

固定化细胞降解含表面活性剂废水的研究*

纪树兰 吕晓猛 张增 刘秀荣 谭立扬

(北京工业大学化学与环境工程学系, 100022)

摘要 以生物降解法处理阴离子表面活性剂(直链十二烷基苯磺酸钠, 即LAS)废水。通过将TP-1号菌种固定在海藻酸钠载体上, 采用正交试验法, 以固定化细胞对LAS的降解率和降解寿命为试验指标, 确定了适宜的固定化条件, 并与游离细胞对LAS的降解效果做了对比试验。结果表明, 固定化细胞对LAS的降解程数明显增加。

关键词 固定化细胞, 表面活性剂, 生物降解, 正交试验

分类号 X073

70年代以来, 固定化细胞技术发展得非常迅速。其应用研究已涉及工业、医药、食品、化工、环境净化、能源开发等各个领域, 展示了广泛的发展前景。用固定化细胞处理工业废水是近几年来发展起来的废水处理新技术^[1, 2]。

传统的废水生物处理法一般是采用活性污泥法。该方法操作简单, 处理成本低, 但对于一些难分解的物质去除率较低, 且占地面积大, 易发生二次污染。而固定化细胞具有催化活性高, 处理负荷大, 占地面积小, 无二次污染等优点。近年来国内外学者用固定化细胞处理难降解的有机物废水成功的例子不少^[3, 4]。LAS也是一种难降解的有机物, 我们用海藻酸钠包埋对LAS有降解活性的TP-1号菌种, 用正交试验法确定了适宜的包埋条件, 并与无菌体珠体和游离细胞对LAS进行了降解效果的比较。研究结果表明, 固定化细胞对LAS的降解效果明显优于游离细胞。

1 实验材料、装置和制备珠体的方法

1.1 实验材料

海藻酸钠: (CP, 上海化学试剂采购供应站分装厂); 无水氯化钙: (CP, 广州化学试剂分公司); 直链烷基苯磺酸钠: (LR, 250 G, 广州化学试剂玻璃仪器批发部); TP-1号菌: (从北京日化二厂排污口来采污泥样品, 经富集、培养、分离而得)。

1.2 实验装置

制备固定化细胞珠体的装置见图1。

收稿日期: 1994-11-18。

* 北京市自然科学基金资助项目。

1.3 珠体的制备方法

包埋 TP-1 号菌体的方法采用海藻酸钙凝胶法。即将一定量的湿菌与海藻酸钠溶液混合均匀，然后倒入滴定管中。在一定的空气压力下，混合液匀速滴入成型剂氯化钙溶液中， Ca^{2+} 离子从外部扩散到液滴内，与海藻酸根螯合形成海藻酸钙凝胶小球。小球直径的大小可通过控制混合液粘度，滴定速度和滴定管的管口直径来调节。将制备好的珠体在氯化钙溶液中钙化 4~12h，恒温 30℃，然后用无菌水洗涤几遍即可备用。

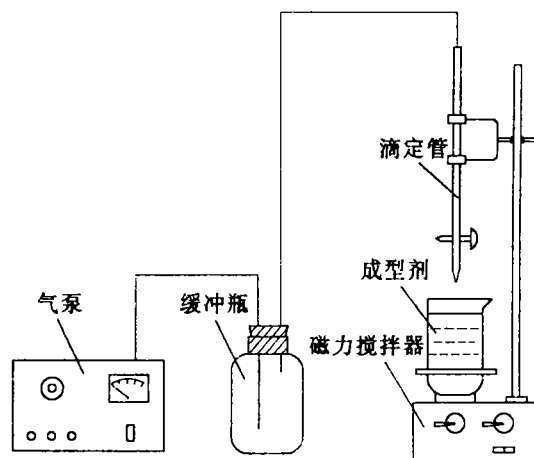


图1 制备珠体的装置图

2 正交试验和降解 LAS 的对比试验

2.1 确定包埋条件的正交试验

影响包埋效果的主要因素有细胞浓度(A)，氯化钙浓度(B)，海藻酸钠浓度(C)和钙化时间(D)。每个因素的各水平选取是根据资料中提供的数据^[5]。由于涉及的因素较多，为了考察各因素之间的相互影响和各因素水平变化对包埋效果的综合影响，本实验采用了正交试验法。所选取的因素水平数据见表1。

根据表1，选用了四因素、三水平的 $L_9(3^4)$ 正交表。将各因素、水平的具体内容置换 $L_9(3^4)$ 正交表中的数字，即得到表2。

按照表2制备9组珠体，每组100mL，分别装入9个锥形瓶中，每瓶中加入浓度为50mg/L的LAS标准溶液125mL，以12h为一降解周期，分4次测试(3h, 6h, 9h, 12h)降解液中LAS的浓度。在第一周期测试完后，用无菌水将珠体洗涤干净，然后重新加入50mg/L的LAS标准溶液125mL，重复第一周期降解试验。如此反复，测取5个周期的数据做为降解寿命试验。

