

张 闻,赵延君,王加宁,等. 生物炭固定化石油降解菌剂的制备[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):341-345.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.112

生物炭固定化石油降解菌剂的制备

张 闻¹, 赵延君^{1,2}, 王加宁¹, 张 强¹, 黄玉杰¹, 卢 媛³

(1. 山东省科学院生物研究所/山东省应用微生物重点实验室, 山东济南 250014; 2. 济南大学化学化工学院, 山东济南 250002;
3. 南开大学环境科学与工程学院/教育部环境污染过程与基准重点实验室, 天津 300071)

摘要:以前期筛选的高效石油烃降解菌多食鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium multivorum*)为目标微生物,选择多种生物材料(松针、玉米芯、草)为前体物制备生物炭载体,采用吸附法制备固定化石油降解菌剂,探索获得较高除油效果菌剂的制备条件。结果表明:以松针及其生物炭为载体的菌剂除油效果优于玉米芯系列和草系列;以生物炭为载体的菌剂除油效果优于以前体物为载体的菌剂。由于玉米芯易在当地大量低成本获得,考察了玉米芯炭固定化菌剂的制备条件:300 ℃热解玉米芯 4 h,以粒径 >200 目的玉米芯炭为载体,投加量为 1 g/100 mL 的固定化培养基,菌接种量为 5%,固定时间为 18 h,转速 160 r/min,温度 30 ℃,离心后沉淀用无菌生理盐水清洗 2 次获得菌剂。该菌剂对 5 g/L 原油培养基的周除油率是 47.6% ~ 50.7%;菌剂含降解菌 5.8×10^9 CFU/g,吸附法对菌的固定效率为 80.7%,降解菌主要附着区域为玉米芯炭表面及孔。该菌剂可为进一步修复油田石油污染土壤提供技术支撑。

关键词:生物炭;固定化;石油;降解;菌剂;除油率

中图分类号: X74 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)06-0341-05

石油在生产、贮运、炼制加工及使用过程中,由于事故、不正常操作及检修等原因,会有石油烃类的溢出和排放,不可避免地造成石油对环境的污染,使得污染修复迫在眉睫。固定化石油降解菌剂通过将降解菌固定在独立微环境中,可有效屏蔽土著菌的竞争及外界不利因素对微生物体的侵害,提高对石油污染物的降解率,因而有很大的应用潜力^[1-5]。已有学者对固定化菌剂修复石油污染水体及土壤等方面进行了研究,包木太等采用海藻酸钠固定化包埋活性炭与类短短芽孢杆菌(*Brevibacillus parabrevis*) Bbai-1,制备海藻酸钠-活性炭固定化微球,其对含油废水的除油率为 35% ~ 53%,优于游离菌^[6]。Barreto 等将 *Bacillus subtilis* LAMI008 的孢子通过交联法固定在壳聚糖小球上,几乎能将浓度为 1% 的 *n*-十六烷完全降解^[7]。余丽等研究了活性菌株固定在沸石载体上制备的菌剂 SN 对海水中石油的去除效果,12 d 后去除率达 64%^[8]。Liang 等将石油降解菌吸附固定到活性炭上,发现其对含油土壤中的原油去除率达 48.9%,高于自然衰减(13.0%)、生物刺激(26.3%)、生物强化(37.4%)的去除率^[9]。

载体是影响固定化石油降解菌剂去除石油的一个关键因素,固定化载体可分为天然载体、人工载体。秦丽姣等采用 13 种天然载体作为石油降解菌吸附载体进行研究^[10-11],在污染土壤修复中取得了较好的效果。天然载体具有无须回

