

刘巍, 胡中华, 刘亚菲, 等. 2009. 新型固定化生物小球的研制及其处理模拟苯胺废水的特性 [J]. 环境科学学报, 29(6): 1195-1202

Liu W, Hu ZH, Liu Y F, et al. 2009. Preparation of novel immobilized microbe beads and their performance in the treatment of synthetic aniline wastewater [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 29(6): 1195-1202

新型固定化生物小球的研制及其处理模拟苯胺废水的特性

刘巍, 胡中华*, 刘亚菲, 王晓静, 陈玉娟

同济大学化学系, 上海 200092

收稿日期: 2008-06-30 修回日期: 2008-07-30 录用日期: 2009-04-28

摘要: 从焦化废水二级处理系统的生物膜中富集、培养、浓缩得到能降解苯胺的混合菌种 GA1 作为固定化微生物的来源。用 3 种不同方法制备了新型固定化生物活性炭纤维小球 (IBACFBs), 并研究了其机械性能; 通过降解模拟苯胺废水考察了固定化生物活性炭纤维小球的生化活性和循环使用寿命。同时也比较了小球中活性炭纤维和活性炭对小球生化性能的影响。结果表明, 以 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 为唯一固化剂, 采用冷冻-解冻法制得的 IBACFBs 具有最好的机械性能和生化活性, 对高浓度苯胺溶液有优异的降解效果, 最适条件下经过 46h 反应, 苯胺浓度从初始的 526 mg L^{-1} 降至 9.6 mg L^{-1} , 降解率达到 98.4%。由于具有特殊的孔结构和巨大的比表面积, 相比于活性炭, 活性炭纤维更能提升固定化小球的生化活性。循环批次降解苯胺实验表明, IBACFBs 具有良好的机械强度, 生化活性随着循环次数的增加不但没有降低, 反而有不同程度的提高; 循环批次反应后, 在最适条件下 IBACFBs 仅用 30h 就可将苯胺溶液浓度从 513.7 mg L^{-1} 降至 7.6 mg L^{-1} , 降解率高达 98.5%。

关键词: 固定化生物活性炭纤维小球 (IBACFBs); 苯胺; 生化降解; 聚乙烯醇; 海藻酸钠

文章编号: 0253-2468(2009)06-1195-08 中图分类号: X703 文献标识码: A

Preparation of novel immobilized microbe beads and their performance in the treatment of synthetic aniline wastewater

LIU Wei, HU Zhonghua*, LIU Yafei, WANG Xiaojing, CHEN Yujuan

Department of Chemistry, Tongji University, Shanghai 200092

Received 30 June 2008; received in revised form 30 July 2008; accepted 28 April 2009

Abstract A mixed bacterial culture, GA1, taken from the biofilm of a secondary coking wastewater treatment system was incubated and enriched as an immobilized bacteria source for the degradation of aniline. Immobilized Biological Activated Carbon Fiber Beads (IBACFBs) were prepared by three different solidification methods using GA1 as the bacteria source. The influence of the immobilization parameters on the mechanical strength of the beads was studied. The bioactivity of the IBACFBs was evaluated through degradation of aniline from synthetic wastewater. The effects of activated carbon and activated carbon fiber in the biological beads were compared. The long-term performance of IBACFBs was also studied by recycling batch tests. The results showed that the IBACFBs prepared by a freezing-thawing procedure using $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ as solidifying agent had the highest mechanical strength and bioactivity. These beads exhibited a very high removal efficiency of 98.4% for aniline and its concentration decreased remarkably from 526 mg L^{-1} to 9.6 mg L^{-1} within 46 h under the optimal conditions. Due to its special pore structure and large surface area, Activated Carbon Fiber (ACF) enhanced the bioactivity of the immobilized beads better than Activated Carbon (AC). The excellent mechanical strength and high bioactivity of IBACFBs for the aniline degradation were confirmed through a long-term recycling batch test in which the removal efficiency did not decrease; on the contrary, it increased gradually as the process continued. As a result, the aniline concentration was reduced significantly from 513.7 mg L^{-1} to 7.6 mg L^{-1} within 30 h. The degradation efficiency could be as high as 98.5%.

Keywords immobilized biological activated carbon fiber beads (IBACFBs); aniline; biological degradation; polyvinyl alcohol; Calcium alginate

1 引言 (Introduction)

苯胺作为一种重要的有机化工产品被广泛用

于农药、塑料、染料和医药工业生产 (O'Neill et al., 2000). 环境中的硝基芳香化合物在微生物作用下能转化或分解成苯胺 (Halas et al., 1983). 由于苯

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863) 资助项目 (No. 2008AA06Z329)

Supported by the National High-Tech Research and Development Program of China (No. 2008AA06Z329)

作者简介: 刘巍 (1983-), 男, E-mail: weilu31@hotmail.com; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: huzl@tongji.edu.cn

Biography: LIU Wei (1983-), male, E-mail: weilu31@hotmail.com; * Corresponding author, E-mail: huzl@tongji.edu.cn

胺是一种剧毒性的污染物,对环境有很大的负面作用,中国国家环境检测总站和美国环境保护局(EPA)都将其列入优先控制污染物黑名单.生物降解是去除环境中苯胺的有效方法,也是苯胺类废水生化处理和苯胺污染现场生物修复的基础(O'Neill *et al.*, 2000; Lyons *et al.*, 1984; Torring *et al.*, 2002; Anson *et al.*, 1984; Aoki *et al.*, 1983).研究证实,自然界存在着高效降解苯胺的好氧或厌氧细菌如 *Campylobacter acilovorans*, *Pseudomonas Shewanella*, *Campylobacter*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus Frateuria*, *Moraxella*, *Nocardia* 等(刘志培等, 1999; 任随周等, 2006; Liu *et al.*, 2002).因此,采用生物技术降解苯胺具有很大的可行性.

