

Mariusz Krupiński¹, Jerzy Długoński^{1*}

¹ Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii, Uniwersytet Łódzki
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

Wpłynęło w lipcu 2011 r.

1. Wprowadzenie. 2. Charakterystyka nonylofenoli. 3. Zdolność drobnoustrojów do eliminacji nonylofenoli. 4. Produkty pośrednie rozkładu nonylofenoli. 5. Uwagi końcowe.

Biodegradation of nonylphenols by some microorganisms

Abstract: In recent years much effort has been put into finding and studying microorganisms that have the ability to effectively reduce highly bioactive and toxic xenobiotics. Among them are alkylphenols, especially nonylphenol, which is highly toxic and tends to bio-accumulate. Nonylphenol mainly found as a technical nonylphenol (tNP) which is a mixture of different isomers (approximately 30 to 100) with variously branched side chain. This xenobiotic possess the ability to mimic endogenous hormones and can interact with natural estrogen receptors therefore it may induce adverse effects in many organisms. Most of the nonylphenol present in the environment results from biological and physico-chemical degradation of nonylphenol polyethoxylates (NPEO) which are widely used for domestic and industrial purposes. However, at present little is known about nonylphenol further degradation, especially about microbiological degradation pathways and possible intermediates. Partial biodegradation of nonylphenol has been observed in both pure and mixed cultures where it is cometabolically transformed mainly to hydroxylated metabolites. Few pure cultures of bacteria and filamentous fungi are able to use nonylphenol as the sole source of carbon and energy. Degradability of nonylphenol isomers is strongly dependent on the structure of the alkyl chain. There is a strong correlation between biotransformation of individual isomers and their α -substitution pattern. Most studies suggest that biodegradation of nonylphenol may be initiated via oxidative breakdown of the alkyl chain or oxidative attack on the aromatic ring. Among microbial enzymes potential candidates for catalysis of nonylphenol transformation are hydroxylases of cytochrome P450 or lignin-degrading enzymes such as laccase, manganese peroxidases and lignin peroxidases.

1. Introduction. 2. Characterization of nonylphenols. 3. The ability of microorganisms to degrade of nonylphenols. 4. Intermediates of nonylphenols degradation. 5. Summary remarks.

Słowa kluczowe: biodegradacja, nonylofenole, cytochrom P450

Key words: biodegradation, nonylphenols, cytochrome P450

1. Wprowadzenie

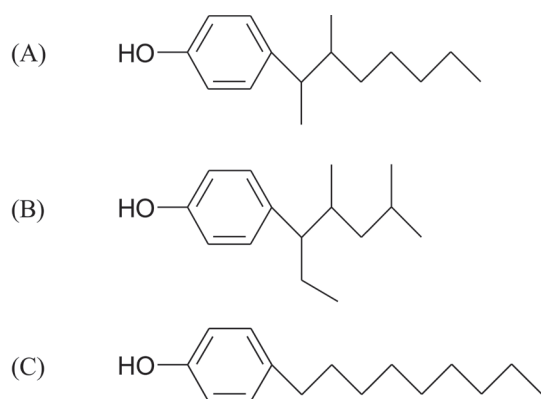
Działalność gospodarza człowieka oraz postępująca urbanizacja stwarzają stałe zagrożenie skażenia naszego otoczenia ksenobiotykami. Ich obecność w środowisku jest bezpośrednio lub pośrednio przyczyną wielu niepożądanych procesów, przyczyniając się do zakłócenia równowagi biologicznej, jak również powstawania niekorzystnych zmian na poziomie ekosystemów. Toksyczne efekty oddziaływania polutantów na ludzi i zwierzęta, objawiają się między innymi: alergiami, zaburzeniami w funkcjonowaniu narządów, a także procesami nowotworzenia [7]. Szczególnie niebezpieczną grupę zanieczyszczeń stanowią alkilofenole (AP) zakłócające prawidłowe funkcjonowanie układu hormonalnego u ludzi i zwierząt. Typowym przedstawicielem tej grupy związków są nonylofenole (NPs) – ksenoestrogeny stosowane przy wytwarzaniu wielu produktów powszechnie używanych w gospodarstwach domowych. Jednocześnie NPs zaliczane są do substancji niebezpiecznych, których eliminacja powinna być priorytetem

w ochronie środowiska [48, 49]. Mimo wprowadzanych zakazów i ograniczeń ilość ich stale utrzymuje się na niedopuszczalnym poziomie w glebie, osadach dennych, toni wodnej, a w konsekwencji w organizmach zwierząt i ludzi [13, 14, 27, 28, 35]. Stąd też stały wzrost zainteresowania poszukiwaniem skutecznych metod degradacji tych ksenobiotyków z użyciem drobnoustrojów.

2. Charakterystyka nonylofenoli

Nonylofenole są związkami pochodzenia antropogenicznego. Szczególnie cenną bazę surowcową w procesach produkcyjnych stanowią *para*-nonylofenole (4-nonylofenole). Występują one w postaci kilkudziesięciu izomerów różniących się stopniem rozgałęzienia fragmentu alkilowego cząsteczki (Rys. 1). W formie mieszaniny od 30 do nawet 80–100 izomerów określanej skrótem tNP (techniczny nonylofenol), wykorzystywane są jako półprodukty do wytwarzania bardziej złożonych związków znajdujących zastosowanie w różnorodnych

* Autor korespondencyjny: Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii Uniwersytetu Łódzkiego; ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: jdlogo@biol.uni.lodz.pl



