

重金属抗性菌 HQ-1 生物吸附镉与银的比较研究*

窦敏娜^{1,2} 呼庆¹ 齐鸿雁^{1**} 谢响明² 庄国强¹ 杨敏¹

(中国科学院生态环境研究中心环境生物技术研究室 北京 100085) (北京林业大学生物科学与技术学院 北京 100083)

摘要 从北京市远郊东三岔地区一处废弃的铅锌尾矿中筛选到一株对铅、锌、铜、钴、银、镉等重金属均有很好抗性的蜡状芽胞杆菌 *Bacillus cereus* HQ-1。特别是对镉的抗性高达 1200 mg/L,具有很高的应用价值。比较研究了 HQ-1 菌株吸附重金属银和镉的情况与机理,发现该菌株对两种重金属离子都有较强的吸附能力。对镉的吸附行为符合 Langmuir 模型,对银的吸附行为符合 Freundlich 模型。通过红外光谱和 X 射线能谱对其吸附机理做了初步推断。并通过质粒消除试验证明该菌株的重金属抗性与抗性质粒存在有关。

关键词 镉,银,生物吸附,蜡状芽胞杆菌

中图分类号:Q939.9 文献标识码:A 文章编号:0253-2654(2007)06-01097-07

Comparative Studies on Metal Biosorption of Cadmium and Silver by a Heavy Metals Hyperresistant *Bacillus cereus**

DOU Min-Na^{1,2} HU Qing¹ QI Hong-Yan^{1**} XIE Xiang-Ming² ZHUANG Guo-Qiang YANG Min¹

(Department of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085)

(Biology Science and Technology College, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

Abstract A heavy metals hyperresistant strain *Bacillus cereus*, HQ-1 with high resistance to Pb, Zn, Co, Cu, Cd and Ag was isolated from a lead-zinc mine. Minimal inhibitory concentration of Cd²⁺ for the bacterium was 1200 mg/L higher than others. The biosorption isotherms of cadmium on cells of *Bacillus cereus* strain HQ-1 was investigated and compared with silver. It has a strong adsorptive capacity to the two metal ions. Its adsorption behavior could be described by either the Langmuir adsorption equation or the Freundlich adsorption equation. The adsorption mechanism of Cd²⁺ and Ag⁺ were studied by FTIR spectroscopic analysis and energy dispersive X-ray spectroscopy. We also simply located the resistant gene on the plasmid of the strain. The results of this study indicate that this *Bacillus cereus* strain has an excellent potential for biosorption and bioremediation of heavy metals pollution.

Key words Cadmium, Silver, Biosorbent, *Bacillus cereus*

随着冶金、采矿、电子以及化工等行业的快速发展,重金属成为广泛存在的环境污染物。其中,尤以镉的危害较重。重金属镉具有很强的生物毒性,可造成细胞氧化损伤,引起 DNA 断裂,使细胞凋亡。同时,镉在土壤中具有较强的代谢活性,极易被作物吸收而进入食物链,因而容易对人体健康造成威胁^[1]。银作为一种贵金属元素,被广泛应用于医药、电子、电镀、摄影、感光材料、化工工业和科研等领域,在应用过程中会产生大量的含银废液和废渣,若直接排放到环境中,不仅会污染环境,还将造成资源

浪费^[2]。

传统的镉与银回收方法(沉淀法、电解法、还原取代法、离子交换法、膜分离法和吸附法等)或者要求反应条件苛刻(如高温,严格的 pH 值),或者需要昂贵的试剂及仪器设备,并且要求被处理的重金属离子浓度高,处理周期长,已不能满足当前环境污染及资源再利用的形势。因此,迫切需要简单快捷、成本低廉并能够回收环境中微量镉、银离子的技术。

生物吸附法与传统的金属回收方法相比,具有吸附容量大、速度快、选择性好、成本低、易再生等优

* 国家自然科学基金面上项目(No. 20477051),国家自然科学基金重大国际(地区)合作研究项目(No. 20521140076)

** 通讯作者 E-mail: qihy@rcees.ac.cn

收稿日期:2007-03-05,修回日期:2007-07-20

点^[3]。因此,应用生物吸附技术来回收、治理、修复环境重金属污染已成为目前环境微生物学研究的热点之一。在国内,潘建华等在2004年研究了蜡状芽胞杆菌对铅的吸附,并通过原子力显微镜(AFM)深入分析了菌株在吸附铅的过程中形态学的变化规律^[4,5]。国际上,Nathan等在2001年研究了包括蜡状芽胞杆菌在内的5种革兰氏阳性菌吸附镉的热动力学^[6];Huang等在2003年将蜡状芽胞杆菌的 *merP* 基因转入大肠杆菌 BL21 中,将该菌对镉的吸附能力提高了 84%^[7];Borrok 等在 2004 年特别研究了不同酸度对蜡状芽胞杆菌表面吸附重金属的影响^[8]。

