

1 株壬基酚降解菌的分离鉴定及其降解特性研究

李旭春, 刘桂芳, 马军*, 邵晓玲

(哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090)

摘要: 从给水处理系统长期运行的颗粒活性炭上分离到 1 株可以以壬基酚(NP)为唯一碳源生长的好氧细菌 F-10, 利用 Sherlock 微生物鉴定系统(MIS)分析, 初步鉴定为红球菌属中的红串红球菌. 通过摇瓶实验考察了温度、pH、NP 初始浓度、细菌投量、金属离子等因素对 F-10 降解 NP 性能的影响, 得出最佳降解条件是温度 30℃, pH 值 6.0, 在该条件下, 2% 菌投量对 1 mg/L NP 去除率达到了 62%, 且降解过程满足一级动力学模型, 速率常数(k)为 0.0865 d^{-1} , 半衰期($t_{1/2}$)为 8.0 d; 此外, 菌的降解速率与 NP 的初始浓度关系不大, 而与菌量呈正相关; 增加溶液中 NH_4^+ 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、NaCl 浓度或加入葡萄糖、醋酸钠和酵母膏等底物对菌降解 NP 均有促进作用; 而 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 和磷酸盐的作用则相反; 同时混合菌体系的降解性能要优于纯菌.

关键词: 壬基酚; 生物降解; Sherlock MIS 微生物鉴定系统; 红球菌

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)01-0231-06

Isolation, Identification and Biodegradation Characteristics of A Bacterial Strain Able to Degrade Nonylphenol

LI Xu-chun, LIU Gui-fang, MA Jun, SHAO Xiao-ling

(School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: A bacteria strain F-10 was isolated from activated carbon, which was processed with sand filtered water from Songhua River for a long time, pre-oxidized with ozone, PPC and ferrate. The bacterial strain was capable of utilizing nonylphenol (NP) as sole carbon source and identified as *Rhodococcus erythropolis* with the Sherlock Microbial Identification System (MIS) from the MIDI Corporation. The optimal conditions for NP biodegradation in the shaking flasks were at 30℃ and pH 6.0. Under those conditions, NP at concentration of 1 mg/L was biodegraded by 62% with 2% of inoculum amount. The biodegradation reaction fitted well with first-order kinetic model, with a degradation rate constants (k) of 0.0865 d^{-1} and half-lives ($t_{1/2}$) of 8.0 d. Aerobic degradation rate for NP was enhanced by increased level of NH_4^+ , Mn^{2+} , Mg^{2+} , and NaCl, and by addition of glucose, NaAc, and yeast extract as well as by reduced level of Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , and phosphate, while no apparent effect of original NP concentration was observed. The combination of F-10 with other 27 bacterial strains which were also isolated from activated carbon expressed better biodegradation effectiveness.

Key words: nonylphenol; biodegradation; Sherlock MIS; *Rhodococcus*

壬基酚(nonylphenol, NP)被认为是有代表性的环境内分泌干扰物(EDCs)和持久性有毒污染物(PTS). 大量的毒理研究表明壬基酚具有明显的雌激素效应和生物毒性, 并具有很强的生物积累性^[1~8]. 每年大约有 400 000 t 的壬基酚聚氧乙烯醚 NP_nEO (n 一般为 1~20)排放到环境中^[9], 它们经过生物降解, 生成了比母体毒性更大、疏水性更强和更难生物降解的 NP^[10]. 目前大量的文献报道了 NP 对水体的污染比较严重^[9, 11, 12], 西班牙巴塞罗那河某段 NP 浓度更是高达 $600 \mu\text{g/L}$ ^[12]. 水环境中高浓度 NP 的出现, 必将威胁人体的健康.

目前, NP 逐渐成为了国内外研究的热点, 绝大多数的研究集中在探索新的 NP 检测手段^[10]、毒理和生态环境风险评价^[1~8]、环境中 NP 浓度分布和监测^[9, 12, 13]、NP 处理方法^[14~19]. 然而报道中多是采用吸附氧化等方法去除水中的 NP, 对于寻求高效 NP 降解菌方面的研究鲜见, 国外仅有少数的学者从河

底沉积物、土壤以及污水处理厂的活性污泥中分离出能降解 NP 的鞘氨醇单胞菌^[16~19]. 国内除了台湾的 Yuan 等^[15]从二仁溪河底沉积物中分离到 1 株假单胞菌, 并初步做了对 NP 降解特性的研究外, 尚无 NP 生物降解方面的报道.

