

球形红假单胞菌对三苯基锡的降解性能研究

陈烁娜^{1,2}, 叶锦韶^{1,2}, 尹华^{1,2*}, 彭辉¹, 张娜^{1,2}, 何宝燕^{1,2}

(1. 暨南大学环境工程系, 广州 510632; 2. 广东省高校有害性污染物防治与生物修复重点实验室, 广州 510632)

摘要:以 1 株对三苯基锡 (triphenyltin, TPT) 有高耐受性的球形红假单胞菌 (*Rhodopseudomonas spheroids*) X-5 为对象, 进行 TPT 的微生物降解实验, 研究了 *R. spheroids* 对 TPT 降解特性。结果表明 *R. spheroids* 对 TPT 有良好降解效果, 30℃ 是其最佳生长温度, 对 TPT 的降解活性最大。干重为 0.49 g·L⁻¹ 的湿菌体, 在 3h 内对 TPT 的降解率为 13.82% ~ 47.29%。在双蒸水、人工海水、培养基和江水等不同的降解介质中进行的实验表明, 天然江水最利于菌体对 TPT 的降解, 江水中的土著微生物对其降解 TPT 具有协同作用。*R. spheroids* 对 TPT 的降解过程主要是通过菌体快速吸附, TPT 进入细胞内, 靠胞内酶进行初步降解, 之后菌体细胞将 TPT 及其中间产物返回到细胞外, 靠胞外酶进一步降解。24 h 内菌体产生的胞外酶对 TPT 的降解达到 71.64%。

关键词:球形红假单胞菌; 三苯基锡; 有机锡; 生物降解; 胞外酶

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301 (2011) 02-0536-06

Characteristics of Biodegradation of Triphenyltin by *Rhodopseudomonas spheroids*

CHEN Shuo-na^{1,2}, YE Jin-shao^{1,2}, YIN Hua^{1,2}, PENG Hui¹, ZHANG Na^{1,2}, HE Bao-yan^{1,2}

(1. Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. Key Laboratory of Water/Soil Toxic Pollutants Control and Bioremediation, Department of Education of Guangdong Province, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The biodegradation of triphenyltin (TPT) by *Rhodopseudomonas spheroids* was investigated in this study. The results illuminated that *R. spheroids* was an effective strain for the biodegradation of TPT. The maximum removal ratio was attained when the growth temperature of *R. spheroids* was 30℃. After treating for 3 hours, the removal ratios of 3 mg·L⁻¹ TPT were 13.82% to 47.29% using 0.49 g·L⁻¹ (based on dry weight) biomass of *R. spheroids*. The experiments on biodegradation of TPT were carried out in double-distilled water, simulated seawater, culture medium and river water, respectively. The results demonstrated that river water was optimal for the biodegradation since the indigenous microorganisms in water synergistically increased the removal ratios of TPT. Extracellular enzyme produced by *R. spheroids* was also effective on the degradation of TPT, and 71.64% of TPT was degraded by this way within 24 hours. The experiments also revealed that the biodegradation process of TPT included biosorption by cell wall, TPT entering cells, and initial degradation by intracellular enzyme, then the TPT and intermediate products backing out of cells to be degraded by extracellular enzyme.

Key words: *Rhodopseudomonas spheroids*; triphenyltin; organotin; biodegradation; extracellular enzyme

有机锡化合物 (OTC) 广泛应用于 PVC 的稳定剂、杀虫剂, 特别是防污涂料中。OTC 作为防污涂料可以防止海洋附着生物如海藻、海绵水螅虫等软体动物对船体、海洋建筑及钻井平台等的污损。但是 OTC 兼有重金属和持久性有机污染物的特性, 具有高毒性、持久性和生物富集性, 已导致包括软体动物、鱼类和哺乳动物在内的物种发生性畸变、行为改变、免疫力下降、机体功能失调, 并会通过食物链的富集影响生态系统, 已引起了世界组织和众多政府的重视^[1-5]。

OTC 在水体中的迁移转化途径包括光解、沉积物的吸附与解吸作用^[6,7], 生物富集以及生物降解作用。在这些途径中, 只有光解和生物降解能将 OTC 从环境中去除, 而那些不暴露于紫外线下的 OTC 的去除主要靠微生物作用^[8,9]。因此, 开展 OTC

