

利用固定化嗜盐菌诱导矿化处理高盐废水中钙离子的研究进展

王纪晗¹, 邱子阳¹, 徐毓东¹, 耿合定¹, 张禧雨¹, 黄美玉^{1,2}, 韩作振^{3*}, 赵 辉^{1,4*}, 闫华晓^{1,4*}

¹山东科技大学化学与生物工程学院生物工程系, 山东 青岛

²山东科技大学安全与环境工程学院环境工程系, 山东 青岛

³山东科技大学地球科学与工程学院地质学系, 山东 青岛

⁴山东省非粮乙醇生物炼制技术创新中心(筹), 山东 青岛

收稿日期: 2022年5月21日; 录用日期: 2022年6月17日; 发布日期: 2022年6月30日

摘 要

高盐废水可被工业再次利用, 但其中的Ca²⁺会形成稳定的水垢, 堵塞管道, 对安全生产构成重大威胁。如何高效去除高盐废水中的Ca²⁺成为亟待解决的重要问题。利用嗜盐菌诱导Ca²⁺离子沉降形成碳酸钙, 预计未来若得以推广将具有广阔的应用前景, 本文阐述了固定化嗜盐菌诱导钙离子沉降的作用机制, 并对利用固定化嗜盐菌沉降高盐废水中钙离子的研究进行综述。

关键词

嗜盐菌, 固定化细菌, 高盐废水, 生物矿化, 环境友好, 碳酸钙

Research Progress in the Treatment of Calcium Ions in Hypersaline Wastewater by the Mineralization of Calcium Carbonate Induced by Immobilized Halophilic Bacteria

Jihan Wang¹, Ziyang Qiu¹, Yudong Xu¹, Hedding Geng¹, Xiyu Zhang¹, Meiyu Huang^{1,2}, Zuozen Han^{3*}, Hui Zhao^{1,4*}, Huaxiao Yan^{1,4*}

¹Department of Bioengineering, College of Chemical and Biological Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao Shandong

²Department of Environmental Engineering, College of Safety and Environmental Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao Shandong

*通讯作者。

文章引用: 王纪晗, 邱子阳, 徐毓东, 耿合定, 张禧雨, 黄美玉, 韩作振, 赵辉, 闫华晓. 利用固定化嗜盐菌诱导矿化处理高盐废水中钙离子的研究进展[J]. 微生物前沿, 2022, 11(2): 129-134. DOI: 10.12677/amb.2022.112015

³Department of Geology, School of Earth Science and Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao Shandong

⁴Shandong Technology Innovation Center of Non-Grain Ethanol Biorefinery, Qingdao Shandong

Received: May 21st, 2022; accepted: Jun. 17th, 2022; published: Jun. 30th, 2022

Abstract

Hypersaline wastewater can be used again, but can form stable scale of Ca^{2+} , and clog pipeline, posing a major threat to safety production. How to efficiently remove the Ca^{2+} in the hypersaline wastewater has become an important problem to be solved. Using halophilic bacteria-induced settlement of calcium ions to form calcium carbonate, is expected to have a broad application prospect if it is promoted in the future. The mechanism of calcium ion deposition induced by immobilized halophilic bacteria is described in this paper, and the research on calcium ion deposition in hypersaline wastewater by immobilized halophilic bacteria is reviewed.

Keywords

Halophilic Bacteria, Immobilized Bacteria, Hypersaline Wastewater, Biological Mineralization, Environmental Friendliness, Calcium Carbonate

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

高盐废水产于油气开采、印染工业与食品加工。以油田开采为例，在油藏勘探开发初期以自喷方式开采，这是常见的一种采油方式，在油层压力降低后还需要实施二次采油。对于二次采油，全国许多油田采用了将高盐废水回注的方式[1]。但二价阳离子 Ca^{2+} 在管道中会形成碳酸钙水垢，会堵塞管道，加速腐蚀速率，对安全、清洁生产构成重大威胁。如何有效地去除高盐废水中 Ca^{2+} 离子已成为了亟需研究解决的问题之一。工业生产中经常使用化学沉降、离子交换、电透析、焚烧和蒸发-热结晶[2]等方法去除废水中的 Ca^{2+} 离子。但上述方法需要在设备和人力上投入大量成本且耗材价格不菲，因此迫切需要一种经济且环保的方法来去除高盐废水中的 Ca^{2+} 离子，同时还能回收 Ca^{2+} 离子作为一种可用的资源。

