

固定化微生物技术及其处理废水机制的研究进展*

黄真真^{1,2} 陈桂秋^{1,2#} 曾光明^{1,2} 宋忠贤³ 左亚男^{1,2} 郭志^{1,2} 谭琼^{1,2}

(1.湖南大学环境科学与工程学院,湖南 长沙 410082;

2.环境生物与控制教育部重点实验室(湖南大学),湖南 长沙 410082;

3.昆明理工大学环境科学与工程学院,云南 昆明 650500)

摘要 固定化微生物技术利用物理或化学手段将具有特定生理功能的游离微生物固定于载体材料内部或表面,并加以有效利用。该技术具有微生物活性高、单位空间微生物密度高、耐受性好、抗冲击负荷能力强、处理效率高等优点,目前已被广泛应用于废水处理。综述了固定化载体、固定化方法、固定化装置,阐述了固定化微生物技术对废水中重金属、有机污染物及氨氮的去除机制,并展望了固定化微生物技术的发展趋势,为固定化微生物技术在废水领域的普遍应用提供了指导。

关键词 固定化 微生物 废水 处理 机制

DOI:10.15985/j.cnki.1001-3865.2015.10.015

Research progress of immobilized microorganism technology and its mechanisms in wastewater treatment HUANG Zhenzhen^{1,2}, CHEN Guiqiu^{1,2}, ZENG Guangming^{1,2}, SONG Zhongxian³, ZUO Yanan^{1,2}, GUO Zhi^{1,2}, TAN Qiong^{1,2}. (1. College of Environmental Science and Engineering, Hunan University, Changsha Hunan 410082; 2. Key Laboratory of Environmental Biology and Pollution Control (Hunan University), Ministry of Education, Changsha Hunan 410082; 3. Faculty of Environmental Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming Yunnan 650500)

Abstract: Immobilized microorganism technology was utilized to make freely suspended target cells immobilized inside or on the surface of carrier materials by physical or chemical means, and the immobilized microorganisms were efficiently employed as biocatalysts. The technology has a lot of advantages, such as high microbial activity, high cell concentration, favorable biological tolerance to stress, strong resistance to shock loads, and superior removal efficiency. It had been widely used to treat wastewater. In the present study, immobilization carries, immobilization methods, and immobilization devices were reviewed. Mechanisms of immobilized microorganism technology were focused in the treatment of wastewater containing heavy metals, organic pollutants, and ammonia nitrogen. The prospective development of immobilized microorganism technology was also described, which was suggested to provide instruction for its application in the field of wastewater treatment.

Keywords: immobilized; microorganisms; wastewater; treatment; mechanism

固定化微生物技术的研究始于1959年, HATTORI等^[1]首次将大肠杆菌(*Escherichia coli*)固定在树脂载体上实现大肠杆菌的固定化。它是在固定化酶的基础上发展起来的, 目前固定化微生物技术的研究和应用已趋于成熟。固定化微生物技术是利用物理或化学手段将游离微生物限定在特定区域内, 使其高浓度密集、保持较高生物活性且可持续使用的一种新型生物工程技术^[2]。固定化微生物技术可将选定的高效优势菌属固定在载体上, 使该菌属在特定处理系统中具有活性高、专一性强、耐受性强(如pH、温度、有毒有害物质)、处理效果稳定、有毒

有害物质去除速率快和固液分离效果好等优点^[3]。同时, 固定化微生物技术还可以将混合菌属集于同一载体, 使混合菌属协同处理污染物。此外, 该技术还促使处理工艺的运营管理简单化、处理设备小型化以及反应过程的可控制化。正是由于这些独特的优势, 固定化微生物技术现已广泛应用于环境修复、食品工业、化学分析、能源开发、医学和制药等多种领域, 并且已在废水领域中的重金属去除、有机污染物降解、脱氮等方面取得重大进展。本研究综述了固定化载体、固定化方法和固定化装置, 比较了不同固定化载体、方法, 探讨了固定化微生物在重金属、

第一作者: 黄真真, 女, 1987年生, 博士研究生, 研究方向为废水生物处理技术。* 通讯作者。

* 国家自然科学基金资助项目(No.51178171、No.51579099、No.51521006); 长江学者和创新团队发展计划项目(No.IRT-13R17)。

有机污染物及氨氮等废水处理中的去除机制,并展望了固定化微生物技术的发展前景,以期为实现固定化微生物技术的实用化、工业化提供参考。

1 固定化载体

固定化载体种类繁多,选择理想的载体材料对固定化微生物的应用很关键,需要考虑载体对固定化微生物的机械强度、传质性能、弹性、成球难易程度及其生物毒性等方面的影响。理想的载体材料应具备以下特点^[4]:(1)生物相容性良好、不易被生物分解及无生物毒害性;(2)机械强度高、传质快、易成球、多孔且比表面积大等物理性质;(3)价格低廉、使用寿命长、存在可引入配基的官能团。就目前而言,固定化微生物技术采用的载体材料主要由 3 大类组成:有机载体、无机载体和新型复合载体。

1.1 有机载体

1.1.1 天然有机高分子载体

这类载体包括海藻酸钠(SA)、甲壳素、壳聚糖、琼脂、卡拉胶、骨胶原以及天然多糖、蛋白质和植物纤维类物质等。它们对微生物无毒害作用且传质性能良好,但存在机械性能低、微生物流失大、抗微生物分解性能差等缺陷。如 SA 的凝胶结构会被溶液中高浓度的 K^+ 、 Mg^{2+} 或其他金属离子以及磷酸盐破坏;甲壳素、壳聚糖及琼脂的机械强度和比表面积均较小。

1.1.2 人工合成有机高分子聚合物载体

聚乙二醇、聚乙烯醇(PVA)、聚丙烯酰胺(PAM)、聚氨酯泡沫、聚羟基丁酸酯(PHB)、光聚合树脂、羧甲基纤维素和硅胶等均属于人工合成有机高分子聚合物,其中 PVA 在国内外的研究中较广泛。该类载体大多具有机械强度高、化学稳定性好、抗微生物分解性强、对微生物无毒害作用和价格低廉等优点,但 PVA 因其黏性和水溶胀性大而对固定化载体的制备产生附聚作用。PAM 对微生物有毒害作用,使微生物活性降低且不易成型,因而得不到广泛应用。

