

微生物对土壤与沉积物吸附多环芳烃的影响

罗雪梅, 何孟常, 刘昌明

(北京师范大学环境学院环境模拟与污染控制国家重点实验室, 北京 100875)

摘要:以枯草芽孢杆菌为接种微生物, 研究微生物对沉积物和湿地土壤吸附多环芳烃(PAHs)菲、苯并[a]芘过程的影响. 结果表明, 枯草芽孢杆菌对菲与苯并[a]芘都可进行吸附或生物降解, 48h 液相 PAHs 浓度达到平衡时, 微生物对菲消除了 98%, 对苯并[a]芘消除 85%; 接种的样品 48h 吸附等温线均呈线形, 能较好地符合线性方程; 在接种微生物情况下, 沉积物与土壤对菲和苯并[a]芘吸附特征均发生较大变化, 对菲的吸附量增大约 35 倍, 而对苯并[a]芘的吸附量却降低了 2/3 左右; 未接种微生物的土壤和沉积物对菲解吸率为 20%, 接种的样品组为 2.9%, 而对苯并[a]芘的解吸结果与菲相反, 未接种的对照组为 4%, 接种的样品组为 13%. 微生物在土壤与沉积物吸附 PAHs 的过程中起主导作用.

关键词: 枯草芽孢杆菌; 微生物; 沉积物与土壤; 多环芳烃; 吸附作用

中图分类号: X144 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)02-0261-06

Effect of Microorganism for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Sorption on Surface Sediments and Soils

LUO Xue-mei, HE Meng-chang, LIU Chang-ming

(State Key Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: Influence of microorganism for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) sorption on surface sediments and soils in Yellow River Delta was studied. The results indicated that phenanthrene and benzo[a]pyrene could be adsorbed or biodegraded by *Bacillus subtilis*, and 98% phenanthrene and 85% benzo[a]pyrene was eliminated by microorganism in adsorption process. Sorption isotherms of soils and sediments with and without microorganism were described by linear isotherm equation. Adsorption capacity of samples with microorganism increased about 35 times than that of without microorganism, but benzo[a]pyrene adsorption capacity decreased about 2/3. In desorption process, samples with microorganism desorbed less phenanthrene than without microorganism, but more benzo[a]pyrene. Microorganism plays an important role in adsorption process.

Key words: *Bacillus subtilis*; microorganism; surface sediments and soils; PAHs; sorption

土壤与其相连的水环境称为土壤-水环境系统, 其中存在着大量的土壤固有微生物, 并在表面存在生物膜, 因为生物膜形成了隔离层, 有机污染物在接触到支撑生物膜的固体基底之前, 必须首先到达并且穿过这个隔离层, 这样就强烈地改变矿物颗粒或基底的吸附行为, 对吸附作用有重要的影响^[1,2]. 近年的研究表明^[3], 由于在黄河流域的不同河段均已受污染, 导致黄河三角洲地区沉积物与土壤中含有 PAHs, 沉积物中 PAHs 主要为当地原油污染和流域工业或民用煤不完全燃烧所致^[4]. 有机污染物在环境中迁移转化过程中有诸多因素影响其最终归趋, 其中水体环境中微生物的作用不容忽视, 因此, 研究微生物对沉积物和湿地土壤吸附 PAHs 过程的影响, 对探索黄河三角洲地区有机污染物的迁移转化过程有一定的意义.

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 样品采集及其理化性质

在黄河三角洲保护区大汶流管理站地区, 用蚌式抓斗采泥器采集黄河表层沉积物、湿地土壤样品(0~30 cm)后, 速装入袋中带回实验室, 沉积物样品在室温条件下风干, 然后研磨分别过 100 目筛, 低温保存以备分析用. 土壤沉积物的理化性质见表 1.

