

# 假单胞菌 N7 的萘降解特性及其降解途径研究

贾燕, 尹华\*, 叶锦韶, 彭辉, 何宝燕, 秦华明, 张娜, 强婧

(暨南大学环境工程系, 广州 510632)

**摘要:**应用 HPLC 和 UV 分析技术, 以萘为代表性多环芳烃污染物, 研究了假单胞菌 N7 对水中萘的降解特性. 结果表明, 营养盐、微量元素的添加可使萘的降解率提高 23.65%; 溶解氧高于 4.3 mg/L 时萘降解率达 95.66% 并趋于稳定; 随萘浓度增加降解率逐渐下降; 在中性和弱碱性环境下, 降解效果较好, 萘降解率均在 82.88% 以上. 在 30℃、转速为 165 r/min 的摇床中处理 pH 7.5、萘浓度为 100 mg/L 的水样 72 h, 其最大降解率为 95.66%. 通过检测菌株 N7 处理含不同底物水样时其吸光度、pH 和底物的变化情况, 证实菌株 N7 亦能降解甲苯、二甲苯、苯酚、2,4-二硝基苯酚、苯甲酸、1-萘酚和水杨酸, 并以其为唯一的碳源和能源生长繁殖, 表明该菌株能适应环境中芳烃类物质种类的变化, 具有很好的降解多样性. 经 UV-Vis 和 GC-MS 分析各降解阶段的中间产物, 初步确定了该菌对萘的降解途径: 一条是邻苯二甲酸途径; 另一条是水杨酸途径, 萘先被氧化为 1,2-二羟基萘, 再开环生成水杨酸、邻苯二酚和 2-羟基粘康酸半醛, 最终进入三羧酸循环(TCA).

**关键词:** 萘; 生物降解; 特性; 途径

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)03-0756-07

## Characteristics and Pathway of Naphthalene Degradation by *Pseudomonas* sp. N7

JIA Yan, YIN Hua, YE Jin-shao, PENG Hui, HE Bao-yan, QIN Hua-ming, ZHANG Na, QIANG Jing

(Department of Environmental Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** The biodegradation characteristics of a typical polycyclic aromatic hydrocarbon, naphthalene by the strain (*Pseudomonas* sp. N7) were investigated by using HPLC and UV analytical techniques. The results showed that the addition of nutritious salt and microelements accelerated the degradation of naphthalene by 23.65%. Degradation efficiency increased with increasing dissolved oxygen and reached 95.66%, then remained stabilized when dissolved oxygen was over 4.3 mg/L, yet decreased with increasing naphthalene concentration. Neutral and weak alkaline condition favored the biodegradation with degradation capacity all over 82.88%. *Pseudomonas* sp. N7 had a maximum degradation capability of 95.66% when dealing with 100 mg/L naphthalene at 30℃ and pH 7.5 with 165 r/min rotary shaking for 72 h. By measuring the absorbance, pH and degradation of substrates during treatment of different substrate with strain N7, it was demonstrated that *Pseudomonas* sp. N7 could also degrade other aromatic hydrocarbons, such as toluene, dimethylbenzene, phenol, 2,4-nitrophenols, benzyl acid, 1-naphthol and salicylic acid, utilizing each of them as sole carbon and energy source for growth and breeding, thus showing its good biodegradation diversity. The pathway of naphthalene degradation was explored through analyzing metabolic intermediates at different degradation stages by using UV-Vis and GC-MS. The result revealed that there were two possible degradation pathways for naphthalene: one was phthalic acid pathway, and the other was that naphthalene was first oxidized to 1,2-dihydroxynaphthalene, and then the cleavage of rings caused the formation of salicylic acid, catechol, and 2-hydroxymuconic semialdehyde. Finally these metabolites entered the tricarboxylic acid cycle (TCA).

**Key words:** naphthalene; biodegradation; characteristics; pathway

多环芳烃(PAHs)是一类广泛分布于环境中的污染物, 由于部分 PAHs 具有持久性、生物累积性、可远距离传输、致癌致突变性和内分泌干扰等特性<sup>[1~3]</sup>, 可通过生物累积和食物链的传递, 对生态环境和人类健康构成重大危害, 因而引起了各国环境工作者的极大重视. 大量研究表明, 尽管 PAHs 属于难降解物, 但已发现一些好氧和厌氧微生物能通过不同的代谢机制将 PAHs 降解和矿化. 污染水体、底泥、土壤中均存在能以 PAHs 为碳源和能源从而降解 PAHs 的微生物, 和以 PAHs 为辅助底物而将其降解的共代谢微生物. 微生物降解在 PAHs 的迁移转化乃至最终消失的过程中占有重要地位, 是 PAHs

