

焦化废水优势菌的分离及其降解特性研究

专 业：环境工程

硕士生：徐 云

指导教师：聂麦茜

摘 要

焦化废水成分复杂，含有毒难降解有机物种类多，浓度高。目前，国内大多数焦化厂采用常规活性污泥法处理焦化废水，但是，出水 COD 浓度高，达不到国家排放标准。因此，近年来，在寻求治理焦化废水的过程中，科研工作者进行大量的研究，以找到一种既高效又经济的治理方法，改善环境质量，实现水资源的循环利用。

本文对焦化废水的来源、特点、主要组成、目前处理技术现状及处理技术进展等进行了较全面的综述，特别对难降解有机废水治理方法中的生物强化技术进行了详细的论述。在此基础上，本文提出了从环境中分离降解焦化废水的优势菌，全面系统地研究这些优势菌的降解特性，为焦化废水降解的可行性研究提供新的思路。

本研究是用焦化废水驯化活性污泥，再分别从焦化废水和活性污泥中选取菌源，按常规方法对细菌进行筛选、分离及鉴定；研究优势菌对焦化废水的去除效果；研究无机离子及初级共代谢基质对优势菌降解性能的影响；以 COD 为控制指标，研究了优势菌对焦化废水的净化效能。本研究分离出 7 株菌：JB1、JB2、JB3、JB4、JB5、JB6、JB7，经初步鉴定：JB1 为假单胞菌属，JB2 为奈瑟氏球菌属，JB3、JB4 为黄单胞杆菌属，JB5、JB7 为微杆菌属，JB6 为芽孢杆菌属。

对分离出菌种的特性进行了较为详细的研究，培养条件的实验研究结果表明，当温度为 30℃，pH 值为 7，110r/min 振荡培养时，有利于菌种的生长繁殖。碳源、氮源、无机离子等强化因子对焦化废水的降解有一定的促进作用，对培养基中无机离子的添加及加入量的正交实验研究表明，向原有降解培养基中加入 Mn^{2+} 离子浓度为 10mg/L， Fe^{2+} 离子浓度为 0.5 mg/L， Cu^{2+} 离子浓度为 0.5 mg/L， Ca^{2+} 离子浓度为 10mg/L 时，焦化废水去除效果最好。综合条件下的正交实验研究表明，培养基中加入共代谢初级碳源葡萄糖的浓度为 4g/L，菌种比例为 JB1：JB4=1：2，培养基装量为 30mL 时，去除效果明显。

应用研究表明，优势菌与活性污泥配合能明显提高焦化废水 COD 的去除率，利用投加这些优势菌可望使焦化废水 COD 达标排放。本文获得的试验结果，可供进一步研究和应用时参考。

关键词：焦化废水，优势菌，生物降解，共代谢

The Separation and the Studying of Degradation Ability of Coke-Plant Wastewater Preponderant Bacterium

Speciality: Environment Engineering

Name: Xu Yun

Instructor: Nie Maiqian

Abstract

The components of coke-plant wastewater are very complex. There are large amounts of refractory organics in it, and their concentrations are high. At present, the removal rate of the refractory organics by the conventional activated sludge process is low, which results in a relatively high value of COD in effluent, so the quality of effluent cannot reach the national draining standard. So, recently, the scientific researchers precede extensive research, and then look for the high-efficiency, economy ways to treat coke-plant wastewater, which improve environment quality and realize water-resource recycle.

This paper has recounted the origin, characteristic, mostly constituting, actuality and advance in the technology of treating coke-plant wastewater. Among the treatment of toxic organic wastewater, bioaugmentation has been discussed, and applied in coke-plant wastewater treatment. Therefore, Separate the bacterium strains from the environment, study the bacterium strains' degradation capability in treating coke-plant wastewater to provide the good bacterium strains for biodegradation of actual wastewater.

Effective strains were isolated from coke-plant wastewater and sludge cultivated by coke-plant wastewater, then separated and identified simply. Detailed study has been carried out on the separated efficient strains' degradation capability, the influence of their biodegradation by primary carbon for co-metabolizing、inorganic ion, the removal effect on coke-plant wastewater according to COD data. Seven effective bacterium strains was separated: JB1、JB2、JB3、JB4、JB5、JB6、JB7. The identification result is that JB1 belongs to *Pseudomonaceae*, JB2 belongs to *Neisseriaceae*, JB3、JB4 belongs to *Flavobacterium*, JB5、JB7 belongs to *Corynebacteriaceae*, JB6 belongs to *Bacillaceae*.

Detailed study had been carried out on specific property of the separated efficient bacteria. The experimental research result show that it is the best cultivate condition, when temperature is 30°C, pH is 7, shaking culture is at 110r/min. All these conditions are favorable for the growth and reproduction of the strains. Primary carbon and nitrogen source、inorganic ion can effectively accelerated the degradation processes of coke plant wastewater.

The orthogonal experimental research result show that the removal ratio can be speeded up, when adding 10mg/L manganese ion, 0.5 mg/L ferrous ion, 0.5 mg/L copper ion, and 10mg/L calcium ion into the culture media which including coke-plant wastewater. Under the synthesis condition ,the result is that the degradation effect is obvious, when adding 4g/L glucose with corresponding inorganic ion, JB1: JB4=1: 2 the proportion of bacteria, and 30mL culture media .

The results of application studying show that effective strains can obviously raise COD removing rate of coke-plant wastewater cooperating with activated sludge. It will be possible that effluent COD meet with the national draining standard when the isolates are utilized in treatment system. The experimental results obtained in this paper provide references for further research and utilization.

Key words: Coke-plant wastewater, Preponderant strains, Biodegradation, Cometabolism

声 明

本人郑重声明我所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知,除了文中特别加以标注和致谢的地方外,论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果,也不包含本人或其他人在其它单位已申请学位或为其它用途使用过的成果。与我一同工作的同志对本研究所做的所有贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了致谢。

申请学位论文与资料若有不实之处,本人承担一切相关责任。

论文作者签名: 符云

日期: 2004.5.8

关于论文使用授权的说明

本人完全了解西安建筑科技大学有关保留、使用学位论文的规定,即:学校有权保留送交论文的复印件,允许论文被查阅和借阅;学校可以公布论文的全部或部分内容,可以采用影印、缩印或者其它复制手段保存论文。

(保密的论文在论文解密后应遵守此规定)

论文作者签名: 符云

导师签名: 高春苗

日期: 2004.5.8

在焦化生产工艺过程中的每个工段都会有不同量的废水产生，各工段的废水混合形成焦化废水，其组成成分复杂多变。

焦化废水的来源主要有：

- (1) 原料煤挟带入水，炼焦时产生的化合水
- (2) 冷凝或分离出来的剩余氨水，洗氨的富氨水
- (3) 在熄焦冷却过程中产生大量含酚废水
- (4) 在脱焦油洗苯、洗萘过程中，有大量芳烃及多环芳烃类化合物，含氮、含硫杂环化合物进入废水中。

焦化废水的特点：焦化废水成分复杂，有毒有害难降解有机物含量高，氨氮浓度高，焦化厂产生废水的数量与性质，根据所用工艺和化工产品精加工深度的不同而有差异^[4]，水质水量变化较大，这使得焦化废水成为一种较难生物处理的废水。

1.1.2 焦化废水的主要组成

焦化废水所含污染物主要包括酚、氨氮、氰化物、硫氰化物、硫化物、苯、焦油等有毒物质，以及吡啶、萘、菲、葱等杂环芳烃和多环芳烃^[5]。经 GC-MS 测定，焦化废水中共有 51 种有机物，它们全部属于含苯环的芳香类化合物和杂环化合物^[6]。对这些有机物进一步归纳，可分成 14 大类，如表 1.1 所示。其中苯酚类及其衍生物所占比例最大，占质量百分比的 60.08%。其次为喹啉类化合物和苯类及其衍生物，所占比例分别为 13.47%和 9.84%，这 3 大类物质构成了焦化废水中的主要有机物。以吡啶类、萘类、吲哚类、联苯类为代表的杂环化合物和多环芳烃（表 1.1 中序号 4 至 14）各所占比例在 0.13%~1.62%之间，总质量百分比约为 16.61%，这 11 类物质构成了焦化废水中除主要污染物以外的剩余污染物。

