

好氧颗粒污泥的培养及其降解硝基苯的活性

王电站,周立祥*

(南京农业大学资源环境学院环境工程系,南京 210095)

摘要 采用三角瓶在摇床上好氧振荡的方法,用硝基苯(nitrobenzene, NB)废水处理厂的好氧污泥驯化培养能够降解 NB 的混合菌群,发现在此培养过程中,微生物菌群形成颗粒化(颗粒污泥),采用此颗粒污泥(混合菌群)进行降解 NB 的研究。结果表明,该混合菌群在以 NB 为唯一碳源和氮源的情况下降解 NB 的效果最好,该混合菌群降解 NB 时最适宜的温度为 28℃,能够适宜于 pH 9.0 以下的弱碱性环境,且最佳的 pH 值为 7.0,当 NB 的起始浓度为 600 mg·L⁻¹ 时,混合菌群适应期较短,在 6 h 以下,混合菌群在 24 h 内能够完全降解 NB,降解速率最大,达到 28.8 mg·(L·h)⁻¹,由此表明,好氧颗粒污泥法用于含硝基苯类化工废水的处理是一种新的尝试,具有实际应用价值。

关键词 好氧;颗粒污泥;混合菌群;硝基苯;生物降解

中图分类号:X703.1 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2010)01-0147-06

Cultivation of Aerobic Granular Sludge and Characterization of Nitrobenzene-Degrading

WANG Dian-zhan, ZHOU Li-xiang

(Department of Environmental Engineering, College of Resource and Environment Sciences, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210095, China)

Abstract The highly efficient nitrobenzene degrading aerobic mixed microbe was cultivated from activated sludge originated from Nanjing chemical plant and it was found that aerobic granular sludge could be formed through the flask trial. The nitrobenzene-degrading experiment was conducted with the obtained aerobic granular sludge. Results showed that the mixed microbe could utilized nitrobenzene as the sole source of carbon and nitrogen for its growth. The optimum growth conditions for the bio-degradation of nitrobenzene were pH 7.0 and 28℃. The adaptive period was no more than 6 hours and its degrading efficiency was highest when the initiative concentration of nitrobenzene was 600 mg·L⁻¹. The mixed microbe could completely degrade nitrobenzene (600 mg·L⁻¹) within 24 hours and the maximum degradation rate of nitrobenzene was 28.8 mg·(L·h)⁻¹. It will be possible that aerobic granular sludge can be used to degrade the organics such as nitrobenzene contained in the industrial waste water.

Key words aerobic; granular sludge; mixed microbe; nitrobenzene; biodegrading

硝基苯(NB)被广泛应用于制药、制苯胺、染料、杀虫剂等化工行业,具有化学性状稳定、难降解和高毒性等特点,进入环境后造成严重的生态环境污染,被列入《环境优先控制有毒有机污染物》的名单^[1]。NB 生物降解机制研究较多^[2~4],采用厌氧、好氧及其联合的方法处理含 NB 工业废水以达到生物降解的目的^[5]。迄今为止,研究者比较注重单一菌株的筛选^[6~8],而单一菌株的处理效果远低于复合菌——先单独筛选出若干株能降解 NB 的不同纯种,然后将它们混合在一起而成^[9]。另外,在城市废水处理的研究中,颗粒污泥特别是好氧颗粒污泥一直是热点。众所周知,因颗粒污泥(主要由多种微生物菌体构成)具有复杂的生物相以及丰富的微观环境,好氧微生物、厌氧微生物以及兼性微生物共同存在于一个体系中,组成一个完整的生物群落,提高了有机物生物降解效果^[10~15],而在生物降解 NB 的研究中一直都没有关于生物污泥颗粒化的报道,主要原因

可能在于 NB 的毒性使得用城市废水培养出的颗粒污泥不能应用于此类化工废水的处理,而纯培养条件下微生物相单一难以形成颗粒化。笔者在驯化培养 NB 降解菌的过程中,从一开始就不纯化,按照驯化周期逐步提高 NB 的浓度,使存活下来的混合菌群中微生物种类越来越少,且在长期的互作过程中形成良好的协同关系,并首次发现混合菌群形成了颗粒化。本实验采用摇瓶好氧振荡培养的方法,利用获得的能够颗粒化的混合菌群(颗粒污泥),详细研究了 NB 生物降解的特性。

