文章编号: 1000-8608(2021)01-0014-08

海洋麦氏交替单胞菌共代谢降解布洛芬研究

郭雅丽,王 竞*,顾 晨,郭定环

(大连理工大学环境学院,辽宁大连 116024)

摘要:布洛芬已在海洋环境中被检出,然而对其在海洋环境中生物降解还未见报道.为了考察海洋细菌对布洛芬的降解,了解布洛芬在海洋环境中的归趋,利用从近海沉积物中分离得到的麦氏交替单胞菌 GCW,考察布洛芬共代谢降解特性、降解过程中生理特性及胞外活性氧的变化.结果表明,GCW 能够共代谢降解布洛芬,3 d 降解率达 90%;降解过程符合准一级反应动力学,速率常数为 0.061 h⁻¹.其次,布洛芬对 GCW 的生长无明显影响,但对胞外聚合物、脱氢酶等生理特性均有促进作用,且能够提高 NADH 氧化还原酶、L-氨基酸氧化酶和铁载体(均与胞外活性氧产生相关)的活性.布洛芬降解发生在胞外,是酶和活性氧的共同作用,活性氧中羟基自由基起到最主要作用.

关键词:麦氏交替单胞菌;布洛芬;共代谢;活性氧;海洋环境 中图分类号:X53 **文献标识码:**A **doi**:10.7511/dllgxb202101003

0 引 言

近年来,药品和个人护理产品(pharmaceutical and personal care products, PPCP)作为一种重要 的环境优先污染物,受到越来越广泛的关注.布洛 芬(ibuprofen, IBP)作为一种典型的 PPCP,是目 前使用最广泛的非甾体类抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)之一^[1].由于 传统废水处理的去除效率相对较低, IBP 无法完 全去除并被排放入环境中^[2].已有报道表明, IBP 已在污水、地表水、海水甚至地下水中被检测到, 浓度范围从 ng • L⁻¹至 μ g • L^{-1[3-4]}.毒理学研究 表明,长期暴露于即使是低浓度的 IBP,仍可显著 影响生物体的生长和发育,并降低群落的生物多 样性,对人类健康和生态系统的平衡具有潜在威 胁^[5-6].

在光照环境中,直接和间接(敏化)光解均可 降解 IBP^[7].已有研究表明,溶解性有机物,尤其 是富里酸是重要的光敏剂^[8-9].而 Matamoros 等 发现,在光照条件下,IBP 也可以在海水中降 解^[10].在生物降解方面,已有研究报道白腐真菌、 黏质沙雷氏菌和淡水硅藻舟形藻等从陆地及淡水 环境中分离的微生物,在一定条件下也能够有效 地降解 IBP^[11-13].有报道表明,由于 IBP 对颗粒的 相对较高的吸附系数,能够吸附于颗粒有机碳并 在湖水中以1m・d⁻¹的速度沉降,因而易于在沉 积物中积累^[14].因此 IBP 不仅存在于海水中,在 沉积物中也被检出^[15-19],这也就意味着,在海洋环 境中光降解并不是 IBP 转化的唯一途径.因此, 本研究利用从近海沉积物中分离得到的麦氏交替 单胞菌 GCW,考察 IBP 共代谢降解特性、降解过 程中生理特性及胞外活性氧的变化,对研究海洋 细菌对 IBP 的生物降解、了解 IBP 在海洋环境中 的归趋具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用菌株 GCW 分离自大连市黑石礁近海表层沉积物,经富集培养后,反复利用稀释涂布平板划线法分离,从而得到菌株 GCW,菌落呈白色,圆形,表面光滑,边缘整齐.经鉴定为麦氏交替单胞菌 Alteromonas macleodii (Genbank 登录号:KY583738).

收稿日期: 2020-02-27; 修回日期: 2020-10-17.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21876018).

作者简介:郭雅丽(1994-),女,硕士生,E-mail:guoyali0821@mail.dlut.edu.cn;王 竞*(1967-),男,教授,博士生导师,E-mail: jwang@dlut.edu.cn.

