

脱氮副球菌 W12 在游离生长与附着生长条件下对吡啶去除作用的研究

俞蓉¹, 赵翠¹, 刘江江², 陈吕军², 温东辉^{1*}

(1. 北京大学环境科学与工程学院, 北京 100871; 2. 清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要:分离到 1 株吡啶降解菌——脱氮副球菌(*Paracoccus denitrificans* W12), 将其附着生长于颗粒活性竹炭(ABC)制备成生物活性竹炭(BABC), 分别以游离菌和固着菌开展对水中吡啶的去除实验. 结果表明, $0.31 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 游离态 W12 菌可在 26.5 ~ 48.9 h 内将 $48.70 \sim 1399 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吡啶完全降解, 附着于 ABC 的 W12 菌不仅保持其降解能力, 而且 BABC 通过吸附与降解的协同作用更高效地去除吡啶, 当温度为 35℃, BABC 投加量为 $10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, $692.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吡啶在前 3.6 h 主要通过吸附作用降低 52%, 其后主要通过生物降解作用至 23.7 h 被基本去除, 随着 BABC 投加量和处理批次的增加, 吡啶去除效率显著提高. 研究进一步从微观结构上对 BABC 去除水中吡啶的协同作用机制进行了探讨.

关键词: 吡啶降解菌; 生物活性竹炭(BABC); 吸附; 生物降解

中图分类号: X703.1; X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)04-1053-06

Removal of Pyridine Using Suspended and Attached Growing Bacterium of *Paracoccus denitrificans* W12

YU Rong¹, ZHAO Cui¹, LIU Jiang-jiang², CHEN Lü-jun², WEN Dong-hui¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China; 2. Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: In this study, a pyridine-degrading bacterium, *Paracoccus denitrificans* W12, was isolated. It was cultivated to grow on the surface of activated bamboo charcoal (ABC) particles so that the ABC turned into biological activated bamboo charcoal (BABC) covered with biofilm of the W12. Free cells of the W12 and the BABC were separately tested in removing pyridine from aqueous solution. The results showed that $0.31 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ suspended growing-W12 completely degraded $48.70 \sim 1399 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of pyridine within 26.5~48.9 h, while the BABC (attached growing-W12) degraded pyridine much more efficiently due to the combination of biodegradation and adsorption. When the dosage of BABC was $10.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ at the temperature of 35℃, $692.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of pyridine was decreased by 52% in the first 3.6 h mainly by adsorption, then was totally removed within 23.7 h mainly by biodegradation. Increasing the dosage of BABC or batch of treatment promoted the efficiency of pyridine removal remarkably. The synergistic mechanism of BABC removing pyridine from aqueous solution was further discussed on the basis of its microstructure.

Key words: pyridine-degrading bacterium; biological activated bamboo charcoal (BABC); adsorption; biodegradation

吡啶是一种工业应用广泛的含氮杂环芳烃化合物,其化学结构虽然简单,但却具有强烈的“三致”作用^[1],焦化、染料、制药等行业排放的含吡啶及其衍生物的废水均属于难降解有机废水,传统的活性污泥法往往不能有效地去除此类污染^[2],进而对地表水体、土壤和地下水环境造成危害.

目前,吸附技术^[3]和生物强化技术^[4]是去除水中吡啶的高效技术手段.对于吸附技术,活性炭是最常用的吸附剂,其中利用中国丰富竹资源而加工的活性竹炭(activated bamboo charcoal, ABC)因具备较大的比表面积和丰富的孔隙结构,是一种高效吸附剂^[5-7],然而,吸附技术只是将水中的污染物聚集于吸附剂表面,污染物本身未被分解,其总量也未发生变化,且实际应用中还需要对失效的吸附剂进行

