

文章编号: 1674-5566(2024)03-0682-10

DOI: 10.12024/jsou.20230504191

不同固定化微生物颗粒降解养殖尾水中污染物的性能评价

杜胜男¹, 徐佳楠², 熊飞¹, 蔡徐依¹, 葛朋彪³, 张六六⁴, 李娟英^{1,5}

(1. 上海海洋大学 海洋科学与生态环境学院, 上海 201306; 2. 上海市水生野生动植物保护研究中心 上海 202162; 3. 苏州鼎兴斯沃水产养殖设备有限公司, 江苏 苏州 210095; 4. 江苏纳克生物工程有限公司, 江苏 淮安 211700; 5. 上海河湖生物链构建与资源化利用工程技术研究中心, 上海 201702)

摘要: 选取3种载体(凹凸棒土、卡拉胶以及硅藻土)进行固定化微生物颗粒制备,并对不同颗粒性能、污染物去除性能及主要影响因素进行了研究。颗粒性能研究表明:凹凸棒土与硅藻土固定化微生物颗粒具有较好的机械强度,卡拉胶机械强度低;在有营养补充的前提下,凹凸棒土和卡拉胶可以稳定释放 1.50×10^6 CFU/mL和 2.60×10^5 CFU/mL的微生物,硅藻土固定化微生物颗粒缓释性能较差;利用Monod方程拟合可得,对于 COD_{Mn} ,硅藻土固定化微生物颗粒具有最大的比降解速率(μ_{max}),卡拉胶与之相当,凹凸棒土最低,同时硅藻土固定化微生物颗粒的 K_s 值显著低于其他两种颗粒;氨氮降解动力学也呈现了相似的规律。环境条件对固定化微生物颗粒降解污染物的影响分析表明:中性(pH=7)条件下,凹凸棒土、卡拉胶、硅藻土固定化颗粒降解 COD_{Mn} 的一级速率常数最高;凹凸棒土与硅藻土固定化微生物颗粒在中性和碱性条件下的降解氨氮速率更高,卡拉胶在中性条件下降解氨氮速率最高。固定化微生物颗粒降解 COD_{Mn} 、氨氮的一级反应速率常数随温度的升高而增大,其中凹凸棒土固定化微生物颗粒对温度的变化更为敏感。除了硅藻土固定化微生物颗粒以外,随着污染物初始浓度的增加,其余两种载体降解 COD_{Mn} 的一级反应速率常数 k_1 值显著上升($P < 0.05$)。不同曝气强度下3种固定化微生物颗粒降解 COD_{Mn} 一级反应速率无显著性差异($P > 0.05$),更高的曝气强度对氨氮降解有利。

关键词: 养殖尾水; 固定化微生物; 固定化载体; 环境条件

中图分类号: X 714 **文献标志码:** A

养殖过程中大量富含蛋白质的外源性饵料投加及代谢产物累积导致养殖水体中氮、磷和耗氧性有机物等超出池塘环境容量,阻碍了水产养殖的持续健康发展^[1]。目前常采用物理法、化学法、生态生物法等来降低养殖水体中的污染物浓度,但这些方法成本高,且占地面积大^[2]。而将固定化微生物技术原位应用于养殖池塘,不仅可以同时实现养殖与水体净化,且具有耗时短、费用低、没有二次污染、维护生态平衡等优点。因此,从传统生物处理方法衍化而来的固定化微生物原位修复技术得到了越来越多的关注^[3]。

与游离微生物技术相比,固定化微生物法可以显著提高细胞的稳定性,增加微生物活性,同

时降低pH、温度等外界环境变化对微生物的干扰^[4]。固定方法、载体性质以及细菌种类是影响固定化微生物活性和功能的三大主要因素,尤其是固定化载体的影响至关重要^[5]。无机载体常有可重复利用、价格低廉、传质性能好等特点,如凹凸棒土、硅藻土等。而有机载体材料表面广泛的官能团致使其与微生物的结合更加紧密^[6]。如卡拉胶中潜在的活性氨基官能团,可以改善微生物与支持基质的附着^[7]。

然而,不同载体固定化微生物颗粒处理养殖废水性能的研究还相对较少。因此,本文选取3种固定化载体,包括无机材料凹凸棒土、烧结硅藻土以及有机材料卡拉胶,制备成固定化微生物

收稿日期: 2023-05-22 修回日期: 2023-07-12

基金项目: 上海市水生野生动植物保护研究中心项目(D-8006-23-0228); 上海市科委长三角构建区域创新共同体领域项目(21002410500); 上海市农业科技创新项目(2023-02-08-00-12-F04579)

作者简介: 杜胜男(1998—),女,硕士研究生,研究方向为养殖尾水生态处理及环境微生物。E-mail: 609311224@qq.com

通信作者: 李娟英, E-mail: jyli@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

颗粒之后,在实验室开展固定化微生物颗粒性能包括颗粒强度、微生物缓释性能、污染物降解动力学以及污染物去除主要影响因素等方面的研究,分析不同载体固定化微生物颗粒适合处理的污染物特征及应用场景,为养殖尾水原位处理提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 固定化微生物颗粒实验室制备

微生物选择:固定化微生物来自养殖池塘土著微生物,包括枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus Amyloliquefaciens*)等6类,按照一定的质量比混合菌液浓缩发酵。将菌液振荡分散后在阿须贝氏无氮培养基(Ashby's Medium)中加入6 mg/L的硫酸铵,制成含药选择培养基,进行菌种的分离和纯化。之后根据菌落生长水解圈的大小进行初步筛选,然后取20 mL液体培养基,加入6 mg/L的硫酸铵,同时将初步筛选到的菌种置于液体培养基中,200 r/min离心后培养48 h,筛选出高活性、高降解能力的菌种。

凹凸棒土固定化微生物颗粒制备:具体方法参见课题组之前的文章^[8],简述如下:凹凸棒土小球(购自江苏纳克生物工程有限公司)制备成直径2 mm的球状后,将浓缩发酵后的混合菌液均匀喷洒(3~5次)至凹凸棒土小球表面(凹凸棒土与菌液的体积比为10:1),阴干24 h后待用,固定后颗粒负载微生物约20亿/g。凹凸棒土的品质不同,成本控制在17~50元/kg。