本实验利用从铅锌尾矿中分离获得的一株重金属抗性蜡状芽胞杆菌 *Bacillus cereus* HQ-1,研究其对铅、锌、铜、钴、银、镉等多种重金属的抗性。发现其对上述重金属都有较高抗性,特别是对镉的抗性高达 1200 mg/L。而银与镉都属于 ds 区过渡金属元素,在物理化学性质上有一定的相关性。因此本文重点探讨了 *Bacillus cereus* HQ-1 对镉和银的吸附性质,通过红外光谱和 X 射线能谱就该菌株对两种重金属的吸附机理作了比较研究分析,并通过质粒消除试验初步确定该菌株抗性基因位置。本研究为进一步阐明细菌的抗性吸附机理,综合利用菌株 HQ-1 治理环境重金属污染,吸附回收再利用镉和银等珍惜资源奠定了理论基础。

1 材料与方 法

1.1 所用细菌菌株的培养

研究所用的菌株 HQ-1 为本实验室从北京市远郊东三岔地区一处废弃的铅锌尾矿中筛选得到,经过形态学、生理生化、16S rDNA 序列分析、BIOLOG 等分析将该菌鉴定为蜡状芽胞杆菌^[9]。菌株接入牛肉蛋白胨培养基中(pH7.2),在恒温摇床上(30℃,160 r/min)培养 72 h,一部分培养液与灭菌甘油混合为 10% 甘油管冻存,一部分培养液在 4000g 下离心 5 min,去除上清液,用生理盐水洗涤菌体 4~6 次备用。

1.2 菌株对重金属抗性检测

重金属抗性用最小抑制浓度(Minimal inhibitory concentration, MIC)来评价。蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对重金属的抗性用浓度从 0 mg/L~2000 mg/L 的重金属离子平板来衡量。菌株 HQ-1 对所有重金属的抗性检测实验都重复 2 次,并且每次做 3 个平行重复,

与对照板相比菌株不能生长的最低重金属浓度即为该菌株的最小抑制浓度。所有的重金属盐在培养基灭菌后加入,用于本实验的金属盐有 $\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, ZnCl_2 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 和 AgNO_3 。

1.3 菌株生活细胞对 Cd^{2+} 和 Ag^+ 的吸附试验

本实验包括吸附平衡时间试验,菌体浓度和溶液 pH 的影响,以及吸附等温线测定。所有器皿均用 20% 的硝酸浸泡过夜,以避免器皿对 Cd^{2+} 和 Ag^+ 的吸附。

取一定体积上述菌体悬液置于 50mL 塑料离心管中,分别加入一定量的 Cd^{2+} 和 Ag^+ 溶液,使最终溶液体积为 20mL,菌体浓度为 1g/L~5g/L, Cd^{2+} 和 Ag^+ 溶液浓度均为 50mg/L~100mg/L,用稀 NaOH 或 HCl 溶液调节体系 pH 值为 1.0~8.0,在 30℃、160r/min 下振荡 2h,其间定时取样,离心分离,适当消化后,用火焰原子吸收分光光度计测定上清液中离子的浓度。

1.4 菌体吸附 Cd^{2+} 和 Ag^+ 前后的红外光谱(IR)分析

高速离心收集菌体,用 0.9% 生理盐水清洗 3 次,烘干至恒重,取少量菌体与预先烘干的 KBr 粉末混匀,在玛瑙研钵中充分研磨,压片制样后测定红外光谱图。

1.5 菌体吸附 Cd^{2+} 和 Ag^+ 前后的 X 射线能谱(EDS)分析

取 20 μL 菌液涂布于特制的致密导电铜胶带上,戊二醛固定,乙醇梯度脱水,CO₂ 临界点干燥,喷金后进行 X 射线能谱分析。

1.6 质粒消除试验

将 HQ-1 菌株接种于含有 SDS 至终浓度为 0.3% 的缓冲蛋白胨水液体培养基 25 mL 中,42℃ 振荡培养 48h。将菌液浓度依次稀释至 0、10⁻¹、10⁻² 后分别涂布于镉浓度为 0mg/L、250mg/L 的固体培养基平板上,每个镉浓度梯度做 3 个平行平板。30℃ 恒温培养 3d 后,观察菌落生长情况。

