

# 竹炭固定化微生物对土壤中阿特拉津的降解研究<sup>①</sup>

范玉超, 刘文文, 司友斌\*, 崔红标

(安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

**摘要:** 采用环境友好材料竹炭为主要载体, 壳聚糖和海藻酸钠为辅助载体, 固定从污泥中分离出的阿特拉津降解菌株, 研究不同固定材料对降解菌生长的影响, 以及固定化微生物对土壤中阿特拉津的降解效果。结果表明, 竹炭对阿特拉津降解菌具有较强的吸附固定能力, 且竹炭粒径越小, 固定化效果越好。利用壳聚糖和海藻酸钠交联并加固阿特拉津降解菌, 增大了固定化空间, 显著增加了降解菌的生物量, 并提高了阿特拉津的降解效率。1% 壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒对阿特拉津降解菌的固定化效果最佳, 施用该微生物固定化颗粒 28 天后, 砂姜黑土及红壤中阿特拉津残留率分别为 48.07% 和 47.23%。

**关键词:** 竹炭; 固定化微生物; 阿特拉津; 降解; 土壤

**中图分类号:** X172

阿特拉津 (Atrazine), 化学名称为氯乙异丙啉[2-氯-4-乙胺基-6-异丙胺基-1,3,5-三嗪], 通用名莠去津, 是一种广泛使用的三嗪类除草剂。主要用于防除一年生禾本科杂草和阔叶杂草, 是选择性内吸传导型苗前、苗后除草剂<sup>[1-2]</sup>。阿特拉津结构稳定, 难以降解, 其在土壤中的半衰期长达 4~57 周, 且土壤中的弱吸附使其具有较强的移动性, 对粮食和食品安全构成潜在威胁。长期暴露在受阿特拉津污染的环境中, 势必对生物繁衍及人体健康产生不良的影响<sup>[3-4]</sup>。环境中阿特拉津污染的治理主要有物理法、化学法和生物修复法。而物理和化学方法治理成本高、土壤结构易受破坏。因此, 经济快速地对农药污染土壤进行微生物修复, 成为被广泛关注的课题。

固定化微生物技术是指利用物理或化学的手段, 将游离的微生物定位于限定的空间区域, 并使其保持活性和可反复使用的一种基本技术。固定化微生物技术具有微生物密度高、反应速度快、耐毒害能力强、微生物流失少等优点<sup>[5]</sup>。微生物固定化载体材料应具有物理、化学性质稳定, 无毒等特性<sup>[6]</sup>。目前, 常用的微生物固定化载体有活性炭、聚乙烯醇 (PVA) 凝胶等材料<sup>[7]</sup>。竹炭是以竹子为原料, 经高温热解、炭化干馏后, 产生无数孔隙, 其比表面积高达 700 m<sup>2</sup>/g。这种炭质气孔具有极强的吸附力<sup>[8-9]</sup>, 且物理化学性能稳定, 廉价易得<sup>[10]</sup>, 具备微生物固定化载体材料应具

有的性能特点。壳聚糖, 简称 CS, 是由甲壳素脱乙酰基后得到的一种高分子氨基多糖<sup>[11]</sup>, 是天然的聚阳离子化合物<sup>[12]</sup>, 具有良好的生物吸收性和可降解性。海藻酸钠, 简称 SA, 是从海带中提取的多糖碳水化合物, 又名褐藻酸钠、海带胶, 其分子链上含有大量的羧基<sup>[13-14]</sup>, 是天然的聚阴离子化合物, 具备良好的生物相容性。当壳聚糖、海藻酸钠与竹炭进行复合时, 两者可以通过静电作用在竹炭表面形成聚电解质膜<sup>[12]</sup>。

本试验采用环境友好材料竹炭为载体, 用吸附法将筛选的阿特拉津降解菌固定到竹炭颗粒表面, 再利用壳聚糖、海藻酸钠为交联剂, 加固竹炭吸附的微生物细胞形成“细胞网”结构, 用于降解水体和土壤中的阿特拉津。此法可以克服吸附法强度低和交联法影响微生物活性的缺陷, 制备的固定化微生物可为土壤-水环境中残留农药的快速降解提供新的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试土壤为砂姜黑土及红壤, 采集 0~20 cm 耕层土壤, 风干过 60 目筛, 其基本理化性质如表 1 所示。

供试竹炭为上海海诺炭业有限公司提供, 粒径分别为 0.80 mm (20 目)、0.40 mm (40 目)、0.16 mm (100 目), 其孔隙结构与表面特性如表 2 所示。

