

甲基叔丁基醚微生物降解研究进展*

路 争 钟卫鸿** 陈建孟 陈 效 楼 坚

(浙江工业大学生物与环境工程学院 杭州 310032)

摘要: 汽油添加剂甲基叔丁基醚 (Methyl *tert*-Butyl Ether, MTBE) 的水体污染问题近年引起广泛关注, 因而微生物降解 MTBE 的研究也渐成热点。对 MTBE 的微生物降解研究现状进行简要综述, 总结好氧条件下降解菌对 MTBE 的降解情况, 以关键中间代谢物-叔丁基醇 (*tert*-butyl alcohol, TBA) 为分界点探讨微生物降解 MTBE 的两步可能途径, 浅论 MTBE 微生物降解的影响因素。

关键词: MTBE, 微生物降解, 降解途径, TBA

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 01-0122-06

Advance of Study on the MTBE Degradation by Microbes*

LU Zheng ZHONG Wei-Hong** CHEN Jian-Meng CHEN Xiao LOU Jian

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032)

Abstract: The contamination of groundwater by methyl *tert*-butyl ether (MTBE) has become widespread. As a result, the bioremediation of MTBE is becoming an active area of research. In this paper, the progress of the studies on the degradation of MTBE by microbes was reviewed, focusing on the aerobic strains that could degrade MTBE. The possible metabolic pathways of MTBE were discussed as two main pathways separated by *tert*-butyl alcohol (TBA). The effect of environment factors, coexisting pollutants, and inter metabolite on the MTBE degradation were also discussed.

Key words: MTBE, Biodegradation, Metabolic pathways, TBA

基于 MTBE 能与汽油互溶, 能改善抗爆性能等优点, 国外已将其作为添加剂广泛应用于无铅汽油的生产。2000 年 1 月 1 日起我国也停止销售含铅汽油, 鼓励、支持推广生产和使用高标号的含 MTBE 的清洁汽油。目前我国 MTBE 的使用量在不断增加。但是有研究表明 MTBE 有潜在致癌可能性, 美国有关报道称 MTBE 已成为美国地下水中广泛分布的、较持久的污染物^[1], 笔者也在中国国内加油站周边水体中检测到了 MTBE 的存在, MTBE 的污染已开始成为国内外学者关注的问题。目前, MTBE 的降解处理主要有 3 种方法: 高级氧化技术、植物修复和微生物降解^[2]。高级氧化技术由于需消耗大量化学氧化剂、对反应器设计要求高等, 在用于被 MTBE 大面积污染的水环境治理时并不理想; 植物培养周期长、培养条件要求高等则限制了植物修复技术的应

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 20476099).
Project Granted by Chinese National Science Fund (No. 20476099)
浙江省自然科学基金资助项目 (No. 202111)

** 通讯作者 Tel: 0571-88320057, E-mail: whzhong@zjut.edu.cn
收稿日期: 2005-03-22, 修回日期: 2005-05-30

用前景;近年来随着 MTBE 降解菌株的发现, MTBE 微生物降解技术倍受关注。国外研究已得到多种 MTBE 降解菌株,并对其代谢特性等方面做了深入研究,本文对这方面的研究进展作概括性综述,并提出了实验尚需进一步研究的方向。

1 MTBE 降解菌株及其降解能力

早期认为, MTBE 在好氧和厌氧条件下都难以降解^[3],近年研究发现某些细菌和真菌能以 MTBE 作为唯一碳源和能源生长,或同时利用 MTBE 和其他有机化合物进行共代谢从而降解 MTBE。MTBE 可被微生物菌株不完全降解为中间代谢物如 TBA,或者被彻底降解为 CO₂^[4]。但是,迄今发现的可利用 MTBE 为唯一碳源的微生物,其生长速率通常比较慢,如 Park 和 Coman 从活性污泥中富集到的混合降解菌群,其最大生长速率为 0.36~1.44/d,其他文献报道的降解菌生长速率则更慢,一般在 0.03/d 以下^[5,6]。而且降解菌的细胞得率也很低,多在 0.43 mg cells/mg MTBE 以下^[5]。有关实验研究多以好氧菌为对象,虽然厌氧环境下也有 MTBE 的降解发生,但最快的降解速率还是在好氧条件下获得^[6],表 1 总结了国外研究得到的 MTBE 降解菌株好氧条件下的降解情况^[7]。

