

# 空间位阻对溶解态甲基菲生物降解的影响

杜 兰<sup>1</sup>,张振轩<sup>1</sup>,朱亚先<sup>2</sup>,张 勇<sup>1\*</sup> (1.厦门大学环境与生态学院,近海海洋环境科学国家重点实验室,福建 厦门 361102; 2.厦门大学化学化工学院化学系,福建 厦门 361005)

**摘要:**以菲(Phe)和甲基菲(MP:1-MP、3-MP、4-MP、9-MP)为研究对象,运用同步荧光法研究微生物 *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1 对 5 种溶解态多环芳烃(PAHs)的降解特性.结果显示:MP 在  $8 \times 10^{-7}$ 、 $1.2 \times 10^{-6}$  mol/L 2 种浓度下,其生物降解过程符合零级动力学,降解速率均为:4-MP<9-MP<1-MP<3-MP;5 种 PAHs 的最大生物降解速率同理论最大跨膜通量存在良好的线性关系;NaN<sub>3</sub> 对 Phe 降解速率影响较小,但抑制 MP 降解且抑制程度与取代基位置有关.

**关键词:**甲基菲;同系物;生物降解;跨膜过程

中图分类号:X127 文献标识码:A 文章编号:1000-6923(2017)04-1375-05

**Effect of steric hindrance on the biodegradation of dissolved methyl-phenanthrene.** DU Lan<sup>1</sup>, ZHANG Zhen-xuan<sup>1</sup>, ZHU Ya-xian<sup>2</sup>, ZHANG Yong<sup>1\*</sup> (1.State Key Laboratory of Marine Environmental Science of China, College of Environment and Ecology, Xiamen University, Xiamen 361102, China; 2.Department of Chemistry, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China). *China Environmental Science*, 2017,37(4): 1375~1379

**Abstract:** The biodegradation of dissolved phenanthrene (Phe) and methyl-phenanthrene (MP), including 1-MP, 3-MP, 4-MP and 9-MP by the bacterium *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1 was individually studied using synchronous fluorescence spectrometry. The biodegradation of MP was adequately described by zero-order kinetics at two concentrations, i.e.,  $8 \times 10^{-7}$  mol/L and  $1.2 \times 10^{-6}$  mol/L. The rates of biodegradation were generally in the following order: 4-MP<9-MP<1-MP<3-MP. There was a good linear relationship between the measured maximum biodegradation rates and the theoretical maximum transmembrane fluxes. The addition of NaN<sub>3</sub> exerted little effects on the biodegradation of Phe but inhibited that of MP, with the degree of inhibition dependent on the position of the methyl substituent.

**Key words:** methyl-phenanthrene; isomer; biodegradation; membrane transport

菲(Phe)及其烷基取代物是石油中常见的有机污染物<sup>[1-2]</sup>.烷基取代多环芳烃(A-PAHs)的毒性常常强于其母环 PAHs,在环境中尤其是海洋溢油区,其含量显著高于其母环化合物<sup>[3-4]</sup>.因此研究水环境中 A-PAHs 的污染及其去除十分重要.生物降解是去除环境中 PAHs 最为有效的手段之一<sup>[5-6]</sup>.研究表明细菌对 PAHs 的降解多属于胞内反应,生物体内降解酶系是影响细菌降解 PAHs 的关键因素<sup>[7-8]</sup>;PAHs 进入细胞的途径是影响其降解的重要因素;而底物的位阻效应会干扰其与降解酶和膜转运蛋白的结合<sup>[9-10]</sup>,进而影响底物的降解过程<sup>[11-12]</sup>.取代基位阻效应对甲基萘生物降解影响已有报道<sup>[13-15]</sup>.然而,目前关于溶解态 A-PAHs 尤其是 3 环及以上 A-PAHs 结构的差异对其生物降解影响的研究鲜见报道.

本文选取新鞘氨醇杆菌(*Novosphingobium pentaromativorans*) US6-1 为降解菌,以 Phe 及甲基菲(MP, 如 1-MP、3-MP、4-MP 和 9-MP)为研究对象,运用同步荧光法研究上述目标物生物降解过程和跨膜机理,以期评估 PAHs 在水环境中转化、归宿及风险性提供参考.