本研究首次从给水处理系统长期运行的生物活性炭上分离得到 1 株 NP 高效降解菌, 并对其进行了菌种鉴定和降解效能的初步研究, 以期揭示 NP 生物降解的基本规律, 并为其在生物修复和水中 NP 去除的应用中提供一定的参考.

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

收稿日期: 2007-02-04; 修订日期: 2007-05-09

基金项目: 教育部知识创新工程重大项目培育基金项目(705013)

作者简介: 李旭春(1983~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为给水深度处理技术, E-mail: risingsun@163.com

* 通讯联系人, E-mail: majun@hit.edu.cn

1.1.1 主要试剂

壬基酚 NP(Sigma 公司,纯度 96%);甲醇(Dikma 公司,色谱纯);Milli-Q 水(Millipore 公司,电阻率 18.2 MΩ·cm);TSB、琼脂购自 BBL 公司;其他无机盐均为分析纯度。

1.1.2 主要实验设备

Waters 高效液相色谱(配自动进样器),双波长检测器,C18 液相色谱柱;Agilent 气相色谱 6890(GC/6890);高速冷冻离心机(TGL-20M);恒温空气浴摇床(哈尔滨东联电子);Finnpipett 可调移液器(0.5~50 μL、20~200 μL、100~1 000 μL);分析天平;超声清洗器;精密 pH 计(上海雷磁);无菌台;高压灭菌器。

1.2 细菌的富集、分离和培养

从用松花江原水与分别用臭氧、高锰酸盐复合药剂和高铁酸钾预氧化原江水长期运行的 4 根颗粒活性炭柱上各取下 5 g 活性炭,分别放入盛有 45 mL 无菌水并带有磁子的三角瓶中,在磁力搅拌器上搅拌 30 min,尽量使活性炭上的细菌分散到水相中。取菌悬液接种到事先灭菌的牛肉膏蛋白胨培养基中,于 30℃,140 r/min 空气浴恒温振荡器中培养,每 24 h 接种 1 次,培养 3 d 之后按 10% 菌量投加到事先灭过菌的矿质盐溶液培养基(MSM)中,于 30℃,140 r/min 空气浴恒温摇床中进行培养,NP 浓度按梯度投加,依次为 100、300、500、1 000 和 2 000 μg/L,每次驯化培养 15 d,最后反复接种培养、分离、纯化,直到得到纯的单菌落。考察各纯菌对 NP 的降解效果,最终分离到 1 株 NP 降解菌。将纯菌接种到斜面上,于 4℃ 冰箱内保存。

牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 3.0 g;蛋白胨 10.0 g;NaCl 5.0 g;Milli-Q 水 1 000 mL;pH 值 7.4~7.6。

牛肉膏蛋白胨固体培养基:牛肉膏 3.0 g;蛋白胨 10.0 g;NaCl 5.0 g;琼脂 20.0 g;Milli-Q 水 1 000 mL;pH 值 7.4~7.6。

矿质盐溶液培养基(MSM)^[20]:K₂HPO₄ 4.0 g;NaH₂PO₄ 4.0 g;(NH₄)₂SO₄ 2.0 g;MgSO₄·7H₂O 0.5 g;CaCl₂·2H₂O 0.01 g;FeSO₄·7H₂O 0.01 g;MnSO₄·2H₂O 0.01 g;Milli-Q 水 1 000 mL;pH 7.0。

TSBA 培养基(胰化酪蛋白大豆培养基):Trypticase Soy Broth(TSB,购自 BBL 公司)30 g;琼脂(购自 BBL 公司)15 g;1 L 蒸馏水。

皂化试剂:氢氧化钠(ACS 标准)45 g;甲醇(色谱纯)150 mL;去离子水 150 mL。

甲基化试剂:盐酸 6.00 mol/L 325 mL;甲醇(色谱纯)275 mL。

萃取溶剂:正己烷(色谱纯)200 mL;甲基叔丁基醚 MTBE(色谱纯)200 mL。

碱洗涤剂:氢氧化钠(ACS 标准)10.8 g;去离子水 900 mL。

灭菌条件:0.1 MPa,121℃,20 min 高压蒸汽湿式灭菌。

1.3 菌株鉴定

细菌鉴定采用美国 MIDI 公司的 Sherlock microbial identity system(MIS)软件系统。将在特定培养基上纯培养的菌按照 MIDI 公司的操作规范要求,进行脂肪酸的提取和分析,Sherlock MIS 软件系统会自动利用该检测结果,定性(种类)和定量(含量)地分析微生物的脂肪酸成份并生成一个脂肪酸图谱,利用该图谱和数据库(Library)进行比对,鉴定未知的菌种,该方法可将细菌鉴定到种。