Rys. 1. Chemiczna struktura wybranych izomerów *para*-nonylofenolu

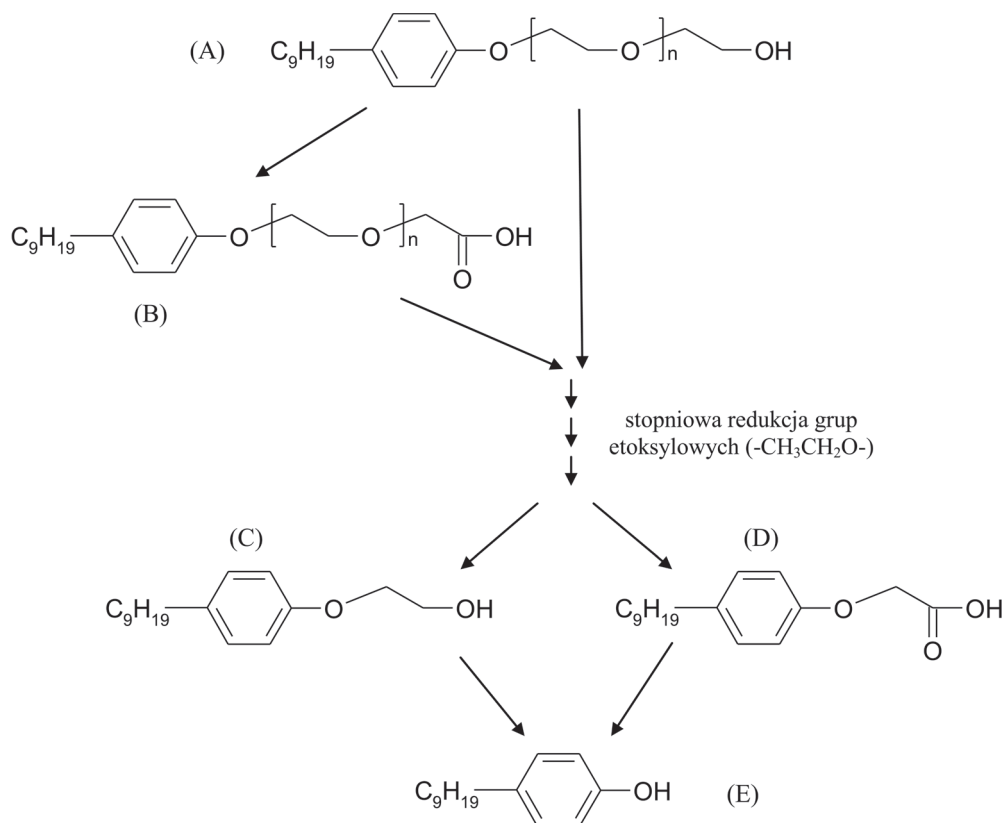
(A) – 4-(1,2-dimetylo-heptylo) fenol; (B) – 4-(1-etylo-2,4-dimetylopentylo) fenol; (C) – 4-*n*-nonylofenol (*n* – non-brenched)

gałęziach gospodarki [23, 25, 31, 35]. Techniczny nonylofenol zawiera także niewielkie ilości 2-nonylofenoli i 4-decylofenoli. Stosowane są one najczęściej do wytwarzania oksyetylenowanych nonylofenoli (NPEO), które stanowią komponenty m.in. środków piorących i czyszczących, kosmetyków, wyrobów plastikowych, materiałów kompozytowych, farb, lakierów, smarów, jak również wykorzystywane są przy produkcji tekstyliów i wyrobów papierniczych [17, 31, 42]. Rozkład tych związków z udziałem drobnoustrojów, a także czynni-

ków fizykochemicznych prowadzi do wytworzenia form *mono*- i *di*-etoksyloowanych oraz samych 4-nonylofenoli (Rys. 2) [17, 35, 42]. Niewielka ilość tych ksenobiotyków jest także uwalniana do otoczenia w trakcie procesów technologicznych, w których związki te znajdują bezpośrednie zastosowanie [28].

NPs charakteryzują się stosunkowo wysoką opornością na procesy degradacyjne oraz łatwo ulegają bioakumulacji [1, 11, 28]. Uwalniane do środowiska stwarzają zagrożenie dla zdrowia i życia wielu organizmów przede wszystkim ze względu na swoje endokryne właściwości. Posiadają zdolność do zaburzania funkcjonowania układu hormonalnego wielu organizmów poprzez naśladownictwo endogennych hormonów i interakcję z naturalnymi receptorami [5, 37, 42]. Udowodniono, iż obecność NPs w pożywieniu przyczynia się do zmniejszenia płodności, powstawania deformacji ciała, a także zwiększenia śmiertelności zwierząt [3, 6]. NPs, mogą także wywoływać niekorzystne efekty w organizmie ludzkim jak np.: zmniejszenie objętości ejakulatu, przedwczesne pokwitanie, czy dysfunkcje tarczycy [2, 10, 35].

Obecność NPs wykazano w wielu elementach biosfery m.in. glebie, wodach gruntowych, osadach dennych, rzekach, jeziorach, powietrzu czy opadach atmosferycznych [10, 35]. Jako związki długo utrzymujące się w środowisku naturalnym (okres połowicznego rozpadu



Rys. 2. Drogi mikrobiologicznej degradacji polioksyetylenowanych nonylofenoli [17, 35, 42]

(A) – polioksyetylenowany nonylofenol; (B) – karboksylan polietoksylowanego nonylofenolu; (C) – *mono*-etoksylowany nonylofenol; (D) – kwas nonylofenylooctowy; (E) – nonylofenol

w glebie i osadach dennych, wynosi od 28 do 104 dni), stwarzają realne zagrożenie dla funkcjonowania całych ekosystemów [13, 20, 42]. Ksenoestrogeny te wykazano także w próbkach tkanek oraz płynów fizjologicznych pobranych od ludzi. Wydaje się, iż główną przyczyną obecności NPs w organizmie człowieka jest skażona żywność [30, 35].

