

固定化菌诱导矿化脱氮除磷及养猪粪水的资源化利用

梁春来^{1#}, 周晓彤^{1#}, 赵辉^{1*}, 闫华晓^{1*}, 刘绍堃¹, 韩明明¹, 于雪¹,
李泽池¹, 王曦晗¹, 苏嫻¹, 赵文文¹, 王舒淇¹, 王永鑫¹, 韩作振²

1 山东科技大学 化学与生物工程学院生物工程系, 山东 青岛

2 山东科技大学 地球科学与工程学院, 山东 青岛

梁春来, 周晓彤, 赵辉, 闫华晓, 刘绍堃, 韩明明, 于雪, 李泽池, 王曦晗, 苏嫻, 赵文文, 王舒淇, 王永鑫, 韩作振. 固定化菌诱导矿化脱氮除磷及养猪粪水的资源化利用[J]. 微生物学报, 2026, 66(4): 1907-1928.

LIANG Chunlai, ZHOU Xiaotong, ZHAO Hui, YAN Huaxiao, LIU Shaokun, HAN Mingming, YU Xue, LI Zechi, WANG Xihan, SU Yuan, ZHAO Wenwen, WANG Shuqi, WANG Yongxin, HAN Zuozen. Immobilized bacteria-induced mineralization for nitrogen and phosphorus removal and utilization of swine manure wastewater resources[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(4): 1907-1928.

摘要:【目的】探究地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) ZXT 的不同固定化策略及矿化方式对高氮磷废水的脱氮除磷效能, 明确最优矿化条件与载体作用机制, 为养猪废水等复杂高氮磷废水的绿色处理与资源回收提供技术支撑。【方法】对比游离菌、化学沉淀、活性炭纤维(activated carbon fiber, ACF)固定化、聚乙烯醇-海藻酸钠-炭粉(polyvinyl alcohol-sodium alginate-carbon powder, PVA-SA-CP)固定化 4 种体系在 Mg:N:P 为 0.6:1:1、1:1:1、1.4:1:1 比例下的矿化效果, 结合 X 射线衍射、扫描电子显微镜、傅里叶变换红外光谱等表征手段解析矿物特性, 通过实际养猪废水验证体系应用潜力。【结果】ACF 固定化体系效能最优, 在 Mg:N:P=1:1:1 比例下培养 7 d, NH_4^+ 终浓度仅 0.59 mg/L (去除率 99.81%), PO_4^{3-} 终浓度低至 0.03 mg/L (去除率 99.99%), 均满足国标 GB 8978—1996 排放标准, 且生成结晶规整的长板状鸟粪石(即磷酸铵镁, magnesium ammonium phosphate, MAP); PVA-SA-CP 固定化体系同比例下 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 终浓度分别为 5.07 mg/L、0.45 mg/L, 去除效果显著较弱; 化学沉淀法 24 h 内 NH_4^+ 终浓度为 38.90–48.01 mg/L (去除率 84.70%–87.61%), 未达标。游离菌处理实际养猪废水时, 培养 8 d NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 去除率分别达 99.97%、99.92%, 终浓度为 0.15 mg/L、0.05 mg/L, 符合排放要求。【结论】ACF 凭借发达的微孔结构与良好的生物相容性, 可高效富集菌体并促进胞外聚合物规整组装, 其固定化地衣芽孢杆菌 ZXT 的矿化技术为最优选择, Mg:N:P=1:1:1 为最佳矿化比例, 该技术可实现高氮磷废水的高效净化与氮磷资源回收, 在实际废水处理中具有重要应用价值。

资助项目: 国家自然科学基金(42472372, 42372135); 山东省自然科学基金(ZR2023MD063)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42472372, 42372135) and the Natural Science Foundation of Shandong Province (ZR2023MD063).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding authors. E-mail: ZHAO Hui, skd992042@sdust.edu.cn; YAN Huaxiao, skd995012@sdust.edu.cn

Received: 2025-12-29; Accepted: 2026-03-02; Published online: 2026-03-09

关键词：微生物矿化；鸟粪石法；磷酸铵镁；养猪废水

Immobilized bacteria-induced mineralization for nitrogen and phosphorus removal and utilization of swine manure wastewater resources

LIANG Chunlai^{1#}, ZHOU Xiaotong^{1#}, ZHAO Hui^{1*}, YAN Huaxiao^{1*}, LIU Shaokun¹, HAN Mingming¹, YU Xue¹, LI Zechi¹, WANG Xihan¹, SU Yuan¹, ZHAO Wenwen¹, WANG Shuqi¹, WANG Yongxin¹, HAN Zuozhen²

1 Department of Biological Engineering, College of Chemical and Biological Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao, Shandong, China

2 College of Earth Science and Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao, Shandong, China

Abstract: [Objective] To explore the nitrogen and phosphorus removal efficiency of different immobilization strategies and mineralization methods of *Bacillus licheniformis* ZXT for high nitrogen-phosphorus wastewater, clarify the optimal mineralization conditions and carrier mechanism of action, and provide technical support for the green treatment and recovery of complex high nitrogen-phosphorus wastewater resources such as swine manure wastewater. **[Methods]** Four systems—free bacteria, chemical precipitation, activated carbon fiber (ACF) immobilization, and polyvinyl alcohol-sodium alginate-carbon powder (PVA-SA-CP) immobilization—were compared for their mineralization effects under Mg:N:P molar ratios of 0.6:1:1, 1:1:1, and 1.4:1:1. Characterization techniques including X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) were employed to analyze mineral properties. The application potential of the systems was verified with actual swine manure wastewater. **[Results]** The ACF immobilization system exhibited the optimal efficiency. Under the Mg:N:P ratio of 1:1:1, after seven days of cultivation, the final concentration of NH_4^+ was only 0.59 mg/L (removal rate: 99.81%) and the final concentration of PO_4^{3-} was as low as 0.03 mg/L (removal rate: 99.99%), both meeting the national discharge standards (GB 8978—1996), with the formation of regular crystalline long plate-like struvite (i.e., magnesium ammonium phosphate, MAP). The PVA-SA-CP immobilization system showed significantly weaker removal effects under the same ratio, with final concentrations of NH_4^+ and PO_4^{3-} being 5.07 mg/L and 0.45 mg/L, respectively. The chemical precipitation method failed to meet the standards, as the final concentration of NH_4^+ ranged from 38.90 to 48.01 mg/L (removal rate: 84.70%–87.61%) within 24 h. Free bacteria achieved the removal rates of 99.97% for NH_4^+ and 99.92% for PO_4^{3-} in actual swine manure wastewater after eight days of cultivation, with final NH_4^+ and PO_4^{3-} concentrations of 0.15 mg/L and 0.05 mg/L, respectively, which complied with the discharge requirements. **[Conclusion]** Due to its developed microporous structure and good

biocompatibility, ACF can efficiently enrich bacteria and promote the regular assembly of extracellular polymeric substances. The mineralization with ACF-immobilized *B. licheniformis* ZXT is the optimal choice, with Mg:N:P=1:1:1 as the best mineralization ratio. This technology can achieve efficient purification of high nitrogen-phosphorus wastewater and recovery of nitrogen and phosphorus resources, thus having important application value in actual wastewater treatment.

Keywords: microbial mineralization; struvite process; magnesium ammonium phosphate; swine manure wastewater

磷不仅是构成生命体遗传物质与能量载体的必需元素,也是保障全球粮食安全的不可再生战略性矿产资源^[1]。当前,全球磷矿资源分布高度不均,优质矿藏日益枯竭。我国磷矿储量虽大,但普遍品位较低,面临“丰而不富”、开采成本高的挑战^[2-3],这使得磷资源的可持续利用面临巨大压力。与此同时,工农业生产与人类生活排放的大量氮磷废水进入水体,引发严重的富营养化问题,破坏水生生态平衡并威胁饮用水安全^[2,4-5]。作为一类典型的高氮磷废水,养殖废水的成分复杂性使其成为废水治理的一大研究难题^[6]。其特点主要体现在:污染物种类多样,不仅含有高浓度的氮、磷等营养盐和化学需氧量(chemical oxygen demand, COD),还包含大量悬浮颗粒物、残留抗生素及致病微生物。此外,废水排放量大、固液分离困难,且可能在微生物代谢过程中产生二次污染物^[7-8],进一步增加了处理难度与成本。

针对氮磷废水的处理,现有方法主要分为物理化学法与生物处理法。以化学沉淀为代表的物化法反应快速,但存在药剂投加大、污泥产量多及潜在二次污染等问题^[9-10]。传统的活性污泥法等生物工艺,虽运行成本相对较低,但普遍存在工艺流程长、微生物菌群对环境条件敏感、污泥处置困难及难以直接回收资源等局限^[11-13]。因此,发展绿色、低耗且能实现资源回用的新技术势在必行。

微生物诱导磷酸盐沉淀技术(microbially induced phosphate precipitation, MIPP)为此提供了新思路。该技术利用特定微生物的代谢活动分

泌脲酶水解尿素产氨、分泌碱性磷酸酶水解有机磷脂产磷酸等,主动调节局部微环境、提升pH,进而诱导溶液中 Mg^{2+} 、 NH_4^+ 和 PO_4^{3-} 结晶形成鸟粪石(即磷酸铵镁, magnesium ammonium phosphate, MAP)^[14-17]。MAP是一种优质的缓释肥,可实现氮磷的资源化回收^[18]。相较于传统化学结晶法,生物诱导形成MAP的条件更温和,且微生物代谢能更灵活地适应复杂水质^[19-21]。MIPP在脱除废水中氮磷的同时,能够通过吸附、包裹等机制共沉淀体系中重金属离子。Zhang等^[22]使用奥奈达湖希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*) MR-1在含Cr(VI)的模拟废水中诱导鸟粪石成矿,并通过多种技术对沉淀物的成分、形态和Cr含量进行表征,实验结果证明,菌株MR-1不仅可以为鸟粪石沉淀创造碱性环境,而且可以将Cr(VI)完全还原为Cr(III),并在上清液中形成可溶性有机物Cr(III)络合物,从而降低Cr在含镉废水中的含量。Han等^[20]利用固定化蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) MRR2检验对富营养化水中氮磷以及镁离子的去除回收效果,通过响应面法得出蜡样芽孢杆菌MRR2在最佳固定化条件下培养15 d后对氮、磷、镁离子的去除率可分别达到95.7%、90.1%、95.6%,表明菌株MRR2可以有效地诱导富营养化水中氮磷离子与镁离子结合生成磷酸盐沉淀,为富营养水处理提供参考。林锦美等^[23]将假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.) F330-7菌株应用于城市废水中氮磷的去除与回收工艺上,在C/N质量浓度比为12的条件下,总氮与总磷的去除率分别达到82.7%与88.1%,

满足城市废水的排放标准。

然而，直接应用游离微生物体系处理实际废水，常面临功能菌体易流失、生物量浓度低、抗环境冲击能力弱以及回收困难等瓶颈^[24]。微生物固定化技术是突破上述瓶颈的有效手段，其通过物理或化学方法将微生物细胞固定在特定载体上，能显著提高反应器内生物量持有量、增强微生物对毒性物质的耐受性，并便于催化剂的分离与重复使用^[25-27]。

固定化载体的选择是技术关键，其理化性质直接影响微生物活性与体系传质效率。活性炭纤维(activated carbon fiber, ACF)作为一种高性能多孔材料，其极大的比表面积和优异的生物相容性，使其能够高效富集微生物，并为生物矿化提供丰富的界面反应位点^[28-29]。另一方面，以聚乙烯醇-海藻酸钠(polyvinyl alcohol-sodium alginate, PVA-SA)为代表的水凝胶包埋法，因操作简便、条件温和而被广泛应用，但其致密的三维网络结构可能限制底物与产物的扩散，从而可能抑制微生物的代谢活性^[30-31]。目前，针对地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)这类环境适应性强、具矿化潜力的菌株，系统比较 ACF 吸附固定化与 PVA-SA 与炭粉复合包埋固定化对其诱导 MAP 过程的影响机制研究尚有待深入。

基于此，本研究以一株具有高效矿化能力的地衣芽孢杆菌 ZXT 为对象，旨在系统探究不同固定化策略对其生物矿化效能的影响及机理。研究内容主要包括：(1) 在模拟废水中，对比 ACF 固定化与聚乙烯醇-海藻酸钠-炭粉(polyvinyl alcohol-sodium alginate-carbon powder, PVA-SA-CP)复合固定化体系，在 Mg:N:P 不同物质的量比下，对体系 pH、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性、MAP 结晶特性及离子去除动力学的差异化影响；(2) 综合利用扫描电镜(scanning electron microscopy, SEM)、X 射线衍射(X-ray diffraction, XRD)、傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy,

