

# 固定化紫色非硫光合细菌降解活性艳红 X-3B 的研究\*

牛志卿 吴国庆 张琳 郝强\*\*

(太原工业大学环境工程系,太原,030024)

**摘要** 采用聚集-交联法固定化紫色非硫光合细菌用于处理活性艳红 X-3B 染液。比较紫色非硫光合细菌和固定化细胞的某些性质,2 种细胞的反应最适温度均为 30—40℃,固定化细胞的反应最适 pH 值范围较宽,为 7.5—9.4,热稳定性较好。 $\text{Cu}^{2+}$  对 2 种细胞酶活力均有抑制作用;比较聚集-交联固定化细胞和海藻酸钠包埋固定化细胞的脱色能力,前者比后者酶活力较高,半衰期长,成本低,操作方法的简单,易于工业化应用。

**关键词** 紫色非硫光合细菌,固定化细胞,活性艳红 X-3B,脱色酶。

固定化细胞技术应用于废水处理实例较多,研究较多的是厌氧菌的脱氮、脱磷、甲烷发酵、含酚及含氰废水的降解<sup>[1,2]</sup>等,对于紫色非硫光合细菌(Purple Nonsulfur Photosynthetic Bacteria 简称 PSB)的固定化报道较少。1981 年 Weetal 等利用琼脂包埋深红螺菌以葡萄糖为基质产  $\text{H}_2$ ;宗宫等 1987 年利用海藻酸钠包埋固定荚膜红假单胞菌,在光照厌氧条件下处理城市污水;钱新民等 1992 年采用纤维载体固定化红螺菌,在光照厌氧条件下处理发酵废液<sup>[3]</sup>,而应用 PSB 固定化细胞脱色至今未见报道。

固定化方法主要有吸附法、交联法及包埋法 3 种,包埋法由于固定化材料较贵而影响大规模工业化应用。本研究用聚集-交联法固定 PSB 混合菌株,进行活性艳红 X-3B 染液的脱色研究。聚集-交联固定法是使用凝聚剂将菌体细胞形成细胞聚集体,再利用双功能或多功能交联剂与细胞表面的活性基团发生反应,使 PSB 细胞彼此交联形成稳定的立体网状结构。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

(1)菌种 PSB 混合菌株,由本组分离筛选。

(2)培养基及培养条件 采用 YP 培养基<sup>[4]</sup>及修改的 Van Niel 培养基,厌氧光照,光照强度 1000—3000Lx,温度 28—35℃,pH7—8。

(3)染料 活性艳红 X-3B。

### 1.2 方法

(1)固定化细胞的制备 利用凝聚剂将菌体聚集一起,再加入微量戊二醛处理,交联后经解毒活化培养 12—24h 后备用。

(2)酶活力测定 取 1g 湿重菌体或等量固定化细胞分别放入 100ml 三角瓶内,加入浓度为  $50 \times 10^{-6}$  的活性艳红 X-3B 染液 47.5ml,及 1% 的酵母抽提液 2.5ml,pH8,37℃ 水浴中脱色 2h,然后以 5000r/min 离心分离处理液 40min,测定上清液中活性艳红残存量。在上述条件下,以 1h 降解 1 $\mu\text{g}$  活性艳红的酶量定义为一个酶活力单位。

(3)活性艳红的测定 用 721 分光光度计,在波长 510nm 处比色测定。

## 2 结果和讨论

### 2.1 环境条件对 PSB 固定化细胞脱色酶活力影响

表 1 说明,聚集-交联固定化细胞酶活力高于自然细胞。固定化 PSB 细胞由于沉降性能增强,细胞通透性增大,介质传递速率加快,性质稳定,延长介质停滞时间,从而有利于提高酶促反应速率。

\* 山西省“八五”攻关项目

\*\* 环工系 86 届毕业生

收稿日期:1993-12-27

表 1 不同环境条件对酶活力影响

处理条件	自然细胞(%)		固定化细胞(%)	
	酶活力 <sup>1)</sup>	脱色率 <sup>2)</sup>	酶活力	脱色率
光照厌氧	76.9	65.7	103	79
黑暗厌氧	100	69	120	85
黑暗好氧	52	45	83	

