

微生物法去除水中氯苯类化合物的研究进展

王玉芬^{1,2} 张肇铭^{2,3*} 胡筱敏² 贡俊¹

(1. 山西财经大学环境经济系 太原 030006)

(2. 东北大学资源环境与土木工程学院 沈阳 110004)

(3. 山西大学生命科学与技术学院 太原 030006)

摘要: 氯苯类化合物是水环境污染中的主要污染物之一, 本文主要介绍了目前国内外微生物法处理水中氯苯类化合物的最新研究成果, 包括氯苯类化合物的微生物好氧降解、厌氧降解、共代谢、生物活性炭以及生物处理工艺等, 并展望了该领域今后的研究方向。

关键词: 氯苯类化合物, 生物降解, 微生物代谢途径

The Research Progress of Treating Chlorobenzenes in Wastewater by Microorganisms

WANG Yu-Fen^{1,2} ZHANG Zhao-Ming^{2,3*} HU Xiao-Min² GONG Jun¹

(1. Department of Environmental Economics, Shanxi University of Finance and Economics, Taiyuan 03006)

(2. School of Resource Environment and Civil Engineering, Northeastern University, Shenyang 110004)

(3. College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 03006)

Abstract: Chlorobenzenes are main pollutants in wastewater. The new development of the microbial treatment techniques for chlorobenzenes-removal in the wastewater is discussed in this paper. It was included that microorganisms degrading chlorobenzenes, aerobic and anaerobic biodegradation, biological co-metabolism, and biological treatment processes. The developmental trend of biological degradation chlorobenzenes is also predicted.

Keywords: Chlorobenzenes, Biodegradation, Microbial degradation pathways

氯苯类化合物是水环境污染中的主要污染物之一, 美国、日本、中国等世界上很多国家都将氯苯类污染物列入了优先污染物名单, 如氯苯、1,2 二氯苯、1,3 二氯苯、1,4 二氯苯、1,2,4 三氯苯和六氯苯, 被美国EPA 列为 129 种优先污染物当中^[1]。我国也将氯苯、1,2 二氯苯、1,4 二氯苯、六氯苯列入 68 种优先污染物“黑名单”^[2]。我国制订的地表水卫生标准中, 氯苯、二氯苯、三氯苯、四氯苯的最高允许

浓度均为 0.02 mg/L, 六氯苯是 0.05 mg/L。地表水环境质量标准(GB3838-2002)中也增加了氯苯类项目, 规定了氯苯 0.3 mg/L、1,2 二氯苯 1.0 mg/L、1,4 二氯苯 0.3 mg/L、三氯苯 0.02 mg/L、四氯苯 0.02 mg/L、六氯苯 0.05 mg/L 的标准限值; 此外污水综合排放国家标准(GB8978-1996)中对氯苯类化合物的排放也作了具体的规定。由于氯苯类化合物通常被认为是人工合成的、环境外来化合物, 自然界的微生物

程也具有类似的降解途径^[12]。图2为4-氯苯乙酸、2-氯苯甲酸和1,2,4,5-四氯苯的脱氯途径。

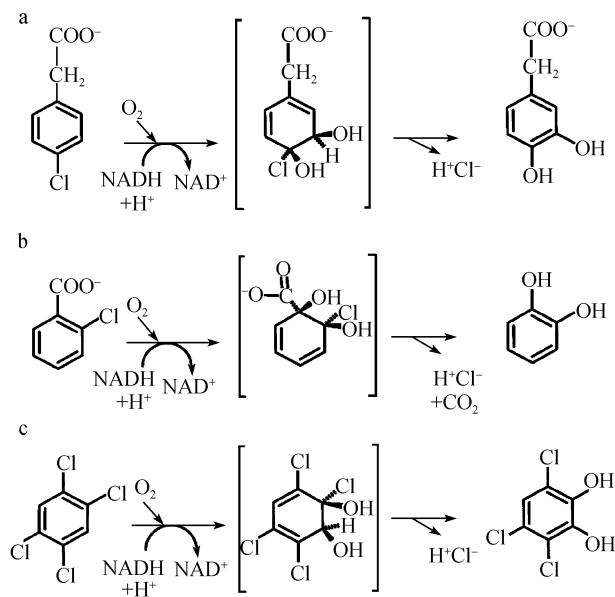


图2 4-氯苯乙酸、2-氯苯甲酸和1,2,4,5-四氯苯的脱氯途径

Fig. 2 Dioxygenolytic dechlorination of some chloroaromatic compounds

a: 4-Chlorophenylacetate 3,4-dioxygenase from *Pseudomonas* sp. CBS3; b: 2-halobenzoate 1,2-dioxygenases from *Pseudomonas* sp. 2CBS and *Pseudomonas aeruginosa* strain 142; c: Chlorobenzene dioxygenase from *Burkholderia* sp. PS12

