

微生物絮凝剂A3的培养条件及处理啤酒废水条件研究

万俊杰, 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:从土壤中筛选出一株产微生物絮凝剂的菌株 A3, 利用均匀设计安排试验, 用曲线拟和方法创建数学模型的方法研究了其产絮凝培养基条件, 结果表明: 葡萄糖添加量 2.2%、酵母膏添加量 0.51%、pH7.6、温度 30.3℃时 A3 产絮凝剂条件最佳, 数学模型为 $Y = -486.2 + 60.5X_1 - 13.7X_1^2 + 61.9X_2 - 60.7X_2^2 + 56X_3 - 3.7X_3^2 + 18.2X_4 - 0.3X_4^2$, 培养的动力学模型为: $(C_0 - C_t) / C_0 \times 100\% = 96.03 - 338.15/t$ 。同时利用 A3 菌产絮凝剂对啤酒废水进行 COD 去除处理, 结果显示: pH 值为 8、100mL 废水中絮凝剂的添加量为 1.5mL 和 1%CaCl₂ 用量为 2mL 时, COD 去除效果最佳。在最佳工艺条件下的 COD 去除率可达 60%。并构建了相应的数学模型为: $y = 40.8 + 22.4e^{-(x-8)^2/4.5}$; $y = 66.4 - 58.9/(1 + (x/0.67)^{4.5})$ 和 $y = 67.4 - 56.5/(1 + (x/0.68)^{4.86})$ 。

关键词: 微生物絮凝剂; 培养; 啤酒废水; 回归

中图分类号: X703 **文献标志码:** A **doi:** 10.3969/j.issn.1003-6504.2010.07.038 **文章编号:** 1003-6504(2010)07-0174-03

Cultivation of Microbial Flocculants and Optimization of Treatment Condition for Brewery Wastewater

WAN Jun-jie, DENG Mao-cheng

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

Abstract: One strain of microbial flocculant-producing bacterial A3 was screened from soil, the culture medium of microbial flocculant-producing was optimized through application of homogeneous design arranging experiment and establishment of mathematical model by curve fit method. Results indicated that the best conditions of flocculant-producing would be obtained under the conditions as glucose dosage 2.2%, yeast extraction dosage 0.51%, pH value 7.6 and temperature 30.3℃. The strain was also used for the removal of COD in brewery wastewater. Results showed that the best condition of removal of COD was that pH value 8, dosage of 1% CaCl₂ in 100mL wastewater as 1.5mL and 2mL respectively. Removal rate of COD under the optimal conditions exceeded 60%.

Key words: microbial flocculants; culture; brewery wastewater; regression

国外每产 1t 啤酒可产生废水 8~20t, 国内一般为 20~30t, 其废水含有许多易于生物降解的有机物, 如: 麦糟、糖类、啤酒残液、洗涤剂和其他一些污物, 故啤酒是酿酒行业中废水和污染物的排放大户。对于啤酒废水处理, 采用好氧生物处理法存在电耗大、成本高、处理后废水 N、P 含量仍然偏高等缺点; 采用传统化学絮凝剂处理法存在处理效率低、费用大及二次污染等问题, 且某些化学絮凝剂有致癌和毒害神经的作用, 其用量受到严格的控制。因此, 水处理界需要寻找一种较经济、合理的污水处理方式。研究表明, 微生物絮凝剂具有安全、高效、可生物降解、无二次污染等优势, 故利用微生物絮凝剂处理污水的方法越来越受到国内外的关注, 其部分或全部取代传统絮凝剂是污水处理中的趋势^[1-2]。

微生物絮凝剂是 20 世纪 80 年代后期研究开发

的第三类絮凝剂, 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^[3]。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^[4]。

本实验利用在桉树林中的土壤中分离出一株高效产絮凝剂球状菌, 用均匀化实验设计安排实验, 同时利用数学拟和法进行处理废水条件优化, 这种优化方法也是比较罕见的, 并建立了相应的数学模型。

1 材料与方法

1.1 菌种来源

在广东南海市市郊一桉树林采集的土壤中分离

收稿日期: 2009-12-22; 修回 2010-01-21

基金项目: 广东轻工职业技术学院一级项目(200703)

作者简介: 万俊杰(1975-), 女, 讲师, 硕士研究生, 研究方向为微生物技术与水处理技术, (手机)13570523987(电子信箱)jj-wan@yeah.net。

