

水产养殖尾水初沉区中净化材料的应用对微生物酶活性的影响

杨晓曦, 吴伟, 施羽露, 王钰钦, 钱信宇, 郑尧, 陈家长

引用本文:

杨晓曦, 吴伟, 施羽露, 等. 水产养殖尾水初沉区中净化材料的应用对微生物酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(12): 2878-2886.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0515>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

初沉单元中净化材料的筛选及运行参数研究

王钰钦, 郑尧, 钱信宇, 杨晓曦, 陈家长, 吴伟

农业环境科学学报. 2020, 39(11): 2621-2630 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0272>

火山石和改性凹凸棒土对初沉单元净化效果的影响

王钰钦, 郑尧, 钱信宇, 杨晓曦, 陈家长, 吴伟

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2868-2877 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0372>

南京地区斑点叉尾养殖池塘水体微生物群落结构研究

钟立强, 王明华, 张世勇, 姜虎成, 陈校辉, 朱广伟, 边文冀

农业环境科学学报. 2020, 39(7): 1594-1604 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0157>

水生植物对不同氮磷水平养殖尾水的综合净化能力比较

冯优, 陈庆锋, 李金业, 郭贝贝, 刘婷, 李磊

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2397-2408 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0816>

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

杨晓曦, 吴伟, 施羽露, 等. 水产养殖尾水初沉区中净化材料的应用对微生物酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(12): 2878–2886.

YANG Xiao-xi, WU Wei, SHI Yu-lu, et al. Microbial functional enzyme activities in water purification material in the precipitation treatment area of aquaculture wastewater systems[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(12): 2878–2886.



开放科学 OSID

水产养殖尾水初沉区中净化材料的应用对微生物酶活性的影响

杨晓曦¹, 吴伟¹, 施羽露¹, 王钰钦¹, 钱信宇¹, 郑尧^{1,2*}, 陈家长^{1,2*}

(1. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

摘要:通过检测除氮型改性凹凸棒土(Al@TCAP-N)和火山石的内部及周围水体有关氮、磷、有机物分解的酶活性和水质指标, 利用高通量测序对材料和水体中的细菌和真菌进行分析, 以研究尾水处理系统初沉区中水质净化材料处理尾水营养盐的机制。结果表明, Al@TCAP-N 和火山石能增加其周围水体微生物碱性磷酸酶(AKP)、硝酸盐还原酶(Nar)活性; 火山石能在早期(0~6 h)提高其内部有机磷水解酶(OPH)、氨单加氧酶(AMO)的活性; Al@TCAP-N 能在后期(36~48 h)增加其内部脱氢酶(DHO)的活性; 净化材料相互对比发现, 火山石内部的酶活性整体高于 Al@TCAP-N 内部的酶活性; 本试验表明水质处理最佳时间为 36 h, 总氮(TN)、总磷(TP)、高锰酸盐指数(COD_{Mn})的去除率分别为 22.61%、9.52% 和 22.16%。在实际应用过程中, 可通过 Al@TCAP-N 的吸附和火山石负载的微生物的双重作用降低水中营养盐的含量。浮霉菌门(Planctomycetes)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和壶菌门(Chytridiomycota)分别是材料表面微生物细菌和真菌中的主要门类。火山石能在净化初期促进有机磷化合物分解和硝态氮(NO₃-N)转化为亚硝态氮(NO₂-N), Al@TCAP-N 在净化后期促进有机物的分解。Al@TCAP-N 和火山石能促进水体中含磷化合物的分解和氮的转化。

关键词:养殖尾水处理; 火山石; 改性凹凸棒土; 氮转化; 磷分解

中图分类号: X714 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2020)12-2878-09 doi:10.11654/jaes.2020-0515

Microbial functional enzyme activities in water purification material in the precipitation treatment area of aquaculture wastewater systems

YANG Xiao-xi¹, WU Wei¹, SHI Yu-lu¹, WANG Yu-qin¹, QIAN Xin-yu¹, ZHENG Yao^{1,2*}, CHEN Jia-zhang^{1,2*}

(1. Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China; 2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: To study the mechanism underlying water purification with specific materials in the precipitation treatment area of wastewater treatment systems, the enzyme activities, water quality indicators, and the major categories of bacteria and fungi in the surrounding water bodies and in the two purification materials, nitrogen-modified attapulgit (Al@TCAP-N) and volcanic rocks, were evaluated. The enzyme activities were related to the nitrogen and phosphorus contents, as well as to the decomposition of organic matter. The results showed that Al@TCAP-N and volcanic stone increased the microbial alkaline phosphatase (AKP) and nitrate reductase (Nar) activities in the surrounding water. Volcanic stone promoted the activities of internal organophosphorus hydrolase (OPH) and ammonia monooxygenase (AMO) during the early stages of treatment (0~6 h). Al@TCAP-N increased the internal dehydrogenase (DHO) activity in the later period

收稿日期: 2020-05-08 录用日期: 2020-09-02

作者简介: 杨晓曦(1997—), 男, 黑龙江哈尔滨人, 硕士研究生, 从事渔业环境监测与保护研究。E-mail: 1298476977@qq.com

*通信作者: 陈家长 E-mail: chenjz@ffrc.cn; 郑尧 E-mail: zhengy@ffrc.cn

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2019JBFZ06); 现代农业产业技术体系专项(CARS-46)

Project supported: The Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, China (2019JBFZ06); China Agriculture Research System (CARS-46)

(36~48 h). The enzymatic activities of microorganisms in volcanic stone were higher than of those in Al@TCAP-N. The optimal time for water treatment was 36 h, and the removal rates of total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), and permanganate were 22.61%, 9.52%, 22.16%, respectively. In the actual application process, the levels of harmful pollutants in the water could be reduced by the dual effects of adsorption by Al@TCAP-N and the action of microorganisms present in volcanic rocks. Planctomycetes, Proteobacteria, Bacteroidetes, and Chytridiomycota were the major bacterial and fungal phyla present in the purification materials. Treatment with the Al@TCAP-N and volcanic rock promoted the decomposition of phosphorus compounds and the conversion of nitrogen in water. Volcanic stone promoted the decomposition of organic phosphorus compounds and the conversion of nitrate nitrogen (NO_3^- -N) to nitrous nitrogen (NO_2^- -N) during the early stages of purification. Al@TCAP-N promoted the decomposition of organic matter during the later stages of purification.