卡拉胶固定化微生物制备:将灭菌后食品级K型卡拉胶(购自江苏徐州丰瑞生物科技有限公司)加入去离子水中,于高压灭菌锅中加热溶解成质量比为5%的均匀溶液,冷却后加入菌液混合均匀(卡拉胶与菌液的体积比为10:1),在4 °C下凝固后备用,固定后颗粒负载微生物约20亿/g。卡拉胶品质不同,成本控制在13~30元/kg。

1.1.2 硅藻土固定化微生物颗粒

购自美国BIOCLEANER公司,微生物来自美国疾病控制与预防中心,依照生物技术安全标准

一级筛选分类,固定化载体是烧结的硅藻土。固定的微生物主要来自生活污水中优势微生物的筛选,包括芽孢杆菌属(*Bacillus*)、黄杆菌属(*Flavoacterium*)、产碱杆菌属(*Alcaligenes*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)等,固定后颗粒负载微生物约20亿/g,硅藻土固定化微生物颗粒进口价格为2 500美元/kg。

1.1.3 模拟养殖尾水配制

根据凡纳滨对虾实际养殖池塘污染物含量,以及《淡水池塘养殖水排放要求》(SC/T 9101—2007)规定的养殖尾水排放标准限值,配置模拟尾水如下(废水中的碳氮磷分别由葡萄糖、氯化铵、磷酸二氢钾等提供):COD_{Mn}浓度为(25±5) mg/L,氨氮浓度为(6.0±1.7) mg/L,溶解性无机氮浓度为(8.0±2.1) mg/L,溶解性正磷酸盐浓度为(2.0±0.6) mg/L,pH调节至7.0左右。

1.2 固定化微生物颗粒性能测定

将固定化微生物颗粒放在装有100 mL去离子水的锥形瓶中,置于200 r/min的摇床中振荡,记录颗粒破损情况,破损数与初始颗粒数量的比值为破损率^[9],用于评价颗粒强度;在pH为7,温度25 °C,气体流量为2 L/min[DO=(8.30±0.02) mg/L]的条件下,将1 g固定化微生物颗粒置于装有100 mL去离子水或营养液(含葡萄糖、氯化铵、磷酸二氢钾等营养成分,C:N:P=100:5:1)的锥形瓶中,持续曝气,每天取适量水样进行平板涂布,记录释放的微生物数量,用以评价缓释性能;取1 g固定化微生物材料加入到体积为100 mL的模拟养殖尾水中,控制起始污染物浓度,调节气体流量为2 L/min[DO=(8.30±0.02) mg/L],温度为20 °C、溶液pH为7。在污染物降解周期内,取样并用0.45 μm混合纤维素(MCE)过滤,测定溶液中的污染物浓度。根据污染物浓度随时间的变化曲线确定固定化微生物的降解性能,污染物降解动力学通过拟合Monod模型进行比降解速率分析(公式1)。单位质量微生物降解速率受到基质浓度的限制,采用一级动力学进行模拟(公式2)^[8]。

$$\mu = \frac{\mu_{max} \cdot S}{K_s + S} \quad (1)$$

$$\frac{d_s}{d_t} = -k \cdot S \quad (2)$$

式中: μ 为微生物的比增长速度,即单位生物量

的增长速度, h^{-1} ; μ_{max} 为微生物最大比增长速度, h^{-1} ; K_s 为半饱和常数, mg/L ; S 为单一限制性底物浓度, mg/L ; d_i/d_i 是反应速率, k 是反应速率常数。

1.3 固定化微生物颗粒降解污染物的影响因素

将 1 g 固定化微生物材料加入到 100 mL 模拟养殖尾水, 分别改变 pH、曝气强度、污染物初始浓度、温度后, 持续曝气 1、4、6、8、12、16、24 h, 并采集样品, 将随时间蒸发的水样用去离子水定容至 100 mL 以固定体积, 用 0.45 μm 混合纤维素 (MCE) 过滤后测定溶解性污染物的浓度。

在温度 20 $^{\circ}C$ 、气体流量 2 L/min [$DO=(8.30\pm 0.02)$ mg/L] 的条件下, 确定在酸性 (pH=4)、中性 (pH=7) 和碱性条件 (pH=9) 下的一级降解速率常数; 在 pH 为 7, 温度 20 $^{\circ}C$ 条件下, 确定气体流量为 1 L/min [$DO=(7.50\pm 0.02)$ mg/L]、2 L/min [$DO=(8.30\pm 0.02)$ mg/L] 和 3.5 L/min [$DO=(8.60\pm 0.02)$ mg/L] 下的一级降解速率常数; 在气体流量为 2 L/min [$DO=(8.30\pm 0.02)$ mg/L]、温度为 20 $^{\circ}C$ 和 pH 为 7 的条件下, 确定低、中、高初始污染物浓度下 (COD_{Mn} 浓度分别为 10、25 和 100 mg/L, 氨氮浓度分别为 2.4、6.0 和 24.0 mg/L) 的一级降解速率常数; 在 pH=7, 气体流量 2 L/min [$DO=(8.3\pm 0.02)$ mg/L] 的条件下, 考察 10、20、30、35 $^{\circ}C$ 下的一级降解速率常数。一级反应速率与温度之间的关系式可以用公式 (3) 表示, 且通常以 20 $^{\circ}C$ 为基准温度来计算 θ 值^[10], 即令 $T_0=20$ $^{\circ}C$ 。

$$k_1 = k_0 \cdot \theta^{T_1 - T_0} \quad (3)$$

式中: k_1 、 k_0 分别是温度为 T_1 、 T_0 时的反应速率常数, h^{-1} ; θ 为温度系数。

1.4 分析检测方法

污染物的测定均参照标准方法进行^[11], COD_{Mn} 测定采用高锰酸钾滴定法, NH_4^+-N 测定采用纳氏试剂分光光度法, 所有指标检测均取 3 个平行样。采用 Origin 2021 软件完成数据拟合及绘制, 使用软件 SPSS 23.0 进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 固定化微生物颗粒性能评价

2.1.1 颗粒强度

本研究中 3 种固定化微生物颗粒破碎速率总体上随时间延长而增大 (图 1)。其中卡拉胶固定化微生物凝胶破碎率在 30 d 内快速升高至 100%, 由大块分散为小碎块; 而经过 60 d 的振