表1 供试土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of tested soils

土壤	采样地点	pH	有机质 (g/kg)	阳离子交换量 (cmol/kg)	机械组成 (g/kg)		
					黏粒	粉粒	砂粒
红壤	江西鹰潭	4.95	17.6	7.03	562.3	212.7	248.7
砂姜黑土	安徽砀山	8.42	12.0	12.77	54.9	410.9	534.2

表2 供试竹炭的孔隙结构与表面特征

Table 2 Pore structure and surface characteristics of tested bamboo charcoal

竹炭粒径 (mm)	大孔容积 (cm <sup>3</sup> /g)	中孔容积 (cm <sup>3</sup> /g)	微孔容积 (cm <sup>3</sup> /g)	比表面积 (m <sup>2</sup> /g)
0.80	0.299	0.081	0.175	1155
0.40	0.297	0.067	0.234	1192
0.16	0.308	0.099	0.257	1381

注: 大孔孔径>100 nm, 中孔孔径10~100 nm, 微孔孔径<10 nm。

## 1.2 药品和试剂

阿特拉津由安徽省化工研究院提供(纯度>96%);壳聚糖(脱乙酰度为95%);海藻酸钠为化学纯;高效液相色谱(HPLC)分析所用甲醇为色谱纯;其他药品试剂均为分析纯。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 阿特拉津降解菌菌悬液的制备

阿特拉津降解菌 AHAT-3, 由浙江中山化工厂的蓄水池污泥中分离纯化所得<sup>[15]</sup>。

试验用培养基配方如下: 菌种培养液(g/L): KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.4, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1.6, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.2, NaCl 0.1, 蔗糖 3.0, 酵母浸膏 1.0, 微量元素溶液 2 ml, 以适量阿特拉津作为碳氮源, pH=7.0; 固体培养基再按 1.5%~2% 的比例加入琼脂, 121℃ 灭菌 30 min。

牛肉膏蛋白胨培养基(g/L): 牛肉膏 5.0, 蛋白胨 10.0, NaCl 5.0, pH=7.0; 固体培养基再按 1.5%~2% 的比例加入琼脂, 121℃ 灭菌 30 min。

微量元素溶液(g/L): EDTA 2.5, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 1.0, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 5.0, MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 1.0, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.4, Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O 0.2, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.25。

菌悬液的制备: 无菌条件下加入 2 ml 0.90% 无菌生理盐水于培养 48 h 的菌种培养皿中平行振荡, 并用接种环轻轻刮落培养基表面的菌落, 即成粗制菌悬液, 将其转移到液体牛肉膏蛋白胨培养基中 30℃ 培养 48 h。将取出的培养液立即在 4000 r/min 下离心 5 min, 收集湿菌体, 并用无菌生理盐水洗 3 次<sup>[15]</sup>。然后将无菌生理盐水与湿菌体混匀, 控制菌体数量为约 ×10<sup>9</sup> cfu/ml。制得的菌悬液 4℃ 保存备用。

在阿特拉津含量为 20 mg/L 的菌种培养液中加入

2 ml 菌悬液, 30℃、120 r/min 条件下振荡培养, 分别于 1、2、3、4、5、6、7 天取样, 测定降解菌量(cfu/ml), 并将培养液立即在 4000 r/min 下离心 5 min, 过滤, 测定滤液中阿特拉津的残留量。

### 1.3.2 不同粒径竹炭固定化微生物的制备

分别称取粒径 0.80、0.40、0.16 mm 竹炭 0.10 g 于锥形瓶中, 加入 2 ml 菌悬液, 在 30℃、120 r/min 的条件下振荡培养 24 h, 使微生物在竹炭表面吸附挂膜。

将制备好的竹炭固定化微生物投入阿特拉津含量为 20 mg/L 的菌种培养液中, 30℃、120 r/min 条件下振荡培养, 对照组加入游离态菌悬液, 分别于 1、2、3、4、5、6、7 天取样, 测定降解菌在竹炭颗粒表面的生长量(cfu/g)。

### 1.3.3 交联剂海藻酸钠、壳聚糖对竹炭固定化微生物生长的影响

在 5% 的海藻酸钠溶液中加入 2 ml 菌悬液, 混匀, 用注射器滴加入 4% 的氯化钙溶液中, 使之成为球状, 即为 5% 海藻酸钠 + 降解菌颗粒。将菌悬液加入 0.10 g 竹炭中, 振荡培养使微生物在竹炭表面吸附挂膜, 再与 5% 的海藻酸钠溶液混匀后滴加入 4% 的氯化钙溶液中, 即为 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒。在已制备好的 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒中加入不同浓度的壳聚糖溶液, 即制成壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒。

