

1 株异养脱氮菌降解壬基酚聚氧乙烯醚的研究

赵娟, 吕剑, 何义亮*, 靳强, 张文英

(上海交通大学环境科学与工程学院, 上海 200240)

摘要:研究了异养脱氮菌 *Bacillus* sp. LY 降解壬基酚聚氧乙烯醚(NPEOs)的性能. 结果表明, 该菌株具有较强地降解 NPEOs 的能力, 且在实现 NPEOs 降解去除的同时表现出一定的异养脱氮性能. 降解 14 d 后, *Bacillus* sp. LY 对 NPEOs 去除率达 95.6%, 对体系中的总氮去除率为 43.9%. 该菌株对 NPEOs 的降解去除符合一级动力学特征, 其降解速率常数为 0.224 d^{-1} . 该菌株通过无氧化过程的乙氧基链的逐渐缩短的途径降解去除 NPEOs, 可避免产生危害性更大的 NPEOs 的羧酸化产物(NPECs). 在分别以氨态氮(NH_4Cl)、硝态氮(NaNO_3)和亚硝态氮(NaNO_2) 3 种不同氮素为氮源条件下, 菌株对 NPEOs 均具有一定的降解效果, 其中以氨态氮为氮源时菌株对 NPEOs 降解效果最好. 研究结果可为消除壬基酚聚氧乙烯醚与氮素复合污染提供理论依据.

关键词: *Bacillus* sp. LY; 降解; 壬基酚聚氧乙烯醚; 异养脱氮; 途径

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)07-1977-05

Biodegradation of Nonylphenol Ethoxylates by a Bacterial Strain with Heterotrophic Nitrogen Removal Ability

ZHAO Juan, LÜ Jian, HE Yi-liang, JIN Qiang, ZHANG Wen-ying

(School of Environmental Science and Engineering, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: Biodegradation of nonylphenol ethoxylates(NPEOs) by *Bacillus* sp. LY with heterotrophic nitrogen removal ability was investigated. The study showed that *Bacillus* sp. LY could biodegrade NPEOs largely combined with heterotrophic nitrogen removal. After 14 d, removal efficiency of NPEOs was 95.6% and removal rates of TN was 43.9%. Biodegradation of NPEOs by the strain *Bacillus* sp. LY conformed to the first-order kinetic model, with biodegradation rate constant 0.224 d^{-1} . NPEOs were biodegraded through a nonoxidative pathway with sequential removal of ethoxyl units. Moreover, no more harmful nonylphenoxyacetic acids were formed by this pathway. NPEOs could be degraded by *Bacillus* sp. LY in the presence of different nitrogen contaminants NH_4Cl , NaNO_3 and NaNO_2 . The removal efficiency of NPEOs was highest in the presence of ammonium. Results may make contribution to the efficient removal of compound contamination of NPEOs and nitrogen contaminants.

Key words: *Bacillus* sp. LY; degradation; nonylphenol ethoxylates; heterotrophic nitrogen removal; pathway

烷基酚聚氧乙烯醚(alkylphenol ethoxylates, APEOs)是全球第二大商用非离子表面活性剂, 其中壬基酚聚氧乙烯醚(nonylphenol ethoxylates, NPEOs, 结构式如图 1)约占其中 80%^[1,2], NPEOs 广泛应用于工业(如纺织、塑料、造纸等)^[3]、农业和日常生活(家用洗化用品)中^[1], 最终直接排放或随着污水处理厂出水和污泥进入环境. 进入环境后, NPEOs 可经微生物逐级生物降解, 转化为短乙氧基链的 NPEOs (NP_1EO 、 NP_2EO , 结构式如图 1)、壬基酚聚氧乙烯醚酸酯(nonylphenoxyethoxyacetic acid, NP_1EC , NP_2EC , 结构式如图 1)和壬基酚(nonylphenol, NP 结构式如图 1)等主要的中间降解产物^[1,4]. 研究证实 NP、 NP_1EO 、 NP_2EO 等短链降解产物具有难降解、亲脂性和生物累积性^[3], 对生物体表现出雌激素活性^[5,6], 因此开展 NPEOs 污染物生物降解的研究具有重要的现实意义.

