

试验研究

包埋微生物固定化载体的结构性能研究

高华崇¹, 乔丽丽², 尹莉², 乔瑞平², 耿翠玉², 迟娟², 王玉慧^{2,3}

(1.北京中环膜材料科技有限公司,北京,101500;2.博天环境集团股份有限公司,北京,100082;3.博天环境工程(北京)有限公司,北京 100082)

摘要: 试验对研制的微生物固定化载体(Poten-QZX)的稳定系数、机械稳定性、压缩比、吸附性能及使用周期进行了全面的考察。载体机械稳定性和稳定系数均达到99%,压缩比大于80%,使用周期大于18个月。在25℃、转速145 r/min、pH为8.97条件下反应48h,废水中的氨氮浓度由3847.06 mg/L降为84.05 mg/L,氨氮去除率为97.82%;Poten-QZX固定化载体能够为菌的生长提供丰富的空间和附着位点,适合在有较强冲击力的曝气环境中应用;固定化微生物实现了菌的短期干燥状态储存,并可多次循环重复使用,对开发具有工业生产价值的微生物载体并将其工业推广应用具有重要的参考价值。

关键词: 载体;固定化;包埋;微生物;微观结构;扫描电镜

中图分类号:X703

文献标识码:A

文章编号:1006-8759(2017)01-0029-05

STRUCTURAL PERFORMANCE OF IMMOBILIZED CARRIER FOR EMBEDDING MICROBES

GAO Hua-chong¹, QIAO Li-li², YIN Li², QIAO Rui-ping², GENG Cui-yu²,
CHI Juan², WANG Yu-hui^{2,3}

(1. Memsino Membrane Technology(Beijing) Co., Ltd, Beijing 101500, China; 2. Poten Environment Group Co., Ltd, Beijing 100082, China; 3. Poten Environment Engineering (Beijing) Co., Ltd, Beijing 100082, China)

Abstract: In the article, stability coefficient, mechanical stability, compression ratio, adsorption properties and life cycle of immobilized carrier (Poten-QZX) were comprehensively studied. The mechanical stability and the stability coefficient achieved to 99%, compression ratio was greater than 80%, life cycle was more than 18 months. Under the conditions of temperature 25℃, pH 8.97 and rotate speed 145 r/min, the ammonia nitrogen concentration of effluent dropped to 84.05 mg/L from 3847.06 mg/L after response 48 h by immobilized ammonia nitrogen degradation bacteria, and over 97.82% of ammonia nitrogen was removed. The Poten-QZX carrier is suitable for application in the aeration environment, which could provide rich space and sites for bacteria growth. Short-term storage was achieved in the dry state for immobilized microorganism that could be used repeatedly. All of these have important reference value for microbial carrier industrial production and application.

Key words: carrier; immobilization; embedding; microorganism; microstructure; scanning electron microscope

收稿日期:2016-07-12

企业项目:博天环境集团股份有限公司自主研发项目(YA-2016-001)

第一作者简介:高华崇,男(1983-),学士,研究方向水污染控制技术
研究。

微生物固定化技术(Immobilized Biotechnology)是通过化学或物理的手段将游离细胞或酶定位于限定的空间领域内,使其保持活性并可多次

重复利用^[1,2]。这项技术最初用于工业发酵,但近几十年来,水污染严重,随着新的《中华人民共和国环境保护法》、《水污染防治行动计划》等一系列的水治理政策的出台,对水处理要求越来越高,迫切需要一种高效、快速、经济的废水处理技术。固定化微生物具有能够提高生物反应器内微生物浓度和纯度,使微生物不易流失和污染;使用时间长、稳定性强,能减少微生物投加成本;抗毒性和耐受力明显增加,避免了污水浓度不稳定导致的生化系统受冲击等优点^[3],在难降解有机废水^[4-6]、含氨氮废水^[7]、重金属废水^[8,9]和印染废水^[10]等领域逐渐被广泛应用。固定化载体性能则是决定固定化微生物使用寿命、处理效果及能否产业化的关键因素^[11]。本文考察了研制的固定化载体的机械稳定性、力学参数和使用周期等性能参数,对该微生物固定化载体在污水处理工艺中的应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

