

制革废水中壬基酚聚氧乙烯醚降解菌的 分离及特性

颜丙花¹ 杨海君^{2*} 魏建宏³ 罗琳¹

- (1. 湖南农业大学资源环境学院 湖南 长沙 410128)
- (2. 湖南农业大学生物安全科学技术学院 湖南 长沙 410128)
- (3. 湖南农业大学生物科学技术学院 湖南 长沙 410128)

摘要: 从长期受壬基酚聚氧乙烯醚污染的制革废水中采集水样, 通过富集培养的方法从中筛选到一株可以壬基酚聚氧乙烯醚为唯一碳源生长的降解菌 OPQa3。通过形态学特征观察和生理生化试验, 结合 16S rRNA 基因序列分析, 初步鉴定菌株 OPQa3 属于短波单胞菌属 *Brevundimonas* sp., 其 16S rRNA 基因序列与 *Brevundimonas diminuta* (EU434566.1) 的相似性最高(99%)。降解菌 OPQa3 的生长周期为 24 h; 以 2% 的量接种菌株 OPQa3, 保证最终 $OD_{600}=0.70$, 于 746 mg/L 的壬基酚聚氧乙烯醚培养基中, 120 h 内的降解率可达 84.5%, 菌 OPQa3 生长的最佳温度为 30 °C, 最适 pH 值在 7 左右。降解性质粒检测结果表明, 控制菌株 OPQa3 降解壬基酚聚氧乙烯醚的基因位于质粒上。
关键词: 壬基酚聚氧乙烯醚(NPnEO), 降解菌, 筛选, 鉴定, 降解特性

Isolation from tannery wastewater and characterization of bacterial strain involved in nonylphenol polyoxyethylene degradation

YAN Bing-Hua¹ YANG Hai-Jun^{2*} WEI Jian-Hong³ LUO Lin¹

- (1. College of Resources & Environment, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)
- (2. College of Bio-safety & Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)
- (3. College of Bioscience & Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: Nonylphenol polyoxyethylene (NPnEO) is a commonly used nonionic surfactant that can be found in all kinds of detergents and emulsifier. NPnEO has relatively low persistency in the environment; however, the great biological toxicity of NPnEO intermediate products cannot be ignored due to its widespread use. Bioremediation is an effective and economic method to repair the environment that

has been polluted by NPnEO. So researchers have paid much attention on the point. Most of these researches focus on the isolation, identification and characterizing bacteria with abilities to degrade NPnEO. In the present study, a bacterial strain OPQa3 capable of utilizing NPnEO as sole carbon source was isolated from water samples collected from tannery waste treatment plant suffered long-time application of NPnEO by enrichment method. It was preliminarily identified as *Brevundimonas* sp. according to morphological characteristics, physiological-biochemical properties and the similarity analysis of its 16S rRNA gene sequence. The growth period of strain OPQa3 was 24 h. Inoculated 2% of OPQa3 solution, to give a final OD_{600} of approximately 0.70, to NPnEO solution that initial concentration was 746 mg/L, degradation tests showed that, the degradation rate of strain OPQa3 was 84.5% within 120 h, the optimum temperature is 30 °C while the optimum pH is about 7. At the same time, a plasmid strip was found from strain OPQa3 through plasmid detection. The experiment of plasmid elimination conformed that the plasmid has some relation to the ability of NPnEO degradation which is a degradative plasmid.

Keywords: Nonylphenol ethoxylates (NPnEO), Degrading strain, Screening, Identification, Degradation characteristics

制革企业是污染最为严重的行业之一, 其重要特点是含有难被生物处理的有机物^[1]。壬基酚聚氧乙烯醚是一种用途广泛的非离子表面活性剂, 其降解产物之一壬基酚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)^[2]。每年大约有 40 万 t 的壬基酚聚氧乙烯醚 NPnEO (n 一般为 1-20) 排放到环境中^[3], 其中约 60% 通过各种途径最终进入水环境^[4], 经污水处理后直接排入自然水体^[5-6]。英国每年大约有 37% 的 NPnEO 使用后进入了各种水体环境^[7]。我国由于污水处理率还很低, 直接排放进入环境中的 NPnEO 比例更高^[8], 其环境风险也更大。一些欧洲国家提出了一系列控制污染的对策, 主要是通过立法或签署协议来限制这些化合物的生产和使用, 控制这些污染物在环境中的排放。我国洗涤行业于 1997 年禁用 NPnEO, 但由于行业内对于 NPnEO 的代谢认识有差异, 所以国内并不是所有洗涤剂厂都遵守国家的禁用法规; 而在工业领域, 尤其在洗涤剂领域, 至今尚无禁用法规。因此, 关于 NPnEO 在我国的污染状况, 在环境多介质迁移转化研究以及在此基础上的生态风险评价, 就更加重要了。微生物降解是环境中非离子表面活性剂去除的最主要途径。关于壬基酚聚氧乙烯醚的微生物降解国内外学者都进行了一些研究^[9-11]。Maki H 等^[12]从市政污水处理厂的活性污泥中, 通过