3. Zdolność drobnoustrojów do eliminacji nonylofenoli

Eliminacja ksenobiotyków, w tym NPs, ze skażonych środowisk jest procesem złożonym obejmującym szereg przemian o charakterze fizykochemicznym i biologicznym, często nachodzących na siebie. Należy także zaznaczyć, iż eliminacja NPs ze środowiska przez mikroorganizmy, w wielu przypadkach nie jest równoznaczna z ich degradacją oraz detoksykacją. Szereg drobnoustrojów posiada jedynie zdolność do adsorpcji NPs na powierzchni komórki i/lub gromadzenia ich w wewnętrznych strukturach komórkowych. Przykładem mogą być mikroalgi *Isochrysis galbana* hodowane w obecności 4-nonylofenolu (100 µg/l), u których po jednej godzinie inkubacji, 5% wyjściowej ilości ksenoestrogenu było zaadsorbowane na powierzchni komórek, a aż 77% uległo akumulacji wewnątrzkomórkowej (przy braku rozkładu alkilofenolu) [14]. Stanowi to poważne zagrożenie dla prawidłowego funkcjonowania łańcuchów troficznych, w których glony spełniają kluczową rolę jako pokarm dla innych organizmów [13, 14, 42]. Również u grzyba mikroskopowego *Paecilomyces lilacinus* oraz szczepów grzybów z rodzajów: *Cunninghamella*, *Mucor*, *Fusarium*, *Rhodotorula*, mimo wyraźnego spadku zawartości toksycznego substratu, nie udało się stwierdzić obecności produktów degradacji nonylofenolu (w zastosowanych układach doświadczalnych), co sugeruje iż ulegał on jedynie związaniu ze strukturami komórkowymi badanych drobnoustrojów [19, 36, 37, 43, 44].

Jedną z najważniejszych, ale jeszcze nie w pełni poznanych dróg eliminacji NPs jest rozkład z udziałem drobnoustrojów. Biodegradacja omawianych związków jest najczęściej procesem wieloetapowym i zachodzi zazwyczaj przy udziale konsorcjów mikroorganizmów, które niejednokrotnie wykazują działanie synergiczne [11, 17, 21]. Zakres i szybkość przemian biodegradacyjnych uwarunkowane są szeregiem czynników, spośród których za najważniejsze są uważane: dostępność ksenobiotyku, potencjał metaboliczny i degradacyjny drobnoustroju, warunki natlenienia oraz obecność w środowisku łatwo przyswajalnych substratów energetycznych i budulcowych [32, 39].

Wyzolowano i zidentyfikowano szereg drobnoustrojów zdolnych do degradacji, a także całkowitej

mineralizacji NPs, zarówno w warunkach tlenowych jak i beztlenowych [17, 19, 39]. Szlaki mikrobiologicznego rozkładu NPs zostały dotychczas najlepiej poznane i scharakteryzowane u bakterii. Większość z nich należy do rzędu *Sphingomonadales* np. *Sphingomonas* sp. TTNP3 [17], *Sphingomonas cloacae* [22], *Sphingomonas xenophaga* Bayram [24], czy *Sphingobium amiense* [40]. Szczepy te cechuje przede wszystkim wysoka wydajność w trakcie eliminacji ksenoestrogenu z podłoża hodowlanego. Wykazano, że niektóre szczepy *Sphingomonas* sp. są zdolne do usuwania około 100 mg/l NPs dziennie [17]. *S. amiense* [40], *S. xenophaga* Bayram [24] i *S. cloacae* [22] wykazują ponadto zdolność do metabolizowania poszczególnych izomerów w nieobecności innych egzogennych źródeł węgla i energii. Większość mikroorganizmów rozkładających 4-nonylofenol, przekształca go aktywnie tylko w obecności kosubstratów takich jak: glukoza [33], ekstrakt maltozowy [9, 26], czy ekstrakt drożdżowy [11, 12].

Wśród drobnoustrojów wykazujących zdolność do biodegradacji NPs i mogących wykorzystywać je jako jedyne źródło węgla, występują także grzyby mikroskopowe: *Candida aquatextoris* [41], *Candida maltoza* [15] oraz *Aspergillus versicolor* IM 2161 [27]. Stanowią one przykłady niewielu scharakteryzowanych dotychczas, pod względem zdolności do rozkładu, NPs, szczepów grzybowych. Spośród nich najwyższą efektywnością omawianego procesu cechuje się *A. versicolor* IM 2161, u którego, po dwóch dniach inkubacji, wykazano ponad 98% ubytek 4-*n*-nonylofenolu (wyjściowa zawartość substratu – 100 mg/l) [27]. Porównywalny ubytek tego izomeru występował w hodowlach *Bjerkandera* sp. BOL13 oraz *Trametes versicolor*, ale dopiero po piętnastu dniach hodowli [36]. Niemal całkowitą eliminację 4-*n*-nonylofenolu obserwowano u: *Irpex lacteus* 617/93 i *Phanerochaete magnoliae* CCBAS 134/1 (po 7 dobach inkubacji), grzybów mikroskopowych UHH 1-6-18-4 oraz *Clavariopsis aquatica* (po 32 dniach hodowli), a także *Gliocephalotrichum simplex* (w 48 godzinie hodowli). Wyjściowa ilość toksycznego substratu w podłożach hodowlanych wynosiła odpowiednio: 2, 5, 22 oraz 50 mg/l [9, 26, 33].

