

腐殖质在环境污染物生物降解中的作用研究进展*

许志诚^{1,2} 罗 微¹ 洪义国² 许玫英² 孙国萍^{2**}

(中国热带农业科学院橡胶研究所 儋州 571737)¹

(广东省微生物研究所广东省菌种保藏与应用重点实验室 广州 510070)²

摘要: 腐殖质物质在地球的生态环境中大量存在, 它不仅可以在有毒化合物的生物降解和生物转化过程中起到氧化还原中间体的作用, 加速有毒物质的降解和转化。也可以作为唯一末端电子受体, 接受来自一些有机酸或者甲苯等环境中有毒物质提供的电子, 偶联能量的产生, 支持菌体的生长, 形成一种新的细菌厌氧呼吸形式——腐殖质呼吸。因此, 对腐殖质在环境有毒物质的生物降解和生物转化过程中的作用进行研究, 不仅对于深入理解细菌呼吸的本质具有重要的理论意义, 而且对于环境有毒物质的降解和转化以及元素的生物地球化学循环具有重要的生态学意义, 同时对地球表面的有毒物质进行更有效的生物降解具有重要的现实意义。

关键词: 腐殖质, 腐殖质呼吸, 氧化还原中间体, 有毒物质, 生物降解和转化

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 06-0122-06

Recent Development in Effects of the Humic Substances on the Biodegradation of Priority Pollutants in Environment*

XU Zhi-Cheng^{1,2} LUO Wei¹ HONG Yi-Guo² Xu Mei-Ying² SUN Guo-Ping^{2**}

(Rubber Research Institute, CATAS, Danzhou 571737)¹

(Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Provincial Key laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangzhou 510070)²

Abstract: The humic substance are ubiquitous in the biosphere and can be readily isolated from nearly all soil, waters, and sediments. It is not only as redox mediator in biotransformation of the noxious or innocuous compounds, but also it can accept the electron from some organic acids or poisonous compounds (e. g., toluene, etc) as the sole electron acceptor, coupled the energy production for cell growth, which is named humus respiration. At the same time, noxious compounds are degraded. So the research in effects of the humic substances on the anaerobic biotransformation of priority pollutants has the important environmental and biotechnological significance because this type of biochemical reactions has important impacts on the degradation of the noxious substances and the cycling of organic carbon as well as many inorganic compounds. Furthermore, the humic substances are becoming increasingly recognized as strategy for the degradation of environments contaminated with some priority pollutants.

Key words: Humus, Humus respiration, Redox mediator, Pollutants, Biodegradation and biotransformation

* 国家“863 计划”(No. 2003AA214040)

国家自然科学基金 (No. 30500009)

广东省自然科学基金项目 (No. 015017, 05100365)

广东省科技项目 (No. 2003B40403)

** 通讯作者 Tel/fax: 86-020-87684471, E-mail: guopingsun@163.com

收稿日期: 2006-01-13, 修回日期: 2006-04-04

随着经济的快速发展,人口的不断增加,给环境带来的压力越来越大,对环境造成的污染也日益严重。且有众多的污染物较难被微生物自然转化和降解,如:As(V)、Mn(IV)、Cr(VI)、偶氮染料、多卤取代化合物等等。腐殖质,即醌类物质(如:蒽醌-2-磺酸盐 AQS、蒽醌-2,6-双磺酸盐 AQDS、羟基萘醌 LQ 等)在环境中无处不在,如陆地、海水和土壤沉积物中都有大量存在。其自身在环境中极难被自然降解,最长保留 500 年之久^[1]。因此,众多学者认为在环境中尤其是在有毒的生态环境中,腐殖质不能够参与微生物的生理代谢过程^[2]。然而,最近很多研究认识到腐殖质物质在有机、无机等化合物生物降解中起到极其重要的作用。同时,腐殖质可以作为末端电子受体,支持大量有机化合物的厌氧生物氧化。本文针对腐殖质的来源和结构、腐殖质参与环境有毒物质循环和生物修复中的不同反应机制、以及腐殖质在蓄水层、沉淀物和包括大量有毒污染物的废水厌氧处理中的生物调节作用等几方面对腐殖质物质在环境有毒物质降解和转化中的作用研究进展进行了综述,并对未来的研究方向作出展望。