1.2 IBP 降解实验

实验培养基均用人工海水配制,用 20% NaOH 溶液调节 pH 至 8.0.

唯一碳源培养基:在人工海水中加入 12.5 mg・L⁻¹ NH₄NO₃、2.5 mg・L⁻¹ K₂HPO₄・ 3H₂O和 250 mg・L⁻¹ IBP.

不同共代谢培养基:向人工海水中分别加入 6 g/L 的蛋白胨、牛肉膏和酵母浸粉.

1.3 活性物种定位及鉴别

为定位 IBP 降解发生在菌株胞内还是胞外, 对降解活性物种进行了定域实验.将菌株培养 72 h,取菌液 6 000 r/min 离心分离 10 min,将上 清液过 0.22 μ m 有机滤膜去除细胞后作为胞外 提取液.将沉淀洗涤后用浓度 10 mmol·L⁻¹的 Tris-HCl缓冲液(pH=7.5)重悬,随后冰浴超声 破壁 5 min,15 000 r/min 离心分离 20 min,上清 液作为胞内提取液.在无菌培养基(空白对照)、胞 外和胞内提取液中分别加入 1 mg·L⁻¹的 IBP, 于 25 °C,150 r/min 的恒温摇床中避光反应 5 h. 为了避免胞内活性物质在超声破碎过程中变性失 活,又进行了完整细胞实验.将离心(6 000 r/min, 10 min)后的沉淀用预冷无菌超纯水洗涤 2 次,重 悬于灭菌人工海水,在相同条件下进行反应.

为了鉴别降解 IBP 的活性物质种类,开展了 降解活性物种淬灭实验.首先为了验证活性物种 是否属于降解酶,对胞外提取液分别加热煮沸 15 min和蛋白酶 K 处理(20 U•mL⁻¹)后,加入 1 mg•L⁻¹ IBP,于 25 °C,150 r/min 恒温摇床中 避光反应 5 h.随后又向胞外提取液中分别加入 O_2^{-} 淬灭剂超氧化物歧化酶(SOD,50 kU•L⁻¹)、 H_2O_2 淬灭剂过氧化氢酶(CAT,50 μ g•L⁻¹)、 'OH淬灭剂硫脲(10 mmol•L⁻¹).

1.4 胞外活性氧及相关酶检测

(1)羟基自由基

·OH是一种典型的活性氧(reactive oxygen species,ROS),其测定采用苯甲酸高效液相色谱 法^[20].色谱柱为 Sinochrom ODS-BP (4.6 mm× 250 mm,5 μ m),柱温为 40 ℃.其中,流动相 A 为 超纯水(含 0.1%三氟乙酸),流动相 B 为乙腈,流 动相 A 与流动相 B 体积比为 87 : 13,波长为 255 nm,单个样品运行时间为 20 min. OH浓度计算 方法如下式所示:

 $c(\cdot OH) = c(p-HBA) \times 5.87$ (1) 其中 $c(\cdot OH)$ 为·OH浓度,c(p-HBA)为对羟基 苯甲酸浓度.

(2)超氧阴离子自由基

 $O_2^{i^-}$ 检测采用硝基四氮唑蓝显色法^[21],通过 测定 NADH 氧化还原酶活性来表征体系产 $O_2^{i^-}$ 的能力. 硝基四氮唑蓝(NBT)与 $O_2^{i^-}$ 反应后生 成蓝色不溶于水的甲臜(formazan)^[21],在胞外提 取液中添加 1 mmol·L⁻¹ NADH,快速混匀后再 加入 50 μ mol·L⁻¹ NBT,用紫外-可见分光光度 计连续检测 5 min,波长为 560 nm. 随后对图线进 行线性拟合,斜率越大,则产 $O_2^{i^-}$ 的能力越强.

