

1 株扑热息痛降解新菌株的选育及其代谢特性研究

魏芳, 周卿伟, 冷守琴, 张丽丽*, 陈建孟

(浙江工业大学生物与环境工程学院, 杭州 310032)

摘要:通过选择性富集培养,从活性污泥样品中选育到1株能以扑热息痛为唯一碳源生长的好氧细菌F1.根据菌株F1的形态特征、生理生化特性、16S rRNA基因序列分析及和Biolog测试,初步鉴定为亲铜(*Cupriavidus necator*)菌属.菌株F1降解扑热息痛最适pH值和温度分别为7.0和30℃;菌株降解扑热息痛的过程遵循Haldane动力学模型,其最大比生长速率 $\mu_{\max}$ 为 0.097 h^{-1} ;其细胞产率系数为 0.21 mg/mg .当扑热息痛浓度低于 400 mg/L ,其降解量与 CO_2 生成量呈线性关系,与扑热息痛完全矿化生成 CO_2 的理论系数值相近,同时该浓度下TOC去除率为92%,表明菌株降解扑热息痛具有较高的矿化率.代谢产物分析表明菌株F1降解扑热息痛可能的主要途径为:菌株首先脱掉扑热息痛乙酰基形成对氨基苯酚,对氨基苯酚进一步脱氨基转化为对苯二酚,继而裂解开环进入TCA循环.

关键词:扑热息痛;降解;亲铜菌属;动力学;对氨基苯酚;对苯二酚

中图分类号:X172 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2011)06-1812-08

Isolation, Identification and Biodegradation Characteristics of a New Bacterial Strain Degrading Paracetamol

WEI Fang, ZHOU Qing-wei, LENG Shou-qin, ZHANG Li-li, CHEN Jian-meng

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

Abstract: A paracetamol-degrading bacterium F1 was isolated by selective enrichment from activated sludge samples. Based on the morphological characteristics, physiological and biochemical characteristics, 16S rRNA sequence analysis and Biolog identification, this strain was tentatively identified as *Cupriavidus necator* (previously *Ralstonia eutropha*). The optimal pH and temperature for F1 biodegradation in shaking flasks were 7.0 and 30℃, respectively. The degrading process of the strain F1 followed the Haldane kinetic model. The maximum specific growth rate and yield coefficient were 0.097 h^{-1} and 0.21 mg/mg , respectively. At concentrations below 400 mg/mL , the production of CO_2 was linearly correlated with paracetamol consumed with a coefficient of 1.5805, close to the theoretical coefficient value. Meanwhile, TOC removal efficiency up to 92% was obtained at the initial concentration of 400 mg/L . The results indicated that strain F1 had a high mineralization extent for paracetamol. The identified metabolites suggested a possible main route for paracetamol metabolism, in which acetyl group was replaced by hydrogen atom to form *p*-aminophenol as the first degradation product. *p*-aminophenol was further converted to the ring fission substrate *p*-phenol, which finally participated in TCA cycles.

Key words: paracetamol; biodegradation; *Cupriavidus necator*; kinetic; *p*-aminophenol; *p*-phenol

医药化合物在污水处理厂出水、地表水、地下水及饮用水中频繁被检测到^[1], 其对环境和生态的水生毒性、遗传毒性、内分泌干扰等负效应已引起广泛关注^[2~4], 其主要来源于工业生产过程、家用排放、人类和动物的分泌等^[2~6]. 该类化合物的排放控制已成为污染控制领域的一个研究热点^[2, 7, 8]. 扑热息痛(化学名称为对乙酰氨基苯酚)是世界范围广泛使用的解热镇痛药^[9, 10]. 目前, 扑热息痛已成为我国原料药中产量和出口量最大的品种之一, 其在天然水体中检测到的浓度达 $6\sim 10\text{ }\mu\text{g/L}$ ^[8]. 扑热息痛生产废水作为一类含酚废水是我国需要重点解决的较难处理的有害废水之一^[15], 其排放控制已引起广泛关注.

目前, 国内扑热息痛生产行业的废水处理效果均不理想, 正处于起步阶段^[8, 11, 13]. 已报道的扑热

息痛类废水的处理方法主要包括电化学法^[3, 5, 14]、臭氧氧化^[2]、 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ 氧化^[6]及 TiO_2 光催化^[12]等高级氧化法. 由于扑热息痛难于生物降解, 采用生物法净化该类废水的相关报道较少. 有研究采用强化生物膜和SBR组合工艺降解该类废水^[11], 其结果表明, 高效降解菌的选育对于强化该类废水的生物处理具有重要意义.

