

文章编号:1671-1513(2011)03-0051-04

海藻酸钠包埋脱氮菌株工艺研究

酒卫敬, 汪 苹, 李奥搏, 李金穗, 其其格

(北京工商大学 食品学院, 北京 100048)

摘要: 选用海藻酸钠作为包埋剂, 4% CaCl_2 作为交联剂. 通过正交试验和单因素实验, 研究了包埋菌量, 海藻酸钠(SA)质量分数, 交联时间和小球直径4个因素对海藻酸钠包埋菌株的脱氮性能的影响, 以氨氮去除率和总氮去除率为指标, 优选包埋条件. 在实验范围内的最佳包埋条件下, 包埋的脱氮菌株的脱氮性能与其游离状态下的脱氮性能相当.

关键词: 固定化; 包埋; 海藻酸钠

中图分类号: TS208; TS264.2+3

文献标志码: A

细胞固定化技术, 是利用物理或化学手段将游离的微生物(细胞)或酶, 定位于限定的空间区域, 并使其保持活性且能反复利用的一项技术^[1]. 固定化技术起初用于滴滤反应系统内生产醋酸^[2], 后来, 应用于食品、医药、发酵工业中, 近30年开始应用于废水处理领域^[3]. 日本、荷兰在硝化细菌固定化技术方面作了一些研究^[4-5], 国内也有些学者致力于这方面的研究^[6-8]. 采用固定化技术能高效率地将微生物或酶限制在特定的材料区域内部, 达到提高微生物或酶的浓度、减少微生物流失、容易固液分离的目的. 用固定化微生物技术处理废水, 具备承受有毒物质冲击能力并能降解难生化有机物, 成为最近几十年废水生物处理中的研究热点.

本实验用海藻酸钠包埋脱氮菌株, 并对包埋工艺及脱氮性能进行了研究, 为其在工业方面的应用奠定基础. 包埋菌株可用于氨基酸废水、发酵废水、制药废水等多种含氮废水的有效脱氮.

根据微生物细胞与载体的作用力及作用形式、微生物细胞被固定的状态以及载体的性质, 将固定化细胞的制备方法分为以下三类: 吸附法、包埋法和交联法. 其中, 包埋法应用较多, 尤其以凝胶包埋法在工业中的应用最为广泛^[9-10].

固定化载体通常分为有机载体和无机载体两种, 实际应用的主要是有机载体, 其中, 目前应用最多的是海藻酸钠和聚乙烯醇. 海藻酸钠作为天然高分子多糖类, 用于细胞固定化, 尽管强度不高, 但对微生物无毒害作用, 固定方法简单, 成本适中, 是很好的包埋剂选择. 笔者选用海藻酸钠作为包埋剂, 用包埋法固定化脱氮菌株, 可应用于氨基酸废水、发酵废水、制药废水等多种含氮废水的有效脱氮.

1 材料及方法

1.1 实验材料

一株具有异养硝化好氧反硝化脱氮性能的戴尔福特菌(*Delftia*), 编号为WXZ-2; 海藻酸钠, 氯化钙.

异养硝化培养基: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 为 0.47 g/L, 柠檬酸三钠($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 为 5.1 g/L; 碳源用量依据正交试验设计 COD/N 比调节, KNO_3 为 0.1 g/L, 维氏盐溶液为 50 mL/L; 用蒸馏水溶解, 并同时调节初始 pH 值.

1.2 实验方法

1.2.1 固定化小球的制备过程

固定化水球的制备流程见图 1.

收稿日期: 2010-11-15

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2007BAK36B07); 国家高技术产业发展项目(味精行业高浓度废水处理关键技术高技术产业化示范工程).

作者简介: 酒卫敬, 女, 硕士研究生, 研究方向为水污染控制理论与应用;

汪 苹, 女, 教授, 主要从事水污染控制方面的研究. 通讯作者.

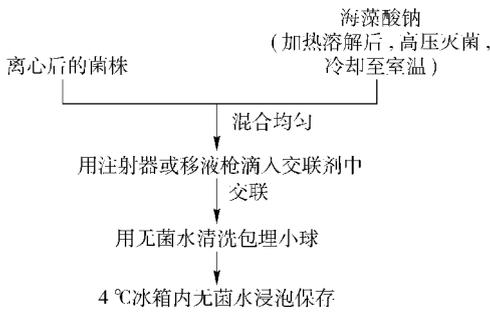


图1 固定化小球的制备流程

Fig. 1 Process of forming immobilized beads

1.2.2 测定方法

$\rho(\text{NH}_4^+-\text{N})$ 采用纳氏试剂分光光度法测定; $\rho(\text{NO}_2^--\text{N})$ 采用 N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法测定; $\rho(\text{NO}_3^--\text{N})$ 采用紫外分光光度法测定; pH 值采用德国 WTW 便携式测定仪测定。

