

环境中雌激素的微生物降解

张方方^{1,2} 秦丹² 高良敏¹ 于昌平^{2*}

(1. 安徽理工大学 地球与环境学院 安徽 淮南 232001)

(2. 中国科学院城市环境研究所 城市环境与健康重点实验室 福建 厦门 361021)

摘要: 环境中的雌激素是一类重要的环境内分泌干扰物, 微生物降解是去除环境雌激素的主要途径。通过归纳已报道的雌激素降解细菌、总结其降解雌激素的机制、分析雌激素降解途径以及其他真核微生物的雌激素降解作用 4 个方面, 概括阐述了雌激素的微生物降解作用, 并对未来的研究方向提出展望。

关键词: 雌激素, 微生物降解, 降解菌, 降解途径

Microbial degradation of estrogens in the environment

ZHANG Fang-Fang^{1,2} QIN Dan² GAO Liang-Min¹ YU Chang-Ping^{2*}

(1. College of Earth and Environment, Anhui University of Science & Technology,
Huainan, Anhui 232001, China)

(2. Key Laboratory of Urban Environment and Health, Institute of Urban Environment,
Chinese Academy of Sciences, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract: Estrogens in the environment are important environmental endocrine disrupting chemicals, and the major way to remove them is through microbial degradation. This paper reviews four aspects of the microbial degradation of estrogens, including the reported estrogen-degrading bacteria, degradation mechanisms, the estrogen degradation pathway and estrogen degradation by eukaryotic microorganisms. In the end, future research directions of microbial degradation of estrogens are suggested.

Keywords: Estrogen, Microbial degradation, Estrogen-degrading bacterium, Degradation pathway

基金项目: 中国科学院百人计划项目; 973 计划前期研究专项(No. 2010CB434802); 厦门市科技计划项目
(No. 3502Z20102017)

*通讯作者: Tel: 86-592-6190768; 信箱: cpyu@iue.ac.cn

收稿日期: 2012-02-17; 接受日期: 2012-03-06

环境内分泌干扰物是指由于自然产生或是人类的生产和生活活动而释放到周围环境中,影响人体和动物体内的正常激素功能及内分泌系统的化学物质^[1],是21世纪备受关注的一类新型微污染物。已知的环境内分泌干扰物种类很多,天然及合成雌激素被认为是造成河川中雄鱼雌性化最重要的一类污染物^[2]。以往科学家们主要研究了它们在不同环境中的存在情况,包括污水处理厂^[3]、人工湿地^[4]、土壤^[5]、河流^[6-7]、地下水 and 含水层沉积物^[8]、海水和海洋沉积物^[9-12]等,证实这些环境中都存在不同程度的雌激素污染,环境雌性化正逐渐成为人类面临的一大健康挑战。所以,探寻雌激素的去除方法迫在眉睫。

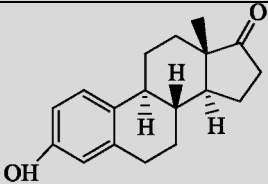
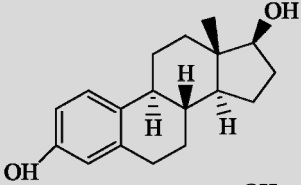
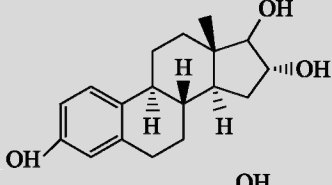
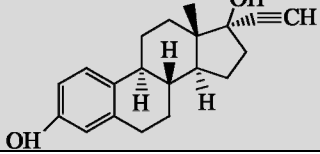
相比物理化学过程,微生物降解作用被认为是去除环境和污水厂中雌激素污染的主要途

径^[13-14]。因此,了解雌激素的微生物降解过程十分必要。近年来雌激素降解微生物的发现和研 究,加深了我们对雌激素在环境中去向的了解。本文就4种干扰作用最强和污染最为严重的雌激素,雌酮(E1)、雌二醇(E2)、雌三醇(E3)及人工合成雌激素炔雌醇(EE2)的微生物降解研究方面做一综述。

1 E1、E2、E3、EE2 的结构性质

E1、E2、E3 和 EE2 是一类亲脂低分子量高生物活性的有机化合物。它们具有相同的四环分子结构(表1)^[13,16]:一个酚基团、两个环己烷基团和一个环戊烷基团,即6-6-6-5结构;所不同的是D-环上C16和C17所接的官能团位置及其立体化学排列的差异^[15]。天然雌激素因其环状结构而呈现出较强的脂溶性。

表 1 4 种雌激素的结构和性质^[13,16]
Table 1 Structures and Characters of the four estrogens^[13,16]

雌激素 Estrogen hormone	缩写 Acronym	化学结构 Chemical structure	分子量 Molecular weight (g/mol)	水中溶解度 Solubility in water (mg/L)	辛醇水分配系数 Octanol water partition coefficient LogKow	蒸发压 Vapor pressure (kPa)	E2 等当量 E2 Equivalent
雌酮 Estrone	E1		270.37	0.8-12.4	3.1-3.4	3×10 ⁻⁸	0.1-0.2
雌二醇 17β-estradiol	E2		272.38	5.4-13.3	3.8-4.0	3×10 ⁻⁸	1
雌三醇 Estriol	E3		288.38	3.2-13.3	2.6-2.8	9×10 ⁻¹³	0.02
炔雌醇 17α-ethinyl estradiol	EE2		296.37	4.8	4.15	4.5×10 ⁻⁹	2.46

