

假单胞菌 GX₄-1 利用鱼粉废水产絮凝剂的研究

徐斌 田昉 王竞 周集体

(大连理工大学环境科学与工程学院 大连 116012)

摘要: 研究了假单胞菌 (*Pseudomonas sp.*) GX₄-1 利用鱼粉废水产生絮凝剂的条件, 结果表明, 适宜条件为废水 COD 浓度为 10g/L 左右、初始 pH 为 7~9、培养温度为 30℃、摇床转速为 100~250r/min, 此时的絮凝率可高达 99.5%。同时发现在废水培养基不灭菌的条件下, 该菌仍能产生高效的絮凝剂。该菌利用鱼粉废水产生的絮凝剂对高岭土悬液、土壤悬液和细活性炭粉末悬液和电瓷厂污水均有较好

收稿日期: 2000-03-15, 修回日期: 2000-10-10

的絮凝作用。

关键词: 假单胞菌, 生物絮凝剂, 鱼粉废水, 培养条件

中图分类号: Q93 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654 (2001) 03-0068-04

STUDIES ON PRODUCTION CONDITIONS OF FLOCCULANT FROM *PSEUDOMONAS* SP. GX₄-1 USING FISH MEAL WASTEWATER

XU Bin TIAN Yang WANG Jing ZHOU Ji-Ti

(*Environmental Science and Engineering School, Dalian University of Technology, Dalian 116012*)

Abstract: The conditions of *Pseudomonas* sp. GX₄-1 producing flocculant only using fish meal wastewater were mainly studied. Under the optimum culture conditions: medium COD 10g/L, initial pH 7~9, cultural temperature 30, and the shaking speed, 100~250r/min, the flocculating rates can highly reach more than 97% with maximum 99.5%, even if the culture medium was not sterilized. This flocculant shows high flocculating efficiency to kaolin clay suspension, soil suspension, activate carbon powder suspension and wastewater from electroceramics plant.

Keywords: *Pseudomonas* sp., Bioflocculant, Fish meal wastewater, Cultural conditions

由于微生物絮凝剂具有高效、无毒、生物可降解性等优点。因此,在污水处理、食品、酿造、化工等领域具有巨大的应用前景,近年来引起了人们的关注并进行了广泛的研究^[1~8]。迄今为止,人们已发现了多种微生物能够产生絮凝剂^[1~8]。但因所用的培养基价格昂贵,所以难于进行大规模的工业化生产。因此,寻找廉价的替代培养基,甚至是以废水或废弃物作为培养基,具有十分重要的意义。目前只有日本学者 R. Kurane 等人进行过这方面的研究,他们在实验中发现多种物质可以作为红平红球菌 (*Rhodococcus erythropolis*) 产生絮凝剂的替代培养基,如乙醇、罐头制品厂的鱼血废物可以作为替代碳源^[9];麦芽根^[10]、水产加工废水^[11]、豆饼^[12]等可以作为替代氮源;但国内尚未见报道。为此,本文进行了以鱼粉废水作为替代培养基产絮凝剂条件的研究,为其产业化应用奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 菌种来源

絮凝剂产生菌假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) GX₄-1 为本实验室自活性污泥中筛选获得^[8]。

1.2 培养基

1.2.1 种子培养基:可溶性淀粉 20g, K₂HPO₄ 0.5g, NaNO₃ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, KCl 0.5g (可溶性淀粉为化学纯,其余均为分析纯)定容 1L 水, pH 为 7.5~8.5, 1×10⁵Pa 压力下灭菌 30min。

1.2.2 发酵培养基:替代培养基:采用稀释一定倍数的鱼粉废水作为生产絮凝剂的替代培养基,调 pH 至 8 (鱼粉废水水质参数为:COD_{Cr} = 80~100g/L, BOD₅ = 30g/L, K-N = 2.9g/L)。合成培养基^[8]:葡萄糖 20g, 酵母膏 4g, KH₂PO₄ 4g, 定容 1L 水, pH = 7.0~8.0。

上述培养基均在 1×10⁵Pa 压力下灭菌 30min。

1.3 培养条件

先将菌种接入种子培养基在 30℃、150r/min 摇床转速下培养 3~4d。在 150mL 的三角瓶中装入 50mL 发酵培养液，灭菌后按 10% 的接种量将菌种自种子培养基中接入发酵培养基中，在 30℃、150r/min 摇床转速下培养 72h（做 3 个平行样），以发酵液作为絮凝剂样品。将利用替代培养基产生的絮凝剂命名为 XT-1，而利用合成培养基产生的絮凝剂命名为 GB-1^[8]。

