

微量元素对废水中光合细菌生长的影响

赵 微, 张光明

(哈尔滨工业大学 市政环境工程学院, 150090 哈尔滨, gmgwen@gmail.com)

摘 要: 为了强化光合细菌污水资源化效率, 研究微量元素对废水中光合细菌 (PSB) 生长的影响, 利用单因素设计法找出影响菌体产量的 2 个最显著的因素, 以 Box-Behnken 设计法及响应面分析法确定了主要影响因素的最佳浓度. 研究表明: 0.66 mmol/L 的 Fe^{2+} 与 0.16 mmol/L 的 Mg^{2+} 混合时, PSB 菌体产量最高, 可达到 1 483.5 mg/L, COD 去除率最高达到 89.1%, 成本最低达到 0.033 元/t. 验证结果表明 Fe 和 Mg 组合在 72 h 时菌体产量达到 1 380 mg/L, 比空白提高了 57%. 微量元素 Fe 和 Mg 组合可促进废水中 PSB 的生长, 可强化光合细菌污水资源化效率.

关键词: PSB; 响应曲面法; 菌体生长; 污水资源化

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 0367-6234(2012)02-0052-04

Effects of trace elements on *photosynthetic bacteria* growth in wastewater

ZHAO Wei, ZHANG Guang-ming

(School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China, gmgwen@gmail.com)

Abstract: To improve the wastewater treatment efficiency and enhance the resource recovery efficiency, this paper studied the effects of trace elements, Fe, Mn, Cu, Zn, Co, Mg, on *photosynthetic bacteria* (PSB) growth in wastewater. Two most prominent factors that influence the biomass of PSB were identified through single element design. Optimal concentrations of these trace elements were found through the Box-Behnken design and the response surface analysis. The results showed that the best situation was as follows: 0.66 mmol · L⁻¹ Fe²⁺ and 0.16 mmol · L⁻¹ Mg²⁺, the maximum biomass of PSB reached 1 483.5 mg/L, the maximum COD removal ratio was 89.1%, and the additional cost was RMB 0.033 Yuan/t. The confirmatory tests showed that the combination of Fe and Mg achieved a PSB biomass of 1 380 mg · L⁻¹ after 72 h, which was 57% higher than the control. Fe and Mg could promote PSB growth in wastewater and enhance the resource recovery efficiency.

Key words: PSB; response surface analysis; PSB growth; sewage reclamation

光合细菌 (*Photosynthetic bacteria*, PSB) 是一类以光作为能源、能在光照厌氧或黑暗好氧条件下利用有机物、硫化物、氨等作为供氢体兼碳源进行光合作用的微生物. PSB 能有效地处理高浓度有机废水, 且 PSB 菌体本身含有丰富的营养物质和生理活性物质, 能够作为肥料、饲料、饵料回收利用, 在处理废水的同时实现污水资源化^[1-4].

PSB 污水资源化技术是采用 PSB 对污水进行生物处理, 改善水质的同时, 使 PSB 利用废水作为能量来源大量地生长与繁殖, 菌体本身作为一种新的资源重新被回收利用. 因而在生物处理设施的运行中必须创造出微生物适宜的环境与营养条件, 在以往的研究中, 人们多关注温度、pH 值、毒性等条件, 营养方面也多只关注 N、P 的营养需求, 而常常忽视废水处理过程中微生物对微量元素的. 在这些元素中, 尤以微量元素 Fe、Mn、Cu、Zn、Co、Mg 更为重要^[5-7]. 如铁是过氧化氢酶、过氧化物酶、细胞色素和细胞色素氧化酶的组成元素, 一旦铁不足, 就可导致糖酵解过程的变

收稿日期: 2010-12-26.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (50978072);

国家重大水专项 (2008ZX07317-02).

作者简介: 赵 微 (1982—), 女, 博士研究生;

张光明 (1973—), 女, 教授, 博士生导师.