(3)过氧化氢

H₂O₂ 检测采用的是 DPD/POD 法^[22].向 2 mL的胞外提取液中加入 0.2 mL 浓度为 0.5 mol·L⁻¹的磷酸盐缓冲液(pH=6),再加入 37 μ L用浓度为 0.05 mol·L⁻¹的 H₂SO₄ 配制的 10 g·L⁻¹ DPD 溶液和 37 μ L 的 1 g·L⁻¹ POD 溶液,利用紫外-可见分光光度计测量吸光度,波 长为 551 nm,体系以不加 POD 为空白对照.

(4)铁载体

铁载体的检测基于铬天青(chrome azurol S, CAS)法^[22].将 CAS 检测液与胞外提取液等体积 充分混匀后放置 1 h,利用紫外-可见分光光度计 测定吸光度,波长为 630 nm,以酵母浸粉培养基 作为空白对照.

(5)L-氨基酸氧化酶

L-氨基酸氧化酶(L-amino acid oxidase, LAAO)的检测同样基于 DPD/POD 法^[23].取 1 mL胞外提取液,加入等体积的5g・L⁻¹亮氨酸 溶液作为底物,以不作处理的胞外提取液作对照, 一同在 25 ℃,150 r/min 的恒温摇床中反应1h, 用 DPD/POD 法分别测定反应后体系的 H₂O₂ 浓 度,相减则为1h内产生的 H₂O₂.

1.5 生理特性分析

(1)生长曲线

生长曲线的测定采用比浊法,利用紫外-可见 分光光度计测定菌悬液的光密度来推测菌体的浓度,测定波长为 600 nm.

(2) 胞外聚合物

利用碱法提取菌株经过 72 h 培养后的胞外 聚合物(EPS).取 10 mL 菌液,10 000 r/min 离心 分离 20 min,上清液即为溶解态 EPS. 在沉淀中 加入 10 mL 超纯水充分混匀,加入 0.06 mL 浓度 为 36.5%的甲醛溶液,静置于 4 ℃条件下反应 1 h,随后向体系内加入 4 mL 浓度为 1 mol・L⁻¹ 的 NaOH 溶液静置于 4 ℃条件下培养 3 h,离心 分离(10 000 r/min,4 ℃,20 min),收集上清液经 0.22 μm有机滤膜过滤后即为结合态 EPS. EPS 中多糖测定采用苯酚-硫酸法,蛋白质测定采用考 马斯亮蓝法.

(3) 胞外脱氢酶活性

脱氢酶活性(dehydrogenase activity,DHA) 的检测采用氯化三苯基四氮唑-脱氢酶活性法^[24].

(4)电子传递系统活性

电子传递系统活性(electron transport system activity, ETSA)的检测是基于四唑还原 作用来体现耗氧值,底物是碘硝基氯化四氮唑蓝 (INT)^[25].

1.6 IBP 分析方法

IBP 的测定采用高效液相色谱法. 色谱柱为 Supersil ODS2(4.6 mm×250 mm,5 μ m),柱温 为 40 ℃. 其中,流动相 A 为含有 0.02 mmol・L⁻¹ 磷酸二氢钠的超纯水(用磷酸调 pH = 3.0 ± 0.05),流动相 B 为乙腈,流动相 A 与流动相 B 的 体积比为 40 : 60,流速为 0.8 mL • min⁻¹,在 222 nm波长下对 IBP 浓度进行测定. 单个样品运 行时间为 12 min.