FT-IR)等表征手段，从微观层面揭示 2 种固定化体系的作用机理；(3) 将游离菌矿化体系应用于高氮磷实际养猪废水的处理，全面评估其对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 及共存 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的同步去除性能与资源回收可行性，以期发展为高效、稳定且可持续的废水处理与资源回收新工艺提供重要的理论依据和技术选择。

1 材料与方法

1.1 菌株和培养基

地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*) ZXT，由山东科技大学地质微生物实验室(青岛)分离， $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保藏。固定化材料选用 ACF 及 PVA-SA-CP 复合材料。实际养猪废水取样于山东省青岛市黄岛区王明德养猪场。

采用 LB 培养基培养、扩增菌株。基础液体培养基(g/L)：牛肉膏 5.0，胰蛋白胨 10.0，NaCl 30.0，KCl 2.0，采用 1.0 mol/L HCl 调节 pH 至 6.0。在此基础上添加 20.0 g/L 琼脂制得固体培养基。将单菌落接种至 150 mL 液体培养基中，于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、110 r/min 培养至 $OD_{600}=1.0$ ，制得种子液。

实验设置 2 种矿化培养基体系：(1) 基础矿化培养基，在 LB 液体培养基中添加 KH_2PO_4 (0.014 mol/L)、 NH_4Cl (0.014 mol/L) 及 $\text{MgCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，调节 Mg:N:P 物质的量比分别为 0.6:1:1、1:1:1 与 1.4:1:1，以 1 mol/L $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ 为缓冲对，用 1 mol/L HCl/NaOH 调节初始 pH 5.3；(2) 养猪废水培养基：向养猪废水中补充 KH_2PO_4 、 NH_4Cl 及 MgCl_2 至物质的量比 Mg:N:P=1:1:1。

实际养猪废水水样静置沉淀后过滤，得到浊黄色、无明显悬浮物与固体杂质水样，对其水质进行表征，结果如下：pH 8.65 ± 0.05 ， $[\text{NH}_4^+\text{-N}]=(594.57\pm 3.26)\text{ mg/L}$ ， $[\text{PO}_4^{3-}]=(61.81\pm 1.98)\text{ mg/L}$ ， $[\text{Mg}^{2+}]=(5.11\pm 0.08)\text{ mg/L}$ ， $[\text{Ca}^{2+}]=(62.68\pm 2.48)\text{ mg/L}$ 。补充 MgCl_2 固体至废水中 Mg^{2+} 浓度为 960 mg/L，即物质的量比 Mg:N=1:1，以达到鸟粪石沉淀生

成的最佳起始反应物浓度。

1.2 矿化体系水样检测指标与检测方法

采用对硝基苯酚(*p*-nitrophenol, PNP)比色法测定 ALP 活性。将 ALP 活性定义为: 测定条件下, 每分钟催化 1 μmol PNP 所需的酶量。

采用水杨酸-次氯酸盐分光光度法测定矿化培养液中 NH_4^+ -N 质量浓度。采用钼酸铵分光光度法测定培养液中 PO_4^{3-} 浓度。

使用火焰原子吸收光谱仪测定矿化体系中 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 浓度。

离子去除率根据 Han 等^[32]的方法计算, 如公式(1)和公式(2)所示。

$$T_1 = \frac{C_0 - C_i}{C_0} \times 100\% \quad (1)$$

$$T_2 = \frac{T_1}{T_i} \quad (2)$$

式中: T_1 为去除率(%); T_2 为去除速率[$\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{d})$]; C_0 为初始浓度(mg/L); C_i 为测定浓度(mg/L); T_i 为时间(d)。

1.3 矿化实验设置

向 Mg:N:P 为 0.6:1:1、1:1:1 和 1.4:1:1 的矿化液体培养基中分别以体积分数 2% 接种量加入种子液, 设置为游离菌矿化组。使用相同培养基, 1 mol/L NaOH 调节初始 pH 至 8.5, 设置为化学矿化组。ACF 使用去离子水煮沸 1.5 h, 120 $^\circ\text{C}$ 烘干至恒重, 裁为 1 $\text{cm}\times 1\text{ cm}$ 方块, 称取 1 g 置于种子液中, 37 $^\circ\text{C}$ 、110 r/min 振荡培养 48 h, 随后取出, 转接至 Mg:N:P=0.6:1:1、1:1:1、1.4:1:1 的矿化液体培养基中, 设置为 ACF 固定化矿化组。称取 1.2 g 聚乙烯醇加入 400 mL 蒸馏水中, 加热、搅拌至完全溶解, 随后加入 8.0 g 海藻酸钠搅拌溶解。待溶液冷却至室温后, 加入 12.0 g 活性炭粉并混合均匀, 再向其中加入 49.2 mL 培养 48 h 的菌液, 充分搅拌。用无菌注射器吸取混合液, 逐滴滴入交联液(4% CaCl_2 、3% 硼酸)中, 静置 24 h。取出固定化菌球, 用灭菌的 5% NaCl 溶液冲洗, 用超净台中沥干, 随后接种至 Mg:N:P=0.6:1:1、

1:1:1、1.4:1:1 的矿化液体培养基中。各实验组培养条件为: 37 $^\circ\text{C}$ 、110 r/min 培养 20 d。每隔 24 h 取样。每组设置 3 个重复。

1.4 矿物回收与表征

将培养物移至 50 mL 离心管, 静置 1 h, 弃上清, 4 $^\circ\text{C}$ 、8 000 r/min 离心 10 min 收集沉淀。去离子水、无水乙醇洗涤 3 次洗净后, 将矿物样品于室温干燥, 备用。采用 X 射线衍射技术分析矿物样品物相。X 射线衍射仪扫描范围为 $2\theta\in[20^\circ, 60^\circ]$, 步长为 0.02° , 速率为 $8(^\circ)/\text{min}$ 。使用 Jade 6.5 将衍射谱图与标准 PDF 卡片进行比对, 鉴定样品物相组成。采用傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)表征样品物相组成与所含官能团。样品制备采用 KBr 压片法, 测试波数范围为 $400\text{--}4\,000\text{ cm}^{-1}$, 光谱分辨率为 4 cm^{-1} 。采用扫描电子显微镜(SEM)观察矿物样品表面形貌与细菌及其衍生物分布情况。

2 结果与讨论

2.1 游离菌诱导成矿对氮磷去除效果研究

2.1.1 菌株生理生化特性变化

图 1 呈现了游离菌体系在不同 Mg:N:P 比例(0.6:1:1、1:1:1、1.4:1:1)下矿化过程中 pH 值、ALP 活性及蛋白质、DNA、多糖浓度的动态变化特征。在 pH 变化方面, 游离菌体系在培养期内均能达到适宜磷酸铵镁(MAP)形成的范围。初始阶段, pH 快速上升后趋于稳定, 且随 Mg:N:P 比例升高呈下降趋势, 1:1:1 比例下 pH 峰值略高于其他两组。ALP 活性变化显示, 游离菌体系中 ALP 活性在培养初期(0–3 d)迅速升高, 峰值分别为 0.62、0.75 和 0.58 U/L, 显著高于固定化体系, 之后逐渐下降并趋于稳定, 其中 1:1:1 比例下酶活性维持在较高水平, 表明该比例更利于菌体代谢功能的发挥。此外, 蛋白质、DNA 及多糖浓度与 ALP 活性变化呈现协同效

应, 1:1:1 比例下生物大分子浓度最高, 低镁与高镁比例下相对较低, 说明适宜的 Mg:N:P 比例可促进游离菌分泌胞外聚合物 (extracellular polymeric substances, EPS), 而 EPS 通过吸附阳离子、提供成核位点等作用, 进一步强化了游离菌诱导 MAP 矿化的效能, 这与化学法相比, 微生物代谢活动更利于调控晶体生长与离子去除^[33-35]。

2.1.2 矿化产物表征

化学矿化与游离菌矿化(6 d、15 d)产物的

XRD 图谱对比显示, 矿化方式与培养时间对产物物相组成、结晶度及晶面择优生长均存在显著差异, 且游离菌矿化的生物调控作用使产物特性与化学矿化呈现系统性区别。如图 2A 所示, 化学矿化体系中不同 Mg:N:P 比例(0.6:1:1、1:1:1、1.4:1:1)下产物均与鸟粪石标准卡片(PDF# 71-2089)吻合, 未检测到其他杂相, 表明化学沉淀过程仅定向生成鸟粪石。如图 2B 所示, 游离菌矿化呈现明显的时间依赖性: 矿化 6 d 的产物

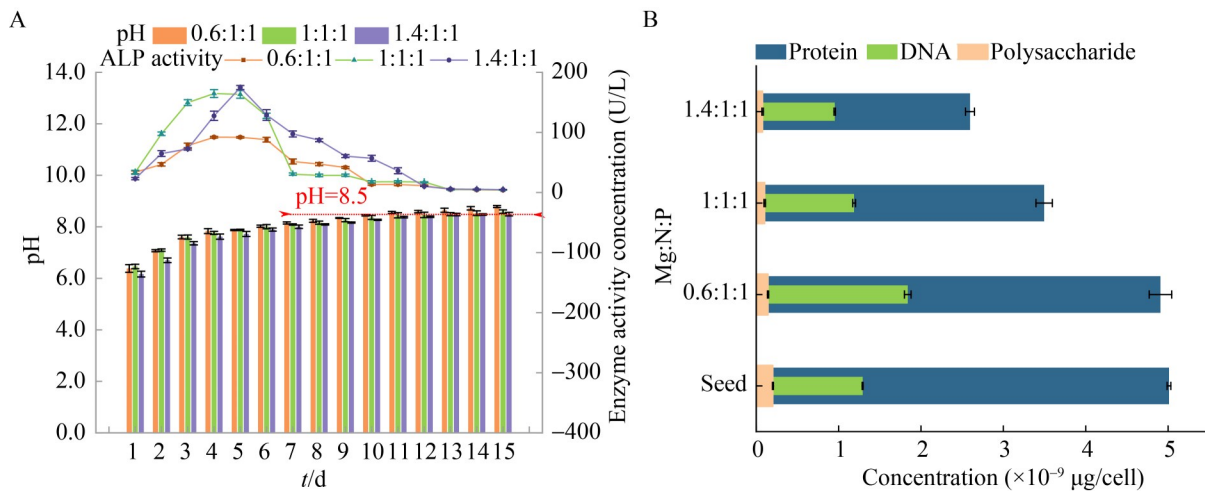


图1 游离菌体系在不同Mg:N:P比例下矿化过程中pH、碱性磷酸酶活性变化(A)及胞外聚合物组分浓度变化(B)

Figure 1 Changes in pH, alkaline phosphatase activity (A), and extracellular polymeric substance component concentrations (B) during mineralization in free bacterial system under different Mg:N:P ratios.

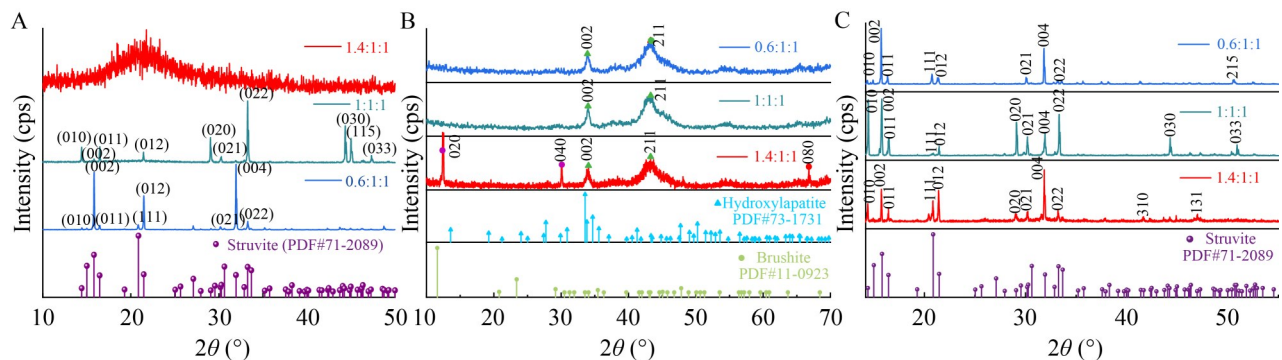


图2 化学矿化(A)与游离菌矿化6 d (B)、15 d (C)产物的XRD物相分析

Figure 2 XRD phase analysis of products from chemical mineralization (A) and free-living bacterial mineralization for 6 d (B) and 15 d (C).