2 结果与讨论

2.1 重金属抗性结果

菌株 HQ-1 对重金属的抗性用最小抑制浓度来衡量(MIC),即抑制菌株生长的最低金属浓度。重

金属的 MIC 结果见表 1。

表 1 菌株 HQ-1 对重金属的最小抑制浓度(MIC)

Meta(mg/L)	Cadmium	Cobalt	Copper	Lead	Zinc	Silver
<i>B. cereus</i>	1200	300	600	700	450	500

从表 1 可以看出,该蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对镉、钴、铜、铅、锌和银都有较高抗性,特别是对镉的抗性最高达到 1200 mg/L。据报道,一些重金属如镍、铜和锌等是微生物的痕量营养物质,但所有的重金属在一定浓度下都会对微生物造成毒害。因此,一些微生物长期进化出对重金属的抗性。菌株 HQ-1 能在如此高的重金属镉环境下生长,可能已经形成了自身独特的抗性机制。

2.2 菌株对镉和银的吸附平衡时间测定

蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对镉和银的吸附平衡时间结果,见图 1。

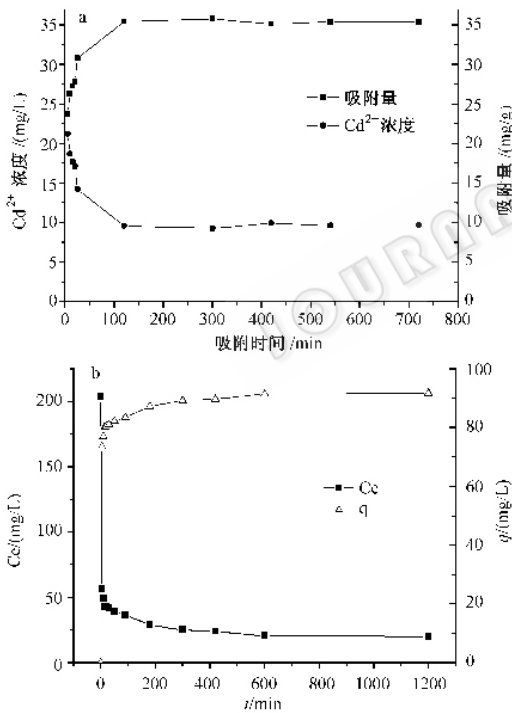


图 1 吸附时间对蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Cd^{2+} (a)和 Ag^{+} (b)的影响

从图 1a 可看出,在吸附过程的最初 120min 内,溶液中 Cd^{2+} 的浓度下降的很快,吸附量接近总 Cd^{2+} 含量的 50%,在 120min 之后,吸附基本维持达到饱

和。蜡状芽胞杆菌 HQ-1 在吸附镉起初很快达到最大量,这个过程可能发生的是细胞壁表面上的吸附(被动吸附),以及金属镉离子通过主动运输进入细胞内部,而随着时间的延长,进入细胞内部的镉离子与细胞内酶发生反应,产生了对镉离子的外排机制,所以吸附量稍有降低,之后表面吸附与主动运输及外排机制三者达到平衡,关于镉的外排机制已有相关报道³¹。

由图 1b 可看出,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Ag^{+} 的吸附在 60min 就已经达到了 80%,趋向于吸附饱和状态。在 180min 达到 90%,即在后 120min 内吸附效率只提高了 10%,随后基本达到吸附平衡状态,其对银的吸附过程是一个逐渐增加而达平衡的过程。此实验说明蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对镉的吸附过程不同于对银的吸附过程。

2.3 菌体对 Cd^{2+} 和 Ag^{+} 的吸附等温线

菌体对 Cd^{2+} 和 Ag^{+} 的吸附量和吸附平衡浓度之间的关系见图 2:

