

三硝基甲苯在四种水产品中的富集及微生物降解

李禹诺¹, 李大军¹, 孙萍², 刘勇豪², 张秋雨², 徐淼²

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林长春 130000)

(2. 吉林农业大学生命科学学院, 秸秆生物学与高值化教育部重点实验室, 吉林长春 130000)

摘要: 为了保障水产品安全, 本研究建立了一种高效提取 2,4,6-三硝基甲苯 (TNT) 的方法, 利用高效液相色谱 (HPLC) 法对花蚬子、白蚬子、长竹蛏、文蛤四种市售水产品的 TNT 富集能力进行检测, 并利用微生物高效降解水中的 TNT 污染物。结果表明该方法提取率可达 97.80%。四种水产品中花蚬子、白蚬子、文蛤均可对 TNT 有不同程度的积累, 其中白蚬子对 TNT 的富集程度最高, 浓度可达 76.26 ng/g。为降解水体中的 TNT 污染物, 选取了 9 种能够降解芳香环类化合物的天然菌株, 开展了 TNT 的生物降解研究。结果显示 9 种天然菌株均能够降解 TNT, 其中 H5、LM1、CT1 的降解效果较好, 弧菌 H5 的降解效率最高, 在 27 °C 的条件下降解 TNT 9 h, 降解效率可达 80.90%。本研究建立的提取检测方法简单高效、重复性好, 具有较好的应用前景。同时生物降解法能够高效、无二次污染地去除水中的 TNT 污染物。从而保障水体的安全。

关键词: 水产品; 2,4,6-三硝基甲苯 (TNT); 微生物降解; 高效液相色谱 (HPLC)

文章编号: 1673-9078(2020)12-52-59

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.12.0519

Enrichment and Microbial Degradation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in Four Aquatic Products

LI Yu-nuo¹, LI Da-jun¹, SUN Ping², LIU Yong-hao², ZHANG Qiu-yu², XU Miao²

(1.College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130000, China)

(2.College of Life Science, Key laboratory of Straw Biology and Higher Value Application, the Ministry of Education, Jilin Agricultural University, Changchun 130000, China)

Abstract: To ensure the safety of aquatic products, an efficient extraction method for 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) was established in this study. The TNT enrichment ability of four commercially available aquatic products: *Ruditapes philippinarum*, *Macraa veneriformis* Reeue, *Solen strictus* and *Mercenaria mercenaria* was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The TNT pollutants in water were degraded efficiently by microorganisms. The results showed that the extraction rate of this method reached 97.80%. Among the four aquatic products, *Ruditapes philippinarum*, *Macraa veneriformis* Reeue, *Mercenaria mercenaria* could accumulate TNT to different extents, with *Macraa veneriformis* having the highest concentration of accumulated TNT (76.26 ng/g). In order to degrade TNT pollutants in water, 9 aromatic compounds-degrading natural strains were selected for the biodegradation of TNT. The results showed that all the 9 natural strains could degrade TNT, with H5, LM1, and CT1 exhibiting higher efficiency, especially *Vibrio* H5 (which had the highest degradation efficiency, 80.90%, at 27 °C for 9 h). In this study, a simple, efficient and reproducible extraction-detection procedure with a good application prospect was established. In the meantime, the biodegradation method could efficiently removed TNT pollutants in water without secondary pollution, thereby ensuring the safety of water bodies.

Key words: aquatic products; 2,4,6-trinitrotoluene (TNT); microbial degradation; high performance liquid chromatography (HPLC)

引文格式:

李禹诺,李大军,孙萍,等.三硝基甲苯在四种水产品中的富集及微生物降解[J].现代食品科技,2020,36(12):52-59

LI Yu-nuo, LI Da-jun, SUN Ping, et al. Enrichment and microbial degradation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in four aquatic products [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(12): 52-59

收稿日期: 2020-06-03

基金项目: 吉林省发展与改革委员会资助项目 (2019C055-2); 国家环境保护湿地生态与植被恢复重点实验室 2019 年度开放课题 (2019-001)

作者简介: 李禹诺(1996-), 女, 硕士研究生; 研究方向: 食品安全与控制

通讯作者: 徐淼(1979-), 女, 博士, 讲师; 研究方向: 环境污染物的分析检测与降解

近年来,随着中国经济建设的飞速发展,冶金煤矿,石油建设,交通水电,林业地质和控制爆破等方面对工业炸药 2,4,6-三硝基甲苯(TNT)的需求不断增长^[1]。由于其成本廉价、工艺成熟、铸装方便、使用安全等诸多优点^[2],而在我国的发展建设中得以大量使用^[3]。然而 TNT 排放到环境中污染了水域^[3]和土壤^[4],并能够通过污染的水域环境,被水生生物富集,最终通过食物链进入餐桌,影响人类健康^[5-7]。轻则造成人体呼吸道疾病、胃肠道疾病、贫血和再生障碍性贫血,重则致癌致畸^[8,9]。美国环保署建议每升饮用水中 TNT 限量为 0.001 mg^[10],并限制任何剂量 TNT 接触饮用水^[11]。

我国是水产养殖大国,且贝类水产品极易受到水体环境污染而在体内富集有害物质^[12,13],这直接关系到食用者的身体健康,引起了社会的广泛关注。因此,为了提高水产品的安全性,建立一种简单而高效地提取检测水产品中 TNT 的方法显得尤为重要,可为食品市场监督管理提供依据,对我国食品安全的意义重大^[14],目前我国对硝基苯的标准分析方法只有 HJ 592-2010 水质硝基苯类化合物的测定气相色谱法^[15],未见有关水产品中 TNT 提取检测方法的报道。

