

微生物固定化生物炭对水体铵态氮去除效果的研究

吴梦莉, 李洁, 智燕彩, 李刚, 赖欣, 居学海, 张贵龙

引用本文:

吴梦莉, 李洁, 智燕彩, 等. 微生物固定化生物炭对水体铵态氮去除效果的研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 1071-1078.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1368>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

高铁酸钾/高锰酸钾改性生物炭对 Cd^{2+} 的吸附研究

蒋子昀, 徐敏, 伍钧

农业环境科学学报. 2021, 40(4): 876-883 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1123>

$\text{CO}_2\text{-N}_2$ 气氛下热解工艺对稻秆生物炭吸附 Cd^{2+} 的影响

周红卫, 陈振焱, 胡超, 张亚平, 顾东清

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1605-1612 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1406>

微生物陈化可提升麦秆水热炭对 Cd^{2+} 吸附性能

花昀, 刘杨, 冯彦房, 何华勇, 杨根, 杨林章, 薛利红

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1613-1622 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0008>

生物炭固定化微生物对U、Cd污染土壤的原位钝化修复

戚鑫, 陈晓明, 肖诗琦, 张祥辉, 田甲, 勾佳磊, 卓驰夫, 罗学刚

农业环境科学学报. 2018, 37(8): 1683-1689 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0233>

生物炭折流湿地对生活污水的净化效果

王若凡, 汪文飞, 王煜钧, 孙鹤洲, 刘傲展

农业环境科学学报. 2020, 39(9): 2001-2007 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0258>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

吴梦莉, 李洁, 智燕彩, 等. 微生物固定化生物炭对水体铵态氮去除效果的研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 1071-1078.
WU Meng-li, LI Jie, ZHI Yan-cai, et al. Synthesis of microbial immobilized biochar for the removal of ammonia nitrogen from aqueous solutions[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(5): 1071-1078.



开放科学 OSID

微生物固定化生物炭对水体铵态氮去除效果的研究

吴梦莉¹, 李洁^{1*}, 智燕彩^{1,2}, 李刚¹, 赖欣¹, 居学海³, 张贵龙^{1*}

(1. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2. 江南大学环境与土木工程学院环境过程与污染控制研究所, 江苏 无锡 214122; 3. 农业农村部农业生态与资源保护总站, 北京 100125)

摘要:为探究微生物固定化生物炭对水体铵态氮(NH_4^+-N)去除效果的影响,以花生壳生物炭(BC)为载体,通过吸附和包埋两种方法将脱氮副球菌(*Paracoccus denitrificans*)、假单胞菌(*Pseudomonas*)和拉乌尔菌(*Raoultella*)固定在生物炭上,然后将该微生物固定化生物炭投加到 NH_4^+-N 模拟废水中,结合表面微观结构表征,研究其对水体 NH_4^+-N 的去除性能。结果表明:吸附和包埋法均能将微生物固定到生物炭表面,并在生物炭表面呈饼状、杆状和粒状分布。吸附法固定脱氮副球菌和假单胞菌,分别缩小生物炭比表面积和孔容积5.5%~17.2%和5.4%~25.8%。吸附法固定拉乌尔菌,分别增大生物炭比表面积和微孔容积45%和43%,缩小介孔和大孔容积。包埋法引入 $-\text{CH}_2$ 、 $\text{C}-\text{H}$ 和 $\text{C}=\text{O}$ 键等新的官能团,但由于带入包埋材料,使固定微生物生物炭比表面积减少87.3%~96.3%,孔容急剧缩小,其中介孔缩小84.1%~98.2%,微孔几乎全部被封堵。因此,吸附法制得的固定化微生物生物炭对水体 NH_4^+-N 去除速率较包埋法高1.16~3.44倍。研究表明,吸附法和包埋法均能将微生物固定在生物炭表面,包埋法对生物炭的孔隙结构和表面官能团影响更大,吸附法对水中 NH_4^+-N 的去除效率更高。

关键词:脱氮副球菌;假单胞菌;拉乌尔菌;生物炭;固定微生物;铵态氮(NH_4^+-N)

中图分类号:X52 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)05-1071-08 doi:10.11654/jaes.2020-1368

Synthesis of microbial immobilized biochar for the removal of ammonia nitrogen from aqueous solutions

WU Meng-li¹, LI Jie^{1*}, ZHI Yan-cai^{1,2}, LI Gang¹, LAI Xin¹, JU Xue-hai³, ZHANG Gui-long^{1*}

(1. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China; 2. Institute of Environmental Processes and Pollution Control, School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Rural Energy & Environment Agency, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100125, China)

Abstract: To explore the effects of immobilized microbial biochar on the removal of ammonium nitrogen (NH_4^+-N) in water, a comparative experiment was conducted. *Paracoccus denitrificans* (T), *Pseudomonas* (J), and *Raoultella* (L) were immobilized on peanut shell biochar (BC) through adsorption and embedding methods. After adding the three microorganisms and their immobilized biochars into waste water containing ammonia nitrogen, the performance of these treatments on NH_4^+-N removal were assessed, as well as surface structure, functional groups, and pore structure parameters were evaluated. The results showed that both adsorption and embedding methods immobilized microorganisms on the surface of biochar as evident from the distribution of round, rod, and granular forms. The specific surface area and pore volume of immobilized *Paracoccus denitrificans* and *Pseudomonas* biochar reduced by 5.5%~17.2% and 5.4%~25.8% by the adsorption method, respectively. Regarding immobilized *Raoultella* biochar by adsorption, the specific surface area and micropore volume of biochar increased by 45% and 43% times, respectively, and the mesoporous and macroporous volumes also reduced. Although new functional groups, such as $-\text{CH}_2$, $\text{C}-\text{H}$, and $\text{C}=\text{O}$ bonds, were introduced via embedding, the specific surface area of embedded

收稿日期:2020-11-26 录用日期:2020-02-26

作者简介:吴梦莉(1995—),女,湖北黄石人,硕士研究生,从事生物炭固定微生物环境效应研究。E-mail:wml6770@163.com

*通信作者:李洁 E-mail:lijie@caas.cn; 张贵龙 E-mail:zhangguilong@caas.cn

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0800404);青海省重大科技专项(2019-NK-A11-01)