1.2 无机载体

无机载体种类较多,如活性炭(AC)、石英砂、沸石、硅藻土、多孔陶珠、微孔玻璃、泡沫金属等。其优点在于机械强度高、传质性能好、耐酸碱性、制备简单、使用经济、多孔、通透性好、比表面积大,能较好地吸附微生物且有利于氧气、底物、代谢产物的扩散,不毒害微生物。存在的缺点是微生物易流化、吸附量有限且易脱落。

1.3 新型复合载体

新型复合载体主要包括新型载体和多种传统载体的复合。新型复合载体将各种载体的特长集于一体,优化了原有载体,为固定化微生物技术开拓了更广阔的应用前景。

新型载体可以通过改性载体材料表面基团或孔结构得到特定性能的载体。如 LIU 等^[5]采用聚乙烯亚胺和戊二醛处理纤维材料,制得改性固定化载体,并用其固定酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae* 1308),发现这种固定化载体在木薯的糖化和发酵过程中对淀粉的利用率明显高于游离菌,并可长期、有效地生产乙醇。VERMA 等^[6]对丝瓜瓢固定化黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)进行酸化处理,实验表明,这种处理改进了生物质的还原能力;对生物质的表面进行了清理,为 $Cr(VI)$ 的吸附提供更多的活性位点;增加了表面功能基团的数量,从而提高了 $Cr(VI)$ 的去除效果。

磁性载体材料也属于新型载体的一种,在环境工程领域中的应用颇多。IVANOVA 等^[7]将磁性纳米颗粒分别与 SA、壳聚糖及纤维素结合组成新的固定化载体,并对酵母细胞进行固定化,研究表明,这些磁性载体固定化的酵母细胞不仅显著提高了乙醇的成产量,而且其性能稳定可长期保存。LIN 等^[8]采用磁性 Fe_3O_4 -壳聚糖载体制备了可去除 NO_x 的固定化还原菌,大大改进了目标微生物的生物还原性。张斌等^[9]以微磁载体技术为机体,成功研制除了可固定化活性污泥微生物的多孔磁性聚苯乙烯载体,并提高了目标微生物对氨氮和有机污染物的去除效果。

有机载体与无机载体组建为多功能复合载体的研究也较常见。李婷等^[10]利用 PVA-SA-PHB-AC 组成复合载体固定化间甲酚降解菌(*Lysinibacillus cresolivorans*),发现经吸附改性的载体对废水中间甲酚的耐受能力更高,可实现更宽浓度范围的高效降解,且可长期稳定使用。BAO 等^[11]研究了 SA/AC 复合材料固定化石油烃降解菌的性能,发现在同等条件下,与游离菌相比,该固定化菌不仅活性高,还明显提高了重油的生物降解率(高出游离菌的 33%)。BRYASKOVA 等^[12]采用 PVA/正硅酸乙酯(TEOS)固定化皮状丝孢酵母(*Trichosporon cutaneum* R57),GEORGIEVA 等^[13]用 PVA/TEOS/3-巯丙基三乙氧基硅烷(MPTEOS)混合载体固定化皮状丝孢酵母,这种固定化载体不是将各载体材料简单混合,而是 PVA 的羟基与有机烷氧基硅烷

表 1 不同载体材料对微生物的固定化效果

Table 1 Microorganisms immobilization effects of different carrier materials

载体材料	机械强度	传质性能	与细胞结合力	固定化操作难易程度	重复利用性
天然有机物	较低	较好	较弱	易	较差
合成高分子材料	较高	较差	强	较易	较好
无机物	高	好	弱	较难	较好
复合材料	高	好	较强	较易	较好

(TEOS、MPTEOS)的硅烷醇基形成很强的氢键,MPTEOS为固定化微生物提供了额外的吸附位点,使载体的机械强度更高。

杨玖坡等^[14]总结了不同载体材料对微生物的固定化效果,结果见表1。

2 固定化方法

2.1 吸附法

吸附法是利用载体材料的物理性质(如黏附力、表面张力等)或微生物与载体之间的作用力(如范德华力、氢键及静电引力)将微生物吸附在载体上,从而实现微生物固定化的方法。该方法又叫载体结合法,可分为物理吸附法、离子结合法、共价结合法和生物特异性吸附法,废水处理系统中主要采用物理吸附法。该方法的优点是制备简单、条件温和、对微生物活性影响小、载体可重复利用,但是微生物的固定化数量有限、微生物与载体间的结合牢固性差、抗冲击负荷能力弱、反应稳定性差。

2.2 包埋法

包埋法是利用载体材料的特殊性能将微生物束缚在凝胶的微小格子、微胶囊内或包埋于半透明的多孔性聚合物或膜载体内部。微生物所需的底物和氧气可通过凝胶网格空隙渗入载体内,其代谢产物可扩散至载体外。常见的包埋法包括凝胶包埋法、微胶囊法和纤维包埋法。该方法具有操作简单、固定化颗粒强度高、对微生物影响小、微生物流失少、微生物装载容量大等优点,因而成为目前研究应用频率最高、最成熟的固定化方法。但是该方法空间位阻大,会在一定程度上不利于底物和溶解氧的扩散传递,使固定化颗粒凝胶中心区域形成死区,导致凝胶颗粒内外不能得到有效的疏通。因此,该方法不适于处理含大量纤维素、蛋白质、脂类等大分子底物的废水。

2.3 交联法

交联法又名无载体固定化微生物方法,是通过带有两个或两个以上官能团的试剂与微生物表面的氨基、羟基、巯基、咪唑基等基团共价结合进行交联,使微生物菌体间形成“生物网”结构。该方法结合强

度高、稳定性好,但反应激烈,微生物活性损失大且交联剂昂贵。常用的交联剂有戊二醛、氰胺、双重氮联苯胺、甲苯二异氰酸酯、乙醇二异氰酸酯等。

除以上3种常用方法外,固定化微生物方法还包括介质截留固定化法、膜截留固定化法和自身固定化法等。介质截留法可以利用介质孔径的选择性有效地控制微生物的密集度及其底物和产物的扩散,从而使微生物与基质充分接触、反应;膜截留固定化是通过半透膜、超滤膜和中空纤维膜等进行部分截留;自身固定化,即细胞间自交联固定化,是在适宜条件及处理装置的条件下,利用微生物自身的絮凝作用进行固定化微生物,所需固定化时间长、受环境影响因素大。

