

# 微生物菌剂在难降解有机污染治理的研究进展

周庆<sup>1,2,3,4</sup> 陈杏娟<sup>1,3</sup> 许玫英<sup>1,3\*</sup>

- (1. 广东省微生物研究所广东省菌种保藏与应用重点实验室 广东 广州 510070)
- (2. 中国科学院广州地球化学研究所 广东 广州 510640)
- (3. 广东省华南应用微生物重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地 广东 广州 510070)
- (4. 中国科学院大学 北京 100049)

**摘要:** 大量的难降解有机污染物被排放到环境中, 因其蓄积性、持久性和生物毒性, 对人类健康和生态环境造成严重危害。近年来, 利用微生物菌剂治理难降解有机污染物的研究已取得较好的进展。综述微生物菌剂在国内外的发展历程, 介绍微生物菌剂制备中常用的固定化技术及载体材料, 并分析总结微生物菌剂在酚类物质、多环芳烃和多氯联苯等有机污染物治理中的研究进展。在此基础上, 提出治理难降解有机污染物的微生物菌剂研发所存在的主要问题及其展望。

**关键词:** 微生物菌剂, 难降解有机污染物, 微生物治理

## Recent research progress in microbial agents for treatment of refractory organic contaminants

ZHOU Qing<sup>1,2,3,4</sup> CHEN Xing-Juan<sup>1,3</sup> XU Mei-Ying<sup>1,3\*</sup>

- (1. *Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou, Guangdong 510070, China*)
- (2. *Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640, China*)
- (3. *State Key Laboratory of Applied Microbiology (Ministry-Guangdong Province Jointly Breeding Base), South China, Guangzhou, Guangdong 510070, China*)
- (4. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

基金项目: 国家 973 计划项目(No. 2012CB22307); 广东省自然科学基金研究团队项目(No. 9351007002000001); 广东省自然科学基金项目(No. S2011010004267, 10451007002006300); 广东省科技攻关项目(No. 2012A061100009)

\*通讯作者: ✉: xumy@gdim.cn

收稿日期: 2012-05-20; 接受日期: 2012-08-20

**Abstract:** Refractory organic substances are widely released into environment, which causes adverse impact on human health and environment due to their bioaccumulation, persistence and biotoxicant. Recently, many microbial agents have been applied to treat the refractory organic contaminants. In this paper, we reviewed the developments of microbial agent in domestic and overseas, and described the microbial cell immobilizing technologies and the immobilized carries in the preparation of microbial agents. The applications of microbial agents to the treatment of phenols, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls were summarized. In addition, the main problems, as well as the new perspectives, in this field were also discussed.

**Keywords:** Microbial agents, Refractory organic contaminants, Microbial treatment

随着社会工业化进程的加快,大量的难降解有机污染物被排放到环境中,例如多环芳烃、卤代化合物、多氯联苯及有机氮磷农药等。这些有机物大多是人工合成的,因此在自然环境中对其具有高效降解功能的微生物种类和数量都很少,且在种间竞争中处于劣势<sup>[1]</sup>。采用传统的生物处理方法很难实现这些有机物的高效降解。微生物菌剂是由几种具有不同降解功能、互生或共生关系的微生物以适当的比例进行组合或混合培养所制成的制剂。通过向废水处理系统中投加功能微生物菌剂,提高难降解有机污染物的处理效率,是目前常用的生物强化技术。该技术具有针对性强、见效快、操作简便等特点,在环境有机污染治理中具有广泛的应用前景<sup>[2]</sup>。本文通过介绍微生物菌剂的发展历程及其制备方法,总结当前治理水体难降解有机污染物的微生物菌剂的应用现状,提出微生物菌种在研发和应用中所存在的主要问题及其进一步改进的方向。

## 1 微生物菌剂的发展历程

自 20 世纪 70 年代以来,欧、美、日本等国家相继成功研制出一些复合菌剂,很多菌剂已经开始进行大规模生产,并形成系列化的产品。其中由日本琉球大学比嘉照夫教授于 20 世纪 80 年