的微生物吸附降解研究, 对修复被该类污染物污染的生态环境, 并阐明其生物降解与转化机制, 具有重要的意义。目前, 有关水体 OTC 的研究涵盖了 OTC 的检测^[10,11]、区域分布^[12]、迁移^[13,14]、生物毒性^[15,16]、生物富集性^[4,17,18]和污染指示生物^[19,20]等内容。但是, 有关水体 OTC 微生物降解方面的研究鲜见报道^[21,22]。本课题组筛选得到 1 株可降解三苯基锡 (TPT) 的克雷伯氏菌, 并对其降解特性进行了深入研究, 发现菌体、分泌物、胞内酶均对 TPT 有良好降解作用^[23-25]。

本研究继续以三苯基锡 (TPT) 作为代表性 OTC

收稿日期: 2010-02-03; 修订日期: 2010-04-11

基金项目: 国家自然科学基金项目 (201007020, 50778081, U0933002)

作者简介: 陈烁娜 (1985 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为污染控制与环境污染的生物修复, E-mail: hjhesn@126.com

* 通讯联系人, E-mail: ohjgc@jnu.edu.cn

污染物,探讨了1株球形红假单胞菌对其生物降解特性,同时考察其不同水质体系中的降解情况,以期对环境 OTC 污染的生物修复和降解机制进一步研究提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验试剂和材料

实验菌种:实验室筛选驯化保藏的1株球形红假单胞菌,命名为X-5。

实验试剂:三苯基氯化锡(TPT)和甲醇购买于Sigma-Aldrich公司;牛肉膏、蛋白胨、葡萄糖、NaCl、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、 NH_4Cl 、 MgSO_4 、无水 Na_2SO_4 等购买于广州化学试剂厂;乙酸乙酯购买于天津市富宇精细化工有限公司。

三苯基氯化锡储备液:用甲醇溶解三苯基氯化锡,配制成 $1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液,4℃保存待用。

1.2 培养基和培养条件

营养培养基:牛肉膏3g,蛋白胨10g,NaCl5g,蒸馏水1000mL,pH为7.4~7.6。

无机盐培养基(M9): $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 8.7g, KH_2PO_4 3g,NaCl0.5g, NH_4Cl 1g, MgSO_4 0.49g,蒸馏水1000mL。

人工海水^[26]:NaCl24.7g, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 13g, $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 9g,蒸馏水1000mL。

所有培养基均121℃高压蒸汽灭菌30min。

培养条件:除特殊说明外,均30℃恒温摇床振荡避光培养,转速为 $130\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

1.3 菌株对TPT的生物降解实验

1.3.1 菌悬液的制备

用已灭菌的接种环挑取1环固体培养的菌体X-5,以无菌操作接入50mL已高压蒸汽灭菌的营养培养液中活化24h,离心($6000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,20℃)15min,用缓冲液洗涤2次,每支离心管加入2mL的M9培养液,制成菌悬液备用。

1.3.2 TPT的生物降解

往TPT浓度为 $3\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养液中接入1mL菌悬液使总体积为20mL, $130\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 、30℃条件下恒温避光培养。

1.4 分析方法

1.4.1 样品的预处理

取出样品后,加入100mgNaCl,用HCl溶液调节样品pH至2,之后用乙酸乙酯萃取2次^[27],萃取液于 $6000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,4℃,离心8min,上清液加无水硫酸钠脱水后,于40℃旋转蒸发至干,用流动相

($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{水}}:V_{0.1\% \text{ 三氟乙酸溶液}}=50:45:5$)定容至10mL。

1.4.2 检测方法

利用岛津高效液相色谱仪(Shimadzu,Japan)进行检测。色谱柱为Shim-pack VP-ODS(150mm)、柱温为25℃、流动相流速为 $1.000\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 、进样量为20μL、紫外检测波长为206nm。