1)黑暗厌氧条件下的酶活力为 100%

2)脱色率为静态反应 8h 结果

PSB 是一种兼性厌氧光合细菌,在光照厌氧、黑暗厌氧及黑暗好氧条件下通过不同方式均能获得能量。作为脱色菌,固定化 PSB 与自然细胞一样,厌氧条件下的脱色效果高于好氧条件,而对于某些染液在光照厌氧与黑暗厌氧条件下脱色率相差不多<sup>[5]</sup>。从节约能源及减少设备投资考虑,最好选用黑暗厌氧进行处理。

### 2.2 固定化 PSB 细胞脱色酶的某些性质

#### 2.2.1 最适 pH 值与最适温度

将 2 种细胞分别在不同 pH 值和不同温度条件下进行脱色反应,结果见图 1,图 2。2 种细

胞对 pH 值适应范围较宽,自然细胞的最佳 pH 值为 8—9.4,固定化细胞为 7.5—9.4。pH5 及 11 酶活力较高是由于强酸和强碱的作用。2 种细胞适应温度范围均为 25—45℃,自然细胞最适温度为 30—40℃,固定化细胞为 30—45℃。

#### 2.2.2 pH 值稳定性及热稳定性

将 2 种细胞分别置于不同 pH 值的磷酸盐缓冲液中,在 35℃ 恒温处理 24h,测定脱色酶活力。结果见图 3,固定化细胞在 pH7—9.4 范围内酶活力较自然细胞有所提高。

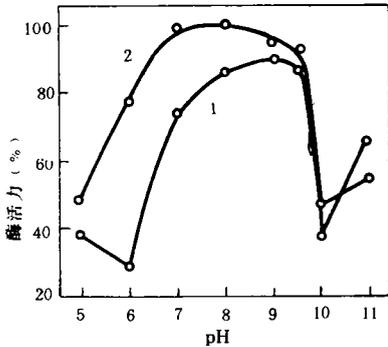


图 1 pH 值对脱色酶活力的影响  
1. 自然细胞 2. 固定化细胞

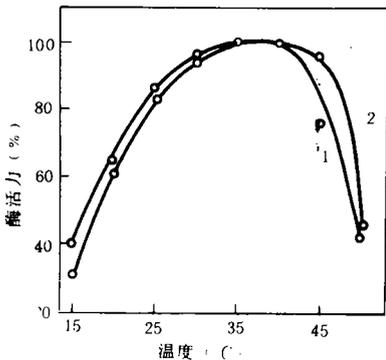


图 2 温度对脱色酶活力的影响  
1. 自然细胞 2. 固定化细胞

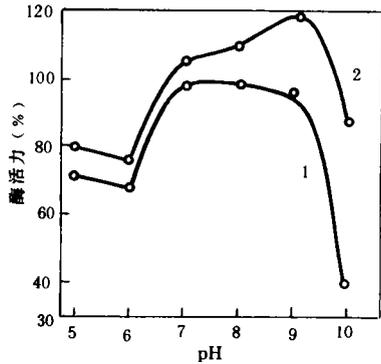


图 3 2 种细胞的 pH 稳定性  
(以未经处理的酶活力为 100%)  
1. 自然细胞 2. 固定化细胞

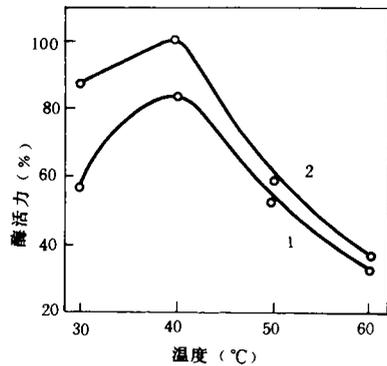


图 4 2 种细胞的热稳定性  
(以未经处理的酶活力为 100%)  
1. 自然细胞 2. 固定化细胞

在热稳定性试验中,将 2 种细胞悬浮于 pH 8 的磷酸盐缓冲液中,分别于 30、40、50 及 60℃ 下恒温处理 30min,测定酶活力。结果见图 4,温度在 30—45℃ 时 2 种细胞稳定性能良好,60℃