氨氮降解菌为复合菌,为博天环境研发中心经过特定工艺筛选、驯化获得。

微生物载体(Poten-QZX 载体),为博天环境研发中心自主研制。试验用水为博天环境某工程项目高氨氮废水,废水初始水质指标为:氨氮含量为 3847.06 mg/L,pH 为 6.2。

试验检测仪器包括 S-4800 场发射扫描电子显微镜(日本日立公司),PHS-3C 型酸度计(上海精密科学仪器有限公司雷磁仪器厂),AL204-IC 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司,上海),GWA-UN4-F30 超纯水机(北京普析通用仪器有限责任公司),紫外可见分光光度计 759S(上海仪电科学仪器股份有限公司),SHZ-82A 数显水浴恒温振荡器(金坛市瑞华仪器有限公司),电热恒温水浴锅(中兴伟业),YHKC-2A 型颗粒强度测定仪(姜堰市银河仪器厂)。

1.2 分析方法

pH 值采用 GB 6920-86《水质 pH 值的测定 玻璃电极法》测定;

氨氮浓度采用 HJ 535-2009《水质 氨氮的测定 纳氏试剂分光光度法》测定;

压缩强度采用 GB/T 8813-2008《硬质泡沫塑料 压缩性能的测定》。

1.3 微生物固定化机理

微生物固定化机理从宏观来看是由中空多孔膜进行分子截留和微生物细胞的自絮凝特性而达到固定,包埋载体外表膜的孔径比细胞小,因而能够将细胞截留在载体内,同时水溶液中的底物可以进入到包埋载体内部去,反应产物亦可以自由通过包埋载体释放出来^[12]。从微观讲是由带电荷微生物细胞和带电荷的载体之间通过氢键、疏水作用、 π 电子、亲和力等物理作用或者两者之间的静电相互作用成型;也可能是由微生物细胞表面的氨基、羧基或其他基团与包埋载体上的羟基等反应基团之间形成离子键或共价键;另外微生物细胞和包埋载体表面的化学基团也可以经化学修饰而接枝上一些有利于细胞和载体键合的基团,从而使它们之间成键后牢固的固化在一起^[12,13]。见图 1。

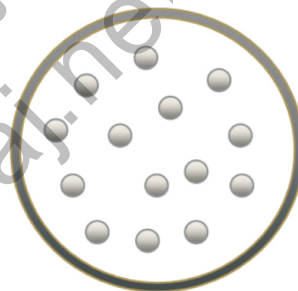


图 1 固定化微生物结构示意图

1.4 实验方法

稳定系数

将 200 个小球放入 600 ml 活化液中曝气活化一个月,完好的小球占原小球总数的百分率表示其稳定系数^[14]。

机械稳定性

将活化后的 200 个小球放入反应器内,加入 600 ml 去离子水,用磁力搅拌器均匀搅拌一个月;完好的小球占原小球总数的百分率表示其机械稳定性^[14]。

压缩比

压缩后样品的形变量占压缩前样品的百分比。

2 试验结果与讨论

2.1 主要参数性能检测

取 120 颗大小均匀的载体颗粒,分成 12 组,每组 10 颗,用滤纸吸取样品表面水份,尽快称取,测量每颗载体的重量,算出每组重量的平均值,然后在 103 °C 下干燥至恒重,称量获得干燥后的重量,依次算出每组重量的平均值,最后计算出含水

率,获得含水率的曲线。微生物固定化载体采用最多的为海藻酸钠载体和聚氨酯类载体,与海藻酸钠载体和聚氨酯类载体相比,本实验对自主研发的微生物载体(Poten-QZX 载体)进行了性能检测,详细考察了压缩比、机械稳定性和稳定系数等参数。

