

固定化微生物技术在受污养殖水体和水华水域生物修复中的应用

杨旭俊¹ 蔡冠竟¹ 郑伟¹ 俞志明² 郑天凌^{1*}

- (1. 滨海湿地生态系统教育部重点实验室 厦门大学生命科学学院 福建 厦门 361005)
(2. 中国科学院海洋生态与环境科学重点实验室 中国科学院海洋研究所 山东 青岛 266071)

摘要: 固定化微生物技术作为一种新型的生物修复技术, 具有高效、稳定、生物安全性较高等特点, 已经广泛应用于各种污染水体的净化修复之中, 也包括受污染日益严峻的近海养殖水体。综述从固定化微生物技术的出现和应用出发, 对不同固定方法的优劣及其所擅长降解的污染物类型进行对比, 对不同载体的特点进行分析, 总结了固定化微生物技术在近海养殖水体污染修复的研究概况, 并对当前该技术应用存在的问题进行分析和未来研究的方向进行展望。

关键词: 固定化微生物技术, 近海污染水体, 海水养殖, 有害藻华, 生物修复

Application of immobilized microorganism in bioremediation of polluted water involved in mariculture and harmful algal blooms

YANG Xu-Jun¹ CAI Guan-Jing¹ ZHENG Wei¹ YU Zhi-Ming² ZHENG Tian-Ling^{1*}

- (1. Key Laboratory of the Ministry of Education for Coastal and Wetland Ecosystems, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361005, China)
(2. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, Shandong 266071, China)

Abstract: Immobilized microorganism is newly applied in bioremediation, which is high efficient, stabile and safe. Recently, it has been widely used in the purification of various polluted water, including the increasingly serious pollution of the offshore aquaculture water. This paper we first introduce the method of immobilized microorganism technology and the selection of carrier. Then we summarize the research advance in application of immobilized microorganism technology in the seriously polluted offshore aquaculture water. Finally we analyze the current problems existing in the application of the technology and discuss the future research needs.

Keywords: Immobilized microorganism technology, Pollution of the offshore water, Mariculture, Harmful algal blooms, Bioremediation

基金项目: 海洋公益性行业科研专项经费项目(No. 201305016, 201305022); 国家基金委-山东省联合基金项目(No. U1406403)

*通讯作者: ✉: microzh@xmu.edu.cn

收稿日期: 2014-07-23; 接受日期: 2014-10-23; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-11-03

20 世纪 90 年代以来, 我国近海的水产养殖业发展迅速, 集约化高密度的养殖模式虽然带来了较高的养殖产出, 却给养殖水体带来了大量的残留饲料和排泄物, 导致水体富营养化, 甚至引起近海水华(Algal blooms)的暴发, 对近海水域的生态平衡造成了严重的破坏。应用于近海污染水体的常规修复方法往往会引入新的物质, 而以微生物修复为主的生物修复方式具有良好的生态安全性, 越来越受到学者们的关注^[1-3]。

固定化微生物技术作为生物修复的重要技术之一, 采用吸附、包埋等方法将特定功能的微生物富集于特定的载体材料上^[1], 利用微生物对污染水体中过量的营养物质的吸收降解, 实现对水体的净化, 防控近海藻华的暴发。该技术最早被应用于大肠杆菌的固定化, 后被广泛应用于工业发酵和废水处理中, 已形成一系列较为完备的理论和方法。与利用非固定化状态的微生物进行生态修复相比, 固定化载体既为菌体提供了必要的附着和保护的空间, 又隔离了菌体与污染生境的直接接触, 避免引入微生物进行修复可能造成的新的生态危害。由此可见, 对具有高效降解污染物质能力的微生物进行固定化并制成一定产品, 投加到出现污染的近海养殖水体中, 既能实现对污染水体的有效修复, 又可保证避免了新的生态危害, 具有重要的应用价值。

1 固定化方法

用于生物修复的微生物固定方法主要包括包埋法、吸附法等物理方法和共价结合法、交联法等化学方法。

1.1 包埋法

包埋法是最为常用的固定化方法, 是利用高聚物形成凝胶时将微生物细胞包埋在其内部, 使微生物细胞在多孔载体内部得到扩散并无法漏出, 而其他小分子底物和代谢产物能自由进出这些多孔或凝胶膜。常见的方法有: 海藻酸钙包埋法、聚乙烯醇包埋法和聚丙烯酰胺包埋法等。包埋法的主要优点是技术简单容易操作, 固定过程对微生物细胞的

活性影响较小, 高分子载体密度较低, 易于流动, 制备成形的固定化小球机械强度较高。但包埋材料对进出的底物和溶氧的扩散具有阻碍作用, 不适用于对大分子污染物的处理^[4]。因此, 在实际应用中, 包埋法的应用较广, 作用时间较广, 常用于小分子污染物的降解。