### 1.3.4 竹炭固定化微生物对水溶液中阿特拉津的降解

将制备的不同竹炭固定化微生物颗粒投入阿特拉津含量为 20 mg/L 的菌种培养液中, 30℃、120 r/min 条件下振荡培养, 对照组加入相同质量的壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭颗粒, 不同时间间隔取样, 测定降解菌量(cfu/g)及阿特拉津的残留量。

### 1.3.5 竹炭固定化微生物对土壤中阿特拉津的降解

将一定量的阿特拉津丙酮溶液加入土壤中, 充分混匀, 待丙酮挥发后, 使土壤中阿特拉津含量为 40 mg/kg, 静置平衡 24 h。称取 10.0 g 上述阿特拉津污染土壤于锥形瓶中, 分别加入不同竹炭固定化微生物颗粒, 用灭菌蒸馏水调整并保持土壤含水率为最大持水量的 100%, 在 25℃、避光条件下培养<sup>[16]</sup>, 不同时间间隔(1、3、5、7、14、21、28 天) 取样<sup>[17]</sup>。土壤中的阿特拉

津用甲醇振荡提取 0.5 h ( $M_{\text{土壤}}:V_{\text{甲醇}}=1:2$  时, 阿特拉津添加回收率为 87.2%), HPLC 分析测定土壤中阿特拉津的残留量。

#### 1.4 阿特拉津的 HPLC 分析条件及数据处理

阿特拉津的测定采用 Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 配可变波长紫外检测器和 HP 化学工作站。色谱操作条件<sup>[18]</sup>: C18 Hypersil ODS 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇/水=85/15 (V/V), 流速 1.0 ml/min, 柱温 40℃, 紫外检测波长 226 nm, 进样量 20 μl。在该液相色谱下, 阿特拉津的保留时间为 4.1 min。

降解过程用一级动力学方程拟合<sup>[17]</sup>:  $C = C_0 e^{-kt}$  式

中,  $C$  为经过时间  $t$  后阿特拉津的浓度 (mg/kg);  $C_0$  为反应体系阿特拉津的初始浓度 (mg/kg);  $k$  为一级反应速率常数 ( $d^{-1}$ );  $t$  为反应时间 (天)。

降解半衰期的表达式:  $t_{1/2} = 0.693/k$

式中,  $t_{1/2}$  为阿特拉津降解半衰期 (天)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 阿特拉津降解菌的鉴定及其生长曲线的测定

阿特拉津降解菌株 AHAT-3 在阿特拉津浓度为 20

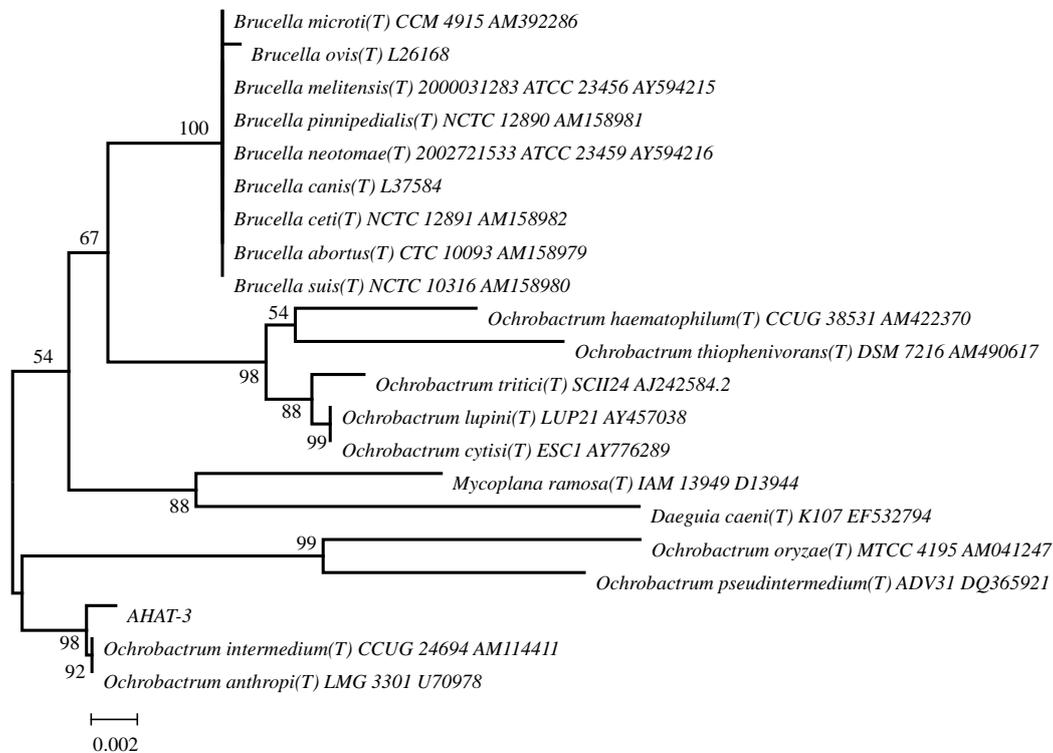
mg/L 的无机盐培养基平板上有以下特征: 幼龄培养细胞为杆状, 单个, 成队连成链状, 菌落小, 浅红色, 圆形, 无渗出物, 无光泽, 表面光滑, 边缘规则, 半透明, 革兰氏染色阴性, 菌株生长的最佳 pH 值为 7.0~8.0, 最适生长温度是 20℃~30℃ 之间, 菌株的生理生化特征如表 3 所示。

