

固定化技术提高微生物对土壤中石油烃降解性能研究进展

王晓玲^{1,2,3}, 陈宏坤², 郑瑾², 韩占涛^{1,3*}, 高春阳^{1,2,3}

(1. 中国地质科学院水文地质与环境地质研究所, 河北石家庄 050061; 2. 石油石化污染物控制与处理国家重点实验室, 中国石油集团安全环保技术研究院, 北京 102206; 3. 河北省、中国地质调查局地下水污染机理与修复重点实验室, 河北石家庄 050061)

摘要 固定化技术是提高微生物对土壤中石油烃污染降解率的有效途径, 综述近年来固定化微生物技术在石油污染土壤修复中应用的基础上, 着重分析其作用机理, 包括: 保护微生物免受不良环境因素的影响, 载体的吸附作用与微生物降解作用相协同, 提高微生物活性及酶活性, 实现多个细胞、多种微生物协同作用, 提高氧气传递速率; 并综述不同环境下污染土壤相对应的固定化微生物技术改进方案, 以为今后微生物固定化技术在土壤污染修复中的应用研发提供借鉴。

关键词 石油烃污染土壤; 微生物固定化技术; 固定化载体; 作用机理

中图分类号 S181 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)30-0013-05

Research Progress on Microorganism Immobilization Technology for Degradation of Petroleum Hydrocarbons in Soil

WANG Xiao-ling^{1,2,3}, CHEN Hong-kun², ZHENG Jin² et al (1. Institute of Hydrogeology and Environmental Geology, CAGS, Shijiazhuang, Hebei 050061; 2. State Key Lab of Petroleum Pollution Control, CNPC Research Institute of Safety & Environmental Technology, Beijing 102206; 3. Key Laboratory of Groundwater Remediation of Hebei Province and China Geological Survey, Shijiazhuang, Hebei 050061)

Abstract Microorganism immobilization technology (MIT) is an effective method to improve the biodegradation of petroleum contamination in soil. The main mechanisms of MIT to improve the degradation of petroleum hydrocarbon was analyzed based on the application of MIT on repairing petroleum contaminated soil, which included protecting degradation bacteria from adverse environment, the coordination of biodegradation and adsorption, improving microbial activity and enzyme activity, realizing the collaboration of different cells and microorganisms, and increasing oxygen transfer rate in soil. Furthermore, against soil contamination in different environment, many improvements of MIT were summarized. It can provide a reference for application of MIT.

Key words Petroleum contaminated soil; Microorganism immobilization technology; Immobilization carrier; Mechanisms

在过去的几十年里, 石油一直是人类最主要的燃料来源之一, 也是石油化工的基础^[1-2]。石油在开采、冶炼、运输和使用过程中往往发生泄漏, 造成大量水土环境的污染^[3]。石油烃包括饱和烃、芳香烃、胶质、沥青质 4 种主要组分, 其中多环芳烃等有致癌、致畸、致突变特性^[2,4], 因此, 石油污染一直是国际环境修复界的重要修复目标。当前我国的石油污染已经显现, 水土环境石油污染的修复工作正在兴起。高效、低成本、不产生次生污染的修复技术仍是石油污染修复领域的重要研究方向^[5]。石油污染土壤的修复方法包括焚烧、热脱附、化学淋洗、化学氧化、电动修复、生物添加、生物催化、生物堆等^[6]。其中生物修复方法由于其经济可行性和环境友好性成为最受欢迎的修复方式^[7]。但在自然环境中, 由于土著微生物的竞争, 土壤酸碱度、温度以及石油烃的毒性效应使得外源高效降解菌难以发挥其作用^[8]。

固定化菌是将降解菌以某种方式固定在一材料上, 所形成的固定化菌比游离菌适应环境能力更强^[9], 可以抵抗环境毒性, 实现多细胞协同作用。多种石油烃高效降解菌, 如寡营养单胞菌、芽孢杆菌、假单胞菌属、无色菌属、芽孢杆菌属、小单胞菌属等^[10-12]都可以做成修复土壤石油污染的固定化菌。近年来, 固定化微生物的研究正在兴起, 将会给微生物修复技术带来革新性变化^[7]。但是以往研究中

对降解菌的作用机理分析不够。为此, 该研究在对以往固定化微生物技术修复石油烃和其他有机污染效果和作用机理进行探讨的基础上, 针对不同条件下的石油烃污染土壤, 提出相应的微生物固定化方法, 以期推动固定化微生物技术的应用。