生物降解是常用的污染修复手段^[16],TNT 在硝基还原酶的作用下,硝基部分连续还原为亚硝基(-NO),羟基氨基(-NHOH),最后是氨基(-NH₂)^[17]。且厌氧和好氧条件下均可发生^[18],利用微生物的新陈代谢既可达到去除污染的目的,同时无二次污染。

本文建立了一种高效提取和检测水产品中 TNT 的方法,对处理后样品提取效率可达 97.80%。研究了花蚬子、白蚬子、长竹蛭、文蛤四种水产品对 TNT 的富集能力。生物降解是一种环境友好且经济安全的污染处理办法,可以有效降低 TNT 污染的危害。本文选择鞣丸酮丛毛单胞菌、恶臭假单胞菌、红球菌、弧菌等 9 种天然微生物开展 TNT 生物降解能力的研究。为水产品中 TNT 的分析检测和水体中 TNT 生物降解提供方法手段和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

标准品 TNT 购买于 NRM 国家标准物资共享平台的标准品;甲醇(色谱纯)购于 Fisher Scientific 公司;蛋白胨、酵母膏购于北京奥博星生物技术有限责任公司;氯仿、NH₄Cl、Na₂PO₄·7H₂O、KH₂PO₄、NaCl、NH₄Cl、MgSO₄、CaCl₂,分析纯,购于北京化学工业集团有限责任公司。超纯水 Ultrapure water (18.2

MΩ/cm)用于 HPLC 分析;水产品为市售鲜活海鲜。

1.2 培养基的配制

LB 培养基: 5 g 胰蛋白胨、2.5 g 酵母膏、5 g 氯化钠,调 pH 至 7.2,定容至 500 mL。

5×M9 盐溶液: Na₂PO₄·7H₂O 64.0 g、KH₂PO₄ 15.0 g、NaCl 2.5 g、NH₄Cl 5.0 g 加水溶解,定容至 1000 mL。

M9 培养基: 5×M9 盐溶液 200 mL、1 M MgSO₄ 2 mL、1 M CaCl₂ 0.1 mL 混合,121 °C 灭菌 15 min 冷却备用。

1.3 菌株的选择

本文选用 9 种天然多环类化合物降解菌鞣丸酮丛毛单胞菌(*Comamonas testosteroni* ATCC11996)CT1^[19]和 KF-1^[20],恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)PS^[21]、假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)LY1^[22]、施氏假单胞菌(*Pseudomonas stutzeri*)JPI^[23]、醋酸钙不动杆菌(*Acinetobacter calcoaceticus*)LM1^[22]、弧菌(*Vibrio*)H5^[24,25]、红球菌(*Rhodococcus* sp.)P14^[26]和布丘氏菌(*Buttiauxella*)S19-1^[27]作为本实验的 TNT 生物降解菌株。上述菌株均为无毒害的天然菌株^[19-27]。

1.4 仪器设备

高效液相色谱仪(e2695),Waters;真空干燥箱(BZF-50),上海博讯;电子天平(ME104),瑞士梅特勒;离心机(DGW-80),宁波新芝;可调式混匀仪,(MX-F)赛洛捷克;酶标仪(sin415-2903),Omega;等仪器设备。

1.5 提取方法的建立

1.5.1 萃取时间的选择

将 2 mL LB 液体培养基和 30 μL 0.1 mg/mL TNT 标准品分别加入四支 15 mL 无菌管中,再以 1 mL 氯仿进行萃取^[28],分别振荡 5 min、10 min、20 min、30 min 后,离心 4000 r/min 10 min,取下相 500 μL 放入 1.5 mL Eppendorf 试管中,再 13000 r/min 离心 10 min,再取下相澄清液 300 μL,真空干燥 30 min。4 °C 保存,待测。

1.5.2 萃取溶剂体积的选择

将 2 mL LB 液体培养基和 30 μL 0.1 mg/mL TNT 标准品分别加入四支 15 mL 无菌管中,再分别使用 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL 氯仿进行萃取,摇床振荡 20 min 后,按 1.5.1 方法提取,所得样品进行 HPLC 检测。

1.6 TNT 检测条件

利用 HPLC 检测 TNT 含量,样品用 40 μL HPLC

流动相溶解。检测器为UV (2988 Water Detector)。色谱柱为C18柱(4.6 mm×150 mm, Waters), 流动相为甲醇:水=60:40, 流速为1 mL/min, 进样量5 μL, 柱温为30 °C。每个试验对照均重复4次。

1.7 TNT标准曲线的建立

使用2、4、6、8和10 ng TNT标准品制备标准曲线。如图1所示, TNT标准曲线峰面积与TNT浓度线性相关($R^2=0.9987$)。如下为方法的质量控制和保证: 在分析样品的过程中, 每10个样品设置一个空白样品, 测定过程中的背景干扰, 根据3倍信噪比($S/N=3$) TNT的检测限(LOD)为4.1 ng/mL, 定量限(QOD)为13.70 ng/mL; 为检测仪器的稳定性, 每10个样品添加一个质量控制(QC)标准, 用于验证响应, 校正保留时间; 同一样品设置4个平行样品。平行样品相对标准偏差(RSD) ≤5%。