富集培养筛选到一株高效降解 NPnEO 的菌 TR01 (鉴定为 *Pseudomonas* sp.)。胡浩等^[13]从湖南丽臣洗涤厂和长沙毛巾厂排污口废水中筛选出能高效降解非离子表面活性剂壬基苯基聚氧乙烯醚的菌株 T100, 属于苍白杆菌属 *Ochrobactrum* sp.。

本文从长期受壬基酚聚氧乙烯醚污染的水样中筛选到其降解菌 OPQa3, 并对其进行了菌种鉴定和降解特性的初步研究, 以揭示 NPnEO 生物降解的基本规律, 并为微生物在壬基酚聚氧乙烯醚污染环境治理中的应用提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 供试试剂

壬基酚聚氧乙烯醚(4-Nonylphenol polyethoxylates glycol, NPnEO)购于 SIGMA-ALDRICH 试剂公司。基本信息如下: CAS No.: 9016-45-9; CMC: 0.059 Mm (20 °C-25 °C); 纯度 >99%; 分子式: $C_{15}H_{23}(OCH_2CH_2)_nOH$, 其中 $n=9-10$ 。

超纯水, 由 EASYpure® II 实验室专用纯化水机制得。实验过程中用到的其他药品均为色谱纯或分析纯。

无机盐培养基成分如下(g/L): NaCl 2.5, $(NH_4)_2SO_4$ 2.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3, $CaCl_2$ 0.01, Na_2HPO_4 3.7, KH_2PO_4 0.9, Vitamin 2.0 mL/L, Trace

element 1.0 mL/L。

(1) 维生素溶液^[14](mg/100 mL): 吡哆醇盐酸盐 10.0, 维生素 B₂ 5.0, 维生素 B₁ 5.0, 吡啶酸 5.0, 硫辛酸 5.0, 邻氨基苯酸 5.0, 维生素 H 2.0, 维生素 B₆ 2.0, 维生素 B₁₂ 0.1。

(2) 微量元素溶液^[12](mg/100 mL): MnCl₂·H₂O 20.0, CoCl₂·6H₂O 4.0, Na₂MO₄·2H₂O 26.0, FeCl₃·6H₂O 15.0, 1×10⁵ Pa 灭菌 20 min。

制革废水样品采集于湖南裳海迪瑞特服装有限公司污水处理厂污水排放口。

1.2 NPnEO 降解菌的筛选

从采集到的废水中取 1 mL 上清液, 加入到装有 50 mL 以 NPnEO 为唯一碳源的无机盐培养基的 250 mL 锥形瓶中, 放入恒温振荡培养箱中, 30 °C、150 r/min 培养 3 d。持续驯化 30 d 后, 将此菌悬液制成 10⁻¹-10⁻⁷ 稀释度的稀释液, 然后分别接入无机盐培养基平板上, 倒置于 30 °C 恒温培养箱中培养。用接种环挑取其中清晰可见的单菌落, 利用平板划线分离法反复划线分离, 得到的纯化菌株为可以 NPnEO 为唯一碳源生长的菌落, 即能够降解壬基酚聚氧乙烯醚的降解菌。筛选得到的菌种保藏于 15% 的灭菌甘油中, 置于 -80 °C 的冰箱中。

1.3 NPnEO 降解菌的鉴定

菌株的形态及生理生化试验方法参照文献 [15-16]。

以降解菌 OPQa3 基因组 DNA 作为模板, PCR 扩增 16S rRNA 基因。反应引物分别为 27F: 5'-AGAGTTTGATCTGGCTCAG-3' 和 1492R: 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3'。采用 PCR 50 μL 反应体系进行扩增; 扩增条件为: 94 °C 3 min; 94 °C 45 s, 55 °C 1 min, 72 °C 1 min, 循环 30 次; 72 °C 7 min。