将能够高效降解有机物的菌种培养后投加到常规污水处理系统中,由于投加菌流失、被原生动捕食、菌种间竞争、代谢底物抑制等原因,使其难以保持长久的降解效率.而固定化技术具有较强的菌种保持能力和较高的细菌浓度,对有毒有害污染物具有较高的承受能力,因而能显著提高有机污染物的降解效率.

固定化生物技术的载体材料中以聚乙烯醇(PVA)和海藻酸钠(SA)的使用最为广泛.利用聚乙烯醇和海藻酸钠的混合物为固定化载体包埋制备的固定化生物小球具有强度高、通透性高、生物兼容性好、稳定性强等特点,已被广泛用于含特定有机物废水处理的研究(Wang *et al.*, 2007).将具有巨大的比表面积、良好的吸附性能和生物相容性的活性炭添加到固定化小球中,可以发挥炭吸附脱附和生物降解的协同作用,提高生化降解效果(王晨等, 2007).而对吸附性能更加优异的活性炭纤维在固定化生物小球(BBs)中应用的研究报道极少.

近来,采用固定化生物技术降解有机物的研究比较多,其中包括采用包埋法制备固定化小球用以降解苯酚和喹啉的研究,都取得了较好的效果(Arzi *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2002).对于苯胺的生化降解技术,国内研究关注于分离高效降解菌种,而国外研究注重于新型高级氧化技术,尚未发现用固定化小球技术降解苯胺的研究报告.

本实验着重研究包埋法制备的固定化生物活性炭纤维小球降解苯胺的可行性,考察不同固定化方法对小球的机械性能和降解苯胺生化活性的影响;探讨活性炭、活性炭纤维对小球的机械性能和降解苯胺生化活性的影响,并对循环批次反应中固

定化小球内生物的生化活性变化进行研究,以期获得具有较高机械性能和生化活性的固定化生物活性炭纤维小球,并解释活性炭纤维对小球降解苯胺速率的影响.

2 实验材料和方法 (Materials and methods)

2.1 培养基和试剂

配制微生物液体培养基,所用的化学试剂均为分析纯.具体配制的溶液浓度如下: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $0.195 g \cdot L^{-1}$; $MnSO_4 \cdot H_2O$, $0.056 g \cdot L^{-1}$; $FeSO_4 \cdot H_2O$, $0.0914 g \cdot L^{-1}$; $CaCl_2$, $0.003 g \cdot L^{-1}$; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, $1.3 g \cdot L^{-1}$; KH_2PO_4 , $1 g \cdot L^{-1}$; 苯胺, $0.5 g \cdot L^{-1}$ (李岩等, 2007; 曾国驱等, 2006).

苯胺:分析纯,购自上海凌峰化学试剂有限公司;聚乙烯醇:工业一等品,购自中国石化上海石油化工股份有限公司;海藻酸钠:分析纯,购自上海青析化工科技有限公司;活性炭纤维:J-12系列粘胶基活性炭纤维毡,购自辽宁省鞍山活性炭纤维厂;活性炭:购自唐山华能科技炭业有限公司.

2.2 菌种的来源与浓缩

以上海市焦化厂生物膜反应器中的生物膜作为菌种的来源,将生物膜放入锥形瓶中,加适量的去离子水和玻璃珠,振荡使生物膜破碎,然后从其中移取 1 mL 混合液,加入到 100 mL 液体培养基中于 25℃ 培养 3 d 再从中移取 1 mL 菌液,加入到新的 100 mL 液体培养基中继续培养.如此 6~7 个循环,可以获得能以苯胺为单一碳源和氮源的高效降解混合菌群(GA1).取培养 3 d 的菌液 500 mL,在转速 $3000 r \cdot min^{-1}$ 下,离心 15 min,倾去上清液,定容至 10 mL,作为制备固定化小球的浓缩细菌,细菌浓度为 $1.2 \times 10^9 \sim 1.3 \times 10^9$ 个 $\cdot mL^{-1}$.

2.3 小球的固定化方法

采用聚乙烯醇和海藻酸钠混合物为固化原料,并添加活性炭纤维的包埋法制备了新型固定化小球——固定化生物活性炭纤维小球(IBACFBs).将 9 g 聚乙烯醇、1 g 海藻酸钠、0.4 g 活性炭纤维加入 90 mL 水中,加热搅拌,待其溶解成均匀的混合物,加入 10 mL 浓缩菌液(GA1),分别按以下 3 种方法制备 IBACFBs: ①将混合物逐滴滴入饱和硼酸和 1% $CaCl_2$ 的混合溶液中,浸渍 1 h 然后再将小球转移到 $0.5 mol \cdot L^{-1} Na_3PO_4$ 溶液中浸渍 1 h (IBACFBs I) (Zhang *et al.*, 2007); ②将混合物逐滴滴入 5% $Ca(NO_3)_2$ 溶液中,浸渍 1 h 然后将小球在 $-17^\circ C$ 下

保存 24h 再在 2~4℃ 保存 12h 最后在室温解冻 (IBACFBs II) (Wang *et al.*, 2006); ③将混合物逐滴滴入 2% CaCl₂ 的溶液中, 然后立即将成形小球转移到饱和硼酸溶液中, 浸渍 1h (IBACFBs III). 所有制得的小球都用去离子水洗涤数遍直至洗出液没有泡沫为止, 并在 4℃ 下保存, 小球的直径和密度大约都分别在 3~4mm 和 1.3~1.4g L⁻¹ 的范围内.

