

## · 综 述 ·

**吕镇梅** 浙江大学教授, 博士生导师。国家自然科学基金优秀青年基金、浙江省自然科学杰出青年基金获得者。中国微生物学会环境微生物专业委员会委员、中国微生物学会微生物教学工作委员会委员、浙江省微生物学会副理事长、浙江省生态学会副理事长。主要从事环境微生物研究, 在转化或分解有机污染物的环境功能微生物资源挖掘、功能微生物的代谢机制与调控、功能微生物菌剂的应用技术及典型污染环境的微生物群落结构和功能基因多样性分析方面取得优秀成果。在 *The ISME Journal*、*Applied and Environmental Microbiology*、*Water Research* 及 *Environmental Science & Technology* 等环境科学领域的国际主流刊物上发表 SCI 论文 60 余篇。



# 细菌降解邻苯二甲酸酯的研究进展

沈思, 王晓瑜, 王海霞, 任浩, 吕镇梅

浙江大学 生命科学学院 生命系统稳态与保护教育部重点实验室, 浙江 杭州 310058

沈思, 王晓瑜, 王海霞, 等. 细菌降解邻苯二甲酸酯的研究进展. 生物工程学报, 2019, 35(11): 2104-2120.

Shen S, Wang XY, Wang HX, et al. Advances in biodegradation of phthalates esters. Chin J Biotech, 2019, 35(11): 2104-2120.

**摘 要:** 邻苯二甲酸酯 (Phthalates esters, PAEs) 是一类混合在塑料中以增强其可塑性和多功能性的有机化合物。同时, PAEs 也是一种典型环境内分泌干扰物, 长期生产和使用塑料制品已对环境和生物体乃至人类身体健康造成危害。研究发现微生物降解已成为削减环境中 PAEs 的主要途径。文中对近年来国内外在 PAEs 的结构及分类、毒理学效应、在环境中的污染状况、细菌降解的菌株多样性、降解途径及分子机制等方面的相关研究进行了总结与回顾, 以期对解决 PAEs 的污染问题提供参考。

**关键词:** 邻苯二甲酸酯 (PAEs), 环境污染, 降解途径, 降解分子机制

## Advances in biodegradation of phthalates esters

Si Shen, Xiaoyu Wang, Haixia Wang, Hao Ren, and Zhenmei Lü

MOE Laboratory of Biosystem Homeostasis and Protection, College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang, China

**Abstract:** Phthalates esters (PAEs) are important organic compounds used as plasticizers to enhance their plasticity and versatility. At the same time, PAEs are also typical environmental endocrine disruptors. Long-term production and use of plastic products have caused harm to the environment and organisms, as well as human health. Previous studies found that

**Received:** May 8, 2019; **Accepted:** June 19, 2019

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (No. 41721001).

**Corresponding author:** Zhenmei Lü. Tel: +86-571-88206279; E-mail: lzhenmei@zju.edu.cn

国家自然科学基金 (No. 41721001) 资助。

biodegradation has become a main pathway to reduce PAEs in the environment. This article reviews PAEs' structural characteristics and classifications, toxicology, pollution in the environment, summarizes the diversity of PAEs-degrading bacterial species, and explores the possible mechanisms of bacterial PAEs degradation. The article may provide some reference in solving the problem of PAEs pollution.

**Keywords:** phthalates esters (PAEs), environmental pollution, degradation pathways, degradation molecular mechanisms

邻苯二甲酸酯 (Phthalates esters, PAEs), 俗称酞酸酯, 是一类由邻苯二甲酸酐与相应醇类在酸催化剂作用下通过酯化反应生成的有机化合物<sup>[1]</sup> (图 1)。通常为无色透明油状黏稠液体, 难溶于水, 易溶于甲醇、乙醚等有机溶剂<sup>[2]</sup>。PAEs 也是一种典型的环境内分泌干扰物, 在环境中性质稳定, 难降解, 存留时间长。环境介质中残留的 PAEs 不仅对生态系统造成危害, 而且直接影响动植物生长, 同时在动植物体内富集积累, 通过食物链传递, 危害人类健康<sup>[1,3]</sup>。大量研究表明, PAEs 对人体具有肝肾毒性、生殖毒性和“三致”毒性, 长时间暴露于 PAEs, 会增加妊娠风险, 出现癌症、畸形以及内分泌系统紊乱等现象<sup>[4-6]</sup>。目前 PAEs 已成为全球性最普遍的一类有机污染物之一, 因在环境中被普遍检出而被称为第二个全球性“多氯联苯 (Polychlorinated biphenyl, PCB) 污染物”<sup>[7]</sup>。目前, 我国 PAEs 使用量大且范围广, 由此带来的环境和健康问题日趋突出。

## 1 PAEs 化合物结构特征及分类

PAEs 是 1,2-苯二羧酸的酯类 (图 1), 根据侧链的数量和与碱性苯基基团连接的烷基或芳基的

不同而形成多种结构 (表 1)。1,2-苯二甲酸酯类的 3 种异构形式 (邻位、对位和间位) 构成增塑剂的主要类别 (图 2)。其中邻苯二甲酸酯类占主要份额, 根据其碳链的长度又可分为碳链具有 7-13 个碳原子的高分子量 (High molecular weight, HMW) PAEs 和具有 3-6 个碳原子的低分子量 (Low molecular weight, LMW) PAEs<sup>[5]</sup>。常见的 HMW PAEs 有邻苯二甲酸二异癸酯 (DIDP)、邻苯二甲酸二异壬酯 (DINP)、邻苯二甲酸二丙基庚酯 (DPHP) 和邻苯二甲酸二异癸酯 (DTDP) 等, 在工业上广泛用作能增加产品柔软度、伸长率的增塑剂和耐久性的刚性聚合物 (如聚氯乙烯 (PVC))<sup>[8]</sup>。LMW PAEs 包括邻苯二甲酸二正丁酯 (DBP)、邻苯二甲酸二异丁酯 (DIBP)、邻苯二甲酸丁基苄酯 (BBP) 和邻苯二甲酸二 (2-乙基己) 酯 (DEHP) 等, 用于 PVC 产品、医疗器械、粘合剂、油漆、油墨和肠溶片等。邻苯二甲酸二甲酯 (DMP) 和邻苯二甲酸二乙酯 (DEP) 在其烃链上分别具有 1 个和 2 个碳原子, 因而不属于这两组, 不能用作增塑剂, 但广泛用作香料、化妆品添加剂和个人护理产品中的溶剂和固定剂<sup>[9-14]</sup>。对苯二甲酸酯类和间苯二甲酸酯类主要用于制造工

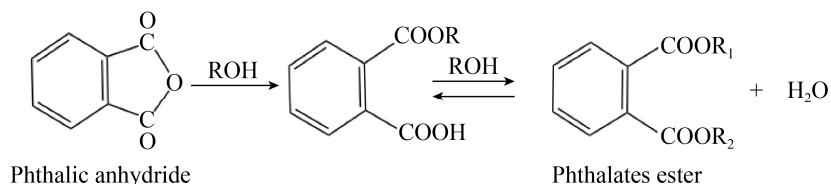


图 1 邻苯二甲酸酐与醇 (ROH) 之间的反应生成邻苯二甲酸酯和邻苯二甲酸酯的一般结构 (R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 可以是相同或不同的烷基或芳基)<sup>[2]</sup>

Fig. 1 The reaction between the phthalic anhydride and an alcohol (ROH) to produce a phthalate ester and general structure of phthalates (R and R' may be the same or different alkyl or aryl groups)<sup>[2]</sup>.

表 1 典型的 PAEs 及其分子式

Table 1 Typical phthalates esters and their molecular formulae

Name of compound	Abbreviation	Molecular formulae	Molecular weight (g/mol)
Dimethyl phthalate	DMP	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	194.2
Diethyl phthalate	DEP	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	222.2
Di- <i>n</i> -propyl phthalate	DPrP	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	250.3
Dibutyl phthalate	DBP	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278.4
Di-isobutyl phthalate	DIBP	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278.3
Di- <i>n</i> -pentyl phthalate	DNPP	C <sub>18</sub> H <sub>26</sub> O <sub>4</sub>	306.4
Benzyl butyl phthalate	BBP	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	312.4
Di (2-ethylhexyl) phthalate	DEHP	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	390.6
Di- <i>n</i> -octyl phthalate	DOP	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	390.6
Di- <i>n</i> -hexyl phthalate	DHP	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub>	334.5
Di-isoheptyl phthalate	DIHP	C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	363.0
Di-isononyl phthalate	DINP	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	418.6
Di-isodecyl phthalate	DIDP	C <sub>28</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	446.7
Di (2-propylheptyl) phthalate	DPHP	C <sub>28</sub> H <sub>46</sub> O <sub>4</sub>	446.7
Diisoundecyl phthalate	DIUP	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>4</sub>	447.7
Diisotridecyl phthalate	DTDP	C <sub>34</sub> H <sub>58</sub> O <sub>4</sub>	530.8

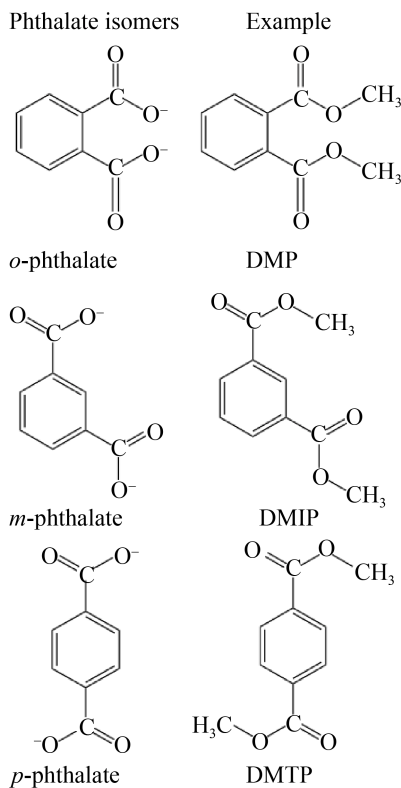


图 2 邻苯二甲酸盐的邻位、间位和对位异构体  
Fig. 2 Ortho, meta and para isoforms of phthalates.

