

塑化剂DEHP的微生物降解研究进展

刘治廷, 孟利强, 于德水, 牛彦波, 陈静宇, 王向向, 张 焯, 李 萌, 曹 旭*

黑龙江省科学院微生物研究所, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2022年7月7日; 录用日期: 2022年8月5日; 发布日期: 2022年8月12日

摘 要

DEHP作为塑料制品中含有的塑化剂, 经过多种途径进入人们生活, 但其危害还不为大多数人所知。本文系统性介绍DEHP对农田土壤、农业作物和人体健康的伤害, 希望引起公众对DEHP作为内分泌干扰物危害的重视。同时, 本文介绍几种先进的微生物降解DEHP手段, 并对目前降解研究的不足之处进行补充讨论。

关键词

邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯, 内分泌干扰物, 土壤微生物, 微生物降解

Research Progress of Microbial Degradation of Plastifier DEHP

Zhiting Liu, Liqiang Meng, Deshui Yu, Yanbo Niu, Jingyu Chen, Xiangxiang Wang, Ye Zhang, Meng Li, Xu Cao*

Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin Heilongjiang

Received: Jul. 7th, 2022; accepted: Aug. 5th, 2022; published: Aug. 12th, 2022

Abstract

As a plastifier used in plastic products, DEHP has entered people's lives through various ways, but its harm is not known to the majority of people. This paper systematically introduces the damage of DEHP to farmland soil, agricultural crops and human health and appeals to the public to pay attention to the harm of DEHP as an endocrine disruptor. At the same time, this paper introduces several advanced methods of microbial degradation of DEHP and provides a supplementary discussion on the insufficiency of the current degradation DEHP research.

*通讯作者。

文章引用: 刘治廷, 孟利强, 于德水, 牛彦波, 陈静宇, 王向向, 张焯, 李萌, 曹旭. 塑化剂 DEHP 的微生物降解研究进展[J]. 农业科学, 2022, 12(8): 698-703. DOI: 10.12677/hjas.2022.128099

Keywords

Bis(2-Ethylhexyl) Phthalate, Endocrine Disruptors, Soil Microorganisms, Microbial Degradation

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP), 是一种具有苯环结构和长侧链的高分子有机化合物, 化学式为 $C_{24}H_{38}O_4$ 。塑料制品中加入塑化剂 DEHP 后, 材料的弹性、韧性、延展性、柔韧性等能力都得到一定提高, 属于具有优秀素质的主要工业增塑剂。DEHP 随着塑料制品走进人们生活的每个角落, 目前 DEHP 在水体、土壤、空气等各个环境、食物、饮用水中已被普遍检出。DEHP 无处不在, 随环境进入人身体内, 造成一定威胁。

2. 塑化剂 DEHP 毒性危害与研究现状

随着研究的深入, 人们逐渐发现 DEHP 在作为优秀的增塑剂之外, 属于内分泌干扰物, 存在一定的毒性。DEHP 通过塑料制品从环境中进入人体内, 参与系统代谢对人类健康造成潜在伤害。2017 年, 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)出现在世界卫生组织国际癌症研究机构的致癌物清单, 属于 2B 类致癌物。

2.1. DEHP 对农业生产的危害

在大量使用农田薄膜促生产、污水灌溉农田及农药化肥后, 农业土壤遭到塑料制品不同程度的污染。残留在土壤内的塑料制品如地膜等, 其中含有的塑化剂 DEHP 进入土壤内, 降低土壤呼吸强度, 会影响土壤质量、植物的生长和品质; DEHP 在土壤中具有危害效果。在土壤微生物领域中, DEHP 在土壤内对细菌、放线菌、亚硝化细菌等微生物具有明显抑制作用, 降低了土壤微生物的功能多样性, 削弱了土壤各类土壤酶的活性[1]。在土壤结构上, DEHP 促进土壤团聚体稳定, 导致土壤肥水储存能力下降, 影响土壤中有有机碳, 氮代谢过程, 降低土地肥力[2]。

