

文章编号:1673-064X(2009)04-0069-03

微生物絮凝剂产生菌的筛选及其絮凝性能的实验研究

秦芳玲^{1,2}

(1. 西安石油大学 化学化工学院, 陕西 西安 710065;

2. 陕西省油气田环境污染控制与储层保护重点实验室, 陕西 西安 710065)

摘要:从活性污泥中分离筛选出3株对高岭土悬浊液具有较好絮凝作用的絮凝剂产生菌,通过对培养基初始pH和培养时间的优化及对采油废水絮凝处理效果的研究以了解其絮凝性能.结果表明:在培养基初始pH接近中性(pH 6.0~7.0),培养时间为12~24 h条件下,3种菌株对高岭土悬浊液的絮凝效果最佳,最大絮凝率达91.5%;3种菌株对采油废水具有一定的处理效果,其絮凝率为30%~40%,COD_{Cr}去除率可达40%.

关键词:微生物絮凝剂;菌种;筛选;絮凝活性

中图分类号:TE39;Q93-3 **文献标识码:**A

微生物絮凝剂(Microbial Flocculants, 简写MBF)^[1]是由微生物在代谢活动中产生的一类可使液体中不易沉降的固体悬浮颗粒、菌体细胞及胶体颗粒等凝聚沉淀的天然高分子物质,主要成分包括糖蛋白、多糖、蛋白质、纤维素和核酸等^[2,4].与无机盐类和有机高分子絮凝剂相比,微生物絮凝剂具有可生物降解、无二次污染和絮凝范围广^[5]等优点,被认为是一类极具发展前途的水处理絮凝剂,因而成为目前水处理剂研究的热点之一.

微生物絮凝剂产生菌广泛存在于自然界中,如土壤、污泥、废水、沉积物等,目前已报道筛选出的菌种为50余种^[6],部分微生物絮凝剂被用于城市生活污水、食品废水、含油废水和制药废水的絮凝处理^[7,8],取得较好的絮凝效果.但这些研究工作目前大都处于实验阶段,选育高絮凝活性、高降解能力的微生物絮凝剂产生菌或其工程菌,降低培养成本,提高絮凝活性和优化应用条件是当前微生物絮凝剂研究的重点^[1,4].

本文拟从活性污泥中筛选出具有较高絮凝活性的絮凝剂产生菌株,对其培养基初始pH和培养时间进行优化,并初步探索筛选菌株对采油废水中悬

浮物和有机物的去除效果.

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 仪器和试剂 DHP030型恒温培养箱;2100型分光光度计;ZDX-35B型座式电热压力蒸汽灭菌器;SHZ-82型气浴恒温振荡器;超净工作台;PHS-3C型数显酸度计;WGZ-200浊度仪;六联搅拌器;光学显微镜.所用试剂均为国产分析纯.

1.1.2 实验材料 菌种筛选材料为咸阳炼油厂污水处理站曝气池中的活性污泥.

1.1.3 培养基 筛选培养基^[9]:葡萄糖20 g;尿素0.5 g;酵母膏0.5 g;K₂HPO₄ 5.0 g;KH₂PO₄ 2.0 g;NaCl 0.1 g;(NH₄)₂SO₄ 0.2 g;MgSO₄·7H₂O 0.2 g;蒸馏水1 L;pH 7.0;灭菌(115℃,30 min).

1.1.4 高岭土悬浊液 将5 g高岭土(过140目筛)和0.5 g NaNO₃加入到1 000 mL蒸馏水中,经六联搅拌器搅拌(120 r/min)4 h,静置过夜.将静置过夜的高岭土溶液摇匀,待沉淀后取上清液,加蒸馏水稀释至所测浊度为100左右为止,即制得标准高岭土悬浊液.