表 1 MTBE 降解菌好氧条件下的降解情况

降解菌	代谢类型	MTBE 降解速率 (mg/g cells/h)	菌种来源
混合菌 BC-1	直接代谢,将 MTBE 彻底降解为 CO ₂	34.0	活性污泥
未知混合菌	直接代谢,将 MTBE 彻底降解为 CO ₂	10.0	降解 MTBE 的生物滴滤池
PM1 菌株	直接代谢,将 MTBE 彻底降解为 CO ₂	50.0	降解 MTBE 的生物滤池
粘束孢属 (<i>Graphium</i> sp.)	共代谢,降解 MTBE 为中间代谢物	0.9	含 MTBE 的培养基中加正丁烷和丙烷筛选获得
黄色杆菌 (<i>Xanthobacter</i> sp.) 母牛分枝杆菌 (<i>Mycobacterium vaccae</i>)	共代谢,将 MTBE 彻底降解为 CO ₂	43.6	含 MTBE 的培养基中加直/支链烷烃筛选获得
菌株 ENV425 菌株 ENV421	共代谢,将 MTBE 彻底降解为 CO ₂	26.7	含 MTBE 的培养基中加丙烷筛选
铜绿假单胞菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	共代谢,将 MTBE 彻底降解为 CO ₂	11.3	汽油污染土壤
菌株 PEL-B201	共代谢	0.3	由加苯和 MTBE 的培养基分离得到

2 MTBE 的降解途径

2.1 MTBE 降解至 TBA 途径

微生物降解 MTBE 过程中,其去除效率取决于微生物的降解活性,因此提高降解菌对 MTBE 的降解活性是提高 MTBE 降解菌生长速率的关键所在,而降解活性的提高有赖于对 MTBE 在细胞内代谢途径的认识。目前研究主要通过检测细胞中间代谢物的积累,推测出 MTBE 的可能代谢途径。研究表明 MTBE 首先降解生成 TBA,其可能降解途径如图 1 所示。推测叔丁氧基甲醇 (*tert*-butoxymethanol, TBM) 是 MTBE 氧化过程中的第一中间产物,但是, TBM 不易被检测到,因为

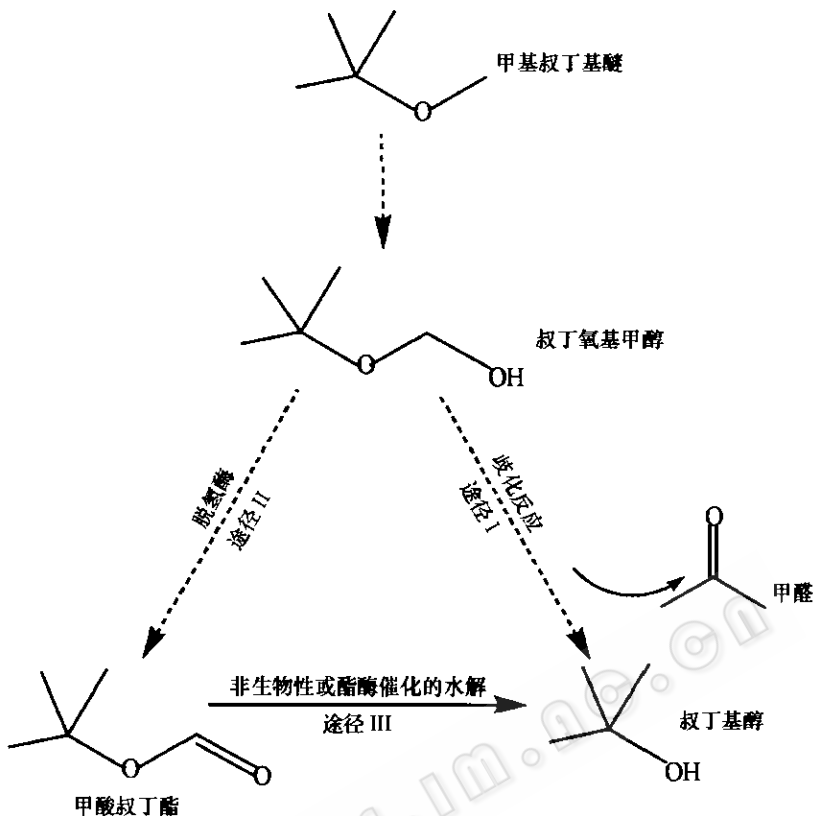


图1 MTBE降解至TBA的可能途径^[4]