研究表明, 好氧条件下 NPEOs 降解产生羧酸化产物 NPEC^[7,8]. 由于这些具有雌激素活性的羧酸化产物水溶性强, 并且生物降解性差, NPEOs 的好氧降解容易

导致雌激素活性物质在自然界的迁移扩散. NPEOs 厌氧降解不产生羧酸化产物 NPEC, 但其降解周期长, 易积累短链. NPEO 及 $\text{NP}^{[9]}$ 的缺点却难以克服.

Bacillus sp. LY 是本实验室在研究膜生物反应器时分离出的 1 株异养脱氮菌^[10], 笔者在研究其异养脱氮性能时发现该菌株在好氧条件下处理 NPEOs 时不产生羧酸化产物, 能在短时间内降解 NPEOs, 且具有一定的脱氮能力. 本研究对 *Bacillus* sp. LY 降解 NPEOs 类污染物的能力进行了分析, 旨在为开发能够消除壬基酚聚氧乙烯醚与氮素复合污染的高效菌株及其工程应用打下理论基础.

1 材料与方法

1.1 菌株

收稿日期: 2007-07-06; 修订日期: 2007-08-31

基金项目: 国家自然科学基金项目(20676078)

作者简介: 赵娟(1984~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制, E-mail: seakyjane@sjtu.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: ylhe@sjtu.edu.cn

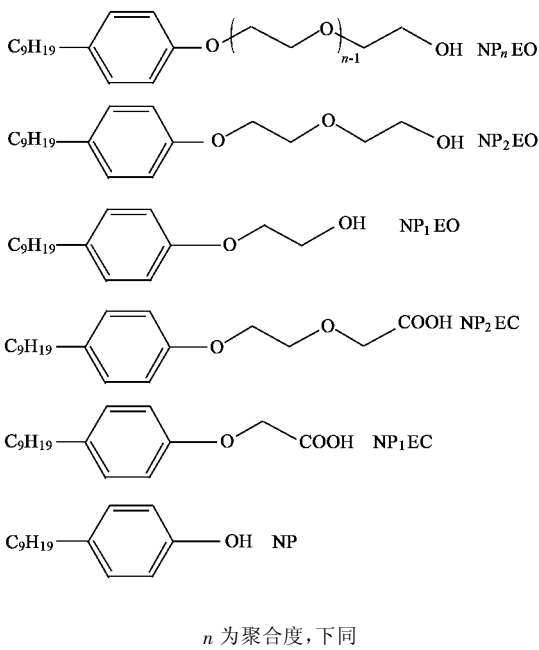


图 1 壬基聚氧乙烯醚及其降解产物的结构式

Fig.1 Chemical structures of NPEOs and their breakdown products

Bacillus sp. LY 为本实验室在研究膜生物反应器中异养硝化细菌的硝化性能时所分离出的 2 株异养硝化菌之一,属延长芽孢杆菌属,为革兰氏阳性菌.试验细菌用甘油冷冻法^[11]保存,使用前先扩繁培养,培养基组成为 1 L 溶液中含蛋白胨 10 g,牛肉浸膏 10 g,NaCl 5 g,用磷酸盐缓冲液将 pH 调至 7~8.

1.2 培养基

普通培养基:培养基成分为每 L 溶液中含 NH₄Cl 2.7 g, CaCl₂·2H₂O 0.1 g, KH₂PO₄ 0.35 g, K₂HPO₄·3H₂O 0.27 g, MgCl₂·6H₂O 0.1 g, 酵母粉 2.0 g,用磷酸盐缓冲液将 pH 调至 7~8.

