

高分子量多环芳烃降解菌 LD29 的筛选及降解特性研究

刘芳¹, 梁金松^{1,3}, 孙英², 郭岩彬¹, 李庆孝⁴, 李季^{1*}

(1. 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193; 2. 中国农业大学理学院, 北京 100193; 3. 中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室, 北京 100085; 4. 美国夏威夷大学生物科学与生物工程系, 夏威夷 96822)

摘要:采用硅油-水双液相富集体系,以蒽为富集碳源,从原油污染土壤富集分离多环芳烃降解菌,分离出1株能降解菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]芘的细菌,经形态特征、生理生化和16S rDNA鉴定为矢野口鞘氨醇菌(*Sphingobium yanoikuyae*),编号为LD29. 采用高效液相色谱(HPLC)对LD29在无机盐培养基中对PAHs的降解特性做了研究. LD29能以唯一碳源与能源方式降解菲、蒽、荧蒽、芘(初浓度均为50 mg/L),4 d的降解率分别为92%、87%、28%、7%,但未能降解苯并[a]芘. 蒽能促进LD29对荧蒽/芘的降解,而荧蒽/芘则抑制LD29对蒽的降解. 较高初始pH(pH=9)的培养基有利于LD29对混合多环芳烃的降解. 外加营养可促进LD29对荧蒽的降解. 外加碳源(葡萄糖,200 mg/L)或氮源(蛋白胨,50 mg/L)处理中荧蒽(100 mg/L)6 d的降解率分别为69%、81%,而对照组只有34%. 在含有5种多环芳烃(菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]芘)的无机盐培养基溶液中,LD29在4 d的适应期之后开始快速降解高分子量多环芳烃,6 d芘和荧蒽的降解率(48%、66%)比4 d分别增加40%、56%,并且苯并[a]芘也被降解了17%. LD29具有降解高分子量PAHs的潜力.

关键词:高分子量; 多环芳烃; 生物降解; 矢野口鞘氨醇菌

中图分类号:X172 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2011)06-1799-06

Isolation and Degradation Characteristics of a HMW PAHs-Degrading Strain LD29

LIU Fang¹, LIANG Jin-song^{1,3}, SUN Ying², GUO Yan-bin¹, LI Qing-xiao⁴, LI Ji¹

(1. College of Resources and Environmental Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 3. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 4. Department of Molecular Biosciences and Bioengineering, University of Hawaii at Manoa, HI 96822, USA)

Abstract: Two-liquid-phase (silicone oil-water) culture enrichment systems, with anthracene as carbon source, was used to enrichment PAHs-degrading strains from contaminated soil by crude oil. One strain, which can degrade phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene and benzo[a]pyrene, was isolated and identified as *Sphingobium yanoikuyae* based on 16S rDNA sequences, phenotypic characteristics and physio-biochemistry characteristics, and numbered as LD29. Degradation characteristics of LD29 in mineral salts medium (MSM) was measured by HPLC. After 4 days of growing in MSM with single PAH as carbon source, LD29 degraded phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene (initial concentration: 50 mg/L) by 92%, 87%, 28% and 7% respectively, but no benzo[a]pyrene was degraded. Anthracene enhanced the degradation of fluoranthene/pyrene by LD29, whereas fluoranthene/pyrene impeded anthracene degradation by LD29. MSM with high initial pH value (pH=9) favored the degradation of PAHs mixture in MSM by LD29. The degradation activity of LD29 can be improved by additional nutrition. Additional carbon source (glucose, 200 mg/L) or nitrogen source (peptone, 50 mg/L) accelerated fluoranthene (100 mg/L) degradation in MSM, with degradation rate 69%, 81% respectively (CK: 34%) within 6 days. LD29 started to significantly degrade HMW PAHs from the 4th day in MSM with 5 PAHs (phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene and benzo[a]pyrene), and the degradation rate of pyrene and fluoranthene at day 6 were 44% and 58% higher than those of day 4 respectively, and the degradation rate of benzo[a]pyrene also reached to 17% at day 6. LD29 has significant potential for PAHs degradation, including high molecular weight (HMW) PAHs.

