

## 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

蔡徐依, 颜开, 田亚雄, 王茜, 李娟英, 张六六, 戴习林

### **Analysis on characteristics of attapulgite immobilized microorganisms and influencing factors of treatment effect**

CAI Xuyi, YAN Kai, TIAN Yaxiong, WANG Qian, LI Juanying, ZHANG Liuliu, DAI Xilin

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20220403833>

#### 您可能感兴趣的其他文章

##### Articles you may be interested in

##### [低温对大型海藻型微生物脱盐电池处理海产品暂养水的影响](#)

Effect of low temperature on the treatment of seafood temporary culture water by macroalgae microbial desalination battery  
上海海洋大学学报. 2022, 31(5): 1146 <https://doi.org/10.12024/jsou.20211103610>

##### [添加芽孢杆菌对草鱼池塘中真核微生物的影响](#)

Effect of *Bacillus* on eukaryotic microorganism in grass carp ponds  
上海海洋大学学报. 2020, 29(2): 218 <https://doi.org/10.12024/jsou.20190102525>

##### [pH对微生物絮团氨氮转化效率及细菌活性的影响](#)

Effects of pH on ammonium nitrogen conversion efficiency and bacteria activity of microbial flocs  
上海海洋大学学报. 2019, 28(5): 671 <https://doi.org/10.12024/jsou.20180702359>

##### [不同剪切力对生物絮团粒径及其水处理效果的影响](#)

Effect of different shear forces on the particle size of biofloc and its water treatment effect  
上海海洋大学学报. 2021, 30(4): 691 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200202918>

##### [人工湿地处理滨海养殖水效果及机理](#)

Improving performance and removal mechanism of coastal aquaculture water by constructed wetlands  
上海海洋大学学报. 2019, 28(5): 643 <https://doi.org/10.12024/jsou.20180402290>

文章编号: 1674-5566(2022)05-1136-10

DOI:10.12024/jsou.20220403833

## 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

蔡徐依<sup>1</sup>, 颜开<sup>1</sup>, 田亚雄<sup>1</sup>, 王茜<sup>1</sup>, 李娟英<sup>1</sup>, 张六六<sup>2</sup>, 戴习林<sup>1</sup>

(1. 上海海洋大学 海洋生态与环境学院, 上海 201306; 2. 江苏纳克生物工程有限公司, 江苏 淮安 211700)

**摘要:** 选取直径 2 mm 的凹凸棒土小球为无机载体, 利用吸附法固定池塘土著微生物制成固定化微生物颗粒, 研究其颗粒性能以及对养殖水体中 COD<sub>Mn</sub> 和氨氮去除性能。颗粒性能实验结果显示, 固定化微生物颗粒具有较好的机械强度; 缓释到水中的微生物数量可维持在  $1.5 \times 10^6$  CFU/mL, 并且能较好地适应多变的环境条件, 缓释性能稳定; 利用 Monod 方程拟合可得, 固定化微生物颗粒降解污染物性能良好。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: 中性条件下 COD<sub>Mn</sub> 的降解最优, 中性和碱性条件下有利于颗粒对氨氮的转化; 不同气体流量对固定化微生物颗粒降解 COD<sub>Mn</sub> 无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 水体中溶解氧最高 [DO = (8.600 ± 0.028) mg/L] 时, 氨氮降解效果最优; 污染物初始浓度升高, 固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub>、氨氮的一级反应速率逐渐增加 (除了初始氨氮浓度过高时); 在 10 ~ 35 °C 内, 温度越高, 颗粒降解 COD<sub>Mn</sub>、氨氮速率越大。

**关键词:** 固定化微生物; 养殖水体; COD<sub>Mn</sub>; 氨氮; 环境条件

**中图分类号:** X 52      **文献标志码:** A

为了提高养殖水体中氮、磷、有机质的去除效率以及降低处理成本<sup>[1-2]</sup>, 固定化微生物原位修复技术得到了越来越多的关注<sup>[3-4]</sup>。与游离微生物不同, 固定化微生物具有更高的细胞密度和生物活性<sup>[5]</sup>, 更强的抗环境干扰能力, 对水质有较好的修复作用<sup>[6]</sup>, 并且原位修复可以在较长时间内保持水质稳定, 降低了后期尾水处理设施的负担。

然而, 选择合适的固定方法、固定载体、微生物菌种对于固定化微生物能否保持自身活性与发挥功能至关重要<sup>[7]</sup>。固定方法中吸附法方便操作、经济实惠, 能最大限度保持微生物活性<sup>[8]</sup>。同时, 凹凸棒土是一种应用广泛, 价格低廉的无机固定化载体, 具有较大的比表面积和发达的微孔结构, 能更有效的吸附微生物<sup>[9]</sup>。并且已有研究证实, 芽孢杆菌能够快速降解和转化养殖环境中的有机物<sup>[10]</sup>。但目前固定化微生物在处理高浓度有机废水、重金属污染水体等方面应用广

泛, 在原位处理养殖池塘水体方面可借鉴的实践案例经验相对较少。

因此, 采用吸附法将芽孢杆菌固定于凹凸棒土小球, 制作成固定化微生物颗粒。在实验室配置模拟养殖尾水, 以现场养殖池塘中排放超标率较高的 COD<sub>Mn</sub> 和氨氮两个污染指标作为研究对象, 在实验室小试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、固定化微生物颗粒去除污染物的动力学以及去除效率的主要影响因素进行研究, 旨在为凹凸棒土固定化微生物颗粒原位处理养殖池塘尾水并达标排放提供实验支持和理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

固定化微生物菌种来自养殖池塘土著微生物, 包括枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)、地衣芽孢杆菌 (*Bacillus*

收稿日期: 2022-04-26      修回日期: 2022-07-21

基金项目: 上海市科技兴农项目 (沪农科创字[2020]第 3-2 号); 广东省重点领域研发计划项目 (2020B0202010009)

作者简介: 蔡徐依 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水处理工程。E-mail: 609311224@qq.com

