

DOI :10.3969/j.issn.1004-6933.2011.02.015

A3 菌产絮凝剂培养动力学及靛蓝废水脱色研究

万俊杰,梁耀开,邓毛程

(广东轻工职业技术学院食品与生物工程系,广东 广州 510300)

摘要 :从土壤中筛选出 1 株产微生物絮凝剂的菌株 A3 ,利用均匀设计安排试验 ,用曲线拟合创建数学模型的方法研究了其产絮凝剂的培养基条件和利用 A3 菌产絮凝剂对靛蓝废水进行脱色处理 ,获得 A3 菌最佳絮凝剂生产条件和最佳靛蓝废水脱色工艺。结果表明 ,A3 菌产絮凝剂的最佳培养条件为葡萄糖添加量 2.2%、酵母膏添加量 0.51%、pH 7.6、温度 30.3℃时 A3 产絮凝剂条件最佳。A3 菌产絮凝剂处理靛蓝废水的最佳工艺条件 :当 pH 值为 9、100 mL 废水中絮凝剂的添加量为 2.2 mL、1% 的 CaCl₂ 用量为 2.2 mL 时 ,脱色效果最佳。在最佳工艺条件下的脱色率可达 80%。

关键词 :微生物絮凝剂 ;印染废水 ;脱色 ;工艺 ;曲线拟合

中图分类号 :X703 **文献标识码** :A **文章编号** :1004-6933(2011)02-0067-04

Study on flocculant-production kinetic of strain A3 and optimization treatment condition of indigo wastewater

WAN Jun-jie LIANG Yao-kai ,DENG Mao-cheng

(Department of Food and Bioengineering ,Guangdong Industry Technical College ,Guangzhou 510300 ,China)

Abstract : A microbial flocculant-producing strain A3 was screened from soil ,the experiments were planned by uniform design ,the mathematical modeling and the curve-fitting method were also used to investigate the culture medium of microbial flocculant-production and the technology of treating indigo wastewater by flocculant produced by strain A3 was studied . The optimal flocculant production conditions of strain A3 and optimal decoloration conditions of indigo wastewater were obtained . The optimal condition of flocculant-production of stain A3 was a glucose additive amount of 2.2% , a yeast extract additive amount of 0.51% , a pH value of 7.6 and a temperature of 30.3℃ . The optimal decoloring condition of strain A3 produced flocculant in treatment indigo wastewater was obtained when pH value was 9 ,the dosage of strain A3 produced flocculant was 2.2mL and additive amount of 1% CaCl₂ was 2.2mL in 100mL wastewater . The decoloring rate under the optimal condition could reach 80% .

Key words : microbial flocculant ; printing and dyeing wastewater ; decoloration ; technology ; curve-fitting

印染废水具有水量大、有机污染物含量高、碱性大、色度深、水质变化大等特点 ,属难处理的工业废水之一。碱性和 pH 值变化大增加了废水处理难度。目前用于印染废水处理的主要方法有物化法、生化法、化学法以及几种工艺结合的处理方法 ,其中生物絮凝法被应用于各种废水的处理中^[1-5]。

微生物絮凝剂是 20 世纪 80 年代后期研究开发的第 3 类絮凝剂 ,是一类由微生物产生的具有絮凝剂活性的代谢产物 ,主要有糖蛋白、多糖、蛋白质、纤

维素和 DNA 以及有絮凝剂活性的菌体等^[6-7]。微生物絮凝剂具有絮凝范围广、絮凝活性高、安全、无害、无污染、脱色效果独特等特点 ,加上絮凝剂产生菌的种类多、生长快、易于实现工业化 ,微生物絮凝剂的研究正成为当今世界絮凝剂方面研究的重要课题^[8-10]。

笔者利用从梭树林土壤中分离出的一株高效产絮凝剂球状菌 ,用均匀化实验设计安排实验 ,同时利用数学拟合法进行处理废水条件优化 ,并建立了相应的数学模型。

1 材料与方法

1.1 菌种

从广东南海市郊桉树林土壤中分离出一株高效产絮凝剂球状菌。

印染废水来自自配靛蓝废水。取 0.5 g 靛蓝溶解于 50 L 自来水中,色度为 430。

1.2 培养基

分离培养基:用市售的琼脂培养基进行分离。

发酵培养基:葡萄糖为 2%、酵母膏为 0.5%、 $u(\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 0.2\%$ 、 $w(\text{MgSO}_4) = 0.025\%$ 、 $u(\text{NaCl}) = 0.05\%$ 、 $\text{pH} = 7.0$ 。

