

# 固定化芽孢杆菌治理富营养化水体

徐毓东<sup>1</sup>, 张禧雨<sup>1</sup>, 王纪晗<sup>1</sup>, 郭娜<sup>1</sup>, 韩作振<sup>2\*</sup>, 赵辉<sup>1,3\*</sup>, 闫华晓<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>山东科技大学化学与生物工程学院生物工程系, 山东 青岛

<sup>2</sup>山东科技大学地球科学与工程学院地质学系, 山东 青岛

<sup>3</sup>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23日; 发布日期: 2022年6月30日

## 摘要

利用支柱石生物矿化法处理富营养化水的成本比理化方法低得多, 已被研究多年。生物矿化鸟粪石是一种环保利用生物工艺沉淀磷酸盐、镁和铵离子的方法, 细菌释放的碱性磷酸酶和氨具有较高的碱度和过饱和度, 促进了支柱岩的成核。固定化蜡样芽孢杆菌的应用将为同时去除磷酸、镁、铵离子以及连续的支柱回收提供一种简单的环保、经济的方法, 为富营养水的处理提供参考。所以固定化蜡样芽孢杆菌诱导的生物矿化鸟粪石在富营养水体的治理中有更明显的优势。

## 关键词

鸟粪石, 生物矿化, 富营养水体, 芽孢杆菌

# Treatment of Eutrophic Water by Immobilized Bacillus

Yudong Xu<sup>1</sup>, Xiyu Zhang<sup>1</sup>, Jihan Wang<sup>1</sup>, Na Guo<sup>1</sup>, Zuozhen Han<sup>2\*</sup>, Hui Zhao<sup>1,3\*</sup>, Huaxiao Yan<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Bioengineering, College of Chemical and Biological Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao Shandong

<sup>2</sup>Department of Geology, School of Earth Science and Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao Shandong

<sup>3</sup>Shandong Technology Innovation Center of Non-Grain Ethanol Biorefinery, Qingdao Shandong

Received: May 21<sup>st</sup>, 2022; accepted: Jun. 23<sup>rd</sup>, 2022; published: Jun. 30<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

The cost of treating eutrophic water using pillar stone biomineralization is much lower than phy-  
\*通讯作者。

文章引用: 徐毓东, 张禧雨, 王纪晗, 郭娜, 韩作振, 赵辉, 闫华晓. 固定化芽孢杆菌治理富营养化水体[J]. 微生物前沿, 2022, 11(2): 162-167. DOI: 10.12677/amb.2022.112020

sicochemical methods and has been studied for many years. Biomineralized guanite is an environmentally friendly method of precipitation of phosphate, magnesium and ammonium ions. The alkaline phosphatase and ammonia released by bacteria have high alkalinity and oversaturation, which promotes the nucleation of pillar rocks. The application of immobilized *B. cereus* will provide a simple environmentally friendly and economical method for the simultaneous removal of phosphate, magnesium, ammonium, as well as continuous pillar recovery, providing a reference for the treatment of eutrophic water.

## Keywords

Guano, Biomineralized, Eutrophic Water, Bacillus

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

利用支柱石生物矿化法处理富营养化水的成本比理化方法低、操作简单、清洁环保,已被研究多年。富营养化水体是由氮磷污染造成的,而磷是一种不可自然再生的有限资源,所以用“回收”磷代替“去除”磷的技术研究是十分必要的。而生物矿化产生鸟粪石是去除富营养化水体中磷元素并从中获取农业所需的缓释肥料的好方法。在该研究中,对于生物产生的鸟粪石的鉴定也是一大研究热点,通过扫描电镜、XRD、傅里叶红外检测等方法可以鉴别鸟粪石的成因是否与生物有关系。此外,提高生物矿化效率的研究也十分重要,使用固定化细菌小球可以明显提高生物矿化的效率。因此对固定化芽胞杆菌处理富营养化水体进行研究。

## 2. 富营养化水体的治理

### 2.1. 富营养化水体的形成

水的富营养化通常是由于人类活动使水体中的营养物质增加,导致植物的过度生长和整个水系统的生态平衡的变化。许多人认为,氮和磷等营养物质浓度的增加是导致水体富营养化的元凶,氨氮是自然水环境中最重要的污染源之一[1]。硝酸盐、 $\text{NH}_4^+$ 和磷酸盐通常结合在一起,导致水的富营养化。尽管 $\text{NH}_4^+$ 和硝酸根的共存对水体没有很大影响,但是硝酸盐和磷酸盐的共存或者是 $\text{NH}_4^+$ 和磷酸根的作用能很容易引起水的富营养化[2]。

