

陈健琴,刘翔宇,吴静,等.固定化微生物对土壤中邻苯二甲酸酯消减作用[J].中国环境科学,2025,45(6):3370-3380.

Chen J Q, Liu X Y, Wu J, et al. Degradation of phthalate esters in soils with immobilized microorganisms [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3370-3380.

固定化微生物对土壤中邻苯二甲酸酯消减作用

陈健琴,刘翔宇,吴静,丁佳妍,高彦征* (南京农业大学,土壤有机污染控制与修复研究所,江苏 南京 210095)

摘要: 作为一类常见有机新污染物,邻苯二甲酸酯(PAEs)类塑化剂进入土壤后会降低其环境质量,干扰作物生长,威胁农产品安全和人群健康.微生物修复技术具备经济、高效、安全的优点.借助基因组学等手段,国内外已从不同基质中分离并鉴定出多种具有 PAEs 降解性能的功能菌株.然而针对多种 PAEs 共存的复杂土壤环境,仍需通过装配功能菌株、构建复合菌群、研制固定化菌剂,来实现不同 PAEs 协同降解.本文综合比较了多种微生物固定化方法和途径,分析了传质环境、底物浓度、固定条件和菌株复配等因素对 PAEs 消减的影响,解析了由功能微生物酶促反应驱动发生的 PAEs 代谢路径,揭示了菌群协同降解 PAEs 的生物学机制.相较于游离态单菌,经固定化后 PAEs 降解功能菌剂不仅可以抵御外界复杂环境的干扰,而且能够靶向消减 PAEs、提高降解效率,并对作物生长产生正向反馈.指出微生物复合菌群构建、固定化载体优化、菌剂产品创制等本领域未来研究重点方向.

关键词: 邻苯二甲酸酯; 功能微生物; 固定化; 消减作用; 降解机制; 土壤

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)06-3370-11

Degradation of phthalate esters in soils with immobilized microorganisms. CHEN Jian-qin, LIU Xiang-yu, WU Jing, DING Jia-yan, GAO Yan-zheng* (Institute of Organic Contaminant Control and Soil Remediation, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China). *China Environmental Science*, 2025,45(6): 3370~3380

Abstract: Soil contamination with phthalate esters (PAEs) is a worldwide environmental issue, and a stable and efficient functional microbial agent could be applied to achieve synergistic PAEs degradation. The review comprehensively compared various methods and pathways of microbial immobilization. The different factors on PAEs elimination such as mass transfer environment, substrate concentration, immobilization conditions, and strain combinations were demonstrated. The metabolic pathways of PAEs driven by enzymatic reactions of functional microbes were elucidated. The biological mechanisms of synergistic degradation of PAEs by microbial communities were clarified, and crucial future research areas may include the construction of microbial composite communities, optimization of immobilization carriers, and creation of microbial agent products. Compared to single-free bacteria, the immobilized PAEs-degrading microbial agents not only resist the interference of complex external environments, but specifically perform well on PAE degradation. In addition, immobilized microbial agents may positively promote crop growth.

Key words: phthalate ester; functional microorganisms; immobilization; elimination effect; degradation mechanism; soils

邻苯二甲酸酯(PAEs)是一类常见的人工合成增塑剂,根据其侧链数量及与酯基基团连接的烷基与芳基差异,呈现出多种结构和性质^[1-2].研究已证实,PAEs 具有肝毒性、生殖毒性及内分泌干扰性等毒理性质,对人体健康构成严重威胁,甚至引发癌变和死亡^[3].由于 PAEs 能够显著提升塑料的柔韧性和可加工性,因此被广泛应用于农业、工业、食品行业和医药行业等领域^[4-5].然而,PAEs 与塑料制品基体之间主要通过较弱的氢键或范德华力结合,极易在生产、使用及处置过程中从母体材料中释放,迁移并渗透至环境介质中,从而引发污染^[6].例如,塑料市场周边土壤中 Σ_{22} PAE 浓度范围为 2131~27805ng/g,并向周围环境扩散^[7],这一现象已引起世界各国政府和

公众的广泛关注.2011 年的一项调查显示,在中国农业种植地区,耕地面积达 1980 万 hm^2 ,塑料薄膜使用量为 125 万 $\text{t}^{[8]}$,其中 PAEs 可达 20~60%^[9-10],导致农作物在生长过程中通过根系吸收并高度积累 PAEs,含量达到几个 mg/kg 至几十个 $\text{mg/kg}^{[11-14]}$,最后沿食物链传递至人体.因此,明确农田中 PAEs 的污染路径,探索一种稳定且高效的消减技术,对于保障农业生态安全和人体健康具有重要意义.

目前,国内外科学家已多次报道 PAEs 在土壤中

收稿日期: 2024-12-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(42430703,U22A20590);国家重点研发计划资助项目(2023YFE0110800,2023YFC3708100)

* 责任作者, 教授, gaoyanzheng@njau.edu.cn

的暴露途径、作物吸收积累及其生态风险等。然而,关于如何加速驱动 PAEs 在农田生态系统和作物体内的降解仍然是国际讨论热点。大量研究表明,环境友好型的微生物技术在 PAEs 降解方面具有巨大潜力^[15-16]。近年来,借助基因组学及高通量测序等技术,已从土壤、污泥及植物等基质中富集筛选出多种具有降解 PAEs 能力的功能细菌,例如内生枯草芽孢杆菌菌株 N-1^[17]、假单胞菌菌株 DNB-S1^[18]和戈登氏菌菌株 Lff^[19]等,其中菌株 N-1 的接种还可以强化菌株 DNBS-1 在黄瓜体内 DBP 降解能力^[17],而 Lff 菌株降解 DEHP 效率高达 91.43%。然而,已鉴定出的功能菌株通常以游离态形式存在,其降解活性和适应性易受外界复杂环境胁迫^[20]。

为了靶向高效消减土壤中多种 PAEs 污染,本文采用固定化微生物菌群的方法,重点概述了 PAEs 降解功能菌株类型,复合菌株的构建及固定化方式,比较了不同固定条件下影响功能微生物对污染土壤中 PAEs 的消减效应和规律,并梳理了其降解 PAEs 的途径及生物学机制。研究结果有望为复合菌群降解 PAEs 和修复土壤生产力等相关研究做出科学指导与技术支持。

1 PAEs 降解功能菌株及其固定化

美国环境保护署已将 6 种 PAEs (DMP、DEP、DBP、BBP、DnOP 和 DEHP)列入优先污染物^[4-5],其中 DEHP 和 DBP 是目前污染水平最严重、潜在致癌风险最大的两种污染因子,其控制标准分别为 0.08 和 4.35mg/kg^[21]。Dorney 等^[22]研究发现,在 600mg/kg 的 PAEs 污染的粉质土壤中生长 40d 的小麦、玉米和豆类,其体内检测 PAEs 积累量高达 23mg/kg。因此,控制土壤中 PAEs 的污染至关重要。在 PAEs 污染土壤中,功能降解菌株能够以 PAEs 作为唯一碳源和能源,将其完全矿化为 CO₂ 和 H₂O 的过程中不产生二次污染。

1.1 PAEs 降解功能菌株的分离及鉴定

众多文献研究指明,污泥和污染土壤中 PAEs 降解菌株富集度达半数以上。另外,部分功能降解菌株能够作为内生菌存在于植物组织内部,促进植物生长,增强植物抗病能力,并与植物形成互利共生关系^[23]。污染土壤 PAEs 降解功能菌株和植物组织中的分离方法存在显著区别:后者需从植物