1 固定化微生物技术及材料

1.1 固定化微生物技术 固定化微生物技术兴起于 20 世纪 60 年代, 主要由固定化酶技术发展起来^[13], 固定化微生物的方式包括吸附法、包埋法、共价结合法、细胞交联等^[14]。固定化方式与载体材料和结构是决定固定化微生物性能的主要因素, 现阶段主要的固定化方式主要有吸附法、包埋法和交联法等。各种固定化方法的性能如表 1 所示。吸附法和包埋法是目前最常用的 2 种方法^[15], 其中吸附法的吸附作用包括物理吸附和离子吸附。物理吸附使用的是硅藻土^[16]、活性炭^[17]等具有高表面吸附能力的物质^[18]。离子吸附是利用微生物带电的表面特性, 通过离子键将微生物固定于带有相反电荷的固定材料上^[15]。包埋法是将细胞分散到多孔载体内部, 或利用高聚物形成凝胶时将细胞包埋在内部, 从而达到固定细胞的目的^[19]。交联法是利用 2 个功能团以上的试剂直接与微生物细胞表面的反应基团进行交联, 形成共价键来固定微生物^[18]。

1.2 固定化载体材料 固定化载体材料的主要作用是微生物提供适宜生存的微环境, 不同的原料及不同的制备方法与工艺生成的材料性能各不相同^[20]。载体的比表面积、孔隙大小、结构是选择固定化材料的主要依据, 这些因素显著影响微生物负载量^[21]。

基金项目 国家自然科学基金项目(41002088, 41472226); 石油石化污染物控制与处理国家重点实验室开放基金(PPC2017017); 中国地质科学院基本科研业务费项目(YW201629)。

作者简介 王晓玲(1992—), 女, 山东潍坊人, 硕士研究生, 研究方向: 土壤污染修复。* 通讯作者, 研究员, 博士, 从事土壤与地下水污染修复研究。

收稿日期 2018-06-10

表1 不同固定化方法的性能

Table 1 Performance of different immobilization methods

序号 No.	性能 Performance	交联法 Crosslinking method	吸附法 Adsorption method	包埋法 Embedding
1	制备难易程度	适中	易	适中
2	结合力	强	弱	适中
3	固定化成本	适中	低	低
4	适用性	较小	适中	大
5	稳定性	不稳定	低	高

固定化材料总体上可分为人工合成材料和天然材料。人工合成材料主要为各种高分子聚合物,如聚丙烯酰胺和聚氨酯等^[22]。由于部分合成高分子材料的生物毒性及环境不兼容等问题,这类材料在应用于原位土壤修复时往往受到质疑而难以广泛应用。目前应用比较多的是各种天然材料或改性天然材料^[23],如炭质材料^[24]、木屑^[25]和改性植物秸秆^[24]等,这些材料可以用于污染土壤的原位修复而不用考虑回收问题。生物炭作为载体材料,可以发挥其降低土壤的密度、提高土壤的持水力、改良土壤性质、增强土壤肥力等优势^[27-28]。在脱水干燥和储存过程中,天然材料更有利于保持细胞活性^[14]。载体材料的孔隙度、比表面积和表面化学特性都会影响微生物负载量,通过改性可以改变载体表面的官能团等^[29],改性后的载体负载降解菌,污染物的去除效率也得到提高。载体材料的改性方式包括酸改性或者碱改性^[30-31]、盐改性(如氯化铁改性,硫酸亚铁和碳酸钙改性)^[32]等。表面活性剂有时也作为制备固定化微生物的助剂,但表面活性剂一定程度上降低了固定化微生物对污染物的降解效率^[33],且一般化学表面活性剂具有杀菌作用,因而表面活性剂改性对微生物的作用还存在争议。从生物质中直接提取的黄腐酸可以起到表面活性剂的作用^[34],且黄腐酸直接来源于生物质,不会影响微生物活性,黄腐酸^[35]以及其它生化腐殖酸^[36]已经被证实对土壤中多环芳烃和石油烃的去除有相当的贡献作用,因而这些腐殖酸可能会代替化学合成表面活性剂作为制备固定化微生物的助剂。

1.3 固定化工艺 吸附法制作固定化微生物工艺:将载体经过灭菌处理后,与一定浓度待固定降解菌液按设计比例混合,共同培养一段时间,微生物通过氢键、范德华力、电荷间作用力、疏水相互作用力等吸附在载体的表面^[37-39],然后将菌液离心,将吸附微生物的载体与菌液分离,再将分离出的固定化微生物根据其保存条件要求保存在一定温度和湿度的容器中待用。交联法与包埋法具有一定的相似性,主要区别在于交联法需要用2个功能基团以上的试剂作为交联剂将微生物与载体通过形成共价键进行联结,戊二醛是常用的交联剂。交联法的工艺是将交联剂、包埋剂按一定比例与微生物混合均匀,静置一段时间使交联反应完成,然后将混合液通过蠕动泵或注射器滴加到高价离子溶液如氯化钙中使混合了微生物的包埋剂凝聚成小球^[40-41],保存于一定的温度和湿度条件备用。包埋法与交联法的区别在于包埋过程中不加入交联剂,直接将包埋剂与微生物混合均匀后,再滴入