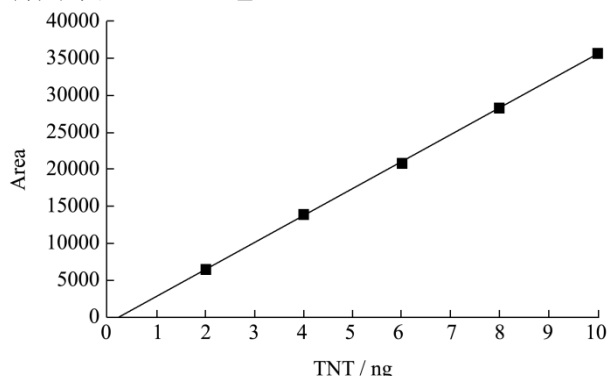


图1 TNT的标准曲线

Fig.1 The standards curve of TNT

1.8 水产品中TNT的富集

我们选用了花蚬子、白蚬子、长竹蛭、文蛤作为研究对象, 每种水产品分为对照组、低浓度处理组0.001 mg/mL和高浓度处理组0.01 mg/mL, 每组实验重复5次。其中对照组每组各取五只清洗剁碎, 取10 g样品, 立即用氯仿提取, 作为HPLC空白对照。同时配制两种不同浓度的TNT处理液(0.01 mg/mL和0.001 mg/mL)对水产品进行饲养, 时间为3 d, 温度20 °C。3日后将样品分别进行充分清洗后剁成大小1mm左右的细块, 取样品10 g, 加入氯仿10 mL, 振荡20 min进行萃取, 以4000 r/min离心10 min, 取下层5 mL放入新无菌离心管中, 再以13000 r/min离心10 min, 取下相3 mL。真空干燥后, 4 °C保存, 待测。

1.9 TNT降解优势菌的筛选

将50 μL CT1、KF-1、PS、JP1、LY1、P14、H5、S19-1、LM1菌液($OD_{600\text{ nm}}=1.0$)分别接种至5 mL M9

培养基(对照组)和加入含有150 μL 0.1 mg/mL TNT的M9培养基(胁迫组), 每天取250 μL培养液用酶标仪测量其光密度, 绘制生长曲线。

1.10 TNT的微生物降解

将100 μL 9种菌液($OD_{600\text{ nm}}=0.1$)分别接种至1 mL LB培养基中, 每管加入15 μL TNT标准溶液(0.1 mg/mL), 27 °C, 180 r/min恒温振荡培养9 h, 按1.5.1方法提取, 通过HPLC检测, 分析TNT降解前后含量, 按照如下方式计算其降解效率。

$$\text{TNT的降解效率}/\% = \left(1 - \frac{A_1}{A_2}\right) \times 100\%$$

其中: A_1 : HPLC检测的经过微生物降解后剩余TNT的面积; A_2 : HPLC检测的微生物降解前TNT的面积。

1.11 培养时间对TNT降解效率的影响

将100 μL H5菌液($OD_{600\text{ nm}}=0.1$)接种至1 mL LB培养基中(含15 μL 0.1 mg/mL TNT)在27 °C, 180 r/min恒温摇床下分别培养0.5 h、1 h、2 h、5 h、9 h、15 h后, 按1.5.1方法提取, 所得样品通过HPLC检测, 按照1.10所述公式计算TNT的降解效率。

2 结果与讨论

2.1 TNT的HPLC谱图

HPLC检测了200 ng的TNT标准品。结果表明TNT在6.85 min被洗脱(图2)。

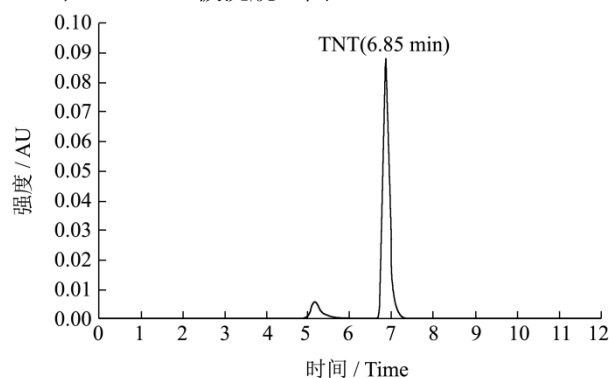


图2 TNT标准品的HPLC谱图

Fig.2 The standards of TNT detected by HPLC

2.2 提取方法的建立

2.2.1 萃取时间的选择

有关水产品中TNT的提取方法, 翟玉娟^[29]以丙酮等萃取溶剂匀浆提取鱼肉中的硝基苯, 回收率可达77.40%。Talalay^[28]等发现一些萃取剂对菌体中有机物进行萃取时, 会造成有机物部分氧化降解。因有机物

萃取剂以氯仿与苯溶液较为稳定而成为本实验的首选萃取剂,但姚明等指出苯作为萃取剂毒性过大,且沸点较高不易处理^[30]。因此选取氯仿作为 TNT 提取溶剂,选用 5 min、10 min、20 min、30 min 四个梯度时间对 TNT 进行萃取,利用 HPLC 进行检测。由图 3 可知,TNT 的最佳萃取时间为 20 min,提取率可达 97.80%。