收、环境友好等优点,但其结构性质的特定性使筛选出合适的载体存在一定困难。与天然载体相比,人工载体因具备可控的比表面积、孔径分布以及传质性能好等优点,能与特定的微生物及复杂污染物更好地匹配,从而获得更优的固定化效果和修复性能。因此,有必要开发出低成本、环境友好型人工载体,用于石油降解菌的固定。生物炭作为一类新型环境功能材料,在温室气体减排以及受污染环境修复方面具有巨大的应用潜力,受到人们的广泛关注^[12-15]。控制生物炭的前体物、热解温度、热解时间能获得结构、孔容、比表面积、pH 值、持水性、密度、灰分含量等理化性质和吸附能力各异的生物炭。研究表明,生物炭对石油有较强的吸附能力,以毛竹蒸煮纤维^[16]、稻壳^[17]、甘蔗渣^[18]等为前体物制备的生物炭,对石油的吸附容量分别达到 14.9、9.2、>10.0 g/g。以生物炭为载体制备固定化菌剂投入土壤后,会促进污染物由土壤向固定化载体迁移,使固定化载体同时富集微生物和污染物,增加微生物和污染物的接触,实现污染物的富集-降解一体化,有助于促进土壤修复效果。王银善等制备了生物炭固定化微生物材料,应用于多环芳烃污染土壤中,并将较好的修复效果归因于生物炭载体的吸附锁定作用和固定化菌的生物降解作用^[19-20]。但由于石油种类的多样性以及成分的复杂性,目前以生物炭为载体制备固定化石油降解菌剂的研究相对不多。

本研究拟以课题组前期筛选的高效石油降解菌为目标菌,筛选多种生物材料制备生物炭作为载体,探索固定化条件,制备固定化菌剂,比较除油率而筛选出除油率较高的菌剂;并对筛选出的菌剂进行表征,从而为其下一步应用于石油污染土壤修复提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 石油 石油采自山东东营胜利油田,为脱水原油。采

收稿日期:2014-07-18

基金项目:国家国际科技合作专项(编号:2013DFR90540);国家“863”计划(编号:2013AA06A210);山东省自然科学基金(编号:ZR2011DQ002);山东省科学技术发展计划(编号:2013GSF11703);山东省环境瓶颈解析与突破项目(编号:SDHBPJ-ZB-07);山东省科学院青年基金(编号:2013QN015)。

作者简介:张 闻(1983—),女,山东肥城人,博士,助理研究员,从事环境污染修复研究。E-mail:zw-sunshine@163.com。

用 SY/T 5119—2008《岩石中可溶有机物及原油族组分分析》的方法对其进行极性 4 组分分析,其中含饱和烃 33.2%、芳香烃 30.0%、沥青质 12.1%、胶质 24.7%。

1.1.2 石油降解菌 石油降解菌为笔者所在课题组前期从石油污染土壤中筛选保存的多食鞘氨醇杆菌(*Sphingobacterium multivorum*),该菌对 0.5 g/L 原油培养基中的石油去除率为 46%^[21]。长时间保存可能导致菌株降解能力有所退化,在试验过程中对该菌进行梯度驯化以提高其降解能力。

1.1.3 培养基 牛肉膏蛋白胨液体培养基:牛肉膏 5 g,蛋白胨 10 g,氯化钠 5 g,蒸馏水 1 000 mL,调节 pH 值为 7.0,121 ℃ 灭菌 20 min;牛肉膏蛋白胨固体培养基:在上述培养基基础上加 15 g 琼脂,调 pH 值为 7.0,121 ℃ 灭菌 20 min;固定化培养基:蔗糖 10 g,牛肉膏 6 g,酵母粉 1.5 g,蒸馏水 1 000 mL,调 pH 值为 7.0,121 ℃ 灭菌 20 min;无机盐基础培养液:5.0 mL 磷酸盐缓冲液(8.5 g/L KH_2PO_4 、21.75 g/L $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、33.4 g/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、5.0 g/L NH_4Cl)、3.0 mL 22.5 g/L MgSO_4 水溶液、1.0 mL 36.4 g/L CaCl_2 水溶液、1.0 mL 0.25 g/L FeCl_3 水溶液、1.0 mL 微量元素溶液[39.9 mg/L $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、42.8 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、34.7 mg/L $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]、1 000 mL 蒸馏水,调 pH 值为 7.0;原油培养基:将无机盐基础培养液分装于 150 mL 三角瓶中,121 ℃ 灭菌 20 min。将石油溶于二氯甲烷中,取适量加入预先灭菌的无机盐基础培养液中,使其最终浓度为 5 g/L。振荡挥去二氯甲烷,即为原油培养基。

