



邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 (DEHP) 的细菌生物降解*

邱佳容¹⁾ 朱梦磊¹⁾ 张良清^{1)**} 曾宪海²⁾ 金玉凤¹⁾ 邓佳慧¹⁾

(¹⁾ 福州大学先进制造学院, 晋江 362251; ²⁾ 厦门大学能源学院, 厦门 361102)

摘要 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(dis(2-ethylhexyl)phthalate, DEHP)是一种人工合成的有机化合物,其作为增塑剂,因具有优良的柔韧性、可塑性和耐久性等特征而被广泛应用在个人护理、医疗器械、食品包装和塑料制造等领域。DEHP在土壤、水体和大气等环境中普遍存在,且由于DEHP是一种常见的内分泌干扰物,具有生殖毒性、免疫毒性以及神经毒性等,不仅给生态环境造成了威胁,而且可通过食物链进入人体给健康带来危害。因此,去除环境中的DEHP备受关注。DEHP的生物降解被认为是最绿色环保的降解方式,目前已有不少关于DEHP生物降解的研究报道。本文综述了DEHP的污染及危害、细菌生物降解现状,重点介绍了DEHP经酯键水解、 β 氧化、原儿茶酸降解、苯甲酸降解以及三羧酸循环等过程实现完全降解的途径,以及从基因层面阐述DEHP降解的分子机制,并针对DEHP生物降解目前还存在的问题进行总结和展望,为环境中DEHP有效生物降解提供参考。

关键词 DEHP, 细菌生物降解, 降解途径, 分子机制
中图分类号 Q89, X592

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0472

邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(dis(2-ethylhexyl)phthalate, DEHP)是邻苯二甲酸酯(phthalates, PAEs)类化合物中使用最普遍和最广泛的增塑剂之一^[1-2],由于其优良的柔韧性、可塑性和耐久性被广泛用于塑料制品、食品、日化产品、化妆品和医药等行业中^[3-5]。近年来由于DEHP的大量使用,在土壤、水体和大气等环境中普遍存在,造成严重的环境污染问题^[6]。

DEHP在环境中自然降解极其缓慢,属于典型的持久性有机污染物,常见的DEHP降解方法主要有物理法^[6]、化学法^[7]以及生物法^[8]等。其中DEHP的生物降解法因具有降解效果好、安全无二次污染以及环境扰动小等特点而备受关注^[9-10]。本文对DEHP的污染以及危害、细菌生物降解现状、降解途径及分子机制等方面进行综述,并针对DEHP生物降解目前还存在的问题进行总结和展望,为环境中DEHP有效生物降解提供参考。

1 DEHP的污染及危害

DEHP作为一种优良的增塑剂,在工业生产过

程中广泛应用,DEHP与塑料及其制品的分子之间以氢键或范德华力相连,这种连接方式并不稳定,极易在使用过程中发生迁移从而进入空气、水体以及土壤中,引起环境污染。例如,董磊等^[11]在对长江武汉段丰水期水体和沉积物中PAEs进行检测时发现,水体中DEHP浓度范围为35.1~347.4 ng/L,沉积物中DEHP的浓度范围为611.9~3 095.0 ng/g,且部分采样点DEHP的质量浓度已经超过了人体健康水质基准(饮水+食用水生生物0.32 μ g/L)。王欢等^[12]在对松花江的表层沉积物进行检测时发现,DEHP浓度范围为4 808.4~18 909.5 ng/g。黄华

* 国家自然科学基金(42207148),福建省自然科学基金(2022J01573),福建省中青年教育科研项目(JAT210042),泉州市科技计划(2022N030),天津大学-福州大学自主创新基金合作项目(TF2022-10),福州大学博士科研基金(511084),福州大学贵重仪器设备开放测试基金(2022T032, 2022T037)和自然资源部海洋生物遗传资源重点实验室开放课题基金(HY202201, HY202202)资助。

** 通讯联系人。

Tel: 18759147839, E-mail: lqzhang@fzu.edu.cn

收稿日期: 2022-10-05, 接受日期: 2023-01-05

鑫等^[13]在对河南烟草种植土壤进行检测时,发现超过95%的土壤样品中被检测出来存在DEHP污染,平均浓度0.131 mg/kg。Wei等^[14]在对长江三角洲地区的土壤和蔬菜样品检测时发现,样品中DEHP的浓度分别占总PAEs的88.3%和61.9%。Lü等^[15]调查发现,全国各地的土壤普遍存在DEHP污染,其中广东、山东和湖北等地土壤中DEHP含量明显偏高。可见,DEHP污染在自然环境中普遍存在,给生态环境造成了威胁^[16]。由于DEHP还可以通过日常饮食、呼吸和皮肤接触等直接进入人体^[17-18]。即便在极低的浓度下DEHP仍然会干扰人类和动物的内分泌系统,引发生殖系统毒性以及产生“三致”毒性(致突变、致畸、致癌)等,严重威胁人和动物健康^[19-25]。

2 DEHP的细菌生物降解

2.1 单菌降解DEHP

目前已从垃圾填埋场、各种水体及沉积物、污水处理厂的活性污泥以及各类土壤等样品中分离出大量具有DEHP降解活性的细菌(表1),这些菌株主要来自红球菌属(*Rhodococ*)、戈登尼亚菌属(*Gordonia*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)等菌属^[26-29]。不同菌属对DEHP的降解能力不同,即便菌属相同如菌株不同对DEHP的降解能力也有所差异。红球菌(*Rhodococcus* sp. PFS1)和赤红球菌(*Rhodococcus ruber* YC-YT1)在3 d内能将100 mg/L DEHP完全降解,它们的降解能力高于节杆菌(*Arthrobacter* C21)(51.4%)和荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescences* FS1)(30%)^[30-31],食吡啶红球菌(*Rhodococcus pyridinivorans* XB)在2 d内就能将200 mg/L DEHP降解98%^[32],而*Rhodococcus* sp. WJ4需要5 d才能将200 mg/L DEHP降解96.4%^[33];能降解500 mg/L及以上浓度DEHP的菌属包括伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)、古杜尼氏菌属(*Gurduniu*)、*Rhodococcus*、*Gordonia*、分枝杆菌属(*Mycolicibacterium*)、*Bacillus*等^[34-36],其中,福茨分枝杆菌(*Mycolicibacterium phocaicum* RL-HY01)在3 d内可将1 000 mg/L的DEHP完全降解^[37],*Gurduniu* sp. Lff在3 d内对2 000 mg/L的DEHP降解率达到91.4%^[38]。大部分*Rhodococcus*和*Gordonia*菌属的菌株都可以降解含DEHP在内的多种PAEs,其中菌株*Rhodococcus* sp. PFS1和

Rhodococcus ruber YC-YT1分别能降解包括DEHP在内的11种和13种带有不同侧链的PAEs(包括邻苯二甲酸二丙酯(dipropyl phthalate, DPRP)、邻苯二甲酸二癸酯(didecyl phthalate, DDP)、邻苯二甲酸二壬酯(dinonyl phthalate, DNP)、邻苯二甲酸二丙烯酯(dipropylene phthalate, DAP)等)^[39-40],具有这种广底物谱的菌株目前比较有限。此外,*Gordonia*、*Bacillus*、*Mycolicibacterium*等菌属的部分菌株还具有不同程度的耐盐性,其中菌株食烷烃戈登氏菌(*Gordonia alaknivorans* YC-RL2)可耐受高达12%的盐浓度^[27]。有部分菌株还能够降解混合污染物,如Ren等^[41]从石油污染土壤样品中分离的*Mycobacterium* sp. YC-RL4在5 d内可高效降解由DEHP、邻苯二甲酸二甲酯(dimethyl phthalate, DMP)、邻苯二甲酸二丁酯(dibutyl phthalate, DBP)、邻苯二甲酸二乙酯(diethyl phthalate, DEP)和邻苯二甲酸二环己酯(dicyclohexyl phthalate, DCHP)组成的混合污染物,其降解率均在90%以上。Zhang等^[36]从土壤样品中分离的莫海威芽孢杆菌(*Bacillus mojavensis* B1811)可对7种PAEs组成的混合污染物进行高效生物降解,4 d内可完全降解DEHP、DBP、邻苯二甲酸丁苄酯(butylbenzyl phthalate, BBP)、邻苯二甲酸二辛酯(dioctyl phthalate, DNOP)和邻苯二甲酸二戊酯(dipentyl phthalate, DPP),对DMP和DEP的降解率也分别达到了94.1%和57.1%。