Project supported: National Key R&D Program of China(2018YFD0800404); Qinghai Science and Technology Major Project(2019-NK-A11-01)

microorganisms on biochar reduced rapidly by 87.3%~96.3% in comparison with that of biochar and adsorbed microorganisms biochars. Moreover, the mesoporous pore volume decreased 84.1%~98.2% and the micropores were almost completely blocked by the embedded materials, such as polyvinyl alcohol hydrogel (PAH) and sodium alginate (SA). Therefore, the NH_4^+-N removal rate of immobilized microbial biochar prepared by the adsorption method was 1.16~3.44 times higher than that of the embedding method. Our results indicated that both adsorption and embedding methods fixed bacteria on the surface of biochar, and the effects of the embedding method on the pore structure and functional groups of biochar was significantly greater than that of the adsorption method. In comparison, adsorbed microorganisms biochars showed a higher efficiency in removing NH_4^+-N from the waste water than the embedded microorganisms biochars.

Keywords: *Paracoccus denitrificans*; *Pseudomonas*; *Raoultella*; biochar; immobilized microorganisms; NH_4^+-N

农业生产及农村生活产排的铵态氮(NH_4^+-N)废水进入河道、湖泊,引起水体富营养化,劣化水质,威胁水体生态安全,是我国地表水水质主要超标项之一。去除水体 NH_4^+-N 的方法包括物理法、化学法和生物法等,其中生物法因便捷高效被广泛应用,但该方法存在菌体易流失^[1]、不能重复利用及稳定性低^[2]等缺陷。固定化微生物法是将菌体固定在载体上,因可稳定菌群结构、可重复利用、且利于固液分离,而逐渐成为一种受青睐的新兴处理方法。有研究发现利用聚壳糖凝胶球固定厌氧铁氨氧化细菌去除废水中的 NH_4^+-N 效率较高^[3],利用聚乙烯醇包埋法制作的固定化微生物对污染河水中 NH_4^+-N 去除率高达78.3%^[4]。

目前用于固定微生物的方法包括吸附法、包埋法、共价法和交联法^[5],其中共价法与交联法反应相似,是靠化学结合的方法使细胞固定化,其反应激烈、操作复杂、条件不易控制,所以应用较少。吸附法是将生物炭和细菌菌液混合,利用生物炭的吸附作用以及微生物挂膜使细菌定殖在生物炭上^[6];包埋法是将生物炭和细菌菌液简单混合,利用化学溶剂作为包埋材料将混合后的生物炭与菌体固定在包埋材料内部形成固定化小球^[7-8]。与共价法和交联法相比,吸附法和包埋法技术成熟、操作简便且对微生物影响小,故应用广泛^[9-10]。常用的固定载体材料包括生物炭^[11]、浮石、黏土矿物及高分子材料等^[12-15]。其中,生物炭是高温厌氧热解产生的一类富碳物质,其孔隙丰富、比表面积大、稳定性强,能为微生物提供碳、氮源及栖息场所^[16],是一类较有前景的载体材料。前期研究发现,利用芦苇生物炭吸附固定活性污泥处理污水中的 NH_4^+-N 时,生物炭能够较好地固定优势菌群,72 h时 NH_4^+-N 去除率达到96.3%^[17]。利用稻壳生物炭固定硝化菌剂对水体 NH_4^+-N 去除率可达85%,远超过单一稻壳生物炭30%的最大吸附效率^[18];以秸秆生物炭为载体固定黄假单胞菌处理湿地低温污水, NH_4^+-N

去除率达到95%^[19]。因此,生物炭固定具有脱氮功能的菌体,可提升其对水体 NH_4^+-N 的去除效果。

近年研究显示,花生壳生物炭平均孔径较大且为多孔隙结构,其组成与结构利于速效养分和细菌等微生物吸附固定^[20-21]。此外,我国是世界上花生生产和出口量最大的国家,将占总产量三分之一的花生壳等废弃原料进行炭化处理,具有显著的开发利用价值和重要的生态意义^[22]。但不同菌种表面结构、存活条件不同,花生壳生物炭固定新型脱氮菌对水体 NH_4^+-N 的吸附性能及效果仍有待进一步探索。本研究以花生壳生物炭为载体,比较吸附法和包埋法分别固定pd01脱氮副球菌(*Paracoccus denitrificans*)、假单胞菌d4-1(*Pseudomonas*)和拉乌尔菌(*Raoultella*)的微生物颗粒对模拟废水中 NH_4^+-N 的去除效果,以期探索高效的 NH_4^+-N 废水净化方法,同时为炭基载体材料的开发应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 生物炭的制备

将花生壳用清水洗净表面尘土、烘干,粉碎并过2 mm筛,然后放入马弗炉内,通入 N_2 ,以 $5\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率升温至 $600\text{ }^\circ\text{C}$ 热解2 h,冷却后取出。加入去离子水,用磁力搅拌器搅拌30 min,静置30 min,用抽吸泵滤出生物炭,并加入 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸浸泡1 h,去除生物炭中灰分^[23]。再用去离子水将生物炭洗至中性,烘干后储存于密封玻璃瓶内备用。生物炭组分和基本理化性质见表1。

1.2 细菌来源及培养基

所用菌种均由中国科学院上海高等研究院筛选并提供,3株细菌均为异养硝化-好氧反硝化菌,分别是pd01脱氮副球菌(*Paracoccus denitrificans*, T)、假单胞菌d4-1(*Pseudomonas*, J)和拉乌尔菌(*Raoultella*, L),扫描形态见图1。

供试菌株生长培养基:葡萄糖 $5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、蛋白胨12

表1 生物炭组分和基本理化性质

Table 1 Biochar components and basic physicochemical properties

生物炭 Biochar	pH	比表面积 Specific surface area/(m ² ·g ⁻¹)	孔容 Pore volume/(cm ³ ·g ⁻¹)	灰分 Ash	元素含量 Element content/%			
					C	H	O	N
BC	6.79	186.16	0.16	2.86	81.32	1.72	10.20	0.87