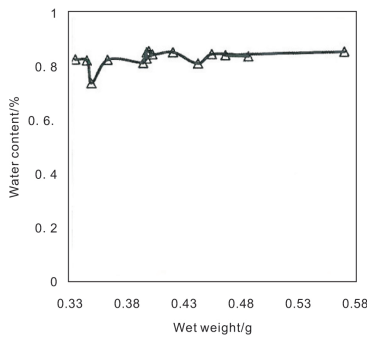


图 2 固定化载体含水率

从图 2 显示,载体颗粒重量虽略有不同,但单位重量载体的含水率约为 80%,上下波动幅度较小,这说明载体吸水性能较好,保证了生物生长的水环境,为生物在其内部的生长提供了丰富的空间和附着点,增大单位体积内的菌浓度。同时外部物质随水的大量进入为生物新陈代谢提供了营养物质,从而为实现高效的污水净化提供了可能。

表 1 不同系列载体的主要性能参数

参数	压缩比 /%	稳定系数 /%	机械稳定性/%	使用周期 /月
海藻酸钠载体	<50	75	80	1~2
聚氨酯类载体	>90	80	60	1~3
Poten-QZX 载体	>80	99	>90	>18

机械稳定性表示该载体在使用过程中对机械搅拌等外力的耐冲击性能。从表 1 可知,聚氨酯类载体的机械稳定性较低,聚氨酯类载体在使用过程中易受曝气、搅拌等外力绞碎。载体稳定系数主要表示生物对载体的降解性能,稳定系数越高,表示该载体越不易被微生物降解腐蚀,使用周期越长;按实验室使用 6 个月磨损率推算,在磨损率低于 10%的前提下 Poten-QZX 载体使用周期大于 18 个月。相比较之下,Poten-QZX 载体的稳定性较好,海藻酸钠载体稳定系数较弱,容易被生物降解,导致使用寿命较短,大浓度的微生物反而加快了微生物对载体的降解;同时海藻酸钠载体压缩比低于 50%,强烈的机械撞击会致使载体颗粒破裂。综合比较可知,Poten-QZX 载体的稳定系数、机械稳定性、压缩比及使用周期均较好,说明

Poten-QZX 载体耐压缩、适合曝气、搅拌等环境,解决了载体在反应过程中剧烈碰撞和运输途中可能会发生碎裂的问题,是一种良好的微生物载体。

2.2 力学性能检测

固定化微生物在工业化应用过程中曝气、搅拌和运输碰撞会给予载体颗粒很大的外力,致使颗粒破碎,Poten-QZX 载体具有很好的压缩性能,在保证固定化微生物载体在正常压缩范围之内,能够承受外力达 80 N 以上。从图 3 可知,固定化微生物颗粒直径与承受的机械强度成反比,颗粒直径越大,承受的机械强度反而会降低,颗粒越易破碎,使用的周期也会相应的缩短。颗粒直径为 2~3 mm,平均机械强度为 80.4 N,曝气条件下连续运行实验 30 天,破损率不到 1%,十分适合在有较强冲击力的曝气环境中应用,因为粒径小受到的水阻力、剪切力和冲击力都小,所以破损率较小,使用寿命得以延长。同时固定化微生物颗粒粒径越小,比表面积越大,增大固定化微生物和废水的接触面积,因而提高废水的处理效率^[15,16]。

