷条件下微生物对 PAHs 的厌氧降解。

4.3 生物强化

生物强化通过向微生物群落中添加具有降

解能力的微生物, 增加土著微生物群落降解污染物的能力, 可以加快污染物生物修复的进程。用目标污染物为碳源及能源, 从自然环境中筛选、培养和驯化具有降解活性和高效降解能力的微生物, 是生物强化的首要工作。国内外许多研究向 PAHs 污染场地添加单一菌株或菌群以增强好氧条件下 PAHs 生物降解的应用实例, 都取得了较好的污染修复效果。目前分离报道的 LMW 及 HMW PAHs 厌氧降解菌株(NaphS2、NaphS3、CWS2、JP1 等)和菌群(N47、N49、TRIP1、PheN9 等), 具备高效的 PAHs 生物降解能力, 可用于原位 PAHs 污染厌氧生物强化, 与土著菌群协同作用, 促进污染场地污染物的生物去除。生物强化法也可以与外源电子受体添加法相结合, 将特定 PAHs 厌氧降解微生物(如硫酸盐还原降解菌群)投加到污染场地中, 并向场地中添加该菌群转化 PAHs 过程所需的特定电子受体(如硫酸盐钙), 从而提高污染场地中 PAHs 的生物修复速率。然而氧气对大部分厌氧微生物存在毒性, 如何在保持降解活性的条件下将厌氧微生物投加到环境中仍是需克服的技术难题。因此, 迄今为止尚未有将生物强化技术应用在环境 PAHs 厌氧生物修复中的实例。

4.4 共代谢

共代谢是指微生物从其他底物获取大部分或全部碳源和能源后, 将同一介质中其他有机化合物降解的过程。在厌氧微生物降解难降解有机污染物的过程中, 向系统中添加外源营养物质可以促进厌氧微生物生长繁殖, 从而促进难降解有机污染物的生物去除。已有研究表明, 向培养基中添加葡萄糖、乙酸盐、麦芽糖或蔗糖等较易被利用的小分子有机物能够促进 HMW PAHs 的生

物转化^[31,43,56]。生物的共代谢作用在 PAHs 混合物降解的研究中也得到了证实, LMW PAHs 更易被微生物降解利用, 促进了 PAHs 厌氧降解菌的生长繁殖, 从而促进了 HMW PAHs 的降解。Chang 等测试了 5 种 PAHs 物质单独或混合使用为底物时微生物对每种底物的降解效率, 结果显示当 PAHs 混合作为底物时, 每种 PAHs 物质的降解速率更高^[21]。

然而 Li 等发现向产甲烷还原反应体系中添加菌群生长繁殖可利用的葡萄糖和半乳糖等营养物质, 不能促进 PAHs 的厌氧降解。同样的, 有研究指出 PAHs 厌氧降解过程中存在菌体的葡萄糖效应, 即葡萄糖和某些有机酸(如琥珀酸、酒石酸等)营养物质会抑制 PAHs 的厌氧生物降解^[31,57], 并通过蛋白质组学研究证明葡萄糖的添加抑制了 PAHs 生物转化过程中关键作用酶的表达。因此, 在实际污染修复中使用共代谢技术前, 应先评估共代谢基质对厌氧降解微生物生长繁殖和 PAHs 生物降解是否具有促进作用。

4.5 表面活性剂

PAHs 的低溶解性是限制其生物降解速率的关键因素。生物表面活性剂是微生物在一定条件下代谢过程中分泌出的具有一定表面活性的代谢产物, 可以通过乳化或增溶作用促进 PAHs 的溶解, 使其更容易被微生物降解利用。生物表面活性剂在好氧 PAHs 降解中得到了广泛应用, 尽管关于 PAHs 厌氧降解中生物表面活性剂的种类和作用报道很少, 但是目前有研究表明生物表面活性剂也能提高厌氧 PAHs 的生物转化。Fuchedzhieva 等使用表面活性剂 LAS 提高了荧蒽的厌氧生物降解效率^[58]; Yan 等报道称在一株铁还原兼性厌氧菌株 PYR1 (*Hydrogenophaga* sp.)降解芘和苯并

