

微生物固定化技术及其强化生物脱氮研究进展

慕浩¹, 胡凯耀¹, 朱红娟¹, 彭钰卓¹, 王倩¹, 王亚娥¹, 李杰^{1,2}

(1. 兰州交通大学环境与市政工程学院, 甘肃兰州 730070;

2. 甘肃省膜科学技术研究院有限公司, 甘肃兰州 730020)

[摘要] 许多研究致力于用生物脱氮技术去除污染水体中的氮。微生物固定化是采用物理或化学的方法, 将微生物截留在某一特定区域的技术。该技术既可保证功能微生物在适宜条件下快速增殖, 使其具有较高的抵御外界不利环境因素的优势, 同时可提高功能微生物与本土微生物的竞争力。生物脱氮技术与微生物固定化技术相结合具有很大的应用潜力。综述了几种传统微生物固定化方法和新型微生物固定化方法的分类、原理、优缺点、应用范围及前景。在此基础上, 以凝胶包埋法为例, 介绍了微生物固定化技术强化生物脱氮的机理, 如为微生物提供相应保护, 加快微生物生长富集速度, 在凝胶球内外形成不同浓度的溶解氧, 以及额外提供功能微生物和营养物质等。以凝胶包埋法加快厌氧氨氧化菌生长富集速度, 利用凝胶球内外溶解氧浓度差实现短程硝化-厌氧氨氧化为实例进行阐述。最后对微生物固定化技术强化生物脱氮目前存在的问题进行总结并提出展望, 开发成本低廉且稳定性强的固定化材料具有重要意义。

[关键词] 固定化; 微生物; 生物脱氮; 凝胶包埋法

[中图分类号] X703.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-829X(2023)04-0028-08

Research progress on microbial immobilization technology and its enhanced biological nitrogen removal

MU Hao¹, HU Kaiyao¹, ZHU Hongjuan¹, PENG Yuzhuo¹, WANG Qian¹, WANG Yae¹, LI Jie^{1,2}

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China;

2. Gansu Membrane Science and Technology Research Institute Co., Ltd., Lanzhou 730020, China)

Abstract: Many studies have been devoted to remove nitrogen from polluted water bodies by biological nitrogen removal techniques. Immobilization is a technique that uses a physical or chemical method to trap microorganisms in a specific area. The technique ensures rapid proliferation of microorganisms under suitable conditions, giving them the advantage against external adverse environmental factors, while improving the competitiveness of functional microorganisms with local microorganisms. The combination of biological nitrogen removal technology and microbial immobilization technology has great potential for application. The classification, principles, advantages and disadvantages, application and prospects of several traditional and new microbial immobilization methods were reviewed. On the basis, the mechanism of enhanced biological nitrogen removal by by gel embedding method in microbial immobilization technology were introduced, such as providing protection for microorganisms, accelerating the growth and enrichment rate of microorganisms, forming different concentrations of dissolved oxygen inside and outside the bulb, and providing additional functional microorganisms and nutrients. The gel embedding method was used as an example to illustrate the accelerated growth and enrichment of Anammox bacteria, and partial nitrification-anammox by using the difference in dissolved oxygen between the inside and outside of the bulb. Finally, the current problems of microbial immobilization technology to enhance biological nitrogen removal were summarized and the prospect was proposed. It is important to develop low-cost and stable immobilization materials.

Key words: immobilization; microorganism; biological nitrogen removal; gel embedding

[基金项目] 国家自然科学基金项目(51768032)

过量的氮排放会导致水体富营养化,使水生生态系统恶化,进而危害人类健康^[1]。脱氮技术主要分为物化法和生物法。其中物化法包括吹脱法、MAP法、离子交换法等,常用于高氨氮废水的预处理^[2]。除一些特殊废水外,实际中常采用传统硝化一反硝化生物脱氮法对废水进行处理。近年来,传统脱氮理论的认知不断被打破,许多新型生物脱氮技术不断涌现,如短程硝化/厌氧氨氧化、短程反硝化/厌氧氨氧化、同步硝化反硝化等^[3-5]。然而,生物法具有抗冲击负荷能力差、功能菌株易流失、菌体生长缓慢、硝化菌群同反硝化菌群不易共存等缺点^[6]。

微生物固定化是通过物理或化学手段,将微生物保留在特定区域内的技术。该技术始于1959年T. HATTORI等^[7]利用树脂对大肠杆菌进行吸附固定化的研究。微生物固定化技术具有以下优点:(1)微生物被固定后不易流失;(2)可提高微生物对恶劣环境的耐受性;(3)可加快微生物生长速度;(4)便于微生物回收再利用。微生物固定化技术因能有效解决生物脱氮中的种种问题,目前广泛应用于环境污染治理行业中^[8-9]。

笔者综合近年来国内外研究者对微生物固定化技术在生物脱氮中的研究,介绍了传统和新型微生物固定化的方法及其优缺点,并对凝胶包埋法强化生物脱氮的机理和实例方面进行论述,最后对微生物固定化强化生物脱氮的未来发展方向进行展望。

