

叶金明,罗雅嫣,汤蕙齐,等.微塑料介导下苯并[a]芘的吸附和微生物降解途径 [J]. 中国环境科学, 2023,43(12):6712-6722.

Ye J M, Luo Y Y, Tang H Q, et al. Adsorption and biodegradation pathway of benzo[a]pyrene mediated by microplastics [J]. China Environmental Science, 2023,43(12):6712-6722.

微塑料介导下苯并[a]芘的吸附和微生物降解途径

叶金明^{1,2}, 罗雅嫣^{1,2}, 汤蕙齐^{1,2}, 欧阳浩民^{1,2}, 解启来¹, 陈烁娜^{1,2*} (1.华南农业大学资源环境学院, 广东 广州 510642; 2.广东省农业农村污染治理与环境安全重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要: 为研究微塑料对水体中多环芳烃吸附和微生物降解等环境行为的影响,选取聚丙烯微塑料(MP-PP)和苯并[a]芘(BaP)为研究对象,探讨 MP-PP 对 BaP 的吸附特性和机制,及 MP-PP 介导对新鞘氨醇单胞菌(*Novosphingobium tardaugens*)降解 BaP 的能力和途径的影响.同时,利用 X 射线光电子能谱和傅里叶转换红外光谱对 MP-PP、BaP 和菌体间相互作用的微观特性进行探究.结果表明,MP-PP 对 BaP 的吸附遵循准二级动力学模型和单分子层覆盖,升温有利于吸附;MP-PP 共存可提高 *Novosphingobium tardaugens* 对 BaP 的去除率,但是并不影响菌体对 BaP 的降解途径;MP-PP、BaP 和菌体间的相互作用主要发生在表面,微塑料作为载体;菌体虽不能降解 MP-PP,但能附着在其表面生长,有利于菌体的生长繁殖,进而提高降解效果.

关键词: 微塑料; 苯并[a]芘; 吸附; 微生物降解; 微观特性; 降解途径

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2023)12-6712-11

Adsorption and biodegradation pathway of benzo[a]pyrene mediated by microplastics. YE Jin-ming^{1,2}, LUO Ya-yan^{1,2}, TANG Hui-qi^{1,2}, OUYANG Hao-ming^{1,2}, XIE Qi-lai¹, CHEN Shuo-na^{1,2*} (1.College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2.Guangdong Provincial Key Laboratory of Agricultural & Rural Pollution Abatement and Environmental Safety, Guangzhou 510642, China). *China Environmental Science*, 2023,43(12): 6712-6722

Abstract: To investigate the adsorption and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the presence of microplastics, polypropylene-microplastics (MP-PP) and benzo[a]pyrene (BaP) were chosen as research materials. The aim was to explore the adsorption behavior and mechanism of BaP onto MP-PP, as well as its biodegradation pathway mediated by *Novosphingobium tardaugens* using MP-PP. The interaction and microscopic characteristics among MP-PP, BaP and strains were examined using X-ray photoelectron spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy. The results indicated that the adsorption of BaP onto MP-PP followed the pseudo-second-order kinetic model with monolayer coverage, and this process was enhanced by higher temperatures. The presence of MP-PP improved the efficiency of BaP degradation. However, the degradation pathway of BaP by *Novosphingobium tardaugens* remained unaffected by MP-PP and continued to follow the phthalic acid pathway. The interaction among MP-PP, BaP, and strains primarily occurred at the surface, with microplastics PP serving as adsorption carriers. Although *Novosphingobium tardaugens* could not decompose MP-PP, it could adhere to the PP surface, facilitating growth, and thereby enhancing the degradation process.

Key words: microplastics; benzo[a]pyrene; adsorption; biodegradation; microscopic characteristics; metabolic pathway

随着塑料制品数量的不断增加,越来越多的塑料废弃物进入环境,经过光照、高温氧化、物理风化等作用逐渐破裂,形成粒径更小的塑料碎片,其中粒径小于 5mm 的被称为微塑料(MPs)^[1].据文献报道,在海洋、地表水和沉积物中均检测到高浓度的 MPs,其环境累积已成为全球性问题^[2-5].

由于 MPs 的大比表面积和高疏水性,使其具有高度浓缩环境中疏水性有机污染物的特性,并成为其附着的载体^[6-7],进而影响有机污染物的环境行为和生态毒性.多环芳烃(PAHs)是环境中常见的有机污染物,也是 MPs 表面最常见的污染物之

一^[8-10].目前国内外对 MPs 与 PAHs 的研究主要集中在:MPs 对 PAHs 的吸附和迁移转化的影响,以及 MPs 与 PAHs 形成的复合污染物在生物体内引起的协同毒性和生物富集能力等,如当聚苯乙烯存在时可显著促进土柱中 PAHs 等污染物的迁移;芘-MPs 共存时对海洋贻贝具有更强的神经毒性和不可逆的 DNA 损伤^[11-12].

收稿日期: 2023-04-18

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目-青年提升项目(2023A1515030284),广东省重点领域研发计划项目(2020B0202080001);广州市重点研发计划项目(202206010162)

* 责任作者, 讲师, chenshuona@scau.edu.cn

在美国环境保护署优先管控的 16 种 PAHs 中苯并[a]芘(BaP)因其对人体以及水生生物的强致癌性和致突变性,以及在水体中广泛存在而受到关注.有研究表明,微生物降解是去除环境中 BaP 的主要途径^[13],目前已发现多种微生物具有降解 BaP 的能力,其中由于细菌种类繁多、适应性强和代谢中间产物毒性较小等性质,目前成为降解 BaP 的主要菌种^[14-15],细菌利用 BaP 作为碳源进行分解利用,苯环羟基化往往是 BaP 降解的第一步,BaP 在双加氧酶或单加氧酶的作用使苯环羟基化形成顺式二氢二醇后在脱氢酶的作用下形成二醇中间体,随后苯环通过邻位或间位裂解,产生例如邻苯二酚和水杨酸等小分子量中间体,最后进入 TCA 循环^[16-17].

此外,BaP 作为一种疏水性污染物,使得 MPs 与 BaP 间有较强的亲和力,MPs 对 BaP 的强烈吸附可能会干扰其在水体中的环境行为,包括对其生态毒性、生物累积性以及微生物降解等产生影响^[18-19].目前,MPs 对 BaP 的吸附行为和作用机制已有研究报告,但环境中 MPs 的种类很多,不同的 MPs 对 BaP 的吸附作用以及不同的微生物菌种对 BaP 的降解特性也有差异,因此,有必要扩展对不同 MPs 介导下 BaP 微生物降解影响的研究,这将有助于更全面的评估 MPs 对环境中疏水性持久性有机污染物环境行为的影响,进而对两者的生态环境风险提出更有效的防控措施.

鉴于此,本研究选取环境中普遍存在的聚丙烯微塑料(MP-PP)为研究材料,聚丙烯广泛应用于服装、毛毯等纤维制品、医疗器械、汽车、自行车、零件、输送管道、化工容器等生产,也用于食品、药品包装,其已经被列入世界卫生组织国际癌症研究机构公布的致癌物清单中.本文重点探讨 MP-PP 对 BaP 的吸附行为及作用机理;研究 MP-PP 介导下,BaP 微生物降解特性和途径变化;最终揭示 MPs 对 BaP 在水体中环境行为的影响和互作机制,这将有利于评估 MPs-PAHs 构成的复合污染在水环境中的生态风险,也为水体 PAHs 污染治理提供新的思路.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

聚丙烯塑料购自丰泰塑化有限公司,用 2% HNO₃ 和去离子水洗去表面杂质,烘干,研磨过筛,得

到粒径为 100 目的聚丙烯微塑料(MP-PP),转移至密封袋保存备用;BaP 标液的配制:称取一定量的 BaP,用色谱纯甲醇溶解,配制成 100mg/L 的标准储备液,避光保存备用.

