

菌株 *Sphingomonas* sp. FL 降解溴氨酸的特性研究

樊丽^{1,2}, 刘冬启^{1,2}, 朱顺妮^{1,2}, 麦家星², 倪晋仁^{1,2*}

(1. 北京大学深圳研究生院城市人居环境科学与技术重点实验室, 深圳 518055; 2. 北京大学环境工程系水沙科学教育部重点实验室, 北京 100871)

摘要 分离了 1 株溴氨酸降解菌, 其可以溴氨酸为唯一碳源进行降解并使其脱色. 通过 16S rRNA 基因序列比较和生理生化特性分析, 将其归为鞘氨醇单胞菌属. 溴氨酸降解和菌株生长的最适条件为: 温度 30℃, pH 7.0, 摇床转速 100 r/min (NH₄)₂SO₄ 作为氮源. 在此条件下, 溴氨酸 (100 mg/L) 在 14 h 内的脱色率可达 99%. 低浓度 NaCl (<2%) 对脱色有促进作用, 而高浓度 NaCl (≥2%) 对脱色产生抑制. 以 Haldane 底物抑制模型表征溴氨酸初始浓度对脱色的影响, 确定当初始浓度为 1 393.5 mg/L 时可取得最佳比降解速率 1.4 h⁻¹. 菌株不能将溴氨酸完全矿化, 至反应终点 52.4% 的有机碳得到去除. 利用 GC-MS 和 HPLC-MS 分析代谢产物显示, 溴氨酸降解的中间产物是邻苯二甲酸, 终产物可能为 2-氨基-3-羟基-5-溴苯磺酸或 2-氨基-4-羟基-5-溴苯磺酸, 邻苯二甲酸可经 3,4-二羟基苯甲酸途径进一步降解而被菌体利用.

关键词 溴氨酸; 蒽醌染料; 生物降解; 脱色

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)09-2618-06

Degradation Characteristics of Bromoamine Acid by *Sphingomonas* sp. FL

FAN Li^{1,2}, LIU Dong-qi^{1,2}, ZHU Shun-ni^{1,2}, MAI Jia-xing², NI Jin-ren^{1,2}

(1. The Key Laboratory for Environmental and Urban Sciences, Shenzhen Graduate School, Peking University, Shenzhen 518055, China; 2. The Key Laboratory of Water and Sediment Sciences, Ministry of Education, Department of Environmental Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract A bacterial strain that could degrade bromoamine acid (BAA) as the sole carbon source was isolated. It was identified as *Sphingomonas* sp. based on 16S rRNA gene sequence analysis and physio-biochemical characteristics. Under the optimal growth conditions, with temperature of 30℃, pH of 7.0, rotating rate of 100 r/min and (NH₄)₂SO₄ as the nitrogen source, the decolorization percentage of BAA (100 mg/L) could reach 99% within 14 h. NaCl of low concentration (<2%) facilitated the decolorization, while NaCl of higher concentration (≥2%) had inhibition effect. The effect of initial BAA concentration on decolorization could be described by the Haldane model, and the optimal specific decolorization rate of 1.4 h⁻¹ could be obtained when the initial concentration of BAA was 1 393.5 mg/L. The strain could not mineralize BAA completely, and 52.4% of the total organic carbon was removed at the end of the reaction. The analysis of metabolites using GC-MS and HPLC-MS showed that phthalic acid was the metabolic intermediate which could be further degraded through 3,4-dihydroxybenzoic acid route and serve as the growth substrate, and the end product was estimated to be either 2-amino-3-hydroxy-5-bromobenzenesulfonic acid or 2-amino-4-hydroxy-5-bromobenzenesulfonic acid.