Keywords: aquaculture wastewater treatment; volcanic stone; modified attapulgite; nitrogen conversion; phosphorus decomposition

养殖尾水是指水产养殖过程中或养殖结束后,由养殖体系(包括养殖池塘、工厂化车间等)向自然水域排出的不再使用的养殖水。本课题组基于“三级循环水理论”^[1]构建“两坝三区”尾水处理系统^[2-3],两坝包括溢流坝、潜流坝,三区包括初沉区、初级净化区、次级净化区。两坝主要对未消化的饲料和悬浮物进行过滤沉淀,初沉区为因地制宜利用的排水沟或不规则的池塘,通常是净水处理系统中的第一个单元,主要作用是降低水中悬浮物浓度及其携带的营养盐。目前关于水产养殖过程坝体和生态沟渠中水质净化材料筛选的研究不多,课题组前期室内模拟初沉区筛选出水质处理效果较好的两种净化材料:除氮型改性凹凸棒土(Al@TCAP-N)和火山石。其中,改性凹凸棒土是在凹凸棒土的基础上进行改性,以扩大孔隙,增大比表面积^[4]。Yin等^[5]将Al@TCAP-N用于黑臭水体的底泥修复,发现其能有效降低沉积物中TN和TP的含量。而火山石具有多孔结构,比表面积大,研究表明其具有较好的TN、TP和 COD_{Mn} 去除效果^[6]。但是该系统存在尾水集中排放期间和冬季因植物生长缓慢、微生物代谢能力弱导致吸收能力降低的问题。因此在实际应用中,常利用载体吸附和微生物净化双重作用强化净化水质的目的。

从微生物强化水质净化效果方面看,芽孢杆菌^[7]和活性污泥^[8]在水处理中去除氮、磷和有机物的效果好。净化材料表面覆着大量微生物,能分泌分解和转化营养盐的酶类物质,但目前从酶活性角度对微生物强化水质净化效果的机制研究较少。微生物通过分泌酶参与到物质代谢途径,如微生物氨单加氧酶(Ammonia monooxygenase, AMO)^[9]参与氨氧化反应,微生物亚硝酸盐还原酶(Nitrite reductase, NIR)^[10]参与亚硝化反应,微生物硝酸盐还原酶(Nitrate reductase, Nar)^[11]诱导硝态氮的转化过程;微生物有机磷水解酶(Organic phosphorus hydrolase, OPH)^[12]可以分解

有机磷,微生物碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)^[13]催化分解有机磷;而微生物脱氢酶(Dehydrogenases, DHO)^[14]通过传递有机物的氢从而分解有机物。为探究代谢酶类发挥的营养盐去除功效,本试验室内模拟养殖尾水处理系统初级沉淀单元,通过添加外源微生物,分析氮循环、有机磷分解和有机物分解相关酶活性,材料表面富集水质相关细菌、真菌的差异变化及其和水质指标的相关性,研究尾水净化材料Al@TCAP-N和火山石的应用对微生物功能酶活性的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

材料来源:试验用吉富罗非鱼养殖尾水取自中国水产科学研究院淡水渔业研究中心养殖池塘。Al@TCAP-N由中国科学院南京地理与湖泊研究所提供;火山石购自广州花地水族用品有限公司。活性污泥由海力士半导体(无锡)有限公司提供,通过好氧反硝化活性污泥培养基^[15]扩增;外源微生物中地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)菌粉、复合芽孢杆菌菌粉来自本实验室,通过LB培养基扩增,扩增后的菌液于4℃冰箱保存备用(保证浓度 $\geq 10^9$ CFU·mL⁻¹),使用前等比混合得到混合菌液。NIR、Nar、DHO、OPH、AMO和AKP试剂盒由上海摩楷生物科技有限公司提供。

外源微生物用量确定及室内模拟初沉区:在2 000 mL三角瓶中(按养殖尾水200 L计算)按2 mL·m⁻³添加浓度为 1×10^9 CFU·mL⁻¹的菌液,加充分混匀后的养殖尾水稀释到800 mL,再加入试验所需的净化材料600 g,在振荡培养器中30℃、150 r·min⁻¹培养24 h后取出净化材料待用。为保证微生物的丰富度,复合菌液采用3种扩增菌液等比例混合。火山石和Al@TCAP-N用网袋包裹,按1:1的比例,放置于沉淀单元模拟系统底部(长方形有机玻璃材质,有效体积

为250 L),并按 $2\text{ mL}\cdot\text{m}^{-3}$ 添加浓度为 $1\times 10^9\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合菌液。

样本采集:①检测酶活和水质指标的水样样本,试验开始后0、6、12、24、36 h和48 h采集两种材料周围水体(下0.15 m,左右直径0.3 m处)水样,取上述取样点对应组的材料,按1:9($m:V$)添加 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS缓冲液,浸泡30 min采用超声处理离心到100 μL 。按质量比1:10使用 $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PBS缓冲液稀释,并于20 kHz、4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下超声处理5 min,然后于4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 g 条件下离心10 min,取上清液使用试剂盒进行测定;②检测微生物的样本,采集净化材料表面微生物置于50 mL离心管,储藏于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,采用高通量手段测定净化材料表面微生物群落中细菌和真菌的主要门类。为减少取样所带来的系统误差,每个时间点对3个平行组样本进行采样。

1.2 材料内外酶活、水质检测与微生物分析

酶活检测:参考上海摩楷生物科技有限公司试剂盒说明书采用双抗体夹心法检测,通过固相抗体、酶、酶抗体的结合,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物。经过染色、酶催化、酸化步骤后用酶标仪测定吸光度(OD值)。

水质指标测定:试验过程中的水温维持在 $28\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 并采用加热棒进行控制,pH维持在 6.9 ± 0.3 ,采用 NaHCO_3 进行调节,硬度碳酸钙指数维持在 350 ± 12 ,溶氧 $>5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。参照《水质 总氮的测定 碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法》(GB 11894—1989)测定总氮(TN)含量,参照《水质 总磷的测定 钼酸铵分光光度法》(GB 11893—1989)测定总磷(TP)含量,参照《水质 高锰酸盐指数的测定》(GB 11892—1989)测定高锰酸盐指数(COD_{Mn})。