再生.对于生物强化技术,向活性污泥系统中投加特异性降解菌是常用的办法,可增强系统对水中难降解物质的处理能力^[8],已经报道的吡啶降解菌有 *Micrococcus luteus*^[9]、*Pimelobacter* sp.^[10]、*Bacillus coagulans*^[11]、*Nocardioides* sp.^[12]、*Azoarcus* sp.^[13]、*Pseudomonas* sp.^[14]、*Pseudomonas putida*^[15]等;然而,高效降解菌种因世代周期较长,竞争不过土著菌种,容易随着系统排泥而流失,且其倾向于优先利用环境中易降解物质,致使特殊降解活性逐渐退化^[16].将 2 种技术结合起来,即把降解菌附着于吸附剂上,

收稿日期 2009-05-16;修订日期 2009-07-20

基金项目:国家高技术研究发展计划(863)项目(2006AA06Z336)

作者简介:俞蓉(1984~),女,硕士研究生,主要研究方向为环境生物技术, E-mail: yurong84@gmail.com

* 通讯联系人, E-mail: dhwen@pku.edu.cn

使吸附作用与降解作用有机地结合在一起,一方面可以防止菌种流失,吸附作用所发挥的缓冲和缓释作用可以提高菌种的适应性和耐冲击性,吸附剂表面的高浓度微环境亦可以防止菌种的退化;另一方面生物降解作用可使吸附剂得到动态再生,延长其再生周期,微生物分泌的粘性荚膜物质还可以弥补吸附剂材质轻及机械强度不足的缺点^[17-19]。

本研究以 ABC 为吸附剂和微生物载体,将本实验室分离的 1 株吡啶降解菌 *Paracoccus denitrificans* W12 附着生长于其上,制成特异性的生物活性竹炭 (biological activated bamboo charcoal, BABC),比较 W12 菌在游离态与附着态条件下对水溶液中吡啶的去除效果,探讨生物降解与炭吸附协同作用在难降解有机废水生物处理中的优势。

1 材料与方 法

1.1 吡啶降解菌

W12 菌为本实验室分离和保存的 1 株高效吡啶降解菌,它可以吡啶为唯一的碳、氮源生长代谢^[20],经中国科学院微生物所鉴定为脱氮副球菌 (*Paracoccus denitrificans*),其生理生化特性如表 1 所示。W12 菌以 LB 培养基^[21]进行富集,以 MSM 培养基^[22]进行分离纯化及降解实验。

表 1 W12 菌株特性

Table 1 Characteristics of *P. denitrificans* W12

细菌形态	大小/ μm	菌落特征	染色	生理生化特性
杆状,无鞭毛	长约 0.9,直径约 0.3	圆形、黄色、润滑有黏性,可产生分泌物	革兰氏阴性	化能异养兼性菌

1.2 活性竹炭

实验用活性竹炭源自浙江毛竹,由浙江遂昌希顺炭业有限公司加工制成,型号为 785-2。性质见表 2。经本实验室研究,该活性竹炭对水中吡啶具有较强的吸附能力^[23]。

表 2 活性竹炭性质¹⁾

Table 2 Characteristics of activated bamboo charcoal

容积密度 $/\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	表观密度 $/\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$	孔隙率 $/\%$	平均孔径 $/\text{nm}$	BET 比表面积 $/\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$	粒径 $/\mu\text{m}$
0.386 6	0.721 6	46.42	1.905	632.7	6~10

1)清华大学材料科学与工程系新型炭材料研究室测定

1.3 生物活性竹炭

设计如图 1 所示的装置对 ABC 进行纯菌挂膜实验。

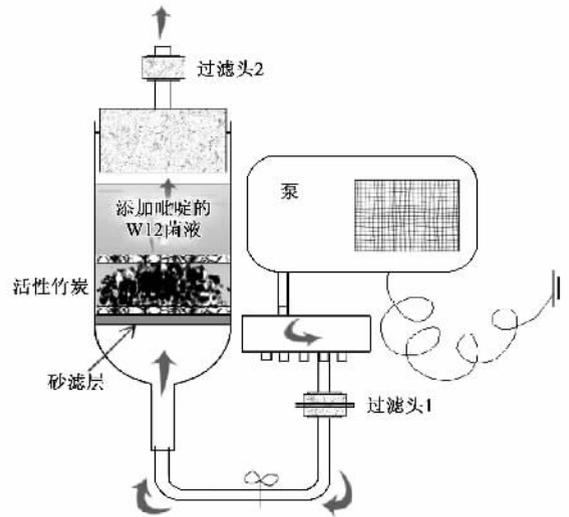


图 1 生物活性竹炭的挂膜装置示意

Fig. 1 Schematic diagram of cultivating ABC with *P. denitrificans* W12 into BABC