代初期研制的 EM (有效微生物群)菌剂已经被广泛用于种植业、养殖业及环境治理方面; Zebec Systems 公司研发的 Z-BIO 系列菌剂被广泛应用于农业废水、水产业废水、工业废水、市政污水、石化废水处理;美国艾尔克蒙公司的 ALKEN Clear-Flo 菌剂用于动物粪便中纤维、蛋白、脂肪和剩余的碳水化合物处理<sup>[3-4]</sup>。

我国关于微生物菌剂的研究开始于 20 世纪 80 年代,虽然起步较晚,但也逐渐取得一些进展。例如:我国已研制出功效显著且具有自主知识产权的“神威”微生态制剂,经过全国多地的实际应用,取得了良好的经济、社会和生态效应,在畜牧、水产养殖及垃圾、污水、粪便处理等方面都开始广泛应用<sup>[5]</sup>;中国科学院成都生物研究所针对重金属和高浓度有机工业废水处理的技术难题,从自然界分离纯化出多种功能菌株,在深入研究其生理生化特点和生态功能的基础上,筛选和优化组配成具有去除重金属离子和高浓度有机物的两种环保生物菌剂,此外还开发出一种处理炼油废水的微生物菌剂<sup>[6]</sup>。到目前为止,关于微生物菌剂在环境净化方面的研究主要集中在对畜牧和水产养殖水体以及生活污水等水体中 BOD、COD 和氨氮的去除<sup>[7-9]</sup>,而关于难降解有机污染物的研究大都处于实验室研究阶

段, 只有少数研究进入中试试验或现场实施, 例如: Major 等<sup>[10]</sup>将脱氯菌群 KB-1 应用于四氯乙烯污染场地修复的中试试验中, 在 200 d 内将四氯乙烯脱氯还原为乙烯, 成功实现微生物菌剂对环境的原位修复。

## 2 微生物菌剂的制备

微生物菌剂的制备可以分为高效降解菌的获取、菌体混合培养以及微生物固定化等 3 个步骤。高效降解菌的获取主要有 3 种方法: (1) 直接从受污染的环境或污泥中富集和筛选; (2) 通过驯化获得降解菌种; (3) 通过基因改良技术获得高效降解能力或者具有新降解性能的菌株。对于高效菌株的筛选, 不仅要考虑其降解能力, 还要考虑其生态特性。如: 筛选出的菌株是否能在目标污染地竞争性生存, 维持一定的数量。目前研究已发现大量难降解有机污染物的降解性功能菌种。微生物菌剂可以是单一微生物或复合微生物。但单一微生物的菌剂对环境的修复过程具有一定的局限性, 很多研究已经表明大多数有机污染物都需要几种微生物的协同作用实现高效降解或彻底降解。Chapalamadugu 等<sup>[11]</sup>研究发现一种 N-甲基氨基甲酸酯类杀虫剂需要两株假单胞菌 *Pseudomonas* sp. 50581 和 50552 的共同作用才能彻底降解。菌株 50581 只能将其降解为萘酚, 只有在菌株 50552 的共同作用下才能进一步将萘酚转化为 CO<sub>2</sub>。Ambrosoli 等<sup>[12]</sup>将从水稻土得到混合菌群接种到含有葡萄糖、醋酸盐和 PAHs 的培养液中, 在厌氧条件下通过共代谢作用实现了联苯、芴、菲和芘的高效降解。Rahman 等<sup>[13]</sup>研究了混合菌群 (*Micrococcus* sp. GS2-22、*Corynebacterium* sp. GS5-66、*Flavobacterium* sp. DS5-73、*Bacillus* sp. DS6-86 和 *Pseudomonas* sp. DS10129) 对石油烃的降解, 结果表明该菌群对石油烃的降解能力明显高于单一菌株。混合菌群对