业中合成各种聚酯的单体。例如，对苯二甲酸二甲酯 (DMTP) 和间苯二甲酸二甲酯 (DMIP) 主要用于工业生产纤维、电容器和薄膜等<sup>[15]</sup>。

## 2 PAEs 的毒理学效应

随着 PAEs 被广泛使用和在其机体内不断蓄积，其负效应也日渐凸显。研究显示，PAEs 对土壤生态系统各类生物体具有生态毒性。例如，对土壤微生物的群落结构、种群数量和活性均产生影响，从而影响土壤的正常功能；对土壤生态系统的主要动物类群——蚯蚓具有一定毒性，但急性毒性较低，主要体现在生殖系统；对植物具有遗传毒性，并对其一些生理生化指标产生相应的毒性效应<sup>[16]</sup>。另外，PAEs 作为一种环境内分泌干扰物，对人体内分泌系统具有影响，还具有生殖毒性、免疫毒性和致癌毒性<sup>[17]</sup>。Xu 等<sup>[18]</sup>将雌性大鼠持续 60 d 暴露于 B[a]P (5、10 mg/kg)、DEHP (300、600 mg/kg)、B[a]P+DEHP (5 mg/kg+300 mg/kg 和 10 mg/kg+600 mg/kg) 三种条件下，发现 B[a]P 和 DEHP 会

抑制雌鼠卵巢激素分泌,降低卵巢滤泡内环境稳态,并导致粒层细胞凋亡。长期暴露于 DEHP 会引发大小鼠的肝癌,增加雄性小鼠睾丸 Leydig 细胞肿瘤和腺泡细胞腺瘤发生率以及增加雌性大鼠患乳腺癌、卵巢癌的风险<sup>[17,9-20]</sup>。

目前有关 PAEs 毒性效应的研究主要是动物实验结果,人体资料非常有限,并且对其毒性分子机制的研究还不够深入,大都停留在传统的毒理学研究方法,缺乏相关基因调控、信号转导、蛋白质组学等方面的深入研究。总之,PAEs 对生态环境和人体健康构成了极大的威胁,因此,如何有效去除环境中残留的 PAEs 将是本文重点综述的内容。

### 3 PAEs 在环境中的污染状况

PAEs 在各类塑料制品中主要通过氢键和范德华力结合在母体上,呈游离态,因而在生产、使用和处置过程中不可避免地随塑料产品迁移并不断释放到周边环境<sup>[21]</sup>。物理化学因素如温度、压力、pH 值、溶剂、有机化合物和辐射等都可能影响迁移速度(图 3)<sup>[4,15]</sup>。近年来,已有大量研究发现在大气、水体、河流沉积物、土壤等中存在不同程度 PAEs 污染。

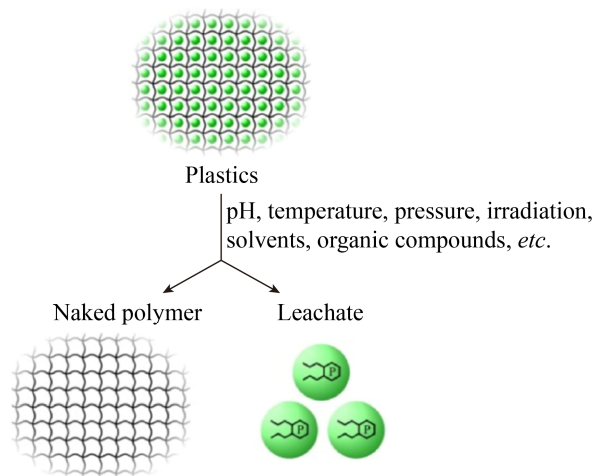


图 3 PAEs 从塑料中迁移到环境中的过程示意图<sup>[4]</sup>

Fig. 3 Schematic diagram of the process of the migrating PAEs into the environment from the embodiment of plastics<sup>[4]</sup>.

#### 3.1 我国大气中 PAEs 的污染状况

由于 PAEs 挥发性低,在大气中存在量有限,大气 PAEs 污染相对于水体和土壤污染较轻。但在空气和雨水中都检测到 PAEs,其主要通过工厂排放、塑料垃圾焚烧、汽车尾气、农膜和涂料的挥发进入大气中<sup>[22]</sup>。这些 PAEs 以气态分子的形式沉积并被直接吸附在大气悬浮颗粒上,且挥发受温度影响<sup>[23]</sup>。对天津市 7 个不同功能区春、夏、冬三季大气中 6 种 PAEs 进行调查,发现 DEHP 和 DBP 是主要污染物,工业区 PAEs 值最高为  $(135.9 \pm 202.8) \text{ ng/m}^3$ ,除 DOP 外其余 5 种 PAEs 浓度冬季高于夏季。在兰州市西固区和南京市也发现类似的污染情况<sup>[24-27]</sup>。由此可见,PAEs 在大气中的浓度受温度影响较大,且与环境温度成负相关。

#### 3.2 我国水体及沉积物中 PAEs 的污染状况

PAEs 已成为威胁我国水质资源安全的重要污染物之一。目前,在我国许多地表水和饮用水中检测出了 PAEs,例如在哈尔滨市饮用水源磨盘山水库和南京饮用水源的部分长江河段均检测出  $0\text{--}6.6 \text{ }\mu\text{g/L}$  PAEs<sup>[28]</sup>。我国长江、黄河和松花江等主要河流多处采样点 PAEs 浓度超出了国家规定的饮用水标准限值,其中长江中主要污染物 DBP 和 DEHP 浓度高达  $35.65 \text{ }\mu\text{g/L}$  和  $54.73 \text{ }\mu\text{g/L}$ <sup>[29]</sup>。太湖流域地表水和沉积物中 6 种 PAEs 总浓度范围分别为  $0.740\text{--}13.0 \text{ }\mu\text{g/L}$  和  $5.15\text{--}20.9 \text{ mg/kg}$ 。其中 DBP 和 DEHP 是地表水中主要污染物,平均浓度分别为  $1.59 \text{ }\mu\text{g/L}$  和  $1.29 \text{ }\mu\text{g/L}$ 。DOP 是沉积物中主要污染物,平均浓度为  $7.41 \text{ mg/kg}$ 。在重庆市典型岩溶区地下水中检出 19 种 PAEs 类污染物,DBP 和 DEHP 为主要污染物,检出浓度分别为  $5.92\text{--}1083.27 \text{ }\mu\text{g/L}$  和  $4.57\text{--}935.44 \text{ }\mu\text{g/L}$ ,远高出太湖水的 PAEs 污染程度,可见重庆市典型岩溶区地下水 PAEs 污染更为严峻<sup>[30]</sup>。调查沈阳市

城市河流细河和蒲河中 DEHP 污染状况, 发现位于仙女河污水处理厂 (接收了含 PAEs 污染物的工业废水) 下游 100 m 处采样点的 DEHP 浓度最高, 在河流沉积物中 DEHP 浓度高达 355 mg/kg (干重)。此外, 孟雪征等<sup>[31]</sup>调查上海市 25 个污水处理厂的活性污泥, 其中 DEHP 平均含量达到 97.4 mg/kg。

含 PAEs 废水的排放是水体 PAEs 的主要来源, 研究表明农膜、化肥及塑料中的 PAEs 经雨水冲洗和土壤浸润作用下最终也进入水体。此外, 大气干、湿沉降带来的 PAEs 也会进入水体<sup>[22]</sup>。另一方面, 由于 PAEs 水溶性差, 对固体颗粒、有机质具有较强的吸附性与亲和性, 因而逐渐迁移到水体沉积物中稳定存在并富集, 所以沉积物 PAEs 含量往往高于水体中 PAEs 浓度<sup>[32]</sup>。

### 3.3 我国土壤中 PAEs 的污染状况

当 PAEs 释放到环境中时易被土壤颗粒吸附, 此外, 大气迁移和沉积也显著促进 PAEs 在土壤中聚集, 因此土壤成了 PAEs 最终的“汇”<sup>[21]</sup>。世

界上大部分地区的土壤都存在 PAEs 污染<sup>[23]</sup>。城市土壤中 PAEs 主要源于增塑剂或添加剂的应用、化妆品和个人护理产品的使用及建筑材料和家庭装饰的排放等。农业土壤中 PAEs 污染主要源于农业塑料薄膜、城市生物固体、化肥农药和废水灌溉的应用<sup>[3]</sup>。近年来农用地膜栽培技术广泛推广, 使得 PAEs 对农业土壤的污染问题更为严峻。

我国不同地区土壤中 DBP、DEHP 及总 PAEs 的污染水平如表 2 所示。多数土壤 PAEs 含量高于欧美等国家, 其中福建省、广东省、新疆生产建设兵团土壤中 PAEs 污染水平最高。Niu 等<sup>[33]</sup>对我国各地区农田土壤和设施农业土壤的 123 个样本检测发现这些土壤均受到不同程度的 PAEs 污染, 检测到的 15 种 PAEs 总浓度范围为 75.0–6 369  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 平均值为 1 088  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 以 DBP 和 DEHP 污染为主, DMP、DEP、DOP 和 BBP 检测率则较低。“中国蔬菜之乡”山东省寿光镇是我国最大的蔬菜种植地区, 抽检该地区长期使用农膜栽培技术的 5 个蔬菜基地土壤样品, 发现 PAEs

表 2 中国不同地区土壤中 PAEs 的浓度 (mg/kg)<sup>[40]</sup>

Table 2 Concentration (mg/kg) of phthalic acid esters (PAEs) in the soil of different regions in China<sup>[40]</sup>