处理后酶活力丧失 60% 左右。固定化细胞经 60℃ 热处理后酶活力虽丧失较多,但在 37℃ 反应 7h, 酶活力仍可逐渐恢复,其脱色率为 58.6%。

2.2.3 金属离子对酶活力的影响

结果见表 2。说明  $Mn^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  等对 2 种细胞有一定激活作用, $Cu^{2+}$  均有抑制作用, $Fe^{2+}$  对自然细胞的激活作用较明显。

表 2 金属离子对脱色酶活力的影响

细胞	金属离子 (mmol/L)					
	空白	$Fe^{2+}$	$Mg^{2+}$	$Mn^{2+}$	$Cu^{2+}$	$Zn^{2+}$
自然细胞	100	112	108	120	52	116
固定化细胞	100	101	112	136	36	128

2.3 2 种细胞脱色速度的比较

分别称取 6g 湿细胞及相当于 6g 固定化细胞,各悬浮于 400ml 浓度为  $30 \times 10^{-6}$  活性艳红染液中,置于 37℃ 静态培养,定时取样测定其脱色率,结果见图 5。实验表明,脱色反应初期 2 种细胞脱色反应均较快,反应到 2h,脱色速率逐渐缓慢,反应到 6h,自然细胞的脱色率为 70%,固定化细胞为 86.2%,固定化细胞脱色速度比自然细胞快且脱色率高。

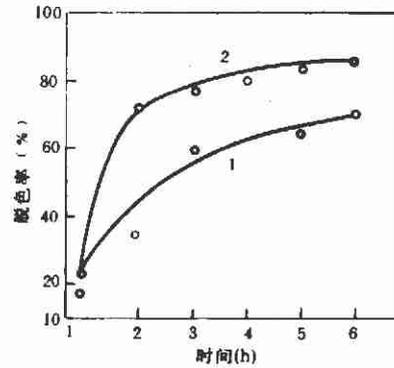


图 5 2 种细胞随反应时间的关系  
1. 自然细胞 2. 固定化细胞

2.4 不同方法固定 PSB 细胞脱色酶活力比较

分别取等量菌液,采用聚集-交联,海藻酸钠包埋及海藻酸钠包埋戊二醛交联 3 种方法制成固定化细胞,经活化培养 24h 测定酶活力。结果见表 3,聚集-交联固定化细胞酶活力大于包埋法固定细胞,将 PSB 细胞聚集-交联固定于活性污泥上脱色率较活性污泥高 1—2 倍。PSB 细胞经聚集-交联后与自然细胞(见图 6)相比,形成稳定的网状结构,见图 7。细胞的比表面积增大,细胞通透性增强。

表 3 3 种不同方法固定化细胞比较

固定化方法	固定难易	对生物毒性	传质性能	酶活力 (%)	脱色率 (%)
海藻酸钠包埋法	一般	无毒	好	68.2	73
海藻酸钠包埋戊二醛交联法	一般	弱毒须冲洗解毒活化	一般	58.6	57
聚集交联法 PSB	易	弱毒须冲洗解毒活化	好	95.0	82
PSB+活性污泥	易		好		88

