

包埋固定化 CK3 脱色菌对偶氮染料 Reactive Red 180 的脱色特性

李 博¹, 熊小京¹, 赵志新², 郑天凌³

(1.厦门大学环境科学研究中心,福建 厦门 361005; 2.北京大学环境科学与工程学院水沙教育部重点实验室,北京 100871; 3.厦门大学生命学院环境与应用微生物研究所,福建 厦门 361005)

摘 要:采用改进的 PVA- 硼酸包埋法固定化 CK3 脱色菌,以偶氮染料 CI Reactive Red 180 为处理对象,采用批式工艺在缺氧条件下,系统考察了原水 pH、外加碳源、盐度等因子对固定化 CK3 脱色菌脱色特性的影响,同时通过试验现象分析了不同进水条件下固定化凝胶小球强度的变化。结果表明,进水 pH 为碱性时脱色效果最好,但小球强度较差,向水中引入了大量有机物质,使废水中 COD 显著增大,进水 pH 为酸性时,有利于保持凝胶小球的强度,但脱色效果不如碱性条件,固定化 CK3 脱色菌对以葡萄糖为外加碳源的染料废水的脱色效果较好,在进水不含葡萄糖时小球强度严重降低,且脱色效果较差,染料废水中 NaCl 浓度在 0.5~15 g·L⁻¹ 范围内,均有较好的脱色效果。

关键词:包埋固定化;CK3 脱色菌;偶氮染料

中图分类号: X788; X703.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-3770(2009)06-019-05

偶氮染料是印染行业中使用最多的种类之一,占全部染料的 50%以上。偶氮染料能使生物致畸、致癌、致突变等,其初步降解后的产物多为苯胺类物质等。目前,印染废水处理的主要发展方向是以生物方法为主,物化方法为辅,二者相结合的处理工艺。

生物强化技术是一种通过向废水处理系统中直接投加从自然界中筛选的优势菌种或通过基因重组技术产生的高效菌种,以改善原处理系统的能力,达到对某一种或某一类有害物质的去除或某方面性能改进的目的的环境生物技术。该方法可有效地提高有毒有害物的去除效果,改善污泥性能,缩短启动周期,增强处理稳定性、耐负荷冲击能力等。已有研究表明^[1-4],微生物包埋固定化技术处理对于多种污染物质有很好的效果。然而,经筛选的高效菌种在直接投加用于废水处理系统时,会出现菌种流失及退化等现象,难以形成稳定的生物相。因此,如何将高效菌种有效的保持在废水处理系统中成为生物强化技术应用的关键。

微生物包埋固定化技术是废水生物处理领域中一个较新的技术,它是将微生物封闭在天然高分子

多糖类或合成高分子凝胶中,从而使微生物固定化。相比普通的活性污泥法,包埋固定化技术具有以下一些优点:防止微生物流失、反应器中可以达到较高的微生物浓度、抗毒物和冲击负荷、沉降性能好、有利于固液分离等。据研究报道,采用固定化细胞技术处理工业废水有利于提高生物反应器内的微生物细胞浓度和纯度,并保持高效菌种,其污泥产量少,利于反应器的固液分离,也有利于除氮和除去高浓度有机物或某些难降解有机物^[5],是一种高效低耗、运转管理方便、十分有前途的废水处理技术。

为研究 CK3 脱色菌经包埋固定化后对偶氮染料 CI Reactive Red 180 的脱色效果,本研究采用改进的 PVA- 硼酸包埋固定化法对该菌种进行固定化,并采用批式工艺,在缺氧条件下考察不同进水条件对脱色和凝胶小球理化性质的影响,为包埋固定化及生物强化技术在染料废水处理中的应用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 菌种与材料

高效脱色菌 CK3 柯氏柠檬酸杆菌 (*Citrobacter*

收稿日期 2008-11-20

基金项目 福建省重大专项研究项目(2005YZ1023)