不同氮源对比培养基:培养基成分为每 L 溶液中含有 CaCl₂·2H₂O 0.1 g, K₂HPO₄·3H₂O 0.27 g, KH₂PO₄ 0.35 g 以及 Mg、Mn 等微量元素,氨态氮培养基另含 NH₄Cl 10 mmol/L,硝态氮培养基另含 NaNO₃ 10 mmol/L,亚硝态氮培养基另含 NaNO₂ 10 mmol/L,最后用磷酸盐缓冲液将 pH 调至 7~8.

1.3 普通培养基条件下异养脱氮菌 *Bacillus* sp. LY 降解 NPEOs 的性能研究

普通培养基配制好后装至锥形瓶中,于 121℃ 下灭菌 30 min.取处于对数生长期的实验菌液以 3 000 r/min 的转速离心 15 min,去除上清液,用无菌生理盐水冲洗后再离心,反复 3 次,最后用无菌水配成菌悬液.向两锥形瓶中分别加入此菌悬液(确保菌体浓度一致, $D_{600\text{ nm}}$ 为 0.1)和 NPEOs(浓度为 5 mg·L⁻¹),于 30℃ 回旋式水浴恒温振荡器上振荡培

养,恒定转速 130 r/min.定期取样,加入等量甲醇,于 600 nm 处测定光密度值.加入甲醇的目的是为了消除难溶于水的有机物对细菌含量测定的影响^[12];样品经离心分离后取上清液,测定 NH₄⁺-N、羟胺、NO₂⁻-N、NO₃⁻-N 及 TN;样品经过预处理后^[13],测定 NPEOs 的浓度并进行中间产物的鉴定.

1.4 不同氮源对 *Bacillus* sp. LY 降解 NPEOs 效果的影响研究

不同氮源对比培养基配制好后分装至锥形瓶中,于 121℃ 下灭菌 30 min.向锥形瓶中分别加入扩繁后经处理的菌悬液(控制菌体浓度 $D_{600\text{ nm}}$ 为 0.1)和 NPEOs(浓度为 5 mg·L⁻¹),于 30℃ 回旋式水浴恒温振荡器上振荡培养,恒定转速 130 r/min.定期取样,加入等量甲醇,于 600 nm 处测定光密度值.样品经过预处理后^[13],测定 NPEOs 的浓度,NPEOs 含量采用 HPLC 测定.

1.5 分析方法

光密度值的测定采用尤尼科 UV-2100 型紫外分光光度计;总氮的测定采用德国耶拿 TOC/TN 测定仪 N/C 3 000(ChD);氨氮的测定采用纳氏试剂分光光度法^[14];亚硝酸盐氮的测定采用 N-(1-萘基)乙二胺光度法^[14];硝酸盐氮的测定采用紫外分光光度法^[14];羟胺采用间接分光光度法^[15].NPEOs 含量的测定参考 Lu 等^[13]的方法,采用日本岛津高效液相色谱 HPLC-2010,分离柱为 C1 TMS 柱(CSC-C1 column,250 mm×4.6 mm I. D. particle packing size 5 μm),流动相为甲醇与水混合液(80:20,体积比),流速 0.8 mL/min,检测波长 225 nm,进样量 10 μL.不同降解时间 NPEOs 降解率的计算参考 Liu 等^[16]方法.NPEOs 在不同降解时间的相对浓度则通过以 NPEOs 的初始浓度(100 mg·L⁻¹)乘上该时间的对应的 NPEOs 降解率计算获得.中间降解产物的鉴定参考 Lu 等^[13]的方法,采用 GC-MS 进行检测,通过对比 NP₂EO、NP₁EO 和 NP 纯标样的色谱保留时间与质谱特征离子进行物质的定性.

2 结果与讨论

2.1 普通培养基条件下异养脱氮菌 *Bacillus* sp. LY 降解 NPEOs 的性能研究

在以环境雌激素前驱物 NPEOs 和酵母粉为联合碳源的条件下,本研究定期检测了 NPEOs 的含量.由图 2 可以看出,在短期内 *Bacillus* sp. LY 对 NPEOs 有较好的降解效果.1 d 的降解去除率达到 48%,14 d 时,对 NPEOs 降解去除率达 95.6%.