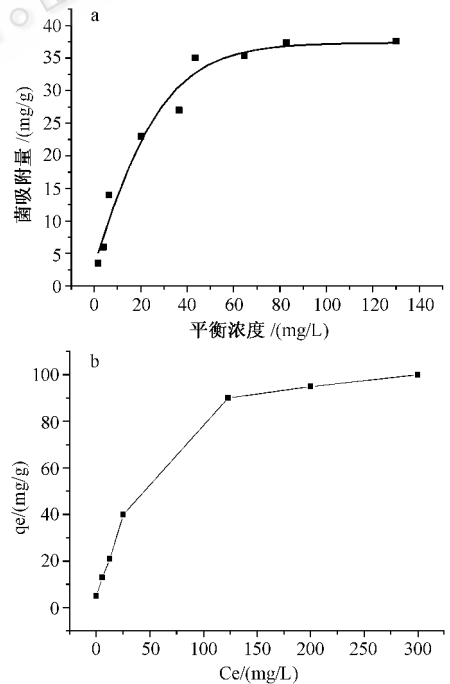


图 2 蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Cd^{2+} (a)和 Ag^{+} (b)时吸附平衡浓度与吸附量的关系

根据 Langmuir 公式及 Freundlich 公式对蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Cd^{2+} 和 Ag^{+} 的吸附等温线进行线性拟合,结果见表 2。

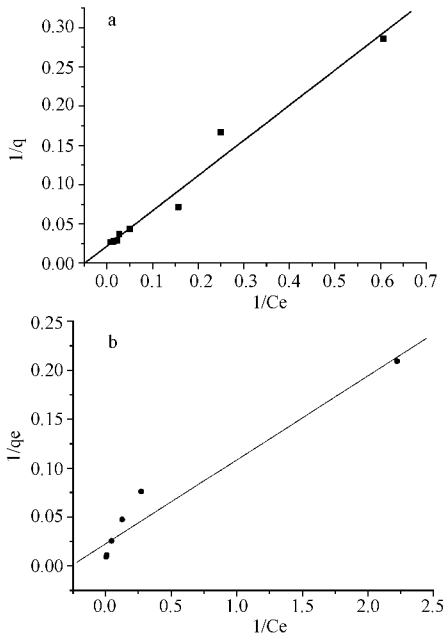


图3 吸附 Cd²⁺ 和 Ag⁺ Langmuir 线性拟合

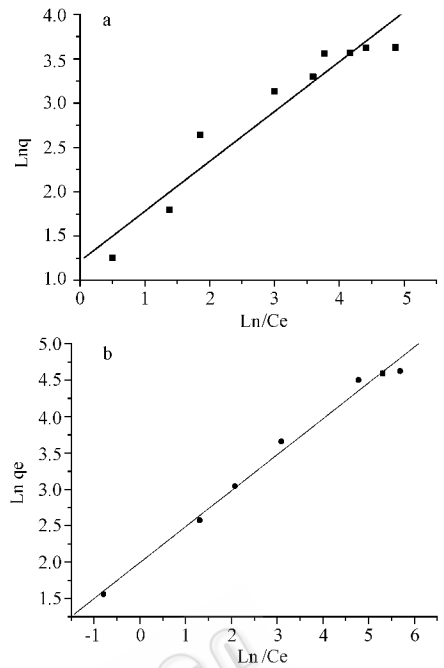


图4 吸附 Cd²⁺ 和 Ag⁺ Freundlich 线性拟合

表2 吸附等温线的线性拟合

Model	Langmuir model				Freundlich model			
parameter	Q_{max}	b	R^2	$Q_e = Q_{max} C_e / (1 + b C_e)$	n	K	R^2	$Q_e = K C_e^{(1/n)}$
cadmium	44.4	0.05	0.9763	$Q_e = 44.4 \times C_e / (1 + 0.05 C_e)$	1.894	3.63	0.9097	$Q_e = 3.63 C_e^{(1/1.894)}$
silver	44.1	0.05	0.95	$Q_e = 44.1 \times C_e / (1 + 0.05 C_e)$	2.03	7.39	0.99	$Q_e = 7.39 C_e^{(1/2.03)}$

从表2可知,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Cd²⁺ 的吸附等温线进行线性拟合后,Langmuir 模型的相似性系数 $R^2 = 0.9763$, Freundlich 模型的相似性系数 $R^2 = 0.9097$ 。可见蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Cd²⁺ 的吸附更加符合 Langmuir 模型,即单分子层吸附模型。通过计算,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Cd²⁺ 的理论最大吸附量为 $Q_{max} = 44.4\text{mg/g}$ 。

蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Ag⁺ 的吸附等温线进行线性拟合后,Langmuir 模型的相似性系数 $R^2 = 0.95$, Freundlich 模型的相似性系数 $R^2 = 0.99$ 。可见蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Ag⁺ 的吸附更加符合 Freundlich 模型,这与蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Cd²⁺ 的吸附是不同的,可见蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对 Ag⁺ 的吸附并不是简单的单分子层吸附。通过计算, $1/n = 0.49$, 一般认为 $1/n = 0.1 \sim 0.5$ 时,容易吸附,因此,以蜡状芽胞杆菌 HQ-1 作为生物吸附剂处理含 Ag⁺ 的废水在理论上是可行的。