作者简介 李 博(1984-)男,硕士研究生,主要从事废水生物处理的研究工作, E-mail libo@xmu.edu.cn

联系作者 熊小京 副教授, E-mail xiongxi@xmu.edu.cn。

sp. CK3) 取自厦门大学生命科学学院环境与应用微生物研究所。

染料 CI Reactive Red 180 (活性红 KN-3B), 分子式 $C_{29}H_{19}N_3Na_4O_{17}S_5$ 特征波长 $\lambda_{max}=543\text{ nm}$ 。

试剂: 聚乙烯醇(PVA-124, 平均聚合度 1750 ± 50 , 汕头市达濠精细化学品公司); 海藻酸钠(永嘉精细化工二厂); 其它试剂均为市售分析纯。

1.2 细菌包埋固定化方法

菌液离心: 将扩大培养后的 CK3 脱色菌液于 $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min, 弃去上清液, 取离心管底部沉积菌体。

包埋剂的配制: 称取一定质量的 PVA 和海藻酸钠溶解于 90°C 的蒸馏水中, 待冷却至室温后与离心取得的 CK3 脱色菌体混合均匀, 使 PVA 和海藻酸钠的最终质量浓度分别为 10% 和 1%, 包菌量为 60/100 (即每 100 mL 包埋剂中含有相当于 60 mL 菌液的菌量)。

交联剂的配制: 将质量浓度 3% 的 CaCl_2 溶解于饱和硼酸溶液中, 降温至 4°C 。

固定化凝胶小球制备: 用注射器将混合均匀的包埋剂从 10 cm 的高处滴入交联剂中, 交联剂用磁力搅拌器搅拌。包埋剂与交联剂交联形成直径为 3~5 mm 的小球, 将固定化凝胶小球浸没在交联剂中储存于 4°C 的冰箱内继续硬化 24 h, 使用前用经灭菌的生理盐水清洗 3 次。

1.3 染料废水组成

用去离子水配制染料废水, 具体成分为 $3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ KH}_2\text{PO}_4$ 、 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NH}_4\text{Cl}$ 、 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$ 、 $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.12\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ MgSO}_4$ 、 $4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖、 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 染料, 用 HCl 和 NaOH 溶液调节 pH。

1.4 不同染料废水条件单因素试验

改变染料废水 pH、葡萄糖浓度、盐度, 进行单因素试验, 以考察包埋后的 CK3 脱色菌在不同进水条件对染料的脱色效果及不同进水条件对小球理化性质的影响。在 300 mL 锥形瓶中加入体积占 30 mL 的包埋固定化凝胶小球和 100 mL 的染料废水, 用铝箔纸封口, 置于恒温摇床中, 于 30°C 、 $30\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 条件下以 24 h 为周期进行批式处理。每周周期结束后, 取样测定色度和 COD。凝胶小球用去离子水清洗 2 遍, 再用染料废水清洗 1 遍后, 加入相同成分的染料废水 100 mL 继续进行下一周期处理。每次单因素试验设置 2 组平行样。