2 细菌对 E1、E2、E3 和 EE2 的降解作用

2.1 降解菌的分离鉴定

随着环境雌性化问题日益突出, 越来越多的科学家投入到雌激素降解菌的研究中。对于雌激素降解菌的分离研究, 在 20 世纪 60 年代就已经

有学者研究^[17]。目前, 国内外已经发现多株雌激素降解菌, 如表 2 所示^[18-40]。

2.2 E1、E2、E3、EE2 的细菌降解机制

探索降解菌的降解机制, 对菌的实际工程应用有重要的参考价值。目前已知的微生物降解雌激素机制有 3 种: 代谢、共代谢和一种发生在微生物代谢产物和雌激素之间的非生物反应。

表 2 分离到的雌激素降解菌^[18-40]
Table 2 Isolated estrogen-degrading bacteria^[18-40]

分类 Phylogenetic affiliation	降解能力与降解机制 Degradation ability and mechanism	分离地点 Source of isolates	参考文献 ^[18-40] Reference ^[18-40]
α-变形菌纲 Alphaproteobacteria	<i>Aminobacter aminovorans</i> KC7	降解 E1, E2	活性污泥
	<i>Aminobacter</i> sp. KC6	降解 E1, E2	活性污泥
	<i>Brevundimonas diminuta</i> I	将 E2 转化为 E1	活性污泥
	<i>Brevundimonas vesicularies</i> KC12	将 E2 转化为 E1	活性污泥
	<i>Novosphingobium</i> sp. strain JEM-1	降解 E1, E2, EE2	活性污泥
	<i>Novosphingobium tardaugens</i> ARI-1	降解 E1, E2, E3	活性污泥
	<i>Phyllobacterium myrsinacearum</i> BP1	降解 E1, E2, E3; 在 E1, E2, E3 存在下, 共代谢 EE2	堆肥
	<i>Sphingomonas</i> sp. CYH	有氧与缺氧条件下降解 E1, E2	沙质含水层
	<i>Sphingomonas</i> sp. KC8	降解 E2, E1	活性污泥
	<i>Sphingomonas</i> sp. KC9	将 E2 转化为 E1	活性污泥
	<i>Sphingomonas</i> sp. KC10	将 E2 转化为 E1	活性污泥
	<i>Sphingomonas</i> sp. KC11	将 E2 转化为 E1	活性污泥
	<i>Sphingomonas</i> sp. KC14	将 E2 转化为 E1	活性污泥
	<i>Sphingomonas</i> sp. ED8	降解 E2, E1	农田土壤
	<i>Sphingomonas</i> sp. ED9	降解 E2, E1	农田土壤
β-变形菌纲 Betaproteobacteria	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	降解 E2, E1	活性污泥
	<i>Alcaligenes</i> sp.	降解 E2	土壤
	<i>Alcaligenes faecalis</i>	将 E2 转化为 E1 或将 E1 转化为 E2	肠道微生物
	<i>Denitratisoma oestradiolicum</i> AcBE2-1 ^T	反硝化条件下降解 E2, E1	活性污泥
	<i>Leptothrix discophora</i> (LMG 8142)	产生 Mn 氧化物氧化 EE2	比利时菌种保藏中心
	<i>Nitrosomonas europaea</i> ATCC 19718	共代谢及硝基置换 EE2	ATCC
	<i>Ralstonia pickettii</i> BP2	降解 E1, E2, E3; 在 E1, E2, E3 存在下, 共代谢 EE2	堆肥
	<i>Ralstonia</i> sp.	降解 E1, E2	活性污泥

(待续)

(续表 2)