出来。

啤酒废水来源:珠江啤酒厂废水,COD 值为 970 mg/L,pH 值在 9~10 之间。

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 2%、酵母膏 0.5%、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.2%、 MgSO_4 0.025%、 NaCl 0.05%、pH7.0。

1.3 菌种分离方法

将土壤样品称取 2.0g,溶解于含有 100mL 无菌水的无菌三角瓶中,充分摇匀静置 30min 后,吸取 1mL 上清液接种于含有 100mL 培养液的 250mL 三角瓶中,于 30℃、180r/min 摇床中培养 48h 后,取 1mL 接入新鲜培养基中,再培养 48h。富集两次后,将培养液稀释六个梯度,用划线分离法进行分类,再接入斜面上进行纯化培养^[5]。

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 250mL 发酵培养基中(装液量为 80mL),于 30℃、转速 180r/min 摇床上发酵培养 24h。取发酵液于 6000r/min 下离心 20min,上清液用 3 倍体积的乙醇进行沉淀,得粘性沉淀物,将粘性沉淀物投加到高岭土悬浊液中进行絮凝率测定。从 10 种菌种中筛选出一株具有高絮凝活性的球形菌柱 A3。

1.5 絮凝活性测定

100mL 量筒中加入 80mL 高岭土悬浊液(4g/L) 1mL 絮凝剂(发酵液),5mL CaCl_2 溶液,再加高岭土悬浊液至 100mL。用 NaOH 或 HCl 调 pH 至 7,180r/min 快搅 30s,80r/min 慢搅 5min,静置 5min。在 721 型分光光度计 550nm 处测定上层清液吸光度,与不加发酵液的样品作对照。用絮凝率表示絮凝活性^[6],其计算公式如下:

$$\text{絮凝率} = (A - B) / A \times 100\%$$

式中,A 为对照上清液吸光度;B 为样品上清液吸光度。

2 A3 菌种产絮凝条件研究

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 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0.2%、 MgSO_4 0.025%、 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,均匀实验设计的最大优点是可以节省大量的试验工作量,尤其是试验因素水平较多的情况下其优势更为明显。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和与优化试验;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^[7]。表 1 是各因素水平值的选取,表 2 是均匀试验使用表,按照表 2 进行试验。

表 1 因素水平
Table 1 Each factor lever

试验因素	水平 1	水平 2	水平 3	水平 4	水平 5
葡萄糖(%)	1	1.5	2	2.5	3
酵母膏(%)	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
pH	5	6	7	8	9
温度(℃)	24	28	32	36	40

表 2 $U_5(5^4)$ 使用表
Table 2 $U_5(5^4)$ table

试验号	葡萄糖(%)	酵母膏(%)	pH	温度(℃)	絮凝率(%)
1	1	0.4	7	36	52.7
2	1.5	0.8	5	32	48.6
3	2	0.2	8	28	77.1
4	2.5	0.6	6	24	62.7
5	3	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:

$$Y = -486.2 + 60.5X_1 - 13.7X_1^2 + 61.9X_2 - 60.7X_2^2 + 56X_3 - 3.7X_3^2 + 18.2X_4 - 0.3X_4^2 \quad (1)$$

式中:Y-絮凝率(%); X_1 -葡萄糖投加量(%); X_2 -酵母膏投加量(%); X_3 -pH 值; X_4 -温度(℃)。

拟和出来的方程(1)的 $R^2 = 0.9483 > R^2_{(0.05)} = 0.9025$,说明拟和出来的曲线方程的置信度大于 95%,说明显著性很好。对方程(1)中各因素分别进行求导分析,可以得出最佳的试验条件为:葡萄糖添加量 2.2%、酵母膏添加量 0.51%、pH=7.6、温度 30.3℃。

2.2 产絮凝动力学研究

按照前面优化的工艺 A3 菌种进行培养,在不同培养时间段测得的絮凝率见图 1。

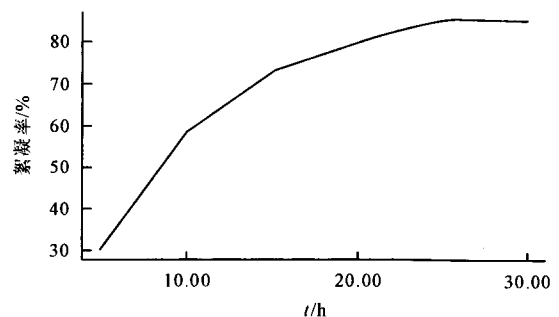


图1 絮凝率随时间的变化

Fig.1 Flocculation rate varied with oscillation time

从图 1 中可以看出,随着振荡时间的增加,絮凝率也逐渐增加,在 5~20min 之间增加的比较明显,在 20~30min 之间增加缓慢,到 30~35min 之间增加时间