收稿日期 2009-03-03 修订日期 2009-06-12

基金项目 国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA06Z314);国家自然科学基金项目(20377023)

作者简介 王电站(1967~),男,博士研究生,讲师,主要研究方向为工业废水生物处理 E-mail: dzwang@njau.edu.cn

* 通讯联系人 E-mail: jxzhou@njau.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料

菌株来源:将南京某化工厂 NB 废水处理厂曝气池活性污泥和排污口底泥混合成原始泥样,作为菌种来源。

培养液配方:简单无机盐培养液:3 g K_2HPO_4 , 3 g KH_2PO_4 , 0.2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 5 g NaCl, 1 L 自来水,自然 pH 值(6.4 左右)。

主要仪器与试剂:高效液相色谱仪(waters 1525, 美国),光学显微摄影仪(Cannon, 日本),pH 计(PHS-3, 上海雷磁),NB、苯胺和其它化学试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 混合菌群的驯化培养

采用好氧振荡瓶法进行混合菌种的驯化培养。在 500 mL 三角瓶中加入原始泥样 60 g,再加入培养液 240 g,振荡摇床的转速为 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,温度为 28°C 。NB 的初始浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,然后按照 20、40、80、100、200、400、600、800、1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度梯度逐级提高培养液中 NB 的含量。每个浓度下培养 5 d 为 1 个周期,每个驯化周期结束后取样,在光学显微摄影仪上观测生物相组成,并采用液相色谱法分别测定 NB、苯胺的含量^[16,17],确定 NB 降解后,再将 60 g 培养物转接入含较高一级浓度 NB 的新鲜培养液中驯化,依此类推,最后根据各浓度级的培养情况,将 200~1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度级所获得的培养物混合,再继续振荡 1 d,作为以下试验用的混合菌群。

1.2.2 混合菌群降解 NB 浓度的选择

在若干 500 mL 三角瓶中加入 60 g 颗粒化的混合菌液(在 1.2.1 驯化培养过程中获得)作为接种物以及 240 g 培养液,加入 NB 使其浓度分别为 200、400、600、800、1 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,振荡摇床的转速为 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,温度 28°C ,每处理 3 个重复,每隔 6 h 取样 1 次,在光学显微摄影仪上观测生物相组成,并采用液相色谱法^[16,17]测定 NB 和苯胺的浓度,下同。

1.2.3 温度对混合菌群降解 NB 的影响

在若干 500 mL 三角瓶中加入 60 g 颗粒化的混合菌液作为接种物以及 240 g 培养液,据 1.2.2 的试验结果,确定试验用 NB 的浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (下同)振荡摇床的转速为 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,自然 pH 值(pH 值在 6.4 左右)。改变摇床温度分别为:15、20、25、28、 35°C 。

1.2.4 起始 pH 值对混合菌群降解 NB 的影响

在若干 500 mL 三角瓶中加入 60 g 颗粒化的混合菌液作为接种物以及 240 g 培养液,据 1.2.2 试验结果,加入 NB 使其浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,用 2 mol/L 的 H_2SO_4 和 2 mol/L 的 NaOH 调节起始 pH 值分别为 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0。振荡摇床的转速为 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,并根据 1.2.3 的试验结果,温度控制在 28°C 。

1.2.5 不同碳源种类及 C/N 对混合菌群降解 NB 的影响

在若干 500 mL 三角瓶中加入 60 g 颗粒化的混合菌液作为接种物以及 240 g 培养液,加入 NB 使其浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,振荡摇床的转速为 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,温度 28°C ,调节起始 pH 值至 7.0,按照添加相等碳量的原则,分别添加乙酸钠 0.80 g、蔗糖 0.52 g、葡萄糖 0.60 g、乳糖 0.55 g 作为外加碳源,并不加任何其它碳源(即仅以 NB 为唯一碳源)对比。在此试验基础上,选定葡萄糖作外加碳源,添加不同量的葡萄糖来改变 C/N,使其比值分别为 5:1、10:1、15:1、20:1、25:1、30:1,其它试验条件相同,研究不同 C/N 下混合菌群降解 NB 的效果。