1 传统微生物固定化方法

传统的微生物固定化方法主要分为物理法和化学法两类,其分类及示意图1。

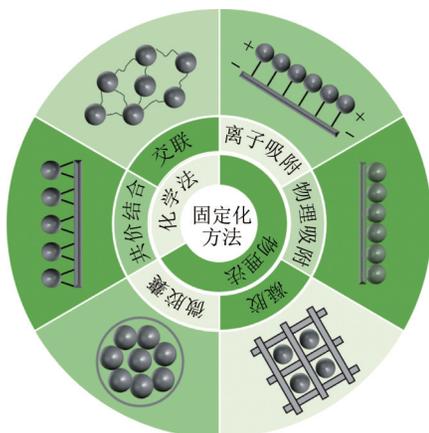


图1 传统固定化方法分类及示意

Fig. 1 Classification and illustration of traditional immobilization methods

1.1 化学法

化学法根据有无固定化载体分为共价结合法和交联法。共价结合法是将载体表面基团进行活化或在载体表面共价连接双功能试剂后,与微生物表面活性基团直接或通过双功能试剂共价偶联的方法^[10]。交联法是在无载体的情况下,通过双功能试剂使微生物相互形成共价键的方法。常用的双功能试剂有戊二醛等^[11]。

经化学法固定后,微生物与载体间由化学共价键相连,结合力强,一般不易从载体上脱附。然而,化学法涉及微生物细胞表面的化学修饰,对微生物有毒害作用,会导致微生物活性降低甚至死亡。在生物脱氮领域,采用化学法固定脱氮微生物的报道较少,一般与吸附法联用。

1.2 吸附法

与结合力强的共价键不同,吸附法的结合力主要为范德华力、氢键、离子键等弱相互作用^[12]。根据不同的结合力,吸附可分为物理吸附和离子吸附。常用的物理吸附材料有活性炭、聚氨酯泡沫、蒙脱土、分子筛等,常用的离子吸附材料有离子交换树脂、离子交换纤维等。

吸附法具有价格低廉、操作便利、对微生物活性影响较小等优点,被广泛应用于生物脱氮领域。Qiang AN等^[13]用花生壳生物炭固定假单胞菌L1去除电镀废水中的Ni(II)、Cr(VI)、Cu(II)和硝酸盐,同游离态相比,固定后的假单胞菌L1有更好的污染物去除能力和环境适应能力。然而,由于吸附法结合力较弱,仅用吸附法固定的微生物容易从载体上脱附。因此吸附法常与化学法及包埋法结合使用,在化学试剂或材料中添加吸附材料,可更好地提高微生物固定化效果。Y. ZVULUNOV等^[14]用蒙脱土和聚乙烯亚胺组成的复合材料固定化可降解甲醛的恶臭假单胞菌,其在连续运行多个周期后,对甲醛仍有稳定的降解率。

1.3 包埋法

包埋法所用材料主要有天然高分子材料和合成高分子材料,而纳米材料、磁性材料、无机多孔材料等常作为添加剂以增强材料的性能。无机多孔材料可以显著提高载体的传质性能;纳米材料可以提高载体的比表面积和负载率,并形成适合不同菌群生长的微环境;磁性材料有助于促进微生物生长代谢,

且载体便于分离^[15]。

根据形成机理的不同,包埋法可分为微胶囊法和凝胶包埋法。微胶囊法是以天然或人工合成的有机高分子材料为囊壁,通过物理化学等手段将微生物包裹在半透性囊膜中的技术,大多数微胶囊直径在1~1 000 μm^[16]。该技术可以显著增强微生物对恶劣环境的抵抗能力。M. MOLLAEI等^[17]将假单胞菌固定在海藻酸盐-壳聚糖-海藻酸盐微胶囊中,显著提高了菌株对苯酚的降解效率。然而,目前微胶囊法在生物脱氮领域中的应用较少。

凝胶包埋法是将微生物拦截固定在具有三维网络结构的水不溶性凝胶中的技术,大多数凝胶球直径在3~5 mm^[18]。凝胶球内复杂多孔的网络结构可以在不泄露微生物的前提下,同时具有良好的传质效率,便于微生物维持良好的活性,是目前微生物固定化最成熟、应用最广泛的方法。凝胶法最常用的材料为PVA(聚乙烯醇)-SA(海藻酸钠)复合材料,聚乙烯醇机械强度高但传质效率低,海藻酸钠机械强度低但传质效率高,两种材料复合可以取长补短。微生物固定化在脱氮中的一些应用案例见表1。

表1 微生物固定化在脱氮中的应用案例

Table 1 Application case of microbial immobilization in denitrification

材料	固定化方法	菌株名称	目标污染物	去除率/%	文献
PVA-SA	凝胶法	硝化细菌混合体	高浓度氨态氮	46	[19]
PVA-SA	凝胶法	硝化细菌混合体	不同浓度氨态氮	48.3~100	[20]
SA-硅藻土	凝胶法	不动杆菌 SL-14、BC-15、MI-11	氨态氮	95.86	[21]
菌丝球	吸附法	假单胞菌 GF3	硝态氮	95.91	[22]
海绵-核桃壳炭-磁铁矿粉	吸附法	菌胶团 L2	硝态氮、邻苯二甲酸二乙酯	83.97、67.87	[23]
SA-磁铁矿粉	凝胶法	贪铜菌 CC1	硝态氮、二价镉	100、95.09	[24]
菌丝球-磁铁矿粉	吸附法	假单胞菌 GF2	硝态氮	98.14	[25]
PVA-SA	凝胶法	亚硝化单胞菌 GH22	氨态氮	90.3	[26]
生物炭	吸附法	门多萨假单胞菌 GL6	硝态氮	95.8	[27]
聚乙烯悬浮球	吸附法	假单胞菌 Y39-6	低温低碳氮比下硝态氮	24.83	[28]