通信作者: 李娟英, E-mail: jyli@shou.edu.cn

licheniformis)、解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*)、凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)、丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)等六类,按照质量等比例混合菌液加入培养基(葡萄糖 10 g/L,牛肉浸膏 10 g/L,酵母提取物 5 g/L,氯化钠 5 g/L,pH 为 7)中浓缩发酵。其中发酵培养基为葡萄糖 5 g/L,蛋白胨 5 g/L,酵母粉 6 g/L,硫酸铵 2.5 g/L,七水硫酸镁 0.2 g/L,磷酸二氢钾 2 g/L,磷酸氢二钾 1 g/L,乙酸钠 0.1 g/L,黄豆粉 8 g/L,柠檬酸钠 1 g/L,pH 7.0,配制而成;发酵条件控制在 6 h 内通入无菌空气通风比为 1:0.5,12 h 内通风比为 1:1.5,温度控制于 37~37.5 ℃,pH 控制于 6.8~7.1。微生物涂布所需固体基础培养基(g/L):营养肉汤 18 g,蛋白胨 15 g,用去离子水配置,pH 为 7。

将凹凸棒土小球(购自江苏纳克生物工程有限公司)过 10 目筛,制备成直径 2 mm 的球状。将混合菌液浓缩发酵后均匀多次(3~5 次)喷洒至凹凸棒土小球表面后,阴干 24 h 待用,凹凸棒土小球与菌液体积比 10:1,固定后颗粒负载微生物约 20 亿/g。

根据《淡水池塘养殖水排放要求》(SC/T 91012007)内规定的淡水受纳水域养殖尾水排放限值,在去离子水中配置模拟养殖废水包含 COD<sub>Mn</sub>质量浓度为 25 mg/L 左右,氨氮质量浓度为 6 mg/L 左右,TN 质量浓度为 8 mg/L 左右,TP 质量浓度为 2 mg/L 左右,pH 调节至 7.0~7.3。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 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(剪切力约为  $1.176 \times 10^{-7}$  N),记录颗粒破损情况,破损颗粒与最初颗粒比值为破损百分比,破碎速率为破损百分比随时间变化的速率,以此判断颗粒强度。

将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,记录微生物数量,测定微生物缓释性能。

取固定化微生物降解动力学中 1、8、16、24 h 定容后未过滤水样进行平板涂布测定微生物数量,得出环境条件变化对固定化微生物颗粒缓释

性能的影响。

取 1 g 固定化微生物颗粒加入到体积为 100 mL 的模拟养殖废水中,控制起始污染物浓度以及曝气时间,进行固定化微生物颗粒降解 COD<sub>Mn</sub>和氨氮动力学实验。实验过程中调节气体流量为 2 L/min(DO =  $8.3 \pm 0.028$  mg/L),溶液温度 20 ℃、溶液 pH 为 7。取 1、2、4、8、12、16、20、24、28 h 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,并用 0.45 μm 混合纤维素(MCE)过滤,测定溶液中的污染物浓度。

Monod 动力学模拟:当水中污染物浓度较低时,微生物降解速率受到基质浓度的限制,可描述为一级动力学反应。

$$\frac{d_s}{d_t} = -k \cdot S \quad (1)$$

式中:S 为污染物质量浓度,mg/L;T 为固定化微生物降解时间,h;K 为反应速率常数,h<sup>-1</sup>。

随着污染物浓度的增加,降解速率也逐渐增加,直至稳定在最大降解速率,呈现零级动力学反应模式,这与已有研究结论相似<sup>[11]</sup>。污染物降解动力学通过拟合 Monod 模型进行分析,计算模型如式(2)所示。

$$\mu = \frac{\mu_{\max} \cdot S}{K_s + S} \quad (2)$$

式中:μ 为污染物降解速度,h<sup>-1</sup>;μ<sub>max</sub> 为污染物的最大比降解速度,h<sup>-1</sup>;S 为污染物质量浓度,mg/L;K<sub>s</sub> 为饱和常数,mg/L。

### 1.2.2 固定化微生物降解污染物的影响因素

将 1 g 固定化微生物颗粒加入到 100 mL 模拟养殖废水中,在温度 20 ℃、气体流量 2 L/min(DO =  $8.300 \pm 0.028$  mg/L)的条件下,调节 pH 并分别保持在酸性条件(pH = 4)、中性条件(pH = 7)和碱性条件(pH = 9),持续曝气 1、4、8、16、18、20、24、28 h,并采集样品。

调节模拟废水的 pH 为 7,温度 20 ℃,调节曝气强度,设置气体流量为 1 L/min(DO =  $7.500 \pm 0.028$  mg/L)、2 L/min(DO =  $8.300 \pm 0.028$  mg/L)、3.5 L/min(DO =  $8.600 \pm 0.028$  mg/L),其他条件同上,持续曝气 1、4、8、16、20、24、28 h,并采集样品。

调节模拟养殖废水中的气体流量为 2 L/min(DO =  $8.300 \pm 0.028$  mg/L)、温度为 20 ℃和 pH 为 7 的条件下,改变污染物的初始浓度:分为低、

中、高 3 种水平, COD<sub>Mn</sub> 质量浓度分别为 10、25 和 100 mg/L, 氨氮质量浓度为 2.4、6 和 24 mg/L, 持续曝气 1、4、6、8、16、20、24 h, 并采集样品。

调节模拟废水的 pH = 7, 温度分别为 10、20、30、35 °C, 其他条件同上, 持续曝气 1、4、8、16、20、24、28 h, 并采集样品。同时在废水的生物处理中, 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 °C 为基准温度来计算  $\theta$  值<sup>[12]</sup>, 即令  $T_0 = 20$  °C。

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

式中:  $k_1$ 、 $k_0$  分别为  $T_1$ 、 $T_0$  时的反应速率常数,  $\text{h}^{-1}$ ;  $\theta$  为温度系数。

以上实验结束后, 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  $\mu\text{m}$  混合纤维素 (MCE) 过滤测定后测定剩余污染物的浓度。