微生物好氧降解氯苯类化合物的能力是随着苯环上氯取代基增多逐渐下降,如甘平等^[13]利用从某染料厂和某毛纺厂活性污泥中分离出的微生物,以1,4-二氯苯、1,2,4-三氯苯和六氯苯为唯一的碳源和能源,在好氧条件下进行降解实验。结果说明随着氯取代基增多,氯苯类化合物的好氧降解逐渐变得困难。这主要是由于氯原子的引入,引起苯环上电子云密度降低的缘故。

在微生物降解氯苯的研究过程中, Jechorek M^[14]和王战勇^[15]等人都发现,用混合菌种降解氯苯的效果优于纯种菌。分析其原因,可能是混合菌种之间协同代谢的结果。Seigneur C^[16]等人为人们提供了降解氯苯优势菌的培养方法,优势菌培养是在批序式培养器中进行,氯苯等基质间歇投入,代谢中间产物是己二烯二酸。

2 厌氧微生物降解氯苯

氯苯类化合物的厌氧降解主要是通过还原脱氯

机理完成。还原脱氯指的是化合物得到电子的同时去掉1个氯取代基并且释放出1个氯阴离子的过程,还原脱氯反应中需要2个电子和2个质子,生成C-H键和HCl。例如3-氯苯甲酸,它的还原脱氯过程如图3所示^[17]。

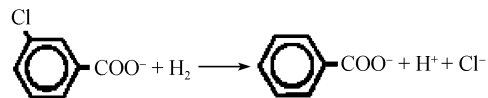


图3 3-氯苯甲酸的还原脱氯过程

Fig. 3 Reductive dechlorination of 3-chlorobenzoate

这种反应在厌氧细菌催化的反应中更为常见。这是因为其一厌氧菌有大量低氧化还原电位辅助因子和酶能够高效地催化还原性脱氯反应,其二是一些厌氧微生物经过进化具有了利用特定的有机氯苯类化合物作为最终电子受体的能力。在还原脱氯反应中氯苯类化合物是最终电子受体,电子的来源有两种可能:一种可能是利用外在的有机物,例如甲酸、乙酸、丙酮酸、氢气、一氧化碳、乳酸和丁酸等都可作为还原脱氯的电子供体^[18-20],第二种可能是在没有外在可利用的有机物存在时,微生物利用自身内源呼吸产生的电子,如果氯代芳香化合物含氯量少,则在微生物内源呼吸结束之前,能够将它们中的一部分完全脱氯,成为可被利用的基质,微生物通过它获取碳源和能源后,就能够生长繁殖和继续还原;如果该化合物含氯量多,微生物在将其一部分全部脱氯之前,可供内源呼吸的体内物质耗竭,微生物则会逐渐减少,直至全部死亡。当然,并不是有了电子供体就可传递给氯代芳香化合物,还要看环境中是否有其它电子受体,硫酸盐、硝酸盐、O₂、CO₂等电子受体的存在将造成与氯代芳香化合物竞争电子的局面^[17,21]。

厌氧还原脱氯是氯苯类化合物一种重要的脱氯机理,许多在好氧条件下难于降解的化合物在厌氧条件下变得容易降解,在好氧条件下不能降解的化合物变得能够降解。这是因为在好氧条件下,氯苯类化合物中氯原子强烈的吸电子性使芳环上电子云密度降低,氧化酶很难从苯环上获取电子,当氯原子的取代个数越多时,苯环上的电子云密度就越低,氧化就越困难,体现出的生化降解性就越低。相反,在厌氧或缺氧条件下,环境的氧化还原电位较低,电子云密度较低的苯环在酶作用下很容易受到还原

剂的亲核攻击,氯原子就很容易被亲核取代,显示出较好的厌氧生物降解性。因此在厌氧或缺氧条件下,氯苯类化合物的生物降解性是随氯原子的增多而提高的。Wu Qingzhong^[22]等用富集培养的多氯联苯(PCB)脱氯菌DF-1,进行降解多氯苯,处理结果表明,降解的难易顺序为六氯苯>五氯苯>1, 2, 3, 5-四氯苯>1, 3, 5-三氯苯。Susarla Sridhar等^[23]人分析了厌氧条件下,氯苯类化合物苯环上氯原子的去除顺序是:首先脱除在相邻的两个碳原子上都有氯原子的氯,然后脱除在相邻碳原子上只有一个碳原子有氯原子的氯,最后脱除相邻碳原子上都没有氯原子的氯。

