

嗜麦芽窄食单胞菌去除水中芘-镉复合污染的特性

邱云云¹, 尹 华^{2*}, 叶锦韶¹, 彭 辉¹, 秦华明¹, 李丽华¹, 张 娜¹

(1.暨南大学环境工程系, 广东省高校水土环境毒害性污染物防治与生物修复重点实验室, 广州 510632; 2.华南理工大学环境科学与工程学院, 工业聚集区污染控制与生态修复教育部重点实验室, 广州 510006)

摘要:考察了嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)对芘的降解及对镉(Cd)的吸附,并初步探讨了其修复芘、Cd单一污染和复合污染的机理。结果表明,随着芘浓度的升高,*S. maltophilia*对芘的降解率先上升后下降,在浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,降解率最高,经4 d达到65.74%。复合污染情况下,低浓度Cd(浓度小于 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)对菌降解芘没有显著的影响,当Cd浓度为 5 、 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,则会抑制*S. maltophilia*降解芘,且不利于Cd的去除。扫描电镜(SEM)结果显示,*S. maltophilia*在各污染体系中基本能保持完整形态,芘、Cd复合污染体系对菌体毒性作用最强,可导致菌体表面凹陷,少量菌体出现胀破现象。傅里叶变换红外光谱(FTIR)分析表明,随时间延长以及降解/吸附,芘-Cd会对*S. maltophilia*细胞表面基团产生影响。

关键词:芘;Cd;复合污染;嗜麦芽窄食单胞菌

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)03-0629-06 doi:10.11654/jaes.2013.03.032

Research on Characteristics of Removing Combined Contamination of Pyrene and Cadmium in Water by *Stenotrophomonas maltophilia*

QIU Yun-yun¹, YIN Hua^{2*}, YE Jin-shao¹, PENG Hui¹, QIN Hua-ming¹, LI Li-hua¹, ZHANG Na¹

(1.Department of Environmental Engineering, Key Laboratory of Water/Soil Toxic Pollutants Control and Bioremediation of Guangdong Higher Education Institutes, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2.College of Environmental Science and Engineering, South China University of Technology, Key Laboratory of Pollution Control and Ecosystem Restoration in Industrial Clusters, Ministry of Education, Guangzhou 510006, China)

Abstract: The characteristics of pyrene degradation and Cd adsorption by *Stenotrophomonas maltophilia* were investigated and the mechanisms of repairing the single pollution of pyrene, Cd and the co-contamination of these two by the strain were preliminarily studied. The results showed that the degradation efficiency of pyrene firstly ascended and then descended with the increase of pyrene concentration. The highest degradation ratio of 65.74% was reached when pyrene concentration came up to $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ after 4 d. Under the circumstance of pyrene-Cd combined contamination, low concentration of Cd (less than $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) played no significant influence on the degradation of pyrene, while high concentrations of Cd ($5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) inhibited pyrene degradation and was detrimental to Cd removal. The SEM observation indicated that *S. maltophilia* could maintain integral shape in either pollution system, while the combined pyrene-Cd exhibited the worst toxicity on the cell since it caused local depression on cell surface and some cells busted. FTIR analysis showed that with increasing time as well as the degradation/adsorption of pyrene - Cd some changes were made on the cell surface groups.

Keywords: pyrene; cadmium; combined contamination; *Stenotrophomonas maltophilia*

环境污染多具有复杂性和综合性^[1-2]。多环芳烃(PAHs)和重金属就是环境中两类普遍存在的典型持久性污染物,它们在环境中共存时会产生复合效应。

这种复合污染现象常常难以用单一污染的作用机理来解释,过去依赖单一效应制定的有关评价标准也无法真实反映环境质量要求^[3]。因此,复合污染的研究已成为环境科学发展的重要方向之一^[4]。目前,关于单一或多种重金属的微生物吸附^[5-8]或低分子量PAHs的微生物降解已有较广泛的研究^[9-13],而有关PAHs和重金属复合污染的微生物修复及机理的研究尚不多见^[7]。为此,本实验以珠三角水体及底泥中普遍检出的