PCR 反应产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测; PCR 产物直接送上海生工生物工程技术有限公司测序。利用 BLAST 软件, 将测定得到的基因序列与 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) 数据库进行序列比对分析, 获取相近典型菌株的基因序列。然后利用 ClustalW 和 MEGA 4.0 中的邻接法 (Neighbor-Joining) 建立系统发育树, 进行系统发育

分析。

1.4 生长曲线的测定

将降解菌接入 10 mL 的 LB 培养液中 30 °C、150 r/min 下振荡培养 24 h, 从中取 100 μL 加入 100 mL 无机盐培养基中继续培养, 每隔 0、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、36、48 h 取样, 在 600 nm 下测其光密度, 做出光密度随时间的变化曲线(以时间为横坐标, OD₆₀₀ 为纵坐标), 即为添加 NPnEO 时降解菌的生长曲线。

1.5 NPnEO 降解菌的降解特性

在人工配制的壬基酚聚氧乙烯醚废水中接种降解菌, 应用高效液相色谱(HPLC)测定 NPnEO 的浓度, 计算降解率。

(1) HPLC 分析样品前处理。取一定体积的水样, 8 000 r/min 离心去除菌体, 将上清置于 250 mL 具塞三角瓶中, 加入 60 mL 二氯甲烷, 恒温振荡提取 1 h, 减压抽滤过滤, 用 20 mL 二氯甲烷洗涤滤渣 2 次, 合并滤液, 全部转入预先加有 40 mL 10%氯化钠水溶液的分液漏斗中, 振摇 2 min, 静置分层, 水相再分别用 20、10 mL 二氯甲烷萃取 2 次, 合并有机相, 转入旋转蒸发仪中, 60 °C 浓缩至 0.5 mL。转移至加有 5 g 硅镁吸附剂的玻璃层析柱, 用乙酸乙酯淋洗, 收集淋出液 50 mL, 浓缩至 0.2 mL, 经氮气流吹干后用色谱甲醇定容至 1 mL。过 0.45 μm 有机滤膜后进 HPLC 测定 NPnEO 的含量。

(2) NPnEO 的测定。Agilent 1200 型液相色谱仪; ZORBAX Edipse XDB-C18 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇:水=90:10 (V/V), 柱温 23 °C, 流速为 1 mL/min, 紫外检测器, 检测波长 226 nm, 进样量 20 μL, 在上述条件下, 壬基酚聚氧乙烯醚的保留时间为 5.378 min。同时, 对降解菌在含 NPnEO 的培养基中生长的最适温度和 pH 值条件进行检测。

1.6 降解性质粒检测

对已筛选出的高效降解菌进行降解性质粒检测, 将降解菌接种于含 100 mg/L NPnEO 的 2-5 mL LB 培养基中, 30 °C、150 r/min 振荡培养 12-16 h, 备用。

首先对可能含有降解性质粒的菌株采用碱裂

解法进行质粒提取, 具体操作参见试剂盒(Z0003B Puprep Plasmid Mini Kit, 安比奥生物技术公司); 如果存在质粒, 则采用变温-SDS 法^[17]对质粒进行消除, 影印法接种无机盐平板, 利用平板升华法来观察是否能产生透明圈, 不产生透明圈的可能为质粒消除突变株; 消除质粒后的突变菌株重新接种于含 NPnEO 的降解培养基上, 观察其生长状况, 同时对质粒消除后的突变株和降解菌进行电泳检测并比较质粒条带。

2 结果与讨论

2.1 降解菌的筛选

文献表明, 壬基酚聚氧乙烯醚的降解主要依靠细菌^[18]。Mariana Lozada、Gu Xin 等^[19-21]已经从活性污泥中筛选到了壬基酚聚氧乙烯醚的降解菌。污水排放口的废水中含有丰富的碳源以及其他供各种细菌生长的条件, 因此, 污水排放口是筛选含有降解酶潜力细菌的理想场所^[22]。这也是我们选择污水排放口取样进行降解菌筛选的主要原因。经过持续培养, 从以壬基酚聚氧乙烯醚为唯一碳源的无机盐培养基中筛选到 3 个菌株, 纯化后将 3 株细菌进行编号, 分别为 OPQa1、OPQa2、OPQa3。选取在培养基上菌落最大的 OPQa3 进行进一步鉴定研究。

