

多溴联苯醚好氧生物降解研究

丁娟, 周娟, 姜玮颖, 高士祥*

(南京大学环境学院, 污染控制与资源化国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 研究了好的真菌白腐菌对 4, 4'-二溴联苯醚(BDE15)和十溴联苯醚(BDE209)的降解, 并考察了不同浓度 Tween 80 和 β -环糊精的加入对 BDE15 和 BDE209 表观溶解度和生物降解的影响. 结果表明, 白腐菌对 BDE209 和 BDE15 均有显著降解作用, 培养 10 d 后, BDE209 的降解率达到 43.0%, 降解了约 69.7 μg , BDE15 则由 150 μg 降至 4.8 μg , 扣除其挥发损失, 降解率达 62.5%. 低浓度 Tween 80 ($\leq 700 \text{ mg/L}$) 和 β -环糊精对白腐菌降解 BDE209 均有明显的促进作用, 而高浓度的 Tween 80 (900 mg/L) 则会抑制白腐菌生长, 从而抑制其降解作用. Tween 80 和 β -环糊精(500 mg/L)对 BDE15 的降解均有一定抑制作用. Tween 80 和 β -环糊精对 BDE209 降解的促进作用主要是由于其对 BDE209 的增溶作用, 对 BDE15 的抑制作用可能是由于 Tween 80 胶束和 β -环糊精空腔对 BDE15 的包裹降低了水中可直接利用的自由态 BDE15, 影响了降解速度.

关键词: 多溴联苯醚; 白腐菌; Tween 80; β -环糊精; 生物降解

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)11-3179-06

Aerobic Microbial Degradation of Polybrominated Diphenyl Ethers

DING Juan, ZHOU Juan, JIANG Wei-ying, GAO Shi-xiang

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: The biodegradation of 4, 4'-dibromodiphenyl ether (BDE15) and decabromodiphenyl ether (BDE209) by white rot fungi under aerobic conditions was studied. Effects of non-ionic surfactant Tween 80 and β -cyclodextrin as solubilizers on the apparent solubilities and biodegradation rates of BDE15 and BDE209 were also evaluated. The results showed that both BDE15 and BDE209 were efficiently degraded by white rot fungi. The degradation rates were 43.0% and 62.5% for BDE209 and BDE15, respectively, after 10 d incubation. The degradation of BDE209 was greatly enhanced by addition of Tween 80 ($\leq 700 \text{ mg/L}$) and β -cyclodextrin, which may own to their solubilization effects on BDE209. However, Tween 80 at a high concentration (900 mg/L) would restrain the fungal growth, thereby decrease the degradation of BDE209. Addition of Tween 80 and β -cyclodextrin exhibited some negative effects on the degradation of BDE15, which may due to decreased concentration of free BDE15 in water solution resulted from inclusion function of Tween 80 micelles and β -cyclodextrin cavity, although the apparent solubility of BDE15 was drastically increased by both of them.

Key words: polybrominated diphenyl ethers (PBDEs); white rot fungi; Tween 80; β -cyclodextrin; biodegradation

多溴联苯醚 (polybrominated diphenyl ethers, PBDEs) 是一类高效添加型溴代阻燃剂, 被广泛地应用于电子、电器、化工、交通、建材、纺织、石油等领域^[1]. 多溴联苯醚相对分子质量大、熔点高、蒸气压低、水溶性低及 K_{ow} 值高, 因而具有亲脂性和生物易累积等特点, 能在生物体内的脂肪和蛋白质中蓄积, 并通过食物链放大, 对高营养级的生物造成影响^[2]. 多溴联苯醚可以通过各种途径进入环境系统, 其中高溴代联苯醚由于具有低挥发性、低水溶性而极易吸附于泥土和颗粒上, 所以在环境中比较稳定, 大部分都分布在距污染源较近河流底泥和空气中的悬浮颗粒中. 而低溴代联苯醚因为具有比高溴代联苯醚高的挥发性、水溶性和生物富集性, 所以底泥、水生生物、水和空气中都有其存在^[3-8]. 虽然十溴联苯醚 (Deca-BDE, BDE209) 是世界上使用最多的 PBDEs 产品, 但在环境中, 尤其是生物圈中含量最高的却是 BDE47 和 BDE99. 高溴代联苯醚 (如 BDE209) 的光降