高价离子盐团聚成微球^[42]。

2 固定化微生物对土壤中石油污染物的降解效果

目前,固定化微生物技术在土壤修复中的现场应用还比较少,但已经有相当数量的实验室研究,表2是现有研究中固定化微生物对土壤中石油污染物的去除率统计。

从表2可以看出,绝大部分载体材料选用炭质或硅质多孔材料作为吸附剂吸附降解菌,部分选用壳聚糖、结冷胶2种材料包埋降解菌。大部分固定化降解菌对污染物的降解速率显著高于游离菌。例如,以聚氨酯泡沫为载体吸附芽孢杆菌属,用于填充床生物反应器降解土壤中的苯,苯去除率达到90%,而游离菌属的降解率仅为70%^[48];且部分固定化材料可以与降解菌协同作用增加石油污染物的去除率,如黏胶基毡状活性炭纤维固定石油降解菌试验中,油污的降解效率显著高于游离菌^[44]。固定化降解菌还可以降解游离菌不能去除的物质,如生物炭固定化微生物修复多环芳烃污染土壤时,固定化降解菌可以降解游离菌不能降解的荧蒽和芘^[33]。固定化的微生物可以重复利用,极大程度地降低成本。采用生物大分子仿生合成纳米多孔SiO₂作为载体,负载石油降解菌,用于土壤试验,发现固定化微生物在50h内降解率达到96.2%,降解率高于游离菌30%,重复利用8次后降解率仍在85%以上^[45]。混合材料作为固定化载体,在提高石油污染物降解率的同时,还增加固定化小球的强度,也为提高重复利用率而做出贡献:将海藻酸钠和硅藻土混合作为载体,石油降解率可以提高8.6%^[17];以海藻酸钠和活性炭进行交联作为载体,固定降解菌,降解土壤中的菲和芘,240h之后固定化细菌对菲和芘的降解率分别高于游离菌37.04%和20.85%^[46];利用活性炭和海藻酸钠混合材料作为载体,当活性炭含量为0.8%时,破损率最低,渗透性最好,同时提高了石油降解菌的耐盐性^[47]。固定化微生物技术还可以显著缩短微生物迟滞期,结冷胶固定微生物降解汽油时,与游离微生物相比,在5d内相同浓度的微生物在固定化条件下对汽油的降解率达到90%,而游离微生物在30d后才达到其最高水平,且汽油的去除率低于固定化降解菌^[48]。

3 固定化微生物技术提高污染物降解率的机理

以黑色不规则图形代表土壤颗粒,灰色不规则图形代表固定化微生物载体,加入载体后,可以使土壤孔隙度增加,多孔载体可以提高氧气的传递速率(图1a);对放大的微生物载体,带环长链代表石油烃大分子,不同形态的细菌代表不同石油烃降解菌;N、P、K营养物质以分子式表示,载体对降解菌的作用可以归结为:①载体内部具有孔隙结构,降解菌群存在于载体内部的孔隙中,可以避免外界不良因素的影响;②不同的降解菌可以发挥协同和共代谢的作用;③载体材料本身含有的或者额外施加的营养元素,可以直接供给降解菌吸收,促进降解菌的生长;④石油烃分子吸附于载体表面或者孔隙中,增加降解菌与它的接触机率,从而提高降解效率(图1b)。

3.1 利用载体屏蔽外界不良环境因素 由于土壤环境的复杂性及污染物的高毒性,使得游离微生物的降解效率低。固

定化载体可以为微生物提供相对舒适的微环境^[49],从而提高微生物的降解效率;固定化载体有大量的孔隙,比表面积大,可负载大量微生物^[50],帮助微生物抵制外界的毒性干

扰,降低外界环境的抑制作用,可以大量缩短降解菌的适应期^[25,49],为菌群大量繁殖提供基础。

表 2 固定化微生物对土壤中石油污染物的去除率

Table 2 Degradation rate of oil contamination in soil by immobilized microorganisms

