固定化光合细菌对含酚废水的生物降解试验

丁 成

(盐城工学院化学与生物工程学院,江苏 盐城 224003)

摘要:对实验室保存的光合细菌用不同浓度的模拟含酚废水进行驯化后,采用 RCVBN 液体培养基对光合细菌进行扩大培养,并用海藻酸钠-壳聚糖-活性炭微胶囊法对光合细菌进行固定。分别用固定化光合细菌和非固定化光合细菌在不同的温度和不同的接种量下对含酚废水进行降解。以苯酚含量为降解效果指标,结果表明:两种状态下的光合细菌均可以降解含酚废水,但是它们对苯酚的降解率各不相同,固定化光合细菌优于非固定化光合细菌。进一步的正交试验结果表明:影响固定化光合细菌处理含酚废水各因素的影响次序分别为:温度、接种量、pH 值,其最佳降解条件是温度为 30℃,接种量为 20%,pH 值为 7.0,此时废水中苯酚降解率为 85.3%。

关键词:固定化;光合细菌;含酚废水;生物降解

中图分类号:X17 **文献标识码**:A **文章编号**:1004-6933(2008)06-0093-03

Experiments on the biodegradation of phenol wastewater by immobilized photosynthetic bacteria

DING Cheng

(*College of Chemical and Biological Engineering*, *Yancheng Institute of Technology*, *Yancheng* 224003, *China*)

Abstract: After domestication with phenol wastewater and culturation in an RCVBN medium, photosynthetic bacteria (PSB) were immobilized by sodium alginate-chitosan-powder active carbon microcapsules. The immobilized PSB and dissociated PSB were both used to biodegrade phenol wastewater at different temperatures and under different inoculation quantities. By measuring the concentration of the phenol, it was found that both forms of PSB have the ability to degrade phenol wastewater, the treatment effect varied under different states, and the effect of immobilized PSB is better. An orthogonal experiment indicates that the most important factor affecting the degradation of phenol wastewater with immobilized PSB is temperature, followed by inoculation quantity and pH. When the temperature is 30℃, the inoculation quantity is 20%, and pH is 7.0, the best degradation effect is obtained and the removal rate reaches 85.3%.

Key words: immobilization; photosynthetic bacteria; phenol wastewater; biodegradation

含酚废水主要来自于制造、炼焦、炼油、冶金、塑料、化纤、制药、炸药、农药等工业生产过程[1]。在污水有机毒物中酚的毒性较大,而且只能被少数的微生物分解。美国国家环保署把苯酚列入优先污染物和 65 种有毒污染物名单中,我国也把苯酚列入中国环境优先污染物黑名单之中[2]。目前对含酚废水的生物法处理技术,是我国含酚废水无害化处理的主要方法[3-4]。

1978 年,日本小林正泰等首次提出利用光合细菌(*Photolosynthetic Bacteria*,简称 PSB)处理有机废水的工艺及设想[5-6]。我国自 20 世纪 70 年代以来,对利用光合细菌处理有机废水进行了大量研究,发现将 PSB 固定化,可有效地提高降解效率[7-9]。本试验用实验室自制的一种新型生物微胶囊[10-11]来固

基金项目:江苏省教育厅产业发展基金项目(JHB05-47);江苏省科技创新资金项目(BC2007132)

作者简介:丁成(1971—),男,江苏阜宁人,副教授,博士,主要从事环境工程与技术研究。E-mail:ycdingc@ycit.cn

定化光合细菌，通过和非固定化光合细菌处理模拟工业含酚废水的对比试验得出固定化光合细菌降解含酚废水的最佳条件和最佳效果。

1 材 料

1.1 试验菌株及水样来源

用实验室保藏的紫色非硫光合细菌作为试验菌株，水样为实验室自行配制的模拟工业含酚废水，其苯酚质量浓度为 1 500 mg/L。

1.2 主要仪器设备

WFZ UV-2100 型紫外可见分光光度计（尤尼柯（上海）仪器有限公司生产），SPX-250 型光照培养箱（上海跃进医疗器械厂生产），XS-212-201 双目显微镜（江南光电股份有限公司生产），SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台（苏州净化设备有限公司生产）等。

2 方 法

2.1 培养基配制

RCVBN 培养基液体培养基[12]：3.0 g 的 CH_3COONa；1.0 g $(NH_4)_2SO_4$；0.2 g $MgSO_4$；1.0 g NaCl；0.3 g KH_2PO_4；0.5 g K_2HPO_4；0.05 g $CaCl_2$；0.1 g 酵母膏；1 mL 微量元素；1L 蒸馏水。