目前,铵根和磷酸根的共存导致水的富营养化水平高于铵根和硝酸根。所以研究的重点应是铵根离子和磷酸根离子从富营养化水体中的去除, $\text{NO}_3^-$ 和磷酸根的去除将在未来研究。欧盟(EU)将非富营养湖泊的临界总磷浓度定义为小于0.01 mg/L,并将排放废水中允许的磷浓度从2 mg/L降低0.1 mg/L,同样地允许的 $\text{NH}_4^+$ 浓度降低到1 mg/L。

### 2.2. 富营养化水体的危害

富营养化水体对经济发展和人类生态的健康都有危害,氮和磷使水中的藻类植物疯长抢夺水中的氧气,向水体中释放毒素,使鱼类大面积死亡,造成经济损失,且会使水体变得恶臭难闻,降低水体的稳定性和水体中的生物多样性,破坏了当地的生态平衡[3]。

## 2.3. 传统富营养化水体的治理方法

到目前为止,在水处理中去除 P 和 N 的更理想的方法是通过生物和物理化学方法介导的支柱石结晶。水处理中常用的物理化学方法包括浮选法、吸附法和电透析法。当使用物理化学方法时,所使用的化学品数量和产生的污泥数量非常大,二次污染是一个常见的问题。

### 一、化学沉淀法

该方法是向水体中投入镁离子和磷酸根离子的化学药剂,使污水中的氨氮和磷以鸟粪石的形式沉淀出来,该方法的成本过高,且对于反应时的 pH 值、搅拌速度、反应时间、镁和磷的配比、氮和磷的配比都具有较为严格的要求,实际操作起来比较费时费力,如果投入剂量不当很容易对环境和水体造成二次污染。

### 二、物理电渗析法

该方法是使用电渗析的原理,通过在阴阳两极加以直流电使氨氮离子向两极移动透过渗透膜产生干净的淡水,该方法虽然操作简单且不会造成二次污染,但是成本太高且水体中的氮磷还需二次处理才能回收利用[4]。

### 三、结晶法

结晶法目前从各种废水的上清液中进行鸟粪石结晶从而达到回收磷的目的,该方法与传统的化学沉淀法可以降低成本,减少污染,但是,在水流速度比较大的情况下,晶体细颗粒易随水流大量流失,从而影响出水水质和磷回收效率[5]。

## 3. 生物矿化鸟粪石的研究

### 3.1. 芽孢杆菌的研究

在本研究中,通过 16SrDNA 序列分析和生物矿化鉴定蜡样杆菌,用游离的和固定化的细菌研究了镁和  $\text{NH}_4^+$  离子进入支柱的过程。为了进一步探讨生物矿化机制,细菌的 pH 曲线,碱性磷酸酶(ALP)活性,磷酸根和铵根浓度对实验过程中的 pH 值变化均进行了研究。分析了细胞外聚合物(EPS)和支柱的氨基酸组成[6]。

### 3.2. 生物矿化鸟粪石的研究

生物矿化是指生物体通过对生物大分子的调控而形成无机矿物。Tonananavar 等人研究发现支柱石生物矿化可由多种微生物诱导,如芽孢杆菌、棒状杆菌、黄杆菌等。先前的研究发现,细菌诱导的支柱晶体形态,包括针状晶体、棱柱晶体、矩形血小板型晶体、X 形晶体和表面 X 模糊的表格晶体[7]。

此外, Pokroy 等人还在努力了解生物控制晶体形态的能力,作为生物矿化的标志之一[8]。近年来,人们努力减少废水,最大限度地回收。通过不同的有机官能团和二级蛋白结构以及不同的碳,证明了棺材状和四金字塔形支柱石的生物发生 1S 和 S2p 峰值通过 XRD, Rietveld 细化, SEM-EDS, FTIR 和 XPS 分析。STEM 和元素作图结果表明,铵离子、磷酸盐离子和镁离子从细胞外扩散到细胞内。