1.2.6 不同氮源种类及外加不同氮量对混合菌群降解 NB 的影响

在若干 500 mL 三角瓶中加入 60 g 颗粒化的混合菌液作为接种物以及 240 g 培养液,加入 NB 使其浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,振荡摇床的转速为 $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,温度 28°C ,调节起始 pH 值至 7.0,按照外加相等氮量的原则,分别添加硫酸铵 0.73 g、硝酸铵 0.91 g、氯化铵 0.60 g、尿素 0.34 g 作为外加氮源,并不加其它氮源(即仅以 NB 为唯一氮源)对比。在此试验基础上,选定氯化铵作外加氮源,其添加量分别为处理总量的 0%、0.1%、0.3%、0.5%,其它试验条件相同,研究不同的外加氮源量对混合菌群降解 NB 的影响。

2 结果与分析

2.1 不同 NB 浓度对混合菌群降解效果的影响

驯化培养混合微生物过程中,在第 3 个培养周期结束时观察到三角瓶中形成大量的絮状物,在随后的培养周期里,可观察到三角瓶中有颗粒物形成,并随着培养周期数的增加,三角瓶中颗粒物的数量和大小在逐渐增加,经 2 个多月的驯化培养,最后在三角瓶底可见大量的灰白色颗粒[图 1(a)],即微生物菌体形成了颗粒污泥(当然还有絮状微生物

体)在光学显微摄影仪下观测,污泥颗粒直径在 0.2~2.5 mm 之间,并发现混合菌群主要以短杆菌

为主[图 1(b)],还有比较丰富的酵母菌和丝状菌[图 1(c)].

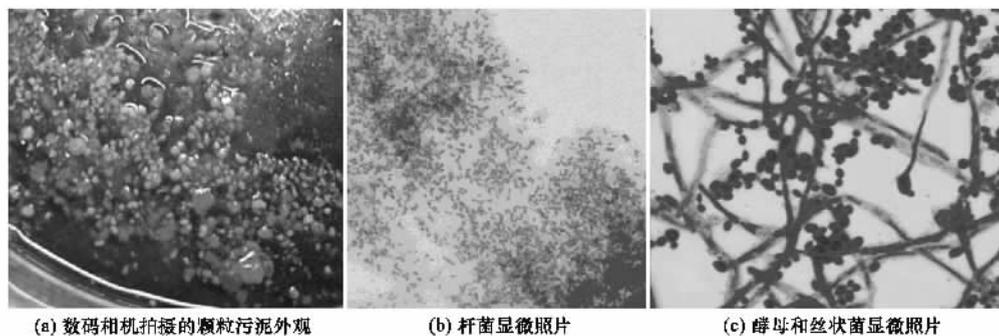


图 1 好氧颗粒污泥及其生物相观测

Fig.1 Photo and microscope images of microbe in the aerobic granular sludge

有研究表明,在城市废水处理过程中,大量存在的丝状菌有益于颗粒污泥的形成^[15],在生物降解 NB 的驯化培养过程中,丝状菌的存在与微生物能够颗粒化之间的关系以及混合菌群中各类微生物降解 NB 的能力、协同作用等诸多问题尚需深入研究.本试验采用颗粒化的混合菌液作为接种物,不同起始 NB 浓度的试验结果如图 2 所示.

$= 0.91 \lambda 17.3 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ ($R^2 = 0.98$) $12.9 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ ($R^2 = 0.88$),这些都明显高于其它研究者采用复合菌群(先单独纯化多株降解 NB 的微生物再混合而成)的降解能力[$2.7 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$]^[9],高于单一纯菌株的降解效果[$1.5 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$]^[6,8],可能是由于本试验所用混合菌群在长期的互作作用过程中形成了良好的协同关系,并能颗粒化,提高了降解 NB 的能力.从混合菌群降解 NB 速率最大的角度选择 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作为 NB 的起始浓度,进行以下试验.本试验以及以下其它的几个试验中都没有检测到苯胺,说明好氧条件下,混合菌群可能是在双/单加氧酶的作用下直接使 NB 开环降解^[18],不同于厌氧条件下微生物一般先将 NB 转变成苯胺,然后再进一步氧化,使 NB 开环降解^[19].

