



复合菌对十溴联苯醚的降解特性研究

胡丁璠, 吴涓*, 范罗圣, 张静

安徽大学资源与环境工程学院, 安徽 合肥 230601

胡丁璠, 吴涓, 范罗圣, 张静. 复合菌对十溴联苯醚的降解特性研究[J]. 微生物学报, 2023, 63(11): 4344-4355.

HU Dingfan, WU Juan, FAN Luosheng, ZHANG Jing. Degradation characteristics of decabromodiphenyl ether by complex bacteria community[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(11): 4344-4355.

摘要: 【目的】利用 6 株十溴联苯醚(decabromodiphenyl ether, BDE-209)降解细菌, 探究复合菌对 BDE-209 的降解特性和降解路径, 为 BDE-209 污染环境的生物修复提供科学依据。【方法】利用高效液相色谱法测定 BDE-209 的浓度, 通过液相色谱-质谱联用仪分析鉴定 BDE-209 降解产物。【结果】短芽孢杆菌属(*Achromobacter* sp.) M1 和无色杆菌属(*Achromobacter* sp.) M2 的组合对 BDE-209 的降解效果最好, 在 30 °C、pH 值 7.0、接种量 15%的条件下, 120 h 后 10 mg/L BDE-209 的降解效率可达 87.7%。相比于单一菌株, 复合菌 M(1+2)可以更有效、更快地降解 BDE-209。在 0.5–10 mg/L 范围内, 复合菌 M(1+2)对 BDE-209 的降解率随着 BDE-209 初始浓度的增大而增大。通过液相色谱-质谱联用仪(liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS)检测到 11 种 BDE-209 微生物降解产物, 复合菌 M(1+2)通过脱溴、羟基化、去质子化、醚键断裂和开环等反应对 BDE-209 进行降解。【结论】复合菌 M(1+2)对 BDE-209 具有良好的降解能力, 研究结果为进一步提高微生物对 BDE-209 污染环境的生物修复能力提供了良好的微生物资源。

关键词: 十溴联苯醚; 复合菌; 降解率; 降解产物; 降解路径

资助项目: 国家自然科学基金(31970100)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31970100).

*Corresponding author. E-mail: wujuan@ustc.edu

Received: 2023-03-31; Accepted: 2023-08-01; Published online: 2023-08-08

Degradation characteristics of decabromodiphenyl ether by complex bacteria community

HU Dingfan, WU Juan*, FAN Luosheng, ZHANG Jing

School of Resources and Environmental Engineering, Anhui University, Hefei 230601, Anhui, China

Abstract: [Objective] To investigate the degradation characteristics and degradation paths of decabromodiphenyl ether (BDE-209) by complex bacteria communities based on six strains of BDE-209 degrading bacteria, so as to provide a scientific basis for the remediation of BDE-209-contaminated environments. **[Methods]** We determined the concentration of BDE-209 by high performance liquid chromatography (HPLC) and identified the degradation products by liquid chromatography-mass spectrometry. **[Results]** The combination of *Brevibacillus* sp. (M1) and *Achromobacter* sp. (M2) had the best degradation capacity for BDE-209. At 30 °C, pH 7.0, and an inoculation amount of 15%, the combination showed the degradation efficiency of 87.7% for 10 mg/L BDE-209 after 120 h. The complex bacteria community M(1+2) degraded BDE-209 more efficiently and quickly than the single strains. The degradation efficiency of BDE-209 by M(1+2) increased with the increase in the initial concentration of BDE-209 within the range of 0.5–10 mg/L. Liquid chromatograph-mass spectrometer (LC-MS) identified 11 degradation products of BDE-209. M(1+2) degraded BDE-209 by debromination, hydroxylation, deprotonation, ether bond breaking, and ring opening. **[Conclusion]** The complex bacteria community M(1+2) demonstrates strong degradation capacity for BDE-209. The findings enriched the microbial resources for improving the bioremediation of BDE-209-contaminated environments.

Keywords: decabromodiphenyl ether (BDE-209); complex bacteria community; degradation efficiency; degradation products; degradation path

十溴联苯醚(decabromodiphenyl ether, BDE-209)是一种性能优异的溴系阻燃剂,因其阻燃性能高、热稳定性好、价格低廉而被广泛应用于电子产品、电器、家具、塑料和纺织品中^[1],并已在多种环境介质以及生物体内检测到 BDE-209,甚至在人体的头发和血清中也有发现^[2]。很多毒理学研究表明, BDE-209 具有肝脏毒性、生殖毒性、神经毒性和免疫毒性等^[3-6],并能够引起线粒体功能障碍^[7]。由于具有很强的亲脂性和较长的半衰期, BDE-209 能够沿着食物链富集并表现出生物放大作用,因而极易在环境和生

物体内部积累,严重威胁生态安全及人类健康^[8-10]。因此,开展 BDE-209 降解技术及毒性的研究具有十分重要的意义。

目前,国内外关于 BDE-209 的研究主要集中在各种环境介质中残留含量的检测、对水生生态系统的作用机制和毒理等方面的研究^[11-14]。而有关 BDE-209 的去除技术虽然涉及了吸附、光降解、热处理、纳米零价铁还原、高级氧化、微生物降解和植物修复等多种方法^[15],然而,在这些方法中,微生物降解法因其成本低、降解彻底且环境友好而被广泛认为是一种有前景

的技术,也是目前较为理想的 BDE-209 原位修复方法之一。BDE-209 在厌氧和好氧条件下均能被微生物降解,而与厌氧降解^[16-17]相比,好氧降解速率更快^[18-20],且菌体内的各种加氧酶和与苯环裂解相关的酶能够在更短时间内实现 BDE-209 的开环甚至矿化。迄今为止,绝大多数有关微生物好氧降解 BDE-209 的研究都是基于单一菌株的生物强化修复。单一菌株接种到环境中由于不能很好地应对环境扰动,存在存活率低下的问题,达不到理想的生物量和降解效果,而复合菌则可以在一定程度上解决上述问题。然而,目前有关复合菌降解 BDE-209 的研究还十分有限^[21-23]。陈桂兰等^[22]从电子垃圾污染的河流沉积物中分离获得了菌群 Cf3,该菌群的优势菌属为柠檬酸杆菌属(*Citrobacter* sp.)和产碱杆菌属(*Alcaligenes* sp.),并发现 2.6 μmol BDE-209 在 120 d 后降解率达 80.03%。Yu 等^[23]利用从贵屿的土壤中获取的微生物菌群 GY1,在 7 d 内可降解 56.1%的 1 mg/L BDE-209。

