

双载体固定化细胞的脱色研究*

贾省芬 杨惠芳 刘志培

(中国科学院微生物研究所, 北京 100080)

摘要 将 PVA 包埋的细菌细胞涂布并固定于作为多孔载体的棉布上, 进行染色废水的脱色试验。制备固定化细胞的条件为, 细胞浓度 20mg 湿重/ml, PVA 浓度 5%, 涂布量 0.3ml/cm², 饱和硼酸液固定 12 小时, 再用含染料的缓冲液活化细胞的脱色能力, 可获得脱色能力较好的固定化细胞。

在装填固定化细胞的反应柱中, 分别用连续和间歇进水两种运行方式进行脱色效率的比较。在 20 天内, 二者脱色率均在 90% 以上, 尔后连续进水方式的脱色率下降, 60 天后脱色率仅为 60% 左右, 而间歇进水方式仍能达到 80%。后者的脱色效果明显高于前者。

关键词 固定化混合细菌细胞; 印染废水脱色

应用固定化微生物细胞处理工业废水^[1-6]是生化处理中的一项新技术。但是由于固定化材料比较昂贵, 限制了该技术在生产中的大规模应用。本文从我国纺织印染厂的条件出发, 就地取材, 以聚乙烯醇(PVA)包埋脱色细菌涂布并固定在作为多孔载体的棉布上, 制取双载体固定化细胞, 进行染色废水的脱色研究, 并比较了连续和间歇两种运行方式对染色废水的处理效果。

材 料 和 方 法

(一) 菌种

蜡状芽胞杆菌 (*Bacillus cereus*) S-61、欧文氏菌属 (*Erwinia*) S-93、假单胞菌 (*Pseudomonas*) S-42, S-59、黄单胞菌 (*Xanthomonas*) T-32、葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) S-62、邻单胞菌属 (*Plesiomonas*) T-34, T-36、副球菌属 (*Paracoccus*) S-98、柠檬细菌属 (*Citrobacter*) T-40 等 10 株优良脱色细菌。

(二) 实验材料

聚乙烯醇(PVA), 聚合度为 1750 左右; 纯

* 国家自然科学基金资助项目。

棉白布和染料阳离子红 2GL 均由北京第二印染厂提供。

(三) 混合脱色菌固定化细胞的制备

将 10 株菌种分别接种在牛肉汁培养基中, 30℃ 摇床培养 24 小时, 5000 × g 离心 30 分钟收集细胞, 用 pH7.0 的磷酸缓冲液洗涤两次, 制成混合菌悬液, 与 PVA 溶液充分混匀后, 按规定量涂布在洁净干燥的布上, 置 4℃ 干燥后用饱和硼酸溶液交联固定。水洗除酸后卷成筒状并装入反应器中。

(四) 固定化细胞脱色率的测定

将按实验条件反应后的流出液离心并在 721 型分光光度计上测其光吸收 (A_{510nm}), 并计算出脱色率。

结果和讨论

(一) 混合脱色菌固定化细胞制备条件的选择

1. PVA 浓度和涂布量对固定化细胞物理性能的影响: 分别取 5、10、15 和 20% 不同浓度的 PVA 溶液在低于 20℃ 条件下, 按 0.2—0.3ml/cm² 用量均匀地涂布在经处理的布上, 并于 4℃ 干燥。结果表明, 以 5% PVA 制成的空白凝胶薄膜易于折叠成形, 当 PVA 浓度大于 5% 时, 薄膜干后脱落。

取不同量 (0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6ml/cm²) 的 5% PVA 溶液, 分别涂布在经处理的布上, 结果表明, 以 0.3ml/cm² 的涂布量为宜, 可获得满意的物理性能。

2. 交联固定时间对脱色能力的影响: 将按上述条件制备的固定化细胞, 于饱和硼酸溶液中交联固定不同时间, 冲洗除酸并在含 20ppm 阳离子红 2GL 的缓冲溶液中 (pH7.0) 活化 12 小时, 然后将规定量的布置于 10ml 含 20ppm 阳离子红 2GL 的大试管中 (菌量按 15mg/ml 反应液), 30℃ 反应半小时, 测其脱色率。

结果表明(表 1), 固定化细胞脱色活性随交联时间的延长而有所下降。但由于经固定 12 小时的固定化细胞才不易发生脱落, 因此选定固定化细胞交联固定时间以 12 小时为宜。