γ -变形菌纲 Gammaproteobacteria	<i>Acinetobacter</i> sp. LHJ1	将 E2 转化为 E1	沙质含水层	Ke et al., 2007
	<i>Acinetobacter</i> sp. BP8	降解 E1, E2, E3; 在 E1, E2, E3 存在下, 共代谢 EE2	堆肥	Pauwels et al., 2008
	<i>Acinetobacter</i> sp. BP10	降解 E1, E2, E3; 在 E1, E2, E3 存在下, 共代谢 EE2	堆肥	Pauwels et al., 2008
	<i>Escherichia coli</i> KC13	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Yu et al., 2007
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	将 E2 转化为 E1 或将 E1 转化为 E2	肠道微生物	Jarvenpaa et al., 1980
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> BP3	降解 E1, E2, E3; 在 E1, E2, E3 存在下, 共代谢 EE2	堆肥	Pauwels et al., 2008
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> TJ1	降解 E2	活性污泥	Zeng et al., 2009b
	<i>Pseudomonas putida</i> MnB1 (LMG 2321)	产生 Mn 氧化物氧化 EE2	比利时菌种保藏中心	Sabirova et al., 2008
	<i>Pseudomonas putida</i> MnB6 (LMG 2322)	产生 Mn 氧化物氧化 EE2	比利时菌种保藏中心	Sabirova et al., 2008
	<i>Pseudomonas putida</i> MnB29 (LMG 2323)	产生 Mn 氧化物氧化 EE2	比利时菌种保藏中心	Sabirova et al., 2008
	<i>Pseudomonas</i> sp. BP7	降解 E1, E2, E3; 在 E1, E2, E3 存在下, 共代谢 EE2	堆肥	Pauwels et al., 2008
	<i>Pseudomonas citronellolis</i> SS-2	降解 E1, E2, EE2	活性污泥	史江红 et al, 2010
	<i>Steroidobacter denitrificans</i> FS ^T	反硝化条件下降解 E2, 睾酮, 雄烯二酮	缺氧消化污泥	Fahrbach et al., 2008
放线菌门 Actinobacteria	<i>Actinomyces viscosus</i> 378.5	厌氧降解 E2 和孕酮	龈下菌斑	Kornman and Loesche, 1982
	<i>Agromyces</i> sp. LHJ3	有氧条件下降解 E2, E3, 并伴随有 E1 累积	沙质含水层	Ke et al., 2007
	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	将 E2 转化为 E1 或将 E1 转化为 E2, 将 16 α -OH-E1 转化为 E3	肠道微生物	Jarvenpaa et al., 1980
	<i>Microbacteria testaceum</i> KC5	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Yu et al., 2007
	<i>Nocardioides simplex</i> KC3	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Yu et al., 2007
	<i>Rhodococcus equi</i> Y50155	降解 E1, E2, E3, EE2	活性污泥	Yoshimoto et al., 2004
	<i>Rhodococcus equi</i> Y50156	降解 E1, E2, E3, EE2	活性污泥	Yoshimoto et al., 2004
	<i>Rhodococcus equi</i> Y50157	降解 E1, E2, E3, EE2	活性污泥	Yoshimoto et al., 2004
	<i>Rhodococcus equi</i> ATCC 13557	部分降解 EE2	ATCC	O'Grady et al., 2009
	<i>Rhodococcus erythropolis</i> ATCC 4277	部分降解 EE2	ATCC	O'Grady et al., 2009
	<i>Rhodococcus rubber</i> KC4	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Yu et al., 2007
	<i>Rhodococcus</i> sp. ED6	降解 E2, E1	农田土壤	Kurisu et al., 2010
	<i>Rhodococcus</i> sp. ED7	降解 E2, E1	农田土壤	Kurisu et al., 2010
	<i>Rhodococcus</i> sp. ED10	降解 E2, E1	农田土壤	Kurisu et al., 2010
	<i>Rhodococcus zopfii</i> Y50158	降解 E1, E2, E3, EE2	活性污泥	Yoshimoto et al., 2004
	<i>Rhodococcus zopfii</i> ATCC 51349	部分降解 EE2	ATCC	O'Grady et al., 2009

(待续)

(续表 2)

拟杆菌门 Bacteroidetes	<i>Bacteroides fragilis</i>	厌氧条件下将 E1 转化为 E2 或 16 α -羟雌酮	肠道微生物	Jarvenpaa et al., 1980
	<i>Bacteroides gingivalis</i> w	厌氧条件下降解黄体酮	龈下菌斑	Kornman and Loesche, 1982
	<i>Bacteroides gingivalis</i> 167.5	厌氧条件下降解 E2 和黄体酮	龈下菌斑	Kornman and Loesche, 1982
	<i>Bacteroides gingivalis</i> 208.1	厌氧条件下降解 E2 和黄体酮	龈下菌斑	Kornman and Loesche, 1982
	<i>Bacteroides melaninogenicus</i> subsp. <i>Intermedius</i> 155.6	厌氧条件下降解 E2 和黄体酮	龈下菌斑	Kornman and Loesche, 1982
	<i>Bacteroides melaninogenicus</i> subsp. <i>Intermedius</i> 166.5	厌氧条件下降解 E2 和黄体酮	龈下菌斑	Kornman and Loesche, 1982
	<i>Bacteroides melaninogenicus</i> subsp. <i>Intermedius</i> 167.4	厌氧条件下降解 E2 和黄体酮	龈下菌斑	Kornman and Loesche, 1982
	<i>Bacteroides melaninogenicus</i> subsp. <i>Melaninogenicus</i> ATCC 25845	厌氧条件下降解 E2 和黄体酮	ATCC	Kornman and Loesche, 1982
	<i>Flavobacterium</i> sp. KC1	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Yu et al., 2007
	<i>Flavobacterium</i> sp. KC2	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Yu et al., 2007
厚壁菌门 Firmicutes	<i>Sphingobacterium</i> sp. JCR5	降解 E1, E2, E3, EE2	避孕药 生产厂 活性污泥	Ren et al., 2007
	<i>Bacillus cereus</i> Socransky 67	将 E2 降解生成未知产物	牙垢	Ojanotkoharri et al., 1991
	<i>Bacillus</i> sp. E2Y1	降解 E1, E2	活性污泥	Jiang et al., 2010
	<i>Bacillus</i> sp. E2Y2	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Jiang et al., 2010
	<i>Bacillus</i> sp. E2Y3	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Jiang et al., 2010
	<i>Bacillus</i> sp. E2Y4	降解 E1, E2	活性污泥	Jiang et al., 2010
	<i>Bacillus</i> sp. E2Y5	将 E2 转化为 E1	活性污泥	Jiang et al., 2010
	<i>Staphylococcus aureus</i>	将 E2 转化成 E1 或将 E1 转化为 E2, 将 16 α -OH-E1 转化为 E3	肠道微生物	Jarvenpaa et al., 1980
	<i>Streptococcus faecalis</i>	将 E2 转化为 E1; 将 E1 转化为 16 α -羟基雌酮	肠道微生物	Jarvenpaa et al., 1980
	<i>Streptococcus mutans</i> Ingbritt	将 E2 转化为 E1	牙垢	Ojanotkoharri et al., 1991
未分类 Unclassified	<i>Streptococcus mutans</i> NCTC 10449	将 E2 转化为 E1	牙垢	Ojanotkoharri et al., 1991
	<i>Streptococcus sanguis</i> NCTC 10904	将 E2 转化为 E1	牙垢	Ojanotkoharri et al., 1991
	16S rRNA 测序	铁还原条件下降解 E1, E2, E3	厌氧消化池	Ivanov et al., 2010
	84% 相似于 <i>Shewanella baltica</i>			