1.1.4 载体 采集松针(山东省济南市千佛山)、草(山东省科学院草坪)、玉米芯(山东省肥城市)等生物质材料,用去离子水清洗、风干、粉碎机粉碎、过筛,获得不同粒径范围的生物材料,置于广口瓶中储存备用。取小于 30 目的生物材料置于 100 mL 坩埚中,盖盖后置于预热的马弗炉中,在一定温度下缺氧加热一定时间后取出,获得相应的生物炭。将生物炭研磨、过筛,获得不同粒径范围的生物炭,置于广口瓶中储存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 菌剂制备条件 选取多种生物质材料及其生物炭为载体,通过吸附法固定目标菌。具体固定化方法:将载体加入 250 mL 锥形瓶中(含 100 mL 固定化培养基),以 5% 接种量接入活化后的目标菌,将锥形瓶置于一定温度和一定转速的摇床中,固定若干小时,离心,去掉上清液,下层沉淀经无菌生理盐水洗涤 2 次得到固定化菌剂。分别对载体材料、菌剂处理方式、载体粒径、载体投加量、固定化时间、固定化温度、固定化转速、载体生物炭热解时间、热解温度等进行单因素试验,筛选能获得较高除油率的菌剂制备条件。

1.2.1.1 载体材料 以松针、草、玉米芯为前体物,在马弗炉中于 300 ℃ 热裂解 4 h 制备生物炭。选取 30~80 目的松针、草、玉米芯及相同粒径范围的生物炭为载体,各称取 1 g 加入固定化培养基中,接入活化后的目标菌,在 30 ℃、160 r/min 条件下置于摇床中固定 18 h,制备菌剂。取 0.5 g 菌剂加入原油培养基中,置于摇床上以 160 r/min 速度振荡 1 周,以未加菌剂的原油培养基为对照,测定除油率,设 3 个平行样。

1.2.1.2 菌剂处理方式 以 30~80 目的玉米芯、玉米芯炭为载体制备菌剂,对得到的固定化培养基下层沉淀分别用

0.85% 无菌生理盐水洗涤 2 次、不洗涤处理(其他操作同“1.2.1.1”节),将得到的菌剂加入原油培养基考察其除油率。

1.2.1.3 载体粒径 分别选取粒径范围为 <30、30~80、80~200、>200 目的玉米芯、玉米芯炭为载体制备菌剂,其他操作同“1.2.1.1”节,考察除油率。

1.2.1.4 载体投加量 以粒径 >200 目的玉米芯及玉米芯炭为载体,分别称取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 g 加入固定化培养基中,其他操作同“1.2.1.1”节,考察除油率。

1.2.1.5 固定化时间 以粒径 >200 目的玉米芯、玉米芯炭为载体,固定化时间分别设置为 6、12、18、24、32、48 h,其他操作同“1.2.1.1”节,考察不同固定化时间制备的菌剂除油率。

1.2.1.6 固定化温度 以粒径 >200 目的玉米芯、玉米芯炭为载体制备菌剂,固定化温度分别设置为 15、20、25、30、35、40 ℃,其他操作同“1.2.1.1”节,考察不同固定化时间制备的菌剂除油率。

1.2.1.7 固定化转速 以粒径 >200 目的玉米芯、玉米芯炭为载体制备菌剂,固定化转速分别设置为 80、120、160、200 r/min,其他操作同“1.2.1.1”节,考察不同固定化转速制备的菌剂除油率。

1.2.1.8 玉米芯炭热解时间 以玉米芯为前体物,300 ℃ 时分别热裂解 1、4、8 h 制备玉米芯炭。以粒径 >200 目的玉米芯炭为载体制备菌剂,其他操作同“1.2.1.1”节,考察除油率。

1.2.1.9 玉米芯炭热解温度 以玉米芯为前体物,分别在 150、300、450 ℃ 条件下热裂解 4 h 制备玉米芯炭。以粒径 >200 目的玉米芯炭为载体制备菌剂,其他操作同“1.2.1.1”节,考察除油率。