1.1.2 菌种及培养基

实验选用的菌种为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*), 购于中科院微生物研究所, 所用培养基为: 蛋白胨、牛肉膏、NaCl. 无机盐营养液为: Na_2HPO_4 $0.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, KH_2PO_4 $0.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $0.005 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, CaCl_2 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, Na_2MoO_4 $0.001 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $121 \sim 125^\circ\text{C}$ 灭

收稿日期: 2006-02-22; 修订日期: 2006-04-20

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2003CB415002); 国家自然科学基金重点项目(20477003)

作者简介: 罗雪梅(1971~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为环境污染化学, E-mail: luo_xuemei@sohu.com

表 1 黄河三角洲沉积物与湿地土壤理化性质¹⁾
Table 1 Basic properties of sediment in Yellow River Delta

采样点	TOC/%	CEC/cmol•kg ⁻¹	粒径分布/ %			
			0.25 ~ 0.05 mm	0.05 ~ 0.01 mm	0.01 ~ 0.001 mm	< 0.001 mm
大汶流站沉积物	0.05	3.71	29	50.00	4.00	17.00
湿地土壤	0.23	5.68	13	54.00	12.00	21.00

1)湿地土壤生长怪柳灌丛和零星分布翅碱蓬

菌 30 min. 无菌条件下在培养基中接入枯草芽孢杆菌菌种, 28 ~ 30℃条件下恒温培养 3 ~ 4 d 后使用^[5].

1.1.3 PAHs 溶液的配制与测定

将过量的 PAHs 分别加入到无机盐溶液中, 超声 1 h 后在摇床上振荡 24 h, 用玻璃纤维滤膜过滤去除 PAHs 晶体, 滤液作为 PAHs 的储备液. 储备液制备过程中可加入少量的甲醇(体积比 < 0.1%), 以增加 PAHs 溶解度. 吸附实验前用无机盐溶液将各储备液稀释到 1% ~ 100% (体积比) 作为吸附实验用不同浓度 PAHs 溶液. 在对照实验中加入叠氮化钠作抑菌剂, 可以避免微生物对 PAHs 的降解, 吸附和解吸实验过程均在密封避光条件下进行, 以防止 PAHs 的挥发和光解. 预备实验结果表明, 当没有加入样品时, 24 h 内液相 PAHs 的挥发损失是 1.90%, 因此可认为吸附实验中液相 PAHs 浓度降低主要是样品的吸附作用.

PAHs 的测定利用 Waters 1525 高效液相色谱仪、荧光检测器 474 测定, 色谱柱为 C¹⁸ 反相色谱柱, 定量方法为标准曲线法. 色谱条件: 流动相甲醇: 水 = 95 : 5, 进样体积 20 μL, 流速 1 mL•min⁻¹, 菲、苯并[a]芘检测波长分别为 292/366 nm、296/408 nm.

1.1.4 仪器与试剂

SHY-2A 型水浴恒温振荡器, LD5-2A 型高速离心机, Waters 1525 高效液相色谱仪, 微生物恒温培养箱, 高压灭菌锅. 实验所用菲、苯并[a]芘、CaCl₂ 和 NaN₃ 等化学试剂均为分析纯或优于分析纯.

1.2 实验方法

吸附动力学实验: 取一系列 250 mL 具塞三角瓶 3 组, 其中 2 组三角瓶中分别称取相同质量样品, 1 组瓶内样品接种 10 mL 培养微生物溶液, 另 1 组未接种微生物并加入叠氮化钠以对照, 再分别移入相同浓度 PAHs 水溶液, 置于水浴恒温振荡器中, 避光以 150 r•min⁻¹ 振荡, 定时取样后以 4 000 r•min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液分析测定 PAHs 浓度. 第 3 组三角瓶中不加入固体样品只接种微生物后移入 PAHs 水溶液, 其它实验过程同上.