微生物检测:基于北京百迈客生物科技有限公司PacBio测序平台,利用单分子实时测序(SMRT Cell)的方法对marker基因进行扩增测序,之后通过对CCS(Circular Consensus Sequencing)序列过滤,得到Optimization-CCS进行OTUs(Operational Taxonomic Units)聚类,并进行物种注释及丰度分析,揭示样品的物种构成。利用16S rDNA序列进行细菌种类分析,利用ITS序列进行真菌种类分析。Silva(release132)和Unite(release8.0)分别为细菌16S和真菌ITS比对数据库。

1.3 数据分析

在Excel 2019软件中完成数据处理,在Origin 9.4中进行相关图形的绘制,在IBM SPSS Statistics 19中

完成方差分析及均值LSD多重比较,差异显著水平 $P<0.05$ 用不同小写字母表示。

2 结果与分析

2.1 酶活性检测结果

材料周围水体中微生物AKP活性为 $191.58\sim 234.15\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ (图1),火山石AKP活性为 $218.49\sim 265.07\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$,Al@TCAP-N中AKP活性为 $200.82\sim 257.98\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ 。0~36 h,火山石中的AKP活性高于其他两组;48 h时,Al@TCAP-N的AKP活性高于其他两组。6 h火山石内和Al@TCAP-N内部AKP活性显著高于净化材料周围水体中微生物的AKP活性。

材料周围水体OPH活性为 $683.63\sim 793.34\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$,火山石OPH活性为 $668.13\sim 763.61\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$,Al@TCAP-N中OPH活性为 $588.99\sim 706.66\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ 。0~6 h,火山石中的OPH的活性高于其他两组;12~48 h水中的OPH的活性高于其他两组。24 h时净化材料周围水体中微生物的OPH活性显著高于Al@TCAP-N内部的OPH活性。

材料周围水体DHO活性为 $1\ 921.71\sim 2\ 502.94\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$,火山石DHO活性为 $1\ 717.23\sim 2\ 397.9\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$,Al@TCAP-N中DHO活性为 $1\ 955.32\sim 2\ 650.00\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ 。0 h,火山石中的DHO活性高于其他两组;6 h和36~48 h,Al@TCAP-N的DHO活性高于其他两组;12~24 h,净化材料周围水体中微生物的DHO的活性高于其他两组。在0 h,火山石内的酶活性显著高于净化材料周围水体中微生物的DHO活性。6 h净化材料周围水体中微生物的DHO活性和Al@TCAP-N内DHO活性显著高于火山石内的DHO活性。12 h净化材料周围水体中微生物的DHO活性显著高于Al@TCAP-N内的DHO活性。36 h Al@TCAP-N内的DHO活性显著高于火山石内和净化材料周围水体中微生物的DHO活性。48 h火山石内的DHO活性显著低于Al@TCAP-N内的DHO活性。

材料周围水体AMO活性为 $399.61\sim 467.41\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$,火山石AMO活性为 $359.89\sim 438.44\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$,Al@TCAP-N中AMO活性为 $363.47\sim 422.61\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ 。0 h和12~48 h,净化材料周围水体中微生物的AMO活性高于其他两组;6 h时,火山石中的AMO活性高于其他两组。6 h火山石内的AMO活性显著高于净化材料周围水体中微生物的AMO活性。48 h净化材料周围水体中微生物的AMO活性显著高于Al@TCAP-N内的AMO活性。

材料周围水体 Nar 活性为 $1\,035.79\sim 1\,271.68\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$, 火山石中 Nar 活性为 $1\,177.87\sim 1\,462.02\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$, Al@TCAP-N 中 Nar 活性为 $1\,142.35\sim 1\,328.14\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ 。0~24 h, 火山石中的 Nar 活性高于其他两组; 36~48 h, Al@TCAP-N 中的 Nar 活性高于其他两组。0、12 h 和 24 h 火山石内的 Nar 活性显著高于净化材料周围水体中微生物的 Nar 活性。

材料周围水体 NIR 活性为 $546.7\sim 672.77\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$, 火山石中 NIR 活性为 $557.92\sim 721.62\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$, Al@TCAP-N 中 NIR 活性为 $482.34\sim 734.16\text{ IU}\cdot\text{L}^{-1}$ 。0 h 和 36 h, 火山石中的 NIR 活性高于其他两组; 6、12 h 和 48 h, 净化材料周围水体中微生物的 NIR 活性高于

其他两组; 24 h, Al@TCAP-N 中的 NIR 活性高于其他两组。0 h 火山石内的 NIR 活性显著高于净化材料周围水体中微生物和 Al@TCAP-N 内的 NIR 活性。6 h 净化材料周围水体中微生物的 NIR 活性显著高于 Al@TCAP-N 内的 NIR 活性。48 h, 净化材料周围水体中微生物的 NIR 活性显著高于火山石内和 Al@TCAP-N 内的 NIR 活性。

2.2 水质净化效果

添加净化材料处理前(0 h), TN、TP 和 COD_{Mn} 的含量分别为 $(3.12\pm 0.01)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $(1.41\pm 0.04)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $(15.02\pm 0.28)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 2)。净化材料处理后(48 h) TN、TP 和 COD_{Mn} 的含量分别为 $(2.59\pm 0.06)\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、