实线表示可观测的变化，虚线表示可得到代谢物但代谢机理尚不清楚

TBM 很不稳定，可很快被歧化为相对应的甲醛和醇类化合物 TBA（途径 I），也可能通过脱氢酶转化为甲酸叔丁酯（*tert*-butyl formate, TBF, 途径 II）。TBF 是可直接检测到的中间产物，但也有研究报道 MTBE 降解中未发现 TBF，可能正是因为 TBM 发生了歧化反应，或者 TBF 通过非生物性或酯酶催化的水解生成了 TBA（途径 III）^[4]。

2.2 TBA 的进一步降解途径 关于 MTBE 微生物降解的报道多数认同 TBA 是关键中间代谢物，因为 MTBE 的降解中经常发现有 TBA 的积累。所以 TBA 的进一步降解途径及其降解效率是影响 MTBE 降解的重要因素。Steffan 等（1997）^[8] 首先提出了 TBA 的可能降解途径，认为 2-甲基-2-羟基丙醇（2-methyl-2-hydroxypropanol, MHP）和 2-羟基异丁酸（2-hydroxy isobutyric acid, HIBA）是 TBA 的后续代谢产物，而对 HIBA 之后的降解情况则推测了 3 种可能的代谢去向（图 2）：（1）甲基丙烯酸（盐）；（2）2, 3-二羟基-2-甲基丙酸（盐），2-羟基-2-甲基-1, 3-乙二酸（盐），乳酸（盐）；（3）异丙醇，丙酮，羟基丙酮，丙酮酸（盐）。其他研究也证明了可能代谢途径的存在，如 Church 等（2000）报道降解菌株 PM1 细胞中存在 HIBA 到丙酮的代谢途径（图 2 中途径 III）^[9]；Francois 等（2002）在南非分支杆菌（*Mycobacterium austroafricanum*）IFP2012 中也发现了 HIBA 到丙酮的代谢途径^[10]。另有报道支持产生乳酸的途径（途径 II），如 Piveteau 等（2001）发现的一种甲基营养细菌就只能利用乳酸途径进行 TBA 的降解^[11]，该菌不能利用产丙酮路径（途径 III）中的代谢产物，如异丙醇、丙酮、羟基丙酮，或途径 I 中的甲基丙烯酸生长。