3 氯苯类化合物的共代谢

微生物的共代谢是指微生物在降解某种基质获得能量支持自身生长的同时,还能代谢转化另一种非生长化合物的现象,不仅指生长基质存在时繁殖细胞对非生长基质的利用,而且也指生长基质不存在时休眠细胞对非生长基质的转化。在微生物的共代谢体系中,能够被微生物利用作为碳源和能源的化合物被称为生长基质,而不能单独支持微生物生长的化合物称为非生长基质。

在微生物共代谢反应中产生这种既能代谢转化生长基质又能代谢转化目标污染物的非专一性的酶,是微生物共代谢反应发生的关键,共代谢的作用机理实际上是非专一性关键酶的产生和作用的机理。涉及共代谢反应的酶往往能够作用于一系列结构上紧密相关的化合物,而不是严格的限定于某一种化合物,有些甚至能催化结构上并没有相似性的化合物,研究发现,共代谢的发生是由于生长基质诱导产生的酶和辅助因子缺乏专一性所致^[24,25]。共代谢中生长基质的选择是很重要的,许多化合物尽管都可能成为微生物的生长基质,但在诱导产生的酶方面可能不尽相同,一般来说,生长基质与非生长基质在分子骨架结构类似时,生长基质诱导的酶很可能非专一性地共代谢非生长基质^[26],John 等对氯代芳香化合物的研究充分证实了这一点^[27]。许多氯代芳香化合物不能被微生物直接作为生长基质,但可通过选择一种合适的生长基质来诱导产生它们所需的酶及产生足够的能量驱动它们的最初转化^[28],硫酸盐还原菌和铁还原菌等在进行有机氯化物还原脱

氯反应时就是通过共代谢的途径完成的^[29]。共代谢的存在为寻求氯代芳香化合物的生物降解技术提供了新的思路。

4 生物-活性炭法

生物-活性炭法是一种利用活性炭良好的吸附性和微生物的生物降解性对有机污染物进行处理的方法。Klecka GM^[34]等用粒状活性炭-流化床生物反应器对受氯苯污染的地下水进行处理,有机负荷率TOD在6 pounds/25(立方英尺×d)~10 pounds/25(立方英尺×d),氯苯去除率能达到99.99%;氯苯浓度为100 mg/L~170 mg/L的原水经处理后可降至0.02 mg/L以下。Tiehm A^[35]等设计了一种能长期稳定运行的序列厌氧-好氧生物粒状活性炭处理设备,这种设备能有效去除包括氯苯在内的有机氯化物,在厌氧阶段,添加蔗糖、乙醛作为附加基质,在好氧阶段,需加入过氧化氢和硝酸盐,在低生物活性期间,氯苯主要靠活性炭吸附去除。

5 微生物降解氯苯的工艺研究

人们采用的生物降解氯苯的处理工艺有许多种,如Dos Santos LMF^[30]等对含有氯苯的废水在完全混合生物反应器中进行批序式和连续式的降解研究,经检测主要的微生物是*Pseudomonas putida*,实验初期氯苯作为唯一的碳源和能源,结果氯苯被完全转化为无机物。Balcke GU^[31]等用一氯苯污染的水样研究微生物对一氯苯的降解特性,处理工艺按好氧-厌氧-好氧流程进行。经检测一氯苯的降解菌属主要是*Acidovorax*和*Pseudomonas*,一氯苯的降解是在好氧阶段,随着降解过程的进行,水的pH值下降。Linek V^[32]设计了一种适合去除氯苯的好氧填料塔,用亲水性与非亲水性两种填料作了比较,结果是亲水性填料处理效率比非亲水性填料高65%。

王妍春等^[33]在间歇条件下,针对未接触和接触过氯苯的颗粒污泥,研究了氯苯对它们产甲烷活性的抑制及恢复;在动态条件下,研究了EGSB反应器处理含氯苯有机废水的情况。结果表明,不同浓度的氯苯均会对未接触氯苯的颗粒污泥的活性产生抑制;而接触过氯苯的颗粒污泥具有一定适应能力,只有氯苯浓度为100 mg/L时才有较明显抑制。在动态运行过程中,进水氯苯浓度为10 mg/L~