未出现鸟粪石特征衍射峰, 反而与羟基磷灰石(PDF#73-1731)和透磷石(PDF#11-0923)标准卡片匹配, 其中 Mg:N:P=0.6:1:1 和 1:1:1 时, 晶面间距 $d=3.429\ 1\ \text{\AA}$ 和 $2.762\ 8\ \text{\AA}$, 分别对应羟基磷灰石的(002)和(211)晶面, Mg:N:P=1.4:1:1 时额外出现透磷石的(020) ($d=7.633\ 7\ \text{\AA}$)、(040) ($d=3.793\ 6\ \text{\AA}$)等特征晶面。如图 2C 所示, 矿化 15 d 后产物衍射峰完全切换为鸟粪石特征峰, 晶面间距 $d=6.132\ 7\ \text{\AA}$ 和 $5.643\ 8\ \text{\AA}$ 等分别对应(010)和(002)等晶面, 证实游离菌矿化存在由磷酸钙矿物至磷酸铵镁矿物的物相转变过程, 而化学矿化无此阶段性特征。

结晶度可通过衍射峰强度与半峰宽定量表征。化学矿化产物中, Mg:N:P=0.6:1:1 和 1:1:1 时衍射峰尖锐且强度高, (002)晶面半峰宽分别为 $(0.095\pm 0.001)^\circ$ 和 $(0.103\pm 0.002)^\circ$, 结晶度良好; 但 Mg:N:P=1.4:1:1 时衍射峰宽化呈“馒头峰”, 半峰宽增至 $(0.647\pm 0.010)^\circ$, 结晶度显著下降。游离菌矿化的结晶度变化与化学矿化相反: 矿化 6 d 的磷酸钙产物中, (211)晶面衍射峰宽而分散, (002)晶面衍射峰细而尖锐, 表明羟基磷灰石倾向沿 *c* 轴优先生长, 但整体结晶度较低; 矿化 15 d 后, 鸟粪石产物的衍射峰强度普遍高于化学矿化, 且半峰宽显著更小, 如 Mg:N:P=0.6:1:1 时(002)晶面半峰宽为 $(0.065\pm 0.002)^\circ$, 较化学矿化 $(0.095\pm 0.001)^\circ$ 降低 31.6%, Mg:N:P=1.4:1:1 时半峰宽仅为 $(0.092\pm 0.003)^\circ$, 较化学矿化 $(0.647\pm 0.010)^\circ$ 降低 85.8%, 证实游离菌的生物代谢活动可有效改善高 Mg^{2+} 浓度下的结晶缺陷, 提升产物结晶完整性。

化学矿化的晶面生长受 Mg^{2+} 浓度调控: Mg:N:P=0.6:1:1 时高强度衍射峰对应鸟粪石(002)和(004)晶面, 表明沿 basal 面择优生长; 比例升至 1:1:1 时主峰切换为(022)晶面, 说明 Mg^{2+} 浓度升高改变了晶面生长优先级。游离菌矿化的晶面择优生长则受生物调控主导: 矿化 15 d 的鸟粪石产物中, 无论 Mg:N:P 比例如何, 均呈现(010)、(002)、(011)等多晶面协同生长特

征, 衍射峰强度分布更均匀, 无单一晶面的显著优势, 与化学矿化的定向晶面生长形成鲜明对比; 且矿化 6 d 的羟基磷灰石产物中, (002)晶面衍射峰强度显著高于(211)晶面, 体现微生物对磷酸钙矿物生长方向的选择性调控作用。

化学矿化对高 Mg:N:P 比例(1.4:1:1)敏感, 产物结晶度急剧下降且衍射峰宽化严重; 而游离菌矿化对比例变化的耐受性更强, 即使 Mg:N:P=1.4:1:1, 矿化 15 d 后仍能生成结晶良好的鸟粪石, 衍射峰尖锐无宽化现象。此外, 化学矿化中 Mg:N:P 比例仅影响鸟粪石的晶面生长与结晶度, 不改变物相; 而游离菌矿化中, 比例变化仅影响矿化 6 d 阶段磷酸钙矿物的杂相比(如 Mg:N:P=1.4:1:1 时透磷石含量增加), 矿化 15 d 后均统一转化为鸟粪石, 表明生物调控作用可弱化离子比例对最终产物物相的影响。

综上所述, 化学矿化是单纯的离子沉淀过程, 产物物相单一但结晶度易受离子比例影响; 游离菌矿化则通过生物代谢实现物相的阶段性转变, 最终产物结晶度更高、晶面生长更均匀, 且对离子比例变化的适应性更强, 体现了生物矿化在产物调控方面的优势。

2.1.3 主要离子的去除效果

如图 3 所示, 在游离菌矿化体系中, 不同 Mg:N:P 比例下的离子浓度变化呈现显著的比例依赖性与时间协同性: 初始浓度 $314\ \text{mg/L}$ 的 NH_4^+ , 在矿化前 6 天其浓度快速下降, 1:1:1 比例下第 14 天的去除率达 99.73%–99.96%, 0.6:1:1 与 1.4:1:1 比例的去除率则分别为 99.73%、99.96%; PO_4^{3-} (初始浓度 $1\ 900\ \text{mg/L}$) 的浓度变化趋势与 NH_4^+ 高度一致, 1:1:1 比例下第 14 天的去除率达 99.42%, 0.6:1:1 与 1.4:1:1 比例的去除率分别为 98.78%、99.00%, 这一结果直接印证了 1:1:1 的离子比例更适配游离菌的代谢矿化过程。

对于 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} , 1.4:1:1 比例下 Mg^{2+} 初始浓度约为 $700\ \text{mg/L}$, 但第 14 天的去除率仅为 28.5%, 显著低于 0.6:1:1 比例的 73.3% 与 1:1:1

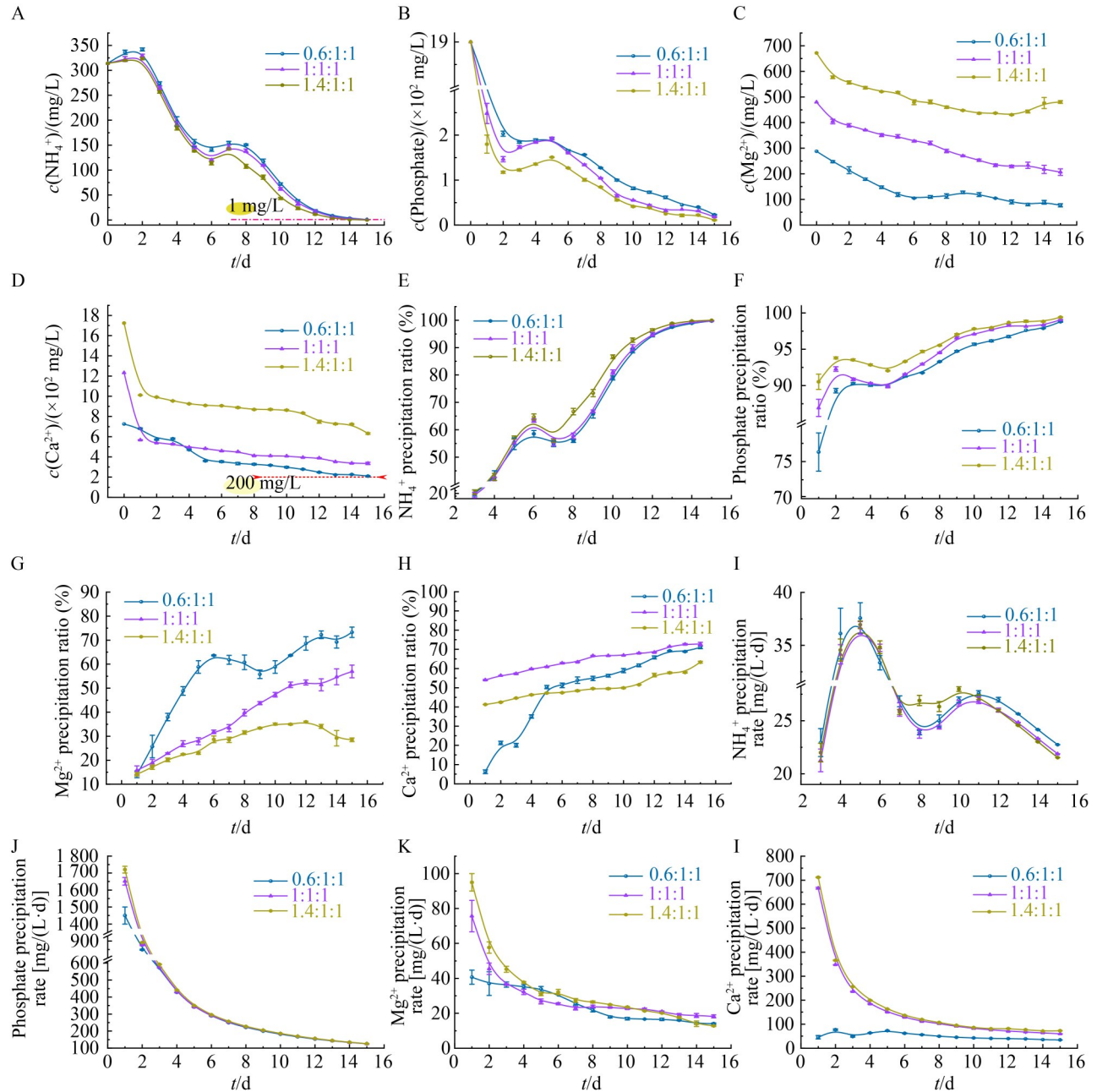


图3 游离菌矿化体系中不同镁氮磷比下15 d内 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 和 PO_4^{3-} 的浓度变化曲线(A-D)、沉淀率变化曲线(E-H)与沉淀速率变化曲线(I-L)

Figure 3 Concentration variation curves (A–D), precipitation rate curves (E–H), and precipitation efficiency curves (I–L) of Mg^{2+} , Ca^{2+} , NH_4^+ , and PO_4^{3-} over 15 days in a free bacteria mineralization system under different Mg:N:P ratios.

比例的 56.9%，说明过高的 Mg^{2+} 会抑制其自身的生物矿化沉淀；而 Ca^{2+} 的结合优先级低于

Mg^{2+} ，仅 1:1:1 比例下第 14 天的去除率可达 72.7%，0.6:1:1 与 1.4:1:1 比例的去除率分别为

71.0%、63.3%。结合沉淀速率特征可知, NH_4^+ 与 PO_4^{3-} 的沉淀速率在矿化前 4 天达到峰值, 且 1:1:1 比例下的峰值显著更高, 而 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 无明显峰值且速率缓慢衰减, 进一步体现了游离菌矿化对氮磷的靶向沉淀效应, 1:1:1 的 Mg:N:P 比例是实现氮磷高效同步去除与 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 协同沉淀的最优条件。

如图 4 所示, 与化学法矿化(24 h)相比, 游离菌矿化(15 d)的脱除效果更具优势: 游离菌矿化后 NH_4^+ 终浓度均小于 1 mg/L, 去除率达 99.73%–99.96%, 而化学法矿化后 NH_4^+ 终浓度为 38.90–48.01 mg/L, 对应 0.6:1:1、1:1:1、1.4:1:1 比例的去除率分别为 87.61%、86.65%、84.70%; 游离菌矿化后 PO_4^{3-} 终浓度为 0.11–0.23 mg/L, 去除率为 98.78%–99.42%, 化

学法矿化后 PO_4^{3-} 终浓度为 0.94–13.84 mg/L, 对应各比例的去除率分别为 99.27%、99.95%、99.88%; 钙镁离子脱除方面, 游离菌矿化的 Ca^{2+} 去除率分别为 71.0%、72.7%、63.3%, Mg^{2+} 去除率分别为 73.3%、56.9%、28.5%; 化学法的 Ca^{2+} 去除率分别为 58.26%、74.27%、79.96%, Mg^{2+} 去除率分别为 49.30%、34.83%、27.45%。

综上所述, 游离菌矿化通过靶向沉淀效应实现了氮磷的高效、彻底脱除, 1:1:1 的 Mg:N:P 比例为其最优矿化条件, 且处理后氮磷浓度可满足国标 GB 8978—1996 排放标准^[36]; 而化学法虽能快速成矿, 但 NH_4^+ 脱除效果较差(最高去除率仅 87.61%), 无法达到污水排放要求。