Key words: high molecular weight; polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); biodegradation; *Sphingobium yanoikuyae*

收稿日期: 2010-07-05; 修订日期: 2010-10-20

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD10B09); 2008 粤港关键领域重点突破项目(2009205200031); 广东省 2008 年省部产学研结合项目(2008A090400001); 农业部公益性行业科研专项(200803033)

作者简介: 刘芳(1981~), 女, 博士, 主要研究方向为环境微生物, E-mail: tbliufangcau@163.com

* 通讯联系人, E-mail: lijij@cau.edu.cn

多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是指由 2 个及以上苯环组成的稠环芳香烃化合物, 由于其毒性以及在环境中的持久性而受到广泛关注^[1], 其中 16 种被美国环保署 (EPA) 列为优先控制污染物. 低分子量 (2 个或 3 个苯环) PAHs, 如萘、菲、蒽, 容易作为微生物生长所需的碳源而快速降解. 而高分子量 (high molecular weight, HMW) PAHs 包含 4 个及更多的苯环, 因其亲脂性、低水溶性以及高稳定性, 不易被微生物降解, 易在环境中积累^[1~3], 成为消除 PAHs 污染的难点. 向污染土壤/水体中添加降解微生物, 可以提高污染物消除的速度, 是生物修复的常见方法, 其中分离获得可以有效降解 PAHs 的微生物菌株, 成为生物修复方法的关键. 目前国内外对 PAHs 降解菌的研究主要集中在降解菌筛选^[4,5]、降解途径^[6,7]、代谢产物^[5,7~9]、降解基因^[6,10] 方面.

鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas* sp.) 因对芳香化合物的高代谢能力而受到重视^[6,7,11], 但人们对其认识较晚, 1990 年才由日本研究者 Yabuuchi 等^[12] 首先划分这个菌属. 本课题组筛选出 1 株矢野口鞘氨醇菌 (*Sphingobium yanoikuyae*), 能降解多种 HMW PAHs, 包括苊、荧蒽和苯并[a]苊. 以往 PAHs 降解菌的研究中多以单一 PAHs 为降解对象, 而 PAHs 在环境中多以混合状态存在, 本研究着重研究了在混合 (2 种或 5 种) PAHs 溶液中该菌的降解特性, 降解条件与实际环境更为接近, 以期为鞘氨醇菌属作为 PAHs 污染的生物修复提供一些科学依据.

1 材料与方法

1.1 降解菌的富集和分离

1.1.1 土样的采集

土样取自海南海口福山油田美台 1 号井出油口原油污染表层 (<2 cm) 沙质土. 土壤中有有机质、总磷、总钾、总氮含量分别为 29.4、0.54、0.01 和 0.5 g/kg, pH 8.12, 电导率 0.14 mS/cm, 含水率 0.86%. 土样装于自封袋中并用黑色避光袋套在外面, 于冰箱 4℃ 保存.

1.1.2 多环芳烃

实验所用 5 种 PAHs (菲、蒽、苊、荧蒽、苯并[a]苊) 均购于美国 Aldrich 公司 (纯度 98% 以上). 用分析纯丙酮分别配置 PAHs 母液, 前 4 种 PAHs 母液浓度为 1 000 mg/L, 苯并[a]苊浓度为 100 mg/L, 存在棕色瓶于冰箱 4℃ 保存.

1.1.3 培养基

无机盐培养基: $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g; KH_2PO_4 , 1.0 g; K_2HPO_4 , 1.0 g; FeSO_4 , 0.05 g; CaCl_2 , 0.02 g; NH_4NO_3 , 1.0 g; NaCl , 0.5 g; 去离子水 1 000 mL, pH 7.5.

牛肉膏蛋白胨固体培养基: 牛肉膏 3 g, 蛋白胨 10 g, 氯化钠 5 g, 琼脂 15~20 g, 水 1 000 mL, pH 7.4~7.6.