Bacillus sp.LY 对 NPEOs 的降解去除符合一级动力学特征,降解速率常数 k 和半衰期($t_{1/2}$)分别为 0.224 d^{-1} 和 3.09 d .由 *Bacillus* sp.LY 的生长曲线可以看出,菌株一开始基本没有经过迟滞期便进入了对数生长期,增殖较为迅速.与文献[17,18]报道的高效降解菌株对 NPEOs 的降解去除速率相比,*Bacillus* sp.LY 降解 NPEOs 的速率更高,表明该菌株是 1 株高效降解 NPEOs 的优良菌株.

添加酵母粉可有效促进 NPEOs 的降解.以 NPEOs 为唯一碳源条件下的降解速率常数 0.147 d^{-1} [19]要小于以 NPEOs 和酵母粉为联合碳源条件下的降解速率常数.添加酵母粉促进有毒有机污染物降解的研究已有大量报道[20,21],但添加酵母粉可以促进 NPEOs 的降解则尚鲜见报道.这可能是由于酵母粉易于被菌株作为营养物质吸收,使之能够快速增殖,从而增加了能够降解 NPEOs 污染物的有效菌数,最终强化了酵母添加体系降解去除 NPEOs 的能力.目前本实验室正在深入开展该方面的研究.

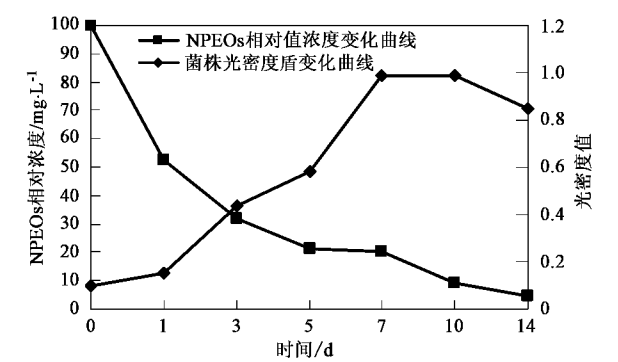


图2 NPEOs 的相对浓度变化曲线和 *Bacillus* sp.LY 的光密度值变化曲线

Fig.2 Optical density curve of *Bacillus* sp.LY and relative concentration curve of NPEOs by *Bacillus* sp.LY

Bacillus sp.LY 在葡萄糖等无毒有机物存在时表现出了良好的异养脱氮性能[22].为考察 *Bacillus* sp.LY 在环境雌激素前驱物 NPEOs 存在条件下的异养脱氮性能,笔者研究了在降解 NPEOs 的同时菌株代谢氯化铵过程中中间产物的变化.由图 3 可以看出,降解过程中 *Bacillus* sp.LY 对体系中总氮有一定的去除,去除率和最大去除速率分别为 43.9% 和 $47\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{d})^{-1}$.这表明 *Bacillus* sp.LY 在降解去除 NPEOs 的同时仍具有异养脱氮能力.

为进一步确定菌株对 NPEOs 的去除与脱氮是否有一定的关系,笔者考察了 NPEOs 降解过程中 TN 去除率与 NPEOs 去除率的关系.由图 4 可以看出,在 NPEOs 降解过程中,随着 TN 去除率的逐渐增大,

NPEOs 去除率相应增大,14 d 后当系统达到最大的 TN 去除率 43.9% 时, NPEOs 去除率亦达到最高 95.6%.但是,两者之间的关系并不符合线性规律.