1.5 分析方法

出水经 $5000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min, 用瑞利

UV-9200 紫外可见分光光度计在染料特征波长处测定吸光值, COD 采用重铬酸钾法测定 (GB11914-89), 以其吸光值计算出脱色率。

2 结果与讨论

2.1 pH 对脱色率的影响

调节染料废水 pH 分别为 3、5、7、9、11, 进行脱色试验, 每周周期测定出水色度, 经 10 周期后, 不同进水 pH 对脱色率的影响见图 1。

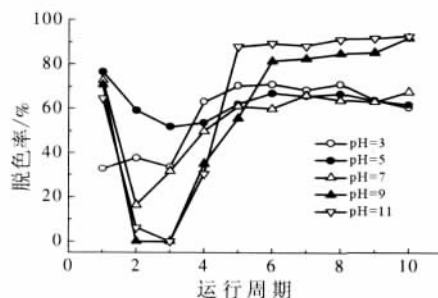


图 1 pH 变化对脱色率的影响
Fig.1 The influence of influent pH on the decolourization

在第 1 个处理周期结束时, 进水 pH 为 5、7、9、11 的脱色率均达到 60% 以上, 而 pH 为 3 的脱色率较低。第 2、3 周期, 各组进水的脱色率均有下降, 进水 pH 为 9 和 11 的脱色率甚至低至 0。此时进水 pH 为 7、9、11 的凝胶小球开始溶胀, 且进水 pH 越高溶胀越显著, 进水 pH 为 3 和 5 的凝胶小球溶胀现象不明显。从第 4 周期开始, 各组的脱色率开始上升, 进水 pH 为 11 的凝胶小球脱色能力最强, 5 个周期后脱色率就可达到 87% 以上, 10 个周期时达到 92% 以上; 进水 pH 为 9 的凝胶小球在 6 个周期后脱色率可达到 80% 以上, 10 个周期后也可达到 92%; 当进水 pH 为 3、5 和 7 时, 凝胶小球的脱色能力较低, 5 个周期后仅达到 60% 左右。

对上述试验现象进行分析, 不同进水 pH 条件下, 各组凝胶小球对染料废水的脱色均经历先下降后上升再稳定的过程。经第 1 个周期, 凝胶小球的颜色由刚制备时的白色变成红色, 色度去除率可能是由于凝胶小球自身对废水中染料的吸附作用所致。第 2、第 3 周期脱色率下降, 由于小球的吸附达到饱和, 且 CK3 脱色菌经包埋后, 活性尚未恢复, 无法将吸附的染料降解。经几个周期处理, CK3 脱色菌的活性逐渐恢复, 脱色率逐渐上升。结合不同 pH 废水中凝胶小球的外观进行分析, 进水 pH 越高对凝胶小球的强度影响越强烈, 导致小球溶胀, 强度降低,

从而使小球的传质系数增大,使得小球内外的物质交换速率增大,CK3 脱色菌能够接触到跟多的染料,使脱色率上升,最后以进水 pH 最高的凝胶小球脱色率最高。

为说明不同进水 pH 对小球强度的影响,对出水的 COD 测定,以 COD 的去除率间接反映废水中有机物的增减情况,结果见图 2。当进水 pH 为 5 时,COD 去除率最高,达到 15%,进水 pH 为 3 和 7 时,COD 去除率分别为 7%和 6%,进水 pH 为 9 时,COD 去除率接近 0,进水 pH 为 11 时,COD 去除率为负。

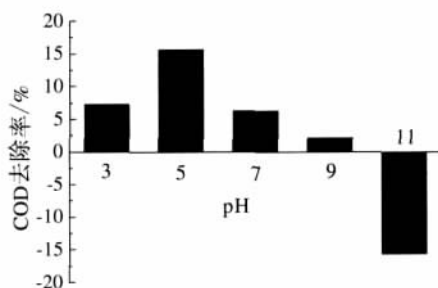


图 2 出水 COD 的变化情况

Fig.2 The effect of influent pH on the COD removal efficiency

将出水 COD 的变化情况与凝胶小球的溶胀情况结合分析,在 pH 为 3 时,凝胶小球几乎不溶胀,但也不利于 CK3 脱色菌的生长和对有机物的降解;当 pH 为 5 和 7 时,凝胶小球溶胀不十分明显,且该 pH 范围有利于 CK3 脱色菌对有机物进行降解,故 COD 去除率相对较高,当 pH 为 9 和 11 时,凝胶小球溶胀十分明显,溶胀产生的溶出 PVA 和海藻酸盐向染料废水中引入大量的有机物质,使出水浊度上升,有机物浓度升高,CK3 脱色菌来不及降解,故 COD 去除率低于 0。从而也说明,高 pH 使凝胶小球溶胀,增大了传质系数,增强了染料的降解速率。