目前的研究主要集中于细菌对DEHP的生物降解,其pH适应范围在5~9之间,温度适应范围大部分为30℃左右,能适应极端pH和温度的菌株很少;虽然大部分菌株在较高底物浓度时表现出较强降解能力(降解率几乎大于90%),但是环境中DEHP的浓度普遍偏低,而关于菌株对低浓度DEHP降解的研究较少,后期针对该问题进行研究将有助于对被DEHP污染的环境进行生物修复;大多数的菌株是不具有耐盐性或者耐盐性很差,耐盐性强的菌株在修复高盐度DEHP污染的环境方面具有很好的应用潜力。降解菌株的底物谱范围、降解速率、环境适应性等是反映其环境修复潜力的重要指标,但是同时具备多底物降解能力以及抵御逆境胁迫能力的高效降解菌株仅有少数,研究人员仍需从自然环境中分离筛选或人工改造获得更多性能优良的新降解菌以丰富菌株资源,为后续深入研究和实际应用提供保障。

Table 1 Comparison of DEHP degrading bacteria and degradation performance

表1 DEHP降解细菌及降解性能比较

菌株来源	菌株	降解条件	底物	降解性能	参考文献
农田土壤	<i>Rhodococcus pyridionovorans</i> DNHP-S2	pH 7.0, 35°C (pH 5~9, 10~50°C)	DEHP (DMP、BBP、DBP、DNOP)	500 mg/L, 99.75%, 3 d	[26]
石油污染土壤	<i>Gordonia alaknivorans</i> YC-RL2	pH 8.0, 30°C, NaCl 0~5% (pH 6~11, 10~50°C, NaCl 0~12%)	DEHP (DBP、DCHP、DMP、DEP)	800 mg/L, 94.6%, 7 d	[27]
活性污泥	<i>Acinetobacter</i> sp. SN13	pH 6~9, 30°C (pH 6~9, 25~35°C)	DEHP	400 mg/L, 90%, 5 d	[28]
活性污泥	<i>Bacillus</i> sp. MY156	pH 8.0, 30°C (pH 4~10, 25~40°C, NaCl 0~5%)	DEHP (DBP、DMP、DEP)	300 mg/L, 99.13%, 5 d	[29]
人工湿地土壤	<i>Arthrobacter</i> C21	pH 7.0, 30°C	DEHP (DMP、DEP、DBP、DNOP)	100 mg/L, 51.4%, 3 d	[30]
活性污泥	<i>Pseudomonas fluorescences</i> FS1	pH 7.5, 30°C (pH 6.5~8, 10~35°C)	DEHP (DMP、DEP、DBP、DIBP)	100 mg/L, 30%, 3 d	[31]
活性污泥	<i>Rhodococcus pyridinivorans</i> XB	pH 7, 30°C (pH 5~9, 20~40°C)	DEHP (DMP、DEP、DBP)	200 mg/L, 98%, 2 d	[32]
蔬菜土壤	<i>Rhodococcus</i> sp. WJ4	pH 7, 28°C	DEHP	200 mg/L, 96.4%, 5 d	[33]
土壤	<i>Burkholderia pyrrocinia</i> B1213	pH 7, 30°C (pH 6~9, 20~40°C)	DEHP	500 mg/L, 100%, 6 d	[34]
蔬菜根际土壤	<i>Rhodococcus</i> sp. 2G	pH 7, 30°C (pH 5~9, 20~40°C)	DEHP	800 mg/L, 97%, 5 d	[35]
土壤	吡咯伯克霍尔德氏菌 (<i>Bacillus mojavensis</i> B1811)	pH 5~9, 30°C (pH 3~9, 10~50°C)	DEHP (DBP、BBP、DPP、DNOP)	500 mg/L, 100%, 4 d	[36]
潮间带沉积物	<i>Mycolicibacterium phocaicum</i> RL-HY01	pH 7, 30°C, NaCl 0~8% (pH 5~9, 20~40°C, NaCl 0~10%)	DEHP (DBP、DEP、DMP)	1 000 mg/L, 100%, 3 d	[37]
河流污泥	<i>Gurduniu</i> sp. Lff	pH 7, 35°C (pH 5~9, 20~40°C)	DEHP	0~2 000 mg/L, 91.4%, 3 d	[38]
稻田土壤	<i>Rhodococcus</i> sp. PFS1	pH 7, 30°C (pH 5~9, 10~60°C, NaCl 0~5%)	DEHP (DMP、DEP、DBP、BBP、DCHP、DPRP、DAP、DHP、DHHP、DNOP)	100 mg/L, 100%, 3 d	[39]
海洋塑料碎片	<i>Rhodococcus ruber</i> YC-YT1	pH 7.0, 30°C (pH 4~10, 10~50°C)	DEHP (DBP、DEP、DMP、DDP、DNP、DNOP、DCHP、BBP、DHP、DPRP、DAP、DHPP)	100 mg/L, 100%, 3 d	[40]
石油污染土壤	<i>Mycobacterium</i> sp. YC-RL4	pH 8, 30°C (pH 6~10, 20~40°C)	DEHP (DMP、DEP、DMP、DBP、DCHP)	50 mg/L, 100%, 3 d	[41]
泥沙	苍白杆菌 (<i>Ochrobactrumantropi</i> L1-W)	pH 6, 30°C (pH 4~8, 15~45°C)	DEHP (BBP、DMP、DEP、DBP)	200 mg/L, 98.7%, 3 d	[42]
活性污泥	<i>Achromobacter</i> sp. RX	pH 7, 30°C (pH 5~9, 20~40°C)	DEHP	300 mg/L, 100%, 4 d	[43]

2.2 菌群降解DEHP

DEHP的完全降解需要不同的代谢基因和酶,有些菌株能单独完成整个降解过程,但有些菌株只能降解其中的一部分,还需要其他菌株的协同作用才能实现完全降解。混合菌株主要分为自然菌群和人工组合菌群两种。自然界中的细菌往往以菌群的形式存在,通过协同作用分解DEHP为自身生长提供能量,同时这也为筛选DEHP自然菌群提供了可能。如李静^[44]从PAEs污染的活性污泥样品中分离的由菌株JM-1、J-1、J-11、KJ-1和KJ-2组成的菌群SD-1,72 h可将初始浓度为1 000 mg/L的DEHP降解约90%,其中KJ-1和KJ-2无法利用邻苯二甲酸(PA),JM-1能降解PA但速率较慢,在菌群SD-1传代培养的菌群SD-P中分离的PA降解菌株PA-1和PA-3的共同作用下,菌群SD-1可将DEHP完全降解。Shariati等^[45]从湿地沉积物中分离出由菌株恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida* ShA)和*Gordonia alkanivorans* Sh6组成的菌群An6,该菌群在3 d内可将初始浓度500 mg/L的DEHP降解97%,研究还发现这两种菌株降解DEHP时可能存在互补效应。Li等^[46]研究发现,主要由*Gordonia* sp. (54.93%)、*Achromobacter* sp. (9.92%)和*Rhodococcus* sp. (8.47%)等7个科和7个属细菌组成的耐盐菌群LF在48 h内可将初始浓度1 000 mg/L的DEHP降解93.48%。与自然菌群相比,人工组合的菌群研究相对较少,人工组合的菌群是由两种或两种以上来自不同样品中的菌株或菌群经人工按一定的配比组合而成的新菌群,如王天竹^[47]将从土壤样品中分离的菌株TWZ-1和TWZ-R1与从活性污泥样品中分离的菌株TWZ-2和TWZ-R2组合成复合菌群TWZ,该菌群3 d内可将初始浓度950 mg/L的DEHP降解98.04%,比单一菌株的降解效率(TWZ-1: 93%; TWZ-R1: 85.3%; TWZ-2: 53%; TWZ-R2: 87%)都要高。马永见^[48]从垃圾堆积场的土壤中分离出3株PAEs降解菌株MJ1、MJ2和MJ3,将其按照3:2:1的比例复配,菌群可高效降解初始底物浓度为780 mg/L的PAEs(DMP、DBP和DEHP各260 mg/L)混合物,DMP、DBP和DEHP的降解率分别可达97.62%、94.29%和92.55%,且对PAEs的降解速率大大加快,若要达到相似去除率单一菌株需要72 h而菌群