2.2 降解菌的鉴定

菌 OPQa3 的细胞形态: 较细的杆状, 革兰氏阴性菌, 细胞大小为 $0.5 \mu\text{m} \times (0.8-4.0) \mu\text{m}$, 能运动, 有鞭毛, 无芽孢和荚膜, 不产生色素等; 菌落形态为扁平圆形、无光泽、粘稠、易挑取(与培养基结合不紧密)、不透明、边缘整齐光滑、玫瑰红色且正反面颜色一致、质地均匀、无气味、不分泌水溶性色素。

生理生化试验可以作为鉴定细菌的依据。从表 1 可以看出, 降解菌 OPQa3 对生物大分子的水解结果均为阴性, 表明该菌不能分泌降解生物大分子的胞外酶; 含碳化合物的代谢试验中仅柠檬酸盐试验为阳性, 表明该菌不具有分解葡萄糖的能力, 也没有不同的代谢途径或代谢产物; 苯丙氨酸脱氢酶试

表 1 生理生化试验结果
Table 1 Results of physiological and biochemical tests of strain OPQa3

试验名称 Test items	试验结果 Test results
大分子的水解 Hydrolysis of macromolecules	
淀粉水解试验 Starch hydrolysis test	-
油脂水解试验 Lipid hydrolysis test	-
明胶水解试验 Gelatin hydrolysis test	-
石蕊牛乳试验 Litmus milk test	产碱
含碳化合物的代谢 Metabolism of carbon compounds	
糖发酵试验 Carbohydrate fermentation test	-
甲基红(MR)试验 Methyl red (MR) test	-
伏-普(VP)试验 Voges-proskauer (VP) test	-
柠檬酸盐试验 Citrate test	+
含氮化合物的代谢 Metabolism of nitrogen compounds	
吲哚试验 Indole test	-
硫化氢产生试验 Hydrogen sulfide production test	-
产氨试验 Ammonia gas production test	+
苯丙氨酸脱氨酶试验 Phenylalanine deaminase test	-
尿素水解试验 Urea hydrolysis test	+
酶活性 Activity of enzymes	
氧化酶试验 Oxidase test	-
过氧化氢酶试验 Catalase test	+
硝酸盐还原试验 Nitrate reduction test	-

注: +: 阳性; -: 阴性。

Note: +: Positive; -: Negative.

验和尿素水解试验结果为阳性, 吡唑试验和硫化氢试验为阴性; 呼吸作用试验表明其体内含有细胞色素氧化酶, 可以 O_2 作为最终电子受体, 将还原型细胞色素 c 氧化。过氧化氢酶试验阳性。硝酸盐还原试验结果为阴性。由此可见, 降解菌 OPQa3 的呼吸类型主要为有氧呼吸。经比较发现菌 OPQa3 的生理生化特性与短波单胞菌多数菌株相符。

降解菌 OPQa3 的 16S rRNA 基因的 PCR 扩增产物经测序得到长度为 1 236 bp 的序列, 其在 GenBank 中的登录号为 GRP234424。用 BLAST 程序对 OPQa3 的 16S rRNA 基因序列在 GenBank 中进行比对分析, 结果表明降解菌 OPQa3 属于短波单胞菌属 *Brevundimonas* sp., 与 *Brevundimonas diminuta* (EU434566.1) 最为相似, 相似性为 99%, 初步确立了该菌在微生物系统发育学上的地位, 菌 OPQa3 为高 G+C% 类群。

2.3 菌 OPQa3 的生长曲线

如图 1 所示, 降解菌 OPQa3 几乎在接种后就进入了指数期, 生长代谢旺盛、生长迅速、活性较强, 该菌的光密度随着培养时间的增加成比例增大, 持续到 24 h 左右对数期结束, 菌株进入稳定期, 在这段时间内, 细菌数目的增殖速度下降, 数量基本保持不变, 细菌的增长和死亡处于动态平衡, 所以本实验选择 24 h 为一个培养周期。

