

施氏假单胞菌 N2 降解 1-羟基-2 萘 甲酸的特性及机理研究

王 琰^{1,2}, 聂麦茜¹, 王 菲¹, 聂红云¹, 赵碧洁¹

(1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西 西安 710055; 2. 陕西省微生物研究所, 陕西 西安 710043)

摘要: 1-羟基-2-萘甲酸被认定为微生物修复多环芳烃(PAHs)污染过程中最易积累的一种含氧多环芳烃(OPAHs)中间产物, 其对大多微生物有较强毒性, 并且该物质的积累会抑制微生物对 PAHs 污染环境的成功修复. 本文以施氏假单胞菌 N2 为对象, 研究该菌株对 1-羟基-2-萘甲酸的降解代谢能力和特性, 并利用 GC-MS 对降解过程中积累的 OPAHs 进行鉴定和分析. 研究表明, N2 菌能够以 50 mg/L 1-羟基-2-萘甲酸为唯一碳源和能源生长, 并在以辛烷为共代谢碳源时其生长量和 1-羟基-2-萘甲酸的降解率均可提高 20%. 通过对 9 种主要中间代谢产物的 GC-MS 分析, 推测脱羧是 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸的主要途径. 该研究结果将为解决 PAHs 污染环境修复过程中 OPAHs 类高毒中间产物积累问题奠定基础.

关键词: 含氧多环芳烃; 施氏假单胞菌; 1-羟基-2 萘甲酸; 转化产物; 降解途径

中图分类号: X132

文献标志码: A

文章编号: 1006-7930(2017)01-0135-06

Study on the Characteristics of 1-hydroxy-2-naphthoic acid degradation by *P. stutzeri* N2

WANG Yan^{1,2}, NIE Maiqian¹, WANG Fei¹, NIE Hongyun¹, ZHAO Bijie¹

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an Univ. of Arch. & Tech., Xi'an 710055, China;

2. Institute of Microbiology, Shaanxi Province Academy of Sciences, Xi'an 710043, China)

Abstract: 1-hydroxy-2-naphthoic acid was identified as one kind of OPAHs that was most easily accumulated during the process of bioremediation. It was toxic to almost all microorganisms, and inhibited successfully restoring PAHs polluted environment. In this study, *P. stutzeri* N2, which was selected for its special ability in our previous research, was taken as the object. The capability and characterization of 1-hydroxy-2-naphthoic acid degradation by *P. stutzeri* N2 was studied. At the same time, the intermediate metabolisms of 1-hydroxy-2-naphthoic acid degraded by *P. stutzeri* N2 were identified by GC-MS method. The results showed that *P. stutzeri* N2 could utilize 50 mg/L 1-hydroxy-2-naphthoic acid as the sole carbon and energy resource. When octane was used as the co-carbon source, the growth increase and degradation rate of *P. stutzeri* N2 could be improved by 20%. Based on the analysis of nine degradation metabolites by *P. stutzeri* N2, decarboxylation was proposed as the main degradation pathway. This study can help lay a foundation for the problem of high-toxic OPAHs accumulation during the process of bioremediation of PAHs polluted environment.

Key words: oxygen-containing polycyclic aromatic hydrocarbons; *pseudomonas stutzeri*; 1-hydroxy-2-naphthoic acid; transformation products; metabolic pathways

多环芳烃(PAHs)是一类具强致癌、致畸和致突变作用的危险性有机污染物^[1]. 城市工业化进程的加快, 石化产品的广泛应用, 废弃物的焚烧处理加剧了 PAHs 对环境的污染^[2]. 微生物修复 PAHs 污染被认为是一种高效、经济、无二次污染的处理工艺^[3]. 然而, 即使是专门为代谢多环芳烃而筛选的优良微生物, 也难以将其完全脱毒、矿

化. 事实上, PAHs 降解过程中会积累大量含羧基、羟基及羰基等官能团的转化物(即含氧多环芳烃, 简称 OPAHs)^[4-5], 它们比母体多环芳烃毒性更大的, 而被长期忽视的有机污染物^[6-7]. 前期研究发现, 1-羟基-2-萘甲酸是菲、芘等一些非线性多环芳烃降解过程中最易被积累的 OPAHs 中间产物^[6,8-9], 其对大多微生物有较强毒性, 因此会