Location	Soil type (number of samples)	DBP			DEHP			$\Sigma$ PAEs(a)		
		Min	Max	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max	Mean
Beijing	Urban (30)	0.28	3.80	0.79	0.17	6.50	1.90	0.51	8.00	2.80
Shenyang	Agricultural (41)	0.18	0.88	0.44	0.19	0.58	0.27	0.52	1.73	0.94
Hebei	Agricultural (39)	0.35	0.054	0.045	0.066	0.26	0.14	0.19	0.46	0.29
Handan	Agricultural (4)	3.18	29.40	14.10	1.15	7.99	4.86	-	-	-
Harbin	Agricultural (4)	2.75	14.60	7.60	0.49	4.20	2.40	-	-	-
Xi'an	Urban (62)	0.08	1.71	0.52	0.04	17.2	0.76	0.19	19.10	1.37
South Xinjiang	Cotton (3)	11.2	57.70	28.30	104	149	129	124	1 233	-
Yangtze River Delta	Agricultural (241)	ND	1.50	0.095	ND	9.19	0.55	0.17 <sup>b</sup>	9.37 <sup>b</sup>	0.78 <sup>b</sup>
Shandong Peninsula	Vegetable (111)	0.016	15.70	1.47	0.073	5.32	1.46	1.94 <sup>c</sup>	35.4 <sup>c</sup>	6.75 <sup>c</sup>
Wuhan	Surface (4)	ND	0.12	0.06	0.20	0.46	0.32	0.29	1.23	0.68
Huzhou	Agricultural (74)	ND	0.34	0.02	ND	0.84	0.11	ND	1.10	0.16
Nanjing	Vegetable (127)	ND	1.83	0.21	0.021	9.03	1.82	0.15	9.68	2.26
Hangzhou	Vegetable (10)	0.14	0.35	0.21	0.81	2.20	1.48	1.90	4.36	2.75
Guangzhou	Agricultural (40)	0.009	2.74	0.34	0.11	29.40	1.76	0.20 <sup>c</sup>	33.6 <sup>c</sup>	2.57 <sup>c</sup>
Guilin	Agricultural (16)	ND	0.41	0.13	ND	0.58	0.25	0.001	1.17	-

a: sum concentration of six USEPA priority PAEs, i.e., DMP, DEP, DBP, BBP, DOP and DEHP; b: sum concentration of 15 PAE compounds, including six US EPA priority PAEs; c: sum concentration of 16 PAE compounds, including six US EPA priority PAEs.



含量高达 33.39 mg/kg, 显著高于我国其他地区设施菜地土壤 PAEs 浓度<sup>[34]</sup>。另外, 耕地土壤 PAEs 水平要远高于荒地, 并且邯郸潮土中 PAEs 浓度高于哈尔滨黑土<sup>[35]</sup>。考察中国东北三江平原 3 种不同栽培方式下 6 种 PAEs 总浓度, 发现稻田 (532.1±198.1 μg/kg) > 菜地 (308.2±87.5 μg/kg) > 豆田 (268.2±48.3 μg/kg)<sup>[36]</sup>。因此不同的耕作方式和剧烈的人类活动也影响着农业土壤 PAEs 的分布格局。

城市土壤中 PAEs 的污染问题也逐渐引起关注。研究发现西安市城市土壤中 6 种 PAEs 总浓度在 193.0–19 146.4 μg/kg 范围内变化, 平均值为 1 369.3 μg/kg, 根据污染特征发现磁化率 (材料中产生的磁化强度与产生磁化的磁场强度之比)、土壤质地和不同功能区是影响城市土壤中 PAEs 浓度的重要因素<sup>[37]</sup>。与国内其他城市土壤相比, 杭州市西湖景区土壤总 PAEs 浓度低于广州和北京市, 高于重庆市和西安市, 因此高密度人为活动和城市化进程也是 PAEs 污染的原因<sup>[38]</sup>。另外还有降雨和季节性变化也会影响土壤中 PAEs 的分布, 因此, 有必要对影响土壤中 PAEs 分布的因素进行全面研究, 以便为 PAEs 污染土壤提供合适的修复途径<sup>[39]</sup>。

## 4 细菌降解 PAEs 的研究进展

PAEs 降解包括水解、光降解和微生物降解等过程<sup>[21]</sup>。自然环境中水解和光降解微弱且速率缓慢, 微生物降解被认为是 PAEs 在环境中消减的主要途径。长期受 PAEs 污染的土壤逐渐驯化出 PAEs 降解微生物, 其中细菌因具有良好的 PAEs 耐受性和降解能力, 可以单独或作为菌群来参与 PAEs 的降解过程, 成为 PAEs 生物降解研究的重要对象。目前国内外就 PAEs 细菌降解主要开展了以下 3 个方面的工作: 1) PAE 高效降解菌/菌群的筛选与鉴定; 2) 细菌降解 PAEs 途径的研究; 3) 细菌降解 PAEs 的降解机制。

### 4.1 单菌对 PAEs 的降解

过去 40 年中, 研究人员和笔者从农田、垃圾填埋场、红树林湿地等土壤、各种水体及其沉积物、污水处理厂活性污泥等样品中筛选获得大量 PAEs 降解菌并进行了种属鉴定, 有超过 80 个降解菌株 (涵盖 36 个属) 得到了详细的研究与报道, 主要有鞘氨醇单胞菌 *Sphingomonas*、节杆菌 *Arthrobacter*、假单胞菌 *Pseudomonas*、红球菌 *Rhodococcus* 和丛毛单胞菌 *Comamonas* 等菌属<sup>[41]</sup>。已报道的从环境中分离出的典型好氧 PAEs 降解菌如表 3 所示。

总体来看, 不同菌株的 PAEs 降解能力不同, 且降解效率受自身基因编码蛋白和多种环境因素影响。大多数降解菌具有高效降解能力和环境适应性, 可以耐受 500–2 000 mg/L 甚至更高浓度的 PAEs (表 3)。然而, 实际环境中污染物浓度往往较低 (大多低于 mg/L), 导致无法诱导菌株功能性酶的表达; 而且较低浓度的污染物进一步导致其生物利用率太低而不能维持细菌细胞正常生长, 两者都使得细菌降解 PAEs 困难<sup>[60–61]</sup>。目前关于菌株对低浓度 PAEs 降解能力的研究较少, 后期针对该问题的研究将有助于 PAEs 污染土壤的生物修复。

由于自然环境中往往同时存在多种 PAEs 的污染<sup>[62]</sup>, 在长期演变过程中细菌进化出对多种 PAEs 的降解能力。例如菌株甲基芽孢杆菌属 *Methylobacillus* sp. V29b、枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* 3C3、壤霉菌属 *Agromyces* sp. MT-O、烷源戈登氏菌 *Gordonia alkanivorans* YC-RL2、分枝杆菌属 *Mycobacterium* sp. YC-RL4、戈登氏菌 *Gordonia* sp. QH-11、*Gordonia* sp. Dop5 和荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* FS1 等都可高效降解 4 种及以上的 PAEs (表 3)。此外, 对 PAEs 混合物的细菌降解也进行了研究。梭菌属 *Camelimonas* sp. M11 可同时降解浓度为 100 mg/L 的 DBP、DEP、

表 3 典型的好氧降解菌株及其降解特性<sup>[1]</sup>Table 3 Typical aerobic PAEs-degrading bacteria strains and their characteristics<sup>[1]</sup>

Strains	Substrate (substrate profile)	Degradation efficiency (degradation rate, time, PAEs concentration)	References
<i>Delftia</i> sp. TBKNP-05	DMP	100%, 5 d, 10 mmol/L	[42]
<i>Sphingobium</i> sp. TJ	DBP	100%, 32 h, 100 mg/L	[43]
<i>Acinetobacter</i> sp. SN13	DEHP	90%, 5 d, 400 mg/L	[44]
<i>Providencia</i> sp. 2D	DBP	100%, 3 d, 200 mg/L	[45]
<i>Camelimonas</i> sp. M11	DBP (DEP, DPrP, DnPP)	44%, 72 h, 0.1 mmol/L	[46]
<i>Methylobacillus</i> sp. V29b	DBP (DEP, BBP, DOP, DIDP)	70.5%, 8 d, 2 000 mg/L	[47]
<i>Pseudomonas</i> sp. V21b	DBP (DEP, DOP, DIDP)	57%, 8 d, 1 994 mg/L	[48]
<i>Bacillus subtilis</i> 3C3	DEP (DMP, DPrP, DBPP, BBP)	98%, 10 h, 100 mg/L	[49]
<i>Agromyces</i> sp. MT-O	DEHP (DMP, DEP, DBP, DOP)	90%, 4 d, 200 mg/L	[50]
<i>Gordonia alkanivorans</i> sp. YC-RL2	DEHP (DCP, DEP, DMP, DBP)	99.4%, 7 d, 100 mg/L	[51]
<i>Mycobacterium</i> sp. YC-RL4	DEHP (DCHP, DBP, DEP, DMP)	100%, 5 d, 50 mg/L	[52]
<i>Rhodococcus</i> sp. WJ4	DEHP (DBP, DOP)	96.4%, 7 d, 200 mg/L	[53]
<i>Gordonia</i> sp. QH-11	DBP (DMP, DEP, DOP, DIOP, DEHP)	100%, 45 h, 750 mg/L	[54]
<i>Gordonia</i> sp. Dop5	DOP (DMP, DEP, DBP, DEHP, BBP, DPP)	100%, 40 h, 750 mg/L	[55]
<i>Pseudomonas fluorescences</i> FS1	PAEs (DMP, DEP, DBP, DIBP, DOP, DEHP)	> 99%, 3 d, 100 mg/L	[56]
<i>Burkholderia pyrrocinia</i> B1213	DEHP	98.05%, 144 h, 500 mg/L	[57]
<i>Sphingomonas yanoikuyae</i> DOS01	DMP	100%, 35 h, 1 000 mg/L	[58]
<i>Pseudomonas</i> sp. DNE-S1	DEP	97.8%, 24 h, 500 mg/L	[59]