2 结果与讨论

2.1 IBP 降解特性

首先,为了考察菌株 GCW 能否以 IBP 为唯 一碳源生长,进行了唯一碳源降解实验(图1).实 验发现,IBP 未发生明显降解,表明在实验条件 下,GCW不能够以 IBP 为唯一碳源生长.而 IBP 在自然环境中可能与各种易降解物质共存,因此, 选取常见的有机质作为共代谢底物考察了 IBP 的共代谢降解效果(图 1). 实验表明,在无细胞接 入和经过热失活细胞的两个不同空白对照组中, 72 h后 IBP 未发生明显降解(<5%). 而牛肉膏和 蛋白胨培养基中的3d降解率分别为85%和 69%,酵母浸粉培养基最高,为90%.因此,后续 实验选择酵母浸粉作为共代谢底物.对菌株 GCW 好氧共代谢降解 IBP 进行动力学研究,实 验结果如图 2 所示. 在经历 24 h 的停滞期后, 对 $24 \sim 72$ h的 IBP 浓度基于 c/c_0 值取对数,按一级 反应动力学方程线性拟合,拟合结果符合准一级 反应动力学,IBP 降解速率常数为 0.061 h⁻¹,相 对应的半衰期 T_{1/2}为 35.4 h.

关于海洋环境中 IBP 生物降解目前还未见



图 1 不同培养基中的 IBP 降解曲线 Fig. 1 Degradation curves of IBP in different mediums

报道,本研究中的降解速率与 IBP 在海水中光降 解的相关研究结果(0.14 h⁻¹)也相当^[10].对比淡 水及陆地环境中 IBP 生物降解的研究, Marco-Urrea 等发现白腐真菌对 IBP 的 7 d 降解率约为 70%^[11], Xu 等分离的黏质沙雷氏菌对 IBP 的 5 d 降解率为 93%^[12], 本研究在降解周期及降解率方 面具有一定优势.



为了明确降解发生的位置,进行了降解活性物种定位实验(图 3).实验结果表明,菌株 GCW 胞内提取液和完整细胞中的 IBP 均不发生降解, 而胞外提取液中 IBP 发生明显降解,降解率达





Fig. 3 IBP degradation of different fractions of GCW

79%.因此,降解 IBP 的活性物质位于胞外.

为了分辨降解活性物质的种类,进行了活性物种淬灭实验(图 4).发现煮沸抑制了 97.2%的 IBP 降解,说明降解活性物质为热敏性物质.而蛋白酶 K 抑制了 56.9%的降解,说明菌株 GCW 降解 IBP 为酶和非酶物质共同作用,其中酶的作用占 56.9%.随后进行了 ROS 淬灭实验,发现 SOD 抑制了 3.4%的降解,CAT 抑制了 31.2%的降解,硫脲抑制了 56.8%的降解.结果表明,ROS 参与了菌株 GCW 对 IBP 的降解,且 H₂O₂和 OH 起主要作用.



Fig. 4 Relative IBP degradation efficiency of quenching experiment

2.2 降解过程中的生理特性变化

为了探究 IBP 对菌株 GCW 的影响,考察了 菌株在含与不含 IBP 的培养基中的生长曲线、胞 外聚合物、脱氢酶活性等生理特性,这些生理特性 也在一定程度上反映了其降解 IBP 的机理.

菌株 GCW 在含与不含 IBP 体系中的生长曲 线如图 5 所示. GCW 经过 6 h 左右生长到达对数 期,经过约 36 h 生长到达对数末期并进入稳定 期,随后直至 72 h 菌量不再有明显变化. 同时还 可以看出,1 mg • L⁻¹的 IBP 对菌株 GCW 的生 长无显著影响.

胞外聚合物是微生物分泌于细胞外的高分子 聚合物,它覆盖在微生物表面,在微生物与外部环 境之间形成一个缓冲层,能够帮助细胞抵御有害 物质的毒害.同时,已有报道表明 Alteromonas macleodii 菌属能够产生 EPS^[26].经72h培养后, IBP 对菌株 GCW 分泌 EPS 的影响如图 6 所示. 结果表明,加入 IBP 的实验组比对照组 EPS 的蛋 白质含量提高了 15.5%,多糖含量提高了



图 5 含/不含 IBP 培养基中 GCW 的生长曲线 Fig. 5 Growth curves of GCW in medium with / without IBP



图 6 IBP 对 EPS 分泌的影响 Fig. 6 Effects of IBP on EPS production

16.7%,这一结果表明加入 IBP 促进了 EPS 的分 泌,这可能是由于菌株通过分泌 EPS 来抵御外界 环境的毒害.