Key words bromoamine acid; anthraquinone dye; biodegradation; decolorization

溴氨酸(1-氨基-4-溴蒽醌-2-磺酸)是一种重要的蒽醌染料中间体,其生产废水具有高色度、高 COD 及高盐度的特点,传统的好氧活性污泥法难以处理.废水中的溴氨酸成分由于具有稳定的稠环芳香烃结构和较高的水溶性而长期滞留于环境中.近年来,筛选溴氨酸高效降解菌并将其应用于生物强化处理的基础研究在国内广泛展开,已鉴定的菌株有黄杆菌 *Flavobacterium* BX26^[1]、动胶菌 *Zoogloea* HP3^[2]和鞘氨醇单胞菌 *Sphingomonas xenophaga*^[3,4],部分菌株可以溴氨酸为唯一碳、氮源生长^[2,3],在混合菌处理体系中能稳定生存^[5].溴氨酸经单一菌株的降解不能被完全矿化^[1-4],但可达到有效脱色从而降低废水色度.

本研究中分离的高效菌 *Sphingomonas* sp. FL 在

细菌分类上与 *S. xenophaga*^[3,4]不同,其对溴氨酸降解的特性与已报道的菌株也有区别.通过分析影响溴氨酸降解的因素,鉴定主要的代谢产物,以期为该菌株在溴氨酸生产废水处理中的应用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 试剂

溴氨酸(含量 91.77%)由浙江台州东港工贸集团提供,外观呈红色针状晶体,在可见光下的最大吸

收稿日期 2007-09-03; 修订日期 2007-11-13
基金项目 北京大学深圳研究生院院长科研基金项目(2006013)
作者简介 樊丽(1981~),女,博士研究生,主要研究方向为环境微生物, E-mail: fanli@iee.pku.edu.cn
* 通讯联系人, E-mail: nijinren@iee.pku.edu.cn

收波长为 485 nm, 化学结构式见图 1. 邻苯二甲酸和 2,5-二羟基苯甲酸 (>99%) 购自 Sigma-Aldrich 公司, 色谱级甲醇购自 Merck 公司, 其余试剂为分析纯. 超纯水采用密里博基础应用型系统 (Milli-Q Academic System) 制备.

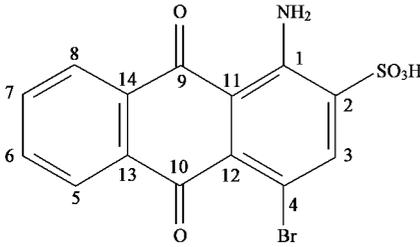


图 1 溴氨酸的化学结构

Fig.1 Chemical structure of BAA

1.2 菌株

由天津南开大学微生物系提供的混合菌中分离纯化出一单菌株, 命名为 FL, 混合菌原为某化工厂污泥经过驯化和初步筛选而来. 菌株 FL 可以溴氨酸为唯一碳源生长, 经 16S rRNA 基因序列分析 (GenBank 登录号 EF065102) 和生理生化指标测试 [广东省微生物分析检测中心, 登记号 (2006) ZD0332] 鉴定为 *Sphingomonas* sp..

1.3 溴氨酸的降解

从固体培养基上取单菌落接入含 500 mg/L 溴氨酸的无机盐液体培养基, 在 30℃, 150 r/min 恒温摇床培养至完全脱色后, 4 500 r/min 离心收集菌体, 重悬于 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液, 按 10% 接种量转入含溴氨酸的无机盐培养基中进行降解实验. 培养基成分 (g/L): 2.2 Na₂HPO₄, 0.8 KH₂PO₄, 0.4 (NH₄)₂SO₄, 0.01 MgSO₄ · 7H₂O, 0.01 FeSO₄ · 7H₂O, 0.005 CaCl₂ · 2H₂O. 实验中固定其他条件而改变一个参数, 考察温度 (20 ~ 40℃), pH (5.0 ~ 9.0), 摇床转速 (0 ~ 150 r/min), 溴氨酸初始浓度 (100 ~ 3 000 mg/L), 氮源种类和氯化钠浓度 (0% ~ 5%) 对脱色的影响.

1.4 分析方法

在溴氨酸降解实验中定时取样, 测定 D_{660} 表征生物量, 于 4 500 r/min 离心 10 min, 测定上清液在 485 nm 吸光度 (岛津 UV1700 分光光度计) 来定量溴氨酸浓度, 同时测定上清液的 TOC (耶拿 3100 TOC 分析仪).