2 结果与讨论

2.1 海藻酸钠质量分数范围的选择

小球的成球情况与海藻酸钠的质量分数有很大关系,见表1。由表1可以看出,SA 质量分数为3%~7%时可滴制出形状较好的包埋小球。

表1 海藻酸钠(SA)质量分数对成球状况的影响

Tab. 1 Effects of different concentration of sodium alginate on shape of immobilized beads

加菌量/%	2	2	2	2	2
SA 质量分数/%	2	3	5	7	8
交联剂(CaCl_2)/%	4	4	4	4	4
交联时间/h	4	4	4	4	4
小球粒径/mm	3	3	3	3	3
成球情况	形状不均	成球一般	成球好	成球良好	成球但拖尾

2.2 优化包埋条件

2.2.1 正交试验

在上述实验的基础上,设计了四因素三水平正交试验,各因素和各水平的选择是参考有关研究^[11-13]拟定的。试验因素有:加入包埋剂中的细菌量(简称包菌量)、包埋剂质量分数、交联时间及小球直径,以固定化菌株的脱氮性能(即:氨氮和总氮去除率)为指标。通过正交试验,优选包埋条件。各因素因子的水平取值见表2。

按 1.1 配制异养硝化培养基,调节 pH 值至 7.0,并分装在 250 mL 的锥形瓶中,在 121 °C 条件下高压灭菌 20 min,然后放到已灭菌的操作台中冷却至室温。称取湿重为 10 g(相当于干重约 1 g)的小球,放至培养基中。然后放在恒温振荡摇床内培养。

表2 正交试验设计表

Tab. 2 Orthogonal experiments design table

因子水平	包菌量 (A)/%	SA 质量分数 (B)/%	交联时间 (C)/h	小球粒径 (D)/mm
1	2	3	4	2
2	4	5	8	3
3	6	7	12	4

培养条件为:温度为 30 °C,转速为 90 r/min(相当于 DO 质量浓度 3.76~4.84 mg/L), COD/N 为 25,氮源为硝酸钾和硫酸铵,初始 NO_3^--N 和 NH_4^+-N 质量浓度分别约为 10 mg/L 和 100 mg/L,碳源为柠檬酸三钠。培养 4 天,每隔 24 h 取样一次,取样后先离心分离,然后取上清液对 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 NO_2^--N 质量浓度进行测定, TN 质量浓度为 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 NO_2^--N 质量浓度之和,计算 NH_4^+-N 和 TN 去除率,取其最大值。实验结果见表 3。

表 3 中数据说明:

1) 氨氮去除率与总氮去除率最高组为同一组,即实验 5,表观优选条件为 $A_2B_2C_3D_1$ 。

2) 表 3 中 I、II、III 表示水平, j 表示因素,如 II_D 表示小球直径为 3 mm 的所有包埋条件,此条件在表中是试验 2、试验 6、试验 7, II_D 的值应为 3 个对应条件下的结果加权平均值。每个因素不同水平下的平均值相差最大的二个数的差值,即为极差 R_j 。极差的大小反映各因素对指标影响的大小。即极差越大,因素对指标影响越大。最优水平的确定是根据 I_j 、 II_j 、 III_j 的大小选定的,平均值越大表明该水平越有利于指标结果,各最优水平的综合即为理论最优条件。

下面以 NH_4^+-N 去除率为指标,举例说明表中数据的计算方法,具体方法如下:

1) 数据计算:以因素 B(SA 浓度)为例,在因素 B 的 1 水平下有 3 组实验,分别为 1,4,7 号实验,归为第一组。同样,因素 B 的 2 水平下的 2,5,8 号实

验,归为第二组. 因素 B 的 3 水平下的 3,6,9 号实验,归为第三组. 分别计算各组实验结果加权平均值,填入表下部相应列中的相应位置上. 如:

$$I_B = (66.9 + 70.0 + 68.5) / 3 = 68.5,$$

$$II_B = (73.3 + 92.8 + 65.0) / 3 = 77.1,$$

$$III_B = (73.6 + 68.1 + 85.0) / 3 = 75.6.$$

表3 WXZ-2号包埋小球的正交试验结果

Tab.3 Orthogonal experimental results of beads immobilized with WXZ-2

实验号	加菌量 (A)/%	SA 质量分数 (B)/%	交联时间 (C)/h	小球直径 (D)/mm	NH ₄ ⁺ -N 去除率/%	TN 去除率/%
1	1(2)	1(3)	1(4)	1(2)	66.9	75.6
2	1(2)	2(5)	2(8)	2(3)	73.3	78.8
3	1(2)	3(7)	3(12)	3(4)	73.6	76.2
4	2(4)	1(3)	2(8)	3(4)	70.0	75.4
5	2(4)	2(5)	3(12)	1(2)	92.8	94.3
6	2(4)	3(7)	1(4)	2(3)	68.1	61.6
7	3(6)	1(3)	3(12)	2(3)	68.5	76.7
8	3(6)	2(5)	1(4)	3(4)	65.0	72.2
9	3(6)	3(7)	2(8)	1(2)	85.0	70.3
NH ₄ ⁺ -N 去除率	I _j	71.3	68.5	66.7	81.6	
	II _j	77.0	77.1	76.1	70.0	
	III _j	72.8	75.6	78.3	69.5	
	R _j	5.7	8.6	11.7	12.1	
TN 去除率	I _j	76.8	75.9	69.8	80.0	
	II _j	77.1	81.8	74.8	72.4	
	III _j	73.1	69.4	82.4	74.6	
	R _j	4.0	12.4	12.6	7.6	

三者中的最大值减去最小值即为极差,即:
 $R_B = III_B - I_B = 75.6 - 68.5 = 7.1$. 由以上计算可知 $I_B < III_B < II_B$,所以因素 B 的最佳水平应取 2 水平,即 SA 质量分数为 5%. 其它同理.

2) 因素影响分析:极差的大小反映各因素对指标影响的大小. 在实验的 3 个因素中,因素 D 的极差最大,为 12.1,其次是 C, B, A 最小,从而可排出因素影响的顺序为: $D > C > B > A$,即小球直径 > 交联时间 > SA 质量分数 > 包菌量.

3) 优选方案的得出:由以上计算与分析可见各因素理论最佳水平为因素 A 取 2 水平,因素 B 取 2 水平,因素 C 取 3 水平,因素 D 取 1 水平. 因此实验的最优方案为 $A_2B_2C_3D_1$,即包菌量为 4%,SA 质量分数为 5%,交联时间为 12 h,小球直径为 2 mm.

以 TN 去除率为指标分析,分析方法同上,得出以下结论:

1) 四因素三水平的理论最佳条件为:
 $A_2B_2C_3D_1$,即包菌量为 4%、SA 质量分数为 5%、交联时间为 12 h,小球直径为 2 mm. 与以 NH₄⁺-N 去除率为指标分析所得和表 3 中的表观优选条件均一致.

2) 因素影响分析结果为: $C > B > D > A$,即交联时间 > SA 质量分数 > 小球直径 > 包菌量.

无论以氨氮去除率为指标还是以总氮去除率为指标,影响最小的因素都是因素 A ,即包菌量.

小球直径是影响包埋菌株脱氮性能的一个重要因素. 当小球直径减小,等重量小球的比表面积可能会增大,并有利于小球内外物质之间的交换,从而提高脱氮性能. 但是包埋小球的直径太小时,滴制过程中易堵塞,会给制备过程带来很多麻烦. 因此,小球直径 2 mm 为本实验的最小研究水平. SA 质量分数会影响固定化小球的机械强度、质量传递等,进

而影响到微生物的活性. 另外, 浓度过高时, 包埋剂的粘性增加, 给固定化操作带来不便, 2.1 确定了本实验中海藻酸钠浓度的研究范围. 海藻酸钠在交联剂中交联的时间长短会对固定化细胞的活性产生影响. 由表3可以看出, 随着交联时间的增长, 包埋小球的脱氮性能增强. 因此, 通过补充单因素实验, 研究交联时间对包埋菌株脱氮性能的影响.

2.2.2 单因素实验

包菌量为4%, 海藻酸钠质量分数为5%, 小球粒径为2 mm 条件下改变交联时间进行包埋实验. 本实验共选定4, 8, 12, 16, 20 h 5个水平进行实验. 实验结果如图2.

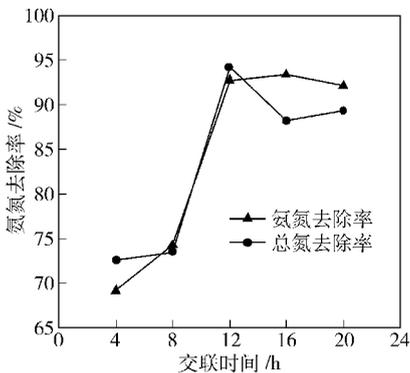


图2 交联时间对脱氮性能的影响

Fig. 2 Effects of crosslinking time on nitrogen removal

交联时间越长, 所得固定化凝胶小球的强度越高, 但凝胶小球内部的结构更为紧密, 不利于基质的传递, 从而使细胞失活率增大, 因此, 交联时间不宜太长. 由图2可以看出, 实验范围内最佳交联时间为12 h, 氨氮去除率为92.8%, 总氮去除率为94.3%.