### 1.3 分析检测方法

污染物的测定均参照标准方法进行 (国家环境保护总局, 2002), COD<sub>Mn</sub> 测定采用高锰酸钾滴定法, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 测定采用纳氏试剂分光光度法, 文中浓度皆为质量浓度, 所有指标检测均取 2 个平行样以保障数据准确性。采用 Origin 2021 软件完成数据拟合及绘制, 误差棒均为标准差, 使用软件 SPSS 18.0 单因素 ANOVA 检验进行显著性分析,  $P < 0.05$  为有显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 凹凸棒土固定化微生物颗粒性能

#### 2.1.1 颗粒强度

将颗粒放入 200 r/min 的摇床中连续振荡, 模拟养殖水体持续曝气 (图 1a)。固定化微生物颗粒随振荡时间增长, 破损百分比逐渐升高, 破碎速率也呈上升趋势。在实验开始的 10 d 内未见破损, 连续振荡 60 d 后破损百分比达  $23\% \pm 2.828\%$ 。

#### 2.1.2 微生物缓释性能

由图 1(b) 可知, 在每日都补充营养物质的前提下, 凹凸棒土小球释放的微生物的数量维持在  $1.5 \times 10^6$  CFU/mL。在未补充营养物质的情况

下, 微生物因缺少生长所需的营养物质导致其数量小于前者并在第四天时骤减。

如图 1(c)、(e) 所示, 在不同 pH 与污染物初始浓度下, 固定化微生物颗粒缓释的微生物数量没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。如图 1(f) 可得, 除在曝气 8 h, 温度条件为 35 °C 以外, 其余条件下颗粒缓释的微生物数量均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。不同曝气强度对固定化微生物颗粒缓释性能有一定影响, 如图 1(d) 所示, 当气体流量为 2 L/min ( $\text{DO} = 8.3 \pm 0.028$  mg/L) 时释放的微生物数量多于其他两个条件且有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

### 2.1.3 固定化微生物颗粒的污染物降解动力学

根据固定化微生物颗粒降解动力学模型结果 (图 2) 可知, 随着污染物浓度的增大, 其降解速率相应增加。本实验中固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub> 的  $\mu_{\max}$  为  $(39.730 \pm 4.835) \text{ h}^{-1}$ ,  $K_s$  为  $(353.914 \pm 47.196) \text{ mg/L}$ ,  $R^2$  为 0.864, 拟合效果较好; 此外, 固定化微生物降解氨氮的  $\mu_{\max}$  为  $(9.208 \pm 0.904) \text{ h}^{-1}$ ,  $K_s$  为  $(112.166 \pm 17.194) \text{ mg/L}$ ,  $R^2$  为 0.962, 拟合效果较好。

其中当污染物浓度小于半饱和常数 (即  $S < K_s$ ) 时, 水体中污染物的一级降解速率与污染物浓度成正比<sup>[13]</sup>, 动力学符合一级反应。当污染物浓度远远大于半饱和常数  $K_s$  值<sup>[14]</sup>, 即 COD<sub>Mn</sub> 浓度  $>> (353.914 \pm 47.196) \text{ mg/L}$ , 氨氮浓度  $>> (112.166 \pm 17.194) \text{ mg/L}$  时, 动力学符合零级反应。

### 2.2 环境条件对固定化微生物颗粒降解污染物的影响研究

#### 2.2.1 pH 的影响

由表 1 可知, 污染物的降解基本符合一级动力学反应 (除酸性条件下降解氨氮)。对于 COD<sub>Mn</sub>, 中性 (pH = 7) 条件下一级速率常数  $k = (0.122 \pm 0.014) \text{ h}^{-1}$  最高 ( $P < 0.05$ ), 说明酸性或碱性条件均不利于固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub>; 对于氨氮, 中性和碱性条件下的降解效率均好于酸性条件。