从环境中去除的最主要途径, 因此 PAHs 的生物修复受到了极大关注<sup>[4~7]</sup>. 现有研究显示, 假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) 是一类能有效降解 PAHs 的细菌<sup>[8~13]</sup>, 但关于该菌种对 PAHs 降解途径和机理的研究, 国内尚鲜见报道. 本研究以萘为代表性 PAHs 污染物, 分析了 1 株假单胞菌 N7 对水中萘的降解特性, 并初步探讨了该菌对萘的降解途径, 以期在水体

收稿日期: 2007-04-18; 修订日期: 2007-06-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(50578070)

作者简介: 贾燕(1983~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水环境污染控制与修复, E-mail: cyclone1983@163.com

\* 通讯联系人, E-mail: ohjgc@jnu.edu.cn

PAHs 污染的生物修复提供实验依据和理论基础.

1 材料与方法

1.1 实验材料

菌种:假单胞菌 N7,由本实验室保藏.  
试剂:萘,购自国药集团化学试剂有限公司;甲苯、二甲苯、苯酚、2,4-二硝基苯酚、苯甲酸、1-萘酚、水杨酸、葡萄糖、蛋白胨、酵母粉、正己烷、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、MgSO<sub>4</sub>、CuSO<sub>4</sub>、MnSO<sub>4</sub>、FeSO<sub>4</sub>、CaCl<sub>2</sub>、NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>均购自广州化学试剂厂;所有试剂均为 AR 级.

1.2 培养基及培养条件

营养培养基:葡萄糖 5 g,蛋白胨 2 g,酵母粉 1 g, pH 7.5, H<sub>2</sub>O 1 000 mL.  
无机盐培养基: NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1.0 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.5 g, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3.0 g, 微量元素液 2 mL, pH 7.5, H<sub>2</sub>O 1 000 mL.  
含萘水样:在上述无机盐培养基中加入萘溶液 1 mL.

萘溶液:称取萘 10 g 溶于 100 mL 丙酮.  
微量元素液: MgSO<sub>4</sub> 0.4%, CuSO<sub>4</sub> 0.1%, MnSO<sub>4</sub> 0.1%, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1%, CaCl<sub>2</sub> 0.1%.

培养条件:30℃摇床振荡培养,转速 165 r/min.

1.3 萘降解率的测定<sup>[14]</sup>

在 100 mL 含萘水样中接种 N7 菌液,经摇床振荡培养 3 d 后,加入 20 mL 正己烷萃取,转至分液漏斗,振荡 1 min,静置,待分层后分离,收集上层液,再用 10 mL 正己烷萃取 2 次下层液体,合并上层液用干燥的无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水,45℃旋转蒸发,N<sub>2</sub> 吹干后用甲醇定容至 1 mL,上机分析.以同步不加菌液摇床振荡的含萘水样为空白对照. Agilent 1100 Series HPLC 分析条件:分离柱为 ZORBAX SB-Aq(5 μm, 250 mm×4.6 mm);柱温 27℃,流速 0.8 mL/min,流动相为乙腈/水 = 50/50;检测波长 218 nm.

降解率的计算公式为:

降解率 = (m<sub>1</sub> - m<sub>2</sub>)/m<sub>1</sub> × 100% (1)

式中, m<sub>1</sub> 为对照组的萘残余质量(mg); m<sub>2</sub> 为样品的萘残余质量(mg).

1.4 降解不同底物时菌株的生长量测定

在 100 mL 浓度分别为 25、50、100、200 mg/L 含甲苯、二甲苯、苯酚、2,4-二硝基苯酚、苯甲酸、1-萘酚和水杨酸的无机盐培养基中接种 N7 菌液 2 mL,同时设空白对照(不加菌液),摇床振荡培养 72 h 后用

721 分光光度计在 600 nm 处测其吸光度值.

1.5 萘降解中间产物的分析<sup>[15]</sup>

1.5.1 紫外-可见分析

用 Spectrumlab 54 紫外-可见分光光度计(UV-Vis)对萘降解中间产物进行分析检测.波长扫描范围:200 ~ 500 nm,扫描光谱带宽:1 nm.所分析样品分别为在降解 0、8、10、12、14、16、18、20、22、24、32、48、72、96 和 120 h 时取样,于 4℃、12 500 r/min 离心 20 min,取上清液尽快用 UV-Vis 分析.

1.5.2 GC-MS 分析

分析样品用 2 mol/L HCl 酸化至 pH 为 2,然后加与水样等体积的乙酸乙酯振荡萃取,静置移取乙酸乙酯层,依前法再萃取 1 次,合并 2 次萃取液并用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥后,在 40℃水浴抽真空减压蒸馏至近干,溶于甲醇,浓缩定容至 1 mL 后上机分析.在 0、8、16、24、40、48 和 120 h 取样,分别代表未降解(0 h)、降解前期(8、16 h)、中期(24、40、48 h)和后期(120 h)的样品.