2.4 菌体吸附 Cd²⁺ 前后的红外光谱 (IR) 结果

2.4.1 吸附 Cd²⁺ 前后的蜡状芽胞杆菌 HQ-1 的红外光谱 (IR) 分析结果

由吸附镉前后的蜡状芽胞杆菌 HQ-1 细胞的 FTIR 谱图(图5)可知,细胞中的组成成分相当复杂,因此很难确定该细胞中的所有成分。但生物吸附主要发生在肽聚糖层,利用红外光谱法能较好的表征金属离子与该菌体细胞壁上主要基团间的相互作用情况。因此根据基团判别区中的几个强吸收峰,可以确定蜡状芽胞杆菌 HQ-1 细胞壁中的几个主要基团。由 3296cm^{-1} 说明-OH 在分子间缔合,形成以氢键相连的多聚体;由 1740cm^{-1} , 1653cm^{-1} (C=O 伸缩振动); 1402cm^{-1} (C-O 伸缩振动) 和 1240cm^{-1} (O-H 面内变形振动) 的吸收峰,说明细胞壁中存在-COOH 基团。 1541cm^{-1} (CO₂ 反对称伸缩振动) 的有机酸盐的特征吸收峰,说明可能存在-COO⁻ 基团。此外, 1653cm^{-1} (C=O 伸缩振动) 存在吸收峰,也说明细胞壁中可能含有

O=C—N 基团存在。1402 cm^{-1} 为 $-\text{COO}^-$ 的对称伸缩振动,证明存在 $-\text{COO}^-$ 基团。吸附后细胞的红外谱图与吸附前细胞的红外谱图相比较,1733 cm^{-1} 的峰消失,与此相对应的是,C=O 伸缩振动的特征

频率由 1541 cm^{-1} 移至 1534 cm^{-1} ; O—H 伸缩振动的特征频率也由 3316 cm^{-1} 移至 3296 cm^{-1} 。由此可见, C=O 和 —OH 基团参与了与 Cd^{2+} 的络合反应过程。

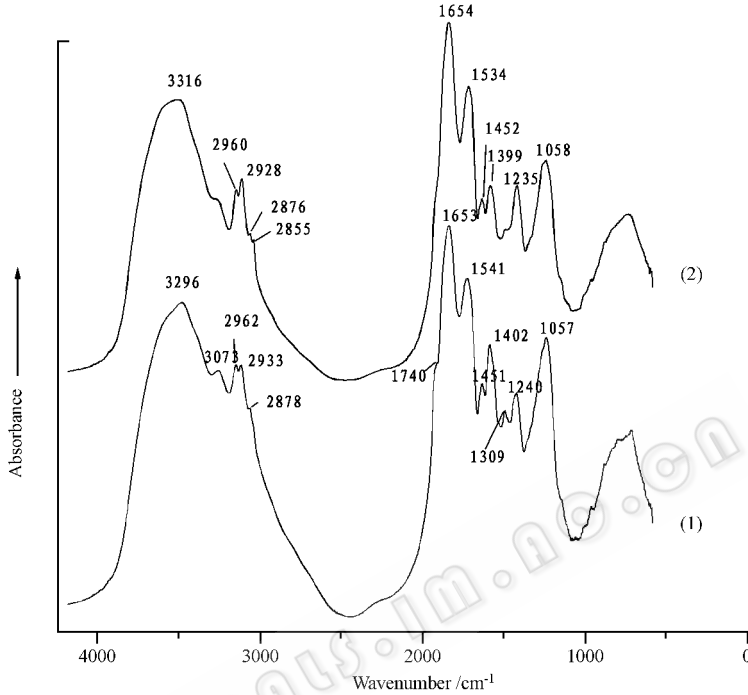


图5 蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Cd^{2+} 前后的红外光谱(IR)分析 (1) 吸附前 (2) 吸附后。