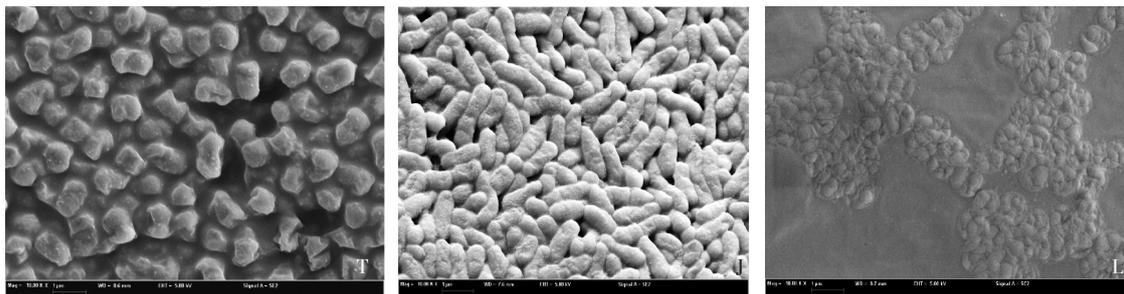


图1 供试菌株形态扫描电镜图(×10 000倍)

Figure 1 Scanning electron microscopy (SEM) of T, J and L bacteria morphology (×10 000 times)

g·L⁻¹、酵母提取物 24 g·L⁻¹、无水 KH₂PO₄ 2.31 g·L⁻¹、K₂HPO₄·12H₂O 16.43 g·L⁻¹, 调节 pH 为 7.0~7.3, 115 °C 灭菌 20 min。固体培养基再加入 20 g·L⁻¹ 琼脂。

1.3 生物炭固定菌株的制备

从 -70 °C 环境取出甘油保存的菌种, 融化后取 100 μL 菌液, 稀释 10⁷ 倍后涂布于固体生长培养基中, 放入 30 °C 恒温培养箱培养 24 h。待细菌长出后, 挑取单菌落于液体培养基, 在 30 °C、200 r·min⁻¹ 的摇床内培养至 OD₆₀₀=1.0±0.2, 将菌液离心得到菌体, 用无菌水将菌体洗涤 3 次, 最后加入原体积浓度为 0.85% 的生理盐水重悬, 4 °C 保存备用。为保证细菌活性, 试验在 48 h 内完成。

吸附固定:按 10 mL 菌液加入 1 g 生物炭的比例将花生壳生物炭和菌液混合, 然后在 25 °C、200 r·min⁻¹ 摇床吸附 18 h, 并于 4 °C 环境下保存, 制得吸附菌株生物炭。

包埋固定:包埋剂材料为 10% 聚乙烯醇(PVA)和 2% 海藻酸钠(SA)的混合溶剂, 其中 PVA 为主要包埋材料, SA 为添加剂, 二者混合的体积比为 7:3^[24], 交联剂为 2% 的饱和硼酸-CaCl₂ 溶液, 用 Na₂CO₃ 调节 pH 至 6.7。按生物炭与菌液 1:10 的比例取相应量的菌液, 离心后加入约原菌液体积 1/3 的 0.85% 生理盐水将菌体重悬并与生物炭混合。混合后的生物炭-菌液置于摇床中 200 r·min⁻¹, 30 °C 吸附 2 h 后再加入约原菌液 2/3 体积的 SA-PVA 混合物与其充分混匀, 用 3# 注射器将混合后的物质逐滴滴入饱和硼酸-CaCl₂ 中, 在 4 °C 环境下交联 18 h, 过滤并用无菌水洗涤 3 次, 制得

包埋细菌生物炭小球^[25-26]。

1.4 NH₄⁺-N 去除性能试验

模拟 NH₄⁺-N 废水:在去离子水中按比例依次加入 (NH₄)₂SO₄ 2.36 g·L⁻¹、琥珀酸钠 28.55 g·L⁻¹、MgSO₄·7H₂O 1 g·L⁻¹、NaCl 0.12 g·L⁻¹、KH₂PO₄ 0.5 g·L⁻¹、K₂HPO₄ 0.5 g·L⁻¹、FeSO₄·7H₂O 0.03 g·L⁻¹, pH 调节至 7.0~7.3, 115 °C 灭菌 20 min 备用。NH₄⁺-N 浓度为 500 mg·L⁻¹。

分别取生物炭(BC)、吸附菌株生物炭(XF-BC-T/J/L)、包埋菌株生物炭(BM-BC-T/J/L)加入到体积为 100 mL 的 NH₄⁺-N 模拟废水中, 同时设不加任何物质(Blank)、单加菌株(T/J/L)、单加包埋材料(BM)、加生物炭与包埋材料复合体(BM-BC)为对照, 为尽量保证加入模拟废水中物质的量相同, 处理中生物炭、细菌、包埋剂的量均保持一致。将所有处理置于 30 °C 恒温培养箱中培养, 每日摇晃 1 次。分别于 1、3、7、15、30 d 取培养后的模拟废水离心测定溶液中 NH₄⁺-N 浓度, 并利用下列公式计算 NH₄⁺-N 去除率:

$$q = \frac{(C_0 - C_1)}{C_0} \times 100\%$$

式中: q 为 NH₄⁺-N 去除率, %; C_0 为相应天数 Blank 组中 NH₄⁺-N 的浓度, mg·L⁻¹; C_1 为处理后废水中 NH₄⁺-N 的浓度, mg·L⁻¹。

1.5 测定与分析方法

培养后的模拟废水中 NH₄⁺-N 含量用流动分析仪 (Bram+Luebbe Crop, German) 测定; 扫描电镜 (SEM) 结构分析采用 S4800 型扫描电镜 (HIECH, Japan); 傅

里叶红外光谱(FTIR)分析采用 Nicolette IS50 FT-IR (Thermo Fisher, America)测定;生物炭比表面积和孔隙分布采用 Autosorb-iQ (Anton-Paar, Austria)全自动比表面积和孔径分布分析仪测定。数据处理使用 Excel 2016 和 SPSS 20.0,方差分析数据显著性多重比较采用 Duncan 法;作图采用 Origin 2019。

