

专家论坛

降解二噁英及其相关毒物的微生物

王修垣*

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

比利时于1999年5月爆发了二噁英(Dioxin, 又译迪奥克辛、二氧芑、二氧杂环己烷)毒物污染食品的灾难性事件, 遭受的经济损失超过15亿美元。2000年5月20日, 该国又在博迪安-康比耶饲料公司的产品中查出了与二噁英相关的、毒性更大的多氯联苯(PCB), 含量比法定限量高924倍。从1949年至今, 全世界至少发生过20多次二噁英污染的重大事件。其中, 1971年在美国密苏里州的泰晤士湾, 曾把含有2,3,7,8-四氯联苯-p-二噁英(TCDD)的废渣29kg混到144t废油中, 喷到路面防尘, 造成严重的污染。到1997年, 建了一座焚烧炉把污染物化为灰分, 费用约1亿美元。美国二十世纪六十~七十年代越南战争期间, 向越南中部和南部地区倾倒了7500万升橙剂, 喷洒面积达到原南越领土的14%。由橙剂产生的二噁英导致成千上万的人天生残疾。

天然的二噁英并不存在。它主要是现代工业的副产物, 包括75种多氯代联苯并二噁英和135种多氯代联苯呋喃(多氯代氧芑)两组化合物; 还有209种多氯联苯是它的类似物。其中有17种是迄今发现的最有毒的化学物质之一。TCDD的毒性比氰化物高50~100倍, 俗称“世纪之毒”, 它的安全暴露量为 10^{-12} g。世界卫生组织将二噁英定为一类致癌物, 人体每天的摄入量绝对不应超过 $4\mu\text{g}$ 。它无色、无味、为脂溶性, 易积累于生物体内的脂肪层中、难以排出, 但只有长期中毒才会造成危害。它在人体内排除一半所需的时间(半衰期)平均为7年。日本在1999年底到2000年初, 对市场上出售的38种鲸鱼和海豚产品进行了抽检, 均污染有二噁英, 其中28种含量超标。二噁英含量最高的是海豚脂肪, 达到 $691\mu\text{g/g}$, 平均值为 $232\mu\text{g/g}$, 足以使人患病。按照日本政府制定的TDI标准, 人体二噁英的最高限量是 $4\mu\text{g/kg}$ 。这意味着体重为50kg、食用了50g这种海豚脂肪的人, 体内积累的二噁英平均含量将是TDI标准的58倍, 最高是该标准的172倍!

联合国持久性有机污染物(POP)协议的122个签字国在2000年12月4日~8日举行的约翰内斯堡会议上将六氯苯、多氯联苯、二噁英和呋喃及8种杀虫剂(艾氏剂、异狄氏剂、毒杀芬、氯丹、狄氏剂、七氯、灭蚊灵和滴滴涕)确定为禁止使用或严格限制使用的“12种毒性极强的污染物”。这些物质会通过食物链传播, 引起先天性缺陷、癌症或儿童发育问题。该公约将于2001年5月22~30日签字生效。

早在1980年, 即有人提出用微生物法破坏二噁英; 到1989年才分离出能矿化二苯-p-二噁英(DD)、氧芑(DF)、二苯醚(diphenyl ether, DE)及其卤化类似物的好氧菌^[1-3], 并对其降解途径作了机理分析。这些细菌利用分子氧和新型的、区域选择性的角双加氧酶(angular dioxy-

