

# 食油假单胞菌 DT4 菌株对四氢呋喃(THF)的降解特性

周玉央, 陈东之\*, 金小君, 陈建孟, 何杰

(浙江工业大学生物与环境工程学院, 杭州 310032)

**摘要:**对某医药厂废水池的活性污泥进行长期驯化,分离筛选到 1 株在好氧条件下能以四氢呋喃(tetrahydrofuran, THF)为唯一碳源和能源生长的食油假单胞菌 DT4 (*Pseudomonas oleovorans* DT4)。研究发现在初始 pH 值 7.2、温度 30℃、初始菌体浓度 3.2 mg/L 的条件下, *P. oleovorans* DT4 能够于 14 h 内将 5 mmol/L THF 完全降解, 菌体浓度达到 188.6 mg/L。另外, 在 THF 完全降解后 1 h, 最终溶液中总有机碳及无机碳浓度分别达到 0 mg/L 和 46 mg/L, 且培养基的 pH 值降至 6.54, 呈弱酸性, 说明 *P. oleovorans* DT4 降解 THF 是一个彻底矿化的过程。通过摇瓶实验考察了温度、pH、供氧方式、金属离子等因素对菌株 DT4 降解 THF 性能的影响, 获得其较适宜的生长和降解条件为: 温度 37℃、pH 值 7.5, 自然转动供氧状态适宜菌体生长及对 THF 的降解, 最适  $Mg^{2+}$  和  $Ca^{2+}$  浓度分别为 0.80 mmol/L 和 0.20 mmol/L。研究成果对高效处理环境中的 THF 污染具有重要的应用价值。

**关键词:**四氢呋喃; 食油假单胞菌; 生物降解; 降解性能; 矿化

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2011)01-0266-06

## Characteristics of Tetrahydrofuran Degradation by *Pseudomonas oleovorans* DT4

ZHOU Yu-yang, CHEN Dong-zhi, JIN Xiao-jun, CHEN Jian-meng, HE Jie

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

**Abstract:** A tetrahydrofuran (THF)-degrading strain *Pseudomonas oleovorans* DT4 was isolated from the activated sludge of a pharmaceutical plant. *P. oleovorans* DT4 was able to utilize THF as the sole carbon and energy source under aerobic condition. 5 mmol/L of THF could be completely degraded by 3.2 mg/L inoculums of *P. oleovorans* DT4 in 14 h at pH 7.2 and 30℃, with the cells concentration increasing to 188.6 mg/L. After the complete consumption of THF, no TOC could be detected but IC reached the stable value of about 46 mg/L, with pH decreasing to 6.54, which indicated that the substance was totally mineralized by *P. oleovorans* DT4. The optimum conditions for THF biodegradation in shaking flasks were pH 7.5 and temperature 37℃, respectively. Results from the oxygen control experiments revealed that the oxygen supply by shaking was the satisfactory growth condition. Additionally, as the important elements for DT4,  $Mg^{2+}$  and  $Ca^{2+}$  at concentrations of 0.80 mmol/L and 0.20 mmol/L, respectively, were suitable for THF degradation. All the results contribute to the efficient bioremediation for the THF contaminated.

**Key words:** tetrahydrofuran(THF); *Pseudomonas oleovorans*; biodegradation; degradation characteristics; mineralization

四氢呋喃(tetrahydrofuran, THF)属环烃类毒物,为无色透明液体,可溶解大多数有机物,有“万能溶剂”之称。THF 是一种细胞色素酶 P450 抑制剂,对皮肤和黏膜有刺激作用;对动物肝细胞有毒害作用<sup>[1,2]</sup>和较强的致癌性<sup>[3]</sup>。THF 还会抑制活性污泥中微生物的脱氢酶和好氧呼吸作用,影响磷酸酶、脲酶和过氧化氢酶等的活性<sup>[4,5]</sup>。随着 THF 消费量的逐年增加,THF 的环境污染问题日趋严重。美国地下水井中已发现有 THF 的污染<sup>[6]</sup>;李海燕等<sup>[7]</sup>发现我国某药厂出厂水和某饮用地表水均存在 THF 的污染。因此寻找有效去除 THF 的方法具有十分重要的意义。

与物理化学方法相比,生物降解具有经济且不会产生二次污染的优势,因此被广泛关注<sup>[8]</sup>。虽然 THF 由于结构中醚功能团的存在使其不易被微生物降解,并曾一度被归为“不可生物降解化合

