

蓟运河汉沽地区河泥中汞的 微生物甲基化作用

杨惠芳 贾省芬 张鸿翼 王保军

(中国科学院微生物研究所)

汞的生物转化作用的研究开始于60年代末, Wood 等 (1968) 研究了生物甲基化的机制, 认为汞甲基化有酶和非酶两种作用, 甲基化作用是通过甲基钴氨素中的甲基转移来完成的。瑞典生物学家 Jensen 和 Jernelöv (1969) 提出在湖泊底泥里微生物有形成甲基汞的功能, 汞甲基化的速度与底泥里的微生物活动有密切的相关性。由此, 微生物汞甲基化作用得到人们的注视, Yamada 等 (1972) 在厌氧条件下研究了匙形梭菌 (*Clostridium cochlearium*) 的汞甲基化作用。Vonk 等 (1973) 发现在通气条件下一些细菌和真菌可使氯化汞甲基化形成少量的甲基汞。Fagerström 和 Jernelöv (1972) 曾报道, 通气条件下汞转化过程中甲基化的主要产物是一甲基汞, 厌氧条件下汞甲基化的产物大部是二甲基汞。但是, 人们总是认为甲基化的主要产物为一甲基汞, 而二甲基汞形成的数量则很少 (Iverson 等, 1978)。这些汞化合物在水体中引起危害。

我国天津蓟运河下游汉沽地区由于受工业污水污染, 河泥里有数量可观的汞, 这些汞是否会在微生物作用下转化成甲基汞, 是需要注意的问题, 为此, 我们对该地区河泥中微生物甲基化作用进行研究。

一、材料和方法

1. 样品 我们自1979年9月, 1980年5月和9月三次到蓟运河汉沽地区采集汞污染程度不同的泥样两种 (编号: 8号样和9号样), 每一种泥样以三角点采集后, 混合均匀, 存放在 -14°C 备用。另外采集颐和园昆明湖中心底泥15号样作为未污染的对比。

2. 微生物甲基化试验 在容量为250毫升广口瓶中装入底泥200克, 盖好瓶塞, 在 25°C 静止培养, 定期取样测定甲基汞的含量。

3. 抗汞细菌量的测定 把泥样稀释到 10^{-10} 在肉汁蛋白胨葡萄糖培养液中加入5或25毫克/升氯化汞, 按土壤研究所土壤微生物数量计数法 (1961) 作稀释三管法测得抗汞细菌的数量。

4. 甲基汞的测定 样品用巯基棉富集, 在带有氡电子捕获鉴定器的100型气相色谱仪上测定。

5. 氧化还原电位的测定 用甘汞电极和铂金电极在25型酸度计上测定Eh(mV)值。

二、结果和讨论

1. 底泥的微生物甲基化作用

取1979年8号、9号和15号三个含汞量不同的样品,在不外加任何汞化合物的条件下,25℃静止培养7天,测定甲基汞的变化。从表1的结果可见,三种样品由于汞污染的程度不同,初始的甲基汞含量不同,7天后形成的甲基汞量亦有差异,比较明显的是被汞污染的8号样和9号样都形成一定量的甲基汞,15号样未发现受汞污染,培养后仍未检测出甲基汞。

表1 不同泥样形成的甲基汞量(毫微克/克)

测定时间	8号样		9号样		15号样	
	测定值	形成量	测定值	形成量	测定值	形成量
初始	18.92		14.27		未检出	
培养7天	24.16	5.24	17.70	3.43	未检出	—

2. 温度对微生物甲基化作用的影响

温度是影响微生物生命活动的重要因素,要探讨温度对微生物甲基化作用的影响,先对抗汞细菌在不同温度下的生长情况进行试验,本试验取1979年9月采集的8号样,样品分别存放在-14℃,4℃,13℃,20℃和30℃等5种不同温度下,每隔五天取样,在相应的温度下测定抗5毫克/升和25毫克/升氯化汞的细菌量,试验延续一个月之久。结果表明,河泥放置在-14℃一个月无菌活动。由图1a和图1b的结果可见,当温度在4℃时泥里的抗汞菌