2 结果与分析

2.1 微生物固定化生物炭的表面结构特征

由扫描电镜图(图2)可以看出,BC呈蜂窝状孔隙结构,表面除零星分布一些细碎颗粒外,较为干净平整;而BM-BC表面孔隙结构被覆盖,表面呈褶皱状。从电镜图可以明显看到T、J和L菌分别以饼状、杆状与粒状形态分布于生物炭表面,这说明通过吸附和包埋两种方法,均能将3种菌株加载到生物炭表面,但不同方法细菌附着位置有所不同。吸附法固定脱氮副球菌、假单胞菌和拉乌尔菌(XF-BC-T、XF-BC-J、XF-BC-L)时,细菌主要附着在生物炭孔隙、沟壑、粗糙结构处。包埋法固定3种菌株时,细菌被包埋剂包裹与生物炭合为一体,其中BM-BC-L最为明显。此外,在包埋过程中,生物炭的孔隙结构会被包埋剂等填充、遮盖,中孔和大孔结构因此减少。

2.2 微生物固定化生物炭的比表面积及孔隙结构特征

两种微生物固定方法均显著影响生物炭的比表面积及孔隙结构(表2)。与BC相比,XF-BC-T使生物炭微孔容积(V_{HK})、介孔容积(V_{DFT})和大孔容积(V_{BJH})分别缩小13.5%、19.5%和25.8%,比表面积缩

表2 固定菌株生物炭比表面积和孔隙结构特征参数

Table 2 Specific surface area(SSA) and pore structure parameters of biochar under different treatments

处理 Treatments	BET比表面积 BET specific area/($m^2 \cdot g^{-1}$)	V_{HK} <2 nm/ ($cm^3 \cdot g^{-1}$)	V_{DFT} 0.6~50 nm/ ($cm^3 \cdot g^{-1}$)	V_{BJH} 3~150 nm/ ($cm^3 \cdot g^{-1}$)
BC	186.16	0.074	0.164	0.128
XF-BC-T	154.20	0.064	0.132	0.095
XF-BC-J	175.95	0.070	0.162	0.116
XF-BC-L	269.54	0.106	0.104	0.099
BM-BC-T	23.57	0.009	0.026	0.037
BM-BC-J	16.10	0.006	0.015	0.015
BM-BC-L	6.88	0	0.003	0.014

小17.2%。而XF-BC-J主要降低 V_{HK} 和 V_{BJH} , V_{HK} 和 V_{BJH} 分别减小5.4%和9.4%, V_{DFT} 缩小1.2%,比表面积缩小5.5%。XF-BC-L处理比表面积增至 $269.54 m^2 \cdot g^{-1}$,增幅达45%, V_{HK} 增加43%,但是 V_{DFT} 和 V_{BJH} 分别缩小36.6%和22.6%。

包埋法固定3种微生物均缩小了生物炭的比表面积,减小 V_{HK} 、 V_{DFT} 、 V_{BJH} (表2)。与BC相比,BM-BC-T、BM-BC-J、BM-BC-L的比表面积分别缩小87.3%、91.4%和96.3%; V_{DFT} 分别缩小84.1%、90.9%、98.2%, V_{BJH} 缩小70.1%、88.3%、89.1%。包埋处理下,生物炭微孔几乎被全部封堵。

2.3 微生物固定化生物炭的远红外光谱特征(FT-IR)

吸附和包埋法固定3种微生物生物炭的红外光谱如图3所示。BC的特征峰主要包括3 406.40、2 923.20、1 586.79、1 094.27 cm^{-1} ,分别为羟基(—OH)、亚甲基

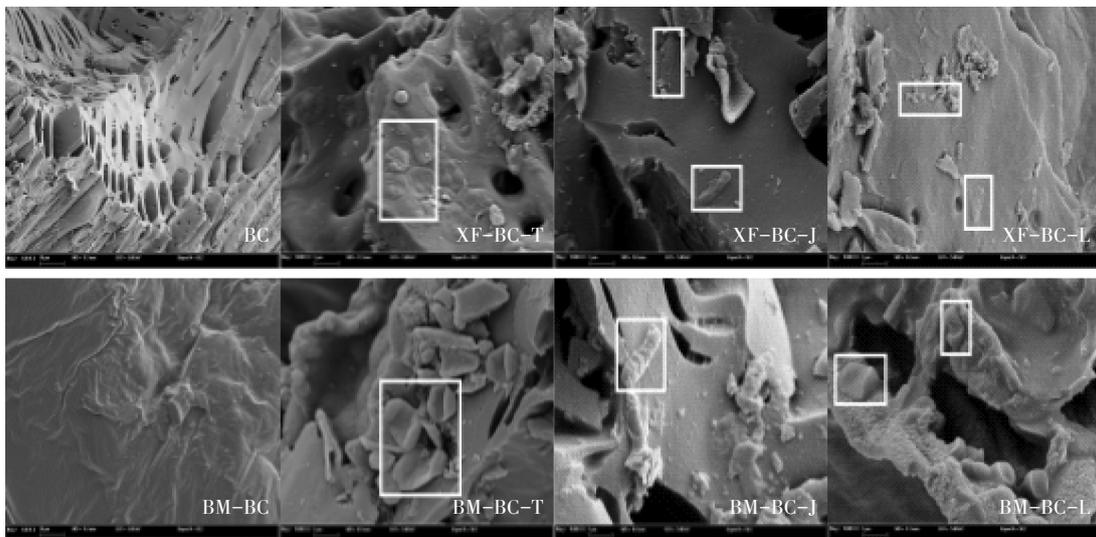


图2 生物炭、微生物固定化生物炭的扫描电镜图($\times 1\ 000, \times 10\ 000$ 倍)

Figure 2 Scanning electron microscopy(SEM) of biochar and immobilized microbial biochar($\times 1\ 000, \times 10\ 000$ times)

(—CH₂—)、羰基(C=O)、醚键(—C—O—C—)的伸缩振动峰。

BM-BC-T、BM-BC-J、BM-BC-L在3 228.05、2 923.20、1 586.79、753.97 cm⁻¹处的特征峰均有所加强,并呈现不同程度的偏移(图3b),并于2 260、1 714、1 427、1 138、663 cm⁻¹附近出现新峰,分别表征B—H伸缩振动、芳香酸酯C=O伸缩振动、双键或羰基相连的—CH₂、C—O伸缩振动峰以及C—H面外弯曲振动。而XF-BC-T、XF-BC-J、XF-BC-L与BC相比,特征峰未发生显著变化,说明仅微生物附着不会影响生物炭表面官能团的结构和组成。