解和厌氧微生物脱溴是 BDE47 和 BDE99 在环境中积累的重要途径. 研究表明, BDE209 溶解于有机溶剂体系中, 在紫外光或日光的照射下会迅速脱溴降解为低溴代联苯醚^[9, 10]. PBDEs 在厌氧微生物作用下也表现为脱溴降解, 但降解速率较慢^[11, 12]. 多溴联苯醚的毒性随着分子中溴原子的减少而增加, 虽然多溴联苯醚在光照或厌氧微生物作用下能有效地脱溴降解, 但是释放到环境中的低溴代降解产物对环境和人类健康的危害更大^[13-16].

针对上述情况, 本实验采用对有机污染物具有广谱降解能力的白腐菌黄孢原毛平革菌 (*Phanerochaete chrysosporium*), 研究了好的条件下 BDE209 和 BDE15 的降解, 并加入具有增溶作用的

收稿日期: 2007-11-13; 修订日期: 2008-01-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20677024)

作者简介: 丁娟 (1980~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为污染环境生物修复技术, E-mail: njudingjuan@gmail.com

* 通讯联系人, E-mail: ecsxg@nju.edu.cn

非离子型表面活性剂 Tween 80 和 β -环糊精提高多溴联苯醚的表现溶解度,提高其生物可利用性,以期 PBDE 污染环境的快速修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

主要仪器: Agilent1100 高效液相色谱, SW-CJ 超净工作台(苏州安泰净化设备有限公司), HWY-200 全温度培养摇床(智城公司), RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂), Biofuge stratos 高速冷冻离心机(Heraeus)。

主要试剂: 4, 4'-二溴联苯醚(BDE-15, Panya. Chemical Co. Ltd.), 十溴联苯醚(BDE209, Aldrich, 98%), Tween 80(上海联试化工试剂有限公司), β -环糊精(江苏省发酵研究所, 纯度 > 99%)。

1.2 菌种与培养基

1.2.1 菌种

黄孢原毛平革菌 *Phanerochaete chrysosporium* (GIM3.383) 购自广州微生物研究所菌种保藏中心, 于 4℃ 条件下保存于 PDA 培养基上。使用之前, 于 35℃ 生化培养箱中活化 5 ~ 6 d, 用无菌水将孢子洗入三角瓶中, 用玻璃纤维滤去菌丝体, 用分光光度计于 650 nm 处测量吸光度[吸光度 $A(1.0) = 5 \times 10^6$ 个/mL], 调节孢子浓度, 使吸光度等于 0.5, 即为接种用菌悬液。

1.2.2 培养基

PDA 培养基组成为: 马铃薯汁 20%, 葡萄糖 20 g/L, 磷酸二氢钾 3 g/L, 硫酸镁 1.5 g/L, 硫胺素(Vit. B₁) 8 mg/L, 琼脂 20 g/L, pH 6.0。

液体培养基参考 Kirk's 培养基^[17]: 葡萄糖 10 g/L, 酒石酸铵 0.2 g/L, KH₂PO₄ 2.0 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.5 g/L, CaCl₂ 0.1 g/L, BI 微量元素溶液 70 mL, VB11.0 mg/L, 0.1 mol/L 醋酸-醋酸铵缓冲液(pH 4.5) 100 mL。

BI 微量元素溶液: MgSO₄·7H₂O 3 g/L, MnSO₄ 0.5 g/L, NaCl 1.0 g/L, FeSO₄·7H₂O 0.1 g/L, CoCl₂ 0.1 g/L, ZnSO₄·7H₂O 0.1 g/L, CuSO₄ 0.1 g/L, AlK(SO₄)₂·12H₂O 0.01 g/L, H₃BO₃ 0.1 mg/L, Na₂MoO₄·2H₂O 0.01 mg/L, 氨基乙酸 1.5 g/L。