2.2 温度对混合菌群降解 NB 的影响

温度是影响微生物生长的一个重要因素,不同温度下混合菌群降解 NB 的情况如图 3 所示.

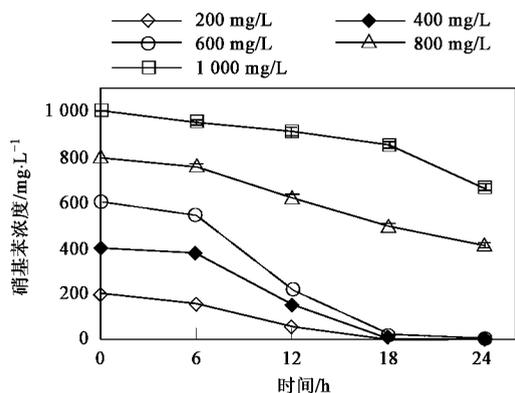


图 2 混合菌群降解不同浓度 NB 的效果

Fig.2 Biodegradation of nitrobenzene with different concentrations by the aerobic granular sludge

从图 2 可知,NB 的浓度 $< 1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 都能够得到混合菌群不同程度地降解,特别是当 NB 在 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以下时,降解效果更明显.对图 2 中每一条变化曲线进行线性相关分析可知,当 NB 起始浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,拟合的线性方程为 $y = -28.8x + 622$ ($R^2 = 0.92$), y 表示 NB 的各时浓度, x 表示试验所经过的时间),其降解速率最大,即为 $28.8 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$,而起始浓度为 200、400、800、1000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,经拟合后获得的降解速率相应地分别为 $9.3 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ ($R^2 = 0.92$) $19.6 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ (R^2

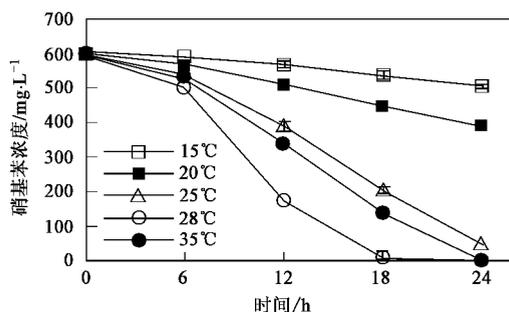


图 3 不同温度对降解 NB 的影响

Fig.3 Effects of temperatures on biodegradation of nitrobenzene by the aerobic granular sludge

当环境温度低于 20°C 时,混合菌群降解 NB 的效果明显降低,随着温度的升高,NB 的降解效果大

幅度提高,并在 28℃时,降解效果达到最大,且无明显的停滞期,当温度继续提高到 35℃时,其降解速率略有降低.因此混合菌群最适生长温度为 28℃,降解 NB 的速率最快,经过 18 h,NB 浓度就从 600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降到 7.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,降解率达到 98.8%.经过 24 h,当温度为 28~35℃时,NB 完全被降解.其他研究者发现,筛选出的降解 NB 的纯菌株或者是多株纯种复合菌群最适温度在 25~30℃之间^[6-9],但降解速率都明显慢于本试验所用混合菌群.

2.3 不同 pH 值对混合菌群降解 NB 的影响

不同微生物生长过程中对环境的 pH 值要求不同,起始 pH 值不同时混合菌群降解 NB 的情况如图 4 所示.