RCVBN 固体培养基：在 1LRCVBN 液体培养基中加入 25 g 琼脂。

2.2 光合细菌的培养

将配制好的培养液灭菌后装入已灭菌的试管中，用灭菌的吸管将实验室保藏的光合细菌分别移入试管中，在 RCVBN 固体培养基上活化培养，多次接种使其数量增多。

2.3 菌株驯化

在 RCVBN 液体培养基中先后以不同质量浓度（500 mg/L、1 000 mg/L、1 500 mg/L）的苯酚代替醋酸钠为唯一碳源，在温度 30℃下培养 3 ~ 7 d 后依次转接至下一个浓度梯度，完成一个驯化周期。

2.4 固定化光合细菌的制备

在无菌条件下，参照文献[10-11]制备光合细菌微胶囊。用液体培养所得的适量光合细菌菌悬液配制 2.0% 的海藻酸钠溶液，并向其中添加少许乳化剂 Tween 80（$V/V = 1\%$），搅拌均匀后加入粉末活性炭（$W/V = 0.75\%$），充分搅拌后用注射器吸取该混合溶液滴入恒速搅拌的 4% 氯化钙溶液中反应一段时间。过滤清洗后再转移至 1.8% 的壳聚糖溶液（浓度为 1.5 mol/L 的盐离子和 1% 的冰醋酸）中恒速搅拌成膜 10 min，再用 0.15% 的海藻酸钠溶液覆膜。最后采用浓度为 0.055 mol/L 柠檬酸钠溶液进行液化处理，得到包埋有一定量光合细菌的微胶囊，置于生理盐水中，备用。

2.5 生物降解体系的建立与试验方案

2.5.1 生物降解体系的建立

非固定化体系 取 6 只已灭菌的 500 mL 锥形瓶（各装有 200 mL 已灭菌的水样），向其中 3 只中分别移入 20 mL 菌悬液，记为 F1、F2、F3；向另外 3 只中分别移入 5 mL、10 mL、15 mL 的菌悬液，记为 f1、f2、f3。

固定化体系：取 6 只已灭菌的 500 mL 锥形瓶（各装有 200 mL 已灭菌的水样），向其中 3 只中分别投入含菌微胶囊 720 颗（含菌量约相当于 20 mL 菌悬液），记为 G1、G2、G3；向另外 3 只中分别投入 180 颗、360 颗、540 颗含菌微胶囊，记为 g1、g2、g3。

2.5.2 生物降解试验方案

将 F1、G1；F2、G2；F3、G3 分别置于 25℃、30℃、35℃，转速为 100 r/min 条件下；将 f1、f2、f3，g1、g2、g3 置于 30℃、转速为 100 r/min 条件下，分别用 H_2SO_4 和 NaOH 调节 pH 值。厌氧光照振荡培养，每天取样测定，取平均值。

对含酚废水降解效果较好的降解体系从温度、pH 值和接种量进行三因素三水平正交试验，以确定在该体系下的最佳作用条件和降解效果。

2.6 效果指标及测定方法

苯酚含量采用 4-氨基安替比林直接光度法[13]测定 光合细菌数量用光密度法测定（微胶囊中的光合细菌用柠檬酸钠溶液液化，离心，取上清液进行光密度法测定）。

3 结果与分析

3.1 不同条件下两降解体系中苯酚降解率的变化

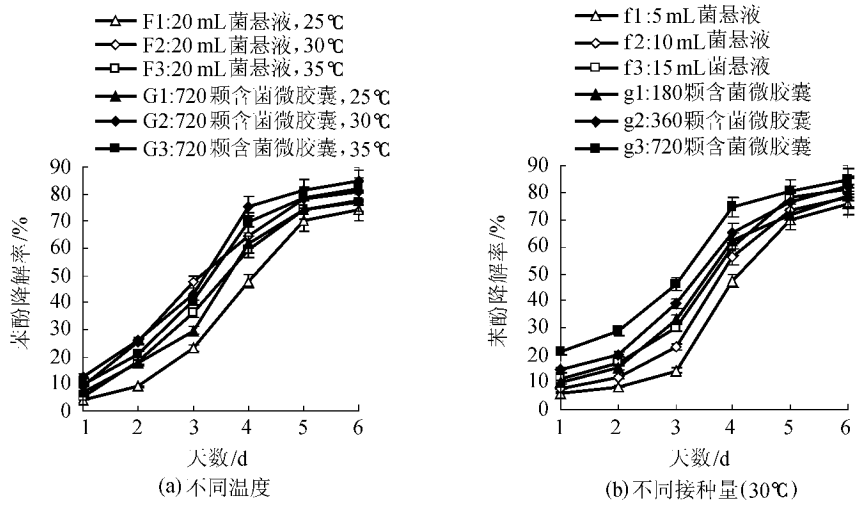
固定化和非固定化体系按生物降解试验方案在不同条件下对含酚废水中苯酚的降解率分别如图 1(a)(b)所示。