本研究选育到1株降解扑热息痛类化合物的新菌株*Cupriavidus necator* F1, 分析其降解特性、动力学行为和代谢途径等, 以期构建生物强化模式实

收稿日期: 2010-07-15; 修订日期: 2010-09-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(50908210); 浙江省自然科学基金项目(Y507270); 应用化学与生态染整工程浙江省高校重中之重学科开放基金项目(YR2010005)

作者简介: 魏芳(1984~), 女, 硕士研究生, 主要方向为废水生物处理技术, E-mail: weifang0725@126.com

* 通讯联系人, E-mail: llzhang@zjut.edu.cn

现该类废水的高效生物降解提供基础数据和理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 活性污泥

活性污泥取自中石化镇海炼化废水处理厂曝气池。

1.1.2 培养基

污泥定向驯化培养基:以扑热息痛为唯一碳源和氮源,磷由 KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 提供,其中 C:N:P 约为 100:5:1。 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.04 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.022 g/L, FeCl_3 0.005 g/L, 1 mL/L 微量元素 ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.13 g/L, ZnCl_2 0.23 g/L, $\text{CoCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.42 g/L, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.15 g/L, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L)。

扑热息痛降解菌选育培养基(MM): KH_2PO_4 0.5 g/L, K_2HPO_4 0.5 g/L, NaCl 0.2 g/L, NH_4Cl 0.2 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.022 5 g/L, 微量元素 ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.03 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.13 g/L, ZnCl_2 0.23 g/L, $\text{CoCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.42 g/L, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.15 g/L, $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.05 g/L) 1 mL/L, 琼脂 15 ~ 20 g/L, pH 7.0 ~ 7.2, 121℃ 灭菌。扑热息痛另外添加,浓度为 400 mg/L。

1.2 污泥驯化培养和菌株分离纯化

取中石化镇海炼化曝气池的活性污泥,在实验室以扑热息痛类有机物为主要碳源和能源进行驯化,以驯化污泥为接种污泥,与驯化培养基 1:1 混合曝气 24 h,沉降 30 min,弃去上清液,加入驯化培养基,循环驯化。

取 5 mL 已驯化污泥与 20 mL MM 培养液到 250 mL 锥形瓶中,加入若干玻璃珠,180 r/min 振荡 1 h,取振荡后上清液,在含扑热息痛 400 mg/L 的 MM 固体培养基上进行稀释涂布,30℃ 培养。4 d 后取长势良好的单菌落接入含扑热息痛 400 mg/L 的 MM 液体培养基,取对扑热息痛有降解效果的菌株进一步分离纯化,直至获得降解扑热息痛的纯菌株。

1.3 菌株的 Biolog 鉴定

菌株的 Biolog 实验方法参考文献[16],采用 GN2 碳源板鉴定。

1.4 菌株对扑热息痛的降解及矿化

将选育到的纯菌株接种至含 200 mg/L 扑热息痛的 MM 培养液中,30℃,160 r/min 振荡培养 24 h,进入对数生长期,作为种子液 4℃ 储存备用。将种子

液以 2% 接种量接入至含 100 mL MM 培养液的 500 mL 密封培养瓶中,根据菌株对目标污染物的耐受性,配制一系列浓度的扑热息痛,每个浓度设置 3 个平行实验,并做空白对照,30℃,160 r/min 定时取样,检测扑热息痛浓度变化及菌株生长状况。

为了研究扑热息痛生物降解后碳的存在形式,将上述密封培养瓶初始充氧,使培养液溶解氧达饱和,且使培养瓶上部空间填充氧气,进而控制初始 CO_2 浓度为 0;检测扑热息痛降解过程 CO_2 生成量的变化,当其达最大值时,向密封培养瓶中加入 30% 的 HCl 1 mL,使以液相存在的 HCO_3^- 等完全转化为 CO_2 ,0.5 h 后采用气相检测培养瓶中 CO_2 的生成量。

1.5 检测与分析方法

(1) 菌株形态观察 Nikon 普通光学显微镜、JEOL JEM-1230-TEM 透射电镜。

(2) 菌株 16S rRNA 鉴定 DNA 提取和纯化采用 3S 柱离心环境样品 DNA 回收试剂盒(V2.2,上海申能博彩生物科技有限公司);将基因组 DNA 进行全序列 PCR 扩增,选用细菌通用引物 BSF8/20 和 BSR1541/20,序列分别为 BSF8/20: 5'-AGAGT TTGAT CCTGG CTCAG- 3'; BSR1541/20: 5'-AAGGA GGTGA TCCAG CCGCA-3',由宝生物工程大连有限公司合成;PCR 产物由上海英俊生物技术有限公司测序,测序结果同 GenBank 中的基因序列进行同源性比较分析,选取 1 400 bp 左右长度进行比对 [Clustelx (1.81)],采用邻位连接(neighbour joining, NJ)法进行系统学分析(MEGA),确定菌株种属情况。

(3) 液相色谱分析 扑热息痛浓度采用 Agilent Technologies 1200Series HPLC 分析。分析条件: Eclipse XDB-C18 反相柱(5 μm , 4.6 mm $\times$ 150 mm);检测波长 254 nm;流动相为水/甲醇 = 85/15;流速 0.8 mL/min;进样量 5 μL ;柱温 30℃。