本研究以实验室前期筛选、分离获得的 6 株 BDE-209 好氧降解细菌为试验菌种,进行不同菌种之间的组合以考察复合菌对 BDE-209 的降解特性并探讨其降解机制,以期对 BDE-209 污染环境生物修复提供更有用的微生物资源。

1 材料与方 法

1.1 试验菌株

实验室前期从某污水处理厂的活性污泥中分离纯化得到 6 株可以降解 BDE-209 的细菌,分别命名为 L1、L2、M1、M2、M3 和 M4,并由生工生物工程(上海)股份有限公司对其中 4 株菌(M1、M2、M3 和 M4)的 16S rRNA 全序列进行了测定, M1 被鉴定为短芽孢杆菌属(*Brevibacillus* sp.), M2 和 M3 均被鉴定为无色杆菌属(*Achromobacter* sp.), M4 被鉴定为假单胞

菌属(*Pseudomonas* sp.)。

1.2 培养基

Luria-Bertani (LB)培养基(g/L): 蛋白胨 10.00, 酵母浸出粉 5.00, NaCl 5.00, 调节 pH 值至 7.20。

无机盐培养基(g/L): KH_2PO_4 2.65, $\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 4.26, NaCl 5.00, NH_4Cl 5.00 和 1 mL/L 的微量元素溶液。其中微量元素溶液(g/L): $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.0, ZnCl_2 1.00, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.00, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1.00, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1.00, CaCl_2 1.00, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.20, 调节 pH 值至 7.00。

1.3 降解试验

1.3.1 菌悬液的制备

将菌株接种到 50 mL LB 培养基中,在 30 °C、150 r/min 条件下培养 24 h,于 8 000×g 条件下离心 4 min,弃去上清液,加入适量无机盐培养基洗涤菌体 3 次,收集菌体,用适量的无机盐培养基配置成 OD_{600} 为 0.5 或 1.0 的菌悬液,用于降解试验。

1.3.2 单一菌株对 BDE-209 的降解

将 BDE-209 溶于二甲基亚砜配置成 1 000 mg/L BDE-209 母液,取 200 μL 加入到已灭菌的无机盐培养基中,使降解体系中 BDE-209 的初始浓度为 10 mg/L。制备单一菌株的菌悬液,接种量为 10%或 15%,降解体系的总体积为 20 mL。以含相同浓度 BDE-209 但不接种的无机盐培养基为空白。降解条件为 30 °C、150 r/min,避光培养 120 h。取样测定 BDE-209 的残留浓度,计算其降解率,并以此为依据选出降解效果较好的菌株用于复合菌的降解试验。

1.3.3 复合菌对 BDE-209 的降解

将降解效果较好的几株细菌进行不同的组合,分别对 BDE-209 进行降解试验。单一菌株的菌悬液制备方法见 1.3.1,在各种组合方式中均将每种菌悬液以等体积混合,降解体系的总

接种量为 15%。每组试验中 BDE-209 的初始浓度均为 10 mg/L, 降解体系总体积均为 20 mL。以含相同浓度 BDE-209 但不接种的无机盐培养基为空白。在 30 °C、150 r/min 恒温振荡器中避光培养 120 h 后, 取样测定 BDE-209 的残留浓度并计算其降解率, 并以此为依据确定降解效果较好的菌株组合方式。

1.3.4 复合菌对不同初始浓度 BDE-209 的降解

以降解效果最好的复合菌为研究对象, 设置 BDE-209 的初始浓度分别为 0.5、1、2、5 和 10 mg/L, 接种量均为 15%, 总体积均为 20 mL。以含相同浓度 BDE-209 但不接种的无机盐培养基为空白, 于 30 °C、150 r/min 恒温振荡器中避光培养 120 h 后, 取样测定 BDE-209 的残留浓度并计算其降解率。

1.4 扫描电镜观察

将菌体用 2.5%戊二醛固定, 经乙醇脱水、冷冻干燥及表面喷金后, 采用冷场发射扫描电镜 (cold field emission scanning electron microscope, FESEM) 观察降解前后细胞的表面形态。

1.5 分析方法

1.5.1 BDE-209 浓度的测定

将降解一定时间后的 20 mL 培养液用等体积的二氯甲烷和正己烷混合液在 125 mL 分液漏斗内萃取两次, 合并有机相并用无水硫酸钠脱水后收集于鸡心瓶内, 在 40 °C、120 r/min 条件下旋转蒸发浓缩至 1 mL, 用四氢呋喃润洗内壁并转移至 10 mL 容量瓶中定容, 经 0.22 μm 滤膜过滤后取 1 mL 保存至棕色进样瓶内待测。

采用高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) 测定 BDE-209 的浓度, 测定条件为: 色谱柱为安捷伦 C18 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μm), 柱温为 30 °C, 检测波长为 240 nm, 流速为 1 mL/min, 进样量为 20 μL, 流动相为乙腈:水=98:2 (体积比)。

1.5.2 BDE-209 降解产物的检测

采用液相色谱 (Thermo SCIENTIFIC)-质谱 (LTQ ORBITRAP XL) 联用仪 (liquid chromatograph-mass spectrometer, LC-MS) 检测复合菌 M(1+2) 降解 BDE-209 的中间代谢产物, 色谱柱为 Hypersil Gold C18 柱 (150 mm×2.1 mm, 3 μm), 流速为 0.2 mL/min, 流动相组成为 A (含有 0.3% 甲酸的水)、B (乙腈) 混合相。梯度洗脱程序为: 10% B (0–4 min), 10%–60% B (4–4.5 min, 保持 3 min), 60%–80% B (7.5–8 min, 保持 3 min), 80%–90% B (11–11.5 min, 保持 3.5 min), 90%–100% B (15–15.5 min, 保持 9.5 min), 100%–10% B (25–25.5 min, 保持 9.5 min)。在负离子模式下使用电喷雾离子源 (electro-spray ionization, ESI) 进行质谱分析, 扫描范围为 m/z 50–1 000 amu。其他参数设置如下: 离子喷雾浮动电压, -4 500 V; 源温, 550 °C; 离子源气体 I, 55 psi; 气体 II, 55 psi; 气帘气, 35 psi; 去簇电压, -80 V; 碰撞能量, -10 eV。