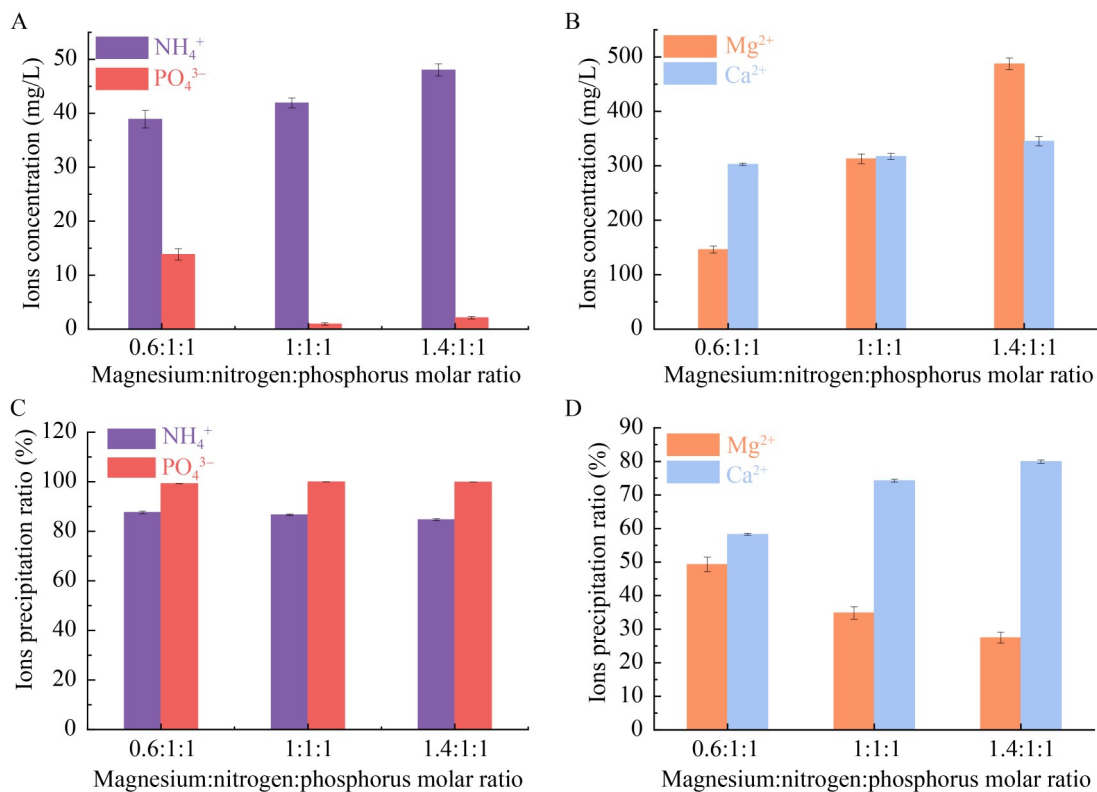


图4 化学矿化24 h后 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 和 PO_4^{3-} 的终浓度与沉淀率

Figure 4 Final concentrations and precipitation rates of Mg^{2+} , Ca^{2+} , NH_4^+ and PO_4^{3-} after 24 hours of chemical mineralization. A: Final concentrations of NH_4^+ and PO_4^{3-} ; B: Final concentrations of Mg^{2+} and Ca^{2+} ; C: Precipitation rates of NH_4^+ and PO_4^{3-} ; D: Precipitation rates of NH_4^+ and PO_4^{3-} .

2.2 固定化成矿对氮磷去除效果研究

2.2.1 固定化菌体系的 pH 与碱性磷酸酶活性变化

如图 5A 所示, 在 ACF 固定化体系中, 3 种 Mg:N:P 比例的 pH 均能维持在 8.00–8.60 的适宜成矿范围。培养初期(0–6 d), pH 迅速上升, 之后趋于平缓, 至第 15 天达到最高值, 分别为 8.45、8.59 和 8.36。随 Mg:N:P 比例升高, pH 呈下降趋势, 该规律与游离菌体系一致。

在 PVA-SA-CP 固定化体系中, 体系 pH 在培养初期出现短暂缓慢下降, 随后逐渐上升, 在 2–12 d 内达到峰值, 分别为 8.37、8.37 和 8.25, 表明较高镁浓度对微生物产碱相关代谢具有一定抑制作用。整体而言, PVA-SA-CP 体系的 pH 峰值均低于 ACF 体系, 说明 ACF 体系有利于维持较高的 pH 环境, 从而促进沉淀反应进行。

如图 5B 所示, ACF 固定化体系中, ALP 活性在 0–3 d 迅速上升后逐渐下降并趋于稳定。3 种比例下的 ALP 活性峰值分别为 0.45、0.19 和 0.11 U/L, 均显著低于游离菌体系。PVA-SA-CP 体系则在培养第 1 天达到 ALP 活性峰值

(0.089、0.081、0.074 U/L), 之后持续缓慢下降。

ACF 体系释放的 ALP 活性整体高于 PVA-SA-CP 体系, 这主要归因于 ACF 具有较大的比表面积、强吸附能力和良好的生物相容性^[37-38], 有利于菌体在其表面富集与生长; 而 SA 所形成的凝胶结构较为致密, 可能限制底物与产物的传质, 导致营养受限及代谢产物抑制, 进而影响菌体生长与酶活释放^[39]。

就产碱能力与 ALP 活性水平而言, 整体表现为: ACF 固定化体系优于 PVA-SA-CP 固定化体系。这一结果说明, 尽管固定化处理对酶活有一定抑制, 但 ACF 因其优异的吸附与生物相容特性, 在维持成矿碱度与促进酶活方面仍优于 PVA-SA-CP 复合材料。

2.2.2 固定化体系矿化产物的物相分析

图 6A、6B 分别为 ACF 固定化与 PVA-SA-CP 固定化菌球在不同 Mg:N:P 比例下诱导生成矿物的 XRD 谱图。2 种固定化方式所得产物的衍射峰均与鸟粪石标准卡片(PDF#77-2303)相匹配。如图 6A 所示, 在 ACF 固定化体系中, 当 Mg:N:P 为 0.6:1:1 与 1:1:1 时, 产物的衍射峰尖锐、峰形明锐, 表明鸟粪石结晶度良好。然而, 当比例提高至 1.4:1:1 时, 衍射峰明显宽化、强

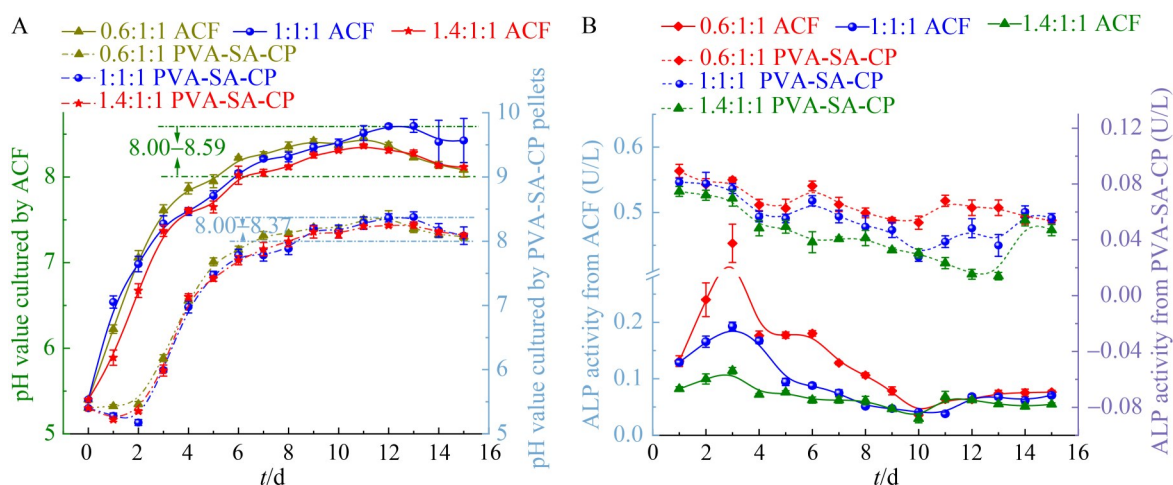


图5 两种固定化方法对不同镁氮磷比矿化体系下pH(A)与ALP活性(B)的影响

Figure 5 The influence of two immobilization methods on pH (A) and ALP activity (B) in different magnesium-nitrogen-phosphorus ratio mineralization systems.

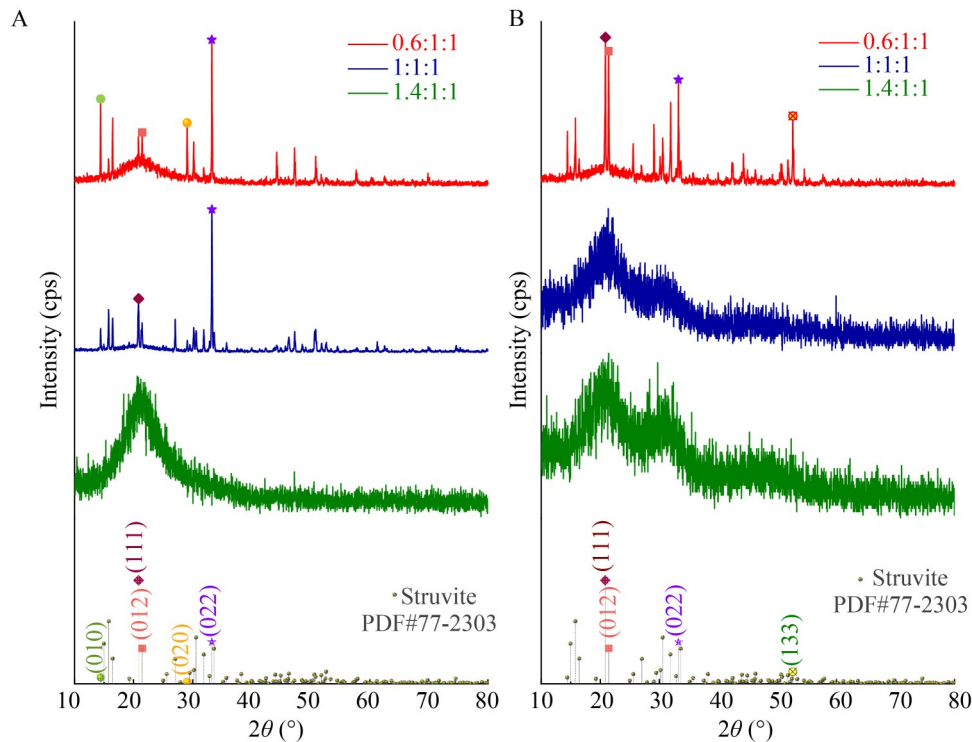


图6 不同镁氮磷比矿化体系下2种固定化方法诱导成矿的矿物XRD分析

Figure 6 The XRD analysis of mineralization induced by two immobilization methods in different magnesium-nitrogen-phosphorus ratio mineralization systems. A: XRD patterns of minerals induced by ACF immobilization under different Mg:N:P ratios; B: XRD patterns of minerals induced by PVA-SA-CP immobilized bacterial beads under different Mg:N:P ratios.