DPP 和 DNPP 共 4 种 PAEs 的混合物, 72 h 内降解效率分别为 56%、72%、87% 和 28%<sup>[46]</sup>。*Mycobacterium* sp. YC-RL4 可在 5 d 内高效降解含 DEHP、DBP、DEP、DMP 和 DCHP 的混合物, 且降解率均在 90% 以上<sup>[52]</sup>。漠海威芽孢杆菌 *Bacillus mojavensis* B1811 可对 7 种 PAEs 混合物进行有效生物降解, 且由于酯酶的特异性, 4 d 内完全降解 DEHP、DBP、BBP、DNOP、DPP, 而 DMP、DEP 的降解率分别为 94.1% 和 57.1%<sup>[63]</sup>。同时, 研究发现有些菌株在逆境条件下也能很好发挥降解能力, 一种耐有机溶剂的菌株 *Bacillus subtilis* 3C3 能在 Tween-80 (作为增溶剂) 存在下快速降解一系列高浓度的短链 PAEs<sup>[49]</sup>。从石油污染土壤中分离获得的 *Gordonia alkanivorans* YC-RL2 能在 0–5% (W/V) 盐度范围内生长和降解 DEHP<sup>[51]</sup>。但是, 这些具备多底物降解、抵御逆境胁迫能力的高效降解菌株仅是少数, 研究人员仍需从自然环境中分离筛选或人工改造获得更多性能优良的新降解菌, 以丰富菌

株资源和提高生物修复 PAEs 污染土壤的潜能。

#### 4.2 混合菌群对 PAEs 的降解

PAEs 完全矿化需要不同的代谢基因和酶, 个别细菌能够单独完成这一过程不需要其他菌株的协作。但是, 在自然环境中细菌往往以菌群形式存在, 通过协同作用来完全降解 PAEs 为自身提供能量。目前研究的 PAEs 降解菌群主要分为两种, 一是以 PAEs 为底物从环境样品中富集得到的菌群。例如, He 等<sup>[64]</sup>从污水处理厂活性污泥中富集到一个降解 DBP 的天然菌群 HD-1, 能耐受高浓度 DBP, 在 48 h 内降解 90% 的 1 200 mg/L DBP, 降解效果高于已报道的纯菌和组合菌群。二是人工构建菌群, 根据菌株来源不同, 又可分为从一个自然菌群中分离出单个降解菌组合成特定菌群和来自不同菌群的单个降解菌组合成的菌群。类芽孢杆菌属 *Paenibacillus* sp. S-3 和 *Paenibacillus* sp. H-2 是分离自同一菌群的单菌, 能在 48 h 内将 100 mg/L DBP 分别降解 45.5% 和

71.7%。其中菌株 S-3 缺乏 3,4-邻苯二甲酸酯双加氧酶, 只能将 DBP 转化为中间代谢产物邻苯二甲酸 (PA), 而菌株 H-2 能完全矿化 DBP。当两者共培养时, 在 60 h 内能将 100 mg/L DBP 完全降解。最重要的是, 共代谢增加了 3,4-邻苯二甲酸酯双加氧酶的活性, 加速 DBP 的降解<sup>[65]</sup>。Wu 等<sup>[66]</sup>从活性污泥中分离出 *Gordonia* sp. JDC-2 和 *Arthrobacter* sp. JDC-32, 菌株 JDC-2 能迅速将 DOP 降解为 PA, 因无法进一步降解使得 PA 在培养基中积累, 而菌株 JDC-32 能降解 PA 但不降解 DOP, 两者共培养克服了单菌的降解限制而能完全降解 DOP。Chatterjee 和 Dutta<sup>[67]</sup>发现不同来源的菌株 *Gordonia* sp. MTCC 4818 和 *Arthrobacter* sp. WY 都能单独利用 BBP 为唯一碳源生长, 但无法完全矿化 BBP, 菌株 MTCC 4818 仅能利用 BBP 水解产生的醇, 导致中间产物邻苯二甲酸单丁酯 (MBuP)、邻苯二甲酸单苄酯 (MBzP) 和 PA 的积累, 而菌株 WY 降解 BBP 十分缓慢, 它的生长主要是利用 PA。通过共培养克服了单个菌株在代谢 BBP 中的局限性, 72 h 内完全降解了 BBP。笔者也从同一菌群中发现一株降解菌 *Arthrobacter* sp. ZMO5 和一株非降解菌不动杆菌属 *Acinetobacter* sp. ZMO6, 在重金属胁迫的逆境条件下两者共培养缩短了延滞期, 比降解菌单独降解 DPrP 的效率提高了大约一倍。

虽然人工组合菌群在一定程度上能克服部分单菌的代谢限制, 提高降解效率, 但是发现良好的组合菌群较为困难, 一般是在明确不同来源单菌的降解缺陷后进行取长补短。明确成功的组合菌群中单个菌株间如何发挥协同作用也将是研究者们需要探索的问题。此外, 人工组合菌群往往是在实验室培养条件下开发的, 菌株间可能缺乏其他方面的协作, 真正应用到自然环境中也很难维持稳定, 甚至因与土著微生物竞争处于劣势而被淘汰。而天然菌群已经适应了自然环境, 长久

以来也已建立了良好的协作关系, 更适合自然环境中的土壤修复。

### 4.3 PAEs 好氧降解途径

PAEs 代谢途径主要是在中间产物鉴定的基础上提出的, 可分为两个主要步骤 (图 4), PAEs 转化为 PA (I) 和 PA 的进一步利用 (II)。PAEs 转化为 PA 是代谢的关键步骤, 涉及两种反应: 1) 通过  $\beta$ -氧化、转酯化作用和脱酯化 (去甲基化) 作用减少侧链长度。其中, 侧链的减少将显著降低长侧链的空间效应。 $\beta$ -氧化作用是通过依次脱去 1 个乙基, 将侧链双酯基碳原子数大于 2 (侧链长于 DEP) 的 PAEs 转化为较短链 PAEs, 相关研究较少且并未在纯菌体系中得到验证<sup>[68]</sup>; 转酯化和脱酯化作用都发生在单侧酯基, 例如 DEP $\rightarrow$ EMP (邻苯二甲酸二乙基甲酯) $\rightarrow$ DMP, 这种单侧链酯基发生变化的代谢方式就是转酯化作用。脱酯化作用是将 PAEs 单侧或双侧酯基水解, 产生邻苯二甲酸单酯 (MAPs) 或直接代谢为 PA, 与侧链烷基变化无关, 这种代谢方式相较其他两种最常见且研究最透彻; 2) 酯键的水解是 PAEs 厌氧和好氧降解最常见的步骤, 最终产生 PA。脱酯化作用也涉及酯键的水解。由于长侧链对酶促反应的空间效应, 导致短链的水解比长链更容易<sup>[69]</sup>。此外, 多个酯键水解时没有特定的水解顺序。

PA 是 PAEs 生物降解过程的关键代谢产物, 可通过环裂解进一步降解, 并且在有无氧气条件下其代谢途径不同。在好氧条件下, PA 首先转化为另一种“中转站”——原儿茶酸 (Protocatechuate, PCA)。其中, 革兰氏阴性菌利用 4,5-邻苯二甲酸双加氧酶作用于 PA, 生成顺-4,5-二羟-4,5-二氢邻苯二甲酸酯 (*cis*-4,5-dihydroxy-4,5-dihydrophthalate), 再生成 4,5-双羟基邻苯二甲酸酯 (4,5-dihydroxyphthalate), 最后转化为 PCA (如图 4 中 a 途径)。而在革兰氏阳性菌中, 3,4-邻苯二甲酸双加氧酶作用于 PA, 依次生成顺-3,4-二羟-3,4-二氢邻苯二甲酸酯 (*cis*-3,4-