2 结果与分析

2.1 降解时间对TPT降解的影响

图1是 $0.4900\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 投菌量(干重)在短时间内对TPT的降解情况。从图1可知,15~90min内,菌X-5对TPT的降解速度缓慢,90~120min内降解速度迅速上升,在120min达到最大值,降解率为45.20%,之后则变得稳定,为45.20%~47.29%。这说明菌X-5在短时间内对TPT的降解是一个快速的过程。在120min之后,随时间延长,菌对TPT没有进一步降解。

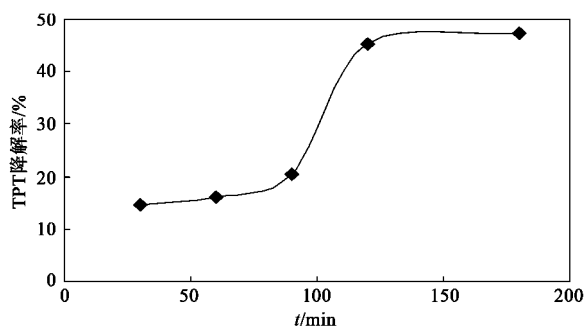


图1 降解时间对菌降解TPT的影响

Fig. 1 Degradation of TPT by cell of *R. spheroids* vs time

2.2 胞外酶对TPT的降解作用

为了考察X-5胞外酶对TPT降解效果的影响,按总体积2%接入菌悬液,30℃, $130\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养条件下活化24h,离心,取上清液20mL,进行TPT的降解实验。实验结果表明其降解效果明显,如图2所示,TPT的降解率随时间的延长而提高,24h达到61.44%,之后其增长速度趋于平缓,48h的降解率为69.10%。综合2.1、2.2节的实验结果,菌体细胞对TPT的降解在2h达到最大值,体系中TPT残余浓度为 $1.887\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而胞外酶在2h对TPT的降解率较低,可见TPT在2h内快速被菌体吸附,并可能作为碳源被微生物利用,实现降解。之后随着TPT积累过多,不利于菌体生长,微生物通过膜蛋白物质运输机制主动把部分TPT运输到细胞外,体系中的TPT浓度随时间逐渐增多,6h为 $2.600\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在胞外,菌体依靠胞外酶对TPT进一步降解,溶液中

TPT 浓度在 6 h 之后快速降低, 24 h 为 $1.318 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 实现 TPT 的生物解毒, 图 3 反映了降解体系中 TPT 含量随时间的变化. 结合图 1~3 可以推断 TPT 的降解主要是通过菌体快速吸附, TPT 进入细胞内, 靠胞内酶进行初步降解, 之后菌体细胞将 TPT 及其中间产物解析到细胞外, 靠胞外酶进一步降解. 在这个过程中胞内酶主要是降低了 TPT 的毒性, 并有利于 TPT 及其中间产物在菌体细胞外的进一步降解.