* 研究员, 江汉石油学院兼职教授, 《微生物学通报》主编, 中国微生物学会图书出版委员会副主任, 美国“Science Spectra”顾问

收稿日期: 2000-12-28

表1 能降解二噁英相关化合物的好氧细菌的起始酶类、底物和副底物,括号内的化学剂不供给细菌生长

细菌	起始加氧酶	底物(副底物)
不动杆菌(<i>Acinetobacter</i> sp. PE7, pDPE2388)	未测定	(4-氯-DE;4-羟基-DE;4-硝基-DE)
反硝化产碱菌(<i>Alcaligenes denitrificans</i> JB1)	未测定	(2-氯-DD;1,3-,2,7-,2,8-二氯-DD;1,2,4-三氯-DD;DF;2-氯-DF;2,8-二氯-DF)
巨大芽孢杆菌(<i>Bacillus megaterium</i> ATCC 13368)	未测定	(TCDD)
拜叶林克氏菌(<i>Beijerinckia</i> sp. B8/36)	双加氧酶	(DF;DD;1-,2-氯-DD;2,3-2,7-,2,8-二氯-DD;1,2,4-三氯-DD)
利用氧芴的富集培养物 DPO200	DF4,4a- 双加氧酶	DF;Fe;(2-溴-DF;咕吨;咕吨酮;DD)
欧文氏菌(<i>Erwinia</i> sp. 突变株 CU3614)	未测定	(4-硝基-DE)
大肠杆菌(<i>Escherichia coli</i> JM107, pDPE7321, pSP73)	未测定	(4-硝基-DE)
洋葱假单胞菌(<i>Pseudomonas cepacia</i>)	未测定	DE
克罗斯韦假单胞菌(<i>Ps. cruciviae</i> 593, B1)	未测定	DE
德氏假单胞菌(<i>Ps. delafieldii</i> ET1)	未测定	3-POB;4-POB;(4-MPOB;3,4-FPOB;4-CPOB)
类产碱假单胞菌(<i>Ps. pseudoalcaligenes</i> POB310)	POB1,2- 双加氧酶	3-POB;4-POB;(4-FPOB;4-CPOB;3,4-DCPOB;3,5-DCPOB)
<i>Pseudomonas</i> sp. B13-D5, B13-D5C, (pD30.9)	同上	3-POB;4-POB;4-MPOB;4-CPOB;(3,4-DCPOB;3,5-DCPOB)
<i>Pseudomonas</i> sp. HL7b	未测定	(DF)
<i>Pseudomonas</i> sp. N. C. I. B. 9816	双加氧酶	(DD)
<i>Pseudomonas</i> sp. NSS2	POB1,2- 双加氧酶	3-POB;4-POB
<i>Pseudomonas</i> sp. pBS3, pBS4, NAH7	未测定	DF
红球菌(<i>Rhodococcus</i> sp. UW1)	未测定	(DF)
鞘氨醇单胞菌(<i>Sphingomonas</i> sp. HH19k)	DF4,4a- 双加氧酶	DF;(3-氯-DF)
<i>Sphingomonas</i> sp. HH69	同上	DF;2-,3-,4-乙酰基-DF;2-,3-,4-羟基-DF;(3-氯-DF;DD;3-,4-甲基-DF;2-,3-硝基-DF)
<i>Sphingomonas</i> sp. RW1	DF4,4a- 双加氧酶系	DD;DF;2-羟基-DF;2-乙酰基-DF;4-氯-DF;(2-,3-,4-氯-DF;2,3-,2,8-,3,7-二氯-DF;1-,2-氯-DD;2,3-二氯-DD)
<i>Sphingomonas</i> sp. SS3	DE1,2- 双加氧酶	DE;4-氯-DE;(4-氯-DE;DD;各种-一氯-,一氯-,一溴-DEs)
<i>Sphingomonas</i> sp. SS31	同上	DE;3-甲基-DE;4-氯-DE
<i>Sphingomonas</i> sp. SS33	同上	DE;4-氯-DE;4-氯-DE;4,4'-二氯-DE;4,4'-二氯-DE;(2,4-二氯-DE;4,4'-二溴-DE)
耳葡萄球菌(<i>Staphylococcus auriculans</i> DBF63)	DF4,4a- 双加氧酶	DF;芴
地杆菌(<i>Terrabacter</i> sp. DPO360)	同上	DF
<i>Terrabacter</i> sp. DPO1361	同上	DF;芴
枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>),放线菌,红球菌(<i>Rhodococcus</i>)	未测定	二噁英