荡, 实验室制备凹凸棒土和硅藻土固定化微生物颗粒的破损率都较低, 后者的破损率最低为 $(13.00\pm 1.41)\%$, 机械强度最好。

2.1.2 缓释性能

无论营养物质补充与否, 凹凸棒土缓释的微生物数量都最高, 其次是卡拉胶, 硅藻土固定化微生物颗粒缓释的细菌数量最少 (图 2)。在有营养补充的前提下, 凹凸棒土和卡拉胶可以稳定释放 1.50×10^6 CFU/mL 和 2.60×10^5 CFU/mL 的细菌, 但在营养缺乏时分别在 3 d 和 2 d 后逐渐下降; 而硅藻土固定化微生物颗粒无论在有还是没有营养的条件下, 缓释均在第 1 天达到高峰 (分别为 3.65×10^4 CFU/mL 和 2.25×10^4 CFU/mL), 之后均随时间大幅下降, 但都高于对虾养殖水体自身微生物量 (10^2 CFU~ 10^3 CFU/mL)^[12], 同样高于后期我们在南美白对虾池塘原位测定结果 (8.34×10^3 CFU/mL)。

2.1.3 污染物降解动力学

根据动力学模拟结果 (图 3) 可知, 固定化微生物降解污染物的动力学符合 Monod 模型, 即随着污染物浓度增加, 降解速率也不断上升。对于 COD_{Mn} (图 3a), 硅藻土固定化微生物颗粒具有最大的比降解速率 (μ_{max}) (表 1), 卡拉胶与之相当, 凹凸棒土最低, 说明硅藻土化微生物颗粒更适合降解高浓度耗氧有机物^[13]; 同时硅藻土固定化微生物颗粒的 K_s 值也显著低于其他两种颗粒, 说明其对 COD_{Mn} 的亲合力也更强^[14]。氨氮的降解动力学也呈现了相似的规律 (图 3b), 即具有最大的比降解速率和最低的 K_s 值, 卡拉胶和凹凸棒土对氨氮的最大比降解速率显著低于商品化硅藻土固定化微生物颗粒。

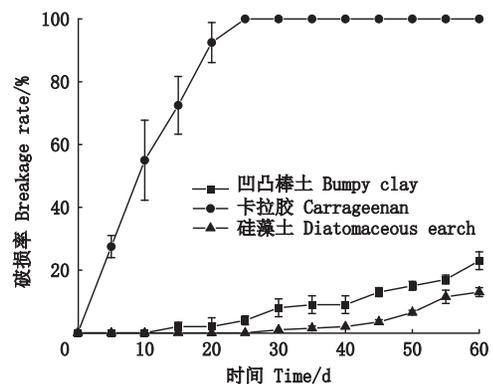


图 1 固定化微生物颗粒破碎率
Fig. 1 Fragmentation rate of immobilized microbial particles

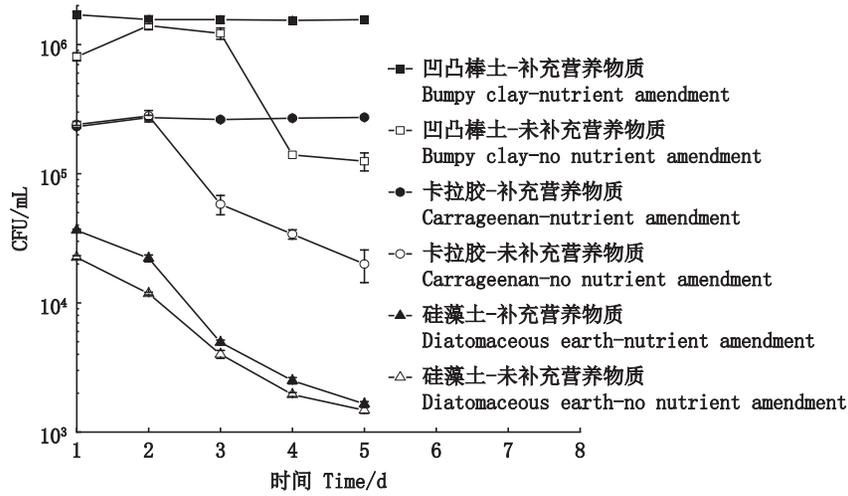


图2 固定化微生物颗粒缓释性能
Fig. 2 Slow-release properties of immobilized microbial particles

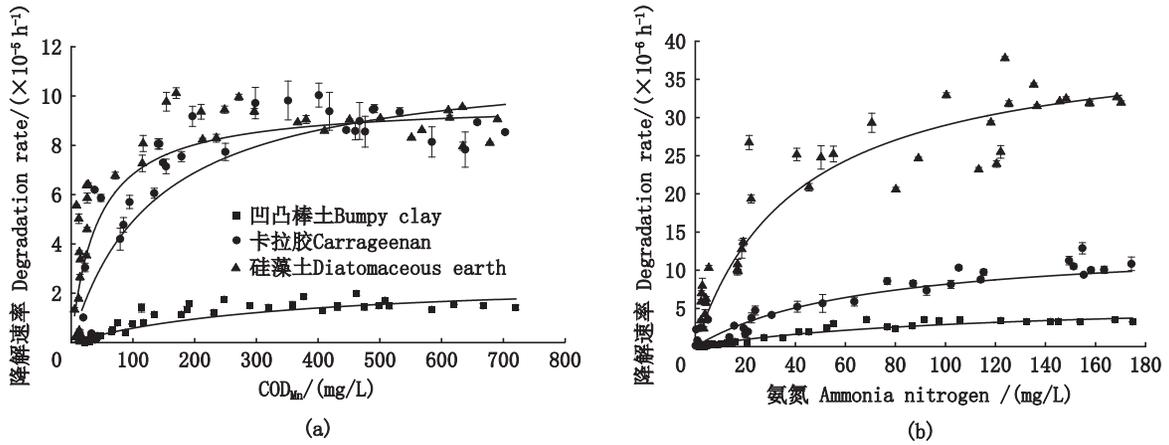


图3 固定化微生物颗粒污染物降解动力学拟合结果(Monod方程)
Fig. 3 Kinetic fitting results of pollutants degradation for immobilized microbial particles (Monod model)