1.2.2 石油去除率的测定 含油量用质量法测定。向装有原油培养基的锥形瓶中加入 40 mL 二氯甲烷,将其置于摇床上振荡 10 min,转移至超声清洗器中超声 10 min,将其中液体转移至 250 mL 分液漏斗中进行液液萃取。静置后将下层二氯甲烷相转移至锥形瓶中,重复液液萃取 2 次(二氯甲烷加入量分别为 40、20 mL),合并萃取液。将萃取液用玻璃砂芯漏斗过滤(滤纸上铺放无水硫酸钠),滤液接至已称质量的 250 mL 圆底烧瓶中(瓶质量 m_1),用旋转蒸发仪蒸干二氯甲烷,称取含油圆底烧瓶质量(m_2),油质量即为 $m_2 - m_1$ 。除油率为:

$$\frac{\text{对照样品的油质量} - \text{菌剂样品的油质量}}{\text{对照样品的油质量}} \times 100\%。$$

1.2.3 固定化菌剂的表征

1.2.3.1 菌剂中的微生物数量 按“1.2.1”节所述菌剂制备过程,将 1 g 载体加入含 100 mL 固定化培养基的锥形瓶中,以 5% 接种量接入活化后的目标菌,同时用未加载体只接入等量目标菌的培养基为对照。将锥形瓶置于摇床中(30 ℃、160 r/min)固定 18 h,用平板涂布法测定 1 mL 对照样品中的活菌数 N ,CFU/mL;将菌剂样品离心,收集上清液并测定其体积,记为 V_1 (mL),用无菌生理盐水洗涤菌剂样品下层沉淀 2 次,收集洗涤液并与其上清液合并,体积记为 V_2 (mL)。用平板涂布法测定 1 mL 菌剂样品上清液、合并液中的活菌数,分别记为 N_1 、 N_2 。则 1 g 菌剂中的活菌数为: $N \times$

$100 - N_2 \times V_2$, CFU/g; 2次洗涤所洗下的1 g菌剂中活菌数为: $N_2 \times V_2 - N_1 \times V_1$, CFU/g。

1.2.3.2 菌剂的电镜分析及比表面积、孔测定 用扫描电子显微镜(Hitachi TDCLS-4800, 日本)观察固定化菌剂中微生物在载体上的定殖。用表面积分析仪(Quantachrome NOVA 2000, 美国)对菌剂及相应载体进行比表面积和孔体积的测定。考虑到菌剂中的微生物, 释气温度设置较低, 为40℃, 释气时间较长以达到仪器要求, 总 Brunauer - Emmett - Teller (BET)比表面积通过分析氮气在-196.15℃时的多点吸附等温线获得(相对压力 P/P_0 为0.005~0.300)。

2 结果与分析

2.1 菌剂制备条件

2.1.1 载体材料对菌剂除油率的影响 图1比较了以不同生物质材料及相应生物炭为载体制备的固定化菌剂在5 g/L原油培养基中的周除油率。以松针及其生物炭为载体制备的菌剂的除油效果[松针(37.5±0.3)%、松针炭(43.5±0.4)%]优于玉米芯系列[玉米芯(32.7±0.5)%、玉米芯炭(40.5±0.7)%]、草系列[草(28.0±0.5)%、草炭(34.0±0.5)%]。以生物炭为载体的菌剂除油效果优于以其前体物为载体的菌剂。邵娟研究了秸秆固定化菌剂的除油效果, 其对0.5%的原油去除率为83%^[22]; 何丽媛构建了高效石油降解菌群, 并将其固定在玉米秸秆中, 其对2 g/L原油的去除率为98%^[23]。本研究制备的菌剂除油效果低于邵娟媛等的报道, 这可能是因为所用原油性质(物理状态、化学组成)及试验浓度不同导致的。由于玉米是我国主要粮食作物之一, 且山东省作为中国生产玉米的大省, 全省玉米常年播种面积在260万hm²左右, 种植区域比较广泛, 全省17个市均有种植^[24], 因而玉米芯比较容易低成本大量获得, 在以下对菌剂制备条件的考察中, 以玉米芯、玉米芯炭为目标载体制备菌剂进行研究。