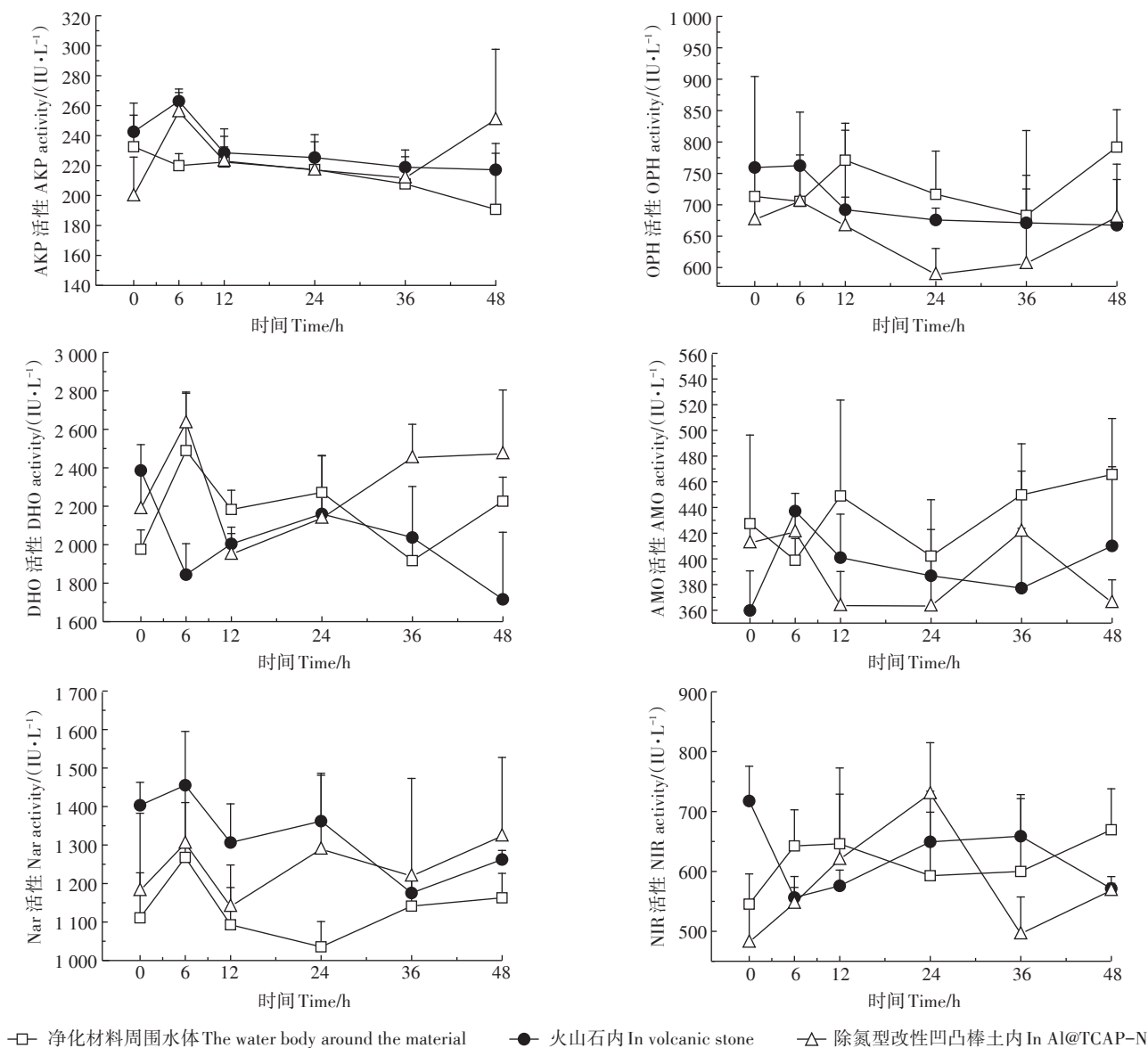


图1 不同酶活性变化情况

Figure 1 Changes of different enzyme activities

(1.33 ± 0.03) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和(10.72 ± 0.23) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。36 h TN 的去除率最高,为(22.61 ± 0.39)%,此时 TN 含量为(2.42 ± 0.02) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;36 h TP 的去除率最高,为(9.52 ± 1.04)%,此时 TP 含量为(1.30 ± 0.02) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;48 h COD_{Mn} 的去除率最高,为(28.60 ± 2.49)%,此时 COD_{Mn} 含量为(10.72 ± 0.23) $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3 净化材料表面微生物高通量分析细菌和真菌主要门类

材料表面微生物细菌主要为浮霉菌门(Planctomycetes)、变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes),外源添加的菌制剂和活性污泥的引入并未带来水体和材料表面微生物主要类群的显著变化(表1)。但通过分析发现,3种细菌门类在36~48 h空白组、吸附材料单独处理组和净化材料+外源微生物组中,Al@TCAP-N与空白组不同时间点间存在显著性变化(图3)。24 h,Al@TCAP-N内浮霉菌门占比高于空白组内浮霉菌门占比;空白组内变形菌门和拟杆

菌门的占比高于Al@TCAP-N内上述两种菌的占比。36 h,Al@TCAP-N内变形菌门的占比与空白组和火山石内变形菌门的占比存在显著差异(表1)。而48 h,Al@TCAP-N内变形菌门的占比与净化材料+外源微生物组内变形菌门的占比存在显著差异;空白组内拟杆菌门的占比与净化材料+外源微生物组内拟杆菌门的占比存在显著差异。

所检测的真菌中主要存在壶菌门(Chytridiomycota),但与水质相关的青霉(*Penicillium*)和曲霉(*Aspergillus*)也同时存在(表2)。其中,12 h,青霉达到占比的最高值,为($0.736\,4\pm0.044\,2$)%;24 h,曲霉达到占比的最高值,为($0.026\,6\pm0.001\,3$)%。

3 讨论

3.1 净化材料-微生物-水质之间的关系

净化材料表面结构与水质处理效果密切相关,本试验中火山石具有较大的比表面积,内部多孔隙;凹

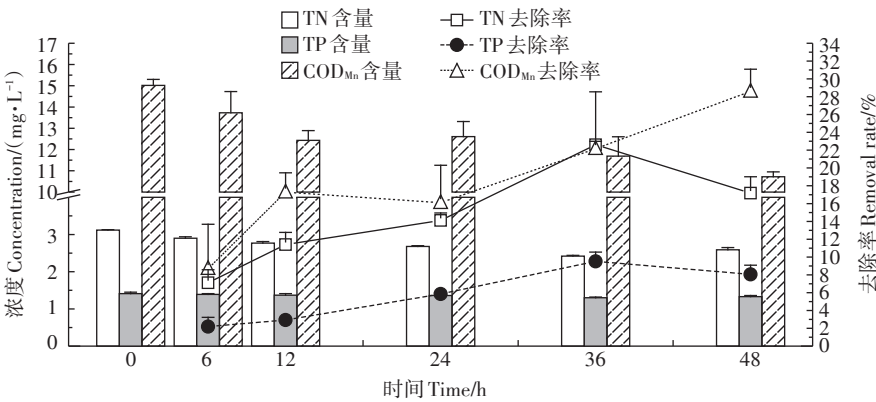


图2 TN、TP和COD_{Mn}的含量和去除率
Figure 2 The contents and removal rates of TN,TP and COD_{Mn}