代谢过程中, 底物可以作为能源和碳源供微生物生长利用。前文所述部分降解菌对雌激素的降解属于代谢, 例如鞘氨醇单孢菌(*Sphingomonas*) KC8 可利用雌激素为能源和碳源^[18]。而共代谢则是因为某些激素如 EE2, 本身不能提供细胞生长

的碳源和能源, 必须有额外碳源时才能被降解。额外碳源, 一方面用于细胞增殖, 另一方面供给细胞产生共代谢酶所需的能源。Pauwels 等从堆肥中分离出 6 株菌株, 分属于叶杆菌属(*Phyllobacterium*)、罗尔斯顿菌属(*Ralstonia*)、假

单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter*), 他们都能代谢 E1、E2 和 E3 而不能代谢 EE2, 但是有 E1、E2 或 E3 存在作为额外碳源时, 他们都能够共代谢 EE2; 此外还发现 E2 和 EE2 之比是共代谢发生的决定性因素, 二者之比越高, EE2 的降解率就越高^[22]。不过, 不是所有的 E2 降解菌都能共代谢 EE2。Weber 等将 E2 和 EE2 与另一种 E2 降解菌皮氏罗尔斯顿菌 (*Ralstonia pickettii*) 一起培养, 没有发现 EE2 的共代谢作用^[25]。

研究者们用氨氧化细菌欧洲亚硝化单胞菌 (*Nitrosomonas europaea*) 降解 EE2, 发现了两种代谢物, 一种是氨单氧酶催化下生成的羟基炔雌醇, 另一种是作为氨氧化细菌氧化氨产生的亚硝酸盐和 EE2 之间发生非生物转化, 产生了硝基炔雌醇^[30]。由此可见, 氨氧化细菌降解雌激素包含两种转化机制, 一种是由氨单氧酶催化的共代谢反应, 一种就是产生的亚硝酸盐和雌激素二者发生硝化反应, 即第三种间接降解机制。这种机制的发生, 需要在特定条件下, 利用某些特殊菌产生的化合物。研究发现, 类似氨氧化细菌, 锰氧化细菌也可以通过第三种机制降解雌激素。锰氧化菌能把可溶 Mn^{2+} 氧化成不溶的 Mn^{3+} 、 Mn^{4+} 氧化物。Sabirova 等用生盘纤发菌 (*Leptothrix discophora*) 菌株做 EE2 降解研究, 发现菌株将 Mn^{2+} 氧化成不溶氧化物, 同时伴随 EE2 的氧化裂解^[29]。

2.3 E1、E2、E3、EE2 细菌降解途径和相关酶

雌激素降解途径在 40 年前就有报道。1966 年, Coombe 等利用 UV、MS 和 NMR 研究卡氏菌属菌 (*Nocardia* sp. E110) 对 E1 的降解, 首次提出了雌激素降解机制经由双加氧酶催化 A 环裂解^[17], 如图 1 中反应 c1 所示。随着越来越多的研究发现, 无论是好氧、缺氧还是无氧, E2 的降解通常由生成 E1 开始^[19,41]; 对于 EE2 的降解, 一般也是先生