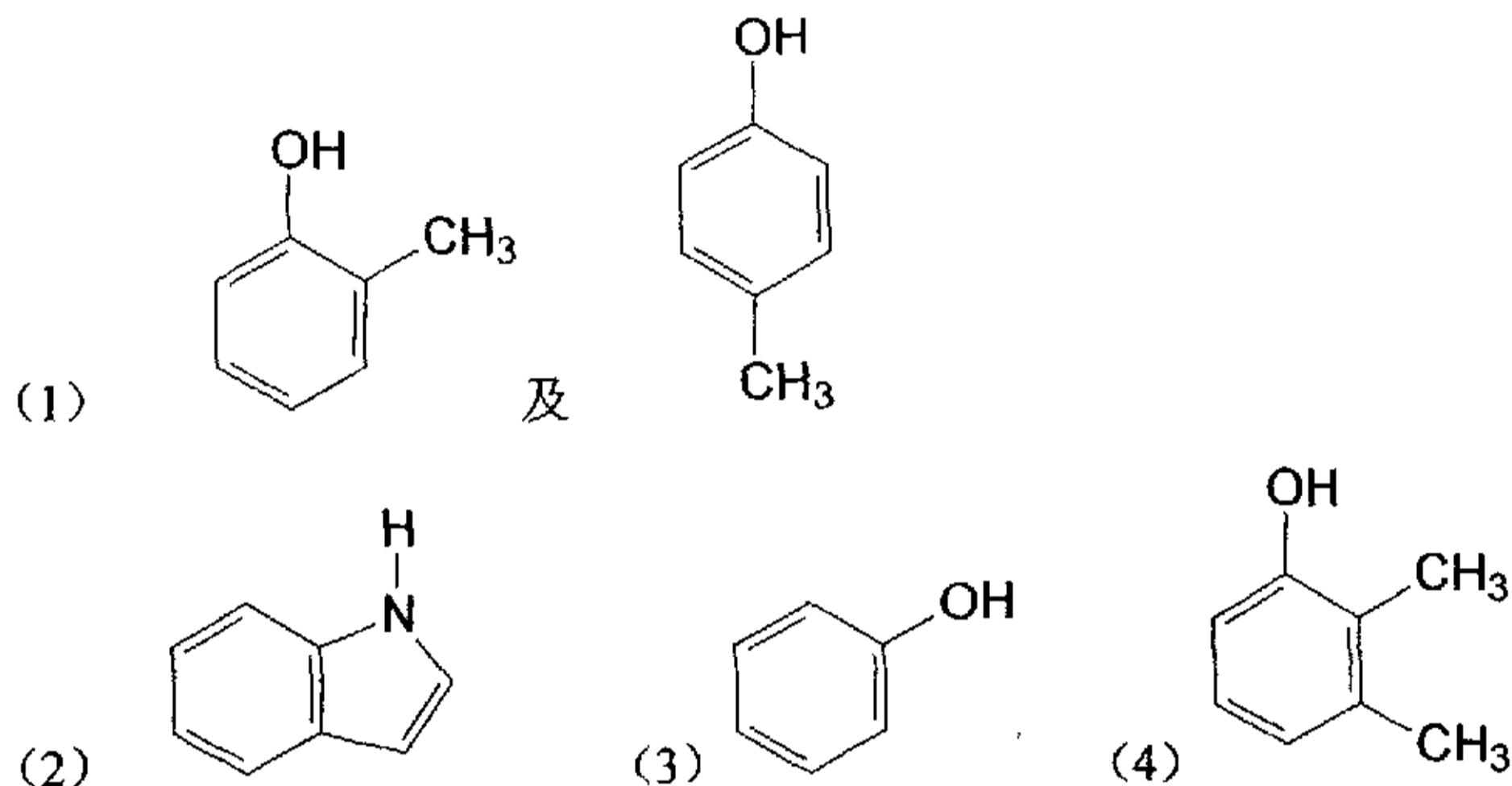
表 1.1 焦化废水中有机物类别及含量^[6]

序号	物质类别	质量百分比 (%)	所占 TOC 浓度/(mg/L)
1	苯酚类及其衍生物	60.08	189.85
2	喹啉类化合物	13.47	42.57
3	苯类及其衍生物	9.84	31.09
4	吡啶类化合物	2.42	7.647
5	萘类化合物	1.45	4.582
6	吲哚类	1.14	3.602
7	咪唑类	0.95	3.002
8	呋喃类	1.61	5.277
9	咪唑类	1.60	5.056

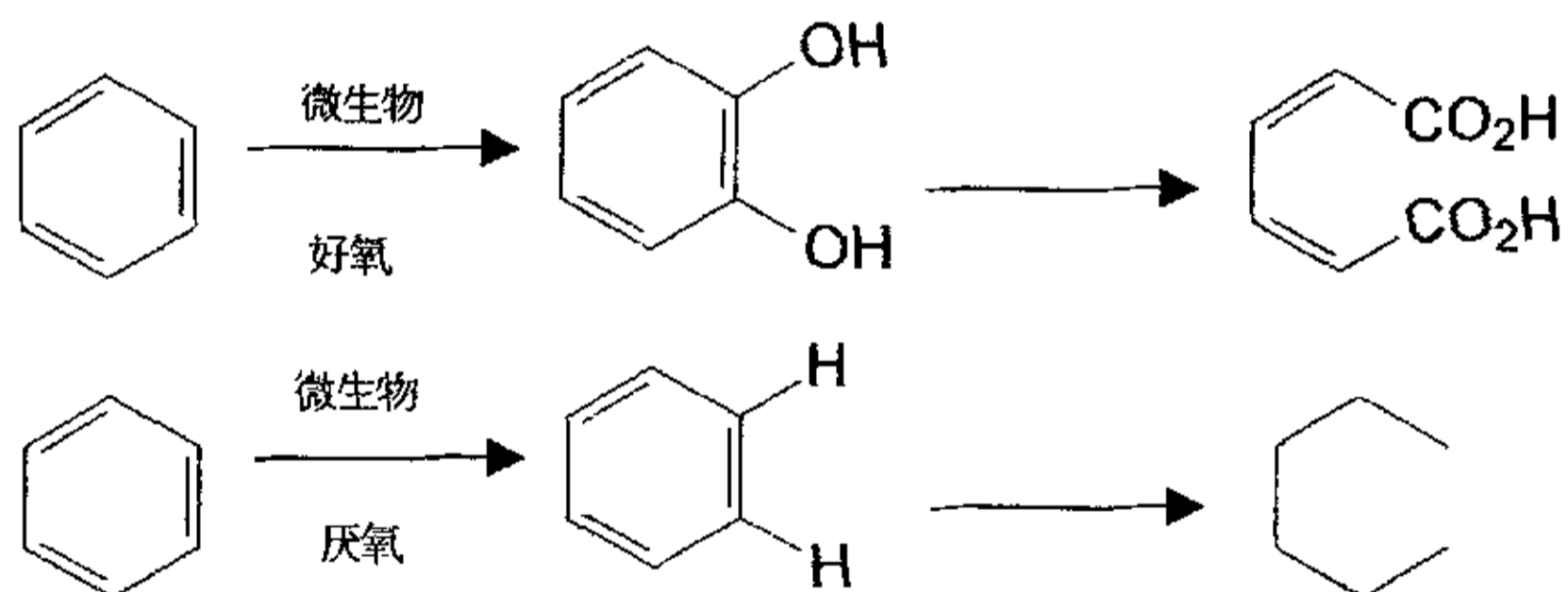
(续表 1.1)