Thermo Finnigan GC-MS 分析条件为色谱柱: HP-5(30 m×0.25 mm×0.25 μm);柱温:80℃,恒温 2 min,以 15℃/min 升温至 280℃,恒温 2 min;进样口温度:250℃;色谱-质谱接口温度:280℃;载气为 He,流速 1 mL/min.

2 结果与讨论

2.1 营养盐、微量元素对降解率的影响

分别将 1 mL N7 菌液接种到 100 mL 萘浓度为 100 mg/L 的 5 个水样中,摇床振荡培养,其中 1 号为空白水样,2 号水样添加营养盐 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 0.1 g,3 号水样添加营养盐 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.15 g 和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.3 g,4 号水样添加营养盐 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 0.1 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.15 g 和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.3 g,5 号水样既添加营养盐 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 0.1 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.15 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.3 g,又添加微量元素液 0.2 mL,72 h 后测定萘的降解率.由实验结果(图 1)可以看出,营养盐的添加明显提高了萘的降解率,说明这些营养物质为菌体的生长、繁殖提供了所需的养分,菌体的生命活动得以更加活跃.其中硝酸盐类比磷酸盐类的效果要好,可能是因为在萘的生物降解过程中,氧气不足的情况下 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 能够提供电子受体;实验结果还显示加入微量元素能促进萘的降解,这是由于在萘的降解过程中起催化作用的加氧酶是一种含有微量元素的酶<sup>[16,17]</sup>,加入微量元素有利于提高酶的活性,从而促进对萘的降解.与空白相比,5

号水样中萘的降解率提高了 23.65%。

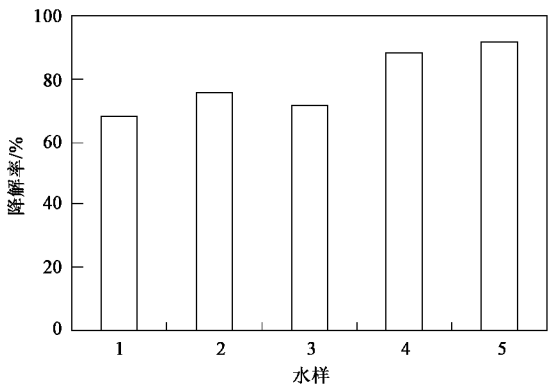


图 1 营养盐、微量元素对降解率的影响

Fig.1 Effect of nutrient content and microelement on degradation

2.2 萘浓度的影响

将 1 mL N7 菌液接种到 100 mL 含萘水样中,其中萘浓度分别为 100、200、300、400、500 mg/L,摇床振荡培养,72 h 后测定萘的降解率,实验结果如图 2 所示.图 2 结果表明,当萘浓度为 100 mg/L 时,萘的降解率可达到 95.66%.随着萘浓度的升高其降解率逐渐下降,降解率与萘浓度成负相关关系,说明高浓度的萘对 N7 菌生物降解有抑制甚至毒害作用<sup>[18]</sup>.

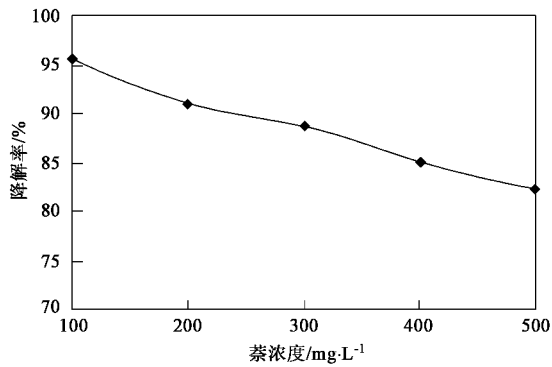


图 2 萘浓度对降解率的影响

Fig.2 Effect of concentration of naphthalene on degradation

2.3 通氧量的影响

将 1 mL N7 菌液接种到 100 mL 萘浓度为 100 mg/L 的水样中,摇床振荡培养,控制通氧量,72 h 后测定萘的降解率,由实验结果作图 3.由图 3 可知,当水体中溶解氧低于 4.3 mg/L 时,萘的降解率随着通氧量的增加不断升高,究其原因,是因为大量基质的降解需要有电子受体充分供应,而溶解氧是萘生物降解过程中优先的电子受体.一定含量的溶解氧有利于微生物的生长,因而可以加速萘的生物降解

速率.同时充足的通氧量可以使菌体在水样中均匀分布,促进菌体对营养物质的摄取,加速代谢物的分散.随着水体中能被微生物利用的营养物质被逐渐消耗,当溶解氧浓度上升至一定程度,即使供氧量继续增加,其对降解率的进一步上升也影响不大,因此,当溶解氧量高于 4.3 mg/L 时,降解率上升的趋势开始减慢直至保持平稳.