1.3 菌种分离方法

将土壤样品称取 2.0 g,溶解于含 100 mL 无菌水的无菌三角瓶中,充分摇匀静置 30 min 后,吸取 1 mL 上清液接种于含有 100 mL 培养液的 250 mL 三角瓶中,于 30℃、180 r/min 摇床中培养 48 h 后,取 1 mL 接入新鲜培养基中,再培养 48 h。富集 2 次后,将培养液稀释 6 个梯度,用划线分离法进行分类,再接入斜面上进行纯化培养。

1.4 絮凝菌种筛选及提取

挑取一环斜面上培养的菌种接种到 250 mL 发酵培养基中(装液量为 80 mL),于温度为 30℃、转速为 180 r/min 摇床上发酵培养 24 h。取发酵液于 6000 r/min 下离心 20 min,上清液用 3 倍体积的乙醇进行沉淀。从 10 种菌种中筛选出一株具有高絮凝活性的球形菌柱 A3 菌株,得黏性沉淀物即为絮凝剂,将絮凝剂投加到高岭土悬浊液中进行絮凝率测定。

1.5 絮凝活性测定

在 100 mL 量筒中加入 80 mL 高岭土悬浊液、1 mL $\rho = 4 \text{ g/L}$ 絮凝剂和 5 mL $w = 1\%$ 的 CaCl_2 溶液。用 NaOH 或 HCl 调 pH 至 7,以 180 r/min 的转速快搅 30 s,80 r/min 转速慢搅 5 min,静置 5 min。在 721 型分光光度计 550 nm 处测定上层清液吸光度,与不加发酵液的样品作对照(CK)。用浊度变化即絮凝率 Y 表示絮凝活性^[4],计算公式如下:

$$Y = (A - B) / A \times 100\%$$

式中:A、B 分别为对照样和样品上清液的吸光度。

2 A3 菌种产絮凝剂条件

2.1 产絮凝培养条件优化

利用均匀化试验设计研究了葡萄糖添加量、酵母膏添加量、pH 和温度 4 个因素对 A3 菌种产絮凝剂的影响(其他物质的添加量同发酵液 $u(\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 0.2\%$ 、 $w(\text{MgSO}_4) = 0.025\%$ 、 $w(\text{NaCl}) = 0.05\%$)。选用了 4 因素 5 水平(即 $U_5(5^4)$)的均匀化实验设计

进行试验。均匀设计试验点分布“均匀分散”,在处理设计中,各因子的每个水平只出现一次,因子水平数较多,适合于多水平因子的模型拟合与优化试验,试验结果没有“整齐可比性”,因此不能采用方差分析,而必须用回归分析。表 1 是各因素水平值的选取,表 2 是均匀试验设计表,按照表 2 进行试验。

表 1 各因素水平值选取

试验因素	$u(\text{葡萄糖})/\%$	$u(\text{酵母膏})/\%$	pH	温度/℃
水平 1	1.0	0.2	5	24
水平 2	1.5	0.4	6	28
水平 3	2.0	0.6	7	32
水平 4	2.5	0.8	8	36
水平 5	3.0	1.0	9	40

表 2 4 因素与水平均匀化实验设计

试验号	$u(\text{葡萄糖})/\%$	$u(\text{酵母膏})/\%$	pH	温度/℃	$Y/\%$
1	1.0	0.4	7	36	52.7
2	1.5	0.8	5	32	48.6
3	2.0	0.2	8	28	77.1
4	2.5	0.6	6	24	62.7
5	3.0	1.0	9	40	26.1

通过对表 2 中测得的絮凝率进行 4 因素多项式逐步回归法进行回归,得到 A3 菌产絮凝剂处理高岭土悬浊液后得到的絮凝率同培养条件之间的回归方程为:

$$Y = -486.2 + 60.5X_1 - 13.7X_1^2 + 61.9X_2 - 60.7X_2^2 + 56X_3 - 3.7X_3^2 + 18.2X_4 - 0.3X_4^2$$

式中: Y 为絮凝率,%; X_1 为葡萄糖投加量,%; X_2 为酵母膏投加量,%; X_3 为 pH 值; X_4 为温度,℃。

对方程验证得出: $R^2 = 0.9483 > R_{(0.05)}^2 = 0.9025$,其曲线方程的置信度大于 95%,显著性很好,数据偏差在允许范围内,可靠性较好。通过对方程中的 4 个因素 X_1 、 X_2 、 X_3 和 X_4 进行求导分析,求出 $X_1 = 2.2$ 、 $X_2 = 0.51$ 、 $X_3 = 7.6$ 、 $X_4 = 30.3$ 。即最佳试验条件为:葡萄糖添加量 2.2%、酵母膏添加量 0.51%、pH 值为 7.6、温度为 30.3℃。