10	吡咯类	1.29	4.076
11	联苯、三联苯类三环以	2.09	6.604
12	上化合物	1.80	5.688
13	吩噻嗪类	0.84	2.654
14	噻吩类	1.36	4.290

焦化废水中主要污染有机物的分子结构为^[7]:



打破苯环是焦化废水处理的关键反应, 其中好氧、厌氧反应的反应式如下:



1.1.3 焦化废水处理技术现状

目前, 焦化厂广泛使用的普通生化处理工艺, 基本上由除油池、调节池、浮选池、曝气池、污泥沉淀池、混凝沉淀池和鼓风机等设施设备组成, 由于氨氮浓度太高, 故在进入生化处理装置前, 废水先混合送蒸氨装置脱去大部分氨氮。其废水处理工艺如图 1.2 所示^[3]。

普通生化处理设施能将焦化废水中的酚、氰等有效地除去, 两项指标能达到排放标准。但由于该技术的局限性, 其处理出口排水中的 COD_{Cr} 、 BOD_5 、 $\text{NH}_3\text{-N}$ 等污染物指标均难于达标, 特别是对 $\text{NH}_3\text{-N}$ 污染物几乎没有降解作用。生化处理设施出口排水中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 在 200mg/L 左右、 COD_{Cr} 在 300mg/L 左右, 这与《污水综合排放标准》(GB8978-1996) 中所要求的 $\text{COD}_{\text{Cr}} < 150\text{mg/L}$ 、 $\text{NH}_3\text{-N} < 15\text{mg/L}$ 相去甚远。表 1.2 列举了国内部分焦化厂的排污及处理情况。

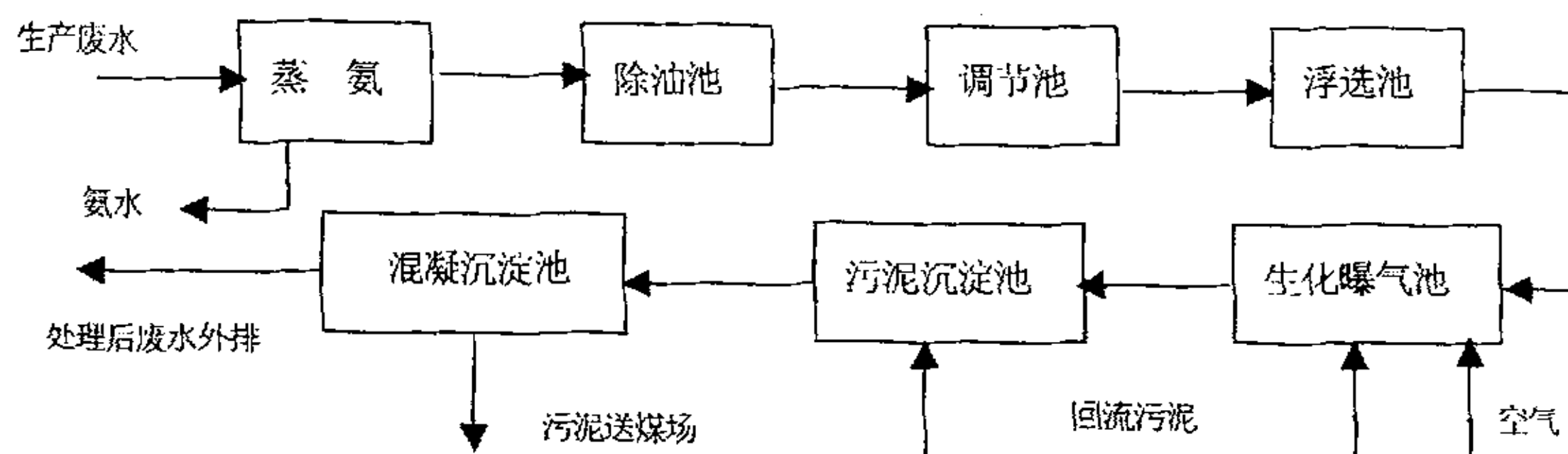


图 1.2 现有焦化厂所采用的废水处理工艺

表 1.2 国内焦化厂生化处理出水污染物浓度和处理量

厂名	生产规模 (m ³ /h)	COD			NH ₃ -N		
		浓度 (mg/L)	去除率 (%)	达标 情况	浓度 (mg/L)	去除率 (%)	达标 情况
首钢焦化厂	170	451	75.7	未	330	39.5	未
鞍钢化工总厂	420	388	8608	未	191	14.6	未
平顶山焦化厂	173	270	64.6	未	—	—	—
邵钢焦化厂	50	250	97.8	未	500	88.9	未
攀钢焦化厂	200	516	62.7	未	551	19.4	未
邢钢焦化厂	38	203	66.0	未	—	—	—
石家庄焦化厂	111	277	80.6	未	81	—	未
太钢焦化厂	160	666	83.6	未	607	12.7	未
山西焦化集团	100	264	75.4	未	—	—	—
涟钢焦化厂	50	303	74.9	未	—	—	—
马钢煤焦化厂	300	397	56.0	未	—	—	—
上海梅山焦化厂	167	254	69.7	未	233	30.0	未
武钢焦化厂	300	369	78.1	未	296	20.7	未
南钢焦化厂	60	146	90.2	达	225	29.7	未
莱钢焦化厂	100	346	65.7	未	—	—	—

1.1.4 焦化废水处理技术进展

1.1.4.1 焦化废水的预处理技术

焦化废水大多采用生化法处理,但是焦化废水中含有大量对微生物有强烈抑制和毒害作用的物质,这增加了生化处理的难度,因此预处理变得非常重要^[8]。

铁屑已广泛用于含酚废水、含油废水、脂化废水、印染废水等的预处理^[9-12]。在铁屑中加入辅料,并曝气对焦化废水进行预处理,在没有将废水 pH 调节至酸性的情况下,取得了较好的预处理效果, COD_{Cr} 的去除率约 40%^[8]。

焦碳,煤气生产排放的污水含酚高达 2~12g/L,并含有较高浓度的焦油、氰离子,需进行预处理才能进入处理装置。对于这类焦化废水,吕鉴^[13]建议用萃取脱酚工艺进行焦化含酚废水预处理,酚的去除率可达 80%之多,可以大幅度降低水中的酚含量,回收酚钠盐,有较好的经济效益。

焦化废水中各类有机物表现出不同的挥发特性。乙苯、萘等 11 种物质比较容易挥发,12h 空曝后其去除率约为 20~40%^[14]。

另外,常用的预处理方法还有厌氧酸化法^[15]。厌氧酸化法是一种介于厌氧和好氧之间的工艺,其作用机理是通过厌氧微生物水解和酸化作用使难降解有机物的化学结构发生变化,生成易降解物质。厌氧微生物对于杂环化合物和多环芳烃中环的裂解,具有不同于好氧微生物的代谢过程,其裂解为还原性裂解和非还原性裂解。厌氧微生物内具有易于诱导,较为多样化的健全的开环酶体系,使杂环化合物和多环芳烃易于开环裂解。焦化废水中存在一些易降解有机物,可以作为厌氧酸化预处理中微生物生长代谢的初级能源和碳源,满足了厌氧微生物难降解有机物的共基质营养条件。焦化废水经厌氧酸化预处理后,可以提高难降解有机物的好氧生物降解性能,为后续的好氧生物处理创造良好条件^[16]。

1.1.4.2 焦化废水的二级处理技术研究进展

焦化废水经预处理后,废水的可生化性得到了提高,但其中仍然含有大量的难降解有机物,必须进行二级处理。

为了提高 COD_{Cr} 及 NH₃-N 的去除率,近年来人们从微生物、工艺流程及反应器几方面着手,进行了大量的研究开发工作,主要集中于生化处理技术和化学处理技术的研究^[17]。