由于每组实验得到的是一组数据，故在实验数据表中仅以第一周期3h的数据代表降解度，以第三周期3h的数据代表降解寿命。试验方案和实验数据见表3。

试验结果用极差分析法。计算第*i*因素*k*水平所对应的试验指标和 y_{ik} ($i=1\sim 4$, $k=1\sim 3$)，并计算出平均值 \bar{y}_{ik} ，由它判断*i*因素的优水平，各因素的优水平即最优组合。计算极差 R_i ，依据 R_i 大小判断因素主次。表4为4个因素在3个水平上的降解率和降解寿命的平均值，极差值，因素主次和最优方案。图2和图3分别为试验因素水平与降解率和降解寿命的关系图。

表1 因素——水平数据表

水 平	因 素			
	$A/g \cdot 100mL^{-1}$	$B/g \cdot 100mL^{-1}$	$C/g \cdot 100mL^{-1}$	D/h
1	1.5	2	2	4
2	3	4	3	8
3	4	8	4	12

表2 $L_9(3,4)$ 正交设计表

试验号	因 素			
	$A/g \cdot 100mL^{-1}$	$B/g \cdot 100mL^{-1}$	$C/g \cdot 100mL^{-1}$	D/h
1	1.5	2	2	4
2	1.5	4	3	8
3	1.5	8	4	12
4	3	2	3	12
5	3	4	4	4
6	3	8	2	8
7	4	2	4	8
8	4	4	2	12
9	4	8	3	4

表3 试验方案和实验数据

试验号	试 验 方 案				试 验 指 标	
	A	B	C	D	降解率/%	降解寿命/%
1	1	1	1	1	78.8	42.2
2	1	2	2	2	85.7	47.0
3	1	3	3	3	88.4	45.4
4	2	1	2	3	87.2	71.4
5	2	2	3	1	79.6	67.5
6	2	3	1	2	92.3	57.9
7	3	1	3	2	89.5	67.2
8	3	2	1	3	88.5	72.2
9	3	3	2	1	92.3	76.7

2.2 降解 LAS 的对比试验

对比试验是指固定化后的细胞,游离细胞和无菌体珠体对 LAS 降解效果的比较.试验中,取 4g 湿菌和相当于 4g 湿菌的固定化细胞及无菌体珠体,按降解实验的步骤分别测定降解液中 LAS 的浓度. LAS 的浓度测定均采用 PVC-AD 电位滴定法^[6].

表4 试验结果分析表

试验因素	降解率						降解寿命					
	平均值/%			极差 R_i	因素主次	优水平	平均值/%			极差 R_i	因素主次	优水平
	\bar{y}_{i1}	\bar{y}_{i2}	\bar{y}_{i3}				\bar{y}_{i1}	\bar{y}_{i2}	\bar{y}_{i3}			
A	84.3	86.4	90.1	5.8	B	A_3	44.9	65.6	72.0	27.1	A	A_3
B	85.2	84.6	91.0	6.4	A	B_3	60.3	62.2	60.0	2.2	C	B_2
C	86.5	88.4	85.8	2.6	D	C_2	57.4	65.0	60.0	7.6	D	C_2
D	83.6	89.2	88.0	5.6	C	D_3	62.1	57.4	63.0	5.6	B	D_3

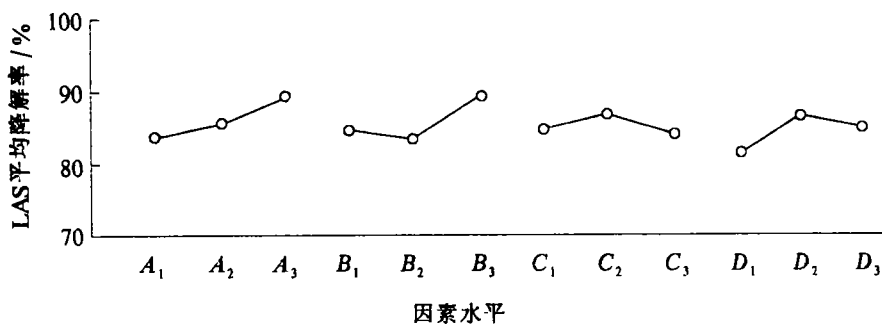


图2 各因素水平对LAS降解率的影响

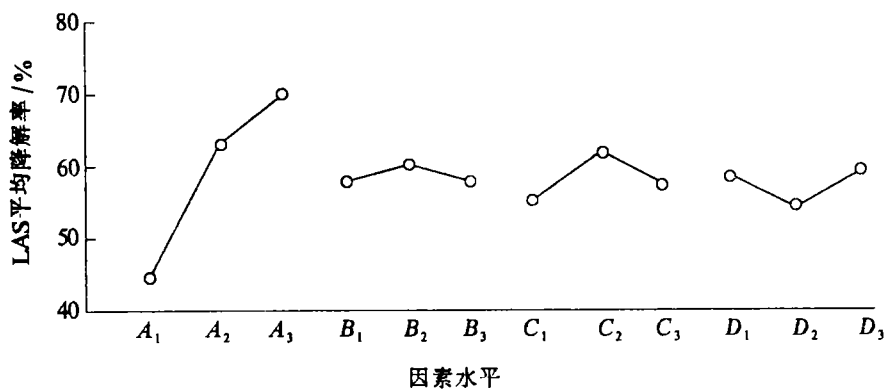


图3 各因素水平对LAS降解寿命的影响

3 结果与讨论

3.1 适宜的包埋条件

(1)对试验指标降解率而言,从表4和图2可看出,因素在不同水平时的取值对其影

响相差不大, 平均降解率的极差范围为 2.6% ~ 6.4%.