成 E1^[37], 之后, E1 再进一步降解。

如图 1 所示, E1 主要有以下几条降解途径。

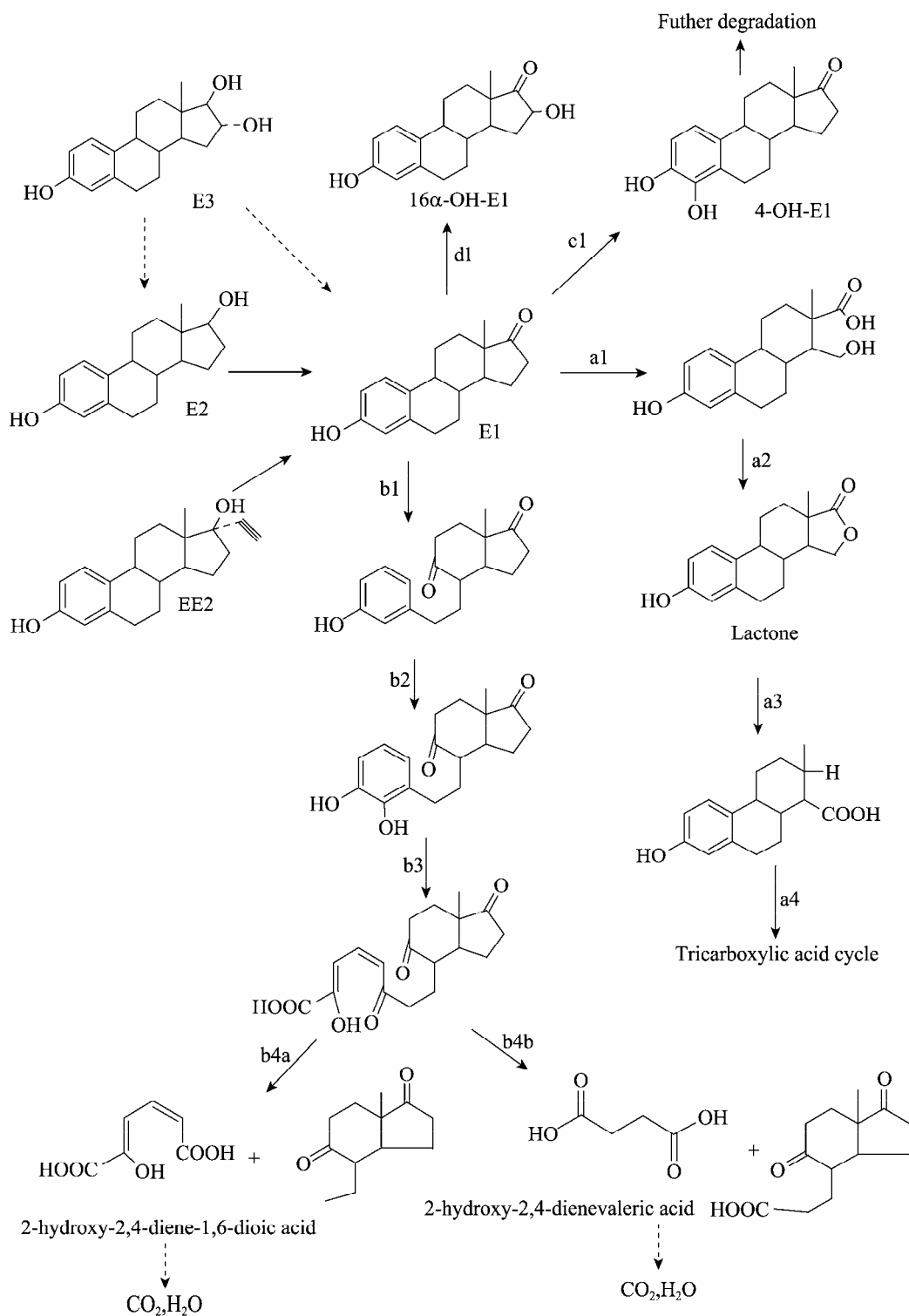
途径 1: E1 在 D 环开环生成内酯代谢物, 之后进一步降解进入三羧酸循环(反应途径 a)^[41]。途径 2: E1 经 C-9 α 位羟化、酮化后, B 环开裂(反应 b1), 然后 A 环羟化为 3,4-邻苯二酚(反应 b2), 之后 C4 与 C5 之间经双加氧酶氧化断键后加入 1 分子氧(反应 b3)。接着 C5、C10、C6 水解开环生成产物 2-羟基-2,4-二烯-1,6-己二酸(反应 b_{4a})或产物丁二酸(反应 b_{4b})^[37]。途径 3: E1 的 C4 羟化形成 4-OH-E1, 之后 4-OH-E1 的 C4、C5 进一步裂解(反应 c1)^[24]。途径 4: C16 羟化生成 16 α -OH-E1(反应 d1)^[25]。

3 其他微生物对 E1、E2、E3、EE2 的降解

除了细菌外, 一些真菌也可以降解雌激素。2002 年, Shi 等从牛粪便中分离出能够降解炔雌醇的真菌-层出镰刀菌 (*Fusarium proliferatum*) HNS-1^[42], 并发现有一种极性比 EE2 强的未知产物累积。2004 年, Choudhary 等研究雅致小克银汉霉菌 (*Cunninghamella elegans*) 降解 EE2, 观察到了 EE2 的羟基化过程, 以及羟基基团的甲氧基化过程, 而且还发现该过程产生了一些代谢分子^[43]。