自然界中微生物生长适宜的 pH 一般在中性附近,而印染、染料工业废水的 pH 一般偏碱性,有的废水 pH 甚至高达 13。在如此高的 pH 条件下,多数微生物很难生存。从 pH 单因素试验可以看出,CK3 脱色菌经包埋固定化后,在 pH 为 11 的条件下不仅能够成长,而且表现出较强的脱色能力,其脱色效果高于中性和酸性条件。废水中的物质被包埋固定化后的 CK3 脱色菌利用时,需从凝胶小球的外部向内部传质,这一过程使 CK3 脱色菌获得了一个相对于外界完全不同的微环境,使其能够在外界恶劣环境下获得一个相对缓和的微环境,因此能够在如此高

pH 下表现良好的脱色特性。

2.2 葡萄糖浓度对脱色率的影响

大多数对染料有降解能力的细菌在厌氧条件下对染料的脱色均需要外加碳源,即脱色细菌不能直接以染料为碳源。葡萄糖、淀粉、醋酸盐、乙醇等简单有机物或其他复杂有机物均可作为碳源物质。为研究 CK3 脱色菌在经包埋固定化后,对染料的脱色过程中碳源物质的影响,配制葡萄糖浓度分别为 0、2、6、12 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的染料废水,分别代表无外加碳源和外加碳源浓度为低、中、高水平。调节进水 pH 为 9 进行脱色试验,24 h 后测定出水色度,结果如图 3 所示。

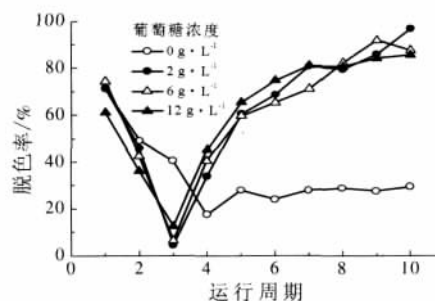


图 3 盐度变化对脱色率的影响

Fig.3 The effect of salinity on the decolourization efficiency

与 pH 单因素试验相似,10 个周期的脱色率也是经先下降后上升最后趋于稳定的过程。在第 1 个处理周期结束时,废水中葡萄糖浓度为 0、2、6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的脱色率均达到 70%以上,废水中葡萄糖浓度为 12 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的较低,色度的去除主要归因于小球的吸附作用。在第 2、第 3 处理周期,脱色率持续下降,含葡萄糖的废水的脱色率降至 10%以下。从第 4 个周期开始,CK3 高效脱色菌的活性开始逐渐恢复,色度的去除主要靠包埋在凝胶小球中的 CK3 脱色菌的生物降解作用,到第 5 个周期时,生物活性趋于稳定,脱色率也趋于稳定上升趋势,葡萄糖浓度为 2、6、12 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的脱色率达到 60%以上,而无葡萄糖添加的脱色率仅有 20%左右。

在有外加碳源条件下,不同进水葡萄糖浓度对脱色效果的影响不十分显著,10 个周期中,凝胶小球对色度的去除率相差不大。CK3 脱色菌经包埋后,其所处的环境较外界环境有很大差别,废水中的葡萄糖在向凝胶小球内部进行传质过程中会受到传质阻力,使微生物获得的葡萄糖较外界少。故进水葡萄糖浓度对脱色效果的影响被减弱。

在无外加碳源条件下,凝胶小球对色度也有一定的去除效果。在废水中无葡萄糖时,凝胶小球表现

出很强的黏性,相互粘连,且小球自身的溶解会向废水中引入大量的有机物质,这些有机物质可能部分的被 CK3 脱色菌作为碳源物质利用,故表现出一定的脱色效果。但是由于凝胶小球溶解引入的有机物为复杂有机物或高分子有机物,被 CK3 脱色菌利用有限,故脱色率不高。与有葡萄糖作为碳源的废水脱水脱色率相比,包埋后的 CK3 脱色菌对偶氮染料 Reactive Red 180 的降解需要外加碳源。表 1 给出了不同进水葡萄糖浓度条件下出水 COD 去除率的情况。