包埋法是本课题组进行菌株固定化常用的方法, Lin 等^[5]在优化培养抑藻菌 *Alteromonas* sp. DH46 的基础上, 利用海藻酸钠-微孔淀粉复合包埋法对其进行固定化(图 1), 并将制备的固定化微球应用于抑藻实验中, 实现对塔玛亚历山大藻生长的抑制^[6]。该方法在学术界的应用较为广泛: Chang 等^[7]将聚乙烯醇应用到废水降解菌株的包埋固定化中, 考察所得的固定化产物在废水处理过程中的物理稳定性, 以及活性炭添加对其溶解度的影响。熊小京等^[8]利用聚乙烯醇-硼酸包埋固定化 EM (Effective microorganisms) 菌的方法, 在好氧、批式运行的条件下, 以贝壳粉末作为添加剂, 使包埋后的固定化产物对水体中的氨氮去除率达到了 90% 以上; 张晨等^[9]利用海藻酸钠、聚乙烯醇对异养硝化好氧反硝化菌菌株 *Pseudomonas* sp. qy37 进行包埋, 制成了 SA、PVA、PVA-SA、PVA-SA-活性炭和 PVA-SA-纳米材料小球几种不同类型的包埋固定化载体进行脱氮效果的研究, 发现聚乙烯醇和海藻酸钠比值为 10:1 时具有最佳的脱氮效果。

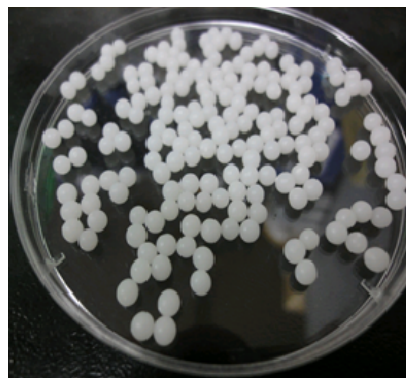


图 1 海藻酸钠-微孔淀粉包埋固定化凝胶小球
Figure 1 The gel beads immobilized by alginate-microporous starch

1.2 吸附法

吸附法也是常用的固定化方法,是利用微生物所具有的可吸附到固体物质表面或其他细胞表面的能力,将微生物吸附在附加剂表面的方法。一般又分为物理吸附和离子吸附两种类型:物理吸附是利用硅胶、活性炭等具有高吸附能力的材料将微生物吸附其表面实现固定化;离子吸附是利用微生物在解离状态下因静电力的作用而固定于带有相反电荷的离子交换剂上。吸附法对微生物无毒性,易与外界物质接触,传质效果好,但由于载体与微生物的结合力较弱,可固定生物量小,所以反应体系的稳定性较差,不利于长期反应^[10-11],在实际应用中主要用于对大分子污染物的应急修复。

吸附法的优点使其具有较高的应用价值,本课题组周月霞^[12]将聚氨酯泡沫剪成立方体,灭菌后与杀藻菌 SP48 进行共培养,菌体被成功吸附到泡沫表面,将固定化小块取出放置在超净台内风干,加入到培养至指数生长期的塔玛亚历山大藻培养液中,以添加相应尺寸的空白小块作对照,培养 24 h 后计算杀藻率,最高杀藻率达 96.2%以上(图 2)。该方法为近海养殖污染水体有害藻华的生物防治提供了重要的技术指导,该方法也已获得国家发明专利^[13]。Khondee 等^[14]利用壳聚糖吸附剂固定化菌株 *Sphingobium* sp. P2 在气升式生物反应器中对废水中存在的润滑剂成分进行处理,使得洗车废水中含 25–200 mg/L 总石油碳氢化合物 200 h 后的降解率稳定在 85%左右,化学需氧量降 73%左右。王琳等^[15]利用硅藻土作为固定化载体对具有降解邻苯二甲酸二丁酯(DBP)能力的微生物进行固定化,在不同的 DBP 初浓度、振荡速度、pH 值、温度及重金属化合物存在的条件下对 DBP 进行降解实验和动力学分析,当 DBP 初浓度为 100–500 mg/L 范围内,吸附固定化微生物对 DBP 的降解均保持较高的活性,24 h 降解率可达 80%以上;叶海等^[16]利用聚氨酯泡沫作为吸附载体,对产紫青霉 *Penicillium purpurogenum* Li-3 菌株进行固定,优化得出泡沫颗

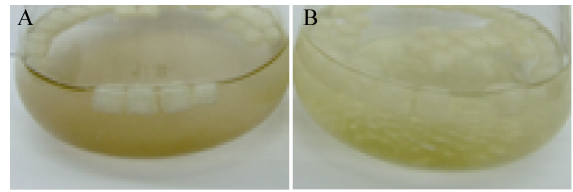


图 2 聚氨酯泡沫固定 *Pseudoalteromonas* sp. SP48 的杀藻效果

Figure 2 Algicidal effect of *Pseudoalteromonas* sp. SP48 immobilized on PUF

Note: A: Control; B: Treatment.