收稿日期:2012-08-07

基金项目: 国家自然科学基金委-广东省联合基金重点项目(U0933002);国家自然科学基金项目(50978122);广州市科技局科技计划项目(2011J4300075)

作者简介:邱云云(1987—),女,硕士研究生。E-mail: jianl629@126.com

*通信作者:尹 华 E-mail: thyin@jnu.edu.cn

芘、Cd 为代表污染物,以本课题组前期研究筛选获得的 1 株具有 PAHs 高效降解能力和对重金属有强耐受性的菌株嗜麦芽窄食单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*)为实验菌株,探讨了不同污染物浓度对 *S. maltophilia* 降解/吸附芘和 Cd 复合污染的影响。利用扫描电镜观察芘、Cd 单一及复合污染条件下菌体细胞表面形态的变化,并通过红外光谱分析菌体细胞表面参与降解/吸附反应的主要基团,以期为微生物修复有机物和重金属复合污染的机制研究提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

本课题组前期研究筛选获得的 1 株具有 PAHs 高效降解能力和重金属强耐受能力的菌株,经鉴定为嗜麦芽窄食单胞菌(*S. maltophilia*)^[14]。

1.2 药品及试剂

葡萄糖、淀粉、乳糖、酵母粉、蔗糖、NaCl、牛肉浸膏、蛋白胨、无水 Na_2SO_4 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 等均购自广州化学试剂厂,为 AR 级。甲醇为 HPLC 级。

芘储备液:称取芘 10 mg,溶于 50 mL 甲醇,即得到 $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的芘储备液。

Cd 储备液:称取 1.63 g CdCl_2 溶于 1 L 去离子水中,即得到浓度为 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Cd 储备液。

1.3 培养基与培养条件

牛肉膏蛋白胨培养基制备:牛肉浸膏 5 g,蛋白胨 10 g,NaCl 5 g,蒸馏水 1000 mL,pH 7.0 左右。

菌悬液制备:将菌株接种到牛肉膏蛋白胨培养基中培养 36 h,取培养液在 $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下离心 10 min,收集菌体,用无菌水洗涤菌体并制成一定浓度的菌悬液。

无机盐培养基制备: NH_4NO_3 1 g, KH_2PO_4 0.4 g, Na_2HPO_4 0.6 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.008 g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.002 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.002 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.002 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.002 g,双蒸水 1000 mL,pH 7.0。

培养条件:如无特别说明,均为 25°C , $130 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 恒温培养箱振荡培养。

1.4 分析方法

1.4.1 芘的萃取及测定方法

芘的萃取^[7]:取出样品后,用 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 溶液调节样品 pH 至 2,将样品转入 125 mL 分液漏斗,加

入等体积的二氯甲烷萃取,充分混合后静置分层,收集下层有机相,上层水相依前法再萃取 1 次,合并两次萃取液,用无水硫酸钠脱水,于 35°C 旋转蒸发至干,用甲醇洗涤、浓缩定容至 10 mL,最后再用甲醇稀释 2 倍定容到 1 mL,尽快上机分析。此方法加标回收率在 71.69%~117.15%之间,达到回收率要求。

芘浓度采用高效液相色谱仪测定(Shimadzu, Japan),分析条件为:色谱柱为 Inertsil ODS-SP C18 反相柱($5 \mu\text{m}$, $4.6 \times 250 \text{ mm}$);紫外检测波长 254 nm;流动相为甲醇/水(90/10,体积比),流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;分析时间 7 min;柱温 25°C ;进样量 $20 \mu\text{L}$ 。

1.4.2 Cd 质量浓度测定方法

Cd 的测定:将单一 Cd 污染和复合污染的培养体系转入离心管,用高速冷冻离心机离心(离心条件: $6000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 5 min, 4°C),将上清液移至 10 mL 容量瓶,用稀释水(1%硝酸)稀释定容,样品利用原子吸收分析仪(AA-7000,日本岛津)进行分析。