表 1 交联固定时间对细胞脱色能力的影响

| 交联固定时间 (h) | 色度去除率 (%) |
|------------|-----------|
| 0 | 96.00 |
| 2 | 87.88 |
| 4 | 85.60 |
| 8 | 85.37 |
| 12 | 85.60 |
| 17 | 84.00 |
| 24 | 84.95 |
| 30 | 83.77 |

3. 包埋菌量对固定化细胞脱色能力的影响及脱色活性的恢复: 按选定的最适条件制备含菌量不同的固定化细胞, 与上述相同条件下反应测定其相应的脱色率。结果表明(图 1), 最适包埋细胞浓度为 20mg (湿重)/ml, 过大的包埋量对脱色率无明显增长。固定化细胞的脱色率通常比自然细胞低, 可能是由于硼酸交联时 pH 值较低, 部分损伤了细胞的脱色活性。然而分别用不含染料和含染料的缓冲液活化 12 小时, 其脱色率有所提高。此结果表明在底物存在下保温, 可部分激活固定化细胞脱色酶的活性。

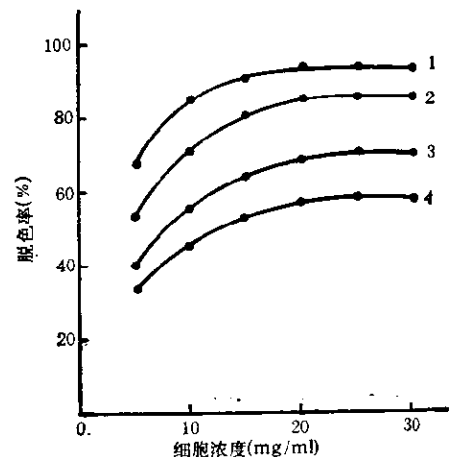


图 1 包埋菌量对固定化细胞脱色能力的影响及脱色活性的恢复

1. 自然细胞; 2. 用含染料缓冲液活化 12 小时的固定化细胞; 3. 用缓冲液活化 12 小时的固定化细胞; 4. 未经活化的固定化细胞

4. 固定化细胞脱色活力的稳定性: 将按最适条件下制备的固定化细胞分别于 4℃、室温

(10—13℃) 和 30℃ 保存, 并定期测定其对 20ppm 阳离子红 2GL 的脱色率。结果表明(图 2), 固定化细胞在 4℃ 条件下一个半月内其脱色活性稳定不变。室温下稳定期为 20 天。此固定化细胞不宜在 30℃ 以上存放。

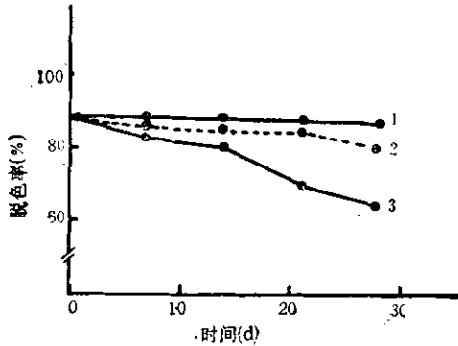


图 2 固定化细胞脱色活力的稳定性
1. 4℃; 2. 室温(10—13℃); 3. 30℃

(二) 混合脱色菌固定化细胞脱色反应的条件

1. pH 对固定化细胞脱色率的影响: 将含总细胞量为 0.2g (湿重) 的固定化细胞及相同量的自然细胞分别置于不同 pH 的含 20ppm 阳离子红 2GL 的 10ml 缓冲液中, 30℃ 反应 0.5h, 离心, 测其相应的脱色率。同时作出无菌对照样。结果表明(图 3), 所试两种细胞对阳离子

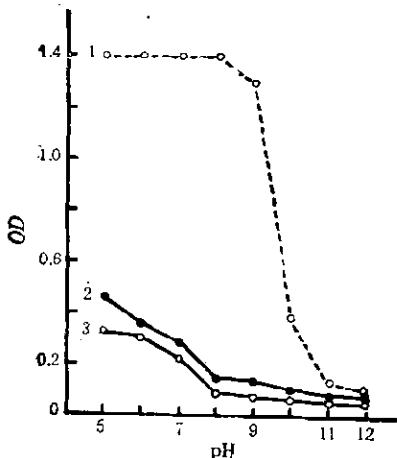


图 3 pH 对固定化细胞脱色的影响
1. 无菌对照样; 2. 固定化细胞; 3. 自然细胞

红 2GL 脱色反应的 pH 范围较广, 反应液 pH 在 5—9 范围内, 显现了很高的生物脱色效能, 脱色率均达 70—90%。当 pH > 9 时, 物化退色(染料发色基团或助色基团化学结构改变)作用成了主导因素。