粒尺寸为 6 mm、加入量为 2% (质量分数,聚氨酯泡沫与产酶诱导培养基质量的比值)时的单葡萄糖醛酸基甘草次酸(Glycyrrhetic acid 3-O-Mono- β -D-Glucuronide, GAMG)产量至发酵终点(甘草酸的浓度降至 0.5 g/L 时视为发酵终点)时一直维持在 1.84 g/L。

1.3 交联法

交联法属于化学方法,采用具有 2 个或 2 个以上官能基团的试剂(如戊二醛、乙醇二异氰酸酯等)与微生物细胞表面的反应基团发生反应,使微生物细胞之间相互连接形成网状结构,从而实现细胞的固定^[4]。这种方法由于网状结构的形成获得了良好的稳定性,在长期的反应体系中菌体不易脱落。但反应过程中共价键的形成对微生物细胞的活性影响较大,与酶蛋白的交联作用可能引起酶的失活^[2]。Bai 等^[17]以碳酸钙为成孔剂和环氧氯丙烷为化学交联剂制备大孔聚乙烯醇载体(CPVA)对硝化细菌进行包埋,获得了均一的孔径和较高的理化稳定性,并使其表面积和扩散系数增大,可以固定更多的菌体,达到更好的固定化效果。

1.4 共价结合法

共价结合法也属于化学方法,其原理是利用固相载体材料表面的反应基团与微生物细胞表面的功能团之间形成化学共价键,实现对细胞的固定。该方法与交联法相似,具有较高的稳定性,其缺点也是对细胞活性的负面影响^[4]。Liu 等^[18]利用自主

专利的功能载体表面具有的-OH、-NH₂、-COOH、-CH₂以及-CHOCH₂等功能基团实现对微生物细胞的固定,在厌氧-好氧微生物系统中实现对六硝基芪的处理。

1.5 其他固定方法

除以上几种较常见的方法,还有如包络法、自身固定法等方法,以及将多种方法结合起来形成的复合方法^[19]。

包络法是以人工合成生物相容性较好的聚丙烯酸酯共聚物作为载体,使载体表面成膜,内部可以较好地聚集微生物细胞,克服包埋法的低传质效率和吸附法的低稳定性。

自身固定法是一种全新的固定化概念,也被称之为无载体固定法,是利用微生物具有的自絮能力,使其形成颗粒使微生物产生自固定,这种方法保证了微生物形成适宜的生态环境,有利于微生物代谢之间的协调。白凤武^[20]以利用玉米为原料的无载体固定化酵母细胞酒精连续发酵工艺流程为例,介绍了这一技术在工业化上成功应用的实例,并对比通常的载体固定化细胞技术分析其优缺点,从而系统提出了无载体固定化细胞技术的概念。

复合固定法是将两种或多种固定化微生物方法结合起来,在应用上获得单一方法所无法达到的性能或处理效果,从而提高了反应体系的效率,克服单一方法的不足,主要包括吸附-包埋法、包埋-交联法、聚集-交联法以及三法合用的吸附-包埋-交联法等。以活性炭作为吸附剂,以聚乙烯醇作为包埋剂的复合法是最常见的吸附-包埋法;以海藻酸钠为载体,戊二醛为交联剂是较常见的包埋-交联法。彭云华^[21]探讨了采用固定化微生物技术净化高浓度有机废水的多种方法,实验结果表明利用海藻酸钙包埋法与戊二醛交联剂联用的复合固定法,具有较强的机械强度,较长的使用周期,使得被固定细胞的脱氢酶活力相对稳定,有利于废水生物处理领域的推广应用。

Nedal 等^[22]利用活性炭、粘土和藻酸盐单独或组合固定化苯酚降解微生物,发现粘土和活性炭的

组合固定化可提高对高浓度苯酚的降解效率。李婧等^[23]利用玉米秸秆“吸附-包埋-交联”复合固定化方法固定多环芳烃降解菌 GY2B 和 GP3B,两种菌的混合固定化小球对芪的吸收率在 5 d 内达到 98.2%;李婷等^[24]采用循环冷冻-解冻结合硼酸法,在聚乙烯醇固定化载体中加入海藻酸钠、聚羟基丁酸酯和粉末活性炭制成复合载体包埋间甲酚优势降解菌 *Lysinibacillus cresolivorans*,并对载体的结构、稳定性和扩散性进行研究;黄凤萍等^[25]利用浸渍方法将聚乙烯醇(PVA)涂敷于多孔碳化硅板表面制备负载诱导膜的多孔材料,借助载体结合法将活性污泥固定在板上,通过检测固定微生物降解有机污染物后化学需氧量(COD)的变化来表征不同条件下 PVA 诱导膜上微生物的固定量,从结果可以看出 PVA 对微生物的固定有一定的诱导作用,PVA 的 pH 值和浓度不同,微生物的固定情况也不同,微生物在 PVA 诱导膜固定的适宜条件为 pH 7.0,浓度为 5%。

2 载体的选择化

固定化微生物技术中所选用的载体对于固定化效果有重要的影响,载体的类型和结构等各方面因素根据不同的固定化需求和微生物种类而有所差异,不同载体的优劣各有不同。理想的载体应该不溶于水、抗生物降解、机械强度高、扩散性好、固定化过程操作简单、微生物细胞的截留量大、载体对细胞无毒性作用、传质效果好及价格低廉等^[11]。