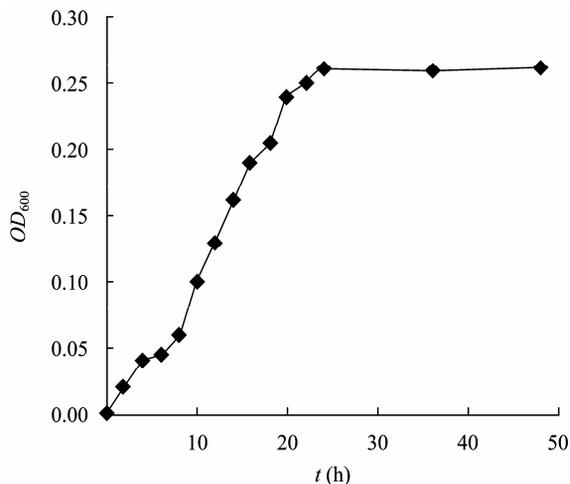


图 1 菌 OPQa3 的生长曲线
Fig. 1 Growth curve of strain OPQa3

2.4 菌 OPQa3 的降解特性

高效液相色谱分析结果表明, 菌 OPQa3 具有最大降解壬基酚聚氧乙烯醚的潜力。菌 OPQa3 在 24 h 内使壬基酚聚氧乙烯醚的浓度从 746 mg/L 降到 422 mg/L (图 2), 而菌 OPQa1、OPQa2 对 NPnEO 的降解率较低, 均小于 15%。通过检测发现菌株在生长对数期的降解能力最大, 这与 Yi-Wen Lin 等^[23]的研究一致。Gioia D. Di 等^[24]的研究表明, 接种 25 d 后壬基酚聚氧乙烯醚的降解率为 25%。另有研究证明, 不同的介质环境中细菌利用壬基酚聚氧乙烯醚的能力存在差异。例如, Sjöström Å.E. 等^[25]的研究结果为壬基酚聚氧乙烯醚(NP12EO)在 0.3–10 d 内的降解率为 65%–74%。在这次检测中, 初始浓度为 746 mg/L, 接种量为 2% ($OD_{600}=0.70$) 时, 120 h 内菌 OPQa3 对 NPnEO 的降解率大于 84.5% (图 3), 120 h 后, 菌 OPQa1 和 OPQa2 的降解率变化很小。

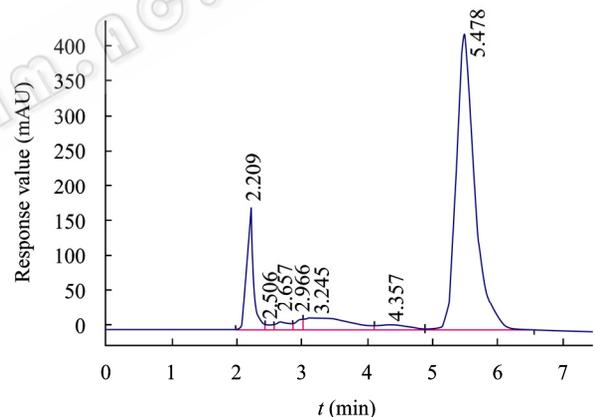


图 2 接种菌株 OPQa3 24 h 后液谱分析结果
Fig. 2 HPLC analysis result 24 h after OPQa3 inoculated

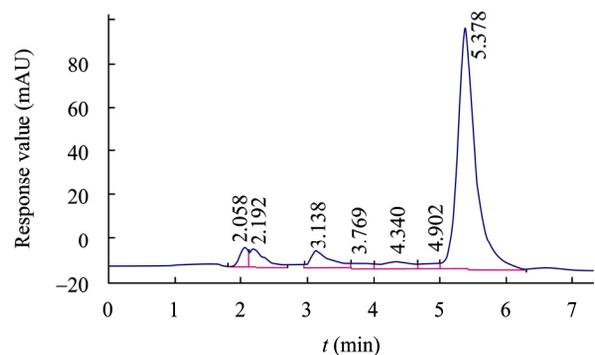


图 3 接种菌株 OPQa3 120 h 后液谱分析结果
Fig. 3 HPLC analysis result 120 h after OPQa3 inoculated