(1) 固定化微生物技术

固定化微生物技术,是国际上从 20 世纪 60 年代后期开始迅速发展的一项技术,它是通过化学或物理手段将游离的微生物固定在载体上使其高度密集,并使其保持活性反复利用的方法。最初主要用于工业微生物发酵生产,20 世纪 70 年代后期开始用于废水处理。

吴立波等人^[18]用多孔陶粒吸附自固定化混合硝化菌种来处理焦化废水,比较了自固定化前后菌种活性的变化。结果表明,附着相和悬浮相菌种的硝化活性相近,但当外界条件变化或毒性物质存在时,附着相微生物的抗耐性明显强于悬浮相。

孙艳等人^[19-20]从北京焦化厂排放的含酚废水中分离纯化一种降解苯酚的细菌,驯化后采

用海藻酸钠对菌种进行包埋。处理结果表明,与游离细胞相比,最大反应速度分别为 $8.3\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{h})$ 和 $83.3\text{mg}/(\text{L}\cdot\text{h})$,底物饱和常数分别为 $200\text{mg}/\text{L}$ 和 $285.7\text{mg}/\text{L}$ 。由此可见,固定化细胞在降解有毒物质方面,有巨大的应用潜力。

(2) 生物流化床技术

近年来,生物流化床技术在含酚废水的处理方面呈现良好的发展前景^[21]。生物流化床是以砂、焦炭、活性炭这类颗粒材料为载体,水流自下向上流动,使载体处于流化状态,在载体表面生长,附着生物膜。载体粒径一般为 $1.0\sim 2.0\text{mm}$ 。生物流化床兼有完全混合式活性污泥法接触所形成的高效率和生物膜法能够承受负荷变化冲击的双重优点,具有良好的处理效果,因此近年来在处理难降解有机物废水方面越来越受到人们重视。

Paul M. Sutton 等人^[22]用流化床反应器(FBR)对加拿大 Algome 钢厂焦化废水的应用处理进行了研究,其中废水流量 $40\text{m}^3/\text{h}$,含酚质量浓度为 $1000\text{mg}/\text{L}$,并加入等量的稀释水加以控制水温。2周后,流化床反应器出水中酚的去除率达 99%;5周后,硫氰酸盐的质量浓度降至 $5\text{mg}/\text{L}$ 以下。

(3) 生物脱氮技术

目前,人们对焦化废水生物脱氮的研究主要集中于厌氧+缺氧/好氧(A-A/O)和序批式间歇反应器(SBR)工艺。与普通生化处理工艺相比,它不仅能去除废水中的氨氮污染物,而且 COD_{cr} 等指标也有了改善。

Ming Zhang 等人^[23]对 A-A/O 固定床生物膜系统处理焦化废水进行了研究。试验结果表明,该系统能稳定有效地去除 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 COD_{cr} 。当系统总的水力停留时间(HRT)为 31.6h 时,出水中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 和 COD_{cr} 的质量浓度分别为 $3.1\text{mg}/\text{L}$ 和 $114\text{mg}/\text{L}$,去除率分别为 98.8%和 92.4%。间歇测试结果表明,厌氧处理不同于缺氧处理,与缺氧处理相比,厌氧处理中酚的去除率较低,而复杂的大分子有机物的去除率较高,其生物降解能力比缺氧处理高。

Min Woo Lee 等人^[24]以醋酸钠作为外加碳源,研究了用 SBR 工艺完全脱除焦化废水中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的可行性。结果表明,外加碳源的添加速率能显著影响反硝化的效率,其最佳速率由反硝化阶段的 COD 与 $\text{NH}_x\text{-N}$ 的比值决定。在生物脱氮系统中,废水中可溶解污染物的总去除率大于 95%。Hanqing Yu 等人^[25]用 SBR 工艺处理焦化废水的结果表明,采用曝气段前后各进行一段缺氧处理的方式比采用其他方式脱氮效果更好。李春杰等人^[26]在 SBR 反应器中引入聚偏氟乙烯(PVDF)中空纤维膜,即采用一体化膜序批生物反应器(SMSBR)来强化处理焦化废水。结果表明,经膜处理后,出水中 COD 可以稳定在 $100\text{mg}/\text{L}$ 以下。

(4) 催化湿式氧化技术

催化湿式氧化技术是在高温、高压,且有催化剂作用下,使用空气将废水中的氨氮和有机污染物氧化,最终转化成无害物质 N_2 和 CO_2 排放。该技术的研究始于 20 世纪 70 年代。炼焦过程中产生的污染物,其它有毒污染物如:农药、染料、橡胶、合成纤维、易燃、易爆及难

于生物降解的高浓度有机废水都适合于催化湿式氧化处理^[27]。

1987年至1992年,鞍山焦院与中国科学院大连物化所合作,成功研制出双组分的高活性催化剂,对高浓度的氨氮和有机废水具有很好的处理效果^[3],但催化剂价格昂贵,运行费用高,使其应用受到限制。

(5) 电化学氧化技术

Li-Choung Chiang 等人^[28]采用 PbO_2/Ti 作为电极,对电化学氧化法处理焦化废水进行了研究。结果表明,电解 2h 后,废水中 COD 由 2143mg/L 降至 226mg/L,去除率为 89.5%。废水中大约 760mg/L 的 NH_3-N 也被同时去除。

(6) 芬顿试剂技术

芬顿试剂对有机分子的破坏是非常有效的,其实质是二价铁离子和过氧化氢之间的链反应催化生成·OH 自由基,三价铁离子催化剂(称芬顿类试剂)也能激发这个反应,这两个反应生成的·OH 自由基能有效地氧化各种有毒的和难处理的有机化合物;或者采用紫外灯作为辐射能源放射紫外线进入废水,当过氧化氢被紫外光激活后,会产生一个高反应性的·OH 自由基,这个·OH 基团迅速引发氧化反应,最终有机化合物被分解为 CO_2 和 H_2O 。K.Banerjee 等经实验证明:采用过氧化氢添加铁盐和同时采用紫外光、二价铁离子和过氧化氢与三价铁离子催化剂的两个处理过程都能有效地降低焦化废水中 COD 值^[29]。

(7) 利用烟道气处理焦化剩余氨水或焦化废水

为了彻底解决焦化废水的污染问题,殷广谨等人^[30]采用一种与生化法截然不同的处理技术,即利用烟道气处理焦化剩余氨水或全部焦化废水,在江苏淮钢集团焦化剩余氨水处理工程中获得成功应用。

1.1.4.3 焦化废水深度处理技术

焦化废水二级处理出水中 COD 和 NH_3-N 常常超标,应进行三级处理。目前,三级处理方法主要有:化学氧化法、折点加氯法、絮凝沉淀辅以加氯法、吸附过滤辅以离子交换法等,但由于经济和技术的原因,这些方法均处于试验阶段,目前较为经济可行的三级处理方法主要有以下两种。

(1) 氧化塘深度处理技术

氧化塘深度处理焦化废水简单易行,处理效果好,能耗低,易管理,费用低。COD 进水浓度在 250~400mg/L 范围内,该方法对 COD 处理效果较为理想。吴红伟^[31]等采用氧化塘深度处理焦化废水,试验结果表明,处理出水 COD, NH_3-N 均可达标排放。但是,氧化塘占地面积大,推广较困难。

(2) 粉煤灰吸附法

粉煤灰是热电厂燃煤粉锅炉排放的固体废气物,利用 x 光衍射仪对粉煤灰的测定结果表

明,其主要成分是 SiO_2 、 Al_2SO_5 、 NaAlSiO_4 等,将粉煤灰作为吸附剂深度处理焦化废水,脱色效果好,对 COD_{cr} 、挥发酚、油等去除效果好,费用低廉。张兆春^[32]等研究表明腐殖酸类植物—长焰煤作为吸附剂对焦化废水中化学耗氧物质具有较快的吸附速率以及可观的吸附容量,可以对焦化废水进行深度处理。但是,必须考虑吸附剂的再生。