表1 36 h与48 h主要细菌门类对比(%)

Table 1 Comparison between 36 h and 48 h of major bacteria (%)

时间Time/h	处理Treatments	浮霉菌门Planctomycetes	变形菌门Proteobacteria	拟杆菌门Bacteroidetes
36	空白组 Control	70.67±3.03a	11.8±1.41b	1.78±0.38a
	火山石 Volcanic stone	71.31±1a	12.28±1.92b	1.95±0.31a
	除氮型改性凹凸棒土 Al@TCAP-N	66.34±3.46a	17.51±0.71a	2.73±0.67a
	净化材料+外源微生物	69.43±2.44a	15.65±2.05ab	2.33±0.34a
	Purification materials+exogenous microorganism			
48	空白组 Control	71.56±2.35a	10.96±0.7ab	1.81±0.28a
	火山石 Volcanic stone	72.45±5.62a	11.43±1.77ab	1.25±0.58ab
	除氮型改性凹凸棒土 Al@TCAP-N	72.07±0.61a	12.44±1.02a	1.41±0.06ab
	净化材料+外源微生物	74.05±1.41a	9.75±0.61b	0.95±0.03b
	Purification materials+exogenous microorganism			

注: 同列不同小写字母分别代表处理间差异显著($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters in the same column represent significant differences among treatments($P<0.05$).

表2 不同时间净化材料内青霉和曲霉占比(%)

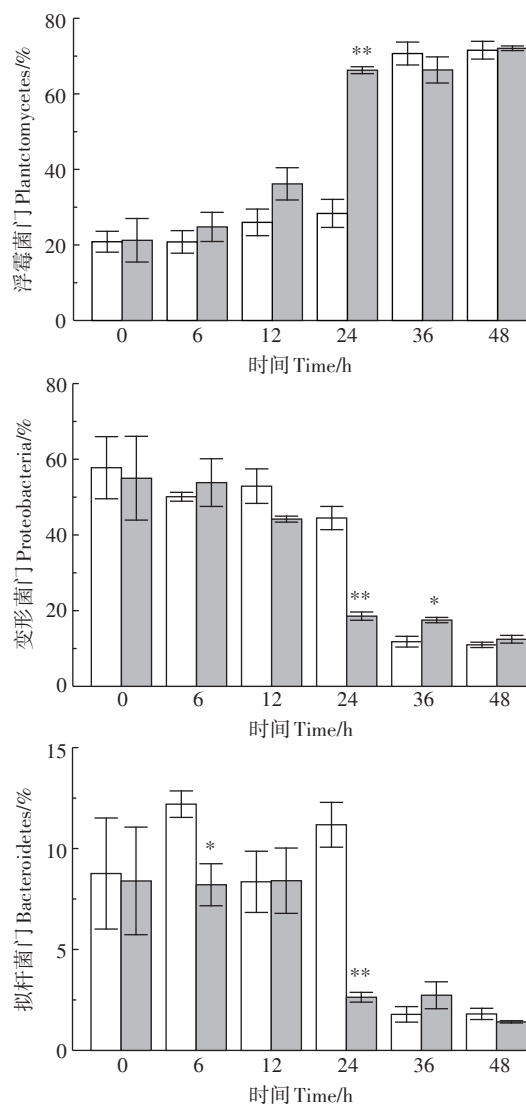
Table 2 Proportion of *Penicillium* and *Aspergillus* in purified materials at different time(%)

时间 Time/h	青霉 <i>Penicillium</i>	曲霉 <i>Aspergillus</i>
0	0.002 0±0.000 1d	0±0d
6	0.017 6±0.000 7b	0.012 1±0.000 6b
12	0.736 4±0.044 2a	0.002 4±0.000 1c
24	0.002 4±0.000 1d	0.026 6±0.001 3a
36	0±0d	0±0d
48	0.013 4±0.000 7c	0±0d

注:同列不同小写字母代表不同时间下差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column represent significant differences among different time($P<0.05$).

凸棒土进行改性后呈现出疏松多孔的结构^[16],研究表明两者均具有较好的吸附能力^[16-18]。净化水体中添加外源微生物,可以有效降低水中氮磷含量,从而达到净化水质的强化效果^[19-20]。而活性污泥呈絮状,含有大量微生物,具有脱氮除磷的功能,通常被用于生活污水处理领域^[21]。市售的芽孢杆菌制剂具有异养硝化-好氧反硝化^[19,22]和解磷^[23]的作用,可以降低水体中营养盐的含量^[24]。在实际使用过程中,往往将几种不同类型的净化材料复配进行使用,增强对营养盐的降解能力,有研究表明,复合净化材料(火山石^[25-26]和凹凸棒土^[27])与外源微生物联合作用可显著提高初级沉淀系统的水质净化能力。本试验中净化材料内酶活性高于净化材料外周围水体中酶活性,外源微生物的加入虽未造成材料及其周围水体中主要细菌门类的变化,但因净化材料的加入可能会改变材料周围的微环境^[19,21]以利于微生物的富集,净化材料内微生物含量可能因载体的存在高于净化材料周围水体中微生物含量。而外源微生物的加入能否带来水质修复相关细菌及酶活性的变化?本试验中检测到的变形菌门中存在可以氧化氨的亚硝化细菌属(*Nitrosomonas*)^[28],可以分泌氨单加氧酶(AMO),催化氨氧化反应。浮霉菌门和拟杆菌门^[29]含有参与厌氧氨氧化的细菌,通过协助分泌亚硝酸盐还原酶 NIR 将 NO_2^- -N 降解为 NH_3 -N,生成 N_2 。真菌中的青霉和曲霉被证实具有解磷作用^[23],通过分泌磷酸酶、核酸酶等,水解有机磷,且解磷能力通常比细菌强^[30]。还有相关研究表明,相比于水环境,多孔隙结构会为微生物提供更稳定的生长环境,有利于酶积累、微生物培养和水质净化^[31-32]。净化材料(AI@TCAP-N 和火山石)表面附着生长的细菌和真菌会促进水中氮、磷的转化,从而降低水体中 TN、TP 含量,达到改善水质的目的。且在 36 h,