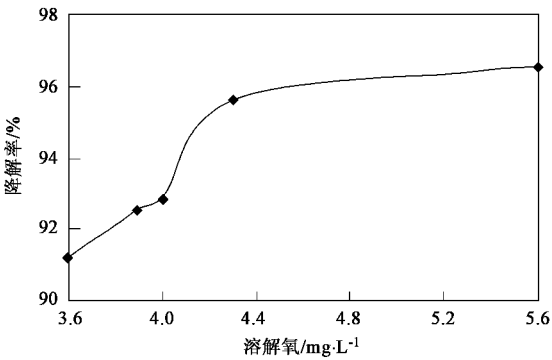


图 3 氧气量对降解率的影响

Fig.3 Effect of quantity of oxygen on degradation

2.4 pH 的影响

将 1 mL N7 菌液接种到 100 mL 萘浓度为 100 mg/L 的水样中,分别调节初始 pH 为 6.0、7.0、7.5、8.0、9.0、10.0.然后将水样放入摇床中振荡培养,72 h 后测降解率.从实验结果(图 4)可知,萘在中性和弱碱性条件下的降解效果较好,降解率均在 82.88% 以上,当 pH 7.5 时萘降解率最大.萘在降解过程中会产生少量有机酸,而这些有机酸可能会电离产生 H<sup>+</sup>,从而导致溶液的 pH 值变小,加入一定量的 OH<sup>-</sup> 可使水样保持中性.否则,过低的 pH 值会导致氢离子浓度超过微生物酶的适应范围,进而引起微生物原生质膜的电荷变化;而 pH 值过高又会对微生物的生长和降解酶的分泌产生不利影响,最终影响微生物对营养物质的吸收和酶的活性.由此可见,过低或过高的 pH 值都会使萘的生物降解速率减慢.

2.5 菌株 N7 对不同底物的降解情况

分别取适量甲苯、二甲苯、苯酚、2,4-二硝基苯酚、苯甲酸、1-萘酚和水杨酸加入 100 mL 无机盐培养基中,水样终浓度在 25 ~ 200 mg/L 之间,加菌液 2 mL,同时设空白对照,培养 72 h 后分别用 721 分光光度计、pHS-3C 精密 pH 计和 Spectrumlab 54 紫外-可见分光光度计测水样的吸光度值、pH 值和检测底物的降解情况.

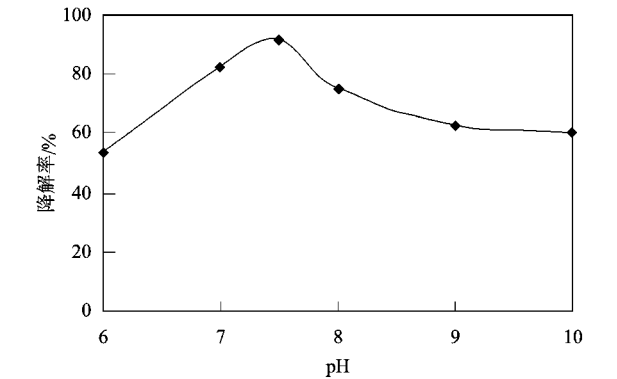


图 4 pH 对降解率的影响  
Fig.4 Effect of pH on degradation

菌株 N7 利用不同底物时的吸光度值及 pH 值变化如表 1 和表 2 所示.在实际污染环境中,一般可能会有多种底物同时存在,复杂的多底物混合态会影响微生物的生理习性 & 微生物对混合组分中单个底物的利用,从而影响降解效果.因此有必要研究菌株 N7 能否利用这些复杂混合物进行新陈代谢,进而将它们从环境中消除.由表 1 和表 2 可知,菌株 N7 在甲苯、二甲苯、苯酚、2,4-二硝基苯酚、苯甲酸、1-萘酚和水杨酸中均能够生长,说明它能利用一定浓度范围内的这些底物为唯一碳源和能源进行生长和繁殖.同时可以看出,菌株在利用这些底物进行生长的过程中,溶液的 pH 值都会下降,这是因为芳烃类化合物一般都是弱电离或不电离的,如果被降解,会产生酸性物质,从而使溶液的 pH 值降低,底物被降解得越少,溶液的 pH 值变化就越小.另外,将含有不同浓度底物的水样加菌液 N7 培养 72 h 后于 200~500 nm 波长范围内扫描,发现甲苯、二甲苯、苯酚、2,4-二硝基苯酚、苯甲酸、1-萘酚和水杨酸的特征吸收峰均减弱或消失,进一步表明该菌株能适应环境中芳烃类物质种类的变化,具有很好的降解多样性.