菌株:新鞘氨醇单胞菌 *Novosphingobium tardagens*,由课题组前期筛选分离获得.菌株种子液的制备:将菌株接种至已灭菌的营养培养基中,于 30℃,160r/min 摇床中避光培养 24h 后取出,置于 4℃ 冰箱低温保存.

1.2 培养基

营养培养基(NB):牛肉膏 3g、蛋白胨 10g、NaCl 5g、纯水 1000mL,调节 pH=7.2~7.4.

无机盐培养基(MSM):(NH₄)₂SO₄ 1g、K₂HPO₄ 7g、KH₂PO₄ 3g、MgSO₄·7H₂O 0.1g、柠檬酸钠 0.5g、纯水 1000mL,调节 pH=7.0~7.2.

上述培养基使用前均置于高压蒸汽灭菌锅,121℃,灭菌 20min.

1.3 方法

1.3.1 MP-PP 对 BaP 吸附动力学、等温线和热力学实验 准确称量 20mg MP-PP 添加到含有 20mL 超纯水的蓝盖试剂瓶(50mL)中,加入 BaP,使体系中 BaP 初始浓度为 1mg/L,调节溶液 pH=7,每个处理设置两个平行,并设置不添加 MP-PP 的处理作为空白对照.将所有样品放入摇床中,恒温振荡(160r/min)反应,分别于 1,2,3,4,5,6,12,24,36,48h 取样,用 1mL 一次性无菌注射器收集样品,通过 0.22 μm 过滤器过滤至棕色色谱进样瓶中,用以测定 BaP 残余浓度^[20].

此外,改变体系中 BaP 的初始浓度(0.5,0.75,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10mg/L)或环境温度(20,25,30,35℃)以研究 MP-PP 对 BaP 的等温吸附和热力学特性,所有样品于摇床中恒温振荡(160r/min)反应 12h,取样测定 BaP 残余浓度.

BaP 吸附量的计算:

$$Q = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad (1)$$

式中:Q 为吸附量,μg/g;C₀ 为 BaP 的初始浓度,μg/L;C_t 为 t 时刻 BaP 的浓度,μg/L;V 为溶液体积,L;m 为 MP-PP 质量,g.

1.3.2 MP-PP 介导下 BaP 的微生物降解 菌株的扩大培养和菌悬液制备:取 *Novosphingobium tardagens* 种子液,以 1%(体积分数)比例接种至 NB

中,于 30℃,160r/min 避光培养 24h.之后,离心(6000r/min, 25℃,5min),收集菌体,用无菌水洗涤 2 次后(6000r/min, 25℃,5min),用无菌水重悬,配成 20g/L 的菌悬液(湿重),待用.

在 19mL MSM 体系中加入 1mL 20g/L 菌悬液,使投菌量为 1g/L,同时加入 20mg MP-PP 和 BaP(终浓度 1mg/L),将所有样品置于恒温摇床,于 30℃,160r/min 避光反应,分别于 1,2,3,4,5,7,9d 取样,测定 BaP 的残余浓度,每个处理设置 3 个平行样,以不加 MP-PP 的体系为空白对照组.

另外,改变投菌量(0.5,0.75,1,1.5,2g/L,湿重)或 BaP 的初始浓度(0.5,0.75,1,1.5,2mg/L),于 30℃,160r/min 反应 3d 后取样测定 BaP 残余浓度,研究 MP-PP 共存对 BaP 微生物降解性能的影响.

在规定时间内取出样品,离心除去 MPs (10000r/min,10min),之后加入等体积二氯甲烷,置于摇床,于 25℃、160r/min 萃取 3h,取出,静置,收集下层有机相,用无水 Na₂SO₄ 脱水,然后于 35℃ 旋转蒸发至干,用甲醇复溶,经 0.22μm 过滤器后转移至 1.5mL 棕色进样瓶中,待测^[21].

BaP 降解率/去除率的计算:

$$W = \frac{(C_{t0} - C_{te})}{C_{t0}} \times 100\% \quad (2)$$

式中: C_{t0} 和 C_{te} 分别为 t 时刻空白对照组和实验组中 BaP 的残余浓度,mg/L.

1.3.3 MP-PP 介导下 BaP 的微生物降解途径 在含有 MP-PP(20mg)的 MSM 体系中开展 BaP 降解实验,于第 4d 取样,分析体系中 BaP 中间产物生成情况.样品处理:离心(7000r/min,10min),取上清液加入等体积的乙酸乙酯,用涡旋仪振荡 10min,超声 10min,循环萃取 3 次,用 1mol/L HCl 将 pH 值调至 2,并用乙酸乙酯重复萃取 3 次,所得的萃取液加入适量无水 Na₂SO₄ 除去水分.旋蒸至 1mL,经 0.22μm 过滤器保存至棕色进样瓶,待测.

1.3.4 MP-PP 微观特性分析 采用傅里叶转换红外光谱分析仪(FTIR,VERTEX 70v,布鲁克光谱仪器公司)和 X 射线光电子能谱仪(XPS,EscaLab Xi⁺,英国赛默飞世尔),收集吸附动力学实验(反应 12h)以及微生物降解时间曲线实验(反应 4d)后的 MP-PP 样品进行表征,考察其表面官能团和表面元素的变化.

1.4 分析测试方法

1.4.1 BaP 的测定 采用高效液相色谱仪(HPLC)测定 BaP 的残留浓度.色谱柱型号为 Agilent Eclipse XDB-C18 反相色谱柱(5μm×250mm×4mm),柱温为 25℃,进样量为 20μL,紫外检测波长为 254nm,流动相为 $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}=95:5$,流动相流速为 1.000mL/min^[22].

1.4.2 BaP 降解产物分析 使用 GC-MS 对样品进行全波长扫描.色谱柱为 HP-5MS(30.0m×250μm, 0.25μm),色谱柱起始温度 200℃,保持 2min,以 20℃/min 的速度升至 280℃,保持 10min,气化室温度 280℃,传输线温度 280℃,载气 He,载气流量 1.0mL/min,分流比 20:1,进样量 1μL.EI 源,电子能量 70eV,离子源温度 230℃,四极杆 150℃,扫描模式为 Scan,扫描质量范围为 33~500.对检测出的成分采用 MS 数据库 NIST17、保留时间进行定性^[23].

1.4.3 吸附动力学模型分析 采用准一级动力学模型(公式 3)、准二级动力学模型(公式 4)和颗粒内扩散模型(公式 5)分析 MP-PP 对 BaP 的吸附过程.

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_f t \quad (3)$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_s q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (4)$$

$$q_t = K_d t^{1/2} + 1 \quad (5)$$

式中: t 为吸附反应时间,h; q_t 和 q_e 分别是在 t 时刻和吸附达到平衡时 BaP 的吸附量,μg/g; k_f 为准一级动力学方程的吸附常数,h⁻¹; k_s 为准二级动力学方程的吸附速率常数,g/(μg·h); K_d 为颗粒内扩散模型的吸附速率常数,μg/(g·h^{1/2}).