1.1.4 硅油-水双液相富集体系及菌株分离

筛选实验采用硅油-水双液相富集体系, 富集溶液中唯一的碳源与能源是浓度为 100 mg/L 的蒽. 由于 PAHs 是脂溶性物质, 有较强的疏水性, 其低水溶性使得微生物可接触性很低, 从而限制了生物可利用性^[13~15]. 双液相体系以前常被用于加快 PAHs 的降解^[11,14~16], 其原理是用适当的有机溶剂溶解悬浮在水相的 PAHs, 通过降低微生物接触 PAHs 的浓度而降低 PAHs 对微生物的毒性, 并增大 PAHs 与微生物的接触面积, 提高生物可接触性^[16]. Asconcabrera 等^[17] 研究发现硅油因其疏水性、难生物降解性可作为双液相体系中良好的有机相. Déziel 等^[16] 认为双液相体系也可用于加快 PAHs 降解微生物富集过程.

取一定体积蒽母液到事先灭过菌的 100 mL 三角瓶中, 使富集溶液中蒽的终浓度为 100 mg/L. 在超净台中用氮气轻轻吹干丙酮, 然后加入 50 mL 灭菌后的无机盐培养基, 待培养基降温至与体温接近 (防止高温对微生物的伤害) 时再加入 10 mL 硅油, 第 1 次富集加入 5 g 污染土样作为菌株来源, 此后富集均加入上次富集后的 2 mL 菌液. 倾斜置于摇床 180 r/min 振荡培养, 30℃, 黑暗条件, 富集周期为 7 d, 共富集培养 8 次.

富集过程结束后将富集液稀释到适当浓度, 在牛肉膏蛋白胨固体培养基上涂平板. 于 30℃ 培养至不再有新菌落产生, 分离, 在牛肉膏蛋白胨平板划线纯化.

1.2 降解实验设计

1.2.1 菌株保存与活化

LD29 在以菲为唯一碳源与能源的无机盐培养基中保存, 降解实验之前将保存菌液转入新配的以菲为唯一碳源与能源的无机盐培养基, 倾斜置于摇床 180 r/min 振荡培养, 30℃, 黑暗条件, 活化 2 d. 取活化后的菌液做降解实验.

1.2.2 降解实验设计

降解实验均在 30 mm × 160 mm 的试管进行, 使用无机盐培养基, 降解体系中不添加硅油. 根据欲配

PAHs 溶液的终浓度,加一定体积的 PAHs 母液到灭菌的 30 mm × 160 mm 的试管中,并在通风厨内于 55℃ 用氮气轻轻吹干母液的溶剂,然后加入 10 mL 已灭菌的无机盐培养基,最后加入 1 mL 活化后的菌液. 倾斜置于摇床 180 r/min 振荡培养,30℃,黑暗条件.

1.3 高效液相色谱法测定 PAHs 含量

1.3.1 PAHs 标准曲线

在棕色小瓶中用 PAHs 母液分别配置梯度浓度标准液,在 55℃ 用氮气轻轻吹干丙酮,然后加入 2mL 色谱纯乙腈以溶解结晶的 PAHs,用高效液相色谱仪(安捷伦 LC1200)测定峰面积,制作 PAHs 浓度与峰面积的标准曲线. 菲、芘、蒽、荧蒽和苯并[a]芘的标准曲线 R^2 分别是 0.998、0.996、0.923、0.999 和 0.999.

1.3.2 回收率测定

在 30 mm × 160 mm 的试管中分别配制适当浓度的菲、芘、蒽、荧蒽和苯并[a]芘的无机盐培养基 10 mL,倾斜放置于摇床 180 r/min 振荡 1 h,30℃,黑暗条件. 菲、芘、蒽、荧蒽和苯并[a]芘平均(3 个重复)回收率分别是 88%、102%、73%、102% 和 105%. 本研究中 PAHs 残留率数据都已用回收率校正,并假设降解实验始末 PAHs 回收率无变化,即降解实验初始时 PAHs 的回收率等于降解实验结束时的回收率.

1.3.3 PAHs 残留率测定

降解实验结束后,向每个试管中加 10 mL 乙酸乙酯,涡旋 30 s. 静置待水层与有机层分离,用移液管从上层有机层取 1 mL 乙酸乙酯到干净的棕色玻璃瓶. 55℃ 下用氮气流轻轻吹乙酸乙酯至完全挥发,再加入 2 mL 乙腈以溶解结晶的 PAHs. 用 0.22 μm 孔径的有机相滤膜过滤乙腈溶液到另一干净的棕色玻璃瓶中,盖盖. 用安捷伦 LC1200 高效液相色谱仪测定 PAHs 残留量. 采用 Venusil MP-C18 柱(粒径 5 μm,直径 4 mm,长度 250 mm,天津博纳艾杰尔科技),流动相为乙腈和水. 前 5 min 采用 60% 乙腈洗脱,在接下来的 25 min,乙腈梯度洗脱到 100%,100% 洗脱保持 5 min,共计 35 min.