固定化微生物中使用到的载体主要分为无机载体、有机载体和复合载体三大类。

无机载体常见的有活性炭、石英砂、陶粒、硅藻土等,这些材料表面积大,利于传质,使固定微生物细胞可以获得较好的营养,但材料的无机特点不利于细胞的固定,固定效果也较差^[10]。张晨等^[9]利用碳纳米管、多孔陶粒、活性炭和石墨 4 种材料作为吸附固定化载体吸附包埋脱氮菌株 qy37,研究对人工废水的脱氮效果,其中碳纳米材料的效果最佳,脱氮率高达 94%。

有机载体又可分为天然有机载体和人工合成有机载体：天然有机载体如海藻酸钙、琼脂和壳聚糖等，毒性小，传质效果好，但机械强度相对较低，不利于成品的长时间保存；人工合成的有机载体包括合成高分子载体聚乙烯醇、聚丙烯酰胺等，人工合成载体固定效果好，机械强度大，但传质效果较差，不利于保持细胞活性^[10]。Shi 等^[26]利用一种多孔薄片状材料对微藻进行固定化，应用在双系统层中对废水进行处理，氮磷降解率达到 70%–90%。Wang 等^[27]利用海藻酸钠和聚乙烯醇作为载体对铜绿微囊藻进行固定化，应用到对畜禽养殖废水的处理中，在降解游离态氨(NH₄⁺-N)、总磷(TP)以及重铬酸盐指数(CODCr)上时获得了显著的效果。

复合载体是将有机载体和无机载体相结合的方法，主要运用于复合固定法中。Pai 等^[28]将活性炭、海藻酸钙的复合材料对菌体进行包埋，提高了菌体降解苯酚废水的能力；茆云汉等^[29]采用聚乙烯醇和海藻酸钠作为复合载体，对污水处理厂曝气池活性污泥进行固定化，制备出具有良好机械稳定性和生物活性的活性污泥颗粒，使其使用寿命提高到 30 d 以上。

在实际应用中，载体的选择需要对所需固定的菌株和菌株的应用进行充分的考量，力求选取的载体对相关菌株的固定能够较长时间地保证其细胞活性，获得更为持久的效果。

3 固定化微生物技术在受污染养殖水体和水华水域生物修复中的应用

固定化微生物技术由于其高效、稳定和生物浓度大的特点，成为了现代环境污染生物修复的重要技术手段，在受污染水体的净化以及水华水域对藻类的控制方面，成为重要的研究热点。

受污染的养殖水体最明显的特点是其氮磷含量过高，因此该领域的关注点主要集中在利用固定化微生物技术去除过量的氮磷。邹万生等^[30-31]采用 2% 的海藻酸钠与 8% 的聚乙烯醇按 2:100 的体积比混合作为固定剂，将小球藻与有效微生物菌群(EM

菌)、小球藻与活性污泥、小球藻与 EM 菌及活性污泥在同等条件下进行固定化处理，制作成藻菌胶球，并分析了 3 种藻菌胶球对珍珠蚌养殖废水中 TN 和 TP 的去除效果以及光照度和温度对三者脱氮除磷的影响，以及 3 种藻菌胶球对氮磷的去除效果以及相应过程中光照强度、温度的影响，并拟建了温度(T)、pH、光照强度(I)、溶解氧(DO)和填充率这五因素与氨氮去除率(AR)之间关系的模型，获得了最佳去氨氮组合为：温度 30 °C、pH 7.0、光照强度 6 000 lx、溶解氧 5.0 mg/L 和填充率 10%。伍华雯等^[32]利用陶粒对巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)和弯曲芽孢杆菌(*B. flexus*)进行固定化，并以室内水族缸模型进行水的净化处理实验，研究了固定化载体、空载体以及大型水生植物粉绿狐尾藻在单独或联合的条件下对氮素的处理效果，发现固定化载体和粉绿狐尾藻联合使用对水体的氮素和 COD 的去除率较高，水体净化效果较为显著，该研究也为生态的水体净化模型提供了新的方案和技术指导。

由于不同类型固定化材料的选择对养殖水体的净化效果差异明显，因此材料的选择也是研究的热点。郑忠明等^[33]利用普通活性炭、生物活性炭、沸石和硅藻土等载体对微生物制剂菌液进行固定化处理，将固定化后的载体应用到已设计好的养殖池塘的不同围隔之中，每隔 7 d 采样检测水中叶绿素 a 含量、水温、溶氧(DO)、pH、氨氮(NH₄⁺-N)、硝氮(NO₃⁻-N)和化学耗氧量(CODCr)等指标，结果证实固定化方法显著提高了微生物对污染底质的生物修复能力，特别是生物活性炭和沸石固定这两组效果显著。金春华等^[34]利用改良沸石结合微生物制剂和生物活性炭结合微生物制剂对凡纳滨对虾生产性养殖池塘水质进行调控修复，发现其能显著改善池塘水质、稳定水体藻相结构和提高微生物对污染底质的生物修复能力。马寿光等^[35]采用由生化球(材质为聚丙烯)、陶粒和泡沫块三部分组成的新型复合载体固定亚硝酸盐氧化菌，研究挂膜条件和不同水力停留时间对去除率的影响，得出了在水力停留时间为 1 h 时获得最高的 NO₂⁻-N 去除率为