2.4 复合固定化法

复合固定化法^[15]是将两种或两种以上的固定化方法联合应用的改进方法,使微生物系统活性更高、单位密集度更高、菌体流失更少、耐受能力更强、机械稳定性和生化稳定性更高,具有单一固定化方法无可比拟的性能和处理效果,这与固定化载体材料的“高分子效应”^[16]对微生物的保护作用不无关系。该方法可根据废水的实际情况选择性能优良、价格低廉的复合固定化载体以及经济合理、操作简单的组合固定化工艺。

2.4.1 吸附—包埋法

吸附—包埋法是利用吸附剂-包埋剂复合载体的吸附和包埋双重效果固定化微生物,大多是先将微生物吸附在载体上,再对其进行包埋的过程。

2.4.2 包埋—交联法

包埋—交联法在保证微生物密集度高且不易流失的前提下加强固定化微生物的机械稳定性及抗冲击负荷能力,提高微生物系统处理污染物的能力。运用该方法时应严格控制交联剂的用量及其与微生物的接触时间,从而减小交联剂对微生物活性的损伤。已有研究者用PVA-SA为包埋载体,CaCl₂-硼酸溶液为交联剂制得固定化微生物,并在含重金属和有机污染物的废水中取得显著效果^{[17-18],[19]2679-2687,[20-21]}。DINH等^[22]用同样的载体

表 2 主要固定化方法的比较
Table 2 Comparison of the ways about immobilization

方法	细胞活性	稳定性	结合能力	空间位阻	制备难易程度	对底物专一性	固化成本	适用性能	载体再生
吸附法	高	低	弱	小	易	不变	低	适中	能
包埋法	适中	高	适中	大	适中	不变	低	大	不能
交联法	低	高	强	小	适中	可变	较高	小	不能
复合固定化法	高	高	强	小	较易	不变	适中	很大	能

包埋微生物,但以 Na_2SO_4 溶液对其进行交联,这不但保留了较高的微生物活性,而且具有良好的总碳去除性能。

2.4.3 聚集—交联法

聚集—交联法是先利用凝聚剂将微生物聚凝为微生物聚集体,然后在交联剂的作用下形成性能稳定、微生物密集的立体网状结构。

2.4.4 吸附—包埋—交联法

吸附—包埋—交联法形成的复合固定化微生物系统会比原有系统及两种固定化方法相结合的系统更强、稳定性更高、处理效果更好。因此,对该方法的研究探讨会日益增加。该方法常用的顺序是先将吸附剂与微生物混合吸附,然后将包埋剂加入上述混合液中进行包埋,最后将吸附—包埋后的混合溶液滴入交联剂中进行硬化交联,最终制得固定化微生物。已有研究者将这种复合固定化方法应用于地下水三氯乙烷的去除,发现这种固定化厌氧菌在厌氧条件下不仅能有效地降解三氯乙烷,还可重复利用^[23]。YANG 等^[24]采用吸附—交联—包埋法固定化 Cr(VI) 还原菌,其不仅对 Cr(VI) 有较高的耐受性,还能高效还原废水中 Cr(VI) ,此固定化过程以 PVA-SA-AC-硅藻土为固定化载体, CaCl_2 -硼酸溶液为交联剂。魏大鹏等^[25]以 PVA-SA 为包埋剂,二氧化硅为吸附剂, CaCl_2 -硼酸溶液为交联剂,对复合菌进行固定化,发现这种固定化小球载菌量高,并对水体中的氨氮和亚硝酸盐氮具有极高的降解效率。

主要固定化方法的比较见表 2。

3 固定化装置

大多数研究实验中,固定化微生物的制备是利用注射器手动将黏性聚合溶液滴制成固定化小球,这种技术虽简单,但最大的缺陷是固定化小球的制备速率低,此外这还是一项繁琐的工作。为了克服这些缺点,下面阐述了 3 种固定化装置^{[26]1623}:(1)目前有一种可将海藻酸盐溶液和内部电极合并为静电荷的设备,能增强海藻酸盐溶液单分子散性,且不影响微生物细胞活性,并能在重力作用下生产固定化微球(见图 1(a),由 DE BASHAN 等^[27]改进);

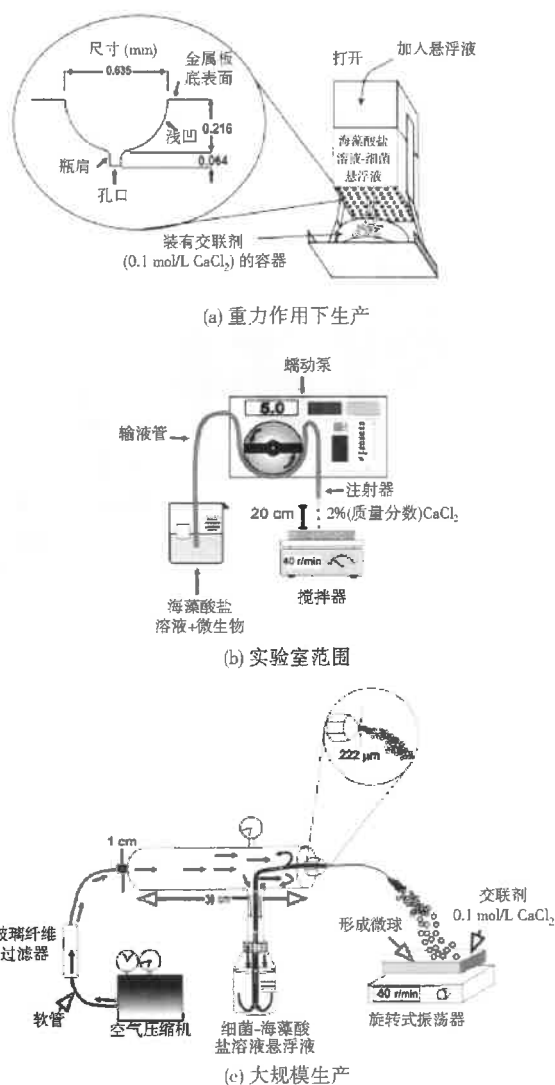


图 1 固定化装置

Fig.1 Immobilized equipment

(2)另外一种自动化工序可用于实验室范围所需的固定化量,并具有高效低耗、经济适用、易产业化、运行管理容易等特点,这种工序的基本设备包括蠕动泵、输液管、注射器等(见图 1(b));(3)为了满足大型废水的处理效果,需要长时间大规模生产固定化微生物小球,此时多喷嘴包埋/固定化系统诞生了,它是以上层流射分裂技术为基础进行设计的,以 $1\sim 15\text{ mL/min}$ 的速率在无菌固定化装置中连续生产不同直径($250\sim 1\,000\text{ }\mu\text{m}$)的固定化小球,可用于不同类型海藻酸盐溶液固定