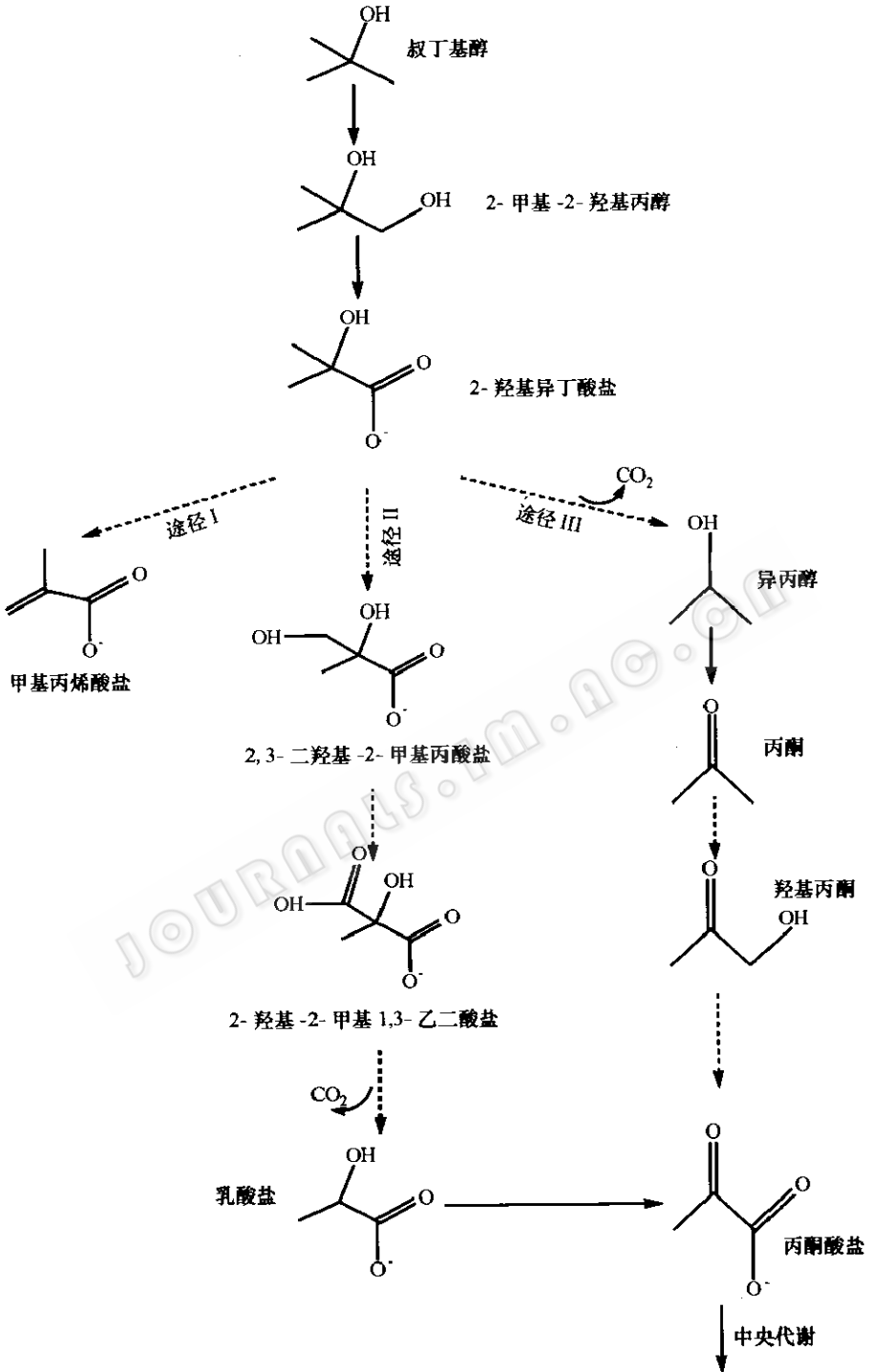


图 2 TBA 的可能降解途径^[8]

实线表示可观测的变化，虚线表示可得到代谢物但代谢机理尚不清楚

3 微生物降解 MTBE 的影响因素

3.1 环境因素 微生物生长环境的温度、pH、营养等都会很大程度影响微生物利用化

合物进行代谢。Alexander^[12]对地下环境中的 MTBE 降解菌群研究表明, 土壤及地下水有足够的微量元素, 但缺乏 N 和 P 元素, MTBE 降解所需 C:N:P 比在 (100~300):10:(0.05~1.00) 左右为佳; 中性 pH 通常对降解有利; 降解菌的代谢速率随温度增高 10℃ 而加倍, 但以控制在多数微生物的生长限制温度 (40℃~50℃) 以下降解效果为好。

3.2 共存污染物 有 MTBE 污染的地方也经常伴随有其他污染物存在, 其中有些化合物能促进 MTBE 的降解, 有些则对降解起阻碍作用。Schirmer 利用加拿大安大略湖淤泥的混合菌群研究了当 MTBE 与一些基本有机物共存时 MTBE 的降解情况^[13], 结果 (表 2) 显示当与 2-甲基丁烷等共存时, MTBE 的代谢未受影响, 即能发生共代谢; 而与甲苯等共存时, 菌群的降解能力受抑制, 不能降解 MTBE, 这些共存的化合物更易被菌群降解而引起竞争性抑制, 或者引起电子受体的损耗^[13]。

表 2 共存有机污染物对 MTBE 的降解影响^[13]