1.4 菌悬液的制备、投加、样品的降解条件及取样

用接种环从 4℃ 保存的斜面上挑取一环细菌 F-10,接到无菌的装有 50 mL 牛肉膏蛋白胨培养基的三角瓶中,于 30℃,140 r/min 摇床培养 24 h 至对数生长期。然后 4 000 r/min 离心 10 min,倒去上清液,加入无菌水(MSM)洗涤,再 4 000 r/min 离心 10 min,倒去上清液,反复洗涤 3 次。将洗涤后的菌用无菌水(MSM)稀释至 600 nm 吸光度($A_{600\text{ nm}}$)为 1.0,制成菌悬液,并按 2% 的菌量(体积分数)投加到灭菌的 MSM 溶液中,NP 初始浓度(1.0 ± 0.05)mg/L,初始 pH 6.0(以上操作均在无菌条件下进行),并于 30℃,140 r/min 摇床培养 10 d,每 1 d 间隔取样检测 NP 的浓度。

1.5 壬基酚 NP 的定量检测

壬基酚 NP 定量检测采用 Waters 高效液相色谱(HPLC),色谱柱为 Waters C18 柱,Waters 2478 双波检测器,Waters 1525 泵装置,Waters 717 Plus 自动进样器。检测条件:检测波长 280 nm;柱温 30℃;流动相甲醇/水为 9:1,流速 1 mL/min;进样量 100 μL, $r^2 > 0.999$ 。

样品处理:将样品经过 0.22 μm 膜过滤后,进高效液相色谱检测, $r^2 > 0.99$ 。

2 结果与讨论

2.1 菌的鉴定

2.1.1 菌的培养特征

通过驯化筛选,获得了 1 株能以 NP 为唯一碳源

生长的细菌,命名为菌 F-10.该菌为杆菌,无鞭毛,在固体平板培养基上,菌落成圆形,表面低凸,边缘完整,湿润,有光泽,呈淡粉色,半透明且易挑起,革兰氏染色为阳性,尺寸约为:(1.77×0.64) μm (图 1).

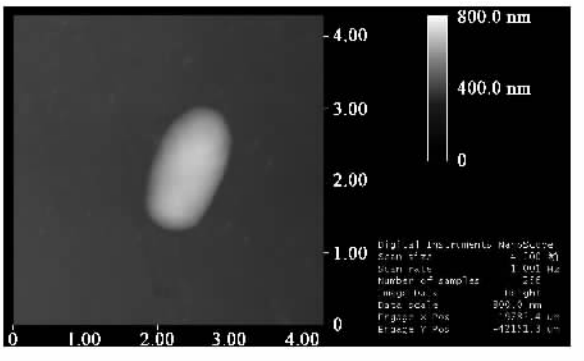


图 1 菌 F-10 的原子力显微镜照片

Fig.1 AFM photo of strain F-10

2.1.2 细菌的鉴定

根据 Sherlock MIS 软件系统对菌 F-10 脂酸定性和定量的分析生成的脂酸图谱,对比 Library 数据库,初步鉴定菌 F-10 为红球菌属中的红串红球菌,相似指数 SI (similarity index) 为 0.899.

2.2 菌 F-10 降解 NP 的效果及动力学分析

在 pH 值为 6.0 的矿质盐溶液培养基中,以 2% 的菌量接入菌 F-10 的菌悬液, NP 初始浓度为 1.0 mg/L,于 30℃, 140 r/min 摇床中培养,每 1 d 取样 1 次,样品经过处理,注入 HPLC 进行检测.菌 F-10 对 NP 的降解随时间的变化情况见图 2.从图 2(a)中可以看出菌 F-10 对 NP 具有较好的降解效果,10 d 后, NP 去除 59%; 15 d 后,去除率达到了 62%,基本趋于稳定,此时溶液中 NP 剩余浓度约 405 $\mu\text{g/L}$.菌 F-10 未能将 NP 全部降解,一方面可能是溶液中 NP 剩余浓度太低,不能为菌再利用;另外,降解过程中产生的有毒或更难降解的中间产物也可能抑制菌 F-10 对 NP 的降解活性.为了解菌 F-10 对 NP 的降解行为,研究中采用一级动力学模型对实验数据进行拟合^[15,21,22],动力学模型方程见公式(1)和(2),拟合结果见图 2(b).