化.铜是多种酶(细胞色素氧化酶、酪氨酸酶、半乳糖酶、二胺氧化酶、黄嘌呤氧化酶、硫化物氧化酶、酪氨酸氧化酶)的组分和刺激因子,参与体内的多种代谢活动,一旦铜不足或过量,微生物的代谢过程就会遭到破坏,造成生物生产性能的降低.锌是乙醇脱氢酶和乳酸脱氢酶的活性基.钴参与维生素 B₁₂的组成.锰是多种酶的激活剂,有时可以代替 Mg²⁺起激活剂作用.镁是细胞中某些酶的活性基团,并具有调节和控制细胞质的胶体状态、细胞质膜的通透性和细胞代谢活动的功能.因此,本文首先通过单因素设计,评价微量元素 Fe、Mn、Cu、Zn、Co、Mg 对光合细菌菌体生长影响的效应,筛选出有显著影响的因素,然后利用 Box-Behnken 设计和响应曲面分析法确定显著因素的最佳浓度^[8-9].

表 1 大豆废水水质指标

COD/ (mg · L ⁻¹)	ρ (DN)/ (mg · L ⁻¹)	ρ (TP)/ (mg · L ⁻¹)	pH	θ/℃	c/(mmol · L ⁻¹)					
					Fe ³⁺	Mn ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Co ²⁺	Mg ²⁺
3 600	36	18	7.2	23	0.022 2	0.011 2	0.004 2	0.012 2	0.000 4	0.000 2

PSB 的菌体产量测定:采用 HPLC 法分析 CoQ₁₀的含量,表征废水中 PSB 的菌体产量^[10]. COD 的测定:采用重铬酸盐法(GB 1914—89).

1.2 试验设计

1) 单因素试验设计.根据 PSB 菌生长的一般规律,以及前期实验结果,本实验共选取影响因素 6 个.微量元素 FeSO₄ · 7H₂O、MnSO₄ · H₂O、ZnSO₄ · 7H₂O、CuSO₄ · 5H₂O、CoSO₄ · 7H₂O、MgSO₄ · 7H₂O 的浓度分别为 1.25、0.45、1.65、1.20、1.20、0.70 mmol · L⁻¹.由于实验使用的废水中本身含有少量的微量元素,见表 1,本文根据实际情况进行相应调整,使得调整后微量元素浓度达到设计水平.考察 72 h,分别添加以上 6 种微量元素对 COD 去除效果及菌体产量的影响.

2) 中心组合设计及响应曲面(RSM)分析.根据上述单因素试验设计结果,筛选 2 个关键的微量元素,采用 Box-Behnken 法进行实验设计,对筛选出的微量元素进一步研究,以获得最佳微量元素投加量.在 Box-Behnken 法中,关键因子为所选择的微量元素,以其为自变量,每个因素取 2 个水平,按从低到高以 -1, +1 编码,根据相应的试验表进行试验,共设计 13 个试验点.将所获得的实验结果输入 Plackett-Burman 优化软件,以 PSB 菌体产量、COD 去除效果、成本为响应值,采用多项式回归分析(PROC RSREG)对实验数据进行拟合.

1 试 验

1.1 材料与方法

试验用菌种选择球形红假单胞菌(*Rp. sphaeroids*),购于中科院微生物研究所.试验污泥采用活性污泥模拟废水中各杂菌,污泥取自处理生活污水的 A/O 工艺的二沉池.试验废水采用浊度高、有机物质含量多的大豆废水,以模拟高浓度有机废水,表 1 为所用废水水质指标.实验药品:CoQ₁₀标准品(Sigma 公司)、甲醇、无水乙醇、丙酮均为色谱纯.

主要试验仪器包括:超声波清洗器(HS3120, BENCHTOPCLEANERS);磁力搅拌器(SXJQ, 北京世纪森朗实验仪器有限公司);高效液相色谱(Agilent 1200, Agilent Technologies, Inc.).