表 3 降解菌生理生化特性的测定

Table 3 Ysicological and biochemical characters of bacteria

革兰氏染色	甲基红	淀粉水解	明胶液化	硝酸盐还原反应	亚硝酸盐还原试验
-	-	+	+	+	-

对分离的阿特拉津降解菌 AHAT-3 进行鉴定, 提取微生物总 DNA, 经过 PCR 扩增 16S rDNA 基因后, 将测得的菌株 16S rDNA 序列在 RDP 数据库中进行比对, 用 Mega 3.1 构建系统发育树, 结果如图 1。该菌株 16S rDNA 序列长度是 1 351 bp, 其基因序列与 GenBank 中 *Ochrobactrum* 菌株的 16S rDNA 基因有 100% 的类似性, 结合形态及生理生化鉴定结果, 该菌株被鉴定为 *Ochrobactrum* sp.<sup>[15]</sup>。



(进化树的拓扑形状采用 neighbor-joining 方法构建; 分枝上的数字为 2000 次 bootstrap 分析所得的值大于 50%; 线段 0.002 代表进化距离。)

图 1 阿特拉津降解菌 AHAT-3 和同源关系相近的菌株构建的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic dendrogram based on 16S rDNA sequences of strain AHAT-3 and relate strains

将分离到的阿特拉津降解菌 AHAT-3 在菌种培养液中进行培养，结果表明，降解菌 48 h 达到对数生长期，此时，降解菌量为  $3.79 \times 10^9$  cfu/ml，对阿特拉津的降解率达到 43.17%，其生长及降解曲线如图 2 所示。

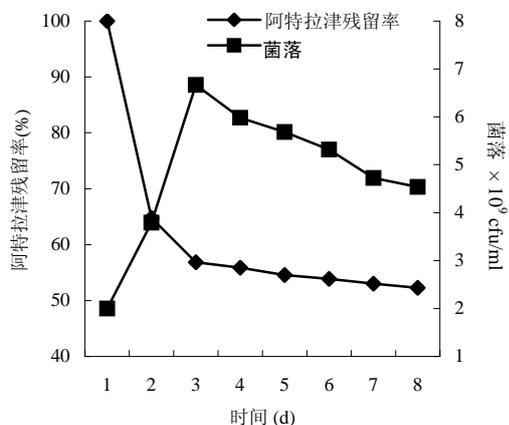


图 2 降解菌 AHAT-3 的生长及阿特拉津降解曲线

Fig. 2 Cell growth of strain AHAT-3 and resultant depletion of atrazine

## 2.2 竹炭固定化微生物的制备及其降解特性研究

### 2.2.1 竹炭粒径对固定化微生物生长的影响

周珊等<sup>[19]</sup>以竹炭为载体，将假单胞菌固定在竹炭上，用竹炭固定化假单胞菌降解苯酚，在水力停留时间为 20 h 时，水样中苯酚的去除率可达 90%。本文研究了利用竹炭固定化细菌降解阿特拉津。

不同粒径竹炭对微生物的固定化效果以及微生物在竹炭颗粒上的生长情况如图 3 所示。竹炭粒径对降解菌的吸附固定有明显的影 响，竹炭粒径越小，吸附固定的降解菌个数就越多。这是由于竹炭粒径越小，内部网状结构越复杂，孔隙中微孔数目占的比例就越多，降解菌在孔隙内壁吸附的数目就越多，从竹炭孔隙中解吸出来的几率就越小。降解菌在竹炭颗粒上生长良好，48 h 达到对数生长期，竹炭粒径越小降解菌生长量越大，粒径 0.16 mm 竹炭固定化颗粒内降解菌量为  $3.05 \times 10^{10}$  cfu/g，0.40 mm 为  $2.18 \times 10^{10}$  cfu/g，0.80 mm 为  $1.87 \times 10^{10}$  cfu/g。考虑到过小粒径竹炭制成的固定化微生物颗粒在田间施用困难，实验选择粒径 0.80 mm 的竹炭作为固定载体。