1.5 实验设计

1.5.1 芘浓度对菌降解芘的影响

将一定体积的芘储备液分别加入到已灭菌的双蒸水中,使得芘浓度为 0.5、1、2、4、8 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,接入 1 mL 菌悬液,得到菌浓度为 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,控制每瓶装溶液 20 mL,置于摇床中振荡培养。4 d 后取样分析芘的浓度(前期开展的 *S. maltophilia* 降解芘性能研究实验结果表明 4 d 时菌对芘的降解效果较好,因此选取 4 d 作为本实验时间),计算菌体降解芘的效率。以未加菌体系作为对照。每个处理设置 3 个平行样,进行 2 次重复实验。

1.5.2 Cd 浓度对菌处理复合污染的影响

分别在总体积为 20 mL 的灭菌双蒸水体系中接入 1 mL 菌悬液,并加入芘和 Cd 溶液,使得芘最终浓度为 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,Cd 最终浓度分别为 0.1、0.5、1、5、10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,将样品置于摇床中振荡培养。设置未加菌样品组作为对照。4 d 后取样,采用液液萃取方法将芘提取出来,分析其残留量,同时另一组样品直接离心分离取上清液分析 Cd 残留量。每个处理设置 3 个平行样,进行 2 次重复实验。

1.5.3 菌体表面形态观察

分别将处理 4 d 后的 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 芘单一污染、 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 单一污染和芘-Cd 复合污染体系(芘: $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Cd: $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的细胞经清洗、戊二醛固定、乙醇梯度脱水、干燥、喷金等操作后于扫描电镜(JSM-6360LV,日本)下观察,以无污染物体系的菌体为对

照,观察菌体表面形态变化。

1.5.4 菌体红外光谱分析

将培养时间分为1 d和4 d,实验分为3个处理,即对照无机盐培养基体系、 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 芘体系、 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 芘+ $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd体系,接种1 mL菌悬液至上述处理中,使最终体积均为20 mL,振荡培养,将体系离心分离,弃去上清液,菌体分别用去离子水洗涤3次,置于冷冻干燥器干燥至恒重,加少量KBr粉末混合并研磨、压片后用FTIR光谱仪(Bruker Equinox 55,德国)测定并记录红外光谱。

2 结果与分析

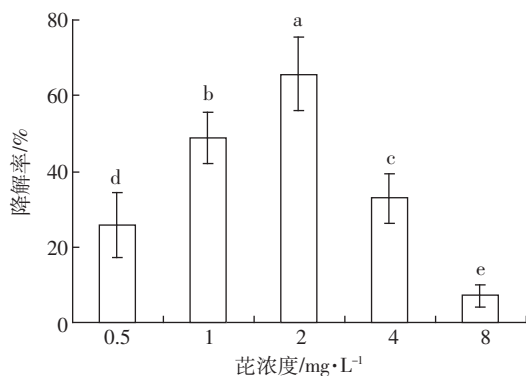
2.1 芘浓度对 *S. maltophilia* 降解芘的影响

由图1可知,菌体对浓度为 $0.5\sim 8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的芘都具有降解能力,但是污染物浓度不同,菌对芘的降解效果差异显著,在17.76%~65.74%之间变动。菌对芘的降解率随着芘浓度的增加呈现一个先升高后下降的趋势,在芘浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时最高,为65.74%。这是因为体系中只有芘作为菌体生长的碳源,当芘浓度较低时($\leq 2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),菌体可以有效地利用其维持生长,此时芘不会对菌产生毒性,随着芘浓度的增加,*S. maltophilia*对芘的降解速率增大(图2)。当芘浓度较高时($>2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),对菌体的毒害作用增强,抑制菌体生长代谢,不利于*S. maltophilia*对芘的有效去除,此时体系中芘的降解速率逐渐降低。

2.2 Cd浓度对 *S. maltophilia* 处理复合污染的影响

Cd是一种生物非必需的毒性作用较强的重金属,它的浓度高低对菌体降解芘产生了一定的影响,结果如图3所示。

当Cd浓度小于 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着Cd浓度的升高,芘的降解率分别为52.02%(Cd $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、