76.94%, 相关研究为该生化球在虾养殖废水的处理中获得应用提供了重要实验基础。但在实际应用研究上, 一些常见的固定化材料并不适用, 武玉强等^[36]采用 2%海藻酸钠溶液固定微生物对淡水养殖废水中活性磷、氨态氮、硝态氮、亚硝氮和化学需氧量质量浓度的影响进行考察, 评估海藻酸钠固定化微生物处理淡水养殖废水的可行性, 发现海藻酸钠在养殖废水中的净化作用不显著。在这种情况下, 固定化材料可能成为过剩的营养源, 导致水体的富营养化, 因此需要选择高效的材料并注重材料的及时回收, 以防止二次污染。

近海养殖水体的污染往往造成水华的暴发, 关于水华水域水体的生物修复也成为学界的研究热点, 利用微生物进行藻华控制的研究具有重要的应用潜力。本课题组长期致力于利用微生物对近海赤潮污染的防治和调控的研究^[37], 分离出大量在游离状态下可以有效抑制有害赤潮藻类生长的杀藻菌。但由于自然水体环境的复杂性使得这些成果很难应用在实际生境中, 很多实验室环境下具有较强杀藻效果的菌株难以应用到现场水域, 因此课题组采取固定化微生物技术, 将能够抑制藻类生长的杀藻菌固定在一定的材质上, 既可以增加单位水体中的菌体浓度, 又可以给杀藻细菌形成一个保护环境有利其生长, 并便于制备稳定性良好的杀藻制剂, 易于规模化扩大。林婧^[6]利用聚氨酯泡沫吸附法固定化培养菌株 *Alteromonas* sp. DH46, 提高了载体内的菌体密度, 并在实验室条件下模拟单细胞赤潮藻塔玛亚历山大藻的生长(图 3), 并按 PUF:藻液=2 g:1 L 的比例进行抑藻实验, 4 d

后抑藻率高达 88.7%, 连续观察 10 d 发现抑藻率稳定在 96%, 水体显著澄清, 该法将为近海赤潮污染水体的治理提供重要的理论和实践指导。该领域的研究在国内外都处于起步阶段, 实现固定化微生物在水华水体中对藻体生长的抑制还需要进行更为深入的应用研究。

4 存在的问题与应对策略

随着研究的深入, 将固定化微生物技术运用于近海养殖水体和水华水域的生物修复中, 已形成了一定的体系, 但在实际应用中仍面临着一系列问题。因此, 提出可行的策略解决相关问题, 将使固定化微生物技术具有更为广阔的应用前景。

4.1 特定生物修复功能微生物资源的开发

固定化微生物技术虽然利用到一系列外部材料, 但其核心是具有特定生物修复功能的微生物, 具有生物修复功能的微生物应能有效利用污染水体中的污染物进行增长, 实现污染物的吸附降解, 使水体环境得以修复。用于固定化技术的菌株还需要有较强的稳定性, 抵抗外部环境变化的能力较强。

因此, 当前有限的菌种资源便成为重要的制约因素, 需要投入更多的资源对特定功能的微生物进行发掘。首先, 形成明确的筛选目的, 以特定污染物的降解或特定藻类的抑制作为出发点, 进行微生物的定向筛选, 获得更多具有生物修复功能的微生物, 及时开展修复功能的研究工作。其次, 在菌株的保存上, 应对相关特定生物修复功能微生物进行分类, 建立专业的菌种库, 结合信息技术建立完善

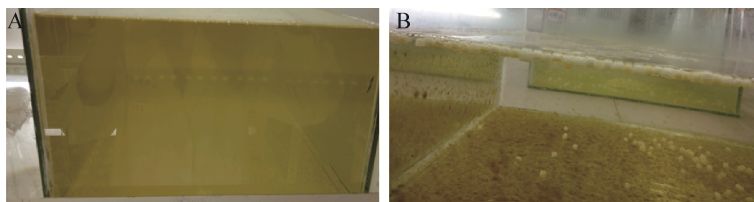


图 3 聚氨酯泡沫固定 *Pseudoalteromonas* sp. SP48 实验室模拟抑藻实验

Figure 3 Laboratory simulation of algal inhibiting experiment by using *Pseudoalteromonas* sp. SP48 immobilized on PUF
Note: A: Control; B: Treatment.

的特定菌种数据库,实现菌种的信息化管理。最后,在菌种库的管理上,应加强与不同地域其他菌种资源的联系,互相交换和补充,发掘现存菌株在不同地域可能存在的新的生物修复潜力。

4.2 固定化微生物菌体的高产优化

利用固定化微生物技术控制近海养殖水体的污染具有经济、高效和环境友好的特点,但在获得高产微生物以适应现场实验对大量菌体的要求上仍存在一定的挑战,对固定化微生物菌体的优化是一种急需解决的问题。与此同时,从实验室的研究到现场的应用,需要考虑成本的问题,利用高产优化工作降低菌体生产的成本,可以为固定化产品的制备提供最基础的应用可能。本课题组在实现杀藻微生物的发掘工作之后,往往会对具有特定功能的杀藻微生物进行发酵优化,Cai等^[38]利用均匀设计和神经网络发酵的方法,将菌株的抑藻效率提高了16.90%,获得最优的培养基配方和发酵条件参数。