Badania z zastosowaniem 4-nonylofenolu, znakowanego izotopem węgla ¹⁴C, strzępkowych posiadają zdolność do całkowitej utylizacji nonylofenoli, z wytworzeniem dwutlenku węgla i wody, jako końcowych produktów rozkładu. Po trzech dniach hodowli grzybów *G. simplex* IM 2358 i *A. versicolor* IM 2161 z 4-*n*-NP [ring-¹⁴C(U)], odnotowano odpowiednio 29 i 20% wyjściowej ilości węgla ¹⁴C w postaci dwutlenku węgla [27, 33]. Mineralizację ksenoestrogenu wykazano także u bakterii *Sphingomonas* sp. TTNP3. Po 72 godzinach inkubacji ze znakowanym substratem – *p*353NP [ring-¹⁴C(U)], 28% wyjściowej ilości izotopu ¹⁴C zawarta była w formie dwutlenku węgla [18].

Wybrane drobnoustroje rozkładające nonylofenole

Drobnoustrój	Produkty rozkładu	Piśmiennictwo
<i>Sphingomonas</i> sp. TTNP3	1,4-dihydroksybenzen	[16]
<i>Candida aquatextoris</i>	4-hydroksyacetofenon, kwas 4-hydroksycynamonowy	[41]
<i>Gliocephalotrichum simplex</i>	15 metabolitów, w tym: kwas 3-(4-hydroksyfenylo) propionowy; kwas 4-hydroksybenzoesowy	[33]
<i>Pseudomonas</i> sp. JC1	4-amino-acetofenon	[46]
<i>Aspergillus versicolor</i> IM 2161	8 metabolitów w tym: kwas 4-hydroksybenzoesowy; kwas 3,4-dihydroksybenzoesowy	[27]
Szczep grzyba mikroskopowego UHH 1-6-18-4	13 metabolitów w tym: kwas 4-hydroksybenzoesowy	[26]

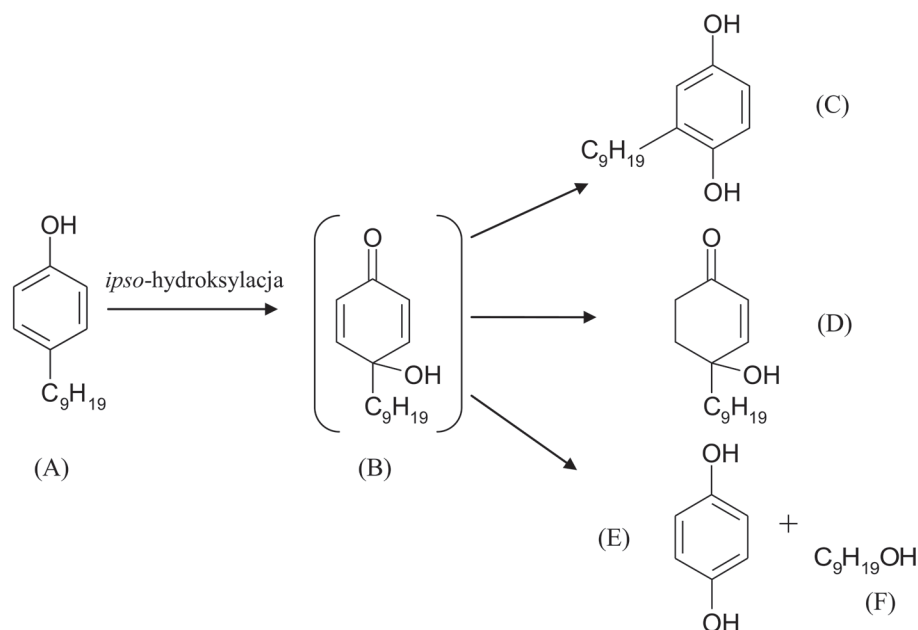
4. Produkty pośrednie rozkładu nonylofenoli

Pomimo stosunkowo dużej liczby doniesień opisujących zdolność drobnoustrojów (o różnej pozycji taksonomicznej) do eliminacji NPs, niewiele jest prac poświęconych identyfikacji intermediatów powstających w trakcie biodegradacji poszczególnych nonylofenoli oraz analizujących mechanizmy odpowiedzialne za przebieg tych procesów.