1 腐殖质物质的来源和结构特点

1.1 腐殖质物质的来源 腐殖质物质是在环境中普遍存在的,在一些土壤和沉淀物中,腐殖质可以占到总量的 10% 之多^[3]。在所有的环境中腐殖质主要来自植物组织的分解,但腐殖质比他们的前体更难被自然降解。腐殖质的功能决定于他们的物理化学结构特点,其性质的多样性也依赖于他们的来源和来源材料的年龄^[3]。传统上根据腐殖质的溶解性,将其分为:胡敏素,腐殖质酸和棕黄酸。胡敏素是在所有的 pH 范围内都是微溶,腐殖质酸在 pH 低于 2.0 极其难溶,棕黄酸在所有的 pH 范围内都是可溶的。

1.2 腐殖质物质的结构与功能 腐殖质是一种具有羰基结构高分子量芳香族聚合物,随着其取代基的不同其功能有相应的变化,如:被羧基、酚基、羟基、酮基和醌基取代,其相应的酸碱性、极性的变化以致其化学性质和生理特性随之产生很大差异^[4,5]。这种结构使其具有可以容易结合疏水和亲水的物质的能力。因此,他们在转化重金属离子和降解疏水性环境污染物的过程中有着非常重要的作用^[6,7]。腐殖质是氧化还原活性很强的化合物,它可以还原氧化还原电势在 0.5 ~ 0.7 eV 的金属^[8]。腐殖质将电子从还原态的化合物转移到不同的重金属、硝基取代芳香族化合物、卤代芳香化合物,这是这些有毒化合物降解的主要途径之一^[9,10]。参与这些反应的腐殖质基本单元主要是醌类物质,其详细结构如图 1 所示^[11]。

2 腐殖质呼吸对环境有毒污染物生物转化的作用

腐殖质还原最近被确认是一种新型的细菌厌氧呼吸方式。在厌氧条件下,某些微生物可以腐殖质作为唯一电子受体,氧化生态圈中的不同污染物质。首次报道腐殖质作为终端电子受体可以厌氧氧化有毒污染物是在有机物极为丰富的河床沉积物中发现的,在还原态的腐殖质存在的情况下,氯乙烯和二氯乙烯得到有效的矿化^[12]。在腐殖质存在的情况下,被¹⁴C 标记的卤代化合物降解的产物中检测到了¹⁴CO₂。在庄稼废水中发现还原态腐殖质存在的情况下,可以较好地降解苯酚、甲酚和石碳酸等重要的污染物^[13];这些污染物被转化为沼气,并在废水中测到了有醌的存在^[14]。在还原态腐殖质存在的情况下,¹³C 标记的甲苯被氧化为¹³CO₂的结果说明,腐殖质作为潜在电子