对絮凝率已经没有大的影响。

从图 1 中可以看出,对硅藻土的絮凝率随时间的变化呈现出倒数函数的图形。因此用以下公式对实验数据进行拟和:

$$(C_0 - C_t) / C_0 \times 100\% = a + b/t$$

式中 t 为振荡培养时间 (min); C_0 为加入絮凝剂前水的浊度; C_t 为加入絮凝剂后水的浊度; a 、 b 为拟和参数。其中 $(C_0 - C_t) / C_0 \times 100\%$ 即为絮凝率。对其进行非线性拟和得到图 2, 去除率和时间 t 之间的拟和图, 并通过非线性拟和得到参数 $a=96.03$ 、 $b=-338.15$, 拟和方程为: $(C_0 - C_t) / C_0 \times 100\% = 96.03 - 338.15/t$ 。

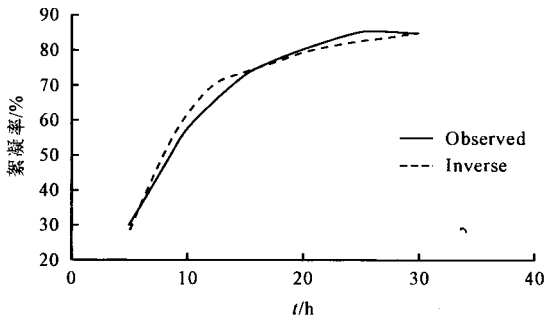


图2 絮凝率同时间的回归曲线
Fig.2 Regression curve of flocculation rate with oscillation time

根据拟和出来的方程可知,当絮凝率为 50% 的时候所需的时间为 7.3min,絮凝率为 80% 时,所需时间为 21.1min,当絮凝率为 90% 的时候,所需时间为 56.1min。从上面的情况可以看出,随着时间的增加,絮凝率的增加速度减慢,而且不可能百分之三百的絮凝。

3 A3 絮凝剂处理啤酒废水的研究

3.1 pH 的影响

改变絮凝剂的用量,将 1mL 的絮凝剂分离液和 2mL 1% CaCl_2 溶液投加到靛蓝废水中,用氢氧化钠调整 pH 值,测定其 COD 去除率的变化见图 3。从图 3 中可以看出,pH 值在 5~10 范围内,pH 值的变化与 COD 的去除率呈现出明显的二次曲线关系。利用最小二乘法进行非线性回归,得到回归方程(2)为:

$$y = 40.8 + 22.4e^{-(x-8)^2/4.5} \quad (2)$$

$R^2=0.9844$ 说明此回归方程的显著性较好。对方程(2)进行数学分析可知,当 $x=8$ 时, y 值最大,也就是 COD 去除率最高,由此得到最佳的 pH 值为 8,去除率为 63.2%。

3.2 絮凝剂投加量的影响

固定 pH 值为 8 和 2mL 1% CaCl_2 溶液,改变絮凝剂投加量的用量,测得絮凝处理后啤酒废水的 COD 去除率见图 4。利用最小二乘法进行非线性回归,得到回归方程(3)为:

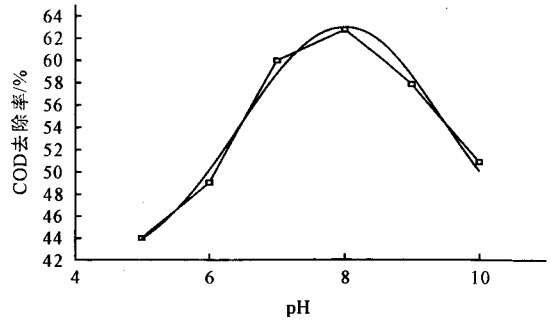


图3 pH值对COD的影响
Fig.3 Effect of pH on COD

$$y = 66.4 - 58.9 / (1 + (x/0.67)^{6.5}) \quad (3)$$

$R^2=0.9948$, $p=0.001$ 说明此回归方程的显著性很好。对方程(3)进行分析可知,当 $58.9 / (1 + (x/0.67)^{6.5}) < 1$ 时,即 $x > 2.1\text{mL}$ 时, x (即絮凝剂投加量)的增加对 COD 的去除率影响很小,可以忽略。并且从图 4 中可以看出,当絮凝剂的投加量大于 2.1mL 之后,随着絮凝剂的量的增加,COD 的去除率没有变化,所以可以得出最佳投加量为 2.1mL。