农作物能够吸收积累 DEHP 并沿食物链富集, 菜地、水田、果园等农田均检测到 DEHP 的不同浓度污染[3]。蔬菜作物 DEHP 的累积量从大到小排序为叶菜类(油麦菜、小白菜、菠菜等)、果菜类(茄子、番茄、豌豆、黄瓜等)、根茎类(萝卜、莴苣、球茎甘蓝等) [4]。DEHP 主要通过根系吸收, 经过转运进入植物各个器官[5]。

DEHP 被吸收进入作物后, 作物生长受到很大负面影响。以小白菜为例, 在 DEHP 进入小白菜培养土壤后, 蔬菜的地上和地下鲜重均出现异常升高情况, 小白菜的膜脂过氧化加剧, VC 含量、叶绿素含量、有机酸含量、可溶性糖等营养指标均下降[6]。DEHP 经过农产品的富集, 采摘后被人们食用, 直接进入人体消化, 对人类健康造成潜移默化的威胁。

2.2. DEHP 对人类健康的危害

通过食用被 DEHP 富集的农作物和接触含 DEHP 的塑料制品等方式, DEHP 进入人体内, 参与肠道肝脏循环代谢, 从而对人类造成危害[7]。目前研究证明, DEHP 干扰人类内分泌系统, 对人类的生殖系统、发育系统、代谢系统都具有一定危害。

2.2.1. DEHP 对生殖系统的危害

研究发现,近年来全球各地的男性雄性生殖细胞数量减少、精液质量下降、睾丸癌等发病率不断升高,与 DEHP 等环境内分泌干扰物质的长期接触密切相关[8]。

DEHP 暴露对雄性生殖系统的影响主要是其具有睾丸毒性,且 DEHP 及其代谢产物对处于幼年、青春发育期和成年期的雄性小鼠都具有睾丸毒性,主要包括导致睾丸萎缩,睾丸支持细胞空泡变性,生殖细胞脱离和生精障碍等[9]。通过对不育男子的研究,尿液中 DEHP 及其代谢产物 MEHP 水平与精子 DNA 损伤呈现正相关[10]。研究发现,塑料制品厂工人长期接触含高浓度 DEHP 的空气,精子 DNA 出现断裂的情况大大增加,增加男性不育几率[11]。

DEHP 对雌性的影响主要作用于卵巢等生殖器官。接触 DEHP 可降低雌性动物血液中睾酮等雌激素水平,引起雌性大鼠的生殖周期出现紊乱情况,排卵周期受到干扰,使雌性动物的生殖功能受到影响[12][13][14]。摄入一定量的 DEHP 还可导致实验动物流产、卵细胞发育不全,卵巢质量增加,雌二醇和促性腺激素等激素表达水平紊乱[15]。DEHP 经过代谢产生 MEHP,也可抑制雌性动物生殖器官合成雌激素和孕激素,从而影响胚胎的下一步发育[16]。

2.2.2. DEHP 对免疫系统的危害

塑化剂 DEHP 具有干扰人类免疫系统的功能。国内外学者持续关注 DEHP 的污染与影响,对 DEHP 暴露问题与人体疾病的关系进行深入研究。瑞典一项研究证明在一万余名儿童进行病例对照研究,通过对家庭环境中塑化剂接触情况进行分析,发现儿童哮喘、肺炎等症状和室内塑料装修的 DEHP 浓度水平存在显著相关性[17]。

2.2.3. DEHP 对代谢系统的危害

相较于双酚 A 等内分泌干扰物,接触 DEHP,更可能导致人们出现胰岛素抵抗和肥胖等身体不良症状[18]。通过检测墨西哥女性糖尿病患者尿液中塑化剂代谢物,结果显示患有糖尿病患者其尿液中 DEHP 代谢物浓度明显较高。认为接触 DEHP 更容易出现糖尿病等症状[19]。