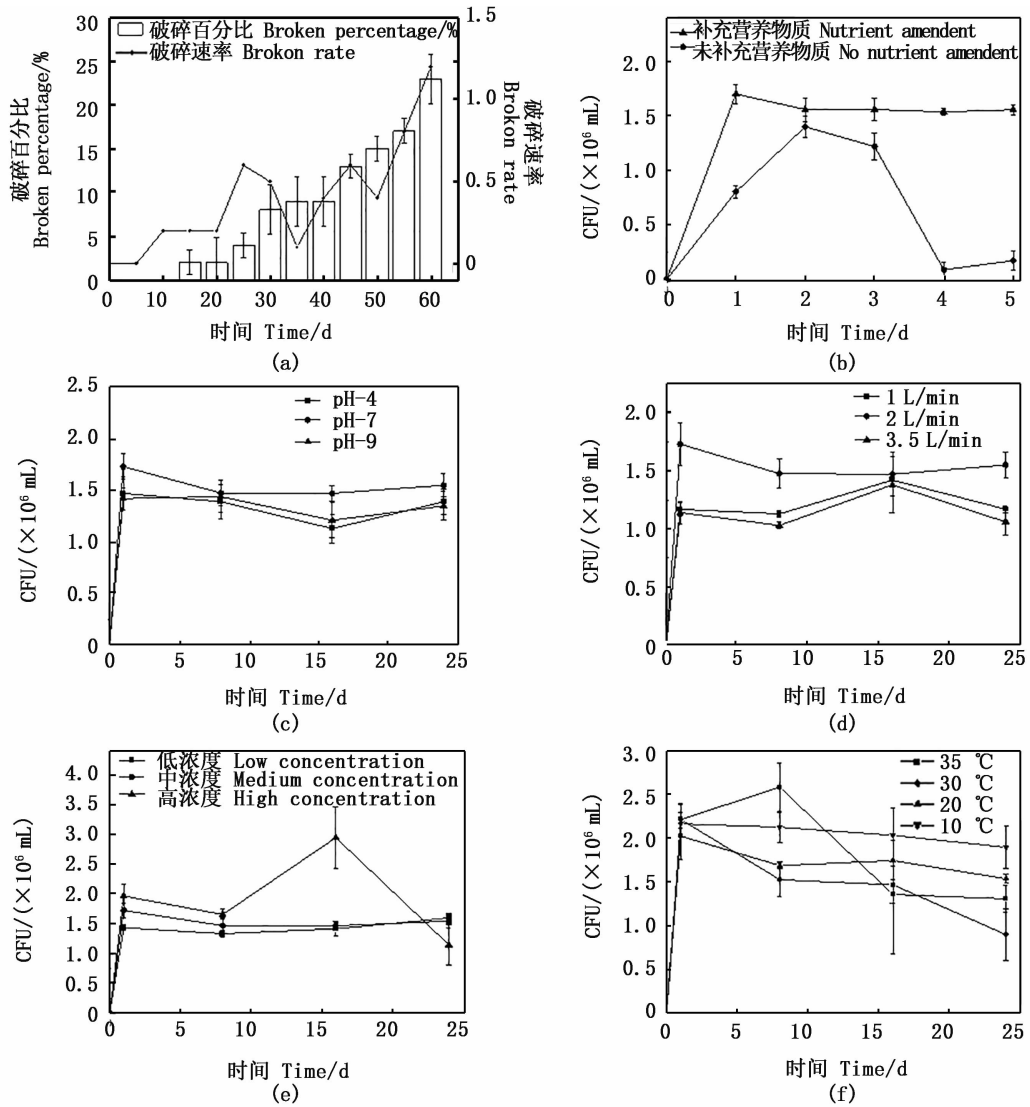


图1 固定化微生物颗粒强度(a)、微生物缓释性能(b)以及 pH(c)、

Fig.1 Strength of immobilized microbial particles (a), sustained release performance (b), the effects of pH (c), gas flow rate (d), initial concentration of pollutant (e) and temperature (f) on microbial sustained release

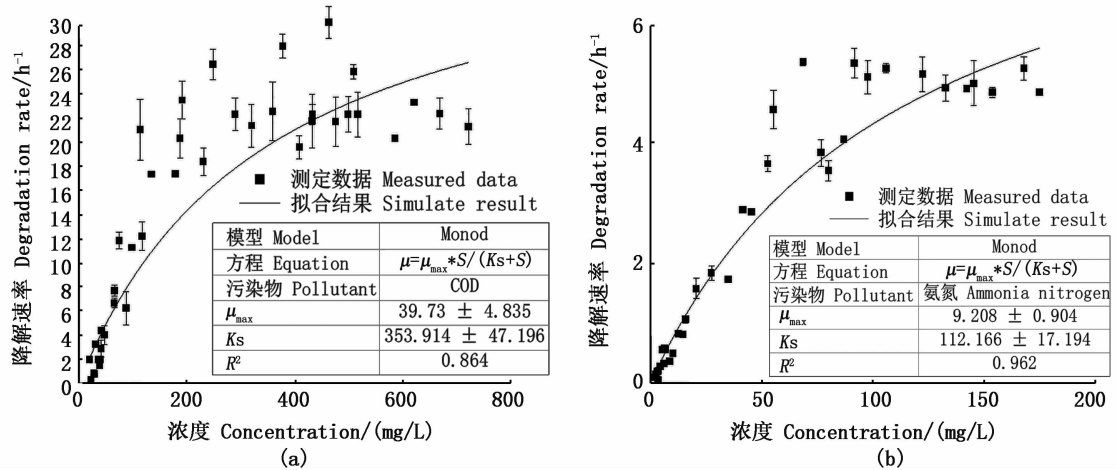


图2 固定化微生物颗粒降解 COD<sub>Mn</sub>(a)和 氨氮(b)的 Monod 拟合结果

Fig.2 Monod simulation of COD<sub>Mn</sub> (a) and ammonia nitrogen (b) degradation by immobilized microbial particles

### 2.2.2 曝气强度的影响

由表 1 可知,三种气体流量下固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub> 一级反应速率无显著性差异 ( $P > 0.05$ ),其中气体流量为 1 L/min [DO = (7.500 ± 0.028) mg/L] 时最低。且气体流量为 1 L/min [DO = (7.500 ± 0.028) mg/L] 时,固定化微生物降解氨氮一级反应速率最低 ( $P < 0.05$ ),气体流量为 3.5 L/min [DO = (8.600 ± 0.028) mg/L] 时,对氨氮的降解最优。

### 2.2.3 污染物初始浓度的影响

由表 1 可知,固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub> 一级反应速率常数  $k$  为 (0.093 ± 0.013) ~ (0.163 ± 0.008) h<sup>-1</sup>,随着污染物初始浓度的增加,一级反应速率常数  $k$  值逐渐增加。氨氮一级反应速率常数  $k$  为 (0.033 ± 0.023) ~ (0.129 ± 0.021) h<sup>-1</sup>,初始污染物浓度最高时  $k$  值低于中等浓度。

### 2.2.4 温度的影响

由表 1 可知,固定化微生物颗粒降解 COD<sub>Mn</sub> 的一级反应速率常数为 (0.085 ± 0.002) ~ (0.243 ± 0.023) h<sup>-1</sup>,降解氨氮的一级反应速率常数  $k$  为 (0.012 ± 0.011) ~ (0.062 ± 0.006) h<sup>-1</sup>,随温度的升高,降解速率增大。通过计算得到固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub>、氨氮不同温度下的温度系数  $\theta$  值如表 2 所示,分别为 1.003 ~ 1.105、1.039 ~ 1.088。可以发现随着温度的波动,温度系数也有小幅波动。固定化微生物颗粒降解 COD<sub>Mn</sub>、氨氮温度系数  $\theta$  取平均值分别为 1.037、1.060,由此在 10 ~ 35 °C 范围内速率常数  $k$  与温度 (°C) 的关系分别为  $k = 0.230 \times 1.037^{T-20}$  ( $k_{20} = 0.230 \pm 0.037$ )、 $k = 0.028 \times 1.060^{T-20}$  ( $k_{20} = 0.028 \pm 0.019$ )。

表 1 不同影响因素对固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub> 和氨氮的影响

Tab. 1 Effects of different factors on the degradation of COD<sub>Mn</sub> and ammonia nitrogen by immobilized microorganisms