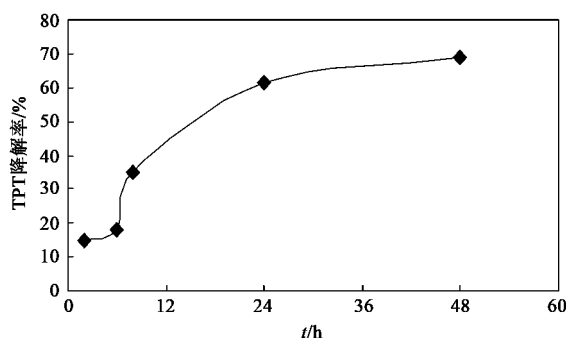


图 2 胞外酶随时间变化对 TPT 的降解情况

Fig. 2 Degradation of TPT by extracellular enzyme of *R. spheroids* vs time

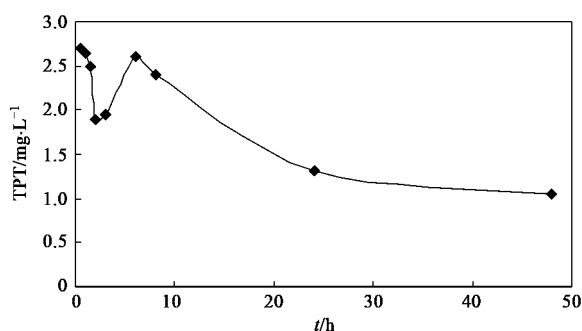


图 3 降解体系中 TPT 含量随时间的变化

Fig. 3 Changes of TPT content in the system vs time

生长环境的改变, 会使微生物的生理特性发生变化. 因为菌 X-5 细胞内含有类胡萝卜素, 培养温度改变, 使菌体在 30°C , $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的培养条件下会在培养液中积累有颜色的水溶性代谢产物. 为了验证胞外酶提取液中水溶性色素对 TPT 降解是否有影响, 做了另一组对比实验: 按总体系 2% 接入菌悬液, 在 37°C , $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养条件下 (在此温度下菌不会产生水溶性色素) 活化 24h 的菌液离心, 取上清液 20 mL, 同等条件下进行 TPT 的降解实验. 实验结果如图 4 所示, 说明胞外酶提取液中的水溶性色素并不会对菌体的胞外酶降解 TPT 产生明显的影响, 在降解体系中对 TPT 具有良好降解效果的是

菌体的胞外酶. 对比菌液的降解效果, 胞外酶对 TPT 的降解周期延长了.

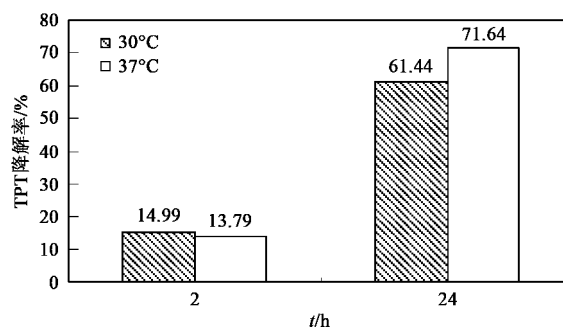


图 4 不同温度下菌体产生的胞外酶对 TPT 的降解

Fig. 4 Degradation of TPT by extracellular enzyme produced under different temperature

2.3 TPT 初始浓度对菌降解 TPT 的影响

从图 5 可以看出, TPT 在实验设置的浓度范围内, 最终都能被菌有效降解, 在降解的过程中, 96 h 前 TPT 的浓度是快速下降, 之后趋于平缓. 不同初始浓度的 TPT 降解 168 h 后剩余浓度不同, 当 TPT 初始浓度分别为 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 降解 7 d, 体系中 TPT 残余浓度分别为 $1.210 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.350 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 而当 TPT 初始浓度为 $7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 7 d 降解后体系中残余浓度为 $2.400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

用下列动力学方程式进行菌 X-5 对 TPT 的生物降解动力学分析:

$$\frac{1}{a-x} = k_2 t + B$$

$$\frac{x}{a(a-x)} = k_2 t$$

$$k_2 = \frac{1}{t} \frac{x}{a(a-x)}$$

式中 a 为污染物的初始浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), x 为 t 时刻污染物已反应掉的浓度 (污染物初始浓度减去反应后体系中污染物的浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$). 当 $t=0$, $x=0$ 时, $B = \frac{1}{a}$. 计算结果表明, 菌 X-5 对 TPT 的生物降解

过程符合二级反应动力学, 其分析结果如图 5 所示, 动力学计算参数和结果见表 1. 由计算结果可知, TPT 浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 降解的半衰期最短, 实验结果显示较高浓度的 TPT 有利于菌对其的降解. 但是环境中 TPT 的含量通常很低, 一般不超过 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 与本实验条件相比, 环境中的降解菌与 TPT 接触的机会较小. 而且通过 2.2 节实验结果分析, TPT 与菌体吸附后, TPT 还要通过跨膜运输进入细胞内, 被胞内酶初步降解, 之后再解析到细胞外由

胞外酶进一步降解. 上述各种因素决定了 TPT 的降解周期很长, 现有的现场监测结果也表明有机锡的半衰期长达数月, 在沉积物中的半衰期则更长, 可达数年至数十年^[28, 29].