2.4.2 吸附 Ag^+ 前后的蜡状芽胞杆菌 HQ-1 的红外光谱(IR)分析结果 :由吸附 Ag^+ 前后的蜡状芽胞杆

菌 HQ-1 细胞的 FTIR 谱图(图 6)可知,由 3296 cm^{-1} 说明 —OH 或 —NH 在分子间缔合,形成以氢键相连

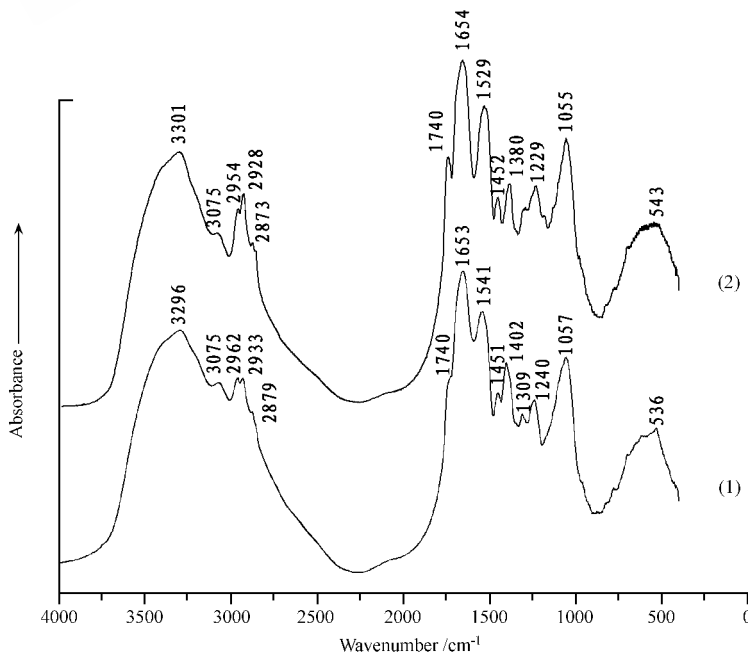


图6 蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Ag^+ 前后的红外光谱(IR)分析 (1) 吸附前 (2) 吸附后

的多聚体,在与 Ag^+ 接触后,该特征峰位移至 3301 cm^{-1} ;由 1057 cm^{-1} , 1309 cm^{-1} 可知有 $-C(H_2)-OH$ 的存在,在与 Ag^+ 接触后, 1057 cm^{-1} 位移至 1055 cm^{-1} ,特征峰 1309 cm^{-1} 消失; 1402 cm^{-1} (C—O 伸缩振动) 和 1240 cm^{-1} (O—H 面内变形振动) 的吸收峰,说明细胞壁中存在 $-COOH$ 基团,在与 Ag^+ 接触后, 1402 cm^{-1} 位移至 1380 cm^{-1} ,特征峰 1240 cm^{-1} 位移至 1229 cm^{-1} 。 1541 cm^{-1} (CO_2 反对称伸缩振动) 的有机酸盐的特征吸收峰,说明可能存在 $-COO^-$ 基团,在与 Ag^+ 接触后,该特征峰位移至 1529 cm^{-1} 。由此可见,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 细胞的含氧官能团与含氮官能团参与了与 Ag^+ 的络合反应过程。通过菌体吸附 Cd^{2+} 和 Ag^+ 前后的红外光谱发现,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 细胞在吸附这两种重金属时,都有含氧官能团与含氮官能团参与。

2.5 菌体吸附 Cd^{2+} 和 Ag^+ 前后的 X 射线能谱 (EDS) 分析

2.5.1 蜡状芽胞杆菌 HQ-1 菌体吸附 Cd^{2+} 前后的 X 射线能谱 (EDS) 分析

由图 7 吸附 Cd^{2+} 前(a)后(b)对比分析知,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Cd^{2+} 前,其细胞壁上没有 Cd^{2+} 的吸收峰;蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Cd^{2+} 后,其细胞壁上出现微弱的 Cd^{2+} 的吸收峰,说明蜡状芽胞杆菌 HQ-1 的细胞壁对 Cd^{2+} 确实有吸收,但是吸收非常微弱,这可能是由于在制作 X 射线能谱样品时的操作对细胞壁上的部分 Cd^{2+} 进行了解吸附造成的,但也可能表面吸附并不是细胞对镉的主要抗性机制,而是其自身的独特抗性基因控制着其抗性机制^[10,11]。