表 1 进水葡萄糖浓度对 COD 去除率的影响

Table 1 The COD removal efficiency under different influent glucose concentrations

进水葡萄糖浓度 / $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	进水 COD / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	出水 COD / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	COD去除率 /%
0	100	2 333	-2 232.8
2	2 000	1 571	21.5
6	6 000	4 218	29.7
12	12 000	11 664	2.8

有葡萄糖作为外加碳源的废水经处理后 COD 都有一定的去除率,葡萄糖浓度为 2、6、12 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的废水 COD 去除率分别为 22%、30%和 3%。但不含葡萄糖的废水的 COD 去除率 -2 233%,说明凝胶小球溶解向水中释放出大量的有机物,增大了出水 COD。这与上述的小球溶解、相互粘连的试验现象相吻合,说明小球在没有外加碳源的废水中不利于其强度的保持。

2.3 盐度对脱色率的影响

印染、染料工业废水具有含盐量高的特点,其中大量的无机盐主要是指 NaCl 和 Na_2SO_4 ,含量高达 15%~20%^[6],大多数微生物在如此高含盐量的环境中难以生存^[7]。为研究 CK3 高效脱色菌经包埋后,能否在不同盐度(以 NaCl 浓度计)环境中表现脱色特性,配制 NaCl 质量浓度分别为 0.5、2、5、10、15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的染料废水,在葡萄糖浓度为 6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、pH=9 的条件下进行脱色试验,24 h 后测定出水色度和 pH。盐度变化对脱色率的影响见图 4。

在第 1 个处理周期结束时,NaCl 浓度为 0.5、2、5、10、15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的脱色率均在 85%左右,在第 2 个处理周期,脱色率显著下降,NaCl 浓度为 0.5、2、5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的脱色率降至 20%左右,NaCl 浓度为 10、15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的脱色率降至 60%左右,前几次单因素试验相同,脱色率也经历了先下降后上升的过程。第 3 周期,NaCl 浓度为 10、15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的脱色率继续下降,降至

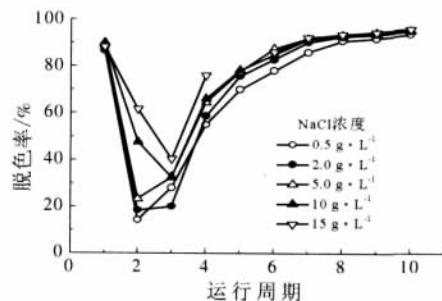


图 4 盐度变化对脱色率的影响

Fig.4 The effect of salinity on the decolorization efficiency

40%左右,而 NaCl 浓度为 0.5、2、5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的脱色率开始上升。从第 4 个周期开始,脱色率均开始上升并逐渐趋于稳定。在使用 8 个周期后,脱色率均达到 90%以上。

将盐度变化对脱色率的影响与凝胶小球的溶胀情况结合分析,不同盐度条件下,凝胶小球对染料的脱色率相差不大,且均十分显著,甚至当盐度达到 15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,脱色率也能达到 90%以上。不同进水盐度条件下,凝胶小球均没有很明显的溶胀。通过本试验再次说明,包埋固定化为微生物提供了一个良好的外界环境,有助于脱色细菌的生长,并表现脱色特性。

3 结论

进水 pH 为碱性时凝胶小球强度较低,得益于传质效率的提高,脱色效果较好,但是同时也向水中引入了大量有机物质,使 COD 去除率降低,进水 pH 偏酸性时,有助于保持凝胶小球的强度。

