

聂麦茜, 吴蔓莉, 王晓昌, 等. 2006 一株黄杆菌及其粗酶液对芘降解的动力学特征研究 [J]. 环境科学学报, 26 (2): 181 - 185

Nie M Q, Wu M L, Wang X C, et al. 2006. The study of kinetic properties on degradation of pyrene by a *flavobacterium* sp. and its enzyme [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 26 (2): 181 - 185

一株黄杆菌及其粗酶液对芘降解的动力学特征研究

聂麦茜^{1,*}, 吴蔓莉¹, 王晓昌¹, 林 玲¹, 王 蕊¹, 王学选²

1. 西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 西安 710055

2. 西安市政建设监理咨询公司监理部, 西安 710055

收稿日期: 2005-08-24 修回日期: 2005-12-13 录用日期: 2005-12-26

摘要: 实验研究了一株黄杆菌 FCN2 对芘降解的动力学特性, 以及该菌株对芘的好氧化具有催化作用的酶的分布特征、芘在胞内酶存在下酶促降解的动力学特征。研究表明, 本实验室经驯化、筛选、分离所得的 FCN2 菌株对芘有良好的降解性能; 反应后 10 h 内, 降解反应近似表现为一级动力学特性, 且随着芘初始浓度的增加, 反应速度加快; 当芘的初始浓度达到 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 菌体的降解活性被抑制; 菌体的初始浓度越大, 芘的降解转化速率越快; 当菌量达到 $3.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{s} \cdot \text{mL}^{-1}$ (CFU colony-forming units) 时, 芘的降解转化速度不再随着起始菌量的增加而增加。在本实验的好氧条件下, 最适初始菌量为 $1.0 \times 10^8 \sim 2.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{s} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内。FCN2 菌株对芘好氧降解起催化作用的活性酶为胞内酶, 它对芘降解的催化作用迅速、有效, 短时间内即达到分解平衡; 胞内酶最适 pH 值为 5, 在 pH 5.0~6.0 之间均有较高的催化活性; 胞内酶最适温度为 32°C , 在 $30 \sim 50^\circ\text{C}$ 之间能保持较高的催化活性; 粗提胞内酶催化芘的好氧降解过程中, 米氏常数较小, 为 $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, 最大反应速率为 $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, 说明酶与芘的亲合力大。

关键词: 黄杆菌 FCN2; 芘; 生物降解; 酶促降解; 米氏常数

文章编号: 0253-2468 (2006) 02-0181-05 中图分类号: X172 文献标识码: A

The study of kinetic properties on degradation of pyrene by a *flavobacterium* sp. and its enzyme

NIE Maqian^{1,*}, WU Manli¹, WANG Xiaochang¹, LIN Ling¹, WAN Rui¹, WANG Xuexuan²

1. Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055

2. Xi'an Municipal Construction Consulting & Supervision Company, Xi'an 710055

Received 24 August 2005; received in revised form 13 December 2005; accepted 26 December 2005

Abstract: The kinetic properties of biodegradation of pyrene by a *flavobacterium* strain and its coarse endoenzyme were studied, and the distribution of the enzyme which plays main rule in degradable and transforming pyrene was investigated. As a result, the *flavobacterium* strain FCN2 isolated was found to be an effective strain for degrading pyrene. The degradable process behaved as a pseudo-first-order reaction within a period of 10h reaction time, and the reaction rate increased with the original concentrations of pyrene and biomass. However, the reaction was almost completely restrained as the original concentration of pyrene reached $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. As original biomass was higher than $2.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{s} \cdot \text{mL}^{-1}$, there was no longer any increase of reaction rate under an aerobic condition and the suitable biomass was from 1.0×10^8 to $2.0 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{s} \cdot \text{mL}^{-1}$. The active enzyme which played the main rule in degradable pyrene was the endoenzyme of the *flavobacterium* strain FCN2. The catalysis action of the endoenzyme was highly effective, so that the reaction reached equilibrium state quickly. The suitable pH was 5.0 and the suitable temperature was 32°C though the endoenzyme was still active within pH 5.0~6.0 and $30 \sim 50^\circ\text{C}$. The Michaelis constant K_m was found to be $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, and the maximum degradation rate of pyrene under the catalysis of the endoenzyme was $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. This indicated that the affinity of the endoenzyme to pyrene was great.