1.4 菌株鉴定

菌株 LD29 分离纯化后,在中国科学院微生物研究所通过对其形态、生理生化特性及 16S rDNA 序列分析进行菌株鉴定.

2 结果与分析

2.1 富集与菌株分离

LD29 富集体系中唯一碳源为蒽(100 mg/L). 在富集过程初始溶液为无色,从 4 d 开始有显色变化,变为橙色,颜色逐渐加深. 富集结束后将富集液稀释至适当浓度,涂牛肉膏蛋白胨平板. 根据平板生长菌落形态的不同挑取分离出 2 株细菌,并在含有 5 种 PAHs(菲、蒽、荧蒽、芘、苯并[a]芘,前 4 者浓度均为 50 mg/L,苯并[a]芘浓度为 5 mg/L)无机盐培养基的 6 d 降解实验,发现其中 1 株细菌对于前 4 种 PAHs 有很好的降解效果,编号为 LD29.

2.2 LD29 菌株的描述与鉴定结果

在牛肉膏蛋白胨固体培养基上划线,30℃ 培养 2 d,LD29 形成直径约 1 mm 泛黄的菌落,菌落表面光滑、凸、湿润、不透明. LD29 鉴定结果为矢野口鞘氨醇菌(*Sphingobium yanoikuyae*).

2.3 LD29 降解单一 PAHs

本实验中菲、蒽、芘、荧蒽分别作为唯一碳源,初始浓度均为 50 mg/L,倾斜置于摇床 180 r/min 振荡培养,30℃,黑暗条件. 如表 1 所示,4 d 内,LD29 能以唯一碳源与能源形式将菲和蒽降解 90% 左右,显示了快速降解低分子量 PAHs 的能力,而对 HMW HPAs 的荧蒽和芘分别降解了 28% 和 7%. LD29 对低分子量 PAHs 的降解能力高于 HMW PAHs,其原因主要是 PAHs 随着环数的增加,其基因毒性更大^[3],疏水性和电化学稳定性随之增加^[18],微生物可接触性降低,造成生物可利用性降低. 这也是 HMW PAHs 易在环境中积累的主要原因. 有报道,环境中 3 环的菲的半衰期为 16 ~ 126 d,而 5 环的苯并[a]芘半衰期为 229 ~ 1 400 d^[19]. 张枝焕等^[20]对天津地区 9 条主要河流沉积物中多环芳烃化合物的组成与分布做了调查研究,发现相对含量较高的 5 种 PAHs 中就有 3 种 HMW PAHs. 这都在一定程度上反映了 HMW PAHs 的生物难降解性.

菌株 *Sphingomonas yanoikuyae* B1 是该菌研究得最充分的,但其只能以 2 环和 3 环的 PAHs 为生长碳源,不能以 4 环及以上的 PAHs 为生长碳源^[21]. LD29 可以降解 4 环 PAHs 芘和荧蒽,显示出较强的降解能力.

表 1 LD29 以唯一碳源形式降解单一 PAHs

降解时间 /d	PAHs 保留率/%			
	菲	蒽	荧蒽	芘
2	12	67	94	97
4	8	13	72	93

2.4 蒽与芘和荧蒽之间降解的促进与抑制

本次实验中蒽、芘、荧蒽的初始浓度均为 50 mg/L,倾斜置于摇床 180 r/min 振荡培养 4 d,30℃,黑暗条件.从表 2 可以看出,蒽与芘/荧蒽共存的状态下,蒽的降解率(29%、30%)比起单独存在时的降解率(87%)要分别低 58% 和 57%,而芘/荧蒽与蒽共存的状态下,芘/荧蒽的降解率从 7% 和 28% 分别提高到 15% 和 48%.这显示低分子量的蒽促进了 HMW PAHs 芘和荧蒽的降解,而自身的降解则受到芘和荧蒽的抑制.可能原因是低分子量 PAHs 在水相中溶解度较高,更易诱导微生物产生 PAHs 降解酶,并且自身可作为碳源与能源,提高了微生物的数量和活性,相应地提高了微生物对 HMW PAHs 降解能力^[15].相反, HMW PAHs 具有较高的生物毒性,对微生物活性有抑制作用,使得微生物对低分子量 PAHs 的降解能力也降低了. Marcoux 等^[15]研究发现萘或菲有助于增强 HMW PAHs 的降解. Lafortune 等^[14]也报道低分子量菲或萘有助于 1 株矢野口鞘氨醇菌 (*Sphingobium yanoikuyae*) 对 HMW PAHs 的降解.