另外, 一些微藻类也能够转化类固醇类雌激素。2002 年, Lai 等发现普通小球藻能够让雌二醇和雌酮发生相互转化, 在有光无光条件下都可以发生, 有光照时, 50% 的雌二醇转化成了一种未知物^[44]。2008 年, Della Greca 等发现羊角月牙藻、四尾栅藻、栅藻属绿藻和布朗纤维藻能够通过羟基化和葡糖基化将 EE2 转化为不同的产物^[45]。

据文献报道, 一些酶如锰过氧化酶、辣根过氧化物酶、真菌漆酶等^[46-48]可以催化天然与人工雌激素的氧化反应, 但是反应过程会产生哪些代谢产物, 它们是否会呈现出激素活性更强的第二次污染特征, 都有待进一步研究。

图 1 雌激素的降解途径^[17,19,24-25,37,41]Fig. 1 Proposed catabolic pathway for estrogens degradation by strains^[17,19,24-25,37,41]

4 雌激素微生物降解的研究展望

随着环境雌激素污染状况的加剧,作为这种污染主要去除机制的微生物降解作用,已经受到越来越多学者的重视。对于这一问题未来的研究要点,本文提出以下几点展望。

4.1 寻找更多雌激素降解菌资源

到目前为止,研究者们已经分离出多种雌激素降解菌,大部分从活性污泥中分离得到,后续研究应在不同环境下进行分离,例如湿地及近海等处,以获得更多雌激素降解菌资源。不过现在技术条件下 99%的菌是无法被培养,那么在活性污泥和其他环境中应该存在可降解雌激素的不可培养菌。稳定同位素探测技术可以作为一种有力工具从环境中寻找特殊功能菌^[49],有效利用这项技术,可以获得更多雌激素降解菌信息。不过受限于目前市面上的雌激素碳 13 标记不足,稳定同位素探测技术尚未成功应用于雌激素降解菌的研究上。

4.2 开展雌激素降解菌基因水平的研究

科学家们对睾酮的微生物降解基因编码酶广泛研究,对雌激素的却知之甚少,雌激素降解基因有待进一步研究。目前,16S rDNA 基因技术在菌种鉴定方面已经得到广泛应用。不过,单纯利用这种技术作为雌激素降解菌的定量依据,低估了活性污泥中雌激素降解菌的总数。随着测序技术的进步,我们目前已经完成了一株雌激素降解菌的全基因组测序^[50],更进一步研究会让人们更加全面了解这些菌的功能特性。对雌激素降解功能基因定量,可以克服 16S rRNA 基因定量的局限性,更好地估计环境中 E1、E2、E3、EE2 等雌激素降解菌的数目。

4.3 发展菌的投加技术应用到雌激素降解菌系统中

两个利用实时 PCR 技术定量活性污泥中雌激素降解菌数目的研究显示,活性污泥中现存雌

激素降解菌的数量很低^[20,51]。而欲将降解菌应用到废水生物强化处理,向活性污泥中投加降解菌是难题,因为加进去的菌量会随着水流不断减少。因此,找到一种有效投菌方法,比如结合膜生物反应器或者一些固定化技术,对提高 E1、E2、E3、EE2 等雌激素的去除率至关重要。

4.4 低浓度模拟实验是雌激素未来研究的重要方向

受分析方法的限制,以前研究用雌激素浓度都比相关环境中的浓度高很多,所以用更接近环境的浓度做实验,印证高浓度实验得到的理论能否用于预测环境中的雌激素行为是未来研究的重要方向。

5 结语

微生物降解作用是去除环境雌激素的主要途径。虽然雌激素微生物降解机制的研究已经取得重要进展,不过仍有很多问题尚待解决。只有全面了解雌激素微生物降解的机制与途径,才能尽快发展有效的环境生物技术,将这些内分泌干扰物从环境中去除,从而维护人类的健康和生态系统的稳定。

参考文献

- [1] 丁小东,朱明华. 环境激素污染研究[J]. 能源环境保护, 2006, 20(4): 13-15.
- [2] Gross-Sorokin MY, Roast SD, Brighty GC. Assessment of feminization of male fish in English Rivers by the environment agency of England and Wales[J]. Environ Health Perspect, 2006, 114(Suppl 1): 147-151.
- [3] Johnson AC, Sumpter JP. Removal of endocrine-disrupting chemicals in activated sludge treatment works[J]. Environmental Science and Technology, 2001, 35(24): 4697-4703.
- [4] Shappell NW, Billey LO, Forbes D, et al. Estrogenic activity and steroid hormones in swine