在 1 000 mL 三角瓶内加入 600 mL 质量浓度为 3 600 mg/L 的大豆加工废水、30 mg · L⁻¹活性污泥、160 mg · L⁻¹的 PSB,上覆富氧膜以阻止灰尘及杂菌进入反应器.分别添加不同配方的微量元素,反应温度为 26 ~ 30 ℃,振荡器转速为 140 r/min,溶解氧质量浓度为 0.5 mg · L⁻¹左右.每隔 12 h 测定各处理组中的 COD、菌体产量,每组实验重复 3 次,取平均值.

2 结果与讨论

2.1 初筛试验

首先对 6 种微量元素进行初步筛选,COD 去除效果、菌体产量、添加成本分别见图 1、2 与表 2.

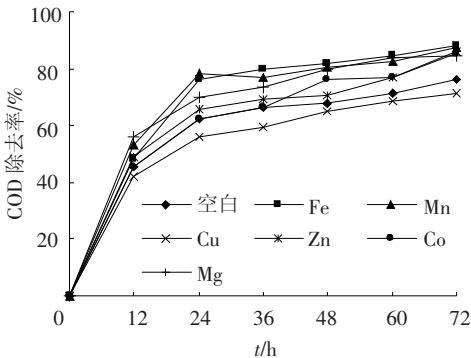


图 1 微量元素对 COD 去除效果的影响

由图 1 可见,分别添加微量元素 Fe、Mn、Zn、Co、Mg 对 COD 的去除有一定的促进作用,添加 Cu 对 COD 的去除有轻微的抑制.处理 72 h 后,添加不同种微量元素对 COD 去除率由大到小的顺序为:

Fe、Mn、Zn、Co、Mg、空白、Cu. 由于 Cu 抑制 COD 的去除,因此在后续试验中不考虑添加 Cu. 由图 2 可见,添加 Co 对 PSB 菌体积累的促进作用最大,添加 Mg、Cu、Fe 对 PSB 菌体积累的促进作用较大,添加 Mn、Zn 对 PSB 菌体积累的促进作用较小,因此在后续试验中不再添加 Mn 和 Zn. 由表 2 可见,添加 $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 的成本为 18.55 元/t,成本过高,因此在接下来的试验中不考虑添加.

综合考虑 COD 去除效果、菌体增长情况、处理成本,发现 Fe 与 Mg 的添加对 PSB 的菌体产量有益,在接下来的试验中进一步的研究.

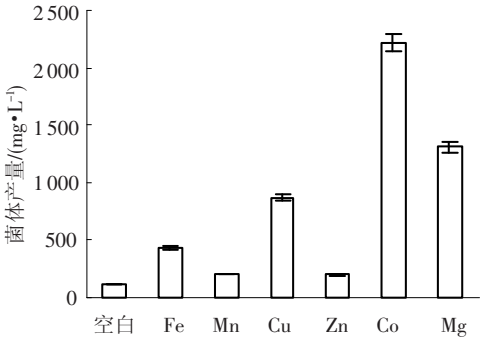


图 2 微量元素对 PSB 菌体产量的影响

表 2 微量元素成本

名称	分子量/ ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)	单价/ ($\text{元} \cdot \text{t}^{-1}$)	每吨废水投加 微量元素成本/元
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	278.02	77	0.03
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	169.02	3 500	0.27
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	249.68	4 400	1.32
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	287.56	3 500	1.66
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	281.10	55 000	18.55
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246.47	780	0.13

2.2 响应曲面法确定最佳微量元素用量

根据 2.1 节实验结果,发现 Fe、Mg 的添加对 PSB 的菌体产量影响较大,采用 Box-Behnken 法进行实验设计,试验因素与水平的选取见表 3,将所获得的实验结果输入 Plackett-Burman 优化软件,实验结果见表 4.