表 2 蒽与荧蒽/芘之间降解的相互作用

Table 2 Degradation interactions between anthracene and fluoranthene/pyrene

不同碳源 降解体系	PAHs 保留率/%		
	蒽	荧蒽	芘
芘			93
蒽 + 芘	71		85
蒽	13		
蒽 + 荧蒽	70	52	
荧蒽		72	

2.5 外加营养对 LD29 降解荧蒽的影响

在研究外加葡萄糖对 LD29 降解荧蒽的影响实验中,CK 为无机盐培养基,荧蒽初始浓度为 100 mg/L,倾斜置于摇床 180 r/min 振荡培养 6 d,30℃,黑暗条件.从图 1 可以看出,随着葡萄糖浓度从 0 mg/L(CK)增加到 200 mg/L,LD29 对荧蒽的降解率也逐渐从 34% 增加 69%,而葡萄糖浓度为 500 mg/L 的处理中,荧蒽的降解率反而比 200 mg/L 的浓度处理低.这显示向降解体系中添加葡萄糖,可以促进 LD29 对 HMW PAHs 荧蒽的降解,但促进作用只在一定的葡萄糖浓度范围内有效,超过这个范围则出现抑制. Bengtsson 等^[22]发现向土壤添加溶解性有机碳能提高 4~6 环 PAHs 的降解率.可能的原因是葡萄糖作为微生物生长所需的碳源与能源,提高了微生物的活性和数量,从而加快对 PAHs 降解速率,另一可能的原因是作为溶解性有机碳的葡萄糖可以

增加晶体状 PAHs(荧蒽母液被氮气于 55℃ 吹干之后,在试管底部结晶)在水相的表观溶解度(apparent solubility),提高晶体状 PAHs 向水相的扩散速率,提高了荧蒽的微生物可接触性,从而提高了荧蒽的降解速率^[23].有报道 DOC 可以提高 HMW PAHs 在水相中的表观溶解度^[24].而高浓度的葡萄糖使得降解体系中 C/N 值过高,并使溶液 pH 值强烈改变,不利于微生物的生长和对 PAHs 的降解. Wong 等^[4]研究也发现高浓度葡萄糖(450 mg/L)处理中菲的降解率与不添加葡萄糖的处理没有显著差异,更高浓度的葡萄糖(1g/L、3g/L)使培养基中 pH 显著降低,菲的降解率降低很多.