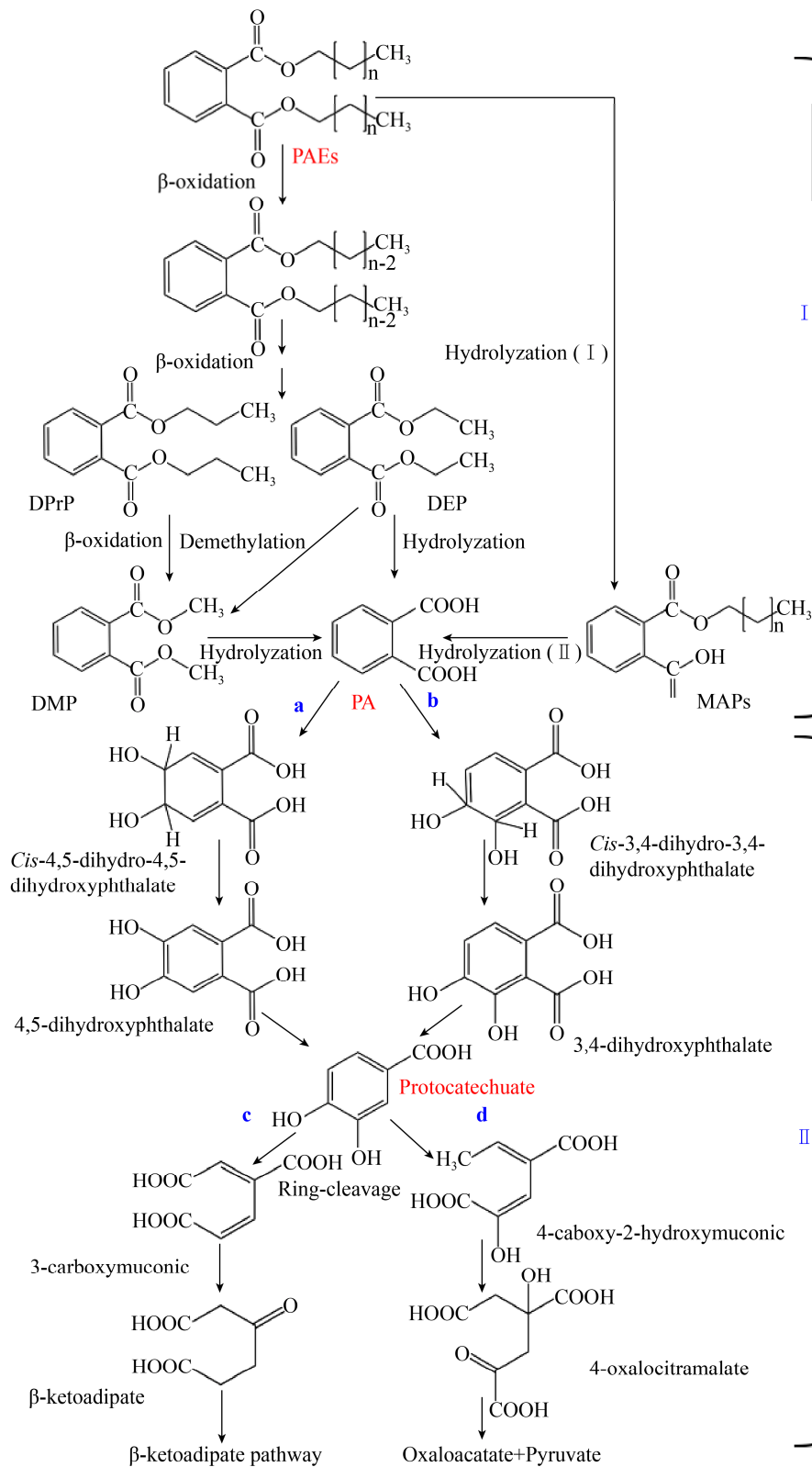


图 4 推测的细菌代谢 PAEs 的好氧降解途径<sup>[41,69-70]</sup>

Fig. 4 Proposed degradation pathway of PAEs by aerobic bacteria<sup>[41,69-70]</sup>.

dihydroxy-3,4-dihydrophthalate)和3,4-双羟基邻苯二甲酸酯(3,4-dihydroxyphthalate),再形成PCA(图4中**b**途径)。原儿茶酸的环裂解由内二醇环裂解双加氧酶或外二醇环裂解双加氧酶介导,分别产生3-羧基粘康酸或4-羧基-2-羟基粘康酸半醛,再将3-羧基粘康酸转化为 $\beta$ -酮己二酸并进入 $\beta$ -酮己二酸途径(图4中**c**途径);或将4-羧基-2-羟基粘康酸半醛分解成草酰乙酸和丙酮酸,最终进入三羧酸循环(图4中**d**途径)<sup>[41, 69-70]</sup>。

PAEs的单菌好氧降解一般遵循以下规律:1)侧链长度越长、越复杂(含支链),PAEs的微生物降解效率越低;2)PAEs降解遵循一级动力学方程<sup>[71]</sup>;3)生长曲线遵循Gompertz模型<sup>[57]</sup>;4)降解过程受菌株、PAEs浓度、温度、pH、微量重金属离子等多种因素影响<sup>[49, 59]</sup>;5)外源添加碳源或能源作为共代谢底物可显著提高PAEs降解效率<sup>[72]</sup>。

#### 4.4 厌氧降解途径

自然环境中绝大部分PAEs降解是由好氧细菌完成的,厌氧降解相对缓慢,因此对PAEs细菌厌氧降解途径的研究相对较少。值得关注的是厌氧降解途径与好氧对PA的代谢方式是不同的。在厌氧代谢中,PA首先通过脱羧作用转化为苯甲酸(BA),再经 $\beta$ -氧化转化为己二酸,最终由己二酸生成乙酸盐、 $\text{CO}_2$ 和 $\text{H}_2$ <sup>[1, 70]</sup>。

## 5 PAEs降解基因/酶的研究进展

目前关于PAEs细菌降解遗传机制的研究主要集中在PAEs酯基水解过程中酯酶的研究和PA转化为PCA过程中降解基因的克隆和功能鉴定方面。对其他降解途径,如 $\beta$ -氧化、转酯化降解基因和酶研究较少,且尚无研究阐明完整的PAEs细菌降解途径的分子机理。

### 5.1 PAEs酯酶的研究进展

通过基因组文库构建及筛选、基因组或转录

组测序及注释分析等方法对PAEs酯酶基因进行克隆分析,发现了仅水解PAEs的(参与图4水解步骤I)、仅水解MAPs的(参与图4水解步骤II)和两者都能水解的三类酯酶。

目前研究发现较为典型的参与PAEs水解第一步的酯酶。例如,*Acinetobacter* sp. M673中非诱导型PAEs水解酶能将大部分二烷基PAEs(包括DMP、DEP、DPrP、DBP、DPP和DHP)水解成相应的MAPs,且对中等长度侧链的DBP、DPP和DPrP的降解效率比对短侧链和长侧链的DMP、DEP和DHP降解效率高,但无法继续降解MAPs<sup>[73]</sup>。嗜酸硫化叶菌*Sulfobacillus acidophilus* DSM10332中克隆获得新的PAEs酯酶EstS1,能降解PAEs至相应的单烷基PAEs。EstS1具有很高的热稳定性,在60℃时,对DBP、DPrP、DHP、DPeP、DEP和BBP的降解活性约是37℃的两倍。EstS1只能降解侧链是直链烷基的PAEs,对包含萘基或环己基的大体积烷基侧链的PAEs,如DEHP、DCHP无降解能力<sup>[74]</sup>。从构建的PAEs废水生物膜宏基因组文库中克隆到酯酶基因*DphB*,编码一种能耐受低温的二烷基水解酶,催化生成相应的单烷基PAEs,且在10℃、pH 7.5时有最大活性,对中链的DPrP、DBP和DNPP具有特定活性,不能降解较短和较长侧链的PAEs<sup>[75]</sup>。从冰川鞘氨醇单胞菌*Sphingomonas glacialis* PAMC 26605基因组中克隆获得一种编码嗜冷PAEs酯酶的基因*EstSP1*,不仅偏好具有较短酯链(C2-C6)的PAEs底物,而且对极性有机溶剂(包括有机醇和DMSO)具有耐受性<sup>[76]</sup>。Chen等<sup>[46]</sup>从塑料工业排污口分离获得*Camelimonas* sp. M11,并在其基因组文库中克隆了一个DBP酯酶基因,该酶具有较广的温度适应性,且在50℃最佳。能水解DEP、DPrP、DBP和DNPP生成相应的MAPs,不能降解DMP,降解速率依次为DPrP > DBP > DNPP > DEP > DMP。上述发现的5种酯酶都只能在PAEs转化为MAPs

上发挥催化作用,并对MAPs没有活性,氨基酸序列比对后属于酯酶家族IV,具有保守的五肽基序GX<sub>1</sub>SX<sub>2</sub>G,其中X是Asp或Glu,它们都是酸性氨基酸,在底物特异性中起重要作用<sup>[69]</sup>。

第二类是参与单烷基酯水解成PA的酯酶。从*Gordonia alkanivorans* YC-RL2中克隆获得水解酶基因*mehpH*,该酶可催化各种MAPs转化为PA,包括单甲酯、单乙酯、单正丁酯<sup>[51]</sup>。此外,在*Rhodococcus* sp. EG-5和*Gordonia* sp. P8219菌株中分别获得邻苯二甲酸单-2-乙基己酯(MEHP)水解酶EG-5 *MehpH*和P8219 *MehpH*,两种酶都具有广泛的MAPs催化活性<sup>[77]</sup>。上述3种酶是MAPs水解酶同时也是MEHP水解酶,属于酯酶家族V,具有催化三联体的典型 $\alpha/\beta$ -水解酶折叠,且仅在*Gordonia*和*Rhodococcus*属中有报道,比对后的保守五肽基序是GX<sub>1</sub>SX<sub>2</sub>G,其中X<sub>1</sub>是N或H(N是主要的,H是次要的),X<sub>2</sub>通常是C-C水解酶和一些丝氨酸水解酶中的疏水残基(F、M或L),而来自菌株P8219的MEHP水解酶的X<sub>2</sub>是精氨酸<sup>[78]</sup>。从约什特氏红球菌*Rhodococcus jostii* RHA1中克隆得到PAEs水解酶基因(*patE*),异源表达产物只能将MAPs水解成PA,无法转化PAEs或其他芳族酯,但不属于常见的丝氨酸酯酶家族,而属于半胱氨酸酯酶家族<sup>[79]</sup>。

第三类酯酶能参与两步水解反应,既具有二烷基酯酶水解活性又具有单烷基水解酶活性。鞘氨醇单胞菌*Sphingobium* sp. SM42能以DBP作为唯一碳源和能源生长,构建其基因组文库筛选得到2个酯酶基因*EstB*和*EstG*。*EstG*和*EstB*不仅能降解DBP,还具有部分MBP酯酶活性<sup>[80]</sup>。1 mg/L *EstG*能在1 h内将500  $\mu\text{mol/L}$  DBP完全水解成大量的邻苯二甲酸单丁酯(MBP)和微量的PA,而*EstB*也能降解DBP和MBP,但降解效率远差于*EstG*。*CarEW*是从芽孢杆菌属*Bacillus* sp. K91基因组测序数据中分析并筛选得到的一个酯酶,属

于丝氨酸酯酶家族,能降解具有分支侧链的DiBP和邻苯二甲酸单异丁基酯(MiBP),能连续降解DiBP的两个酯键且无先后顺序,最后生成PA<sup>[81]</sup>。