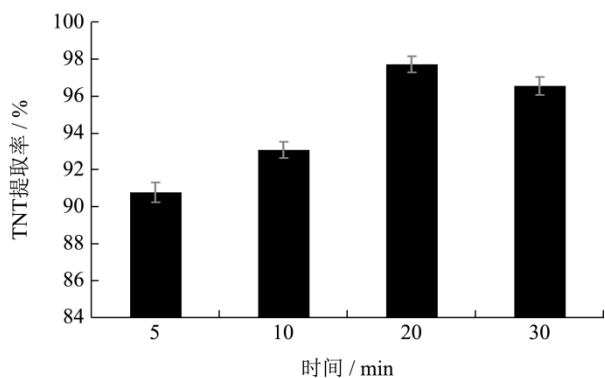


图 3 不同萃取时间提取 0.1 mg/mL TNT 标准品的提取效率

Fig.3 The extraction rate of 0.1 mg/mL TNT by the different extraction times

2.2.2 萃取溶剂体积的选择

以 0.1 mg/mL TNT 为底物,分别使用 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL 的氯仿进行萃取实验,所得样品进行 HPLC 检测。结果表明,回收效率随着萃取溶剂体积的增加先增加后下降,当萃取溶剂体积为 1 mL、2 mL 时,提取效率分别为 96.14%和 96.87%,但相差不到 1%(图 4)。从提取率及经济实用角度,我们选择 1 mL 氯仿进行提取。最终确立 TNT 提取方式:样品使用 1 g/mL 氯仿萃取,时间为 20 min,提取效率可达 96.14%。

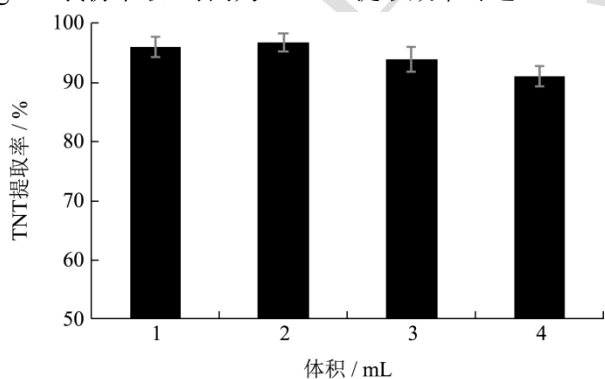


图 4 不同萃取溶剂体积提取 0.1 mg/mL TNT 标准品的提取效率

Fig.4 The extraction rate of 0.1 mg/mL TNT by the different extraction solvent volumes

2.3 水产品对 TNT 的富集程度

为研究水产品对 TNT 富集情况,根据文献^[31]选择容易富集污染物的底栖生物贝类作为研究对象^[32],选用了花蚬子、白蚬子、长竹蛭、文蛤作为研究对象。

上述水产品经过提取后,利用 HPLC 进行检测。如图 5、6 所示,在加入 TNT 的水体中培养的水产品(实线)在 6.85 min 处出现新的吸收峰。说明 TNT 无论高浓度还是低浓度在白蚬子体内均能富集。

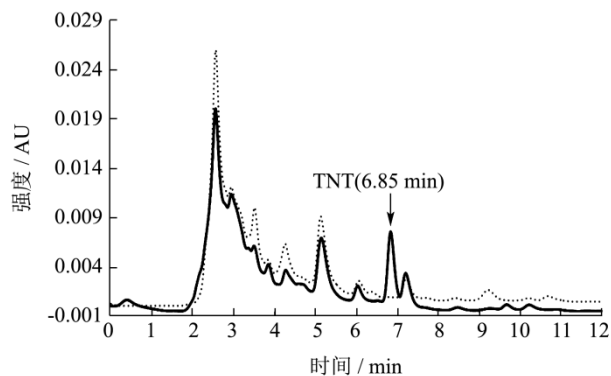


图 5 低浓度 TNT (0.001 mg/mL) 水体中与纯水中白蚬子提取物的 HPLC 谱图

Fig.5 The *Macra veneriformis* Reeue extract in water with low concentration of TNT (0.001 mg/mL) and in pure water were detected by HPLC

注:实线表示 TNT 水体中,虚线表示纯水中;HPLC 230nm。

下图 6~8 同。

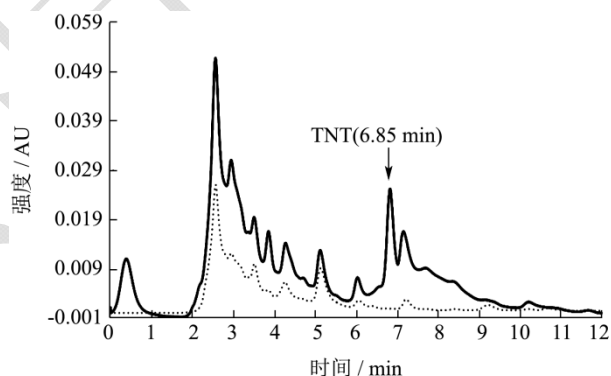


图 6 高浓度 TNT (0.01 mg/mL) 水体中与纯水中白蚬子提取物的 HPLC 谱图

Fig.6 The *Macra veneriformis* Reeue extract in water with high concentration of TNT (0.01 mg/mL) and in pure water were detected by HPLC

如图 7、8 所示,在高浓度处理组中花蚬子、文蛤体内能够富集,长竹蛭未检测出 TNT。四种水产品中只有白蚬子在低浓度(0.001 mg/mL)水体中出现了 TNT 富集。通过标准曲线计算出白蚬子中 TNT 的含量为 46.60 ng/g。

图 9 所示,在高浓度 TNT(0.01 mg/mL)水体中,仅长竹蛭未富集 TNT,白蚬子、花蚬子和文蛤均能够积累 TNT。计算可得白蚬子中积累 TNT 浓度为 76.26 ng/g,花蚬子为 37.44 ng/g,文蛤为 10.08 ng/g。