物”<sup>[9]</sup>。但随着德国学者 Bernhardt 和 Bock<sup>[10,11]</sup>等首次分离出来 1 株能以 THF 为唯一碳源的菌株 *Rhodococcus rubber*, 有关 THF 生物降解的研究开始陆续被报道。目前报道的 THF 降解菌还有 *Pseudonocardia dioxanivorans*<sup>[12,13]</sup>、*P. tetrahydrofuranoxydans* strain K1<sup>[14,15]</sup>、*Pseudonocardia* sp. M1<sup>[16]</sup>、*Pseudonocardia* sp. ENV478<sup>[17]</sup>、*Cordyceps sinensis*<sup>[18]</sup>、*Rhodococcus* sp. YYL<sup>[19]</sup>以及气单胞菌属<sup>[20,21]</sup>。但上述菌株均存在以 THF 为唯一碳源和能源时生长缓慢、生物量积累期长,THF 降解效率低的问题,因此筛选高效 THF 降

收稿日期:2010-02-25;修订日期:2010-04-12

基金项目:国家自然科学基金项目(20907043);浙江省研究生创新科研项目(YK2008033);浙江工业大学科学研究基金项目(20090116)

作者简介:周玉央(1983~),女,博士研究生,主要研究方向为环境生物技术, E-mail: zyy0616@163.com

\* 通讯联系人, E-mail: cdz@zjut.edu.cn

解菌株是环境污染治理的关键之一.本研究从浙江某医药厂污水池的活性污泥中,筛选出了 1 株高效 THF 降解菌,并对其降解 THF 的特性和影响因素进行了分析,以期揭示 THF 生物降解的基本规律,并为其在生物修复和环境中 THF 去除的应用提供基本参数和理论依据.

## 1 材料与方 法

### 1.1 菌种来源

从浙江某医药厂污水池采集的活性污泥中分离得到的 1 株能够以 THF 为唯一碳源的菌株.

### 1.2 培养基组成

无机盐培养基(MM 培养基)的配制(g/L): $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  4.50、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.00、 $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.50、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.20、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.03, 1.00 mL 微量元素溶液<sup>[10]</sup>.

R2A 培养基(g/L):酵母 0.50、酪蛋白酸水解物 0.50、可溶性淀粉 0.50、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05、胰蛋白胨 0.25、葡萄糖 0.50、丙酮酸钠 0.30、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.30、琼脂 15.00, pH 7.2.

### 1.3 菌种的筛选及纯化

将浙江某医药厂废水池采集的活性污泥,放置于广口瓶中,以 THF 为唯一碳源和能源,进行驯化.数月后,将活性污泥接种于含 50 mL 的 MM 培养基 250 mL 密封盐水瓶中,以 5 mmol THF 作为唯一碳源和能源,富集培养.

将经过多次传代富集的混合菌液稀释涂布,依据菌落形态的差异性,挑取单菌落.对单菌落进行多次划线分离后,再接至以 THF 为唯一碳源和能源的 MM 培养基中,测试降解活性.选择具有 THF 降解能力的纯菌,再继续分离纯化.

### 1.4 细菌生物学鉴定

#### 1.4.1 细菌生理生化指标测定

菌株形态及主要生理生化特性的测定参照文献[22],碳源利用情况采用 Biolog 细菌鉴定系统(Biolog Hayward, CA, USA)进行鉴定. GN2 微孔板的 95 个样品孔中各含有不同碳源,对照孔不含任何碳源,每孔接种 150  $\mu\text{L}$  待鉴定菌株的稀释培养物,培养 24 h 后测定代谢指数.

#### 1.4.2 菌株 16S rRNA 扩增及菌种鉴定

DNA 提取:用 1 mL 无菌水将纯化后的菌株 DT4 从 R2A 斜面上洗脱下来,并将菌悬液浓缩至 50  $\mu\text{L}$ ,将浓缩液煮沸(变性)、离心,取上清液作为 PCR 模板.

PCR 扩增:选用细菌的通用引物 BSF8/20 和 BSR1541/20. 94 $^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min, 35 个循环(94 $^{\circ}\text{C}$  变性 60 s, 59 $^{\circ}\text{C}$  退火 60 s, 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 90 s), 最终 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$  保温 10 min<sup>[23]</sup>. PCR 扩增产物经 1.5% Agarose 胶检验后交由宝生物工程(大连)有限公司测序.