脱氢酶是细菌关键的氧化还原酶之一,在细菌生长和降解污染物过程中起到重要作用.本实验测定了 IBP 对菌株胞外脱氢酶活性的影响,实验结果如图 7 所示.结果表明,含 IBP 实验组的 DHA 相对于不含 IBP 的对照组有显著提高,尤其是在前 60 h内,提高了 10.8%~35.5%.以上结果说明,IBP 会刺激菌株 GCW 胞外脱氢酶活性,进而有利于污染物的降解.



电子传递系统活性是检测微生物潜在代谢活性的重要生化指标之一,可作为降解能力测定的 有力补充.测定其活力是测定电子传递过程中的 限速步骤酶反应即 CoQ-Cytb 复合体的氧化活力.本实验测定了菌株胞内电子传递系统活性的 变化,如图 8 所示.结果表明,菌株 GCW 在培养 至 36 h后 ETSA 最高,含 IBP 与不含 IBP 分别为 1.11 和 0.85 μg • g⁻¹ • min⁻¹,随后菌体的电子 传递系统活性随时间呈降低趋势.菌株 GCW 在 培养的前 60 h 内,含 IBP 实验组的 ETSA 相对于 不含 IBP 的对照组有显著提高,提高了 10.1%~ 30.7%.以上结果表明,IBP 会刺激菌株 GCW 电 子传递系统活性.



图 8 IBP 对电子传递系统活性的影响 Fig. 8 Effects of IBP on ETSA

2.3 ROS 形成与 IBP 降解

已有研究表明,某些微生物可以产生胞外 ROS,并利用它们降解污染物,例如三苯基锡、三 硝基甲苯和四溴双酚 A^[21,27-28].因此,本研究考察 了包括 O₂⁻⁻、H₂O₂ 和·OH的 3 种 ROS,以阐明 其与 IBP 降解的相关性.

菌株 GCW 添加 NADH 后吸光度拟合曲线 如图 9 所示,结果表明,含 IBP 的实验组曲线斜率 大于不含 IBP 对照,这意味着 1 mg • L⁻¹的 IBP 会刺激 GCW 胞外 O₂⁻ 的产生.而已有研究表 明,O₂⁻ 可以有效降解 IBP^[29],因此可以推测 IBP 降解可能是由 GCW 产生的胞外 O₂⁻ 导致的.

随后还测定了降解过程中 H_2O_2 浓度及 IBP 降解情况,如图 10(a)所示.结果表明, H_2O_2 浓度 在降解过程中呈上升趋势,并在 72 h结束时达到 峰值,分别为 0.93 和 1.21 μ mol·L⁻¹.同时发现 在培养至指数期后期(36 h)之前, H_2O_2 的产生几 乎可以忽略不计.已有研究表明,LAAO 在细胞 外 H_2O_2 产生中起着至关重要的作用,广泛分布 于包括细菌在内的不同生物中.Gómez 等首次



图 9 IBP 对 NADH 氧化还原酶的影响 Fig. 9 Effects of IBP on NADH oxidoreductase



Fig. 10 The generation of extracellular H_2O_2

报道海洋细菌 Marinomonas mediterranea 可以 合成 L-赖氨酸-ε-氧化酶(lodA),该酶可以催化 L-赖氨酸的氧化脱氨反应释放 H₂O₂^[30].他们进 一步研究发现,lodA 在生长的稳定期会分泌到细 胞外环境中^[31],这与本文的研究结果相一致.此 外,在 IBP 降解过程中(24~60 h),含 IBP 的 H₂O₂ 浓度低于不含 IBP 的;而通过对两组中 LAAO 活性检测发现,含 IBP 中 LAAO 的活性 明显高于不含 IBP 的(图 10(b)所示).这意味着 含 IBP 的产胞外 H₂O₂ 能力高于不含 IBP 的,进 而说明含 IBP 的 H₂O₂ 浓度下降并不是由于 IBP 抑制了 H_2O_2 的产生,而是降解 IBP 消耗了 H_2O_2 所致.这也解释了 IBP 降解结束后(72 h),含 IBP 的 H_2O_2 浓度高于不含 IBP 的这一现象.