(4) 菌株生长浓度 采用 U-2910 型紫外-可见分光光度计测定 D_{600} 值,通过测定不同 D 值对应的细胞干重,绘制 D 值对应干重的标准曲线,从而分析不同 D 值对应的菌株生物量浓度。

(5) 降解过程检测 CO_2 生成量 采用 Agilent6890 检测二氧化碳浓度,HP-Plot-Q 毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 20 μm)。进样口、检测器(TCD)和柱子温度分别为 90、100 和 40℃,柱流量 5 mL/min,进样量 800 μL ,氦气为尾气吹。

(6) 代谢中间产物及可能的降解途径 菌株的

种子液以 2% 接种量接入至装有 100 mL 培养液的 500 mL 培养瓶中(扑热息痛初始浓度为 400 mg/L),过夜培养 20 h,离心 10 min (4℃, 1 000 r/min),弃去上清液收集菌体,用 pH 7.5 的磷酸缓冲液洗涤 3 次,接入扑热息痛初始浓度为 400 mg/L 至 100 mL 磷酸缓冲液(pH 7.5)中,置于培养箱振荡培养(30℃、160 r/min),定时取样,加入等体积的乙酸乙酯,萃取 30 min,静置 10 min,取上清液 1 mL 于气相样品瓶中,采用氮吹仪吹干,继而加入衍生化试剂:双(三甲基烷基)三氟乙酰胺(1% 三甲基氯硅烷)即 BSTFA(1% TMCS) 20 μ L,吡啶 5 μ L,水浴 60℃,2.5 h 后,加入 100 μ L 乙酸乙酯,采用 Agilent GC-MS (7890-5973)可能的代谢产物;采用戴安-2000 离子色谱仪检测小分子有机酸和 NO_3^- 等。

2 结果与讨论

2.1 降解菌的基本特性

通过初筛与复筛,选育到 1 株能高效降解扑热息痛的菌株,编号为 F1,对该菌株进行革兰氏染色和氧化酶反应实验。结果表明,菌株革兰氏染色显阴性、氧化酶阳性。MM 固体培养基中菌落呈深红色, LB 固体培养基中呈淡乳白色,边缘整齐,光滑湿润。菌株的革兰氏染色和透射电镜图如图 1 所示,菌落

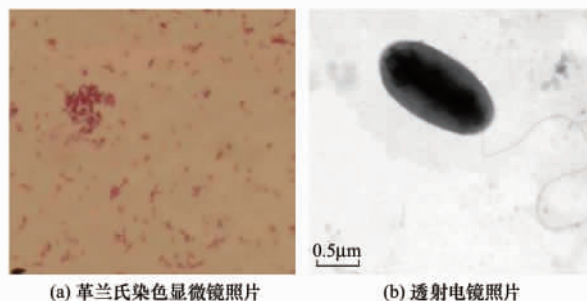


图 1 菌株 F1 微观形态

Fig. 1 Microscopy images of strain F1

呈短杆状,大小为 $0.8 \mu\text{m} \times (1.2 \sim 2.2) \mu\text{m}$ 。

2.2 菌株 16S rRNA 序列分析与 Biolog 鉴定

菌株 F1 的 16S rRNA 在经过扩增和测序后,同 GenBank 中的基因序列进行同源比对,再通过系统发育树的建立确定其在系统发育学上的地位(图 2)。结果表明该菌株属于 *Cupriavidus* 属,且同 *Cupriavidus necator* 的相似性为 89%。结合菌株生理生化实验与 16S rRNA 序列系统的分析结果,菌株 F1 可初步鉴定为 *Cupriavidus* sp.。查阅相关文献,未发现利用相同菌株降解扑热息痛的相关报道。菌株 F1 可能是发现的能降解扑热息痛的新菌株,其 GenBank 登录号为 GQ859166。

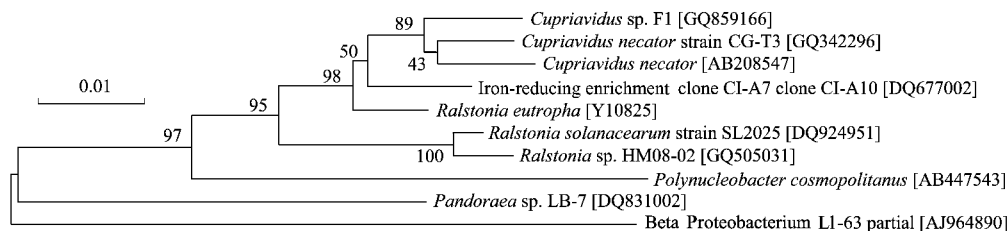


图 2 菌株 F1 的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the strain F1

本实验同时采用 Biolog 分析菌株对 95 种碳源的代谢指纹图,进一步确定其种属特征,提高菌株鉴定的可靠性。通过与 Biolog 系统数据库 Microlog Software (Release Version 4.20.04) 比对,菌株 F1 属于 *Ralstonia eutropha* (现为 *Cupriavidus necator*, 亲铜菌属),其 SIM (Similarity) = 0.796, DIS (distance) = 3.06。SIM 和 DIS 表示测试结果与相应数据的匹配程度,培养 6 h 后,DIS < 5.0, SIM > 0.75 为良好的匹配。结合 16S rRNA 序列分析,可进一步确定菌株属于 *Cupriavidus necator*。