微生物,喷射出形态规则的固定化小球(见图 1(c),由 BASHAN 等^[28]改进)。

4 固定化微生物处理废水中污染物的机制

目前已有大量研究表明,固定化微生物技术对受污染水体中的重金属、有机污染物以及氨氮的去除均能取得较好的效果,并且用于废水处理后的固定化微生物可多次重复使用,实现废水的资源化利用(见图 2)。

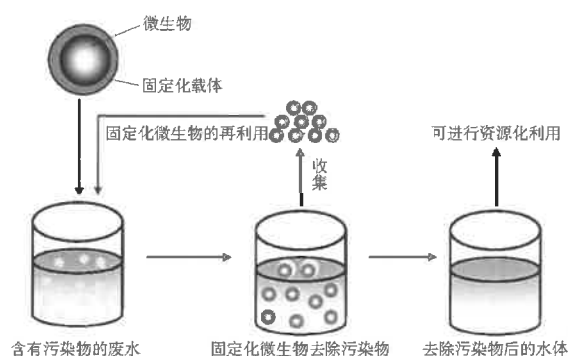
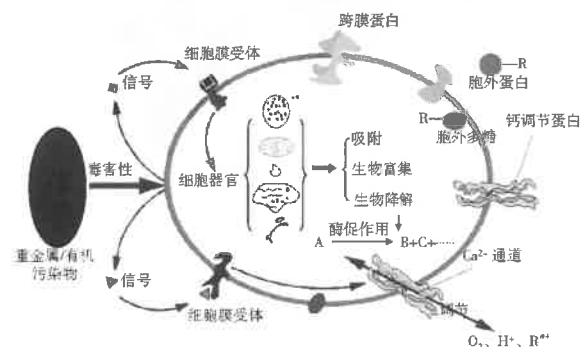


图2 固定化微生物用于废水处理的流程示意图
Fig.2 Flow chart for the application of immobilized microorganisms in wastewater treatment

根据前期研究和文献参考,微生物对重金属/有机污染物的去除机制主要见图 3。



注: R^{n+} 为重金属离子; R 为重金属原子; A 为难降解有机物; B 为易生物降解有机物; C 为小分子低毒有机物。

图3 微生物对重金属/有机污染物的去除机制
Fig.3 Schematic diagram for microorganisms in the removal of heavy metal/organic pollutants

4.1 固定化微生物对重金属的去除机制

众多研究表明,固定化微生物对重金属有较好的去除效果,其去除重金属的机制主要包括:固定化载体表面对重金属离子的吸附作用、重金属离子向固定化载体内部的扩散传质作用、微生物对重金属的吸附作用、微生物离子对重金属离子的离子交换作用等^[29]。总的来说,重金属是由固定化载体和微生物联合去除的。

4.1.1 固定化载体对重金属的去除

固定化载体对重金属的吸附属于非活体吸附,是利用其表面的功能基团(如羟基、羧基、氨基、巯基、硫醇基、磷酸基、巯基等)与重金属离子形成离子键或共价键,进行非特异性结合,这种吸附作用会在短时间内达到饱和。有研究表明,固定化载体表面的基团在重金属的吸附过程中起重要作用^[30]。它可以通过静电吸附、表面络合、重金属离子与吸附位点的配位、螯合等作用吸附重金属,其中物理吸附占主要部分。

固定化载体不仅可以吸附重金属,还可以吸附有机污染物、氨氮等,它们的去除机制存在相似之处,但是吸附能力存在差异。这与载体的物理化学性质有关,如表面形状、表面电极、电荷密度、孔隙度、比表面积及表面功能基团的种类和数量等。大多数研究采用多孔载体,这是因为它不仅为微生物提供适宜生存的微环境,还为污染物较易扩散至载体内部提供便利渠道。此外,有些载体材料具有一些特殊性质,这种特殊性质能进一步提高污染物的去除效果,如 TiO_2 具有光催化性,它能促进固定化微生物对污染物的进一步去除^[31]。

4.1.2 微生物对重金属的去除

微生物对重金属的吸附与自身的形态结构、生理特征和代谢活性密切相关,此过程需要微生物新陈代谢提供能量,且部分吸附具有特异性,只对某一种或某一类化学性质、离子结构相似的重金属元素进行吸附。微生物对重金属的作用由两部分组成^[32]:(1)微生物本身对重金属的吸附和转化。大多数微生物是由多糖(如葡聚糖、甲壳素)、蛋白和脂类组成的,其表面带有阴离子功能基团(如羧基、羰基),致使微生物在溶液中带负电荷,可直接将重金属离子固定在微生物细胞表面。被吸附的重金属离子可以通过离子交换、主动运输、载体协助运输穿过细胞膜进入细胞质中,与某些化学基团结合并在胞内进行富集,或是在微生物胞内酶的作用下将重金属从一种状态氧化还原为另一种状态。(2)微生物的代谢产物也可以吸附和转化重金属。微生物的代谢产物(如胞外蛋白)是其在生长过程及外界环境影响的条件下产生的,它可以与重金属离子进行络合反应从而降低溶液中的重金属水平。例如金属硫蛋白^[33-36]含有大量的半胱氨酸,可以快速、定向结合重金属离子。这种结合重金属离子的方式不仅消除了传质限制,加快反应速率,而且还减少重金属离子对微生物的毒害性。SANGHI 等^[37]在研究固定化