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

收稿日期:2016-08-23

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21177102,21577110);国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室开放基金资助项目(201405);高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(20130121130005)

\* 责任作者,教授, yzhang@xmu.edu.cn

Phe、1-MP、3-MP、4-MP 和 9-MP(纯度 >98%,美国 Sigma-Aldrich 公司); (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O、CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O、NaOH、FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (A.R.,国药化学试剂有限公司);无水乙醇(A.R.,西陇化工股份有限公司);富营养培养基:2216E(青岛海博生物技术有限公司),NaN<sub>3</sub>(纯度>99%,天津福晨化学试剂厂). MSM 液体培养基的配制参照文献[16].

FLS 920 型纳秒时间分辨荧光光谱仪 (Edinburgh Instrument 公司,英国);752 紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);HV-50 全自动电子灭菌器(Hiragama 公司,日本);Universal 320R 高速冷冻离心机(Hettich 公司,德国);VS-840K-U 洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);Sky 2102C 恒温振荡器(上海苏坤实业有限公司).

1.2 实验材料

US6-1 由韩国海洋研究与发展院提供,可降解芴, Phe, 蒽和芘(Pyrene)等 PAHs<sup>[16]</sup>.

1.3 实验方法

1.3.1 Phe 及 MP 同步荧光法波长差(Δλ)的选取 荧光法具有快速、灵敏和非破坏性等特点,已被用于检测生物降解过程中溶解态 PAHs 的浓度变化<sup>[17]</sup>. 分别称取一定量 Phe、1-MP、3-MP、4-MP 和 9-MP 标准品溶于乙醇,配制成 1.0×10<sup>-2</sup>mol/L 的储备液,置于 4℃ 冰箱保存.取适量 PAHs 储备液于 10mL 比色管中,氮吹至近干后用 MSM 溶液定容至 10mL,混匀并超声 20min. 分别扫描上述 5 种 PAHs 的荧光光谱,设置 λ<sub>ex</sub>=220~340nm, λ<sub>em</sub>= 320~420nm;步距均为 2nm;激发和发射狭缝均为 2nm,确定 5 种 PAHs 的 Δλ

和波长范围<sup>[17-18]</sup>.

1.3.2 PAHs 的生物降解实验 为考察 US6-1 对 MP 降解规律及其与浓度的关系,对 5 种 PAHs 在 2 种浓度条件下的降解过程展开研究.第 1 组 PAHs 浓度均为 0.8×10<sup>-6</sup>mol/L,第 2 组 PAHs 浓度均为 1.2×10<sup>-6</sup>mol/L.取适量上述 PAHs 储备液于 125mL 锥形瓶中,氮吹至近干后加入 100mL MSM 溶液.接种菌后于摇床中避光震荡培养 (25℃, 150r/min)<sup>[16]</sup>.适当时间后以 1.3.1 节方法直接测定降解体系中 PAHs 荧光强度.实验设 3 组平行.通过预实验发现,当降解菌初始生物量 OD<sub>600</sub>=0.001 时,降解 PAHs 效率高且实验现象明显,其余具体实验方法同 1.3.1 节.实验所用容器及培养液均经过高温高压灭菌 20min.

1.3.3 最大生物降解速率 Phe 浓度为 5.0×10<sup>-6</sup>mol/L,MP 在浓度为 1.2×10<sup>-6</sup>mol/L 实验见 1.3.2 节.取降解菌初始生物量 OD<sub>600</sub>=0.001,其余具体实验方法同 1.3.1 节.

1.3.4 PAHs 跨膜方式的研究方法 为使 5 种 PAHs 在较短时间内降解明显,对照组和实验组中 Phe 和 3-MP 浓度为 8×10<sup>-7</sup>mol/L,1-MP 浓度为 7×10<sup>-7</sup>mol/L, 4-MP 浓度为 3×10<sup>-7</sup>mol/L, 9MP 浓度为 5×10<sup>-7</sup>mol/L.取适量 NaN<sub>3</sub> 配置成 5mol/L 储备液,实验时取 600μL 储备液加入实验组降解体系,使其最终浓度为 30mmol/L,OD<sub>600</sub>= 0.001. 其余实验过程参考 1.3.1 节.