Richardson 等[23,24]的研究表明,异养硝化菌脱氮的途径有 2 条可能的途径:①细菌先经历一个硝化阶段,随后反硝化脱氮;②细菌将氨氮氧化化成羟胺后,由羟胺直接氧化到氧化亚氮,然后再转化成为氮气.通过对 *Bacillus* sp.LY 的研究,本实验室也取得了相同的结论[22].由于 2 条脱氮途径的存在,菌株在脱氮过程中,会产生羟胺、亚硝酸盐与硝酸盐等脱氮中间产物.为考察 NPEOs 对 *Bacillus* sp.LY 的脱氮途径的影响,笔者检测了液相中 NH_4^+ -N、羟胺、 NO_2^- -N 及 NO_3^- -N 的浓度变化.由图 3 可以看出,随着溶液里 NH_4^+ -N 减少,羟胺浓度逐渐升高后降低,亚硝态氮的浓度略有变化.根据这些脱氮中间产物浓度的变化趋势,笔者初步推测 NPEOs 可能不会改变 *Bacillus* sp.LY 的氨氮脱除途径,具体有待进一步深入研究.值得注意的是,本实验并没有检测到硝态氮的存在.对此合理的解释是 NPEOs 作为有毒有机物使菌株异养脱氮过程中亚硝态氮向硝态氮的转化步骤受阻,从而使得整个降解过程中硝酸盐浓度低于检测限无法检出.

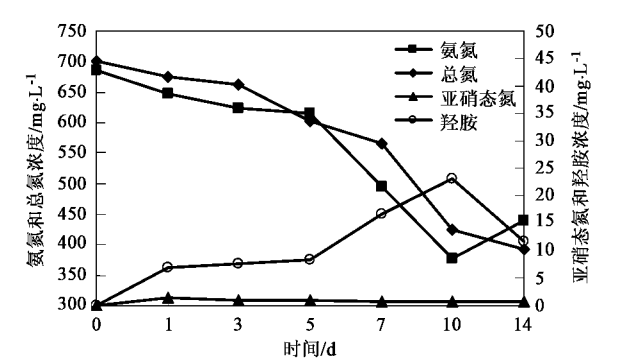


图3 以 NPEOs 和酵母粉为联合碳源时 *Bacillus* sp.LY 代谢氯化铵过程中中间产物的变化

Fig.3 Changes in the concentration of intermediates during the metabolism of ammonium by *Bacillus* sp.LY using NPEOs and yeast extract as combined carbon source

2.2 NPEOs 降解的中间产物与降解途径初探
本研究利用 GC-MS 检测了降解过程产生的中间降解产物.笔者在 *Bacillus* sp.LY 降解 NPEOs 过程中检测到了短链 NP_2EO 、 NP_1EO 和 NP 的存在(图 5),但未检测到羧酸化产物 NPEC 的存在.由图 5 可以看出,由于支链结构不同, NP_2EO 、 NP_1EO 和 NP 有较多同分异构体,各同分异构体的总离子色谱峰聚集在一起,形成复杂的图谱.

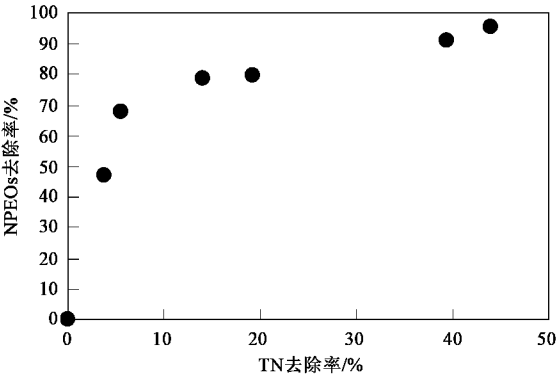


图 4 TN 去除率与降解过程中 NPEOs 去除率的关系

Fig.4 Relationship between removal efficiency of TN and that of NPEOs during the biodegradation period by *Bacillus* sp.LY

许多研究表明, NPEOs 好氧降解会产生羧酸化产物^[4,6~8,25~28], 但鲜见无羧酸化产物的报道. 由于 *Bacillus* sp.LY 在高效降解去除 NPEOs 类污染物的同时可避免危害性更大的羧酸化产物的产生, 并同时保持一定的脱氮能力, 这使得该菌株在消除 NPEOs 类污染物与氮污染物造成的复合污染方面显示出一定的优势.