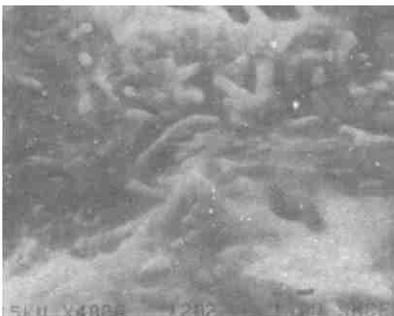


图 6 自然细胞扫描电镜照片



图 7 PSB 固定化细胞扫描电镜照片

**2.5 PSB 固定化细胞柱对活性艳红的连续处理**  
 试验装置与流程见图 8, 反应柱容积 1200ml, 内装 PSB 固定化细胞, 湿重 90g。脱色反

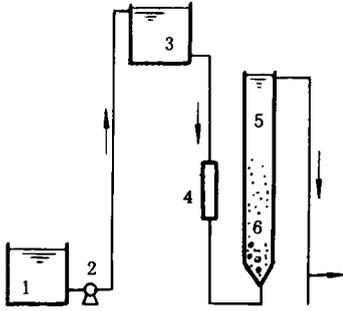


图 8 固定化细胞试验流程

- 1. 调节池 2. 提升泵 3. 高位水箱
- 4. 转子流量计 5. 反应柱 6. 固定化细胞

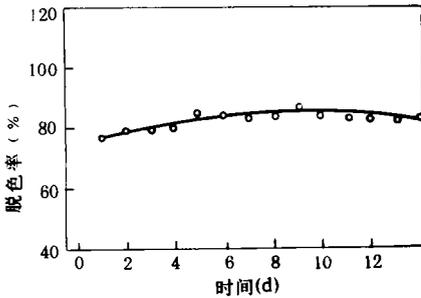


图 9 固定化细胞柱连续处理曲线

应条件: 室温 25—30℃, 黑暗厌氧, 染液浓度  $45 \times 10^{-6}$ — $60 \times 10^{-6}$ , 流速 200—250ml/h, 停留时间 2—3h。结果见图 9。

连续运转 45d, 固定化细胞脱色酶活力无明显损失, 脱色率为 80% 左右。

### 6 小结

(1) PSB 经聚集-交联固定化形成立体网状结构, 具有较大的孔隙度, 传质速度加快。

(2) 该固定化方法操作简单, 管理方便, 成本低, 适于工业化应用。

(3) 该法所使用的聚集剂种类较多, 根据处理水质不同、固定化细胞酶活力及去除率进行筛选。固定化过程中, 戊二醛的浓度, 交联时间及解毒活化是影响酶活力的主要因素。

### 参考文献

- 1 黄武华等. 环境科学学报. 1982, 2(4): 293
- 2 固相林等. 环境科学学报. 1986, 6(3): 368
- 3 钱新民等. 生物工程学报. 1992, 8(3): 271
- 4 吴永强等. 微生物通报. 1984, 11(1): 17
- 5 吴国庆等. 环境科学. 1989, 10(5): 46

(上接第 45 页) 排放标准, 处理效果稳定。

### 4 经济效益分析

处理  $1m^3$  废水电耗 1.5kW·h, 按 1kW·h 0.5 元计, 电费 0.75 元; 药费约 0.15 元(聚铁絮凝剂), 管理操作人员 6 人(每班 2 人) 每人每月工资按 300 元计, 处理  $1m^3$  水人工费为 0.08 元(以日处理  $800m^3$  废水计), 不计折旧费, 处理  $1m^3$  废水不超过 1.00 元。

### 5 结论

通过小试及中试表明: 采用水解(酸化)-两段投菌生物接触氧化-混凝工艺处理洁霉素废水

是可行的。应用高效降解菌接入本处理系统, 效果好且处理时间短, 经处理后的出水 COD 与 BOD 去除率分别大于 95% 和 96%, 各项指标均达国家 GB8978-88 排放标准。此工艺具有能耗较省、运行费用少、有机负荷高、污泥较少等特点。

### 参考文献

- 1 薛玉香. 环境污染与防治. 1991, 13(2): 9
- 2 罗启芳等. 重庆环境科学. 1990, 12(6): 17
- 3 罗国维等. 工业废水处理技术研究及应用. 广州: 广州华南理工大学出版社. 1992: 103—109
- 4 周晓俭. 轻工环保. 1987, (1): 31
- 5 温正鼎等. 中国沼气. 1988, 6(3): 14
- 6 刘燕. 环境科学. 1992, 13(5): 50

spheric particle structure to make it excellent in workability. The rubber products in which all calcium carbonate have been replaced with the activated coal ashes have all physical and mechanical properties meeting the requirements, those in which a half of light calcium carbonate have been replaced with the same are also practicable, and those in which less than 1/2 of medium-super carbon black have been replaced with the same can be useful. Due to its grey colour, the activated coal ashes are not suitable to be used in the products with a light or bright colour.

**Key words:** coal ash, rubber, surface modification.

#### **Study on the Simultaneous Removal of SO<sub>2</sub>/NO<sub>x</sub> from Flue Gases with Absorption and Catalysis.**

Sheng Deshu, Zhao Xin et al. (Dept. of Environ. Eng., Hunan University, Changsha 410082); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15**(5), 1994, pp. 40—42

Based on the requirements for simultaneous desulfurization and denitrification, a study was carried out on the preparation and reaction processes of the catalysts consisting of CuO as a major active component. The results from activity measurements indicate that the catalyst has the optimum activation temperature of 450 °C and the activation time of 2h. Under the conditions of reaction temperature of 400 °C, space velocity of  $2 \times 10^4 \text{h}^{-1}$ , CuSO<sub>4</sub>/CuO ratio by mole of over 1.46 and Cu/S ratio by mole of over 0.83, both SO<sub>2</sub> and NO<sub>x</sub> can be removed at a rate of over 90%.