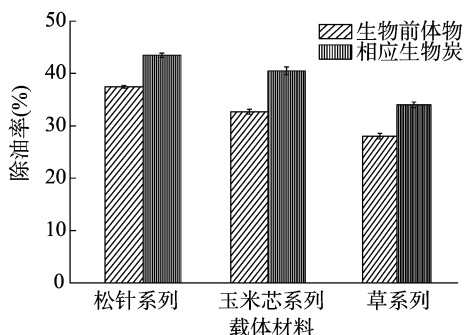


图1 载体材料对菌剂周除油率的影响

2.1.2 菌剂处理方式对菌剂除油率的影响 由图2可知, 用生理盐水清洗的菌剂[玉米芯(34.2±0.5)%、玉米芯炭(38.9±1.2)%]比不清洗的菌剂[玉米芯(26.5±4.0)%、玉米芯炭(28.1±2.2)%]除油效果更好一些。生理盐水洗涤会洗掉部分固定不够牢固的菌, 但提高了除油率, 这可能是由于在固定化过程中, 固定化培养基中的营养物质会被吸附到载体上, 用生理盐水清洗会将大部分营养物质洗涤下来。将固定化菌剂加入原油培养基中后, 清洗后菌剂中的降解菌可以利用原油为碳源, 未清洗的菌剂因大量营养物质的存在,

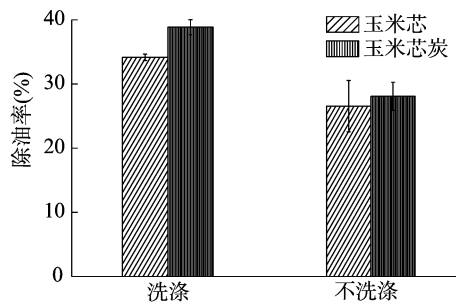


图2 不同处理方式对菌剂周除油率的影响

对石油这一碳源的利用率降低, 从而影响除油效果。

2.1.3 载体粒径、投加量对菌剂除油率的影响 由图3可知, 随着载体粒径减小, 菌剂除油率增高。对于玉米芯炭固定化菌剂, 除油率大小如下: 小于30目(33.9±5.0)% < 30~80目(38.9±1.2)% < 80~200目(42.6±0.3)% < 大于200目(48.4±1.5)%。随载体粒径变小, 比表面积增大, 吸附位点增多, 吸附能力增强^[25], 有利于目标菌多食鞘氨醇杆菌进行表面吸附固定化。

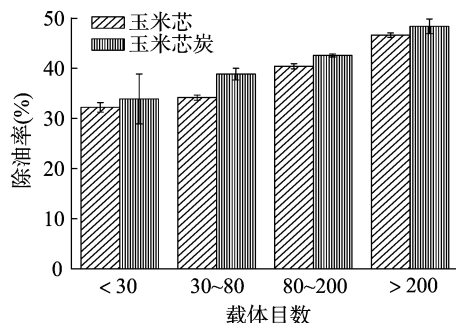


图3 载体粒径对菌剂周除油率的影响

由图4可知, 对于玉米芯固定化菌剂, 随着载体投加量增加, 制备出的菌剂除油率大致呈先提高后降低的趋势, 100 mL固定化培养基投加量为1 g时菌剂除油率最高, 为(33.0±0.9)%。玉米芯炭固定化菌剂的除油率均高于玉米芯菌剂, 且除油率随载体投加量的增加变化不大[(38.8±1.0)%~(42.5±0.7)%]。菌剂对石油的去除效果主要取决于2个方面: 一是菌的降解作用; 二是载体的吸附锁定作用^[19-20]。菌剂制备过程中载体投加量不同, 单位质量载体吸附固定的降解菌数量不同, 载体剩余吸附位点的强弱和多少也不同。将菌剂投加到原油培养基中后, 其除油能力是2个方面共同起作用的结果。综合考虑玉米芯及玉米芯炭菌剂的除油效果, 选择100 mL中投加1 g为考察其他制备参数时的载体投加量。