夏畅斌^[33]等研究了粉煤灰与少量的硫酸烧渣和适量的固体 NaCl 混合,将混合物在加热条件下用稀硫酸处理,制得集物理吸附和化学混凝为一体的混凝剂。这种混凝剂与无机高分子絮凝剂 PSA 配合用于焦化废水的处理,SS、 COD_{cr} 、色度和酚的去除率分别为 95%、86%、96% 和 92%。

1.2 生物强化技术在焦化废水处理中的应用

1.2.1 生物强化技术的提出与焦化废水污染的净化问题

随着现代化工合成技术的发展,大量的异生化合物 (*Xenobiotics*) 进入工业废水和城市污水中,由于其本身的结构复杂性和生物陌生性,很难在短时间内被常规生物处理系统中的微生物利用而进入物质循环,使处理系统出水水质恶化。为了充分利用现有的处理设施和技术,国外研究者提出生物强化技术 (*Bioaugmentation*) 提高原有工艺对难降解有机物的生物降解效率。

生物强化技术,它产生于 20 世纪 70 年代中期^[34],自 20 世纪 80 年代以来得以广泛的研究和应用。产生初期是因为一些废水治理厂的突发事故,如菌体大量死亡、有毒有害物质泄露等致使废水达不到排放标准,于是直接投加高效菌种以改善出水水质,使系统恢复正常。一般的生物治理技术对于浓度较高、易于生物降解的废水去除率高,但当废水中含有暂时性的有毒物质,它们会对菌体起到毒害作用,用一般生物方法治理,降解速率较慢,菌体需要一段较长的时间来适应,而现阶段的生物强化技术恰好弥补了这一不足,通常是在生物处理系统中投加具有特定功能的微生物、营养物或基质类似物来改善和优化原有处理系统的处理效果,促进对难降解有机物的去除。投加的微生物来源于原来的处理系统,经过驯化、富集、筛选、培养使其达到一定数量,也可以利用外源的微生物。于是国内外研究人员开始研究把这项技术用于工业废水、地表水及地下水中难降解的有毒有害物质的治理或用于改善提高废水处理效果。生物强化技术与一般生物治理技术相结合,在废水治理中已显示其独特的作用。

生物强化技术包括:

- (1) 筛选分离高效优势菌种及专一酶;
- (2) 寻找对微生物代谢难降解物有促进作用的共代谢物质;
- (3) 基于微生物对污染物的降解性与其所携带的降解性质粒有关,利用降解性质粒的相容性,把能够降解不同污染物的质粒组合到一个菌体中,组建遗传基因工程菌 (GEM),使其能降解多种污染物,或用一种菌即可完成降解过程的多个环节;

(4) 创造适合于微生物生长, 同时又有利于难降解有机物的生物代谢环境。

目前已经分离的一些具有代谢难降解有机物能力的菌株, 如表 1.3 所示:

表 1.3 一些难降解有机物降解菌

难降解有机物	菌株	难降解有机物	菌株
2, 4, 6—三硝基甲 苯	<i>Pseudomonas</i>	萘	<i>Pseudomonas</i>
2, 4—二硝基甲苯	<i>Pseudomonas putida F1</i>	2, 6—二氯苯	<i>Pseud.Cepacia</i>
1, 3—二硝基甲苯	<i>Pseudomonas sp.JS150</i>	二氯苯	HCV(有机质)
2—硝基苯酚	<i>Pseudomonas sp.QT-1</i>	2, 4, 6—三氯苯酚	<i>Pseud.sp.</i>
4—硝基苯酚	<i>Pseudomonas putida</i>	五氯酚	<i>Alcaligenes sp.</i>
3 氯/4 氯苯胺	<i>Flavobacteria sp.</i>	多氯联苯	<i>Mycobacterium</i>
三氯乙烯	<i>Pseud.Oucidovorans</i>	2—氯甲苯	<i>chlorophenolicum</i>
3, 4—二氯苯胺	<i>Pseudomonas Cepacia</i>	四氯化碳	<i>Flavobacterium</i>
	<i>Pseud</i>		<i>Pseud.DM1/DM2</i>
			<i>Acetobacterium</i>

生物强化技术已在许多工程上使用, 实施途径有: 投菌技术、细胞固定化技术、酶固定化技术及投加能促进微生物代谢难降解污染物的初级共基质物质。总之, 生物强化技术的宗旨是加快有毒且难以被生物利用的污染物的生物降解。

焦化废水是一种含有大量有毒有害物质的有机废水。其有机组分除 60~85% 的酚类化合物 (一般来讲, 酚类物质比较容易被生物降解) 以外, 还包括脂肪族化合物、杂环化合物和多环芳香族化合物等^[35]。正是由于这些难降解物质的存在, 使得焦化废水经普通活性污泥法处理后其出水水质不能达到国家规定的排放标准。从上面焦化废水目前处理技术可以看出, 总是存在这样那样的不足, 不能得以将技术推广。所以, 在不扩充现有的水处理设施, 如何提高其水处理范围和能力, 生物强化无疑为人们开拓了一条新思路。分子生物技术的发展, 为研究生物强化提供了新方法、新手段, 有力地支持了该技术的发展。生物强化技术与传统的生物治理技术相结合, 已成为生物治理焦化废水发展的一种趋势^[36]。

1.2.2 焦化废水优势菌的筛选分离及降解特性

1.2.2.1 优势菌来源及分离筛选培养基:

优势菌一般源于被废水污染的土壤中^[37], 污水处理厂的排水中^[38]。优势菌既可直接从以

上水样中、土壤中采集，也可经过一段时间驯化后，再进行分离（本实验所分离的优势菌种就是采用第二种方法分离得到）。据文献报道^[37-42]，采来的水样经驯化后再进行筛选、分离，提纯菌种时，驯化培养基中需提供满足微生物生长的营养物质，如 C、N、P 及微量元素等。在本实验中，碳源是由焦化废水提供。

1.2.2.2 优势菌对焦化废水降解特性研究方法：

(1) 利用各种分析手段测定反应体系中焦化废水浓度随时间的变化趋势，由此判断优势菌对焦化废水的降解效能。

(2) 利用优势菌在含有焦化废水的培养基上生长情况，来说明优势菌对焦化废水的降解代谢性能。可以用平板计数法、光密度法来测定优势菌的生长状况。在本实验中，是将上述两种方法结合起来，来研究优势菌对焦化废水降解性能。

1.2.3 利用微生物共代谢作用加速焦化废水的降解转化：

一般来说，难降解废水中的初级碳源和能源物质稀薄，可降解目标污染物的微生物的数量与活性比较低，通过投加营养物，包括碳源与能源物质，或提供目标污染物降解所需的营养因子，有助于降解菌的生长繁殖，改善处理系统的运行性能。根据共代谢理论，微生物在利用初级基质的同时，可能使难降解物质得到降解。投加基质类似物是针对共代谢理论和酶诱导性理论而提出的。酶的诱导性理论即利用目标污染物的降解产物或前体作为酶的诱导物，以提高酶的活性。作为诱导物（即基质类似物）时应选择毒性相对较低，易于降解且价格低廉的物质。

1.2.3.1 微生物的共代谢作用

大部分有毒有机物的降解是通过共代谢途径进行的，例如在氧化塘处理焦化废水的研究中，投加生活污水后，焦化废水 COD 去除率大大提高，主要是由于生活污水中含有多种营养元素，提高了生物的活性，起了共代谢作用^[31]。Steffensen 等^[43]研究了生物降解苯胺和己内酰胺时无机营养物的作用，结果表明，如果介质中不加入无机营养物——磷，则苯胺根本不能被矿化；如果介质中有 1×10^{-7} mol/L 的磷，则底物就能被降解。

微生物共代谢的一般定义为：只有在初级能源物质存在时，才能进行的有机化合物的生物氧化过程，即生物处于能生长的基质中时，同时能氧化利用原来不能利用的化合物的现象。这一现象又称为二级利用，提供能源的基质被称为初级基质，同时被降解的基质称二级基质^[44]。