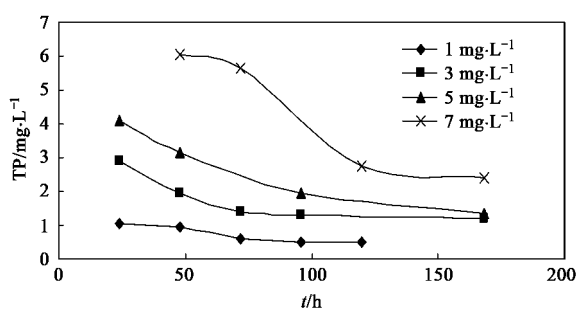


图5 不同浓度的 TPT 随时间变化的降解情况
Fig.5 Effect of TPT concentration on degradation

表1 降解动力学计算结果

Table 1 Kinetic equation of TPT degradation				
TPT 初始浓度 /mg·L ⁻¹	动力学方程	速率常数 /h ⁻¹	半衰期 /h	相关系数 (R)
1	1/c = 0.012 3 t + 0.657 3	0.012 3	81. 30	0.953 8
3	1/c = 0.003 1 t + 0.377 8	0.003 1	107. 5	0.875 7
5	1/c = 0.003 5 t + 0.161 6	0.003 5	57. 14	0.997 8
7	1/c = 0.002 3 t + 0.042 5	0.002 3	62. 11	0.968 6

2.4 降解介质对菌降解 TPT 的影响

2.4.1 水中营养盐对 TPT 降解的影响

采用不同类型的水质进行 2h 的 TPT 生物降解实验, 实验结果显示(图 6), 天然江水最有利于菌对 TPT 的降解, 2h 内降解率为 51.39%. M9 培养基和灭菌的江水次之, 人工海水效果最差.

不同类型的微生物具有不同的适应盐浓度的生理机制. 人工海水中含有较高浓度的 NaCl, 会导致较高的渗透压, 从而使微生物细胞发生质壁分离, 同时营养吸收和 DNA 复制受到抑制, 阻碍了微生物的生长, 进而抑制了微生物对污染物的降解. 江水采集于广东珠江, 不仅含有微生物生长所需的各种营养物质, 而且通过实验 2.4.2 节证明了江水中的土著微生物跟 TPT 降解菌具有协同作用, 土著微生物的存在有力地促进了菌 X-5 对 TPT 的降解. 灭菌的江水由于不含有微生物, 单独依靠降解菌来降解 TPT, 因此 TPT 的降解率低于天然江水. M9 培养基是根据微生物生长所必须营养物质而配制的无机盐培养基, 里面含有微生物生长所需的氮源、无机盐, 但不含碳源, 微生物需充分利用污染物作为碳源来维持

其生长. 从实验结果可以看出, 菌 X-5 可以较好地利用 TPT 作为碳源, 通过降解 TPT, 为细胞提供必要组成成分, 又为细胞维持生命活动提供了所需的能源物质. 双蒸水不含有任何营养物质, 微生物单单依靠 TPT 作为碳源, 生长受到抑制, 因此 TPT 降解率势必较低. 总之, 由于不同水中营养程度差异导致了水中生物量的不同, 从而造成了 TPT 生物降解效率的差异.

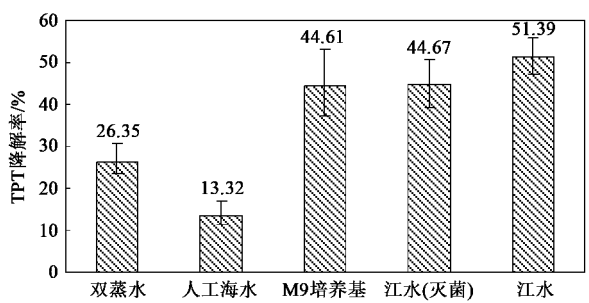


图6 菌体在不同水质中对 TPT 的降解效果
Fig.6 Effect of buffers on degradation
of TPT by cell of *R. spheroides*