微生物吸附实验: 取一系列 50 mL 具塞三角瓶 2

组, 分别移入不同浓度 PAHs 水溶液后接种 1 mL 培养的微生物溶液, 其中 1 组加入叠氮化钠以对照, 再置于水浴恒温振荡器中, 避光以 150 r•min⁻¹ 振荡 48 h, 取样后以 4 000 r•min⁻¹, 其它实验过程同上.

样品吸附解吸实验: 一系列 50 mL 具塞三角瓶称取相同质量样品 3 组, 第 1 组接种 1 mL 微生物培养液; 第 2 组接种微生物 1 mL 并加入叠氮化钠(对照 1), 第 3 组未接种微生物只加入叠氮化钠(对照 2). 之后分别移入不同浓度的 PAHs 水溶液, 置于水浴恒温振荡器中, 避光以 150 r•min⁻¹ 振荡至平衡时间后, 以 4 000 r•min⁻¹ 离心 20 min 后测定上清液中 PAHs 浓度, 以差减法求取吸附量, 作吸附等温线. 用于解吸样品经 48 h 吸附后离心去除上清液, 再加入 20 mL 不含 PAHs 的无机盐溶液, 同上方法避光振荡 48 h, 离心测定上清液 PAHs.

上述吸附实验均做平行与空白实验. 接种微生物前实验所用储备液及无机盐溶液均高压灭菌, 在无菌条件下接种枯草芽孢杆菌.

2 结果与讨论

2.1 吸附动力学曲线

微生物、沉积物和土壤样品对菲、苯并[a]芘的吸附随接触时间的变化趋势如图 1 所示. 可以看出, 在有无微生物存在的情况下, 3 组样品对菲、苯并[a]芘的吸附明显不同. 吸附初期, 液相中的 PAHs 浓度迅速下降, 24 h 后接种微生物组与对照组中 PAHs 的变化已明显不同, 在 48 h 后 3 个实验组的吸附都基本达到平衡.

从未加入固体样品只接种微生物的动力学曲线可见, 枯草芽孢杆菌对菲和苯并[a]芘都可进行吸附或生物降解, 水相中的菲在 5 h 内迅速下降至近一半, 浓度由 0.849 μg•mL⁻¹ 降到 0.39 μg•mL⁻¹, 48 h 达到平衡时, 液相中的菲浓度降到 0.01 μg•mL⁻¹ 左右, 与初始浓度相比减少 98% 左右. 同时, 水相中的苯并[a]芘仅 1 h 就降低过半, 由 0.298 μg•mL⁻¹ 降到 0.1 μg•mL⁻¹ 左右, 24 h 基本达到平衡, 但平衡时的液相浓度相对于初始浓度约减少 85%. 水相中菲、