2.4 小球的机械性能测定

强度测试: 将 60 个小球放入 250mL 锥形瓶中, 加入 100mL 去离子水, 在恒温振荡器上 300 r min⁻¹ 振荡 12h 后, 完好的小球占原小球总数的比率表示小球的强度系数 (Wang *et al.*, 2007).

稳定性测试: 将 80 个小球放入 500mL 烧杯中, 反复用自来水洗涤 24h 后, 完好的小球占原小球总数的比率表示小球的稳定性系数 (Wang *et al.*, 2007).

膨胀性测试: 取 30 个小球, 用游标卡尺测定其直径, 然后将其放入 250mL 锥形瓶中, 加入 100mL 去离子水, 4℃ 冷藏 6h 再同样测定其直径; 膨胀后测得的小球直径总和与原小球直径总和之比表示小球的膨胀性能 (Wang *et al.*, 2006).

2.5 小球降解苯胺的生化性能测定

以不含苯胺的液体培养基为本底, 浓度约 500mg L⁻¹ 苯胺溶液作为模拟废水. 称取约 3.8g IBACFBs 放入 250mL 锥形瓶中, 加入 100mL 模拟废水于恒温振荡器 (25~30℃) 上 170 r min⁻¹ 振荡 12h (使炭吸附平衡, 减少仅仅由物理吸附对生化活性分析的影响), 然后将小球取出, 重新加入到 100mL 模拟废水中, 于恒温振荡器上 170 r min⁻¹ 振荡约 24~52h 并测定这段时间内模拟废水中苯胺浓度的变化情况.

苯胺降解的循环批次反应: IBACFBs 降解 100mL 含苯胺浓度为 500mg L⁻¹ 模拟废水 24h 然后测定溶液中剩余的苯胺浓度, 再将小球放入 100mL 苯胺浓度为 500mg L⁻¹ 新的模拟废水中反应, 如此循环.

苯胺浓度测定采用高效液相色谱法 (Agilent 1080). 紫外检测器固定波长为 285nm; Agilent ODS 色谱柱, 柱温为室温, 流动相为甲醇-缓冲溶液 (乙酸-乙酸铵缓冲溶液), 流速为 0.8mL min⁻¹, 进样量为 10μL 样品通过稀释或浓缩达到液相色谱最佳测定范围内, 用 0.45μm 滤膜过滤.

3 结果 (Results)

3.1 固定化生物小球的机械性能

3种方法制备的 IBACFBs 的机械性能如表 1 所示. 从表中可见, 相比于 IBACFBs I, IBACFBs II 和 IBACFBs III 的膨胀系数较低, 具有更好的强度和稳定性. 为了考察活性炭纤维对小球机械性能的影响, 测试了未加活性炭纤维制备的 IBBs II 和 IBBs III 小球. 这 2 种小球的机械性能分别与 IBACFBs II 和 IBACFBs III 小球相近, 表明活性炭纤维并没有影响小球的机械性能. 由于后续降解苯胺实验对小球机械性能的要求, IBACFBs I 强度和稳定性太差, 不能符合要求, 而 IBACFBs II 和 IBACFBs III 的机械强度符合实验需要, 故在后续的实验中采用 IBACFBs II 和 IBACFBs III 做继续研究.

表 1 固定化微生物小球的强度、膨胀性和稳定性

Table 1 Strength, dilatibility and stability of immobilized biological beads

固定化微生物小球	强度系数	膨胀系数	稳定性系数
IBACFBs I	0	1.36	0
IBACFBs II	1	1.03	1
IBACFBs III	0.98	1.19	1
IBBs II	1	1.02	1
IBBs III	0.97	1.20	1

3.2 固定化生物小球的生化活性

IBACFBs II 和 IBACFBs III 生化活性测定结果如图 1 所示, IBACFBs II 降解苯胺的能力要强于 IBACFBs III 起始苯胺浓度为 515.2mg L⁻¹, 反应 52h 后 IBACFBs II 组苯胺浓度为 27.3mg L⁻¹, 降解率为 94.7%; 而 IBACFBs III 组苯胺浓度为 59.7mg L⁻¹, 苯胺降解率为 88.4%. 因此, 后续的研究中

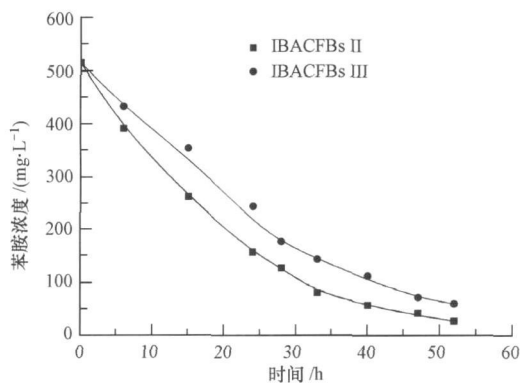


图 1 IBACFBs II 和 IBACFBs III 对苯胺的降解

Fig 1 Degradation of aniline by IBACFBs II and IBACFBs III

采用 IBACFBs II 进行实验. IBACFBs II 的照片如图 2 所示.