图中不同字母表示差异显著($P<0.05$),下同

图1 芘浓度对降解率的影响

Figure 1 Effect of concentration of pyrene on biodegradation

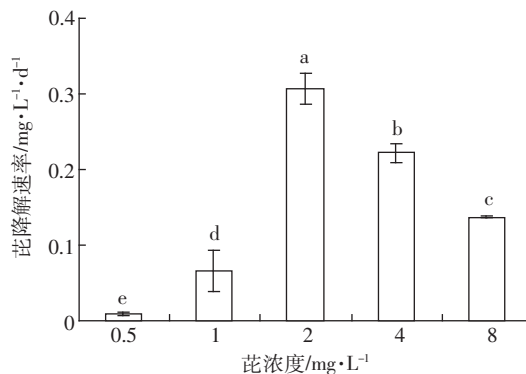


图2 *S. maltophilia* 对不同浓度芘的降解速率

Figure 2 Degradation rate of different concentration of pyrene by *S. maltophilia*

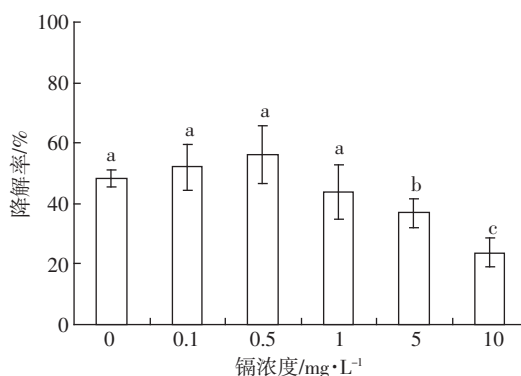


图3 Cd浓度对芘降解率的影响

Figure 3 Effect of Cd concentration on biodegradation in pyrene-Cd coexisted system

56.11%(Cd $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)。对实验结果进行统计分析(t 检验),结果表明,当Cd浓度小于等于 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,随着Cd浓度的升高,芘的降解率并无显著变化,即当降解体系中Cd浓度较低($\leq 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)时,其对芘的微生物降解影响不大。

当Cd浓度增大到 $5、10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 后,芘降解率明显降低,在Cd浓度为 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芘的降解率仅为23.72%,这说明高浓度Cd的存在严重抑制了菌体对芘的降解。

低浓度Cd的加入,刺激菌体降解芘的关键酶的活性,促进菌体对芘的降解。Ke等^[15]研究了Cd、Zn等5种重金属混合物对羊角月牙藻降解芘、苯并[a]芘等5种PAHs的影响,结果发现,一定浓度的重金属会促进羊角月牙藻对部分PAHs的降解,这是因为低浓度重金属会刺激羊角月牙藻体内降解PAHs酶的活性,从而导致PAHs降解率提高,但当重金属胁迫过大时,就会抑制酶的活性,进而影响藻对PAHs的降解效果。本实验中低浓度的Cd可能促进了降解芘的微

生物酶的活性,从而使芘降解率升高,而高浓度的 Cd 则抑制了酶的活性,使得芘的去除率下降,这与 Sun 等^[16]在研究 Cu、Pb、Cd 和苯并[a]芘复合污染的植物修复过程中,发现低浓度的重金属会促进植物对苯并[a]芘的吸收转化,而高浓度抑制植物对苯并[a]芘的吸收结果相类似。

芘-Cd 复合污染体系中菌体对 Cd 的吸附实验结果显示(图 4),Cd 浓度在 0.5~1 mg·L⁻¹ 之间,菌体对其的去除效果最好,且没有显著差异。当 Cd 浓度较低,为 0.1 mg·L⁻¹ 时,体系中芘的浓度远大于 Cd 的浓度,芘的降解占了主导,使得菌体同 Cd 的接触以及 Cd 在菌体细胞的传质受到阻碍。随着 Cd 浓度增加, Cd 同芘竞争菌体细胞表面活性位点,逐渐抑制菌降解芘,同时菌体细胞表面活性位点趋于饱和,影响其对 Cd 的吸附去除。