- wastewater through a lagoon constructed-wetland system[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(2): 444–450.
- [5] Fan ZS, Casey FXM, Hakk H, et al. Persistence and fate of 17 β -estradiol and testosterone in agricultural soils[J]. *Chemosphere*, 2007, 67(5): 886–895.
- [6] Jürgens MD, Holthaus KIE, Johnson AC, et al. The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in english rivers[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(3): 480–488.
- [7] Matsuoka S, Kikuchi M, Kimura S, et al. Determination of estrogenic substances in the water of Muko River using *in vitro* assays, and the degradation of natural estrogens by aquatic bacteria[J]. *Journal of Health Science*, 2005, 51(2): 178–184.
- [8] Ying GG, Kookana RS. Degradation of five selected endocrine-disrupting chemicals in seawater and marine sediment[J]. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37(7): 1256–1260.
- [9] Ying GG, Kookana RS, Dillon P. Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material[J]. *Water Research*, 2003, 37(15): 3785–3791.
- [10] Fine DD, Breidenbach GP, Price TL, et al. Quantitation of estrogens in ground water and swine lagoon samples using solid-phase extraction, pentafluorobenzyl/trimethylsilyl derivatizations and gas chromatography-negative ion chemical ionization tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1017(1/2): 167–185.
- [11] Hutchins SR, White MV, Hudson FM, et al. Analysis of lagoon samples from different concentrated animal feeding operations for estrogens and estrogen conjugates[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(3): 738–744.
- [12] Zheng W, Yates SR, Bradford SA. Analysis of steroid hormones in a typical dairy waste disposal system[J]. *Environmental Science and Technology*, 2008, 42(2): 530–535.
- [13] Combalbert S, Hernandez-Raquet G. Occurrence, fate, and biodegradation of estrogens in sewage and manure[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 86(6): 1671–1692.
- [14] Racz L, Goel RK. Fate and removal of estrogens in municipal wastewater[J]. *Journal of Environmental Monitoring*, 2010, 12(1): 58–70.
- [15] 严炜, 林金明. 雌激素类内分泌干扰物的液相色谱-质谱分析样品前处理方法[J]. *分析化学*, 2010, 38(4): 598–606.
- [16] Khanal SK, Xie B, Thompson ML, et al. Fate, transport, and biodegradation of natural estrogens in the environment and engineered systems[J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, 40(21): 6537–6546.
- [17] Coombe RG, Tsong YY, Hamilton PB, et al. Mechanisms of steroid oxidation by microorganisms X. Oxidative Cleavage of Estrone[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1966, 241(11): 1587–1595.
- [18] Yu CP, Roh H, Chu KH. 17 β -Estradiol-degrading bacteria isolated from activated sludge[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41(2): 486–492.
- [19] Muller M, Patureau D, Godon JJ, et al. Molecular and kinetic characterization of mixed cultures degrading natural and synthetic estrogens[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(3): 691–701.
- [20] Hashimoto T, Onda K, Morita T, et al. Contribution of the estrogen-degrading bacterium *Novosphingobium* sp. strain JEM-1 to estrogen removal in wastewater treatment[J]. *Journal of Environmental Engineering*, 2010, 136(9): 890–896.
- [21] Fujii K, Kikuchi S, Satomi M, et al. Degradation of 17 β -estradiol by a Gram-negative bacterium isolated from activated sludge in a sewage treatment plant in Tokyo, Japan[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(4): 2057–2060.
- [22] Pauwels B, Wille K, Noppe H, et al. 17 α -Ethinylestradiol cometabolism by bacteria degrading estrone, 17 β -estradiol and estriol[J]. *Biodegradation*, 2008, 19(5): 683–693.
- [23] Ke JX, Zhuang WQ, Gin KYH, et al. Characterization of estrogen-degrading bacteria isolated from an artificial sandy aquifer with

- ultrafiltered secondary effluent as the medium[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 75(5): 1163–1171.
- [24] Kurisu F, Ogura M, Saitoh S, et al. Degradation of natural estrogen and identification of the metabolites produced by soil isolates of *Rhodococcus* sp. and *Sphingomonas* sp.[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2010, 109(6): 576–582.
- [25] Weber S, Leuschner P, Kämpfer P, et al. Degradation of estradiol and ethinyl estradiol by activated sludge and by a defined mixed culture[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2005, 67(1): 106–112.
- [26] Payne DW, Talalay P. Isolation of novel microbial 3 α -, 3 β -, and 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases. purification, characterization, and analytical applications of a 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase from an *Alcaligenes* sp.[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1985, 260(5): 13648–13655.
- [27] Järvenpää P, Kosunen T, Fotsis T, et al. *In vitro* metabolism of estrogens by isolated intestinal Micro-organisms and by human faecal microflora[J]. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 1980, 13(3): 345–349.
- [28] Fahrbach M, Kuever J, Meinke R, et al. *Denitratisoma oestradiolicum* gen. nov., sp. nov., a 17 β -oestradiol-degrading, denitrifying betaproteobacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56(7): 1547–1552.
- [29] Sabirova JS, Cloetens LFF, Vanhaecke L, et al. Manganese-oxidizing bacteria mediate the degradation of 17 α -ethinylestradiol[J]. *Microbial Biotechnology*, 2008, 1(6): 507–512.
- [30] Skotnicka-Pitak J, Khunjar WO, Love NG, et al. Characterization of metabolites formed during the biotransformation of 17 α -ethinylestradiol by *Nitrosomonas europaea* in Batch and Continuous Flow Bioreactors[J]. *Environmental Science and Technology*, 2009, 43(10): 3549–3555.
- [31] Zeng QL, Li YM, Gu GW, et al. Sorption and biodegradation of 17 β -estradiol by acclimated aerobic activated sludge and isolation of the bacterial strain[J]. *Environmental Engineering Science*, 2009b, 26(4): 783–790.
- [32] Fahrbach M, Kuever J, Remesch M, et al. *Steroidobacter denitrificans* gen. nov., sp. nov., a steroidal hormone-degrading gammaproteobacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2008, 58(9): 2215–2223.
- [33] 史江红, 韩蕊, 宿凌燕, 等. 某污水处理厂中17 α -乙炔基雌二醇降解菌的分离鉴定及其降解特性[J]. *环境科学学报*, 2010, 30(12): 2414–2419.
- [34] Kornman KS, Loesche WJ. Effects of estradiol and progesterone on *Bacteroides melaninogenicus* and *Bacteroides gingivalis*[J]. *Infection and Immunity*, 1982, 35(1): 256–263.
- [35] Yoshimoto T, Nagai F, Fujimoto J, et al. Degradation of estrogens by *Rhodococcus zopfii* and *Rhodococcus equi* isolates from activated sludge in wastewater treatment plants[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(9): 5283–5289.
- [36] O'Grady D, Evangelista S, Yargeau V. Removal of aqueous 17 α -ethinylestradiol by *Rhodococcus* species[J]. *Environmental Engineering Science*, 2009, 26(9): 1393–1400.
- [37] Ren HY, Ji SL, Ahmad NUD, et al. Degradation characteristics and metabolic pathway of 17 α -ethinylestradiol by *Sphingobacterium* sp. JCR5[J]. *Chemosphere*, 2007, 66(2): 340–346.
- [38] Ojanotko-Harri A, Laine M, Tenovuo J. Metabolism of 17 β -estradiol by oral *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Bacillus cereus* and *Candida albicans*[J]. *Oral Microbiology and Immunology*, 1991, 6(2): 126–128.
- [39] Jiang LY, Yang J, Chen JM. Isolation and characteristics of 17 β -estradiol-degrading *Bacillus* spp. strains from activated sludge[J]. *Biodegradation*, 2010, 21(5): 729–736.
- [40] Ivanov V, Lim JJW, Stabnikova O, et al. Biodegradation of estrogens by facultative anaerobic iron-reducing bacteria[J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(2): 284–287.