降解动力学方程为:

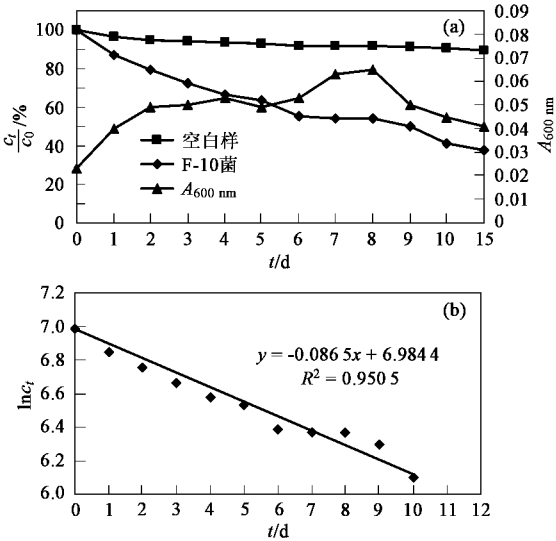
$$\ln c_t = -kt + \ln c_0 \tag{1}$$

降解率:

$$\eta = 1 - c_t/c_0 = 1 - e^{-kt} \tag{2}$$

式中, c_0 、 c_t 为初始和 t 时刻溶液中的 NP 浓度, $\mu\text{g/L}$; k 为 NP 降解速率的动力学常数, d^{-1} ; t 为降解时间, d .

从图 2(b)中可以看出,实验数据的拟合结果很好,相关系数 $r^2 = 0.9505$,即菌 F-10 对 NP 的降解过程基本满足一级动力学模型.通过计算得出菌 F-10 对 NP 的降解速率常数为 0.0865 d^{-1} ,半衰期 ($t_{1/2}$) 为 8.0 d,较 Chang 等^[21]得到的 NP 降解菌的速率 (k 为 $0.010 \sim 0.015 \text{ d}^{-1}$, $t_{1/2}$ 为 $46.2 \sim 62.3 \text{ d}$) 快将近 8 倍,可见菌 F-10 是 1 株 NP 高效降解菌.



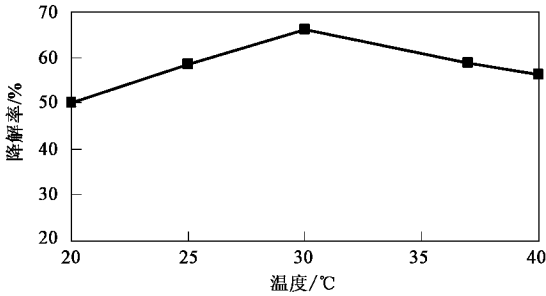
$c_0 = 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 2% 菌投量, pH = 6.0, 温度为 30℃

图 2 菌 F-10 的降解效果及动力学分析

Fig.2 Effect and kinetic process of biodegradation of NP by strain F-10

2.3 温度对 NP 降解的影响

温度对菌的酶活性影响很大,直接影响菌的降解效果.在 pH 值为 6.0 的矿质盐溶液培养基中,按 2% 的菌量接入菌 F-10 的菌悬液, NP 初始浓度为 $(1.0 \pm 0.05) \text{ mg/L}$,于不同温度下, 140 r/min 摇床培养, 10 d 后取样,样品经过处理,注入 HPLC 进行检测,结果见图 3.从图 3 中可以看出在 20~40℃ 范围内,菌 F-10 对 NP 都具有较好的降解效果, NP 的去



$c_0 = (1.0 \pm 0.05) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 2% 菌投量, pH = 6.0, $t = 10 \text{ d}$

图 3 温度对菌 F-10 降解 NP 的影响

Fig.3 Effect of temperature on NP degradation by strain F-10

除率均在 50% 以上,在 30℃ 时菌对 NP 的降解效率最高,达到了 66%,这说明菌 F-10 在 30℃ 时 NP 降解酶活性最高.目前,只有少数人研究过温度对细菌降解 NP 的影响,Ana 等^[20]也证实:10~28℃ 条件下,NP 的生物降解效率随着温度升高而有明显地提高.