菌株 16S rRNA 序列分析:利用 BLAST 将所测得序列与 GenBank 数据库中的 16S rRNA 基因序列进行同源性比较分析,选取 1 500 bp 左右的长度进行比对(Clustelx 1.81),采用邻位连接法(Neighbour Joining, NJ)进行系统学分析(MEGA 4.0).

### 1.5 THF 降解菌培养与降解特性考察

将分离纯化后的 THF 降解菌从斜面接至 MM 培养基(含 5 mmol/L THF),在 30 $^{\circ}\text{C}$ 、转速为 160 r/min 的摇床中培养,培养至对数生长期后,作为种子液;将种子液中的菌体直接接入新鲜的 MM 液体培养基中,并加 5 mmol/L THF,观察菌体生长情况及 THF 降解情况.所有实验均设平行实验,并作空白对照.

### 1.6 分析方法

菌体浓度的测定:采用日立 U-2910 双光速紫外/可见分光光度计(HITACHI U-2910 Double Beam UV/Vis spectrophotometer, Tokyo, Japan),于 600 nm 波长下测定菌体的吸光度( $D_{600}$ ),并通过已建立的细胞干重- $D_{600}$ 的关系式,将其转换为细胞干重(mg/L).

THF 浓度的测定:采用安捷伦 6890 气相色谱(GC, HP-Innowax 硅胶毛细管柱, 30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.5  $\mu\text{m}$ , J&W Scientific, USA)测定,气相条件:汽化室、检测器(FID)和柱子温度分别为 250、300 和 60 $^{\circ}\text{C}$ (保持 5 min,以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ,升至 150 $^{\circ}\text{C}$ ,保持 1 min),载气流速 1 mL/min,分流比为 5:1.

总有机碳(TOC)和无机碳(IC)的测定:采用岛津 TOC-V CPN 测定仪测定.

## 2 结果与讨论

### 2.1 THF 降解菌株的鉴定

#### 2.1.1 菌株的形态及生理生化特征

经过反复分离、纯化,筛选到 1 株革兰氏阴性菌 DT4,其具有高效的 THF 降解能力.该菌落呈圆形、白色、形态饱满、光滑湿润,菌苔沿划线生长,通过显微镜观察单个菌呈短杆状,大小为(0.5 ~ 0.8)  $\mu\text{m}$   $\times$  (0.8 ~ 1.2)  $\mu\text{m}$ ,不产芽孢.菌株 DT4 的具体生理生化试验以及抗性试验结果见表 1.

根据菌落与菌体形态特征以及一些重要的生理生化特征,再依据《常见细菌鉴定手册》及《伯杰细菌鉴定手册》可大致确定 DT4 属于假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.). Biolog 细菌鉴定系统的 24 h 代谢指数表明,DT4 对 GN2 板的 32 种碳源成阳性反应,对 61 种碳源成阴性反应,与标准菌株食油假单胞菌 (*Pseudomonas oleovorans*) 的 SIM 值 > 0.52,可能性 > 99%.

表 1 DT4 的生理生化性质<sup>1)</sup>

Table 1 Physiological and biochemical characteristics of DT4

试验名称	结果	试验名称	结果
硫化氢试验	+	吡啶试验	-
革兰氏染色	-	明胶液化试验	-
淀粉水解试验	-	接触酶试验	-
甲基红试验	-	氧化酶试验	+
V-P 试验	-	荧光色素试验	-
氮苯	+	精氨酸双水解试验	+
抗性		脲青素	-
四环素	+		
氯霉素	+		

1) “+”阳性或有反应;“-”阴性或没有反应

### 2.1.2 菌株 16S rRNA 序列分析及其分子鉴定

对该菌株的 DNA 进行 PCR 扩增,获得约 1 500 bp 的 16S rRNA 扩增产物,该序列经测序后,同 GenBank 中的基因序列进行同源性比对,发现菌株 DT4 与 *P. oleovorans* (AF094735) 的相似度达 99%. 结合菌株的生理生化实验与 Biolog 鉴定结果,可确定本实验获得的 THF 降解菌为 *P. oleovorans* DT4. 查阅相关文献,尚未见假单胞菌属降解 THF 的报道.因此,可初步确定 *Pseudomonas oleovorans* DT4 为降解 THF 的新性能物种.该菌株在 GenBank 中的登录号为 GQ387664, CCTCC 保藏号为 M209151.