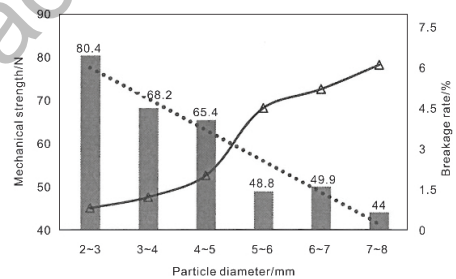


图 3 颗粒直径对机械强度的影响

2.3 吸附性能检测

取 60 颗大小均匀的载体颗粒,分成 6 组,每组 10 颗,用滤纸吸取样品表面水份,置于甲基红冷饱和溶液中,分别于 0 min、5 min、10 min、15 min、20 min、25 min 和 30 min 取样,取样组将固定化菌颗粒取出后,在 430 nm 波长下检测紫外吸光度 A,实验重复两次。从图 4 中可以看出,固定化载体对甲基红冷饱和溶液有很好的吸附性能,15 min 后颗粒变为红色,30 min 后甲基红冷饱和溶液颜色明显变浅,这说明固定化微生物载体可以对周围的营养物质具有“捕抓”作用,将营养物质吸附于载体内部,利于微生物的新陈代谢以及对污染物质的降解。同时,固定化微生物的良好吸附性能为其应用于含重金属废水的治理提供了得天独厚的优势,可用酸解吸后重复多次使用,起到了生物离子交换树脂的作用^[17]。

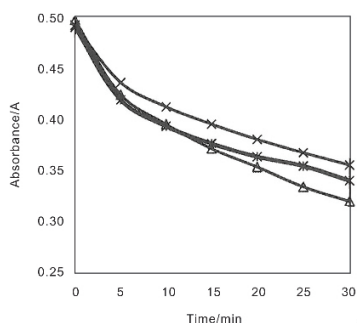


图4 吸光度随反应时间的变化

2.4 微观结构表征

微生物载体为多孔凝胶结构,采用 SEM 在实验条件为 2 ℃,500 Pa,加速电压为 30 kW 扫面载体结构,此条件接近水凝胶自然状态^[11,18]。结果显示,观察菌增殖后载体结构及对照结构可以清晰地看到载体内部的分布状况及形态,载体内部表面凹凸不平,呈细小的多孔结构;微生物增殖后大量装填在内部多孔结构中或附着在载体表面,说明载体的多孔结构有利于微生物在其内部的附着生长;同时凹凸不平的表面增大了载体内部结构的比表面积,为菌的生长提供了更多有利的附着点。结合上述吸附性能和吸水率的分析可知,该载体内部的多孔结构有利于废水中污染物和营养物质的传输,促进内部微生物的快速生长。从图 5 中可以看出细菌在载体内部明显增殖,结合微生物水处理实验可知该载体为较理想的微生物固定化载

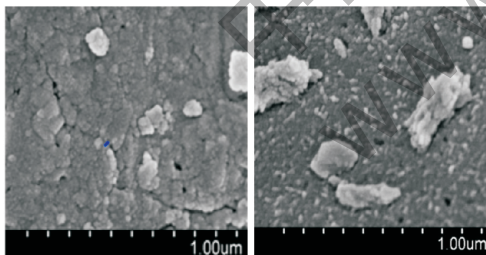


图5 载体的内部结构

体。

2.5 降解结果测定

以固定化氨氮降解菌降解含氨氮废水时间为研究对象,在 25 ℃、废水 pH 分别为 3.96、5.07、6.08、7.05、8.01、8.97 和 9.97,固定化氨氮降解菌颗粒投加量 2% 的反应条件下,考察了不同反应时间对氨氮去除率的影响。试验结果如图 6 所示,废水中初始氨氮浓度为 3847.06 mg/L,经过 12 h 的反应,氨氮浓度没有明显的变化,这主要是因为固定化氨氮降解菌加入到废水中,在最初的一段时间菌处于活化状态,活性很低,对氨氮几乎没有

降解作用。尤勇军等^[19]证明固定化作用处理后的菌剂活性会降低,需要对固定后的包埋菌剂进行一段时间的活化处理。另外一个原因是在反应初始阶段,有机物含量高,营养物质充足的条件下,异养菌优先生长,阻碍了硝化菌和氨的接触,硝化细菌作为化能自养菌活性受到一定的抑制,从而使氨的氧化受到限制;同时,异养菌和硝化细菌竞争生长会同时争夺水中的溶解氧^[20,21]。反应 48 h 后,在 pH=8.97 的反应体系中氨氮浓度为 447.06 mg/L,去除率高达 88.38%,废水中氨氮得到了有效的去除。如图 6 显示酸性条件不利于固定化氨氮降解菌对废水中氨氮的降解,在 pH 为 3.96 的条件下,经过 48h,氨氮浓度为 3282.35 mg/L,60 h 后氨氮浓度降为 1847.05 mg/L,去除率仅为 51.99%。当 pH 过于偏碱性条件,也不利于固定化氨氮降解菌的生长,但微生物氨氮降解过程中会有 H⁺ 产生,反应过程中会中和一部分碱度,使废水体系