降解产物分别用 GC-MS (安捷伦 6890N GC/5975 MSD 联用仪) 和 HPLC-MS (安捷伦 HP 1100 LC/MSD Trap SL System) 检测. GC-MS 测定前将反应上清液用

2 mol/L HCl 调至 pH 2.0, 乙酸乙酯萃取 3 次, 合并萃取液后用无水 Na₂SO₄ 脱水, 旋转蒸发浓缩, 最后氮吹至 0.3 mL 体积. 色谱条件: HP-35 毛细管柱 (250 μm × 0.25 μm); 氦气为载气, 进样口温度 250℃; 分流比 1:10; 柱温从 50℃ (保持 2 min) 以 10℃/min 升至 300℃ (保持 2 min). 质谱条件: EI 离子源, 电子能量 70 eV; 质量扫描范围 35 ~ 1 000 m/z. HPLC-MS 色谱条件: ZORBAX Eclipse XDB-C18 柱 (4.6 mm × 150 mm); 柱温 25℃; 流动相为甲醇 (A) 和水 (B), 梯度淋洗 A 从 20% (保持 5 min) 经 10 min 后升至 50% (保持 5 min). 质谱条件: 电喷雾 (ESI) 离子源; 负离子模式; 质量扫描范围 50 ~ 500 m/z.

1.5 中间代谢产物的利用

将在含溴氨酸的无机盐培养基中富集的菌株 FL 接入含 100 mg/L 底物的无机盐培养基, 于 30℃, 150 r/min 恒温摇床培养, 定时取样测定生物量, 并测定反应初始和终点的紫外吸收光谱. 测试底物包括邻苯二甲酸、邻苯二酚、水杨酸、苯甲酸、2,5-二羟基苯甲酸和 3,4-二羟基苯甲酸.

2 结果与分析

2.1 菌株特点及其降解溴氨酸的影响因素

菌株 FL 为杆状革兰氏阴性菌, 大小在 (0.8 ~ 1.3 μm) × (0.5 ~ 0.6 μm). 在含溴氨酸的无机盐平板上菌落呈黄色, 表面光滑, 边缘整齐. 其 16S rRNA 基因序列与 *S. herbicidovorans* (AB022428) 的同源性高达 99%, 生理生化特点和模式菌株 *S. herbicidovorans* MH (ATCC 700291) [6] 部分相似, 不同点是可发酵葡萄糖、麦芽糖、乳糖和蔗糖 (表 1), 因此将之归为鞘氨醇单胞菌属.

在溴氨酸初始浓度为 100 mg/L 的条件下考察了温度、pH 和摇床转速对菌体生长和脱色的影响 (反应时间为 14 h). 当温度 30℃, pH = 7.0 时可达到最大脱色率 99%, 生物量也在同一组实验中最高. 菌株可耐受较低的温度, 20℃ 时脱色率为 59.4%, 升高温度显著抑制了脱色, 35℃ 和 40℃ 时脱色率分别为 37.2% 和 9%. 脱色适宜的 pH 范围较窄, 且碱性条件更不利, 当 pH = 6.0 和 pH = 8.0 时反应终点的脱色率分别下降了 31.2% 和 64.4%. 菌株 FL 是好氧菌, 随着摇床转速上升, 生物量和脱色率都在增加, 至 100 r/min 脱色率已达 98.6%, 继续提高转速对脱色率的影响很小, 表明 100 r/min 可为反应提供足够的溶解氧. 此外, 菌株在静止条件下的脱色率也可达 69.9%, 表明维持菌体生长所需的氧量并不高.

表1 菌株 FL 生理生化特性

Table 1 Physio-biochemical characteristics of strain FL

测定指标	结果	测定指标	结果
吡啶试验	-	乙酸盐	-
氧化酶	+	糖醇发酵	-
接触酶	+	葡萄糖	+
七叶灵水解	+	麦芽糖	+
硝酸盐还原	-	乳糖	+
明胶液化	-	蔗糖	+
鸟氨酸、赖氨酸脱羧酶试验	-	肌醇	-