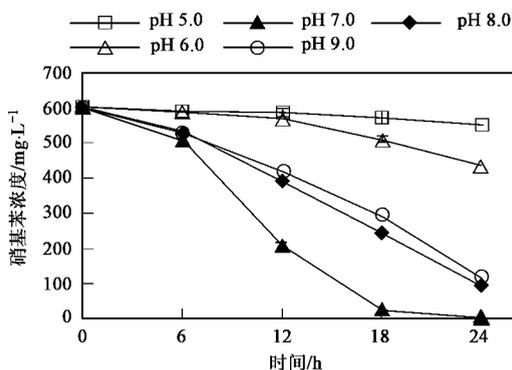


图 4 不同起始 pH 值对降解 NB 的影响

Fig.4 Effects of initiative pH on the biodegradation of nitrobenzene by the aerobic granular sludge

从图 4 可知,在 pH 为 5.0 和 6.0 即偏酸的环境里,混合菌群降解 NB 较慢,存在明显的停滞期,而在 pH 7.0~9.0 的偏碱性环境里,混合菌群能够较好地降解 NB,特别是当 pH 为 7.0 时,NB 降解得最快,经过 18 h,NB 浓度从 600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降到 23.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,降解率达到 96.1%,经过 24 h,NB 完全被降解.由于培养液中磷酸盐的缓冲能力,降解过程中各处理培养液的 pH 值没有显著改变.

2.4 外加碳源对混合菌降解 NB 效果的影响

用乙酸钠、蔗糖、葡萄糖和乳糖作外加碳源,对混合菌群降解 NB 的影响结果如图 5 所示.

显然,混合菌群以 NB 为唯一碳/氮源时,NB 的降解效果最好.除此之外,在添加的几种碳源中,葡萄糖对混合菌群降解 NB 的影响最小.如果把外加的葡萄糖与 NB 的量合起来折算成 C/N,其比值大约为 16:1.本混合菌群是否在以 NB 为唯一碳/氮源的情况下,降解效果最好,尚需要通过改变 C/N、添加其它氮源等试验来进一步确定.根据图 5 的试验结

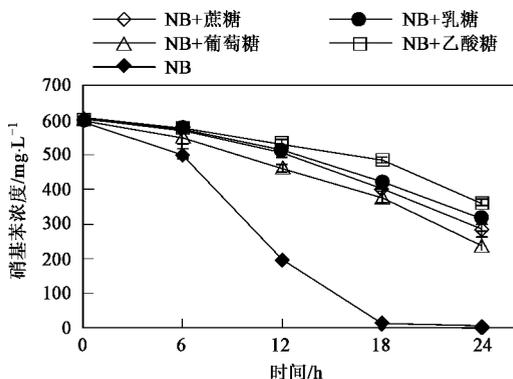


图 5 不同碳源对降解 NB 的影响

Fig.5 Effects of different carbon sources on the biodegradation of nitrobenzene by the aerobic granular sludge

果,采用对混合菌群降解 NB 影响最小的葡萄糖作为外加碳源,通过改变葡萄糖的添加量,观测不同 C/N 下混合菌群对 NB 的降解情况,结果如图 6 所示.其中 C/N 为 5:1 表示未加葡萄糖即以 NB 为唯一碳/氮源(实际上 NB 分子式中 C/N 为 5.14:1).

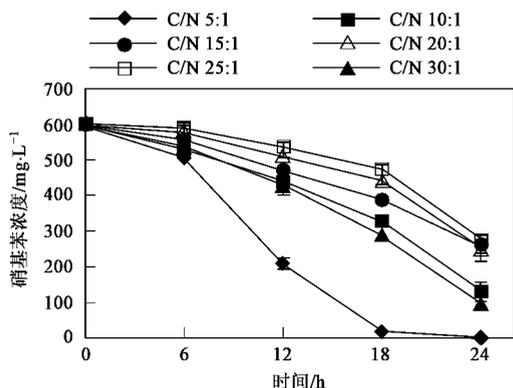


图 6 不同 C/N 为值对降解 NB 的影响

Fig.6 Effects of different ratios of carbon to nitrogen on the biodegradation of nitrobenzene by the aerobic granular sludge

结果表明,与添加葡萄糖相比,C/N 为 5:1 即以 NB 为唯一碳/氮源时,混合菌群降解 NB 的效果最好,在 24 h 内完全降解 NB,而在 18 h 内,其降解率就已经达到 96.8%(从起始的 600 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降到 19.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$).添加葡萄糖使其 C/N 在 10:1~30:1 以内,都使得 NB 的降解效果不同程度地降低,这可能是由于外加碳源葡萄糖比 NB 优先被混合菌群利用的缘故^[9].