蚬子在低浓度 TNT(0.001 mg/mL)及高浓度 TNT(0.01 mg/mL)培养中均能够富集,且富集程度为 4

种水产品中最高。说明在这 4 种水产品中白蚬子对 TNT 的富集能力最强。

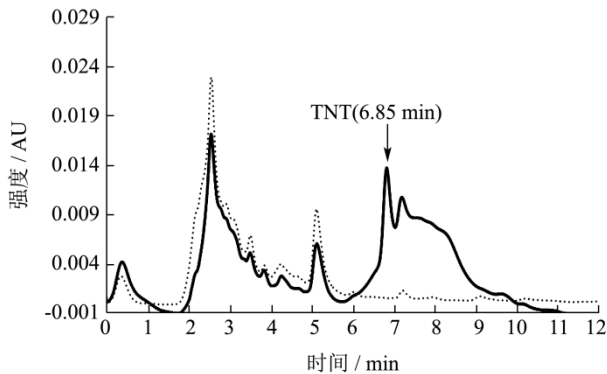


图7 高浓度 TNT (0.01 mg/mL) 水体中与纯水中花蚬子提取物的 HPLC 谱图

Fig.7 The *Ruditapes philippinarum* extract in water with high concentration of TNT (0.01 mg/mL) and in pure water were detected by HPLC

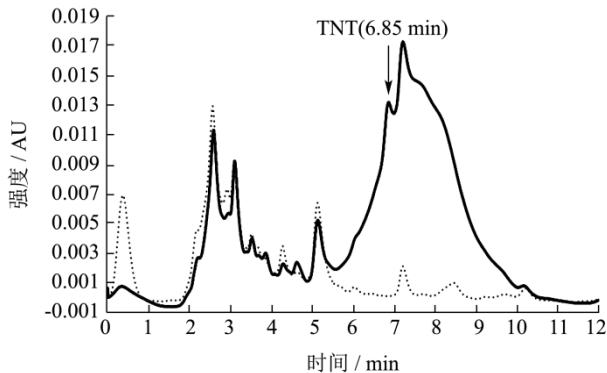


图8 高浓度 TNT (0.01 mg/mL) 水体中与纯水中文蛤提取物的 HPLC 谱图

Fig.8 The *Mercenaria mercenaria* extract in water with high concentration of TNT (0.01 mg/mL) and in pure water were detected by HPLC

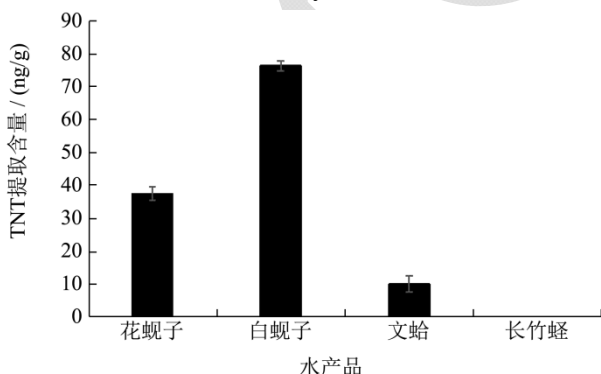


图9 高浓度 (0.01 mg/mL) TNT 处理水产品中 TNT 的含量

Fig.9 The TNT content in high concentration (0.01 mg/mL) TNT treated aquatic products

目前关于水产品对 TNT 富集的相关研究寥寥无几。生物富集主要通过吸附、吸收和吞食从环境介质和食物中摄入某种元素或难分解化合物, 使该生物体

内某物质的含量超标^[33]。Appel 等^[31]在开放式的野外试验场所德国 KolbergerHeide, 监测并检测贻贝 (*Mytilus edulis*) 对 TNT 类污染物的富集情况, 从贻贝中可检测到一种 TNT 衍生物 4-氨基-2,6-二硝基甲苯(4-ADNT), 其含量为 2.40±2.13 至 7.76±1.97 ng/g。该研究与本实验富集结果相符合。Ragi 等研究表明, 影响贝类吸收动力学的因素主要有季节变化, 浓度, 接触时长, 不同器官对污染物的吸收和贮存效率^[34]。Mariussen E^[35]等对鲑鱼富集 TNT 研究发现, 在 TNT 1 mg/L 的浓度下鲑鱼死亡率可达 14%, 且幸存鲑鱼在背肌组织中检测到出血。由此可见多种贝类对 TNT 具有富集能力, 且 TNT 对水产品具有毒性。因此利用微生物菌株对其进行生物降解是非常有必要的。