2.5.2 蜡状芽胞杆菌 HQ-1 菌体吸附 Ag^+ 前后的 X 射线能谱 (EDS) 分析

由图 8 吸附 Ag^+ 前后对比分

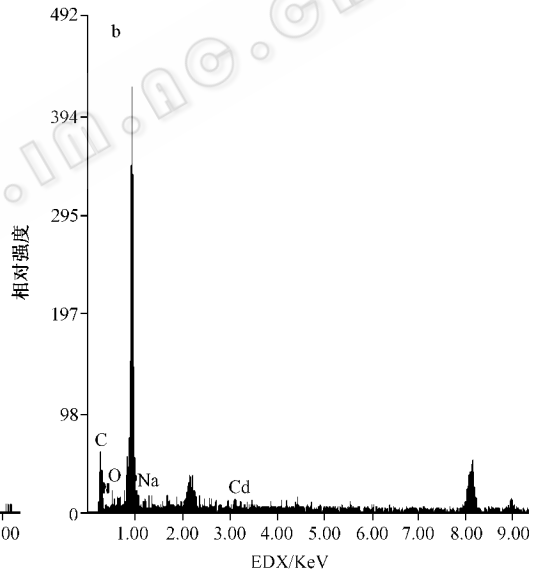
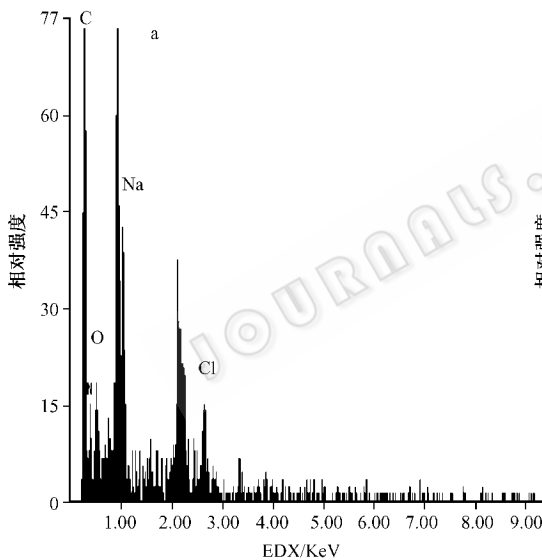


图 7 蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Cd^{2+} 前后的 X 射线能谱图

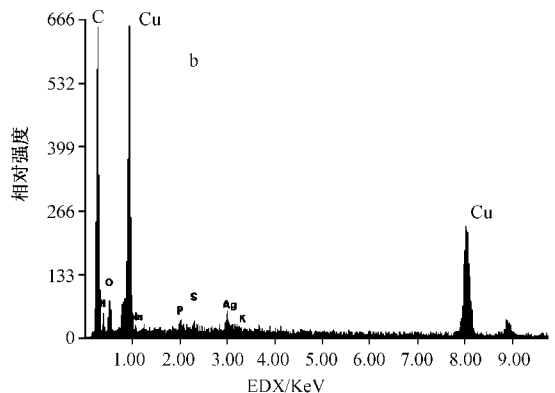
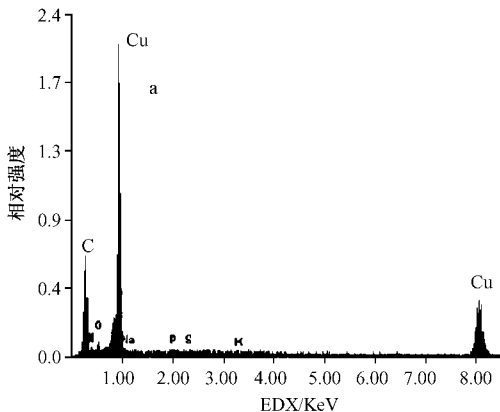


图 8 蜡状芽胞杆菌 HQ-1 菌体吸附 Ag^+ 前后的 X 射线能谱 (EDS) 分析图

析可知,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Ag^+ 前,其细胞壁上没有 Ag^+ 的吸收峰,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 吸附 Ag^+ 后,其细胞壁上出现明显的 Ag^+ 的吸收峰,说明蜡状芽胞杆菌 HQ-1 的细胞壁对 Ag^+ 确实有吸收,与吸附 Cd^{2+} 的情况相比,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 细胞壁对银的表面吸附作用较为明显,由此也可看出, HQ-1 对 Ag^+ 和 Cd^{2+} 的吸附抗性机制并不完全相同。

2.6 质粒消除结果

经过消除质粒处理后,3个稀释度的菌液在含镉浓度为 0 mg/L 的固体培养基上均能生长,而在含镉浓度为 250 mg/L 的固体培养基上均不生长。说明蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对重金属镉的抗性是由质粒决定的。在质粒消除后,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对镉的抗性随之消失。因此,蜡状芽胞杆菌 HQ-1 的抗镉基因可能是由质粒控制的。