菌体的高产优化使抑藻菌体的生产从摇瓶培养逐步扩大到中试发酵罐水平,利用更为廉价高效且更具实用意义的培养基配方进行发酵工艺的改良,形成较为完善的杀藻菌体发酵生产体系,将获得的菌体结合固定化微生物技术制备成菌剂进行保存,以作为现场实验的菌剂储备。

由此可见,大量菌体的获得是固定化微生物技术的前提,在保证菌体生长稳定性的前提下,优化更为快速高效的发酵培养基组分及发酵条件,对固定化微生物技术从实验室条件到现场的广泛应用具有重大的影响,需要引起更多的关注。

4.3 低价高效固定化载体的开发

固定化技术需要用到优质的载体,但载体的效果和经济成本往往存在着一些矛盾。例如,陶粒和沸石等价格相对低廉的载体固定效果较差,且在自然水体的投加体积相对较大,可能影响到水体自身;海藻酸钠和壳聚糖等一系列固定效果较好的载体,由于其加工成本较高,不利于实际应用。载体的寿命也是实际应用中载体效果的重要因素,直接关系到固定化载体在污染水体中的使用时间,对于

水体污染的修复具有实际意义。因此,需要进行不同学科之间的结合,考虑特定的固定化需求,与材料、化学、物理等学科的研究者进行合作,实现特定载体的研发和供应;从实际应用的角度,将特定载体从研究投入到工厂环节,降低载体的成本,为固定化微生物技术在实际污染水环境中的应用提供基础。

4.4 新型固定化反应器的开发

固定化微生物技术的发展以污染水体的生物修复为目的,但将固定化后的载体应用到现场,无论是在相对固定的养殖废水排放通道,还是相对开放的水华暴发水域,都需要有特定的反应器承载固定化产物进行生物修复。在这一点上,传统的污染水体修复所应用到的反应器不再适用于新的固定化技术。由此可见,需要着手开发新型的固定化反应器,特别是受污染的养殖水体的实际情况,在一般反应器的基础上因地制宜地进行设计,才能使固定化微生物技术更好、更快地实现在现场的应用。

5 研究展望

由于养殖业的发展,近海养殖水体的污染程度越来越高,富营养化的水体容易引起藻华暴发,使水体的生物修复成为当前急需解决的环境问题。固定化微生物技术已经成为生物修复领域关注的重点,在污染水体和水华水域的修复已被广泛研究,但当前的研究主要还处于实验室水平,将固定化成果应用于污染水体现场需要解决一系列实际问题。由于固定化微生物技术的高效、稳定和环保等特点,使其应用正在不断的深入研究之中,相信能在近海养殖水体和水华水域污染的生物修复上发挥巨大的作用。

参考文献

- [1] Wang L, Wang BJ, Liu M, et al. Preliminary studies on immobilized-microbe technics for intensive aquaculture[J]. Marine Sciences, 2010, 34(1): 1-5 (in Chinese)
王雷, 王宝杰, 刘梅, 等. 适于集约化水产养殖的固定化微生物技术的初步研究[J]. 海洋科学, 2010, 34(1): 1-5
- [2] Jiang H, Gao HM. Immobilized microorganism technology and its application in aquaculture water[J]. Reservoir Fisheries, 2005,