Keywords: *flavobacterium* sp. FCN2; biodegradation; pyrene; endoenzyme; Michaelis constant

多环芳烃 (PAHs) 是普遍存在于环境中具有致癌、致畸、致突变的一类有机污染物。人类生产活动

中对石化产品的大量开发利用及其它有机物的不完全燃烧产生了大量的 PAHs, 由于其在自然环境中

基金项目: 陕西省教育厅科研计划项目 (自然科学专项) (No. 04JK157)

Supported by the The Scientific Research Plan Item (special for nature science research) of the Education Shaanxi Province (No. 04JK157)

作者简介: 聂麦茜 (1960—), 女, 教授 (博士), Tel: 029-82202554; * 通讯作者 (责任作者)

Biography: NIE Maqian (1960—), female, Professor (Ph.D.); * Corresponding author

降解转化速度非常缓慢,因此,在环境系统中被大量积累.由于多环芳烃的环状共轭 π 键使其具有特殊的稳定性,且对普通的微生物表现出一定的毒性,使 PAHs 的降解研究成为目前的研究热点.有关多环芳烃生物降解的研究报道主要集中在两个方面,其一,从污染环境中分离优良的降解菌,并研究其降解特性 (Geiselbrecht *et al*, 1996, 聂麦茜等, 2002);其二,利用分离得到的优良菌对环境多环芳烃进行生物修复研究 (Thibault *et al*, 1996, 王新等, 2000). 已有研究报道的优良菌确实能够加快多环芳烃的分解,其分解过程主要依靠微生物产生的酶的催化作用.但有关能够降解多环芳烃的优良菌及其酶对多环芳烃生物降解的动力学特性研究报道较少.白腐菌是研究较深入的对 PAHs 具有普遍降解能力的真菌类微生物,这类微生物产生的漆酶和过氧化物酶能够有效地催化多环芳烃的好氧化过程 (Bill *et al*, 1996, Field *et al*, 1992). 细菌也是降解多环芳烃的主要微生物,可关于活体细菌及其酶对 PAHs 降解动力学特性的研究未见报道.在前期研究工作中,分离出一株黄杆菌 FCN2,并已经获得了大量的相关生物降解信息 (聂麦茜等, 2001),研究中发现 FCN2 活菌体对分子结构不同的蒽 (三环、线性)、菲 (三环、非线性)、芘 (四环、非线性) 均能快速的降解转化.在此基础上,本文拟深入研究 FCN2 对多环芳烃的生物降解机理,了解 FCN2 降解体系中酶的分布特征、酶促降解的动力学特性及粗提酶液与活菌体降解多环芳烃最适反应条件的差异,以期对生物修复多环芳烃污染提供理论参考.

1 材料和方法 (Materials and methods)

1.1 材料

磷酸盐缓冲液: $K_2HPO_4 \cdot H_2O$ 21.75 g, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 33.4 g, KH_2PO_4 8.7g, NH_4Cl 5.0 g, 蒸馏水 1000mL.

优良黄杆菌属 FCN2 菌株:本实验室以焦化厂废水排水沟底泥为优良菌源,通过驯化筛选获得 (聂麦茜等, 2001).

1.2 降解体系中芘浓度的测定方法

将水样用环己烷萃取 3 次,合并萃取液,脱水后,定容至 10.0 mL,在 242 nm 处用紫外光度法测定芘的浓度.

1.3 菌悬液制备及胞内、胞外粗酶的提取方法

菌悬液的制备:将保存在斜面上的 FCN2 菌株

接种于经高压水蒸汽灭菌的普通液体牛肉汁培养基上, 32℃ 下好氧振荡培养 48 h, 室温下 6000 $r \cdot min^{-1}$ 离心分离 30 min, 再以磷酸盐缓冲液洗涤菌体 3 次, 收获菌体; 用同一缓冲液制成菌悬液, 并调至菌体浓度约为 6×10^9 CFU $s \cdot mL^{-1}$, 备用.