3 结论

本研究利用从铅锌尾矿中筛选的 1 株重金属抗性蜡状芽胞杆菌 HQ-1,研究了其对镉与银离子的生物吸附过程。初步得出以下推论^[12-15]:

通过两种等温吸附模型分析发现蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对镉吸附符合单分子层吸附,但对银吸附并不是简单的单分子层吸附,通过菌体吸附 Cd^{2+} 和 Ag^+ 前后的红外光谱分析说明, HQ-1 细胞壁的有机官能团中的含氧官能团与含氮官能团是与镉、银离子发生络合作用的主要官能团,这与其他报道对生物吸附活性位点的研究结论相一致,并推测在对银的吸附中表面吸附较为明显,而对镉的表面吸附次之,这在文献中也有报道。

X 射线能谱分析表明银离子的细胞壁表面吸附现象比镉离子明显,有可能是镉的吸附为单分子层吸附,主要通过镉离子与细胞壁表面上的官能团结合,这在红外光谱分析中已得到证实,细胞壁表面空位被充分占满后,再无法吸附镉离子,形成比较薄的单分子层吸附,所以细胞表面吸附量比较少,由于该菌株对镉有极强的抗性,可能在吸附过程中镉离子进入细胞内部,通过酶促反应调节抗性基因表达,促进对重金属镉的抗性能力,如通过外排作用或细胞内特定部位沉积来降低对细胞的毒害,而银离子的吸附为非单分子层吸附,除了银离子与表面官能团的结合外,在吸附银过程中可能由于银离子穿透细

胞壁进入胞内与 SH 基反应,使蛋白质凝固,破坏细胞合成酶的活性,细胞丧失分裂增殖能力而导致细胞死亡,可能使细胞的形态发生变化,使表面结构不均一,或者是细胞壁表面吸附了银离子后离子间发生相互作用,使金属银通过沉降或晶体化作用沉积于细胞表面,使细胞外壁上有大量银的沉积。

由于蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对镉的抗性极高,在吸附、聚集镉的过程中可能有自己的特定酶和离子通道,通过基因调控,为此我们对抗镉基因通过质粒消除做了初步定位,发现强抗镉蜡状芽胞杆菌 HQ-1 的抗镉基因由质粒控制。

综上所述,微生物吸附金属的机制十分复杂,其机制主要有静电吸附、离子交换、络合和沉淀等作用。一种生物吸附剂可以通过上述机制中的一种或多种吸附某一金属离子。蜡状芽胞杆菌 HQ-1 对重金属镉离子和银离子的吸附机理也不是单一的,其具体机理还有待于进一步研究。

致谢 特别感谢中国科学院生态环境研究中心仪器分析室赵丽辉老师,环境水质学国家重点实验室孙景芳老师在仪器使用方面的指导。

参考文献

- [1] 刁书永, 张立志, 袁慧. 动物医学进展, 2005, 26(5): 49~51.
- [2] 黄美荣, 李振宇, 李新贵. 工业用水与废水, 2005, 36(1): 9~12.
- [3] 刘爱民, 黄为一. 中国环境科学, 2006, 26(1): 91~95.
- [4] 葛小鹏, 潘建华, 刘瑞霞, 等. 环境科学学报, 2004, 24(5): 753~760.
- [5] 潘建华, 刘瑞霞. 环境科学, 2004, 25(2): 166~169.
- [6] Nathan Y, Jeremy F. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2001, 65(13): 2037~2042.
- [7] Chieh C H, Chi C S, Ju L H. Enzyme and Microbial Technology, 2003, 33(4): 379~385.
- [8] Borrok D, Fein J B, Tischer M. Chemical Geology, 2004, 209(1-2): 107~119.
- [9] 呼庆, 齐鸿雁, 窦敏娜, 等. 环境科学, 2007, 28(2): 427~430.
- [10] Dietrich H N. Journal of Bacteriology, 1992, 174(24): 8102~8110.
- [11] Forzani C, Lobreaux S, Mari S, et al. Gene, 2002, 293(1-2): 199~204.
- [12] 周志峰, 张进忠, 魏世强, 等. 西南农业大学学报(自然科学版), 2006, 28(3): 396~401.
- [13] 傅锦坤, 刘月英, 古萍英, 等. 物理化学学报, 2000, 16(9): 779~782.
- [14] Pethkar A V, Kulkarni S K, Paknikar K M. Bioresource Technology, 2001, 80(3): 211~215.
- [15] Eneida S C, Celia R G T, Teresa M K R. Electronic Journal of Biotechnology, 2002, 5(2): 133~140.