1.4 絮凝率的测定

在 100mL 量筒中加入 80mL 蒸馏水、5mL 1% 的 CaCl₂、1mL XT-1 絮凝剂样品，然后加水至 100mL，称取高岭土 0.4g 于 150mL 烧杯中，将量筒中的液体倒入烧杯里，以磁力搅拌器搅拌 2min 后，静置 2min，取 50mL 处的液体用 721 分光光度计在 550nm 处测定吸光度 OD₅₅₀，以不加絮凝剂的样品作对照（做 3 个平行样，取其平均值），通过公式确定絮凝率 μ（该测定方法参照文献 [7]）：

$$\mu = (A - B) / A \times 100\%$$

式中：A 为对照上清液在 500nm 处的吸光度值，B 为样品上清液在 550nm 处的吸光度值。

1.5 絮凝剂对几种悬浊液的絮凝效果测定

分别取 100mL 土壤悬浊液（将 100g 土壤加入到 500mL 水中，搅拌均匀后静置 3min，取上层悬浊液作为样品）、细活性碳粉末悬浊液（OD₅₅₀ = 1.21）、电瓷厂污水于 100mL 的量筒中作为空白对照，另取 94mL 各悬浊液加 5mL 1% 的溶液和 1mL XT-1 絮凝剂于 100mL 量筒中。将此两种悬浊液分别倒入 150mL 的烧杯中，以磁力搅拌器 2min 后再倒回 100mL 量筒中，沉降几分钟后分别测其上清液的 OD₅₅₀（做 3 个平行样，取其平均值）。

2 结果与讨论

2.1 外加碳源对絮凝率的影响

在稀释后的鱼粉废水（COD 约为 10g/L）中分别加入两种浓度的各种糖类以考察不同的糖类对絮凝率的影响。结果如图 1 所示。

实验中发现加有葡萄糖时，可使形成的絮体增大且沉降加快。但是由图 1 可以看出不外加糖类而单用鱼粉废水为培养基时，絮凝率已经高达 98.4%。考虑到成本方面，我们选用不外加糖类的鱼粉废水作为发酵用培养基。

2.2 不同浓度鱼粉废水的对絮凝率的影响

由于鱼粉废水本身 COD 值很高（约为 80~100g/L），直接在其中接入菌 GX₄-1，可能因供氧量不足而对其生长和絮凝剂的生产产生不利影响。故考察鱼粉废水的浓度（COD）对该菌产生絮凝剂的影响，结果如图 2 所示。

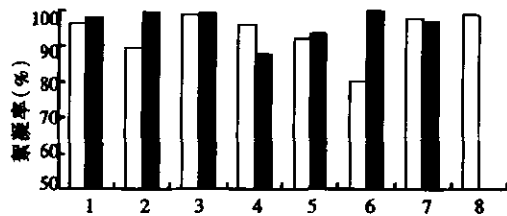


图 1 外加不同的糖对絮凝率的影响

1 淀粉, 2 糊精, 3 乳糖, 4 半乳糖, 5 蔗糖, 6 果糖, 7 葡萄糖, 8 未加糖

□ 浓度为 10g/L, ■ 浓度为 1g/L

由图2可以看出GX₄-1利用鱼粉废水产生絮凝剂的最佳的鱼粉废水浓度(COD)为10~20g/L。

2.3 不同初始pH、摇床转速及培养温度对絮凝率的影响

培养基的pH、摇床转速及培养温度均是影响菌体生长和产生絮凝剂的重要因素,只有在合适的范围内,菌体才能最有效的产生絮凝剂。这3个因素对絮凝率的影响效果如表1所示。

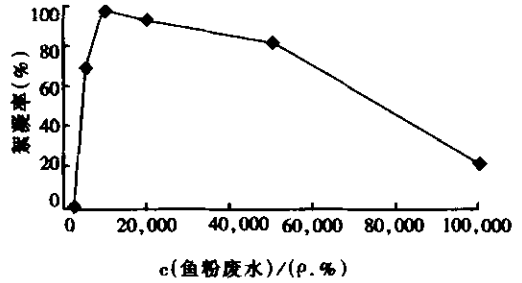


图2 不同浓度鱼粉废水的影响(mg/L)

表1 初始pH、摇床转速及培养温度对絮凝率的影响

絮凝率 (%)	pH							
	5	6	7	8	9	10	11	
	44.4	68.5	93.5	94.4	92.6	89.4	86.1	
絮凝率 (%)	摇床转速 (r/min)				培养温度 (°C)			
	100	150	200	250	20	25	30	35
	97.2	98.6	99.1	93.2	78.9	88.6	98.6	80.1

由表1可以看出在微偏碱性的条件下有利于絮凝剂的产生,且pH在7~9的范围内絮凝效果最佳;在培养温度为30°C时该菌产生的絮凝剂效果最好;在转速为200r/min时絮凝率达到最大,但总的看来转速对絮凝率的影响不大。另外在实验中发现,在培养初期,较高的摇床转速有利于菌体的繁殖,而在后期菌体分泌产生絮凝剂时则无多大影响^[8]。