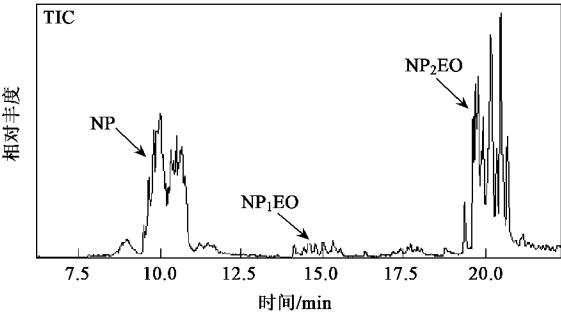


图 5 以 NPEOs 和酵母粉为联合碳源时 GC-MS 检测降解中间产物 NP₂EO、NP₁EO 及 NP

Fig.5 Total ion chromatogram of the intermediates using NPEOs and yeast extract as combined carbon source

由于商品 NPEOs 为混合物, 直接研究其降解途径难度较大. 为探索 NPEOs 的降解途径, 笔者分别以 NP₂EO 和 NP₁EO 纯标样为降解底物进行研究. 由 GC-MS 对产物的分析表明, *Bacillus* sp. LY 在降解 NP₂EO 过程中产生了 NP₁EO 和 NP, 同时在降解 NP₁EO 的过程中产生了 NP. 通过这些结果可以推测, *Bacillus* sp. LY 是通过无氧化过程的乙氧基链的逐渐缩短途径完成对 NPEOs 的降解去除的(图 6). 由于该降解途径没有末端氧化反应的发生, 所以不会伴随羧酸化产物的产生.

2.3 不同氮源对 *Bacillus* sp. LY 降解 NPEOs 效果的影响

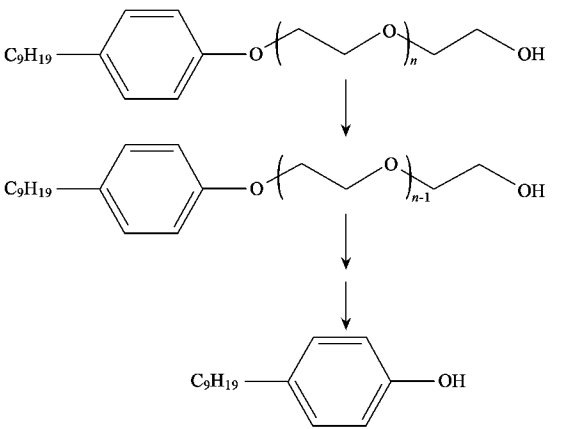


图 6 NPEOs 可能的降解途径

Fig.6 Proposed biodegradation pathway of NPEOs by *Bacillus* sp. LY

为考察不同氮源对 *Bacillus* sp. LY 降解 NPEOs 效果的影响, 笔者分别以 3 种不同形态氮素——氨态氮(NH₄Cl)、硝态氮(NaNO₃)和亚硝态氮(NaNO₂)为氮源, NPEOs 为唯一碳源, 考察了菌株 *Bacillus* sp. LY 的生长状况和降解效果. 如表 1 所示, 以氨态氮为氮源时, *Bacillus* sp. LY 对 NPEOs 的降解去除符合一级动力学特征, 降解速率常数为 0.106, 而以硝态氮、亚硝态氮为氮源时, 菌株对 NPEOs 的降解速率常数分别为 0.030 6 和 0.023 7, 低于以氨态氮为氮源情况下的降解速率常数, 这表明不同氮源对菌株的降解 NPEOs 的能力有较大影响.

表 1 不同氮源条件下菌株降解 NPEOs 的动力学参数		
Table 1 Kinetic parameter for the biodegradation of NPEOs under different nitrogen sources conditions		
氮源	k/d^{-1}	$t_{1/2}/d$
氨态氮	0.106	6.53
硝态氮	0.030 6	22.7
亚硝态氮	0.023 7	29.3

从 *Bacillus* sp. LY 分别以氨态氮、硝态氮和亚硝态氮为氮源, NPEOs 为唯一碳源时的生长曲线(图 7)可以看出, 菌株表现出明显的嗜氨性. 以氨态氮为氮源时, 菌株没有经历迟滞期, 直接进入对数生长期, 生长迅速, 而以硝态氮、亚硝态氮为氮源时, 菌株生长缓慢, 并很快进入衰亡期. 这可用来解释以氨态氮为氮源条件下, NPEOs 降解效果优于以硝态氮、亚硝态氮为氮源条件下 NPEOs 降解效果的原因.