温度对菌体内酶的活性影响很大, 直接影响其降解效果。在无机盐培养基中, 按 2% 的菌量接入 OPQa3 菌悬液, NPnEO 的初始浓度为 100 mg/L, 于不同温度下, 150 r/min 振荡培养, 120 h 后取样进行检测, 结果见图 4。从图 4 可以看出, 在 25 °C–37 °C 范围内, 菌 OPQa3 对 NPnEO 都具有较好的降解效果, NPnEO 的降解率均在 70% 以上。菌株 OPQa3 在 30 °C 时生长最佳, 过低和过高的温度会抑制其生长。原因可能是低温和高温条件下菌体内的酶活性较低, 使其生长代谢缓慢, 另外随着时间的推移代谢产物可能对菌体产生一定的毒性效应^[26]。

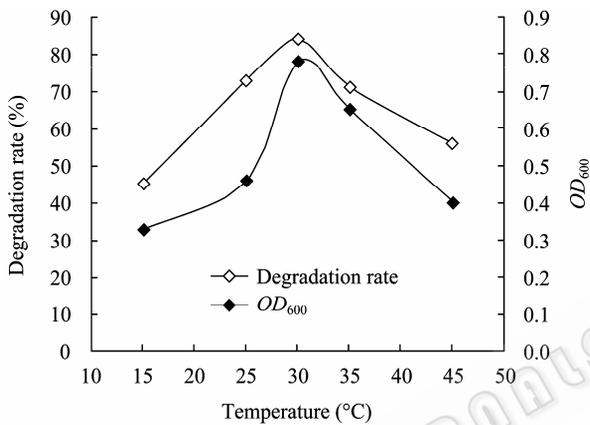


图 4 不同温度下菌株 OPQa3 的生长状况
Fig. 4 Effects of temperature on NPnEO degradation by strain OPQa3

为了解 pH 对菌 OPQa3 降解 NPnEO 的影响及确定最佳 pH 条件, 研究选取 pH 值 5.0–9.0 (pH 分别调至 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0) 条件下菌 OPQa3 对 NPnEO 的降解情况, 24 h 后测定降解菌光密度和 NPnEO 残留量并计算降解率, 结果见图 5。从图 5 可以看出, 降解菌 OPQa3 对 pH 的适应范围较宽, pH 值 6.0–7.0 范围内均有较好的降解效果且生长良好, 在中性条件下, pH 值为 7.0 时生长得最好, 降解率高于 80%。

2.5 降解性质粒检测结果

自然界中编码细菌降解复杂有机物的功能基因大多分布在质粒上。对 OPQa3 及质粒消除突变体进行质粒检测, 结果发现降解菌 OPQa3 有质粒存在(图 6)。

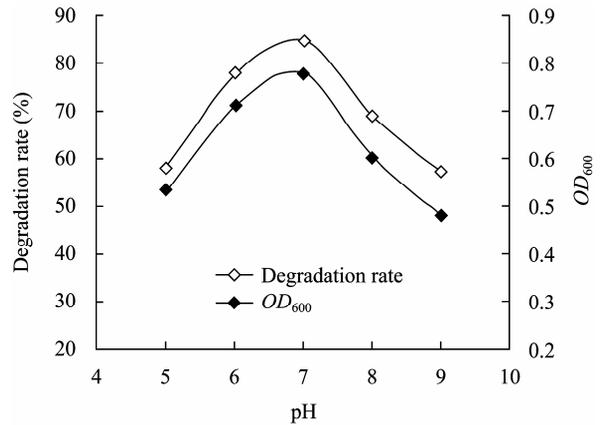


图 5 不同 pH 条件下菌株 OPQa3 的生长状况
Fig. 5 Growth status of OPQa3 under different pH

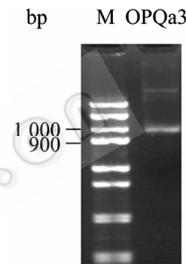


图 6 质粒提取与检测
Fig. 6 Plasmid extraction and detection

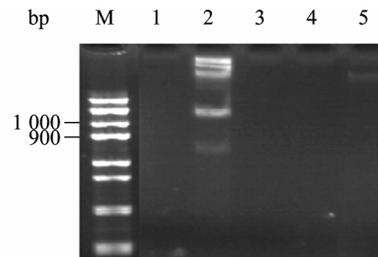


图 7 质粒消除
Fig. 7 Plasmid elimination
注: 1、3、4、5: 质粒消除菌; 2: 质粒未被消除菌。
Note: 1,3,4,5: Plasmid eliminated strains; 2: A strain that still had plasmid.