注:缩写;4CPOB;3-(4-氯苯氧基)苯甲酸;3,4-DCPOB;3-(3,4-二氯苯氧基)苯甲酸;3,5-DCPOB;3-(3,5-二氯苯氧基)苯甲酸;3,4-FPOB;3-苯氧基-4-氟苯甲酸;4-FPOB;3-(4-氟苯氧基)苯甲酸;4-MPOB;3-(4-甲基苯氧基)苯甲酸;POB,苯氧基苯甲酸;TCDD,2,3,7,8-四氯二苯-P-二噁英。

genases)把顽拗的二羟基醚(diaryl ether)转化成在正常代谢中容易降解的苯酚中间产物,进一步矿化为二氧化碳、水和无机盐。

在利用微生物处理受二噁英及其相关化合物污染物的可能性方面已进行了一些探索性研究。例如 Halden 等^[4]将含有 DF4, 4a-双加氧酶的鞘氨醇单胞菌(*S. phingomonas* sp.)RW1 加入到填充土壤的实验生态系统中,研究该菌去除氧芴、二苯-p-二噁英(DD)和 2-氯二苯-p-二噁英(2-CDD)(含量均为 10mg/L)的效果。当细菌的起始密度为 4×10^7 菌落形成单位(CFU)/g(土壤干重)、21°C 黑暗培养 7d,即可将 DF 完全去除($< 50 \mu\text{g/L}$)。当细菌密度较低,培养 28d 后也未将 DF 完全去除。去除 DD 要求细菌的起始密度较高,在 10^8 CFU/g 时,24h 内即将 90% DD 降解掉。2-CDD 在土壤中的存留时间比 DD 长。当该菌的起始密度为 10^8 CFU/g 干土、土壤有机物含量(SOM)分别为土壤干重的 0 到 5.5%时,2-CDD 的半衰期从 5.8h 延长到 26.3h。由此可见,该菌去除这三种毒物的速度和程度与该菌的起始密度和土壤的 SOM 有明显的依赖关系。现据文献报道的这类细菌、起始加氧酶和底物列表如下。

某些真菌可有效降解二噁英。例如燕麦镰孢[*Fusarium avenaceum*(Corda, Fries)Saccardo, 菌株 65]、隔孢伏茸菌(*Peniophora*, 菌株 267),及其与金孢展齿革菌(*Phanerochaete chrysosporium*, PC)的融合体 PC×65、PC×267 和 PC,在 30d 内对 2,7-二氯联苯-p-二噁英的降解比分别为 82.9%、75.2%、99.1%、87.5%和 67.5%^[6]。Ohakawa 等^[7]用 3 株从天然样品中分离、筛选的真菌菌株(563、V1 和 V2)和两种腐木真菌[*P. chrysosporium* 和采绒革盖菌(*Coriolus Versicolor*)]降解 2,4,8-三氯氧芴(2,4,8-TCDF)的加入浓度分别为 0.25mmol 和 1.25mmol,培养 15d 和 30d,其降解比率达到 19%~75.9%。它们降解氧芴(DF)的加入浓度分别为 0.25mmol 和 1.25mmol,培养 15d 和 30d)的比率达到 80.6%~94.5%。这 5 株真菌对这两种毒物的降解比率均随菌株的不同、毒物的起始浓度和培养时间而异。在培养期间,有一部分 DF 掺入到真菌的菌丝中。

综上所述,迄今已分离出并应用分子遗传学方法构建了一些含有区域选择性角加氧酶的菌株、能利用憎水的二噁英类化合物作为碳源和能源,将它们从 10mg/L 降到 $\mu\text{g/L}$ 级的低水平,为将微生物作为受该类毒物污染的环境的有效修复工具展现了良好的前景。我国尚未见到有关报道,亟待予以关注。