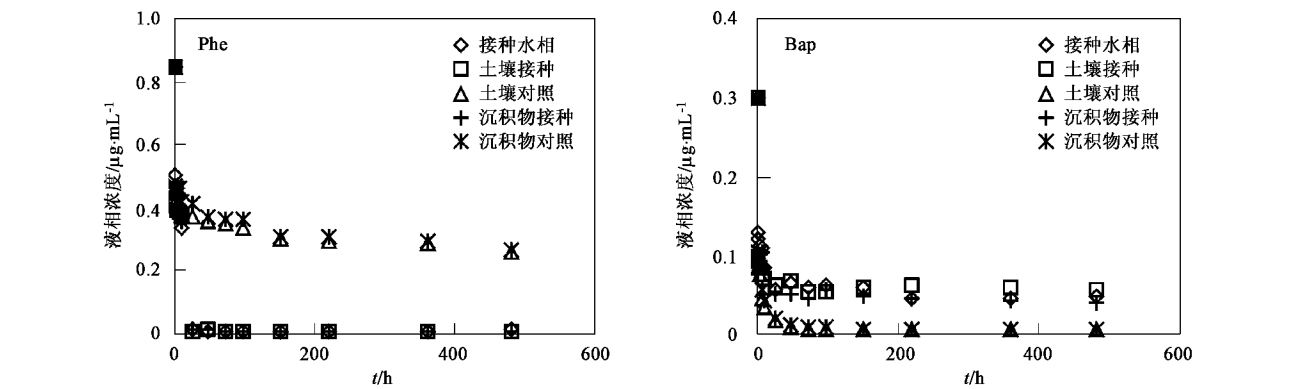


图 1 沉积物和土壤对多环芳烃的吸附动力学曲线

Fig.1 Sorption dynamical curve of sediment/soils to PAHs

苯并[a]芘的浓度变化表明,在实验初期枯草芽孢杆菌对菲的降解速率比苯并[a]芘慢,但最终微生物对菲的生物利用率明显要大于苯并[a]芘.

从吸附实验数据拟合的动力学方程可见(表 2),接种微生物的土壤和沉积物样品对菲的吸附速率有很大的差别,而且曲线的变化趋势与仅有微生物组结果相近似.采用一级动力学方程、双常数和 Elovich 方程对液相多环芳烃的浓度变化数据拟合,除菲的对照组的一级动力学方程外,其他的拟合方程的 R^2 在 0.81 ~ 0.99 之间.从菲的动力方程得出

接种微生物的 3 组吸附速率常数与对照组之间的差异显著($p < 0.05$),而且接种的 3 组之间差异不显著($p < 0.05$),可见接种微生物对土壤和沉积物吸附菲的影响较大.接种水样组的生物作用与对照组的吸附作用对比,土壤和沉积物的吸附作用可以消除菲的 65%,而微生物的生物作用可消除 98%,通过实验表明,微生物引入后,液相菲的降低主要是由于微生物对菲的吸附或生物利用所造成的,而且微生物对菲的生物作用远大于土壤和沉积物样品的吸附作用.

表 2 吸附速率方程拟合参数¹⁾

Table 2 Fitting values by kinetic models

实验组		一级动力学方程 ²⁾		Elovich 方程			双常数方程		
		$\ln(c_t/c_0) = -k' t$		$c_t/c_0 = a - b \ln t$			$c_t/c_0 = a t^b$		
		k	R^2	a	b	R^2	a	$-b$	R^2
Phe	水相微生物	0.096 2	0.900 5	0.485 5	0.088 7	0.901 6	0.299	0.580 2	0.771 1
	土壤接种	0.093 2	0.810 3	0.458 8	0.084 5	0.901 8	0.277 7	0.572 9	0.865 8
	土壤对照	0.001 2	0.425 3	0.553	0.045 6	0.942 4	0.515	0.069 9	0.967 4
	沉积物接种	0.094 8	0.849 8	0.479 1	0.087 1	0.891 6	0.295 5	0.576 8	0.869 1
	沉积物对照	0.001 4	0.532 5	0.601 8	0.047 1	0.946 4	0.553 3	0.070 2	0.942 4
Bap	水相微生物	0.034 5	0.984 6	0.438 9	0.054 9	0.967 8	0.385 9	0.149 7	0.959 1
	土壤接种	0.017 3	0.908 7	0.403 4	0.049 5	0.869 3	0.343 1	0.122 1	0.919 4
	土壤对照	0.072 3	0.931	0.318 9	0.064 6	0.953	0.171	0.374 8	0.890 6
	沉积物接种	0.030 7	0.968 2	0.407 5	0.054 6	0.941 1	0.347 8	0.155 6	0.954 8
	沉积物对照	0.067 3	0.958 2	0.334 8	0.065 3	0.967 2	0.194 3	0.360 1	0.882 4

1) c_t 为 t 时液相 PAHs 的浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), c_0 是初始浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), k' b 为速率常数(h^{-1}); 2) 为 48 h 数据拟合动力学方程