装置由培养器和气路系统两部分组成,培养器包括柱状漏斗、砂滤层、活塞、过滤头,气路系统包括气泵、分流器、导管、过滤头等。其中砂滤层可保证输送的空气均匀分布,并减缓气流对生物膜的冲击,以防止新生细菌脱落;气泵产出气体可经分流器向多个培养器供气;过滤头配有 $0.2 \mu\text{m}$ 聚四氟乙烯滤膜对进、出气体进行过滤,防止培养过程中向培养器引入杂菌。

BABC 的制备方法为:将灭菌 ABC 均匀放置于砂滤层上,再以灭菌卵石压于其上;无菌条件下注入 MSM 培养基 250 mL 及 W12 富集菌液 2 mL (约合干菌重 0.0366 g),并加入适量吡啶使其浓度约为 $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。其后将培养器与气路系统连接,于常温下开始曝气培养,控制气流量以不将活性竹炭颗粒吹起为宜;为保证 W12 菌的活性及其降解能力,培养中添加适量吡啶溶液。15 d 后结束培养,将表面已黏附生物膜的生物活性竹炭 (BABC) 转移至无菌器皿中,部分用于质量测定和扫描电镜观察 (荷兰 FEI QUANTA 200),其余烘干后置于无菌称量瓶中 4°C 下保存待用。

1.4 吡啶去除实验

实验分 2 组,第 1 组为游离 W12 菌降解吡啶的动力学实验,第 2 组为附着 W12 菌的 BABC 去除吡啶的动力学实验。

2 组实验均采用摇瓶法。根据各组实验需要在灭菌的盛有 MSM 培养基的三角瓶中加入适量吡啶,

投加定量的 W12 菌、BABC 或 ABC,置于 35℃、170 r/min 的摇床进行反应,每隔一定时间采样,样品经 0.22 μm 滤膜过滤后测定吡啶浓度.对于第 2 组的 BABC 实验,每隔 24 h 更新反应体系的溶液,使溶液浓度恢复至初始状态,继续使用原 BABC,以比较不同处理批次的去除效果.

1.5 分析方法

吡啶浓度由高效液相色谱法(HPLC)进行测定.HPLC 型号为日本岛津(SHIMADZU)公司 LC-10AD.色谱柱采用 Diamasil(TM)钻石 C18 反相柱,(5 μm、250 mm × 4.6 mm)(DIKMA 公司).流动相为甲醇:水 = 4:1(体积比),流速为 1.0 mL/min,测定波长为 254 nm,吡啶保留时间为 3.4 min.

W12 菌、BABC 和 ABC 投加量均为其干重.其中投菌量是直接测定菌密度 D_{602} ,再将 D_{602} 值折算成菌体干重,具体方法是:配制一系列不同浓度的菌液,通过日本岛津公司 UV2401 PC 型紫外可见分光光度计测定菌液在 602 nm 的吸光度(菌密度 D_{602});将这些菌液在 105℃ 下烘干 24 h,称重得到相应的菌体干重,由此绘制菌密度 D_{602} 和菌体干重的线性标

准曲线;在以后的实验中,可通过测定菌液 D_{602} ,再根据菌密度和菌体干重的线性关系,计算得到菌体干重.

2 结果与分析

2.1 BABC 制备结果

附着生物膜的 BABC 与 ABC 相比,其表面更加润滑,而烘干后的 BABC 与 ABC 相比,其表面明显附着了一层白色粉末状物质.称重结果显示,BABC 的干/湿质量比约为 1:5,含水量约为 80%.BABC 的微观结构如图 2 所示.