表 1 菌株 N7 利用不同底物的吸光度值

| 底物        | 底物浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ |       |       |       |       |
|-----------|-------------------------------------|-------|-------|-------|-------|
|           | 空白                                  | 25    | 50    | 100   | 200   |
| 甲苯        | 0.043                               | 0.064 | 0.068 | 0.075 | 0.078 |
| 二甲苯       | 0.042                               | 0.088 | 0.088 | 0.089 | 0.090 |
| 苯酚        | 0.043                               | 0.100 | 0.130 | 0.174 | 0.200 |
| 2,4-二硝基苯酚 | 0.043                               | 0.090 | 0.078 | 0.053 | 0.056 |
| 苯甲酸       | 0.042                               | 0.083 | 0.141 | 0.156 | 0.156 |
| 1-萘酚      | 0.040                               | 0.060 | 0.075 | 0.066 | 0.055 |
| 水杨酸       | 0.043                               | 0.086 | 0.097 | 0.098 | 0.068 |

2.6 萘降解中间产物的紫外-可见分析

| 表 2 不同浓度各种底物的 pH 值                                            |                                     |      |      |      |      |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------|------|------|------|
| Table 2 pH of different substrates with various concentration |                                     |      |      |      |      |
| 底物                                                            | 底物浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ |      |      |      |      |
|                                                               | 空白                                  | 25   | 50   | 100  | 200  |
| 甲苯                                                            | 7.50                                | 6.67 | 6.54 | 6.57 | 6.54 |
| 二甲苯                                                           | 7.51                                | 6.74 | 6.88 | 6.94 | 6.90 |
| 苯酚                                                            | 7.52                                | 7.36 | 7.15 | 7.02 | 6.91 |
| 2,4-二硝基苯酚                                                     | 7.50                                | 7.29 | 7.11 | 7.08 | 7.04 |
| 苯甲酸                                                           | 7.49                                | 7.35 | 7.20 | 7.10 | 7.07 |
| 1-萘酚                                                          | 7.51                                | 7.37 | 7.19 | 7.14 | 7.03 |
| 水杨酸                                                           | 7.48                                | 7.14 | 7.05 | 7.00 | 6.96 |

假单胞菌 N7 降解萘所生成的中间产物的紫外-可见扫描图谱见图 5.由图 5 可知,萘在 275 nm 处有很强的吸收峰,降解 8~10 h 后,该吸收峰消失,且在 300 和 375 nm 处出现 2 个小的吸收峰;12~16 h 时间段,230~252 nm 范围出现较多的吸收峰,说明开始生成较多的中间产物,且 300 和 375 nm 处的吸收峰变大;18~22 h 时间段,300 和 375 nm 处出现的吸收峰强度进一步增大,且吸收峰在 22 h 达到最大;32~120 h 时间段,32 和 72 h 时 300 和 375 nm 处出现的吸收峰强度减弱且 32 h 时在 215 nm 处出现 1 个明显吸收峰,各吸收峰强度在 120 h 时增大.这里 215、300 和 375 nm 处对应的吸收峰依次为邻苯二酚、水杨酸和 2-羟基粘康酸半醌<sup>[19,20]</sup>.

2.7 萘降解中间产物的 GC-MS 分析

利用 GC-MS 对假单胞菌 N7 降解萘过程的中间产物进行了定性分析,结果见图 6.由图 6 可知,随着降解时间的延长, $t_R$  为 5.91 min 的萘特征峰逐渐减弱直至消失,证明萘被完全降解.在不同时间段,均发现有大量的直链醇,因此推断萘在降解过程中逐渐被开环氧化; $t_R$  为 12.66、13.19 和 14.58 min 是邻-羟基-顺-苯丙酮酸与其他中间代谢物(存在环状结构)发生反应后的产物; $t_R$  为 13.70 min 是邻-羟基-顺-苯丙酮酸与其他中间代谢物发生反应开环后的产物; $t_R$  为 15.52 min 是邻苯二甲酸二正庚酯的特征峰;且这些降解中间产物的量随时间先增加而后逐渐减少.