表1 固定化微生物颗粒的动力学参数
Tab. 1 Monod kinetic parameters of immobilized microbial particles

动力学系数 Kinetic coefficients	COD _{Mn}			氨氮 Ammonia nitrogen		
	凹凸棒土 Bumpy clay	卡拉胶 Carrageenan	硅藻土 Diatomaceous earth	凹凸棒土 Bumpy clay	卡拉胶 Carrageenan	硅藻土 Diatomaceous earth
$\mu_{max}(\times 10^{-6} h^{-1})$	11.49±1.02	26.43±3.21	97.32±3.81	6.15±0.60	13.71±1.27	40.67±0.24
$K_s(mg/L)$	133.32±30.34	352.82±47.24	42.52±11.85	112.40±17.23	68.12±15.96	40.31±9.89
R^2	0.86	0.86	0.78	0.96	0.95	0.94

2.2 固定化微生物颗粒降解污染物的影响因素研究

2.2.1 pH的影响

由表2可知,固定化微生物颗粒对模拟养殖尾水中污染物的降解基本符合一级动力学(公式2)(除凹凸棒土酸性条件和卡拉胶碱性条件下降解氨氮)。对于COD_{Mn},凹凸棒土、卡拉胶、硅藻土

固定化微生物颗粒均在中性(pH=7)条件下呈现出最高的速率常数,分别为 $8.13 \times 10^{-8} h^{-1}$ 、 $5.62 \times 10^{-7} h^{-1}$ 和 $2.92 \times 10^{-6} h^{-1}$ ($P < 0.05$)。对于氨氮,凹凸棒土与硅藻土固定化微生物颗粒在中性和碱性条件下的降解速率均高于酸性条件,中性和碱性条件时两者的速率常数分别为 $0.75 \times 10^{-7} h^{-1}$ 、 $0.61 \times 10^{-7} h^{-1}$ 与 $18.61 \times 10^{-7} h^{-1}$ 、 $21.39 \times 10^{-7} h^{-1}$ 。

表2 不同pH条件下固定化微生物颗粒降解污染物的速率常数

Tab. 2 Rate constants of pollutant degradation by immobilized microbial particles under different pH conditions

污染物 Pollutants	载体 Carrier	pH=4	pH=7	pH=9
		$k_f(\times 10^{-7} \text{h}^{-1})$	$k_f(\times 10^{-7} \text{h}^{-1})$	$k_f(\times 10^{-7} \text{h}^{-1})$
COD _{Mn}	凹凸棒土 Bumpy clay	0.57	0.81*	0.62
	卡拉胶 Carrageenan	3.23*	5.62	5.23
	硅藻土 Diatomaceous earth	5.83	29.17	27.22
氨氮 Ammonia nitrogen	凹凸棒土 Bumpy clay	-	0.75	0.61
	卡拉胶 Carrageenan	1.50	7.62*	-
	硅藻土 Diatomaceous earth	10.56*	18.61	21.39

注：“*”表示某材料不同影响因素梯度之间达到显著差异($P<0.05$)。

Notes: “*” represents the significant indigenous difference between different gradients of an influencing factor of a material ($P<0.05$).

2.2.2 温度的影响

由表3可知,凹凸棒土、卡拉胶和硅藻土固定化微生物颗粒在不同温度条件下降解COD_{Mn}的一级反应速率常数 k_f 分别为 $5.67\times 10^{-8}\sim 1.62\times 10^{-7} \text{h}^{-1}$, $5.39\times 10^{-7}\sim 6.00\times 10^{-7} \text{h}^{-1}$ 以及 $1.94\times 10^{-6}\sim 2.39\times 10^{-6} \text{h}^{-1}$;降解氨氮的 k_f 分别为 $8.00\times 10^{-9}\sim 4.13\times 10^{-8} \text{h}^{-1}$, $1.62\times 10^{-7}\sim 2.69\times 10^{-7} \text{h}^{-1}$ 和 $1.78\times 10^{-6}\sim 2.61\times 10^{-6}$

h^{-1} 。而对于表征温度对同种载体固定化微生物降解性能影响的温度系数而言,凹凸棒土降解COD和氨氮的温度系数分别为1.00~1.11和1.04~1.09,高于其他两种材料温度系数的波动范围;同时3种材料降解氨氮的温度系数均值(1.044)高于COD(1.015)。

表3 不同温度条件对固定化微生物降解污染物的速率常数与温度系数

Tab. 3 Rate constants and temperature coefficients of pollutant degradation by immobilized microbial particles under different temperature conditions

温度 Temperature/ $^{\circ}\text{C}$	常数 Coefficients	COD _{Mn}			氨氮 Ammonia nitrogen		
		凹凸棒土 Bumpy clay	卡拉胶 Carrageenan	硅藻土 Diatomaceous earth	凹凸棒土 Bumpy clay	卡拉胶 Carrageenan	硅藻土 Diatomaceous earth
10	$k_f(\times 10^{-7} \text{h}^{-1})$	0.57*	5.39*	19.44*	0.08	-	-
	θ	1.11	1.01	1.01	1.09	-	-
20	$k_f(\times 10^{-7} \text{h}^{-1})$	1.53	5.69	21.11	0.19	1.62	17.78
	$k_f(\times 10^{-7} \text{h}^{-1})$	1.59	5.58	21.11	0.27	2.19	26.11
30	$k_f(\times 10^{-7} \text{h}^{-1})$	1.59	5.58	21.11	0.27	2.19	26.11
	θ	1.00	1.00	1.00	1.04	1.03	1.04
35	$k_f(\times 10^{-7} \text{h}^{-1})$	1.62	6.00	23.89	0.41*	2.69	24.72
	θ	1.00	1.00	1.01	1.05	1.04	1.02

注：“*”表示某材料不同影响因素梯度之间达到显著差异($P<0.05$),20 $^{\circ}\text{C}$ 为基准温度。

Notes: “*” represents the significant indigenous difference between different gradients of an influencing factor of a material ($P<0.05$), and 20 $^{\circ}\text{C}$ is the reference temperature.