2.5 外加氮源对混合菌降解 NB 效果的影响

氮素也是微生物生长过程中不可缺少的元素之一.添加硫酸铵、硝酸铵、氯化铵、尿素等氮源,以及不添加任何其它氮源即以 NB 为唯一碳/氮源,混合

菌群降解 NB 的效果如图 7 所示。

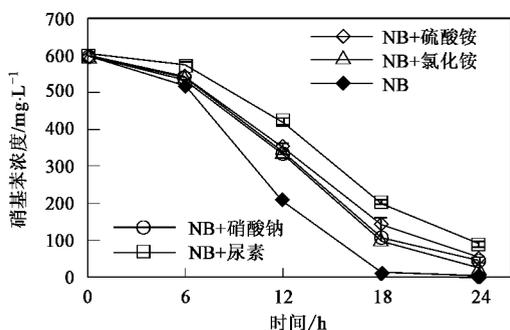


图 7 不同氮源对降解 NB 的影响

Fig.7 Effect of different secondary nitrogen sources on the biodegradation of nitrobenzene by the aerobic granular sludge

可以看出,不添加其它氮源即以 NB 为唯一碳/氮源时混合菌群降解 NB 的速率最快,经过 18 h, NB 的浓度从起始的 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降到 $11.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 降解率达到 98%。外加的几种氮源都不同程度地降低了混合菌群降解 NB 的效果,其中添加氯化铵(占处理总量的 0.2%)时对 NB 的降解效果影响最小,与图 5 的试验结果相比,外加氮源对混合菌群降解 NB 的影响小于外加碳源的影响。进一步用氯化铵作外加氮源,其不同添加量的试验结果如图 8 所示。

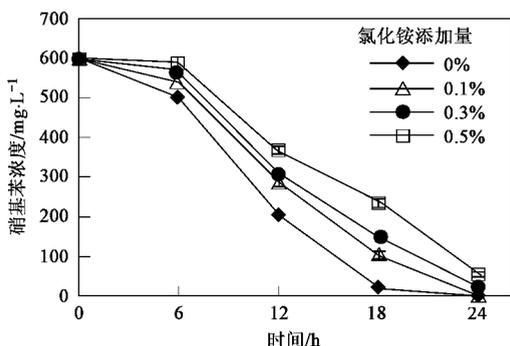


图 8 外加不同氯化铵量对降解 NB 的影响

Fig.8 Effects of different doses of ammonium chloride as secondary nitrogen on the biodegradation of nitrobenzene by the aerobic granular sludge

氯化铵的添加量为处理总量的 0% ~ 0.5% 以内,添加的量增大,混合菌群降解 NB 的速率呈下降趋势,可能是由于外加的氮源氯化铵比 NB 优先被混合菌群利用的缘故^[9],而不添加氮源氯化铵,即以 NB 为唯一碳/氮源时混合菌群降解 NB 的效果最好,经过 18 h, NB 的浓度从 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降到 $21.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 降解率就达到了 96.5%。综合图 5 ~ 8 的试验结果可知,无论是外加不同种类的碳源、氮源还是

采用不同的碳/氮源物质质量以及改变 C/N, 结果都表明,该混合菌群确实是在以 NB 为唯一碳源、氮源情况下,降解浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NB 时效果达到最好,24 h 内 NB 得到完全降解。

3 结论

在好氧驯化培养降解硝基苯菌群的过程中,发现混合菌体形成了颗粒化,利用颗粒化的好氧混合菌群降解 NB,在以 NB 为唯一碳源、氮源时降解 NB 的效果最好。

驯化培养出的混合菌群适于 pH 9.0 以下的弱碱性环境,最佳的 pH 值为 7.0 且最佳温度为 28°C ; 处理 NB 的浓度为 $600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,混合菌群无明显的停滞期,且 18 h 的降解率达到 95% 以上,经过 24 h 后 NB 完全被降解,降解速率达到 $28.8 \text{ mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$ 以上,该混合菌群具有较强的降解 NB 的能力。