(a) 的过程中检测到大量生物表面活性剂^[52]。目前, 关于 PAHs 厌氧降解细菌的生物表面活性剂研究还在初期, 相关机理有待阐明。

5 厌氧微生物降解 PAHs 研究存在的问题和展望

近年来微生物降解 PAHs 的研究广泛, 但与好氧降解研究相比, 对于厌氧条件下 PAHs 生物降解过程与机制的研究还有很多不足, PAHs 厌氧降解研究存在的问题和展望如下。

(1) 大多数研究集中在低分子量 PAHs 厌氧降解菌群的富集和分离上, 针对 4 环以上高分子量、高毒性的 PAHs 的降解微生物报道较少, 其微生物多样性及分布特征尚未有系统研究。

(2) 已获得萘、2-甲基萘及菲在硫酸盐和硝酸盐还原体系中的降解途径和机理研究, 而这 3 种 PAHs 在金属离子还原和产甲烷还原体系中的降解途径报道较少, 相应的降解机理尚待阐明。现已经报道的厌氧条件下 HMW PAHs (芘、苯并芘等) 的生物转化途径尚不明确, 且存在很多争议。开展对 PAHs 厌氧生物转化途径的研究, 分析代谢产物, 将有助于评估环境中 PAHs 的厌氧生物降解情况。

(3) 已富集的大多数 PAHs 厌氧降解菌群结构相当复杂, 不能确定 PAHs 氧化作用和末端电子受体还原作用是由同一微生物完成的, 也给相应的功能基因与基因组信息研究带来困难。通过从环境中分离获得更多不同还原体系下 PAHs 厌氧降解纯菌株, 开展基因组学分析和转录组学分析工作, 是 PAHs 厌氧生物降解领域的前沿课题。

(4) 在自然条件下, 多种环境因素对 PAHs 厌氧降解过程产生的影响可能具有协同作用, 因

此明确对厌氧降解 PAHs 过程有积极作用的影响因素, 有效提高降解微生物的种群丰度和降解能力, 对原位 PAHs 污染生物修复工作的开展具有理论和指导意义, 也是今后研究的热点。

参考文献

- [1] Skupińska K, Misiewicz I, Kasprzycka-Guttman T. Polycyclic aromatic hydrocarbons: physicochemical properties, environmental appearance and impact on living organisms. *Acta Polonae Pharmaceutica*, 2004, 61(3): 233–240.
- [2] Abdel-Shafy HI, Mansour MSM. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 2016, 25(1): 107–123.
- [3] Samanta SK, Singh OV, Jain RK. Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnology*, 2002, 20(6): 243–248.
- [4] Kanaly RA, Harayama S. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *Journal of Bacteriology*, 2000, 182(8): 2059–2067.
- [5] Haritash AK, Kaushik CP. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): a review. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 169(1/3): 1–15.
- [6] Li JB, Luo CL, Song MK, Dai Q, Jiang LF, Zhang DY, Zhang G. Biodegradation of phenanthrene in polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated wastewater revealed by coupling cultivation-dependent and -independent approaches. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(6): 3391–3401.
- [7] Meckenstock RU, Safinowski M, Griebler C. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 49(1): 27–36.
- [8] Meckenstock RU, Mouttaki H. Anaerobic degradation of non-substituted aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology*, 2011, 22(3): 406–414.
- [9] Dhar K, Subashchandrabose SR, Venkateswarlu K, Krishnan K, Megharaj M. Anaerobic microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons: a comprehensive review//De Voogt P. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Cham: Springer, 2019: 25–108.
- [10] Masih J, Singhvi R, Kumar K, Jain VK, Taneja A. Seasonal variation and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in indoor and outdoor air in a semi arid tract of northern India. *Aerosol and Air Quality Research*, 2012, 12(4): 515–525.