组织(根、茎、叶)中进行提取、分离,并可采用 Feng 等^[24]介绍的“过氧化氢(3%,3min)-乙醇(70%,3min)-次氯酸钠(5%,2min)”灭菌法,依次对组织进行灭菌。降解菌株在含 PAEs 的无机盐液体培养基中可利用 PAEs 作为其生长的碳源和能源。因此,将液体培养基中的微生物经连续富集驯化、划线纯化,最终筛选出一株能够降解 PAEs 的功能菌株。Liu 等^[17]也通过类似方法从污染土壤和植物样本中完成 DBP 降解菌株 N-1 的分离,并鉴定菌株 N-1 在 100mg/L 的 DBP 胁迫下 5d 内降解率达 99.7%。同时,研究发现 N-1 可以促进变形菌门、拟杆菌门和厚壁菌门等优势门在土壤中相对丰度的增加,这对研究优化复配菌种的选择以提高降解效率具有指导意义。

近 50a 国内外研究报道,已从不同环境介质中分离、驯化 80 多种降解功能菌株^[25-26],其中已鉴定出的主要菌属有红球菌(*Rhodococcus* sp.)、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、戈登氏菌(*Gordonia* sp.)、鞘氨醇单胞菌(*Sphingobium*)、苍白杆菌(*Ochrobactrum*)、不动杆菌(*Acinetobacter* sp.)等^[27-28](表 1)。通过形态学观察、生理生化试验及分子生物学鉴定,可进一步确定分离菌株的种属。经形态学观察分析微生物细胞形态和结构特征^[44-45]。此外,参照《伯杰氏鉴定细菌学手册》鉴定手段,对筛选菌株进行需氧性试验、过氧化氢酶试验、淀粉水解试验、β-半乳糖苷酶试验、苯丙氨酸酰氢酶试验、动力试验和硝酸盐还原试验等生理生化试验^[45-47],判断其氧关系和运动特点。基于以上两种方式可初步鉴定微生物种类。借助 PCR 扩增细菌 16S rRNA 基因、Illumina 高通量测序分析等技术,进一步追溯菌株同源性,并在 NCBI 的 GenBank 基因数据库中进行同源性比对,从而实现分子生物学鉴定^[48-49]。Wu 等^[29]采用 16S rRNA 基因序列技术成功鉴定 DBP 降解菌株苍白杆菌 JDC-41,其可在 70h 内完全降解 500mg/L 的 DBP。此外, Ogawa 等^[50]驯化出 19 种 DBP 降解菌株,鉴定为 *Acinetobacter* sp.、*Ochrobactrum* 和 *Tsukamurella*(冢村氏菌)等菌属,且在污染土壤中相对丰度存在显著差异。

目前,已筛选出的降解菌对不同类型的 PAEs 具有不同的降解能力,通常可达 60%,为 PAEs 污染的生物修复提供理论基础和潜在的生物资源。

表 1 PAEs 功能菌株消减特性

Table 1 The characteristics of functional strain degrading PAEs

菌株名称	菌属	降解底物	温度(°C)	pH 值	消减效率(%)	来源	参考文献	
JDC-41	<i>Ochrobactrum</i> sp.	DBP	30	7.0	87	废水、土壤、 活性污泥	[29]	
单功能菌	JDC-11	<i>Pseudomonas</i> sp.	DBP	30	8	100	城市固体废物	[30]
	WJ4	<i>Rhodococcus</i> sp.	DEHP	28	7	96.4	填埋场	[31]
	0426	<i>Glutamicibacter</i> sp.	DBP	31.7	6.9	100	植物	[32]
	YC-JY1	<i>Xanthobacter</i> sp.	DBP	30	7	94	石油污染土壤	[33]
多功能菌	THF-2	<i>Pseudomonas putida</i>	DMP	20	8	89.5	河流沉积物	[34]
	LMB-1	<i>Rhizobium</i> sp.	DMP、DEHP	37	6	71.5、88.1	污染土壤	[35]
	W34	<i>Bacillus subtilis</i>	DBP、BBP	30	7.2	100	青菜	[36]
	M-11	<i>Camelimonas</i> sp.	DEP、DBP	40	8	72、56	污染土壤、水体	[37]
	LUNF1	<i>Bacillus</i> sp.	DBP、BBP、DEP	40	8.9	90、59、14	污水、污泥	[38]
复合菌群	WTZ-1+WTZ-R1+ WTZ-R2	<i>Bacillus</i> sp., <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Rhodococcus</i> sp.	DEHP	30	7.5	98.04	污染土壤	[39]
	ZJUTW+LH1+ GZ-YC7	<i>Glutamicibacter</i> sp., <i>Cupriavidus</i> sp., <i>Gordonia</i> sp.	DMP、DEP、BBP、 DBP、DEHP、 DOP	30	7	100	河流污泥、 垃圾填埋场	[40]
	DP-2+DP-5+DP-6	<i>Acinetobacter bumannii</i> , <i>Acinetobacter bumannii</i> , <i>Citrobacter freundii</i>	DBP	30	7	95.35	活性污泥	[41]
	USTB-Y+USTBZA1	<i>Microbacterium</i> sp., <i>Comamonas</i> sp.	DBP、DEP	30	7.5	100、100	活性污泥	[42]
	MJ1+MJ2+MJ3	<i>Sphingobacterium</i> sp., <i>Bacillus</i> sp., <i>Paracoccus</i> sp.	DMP、DBP、 DEHP	30	7	97.62、94.29、 92.55	垃圾堆积场	[43]

1.2 复合菌群的构建

土壤生态受不同 PAEs 种类干扰.目前筛选、鉴定出的大多数微生物属于仅能降解特定 PAEs 的单功能菌,而具有多种 PAEs 降解功能的多功能菌较为罕见,这使得彻底消减环境中 PAEs 面临一定壁垒.复合菌群是由多种种间或种内功能微生物菌株构成的生态共同体.功能菌群通过生化作用协同降解 PAEs,当一种菌株产生的中间代谢产物能够作为其他菌株的营养源而开始新的代谢路径,或者多种菌株联合参与代谢复杂大分子污染物质,从而形成降解基因的共表达体系,显著提高整个菌群的功能性和高效性.

由于微生物菌株种属之间存在差异,因此,在构建复合菌群的过程中,为了确保复合菌群的谢效能,应当考虑装配不同单菌之间是否产生拮抗反应,并通过正交试验优化菌群配比.陆雯逸^[51]通过将 2G、A4、W34 这 3 种菌株在固体 LB 培养基上进行两两交叉划线培养,在 30°C 环境中恒温培养 3d 后观察平板上细菌交叉划线处的菌落生长状况.结果表明,这 3 种菌株之间不存在拮抗反应,且构建成的复合菌群

在第 5d 时对长短链 PAEs 降解效率分别为 39.7%、97.39%,而单菌株独立作用时对长链 DEHP 和 DnOP 降解率相对较低,如 A4 对其仅有 17.76%.由此可知,菌群的共培养克服了单菌在污染复杂的土壤环境中代谢的局限性,具备更好的降解活性和广谱性,突破了单功能菌株无法同时降解多种 PAEs 的局限性,高效促进生态系统恢复平衡.

1.3 微生物固定化技术

目前研究发现,若将功能菌群单独施用,菌体在复杂污染环境中仍存在靶向性攻击不稳定、易失活且时效短的问题,阻碍了其应用于实际场地污染修复中的应用.微生物固定化技术已在治理 PAHs 等有机物污染方面取得显著的修复效果.Karamanev 等^[52]指出土壤微生物固定化可以有效促进持久性有机污染物的降解.此外,国内研究表明,PAEs 降解菌株 M11 在保存 20d 后仍具有约 80%的活性^[47].