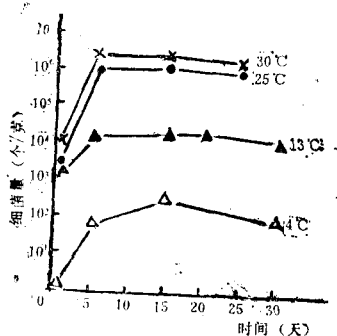


图1a 不同温度下抗5毫克/升 HgCl_2 细菌的生长

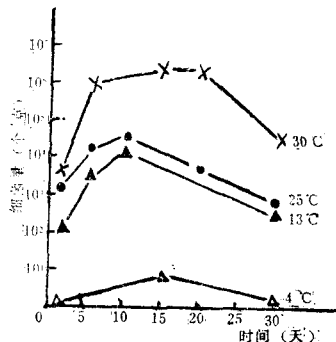


图1b 不同温度下抗25毫克/升 HgCl_2 细菌的生长

即开始活动,把温度提高至20℃和30℃抗汞菌增长更为明显。样品存放至10天以上抗25毫克/升氯化汞菌量即有降低的趋势。因此我们认为,进行甲基化试验的泥样应存放在-14℃,时间以5至10天为宜。1980年5月我们重新采集新鲜的8号样品进行不同温度试验,温度范围有25℃,30℃,37℃,图2的结果可见,由于温度的提高微生物甲基化能力有所增递,37℃下形成的甲基汞量高于25℃和30℃。这就表明,温度对微生物甲基化过程有显著影响。这一结果,进一步证实了某些学者关于甲基化过程取决于反应基质温度的论点,如果保持微生物稳定的生长速度,则温度(范围为10—30℃)就不能明显地影响生物甲基化反应(Saxena等,1977)。

3. 氯化汞浓度对微生物甲基化作用的影响

氯化汞是生物甲基化的基质。有毒金属的甲基化反应,在一定的基质浓度范围内,提高

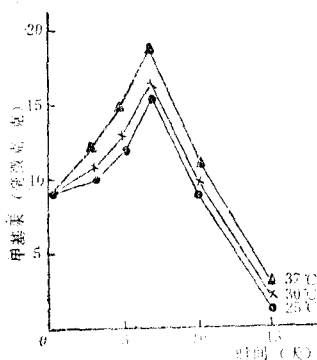
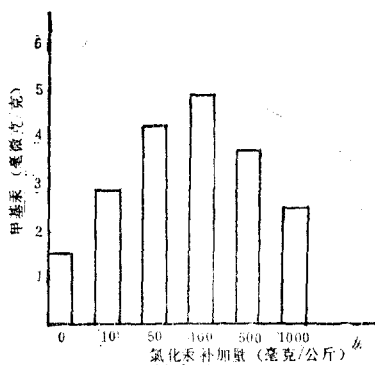


图 2 温度对微生物甲基化作用的影响

基质浓度可导致产物量有所增加, 但当这类基质浓度过高, 对微生物会有毒害作用。我们取 1980 年 9 月的 8 号样, 在泥样中加入不同浓度氯化汞 0, 10 毫克/公斤, 50 毫克/公斤, 100 毫克/公斤, 500 毫克/公斤, 1000 毫克/公斤, 25℃ 培养 7 天, 甲基汞的形成量见图 3, 氯化汞浓度在 0—100 毫克/公斤范围内, 形成的甲基汞量随氯化汞浓度的提高而增加, 当氯化汞浓度提高到 500 毫克/公斤时则形成的甲基汞量降低。这一结果完全符合有毒化合物对微生物有机体作用的规律, 并与 Jensen 和 Jerneilöv (1969) 的试验结果一致。

图 3 HgCl_2 浓度对微生物甲基化的影响

4. 营养基质对微生物甲基化作用的影响

丰富的营养条件会促进细菌的生命活动, 在此条件下必然提高微生物甲基化作用的进行。在采自 1980 年 9 月的 9 号样底泥中加入蛋白胨 5 克/公斤和牛肉膏 5 克/公斤。另以不加营养的河泥作为对比, 表 2 的结果表明, 不仅加营养的底泥形成的甲基汞量高于不加营养的河泥, 而且还延长了甲基汞形成的时间。这与用葡萄糖、谷氨酸、乙酸盐、半胱氨酸或营养丰富的污泥加入培养基, 以促进甲基化作用, 提高甲基化速度的效果类同 (Saxena, 1977)。

5. 不同通气条件下的微生物甲基化作用

采用 1980 年 5 月的泥样在静止和振荡培养两种条件下进行试验。于 250 毫升三角瓶中存放泥样 50 克, 加水到总体积 100 毫升, 于泥样中插入甘汞电极和铂金电极, 120 转/分 30℃ 振

表 2 营养对微生物甲基化作用的影响

培养时间 (天)	不 加 营 养		外 加 营 养	
	甲 基 汞 (毫微克/克)	形成的甲基汞 (毫微克/克)	甲 基 汞 (毫微克/克)	形成的甲基汞 (毫微克/克)
0	0.53		0.53	
3	1.42	0.89	1.42	0.89
5	1.74	1.21	1.72	1.21
7	1.92	1.39	2.40	1.77
10	1.76	1.23	3.74	3.21
13	0.10	0.43	3.30	2.77