2 结果与讨论

2.1 Phe 及 MP 同步荧光波长差的选取及其工作曲线

表 1 同步荧光光谱法的分析特性参数

Table 1 Analytical parameters of synchronous fluorescence spectroscopy

PAHs	线性回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围(×10 <sup>-6</sup> mol/L)	RSD(n=9)(%)	检出限(×10 <sup>-10</sup> mol/L)
Phe	y=1.58x-6825.75	0.9982	0.08~6.00	1.86	5.17
1-MP	y=2.18x-321.23	0.9935	0.08~1.20	2.45	3.74
3-MP	y=2.20x-534.47	0.9923	0.08~1.20	1.65	7.17
4-MP	y=1.29x-867.24	0.9912	0.08~1.20	2.14	3.12
9-MP	y=2.25x-4531.23	0.9966	0.08~1.20	2.53	4.23

运用同步荧光技术,每隔 1nm,分别考察 Δλ=45~65nm 时 Phe 和 MP 的同步荧光光谱.结果

表明 Phe、1-MP、3-MP、4-MP 和 9-MP 的最佳测定波长差分别为 54,52,53,55,55nm.在各自

最优条件下,分别扫描梯度浓度 PAHs 溶液的同步荧光,并以各自最大荧光峰处强度( $I$ )对其浓度( $x, \text{mol/L}$ )作图.结果表明,一定浓度范围内 5 种 PAHs 的浓度  $x(\mu\text{mol/L})$ 和荧光信号值  $y$  呈良好的线性关系,其分析特性见表 1.

### 2.2 空间位阻对 MP 生物降解影响

已有文献报道 US6-1 可降解苯并[a]芘<sup>[19]</sup>、Phe<sup>[20]</sup>、Pyr<sup>[20]</sup>等,关于其对 MP 降解未见相关报道.本实验结果显示(图 1),US6-1 不仅可降解 Phe,还可有效降解 MP.

可知, $\alpha$ 位取代的 A-PAHs 降解要慢于 $\beta$ 位取代的 A-PAHs.其原因可能是甲基取代基的空间位阻效应阻碍了 MP 与酶结合<sup>[10,24-25]</sup>,致使其降解速率的减小.

表 2 5 种 PAHs 生物降解动力学参数

Table 2 Biodegradation kinetic parameters of the five kinds of PAHs

PAHs	初始浓度 (mol/L)	降解动力学方程 ( $\times 10^{-7}$ )	相关系 数 $R^2$	半衰期 $t_{1/2}(\text{h})$	降解速率常数 [ $\times 10^{-7} \text{mol}/(\text{L} \cdot \text{h})$ ]
Phe	0.8	$y = -1.26x + 8.56$	0.9799	3.17	1.26
1-MP	0.8	$y = -1.17x + 8.23$	0.9842	3.42	1.17
3-MP	0.8	$y = -1.25x + 8.53$	0.9841	3.20	1.25
4-MP	0.8	$y = -0.610x + 7.92$	0.9829	6.55	0.610
9-MP	0.8	$y = -0.915x + 7.42$	0.9738	4.37	0.915
Phe	1.2	$y = -1.75x + 12.6$	0.9829	3.43	1.75
1-MP	1.2	$y = -1.67x + 12.6$	0.9825	3.59	1.67
3-MP	1.2	$y = -1.72x + 12.5$	0.9918	3.49	1.72
4-MP	1.2	$y = -0.685x + 8.15$	0.9747	8.76	0.685
9-MP	1.2	$y = -1.09x + 11.6$	0.9811	5.50	1.09

注: $x$ 为PAHs降解时间(h); $y$ 为MSM溶液中PAHs的浓度(mol/L).