(2) 对试验指标降解寿命而言, 从表 4 和图 3 可看出, 因素 A 成为主要影响因素, 随着菌体浓度的增加, 3 个水平(即 A_1 , A_2 , A_3)的降解率几乎呈直线上升, 而其它 3 个因素不同水平的取值对降解寿命影响不大.

(3) 因素 C 对降解率和降解寿命的影响, 图 2 和图 3 呈现出相同的规律, 都是在 C_2 水平出现最佳值. 因素 B 对降解寿命的影响较小.

综合以上分析, 应以降解寿命为主指标, 包埋菌体的最佳条件为 $A_3C_2D_3B_2$, 即: 菌体浓度: 4 g / 100 mL 海藻酸钠; 海藻酸钠浓度: 3 g / 100 mL H_2O ; 钙化时间: 12 h; 氯化钙浓度: 4 g / 100 mL H_2O .

3.2 验证试验

从表 3 可看出, 正交试验中的第 9 组实验数据最好, 各因素不同水平的组合为 $A_3B_3C_2D_1$. 用上述最佳条件制备珠体与其对照, 两组珠体对 LAS 降解效果的试验数据见表 5.

表 5 两组珠体降解效果的比较

降解周期	降 解 率 / %	
	第 9 组珠体	验证珠体
1	92.0	92.0
2	80.7	82.3
3	67.5	71.9
4	61.0	62.8

从表 5 的数据可看出, 根据最佳条件制备的珠体, 其降解率比第 9 组珠体的降解率有所提高, 这表明正交试验中所选取的因素水平适当, 所确定的最佳条件是正确的.

3.3 3 种情况降解效果的比较

游离细胞, 无菌体珠体和最佳条件下制备的固定化细胞对 LAS 降解效果的试验数据见表 6. 由表 6 可看出, 无菌珠体对 LAS 也有一定的降解效果, 这是由于载体本身的吸附作用导致, 一旦吸附饱和, LAS 的浓度不再变化. 这也说明了固定化细胞(有菌珠体)在初期对 LAS 有高效降解的原因, 即除了菌体本身的作用, 还有载体的吸附作用. 3 h 以后, 菌体对 LAS 的降解作用起主导地位, 使得固定化细胞总体效果明显优于游离细胞.

表 6 3 种情况的降解效果比较

降解时间	降 解 率 / %		
	游离细胞	无菌珠体	有菌珠体
3	57.0	34.1	88.4
6	77.0	42.3	90.5
9	85.0	42.5	91.9
12	90.0	—	95.6

4 结论

通过正交试验法, 确定了包埋菌体的最佳条件, 即 $A_3C_2D_3B_2$. 在最佳条件下制备的固定化细胞降解 LAS 的效果明显优于游离细胞. 固定化细胞的重复使用性也较好, 第一周期 3 h 对 LAS 的平均降解率为 86.9%, 第三周期 3 h 的平均降解率为 61%, 仍可保持原有细胞活性的 74%.

参 考 文 献

- 1 夏小明, 候文华, 岳奇贤. 固定化技术研究的新进展. 微生物学报, 1988, 1: 32~33
- 2 黄霞. 固定化细胞技术在废水处理中的应用. 环境科学, 1992, 2(3): 36~41
- 3 Yang P Y, et al. Biological Wastes. 1988, 23: 1~18
- 4 Dwyer D F, et al. Applied Environ Microbiol. 1986, 52(2): 345
- 5 马子骏, 陆志号. 固定化细胞技术及其应用. 银川: 宁夏人民出版社, 1990, 59~73
- 6 中华人民共和国国标. GB-13199

The Study of Immobilized Cells for Biodegradation of Surfactant in Waste Water

Ji Shulan Lu Xiaomeng Zhang Zeng Liu Xiurong Tan Liyang

(Department of Chemistry and Environmental Engineering,

Beijing Polytechnic University, 100022)

Abstract This paper deals with the biodegradation of LAS. Taking the LAS degradation rate and the immobilized cell's degradation duration as experimental criteria, the optimal immobilization is determined by means of immobilizing bacterium TP-1 on the sodium alginate carrier and making cross-test. Meanwhile, the LAS degradation ability test is made with both the immobilized cell and free cell. The result indicates that the immobilized cell can obviously increase the degradation degree of LAS.

Keywords immobilized cell, surfactant, biodegradation, cross-test