2.4 微生物固定化生物炭对水体NH₄⁺-N去除的作用

随处理时间推进,吸附固定微生物的生物炭对水体NH₄⁺-N的去除率逐渐增加,30 d累计去除率达到97.9%~99.1%,基本完成水体NH₄⁺-N去除(图4a)。吸附的微生物经1~3 d活化,其负载生物炭对水体NH₄⁺-N去除速率显著提高,15 d时,XF-BC-T、XF-BC-J、XF-BC-L对水体NH₄⁺-N去除率分别达到

89.7%、90.1%和72.0%,说明吸附脱氨副球菌和假单胞菌的生物炭响应速率快于吸附拉瓦尔菌的生物炭。

受亲水性包埋材料影响,包埋法固定微生物生物炭对水体NH₄⁺-N的去除率呈初期最高,3~7 d小幅下降,7~30 d再次快速提高的过程(图4b)。处理7 d时包埋法处理的NH₄⁺-N去除率显著低于吸附法处理。至处理15 d时,BM-BC-T、BM-BC-J、BM-BC-L处理的NH₄⁺-N去除率分别达到74.1%、74.2%、68.5%,平均较BM-BC高13~19个百分点,而不同包埋微生物处理间无显著差异。

表3进一步显示,包埋法固定3种菌剂生物炭对水体NH₄⁺-N的去除率在初期最高,其中BM-BC-J对水体NH₄⁺-N的去除率仅1 d即达到24.6%,显著高于单加生物炭和单加菌剂处理。但随后吸附法固定微生物生物炭对水体NH₄⁺-N的去除能力强于包埋法。处理7 d时,XF-BC-T、XF-BC-J和XF-BC-L对水体NH₄⁺-N去除率较相应包埋固定3种微生物生物炭分别高1.16、2.15、3.44倍。此外,虽然吸附和包埋固定

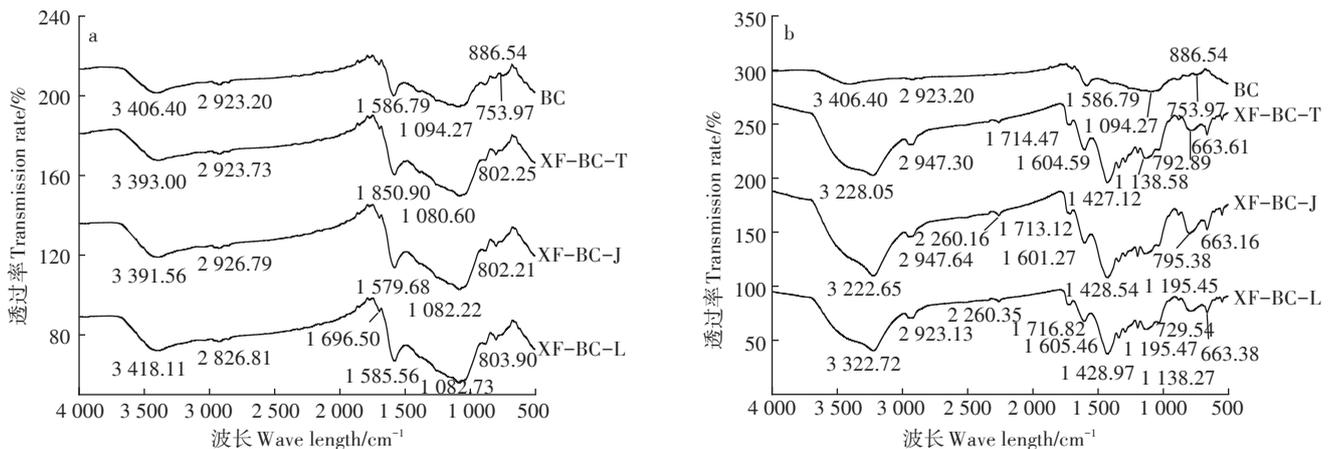


图3 生物炭及微生物固定化生物炭的红外图谱特征

Figure 3 Infrared spectra of biochar biochar and fixed microbial biochar

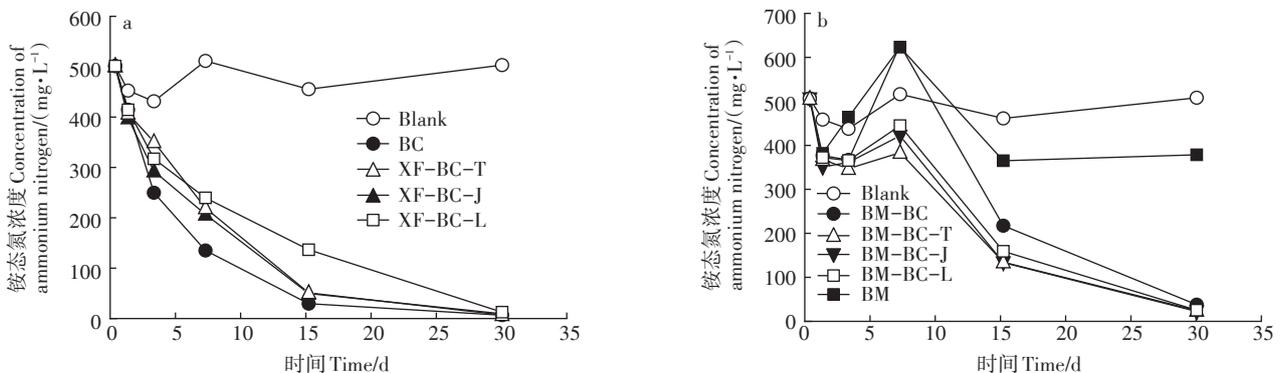


图4 微生物固定化生物炭处理对水体铵态氮(NH₄⁺-N)含量的影响

Figure 4 The variation of ammonia nitrogen(NH₄⁺-N) contents under fixed microbial biochar treatments

微生物生物炭对水体 NH_4^+-N 去除率在第 30 d 达到 96% 以上,但微生物作用周期长、包埋剂阻塞孔隙等作用对水体 NH_4^+-N 去除的影响,仍需进一步探索。