### 2.2.2 交联剂海藻酸钠、壳聚糖对竹炭固定化微生物生长的影响

海藻酸钠、壳聚糖均为天然材料，具有一定的容量，有足够的机械、物理和化学稳定性，不干扰微生物生长，对环境友好且廉价易得<sup>[20]</sup>。Pai<sup>[21]</sup>研究了利用颗粒活性炭吸附与海藻酸钙凝胶包埋法制备固定化微生物，其凝胶颗粒中含 1% 活性炭、4% 海

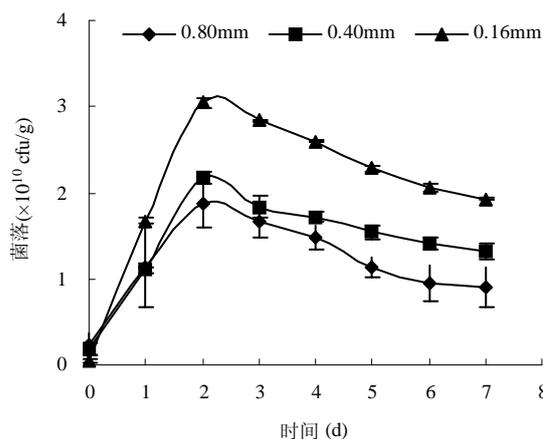


图 3 竹炭粒径对固定化微生物生长的影响

Fig. 3 Effects of particle sizes of bamboo charcoal on growth of immobilized microorganism

藻酸钙、1% 湿菌体，固定化颗粒抗压强度高。因此，选择这两种材料作为微生物固定化的交联剂、加固剂。

海藻酸钠、壳聚糖对竹炭固定化微生物生长的影响如图 4 所示。降解菌在 48 h 达到对数生长期之后，用 5% 海藻酸钠作为加固剂固定降解菌后，固定化颗粒内降解菌量为  $3.03 \times 10^{10}$  cfu/g。与竹炭 + 降解菌相比，固定化颗粒外处于游离态的菌量明显减少，说明经 5% 海藻酸钠固定后降解菌被固定在海藻酸钠的内部结构中。5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒内降解菌量为  $5.55 \times 10^{10}$  cfu/g，较单一使用 5% 海藻酸钠固定的效果更佳，说明先用竹炭使微生物在其内部吸附挂膜后，再用海藻酸钠固定，固定化效果更为明显。

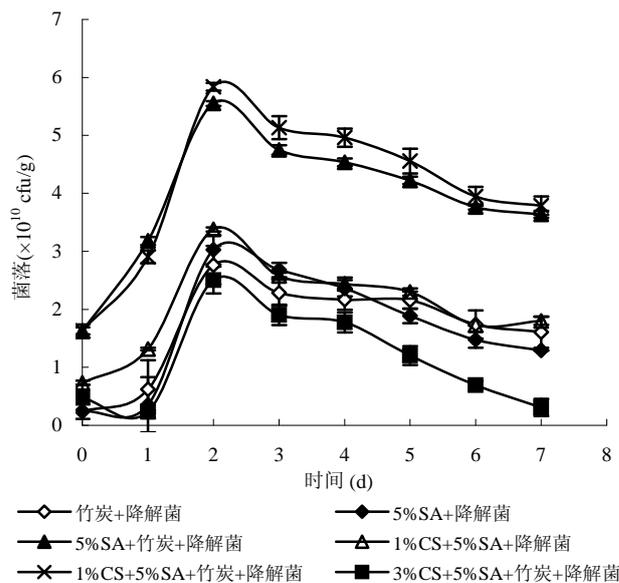


图 4 海藻酸钠、壳聚糖对竹炭固定化微生物生长的影响

Fig. 4 Effects of sodium alginate and chitosan on growth of microorganism immobilized by bamboo-charcoal

采用海藻酸钠和壳聚糖两种材料对降解菌进行固定,经固定化处理后,1%壳聚糖+5%海藻酸钠+降解菌颗粒内降解菌量为 $3.38 \times 10^{10}$  cfu/g,1%壳聚糖+5%海藻酸钠+竹炭+降解菌颗粒内降解菌量为 $5.84 \times 10^{10}$  cfu/g,较单一使用5%海藻酸钠固定降解菌的效果提高了2倍,使固定化颗粒外处于游离态的降解菌个数大大降低。