(1) 微生物共代谢的机理

微生物共代谢的机理十分复杂，迄今许多问题处于研究阶段。国外许多学者针对共代谢现象提出了许多假设^[45]。

► 靠其它有机物提供能源：瞿福平等^[46]采用模拟生活污水作为共代谢基质对氯苯的生物

降解性进行了试验,结果表明:在一定的浓度范围内,氯苯的生物氧化率随投加的模拟生活污水的量的增加而增加。张晓健等的研究^[47]也证明:在厌氧条件下,以葡萄糖作为共代谢基质能使联苯的去除率明显提高。

► 靠其它微生物的协同作用:链霉菌和节杆菌两菌单独使用存在时,不能降解农药二嗪农的嘧啶基环,而同时存在于降解体系中时,相互产生协同作用,表现出降解作用。要完全降解初始浓度为 232.0mg/L 的硝基苯,单独使用枯草芽孢杆菌需要 145 小时,而采用枯草芽孢杆菌和人苍白杆菌联合作用时,只需 85 小时,菌种的协同作用大大加快了硝基苯的降解^[48]。

► 先经别的物质诱导产生相应的酶体系^[43]。许多化合物都可能成为微生物的生长基质,但一般来说,生长基质与非生长基质在分子骨架结构类似时可诱导出相应的酶体系。John 等人^[49]对氯代芳香化合物的研究充分证实了这一点,该体系酶具有非专一性,被称为关键酶。参与共代谢的微生物多种多样,但是参与共代谢的关键酶种类有限,对好氧微生物而言,主要是单氧酶和双氧酶。关键酶的一个特点是诱导性。只有在一定浓度的作为营养物质的第一基质存在时,细菌才合成相应数量的关键酶,该特性是微生物适应周围环境变化能力的一种反映。1985 年 Wilson 等^[50]首次报道了 ¹⁴C 标记的三氯乙烯 (TCE) 在土壤中被降解为 CO₂ 的现象,通过鉴定研究证明,实验土壤中的微生物是甲烷细菌^[51-53],该菌为好氧微生物,能以甲烷为唯一碳源和能源。TCE 是在甲烷菌代谢甲烷的同时被降解的,但是 TCE 的降解并不支持甲烷菌的生长,酶动力学研究表明:甲烷菌中降解甲烷和 TCE 的活性酶是甲烷单氧酶 (NMO)^[54-55]。

当然,在实际过程中,共代谢可能是在以上几种机理的共同作用下完成的。如:许多氯代芳香化合物不能被微生物直接作为生长基质,但可以通过选择一种合适的生长基质来诱导产生它们所需的酶及产生足够的能量来驱动它们的最初转化。

微生物的共代谢作用向人们提出了一种新的生物氧化机制问题:为什么微生物能够氧化一种化合物,而又不能从中获取生长所必须的碳源和能源?许多学者针对这一现象提出了各种假设^[56]。Forser 认为微生物不能在某种基质上生长的原因不是由于微生物无法分解代谢这种物质,而是因为微生物本身缺乏吸收同化其氧化产物的能力^[57]。Hughes 认为卤代芳烃的共代谢可能是由于微生物无法从苯环上脱去卤素取代基,并把芳香环基质碳吸收同化^[58]。

(2) 微生物共代谢的特点^[59]

- ① 微生物利用一种易于摄取的第一基质作为碳源和能源。
- ② 难降解有机物作为次级基质 (*secondary substrate*) 被微生物降解。
- ③ 污染物和营养基质之间存在竞争现象。
- ④ 污染物共代谢的产物不能作为营养被同化为细胞质,有些对细胞有害。
- ⑤ 共代谢是需能反应,能量来自营养基质 (初级基质) 的产能代谢。

由于以上特点,共代谢在有机污染物,特别是难生物降解有机物的代谢过程中发挥了重要作用,许多难降解有机物的降解是通过共代谢开始并完成的。其中包括:氯代有机溶剂,氯代

苯环类化合物,稠环芳烃,杂环化合物以及农药等。使用氧化塘处理焦化废水时,投加生活污水可以显著提高焦化废水 COD 去除率,就是因为生活污水中的易降解有机物加强了共代谢作用^[31]。同时微生物的共代谢作用启示人们:在研究特殊有机物降解性时,不能单一设置以该物质为唯一碳源和能源的微生物试验。

现代环境污染迫切需要人们更加充分地利用微生物的降解活性,但是目前存在的大量难降解有机物含有高度抗酶分解的结构元素或取代基。尽管微生物具有进化,适应的功能,但是酶催化的自然进化速度很慢,不能适应现代环保的要求。通过共代谢等生物强化技术的应用,在搞清微生物降解环境污染物能力和途径的基础上,应用现代基因工程技术,扩展微生物酶对基质的专一性和代谢途径,必将能更有效地处理和降解各种污染物,更好地保护环境。

1.2.4 生物强化技术在焦化废水处理中的实施途径:

1.2.4.1 投加高效菌种:

目前的生物处理技术中,投菌法被应用于难降解物质的处理。这种方法是针对所要去除的污染物质,利用特别培养的优势菌种对其进行有效降解的方法。投菌法已在美国,德国,日本等国采用,以改善常规活性污泥法的处理效果,去除 CN, SCN, 纤维素,聚乙烯醇等,尤其适用于难降解有机废水的治理。实施该技术的前提是获得作用于目标污染物的高效菌株。对于自然界中固有的化合物,都能通过筛选,培育,诱变获得相应的降解菌株。这些降解菌株大多数在纯培养体系中表现出高活性,但对于投加到生态环境复杂的生物处理系统中的效果,尚待进一步研究。优势菌应满足几个要求,如添加后必须保持其高菌体活性,能以较快的速度降解目标污染物,在系统(如曝气池)中不仅能竞争性生存,且可维持相当的数量等。

投菌法目前尚处于研究初期阶段,但已显示出许多优越性,具有很好的应用前景。研究表明,它可以提高对目标污染物的去除效果,有效地消除污泥膨胀,改善污泥的沉降性能,加快系统启动时间,增强系统耐负荷冲击的能力及系统的稳定性。

1.2.4.2 优化生物处理系统的降解环境以促进焦化废水的降解:

优化生物处理系统的降解环境,主要是通过投加营养物和基质类似物,提高生物处理系统的降解能力。适当的生活环境是微生物降解活性提高的前提条件。一般地,能被微生物利用并降解有机物的环境因素有:物理条件(如温度,压力等),化学条件(如化合物浓度,pH值,金属元素的种类与浓度,其它化合物的协同作用或拮抗作用等),生物条件(如微生物的生长条件,有效酶的作用条件,氧气的供应情况,微生物间的有效协作条件等)^[60]。

1.2.4.3 基因工程在生物强化技术中的应用:

要获得降解目标污染物的高效菌种,按照传统方法需要经过驯化,诱变,筛选,富集等

步骤，这一过程耗时耗力，而基因工程的发展为人类快速获得一些高效菌株提供了新的方法。微生物对污染物的降解性与其所携带的降解性质粒有关。利用降解性质粒的相容性，把能够降解不同污染物的质粒组合到一个菌株中，组建遗传工程菌（GEM），使其能够降解多种污染物，或用一个菌株即可完成降解过程的多个环节。近年来，通过基因工程技术构建具有特殊降解功能的 GEM 已取得一些进展，所获得的菌株在培养时，可有效地去除一些难降解物。但对于投加到生态复杂的废水处理系统后的降解性能，仍需进行深入的研究。