2.4 灭菌与否对絮凝剂生产效果的影响

由于灭菌仍使微生物絮凝剂的生产成本较高。若不灭菌,该菌仍能产生较为高效的絮凝剂,则意义十分重大。为此,考察了灭菌与否对该菌生产絮凝剂的影响,结果如图3所示。可以看出,尽管未灭菌的样品的絮凝效果要低于灭过菌的样品的絮凝效果,可是其絮凝率仍能高达97.7%,因此,在实际生产过程中完全可以不灭菌。

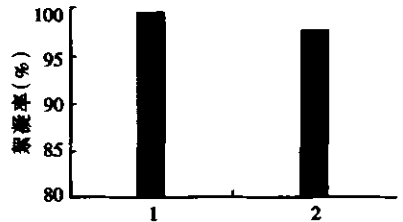


图3 培养基灭菌与否对絮凝率的影响

1 灭菌样品, 2 未灭菌样品

2.5 该微生物絮凝剂与几种常用絮凝剂的比较

将该微生物絮凝剂与几种常用絮凝剂对高岭土悬浊液的絮凝效果作了比较,比较结果如表2所示。

表2 几种絮凝剂对高岭土悬浊液的絮凝效果比较

	XT-1	GB-1	FeSO ₄	FeCl ₃	Al ₂ (SO ₄) ₃	聚丙烯酰胺
浓度 (mg/L)	16	70	1000	1000	1000	20
絮凝率 (%)	99.5	92.5	94	88	78	85

由表2可以看出,该絮凝剂的絮凝效果均优于其它4种絮凝剂,完全可以替代现有的无机和有机的絮凝剂。

2.6 该微生物絮凝剂对几种悬浊液的絮凝效果

以该微生物絮凝剂絮凝处理土壤悬浊液、活性炭粉末悬浊液的电瓷厂污水,结果如表3所示。

表3 絮凝剂对3种污水的絮凝效果

污水	OD ₅₅₀				
	原水	未加絮凝剂的样品		加絮凝剂的样品	
		1min	3min	1min	3min
土壤悬浊液	>2	>2	>2	0.71	0.23
活性炭粉末悬浊液	1.21	0.71	0.54	0.126	0.044
电瓷厂污水	>	>2	>2	0.75	0.24

由表3可以看出该絮凝剂对土壤悬浊液、活性炭粉末悬浊液和电瓷厂污水的絮凝效果较佳。

3 结论

- (1) 菌GX₄-1能够利用鱼粉废水产生絮凝剂,且无需外加碳源和氮源。
- (2) 菌GX₄-1利用鱼粉废水产生絮凝剂的最佳培养条件为:废水COD浓度为10g/L、培养温度为30℃、培养基初始pH为7~9、摇床转速在100~250r/min。
- (3) 在不灭菌的情况下,菌GX₄-1仍能产生较高效的絮凝剂,这对该菌的实际应用有重要指导意义。
- (4) 该菌利用鱼粉废水产生的絮凝剂对高岭土悬液、土壤悬液和细活性炭粉末悬液均有较好的絮凝作用。

参考文献

- [1] Kurane R, Takeda K, Suzuki T. *Agric. Biol. Chem.*, 1986, 50 (9): 2301~2307.
- [2] Takeda M, Kurane R, Koizumi J I, *et al.* *Agric. Biol. Chem.*, 1991, 55 (10): 2663~2664.
- [3] Nakamura J, miyashiro S, Hirose Y. *Agric. Biol. Chem.*, 1976, 40 (2): 377~383.
- [4] Nakamura J, miyashiro S, Hirose Y. *Agric. Biol. Chem.*, 1976, 40 (2): 1342~1347.
- [5] Takagi H, Kadowaki K. *Agric. Biol. Chem.*, 1985, 49 (11): 3151~3157.
- [6] Toeda K, Kurane R. *Agric. Biol. Chem.*, 1991, 55 (11): 2793~2799.
- [7] 王 颖, 王孔星, 谢裕敏, 等. *微生物学报*, 1995, 35 (2): 121~129.
- [8] 宫小燕, 王 竞, 周集体. *环境科学研究*, 1999, 12 (4): 9~11.
- [9] Kurane R, Hatamochi K, Kakuno T, *et al.* *Bionci. Biotech. Biochem.*, 1994, 58 (2): 428~429.
- [10] Kurane R, Yokomaku T. 日本专利, 1991, JP 03-38203.
- [11] 仓根隆一郎, 铃木令, 田泽龙三. 日本专利, 1991, JP 03249909.
- [12] 李兆龙, 虞杏英. *上海环境科学*, 1991, 10 (9): 45~46.