影响因素 Influence factor		COD <sub>Mn</sub>			氨氮 Ammonia nitrogen		
		$k/(h^{-1})$	$R^2$	$\theta$	$k/(h^{-1})$	$R^2$	$\theta$
pH	4	0.085 ± 0.011	0.876	-	-*	-	-
	7	0.122 ± 0.014*	0.888	-	0.112 ± 0.013	0.890	-
	9	0.093 ± 0.013	0.816	-	0.091 ± 0.007	0.939	-
曝气强度 Aeration intensity	1 L/min [DO = (7.500 ± 0.028) mg/L]	0.134 ± 0.010	0.945	-	0.115 ± 0.020*	0.875	-
	2 L/min [DO = (8.300 ± 0.028) mg/L]	0.151 ± 0.012	0.944	-	0.123 ± 0.014	0.891	-
	3.5 L/min [DO = (8.600 ± 0.028) mg/L]	0.148 ± 0.012	0.927	-	0.133 ± 0.016	0.891	-
污染物初始浓度 Initial pollutant concentration	低 Low	0.093 ± 0.013*	0.891	-	0.033 ± 0.023*	0.030	-
	中 Middle	0.140 ± 0.010	0.950	-	0.129 ± 0.021	0.782	-
	高 High	0.163 ± 0.008	0.986	-	0.097 ± 0.019	0.724	-
温度 Temperature/°C	10	0.085 ± 0.002*	0.625	1.105	0.012 ± 0.011*	0.017	1.088
	20	0.230 ± 0.037	0.764	-	0.028 ± 0.019	0.164	-
	30	0.238 ± 0.053	0.672	1.003	0.041 ± 0.029	0.223	1.039
	35	0.243 ± 0.023	0.915	1.004	0.062 ± 0.006*	0.920	1.054

注:“\*”表示某影响因素不同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 ( $P < 0.05$ ).

## 3 讨论

### 3.1 凹凸棒土固定化微生物颗粒性能

#### 3.1.1 颗粒强度

颗粒强度是固定化微生物颗粒的一个重要物理指标。如果固定化颗粒强度太低,养殖过程中复杂的环境会使其在未发挥作用时破碎,不但无法发挥固定化微生物的作用,并可能对水体造成二次污染。本实验所用颗粒破碎速率总体上

随时间延长而增大,但在开始的 10 d 内未见破损,连续振荡 60 d 后破损百分比达 23% ± 2.828%。而郑华楠等<sup>[15]</sup>将固定化颗粒置于 240 r/min 的摇床中搅拌振荡 2 d 后,颗粒破损率为 5.2%,说明本实验使用的固定化微生物颗粒具有较好的机械强度,适用于原位修复养殖水体。

#### 3.1.2 微生物缓释性能

缓释性能是尾水处理的一个重要参数,缓慢释放在养殖池塘中的微生物不仅可以增加养殖

池塘中的有益微生物的数量,也可以改善养殖池塘水体中微生物的群落结构,以改善养殖池塘的水质。而凹凸棒土小球缓释微生物的机理主要分为两部分,首先是凹凸棒土作为一种天然一维纳米材料,具有较大的比表面积和较强的吸附性能可以大量吸附微生物,且其晶体呈棒状,纤维状,内部结构复杂<sup>[16]</sup>,使得微生物固定后缓慢释放;其次固定后微生物会在凹凸棒土小球表面形成生物膜<sup>[17]</sup>,进一步增加微生物缓释时间,使得固定化微生物颗粒能持续地净化水体。

在每日都补充营养物质的前提下,凹凸棒土小球释放的微生物的数量维持在  $1.5 \times 10^6$  CFU/mL,远高于养殖水体自身微生物数量  $10^2 \sim 10^3$  CFU/mL<sup>[18]</sup>。因此,本实验中的固定化微生物颗粒处理尾水时,可利用尾水中的残余饵料作为微生物营养物质,有效提高池塘中有益土著微生物的数量,进一步提高养殖尾水的自净能力。

在不同 pH、污染物初始浓度以及温度下,固定化微生物颗粒缓释的微生物数量基本没有显著性差异,表明凹凸棒土固定化微生物可以较好地适应养殖条件内 pH、温度变化并且在有足够浓度的有机物作为微生物的基质时,可以稳定地向养殖水体释放土著微生物。叶正芳等<sup>[19]</sup>也发现在不同温度、pH、以及高有机负荷的情况下,其使用的固定化微生物颗粒释放的微生物具有较

好活性。但不同曝气强度对固定化微生物颗粒缓释性能有一定影响,当气体流量为 2 L/min [ $DO = (8.300 \pm 0.028)$  mg/L] 时释放的微生物数量更多。据分析其原因为气体流量较小时,溶液中出现供氧不足,微生物的增殖能力减弱,微生物失去活性<sup>[20]</sup>,适当提高曝气强度使得水中的溶解氧上升,菌体增殖速率加快。但是气体流量过高时会对微生物扰动加大,会加速微生物死亡。所以实际应用时需注意控制曝气强度,以免造成有益菌死亡。综上,凹凸棒土固定化微生物颗粒能较好地适应多变的环境条件,缓释性能稳定,适用于实际养殖。

### 3.1.3 固定化微生物颗粒的污染物降解动力学

研究发现,Monod 方程常用于生物处理中描述污染物浓度与降解速率的关系<sup>[21]</sup>,即微生物以单一污染物质(有机物或者氨氮)作为基质、微生物处于平衡生长状态以及处理过程中没有毒性存在<sup>[22]</sup>。因此本研究采用 Monod 方程模拟了固定化复合菌种对水体中  $COD_{Mn}$  和氨氮降解效果。研究可得,固定化微生物颗粒降解动力学模型 Monod 方程结果良好,这与已有的研究结论一致<sup>[23-24]</sup>。由表 2 比较可得,本文所使用的固定化复合菌种的颗粒降解  $COD_{Mn}$ 、氨氮性能良好,能快速降解废水中的耗氧有机物,同时对氨氮也有较好的降解效果。

表 2 Monod 动力学参数  $\mu_{max}$ 、 $K_s$  与参考文献值的比较

Tab. 2 Comparison of Monod kinetic parameters  $\mu_{max}$  and  $K_s$  with values in the reference