综上可知,在芘-Cd 复合污染体系中,低浓度的 Cd 有利于 *S. maltophilia* 降解芘。但当 Cd 浓度大于 1 mg·L⁻¹ 时,菌体对芘的降解效果下降,同时对 Cd 的吸附率也降低。

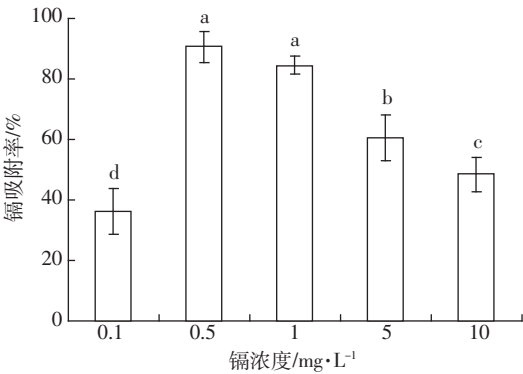


图 4 复合污染中 Cd 的吸附率

Figure 4 Biosorption efficiency of cadmium in combined pollution

2.3 菌体表面形态观察

为了考察污染物体系中菌体细胞是否发生变化,本组实验利用扫描电镜(SEM)观察菌体表面形态,实验结果如图 5 所示。

总体上看,菌体体型较大,空白体系(a)和芘单一污染体系(c)中的细胞较 Cd 单一污染(b)、复合污染体系(d)的细胞更为粗壮、饱满;在空白体系和芘单一污染体系中,大部分菌体能基本保持正常形态,且菌体间相对分散,没有出现粘结在一起的现象。而在 Cd 污染体系中,菌体细胞变形明显,有的出现凹陷,细胞表面相对粗糙,且菌体通过胞外分泌物粘结在一

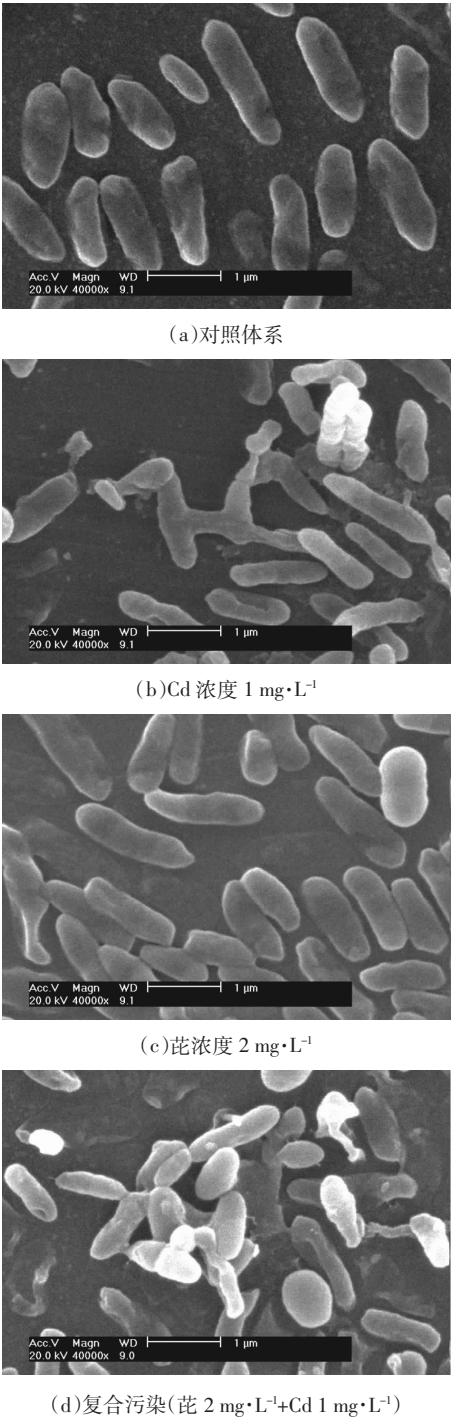


图 5 细胞的 SEM 图

Figure 5 SEM images of *Stenotrophomonas maltophilia*

起。这些现象在复合污染体系中表现得更为明显。

通过 SEM 观察说明,经过污染物作用 4 d 后,菌体细胞虽然发生了变形,但是仍可以保持完整的细胞形状,对污染物具有较强的耐受性。相比芘对菌体的作用,Cd 对菌细胞的作用更明显,这主要是因为适宜浓度的芘可以作为菌体的碳源维持其生长代谢,而重