石油烃的降解可达 78%, 而单一菌株对石油烃的最大降解率才 66%。

在获取高效降解菌后, 采用一定的工艺将微生物按一定的比例混合培养可制成菌剂。目前运用最广泛的是发酵工艺。例如: 朱宝泉等<sup>[14]</sup>研发了一种脱氮微生物菌剂, 它含有氧化微杆菌、红球菌和反硝化细菌, 该制备方法是将氧化微杆菌发酵液、红球菌发酵液和反硝化细菌发酵液与固体辅料按配比均匀混合, 28 °C–40 °C 烘干粉碎后经 10–50 目过筛。微生物在发酵过程中往往会产生某些可作为其它微生物生长的基质和原料的粘性分泌物。但是有些微生物在其生长过程不产生或很少产生这些物质, 因此所制备的微生物菌剂中的高效降解菌在使用过程中很容易流失, 降低了微生物菌剂对有毒物质的承受能力及作用效果。对于这一类的微生物菌剂往往需要引入一些载体对微生物进行固定。通过物理或化学的方法将游离状的一种或几种微生物固定在载体上, 使其高度密集并保持生物活性, 在适宜条件下能够大量快速繁殖<sup>[15]</sup>。例如, 刘亚君等<sup>[16]</sup>以 4.5 mm–5.0 mm 的硅藻土作为载体, 将球盖菇、芽孢杆菌的菌液和硅藻土按比例混合, 制备成固体微生物菌剂。

要实现微生物的固定化, 提高所投加微生物在反应体系中的存活率和功能活性, 载体的选择至关重要。目前用于制备微生物菌剂的载体材料相当多, 大致可分为无机材料、有机材料和纳米材料等。

无机材料大多是一些天然存在的、来源广泛的、价廉的多孔性物质, 如活性炭、粉煤灰、沸石等, 可以通过自身的吸附作用和电荷效应将微生物固定, 具有机械强度大、对微生物无毒性、不易被生物分解、耐酸碱、成本低等特性, 且制作简单易行, 只需把载体放入含有一定浓度的微生物溶液中浸泡一段时间即可, 但是采用这种工

艺所制备的菌剂其微生物容易与载体脱离。Ehrhardt 和 Rehm<sup>[17]</sup>将 *Candida* sp.和 *Pseudomonas* sp.固定在活性炭上, 1 g 活性炭能够吸附  $4 \times 10^9$  个 *Pseudomonas* 细胞和  $3 \times 10^8$  个 *Candida* 细胞, 这种固定化的菌剂对高浓度苯酚溶液的降解率达到了 90%, 而游离的细胞在苯酚浓度大于 1.5 g/L 的溶液中活性即受到抑制。说明活性炭作为一个缓冲区和仓库, 通过对苯酚进行吸附从而降低了高浓度苯酚对细胞的毒害, 同时微生物和活性炭之间实现了对苯酚的吸附和生物降解的动态平衡。Na 等<sup>[18]</sup>把从市政污泥中分离到的菌株 GY5 固定在合成的聚氨酯泡沫载体上, 研究其对多氯联苯的去除能力, 结果表明: 固定化的 GY5 对 PCBs 的降解能力较悬浮状的 GY5 高出 5%–40%。