黄孢原毛平革菌去除 Cd(II) 时, Cd(II) 与真菌分泌蛋白上的硫醇基形成 CdS 纳米颗粒或 Cd—S—R 络合物。此外, 微生物产生的胞外多糖由于具有高度金属键合能力, 它在去除重金属的过程中也发挥着重要作用^[38]。微生物的代谢产物还可以通过改变水溶液的特性使重金属发生转化, 如使重金属以碳酸盐、磷酸盐、硫酸盐及氢氧化物的形式沉积在固定化微生物上。这些吸附在微生物表面的重金属还可以被回收利用, 这对贵重稀有金属的回收意义重大^[39]。同时, 这也为固定化微生物技术的再生性应用奠定了基础。

不同环境吸附条件下, 固定化微生物吸附重金属的机制不同, 这与固定化载体材料、固定化方法、固定化条件及固定化微生物的稳定性等因素有关。同种固定化微生物对不同种类的重金属离子吸附能力也不同, 这与重金属离子的物理化学性质有关, 如原子序数、原子半径、原子量、电极电荷、重金属离子与吸附剂表面功能基团的结合形式等。这些重金属离子也在一定程度上影响了微生物的吸附机制。

4.2 固定化微生物对有机污染物的去除机制

4.2.1 固定化载体对有机污染物的去除

固定化载体对有机污染物的吸附作用不同于重金属, 多数以分子形式进行物理吸附^[40]。这种吸附形式也是固定化载体同时处理重金属和有机污染物的复合废水时, 高浓度重金属不影响有机污染物吸附的原因。但也有载体对有机污染物进行化学吸附。IQBAL 等^[41]发现, 固定化黄孢原毛平革菌的丝瓜瓢载体对活性染料的吸附不仅有物理吸附还有化学吸附。

另外, 固定化载体在一定程度上阻碍并减少了有毒物质对微生物的危害, 使微生物保持原有的活性, 从而达到较好的生物降解效果。周定等^[42]发现, 固定化微生物的活性随废水中酚负荷的增加而增大, 这说明微生物在固定化载体内不断增殖。

4.2.2 微生物对有机污染物的去除

微生物可以摄取吸附在载体和自身表面的有机污染物, 将其作为供自身生长代谢的碳源和能源。WASI 等^[43]研究证明, 固定化荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescens* SM1) 利用六六六 (BHC) 作为碳源供自身内源呼吸, 不仅增强了新陈代谢能力, 还提高了 BHC 的降解效率。李婧等^[44]利用固定化多环芳烃降解菌去除芘时同样也发现, 降解菌利用芘进行自我代谢。

微生物的生物降解作用是固定化微生物去除有

机污染物过程中最为重要的机制。研究表明, 与生物降解相比, 蒸发、吸附及其他菌种对有机污染物的还原均可忽略不计^[45]。这种降解是在相应酶系统条件下进行的酶促反应, 将有机污染物催化氧化为低毒小分子化合物。CHAMPAGNE 等^[46]在研究固定化漆酶对染料的脱色和脱毒作用时发现, 染料的脱色基本上都是通过酶的降解来完成的, 且与漆酶的活性有着密切的关联性。而白腐真菌对有机污染物的降解依靠胞外酶的催化氧化, 这种胞外降解系统更易去除有机污染物, 当受到污染物刺激时, 微生物发生应激反应^[47], 并在分子氧的参与下, 使胞外的乙二醛氧化酶和胞内的葡萄糖酶产生 H_2O_2 , 随后过氧化物酶被激活, 启动酶的循环反应。被分泌到胞外的木质素过氧化物酶和锰过氧化物酶以 H_2O_2 为最初氧化底物进行一系列的自由基链反应, 这种反应具有高度非特异性和无立体选择性, 故对众多污染物呈现广谱生物降解性。此外, 白腐真菌降解系统中的漆酶、还原酶、蛋白酶、甲基化酶等对有机污物的降解也发挥着重要作用^[48-51]。

固定化载体与微生物对有机污染物的作用不是独自存在的而是相结合的。MALEKI 等^[52]采用丝瓜瓢固定化真养产碱杆菌 (*Ralstonia eutropha*) 降解苯酚和对硝基酚, 发现这种降解过程是在物理吸附和生物降解的协同作用下完成的。也有研究者提出有机污染物的其他降解机制。刘红等^[53]在研究生物 AC 降解 2, 4-二氯酚 (2, 4-DCP) 时发现, 2, 4-DCP 的去除机制除了 AC 吸附、生物降解, 还有 AC 对 2, 4-DCP 的氧化降解。这种氧化降解可能源于暴露在空气中的 AC 吸附了大量氧气。WU 等^{[19]2679-2687}利用固定化假单胞菌好氧代谢硝基苯的过程包括氧化途径和部分还原途径, 而光降解有机污染物的机制基于光照后产生的活性氧化物 (如羟基自由基 ($\cdot OH$))。有研究证明, 在氯酚的降解过程中, $\cdot OH$ 是最重要的氧化剂, 加速并提高了氯酚的降解效果^[54]。

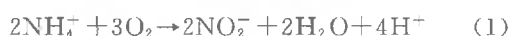
另外, 固定化混合菌技术也被应用于去除有机污染物, 这可能是固定化微生物技术将来的主要发展方向。DE BASHAN 等^{[26]1623}研究了混合固定化藻类和细菌对有机污染物的去除, 并阐述了其在实际中的应用。SEKARAN 等^[55]也采用这种技术降解有机污染物, 发现有机污染物的降解是细菌和海藻共同代谢的结果而非吸附作用, 其机制在于细菌和海藻在制革废水中形成互利共生关系, 细菌将有机污染物降解为简单化合物, 为藻类提供所需的碳

源和能源,而藻类原位产生光合氧,供异养菌矿化有机污染物。

总的来说,固定化微生物去除有机污染物的过程包括:(1)有机污染物被吸附在固定化载体和生长在固定化载体表面的微生物上,然后部分有机污染物穿过生物膜被转移到微生物细胞内部,被酶降解;部分有机污染物在胞外酶的作用下分解。(2)大多数有机污染物扩散至固定化微生物的内部空间,使微生物降解在该空间中进行。(3)降解产物扩散至外界溶液中。(4)载体表面的有机污染物浓度降低,致使载体内外形成浓度差,促进废水中有机污染物向载体表面扩散,促进降解作用。