考察氮源种类对脱色影响时分别在 100 mg/L 溴氨酸无机盐培养基中加入含氮量均等(85 mg/L)的 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NaNO_3 、 NH_4Cl 、 NH_4NO_3 和 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 。从图 2 可见,菌株可利用多种氮源对溴氨酸进行降解,其中 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和 NH_4Cl 最易被菌体利用而分别达到 98.3% 和 97.8% 的脱色率,而有机氮 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 作为氮源时脱色率仅 67.8%。氮是微生物生长必不可少的营养元素之一,微生物对底物分子中的氮磷等营养元素的利用具有一定选择性,已报道的动胶菌 *Zoogloea* HP3 可以溴氨酸为唯一氮源生长, NH_4Cl 的添加对溴氨酸的降解有抑制作用^[7],而本实验中菌株 FL 难以利用溴氨酸分子中的氮。

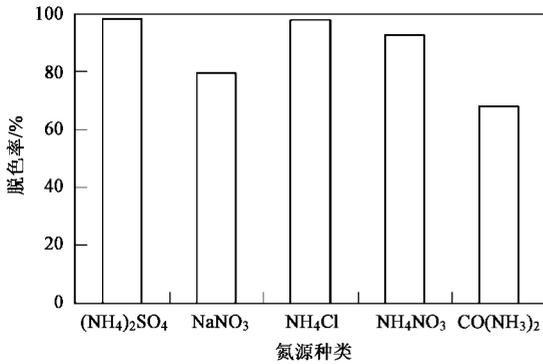


图2 氮源种类对脱色的影响(反应 14 h)

Fig.2 Effect of nitrogen source on decolorization (14 h reaction)

盐浓度对维持微生物细胞渗透压有重要作用,过高或过低都会产生抑制作用^[8]。在溴氨酸的合成及盐析后处理中均会引入大量盐类,因此有必要研究盐度对菌株 FL 降解溴氨酸的影响。图 3 显示低浓度 NaCl ($< 2\%$) 对脱色有促进作用,当 NaCl 浓度在 1% 时完全脱色所需的时间最短,在 2% 时对脱色产生抑制,在 3% 及以上时溴氨酸不发生降解。低盐条件可维持细胞渗透压,加强微生物的呼吸作用,促进细胞生长^[9],而盐度较大引起的高渗透压易使微生物细胞发生溶胞作用而大量释放细胞组分^[10],过多

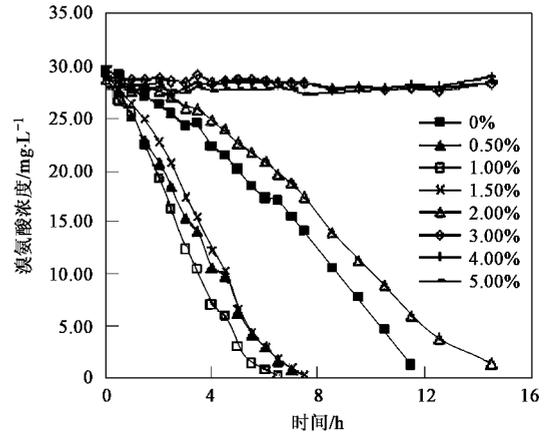


图3 NaCl 浓度对脱色的影响

Fig.3 Effect of NaCl concentration on decolorization

的 Na^+ 也会抑制微生物脱氢酶和氧化酶的分泌^[11]。

菌株 FL 对溴氨酸的降解能力较高,在 100 ~ 1 500 mg/L 范围内随着初始浓度的增加比降解速率也随之提高,但更高浓度的溴氨酸对降解产生了抑制。用 Haldane 底物抑制模型可表示初始浓度对溴氨酸降解的影响^[12]:

$$v = \frac{v_{\max} S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (1)$$

式中, v_{\max} 为最大比降解速率 (h^{-1}); S 为溴氨酸浓度 (mg/L); K_s 为饱和常数 (mg/L); K_i 为抑制常数 (mg/L)。用 Origin 6.0 软件进行拟合,可得到各参数值: $v_{\max} = 3.1 \text{ h}^{-1}$, $K_s = 825.7 \text{ mg/L}$, $K_i = 2 351.9 \text{ mg/L}$ 。由图 4 可见实测值和模拟值的相关性较高 ($R^2 = 0.993$)。对式(1)求导,当 $S = \sqrt{K_s \times K_i} = 1 393.5 \text{ mg/L}$ 时可得最佳比降解速率为 $v =$