而研究表明,H₂O₂本身并不能降解 IBP,需 要转化为其他活性物质才能起到降解作用.已有 研究表明,海洋系统中有机 Fe(Ⅱ)络合物可以催 化 H₂O₂ 发生芬顿反应产生 OH^[32]. 在苏荣葵对 UV/H₂O₂ 高级氧化技术降解布洛芬的研究中, ·OH也被证明是导致 IBP 降解的最主要原 因^[33].因此,本研究测定了体系中的胞外·OH浓 度和铁载体的活性.在胞外提取液中检测到·OH 浓度分别为 1.7 和 1.0 μmol • L⁻¹,且在达到稳 定期(60 h)后,浓度趋于稳定(图 11(a)).同时,含 IBP 铁载体的活性显著高于不含 IBP(图 11(b)), 结合 H₂O₂ 的测定结果,含 IBP 的胞外 · OH浓度 应高于不含 IBP 的. 然而含 IBP 的胞外 · OH浓度 却明显低于不含 IBP 的,因此这可能是由于在 IBP 降解中消耗了·OH,这也是 IBP 非酶降解的 主要途径.



3 结 语

本研究首次探讨了海洋环境中 IBP 的生物

降解,证实了麦氏交替单胞菌 GCW 能够共代谢 降解 IBP,以酵母浸粉为共基质时具有最好的降 解效果,并且在降解周期及降解率方面具有一定 优势. IBP 的加入可以提高菌株 EPS、DHA 和 ETSA 等生理特性,并且促进与胞外 ROS 产生相 关的 NADH 氧化还原酶、LAAO 和铁载体的活 性.GCW 降解 IBP 发生在胞外,由酶和非酶物质 共同介导.降解 IBP 的非酶物质主要为 ROS,且 ·OH起最主要作用.本研究加深了对海洋环境中 IBP 生物降解的了解,对研究 IBP 在海洋环境中 的归趋具有启示作用.

参考文献:

- [1] DVOŘÁKOVÁ BŘEZINOVA T, VYMAZAL J, KOŽELUH M, et al. Occurrence and removal of ibuprofen and its metabolites in full-scale constructed wetlands treating municipal wastewater [J]. Ecological Engineering, 2018, 120: 1-5.
- [2] ALI A M, RØNNING H T, SYDNES L K, et al. Detection of PPCPs in marine organisms from contaminated coastal waters of the Saudi Red Sea [J]. Science of the Total Environment, 2018, 621: 654-662.
- [3] HEBERER T. Tracking persistent pharmaceutical residues from municipal sewage to drinking water [J]. Journal of Hydrology, 2002, 266(3): 175-189.
- [4] ROSAL R, RODRÍGUEZ A, PERDIGÓN-MELÓN J A, et al. Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation [J]. Water Research, 2010, 44(2): 578-588.
- [5] ZHANG Dongqing, LUO Jinxue, LEE Z M, et al. Ibuprofen removal in horizontal subsurface flow constructed wetlands: treatment performance and fungal community dynamics [J]. Environmental Technology, 2016, 37(12): 1467-1479.
- [6] DING Tengda, YANG Mengting, ZHANG Junmin, et al. Toxicity, degradation and metabolic fate of ibuprofen on freshwater diatom Navicula sp [J]. Journal of Hazardous Materials, 2017, 330: 127-134.
- [7] PACKER J L, WERNER J J, LATCH D E, et al. Photochemical fate of pharmaceuticals in the environment: Naproxen, diclofenac, clofibric acid, and ibuprofen [J]. Aquatic Sciences, 2003, 65(4):

342-351.