微生物固定化技术通过将游离态功能微生物固定在特殊载体内部或表面,屏蔽外界环境对微生物生长及酶活性的干扰,同时通过载体对污染物的吸附作用,促进微生物的降解效果^[20].常见的微生物

固定化方法可分为吸附法、交联法、包埋法、共价结合法和复合固定法等(表 2)。张小红等^[54]以海藻酸钠为载体,通过包埋法制成 DMP 和 DnBP 等降解固定化微球,结果表明固定化微球完全降解效率(第 7、10d)是游离菌降解效率(第 15、20d)的 2 倍。这充分体现固定化不仅提高了菌群细胞密度,同时增强其耐受性,从而促进 PAEs 的消减。

然而,单一固定化技术仍存在明显的不足。例如,吸附法仅将微生物吸附在特定材料表面,存在吸附不稳定、结合强度低等问题;包埋法会使微生物的活性受到影响,可能阻碍微生物的物质交换,导致传质效率下降。而微生物复合固定化法结合使用 2 种及以上的固定化方法,有效综合多个技术优势,在“载体-微生物”稳定结合的前提下,确保功能微生物细

胞更大的代谢活性。同时,针对污染复杂的土壤,人工构建多种功能微生物菌群协同降解 PAEs 是必然趋势。例如,*Gordonia* sp. strain JDC-2 可以迅速将邻苯二甲酸二辛酯(DOP)降解为邻苯二甲酸(PA),JDC-32 则进一步将 PA 完全消减^[55]。此外,由 DNYB-S1、DNB-S2 和 DNHP-S2 复合装配的菌群 YJ-1 在 30℃、pH 值 11 的环境条件下,PAEs(DBP: DEHP=1:1)降解能力可达 91.23%,比单一菌株 DNB-S2 对 DBP 的降解率高 18.92%^[56]。基于以上研究,针对土壤污染特征对功能微生物组进行优化,并结合固定化技术,制备具有降解稳定性、高效性及广谱性的固定化菌剂。这不仅突破当前单一固定化方法与单功能菌降解能力的局限,还为复杂 PAEs 污染土壤的修复提供更高效可行的解决方案。

表 2 固定化微生物方法比较

Table 2 The comparison of immobilized microbial methods

固定方式	原理	载体	优缺点	参考文献
吸附法	通过物理(范德华力、氢键和离子键等)或化学方式,将微生物固定于特定载体材料表面或孔隙中	活性炭、石英砂和纳米材料等	优点:操作简单、成本低廉且传质性能好 缺点:结合力弱、稳定性差	
包埋法	将微生物固定在网格结构的多孔介质内部	明胶、壳聚糖、海藻酸盐和聚乙烯醇等	优点:操作简单、结合度高、稳定性好 缺点:传质效率下降、影响微生物活性	[20,53]
交联法	利用特殊功能的交联剂使微生物之间发生交联反应,形成含共价键的网状结构	戊二醛等	优点:结合度高、稳定性好 缺点:成本高、影响微生物活性	
共价结合法	通过载体表面的基团与微生物表面的基团反应形成共价键,从而固定微生物	多孔载体材料(二氧化硅等)	优点:结合度高、稳定性好 缺点:操作复杂、影响细胞活性	
复合固定法	结合使用 2 种及以上的固定方法以提高细胞与载体结合度及微生物活性	包埋-吸附、包埋-交联、吸附-包埋-交联等	优点:最大程度地发挥单个固定方法的优势 缺点:操作复杂、成本增加	[53]

2 固定化微生物对污染土壤中 PAEs 消减作用

2.1 固定化微生物消减作用及降解特性

固定化功能微生物发挥消减功能仍具备对污染物的亲和性、吸附能力与生物有效性,同时显著加快反应启动时间。这可能是因为如炭基材料在为微生物生长提供 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^+ 等营养元素的同时,通过吸附污染物缩短与微生物的传质距离。结合众多研究结果来看,张小红等^[54]驯化出的 DMP、DnBP 和 DEHP 微小杆菌经固定化后,DMP、DnBP 分别在 7、10d 内即可降解完全,DEHP 在 20d 内可消减 63.37%,而游离菌对其降解效率仅为 48.77%。借助高效液相色谱技术测定植物体内积累浓度,可以发现暹罗芽孢杆菌(*Bacillus siamensis*)T7 减低了植物对 DBP 的吸收^[57],同时诱导内生菌启动酶促反应来催

化体内积累污染物的代谢。张帅^[58]在土培体系中发现固定化菌剂经接种 7d,土壤和水稻中 Σ PAEs 明显下降,且水稻生物量显著增加。此外,Guan 等^[59]通过对 DEHP 降解菌节杆菌(*Arthrobacter* sp.)JQ-1 进行炭基固定化,研究表明生物炭自身可以同时吸附和降解 DEHP,使其消减作用较自由态细菌明显提高 30.9%。以上结果有力证实了固定化微生物在消除土壤和植物中 PAEs 的有效性。

值得注意的是,微生物经固定化后只在局部污染土壤中表现出明显的密度和活性。固定化载体限制了功能菌株向外迁移、扩散的能力,且富集在土壤中的多种污染因子存在不确定性与难迁移性等问题,导致只有与固定化菌剂接触的污染土壤能够得到有效修复。因此,为确保固定化菌剂的实际应用效果,需根据现场污染情况,采取多次翻耕土壤、施加

固定化微生物等措施,以确保土壤生态环境的有效修复.

2.2 影响固定化微生物降解 PAEs 因素

2.2.1 传质条件 污染土壤中 PAEs 的降解依赖于微生物相关代谢酶的表达活性,如过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD),pH 值是影响微生物消减效率及固体载体与微生物结合力的重要因素之一.极端酸碱环境均对微生物细胞膜选择透性产生显著影响,阻碍对营养物质的正常吸收,并改变相关降解酶活性,进而降低降解效果.同时,温度变化通过调节酶活性间接影响微生物生长活性和降解能力.Wu 等^[29]从活性污泥中筛选出 DBP 降解菌株 JDC-41,其最佳降解环境测试为 pH 值 7.0,温度 30℃,其降解效率可达 87%.然而,菌株 LV-1 热稳定性较差,在 25~35℃温度范围内表现出有效降解能力,当培养温度降至 20℃时,DBP 降解率仅在 40%左右^[60].此外,土壤中低分子有机酸和腐殖酸通过自身氧化还原作用,能够降低有毒有机污染物的含量,并为特定降解菌提供营养物质.同时,腐殖酸还提高氧化酶活性,在一定程度上促进微生物对目标污染物的降解.因此,优化 pH 值、温度等环境条件,并结合土壤天然有机质的作用,将有助于提高微生物对 PAEs 的传质效率与降解能力.