仅需48 h,且菌群有较好的稳定性。

综上,无论是自然菌群还是人工组合菌群,在一定程度上均能克服单菌的代谢限制(如有些菌株只能将DEHP降解成邻苯二甲酸(PA),无法进一步利用PA),弥补降解缺陷,还可通过协同作用提高降解效率。尽管菌群在降解DEHP方面与单菌降解相比存在很多优势,但是近年来相关研究报道不是很多,究其原因主要在于人工组合菌群不仅要考虑菌株在降解DEHP方面的协同作用,还要考虑其他方面是否存在协同作用甚至拮抗作用,以及各菌株适宜的生长条件等问题,且人工组合菌群往往是在实验室条件下开发的,当应用到自然环境中时会受多种因素影响而难以维持稳定,甚至因与土著微生物竞争处于劣势而被淘汰;虽然天然菌群菌株间相互适应且建立了一定的协作关系,环境适应性更强,更适合环境污染的修复,但是发现良好的组合菌群较为困难。

3 DEHP的生物降解途径及分子机制

DEHP在有氧或厌氧条件下均能被降解,有氧降解速率一般高于厌氧降解速率,目前的研究主要集中于DEHP的有氧生物降解。DEHP的生物降解过程主要分为两个阶段(图1):a. DEHP降解为PA;b. PA进一步降解为H₂O和CO₂。

3.1 DEHP降解为PA

第一阶段DEHP降解为PA,该阶段主要有以下两种降解途径。

a. DEHP通过酯键水解生成邻苯二甲酸单(2-乙基己基)酯(MEHP)和PA(图1路径①)^[49]。目前已报道了一些具有DEHP降解活性的酯酶,这些酶主要分为三类(表2),第一类酶只能水解DEHP的一个酯键生成MEHP,目前参与该反应的酶相对比较多。Huang等^[50]从*Gordonia* sp. 5F中分离出的酯酶GoEst15(GenBank, MH507607);Yan等^[51]从土壤宏基因组文库筛选到羧酸酯酶EstYZ5(GenBank, QWT77157.1);徐友强等^[52]从分散泛菌(*Pantoea dispersa* BJQ0007)分离的两种 α/β 水解酶(GenBank, GAY20-00820和GAY20-10025),其中GoEst15具有很广的底物谱,能够降解包含DEHP在内的10种PAEs(包括DPRP、邻苯二甲酸二异丁酯(diisobutyl phthalate, DIBP)、

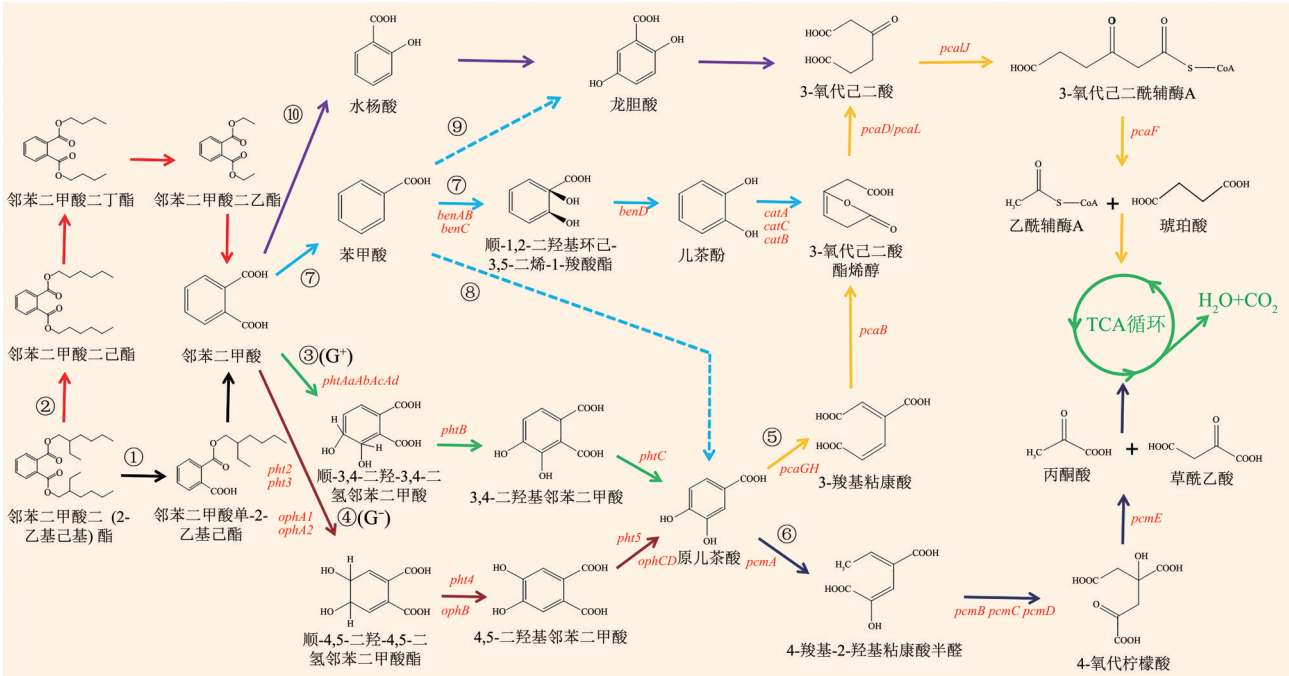


Fig. 1 Biodegradation pathway of DEHP

图1 DEHP的生物降解途径

①DEHP酯键水解过程(黑色实线箭头); ②DEHP侧链β氧化、转酯化和脱脂化降解过程(红色实线箭头); ③由革兰氏阳性菌(G^+)的*pht*基因簇编码的酶介导PA到原儿茶酸(PCA)降解过程(绿色实线箭头); ④由革兰氏阴性菌(G^-)的*pht*和*oph*基因簇编码的酶介导PA到PCA降解过程(深红色实线箭头); ⑤由*pca*基因簇编码的酶介导PCA内二醇环裂解过程(黄色实线箭头); ⑥由*pcm*基因簇编码的酶介导PCA外二醇环裂解过程(深蓝色实线箭头); ⑦由*ben*和*cat*基因簇编码的酶介导PA的苯甲酸(BA)降解途径的儿茶酚分支(蓝色实线箭头); ⑧PA的苯甲酸降解途径的PCA分支(蓝色虚线箭头); ⑨PA的苯甲酸降解途径的龙胆酸分支(蓝色虚线箭头); ⑩PA的龙胆酸降解途径(紫色实线箭头)。

邻苯二甲酸二己酯 (dihexyl phthalate, DHP) 等)。第二类酶只能将 MEHP 酯键水解生成 PA, 如 Huang 等^[50] 从 *Gordonia* sp. 5F 中分离的酯酶 GoEstM1 (GenBank, MH513611), Iwata 等^[53] 从 *Rhodococcus* sp. EG-5 中分离的水解酶 EG-5 MchpH (GenBank, LC094142), Nahurira 等^[54] 从 *Gordonia alkanivorans* Strain YC-RL2 中分离出 MchpH 水解酶 (GenBank, AMJ52171)。第三类酶可以同时水解 DEHP 的两个酯键, 即对 DEHP 和 MEHP 都有水解活性。Qiu 等^[55] 从土壤宏基因组文库筛选到的一种酯酶 EstJ6 (GenBank, MK037455), 该酯酶能降解包括 DEHP 和 MEHP 在内的 12 种 PAEs (包括邻苯二甲酸单甲酯 (monomethyl phthalate, MMP)、邻苯二甲酸单乙酯 (monoethyl phthalate, MEP)、邻苯二甲酸单丁酯 (monobutyl phthalate, MBP)、邻苯二甲酸单己