2.4 TNT 降解优势菌的筛选

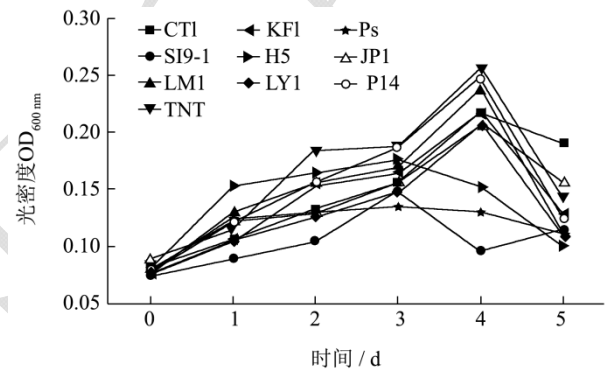


图10 九菌在 M9 培养基中的生长曲线

Fig.10 The growth curves of nine bacteria in M9 medium

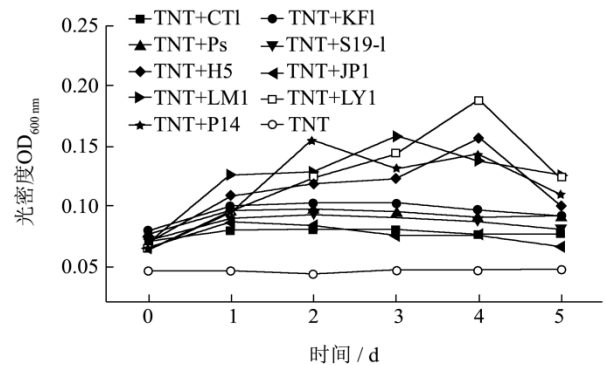


图11 九菌在加入 TNT 的 M9 培养基中的生长曲线

Fig.11 The growth curves of nine bacteria in M9 medium with TNT

如图 10 所示, 将 CT1、KF-1、PS、JP1、LY1、P14、H5、S19-1 和 LM1 菌液(OD_{600 nm}=1.0)分别接种到 M9 培养基中得到各菌株的生长曲线。如图 11 所示, 上述 9 个菌株加入含 TNT 的 M9 培养液得到的生长曲线。结果显示, 无论是否加入 TNT, 上述菌株均在第四天达到菌液浓度最大值, 随之呈下降趋势。在 M9 培养液中, P14、LM1、KF1 菌种生长情况最佳, 菌

液浓度能够达到 0.26 ($OD_{600\text{nm}}$)。在加入 TNT 的 M9 培养液中, 则 H5 和 LY1 菌株生长情况最佳, 菌液浓度达到 0.19 ($OD_{600\text{nm}}$)。说明 H5 和 LY1 对 TNT 具有更好的耐受性。

2.5 TNT 的微生物降解

本实验分别将 100 μL 的 9 种菌液($OD_{600\text{nm}}=0.1$) 分别接种到 1 mL LB 培养基 (含 15 μL 0.1 mg/mL TNT), 置于 27 $^{\circ}\text{C}$, 180 r/min 恒温摇床中培养 9 h, 结果如图 12 所示。九种菌株对 TNT 均能进行降解, H5、LM1、CT1 对 TNT 降解率明显高于其他菌株, 其中 LM1、CT1 降解率为 77.38% 和 76.45%, H5 降解率最高可达 81.02%, PS 降解效果较弱, 降解率为 49.70%。H5 对 TNT 的降解效率最高, 可能是由于其能够提供硝基还原酶高效降解 TNT^[16]。且 Tao Peng 等研究表明弧菌对多环类物质有良好的降解能力^[36], 这与该实验结果相符。生物降解过程中, 硝基芳族化合物主要被细菌用作碳源和氮源, 充当能源物质最后矿化^[37]。

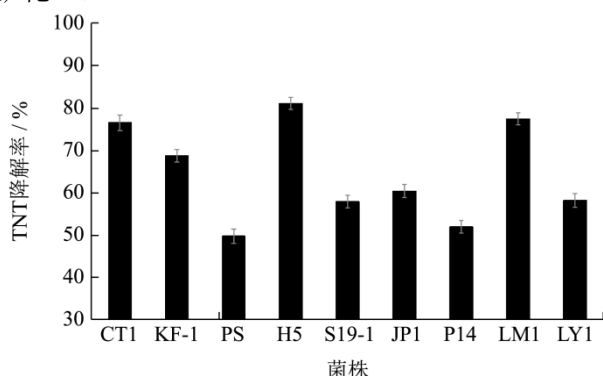


图 12 九种菌株降解 TNT 的降解率

Fig.12 The TNT degradation rates of nine strains

2.6 培养时间对优势菌株降解 TNT 的影响

根据上述结果, H5 菌株降解 TNT 的效率最高, 因此选用 H5 菌株研究了培养时间对 TNT 降解效率的影响, 在 27 $^{\circ}\text{C}$, 180 r/min 恒温摇床下分别培养 0.5 h、1 h、2 h、5 h、9 h、15 h 后, HPLC 检测结果表明: 0.5 h 与 1 h 时, 降解效率较低, 分别为 37.86% 和 32.66%。2 h 到 15 h 区间内, TNT 的降解效率明显升高, 9 h 时降解率即可达最大值为 80.90%。而当降解时间增加至 15 h 时降解率基本保持不变。说明随着培养时间的增加, H5 对 TNT 的降解率也随之增加, 至 9 h 时降解率即可达到最大值。郭晓洁等^[38]筛选出克雷伯氏高效菌株 S 对 TNT 进行降解, 当 TNT 作为唯一氮源时, 16 h 降解率可达 12%。近年 Lin Hong-yan 等^[39]在具有还原铁作用的菌群中分离出一种 TNT 降

解菌株芽孢杆菌 (*B. mycoides*), 并应用于降解工业废水中的 TNT, 72 h 降解率可达 88%。因此能够高效降解 TNT 的 H5 菌株在处理 TNT 污染时, 可优先考虑。微生物代谢能力一旦成功开发, 可以通过生物降解或生物强化来处理 TNT 水污染, 相比其他方法更加经济环保^[40]。