2.2.2 底物浓度 功能微生物接触的 PAEs 底物浓度不同,其生长速度达到稳定期的时间会受到不同程度的影响.极端的污染浓度会不断在微生物细胞内积累,甚至导致细胞死亡、酶活性丧失而中断微生物代谢反应.在微生物正常生长的情况下,为了得到其对目标控制物显著降解效果,Ren 等^[61]采用系列污染浓度测试功能微生物消减效能.试验发现,菌株 RL-HY01 具有在不同污染浓度下 PAEs 的降解效率,即当底物浓度低于 1000mg/L 时,PAEs 可实现完全消解;而当底物浓度增加至 1500mg/L 时,功能菌生长和代谢能力受到显著抑制.然而,大多实际场地中污染水平通常低于 mg/L,这无法达到多数菌株细胞功能性酶正常表达的诱导阈值;同时 PAEs 处于较低浓度时,其生物可利用率过低导致其无法维持菌群正常生长,两者原因都增加了 PAEs 污染地块生物降解的难度^[62-63].因此,环境中 PAEs 富集浓度水平同样影响功能菌株酶代谢活性.为应对这一问题,需调节 PAEs 浓度使其维持在微生物降解活性的最佳范

围内,采用固定化技术和营养强化手段提升微生物对低浓度 PAEs 的响应能力,同时优化微生物菌群结构,增强其在低污染浓度下的生长和降解效率,从而有效提升功能微生物在不同污染环境下对 PAEs 的降解能力.

2.2.3 固定条件 固定化菌剂对 PAEs 的降解效能主要受固定化方法、固定化时间、菌料比接种量及固定化温度等因素影响.表 2 显示,不同的固定化方法各有优劣之处,且在选择无害、固定化细胞载体上存在难度.蒋宇红^[64]通过对比琼脂、明胶、海藻酸钙、聚乙烯醇和丙烯酰胺凝胶这几种常见的包埋固定载体,其结果表明,海藻酸钙和聚乙烯醇较其他三者具有更好的传质性能和更低的生物毒性等优势,这为功能微生物降解提供更稳定、安全的缓冲环境.竹炭、桦木屑等作为一种潜在的优良固定化附载载体,一方面利用自身孔隙介质富集微生物并为其提供附着和生存空间与养分,另一方面增大了菌剂与环境中污染物的可接触性,促进有益菌更加高效地发挥降解功能,实现“富集-降解一体化”.在固定化菌剂的投菌量方面,若菌料比过高,则复合菌群可能为了保障自身生长的营养需求而相互竞争固定化材料中的营养物质,影响菌株之间的生化协作,导致其降解效率与菌料比过低产生的结果相似.此外,固定化时间与温度对微生物降解活性也具有重要影响.固定化时间决定了载体上微生物的附载浓度、结合程度及菌剂的稳定性与活性.一项研究发现,在固定化时间为 2d,固定温度维持 30℃,菌料比为 1:30(V/M)的条件下,固定化菌剂对 6 种 PAEs 消减效率达到 96.60%,且对短链 PAEs 的消减效率高达 99%,对长链 PAEs 的消减效率也能达到 93%以上^[51].由此可见,调控适合菌群发挥降解功效的固定化条件对修复污染土壤至关重要.

2.2.4 组合菌群 菌株的选择与配比是制备高效固定化菌剂的难点,尤其在修复复杂污染土壤时,需要多种微生物协同发挥降解功能.一些功能菌株仅能代谢低分子量 PAEs,如 *Camelimonas* sp. M11,在与底物接触时,对于亲水性较好的短链 DPP(邻苯二甲酸二戊酯)、DEP、DBP 在 60h 内效率分别可达 90%、70%、60%,而无法降解水溶性较差、分子结构复杂的长链 PAEs(>C6)^[47].部分微生物兼具对长链、短链 PAEs 的催化效果,如可同时降解 DBP、

DEP、DMP、DPrP(邻苯二甲酸二丁酯)、BBP、DEHP、DnOP 和 DiNP(苯甲壬酯)等 8 种 PAEs 的红球菌 *Rhodococcus* sp. AH-ZY2^[65]。此外,复合菌群的构建还需考虑菌群之间的相对优势种群,因为优势微生物在生长空间和营养物质的争夺上更具竞争力,这可能影响同一介质中其他单菌的生存与代谢效率。因此,在装配复合菌群前,需验证菌株之间是否存在拮抗作用,确认菌株间的共生关系,合理配比,最终组合形成高效能的复合菌群,从而最大程度发挥微生物固定化的降解功能。

由此可知,传质条件(pH 值、温度、腐殖酸等)、PAEs 底物浓度、固定条件(固定化方法、固定化时间、菌料比接种量、固定化温度等)及菌群的选择、配比等条件影响固定化功能菌剂降解 PAEs 效能,平

衡、优化各因素对制备高效功能降解菌剂至关重要。

3 固定化微生物消减 PAEs 的作用机制

3.1 PAEs 消减途径

环境中的 PAEs 首先吸附在固定材料的多孔介质中,随后通过炭基材料产生的羧基自由基进行降解。此后,微生物通过酶解作用使 PAEs 转化为 PA,这一途径涉及多个酶促反应,包括 β -氧化、转酯化作用和脱脂化(去甲基化)作用^[66-67]。PAEs 生物酶水解途径可以总结为以下两步:(1)酯基水解。此过程在酯酶的催化作用下,通过去酯化过程将酯基降解形成邻苯二甲酸单烷基酯(MAPs)以及相应的醇;(2)酯键水解。酯键经微生物好氧或厌氧途径最终水解形成 PA。

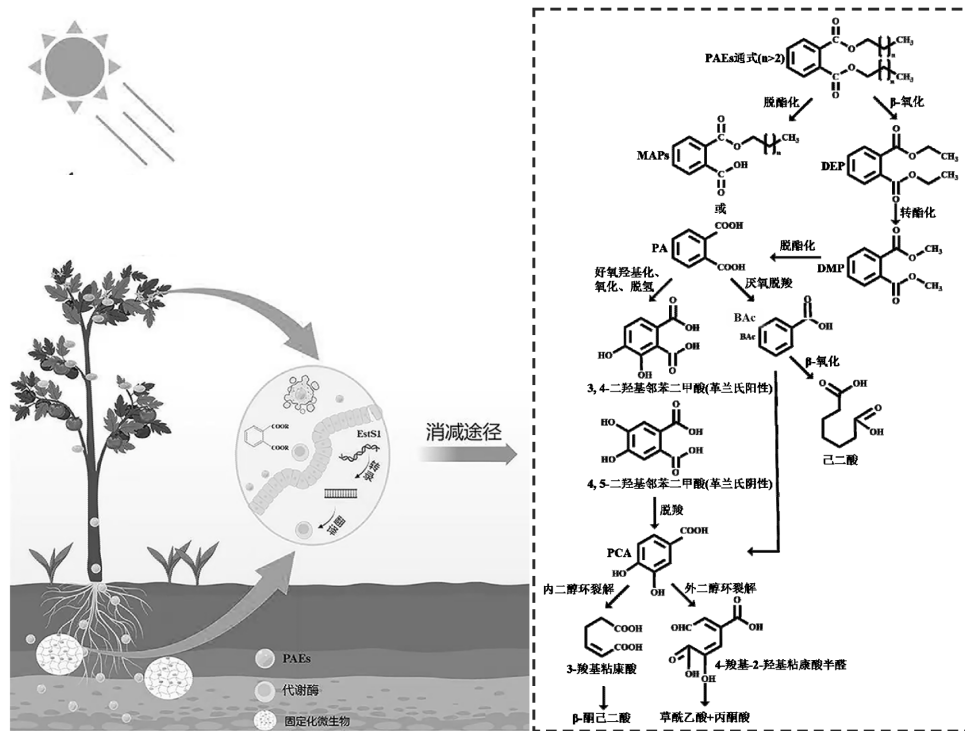


图 1 PAEs 降解路径及机制

Fig.1 Degradation pathways and mechanisms of PAEs

具体来说(图 1),在邻苯二甲酸酯水解酶和邻苯二甲酸单酯水解酶组合系统的催化下,PAEs 单侧或双侧酯基去酯化(去甲基化)转化成 MAPs 或直接生成 PA;或通过 β -氧化途径多次氧化 PAEs,使其依次脱落侧链上的 1 个乙烷基产生短链 DEP 和 DMP,随后进一步脱脂化生成产物 PA,酯键彻底水解。同时,DEP-EMP-DMP 途径涉及单侧烷基的脱落,在此