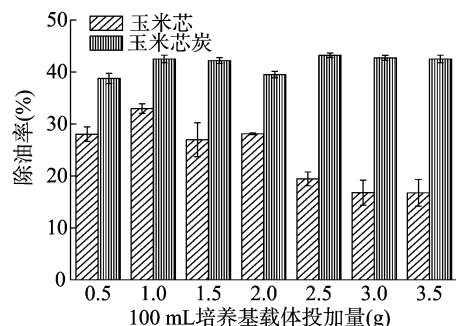


图4 载体投加量对菌剂周除油率的影响

2.1.4 固定化时间、固定化温度、固定化转速对菌剂除油率的影响 图 5、图 6、图 7 分别为固定化时间、固定化温度、固定化转速对菌剂除油率的影响。由图 5 可知,最佳固定化时间为 18 h,玉米芯固定化菌剂、玉米芯炭菌剂的除油率分别为 $(41.9 \pm 3.9)\%$ 、 $(47.6 \pm 4.7)\%$ 。6 ~ 24 h 菌剂除油率呈先提高后降低的趋势,此过程主要与降解菌的生长曲线有关。前期研究表明,该降解菌 0 ~ 6 h 生长缓慢,6 h 之后快速增殖,进入生长对数期,16 ~ 20 h 进入平台期,之后进入衰亡期^[26]。18 h 时菌剂除油率之所以最高,可能是因为制备出的菌剂中菌体数量及活性都达到了较优状态。

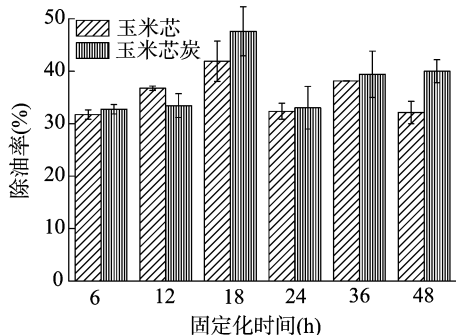


图5 固定化时间对菌剂周除油率的影响

如图 6 所示,玉米芯固定化菌剂在 15 ~ 40 °C 范围对石油的去除率明显低于玉米芯炭固定化菌剂。在 30、35 °C 时,玉米芯炭固定化菌剂对原油的去除率均较高,分别为 $(47.6 \pm 1.0)\%$ 、 $(47.4 \pm 0.6)\%$,说明这 2 个温度下制备的菌剂中降解菌的数量和活性较高,温度较低或者较高时,固定化培养基中降解菌的生长会受到抑制,进而影响到菌剂的除油效果。

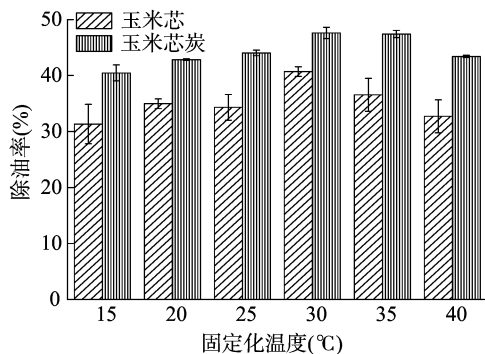


图6 固定化温度对菌剂周除油率的影响

从图 7 可看出,不同固定化转速下制备出的玉米芯炭菌剂除油率均高于玉米芯菌剂。玉米芯炭菌剂达到最优除油效果时的固定化转速为 160 r/min,除油率为 $(50.7 \pm 1.0)\%$ 。固定化转速会影响培养基中的溶解氧含量,随着转速的提高,溶氧量逐渐增加,由于所用降解菌为好氧菌,在氧气充分的条件下可以迅速增殖,吸附固定到载体上,使菌剂中菌的数量增加,从而提高菌剂除油率。当转速过高时,剧烈振荡可能会造成一些菌体的破碎,使菌剂中菌数量降低,从而降低其除油率;另外,供氧太多会加快菌的新陈代谢,菌体也有可能提前进入衰亡期。