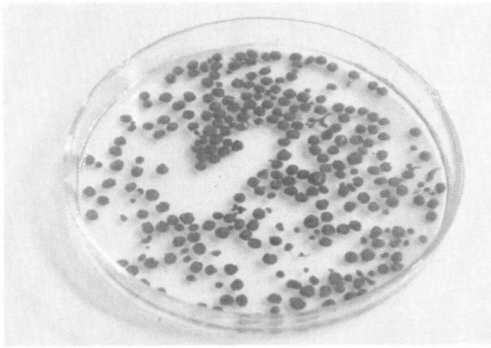


图 2 IBACFBs II 的照片

Fig 2 Photograph of IBACFBs II

3.3 pH 和温度对 IBACFBs 生化性能的影响

温度为 25℃ 时, pH 值对 IBACFBs II 降解苯胺的影响如图 3 所示. 由图可知, 初始 pH 为 7 时 IBACFBs 降解苯胺的活性最高, 起始浓度为 525.5 mg·L⁻¹ 时, 反应 31h 后苯胺浓度为 72.5 mg·L⁻¹, 降解率为 86.2%; 而初始 pH 为 6 和 8 时的溶液最终苯胺降解率分别为 20.3% 和 73.2%. 初始 pH 为 7 时, 温度对 IBACFBs II 降解苯胺影响如图 4 所示. 由图可知, 反应温度为 30℃ 时 IBACFBs 降解苯胺的活性最高, 起始浓度为 517 mg·L⁻¹ 时, 31h 后苯胺浓度降为 58 mg·L⁻¹, 降解率为 88.8%; 而反应温度为 25℃ 和 35℃ 时反应溶液苯胺降解率分别为 81.0% 和 65.0%. 综合 pH 值和温度对小球生化性能的影响, 选择小球降解苯胺的最适条件为初始 pH 值为 7, 温度为 30℃. 最适条件下, IBACFBs II 对苯胺的降解过程如图 5 所示. 由图可知, 经过 46h 的降解反应, IBACFBs II 能将苯胺浓度为 526 mg·L⁻¹ 降

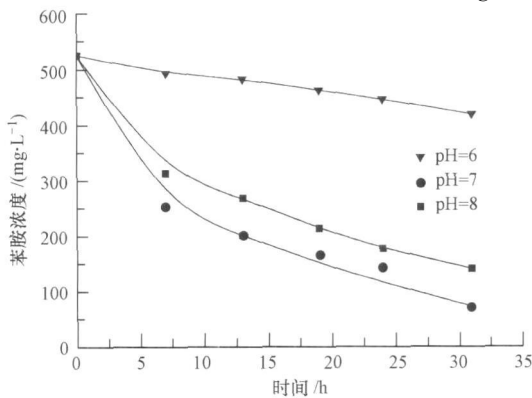


图 3 溶液的 pH 值对 IBACFBs II 降解苯胺的影响

Fig 3 Influence of solution pH on aniline degradation by IBACFBs II

至 9.6 mg·L⁻¹, 降解率达到 98.4%. 图 6 是 IBACFBs II 降解苯胺前后剖面的 SEM 图. 从图中可见, 相比

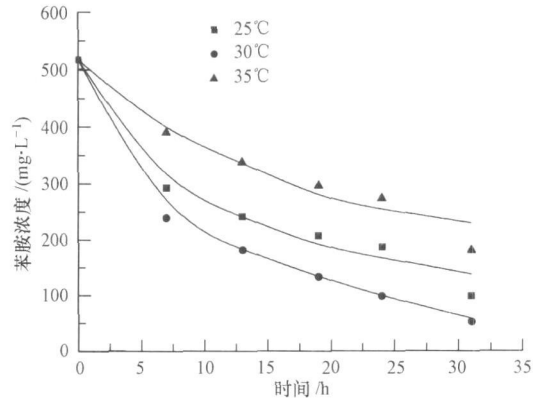


图 4 温度对 IBACFBs II 降解苯胺的影响

Fig. 4 Influence of temperature on aniline degradation by IBACFBs II

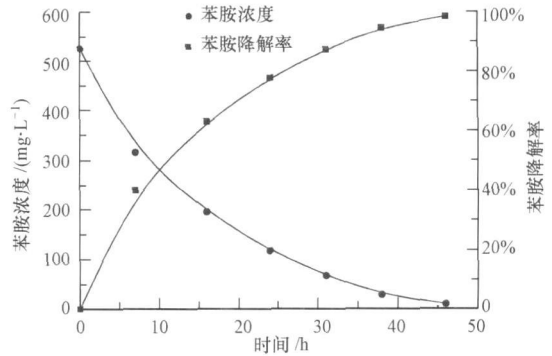


图 5 最佳条件下 IBACFBs II 对苯胺的生化降解过程

Fig. 5 Biological degradation of aniline by IBACFBs II at the optimal conditions

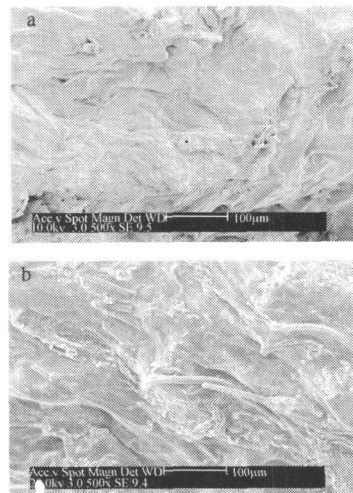


图 6 IBACFBs II 降解苯胺模拟废水前后的剖面 SEM 电镜图 (a. 降解前, b. 降解后)

Fig. 6 SEM image of the cross-section of IBACFBs II before (a) and after (b) treatment of synthetic aniline wastewater

于降解苯胺前 (a), 降解后 (b) 小球表面生长出很多细菌菌落。

3.4 活性炭和活性炭纤维对小球生化降解苯胺的影响

采用 2.3 节中方法 ② 分别制备固定化生物小球 (IBBs)、固定化生物活性炭小球 (IBACBs) 和 IBACFBs 并比较了三者对苯胺的降解效果。由图 7 可知, IBACFBs 的生化活性最强, 固定化生物小球的生化活性最弱; 三者降解起始浓度为 $525 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的苯胺 31h, 苯胺浓度分别降为 $70.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $99.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $193.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 降解率分别为 86.6%、81.0%、63.1%。其原因在于活性炭和活性炭纤维的微观性质上的区别, 表 2 和图 8 图 9 分别是活性炭 (AC) 和活性炭纤维 (ACF) 的比表面和孔径分布数据、活性炭纤维和活性炭的氮吸附和孔径分布图。