- 25(4): 27-29 (in Chinese)
姜浩, 高红梅. 固定化微生物技术及其在养殖水体中的应用[J]. 水利渔业, 2005, 25(4): 27-29
- [3] Liu DY, Wu W. Research on water pollution and microbial remediation of aquaculture[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2011(17): 253-256 (in Chinese)
刘道玉, 吴伟. 水产养殖水体污染及微生物修复的研究[J]. 现代农业科技, 2011(17): 253-256
- [4] Wu W. Applications of immobilized microorganism technology in high concentration organic wastewater treatment[J]. Environmental Science and Management, 2011, 36(7): 105-110 (in Chinese)
吴伟. 固定化微生物技术在处理高浓度有机废水中的应用[J]. 环境科学与管理, 2011, 36(7): 105-110
- [5] Lin J, Zheng W, Tian Y, et al. Optimization of culture conditions and medium composition for the marine algicidal bacterium *Ateromonas* sp. DH46 by uniform design[J]. Journal of Ocean University of China, 2013, 12(3): 385-391
- [6] Lin J. Study on optimization of fermentation conditions and immobilization of algicidal bacterium *Ateromonas* sp. DH46[D]. Xiamen: Master's Thesis of Xiamen University, 2011 (in Chinese)
林婧. 抑藻菌 *Ateromonas* sp. DH46的发酵条件优化及固定化研究[D]. 厦门: 厦门大学硕士学位论文, 2011
- [7] Chang IS, Kim CI, Nam BU. The influence of poly-vinyl-alcohol (PVA) characteristics on the physical stability of encapsulated immobilization media for advanced wastewater treatment[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(9): 3050-3054
- [8] Xiong XJ, Li B, Lin GH, et al. Performance of ammonia nitrogen removal by immobilized effective microorganisms[J]. Environmental Sanitation Engineering, 2011, 19(2): 39-41,44 (in Chinese)
熊小京, 李博, 林光辉, 等. 包埋固定化 EM 菌的氨氮去除特性研究[J]. 环境卫生工程, 2011, 19(2): 39-41,44
- [9] Zhang C, Zhang PY, Sun M, et al. Denitrification effect of heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacteria strain qy37 immobilized in absorbent and entrapping materials[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 35(1): 32-37 (in Chinese)
张晨, 张培玉, 孙梦, 等. 菌株 qy37 吸附包埋固定化的脱氮效果研究[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(1): 32-37
- [10] Yang JP, Chen MM, Zhang HT, et al. Research progress in treatment of petroleum and petrochemical wastewater with immobilized microorganism technology[J]. Environmental Engineering, 2013, 31(5): 25-29,49 (in Chinese)
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进展[J]. 环境工程, 2013, 31(5): 25-29,49
- [11] Lu XJ, Zhou SL, Liu QY, et al. Research progress in denitrification treatment of aquaculture wastewater with immobilized microorganism technology[J]. Environmental Protection and Circular Economy, 2011(7): 44-46,49 (in Chinese)
卢徐节, 周世力, 刘琼玉, 等. 固定化微生物技术对养殖水体脱氮的研究进展[J]. 环境保护与循环经济, 2011(7): 44-46,49
- [12] Zhou YX. Study on optimization of fermentation conditions and immobilization for algicidal bacterium *Pseudoalteromonas* sp. SP48[D]. Xiamen: Master's Thesis of Xiamen University, 2010 (in Chinese)
周月霞. 高效杀藻菌 *Pseudoalteromonas* sp. SP48的发酵条件优化及固定化研究[D]. 厦门: 厦门大学硕士学位论文, 2010
- [13] Zheng TL, Zhou YX, Tian Y, et al. Method of immobilization of the marine algicidal bacteria sp48 with polyurethane foam: Chinese Patent, ZL201010258039.5[P]. 2012-09-12 (in Chinese)
郑天凌, 周月霞, 田蕴, 等. 聚氨酯泡沫固定海洋杀藻菌 sp48 的方法: 中国, ZL201010258039.5[P]. 2012-09-12
- [14] Khondee N, Tathong S, Pinyakong O, et al. Airlift bioreactor containing chitosan-immobilized *Sphingobium* sp. P2 for treatment of lubricants in wastewater[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 213: 466-473
- [15] Wang L, Luo QF. Biodegradation of dibutyl phthalate by diatomite adsorptive immobilized microorganism[J]. Journal of Hygiene Research, 2006, 35(1): 23-25 (in Chinese)
王琳, 罗启芳. 硅藻土吸附固定化微生物对邻苯二甲酸二丁酯的降解特性研究[J]. 卫生研究, 2006, 35(1): 23-25
- [16] Ye H, Cao H, Li Y, et al. Immobilization of *Penicillium purpurogenum* Li-3 with sponge foam[J]. The Food Industry, 2012, 33(11): 122-125 (in Chinese)
叶海, 曹红, 李扬, 等. 聚氨酯泡沫法固定化 *Penicillium purpurogenum* Li-3 细胞[J]. 食品工业, 2012, 33(11): 122-125
- [17] Bai X, Ye ZF, Li YF, et al. Preparation of crosslinked macroporous PVA foam carrier for immobilization of microorganisms[J]. Process Biochemistry, 2010, 45(1): 60-66
- [18] Liu GH, Ye ZF, Li HY, et al. Biological treatment of hexanitrostilbene (HNS) produced wastewater using an anaerobic-aerobic immobilized microbial system[J]. Chemical Engineering Journal, 2012, 213: 118-124
- [19] Qu Y, Zhang PY, Guo SS, et al. Application of multi-technology of microorganisms immobilization for biological treatment of sewage[J]. Sichuan Environment, 2009, 28(3): 78-84 (in Chinese)
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生物处理中的研究应用[J]. 四川环境, 2009, 28(3): 78-84
- [20] Bai FW. Application of self-immobilization cell technology for biochemical engineering[J]. Progress in Biotechnology, 2000, 20(2): 32-36 (in Chinese)
白凤武. 无载体固定化细胞的研究进展[J]. 生物工程进展, 2000, 20(2): 32-36
- [21] Peng YH. Discussion of best method to purify organic wastewater with immobilized microorganism technology[J]. Public Utilities, 2005, 19(3): 21-24,45 (in Chinese)
彭云华. 对固定化微生物技术净化有机废水最佳方法的探讨[J]. 城市公用事业, 2005, 19(3): 21-24,45
- [22] Nedal M, Abraham S, Isam S. Modeling the effect of immobilization of microorganisms on the rate of biodegradation of phenol under inhibitory conditions[J]. Water Research, 2010, 44(18): 5252-5259
- [23] Li J, Dang Z, Guo CL, et al. Removal of pyrene using immobilized microorganism[J]. Environmental Chemistry, 2012, 31(7): 1036-1042 (in Chinese)
李婧, 党志, 郭楚玲, 等. 复合固定化法固定微生物去除芘[J]. 环境化学, 2012, 31(7): 1036-1042
- [24] Li T, Wei Y, Wei CH. Preparation of PVA-SA-PHB-AC composite carrier and m-cresol biodegradation by immobilized *Lysinibacillus cresolivorans*[J]. Environmental Science, 2013, 34(7): 2899-2905 (in Chinese)