□ 空白组 Control ■ 除氮型改性凹凸棒土 AI@TCAP-N

*代表处理间存在显著差异($P<0.05$);**代表处理间存在极显著差异($P<0.01$)

*Represents significant difference between treatments($P<0.05$);
**represents extremely significant difference between treatments($P<0.01$)

图3 空白组与除氮型改性凹凸棒土主要细菌门类分析

Figure 3 Analysis of the main bacterial categories in the blank group and AI@TCAP-N

AI@TCAP-N 会促进变形菌门的生长,分泌 AMO 以促进氨氧化反应和有机物的分解。

3.2 酶活性角度解析净化机理

分析各个时段酶活性,可以发现,火山石内的酶活性整体高于 AI@TCAP-N 内的酶活性。原因可能是 AI@TCAP-N 固定微生物的能力较弱,火山石比较容易负载微生物^[25-26,33]。该结果提示我们可通过 AI@TCAP-N 的吸附和火山石负载微生物的双重作用降低水中有害物质的含量。本试验检测的几种酶中,

亚硝酸盐还原酶 NIR、硝酸盐还原酶 Nar 和 AMO 参与氮的循环。其中,AMO 是氨氧化反应的催化剂,能够帮助氨氧化菌将 $\text{NH}_3\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_2\text{-N}^{[9]}$;NIR 可以将 $\text{NO}_2\text{-N}$ 降解为 N_2 或 $\text{NH}_3\text{-N}^{[10]}$;Nar 是一种诱导酶,可直接将 $\text{NO}_3\text{-N}$ 还原为 $\text{NO}_2\text{-N}^{[11]}$ 。火山石和 Al@TCAP-N 中的 Nar 在 12~24 h 上升,净化材料周围水体中的 Nar 在 24~36 h 上升,说明添加净化材料加快了反硝化作用。有部分时间点存在 Al@TCAP-N 中 AMO、Nar 和 NIR 酶活性高于火山石中 AMO、Nar 和 NIR 酶活性以及净化材料周围水体中 AMO、Nar 和 NIR 酶活性高于两种净化材料内部 AMO、Nar 和 NIR 酶活性的情况。这可能有以下原因:一是溶氧限制了硝化和反硝化作用,进而影响酶活性^[9-11];二是硝化细菌的生长过程较为缓慢^[33],且易受到其他异养菌的影响^[34];三是净化后期净化材料内部孔隙中微生物达到上限,净化能力也随之下降^[35]。上述结果充分说明净化材料加入后材料内部微生物富集加速了氮循环过程,但对水体中氮素的去除还受到水质指标、微生物群落中主要类群和材料特性所带来吸附能力的影响。

而对于磷的分解,有机磷水解酶 OPH 和碱性磷酸酶 AKP 参与有机磷分解。其中,OPH 可以分解有机磷化合物,减少有机磷对于环境的污染^[12];AKP 能催化有机磷的分解并释放正磷酸盐,增加水中可溶性有效磷,便于吸收利用^[13]。试验结果显示,0~6 h 时,火山石和 Al@TCAP-N 中的 AKP、AMO 的活性有明显升高,而在 6~12 h 阶段,净化材料周围水体中的 AKP、AMO 活性才升高。这说明火山石和 Al@TCAP-N 能同时促进有机磷的分解作用和亚硝化作用,研究表明在保证营养盐去除效果的前提下,将净化材料复合使用的添加量要小于单独使用时的添加量^[3],提示两种材料复配可以起到一定程度的协同效果,并能极大减少材料的使用量。脱氢酶 DHO 通过传递有机物上的氢进而分解有机物^[14]。本结果表明 Al@TCAP-N 能在后期(36~48 h)增加 DHO 的活性,促进有机物的分解。

3.3 净化材料在水质净化中的应用

净化材料的吸附和微生物菌落生长需要寻求最佳配合时间以便于吸附和生物降解协同进行。在 0~36 h, TN、TP 和 COD_{Mn} 的去除率上升,说明在微生物和净化材料的作用下水质污染得到一定程度的缓解;在 36~48 h, TN 和 TP 的含量上升,说明随着时间的推移,更多微生物充填于材料四周,使其吸附功能下降^[35]。该结果提示,在养殖过程中,初沉单元水力停留时间

应为 36 h,虽然不能确保一些养殖品种在尾水集中排放阶段营养盐的去除效果,但可以明确的是外源微生物的引入能起到一定的营养盐强化去除作用;冬季因植物生长缓慢、微生物代谢能力弱导致吸收能力降低的问题也无法得到解决,但可以筛选性能更好的镧改性等矿物吸附材料,增加坝的数量,改变坝的流向,强化生态湿地净化区的修复功能,实现吸附和生物净化双管齐下。

上述结果均表明外源微生物的加入能带来水质修复相关细菌及酶活性的变化,结合本研究中的最佳水力停留时间 36 h 及水质修复相关细菌、真菌主要门类等特征,在实际运行过程中,可通过持续外源添加菌制剂和活性污泥强化净化材料的水质修复效果。此外,为防止净化材料在沉淀池中发生堵塞,可将净化材料填充在网袋中延长水力停留时间和便于整体移出进行冲洗,冲洗后的水可经过净化输送到循环利用的生态蓄水池净化区中进行藻类的培养。对使用后的材料对氮磷营养素的承载能力进行的研究结果表明,每克 Al@TCAP-N 约吸附 201.73 μg 氮和 18.22 μg 磷。每克火山石约吸附 59.54 μg 氮和 34.98 μg 磷^[3]。这些材料经磨碎后具有一定的增加肥力和疏松土壤之功效,方便资源化利用。