微生物诱导的生物矿化是一种经济环保的脱除废水金属离子的方法，有利于清洁生产，符合绿色发展理念，而利用嗜盐菌诱导高盐废水中 Ca^{2+} 离子沉降已成为研究热点。

2. 传统高盐废水中 Ca^{2+} 离子的处理方法

2.1. 高盐废水中主要成分及其危害

高盐废水主要指工业生产中产生的硬度高、有机物含量较高且含有金属离子污染物的工业废水[3]。同时因为该种废水的盐度高，所以难以被一般的微生物生化降解。以油田废水为例，最高 Ca^{2+} 离子的浓度甚至可以达到 43 g/L。此类废水若直接排放，不仅会造成环境水体的重金属污染，其中含 N、P 的有机物成分还会加剧水体的富营养化。

在油气资源丰富的地区，油田废水常常被应用于油层回注的二次采油，但是硬度普遍高的废水若不进行预处理便直接回注油田，容易形成水垢附着在管道内部，加剧处理设施、注水系统的腐蚀，不仅影响了管道寿命，还容易造成生产事故[4]。

2.2. 高盐废水中钙离子的传统处理方法及新技术前景展望

我国产工业经常使用化学沉淀、离子交换、电透析、反渗透(RO)、纳滤(NF)、焚烧和蒸发-热结晶等方法去除废水中的 Ca^{2+} 离子。传统处理方法的主要思路是降低废水的 COD 使其达到我国规定的排放标准，同时回收高盐废水中的淡水资源[5]，但此类方法也容易造成二次污染，同时存在耗能高、成本高的缺点。虽然传统方式能显著降低处理后废水的 COD，但也会进一步增加污水本身的盐度，使得浓缩后污水更加难以处理。

目前，关于利用固定化细菌脱除废水中的原油[6]、三价 Cr^{3+} 离子[7]、多环芳烃[8]、含氮磷有机物[9]、4-氯酚[10]等废水污染物的文献已有报道，但通过固定化细菌去除废水中 Ca^{2+} 离子的报道却较少。50 年前的研究就已经发现，巴哈马沉积物中的海洋细菌在几种培养基中以及在不同的培养条件下诱导碳酸盐矿物沉降，这些结果证实了某些微生物能够消除高盐废水中的 Ca^{2+} 离子(>3% 盐度)。然而，关于 Ca^{2+} 离子沉降的研究却很少在更高盐度的废水中进行，例如 10% 盐度，因为只有少数嗜盐菌能够在高盐度($\geq 10\%$ 盐度)的环境中生存。韩作振等(2018 年)报道了 *Staphylococcus epidermis* Y2 在较高的盐度下(10% 盐度)诱导碳酸钙矿化，得到了生物矿化成因的方解石和单水方解石，这表明可以进一步使用嗜盐菌去除更高盐度废水中的 Ca^{2+} 离子。

因此，筛选获得能够在盐度大于 10% 的环境中生存的嗜盐菌是该废水处理得以成功应用的关键之一。

3. 固定化微生物的制备

3.1. 固定化微生物技术

固定化微生物技术是目标微生物可固定在水不溶性载体上，在适当条件下迅速大规模增殖并保持生物活性的生物技术。该技术在废水处理中的应用有利于增加生物反应器中微生物(特别是具有特殊功能的微生物)的浓度、有利于微生物对不利环境影响的抗性、反应后的固液分离以及减少处理时间。

固定化后的微生物可以在保证自身正常生长代谢的同时，避免与目标水体中的土著微生物竞争有限的营养物质，也能防止自身被捕食者吞噬。在实际生产中，固定化技术的关键在于如何改进载体、优化固定方式才能使微生物在长时间保持活性的同时降低成本。