度降低, 呈现典型的无定形前驱体特征, 结晶度较差。在 PVA-SA-CP 固定化体系中(图 6B), 仅在 Mg:N:P=0.6:1:1 条件下观察到强度较高、峰形尖锐的鸟粪石衍射峰, 结晶度较好。当比例为 1:1:1 与 1.4:1:1 时, 衍射图谱呈现宽化且杂乱的峰形, 表明产物以结晶度低、稳定性较差的无定形磷酸盐为主。对比 2 种固定化体系可知, ACF 固定化更有利于在较宽 Mg:N:P 范围内诱导形成结晶性良好的鸟粪石; 而随着镁氮磷比例升高, 2 种体系均趋向于生成无定形磷酸盐前驱体, 其中 PVA-SA-CP 体系对比例升高的耐受性更低。

如图 7 所示, 通过对 ACF 固定化体系与 PVA-SA-CP 固定化菌球体系所得矿物的 FT-IR 图谱进行分析, 可见两者谱图的核心特征基

本一致, 均呈现出鸟粪石的典型吸收峰: 2 800–3 600 cm^{-1} 区间的宽吸收峰, 对应 O–H 的伸缩振动及 NH_4^+ 中 N–H 的对称与反对称伸缩振动; 1 436 cm^{-1} 处的吸收峰源于 NH_4^+ 的反对称弯曲振动; 1 664 cm^{-1} 附近的吸收峰归属于 H–O–H 的弯曲振动, 印证产物中结晶水与铵根离子的存在; 而 562 cm^{-1} 附近的吸收峰对应 PO_4^{3-} 的反对称弯曲振动, 明确 P–O 键的存在。上述特征峰共同证实, 2 种固定化方法均能有效诱导鸟粪石的生成。

如图 7B、7D 所示, 进一步对有机官能团及蛋白质二级结构进行精细分析, 可发现两类体系的细微差异与 EPS 的结构特征相关: 两类体系在酰胺 I 带(1 700–1 600 cm^{-1} 区间)均呈现出 β -转角(1 681 cm^{-1})、 α -螺旋(1 659 cm^{-1} 附近)及

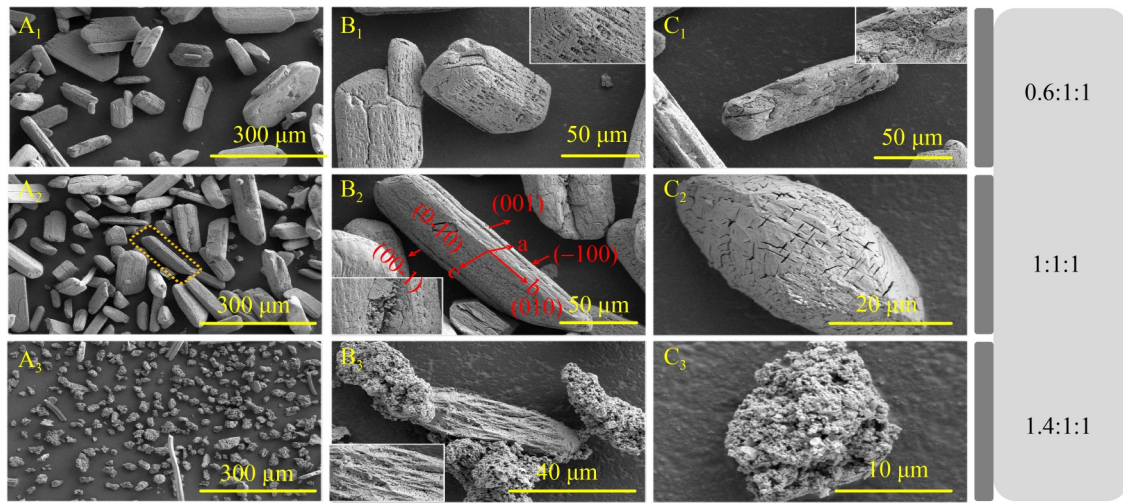


图8 不同镁氮磷比条件下ACF固定化菌诱导成矿的SEM表征

Figure 8 SEM characterization of mineralization induced by immobilized bacteria on ACFs under different magnesium-nitrogen-phosphorus ratios. A₁ – A₃: Low-magnification SEM images showing the overall morphology of minerals formed under different Mg:N:P molar ratios; B₁–B₃: High-magnification SEM images revealing the detailed surface morphology and crystalline structure of rod-shaped minerals; C₁ – C₃: High-magnification SEM images illustrating the surface texture and structural evolution of irregularly shaped mineral aggregates.

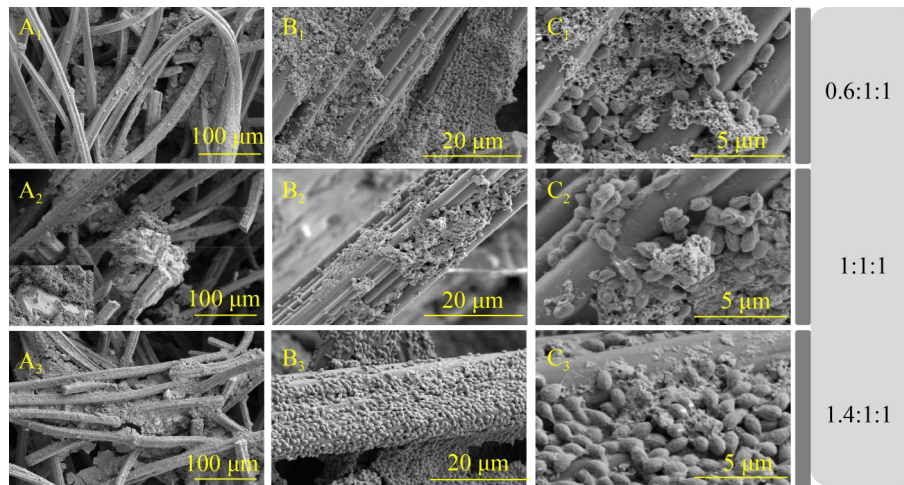


图9 不同镁氮磷比下ACF的SEM表征

Figure 9 SEM characterization of ACF under different Mg:N:P ratios. A₁–A₃: Low-magnification SEM images of ACF scaffolds under different Mg:N:P ratios; B₁–B₃: Medium-magnification SEM images revealing surface coverage and texture of ACF fibers; C₁ – C₃: High-magnification SEM images showing detailed interactions between ACF fibers and attached microbial/mineral phases.

密集菌体覆盖，且菌体聚集区伴随规整矿物锥形形成，与该比例下发育完整的长板状鸟粪石

特征一致，说明此比例下 ACF 为菌体附着、EPS 分泌及矿物成核提供了反应界面^[40]；高镁

水平下, ACF 表面聚集物数量增加, 但呈粗糙无定形颗粒状, 未见规整鸟粪石晶形, 与该比例下矿物结晶度降低的 XRD 结果相符, 表明过高 Mg^{2+} 会干扰 ACF 界面的矿物晶形发育。综上所述, ACF 可有效富集微生物, $Mg:N:P=1:1:1$ 为其表面鸟粪石规整成矿的最优比例, Mg^{2+} 比例偏离此值会降低矿物发育程度与晶形完整性。

不同镁氮磷比例下 PVA-SA-CP 固定化培养 7 d 后的载体 SEM 表征结果见图 10。低镁条件下, 产物呈分散的颗粒状与不规则块状, 形貌均一性差, 无明显规整晶形; $Mg:N:P=1:1:1$ 时, 产物呈现相对规整的几何状形貌, 晶形发育更完善, 体现了该比例下矿化过程的晶体生长有序性; 高镁条件下, 产物转变为粗糙的聚集状结构, 晶形特征弱化, 呈现无定形堆积特征。变化规律与游离菌及 ACF 固定化菌一致。

$Mg:N:P=1:1:1$ 比例下, PVA-SA-CP 菌球的 SEM 表征结果见图 11。图 11A 显示菌球表面存在孔洞结构, 图 11B 可见孔洞内部有物质堆积;

图 11C、11D 显示菌球表面存在片层状矿石, 该特征为生长中鸟粪石的典型特征。同时, 菌球表面分布有菌体及黏性物质, 其中黏性物质推测为菌体代谢分泌的 EPS; EPS 可参与维持菌球的结构稳定性, 其携带的有机官能团也能通过界面作用调控矿化产物的生长过程。

综上所述, 2 种固定化方式对矿化过程的共同影响体现为: 二者均能为菌体提供附着或容纳界面, 促进微生物富集与 EPS 的固着, 且底物 $Mg:N:P=1:1:1$ 均是两者诱导矿化生成规整晶形产物的最优比例, 离子比例偏离此值会降低产物的晶形完整性; 但两类固定化方式的矿化效果存在差异: ACF 固定化体系下, $1:1:1$ 比例对应的矿化产物呈典型的长板状鸟粪石晶形, 发育程度高且结晶度好; 而 PVA-SA-CP 固定化的产物虽处于鸟粪石生长阶段, 但呈层片状且易破碎断裂, 同时其孔洞内的产物堆积有序性弱于 ACF 表面的矿物成核过程, 综合来看, ACF 固定化方式在矿化产物的晶形规整性与结

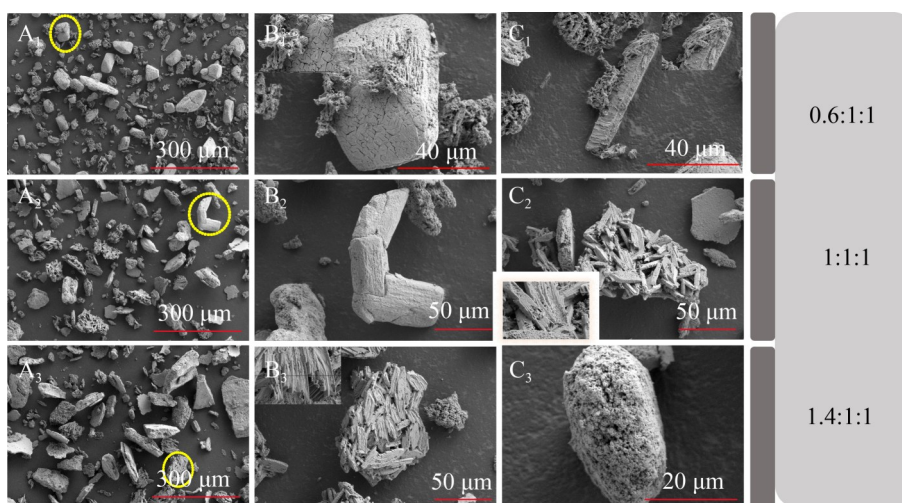


图10 不同镁氮磷比条件下PVA-SA-CP固定化诱导成矿的SEM表征

Figure 10 SEM characterization of mineralization induced by immobilized bacteria on PVA-SA-CP under different magnesium-nitrogen-phosphorus ratios. A₁–A₃: Low-magnification SEM images showing the overall surface morphology of PVA-SA-CP immobilized pellets under different Mg:N:P ratios; B₁–B₃: Medium-magnification SEM images revealing the surface roughness and mineral deposition distribution on the immobilized pellets; C₁–C₃: High-magnification SEM images displaying the detailed crystal morphology and microstructure of induced minerals.

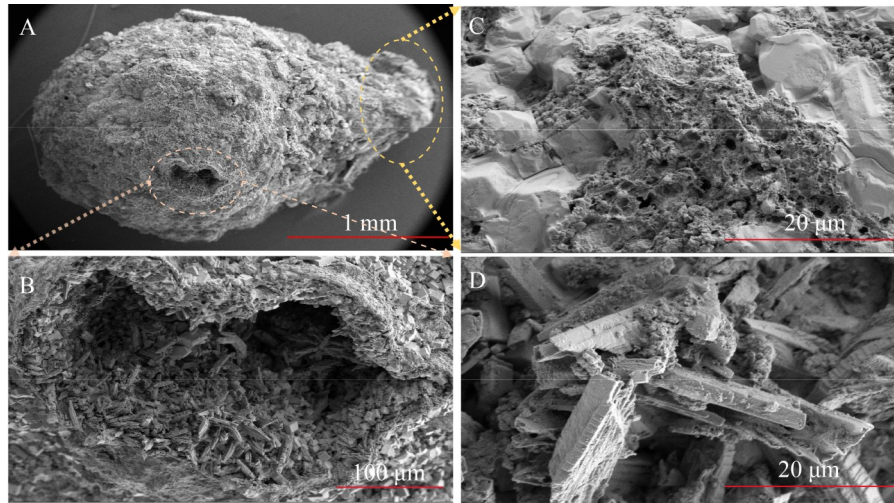


图11 1:1:1镁氮磷比下PVA-SA-CP菌球的SEM表征

Figure 11 SEM characterization of PVA-SA-CP immobilized bacterial beads at a 1:1:1 Mg:N:P ratio. A: Overall morphology of the PVA-SA-CP immobilized bacterial bead showing the ellipsoidal shape with rough surface texture; the dashed circles indicate the regions magnified in (B) and (C), respectively (Scale bar: 1 mm); B: Cross-sectional view of the internal porous structure of the immobilized bacterial bead, revealing a honeycomb-like cavity with interconnected fibrous networks (Scale bar: 100 μm); C: Surface morphology at higher magnification displaying the rough and wrinkled texture with aggregated crystalline deposits (Scale bar: 20 μm); D: Detailed view of the crystalline structures observed on the bead surface, showing distinct layered and prismatic morphologies indicative of mineral precipitation (Scale bar: 20 μm).