2. 温度对固定化细胞脱色率的影响: 反应液 pH 为 8, 于不同温度下反应 0.5h, 从其脱色率的变化结果表明, 固定化细胞与自然细胞适宜的脱色反应温度范围均为 25—55℃ (脱色率 > 80%), 最适温度为 35℃ 左右。

(三) 固定化细胞反应柱处理染料废水的动态试验

将两个容积为 240cm³ (φ3 × 34cm), 装填有卷成筒状的固定化细胞 (10 × 110cm, 分成两层) 的玻璃反应柱串联。采用上流式进水方式, 以进水流速折算水力停留时间, 每隔 24 小时测定一次进水和出水的色度 (A_{490nm}) 并换算成脱色率。

用两套上述试验装置, 在室温 (25—30℃) 下分别考查了连续进水 (平均水力停留时间 2.4—2.8h) 和间歇进水 (运行 12h/d, 平均水力停留时间 1.2—1.5h) 二种运行方式对含阳离子红 2GL (50ppm) 废水的处理效果。运行 60 天的结果表明(图 4), 两种运行方式的前 20 天内, 脱色率相近, 均达到 90% 以上。20 天以后, 两种方式表现出明显差异。连续进水运行方式的处理效果随废水处理时间的延长而明显下降,

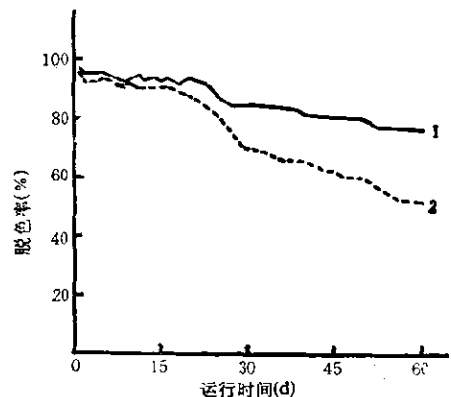


图 4 固定化细胞反应柱处理染料废水的动态试验
1. 间歇进水; 2. 连续进水

至60天时脱色率仅为60%；而间歇进水方式的脱色率降低速率很小，至60天仍可保持80%以上的脱色效果。

由上述结果可以认为，应用固定化细胞柱反应系统处理含染料废水时，采用间歇方式运行要比连续进水为宜。

结 论

固定化微生物细胞用于废水处理，可以充分发挥高效脱色菌在水处理中的作用，提供了改进废水处理方法的可能性，是一项有潜力的新技术。

采用PVA固定化细胞柱反应系统处理染

色废水，有成本低廉，制作方便，出水水质好，便于工业化生产等优点。采用间歇式运转方式，可提高处理效果，节能、节省人力。在染料废水的生化处理中具有较大的潜在应用前景。

参 考 文 献

1. Chibata I et al.: *Appl. Microbiol.*, 27(5): 878, 1974.
2. 周相林: 环境科学学报, 6(3), 368—371, 1986.
3. 韩树琴等: 环境科学学报, 8(1), 93—97, 1988.
4. 李彤等: 环境科学, 11(5), 41, 1990.
5. 周定等: 环境科学, 11(1), 2—6, 1990.
6. 黄晓维等: 环境科学学报, 10(4), 471—480, 1990.

(1992-1-8 收稿)

A STUDY ON DECOLORIZATION OF DYES BY CELLS IMMOBILIZED IN BI-CARRIERS

Jia Shengfen Yang Huifang Liu Zhipei

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing 100080)

Spread and immobilized the bacterial cells entrapped in PVA on pieces of cotton cloth as porous carrier. The conditions for preparing immobilized cells were as below: cell concentration, 20 mg wet weight/ml; PVA concentration, 5%; spreading amount, 0.3ml/cm²; immobilization for 12 hours in saturated boron acid solution. Then activated the immobilized cells in buffer containing dyes. Thus, immobilized cells with high decolorizing activity were obtained.

In columns packed with immobilized cells, the decolorization efficiencies of continuous influent and intermissional influent were compared with each other. In twenty days, the decolorization rates were both higher than 90%; then the decolorization rate of continuous influent decreased to about 60% after 60 days while it still reached 80% in case of intermissional influent. The efficiency of the later was distinct higher than that of the former.

Key words Immobilized cells of mixed bacteria; Decolorization of dyeing wastewater