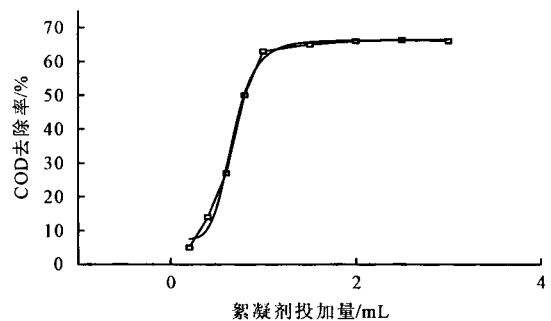


图4 絮凝剂投加量对COD去除率的影响
Fig.4 Effect of flocculating agent quantity on COD

3.3 CaCl_2 投加量推 COD 去除率的影响

改变 CaCl_2 投加量,固定 pH 值为 8 和 2.1mL 絮凝剂头投加量,测定其 COD 去除率,得到图 5。利用最小二乘法进行非线性回归,得到回归方程(4)为:

$$y = 67.4 - 56.5 / (1 + (x/0.68)^{4.86}) \quad (4)$$

$R^2=0.99362$ 说明此回归方程的显著性较好。对方程(4)进行分析可知,当 $56.5 / (1 + (x/0.68)^{4.86}) < 1$ 时,即 $x > 1.6\text{mL}$ 时, x (即 1% CaCl_2 投加量)的增加对 COD 的去除率影响很小,可以忽略。并且从图 5 中可以看出当 1% CaCl_2 的投加量大于 2mL 时,COD 的去除率不再增加,反而有所下降,得出 1% CaCl_2 的投加量的最佳值为 1.6mL,COD 去除率可达 66%。

3.4 验证实验

利用上面优化出来的各个参数值对珠江啤酒废水(珠江啤酒废水的 $\text{COD}=970\text{mg/L}$)和人工配制的废水(用邻苯二甲酸氢钾配制的 $\text{COD}=1000\text{mg/L}$ 的废水)进行 COD 去除对比实验。即优化处理的处理条件为

(下转第 205 页)

估,建立适合我国国情的包装废物回收体系。

三是建立包装废物综合利用技术体系。大力开展先进的复合类包装材料分离技术、包装废物再生利用集成技术、低品质包装材料的综合利用技术等相关研究,结合示范工程的建设,对技术的适用性进行评估,建立适应我国社会经济特点的包装废物综合利用技术体系。

【参考文献】

- [1] 金雅宁,周炳炎,丁明玉,等. 我国包装废物产生及回收现状分析[J]. 环境科学研究, 2008, 21(6):90-94.
Jin Ya-ning, Zhou Bing-yan, Ding Ming-yu, et al. Analysis of the generation and recycling of packaging waste in China[J]. Research of Environmental Science, 2008, 21(6): 90-94.(in Chinese)
- [2] 万劲波,蔡述生. 部分国家危险废物的立法及管理比较[J]. 环境保护科学, 2000, 126(100):23-26.
Wan Jin-bo, Cai Shu-sheng. Comparison of management and legal framework on hazard waste management [J]. Environmental Protection Science, 2000, 126(100):23-26.(in Chinese)
- [3] 日本環境庁水質保全局企画課. 循環型社会への挑戦——

- 循環型社会形成推進基本法が制定されました[EB/OL]. <http://www.env.go.jp/>, 2000.
- [4] 日本環境省. 海外の廃棄物処理情報——廃棄物関連法制比較[EB/OL]. <http://www.env.go.jp/>, 2008.
- [5] Office of Solid Waste and Emergency Response of USEPA. 25 Years of RCRA: Building on Our Past To Protect Our Future[EB/OL]. <http://www.epa.gov/>, 2002.
- [6] USEPA. EPA Organizational Structure[EB/OL]. <http://www.epa.gov/>, 2007.
- [7] Office of Solid Waste of USEPA. Municipal Solid Waste in the United States —2005 Facts and Figures[EB/OL]. <http://www.epa.gov/>, 2006.
- [8] European Environment Agency. The Road from Landfilling to Recycling: Common Destination, Different Routes[EB/OL]. <http://eea.europa.eu>, 2007.
- [9] Stephan Moll, Stefan Bringezu, Helmut Schütz. Zero Study: Resource Use in European Countries[R]. Denmark: European Topic Centre on Waste and Material Flows(ETC-WMF), Copenhagen, 2003.
- [10] William C Blackman Jr. Basic Hazardous Waste Management [M]. Third Edition. Arizona State University, Tempe, Arizona, USA, 2001.