动力学系数 Kinetic coefficient	$COD_{Mn}$				氨氮 Ammonia nitrogen			
	本研究 This study	李梅芳 <sup>[25]</sup> LI	汤茵琪等 <sup>[26]</sup> TANG et al	AKHBARI 等 <sup>[27]</sup> AKHBARI et al	本研究 This study	QIAO 等 <sup>[28]</sup> QIAO et al	周俊兆 <sup>[29]</sup> ZHOU	KUNDU 等 <sup>[30]</sup> KUNDU et al
$\mu_{max}/h^{-1}$	39.730	10.08	0.328	0.231	9.208	0.139	3.37	0.611
$K_s/(mg/L)$	353.914	166.93	70.290	55.000	112.166	30.590	11.29	2.190

## 3.2 环境条件对固定化微生物颗粒降解污染物的影响研究

### 3.2.1 pH 的影响

水体的 pH 是反应养殖水体最重要理化参数之一。据以往研究发现,pH < 5 或 pH > 9 时会严重影响微生物的降解效率<sup>[31]</sup>。本研究中对于  $COD_{Mn}$ , pH = 7 时,一级速率常数 k 最高,说明酸碱条件不利于固定化微生物降解  $COD_{Mn}$ ;对于氨

氮,中性和碱性条件下的降解效率均好于酸性条件。首先是因为硝化细菌更容易生长在中性和弱碱性的环境<sup>[32-33]</sup>,其次是因为  $NH_3$  和  $NH_4^+$  之间的平衡,碱性条件下是  $NH_3$  占据主导<sup>[34]</sup>,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。因此,在实际养殖时,要注意调节池塘水体 pH,以免对水质以及水生动

物造成不利影响。

### 3.2.2 曝气强度的影响

在养殖池塘中,使用增氧机以保持水中的溶解氧浓度十分常见。聂春芬等<sup>[35]</sup>研究发现, DO 浓度在 1~6 mg/L 内变化不会对固定化微生物降解 COD 产生太大影响,但当 DO 浓度 <3 mg/L 时,硝化反应会受到抑制。本实验结果表明,水中溶解氧变化不会对固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub> 造成显著性差异,但是当水中溶解氧含量最低 [DO = (7.500 ± 0.028) mg/L] 时,固定化微生物降解氨氮一级反应速率最低,说明气体流量太低会导致水体中溶解氧不足,导致微生物失去活性、死亡,降解能力下降。当水中溶解氧最高 [DO = (8.600 ± 0.028) mg/L] 时,对氨氮的降解最优,其原因可能是硝化细菌本身对溶解氧的需求更大<sup>[36]</sup>。因此提高溶解氧水平有助于硝化细菌的增殖<sup>[37]</sup>,从而表现出氨氮速率常数的增加。由于南美白对虾养殖一般要求水中的溶解氧在 4 mg/L 以上<sup>[38]</sup>,总体来说,为考虑经济成本,在实际养殖中保持合适的曝气强度(以保证微生物以及水生生物所需要的量)。但若池塘中氨氮浓度较高,则需保持适当较高的曝气强度,提高水中溶解氧水平。

### 3.2.3 污染物初始浓度的影响

固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub> 一级反应速率常数随着污染物初始浓度的增加而增大。其原因可能是由于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<sup>[39]</sup>。氨氮一级反应速率常数在初始污染物浓度最高时低于中等浓度,其原因是水体中, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 和游离 NH<sub>3</sub> 存在平衡,据研究发现当 pH、温度条件不变时模拟废水中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 浓度的越高,游离 NH<sub>3</sub> 的浓度越高<sup>[40]</sup>,而 NH<sub>3</sub> 是对硝化细菌有毒的,因此在模拟养殖水体初始污染物浓度最高时一级反应速率常数产生下降。所以在实际养殖条件中可以通过适当提高曝气强度,增加水中溶解氧,协同降解氨氮。

### 3.2.4 温度的影响

固定化微生物颗粒降解 COD<sub>Mn</sub>、氨氮的一级反应速率常数随温度的升高而增大,说明温度过低时对微生物活性有着一定影响,不利于固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub>、氨氮。肖志坚等<sup>[41]</sup>也证实了温度变化对微生物氨氮降解性能有显著影响。

固定化微生物降解 COD<sub>Mn</sub>、氨氮不同温度下的温度系数  $\theta$  值随着温度的波动,温度系数也有小幅波动,其原因是温度变化可能会导致微生物种属更替导致影响  $\theta$  值<sup>[42]</sup>。由于现场池塘养殖的南美白对虾是热带性虾类,人工养殖适宜的摄食、生长的水温为 18~35 °C<sup>[43]</sup>,在此范围内固定化微生物颗粒缓释微生物、降解污染物的效果并没有受到很大的影响,适宜原位投加使用。