2.8 萘生物降解途径

在多环芳烃化合物的生物降解过程中,特别是在最初的羟基化和之后的环裂解反应中,加氧酶起着重要的催化作用.根据紫外-可见分析、GC-MS 分析结果和生物催化反应的特点,推测菌株 N7 对萘的可能降解途径有 2 条(如图 7):一条是邻苯二甲酸途径,萘先代谢为 1-羟基-2-萘甲酸,然后在双加氧酶、醛缩水合酶和脱氢酶作用下转化为邻苯二

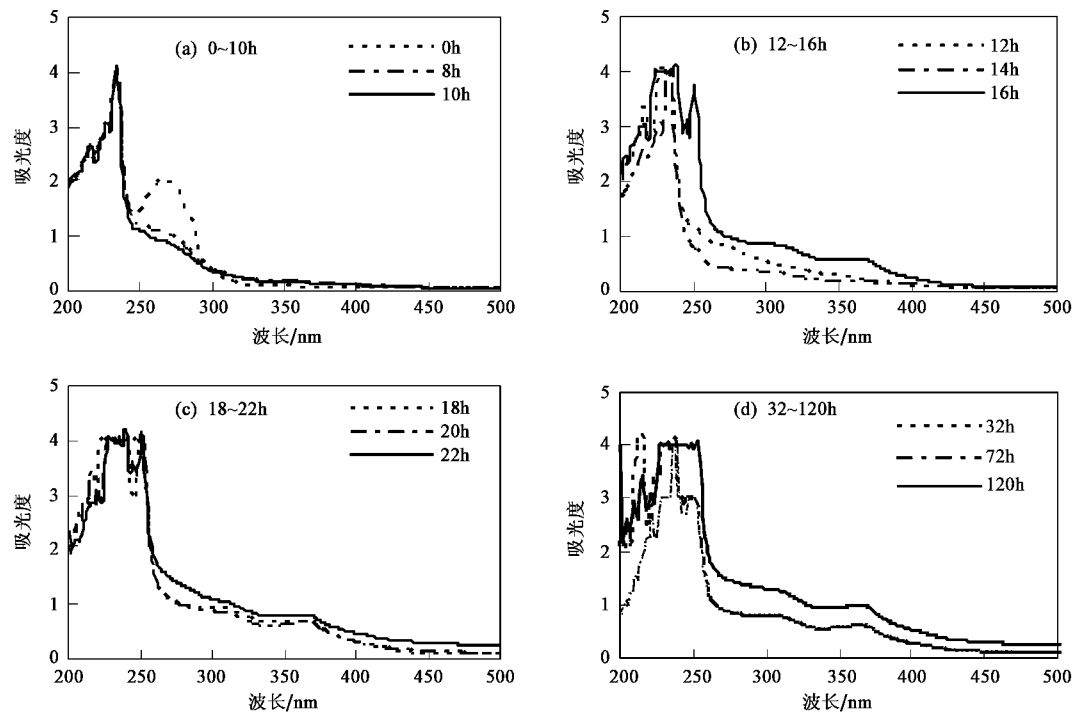


图 5 萘降解过程的 UV-Vis 扫描图谱

Fig.5 UV-Vis absorption spectra during naphthalene degradation

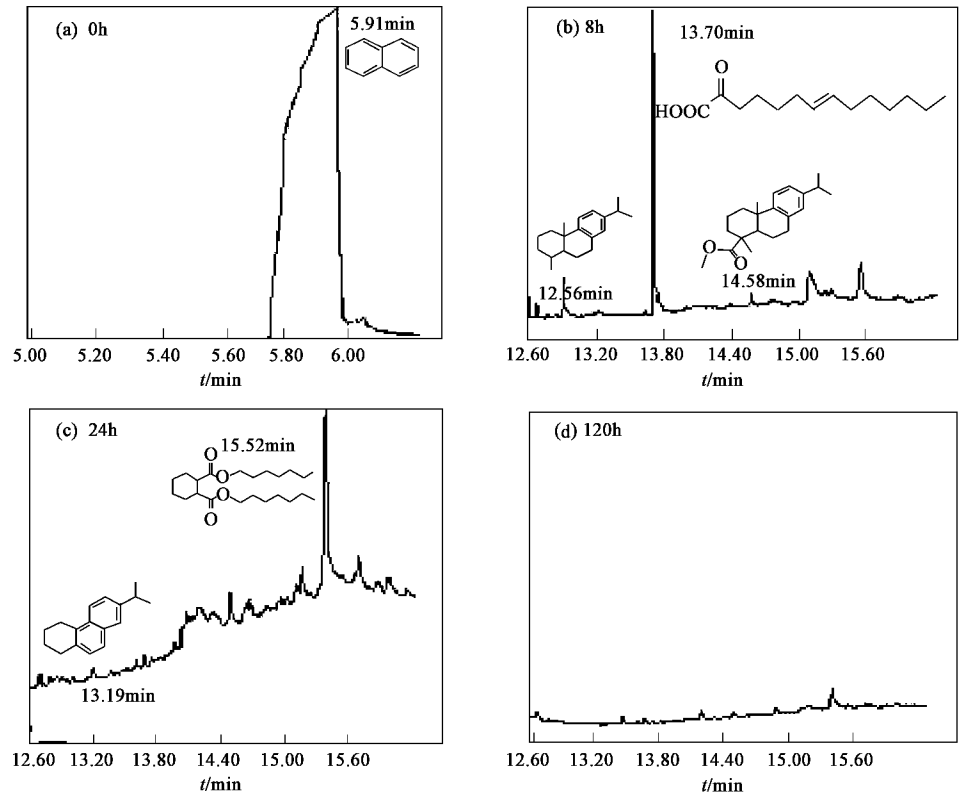


图 6 萘降解中间产物的 GC-MS 图谱

Fig.6 GC-MS spectra of naphthalene metabolites during degradation

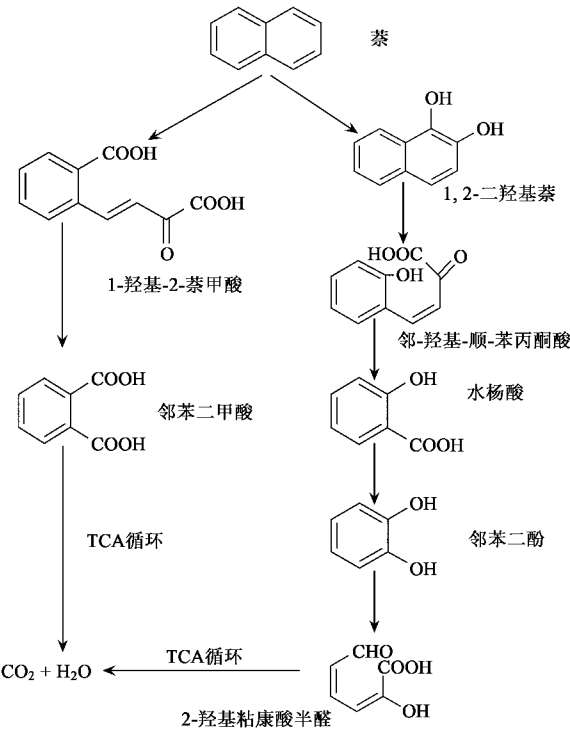


图 7 萘的降解途径

Fig.7 Degradation pathway of naphthalene

甲酸;另一条是水杨酸途径,萘在双加氧酶作用下生成 1,2-二羟基萘,然后加氧生成邻-羟基-顺-苯丙酮酸,而后转化为水杨酸,水杨酸进一步转化为邻苯二酚和 2-羟基粘康酸半醛,这些物质最终通过三羧酸循环(TCA)生成二氧化碳和水<sup>[15, 21 ~ 24]</sup>。

3 结论