1.4.4 吸附等温式模型分析 采用 linear(公式 6)、Langmuir(公式 7)、Freundlich (公式 8)、Temkin(公式 9)和 Dubinin-Radushkevich(D-R)(公式 10)模型分析 MP-PP 对 BaP 的等温吸附过程.

$$q_e = K_d C_e \quad (6)$$

$$q_e = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e} \quad (7)$$

$$q_e = K_F \times C_e^{1/n} \quad (8)$$

$$q_e = \frac{RT}{b} \ln(K_T C_e) \quad (9)$$

$$\ln(q_e) = \ln q_{\max} - B \varepsilon^2 \quad (10)$$

式中: K_d 为 BaP 在固-液两相间的分配系数,L/g; K_F 和 n 为 Freundlich 方程的常数,L/g; K_L 为 Langmuir 方程的常数,L/g; K_T 为 Temkin 方程参数, L/g; b 为

Temkin 方程参数, J/mol; B 为与吸附能相关的 Dubinin-Radushkevich 常数; ϵ 为 Polanyi 吸附势, R 为理想气体常数, 为 $8.314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$, T 为绝对温度, K.

1.4.5 吸附热力学分析 根据公式 11 和 12 计算不同温度下吸附反应的吉布斯自由能(ΔG)、焓变(ΔH)和熵变(ΔS), 分析温度对 MP-PP 吸附 BaP 的影响.

$$\Delta G = -RT \ln K$$

(11)

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}$$

(12)

式中: ΔG 为反应的吉布斯自由能, kJ/mol; ΔH 为反应的焓变, kJ/mol; ΔS 为反应的熵变, J/(mol·K); T 为绝对温度, K; K 为热力学平衡常数.

2 结果与讨论

2.1 吸附动力学实验

图 1a 为 MP-PP 对 BaP 的吸附动力学过程, 可以看出, 整个吸附过程可分为两个阶段, 即初始的快速吸附阶段和后续的缓慢平衡阶段, 在吸附实验进行至 6h 时吸附量趋于平衡, 到 12h 时达到平衡. 准一级、准二级和颗粒内扩散模型用以拟合动力学实验数据, 拟合图和模型参数分别见图 1 和表 1. 准二级动

力学模型($R^2 > 0.99$)相较于准一级动力学模型更适合描述 MP-PP 对 BaP 的吸附过程, 说明 MP-PP 对 BaP 的吸附包含的液膜外扩散、表面吸附和颗粒内部扩散等过程, 范德华引力、疏水分配、静电作用和化学键等均可能对吸附产生影响^[24]. 颗粒内扩散模型用以分析控制吸附过程的限速步骤, 该模型强调吸附是一个多步骤的过程, 涉及吸附质从溶液到吸附剂外表面, 然后进入吸附剂内部孔隙的多步传输^[25]. 图 1d 显示 MP-PP 对 BaP 的吸附分为两个阶段, 第一阶段描述的是 BaP 从水到 MP-PP 外表面的转移, 然后进入 MP-PP 的内孔; 第二阶段描述的是 MP-PP 对 BaP 的吸附动态平衡阶段. 由于两个阶段的拟合直线均未通过原点且截距大于 0, 这说明限速吸附步骤同时受膜扩散和颗粒内扩散影响^[26].

表 1 MP-PP 吸附 BaP 动力学模型参数
Table 1 Adsorption kinetics fitting parameters of BaP by MP-PP

准一级动力学模型			准二级动力学模型			颗粒内扩散模型	
K_f (min^{-1})	q_e ($\mu\text{g/g}$)	R^2	K_s [$\text{g}/(\mu\text{g} \cdot \text{min})$]	q_e ($\mu\text{g/g}$)	R^2	K_1 [$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h}^{1/2})$]	K_2 [$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h}^{1/2})$]
0.57	98.6	0.97	0.051	99.3	0.99	16.11	0.17

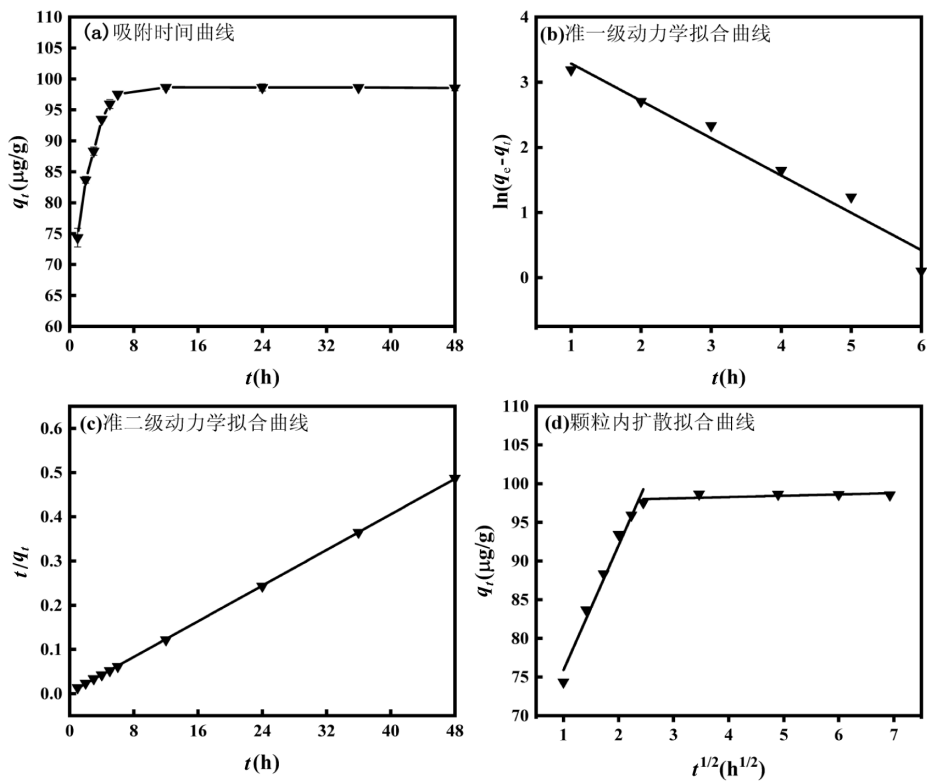


图 1 MP-PP 对 BaP 吸附特性
Fig.1 Adsorption kinetic curves of BaP by MP-PP

2.2 吸附等温线实验

使用 Temkin、Langmuir、Freundlich、Dubinin-Radushkevich(D-R)和 linear 模型拟合吸附等温线数据(图 2 和表 2).随着 BaP 浓度的升高,平衡吸附量逐渐增大,但曲线的斜率下降,推测是由于 BaP 浓度的增加使 MP-PP 表面吸附点位被迅速占领,这与 MP-PP 本身的特性有关. Langmuir 模型的拟合度($R^2>0.99$)较其他 4 种模型最高,说明单分子层覆盖可能是 MP-PP 吸附 BaP 的主要机制^[27];此外, Freundlich 模型中 n 值为 15.90,推测说明 MP-PP

对 BaP 之间具有较强的亲和力,反应易于发生; Temkin 模型的 R^2 均大于 0.98,说明 MP-PP 对 BaP 的亲和力随着 MP-PP 表面活性点位的减少而降低^[28].Linear 和 Dubinin-Radushkevich(D-R)模型拟合度较低,说明孔隙填充机制和分配作用不适合用来描述 BaP 在 MP-PP 上的吸附过程.综上,单分子层覆盖可能是 MP-PP 吸附 BaP 的主要机制, MP-PP 与 BaP 之间具有较强的亲和力,其对 BaP 的亲和力随着 MP-PP 表面活性点位的减少而逐渐降低.