抑制微生物对多环芳烃污染环境的成功修复^[7]。

本实验室前期分离筛选出一株施氏假单胞菌 N2, 该菌株能够耐高浓度苯酚^[10], 首次发现其细胞内同时存在邻苯二酚 1, 2-双加氧酶(C12O)和邻苯二酚 2, 3-双加氧酶(C23O)^[11], 可快速氧化裂解含有羧基和羟基的芳环, 同时该菌株也能快速代谢石油烃。本文研究该菌株对 1-羟基-2-萘甲酸的降解代谢能力及其降解机理, 以期为解决多环芳烃污染环境修复过程中 OPAHs 类高毒中间产物积累问题奠定基础。

1 实验材料与方法

1.1 材料

菌种: 施氏假单胞菌 N2 由本实验室分离并保存, 其 16S rRNA 序列登录号为 KF863235^[10,12]。

试剂: 1-羟基-2-萘甲酸、正辛烷、正十二烷、正十六烷及其他无机盐等均为分析纯; 乙酸乙酯为色谱纯。

基础反应液与培养基: 参见参考文献[13]中的方法。

1.2 方法

1.2.1 N2 菌以 1-羟基-2-萘甲酸为唯一碳源的生长特性

在无菌操作条件下, 将斜面保存菌 N2 接种于 100 mL 牛肉膏蛋白胨培养基中, 30 °C, 150 r/min 恒温摇床上培养 24 h。将培养菌液按照 10% 的比例分别接入到相应的 150 mL 无机盐培养基中, 并加入 1-羟基-2-萘甲酸标准溶液, 使其终浓度为 50 mg/L, 30 °C, 150 r/min 培养, 定时取样测定 OD_{600nm} 。每个菌株设 3 组平行, 根据 OD_{600nm} 平均值绘制生长曲线。

1.2.2 直链烷烃对 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸的影响

按照 1.2.1 的方法, 分别再将 5 μ L 正辛烷、正十二烷和正十六烷加入到 1-羟基-2-萘甲酸的降解体系中, 其终浓度分别为 219.0 mg/L、234.4 mg/L 和 277.2 mg/L, 以仅加入 1-羟基-2-萘甲酸的反应体系作为对照, 30 °C, 150 r/min 培养, 定时取样测定 OD_{600nm} 。每个菌株设 3 组平行。

1.2.3 HPLC 检测 1-羟基-2-萘甲酸

将上述定时所取反应液, 于 4 °C, 11 000 r/min 离心 15 min, 去除菌体, 上清液用 6 mol/L HCl 调节 pH 到 2.0 左右, 向其中加入 3 mL 乙酸乙酯振荡萃取, 在 4 °C, 11 000 r/min 下离心 8 min, 移取有机相到干净的称量瓶中, 重复此操作

三次。最终收集的萃取液用无水硫酸钠干燥后, 将其避光置于通风橱挥发至干, 待进液相前用 1 mL 甲醇溶解, 再用 0.22 μ m 膜过滤到进样瓶, 测样。色谱条件: 色谱柱为反相 C18 柱 (25 cm \times 4.6 mm, 5 μ m), 流速 1.0 mL/min, 检测波长 252 nm, 流动相为甲醇和超纯水, 条件为: 甲醇浓度 8 min 内由 45% 升至 80%, 随后在 8 min 到 15 min 期间, 流动相配比不再改变, 进样量为 8 μ L。