(上接第 176 页)

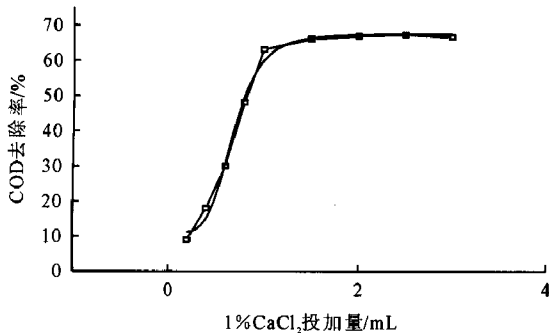


图5 CaCl₂投加量对COD去除率的影响
Fig.5 Effect of CaCl₂ on COD

pH值 8、絮凝剂投加量 2.1mL、1% CaCl₂ 用量为 1.6mL。进行了 6 个平行样品的测定,测得的结果如图 6。

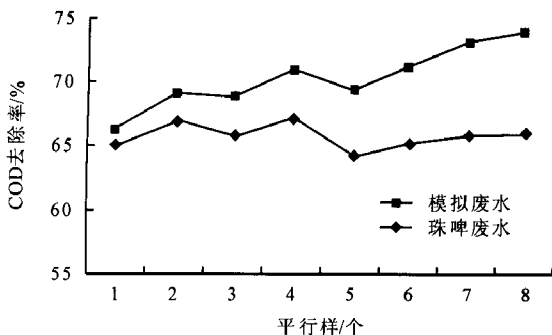


图6 不同废水COD去除率
Fig.6 The rate of COD desorption of different wastewater

从图 6 中可以得出,用絮凝剂处理的两种不同废水的 COD 去除率不同,可能的原因是模拟废水中的污染物单一只有一种,而真实啤酒废水中的污染物种类繁多,去除的难易程度不同,且对絮凝剂对污染物的吸附有干扰作用。所以用培养的 A3 菌产生的

絮凝剂处理珠江啤酒废水的 COD 去除率可达 66%。

4 结论

(1)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%、pH7.6、温度 30.3℃。

(2)创建了 A3 产絮凝剂絮凝率同培养时间的动力学数学模型: $(C_0 - C_t)/C_0 \times 100\% = 96.03 - 338.15/t$ 。

(3)用 A3 菌产絮凝剂处理啤酒废水,有较好的 COD 去除率。优化处理的处理条件为 pH 值 8、絮凝剂投加量 2.1mL、1% CaCl₂ 用量为 1.6mL。用优化后的条件进行啤酒废水 COD 去除试验,COD 去除率可达 66%。并构建了各影响因素同 COD 去除率之间的数学模型分别为: $y = 40.8 + 22.4e^{-(x-8)^2/4.5}$; $y = 66.4 - 58.9/(1+(x/0.67)^{6.5})$ 和 $y = 67.4 - 56.5/(1+(x/0.68)^{4.86})$ 。

【参考文献】

- [1] 樊萍,卢艳,孙凯刚. 生物絮凝剂在啤酒废水处理中的实验[J]. 环境研究与监测, 2008, 21(2):46-49.
- [2] 韩长秀,曹梦,张宝贵. 絮凝法在啤酒啤酒处理中的进展[J]. 工业水处理, 2006, 26(9):5-9.
- [3] Salehizadeh H, Shojaosadati S A. Extracellular biopolymeric flocculants—Recent trends and biotechnological importance[J]. Biotechnology Advances, 2001, 19: 371-385.
- [4] 胡永有,高宝玉. 微生物絮凝剂[M]. 北京:化学工业出版社, 2007.
- [5] 盛艳玲,张强,盛艳茹. 微生物絮凝剂产生菌的筛选及其絮凝性能影响因素的研究[J]. 矿冶, 2006, 15(1):29-32.
- [6] 罗平,罗固源,左赵宏. 短芽孢杆菌 RL-2 的絮凝性能研究[J]. 工业用水与废水, 2006, 37(4):61-63.
- [7] 张晟,陈玉成. 环境试验优化设计与数据分析[M]. 北京:化学工业出版社, 2008, 5.