1.3 实验方法

1.3.1 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE15 和 BDE209 的增溶实验

增溶实验采用产生柱法^[18]。将 0.2 g BDE15(或

BDE209)溶于 10 mL 二氯甲烷中, 加入 30 g 石英砂, 不断搅拌直至二氯甲烷挥发至近干。放置过夜。产生柱采用玻璃层析柱, 下端烧结玻璃砂芯隔板, 内径 2.5 cm, 长度约 40 cm。用漏斗将石英砂装入产生柱中, 振拍装实。产生柱夹层中通入恒温(30℃ ± 1℃)循环水, 将配制好的不同浓度 Tween 80(或 β -环糊精)溶液慢慢加入产生柱的石英砂层, 弃去开始时流出的混浊溶液(约 15 mL)直至流出液彻底澄清。后面的溶液(约 70 mL)不断通过产生柱, 24 h 后取水样 50 mL, 用 50 mL 二氯甲烷分三次萃取水样中的 BDE15(或 BDE209), 然后用旋转蒸发器浓缩, 用甲醇定容至 1 mL, 用高效液相色谱测定 BDE15(或 BDE209)的含量。

1.3.2 白腐菌对 BDE15 和 BDE209 的降解实验

配制 160 mg/L BDE209 的二氯甲烷溶液, 取 1 mL 加入已灭菌的 150 mL 三角瓶中, 静置挥发过夜, 使每个三角瓶底留有 160 μ g 的 BDE209。然后在每个三角瓶中加入 100 mL 已灭菌的液体培养基, 并接入 1 mL 白腐菌菌悬液(菌悬液 $D = 0.5$), 然后置于恒温振荡器中振荡培养(30℃, 150 r/min)。每个样品准备 3 个平行样, 以不加白腐菌的样品作为空白对照。实验在避光条件下操作, 三角瓶均用铝箔纸包裹, 以防止 BDE209 被光降解。BDE15 的降解实验过程同 BDE209。

为了研究 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE15 和 BDE209 降解的影响, 在培养基中加入不同浓度的 Tween 80 和 β -环糊精, 使体系中 Tween 80 和 β -环糊精的浓度系列为 0、100、300、500、700 和 900 mg/L。

1.4 分析方法

1.4.1 BDE15 和 BDE209 降解残留量的萃取和定量分析

隔天取样测定体系中 BDE15(或 BDE209)的剩余量。样品处理过程如下: 菌丝体过滤, 三角瓶内壁和菌丝体用二氯甲烷清洗 2 次, 滤液用二氯甲烷萃取 3 次, 合并有机相, 减压旋转蒸发浓缩至 1 mL, 用甲醇定容至 10 mL, 高效液相色谱测定 BDE15(或 BDE209)的含量。色谱条件为: C18 反相色谱柱(Ace 5 C18, 150 × 4.6 mm, 5 μ m particles, Supelco, Bellefonte, PA, USA), 流动相为甲醇-水(体积比为 95:5), 流速为 1.2 mL/min, 进样体积为 10 μ L, 检测波长为 235 nm, 柱温 30℃。BDE209 在 4.0 ~ 20.0 mg/L 这一范围内线性关系良好($R^2 = 0.9999$), 可以满足定量分析的需要。标准曲线的回归方程为: $y = 36.077x + 4.5088$ (x 代表 BDE209 在二氯甲烷中的

浓度, y 代表 BDE209 的峰面积), 本方法的检测限为 1.1 mg/L. BDE15 的回归方程为: $y = 32.0584x + 0.8182$ ($R = 0.9999$).

1.4.2 白腐菌生物量的定量分析

本实验用白腐菌菌丝体的干重衡量菌体的生长情况. 首先用万分之一电子天平准确称量经干燥恒重过的定量滤纸, 然后将上述菌丝体放置于滤纸上, 80℃下烘干至恒重, 再用电子天平称量, 前后质量差即为菌丝体干重.