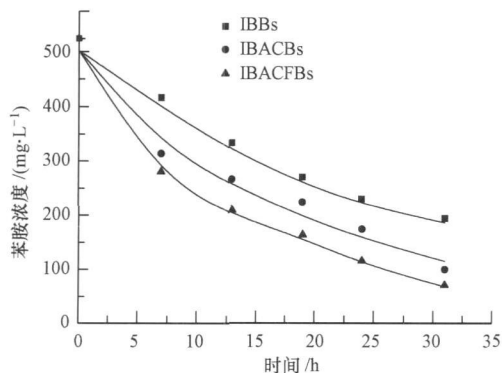


图 7 3 种不同的小球降解苯胺的效果

Fig. 7 Performance of three kinds of immobilized biological beads in aniline degradation

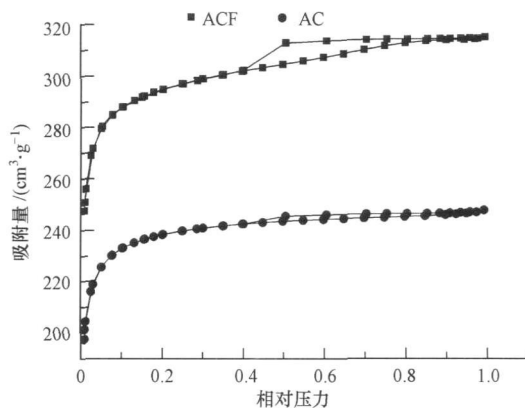


图 8 活性炭纤维和活性炭的氮吸附脱附等温线

Fig. 8 Nitrogen adsorption-desorption isotherms of activated carbon fiber (ACF) and activated carbon (AC)

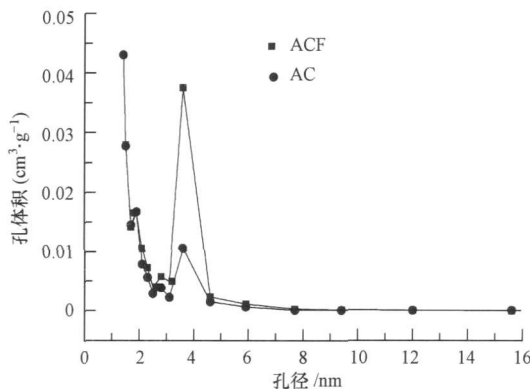


图 9 活性炭纤维和活性炭的孔径分布

Fig. 9 Pore size distributions of activated carbon fiber and activated carbon

表 2 活性炭和活性炭纤维的比表面和孔径分布
Table 2 Surface area and porosity parameters of AC and ACF

样品	S_{BET} $/(\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$	S_{ext} $/(\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$	V_{tot} $/(\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1})$	V_{mi} $/(\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1})$	$V_{\text{mi}}/V_{\text{tot}}$	D/nm
ACF	976	13	0.487	0.466	95.7%	1.997
AC	789	4	0.383	0.374	97.7%	1.940

注: S_{BET} : 比表面积; S_{mi} : 微孔比表面积; S_{ext} : 外比表面积; V_{tot} : 总孔容; V_{mi} : 微孔孔容; $V_{\text{mi}}/V_{\text{tot}}$: 微孔率; D : 平均孔径。

3.5 IBACFBs 降解苯胺的循环批次实验

循环批次反应各循环的出水苯胺的浓度和降解率如图 10 所示, 数据表明, IBACFBs 降解苯胺的能力随着连续降解实验时间的延长而越来越强。第 1 个循环后, 反应液的苯胺浓度降至 $131.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 苯胺降解率为 73.7%; 第 13 个循环后, 反应液的苯胺浓度降至 $56.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 苯胺降解率为 88.8%, 降

解率比第一个循环反应后的降解率提高了 15.1%。循环批次反应中, 始终未有 IBACFBs 破碎, 所有的 IBACFBs 都保持良好的强度。循环批次反应后的 IBACFBs 完全降解苯胺的实验结果如图 11 所示, 30h 内能将浓度为 $513.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 降低至 $7.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 降解率为 98.5%。

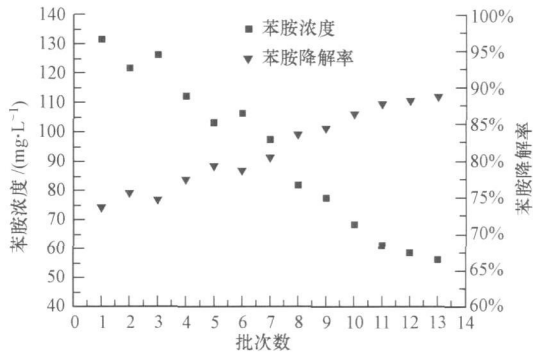


图 10 IBACFBs II 循环批次降解苯胺去除效果

Fig. 10 Removal efficiency of recycling batch process for aniline degradation by IBACFBs II

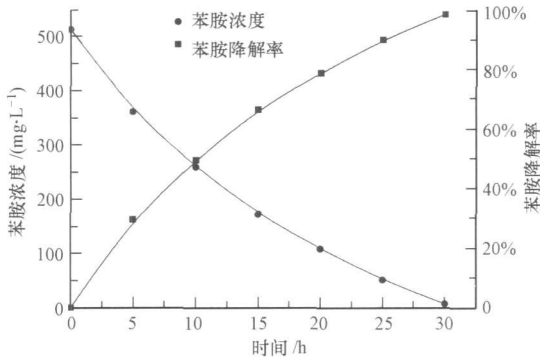


图 11 循环批次反应后 IBACFBs II 降解苯胺去除率

Fig. 11 Removal efficiency of aniline degradation by IBACFBs II after the recycling batch process