用于制备微生物菌剂的有机材料大多是一些高分子材料, 包括天然的高分子有机材料和人工合成的有机材料。天然高分子有机材料一般对生物无毒, 传质性能较好, 但强度较低, 在厌氧条件下易被生物分解<sup>[19]</sup>, 包括琼脂、藻酸钙、角叉莱胶、明胶蛋白和胶原蛋白等。其中海藻酸钙凝胶价格较低廉, 是应用较为广泛的固定化细胞载体, 但在高浓度的磷酸盐溶液和含有  $Mg^{2+}$ 、 $K^+$  等微生物生长所必需的阳离子溶液中, 海藻酸钙凝胶不稳定、易破碎和溶解。合成的高分子有机材料有聚丙烯酰胺、聚氨酯、聚醚和聚乙烯醇(PVA)等, 它们的机械强度较好, 但是传质性能较差。PVA 凝胶是目前国内外研究最为广泛的一种包埋固定化载体, 它具有强度高、化学稳定性好、抗微生物分解性强、对细胞无毒且价格低廉等一系列优点。Leenen 等<sup>[20]</sup>通过将 *Nitrosomonas europaea* 菌分别固定在角叉莱胶、藻酸钙、Ba-Ca-藻酸凝胶聚丙烯醇、聚氨酯和聚丙烯酰胺凝胶载体上, 比较分析了不同载体制备的固定化细胞小球的特性, 发现天然凝胶(角叉莱胶、藻酸钙、

Ba-Ca-藻酸凝胶)溶解性高, 容易被生物降解, 稳定性较差, 但扩散性较好, 微生物能在其表面稳定生长; 而合成凝胶(聚丙烯醇、聚氨酯和聚丙烯酰胺凝胶)不易被生物降解, 稳定性很好, 而且微生物也能在其表面较好生长, 但扩散性较天然凝胶差, 且固定化过程较复杂。

目前具有磁性的纳米材料由于可实现菌剂的再生利用而固定化技术中逐渐受到关注。它通过将具有磁性的材料覆盖在细胞表面, 在使用后运用外加磁场将微生物分离, 实现细胞的再生利用。如, Shan 等<sup>[21]</sup>分析比较了 *Pseudomonas delafieldii* 游离细胞和固定化的细胞对二苯并噻吩的脱硫效果, 结果表明, 采用磁性  $Fe_3O_4$  纳米粒子固定化的具有磁性的细胞对二苯并噻吩的脱硫效果与游离细胞一样, 但脱硫效率明显高于采用硅藻土固定化的细胞, 且这种具有磁性的细胞可以循环回收利用 5 次以上。Le 等<sup>[22]</sup>运用氨基化二氧化硅包覆的  $Fe_3O_4$  纳米粒子, 根据其吸附特性, 覆盖在细胞表面, 并研究了其对苯酚的降解和再生利用情况。结果表明在 8 d 内带磁性的细胞能够将 50 ppm 苯酚完全降解, 在前两次的循环利用中, 它对苯酚的去除率能够达到 100%, 在第 3、4 次循环运用中对苯酚的降解率仍能达到 60%。

### 3 微生物菌剂在难降解有机污染物治理中的应用

#### 3.1 苯酚类物质

酚类物质主要包含苯酚、氯酚、硝基酚、甲基酚等, 均为有毒有害物质, 其中苯酚相对易被微生物降解, 但其衍生物由于结构较复杂而较难被微生物分解, 具有致突变、致癌性。Quan 等<sup>[23]</sup>通过将具有降解 1,4-二氯酚能力的混合微生物固定在 PAV 载体上, 制备成固定化小球, 将其投加在 SBR 反应中对 1,4-二氯酚废水进行处理。结果

表明, 投加微生物菌剂缩短了 SBR 启动时间, 同时加强了反应器对 1,4-二氯酚抗冲击负荷能力。Labana 等<sup>[24]</sup>分别在实验室和现场实验中研究了对硝基苯酚(PNP)污染的土壤中投加固定化的 *Arthrobacter protophormiae* RKJ100 的修复效果。结果表明, 固定化的 RKJ100 对 PNP 有高效的降解能力, 降解率随着土壤的深度而降低; 在现场试验中 PNP 在 5 d 内即被完全降解, 但投加游离细胞在相同时间内的降解率仅为 75%, 而空白试验中土著微生物对 PNP 的降解率在 30 d 时才达到 30%–40%。