2 结果与讨论

2.1 白腐菌对 BDE15 和 BDE209 的降解

白腐菌对 BDE15 和 BDE209 的降解作用见图 1. 从中可知, 空白实验中 BDE209 的质量在 10 d 的实验过程中未发生明显变化, 虽然许多研究表明, BDE209 在自然环境中易光催化降解, 但由于本实验均在严格避光条件下进行, 应此可排除光催化对 BDE209 的影响. 而空白实验中 BDE15 的质量损失是由于其蒸气压较高, 挥发损失所致. 由图 1 中 PBDE 残留量随降解时间的变化曲线可以看出, 白腐菌对 BDE209 和 BDE15 均有显著降解作用, 降解率随时间的推移而增大. 实验进行到第 10 d 时, BDE209 的降解率达到 43.0%, 降解了约 69.7 μg , BDE15 则由 150 μg 降至 4.8 μg , 扣除其挥发损失, 降解率达 62.5%.

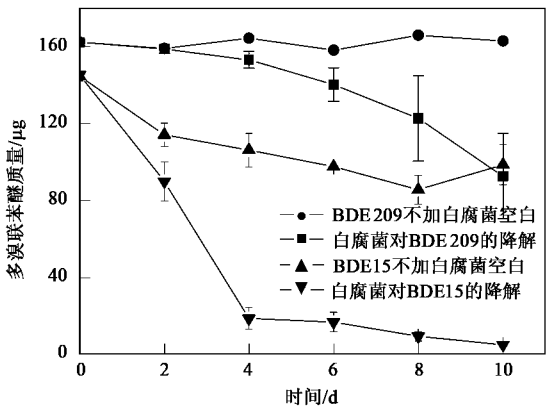


图 1 白腐菌对 BDE15 和 BDE209 的降解

Fig.1 Degradation of BDE15 and BDE209 by white rot fungi

2.2 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE209 降解的影响

图 2 分别表示了经过 10 d 的降解后, Tween 80 和 β -环糊精对 BDE209 降解率的影响. 结果表明, 低浓度的 Tween 80 (≤ 700 mg/L)对白腐菌降解 BDE209 具有明显的促进作用. 其中 Tween 80 浓度为 500

mg/L 时促进作用最大, 第 10 d 时白腐菌对 BDE209 降解率高达 97.0%, 比不加 Tween 80 的样品增加了 54.0%, 到第 12 d 已完全检测不出 BDE209. 当 Tween 80 浓度低于 500 mg/L 时, 其对 BDE209 降解的促进作用随浓度的增加而增大; 当 Tween 80 浓度高于 500 mg/L 时, 对 BDE209 降解的促进作用逐渐下降, 当 Tween 80 浓度达到 900 mg/L 时, 白腐菌对 BDE209 的降解受到抑制, 第 10 d 的降解率仅为 31.8%, 低于无 Tween 80 存在时白腐菌对 BDE209 的降解率(43.0%).

图 2 同时表示了不同浓度 β -环糊精对 BDE209 降解的影响. 从中可知, β -环糊精对 BDE209 降解有显著促进作用, 并且当 β -环糊精浓度 < 900 mg/L 时, 此促进作用随着 β -环糊精浓度的增加而增加. 其中 β -环糊精浓度为 700 mg/L 时促进作用最大, BDE209 的降解率达到 79.0%, 比不加 β -环糊精增加了 36.0%.

实验过程中不同浓度 Tween 80 和 β -环糊精存在条件下白腐菌菌丝体的生长情况见图 3. 从中可知, 浓度在 100 ~ 700 mg/L 范围内的 Tween 80 对菌体生长有促进作用, 但当 Tween 80 浓度达到 900 mg/L 时白腐菌菌体的生长受到抑制. 由此可以推断, Tween 80 浓度为 900 mg/L 时 BDE209 的降解率的降低主要是由于高浓度表面活性剂产生毒性, 抑制了白腐菌的生长. β -环糊精也促进了白腐菌菌体的生长, 且促进作用与 β -环糊精的浓度呈正相关. 与 Tween 80 不同, 高浓度的 β -环糊精对白腐菌的生长没有产生抑制作用, 这是由于环糊精是由环糊精葡萄糖基转移酶(CGT)作用于淀粉所产生的一组环状低聚糖, 它本身可以作为碳源被白腐菌利用, 不会抑制其生长.