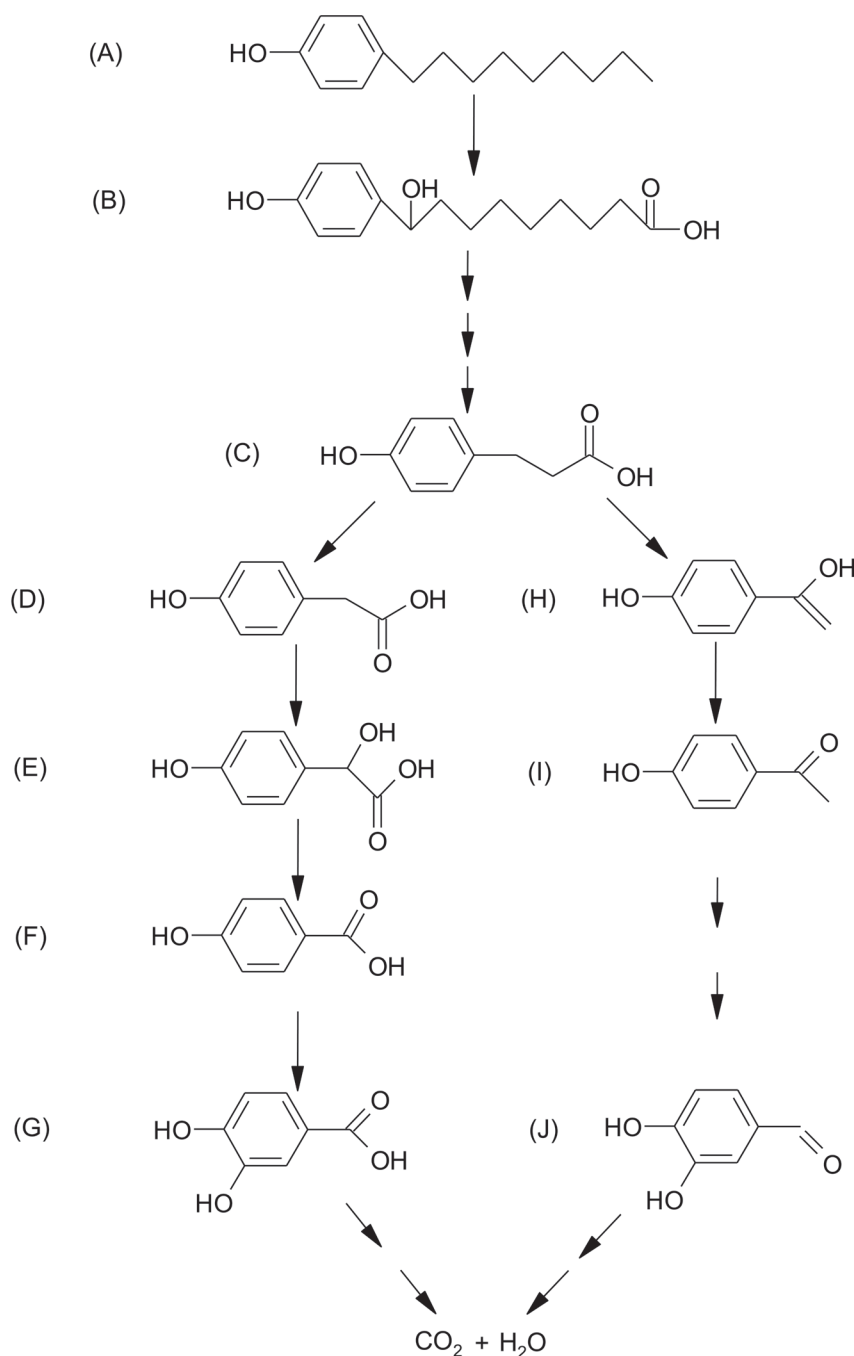
W tabeli I przedstawiono mikroorganizmy rozkładające NPs oraz produkty pośrednie powstające w trakcie utylizacji substratu. W nielicznych publikacjach przedstawiających szlaki biodegradacji tych ksenobiotyków sugeruje się, iż omawiany proces jest najczęściej inicjowany hydroksylacją pierścienia aromatycznego lub przyłączaniem grupy wodorotlenowej do terminalnego atomu węgla w alifatycznym fragmencie cząsteczki. Kierunek biotransformacji ksenobiotyku zależy od stopnia

rozgałęzienia przy węglu alfa (α -C) łańcucha alkilowego substratu [16, 26]. Izomery nonylofenolu posiadające grupę fenyłową przyłączoną do czwartorzędowego lub trzeciorzędowego α -C podlegają zazwyczaj reakcjom *ipso*-hydroksylacji z wytworzeniem hydrochinonów, których dalsze przekształcenie odbywa się na drodze migracji łańcucha alifatycznego do sąsiedniego atomu węgla w pierścieniu bądź jego odłączenia i w konsekwencji uformowania dziewięciowęglowego alkoholu. 4-*n*-nonylofenol zawierający w strukturze cząsteczki liniową formę łańcucha alkilowego ulega przeważnie biodegradacji poprzez kaskadę następujących po sobie reakcji, na które składają się: hydroksylacja terminalnego atomu węgla części alifatycznej, utlenienie do hydroksykwasu i odłączenie krańcowych fragmentów węglowych w szlaku β -oksydacji [17, 23, 26, 41].

W pracach nad degradacją 4-nonylofenolu przez *S. xenophaga* Bayram sugeruje się, iż stopień rozga-



Rys. 3. Degradacja 4-nonylofenolu przez bakterie *Sphingomonas xenophaga* Bayram [23, 24]
 (A) – 4-nonylofenol; (B) – 4-hydroksy-4-nonylo-cykloheksa-2,5-dienon; (C) – 2-nonylo-1,4-benzenodiol;
 (D) – 4-hydroksy-4-nonylo-cykloheksa-2-enon; (E) – 1,4-dihydroksybenzen; (F) nonanol



Rys. 4. Rozkład 4-*n*-nonylofenolu przez *Gliocephalotrichum simplex* IM 2358 (szlak metaboliczny uproszczony) [33]

(A) – 4-*n*-nonylofenol; (B) – kwas 9-hydroksy-9-(4-hydroksyfenilo) nonanowy; (C) – kwas 3-(4-hydroksyfenilo) propionowy;
 (D) – kwas 2-(4-hydroksyfenilo) octowy; (E) – kwas 2-hydroksy-2-(4hydroksyfenilo) octowy; (F) – kwas 4-hydroksybenzoesowy;
 (G) – kwas 3,4-dihydroksybenzoesowy; (H) – 4-(1-hydroksywinylo) fenol; (I) – 1-(4-hydroksyfenilo) etanon; (J) – 3,4-dihydroksybenzaldehyd.