根据正交试验和单因素实验, 选定WXZ-2在实验范围内的最佳包埋条件是包菌量为4%, 海藻酸钠质量分数为5%, 交联时间为12 h, 小球粒径为2 mm. 包埋小球的最高氨氮去除率能达到92.8%, 总氮去除率能达到94.3%.

3 结论

1) 通过正交试验和单因素实验优选出海藻酸钠包埋脱氮菌株WXZ-2在实验范围内的最佳包埋条件: 包菌量为4%, 海藻酸钠质量分数为5%, 交联时间为12 h, 小球粒径为2 mm. 包埋小球的最高氨

氮去除率能达到92.8%, 总氮去除率能达到94.3%.

2) 包埋后的菌株的脱氮性能与游离菌的脱氮性能(氨氮去除率94.9%, 总氮去除率为95.3%^[14])相当.

3) 海藻酸钠包埋法制备过程简单, 适用于脱氮菌株WXZ-2的固定化. 可以解决菌株的保存、运输问题, 为优势菌株广泛应用于实际工程奠定了基础.

参考文献:

- [1] 王新, 李培军, 巩宗强, 等. 固定化细胞技术的研究与进展[J]. 农业环境保护, 2001, 20(2): 120-122.
- [2] Chibata Z, Tosa T. Degradation of sodium anthraquinone sucphonate immobilized *Pimelobacter* sp[J]. Appl Biochem Bioeng, 1983(4): 1-9.
- [3] 中村ら. 包括固定化微生物による排水中の窒素除去技術[J]. 公害そ対策, 1986, 22(2): 27.
- [4] Tramper J, Suwinska-Borowice G, Klapwijk A. Characterization of nitrifying bacteria immobilized in calcium alginate[J]. Enzyme Microb. Technol, 1985, 7(4): 155-160.
- [5] 杨文英, 董学物. 细胞固定化及其在工业中的应用[J]. 云南民族学院学报, 2001, 10(3): 406-410.
- [6] 葛晓虹, 张振家, 王毅军. 固定化包埋硝化菌去除源水中氨氮研究[J]. 中国给水排水, 2006, 22(3): 51-54.
- [7] 陈娅洁, 姚涛, 李至荣, 等. 包埋固定化硝化菌在不同DO下的硝化规律研究[J]. 环境科学与技术, 2006, 29(5): 26-30.
- [8] Wijffels R H, Schukking G C, Tramper J. Character of a denitrifying bacterium immobilized in K-carrageenan[J]. Appl. Microbiol. Biotechnol, 1990, 34(3): 399-403.
- [9] 黄霞, 俞毓馨, 王蕾. 固定化细胞技术在废水处理中的应用[J]. 环境科学, 1993, 14(1): 41-48.
- [10] 肖美燕, 徐尔尼, 陈志文. 包埋法固定化细胞技术的研究进展[J]. 食品科学, 2003, 24(4): 158-161.
- [11] 王磊. 固定化硝化菌去除氨氮的研究[J]. 环境科学, 1997, 18(2): 18.
- [12] 李峰, 吕锡武, 严伟. 聚乙烯醇作为固定化细胞包埋剂的研究[J]. 中国给水排水, 2000, 16(12): 14-17.
- [13] 李蕾, 李杰, 王亚娥. 生物细胞固定化技术中的包埋材料[J]. 净水技术, 2005, 24(1): 40-42.
- [14] 廖小红. 异养硝化-好氧反硝化菌优选及脱氮产物研究[D]. 北京: 北京工商大学, 2008.

Drying Process Simulation of Cylindrical Corn Dryer

ZHAO Fu

(*School of Material and Mechanical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China*)

Abstract: Based on the theoretical research of the cylindrical corn dryer, a numerical solution to the drying process was presented in this paper. The developed program was provided for the simulation of drying process and the model was verified to be feasible for simulating the corn drying process.

Key words: corn; drying process; simulation

(责任编辑:檀彩莲)

(上接第 54 页)

Immobilization of a Denitrification Strain by Sodium-alginate

JIU Wei-jing, WANG Ping, LI Ao-bo, LI Jin-sui, QI Qi-ge

(*School of Food, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China*)

Abstract: The mechanical strength of immobilized beads was enhanced using sodium alginate as the embedding agent and CaCl_2 as the crosslinking agent. Orthogonal experiments and one-factor experiments were designed to optimize the immobilization conditions. The effects of quantity of entrapment bacteria, concentration of sodium alginate, crosslinking time, and diameter of the immobilized beads on the immobilization were studied. Under optimum conditions, the nitrogen removal ability of immobilized bacteria was similar to that of dissociation bacteria.

Key words: immobilization; entrapment; sodium alginate

(责任编辑:檀彩莲)