对比图 2 和图 3 可以看出, Tween 80 和 β -环糊精存在体系中白腐菌的生长情况没有显著差异, 但是 BDE209 的降解差异性显著. 如 Tween 80 体系中 BDE209 的最佳降解率为 97.0% (500 mg/L), 而 β -环糊精体系中 BDE209 的最佳降解率为 79.0% (700 mg/L), 两者之差达到 18%, 而此时白腐菌菌丝体干重分别为 0.34 g (500 mg/L Tween 80) 和 0.33 g (700 mg/L β -环糊精), 差异性并不显著. 而且, 当 Tween 80 浓度为 100 mg/L 时, 白腐菌的生长量最大, 为 0.72 g, 但此浓度下 BDE209 的降解率为 66.9%, 比最高降解率低了 30.1%. 由此可推断, 白腐菌的生长不是影响 BDE209 降解的主要原因.

由于 BDE209 在水中溶解度非常低 ($\lg K_{ow} =$

10),其在水中的有效浓度是影响其生物可利用性的主要因素,而 Tween 80 和 β -环糊精均属于增溶剂,在一定浓度下能显著提高疏水性有机污染物的表观溶解度,虽然受仪器灵敏度所限,本实验没有观察到 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE209 的增溶作用,

但综合本实验的结果和其他学者的研究成果^[19~22],笔者有理由推断,Tween 80 和 β -环糊精对 BDE209 的增溶作用是提高其生物可利用性和微生物降解率的主要原因.

2.3 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE15 降解的影响

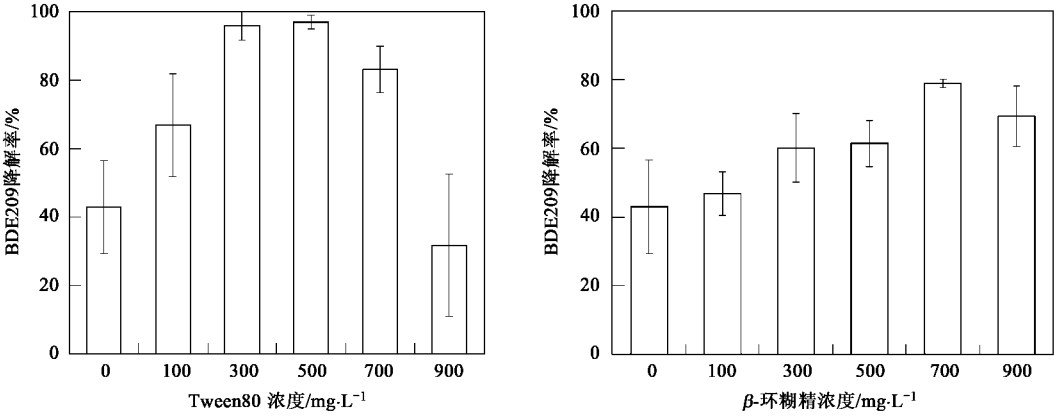


图 2 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE209 降解率的影响
Fig.2 Effect of Tween 80and β -cyclodextrin on the degradation rate of BDE209