图 2(a)显示 BABC 较大的导管和筛管等表面附着了大量细菌;图 2(b)显示菌体形状为短杆状或球状,符合脱氮副球菌 W12 的形态特征[图 2(f)];细菌不仅存在于 BABC 外表面,而且通过材料的大孔隙进入一定深度的层面并存活[图 2(c)],细菌还分泌出较多黏液质,这些黏液质呈网络状[图 2(b)和 2(c)],为细菌的附着生长提供了支撑;但是在 BABC 的内部深层[图 2(d)和 2(e)]没有发现 W12 菌.

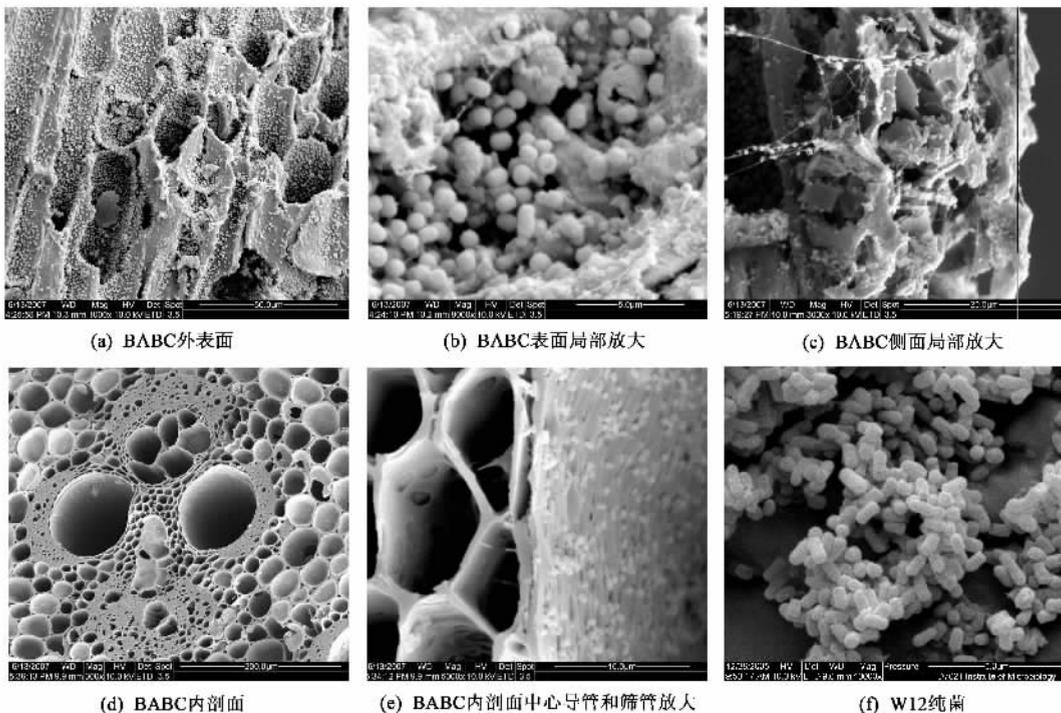


图 2 生物活性竹炭微观结构

Fig. 2 Micro-structure of BABC

活性竹炭内部无菌株,这是由于不同纤维组织与外界的连通性以及孔径大小的差异而导致的.由表 1 可知 W12 菌为短杆状,直径约 0.3 μm,长约

0.9 μm,其大小决定了它无法进入孔径 < 1 μm 的空隙内.活性竹炭的孔结构由导管、筛管与维管束组织构成,根据孔径大小可以分为 3 类:10⁻¹ ~ 10 μm

(属 IUPAC 定义的大孔和宏孔范围)、 $10^{-2} \sim 10^{-1} \mu\text{m}$ (属 IUPAC 定义的介孔和大孔范围)和 $10^{-3} \sim 10^{-2} \mu\text{m}$ (属 IUPAC 定义的微孔和介孔范围),且孔结构与外界的连通性存在不均匀性,因此 W12 菌主要集中在活性竹炭的浅层大孔隙表面生长.此外,W12 菌也不适宜在完全缺氧的环境中生存,因此 BABC 内部深层没有细菌生长.