3.2. 固定化细菌的常用方法

常用的微生物固定方法有：包埋固定法、介质截留法、载体吸附固定法以及交联固定法 4 种[11] [12] [13] [14] [15]：

1) 包埋固定法

包埋法的原理是将微生物细胞截流在水不溶性的高分子凝胶聚合物形成的内部网络空间，通过聚合作用形成离子网络，或改变载体材料溶剂的组分、温度、pH 值等物理化学指标使目标微生物细胞截流。常用的载体材料如海藻酸钠、聚乙烯醇等难以被微生物降解，而且由于凝胶易于流态化的特性，使其可以被制成各种形状，让储存与运输更加便利。高分子凝胶聚合物形成的网络可以阻止被固定细胞泄漏，与此同时被固定微生物还能实现与外界的物质交换。

2) 介质截留固定法

与包埋固定的原理类似，都是利用截留作用限制微生物的自由运动，但不同于包埋法利用的高分子凝胶聚合物构筑的载体，介质截留法常常利用一些膜状材料，如半透膜、反渗透膜和陶瓷膜等。与包埋法相比，介质截留的传质效率要更胜一筹，但是也存在膜易被堵塞的缺点。同时，由于材料的价格更高，介质截留法的经济效益要落后于包埋法，难以被大规模运用与工业生产中

3) 载体吸附固定法

通过菌体与载体之间自吸附，将微生物固定于非水溶性载体。吸附材料一般价格较低，且固定时操作简单、所需的理化条件温和，一般将吸附载体浸泡在目标微生物的培养液中即可。载体吸附法能最大程度上保证菌体活性，但因为菌体与载体之间作用力弱，所以能够结合的微生物数量有限，受到外界影响很容易脱落，反应稳定性稍逊于以上两种方法。

4) 交联固定法

交联法利用交联剂使得菌体间形成自固定结构，与载体吸附法相比，因为交联法作用力更加牢固，所以可以聚集数量庞大的细胞。但由于微生物生长代谢中会产生各种酶，它们大多以蛋白质为主，而蛋白质中的各类官能团也会参与此反应，破坏了酶蛋白的空间结构，从而影响活性中心的疏水结构。此外，常用的醛类、胺类交联剂价格昂贵，限制了其在生产中的大规模应用。

3.3. 固定化微生物制备方法的举例

以利用固定化 *Bacillus cereus* MRR2 除去富营养化水体中磷酸盐为例[16]:

1) 固定化使用的试剂

用作为载体的活性炭(AC)、聚乙烯醇(PVA)和海藻酸钠(SA)以及作为交联钙化剂的氯化钙和硼酸固定目标菌种。

2) 固定化微生物生物制备的操作

将一定量的聚乙烯醇和海藻酸钠在加热下溶解，并搅拌至粘稠。冷却至室温后，加入一定量的活性炭和细菌液体($OD_{600} = 1.0$)，并均匀搅拌该混合物。用注射器吸入混合物，并滴入具有特定浓度的氯化钙和硼酸的混合溶液中。这些细菌小球在 4℃ 时交联并钙化，用 0.9% 的生理盐水洗涤 3 次。直到现在为止，固定化细菌的制备工作已经完成。在介质中加入一定数量的固定颗粒，以研究固定颗粒降低磷酸盐浓度的能力。在 30h 和 48h 下测定磷酸盐浓度，并根据以下等式计算磷酸盐去除比： $T(\%) = (c_0 - c_1)/c_0 \times 100\%$ ，其中 T 为磷酸盐去除比， c_0 为初始磷酸盐浓度， c_1 为最终磷酸盐浓度。

3) 最佳的固定化条件的探索。

将 PVA 浓度设定为 0.2%、0.4%、1.4%、1.0%、1.6% (g/mL)、海藻酸钠浓度 1%、1.5%、2.5%、3%、3% (g/mL)、活性炭 0%、3.33%、3%、5%、10%、3%、5% (g/mL)、交联时间 6 h、9 h、12 h、24 h，研究上述单一因素对固定菌去除溶液中磷酸盐的影响，并在每一组中设置三个平行的样本，通过比较每组磷酸盐去除比，在以上因素中选取对于磷酸盐去除比影响最大的因素着重进行优化。