金属 Cd 并非菌体生长的必需元素,对菌体具有毒害作用。在 Cd 的刺激下,菌体分泌胞外物质使菌体细胞粘结成团。

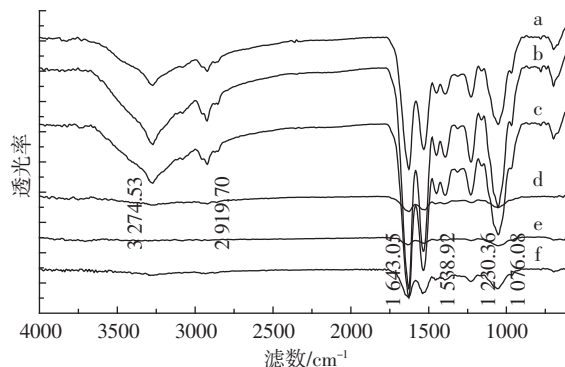
2.4 菌体红外光谱分析

砷单一污染、砷-Cd 复合污染及对照体系中菌体的红外光谱图见图 6。在相同的处理时间内,砷单一污染、复合污染和对照体系中菌体的红外光谱峰形基本一致,三者对照未出现明显的新吸收峰,说明菌体对污染物的降解/吸附作用并没有破坏菌体细胞表面的完整性。SEM 结果可以证实,污染物的作用虽然使菌体细胞变形,但是菌体依然维持完整的细胞表面形状。

按文献解读红外光谱图可知^[17],在 $3272\sim 3289\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰来自细胞壁上蛋白质不饱和碳的 C-H 键伸缩振动、N-H 和 O-H 的伸缩振动; $2923\sim 2934\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰为蛋白质上饱和碳的 C-H 键伸缩振动带; 1627 cm^{-1} 的吸收峰为酰胺 I 带,是 C=O 的伸缩振动; 1538 cm^{-1} 处的吸收峰为酰胺 II 带,是 N-H 的弯曲振动与 C-N 伸缩振动的叠加,这两个峰是蛋白质的特征谱带。在处理时间为 1 d 时,与对照体系(a)比较,砷污染体系(b)和复合污染体系(c)中 1538 cm^{-1} 和 1627 cm^{-1} 处的吸收峰强度明显增大,说明菌降解砷和吸附 Cd 的过程与基团 C=O、N-H、C-N 有关^[18-19]; 1393 、 1455 cm^{-1} 的吸收峰分别属于蛋白质分子中 $-\text{CH}_3$ 的对称和反对称弯曲振动; 1227 cm^{-1} 附近的吸收峰是 O-H 面内弯曲振动,可能还有 P=O 的伸缩振动; $1053\sim 1056\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰主要来自糖环 C-O-H 的伸缩振动,以及脂类 C-O-C 键的伸缩振动,可能也有 $-\text{PO}_4^{3-}$ 的伸缩振动。

对比处理时间 1 d(图 6 中 a、b、c 曲线)和 4 d(图 6 中 d、e、f 曲线)的实验结果,相应体系中菌体的红外光谱均发生明显变化,且变化趋势相似(a 和 d, b 和 e, c 和 f)。可以观察到 3272 cm^{-1} 和 $2923\sim 2934\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰不见了,但是同一处理时间,该波数处的吸收峰没有明显差异,表明菌体降解/吸附过程同细胞壁上 $-\text{CH}$ 、 $-\text{NH}$ 或 $-\text{OH}$ 关系不大,但是同培养时间密切相关。随时间延长,体系中营养物质逐渐减少,不能满足菌体正常的新陈代谢,从而导致其表面基团发生变化^[20-21]。