接种微生物的土壤和沉积物对苯并[a]芘的吸附动力学曲线与菲的状况截然不同.接种微生物的 3 组拟合的动力学方程 k 、 b 值明显小于对照组,而且接种微生物的 3 组的差异水平显著($p < 0.05$)的分析结果与菲的相近.由此可见,接种微生物后土壤和沉积物对苯并[a]芘的吸附远远降低.接种微生物的生物作用与对照组的吸附作用对比看,土壤和沉

积物的吸附作用可以消除苯并[a]芘的 98%,微生物的生物作用可消除 85%,但是 2 种作用共存时却只消除 80%.表明微生物的存在阻碍了土壤和沉积物对苯并[a]芘的吸附,而且微生物对苯并[a]芘的生物利用小于土壤和沉积物样品的吸附作用.

土壤的大部分颗粒的内孔隙直径小于 $0.1\ \mu\text{m}$,只有少部分直径大于 $2\ \mu\text{m}$ ^[6],由于大多数土壤固有

微生物的体积长度约在 $0.5 \sim 1 \mu\text{m}$ 之间,且能够进入微生物的土壤颗粒内孔隙平均直径必须大于 $2 \mu\text{m}$ ^[7],因此,微生物在土壤或沉积物样品表面形成的生物界面,阻碍了 PAHs 向样品颗粒内部有机相的渗透通道,或者因活性微生物组织以及产生的物质能够直接通过吸附或络合作用影响吸附剂颗粒表面性状,掩盖了土壤和沉积物一些吸附位,从而降低 PAHs 在土壤或沉积物上的吸附.另一方面,由于微生物对苯并[a]芘的生物利用小于菲,导致液相中的菲可以很快被消除掉,而苯并[a]芘不能被微生物完全降解,因此表现出接种的样品组中苯并[a]芘浓度偏高.

根据实验结果可知,在有微生物存在的情况下,

微生物在吸附 PAHs 的过程中起到主导的作用,微生物将改变 PAHs 在土壤与沉积物上的迁移转化,从而改变 PAHs 在水环境中的最终归趋.

2.2 微生物对 PAHs 吸附等温线

枯草芽孢杆菌对 PAHs 吸附等温线见图 2,活性和死亡的微生物对 PAHs 的吸附等温线符合线性方程($R^2 > 0.97$).实验结果表明,枯草芽孢杆菌对 PAHs 有较强的吸附能力,与加入叠氮化钠对照组相比,具有生物活性的水相微生物对 PAHs 的吸附量明显大于死亡的对照组.另外,从吸附量来看,活性和死亡枯草芽孢杆菌对菲的吸附量也明显大于苯并[a]芘.