2.4.2 天然江水中土著微生物对 TPT 降解的影响

为考察天然江水中土著微生物对降解菌降解 TPT 的影响, 分 3 种条件设置了对比实验: ①往定量天然江水中添加 TPT, 不加菌; ②往灭菌的江水中添加 TPT 和菌; ③往天然江水中添加 TPT 和菌. 3 组实验中 TPT 浓度均为 3 mg·L⁻¹, 投菌量为 0.49 g·L⁻¹, 并以灭菌的江水为对照. 实验结果显示, 土著微生物和降解菌联合作用, 2 h 内对 TPT 的降解率达到 51.39%, 单独依靠降解菌, 2 h 的降解率为 44.67%, 而土著微生物 2 h 对 TPT 的降解只有 1.080%. 结果表明天然江水中土著微生物对降解菌降解 TPT 有促进作用, 两者是协同关系. 在协同作用过程中, 土著微生物将难降解的 TPT 进行转化, 减少其对微生物的毒害作用, 使其成为更容易被降解菌利用的物质, 从而促进了降解菌对 TPT 的降解.

这里提到的协同作用是指在污染物完全氧化过程中有多种微生物参与. 有些污染物不能作为微生物的唯一碳源和能源以维持其生长, 它们只是在微生物利用生长基质时, 被微生物产生的酶降解或成为不完全氧化产物, 这种不完全氧化产物进而可以被别的微生物利用并彻底降解^[30]. 因而, 在纯培养时不存在协同作用, 污染物只是一种截止式转化 (dead-end transformation), 而在混合培养和自然环

境中,这种转化可以为其它微生物的降解作用铺平道路,以共代谢方式使难降解污染物经过多种微生物的协同作用而得到彻底分解^[31]。

2.5 温度对菌降解 TPT 的影响

考虑到实际环境的温度是变化的,为找到菌株最佳的降解温度,提高其对 TPT 的降解率,同时为以后原位生物修复提供参考,考察了不同温度下菌株对 TPT 的降解情况。由于天然水体的温度一般不会超过 35℃,所以将菌株接种于培养体系,分别于 20、25、30 和 32℃ 振荡培养 2 h 后测定其降解率,并在 2 种不同水质体系中进行对比实验。

温度对微生物的影响包括直接效应和间接效应,与 TPT 的微生物降解密切相关。直接效应包括影响微生物的生长代谢、酶活性、细胞组成和营养需求等,间接效应包括影响降解体系中溶质分子的溶解性、离子的运输与扩散、细胞膜渗透压及表面张力等^[32]。微生物体中发挥降解作用的酶是一种生物催化剂,酶分子的化学结构决定了其活性,温度过高会导致酶构象的破坏,从而丧失其原有的生物活性^[33],因此其具有最适反应温度。当环境温度低于最适温度时,酶会失活,无法发挥降解特性,此时升温可以加快降解反应;当温度过高时,酶会变性而失活,从而导致降解反应速度随温度升高而降低。温度不仅会对酶产生影响,还会影响微生物细胞内的蛋白质。温度过低,会使菌体细胞内蛋白质的合成速率降低,进而影响了微生物的生长。温度过高,又会使细胞内生物大分子发生热变性。另外,温度的变化还会改变细胞膜的结构,进而影响了细胞膜对营养物质的运输。

如图 7 所示,温度对 TPT 的微生物降解影响显著。实验结果表明 30℃ 最有利于菌对 TPT 的降解,此时 2 h 降解率达到 49.36%。综合前面的分析,因为 30℃ 是微生物的最佳生长温度,该温度下菌生物量最大,各种细

胞结构和酶的活性最强。当温度在 20~30℃,降解率随着温度的升高而升高,然而到达 30℃ 之后进一步升温并不会带来更高的降解率,但从图 7 可以看出,此时 TPT 的降解率仍然高于 20℃、25℃ 的降解情况。这说明高温比低温更有利于菌株对 TPT 的降解。对比图 7 中 2 种体系 TPT 的降解效果,又一次说明天然江水更有利于菌对 TPT 的降解。

3 结论

(1) 球形红假单胞菌 (*Rhodopseudomonas spheroids*) 对 TPT 有良好的降解效果。0.49 g·L⁻¹ 的菌体(干重)在 3 h 内对 TPT 的降解率为 13.82%~47.29%。TPT 的降解过程符合二级反应动力学。30℃ 是菌最佳生长温度,对 TPT 的降解活性最大。