将 30 mL 的 FCN2 菌悬液, 置于 0℃ 的冰-水混合水浴中, 用 JY88-II 型超声波细胞粉碎机处理 8 次, 每次 1 min, 粉碎功率为 450 W. 8000 $r \cdot min^{-1}$ 离心分离 30 min, 除去细胞壁碎片, 上清液即为胞内酶粗酶液. 在菌悬液的制备过程中, 收集菌体后的培养液, 边搅拌边加入 $(NH_4)_2SO_4$ 至饱和度为 100%, 4℃ 盐析过夜, 离心收集蛋白沉淀作为胞外粗酶液.

1.4 降解反应体系描述

1.4.1 活菌株对芘的降解实验

同一芘初始浓度时, 同时取 5 个反应瓶, 向每个反应瓶中平行加入 18 mL 蒸馏水, 一定体积的 5.0 $g \cdot L^{-1}$ 芘的丙酮溶液, 使各反应瓶中芘的起始浓度相同. 曝气 20 min 去除丙酮后, 向每个瓶中平行加入菌悬液, 使菌体达到 1.0×10^8 CFU $s \cdot mL^{-1}$, 在 32℃ 条件下, 生物摇床约 140 $r \cdot min^{-1}$ 好氧反应 2 h 后开始测定芘的浓度, 并每隔 2 h 采样测定芘的浓度. 同时设不加菌悬液的对照组. 在不同的芘初始浓度 (24、50、120、200 $mg \cdot L^{-1}$) 和不同菌悬液浓度 (1.0×10^8 、 2.0×10^8 、 3.0×10^8 CFU $s \cdot mL^{-1}$) 下重复上述试验.

1.4.2 芘的酶促降解实验

胞内酶及胞外酶对芘降解的催化反应: 取 4 个反应瓶, 向每个反应瓶中平行加入 18 mL 蒸馏水, 5.0 $g \cdot L^{-1}$ 芘的丙酮溶液 0.10 mL, 使各反应瓶中芘的起始浓度为 25.0 $mg \cdot L^{-1}$. 曝气 20 min 去除丙酮后, 向每个瓶中平行加入 2 mL 胞内酶粗提液, 在 32℃ 条件下静态反应一段时间后, 测定芘的浓度变化. 相同条件下, 同时做胞外酶对芘的降解实验, 同时设不加酶的对照组.

pH 值对芘的酶促降解的影响实验: 取 8 个反应瓶, 向每个瓶中各加入 18 mL 蒸馏水, 5.0 $g \cdot L^{-1}$ 芘的丙酮溶液 0.10 mL, 曝气 20 min 后, 用 NaOH 和 H_3PO_4 依次调节溶液的 pH 值分别为 4.0、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、8.0、9.0. 向每个瓶中各加入 1.0 mL 胞内酶液, 反应 10 min 后取出, 测定芘的浓度变化. 同时设不加酶的对照组.

温度对芘的酶促降解的影响实验: 在 pH 为 5 的条件下, 向反应瓶各加入 18 mL 蒸馏水, 5.0 $g \cdot L^{-1}$ 芘的丙酮液 0.10 mL 和 1.0 mL 胞内酶, 使反

应瓶中芘的初始浓度为 $25.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,反应 10 min 后,分别测定不同温度 (25、27、30、32、35、 50°C) 下芘的浓度变化,同时设不加酶的对照组。

胞内粗提酶米氏常数和最大反应速率的测定: 分别取 0.10、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 mL ($100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 芘的丙酮溶液于 10 mL 比色管中,各管中分别加入 1.0 mL 胞内酶液,用水稀释至 10.0 mL;在 pH 为 5、温度 32°C 的条件下,水浴中好氧反应 10 min,测定反应瓶中芘的浓度,同时设不加酶的对照组。根据测定结果计算米氏常数和最大反应速率。

1.5 计算方法与统计方法

黄杆菌活体 FCN2 对芘降解的动力学特征实验数据处理方法:利用微分法计算反应级数 (许越, 2005)。

米氏常数的测定采用 Eadie-Hofstee 法 (施巧琴, 2005)。

2 结果 (Results)