2.2 W12 菌对吡啶的降解

6 个 250 mL 三角瓶分别装有 100 mL MSM 培养基,灭菌后分别加入 1 398.5、895.2、374.4、209.2、96.6、48.7 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 不同起始浓度的吡啶,W12 菌投加量均为 $0.31 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.W12 菌对吡啶的降解过程如图 3 所示.

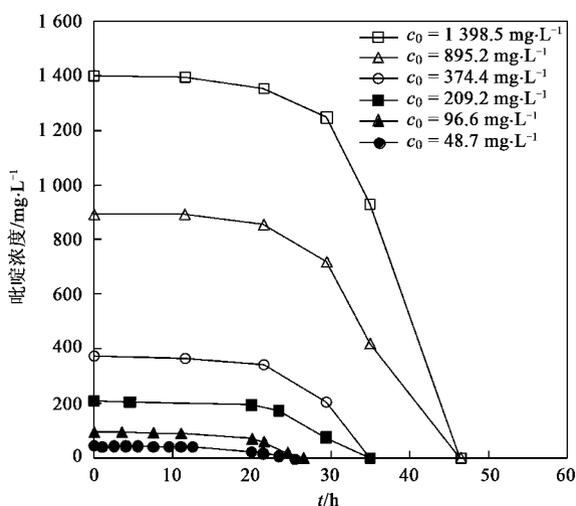


图 3 不同吡啶起始浓度下 W12 菌对吡啶的降解

Fig. 3 Pyridine degradation with different initial concentrations by *P. denitrificans* W12

W12 菌对不同吡啶初始浓度的降解过程均可分为两阶段,即实验初期的抑制期和后期的降解期.吡啶初始浓度越大,细菌调整自身生命活动以适应高浓度吡啶的外部环境所需的时间也越长,表现出的抑制期越久;进入降解期后,W12 菌快速降解吡啶.经多级数动力学拟合的数学分析及模型求解发现降解过程符合零级反应动力学过程,而且吡啶初始浓度越高,降解期的降解速率越大.表 3 列出了 W12 菌降解不同起始浓度吡啶(c_0)的抑制时间(t_r)、完全降解时间(t_t)及降解期的降解速率常数(K).

2.3 BABC 对吡啶的去除

2.3.1 BABC 投加量的影响

4 个 500 mL 三角瓶分别装有 200 mL MSM 培养

基,灭菌后加入吡啶,浓度约 $650 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,在其中 3 瓶中投加 BABC,另 1 瓶投加 ABC 作为对比.吡啶的去除过程如图 4 所示.可以发现,BABC 的投加量越高,其前期对溶液中吡啶的去除速率越快,但最终均在 23.7 h 内将 97% 以上的吡啶从溶液中去除.

表 3 W12 菌降解吡啶的参数(35℃)

Table 3 Pyridine degradation parameters by *P. denitrificans* W12 (35℃)

指标	吡啶起始浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$					
	48.70	96.60	209.2	374.4	895.2	1 398.5
t_r/h	13.4	18.7	20.9	22.1	23.0	24.7
t_t/h	26.7	26.5	35.3	36.1	47.2	48.9
$K/(\text{mg} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1})$	3.334	11.34	13.45	24.76	35.57	55.89