(2) *R. spheroids* 产生的胞外酶对 TPT 有良好的降解作用,24 h 内对 TPT 的降解达到 71.64%。菌体对 TPT 的降解过程主要是通过菌体快速吸附,TPT 进入细胞内,靠胞内酶进行初步降解,之后菌体细胞将 TPT 及其中间产物返回到细胞外,靠胞外酶进一步降解。

(3) 对比各种降解介质中菌体对 TPT 的降解效果发现,天然江水最有利于菌体对 TPT 的降解。营养物质的供给能促进 *R. spheroids* 对 TPT 的降解,天然江水中的土著微生物对吸附降解菌降解 TPT 具有协同作用,两者联合作用,2 h 内对 TPT 的降解率达到 51.39%。

参考文献:

- [1] Ohhira S, Watanabe M, Matsui H. Metabolism of tributyltin and triphenyltin by rat, hamster and human hepatic microsomes [J]. Archives of Toxicology 2003, 77(3): 138-144.
- [2] Yang R Q, Zhou Q F, Liu J Y, et al. Butyltins compounds in molluscs from Chinese Bohai coastal waters [J]. Food Chemistry, 2006, 97(4): 637-643.
- [3] Paton G I, Cheewasedtham W, Marr I L, et al. Degradation and toxicity of phenyltin compounds in soil [J]. Environmental Pollution 2006, 144(3): 746-751.
- [4] Hassani L H, Frenich A G, Vidal J L M, et al. Study of the accumulation of tributyltin and triphenyltin compounds and their main metabolites in the Sea bass, *Dicentrarchus labrax*, under laboratory conditions [J]. Science of the Total Environment, 2005, 348(1-3): 191-198.
- [5] Huang J H, Schwesig D, Matzner E. Organotin compounds in precipitation, fog and soils of a forested ecosystem in Germany [J]. Environmental Pollution 2004, 130(2): 177-186.
- [6] Voulvoulis N, Lester J N. Fate of organotins in sewage sludge during anaerobic digestion [J]. Science of the Total Environment, 2006, 371(1-3): 373-382.

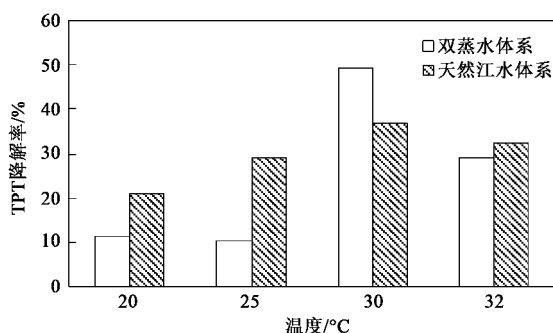


图 7 不同温度、不同体系中菌对 TPT 的降解

Fig. 7 Degradation of TPT by cell of *R. spheroids* in different water under different temperatures