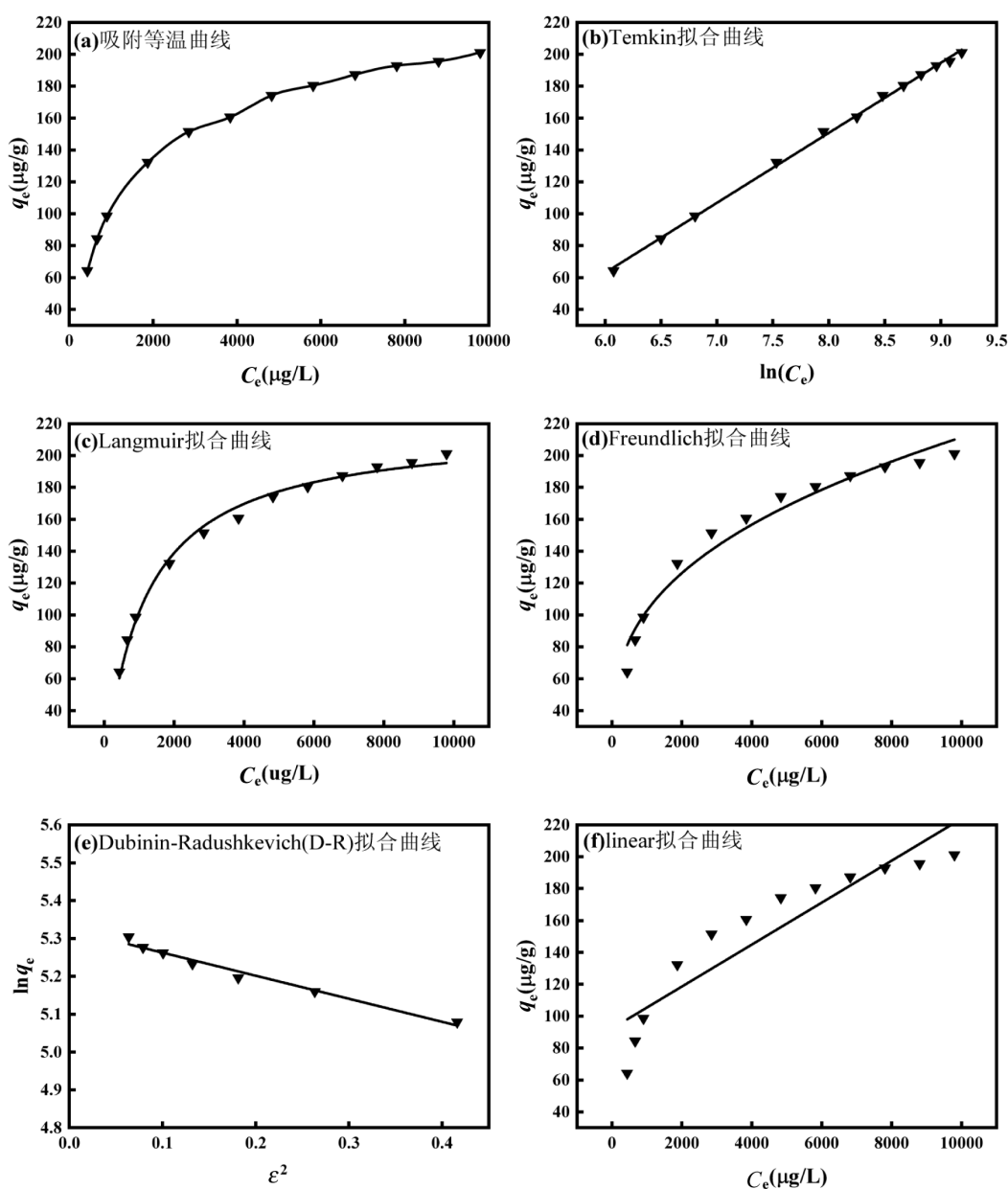


图 2 MP-PP 对 BaP 等温吸附特性

Fig.2 Isothermal adsorption characteristics of BaP by MP-PP

表 2 MP-PP 对 BaP 的吸附等温线模型参数
Table 2 Adsorption isotherm fitting parameters of BaP by MP-PP

等温线模型	参数	数值
Freundlich	$K_F(\mu\text{g}^{1/n}\text{L}^n/\text{g})$	20.08
	n	15.90
	R^2	0.97
Langmuir	$K_L(\text{L}/\mu\text{g})$	8.76249×10^{-4}
	$q_{\text{max}}(\mu\text{g}/\text{g})$	218.07 ± 3.09
	R^2	0.99
Temkin	$b(\text{J}/\text{mol})$	56.48
	$K_T(\text{L}/\text{g})$	0.010
	R^2	0.99
Dubinin-Radushkevich(D-R)	$B(\text{mol}^2/\text{J}^2)$	0.61 ± 0.009
	$q_{\text{max}}(\mu\text{g}/\text{g})$	205.1
	R^2	0.97
Linear	$K_d(\text{L}/\text{g})$	0.013 ± 0.0017
	R^2	0.84

2.3 吸附热力学实验

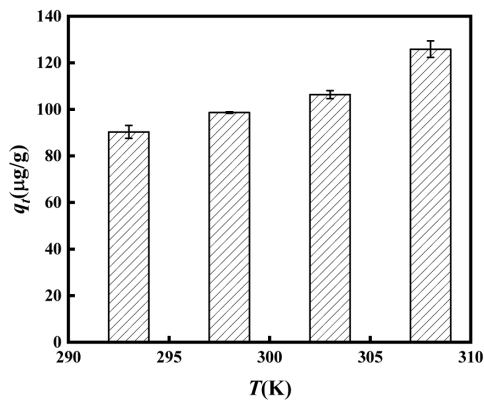


图 3 温度对 MP-PP 吸附 BaP 的影响
Fig.3 Effect of temperature on BaP adsorption by MP-PP

图 3 显示了温度对 MP-PP 吸附 BaP 的影响,随着温度的升高(288~308K),MP-PP 对 BaP 的吸附量升高,表明 MP-PP 对 BaP 的吸附是吸热反应.由于 Langmuir 模型更适用于描述本实验中 MP-PP 对 BaP 的吸附过程,采用该模型计算不同温度下吸附反应的吉布斯自由能(ΔG)、焓变(ΔH)和熵变(ΔS),结果见表 3.可以看出,在实验温度条件下 ΔG 均小于 0,说明吸附过程是自发且可行的; ΔH 均大于 0,说明吸附是吸热反应,温度升高有利于 MP-PP 吸附 BaP; ΔS 大于 0,说明随着吸附反应的进行,吸附质的自由能也不断增加.吸附热力学参数表明,温度能促进 MP-PP 吸附 BaP 主要由于吸热而促进吸附,温度的升高,增加了液体界面的无序性和随机性,分子的热

运动增强从而增强 BaP 与 MP-PP 的接触,增强 MP-PP 对 BaP 的吸附.