营养盐、微量元素、萘浓度、氧气和 pH 对萘降解影响较大。在萘浓度为 100 mg/L、通氧量 4.3 mg/L、pH 7.5 时,N7 经 72 h 可降解 95.66% 的萘。菌株 N7 还能利用甲苯、二甲苯、苯酚、2,4-二硝基苯酚、苯甲酸、1-萘酚和水杨酸作为碳源和能源进行生长和繁殖,具有较好的降解多样性。菌株 N7 对萘的可能降解途径有 2 条:一条是邻苯二甲酸途径,萘先代谢为 1-羟基-2-萘甲酸,然后在双加氧酶、醛缩水合酶和脱氢酶作用下转化为邻苯二甲酸;另一条是水杨酸途径,萘在菌株 N7 的双加氧酶作用下生成 1,2-二羟基萘,然后加氧生成邻-羟基-顺-苯丙酮酸,而后转化为水杨酸,水杨酸进一步转化为邻苯二酚和 2-羟基粘康酸半醛,这些物质最终通过三羧酸循环(TCA)生成二氧化碳和水。

参考文献:

[ 1 ] Marcon R , Bestetti G , Frati F , *et al* . Naphthalene and biphenyl

oxidation by two marine *Pseudomonas* strains isolated from Venice Lagoon sediment [ J ] . International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, **59**(1): 25-31 .

[ 2 ] Christophe P , Gilles F , Pascal P , *et al* . Isolation and characterization of a gene cluster involved in PAH degradation in *Mycobacterium* sp. strain SNP11: Expression in *Mycobacterium smegmatis* mc2155[ J ] . Research in Microbiology, 2007, **158**(2): 175-186 .