**Key words:** simultaneous desulfurization and denitrification, catalyst, treatment of waste gases.

#### **Study on the Treatment of Wastewater from the Production Process of Jiemycin.**

Lin shiguang (Center for Environ. Control, Zhongshan (Sun Yetsen) University of Medical Science, Guangzhou 5100631), Luo Guowei et al. (Institute of Environ. Sci., South China Normal University); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15**(5), 1994, pp. 43—45

A feasibility study was carried out on the use of the acidic hydrolysis two stage bacteria-added biological contact oxidation/coagulation process to treat the highly concentrated wastewater from the production process of Jiemycin. The results from this pilot study show that when the influent had a COD concentration in the range of 3500—5000mg/L and a BOD concentration in the range of 1000—1500 mg/L, there were an average COD removal of over 95% and an average BOD removal of over 96%, resulting in an effluent in compliance with the national standards for wastewater discharge under GB8978-88.

**Key words:** jiemycin wastewater, acidic hydrolysis, bacteria-added biological contact oxidation, coagulation and flocculation, wastewater treatment.

#### **Study on the Role of Sulfuric Acid in the Catalytical Hydrolysis of Black Liquor from Straw Fiber Pulping Process.**

Yang Runchang et al. (Dept. of

Chem. Eng., Xiangtan University 411105); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15**(5), 1994, pp. 46—48

Sulfuric acid was found to have a catalytical function in promoting the hydrolysis of black liquor from a reed fiber pulping process. The results from this study show that under the conditions of applied pressure and heating (0.2—0.6 MPa, 130—165 °C), sulfuric acid allowed over 99% of lignin in the black liquor to be acid settled, dewatered, carbonized and then separated from the black liquor. More than 62% of theoretical aldehyde content were hydrolyzed, dewatered and then converted to furfural.

**Key words:** straw fiber pulping, black liquor, sulfuric acid, catalytical hydrolysis, lignin.

#### **Study on the Degradation of Active Bright Red X-3B by Immobilized Purple Non-sulfur Photosynthetic Bacteria.**

Niu Zhiqing, Wu Guoqing et al. (Dept. of Environ. Eng., Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15**(5), 1994, pp. 49—52

The spent dye bath of active Bright Red X-3B was treated by using aggregation and cross linkage immobilized purple non-sulfur photosynthetic bacteria (PSBs). The PSBs and their immobilized cells were compared for some of their performances. It was found that both of the cells had an optimum reaction temperature in the range of 30—40 °C, and the immobilized cells had an optimum reaction pH in the broader range of 7.5—9.4, with a better thermal stability. Cu<sup>2+</sup> had an inhibitory effect on the enzyme activities of both cells. As compared with the immobilized cells entrapped in sodium alginate, the aggregation and cross linkage immobilized cells had a stronger power of decolorization, a higher activity of enzyme, a longer half lifetime and a more cost-effectiveness, and was simple to operate and easy to be applied on a full-scale.

**Key words:** purple non-sulfur photosynthetic bacteria, immobilized cells, decolorizing enzyme, active bright red X-3B.

#### **Study on the Use of TFJF Model Combustion Catalyst for the Pollution Control of Waste Gases from Stoving Enamel.**

Zhou Renxian, Fang Heliang et al. (Dept. of Chemistry, Hangzhou University, Hangzhou 310028); *Chin. J. Environ. Sci.*, **15**(5), 1994, pp. 53—55

TFJF Model Catalyst, a noble metal carried over a natural zeolite/cordierite honeycomb carrier, was developed and examined for its application to the pollution control of the off-gas from the stoving enamel process of enamel covered wires manufacturing. The results show that the temperature for a 98% conversion rate was 180—220 °C for aromatic hydrocarbons and 220—240 °C for cresylols. The catalyst was resistant to a temperature as high as up to 800 °C and had a better efficiency of cleaning up the gaseous wastes from stoving enamel processes. For a highly concentrated