表 3 MP-PP 对 BaP 吸附热力学的热力学参数
Table 3 Thermodynamic fitting parameters of BaP by MP-PP

项目	温度(K)			
	293	298	303	308
$\ln K$	3.87	3.84	3.75	3.70
$\Delta G(\text{kJ}/\text{mol})$	-9427	-9514	-9447	-9475
$\Delta S(\text{kJ}/\text{mol})$	32.19			
$\Delta H(\text{kJ}/\text{mol})$	1.51			

2.4 MP-PP 介导下 BaP 的微生物降解

探究了 MP-PP 介导对 *Novosphingobium tardaugens* 降解 BaP 的影响,结果见图 4.从总体情况看,含 MP-PP 体系在 9d 内对 BaP 的去除率均大于不含 MP-PP 体系.在不含 MP-PP 的体系中,BaP 的降解率在第 4d 之后趋于稳定,为 40.1%,第 9d 达到最大降解率,为 42.1%;在含 MP-PP 的体系中,在第 3d 时 BaP 的去除率为 38.9%,较不含 MP-PP 的体系(38.1%)差别不大,这可能是因为此时菌体浓度较低,菌体与 BaP 的接触点位较少导致,随后 BaP 的去除率快速上升,在第 9d 时达到 46.7%,较不含 MP-PP 的体系(42.1%)提高了 4.6%,这可能是因为菌体可以附着在 MP-PP 表面,增大了体系内菌体的生存空间,有利于菌体生长繁殖,从而增大去除率.

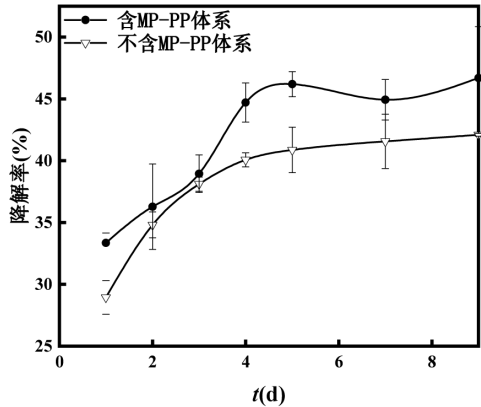


图 4 MP-PP 共存时 BaP 的微生物降解时间曲线
Fig.4 Effect of MP-PP on BaP biodegradation when MP-PP coexisted

2.5 MP-PP 对 BaP 微生物降解性能的影响

2.5.1 投菌量对 BaP 降解的影响 MP-PP 共存时,不同投菌量对体系中 BaP 去除的影响见图 5.相比于不含 MP-PP 体系,在不同的投菌量下含 MP-PP 的体

系中 BaP 的去除率均有所提高.随着投菌量增大,体系中 BaP 的去除率逐步增大,当投菌量为 1g/L 时,不含 MP-PP 体系对 BaP 的降解效果最佳,为 38.1%,而含 MP-PP 的体系中对 BaP 的最高去除率发生在 1.5g/L,为 45.5%,随后继续增加投菌量,两种体系中 BaP 的去除率均不能有效提高.一般情况下,增加投菌量会增加菌株与 BaP 接触,刺激菌株分泌更多的降解酶,提高降解率^[29].当投菌量超过 1g/L 时,不含 MP-PP 体系中降解率逐渐下降,推测是由于菌体浓度过高,营养物质或生存空间不足,导致菌株代谢速度逐渐减缓影响 BaP 的降解.含有 MP-PP 的体系由于菌株可以定殖在 MP-PP 表面,增大了菌株生存空间,同时使体系中可容纳的菌体浓度增大^[30].

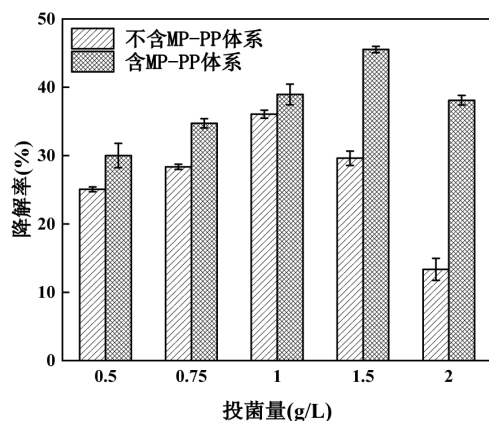


图5 MP-PP 共存时不同投菌量对 BaP 降解的影响

Fig.5 Effect of inoculum volume on BaP biodegradation when MP-PP coexisted

2.5.2 不同浓度 BaP 的微生物降解 MP-PP 共存时, *Novosphingobium tardaugens* 对不同浓度 BaP 的降解见图 6.相比于不含 MP-PP 体系,含 MP-PP 的体系中对不同初始浓度的 BaP 去除率均有所提高,推测是因为菌株在降解 BaP 的过程中会生成一系列的有毒副产物,这些物质的积累可能会对菌株的生长起到毒害的作用,菌株的代谢活性受到抑制^[31],然而在体系中添加 MP-PP 后,其可以吸附这部分有毒副产物从而为菌株提供有利的生长环境,使菌株保持对 BaP 的较高去除率.随着 BaP 初始浓度的增加,两个体系中的去除率均逐步增大,在 1.5mg/L 时,去除率分别为 37.5%和 43.8%;在 2mg/L 时,去除率分别为 37.5%和 43.7%.BaP 在 1.5mg/L 和 2mg/L 去除率差别不大,这可能是因为菌体在高浓度 BaP

胁迫下活性偏低,此时 BaP 与菌体在 MP-PP 表面相互作用更多的表现为竞争吸附,BaP 在 MP-PP 表面的吸附/解吸速率达到动态平衡,使体系中去除率变化较小.

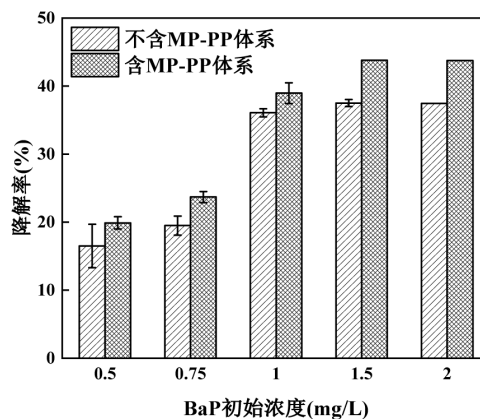


图6 MP-PP 共存时对不同浓度 BaP 降解的影响

Fig.6 Biodegradation of different concentrations of BaP when MP-PP coexisted

2.6 MP-PP 介导下 BaP 的微生物降解途径

表 4 显示了 *Novosphingobium tardaugens* 降解 BaP 的代谢产物信息,图 7 为代谢产物的质谱图以及结构式.在不含 MP-PP 体系中,检测到苯酚、烯烃、酮等多种 BaP 代谢中间产物,其中苯酚类物质种类最多,根据相关文献报道,在 PAHs 微生物降解过程中,苯酚类物质和酮类物质主要由邻苯二甲酸衍生物经过氧化形成^[32],这说明在 BaP 微生物降解过程存在邻苯二甲酸途径.在含 MP-PP 体系中检测到与不含 MP-PP 体系中相同的产物,但种类较少,这可能是由于 MP-PP 的吸附作用,或者在含 MP-PP 体系中,细菌活性得到提高,代谢产物被迅速分解形成小分子物质.根据上述分析,MP-PP 共存对 BaP 的微生物降解途径影响较小,根据产物分析结果可以推导出 BaP 的微生物降解途径,如图 8 所示.首先,BaP 在加氧酶作用使 C9,10 位置羧基化形成苯并[a]芘-9,10-二氢二醇 (Benzo[a]pyrene-cis-9,10-dihydrodiol),或在 C11,12 羧基化形成苯并[a]芘-11,12-二氢二醇 (Benzo[a]pyrene-cis-11,12-dihydrodiol),然后氧化还原形成芘 (Pyrene) 或者苯并[a]荧蒹 (Benzo[a]fluoranthene),随后芘继续通过邻苯二甲酸途径逐步减少苯环数量,产生低分子的 2,5-二叔丁基对苯二酚 (2,5-Di-tert-butylhydroquinone, 产物 a)、

4-羟基-3,5-双(2-甲基丙-2-基)环己-2,4-二烯-1-酮(4-Hydroxy-3,5-di-tert-butyl-2,4-cyclohexadien-1-one,产物 b)、2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)(2,2'-Methylenebis(6-tert-butyl-4-methylphenol),产物 c)和 2,4-二叔丁基苯酚(2,4-Di-tert-butylphenol,产物 d)等中间产物,之后所有产物最终形成邻苯二酚.总的来说,*Novosphingobium tardaugens* 对 BaP 的降解遵循常见的邻苯二甲酸途径,MP-PP 共存对 BaP 的降解途径影响较小.