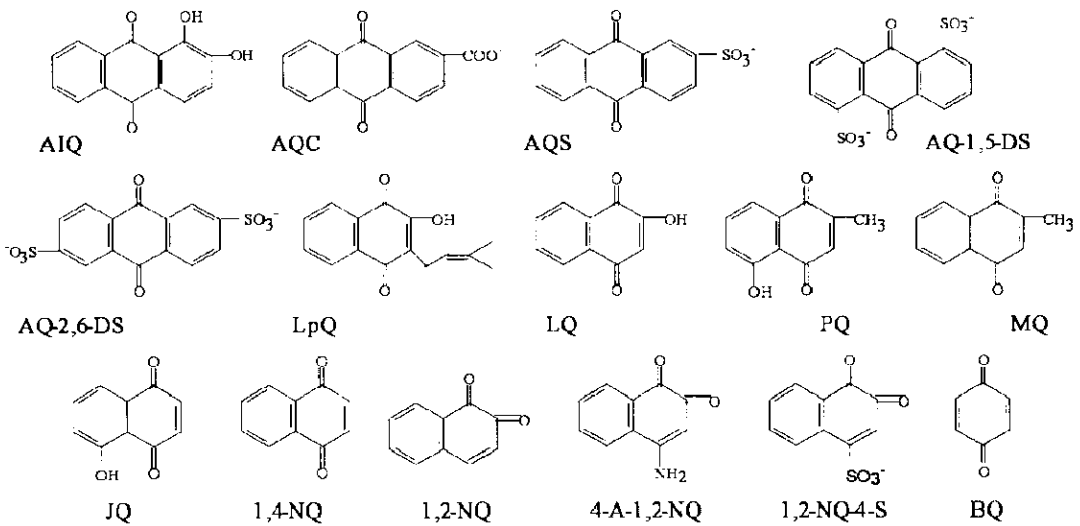


图1 目前研究的作为氧化还原中间体中不同的醌类物质的化学结构^[11]

AIQ 茜素, AQC 蒽醌-2-羧酸盐, AQS 蒽醌-2-磺酸盐, AQ-1, 5-DS 蒽醌-1, 5-双磺酸盐, AQ-2, 6-DS 蒽醌-2, 6-双磺酸盐, LpQ 拉帕醇, LQ 羟基萘醌, PQ 石墨醌, MQ 甲萘醌, JQ 胡桃醌, 1, 4-NQ 1, 4-萘醌, 1, 2-NQ 1, 2-萘醌, 4-A-1, 2-NQ 4-氨基-1, 2-萘醌, 1, 2-NQ-4-S 1, 2-萘醌-4-磺酸盐, BQ 1, 4-苯醌

受体, 而甲苯作为电子供体被氧化降解^[15]。这充分证明腐殖质作为电子受体促进了芳香类污染物的生物降解。

Lovley^[2]最先提出了腐殖质呼吸的概念, 以 *Geobacter metallireducens* 和 *Shewanella alga* 为研究对象, 发现这两株菌都能够以腐殖质物质单元的模式物 AQDS (anthraquinone-2, 6-disulfonate) 为唯一电子受体氧化多种有机物或氢并支持菌体的生长。大量证据表明, 在腐殖质呼吸中, 主要是一些醌类成分 (quinone moieties) 起到电子受体的作用, 因此腐殖质呼吸又叫做醌呼吸 (quinone respiration)。目前, 在有机物含量丰富的沉积物、污染的土壤以及废水处理厂的活性污泥中发现了多种细菌具有腐殖质呼吸的能力, 主要包括 Fe (III) 还原菌 (*Geobacter* spp.)^[16]、硝酸还原菌 (*Shewanella putrefaciens*)^[17]、硫还原菌 (*Desulfuromonas* spp.)^[18]、发酵细菌 (*Propionibacterium freudenreichii*)^[19]、嗜热产甲烷古细菌 (*Methanococcus thermolithotrophicus*)^[20] 等等。另外腐殖质除了可以作为末端电子受体, 还能以氧化还原中间体的形式在菌体与 Fe (III) 氧化物之间传递电子, 促进 Fe (III) 还原^[2]。现在普遍认为, 腐殖质作为氧化还原中间体能完成对多种末端电子受体的电子转运, 其具体在环境中的应用和作用机制将在另文进行详细的阐述。

3 腐殖质物质作为氧化还原中间体在环境中对有毒污染物生物修复中的作用

3.1 腐殖质物质对土壤中重要污染物生物转化的作用 在环境众多的污染物中, 重金属是极其重要的一种, 例如: As (V)、Cr (VI)、Cu (II) 等等。它们不仅对于土壤的结构和理化性质有着显著的破坏作用, 更重要的是对动、植物甚至人类的健康与环境构成的直接或间接的危害。而腐殖质由于其结构上的特点, 其氧化态的形式可以结合来自电子供体的电子转化为还原态的羟醌。又可以将电子转移给金属离子使之还原。还原态的腐殖质即重新转化为氧化态, 这样重复循环形成对金属离子持续的还原