大量动物毒理学与体外试验也已经证实,长期暴露于邻苯二甲酸酯环境中会对人体造成多种不良反应[20][21],且有案例显示人类误服塑化剂可引起胃肠道刺激、中枢神经抑制、麻痹、血压降低等一系列症状[22]。

3. 利用微生物降解 DEHP 的研究

3.1. 微生物降解优点

在已有污染土壤修复技术中,以微生物修复为代表的生物修复法凭借其经济环保、不易破坏生态系统、适合中低残留浓度的 DEHP 污染土壤等优点得到广泛关注。实践表明,通过投放大量的高效降解菌株,快速形成优势菌群,来达到快速修复效果的生物处理法可显著增强农田土壤中有害物质的降解。

但是由于微生物修复受诸多生物、非生物因素影响,仍然存在降解种类单一、菌种适应性差、修复效果不稳定等问题。因此,高效降解菌株的筛选和应用仍然是行业研究的热点。由于微生物生长代谢的复杂性及易受环境因素影响的特性,直接引入国外菌株及技术会遇到外源微生物竞争不过土著微生物或受各种生物和非生物因素影响,而出现修复效果不稳定等问题,因此仍需要开展针对我国 DEHP 毒性污染土壤的微生物修复研究。

3.2. 塑化剂降解 DEHP 机理研究

国内农业院所在农田土壤有机 DEHP 污染修复方面已开展相关的研究工作,已经筛选不同种类的

DEHP 降解菌株,如乙酸钙不动杆菌(*Acinetobacter calcoaceticus*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)等。

微生物降解 DEHP,首先通过水解酶、加氧酶、脱羧酶等相关酶作用水解生成邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯(MEHP),继续通过脱长链等代谢反应,生成邻苯二甲酸(PA)和对应的醇类物质,PA 在加氧酶的氧化作用下生成 3,4-二羟基苯甲酸(原儿茶酸)。原儿茶酸等双酚化合物通过开苯环形成有机酸,被三羧酸循环利用,最后生成 CO₂ 和 H₂O。目前已有研究筛选出针对不同侧链 DEHP 的降解菌,对其降解基因研究分析[23] [24]。

针对第一个酯键的水解酶普遍对反应底物适应性较窄,只对侧链基团有一定降解活性。对长侧链苯环化合物 DEHP 的降解能力较一般。通过基因文库的构建等系统手段,从降解菌株中选择扩增基因序列,通过克隆测序等手段,注释其降解 DEHP 功能。陈济安筛选出 DEHP 降解相关基因 *phtY* [25]。Wang 等利用实时荧光定量 PCR 研究发现 3,4-邻苯二甲酸双加氧酶基因在降解菌对 DBP 降解过程中的大量克隆[26]。DEHP 降解菌的功能研究已经有一定理论基础,但大多数都是分离出单一菌株用于降解 DEHP,并不能考虑到不同地区的地理气候,缺少联合菌群在实际情况下的应用结果。

4. 研究中存在的不足及解决方案

4.1. 目前研究的不足

目前分解 DEHP 的研究,大多数处于实验阶段。大多数研究筛选出单一菌种用于 DEHP 降解,单一菌种对复杂的外界情况适应能力差,抗逆性一般,且不能完全考虑施用地点的气候地理环境。

虽然针对 DEHP 的微生物降解已经存在一些研究方法,但是这些研究手段都大多在实验室环境下进行探索研究,不能反映真实复杂的实际环境,存在一定局限性。如实际农田土壤温度条件被主流研究忽略。筛选出降解菌株的培养实验温度在 30℃ 左右。中国农田土地气候环境复杂,土壤较少能处于 30℃ 温度下,负责分解 DEHP 的生物酶在低温环境下,分解能力大大下降,严重影响实际工作中 DEHP 的微生物分解效果。

4.2. 提出解决方案

单一菌种抗逆性差,应该考虑筛选出不同种类微生物组成的菌群,通过互利共生,增殖关系增强整体菌群抗干扰能力,加速 DEHP 降解效率。

针对不同的生态环境与土壤结构,DEHP 的微生物降解应做到因地制宜,考虑到不同地区的地理环境,如在我国北方气候下筛选出具有抗低温能力的 DEHP 降解菌株。从当地土壤中分离筛选出有降解 DEHP 效果的菌株加以驯化,就能更加贴近当地生态环境,顺应当地气候生长。