收稿日期:2009-04-15

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:50874092)

作者简介:秦芳玲(1972-),女,讲师,硕士,主要从事油田污染治理技术方面的研究. E-mail: flqin@xsyu.edu.cn

1.2 试验方法

1.2.1 菌种的筛选方法 取1 mL活性污泥样品接种于50 mL筛选培养基中进行富集培养3~6次(30 ℃, 120 r/min). 采用涂布平板法将富集菌液接种于固体平板中进行分离纯化. 待充分生长后选取表面光滑湿润、个体较大的单菌落作为筛选菌株, 转接于液体培养基中进行摇床培养72 h(30 ℃摇床, 130 r/min). 取培养液测定其对高岭土悬浊液的絮凝活性, 选取具有较高絮凝活性的菌株进行反复筛选和纯化获得实验纯菌株.

1.2.2 絮凝活性的测定 在250 mL的烧杯中, 依次加入93 mL、5 g/L的高岭土悬浊液和5 mL CaCl₂ (质量分数为1%), 搅拌(200 r/min)1 min, 再加入2 mL培养一定时间的微生物絮凝剂产生菌的菌液, 搅拌(200 r/min)1 min, 静置10 min. 取上清液测浊度, 同时以2 mL蒸馏水代替菌液作对照实验, 以絮凝率表示絮凝活性.

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

式中: A为对照处理上清液的浊度; B为加入菌液絮凝后上清液的浊度.

1.2.3 培养时间对絮凝剂产生菌生长状况和絮凝活性的影响 为及时了解菌种在培养过程中的生长情况和其相应的絮凝活性, 按体积分数为1%的接种量将筛选菌株的种子培养液分别接种于250 mL灭菌液体培养基中, 进行摇床培养(120 r/min, 30 ℃). 在培养时间分别为6, 12, 24, 36, 48, 60, 72和80 h时从各培养液中分别取一定量菌液, 用2100型分光光度计测定菌液的光密度(以OD₅₅₀表示), 绘制出实验菌株的生长曲线. 同时测定每一取样菌液的絮凝活性, 以了解培养时间对筛选菌株的生长量和对高岭土悬浊液的去浊絮凝性能的影响, 确定出各筛选菌株的最佳培养时间.

1.2.4 培养基初始pH值对絮凝剂产生菌絮凝活性的影响 将筛选培养基的pH值分别调为5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 按体积分数1%的接种量分别进行接

种, 接种后以30 ℃, 120 r/min培养24 h. 测定各菌液的絮凝活性, 以确定出适宜的筛选培养基pH值.

1.2.5 絮凝剂产生菌对采油废水的絮凝处理试验 用筛选菌株对采油废水进行絮凝处理试验. 所处理采油废水为经稀释3倍的中原油田采油废水, 其pH为6.8, 化学耗氧量(COD_{Cr})为1 692.29 mg/L, 浊度为217 NTU. 取100 mL处理废水, 加入质量分数为1%的CaCl₂ 5 mL, 按10%的接种量加入筛选菌株种子液(120 r/min, 30 ℃, 24 h) 10 mL, 在六联搅拌机搅拌, 先快速搅拌(200 r/min) 3 min, 再慢速搅拌(20 r/min) 10 min, 静置10 min后测定上清液的浊度和COD_{Cr}^[10], 计算相应的絮凝率和COD_{Cr}去除率.

2 结果与讨论

2.1 微生物絮凝剂产生菌的筛选

从活性污泥中经过多次富集筛选共获得7株具有较高絮凝活性的菌株, 经反复传代培养和纯化, 得到3株具有稳定絮凝活性的菌株, 编号分别为B₁、B₂和B₃, 其絮凝率分别为87%、79%和81%.

对3种菌株进行形态学鉴定, 结果发现: B₂菌落为乳白色, 不透明, 呈圆形, 光滑湿润, 边缘整齐; B₁和B₃菌落均呈乳黄色, 半透明, 黏稠, 光滑, 边缘较整齐. 经革兰氏染色观察, 发现B₂为革兰氏阴性球菌, 而B₁和B₃均为革兰氏阳性杆菌.

2.2 培养时间对絮凝剂产生菌生长和絮凝活性的影响

由于不同的微生物有不同的生长曲线, 同一种微生物在不同的培养条件下, 其生长曲线也不一样, 因此, 通过测定微生物的生长曲线有助于了解微生物的生长规律, 为确定最佳培养时间提供一定的依据. 图1中的(a)、(b)、(c)分别为B₁、B₂、B₃的生长曲线和不同培养时间下的絮凝率变化曲线.