壳聚糖为一种高分子多糖,可以为微生物生长提供碳、氮源,促进了降解菌的生长,但过高浓度的壳聚糖也增大了固定化微球的体积,同时由于固定化载体的空间有限,导致降解菌从颗粒内溶出量上升,固定化效果降低,3%壳聚糖+5%海藻酸钠+竹炭+降解菌颗粒内降解菌量为 $2.50 \times 10^{10}$  cfu/g。

**2.2.3 竹炭固定化微生物对水溶液中阿特拉津的降解**  
竹炭固定化微生物对水溶液中阿特拉津的降解效果如图5所示。阿特拉津在溶液中稳定,游离菌能加快阿特拉津的降解,固定化微生物的降解效果明显优于游离菌。培养7天后,添加竹炭+降解菌颗粒、5%海藻酸钠+竹炭+降解菌颗粒、1%壳聚糖+5%海藻酸钠+竹炭+降解菌颗粒的培养液中,阿特拉津的残留率分别为45.38%、42.24%、32.19%。竹炭固定化微生物颗粒将微生物细胞固定在载体空间内,独立环境使微生物在载体内部大量增殖,从而达到较高的

菌种浓度,加快了阿特拉津的降解;海藻酸钠和壳聚糖加固了竹炭颗粒吸附的降解菌量,有利于固定化微生物的生长,也提高了溶液中阿特拉津的降解效率。

**2.3 竹炭固定化微生物对土壤中阿特拉津的降解**

应用竹炭固定化微生物颗粒对土壤中阿特拉津进行降解,结果如图6所示。阿特拉津在土壤中自然降解缓慢,砂姜黑土培养28天后土壤残留率为68.52%,投加游离态降解菌后残留率为58.50%,投加竹炭+降解菌颗粒、5%海藻酸钠+竹炭+降解菌颗粒、1%壳聚糖

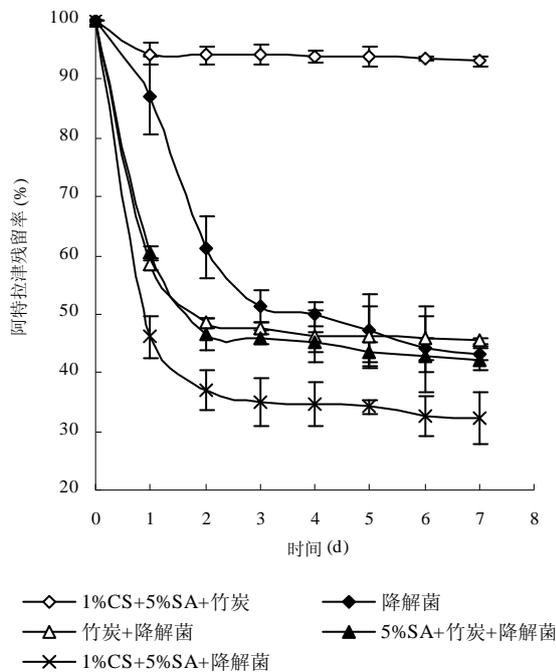


图5 竹炭固定化微生物对水溶液中阿特拉津的降解

Fig. 5 Degradation of atrazine in solution by immobilized microorganism on bamboo charcoal

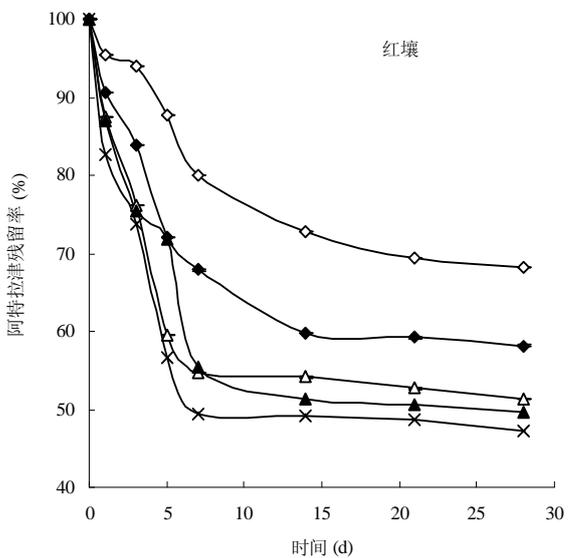
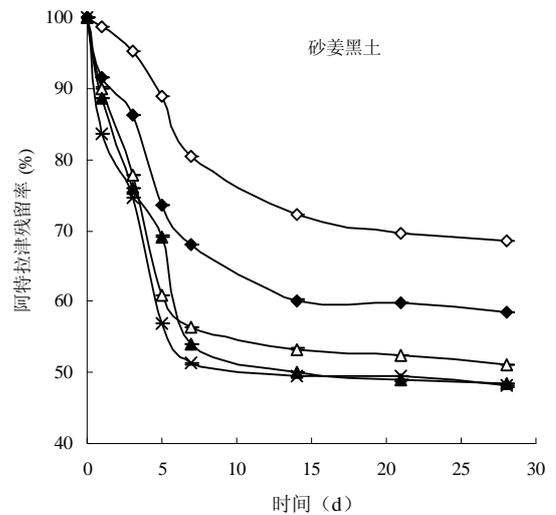