2.4 pH 值对 NP 降解的影响

降解基质的 pH 直接影响着菌的降解活性,为了解 pH 对菌 F-10 降解 NP 产生的影响,及确定最佳的 pH 降解条件,研究中考察了 pH 4.0~10.0 菌 F-10 对 NP 的降解情况.分别将矿质盐溶液培养基的 pH 值调至 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0,以 2% 的菌量接入菌 F-10 的菌悬液,NP 初始浓度(1.0±0.05)mg/L,于 30℃,140 r/min 摇床培养,每 1 d 取 1 次样,样品经过处理,注入 HPLC 进行检测,结果见表 1.

从表 1 中可以看出,菌 F-10 在 pH 4.0~10.0 范围内都有较好的降解效果,在 pH=6.0 时效果最好,在 pH=9.0 时,效果最差,其 NP 降解速率约为 pH=6.0 时的 1/4,说明 pH 明显地影响菌 F-10 对 NP 去除,这可能是因为菌 F-10 的 NP 降解酶在弱酸性条件下活性最强;也可能是 NP 在酸性条件下更多的以 NP 分子形态存在,而碱性条件下更多的以离子形态存在,表面带负电的细菌更容易利用酸性条件下分子态 NP 的缘故.Yuan 等^[15]也证实,从河底淤泥中分离出的假单胞菌,在 pH 6.0 时降解 NP 的效率最高.

表 1 菌 F-10 在不同 pH 值条件下对 NP 的降解动力学参数(30℃)
Table 1 NP degradation rate constants (*k*) and half-lives (*t*_{1/2}) at various pH value (30℃)

pH 值	<i>k</i> /d ⁻¹	<i>t</i> _{1/2} /d	<i>r</i> ²
4.0	0.049	14.2	0.95
5.0	0.061	11.4	0.94
6.0	0.085	8.2	0.92
7.0	0.068	10.2	0.95
8.0	0.029	24.0	0.93
9.0	0.023	30.8	0.90
10.0	0.024	28.4	0.98

2.5 NP 初始浓度和菌初始投量对降解的影响

在 pH 值为 6.0 的矿质盐溶液培养基中,分别投加不同浓度的 NP 和菌投量,30℃,140 r/min 摇床培养,每 1 d 取 1 次样,样品经过处理,注入 HPLC 进行检测,结果见表 2.从表 2 可以看出,菌 F-10 对 NP 的降解速率随目标物初始浓度的增加而稍有加快,但变化不十分明显,说明该菌能够适应较高 NP 浓度的环境,具有较强地抵抗 NP 毒性和降解 NP 的能

力.同时,NP 的降解速率随着菌投量的增加而线性增加.

表 2 不同 NP 初始浓度和菌 F-10 投量的降解动力学参数(30℃)
Table 2 NP degradation rate constants (*k*) and half-lives (*t*_{1/2}) at various NP concentrations and inoculum amount (30℃)

NP 浓度/mg·L ⁻¹	菌投量/%	<i>k</i> /d ⁻¹	<i>t</i> _{1/2} /d	<i>r</i> ²
1.0 ¹⁾	2	0.078	8.9	0.96
2.0	2	0.094	7.4	0.95
4.0	2	0.097	7.1	0.93
1.0	1	0.066	10.5	0.99
1.0	5	0.115	6.0	0.94

1)为参照样

2.6 金属离子及磷酸盐与共代谢底物对 NP 降解的影响

通常一些金属离子,可为微生物提供重要的生长元素,然而也存在部分金属离子,会抑制微生物的生长并降低其代谢底物的能力.为考察金属离子和磷酸盐对菌 F-10 降解 NP 的影响,在 pH 值为 6.0 的矿质盐溶液培养基中,分别单独加入 K₂HPO₄ 4.0 g/L; NaH₂PO₄ 4.0 g/L; (NH₄)₂SO₄ 2.0 g/L; MgSO₄·7H₂O 0.5 g/L; CaCl₂·2H₂O 0.01 g/L; FeSO₄·7H₂O 0.01 g/L; MnSO₄·2H₂O 0.01 g/L; NaCl 1 g/L; CuCl₂ 0.01 g/L,配制成不同含盐量的培养基.共代谢底物选择葡萄糖、醋酸钠和酵母膏,投量分别为 50 mg/L,菌投量 2%,NP 初始浓度(1.0±0.05)mg/L,初始 pH 为 6.0,于 30℃,140 r/min 摇床培养,每 1 d 取 1 次样,样品经过处理,注入 HPLC 检测,结果见表 3.