3 讨论

生物炭对水体 NH_4^+-N 等离子的吸附性能,通过丰富的孔隙结构、较大的比表面积及表面官能团实现^[27-29]。本研究利用花生壳生物炭为载体,吸附和包埋固定 3 种脱氮菌剂,对水体 NH_4^+-N 去除率为 96.8%~99.1%,超过固定微生物的稻壳生物炭 85% 的最大吸附效率^[18]。与固定微生物芦苇生物炭和秸秆生物炭的 96.3% 和 95% 相似。鉴于固定原理不同,吸附和包埋法固定微生物生物炭的表面结构特征差异显著。吸附法主要利用生物炭孔隙、表面官能团、静电作用力等实现微生物固定,对生物炭表面结构特征影响较小^[30-31],而包埋法则利用亲水包埋剂的“黏合”作用将微生物和生物炭组合为“一体”,加入饱和硼酸- CaCl_2 溶液,形成生物炭-包埋剂固态小球,对生物炭及细菌表面结构特征的影响较大。包埋剂封堵了生物炭的部分孔隙、填平沟槽,使生物炭表面变得较为平整(图 2),因此,包埋处理后的生物炭比表面积和微孔体积大幅降低,减少了生物炭对离子的吸附位点,导致 3~7 d 时利用包埋法处理的 NH_4^+-N 去除率显著低于利用吸附法的处理。

根据前期报道,加载菌体和包埋剂通过孔隙填充、表面驻留及遮掩等改变生物炭孔径和比表面积。本研究中, XF-BC-T 和 XF-BC-J 均减小生物炭表面

孔隙(微孔、介孔和大孔)和比表面积,这与 Qi 等^[8]的研究一致,原因在于该类微生物更易附着于生物炭表面沟壑和孔隙结构处,从而减小孔隙体积和比表面积。与 BC 相比, XF-BC-L 具有更大的微孔体积和比表面积,这可能是因为拉乌尔菌本身比表面积较大,更易分布于生物炭表面和较大孔隙结构中,在减小介孔和大孔孔隙度的同时,亦会因为菌体较大相互拥挤而产生微孔结构^[7]。结合表 2 发现,虽然 XF-BC-L 中生物炭微孔和比表面积增加,但 NH_4^+-N 的去除率并没有提高,说明由吸附拉乌尔菌引起的生物炭微孔和比表面积的改变对水中 NH_4^+-N 去除效果没有显著影响。这与 Taghizadeh 等^[31]的研究一致,去除水中 NH_4^+-N 时,生物炭的化学吸附比物理吸附效果更显著。

Li 等^[27]利用共聚物水凝胶去除废水中重金属离子的研究表明,凝胶多孔结构在离子吸附过程中主要通过官能团提供吸附位点。本研究利用亲水性包埋材料固定微生物,包埋固定法制备的生物炭除了含有大量的 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CH}_2$ 、羰基 $\text{C}=\text{O}$ 等官能团外,还引入了 $\text{C}-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2$ 、 $\text{B}-\text{H}$ 、 $\text{C}-\text{O}$ 和芳香酸酯 $\text{C}=\text{O}$ 等新官能团,这主要由包埋材料带入,前期研究表明海藻酸钠、聚乙烯醇以及交联剂硼酸中均带有上述基团^[32-33]。同时生物炭表面含有 $-\text{OH}$ 、 $-\text{C}=\text{O}$ 等官能团,可通过形成氢键、氧化还原反应以及离子电荷等作用吸附溶液中的 NH_4^+-N ^[34-35],因此生物炭自身也表现出较高的去除能力。

此外,与 BC 不同,微生物负载生物炭对水体 NH_4^+-N 的去除效率还与本身微生物活性紧密相关。

表 3 不同处理对铵态氮(NH_4^+-N)的去除率(%)

Table 3 Removal rates of ammonium nitrogen(NH_4^+-N) under different treatments(%)

处理 Treatments	1 d	3 d	7 d	15 d	30 d
BC	8.4±2.1f	42.6±0.5a	74.3±1.1b	94.5±2.2a	95.9±1.7bc
BM	17.5±0.8b	-1.4±2.5e	-21.6±1.0g	21.8±0.7d	26.0±1.7e
T	14.2±1.1c	36.2±1.9b	90.5±3.9a	96.1±0.1a	97.0±0.1ab
J	19.5±1.0b	44.7±0.9a	95.9±1.3a	96.0±0.1a	80.1±1.1d
L	13.5±1.0cd	35.0±1.5bc	91.2±1.2a	96.0±0.1a	96.4±1.9bc
XF-BC-T	10.5±1.3def	19.0±1.6d	57.7±1.8c	89.7±0.3a	98.5±0.2ab
XF-BC-J	12.2±1.7cde	32.5±0.5bc	60.1±1.5c	90.1±0.6a	99.1±0.0a
XF-BC-L	9.5±0.4ef	30.1±1.7c	64.0±1.8bc	72.0±1.2b	97.9±0.9a
BM-BC	18.6±1.5b	17.0±1.3d	1.0±0.7f	55.3±0.9c	94.2±1.1c
BM-BC-T	20.7±1.2b	21.7±0.5d	26.7±1.3d	74.1±0.5b	96.9±0.3ab
BM-BC-J	24.6±0.7a	18.3±1.5d	19.1±0.8de	74.2±1.1b	97.3±0.7a
BM-BC-L	19.7±1.3b	17.2±1.4d	14.4±0.7e	68.5±1.6b	96.8±0.2ab

注: 同列不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: The different lowercase letters in a column indicate significant differences among treatments at 0.05 levels.