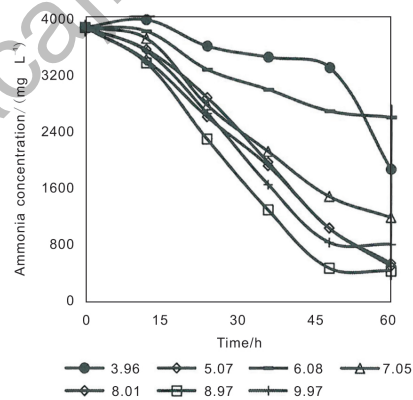


图6 不同 pH 下氨氮降解量的变化

pH 逐渐向中性偏移^[22]。

2.6 重复性能检测

采用固定化氨氮降解菌对氨氮浓度为 3847.06 mg/L 的高氨氮废水进行降解试验,反应条件为 25 ℃,pH 为 8.01,转速 145 r/min。从图 7 可以看出随着反应时间的延长,氨氮的浓度快速降低,去除率呈递增趋势,在反应到 72 h 时,氨氮浓度降为 529.41 mg/L。试验结束将固定化氨氮降解菌室温干燥,置于阴凉干燥处保存 60 天,在其他反应条件都不变的条件下重复试验,图 7 显示二次实验和三次实验氨氮降解速度高于一次实验,二次试验氨氮初始浓度由 3847.06 mg/L 经过 48 h 反应后降为 105.88 mg/L,实现氨氮的 97.25% 的去除率;三次实验在 48 h 时氨氮浓度为 84.05 mg/L,去除率为 97.82%。这是由于在每一

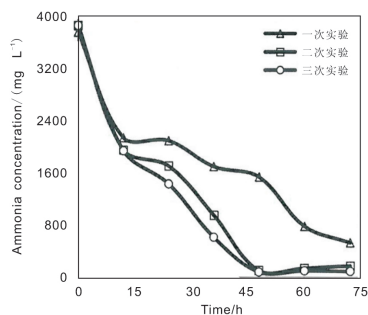


图7 固定化微生物循环试验

次实验过程中菌得到了充分的活化，菌对氨氮的降解性能得到了明显的提高。同时也说明该载体可以实现菌的干燥状态储存，短期存放对菌的性能影响不大，便于工业上的推广应用。

3 结论

通过试验考察，确定 Poten-QZX 载体的稳定系数、机械稳定性和压缩比及使用周期均较好，载体机械稳定性和稳定系数均达到 99%，压缩比大于 80%，使用周期大于 18 个月，适合在有较强冲击力的曝气环境中应用，氨氮浓度为 3847.06 mg/L 的高氨氮废水在 25℃，pH 为 8.01，转速 145 r/min 的条件下反应 48 h，氨氮浓度为 84.05 mg/L，去除率为 97.82%；载体内部凹凸不平的表面和多孔结构，为菌的生长提供了丰富的空间和附着位点，载体的良好吸附性能对周围的营养物质的获取起到了“捕抓”作用，利于微生物的新陈代谢以及对污染物质的降解。同时，固定化微生物可以实现微生物的干燥状态储存，并可多次循环重复使用，对开发具有工业生产价值的微生物载体并将其工业推广应用具有重要的参考价值。

参考文献

- [1] 邓福. 固定化技术在环境修复工程中的应用研究进展[J]. 广东化工, 2010, 37(7): 218-220.
- [2] 王里奥, 崔志强, 钱宗琴, 等. 微生物固定化的发展及在废水处理中的应用[J]. 重庆大学学报, 2004, 27(3): 125-129.
- [3] 张蕾, 段连生. 微生物固定化技术在废水处理中应用的研究进展[J]. 湖北第二师范学院学报(自然科学版), 2009, 26(2): 39-42.
- [4] 王建龙, 周定, 柳萍. PVA-H3BO3 法固定化方法的改进及固定

化乳酸菌发酵的研究[J]. 工业微生物, 1993, 23(6): 7-10.