2 新型微生物固定化方法

2.1 层层自组装法

层层自组装是利用逐层交替沉积,以静电引力、氢键、共价键等作用力为驱动力,将某种材料交替附着在特定模板上形成一层层薄膜的技术。模板包括但不局限于细胞、酶、高分子有机物、聚电解质等。层与层之间会形成结构完整、性能稳定、具有特定功能的分子聚集体。目前该技术被广泛应用于化学、食品等行业中^[29-30]。

实现层层自组装主要有浸泡、旋涂、喷雾3种手段,其原理见图2^[31]。该技术可以精准地控制材料薄膜的结构和化学性质,同时材料的特定功能会通过该技术赋予模板。其局限性在于制作周期长,且主要靠静电力、氢键等弱相互作用相结合,稳定性较差,薄膜结构受冲击容易被破坏。

目前,层层自组装技术在众多领域有着较广泛的应用,但主要用于酶或单个细胞的固定化。李辉等^[32]将漆酶固定化,在云母片上制备了阳离子聚丙烯酰胺-漆酶自组装膜,固定化漆酶有良好的热稳定性和可重复使用性。Peng WANG等^[33]以溶菌酶

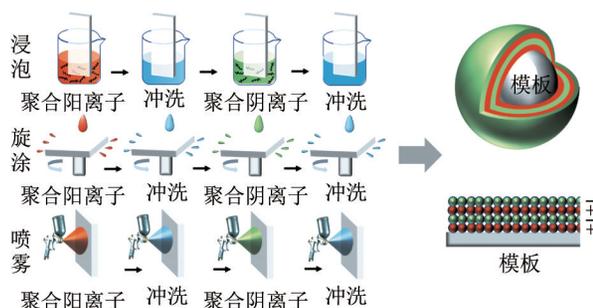


图2 层层自组装技术原理

Fig. 2 The principle of layer-by-layer self-assembly technology

和SA为原料,采用该技术在纳米纤维表面交替沉积醋酸纤维素膜固定化溶菌酶,固定化后的酶对恶劣环境有较好的耐受性。

微生物对聚电解质、纳米粒子非常敏感,组装过程可能会对微生物活性产生不利影响。同时,由于该技术形成的薄膜通常为纳米级,远小于细胞直径,导致薄膜不能完全将细胞包裹起来,因此,对于含有大量脱氮微生物的活性污泥絮体,采用该技术固定化的难度会大大增加。虽然该技术在生物脱氮领域中处于起步阶段,然而,其可将材料的特定功能赋予微生物,针对不同的外界环境因素为微生物提供相

应的“保护壳”,具有很好的应用前景。

2.2 静电纺丝法

静电纺丝是在高压静电场下,将聚合物溶液或熔体加工成纳米纤维的技术。其原理为聚合物溶液通过注射泵施压,在喷头处形成液滴,喷头与收集器之间的高压静电会使液滴变为泰勒锥,当电压足够大时,聚合物溶液就会形成射流,经一段时间运动后落在收集器上形成纳米纤维^[34]。静电纺丝技术固定化酵母菌的流程见图3^[35]。

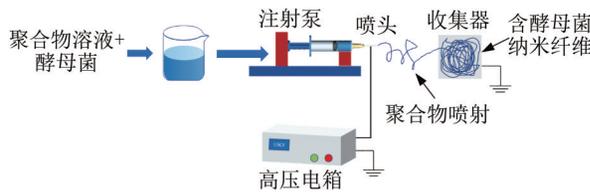


图3 静电纺丝固定化酵母菌流程

Fig. 3 Process of immobilizing yeast by electrostatic spinning

静电纺丝技术制成的纤维具有比表面积大、孔隙率高、纤维结构可控、成本低等优点,广泛应用于生物医学、食品、环境工程等行业中。该技术可将微生物固定在纳米纤维中,加快微生物生长繁殖的速

度,增强对恶劣环境的耐受性。T. JAYANI等^[36]通过静电纺丝将名为嗜酸乳杆菌016的益生菌固定在纳米纤维上,力学性质和热分析结果表明该纳米纤维可用于食品中传递益生菌;同时,扫描电镜表明,24 d内固定在纳米纤维上的益生菌没有受到损伤。O. F. SARIOGLU等^[37]利用由聚己内酯和聚乳酸制成的纳米纤维固定可降解纺织染料的微生物,结果发现,被固定的微生物具有更高的污染物降解能力和更强的环境耐受性。Yansheng FAN等^[38]将酵母菌固定在聚丙烯酰胺纳米纤维上,制备了一种含活酵母菌的纤维材料,可用于生物发酵、废水处理、基因工程等领域。虽然静电纺丝技术在众多行业中有广泛应用,但用于生物脱氮的相关报道很少。随着该技术的发展,生物脱氮领域中采用该技术固定微生物具有很大的应用潜力。