1.2.4 1-羟基-2-萘甲酸中间代谢产物的提取和衍生

将上述加入 1-羟基-2-萘甲酸的 100 mL 培养液在 4 °C, 11 000 r/min 离心后, 其上清液用 6 mol/L HCl 酸化至 pH 2.0, 用 3 \times 20 mL 的乙酸乙酯萃取, 再用 10 mmol/L 氢氧化钠溶液 3 \times 15 mL 反萃取合并后的有机相, 萃取后的有机相作为中性产物; 之后将水相 pH 再调至 2.0, 再用 3 \times 20 mL 乙酸乙酯萃取其中酸性代谢产物, 并用无水硫酸钠粉末干燥有机相, 避光挥发至干, 置于冰箱内避光保存, 待进样前用 0.4 mL 乙酸乙酯溶解, 再加入 100 μ L N, O-双(三甲基硅烷基)乙酰胺, 在 60 °C 恒温水浴锅中加热反应 45 min, 获得酸性代谢物的硅烷基化产物, 备用。

1.2.5 1-羟基-2-萘甲酸酸性代谢产物的 GC-MS 分析

用 Finnigan 公司 Trace MS 型 GC-MS 仪对中间代谢产物进行分析。弱极性色谱柱 DB-5 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m), 流动相为氦气 (99.999%), 载气流量是 1.0 mL/min; 进样口温度 280 °C, 不分流进样, 进样量 1 μ L; 离子源温度 200 °C, 传输杆温度 250 °C; 利用全扫描方式, 扫描范围: 30~450 m/z; 测定酸性中间产物的升温程序: 60 °C (1 min), 升温速率 5 °C/min; 200 °C (5 min), 升温速率 15 °C/min; 280 °C (5 min); 测定中性产物的升温程序: 70 °C (10 min), 升温速率 10 °C/min; 150 °C (3 min), 升温速率 6 °C/min; 180 °C (3 min), 升温速率 5 °C/min; 280 °C (5 min)。

2 实验结果与讨论

2.1 N2 菌以 1-羟基-2-萘甲酸为唯一碳源和以直链烷烃为共代谢碳源的生长特性

按照 1.2.1 的方法, 结果如图 1 所示。从图结果看, 施氏假单胞菌 N2 能以 1-羟基-2-萘甲酸为唯一碳源和能源生长。接种量为 10% 时, N2 菌以 50 mg/L 的 1-羟基-2-萘甲酸生长, 未观察到明显的延

迟生长期, 以 OD_{600nm} 表示的细胞生长量最大可达到 0.75. 108 h 时对 1-羟基-2-萘甲酸降解转化率约为 60%, 尽管还有约 40% 的碳源存在, 但此后未观察到有明显的菌体生长, 而在反应体系中出现菌体死亡现象, 说明体系中可能积累了一些中间产物对生长产生抑制.

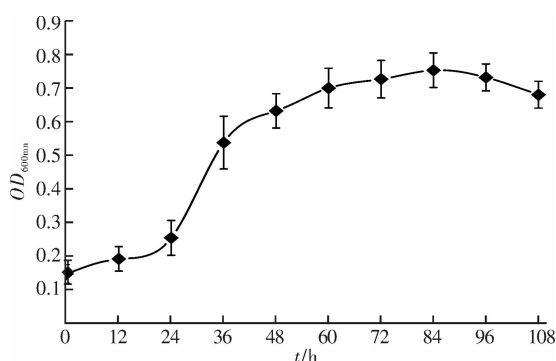


图1 N2 菌以 1-羟基-2-萘甲酸为唯一碳源的生长曲线

Fig. 1 Growth curve of 1-hydroxy-2-naphthoic acid as the sole carbon source by *P. stutzeri* N2. The values are means of triplicate experiments

考虑到 PAHs 污染环境常常含大量直链烷烃, 且为最大限度提高 N2 菌修复 PAHs 污染环境的效率, 避免因 1-羟基-2-萘甲酸类转化产物积累对微生物产生的毒性. 按照 1.2.2 中实验方法, 考察一定量直链烷烃(选择辛烷、十二烷和十六烷等液体烷烃)对 N2 菌代谢 1-羟基-2-萘甲酸效率的影响作用, 结果如图 2 和 3 所示. 从图 2 和图 3 结果看, 219.0 mg/L 辛烷能明显促进 N2 菌细胞的生长, 细胞生长量最大可达到约 0.9, 提高了 21%, 且达到最大生长量提前 48 h. 同时, 在 108 h 时 1-羟基-2-萘甲酸降解转化率达到 72%, 与未添加辛烷的降解体系相比提高了 20%.