4 结论

(1) Al@TCAP-N 和火山石能促进水体中含磷化合物的分解和氮的转化。火山石能在净化初期(0~6 h)促进有机磷化合物分解和硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)转化为亚硝态氮($\text{NO}_2\text{-N}$)。Al@TCAP-N 在净化后期(36~48 h)促进有机物的分解。

(2) 36 h 通过 Al@TCAP-N 的吸附和火山石负载微生物的双重作用对 TN、TP、 COD_{Mn} 的去除效果最佳,去除率分别为 22.61%、9.52% 和 22.16%。

(3) 在实际应用过程中,36 h 为最佳净化时间,可通过 Al@TCAP-N 的吸附和火山石负载微生物的双重作用降低水中营养盐的含量。

参考文献:

- [1] 胡庚东,宋超,陈家长,等.池塘循环水养殖模式的构建及其对氮磷的去除效果[J].生态与农村环境学报,2011,27(3):82-86.
HU Geng-dong, SONG Chao, CHEN Jia-zhang, et al. Modeling of water circulating pond aquaculture system and its N & P removal effect [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2011, 27(3): 82-86.
- [2] 王钰钦,郑尧,钱信宇,等.初沉单元中净化材料的筛选及运行参数研究[J].农业环境科学学报,2020,39(11):2621-2630.

- WANG Yu-qin, ZHENG Yao, QIAN Xin-yu, et al. Study on purification materials selection and its operating parameters in the primary precipitation unit[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(11): 2621-2630.
- [3] 王钰钦, 郑尧, 钱信宇, 等. 火山石和改性凹凸棒土对初沉单元净化效果的影响[J]/OL. *农业环境科学学报*, 2020, 39(12): 2868-2877.
- WANG Yu-qin, ZHENG Yao, QIAN Xin-yu, et al. Effects of volcanic stone and Al@TCAP-N on the purification effect of primary precipitation units[J]/OL. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(12): 2868-2877.
- [4] 鲍祥, 张艳, 贺学周, 等. 改性凹凸棒土负载铝盐吸附剂去除水中总磷研究[J]. *安徽农学通报*, 2016, 22(19): 28-31.
- BAO Xiang, ZHANG Yan, HE Xue-zhou, et al. Removal of total phosphorus from water by aluminum salt adsorbent modified by modified concave and convex rods[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2016, 22(19): 28-31.
- [5] Yin H, Wang J, Zhang R, et al. Performance of physical and chemical methods in the co-reduction of internal phosphorus and nitrogen loading from the sediment of a black odorous river[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 663.
- [6] 聂凤, 熊正为, 黄建洪, 等. 改性火山石-PAC复合絮凝剂处理城镇生活污水试验研究[J]. *水处理技术*, 2012, 38(4): 87-90.
- NIE Feng, XIONG Zheng-wei, HUANG Jian-hong, et al. Treatment of municipal domestic sewage by compound flocculent of modified vesuvianite-PAC[J]. *Technology of Water Treatment*, 2012, 38(4): 87-90.
- [7] 张小平. 枯草芽孢杆菌SC02和施氏假单胞菌F1M对草鱼养殖水体水质的影响及机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014: 43-50.
- ZHANG Xiao-ping. Effects of *Bacillus subtilis* SC02 and *Pseudomonas stutzeri* F1M on water quality in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) culture and its mechanism[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014: 43-50.
- [8] 朱建龙, 张涛, 蒋路平, 等. 生物膜-活性污泥工艺对甲鱼养殖废水的处理效果研究[J]. *环境污染与防治*, 2017, 39(9): 948-951, 956.
- ZHU Jian-long, ZHANG Tao, JIANG Lu-ping, et al. Study on the treatment effect of HYBAS on turtle breeding wastewater[J]. *Environmental Pollution & Control*, 2017, 39(9): 948-951, 956.
- [9] 李小鹏, 张代均, 曹琳, 等. 氨氧化菌在污水生物处理中的作用[J]. *中国给水排水*, 2004, 20(5): 24-27.
- LI Xiao-peng, ZHANG Dai-jun, CAO Lin, et al. The role of ammonia oxidizing bacteria in biological treatment of sewage[J]. *China Water & Wastewater*, 2004, 20(5): 24-27.
- [10] 张庆芳, 李美玉, 王晓辉, 等. 微生物亚硝酸盐还原酶的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(11): 3148-3157.
- ZHANG Qing-fang, LI Mei-yu, WANG Xiao-hui, et al. Research progress of microbial nitrite reductase[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(11): 3148-3157.
- [11] 吴俊泽, 王艳艳, 李悦悦, 等. 海水人工湿地系统脱氮效果与基质酶活性的相关性[J]. *海洋科学*, 2019, 43(5): 36-44.
- WU Jun-ze, WANG Yan-yan, LI Yue-yue, et al. Enzyme activity in constructed marine wetlands[J]. *Marine Science*, 2019, 43(5): 36-44.
- [12] 白云鹏, 程欢, 许建和. 有机磷水解酶的挖掘、改造及应用[J]. *微生物学报*, 2017, 57(8): 1168-1179.
- BAI Yun-peng, CHENG Huan, XU Jian-he. Recent advances in discovery, engineering and applications of organophosphorus hydrolases[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2017, 57(8): 1168-1179.
- [13] 王福芳, 屈建航, 胡元森. 太湖水-沉积物界面磷、pH及碱性磷酸酶的时空特征及相关性[J]. *生态环境学报*, 2012, 21(5): 907-912.
- WANG Fu-fang, QU Jian-hang, HU Yuan-sen. Spatio-temporal characteristics and correlation of phosphate, pH and alkaline phosphatase on water-sediment interface of Lake Taihu[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2012, 21(5): 907-912.
- [14] 解军, 祁峰, 裴海燕, 等. 脱氢酶活性检测方法及其在环境监测中的应用[J]. *中国环境监测*, 2006, 22(5): 13-18.
- XIE Jun, QI Feng, PEI Hai-yan, et al. Determining method of dehydrogenase activity and its application in environmental monitoring[J]. *Environmental Monitoring in China*, 2006, 22(5): 13-18.
- [15] 孙莹. 以廉价农业废弃物为缓释碳源的反硝化滤池深度脱氮研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015: 7-8.
- SUN Ying. Advanced nitrogen removal of denitrification filter with agriculture residue as sustained-release carbon[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015: 7-8.
- [16] 王丽丽, 杨倩莹, 翁时岛, 等. 功能化火山石对重金属废水中 Cu^{2+} 吸附性能研究[J]. *广州化工*, 2019, 47(7): 77-80, 95.
- WANG Li-li, YANG Qian-ying, WENG Shi-dao, et al. Study on adsorption of Cu^{2+} ion from heavy metals wastewater by functionalized volcanic rocks[J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2019, 47(7): 77-80, 95.
- [17] 王华, 刘长发, 秦传新. 用火山石载体生物膜和角叉菜去除水中氮和磷的效果[J]. *大连水产学院学报*, 2007, 22(6): 21-25.
- WANG Hua, LIU Chang-fa, QIN Chuan-xin. Nitrogen and phosphate removal in aquaculture wastewater by a novel filter media vesuvianite and macroalga *Chondrus ocellatus*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2007, 22(6): 21-25.
- [18] 陈桂娟, 林坦, 梅国威, 等. 改性凹凸棒土的制备及其对颗粒的吸附性能研究[J]. *安徽职业技术学院学报*, 2019, 18(3): 19-23.
- CHEN Gui-juan, LIN Tan, MEI Guo-wei, et al. Preparation of modified attapulgite and its adsorption properties for particles[J]. *Journal of Anhui Vocational and Technical College*, 2019, 18(3): 19-23.
- [19] 梁沪莲, 郭小雅, 刘洋, 等. 基于高通量测序的4种硝化细菌富集培养物微生物群落结构分析[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(9): 2112-2119.
- LIANG Hu-lian, GUO Xiao-ya, LIU Yang, et al. Microbial community of four nitrobacteria enrichments by high-throughput sequencing[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(9): 2112-2119.
- [20] Fal Å S P, Longère P, La C J, et al. Micropollutant removal by attached and suspended growth in a hybrid biofilm activated sludge process[J]. *Water Research*, 2013, 47(13): 4498-4506.
- [21] 李璐. 活性污泥对污水中有机物的吸附性能研究[J]. *当代化工*, 2019, 48(8): 1737-1739, 1743.
- LI Lu. Study on adsorption performance of activated sludge for organic matter in sewage[J]. *Contemporary Chemical Industry*, 2019, 48(8): 1737-1739, 1743.