已报道PAEs降解酯酶的研究大多还停留在发现新酶和鉴定降解功能的水平上,对于催化机制和实际应用的研究较少。

## 5.2 PA降解基因的研究进展

从PA到PCA的降解途径有较为系统的研究,其中对阳性菌*Arthrobacter keyseri* 12B和阴性菌洋葱伯克氏菌*Burkholderia cepacia* DBO1这两株降解菌相关基因簇功能研究最为透彻。在*A. keyseri* 12B中,克隆出了一个编码能完全代谢PA的130 kb质粒,对该质粒进行功能验证,确定了*pht*操纵子(负责PA到PCA转化)、*pcm*操纵子(负责从PCA到丙酮酸和草酰乙酸的代谢)、*pehA*基因(编码PAEs水解酶)、*tnpR*基因(编码转座子解离酶)、*ptr*操纵子(可能编码PA或PCA或PAEs的转运蛋白)5个遗传单位<sup>[82]</sup>。据报道,最早发现的PA降解基因簇是*pht*操纵子(*phtBAaAbAcAdCR*)存在于革兰氏阳性菌中<sup>[82]</sup>。其后,研究者们在地杆菌属*Terrabacter* sp. DBF63和范巴伦氏分枝杆菌*Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1中分别克隆到*pht*操纵子(*phtA1A2BA3A4CR*)<sup>[83]</sup>和(*phtRAaAbBAd*)<sup>[84]</sup>。Li等报道了*Gordonia* sp. HS-NH1中*pht*操纵子的特征(*phtBAabcdCR*),其中*phtAabcd*编码3,4-邻苯二甲酸酯双加氧酶,由异寡聚加氧酶、[3Fe-4S]型铁氧还蛋白和GR型还原酶组成<sup>[85]</sup>。随后,Fan等通过全基因组测序分析发现菌株*Gordonia* sp. YC-JH1中*pht*基因簇与*Gordonia* sp. HS-NH1和*Arthrobacter keyseri* 12B分别具有69.2%–90.8%和71.1%–90.8%的相似性<sup>[86]</sup>。

革兰氏阳性菌与阴性菌因其降解途径不同,PA代谢的分子机制也完全不同(图5)。研究革兰氏阴性菌*Burkholderia cepacia* DBO1中的PA降解相关基因,发现了3个分散且不同方向的相对独立的

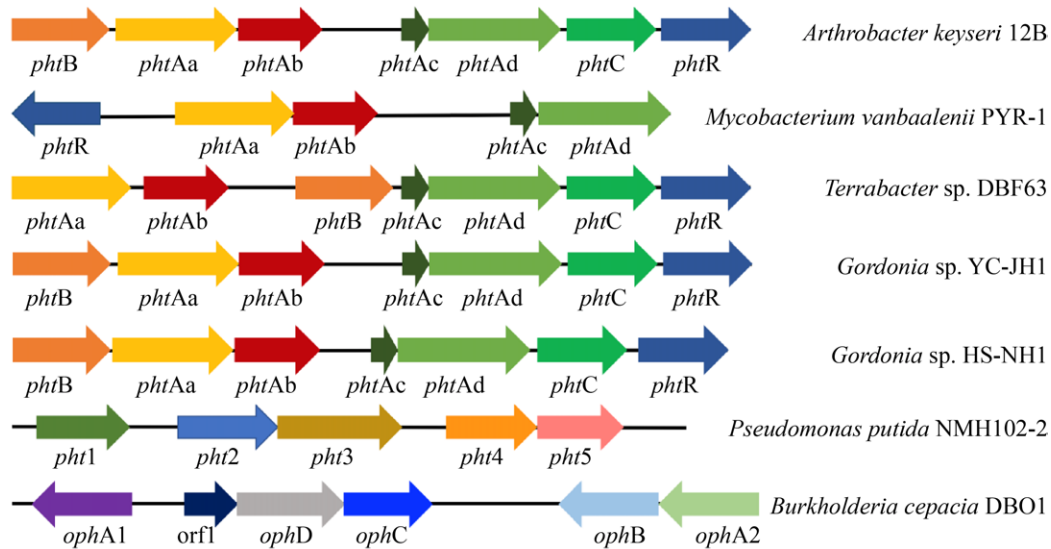


图 5 已报道的细菌 PA 降解基因簇的比较<sup>[70,82-87]</sup>

Fig. 5 Comparison of reported phthalate-degrading gene clusters<sup>[70,82-87]</sup>.

转录单元，分别是邻苯二甲酸加氧酶还原酶 (*ophA1*)、4,5-二羟基邻苯二甲酸脱羧酶 (*ophDC*)、邻苯二甲酸加氧酶和顺式-二氢邻苯二甲酸脱氢酶 (*ophA2B*)<sup>[11]</sup>。此外，阴性菌恶臭假单胞菌 *Pseudomonas putida* NMH102-2 的 PA 降解基因 (*pht12345*) 与菌株 DBO1 也存在差异，组成一个转录方向相同的基因簇<sup>[87]</sup>。

随着基因测序技术的蓬勃发展，越来越多 PAEs 降解菌的全基因组被测序与分析注释，为后续筛选鉴定功能基因提供了数据库，同时为研究代谢过程中的关键酶提供支持。此外，通过分子技术和生物信息学深入挖掘功能酶的结构和功能将有助于更好地解析 PAEs 代谢遗传机制，为生物修复 PAEs 的环境污染提供新思路。

## 6 结论与展望

PAEs 主要是人类长期大量生产和使用塑料制品过程中所产生的一种环境有机污染物，分布广泛且消除困难。一方面，寻求塑料替代品和开发使 PAEs 与塑料中聚合物骨架紧密结合的新技

术是解决 PAEs 污染问题的手段之一。另一方面，环境中已有的 PAEs 污染有望通过微生物降解来去除。针对目前研究中仍存在的问题和限制，提出一些展望：1) 虽然已从不同环境介质中分离并表征了大量 PAEs 降解菌株，但只有少数表现出良好的环境适应性和应用潜力。因此，仍需分离筛选新的 PAEs 降解菌，特别是能在胁迫条件下(高盐度、有机溶剂、低营养、低温和高温等)行使降解功能的菌株，以丰富菌株资源。2) 现阶段对微生物降解 PAEs 的研究大多是在实验室培养体系下，对修复实际污染土壤的应用还极为有限。考虑到实际环境条件与室内差异较大，且高降解率往往是在菌株最适条件下达到的，降解菌进入污染土壤后的耐受性和有效性还需进一步证明。因此，如何将实验室所取得的研究成果应用于自然环境下 PAEs 污染的土壤修复，解决实际问题 是研究者们需要进一步思考的问题。3) 降解酶在生物修复中具有广阔的应用前景，后续应对 PAEs 降解菌的降解基因/酶进行更深入、系统的研究，包括新酶鉴定、催化机制探索、酶的修饰和改性

等。阐明其降解的分子调控机制，拓宽其底物广谱性和催化酯键类型，并进一步提高酶的环境适应性、稳定性和降解效率。4) 混合菌群是微生物降解 PAEs 的研究热点之一。高通量测序、稳定同位素示踪、环境宏基因组学、宏转录组学等现代分子生物学技术的应用为获得更多天然菌群和人工构建的高效菌群以及明确菌株间协同互作的机制提供了有利的方法和工具，对于 PAEs 污染的高效修复具有重要意义。

## REFERENCES

- [1] Hu RW. Cloning and functional analysis of a dibutyl phthalate hydrolase gene from *Rhodococcus* sp. 2G[M]. Guangzhou: Jinan University, 2018 (in Chinese).  
胡瑞文. 邻苯二甲酸二丁酯 (DBP)水解酶基因的克隆与功能分析[M]. 广州: 暨南大学, 2018.
- [2] Lorz PM, Towae FK, Enke W, et al. Phthalic acid and derivatives//Fritz Ullmann, Ed. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley-VCH, New York, 1990: 35–154.
- [3] He LZ, Gielen G, Bolan NS, et al. Contamination and remediation of phthalic acid esters in agricultural soils in China: a review. *Agron Sustain Dev*, 2015, 35(2): 519–534.
- [4] Benjamin S, Masai E, Kamimura N, et al. Phthalates impact human health: epidemiological evidences and plausible mechanism of action. *J Hazard Mater*, 2017, 340: 360–383.
- [5] Katsikantami I, Sifakis S, Tzatzarakis MN, et al. A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. *Environ Int*, 2016, 97: 212–236.
- [6] Mariana M, Feiteiro J, Verde I, et al. The effects of phthalates in the cardiovascular and reproductive systems: a review. *Environ Int*, 2016, 94: 758–776.
- [7] Liu Q, Yang HJ, Shi YX, et al. Research progress on phthalate esters(PAEs) organic pollutants in the environment. *Chin J Eco-Agric*, 2012, 20(8): 968–975 (in Chinese).  
刘庆, 杨红军, 史衍玺, 等. 环境中邻苯二甲酸酯类 (PAEs)污染物研究进展. *中国生态农业学报*, 2012, 20(8): 968–975.
- [8] Cao XL. Phthalate esters in foods: sources, occurrence, and analytical methods. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2010, 9(1): 21–43.
- [9] Frederiksen H, Nielsen JKS, Mørck TA, et al. Urinary excretion of phthalate metabolites, phenols and parabens in rural and urban Danish mother-child pairs. *Int J Hyg Environ Health*, 2013, 216(6): 772–783.
- [10] Green R, Hauser R, Calafat AM, et al. Use of di (2-ethylhexyl) phthalate-containing medical products and urinary levels of mono (2-ethylhexyl) phthalate in neonatal intensive care unit infants. *Environ Health Perspect*, 2005, 113(9): 1222–1225.
- [11] Koo HJ, Lee BM. Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment. *J Toxicol Environ Health A*, 2004, 67(23/24): 1901–1914.
- [12] Philippat C, Mortamais M, Chevrier C, et al. Exposure to phthalates and phenols during pregnancy and offspring size at birth. *Environ Health Perspect*, 2012, 120(3): 464–470.
- [13] Schettler T. Human exposure to phthalates via consumer products. *Int J Androl*, 2006, 29(1): 134–139.
- [14] Schlumpf M, Kypke K, Wittassek M, et al. Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: correlation of UV filters with use of cosmetics. *Chemosphere*, 2010, 81(10): 1171–1183.
- [15] Benjamin S, Pradeep S, Josh MS, et al. A monograph on the remediation of hazardous phthalates. *J Hazard Mater*, 2015, 298: 58–72.
- [16] Song XY, Cui XW, Li JK, et al. Research advances in soil ecotoxicology of phthalic acid esters (PAEs) exposure. *Ecology Environ Sci*, 2016, 25(11): 1885–1890 (in Chinese).  
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. *生态环境学报*, 2016, 25(11): 1885–1890.
- [17] Li L, Song NN, Li HS, et al. Advances of toxicology and toxicologic mechanism of phthalate esters. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2014, 28(3): 468–474 (in Chinese).  
李蕾, 宋乃宁, 李海山, 等. 邻苯二甲酸酯类毒理学效应及其机制研究进展. *中国药理学与毒理学杂志*, 2014, 28(3): 468–474.