基酯 (monohexyl phthalate, MHP) 等)。以上酯酶均是由相应的酯酶基因编码, 且均能降解两种及以上的 PAEs 类底物。然而, 目前已报道的第三类酶还是非常有限, 要实现 DEHP 到 PA 的降解一般需要第一类酶和第二类酶的共同参与。因此, 可以通过对第一类酶和第二类酶进行共表达来实现。例如, Huang 等^[50] 通过构建双酶系统同时表达 GoEst15 和 GoEstM1 这两个酯酶, 从而实现对 DEHP 到 PA 的降解。当然, 还可以通过对第一类酶或者第二类酶进行分子改造来实现对 DEHP 到 PA 的降解。此外, 考虑到目前报道的 DEHP 酯键水解酶大部分来源于可培养微生物, 只有少部分来源于宏基因组文库, 因此, 后期还可以通过宏基因组技术挖掘环境中尚未开发的资源以期获得具有新颖活性的 DEHP 降解酶, 从而实现对 DEHP 到 PA 的降解。

Table 2 Comparison of DEHP ester bond hydrolase and its degradation performance

表2 DEHP酯键水解酶及降解性能比较

水解酶名称	水解酶来源	降解条件	底物	降解性能	参考文献
GoEst15	<i>Gordonia</i> sp. 5F	pH 7, 30°C	DEHP (DMP、DEP、DPRP、DBP、DIBP、BBP、DPP、DHP、DNOP、DCHP)	5 mmol/L, 100%, 12 h	[50]
GoEstM1	<i>Gordonia</i> sp. 5F	pH 7, 30°C	MEHP (MMP、MBP)	5 mmol/L, 100%, 24 h	[50]
EstYZ5	土壤宏基因组文库	pH 8, 30°C	DEHP (DMP、DEP、DBP、BBP、DAP)	15.5 mmol/L·s	[51]
α/β 水解酶	<i>Pantoea dispersa</i> BJQ0007	pH 7, 37°C	DEHP (DMP、DBP)	200 mg/L, 54.3%, 60 h	[52]
α/β 水解酶	<i>Pantoea dispersa</i> BJQ0007	pH 8, 50°C	DEHP (DMP)	200 mg/L, 21.7%, 60 h	[52]
EG-5 MehpH	<i>Rhodococcus</i> sp. EG-5	pH 7, 37°C	MEHP (MHP、MBP、MEP)	26 μ mol/min·mg	[53]
MehpH	<i>Gordonia alkanivorans</i> Strain YC-RL2	pH 7.5, 45°C	MEHP (MDP、MMP、MEP)	100 mg/L, 90%, 30 min	[54]
EstJ6	土壤宏基因组文库	pH 7.5, 40°C	DEHP (DBP、DPP、DPRP、DEP、DHP、DMP、MMP、MEP、MBP、MHP、MEHP)	—	[55]

b. DEHP 侧链 β 氧化、转酯化和脱脂化 (图 1 途径②), 菌株通过 β 氧化反应依次移除两个侧链上的乙基, 生成中间产物 DBP、DBP 和 DEP 等, 之后 DEP 通过脱脂化或转酯化反应生成 PA。研究表明, 杏仁假单胞菌 (*Pseudomonas amygdali* ASLT-13)、铜绿假单胞菌 (*Cupriavidus oxalaticus* E3) 和 *Bacillus* sp. SAS-7 等菌株都是通过 β 氧化、转酯化和脱脂化降解途径起始 DEHP 降解生成 PA^[56-58], 但是参与该降解途径的相关基因和酶的研究报道却很少。Wright 等^[59] 通过对 *Mycobacterium* sp. DBP42 参与塑化剂降解的基因组进行注释分析, 结果表明, 单加氧酶基因在 DEHP 的强烈诱导下表达, DEHP 酯侧链在单加氧酶的作用下发生羟基化反应进入 β 氧化途径。

有研究还发现, 部分菌株可同时通过酯键水解和 β 氧化将 DEHP 降解成 PA, 如在分析菌株 *Rhodococcus pyridinivorans* XB 对 DEHP 的降解时, 在其产物中检测到了 DBP、PA 和 2-乙基己醇, 这就意味着菌株 XB 对 DEHP 的生物降解可能包含两种途径: 第一种途径是通过酯键水解途径生成中间产物 PA 和 2-乙基己醇, 第二种途径是通过 β 氧化降解途径生成中间产物 DBP^[32]。

3.2 PA 进一步降解为 H_2O 和 CO_2

PA 在有氧或厌氧条件下都能被降解, 最常见的降解途径有两种, 分别是 PA 先转化成中间产物原儿茶酸 (PCA) 之后进一步降解实现完全矿化 (简称 PA 的原儿茶酸降解途径) 和 PA 先转化为苯甲酸 (BA) 然后完全降解 (简称 PA 的苯甲酸代谢途径)。此外, 还有其他降解途径, 如 PA 先转化成中间产物龙胆酸 (gentian acid) 进而完全降解 (简

称 PA 的龙胆酸降解途径) 和 PA 先转化成邻苯二甲酰辅酶 A (phthaloyl CoA) 之后进一步降解 (简称 PA 的邻苯二甲酰辅酶 A 降解途径)。

3.2.1 PA 的原儿茶酸降解途径

PA 转化成 PCA 阶段可由革兰氏阴性菌 (G^-) 和革兰氏阳性菌 (G^+) 分别独立完成。革兰氏阳性菌 (G^+) 通过 *pht* 基因簇编码的相关酶将 PA 降解成 PCA (图 1 途径③ (G^+))。该途径首先是 PA 在 *phtAaAbAcAd* 编码的邻苯二甲酸 3,4-双加氧酶复合体作用下生成顺-3,4-二羟基-3,4-二氢邻苯二甲酸 (cis-3,4-dihydroxy-3,4-dihydrophthalate), 其次在 *phtB* 编码的 3,4-二羟基-3,4-二氢邻苯二甲酸脱氢酶的作用下脱氢生成 3,4-二羟基邻苯二甲酸 (3,4-dihydroxyphthalate), 最后在 *phtC* 编码的 3,4-二羟基邻苯二甲酸脱羧酶的作用下生成原儿茶酸^[60]。最早关于 *pht* 基因簇的报道是在菌株克氏节杆菌 (*Arthrobacter keyseri* 12B) 的 130 kb 质粒中被发现, 其在质粒中的排列序列为 *phtBAaAbAdCR*^[61]。在之后的研究中也发现了类似的基因簇, 如 *Rhodococcus* sp. HS-D2 和河假关节杆菌 (*Pseudarthrobacter defluvii* E5) 中分别以 *phtCAaAbBAbAa* 和 *phtBAaAbAuAcAdCR* 方式排列的基因簇^[59, 62]。而范巴氏分枝杆菌 (*Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1) 的整个基因簇以 *phtRAaAbBACAd* 形式存在, 由于缺少编码 3,4-二羟基邻苯二甲酸脱羧酶的基因 *phtC*, 导致不能催化 3,4-二羟基邻苯二甲酸生成 PCA^[63]。革兰氏阴性菌 (G^-) 是通过 *pht* 基因簇或 *oph* 基因簇编码的相关酶将 PA 降解成 PCA (图 1 途径④ (G^-))。该途径首先是 PA 在 *pht2* 和 *pht3* 或 *ophA1* 和 *ophA2* 编码的 4,5-邻

苯二甲酸双加氧酶还原酶和4,5-邻苯二甲酸双加氧酶的作用下生成顺-4,5-二羟-4,5-二氢邻苯二甲酸酯(cis-4,5-dihydroxy-4,5-dihydrophthalate)。其次在 *pht4* 或 *ophB* 编码的顺-4,5-二羟-4,5-二氢邻苯二甲酸脱氢酶的作用下生成4,5-二羟基邻苯二甲酸(4,5-dihydroxyphthalate), 最后在 *pht5* 或 *ophCD* 编码的4,5-二羟基邻苯二甲酸脱羧酶的作用下生成PCA^[64]。基因簇 *pht* 在革兰氏阴性菌 *Pseudomonas putida* NMH102-2 的PA降解基因中被鉴定出来, 以 *pht12345* 形式排列^[65]。基因簇 *oph* 在革兰氏阴性菌伯克霍尔德菌 (*Burkholderia cepacia* DBO1) 的PA降解相关基因中被鉴定出来, 以 *ophA1DCA2B* 形式排列^[66]。