- 李婷, 任源, 韦朝海. 固定化 *Lysinibacillus cresolivorans* 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
- [25] Huang FP, Fan YG, Sun JJ, et al. Study on polyvinyl alcohol induced microorganism immobilization in porous silicon carbide[J]. New Chemical Materials, 2012, 40(11): 107-109 (in Chinese)
黄凤萍, 樊英鸽, 孙晶晶, 等. 聚乙烯醇-碳化硅新型微生物固定材料的制备及表征[J]. 化工新型材料, 2012, 40(11): 107-109
- [26] Shi J, Podola B, Melkonian M. Application of a prototype-scale Twin-Layer photobioreactor for effective N and P removal from different process stages of municipal wastewater by immobilized microalgae[J]. Bioresource Technology, 2014, 154: 260-266
- [27] Wang YJ, Gao P, Fan MH, et al. Preliminary study of purification for livestock wastewater of immobilized *Microcystis Aeruginosa*[J]. Procedia Environmental Sciences, 2011, 11: 1316-1321
- [28] Pai SL, Hsu YL, Chong NK, et al. Continuous degradation of phenol by *Rhodococcus* sp. immobilized on granular activated carbon and in calcium alginate[J]. Bioresource Technology, 1995, 51(1): 37-42
- [29] Mao YH, Wang JL. Immobilization of activated sludge in PVA matrix using innovative methods[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33(2): 370-376 (in Chinese)
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
- [30] Zou WS, Liu LG, Zhang JL, et al. Performance of immobilized algae-bacteria for TN and TP removal from pearl mussel aquaculture wastewater[J]. Environmental Pollution & Control, 2011, 33(3): 28-32,57 (in Chinese)
邹万生, 刘良国, 张景来, 等. 固定化藻菌对珍珠蚌养殖废水中 TN 和 TP 去除效果的影响[J]. 环境污染与防治, 2011, 33(3): 28-32,57
- [31] Zou WS, Zhang JL, Liu LG, et al. Effect research of immobilized algae-acteria removal ammonia nitrogen of aquaculture wastewater and proposed model[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(23): 12650-12652 (in Chinese)
邹万生, 张景来, 刘良国, 等. 固定化藻菌去除淡水养殖废水氨氮效果及模型拟建[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(23): 12650-12652
- [32] Wu HW, Lu KH, Qian W, et al. Effectiveness of remediating aquaculture wastewater by immobilized microorganisms and *Myriophyllum aquaticum*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(2): 316-326 (in Chinese)
伍华雯, 陆开宏, 钱伟, 等. 固定化微生物联合大型水生植物净化养殖废水的实验研究[J]. 中国水产科学, 2013, 20(2): 316-326
- [33] Zheng ZM, Lu KH, Cai HF, et al. Bioremediation of polluted aquaculture sediment by immobilized microorganisms: an in situ enclosure study[J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(3): 462-469 (in Chinese)
郑忠明, 陆开宏, 蔡惠风, 等. 固定化微生物修复养殖池塘污染底泥的围隔试验[J]. 水产学报, 2009, 33(3): 462-469
- [34] Jin CH, Lu KH, Zheng ZM, et al. Application of immobilized microorganisms in *Litopenaeus vannamei* aquaculture ponds[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(2): 285-291 (in Chinese)
金春华, 陆开宏, 郑忠明, 等. 固定化微生物在凡纳滨对虾养成池中的应用[J]. 水产学报, 2010, 34(2): 285-291
- [35] Ma SG, Guo AN, Zhang WJ, et al. Treatment of aquaculture water by nitrite-oxidizing bacteria immobilized with assembled filters[J]. Journal of Biology, 2013, 30(5): 89-92 (in Chinese)
马寿光, 郭安南, 章文军, 等. 复合载体固定亚硝酸盐氧化菌处理养殖废水[J]. 生物学杂志, 2013, 30(5): 89-92
- [36] Wu YQ, Cheng XH, Zhou LH, et al. Treatment feasibility of freshwater aquaculture effluent with immobilized microorganism by sodium alginate[J]. Fisheries Science, 2011, 38(8): 476-480 (in Chinese)
武玉强, 陈学豪, 周立红, 等. 海藻酸钠固定化微生物处理淡水水产养殖废水可行性研究[J]. 水产科学, 2011, 38(8): 476-480
- [37] Zheng TL, et al. Microbiology of Red-tide Control[M]. Xiamen: Xiamen University Press, 2011 (in Chinese)
郑天凌, 等. 赤潮控制微生物学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2011
- [38] Cai GJ, Zheng W, Yang XJ, et al. Combination of uniform design with artificial neural network coupling genetic algorithm: an effective way to obtain high yield of biomass and algicidal compound of a novel HABs control actinomycete[J]. Microbial Cell Factories, 2014. DOI: 10.1186/1475-2859-13-75