质粒消除可鉴定质粒是否与某种功能关联, 若某种降解功能是由质粒控制, 则伴随着质粒的丢失这种功能也会丧失。质粒消除后, 挑取 5 个单菌落分别点种于以 NPnEO 为唯一碳源的无机盐固体培养基上。结果表明(图 7), 只有 1 株可在无机盐培养基中生长, 质粒检测实验证明, 这 1 株菌存在质粒, 而其余 4 株均检测不到质粒。由此说明, 降解菌

OPQa3 随着质粒的消除, 其降解 NPnEO 的功能也会丧失, 即无法在以 NPnEO 为唯一碳源的无机盐培养基中生长。菌株的 NPnEO 降解功能由质粒控制, 此质粒为降解性质粒。

3 结论

(1) 从受壬基酚聚氧乙烯醚污染的污水中筛选到一株高效降解菌 OPQa3, 经鉴定确定为短波单胞菌属 *Brevundimonas* sp.。

(2) 降解基质的温度和 pH 值等条件影响降解菌的降解效果。降解菌 OPQa3 的生长周期为 24 h, 其生长的最佳温度为 30 °C, 最适 pH 值在 7.0 左右。120 h 内该菌对 NPnEO 的最大降解率可达 84.5%, 关于 NPnEO 的降解机理有待进一步研究。

(3) 降解性质粒检测结果表明, 降解菌 OPQa3 对 NPnEO 的降解功能是由质粒控制的。该研究成果为制革废水中 NPnEO 降解菌的进一步研究奠定了基础。

参 考 文 献

[1] Mannucci A, Munz G, Mori G, et al. Anaerobic treatment of vegetable tannery wastewaters: a review[J]. *Desalination*, 2010, 264(1/2): 1-8.

[2] 李旭春, 刘桂芳, 马军, 等. 1 株壬基酚降解菌的分离鉴定及其降解特性研究[J]. *环境科学*, 2008, 29(1): 231-236.

[3] 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.

[4] Solé M, de López AMJL, Castillo M, et al. Estrogenicity determination in sewage treatment plants and surface waters from the Catalanian area (NE Spain) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2000, 34(24): 5076-5083.

[5] Ahel M, Giger W. Aqueous solubility of alkylphenols and alkylphenol polyethoxylates[J]. *Chemosphere*, 1993, 26(8): 1461-1470.

[6] Hesselsoe M, Jensen D, Skals K, et al. Degradation of 4-nonylphenol in homogeneous and nonhomogeneous mixtures of soil and sewage sludge[J]. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35(18): 3695-3700.

[7] Benkendorff K, Beardmore K, Goolry AA, et al. Charac-

terization of the slime gland secretion from the peripatus, *Euperipatoides kanangrensis* (Onychophora: Peripatopsidae)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 1999, 124(4): 457-465.

- [8] Dachs J, Van Ry DA, Eisenreich SJ. Occurrence of estrogenic nonylphenols in the urban and coastal atmosphere of the lower Hudson River estuary[J]. *Environmental Science & Technology*, 1999, 33(15): 2676-2679.
- [9] 古新, 张煜, 张晶, 等. *Rhodobacter* sp. NP25b 菌株缺氧降解壬基酚聚氧乙烯醚的研究[J]. *环境工程学报*, 2008, 2(7): 880-885.
- [10] Maeda T, Hayakawa K, You M, et al. Characteristics of nonylphenol polyethoxylate-degrading bacteria isolated from coastal sediments[J]. *Microbes and Environments*, 2005, 20(4): 253-257.
- [11] Jonkers N, Knepper TP, 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.
- [12] Maki H, Masuda N, Fujiwara Y, et al. Degradation of alkylphenol ethoxylates by *Pseudomonas* sp. strain TROI[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60(7): 2265-2271.
- [13] 胡浩, 曾清如, 杨海君, 等. 两株表面活性剂降解菌株的分离、鉴定及降解特性[J]. *中国环境科学*, 2008, 28(1): 43-48.
- [14] 臧瑞玲, 胡晓芳, 印春生, 等. 辛基酚聚氧乙烯醚好氧生物降解产物的 GC-MS 测定[J]. *环境化学*, 2005, 24(6): 714-717.
- [15] Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*[M]. 2nd Ed. New York: Springer-Verlag, 2004: 51.
- [16] Loper JE, Henkels MD, Shaffer BT, et al. Isolation and identification of rhizoxin analogs from *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 by using a genomic mining strategy[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(10): 3085-3093.
- [17] Keyhani J, Keyhani E, Attar F, et al. Sensitivity to detergents and plasmid curing in *Enterococcus faecalis*[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2006, 33(3): 238-242.
- [18] Eichhorn P, Rodriguez SV, Baumann W, et al. Incomplete degradation of LABS in Brazilian surface waters and pursuit of their polar metabolites in drinking waters[J]. *Science and Environment*, 2002, 284: 123-134.
- [19] Lozada M, F Itria R, Figuerola ELM, et al. Bacterial community shifts in nonylphenol polyethoxy-