4. 嗜盐菌的生理结构与功能

4.1. 细胞壁特殊结构与功能

嗜盐菌属于古生菌，其细胞壁的构造与一般细菌不同，其含糖蛋白而不含肽聚糖，前者含有大量酸性氨基酸残基，本身携带负电荷。而在高盐的环境中， Na^+ 会被酸性氨基酸残基吸引，附着在嗜盐菌细胞壁表面，中和掉负电荷，增强了蛋白质亚单位之间的稳定性，使细胞壁的机械强度增大，防止细胞壁因带负电的官能团相互排斥导致解体，这也解释了为何嗜盐在低盐环境中会发生溶菌效应进而导致其难以存活。

4.2. 细胞膜特殊结构与功能

嗜盐菌细胞膜上含有一种特殊结构—紫膜, 含有细菌视紫红质因而使其呈现紫色。在细菌视紫红质蛋白的是由视黄醛与多肽链连接形成[17], 在光照下能发挥质子泵的作用, 将膜内的 H^+ 泵到膜外, 形成膜内外的质子差。在膜两侧的质子差驱动下, 细胞膜上的 ATP 合酶开始合成 ATP, 使得部分嗜盐菌具有了不依赖叶绿素而进行的光合自养能力。此外, 利用光介导的质子泵, 还可以实现 Na^+/K^+ 的反向转运, 有些嗜盐菌细胞质 K^+ 的浓度甚至可以达到 7 mol/L [18], 增强了嗜盐菌的耐盐性。

4.3. 细胞质内酶与蛋白质的特殊嗜盐机制

嗜盐菌的细胞质内存在特殊的酶, 只有在高盐浓度之下才有活性。这类酶蛋白的表面存在大量携带负电荷的酸性氨基酸残基, 可以形成一层薄薄的水膜, 防止蛋白质之间因疏水作用力相互吸引而导致的凝集沉降。

5. 固定化嗜盐菌诱导高盐废水中 Ca^{2+} 矿化机制与 Ca^{2+} 脱除效果

嗜盐菌诱导 Ca^{2+} 沉降形成矿物, 主要是由于自身生长代谢中产生的代谢物质影响了环境物理化学条件导致的。部分嗜盐菌在生长过程中会释放氨气以及碳酸酐酶(CA), 使得环境 pH 值升高。以士麦那盐单孢菌(*Halomonas smyrnensis*)为例, 其生长过程中释放氨气所转化的铵根浓度最大达 $2.2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, 产生最高的 CA 浓度 6 U/L , 可使 pH 值升高至 8.80 [19], 增大环境中的碳酸盐矿物的过饱和度, 从而产生沉淀。

关于模拟高盐废水中钙离子脱除效果, 以 *Halomonas smyrnensis* HMY2 的结果为例: 在最佳固定化条件下, Ca^{2+} 离子沉淀率可以达到 88.2%, 显著高于未优化条件下制备的固定化菌和游离菌, 而且制备固定化细菌的价格仅为 $\$1.169/\text{m}^3$ 也比足够低廉。可以说该研究展示了一种经济和环保的高盐废水 Ca^{2+} 脱除方法, 有利于促进资源回收和清洁生产。

6. 总结与展望

目前, 我国高盐废水的处理还是以物理化学方法为主, 虽然已经配套建立了成体系的污水处理系统, 但是依旧存在运行成本高、易形成二次污染的缺点。本文介绍了以固定化嗜盐菌沉降高盐废水中 Ca^{2+} 离子的思路, 目前此类研究已经取得一定进展, Ca^{2+} 离子沉降率和成本相较于传统方式都有较大提升, 但在未来, 有必要考虑增加设备与人力投资, 以进一步研究将该方法应用于大规模高盐废水处理的可行性。

基金项目

国家自然科学基金项目(42072136, 41972108), 山东省自然科学基金面上项目(ZR2019MD027), 山东省重大科技创新工程项目(2019JZZY020808), 海藻活性物质国家重点实验室开放基金项目(SKL-BASS1722)。