### 2.2 *P. oleovorans* DT4 的降解特性研究

如图 1 可见,在初始菌体浓度为 3.2 mg/L 的条件下,*P. oleovorans* DT4 不仅能降解 THF,而且能以 THF 为唯一碳源生长.至 14 h 时,THF 被完全降解,菌体浓度达到 188.6 mg/L. *P. oleovorans* DT4 降解 THF 的速率(以 cells 计,下同)达 203.9 mg/(h·g),高于报道的最高降解速率 137.6 mg/(h·g)<sup>[19]</sup>. *P. oleovorans* DT4 的世代时间为 2.7 h,较报道的最短世代时间 11 h<sup>[12]</sup>短.另外,在 THF 完全降解后 1 h,TOC 和 IC 值最终分别达到 0 和 46 mg/L,培养基的 pH 降至 6.54,呈弱酸性,说明 *P. oleovorans* DT4 降解 THF 是一个矿化过程.

### 2.3 不同因素对 THF 降解的影响

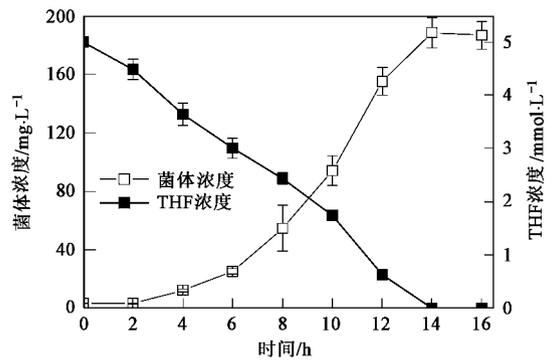


图 1 DT4 生长和 THF 降解曲线

Fig. 1 Time course of cell growth and THF degradation

### 2.3.1 不同初始 pH 的影响

采用初始浓度为 5 mmol/L THF 的 MM 培养基,分别调节 pH 为 5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5,接入菌液,使各样品中的初始  $D_{600}$  为 0.02 (3.2 mg/L 干重),于 30℃、160 r/min 恒温摇床里振荡培养 10 h,考察 pH 值对降解率及菌体生长的影响.由图 2 可见,随着 pH 从 5.5 增至 10.5,菌体浓度及 THF 降解率均先增大后减小.由此可知,pH 对于细胞的生长及 THF 降解具有明显的影响,这可能是由于过酸、过碱的体系会破坏细胞酶的空间结构从而不利于 DT4 的生长<sup>[24]</sup>. pH 在 6.5~8.0 之间,较适合 DT4 的生长,但偏碱性条件比偏酸性条件更有利于该菌株的生长和对 THF 的降解.这一方面可能与细菌易生长于偏碱性环境有关,另一方面可能由于微生物降解 THF 是一个矿化过程,降解完成会增加体系的  $H^+$  浓度,从而减缓高 pH 产生的影响,这与 pH 值对微生物降解影响的相关报道一致<sup>[8,25]</sup>. *P. oleovorans* DT4 于 pH 7.5 培养 10 h 后,菌体浓度达 120.7 mg/L,THF 降解率达到 68.0%,pH 值降至 7.1.由此可知,DT4 的

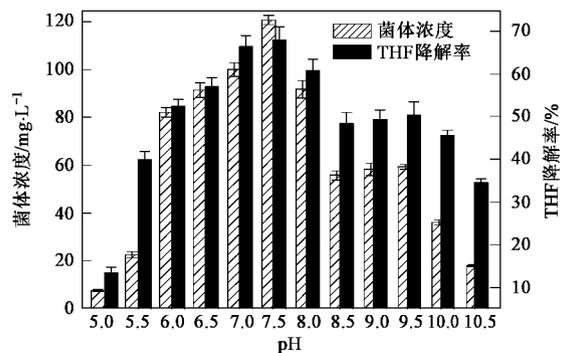


图 2 不同初始 pH 对于菌体浓度和 THF 降解率的影响

Fig. 2 Effects of initial pH on THF degradation and cell growth

最适生长 pH 值为 7.5.