łączenia łańcucha alifatycznego przy α -C nie zawsze decyduje o kierunku biotransformacji związku [23, 24]. Wykazano bowiem, że rozkład różnych izomerów, w tym także 4-*n*-NP, inicjowany jest u tych bakterii przez reakcje *ipso*-hydroksylacji (Rys. 3). Odmienny mechanizm rozkładu ksenoestrogenu został wykazany w prowadzonych przez nas badaniach z użyciem nielignolitycznego grzyba *G. simplex* IM 2358. Zidentyfikowanie kilkunastu produktów degradacji 4-*n*-nonylofenolu zawierającego w strukturze cząsteczki liniową formę

łańcucha alkilowego, pozwala wnosić, iż rozkład tego ksenoestrogenu odbywa się nie na drodze β -oksydacji lecz poprzez odłączanie jednowęglowych członów od fragmentu alifatycznego (Rys. 4) [33]. Zastosowanie substratu znakowanego radioaktywnie węglem ^{14}C pozwoliło także wykazać zdolność tego grzyba do rozszczepienia układu pierścieniowego i w konsekwencji całkowitej mineralizacji ksenoestrogenu.

Badania nad charakterystyką kompleksów enzymatycznych uczestniczących w reakcjach mikrobiologicznej

biotransformacji 4-nonylofenolu wskazują, iż jednym z kluczowych elementów odgrywających rolę w metabolizowaniu tego związku przez bakterie i grzyby mikroskopowe może być cytochrom P450 [17, 45]. Pomimo niewielu bezpośrednich dowodów potwierdzających udział tego kompleksu w rozkładzie alkilofenolu, liczne analizy wykazują aktywność hemoproteidu w mikrobiologicznej degradacji ksenobiotyków o zbliżonych właściwościach do 4-nonylofenolu [4, 29, 34]. Wykazano także, iż monooksygenazy cytochromu P450 katalizują reakcje konwersji opisywanego ksenoestrogenu m.in. u szczurów i ryb [38, 47]. W prowadzonych przez nas badaniach udowodniono, że dodatek do hodowli szczepu *A. versicolor* IM 2161 inhibitorów cytochromu P450 metyraponu i 1-aminobenzotriazolu, znacznie ograniczył eliminację 4-*n*-nonylofenolu przez ten grzyb mikroskopowy odpowiednio o 2,3 i 1,7 raza w stosunku do hodowli kontrolnych, nie zawierających inhibitorów [27].

Doniesienia literaturowe wskazują ponadto, iż u niektórych grzybów mikroskopowych, a zwłaszcza grzybów „białej zgnilizny”, istotną rolę w rozkładzie NPs mogą odgrywać enzymy ligninolityczne. Dotyczy to przede wszystkim: peroksydazy ligninowej, lakazy oraz peroksydazy manganu-zależnej [8, 26]. Obecność toksycznego substratu indukuje syntezę jednego lub kilku wymienionych enzymów. Wprowadzenie do hodowli *t*NP powoduje u *T. versicolor*, znaczący wzrost aktywności lakazy, a u *Bjerkandera adusta* zarówno lakazy, jak i peroksydazy manganu-zależnej [9].

5. Uwagi końcowe

Przedstawione w tym przeglądzie prace wskazują jednoznacznie na przydatność drobnoustrojów, o różnej przynależności systematycznej, do eliminacji NPs ze skażonych środowisk. Wydaje się to szczególnie ważne, ze względu na włączenie NPs (w krajach Unii Europejskiej) do listy niebezpiecznych substancji priorytetowych, które powinny być całkowicie wyeliminowane ze środowiska [48, 49]. Bogatemu zestawowi danych na temat zagrożeń, stopnia skażenia środowiska NPs oraz ich bioakumulacji, nie towarzyszy niestety, równie pogłębiona wiedza na temat przebiegu i mechanizmów rozkładu tych toksycznych związków. Analiza opublikowanych już wyników, dotyczących szlaków rozkładu NPs, pozwala sądzić, iż są one zróżnicowane. Może to w znacznej mierze wynikać z faktu, że w skażonych środowiskach drobnoustroje stykają się z *t*NP, który jest mieszaniną kilkudziesięciu związków, różniących się stopniem rozgałęzienia łańcucha alifatycznego. Wskazuje to na konieczność rozszerzenia badań nad biodegradacją nonylofenoli oraz pełniejszego poznania tych procesów, Uwidacznia to również konieczność poszu-

kiwania konsorcjów, składających się z drobnoustrojów o różnej przynależności systematycznej, zdolnych do równoczesnego i wydajnego rozkładu izomerów wchodzących w skład *t*NP.