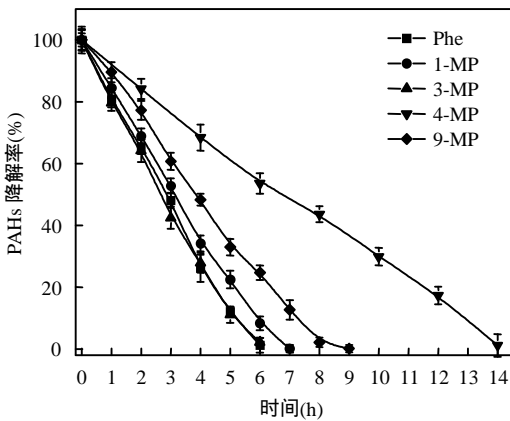


图 1 5 种 PAHs 的生物降解曲线([PAHs] =  $8 \times 10^{-7} \text{mol/L}$ )  
Fig.1 Biodegradation curves of the five kinds of PAHs by the bacterium US6-1 ([PAHs] =  $8 \times 10^{-7} \text{mol/L}$ )

对实验数据进行动力学拟合(表 2).结果表明在  $0.8 \times 10^{-6}$  和  $1.2 \times 10^{-6} \text{mol/L}$  2 种浓度条件下,Phe 及 MP 降解过程均符合零级动力学方程( $R^2 \geq 0.9738$ ),且其降解速率随浓度增大而增大.5 种 PAHs 降解速率大小顺序为 4-MP( $\alpha$ 位) $<$ 9-MP( $\alpha$ 位) $<$ 1-MP( $\alpha$ 位) $<$ 3-MP( $\beta$ 位) $\approx$ Phe,其中 3-MP 的降解速率常数分别是 1-MP、4-MP、9-MP 的 1.24、3.68、1.75 倍,可见 $\alpha$ 位取代的 MP 降解要明显慢于 $\beta$ 位取代的 MP. Malmquist 等<sup>[21]</sup>研究指出 A-PAHs 生物降解速率受烷基取代基位置的影响.俞頔等<sup>[22]</sup>分析了非溶解态烷基萘各异构体生物降解过程,证实了烷基萘在石油介质中的降解受控于异构体萘环上取代基位置.Wammer 和 Peters<sup>[23]</sup>研究了 *Sphingomonas yanoikuyae* 对溶解态甲基萘(MN) 异构体生物降解过程中发现类似的现象.结合本研究结果

### 2.3 空间位阻对跨膜过程的影响

芳香化合物如 PAHs 主要通过自由扩散进入细胞<sup>[11]</sup>.近年来,研究发现革兰氏阴性细菌细胞膜上存在一些胞外蛋白参与调节吸收芳香化合物<sup>[14]</sup>.Dimitriou-Cristidis 等<sup>[15]</sup>指出,较于母环 PAHs, A-PAHs 生物降解速率下降是由于烷基取代基的空间位阻不仅影响基质与酶结合,还影响其跨膜过程. Bressler 等<sup>[13]</sup>通过最大生物降解速率( $q_{\text{max}}$ )与理论最大跨膜通量( $J_{\text{max}}$ )的关系研究了 16 种溶解态有机污染物的跨膜过程与生物降解速率之间的关系.因此,为研究上述 5 种 PAHs 降解过程中跨膜作用,对表 3 中  $q_{\text{max}}$  和  $J_{\text{max}}$  进行线性拟合.

由图 2 可知,上述 PAHs 的  $q_{\text{max}}$  与  $J_{\text{max}}$  存在一定的相关性,表明跨膜过程是 PAHs 生物降解过程中的限速步骤<sup>[13,15]</sup>.由于  $J_{\text{max}}$  是由与浓度梯度相关的公式推导得到,因此这 5 种 PAHs 进入 US6-1 属于被动扩散<sup>[15]</sup>.另外,3-MP 和 4-MP 偏离这条趋势线.根据已有研究指出位于回归线上的 PAHs 生物降解速率受跨膜通量影响,可认为回归线以上的 3-MP 跨膜方式不仅包括自由扩散还涉及其他过

程,而位于线性回归以下的4-MP的降解不仅受跨膜的限制,还受酶转化的影响<sup>[13]</sup>.