构稳定性方面更具优势。

2.2.4 主要离子的去除效果

不同镁氮磷比例下 ACF 固定化诱导矿化对 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 、 Mg^{2+} 及 Ca^{2+} 的去除效果见图 12。ACF 诱导成矿的离子去除效果呈显著的底物比例依赖性，其中 Mg:N:P=1:1:1 是 NH_4^+ 与 PO_4^{3-} 高效去除的最优比例。培养 7 d 时该比例下 NH_4^+ 浓度仅 0.59 mg/L、沉降率达 99.81% [沉降速率峰值 282 mg/(L·d)]， PO_4^{3-} 浓度低至 0.03 mg/L、沉降率达 99.99%；Mg:N:P=0.6:1:1 更适配 Mg^{2+} 与 Ca^{2+} 的彻底去除，7 d 时该比例下 Mg^{2+} 浓度为 0、沉降率 100.00%， Ca^{2+} 沉降率 90.32%；而 Mg:N:P=1.4:1:1 会显著抑制离子去除效果，7 d 时该比例下 Mg^{2+} 沉降率仅 30.00%、 Ca^{2+} 沉降率 65.87%， PO_4^{3-} 浓度升至 13.00 mg/L、沉降率降至 99.31%。

不同氮镁磷比例下 PVA-SA-CP 固定化诱导

矿化对 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 、 Mg^{2+} 及 Ca^{2+} 的去除效果见图 13。该体系的离子去除效果同样具有显著的底物比例依赖性，其中 Mg:N:P=0.6:1:1 时整体去除效能最优。培养 7 d 时， NH_4^+ 浓度为 3.13 mg/L、沉降率 99.00%， PO_4^{3-} 浓度为 0.26 mg/L、沉降率 99.98%， Mg^{2+} 浓度为 104 mg/L、沉降率 100.00%， Ca^{2+} 在第 3 天浓度即降至 233.20 mg/L、沉降率达 67.86%；随着 Mg^{2+} 比例升高至 1:1:1 和 1.4:1:1，各离子的去除效果逐渐变差，1.4:1:1 时 NH_4^+ 浓度升至 6.26 mg/L、沉降率 98.00%， PO_4^{3-} 浓度升至 8.99 mg/L、沉降率 99.52%， Mg^{2+} 浓度达 556 mg/L、沉降率仅 30.00%， Ca^{2+} 最大沉降率降至 44.33%。与 ACF 固定化体系相比，PVA-SA-CP 固定化在相同比例下的 NH_4^+ 和 PO_4^{3-} 去除彻底性更弱， Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的去除率也更低，综合矿化效能弱于 ACF 固定化。

对比 ACF 固定化与 PVA-SA-CP 固定化 2 种

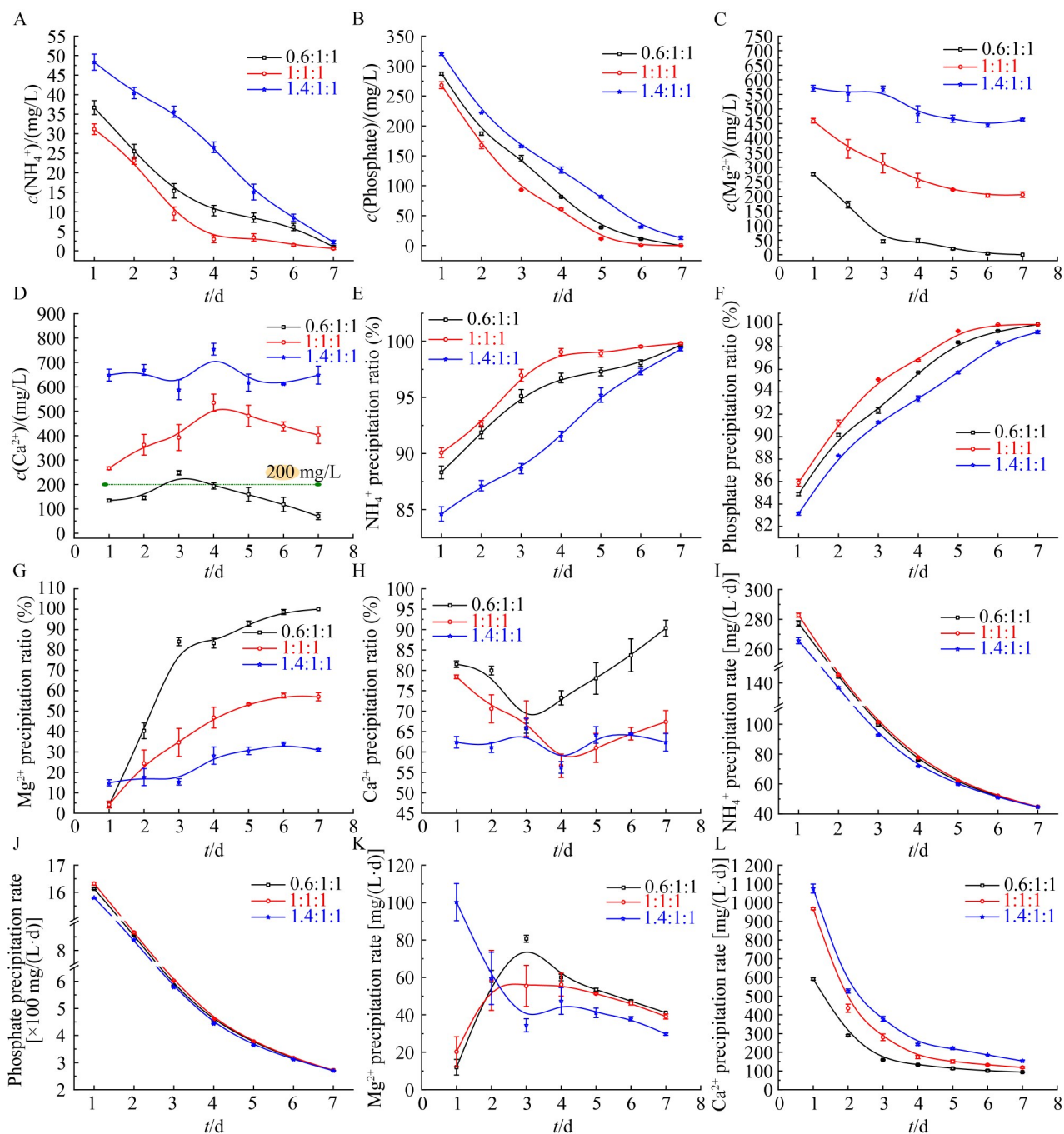


图12 不同镁氮磷比条件下ACF固定化菌诱导矿化对NH₄⁺、PO₄³⁻、Mg²⁺和Ca²⁺去除效果

Figure 12 Removal efficiency of NH₄⁺, PO₄³⁻, Mg²⁺, and Ca²⁺ by ACF-immobilized bacteria-induced mineralization under different Mg:N:P ratios. A–D: Ion concentration of NH₄⁺, PO₄³⁻, Mg²⁺, and Ca²⁺; E–H: Precipitation ratio of NH₄⁺, PO₄³⁻, Mg²⁺ and Ca²⁺; I–L: Precipitation rate of NH₄⁺, PO₄³⁻, Mg²⁺ and Ca²⁺.

方法对 NH₄⁺、PO₄³⁻、Mg²⁺及 Ca²⁺的去除效果 (图 12–图 13)可知, ACF 固定化法对目标离子的

去除效率及彻底性均显著优于 PVA-SA-CP 固定化法。这一差异可归因于两类载体的结构与功

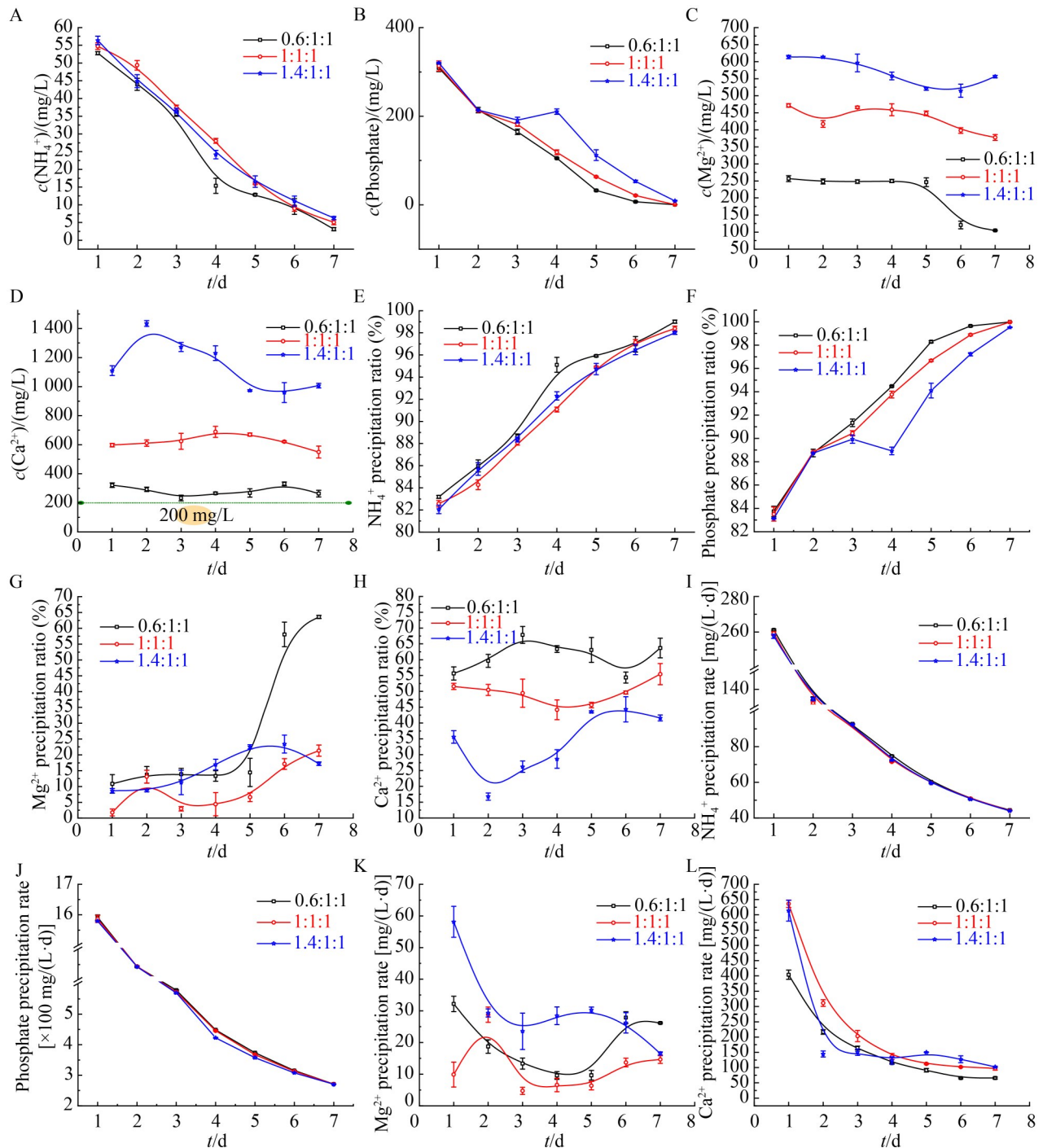


图13 不同镁氮磷比条件下PVA-SA-CP固定化诱导矿化对 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的去除效果

Figure 13 Removal efficiency of NH_4^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , and Ca^{2+} mineralization induced by immobilized bacteria on PVA-SA-CP under different magnesium-nitrogen-phosphorus ratios. A–D: Ion concentration of NH_4^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , and Ca^{2+} ; E–H: Precipitation ratio of NH_4^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , and Ca^{2+} ; I–L: Precipitation rate of NH_4^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , and Ca^{2+} .

