

3-苯氧基苯甲酸降解菌 *Sphingomonas* sp. SC-1 降解苯酚 环境条件及其降解中间产物的研究

邓维琴¹ 刘书亮^{1*} 姚开^{2*} 李建龙¹ 韩新锋¹ 梁金凤¹ 王志龙¹
罗佩文¹ 贾秋思¹

(1. 四川农业大学 食品学院 四川 雅安 625014)

(2. 四川大学 轻纺与食品学院 四川 成都 610065)

摘要:【目的】探究高效降解 3-苯氧基苯甲酸(3-Phenoxybenzoic acid, 3-PBA)的鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas* sp.) SC-1 对苯酚的降解特性。【方法】采用 HPLC 测定微生物降解体系中苯酚残留量, 考察环境条件对菌株 SC-1 降解苯酚的影响; 分析不同培养时间苯酚降解体系混合样品的 HPLC 谱图, 确定其降解中间产物。【结果】菌株 SC-1 能在基础盐培养基中以苯酚为唯一碳源和能源生长, 在初始 pH 7.0、30 °C 条件下, 24 h 可完全降解 100 mg/L 苯酚; Cu²⁺、Ba²⁺、Mn²⁺等对其降解苯酚有不同程度的抑制作用; HPLC 谱图分析, 初步确定邻苯二酚是菌株 SC-1 降解苯酚的中间产物, 且该菌株可在 48 h 内完全降解 100 mg/L 邻苯二酚。【结论】菌株 SC-1 对苯酚及邻苯二酚均有较强的降解能力, 为完善 3-PBA 的降解途径及污染 3-PBA 或含酚废水或含酚农药残留的降解提供了数据参考。

关键词: 鞘氨醇单胞菌, 3-苯氧基苯甲酸降解菌, 苯酚, 邻苯二酚, 降解特性, 中间产物

Study on the influence of environmental conditions and intermediates of phenol degradation by a 3-phenoxybenzoic acid degrading strain *Sphingomonas* sp. SC-1

DENG Wei-Qin¹ LIU Shu-Liang^{1*} YAO Kai^{2*} LI Jian-Long¹ HAN Xin-Feng¹
LIANG Jin-Feng¹ WANG Zhi-Long¹ LUO Pei-Wen¹ JIA Qiu-Si¹

(1. College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

(2. College of Light Industry and Food, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610065, China)

Abstract: [Objective] The degradation characteristics of phenol by a 3-phenoxybenzoic acid degrading strain-*Sphingomonas* sp. SC-1 were studied. [Methods] The influence factors of phenol degradation

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No. 31371775); 四川农业大学优秀硕士学位论文培育基金项目(No. YS2014010)

*通讯作者: 刘书亮: Tel: 86-835-28823111; 邮箱: lsliang999@163.com

姚开: Tel: 86-28-85404298; 邮箱: yaokai555@126.com

收稿日期: 2014-07-14; 接受日期: 2014-10-09; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-10-11

were investigated by determining the concentrations of phenol in microbial degradation systems by HPLC. We analyzed the intermediate products of phenol by analyzing the HPLC chromatograms of the mixed samples taken from phenol degradation systems at different time. **[Results]** The results showed that SC-1 could grow well by using phenol as sole carbon source in mineral basal medium. Strain SC-1 could degrade phenol entirely within 24 hours while cultured in the medium (pH 7.0) containing 100 mg/L phenol at 30 °C. The strain's growth and phenol degradation were inhibited when the training systems were treated with some heavy metal ions such as Cu^{2+} , Ba^{2+} , Mn^{2+} , etc. Catechol was an intermediate product of phenol and strain SC-1 could degrade catechol (100 mg/L) within 48 hours. **[Conclusion]** This research indicated that strain SC-1 could degrade phenol and its intermediate product catechol effectively, and this work could provide data reference for the thorough degradation of 3-phenoxybenzoic acid and the degradation of phenol containing wastewater or phenol containing pesticide residues.