### 2.3.2 不同温度的影响

在 pH 为 7.2 的 MM 培养基 (含 5 mmol/L THF) 中,接入菌液,使各样品中的初始菌体浓度为 3.2 mg/L. 分别置于不同温度的摇床中恒温振荡培养,考察温度对降解率及该菌株生长情况的影响. 由图 3 可知,在 20~45℃ 温度范围内,DT4 均能生长,相同初始 THF 浓度下随着温度的升高,THF 降解率

也随之增加,但温度高于一定值后,降解率又开始下降,这是由于 THF 的降解主要是微生物的酶起作用,而微生物的酶有最适宜温度,低温条件下微生物生长缓慢,代谢活性差;过高的温度使酶逐渐变性,失去活性,影响降解率. 在本实验条件下,温度 37℃ 时,细胞生长速率最快,9 h 即达稳定期,菌体浓度达 164.8 mg/L,体系中的 THF 被完全降解. 所以 DT4 的最适温度为 37℃ 左右.

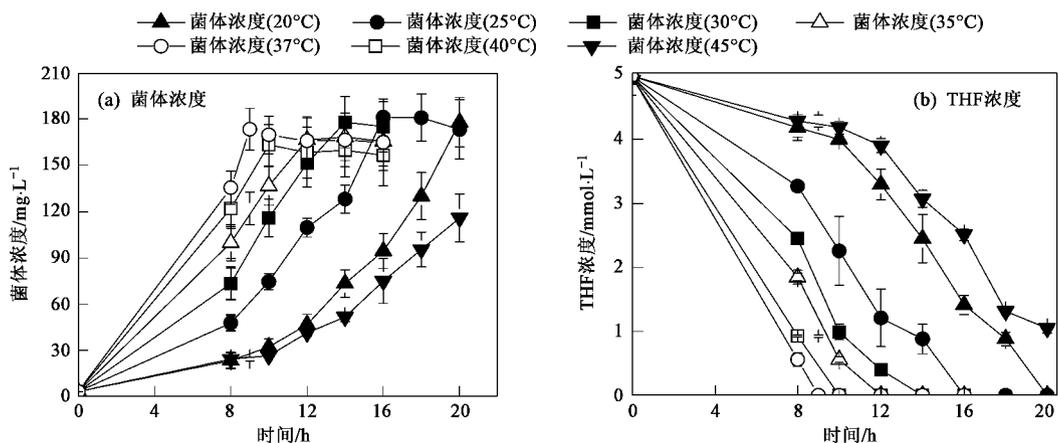


图 3 不同温度下菌体浓度及 THF 浓度随时间变化

Fig. 3 Effects of temperatures on cell growth and THF degradation

### 2.3.3 不同供氧方式的影响

将菌体接入 pH 为 7.2 的 MM 培养基中,初始菌体浓度为 3.2 mg/L, THF 浓度为 5 mmol/L,采用不同的供氧条件测试 THF 降解菌的生长情况及 THF 的降解情况. 如图 4 所示,当往体系中充满氮气时,由于形成了一个厌氧环境,基本上无降解效果,说明菌株 DT4 在降解 THF 的过程中需要有氧气的参与,氧气可能作为反应电子供体. DT4 在完全充氧状态下降解 THF 的效果不及自然供氧状态下降解 THF 的效果好,可能是由于过多的氧气对菌体产生了一定的毒害作用,如对菌体内的核酸、蛋白质、脂肪酸等生物大分子造成损害,导致组织损伤或机体衰老,影响微生物的生长,表现为菌量略有下降<sup>[26]</sup>. 转动比静置的效果好,将样品放置摇床里摇动可增加底物的传质效果使降解速率提高,有利于 DT4 的生长. 因此在自然供氧转动的状态下,DT4 获得最佳生长.

### 2.3.4 不同金属离子的影响

在转化反应中,菌体一般对某些特定的金属离子格外敏感. 本研究对 MM 培养基中的大量金属离子 Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup> 进行分析. 如图 5 所示,当 Mg<sup>2+</sup> 浓度为 0 时,DT4 的生长非常缓慢;Mg<sup>2+</sup> 在 0.80 mmol/L