由图1(a)和(c)可见, 菌株B₁和B₃的生长曲线和其相应的絮凝率变化曲线的变化趋势基本一致, 即具有同步性. 在培养初期的0~12 h, 菌株细胞

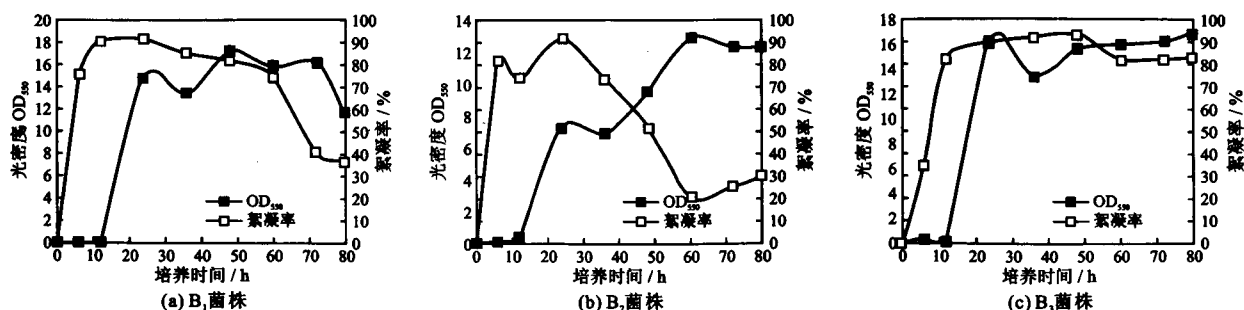


图1 不同培养时间对絮凝剂产生菌的生长和絮凝活性的影响

生长处于停滞期,其生物量没有增加,但细胞内的合成代谢十分活跃,易产生各种诱导酶,包括合成絮凝剂物质的酶^[12],表现为培养液的絮凝率增幅较大;当 B₁ 和 B₃ 菌株的生长进入对数生长期(12~24 h)时,细胞代谢旺盛,合成新物质快,细胞增殖数量大,菌液对高岭土悬浊液的絮凝率剧增,在指数生长期的后期和静止期早期(培养时间约为 24 h 时),两种菌株的絮凝剂絮凝活性均达到最高值,分别为 91.3% 和 91.5%;在 24~70 h 期间,B₁ 和 B₃ 菌株处于生长稳定期,其絮凝率维持在较高水平,此后 B₁ 菌株培养液的絮凝率出现下降,而 B₃ 菌株的絮凝率则降幅不大。由此可见,B₁ 和 B₃ 菌株生成的絮凝活性物质与菌体生长量之间存在着正相关性,这与许多研究结果^[11-13]具有一致性,其絮凝物质应为菌体的代谢产物,而不是由菌体细胞自溶产生的^[11,14]。

菌株 B₂ 的生长速度相对于 B₁ 和 B₃ 的慢(见图 1(b)),其 OD₅₅₀ 在培养 60 h 后达到稳定期。从絮凝率变化曲线来看,B₂ 与 B₁ 和 B₃ 菌株变化趋势较一致,但其絮凝率最大值(约为 92.1%)出现在 B₂ 菌株生长曲线的对数生长期中期(培养时间约为 24 h),且随着菌体生长量的增加,絮凝率出现持续下降,这可能与 B₂ 菌株生长后期的代谢变化或自身其他因素有关^[15]。