2.2 产絮凝剂动力学研究

按照上述优化条件对 A3 菌种进行产絮凝剂培养,在不同培养时间段测得的絮凝率见图 1。由图 1 可见,随着培养时间的增加,絮凝率也逐渐增加。5 ~ 20 min 增加比较明显,20 ~ 30 min 增加缓慢,30 ~ 35 min 后增加时间对絮凝率已经没有大的影响。

从图 1 中可以看出,对硅藻土的絮凝率 Y 随时间 t 振动培养的变化呈现出倒数函数的图形。因此用下式对实验数据进行拟合:

$$Y = a + b/t$$

式中: a 、 b 为拟合参数。

非线性拟合结果见图 1。

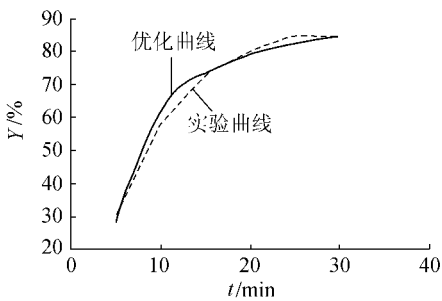


图1 絮凝率同时间的回归曲线

拟合方程为：

$$Y' = 96.03 - 338.15/t$$

由拟合方程进行理论计算可知,絮凝率为50%时所需的时间为7.3 min,絮凝率为80%时,所需时间为21.1 min,絮凝率为90%时,所需时间为56 min。可见,随着时间的增加,絮凝率的增加速度减慢,而且不可能完全絮凝。根据实际情况可知,选择絮凝时间要考虑到其实际经济效益,所以絮凝时间不能过长。

3 A3 菌产絮凝剂处理靛蓝废水的研究

用上面优化出来的培养条件培养 A3 菌产絮凝剂,用 A3 产絮凝剂对印染废水进行絮凝脱色试验,研究絮凝剂投加量、原水 pH 和 $w = 1\%$ 的 CaCl_2 溶液用量 3 个因素对处理效果的影响,试验的印染废水量为 100 mL。

3.1 pH 的影响

改变絮凝剂的用量,将 1 mL 的絮凝剂分离液和 2 mL $w = 1\%$ 的 CaCl_2 溶液投加到靛蓝废水中,调节不同 pH 值,测定其脱色率 Y' 随 pH 值 X_{pH} 的变化(图 2)。利用最小二乘法进行非线性回归,得到回归方程为：