Keywords: *Sphingomonas* sp., 3-Phenoxybenzoic acid-degrading strain, Phenol, Catechol, Degradation characteristics, Intermediate product

苯酚(Phenol, $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$)被广泛用作染料、农药、塑料、医药的原料或中间体^[1-3], 由于这些物质的大量使用, 高毒且难降解的苯酚残留于大气、水体、土壤中造成污染, 对生物构成危害^[4]。目前, 含酚废水的处理方法主要包括物理化学法^[5]和生物降解法^[6]。物理化学法存在成本高、操作复杂、易造成二次污染等缺点, 而生物降解法因其投资少、处理效率高、生态协调等优点备受青睐。目前微生物降解苯酚已有很多研究^[7-8], 筛选出来的苯酚降解菌主要有假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)^[9-10]、球形芽孢杆菌(*Bacillus sphaericus*)^[11]、红球菌属(*Rhodococcus* sp.)^[12]、不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)^[13]、产黄青霉菌(*Penicillium chrysogenum*)^[14]、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)^[15]、克雷伯氏菌属(*Klebsiella* sp.)^[16]、恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)^[9]、棒状杆菌属(*Corynebacterium* sp.)^[17]等。

3-苯氧基苯甲酸(3-Phenoxybenzoic acid, 3-PBA)是大多数拟除虫菊酯类农药降解的中间产物之一^[18], 具有一定的雌激素性质^[18], 其迁移速率快、半衰期更长^[19], 对生态环境和人类健康的潜在危害性较菊酯类农药大^[20-21]。鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas* sp.)成簇的降解基因编码的双加氧酶使其具有降解多种芳香族化合物的能力^[22]。本课题组筛选保藏的鞘氨醇单胞菌 SC-1 对 3-PBA 具有高

效的降解作用, 能以矿化作用方式降解 3-PBA, 苯酚为其降解的中间产物之一, 且已初步证实该菌株能有效降解苯酚^[23]。由于尚未系统开展该菌株对苯酚降解特性的研究, 不能完全揭示其对 3-PBA 的降解途径; 同时, 不同菌株降解苯酚的能力与温度、pH、金属离子等环境因素^[24-25]有很大关系。因此, 本文旨在对影响鞘氨醇单胞菌 SC-1 降解苯酚的环境条件及降解苯酚的中间产物进行研究, 为完善 3-PBA 的降解途径及其在环境中对苯酚和/或 3-PBA 的降解应用提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种: 鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas* sp.) SC-1, 由四川农业大学食品微生物室保藏。

1.1.2 培养基: 基础盐培养基(MM, g/L): 硫酸铵 1.5, 氯化钠 0.5, 磷酸氢二钾 1.5, 磷酸二氢钾 0.5, 硫酸镁 0.2, 蒸馏水定容至 1 L, pH 7.5。

LB 固体培养基(g/L): 胰蛋白胨 10.0, 酵母膏 5.0, NaCl 10.0, 琼脂 20.0, 蒸馏水定容至 1 L, pH 7.0。

以上培养基均 1×10^5 Pa 灭菌 15 min。

1.1.3 试剂: 苯酚, 纯度 99.9%, 购于中国标准物质中心; 邻苯二酚, 纯度 99.9%, 购于美国 Accustandard 公司; 检测用乙腈, 色谱纯, 购于德国 CNW Technologies GmbH 公司。

1.2 方法

1.2.1 种子液的制备: 挑取 SC-1 菌种于 LB 平板上划线, 30 °C 培养 24 h 后挑取单菌落在 LB 斜面培养基上划线, 30 °C 培养 24 h; 用 MM 液体培养基将斜面培养基上的 SC-1 菌苔洗脱并混匀制成种子液(菌浓度约为 10^8 CFU/mL)。

1.2.2 苯酚的提取与测定: 苯酚的提取和检测方法参照赵楠等^[26]和刘学方等^[27]的方法加以改进: 将菌株 SC-1 降解苯酚的培养液摇匀, 准确移取 1 mL 均匀培养液于 10 mL 刻度试管中, 立即加入 1 mL 乙腈混匀, 于超声波清洗器(AS10200A)中超声提取 30 min, 用乙腈定容至 10 mL; 混匀后取 1.5 mL 于 13 000 r/min 离心 10 min, 将上清液用 0.45 μ m 有机相滤膜过滤, 弃去初滤液, 取续滤液供液相色谱(LC-10A2010C HT 型液相色谱仪)分析用。

测定条件: 色谱柱为 Sepax GP-C18 柱(150 mm \times 4.60 mm, 5.0 μ m); 流动相为乙腈:水(35:65, 体积比), 流速 0.7 mL/min; 紫外检测器, 检测波长为 270 nm; 柱温为 25 °C; 进样量 10 μ L。