另外,从图谱上看出,同一时间不同处理体系谱线在 $1053\sim 1056\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰强度发生了不同程度的变化,污染体系谱线吸收峰的强度较空白对照明显增强(见谱线 b、c 和 a 的比较, e、f 和 d 的比较),表明细胞壁上多糖和脂类基团也活跃参与菌体对污染



a:对照培养基体系 1 d;b:外加 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷体系 1 d;c:外加 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷、 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 体系 1 d;d:对照培养基体系 4 d;e:外加 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷体系 4 d;f:外加 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 砷、 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 体系 4 d

图 6 菌体处理污染物前后的红外光谱图

Figure 6 FTIR spectra of *S. maltophilia* before and after bioremediation

物的降解与吸附^[22-23]。

3 结论

(1)在砷浓度为 $0.5\sim 8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的范围内,嗜麦芽窄食单胞菌对砷的降解率呈现先升高后下降的趋势,在砷浓度为 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时达到最高,4 d 的降解率为 65.74%。

(2)Cd 浓度为 $0\sim 1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对复合污染体系中菌体对砷的降解影响不明显,而当 Cd 浓度大于 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,则表现为抑制作用,且 Cd 浓度越大,抑制作用越明显。同时,体系中菌体对 Cd 的吸附率也出现先增大后减小的现象。

(3)SEM 观察可知,对菌体影响最大的是砷-Cd 复合污染,其次是 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cd 溶液,而 $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的砷溶液影响最小。污染物的作用导致菌体变形,但是仍维持完整的细胞结构,说明 *S. maltophilia* 对砷、Cd 污染具有较强的耐受性。

(4)傅里叶变换红外光谱分析表明,实验浓度的砷和 Cd 并不会破坏菌体表面的完整性,也不会引起细胞表面主要官能团的明显改变。但是随着培养时间延长,由于营养物质的减少,导致菌体表面部分基团发生明显变化。

参考文献:

- [1] Sebastien Roy, Suzanne Labelle, Punita Mehta, et al. Phytoremediation of heavy metal and PAH-contaminated brownfield sites[J]. *Plant and Soil*, 2005, 272(1-2): 277-290.
- [2] 寇士伟,倪高风,马岚婷,等. Cd-Pb-Cu 复合污染对芥菜生长及生理特性的影响[J]. *环境科学研究*, 2011, 24(3): 281-286.