$$\frac{v_{\max}}{2\sqrt{K_s/K_i} + 1} = 1.4 \text{ h}^{-1}$$

2.2 溴氨酸降解过程分析

溴氨酸呈现的红色是由氨基和蒽醌母体产生的共轭作用引起的。随着溴氨酸降解的进行,反应液的颜色由红色渐变为无色。由于菌株 FL 以溴氨酸为唯一碳源生长,可推测溴氨酸的蒽醌结构发生开环而破坏了发色团。在菌株的对数生长期,脱色率达到最高,实验中溴氨酸浓度随时间的变化遵循零级反应 ($k = 9.8$, $R^2 = 0.97$)。虽然在无机盐培养基中生物量不多,但脱色率维持较高水平,14 h 内可达 99%。初始浓度为 93.49 mg/L 的溴氨酸,至脱色终点 TOC 去除率为 52.4%。随着时间的延长,TOC 不再减

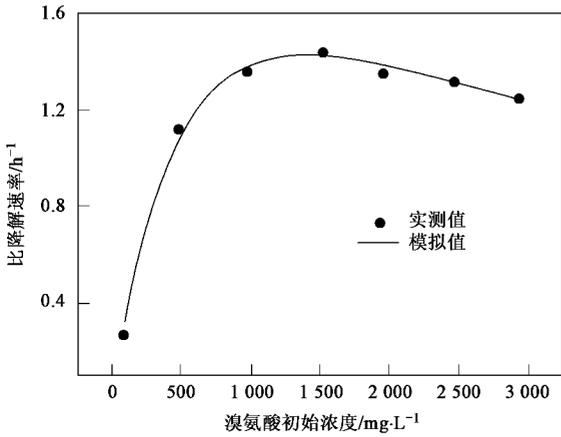


图4 溴氨酸初始浓度对比降解速率的影响

Fig.4 Effect of initial BAA concentration on specific degradation rate

少(图5),可见菌株只利用了部分有机碳,并未将溴氨酸完全矿化,这一结果与报道的 *Zoogloea* HP3^[2] 和 *Sphingomonas xenophaga*^[13] 相似。

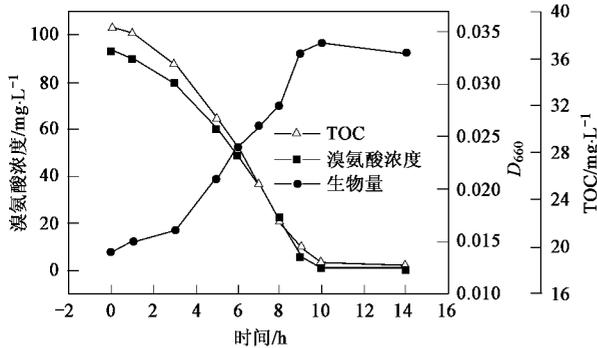


图5 脱色过程中 TOC、溴氨酸浓度和生物量的变化

Fig.5 Changes of TOC, BAA concentration and biomass concentration during decolorization

利用 GC-MS 在酸化后的萃取浓缩液中检测出 1 个中间产物(图6),通过 NIST05 谱库检索并与标准物质的保留时间和质谱图比较确定为邻苯二甲酸(保留时间 = 13.9 min)。在 1000 mg/L 溴氨酸的降解过程中,邻苯二甲酸在溶液中的残留量随反应时间逐渐增加,在 22.5 h 达到最大值 19.7 mg/L 后开始降低。由此推测溴氨酸的开环可能位于 9-C 和 11-C、10-C 和 12-C 间。GC-MS 未检测出溴氨酸和其他产物,原因可能是物质的沸点较高,不易气化。

HPLC-MS 负离子模式可检测出溴氨酸(保留时间 = 14.9 min) [M-H]⁻ 的质荷比(m/z)为 380.2 和 381.7,两者的相对丰度比接近 1:1,为溴的同位素峰(图7)。此外,在反应培养液中检测出另一产物(保留时间 = 1.4 min) [M-H]⁻ 的质荷比为 266.2 和