表 4 MP-PP 共存时 BaP 降解产物信息

Table 4 The details of BaP degradation intermediates when MP-PP coexisted

体系	编号	名称	CAS 号	分子式	分子量
不含 MP-PP 体系	a	2,5-二叔丁基对苯二酚	88-58-4	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	222.32
	b	4-羟基-3,5-双(2-甲基丙-2-基)环己-2,4-二烯-1-酮	54965-43-4	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	222.32
	c	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	119-47-1	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	340.5
	d	2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	C ₁₄ H ₂₂ O	206.32
含 MP-PP 体系	a	2,5-二叔丁基对苯二酚	88-58-4	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	222.32
	b	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	119-47-1	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	340.5
	c	2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	C ₁₄ H ₂₂ O	206.32

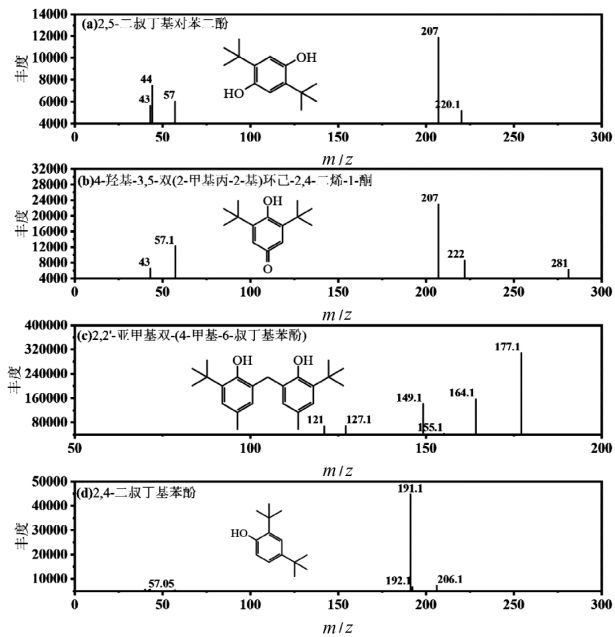


图 7 降解产物质谱图

Fig.7 The mass spectrum of BaP degradation products

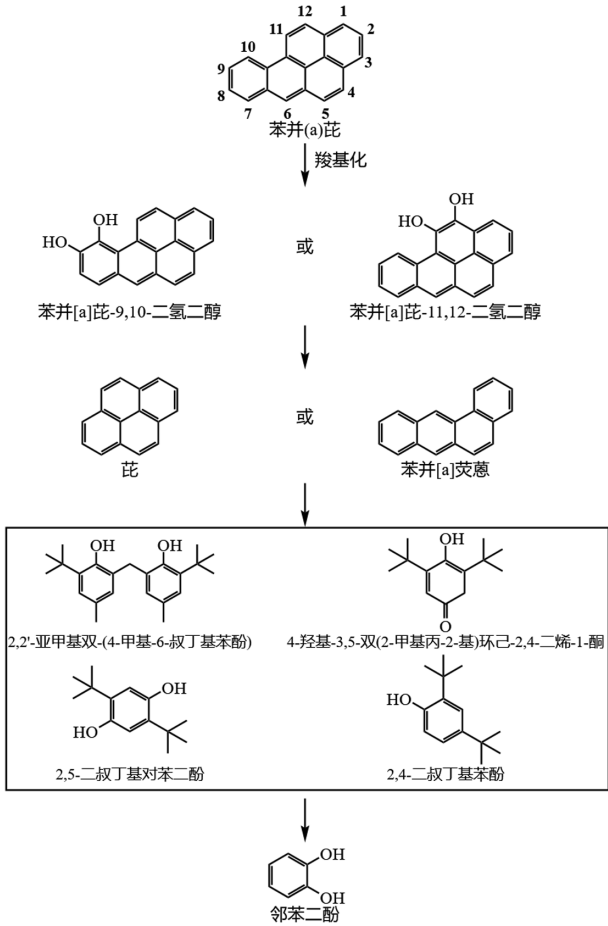


图 8 MP-PP 共存时 BaP 的微生物降解途径

Fig.8 The pathway of BaP degradation when MP-PP coexisted

2.7 MP-PP 微观特性分析

2.7.1 MP-PP 表面官能团分析 如图 9 所示,MP-PP 吸附前后和微生物降解体系中的 FTIR 光谱形状基本相同,无新官能团产生,说明 MP-PP 对 BaP 的吸附不依赖于化学吸附,如共价、离子和金属键^[33-34],以及 *Novosphingobium tardaugens* 不具备降解 MP-PP 的能力.与 MP-PP 原样相比,部分吸收峰位置发生偏移,如-CH₃ 不对称伸缩振动吸收峰由 2964cm⁻¹ 分别偏移至 2962cm⁻¹(吸附体系)和 2958cm⁻¹(降解体系),代表-CH₂ 不对称伸缩振动的吸收峰位置从 2921cm⁻¹ 偏移至 2923cm⁻¹(吸附体系)和 2925cm⁻¹(降解体系),代表-CH₃ 对称伸缩振动的吸收峰位置从 2873cm⁻¹ 偏移至 2871cm⁻¹(吸附体系)和 2870cm⁻¹(降解体系);吸附体系和降解体系中 MP-PP 的吸收峰强度均大于 MP-PP 原样,可能是由于 BaP 或菌体的吸附改变了 MP-PP 的电荷密度,导致其吸收峰发生偏移.