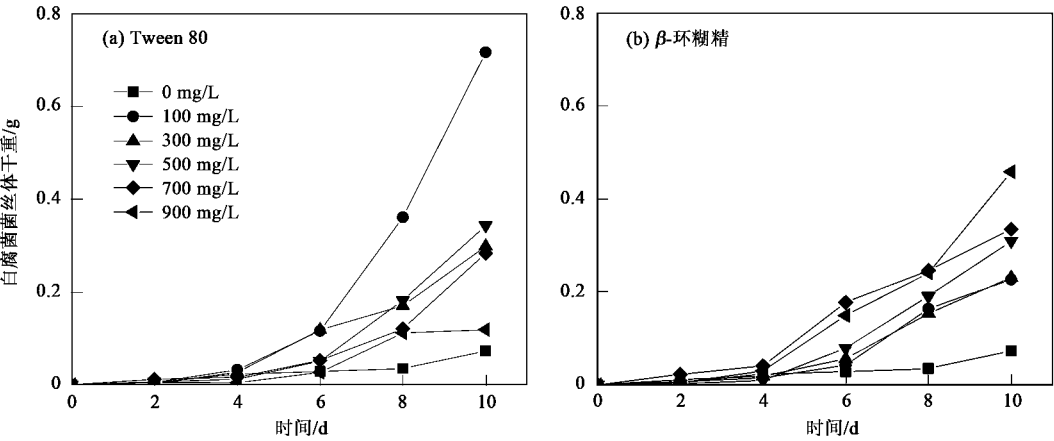


图 3 Tween 80 和 β -环糊精对白腐菌生长的影响
Fig.3 Effect of Tween 80 and β -cyclodextrin on the biomass of white rot fungi

图 4 表示了 500 mg/L Tween 80 和 β -环糊精对 BDE15 降解和白腐菌生长的影响.结果表明,在不添加任何增溶剂的样品中,BDE15 也能被快速降解,反应到第 10 d 时体系中 BDE15 的含量已由 150 μg 降至 4.8 μg ,第 12 d 时反应体系中已检测不到 BDE15.而 Tween 80 或 β -环糊精加入不仅没有促进 BDE15 的降解,还在一定程度上抑制了 BDE15 的降解.

图 5 分别表示了 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE15 表观溶解度的影响.可以看出,BDE15 的表观溶解度

随着 β -环糊精浓度的增加而增加,呈显著线性相关关系.Tween 80 对 BDE15 的增溶效果更为显著,尤其是超过某一临界浓度时(500 ~ 700 mg/L),BDE15 的表观溶解度随 Tween 80 浓度的增加而呈指数增加.由图 5 可知,Tween 80 的增溶效果显著大于 β -环糊精,这是由于两者在增溶机制上存在着显著的区别所致. β -环糊精的增溶主要依靠包合作用,每个 β -环糊精分子只能与一个 BDE15 分子结合,而 Tween 80 形成的胶束中可以容纳多个有机物分子.这种作

用方式的差异使 Tween 80 的增溶能力显著大于 β -环糊精.

从图 4 可以看出,与 BDE209 的降解一样,Tween 80 和 β -环糊精的加入对白腐菌的生长都有显著促进作用,而且,图 5 也表明 500 mg/L 的 Tween 80 和 β -环糊精能显著提高 BDE15 的表观溶解度,但与 2.2 中 BDE209 的降解情况不同,白腐菌生长和 BDE15 的表观溶解度的显著增加都没有对 BDE15 的降解起到促进作用,这可能是以下几个方面的因素所致.首先,BDE15 在水中的溶解度较大($\lg K_{ow} = 6.0$),没有增溶剂存在时即可被白腐菌很好地利用(图 1),加入 Tween 80 以后,可能对 BDE15 的降解产

生了竞争作用;其次,加入 Tween 80 以后,溶液中形成大量胶束,大量 BDE15 被包裹在表面活性剂胶束内部,而溶液中能被微生物降解的自由态 BDE15 浓度降低; β -环糊精对降解的抑制作用与 Tween 80 相似,白腐菌不能直接降解包合态的 BDE15,溶液中自由态的 BDE15 浓度太低限制了白腐菌的降解速度^[23~25].

3 结论

(1)本实验首次研究了多溴联苯醚的好氧微生物降解,结果表明,白腐菌对 BDE209 和 BDE15 均有显著降解作用.

(2)Tween 80(≤ 700 mg/L)和 β -环糊精对白腐菌降解 BDE209 均有明显的促进作用,但高浓度的 Tween 80(≥ 900 mg/L)会抑制白腐菌的生长,从而抑制 BDE209 的降解. β -环糊精对白腐菌的生长没有产生抑制作用.