苯酚降解率的计算公式为:

$$\text{降解率}(\%) = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100$$

式中: C_0 为空白对照中苯酚浓度(mg/L); C 为培养液中苯酚残留浓度(mg/L)。

1.2.3 不同培养时间菌株 SC-1 降解苯酚的情况: 取 1 mL 种子液接种于 30 mL (250 mL 三角瓶)苯酚浓度为 100 mg/L 的 MM 培养基中, 以 1 mL MM 培养基代替种子液为空白对照, 30 °C、180 r/min 振荡培养, 分别于 12 h 和 24 h 取样, 采用 1.2.2 方法测定苯酚降解率。

1.2.4 苯酚浓度对菌株 SC-1 降解苯酚的影响: 取 1 mL 种子液接种于 30 mL (250 mL 三角瓶)苯酚浓度分别为 100、200、300、400、500 mg/L 的 MM 培养基中, 30 °C、180 r/min 振荡培养 36 h, 测定生物量及残留的苯酚浓度。其中, 生物量以细菌均匀培养液在波长 600 nm 处测定的吸光度值, 以 OD_{600} 表示; 残留苯酚浓度以 1.2.2 的方法测定, 计

算苯酚降解率(%)。

1.2.5 温度和初始 pH 对菌株降解苯酚的影响: 取 1 mL 种子液接种于苯酚浓度为 100 mg/L 的 30 mL (250 mL 三角瓶) MM 培养基中, 分别在不同温度(10、15、20、25、30、35、40 °C)和 180 r/min 条件下振荡培养 24 h; 将苯酚浓度为 100 mg/L 的 30 mL (250 mL 三角瓶) MM 培养基 pH 分别调整为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0, 各接种 1 mL 种子液, 30 °C、180 r/min 振荡培养 24 h, 测定生物量及残留的苯酚浓度, 方法同 1.2.4。

1.2.6 金属离子对菌株 SC-1 降解苯酚的影响: 分别配制金属离子浓度均为 0.1 mmol/L 的 FeCl_3 、 AlCl_3 、 CaCl_2 、 BaCl_2 、 CuSO_4 、 ZnSO_4 、 MgSO_4 、 MnSO_4 及苯酚浓度为 200 mg/L 的 MM 培养基, 装量 30 mL (250 mL 三角瓶), 以不添加金属离子的苯酚-MM 培养基作空白对照, 各接种 1 mL 种子液, 30 °C、180 r/min 振荡培养 48 h, 测定生物量及残留的苯酚浓度, 方法同 1.2.4。

1.2.7 菌株 SC-1 降解苯酚的中间产物分析: 将 1 mL 种子液接种于苯酚浓度为 100 mg/L 的 30 mL (250 mL 三角瓶) MM 培养基中, 30 °C、180 r/min 振荡培养 24 h, 每隔 4 h 取一次样品, 以 1.2.2 的方法用乙腈提取; 分别取不同培养时间样品的乙腈提取液各 2.0 mL 混合, 于旋转蒸发器(RE-52AA 型)浓缩至干, 适量乙腈重溶后, 12 000 r/min 离心 10 min, 上清液用 0.45 μ m 有机相滤膜过滤后制成混合样品, 用 1.2.2 方法检测, 同时以邻苯二酚作参照并进行比对分析。

1.2.8 菌株 SC-1 对邻苯二酚的降解: 将 1 mL 种子液接种于邻苯二酚浓度为 100 mg/L 的 30 mL (250 mL 三角瓶) MM 培养基中, 30 °C、180 r/min 振荡培养 60 h, 每隔 12 h 取样 1 mL, 按照 1.2.2 的方法提取和检测样品。

2 结果与分析

2.1 不同培养时间菌株 SC-1 降解苯酚的情况

不同培养时间菌株 SC-1 降解苯酚的情况如图 1

所示, 图中空白(24 h)是指振荡培养了 24 h 的空白对照, 样品 SC-1 (12 h)在 5.890 min 处色谱峰与苯酚的保留时间一致, 判定其为苯酚。接种菌株 SC-1 的培养体系中, 苯酚浓度在 12 h 时明显降低, 培养至 24 h 被完全降解, 1.435 min 左右有降解产物的色谱峰出现。

2.2 苯酚浓度对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响

菌株 SC-1 在不同浓度的苯酚-MM 培养基中培养 24 h 后, 菌体生长和苯酚降解率情况如图 2 所示。当苯酚浓度为 100 mg/L 时, 菌株 SC-1 的 OD_{600} 达 0.210, 并且能在 24 h 内将培养体系的苯酚完全降解, 菌株 SC-1 在该浓度苯酚环境中生长良好且对苯酚的降解能力较强, 因此后续实验均采用 100 mg/L 苯酚为底物。当苯酚浓度高于 200 mg/L 时, 24 h 内菌株 SC-1 生长量相对较低, 苯酚降解速率也较低; 当苯酚浓度达 400 mg/L 时, 苯酚降解