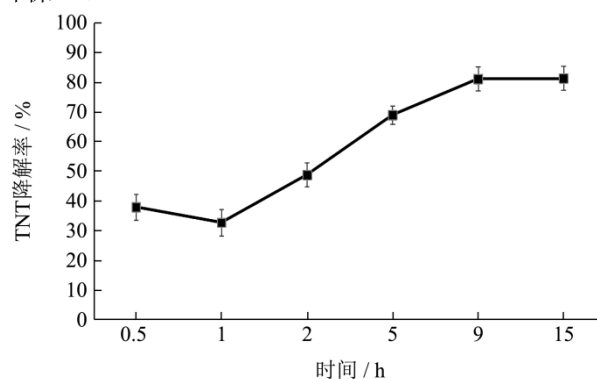


图 13 不同时间 H5 对 TNT 的降解率

Fig.13 The TNT degradation rate of different time

4 结论

通过本试验, 确立了最佳 TNT 提取条件为: 样品使用 1 g/mL 氯仿萃取 20 min, 提取率可达 97.80%。发现在高浓度 TNT (0.01 mg/mL) 水体中, 白蚬子、花蚬子、文蛤均能够对 TNT 进行积累, 其富集程度: 白蚬子>花蚬子>文蛤。在低浓度 TNT (0.001 mg/mL) 水体中, 只在白蚬子中检测到 TNT 的富集。说明四种水产品中白蚬子对 TNT 的富集能力最强。在微生物降解实验中, H5、LM1 和 CT1 这三种菌株具有较高降解 TNT 的能力, 9 h 时降解率分别为 81.02%、77.38% 和 76.45%。对不同时间降解的研究表明: 随着时间的延长, H5 菌株的降解率随之升高, 9 h 的降解率即可达 80.90%。本文建立了一种高效提取水产品中 TNT 的方法, 并证实多种水产品对 TNT 具有富集能力。利用微生物对水体中 TNT 污染物进行安全高效的降解, 为水体和水产品的安全奠定了基础。

参考文献

- [1] 刘建清.我国民爆市场需求的形成特点及前景展望[J].中国城市经济,2011,24:295
LIU Jian-qing. The formation characteristics and prospects of China's explosive market demand [J]. China Urban Economy, 2011, 24: 295
- [2] 谭彦威,刘玉存,杨宗伟,等.熔铸炸药的研究进展[J].山东化工,2011,40(5):22-24
TAN Yan-wei. LIU Yu-cun, YANG Zong-wei, et al. The current research of the melt-cast explosive [J]. Shandong

- Chemical Industry, 2011, 40(5): 22-24
- [3] Stenuit B A, Agathos S N. Biodegradation and bioremediation of TNT and other nitro explosives [J]. Comprehensive Biotechnology, 2019, 6: 181-196
- [4] Martin J L, Comfort S D, Shea P J, et al. Denitration of 2,4,6-trinitrotoluene by *Pseudomonas savastanoi* [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1997, 43(5): 447-455
- [5] Lakshmi Prasanna Lingamdinne, HoonRoh, Yu-Lim Choi, et al. Influencing factors on sorption of TNT and RDX using rice husk biochar [J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2015, 32: 178-186
- [6] Sang Ying-ying, Xiong Guang-ming, Maser Edmund. Identification of a new steroid degrading bacterial strain *H5* from the balticsea and isolation of two estradiol inducible genes [J]. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2012, 129(1-2): 22-30
- [7] Beck A J, Martha G, Christian S, et al. Spread, behavior and ecosystem consequences of conventional munitions compounds in coastal marine waters [J]. Frontiers in Marine Ence, 2018, 5: 141
- [8] Ali A, Zinnert J C, Muthukumar B, et al. Physiological and transcriptional responses of *Baccharis halimifolia* in explosive "composition B" (RDX/TNT) in amended soil [J]. Environmental Science & Pollution Research International, 2014, 21(13): 8261-8270
- [9] Nipper M, Qian Y, Carr R.S, et al. Degradation of picric acid and 2,6-DNT in marine sediments and waters: the role of microbial activity and ultra-violet exposure [J]. Chemosphere, 2004, 56(6): 519-530
- [10] Jennison J, Flowers W E. USEPA releases 2014-2018 strategic plan for water [J]. Journal American Water Works Association, 2014, 106(10): 40-43
- [11] Soumya, Chatterjee, Utsab, et al. Common explosives (TNT, RDX, HMX) and their fate in the environment: Emphasizing Bioremediation [J]. Chemosphere, 2017, 184: 438-451
- [12] 刘媛,王健,孙剑峰,等.我国海洋贝类资源的利用现状和发展趋势[J].现代食品科技,2013,29(3):673-677
LIU Yuan, WANG Jian, SUN Jian-feng, et al. Utilization Status of the resource of marine shellfish in China and preliminary study on its development [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(3): 673-677
- [13] Rosen Gunther, Lotufo Guilherme R. Bioaccumulation of explosive compounds in the marine mussel, *Mytilus galloprovincialis* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 68(2): 237-245
- [14] 乐建盛.水产品质量安全问题及对策[J].食品科技,2008, 33(6):175-178
LE Jian-sheng. Issue and countermeasures on the quality and safety of aquatic product [J]. Food Science and Technology, 2008, 33(6): 175-178
- [15] 王治业,祝英,季彬,等.生物强化技术处理苯胺废水难降解有机物的研究[J].环境工程,2014,32(Z1):16-18
WANG Zhi-ye, ZHU Ying, JI Bin, et al. A study on treatment of refractory compounds in aniline wastewater by bioaugmentation technology [J]. Environmental Engineering, 2014, 32(Z1): 16-18
- [16] Chiu H Y, Verpoort F, Liu J K, et al. Using intrinsic bioremediation for petroleum-hydrocarbon contaminated groundwater cleanup and migration containment: Effectiveness and mechanism evaluation [J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2017, 72: 53-61
- [17] Vorbeck C, Lenke H, Fischer P, et al. Identification of a hydride-Meisenheimer complex as a metabolite of 2,4,6-trinitrotoluene by a *Mycobacterium* strain.[J]. Journal of Bacteriology, 1994, 176(3): 932-934
- [18] Lin H Y, Yu C P, Chen Z L. Aerobic and anaerobic biodegradation of TNT by newly isolated *Bacillus mycoides* [J]. Ecological Engineering, 2013, 52: 270-277
- [19] Schleheck D, Knepper T P, Fischer K, et al. Mineralization of individual congeners of linear alkylbenzenesulfonate by defined pairs of heterotrophic bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70: 4053-4063
- [20] Xiong Guang-ming, Draus Evelyn, Luo Yi-jing, et al. 3alpha-Hydroxysteroid dehydrogenase/carbonyl reductase as a tool for isolation and characterization of a new marine steroid degrading bacterial strain [J]. Chemico-Biological Interactions, 2009, 178: 206-210
- [21] 杨敏,吴青,沙莎.养殖大鲵恶臭假单胞菌的分离鉴定及药物敏感性分析[J].中国兽医杂志,2018,54(1):87-90
YANG Min, WU Qing, SHA Sha. Isolation and identification of the *Pseudomonas putida* of farmed from gian salamander and drug sensitivity analysis [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2018, 54(1): 87-90
- [22] Li Ming-tang, Zhao Xing-min, Zhang Xiu-fang, et al. Biodegradation of 17 β -estradiol by bacterial co-culture isolated from manure [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 3787
- [23] Liao Xiao-yong, Chen Tong-bin, Xie Hua, et al. Soil as contamination and its risk assessment in areas near the industrial districts of Chenzhou city, Southern China [J]. Environment International, 2005, 31: 791-798