50 mg/L, 前 65 天, 出水氯苯浓度均低于 7 mg/L, 反应器内颗粒污泥对氯苯有较强吸附作用, 生物降解作用不明显。

6 结论与展望

目前国内外在利用微生物处理水中氯苯类化合物的研究面已经取得显著成果, 本课题组在研究中也发现光合细菌具有降解氯苯类化合物的能力, 但是还有不少问题需要进一步深入研究。研究趋于以下几个方向: (1) 降解氯苯类化合物的优势工程菌的构建和应用。(2) 加强现有生物反应器的结构与性能研究, 并进行改良, 或者发明新型反应器与工艺, 使其更有利氯苯类化合物的生物降解。(3) 采用物理、化学法与微生物法的联合处理工艺等。总之, 如何降低处理成本, 提高处理效率, 开发一种经济、高效、无二次污染的处理氯苯类化合物的综合工艺, 是今后研究的主要方向。

参 考 文 献

- [1] USEPA. Ambient water quality criteria for chlorinated-benzenes. EPA 440/5-80/028. Department of Commerce National Technical Information Service VA 22151, 1980.
- [2] 汪光焘, 肖绍雍, 宋仁元, 等. 城市供水行业技术进展发展规划. 北京: 中国建筑工业出版社, 1993, pp.74-77.
- [3] 罗如新, 沈 标, 李顺鹏. 一氯苯的微生物厌氧降解及其降解性质粒的研究. 南京农业大学学报, 1997, 20(2): 63-66.
- [4] Fennell Donna E, Ivonne Nijenhuis, Susan F Wilson, *et al.* *Dehalococcoides ethenogenes* strain 195 reductively dechlorinates diverse chlorinated aromatic pollutants. *Environmental Science and Technology*, 2004, 38(7): 2075-2081.
- [5] Van der Meer. Evolution of a pathway for chlorobenzene metabolism leads to natural attenuation in contaminated groundwater. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(11): 4185-4193.
- [6] 甘 平, 朱婷婷, 樊耀波, 等. 氯苯类化合物的生物降解. 环境污染治理技术与设备, 2000, 1(4): 1-12.
- [7] Vogt Carsten. Microbial degradation of chlorobenzene under oxygen-limited conditions leads to accumulation of 3-chlorocatechol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, 23(2): 265-270.
- [8] Reineke WH, Knackmuss J. Microbial metabolism of haloaromatics: isolation and properties of a chlorobenzene-degrading bacterium. *Appl Environ Microbiol*, 1984, 47(2): 395-402.
- [9] Markus A, Krekel D, Lingens F. Purification and some properties of component A of the 4-chlorophenylacetate 3,4-dioxygenase from *Pseudomonas* species strain CBS3. *J Biol Chem*, 1986, 261: 12883-12888.
- [10] Schweizer D, Markus A, Seez M, *et al.* Purification and some properties of component B of the 4-chloro-phenylacetate 3,4-dioxygenase from *Pseudomonas* species strain CBS3. *J Biol Chem*, 1987, 262: 9340-9346.
- [11] Fetzner S, MuÈller R, Lingens F. Purification and some properties of 2-halobenzoate 1,2-dioxygenase, a two-component enzyme system from *Pseudomonas cepacia* 2CBS. *J Bacteriol*, 1992, 174: 279-290.
- [12] Beil S, Happe B, Timmis KN, *et al.* Genetic and biochemical characterization of the broad spectrum chlorobenzene dioxygenase from *Burkholderia* sp. strain PS12. *Eur J Biochem*, 1997, 247: 190-199.
- [13] 甘 平, 樊耀波, 王敏健, 等. 氯苯类化合物的生物降解. 环境科学, 2001, 22(3): 93-96.
- [14] Jechorek M. Cometabolic degradation of chlorinated aromatic compounds. *Journal of Biotechnology*, 2003, 102(1): 93-98.
- [15] 王战勇. 氯苯降解菌株的选育. 抚顺石油学院学报, 2002, 22(4): 20-22.
- [16] Seignez C. A procedure for production of adapted bacteria to degrade chlorinated aromatics. *Journal of Hazardous Materials*, 2001, 84(2-3): 265-277.
- [17] Christof Hollig, Gert Wohlfarth, Gabriele Diekert *et al.* Reductive dechlorination in the energy metabolism of anaerobic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 1999, 22: 383-398.
- [18] Dolfing J, Tiedje JM. Acetate as a source of reducing equivalents in the reductive dechlorination of 2,5-dichlorobenzoate. *Arch Microbiol*, 1991, 156: 356-361.
- [19] Dolfing J, Tiedje JM. Hydrogen cycling in three-tiered food web growing on the methanogenic conversion of 3-chlorobenzoate. *FEMS Microbiol Ecol*, 1986, 38: 293-298.
- [20] Perkins PS, Komisar SJ, Puhakka JA, *et al.* Effects of electron donors and inhibitors on reductive dechlorination of 2,4,6-trichlorophenol. *Wat Res*, 1994, 28(10): 2101-2107.
- [21] 瞿福平, 张晓健, 吕 昕, 等. 氯代芳香化合物的生物降解性研究进展. 环境科学, 1997, 18(2): 74-78.
- [22] Wu Q, Milliken CE, Meier GP, *et al.* Dechlorination of chlorobenzenes by a culture containing bacterium DF-1, a PCB dechlorinating microorganism. *Environ Sci Technol*, 2002, 36(15): 3290-3294.
- [23] Susarla S, Masunaga S, Yonezawa Y. Reductive dechlori-