1.6 数据分析

所有试验均设置 3 个平行, 取其平均值作为最终结果。使用 OriginPro 进行制图, 采用 SPSS Statistics 26.0 分析各试验组间的统计学差异, $P < 0.05$ 则被认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 BDE-209 降解效果较好菌株的确定

为从 6 株细菌中挑选出对 BDE-209 降解效果较好的细菌进行后续的复合菌降解试验, 将菌株 L1、L2、M1、M2、M3 和 M4 分别在不同接种量条件下对 BDE-209 进行微生物降解, 试验结果如图 1 所示。从图 1 中可以看出, 在菌体密度为 OD_{600} 为 1.0 时, 10% 和 15% 接种量条件下除了菌株 M3 和 M4, BDE-20 微生物降解的效果比较接近。而在接种量同为 10% 的条

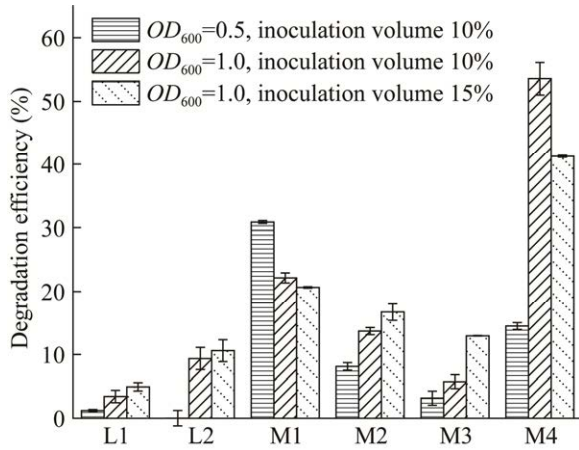


图 1 不同条件下单一菌株对 BDE-209 的降解
Figure 1 Degradation of BDE-209 by single bacterium under different conditions. The standard deviation in figure was the square root of the variance.

件下,除了菌株 M1 以外,其他菌株均表现出 BDE-209 降解率随菌体密度的增大而增大。从图 1 中还可以发现,尽管菌体密度和接种量会影响 BDE-209 的降解效果,但在相同条件下菌株 M1、M2、M3 和 M4 的降解率基本上均高于菌株 L1 或 L2。因此在后续的复合菌降解试验中将选择菌株 M1、M2、M3 和 M4 进行不同的

组合,并确定菌悬液密度 OD_{600} 取 1.0 及接种量采用 15%。

2.2 不同组合方式的复合菌对 BDE-209 的降解

以菌株 M1、M2、M3 和 M4 为试验菌株,分别按照 2 种菌株、3 种菌株和 4 种菌株组合的方式,将单一菌株的菌悬液按等体积混合,分别对 BDE-209 进行微生物降解,其降解效果如图 2 所示。与图 1 中单一菌株的降解效果相比,除了复合菌 M(1+4)和 M(2+3)以外,其他复合菌对 BDE-209 的降解均表现出更高的降解率。其中,复合菌 M(1+2)对 BDE-209 的微生物降解效果最好,降解率达 81.3%,而菌株 M1 和 M2 单独降解 BDE-209 时降解率仅分别为 22.7%和 17.6%。同时还发现,在 3 种菌株和 4 种菌株组合的情况下也都产生了较好的降解效果,降解率最低也可达 62.4%。本研究选取了降解率最高的复合菌 M(1+2)做进一步的研究。

图 3 为复合菌 M(1+2)降解 BDE-209 前、后的超高分辨扫描电子显微镜图像。图 3A 为降解前复合菌 M(1+2)的扫描电镜图,此时细胞表

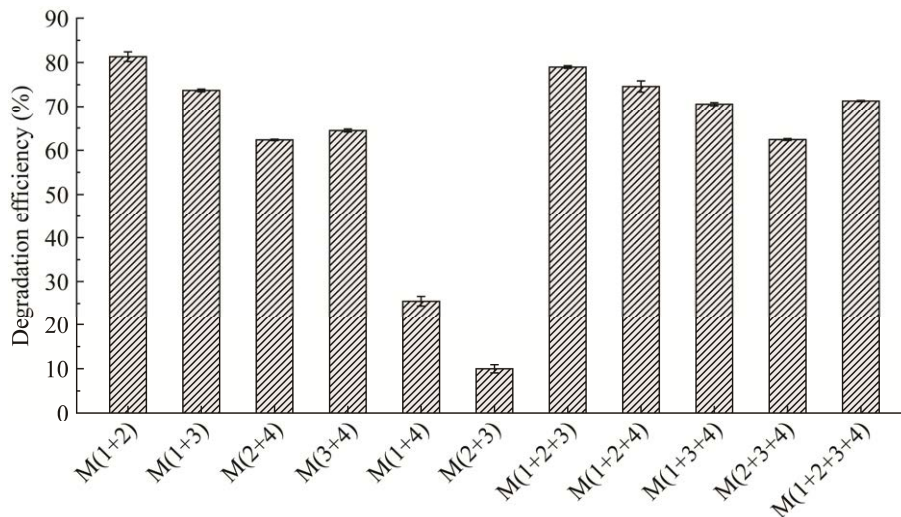


图 2 不同组合方式的复合菌对 BDE-209 的降解

Figure 2 Degradation of BDE-209 by complex bacteria communities under different combination mode. The standard deviation in figure was the square root of the variance.