参考文献

- [1] 孙龙德, 江同文, 王凤兰, 等. 关于油田寿命的思考[J]. 石油学报, 2021, 42(1): 56-63.
- [2] 廖柳琳. 高盐废水处理工艺研究进展探析[J]. 环境与发展, 2019, 31(10): 67-69.
- [3] 巩梦, 文方, 谢海燕. 几种药剂对高盐废水中钙镁离子的去除性能研究[J]. 新疆环境保护, 2020, 42(3): 1-8.
- [4] 德新. 油田污水处理[M]. 北京: 石油大学出版社, 2015.
- [5] 李柄缘, 刘光全, 王莹, 张晓飞, 刘鹏, 任雯, 雍兴跃. 高盐废水的形成及其处理技术进展[J]. 化工进展, 2014, 33(2): 493-497, 515.
- [6] 包木太, 田艳敏, 陈庆国. 海藻酸钠包埋固定化微生物处理含油废水研究[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(2):

- 167-172.
- [7] 李猛, 张鸿郭, 周子倩, 黄奕生, 罗海玲, 张键业, 龚剑, 罗定贵. 固定化 SRB 处理低浓度含铬废水[J]. 环境工程, 2016, 34(4): 20-24.
- [8] 马静. 多环芳烃降解菌的筛选、降解机理及降解性能研究[D]: [博士学位论文]. 大连: 大连理工大学, 2013.
- [9] 常会庆. 水生植物和微生物联合修复富营养化水体试验效果及机理研究[D]: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [10] 王国英, 王孟, 崔杰, 岳秀萍, 李亚男. 波茨坦短芽孢杆菌降解间甲酚和 4-氯酚的特性[J]. 安全与环境学报, 2016, 16(5): 227-231.
- [11] 于鲁冀, 李廷梅, 刘攀龙, 范铮. 微生物固定化技术在河流治理中的应用及研究进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(8): 56-61.
- [12] Cassidy, M.B., Lee, H. and Trevors, J.T. (1996) Environmental Applications of Immobilized Microbial Cells: A Review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, **16**, 79-101. <https://doi.org/10.1007/BF01570068>
- [13] Chae, M.S., Schraft, H., Truelstrup, L., et al. (2006) Effects of Physicochemical Surface Characteristics of *Listeria monocitogenes* Strains on Attachment to Glass. *Food Microbiology*, **23**, 250-259. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2005.04.004>
- [14] Ha, J., Engler, C.R. and Wild, J.R. (2009) Biodegradation of Coumaphos, Chlorferon, and Diethylthiophosphate Using Bacteria Immobilized in Ca-Alginate Gel Beads. *Bioresource Technology*, **100**, 1138-1142. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.08.022>
- [15] Cheetham, P.S.J., Blunt, K.W. and Bucke, C. (2004) Physical Studies on Cell Immobilization Using Calcium Alginate Gels. *Biotechnology & Bioengineering*, **21**, 2155-2168. <https://doi.org/10.1002/bit.260211202>
- [16] Han, Z.Z., Guo, N., Yan, H.X., et al. (2021) Recovery of Phosphate, Magnesium and Ammonium from Eutrophic Water by Struvite Biomineralization through Free and Immobilized *Bacillus cereus* MRR2. *Journal of Cleaner Production*, **320**, Article ID: 128796. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128796>
- [17] 刘文龙. 嗜盐菌紫膜的功能——一种新的光合作用[J]. 生命的化学(中国生物化学会通讯), 1984(2): 12.
- [18] 吴洋. 嗜盐菌的嗜盐机制与应用前景[J]. 硅谷, 2013, 6(13): 9-10.
- [19] Han, Z., Yu, W., Zhao, H., et al. (2018) The Significant Roles of Mg/Ca Ratio, Cl^- and SO_4^{2-} in Carbonate Mineral Precipitation by the Halophile *Staphylococcus epidermis* Y2. *Minerals*, **8**, 594. <https://doi.org/10.3390/min8120594>