- nation pathways of chloro organics under anaerobic conditions. *Water Science and Technology*, 1996, **34**(5): 489–494.
- [24] Deanna. JR. Biological fate of organic priority pollutants in the aquatic environment. *Water Research*, 1985, **20**(9): 1077–1085.
- [25] Craig SC. The kinetics of cometabolism. *Biotechnology and Bioengineering*, 1993, **41**(11): 1048–1056.
- [26] 李 萍, 刘俊新. 废水中难降解性有机污染物的共代谢降解. *环境污染治理技术与设备*, 2002, **3**(11): 43–46.
- [27] John M. Degradation of chlorinated phenol by a tolu-ene enriched microbial culture. *Wat Res*, 1994, **28**: 1897–1906.
- [28] Harish Pesari, Domenic G. Biodegradation of an inhibitory nongrowth substrate (nitroglycerin) in batch reactors. *Bio technol and Bioeng*, 1993, **41**(1): 79–87.
- [29] Fetzner S. Bacterial dehalogenation. *Appl Microbiol Bio-technol*, 1998, **50**: 633–657.
- [30] Dos Santos LMF. Biodegradation of bromobenzene, chlorobenzene, iodobenzene and fluorobenzene: Batch and continuous experiments. *Process safety and Environmental protection*, 1999, **77**(b1): 43–48.
- [31] Balcke GU. Chlorobenzene biodegradation under consecutive aerobic-anaerobic conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **49**(1): 109–120.
- [32] Linek V. Design of packed aeration towers to strip volatile organic contaminants from water. *Water Research*, 1998, **32**(4): 1264–1270.
- [33] 王妍春, 左剑恶, 肖晶华. EGSB 反应器处理含氯苯有机废水的实验研究. *环境科学*, 2003, **24**(2): 116–120.
- [34] Klecka GM. Field evaluation of a granular activated carbon fluid-bed bioreactor for treatment of chlorobenzene in groundwater. *Environmental Progress*, 1996, **15**(2): 93–107.
- [35] Tiehm A. Sequential anaerobic/aerobic biodegradation of chlorinated hydrocarbons in activated carbon barriers. *Water Science and Technology: Water Supply*, 2002, **2**(2): 51–58.

科技信息

不与人争粮，巧用农业废弃物生产生物能源

我国农业废弃物非常丰富如作物秸秆等，如何使其资源化和能源化呢？这是当前国际上一大重要课题。在我国，黑龙江省一家公司投资 4.8 亿元，形成年加工秸秆如玉米、甜高粱秸秆等 40 万吨，生产乙醇能力约 4 万吨；下一步要形成年加工秸秆 100 万吨，年产乙醇 10 万吨的生产能力，将于 2008 年年底完成这一计划。关键在于如何使秸秆等废弃物更细化适合特定微生物的“胃口”，能有效地将这些纤维素转化为糖类，从而更有利于燃料醇类产品的生产。其实，这方面的研发在英国有所突破，用稻草为原料转化为乙醇已取得成功，他们构建的“嗜热性工程菌”能于 190°F 将植物纤维(玉米芯等)转化为乙醇，正因为有如此的效果，已将这种“工程菌”菌剂化和商品化，以更好地服务农业废弃物治理，与此同时获得洁净生物能源。另一家公司构建的硬脂嗜热芽孢杆菌(*Bacillus stearothermophilus*)“工程菌”，同样对稻草、玉米芯等原料发酵生产乙醇，其效力优于酵母。

总之，农业废弃有机物实现资源化(能源化)是实现循环经济的一个重要环节，关键在于充分而有效地运用微生物的转化机制和现代生物技术构建“高效工程菌”，并逐步应用到实践中。

(柯为 供稿)