2.2.3 污染物初始浓度的影响

在不同初始污染物浓度下,凹凸棒土、卡拉胶、硅藻土颗粒降解COD_{Mn}的一级反应速率常数 k_f 分别为 $6.20\times 10^{-8}\sim 1.09\times 10^{-7} \text{h}^{-1}$ 、 $2.85\times 10^{-7}\sim 1.21\times 10^{-6} \text{h}^{-1}$ 和 $5.83\times 10^{-7}\sim 2.47\times 10^{-6} \text{h}^{-1}$ (表4)。除硅藻土固定化微生物颗粒外,随着COD_{Mn}初始浓度的增加,另外两种固定化颗粒的 k_f 显著上升($P<0.05$)。固定化微生物颗粒降解氨氮的 k_f 分别为 $2.20\times 10^{-8}\sim 8.60\times 10^{-8} \text{h}^{-1}$ 、 $1.73\times 10^{-7}\sim 7.62\times 10^{-7} \text{h}^{-1}$ 、

$2.42\times 10^{-6}\sim 3.53\times 10^{-6} \text{h}^{-1}$,初始氨氮浓度最高时的 k_f 反而降低。

2.2.4 曝气强度的影响

不同曝气强度下3种固定化微生物颗粒降解COD_{Mn}一级反应速率无显著性差异(表5, $P>0.05$)。当曝气强度为1 L/min时,凹凸棒土、卡拉胶固定化微生物降解氨氮的 k_f 显著更低($P<0.05$)。

表 4 不同污染物初始浓度下固定化微生物颗粒降解污染物的速率常数
 Tab. 4 Rate constants of pollutant degradation by immobilized microbial particles at different initial concentrations of pollutants

污染物 Pollutants	载体 Carriers	低 Low (COD _{Mn} : 10 mg/L、 氨氮 NH ₃ -N: 2.4 mg/L)	中 Middle (COD _{Mn} : 25 mg/L、 氨氮 NH ₃ -N: 6 mg/L)	高 High (COD _{Mn} : 100 mg/L、 氨氮 NH ₃ -N: 24 mg/L)
		$k_f(\times 10^{-7} \text{ h}^{-1})$	$k_f(\times 10^{-7} \text{ h}^{-1})$	$k_f(\times 10^{-7} \text{ h}^{-1})$
COD _{Mn}	凹凸棒土 Bumpy clay	0.62*	0.93	1.09
	卡拉胶 Carrageenan	2.85	5.65	12.12*
	硅藻土 Diatomaceous earth	27.50	24.72	25.83
氨氮 Ammonia nitrogen	凹凸棒土 Bumpy clay	0.22*	0.86	0.65
	卡拉胶 Carrageenan	1.73	7.62*	2.42
	硅藻土 Diatomaceous earth	-	35.28	24.17

注:“*”表示某材料不同影响因素梯度之间达到显著差异($P<0.05$)。

Notes: “*” represents the significant indigenous difference between different gradients of an influencing factor of a material ($P<0.05$).

表 5 不同曝气强度下固定化微生物颗粒降解污染物的速率常数
 Tab. 5 Rate constants of pollutant degradation by immobilized microbial particles at different aeration intensities

污染物 Pollutant	载体 Carriers	1 L/min(DO=7.50±0.02 mg/L)	2 L/min(DO=8.30±0.02 mg/L)	3.5 L/min(DO=8.60±0.02 mg/L)
		$k_f(\times 10^{-7} \text{ h}^{-1})$	$k_f(\times 10^{-7} \text{ h}^{-1})$	$k_f(\times 10^{-7} \text{ h}^{-1})$
COD _{Mn}	凹凸棒土 Bumpy clay	0.89	1.01	0.99
	卡拉胶 Carrageenan	4.42	5.81	4.62
	硅藻土 Diatomaceous earth	20.83	21.11	28.06
氨氮 Ammonia nitrogen	凹凸棒土 Bumpy clay	0.77*	0.82	0.89
	卡拉胶 Carrageenan	3.46*	7.39	6.85
	硅藻土 Diatomaceous earth	13.33	21.94*	14.72

注:“*”表示某材料不同影响因素梯度之间达到显著差异($P<0.05$)。

Notes: “*” represents the significant indigenous difference between different gradients of an influencing factor of a material ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 固定化微生物颗粒性能评价

3.1.1 颗粒强度

颗粒强度是固定化微生物的重要物理指标之一。如果强度过低,使用过程中可能发生破碎,不仅无法起到固定微生物的效果,还可能造成水体的二次污染。本研究中3种固定化微生物颗粒破碎率总体上随着振荡时间延长而增大。郑华楠等^[9]使用摇床(240 r/min)搅拌振荡2 d后,其固定化微生物颗粒的破损率达5.20%。说明本研究中的凹凸棒土与硅藻土固定化微生物颗粒具有较好

的机械强度,有较强的抵御来自外界环境干扰的能力。而卡拉胶作为天然有机聚合物,机械强度低,在持续机械强度干扰下确实易发生破碎^[15],不适宜用在养殖水体的原位修复中使用。

3.1.2 缓释性能

缓释性能是固定化微生物颗粒进行尾水处理的重要参数,缓慢释放在养殖池塘中的微生物不仅可以增加其中的有益微生物数量,也可以改善池塘水体中微生物的群落结构,以最终改善养殖池塘的水质。无论营养物质补充与否,凹凸棒土缓释的微生物数量都最高,其次是卡拉胶,而硅藻土固定化微生物颗粒的缓释性能最差。卡

拉胶是一种稳定的天然载体,因为它具有潜在的活性氨基官能团,可以改善微生物与支持基质的附着,微生物能够在卡拉胶等天然聚合物制备的基质中维持固定过程并生长良好^[7]。而硅藻土固定化微生物颗粒是硅藻土,缓释性能较差,无法维持水体较高的微生物数量。因此,卡拉胶与凹凸棒土固定化微生物颗粒可利用养殖水体中的残余饵料作为微生物营养物质,持续缓释微生物,有效改善池塘中的微生物群落结构,提高养殖水体的自净能力^[8]。