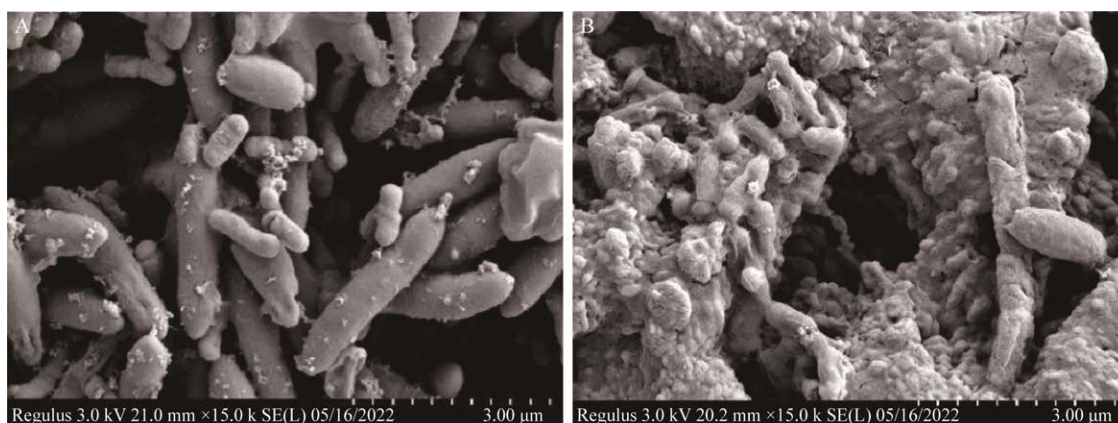


图3 降解前(A)和降解5 d后(B)的复合菌 M(1+2)的超高分辨扫描电子显微镜图像

Figure 3 Ultrahigh resolution scanning electron microscopy image of complex bacteria community M(1+2) before degradation (A) and after degradation for 5 d (B).

面只有少量的胞外聚合物。图3B为经过5 d降解后的复合菌 M(1+2)的扫描电镜图,此时细胞表面的胞外聚合物明显增多。由此可见,这两种菌的共生情况良好,而这是协同降解 BDE-209所必须具备的前提。

2.3 复合菌降解 BDE-209 的时间进程

单一菌株 M1、M2 和复合菌 M(1+2)对 BDE-209 降解率随时间的变化如图4所示。从图4A可以看出,单一菌株 M1 在6 h时的降解率仅为6.1%,在6–12 h这段时间内降解率上升较快,12 h时降解率达到20.9%,随后降解率的变化并不显著,在120 h时降解率为22.7%。图4B是单一菌株 M2 的降解时间进程,其降解率的变化规律与单一菌株 M1 基本相同,6 h时的降解率仅为7.2%,120 h时的降解率为17.6%,降解率上升较快的时间范围也是在6–12 h内。然而,图4C表明,复合菌 M(1+2)对 BDE-209 的降解在6 h时降解率即达64.1%,在12–72 h之间降解率缓慢增大,72 h后降解基本停止,120 h时的降解率达87.7%。上述结果表明,复合菌和单一菌株对 BDE-209 的降解有着显著的不同,无论是在降解率还是在降解速率方面,前者均表现出更大的优势。此外,微生物的生

长情况表明,单一菌株 M1、M2 及复合菌 M(1+2)在120 h的降解时间内都能够在以 BDE-209 为唯一碳源的环境中保持相对稳定地生长,同时也发现微生物的生长和 BDE-209 的降解之间表现出了正相关性。

2.4 BDE-209 初始浓度对复合菌 M(1+2) 降解的影响

将 BDE-209 初始浓度分别设为0.5、1.0、2.0、5.0 和 10 mg/L,以考察初始浓度对复合菌 M(1+2)降解 BDE-209 能力的影响。如图5所示。在 BDE-209 初始浓度为0.5–10 mg/L 的范围内,复合菌 M(1+2)对 BDE-209 的降解率随着 BDE-209 初始浓度的增大而增大,在 BDE-209 初始浓度为0.5 mg/L 时降解率最低,为37.3%,在 BDE-209 初始浓度为10 mg/L 时降解率达最高为83.4%。这表明复合菌 M(1+2)对较高浓度的 BDE-209 具有较好的耐受能力。

2.5 BDE-209 降解产物分析及路径推导

在复合菌 M(1+2)降解 BDE-209 的过程中,通过 LC-MS 共检测到了11种中间产物,如表1所示。根据已检测到的产物,结合相关文献[24–27],提出了复合菌 M(1+2)降解 BDE-209 的可能途径。如图6所示。BDE-209 首先通过脱