2.1 黄杆菌活体 FCN2 对芘降解的动力学特征

首先考察芘浓度对其生物降解转化动力学特征的影响。根据前期研究结果,在活菌量为 $1.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 32°C 和 $\text{pH}=7.0$ 的条件下,进行生物降解试验,研究 FCN2 菌株对芘降解的动力学特性,结果如图 1 所示。从图中可看出,当芘的初始浓度分别为 24、50、 $120\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,反应开始后 10 h 内,芘的浓度随着时间的变化呈降低趋势,母体芘环被降解转化的平均速率分别为 0.4810、0.7596、 $2.5013\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。显然,随着芘初始浓度的增加,反应速度加快。图中所示回归方程的可决系数分别为

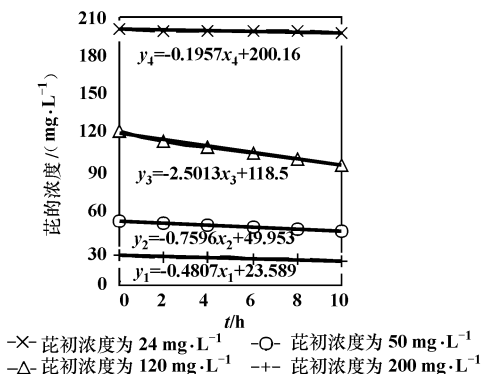


图 1 不同芘初始浓度对其生物降解的影响

Fig 1 The effects of original concentrations of pyrene on its biodegradation

0.972、0.997、0.988,所以,芘的浓度随时间呈近似线性变化。但同样反应条件下,当芘初始浓度为 $200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,反应开始后 10 h 内,芘的浓度几乎不随着时间的变化而变化,芘的降解速率仅为 $0.1957\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,远小于 $120\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的 $2.5013\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$;说明该浓度下,FCN2 菌株对芘降解转化受到了明显的抑制作用。

活菌体初始加入量对芘降解转化作用的影响如图 2 所示。从图 2 可以看出,芘初始浓度为 $120\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,初始活菌量分别为 1.0×10^8 、 2.0×10^8 、 $3.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,反应后 10 h 内,芘的浓度随时间的降低趋势近似为线性关系,降解转化速率分别为 $2.4889\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 、 $3.334\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 、 $3.387\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 。初始菌量为 $1.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,在反应 10 h 内,体系中芘浓度的累计降低值小于初始菌量为 $2.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $3.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的值,这说明在本实验条件下,初始菌量 $1.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 并没有达到菌体的饱和量。所以,不会出现因供氧不足而影响代谢效率的问题。而初始菌量为 $1.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $1.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,芘的降解转化速率已经非常接近。按照前期的研究结果 (聂麦茜, 2002),FCN2 菌株在反应初期 (24 h 内),生长繁殖量比较少,因此,利用实验结果,计算一定菌量下芘的降解转化速率时可以不考虑菌体的生长繁殖量。计算单位量的菌体对芘的降解速率,发现初始菌量为 $1.0\times 10^8\text{ CFUs}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的反应体系中芘的比降解速率最大。

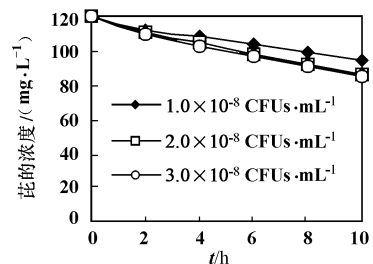


图 2 菌量对芘降解作用的影响

Fig 2 The effect of biomass on biodegradation

2.2 芘的酶促降解特性

2.2.1 FCN2 菌株降解酶的分布特征

分别将胞外酶和胞内酶粗提液加入含 $25.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 芘的水溶液中,每隔一定时间测定芘的浓度变化,实验结果见表 1。表 1 结果表明,胞内酶粗提液对芘的催化分解迅速而有效,短时间内即达到分解平衡。胞外酶液在 48 h 内未显示降解活性或

活性很低,其所显示出的微弱降解活性,可能是由于收获菌体时,离心转速不够,使得上清液中留有少量菌体造成的.故认为 FCN2菌株对芘的降解中,起催化作用的酶为胞内酶.