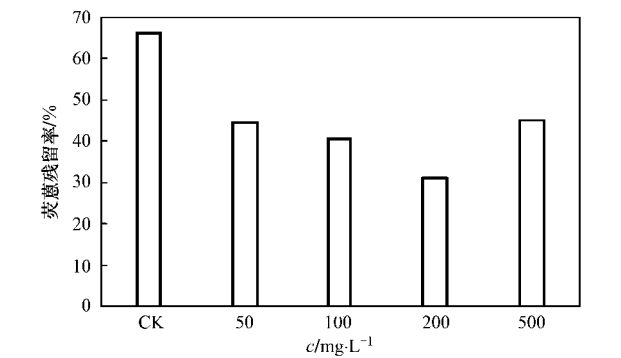


图 1 添加葡萄糖对 LD29 降解荧蒽的影响

Fig. 1 Effect of glucose addition on fluoranthene degradation by LD29

在研究外加蛋白胨对 LD29 降解荧蒽的影响实验中,CK 为无机盐培养基,荧蒽初始浓度为 100 mg/L,外加氮素为蛋白胨,倾斜置于摇床 180 r/min 振荡培养 6 d,30℃,黑暗条件.从图 2 可以看出氮素的添加可以促进 LD29 对荧蒽的降解,随着氮浓度从 350 mg/L 增加到 400 mg/L,LD29 对荧蒽的降解率从 34% 快速增加到 81%,而后氮素的增加反而抑制了荧蒽的降解.添加适量氮素有助于降解率的提高,其原因可能有 2 个:①为微生物提供缺乏的氮素营养;②荧蒽被细菌降解过程产生大量酸性中间产物,较高的氮素有助于防止荧蒽降解过程中 pH 的过度降低,有助于维持一个稳定的降解环境. Wong 等^[4]发现添加 360 mg/L 的氮素(KNO₃)有助于椰毒伯克氏菌 (*Burkholderia cocovenenans*) 对菲的降解.但是过多氮素使得溶液中 C/N 值过低,则可能使溶液的 pH 升高,脱离 LD29 降解荧蒽的最适 pH 值,从而不利于微生物对荧蒽的降解.

2.6 pH 值对 LD29 降解混合多环芳烃的影响

本实验中菲、蒽、芘和荧蒽初始浓度均为 100 mg/L,苯并[a]芘初始浓度为 10 mg/L,倾斜置于摇

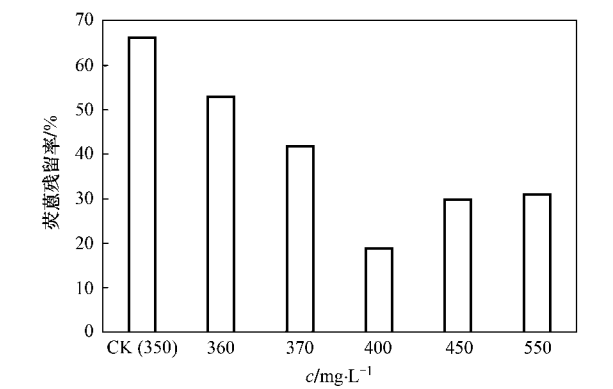


图2 添加蛋白胨对 LD29 降解荧蒽的影响

Fig.2 Effect of peptone addition on fluoranthene degradation by LD29

床 180 r/min 振荡培养 6 d, 30℃, 黑暗条件. 从图 3 可以看出, 随着培养基溶液的初始 pH 值从 4 逐步提高到 9, LD29 对混合 PAHs 的降解率也逐步提高. 较高初始 pH 值有助于 LD29 对混合 PAHs 的降解. 可能原因是 LD29 在降解 PAHs 过程中, 产生大量酸性中间产物, 在降解过程中 pH 有降低的趋势, 碱性物质的存在有助于中和酸性中间产物, 保持培养基 pH 的稳定, 有利于微生物对 PAHs 的降解. 有文献报道荧蒽是通过加氧酶途径被细菌降解的^[5], 并有文献推测荧蒽的 3 种降解途径^[3,5~8], 其中 2 种途径中都有酸性中间产物的生成, 也有文献显示芘在降解的过程中也有酸性中间产物的产生^[9].

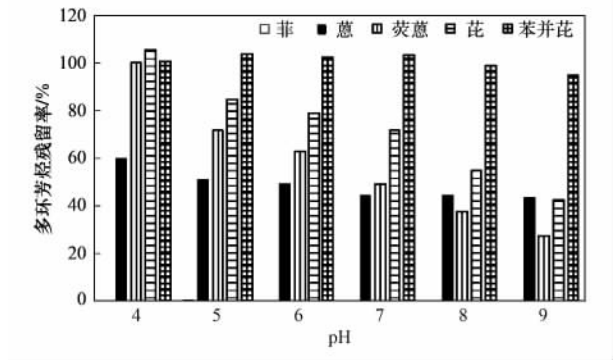


图3 不同初始 pH 值培养基中 LD29 对混合 PAHs 降解效果

Fig.3 Degradation of PAHs mixture by LD29 in MSM with different initial pH values

2.7 LD29 对混合 PAHs 的降解动态

实验中菲、蒽、芘和荧蒽初始浓度均为 100 mg/L, 苯并[a]芘初始浓度为 10 mg/L, 倾斜置于摇床 180 r/min 振荡培养 6 d, 30℃, 黑暗条件. 从图 4 可以看出 LD29 对 3 环的菲和蒽有快速降解能力, 1 d 就有 45% 的蒽被降解. 而对于 HMW PAHs 的芘、