2.3 菌株 F1 对扑热息痛的降解特性

2.3.1 菌株 F1 生长和降解扑热息痛的最佳条件

不同温度和 pH 菌株 F1 对扑热息痛的降解和生长速率如图 3。结果表明菌株 F1 生长和降解扑热息痛的最适温度范围为 25 ~ 30℃,在 30℃ 时达到了最高的菌株生长率和扑热息痛降解率,48 h 后扑热息痛(浓度为 400 mg/L)去除率为 99%。

在 pH 为 4 ~ 10 时,菌株 F1 都能以扑热息痛为碳源和氮源生长,但生长和降解速率表现出明显不同。在 pH 为 5 和 9 时,菌株 F1 的生长率和对扑热息痛去除效率均较低;在 pH 为 7 时,菌株 F1 的生长和降解速率最快,培养 48 h 后对扑热息痛(浓度

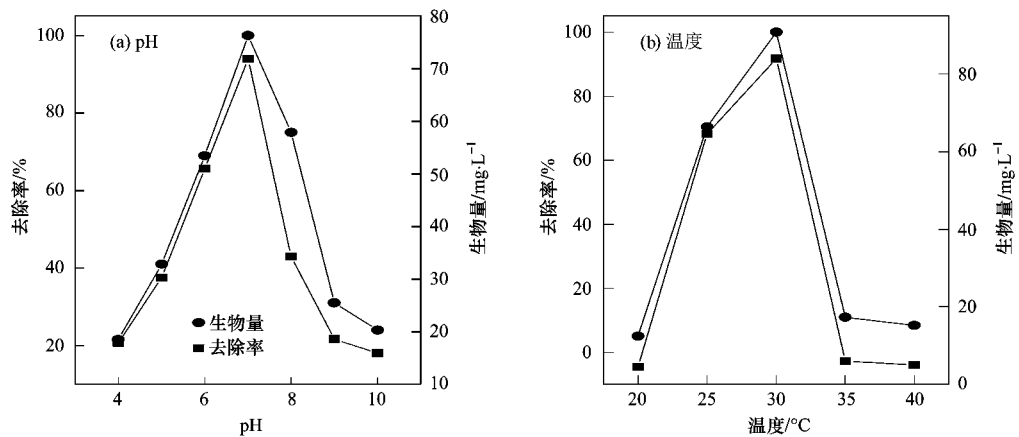


图3 pH和温度对菌株F1降解扑热息痛及其生长速率的影响

Fig.3 Effects of temperature and pH on paracetamol degradation by strain F1

为 400 mg/L) 的去除率达到 100% .