Tartakovsky 等<sup>[25]</sup>在升流式厌氧污泥床(UASB)中接种功能微生物 *Desulfitobacterium frappieri* PCP-1 实现五氯苯酚(PCP)的高效降解, 通过竞争 PCR 技术计算出 *Desulfitobacterium frappieri* PCP-1 的菌群数, 其生物量在 70 d 从最初的  $10^6$  增长到  $10^{10}$  cells/g, 当五氯苯酚浓度为 80 mg/(L·d)时, 其去除率达 99%, 脱氯效率达 90.5%。

### 3.2 多环芳烃(Polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)

多环芳烃是由 2 个或 2 个以上苯环以线状、角状或簇状排列的稠环化合物, 包括萘、蒽、菲、芘等 150 余种化合物, 广泛存在于环境中。由于具有潜在的致畸性、致癌性、致突变和基因毒性, PAHs 对环境和人类健康造成了极大的危害。低环 PAHs 较易被微生物降解, 但高环 PAHs 由于其化学结构复杂、电子云密度高, 且水溶性差、热稳定性强、固水分配系数高等特点, 很难被微生物所利用<sup>[26]</sup>。

Tao 等<sup>[27–28]</sup>分别用藻酸钙和稻草作为载体, 将 *Sphingomonas* sp. GY2B 固定, 制备成两种类型的固定化菌剂, 研究了固定化 *Sphingomonas* sp. GY2B 对含菲工业废水的去除能力, 及对人工配制的含菲海水的去除能力。前者实验结果

显示, 作用 36 h 后 90%以上的菲(100 mg/L)被完全降解, 72 h 后菲的去除率达到 99.8%以上。后者则在 36 h 后 95%以上的菲(100 mg/L)被完全降解, 67 h 后菲的去除率达到 99.5%以上。实验表明, 固定化 *Sphingomonas* sp. GY2B 在含菲废水处理和海洋环境修复中可能具有潜在的应用价值。

Sarma 等<sup>[29]</sup>采用微生物固定化技术, 将 *Mycobacterium frederiksbergense* 固定在藻酸钙上, 制备成固定化的细胞小球, 并研究其对芘的降解能力。结果表明: 固定化小球对 4 个不同浓度梯度的芘(100、200、400 和 1 000 mg/L)的去除能力均达到了 100%。当芘的初始浓度为 1 000 mg/L 时, 固定化小球对它的降解速率甚至达到了 250 mg/(L·h)。

Zhang 等<sup>[30]</sup>通过将 *Phanerochaete chrysosporium* (PC)和 *Saccharomyces cerevisiae* (SC)两株菌采用细胞质融合技术制备得到融合菌 Xhhh, 从石化废水系统中分离得到土著微生物 YZ, 再通过细胞质融合技术将 PC、SC 和 YZ 融合得到 Fhhh 融合菌, 研究了不同菌株对长江水体中 3,4-苯并芘的去除效果。实验结果显示, 土著微生物 YZ、融合菌 Xhhh 和 Fhhh 对 3,4-苯并芘的去除率分别为 37.5%、20.8%、70.8%, 特别是 Fhhh 的降解速率达到了  $3.02 \times 10^{-6} \text{ d}^{-1}$ , 比 YZ 菌和融合菌 Xhhh 分别高 1.9 和 3.7 倍。

由中国科学院沈阳应用生态研究所制备的一种修复 PAHs 污染土壤的固定化菌剂, 由戈登氏菌、节细菌、产碱杆菌、苍白杆菌、假单胞菌、芽胞杆菌和分枝杆菌组成, 采用农作物副产品为载体。将该固定化细胞颗粒按照 2%–4%投放到 PAHs 污染土壤中, 可使土壤中 PAHs 污染物得到有效去除。当污染土壤中 PAHs 浓度为 84 mg/kg 时, 经过 70 d 的处理 PAHs 的降解率可达 74%<sup>[31]</sup>。