虽然新型微生物固定化方法具有众多优势,但在生物脱氮领域中仍需要很长的发展时间。目前,凝胶包埋法依然是生物脱氮领域中应用最广泛且成熟的固定化方法。几种微生物固定化方法的原理及优缺点见表2。

表2 几种微生物固定化方法的原理及优缺点

Table 2 Principles and advantages and disadvantages of several methods for immobilization of microorganisms

固定化方法	原理	优点	缺点	成本
化学法	微生物之间或微生物与载体间通过化学键相连	结合力强,微生物高度密集且不易从载体上脱附	化学试剂对微生物有毒害作用,导致微生物活性降低	高
吸附法	微生物与载体间通过范德华力、离子键等弱相互作用相连	操作简单,对微生物无毒害作用,载体可以再生	结合力较弱,微生物易从载体上脱附	低
包埋法	微生物被截留在水不溶性的凝胶聚合物中	操作简单,可固定化特定微生物,适用性广泛	传质阻力较大,长期运行后微生物易从凝胶聚合物中泄漏	中
层层自组装法	通过静电作用力将特定材料一层层交替沉积在微生物上	组装过程可控,条件温和,可将材料的特性赋予微生物	稳定性差,制作周期较长,在生物脱氮中应用较少	中
静电纺丝法	微生物与聚合物溶液的混合液在高压静电场下形成纳米纤维	操作简单,制成的纳米纤维比表面积大、孔隙率高	纳米纤维强度较低,产量低,在生物脱氮中应用较少	中

3 凝胶包埋法强化生物脱氮的机理

3.1 为微生物提供保护

凝胶球可为微生物提供相应的保护,为微生物提供适应环境的时间,同时降低外界不利环境因素对微生物的负面作用,使脱氮微生物能够更好地生长繁殖,提高脱氮效率。Xuan YU等^[38]用SA-高岭土制作了凝胶球固定假单胞菌LZ-4,在游离菌株体系中,Cr(VI)的存在使硝酸盐去除率降低86.07%,而固定化菌株则保护了体系的反硝化作用,并去除95%的硝酸盐。与此同时,凝胶球也可减轻低温对微生物活性的影响,降低高盐度对微生物的毒害作用^[28]。

3.2 加快微生物富集

采用凝胶包埋法可以有效提高微生物的生长富集速度。这是因为凝胶球易沉降,被固定的微生物不易流失,同时凝胶球的微孔结构可以为其提供有利的生长繁殖条件^[39]。微生物释放的胞外聚合物(EPS)主要包含蛋白质和多糖,蛋白质的疏水作用可使微生物形成聚集体^[40]。被固定在凝胶球中的微生物更容易释放EPS,使微生物更加牢固且密集地同凝胶球内的网状结构结合^[41]。同时,将微生物固定在凝胶球中不会改变现有微生物群落,但对优势菌群的富集有积极的影响^[42]。

3.3 内外溶解氧浓度不同

由于凝胶球结构紧密且氧传质具有阻力,造成凝胶球外部呈好氧态而内部呈缺氧态。凝胶球外部的好氧环境和内部的缺氧环境可为传统的硝化/反硝化菌提供适宜的生长条件,有利于同步硝化反硝化(SND)作用的发生。

好氧反硝化菌是一类在有氧条件下进行反硝化作用的异养菌,该类菌大多还具备异养硝化的功能,好氧反硝化菌可以从微生物角度实现SND^[43]。好氧反硝化菌中的亚硝酸盐还原酶(NiRs)可将 NO_2^- -N还原为NO,然而NiRs在好氧条件下会被抑制,导致 NO_2^- -N积累。该过程是好氧反硝化中的限速步骤,通过微生物固定化技术可以有效减少 NO_2^- -N的积累量,提高TN去除效率。Fang MA等^[44]采用SA凝胶球固定假单胞菌T13,凝胶球内部缺氧的条件使其表现出较高的NiRs活性,固定化菌株对TN的去除率最高可达57.25%,而游离菌株对TN的去除率仅为29.7%。陈均利等^[45]用PVA-SA-活性炭固定菌株WT14,结果表明,固定化技术显著减少了 NO_2^- -N积累量,与游离菌(30.2%)相比,固定化菌株对TN的去除率更高(55.5%)。

3.4 额外提供功能微生物和营养物质

利用凝胶包埋法可将生物脱氮系统缺少的功能微生物固定化后投加至原本系统中以强化脱氮作用。人工湿地是20世纪70年代末发展起来的一种污水处理新技术,因具有成本低、高效节能、景观性好等优势,广泛用于处理各类废水^[46]。人工湿地中的氮素通过植物根部吸收、填料基质吸附、氨挥发、微生物作用等方式被去除。Shunan ZHANG等^[47]发现微生物主导的硝化/反硝化反应是人工湿地脱氮的主要途径,占总脱氮量的66.9%~80.5%。然而,水力冲刷和原生动捕食等原因会导致人工湿地的碳源不足、生物量浓度低,极大地限制人工湿地的脱氮效率。为解决这两大问题,可向人工湿地中投加额外碳源和硝化/反硝化菌。然而在外界因素干扰下,直接投加的游离菌体的生长速率和脱氮效率低,菌体易流失。将微生物固定化后投入可大幅提高人工湿地的脱氮效率。Wei WANG等^[48]在对硝化细菌进行固定化的同时,外加小分子有机碳源对人工湿地进行强化脱氮。然而,直接向人工湿地中投加小分子有机碳源的量不确定,投加量不足会导致反硝化