Praca finansowana w ramach projektu NCN nr UMO-2011/01/B/NZ9/02898

Piśmiennictwo

- Ahel M., McEvoy J., Giger W.: Bioaccumulation of the lipophilic metabolites of nonionic surfactants in fresh-water organisms. *Environ. Pollut.* **79**, 243–248 (1993)
- Benijts T., Lambert W., Leenheer A.P.: Analysis of multiple endocrine disruptors in environmental waters via wide-spectrum solid-phase extraction and dual-polarity ionization LC-ion trap-MS/MS. *Anal. Chem.* **76**, 704–711 (2004)
- Bevan C.L., Porter D.M., Prasad A., Howard M., Henderson L.P.: Environmental estrogens alter early development in *Xenopus laevis*. *Environ. Health Persp.* **111**, 488–496 (2003)
- Bibi Z.: Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutr. Metab.* **5**, 27–36 (2008)
- Bonefeld-Jørgensen E.C., Long M., Hofmeister M.V., Vinggaard A.M.: Endocrine-disrupting potential of bisphenol A, bisphenol A dimethacrylate, 4-*n*-nonylphenol, and 4-*n*-octylphenol *in vitro*: New data and a brief review. *Environ. Health Persp.* **115**, 69–76 (2007)
- Brown R.J., Conradi M., Depledge M.H.: Long-term exposure to 4-nonylphenol affects sexual differentiation and growth of the amphipod *Corophium volutator* (Pallas, 1776). *Sci. Total Environ.* **233**, 77–88 (1999)
- Burke Sullivan J., Krieger G.R.: Clinical environmental health and toxic exposures, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001
- Cabana H., Jiwan J.L.H., Rozenberg R., Elisashvili V., Peninckx M., Agathos S.N., Jones J.P.: Elimination of endocrine disrupting chemicals nonylphenol and bisphenol A and personal care product ingredient triclosan using enzyme preparation from the white rot fungus *Corioloropsis polyzona*. *Chemosphere*, **67**, 770–778 (2007)
- Cajthaml T., Křesinová Z., Svobodová K., Möder M.: Biodegradation of endocrine-disrupting compounds and suppression of estrogenic activity by ligninolytic fungi. *Chemosphere*, **75**, 745–750 (2009)
- Campbell C.G., Borglin S.E., Bailey Green F., Grayson A., Wozel E., Stringfellow W.T.: Biologically directed environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic disrupting compounds in water: A review. *Chemosphere*, **65**, 1265–1280 (2006)
- Chang B.V., Chiang B.W., Yuan S.Y.: Biodegradation of nonylphenol in soil. *Chemosphere*, **66**, 1857–1862 (2007)
- Chang B.V., Chiang F., Yuan S.Y.: Anaerobic degradation of nonylphenol in sludge. *Chemosphere*, **59**, 1415–1420 (2005)
- Chen T.C., Yeh Y.L.: Ecological risk, mass loading, and occurrence of nonylphenol (NP), NP mono-, and diethoxylate in Kooping River and its tributaries, Taiwan. *Water Air Soil Pollut.* **208**, 209–220 (2010)
- Correa-Reyes G., Viana M.T., Marquez-Rocha F.J., Licea A.F., Ponce E., Vazquez-Duhalt R.: Nonylphenol algal bioaccumulation and its effect through the trophic chain. *Chemosphere*, **68**, 662–670 (2007)
- Corti A., Frassinetti S., Vallini G., Dantone S., Fichi C., Solaro R.: Biodegradation of nonionic surfactants 1. Biotransformation