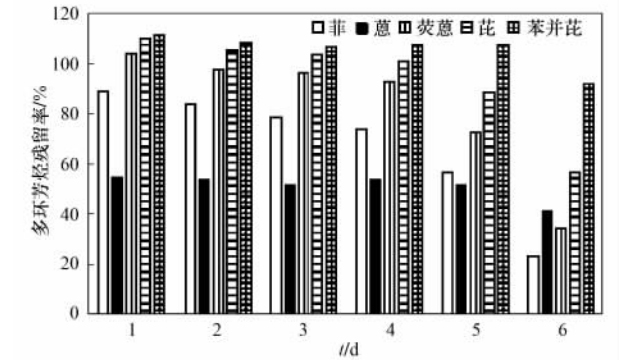


图4 LD29 对混合 PAHs 降解动态

Fig.4 Degradation dynamic of PAHs mixture by LD29

荧蒽, 在 LD29 经过 4 d 适应期, 才开始大幅度降解. 4 d 时, 芘、荧蒽约有 10% 的降解, 而 6 d 时芘和荧蒽的降解率比 4 d 分别增加了 44% 和 58%. 而且 LD29 不能以唯一碳源与能源降解的苯并[a]芘, 在混合 PAHs 条件下也出现了 17% 的降解, 降解速率约合 70 μg/h. 苯并[a]芘很少能以唯一的碳源与能源被微生物降解, 其降解菌多以共代谢 (co-metabolism) 方式进行降解. 可与苯并[a]芘共代谢的物质多种多样, 有低分子量 PAHs^[25]、柴油^[26]、营养物^[27]. 实验显示 LD29 可以通过与低分子量 PAHs 共代谢形式对苯并[a]芘进行降解. 菌株 *Sphingomonas yanoikuyae* JAR02 对苯并[a]芘的降解方式也是共代谢, 在 2.5 mmol/L 的水杨酸存在的条件下在 20h 内将 1.3 μg/L 的溶解态苯并[a]芘完全降解^[7].

3 结论

(1) LD29 能快速降解低分子量 PAHs 菲和蒽, 并能以唯一碳源与能源形式降解 HMW PAHs 芘和荧蒽, 还能以共代谢形式降解苯并[a]芘, 显示了较强的降解 PAHs 的能力.

(2) 外加营养物可以提高 LD29 对 HMW PAHs 的降解能力, 没有出现因外加营养物质的竞争作用而抑制微生物对 PAHs 降解的现象; 此外在低分子量 PAHs 存在的条件下, LD29 增强对 HMW PAHs 的降解能力. LD29 的这 2 个降解特性对实际环境中 HMW PAHs 的去除很有利.

(3) 较高 pH 有利于 LD29 降解 HMW PAHs.

参考文献:

[1] Shree N S, Rudra D T. Environmental Bioremediation Technologies [M]. Berlin: Springer, 2007. 409-443.
[2] Hughes J B, Beckles D M, Chandra S D, et al. Utilization of bioremediation processes for the treatment of PAH-contaminated