过程中发生的代谢方式属于转酯基作用。之后,在好氧条件和 3,4 或 4,5-邻苯二甲酸酯双加氧酶参与下,PA 发生羟基化、氧化、脱氢等反应生成 3,4-二羟基邻苯二甲酸或 4,5-二羟基邻苯二甲酸,进一步脱羧生成 PCA 等双酚化合物^[28]。PCA 在内/外二酚环裂解双加氧酶介导下发生内/外环裂解,分别产生 3-羧基粘康酸、4-羧基-2-羟基粘康酸半醛。在内环裂

解途径中,3-羧基粘康酸再经过酶促反应转化为 β -酮己二酸.而经外环裂解途径,4-羧基-2-羟基粘康酸半醛代谢为草酰乙酸和丙酮酸,最终进入三羧酸(TCA)循环.需要指出的是,在厌氧条件下,PA发生脱羧作用生成苯甲酸(BAc),随后部分BAc仍转化为PCA进一步代谢,另一部分经 β -氧化转化为己二酸,最终己二酸被分解产生乙酸盐、 CO_2 和 H_2 ^[68],如*Gordonia* sp. MTCC 4818实现了BAc的己二酸代谢路径^[69].

3.2 PAEs 消减机制

PAEs消减效应与固定化微生物群落结构、降解基因组表达水平及代谢酶催化活性有关,且在此过程中会出现不同程度的响应.

3.2.1 降解菌的群落效应 微生物因降解基因组、水解蛋白酶有所差异而具有不同的降解功能性,且基因的表达与相关细菌的丰度密切相关^[70].因此复合菌群之间存在相对优势菌种,这些菌种是PAEs降解过程中的主要贡献者.范琳琳^[71]指出含有DBP胁迫的土壤Shannon指数和chao1指数明显下降,即DBP降低了土壤微生物群落多样性和物种丰富度.在此基础上,固定化功能微生物的添加可以极大程度地提高变形菌门的相对丰度,从18%~61%,这可能与多数降解DBP的功能菌属于变形菌门有关.同样,Wang等^[72]发现在菌剂DK-P3加入土壤后,鞘氨醇单胞菌属的相对丰度得到提高,还产生有益于植物生长的激素,如鞘氨醇等.此外,土壤、植物根系及茎叶中分布的功能菌株相对丰度不同,因此其攻击目标污染物时产生的群落效应并不一致.Liu等^[17]指出在100mg/L的DBP胁迫下,菌株N-1-*gfp*的定植使得一些降解菌所属门相对丰度增加,如变形菌门表现出绝对的优势,土壤中相对丰度为43.3%~53.4%,植物中为58.2%~62.5%;土壤中拟杆菌门相对丰度为10.7%~18.6%,植物体内为14.2%~23.9%;厚壁菌门也有不同程度的响应.Roseblueth等^[73-74]研究发现内生细菌降解植物体内PAEs的同时,通过加速土壤中固氮、磷酸盐的溶解与铁螯合速率,促进了植物对营养物质的吸收.这表明功能菌不仅能够降解污染物,还可通过改善土壤环境和植物营养吸收,进一步提高植物对PAEs污染的耐受性与修复能力.

3.2.2 功能降解基因及代谢酶活性 PAEs通过激发降解菌细胞内多种酶促反应共同参与代谢.复合

菌群分泌的相关酶活性位点密度高,其催化活性中心Ser-His-Glu/Asp三联体能够特异性识别并结合细胞周围积累的PAEs.通过与PAEs酯键形成氢键、疏水相互作用等分子间作用力,酶促反应得以高效进行.相关研究发现,与PAEs侧链芳基或烷基结构相连的酯键的存在是毒性的来源,且PAEs侧链产生的空间位阻效应显著影响酶促反应的启动时间.因此,微生物细胞基因编码、表达的降解酶对短链PAEs更具明显消减效能.

目前,许多研究先后揭示了降解菌相关基因簇功能.例如,Zhang等^[75]在嗜酸硫化杆菌*Sulfobacillus acidophilus* DSM10332得到编码新型嗜热酯酶的基因EstS1,已验证其可表达具有降解PAEs的蛋白酶.此外,从地杆菌属*Terrabacter* sp. DBF63中已克隆出*pht*操纵子(*phtA1A2BA3A4CR*)^[76],实现了PA到PCA的转化.此外,通过基因组文库筛选、转录组测序等方式鉴定,功能细菌水解单酯键时,酶GTW28_09400与酶GTW28_13725表现出较高活性,而二酯键水解酶GTW28_17760的存在,实现了DBP和DEHP等多种共性邻苯二甲酸酯的矿化^[77].这些研究表明,在污染环境中搭载多种功能菌剂具有重要的实际意义.

值得一提的是,DBP胁迫会诱导功能细菌分泌的脱氢酶(dehydrogenase)、催化酶(catalase)和蛋白酶(protease)等代谢酶的活性显著增强^[78].人工试验表明,固定化复合菌剂的共代谢作用可有效增强邻苯二甲酸-3,4-双加氧酶的活性,驱动DBP的加速消减^[1].相关研究进一步证实,在污染胁迫下,定植于植物体内的功能内生菌群通过迅速提高POD、CAT等相关酶活性,有效缓解PAEs的胁迫效应^[79].这表明种群数量变化与PAEs的降解效率之间并无显著关联.且功能菌株在降解过程中,PAEs诱导效应一方面增加了代谢功能种群的相对丰度,使其成为环境中的优势菌群,另一方面增强相关酶活性,从而确保微生物对土壤和植物中PAEs的有效降解.因此,内生菌群在自然生态系统中具有“降污”和“促生”双重功能,对于污染修复和生态保护具有重要意义.

4 结论与展望

4.1 结论

PAEs作为塑料制品生产过程中主要的塑化剂,

在环境中分布广且难消减.针对传统修复技术在复杂环境中的局限性,本文通过利用固定化功能微生物,实现污染土壤中 PAEs 的高效降解和植物的正向生长,并对功能微生物消减 PAEs 的途径及微生物协同机制进行系统解析,构架出固定化微生物技术的实际应用前景,对保障生态安全和人类健康方面具有深远意义.

4.2 展望

4.2.1 探索安全易降解的 PAEs 替代品 PAEs 与塑料聚合物骨架依靠结合力较弱的氢键或范德华力连接,使其易于释放进入环境.在未来生产过程中能否探索安全、易降解的塑化剂替代品以减少 PAEs 释放值得探索.同时,研究如何增强 PAEs 与塑料母体之间的结合力,如通过化学改性或新型连接手段,减少 PAEs 在环境中释放,是解决 PAEs 污染的突破点.

4.2.2 微生物复合菌群构建 PAEs 的彻底降解,尤其是长链 PAEs,通常需要微生物菌群的协作完成.未来可综合宏基因组学、宏转录组学、蛋白质组学及高通量测序等多种分子生物学技术,探讨调控 PAEs 不同降解路径及机制的关键诱导基因,识别相关酶、鉴定潜在功能酶、修饰酶结构,进而有望架构广谱、高效降解多种 PAEs 的复合菌群.