4.3 固定化微生物对氨氮的去除机制

固定化微生物利用固定化载体的内部腔体结构对氧气扩散的影响,形成由内至外的厌氧区、缺氧区和好氧区,载体外层适宜硝化菌生长,而多数反硝化菌为兼性菌生长在载体中间,从而实现同步硝化-反硝化脱氮的目的。氨氧化菌(AOB)和亚硝酸盐氧化菌(NO₂⁻)均属于硝化菌,硝化作用包括两个步骤^[56]:(1)氨被 AOB 快速氧化为亚硝酸盐(见式(1));(2)亚硝酸盐被 NO₂⁻ 氧化为硝酸盐(见式(2))。反硝化作用是硝酸盐、亚硝酸盐被反硝化菌异化还原为 N₂ 或 N₂O 的过程。



固定化微生物技术在氨氮废水治理中的应用也日渐增多。许多研究证明,固定化微生物能获得很好的脱氮效果。周珊等^[57]将硝化菌、亚硝化菌和反硝化菌共同固定于竹炭载体中,并研究其对氨氮的去除效果,实验表明,竹炭固定化微生物是在竹炭吸附和微生物降解的协同作用下进行脱氮的,其氨氮去除量相对于单独竹炭吸附明显提高。叶正芳等^[58]采用自制大孔功能化载体 FPU 固定化氨氧化细菌,并成功地用于处理高浓度有机污染物和高氨氮污水,使固定化载体集好氧、兼性及厌氧菌为一体,从而实现氨氮和总氮的同时降低,总氮和总碳的同时去除。

5 结语与展望

固定化微生物技术以其自身的巨大优势在废水处理领域中引起普遍的关注,但目前尚处于实验室水平,要实现由室内模拟阶段进入实际工程应用,还需在以下方面取得突破:(1)筛选对特定污染物去除效率高、耐受能力强的微生物,加强极端微生物的研

究,或充分利用复合菌群;(2)研发新型的耐用廉价、强度高、传质好、性能稳定、环境友好型复合固定化载体;(3)寻找操作简便、合理经济的复合固定化方法;(4)研究开发高效固定化微生物反应器,在反应器中构建混合菌群组成的复合固定化微环境,形成多种微生物协同作用的处理系统;(5)开发可批量生产的固定化微生物制备装置;(6)研究对固定化微生物无破坏性、效率高的洗脱剂,促进再生技术的发展;(7)深入研究和探讨固定化微生物去除污染物的作用机制。

上述问题的解决和改进,不仅能拓宽固定化微生物技术的适用范围,还能提高其同时处理多种污染物的效率,固定化微生物技术必将在实际废水处理领域得到更普遍的应用。

参考文献:

- [1] HATTORI T, FURUSAKA C. Chemical activities of *Escherichia coli* adsorbed on a resin[J]. *Biochim. Biophys. Acta*, 1959, 31(2): 581-582.
- [2] 王玫, 刘艳. 固定化微生物处理有机废水的初步研究[J]. *广州化工*, 2014, 42(2): 105-106.
- [3] NOPCHAROENKUL W, NETSAKULNEE P, PINYAKONG O. Diesel oil removal by immobilized *Pseudoxanthomonas* sp. RN402[J]. *Biodegradation*, 2013, 24(3): 387-397.
- [4] 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.
- [5] LIU Qingguo, CHENG Hao, WU Jinglan, et al. Long-term production of fuel ethanol by immobilized yeast in repeated-batch simultaneous saccharification and fermentation of cassava [J]. *Energy Fuels*, 2015, 29(1): 185-190.
- [6] VERMA D K, HASAN S H, RANJAN D, et al. Modified biomass of *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on luffa sponge for biosorption of hexavalent chromium[J]. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 2014, 11(7): 1927-1938.
- [7] IVANOVA V, PETROVA P, HRISTOV J. Application in the ethanol fermentation of immobilized yeast cells in matrix of alginate/magnetic nanoparticles, on chitosan-magnetite microparticles and cellulose-coated magnetic nanoparticles[J]. *Chem. Eng. J.*, 2011, 3(2): 289-299.
- [8] LIN Tianming, ZHOU Zuoming, LIU Yixuan, et al. Evaluation of Fe(III) EDTA and Fe(II) EDTA-NO reduction in a NO_x scrubber solution by magnetic Fe₃O₄-chitosan microspheres immobilized microorganisms[J]. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 2014, 19(1): 175-182.
- [9] 张斌, 王景峰, 龚泰石, 等. 基于微磁载体的新型微生物聚集体的初步构建[C]//2013 中国环境科学学会学术年会论文集(第八卷). 北京: 中国环境科学出版社, 2013: 6510-6515.
- [10] 李婷, 任源, 韦朝海. 固定化 *Lysinibacillus cresolovorans* 的 PVA-SA-PHB-AC 复合载体制备及间甲酚的降解[J]. *环境科*