图6 竹炭固定化微生物对土壤中阿特拉津的降解

Fig. 6 Degradation of atrazine in soils by immobilized microorganism on bamboo charcoal

的残留率则分别为 51.12%、48.40%、48.07%；阿特拉津在红壤中的残留率为 68.14%，投加游离态降解菌后残留率为 58.16%，投加竹炭 + 降解菌颗粒、5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒、1% 壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒，阿特拉津的残留率则分别为 51.32%、49.74%、47.23%。

阿特拉津在不同类型土壤中的降解半衰期不同，这是由于土壤环境条件有很大差异；降解菌能加快土壤中阿特拉津的降解，竹炭固定化微生物的效果明显优于游离菌。

用一级动力学方程来描述阿特拉津在土壤中的降解过程，结果如表 3 所示。阿特拉津在砂姜黑土、红壤中的自然降解半衰期 ( $t_{1/2}$ ) 分别为 47.1、49.1 天，

这与 Jenks 和 Fred<sup>[22]</sup>报道的阿特拉津在 0~30 cm 土壤中半衰期 37 天结果相近；投加游离降解菌的半衰期分别为 38.3、38.7 天。砂姜黑土中投加竹炭 + 降解菌颗粒、5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒、1% 壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒后，阿特拉津的半衰期则分别为 33.0、28.8、31.9 天；红壤中投加竹炭 + 降解菌颗粒、5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒、1% 壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒后的半衰期则分别为 34.8、30.4、31.5 天。投加 1% 壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒对阿特拉津在土壤中的降解效果不如在溶液中，可能是壳聚糖对土壤中阿特拉津向竹炭颗粒内部的传质有一定影响的结果。

表 4 不同土壤中阿特拉津降解半衰期  
Table 4 Half-life  $t_{1/2}$  of atrazine in different soils

土壤	处理	K ( $d^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (d)	r
砂姜黑土	对照	0.014 6	47.5	0.93
	降解菌	0.018 1	38.3	0.88
	竹炭 + 降解菌	0.021 0	33.0	0.81
	5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌	0.024 1	28.8	0.85
	1% 壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌	0.021 7	31.9	0.78
红壤	对照	0.014 1	49.1	0.94
	降解菌	0.017 9	38.7	0.87
	竹炭 + 降解菌	0.019 9	34.8	0.78
	5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌	0.022 8	30.4	0.85
	1% 壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌	0.022 0	31.5	0.78

### 3 结论

(1) 竹炭对阿特拉津降解菌具有较强的吸附能力，且吸附效果受竹炭粒径的影响，当降解菌添加量相同时，竹炭粒径越小，固定的降解菌越多。

(2) 采用环境友好材料壳聚糖和海藻酸钠作为交联剂加固竹炭颗粒吸附的降解菌，显著提高了竹炭对阿特拉津降解菌的固定化效果，且复合使用 1% 壳聚糖、5% 海藻酸钠效果较好。

(3) 竹炭固定化降解菌对土壤中阿特拉津的降解效果明显优于游离态降解菌，且使用 1% 壳聚糖 + 5% 海藻酸钠 + 竹炭 + 降解菌颗粒对阿特拉津的降解效果最佳。

#### 参考文献:

[1] 化学工业出版社. 中国化工产品大全(下卷): 除草剂. 北京: 化学工业出版社, 1994

[2] Wetzel LT, Luempert LG, Breckenridge CB, Tisdell MO, Stevens JT, Thakur AK, Extrom PJ, Eldridge JC. Chronic effects of atrazine on estrus and mammary tumor formation in female Sprague-Dawley and Fischer 344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1994, 43(2): 169-182

[3] Friedmann AS. Atrazine inhibition of testosterone production in rat males following peripubertal exposure. *Reproductive Toxicology*, 2002, 16(3): 275-279