另外,由图 1 可见,3 种菌株均在接种培养 24 h 时对高岭土悬浊液的絮凝率最大,因此,最佳培养时间均为 24 h。

2.3 培养基初始 pH 值对絮凝剂产生菌絮凝活性的影响

微生物的生命活动、物质代谢与 pH 有密切关系。不同的微生物要求不同的 pH,因而 pH 对絮凝剂的产生也有一定影响。培养基初始 pH 影响产絮凝微生物的生长和絮凝剂的分泌。图 2 为 B₁、B₂ 和 B₃ 菌株在不同培养基初始 pH 条件下培养 24 h(120 r/min,30 ℃)时对高岭土悬浊液的絮凝活性。由图 2 可见,B₁ 菌株在培养基初始 pH 为 6.0~9.0 条件下对高岭土悬浊液的絮凝率较接近(约为 70%~80%),在 pH 5.0 的条件下的菌液絮凝率较低,仅为 27.81%,最佳的培养基初始 pH 应控制在 6.0~7.0 间;B₂ 菌株在培养基初始 pH 5.0~9.0 条件下对高岭土悬浊液的絮凝率均为 70%~80%,表明在此 pH 范围内絮凝率均较高;B₃ 菌株在培养基初始 pH 为 5.0~7.0 间对高岭土悬浊液的絮凝率较高,

在 pH 为 8.0 和 9.0 条件下的絮凝率则分别降至 43.49% 和 55.62%。由此可见,培养基初始 pH 对 3 种菌株絮凝活性的影响有所不同,但均在中性条件下的絮凝活性最高,即其适宜的培养基初始 pH 值应控制在 7.0。

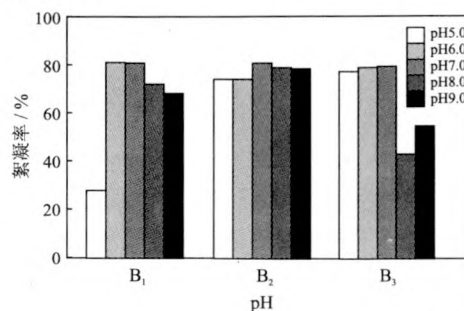


图 2 培养基初始 pH 对絮凝剂产生菌絮凝活性的影响

2.4 絮凝剂产生菌对采油废水的处理效果

由表 1 可见, B₁、B₂ 和 B₃ 菌株对处理采油废水中悬浮物和 COD_{Cr} 具有一定的去除效果,其絮凝率为 30%~40%,COD_{Cr} 去除率为 17%~40%。在今后的研究中还需进一步对其处理条件进行优化,以提高其对处理废水的处理效果。

表 1 絮凝剂产生菌对采油废水的处理效果

絮凝剂产生菌	浊度 /NTU	絮凝率 /%	COD _{Cr} / (mg·L ⁻¹)	COD _{Cr} 去除率 /%
B ₁	132	39.2	1029.59	39.16
B ₂	129	40.6	1186.46	29.89
B ₃	147	32.1	1406.29	16.90

3 结 论

(1) 从活性污泥中分离筛选出 3 株絮凝剂产生菌株(编号分别为 B₁、B₂ 和 B₃),对高岭土悬浊液的絮凝率均高于 80%,初步鉴定为 B₁ 和 B₃ 为杆菌属,B₂ 为球菌属。

(2) 3 种菌株所产生絮凝剂为其生长过程中的代谢产物,其絮凝活性的高峰期处于菌体生长的对数生长期。

(3) 3 种菌株在培养基初始 pH 为 6.0~7.0 条件下培养 24 h 时对高岭土悬浊液的絮凝效果最佳。

参 考 文 献:

- [1] 刘立凡,聂锦旭. 中国微生物絮凝剂的生产研究现状[J]. 环境污染与防治,2007,29(4):276-79.
- [2] 刘洋,王浩绮,胡永红. 微生物絮凝剂的研究进展[J]. 金陵科技学院学报,2006,22(2):75-79.

制系统.