- [8] JACOBS L E, FIMMEN R L, CHIN Y P, et al. Fulvic acid mediated photolysis of ibuprofen in water [J]. Water Research, 2011, 45(15): 4449-4458.
- [9] XU Yonglan, NGUYEN T V, REINHARD M, et al. Photodegradation kinetics of p-tertoctylphenol, 4-tert-octylphenoxy-acetic acid and ibuprofen under simulated solar conditions in surface water [J]. Chemosphere, 2011, 85(5): 790-796.
- [10] MATAMOROS V, DUHEC A, ALBAIGÉS J, et al. Photodegradation of carbamazepine, ibuprofen, ketoprofen and 17α-ethinylestradiol in fresh and seawater [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2008, 196(1): 161-168.
- [11] MARCO-URREA E, PÉREZ-TRUJILLO M, VICENT T, et al. Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes* versicolor [J]. Chemosphere, 2009, 74(6): 765-772.
- [12] XU Bingjie, XUE Gang, YANG Xing. Isolation and application of an ibuprofen-degrading bacterium to a biological aerated filter for the treatment of micro-polluted water [J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2018, 12(5): 15.
- [13] DING Tengda, WANG Suhang, YANG Bo, et al. Biological removal of pharmaceuticals by Navicula sp. and biotransformation of bezafibrate [J].
 Chemosphere, 2020, 240: 124949.
- [14] SCHWARZENBACH R P, GSCHWEND P M, IMBODEN D M. Environmental Organic Chemistry [M]. 3rd ed. New York: Wiley, 2016.
- [15] BAYEN S, ZHANG Hui, DESAI M M, et al. Occurrence and distribution of pharmaceutically active and endocrine disrupting compounds in Singapore's marine environment: Influence of hydrodynamics and physical-chemical properties [J]. Environmental Pollution, 2013, 182: 1-8.
- [16] PEREIRA C D S, MARANHO L A, CORTEZ F S, et al. Occurrence of pharmaceuticals and cocaine in a Brazilian coastal zone [J]. Science of the Total Environment, 2016, 548-549: 148-154.
- [17] ALI A M, RØNNING H T, ALARIF W, et al. Occurrence of pharmaceuticals and personal care products in effluent-dominated Saudi Arabian

coastal waters of the Red Sea [J]. Chemosphere, 2017, 175: 505-513.

- [18] PUSCEDDU F H, CHOUERI R B, PEREIRA C D S, et al. Environmental risk assessment of triclosan and ibuprofen in marine sediments using individual and sub-individual endpoints [J]. Environmental Pollution, 2018, 232: 274-283.
- [19] WOLECKI D, CABAN M, PAZDRO K, et al. Simultaneous determination of non-steroidal antiinflammatory drugs and natural estrogens in the mussels Mytilus edulis trossulus [J]. Talanta, 2019, 200: 316-323.
- [20] ZHANG Peng, YUAN Songhu, LIAO Peng. Mechanisms of hydroxyl radical production from abiotic oxidation of pyrite under acidic conditions [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2016, 172: 444-457.
- [21] STENUIT B, LAMBLIN G, CORNELIS P, et al. Aerobic denitration of 2, 4, 6-trinitrotoluene in the presence of phenazine compounds and reduced pyridine nucleotides [J]. Environmental Science and Technology, 2012, 46(19): 10605-10613.
- [22] SCHWYN B, NEILANDS J B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores [J]. Analytical Biochemistry, 1987, 160(1): 47-56.
- [23] VOELKER B M, SULZBERGER B. Effects of fulvic acid on Fe (II) oxidation by hydrogen peroxide [J]. Environmental Science and Technology, 1996, 30(4): 1106-1114.
- [24] KANG Xingsheng, LIU Changqing, HUANG Lizhu, et al. The different metabolic activity of activated sludge samples taken from reversed A²/O process and conventional A²/O process [J].
 Advanced Materials Research, 2011, 183-185: 1476-1480.
- [25] BLENKINSOPP S A, LOCK M A. The measurement of electron transport system activity in river biofilms [J]. Water Research, 1990, 24(4): 441-445.
- [26] RAGUENES G, PIGNET P, GAUTHIER G, et al. Description of a new polymer-secreting bacterium from a deep-sea hydrothermal vent, Alteromonas macleodii subsp. fijiensis, and preliminary characterization of the polymer [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(1): 67-73.
- [27] SUN Guoxin, ZHONG Jianjiang. Mechanism of