本研究吸附法固定微生物生物炭在投入水体初期(1~3 d),对水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率较包埋法低,这是因为菌体被固定后,在初期(1~3 d)处于未激活状态。而包埋固定可以利用包埋材料进行吸附,但在快速达到吸附饱和后(0~1 d),对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除效果逐渐降低,这和Li等^[36]和Lou等^[37]的研究结果一致。3 d后细菌逐渐活化,利用吸附法固定的细菌与外部环境直接接触,优先利用水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 作为N源,开始生长繁殖,去除能力快速升高^[38-39]。因此3~7 d时吸附法固定微生物生物炭对水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除能力大幅度提升,到7 d高于包埋法2~3倍。包埋法则需要水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 进行离子扩散到达小球内部才能被细菌利用,因此不利于菌株活化和生长,且包埋过程中选用海藻酸钠作为添加剂,虽然一定程度上改善了包埋小球的表面性能^[38],但海藻酸钠的包埋使细菌无法获取足够的营养,底物难以扩散^[39-40],因此进一步降低了3~7 d包埋固定微生物生物炭对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效率。7 d后,菌体从小球内部释放出来,并大量繁殖,吸收代谢水中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,去除效率快速升高^[35]。

本研究制备的固定微生物生物炭可改变孔隙结构和比表面积,引入更多官能团,影响生物炭 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 净化功能。但所用材料在实际应用中还存在周期长、成本较高等不足,后期也需要对其环境安全影响进行研究。

4 结论

(1) 吸附法和包埋法均能将pd01脱氮副球菌(T)、假单胞菌d4-1(J)和拉乌尔菌(L)固定在生物炭表面。

(2) 吸附法固定T和J,使生物炭微孔、介孔容积减小,同时也缩小了比表面积;吸附固定L后,生物炭比表面积和微孔容积增大,但介孔和大孔容积减小。而包埋法固定微生物则使生物炭大孔、介孔以及比表面积都大幅降低,微孔几乎被全部封堵,同时引入C-H、-CH₂和芳香酸酯C=O等新官能团。

(3) 吸附法和包埋法制得的微生物生物炭均能有效去除水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,30 d $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率均在96.8%以上。相对包埋法,吸附法更利于负载微生物的生长,活化后微生物生物炭去除水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 速率显著高于包埋法。

参考文献:

[1] Cheng Z W, Chen J M, Chen D Z, et al. Biodegradation of methyl *Tert*-

- butyl ether in a bioreactor using immobilized *Methylotium petroleiphilum* PM1 cells[J]. *Water Air & Soil Pollution*, 2011, 214(1):59-72.
- [2] Klein J, Ziehr H. Immobilization of microbial cells by adsorption[J]. *Journal of Biotechnology*, 1990, 16(1/2):1-15.
- [3] 刘志文,陈琛,彭晓春,等. 磁性壳聚糖凝胶球固定厌氧铁氨氧化菌对废水氨氮去除的影响[J]. *环境科学*, 2018, 39(10):211-221. LIU Zhi-wen, CHEN Chen, PENG Xiao-chun, et al. Effect of magnetic chitosan hydrogel beads with immobilized feammox bacteria on the removal of ammonium from wastewater[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(10):211-221.
- [4] 史佳媛. 脱氮优势菌群筛选及其固定化应用于河道底泥修复[D]. 南京:东南大学, 2016. SHI Jia-yuan. Denitrification bacteria and the application in sediment remediation by using the immobilized technology[D]. Nanjing:Southeast University, 2016.
- [5] Bouwer H. Agricultural contamination: Problems and solutions[J]. *Water Environ Techno*, 1989, 2(1):292-297.
- [6] Sun T, Miao J, Saleem M, et al. Bacterial compatibility and immobilization with biochar improved tebuconazole degradation, soil microbiome composition and functioning[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 398(5):122941.
- [7] Samonin V V, Elikova E E. A study of the adsorption of bacterial cells on porous materials[J]. *Microbiology*, 2004, 73(6):696-701.
- [8] Qi X, Guo J, Chen X, et al. Application of mixed bacteria-loaded biochar to enhance uranium and cadmium immobilization in a co-contaminated soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 401(5):123823.
- [9] 况金蓉,冯道伦,龚文琪. 固定化细胞技术在废水处理中的应用[J]. *武汉理工大学学报*, 2001, 23(11):88-91. KUANG Jin-rong, FENG Dao-lun, GONG Wen-qi. Application of immobilized cell technique in wastewater treatment[J]. *Journal of Wuhan University of Technology*, 2001, 23(11):88-91.
- [10] 张建新. 固定化硝化反硝化菌对富营养化水体原位脱氮技术的研究[D]. 天津:天津大学, 2007. ZHANG Jian-xin. Denitrification of eutrophic water by in situ immobilized nitrobacteria-denitrifying bacteria[D]. Tianjin:Tianjin University, 2007.
- [11] Luo L P, Huang Q, Luo Y L, et al. Adsorption and degradation in the removal of nonylphenol from water by cells immobilized on biochar[J]. *Chemosphere*, 2019, 228(8):676-684.
- [12] Shin D C, Yoon S C, Park C H, et al. Biological characteristics of microorganisms immobilization media for nitrogen removal[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2019, 32(9):100979.
- [13] 朱峰,潘涌璋,洪利明,等. 多孔矿物载体厌氧固定床处理有机废水研究[J]. *环境工程学报*, 2011, 5(1):108-112. ZHU Feng, PAN Yong-zhang, HONG Li-ming, et al. Treatment of organic wastewater in anaerobic fixed bed reactor with porous mineral carriers[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2011, 5(1):108-112.
- [14] 肖尧,吴晨捷,蒋庆肯,等. 固定化 *Acinetobacter* sp. T1 细菌处理河道氨氮污染的研究[J]. *生态与农村环境学报*, 2019, 35(10):1338-1345. XIAO Yao, WU Chen-jie, JIANG Qing-ken, et al. Study on the treatment of urban polluted water by immobilized *Acinetobacter* sp. T1 bacteria[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2019, 35(10):1338-1345.
- [15] 汪玉. 黏土矿物固定化微生物对土壤中阿特拉津的吸附与降解研究[D]. 安徽:安徽农业大学, 2009. WANG Yu. Adsorption and bio-