表 1 胞内酶及胞外酶对芘的去除情况

Table 1 the remove of pyrene by endoenzyme and exoenzyme		
t/h	胞内酶对芘的去除率	胞外酶对芘的去除率
0	0	0
2	42.28%	1.20%
4	38.84%	0.88%
24	40.04%	0
48	41.80%	1.00%

2.2.2 FCN2菌株胞内酶对芘的降解特性

pH值对芘的酶促降解结果如图 3所示.胞内酶降解芘的最适 pH值为 5.0,在 pH 4.0~9.0之间均有降解活性.在弱酸性条件 (pH 4.0~6.0)下,胞内酶对芘降解的催化活性较大,这与 FCN2活菌体降解芘的最适 pH值范围 (5.0~7.0)相近.

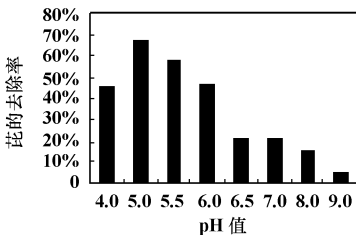


图 3 pH值对芘的酶促降解的影响

Fig 3 The effect of pH on enzyme degradation

温度对芘的酶促降解结果如图 4所示.从图中可知,对芘的降解反应的最适温度为 32℃;在 30℃~50℃之间胞内酶能保持较好的降解活性.

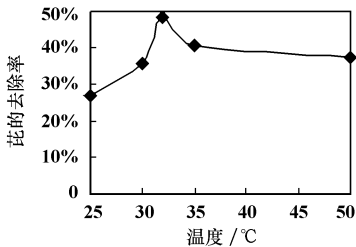


图 4 温度对酶促降解的影响

Fig 4 The effect of temperature on enzyme degradation

按照 1.4.2中的方法,测得芘的浓度及其生物降解反应速率,做 Eadie-Hoffstee 图,结果如图 5所示.求得粗提酶的米氏常数为 $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,最

大反应速率为 $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

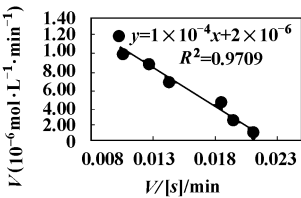


图 5 粗酶液的 Eadie-Hoffstee图

Fig 5 Eadie-Hoffstee chart of coarse enzyme

3 讨论 (Discussion)

微生物对有机污染物的降解主要是依靠其产生酶的催化作用.目前文献报道的有关 PAHs酶促降解的研究主要集中在真菌类微生物白腐菌的活性酶方面,其产生的能够催化多环芳烃降解的活性酶是胞外酶 (Bill *et al* , 1996, Field *et al* , 1992).文献中 (虞云龙等, 1997)曾报道,生物降解农药杀灭菊酯起降解作用的是胞内酶,但该文献中并未对菌种进行鉴定.本论文使用的 FCN2是一株细菌,根据前期已得到的大量的生物降解信息推测 (聂麦茜, 2002),在降解 PAHs时,多环芳烃需进入细胞内部才能被降解,也就是说,它们在对 PAHs生物降解过程中起主要催化作用的酶应该是胞内酶.本论文的实验结果验证了前期的推测,即黄杆菌 FCN2降解 PAHs的活性酶分布在细胞内部.

由于 FCN2菌体的活性酶是在胞内,反应涉及到水溶性差的芘向细胞内的传质,活性酶进而与芘亲合形成过渡态,芘分子被氧化等一系列过程,因此,微生物活菌体对芘降解的动力学特性是复杂的.在废水有机物微生物处理过程及其它有关活菌体对有机物的降解过程中,由于体系复杂,一般都粗略按照一级反应来处理.而本论文为单一菌株,并且反应中加入的有机底物是单一的芘,所以,这种体系相对简单,可以计算反应 10h内的有机物生物降解动力学级数.参考物理化学对复杂反应级数的计算方法 (许越, 2005),本论文中芘的初始浓度为 24、50、120 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 (不讨论初始浓度为 200 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,因为该反应明显被抑制) 10 h内的平均反应级数为 0.9995,因此,FCN2活菌体对芘降解时,在反应后 10h内可近似看作一级反应.