3.2 不同降解体系在不同接种量下光合细菌数量的变化

根据方法 2.6，每天定时取样测定固定化和非固定化两体系中光合细菌数量的变化，结果如图 2 所示。可见，在不同接种量下固定化与非固定化体系中光合细菌数量均呈先急剧下降后渐趋平缓再上升的趋势，但固定化体系中光合细菌的变化幅度比非固定化体系的大。在固定化体系中，降解 2 d 后菌数就迅速下降至一个较低水平，在接下来的 4 d 内，菌数基本维持稳定，这也说明固定化光合细菌代谢活动较稳定，降解效果较好。

3.3 固定化光合细菌降解含酚废水的正交试验

上述研究表明，固定化体系对含酚废水的降解效果优于非固定化体系，因此选定固定化体系作为



(a) 不同温度　　(b) 不同接种量(30℃)

图 1　不同条件下两降解体系中苯酚降解率变化

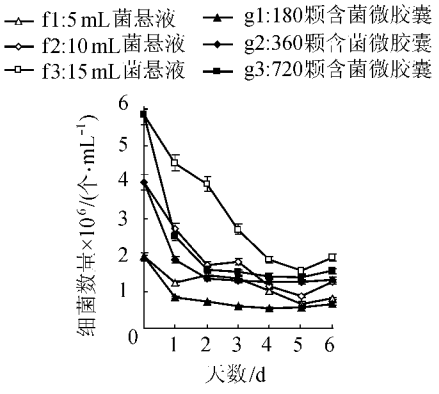


图 2　不同接种量下两降解体系中光合细菌数量变化(30℃)

表 1　固定化体系降解含酚废水的正交试验结果

	因素水平			苯酚降解率/%
	A 水平(温度/℃)	B 水平(pH 值)	C 水平(接种量/颗)	
1	1(25)	1(6.0)	1(180)	75.2
2	1	2(7.0)	2(360)	77.1
3	1	3(8.0)	3(720)	76.8
4	2(30)	1	2	82.8
5	2	2	3	85.3
6	2	3	1	80.1
7	3(35)	1	3	82.8
8	3	2	1	80.9
9	3	3	2	81.4
k_1	76.4	80.3	78.7	
k_2	82.7	81.1	80.43	
k_3	81.7	79.4	81.6	
R	6.3	1.7	2.9	

研究对象,选温度、pH 值和接种量为影响因素,按 $L_9(3^3)$ 表设计正交试验,以进一步研究其最佳的降解条件和降解效果,结果如表 1。根据表 1 中极差 R 值可知,影响固定化光合细菌降解含酚废水效果各因素的次序为:$A_2 > C_3 > B_2$,即温度、接种量和 pH 值,其中温度影响最为显著,而接种量和 pH 值则影响不大。其最佳降解条件是温度为 30℃,接种量为 720 颗,pH 值为 7.0,此时,固定化光合细菌对苯酚降解率为 85.3%,为正交表中所有试验项中最大者。

4　结论与讨论

影响微生物生长及废水降解效果的因素包括营养物含量和组成、降解底物浓度、微生物接种量及温度、pH、需氧量、光照等各种条件,考虑到有关光合细菌处理各类废水的生长条件研究颇多[6-10],为避免无谓的重复,本试验在比较固定化和非固定化体系的作用效果,以确定较优的试验体系时,仅进行了在不同温度和不同接种量下的单因素试验。结果表明,在同等条件下,固定化光合细菌对废水的净化效果要比非固定化光合细菌好。

进一步的正交实验表明,以苯酚降解率为降解效果指标时,固定态体系光合细菌处理含酚废水的最佳条件是温度为 30℃,接种量为 720 颗,pH 值为 7.0。此时,固定态光合细菌对质量浓度为 1 500 mg/L 的含酚废水降解效果最佳,其苯酚降解率达 85.3%。

需要指出的是,评价水质质量的指标还很多,如污染物含量、微生物数量、BOD、COD、NH_3-N 等。水质指标不同,其最佳降解条件也不尽相同;即便是影响污染物去除效果的各因素的主次关系都相同,落实到每个因素其最佳水平值仍可能是不同的。所以在评价水质时,不能完全以哪个指标来单独评定降解效果。但是,在同一水平下,选某一水质指标为衡量标准的试验研究仍然具有相当的理论指导意义。

参考文献:

[1] 陈云平,张婷婷,许金仙,等.高沸醇木质素对苯酚吸附的研究[J].纤维素科学与技术,2005,13(2):20-25.

[2] 方振炜,徐德强,张亚雷,等.酚类有机污染物的生物降解研究进展[J].环境污染与防治,2003(6):383.