转化。不仅如此，对于环境中的其他重要污染物，例如：多卤取代化合物^[21]、硝基取代芳香族化合物、和放射性核素等等都具有很好的降解和转化促进作用。在众多的重金属离子中有相当一部分极难溶于水，腐殖质作为氧化还原中间体正是促进了其由难溶的氧化态形式向相对易溶的还原态形式的转化，从而加速了其生物修复的进程^[15,22,23]。低浓度的腐殖质同样可以作为氧化还原中间体从起始端的电子供体将电子转移到易被还原转化的污染物。而且，还原态的腐殖质物质自身同样可以作为电子供体提供电子给大量的氧化态的电子受体使其得到微生物还原，例如：硝酸盐、延胡索酸盐、氯酸盐等等^[8~10]，其原理如图 2 所示^[24]。

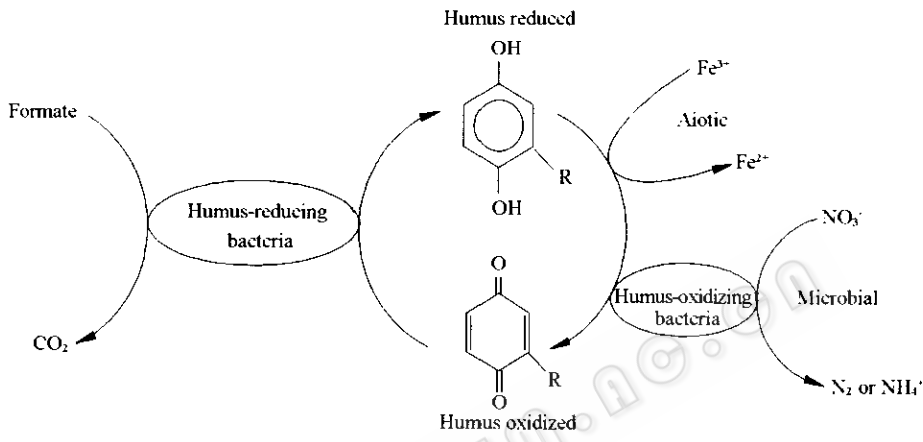


图 2 腐殖质中的醌类物质在生物和非生物反应中作为氧化还原中间体的循环反应机制^[24]
1 微生物腐殖质还原与有机物质（例如甲酸钠）的厌氧氧化相偶联，2 还原态腐殖质被氧化态金属离子（例如 Fe^{3+} ）直接氧化（非生物反应），3 还原态腐殖质作为电子供体对于更多氧化态电子受体的微生物还原（例如 NO_3^- ）

3.2 腐殖质物质在废水处理系统中的作用 随着社会经济的不断发展和城市化进程不断加快，随即带来的城市废水和工业废水污染也日益严重。其中主要污染物有偶氮染料，硝基取代芳香族化合物以及化工合成的聚合有机物等等。这些物质对于废水处理系统中的生物群体有着较强的毒性作用。然而，由于他们自身具有强亲电子能力的氧化性，在厌氧条件下，可以被具有腐殖质呼吸能力的微生物转化降解^[25,26]，例如：作为腐殖质组成单元的醌类物质可以促进偶氮染料转化为相应的芳香胺类化合物。不同浓度的腐殖质组成单元模式物 AQDS 已经被应用到 UASB 系统对酸性橙 7 的还原脱色处理^[27]。AQDS 与酸性橙 7 的摩尔浓度比仅为 1/100 就表现出高效率（>90 %）的脱色效果^[28]。最近的报道指出，较低浓度的 AQDS 还可以促进许多其他偶氮染料的还原脱色，例如：活性红 2 等等^[28]。AQDS 不仅可以加速偶氮化合物的还原脱色，更重要的是还有利于后续耗氧降解^[27]。在很大程度上降低了维持废水处理系统反应所要保持的水力停留时间。在这个过程中，腐殖质物质起到了电子穿梭体的作用，将电子传递到终端电子受体—偶氮化合物。具有腐殖质还原能力的微生物并不需要与偶氮化合物直接接触，菌体细胞只是将电子传递给腐殖质，再由腐殖质完成对偶氮染料的还原，原理如图 3 所示^[11]。因此，腐殖质在废水处理中对于污染物的有效生物转化起着相当重要的作用。随着废水处理系统的不断改进，UASB 和 EGSB 系统已经广泛的应用在对城市污水与工业废水的处理中，在 UASB 和 EGSB 反应器中保持着恒定的水压和气压状