4 讨论 (Discussion)

4.1 IBACFBs 小球机械性能和生化活性的分析

不同的固化方法对小球的机械性能影响不同。当微生物-聚合物的混合物被滴入到固化剂溶液中即形成凝胶小球,聚乙烯醇和硼酸反应增加了小球的强度和稳定性,而溶液中 Ca^{2+} 取代海藻酸钠中的 Na^+ 形成海藻酸钙的反应改善小球的表面性质和传质性能,减少小球的凝聚倾向 (Dave and Madamwar 2006)。聚乙烯醇是具有支链羟基基团的亲水性有机聚合物。这些羟基基团与硼酸反应形成网络结构使聚乙烯醇形成凝胶,未反应的羟基基团会与水形成氢键使凝胶内含有水而形成多孔结构 (Lozinsky *et al.*, 1998)。聚乙烯醇性质及其与硼酸的反应决定了小球的吸水膨胀性。海藻酸钠能与固化剂溶液中的 Ca^{2+} 快速反应形成空间网络结构 (Sugira *et al.*, 2005)。当微生物-聚合物的混合物被滴入到固化剂溶液中, Ca^{2+} 与海藻酸钠的反应要快于聚乙

烯醇与硼酸的反应,先形成了小球的网络框架,促使聚乙烯醇交联反应时不易凝聚在一起,成形小球具有较好的弹性和球形性 (Dave *et al.*, 2006)。而 PO_4^{3-} 能与海藻酸钙反应,生成羟磷灰石微球体,破坏海藻酸钙形成的较为严密的网络结构,增强小球的通透性、吸水性和弹性 (Ribeiro *et al.*, 2004)。IBACFBs I 虽然经过硼酸和 CaCl_2 混合溶液固化,但是经过 Na_2PO_4 处理后其强度下降、通透性增强、吸水性和膨胀性增加,因此容易破碎。IBACFBs II 仅仅用 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 溶液固化,形成了严密的网格结构,而冷冻的处理过程将会限制聚乙烯醇分子的流动性,有利于聚乙烯醇分子的凝聚,更增强了交联位的强度和聚乙烯醇凝胶的孔径控制 (Wang *et al.*, 2006)。因此,IBACFBs II 的膨胀性能、强度和稳定性都很好。IBACFBs III 只在 CaCl_2 溶液中短暂停留,仅在表面形成海藻酸钙的网格,内部未与硼酸交联的聚乙烯醇的羟基仍能自由地与水形成氢键,故吸水性和膨胀性较强,强度和稳定性则低于 IBACFBs II。所以,表 1 能反映 3 种不同方法固定化的 IBACFBs 机械性能有差异。

图 1 显示了 IBACFBs II 的生化活性强于 IBACFBs III 其原因可能是在 IBACFBs III 固化过程中使用的硼酸对细菌细胞有较大的毒性,会使部分细胞的失活 (Wang *et al.*, 2007); 冷冻虽然会降低 IBACFBs II 内细菌细胞的活性,但是解冻后有的酶会表现出更强的活性 (周群英等, 2007)。所以,IBACFBs II 具有比 IBACFBs III 更强的苯胺降解生化活性。

4.2 反应条件对 IBACFBs 生化性能的影响

通常溶液的酸碱性能影响细胞表面和基质的带电性能,影响细胞的氧化还原电位,影响酶的稳定性和活性,所以对细菌细胞的生理活性有很大影响 (周群英等, 2007; Wang *et al.*, 1997)。温度会影响酶的活性,最终影响生化性能。图 3 的结果还表明混合菌群能适应偏碱性的环境,而不能适应偏酸性的环境。曹宏斌等研究的生物膜接触氧化法处理苯胺废水的 pH 范围为 6.6~7.8 与本实验研究的结果较为相似 (曹宏斌等, 2004); 而刘志培和李岩分离得到两株降解苯胺的纯种菌的最适 pH 也都为 7 (刘志培等, 1999; 李岩等, 2007), 与本实验一致。图 4 的结果表明,温度为 30℃ 是细菌降解苯胺的最适温度,这与刘志培和李岩分离得到 3 株高效降解苯胺的纯种菌最适温度一致 (刘志培等, 1999; 李岩

等, 2007); 该图还表明, 该混合菌群在低于其最适温度一定范围时, 仍能具有较强的苯胺去除能力, 而高出其最适温度相同的范围时, 降解苯胺的能力迅速降低。

从图 3和图 4分析 pH和温度对 IBACFBs II生化活性的影响而得到最适反应条件: 初始 pH为 7, 反应温度为 30℃. 在此条件下, 微生物内部的酶系统具有最高的活性, 故微生物也具有最强的生化性能. 因此, 图 5与图 1相比, IBACFBs II能在更短的时间内达到更好的降解效果. 而相比于 Li研究悬浮细菌降解苯胺溶液的成果, IBACFBs II降解模拟废水所用时间虽然是其 1.9倍, 但所降解的苯胺浓度却是其 2.5~3倍, 降解率更高, 残留苯胺浓度更低 (Li *et al.*, 2007). 而相比于李岩和曾国驱研究的悬浮纯种菌降解苯胺的试验, IBACFBs II降解苯胺的浓度和降解率更高, 降解所需时间更少, 残余苯胺的浓度更低 (李岩等, 2007; 曾国驱等, 2006). 由于细胞固定化技术具有较强的菌种保持能力和较高的菌种浓度, 能够为微生物的新陈代谢提供较稳定的微环境, 提高微生物抵御有毒物质的能力, 虽然固定化的是混合菌种, 但也能达到比悬浮细菌甚至是悬浮纯种菌更好的苯胺去除效果. 图 6则表明, 降解过程中细菌适应了小球的环境, 利用苯胺作为碳源和氮源, 不断生长繁殖。