2.2 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸中间代谢产物分析

从上述结果看, N2 菌能代谢 1-羟基-2-萘甲酸, 且短链烷烃可以提高其降解效率, 但在培养达到一定阶段后, 菌体生长缓慢, 1-羟基-2-萘甲酸的转化趋势亦变得缓慢, 这说明体系中存在或积累了某些影响 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸的代谢产物, 分析 1-羟基-2-萘甲酸不同降解阶段的中间代谢产物有利于发现易于发生积累的主要中间产物. 掌握这些主要代谢产物的结构特征, 可为后续筛选能够与 N2 菌共同修复污染环境的菌株提供基础依据. 为此, 按照 1.2.4 的方法, 提取 N2 菌代谢 1-羟基-2-萘甲酸的中间产物, 用气相色谱与质谱连用仪对其进行分离鉴定, 其色谱分离结果

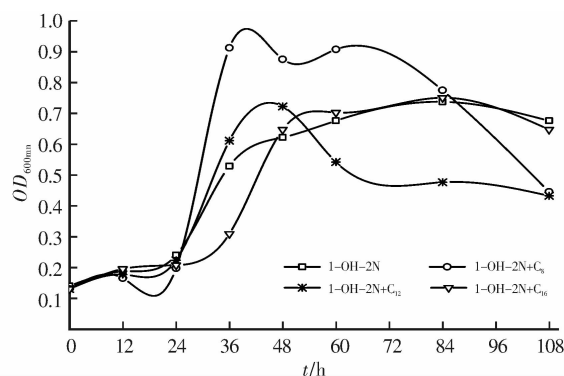


图2 N2 菌以不同直链烷烃和 1-羟基-2-萘甲酸为碳源的生长曲线

Fig. 2 Growth curves of 1-hydroxy-2-naphthoic acid and different straight chain alkanes as carbon sources by *P. stutzeri* N2

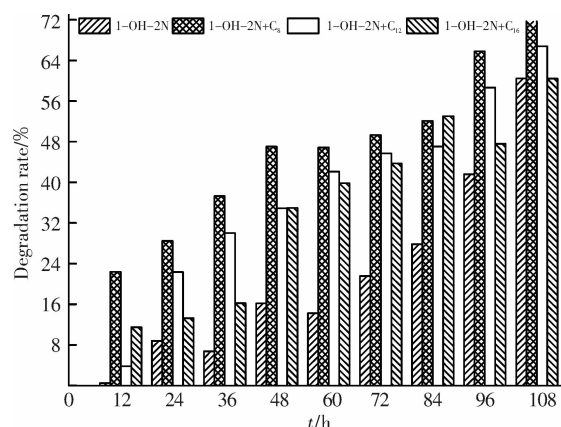


图3 不同直链烷烃对 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸的影响

Fig. 3 Effects of different straight chain alkanes on degradation rate of 1-hydroxy-2-naphthoic acid by *P. stutzeri* N2

如图 4 所示, 鉴定的主要中间产物及其质谱图见表 1 与图 5.

应当说明的是, 为了保护色谱柱, 同时达到好的分离效果, 中间产物是硅烷基化衍生后进行色谱分离的. 因此, 表 1 及图 5 中各中间产物的质谱图是硅烷基化衍生物. 衍生物的质谱图中易出现质核比为 73 [$Si(CH_3)_3$], 89 [$OSi(CH_3)_3$], 117 [$COOSi(CH_3)_3$] 的质谱碎片, 若有两个官能团被衍生, 则易出现 147 碎片, 或者直接打掉三甲基硅烷基后的质子碎片. 在 9 种代谢产物中, B、C、D、E、F、G 的结构鉴定是通过与标准样品及 NIST Chemistry Webbook 数据库 (<http://webbook.nist.gov/chemistry/>) 中标准谱图的比对而实现的.