2.3.2 菌株 F1 降解不同初始浓度的扑热息痛

图 4 为菌株 F1 以不用初始浓度扑热息痛为唯一碳源和氮源的降解曲线. 结果表明扑热息痛浓度

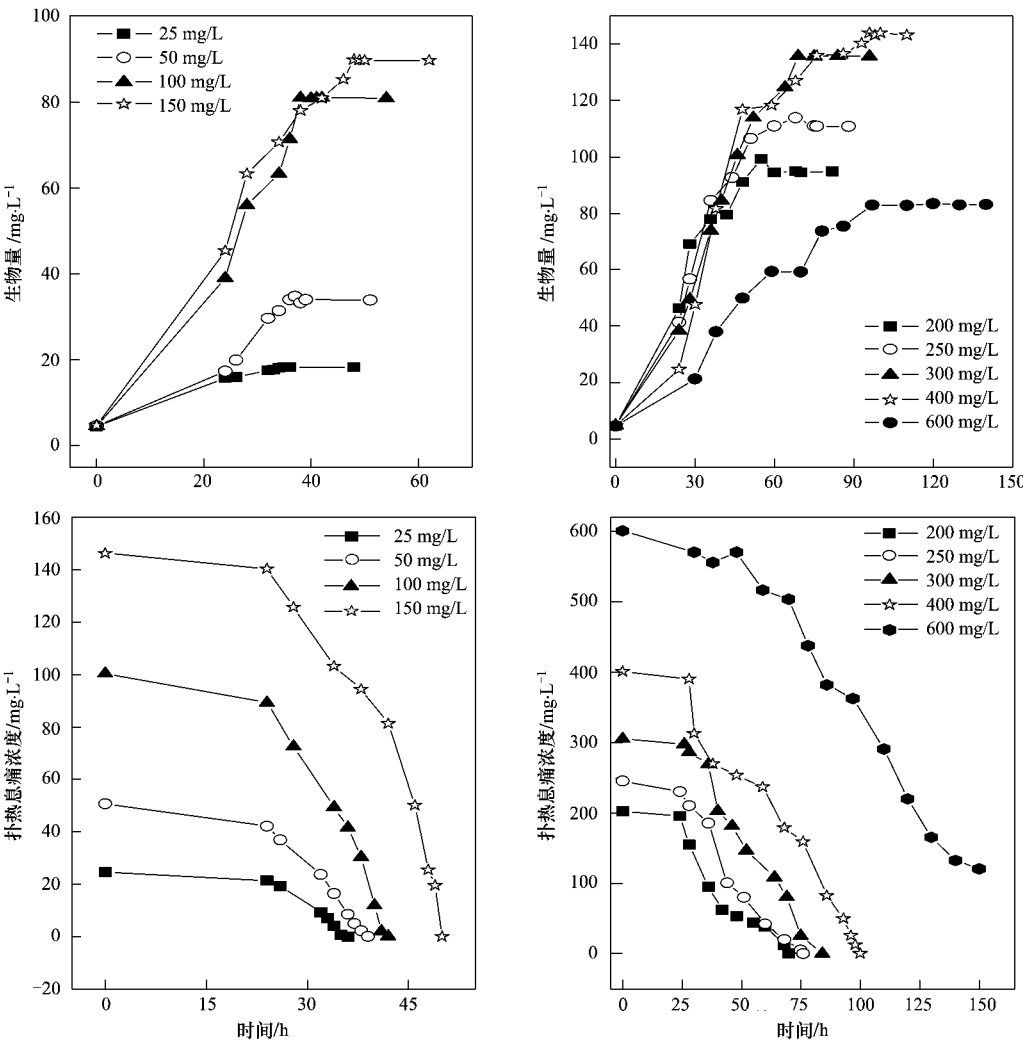


图4 菌株对不同初始浓度扑热息痛的降解曲线

Fig.4 Paracetamol degradation by strain F1 at different initial concentrations

低于 400 mg/L 时,菌株 F1 可快速降解扑热息痛;但菌株未能实现对 600 mg/L 扑热息痛的完全降解,160 h 后其残留浓度约为 110 mg/L,表明该浓度的扑热息痛或其降解中间产物抑制了菌株的生长及降解.

2.4 菌株 F1 降解扑热息痛的比生长动力学及细胞产率

菌株对不同初始浓度扑热息痛的降解过程,采用 Haldance 模型进行拟合,其表达式如下^[17~19]:

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S + S^2/K_i}$$

式中, μ 为菌株比生长速率, h^{-1} ; X 为菌浓度, mg/L ; t 为时间, h ; S 为底物浓度, mg/L ; $\mu_{\max}$ 为菌株最大比生长速率, h^{-1} ; K_s 为半饱和系数, mg/L ; K_i 为抑制系数, mg/L .

由于菌株在不同底物浓度下生长状况也不相

同,取一系列不同底物浓度 40、80、100、150、200、250、300 mg/L 的体系中,考察菌株的产率系数.该过程符合下式^[20]:

$$X - X_0 = Y_{X/S}(S_0 - S)$$

式中, X 为菌浓度, mg/L ; X_0 为初始菌浓度, mg/L ; $Y_{X/S}$ 为产率系数, mg/mg ; S_0 为初始底物浓度, mg/L ; S 为底物浓度, mg/L .

对不同初始浓度扑热息痛的降解,菌株比生长动力学和细胞产率拟合结果如图 5 所示.当扑热息痛浓度为 100 mg/L 时,菌株比生长速率达最大($\mu_{\max} = 0.097 \text{ h}^{-1}$),其半饱和常数 K_s 和抑制常数 K_i 分别为 130.7 mg/L 和 60.9 mg/L .超过此浓度后,因底物及中间产物的抑制作用,菌株比生长速率下降[图 5(a)].图 5(b) 为菌株 F1 降解不同浓度扑热息痛细胞产率的拟合结果,菌株降解扑热息痛的产率系数为 0.21 mg/mg (扑热息痛).