序号 No.	固定化载体 Immobilization vector	固定化方式 Immobilization method	目标污染物 Target contaminant	降解率 Degradation rate/%	作用时间 Action time d	比游离菌降解率高 Degradation rate increasing compared with free bacteria/%	文献 Reference
1	黏胶基活性炭纤维	吸附	石油烃	60.00~84.80		30.20	[43]
2	海藻酸钠-硅藻土	吸附	石油烃	90.00	20.00	8.60	[17]
3	海藻酸钠-活性炭	吸附	菲和芘	84.36/74.87	6.58	37.04/20.85	[45]
4	竹炭	吸附	苯酚	98.00	4.00	29.77	[60]
5	生物炭	吸附	菲/荧蒽/芘	85.00	18.00	15.30/52.10/42.50	[33]
6	聚氨酯泡沫	吸附	苯	90.00	9.00	20.00	[54]
7	壳聚糖	包埋	石油烃				[62]
8	结冷胶	包埋	汽油	90.00	5.00	43.00	[48]
9	改性秸秆	吸附	石油烃	42.90	35.00	12.60	[26]
10	纳米多孔二氧化硅	吸附	石油烃	96.20	2.50	30.00	[44]
11	聚乙烯醇-晶胶	吸附	石油烃	82.00	150.00	35.00	[55]
12	改性花生壳	吸附	芘	70.20~98.00	7.00	20.00~30.00	[30]
13	玉米芯炭	吸附	石油烃	70.10	60.00	28.80	[56]

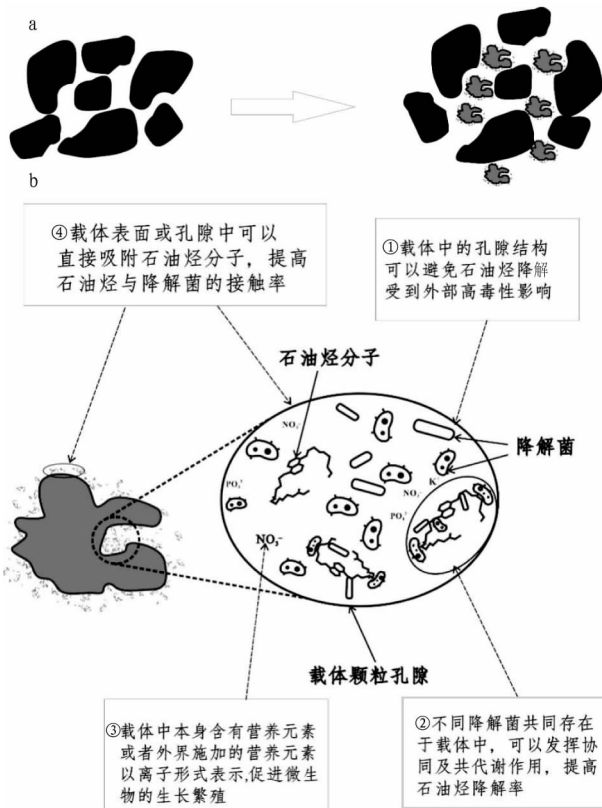


图 1 固定化微生物降解石油烃机理

Fig.1 Degradation mechanism of petroleum hydrocarbons by immobilized microbes

3.2 固定化载体的吸附作用 污染物的低生物可利用性^[51]是限制微生物降解速率的步骤之一;利用载体对石油污染物的吸附作用^[52],可以增大污染物与微生物的接触机会,提高目标污染物的降解率。如黏胶基毡状活性炭纤维固定石油降

解菌试验中,活性炭纤维的物理吸附与微生物降解作用相结合,使油污的降解效率显著高于游离菌^[43];如选择 BET 比表面积大的生物炭固定耐盐棒状杆菌降解石油烃时,固定化微生物对目标污染物的降解率最高,可以达到 79.4%^[53-54]。

3.3 提高微生物活性及酶活性 恶劣环境造成的低生物活性和酶促反应速率低是生物修复的限速步骤,固定化载体可以提高微生物活性及酶活性,抵消由于温度低对微生物活性限制的影响^[52,55,57-58],石油污染物在降解过程中,一系列的加氧酶、羟化酶起着最重要的作用,而不同的脱氢酶、多酚氧化酶等对底物加氧后的代谢起着更重要的作用^[59]。固定化微生物的酶活性及代谢活性比游离微生物高,如海藻酸钠和硅藻土 3:1 混合作为负载材料,负载微生物比游离菌的生物活性高^[17];在竹炭负载微生物降解苯酚污染土壤试验中,添加固定化菌的土壤中多酚氧化酶、脲酶的活性以及微生物的多样性可以恢复到未污染土壤中的酶活性水平^[60];这与 Patil 等^[50]研究结果一致,固定化菌在毒性环境中,相对游离菌更容易繁殖;高温裂解松木形成的生物炭作为载体负载下水道肠杆菌属,通过定量 PCR 获得土壤中绿色荧光蛋白的数量,发现固定化微生物存活率显著高于游离菌,这是由于生物炭中合适的 N 含量、pH、比表面积、持水力等都适合微生物繁殖后代,在苯作为唯一碳源的情况下,固定菌对苯的利用率远高于游离菌^[61]。

3.4 为微生物提供营养元素 部分固定化载体可以为降解菌提供一定的营养元素,以壳聚糖作为载体固定化降解菌时,因壳聚糖本身含有碳源,起到固定化作用的同时,还可以起到生物刺激的作用,促进土著降解菌的生长^[62]。