- [18] Xu C, Chen JA, Qiu Z, et al. Ovotoxicity and PPAR-mediated aromatase downregulation in female Sprague-Dawley rats following combined oral exposure to benzo[a]pyrene and di-(2-ethylhexyl) phthalate. *Toxicol Lett*, 2010, 199(3): 0–332.
- [19] David RM, Moore MR, Finney DC, et al. Chronic toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate in mice. *Toxicol Sci*, 2000, 58(2): 377–385.
- [20] Voss C, Zerban H, Bannasch P, Berger MR. Life-long exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of Sprague-Dawley rats. *Toxicol*, 2005, 206(3): 359–371.
- [21] Gu CG, Xiang LL, Ren WJ, et al. Multi-interfacial migration/transformation and effects of phthalic acid esters in soils: a review. *J Zhejiang Univ Sci: Agric Life Sci*, 2017, 43(6): 700–712 (in Chinese).  
谷成刚, 相雷雷, 任文杰, 等. 土壤中酞酸酯多界面迁移转化与效应研究进展. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 2017, 43(6): 700–712.
- [22] Li J. Preliminary study on the degrading characteristics and mechanisms of phthalic acid esters-degrading bacteria[M]. Chongqing, Southwest University, 2018 (in Chinese).  
李静. 邻苯二甲酸酯降解菌的降解特征与降解机制的初步研究[M]. 2018, 重庆, 西南大学.
- [23] Gao DW, Wen ZD. Phthalate esters in the environment: a critical review of their occurrence, biodegradation, and removal during wastewater treatment processes. *Sci Total Environ*, 2016, 541: 986–1001.
- [24] Wang XD, Yang J, Yan H, et al. Distribution characteristics and source analysis of Phthalic acid esters in bust fall at the Xigu District of Lanzhou City. *Earth Environ*, 2012, 40(3): 336–341 (in Chinese).  
王晓丹, 杨杰, 严浩, 等. 兰州市西固区大气降尘中邻苯二甲酸酯分布特征及来源分析. *地球与环境*, 2012, 40(3): 336–341.
- [25] Zhu ZY, Ji YQ, Zhao JB, et al. Pollution characteristics and correlation analysis of PAEs in atmospheric PM<sub>10</sub> and dust in Tianjin. *Environ Pollut Prevent*, 2015, 37(12): 24–28 (in Chinese).  
朱振宇, 姬亚芹, 赵静波, 等. 天津市大气 PM<sub>10</sub> 与降尘中邻苯二甲酸酯的污染特征及相关性分析. *环境污染与防治*, 2015, 37(12): 24–28.
- [26] Kong SF, Ji YQ, Liu LL, et al. Spatial and temporal variation of phthalic acid esters (PAEs) in atmospheric PM<sub>10</sub> and PM<sub>2.5</sub> and the influence of ambient temperature in Tianjin, China. *Atmos Environ*, 2013, 74: 199–208.
- [27] Wang P, Wang SL, Fan CQ. Atmospheric distribution of particulate- and gas-phase phthalic esters (PAEs) in a metropolitan city, Nanjing, East China. *Chemosphere*, 2008, 72(10): 1567–1572.
- [28] Wu B, Zhang XX, Zhang XL, et al. Semi-volatile organic compounds and trace elements in the Yangtze River source of drinking water. *Ecotoxicology*, 2009, 18(6): 707–714.
- [29] Wang F, Xia XH, Sha YJ. Distribution of phthalic acid esters in Wuhan section of the Yangtze River, China. *J Hazard Mater*, 2008, 154(1/3): 317–324.
- [30] Yang M, Hu ZY, Pu JB, et al. Distribution characteristics of phthalic acid esters in underground rivers of Chongqing typical karst areas. *Environ Monit China*, 2009, 25(6): 62–66 (in Chinese).  
杨梅, 扈志勇, 蒲俊兵, 等. 重庆典型岩溶区地下水水体 PAEs 分布特征研究. *中国环境监测*, 2009, 25(6): 62–66.
- [31] Meng XZ, Niu GL, Zeng M, et al. Occurrence, hazard and biodegradation of di-(2-ethylhexyl) phthalate in environment. *Ecol Environ Sci*, 2014, 23(8): 1384–1389 (in Chinese).  
孟雪征, 牛贵龙, 曾明, 等. 增塑剂邻苯二甲酸二(2-乙基己基) 酯的危害、分布及生物降解. *生态环境学报*, 2014, 23(8): 1384–1389.
- [32] Li HT, Huang SL. Distribution and transformation of phthalate esters in aqueous environment. *Environ Pollut Control*, 2006, 28(11): 853–858 (in Chinese).  
李海涛, 黄岁樑. 水环境中邻苯二甲酸酯的迁移转化研究. *环境污染与防治*, 2006, 28(11): 853–858.
- [33] Niu LL, Xu Y, Xu C, et al. Status of phthalate esters contamination in agricultural soils across China and associated health risks. *Environ Pollut*, 2014, 195: 16–23.
- [34] Zheng SA, Xue YH, Li XH, et al. Phthalate acid esters (PAEs) pollution in soils and agricultural products of vegetable greenhouses in Shouguang city, Shandong province. *J Agro-Environ Sci*, 2016, 35(3): 492–499 (in Chinese).  
郑顺安, 薛颖昊, 李晓华, 等. 山东寿光设施菜地土壤-农产品邻苯二甲酸酯 (PAEs) 污染特征调查. 农



- 业环境科学学报, 2016, 35(3): 492–499.
- [35] Xu G, Li FH, Wang QH. Occurrence and degradation characteristics of dibutyl phthalate (DBP) and di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in typical agricultural soils of China. *Sci Total Environ*, 2008, 393(2/3): 333–340.
- [36] Wang H, Liang H, Gao DW. Occurrence and risk assessment of phthalate esters (PAEs) in agricultural soils of the Sanjiang Plain, northeast China. *Environ Sci Pollut Res*, 2017, 24(24): 19723–19732.
- [37] Wang LJ, Liu MM, Tao WD, et al. Pollution characteristics and health risk assessment of phthalate esters in urban soil in the typical semi-arid city of Xi'an, Northwest China. *Chemosphere*, 2018, 191: 467–476.
- [38] Liao J, Deng C, Chen Y, et al. Pollution level, sources and spatial distribution of phthalate esters in soils of the West Lake scenic area. *Environ Sci*, 2019, 40(7), doi: 10.13227/j.hjkk.201812207 (in Chinese).  
廖健, 邓超, 陈怡, 等. 西湖景区土壤中邻苯二甲酸酯污染水平、来源分析和空间分布特征. *环境科学*, 2019, 40(7), doi: 10.13227/j.hjkk.201812207.
- [39] Liu WL, Shen CF, Zhang Z, et al. Distribution of phthalate esters in soil of E-Waste recycling sites from Taizhou city in China. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2009, 82(6): 665–667.
- [40] Lü HX, Mo CH, Zhao HM, et al. Soil contamination and sources of phthalates and its health risk in China: a review. *Environ Res*, 2018, 164: 417–429.
- [41] Han YH, He RW, Li C, et al. Phthalic acid esters-degrading bacteria: Biodiversity, degradation mechanisms and environmental applications. *Asian J Ecotoxicol*, 2016, 11(2): 37–49 (in Chinese).  
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. *生态毒理学报*, 2016, 11(2): 37–49.
- [42] Patil NK, Kundapur R, Shouche YS, et al. Degradation of plasticizer di-*n*-butylphthalate by *Delftia* sp. TBKNP-05. *Curr Microbiol*, 2006, 52(5): 369–374.
- [43] Jin DC, Kong X, Cui BJ, et al. Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate by a newly isolated halotolerant *Sphingobium* sp. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(12): 24046–24054.
- [44] Xu JM, Lu QH, de Toledo RA, et al. Degradation of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) by an indigenous isolate *Acinetobacter* sp. SN13. *Int Biodeter Biodegr*, 2017, 117: 205–214.
- [45] Zhao HM, Du H, Feng NX, et al. Biodegradation of di-*n*-butylphthalate and phthalic acid by a novel *Providencia* sp. 2D and its stimulation in a compost-amended soil. *Biol Fert Soils*, 2016, 52(1): 65–76.
- [46] Chen X, Zhang XL, 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. *Biodegradation*, 2015, 26(2): 171–182.
- [47] Kumar V, Maitra SS, JB. Biodegradation of endocrine disruptor dibutyl phthalate (DBP) by a newly isolated *Methylobacillus* sp. V29b and the DBP degradation pathway. *3 Biotech*, 2016, 6(2): 200.
- [48] Kumar V, Sharma N, Maitra SS. Comparative study on the degradation of dibutyl phthalate by two newly isolated *Pseudomonas* sp. V21b and *Comamonas* sp. 51F. *Biotechnol Rep (Amst)*, 2017, 15: 1–10.
- [49] Navacharoen A, Vangnai AS. Biodegradation of diethyl phthalate by an organic-solvent-tolerant *Bacillus subtilis* strain 3C3 and effect of phthalate ester coexistence. *Int Biodeter Biodegr*, 2011, 65(6): 818–826.
- [50] Zhao HM, Du H, Lin J, et al. Complete degradation of the endocrine disruptor di-(2-ethylhexyl) phthalate by a novel *Agromyces* sp. MT-O strain and its application to bioremediation of contaminated soil. *Sci Total Environ*, 2016, 562: 170–178.
- [51] Nahurira R, Ren L, Song JL, et al. Degradation of di(2-Ethylhexyl) phthalate by a novel *Gordonia alkanivorans* strain YC-RL2. *Curr Microbiol*, 2017, 74(3): 309–319.
- [52] Ren L, Jia Y, Ruth N, et al. Biodegradation of phthalic acid esters by a newly isolated *Mycobacterium* sp. YC-RL4 and the bioprocess with environmental samples. *Environ Sci Pollut Res*, 2016, 23(16): 16609–16619.
- [53] Wang J, Zhang MY, 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. *Pedosphere*, 2015, 25(2): 202–211.
- [54] Jin DC, Bai ZH, Chang DD, et al. Biodegradation of