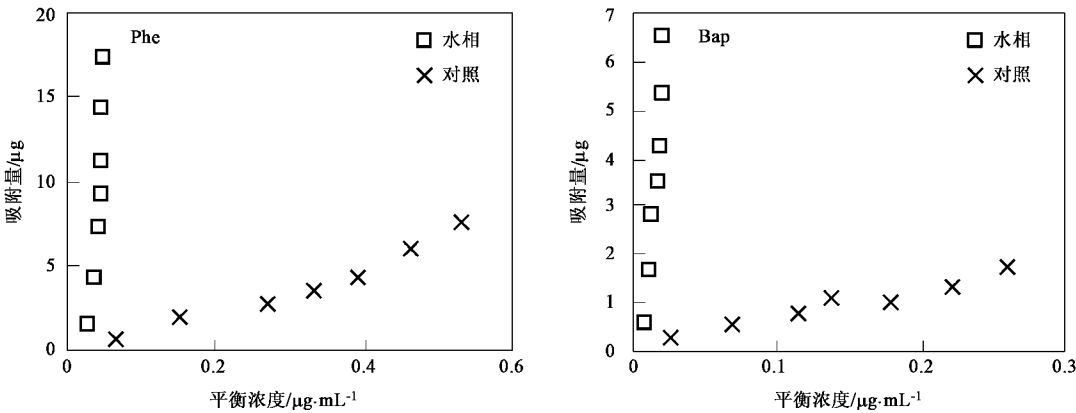


图 2 微生物对菲、苯并[a]芘的吸附等温线

Fig.2 Phenanthrene and benzo[a]pyrene sorption isotherms for microorganism

2.3 接种微生物的沉积物和土壤对 PAHs 吸附特征

2.3.1 接种微生物的样品对 PAHs 吸附等温线

吸附样品中接种 1 mL 枯草芽孢杆菌微生物培养液,相当加入生物量0.002 5 g.接种微生物沉积物和土壤对菲、苯并[a]芘吸附等温线见图 3,吸附等

温线拟合参数见表 3, R^2 在 0.896 ~ 0.997 之间.结果表明,当吸附环境中引入微生物后,土壤与沉积物对菲的吸附量都明显增加,而对苯并[a]芘的吸附量有所降低.对菲的吸附量顺序是:接种微生物样品组 > 对照 1 组 > 对照 2 组;对苯并[a]芘的吸附量顺序

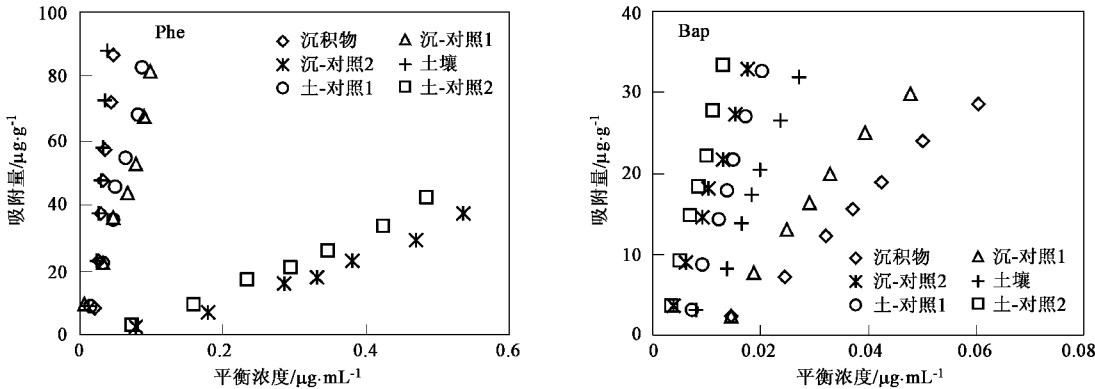


图 3 接种的土壤与沉积物对多环芳烃的吸附等温线

Fig.3 Isotherms of phenanthrene and benzo[a]pyrene sorption on soils/sediments with microorganism

表 3 吸附等温线参数的数学拟合

Table 3 Isotherm parameters for PAHs sorption on soil and sediment

PAHs ¹⁾		接种微生物样品		对照 1 组		对照 2 组	
		沉积物	土壤	沉积物	土壤	沉积物	土壤
菲	K_D	2 732.6	2 905.7	743.6	991.37	72.412	90.618
	R^2	0.972 8	0.897 4	0.957 2	0.981 7	0.981 7	0.967
苯并[a]芘	K_D	603.72	1 464.5	813.53	2 319.5	2 057.7	3 119.58
	R^2	0.982 5	0.946 7	0.969 3	0.976 9	0.995 3	0.995 4

1)样品固体浓度为 10 g•L⁻¹

为:对照 1 组 > 对照 2 组 > 接种微生物样品组.

对菲吸附的实验结果表明,接种微生物后样品吸附等温线的吸附系数 K_D^* 与未接种微生物的对照组 K_D 相比,即 K_D^*/K_D 值都远大于 1,说明微生物的存在促进菲的降低,而对苯并[a]芘的吸附系数 K_D^*/K_D 值却都小于 1,表明微生物的存在阻碍了苯并[a]芘的吸附.接种样品组与对照 1 组结果可见,活性微生物对 PAHs 的生物作用明显大于死亡微生物,这可能是活性微生物的生命活动对 PAHs 的作用更大.