综上所述，生物强化技术是难降解废水处理中新的理论与实践，它与传统的生物处理系统相结合，已成为废水处理的发展趋势，有很大的研究潜力。

1.3 本课题的研究目的、内容和意义

本课题为陕西省自然科学基金项目研究的子课题。

如前所述，由于焦化废水中含有大量的难降解有机物，使用常规的生化技术处理，出水 COD 不能达到国家规定的排放标准。而采用延长水力停留时间的方法，COD 去除率提高有限，依然不能使出水达标排放；如果采用投加活性炭、膜处理或 Fenton 试剂氧化等方法，则运行成本将提高很多，这是污水处理厂很难接受的；若改造为其它工艺，又存在运行管理要求高、操作复杂和无法充分利用现有设施等缺点。针对这一实际情况，本论文提出了使用生物强化技术改善焦化废水处理效果的观点，目的是寻找适宜的生物强化技术，包括投加优势菌种和共代谢基质两种方法。在现有工艺设施基础上，提高生化法对焦化废水难降解有机物的去除效果，促进焦化废水 COD 达标排放。

本课题研究的主要内容：

(1) 高效菌株的分离筛选、鉴定和性能研究：

获得能快速降解目标污染物的高效菌株是实施生物强化技术的前提条件。本论文拟用焦化废水驯化活性污泥，再分别从焦化废水和活性污泥中选取菌源，分离出能以焦化废水为唯一碳源生长的高效菌株，对其降解性能进行研究，并进行分类鉴定。

(2) 高效菌株的降解性能研究：

1) 将驯化筛选的高效菌株进行降解性能试验：以一定浓度的焦化废水为唯一碳源，分别用各菌株对其进行降解。经一段时间后，以 COD 为控制指标，对降解体系进行分析，测定焦化废水的浓度，从而得到菌株对焦化废水的降解性能，并从中选取高效菌株；

2) 将筛选的高效菌株进行环境适应性试验：对各高效菌株分别进行温度、pH 值、充氧量等单因素条件试验，通过测定焦化废水 COD 值或高效菌株的生长量来确定各高效菌株的最适生长条件。

3) 高效菌株的初步鉴定：以细菌分类学为依据，对筛选的高效菌株进行形态学和生化特性

试验，对其进行初步鉴定。

(3) 焦化废水降解环境的优化研究:

选择适当的降解环境是提高微生物降解活性的前提条件。本实验通过投加碳源物质、能源物质或无机盐类，研究对污泥降解能力的影响，并研究降解体系的 pH 环境和焦化废水浓度的变化对活性污泥降解效果的影响。

(4) 投菌法在焦化废水降解中的应用:

利用摇瓶降解试验及静态反应瓶曝气实验，将高效菌种投加到焦化废水的降解体系中，研究高效菌株对焦化废水降解效果，并结合焦化废水降解的最优环境，研究生物强化手段对焦化废水降解的作用。

通过以上研究，希望在焦化废水高效降解菌的分离筛选，降解特性与优化降解条件及生产实际应用可能性方面，提供新的思路。

2. 高效菌种分离筛选和鉴定

2.1 前言

本章中,首先进行了焦化废水优良菌的分离筛选工作,得到了7株优良菌,它们均能在含有焦化废水的培养基上生长,对它们进一步的研究发现,有两株菌在焦化废水培养基上生长相对较好,以这两株细菌为代表菌株,对它们的各种生长参数指标进行了实验研究,为后续深入研究奠定了基础。

2.2 材料和方法

2.2.1 材料

2.2.1.1 主要仪器

1. 生物摇床:国华 THZ-82 恒温振荡器,常州国华电器有限公司制造
2. 分析天平:TD18 型,湘仪天平仪器厂制造
3. 722 光栅分光光度计:上海第三分析仪器厂制造
4. 800 低速离心机:常州国华电器有限公司制造
5. 显微镜:XSS-2,南京实验仪器厂制造
6. 电热恒温水浴锅:HH.S21-6,北京长安科学仪器厂制造
7. HG303-3 电热恒温培养箱:南京实验仪器厂制造
8. 电热鼓风干燥箱:101-1A 型,天津市泰斯特仪器有限公司制造
9. 灭菌锅:苏制 05830002,昆山市仪表厂

2.2.1.2 主要培养基

- (1) 基础液体培养基:牛肉膏 5g,蛋白胨 10g, NaCl 5g, 蒸馏水 1000mL, pH7.2, 121℃高压蒸汽灭菌 20min。(若加入 15%琼脂粉即为固体培养基)。
- (2) 选择培养基: K_2HPO_4 1.0g, NaCl 0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.3g, $NaNO_3$ 2.5g, $FeCl_3$ 0.01g, $CaCl_2$ 0.1g, 蛋白胨 1g, 葡萄糖 1g, 蒸馏水 1000mL, 焦化废水 100mL, pH7.4, 121℃高压蒸汽灭菌 20min。
- (3) 降解培养基: $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5g, K_2HPO_4 0.5g, NaCl 0.5g, KNO_3 1g, 蒸馏水 1000mL, 加入焦化废水,使 COD 值为 800mg/L 左右, pH7.4, 121℃高压蒸汽灭菌 20min。
- (4) 保藏培养基:牛肉膏 5g,蛋白胨 10g, NaCl 5g, 琼脂粉 15%, 蒸馏水 1000mL, pH7.2, 分装入试管, 121℃高压蒸汽灭菌 20min, 制成斜面。
- (5) 蛋白胨水培养基(葡萄糖发酵用):蛋白胨 10g, NaCl 5g, 蒸馏水 1000mL, pH 值 7.6。

- (5) 葡萄糖发酵液体培养基: 蛋白胨水培养基 1000mL, 1.6%溴甲酚紫 1~2mL, 20%葡萄糖溶液。
- 将上述含指示剂的蛋白胨水培养基 (pH 值 7.6) 分装入试管中, 在每管内放一倒置的小玻璃管 (*Durham tube*), 使其充满液体将已分装好的蛋白胨水培养基和 20%的葡萄糖溶液灭菌, 蛋白胨水培养基 121℃高压蒸汽灭菌 20min, 葡萄糖溶液 112℃高压蒸汽灭菌 30min。灭菌后, 每管以无菌操作分别加入 20%的无菌葡萄糖溶液 0.5mL (按每 10mL 培养基中加入 20%的葡萄糖溶液 0.5mL, 则成 1%的浓度)。
- (6) 半固体琼脂培养基: 琼脂粉 5%。要求为放倒试管, 在手上轻轻敲打则琼脂柱破裂。
- (7) 明胶培养基: 蛋白胨 5g, 明胶 12g, 水 1000mL, pH7.2~7.4, 121℃高压蒸汽灭菌 20min。
- (8) 营养琼脂培养基: 向基础液体培养基中加入 0.4%的琼脂, 121℃高压蒸汽灭菌 20min。
- (9) 葡萄糖牛肉膏蛋白胨琼脂培养基: 蛋白胨 10g, NaCl 5g, 牛肉膏 5g, 葡萄糖 5g, 蒸馏水 1000mL, 琼脂粉 15%, pH 7.2, 121℃高压蒸汽灭菌 20min。
- (10) 淀粉培养基: 蛋白胨 10g, NaCl 5g, 牛肉膏 5g, 可溶性淀粉 2g, 蒸馏水 1000mL, 琼脂粉 15%, pH 7.2, 121℃高压蒸汽灭菌 20min。

2.2.2 菌种分离筛选

- (1) 取样驯化: 从用焦化废水驯化成熟的活性污泥中, 多次取样接种到液体选择培养基中, 在 30℃恒温振荡摇床上驯化培养一周。
- (2) 划线分离: 取培养液在固体基础培养基平板上划线分离, 得到单个菌落, 挑取不同的单个菌落, 分别接种于液体选择培养基中进行驯化培养, 反复划线分离; 约 8 周后, 最终分离得到 13 株菌种。
- (3) 菌种筛选: 对 13 株菌种经多次的驯化培养, 依据其生长情况进行筛选, 保留生长速度快, 菌落直径大的菌株作为实验菌种。
- (4) 划线纯化: 驯化筛选后的实验菌种, 经过多次的平板划线培养后得到不同的单个菌落, 直至显微镜下检验无杂菌, 即为纯化的菌种。
- (5) 菌种保藏: 把纯化后的菌种, 接种在保藏培养基的斜面上, 30℃培养 48h, 包好放入 4℃冰箱内保存。每隔两个月进行转移保存。