反应不完全,投加量过高则会引发二次污染。Guanlong YU等^[49]用处理后的稻壳当作固体缓释碳源,用PVA、SA将稻壳和反硝化菌共固定化形成凝胶球,投加至水平潜流式人工湿地。投加凝胶球强化后的人工湿地平均TN去除率可达78.4%,而未投加凝胶球的对照组的TN去除率仅有23.69%。碳源的持续释放和反硝化菌丰度的增加是TN去除率增加的主要原因。与此同时,还可通过固定一些耐盐、耐低温的特殊微生物来提高人工湿地在高盐度、低温下的脱氮效率^[50]。

4 凝胶包埋法强化生物脱氮实例及局限性

4.1 在厌氧氨氧化系统中的应用

厌氧氨氧化过程无需添加有机碳源及曝气,污泥产量少且能耗较低,具有广阔的应用前景^[51]。但由于厌氧氨氧化菌生长速率低且菌体易流失,反应器启动缓慢,研究多停留在实验室阶段,大规模实际应用较少。

厌氧氨氧化反应器的启动时间一般长达数月或更久,凝胶包埋厌氧氨氧化菌可大幅缩短启动时间^[52]。K. ISAKA等^[53]用聚乙二醇凝胶包埋厌氧氨氧化污泥,在25 d内成功启动了厌氧氨氧化反应器。此外,凝胶包埋法不仅可以缩短厌氧氨氧化的启动时间,还可减少启动所需生物量,加快脱氮速率。M. ALI等^[54]利用PVA-SA凝胶球固定厌氧氨氧化菌,研究表明,固定化反应器中初始生物量质量浓度为0.33 g/L(以VSS计,下同),运行35 d后脱氮速率可达10.8 kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)(以N计,下同),而非固定化反应器中初始生物量质量浓度为2.5 g/L,35 d后脱氮速率仅为3.5 kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)。

然而,获得足够数量的厌氧氨氧化生物量直接启动大规模反应器较困难。有报道称,将活性污泥包埋在PVA-SA凝胶中可用于启动厌氧氨氧化,这为大规模启动厌氧氨氧化反应器提供了可能^[55]。K. CHO等^[55]采用预先培养的厌氧氨氧化菌(R_1)和包埋在PVA-SA凝胶中的活性污泥(R_2)成功启动厌氧氨氧化反应器,运行稳定后 R_1 的平均脱氮率为0.35 kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$), R_2 的平均脱氮率为0.36 kg/($\text{m}^3 \cdot \text{d}$)。高通量测序表明:启动开始阶段,两个反应器中的细菌群落结构完全不同;但在启动完成阶段,两个反应器中的厌氧氨氧化菌数量相当。

近年来,短程硝化和厌氧氨氧化相结合的工艺

成为研究热点。短程硝化可将部分 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 并形成积累,与另一部分未转化的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 发生厌氧氨氧化反应。实现短程硝化需要严格控制反应器的溶解氧,使氨氧化菌(AOB)发挥作用的同时,抑制亚硝酸盐氧化菌(NO_B)的作用。由于凝胶球具有氧传质阻力,凝胶包埋法被广泛用于短程硝化/厌氧氨氧化。Jinxing WANG 等^[56]采用PVA凝胶球固定厌氧氨氧化颗粒污泥和普通活性污泥混合物,实现了短程硝化/厌氧氨氧化处理低浓度 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 废水。进水中部分 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 被凝胶球外层的AOB氧化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$, 剩余 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和生成的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 被球内部的厌氧氨氧化菌(AAOB)转化为 N_2 。由于外层AOB消耗氧,保护了内层AAOB不受氧的抑制,同时其特殊结构成功抑制了NO_B^[56]。

4.2 存在问题

虽然凝胶包埋法强化生物脱氮技术在实验室规模的研究中表现出良好的应用前景,但目前仍很难大规模实际应用。在水质方面,实际废水的水质波动大、组成成分复杂、运行操作复杂,限制了凝胶包埋技术在生物脱氮过程中的全面应用。在经济方面,实际应用中需根据污水厂的规模制备大量凝胶球,显著增加了污水厂的运行成本。在使用寿命方面,外界水力冲刷和凝胶球内部微生物的大量繁殖会导致凝胶球稳定性降低甚至破碎。因此开发成本低且稳定性强的包埋材料具有重要意义。

5 总结与展望

微生物固定化技术在生物脱氮中具有广泛应用,每种技术都有相应的优缺点。目前凝胶包埋法依然是应用最广泛的微生物固定化技术。凝胶包埋法固定微生物的过程不仅会减少外部不利环境因素对微生物的负面影响,还会促进微生物的生长,提高微生物菌体密度。特别地,由于氧传质具有阻力,凝胶球由外到内会形成氧浓度梯度,便于特定菌株生长。虽然微生物固定化技术同生物脱氮相结合已较为成熟,但还需在以下方面进行研究:

(1)分析凝胶球中功能微生物的代谢机制,探索如何使微生物更快速地生长、富集,为实际应用提供理论依据。

(2)研究凝胶球中微生物群落的结构演替,阐明脱氮微生物与其他微生物相互作用的机制,为维持凝胶球中微生物平衡提供指导。

(3)研究微生物同固定化材料的作用机制,开发新型固定化材料。

(4)进一步研究层层自组装、静电纺丝等新型固定化技术,更好地提高固定化微生物的稳定性、生物相容性,及对不利环境的耐受性。

参考文献

- [1] ZHOU Xu, WANG Xuezheng, ZHANG Hai, et al. Enhanced nitrogen removal of low C/N domestic wastewater using a biochar-amended aerated vertical flow constructed wetland [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 241: 269-275.
- [2] 王琳, 牟春霞, 王丽. 高氨氮含量废水的处理方法及研究现状[J]. *水处理技术*, 2021, 47(5): 1-5.
WANG Lin, MU Chunxia, WANG Li. Treatment methods and research status of high ammonia-nitrogen content wastewater [J]. *Technology of Water Treatment*, 2021, 47(5): 1-5.
- [3] WANG Jinxing, LIANG Jidong, SUN Li, et al. Achieving reliable partial nitrification and anammox process using polyvinyl alcohol gel beads to treat low-strength ammonia wastewater [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 324: 124669.
- [4] HAN Hao, LI Jun, ZHANG Jing, et al. Enhancing the treatment performance of partial denitrification/Anammox process at high nitrogen load: Effects of immobilized strain HFQ₈_{C/N} on the sludge characteristics [J]. *Bioresource Technology*, 2021, 341: 125870.
- [5] LUO Ling, ZHOU Wenwang, YUAN Ye, et al. Effects of salinity shock on simultaneous nitrification and denitrification by a membrane bioreactor: Performance, sludge activity, and functional microflora [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 801: 149748.
- [6] 杨成荫, 陈杨, 欧阳坤, 等. 氨氮废水处理技术的研究现状及展望[J]. *工业水处理*, 2018, 38(3): 1-5.
YANG Chengyin, CHEN Yang, OUYANG Kun, et al. Current research situation and prospect of ammonia nitrogen wastewater treatment technology [J]. *Industrial Water Treatment*, 2018, 38(3): 1-5.
- [7] HATTORI T, FURUSAKA C. Chemical activities of *Escherichia coli* adsorbed on a resin [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1959, 31(2): 581-582.
- [8] WANG Jinxing, LIANG Jidong, SUN Li, et al. Granule-based immobilization and activity enhancement of anammox biomass via PVA/CS and PVA/CS/Fe gel beads [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 309: 123448.
- [9] DONG Honghong, WANG Wei, SONG Zhaozheng, et al. A high-efficiency denitrification bioreactor for the treatment of acrylonitrile wastewater using waterborne polyurethane immobilized activated sludge [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 239: 472-481.
- [10] 朱衡, 林海蛟, 张继福, 等. 氨基载体共价结合固定化海洋假丝酵母脂肪酶 [J]. *中国生物工程杂志*, 2019, 39(7): 71-78.
ZHU Heng, LIN Haijiao, ZHANG Jifu, et al. Covalent immobilization of marine candida rugosa lipase using amino carrier [J]. *China Biotechnology*, 2019, 39(7): 71-78.