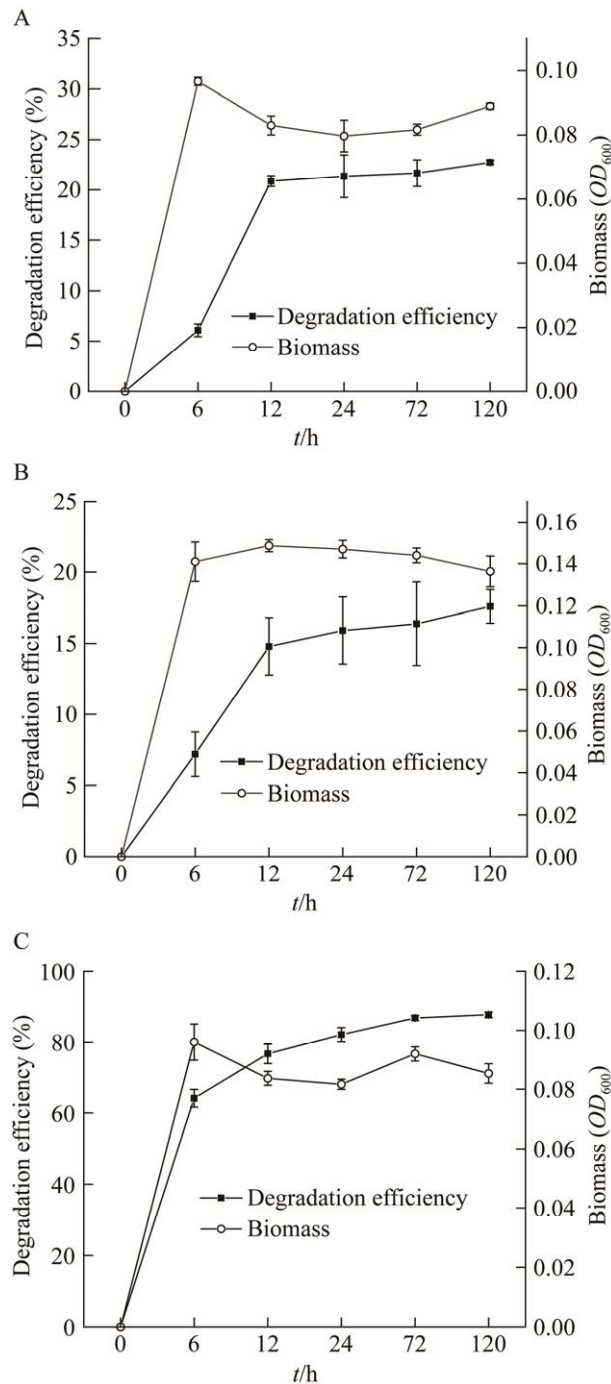


图 4 单一菌株 M1 (A)、M2 (B)和复合菌 M(1+2) (C)降解率随时间的变化

Figure 4 The degradation efficiency change of BDE-209 by M1 (A), M2 (B) and complex bacteria community M(1+2) (C) over time. The standard deviation in figure was the square root of the variance.

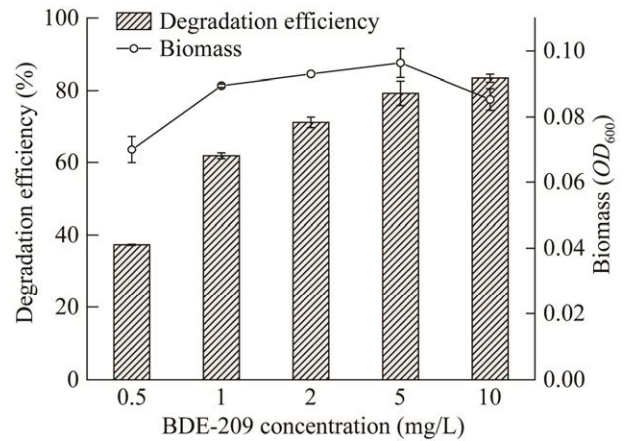


图 5 复合菌 M(1+2)对不同初始浓度 BDE-209 的降解

Figure 5 Degradation of BDE-209 with different initial concentrations by complex bacteria community M(1+2). The standard deviation in figure was the square root of the variance.

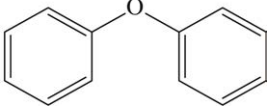
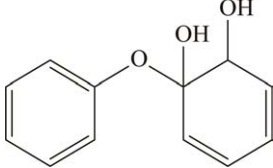
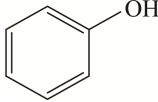
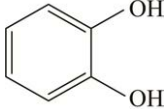
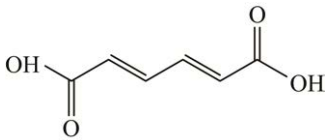
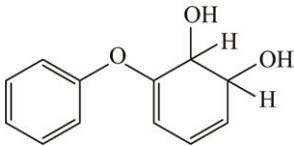
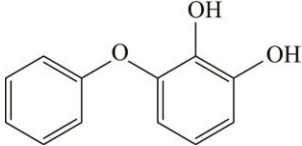
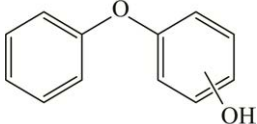
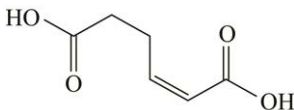
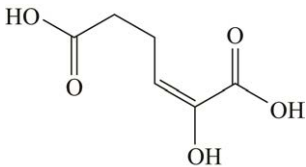
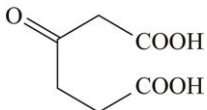
溴反应生成产物联苯醚(a), 随后出现了两种不同的降解路径。其中一条路径为, 联苯醚(a)依次经过羟基化反应、醚键断裂和开环反应生成产物反式-己二烯二酸(e); 另一条路径较为复杂, 联苯醚(a)首先通过羟基化反应形成 2,3-二氢二醇联苯醚(f), 然后经过去质子反应形成 2,3-二羟基联苯醚(g)和单羟基联苯醚(h), 随后产物(g)和(h)分别经过醚键断裂和开环等一系列反应, 最终生成产物(i)、(c)、(j)和(k)。所形成的开环产物有可能进入三羧酸循环继续分解代谢。

3 讨论

目前, 有关 BDE-209 微生物降解的研究大多是基于单一菌株的生物强化修复, 然而单一菌株对污染物的降解效果有时并不十分理想, 且在自然环境中往往不能很好地应对环境干扰, 以致存活率低下, 从而限制了微生物在 BDE-209 污染环境降解功能的发挥^[28]。因此,

表 1 复合菌 M(1+2)降解 BDE-209 的降解产物

Table 1 Degradation products of BDE-209 biodegradation by complex bacteria community M(1+2)

Products	Name	Chemical structure
a	Diphenyl ether	
b	1-phenoxy-3,5-diene-1,2-diol	
c	Phenol	
d	Pyrocatechol	
e	(2E,4E)-hexa-2,4-dienedioic acid	
f	2,3-dihydrodiol diphenyl ether	
g	2,3-dihydroxydiphenyl ether	
h	Monohydroxydiphenyl ether	
i	(Z)-hex-2-enedioic acid	
j	(E)-2-hydroxyhex-2-enedioic acid	
k	3-oxohexanedioic acid	