共存有机污染物	MTBE 共代谢
2-甲基丁烷	√
戊烷	√
正己烷	√
3-甲基戊烷	√
环己烷	√ (降解延迟)
甲苯	×
甲烷	×
甲醇	×

3.3 中间代谢物 MTBE 降解菌在依赖 MTBE 为唯一碳源生长时生长速率缓慢, 最大生长速率也在 1.44/d 以下, 其原因可能是 MTBE 的某些中间代谢物代谢速率缓慢^[7]。在 MTBE 的已知主要代谢产物中, 甲醛、2-甲基-2-羟基丙醇和丙酮的生物代谢机理已很清楚, 不会成为降解限制因素^[7]; MHP 和 HIBA 生物降解过程的文献报道虽然不多, 但根据两者的化学结构, 它们应该比 MTBE 和 TBA 容易降解, MTBE 和 TBA 降解实验中没有高浓度的 MHP 和 HIBA 累积也证明了这一点。由此, 代谢产物中最有可能影响速率的应该是 TBA, 诸多研究中 MTBE 降解时总伴有 TBA 的积累, 也反映了 TBA 可能是影响微生物降解活性和降解菌生长速率的因素。Deeb 曾试图通过比较菌株分别对 MTBE 和 TBA 的降解速率, 以确定 TBA 是否为 MTBE 降解的限制因素^[7]。依据 Deeb 的推测, 若不同降解菌对 TBA 降解速率总小于 MTBE 的降解速率, 可断定 TBA 会影响降解菌降解 MTBE, 从而影响菌的生长代谢。但可能是因为不同菌株的 MTBE 和 TBA 的降解机理不同, 在 Deeb 的研究中, 不同降解菌 TBA 降解速率并不总小于 MTBE 的降解速率, 所以研究没有推断 TBA 一定会影响降解速率。

4 讨论与展望

为提高降解菌对 MTBE 的降解活性, 国外研究者已经针对 MTBE 的微生物降解途径做了多项研究。但代谢中间产物对降解的作用, 例如 TBA 的降解速率是否比 MTBE 大, 以及其积累对细胞有无毒害作用则无确论; 另外, 几乎所有报道中都提到降解菌在降解中的生长速率慢及细胞生成量低, 原因可能是中间代谢物的生成或积累对细胞生长有潜在抑制作用, 也可能是 MTBE 是一种代谢抑制剂、电子传递抑制剂或者是一

种阻碍 ATP 生成的物质^[14]。共代谢菌因为同时利用 MTBE 和其他有机物为碳源和能源而加快了生长速率,但却又因为 MTBE 共存物对 MTBE 降解的竞争性抑制作用,阻碍了共代谢的应用。

有关 MTBE 降解途径的研究几乎都是在好氧条件下进行的,Hardison 等^[15]报道称好氧条件下一种加单氧酶:细胞色素 P450 在微生物降解 MTBE 为 TBA 的过程中起催化作用。对 TBA 的降解来说该酶也可能是主要的催化酶种;在结构和特性上是否有其特殊性,有待深入和系统的研究,在此基础上可以进行相关基因的克隆和基因工程菌的构建工作,以获得高降解活性的基因工程菌。

参 考 文 献

- [1] 钱伯章. 石油化工技术经济, 2001, 3: 33~35.
- [2] 徐向荣, 顾继东. 生态科学, 2003, 22 (2): 177~182.
- [3] Jensen H M, Arvin E. In: Arendt F, Hinsenveld M, Van den Brink WJ Ed. Contaminated Soil. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1990, 90: 445~448.
- [4] Hatzinger P B, McClay K, Vainberg S, et al. Appl Environ Microbiol, 2001, 67 (12): 5601~5607.
- [5] Park K, Cowan R M. Proceedings of the Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium, 1997, 1: 17.
- [6] Andrew J S, Rula A D, Amparo E F, et al. Biodegradation, 2000, 11: 187~201.
- [7] Rula A D, Kate M S, Lisa A C. Biodegradation, 2000, 11: 171~186.
- [8] Steffan R J, McClay K, Vainberg S, et al. Appl Environ Microbiol, 1997, 63 (11): 4216~4222.
- [9] Church C D, Tratnyek P G, Scow K M. ACS Division of Environmental Chemistry Preprints of Extended Abstracts. 2000, 40 (1): 261~263.
- [10] Francois A, Mathis H, Godefroy D. Appl Environ Microbiol, 2002, 68 (6): 2754~2762.
- [11] Piveteau P, Fayolle F, Vandecasteele J P, et al. Appl Environ Microbiol, 2001, 55 (3): 369~373.
- [12] Alexander M. Biodegradation and bioremediation. 2nd ed. San Diego, CA: Academic Press, 1994.
- [13] Schirmer M, Butler B J, Church C D, et al. Journal of Contaminant Hydrology, 2003, 60 (3~4): 229~249.
- [14] Kharoune M, Kharoune L, Lebault J M, et al. Environ. Toxicology and Chemistry, 2002, 21 (10): 2052~2058.
- [15] Hardison L K, Curry S S, Appl Environ Microbiol, 1997, 63, 3059~3067.