接种微生物后对 2 种 PAHs 的影响作用出现相反的现象,分析原因可能有几个方面:①由于土壤和沉积物颗粒的内孔隙直径与微生物的体积长度之间的差异,使接种的微生物不能进入内空隙而在土壤或沉积物的空隙外形成生物界面,阻碍了 PAHs 向样品颗粒内部有机相渗透的通道,使一部分 PAHs 不能分配到土壤或沉积物的有机相中,从而降低了样品的吸附作用;②活性微生物及其产生的物质要比死亡的微生物更容易通过吸附或络合作用影响吸附剂颗粒表面性状,由于微生物及其产物与吸附剂

之间的反应而掩盖了土壤和沉积物一些吸附位^[8,9],减少了对 PAHs 吸附点位,从而降低 PAHs 在土壤或沉积物上的吸附;③微生物对菲、苯并[a]芘具有的生物作用,但因菲和苯并[a]芘自身理化性质的差别,使微生物对苯并[a]芘的生物利用性比菲小,因此,出现接种后土壤和沉积物对菲的吸附量增多,对苯并[a]芘的吸附降低.

通过实验结果可知,在有微生物存在的情况下,土壤或沉积物对 PAHs 的吸附,不仅由土壤沉积物自身的理化性质来决定,主要还依赖于水环境中微生物的作用,尤其是微生物对 PAHs 的生物可利用性也决定着 PAHs 的迁移转化.对于分子量小低环的菲微生物能够促进其在水环境的减少,而对分子量高环的苯并[a]芘,则阻碍其在土壤和沉积物的吸附而使其存在于水环境中.

2.3.2 微生物对解吸的影响

图 4 和表 4 的解吸实验结果表明,菲的解吸量大小顺序为:对照 2 组 > 对照 1 组 > 接种样品组;对苯并[a]芘的解吸出现与菲相反的现象,顺序为:对照 2 组 < 对照 1 组 < 接种样品组.

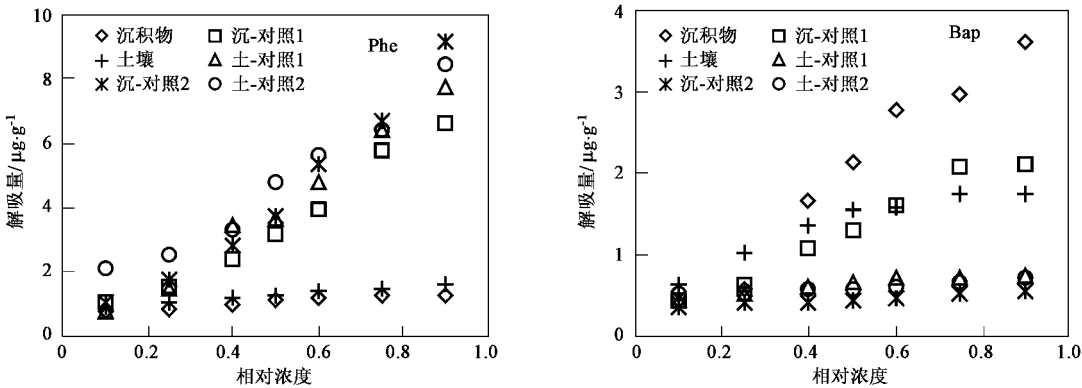


图 4 土壤与沉积物的解吸等温线

Fig.4 Isotherms of phenanthrene and Benzo[a]pyrene desorption on soils/sediments with microorganism