3.5 提高土壤中氧气和水分子的传递速率 载体具有多孔性结构,对水分子也有强烈吸附性,施入土壤中,有效增加土壤孔隙度,同时提高土壤中氧气的含量,氧气浓度是未施加

载体土壤中氧气浓度的数倍,且倍数随土壤深度增加^[63]。

3.6 其他机理 改性后的载体材料会提高微生物对污染物的降解效率。利用氢氧化钠和过氧化氢对花生壳进行改性,破坏花生壳纤维素中的苯环,增加花生壳的孔隙度,最终增加其负载降解细菌的数量,改性后的花生壳固定化菌对苣的降解率提高,且改性花生壳作为载体提高了微生物的活性^[30]。但若过度改性,则对目标物的降解率没有贡献,推测原因可能是过度改变载体表面结构,使载体的吸附能力与降解菌的协同作用受到限制^[26]。固定化微生物可以在载体吸附底物形成污染物膜的前提下生存^[24],同样是高污染物浓度,游离微生物却不能生存;也有研究认为固定化载体对污染底物的吸附,会限制降解菌的降解率^[57]。

4 不同环境下固定化微生物技术的优化途径

固定化技术通过多种机理提高降解微生物对土壤中石油污染物的降解性能,针对不同的土壤环境,可以选择与其相适应的固定化技术,并对固定化方法进行优化。首先,载体材料的组成和结构对其降解效果起着至关重要的作用,要进一步开发能够适应多种土壤环境、固定化微生物降解性能高的材料。其次,对复合降解菌组成的优化,添加适当浓度的营养元素,以及对固定化载体的表面进行改性也是重要的优化方向。以海面漏油污染的滨海潮间带为例,影响海面漏油生物修复的主要原因有营养盐、微生物及潮汐作用。潮汐作用会导致营养盐、菌剂的流失,不能有效促进潮间带砂层中石油污染物的降解,且造成局部海水富营养化等二次污染。以潮间带环境特有的自然材料(如虾加工废料中壳聚糖鳞片及贝壳)固定耐盐度高的微生物,添加交联剂以减少微生物的扩散流失,施加缓释营养盐,避免营养盐扩散流失及局部富营养化的出现^[63-66]就是十分有效的优化方法。

5 结论与展望

固定化微生物技术在石油烃污染土壤修复方面具有独特的优势,运用较好的固定化技术负载的降解菌不仅降解效率显著高于游离菌,还可以降解游离菌不能降解的污染物。

固定化载体提高降解效率的机理包括:①利用载体屏蔽不良环境条件;②固定化载体的吸附作用;③提高微生物活性及酶活性;④为微生物提供营养元素;⑤提高土壤中氧气和水分子的传递速率等。

固定化微生物技术的很多影响因素(载体类型,固定化时间,粒径大小,微生物种类,细胞密度及负载量)已经得到研究,但关于改善传质速率、解释相关基质扩散问题还有待进一步研究。截至现在,固定化微生物技术对石油污染土壤的修复仍局限于实验室阶段,只有很少一部分应用于生物反应器,未来更需要着眼于固定化微生物技术在石油污染场地的现场应用等方面的研究。

参考文献

[1] TIWARI B, MANICKAM N, KUMARI S, et al. Biodegradation and dissolution of polyaromatic hydrocarbons by *Stenotrophomonas* sp. [J]. *Bioresour. Technol.* 2016, 216: 1102-1105.
 [2] 廉景燕, 哈莹, 黄磊, 等. 石油污染土壤物化修复前后生物毒性效应[J]. *环境科学*, 2011, 32(3): 870-874.
 [3] INGRID L, LOUNÈS-HADJ SAHRAOUI A, FRÉDÉRIC L, et al. Arbuscular