- [11] 郑建永, 李天一, 张伟, 等. 聚乙烯亚胺/戊二醛交联法固定化重组酯酶大肠杆菌细胞[J]. 生物加工过程, 2017, 15(3): 7-11.
ZHENG Jianyong, LI Tianyi, ZHANG Wei, et al. Immobilization of recombinant esterase *Escherichia coli* cells by cross-linking with polyethyleneimine-glutaraldehyde[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2017, 15(3): 7-11.
- [12] 游金坤, 余旭亚, 赵鹏. 吸附法固定化酶的研究进展[J]. 化学工程, 2012, 40(4): 1-5.
YOU Jinkun, YU Xuya, ZHAO Peng. Progress and trend of adsorption-based enzyme immobilization[J]. Chemical Engineering(China), 2012, 40(4): 1-5.
- [13] AN Qiang, JIN Ningjie, DENG Shuman, et al. Ni(II), Cr(VI), Cu(II) and nitrate removal by the co-system of *Pseudomonas hibiscicola* strain LI immobilized on peanut shell biochar[J]. Science of the Total Environment, 2022, 814: 152635.
- [14] ZVULUNOV Y, BEN-BARAK-ZELAS Z, FISHMAN A, et al. A self-regenerating clay-polymer-bacteria composite for formaldehyde removal from water[J]. Chemical Engineering Journal, 2019, 374: 1275-1285.
- [15] BAIGORRIA E, CANO L A, SANCHEZ L M, et al. Bentonite-composite polyvinyl alcohol/alginate hydrogel beads: Preparation, characterization and their use as arsenic removal devices[J]. Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management, 2020, 14: 100364.
- [16] 韩冬冬. 革兰氏阴性菌微胶囊制备技术的研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2007.
HAN Dongdong. Study of the microencapsulation technology of gram-negative bacteria[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2007.
- [17] MOLLAEI M, ABDOLLAHOPOUR S, ATASHGAHI S, et al. Enhanced phenol degradation by *Pseudomonas* sp. SA01: Gaining insight into the novel single and hybrid immobilizations[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 175(1/2/3): 284-292.
- [18] LIU Chengcheng, YU Deshuang, WANG Yanyan, et al. A novel control strategy for the partial nitrification and anammox process (PNA) of immobilized particles: Using salinity as a factor[J]. Bioresource Technology, 2020, 302: 122864.
- [19] WANG Wei, DING Yi, WANG Yuhui, et al. Treatment of rich ammonia nitrogen wastewater with polyvinyl alcohol immobilized nitrifier biofortified constructed wetlands[J]. Ecological Engineering, 2016, 94: 7-11.
- [20] XU Xiaoyi, JIN Zhaoxia, WANG Bin, et al. Treatment of high-strength ammonium wastewater by polyvinyl alcohol-sodium alginate immobilization of activated sludge[J]. Process Biochemistry, 2017, 63: 214-220.
- [21] 李思琦, 李珍阳, 刘琳, 等. 三株低温硝化菌的筛选及其固定化脱氮性能[J]. 环境工程, 2021, 39(12): 51-58.
LI Siqi, LI Zhenyang, LIU Lin, et al. The screening of low-temperature nitrifying bacteria strains and their immobilization and denitrification performance[J]. Environmental Engineering, 2021, 39(12): 51-58.
- [22] ZHENG Zhijie, ALI A, SU Junfeng, et al. Fungal pellets immobilized bacterial bioreactor for efficient nitrate removal at low C/N wastewater[J]. Bioresource Technology, 2021, 332: 125113.
- [23] XU Liang, SU Junfeng, HUANG Tingling, et al. Simultaneous removal of nitrate and diethyl phthalate using a novel sponge-based biocarrier combined modified walnut shell biochar with Fe_3O_4 in the immobilized bioreactor[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 414: 125578.
- [24] SU Junfeng, ZHANG Han, HUANG Tinglin, et al. A new process for simultaneous nitrogen and cadmium (Cd(II)) removal using iron-reducing bacterial immobilization system[J]. Chemical Engineering and Processing-Process Intensification, 2019, 144: 107623.
- [25] SUN Yi, ALI A, ZHENG Zhijie, et al. Denitrifying bacteria immobilized magnetic mycelium pellets bioreactor: A new technology for efficient removal of nitrate at a low carbon-to-nitrogen ratio[J]. Bioresource Technology, 2022, 347: 126369.
- [26] DONG Yuwei, ZHANG Yanqiu, TU Baojun. Immobilization of ammonia-oxidizing bacteria by polyvinyl alcohol and sodium alginate[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2017, 48(3): 515-521.
- [27] ZHANG Wen, SHEN Jianing, ZHANG Huifen, et al. Efficient nitrate removal by *Pseudomonas mendocina* GL6 immobilized on biochar[J]. Bioresource Technology, 2021, 320: 124324.
- [28] ZHANG Duoying, LIU Ying, HAN Yaxi, et al. Nitrate removal from low C/N wastewater at low temperature by immobilized *Pseudomonas* sp. Y39-6 with versatile nitrate metabolism pathways[J]. Bioresource Technology, 2021, 326: 124794.
- [29] CHEN Hang, WANG Yaqi, HUANG Fei, et al. Layer by layer self-assembly $MoS_2/ZIF-8$ composites on carboxyl cotton fabric for enhanced visible light photocatalysis and recyclability[J]. Applied Surface Science, 2021, 565: 150458.
- [30] LI Siqi, SUN Jialin, YAN Jun, et al. Development of antibacterial nanoemulsions incorporating thyme oil: Layer-by-layer self-assembly of whey protein isolate and chitosan hydrochloride[J]. Food Chemistry, 2021, 339: 128016.
- [31] LI Yang, WANG Xu, SUN Junqi. Layer-by-layer assembly for rapid fabrication of thick polymeric films[J]. Chemical Society Reviews, 2012, 41(18): 5998.
- [32] 李辉, 付时雨, 彭林才, 等. 漆酶的层层自组装固定化及其酶学性质[J]. 华南理工大学学报(自然科学版), 2011, 39(9): 158-164.
LI Hui, FU Shiyu, PENG Lincan, et al. Immobilization of laccase via layer-by-layer self-assembly and its enzymatic properties[J]. Journal of South China University of Technology: Natural Science Edition, 2011, 39(9): 158-164.
- [33] WANG Peng, ZHANG Cen, ZOU Yucheng, et al. Immobilization of lysozyme on layer-by-layer self-assembled electrospun nanofibers treated by post-covalent crosslinking[J]. Food Hydrocolloids,