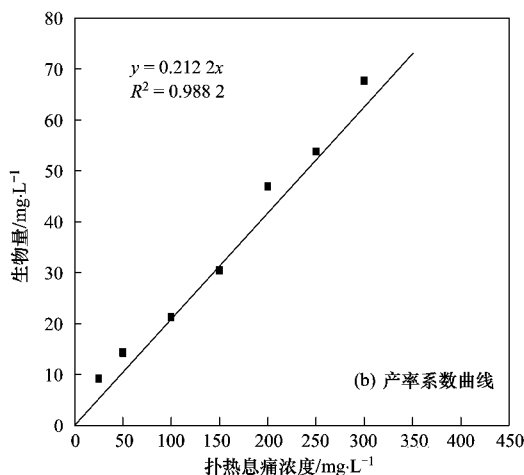
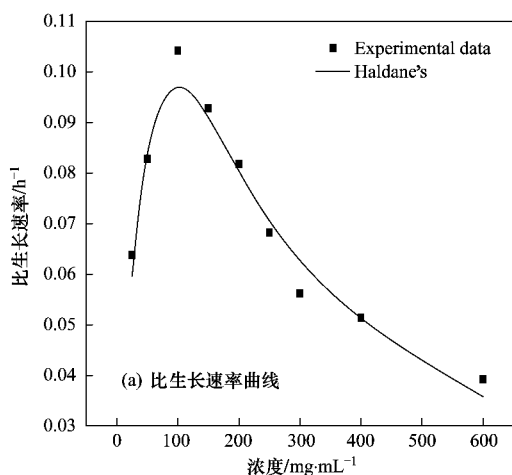


图5 菌株 F1 降解扑热息痛的比生长速率及产率系数曲线

Fig. 5 Specific growth kinetic model and plot to calculate yield coefficient for bacterial growth on paracetamol

2.5 菌株 F1 降解扑热息痛的矿化率

扑热息痛降解过程中,通过测定 CO_2 生成量和生物量分析扑热息痛生物降解的矿化率.图 6(a) 为 CO_2 生成量与降解不同量扑热息痛的线性拟合曲线.结果表明, CO_2 生成量随扑热息痛降解量的增加呈线性增长,其线性关系为 $y = 1.580 5x$,根据化学反应方程式: $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2 + \text{O}_2 \longrightarrow 8\text{CO}_2$,扑热息痛完全转化为 CO_2 理论线性关系为 $y = 2.331 1x$,考虑降解过程中转化为生物量的扑热息痛,菌株 F1 对低于 400 mg/L 的扑热息痛降解的矿化率较高.图 6(b) 为不同初始浓度扑热息痛降解后 TOC 去除率,从中可知,当扑热息痛的浓度低于 400 mg/mL 时,其 TOC 去除率 92% 以上,当扑热息痛浓度为 600 mg/mL

时,矿化率为 65%,进一步表明菌株 F1 对浓度低于 400 mg/L 的扑热息痛具有较高的矿化率.

2.6 菌株 F1 降解扑热息痛可能的中间产物及代谢途径

表 1 为扑热息痛降解过程中利用 GC-MS 和 IC 检测到的可能中间产物.扑热息痛的降解过程中可能的中间产物主要包括对氨基苯酚、对苯二酚、3-己烯二酸、乙醇胺、甲酸等.

图 7 为基于上述检测到的中间产物推测的菌株 F1 降解扑热息痛可能的代谢途径:①在脱羧基酶作用下,扑热息痛脱下乙酰基,生成对氨基苯酚,对氨基苯酚在脱氨基酶作用下,脱下氨基生成对苯二酚,扑热息痛也可在脱乙酰胺基酶作用下,直接脱掉乙

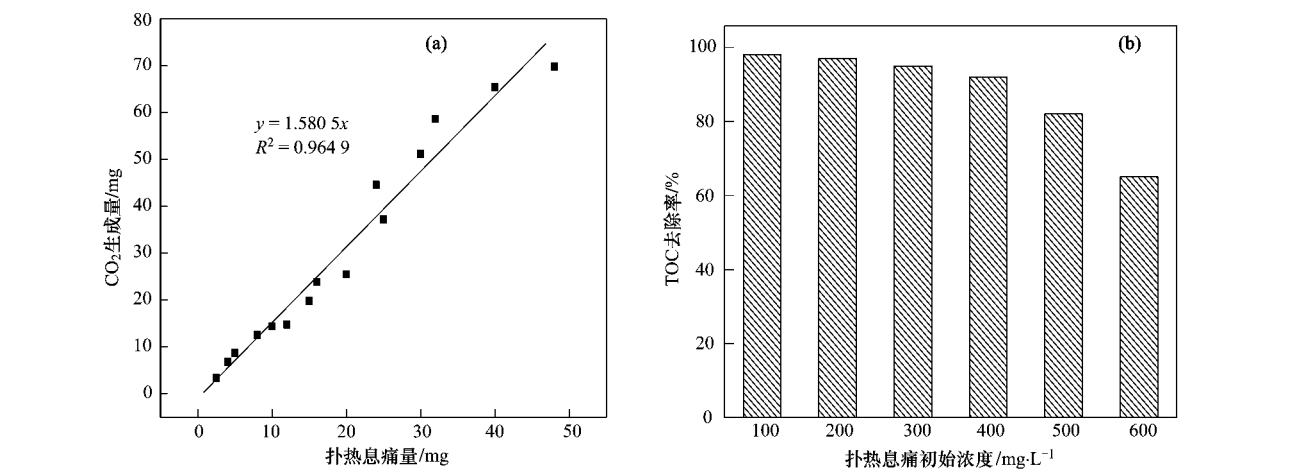


图6 扑热息痛降解 CO₂ 生成量与 TOC 去除率

Fig. 6 CO₂ production rate and TOC removal efficiency during the biodegradation of paracetamol