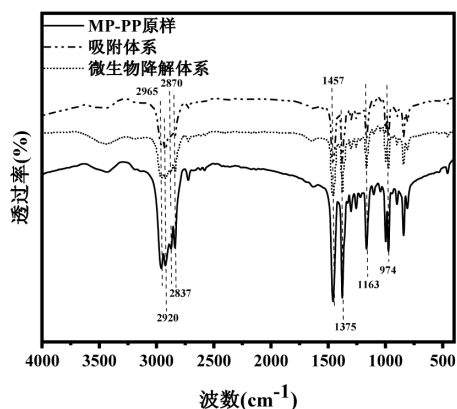
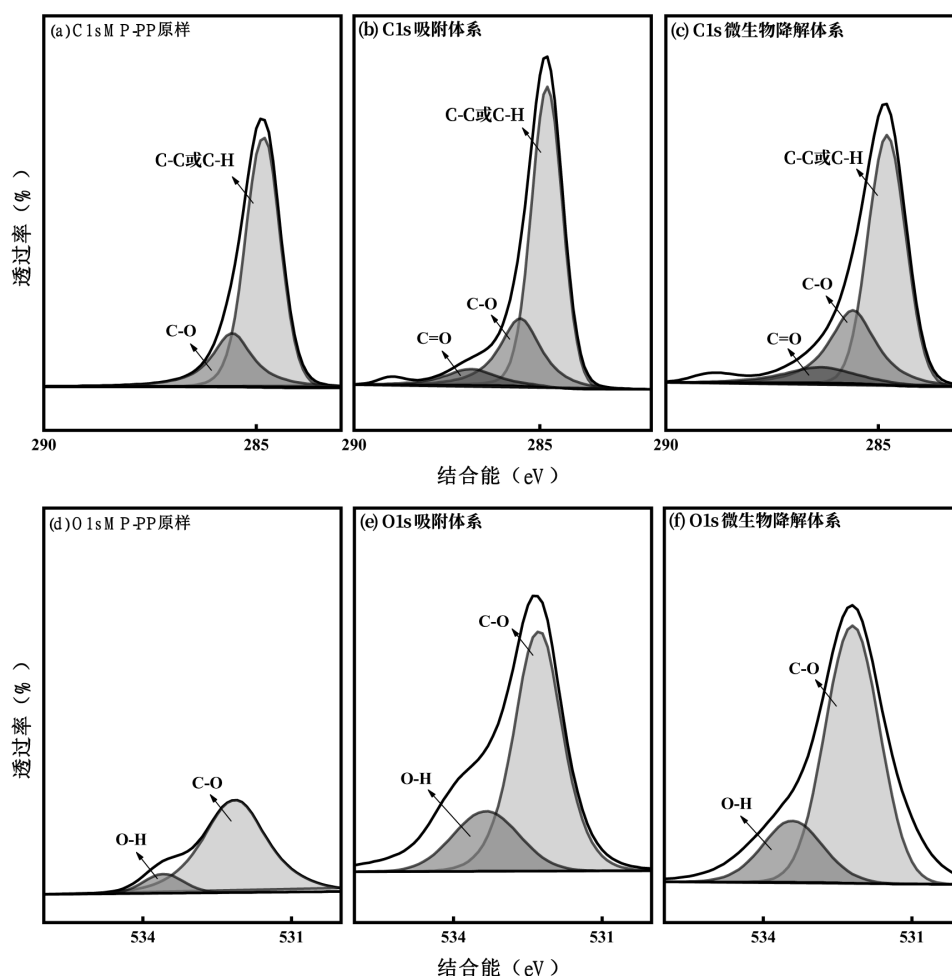


图9 MP-PP 的 FTIR 光谱图变化

Fig.9 FTIR spectra of MP-PP

2.7.2 MP-PP 表面元素分析 从图 10 可知,吸附体系和微生物降解体系中 MP-PP 表面没有共价键、离子键的生成,MP-PP 与 BaP 和菌体的作用过程主要受分子间范德华力的影响.因此通过 XPS 探究其分子间作用力,通过 C1s 和 O1s 谱图进一步分析吸附体系和微生物降解体系中的作用机制.由表 5 可知,MP-PP 主

要由碳和氧元素构成,降解体系中检测到 N 元素,这可能是因为 MP-PP 吸附无机盐培养基的营养物质导致;吸附体系和降解体系中 MP-PP 表面元素含量波动较大,说明 BaP 分子主要附着在 MP-PP 表面,以及 *Novosphingobium tardaugens*、BaP 和 MP-PP 三者之间的联系同样发生在 MP-PP 的表面.由表 6 可知,吸附前后 MP-PP 表面的含碳官能团中 C-O 和 C=O 含量上升,可能是由于 BaP 在吸附过程中产生了氧化偶联现象,促进 MP-PP 对 BaP 的吸附.据相关研究报道,酚类化合物可以通过氧化偶联反应聚合,在有氧条件下活性炭对酚类化合物的吸附能力显著提升^[35].在降解体系中,MP-PP 表面含碳官能团 C-C 或 C-H 含量提高,说明 MP-PP 与 *Novosphingobium tardaugens* 的相互作用存在氢键作用^[36].此外,吸附体系和降解体系的 O-H 含量上升,这可能是由于 MP-PP 对化学态水分子的吸附,降解体系中 O-H 还可能来自于 *Novosphingobium tardaugens* 降解 BaP 过程中产生的酚类物质.



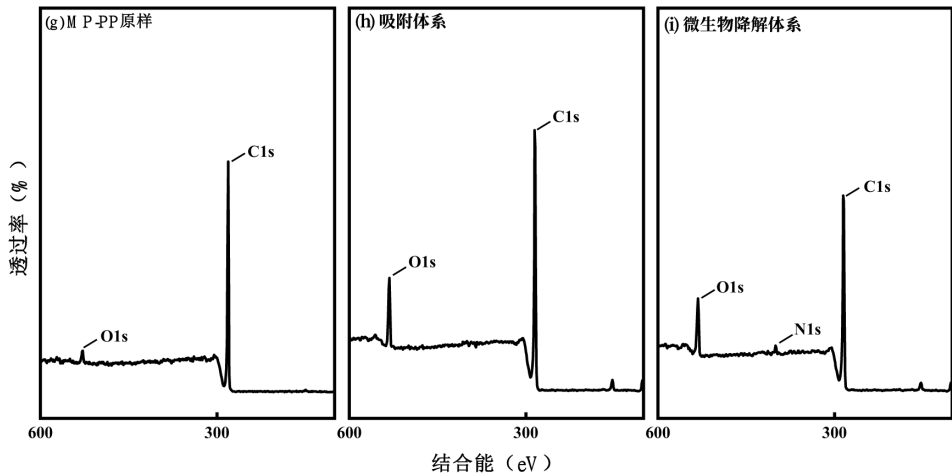


图 10 MP-PP 的 XPS 谱图变化
Fig.10 XPS spectra of MP-PP

表 5 MP-PP 表面元素含量(%)
Table 5 The element contents of MP-PP surface (%)

元素	MP-PP 原样	吸附体系	微生物降解体系
C	97.7	91.2	88.9
O	2.3	8.8	9.0
N	0	0	2.1

表 6 MP-PP 表面官能团含量(%)
Table 6 The functional group contents of MP-PP surface (%)

项目	官能团	MP-PP 原样	吸附体系	微生物降解体系
含碳官能团	C-C 或 C-H	76.4	72.3	78.9
	C-O	23.6	19.5	13.4
	C=O	0	8.2	7.8
含氧官能团	C-O	89.3	72.3	71.9
	O-H	10.7	27.7	28.1

3 结论

3.1 MP-PP 对 BaP 的吸附发生在其均质表面,以物理吸附为主,吸附过程遵循准二级动力学和 Langmuir 等温吸附模型,升温有利于吸附。

3.2 MP-PP 共存有利于体系中 BaP 的去除,在不同投菌量或 BaP 初始浓度中同样得到体现。

3.3 *Novosphingobium tardaugens* 对 BaP 的降解途径遵循邻苯二甲酸途径,MP-PP 介导对其降解途径基本没有影响。

3.4 MP-PP、BaP 分子和菌体间的互相作用主要受分子间范德华力影响,*Novosphingobium tardaugens* 虽然不能降解 MP-PP,但 BaP 或菌体的附着会改变

MP-PP 表面电荷。

参考文献:

[1] Barnes S J. Understanding plastics pollution: the role of economic development and technological research [J]. Environmental Pollution, 2019,249:812-821.

[2] Su L, Xue Y G, Li L Y, et al. Microplastics in taihu lake, china [J]. Environmental Pollution, 2016,216:711-719.

[3] Lahens L, Strady E, Kieu-Le T C, et al. Macroplastic and microplastic contamination assessment of a tropical river (saigon river, vietnam) transversed by a developing megacity [J]. Environmental Pollution, 2018,236:661-671.

[4] Olesen K B, Stephansen D A, Alst N V, et al. Microplastics in a stormwater pond [J]. Water, 2019,11(7):1466.