### 3.3. 固定化的研究

传统固定化的方法主要分为絮凝、吸附、包埋、共价偶合四种方法。

#### 一、絮凝

该方法主要通过阴阳离子使生物细胞聚集,该方法固定化的细菌结构松散在水体中不稳定。

#### 二、吸附

该方法通常用多孔惰性载体,通过物理化学的方法使细菌结合在载体上,虽然方法简单,价格低廉但是结合细菌量低,且稳定性差不能反复使用。

### 三、包埋

该方法使以凝胶状外膜包裹住细菌,保持了细菌的流动性的同时限制了细菌的流动,而且操作简单,生物活性高有着较为广泛的应用。

### 四、共价偶合

通过交联作用使细胞的离子团以化学键的形式牢固的结合在载体上,对生物的毒性太大[3]。

所以我们以活性炭为载体,以聚乙烯醇和海藻酸钠为包埋剂,确定了固定化细菌培养条件的优化情况氯化钙和硼酸作为交联剂,将固定化的微球放入模拟富营养水的合成介质中。微生物固定化技术包括通过化学或物理方法将自由细胞限制或局限在特定区域内,从而有效地维持生物活动。微生物固定化技术可有效提高反应装置中微生物的含量和纯度,降低细菌损失率,避免细菌被污染,大大提高支柱石生物矿化效率[9]。

与游离细菌相比,固定化细菌具有许多优点废水处理领域。然而,使用固定化的细菌来矿化磷酸根和铵根研究很少被讨论。活性炭是一种多孔材料,它可以吸收任何孔径与其内部尺寸相似的材料。因此,它可以吸收水中的金属离子。然而,需要注意的是,吸附是一个动态的平衡过程。金属离子并没有完全被活性炭吸附。活性炭固定细菌化引起了人们的广泛兴趣,成为提高水处理效率的潜在技术。金属离子被活性炭吸附后,金属离子将聚集在微生物周围,使微环境达到超饱和状态,更有利于资源的生物矿化和再利用,这可能是活性炭固定化的微生物对水中金属离子去除效率较高的原因之一。采用响应表面法,得到芽孢杆菌的最佳固定化条件。最后经研究发现固定化细菌在15天内对磷酸盐、镁和铵离子的去除率远高于游离细菌[10]。

## 4. 在农业上的应用

磷是所有形式的生物体的一种必需的常量营养素。它在合成各种有机分子和结构成分的生物系统中起着关键作用[11];它在改善粮食生产从而确保全球粮食安全方面也发挥着重要作用。养殖场把动物粪尿直接充当农家肥,在很多地方动物粪尿已经成为一种严重的农业污染源。清洁生产在本质上意味着在生产过程中采用整体预防性环境手段,同时减少或消除对人类和环境的任何伤害,并充分满足人类的需要,以实现最大限度的社会和经济效益。芽孢杆菌具有较强的生物矿化能力,我们的目的是从富营养化水体中去除镁离子和磷酸根离子等。处理过的水可以再次使用而且收获支柱石也可以作为一种肥料来提高农业生产。

鸟粪石( $\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )是一种优良的含N和P的缓释肥料[12],可促进植物生长发育。鸟粪石是最主要的磷回收产物,是极好的缓释肥料。即使过量使用鸟粪石也不会烧伤植物的根,而且鸟粪石难溶于水,不会再次随着水再次导致水体的富营养化。因此,鸟粪石非常适合作为植被的磷肥。最关键的问题之一是,到目前为止磷在自然界中没有任何替代品,作为一种不可再生的资源,它已经成为植物、人类甚至所有生物体发育的一个限制因素[13]。氮是自然界中最丰富的元素,是蛋白质的主要成分,在植物发育和动物生长中也起着重要作用。因此,需要处理磷和氮引起的污染,最好的方法是回收这些元素。

## 5. 总结与展望

首先,本研究可能为进一步理解支柱石的生物矿化机制提供一些补充参考。另一方面,它也可能促进开发更高效和更经济的磷酸盐去除方法,因此有利于水资源的清洁生产和循环利用。蜡样芽孢杆菌很常见,生长迅速,它们对许多益生菌的生长,目前没有副作用。根据医生的建议,它们也可以安全服用。芽孢杆菌对环境安全,也因此被选择进行本研究。

近年来,水处理中磷氮回收技术得到广泛发展[14]。利用细菌对富营养性水进行生物处理是一种环保

的方法[15],也是一种更清洁的生产方法,可以防止二次污染的产生。与物理化学方法相比,生物方法可以避免上述问题。凭借细菌的快速繁殖和生化过程的高效率,在生物矿化应用中使用不同种类的细菌来处理不同类型的水污染问题[16]。

即使去除了磷酸根、镁和 $\text{NH}_4^+$ ,通过支柱石生物矿化的富营养水由于与物理化方法相比,固定化细菌的成本较低,在整个生物矿化过程中,聚乙烯醇和活性炭被证明是酶和微生物的有效载体;这些材料特别有用,因为它们无毒、低成本、抗菌分解、机械强度高。因此,使用固定化细菌处理富营养化水体中的铵根离子、镁离子和磷酸根离子更能满足清洁生产的要求[17]。