表 3 微量元素投加因素与水平

微量元素	水平	
	- 1	+ 1
Fe	0.125	1.250
Mg	0.070	0.700

表 4 实验设计与结果

序号	$c(\text{Fe})/$ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	$c(\text{Mg})/$ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	COD 去除率/%	菌体产量/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	每吨废水投加 微量元素成本/元
1	1.085 248	0.607 739	88.102 78	425.737 00	0.048 14
2	0.687 500	0.070 000	89.855 56	2 204.464 00	0.041 29
3	0.687 500	0.385 000	88.916 67	696.017 10	0.019 55
4	0.125 000	0.385 000	85.516 67	633.785 00	0.041 29
5	0.687 500	0.385 000	85.516 67	33.932 33	0.017 40
6	1.085 248	0.162 261	87.336 11	251.813 30	0.034 43
7	1.250 000	0.385 000	86.441 67	711.386 70	0.029 25
8	0.687 500	0.385 000	89.650 00	831.945 20	0.053 33
9	0.687 500	0.385 000	87.266 67	136.188 40	0.041 29
10	0.687 500	0.385 000	86.844 44	987.566 60	0.041 29
11	0.289 752	0.607 739	86.255 56	90.525 05	0.063 03
12	0.687 500	0.700 000	86.736 11	88.901 07	0.065 17
13	0.289 752	0.162 261	87.575 00	895.931 50	0.041 29

根据表 4 的实验结果,分别以 PSB 菌体产量、COD 去除效果、添加成本以为响应值,采用多项式回归分析(PROC RSREG)对实验数据进行拟合.拟合的输出结果分别见图 3~5.

由图 3 可见,当各因子的优化值:Fe 的浓度为 0.67 mmol/L,Mg 的浓度为 0.61 mmol/L 时,菌体产量期望最大值为 1 425.04 mg/L.

由图 4 可见,当各因子的优化值:Fe 的浓度为 0.72 mmol/L,Mg 的浓度为 0.43 mmol/L 时,COD 去除率期望最大值为 88.52%.

由图 5 可见,当各因子的优化值:Fe 的浓度为 1.09 mmol/L,Mg 的浓度为 0.61 mmol/L 时,成本期望最小值为 2.46×10^{-2} 元.

为了使本设计具有实用性,以 PSB 菌体产量、COD 去除效果、添加成本为响应值,对实验数据进行拟合.拟合的输出结果见图 6.