以葡萄糖为外加碳源,对染料废水的脱色效果较好,进水不含葡萄糖时,凝胶小球强度严重降低,脱色效果较差。

NaCl 浓度在 0.5~15 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内时,都能达到较好的脱色效果。

参考文献:

- [1] 吕荣湖,等.包埋固定化微生物法处理含油废水研究[J].环境污染治理技术与设备,2006,7(1):89-93.
- [2] 宋应民,欧富初.包埋固定化微生物处理化工废水[J].广东化工,2006,33(8):68-70.
- [3] J A Ramsay, W H W Mok, Y S Luu, et al. Decoloration of textile dyes by alginate-immobilized trametes versicolor [J]. Chemosphere,2005,61:956-964.
- [4] Kuo Cheng Chen, et al. Simultaneous carbon-nitrogen removal in wastewater using phosphorylated PVA-immobilized microorganisms [J].Enzyme and Microbial Technology,1998,23: 311-320.

- [5] 陈铭,周晓云. 固定化细胞技术在有机废水处理中的应用与前景[J].水处理技术,1997,23(2):98-102. 11(4):250-253.
- [6] 冀滨弘. 染料工业废水处理的现状进展[J].污染防治技术,1998, 李家珍. 染料、染色工业废水处理[M].北京:化学工业出版社, 1997.

DECOLORIZATION BEHAVIOR OF REACTIVE RED 180 BY USING PVA-IMMOBILIZED STRAIN CITROBACTER SP. CK3

Li Bo¹, Xiong Xiaojing¹, Zhao Zhixin², Zheng Tianling³

(1.Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2.The Key Laboratory of Water and Sediment Sciences, College of Environmental Science and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China;

3.Institute of Applied and Environmental Microbiology, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: A specific decolorizing strain, *Citrobacter* sp. CK3, was immobilized using a modified PVA-H₃BO₃ method. Synthetic dye waste water containing C I Reactive Red 180 was treated by the immobilized-cell beads under anoxic condition in a batch system. The effect of influent pH, external carbon source (glucose) and salinity (NaCl) on the behavior of decolorization of the azo dye were investigated. Also, the variation of physical characteristic of the gel beads under various conditions was discussed. Results showed that alkaline condition is better for the decolorization of Reactive Red 180 due to the decrease of the gel beads' hardness; but also cause a mass of organic compounds released in to the water. By contrast, the hardness of gel beads maintained well at lower pH. The decolorizing efficiency is better when glucose is used as external carbon source; the influent without glucose could cause the decrease of decolorizing efficiency and also do great harm to the hardness of gel beads. The decolorizing efficiency is always good when the NaCl concentration varies at the range of 0.5 to 15 g·L⁻¹.

Keywords: immobilization; decolorizing bacteria; azo dye

(上接第 18 页)

ANALYSIS OF CORRELATION BETWEEN MICROBE QUANTITY AND PURIFICATION EFFECT OF HYDROPONICS CHLOROPHYTUM COMOSUM WASTEWATER PURIFICATION SYSTEM

Zhu Jingping¹, Cheng Kai¹, Song Baozeng²

(1.School of Environment and Resources, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China;

2.China Academy of Engineering Physics, Mianyang 621000, China)

Abstract: The correlation of microbe quantity and purification effect of purification system by using hydroponics chlorophytum comosum in domestic wastewater was studied. The results showed that, during 28 d, microbe quantity increased first and then decreased, population of bacteria is larger than that of fungi and actinomycetes. Hydroponics chlorophytum comosum has good removal effect for COD, TN, KN, TP and SS in domestic wastewater, and the removal efficiency of COD had correlation with the population of actinomycetes. There was a significant correlation between the removal efficiency of TN, KN and the population of bacteria and fungi. There was no significant correlation between the removal efficiency of TP, SS and microbe quantity.

Keywords: hydroponics chlorophytum comosum; purification effect; microbe quantity; correlation

以水资源的可持续利用；
保证经济社会的可持续发展