- [41] Lee HB, Liu D. Degradation of 17 β -estradiol and its metabolites by sewage bacteria[J]. Water Air and Soil Pollution, 2002, 134(1/4): 351–366.
- [42] Shi JH, Suzuki Y, Lee BD, et al. Isolation and characterization of the ethynylestradiol-biodegrading microorganism *Fusarium proliferatum* strain HNS-1[J]. Water Science and Technology, 2002, 45(12): 175–179.
- [43] Choudhary MI, Musharraf SG, Ali RA, et al. Microbial transformation of antifertility agents, norethisterone and 17 α -ethynylestradiol[J]. Zeitschrift für Naturforschung, 2004, 59b: 319–323.
- [44] Lai KM, Scrimshaw MD, Lester JN. Biotransformation and bioconcentration of steroid estrogens by *Chlorella vulgaris*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(2): 859–864.
- [45] Della Greca M, Pinto G, Pistillo P, et al. Biotransformation of ethynylestradiol by microalgae[J]. Chemosphere, 2008, 70(11): 2047–2053.
- [46] Suzuki K, Hirai H, Murata H, et al. Removal of estrogenic activities of 17 β -estradiol and ethynylestradiol by ligninolytic enzymes from white rot fungi[J]. Water Research, 2003, 37(8): 1972–1975.
- [47] Auriol M, Filali-Meknassi Y, Adams CD, et al. Removal of estrogenic activity of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater: efficiency of horseradish peroxidase and laccase from *Trametes versicolor*[J]. Chemosphere, 2008, 70(3): 445–452.
- [48] Auriol M, Filali-Meknassia Y, Adams CD, et al. Natural and synthetic hormone removal using the horseradish peroxidase enzyme: temperature and pH effects[J]. Water Research, 2006, 40(15): 2847–2856.
- [49] Roh H, Yu CP, Fuller ME, et al. Identification of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine-degrading microorganisms via ¹⁵N-stable isotope probing[J]. Environmental Science and Technology, 2009, 43(7): 2505–2511.
- [50] Hu AY, He JB, Chu KH, et al. Genome Sequence of the 17 β -Estradiol-Utilizing Bacterium *Sphingomonas* strain KC8[J]. Journal of Bacteriology, 2011, 193(16): 4266–4267.
- [51] Roh H, Chu KH. A 17 β -estradiol-utilizing bacterium, *Sphingomonas* strain KC8: Part I-Characterization and abundance in wastewater treatment plants[J]. Environmental Science and Technology, 2010, 44(13): 4943–4950.

稿件书写规范

论文中统计学符号书写规则

统计学符号一般用斜体。本刊常用统计学符号介绍如下, 希望作者参照执行。

样本的算术平均数用英文小写 \bar{x} , 不用大写 X , 也不用 *Mean*。标准差用英文小写 s , 不用 *SD*。标准误用英文小写 $s_{\bar{x}}$, 不用 *SE*。 t 检验用英文小写 t 。 F 检验用英文大写 F 。卡方检验用希文小写 χ^2 。相关系数用英文小写 r 。样本数用英文小写 n 。概率用英文大写 P 。