图 5a 代表分子离子峰 M^+ 为 172, 其碎片离子峰 157 为 172- CH_3 碎片(从分子离子峰打掉一个甲基是硅烷基化衍生物质谱图中最常见的一种质

谱断裂方式),对于硅烷基衍生官能团连接在无环化合物或饱和碳原子上的结构特点时,一般分子离子峰非常低,不易出现.而 142 碎片则为分子中裂解掉两个甲基所产生的碎片.分子离子裂解去除一个 73[Si(CH₃)₃]为 99,这是硅烷基化衍生物另一个常见的质谱裂解方式.硅烷基化分子的质谱图中,必出现 75 和 73 碎片,而一般情况下,分

子中有两个衍生基团,则 73 碎片峰远远高于 75 碎片峰;当仅有一个羟基或羧基被[Si(CH₃)₃]衍生,则 75 和 73 碎片峰高低相差较小;当分子中有一个官能团被衍生,且该官能团附近含饱和和环状或不饱和键(双或叁键)结构时,常常出现 75 碎片峰高于 73 碎片的情形,即图 5(a)中所示.因此,推测离子峰 M⁺ 为 172 的化合物为丁烯醛酸.

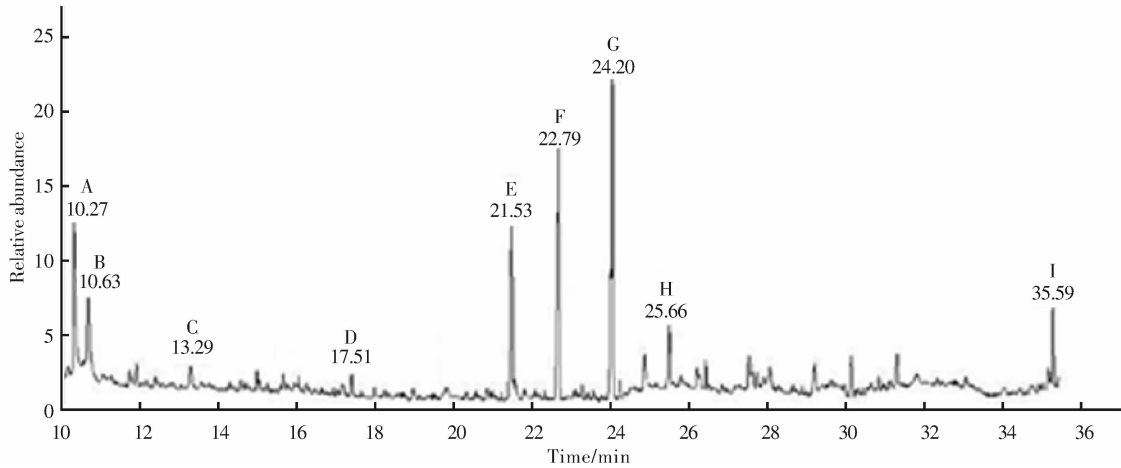


图 4 N2 菌株降解 1-羟基-2-萘甲酸 60 h 酸性中间产物的气相色谱分离结果

Fig. 4 Gas chromatography of acid parts of 1-hydroxy-2-naphthoic acid metabolites degraded by *P. stutzeri* N2 in 60 h

表 1 GC-MS 分析与鉴定 N2 菌代谢 1-羟基-2 萘甲酸 36 h 的降解产物

Tab. 1 GC-MS analysis and identification of 1-hydroxy-2-naphthoic acid metabolites by *P. stutzeri* N2 in 36 h