- [5] QIAO Lin, WEN Dong-hui, WANG Jian-long. Biodegradation of pyridine by *Paracoccus* sp. KT-5 immobilized on bamboo-based activated carbon[J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(14): 5229-5234.
- [6] Muftah El-Naas, Al-Zuhair Sulaiman, Suzan Makhoul. Continuous biodegradation of phenol in a Spouted Bed Bioreactor (SBBR)[J]. *The Chemical Engineering Journal*, 2009, 160(2): 565-570.
- [7] BAI Xue, YE Zheng-fang, LI Yan-feng, et al. Preparation of crosslinked macroporous PVA foam carrier for immobilization of microorganisms[J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(1): 60-66.
- [8] 李志章, 周小四, 杨家文. 氧化亚铁硫杆菌的固定化及其对 Fe²⁺ 的氧化研究[J]. 昆明冶金高等专科学校学报, 2012, 28(5): 5-8.
- [9] Ping Xin Sheng, Kin Ho Wee, Yen-Peng Ting, Jiaping Paul Chen. Biosorption of copper by immobilized marine algal biomass [J]. *The Chemical Engineering Journal*, 2008, 136(2): 156-163.
- [10] 赵林果, 季永新, 李强, 等. 固定化漆酶对染料酸性紫 43 的脱色和降解[J]. 工业微生物, 2007, 37(6): 35-39.
- [11] 李宗慧, 刘金泉, 赵雪莲, 等. 包埋微生物载体的结构与性能研究[J]. 现代化工, 2012, 32(11): 45-47.
- [12] 申婷婷, 李小明, 岳秀, 等. 微生物固定化技术的研究与应用[J]. 广州化工, 2011, 39(20): 3-5, 13.
- [13] Kourkoutas Y, Bekatorou A, Banat I M, et al. Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review[J]. *Food Microbiology*, 2004, 21(4): 377-397.
- [14] 茆云汉, 王建龙. 聚乙烯醇固定化微生物新方法的研究[J]. 环境科学学报, 2013, 33(2): 370-376.
- [15] 李峰, 吕锡武, 严伟. 聚乙烯醇作为固定化细胞包埋剂的研究. 中国给水排水, 2000, 16(12): 14-17.
- [16] Jae-Koan Seo, Il-Hyong Jung, Mi-Ryung Kim, et al. Nitrification performance of nitrifiers immobilized in PVA (polyvinyl alcohol) for a marine recirculating aquarium system. *Aquacultural Engineering*, 2001, 24(3): 181-194.
- [17] 徐雪芹, 李小明, 杨麒, 等. 固定化微生物技术及其在重金属废水处理中的应用[J]. 环境污染治理技术与设备, 2006, 7(7): 99-104.
- [18] 权雪玲, 吉元, 张虹, 等. 环境敏感水凝胶的环境扫描电镜观察[J]. 真空科学与技术学报, 2005, 25(3): 225-228, 232.
- [19] 尤勇军, 安立超, 潘伯宁. 冷冻固定化硝化菌去除废水中氨氮的研究[J]. 化工环保, 2004, 24(5): 316-319.
- [20] 徐庆臻, 刘新峰, 任广涛. 污水处理氨氮降解机理探讨[J]. 工业水处理, 2002, 22(3): 55-56.
- [21] 刘芳, 赵朝成, 张秀霞, 等. 水解酸化-生物接触氧化工艺处理锦纶 6 废水的脱氮特性分析 [J]. 中国石油大学学报 (自然科学版), 2007, 31(6): 112-116.
- [22] 周少奇. 氨氮厌氧氧化的微生物反应机理[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2000, 28(11): 16-19.