[4] Sintein B. Evaluating the environmental fate of atrazine in France. *Chemosphere*, 1993, 32(12): 2441-2456

[5] 王里奥, 崔志强, 钱宗琴, 郑阳华. 微生物固定化的发展及在废水处理中应用. *重庆大学学报*, 2004, 7(3): 125-128

[6] 周珊, 周汇, 单胜道. 竹炭固定化微生物去除水样中氨氮的研究. *林业科学*, 2009, 45(6): 133-138

[7] 张齐生. 重视竹材化学利用开发竹炭应用技术. *竹子研究汇刊*, 2001, 20(3): 34-35

[8] 张文标, 叶良明, 张宏, 陈文照. 竹炭生产和应用. *竹子研究*

- 汇刊, 2001, 20(2): 49-54
- [9] 汪奎宏, 李琴, 高小辉. 竹类资源利用现状及深度开发. 竹子研究汇刊, 2000, 19(4): 72-75
- [10] 朱江涛, 黄正宏, 康飞宇, 岳永德. 竹炭的性能和应用研究进展. 材料导报, 2006, 20(4): 41-43
- [11] 易琼, 叶菊招. 壳聚糖吸附剂的制备及其性能. 离子交换与吸附, 1996, 12(1): 19-26
- [12] 王云燕, 陈清松, 赖寿莲, 林文炳. 竹炭-壳聚糖复合吸附剂的制备及其性能. 福建林学院学报, 2006, 26(4): 363-367
- [13] Guiseley KB. Chemical and physical properties of algal polysaccharides used for cell immobilization. *Enzyme. Microb. Technol.*, 1989, 11: 706-709
- [14] Polk A, Amsden B, Yao KD, Peng T, Goosen MF. Controlled release of albumin from chitosan-alginate microcapsules. *J. Pharm. Sci.*, 1994, 83(20): 178
- [15] 汪玉, 王磊, 司友斌, 孟雪梅. 粘土矿物固定化微生物对土壤中阿特拉津的降解研究. 农业环境科学学报, 2009, 28(11): 2401-2406
- [16] Jenks BM, Fred WR. Influence of surface and subsurface soil properties on atrazine sorption and degradation. *Weed Science*, 1998, 46: 132-136
- [17] Si YB, Wang SQ, Zhou J, Hua RM, Zhou DM. Leaching and degradation of ethametsulfuron-methyl in soil. *Chemosphere*, 2005, 60: 601-609
- [18] 范润珍. HPLC 法测定土壤中莠去津残留量方法的改进. 农药科学与管理, 2003, 24(11): 14-16
- [19] 周珊, 胡泽友, 喻景权. 竹炭固定化假单胞菌处理含酚废水的研究. 高校化学工程学报, 2008, 22(5): 889-894
- [20] 王洁, 孙珮石, 孙学习. 固定化微生物技术及其应用研究的进展. 广州环境科学, 2004, 19(1): 1-4
- [21] Pai SL. Continuous degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. immobilized on granular activated carbon and calcium alginate. *Bioresource Technol*, 1995, 51: 37-42
- [22] Jenks BM, Fred WR. Influence of surface and subsurface soil properties on atrazine sorption and degradation. *Weed Science*, 1998, 46: 132-138

## Biodegradation of Atrazine in Soils by Bamboo Charcoal Immobilized A Degradation Bacterium

FAN Yu-chao, LIU Wen-wen, SI You-bin, CUI Hong-biao

(School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

**Abstract:** Bamboo charcoal was selected as the principal carrier, and chitosan and sodium alginate as the secondary carrier for the immobilization a degradation bacterium which was isolated from activated sludge. The growth of immobilized microorganism on bamboo charcoal and atrazine degradation in soils were investigated. The results showed that bamboo charcoal had a large capacity of immobilized microorganism. The smaller the particle size of bamboo charcoal, the more the microorganism immobilized. The strains grew well on bamboo charcoal, and reached logarithmic phase at 48 h. Chitosan and sodium alginate were used for cross-linking microorganism on bamboo-charcoal, which enlarged the space for the cell growth, significantly increased the biomass of bacterium. 1% chitosan + 5% sodium alginate + bamboo charcoal were suggested for the optimum formulations of microorganism immobilization. The degradation rate of atrazine in soil was larger significantly when adding immobilized microorganism by bamboo charcoal. After 28 d, the residues of atrazine in vertisol and red soil were 48.07% and 47.23%, respectively.

**Key words:** Bamboo charcoal, Immobilization microorganism, Atrazine, Degradation, Soil