5. 总结和展望

DEHP 属于长侧链大分子有机化合物,经过塑料制品进入环境后,较难通过非生物途径降解。因此微生物降解是自然界中完全降解 DEHP 的主要方式。本文介绍 DEHP 的毒害作用,同时介绍目前方兴未艾的微生物降解手段,冀望能加快筛选菌株过程,加速产品应用推进,早日解决塑化剂 DEHP 对土壤的污染。

我国地大物博,耕地安全问题更是农业问题的重中之重。不同地区的地理气候环境不同,通过微生物高效降解 DEHP 的实践研究任重而道远。必须筛选出适应所在地区地理气候、具有高效 DEHP 降解能力的菌株才能从根本上降低土壤中 DEHP 的含量,削弱污染毒性,保护土地安全,进而保护人类健康。

基金项目

黑龙江省科学院青年基金(2022QNJJ004)、黑龙江省科学院院长基金(2022YZJJ001)。

参考文献

- [1] 吴雪峰. DEHP 污染对土壤微生物毒理效应研究[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [2] 李莹. 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯对东北地区黑土/褐土团聚体特性的影响[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020.
- [3] 谭镇, 李传红, 莫测辉. 惠州市农业土壤中邻苯二甲酸酯(PAEs)含量的分布特征[J]. 环境科学与管理, 2012, 37(5): 120-123.
- [4] 王家文, 杜琪珍, 宋英琦. 塑料工业区附近农田蔬菜 DEHP 的浓度水平及评价[J]. 环境科学, 2010, 31(10): 2450-2455.
- [5] 曾巧云, 莫测辉, 蔡全英, 王伯光. 菜心对邻苯二甲酸酯(PAEs)吸收途径的初步研究[J]. 农业工程学报, 2005(8): 137-141.
- [6] 朱悦. 老化生物炭对 DEHP 胁迫下小白菜生长及黑土性质的影响[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020.
- [7] Frederiksen, H., Skakkebaek, N. and Andersson, A. (2007) Metabolism of Phthalates in Humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, **51**, 899-911. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600243>
- [8] 徐廷云, 胡嘉波, 高华生, 吴芝园, 徐文慧. 不育男性精液中 16 种邻苯二甲酸酯类物质的检测与分析[J]. 临床检验杂志, 2013, 31(1): 51-53.
- [9] Christiansen, S., Boberg, J., Axelstad, M., et al. (2010) Low-Dose Perinatal Exposure to di(2-ethylhexyl) Phthalate Induces Anti-Androgenic Effects in Male Rats. *Reproductive Toxicology (Elmsford, NY)*, **30**, 313-321. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.04.005>
- [10] Hauser, R., Meeker, J.D., Singh, N.P., et al. (2007) DNA Damage in Human Sperm Is Related to Urinary Levels of Phthalate Monoester and Oxidative Metabolites. *Human Reproduction*, **22**, 688-695. <https://doi.org/10.1093/humrep/del428>
- [11] Huang, L., Lee, C., Hsu, P., et al. (2011) The Association between Semen Quality in Workers and the Concentration of di(2-ethylhexyl) Phthalate in Polyvinyl Chloride Pellet Plant Air. *Fertility and Sterility*, **96**, 90-94. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.04.093>
- [12] Somasundaram, D., Selvanesan, B., Ramachandran, I., et al. (2016) Lactational Exposure to Di(2-ethylhexyl) Phthalate Impairs the Ovarian and Uterine Function of Adult Offspring Rat. *Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif)*, **23**, 549-559. <https://doi.org/10.1177/1933719115607995>
- [13] Liu, T., Li, N., Zhu, J., et al. (2014) Effects of di-(2-ethylhexyl) Phthalate on the Hypothalamus-Pituitary-Ovarian Axis in Adult Female Rats. *Reproductive Toxicology (Elmsford, NY)*, **46**, 141-147. <https://doi.org/10.1177/1933719115607995>
- [14] Meltzer, D., Martinez-Arguelles, D., Campioli, E., et al. (2015) In Utero Exposure to the Endocrine Disruptor di(2-ethylhexyl) Phthalate Targets Ovarian Theca Cells and Steroidogenesis in the Adult Female Rat. *Reproductive Toxicology (Elmsford, NY)*, **51**, 47-56. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.12.005>
- [15] Gupta, R., Singh, J., Leslie, T., et al. (2010) Di-(2-ethylhexyl) Phthalate and Mono-(2-ethylhexyl) Phthalate Inhibit Growth and Reduce Estradiol Levels of Antral Follicles in Vitro. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **242**, 224-230. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.10.011>
- [16] 李瑞, 于超, 丁裕斌, 陈雪梅, 刘学庆, 黄霏, 王应雄, 何俊琳. 增塑剂邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)对绒毛外滋养层细胞侵袭和迁移的影响[J]. 中国细胞生物学学报, 2011, 33(12): 1316-1323.
- [17] Jaakkola, J.J., Verkasalo, P.K. and Jaakkola, N. (2000) Plastic Wall Materials in the Home and Respiratory Health in Young Children. *American Journal of Public Health*, **90**, 797-799. <https://doi.org/10.2105/AJPH.90.5.797>
- [18] Kuo, C., Moon, K., Thayer, K., et al. (2013) Environmental Chemicals and Type 2 Diabetes: An Updated Systematic Review of the Epidemiologic Evidence. *Current Diabetes Reports*, **13**, 831-849. <https://doi.org/10.1007/s11892-013-0432-6>
- [19] Svensson, K., Hernandez-Ramirez, R., Burguete-García, A., et al. (2011) Phthalate Exposure Associated with Self-Reported Diabetes among Mexican Women. *Environmental Research*, **111**, 792-796. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.05.015>