3.1.3 污染物降解动力学

结合上文3种材料颗粒性质可知,凹凸棒土机械强度较好,能持续向水体缓释微生物且数量最多,且不同环境条件下的缓释性能稳定,但单位质量微生物对污染物的利用率较低,所以适合污染物浓度较低,且机械强度要求较高的场所,如养殖水体。卡拉胶机械强度较低,缓释的微生物数量相比凹凸棒土少,但单位质量微生物对 COD_{Mn} 的去除率显著高于凹凸棒土,对氨氮的去除率中等,但卡拉胶在酸性条件下易发生溶胀现象^[16],适宜于污染物浓度较高但曝气强度不高的废水处理,如污染物浓度中等但曝气强度不大的养殖尾水处理。硅藻土固定化微生物机械强度最好,缓释的微生物数量相对较少,其呈现弱酸性的硅藻土载体可与弱碱发生反应^[17],但单位质量微生物对 COD_{Mn} 和氨氮均具有最高的去除率,因此适宜于处理高浓度有机物和氨氮的中性尾水处理。

3.2 固定化微生物颗粒降解污染物的影响因素研究

3.2.1 pH的影响

对于 COD_{Mn} ,凹凸棒土、卡拉胶、硅藻土固定化微生物颗粒均在中性($pH=7$)条件下呈现出最高的速率常数,说明酸性或碱性条件均不利于固定化微生物的生存,从而影响了 COD_{Mn} 的降解^[10]。酸性条件会干扰微生物的电荷平衡,影响酶的活性;而碱性条件可能会导致构成微生物的物质,如蛋白质等,遭到破坏从而影响微生物的生存^[9]。对于氨氮,凹凸棒土与硅藻土固定化微生物颗粒在中性和碱性条件下的降解速率均高于酸性条件。首先,硝化细菌更容易生长在中性和弱碱性的环境^[18],其次 NH_3 和 NH_4^+ 之间的电离平衡在碱性条件下以 NH_3 占据主导,有利于曝气过程中氨氮的吹脱;酸性条件时,除了pH本身大幅削弱硝化细

菌的活性外, NH_4^+ 也不是硝化细菌的主要利用对象^[19]。而卡拉胶在中性条件下降解氨氮速率最高,而碱性条件会造成卡拉胶材料中所含铵盐^[20]的释放,影响了微生物对氨氮的降解效果。因此,对于两种污染物,一级速率常数都呈现硅藻土固定化微生物颗粒>卡拉胶>凹凸棒土的规律,说明在实际应用的过程中,应注意调节水体的pH,凹凸棒土需要更长的停留时间才能达到更好的处理效果,而硅藻土固定化微生物颗粒则可以实现更短的时间内污染物的快速降解。

3.2.2 温度的影响

总体来看,固定化微生物颗粒降解 COD_{Mn} 、氨氮的一级反应速率常数随温度的升高而增大,低温对微生物生长和活性有抑制作用。肖志坚等^[21]也证实了温度变化对微生物氨氮降解性能有显著影响。尤其是低温下,三种材料降解污染物的速率常数都呈现显著性下降,均不适宜于冬季室外的废水处理。尤其是凹凸棒土固定化微生物颗粒,在 $10\text{ }^\circ\text{C}$ 降解 COD_{Mn} 和氨氮的温度系数都最高,说明其降解性能在低温条件难以得到保障,更适宜于周期覆盖夏秋季的养殖尾水原位处理,这可能是因为凹凸棒土在低温时对微生物亲和力降低,使得固定的微生物受低温影响强烈^[22]。此外,凹凸棒土降解污染物的温度系数更高,说明其受温度的影响更为显著,可能与凹凸棒土材料孔隙较多,温度会也影响污染物在其中的扩散有关;三种材料降解氨氮的温度系数普遍高于 COD_{Mn} ,这与硝化细菌对温度变化非常敏感有关,温度变化对硝基螺旋体的群落结构影响较大,同时低温会抑制硝化细菌的降解活性^[23]。

3.2.3 污染物初始浓度的影响

除硅藻土固定化微生物颗粒外,随着 COD_{Mn} 初始浓度的增加,另外两种固定化颗粒的 k_1 显著上升($P<0.05$),其原因可能是本文模拟养殖尾水中污染物浓度相对较低,可供微生物利用的基质减少,微生物种群间及其内部产生竞争致使生物的生长增殖速率受限^[24]。而根据颗粒性能评价的结论,硅藻土颗粒中的微生物更适合高负荷有机废水,低浓度有机物相可能无法满足微生物的生长需求,因此不同组别之间差别不大^[25]。固定化微生物颗粒降解氨氮时,初始氨氮浓度最高时的 k_1 反而降低,与水中 NH_4^+ 和 NH_3 的平衡有关。当pH和温度条件不变时,模拟尾水中氨氮浓度

越高,游离 NH_3 的浓度越高,而 NH_3 对硝化细菌有抑制效应^[19]。因此,实际应用时应考虑尾水中污染物的实际浓度选择合适的固定化颗粒。

3.2.4 曝气强度的影响

养殖池塘中使用增氧机以保持水中的溶解氧浓度十分常见。不同曝气强度下3种固定化微生物颗粒降解 COD_{Mn} 一级反应速率无显著性差异($P>0.05$),因为不同曝气强度的DO大于7.5 mg/L,对于 COD_{Mn} 的降解已经足够^[26]。但氨氮对DO浓度的要求更高。据分析,可能与卡拉胶载体较为致密^[27]以及凹凸棒土的孔隙率较低,因此需要更高的曝气强度提供更多的溶解氧进入颗粒内部有关。杨志强等^[28]的研究也发现,当水中溶解氧较高时有利于氨氮的降解,其原因可能是硝化细菌本身对溶解氧的需求更大,且提高水中的溶解氧有助于硝化细菌在跟异养细菌的竞争中获得优势,从而表现出速率常数的增加。凡纳滨对虾养殖一般要求水中的溶解氧在4 mg/L以上^[29],因此,考虑运行成本,在实际养殖中保持合适的曝气强度,以保证微生物以及养殖对象正常生存。但若池塘中氨氮浓度较高,则需要提供较高的曝气强度,以提高水中溶解氧水平,促进氨氮转化。

4 结论

(1)凹凸棒土与硅藻土固定化颗粒微生物具有较好的机械强度,有抵御来自外界环境外力干扰的能力;无论营养物质补充与否,凹凸棒土缓释的微生物数量都最高,其次是卡拉胶,硅藻土固定化微生物颗粒的缓释性能最差。