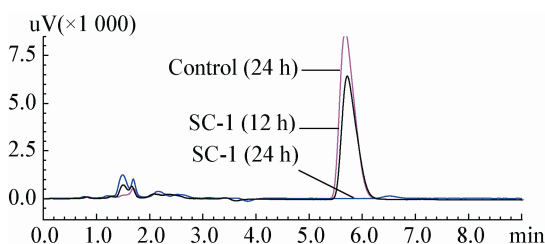


图 1 不同培养时间菌株 SC-1 降解苯酚的 HPLC 谱图
Figure 1 HPLC chromatograms of phenol degraded by strain SC-1 at different incubation time

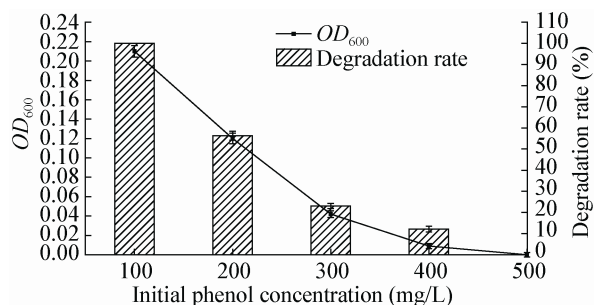


图 2 苯酚浓度对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响
Figure 2 Effects of concentrations of phenol on the growth and phenol degradation of strain SC-1

率很低, 菌株 SC-1 生长缓慢, 可能是高浓度苯酚对细胞的毒害作用, 抑制了其生长从而影响对苯酚的降解能力。

2.3 培养温度对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响

培养温度对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响如图 3 所示, 苯酚的降解能力变化趋势与菌体生长量变化趋势一致, 菌株的生长和降解苯酚的最适温度均为 30 °C。

2.4 初始 pH 对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响

不同初始 pH 对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响如图 4 所示, 菌株 SC-1 在初始 pH 低于 5.0 时基本不能生长和降解苯酚; 当 pH 在 7.0-9.0 范围内, 菌株 SC-1 能在 100 mg/L 苯酚的 MM 培养基中良好

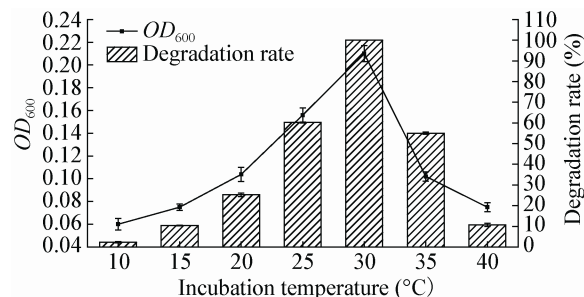


图 3 培养温度对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响
Figure 3 Effects of incubation temperatures on the growth and phenol degradation of strain SC-1

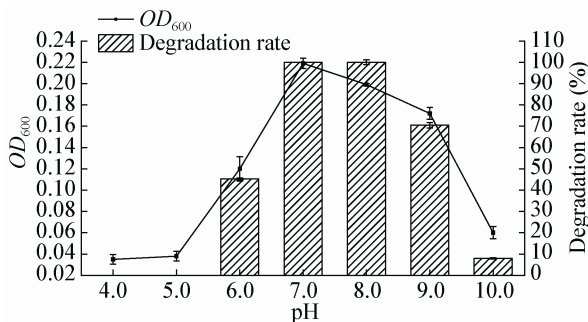


图 4 初始 pH 对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响
Figure 4 Effects of initial pH on the growth and phenol degradation of strain SC-1

生长且能有效降解苯酚，表明该菌株在中、微碱性介质中具有良好的适应性。而当 pH 达到 10.0 时，菌株生长缓慢，对苯酚降解速率低。pH 过高或过低都会抑制菌株 SC-1 的生长及其对苯酚的降解能力，菌株 SC-1 降解苯酚的最适 pH 为 7.0 左右。