参考文献:

- [1] Ye J, Singh A, Ward O P. Biodegradation of nitroaromatics and other nitrogen-containing xenobiotics [J]. World J Microb Biot, 2004, 20(2): 117-135.
- [2] Nishino S F, Spain J C. Oxidative pathway for the biodegradation of nitrobenzene by *Comamonas* sp. Strain JS765 [J]. Appl Environ Microbiol, 1995, 61(6): 2308-2313.
- [3] Bell L S, Devlin J F, Gillham R W, et al. A sequential zero valent iron and aerobic biodegradation biodegradation treatment system for nitrobenzene [J]. Contam Hydrol, 2003, 66(3-4): 201-217.
- [4] Parales R E, Huang R, Yu C L, et al. Purification, characterization, and crystallization of the components of the nitrobenzene and 2-Nitrotoluene dioxygenase enzyme system [J]. Appl Environ Microb, 2005, 71(7): 3806-3814.
- [5] 任源, 李湛江, 吴超飞, 等. 硝基苯废水的厌氧-好氧基本实验与工艺理论分析 [J]. 应用与环境生物学报, 1999, 5(增刊): 14-17.
- [6] 李湛江, 韦朝海, 任源, 等. 硝基苯降解菌的生长特性及其降解活性 [J]. 环境科学, 1999, 20(5): 20-24.
- [7] 李明堂, 徐镜波, 盛连喜. NB 好氧降解细菌的筛选和降解活性研究 [J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(5): 552-555.
- [8] 李轶, 胡洪营, 吴乾元, 等. 低温硝基苯降解菌的筛选及降解特性研究 [J]. 环境科学, 2007, 28(4): 902-907.
- [9] 韦朝海, 侯轶, 任源, 等. 硝基苯好氧降解的共基质及生物协同作用 [J]. 中国环境科学, 2000, 20(3): 241-244.
- [10] 王芳, 杨凤林, 张兴文, 等. 不同有机负荷下好氧颗粒污泥的特性 [J]. 中国给水排水, 2004, 20(11): 46-48.
- [11] 谢珊, 李小明, 曾光明, 等. SBR 系统中好氧颗粒污泥脱氮特性研究 [J]. 中国环境科学, 2004, 24(3): 355-359.
- [12] Liu Y, Liu Q S. Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors [J]. Biotechnol Adv, 2006, 24(1): 115-127.

- [13] 胡林林 ,王建龙 ,文湘华 ,等 .SBR 中厌氧颗粒污泥向好氧颗粒污泥的转化[J].环境科学 ,2004 ,**25**(4) :74-77 .
- [14] 秦华明 ,尹华 .好氧颗粒污泥形成的微生物学机理分析[J].工业用水与废水 ,2007 ,**38**(1) :14-16 .
- [15] 汪善全 ,孔云华 ,原媛 ,等 .好氧颗粒污泥中丝状微生物生长研究[J].环境科学 ,2008 ,**29**(3) :696-702 .
- [16] 赵淑莉 ,魏复盛 ,邹汉法 ,等 .高效液相色谱法测定废水中苯胺类化合物[J].色谱 ,1997 ,**15**(6) :508-511 .
- [17] 刘敬东 ,王佳祥 .高效液相色谱法测定水中硝基苯含量[J].化学工程师 ,2006 ,**128**(5) :28-29 .
- [18] Haigler B E ,Spain J C . Biotransformation of nitrobenzene by bacteria containing toluene degradative pathways[J]. Appl Environ Microb , 1991 ,**57**(11) :3156-3162 .
- [19] Peres C M ,Naveau H ,Agathos S N . Biodegradation of nitrobenzene by its simultaneous reduction into aniline and mineralization of the aniline formed[J]. Appl Microbiol Bio ,1998 ,**49**(3) :343-349 .