- [22] Zhang Q L, Liu Y, Ai G M, et al. The characteristics of a novel heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium, *Bacillus methylotrophicus* strain L7[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 108(3): 35-44.
- [23] 王光华, 赵英, 周德瑞, 等. 解磷菌的研究现状与展望[J]. 生态环境, 2003, 12(1): 96-101.
- WANG Guang-hua, ZHAO Ying, ZHOU De-rui, et al. Review of phosphate-solubilizing microorganisms[J]. *Ecology and Environment*, 2003, 12(1): 96-101.
- [24] 张翠绵, 贾楠, 胡栋, 等. 淡水养殖底泥净化复合芽孢杆菌的筛选与应用[J]. 环境工程学报, 2017, 11(2): 1281-1286.
- ZHANG Cui-mian, JIA Nan, HU Dong, et al. Screening and application of compound bacillus for purifying freshwater aquaculture sediment[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2017, 11(2): 1281-1286.
- [25] Buitrón G, Melgoza R M, Jiménez L. Pharmaceutical wastewater treatment using an anaerobic/aerobic sequencing batch biofilter[J]. *Journal of Environmental Science and Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 2003, 38(10): 2077-2088.
- [26] Cheng H, Lin H, Huo H, et al. Continuous removal of ore floatation reagents by an anaerobic-aerobic biological filter[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 114: 255-261.
- [27] Jiang Y, Khan A, Huang H, et al. Using nano-attapulgite clay compounded hydrophilic urethane foams (AT/HUFs) as biofilm support enhances oil-refinery wastewater treatment in a biofilm membrane bioreactor[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 646: 606-617.
- [28] Ilgrande C, Leroy B, Wattiez B, et al. Metabolic and proteomic responses to salinity in synthetic nitrifying communities of *Nitrosomonas* spp. and *Nitrobacter* spp.[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2914.
- [29] Zheng Y L, Hou L J, Liu M, et al. Dynamics and environmental importance of anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria in urban river networks[J]. *Environmental Pollution*, 2019: 254.
- [30] Kucey R M N, Janzen H H, Leggett M E. Inorganic phosphate solubilizing microorganisms: Microbially mediated increases in plant available phosphorus[J]. *Academic Press Inc*, 1989: 202-220.
- [31] 万琼, 赵志啸, 鞠恺, 等. 固定化硝化细菌技术的研究及应用[J]. 水处理技术, 2019, 45(8): 21-24, 29.
- WAN Qiong, ZHAO Zhi-xiao, JU Kai, et al. Research and application of immobilized nitrifying bacteria technology[J]. *Technology of Water Treatment*, 2019, 45(8): 21-24, 29.
- [32] 秦胜东, 郭嘉吻, 刘玉存, 等. 固定化微生物技术研究进展及其在水处理中的应用[J]. 水处理技术, 2014, 40(10): 6-11.
- QIN Sheng-dong, GUO Jia-wen, LIU Yu-cun, et al. Research progress of immobilized microorganism technology and its application in water treatment[J]. *Technology of Water Treatment*, 2014, 40(10): 6-11.
- [33] Bin Z, Jiao Y, Yu G, et al. Effects of bioporous carriers on the performance and microbial community structure in side-stream anaerobic membrane bioreactors[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2020: 1-15.
- [34] 邓岩岩, 迟莉娜, 周伟丽, 等. 包埋固定化硝化菌驯化阶段特性的研究[J]. 水处理技术, 2010, 36(6): 73-76.
- DENG Yan-yan, CHI Li-na, ZHOU Wei-li, et al. Study on the characteristics of immobilized nitrobacteria during the acclimation period[J]. *Technology of Water Treatment*, 2010, 36(6): 73-76.
- [35] Liu T, Jia G, Xu J, et al. Simultaneous nitrification and denitrification in continuous flow MBBR with novel surface-modified carriers[J]. *Environmental Technology*, 2020, 4: 1-11.