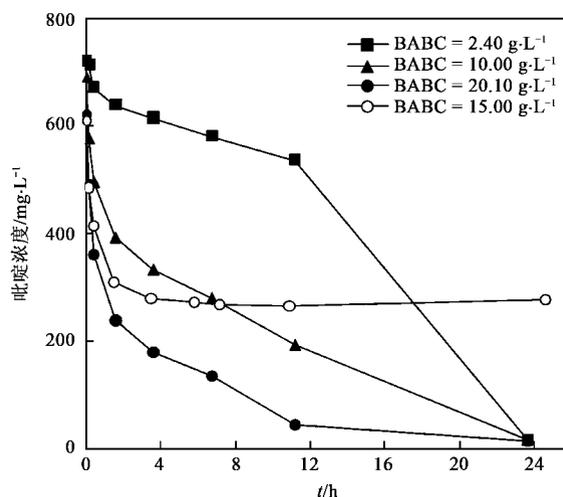


图 4 不同投加量 BABC 对吡啶的去除

Fig. 4 Pyridine removal by BABC with different doses

观察 BABC 的吡啶去除曲线,并与 ABC 的吡啶吸附曲线相比,可将其大致分为“吸附期”(0~3.6 h)、“过渡期”(3.6~6.8 h)与“降解期”(6.8 h 后) 3 个阶段.BABC 在前 3.6 h 内表现为快速吸附,此期间投加量为 10.00 和 $20.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 BABC 和投加量为 $15.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 ABC 对吡啶的去除趋势基本一致,其差异主要是由吸附剂的投加量不同而造成的.但是 3.6 h 后 ABC 的吸附已接近平衡,BABC 附着的 W12 菌膜的作用开始显现,3 个投加量的 BABC 对吡啶的去除仍然保持较快速率.在 6 h 后,BABC 完全依靠生物降解作用继续去除溶液中的吡啶,最终投加 ABC 的反应体系中仍然残留 $276 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吡啶;而投加 BABC 的反应体系中的吡啶基本被消除.

2.3.2 BABC 使用批次的影响

在实际应用时,BABC 能否重复利用是一个备

受关注的问题,本研究对此进行了测试.将第1次使用后的 BABC 再反复使用 2 次,比较 3 个批次实验中 BABC 对相同起始浓度的吡啶的去除效果,结果如图 5 所示.可以发现,对于相同的 BABC 投加量,使用次数增多后,BABC 对溶液中吡啶的去除并非减弱,反而增强,这可以从吡啶去除速率加快,完全去除吡啶所需时间缩短而看出.分析其原因,可能是

附着于 ABC 上的 W12 菌已经适应了此吡啶浓度的胁迫,在适应后快速生长,生物量的增多使得菌体更多地利用吡啶.然而因菌株世代周期的影响,一部分菌体的老化死亡将使该实验条件下的生物量最终达到一个相对平衡值,降解速率也将趋于稳定,图 5 中批次 2、3 间降解速率的差值较批次 1、2 间的差值变小,正说明了这一问题.