3 结论

异养脱氮菌 *Bacillus* sp. LY 具有高效降解壬基酚聚氧乙烯醚的能力. 降解 14 d 时 *Bacillus* sp. LY 对 NPEOs 去除率为 95.6%. 菌株在降解去除 NPEOs 的

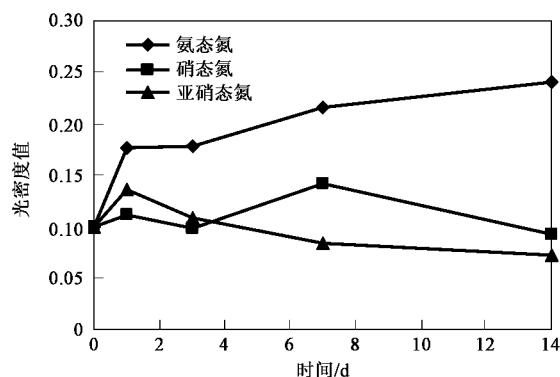


图 7 不同氮源条件下 *Bacillus sp. LY* 的生长曲线

Fig. 7 Growth curve of *Bacillus sp. LY* under different nitrogen sources conditions

同时仍具有异养脱氮能力, 14 d 时对体系中 TN 的去除率达 43.9%, 最大去除速率为 $47 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{d})^{-1}$. 菌株在降解 NPEOs 过程中不会产生羧酸化产物, 推测 NPEOs 可能的降解途径是无氧化过程的乙氧基链的逐渐缩短途径. 不同氮源对菌株降解 NPEOs 的能力有较大影响, 以氨态氮为氮源时菌株具有最强的降解能力.

参考文献:

- [1] 吴伟, 翟建宏, 陈家长, 等. 水体中的微生物对壬基酚聚氧乙烯醚的生物降解[J]. 安全与环境学报, 2003, 3(3): 17-21.
- [2] Shao B, Hu J Y, Yang M. Determination of nonylphenol ethoxylates in the aquatic environment by normal phase liquid chromatography-electrospray mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2002, 950: 167-174.
- [3] Salvadori L, Di Gioia D, Fava F, et al. Degradation of Low-Ethoxylated Nonylphenols by a *Stenotrophomonas* Strain and Development of New Phylogenetic Probes for *Stenotrophomonas* spp. Detection [J]. Current Microbiology, 2006, 52: 13-20.
- [4] Mann R M, Boddy M R. Biodegradation of a nonylphenol ethoxylate by the autochthonous microflora in lake water with observations on the influence of light [J]. Chemosphere, 2000, 41: 1361-1369.
- [5] Witorsch R J. Endocrine disruptors: can biological effects and environmental risks be predicted? [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2002, 36(1): 118-130.
- [6] Hayashi S, Saito S, Kim J, et al. Aerobic Biodegradation Behavior of Nonylphenol Polyethoxylates and Their Metabolites in the Presence of Organic Matter [J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(15): 5626-5633.
- [7] Field J A, Reed R L. Nonylphenol polyethoxy carboxylate metabolites of nonionic surfactants in U.S. paper mill effluents, sewage treatment plant effluents, and river waters [J]. Environmental Science & Technology, 1996, 30: 3544-3550.
- [8] Jonkers N, Knepper T P, De Voogt P. Aerobic biodegradation studies of nonylphenol ethoxylates in river water using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. Environmental Science & Technology, 2001, 35(2): 335-340.
- [9] Ejlertsson J, Nilsson M L, Kylin H, et al. Anaerobic degradation of nonylphenol mono and diethoxylates in digested sludge, landfill