PCA通过内二醇环裂解或外二醇环裂解进一步分解成小分子有机酸, 最后通过三羧酸(TCA)彻底降解为H₂O和CO₂。PCA的内二醇环裂解是在 *pca* 基因簇编码的相关酶催化下进行的(图1途径⑤)。该途径首先是PCA在 *pcaGH* 编码的原儿茶酸3,4-双加氧酶的作用下内环裂解生成3-羧基粘康酸(3-carboxymuconate), 其次在 *pcaB* 编码的3-羧基粘康酸环异构酶作用下生成3-氧代己二酸酯烯醇(3-oxoadipateenol lactone), 然后在 *pcaD* 或 *pcaL* 编码的3-氧代己二酸酯烯醇内酯酶的作用下生成3-氧代己二酸(3-ketoadipate)(又称β酮己二酸), 之后在 *pcaIJ* 编码的3-氧代己二酸辅酶A转移酶的作用下氧化成3-氧代己二酰辅酶A(3-ketoadipay-CoA), 最后在 *pcaF* 编码的3-氧代己二酰辅酶A硫解酶的作用下生成琥珀酸(succinic acid)和乙酰辅酶A(acetyl-CoA), 最终进入TCA循环完全降解^[28, 32, 34, 37]。如菌株 *Gordonia* sp. YC-JH1 中的PCA降解基因簇 *pcaGHBLIJF*^[60], 菌株 *Rhodococcus pyridinovorans* DNHP-S2 中的PCA降解基因簇 *pcaBLIJCHG*^[26]。PCA的外二醇环裂解是在 *pcm* 基因簇编码的相关酶催化下进行的(图1途径⑥)。该途径首先是PCA在 *pcmA* 编码的原儿茶酸4,5-双加氧酶的作用下外环裂解生成4-羧-2-羟基粘康酸半醛(4-carboxy-2-hydroxymuconic), 其次在 *pcmB* 编码的2-羟基-4-羧基粘康酸半醛脱氢酶的作用下生成2-吡喃酮-4,6-二羧酸(2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid), 之后在 *pcmC* 编码的2-吡喃酮-4,6-二羧酸水解酶和 *pcmD* 编码的4-草酰甲酸水合酶的共同作用下生成4-氧代柠檬酸(4-oxalocitramalate), 接着在 *pcmE* 编码的4-草酰柠檬酸醛缩酶的作用下分解成草酰乙酸(oxaloacetic

acid)和丙酮酸(pyruvic acid), 最终通过TCA循环完全降解。

3.2.2 PA的苯甲酸降解途径

PA降解过程中产生的BA最先被认定为厌氧代谢的中间体, 大量的研究表明, PA在有氧或厌氧条件下都可以生成BA进而进一步降解^[67-68]。有氧条件下PA在琥珀酰辅酶A转移酶的催化下脱羧生成BA^[69-70]。BA在 *ben* 基因簇和 *cat* 基因簇编码的相关酶作用下进一步分解生成小分子有机酸, 最后通过TCA彻底降解(图1途径⑦)。该途径首先BA在 *benAB* 编码的苯甲酸1,2-双加氧酶和 *benC* 编码的苯甲酸1,2-双加氧酶还原酶的作用下生成顺式-1,2-二羟基环己-3,5-二烯-1-羧酸酯(cis-1,2-dihydroxy cyclohexa-3,5-diene-1-carboxylate), 然后在 *benD* 编码的二羟基环己二烯羧酸脱氢酶作用下降解为儿茶酚(catechol), 儿茶酚在 *catA* 编码的儿茶酚1,2-二加氧酶、*catB* 编码的黏液酸环异构酶和 *catC* 编码的粘康酸内酯δ-异构酶的共同作用下生成3-氧代己二酸酯烯醇(3-oxoadipateenol-lactone), 之后进一步将3-氧代己二酸酯烯醇分解成小分子有机酸(其过程与PCA的 *pcaD/pcaL/pcaI/pcaJ/pcaF* 参与的代谢相同), 最后通过TCA循环完全降解^[35]。如菌株嗜盐单胞菌属 (*Halomonas* sp. ATBC28) 中的 *benBAKDC* 和 *catACB*^[59] 和菌株 *Pseudarthrobacter defluvii* E5 中的 *benKRABCDE* 和 *catABC* 基因簇, 其中 *benE* 和 *benK* 编码转运蛋白, *benR* 编码转录调节因子^[69]。BA可以在有氧条件下经兼性厌氧菌的作用转化成PCA(图1途径⑧), 之后通过PCA降解途径进入TCA循环, 实现完全降解。BA也可以先转化成龙胆酸, 然后进入β-酮己二酸降解途径(图1途径⑨), 最终通过TCA循环完全降解^[59]。

3.2.3 PA的其他降解途径

PA的龙胆酸降解途径如图1途径⑩所示, 首先PA先转化成水杨酸(salicylic acid)再转化成龙胆酸, 之后龙胆酸转化成β-酮己二酸, 进入β-酮己二酸降解途径, 最终通过TCA循环完全降解^[37]。在PAEs生物降解过程中已经确定了水杨酸和龙胆酸, 但在PAEs降解细菌中, 对β-酮己二酸途径的龙胆酸分支的完整代谢途径和相关分子机制的认识不足。

PA的邻苯二甲酰辅酶A降解途径是PA厌氧降解途径。首先PA在厌氧细菌的作用下将PA转化为邻苯二甲酰辅酶A, 然后进行脱羧形成苯甲酰辅酶

A, 最终进入苯甲酰辅酶 A 降解途径完全降解^[71-73]。Junghare 等^[74]通过分析厌氧菌株固氮弧菌 (*Azoarcus* sp. PA01T) 的基因组信息发现, PA 厌氧降解的基因簇包括编码周质结合蛋白的 *so0456* 基因、III 型辅酶 A 转移酶亚基的 *phtSa* 基因、III 型辅酶 A 转移酶亚基 *phtSb* 基因、邻苯二甲酰辅酶 A 脱羧酶的 *phtDa* 基因、类 Ubix 脱羧酶的 *phtDb* 基因等, 进一步揭示了 PA 厌氧降解的分子机制。同样在卤代苯甲酸盐降解细菌 (*Thauera chlorobenzoica* 3CB-1)^[72] 和伊氏固氮 (*Azoarcus evansii* KB740)^[75] 等菌株中鉴定出编码相关酶的类型基因簇。

综上所述, 在有氧或厌氧条件下 DEHP 都能通过相关的代谢途径实现完全降解。由 DEHP 到 PA 的起始降解主要是酯键水解和侧链 β 氧化两种途径, 其中酯键水解途径的相关研究比较多, 已经鉴定出了一些相关的基因和酶, 但是对于侧链 β 氧化的研究仍然比较少; 而关于 PA 的彻底降解, 研究最为透彻的则是 PA 的 PCA 降解途径, 该降解途径涉及的酶以及编码相关酶的基因簇有较为系统的研究。近年来随着高通量测序技术、基因组学和转录组学注释分析等现代分子生物学技术的应用, DEHP 降解过程中涉及的酶以及编码相关酶的基因被不断地鉴定出来, 但仍需要对这些新基因进行全面的序列分析以及降解酶功能的验证。

4 总结及展望

DEHP 由于其良好的性能作为增塑剂被长期大量生产使用, 近年也暴露出了很多由 DEHP 引发的环境污染问题, 并且 DEHP 会通过食物链进入生物体内, 进而危害人类健康和生态环境。生物法降解环境中的 DEHP 具有良好的环境效益而备受关注, 近年来从各类环境中分离出了不少具有 DEHP 降解活性的菌株, 并对菌株进行了表征和降解性能验证。通过对菌株研究和降解过程中间产物的分析, 鉴定出了多种 DEHP 降解途径, 第一阶段 DEHP 通过酯键水解和 β 氧化方式转化成 PA, 第二阶段 PA 通过原儿茶酸途径、苯甲酸代谢途径和龙胆酸途径等进入三羧酸循环最终实现完全降解。随着现代分子生物学技术的应用, DEHP 降解过程中参与的酶以及编码酶的相关基因被陆续鉴定出来, 降解过程以及分子作用机制被不断解读和完善。随着研究的深入, 关于 DEHP 的生物降解途径将被更加系统和完整的解析, 以便使菌株走出实验室解决 DEHP 的实际污染问题。