4.2.3 微生物固定化载体优化 固定化微生物技术的核心在于载体材料的选择与优化,载体的性质直接影响微生物降解 PAEs 的稳定性与长期修复效果.然而,长期使用过程中,固定载体可能发生老化而致使菌群暴露于污染环境,影响修复效率.因此,强化固定化微生物的适应性,提升其在复杂污染环境下的稳定性和修复能力值得探索.

4.2.4 功能菌剂产品创制及应用 针对实际污染土壤,开发基于固定化技术的 PAEs 降解功能菌剂,创制相关产品,有望填补我国该领域市场中缺乏“有形”产品的不足,揭示固定化菌剂在多污染物复合实际环境中作用机制,跟踪其在降解 PAEs 过程中的特殊途径,拓展其应用潜力.

参考文献:

[1] 沈 思,王晓瑜,王海霞,等.细菌降解邻苯二甲酸酯的研究进展 [J]. 生物工程学报, 2019,35(11):2104-2120.
Shen S, Wang X Y, Wang H X, et al. Advances in biodegradation of phthalates esters [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2019,35(11): 2104-2120.

[2] 张文惠.毛巾中邻苯二甲酸酯的分布特征及皮肤暴露风险评估 [D]. 长春:吉林大学, 2023.
Zhang W H. Distribution characteristics of phthalates in towels and risk assessment of skin exposure [D]. Changchun: Jilin university, 2023.

[3] Guo W, Zhang Z, Zhu R, et al. Pollution characteristics, sources, and health risks of phthalate esters in ambient air: A daily continuous monitoring study in the central Chinese city of Nanchang [J]. Chemosphere, 2024,353:141564.

[4] Min N, Yao J, Li H, et al. Carbon and hydrogen isotope fractionation of phthalates during photocatalysis reactions in aqueous solution containing Fe(III) complexes or iron minerals [J]. Water Research, 2023,247:120740.

[5] Zhang H Y, Lin Z, Liu B, et al. Bioremediation of di-(2-ethylhexyl) phthalate contaminated red soil by *Gordonia terrae* RL-JC02: Characterization, metabolic pathway and kinetics [J]. Science of the Total Environment, 2020,733:139138.

[6] Li K K, Ma D, Wu J, et al. Distribution of phthalate esters in agricultural soil with plastic film mulching in Shandong Peninsula, East China [J]. Chemosphere, 2016,164:314-321.

[7] Wu, Y, Sun, J, Zheng C, et al. Phthalate pollution driven by the industrial plastics market: a case study of the plastic market in Yuyao City, China [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019,26(11):11224-11233.

[8] Liu E K, He W Q, Yan C R. “White revolution” to “white pollution”—agricultural plastic film mulch in China [J]. Environmental Research Letters, 2014,9(9):091001.

[9] Liao J, Deng C, Chen Y, et al. Pollution levels, sources, and spatial distribution of phthalate esters in soils of the west lake scenic area [J]. Environmental Science, 2019,40(7):3378-3387.

[10] Zhang Q Q, Ma Z R, Cai Y Y, et al. Agricultural plastic pollution in China: Generation of plastic debris and emission of phthalic acid esters from agricultural films [J]. Environmental Science & Technology, 2021,55(18):12459-12470.

[11] Wang J, Chen G, Christie P, et al. Occurrence and risk assessment of phthalate esters (PAEs) in vegetables and soils of suburban plastic film greenhouses [J]. Science of the Total Environment, 2015,523:129-137.

[12] Niu LL, Xu Y, Xu C, et al. Status of phthalate esters contamination in agricultural soils across China and associated health risks [J]. Environmental Pollution, 2014,195:16-23.

[13] Chai C, Cheng H Z, Ge W, et al. Phthalic Acid Esters in Soils from Vegetable Greenhouses in Shandong Peninsula, East China [J]. PLoS ONE, 2014,9(4):e95701.

[14] Chen, L, Zhao, Y, Li, L X, et al. Exposure assessment of phthalates in non-occupational populations in China [J]. Science of the Total Environment, 2012,427:60-69.

[15] Nai-Xian Feng, Yu-Xi Feng, Qi-Feng Liang, et al. Complete biodegradation of di-n-butyl phthalate (DBP) by a novel *Pseudomonas* sp. YJB6 [J]. Science of The Total Environment, 2021, 761:143208.

[16] Bouchiat, R, Veignie, E, Grizard, D, et al. Ability of filamentous fungi to degrade four emergent water priority pollutants [J]. Desalin. Water Treat, 2015,57:853-860.