态。它有效地降低了微生物的死亡和反应器中局部的高浓度的污染物对于微生物种群的毒害。EGSB 系统由于其厌氧活性颗粒污泥具有降低对生物膜的冲刷从而更有效地富集,沉淀的特性,使活性污泥更好的絮凝、沉积在覆盖物中。而在这些活性污泥中拥有大量具有腐殖质呼吸能力的微生物菌群,这对于促进废水的处理具有更为理想的效果^[29]。对于适宜于腐殖质呼吸菌群富集的培养基已经被报道^[30]。在富集有大量腐殖质呼吸微生物的 UASB 处理系统中可以形成较稳定的持续的对腐殖质还原。而在这一过程中,由于颗粒活性污泥中形成了由其它功能的微生物所组成的稳定的群落,微生物群体中的腐殖质呼吸菌群不需要大范围的移动,即可高效协同的降解其它重要的目标污染物^[31]。

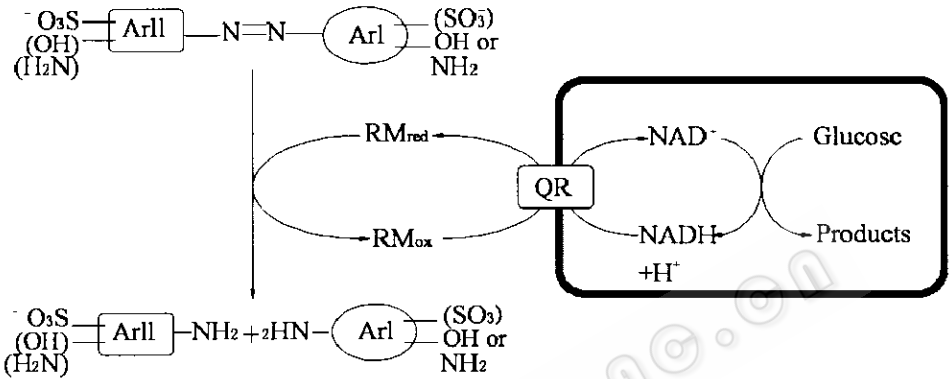


图3 腐殖质模式单元 AQDS 作为氧化还原中间体对偶氮还原的反应机制^[11]

4 研究展望

4.1 更多的具有腐殖质呼吸能力的环境微生物的发现 目前,对于环境污染物降解的研究已经成为一个热点。在众多的处理方法中,生物法是一个即经济、又高效的方法,又能充分利用广泛存在的腐殖质物质,决定了其广泛的应用前景。迄今已经发现的环境中具有腐殖质还原能力的微生物还只是一小部分。而通常具有腐殖质还原能力的微生物对环境的一些重要有毒污染物均具有很好的降解效果。在未来的研究中,可能会有更多的拥有腐殖质还原能力的微生物被发现,这对于环境重要污染物的生物降解和生物修复将带来更多资源。

4.2 腐殖质对于环境有毒物质降解的分子机理探讨 目前,对于腐殖质呼吸及其作为氧化还原中间体在环境有毒物质降解的研究只是局限于在生理水平上,并未从分子水平上对其进行解释,这也是未来研究的难点。对于腐殖质还原菌的腐殖质还原酶以及腐殖质如何将极难溶的物质转化为更易于菌体接触的物质机理的研究具有重要的理论价值和应用意义^[32]。

4.3 与其他学科的交叉 对于环境中有毒污染物的降解和转化的研究,是一项既艰巨又具有重要意义的工作。需要从事有关环境生物学、环境生态学、生物技术、微生物学以及化学尤其是有机化学和量子化学学科方面的生理学家、生态学家、分子生物学家及化学家们的通力合作。只有在多学科共同努力下,才能为复杂生态环境中的污染物的有效降解和转化提供更为科学的理论指导和合理的解决方法。

参考文献

[1] Ponge J F. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35 (7): 935 ~945.