针对目前 DEHP 生物降解研究中仍存在的问题提出展望: a. DEHP 的生物降解前期的研究主要集中于对降解菌的驯化筛选以及降解特性的分析, 对于降解功能基因的研究还不够深入, 因此在筛选菌株丰富菌株资源的同时应加大对降解菌株功能基因的研究; b. 目前虽然已报道了多种 DEHP 的生物降解途径, 但是关于 DEHP 的侧链 β 氧化和 PA 的厌氧降解途径的分子机制研究较少, 作用机理尚不明晰, 在之后的研究中可以针对这些特定降解途径的菌株从基因层面揭示其降解机理; c. 已报道的具有 DEHP 降解活性的酶非常有限, 且大多数来源于可培养微生物, 而环境中极大部分的微生物是不可培养, 这也就意味着还有巨大的遗传资源尚未得到开发利用, 后期可利用宏基因组技术挖掘环境中所有的遗传资源以期获得更多新型的 DEHP 降解酶; d. DEHP 生物降解的研究大多还停留在实验室阶段, 极少有研究者应用到实际环境污染修复中, 考虑到实验室与实际环境的差异较大, 如何将实验室所取得的研究成果应用于自然环境下 DEHP 污染的修复, 解决实际问题需要研究者们需要进一步思考和解决的问题。

参 考 文 献

- [1] Wang PH, Chen Y L, Wu T Y, *et al.* Omics and mechanistic insights into di-(2-ethylhexyl) phthalate degradation in the O_2 -fluctuating estuarine sediments. *Chemosphere*, 2022, **299**: 134406
- [2] Qiu J, Yang H, Shao Y, *et al.* Enhancing the activity and thermal stability of a phthalate-degrading hydrolase by random mutagenesis. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, **209**: 111795
- [3] Yu Z, Kedong Z, Jianquan T, *et al.* Impacts of di-(2-ethylhexyl) phthalate on *Folsomia candida* (*Collembola*) assessed with a multi-biomarker approach. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2022, **232**: 113251
- [4] Phillip K. The endocrine-disrupting chemical di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) increases corticosteroid secretion in human adrenocortical cells. *FASEB J*, 2021, **35**(S1). <https://doi.org/10.1096/fasebj.2021.35.S1.03995>
- [5] Qiu J, Yang H, Yan Z, *et al.* Characterization of XtjR8: a novel esterase with phthalate-hydrolyzing activity from a metagenomic library of lotus pond sludge. *Int J Biol Macromol*, 2020, **164**: 1510-1518
- [6] Ma C M, Yu T J, Yang C H, *et al.* Enhancement of plasticizer adsorption by utilizing a rice bran-derived adsorbent. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, **228**: 112972
- [7] Kida M, Ziembowicz S, Koszelnik P. Application of an ultrasonic field, hydrogen peroxide and the Fenton process in removing DEHP from bottom sediments. *Desalin Water Treat*, 2020, **186**: 309-316

- [8] Yakameran E, Aygün A. Fate and removal of pentachlorophenol and diethylhexyl phthalate from textile industry wastewater by sequencing batch biofilm reactor: effects of hydraulic and solid retention times. *J Environ Chem Eng*, 2021, **9**(4): 105436
- [9] Baker A, Ahmad B, Alarjani K M, *et al.* Biostimulation of *Rhodovulum* sp. for enhanced degradation of di-n-butyl phthalate under optimum conditions. *Chemosphere*, 2021, **266**: 128998
- [10] Cheng J J, Liu Y A, Wan Q, *et al.* Degradation of dibutyl phthalate in two contrasting agricultural soils and its long-term effects on soil microbial community. *Sci Total Environ*, 2018, **640**: 821-829
- [11] 董磊, 汤显强, 林莉, 等. 长江武汉段丰水期水体和沉积物中多环芳烃及邻苯二甲酸酯类有机污染物污染特征及来源分析. *环境科学*, 2018, **39**(6): 2588-2599
Dong L, Tang X Q, Lin L, *et al.* *Environ Sci*, 2018, **39**(6): 2588-2599
- [12] 王欢, 杨永哲, 王海燕, 等. 松花江表层沉积物 PAEs 分布特征及生态风险评价. *环境科学*, 2020, **41**(1): 232-241
Wang H, Yang Y Z, Wang H Y, *et al.* *Environ Sci*, 2020, **41**(1): 232-241
- [13] 戴华鑫, 张艳玲, 李亮, 等. 河南植烟土壤 6 种邻苯二甲酸酯污染特征分析. *中国烟草学报*, 2021, **27**(3): 56-64
Dai H X, Zhang Y L, Li L, *et al.* *Acta Tabacaria Sinica*, 2021, **27**(3): 56-64
- [14] Wei L Y, Li Z H, Sun J T, *et al.* Pollution characteristics and health risk assessment of phthalate esters in agricultural soil and vegetables in the Yangtze River Delta of China. *Sci Total Environ*, 2020, **726**: 137978
- [15] Lü H X, Mo C H, Zhao H M, *et al.* Soil contamination and sources of phthalates and its health risk in China: a review. *Environ Res*, 2018, **164**: 417-429
- [16] Athanasios G, Hubert D, Monica A, *et al.* Risk assessment of phthalates based on aggregated exposure from foods and personal care products and comparison with biomonitoring data. *EFSA J*, 2020, **18**(S1): e181105
- [17] Amel J, Ambrogina A, Rossana R, *et al.* Phthalates and non-phthalate plasticizers in Tunisian marine samples: occurrence, spatial distribution and seasonal variation. *Mar Pollut Bull*, 2021, **163**: 111967
- [18] Zhang X, Qi W, Xu Q, *et al.* Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and thyroid: biological mechanisms of interference and possible clinical implications. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021, **29**(2): 1634-1644
- [19] Zhang H, Zhao Y, Cui J G, *et al.* DEHP-induced mitophagy and mitochondrial damage in the heart are associated with dysregulated mitochondrial biogenesis. *Food Chem Toxicol*, 2022, **161**: 112818
- [20] Hong Y, Zhou Y, Shen L, *et al.* Exposure to DEHP induces testis toxicity and injury through the ROS/mTOR/NLRP3 signaling pathway in immature rats. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, **227**: 112899
- [21] Hsu P C, Zhong J Y, Huang L P, *et al.* Transgenerational effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate on anogenital distance, sperm functions and DNA methylation in rat offspring. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(8): 4131
- [22] Lin Z, Zhang W, Zhu X, *et al.* Effects of biochar pyrolysis temperature on di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) removal performance and microbial community structure in coastal sediments. *Environ Technol Inno*, 2021, **24**: 102004
- [23] Li H, Zhang J, Xia Y, *et al.* Antagonistic effect of nano-selenium on hepatocyte apoptosis induced by DEHP via PI3K/AKT pathway in chicken liver. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, **218**: 112282
- [24] Qiu J, Zhang Y, Shi Y, *et al.* Identification and characterization of a novel phthalate-degrading hydrolase from a soil metagenomic library. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2020, **190**: 110148
- [25] Yan Z, Ding L, Zou D, *et al.* Characterization of a novel carboxylesterase with catalytic activity toward di-(2-ethylhexyl) phthalate from a soil metagenomic library. *Sci Total Environ*, 2021, **785**: 147260
- [26] Wang L, Gan D, Gong L, *et al.* Analysis of the performance of the efficient di-(2-ethylhexyl) phthalate-degrading bacterium *Rhodococcus pyridinovorans* DNHP-S2 and associated catabolic pathways. *Chemosphere*, 2022, **306**: 135610
- [27] Nahurira R, Ren L, Song J, *et al.* Degradation of di(2-Ethylhexyl) phthalate by a novel *Gordonia alkanivorans* strain YC-RL2. *Curr Microbiol*, 2017, **74**(3): 309-319
- [28] Xu J M, Lu Q H, De Toledo R A, *et al.* Degradation of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) by an indigenous isolate *Acinetobacter* sp. SN13. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2017, **117**: 205-214
- [29] Xie Y M, Guo X Y, Liang Z W, *et al.* Biochemical pathways and enhanced degradation of endocrine disruptor di-2-ethylhexyl phthalate by an indigenous isolate *Bacillus* sp. MY156. *Int Biodeterior Biodegrad*, 2023, **176**: 105523
- [30] Wen Z D, Wu W M, Ren N Q, *et al.* Synergistic effect using vermiculite as media with a bacterial biofilm of *Arthrobacter* sp for biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate. *J Hazard Mater*, 2016, **304**: 118-125
- [31] Zeng F, Cui K Y, Fu J M, *et al.* Biodegradability of di(2-ethylhexyl) phthalate by *Pseudomonas fluorescens* FS1. *Water Air Soil Pollut*, 2002, **140**(1-4): 297-305
- [32] Zhao H M, Hu R W, Chen X X, *et al.* Biodegradation pathway of di-(2-ethylhexyl) phthalate by a novel *Rhodococcus pyridinovorans* XB and its bioaugmentation for remediation of DEHP contaminated soil. *Sci Total Environ*, 2018, **640**: 1121-1131
- [33] Wangjun L, Jinwon L. Selection of medium components by Plackett-Burman design for cell growth of a newly isolated *Methylobacterium* sp. WJ4. *Korean Chem Eng Res*, 2016, **54**(6): 812-816
- [34] Li J L, Zhang J F, Yadav M P, *et al.* Biodegradability and biodegradation pathway of di-(2-ethylhexyl) phthalate by *Burkholderia pyrrocinia* B1213. *Chemosphere*, 2019, **225**: 443-450
- [35] Zhao H M, Du H, Huang C Q, *et al.* Bioaugmentation of exogenous strain *Rhodococcus* sp. 2G can efficiently mitigate di-(2-