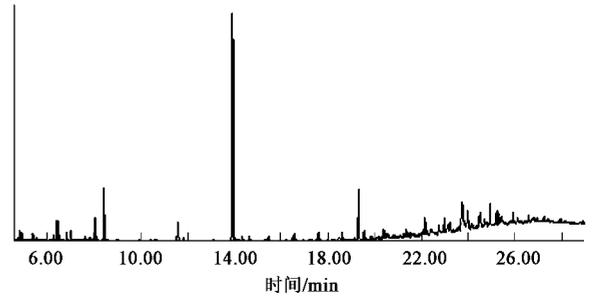


图6 溴氨酸降解产物的 GC-MS 分析

Fig.6 GC-MS analysis of metabolites of BAA degradation

267.9 相对丰度比同样接近 1:1,表明产物分子中仍带有溴基(图8)。这一产物的含量随溴氨酸的降解慢慢增加,至脱色终点不再发生变化。由以上实验结果及文献[2,14]推测此终产物可能为 2-氨基-3-羟基-5-溴苯磺酸或 2-氨基-4-羟基-5-溴苯磺酸,其分子结构中较多的取代基形成的空间效应阻碍了酶与底物的接触,使之难以被菌体利用。

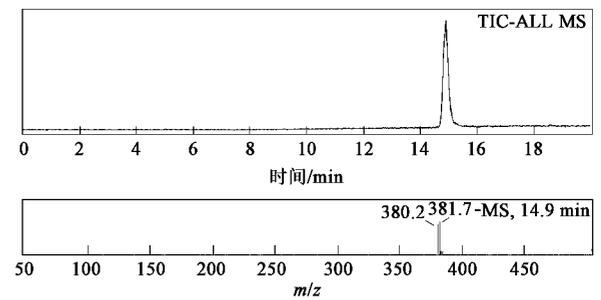


图7 溴氨酸的 HPLC-MS 检测

Fig.7 Determination of BAA using HPLC-MS

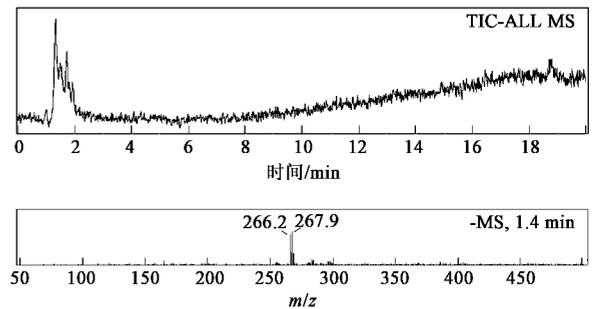


图8 溴氨酸降解产物的 HPLC-MS 检测(脱色终点)

Fig.8 HPLC-MS analysis of metabolites of BAA degradation (the end of decolorization)

2.3 中间代谢产物的利用

细菌以多环芳烃为唯一碳源进行降解的过程中,往往可利用一些代谢产物来生长^[15~17]。实验中测试了 6 种常见的中间代谢产物是否能作为生长基

质被菌株 FL 利用. 结果显示, 菌株可以为唯一碳源生长的有邻苯二甲酸和 3,4-二羟基苯甲酸, 不能利用邻苯二酚、水杨酸、苯甲酸和 2,5-二羟基苯甲酸. 由此推测, 本研究中溴氨酸降解的中间产物邻苯二甲酸可能通过 3,4-二羟基苯甲酸途径^[18]进一步降解而被菌体利用, 与报道的苯甲酸及邻苯二酚途径不同^[14].

3 讨论

近年来的研究显示, 鞘氨醇单胞菌属的菌株可降解多种异生型化合物, 如联苯、萘、菲、芴、咪喃、咪唑、茈、氯酚和二 英^[19], 是一类具有潜力的微生物资源. 本实验中得到的菌株 *Sphingomonas* sp. FL 与 *S. herbicidovorans* 的同源性高达 99%, 后者可降解多种苯氧羧酸类除草剂^[6,20], 对蒽醌化合物的降解尚未有报道.