2.1.5 玉米芯炭热解温度、热解时间对菌剂除油率的影响

图 8、图 9 分别是玉米芯炭热解时间、热解温度对其菌剂除油率的影响。热解 4 h 获得的玉米芯炭制备的菌剂,其除油率比

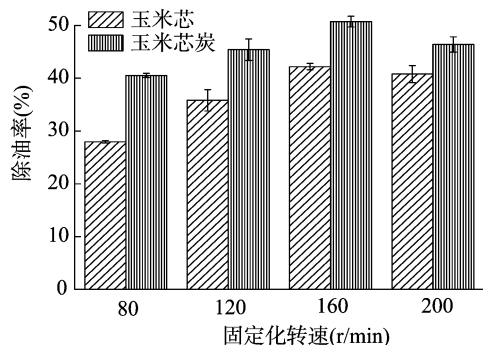


图7 固定化转速对菌剂周除油率的影响

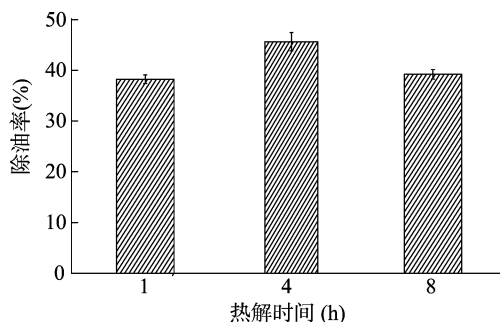


图8 热解时间对菌剂周除油率的影响

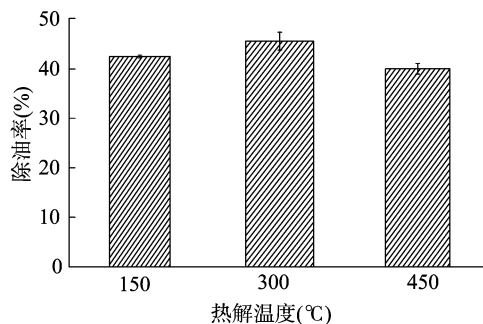


图9 热解温度对菌剂周除油率的影响

热解 1、8 h 制备的菌剂高,三者分别为 $(45.6 \pm 1.8)\%$ 、 $(38.2 \pm 0.9)\%$ 、 $(39.2 \pm 0.9)\%$ 。150、300、450 °C 条件下热解得到的玉米芯炭,其菌剂的除油率略有差异,分别为 $(42.5 \pm 0.3)\%$ 、 $(45.6 \pm 1.8)\%$ 、 $(40.0 \pm 1.1)\%$ 。热解条件决定生物炭的结构和性质^[27],进而影响固定化过程中降解菌在其上的固定以及菌剂对石油的吸附锁定。

综上所述,具备较高除油率的菌剂制备条件为:以玉米芯为前体物,300 °C 热解 4 h 制备玉米芯炭,粉碎、取粒径大于 200 目的部分作为载体固定降解菌,降解菌接种量为 5%,载体投加量为 100 mL 固定化培养基投加 1 g,固定化时间 18 h,转速 160 r/min,温度 30 °C,离心后沉淀用生理盐水清洗 2 次获得菌剂。该菌剂对 5 g/L 原油培养基的周除油率是 47.6% ~ 50.7%。

2.2 玉米芯炭固定化菌剂的表征

玉米芯炭固定化菌剂中,菌体数量为 5.8×10^9 CFU/g,菌在玉米芯炭上的吸附固定效率为 80.7%。清洗处理所洗去的浮菌数为 6.0×10^8 CFU/g。如图 10 所示,用扫描电镜观察菌剂中菌的固定情况,在玉米芯炭表面观察到降解菌。玉米

芯炭及其菌剂的 BET 比表面积分别为 111.1 、 $12.2 \text{ m}^2/\text{g}$, 总孔体积分别为 0.13 、 $0.02 \text{ cm}^3/\text{g}$, 说明菌的吸附堵塞了玉米芯炭上大部分的孔, 极大地降低了其比表面积。

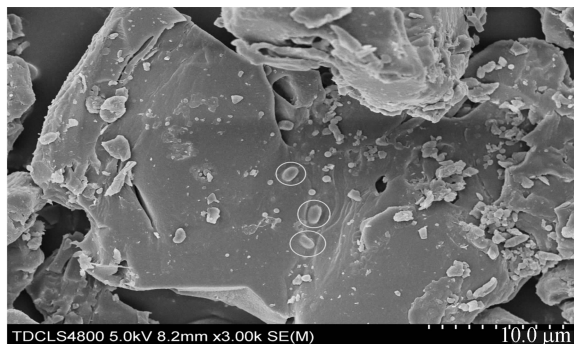


图 10 玉米芯炭固定化菌剂的扫描电镜结果 (3 000 ×)

3 结论与讨论

以不同生物质材料及相应生物炭为载体制备的固定化菌剂的除油率不同。以松针及其生物炭为载体制备的菌剂除油效果优于玉米芯和草系列, 以生物炭为载体制备的菌剂除油效果优于以其前体物为载体制备的菌剂。由于玉米芯比较容易在当地以较低成本大量获得, 考察了以玉米芯炭为目标载体的菌剂制备条件。