序号	保留时间/min	主要离子峰的质荷比(相对丰度%)	中间产物
B	10.63	260(M ⁺ , 0), 245(7.0), 230(14.0), 190(15.8), 147(97.6), 131(8.5), 130(8.7), 116(43.0), 101(2.1), 73(100.0), 59(4.9), 45(26.7)	丁烯二酸
C	13.29	194(M ⁺ , 7.3), 179(100.0), 135(57.5), 105(61.8), 91(0.7), 77(52.1), 51(12.1), 45(4.0)	苯甲酸
D	17.51	254(M ⁺ , 55.5), 239(91.1), 223(6.3), 195(3.6), 165(2.6), 149(6.6), 147(16.8), 133(23.7), 119(4.4), 112(23.8), 105(9.7), 91(28.2), 73(100.0), 59(5.9), 45(34.3)	间苯二酚
E	21.53	216(M ⁺ , 83.9), 201(100.0), 185(69.8), 172(0.8), 141(24.9), 127(620.4), 115(43.4), 100.9(16.4), 92.8(14.0), 73(22.8), 63(6.5), 45(26.7)	α -萘酚
F	22.79	282(M ⁺ , 17.7), 267(91.5), 223(100.0), 193(74.4), 179(5.4), 149(5.5), 147(5.5), 135(6.3), 126(12.7), 104(3.8), 91(8.3), 73(86.2), 59(3.3), 45(11.8)	邻羟基苯甲酸
G	24.20	310(M ⁺ , 0.8), 295(10.7), 265(1.0), 221(7.3), 193(2.4), 163(3.4), 147(100.0), 140(4.0), 119(3.7), 105(3.6), 73(41.7), 45(7.3), 59(1.3)	邻苯二甲酸

图 5(b)代表分子离子峰 M⁺ 为 216, 其它碎片离子质谱峰 m/z 为: 201, 185, 172, 141, 127, 115 等. 碎片离子峰 m/z201 为 M⁺-CH₃, m/z 185 为 M⁺-CH₃-H, m/z172 为 M⁺-CH₃-CH₃-CH₃, 这三个离子峰高度呈递减趋势, 同时含有典型离子峰 m/z127 为 M⁺-[OSi(CH₃)₃], 离子峰 m/z115 为 M⁺-[OSi(CH₃)₃-C], 说明化合物中含有羟基且和芳环直接相连, 同时说明化合物中含有

萘环的可能性很大, 因此, 推测该化合物为 α -萘酚.

图 5(c)代表分子离子峰 M⁺ 为 322, 其它碎片离子质谱峰 m/z 为: 307, 294, 265, 231, 221, 147, 73 等. 碎片离子峰 m/z307 为 M⁺-CH₃, 碎片离子峰 m/z294 为 M⁺-CO, 碎片离子峰 m/z 265 为 M⁺-CH=CH-CH₂-OH, 碎片离子峰 m/z231 为 M⁺-OSi(CH₃)₃-H-H. 147 碎片峰的出现, 以及

73 碎片峰远高于 75, 说明分子中有两个官能团被衍生. 因此, 推测该化合物为 4-2-羟苯基-4-丁烯酸.

图 5(d)代表分子离子峰 M^+ 为 364, 其它碎片离子质谱峰 m/z 为: 349, 319, 304, 245, 215, 187, 129 等。碎片离子峰 m/z 349 为 M^+-CH_3 , 离子峰 m/z 319 为 $M^+-CH_3-CH_3-CH_3$, 离子峰 m/z 304 为 $M^+-CH_3-CH_3-CH_3-CH_3$, 离子峰 m/z 245 为 $M^+-OSi(CH_3)_3-CH_3-CH_3$, 离子峰 m/z 187 为

$M^+ - OSi(CH_3)_3 - OSi(CH_3)_3 + H$, 离子峰 m/z 129 为 $M^+ - COOSi(CH_3)_3 - COOSi(CH_3)_3 - H$, 因此, 推测该化合物为 4-2-羧基基-4-丁烯酮酸.

2.3 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸的推测途径

依据 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸过程中初步鉴定的中间代谢产物, 结合现有文献报道的芳环类有机物的主要代谢途径, 推测 N2 菌代谢 1-羟基-2-萘甲酸的途径如图 6 所示。