- di-*n*-butyl phthalate by an isolated *Gordonia* sp. strain QH-11: genetic identification and degradation kinetics. *J Hazard Mater*, 2012, 221–222: 80–85.
- [55] Sarkar J, Chowdhury PP, Dutta TK. Complete degradation of di-*n*-octyl phthalate by *Gordonia* sp. strain Dop5. *Chemosphere*, 2013, 90(10): 2571–2577.
- [56] Zeng F, Cui KY, Li XD, et al. Biodegradation kinetics of phthalate esters by *Pseudomonas fluorescences* FS1. *Process Biochem*, 2004, 39(9): 1125–1129.
- [57] Li JL, Zhang JF, Yadav MP, et al. Biodegradability and biodegradation pathway of di-(2-ethylhexyl) phthalate by *Burkholderia pyrrocinia* B1213. *Chemosphere*, 2019, 225: 443–450.
- [58] Gu JG, Han BP, Duan SS, et al. Degradation of the endocrine-disrupting dimethyl phthalate carboxylic ester by *Sphingomonas yanoikuyae* DOS01 isolated from the South China Sea and the biochemical pathway. *Int Biodeter Biodegr*, 2009, 63(4): 450–455.
- [59] Tao Y, Li HX, Gu JD, et al. Metabolism of diethyl phthalate (DEP) and identification of degradation intermediates by *Pseudomonas* sp. DNE-S1. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2019, 173: 411–418.
- [60] Chen XP, Xu SS, Tan TF, et al. Toxicity and estrogenic endocrine disrupting activity of phthalates and their mixtures. *Int J Environ Res Public Health*, 2014, 11(3): 3156–3168.
- [61] Hsu PC, Kuo YT, Guo YL, et al. The adverse effects of low-dose exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate during adolescence on sperm function in adult rats. *Environ Toxicol*, 2016, 31(6): 706–712.
- [62] Wang J, Luo YM, Teng Y, et al. Soil contamination by phthalate esters in Chinese intensive vegetable production systems with different modes of use of plastic film. *Environ Pollut*, 2013, 180: 265–273.
- [63] Zhang JF, Zhang CN, Zhu YP, et al. Biodegradation of seven phthalate esters by *Bacillus mojavensis* B1811. *Int Biodeter Biodegr*, 2018, 132: 200–207.
- [64] He ZX, Xiao HL, Tang L, et al. Biodegradation of di-*n*-butyl phthalate by a stable bacterial consortium, HD-1, enriched from activated sludge. *Bioresour Technol*, 2013, 128: 526–532.
- [65] Jin L, Sun XM, Zhang XJ, et al. Co-metabolic biodegradation of DBP by *Paenibacillus* sp. S-3 and H-2. *Curr Microbiol*, 2014, 68(6): 708–716.
- [66] Wu XL, Liang RX, Dai QY, et al. Complete degradation of di-*n*-octyl phthalate by biochemical cooperation between *Gordonia* sp. strain JDC-2 and *Arthrobacter* sp. strain JDC-32 isolated from activated sludge. *J Hazard Mater*, 2010, 176(1/3): 262–268.
- [67] Chatterjee S, Dutta TK. Metabolic cooperation of *Gordonia* sp. strain MTCC 4818 and *Arthrobacter* sp. strain WY in the utilization of butyl benzyl phthalate: effect of a novel co-culture in the degradation of a mixture of phthalates. *Microbiology*, 2008, 154(11): 3338–3346.
- [68] Okamoto Y, Toda C, Ueda K, et al. Transesterification in the microbial degradation of phthalate esters. *J Health Sci*, 2011, 57(3): 293–299.
- [69] Ren L, Lin Z, Liu HM, et al. Bacteria-mediated phthalic acid esters degradation and related molecular mechanisms. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2018, 102(3): 1085–1096.
- [70] Luo ZH, Huang XL, Ye DZ, et al. Advances in research of biodegradation of environmental endocrine disruptors—phthalate esters. *Chin J Appl Environ Biol*, 2008, 14(6): 890–897 (in Chinese). 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. *应用与环境生物学报*, 2008, 14(6): 890–897.
- [71] de Moura Carrara SMC, Morita DM, Boscov MEG. Biodegradation of di(2-ethylhexyl) phthalate in a typical tropical soil. *J Hazard Mater*, 2011, 197: 40–48.
- [72] Yuan SY, Huang IC, Chang BV. Biodegradation of dibutyl phthalate and di-(2-ethylhexyl) phthalate and microbial community changes in mangrove sediment. *J Hazard Mater*, 2010, 184(1/3): 826–831.
- [73] Wu J, Liao XW, Yu FB, et al. Cloning of a dibutyl phthalate hydrolase gene from *Acinetobacter* sp. strain M673 and functional analysis of its expression product in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2013, 97(6): 2483–2491.
- [74] Zhang XY, Fan X, Qiu YJ, et al. Newly identified thermostable esterase from *Sulfobacillus acidophilus*: properties and performance in phthalate ester degradation. *Appl Environ Microbiol*, 2014, 80(22): 6870–6878.
- [75] Jiao YY, Chen X, Wang X, et al. Identification and characterization of a cold-active phthalate esters hydrolase by screening a metagenomic library derived

- from biofilms of a wastewater treatment plant. PLoS ONE, 2013, 8(10): e75977.
- [76] Hong DK, Jang SH, Lee C. Gene cloning and characterization of a psychrophilic phthalate esterase with organic solvent tolerance from an Arctic bacterium *Sphingomonas glacialis* PAMC 26605. J Mol Catal B: Enzym, 2016, 133(S1): S337–S345.
- [77] Nishioka T, Iwata M, Imaoka T, et al. A mono-2-ethylhexyl phthalate hydrolase from a *Gordonia* sp. that is able to dissimilate di-2-ethylhexyl phthalate. Appl Environ Microbiol, 2006, 72(4): 2394–2399.
- [78] Iwata M, Imaoka T, Nishiyama T, et al. Re-characterization of mono-2-ethylhexyl phthalate hydrolase belonging to the serine hydrolase family. J Biosci Bioeng, 2016, 122(2): 140–145.
- [79] Hara H, Stewart GR, Mohn WW. Involvement of a novel ABC transporter and monoalkyl phthalate ester hydrolase in phthalate ester catabolism by *Rhodococcus jostii* RHA1. Appl Environ Microbiol, 2010, 76(5): 1516–1523.
- [80] Whangsuk W, Sungkeeree P, Nakasiri M, et al. Two endocrine disrupting dibutyl phthalate degrading esterases and their compensatory gene expression in *Sphingobium* sp. SM42. Int Biodeter Biodegr, 2015, 99: 45–54.
- [81] Ding JM, Wang CF, Xie ZR, et al. Properties of a newly identified esterase from *Bacillus* sp. K91 and its novel function in diisobutyl phthalate degradation. PLoS ONE, 2015, 10(3): e0119216.
- [82] Eaton RW. Plasmid-encoded phthalate catabolic pathway in *Arthrobacter keyseri* 12B. J Bacteriol, 2001, 183(12): 3689–3703.
- [83] Habe H, Miyakoshi M, Chung J, et al. Phthalate catabolic gene cluster is linked to the angular dioxygenase gene in *Terrabacter* sp. strain DBF63. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 61(1): 44–54.
- [84] Stingley RL, Khan AA, Cerniglia CE. Molecular characterization of a phenanthrene degradation pathway in *Mycobacterium vanbaalenii* PYR-1. Biochem Biophys Res Commun, 2004, 322(1): 133–146.
- [85] Li DD, Yan JL, Wang L, et al. Characterization of the phthalate acid catabolic gene cluster in phthalate acid esters transforming bacterium-*Gordonia* sp. strain HS-NH1. Int Biodeter Biodegr, 2016, 106: 34–40.
- [86] Fan SH, Wang JH, Li K, et al. Complete genome sequence of *Gordonia* sp. YC-JH1, a bacterium efficiently degrading a wide range of phthalic acid esters. J Biotechnol, 2018, 279: 55–60.
- [87] Nomura Y, Nakagawa M, Ogawa N, et al. Genes in PHT plasmid encoding the initial degradation pathway of phthalate in *Pseudomonas Putida*. J Ferment Bioeng, 1992, 74(6): 333–344.

(本文责编 陈宏宇)