(2)固定化微生物降解污染物的动力学符合Monod模型。凹凸棒土固定化微生物颗粒适合污染物浓度较低,且机械强度要求较高的场所;卡拉胶固定化微生物颗粒适合外力干扰较小的中性或碱性有机废水处理;硅藻土固定化微生物颗粒适宜处理含有高浓度有机物和氨氮的中性废水处理。

(3)中性条件有利于 COD_{Mn} 和氨氮同时降解;固定化微生物颗粒降解 COD_{Mn} 和氨氮的速率随温度的升高而增大,且凹凸棒土微生物颗粒对温度的变化更为敏感,适宜春夏养殖季节,以保证良好的出水水质。

(4)随着污染物初始浓度的增加,凹凸棒土和卡拉胶固定化微生物颗粒降解 COD_{Mn} 的 k_1 显著

上升;不同曝气强度下3种固定化微生物颗粒降解 COD_{Mn} 的速率无显著差别,但适当提高曝气强度有助于氨氮的转化。

参考文献:

- [1] BOUABIDI Z B, EL-NAAS M H, ZHANG Z E. Immobilization of microbial cells for the biotreatment of wastewater: a review [J]. Environmental Chemistry Letters, 2019, 17(1): 241-257.
- [2] LIN S H, WU C L. Electrochemical removal of nitrite and ammonia for aquaculture [J]. Water Research, 1996, 30(3): 715-721.
- [3] GUL S, WHALEN J K, THOMAS B W, et al. Physico-chemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: mechanisms and future directions [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2015, 206: 46-59.
- [4] 秦胜东, 郭嘉吻, 刘玉存, 等. 固定化微生物技术研究进展及其在水处理中的应用[J]. 水处理技术, 2014, 40(10): 6-11.
- [5] QIN S D, GUO J H, LIU Y C, et al. Research progress in immobilized microorganism technology and its application in water treatment [J]. Technology of Water Treatment, 2014, 40(10): 6-11.
- [6] PARTOVINIA A, RASEKH B. Review of the immobilized microbial cell systems for bioremediation of petroleum hydrocarbons polluted environments [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2018, 48(1): 1-38.
- [7] 陈权, 金叶玲, 陆秋敏, 等. 凹土在水中的纳米化及晶束解离行为研究[J]. 中国矿业大学学报, 2014, 43(3): 521-525.
- [8] CHEN Q, JIN Y L, LU Q M, et al. Nano-dispersion behavior and crystal-bundles dissociation of palygorskite under water [J]. Journal of China University of Mining & Technology, 2014, 43(3): 521-525.
- [9] MEHROTRA T, DEV S, BANERJEE A, et al. Use of immobilized bacteria for environmental bioremediation: a review [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2021, 9: 105920.
- [10] 蔡徐依, 颜开, 田亚雄, 等. 凹凸棒土固定化微生物颗粒性能及处理效果影响因素分析[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(5): 1136-1145.
- [11] CAI X Y, YAN K, TIAN Y X, et al. Analysis on characteristics of attapulgite immobilized microorganisms and influencing factors of treatment effect [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(5): 1136-1145.
- [12] 郑华楠, 宋晴, 朱义, 等. 芦苇生物炭复合载体固定化微生物去除水中氨氮[J]. 环境工程学报, 2019, 13(2): 310-318.

- ZHENG H N, SONG Q, ZHU Y, et al. Removing ammonia nitrogen from wastewater by immobilized microorganism with reed biochar composite carrier [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2019, 13(2): 310-318.
- [10] 刘荣荣, 石光辉, 吴春笃. 固定化微生物技术研究进展及其在印染废水处理中的应用[J]. 印染助剂, 2014, 31(3): 1-5.
- LIU R R, SHI G H, WU C D. Research development of immobilized microorganism technology and its application in dyeing wastewater treatment [J]. Textile Auxiliaries, 2014, 31(3): 1-5.
- [11] 国家环境保护总局. HJ/T 92-2002 水污染物排放总量监测技术规范[S]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.
- State Environmental Protection Administration. HJ/T 92-2002 Technical requirements for monitoring of total amount of pollutants in waste water [S]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002.
- [12] 单洪伟. 底质改良及固定化微生物技术对对虾养殖环境的调控[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- SHAN H W. Effect of optimization of bottom substrate and immobilized microorganism technology on shrimp culture [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [13] 文倩. 曝气与组合微生物对封闭型黑臭水体的治理效果研究[D]. 绵阳: 西南科技大学, 2019.
- WEN Q. Study on the effect of aeration and combing microorganism on the treatment of closed black-odor water [D]. Mianyang: Southwest University of Science and Technology, 2019.
- [14] 乔铁军, 安娜, 尤作亮, 等. 梅林水厂臭氧/生物活性炭工艺的运行效果[J]. 中国给水排水, 2006, 22(13): 10-13, 17.
- QIAO T J, AN N, YOU Z L, et al. Performance of ozone and biological activated carbon process in Meilin water treatment plant[J]. China Water & Wastewater, 2006, 22(13): 10-13, 17.
- [15] 吴伟, 余晓丽. 固定化微生物对养殖水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的转化作用[J]. 应用与环境生物学报, 2001(2): 158-162.
- WU W, YU X L. Transformation of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ and $\text{NO}_2^-\text{-N}$ by immobilized microorganisms in aquaculture water [J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2001(2): 158-162.
- [16] 李桂村, 王卫伟, 张志焜. 纳米卡拉胶微球的制备[J]. 青岛科技大学学报, 2003, 24(1): 45-47.
- LI G C, WANG W W, ZHANG Z K. Preparation of carrageenan microspheres [J]. Journal of Qingdao University of Science and Technology, 2003, 24(1): 45-47.
- [17] 王革娇, 蔡林. 一种土壤总DNA小量快速提取方法: 中国, 100441686C[P]. 2008-12-10.
- WANG G J, CAI L. A small amount rapid extraction method for soil total DNA: CN, 100441686C [P]. 2008-12-10.
- [18] 李莉, 李文清, 谭洪新, 等. pH对微生物絮团氨氮转化效率及细菌活性的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(5): 671-679.
- LI L, LI W Q, TAN H X, et al. Effects of pH on ammonium nitrogen conversion efficiency and bacteria activity of microbial flocs [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2019, 28(5): 671-679.
- [19] 龚泮文. 一株硝化细菌氨氮转化能力的优化[J]. 饮食科学, 2019(4): 278-279.
- GONG P W. Optimization of ammonia nitrogen conversion capacity of a nitrifying bacterium [J]. Diet Science, 2019(4): 278-279.
- [20] 胡亚芹, 竺美. 卡拉胶及其结构研究进展[J]. 海洋湖沼通报, 2005(1): 94-102.
- HU Y Q, ZHU M. Study progress of carrageenans and their structure [J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2005(1): 94-102.
- [21] 肖志坚, 李进. 水温对膜生物反应器处理性能影响的试验研究[J]. 内蒙古电力技术, 2007, 25(5): 8-10.
- XIAO Z J, LI J. Experimental study to treatment performance influence of liquid film bioreactor by water temperature [J]. Inner Mongolia Electric Power, 2007, 25(5): 8-10.
- [22] 吕晓冰, 李茹莹. 固定化微生物对低温河水脱氮效果的中试研究[J]. 环境科学学报, 2022, 42(7): 159-169.
- LYU X B, LI R Y. Pilot-scale study on nitrogen removal from river water by immobilized microorganisms at low temperature [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2022, 42(7): 159-169.
- [23] 马俊, 张永祥, 刘亮, 等. A^2O 工艺脱氮效果研究[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2006, 22(1): 28-31.
- MA J, ZHANG Y X, LIU L, et al. Nitrogen removal effect of A^2O process [J]. Journal of Harbin University of Commerce (Natural Sciences Edition), 2006, 22(1): 28-31.
- [24] 周群英, 王士芬. 环境工程微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008.
- ZHOU Q Y, WANG S F. Microbiology of environmental engineering[M]. Beijing: Higher Education Press, 2008.
- [25] 陈洪波. 内聚物驱动生物脱氮除磷机理及优化控制研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2015.
- CHEN H B. The mechanism and process study on biological nutrient removal driven by intracellular polymers [D]. Changsha: Hunan University, 2015.
- [26] LEAL C D, PEREIRA A D, NUNES F T, et al. Anammox for nitrogen removal from anaerobically pre-treated municipal wastewater: effect of COD/N ratios on process