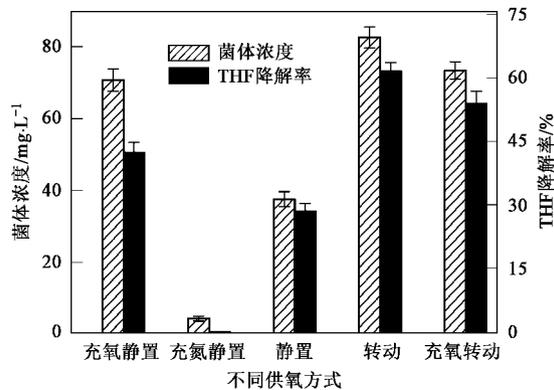


图 4 不同供氧方式的菌体浓度和 THF 降解率

Fig. 4 Effects of oxygen supply on THF degradation and cell growth

时,DT4 的降解速率最快,THF 于 9.5 h 内即被完全降解. Ca<sup>2+</sup> 为 0.20 mmol/L 时,DT4 达到最佳的生长状态;随着 Ca<sup>2+</sup> 浓度的增加 (>0.20 mmol/L),DT4 的降解速率逐渐降低,且当 Ca<sup>2+</sup> 浓度高于 1.00 mmol/L 时,DT4 的生长受到强烈抑制,可能是由于较高浓度的 Ca<sup>2+</sup> 对生物降解酶具有毒害作用<sup>[27]</sup>. 因此,最适 Mg<sup>2+</sup> 和 Ca<sup>2+</sup> 浓度分别为 0.80 mmol/L 和 0.20 mmol/L.

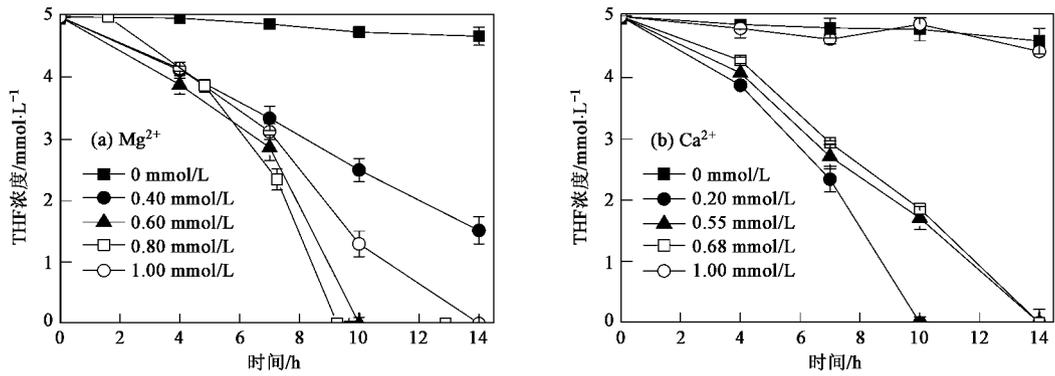


图5 Mg<sup>2+</sup>和Ca<sup>2+</sup>对THF降解的影响

Fig. 5 Effect of the magnesium, calcium ions on the THF degradation

### 3 结论

(1) 筛选到1株能以THF为唯一碳源和能源生长的菌株 *P. oleovorans* DT4。

(2) 在初始菌体浓度为3.2 mg/L的条件下, *P. oleovorans* DT4能在14 h内将5 mmol/L THF完全降解,并实现THF的矿化。

(3) *P. oleovorans* DT4降解THF较适宜的条件为:温度为37℃、pH值为7.5;最适Mg<sup>2+</sup>和Ca<sup>2+</sup>浓度分别为0.80 mmol/L和0.20 mmol/L;且自然供氧条件较利于DT4的生长。