米氏常数 K_m 反映酶和底物的结合程度、酶-底物复合物的稳定性;米氏常数的大小能够反映酶与底物之间亲和力的大小,其值越小,则酶与底物的

亲和力越大.大多数酶的 K_m 在 $10^{-1} \sim 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间.本论文用 Eadie - Hofstee 法测定了米氏常数 K_m 与最大反应速率 V_m ,在 pH 值为 5,温度为 32°C 条件下测得粗提胞内酶米氏常数值为 $1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,最大反应速率为 $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ min}^{-1}$,说明酶与芘的亲和力较大.因此,FCN2胞内酶对芘降解的催化作用迅速而有效,短时间内即达到分解平衡.从本研究的结果看,FCN2菌在处理多环芳烃污染中是有发展潜力的.

通讯作者简介:聂麦茜 (1960—),女,教授,研究方向:难降解有机物的生物降解理论与技术研究,生物絮凝剂的研究与开发. E-mail: nmq66@sohu.com

Reference:

- Bill W B, Richard T L. 1996 Polycyclic aromatic hydrocarbon - degrading capabilities of *Phanerochaete Laevis* HHB-1625 and its extracellular ligninolytic enzymes[J]. Appl Environ Microbiol, 62: 1597—1603
- Field J A, Jone E de, Costa G F. 1992 Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of White Rot Fungi[J]. Appl Environ Microbiol, 58: 2219—2226
- Geiselbrecht A D, Herwig R P, Deming J W. 1996 Enumeration and phylogenetic analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading marine bacteria from Puget Sound Sediments[J]. Appl Environ Microbiol, 62: 3344—3349
- Nie M Q, Zhang Z J, Sun X F, et al. 2001. The study of degradation of anthracene, phenanthrene and pyrene by *flavobacterium* [J]. Microbiology, 28(5): 32—36 (in Chinese)
- Nie M Q, Zhang Z J, Wang X C, et al. 2002. The Degradation of Anthracene Phenanthrene and Pyrene by Two *Pseudomonas* sp PCN5 and PCB2[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 22(5): 630—633 (in Chinese)
- Nie M Q. 2002. The Separation and the Studying of Degradation Ability of polycyclic Aromatic Hydrocarbon Preponderant Bacterium [D]. Xi'an: Xi'an Architecture and Technology University: 53—55 (in Chinese)
- Shi Q Q. 2005. Enzyme Engineering[M]. Beijing: Science Press, 30—31 (in Chinese)
- Thibault S L, Anderson M, Frankenderger W T. 1996. Influence of surfactants on pyrene desorption and degradation in soil[J]. Appl Environ Microbiol, 62: 283—287
- Wang X, Li P J, Gong Z Q, et al. 2000. Study on Zoogloea sp. Immobilization and its degradation of phenanthrene and pyrene in contaminated soil [J]. China Environmental Science, 20(6): 515—518 (in Chinese)
- Xu Y. 2005. Chemical Kinetics[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 29—34
- Yu Y L, Sheng G Y, Fu J M. 1997. Degradation of Fenvalerate by microorganism and its enzyme[J]. Environmental Science, 18(2): 5—9 (in Chinese)

中文参考文献:

- 聂麦茜,张志杰,孙先锋,等. 2001. 特效黄杆菌对蒽、菲、芘降解性能研究[J]. 微生物学通报, 28(5) 32—36
- 聂麦茜,张志杰, 王晓昌,等. 2002. 两株假单胞菌对蒽菲芘的降解作用[J]. 环境科学学报, 22(5): 630—633
- 聂麦茜. 2002. 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, 53—55
- 施巧琴. 2005. 酶工程 [M]. 北京: 科学出版社, 30—31
- 王 新,李培军,巩宗强,等. 2000. 一种动胶杆菌的固定化及其降解土壤中菲芘的研究 [J]. 中国环境科学, 20(6): 515—518
- 许 越. 2005. 化学反应动力学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 29—34
- 虞云龙,盛国英,傅家谟. 1997. 杀灭菊酯的微生物降解及酶促降解 [J]. 环境科学, 18(2): 5—9