mycorrhizal wheat inoculation promotes alkane and polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation; Microcosm experiment on aged-contaminated soil [J]. *Environ. Pollut.* 2016, 213: 549-560.
 [4] KIM I S, PARK J S, KIM K W. Enhanced biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons using nonionic surfactants in soil slurry [J]. *Applied geochemistry*, 2001, 16(11/12): 1419-1428.
 [5] COULON F, BRASSINGTON K J, BAZIN R, et al. Effect of fertilizer formulation and bioaugmentation on biodegradation and leaching of crude oils and refined products in soils [J]. *Environ. Technol.* 2012, 33(16): 1879-1893.
 [6] KUPPUSAMY S, THAVAMANI P, VENKATESWARLU K, et al. Remediation approaches for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soils: Technological constraints, emerging trends and future directions [J]. *Chemosphere*, 2017, 168: 944-968.
 [7] JIANG Y, BRASSINGTON K J, PRPICH G, et al. Insights into the biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soils by bioaugmentation and nutrient stimulation [J]. *Chemosphere*, 2016, 161: 300-307.
 [8] 胡金星, 苏晓梅, 韩慧波, 等. 固定化微生物修复技术修复多氯联苯污染土壤的应用前景[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(6): 1806-1814.
 [9] 张秀霞, 秦丽姣, 吴伟林, 等. 固定化原油降解菌的制备及其性能研究[J]. *环境工程学报*, 2010, 4(3): 659-664.
 [10] 张秀霞, 郑茂盛, 王荣清, 等. 石油污染土壤中高效石油降解菌 Y-16 的筛选及其降解性能[J]. *环境工程学报*, 2010, 4(8): 1916-1920.
 [11] 张海荣, 唐景春, 孙克静, 等. 耐盐碱石油降解菌的筛选、鉴定及其耐盐碱性研究[J]. *生物技术通报*, 2015, 31(1): 151-159.
 [12] GOJGIC-CVIJOVIC M G, MILIC J S, SOLEVIC T M, et al. Biodegradation of petroleum sludge and petroleum polluted soil by a bacterial consortium: Laboratory study [J]. *Biodegradation*, 2012, 23(1): 1-14.
 [13] 王建龙. 生物固定化技术与水污染控制[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 294-295.
 [14] CASSIDY M B, LEE H, TREVORS J. Environmental applications of immobilized microbial cells: A review [J]. *Journal of industrial microbiology*, 1996, 16: 79-101.
 [15] 何延青, 刘俊良, 杨平, 等. 微生物固定化技术与载体结构的研究[J]. *环境科学*, 2004, 25(S1): 101-104.
 [16] WANG Z Y, XU Y, WANG H Y, et al. Biodegradation of crude oil in contaminated soils by free and immobilized microorganisms [J]. *Pedosphere*, 2012, 22(5): 717-725.
 [17] ANNADURAI G, BALAN S M, MURUGESAN T. Design of experiments in the biodegradation of phenol using immobilized *Pseudomonas pictorum* (NICM-2077) on activated carbon [J]. *Bioprocess engineering*, 2000, 22(2): 101-107.
 [18] 司友斌, 彭军. 固定化微生物技术及其在污染土壤修复中的应用[J]. *土壤*, 2007, 39(5): 673-676.
 [19] 郑宇, 王晓琼, 赵阳国, 等. 包埋法固定化对硫化物微生物菌群结构和功能的影响[J]. *微生物学报*, 2016, 56(9): 1504-1512.
 [20] 张桂芝, 廖强, 王永忠. 微生物固定化载体材料研究进展[J]. *材料导报 A: 综述篇*, 2011, 25(9): 105-109.
 [21] 王玉建, 李红玉. 固定化微生物在废水处理中的研究及进展[J]. *生物技术*, 2006, 16(1): 94-96.
 [22] 肖亦, 钟飞, 潘福晓. 固定化微生物技术在废水处理中的应用研究进展[J]. *环境科学与管理*, 2009, 34(6): 82-84.
 [23] LIU X Q, GUAN Y P, SHEN R, et al. Immobilization of lipase onto micron-size magnetic beads [J]. *Journal of chromatography B*, 2005, 822(1/2): 91-97.
 [24] MORSEN A, REHM H J. Degradation of phenol by a defined mixed culture immobilized by adsorption on activated carbon and sintered glass [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1990, 33(2): 206-212.
 [25] MIAO J Y, ZHENG L Y, GUO X F. Restaurant emissions removal by a biofilter with immobilized bacteria [J]. *Journal of Zhejiang University: Science B*, 2005, 6(5): 433-437.
 [26] 张秀霞, 武海杰, 韩雨彤, 等. 改性秸秆载体固定化微生物修复石油污染土壤[J]. *石油学报*, 2014, 30(5): 915-920.
 [27] MAJOR J, RONDON M, MOLINA D, et al. Nutrient leaching in a Colombian savanna Oxisol amended with biochar [J]. *Journal of environmental quality*, 2012, 41(4): 1076-1086.
 [28] WOOLF D, AMONETTE J E, STREET-PERROTT F A, et al. Sustainable biochar to mitigate global climate change [J]. *Nature communications*, 2010, 1: 1-9.
 [29] KIM B J, PARK S J. Influence of surface treatments on micropore structure and hydrogen adsorption behavior of nanoporous carbons [J]. *Journal of colloid and interface science*, 2007, 311(2): 619-621.
 [30] 倪红, 熊哲, 张珊, 等. 多孔陶粒固定化微生物效果及扫描电镜观察[J]. *湖北大学学报(自然科学版)*, 2011, 33(2): 182-186.
 [31] DENG F C, LIAO C J, YANG C, et al. Enhanced biodegradation of pyrene