- of 4-(1-nonyl)phenol by a *Candida maltosa* isolate. *Environ. Pollut.* **90**, 83–87 (1995)
16. Corvini P.F.X., Hollender J., Ji R., Schumacher S., Prell J., Hommes G., Priefer U., Vinken R., Schäffer A.: The degradation of alpha-quaternary nonylphenol isomers by *Sphingomonas* sp. strain TTNP3 involves a type II ipso-substitution mechanism. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **70**, 114–122 (2006)
 17. Corvini P.F.X., Schäffer A., Schlosser D.: Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols – our evolving view. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **72**, 223–243 (2006)
 18. Corvini P.F.X., Vinken R., Hommes G., Schmidt B., Dohmann M.: Degradation of the radioactive and non-labelled branched 4'(3',5'-dimethyl-3'-heptyl)-phenol nonylphenol isomer by *Sphingomonas* TTNP3. *Biodegradation* **15**, 9–18 (2004)
 19. Cravotto G., Di Carlo S., Binello A., Mantegna S., Girlanda M., Lazzari A.: Integrated sonochemical and microbial treatment decontamination of nonylphenol-polluted water. *Water, Air Soil Pollut.* **187**, 353–359 (2008)
 20. Das K.C., Xia K.: Transformation of 4-nonylphenol isomers during biosolids composting. *Chemosphere*, **70**, 761–768 (2008)
 21. Di Gioia D., Salvadori L., Zanaroli G., Coppini E., Fava F., Barberio C.: Characterization of 4-nonylphenol-degrading bacterial consortium obtained from a textile wastewater pre-treatment plant. *Arch. Microbiol.* **190**, 673–683 (2008)
 22. Fujii K., Urano N., Ushio H., Satomi M., Kimura S.: *Sphingomonas cloacae* sp. nov., a nonylphenol-degrading bacterium isolated from wastewater of a sewage-treatment plant in Tokyo. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **51**, 603–610 (2001)
 23. Gabriel F.L.P., Routledge E.J., Heidlberger A., Rentsch D., Guenther K., Giger W., Sumpter J.P., Kohler H.-P.E.: Isomer-specific degradation and endocrine disrupting activity of nonylphenols. *Environ. Sci. Technol.* **42**, 6399–6408 (2008)
 24. Gabriel F.L.P., Heidlberger A., Rentsch D., Giger W., Guenther K., Kohler H.-P.E.: A novel metabolic pathway for degradation of 4-nonylphenol environmental contaminants by *Sphingomonas xenophaga* Bayram. *J. Biol. Chem.* **280**, 15526–15533 (2005)
 25. Guenther K., Kleist E., Thiele B.: Estrogen-active nonylphenols from an isomer-specific viewpoint: a systematic numbering system and future trends. *Anal. Bioanal. Chem.* **384**, 542–546 (2005)
 26. Junghanns C., Moeder M., Krauss G., Martin C., Schlosser D.: Degradation of the xenoestrogen nonylphenol by aquatic fungi and their laccases. *Microbiology*, **151**, 45–57 (2005)
 27. Krupiński M.: Mikrobiologiczna degradacja 4-*n*-nonylofenolu. Rozprawa doktorska wykonana w Katedrze Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź 2011
 28. Lintelmann J., Katayama A., Kurihara N., Shore L., Wenzel A.: Endocrine disruptors in the environment (IUPAC technical report). *Pure Appl. Chem.* **75**, 631–681 (2003)
 29. Lisowska K., Długoński J.: Concurrent corticosteroid and phenanthrene transformation by filamentous fungus *Cunninghamella elegans*. *J. Steroid Biochem.* **85**, 63–69 (2003)
 30. Lopez-Espinosa M.J., Freire C., Arrebola J.P., Navea N., Taoufik J., Fernandez M.F., Ballesteros O., Prada R., Olea N.: Nonylphenol and octylphenol in adipose tissue of women in Southern Spain. *Chemosphere*, **76**, 847–852 (2009)
 31. Matozzo V., Gagné F., Marin M.G., Ricciardi F., Blaise C.: Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic invertebrates: A review. *Environ. Int.* **34**, 531–545 (2008)
 32. Naylor C.G.: Environmental fate and safety of nonylphenol ethoxylates. *Text. Chem. Color.* **27**, 29–33 (1995)
 33. Różalska S., Szewczyk R., Długoński J.: Biodegradation of 4-*n*-nonylphenol by the non-ligninolytic filamentous fungus *Glioccephalotrichum simplex*: A proposal of a metabolic pathway. *J. Hazard. Mater.* **180**, 323–331 (2010)
 34. Sasaki M., Akahira A., Oshiman K., Tsuchido T., Matsumura Y.: Purification of cytochrome P450 and ferredoxin, involved in bisphenol A degradation, from *Sphingomonas* sp. strain AO1. *Appl. Environ. Microb.* **71**, 8024–8030 (2005)
 35. Soares A., Guieysse B., Jefferson B., Cartmell E., Lester J.N.: Nonylphenol in the environment: A critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environ. Int.* **34**, 1033–1049 (2008)
 36. Soares A., Jonasson K., Terrazas E., Guieysse B., Mattiasson B.: The ability of white-rot fungi to degrade the endocrine-disrupting compound nonylphenol. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **66**, 719–725 (2005)
 37. Soares A., Murto M., Guieysse B., Mattiasson B.: Biodegradation of nonylphenol in a continuous bioreactor at low temperatures and effects on the microbial population. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **69**, 597–606 (2006)
 38. Thibaut R., Debrauwer L., Perdu E., Goksoyr A., Cravedi J.P., Arukwe A.: Regio-specific hydroxylation of nonylphenol and the involvement of CYP2K- and CYP2M-like iso-enzymes in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquat Toxicol.* **56**, 177–190 (2002)
 39. Topp E., Starratt A.: Rapid mineralization of the endocrine-disrupting chemical 4-nonylphenol in soil. *Environ. Toxicol. Chem.* **19**, 313–318 (2000)
 40. Ushiba Y., Takahara Y., Ohta H.: *Sphingobium amiense* sp. nov., a novel nonylphenol-degrading bacterium isolated from a river sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**, 2045–2048 (2003)
 41. Vallini G., Frassinetti S., D'Andrea F., Catelani G., Agnolucci M.: Biodegradation of 4-(1-nonyl)phenol by axenic cultures of the yeast *Candida aquaetextoris*: identification of microbial breakdown products and proposal of a possible metabolic pathway. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **47**, 133–140 (2001)
 42. Vazquez-Duhalt R., Marquez-Rocha F., Ponce E., Licea A.F., Viana M.T.: Nonylphenol, an integrated vision of a pollutant. *Appl. Ecol. Environ. Res.* **4**, 1–25 (2006)
 43. Wu F., Qui L.: Kinetic study of the biodegradation of nonylphenol by *Rhodotorula* sp. *Advanced Materials Research*, **233–235**, 575–578 (2011)
 44. Wu F., Qui L., Qui G.: The study of *Rhodotorula* sp. to degrade nonylphenol in soil. International Conference on Electric Technology and Civil Engineering (ICETCE), Lushan (China), 22–24 April 2011, ISBN 978-1-4577-0289-1, pp. 4671–4674
 45. Ye X., Bishop A.M., Needham L.L., Calafat A.M.: Identification of metabolites of 4-nonylphenol isomer 4-(3',6'-dimethyl-3'-heptyl)phenol by rat and human liver microsomes. *Drug Metab. Dispos.* **35**, 1269–1274 (2007)
 46. Yuan S.Y., Yu C.H., Chang B.V.: Biodegradation of nonylphenol in river sediment. *Environ. Pollut.* **127**, 425–430 (2004)
 47. Zalko D., Costagliola R., Dorio C., Rathahao E., Cravedi J.P.: *In vivo* metabolic fate of the xeno-estrogen 4-*n*-nonylphenol in Wistar rats. *Drug Metab. Dispos.* **31**, 168–178 (2003)
 48. Directive 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008. *Official Journal of the European Union* L 348/84, 24.12.2008
 49. Dz. U. 2010 nr 138 poz. 934. Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 2 lipca 2010 r. w sprawie wykazu substancji priorytetowych w dziedzinie polityki wodnej.