- [11] Li CH, Zhou HW, Wong YS, Tam NFY. Vertical distribution and anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove sediments in Hong Kong, South China. *Science of the Total Environment*, 2009, 407(21): 5772–5779.
- [12] Davidova IA, Gieg LM, Duncan KE, Suflita JM. Anaerobic phenanthrene mineralization by a carboxylating sulfate-reducing bacterial enrichment. *The ISME Journal*, 2007, 1(5): 436–442.
- [13] Zhang ZT, Guo HJ, Sun J, Wang H. Investigation of anaerobic phenanthrene biodegradation by a highly enriched co-culture, PheN9, with nitrate as an electron acceptor. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 383: 121191.
- [14] Zhang H, Sun SS, Dong H, Cheng L, She YH. Degradation of petroleum hydrocarbons by using iron-reducing bacteria. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(6): 1246–1258. (in Chinese)
张涵, 孙珊珊, 董浩, 承磊, 余跃惠. 铁还原菌降解石油烃的研究进展. *微生物学报*, 2020, 60(6): 1246–1258.
- [15] Chang W, Um Y, Holoman TRP. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) degradation coupled to methanogenesis. *Biotechnology Letters*, 2006, 28(6): 425–430.
- [16] Thauer RK, Jungermann K, Decker K. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 1977, 41(1): 100–180.
- [17] Mihelcic JR, Luthy RG. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds under various redox conditions in soil-water systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54(5): 1182–1187.
- [18] Bedessem ME, Swoboda-Colberg NG, Colberg PJS. Naphthalene mineralization coupled to sulfate reduction in aquifer-derived enrichments. *FEMS Microbiology Letters*, 1997, 152(2): 213–218.
- [19] Dou JF, Liu X, Ding AZ. Anaerobic degradation of naphthalene by the mixed bacteria under nitrate reducing conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 165(1/3): 325–331.
- [20] Kleemann R, Meckenstock RU. Anaerobic naphthalene degradation by gram-positive, iron-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 78(3): 488–496.
- [21] Chang BV, Chang SW, Yuan SY. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in sludge. *Advances in Environmental Research*, 2003, 7(3): 623–628.
- [22] Li CH, Wong YS, Tam NFY. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons with amendment of iron(III) in mangrove sediment slurry. *Bioresource Technology*, 2010, 101(21): 8083–8092.
- [23] Himmelberg AM, Bröls T, Farmani Z, Weyrauch P, Barthel G, Schrader W, Meckenstock RU. Anaerobic degradation of phenanthrene by a sulfate-reducing enrichment culture. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(10): 3589–3600.
- [24] 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(2/3): 847–855.
- [25] Li CH, Wong YS, Wang HY, Tam NFY. Anaerobic biodegradation of PAHs in mangrove sediment with amendment of NaHCO₃. *Journal of Environmental Sciences*, 2015, 30: 148–156.
- [26] Chang BV, Shiung LC, Yuan SY. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil. *Chemosphere*, 2002, 48(7): 717–724.
- [27] Yang XN, Ye JX, Lyu LM, Wu QH, Zhang RD. Anaerobic biodegradation of pyrene by *Paracoccus denitrificans* under various nitrate/nitrite-reducing conditions. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2013, 224(5): 1578.
- [28] Lu XY, Li B, Zhang T, Fang HHP. Enhanced anoxic bioremediation of PAHs-contaminated sediment. *Bioresource Technology*, 2012, 104: 51–58.
- [29] Berdugo-Clavijo C, Dong XL, Soh J, Sensen CW, Gieg LM. Methanogenic biodegradation of two-ringed polycyclic aromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 81(1): 124–133.
- [30] Rockne KJ, Chee-Sanford JC, 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): 1595–1601.
- [31] Qin W, Fan FQ, Zhu Y, Wang YY, Liu X, Ding AZ, Dou JF. Comparative proteomic analysis and characterization of benzo(a)pyrene removal by *Microbacterium* sp. strain M. CSW₃ under denitrifying conditions. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2017, 40(12): 1825–1838.
- [32] Capone DG, Kiene RP. Comparison of microbial dynamics in marine and freshwater sediments: contrasts in anaerobic carbon catabolism. *Limnology and Oceanography*, 1988, 33(4): 725–749.
- [33] Coates JD, Woodward J, Allen J, Philp P, Lovley DR. Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine harbor sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(9): 3589–3593.
- [34] Anderson RT, Lovley DR. Naphthalene and benzene degradation under Fe(III)-reducing conditions in