能特性差异：ACF 具备较高的机械强度、良好的生物相容性及发达的微孔结构，可为微生物提供高效的固着吸附界面，促进菌体生长繁殖^[41]；同时，ACF 表面附着的菌体可分泌大量 EPS，其携带的有机官能团能有效富集溶液中的离子，为矿物成核提供充足位点，进而强化矿化去除过程。PVA-SA-CP 固定化菌球中掺入的炭粉材料虽具有一定吸附性，但会优先吸附 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 等金属离子，堵塞菌球内部微孔隙，降低菌体生长活性与代谢效率，最终削弱了整体矿化去除效能。综上所述，ACF 固定化更适用于高氮磷废水的矿化处理，可实现目标离子的高效、彻底去除。

2.3 养猪粪水中 *B. licheniformis* ZXT 诱导成矿 N、P 去除效果的研究

2.3.1 实际废水中菌株的生长与代谢响应

如图 14 所示，在实际废水培养体系中，pH 在培养初期(1–3 d)迅速上升，最高可达 8.09，随后趋于稳定。ALP 活性在 1–6 d 内逐渐升高，峰值活性为 0.087 U/L，之后呈下降趋势。

与模拟废水中游离菌矿化体系相比，*B. licheniformis* ZXT 在实际废水中的 pH 提升能力与 ALP 活性均有所降低。这主要与实际废水的复杂组成有关：废水中存在的土著微生物可能与接种菌株竞争营养物质；同时，废水中含有的高浓度有机物及少量重金属(如铬、铜等)可能

对菌体生长产生抑制或毒害作用^[42]，从而影响其代谢活性与矿化效能。

2.3.2 游离菌体系对实际养猪废水中污染物的去除效能

养猪废水具有氨氮浓度高、镁钙等离子缺乏、微生物及有机污染物含量丰富的特点。基于前期研究，本研究选用游离态 *B. licheniformis* ZXT 作为矿化菌株，并以氯化镁补充镁源，考察其对实际废水中主要污染物的去除效果(图 15)。

结果表明， NH_4^+ 浓度在处理第 8 天降至 0.15 mg/L，去除率达 99.97%，最大去除速率出现在第 1 天，为 222 mg/(L·d)。 PO_4^{3-} 浓度最终降至 0.05 mg/L，去除率为 99.92%，最大去除速率出现在第 3 天，为 11 mg/(L·d)。上述结果说明，经 ZXT 菌诱导的生物矿化过程，可使出水中 NH_4^+-N 与总磷浓度分别满足 ≤ 15 mg/L 与 ≤ 0.1 mg/L 的国标规定的污水排放限值要求。

在处理过程中， Mg^{2+} 与 Ca^{2+} 浓度分别降至 258 mg/L 和 387 mg/L，对应去除率为 73.0% 与 84.3%，其最大去除速率分别出现在第 4 天 [103 mg/(L·d)] 与第 1 天 [466 mg/(L·d)]。值得注意的是，出水 Ca^{2+} 浓度未能降至 200 mg/L 以下。该现象可归因于废水中存在的其他重金属离子(如铜、铬、铝等)，可能与磷酸根优先结合成矿，从而与镁、钙离子竞争沉淀位点，影响

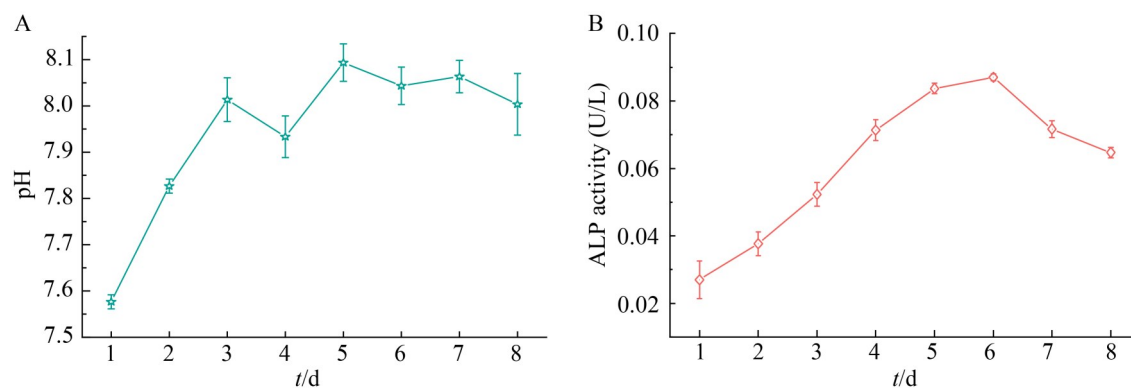


图14 实际猪粪水处理中pH (A)和ALP (B)变化曲线

Figure 14 pH (A) and ALP (B) curves in actual swine manure treatment.

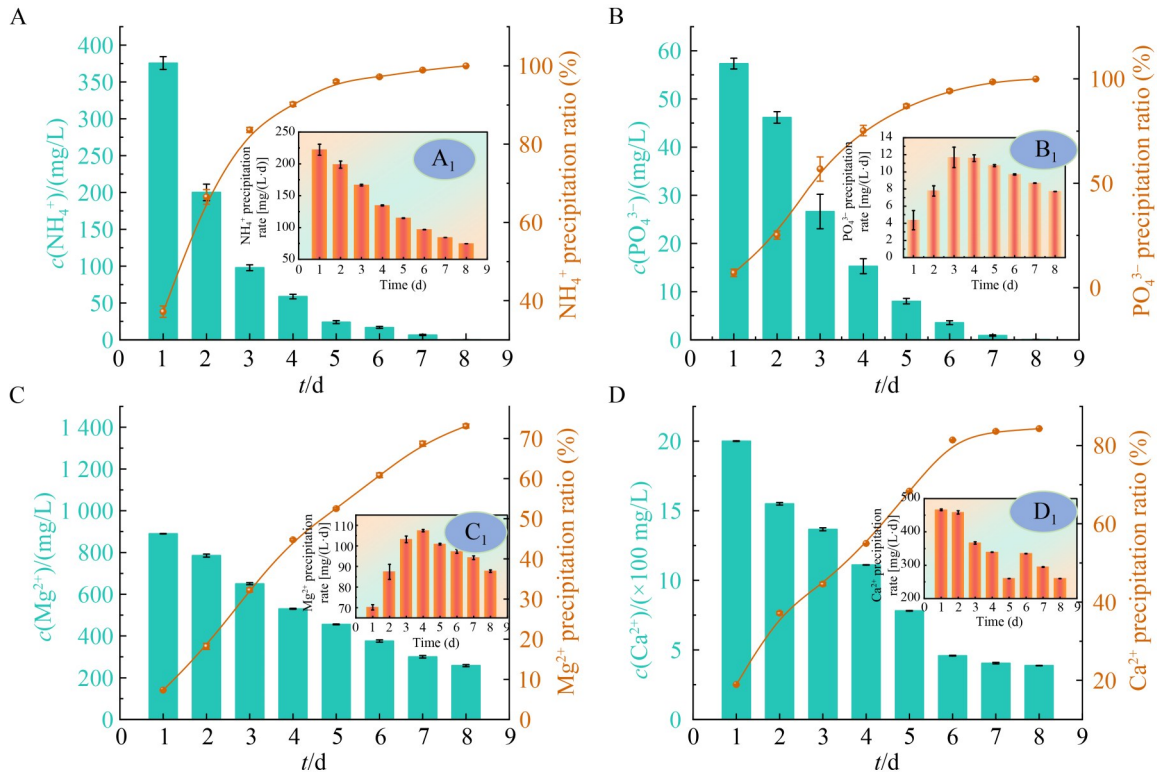


图15 *Bacillus licheniformis* ZXT处理实际猪粪水 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 的去除效果

Figure 15 Removal efficiency of NH_4^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} and Ca^{2+} in actual swine manure treatment treated by *Bacillus licheniformis* ZXT. A–D: Ion concentration and precipitation ratio of NH_4^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , and Ca^{2+} ; A1–D1: Precipitation rate of NH_4^+ , PO_4^{3-} , Mg^{2+} , and Ca^{2+} .

了钙的去除效率^[43]。

3 结论

(1) 地衣芽孢杆菌 ZXT 可通过分泌碱性磷酸酶(ALP 活性峰值为 0.75 U/L)、调节体系 pH 7.5–8.6 及分泌 EPS, 进而定向诱导 Mg^{2+} 、 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 结晶生成鸟粪石, 实现氮磷同步去除与资源化回收。

(2) 三种矿化方式中, ACF 固定化体系效能最优, 游离菌体系次之, 化学沉淀法最差: ACF 固定化在 Mg:N:P=1:1:1 比例下培养 7 d, NH_4^+ 终浓度仅 0.59 mg/L (去除率 99.81%), PO_4^{3-} 终浓度低至 0.03 mg/L (去除率 99.99%), 均满足国标排放标准; 游离菌体系需培养 15 d 达到同等氮磷去除效果(NH_4^+ 终浓度 ≤ 0.863 mg/L, PO_4^{3-} 终

浓度 0.11–0.23 mg/L); 化学沉淀法 24 h 内 NH_4^+ 终浓度 38.90–48.01 mg/L (去除率 84.70%–87.61%), 未达标且结晶度易受离子比例影响。

(3) 固定化载体特性决定矿化效能: ACF 凭借发达的微孔结构、良好的生物相容性及高机械强度, 可高效富集菌体并促进 EPS 蛋白质二级结构规整组装, 为成矿提供稳定位点, 其 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 最大去除率分别达 100.00%、90.32%; 而 PVA-SA-CP 菌球因内部炭粉优先吸附金属离子导致孔隙堵塞, 菌体活性降低, 同比例下 NH_4^+ 、 PO_4^{3-} 终浓度分别为 5.07 mg/L、0.45 mg/L, Ca^{2+} 最大去除率仅 67.86%, 综合效能显著弱于 ACF 固定化。

(4) Mg:N:P=1:1:1 是最优矿化比例, 该比例下 2 种固定化体系均生成结晶规整的鸟粪石

(ACF 体系为长板状, PVA-SA-CP 体系为层片状); 过高 Mg^{2+} (1.4:1:1) 会导致矿物结晶度下降 (ACF 体系衍射峰宽化, PVA-SA-CP 体系呈无定形聚集), 抑制离子去除, 而游离菌体系可通过生物调控弱化高镁抑制效应。

(5) 游离菌 ZXT 处理实际养猪废水时, 培养 8 d NH_4^+ 终浓度 0.15 mg/L (去除率 99.97%), PO_4^{3-} 终浓度 0.05 mg/L (去除率 99.92%), 均满足国标排放要求, Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 去除率分别为 73.0%、84.3%, 证实该菌株在复杂实际废水处理中的应用潜力。