表 1 中间产物及其检测方法

Table 1 Identified intermediates during degradation of paracetamol using GC-MS and IC

化合物	结构式	分析方法	化合物	结构式	分析方法
对乙酰氨基苯酚 (扑热息痛)		GC-MS	丙二酸		GC-MS
对氨基苯酚		GC-MS	乙二酸		GC-MS
对苯二酚		GC-MS	乙醇胺	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$	GC-MS
邻苯二酚		GC-MS	甲酸	HCOOH	IC
3-己烯二酸	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	GC-MS	硝酸根	NO_3^-	IC
丁二酸		IC	亚硝酸根	NO_2^-	IC

酰胺基,生成对苯二酚,对苯二酚裂解开环降解为小分子酸[如琥珀酸(图7中D6)等],直接进入TCA循环;②在加氧酶及脱乙酰胺基酶作用下,生成邻苯二酚,邻苯二酚开环生成3-己烯二酸,进一步降

解为小分子酸,进入TCA循环.基于中间产物的定量分析(数据未提供),途径①被认为是主要的可能代谢途径.

参阅相关文献,并未发现扑热息痛生物降解代

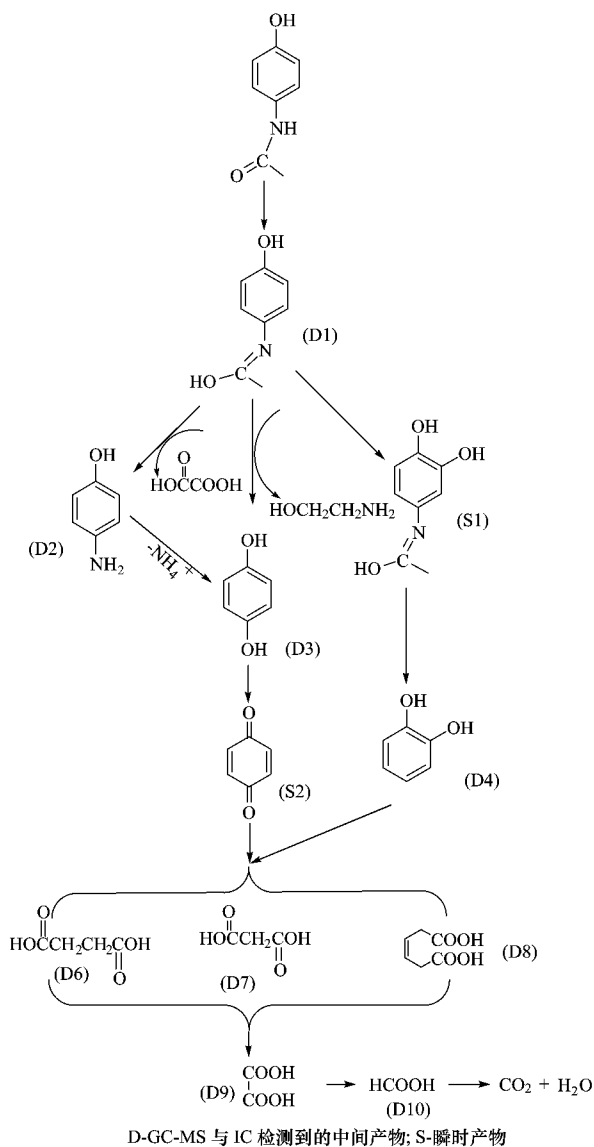


图7 菌株降解扑热息痛过程可能的降解途径

Fig. 7 Proposed reaction pathways during degradation of paracetamol

谢途径的报道. Yang 等^[9]利用光催化氧化降解扑热息痛, 认为对苯二酚是其主要的中间产物. Andreozzia 等^[6]利用 $O_3-H_2O_2/UV$ 体系降解扑热息痛, 也检测到对苯二酚是其主要的反应中间产物. 由此可见, 在扑热息痛降解过程中, 主要是降解为对苯二酚后, 进行裂解开环.

3 结论

(1) 选育到 1 株能高效降解扑热息痛菌株 F1, 基于菌株形态、生理生化特征、16S rRNA 序列分析及其系统发育树和 Biolog 鉴定, 可确定菌株 F1 为亲铜菌属 *Cupriavidus necator*, 其为新发现的降解扑热

息痛的菌株.