- sediments [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1997, **18**(2-3):152-160.
- [3] Carl E C. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. Biodegradation, 1992, **3**(2-3):351-368.
- [4] Wong J W C, Lai K M, Wan C K, *et al.* Isolation and optimization of PAH-degradative bacteria from contaminated soil for PAHs bioremediation [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2002, **139**(1-4):1-13.
- [5] Weissenfels W D, Beyer M, Klein J, *et al.* Microbial metabolism of fluoranthene: isolation and identification of ring fission products [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1991, **34**(4):528-535.
- [6] Zylstra G J, Kim E. Aromatic hydrocarbon degradation by *Sphingomonas yanoikuyae* B1 [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1997, **19**(5-6):408-414.
- [7] Rentz J A, Alvarez P J J, Schnoor J L. Benzo [a] pyrene degradation by *Sphingomonas yanoikuyae* JAR02 [J]. Environmental Pollution, 2008, **151**(3):669-677.
- [8] Kelley I, Freeman J P, Evans F E, *et al.* Identification of metabolites from the degradation of fluoranthene by *Mycobacterium* sp. strain PYR-1 [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, **59**(3):800-806.
- [9] Heitkamp M A, Freeman J P, Miller D W, *et al.* Pyrene degradation by a *Mycobacterium* sp.: identification of ring oxidation and ring fission products [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, **54**(10):2556-2565.
- [10] Story S P, Parker S H, Kline J D, *et al.* Identification of four structural genes and two putative promoters necessary for utilization of phenanthrene naphthalene, fluoranthene, and by *Sphingomonas paucimobilis* var. EPA505 [J]. Gene, 2000, **260**(1-2):155-169.
- [11] Jimenez I Y, Bartha R. Solvent-Augmented Mineralization of Pyrene by a *Mycobacterium* sp. [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, **62**(7):2311-2316.
- [12] Yabuuchi E, Yano I, Oyaizu H, *et al.* Proposals of *Sphingomonas paucimobilis* gen. nov. and comb. nov., *Sphingomonas parapaucimobilis* sp. nov., *Sphingomonas yanoikuyae* sp. nov., *Sphingomonas adhaesiva* sp. nov., *Sphingomonas capsulata* comb. nov., and two genospecies of the genus *Sphingomonas* [J]. Microbiology and Immunology, 1990, **34**(2):99-119.
- [13] Kanaly R A, Harayama S. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria [J]. Journal of Bacteriology, 2000, **182**(8):2059-2067.
- [14] Lafortune I, Juteau P, Déziel E, *et al.* Bacterial diversity of a consortium degrading high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons in a two-liquid phase biosystem [J]. Microbial Ecology, 2009, **57**(3):455-468.
- [15] Marcoux J, Déziel E, Villemur R, *et al.* Optimization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons' degradation in a two-liquid-phase bioreactor [J]. Journal of Applied Microbiology, 2000, **88**(4):655-662.
- [16] Déziel E, Comeau Y, Villemur R. Two-liquid-phase bioreactors for enhanced degradation of hydrophobic/toxic compounds [J]. Biodegradation, 1999, **10**(3):219-233.
- [17] Asconcabrera M, Lebeault J M. Selection of xenobiotic-degrading micro-organisms in a biphasic aqueous organic system [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, **59**(6):1717-1724.
- [18] Bjørseth A. Handbook of polycyclic aromatic hydrocarbons [M]. New York: Marcel Dekker, Inc., 1983. 1.
- [19] Shuttleworth K L, Cerniglia E. Environmental aspects of PAH biodegradation [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1995, **54**(1-3):291-302.
- [20] 张枝焕, 陶澍, 沈伟然, 等. 天津地区主要河流沉积物中多环芳烃化合物的组成与分布特征 [J]. 环境科学学报, 2005, **25**(11):1507-1516.
- [21] Gibson D T. *Beijerinckia* sp. strain B1: a strain by any other name [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 1999, **23**(4-5):284-293.
- [22] Bengtsson G, Zerhouni P. Effects of carbon substrate enrichment and DOC concentration on biodegradation of PAHs in soil [J]. Journal of Applied Microbiology, 2003, **94**(4):608-617.
- [23] Mayer P, Fernqvist M M, Christensen P S, *et al.* Enhanced diffusion of polycyclic aromatic hydrocarbons in artificial and natural aqueous solutions [J]. Environmental Science and Technology, 2007, **41**(17):6148-6155.
- [24] Kim H S, Lindsay K S, Pfander F K. Enhanced mobilization of field contaminated soil-bound PAHs to the aqueous phase under anaerobic conditions [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2008, **189**(1-4):135-147.
- [25] Juhasz A L, Britz M L, Stanley G A. Degradation of fluoranthene, pyrene, benz [a] anthracene and dibenz [a, h] anthracene by *Burkholderia cepacia* [J]. Journal of Applied Microbiology, 1997, **83**(2):189-198.
- [26] Kanaly R A, Bartha R. Comatabolic mineralization of benzo [a] pyrene caused by hydrocarbon additions to soil [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1999, **18**(10):2186-2190.
- [27] Trzesicka-Mlynarz D, Ward O P. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a mixed culture and its component pure cultures, obtained from PAH-contaminated soil [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1995, **41**(6):470-476.