表3 5种PAHs生物动力学参数

Table 3 Biokinetic parameters of the five kinds of PAHs

PAHs	初始浓度 ( $\times 10^{-6}$ mol/L)	$\log K_{ow}$	WM	$q_{max}$ [ $\times 10^{-7}$ mol/ (L·h)]	$J_{max}$ [ $\times 10^{-6}$ mol/ ( $cm^2 \cdot s$ )]
Phe	6.0	4.46	178.23	6.68	38.89
1-MP	1.2	5.08	192.29	1.66	31.21
3-MP	1.2	5.08	192.29	1.72	31.21
4-MP	1.2	5.09	192.29	0.685	31.94
9-MP	1.2	5.09	192.29	1.09	31.94

注: MP的 $q_{max}$ 为表2中浓度为 $1.2 \times 10^{-6}$  mol/L时降解速率;  $J_{max}$ 是根据文献Bressler<sup>[13]</sup>公式 $J_{max}=0.003 \times K_{ow} \times C \times WM^{1/2}$ 计算得到;  $\log K_{ow}$ 值由EPI Suite得到.

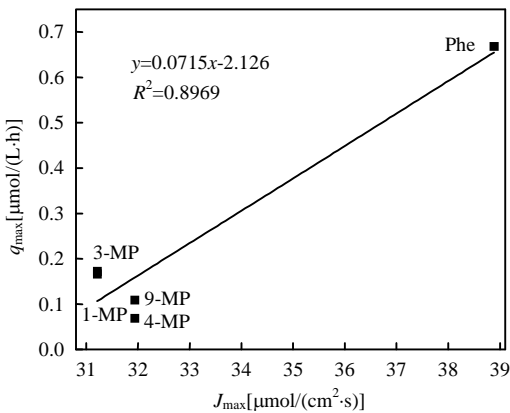


图2 理论最大跨膜通量和实际最大生物降解速率相关性分析

Fig.2 Relationship between the theoretical maximum transmembrane fluxes and the measured maximum biodegradation rates

30mmol/L NaN<sub>3</sub> 能抑制膜蛋白,短期内不会对酶活性产生影响<sup>[11,14]</sup>.为进一步探究 Phe 及 MP 进入 US6-1 的方式,即烷基取代基的位阻效应是否改变了 MP 跨膜过程,分别考察了 NaN<sub>3</sub> 对 Phe 和 MP 生物降解过程的影响(图3).

由图3可知,前3h NaN<sub>3</sub> 未影响 Phe 降解:3h 以内,Phe 浓度相差 $\pm 0.23 \times 10^{-7}$  mol/L;3.5h 时,未添加 NaN<sub>3</sub> Phe 的剩余浓度为  $1.33 \times 10^{-7}$  mol/L,添加 NaN<sub>3</sub> 组则为  $1.77 \times 10^{-7}$  mol/L.因此,比较 3h 内

NaN<sub>3</sub> 存在和不存在条件下 MP 的降解状况<sup>[14]</sup>,结果表明较于 Phe, NaN<sub>3</sub> 存在下 MP 降解受到抑制.可能原因是当 NaN<sub>3</sub> 存在时,膜蛋白被抑制,而 MP 进入细菌体内需膜蛋白参与,因此 MP 跨膜转运减少,导致 MP 降解速率减弱;Phe 跨膜过程主要是自由扩散,不受膜蛋白影响,短期内降解不受 NaN<sub>3</sub> 影响<sup>[15]</sup>.因此甲基取代基改变了 PAHs 跨膜方式:Phe 主要是自由扩散,MP 则需膜蛋白参与.MP 受抑制程度与取代基位置有关:4-MP (19.0%)>9-MP(11.1%)>3-MP(5.52%)>1-MP(8.78%),结合2.2节 MP 各异构体降解快慢趋势,发现 MP 受 NaN<sub>3</sub> 抑制程度与其生物降解过程存在相关性.有类似研究报道烃的跨膜传输具有选择性且选择的次序与细胞对底物降解的偏好性相符<sup>[26]</sup>.但通过现有的技术手段无法判断不同 MP 的膜上转运蛋白质性质,相关研究有待进一步开展.