- KOU Shi-wei, NI Gao-feng, MA Lan-ting, et al. Effects of Cd, Pb and Cu compound pollution on the growth and physiological characteristics of mustard plants[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2011, 24(3):281-286.
- [3] 张慧, 党志, 姚丽贤, 等. 镉砷单一污染和复合污染对土壤微生物生态效应的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(6):2225-2230.
- ZHANG Hui, DANG Zhi, YAO Li-xian, et al. Eco-toxicological effect of cadmium and pyrene combined and simplex pollution on soil microb[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(6):2225-2230.
- [4] Shen G Q, Cao L K, Lu Y T, et al. Influence of phenanthrene on cadmium toxicity to soil enzymes and microbial growth[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2005, 12(5):259-263.
- [5] Maliszewska K, Smreczak B. Habitat function of agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination[J]. *Environment International*, 2003, 28:719-728.
- [6] 彭素芬, 尹华, 邓军, 等. 微生物对水-沉积物中苯并[a]砷-镉复合污染修复的研究[J]. 生态环境学报, 2010, 19(12):2966-2972.
- PENG Su-fen, YIN Hua, DENG Jun, et al. Remediation of benzo[a]pyrene-cadmium combined pollution in water and sediment by microorganism[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2010, 19(12):2966-2972.
- [7] 邓军, 尹华, 叶锦韶, 等. 氧化节杆菌与苯并[a]砷-镉复合污染交互作用机理[J]. 化工学报, 2010, 61(3):747-753.
- DENG Jun, YIN Hua, YE Jin-shao, et al. Interaction mechanism between *Arthrobacter geydani* and BaP-Cd[J]. *CIESC Journal*, 2010, 61(3):747-753.
- [8] 咎逢宇, 霍守亮, 席北斗, 等. 啤酒酵母吸附去除水中 Cd²⁺的影响因素[J]. 化工进展, 2010, 29(2):365-374.
- ZAN Feng-yu, HUO Shou-liang, XI Bei-dou, et al. Influence factors for the biosorption of Cd²⁺ by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2010, 29(2):365-374.
- [9] Chang F Y, Chen J C, Wey M Y. The activity of Rh/Al₂O₃ and Rh-Na/Al₂O₃ catalysts for PAHs removal in the waste incineration processes: Effects of particulates, heavy metals, and acid gases[J]. *Fuel*, 2009, 88(9):1563-1571.
- [10] Meyer S, Steinhart H. Effects of heterocyclic PAHs(N, S, O) on the biodegradation of typical tar oil PAHs in a soil/compost mixture[J]. *Chemosphere*, 2000, 40(4):359-367.
- [11] Lei L, Khodadoust A P, Suidan M T, et al. Biodegradation of sediment-bound PAHs in field contaminated sediment[J]. *Water Research*, 2005, 39(2-3):349-361.
- [12] Li P J, Li X J, et al. Investigation on the photocatalytic degradation of pyrene on soil surfaces using nanometer anatase TiO₂ under UV irradiation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 174(1-3):859-863.
- [13] Oleszczuk P. Application of three methods used for the evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) bioaccessibility for sewage sludge composting[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(1):413-420.
- [14] 张娜, 尹华, 彭辉, 等. 嗜麦芽窄食单胞菌 J12 对砷的降解特性[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(4):6-9.
- ZHANG Na, YIN Hua, PENG Hui, et al. Pyrene degradation by *Stenotrophomonas maltophilia* J12 and its degradation characteristics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 33(4):6-9.
- [15] Lin Ke, Lijuan Luo, Ping Wang, et al. Effects of metals on biosorption and biodegradation of mixed polycyclic aromatic hydrocarbons by afreshwater green alga *Selenastrum capricornutum*[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(18):6950-6961.
- [16] Yuebing Sun, Qixing Zhou, Yingming Xu, et al. Phytoremediation for co-contaminated soils of benzo[a]pyrene(BaP) and heavy metals using ornamental plant *Tagetes patula*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 186(2-3):2075-2082.
- [17] 朱淮武. 有机分子结构波谱解析[M]. 北京:化学工业出版社, 2005.
- ZHU Huai-wu. Spectral analysis of organic molecular structure[M]. Beijing:Chemical Industry Press, 2005.
- [18] 邓军. 氧化节杆菌对苯并[a]砷-镉复合污染的生物修复及机理研究[D]. 广州:暨南大学硕士论文, 2010.
- DENG Jun. Study of Bioremediation and mechanism of the combined pollution of BaP-Cd in water body by *Arthrobacter Oxydans*[D]. Guangzhou: Master Dissertation of Jinan University, 2010.
- [19] 邱云云. 嗜麦芽窄食单胞菌对水体中砷、镉的修复研究[D]. 广州:暨南大学硕士论文, 2011.
- QIU Yun-yun. Bioremediation of pyrene and cadmium in water body by *Stenotrophomonas Maltophilia*[D]. Guangzhou: Master Dissertation of Jinan University, 2011.
- [20] Lopes W A, Fascio M. Flow chart for infrared spectra interpretation of organic compounds[J]. *Quimica Nova*, 2004, 27(4):670-673.
- [21] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M]. 北京:科学出版社, 2002.
- NING Yong-cheng. Organic compound identification and organic spectroscopy[M]. Beijing:Science Press, 2002.
- [22] Jinshao Ye, Hua Yin, Bixian Mai, et al. Biosorption of chromium from aqueous solution and electroplating wastewater using mixture of candida lipolytica and dewatered sewage sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 101(11):3893-3902.
- [23] Mariey L, Signolle J P, Amiel C, et al. Discrimination, classification, identification of microorganisms using FTIR spectroscopy and chemometrics[J]. *Vib Spectrosc*, 2001, 26(2):151-159.