## 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] Tabassum, S. (2019) A Combined Treatment Method of Novel Mass Bio System and Ion Exchange for the Removal of Ammonia Nitrogen from Micro-Polluted Water Bodies. *Chemical Engineering Journal*, **378**, Article ID: 122217. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122217>
- [2] 王玲. 葫芦口水库水体富营养化成因分析与防治措施[J]. 中国资源综合利用, 2021, 39(9): 197-200.
- [3] 陈水勇, 吴振明, 俞伟波, 等. 水体富营养化的形成、危害和防治[J]. 环境科学与技术, 1999(2): 12-16.
- [4] 陈瑶. 以鸟粪石形式从污水处理厂同时回收氨氮和磷的研究[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 湖南大学, 2006.
- [5] 郝晓地, 衣兰凯, 王崇臣, 等. 磷回收技术的研发现状及发展趋势[J]. 环境科学学报, 2010, 30(5): 897-907.
- [6] Han, Z., Guo, N., Yan, H., et al. (2021) Recovery of Phosphate, Magnesium and Ammonium from Eutrophic Water by Struvite Biomining through Free and Immobilized *Bacillus cereus* MRR2. *Journal of Cleaner Production*, 320. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128796>
- [7] Manzoor, M.A.P., Singh, B., Agrawal, A.K., et al. (2018) Morphological and Micro-Tomographic Study on Evolution of Struvite in Synthetic Urine Infected with Bacteria and Investigation of Its Pathological Biomining. *PLoS ONE*, **13**, e0202306. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202306>
- [8] Pokroy, B., Fitch, A.N., Marin, F., et al. (2006) Anisotropic Lattice Distortions in Biogenic Calcite Induced by Intra-Crystalline Organic Molecules. *Journal of Structural Biology*, **155**, 96-103. <https://doi.org/10.1016/j.jsb.2006.03.008>
- [9] 缪佳, 毛妙杰, 李菁, 等. 微生物固定化技术在污水处理领域的研究进展[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2022, 38(1): 117-124. <https://doi.org/10.33142/ec.v4i4.3615>
- [10] 王浩楠, 林涛, 王雪青, 等. 海藻酸钠-琼脂-蒙脱土固定化菌对造纸废水降酚性能的研究[J]. 中国造纸, 2022(3): 36-44.
- [11] Elser, J.J. (2012) Phosphorus: A Limiting Nutrient for Humanity? *Current Opinion in Biotechnology*, **23**, 833-838. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.03.001>
- [12] Tang, C., Liu, Z., Peng, C., et al. (2019) New Insights into the Interaction between Heavy Metals and Struvite: Struvite as Platform for Heterogeneous Nucleation of Heavy Metal Hydroxide. *Chemical Engineering Journal*, **365**, 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.02.034>
- [13] Fang, Z., Liu, F., Li, Y., et al. (2021) Influence of Microwave-Assisted Pyrolysis Parameters and Additives on Phosphorus Speciation and Transformation in Phosphorus-Enriched Biochar Derived from Municipal Sewage Sludge. *Journal of Cleaner Production*, **287**, Article ID: 125550. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125550>
- [14] Wang, F., Huang, A., Yin, X., et al. (2018) Multilevel Profiling and Identification of *Dalbergia odorifera* and *Dalbergia stevensonii* by FTIR, NMR and GC/MS. *Chinese Chemical Letters*, **29**, 1395-1398. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2017.11.007>
- [15] Kim, I.-S., Ekpeghere, K., Ha, S.-Y., et al. (2013) An Eco-Friendly Treatment of Tannery Wastewater Using Bioaugmentation with a Novel Microbial Consortium. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, **48**, 1732-1739. <https://doi.org/10.1080/10934529.2013.815563>
- [16] Sinha, A., Singh, A., Kumar, S., et al. (2014) Microbial Mineralization of Struvite: A Promising Process to Overcome

---

Phosphate Sequestering Crisis. *Water Research*, **54**, 33-43. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.01.039>

- [17] Han, Z., Zhuang, D., Yan, H., *et al.* (2017) Thermogravimetric and Kinetic Analysis of Thermal Decomposition Characteristics of Microbial Calcites Induced by Cyanobacteria *Synechocystis* sp. PCC6803. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **127**, 1371-1379. <https://doi.org/10.1007/s10973-016-6026-1>