(3)Tween 80 和 β -环糊精对 BDE15 均有显著增溶作用,BDE15 的表观溶解度随着 Tween 80 和 β -环糊精浓度的增加而增加,呈显著线性相关关系. Tween 80 对 BDE15 的增溶效果要显著的优于 β -环糊精,这主要是由于两者的增溶机制不同所致的.

(4)Tween 80 或 β -环糊精在一定程度上抑制了 BDE15 的降解,这是由于 BDE15 水溶性较高, Tween 80 胶束和 β -环糊精空腔对 BDE15 的包裹反而降低了水中可直接利用的自由态的 BDE15,影响其降解速度.

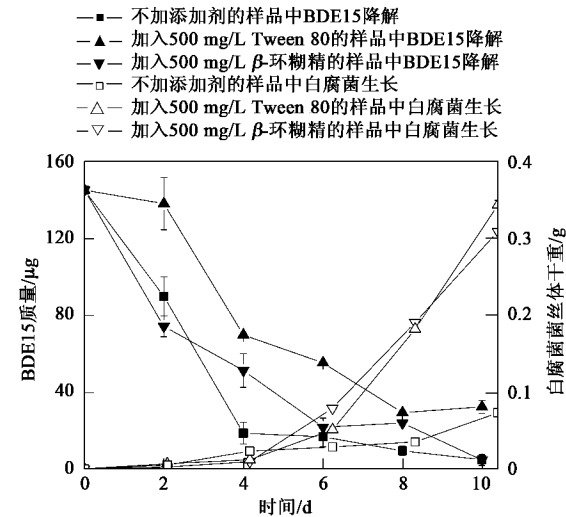


图 4 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE15 降解和白腐菌生长的影响
Fig.4 Effect of Tween 80 and β -cyclodextrin on the BDE15 degradation and white rot fungi growth

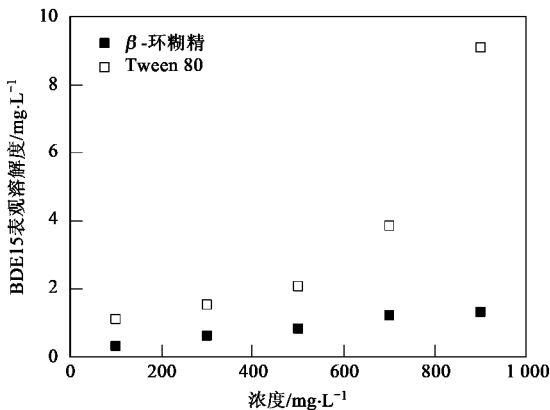


图 5 Tween 80 和 β -环糊精对 BDE15 表观溶解度的影响
Fig.5 Effect of Tween 80 and β -cyclodextrin on the apparent solubility of BDE15

参考文献:

[1] 刘汉霞,张庆华,江桂斌,等.多溴联苯醚及其环境问题[J].化学进展,2005,17(3): 554-562.
[2] 任金亮,王平.多溴联苯醚环境行为的特征与研究进展[J].化工进展,2006,25(10): 1152-1157.
[3] 向彩红,罗孝俊,余梅,等.珠江河口水生生物中多溴联苯醚的分布[J].环境科学,2006,27(9): 1732-1737.
[4] Boer J D, Wester P G, Leonards P E G, et al. Polybrominated diphenyl ethers in influents, suspended particulate matter, sediments, sewage treatment plant and effluents and biota from the Netherlands[J]. Environmental Pollution, 2003, 122 (1): 63-74.
[5] Deng W J, Zheng J S, Bi X H, et al. Distribution of PBDEs in air particles from an electronic waste recycling site compared with Guangzhou and Hong Kong, South China [J]. Environment International, 2007, 33: 1063-1069.
[6] Ashraf H, Ae J, Go T, et al. Time trends of atmospheric PBDEs inferred from archived U. K. herbage [J]. Environmental Science and Technology, 2005, 39(8): 2436-2441.
[7] Watanabe I, Sakai S. Environmental release and behavior of