由吸附动力实验的结果可知,带有活性微生物样品组中 PAHs 的降低是由微生物造成的,有死亡

微生物样品组中 PAHs 的降低是由微生物和土壤或沉积物吸附共同造成的.从微生物的吸附等温线可

知,微生物对菲和苯并[a]芘的作用是不相同的,微生物对于菲不仅是简单的吸附,可能还有生物吸收利用或生物转化,只有较少部分菲被吸附在土壤和沉积物上.所以,在解吸过程有活性微生物存在时,样品对菲的解吸量最少,有死亡微生物的一组相对多些,而无微生物对照组解吸量最大.同样,样品接种微生物后,因微生物的作用使苯并[a]芘在土壤与沉积物样品的吸附较少,那么,解吸出来的苯并[a]芘也很可能是微生物所释放出的.另外,微生物对苯并[a]芘作用机理可能不同于菲,可能只是简单吸附或附着,所以活性微生物所释放的苯并[a]芘量大于死亡的1组,接种的2个组的释放量又均大于无微生物的对照2组.从另一角度表明微生物对苯并[a]芘的吸附具有一定的可逆性,微生物对苯并[a]芘的释放要大于土壤和沉积物的.

表 4 各组土壤与沉积物样品对多环芳烃的解吸率/%
Table 4 Phenanthrene and Benzo[a]pyrene desorption ratio on
soils/sediments with microorganism/%

PAHs	接种微生物样品		对照 1 组		对照 2 组	
	沉积物	土壤	沉积物	土壤	沉积物	土壤
菲	2.96	2.91	7.50	8.60	23.87	21.15
苯并[a]芘	14.1	11.7	9.68	5.34	4.32	3.97

3 结论

(1)枯草芽孢杆菌对菲与苯并[a]芘都可进行吸附或生物降解,接种微生物的土壤和沉积物对菲的吸附明显增大,而对苯并[a]芘的吸附却降低,接种微生物样品的吸附动力学曲线的变化趋势与仅有微生物的吸附结果相近似,表明微生物在吸附 PAHs

的过程中起到主导作用,PAHs 的降低主要是由于微生物的吸附或生物利用所造成的.

(2)微生物的存在改变土壤和沉积物的吸附特性,接种微生物后的沉积物与土壤对菲和苯并[a]芘吸附均发生较大变化,对菲的吸附明显增大,而对苯并[a]芘的吸附却降低,而且活性微生物的作用明显大于死亡微生物的作用.

(3)未接种微生物的土壤和沉积物对菲解吸量大于有微生物的2个组,而且活性微生物组对菲的释放大于死亡组;土壤和沉积物对苯并[a]芘的解吸则与菲相反.

参考文献:

[1] Headley J V, Lawrence J R. Rate of sorption and partitioning of contaminants in river biofilm [J]. Environmental Science Technology, 1998, 32(24): 3968 ~ 3973.

[2] Schorer Mand, Eisele M. Accumulation of inorganic and organic pollutant by biofilms in the aquatic environment [J]. Water Air and Soil Pollution, 1997, 99: 651 ~ 659.

[3] 席家治. 黄河水资源[M]. 郑州: 黄河水利出版社, 1999. 365 ~ 390.

[4] 李任伟, 李原, 张淑坤, 等. 黄河三角洲沉积物烃类污染及来源[J]. 中国环境科学, 2001, 21(4): 301 ~ 305.

[5] 马放, 任南琪, 杨基先. 污染控制微生物学实验[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2002. 191 ~ 220.

[6] 刘凌, 李大勇, 崔广柏. 有机污染物湿地生物降解实验规律研究[J]. 环境污染治理技术与设备, 2002, 3(2): 1 ~ 6.

[7] Alexander M. Introduction to Soil Microbiology [M]. Second Edition. New York: John Wiley & Sons, 1977. 4 ~ 35.

[8] 王文军, 王文华, 张学林, 等. 生物膜及其各种组分对 4-氯酚化合物的吸附特征[J]. 环境科学, 2001, 22(2): 19 ~ 26.

[9] 王文军, 张学林, 王文华, 等. 生物膜及其组分对 4-氯酚的吸附速率研究[J]. 环境化学, 2001, 20(4): 338 ~ 344.