- petroleum-contaminated aquifers. *Bioremediation Journal*, 1999, 3(2): 121–135.
- [35] Li CH, Ye C, Wong YS, Tam NFY. Effect of Mn(IV) on the biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons under low-oxygen condition in mangrove sediment slurry. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 190(1/3): 786–793.
- [36] Nzila A. Mini review: update on bioaugmentation in anaerobic processes for biogas production. *Anaerobe*, 2017, 46: 3–12.
- [37] McInerney MJ, Sieber JR, Gunsalus RP. Syntrophy in anaerobic Global carbon cycles. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, 20(6): 623–632.
- [38] Dolfig J, Xu AP, Gray ND, Larter SR, Head IM. The thermodynamic landscape of methanogenic PAH degradation. *Microbial Biotechnology*, 2009, 2(5): 566–574.
- [39] Meckenstock RU, Annweiler E, Michaelis W, Richnow HH, Schink B. Anaerobic naphthalene degradation by a sulfate-reducing enrichment culture. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(7): 2743–2747.
- [40] Kümmel S, Herbst FA, Bahr A, Duarte M, Pieper DH, Jehmlich N, Seifert J, Von Bergen M, Bombach P, Richnow HH, Vogt C. Anaerobic naphthalene degradation by sulfate-reducing *Desulfobacteraceae* from various anoxic aquifers. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(3): fiv006.
- [41] Galushko A, Minz D, Schink B, Widdel F. Anaerobic degradation of naphthalene by a pure culture of a novel type of marine sulphate-reducing bacterium. *Environmental Microbiology*, 1999, 1(5): 415–420.
- [42] 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(1): 209–219.
- [43] Liang L, Song XH, Kong J, Shen CH, Huang TW, Hu Z. Anaerobic biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a facultative anaerobe *Pseudomonas* sp. JP1. *Biodegradation*, 2014, 25(6): 825–833.
- [44] Dou JF, Qin W, Liu X, Ding AZ, Zhu Y, Fan FQ, Wang YY. Biodegradation of benzo(a)pyrene by *Microbacterium* sp. strain under denitrification: degradation pathway and effects of limiting electron acceptors or carbon source. *Biochemical Engineering Journal*, 2017, 121: 131–138.
- [45] Hites RA, Simonsick Jr WJ. Calculated molecular properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. Amsterdam: Elsevier Science Publishing Co, 1987: 29.
- [46] Mouttaki H, Johannes J, Meckenstock RU. Identification of naphthalene carboxylase as a prototype for the anaerobic activation of non-substituted aromatic hydrocarbons. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(10): 2770–2774.
- [47] Safinowski M, Meckenstock RU. Methylation is the initial reaction in anaerobic naphthalene degradation by a sulfate-reducing enrichment culture. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(2): 347–352.
- [48] Selesi D, Jehmlich N, Von 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(1): 295–306.
- [49] Eberlein C, Johannes J, Mouttaki H, Sadeghi M, Golding BT, Boll M, Meckenstock RU. ATP-dependent/-independent enzymatic ring reductions involved in the anaerobic catabolism of naphthalene. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(6): 1832–1841.
- [50] DiDonato Jr RJ, Young ND, Butler JE, Chin KJ, Hixson KK, Mouser P, Lipton MS, DeBoy R, Methé BA. Genome sequence of the deltaproteobacterial strain NaphS₂ and analysis of differential gene expression during anaerobic growth on naphthalene. *PLoS One*, 2010, 5(11): e14072.
- [51] Kraiselburd I, Bröls T, Heilmann G, Kaschani F, Kaiser M, Meckenstock RU. Metabolic reconstruction of the genome of candidate *Desulfatiglans* TRIP_1 and identification of key candidate enzymes for anaerobic phenanthrene degradation. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(4): 1267–1286.
- [52] Yan ZS, Zhang Y, Wu HF, Yang MZ, Zhang HC, Hao Z, Jiang HL. Isolation and characterization of a bacterial strain *Hydrogenophaga* sp. PYR1 for anaerobic pyrene and benzo[a]pyrene biodegradation. *RSC Advances*, 2017, 7(74): 46690–46698.
- [53] Sun MM, Teng Y, Luo YM. Progresses in anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons—A review. *Acta Microbiologica Sinica*, 2012, 52(8): 931–939. (in Chinese)
孙明明, 滕应, 骆永明. 厌氧微生物降解多环芳烃研究进展. *微生物学报*, 2012, 52(8): 931–939.
- [54] Kiel M, Engesser KH. The biodegradation vs. biotransformation of fluorosubstituted aromatics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(18): 7433–7464.
- [55] Rothermich MM, Hayes LA, Lovley DR. Anaerobic, sulfate-dependent degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum-contaminated harbor sediment. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(22): 4811–4817.
- [56] Ambrosoli R, Petruzzelli L, Minati JL, Marsan FA.