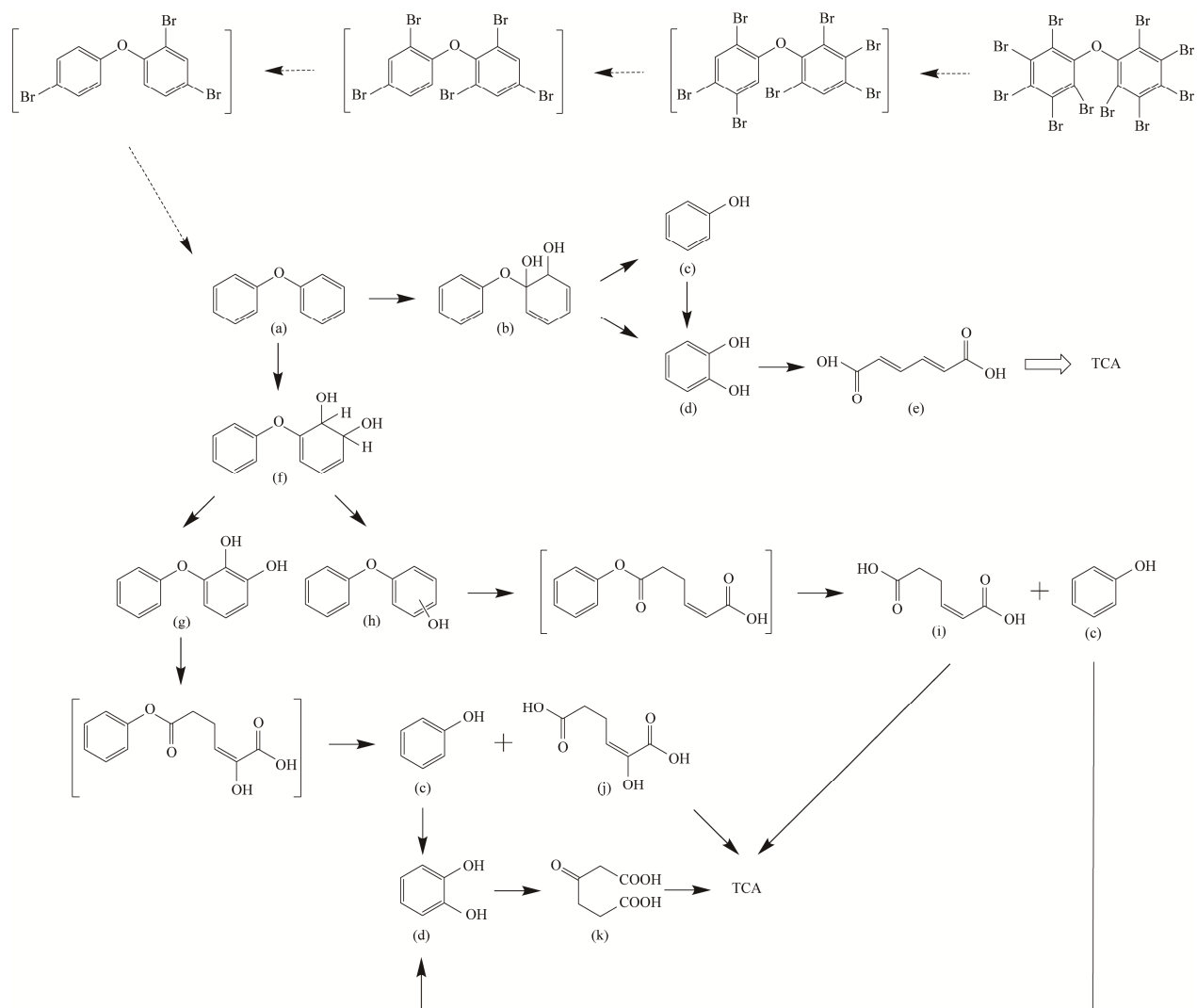


图 6 BDE-209 的微生物降解路径

Figure 6 Proposed pathway for the biodegradation of BDE-209 by complex bacteria community M(1+2).

本研究从 6 株细菌中选取了 4 株对 BDE-209 具有较好降解效果的细菌，通过不同的组合方式探索了复合菌对 BDE-209 的降解特性。

在所考察的 11 种菌株组合方式中，复合菌 M(1+2)的降解效果最好，其次是 M(1+2+3)，这一结果表明 *Brevibacillus* sp. (M1)和 *Achromobacter* sp. (M2、M3)之间存在着良好的协同降解作用。同样，*Achromobacter* sp. (M2、M3)和 *Pseudomonas* sp. (M4)之间也存在着较好的协同降解作用。分析降解效果发现，降解 120 h 时复合菌 M(1+2)

对 BDE-209 的降解率为 87.7%，比单一菌株 M1 和 M2 对 BDE-209 的降解率分别增大 65.0% 和 70.1%，复合菌的降解优势十分显著。这与 Liu 等^[29]的研究结果具有相似之处，他们在研究不同细菌群落结构对阿特拉津降解效率的影响时发现，节杆菌属(*Arthrobacter* sp.)和嗜甲基菌属(*Methylophilus* sp.)的组合在接种 48 h 后对阿特拉津的降解效率明显高于单一菌株 *Arthrobacter*。然而试验中也观察到了与之相反的情况，即 *Brevibacillus* sp. (M1)与 *Pseudomonas* sp.

(M4)之间以及两种 *Achromobacter* sp. (M2、M3) 之间均表现为拮抗作用。

本研究表明, 菌株 M1 和 M2 在共生的情况下不仅大大提高了 BDE-209 的降解率, 而且降解速率也得到大幅度的提升。在温度为 30 °C、pH 值为 7.0、投菌量为 15% 的条件下, 复合菌 M(1+2)对 BDE-209 的降解率在 120 h 时可达 87.7%, 但在 6 h 时降解率已达 64.1%, 这意味着在初始 6 h 内即完成了 BDE-209 降解总量的 73.0%。然而, 单一菌株 M1、M2 对 BDE-209 的降解速率则明显低于复合菌 M(1+2)。Paliya 等^[18]研究了菌株 BDE-S1 对 BDE-209 的降解特性, 结果发现第 4 天时 BDE-209 的降解率仅为 33%, 第 8 天为 65%。同样, Liu 等^[30]也发现绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)对 BDE-209 的明显降解发生在第 3–5 天。由此可见, 与单一菌株相比, 本研究中的复合菌 M(1+2)对 BDE-209 的降解具有显著优势。