### 参考文献:

- [1] VENKATESWARLU V, VENKATRAYULU C. Prevalence of disease problems affecting shrimp *Litopenaeus vannamei* farming in Andhra Pradesh, India[J]. International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, 2019, 7(5): 275-279.
- [2] 孙世玉, 江敏, 金若晨, 等. 凡纳滨对虾池塘养殖过程中水质与虾虹彩病毒病发生的相关性[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(5): 641-649.  
SUN S Y, JIANG M, JIN R C, et al. Correlation between water quality and shrimp hemocyte iridescent virus disease occurrence of *Litopenaeus vannamei* in ponds[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(5): 641-649.
- [3] CHEN D Z, FANG J Y, SHAO Q, et al. Biodegradation of tetrahydrofuran by *Pseudomonas oleovorans* DT4 immobilized in calcium alginate beads impregnated with activated carbon fiber: Mass transfer effect and continuous treatment [J]. Bioresource Technology, 2013, 139: 87-93.
- [4] 冯东岳, 季相山. 固定化微生物技术在水产养殖环境修复中的应用[J]. 中国水产, 2018(3): 87-90.  
FENG D Y, JI X S. Application of immobilized microbial technology in aquaculture environmental remediation [J]. China Fisheries, 2018(3): 87-90.
- [5] 刘娥, 刘兴国, 王小冬, 等. 固定化藻菌净化水产养殖废水效果及固定化条件优选研究[J]. 上海海洋大学学报, 2017, 26(3): 422-431.  
LIU E, LIU X G, WANG X D, et al. Study on efficiency of purifying the aquacultural waste water with immobilized alga-bacteria system and immobilization conditions optimization [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2017, 26(3): 422-431.
- [6] 唐海芳, 洗萍, 方晴, 等. 固定化微生物对湖塘底泥有机污染的减量[J]. 广西大学学报(自然科学版), 2018, 43(6): 2425-2432.  
TANG H F, XIAN P, FANG Q, et al. Reduction of organic pollution in pond sediment by immobilized microorganisms [J]. Journal of Guangxi University (Natural Science Edition), 2018, 43(6): 2425-2432.
- [7] 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.
- [8] 吴梦莉,李洁,智燕彩,等. 微生物固定化生物炭对水体铵态氮去除效果的研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 1071-1078.  
WU M L, LI J, ZHI Y C, et al. Synthesis of microbial immobilized biochar for the removal of ammonia nitrogen from aqueous solutions[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(5): 1071-1078.
- [9] 郑淑琴,黄石,韩勇,等. 凹凸棒土的性能及其应用[J]. 广州化工, 2010, 38(5): 82-84.  
ZHENG S Q, HUANG S, HAN Y, et al. Property and application of attapulgite[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2010, 38(5): 82-84.
- [10] 王凯,杨华,王路英,等. 芽孢杆菌在水产养殖中的应用研究进展[J]. 当代水产, 2021, 46(2): 74-77.  
WANG K, YANG H, WANG L Y, et al. Research progress on application of bacillus in aquaculture [J]. Current Fisheries, 2021, 46(2): 74-77.
- [11] 唐娜,张强,黄玉明. 潜流人工湿地中有机物的去除[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2009, 34(3): 71-74.  
TANG N, ZHANG Q, HUANG Y M. Removal of organic pollutants in subsurface flow constructed wetlands system[J]. Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition), 2009, 34(3): 71-74.
- [12] 钟于涛. 分段进水多级生物膜反应器脱氮效能与动力学模型仿真研究[D]. 重庆:重庆大学, 2008.  
ZHONG Y T. Study on the performance of nitrogen removal and dynamic simulation of the step feed multi-stage biofilm reactor[D]. Chongqing: Chongqing University, 2008.
- [13] 王玉芬. 光合细菌球形红细菌(*Rhodobacter sphaeroides*)降解氯苯类化合物的研究[D]. 沈阳:东北大学, 2007.  
WANG Y F. Studies on chlorobenzenes degradation by photosynthetic bacteria (*Rhodobacter sphaeroides*) [D]. Shenyang: Northeastern University, 2007.
- [14] BEKINS B A, WARREN E, GODSY E M. A comparison of zero-order, first-order, and monod biotransformation models [J]. Groundwater, 1998, 36(2): 261-268.
- [15] 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.
- [16] 杨慧. 添加吸附剂对包埋固定化微生物凝胶小球性能的影响研究[D]. 兰州:兰州交通大学, 2007.  
YANG H. Study on the capabilities impacts of imbedding immobilized microorganism gel balls adding adsorbent [D]. Lanzhou: Lanzhou Jiaotong University, 2007.
- [17] 戚韩英,汪文斌,郑昱,等. 生物膜形成机理及影响因素探究[J]. 微生物学通报, 2013, 40(4): 677-685.  
QI H Y, WANG W B, ZHENG Y, et al. Mechanism of biofilm formation and analysis of influencing factors [J]. Microbiology China, 2013, 40(4): 677-685.
- [18] 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 China, 2013.
- [19] 叶正芳,倪晋仁. 污水处理的固定化微生物与游离微生物性能的比较[J]. 应用基础与工程科学学报, 2002, 10(4): 325-331.  
YE Z F, NI J R. Performance comparison between the immobilized and the dissociated microorganisms in wastewater treatment [J]. Journal of Basic Science and Engineering, 2002, 10(4): 325-331.
- [20] 倪晋仁,温丽丽,叶正芳. 固定化微生物处理高氨氮废水的影响因素研究[J]. 中国科技论文在线, 2007(7): 536-542.  
NI J R, WEN L L, YE Z F. Controlling factors of treatment of high-strength ammonia wastewater by immobilized microorganism [J]. Sciencepaper Online, 2007(7): 536-542.
- [21] LEVENSPIEL O. The monod equation: A revisit and a generalization to product inhibition situations [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1980, 22(8): 1671-1687.
- [22] MONOD J. The growth of bacterial cultures [M]//LWOFF A, ULLMANN A. Selected Papers in Molecular Biology by Jacques Monod. Amsterdam: Academic Press, 1978: 139-162.
- [23] SAEED T, SUN G Z. Kinetic modelling of nitrogen and organics removal in vertical and horizontal flow wetlands [J]. Water Research, 2011, 45(10): 3137-3152.
- [24] ALBUQUERQUE A, OLIVEIRA J, SEMITELA S, et al. Influence of bed media characteristics on ammonia and nitrate removal in shallow horizontal subsurface flow constructed wetlands [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(24): 6269-6277.
- [25] 李梅芳. 厌氧—好氧—缺氧模式的SBR处理生活污水的研究[D]. 太原:太原理工大学, 2013.  
LI M F. Experiment study on waste water treatment by the anaerobic/aerobic/anoxic SBR process [D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2013.
- [26] 汤茵琪,李阳,常素云,等. 好氧反硝化菌强化生态浮床对水体氮与有机物净化机理[J]. 生态学杂志, 2017, 36(2): 569-576.  
TANG Y Q, LI Y, CHANG S Y, et al. Mechanisms of nitrogen and organic matter removal from water bodies by aerobic denitrifiers enhanced ecological floating bed [J]. Chinese Journal of Ecology, 2017, 36(2): 569-576.
- [27] AKHBARI A, ZINATIZADEH A A L, MOHAMMADI P, et al. Kinetic modeling of carbon and nutrients removal in an