[ 3 ] Wang B C , Wang Q H , Zhu L C , *et al* . Degrade naphthalene using cells immobilized combining with low-intensity ultrasonic technique [ J ] . Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2007, **57**(1): 17-21 .

[ 4 ] Kulik N , Goi A , Trapido M , *et al* . Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil [ J ] . Environmental Management, 2006, **78**(4): 382-391 .

[ 5 ] 田蕴 , 郑天凌 , 王新红 , 等 . 厦门西海域表层水中 PAHs 污染与 PAHs 降解菌分布的关系 [ J ] . 热带海洋学报, 2003, **22** (6): 15-21 .

[ 6 ] Sudip S K , Om S V , Rakesh J K . Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation [ J ] . Trends in Biotechnology, 2002, **20**(6): 243-248 .

[ 7 ] Mrozik A , Łabużek S , Piotrowska-Seget Z . Changes in fatty acid composition in *Pseudomonas putida* and *Pseudomonas stutzeri* during naphthalene degradation [ J ] . Microbiological Research, 2005, **160** (2): 147-157 .

[ 8 ] 郑乐 , 刘宛 , 李培军 . 多环芳烃微生物降解基因的研究进展 [ J ] . 生态学杂志, 2007, **26**(3): 449-454 .

[ 9 ] 许振文 , 张甲耀 , 陈兰洲 , 等 . 固定化外源降解菌强化生物降解作用研究 [ J ] . 环境科学与技术, 2007, **30**(3): 19-22 .

[ 10 ] 邵宗泽 , 许晔 , 马迎飞 , 等 . 2 株海洋石油降解细菌的降解能力 [ J ] . 环境科学, 2004, **25**(5): 133-137 .

[ 11 ] 徐虹 , 章军 , 刘陈立 , 等 . PAHs 降解菌的分离、鉴定及降解能力测定 [ J ] . 海洋环境科学, 2004, **23**(3): 61-64 .

[ 12 ] Rodrigo J J S , Eder S C , Fátima B M , *et al* . Anthracene biodegradation by *Pseudomonas* sp. isolated from a petrochemical sludge landfarming site [ J ] . International Biodeterioration & Biodegradation, 2005, **56**(3): 143-150 .

[ 13 ] Lee K , Park J W , Ahn I S . Effect of additional carbon source on naphthalene biodegradation by *Pseudomonas putida* G7 [ J ] . Journal of Hazardous Materials, 2003, **105**(1-3): 157-167 .

[ 14 ] 陈静 , 胡俊栋 , 王学军 , 等 . 表面活性剂对土壤中多环芳烃解吸行为的影响 [ J ] . 环境科学, 2006, **27**(2): 361-365 .

[ 15 ] Tao X Q , Lu G N , Dang Z , *et al* . A phenanthrene-degrading strain *Sphingomonas* sp. GY2B isolated from contaminated soils [ J ] . Process Biochemistry, 2007, **42**(3): 401-408 .

[ 16 ] 温洪宇 , 廖银章 , 李旭东 . 菌株 N-1 对萘的降解特性研究 [ J ] . 应用与环境生物学报, 2006, **12**(1): 96-98 .

[ 17 ] 蔡宝立 , 李永君 , 梁靖 , 等 . 降解萘的假单胞菌 ND24 菌株的分离和萘污染土壤的生物修复 [ J ] . 食品与生物技术学报, 2005, **24**(6): 6-9 .

[ 18 ] 殷波 , 顾继东 . 环境污染物萘、蒽、菲、芘的好氧微生物降解 [ J ] . 热带海洋学报, 2005, **24**(2): 14-21 .

- [19] 张建明,宋远志,石德清. 邻苯二酚与脱氧核糖核酸相互作用的研究[J]. 华中师范大学学报, 2005, **39**(3): 362-365.
- [20] 刘和,吴坚阳,陈英旭. 丛毛鞣丸酮假单胞菌 ZD4-1 和铜绿假单胞菌 ZD4-3 降解芳香烃化合物的机理[J]. 微生物学报, 2004, **44**(1): 107-110.
- [21] 田蕴,郑天凌,胡忠. 海洋环境中多环芳烃的微生物降解研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2003, **9**(4): 439-443.
- [22] 包贞,潘志彦,杨晔,等. 环境中多环芳烃的分布及降解[J]. 浙江工业大学学报, 2003, **31**(5): 528-534.
- [23] Pinyakong O, Habe H, Supaka N, *et al.* Identification of novel metabolites in the degradation of phenanthrene by *Sphingomonas* sp. strain P2[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, **191**(1): 115-121.
- [24] 夏颖. 多环芳烃菲对微生物生态毒理研究、菲降解菌的分离鉴定及降解基因克隆与表达[D]. 杭州:浙江大学, 2004. 1-8.