表 3 金属离子及磷酸盐与共代谢底物对 NP 降解的影响及动力学参数(30℃)

Table 3 Effects of minerals, phosphate and cometabolism substrate on biodegradation rate constants (<i>k</i>) and half-lives (<i>t</i> _{1/2})(30℃)			
添加物	<i>k</i> /d ⁻¹	<i>t</i> _{1/2} /d	<i>r</i> ²
参照	0.080	8.7	0.93
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.104	6.7	0.96
MnSO ₄	0.145	4.8	0.94
CaCl ₂	0.063	11.0	0.97
CuCl ₂	0.069	10.0	0.99
FeSO ₄	0.077	9.0	0.96
MgSO ₄	0.119	5.8	0.94
NaCl	0.085	8.1	0.97
磷酸盐	0.073	9.5	0.97
葡萄糖	0.152	4.6	0.97
醋酸钠	0.135	5.1	0.97
酵母膏	0.131	5.3	0.95

从表 3 中可以看出,各金属离子与磷酸盐对菌

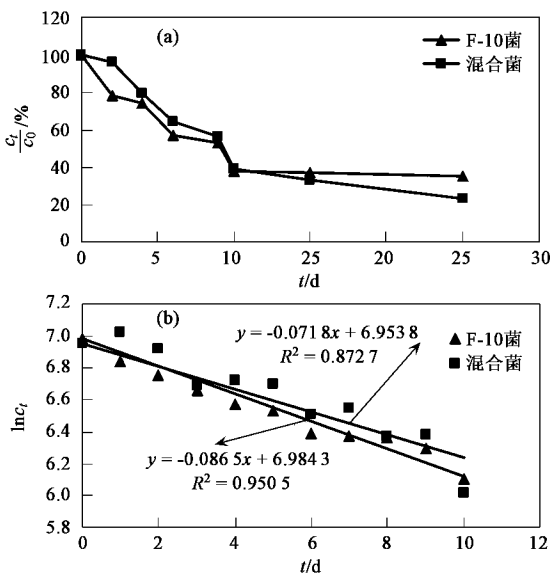
F-10 降解 NP 有比较明显的影响。 NH_4^+ 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 和 NaCl 有促进作用,特别是 Mn^{2+} 离子,其提高了菌 F-10 近 1 倍的降解速度;而 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 和磷酸盐则表现为抑制作用。这可能是因为 NH_4^+ 能为菌 F-10 提供氮源,而 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 和 NaCl 可能是 NP 降解酶的组成部分或者是 NP 降解酶的激活剂,因此适当增加其浓度能提高 NP 降解酶的活性;而较高浓度的 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 和磷酸盐对 NP 降解酶可能有毒性,因而其浓度过高会抑制 NP 降解酶的活性^[23]。

由于 NP 是一种低溶解度和高脂溶性的难降解有机物[25℃时,溶解度为 $(4.9 \pm 0.4)\text{mg/L}$, $\lg K_{\text{ow}} = 4.48$]^[24],从共代谢角度来提高 NP 降解效率不失为一可行途径,因此,通过利用一种底物为细菌提供足够的碳源和能量以促进其生长,并诱导其产生更多的 NP 降解酶,进而促进其对 NP 的降解。从表 3 中可以看出,葡萄糖、醋酸钠和酵母膏都具有比较好的促进作用,其中葡萄糖效果最为明显,可能是菌 F-10 更容易利用葡萄糖来获得碳源和能量,以产生更多的 NP 降解酶,进而提高了其降解 NP 的速率。Yuan 等也证实^[15,25],体系中有有机碳源(如酵母膏)的加入能够明显地提高 NP 的降解效率。

2.7 混合菌对 NP 降解的影响

通常混合菌体系的组成和功能较纯菌更为复杂,也更易适应环境。基于此,本研究专门考察了混合菌体系对 NP 的生物降解效果。将活性炭上分离出的 28 株菌(包括菌 F-10)分别在牛肉膏蛋白胨培养基中培养至对数生长期,然后 4 000 r/min 离心,并用无菌水(MSM)反复洗涤 3 次,再分别稀释至 $A_{600\text{nm}} = 1.0 \pm 0.05$ 处,并等体积混合均匀,制成混合菌悬液。在 pH 值为 6.0 的矿质盐溶液培养基中,以 2% 的菌量接入混合菌悬液, NP 初始浓度为 1.0 mg/L,于 30℃,140 r/min 摇床培养,每 1 d 取 1 次样,样品经过处理,注入 HPLC 进行检测,结果见图 4。