4.3 不同炭材料对固定化小球生化性能影响的分析

表 2和图 8表明, 活性炭纤维的比表面积、总孔容和微孔容都比活性炭要大, 而图 9表明, 活性炭纤维的中孔体积更大, 在 3~5nm 之间有一个较大的分布峰, 因而有利于微生物的固定、提高污染物吸附与脱附, 促进吸附和生化反应协同作用. 另外, 活性炭纤维的微孔大都开于表面, 这能够增加苯胺分子的吸附与脱附的速度, 传质较快 (Huang *et al.*, 2002); 而活性炭的微孔大都分布于中孔的内壁, 对分子吸附和脱附的速度相对较慢 (Bansal *et al.*, 1998). 因此, 活性炭纤维上附着的微生物周边的苯胺浓度相对较高; 底物浓度的提高, 增加了生物降解反应的速度. 而图 7的结果也证明了活性炭纤维吸附与细菌细胞生物降解之间的协同作用要强于活性炭吸附与细菌细胞生物降解之间的协同作用。

4.4 循环批次试验结果的分析

从图 10和图 11可以看出, 循环批次反应中 IBACFBs II的生化性能不断增强. 其原因是固定化

小球组分中钙的含量越高, 小球的网络结构越严密, 细胞的泄漏就越少, 最佳条件下的循环批次反应过程中, 内部的细菌细胞将不断增长, 细菌细胞也在小球的多孔结构小球中重新分布以更有利于利用基质 (Kitakawa *et al.*, 2000). 所以, 与图 4相比, 去除相同比率的苯胺所用时间减少约 16h 这表明, IBACFBs的生化性能在连续反应中的确有所提高, 而相比 Li的研究成果, 降解时间是其 1.25倍, 但所降解的苯胺浓度是其 2.5倍, 降解率也更高, 残余苯胺浓度也更低 (Li *et al.*, 2007). 因此, IBACFBs具有优良的可重复使用的优点, 而且其性能在连续使用中不断提升, 有利于强化对有机物的降解。

因此, 作为一种新型固定化生化法, 以 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ -冷冻-解冻法制备的固定化微生物活性炭纤维小球, 具有制作简单、操作方便、性能稳定、去除效果好、循环使用周期长等优点, 在去除一些有毒有机污染物时具有较大的优势, 因而极具深入研究和推广应用价值。

5 结论 (Conclusions)

1) 采用聚乙烯醇、海藻酸钠、活性炭纤维和浓缩细菌的混合物与 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 溶液固化, 并经过冷冻-解冻过程制备得到的 IBACFBs 具有较好的机械性能和生化性能, 要优于其它 2种方法制备的 IBACFBs 在最适条件下, IBACFBs 能在 46h 内将苯胺浓度由 $526\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降至 $9.6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 降解率达到 98.4%. 活性炭纤维对小球的机械性能并无显著影响。

2) 活性炭纤维和活性炭都能大大提高固定化生物小球的生化性能, 但由于活性炭纤维特殊的孔结构和巨大的比表面积, 它对固定化生物小球生化性能的提升作用要优于活性炭. 降解 $525\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 苯胺模拟废水 31h, 固定化生物活性炭纤维小球的降解率比固定化生物小球和固定化生物活性炭小球的降解率分别高出 23.5% 和 5.6%。

3) IBACFBs II降解苯胺的循环批次反应表明: 13个循环反应后, IBACFBs 仍能保持良好的强度和稳定性, 且生化性能有所提高, 在 30h 内可将苯胺浓度从 $526\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到 $7.6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 降解率高达 98.5%。

责任作者简介: 胡中华, 教授, 比利时安特卫普大学化学系获博士学位; 曾经在比利时新鲁文大学化工学院和新加坡国立大学

化工与环境系作为博士后和研究员工作. 现为同济大学化学系教授, 博导. 长期从事研制新型炭吸附剂及其应用, 催化与吸附在环境保护方面的基础研究和应用研究. 在 *Advanced Materials Carbon Catalysis Today, Separation and Purification Technology* 等国内外科技期刊上发表研究论文 100 多篇.

参考文献 (References):