污染物浓度是影响污染物降解效果的重要因素之一。试验中发现, 在 0.5–10 mg/L BDE-209 初始浓度范围内, 复合菌 M(1+2)对 BDE-209 的降解率随着 BDE-209 初始浓度的增大而逐渐上升, 这可能是由于当 BDE-209 初始浓度很低时不能诱导菌体产生足够的降解酶, 从而导致 BDE-209 降解率偏低。然而, 随着初始浓度逐渐增大到 10 mg/L, 降解率的增大幅度逐渐变小, 因为过高浓度的 BDE-209 可能会对环境中的微生物产生一定的毒害, 从而对菌体生长和降解酶分泌均有抑制作用。因此污染物的适宜浓度也是决定降解效果的重要因素之一。显然, 复合菌 M(1+2)对较高浓度的 BDE-209 具有较好的耐受力。Liu 等^[31]研究了 *P. aeruginosa* 对 BDE-209 的降解, 发现在 BDE-209 初始浓度在 5–20 mg/L 范围内时, 降解率也是随着初始浓度

的增大而增大的。

在复合菌 M(1+2)降解 BDE-209 的过程中, 根据脱溴产物联苯醚的出现可以推测其降解途径开始于还原脱溴反应, 然后再进一步降解。据报道, 细胞色素 P450 酶会介导有机污染物代谢的初始氧化过程, 发生羟基化反应, 随后生成的羟基化产物在某种脱氢酶的作用下发生去质子化反应^[20]。本研究中检测到了苯酚和一些开环产物, 这表明羟基化、去质子化、醚键断裂和开环等反应是复合菌 M(1+2)降解 BDE-209 的主要机制, 同时也表明利用复合菌 M(1+2)可以实现 BDE-209 的完全还原脱溴及脱溴产物进一步的氧化分解。而检测到的 4 种开环产物有可能通过三羧酸循环进一步矿化成 CO₂ 和 H₂O。Zhao 等^[32]发现多溴联苯醚的好氧降解途径包括脱溴、芳香环裂解和羟基化。Guo 等^[24]发现 BDE-209 在生物质上的降解反应主要为脱溴、羟基化、环化和 C–O 键断裂反应。Wang 等^[33]概述了短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*) LY2 生物降解 BDE-209 的 3 种可能的代谢途径, 即脱溴化、羟基化和二苯醚键断裂。由此可见, 本研究中的复合菌 M(1+2)对 BDE-209 的降解机理与单一细菌的降解机理基本相似, 采用复合菌降解 BDE-209 是可行的。

4 结论

本研究对前期从活性污泥中分离出的 6 株 BDE-209 降解细菌进行试验, 发现 *Brevibacillus* sp. (M1)和 *Pseudomonas* sp. (M2)的组合对 BDE-209 的降解效果最好。在 30 °C、pH 值 7.0、接种量 15%以及菌悬液等体积混合的条件下, 对 10 mg/L BDE-209 的降解率在降解 120 h 时可达 87.7%, 其降解率和降解速率均优于单一菌株。根据 LC-MS 检测到的 11 种中间代谢产

物,推测出复合菌 M(1+2)是通过脱溴、羟基化、去质子化、醚键断裂和开环等反应对 BDE-209 进行微生物降解。本研究结果表明,探索复合菌在污染环境生物修复中的应用具有重要意义。

参考文献

- [1] SUGENG EJ, de COCK M, LEONDARDS PEG, de BOR MV. Electronics, interior decoration and cleaning patterns affect flame retardant levels in the dust from Dutch residences[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 645: 1144-1152.
- [2] JIANG YF, YUAN LM, LIN QH, MA ST, YU YX. Polybrominated diphenyl ethers in the environment and human external and internal exposure in China: a review[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 696: 133902.
- [3] CHE SY, CHEN SN, LI SQ, RUAN Z. Decabromodiphenyl ether initiates mitochondria-dependent apoptosis by disrupting calcium homeostasis in mice livers[J]. *Chemosphere*, 2022, 291: 132767.
- [4] ZHAI JX, GENG WF, ZHANG TF, WEI Y, HE H, CHEN WJ. BDE-209 induce spermatocytes arrest at early-pachytene stage during meiotic prophase I in mice[J]. *Toxicology*, 2022, 467: 153061.
- [5] YANG YX, HE QY, ZHANG ZY, QI CL, DING LN, YUAN TT, CHEN YH, LI ZH. Insulin-like growth factor reduced against decabromodiphenyl ether-209-induced neurodevelopmental toxicity *in vivo* and *in vitro*[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2021, 40(12S): S475-S486.
- [6] CHENG L, RAO QX, ZHANG QC, SONG W, GUAN SH, JIANG ZL, WU T, ZHAO ZH, SONG WG. The immunotoxicity of decabromodiphenyl ether (BDE-209) on broiler chicks by transcriptome profiling analysis[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 232: 113284.
- [7] CHEN T, WANG XT, JIA JX, WANG DJ, GAO YX, YANG X, ZHANG SX, NIU PY, SHI ZX. Reduced mitochondrial DNA copy number in occupational workers from brominated flame retardants manufacturing plants[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 809: 151086.
- [8] LI YA, ZHANG J, JI CL, XIAO P, TANG JH. Habitat-dependent trophic transfer of legacy and emerging halogenated flame retardants in estuarine and coastal food webs near a source region[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 300: 118987.
- [9] FALANDYSZ J, FERNANDES AR, LIU GR. Legacy and emerging flame retardants: A global outlook[J]. *Chemosphere*, 2022, 291(Pt 1): 132877.
- [10] TAO L, ZHANG Y, WU JP, WU SK, LIU Y, ZENG YH, LUO XJ, MAI BX. Biomagnification of PBDEs and alternative brominated flame retardants in a predatory fish: using fatty acid signature as a primer[J]. *Environment International*, 2019, 127: 226-232.
- [11] JIN MT, YE NX, LU ZH, ZHANG SF, ZHOU SS, HE JQ. Pollution characteristics and source identification of PBDEs in public transport microenvironments[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 820: 153159.
- [12] AN Q, AAMIR M, MAO SD, LIU YX, WANG YT, ZHENG P, LIU WP. Current pollution status, spatial features, and health risks of legacy and emerging halogenated flame retardants in agricultural soils across China[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 803: 150043.
- [13] ZHU YP, JING L, LI XY, ZHOU GQ, ZHANG Y, SANG YJ, GAO LQ, LIU ST, SHI ZX, SUN ZW. Decabromodiphenyl ether-induced PRKACA hypermethylation contributed to glycolipid metabolism disorder via regulating PKA/AMPK pathway in rat and L-02 cells[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2022, 90: 103808.
- [14] HOU R, HUANG QY, PAN YF, LIN L, LIU S, LI HX, XU XR. Novel brominated flame retardants (NBFRs) in a tropical marine food web from the South China Sea: the influence of hydrophobicity and biotransformation on structure-related trophodynamics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56(5): 3147-3158.
- [15] YAO B, LUO ZR, ZHI D, HOU DM, LUO L, DU SZ, ZHOU YY. Current progress in degradation and removal methods of polybrominated diphenyl ethers from water and soil: a review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403: 123674.
- [16] ZHOU QX, GE CH, AHMAD HA, NI SQ, LIU XL, BU CN, WANG FL, GAO BY. Production of more toxic hexa-brominated diphenyl ether from rapid biotransformation of decabromodiphenyl ether in anaerobic granular sludge[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2018, 134: 7-15.
- [17] DEMIRTEPE H, IMAMOGLU I. Degradation of decabromodiphenyl ether (BDE-209) in microcosms mimicking sediment environment subjected to comparative bioremediation strategies[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 233: 120-130.