- ethylhexyl) phthalate contamination to vegetable cultivation. J Agric Food Chem, 2019, **67**(25): 6940-6949
- [36] Zhang J F, Zhang C N, Zhu Y P, *et al.* Biodegradation of seven phthalate esters by *Bacillus mojavensis* B1811. Int Biodeter Biodegr, 2018, **132**: 200-207
- [37] Beaulieu J, Costa G, Renaud J, *et al.* The neuroinflammatory and neurotoxic potential of palmitic acid is mitigated by oleic acid in microglial cells and microglial-neuronal co-cultures. Mol Neurobiol, 2021, **58**(6): 3000-3014
- [38] Wang Y, Zhan W, Ren Q, *et al.* Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by a newly isolated *Gordonia* sp. and its application in the remediation of contaminated soils. Sci Total Environ, 2019, **689**: 645-651
- [39] Kamaraj Y, Jayathandar R S, Dhayalan S, *et al.* Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by novel *Rhodococcus* sp. PFS1 strain isolated from paddy field soil. Arch Microbiol, 2022, **204**(1): 21
- [40] Yang T, Ren L, Jia Y, *et al.* Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by *Rhodococcus ruber* YC-YT1 in contaminated water and soil. Int J Environ Res Public Health, 2018, **15**(5): 964
- [41] Ren L, Jia Y, Ruth N, *et al.* Biodegradation of phthalic acid esters by a newly isolated *Mycobacterium* sp YC-RL4 and the bioprocess with environmental samples. Environ Sci Pollut R, 2016, **23**(16): 16609-16619
- [42] Nshimiyimana J B, Khadka S, Zou P, *et al.* Study on biodegradation kinetics of di-2-ethylhexyl phthalate by newly isolated halotolerant *Ochrobactrum anthropi* strain L1-W. BMC Res Notes, 2020, **13**(1): 252
- [43] Wang P, Gao J, Zhao Y, *et al.* Biodegradability of di-(2-ethylhexyl) phthalate by a newly isolated bacterium *Achromobacter* sp. RX. Sci Total Environ, 2021, **755**(1): 142476
- [44] 李静. 邻苯二甲酸酯降解菌的降解特性与降解机制的初步研究[D]. 重庆: 西南大学, 2018
- LI J. Preliminary Study on The Degrading Characteristics and Mechanisms of Phthalic Acid Esters-degrading Bacteria[D]. Chongqing: Southwest University, 2018
- [45] Shariati S, Pourbabaee A A, Alikhani H A, *et al.* Biodegradation of DEHP by a new native consortium An6 (*Gordonia* sp. and *Pseudomonas* sp.) adapted with phthalates, isolated from a natural strongly polluted wetland. Environ Technol Inno, 2021, **24**: 101936
- [46] Li F, Liu Y, Wang D, *et al.* Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by a halotolerant consortium LF. PLoS One, 2018, **13**(10): e0204324
- [47] 王天竹. 高效降解 DEHP 复合菌群的构建及降解特性研究[D]. 长春: 东北师范大学, 2010
- Wang T Z. Construction of Microbial Flora With High Efficient DEHP Degradation and Study on Its Degradation Characteristics [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2010
- [48] 马永见. 降解邻苯二甲酸酯的固体复合菌剂制备及其降解特性研究[D]. 镇江: 江苏科技大学, 2016
- Ma Y J. Study on Preparation and Degradation Characteristics of Solid Composite Agents of Phthalic Acid Esters Degradation[D]. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology, 2016
- [49] Xu Y Q, Liu X, Zhao J R, *et al.* An efficient phthalate ester-degrading *Bacillus subtilis*: degradation kinetics, metabolic pathway, and catalytic mechanism of the key enzyme. Environ Pollut, 2021, **273**: 116461
- [50] Huang H, Zhang X Y, Chen T L, *et al.* Biodegradation of structurally diverse phthalate esters by a newly Identified esterase with catalytic activity toward di(2-ethylhexyl) phthalate. J Agric Food Chem, 2019, **67**(31): 8548-8558
- [51] Yan Z Z, Ding L P, Zou D D, *et al.* Characterization of a novel carboxylesterase with catalytic activity toward di(2-ethylhexyl) phthalate from a soil metagenomic library. Sci Total Environ, 2021, **785**: 147260
- [52] Xu Y, Zhao J, Huang H, *et al.* Biodegradation of phthalate esters by *Pantoea dispersa* BJQ0007 isolated from Baijiu. J Food Compos Anal, 2022, **105**: 104201
- [53] Iwata M, Imaoka T, Nishiyama T, *et al.* Re-characterization of mono-2-ethylhexyl phthalate hydrolase belonging to the serine hydrolase family. J Biosci Bioeng, 2016, **122**(2): 140-145
- [54] Nahurira R, Ren L, Song J L, *et al.* Degradation of di(2-Ethylhexyl) phthalate by a novel *Gordonia* alkanivorans strain YC-RL2. Curr Microbiol, 2017, **74**(3): 309-319
- [55] Qiu J R, Zhang Y Q, Shi Y N, *et al.* Identification and characterization of a novel phthalate-degrading hydrolase from a soil metagenomic library. Ecotoxicol Environ Saf, 2020, **190**: 110148
- [56] Zhang K, Wu X L, Luo H B, *et al.* Biochemical pathways and enhanced degradation of dioctyl phthalate (DEHP) by sodium alginate immobilization in MBR system. Water Sci Technol, 2021, **83**(3): 664-677
- [57] Chen F, Li X, Dong Y, *et al.* Biodegradation of phthalic acid esters (PAEs) by *Cupriavidus oxalaticus* strain E3 isolated from sediment and characterization of monoester hydrolases. Chemosphere, 2021, **266**: 129061
- [58] Chen J, Yang S Q, Zhang K, *et al.* Biochemical pathways and associated microbial process of di-2-ethyl hexyl phthalate (DEHP) enhanced degradation by the immobilization technique in sequencing batch reactor. Environ Technol, 2022, **43**(19): 2899-2908
- [59] Wright R J, Bosch R, Gibson M I, *et al.* Plasticizer degradation by marine bacterial isolates: a proteogenomic and metabolomic characterization. Environ Sci Technol, 2020, **54**(4): 2244-2256
- [60] Fan S, Wang J, Li K, *et al.* Complete genome sequence of *Gordonia* sp YC-JH1, a bacterium efficiently degrading a wide range of phthalic acid esters. J Biotechnol, 2018, **279**: 55-60
- [61] Eaton R W. Plasmid-encoded phthalate catabolic pathway in *Arthrobacter keyseri* 12B. J Bacteriol, 2001, **183**(12): 3689-3703
- [62] Zhang Y, Chen H, Liu J, *et al.* Genome sequencing and biodegradation characteristics of the n-butyl benzyl phthalate degrading bacterium-*Rhodococcus* sp HS-D2. Int Biodeterior Biodegrad, 2018, **128**(S1): 56-62
- [63] Stingley R L, Brezna B, Khan A A, *et al.* Novel organization of