- lates-enriched activated sludge[J]. *Water Research*, 2004, 38(8): 2077-2086.
- [20] Chang BV, Chiang BW, Yuan SY. Biodegradation of nonylphenol in soil[J]. *Chemosphere*, 2007, 66(10): 1857-1862.
- [21] Gu Xin, Zhang Yu, Zhang Jing, et al. Degradation behaviors of nonylphenol ethoxylates by isolated bacteria using improved isolation method[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(9): 1025-1027.
- [22] Cain RB. Microbial degradation of surfactants and builder components//Leisinger T, Cook AM, Hutter R, et al. eds. *Microbial Degradation of Xenobiotics and Recalcitrant Compounds*[M]. New York: Academic Press, 1981: 326-370.
- [23] Lin YW, Guo GL, Hsieh HC, et al. Growth of *Pseudomonas* sp. TX1 on a wide range of octylphenol polyethoxylate concentrations and the formation of dicarboxylated metabolites[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(8): 2853-2859.
- [24] Gioia DD, Michelles A, Pierini M, et al. Selection and characterization of aerobic bacteria capable of degrading commercial mixtures of low-ethoxylated nonylphenols[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 104(1): 231-242.
- [25] Sjöström ÅE, Collins CD, Smith SR, et al. Degradation and plant uptake of nonylphenol (NP) and nonylphenol-12-ethoxylate (NP12EO) in four contrasting agricultural soils[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156(3): 1284-1289.
- [26] Maki H, Fujita M, Fujiwara Y. Identification of final biodegradation product of nonylphenol ethoxylate (NPE) by river microbial consortia[J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1996, 57(6): 881-887.

征订启事

欢迎订阅 2011 年《腐植酸》杂志

《腐植酸》杂志于 1979 年创刊, 由中国腐植酸工业协会主办, 是全国唯一的腐植酸类专业科技期刊, 是世界唯一的腐植酸类综合刊物, 面向国内外公开发行人。《腐植酸》杂志是《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊、《中国学术期刊(光盘版)》入编期刊、《中国核心期刊(遴选)数据库》入编期刊。本刊为国际标准大 16 开, 内设 60 页, 主要栏目有: 卷首语、专题评述、研究论文、译文、腐植酸文摘、腐植酸专利简介、腐植酸环保应用、协会(专业)标准讨论、腐植酸质量检测、“两会”动态、信息传真、“乌金杯”采风、腐植酸文献检索等。

《腐植酸》杂志集学术性、专业性和实用性于一身, 内容广泛、指导性强、信息量大。2011 年, 本刊将继续以“高扬绿色 关注民生”为指导, 积极宣传腐植酸在节能减排、生态农业、循环经济、环境治理、低碳材料开发等领域的新成果和行业新思想、新资讯, 为推动我国腐植酸产业的发展做好服务工作!

2011 年《腐植酸》杂志为双月刊, 国际刊号: ISSN1671-9212; 国内刊号: CN11-4736/TQ。每期定价 20.00 元, 全年 6 期, 年定价 120.00 元(含邮费)。

热诚欢迎各位新、老读者及时订阅! 如需过刊, 请直接与编辑部联系。

订购方式: 从邮局汇款至编辑部。

地 址: 北京市西城区六铺炕街 1 号 邮编: 100120

收款人: 《腐植酸》编辑部

电 话: 010-82784950, 010-82035180

传 真: 010-82784970

E-mail: chaia@126.com

网 址: www.chinaha.org