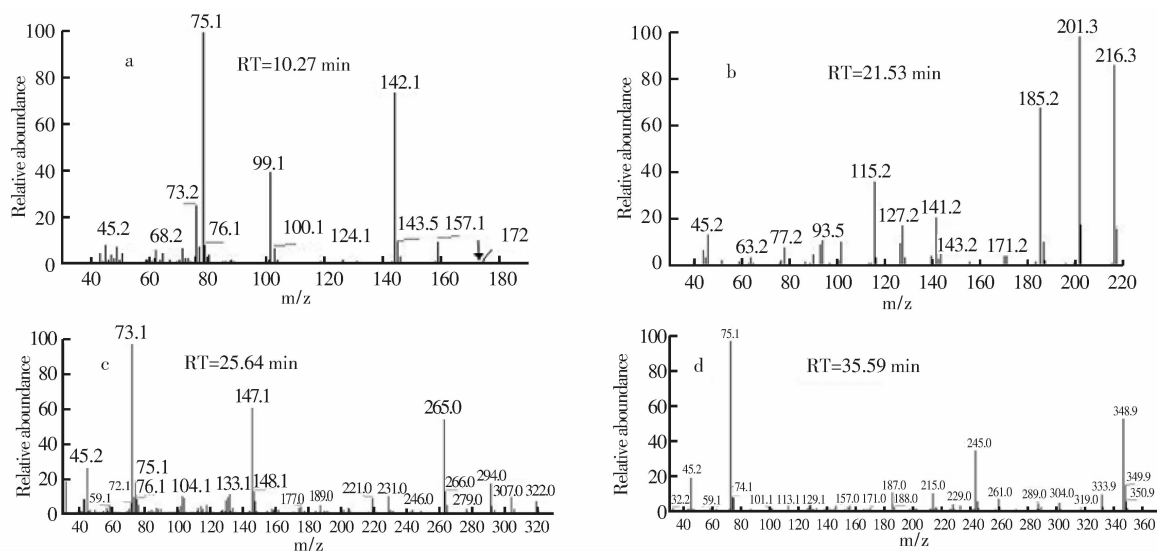


图 5 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸转化产物质谱图

(a)、(b)、(c)、(d)分别为图 4 中的 A、E、H、I 产物硅烷基化衍生物的质谱图

Fig. 5 Mass spectra of 1-hydroxy-2-naphthoic acid metabolites by *P. stutzeri* N2. (a) represent A, (b) represent E, (c) represent H, (d) represent I in figure 4

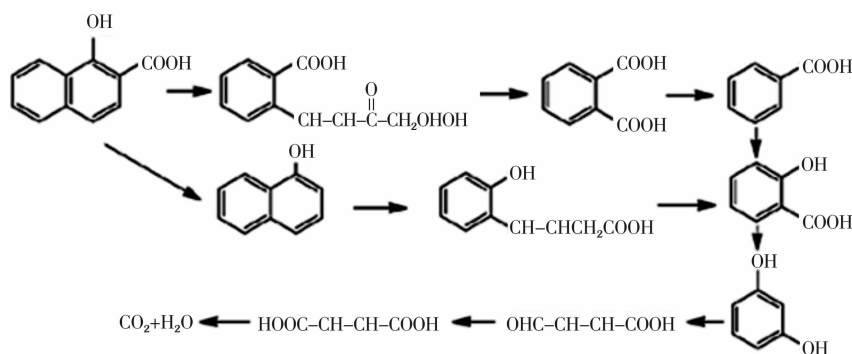


图 6 N2 菌代谢 1-羟基-2-萘甲酸的推测途径

Fig. 6 Proposed pathway of 1-hydroxy-2-naphthoic acid degradation *P. stutzeri* N2

3 结论

(1)施氏假单胞菌 N2 能以 1-羟基-2-萘甲酸为唯一碳源和能源生长. 当以 219.0 mg/L 正辛烷为共代谢碳源时, 其对 1-羟基-2-萘甲酸的降解率可提高 20%.

(2) N2 菌代谢 1-羟基-2-萘甲酸过程中有 9 种主要的代谢产物, 其中丁烯醛酸、 α -萘酚、邻羟基

苯甲酸和邻苯二甲酸最易发生积累.

(3) N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸可按照两个途径进行. 其一, 直接脱羧生成 α -萘酚, 其二, 直接开环裂解生成开环产物. 从中间产物的积累特性看, 脱羧是主要代谢途径. 对 N2 菌降解 1-羟基-2-萘甲酸的特性及机理进行研究, 不但为彻底矿化 PAHs 奠定了理论基础, 并且为 PAHs 环境修复评价提供了新思路.