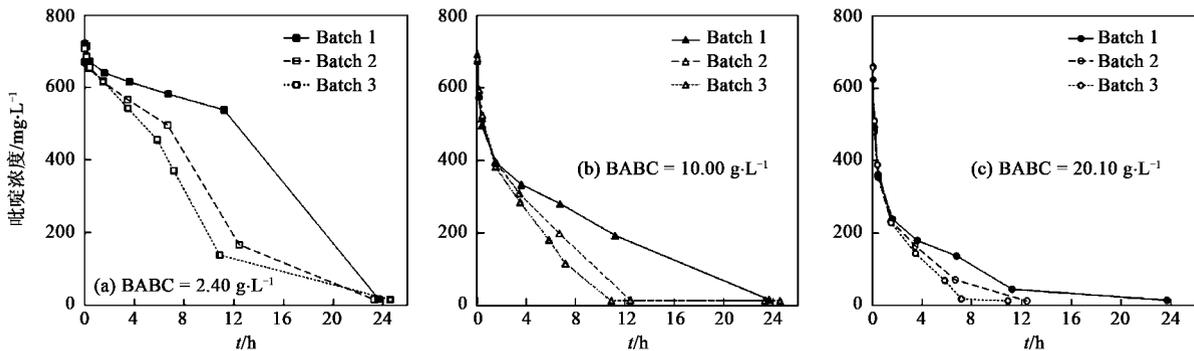


图 5 不同批次 BABC 对吡啶的去除

Fig. 5 Pyridine removal by BABC in different batches

BABC 对溶液中吡啶的去除机制为吸附和生物降解的联合作用.对于微生物而言,ABC 的吸附作用使 W12 降解反应初期的抑制作用被完全消除.图 3 显示 W12 对于 $48.70 \sim 1399 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吡啶存在 $13.4 \sim 24.7 \text{ h}$ 的抑制时间,在 $26.5 \sim 48.9 \text{ h}$ 后方可将吡啶完全降解,抑制时间占完全降解时间的 50% 以上;图 4 显示 BABC 对于约 $650 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的吡啶没有反应抑制期,在 23.7 h 后可将吡啶基本降解.对于吸附剂而言,微生物的降解作用使 ABC 不断恢复其吸附容量.图 5 (b) 和 5 (c) 显示投加量为 10.00 和 $20.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 BABC 在第 1 次使用中已使 ABC 吸附达到平衡,但在连续的第 2、3 次使用中仍然表现出很强的吸附能力,这表明 W12 已将 ABC 吸附的吡啶分解利用,从而使其吸附容量得到恢复.

对于固液两相的吸附,大孔起到通道功能,吸附质可顺其扩散到介孔和微孔中;介孔也是吸附质进入微孔的通道,而微孔是吸附小分子的主要场所,多数吸附量在这里实现^[24].W12 菌无法进入介孔及微孔,因此不会覆盖住 ABC 对吡啶的主要吸附位点而影响“吸附期”内的正常吸附;而在“降解期”内,因 W12 菌对吡啶的迅速降解,ABC 表面和大孔中存在的吡啶浓度开始下降,形成一个浓度大幅度下降的“浓度低谷”,促使主体溶液中以及介孔和微孔中的吡啶不断向微生物富集的“浓度低谷”扩散,这一方面使溶液中吡啶浓度不断降低,另一方面使 ABC 的

吸附位点得以再生.此外,虽然 W12 菌无法进入介孔和微孔,其分泌的酶和辅酶却能渗入并与被吸附的吡啶作用,使其从吸附位点上解析下来,继而而被细菌利用^[25],这也导致 BABC 具有持久有效的吸附和降解能力.

3 结论

(1) *P. denitrificans* W12 对吡啶的降解分为抑制期和降解期 2 个阶段,降解期为零级反应动力学过程,吡啶初始浓度与 W12 抑制时间及降解速率常数均呈正相关.

(2) 对活性竹炭进行纯菌挂膜培养,可制得生物活性竹炭,具有比单独的游离菌或活性竹炭更强的吡啶去除能力;生物活性竹炭对水中吡啶的去除由活性竹炭的吸附作用和微生物的降解作用协同完成,生物活性竹炭投加量和使用批次的增加均提高其对吡啶的去除能力.

(3) *P. denitrificans* W12 在游离态及附着态(生物活性竹炭)均可有效去除水中的吡啶,使其在难降解有机污染物的生物强化处理中具有应用前景.

参考文献:

- [1] Othmer K. Encyclopedia of chemical technology [M]. New York: John Wiley Science, 1982. 454-480.
- [2] Fetzner S. Bacterial degradation of pyridine, indole, quinoline,