- 学,2013,34(7):2899-2905.
- [11] BAO Mutai, CHEN Qingguo, GONG Yuanjiao, et al. Removal efficiency of heavy oil by free and immobilised microorganisms on laboratory-scale[J]. Can. J. Chem. Eng., 2013, 91(1):1-8.
- [12] BRYASKOVA R, GEORGIEVA N, PESHEV D. Removal of cadmium and copper ions by *Trichosporon cutaneum* R57 cells immobilized onto polyvinyl alcohol/tetraethoxysilane hybrid matrices[J]. Cent. Eur. J. Chem., 2010, 8(5):1053-1058.
- [13] GEORGIEVA N, BRYASKOVA R, LAZAROVA N, et al. Immobilization of *Trichosporon cutaneum* R57 on PVA/TEOS/MPTEOS hybrid matrices for removal of manganese ions[J]. Biotechnol. Biotec. Eq., 2013, 27(5):4078-4081.
- [14] 杨玖坡, 陈梅梅, 张海涛, 等. 固定化微生物技术处理石油石化废水研究[J]. 环境工程, 2013, 31(5):25-29.
- [15] 曲洋, 张培玉, 郭沙沙, 等. 复合固定化法固定化微生物技术在污水处理中的应用[J]. 四川环境, 2009, 28(3):78-84.
- [16] 叶正芳, 俞红燕, 温丽丽, 等. 固定化微生物处理垃圾渗滤液[J]. 中国科学, 2008, 38(8):721-727.
- [17] BAYRAMOGLU G, ARICA M Y. Preparation of a composite biosorbent using *Scenedesmus quadricauda* biomass and alginate/polyvinyl alcohol for removal of Cu(II) and Cd(II) ions; isotherms, kinetics, and thermodynamic studies[J]. Water Air Soil Pollut., 2011, 221(1/2/3/4):391-403.
- [18] RAWAT M, RAWAT A P, GIRI K, et al. Cr(VI) sorption by free and immobilised chromate-reducing bacterial cells in PVA-alginate matrix: equilibrium isotherms and kinetic studies[J]. Environ. Sci. Pollut. Res., 2013, 20(8):5198-5211.
- [19] WU Zhiguo, LIU Yalong, LIU Hongming, et al. Characterization of the nitrobenzene-degrading strain *Pseudomonas* sp. A3 and use of its immobilized cells in the treatment of mixed aromatics wastewater[J]. World J. Microbiol. Biotechnol., 2012, 28(8).
- [20] KHOO K, TING Y. Biosorption of gold by immobilized fungal biomass[J]. Biochem. Eng. J., 2001, 8(1):51-59.
- [21] LI Fei, MAO Wenjuan, LI Xue, et al. Characterization of *Microcystis aeruginosa* immobilized in complex of PVA and sodium alginate and its application on phosphorous removal in wastewater[J]. J. Cent. South Univ., 2015, 22(1):95-102.
- [22] DINH P V, BACH L. Immobilized bacteria by using PVA (Polyvinyl alcohol) crosslinked with sodium sulfate[J]. Internat. J. Sci. Eng., 2014, 7(1):41-47.
- [23] ZHOU Yazhen, YANG Jie, WANG Xiaoli, et al. Bio-beads with immobilized anaerobic bacteria, zero-valent iron, and active carbon for the removal of trichloroethane from groundwater[J]. Environ. Sci. Pollut. Res., 2014, 21(19):11500-11509.
- [24] YANG Jinxia, HE Minyan, WANG Gejiao. Removal of toxic chromate using free and immobilized Cr(VI)-reducing bacterial cells of *Intrasporangium* sp. Q5-1[J]. World J. Microbiol. Biotechnol., 2009, 25(9):1579-1587.
- [25] 魏大鵬, 单洪伟, 马钰. 复合载体固定化细菌降解养殖水体中的氨氮和亚硝酸盐氮的研究[J]. 渔业现代化, 2014, 41(3):11-14.
- [26] DE BASHAN L E, BASHAN Y. Immobilized microalgae for removing pollutants: review of practical aspects[J]. Bioresour. Technol., 2010, 101(6).
- [27] DE BASHAN L E, HERNANDEZ J P, MOREY T, et al. Microalgae growth-promoting bacteria as "helpers" for microalgae: a novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater[J]. Water Res., 2004, 38(2):466-474.
- [28] BASHAN Y, HERNANDEZ J P, LEYVA L A, et al. Alginate microbeads as inoculant carrier for plant growth-promoting bacteria[J]. Biol. Fertil. Soils, 2002, 35(5):359-368.
- [29] 沈耀良, 黄勇, 赵丹, 等. 固定化微生物污水处理技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002:265-266.
- [30] MA Pei, ZHANG Dan. Immobilized *Lentinus edodes* residue as absorbent for the enhancement of cadmium adsorption performance[J]. Fron. Environ. Sci. Eng., 2012, 6(4):498-508.
- [31] CHEN Guiqiu, GUAN Song, ZENG Guangming, et al. Cadmium removal and 2,4-dichlorophenol degradation by immobilized *Phanerochaete chrysosporium* loaded with nitrogen-doped TiO₂ nanoparticles[J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2013, 97(7):3149-3157.
- [32] 陈素华, 孙铁珩, 周启星, 等. 微生物与重金属间的相互作用及其应用研究[J]. 应用生态学报, 2002, 13(2):239-242.
- [33] BAYRAMOGLU G, ARICA M Y. Removal of heavy mercury(II), cadmium(II) and zinc(II) metal ions by live and heat inactivated *Lentinus edodes* pellets[J]. Chem. Eng. J., 2008, 143(1/2/3):133-140.
- [34] KURODA K, UEDA M. Molecular design of the microbial cell surface toward the recovery of metal ions[J]. Curr. Opin. Biotechnol., 2011, 22(3):427-433.
- [35] XU Piao, LIU Liang, ZENG Guangming, et al. Heavy metal-induced glutathione accumulation and its role in heavy metal detoxification in *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2014, 98(14):6409-6418.
- [36] TAMÁS M J, SHARMA S K, IBSTEDT S, et al. Heavy metals and metalloids as a cause for protein misfolding and aggregation[J]. Biomolecules, 2014, 4(1):252-267.
- [37] SANGHI R, VERMA P. A facile green extracellular biosynthesis of CdS nanoparticles by immobilized fungus[J]. Chem. Eng. J., 2009, 155(3):886-891.
- [38] 王亮, 陈桂秋, 曾光明, 等. 真菌胞外聚合物及其与重金属作用机制研究[J]. 环境污染与防治, 2010, 32(6):74-80.
- [39] KURODA K, UEDA M. Molecular design of the microbial cell surface toward the recovery of metal ions[J]. Curr. Opin. Biotechnol., 2011, 22(3):427-433.
- [40] BAHODD A, ASRI S E, SAOIAI A, et al. Adsorption of phenol from an aqueous solution by selected apatite adsorbents; kinetic process and impact of the surface properties[J]. Water Res., 2009, 43(2):313-318.
- [41] IQBAL M, SAEED A. Biosorption of reactive dye by loofa sponge-immobilized fungal biomass of *Phanerochaete chry-*