### 参考文献:

- [1] Moody D E. The effect of tetrahydrofuran on biological-systems; Does a hepatotoxic potential exist [J]. *Drug and Chemical Toxicology*, 1991, **14**:319-342.
- [2] Draper A J, Madan A, Parkinson A. Inhibition of coumarin 7-hydroxylase activity in human liver microsomes[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1997, **341**:47-61.
- [3] Hermida S A S, Possari E P M, Souza D B, et al. 2'-Deoxyguanosine, 2'-deoxycytidine, and 2'-deoxyadenosine adducts resulting from the reaction of tetrahydrofuran with DNA bases[J]. *Chemical Research in Toxicology*, 2006, **19**:927-936.
- [4] Lv Z H, Yao Y L, Lv Z M, et al. Effect of tetrahydrofuran on enzyme activities in activated sludge [J]. *Ecotoxicology and Environment Safety*, 2008, **70**:259-265.
- [5] 吕振华, 闵航, 姚燕来. 四氢呋喃对回流污泥中pH、溶氧和可培养微生物的影响[J]. *上海交通大学学报*, 2006, **24**:190-195.
- [6] Isaacson C, Mohr T K G, Field J A. Quantitative determination of 1,4-dioxane and tetrahydrofuran in groundwater by solid phase extraction GC/MS/MS [J]. *Environmental Science and Technology*, 2006, **40**:7305-7311.
- [7] 李海燕, 郭亚伟, 姜玲, 等. 吹扫捕集-气相色谱法测定水中四氢呋喃[J]. *污染防治技术*, 2007, **20**:82-84.
- [8] 朱顺妮, 刘冬启, 樊丽, 等. 喹啉降解菌 *Rhodococcus* sp. QL2的分离鉴定及降解特性[J]. *环境科学*, 2008, **29**(2):488-493.
- [9] Painter H A, King E F. Ring test program 1983-84. Assessment of biodegradability of chemicals in water by manometric respirometry[R]. EUR: Comm Eur Commun, 9962 (CA 103:183290), 1985.
- [10] Bernhardt D, Diekmann H. Degradation of dioxane, tetrahydrofuran and other cyclic ethers by an environmental *Rhodococcus* strain[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1991, **36**:120-123.
- [11] Bock C, Kroppenstedt R M, Diekmann H. Degradation and bioconversion of aliphatic and aromatic hydrocarbons by *Rhodococcus ruber* 219 [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1996, **45**:408-410.
- [12] Parales R E, Adamus J E, White N, et al. Degradation of 1,4-dioxane by an actinomycete in pure culture [J]. *Applied and Environment Microbiology*, 1994, **60**:4527-4530.
- [13] Mahendra S, Alvarez-Cohen L. *Pseudonocardia dioxanivorans* sp. nov., a novel actinomycete that grows on 1,4-dioxane[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, **55**:593-598.
- [14] Kohlweyer U, Thieme B, Schrader T, et al. Tetrahydrofuran degradation by a newly isolated culture of *Pseudonocardia* sp. strain K1[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2000, **186**:301-306.
- [15] Kampfer P, Kohlweyer U, Thieme B, et al. *Pseudonocardia tetrahydrofuranoxydans* sp. nov [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, **56**:1535-1538.
- [16] Daye K J, Groff J C, Kirpekar A C, et al. High efficiency degradation of tetrahydrofuran (THF) using a membrane bioreactor: identification of THF-degrading cultures of *Pseudonocardia* sp. strain M1 and *Rhodococcus ruber* isolate M2 [J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2003, **30**:705-714.
- [17] Vainberg S, McClay K, Masuda H, et al. Biodegradation of

- ether pollutants by *Pseudonocardia* sp. strain ENV478 [J]. Applied and Environment Microbiology, 2006, **72**: 5218-5224.
- [18] Nakamiya K, Hashimoto S, Ito H, *et al.* Degradation of 1,4-dioxane and cyclic ethers by an isolated fungus[J]. Applied and Environment Microbiology, 2005, **71**:1254-1258.
- [19] Yao Y L, Lv Z M, Min H, *et al.* Isolation, identification and characterization of a novel *Rhodococcus* sp. strain in biodegradation of tetrahydrofuran and its medium optimization using sequential statistics-based experimental designs [J]. Bioresource Technology, 2009, **100**: 2762-2769.
- [20] 李钧敏,边才苗,陈彤. 四氢呋喃降解细菌质粒的检出及菌株的生长特性[J]. 环境科学研究, 2003, **16**:82-84.
- [21] 余彬彬,边才苗,吕珈佳. 1 株四氢呋喃降解细菌基本培养条件的研究[J]. 化学工程师, 2006, **128**:7-9.
- [22] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社, 2001. 370-410.
- [23] Liu Z Q, Sun Z H. Cloning and expression of *D*-lactonohydrolase cDNA from *Fusarium moniliforme* in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Biotechnology Letters, 2004, **26**:1861-1865.
- [24] 张杏青,朱妙军,胡勤海,等. 甲基叔丁基醚(MTBE)降解菌株的分离鉴定及降解动力学研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(6):1785-1790.
- [25] 柏耀辉,赵翠,肖亚娜,等. 降解喹啉的假单胞菌 BW003 菌株的分离、鉴定和降解特性[J]. 环境科学, 2008, **29**(12): 3546-3553.
- [26] 王艳青,张劲松,周集体,等. 对氨基苯磺酸降解菌的分离鉴定及降解特性研究[J]. 环境科学, 2009, **30**(4):1193-1198.
- [27] 李旭春,刘桂芳,马军,等. 1 株壬基酚降解菌的分离鉴定及其降解特性研究[J]. 环境科学, 2008, **29**(1):231-236.