2.5 金属离子对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响

不同金属离子对菌株 SC-1 生长及降解苯酚能力的影响结果见表 1。可以看出，8 种金属离子中 Zn^{2+} 和 Al^{3+} 对菌株降解苯酚的能力没有影响， Cu^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 等金属离子对其降解苯酚有不同程度的抑制作用，尤其是 Cu^{2+} 对菌株 SC-1 的生长有毒害作用，菌株不能生长，苯酚也没有降解。

2.6 菌株 SC-1 降解苯酚中间产物的分析

已有研究证明微生物对苯酚降解的第一步是

由苯酚羟化酶催化苯酚转化成邻苯二酚，然后邻苯二酚在加氧酶的作用下开环裂解为小分子物质进入三羧酸循环完成彻底降解^[28-29]。1.2.7 中不同培养时间苯酚降解体系的混合样品的色谱图如图 5 所示，除苯酚(物质 A)外，新增 2 个明显的色谱峰(物质 B、C)。物质 B 的保留时间与相同色谱条件下邻苯二酚的保留时间一致，为 3.692 min，推测物质 B 为苯酚降解的中间产物——邻苯二酚。实验研究了菌株 SC-1 对邻苯二酚的降解能力，结果显示菌株 SC-1 在 48 h 内能完全降解邻苯二酚(图 6)，进一步验证了邻苯二酚为苯酚降解的中间产物。苯酚及邻苯二酚降解产物检测的色谱图中 1.435 min 的色谱峰(物质 C)可能为邻苯二酚的氧化产物——黏糠酸、2-羟基黏糠酸半醛或二者的混合物^[30-32]，对该物质的降解有待进一步探究。Tallur 等^[33]研究微球菌

表 1 金属离子对菌株 SC-1 生长及降解苯酚的影响 Table 1 Effects of metal ions on the growth and phenol degradation of strain SC-1										
测定指标 Determining indexes		空白对照 Blank control	Zn^{2+}	Al^{3+}	Ca^{2+}	Ba^{2+}	Mn^{2+}	Fe^{3+}	Cu^{2+}	Mg^{2+}
OD_{600}	Average value	0.226	0.224	0.223	0.136	0.183	0.183	0.168	0	0.152
	Standard deviation	0.004	0.005	0.004	0.005	0.007	0.002	0.002	0	0.007
降解率 Degradation rate (%)	Average value	100	100	100	33.580	76.009	70.577	37.421	0	44.360
	Standard deviation	0	0	0	0.519	0.800	0.500	0.382	0	0.393

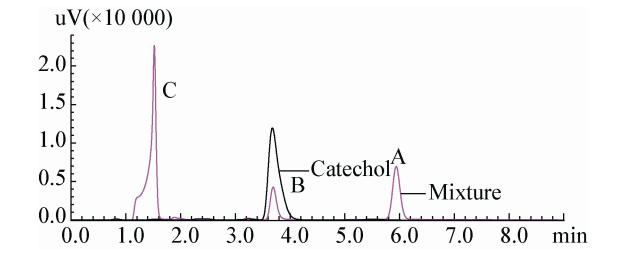


图 5 菌株 SC-1 降解苯酚的不同培养时间混合样品的 HPLC 谱图

Figure 5 HPLC chromatograms of mixed samples taken from phenol degradation systems at different time
注: A: 苯酚; B: 邻苯二酚; C: 邻苯二酚的降解产物.
Note: A: Phenol; B: Catechol; C: Degradation product of catechol.

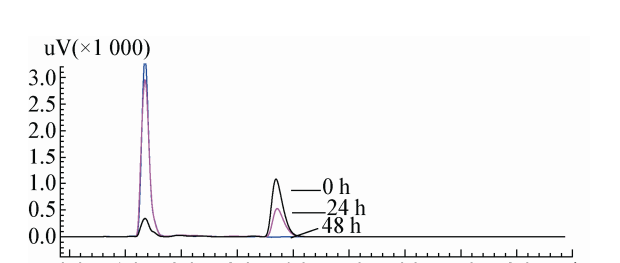


图 6 不同培养时间菌株 SC-1 降解邻苯二酚的 HPLC 谱图

Figure 6 HPLC chromatograms of catechol degraded by strain SC-1 at different incubation time

CPN1 降解氯氰菊酯的中间产物——苯酚的降解途径认为, 菌株通过酶氧化氯氰菊酯的降解中间产物——3-PBA, 使其醚键断裂得到苯酚, 再通过苯酚羟化酶转化为邻苯二酚, 然后氧化开环为直链烯酸。目前, 关于微生物对苯酚降解途径已有的研究结果认为, 苯酚通过羟化酶的作用生成邻苯二酚, 再由邻苯二酚 2,3-双加氧酶(间位裂解)或 1,2-双加氧酶(邻位裂解)作用, 生成直链烯酸^[34-37]。根据本实验结果, 推测菌株 SC-1 对苯酚的降解途径与上述研究结果一致。