具备较高除油率的菌剂制备条件为: 以玉米芯为前体物, 300°C 热解 4 h 制备玉米芯炭, 粉碎、取粒径大于 200 目的部分作为载体固定降解菌, 降解菌接种量为 5%, 载体投加量为 100 mL 投加 1 g 的固定化培养基, 固定化时间 18 h, 转速 160 r/min, 温度 30°C , 菌剂用生理盐水清洗 2 次。该菌剂对 5 g/L 原油培养基的周除油率为 47.6% ~ 50.7%。

该菌剂中的降解菌数量为 5.8×10^9 CFU/g, 细菌在玉米芯炭上的吸附固定效率为 80.7%, 主要吸附区域为玉米芯炭表面及孔。

参考文献:

- [1] 甄丽莎. 石油污染土壤的微生物修复[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(8): 321–324.
- [2] 王绍良, 郑立, 崔志松, 等. 固定化微生物技术在海洋溢油生物修复中的应用[J]. 海洋科学, 2011, 35(12): 127–131.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Xu Y H, Lu M. Bioremediation of crude oil-contaminated soil: comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 183(1/2/3): 395–401.
- [6] 包木太, 田艳敏, 陈庆国. 海藻酸钠包埋固定化微生物处理含油废水研究[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(2): 167–172.
- [7] Barreto R, Hissa D C, Paes F A, et al. New approach for petroleum hydrocarbon degradation using bacterial spores entrapped in chitosan beads[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(7): 2121–2125.
- [8] 余丽, 蒋文天, 杨旭, 等. 生物菌剂对海上溢油的降解[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(2): 330–334.
- [9] Liang Y T, Zhang X, Dai D J, et al. Porous biocarrier-enhanced biodegradation of crude oil contaminated soil[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2009, 63(1): 80–87.
- [10] 秦丽姣. 固定化石油降解菌的制备及其性能表征[D]. 东营: 中国石油大学, 2011.
- [11] 徐娜娜. 石油污染土壤中固定化微生物降解性能研究[D]. 东营: 中国石油大学, 2011.
- [12] Marris E. Putting the carbon back; black is the new green[J]. Nature, 2006, 442(713): 624–626.
- [13] Renner R. Rethinking biochar[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41(17): 5932–5933.
- [14] Roberts K G, Gloy B A, Joseph S, et al. Life cycle assessment of biochar systems; estimating the energetic, economic, and climate change potential[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(2): 827–833.
- [15] 孙红文, 张彦峰, 张闻. 生物炭与环境[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013.
- [16] 唐兴平, 程捷, 林冠烽, 等. 竹纤维吸油材料的制备[J]. 福建林学院学报, 2007, 27(1): 57–60.
- [17] Angelova D, Uzunov I, Uzunova S, et al. Kinetics of oil and oil products adsorption by carbonized rice husks[J]. Chemical Engineering Journal, 2011, 172(1): 306–311.
- [18] Hussein M, Amer A A, Sawan I I. Oil spill sorption using carbonized pith bagasse: 1. Preparation and characterization of carbonized pith bagasse[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2008, 82(2): 205–211.
- [19] 王银善. 生物炭固定化白腐真菌修复 PAHs 污染土壤及作用机理[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [20] 元妙新. 固定化细菌增强修复多环芳烃污染土壤及影响因素[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [21] 李超敏, 王加宁, 邱维忠, 等. 高效降解石油细菌的分离鉴定及降解能力的研究[J]. 生物技术, 2007, 17(4): 80–82.
- [22] 邵娟. 固定化微生物降解原油的研究[D]. 广州: 暨南大学, 2006.
- [23] 何丽媛. 高效石油降解菌群的构建及其固定化研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
- [24] 陈甜. 山东玉米比较优势与市场竞争力分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- [25] Zheng W, Guo M X, Chow T, et al. Sorption properties of greenwaste biochar for two triazine pesticides[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 181(1/2/3): 121–126.
- [26] Yu Y, Zhang W, Chen G, et al. Preparation of petroleum-degrading bacterial agent and its application in remediation of contaminated soil in Shengli Oil Field, China[J]. Environmental Science and Pollution Research International, 2014, 21(13): 7929–7937.
- [27] Lehmann J, Joseph S. Biochar for environmental management: science and technology[M]. London: Earthscan Ltd, 2009.