- [7] Cruz A, Caetano T, Suzuki S, *et al.* Aeromonas veronii, a tributyltin (TBT)-degrading bacterium isolated from an estuarine environment, Ria de Aveiro in Portugal [J]. Marine Environmental Research 2007, **64**(5): 639-650.
- [8] Dubey S K, Roy U. Biodegradation of tributyltins (organotins) by marine bacteria [J]. Applied Organometallic Chemistry 2003, **17**(1): 3-8.
- [9] Stasinakisa A S, Thomaidis N S, Nikolaou A, *et al.* Aerobic biodegradation of organotin compounds in activated sludge batch reactors [J]. Environmental Pollution 2005, **134**(3): 434-438.
- [10] Chiron S, Roy S, Cottier R, *et al.* Speciation of butyl- and phenyltin compounds in sediments using pressurized liquid extraction and liquid chromatography - inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2000, **879**(2): 137-145.
- [11] Durand M J, Thouand G, Dancheva-Ivanova T, *et al.* Specific detection of organotin compounds with a recombinant luminescent bacteria [J]. Chemosphere 2003, **52**(1): 103-111.
- [12] 袁东星, 钟树明, 杨东宁. 厦门西港和闽江口表层沉积物中有机锡含量分布 [J]. 台湾海峡 2001, **20**(1): 91-95.
- [13] Verslycke T A, Vethaak A D, Arijs K, *et al.* Flame retardants, surfactants and organotins in sediment and mysid shrimp of the Scheldt estuary (The Netherlands) [J]. Environmental Pollution, 2005, **136**(1): 19-31.
- [14] Jude F, Arpin C, Brachet-Catang C, *et al.* TbtABM, a multidrug efflux pump associated with tributyltin resistance in Pseudomonas stutzeri [J]. FEMS Microbiology Letters 2004, **232**(1): 7-14.
- [15] Ohhira S, Watanabe M, Matsui H. Metabolism of tributyltin and triphenyltin by rat, hamster and human hepatic microsomes [J]. Archives of Toxicology 2003, **77**(3): 138-144.
- [16] Paton G I, Cheewasedtham W, Marr I L, *et al.* Degradation and toxicity of phenyltin compounds in soil [J]. Environmental Pollution 2006, **144**(3): 746-751.
- [17] Chandrinou S, Stasinakis A S, Thomaidis N S, *et al.* Distribution of organotin compounds in the bivalves of the Aegean Sea, Greece [J]. Environment International 2007, **33**(2): 226-232.
- [18] Dimitriou P, Castritsi-Catharios J, Miliou H. Acute toxicity effects of tributyltin chloride and triphenyltin chloride on gilthead seabream, Sparus aurata L., embryos [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003, **54**: 30-35.
- [19] Díez S, Jover E, Albaigés J, *et al.* Occurrence and degradation of butyltins and wastewater marker compounds in sediments from Barcelona harbor, Spain [J]. Environment International 2006, **32**(7): 858-865.
- [20] Zhou Q F, Jiang G B, Liu J Y. Acute and chronic effects of tributyltin on the Chinese rare minnow (Gobiocypris rarus) [J]. Science in China (Series B) 2003, **46**(3): 243-251.
- [21] Martins J D, Jurado A S, Moreno A J M, *et al.* Comparative study of tributyltin toxicity on two bacteria of the genus Bacillus [J]. Toxicology in Vitro 2005, **19**(7): 943-949.
- [22] Tsang C K, Lau P S, Tarn N F Y, *et al.* Biodegradation capacity of tributyltin by two Chlorella species [J]. Environmental Pollution, 1999, **105**(3): 289-297.
- [23] 叶锦韶, 史一枝, 尹华, 等. 水体沉积物中三苯基锡的高效液相色谱检测 [J]. 暨南大学学报 (自然科学版), 2009, **30**(1): 85-88.
- [24] 叶锦韶, 史一枝, 尹华, 等. 三苯基锡吸附降解菌的分离及特性研究 [J]. 环境科学 2009, **30**(8): 2452-2457.
- [25] 叶锦韶, 史一枝, 尹华, 等. 克雷伯氏菌对三苯基锡的酶促降解特性 [J]. 环境科学 2010, **31**(2): 459-464.
- [26] 张正斌, 刘莲生. 海洋物理化学 [M]. 北京: 科学出版社, 1989. 811.
- [27] 周公度主编. 化学辞典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2004. 583-585.
- [28] Dubey S K, Roy U. Biodegradation of tributyltins (organotins) by marine bacteria [J]. Applied Organometallic Chemistry, 2003, **17**(1): 3-8.
- [29] Tessier E, Amouroux D, Morin A, *et al.* (Tri) Butyltin biotic degradation rates and pathways in different compartments of a freshwater model ecosystem [J]. Science of the Total Environment 2007, **388**(1-3): 214-233.
- [30] 夏淑芬. 微生物生态学 [M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1988.
- [31] 曹晓星. 多环芳烃降解菌的共代谢及其相关酶的研究 [D]. 厦门: 厦门大学 2006.
- [32] 刘志恒. 现代微生物学 [M]. (第二版). 北京: 科技出版社, 2008.
- [33] Pinsach J, De Mas C, Lopez-Santin J, *et al.* Influence of process temperature on recombinant enzyme activity in Escherichia coli fed-batch cultures [J]. Enzyme and Microbial Technology 2008, **43**(7): 507-512.