荡培养。另外将同样的河泥样品盛于广口瓶中把电极固定在泥样3厘米处, 30℃静止培养, 定期测定氧化还原电位 Eh (毫伏) 值和甲基汞含量。表3的结果指出, 由于静止培养时电极埋于泥中, 氧化还原电位很低, Eh值大约为-430毫伏, 该值接近于严格厌氧条件, 在此情况下培养七天, 形成的甲基汞量为6.53毫微克/克。振荡培养的氧化还原电位比前者高, Eh值在培养过程中从-70毫伏增加到+170毫伏, 甲基汞形成量为0.05—0.92毫微克/克。从此可见, 该泥样的厌氧生物甲基化活性比好氧生物甲基化活性高。这一结果与 Jernelöv (1975) 所述相反。此外, Yamada 等 (1972) 曾发现, 匙形梭菌 (*Clostridium cochlearium*) 培养物形成甲基汞的适宜氧化还原电位范围为-200毫伏—+300毫伏。认为低于-200毫伏硫酸盐还原菌就会占优势而生成大量硫化物, 使汞离子形成不溶性硫化汞而抑制甲基化的进行 (Saxena 等, 1977)。然而, 本试验则表明, 当氧化还原电位降至-436毫伏, 厌氧菌群仍具有很强的甲基化活性。这些现象可能是蓟运河下游汉沽地区河泥中微生物菌群所有的特点之一, 其机理有待进一步研究。

表 3 氧化还原电位与甲基汞形成的关系

培养时间 (天)	甲 基 汞 (毫微克/克)				Eh (毫伏)	
	静 止 培 养		振 荡 培 养		静止培养	振荡培养
	实 测 值	形 成 量	实 测 值	形 成 量		
0	2.27		2.27			
3	2.42	0.15	3.19	0.92	-430	-70
5	6.38	4.11	2.42	0.05	-435	+26
7	8.80	6.53	2.27	未检出	-436	+171

三、结 语

本文探讨了天津蓟运河下游汉沽地区底泥中微生物甲基化的条件, 随着温度、营养、氯化汞浓度、氧化还原电位等外界条件的变化, 甲基化作用有一定的变化。但是, 由于试验条件的限制, 无法用同一批样品试验, 因此, 甲基汞的底值不同, 形成的甲基汞量亦有差异。总的看来, 本地区河泥中的汞甲基化作用并不强。在先后试验的条件下平均每天每克干泥形

成的甲基汞量为0.18—0.92毫微克/克, 该值与瑞典 Langsjon 湖底泥 (Jensen 等, 1969) 的汞甲基化作用相比要低得多。影响生物甲基化作用的因子是错综复杂的, 底泥的结构、物理化学性质及其他环境条件, 以及微生物反甲基化作用的能力都是影响微生物甲基化的因素。

参 考 文 献

- 中国科学院土壤研究所土壤微生物组 1961 土壤微生物数量计算手册, 科学出版社。
- Fagerström, T. and A. Jernelöv 1972 Some aspects of the quantitative ecology and mercury. *Water Res.* 6(10):1193.
- Iverson, W. P. and F. E. Bvinckman 1978 Microbial metabolism of heavy metals. in water pollution microbiology, V. 2, p.201, Ralph Mitchell, Editor, A wiley Interscience Publication, N. Y.
- Jensen, S. and A. Jernelöv 1969 Biological methylation of mercury in aquatic organism. *Nature* 223:753.
- Jernelöv, A. and A. L. Martin. 1975 Ecological implication of metal metabolism by microorganism. *Annu. Rev. Microbiol.* 29:61.
- Saxena, J. and P. H. Howard 1977 Environmental transformation of alkylated and inorganic forms of certain metals, *Advan. in Appl. Microbiol.* 21:185.
- Vonk, J. W. and A. K. Sijpesteijn 1973 Studies on the methylation of mercuric chloride by pure cultures of bacteria and fungi. *Antonie van Leeuwenhoek* 39:505.
- Wood, J. *et al.* 1968 The synthesis of methyl mercury extracts of methanogenic bacterium. *Nature* 220:173.
- Yamada, M. and K. Tonomura 1972 Formation of methyl mercury compounds from inorganic mercury by *Clostridium cochlearium*. *Jour. Ferment. Technol.* 50:159.

MICROBIAL METHYLATION OF MERCURY IN THE JI YUN RIVER

Yang Huifang

Jia Sungfen

Zhang Hunyi

Wang Baojiu

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing)

Microbial methylation of mercury in sediments from the JiYun River was studied. The results of our experiments show that microbial methylation is present in the samples from sediments polluted by mercury. The ability of microbial methylation is dependent on the condition of environment. The quantity of methylmercury was higher in the presece of nutrients added than without nutrients. The micorobial methylation takes place more strongly under the condition of negative redox potential than that of positive redox potential. The concentration of mercuric chloride below 100 mg/kg increase the rate of methylation with increase of substrates, but methylation is checked by the concentration of mercuric chloride higher than 100mg/kg The highest rate of methylation is found at 37°C. Under our laboratory codition used, 0.18—0.92 ng methylmercury per gram of sediment per day was produced. So that its activity was considered lower.