作者贡献声明

梁春来: 实验数据处理、论文撰写和修改; 周晓彤: 研究构思和设计, 数据收集和处理, 论文修改; 赵辉: 研究构思和设计, 论文修改和指导, 项目经费主持; 闫华晓: 研究构思和设计, 论文修改和指导, 项目经费主持, 论文最终审定; 刘绍堃: 部分图像的处理与分析, 参与文献调研; 韩明明: 实验样品的采集与预处理, 协助常规实验操作; 于雪: 参考文献的校对与格式修订, 参与图表美化; 李泽池: 提供实验试剂管理支持, 参与项目讨论; 王曦晗: 协助原始数据的录入与核对; 苏媛: 参与实验室日常管理与协调; 赵文文: 部分图像的采集; 王舒淇: 参与文献资料的整理与归档; 王永鑫: 提供绘图软件技术支持; 韩作振: 研究指导, 资源提供。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 王文浩, 王春连, 王连训, 刘开源, 颜开, 余小灿, 游超, 刘殿鹤. 中国磷矿成因类型、成矿规律及重点找矿方向[J]. 中国地质, 2025, 52(1): 43-60.
Wang WH, Wang CL, Wang LX, Liu KY, Yan K, Yu XC, You C, Liu DH. Origin types, metallogenic regularity and prospecting direction of phosphate deposits in China[J]. *Geology in China*, 2025, 52(1): 43-60 (in Chinese).
- [2] 张苏江, 夏浩东, 唐文龙, 崔立伟. 中国磷矿资源现状分析及可持续发展建议[J]. 中国矿业, 2014, 23(S2): 8-13.
Zhang SJ, Xia HD, Tang WL, Cui LW. Current status and sustainable development of phosphorite resources in China[J]. *China Mining Magazine*, 2014, 23(S2): 8-13 (in Chinese).
- [3] 姜振宁, 朱越琪, 张杨, 郑厚义. 中国磷矿资源供需形势分析及对策建议[J]. 地质论评, 2025, 71(5): 1733-1740.
Jiang ZN, Zhu YQ, Zhang Y, Zheng HY. Supply and demand situation analysis and countermeasures of phosphate resources in China[J]. *Geological Review*, 2025, 71(5): 1733-1740 (in Chinese).
- [4] 卢宗福, 史小红, 李国华. 富营养化咸水湖泊岱海温室气体排放特征及驱动因素分析[J]. 环境科学, 2024, 45(10): 6157-6170.
Lu ZF, Shi XH, Li GH. Greenhouse gas emissions characteristics and driving factors analysis in the eutrophic saline Lake Daihai Lake[J]. *Environmental Science*, 2024, 45(10): 6157-6170 (in Chinese).
- [5] 骆晓声, 寇长林, 郭会粉, 吕金岭, 李太魁, 郭战玲. 化肥减施及节水对潮土冬小麦夏玉米轮作农田氮和磷流失的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2023(5): 14-19.
Luo XS, Kou CL, Guo HF, Lü JL, Li TK, Guo ZL. Effects of chemical fertilizer reduction and water saving on nitrogen and phosphorus runoff loss in winter wheat and summer maize rotation in aquatic soil[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2023(5): 14-19 (in Chinese).
- [6] Ungureanu N, Vlăduț V, Voicu G. Water scarcity and wastewater reuse in crop irrigation[J]. *Sustainability*, 2020, 12(21): 9055.
- [7] Zhou X, Wang J, Lu C, Liao QH, Gudda FO, Ling WT. Antibiotics in animal manure and manure-based fertilizers: occurrence and ecological risk assessment[J]. *Chemosphere*, 2020, 255: 127006.
- [8] Yang YW, Cai S, Huang F, Mo CH, Wu YB, Cao JT, Chen S, Wen ZG, Liao XD. Antibiotic resistance profile of nitrogen-metabolizing microbes in anoxic-oxic processes for swine wastewater treatment[J]. *npj Clean Water*, 2025, 8: 31.
- [9] 孙会武. 污水处理过程中氮、磷去除技术研究与应用[J]. 黑龙江环境通报, 2023, 36(9): 160-162.
Sun HW. Research and application of nitrogen and phosphorus removal technology in wastewater treatment process[J]. *Heilongjiang Environmental Journal*, 2023, 36(9): 160-162 (in Chinese).
- [10] 尹志超. 白云石对养殖废水中磷的去除回收实验研究[D]. 济南: 济南大学, 2020.
Yin ZC. Study on removal and recovery of phosphorus from livestock wastewater by dolomite[D]. Jinan: University of Jinan, 2020 (in Chinese).
- [11] Wang QH, Liang JH, Zhang SM, Yoza BA, Li QX, Zhan YL, Ye HF, Zhao P, Chen CM. Characteristics of bacterial populations in an industrial scale petrochemical wastewater treatment plant: composition, function and their association with environmental factors[J]. *Environmental Research*, 2020, 189: 109939.
- [12] 房平, 李雨娥, 魏东洋, 金德才. 污水处理过程中微生物群落多样性及其对环境因子响应的研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 3004-3020.
Fang P, Li YE, Wei DY, Jin DC. Microbial community diversity and its response to environmental factors during sewage treatment[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 3004-3020 (in Chinese).

- [13] 丁燕燕, 于鸿宇, 戴晓虎. 污泥中的磷及回收技术研究进展[J]. 中国给水排水, 2022, 38(16): 29-34.
Ding YY, Yu HY, Dai XH. Research progress on phosphorus in sludge and its recovery technology[J]. China Water & Wastewater, 2022, 38(16): 29-34 (in Chinese).
- [14] 屈明祥, 朱联东. 藻菌共培养系统去除畜禽养殖废水中常规污染物及氟喹诺酮类抗生素的效能研究[J]. 环境科学研究, 2025, 38(5): 1067-1076.
Qu MX, Zhu LD. Performance of removal of conventional pollutants and fluoroquinolone antibiotics in livestock wastewater by co-cultivation of microalgae and bacteria[J]. Research of Environmental Sciences, 2025, 38(5): 1067-1076 (in Chinese).
- [15] 李彦成. 高磷高氮养殖废水预处理填料的研究[J]. 辽宁化工, 2017, 46(9): 857-860.
Li YC. Study on the pretreatment filler of high phosphorus and high nitrogen livestock wastewater[J]. Liaoning Chemical Industry, 2017, 46(9): 857-860 (in Chinese).
- [16] 徐皓. 畜禽养殖废水处理存在的问题及对策[J]. 农业灾害研究, 2023, 13(10): 293-295.
Xu H. Problems and countermeasures in the treatment of wastewater from livestock and poultry breeding[J]. Journal of Agricultural Catastrophology, 2023, 13(10): 293-295 (in Chinese).
- [17] 王永磊, 刘杰, 韩延镇, 刘文明, 孙文韬, 王学琳. 畜禽养殖废水处理工艺分析研究[J]. 工业水处理, 2021, 41(8): 41-46.
Wang YL, Liu J, Han YZ, Liu WM, Sun WT, Wang XL. Analysis and research on treatment process of livestock and poultry breeding wastewater[J]. Industrial Water Treatment, 2021, 41(8): 41-46 (in Chinese).
- [18] Rahman MM, Liu YH, Kwag JH, Ra C. Recovery of struvite from animal wastewater and its nutrient leaching loss in soil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186(2/3): 2026-2030.
- [19] Han ZZ, Zhao YY, Yan HX, Zhao H, Han M, Sun B, Sun XY, Hou FF, Sun H, Han L, Sun YB, Wang J, Li H, Wang YQ, Du H. Struvite precipitation induced by a novel sulfate-reducing bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* SRB4 isolated from river sediment[J]. Geomicrobiology Journal, 2015, 32(10): 868-877.
- [20] Han ZZ, Guo N, Yan HX, Xu YD, Wang JH, Zhao YY, Zhao YH, Meng L, Chi XQ, Zhao H, Tucker ME. Recovery of phosphate, magnesium and ammonium from eutrophic water by struvite biomineralization through free and immobilized *Bacillus cereus* MRR2[J]. Journal of Cleaner Production, 2021, 320: 128796.
- [21] Han ZZ, Sun B, Zhao H, Yan HX, Han M, Zhao YY, Meng RR, Zhuang DX, Li D, Ma YT, Ma PY, Pan JT. Isolation of *Leclercia adcarboxglata* strain JLS1 from dolostone sample and characterization of its induced struvite minerals[J]. Geomicrobiology Journal, 2017, 34(6): 500-510.
- [22] Zhang P, Liu WP, Zhao TL, Yao QZ, Li H, Fu SQ, Zhou GT. Biomineralization of struvite by *Shewanella oneidensis* MR-1 for phosphorus recovery: Cr(VI) effect and behavior[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2022, 10(1): 106923.
- [23] 林锦美, 武之杰, 陈锦芳, 段金明, 巫晶晶. 低温反硝化聚磷菌脱氮除磷性能研究[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2023, 38(5): 385-391.
Lin JM, Wu ZJ, Chen JF, Duan JM, Wu JJ. Study on denitrification and phosphorus removal performance of denitrification phosphorus accumulating bacteria at low temperature[J]. Journal of Inner Mongolia Minzu University (Natural Sciences), 2023, 38(5): 385-391 (in Chinese).
- [24] Suzuki K, Tanaka Y, Osada T, Waki M. Removal of phosphate, magnesium and calcium from swine wastewater through crystallization enhanced by aeration[J]. Water Research, 2002, 36(12): 2991-2998.
- [25] Hou LG, Hu KY, Huang F, Pan ZW, Jia X, Liu WQ, Yao XR, Yang ZY, Tang P, Li J. Advances in immobilized microbial technology and its application to wastewater treatment: a review[J]. Bioresource Technology, 2024, 413: 131518.
- [26] Huang S, Gu H, Deng D, Zuo H. Microbial immobilization technology and its application in wastewater treatment[J]. Modern Chemical Industry, 2024, 44(6): 65-69.
- [27] Gong YZ, Niu QY, Liu YG, Dong J, Xia MM. Development of multifarious carrier materials and impact conditions of immobilised microbial technology for environmental remediation: a review[J]. Environmental Pollution, 2022, 314: 120232.
- [28] Sánchez E, Borja R, Travieso L, Martín A, Colmenarejo MF. Effect of influent substrate concentration and hydraulic retention time on the performance of down-flow anaerobic fixed bed reactors treating piggery wastewater in a tropical climate[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(2): 817-829.
- [29] 龙柯桦. 有机物对鸟粪石电化学结晶回收氮磷的影响研究[D]. 东莞: 东莞理工学院, 2023.
Long KH. Study on the effect of organic matter on nitrogen and phosphorus recovery from struvite by electrochemical precipitation[D]. Dongguan: Dongguan University of Technology, 2023 (in Chinese).
- [30] 付鹏波, 田金乙, 吕文杰, 黄渊, 刘毅, 卢浩, 杨强, 修光利, 汪华林. 物理法水处理技术[J]. 化工学报, 2022, 73(1): 59-72.
Fu PB, Tian JY, Lü WJ, Huang Y, Liu Y, Lu H, Yang Q, Xiu GL, Wang HL. Physical water treatment technology[J]. CIESC Journal, 2022, 73(1): 59-72 (in Chinese).
- [31] Zong EM, Wei D, Wan HQ, Zheng SR, Xu ZY, Zhu DQ. Adsorptive removal of phosphate ions from aqueous solution using zirconia-functionalized graphite oxide[J]. Chemical Engineering Journal, 2013, 221: 193-203.
- [32] Han ZZ, Yan HX, Zhao H, Zhou SX, Han M, Meng XQ, Zhang Y, Zhao YY, Sun B, Yao CK, Wang YF, Wang CL, Li FB, Tian CC, Xu LL. Bio-precipitation of calcite with preferential orientation induced by *Synechocystis* sp. PCC 6803[J]. Geomicrobiology Journal, 2014, 31(10): 884-899.
- [33] Flemming HC, van Hullebusch ED, Little BJ, Neu TR, Nielsen PH, Seviour T, Stoodley P, Wingender J, Wuertz S. Microbial extracellular polymeric substances in the

- environment, technology and medicine[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2025, 23(2): 87-105.
- [34] 张圣洁, 蔡中华, 朱伟胜, 曾艳华, 周进. 藻际环境中胞外聚合物的研究进展[J]. *微生物学报*, 2020, 60(8): 1521-1533.
Zhang SJ, Cai ZH, Zhu WS, Zeng YH, Zhou J. Advances in extracellular polymeric substances in phycosphere environment[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(8): 1521-1533 (in Chinese).
- [35] Toprak P, Dubey AA, Mukherjee A, Pring A, Rodriguez-Navarro C, Dhami NK. Microbial factors behind struvite precipitation: enzymes and extracellular polymeric substances (EPS) as key players[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2025, 109: 266.
- [36] GB 8978—1996 污水综合排放标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
GB 8978—1996 Integrated wastewater discharge standard[S]. Beijing: Standards Press of China, 1996 (in Chinese)
- [37] Miyake Y, Sakoda A, Yamanashi H, Kaneda H, Suzuki M. Activated carbon adsorption of trichloroethylene (TCE) vapor stripped from TCE-contaminated water[J]. *Water Research*, 2003, 37(8): 1852-1858.
- [38] Quinlivan PA, Li L, Knappe DRU. Effects of activated carbon characteristics on the simultaneous adsorption of aqueous organic micropollutants and natural organic matter[J]. *Water Research*, 2005, 39(8): 1663-1673.
- [39] 王静, 揣玉多, 汤卫华, 侯婷. 海藻酸钠包埋法固定L-阿拉伯糖异构酶的研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(16): 92-95.
Wang J, Chuai YD, Tang WH, Hou T. Research on the immobilization of L-arabinose isomerase by embedded in sodium alginate[J]. *Food Research and Development*, 2017, 38(16): 92-95 (in Chinese).
- [40] Wu P, Wang ZY, Bhatnagar A, Jeyakumar P, Wang HL, Wang YJ, Li XF. Microorganisms-carbonaceous materials immobilized complexes: synthesis, adaptability and environmental applications[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 125915.
- [41] 周娟娟, 胡中华. 活性炭纤维的微生物固定方法研究[J]. *中国给水排水*, 2005, 21(1): 45-48.
Zhou JJ, Hu ZH. Methods for immobilization of microbe on activated carbon fiber[J]. *China Water & Wastewater*, 2005, 21(1): 45-48 (in Chinese).
- [42] 柳鸿明. 畜禽养殖废水污染现状和处理技术探究[J]. *皮革制作与环保科技*, 2023, 4(13): 106-108.
Liu HM. Study on current situation and treatment technology of livestock and poultry breeding wastewater pollution[J]. *Leather Manufacture and Environmental Technology*, 2023, 4(13): 106-108 (in Chinese).
- [43] Hutnik N, Stanclik A, Piotrowski K, Matynia A. Effect of copper and zinc ions on struvite nucleation and crystal growth kinetics in various process environments[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2020, 29(3): 2225-2233.