从图 4 中可以看出,开始 10 d 混合菌 NP 降解率低于菌 F-10,且前者降解 NP 的线性关系比较差,可能是其它菌与菌 F-10 存在协同/拮抗作用^[26],或者其它菌也能降解 NP 但不明显,进而影响了菌 F-10 的降解性能。从图 4(b)中可以看出,混合菌对 NP 的降解速率常数为 $k = 0.064 \text{ d}^{-1}$,对应的半衰期为 $t_{1/2} = 10.8 \text{ d}$,说明混合菌的降解速率较菌 F-10 慢,这可能是由于混合菌中 F-10 菌量少的原因所致;但与表 2 中投加 1% 菌量的效果相比,混合菌降解速率要优



$c_0 = 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 2% 菌投量, pH=6.0, 温度为 30℃

图 4 混合菌与菌 F-10 降解效果比较

Fig.4 Comparison between mixed strains and strain F-10 on NP biodegradation effectiveness

于后者,可见其他菌与 F-10 菌有较好的协同降解作用。10 d 后单菌 F-10 对 NP 基本不再降解,而混合菌仍可以降解,25 d 后降解率达到 75%,高于单菌的 65%,这可能是因为菌 F-10 在降解 NP 过程中产生了一些有毒的中间产物^[11],如 2-[1-乙基-1,3-二甲苯基]-1,4-苯二醇(2-[1,1,5-trimethylhexyl]-1,4-benzenediol)、4-[(1,1,5-三甲基己烷氧基)]苯酚(4-[(1,1,5-trimethylhexyl)oxy]phenol),抑制了菌 F-10 的活性,而混合菌却能够降解其产生的中间产物,进而保持菌 F-10 的活性。可见混合菌体系更有利于菌 F-10 对 NP 的降解。确定混合菌体系中具体哪些菌种与菌 F-10 存在明显相互作用及作用机理,并通过改变菌种组成等方法来提高 NP 的降解效能将是比较有前景的研究方向^[11]。

3 结论

(1)用 NP 驯化从颗粒活性炭上分离得到的细菌,最终筛选出 1 株 NP 好氧降解菌 F-10,并通过 Sherlock MIS 鉴定为红球菌属中的红串红球菌。

(2)在温度 30℃,pH 6.0 条件下,菌 F-10 对 NP 表现出最好的降解能力,且降解过程满足一级动力学模型,速率常数(k)为 0.0865 d^{-1} ,半衰期($t_{1/2}$)为 8.0 d。

(3)菌 F-10 对 NP 的降解速率与 NP 的初始浓度

关系不大,而与菌投量呈正相关;增加溶液中 NH_4^+ 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^+ 离子浓度或加入葡萄糖、醋酸钠和酵母膏等底物对菌降解 NP 均有促进作用,而 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 和磷酸盐的作用则相反;同时,混合菌体系的 NP 降解性能要优于纯菌。

参考文献:

- [1] Granmo A, Ekelund R, Magnusson K, *et al.* Lethal and sublethal toxicity of 4-nonylphenol to the common mussel (*Mytilus edulis* L.) [J]. *Environmental Pollution*, 1989, **59**(2): 115-127.
- [2] Ekelund R, Bergman Å, Granmo Å, *et al.* Bioaccumulation of 4-nonylphenol in marine animals—A re-evaluation [J]. *Environmental Pollution*, 1990, **64**(2): 107-120.
- [3] Soto A M, Justica H, Wray J W, *et al.* *p*-Nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from “modified” polystyrene [J]. *Environmental Health Perspectives*, 1991, **92**: 167-173.
- [4] Servos M R. Review of the aquatic toxicity, estrogenic responses and bioaccumulation of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates [J]. *Water Quality Research Journal of Canada*, 1999, **34**(1): 123-177.
- [5] Kim Y S, Katase T, Sekine S, *et al.* Variation in estrogenic activity among fractions of a commercial nonylphenol by high performance liquid chromatography [J]. *Chemosphere*, 2004, **54**(8): 1127-1134.
- [6] 范奇元, 李卫华, 申立军, 等. 壬基酚对 SD 雄性大鼠生殖功能的影响 [J]. *卫生毒理学杂志*, 2001, **15**(4): 225-226.
- [7] 梁增辉, 何世华, 孙成均, 等. 引起青蛙畸形的环境内分泌干扰物的初步研究 [J]. *环境与健康杂志*, 2002, **19**(6): 419-421.
- [8] 刘征涛, 徐静波, 杨丽, 等. 有机烷酚类化合物致突变性研究 [J]. *环境科学研究*, 2001, **14**(3): 1-3.
- [9] Isobe T, Nishiyama H, Nakashima A, *et al.* Distribution and behavior of nonylphenol, octylphenol, and nonylphenol monoethoxylate in Tokyo metropolitan area: their association with aquatic particles and sedimentary distributions [J]. *Environ Sci Technol*, 2001, **35**(6): 1041-1049.
- [10] Estevez M C, Kreuzer M, Baeza F S, *et al.* Analysis of Nonylphenol: Advances and Improvements in the Immunochemical Determination Using Antibodies Raised against the Technical Mixture and Hydrophilic Immunoreagents [J]. *Environ Sci Technol*, 2006, **40**(2): 559-568.
- [11] Corvini P F X, Schäffer A, Schlosser D. Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols—our evolving view [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **72**(2): 223-243.
- [12] Sole M, Alda M J L D, Castillo M, *et al.* Estrogenicity Determination in Sewage Treatment plants and Surface Waters from the Catalanian Area (NE Spain) [J]. *Environ Sci Technol*, 2000, **34**(24): 5076-5083.
- [13] Guenther K, Heinke V, Thiele B, *et al.* Endocrine Disrupting Nonylphenols Are Ubiquitous in Food [J]. *Environ Sci Technol*, 2002, **36**(8): 1676-1680.
- [14] Deborde M, Rabouan S, Duguet J P, *et al.* Kinetics of Aqueous Ozone-Induced Oxidation of Some Endocrine Disruptors [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**(16): 6086-6092.
- [15] Yuan S Y, Yu C H, Chang B V. Biodegradation of nonylphenol in river sediment [J]. *Environmental Pollution*, 2004, **127**(3): 425-430.
- [16] Telscher M J, Schuller U, Schmidt B, *et al.* Occurrence of a nitro metabolite of a defined nonylphenol isomer in soil/sewage sludge mixtures [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, **39**(20): 7896-7900.
- [17] Tanghe T, Devriese G, Verstraete W. Nonylphenol and estrogenic activity in aquatic environmental samples [J]. *Journal of Environmental Quality*, 1999, **28**(2): 702-709.
- [18] Corvini P F X, Hollender J, Ji R, *et al.* The degradation of α -quaternary nonylphenol isomers by *Sphingomonas* sp. Strain TTNP3 involves a type II ipso-substitution mechanism [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **70**(1): 114-122.
- [19] De Vries Y P, Takahara Y, Ikunaga Y, *et al.* Organic nutrient-dependent degradation of branched nonylphenol by *Sphingomonas* sp. YT isolated from a river sediment sample [J]. *Microbes and Environments*, 2001, **16**(4): 240-249.
- [20] Ana S, Marika M, Benoit G, *et al.* Biodegradation of nonylphenol in a continuous bioreactor at low temperatures and effects on the microbial population [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, **69**(5): 597-606.
- [21] Chang B V, Yu C H, Yuan S Y. Degradation of nonylphenol by anaerobic microorganisms from river sediment [J]. *Chemosphere*, 2004, **55**(4): 493-500.
- [22] Chang B V, Chiang F, Yuan S Y. Biodegradation of nonylphenol in sewage sludge [J]. *Chemosphere*, 2005, **60**(11): 1652-1659.
- [23] Giller K E, Witter E, McGrath S P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review [J]. *Soil Biology Biochemistry*, 1998, **30**(10-11): 1389-1414.
- [24] Brix R, Hvidt S, Carlsen L. Solubility of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates. On the possible role of micelles [J]. *Chemosphere*, 2001, **44**(4): 759-763.
- [25] Yuan S Y, Chang J S, Yen J H, *et al.* Biodegradation of phenanthrene in river sediment [J]. *Chemosphere*, 2001, **43**(3): 273-278.
- [26] Tanghe T, Dhooze W, Verstraete W. Isolation of a Bacterial Strain Able To Degrade Branched Nonylphenol [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(2): 746-751.