- brominated flame retardants [J]. *Environment International*, 2003, **29**(6): 665-682.
- [8] Wang D, Cai Z, Jiang G B, *et al.* Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil and sediment from an electronic waste recycling facility [J]. *Chemosphere*, 2005, **60**(6): 810-816.
- [9] Söderström G, Sellström U, Wit C A D, *et al.* Photolytic Debromination of Decabromodiphenyl Ether (BDE209) [J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, **38**: 127-132.
- [10] Eriksson J, Green N, Marsh G, *et al.* Photochemical Decomposition of 15 Polybrominated Diphenyl Ether Congeners in Methanol/Water [J]. *Environmental Science and Technology*, 2004, **38**: 3119-3125.
- [11] Gerecke A C, Hartmann P C, Heeb N V, *et al.* Anaerobic degradation of decabromodiphenyl ether [J]. *Environmental Science and Technology*, 2005, **39**: 1078-1083.
- [12] Rayne S, Ikonou M G, Whale M D. Anaerobic microbial and photochemical degradation of 4, 4'-dibromodiphenyl ether [J]. *Water Research*, 2003, **37**: 551-560.
- [13] MacDonald T A. A perspective on the potential health risks of PBDEs [J]. *Chemosphere*, 2002, **46**: 745-755.
- [14] He W H, He P, Wang A G, *et al.* Effects of PBDE-47 on cytotoxicity and genotoxicity in human neuroblastoma cells *in vitro* [J]. *Mutation Research*, 2008, **649**: 62-70.
- [15] He P, He W H, Wang A G, *et al.* PBDE-47-induced oxidative stress, DNA damage and apoptosis in primary cultured rat hippocampal neurons [J]. *Neuro Toxicology*, 2008, **29**: 124-129.
- [16] Carlsson G, Kulkarni P, Larsson P, *et al.* Distribution of BDE-99 and effects on metamorphosis of BDE-99 and -47 after oral exposure in *Xenopus tropicalis* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2007, **84**: 71-79.
- [17] Tien M, Kirk T K. Lignin peroxidase of *phanerochaete chrysosporium* [J]. *Methods in Enzymology*, 1988, **161**: 238-249.
- [18] 高士祥, 王连生, 黄庆国. 羧甲基- β -环糊精的合成及对卤代芳烃的增溶研究 [J]. *环境化学*, 1999, **18**(2): 131-135.
- [19] Zhao B W, Zhu L Z, Li W, *et al.* Solubilization and degradation of phenanthrene in mixed anionic-nonionic surfactant solutions [J]. *Chemosphere*, 2005, **58**: 33-40.
- [20] Wang J M, Maier R M, Brusseau M L. Influence of hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPCD) on the bioavailability and biodegradation of pyrene [J]. *Chemosphere*, 2005, **60**: 725-728.
- [21] Wang J M, Marlowe E M, Maier R M, *et al.* Cyclodextrin-enhanced biodegradation of phenanthrene [J]. *Environmental Science and Technology*, 1998, **32**: 1907-1912.
- [22] Cuypers C, Pancras T, Grotenhuis T, *et al.* The estimation of PAH bioavailability in contaminated sediments using hydroxypropyl- β -cyclodextrin and Triton X-100 extraction techniques [J]. *Chemosphere*, 2002, **46**: 1235-1245.
- [23] Ramsay J A, Robertson K, Vanloon G, *et al.* Enhancement of PAH biomineralization rates by cyclodextrins under Fe (III)-reducing conditions [J]. *Chemosphere*, 2005, **61**: 733-740.
- [24] Guha S, Jaffé P R, Peters C A. Bioavailability of mixtures of PAHs partitioned into the micellar phase of nonionic surfactant [J]. *Environmental Science and Technology*, 1998, **32**: 2317-2324.
- [25] Bar R, Ulitzur S. Bacterial toxicity of cyclodextrins: luminous *Escherichia coli* as a model [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1994, **41**: 574-577.