- 2021, 121: 106999.
- [34] 李霖,张旭,曲颀,等. 静电纺丝技术与装置的研究进展[J]. 材料导报, 2019, 33(S1): 89-93.
LI Lin, ZHANG Xu, QU Yang, et al. Research progress of electrospinning technology and device[J]. Materials Reports, 2019, 33(S1): 89-93.
- [35] FAN Yansheng, TIAN Xiaokang, ZHENG Linbao, et al. Yeast encapsulation in nanofiber via electrospinning: Shape transformation, cell activity and immobilized efficiency[J]. Materials Science and Engineering:C, 2021, 120: 111747.
- [36] JAYANI T, SANJEEV B, MARIMUTHU S, et al. Bacterial cellulose nano fiber(BCNF) as carrier support for the immobilization of probiotic, *Lactobacillus acidophilus* 016 [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 250: 116965.
- [37] SARIOGLU O F, SAN KESKIN N O, CELEBIOGLU A, et al. Bacteria immobilized electrospun polycaprolactone and polylactic acid fibrous webs for remediation of textile dyes in water[J]. Chemosphere, 2017, 184: 393-399.
- [38] YU Xuan, SHI Juanjuan, KHAN A, et al. Immobilized-microbial bioaugmentation protects aerobic denitrification from heavy metal shock in an activated-sludge reactor[J]. Bioresource Technology, 2020, 307: 123185.
- [39] BOUABIDI Z B, EL-NAAS M H, ZHANG Zhien. Immobilization of microbial cells for the biotreatment of wastewater: A review[J]. Environmental Chemistry Letters, 2019, 17(1): 241-257.
- [40] WANG Binbin, LIU Xueting, CHEN Jianmeng, et al. Composition and functional group characterization of extracellular polymeric substances(EPS) in activated sludge: The impacts of polymerization degree of proteinaceous substrates[J]. Water Research, 2018, 129: 133-142.
- [41] LI Lin, PAGILLA K R. Biomass density-function relationships in suspended growth biological processes-A critical review [J]. Water Research, 2017, 111: 274-287.
- [42] WANG Xiaotong, YANG Hong, LIU Xuyan, et al. Effects of biomass and environmental factors on nitrogen removal performance and community structure of an anammox immobilized filler [J]. Science of the Total Environment, 2020, 710: 135258.
- [43] TAN Xu, YANG Yanling, LI Xing, et al. Multi-metabolism regulation insights into nutrients removal performance with adding heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacteria in tidal flow constructed wetlands[J]. Science of the Total Environment, 2021, 796: 149023.
- [44] MA Fang, SUN Yilu, LI Ang, et al. Activation of accumulated nitrite reduction by immobilized *Pseudomonas stutzeri* T13 during aerobic denitrification [J]. Bioresource Technology, 2015, 187: 30-36.
- [45] 陈均利,刘锋,张树楠,等. 固定化 *Alcaligenes faecalis* WT14 对累积亚硝酸盐的还原[J]. 水处理技术, 2021, 47(11): 65-70.
CHEN Junli, LIU Feng, ZHANG Shunan, et al. Reduction of accumulated nitrite by immobilized *Alcaligenes faecalis* WT14 during aerobic denitrification process [J]. Technology of Water Treatment, 2021, 47(11): 65-70.
- [46] XIE Tingyu, JING Zhaoqian, HU Jing, et al. Degradation of nitrobenzene-containing wastewater by a microbial-fuel-cell-coupled constructed wetland[J]. Ecological Engineering, 2018, 112: 65-71.
- [47] ZHANG Shunan, XIAO Runlin, LIU Feng, et al. Effect of vegetation on nitrogen removal and ammonia volatilization from wetland microcosms[J]. Ecological Engineering, 2016, 97: 363-369.
- [48] WANG Wei, DING Yi, WANG Yuhui, et al. Intensified nitrogen removal in immobilized nitrifier enhanced constructed wetlands with external carbon addition [J]. Bioresource Technology, 2016, 218: 1261-1265.
- [49] YU Guanlong, PENG Haiyuan, FU Yongjiang, et al. Enhanced nitrogen removal of low C/N wastewater in constructed wetlands with co-immobilizing solid carbon source and denitrifying bacteria [J]. Bioresource Technology, 2019, 280: 337-344.
- [50] WANG Xinyi, ZHU Hui, YAN Baixing, et al. Improving denitrification efficiency in constructed wetlands integrated with immobilized bacteria under high saline conditions [J]. Environmental Pollution, 2021, 287: 117592.
- [51] HUO Pengfei, CHEN Xueming, YANG Linyan, et al. Modeling of sulfur-driven autotrophic denitrification coupled with Anammox process [J]. Bioresource Technology, 2022, 349: 126887. [LinkOut]
- [52] ALI M, OKABE S. Anammox-based technologies for nitrogen removal: Advances in process start-up and remaining issues [J]. Chemosphere, 2015, 141: 144-153.
- [53] ISAKA K, DATE Y, SUMINO T, et al. Ammonium removal performance of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria immobilized in polyethylene glycol gel carrier [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 76(6): 1457-1465. [LinkOut]
- [54] ALI M, OSHIKI M, RATHNAYAKE L, et al. Rapid and successful start-up of anammox process by immobilizing the minimal quantity of biomass in PVA-SA gel beads [J]. Water Research, 2015, 79: 147-157.
- [55] CHO K, CHOI M, JEONG D, et al. Comparison of inoculum sources for long-term process performance and fate of ANAMMOX bacteria niche in poly (vinyl alcohol)/sodium alginate gel beads [J]. Chemosphere, 2017, 185: 394-402.
- [56] WANG Jinxing, LIANG Jidong, SUN Li, et al. Achieving reliable partial nitrification and anammox process using polyvinyl alcohol gel beads to treat low-strength ammonia wastewater [J]. Bioresource Technology, 2021, 324: 124669.

[作者简介] 慕浩(1997—), 硕士。E-mail: 1418432734@qq.com。

[收稿日期] 2023-02-19(修改稿)