- Anson J G, Mackinnon G. 1984 Novel pseudomonas plasmid involved in aniline degradation [J]. *Appl Environ Microbiol* 48: 868—869
- Aoki K, Shinke R, Nishira H. 1983. Identification of aniline-assimilating bacteria [J]. *Agr Biol Chem*, 46: 2563—2570
- Arzu Y D, Ozlem T. 2005. Internal mass transfer effect on biodegradation of phenol by Ca-alginate immobilized *Ralstonia outropha* [J]. *J Hazard Mater* 126: 105—111
- Bansal R C, Donnet J B, Stoeckli F. 1988. *Active Carbon* [M]. New York: Marcel Dekker NC, 119—120
- 曹宏斌, 李玉平, 陈艳丽, 等. 2004. 生物膜接触氧化法处理苯胺废水 [J]. *环境科学学报*, 24(1): 33—37
- Cao H B, Li Y P, Chen Y L, *et al*. 2004. Treatment of aniline by contact biological oxidation on the biofilm [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae* 24(1): 33—37 (in Chinese)
- Dave R, Madanwar D. 2006. Esterification in organic solvents by lipase immobilized in polymer of PVA alginate boric acid [J]. *Process Biochem*, 41: 951—955
- Hallas L E, Alexander M. 1983. Microbial transformation of nitroaromatic compounds in sewage effluent [J]. *Appl Environ Microbiol* 45: 1234—1241
- Huang Z H, Kang F, Huang W L, *et al*. 2002. Pore structure and fractal characteristics of activated carbon fibers characterized by using HRTEM [J]. *J Colloid Interface Sci* 249: 453—457
- Kikakawa N S, Izuka Y, Yonemoto T, *et al*. 2000. Intraparticle cell growth and cell leakage in cultures of *Nicotiana tabacum* cells immobilized in calcium alginate gel beads [J]. *J Chem Technol Biotechnol* 75: 1008—1014
- 刘志培, 杨惠芳, 周培瑾. 1999. 苯胺降解菌的分离和特性研究 [J]. *环境科学学报*, 19(2): 174—179
- Liu Z P, Yang H F, Zhou P J. 1999. Isolation and characterization of a bacterial strain for the degradation of aniline [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae* 19(2): 174—179 (in Chinese)
- Liu Z, Yang H, Huang Z, *et al*. 2002. Degradation of aniline by newly isolated extremely aniline-tolerant *Deftia* sp. AN3 [J]. *Appl Microbiol Biotechnol* 58: 679—682
- Li W, Barrington S, Kin J W. 2007. Biodegradation of pentylamine and aniline from petrochemical wastewater [J]. *Environ Manage* 83: 191—197
- 李岩, 李社增, 鹿秀云, 等. 2007. 苯胺高效降解菌的筛选及其生物学特性研究 [J]. *农业环境科学学报*, 26(5): 1738—1743
- Li Y, Li S Z, Lu X Y, *et al*. 2007. Isolation and characterization of aniline-degradation bacterial strains [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 26(5): 1738—1743 (in Chinese)
- Lozinsky V I, Plieva F M. 1998. Poly(vinyl alcohol) cryogels employed as matrices for cell immobilization. 3. Overview of recent research and developments [J]. *Enzyme Microb Tech* 23: 227—242
- Lyons C D, Katz S, Bartha R. 1984. Mechanisms and pathways of aniline elimination from aquatic environments [J]. *Appl Environ Microbiol* 48: 491—496
- O'Neill F J, Bromley-Challenor K C A, Greenwood R J. 2000. Bacterial growth on aniline: implications for the biotreatment of industrial wastewater [J]. *Water Res* 34(18): 4397—4409
- 任随周, 郭俊, 曾国驱, 等. 2006. 2株苯胺降解菌的分离鉴定及其降解特性研究 [J]. *环境科学*, 27(12): 2524—2530
- Ren S Z, Guo J, Zeng G Q, *et al*. 2006. Isolation and characterization of two aniline-degrading strains and compare of functional genes [J]. *Environmental Science* 27(12): 2524—2530 (in Chinese)
- Ribeiro C C, Barrias C C, Barbosa M A. 2004. Calcium phosphate-alginate microspheres as enzyme delivery matrices [J]. *Biomaterials* 25: 4363—4373
- Sugita S, Oda T, Yasuhiko J, *et al*. 2005. Size control of calcium alginate beads containing living cells using micro-nozzle array [J]. *Biomaterials* 26: 3327—3333
- Torng L, Reuschenbach P, Mller B, *et al*. 2002. Laboratory shake flask batch tests can predict field biodegradation of aniline in the Rhine [J]. *Chemosphere* 49(10): 1257—1265
- Vander H J P, Hofman J A H, Gaveland A. 1999. The use of biological activated carbon filtration for the removal of natural organic matter and organic micropollutants from water [J]. *Wat Sci Tech* 40(9): 257—264
- 王晨, 马放, 山丹, 等. 2007. 固定化生物活性炭处理含硝基苯微污染水的可行性研究 [J]. *环境科学*, 28(7): 1490—1495
- Wang C M a F, Shan D, *et al*. 2007. Feasibility of treatment of micropollutant water polluted by nitrobenzene with BAC-process [J]. *Environmental Science*, 28(7): 1490—1495 (in Chinese)
- Wang J L, Liu P, Qian Y. 1997. Biodegradation of phthalic acid esters by immobilized microbial cells [J]. *Environ Int* 23(6): 775—782
- Wang J L, Quan X C, Han L P, *et al*. 2002. Microbial Degradation of Quinoline by Immobilized Cells of *Burkholderia picketti* [J]. *Water Res* 36: 2288—2296
- Wang Y J, Yang X J, Li H Y, *et al*. 2006. Immobilization of acidithiobacillus ferrooxidans with complex of PVA and sodium alginate [J]. *Polym Degrad Stab* 91: 2408—2414
- Wang Y J, Yang X J, Tu W, *et al*. 2007. High-rate ferrous iron oxidation by immobilized *Acidithiobacillus ferrooxidans* with complex of PVA and sodium alginate [J]. *J Microbiol Meth*, 68: 212—217
- 曾国驱, 任随周, 曹渭, 等. 2006. 兼性厌氧苯胺降解菌的分离鉴定及其特性 [J]. *环境科学*, 27(8): 1618—1622
- Zeng G Q, Ren S Z, Cao W, *et al*. 2006. Isolation and Characterization of a Facultative Anaerobic Aniline-Degrading Bacterium [J]. *Environmental Science*, 27(8): 1618—1622 (in Chinese)
- Zhang L S, Wu W Z, Wang J L. 2007. Immobilization of activated sludge using improved polyvinyl alcohol (PVA) gel [J]. *J Environ Sci* 19: 1293—1297
- 周群英, 高廷耀. 2007. *环境工程微生物学* [M]. 北京: 高等教育出版社, 85—86
- Zhou Q Y, Gao T Y. 2007. *Microbiology of environmental engineering* [M]. Beijing: Advanced education press, 85—86 (in Chinese)