- integrated rotating biological contactor-activated sludge system [J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2012, 9(2): 371-378.
- [28] QIAO Z X, SUN R, WU Y G, et al. Characteristics and metabolic pathway of the bacteria for heterotrophic nitrification and aerobic denitrification in aquatic ecosystems [J]. Environmental Research, 2020, 191: 110069.
- [29] 周俊兆. 生物滴滤池对氨气的去除机理和生物多样性研究[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2016.
- ZHOU J Z. Study on the ammonia removal mechanism and biological diversity of BTF[D]. Wuhan: Wuhan University of Technology, 2016.
- [30] KUNDU P, PRAMANIK A, DASGUPTA A, et al. Simultaneous heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Chryseobacterium* sp. R31 isolated from abattoir wastewater [J]. Biomed Research International, 2014, 2014: 436056.
- [31] 王洪江. 高效微生物絮凝剂的制备及其组成和表征的分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- WANG H J. Preparation of high efficient microbial flocculant and analysis of its components and exosynome [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010.
- [32] 龚洋文. 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.
- [33] 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.
- [34] 莫少婷. 污泥稳定化过程中恶臭气体的释放特点[D]. 广州: 华南理工大学, 2017.
- MO S T. Release characteristics of odors during sewage sludge stabilization[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017.
- [35] 聂春芬, 王应军, 马星宇, 等. 固定化活性污泥实现短程硝化反硝化处理畜禽废水[J]. 环境工程学报, 2013, 7(5): 1807-1812.
- NIE C F, WANG Y J, MA X Y, et al. Immobilized activated sludge to achieve shortcut nitrification-denitrification treatment of livestock wastewater[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013, 7(5): 1807-1812.
- [36] 刘慎坦, 王国芳, 谢祥峰, 等. 不同基质对人工湿地脱氮效果和硝化及反硝化细菌分布的影响[J]. 东南大学学报(自然科学版), 2011, 41(2): 400-405.
- LIU S T, WANG G F, XIE X F, et al. Effect of matrix on denitrification efficiency and distribution of nitrifying and denitrifying bacteria in constructed wetlands [J]. Journal of Southeast University (Natural Science Edition), 2011, 41(2): 400-405.
- [37] 杨旭楠, 林兴锐, 符诗雨, 等. 感潮河流沉积物中溶解氧对硝化细菌垂直分布的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2013, 52(5): 91-96.
- YANG X N, LIN X R, FU S Y, et al. Effect of dissolved oxygen on the vertical distribution of nitrifying bacteria in tidal river sediment [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2013, 52(5): 91-96.
- [38] 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 and diagnosis and control of common diseases in culture of *Penaeus vannamei* [J]. Fishery Guide to be Rich, 2021(22): 64-67.
- [39] 周群英, 王士芬. 环境工程微生物学[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2008.
- ZHOU Q Y, WANG S F. Microbiology of environmental engineering [M]. 3rd ed. Beijing: Beijing: Higher Education Press, 2008.
- [40] 周春明. 纳氏比色法测定总氨氮时  $\text{NH}_3$ 、 $\text{NH}_4^+$  含量的计算[J]. 渔业现代化, 2000(6): 21-22.
- ZHOU C M. Calculation of  $\text{NH}_3$  and  $\text{NH}_4^+$  contents in the determination of total ammonia nitrogen by nashrenheit colorimetric method [J]. Fishery Modernization, 2000(6): 21-22.
- [41] 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.
- [42] 张朋川. 悬浮填料用于污水处理厂升级改造及工程示范研究[D]. 天津: 天津师范大学, 2013.
- ZHANG P C. Application of suspended carrier in wastewater treatment plant upgrading and engineering demonstration [D]. Tianjin: Tianjin Normal University, 2013.
- [43] 沈伟林, 张鹏. 南美白对虾养殖技术[J]. 农民致富之友, 2015(12): 294.
- SHEN W L, ZHANG P. Culture techniques of *Penaeus vannamei* [J]. Friends of Peasants Get Rich, 2015(12): 294.

## Analysis on characteristics of attapulgite immobilized microorganisms and influencing factors of treatment effect

CAI Xuyi<sup>1</sup>, YAN Kai<sup>1</sup>, TIAN Yaxiong<sup>1</sup>, WANG Qian<sup>1</sup>, LI Juanying<sup>1</sup>, ZHANG Liuliu<sup>2</sup>, DAI Xilin<sup>1</sup>

(1. College of Marine Ecology and Environment, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Jiangsu NAK Bioengineering Co., Jiangsu Province, Huai'an 211700, Jiangsu, China)

**Abstract:** In the present study, attapulgite pellets with a diameter of 2 mm were selected as inorganic carriers, and the native microorganisms screened from culture pond were immobilized using the adsorption method to create immobilized microbial pellets. The characteristics and performance of these pellets on removal of COD<sub>Mn</sub> and ammonia from aquaculture wastewater were investigated. The results indicate that immobilized microbial pellets have good mechanical strength. The number of bacteria released into water can be maintained at  $1.5 \times 10^6$  CFU/mL, and the sustained release performance can be maintained under different environmental conditions. The immobilized microbial pellets can efficiently degrade COD<sub>Mn</sub> and ammonia, and the degradation kinetics fit the Monod model very well. The effect of environmental conditions on the degradation performance of immobilized microbial pellets showed that neutral conditions are suitable for the degradation of COD<sub>Mn</sub>, while neutral and alkaline conditions for ammonia. There is no significant difference in the degradation of COD<sub>Mn</sub> with different gas flow rates ( $P > 0.05$ ). The higher the dissolved oxygen in the water is [DO = (8.600 ± 0.028) mg/L], the higher the ammonia removal rate is. As the initial concentration of pollutants increase, the first-order rate constants of COD<sub>Mn</sub> and ammonia gradually increase (except the too high ammonia concentration). Within 10 ~ 35 °C, the higher the temperature is, the first-order rate constants of COD<sub>Mn</sub> and ammonia is.

**Key words:** Immobilized microorganism; aquaculture water; COD<sub>Mn</sub>; ammonia nitrogen; environmental condition