- [24] Zhang Ting-di, Xiong Guang-ming, Maser E. Characterization of the steroid degrading bacterium S19-1 from the Baltic sea at Kiel Germany [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2011, 191: 83-88
- [25] Lei Liang, Song Xiao-hui, Kong Jing, et al. Anaerobic biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a facultative anaerobe *Pseudomonas* sp. JP1 [J]. *Biodegradation*, 2014, 25: 825-833
- [26] 邱孜博,汪荣,张杨,等.红球菌及其生物降解作用研究进展[J].*食品科学*,2016,37(7):254-258
QIU Zi-bo, WANG Rong, ZHANG Yang, et al. Recent progress in studies of *Rhodococcus* and its application of in biodegradation [J]. *Food Science*, 2016, 37(7): 254-258
- [27] 王娜.布鲁氏菌免疫相关抗原研究进展[J].*疾病监测*,2014, 2(29):156-162
WANG Na. Progress in research of immune related antigen of *Brucella* [J]. *Disease Surveillance*, 2014, 2(29): 156-162
- [28] Talalay P, Dobson M M, Tapley D F. Oxidative degradation of testosterone by adaptive enzymes [J]. *Nature*, 1952, 170(4328): 620-621
- [29] 翟玉娟.鱼体、畜禽可食用组织中硝基苯的提取及分析测定方法研究[D].长春:东北师范大学,2007
ZHAI Yu-juan. Pretreatment method and analysis for determination of nitrobenzenes in edible tissues of fish, domestic animals and poultry [D]. Changchun: Northeast Normal University, 2007
- [30] 姚明,線引林.生物体液中三硝基甲苯及其代谢产物的分析及测定[J].*国外医学(卫生学分册)*,1988,1:11-15
YAO Ming, XIAN Yin-lin. Analysis and determination of trinitrotoluene and its metabolites in biological fluids [J]. *Journal of Environmental Hygiene*, 1988, 1: 11-15
- [31] Appel D, Strehse J, Martin H J. Bioaccumulation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) and its metabolites leaking from corroded munition in transplanted blue mussels (*M. edulis*) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018,135: 1072-1078
- [32] Salazar M. H, Salazar, S. M. In-situ bioassays using transplanted mussels: I. Estimating chemical exposure and bioeffects with bioaccumulation and growth [J]. *Nature*, 1955, 170: 216-241
- [33] Gobas F, Morrison H. Biococentration and biomagnification in the aquatic environment [J]. *Environmental and Health Sciences*, 2000, 1: 189-231
- [34] RagiA S, Leena P P, Cheriyan E, et al. Heavy metal concentrations in some gastropods and bivalves collected from the fishing zone of South India [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, 118(1-2): 452
- [35] Mariussen E, Stormes S M, Bifot K O, et al. Uptake and effects of 2, 4, 6-trinitrotoluene (TNT) in juvenile Atlantic salmon (*Salmosalar*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 194: 176-184
- [36] Peng Tao, Chen Qing-kun, Lun Jing-sheng, et al. Isolation and characterization of a marine testosterone-degrading bacterium: *Vibrio* sp. N3 [J]. *Revista Argentina de Microbiologia*, 2019, 51(2): 170-178
- [37] Kulkarni Meenal, Chaudhari Ambalal. Microbial remediation of nitro-aromatic compounds: an overview [J]. *Journal of Environmental Management*, 2007, 85(2): 496-512
- [38] 郭晓洁,辛宝平,陈实,等.克雷伯氏高效菌株 S 对 TNT 的降解条件和机理研究[J].*兵工学报*,2010,30(12):1611-1616
GUO Xiao-jie, XIN Bao-ping, CHEN Shi, et al. Study on conditions and preliminary mechanism of TNT biodegradation by the strain S (*Klebsiella* sp.) [J]. *Acta Armamentarii*, 2010, 30(12): 1611-1616
- [39] Lin Hong-yan, Yu Chang-ping, Chen Zu-liang. Aerobic and anaerobic biodegradation of TNT by newly isolated *Bacillus mycoides* [J]. *Ecological Engineering*, 2013, 52: 270-277
- [40] Claus H. Microbial Degradation of 2,4,6-trinitrotoluene *in Vitro* and in Natural Environments [M]. *Biological Remediation of Explosive Residues*, Springer International Publishing, 2014: 15-38