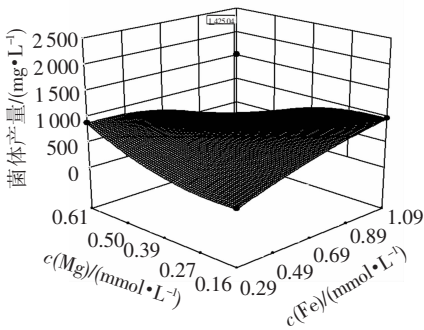


图 3 Fe 与 Mg 交互对菌体产量的影响

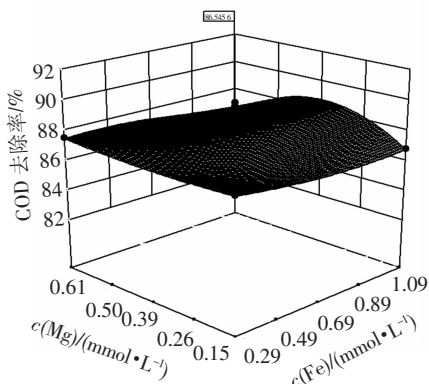


图4 Fe与Mg交互对COD去除效果的影响

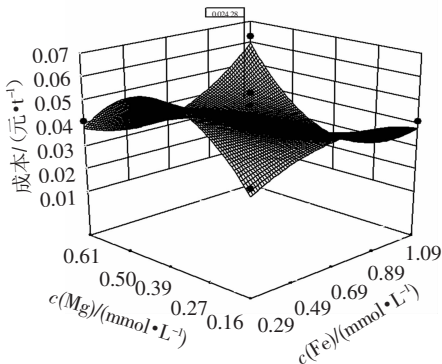


图5 Fe与Mg交互对成本的影响

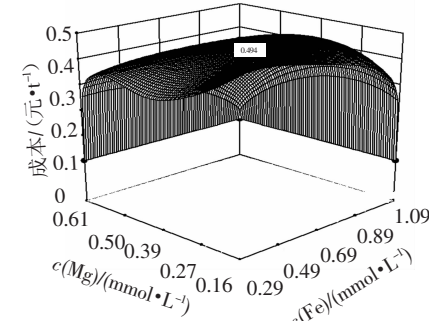


图6 Fe与Mg交互对菌体产量、COD去除效果及成本的影响

由图6可见,当各因子的优化值:Fe的浓度为0.66 mmol/L, Mg的浓度为0.16 mmol/L时,PSB菌体产量最高可达到1 483.49 mg/L, COD去除率最高达到89.12%,成本最低达到0.033元/t.

为了验证预测值,以预测确定的各因子值作重复实验,实验重复3次,PSB菌体产量平均值为1 379.95 mg/L,与模型预测值相比较,模型的有效性为93%,说明模型的有效性很高.菌体产量比空白提高了57%.达到了实验初设想的Fe与Mg组合提高废水中PSB菌体产量的目的.

3 结 论

1)为了更好地实现光合细菌污水资源化,筛选出影响菌体产量的2个最显著的因素为Fe与Mg.通过Fe和Mg组合对菌体产量、COD去除效果、添加成本分别优化,结果是:当二者以0.67、

0.61 mmol·L⁻¹混合时,菌体产量期望最大值为1 425 mg·L⁻¹.当二者以0.72、0.43 mmol·L⁻¹进行混合时,COD去除率期望最大值为88.52%.当二者以1.09、0.61 mmol·L⁻¹混合时,成本期望最小值为0.024 6元·t⁻¹.

2)Fe和Mg组合对菌体产量、COD去除效果、添加成本综合最优结果是:当二者以0.66、0.16 mmol·L⁻¹混合时,PSB菌体产量最高可达到1 483.5 mg·L⁻¹,COD去除率最高达到89.1%,成本最低达到0.033元/t.验证结果表明Fe和Mg组合在72 h菌体产量达到1 380 mg·L⁻¹,比空白提高了57%,达到了实验初设想的Fe与Mg组合提高废水中PSB菌体产量的目的.

参考文献:

[1] LU H, ZHANG G M, DAI X, *et al.* Photosynthetic bacteria treatment of synthetic soybean wastewater; direct degradation of macromolecules [J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101(10): 7672–7674.

[2] EROGLU E, EROGLU I, GUNDUZ U, *et al.* Effect of clay pretreatment on photofermentative hydrogen production from olive mill wastewater [J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(15): 6799–6808.

[3] MADUKASI E I, DAI X, HE C, *et al.* Potentials of phototrophic bacteria in treating pharmaceutical wastewater [J]. *Int J Environ Sci Technol*, 2010, 7(1): 165–174.

[4] PONSANO E H G, PAULINO C Z, PINTO M F. Phototrophic growth of *Rubrivivax gelatinosus* in poultry slaughterhouse wastewater [J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99(9): 3836–3842.

[5] MADIGAN M T, MARTINKO J M, PARKER J. *Brock biology of microorganisms* [M]. 11th ed. New York: Prentice Hall Inc, 2000.

[6] ALEXANDER M. *Biodegradation and bioremediation* [M]. 2nd ed. New York: Academic Press, 1999.

[7] 任南琪, 马放, 杨基先, 等. *污染控制微生物学* [M]. 3版. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2007.

[8] MURAT E. Optimization of medium composition for actinorhodin production by *Streptomyces coelicolor* A3(2) with response surface methodology [J]. *Process Biochemistry*, 2004, 39(9): 1057–1062.

[9] TRUPKIN S, FORCHIASSIN F, VIALE A. Optimization of a culture medium for ligninolytic enzyme production and synthetic dye decolourization using response surface methodology [J]. *J Ind Microbiol Biotech*, 2003, 30(12): 682–690.

[10] 赵微, 张光明. HPLC法定量分析水中光合细菌菌体产量[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2011, 43(12): 53–57.

(编辑 魏希柱)