- degradation of atrazine in soil by clay minerals immobilized a degradation bacterium[D]. Anhui: Anhui Agricultural University, 2009.
- [16] Johannes L, Rillig M C, Janice T, et al. Biochar effects on soil biota: A review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(9): 1812–1836.
- [17] 郑华楠, 宋晴, 朱义, 等. 芦苇生物炭复合载体固定化微生物去除水中氨氮[J]. 环境工程学报, 2019, 13(2): 310–318. ZHENG Hua-nan, SONG Qing, ZHU Yi, et al. Removing ammonia nitrogen from wastewater by immobilized microorganism with reed biochar composite carrier[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2019, 13(2): 310–318.
- [18] 赏国锋, 张涵, 沈逸菲, 等. 生物炭固定化硝化菌去除水样中氨氮的研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2014, 32(5): 44–47. SHANG Guo-feng, ZHANG Han, SHEN Yi-fei, et al. Removal of ammonia nitrogen in aqueous samples by biochar immobilized nitrifying bacteria[J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science)*, 2014, 32(5): 44–47.
- [19] 袁敏, 刘晓冰, 唐美珍, 等. 生物炭固定菌强化人工湿地对低温污水中氮素去除的模拟研究[J]. 生态与农村环境学报, 2018, 34(5): 463–468. YUAN Min, LIU Xiao-bing, TANG Mei-zhen, et al. Study on removal of nitrogen from low temperature sewage by pseudomonas flava WD-3 immobilized biochar in constructed wetland[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2018, 34(5): 463–468.
- [20] 陈义轩, 宋婷婷, 方明, 等. 四种生物炭对潮土土壤微生物群落结构的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(2): 394–404. CHEN Yi-xuan, SONG Ting-ting, FANG Ming, et al. The effect of four biochar on the structure of microbial communities in alluvial soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(2): 394–404.
- [21] 富丽, 徐先英, 付贵全, 等. 五种生物质炭的特性分析[J]. 干旱区资源与环境, 2019, 33(9): 204–210. FU Li, XU Xian-ying, FU Gui-quan, et al. Characteristic analysis of five biochars[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2019, 33(9): 204–210.
- [22] Food and Agriculture Organization. FAO statistical database.[DB/OL] [2020-11-26]. <http://faostat.fao.org/>
- [23] 黄华, 王雅雄, 唐景春, 等. 不同烧制温度下玉米秸秆生物炭的性质及对萘的吸附性能[J]. 环境科学, 2014, 35(5): 1884–1890. HUANG Hua, WANG Ya-xiong, TANG Jing-chun, et al. Properties of maize stalk biochar produced under different pyrolysis temperatures and its sorption capability to naphthalene[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(5): 1884–1890.
- [24] 王莹, 汪航, 曾日中, 等. 海藻酸钠-聚乙烯醇交联微球制备参数优化研究[J]. 热带作物学报, 2015, 36(12): 2254–2259. WANG Ying, WANG Hang, ZENG Ri-zhong, et al. Optimization of producting immobilized ball by sodium alginate and polyvinyl alcohol[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2015, 36(12): 2254–2259.
- [25] 李峰, 吕锡武, 严伟. 聚乙烯醇作为固定化细胞包埋剂的研究[J]. 中国给水排水, 2000, 16(12): 14–17. LI Feng, LÜ Xi-wu, YAN Wei. Study on polyvinyl alcohol (PVA) as entrapping agents for immobilizing microbial cell[J]. *China Water & Wastewater*, 2000, 16(12): 14–17.
- [26] 戚鑫, 陈晓明, 肖诗琦, 等. 生物炭固定化微生物对U、Cd污染土壤的原位钝化修复[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(8): 1683–1689. QI Xin, CHEN Xiao-ming, XIAO Shi-qi, et al. In situ remediation of U- and Cd-contaminated soils by immobilized microorganisms and biochar[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(8): 1683–1689.
- [27] Li Z K, Wang Y M, Wu N M, et al. Removal of heavy metal ions from wastewater by a novel HEA/AMPS copolymer hydrogel: Preparation, characterization, and mechanism[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(3): 1511–1525.
- [28] Jyothi M S, Angadi V J, Kanakalakshmi T V, et al. Magnetic nanoparticles impregnated, cross-linked, porous chitosan microspheres for efficient adsorption of methylene blue from pharmaceutical waste water [J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2019, 27(11): 2408–2418.
- [29] Mayer P, Hilber I, Gouliarmou V, et al. How to determine the environmental exposure of PAHs originating from biochar[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(4): 1941–1948.
- [30] Bayat Z, Hassanshahian M, Cappello S. Immobilization of microbes for bioremediation of crude oil polluted environments: A mini review [J]. *Open Microbiology Journal*, 2015, 31(9): 48–54.
- [31] Taghizadeh T A, Clough T J, Sherlock R R, et al. A wood based low-temperature biochar captures NH₃-N generated from ruminant urine-N, retaining its bioavailability[J]. *Plant and Soil*, 2012, 353(1): 73–84.
- [32] 李佳佳. 聚乙烯醇复合材料的制备及其性能研究[D]. 兰州: 西北师范大学, 2014. LI Jia-jia. Preparation and performance of poly(vinylalcohol) composites[D]. Lanzhou: Northwest Normal University, 2014.
- [33] Kizito S, Wu S B, Kirui K W, et al. Evaluation of slow pyrolyzed wood and rice husks biochar for adsorption of ammonium nitrogen from pig-gery manure anaerobic digestate slurry[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, 505(10): 102–112.
- [34] Sun X, Zhong T, Zhang L, et al. Reducing ammonia volatilization from paddy field with rice straw derived biochar[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 660(12): 512–518.
- [35] Liu S H, Lin H H, Lai C Y, et al. Microbial community in a pilot-scale biotrickling filter with cell-immobilized biochar beads and its performance in treating toluene-contaminated waste gases[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2019, 144: 104743.
- [36] Li, F, Mao W J, Li X, et al. Characterization of microcystis aeruginosa immobilized in complex of PVA and sodium alginate and its application on phosphorus removal in wastewater[J]. *Journal of Central South University*, 2015, 22(1): 95–102.
- [37] Long Z E, Huang Y H, Cai Z L, et al. Immobilization of acidithiobacillus ferrooxidans by a PVA-boric acid method for ferrous sulphate oxidation[J]. *Process Biochemistry*, 2004, 39(12): 2129–2133.
- [38] 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(1): 147–157.
- [39] Lin H Y, Chen Z L, Megharaj M, et al. Biodegradation of TNT using Bacillus mycoides immobilized in PVA-sodium alginate-kaolin[J]. *Applied Clay Science*, 2013, 83/84(10): 336–342.
- [40] Aller M F. Biochar properties: Transport, fate, and impact[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2016, 46(7): 1183–1296.