(2) 菌株 F1 的最佳生长和降解温度为 30℃, 最佳 pH 为 7; 该菌株可完全降解浓度低于 400 mg/L 的扑热息痛, 其浓度达 600 mg/L 时, 其生长和降解受明显抑制.

(3) 菌株 F1 降解扑热息痛的比生长速率符合 Haldane 动力学方程, 扑热息痛浓度为 100 mg/L 时, 菌株比生长速率达最大 (0.097 h^{-1}); 菌株 F1 降解扑热息痛的产率系数为 0.21 mg/mg (扑热息痛); 菌株 F1 降解低于 400 mg/L 的扑热息痛降解具有较高的矿化率。

(4) 菌株 F1 降解扑热息痛的主要中间产物为：对氨基苯酚、对苯二酚、3-己烯二酸、乙醇胺、甲酸等。可能的主要降解途径为扑热息痛脱乙酰基转化为对氨基苯酚，对氨基苯酚进一步脱氨基转化为对苯二酚，继而裂解开环进入 TCA 循环。

参考文献:

- [1] Kasprzyk-Hordern B, Dinsdale R M, Guwy A J. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters[J]. *Water Research*, 2009, **43**:363-380.
- [2] Skoumal M, Cabot P L, Centellas F, *et al.* Mineralization of paracetamol by ozonation catalyzed with Fe^{2+} , Cu^{2+} and UVA light[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2006, **66**: 228-240.
- [3] Brillas E, Sires I, Oturan M A. Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry[J]. *Chemical Reviews*, 2009, **109**: 6570-6631.
- [4] Zhou J L, Zhang Z L, Banks E, *et al.* Pharmaceutical residues in wastewater treatment works effluents and their impact on receiving river water[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, **166**:655-661.
- [5] Sires I, Garrido J A, Rodridigue M R, *et al.* Electrochemical degradation of paracetamol from water by catalytic action of Fe^{2+} , Cu^{2+} and UVA light on electrogenerated hydrogen peroxide[J]. *Journal of Electrochemical Society*, 2006, **153** (1):D1-D9.
- [6] Andreozzia R, Caprio V, Marotta R, *et al.* Paracetamol oxidation from aqueous solutions by means of ozonation and $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ system[J]. *Water Research*, 2003, **37**:993-1004.
- [7] 刘钰, 杨曦, 高颖. 扑热息痛在硝酸根溶液中的光解研究[J]. *环境科学*, 2007, **28**(6): 1274-1279.
- [8] 高颖, 杨曦, 刘钰. 含碳酸盐水溶液中扑热息痛的光解研究[J]. *环境科学*, 2008, **29**(3): 643-649.
- [9] Yang L, Yu L E, Ray M B, *et al.* Photocatalytic oxidation of paracetamol: dominant reactants, intermediates, and reaction mechanisms[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, **43**: 1000-1006.

43: 460-465.

[10] Gong C B, Wong K L, Lam M H W. Photo responsive molecularly imprinted hydrogels for the photoregulated release and uptake of pharmaceuticals in the aqueous media[J]. Chemical of Materials,2008, 20(4), 1353-1358.

[11] 许玫英,曾国驱,蔡小伟,等. 扑热息痛高效降解菌的选育及其生物强化效果[J]. 环境科学学报,2003,23(3):391-395.

[12] Yang L, Yu L E, Ray M B. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ Photocatalysis[J]. Water Research, 2008,42:3480-3488.

[13] 高颖,杨曦,刘钰. 腐殖质 NAFA 溶液中的扑热息痛光解研究[J]. 环境保护科学,2008,3(43): 26-29

[14] Brillas E, Sires I, Arias C, et al. Mineralization of paracetamol in aqueous medium by anodic oxidation with a boron-doped diamond electrode[J]. Chemosphere,2005,58: 399-406.

[15] 沈伟荣,陈红,王小娜. 富含腐殖酸还原混合菌的污泥厌氧降解对乙酰氨基酚的机制[J]. 环境污染与防治,2007,29(11): 812-815.

[16] Zhang L L, Zhu R Y, Chen J Y, et al. Seawater-retting treatment of hemp and characterization of bacterial strains involved in the retting process[J]. Process Biochemistry, 2008, 43(11): 1195-1201.

[17] Marie C D, Josiane N, Louise B, et al. A new method to determine the microbial kinetic parameters in biological air filters [J]. Chemical Engineering Science,2008,63:4126-4134.

[18] Littlejohns J V, Daugulis A J. Kinetics and interactions of BTEX compounds during degradation by a bacterial consortium [J]. Process Biochemistry,2008,43:1068-1076.

[19] Okpokwasili G C, Nweke C O. Microbial growth and substrate utilization kinetics[J]. African Journal of Biotechnology, 2006, 5: 305-317.

[20] Bielefeldt A R, Stensel H D. Modeling competitive inhibition effects during biodegradation of BTEX mixtures [J]. Water Research, 1999,33(3):707-714.