-
- [20] Kluwe, W., McConnell, E., Huff, J., *et al.* (1982) Carcinogenicity Testing of Phthalate Esters and Related Compounds by the National Toxicology Program and the National Cancer Institute. *Environmental Health Perspectives*, **45**, 129-133. <https://doi.org/10.1289/ehp.8245129>
- [21] Baumert, B.O., Goodrich, J.A., Hu, X., *et al.* (2022) Plasma Concentrations of Lipophilic Persistent Organic Pollutants and Glucose Homeostasis in Youth Populations. *Environmental Research*, **212**, Article ID: 113296. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113296>
- [22] 王民生. 邻苯二甲酸酯(塑化剂)的毒性及对人体健康的危害[J]. 江苏预防医学, 2011, 22(4): 68-70.
- [23] Talsness, C.E. andrade, A.J., Kuriyama, S.N., *et al.* (2009) Components of Plastic: Experimental Studies in Animals and Relevance for Human Health. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **364**, 2079-2096. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0281>
- [24] Wei, Z., Song, L., Wei, J., *et al.* (2012) Maternal Exposure to Di-(2-ethylhexyl)phthalate Alters Kidney Development through the Renin-Angiotensin System in Offspring. *Toxicology Letters*, **212**, 212-221. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.05.023>
- [25] Jin, D., Bai, Z., Chang, D., *et al.* (2012) Biodegradation of Di-n-butyl Phthalate by an Isolated *Gordonia* sp. Strain QH-11: Genetic Identification and Degradation Kinetics. *Journal of Hazardous Materials*, **221-222**, 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.04.010>
- [26] Nishioka, T., Iwata, M., Imaoka, T., *et al.* (2006) A Mono-2-ethylhexyl Phthalate Hydrolase from a *Gordonia* sp. That Is Able to Dissimilate Di-2-ethylhexyl Phthalate. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**, 2394-2399. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.4.2394-2399.2006>