- and their derivatives under different redox conditions [J]. Appl Microbiol Biot , 1998 , **49**(3) : 237-250.
- [3] Mohan D , Singh K P , Sinha S , *et al.* Removal of pyridine from aqueous solution using low cost activated carbons derived from agricultural waste materials [J]. Carbon , 2004 , **42**(12-13) : 2409-2421.
- [4] Lee S T , Rhee S K , Lee G M. Biodegradation of pyridine by freely suspended and immobilized *Pimelobacter* sp. [J] Appl Microbiol Biot , 1994 , **41**(6) : 652-657.
- [5] Kannan N , Meenakshisundaram M. Adsorption of Congo Red on various activated carbons. A comparative study [J]. Water , Air Soil Poll , 2002 , **138**(1-4) : 289-305.
- [6] Ohe K , Nagae Y , Nakamura S , *et al.* Removal of nitrate anion by carbonaceous materials prepared from bamboo and coconut shell [J]. J Chem Eng Jpn , 2003 , **36**(4) : 511-515.
- [7] 朱江涛,黄正宏,康飞宇,等. 活性竹炭对苯酚的吸附动力学 [J]. 新型炭材料 , 2008 , **23**(4) : 326-330.
- [8] Wang J L , Quan X C , Wu L B , *et al.* Bioaugmentation as a tool to enhance the removal of refractory compound in coke plant wastewater [J]. Process Biochem , 2002 , **38**(5) : 777-781.
- [9] Sims G K , Sommers L E , Konopka A. Degradation of pyridine by *Micrococcus luteus* isolated from soil [J]. Appl Environ Microb , 1986 , **51**(5) : 963-968.
- [10] Rhee S K , Lee G M , Lee S T. Influence of a supplementary carbon source on biodegradation of pyridine by freely suspended and immobilized *Pimelobacter* sp. [J]. Appl Microbiol Biot , 1996 , **44**(6) : 816-822.
- [11] Uma B , Sandhya S. Pyridine degradation and heterocyclic nitrification by *Bacillus coagulans* [J]. Can J Microbiol , 1997 , **43**(6) : 595-598.
- [12] Rhee S K , Lee K Y , Chung J C , *et al.* Degradation of pyridine by *Nocardioides* sp. strain OS4 isolated from the oxic zone of a spent shale column [J]. Can J Microbiol , 1997 , **43**(2) : 205-209.
- [13] Rhee S K , Lee G M , Yoon J H , *et al.* Anaerobic and aerobic degradation of pyridine by a newly isolated denitrifying bacterium [J]. Appl Environ Microb , 1997 , **63**(7) : 2578-2585.
- [14] Mohan S V , Sistla S , Guru R K , *et al.* Microbial degradation of pyridine using *Pseudomonas* sp. and isolation of plasmid responsible for degradation [J]. Waste Manage , 2003 , **23**(2) : 167-171.
- [15] Kim M K , Singleton I , Yin C R , *et al.* Influence of phenol on the biodegradation of pyridine by freely suspended and immobilized *Pseudomonas putida* MK1 [J]. Lett Appl Microbiol , 2006 , **42**(5) : 495-500.
- [16] 吴立波,王建龙,黄霞,等. 自固定化高效菌种强化处理焦化废水研究 [J]. 中国给水排水 , 1999 , **15**(5) : 1-5.
- [17] AbuSalah K , Shelef G , Levanon D , *et al.* Microbial degradation of aromatic and polyaromatic toxic compounds adsorbed on powdered activated carbon [J]. J Biotechnol , 1996 , **51**(3) : 265-272.
- [18] Caldeira M , Heald S C , Carvalho M F , *et al.* 4-Chlorophenol degradation by a bacterial consortium : development of a granular activated carbon biofilm reactor [J]. Appl Microbiol Biot , 1999 , **52**(5) : 722-729.
- [19] Annadurai G , Juang R S , Lee D J. Biodegradation and adsorption of phenol using activated carbon immobilized with *Pseudomonas putida* [J]. J Environ Sci Heal A , 2002 , **37**(6) : 1133-1146.
- [20] 刘江江,陈吕军,熊瑞林,等. 一株吡啶降解菌的生理生化特性研究 [J]. 北京大学学报(自然科学版) , 2008 , **44**(6) : 983-986.
- [21] Sambrook J , Russell D W. Molecular cloning : a laboratory manual [M]. (3rd ed) . New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press 2001.
- [22] Wang J L , Quan X C , Han L P , *et al.* Microbial degradation of quinoline by immobilized cells of *Burkholderia pickettii* [J]. Water Res , 2002 , **36**(9) : 2288-2296.
- [23] 俞蓉,刘江江,陈吕军,等. 苯酚和吡啶在竹质活性炭上的吸附研究 [J]. 安全与环境学报 , 2007 , **7**(5) : 8-11.
- [24] Wu F , Tseng R , Juang R. Preparation of activated carbons from bamboo and their adsorption abilities for dyes and phenol [J]. J Environ Sci Heal A , 1999 , **34**(9) : 1753-1775.
- [25] 杨基先,马放,赵庆良,等. 固定化生物活性炭除微量有机物的应用研究 [J]. 东北师范大学学报(自然科学版) , 2000 , **32**(1) : 90-95.