3 结论与讨论

3-PBA 的高效降解菌——*Sphingomonas* sp. SC-1 可在 MM 培养基中, 以苯酚为唯一碳源和能源生长良好, 能高效降解苯酚, 24 h 内可完全降解 100 mg/L 的苯酚; 菌株 SC-1 在 pH 7.0–9.0、25–30 °C 条件下可有效降解苯酚, 尤其在 pH 7.0、30 °C 条件下对苯酚的降解作用较理想, 这与一些苯酚降解菌一致^[9,38]。一些金属离子会影响微生物的生长及代谢产物合成或者/和参与代谢的酶作用进而影响菌株对苯酚的降解^[24], 本实验得出 Cu^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Mn^{2+} 等对菌株降解苯酚的能力有不同程度的抑制作用。菌株 SC-1 降解苯酚的环境条件研究结果对处理含酚废水或苯酚污染土壤方面具有一定指导意义和较好的应用前景。本实验证明邻苯二酚为菌株 SC-1 降解苯酚的中间产物, 并根据微生物对苯酚降解途径的相关报道, 推测邻苯二酚可被进一步氧化开环为直链烯酸, 为完善菌株 SC-1 降解 3-PBA 的代谢途径及 3-PBA 的彻底降解提供了数据参考。

参考文献

- [1] Tang L, Feng YS. Study on synthesis of agricultural intermediate phenol[J]. Modern Agricultural Sciences and Technology, 2011, 9: 20-22 (in Chinese)
汤琳, 冯乙己. 农药中间体苯酚的合成研究[J]. 农业基础科学, 2011, 9: 20-22
- [2] Zhao GF. Effects of chemical pesticides on environment and research progress of new pesticides[J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2010, 14(8): 56-57 (in Chinese)
赵国芳. 化学农药对环境的影响及其新型农药的研究进展[J]. 河北农业科技, 2010, 14(8): 56-57
- [3] Shi CS. Pesticide residue hazards and the analysis of detection

- techniques[J]. Food Research and Development, 2010, 31(9): 219 (in Chinese)
史长生. 农药残留危害以及检测技术的分析[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(9): 219
- [4] Si QGW, Wu Y, Tian YF, et al. Analysis of phenol pollution of the environment[J]. Inner Mongolia Petrochemical Industry, 2006, 32(12): 50-51 (in Chinese)
斯琴高娃, 乌云, 田艳飞. 浅析苯酚对环境的污染[J]. 内蒙古石油化工, 2006, 32(12): 50-51
- [5] Su XH, Zeng BQ, Zeng HP, et al. The progress of phenol-containing wastewater treatment by biochemical method[J]. Environmental Protection of Xinjiang, 2005, 27(1): 28-29 (in Chinese)
苏小欢, 曾宝强, 曾和平, 等. 生物化学法处理含酚废水的研究进展[J]. 新疆环境保护, 2005, 27(1): 28-29
- [6] Li Y, Fu JX, Yu WL, et al. The utilization study on the microbial degradation of phenol waste[J]. Journal of Shenyang Jianzhu University (Natural Science Edition), 2007, 23(1): 122-123 (in Chinese)
李勇, 傅金祥, 于文礼, 等. 微生物降解法处理含酚废水[J]. 沈阳建筑大学学报: 自然科学版, 2007, 23(1): 122-123
- [7] Feng SQ, Wei W, Yuan YS, et al. Advances in microbial degradation of phenol[J]. Environmental Protection and Circular Economy, 2009(9): 41-51 (in Chinese)
冯思琦, 魏伟, 袁雅姝, 等. 微生物降解苯酚的研究进展[J]. 环境保护与循环经济, 2009(9): 41-51
- [8] Duan Q, Wang XG, Yi XS. Development of study on degrading phenol with immobilized microorganism cells[J]. Shandong Science, 2007, 20(2): 46-49 (in Chinese)
段青, 王晓光, 栾兴社. 固定化微生物细胞降解苯酚的研究进展[J]. 山东科学, 2007, 20(2): 46-49
- [9] Li HJ, Zhao C, Wang L, et al. Identification of degradative bacterium of phenol and its degradation characterization[J]. Microbiology China, 2012, 39(10): 1396-1406 (in Chinese)
李慧娟, 赵从, 王力, 等. 一株苯酚降解菌的鉴定及其降解特性[J]. 微生物学通报, 2012, 39(10): 1396-1406
- [10] Kwon KH, Yeom SH. Optimal microbial adaptation routes for the rapid degradation of high concentration of phenol[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2009, 32(4): 435-442
- [11] Wang TP. Screening and identification of phenol degrading bacteria[J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Science Edition), 2011, 39(1): 43-55 (in Chinese)
王太平. 苯酚降解菌的筛选与鉴定[J]. 河南科技学院学报: 自然科学版, 2011, 39(1): 43-55
- [12] Suhaila YN, Ramanan RN, Rosfarizan M, et al. Optimization of parameters for improvement of phenol degradation by *Rhodococcus* UKMP-5M using response surface methodology[J]. Annals of Microbiology, 2013, 63(2): 513-521
- [13] Ahmad SA, Shamaan NA, Arif NM, et al. Enhanced phenol degradation by immobilized *Acinetobacter* sp. strain AQ5NOL 1[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(1): 347-352
- [14] Guedes SF, Mendes B, Leitão AL. Resorcinol degradation by a *Penicillium chrysogenum* strain under osmotic stress: mono and binary substrate matrices with phenol[J]. Biodegradation, 2011, 22(2): 409-419
- [15] Yuan LJ, Jiang LC, Peng ZS, et al. Breeding of the high phenol-degraded *Bacterium* JY01 and study on phenolic biodegradation[J]. Microbiology China, 2009, 36(4): 587-592 (in Chinese)
袁利娟, 姜立春, 彭正松, 等. 一株高效苯酚降解菌的选育及降解性能研究[J]. 微生物学通报, 2009, 36(4): 587-592