augmentation of organotin decomposition by ferripyochelin: Formation of hydroxyl radical and organotin-pyochelin-iron ternary complex [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(11): 7264-7269.

- [28] GU Chen, WANG Jing, LIU Shasha, et al. Biogenic Fenton-like reaction involvement in cometabolic degradation of tetrabromobisphenol A by Pseudomonas sp. fz [J]. Environmental Science and Technology, 2016, 50(18): 9981-9989.
- [29] HUANG Wenyuan, JING Chuwen, ZHANG Xiaodong, et al. Integration of plasmonic effect into spindle-shaped MIL-88A(Fe): Steering charge flow for enhanced visible-light photocatalytic degradation of ibuprofen [J]. Chemical Engineering Journal, 2018, 349: 603-612.
- [30] GÓMEZ D, LUCAS-ELÍO P, SANCHEZ-AMAT A, *et al*. A novel type of lysine oxidase: L-lysineepsilon-oxidase [J]. **Biochimica et Biophysica Acta**,

2006, 1764(10): 1577-1585.

- [31] GÓMEZ D, LUCAS-ELÍO P, SOLANO F, et al. Both genes in the Marinomonas mediterranea lodAB operon are required for the expression of the antimicrobial protein lysine oxidase [J]. Molecular Microbiology, 2010, 75(2): 462-473.
- [32] MILLER C J, ROSE A L, WAITE T D. Importance of iron complexation for Fentonmediated hydroxyl radical production at circumneutral pH [J]. Frontiers in Marine Science, 2016, 3: 134.
- [33] 苏荣葵. UV/H₂O₂ 高级氧化技术降解布洛芬的研究[J]. 南昌航空大学学报(自然科学版), 2017, 31(2):97-102.108.
 SU Rongkui. Degradation of ibuprofen by UV/ H₂O₂ advanced oxidation technology [J]. Journal of Nanchang Hangkong University (Natural Sciences), 2017, 31(2):97-102,108. (in Chinese)

Study of ibuprofen degradation by marine *Alteromonas macleodii* under co-metabolic conditions

GUO Yali, WANG Jing*, GU Chen, GUO Dinghuan

(School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: Ibuprofen has been detected in marine environment, but its biodegradation in marine environment has not been reported yet. In order to investigate the degradation of ibuprofen by marine bacteria and understand the fate of ibuprofen in marine environment, *Alteromonas macleodii* GCW isolated from offshore sediments is used to study the features of ibuprofen co-metabolic degradation and changes of physiological characteristics and extracellular reactive oxygen species (ROS) during degradation. According to the results,90% of ibuprofen can be degraded in 3 days. The degradation follows pseudo-first-order kinetics, and the degradation rate constant is 0.061 h⁻¹. Besides,ibuprofen has no significant effect on the growth of GCW, but it can promote some physiological characteristics, such as extracellular polymeric substances and dehydrogenase activity. It can also stimulate the activity of NADH oxidoreductase, L-amino acid oxidase and siderophore, which is related to extracellular reactive oxygen species production. Ibuprofen degradation is an extracellular process that relates to both degrading enzyme and ROS, and 'OH plays the most important role.

Key words: Alteromonas macleodii; ibuprofen; co-metabolism; reactive oxygen species; marine environment