- by immobilized bacteria on modified biomass materials[J].International biodeterioration & biodegradation, 2016, 110:46-52.
- [32] 乔楠,高明星,聂刚,等.改性硅藻土负载异养硝化-好氧反硝化菌对生活污水的处理研究[J].硅酸盐通报, 2015, 34(11):3090-3094, 3101.
- [33] XIONG B J, ZHANG Y C, HOU Y W, et al. Enhanced biodegradation of PAHs in historically contaminated soil by *M. gilvum* inoculated biochar[J].Chemosphere, 2017, 182:316-324.
- [34] SALATI S, PAPA G, ADANI F. Perspective on the use of humic acids from biomass as natural surfactants for industrial applications[J]. Biotechnology advances, 2011, 29:913-922.
- [35] MONTONERI E, BOFFA V, SAVARINO P, et al. Use of biosurfactants from urban wastes compost in textile dyeing and soil remediation[J]. Waste management, 2009, 29(1):383-389.
- [36] 张秀霞, 韩雨彤, 张涵, 等. 腐殖酸对石油污染土壤特性和生物修复效果的影响[J]. 石油学报, 2016, 32(1):164-169.
- [37] CHEN Y, YU B, LIN J, et al. Simultaneous adsorption and biodegradation (SAB) of diesel oil using immobilized *Acinetobacter venetianus* on porous material[J]. Chemical engineering journal, 2016, 289:463-470.
- [38] KOK KEE W, HAZAIMEH H, MUTALIB S A, et al. Self-immobilized bacterial consortium culture as ready-to-use seed for crude oil bioremediation under various saline conditions and seawater[J]. International journal of environmental science and technology, 2014, 12(7):2253-2262.
- [39] HOU D Y, SHEN X R, LUO Q, et al. Enhancement of the diesel oil degradation ability of a marine bacterial strain by immobilization on a novel compound carrier material[J]. Mar Pollut Bull 2013, 67(1/2):146-151.
- [40] SIRIPATTANAKUL S, KHAN E. Fundamentals and applications of entrapped cell bioaugmentation for contaminant removal[M]//SHAH V. Emerging environmental technologies; Volume II. New York: Springer, 2010: 147-169.
- [41] 郑建永, 李天一, 张伟, 等. 聚乙烯亚胺-戊二醛交联法固定化重组酯酶大肠杆菌细胞[J]. 生物加工过程, 2017, 15(3):7-11, 24.
- [42] JIN X, TIAN W J, LIU Q, et al. Biodegradation of the benzo[a]pyrene-contaminated sediment of the Jiaozhou Bay wetland using *Pseudomonas* sp. Immobilization[J]. Marine pollution bulletin, 2017, 117:283-290.
- [43] KUREEL M K, GEED S R, GIRI B S, et al. Biodegradation and kinetic study of benzene in bioreactor packed with PUF and alginate beads and immobilized with *Bacillus* sp. M3[J]. Bioresource technology, 2017, 242:92-100.
- [44] 刘娟娟, 金腊华, 李文松, 等. 一株石油降解菌的活性炭纤维固定化研究[J]. 环境污染与防治, 2009, 31(10):48-51.
- [45] 张秀霞, 耿春香, 房苗苗, 等. 固定化微生物应用于生物修复石油污染土壤[J]. 石油学报, 2008, 24(4):409-414.
- [46] 王新, 李培军, 巩宗强, 等. 固定化微生物降解土壤中菲和芘的研究[J]. 应用生态学报, 2001, 12(4):636-638.
- [47] 卢方斌, 李荣超, 张蕾, 等. 一株石油降解菌的固定化及其降解特性研究[J]. 化学与生物工程, 2015, 32(11):44-47.
- [48] MOSLEMY P, NEUFELD R J, GUIOT S R, et al. Biodegradation of gasoline by gellan gum-encapsulated bacterial cells[J]. Biotechnology and bioengineering, 2002, 80:175-184.
- [49] 戴冬娟, 李广贺, 张旭, 等. 酸性土壤环境石油烃生物降解效应[J]. 环境科学, 2005, 26(3):146-151.
- [50] PATIL N K, VEERANAGOUDA V, VIJAYKUMAR M H, et al. Enhanced and potential degradation of *o*-phthalate by *Bacillus* sp. immobilized cells in alginate and polyurethane[J]. Int Biodeterior Biodegrad, 2006, 57:82-87.
- [51] 张锡辉, BAJPAI R. 土壤结合态稠环芳烃的生物降解[J]. 农业环境保护, 2001, 20(1):15-18.
- [52] MATSUI T, NISHINO T. Degradation of alkane by bacteria immobilized on polyurethane foam[J]. Journal of the Japan petroleum institute, 2017, 60(3):154-157.
- [53] ZHANG H R, TANG J C, WANG L, et al. A novel bioremediation strategy for petroleum hydrocarbon pollutants using salt tolerant *Corynebacterium variabile* HRJ4 and biochar[J]. Journal of environmental sciences 2016, 47(9):7-13.
- [54] GARCÍA-DELGADO C, ALFARO-BARTA I, EYMAR E. Combination of biochar amendment and mycoremediation for polycyclic aromatic hydrocarbons immobilization and biodegradation in creosote-contaminated soil[J]. Journal of hazardous materials, 2015, 285:259-266.
- [55] KUYUKINA M S, IVSHINAI B, KAMENSKIKH T N, et al. Survival of cryogel-immobilized *Rhodococcus* strains in crude oil-contaminated soil and their impact on biodegradation efficiency[J]. International biodeterioration & biodegradation, 2013, 84:118-125.
- [56] 马伶俐. 生物炭基固定化微生物及石油污染土壤的修复研究[D]. 成都: 西南石油大学, 2017:49-50.
- [57] 杜勇. 生物炭固定化微生物去除水中苯酚的研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2012:43-44.
- [58] 桑军强, 王占生. 低温条件下生物陶粒反应器运行特性研究[J]. 环境科学, 2003, 24(2):112-115.
- [59] 唐景春. 石油污染土壤生态修复技术与原理[M]. 北京: 科学出版社, 2014:54.
- [60] 胡婷. 苯酚降解菌的固定化及其修复作用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014:36-39.
- [61] HALE L, LUTH M, KENNEY R, et al. Evaluation of pinewood biochar as a carrier of bacterial strain *Enterobacter cloacae* UW5 for soil inoculation[J]. Applied soil ecology, 2014, 84:192-199.
- [62] ANGELIM A L, COSTA S P, FARIAS B C, et al. An innovative bioremediation strategy using a bacterial consortium entrapped in chitosan beads[J]. Journal of environmental management, 2013, 127:10-17.
- [63] LIANG Y T, ZHANG X, DAI D J, et al. Porous biocarrier-enhanced biodegradation of crude oil contaminated soil[J]. Int Biodeterior Biodegrad, 2009, 63(1):80-87.
- [64] 代小丽, 阎光绪, 宋佳宇, 等. 微生物固定化技术修复溢油污染潮间带的研究进展[J]. 环境工程, 2017(12):41-44.
- [65] SIMONS K L, ANSAR A, KADALI K, et al. Investigating the effectiveness of economically sustainable carrier material complexes for marine oil remediation[J]. Bioresource technology, 2012, 126(12):202-207.
- [66] 徐会. 海面溢油综合生物修复剂的制备及其强化海面溢油修复效果评价[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013:3-8.