$$Y' = -99.0 + 41.9X_{\text{pH}} - 2.3X_{\text{pH}}^2, R^2 = 0.942$$

说明此回归方程的显著性较好。对此方程进行计算求导,得到最佳的 pH 值为 9。

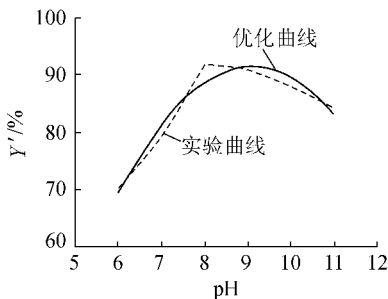


图2 pH 值对脱色率的影响

3.2 絮凝剂投加量的影响

固定 pH 值为 9,加入 2 mL $w = 1\%$ 的 CaCl_2 溶液,改变絮凝剂投加量,测得处理后印染废水的脱色

率 Y' 随投加量 $X_{\text{投}}$ 的变化曲线(图 3)。利用最小二乘法进行非线性回归,得到回归方程为：

$$Y' = 56.0 + 31.1X_{\text{投}} - 7.0X_{\text{投}}^2, R^2 = 0.976$$

说明此回归方程的显著性较好。对此方程进行求导,得到最佳絮凝剂投加量为 2.2 mL。

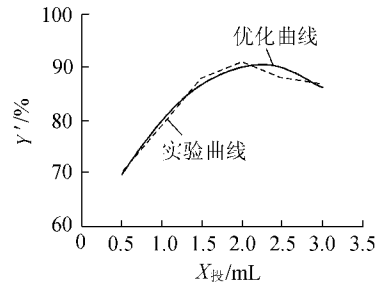


图3 絮凝剂投加量对脱色率的影响

由图 3 可见,随着絮凝剂投加量增加,脱色效果先提高后降低。絮凝剂投加量的多少对最终处理效果影响很大。当絮凝剂不足时,由于污染物未充分脱稳而导致处理效果差;当絮凝剂过剩时,胶体颗粒会因超荷现象而达到新的稳定,使被处理水混浊,然而不同水质呈现出现象区别较大。

3.3 CaCl_2 投加量对脱色率的影响

CaCl_2 的作用机理:通过微生物的正常生理代谢产生的代谢产物主要是多糖组分,此多糖组分在有 CaCl_2 助凝剂存在的条件下对污染物有一定的絮凝作用。 CaCl_2 凝聚絮凝高岭土的机理主要是以“架桥”作用为主,絮凝剂中含有的羧基、羟基使絮凝剂分子能够充分伸展,有效发挥架桥作用。同时 Ca^{2+} 起压缩双电层、吸附电中和作用。多糖和高岭土颗粒之间利用 Ca^{2+} 压缩双电层和架桥媒介作用,通过氢键形成大絮团,从而导致絮凝^[21]。

改变 CaCl_2 投加量,固定 pH 值为 9,絮凝剂投加量为 2.2 mL,测定其脱色率 Y' 随 CaCl_2 投加量 X_{CaCl_2} 的变化。利用最小二乘法进行非线性回归,得到回归方程为：

$$Y = 24.7 + 58.1X_{\text{CaCl}_2} - 13.0X_{\text{CaCl}_2}^2, R^2 = 0.977$$

说明此回归方程的显著性较好。对此方程进行求导,得到最佳的 CaCl_2 投加量为 2.2 mL,见图 4。

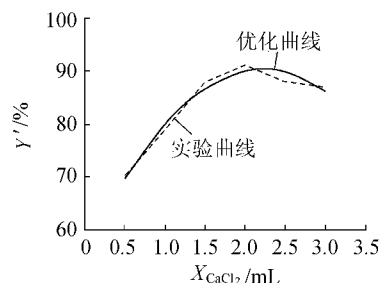


图4 CaCl_2 投加量对脱色率的影响

(下转第 86 页)

[41] WYNN J ,BELFI H ,CANTINO H ,et al. Ecological wastewater treatment for Appalachia : constructed wetlands and related innovation[R]. Athens Ohio :rural action ,America ,1997.

[42] DUPOLDT C ,EDWARDS R ,GARBER L ,et al. A Hand book of constructed wetland[M]. Washington DC :U S Government Printing Office ,1995 41-44.

[43] LIU D ,GE Y ,DONG J C ,et al. Constructed wetlands in China :recent developments and future challenges[J]. Front Ecological Environment ,2009 ,7(5) 261-268.

[44] California Stormwater Quality Association. Constructed wetlands TC - 21 design considerations[Z]. California : California Stormwater Quality Association ,2003 5-7.

[45] 刘超翔 ,胡洪营 ,黄霞 ,等 .滇池流域农村污水生态处理系统设计[J]. 中国给水排水 ,2003 ,19(2) 93-94.

[46] YE F X ,LI Y. Enhancement of nitrogen removal in towery hybrid constructed wetland to treat domestic wastewater for small rural communities[J]. Ecological Engineering ,2009 ,35 : 1043-1050.

[47] CHEN Z M ,CHEN B ,ZHOU J B ,et al. A vertical subsurface-flow constructed wetland in Beijing[J]. Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation ,2008 ,13 :1986-1997.

[48] HABERL R ,PERFLER R ,MAYER H. Constructed wetlands

in Europe[J]. Water Science Technology ,1995 ,32(3) :305-315.

[49] KIVAISI A K. The potential for constructed wetlands for wastewater treatment and reuse in developing countries : a review[J]. Ecological Engineering ,2001 ,16 540-546.

[50] 曹杰 .人工湿地对农村生活污水的处理效果研究[D]. 杭州 浙江大学 ,2007 22-24.