### 3.3 多氯联苯(Polychlorinated biphenyl, PCB)

多氯联苯是一类氯代联苯化合物。作为一类典型的持久性有机污染物,具有难降解、生物毒性、生物蓄积性及远距离迁移等特性。

Liz 等<sup>[32]</sup>从受绝缘油污染的土壤中筛选并制备了由 *Brevibacterium*, *Pandora* 和 *Ochrobactrum* 组成的混合菌群,比较了菌群及单菌对多氯联苯的生物降解能力。实验结果表明,在外加 0.001% 联苯及 0.01% 吐温-80 情况下,混合菌群通过共代谢作用在 4 周之后对 PCBs (55  $\mu\text{mol/L}$ ) 的去除率达到了 67.5%。而其中的两个单一菌株对 4、7、8 氯代联苯有较稳定的降解效果,对 5、6、9 氯代联苯则没有降解效果。

Payne 等<sup>[33]</sup>通过小试试验研究了 *Dehalobium chlorocoercia* DF1 对底泥中多氯联苯的强化还原脱氯降解。将 *Dehalobium chlorocoercia* DF1 接种到含有 Aroclor 1260 的底泥中,通过跟踪底泥中污染物和菌群的变化,发现运行 120 d 以后 PCBs 的去除率达 56%,同时 *Dehalobium chlorocoercia* DF1 也被监测到,说明 DF1 能够与土著微生物共同作用完成 PCBs 的脱氯降解。

Mukerjee-Dhar 等<sup>[34]</sup>比较了固定化 *Rhodococcus opacus* TSP203 细胞与溶液中游离状细胞对多氯联苯的降解能力。试验中采用藻酸钠作为载体,制备成颗粒状的细胞小球。试验结果表明,固定化小球与游离细胞对初始浓度为 20 mg/L 的 Kaneclor300 和 Kaneclor400 的降解能力基本没有差别,游离细胞对在 20 mg/L 的 Kaneclor500 的降解能力还稍微高一点,但是当浓度至 50、100 和 150 mg/L 时,固定化细胞的降解能力明显高于游离细胞,由此推测固定化细胞对高浓度的 PCBs 有更好的抗性和降解能力。

Di Toro 等<sup>[35]</sup>将购买的 Enzyveba 菌剂投加到长期受 PCBs 污染的土壤中,研究其对 PCBs 的降解情况。结果表明,在不加菌剂的反应器中,土

著微生物对 PCBs 只有部分降解,且降解速率很慢;而在添加菌剂的反应器中,PCBs 的含量有了明显的降低,表明 Enzyveba 菌剂的添加可促进 PCBs 的降解。

## 4 存在的问题和展望

微生物菌剂中的微生物在特定环境条件下的竞争力和适应性是决定其生物强化效果的关键。然而,目前所选用的微生物菌种的生理生化特性和降解机理研究大部分是针对单一污染物的研究结果,而实际环境中却往往是多种污染物共存的复杂环境。由于对微生物在特定环境中与周围的生物和非生物因素所组成的代谢网络特性缺乏了解,所研制的微生物菌剂往往存在稳定性差和治理效果不明显等问题。

微生物固定化技术的应用可有效提高微生物菌剂的生物量,也在一定程度上提高了微生物对有毒物质的承受能力。然而,由于对目标污染物的性质了解不够,所选用的固定化材料或固定化方法在一定程度上阻碍了底物与微生物之间的传质作用,从而影响微生物的降解活性。这是目前微生物菌剂作用效果不理想的另一个主要原因。科学选择固定化载体和方法是提高微生物菌剂作用效果的关键。

综合以上分析,从微生物代谢网络的角度全面认识和掌握微生物菌种的生理生化特性和降解机理,确定最佳的微生物菌种组成和使用条件,并结合对目标污染物特性的了解,研发出高效的复合微生物菌剂,以发挥不同种类微生物的协同作用来实现污染物的高效降解,这将是微生物菌剂未来发展的主要方向。随着基因工程技术的发展,通过基因改良技术获得高效降解菌株,也可提高其对特定污染物的降解能力。而利用分子生物学方法和生态毒理评价方法追踪所投放的菌种在新环境中的功能活性变化和