- [2] Lovley D R, Coates J D. *Nature*, 1996, **382**: 445 ~ 448.
- [3] Coates J D, Cole K A, Chakraborty R, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68** (5): 2445 ~ 2452.
- [4] Livens F R. *Environ Pollut*, 1991, **70**: 183 ~ 208.
- [5] Shulten H R, Plage B, Schnitzer M. *Naturwissenschaften*, 1991, **78**: 311 ~ 312.
- [6] Hesketh N, Jones M N, Tipping E. *Anal Chim Acta*, 1996, **327**: 191 ~ 201.
- [7] Rebhun M, Smedt F D, Rwetabula J. *Water Res*, 1996, **30**: 2027 ~ 2038.
- [8] Skogerboe R K, Wilson S A. *Anal Chem*, 1981, **53**: 228 ~ 232.
- [9] Alberts J J, Schindler J E, Miller R W. *Science*, 1974, **184**: 895 ~ 896.
- [10] Curtis G P, Reinhard M. *Environ Sci Technol*, 1994, **28**: 2393 ~ 2401.
- [11] Rau J, Knackmuss H J, Stolz A. *Environ Sci Technol*, 2002, **36**: 1497 ~ 1504.
- [12] Bradley P M, Chapelle F H, Lovley D R. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**: 3102 ~ 3105.
- [13] Slepetiene A, Slepety J. *Geoderma*, 2005, **127** (3 ~ 4): 207 ~ 215.
- [14] Cervantes F J, van der Velde S, Lettinga G, *et al.* *Biodegradation*, 2000, **11**: 313 ~ 321.
- [15] Cervantes F J, Dijksma W, Duong-Dac T, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 2001, **67**: 4471 ~ 4478.
- [16] Coates J D, Bhupathiraju V K, Achenbach L A, *et al.* *Int J Syst Evol Microbiol*, 2001, **51**: 581 ~ 588.
- [17] Coates J D, Ellis D R, Roden E, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**: 1504 ~ 1509.
- [18] Lovley D R, Fraga J L, Blunt-Harris E L, *et al.* *Acta Hydrochim Hydrobiol*, 1998, **26**: 152 ~ 157.
- [19] Ben M, Schink B, Brune A, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**: 4507 ~ 4512.
- [20] Lovley D R, Kashefi K, Vargas M, *et al.* *Chem Geol*, 2000, **169**: 289 ~ 298.
- [21] Sun B, Griffin B M, Ayala-del-Rio H I, *et al.* *Science*, 2002, **298**: 1023 ~ 1025.
- [22] Lovley D R, Kashefi K, Vargas M, *et al.* *Chem Geol*, 2000, **169**: 289 ~ 298.
- [23] Kyzioł J, Twardowska I, Schmitt-Kopplin P. *Chemosphere*, 2005, Available online 28.
- [24] Field J A, Cervantes F J, van der Zee F P, *et al.* *Water Sci Technol*, 2000, **42**: 215 ~ 222.
- [25] Kudlich M, Keck A, Klein J, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 1997, **63**: 3691 ~ 3694.
- [26] Laszlo J A. *Environ Sci Technol*, 2000, **34**: 167 ~ 172.
- [27] Cervantes F J, van der Zee F P, Lettinga G, *et al.* *Water Sci Technol*, 2001, **44**: 123 ~ 128.
- [28] Van der Zee F P, Bouwman R H M, Strik D, *et al.* *Biotechnol Bioeng*, 2001, **75**: 691 ~ 701.
- [29] Cervantes F J, Vu-Thi-Thuy L, Lettinga G, *et al.* *Appl Microbiol Biotechnol*, 2004, **64**: 702 ~ 711.
- [30] Cervantes F J, Duong-Dac T, Ivanova A E, *et al.* *Biotechnol Lett*, 2003, **25**: 39 ~ 45.
- [31] Hörber C, Christensen N, Arvin E, *et al.* *Appl Microbiol Biotechnol*, 1999, **51**: 694 ~ 699.
- [32] Dianne K, Newman, Roberto K. *Nature*, 2000, **405**: 94 ~ 96.