(上接第4页)

种。再者松桃县野生药用植物属的组成以伯种属为主, 超过总属数的80%, 说明大多数野生药用植物都是1个属包含1个种; 其次是仲种属, 占总属数的15%左右; 叔种属和季种属占总属数最少, 两者加起来占总属数约1%; 由此可知, 松桃县野生药用植物资源属的主要组成部分是伯种属和仲种属。

4.6 传统医药苗族特色明显, 调查工作任重道远 松桃县属苗族自治县, 是苗族医药较发达的地方, 此次调查地点涵盖松桃县内大多数样地和各乡镇植物资源丰富的区域, 包括大兴街道、蓼皋街道、世昌街道、太平营街道、九江街道、盘石镇、普觉镇、乌罗镇、甘龙镇、长兴堡镇、牛郎镇、盘信镇、大坪场镇、寨英镇、孟溪镇、迓驾镇、正大镇、大路镇、木树镇、平头镇、冷水溪镇、黄板镇、妙隘乡、石梁乡、沙坝乡、瓦溪乡、永安乡和长坪乡等, 传统知识的调查应该很理想, 可该次传统知

识调查只获得5个验方, 说明调查的深度不够, 还有大量的领域未知, 但所获得这些验方信息量完整具体, 表明松桃县具有苗族特色的传统医药, 有着悠久的用药历史, 调查工作应继续深入。

参考文献

- [1] 马丽英, 刘建粤. 松桃县人体舒适度气候综合评价[J]. 贵州气象, 2010, 34(S1):112-113.
- [2] 孙庆文, 江维克. 贵州中药资源普查重点品种识别手册[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2014.
- [3] 郭兰萍, 陆建伟, 张小波, 等. 全国中药资源普查技术规范制定[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(7):937-942.
- [4] 贵州省中药资源普查办公室, 贵州省中药研究所. 贵州中药资源[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1992.
- [5] 贵州植物志编委会. 贵州植物志[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1982.
- [6] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [7] 贵州省中药资源普查办公室, 贵州省中药研究所. 贵州中药资源[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1990.