- performance and bacterial community structure [J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 257-266.
- [27] 胡颖娜. 酪蛋白与卡拉胶凝胶作用机理的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2015.
- HU Y N. Research on the gelling mechanisms of casein and carrageenan [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2015.
- [28] 杨志强, 朱建新, 刘慧, 等. 几种环境因子对循环水养殖系统中生物膜净化效率的研究[J]. *渔业现代化*, 2015, 42(3): 17-22.
- YANG Z Q, ZHU J X, LIU H, et al. The influence of environmental factors on biofilter efficiency in a recirculating aquaculture system [J]. *Fishery Modernization*, 2015, 42(3): 17-22.
- [29] 刘炜, 王建华. 南美白对虾养殖异常情况的处理及常见病害的诊断与防治[J]. *渔业致富指南*, 2021(22): 64-67.
- LIU W, WANG J H. Treatment of abnormal conditions in culture and diagnosis and control of common diseases of *Penaeus chinensis* [J]. *Fishery Guide to be Rich*, 2021 (22): 64-67.

Selection of immobilized carrier and evaluation of microbe performance of degradation in aquaculture wastewater treatment

DU Shengnan¹, XU Jianan², XIONG Fei¹, CAI Xuyi¹, GE Pengbiao³, ZHANG Liuliu⁴, LI Juanying^{1,5}

(1. College of Oceanography and Ecological Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Aquatic Wildlife Conservation Research Center, Shanghai 202162, China; 3. Suzhou Dingxingsiwo Aquaculture Equipment Co. Ltd, Jiangsu Province, Suzhou 210095, Jiangsu, China; 4. Jiangsu NAK Bioengineering Co, Huaian 211700, Jiangsu, China; 5. Shanghai Engineering Research Center of River and Lake Biochain Construction and Resource Utilization, Shanghai, 201702, China)

Abstract: Three carriers (Bumpy clay, Carrageenan and Diatomaceous earth) were selected for the preparation of immobilized microbial particles, and the different particle properties, pollutant removal performance and influencing factors were investigated in the present paper. The particle performance studies showed that the mechanical strength of the immobilized particles was high for Bumpy clay and Diatomaceous earth and low for Carrageenan; with nutrient supplementation, Bumpy clay and Carrageenan could stably release 1.50×10^6 CFU/mL and 2.60×10^5 CFU/mL of microorganisms, while the release of Diatomaceous earth was poor. According to fitting results of the Monod equation, it could be obtained that the Diatomaceous earth immobilized microbial particles had the largest specific degradation rate (μ_{max}) for COD_{Mn} . Carrageenan was comparable to it, and the lowest μ_{max} was observed for Bumpy clay. While the K_s of Diatomaceous earth particles was significantly lower than that of the other two particles. Also, the kinetics of ammonia degradation showed a similar pattern to that of COD_{Mn} . The effect of environmental conditions on the degradation performance of the immobilized microbial particles showed that the highest first-order rate constants (k_1) for COD_{Mn} were found under neutral (pH=7) condition for the three materials. The k_1 for ammonia degradation were higher for Bumpy clay and US diatomaceous earth under neutral and alkaline conditions, however the highest rate of ammonia degradation was found for Carrageenan under neutral conditions. The k_1 of COD_{Mn} and ammonia by immobilized microbial particles increased with the increase of temperature, among which the Bumpy clay was more sensitive to the change of temperature. Except for the Diatomaceous earth particles, the k_1 for COD_{Mn} degradation by the other two immobilized microorganisms increased significantly ($P < 0.05$) with the increase of the initial concentration of the pollutant. There was no significant difference in the k_1 of COD_{Mn} at different aeration intensities ($P > 0.05$), and higher aeration intensity was beneficial to the degradation of ammonia.

Key words: aquaculture wastewater; immobilized microorganism; immobilized carrier; environmental conditions