- [16] Liu HJ, He XP, Zhang M, et al. Screening, identification and degrading characteristics of a phenol degrading bacterial strain[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2011(3): 336-341 (in Chinese)
刘鸿杰, 何熙璞, 张敏, 等. 一株苯酚降解菌的筛选、鉴定及其降解特性[J]. *基因组学与应用生物学*, 2011(3): 336-341
- [17] Jiang LC, Ruan QP, Yuan LJ, et al. Study on screening and characteristics of a phenol-degrading bacterium strain JY03[J]. *Techniques and Equipment for Environmental Pollution Control*, 2011(8): 1912-1916 (in Chinese)
姜立春, 阮期平, 袁利娟, 等. 高效降酚菌株 JY03 的筛选及其降解特性研究[J]. *环境工程学报*, 2011(8): 1912-1916
- [18] Ji GX, Xia YK, Gu A, et al. Effects of non-occupational environmental exposure to pyrethroids on semen quality and sperm DNA integrity in Chinese men[J]. *Reproductive Toxicology*, 2011, 31(2): 171-176
- [19] Yuan C, Wang C, Gao SQ, et al. Effects of permethrin, cypermethrin and 3-phenoxybenzoic acid on rat sperm motility *in vitro* evaluated with computer-assisted sperm analysis[J]. *Toxicology in Vitro*, 2010, 24(2): 382-386
- [20] White GF, Russell NJ, Tidswell EC. Bacterial scission of ether bonds[J]. *Microbiological Reviews*, 1996, 60(1): 216
- [21] Topp E, Akhtar MH. Mineralization of 3-phenoxybenzoate by a two-membered bacterial co-culture[J]. *Canadian Journal of Microbiology China*, 1990, 36(7): 495-499
- [22] Tai XS, Feng JL, Li M, et al. Progress in application of *Sphingomonas* sp. in biodegradation[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2011(7): 21-22 (in Chinese)
台喜生, 冯佳丽, 李梅, 等. 鞘氨醇单胞菌在微生物降解方面的研究进展[J]. *湖南农业科学*, 2011(7): 21-22
- [23] Tang J, Yao K, Liu SL, et al. Biodegradation of 3-phenoxybenzoic acid by a novel *Sphingomonas* sp. SC-1[J]. *Fresenius Environmental Bulletin*, 2013(22): 1564-1572
- [24] Jiang LC, Yuan LJ, Yuan QP, et al. Effects of metal ions on phenol degradation by strain JY01[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2012, 34(10): 28-32 (in Chinese)
姜立春, 袁利娟, 阮期平, 等. 金属离子对菌株 JY01 生长和苯酚降解性能的影响研究[J]. *环境污染与防治*, 2012, 34(10): 28-32
- [25] Xu TT. Researches on phenol biodegradation by the two strains isolated from active sludge[D]. Shanghai: Master's Thesis of Shanghai Normal University, 2012 (in Chinese)
许甜甜. 苯酚降解菌的分离鉴定及苯酚降解的相关研究[D]. 上海: 上海师范大学硕士学位论文, 2012
- [26] Zhao N, Liu SL, Lai W. et al. Determination of 3-phenoxybenzoic acid in microbial degradation systems by HPLC-UV detection[J]. *Food Science*, 2011, 32(14): 181-184 (in Chinese)
赵楠, 刘书亮, 赖文, 等. HPLC-UV 法测定微生物降解体系中 3-苯氧基苯甲酸含量[J]. *食品科学*, 2011, 32(14): 181-184
- [27] Liu XF, Kong LM. HPLC analysis on mechanism of phenol degradation by ultrasound and H_2O_2 [J]. *Environmental Science and Management*, 2011, 36(9): 127-130 (in Chinese)