(下转第 100 页)

对较高。同时,由于比表面积大,使得各菌种在填料上有着明显的分层分布,由外向内分别为好氧菌种、兼氧菌种、厌氧菌种,这种菌种的多元化有利于提高氨氮的去除效率。填料对气泡起到切割、阻挡和吸附的作用,使气泡的停留时间和气、液接触表面积增加,加快了氧的转移速率,提高了传质效果和对氧的吸收能力,从而减少曝气需求量,节省了能源和设备容量。

5 结 语

通过采用生物接触氧化流化床处理氨氮污水的实验,可得出以下结论:

a. 反应器内填料粒径在 10 mm 左右不仅具有良好的挂膜性,而且膜的生物活性比较高,有利于提高氨氮的去除效率;

b. 间歇式进水方式有利于絮凝细菌的生长,抑制膨胀污泥的形成,使活性污泥具有良好的沉降性,可为硝化作用的进行提供良好的环境条件;

c. 载体填料上各菌种微生物群落好氧菌、兼氧菌和厌氧菌的分布达到了较优的分层结构和较高的生物活性,对进水浓度增大和水力停留时间(HRT)缩短形成的高负荷有较好的处理能力和效果。

氨氮的去除是当前污水处理领域继有机污染解决后所面临的最严重也是急需解决的问题,本实验通过采用生物接触氧化流化床处理氨氮污水的研究,发现整个生物脱除氮系统的氮去除效果一直保持在良好的状态,出水水质好,且具有较好的高负荷处理能力,因此本实验的研究成果将对开发新型的氨氮污水处理工艺具有极其重要的指导与借鉴意义。

参考文献:

[1] 王鼎臣.水处理技术及工程实例[M].北京:化学工业出版社,2008:1-189.

[2] 石峰,武道吉,毕学军,等.KDF 树脂对于污水厂出水氨氮的吸附试验研究[J].水资源保护,2006,22(3):66-71.

[3] 王艳颖,王沛芳,徐海波.坑塘湿地对生源要素氮的净化效果[J].河海大学学报:自然科学版,2006,34(6):627-630.

[4] 李燕城,吴俊奇.水处理实验技术[M].2 版.北京:中国建筑工业出版社,2004:32-91.

[5] 何强,孙倩,翟俊,等.高氨高浓度粪便污水处理技术研究[J].重庆建筑大学学报,2007,29(4):104-106.

[6] 肖勇强.氨氮测定影响因素探讨[J].水资源保护,2004(1):13-14,30.

[7] 苑宝玲,王洪杰.水处理新技术原理与应用[M].北京:化学工业出版社,2006:1-123.

[8] 王树涛,马军,田海.曝气生物滤池深度处理污水系统中温度及氨氮负荷对硝化作用的影响[J].现代化工,2006,26(2):198-201.

[9] 张守彬,于衍真.生物接触氧化技术处理二级出水中的氨氮[J].安全与环境学报,2007,7(4):54-57.

[10] 陈月芳,张万有,宋存义,等.城市污水深度处理回用过程中氨氮脱除问题的分析研究[J].工业水处理,2005,25(9):13-15.

[11] 余健,付国楷,曾光明,等.膜生物反应器去除城市污水中有机物和氮的研究[J].中国给水排水,2008,24(5):105-109.

(收稿日期:2008-10-05 编辑:高渭文)

(上接第 95 页)

[3] 刘琼玉,李太友.含酚废水的无害化处理技术进展[J].环境污染治理技术与设备,2002,3(2):62-66.

[4] 吕 红,周集体,王竞.光合细菌降解有机污染物的研究进展[J].工业水处理,2003,23(10):9-11.

[5] 宋志文,郭本华,曹军.光合细菌及其在化工有机废水处理方面的应用[J].化工环保,2003,23(4):209-212.

[6] 郭本华,陆青艳,宋志文.光合细菌在环境污染防治中的应用[J].青岛建筑工程学院学报,2004,25(1):61-65.

[7] 何萍,吴向华,许志强,等.光合细菌固定化及其处理黄浒水的研究[J].扬州大学学报:农业与生命科学版,2005,26(3):91-94.

[8] 朱铁群,雷庆铎,李卫忠,等.固定化光合细菌研究与应用[J].水利渔业,2006,26(6):4-7.

[9] 李乐,李兰生,孙涛,等.固定化光合细菌降解氧化乐果[J].农业环境科学学报,2006,25(增刊):721-724.

[10] 李朝霞,朱建良.固定化白腐菌对造纸废水的生物降解研究[J].水处理技术,2005,31(12):23-26.

[11] 李朝霞.海藻酸钠-壳聚糖-粉末活性炭生物微胶囊的传递性能研究[J].化学通报,2007,70(3):228-232.

[12] 熊万永,李玉林,林君锋.光合细菌的优化培养和生长动力学[J].福建农林大学学报,2003,32(4):514-517.

[13] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法[M].北京:中国环境出版社,1989.

(收稿日期:2007-09-03 编辑:高渭文)