- [18] PALIYA S, MANDPE A, KUMAR MS, KUMAR S. Aerobic degradation of decabrominated diphenyl ether through a novel bacterium isolated from municipal waste dumping site: identification, degradation and metabolic pathway[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 333: 125208.
- [19] TANG SY, YIN H, CHEN SN, PENG H, CHANG JJ, LIU ZH, DANG Z. Aerobic degradation of BDE-209 by *Enterococcus casseliflavus*: isolation, identification and cell changes during degradation process[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, 308: 335-342.
- [20] YU YY, YIN H, PENG H, LU GN, DANG Z. Proteomic mechanism of decabromodiphenyl ether (BDE-209) biodegradation by *Microbacterium* Y2 and its potential in remediation of BDE-209 contaminated water-sediment system[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 387: 121708.
- [21] 徐希辉, 刘晓伟, 蒋建东. 微生物菌群强化修复有机污染物污染环境: 现状与挑战[J]. *南京农业大学学报*, 2020, 43(1): 10-17.
XU XH, LIU XW, JIANG JD. Enhanced bioremediation of organic pollutant contaminated environment by microbial consortia: current situations and challenges[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2020, 43(1): 10-17 (in Chinese).
- [22] 陈桂兰, 陈杏娟, 郭俊, 孙国萍, 陆祖军, 麦碧娴, 许玫英. 十溴联苯醚降解菌群的降解特性与组成分析[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(3): 425-433.
CHEN GL, CHEN XJ, GUO J, SUN GP, LU ZJ, MAI BX, XU MY. Degradation characteristics and composition analysis of decabromodiphenyl ether degrading bacteria[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(3): 425-433 (in Chinese).
- [23] YU YY, YIN H, HUANG WT, PENG H, LU GN, DANG Z. Cellular changes of microbial consortium GY1 during decabromodiphenyl ether (BDE-209) biodegradation and identification of strains responsible for BDE-209 degradation in GY1[J]. *Chemosphere*, 2020, 249: 126205.
- [24] GUO RX, QI YM, LI BB, WU NN, TIAN J, WANG ZY, QU RJ. The environmental fate of biomass associated polybrominated diphenyl ethers[J]. *Chemosphere*, 2022, 299: 134397.
- [25] WANG S, BAI NL, WANG B, FENG Z, HUTCHINS WC, YANG CH, ZHAO YH. Characterization of the molecular degradation mechanism of diphenyl ethers by *Cupriavidus* sp. WS[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(21): 16914-16926.
- [26] ROBROCK KR, MOHN WW, ELTIS LD, ALVAREZ-COHEN L. Biphenyl and ethylbenzene dioxygenases of *Rhodococcus jostii* RHA1 transform PBDEs[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2011, 108(2): 313-321.
- [27] CHOU HL, HWA MY, LEE YC, CHANG YJ, CHANG YT. Microbial degradation of decabromodiphenyl ether (DBDE) in soil slurry microcosms[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(6): 5255-5267.
- [28] MROZIK A, PIOTROWSKA-SEGET Z. Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds[J]. *Microbiological Research*, 2010, 165(5): 363-375.
- [29] LIU XW, CHEN K, CHUANG SC, XU XH, JIANG JD. Shift in bacterial community structure drives different atrazine-degrading efficiencies[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 88.
- [30] LIU Y, LIU Z, GONG AJ, QIU LN, ZHANG WW, LI JR, LI FK, BAI YZ, LI JD, GAO G. Cell changes and differential proteomic analysis during biodegradation of decabromodiphenyl ether (BDE-209) by *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *RSC Advances*, 2019, 9(43): 25048-25055.
- [31] LIU Y, GONG AJ, QIU LN, LI JR, LI FK. Biodegradation of decabromodiphenyl ether (BDE-209) by crude enzyme extract from *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2015, 12(9): 11829-11847.
- [32] ZHAO CH, YAN M, ZHONG H, LIU ZF, SHI LS, CHEN M, ZENG GM, SONG B, SHAO BB, FENG HP. Biodegradation of polybrominated diphenyl ethers and strategies for acceleration: a review[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2018, 129: 23-32.
- [33] WANG LQ, LI Y, ZHANG WL, NIU LH, DU J, CAI W, WANG J. Isolation and characterization of two novel psychrotrophic decabromodiphenyl ether-degrading bacteria from river sediments[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(11): 10371-10381.