- [17] Liu L H, Zhang J Y, Tang G X, et al. Endophytic Phthalate-degrading *Bacillus subtilis* N-1-*gfp* colonizing in soil-crop system shifted indigenous bacterial community to remove di-n-butyl phthalate [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023,449:130993.
- [18] Li, S Q, Wang, L, Li, Y, et al. Biodegradation of Di-n-butyl phthalate in rhizosphere and growth-promoting effect of *Cucumis sativus* Linn. by a novel *Pseudomonas* sp. DNB-S1 [J]. *Ecotoxicology*, 2021,30(7):1454-1464.
- [19] Wang Y Y, Zhan W H, Ren Q, et al. Biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate by a newly isolated *Gordonia* sp. and its application in the remediation of contaminated soils [J]. *Science of the Total Environment*, 2019,689:645-651.
- [20] 徐燕星,程浩,胡小婕,等.固定化微生物对新污染物污染土壤的固碳消污作用 [J]. *中国环境科学*, 2024,44(11):6453-6463.
- Xu Y X, Cheng H, Hu X J, et al. Carbon sequestration and decontamination effects of char-based immobilized microorganisms in soils contaminated with emerging contaminants [J]. *China Environmental Science*, 2024,44(11):6453-6463.
- [21] 宋雪英,崔小维,李嘉康,等.邻苯二甲酸酯类塑化剂的土壤生态毒理学研究进展 [J]. *生态环境学报*, 2016,25(11):1885-1890.
- Song X Y, Cui X W, Li J K, et al. Research progress of phthalate plasticizers ecotoxicology on soil [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016,25(11):1885-1890.
- [22] Dorney J R, Weber J B, Overcash M R, et al. Plant uptake and soil retention of phthalic acid applied to Norfolk sandy loam [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1985,33(3):398-403.
- [23] Bascom-Slack C A, Arnold A E, Strobel S A. Student-directed discovery of the plant microbiome and its products [J]. *Science*, 2012,338(6106):485-486.
- [24] Feng N X, Yu J, Mo C, et al. Biodegradation of di-n-butyl phthalate (DBP) by a novel endophytic *Bacillus megaterium* strain YJB3 [J]. *Science of the Total Environment*, 2018,616:117-127.
- [25] Boll M, Geiger R, Junghare M, et al. Microbial degradation of phthalates: biochemistry and environmental implications [J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2020,12(1):3-15.
- [26] 韩永和,何睿文,李超,等.邻苯二甲酸酯降解细菌的多样性、降解机理及环境应用 [J]. *生态毒理学报*, 2016,11(2):37-49.
- Han Y H, He R W, Li C, et al. Phthalic acid esters-degrading bacteria: Biodiversity, degradation mechanisms and environmental applications [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016,11(2):37-49.
- [27] 杨婧,郭楚玲,刘沙沙,等.邻苯二甲酸酯降解菌的筛选、降解特性及土壤修复研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2018,37(5):933-940.
- Yang J, Guo C L, Liu S S, et al. Isolation and characterization of phthalate-degrading bacterial strain, and its application in phthalate-contaminated soil [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018,37(5):933-940.
- [28] Zhao H M, Hu R W, Du H, et al. Functional genomic analysis of phthalate acid ester (PAE) catabolism genes in the versatile PAE-mineralising bacterium *Rhodococcus* sp. 2G [J]. *Science of The Total Environment*, 2018,640:646-652.
- [29] Wu X, Wang Y, Liang R, et al. Degradation of di-n-butyl phthalate by newly isolated *Ochrobactrum* sp.[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2010,85(3):235-237.
- [30] 金德才.PAEs 降解菌的分离鉴定及其降解特性研究 [D]. 长沙:中南大学,2009.
- Jin Decai. Isolation, identification, and degradation characteristics of PAEs degrading bacteria [D]. Changsha: Central South University, 2009.
- [31] Wang J, Zhang M Y, Chen T, et al. Isolation and identification of a di-(2-ethylhexyl) phthalate-degrading bacterium and its role in the bioremediation of a contaminated soil [J]. *Pedosphere*, 2015,25(2):202-211.
- [32] Ren C Y, Wang Y Y, Wu Y N, et al. Complete degradation of di-n-butyl phthalate by *Glutamicibacter* sp. strain 0426with a novel pathway [J]. *Biodegradation*, 2023,35(1):87-99.
- [33] 王嘉翼,樊双虎,任超,等.一株黄色杆菌的分离鉴定及对邻苯二甲酸酯的降解研究 [J]. *生物技术通报*, 2018,34(10):157-164.
- Wang J Y, Fan S H, Ren C, et al. Isolation, identification, and degradation of phthalates by a yellow rod-shaped bacterium [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018,34(10):157-164.
- [34] 张可,陈强,陈伟,等.邻苯二甲酸二甲酯(DMP)降解菌的分离鉴定及降解特性 [J]. *安全与环境学报*, 2017,17(2):645-649.
- Zhang K, Chen Q, Chen W, et al. Isolation, identification, and degradation characteristics of dimethyl phthalate (DMP) degrading bacteria [J]. *Chinese Journal of Safety and Environment*, 2017,17(2):645-649.
- [35] Tang W J, Zhang L S, Fang Y, et al. Biodegradation of phthalate esters by newly isolated *Rhizobium* sp. LMB-1and its biochemical pathway of di-n-butyl phthalate [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2016,121(1):177-186.
- [36] 杨云,肖霞霞,陈小龙,等.一株植物内生枯草芽孢杆菌对6种邻苯二甲酸酯的共代谢降解 [J]. *江苏农业学报*, 2023,39(2):393-404.
- Yang Y, Xiao X X, Chen X L, etc. Co metabolism and degradation of six phthalates by an endophytic *Bacillus subtilis* strain [J]. *Jiangsu Agricultural Journal*, 2023,39(2):393-404.
- [37] Chen X, Zhang X L, Yang Y, et al. Biodegradation of an endocrine-disrupting chemical di-n-butyl phthalate by newly isolated *Camelimonas* sp. and enzymatic properties of its hydrolase [J]. *Biodegradation*, 2015,26(2):171-182.
- [38] Fan S H, Li C S, Guo J J, et al. Biodegradation of phthalic acid esters (PAEs) by *Bacillus* sp. LUNF1and characterization of a novel hydrolase capable of catalyzing PAEs [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2023,32:103269.
- [39] 王天竹.高效降解 DEHP 复合菌群的构建及降解特性研究 [D]. 长春:东北师范大学,2010.
- Wang T Z. Construction and Degradation Characteristics of Efficient DEHP Degradation Complex Bacteria [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2010.
- [40] Liu T F, Ning L X, Mei C Y, et al. Synthetic bacterial consortia enhanced the degradation of mixed priority phthalate ester pollutants [J]. *Environmental Research*, 2023,235:116666.
- [41] 赵暹.固定化混合菌 DP3 对农村污水邻苯二甲酸二丁酯降解效应研究 [D]. 保定:河北农业大学,2020.
- Zhao Xian. Study on the Degradation Effect of Fixed Mixed Bacteria DP3on Di-n-butyl Phthalate in Rural Wastewater [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2020.