- soporiolum* [J]. Process Biochem., 2007, 42(7): 1160-1164.
- [42] 周定, 侯文华. 固定化微生物法处理含酚废水的研究 [J]. 环境科学, 1990, 11(1): 2-5.
- [43] WASI S, TABREZ S, AHMAD M. Suitability of immobilized *Pseudomonas fluorescens* SM1 strain for remediation of phenols, heavy metals, and pesticides from water [J]. Water Air Soil Pollut., 2011, 220(1): 89-99.
- [44] 李婧, 党志, 国储领, 等. 复合固定化法固定微生物去除花 [J]. 环境化学, 2012, 31(7): 1036-1042.
- [45] AL ZUHAIR S, EL NAAS M. Immobilization of *Pseudomonas putida* in PVA gel particles for the biodegradation of phenol at high concentrations [J]. Biochem. Eng. J., 2011, 56(1/2): 46-50.
- [46] CHAMPAGNE P P, RAMSAY J A. Dye decolorization and detoxification by laccase immobilized on porous glass beads [J]. Bioresour. Technol., 2010, 101(7): 2230-2235.
- [47] ZENG Guangming, CHEN Anwei, CHEN Guiqui, et al. Responses of *Phanerochaete chrysosporium* to toxic pollutants: physiological flux, oxidative stress, and detoxification [J]. Environ. Sci. Technol., 2012, 46(14): 7818-7825.
- [48] 范荣桂, 刘博, 王程程, 等. 白腐真菌固定化技术及其研究进展 [J]. 广东化工, 2011, 38(10): 65-66.
- [49] CHEN Anwei, ZENG Guangming, CHEN Guiqui, et al. Plasma membrane behavior, oxidative damage, and defense mechanism in *Phanerochaete chrysosporium* under cadmium stress [J]. Process Biochem., 2014, 49(4): 589-598.
- [50] ZHANG Qihua, ZENG Guangming, CHEN Guiqui, et al. The effect of heavy metal-induced oxidative stress on the enzymes in white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Appl. Biochem. Biotechnol., 2015, 175(3): 1281-1293.
- [51] CHEN Anwei, ZENG Guangming, CHEN Guiqui, et al. Simultaneous cadmium removal and 2,4-dichlorophenol degradation from aqueous solutions by *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2011, 91(3): 811-821.
- [52] MALEKI M, MOTAMEDI M, SEDIGHI M, et al. Experimental study and kinetic modeling of cometabolic degradation of phenol and *p*-nitrophenol by loofa-immobilized *Ralstonia eutropha* [J]. Biotechnol. Bioprocess Eng., 2015, 20(1): 124-130.
- [53] 刘红, 李安婕, 全向春, 等. 生物活性炭降解 2,4-二氯酚的特性 [J]. 环境科学, 2004, 25(6): 80-84.
- [54] LU Quanfang, YU Jie, GAO Jinzhang. Degradation of 2,4-dichlorophenol by using glow discharge electrolysis [J]. J. Hazard. Mater., 2006, 136(3): 526-531.
- [55] SEKARAN G, KARTHIKEYAN S, NAGALAKSHMI C, et al. Integrated *Bacillus* sp. immobilized cell reactor and *Synechocystis* sp. algal reactor for the treatment of tannery wastewater [J]. Environ. Sci. Pollut. Res., 2013, 20(1): 281-291.
- [56] QIAO Xiangli, LIU Zhe, LIU Zhiwei, et al. Immobilization of activated sludge in poly(ethylene glycol) by UV technology and its application in micro-polluted wastewater [J]. Biochem. Eng. J., 2010, 50(1): 71-76.
- [57] 周珊, 周汇, 单胜道. 竹炭固定化微生物去除水样中氮氮的研究 [J]. 林业科学, 2009, 45(6): 133-138.
- [58] 叶正芳, 俞红燕, 温丽丽, 等. 固定化微生物处理垃圾渗滤液 [J]. 中国科学, 2008, 38(8): 721-727.

编辑: 黄 苇 (收稿日期: 2015-01-21)

(上接第 76 页)

参考文献:

- [62] 常涛. 支持向量机在大气污染预报中的应用研究 [J]. 气象, 2006, 32(12): 61-65.
- [63] VAPNIK V. The nature of statistical learning theory [M]. New York: Springer Verlag, 1995.
- [64] 王国胜. 支持向量机的理论与算法研究 [D]. 北京: 北京邮电大学, 2007.
- [65] SOTOMAYOR OLMEDO A, ACEVES FERNANDEZ M A, GORROSTIETA HURTADO E, et al. Modeling trends of airborne particulate matter by using support vector machines [C]//7th International Conference on Electrical and Electronics Engineering Research. Bellingham: SPIE Press, 2010.
- [66] 李志中, 党福星, 杨日红, 等. 基于广义加法模型的煤火信息高光谱遥感提取方法: 中国, 200910084749.8 [P]. 2009-10-08.
- [67] LIU Yang, CHRISTOPHER J P, PETROS K. Estimating regional spatial and temporal variability of PM concentrations using satellite data, meteorology, and land use information [J]. Environmental Health Perspectives, 2009, 117(6): 886-892.
- [68] STRAWA A W, CHATFIELD R B, LEGG M, et al. Improving PM_{2.5} retrievals in the San Joaquin Valley using a-train multi-satellite observations [J]. Atmos. Chem. Phys. Discuss., 2011, 11(11): 30563-30598.
- [69] 薛岩松. 可吸入颗粒物浓度的遥感监测方法研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [70] BYUN D W, CHING J K S. Science algorithms of the EPA models-3 community multiscale air quality (CMAQ) modeling system. EPA-600/R-99/030 [R]. Washington, D. C.: Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, 1999.
- [71] 程兴宏, 徐祥德, 丁国安. CMAQ 模式卫星产品源同化模型及其在空气质量预报中的应用研究 [J]. 中国科学 D 辑: 地球科学, 2010, 40(4): 511-522.
- [72] 谢敏, 钟流举, 陈焕盛, 等. CMAQ 模式及其修正预报在珠三角区域的应用检验 [J]. 环境科学与技术, 2012, 35(2): 96-101.
- [73] DONKELAAR A V, MARTIN R V, LEVY R C, et al. Satellite-based estimates of ground-level fine particulate matter during extreme events: a case study of the Moscow fires in 2010 [J]. Atmos. Environ., 2011, 45(34): 6225-6232.
- [74] GUPTA P. Particulate matter air quality assessment over southeast United States using satellite and ground measurements [D]. Huntsville: University of Alabama, 2008.
- [75] HOFF R M, ENGEL COX J A, DIMMICK F A. A three dimensional air quality system (3D-AOS) [C]//Proceedings of SPIE, Remote Sensing of Aerosol and Chemical Gases, Model Simulation/Assimilation, and Applications to Air Quality. Bellingham: SPIE Press, 2006.

编辑: 贺锋萍 (收稿日期: 2015-03-18)