[51] 汪仁洪 .四川遂宁无人污水处理厂人工湿地种植菖蒲[N]. 华西都市报 ,2009-5-27(30).

[52] SCHOLZ M. The universal design ,operation and maintenance guidelines for farm constructed wetlands in temperate climates [R]. Edinburgh :The University of Edinburgh ,2007.

[53] BRIX H ,ARIAS C A. The use of vertical flow constructed wetlands for onsite treatment of domestic wastewater : New Danish guideline[J]. Eco logical Engineering ,2005 ,25 :491-500.

[54] FAHD K ,MARTIN I ,SALAS J. Experimental plant and the technological transfer centre : urban wastewater treatment experimental platforms for the small rural communities in the mediterranean area[J]. Desalination ,2007 ,215 :12-21.

[55] 刘超翔 ,胡洪营 ,张健 ,等 .人工复合生态床处理低浓度农村生活污水[J]. 中国给水排水 ,2002 ,18(7) :1-4.

(收稿日期 2010-04-25 编辑 徐娟)

(上接第 69 页)

从图 4 中可以看出 ,随着 CaCl_2 投加量的增加 ,开始对絮凝起很好的助凝作用 ,当达到 2 mL 左右时 ,助凝效果有所下降 ,但是降低速度较缓慢。可以得出当 CaCl_2 投加量大于 2.5 mL 后 ,增加 CaCl_2 的用量不能有效的提高脱色率。

4 结 论

a. 从土壤中筛选出的 A3 菌种能代谢出高效絮凝剂 ,其最佳培养条件是葡萄糖添加量 2.2%、酵母膏添加量 0.51%、pH 为 7.6、温度为 30.3℃。

b. 创建了 A3 产絮凝剂絮凝率同培养时间的动力学数学模型 : $Y = 96.03 - 338.15/t$ 。

c. 用 A3 菌产絮凝剂处理印染废水 ,有较好的脱色效果。优化处理的处理条件为 pH 值 9、絮凝剂投加量 2.2 mL、 $w = 1\%$ 的 CaCl_2 用量为 2.2 mL。用优化后的条件进行印染废水脱色试验 ,脱色率可达 80%。

参考文献 :

[1] 杨常凤 ,周欣平 ,孔峰 .微生物絮凝剂的培养与对酱油废水处理实验研究[J]. 污染防治技术 ,2008 ,21(2) : 13-15.

[2] 魏晓金 ,李静 ,何绪文 .微生物絮凝剂的絮凝条件及焦化

废水净化研究[J]. 中国工程科学 ,2008 ,11(2) 88-91.

[3] 张迎明 ,赵继红 ,杨劲峰 ,等 .微生物絮凝剂处理氧化铁红染料废水研究[J]. 广东化工 ,2009 ,36(2) 65-67

[4] 刘彬彬 ,闫永胜 ,王珊 .微生物絮凝剂处理造纸中段废水的实验研究[J]. 工业安全与环保 ,2007 ,33(11) :14-16.

[5] 鲍立宁 ,洪桂云 ,宋礼华 .絮凝剂产生菌培养条件的研究及在废水处理中的应用[J]. 生物学杂志 ,2008 ,25(3) :21-24.

[6] 陈盛 ,钱伟 ,罗志敏 ,等 .酸性多糖微生物絮凝剂的提取、纯化与分析[J]. 环境污染治理技术与设备 ,2006 ,12(7) : 61-64.

[7] 朱富坤 ,刘彬彬 ,闫永胜 ,等 .微生物絮凝剂 PF-2 的成分分析及絮凝机制研究[J]. 环境污染与防治 ,2008 ,30(2) : 37-41.

[8] 胡永有 ,高宝玉 .微生物絮凝剂[M]. 北京 :化学工业出版社 ,2007.

[9] 张宏梅 .生物絮凝剂在环境废水处理中的应用[J]. 化工技术与开发 ,2007 ,36(7) 41-44.

[10] 杨正亮 ,郑雪斌 ,冯贵颖 .微生物絮凝剂的研究进展[J]. 安徽农业科学 ,2007 ,35(24) :7593-7594 ,7596.

[11] 罗平 ,罗国源 ,左赵宏 .短芽孢杆菌 RL-2 絮凝机理研究[J]. 环境工程学报 ,2007 ,1(6) 39-42.

(收稿日期 2009-12-29 编辑 高渭文)