- Anaerobic PAH degradation in soil by a mixed bacterial consortium under denitrifying conditions. *Chemosphere*, 2005, 60(9): 1231–1236.
- [57] Qin W, Fan FQ, Zhu Y, Huang XL, Ding AZ, Liu X, Dou JF. Comparative proteomic analysis and characterization of benzo(a)pyrene removal by *Microbacterium* sp. strain M.CSW3 under denitrifying conditions. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2017, 40(2): 1825–1838.
- [58] 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(1/2): 123–127.

Progresses in anaerobic microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons

Jiao Sun, Zuotao Zhang, Haijiao Guo, Hui Wang*

State Key Joint Laboratory of Environment Simulation and Pollution Control, School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are harmful persistent organic pollutants and extremely detrimental to the ecological environment and human health. Biodegradation represents the major route to remove PAHs and other organic chemicals from contaminated environments. Many aerobic bacteria capable of PAHs degradation have been isolated and characterized. However, little is known about their fate in the absence of oxygen. There is an increasing number of investigations of anaerobic degradation of PAHs under various reducing conditions. This paper reviews recent studies of the anaerobic PAHs-biodegradation and identifies limitations that block our understanding of this process. Strategies that can be used to promote the biodegradation efficiency are also discussed.

Keywords: PAHs, anaerobic biodegradation, degradation mechanism, influencing factors

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41573065, 41773082, 21337001) and by the National Water Pollution Control and Treatment Science and Technology Major Project (2017ZX07202002)

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-10-62772137; E-mail: wanghui@tsinghua.edu.cn

Received: 29 April 2020; Revised: 16 July 2020; Published online: 17 August 2020

王慧, 清华大学环境学院, 长聘教授, 博士生导师, 环境科学系系主任, 环保部环境微生物利用与安全控制重点实验室副主任。1999 于中国科学院感光化学研究所 (现中科院化学所) 获生物有机化学博士学位。2001–2002 年在美国麻省理工学院生物学系从事博士后研究工作。主要研究方向为污染环境生态修复的理论和科技, 城市有机废物资源化生物技术。作为课题负责人承担国家 973、863 计划项目、国家自然科学基金、国家水污染治理重大专项课题等国家级项目 20 余项。已发表 SCI 收录论文 80 多篇, EI 收录 40 多篇, 授权发明专利 10 项, 出版著作 2 部。入选教育部跨世纪优秀人才计划, 荣获中国环境学会青年科技奖, 四川省科学技术一等奖, 北京市科学技术一等奖等省部级奖励。