至今, 关于蒽醌化合物好氧生物降解途径的研究较为有限, 且使用的多为真菌体系. Itoh^[21]探讨了彩绒革盖菌 *Coriolus versicolor* 对 1,4-二羟基蒽醌的降解, 提出底物首先经类似拜耳-维利格 (Baeyer-Villiger) 途径^[22]氧化生成中间产物内酯, 继而通过水解断裂生成邻苯二甲酸, 后者经脱羧反应生成苯甲酸, 继而进一步降解. Hammel^[23]的研究中, 黄孢原毛平革菌 *Phanerochaete chrysosporium* 降解蒽生成了 9,10-蒽醌, 之后开环生成邻苯二甲酸. 本研究中通过 GC-MS 也检测到中间产物邻苯二甲酸, 表明细菌同样可通过邻苯二甲酸途径降解蒽醌化合物. 其后, 利用 HPLC-MS 检测出非挥发性的溴氨酸及终产物, 弥补了 GC-MS 单一测定的不足^[24]. 由于终产物占据溴氨酸近 50% 有机碳, 具有特征质荷比, 且中间产物邻苯二甲酸可被菌体作为唯一碳源利用, 由此提出一条可能的降解途径: 溴氨酸在单加氧酶作用下, 于蒽醌环的 9-C 和 11-C 或 10-C 和 12-C 间加入氧, 形成 C—O 键, 再经水解作用生成邻苯二甲酸和 2-氨基-3-羟基-5-溴苯磺酸或 2-氨基-4-羟基-5-溴苯磺酸, 邻苯二甲酸经 3,4-二羟基苯甲酸途径进一步降解, 提供菌体生长所需碳源. 由于氨基是供电子基团, 溴基是吸电子基团, 9-C 和 11-C 上的电子云密度大于 10-C 和 12-C 上的, 因此加氧酶更易进攻 9-C 和 11-C.

4 结论

(1) 菌株 *Sphingomonas* sp. FL 可以溴氨酸为唯一碳源生长并使其脱色, 最适生长和脱色条件为温

度 30℃, pH 7.0, 摇床转速 100 r/min. 氮源中 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的添加最有利于溴氨酸的降解. 低浓度 NaCl (<2%) 对脱色有促进作用, 更高浓度的 NaCl 抑制了脱色反应. 溴氨酸初始浓度对脱色的影响可用 Haldane 底物抑制模型表征, 当初始浓度为 1393.5 mg/L 时可取得最佳比降解速率 1.4 h^{-1} .

(2) 菌株 FL 不能将溴氨酸完全矿化, 至脱色终点 TOC 去除率为 52.4%. 经 GC-MS 和 HPLC-MS 检测得出, 溴氨酸降解的中间产物为邻苯二甲酸, 终产物可能为 2-氨基-3-羟基-5-溴苯磺酸或 2-氨基-4-羟基-5-溴苯磺酸. 由实验结果推测溴氨酸通过邻苯二甲酸途径降解, 后者可经 3,4-二羟基苯甲酸途径进一步降解而被菌体利用.

参考文献:

- [1] 辛宝平, 庄源益, 邹其猛. 黄杆菌 *Flavobacterium* sp. 对溴氨酸脱色的研究[J]. 中国环境科学, 2000, 20(4): 332-336.
- [2] 黄丽萍, 周集体, 王竞, 等. 菌株 HP3 对溴胺酸的降解机理[J]. 中国环境科学, 2001, 21(2): 180-184.
- [3] 曲媛媛, 周集体, 王竞, 等. 溴氨酸降解菌株的分离鉴定及特性研究[J]. 环境科学学报, 2005, 25(6): 785-790.
- [4] 李莹, 庄源益, 潘继伦, 等. 降解溴氨酸的鞘氨醇单胞菌 N1 菌株的固定化研究[J]. 离子交换与吸附, 2004, 20(4): 316-322.
- [5] Qu Y Y, Zhou J T, Wang J, et al. Bioaugmentation of bromoamine acid degradation with *Sphingomonas xenophaga* QYY and DNA fingerprint analysis of augmented systems[J]. Biodegradation, 2006, 17(1): 83-91.
- [6] Kohler H P E. *Sphingomonas herbicidovorans* MH: a versatile phenoxalkanoic acid herbicide degrader[J]. J Indus Microbiol Biotechnol, 1999, 23(4-5): 336-340.
- [7] 黄丽萍, 周集体, 杨凤林, 等. 菌株 HP3 降解溴胺酸特性研究[J]. 大连理工大学学报, 2000, 40(5): 557-561.
- [8] Fan Y Z, Wang Y Y, Qian P Y, et al. Optimization of phthalic acid batch biodegradation and the use of modified Richards model for modelling degradation[J]. Int Biodeterior Biodegrad, 2004, 53(1): 57-63.
- [9] 赵昕, 倪晋仁, 叶正芳. 盐度对固定化曝气生物滤池中微生物的影响[J]. 环境科学, 2007, 28(7): 1553-1559.
- [10] 崔有为, 王淑莹, 宋学起, 等. NaCl 盐度对活性污泥处理系统的影响[J]. 环境工程, 2004, 22(1): 19-35.
- [11] 贾燕, 尹华, 彭辉, 等. 石油降解菌株的筛选、初步鉴定及其特性[J]. 暨南大学学报(自然科学版), 2007, 28(3): 296-301.
- [12] 李莹, 庄源益, 蔡宝立. 鞘氨醇单胞菌 N1 菌株的 16S rDNA 序列分析和溴氨酸降解的动力学[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2006, 39(2): 62-66.
- [13] 曲媛媛. 鞘氨醇单胞菌降解溴氨酸及强化体系 DNA 指纹解析[D]. 大连: 大连理工大学, 2005. 58-59.
- [14] 林文莲, 吕红, 周集体, 等. 鞘氨醇单胞菌完整细胞对溴氨酸的好氧降解[J]. 环境科学与技术, 2007, 30(6): 32-34.

- [15] Herwijnen R , Springael D , Slot P , *et al.* Degradation of anthracene by *Mycobacterium* sp. strain LB501T proceeds via a novel pathway , through *o*-phthalic acid[J]. *Appl Environ Microbio* , 2003 , **69**(1) : 186-190.
- [16] Tao X Q , Lu G N , Dang Z , *et al.* A phenanthrene-degrading strain *Sphingomonas* sp. GY2B isolated from contaminated soils[J]. *Proc Biochem* , 2007 , **42**(3) : 401-408.
- [17] Rehmann K , Noll H P , Steinberg C E W , *et al.* Pyrene degradation by *Mycobacterium* sp. strain KR2[J]. *Chemosphere* , 1998 , **36**(14) : 2977-2992.
- [18] 钱易 , 汤鸿霄 , 文湘华. 水体颗粒物与难降解有机物的特性与控制技术原理(下卷)难降解有机物[M]. 北京 : 中国环境科学出版社 , 2000. 53-54.
- [19] Basta T , Keck A , Klein J , *et al.* Detection and characterization of conjugative degradative plasmids in xenobiotic-degrading *Sphingomonas* strains[J]. *J Bacteriol* , 2004 , **186**(12) : 3862-3872.
- [20] Zipper C , Nickel K , Angst W , *et al.* Complete microbial degradation of both enantiomers of the chiral herbicide mecoprop [(RS)-2-(4-chloro-2-methylphenoxy) propionic acid] in an enantioselective manner by *Sphingomonas herbicidovorans* sp. nov. [J]. *Appl Environ Microbio* , 1996 , **62**(12) : 4318-4322.
- [21] Itoh K. Oxidative biodegradation of an anthraquinone dye , pigment violet 12 , by *Coriolus versicolor*[J]. *Bull Environ Contam Toxicol* , 1998 , **60**(5) : 786-790.
- [22] Fujii I , Ebizuka Y , Sankawa U. A novel anthraquinone ring cleavage enzyme from *Aspergillus terreus*[J]. *J Biochem* , 1988 , **103**(5) : 878-883.
- [23] Hammel K E. Ring fission of anthracene by a eukaryote[J]. *Proc Natl Acad Sci* , 1991 , **88**(23) : 10605-10608.
- [24] Riu J , Schonsee I , Barcelo D. Determination of sulphonated azo dyes in water and wastewater[J]. *Trends Anal Chem* , 1997 , **16**(7) : 405-419.