- genes in a phthalate degradation operon of *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. Microbiology, 2004, **150**(11): 3749-3761
- [64] Hu R W, Zhao H M, Xu X H, *et al.* Bacteria-driven phthalic acid ester biodegradation: current status and emerging opportunities. Environ Int, 2021, **154**: 106560
- [65] Nomura Y, Nakagawa M, Ogawa N, *et al.* Genes in pht plasmid encoding the initial degradation pathway of phthalate in *Pseudomonas putida*. J Ferment Bioeng, 1992, **74**(6): 333-344
- [66] Chang H K, Zylstra G J. Novel organization of the genes for phthalate degradation from *Burkholderia cepacia* DBO1. J Bacteriol, 1998, **180**(24): 6529-6537
- [67] Zhao H M, Hu R W, Du H, *et al.* Functional genomic analysis of phthalate acid ester (PAE) catabolism genes in the versatile PAE-mineralising bacterium *Rhodococcus* sp 2G. Sci Total Environ, 2018, **640**: 646-652
- [68] Xu Y, Liu X, Zhao J, *et al.* An efficient phthalate ester-degrading *Bacillus subtilis*: degradation kinetics, metabolic pathway, and catalytic mechanism of the key enzyme. Environ Pollut, 2021, **273**: 116461
- [69] Chen F Y, Chen Y C, Chen C, *et al.* High-efficiency degradation of phthalic acid esters (PAEs) by *Pseudarthrobacter defluvii* E5: performance, degradative pathway, and key genes. Sci Total Environ, 2021, **794**: 148719
- [70] Ebenau-Jehle C, Mergelsberg M, Fischer S, *et al.* An unusual strategy for the anoxic biodegradation of phthalate. ISME J, 2017, **11**(1): 224-236
- [71] Zhang Z M, Zhang H H, Zhang J, *et al.* Occurrence, distribution, and ecological risks of phthalate esters in the seawater and sediment of Changjiang River Estuary and its adjacent area. Sci Total Environ, 2018, **619**: 93-102
- [72] Ebenau-Jehle C, Soon C I S L, Fuchs J, *et al.* An aerobic hybrid phthalate degradation pathway via phthaloyl-coenzyme A in denitrifying bacteria. Appl Environ Microbiol, 2020, **86**(11): e00498-20
- [73] Junghare M, Spiteller D, Schink B. Enzymes involved in the anaerobic degradation of ortho-phthalate by the nitrate-reducing bacterium *Azoarcus* sp strain PA01. Environ Microbiol, 2016, **18**(9): 3175-3188
- [74] Junghare M, Patil Y, Schink B. Draft genome sequence of a nitrate-reducing, o-phthalate degrading bacterium, *Azoarcus* sp strain PA01(T). Stand Genomic Sci, 2015, **10**: 90
- [75] Rabus R, Woehlbrand L, Thies D, *et al.* *Aromatoleum* gen. nov., a novel genus accommodating the phylogenetic lineage including *Azoarcus evansii* and related species, and proposal of *Aromatoleum aromaticum* sp. nov., *Aromatoleum petrolei* sp. nov., *Aromatoleum bremense* sp. nov., *Aromatoleum toluolicum* sp. nov. and *Aromatoleum diolicum* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol, 2019, **69**(4): 982-997

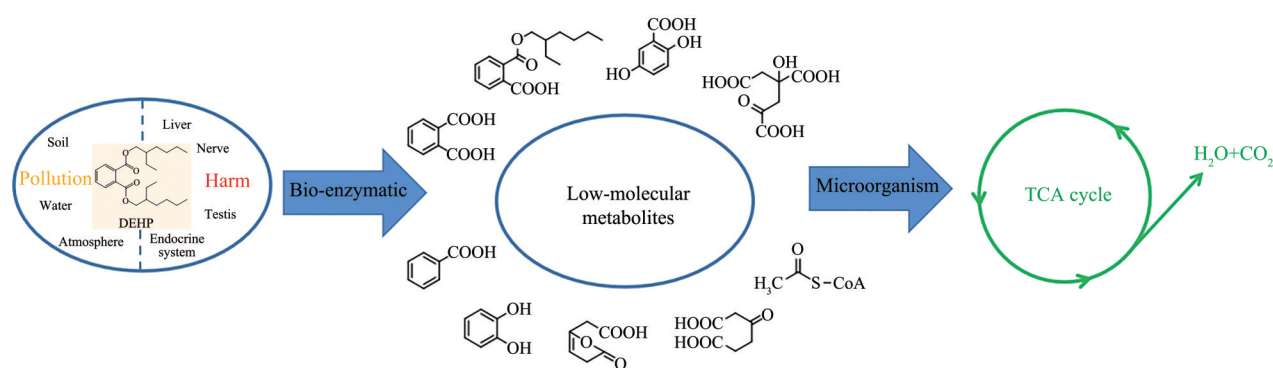
Bacterial Biodegradation of DEHP*

QIU Jia-Rong¹⁾, ZHU Meng-Lei¹⁾, ZHANG Liang-Qing^{1)**}, ZENG Xian-Hai²⁾,
JIN Yu-Feng¹⁾, DENG Jia-Hui¹⁾

¹⁾School of Advanced Manufacturing, Fuzhou University, Jinjiang 362251, China;

²⁾College of Energy, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Graphical abstract



Abstract Phthalate (2-ethylhexyl) ester (DEHP) is a synthetic plasticizer of organic compounds, which is widely used in personal care, medical devices, food packaging, and plastic manufacturing due to its excellent flexibility, plasticity, and durability. DEHP is widespread in soil, water, atmosphere, and other environments. As DEHP is a common endocrine disruptor with reproductive toxicity, immunotoxicity, and neurotoxicity, it not only poses a threat to the ecological environment, but also enters the human body through the food chain to bring harm to health. Therefore, removing DEHP from the environment has attracted great attention. The biodegradation of DEHP is considered to be greenest and environmentally friendly degradation method, and many researches on the biodegradation of DEHP have been reported. In this paper, the harm of DEHP pollution, current situation of bacterial biodegradation, complete degradation pathway (including ester bond hydrolysis, β oxidation, protocatechuic acid degradation, benzoic acid degradation, and tricarboxylic acid cycle), and molecular mechanism are reviewed, and problems existing in the biodegradation of DEHP are summarized and prospected, which are listed below. (1) At present, the research on the biodegradation of DEHP mainly focuses on the

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (42207148), Natural Science Foundation of Fujian Province of China (2022J01573), Educational Research Project for Young and Middle-aged Teachers in Fujian Province (JAT210042), Science and Technology Plan Project of Quanzhou (2022N030), Tianjin University-Fuzhou University Independent Innovation Fund Cooperation Project (TF2022-10), Doctoral Scientific Research Foundation of Fuzhou University (511084), Fuzhou University Testing Fund of Precious Apparatus (2022T032, 2022T037), and Open Project Fund of Key Laboratory of Marine Biological Resources, Ministry of Natural Resources (HY202201, HY202202).

** Corresponding author.

Tel: 86-18759147839, E-mail: lqzhang@fzu.edu.cn

Received: October 5, 2022, Accepted: January 5, 2023

domestication screening of degrading bacteria and the analysis of degradation properties, but the research on the functional genes of degradation is not deep enough. Therefore, more research on the functional genes of the degrading strains should be conducted while screening strains. (2) Although several biodegradation pathways of DEHP have been reported, the molecular mechanisms of the side chain β -oxidation of DEHP and the anaerobic degradation pathway of PA have been less studied and not yet understood, so revealing the mechanisms of these specific degradation pathways at the genetic level is necessary. (3) Most DEHP-degrading enzymes are derived from culturable microorganisms. Using metagenomic technology, all of the genetic resources in the environment can be mined in the future to obtain more novel DEHP-degrading enzymes. (4) The majority of research on DEHP biodegradation is still in the laboratory stage, and few researchers have applied it to the remediation of actual environmental pollution. Considering the significant difference between the laboratory and the actual environment, how to apply the research results obtained in the laboratory to the remediation of DEHP pollution in the natural environment and the resolution of practical issues is a problem that researchers need to consider and solve further. This review will provide a reference for effective biodegradation of DEHP in the environment.

Key words DEHP, bacterial biodegradation, degradation pathway, molecular mechanism

DOI: 10.16476/j.pibb.2022.0472