刘学方, 孔黎明. HPLC 法分析苯酚超声/ H_2O_2 降解机理[J]. *环境科学与管理*, 2011, 36(9): 127-130
- [28] Duan PL, Wang ZY, Dang YJ, et al. Characteristics and pathway of phenol decomposing for a strain of *Diaphorobacter*[J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, 33(8): 30-33 (in Chinese)
段佩玲, 王振宇, 党玉娇. 一株 *Diaphorobacter* 属细菌对苯酚的降解特性和代谢途径[J]. *环境科学与技术*, 2010, 33(8): 30-33
- [29] Powlowski J, Shingler V. Genetics and biochemistry of phenol degradation by *Pseudomonas* sp. CF600[J]. *Biodegradation*, 1994, 5(3/4): 219-236
- [30] Sun HB. Isolation, identification and characteristics of PAHs-degrading bacteria and preliminary study on catechol 2, 3-dioxygenase[D]. Jinan: Master's Thesis of Shandong University, 2009 (in Chinese)
孙海波. 多环芳烃降解菌的筛选、鉴定、降解特性及邻苯二酚-2,3-双加氧酶的初步研究[D]. 济南: 山东大学硕士学位论文, 2009
- [31] Ge QL, Wang GY, Yue XP. Phenol degradation by *Brevibacillus borstelensis* and kinetic analysis[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2014(3): 117-122 (in Chinese)
葛启玲, 王国英, 岳秀萍. 波茨坦短芽孢杆菌降解苯酚特性及动力学研究[J]. *生物技术通报*, 2014(3): 117-122
- [32] Sala-trepas JM, Evans WC. The meta cleavage of catechol by *Azotobacter* species[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1971, 20(3): 400-413
- [33] Tallur PN, Megadi VB, Ninnekar HZ. Biodegradation of cypermethrin by *Micrococcus* sp. strain CPN 1[J]. *Biodegradation*, 2008, 19(1): 77-82
- [34] Arai H, Ohishi T, Chang MY, et al. Arrangement and regulation of the genes for meta-pathway enzymes required for degradation of phenol in *Comamonas testosteroni* TA441[J]. *Microbiology*, 2000, 146(7): 1707-1715
- [35] Tang LL. Cloning the phenol hydroxylase gen from *Acinetobacter junii* GXP04[D]. Nanning: Master's Thesis of Guangxi University, 2005 (in Chinese)
唐莉丽. 高效苯酚降解细菌 GXP04 的苯酚羟化酶基因簇的克隆[D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2005
- [36] Sheridan R, Jackson GA, Regan L, et al. Rational engineering of the TOL meta-cleavage pathway[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1998, 58(2/3): 240-249
- [37] Shingler V, Powlowski J, Marklund U. Nucleotide sequence and functional analysis of the complete phenol/3,4-dimethylphenol catabolic pathway of *Pseudomonas* sp. strain CF600[J]. *Journal of Bacteriology*, 1992, 174(3): 711-724
- [38] Zhang YX, Meng XJ, Chai TY. Characterization of phenol-degrading *Rhodococcus* sp. strain P1 from coking wastewater[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2013, 53(10): 1117-1124 (in Chinese)
张玉秀, 蒙小俊, 柴团耀. 苯酚降解菌红球菌(*Rhodococcus* sp.) P1 的鉴定及其在焦化废水中的应用[J]. *微生物学报*, 2013, 53(10): 1117-1124