[5] Song Y K, Hong S H, Eo S, et al. Horizontal and vertical distribution of microplastics in korean coastal waters [J]. Environmental Science & Technology, 2018,52(21):12188-12197.

[6] Alimi O S, Budarz J F, Hernandez L M, et al. Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport [J]. Environmental Science & Technology, 2018,52(4):1704-1724.

[7] Barletta M, Lima A, Costa M F. Distribution, sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in south american estuaries [J]. Science of the Total Environment, 2019,651:1199-1218.

[8] Antunes J C, Frias J, Micaelo A C, et al. Resin pellets from beaches of the portuguese coast and adsorbed persistent organic pollutants [J]. Estuarine Coastal and Shelf Science, 2013,130:62-69.

[9] Mai L, Bao L J, Shi L, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons affiliated with microplastics in surface waters of bohai and huanghai seas, china [J]. Environmental Pollution, 2018,241:834-840.

[10] Romeo T, D'Alessandro M, Esposito V, et al. Environmental quality assessment of grand harbour (valletta, maltese islands): a case study of a busy harbour in the central mediterranean sea [J]. Environmental

- Monitoring and Assessment, 2015,187(12):747.
- [11] Liu L J, Fokink R, Koelmans A A. Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to polystyrene nanoplastic [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2016,35(7):1650–1655.
- [12] Avio C G, Gorbi S, Milan M, et al. Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels [J]. Environmental Pollution, 2015,198:211–222.
- [13] Xia X H, Zhou Z I, Zhou C H, et al. Effects of suspended sediment on the biodegradation and mineralization of phenanthrene in river water [J]. Journal of Environmental Quality, 2011,40(1):118–125.
- [14] Sakshi, Haritash A K. A comprehensive review of metabolic and genomic aspects of pah-degradation [J]. Archives of Microbiology, 2020,202(8):2033–2058.
- [15] Punetha A, Saraswat S, Rai J P N. An insight on microbial degradation of benzo[a]pyrene: current status and advances in research [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2022,38:61.
- [16] Kumari S, Regar R K, Manickam N. Improved polycyclic aromatic hydrocarbon degradation in a crude oil by individual and a consortium of bacteria [J]. Bioresource Technology, 2018,254:174–179.
- [17] Xia M Q, Fu D F, Chakraborty R, et al. Enhanced crude oil depletion by constructed bacterial consortium comprising bioemulsifier producer and petroleum hydrocarbon degraders [J]. Bioresource Technology, 2019,282:456–463.
- [18] González-Soto N, Hatfield J, Katsumiti A, et al. Impacts of dietary exposure to different sized polystyrene microplastics alone and with sorbed benzo[a]pyrene on biomarkers and whole organism responses in mussels *Mytilus galloprovincialis* [J]. Science of the Total Environment, 2019,684:548–566.
- [19] Martínez-Álvarez I, Menach K L, Devier M H, et al. Screening of the toxicity of polystyrene nano- and microplastics alone and in combination with Benzo(a)pyrene in brine shrimp larvae and zebrafish embryos [J]. Nanomaterials, 2022,12:941.
- [20] 巫浩文.微塑料对微量重金属和多环芳烃的吸附机制及其对河流中微藻的影响 [D]. 东莞:东莞理工学院, 2022.
- Wu H W. Mechanism of microplastic adsorption on trace heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons and its effect on microalgae in rivers [D]. Dongguan: Dongguan University of Technology, 2022.
- [21] 刘玮婷.微塑料对近岸菲降解菌群结构及降解能力的影响 [D]. 广州:华南理工大学, 2018.
- Liu W T. Impact of microplastic on the structure and biodegradation potential of PHE-degrading bacterial consortium in coastal environment [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.
- [22] Chen S N, Yin H, Ye J S, et al. Effect of copper(ii) on biodegradation of benzo[a]pyrene by *Stenotrophomonas maltophilia* [J]. Chemosphere, 2013,90(6):1811–1820.
- [23] 邹晓爽.苯并[a]芘好氧降解菌 *Acinetobacter XS-4* 的分离筛选、降解性能及机理研究 [D]. 贵阳:贵州大学, 2022.
- Zhou X S. Isolation and screening of benzo[a]pyrene aerobic degrading bacteria *Acinetobacter XS-4* and study on its degradation performance and mechanism [D]. Guiyang: Guizhou University, 2022.
- [24] Liu F F, Liu G Z, Zhu Z L, et al. Interactions between microplastics and phthalate esters as affected by microplastics characteristics and solution chemistry [J]. Chemosphere, 2019,214:688–694.
- [25] Luo J W, Li X, Ge C J, et al. Sorption of norfloxacin, sulfamerazine and oxytetracycline by koh-modified biochar under single and ternary systems [J]. Bioresource Technology, 2018,263:385–392.
- [26] Alvarez-Torrellas S, Rodriguez A, Ovejero G, et al. Comparative adsorption performance of ibuprofen and tetracycline from aqueous solution by carbonaceous materials [J]. Chemical Engineering Journal, 2016,283:936–947.
- [27] Foo K Y, Hameed B H. An overview of dye removal via activated carbon adsorption process [J]. Desalination and Water Treatment, 2010,19(3):255–274.
- [28] Abdullah M A, Chiang L, Nadeem M. Corrigendum to “comparative evaluation of adsorption kinetics and isotherms of a natural product removal by amberlite polymeric adsorbents” [chem. Eng. J. 146 (2009) 370–376] [J]. Chemical Engineering Journal, 2009,155(1/2):551.
- [29] 卫 昆.磷酸三苯酯的微生物降解机制及其降解产物毒性研究 [D]. 广州:华南理工大学, 2018.
- Wei K. Biodegradation mechanism of triphenyl phosphate and toxicity of its metabolites [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018.
- [30] Ma Y N, Huang A N, Cao S Q, et al. Effects of nanoplastics and microplastics on toxicity, bioaccumulation, and environmental fate of phenanthrene in fresh water [J]. Environmental Pollution, 2016,219:166–173.
- [31] Mao F, Liu X H, Wu K, et al. Biodegradation of sulfonamides by *Shewanella oneidensis* MR-1 and *Shewanella* sp. strain MR-4 [J]. Biodegradation, 2018,29(2):129–140.
- [32] Qin W, Zhu Y, Fan F Q, et al. Biodegradation of benzo(a)pyrene by microbacterium sp strain under denitrification: degradation pathway and effects of limiting electron acceptors or carbon source [J]. Biochemical Engineering Journal, 2017,121:131–138.
- [33] Bao Z Z, Chen Z F, Zhong Y H, et al. Adsorption of phenanthrene and its monohydroxy derivatives on polyvinyl chloride microplastics in aqueous solution: model fitting and mechanism analysis [J]. Science of the Total Environment, 2021,764:142889.
- [34] Sun W L, Wang C H, Pan W Y, et al. Effects of natural minerals on the adsorption of 17β-estradiol and bisphenol a on graphene oxide and reduced graphene oxide [J]. Environmental Science-Nano, 2017,4(6):1377–1388.
- [35] Tessmer C H, Vidic R D, Uranowski L J. Impact of oxygen-containing surface functional groups on activated carbon adsorption of phenols [J]. Environmental Science & Technology, 1997,31(7):1872–1878.
- [36] Ma J, Zhao J H, Zhu Z L, et al. Effect of microplastic size on the adsorption behavior and mechanism of triclosan on polyvinyl chloride [J]. Environmental Pollution, 2019,254:113104.

作者简介: 叶金明(1997-),男,广东茂名,华南农业大学硕士研究生,主要从事有机污染控制研究,发表论文 1 篇.786854820@qq.com.