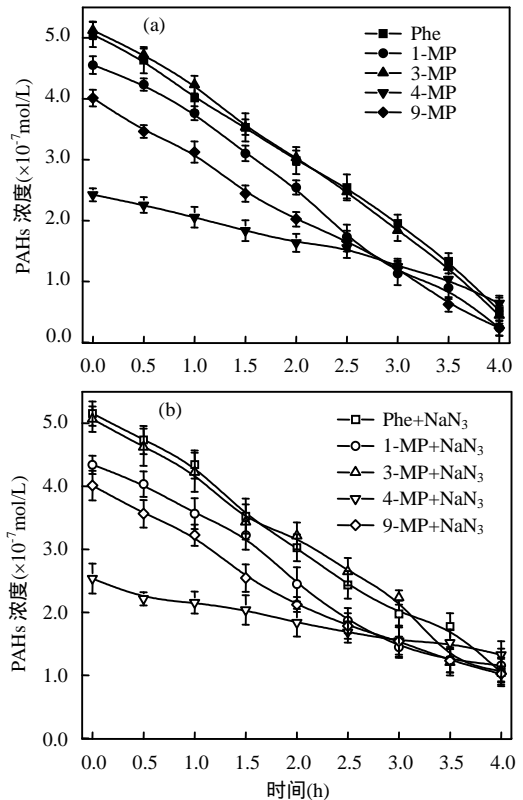


图3 5种PAHs在NaN<sub>3</sub>不存在(A)和存在(B)条件下的生物降解曲线

Fig.3 Biodegradation curves of the five kinds of PAHs in the absence (A) and presence (B) of NaN<sub>3</sub>

### 3 结论

3.1 Phe 和 MP 同步荧光法线性范围分别为 (0.08~6.00), (0.08~1.20) × 10<sup>-6</sup> mol/L, R<sup>2</sup> > 0.9912, 能够用于 US6-1 降解溶解态 MP 的过程研究。

3.2 菲环上不同位置的甲基取代基产生了不同空间位阻效应, 进而影响 MP 异构体的生物降解, 降解速率趋势为: 4-MP(α位) < 9-MP(α位) < 1-MP(α位) < 3-MP(β位), α位取代 MP 降解速率慢于 β位取代 MP。

3.3 甲基取代基产生的空间位阻效应改变 A-PAHs 跨膜方式, 且与取代基位置相关, 进而影响其生物降解过程。生物降解过程涉及如代谢物, 酶蛋白及膜转运蛋白等诸多因素, 因此为更全面了解 A-PAHs 生物降解过程及机理, 需进一步借助如蛋白质组学和代谢物组学进行研究。