参考文献 References

- [1] CERNIGLIA C E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. Biodegradation, 1992, 3: 351-368.
- [2] 聂麦茜. 多环芳烃优良菌的分离及降解特性探究[D]. 西安:西安建筑科技大学, 2002.
NIE Maiqian. Isolating of PAHs-degrading predominant strains and study of their metabolic properties [D]. Xi'an; Xi'an Univ. of Arch. & Tech., 2002.
- [3] HARITASH A K, KAUSHIK C P. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 169:1-15.
- [4] WILCKE W, KIESEWETTER M, BANDOWE B A. Microbial formation and degradation of oxygen-containing polycyclic aromatic hydrocarbons (OPAHs) in soil during short-term incubation[J]. Environ. Pollut., 2014, 184:385-90.
- [5] RUUS A, ALLAN I J, OXNEVAD S, et al. In vivo bioaccumulation of contaminants from historically polluted sediments-relation to bioavailability estimates [J]. Sci. Total. Environ., 2013, 442:336-43.
- [6] NIE M Q, NIE H Y, CAO W, et al. Phenanthrene metabolites from a new polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacterium *Aeromonas salmonicida* subsp. *Achromogenes* strain NY4[J]. Polycyclic Aromatic Compounds, 2015, 36(2):1-20.
- [7] LUNDSTEDT S, WHITE P A, LEMIEUX C L, et al. Sources, fate, and toxic hazards of oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at PAH-contaminated sites[J]. Ambio, 2007, 36(6):475-85.
- [8] 沈小娟, 聂麦茜, 葛碧洲, 等. 铜绿假单胞菌降解菲的产物鉴定及代谢过程[J]. 安全与环境学报, 2012, 2: 62-66.
SHEN Xiaojuan, NIE Maiqian, GE Bizhou, et al. On the acidic metabolite characterization and degradation process of the phenanthrene by *Pseudomonas aeruginosa* NY3[J]. Journal of Safety and Environment, 2012, 2:62-66.
- [9] PANTSYRNAYA T, AELAUNAY S, GOERGEN J L, et al. Biodegradation of phenanthrene by *Pseudomonas putida* and a bacterial consortium in the presence and in the absence of a surfactant[J]. Indian J Microbiol, 2012, 52(3): 420-426.
- [10] 张心意, 聂麦茜, 赵静, 等. 共存碳源对施氏假单胞菌 N2 裂解苯酚的作用[J]. 安全与环境学报, 2015, 15 (5):239-243.
ZHANG Xinyi, NIE Maiqian, ZHAO Jing, et al. Effect of the co-existent carbon sources on the ring cleavage of phenol by *Pseudomonas stutzeri* N2 [J]. Journal of Safety and Environment, 2015, 15 (5): 239-243.
- [11] NIE H Y, NIE M Q, YANG Y Z, et al. Characterization of phenol metabolism by *P. stutzeri* N2[J]. Polycyclic Aromatic Compounds, 2015, 36:587-600.
- [12] 樊瑜, 聂麦茜, 葛碧洲, 等. 耐高浓度苯酚菌株的筛选及其降解特性研究[J]. 安全与环境学报, 2012, 12 (4):113-117.
FAN Yu, NIE Maiqian, GE Bizhou, et al. Screening of high-tolerance-phenol strain and its degrading capacity[J]. Journal of Safety and Environment, 2012, 12 (4):113-117.
- [13] 王蕾, 聂麦茜, 王志盈, 等. 外加碳源对优良菌降解菲的影响研究[J]. 水处理技术, 2009, 35(6):24-27.
WANG Lei, NIE Maiqian, WANG Zhiying, et al. The influence of exotic carbon source on pyrene biodegradation by predominant strains[J]. Technology of Water Treatment, 2009, 35(6):24-27.
- [14] GAO S, SEO J S, WANG J, et al. Multiple degradation pathways of phenanthrene by *Stenotrophomonas maltophilia* C6 [J]. Int Biodeterior Biodegradation, 2013, 1(79):98-104.

(编辑 桂智刚)