- municipal solid waste, and landfilled sludge [J]. Environmental Science & Technology, 1999, 33(2): 301-306.
- [10] Lin Y, Kong H N, He Y L, et al. Simultaneous nitrification and denitrification in a membrane bioreactor and isolation of heterotrophic nitrifying bacteria [J]. Japanese Journal of Water Treatment Biology, 2004, 40(3): 105-114.
- [11] 郭淑清, 田锋. 菌种的甘油冷冻保存法 [J]. 山西医科大学学报, 2000, 31(4): 382-382.
- [12] Sato H, Shibata A, Wang Y, et al. Characterization of biodegradation intermediates of non-ionic surfactants by matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry I. Bacterial biodegradation of octylphenol polyethoxylate under aerobic conditions [J]. Polymer Degradation and Stability, 2001, 74: 69-75.
- [13] Lu J, Jin Q, He Y L, et al. Biodegradation of nonylphenol polyethoxylates under Fe(III) -reducing conditions [J]. Chemosphere, 2007, 67: 1016-1035.
- [14] 国家环境环保总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法 [M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- [15] 杨明. 间接分光光度法测定盐酸羟胺 [J]. 化学工业与工程, 1999, 16(4): 233-235.
- [16] Liu X, Tani A, Kimbara K, et al. Metabolic pathway of xenoestrogenic short ethoxy chain-nonylphenol to nonylphenol by aerobic bacteria, *Ensifer* sp. strain AS08 and *Pseudomonas* sp. strain AS90 [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 72(3): 552-559.
- [17] Soares A, Guieysse B, Delgado O, et al. Aerobic biodegradation of nonylphenol by cold-adapted bacteria [J]. Biotechnology Letters, 2003, 25: 731-738.
- [18] Zhao J L, Zhang G Y, Qin Y, et al. Aerobic biodegradation of alkylphenol ethoxylates [J]. Bioresource Technology, 2006, 97(18): 2478-2480.
- [19] 赵娟, 吕剑, 何义亮, 等. 异养脱氮菌株 *Bacillus sp. LY* 降解有毒有机污染物的研究 [J]. 环境科学, 2007, 28(12): 2838-2842.
- [20] 杨彬, 雷乐成. 混合培养微生物好氧降解对硝基苯胺的特性研究 [J]. 环境工程, 2003, 21(3): 73-76.
- [21] 林淦, 刘法彬. 混合培养微生物降解氯氧菊酯的特性研究 [J]. 化学与生物工程, 2005, 8: 40-42.
- [22] 何霞, 赵彬, 吕剑, 等. 异养硝化细菌 *Bacillus sp. LY* 脱氮性能研究 [J]. 环境科学, 2007, 28(6): 1404-1408.
- [23] Richardson D J, Watmough N J. Inorganic nitrogen metabolism in bacteria [J]. Current Opinion in Chemical Biology, 1999, 3: 207-219.
- [24] 何霞, 吕剑, 何义亮, 等. 异养硝化机理的研究进展 [J]. 微生物学报, 2006, 46(5): 844-847.
- [25] Di Corcia A, Costantino A, Crescenzi C, et al. Characterization of Recalcitrant Intermediates from Biotransformation of the Branched Alkyl Side Chain of Nonylphenol Ethoxylate Surfactants [J]. Environmental Science & Technology, 1998, 32(16): 2401-2409.
- [26] Potter T L, Simmons K, Wu J N, et al. Static die-away of a nonylphenol ethoxylate surfactant in estuarine water samples [J]. Environmental Science & Technology, 1999, 33: 113-118.
- [27] Giger M. Determination of alkylphenol and alkylphenol monoand diethoxylates in environmental samples by high-performance liquid chromatography [J]. Analytical Chemistry, 1985, 57: 1577-1583.
- [28] Langford K H, Scrimshaw M D, Birkett J W, et al. Degradation of nonylphenolic surfactants in activated sludge batch tests [J]. Water Research, 2005, 39: 870-876.