#### 参考文献：

- [1] Billiard S M, Meyer J N, Wassenberg D M, et al. Nonadditive effects of PAHs on early vertebrate development: mechanisms and implications for risk assessment [J]. *Toxicological Sciences*, 2008, 105(1): 5-23.
- [2] Hong W J, Jia H, Li Y F, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and alkylated PAHs in the coastal seawater, surface sediment and oyster from Dalian, Northeast China [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 128: 11-20.
- [3] Mu J L, Wang J, Jin F, et al. Comparative embryotoxicity of phenanthrene and alkyl-phenanthrene to marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 85(2): 505-515.
- [4] 海婷婷, 陈颖军, 王 艳, 等. 民用燃煤烟气中甲基多环芳烃的排放特征 [J]. *中国环境科学*, 2013, 33(6): 979-984.
- [5] 杜丽娜, 高大文, 青顶拟多孔菌对单一和复合多环芳烃的降解特性 [J]. *中国环境科学*, 2011, 31(2): 277-282.
- [6] 唐玉斌, 王晓朝, 陈芳艳, 等. 芬降解优势菌的筛选鉴定及降解特性研究 [J]. *中国环境科学*, 2010, 30(8): 1086-1090.
- [7] 刁 硕, 王红旗, 许 洁, 等. 低温耐盐菌降解菌的筛选鉴定及降解特性研究 [J]. *中国环境科学*, 2017, 37(2): 677-685.
- [8] 蒙小俊, 李海波, 盛宇星, 等. 焦化废水活性污泥 PAH 双加氧酶基因多样性分析 [J]. *中国环境科学*, 2017, 37(1): 367-372.
- [9] 解宝玥, 金利群, 郑裕国, 等. 酰胺酶催化底物特异性的研究进展 [J]. *农药*, 2012, 51(7): 473-477.
- [10] 高兴军, 郭 明, 李 兵, 等. 二价金属离子与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. *浙江农林大学学报*, 2013, 30(5): 777-783.
- [11] Bugg T, Foght J M, Pickard M A, et al. Uptake and active efflux of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas fluorescens* LP6a [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(12): 5387-5392.
- [12] Chen B, Wang Y, Hu D. Biosorption and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aqueous solutions by a consortium of white-rot fungi [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 179(1): 845-851.
- [13] Bressler D C, Gray M R. Transport and reaction processes in bioremediation of organic contaminants. 1. Review of bacterial degradation and transport [J]. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 2003, 1(1): 1027-1043.
- [14] Dimitriou-Christidis P. Modeling the biodegradability and physicochemical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons [D]. Texas A&M University, 2005.
- [15] Dimitriou-Christidis P, Autenrieth RL, McDonald TJ, et al. Measurement of biodegradability parameters for single unsubstituted and methylated polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid bacterial suspensions [J]. *Biotechnology and bioengineering*, 2007, 97(4): 922-932.
- [16] 吴 芳, 朱亚先, 张 勇, 等. 利用发光细菌测试方法评价菲和蒽生物降解过程的毒性变化 [J]. *生态毒理学报*, 2014, 9(3): 445-452.
- [17] Zhang Z X, Zhu Y X, Zhang Y. Simultaneous determination of 9-ethylphenanthrene, pyrene and 1-hydroxypyrene in an aqueous solution by synchronous fluorimetry using the double scans method and hydroxyl-propyl beta-cyclodextrin as a sensitizer [J]. *Talanta*, 2015, 144: 836-843.
- [18] 张 勇, 朱亚先, 权改劲, 等. 同步荧光法检测蒽的微生物降解 [J]. *中国环境科学*, 2002, 22(4): 289-292.
- [19] Luo Y R, Kang S G, Kim S G, et al. Genome sequence of benzo(a)pyrene-degrading bacterium *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1 [J]. *Journal of bacteriology*, 2012, 194(4): 907-907.
- [20] Yun S H, Choi C W, Lee S Y, et al. Proteomic characterization of plasmid pLA1 for biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine bacterium, *Novosphingobium pentaromativorans* US6-1 [J]. *PLoS one*, 2014, 9(3): e90812.
- [21] Malmquist L M V, Selck H, Jørgensen K B, et al. Polycyclic aromatic acids are primary metabolites of alkyl-PAHs—a case study with nereis diversicolor [J]. *Environmental science & technology*, 2015, 49(9): 5713-5721.
- [22] 俞 颀, 崔志松, 沈冰芳, 等. 生物降解作用对烷基萘异构体分布的影响及其控制因素 [J]. *地球化学*, 2014, 43(2): 149-156.
- [23] Wammer K H, Peters C A. Polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation rates: a structure-based study [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(8): 2571-2578.
- [24] Zhong Y, Zou S, Lin L, et al. Effects of pyrene and fluoranthene on the degradation characteristics of phenanthrene in the cometabolism process by *Sphingomonas* sp. strain PheB4 isolated from mangrove sediments [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2010, 60(11): 2043-2049.
- [25] Luan T G, Kei S H, Zhong Y, et al. Study of metabolites from the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by bacterial consortium enriched from mangrove sediments [J]. *Chemosphere*, 2006, 65(11): 2289-2296.
- [26] 刘 晔, 牟伯中, 刘洪来. 烃的选择性跨膜传输 [J]. *微生物学通报*, 2006, 33(22): 63-67.

作者简介：杜 兰(1991-), 女, 安徽铜陵人, 厦门大学硕士研究生, 从事 PAHs 生物降解研究。