- [42] 赵真真. 微生物降解邻苯二甲酸酯的途径和分子机理研究 [D]. 北京: 北京科技大学, 2022.
Zhao Zhenzhen. Pathway and Molecular Mechanism of Phthalic Acid Esters Biodegradation by Microbe [D]. Beijing: University of Science and Technology Beijing, 2022.
- [43] 马永见. 降解邻苯二甲酸酯的固体复合菌剂制备及其降解特性研究 [D]. 镇江: 江苏科技大学, 2016.
Ma Yongjian. Study on preparation and degradation characteristics of solid composite agents of phthalic acid ester degradation [D]. Zhenjiang: Jiangsu University of Science and Technology, 2016.
- [44] 段星春, 易筱筠, 杨晓为, 等. 两株邻苯二甲酸二丁酯降解菌的分离鉴定及降解特性的研究 [J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(6): 1937-1941.
Duan X C, Yi X Y, Yang X W, et al. Isolation and characterization of two di-n-butyl phthalate degrading bacteria [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2007, 26(6): 1937-1941.
- [45] 潘琪, 孙淑, 周震峰. 2株邻苯二甲酸酯高效降解菌的筛选鉴定及其降解性能 [J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(10): 2354-2361.
Pan Q, Sun S, Zhou Z F. Isolation, identification, and biodegradation characteristics of two phthalic acid esters-degrading strains [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2019, 38(10): 2354-2361.
- [46] Shree YV, Lakshmi PM, Reya I. Characterization and Molecular Identification of Poly Urethane Degrading Bacteria [J]. Journal of Pure Applied Microbiology, 2021, 15(3): 1291-1300.
- [47] 陈旭. 邻苯二甲酸酯降解微生物的筛选及固定化、水解酶基因的克隆和酶学性质研究 [D]. 南京: 南京大学, 2015.
Chen Xu. Biodegradation of an endocrine-disrupting chemical di-n-tyl phthalate by immobilized *Camelimonas* sp. and enzymatic properties of its hydrolase [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2015.
- [48] Ye D M, Yang H, Xu T T, et al. Underlying degradation of phthalates via microbials in dust from different microenvironments [J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(26): 9744-9753.
- [49] 黄蕾, 李媛媛, 何爱民, 等. 废弃烟叶中产细菌纤维素菌株的筛选鉴定及混菌发酵工艺优化 [J]. 中国酿造, 2024, 43(9): 92-98.
Huang L, Li YY, He AM, et al. Screening and identification of bacterial cellulose-producing strains from waste tobacco leaves and optimization of mixed-strains fermentation process [J]. China Brewing, 2024, 43(9): 92-98.
- [50] Ogawa G, Ishida M, Urano N. Isolation and identification of dibutyl phthalate-degrading bacteria from hydrospheres in Tokyo [J]. Journal of General Applied Microbiology, 2009, 55(4): 261-265.
- [51] 陆雯逸, 王泽铭, 左翔之, 等. 固定化菌剂对邻苯二甲酸酯的降解效能及途径 [J]. 中国环境科学, 2024, 44(3): 1584-1591.
Lu W Y, Wang Z M, Zuo X Z, et al. The degradation efficiency and pathways of phthalic acid esters by immobilized bacterial agent [J]. China Environmental Science, 2024, 44(3): 1584-1591.
- [52] Karamanev D G, Chavarie C, Samson R. Soil immobilization: new concept for biotreatment of soil contaminants [J]. Biotechnology and Bioengineering, 2015, 57(4): 471-476.
- [53] 黄双, 顾恒, 邓冬梅, 等. 微生物固定化技术及在废水处理中的应用 [J]. 现代化工, 2024, 44(6): 65-69.
Huang S, Gu H, Deng DM, et al. Microbial immobilization technology and its application in wastewater treatment [J]. Modern Chemical Industry, 2024, 44(6): 65-69.
- [54] 张小红, 陶红, 王亚娟, 等. 固定化微球降解土壤中PAEs效果及影响因素 [J]. 生物技术通报, 2021, 37(1): 223-233.
Zhang X H, Tao H, Wang Y J, et al. Effect and Influencing Factors of Immobilized Microspheres on Degradation of Phthalate Esters in Soil [J]. Biotechnology Bulletin, 2021, 37(1): 223-233.
- [55] Wu X L, Liang R X, Dai Q Y, et al. Complete degradation of di-n-octyl phthalate by biochemical cooperation between *Gordonia* sp. strain JDC-2 and *Arthrobacter* sp. strain JDC-3 isolated from activated sludge [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 176(1-3): 262-268.
- [56] 包雯静. 多功能合成微生物群落 YJ-1 的构建及在土壤修复的应用研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023.
Bao Wenjing. Construction of multifunctional synthetic microbial community YJ-1 and its application in soil remediation [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2023.
- [57] Feng F, Chen X, Wang Q, et al. Use of *Bacillus-siamensis* inoculated biochar to decrease uptake of dibutyl phthalate in leafy vegetables [J]. Journal of Environmental Management, 2020, 253: 109636.
- [58] 张帅, 王建, 马俊超, 等. 邻苯二甲酸酯降解功能内生菌群的筛选及定殖效能 [J]. 中国环境科学, 2024, 44(3): 1554-1561.
Zhang S, Wang J, Ma J, et al. Screening and colonization efficiency of phthalate degrading functional endophytic flora [J]. China Environmental Science, 2024, 44(3): 1554-1561.
- [59] Guan R, Wang L, Zhao Y, et al. The mechanism of DEHP degradation by the combined action of biochar and *Arthrobacter* sp. JQ-1: Mechanisms insight from bacteria viability, degradation efficiency and changes in extracellular environment [J]. Chemosphere, 2023, 341: 140093.
- [60] 李雨娥. 污水厂 PAEs 污染对微生物群落的影响及其生物降解研究 [D]. 西安: 西安工程大学, 2021.
Li Yu'e. Effect of PAEs pollution on microbial community and its biodegradation in wastewater treatment plant [D]. Xi'an: Xi'an Polytechnic University, 2021.
- [61] Ren L, Wang G, Huang Y, et al. Phthalic acid esters degradation by a novel marine bacterial strain *Mycolicobacterium phocaicum* RL-HY01: Characterization, metabolic pathway and bioaugmentation [J]. Science of the Total Environment, 2021, 791: 148303.
- [62] Chen X P, Xu S S, Tan T F, et al. Toxicity and estrogenic endocrine disrupting activity of phthalates and their mixtures [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2014, 11(3): 3156-3168.
- [63] Hsu P C, Kuo Y T, Guo Y L, et al. The adverse effects of low-dose exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate during adolescence on sperm function in adult rats [J]. Environmental Toxicology, 2016, 31(6): 706-712.
- [64] 蒋宇红, 黄霞, 俞毓馨. 几种固定化细胞载体的比较 [J]. 环境科学, 1993, (2): 11-15, 92.
Jiang Y H, Huang X, Yu Y X. Comparison of Several Fixed Cell Carriers [J]. Environmental Science, 1993, (2): 11-15, 92.
- [65] Hou Z Y, Pan H J, Gu M J, et al. Simultaneously degradation of various phthalate esters by *Rhodococcus* sp. AH-ZY2: Strain, omics

- and enzymatic study [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024,474:134776.
- [66] Xu Y Q, Minhazul K A H M, Wang X C, et al. Biodegradation of phthalate esters by *Paracoccus kondratievae* BJQ0001 isolated from Jiuqu (Baijiu fermentation starter) and identification of the ester bond hydrolysis enzyme [J]. *Environmental Pollution*, 2020,263:114506.
- [67] Feng N X, Feng Y X, Liang Q F, et al. Complete biodegradation of di-n-butyl phthalate (DBP) by a novel *Pseudomonas* sp. YJB6 [J]. *Science of The Total Environment*, 2021,761:143208.
- [68] 骆祝华,黄翔玲,叶德赞.环境内分泌干扰物——邻苯二甲酸酯的生物降解研究进展 [J]. *应用与环境生物学报*, 2008,14(6):890-897.
- Luo Z H, Huang X L, Ye D Z, et al. Advances in research of biodegradation of environmental endocrine disruptors-phthalate esters [J]. *Chinese Journal Applied and Environmental Biology*, 2008,14(6):890-897.
- [69] Chatterjee S, Dutta T K. Metabolism of butyl benzyl phthalate by *Gordonia* sp. strain MTCC 4818 [J]. *Bio-chemical and Biophysical Research Communications*, 2003,309(1):36-43.
- [70] Shi Y M, Tyson G W, DeLong E F. Metatranscriptomics reveals unique microbial small RNAs in the ocean's water column [J]. *Nature*, 2009,459(7244),266-U154.
- [71] 范琳琳.功能微生物菌剂对邻苯二甲酸二丁酯污染土壤的修复研究 [D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2023.
- Fan LL. Study on the remediation of soil contaminated with dibutyl phthalate by functional microbial agents [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2023.
- [72] Wang Y, Li F, Ruan X, et al. Biodegradation of di-n-butyl phthalate by bacterial consortium LV-1enriched from river sludge [J]. *PLoS One*, 2017,12(5):e178213.
- [73] Rosenblueth M, Martínez-Romero E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2006,19(8):827-837.
- [74] Santoyo G, Moreno-Hagelsieb G, del Carmen Orozco-Mosqueda M, et al. Plant growth-promoting bacterial endophytes [J]. *Microbiological Research*, 2016,183:92-99.
- [75] Zhang X Y, Fan X, Qiu Y J, et al. Newly Identified Thermostable Esterase from *Sulfobacillus acidophilus*: Properties and Performance in Phthalate Ester Degradation [J]. *ASM Journals Applied and Environmental Microbiology*, 2014,80(22):6870-6878.
- [76] Habe H, Miyakoshi M, Chung J, et al. Phthalate catabolic gene cluster is linked to the angular dioxygenase gene in *Terrabacter* sp. strain DBF63 [J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2003,61(1):44-54.
- [77] Xu Y Q, Liu X, Zhao J R, et al. An efficient phthalate ester-degrading *Bacillus subtilis*: degradation kinetics, metabolic pathway, and catalytic mechanism of the key enzyme [J]. *Environmental Pollution*, 2021,273:116461.
- [78] Zhou Q, Wu Z, Cheng S, et al. Enzymatic activities in constructed wetlands and di-n-butyl phthalate (DBP) bio-degradation [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005,37(8):1454-1459.
- [79] 董芮萌,王佳瑶,朱梦卓,等.内生菌对镉和盐单一及复合胁迫下水稻幼苗生长及生理特性的影响 [J]. *安徽农业科学*, 2021,49(19):31-34.
- Dong R M Wang J Y, Zhu M Z, et al. Effects of Endophytes on Growth and Physiological Characteristics of Rice Seedlings under Single and Combined Stresses of Cadmium and Salt [J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2021,49(19):31-34.

作者简介: 陈健琴(2002-)女,江西景德镇人,南京农业大学硕士研究生,主要从事土壤有机污染控制方向研究.18867916416@163.com.