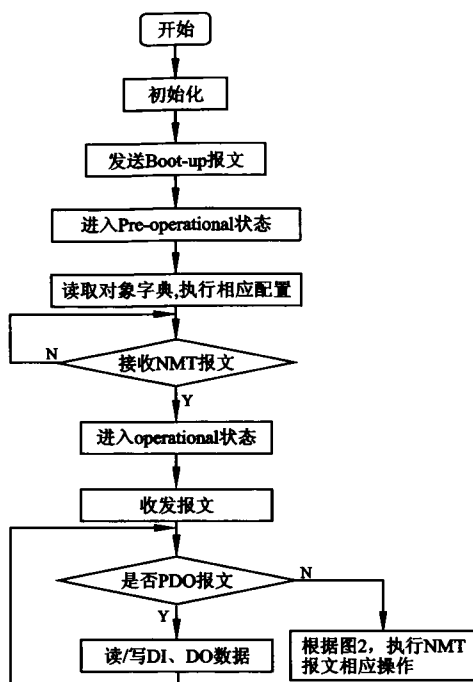


图4 CANopen 协议通讯流程

3 结 论

CANopen 协议是 CAN 总线的标准化应用层协议,具有很好的模块化特性和很高的适应性.和其他

现场总线协议相比,CANopen 协议精炼、透明、便于理解,降低了驱动程序的开发难度.另外,CANopen 协议是完全免费开放的,任何组织和个人都可以开发支持 CANopen 协议的设备而不用支付版税,这为 CANopen 的迅猛发展奠定了基础.本文通过把嵌入式采集监控设备做成符合 CANopen 协议的装置,并将 CANopen 协议应用于组建的油田采油网络系统中,实验效果良好.经过扩展,必使原有的油田通信系统更加稳定和高效.随着对 CANopen 协议研究的深入,其在工业控制领域必然有着广阔的应用前景.

参 考 文 献:

- [1] 史久根,张培仁,陈真勇. CAN 现场总线系统设计技术[M]. 北京:国防工业出版社,2004.
- [2] Boterenbrood H. CANopen high-level protocol for CAN-bus[C]. Amsterdam, March 20,2000.
- [3] 张永德,赵峰. 基于 ARM7 的 CANopen 数模从站开发与通信实现[J]. 制造业自动化,2008,30(12):109-111,117.
- [4] CiA DS-301. CANopen Application Layer and Communication Profile[S].
- [5] CiA DSP-401. CANopen Device Profile for Generic I/O Modules[S].
- [6] 赵建光,杨建武,孙树文. 基于 CANopen 协议的 I/O 从站的开发与应用[J]. 微计算机信息,2007,23(8):9-11.

责任编辑:张新宝

(上接第 71 页)

- [3] 李旭,李小明,杨麒,等. 微生物絮凝剂产生菌的研究进展[J]. 生物技术,2006,16(2):92-94.
- [4] 何宁,李寅,陈坚,等. 生物絮凝剂的最新研究进展及其应用[J]. 微生物学通报,2005,32(2):104-108.
- [5] 周礼,张永奎,陈晓,等. 一种高效微生物絮凝剂产生菌的筛选及培养基优化[J]. 环境科学学报,2006,26(4):584-588.
- [6] 陶然,杨朝晖,曾光明,等. 微生物絮凝剂产生菌的筛选、鉴定及其培养条件的优化研究[J]. 中国生物工程杂志,2005,25(8):76-81.
- [7] 董晓斌. 新型生物絮凝剂的研究与应用[J]. 甘肃联合大学学报(自然科学版),2006,20(1):52-54.
- [8] 赵凤,张蔚萍,胡庆华. 微生物絮凝剂的絮凝机理和应用研究[J]. 环境与可持续发展,2009(2):6-8.
- [9] 张玉玲,姚军,赵晓波,等. 复合型微生物絮凝剂产生菌 YL3 的优化条件[J]. 吉林大学学报(地球科学版),2008,38(5):864-868.
- [10] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 3 版. 北京:中国环境科学出版社,2002:345-346.
- [11] 李亮,董怡华,胡苡敏,等. 一株微生物絮凝剂产生菌的培养条件优化研究[J]. 安全与环境学报,2005,5(4):42-45.
- [12] 宋秀兰,王红. 微生物絮凝剂培养条件的研究[J]. 太原理工大学学报,2001,32(3):312-313.
- [13] 罗平,罗固源,蔡江伟,等. 微生物絮凝剂产生菌的最佳培养条件[J]. 中国给水排水,2004,20(6):38-40.
- [14] 田永强. 微生物自溶现象研究进展[J]. 微生物学杂志,1997,17(2):52-60.
- [15] 王键为,李艳宾. 微生物絮凝剂在废水处理中的应用[J]. 河北化工,2007,30(6):75-76.

责任编辑:权艳梅