生态毒理效应,可科学评价所投加菌种对生态环境的影响,这也将为微生物菌剂的实际应用提供重要的指导。

总之,随着多种新型的、高通量技术的发展和运用,人们对微生物及其特性的了解不断深入,对难降解有机污染物生物治理规律也逐渐掌握,多种新型、高效的微生物菌剂将不断被开发,并在难降解有机污染治理中发挥更大的作用。

## 参考文献

- [1] Fantroussi SEI, Agathos SN. Is bioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation?[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2005, 8(3): 268–275.
- [2] Perelo LW. Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 177(1/3): 81–89.
- [3] 陈丽媛, 张翠霞, 谢玺文, 等. 有效微生物群 EM 的应用及研究现状[J]. *微生物学杂志*, 2000, 20(2): 54–59.
- [4] 朱永光, 杨柳, 张火云, 等. 微生物菌剂的研究与开发现状[J]. *四川环境*, 2004, 23(3): 5–12.
- [5] 李维炯. 微生态制剂的应用研究[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 34–35.
- [6] 文娅, 赵国柱, 周传斌, 等. 生态工程领域微生物菌剂研究进展[J]. *生态学报*, 2011, 31(20): 6287–6294.
- [7] Sihag RC, Sharma P. Probiotics: the new ecofriendly alternative measures of disease control for sustainable aquaculture[J]. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 2012, 7(2): 72–103.
- [8] Janeo RL, Corre VL Jr, Sakata T. Water quality and phytoplankton stability in response to application frequency of bioaugmentation agent in shrimp ponds[J]. *Aquacultural Engineering*, 2009, 40(3): 120–125.
- [9] Wang BZ, Xu ZR, Xia MS. The effectiveness of commercial probiotics in northern white shrimp *Penaeus vannamei* ponds[J]. *Fisheries Science*, 2005, 71(5): 1036–1041.
- [10] Major DW, McMaster ML, Cox EE. Field demonstration of successful bioaugmentation to achieve dechlorination of tetrachloroethene to ethene[J]. *Environmental Science and Technology*, 2002, 36(23): 5106–5116.
- [11] Chapalamadugu S, Chaudhry GR. Hydrolysis of carbaryl by a *Pseudomonas* sp. and construction of a microbial consortium that completely metabolizes carbaryl[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(3): 744–750.
- [12] Ambrosoli R, Petruzzelli L, Minati JL, et al. Anaerobic PAH degradation in soil by a mixed bacterial consortium under denitrifying conditions[J]. *Chemosphere*, 2005, 60(9): 1231–1236.
- [13] Rahman KSM, Thahira-Rahman J, Lakshmanaperumalsamy P, et al. Towards efficient crude oil degradation by a mixed bacterial consortium[J]. *Bioresource Technology*, 2002, 85(3): 257–261.
- [14] 朱宝泉, 胡海峰, 陈纪文, 等. 一种脱氮微生物菌剂及其制备方法和应用: 中国, 102071141A[P]. 2011-05-25.
- [15] Mallick N. Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P and metal removal: a review[J]. *Biometals*, 2002, 15(4): 377–390.
- [16] 刘亚君, 张克勤, 翟冲燕. 一种微生物菌剂及其应用: 中国, 101861880A[P]. 2010-10-20.
- [17] Ehrhardt HM, Rehm HJ. Phenol degradation by microorganisms adsorbed on activated carbon[J]. *Applied Microbiol Biotechnology*, 1985, 21(1/2): 32–36.
- [18] Na K, Lee Y, Lee W, et al. Characterization of PCB-Degrading Bacteria Immobilized in Polyurethane Foam[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2000, 90(4): 368–373.
- [19] 本田. 固定化微生物法用于废水处理[M]. *水处理技术*, 1990, 31(3): 1.
- [20] Leenen EJTM, Dos Santos VAP, Grolle KCF, et al. Characteristics of and selection criteria for support

- materials for cell immobilization in wastewater treatment[J]. *Water Resource*, 1999, 30(12): 2985–2996.
- [21] Shan GB, Xing JM, Zhang HY, et al. Biodesulfurization of dibenzothiophene by microbial cells coated with magnetite Nanoparticles[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(8): 4497–4502.
- [22] Le TH, Kim SJ, Bang SH, et al. Phenol degradation activity and reusability of *Corynebacterium glutamicum* coated with NH<sub>2</sub>-functionalized silica-encapsulated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 104: 795–798.
- [23] Quan XC, Shi HC, Wang JL, et al. Biodegradation of 2,4-dichlorophenol in sequencing batch reactors augmented with immobilized mixed culture[J]. *Chemosphere*, 2003, 50(8): 1069–1074.
- [24] Labana S, Pandey G, Paul D, et al. Pot and field studies on bioremediation of *p*-nitrophenol contaminated soil using *Arthrobacter protophormiae* RKJ100[J]. *Environmental Science and Technology*, 2005, 39(9): 3330–3337.
- [25] Tartakovsky B, Levesque MJ, Dumortier R, et al. Biodegradation of pentachlorophenol in a continuous anaerobic reactor augmented with *desulfitobacterium frappieri* PCP-1[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1999, 65(10): 4357–4362.
- [26] 张银萍, 王芳, 杨兴伦, 等. 土壤中高环多环芳烃微生物降解的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2010, 37(2): 280–288.
- [27] Tao XQ, Lu GN, Liu JP, et al. Rapid degradation of phenanthrene by using *Sphingomonas* sp. GY2B immobilized in calcium alginate gel beads[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2009, 6(9): 2470–2480.
- [28] Tao XQ, Liu JP, Lu GN, et al. Biodegradation of phenanthrene in artificial seawater by using free and immobilized strain of *Sphingomonas* sp. GY2B[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2010, 9(18): 2654–2660.
- [29] Sarma SJ, Pakshirajan K. Surfactant aided biodegradation of pyrene using immobilized cells of *Mycobacterium frederiksbergense*[J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2011, 65(1): 73–77.
- [30] Zhang Y, Zhang XX, Wu B, et al. Degradation of benzo(a)pyrene in Yangtze River source water with functional strains[J]. *Ecotoxicology*, 2009, 18(6): 742–747.
- [31] 中国科学院沈阳运用生态研究所. 一种修复 PAHs 污染土壤的固定化菌剂及制备方法: 中国, CN101724582A[P]. 2010-06-09.
- [32] Liz JAZE, Jan-Roblero J, de la Serna JZD, et al. Degradation of polychlorinated biphenyl (PCB) by a consortium obtained from a contaminated soil composed of *Brevibacterium*, *Pandoraea* and *Ochrobactrum*[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2008, 25(1): 165–170.
- [33] Payne RB, May HD, Sowers KR. Enhanced reductive dechlorination of polychlorinated biphenyl impacted sediment by bioaugmentation with a dehalorespiring bacterium[J]. *Environmental Science and Technology*, 2011, 45(20): 8772–8779.
- [34] Mukerjee-Dhar G, Shimura M, Kimbara K. Degradation of polychlorinated biphenyl by cells of *Rhodococcus opacus* strain TSP203 immobilized in alginate and in solution[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 1998, 23(1/2): 34–41.
- [35] Di Toro S, Zanaroli G, Fava F. Intensification of the aerobic bioremediation of an actual site soil historically contaminated by polychlorinated biphenyls (PCBs) through bioaugmentation with a non acclimated, complex source of microorganisms[J]. *Microbial Cell Factories*, 2006, 5: 11.