2.2.3 细菌的分类鉴定

本研究应用一般分类方法^[61], 根据细菌形态特征和生理生化特征, 先将各菌种鉴定到科, 再按各分科检索表鉴定到属。主要的鉴定手段有革兰氏染色, 细菌的悬滴运动性观察, 细菌的芽孢染色, 细菌的荚膜染色, 细菌的鞭毛染色, 半固体琼脂穿刺, 明胶穿刺, 葡萄糖发酵试验, 乳糖发酵, 蔗糖发酵等。

2.2.4 细菌计数

显微镜直接计数法^[62]:将少量的待测样品置于一种特别的具有确定面积和容积的计数器上(本实验用血细胞计数板),于显微镜下直接计数。该方法简便,快速,直观,但不能区分细胞体的死活。需要在短时间内了解培养基中菌的生长情况时使用,结果较为粗略。

平板菌落计数法^[63]:将待测样品经适当稀释之后,其中的微生物充分分散成单个细胞,取一定量的稀释样液接种到平板上,经过培养,由单个细胞生长繁殖而形成肉眼可见的菌落,即一个单菌落应代表一个单细胞。统计菌数,根据其稀释倍数和取样即可换算出样品中的含菌数。在需要比较准确地了解培养基中的活菌数时使用。

2.2.5 COD_{Cr}的测定

COD_{Cr}的测定采用重铬酸钾法^[64]。以硫酸银为催化剂,在强酸性溶液中,水样中的还原性物质被重铬酸钾氧化,过量的重铬酸钾以试亚铁灵为指示剂,用硫酸亚铁铵溶液滴定,根据以下公式计算水样的COD_{Cr}浓度:

$$COD_{Cr}(O_2, mg/L) = \frac{(V_0 - V_1) \times C \times 8 \times 1000}{V}$$

C ——硫酸亚铁铵标准溶液的浓度(mg/L)

V_0 ——滴定空白时硫酸亚铁铵标准溶液的用量(mL)

V_1 ——滴定水样时硫酸亚铁铵标准溶液的用量(mL)

V ——水样的体积(mL)

8——氧(1/2O)摩尔质量(g/mol)

2.2.6 实验用纯培养菌悬液的制备

- (1) 菌体扩大培养:将配制好的基础液体培养基分装入200mL三角瓶中,每瓶100mL,用8层纱布封口,高压蒸汽灭菌。以无菌操作方法,将保存在斜面上的各纯菌种接入培养基中,30℃振荡培养48h。
- (2) 菌体的分离:4000转/min离心扩大培养液30min,用磷酸盐缓冲溶液洗涤沉淀菌体,再次离心。重复操作3次。
- (3) 菌悬液浓度调整:用磷酸盐缓冲溶液稀释沉淀的菌体,配制成 10^8 个细胞/mL的菌悬液,备用。调整浓度时采用血球计数器计数(上海医用光学仪器厂),显微镜放大倍数为16×40。(注意:以下凡是用到纯培养菌悬液时,参考此处的制备方法)

2.2.7 菌种复筛

摇瓶降解实验复筛

在三角瓶中，以活性污泥（或降解细菌）和被降解物质构成降解体系，在恒温摇床上模拟曝气池的好氧降解条件，通过定期测定被降解物的 COD 值或单质化合物的残留浓度，试验活性污泥或菌株的降解性能。

试验方法为，在 200mL 三角瓶中加入 100mL 液体降解培养基，灭菌，在无菌操作条件下，向培养基中接种纯菌悬液，并使悬浮细胞浓度约为 10^4 个细胞/mL。30℃ 恒温摇床振荡培养。每隔 24h 取培养液测 COD_{cr} ，并对菌体计数，测定 COD_{cr} 前先将培养液于 4000 转/min 离心 30min，取上清液测定。

2.2.8 菌种特性初步研究

2.2.8.1 细菌生长曲线测定

在基础液体培养基中扩大培养菌种，制成菌悬液。取一定量菌悬液接种于装有 100mL 基础液体培养基的 200mL 锥形瓶中，使悬浮细胞浓度约为 10^4 个细胞/mL，置于 110 转/min 恒温水浴摇床上振荡培养，温度 30℃，每隔 2h 取样，采用平板菌落计数法统计菌数。作出菌体个数随时间变化的趋势图，即为该菌的生长曲线。

2.2.8.2 最适生长温度

向基础培养基中接入菌种，方法同本章 2.2.7。分别在 20℃，25℃，30℃，35℃，40℃，45℃ 下进行对照培养实验。振荡培养，每隔 24h 取样，并对细菌计数。

2.2.8.3 最适生长 pH

把基础培养基 pH 值调整为 5.0，5.5，6.0，6.5，7.0，7.5，8.0，8.5；高压蒸汽灭菌，每瓶接入一定量菌种，使悬浮细胞浓度约为 10^4 个细胞/mL。30℃ 振荡培养。每隔 24h 取样，并对细菌计数。

2.3 结果和讨论

2.3.1 菌种分离结果

通过多次在摇床上的好氧驯化培养和在平板上的重复划线分离，在选择培养基上获得了 13 个不同的单菌落，对它们进一步的筛选，选定了 7 株细菌，它们均能在含有焦化废水降解培养基上较好的生长。它们在基础培养基和焦化废水降解培养基上的一些特征见表 2-1，2-2。

表 2-1 分离筛选出的细菌在基础培养基上的特征表

菌株编号	菌落特征 (基础培养基)	革兰氏染色	形态	菌体大小 (μm)
JB1	圆形、湿润、隆起、不透明、乳白色、边缘整齐	-	长杆	1.0~1.6×1.7~3.0
JB2	圆形、干燥、凹下、不透明、乳白色、边缘整齐	-	球状	0.1~0.2×1.0~1.1
JB3	圆形、粘稠、隆起、透明、淡黄色荧光、边缘整齐	-	球状	0.2~0.3×1.0~1.2
JB4	圆形、粘稠、隆起、不透明、淡黄色荧光、边缘整齐	-	短杆	0.4~0.6×1.0~1.1
JB5	不规则形、湿润、隆起、乳白色、不透明、边缘不整齐	+	长杆	0.7~0.8×1.5~2.0
JB6	圆形、湿润、隆起、不透明、灰白、边缘整齐	+	长杆	1.0~1.4×1.5~2.5
JB7	不规则形、干燥、凹下、不透明、灰白、边缘不整齐	+	长杆	1.0~1.2×1.3~2.2

表 2-2 分离筛选出的细菌在焦化废水培养基上的特征表

菌株编号	菌落特征 (焦化废水培养基)	革兰氏染色	形态	菌体大小 (μm)
JB1	圆形、湿润、隆起、不透明、乳白色、边缘整齐	-	长杆	1.0~1.6×1.6~2.8
JB2	圆形、稍粘、扁平、不透明、乳白色、边缘整齐	-	球状	0.1~0.2×0.9~1.0
JB3	圆形、粘稠、隆起、透明、淡黄色荧光、边缘整齐	-	球状	0.2~0.3×0.9~1.1
JB4	圆形、粘稠、隆起、不透明、淡黄色荧光、边缘整齐	-	短杆	0.4~0.6×0.9~1.0
JB5	不规则形、湿润、隆起、乳白色、不透明、边缘不整齐	+	长杆	0.7~0.8×1.3~1.8
JB6	圆形、湿润、隆起、不透明、灰白、边缘整齐	+	长杆	1.0~1.4×1.4~2.2

(续表 2-2)

	边缘整齐			
JB7	不规则形、稍粘、扁平、不透明、灰白、边缘不整齐	+	长杆	1.0~1.2×1.3~2.0

2.3.2 菌种分类鉴定结果

2.3.2.1 分类鉴定

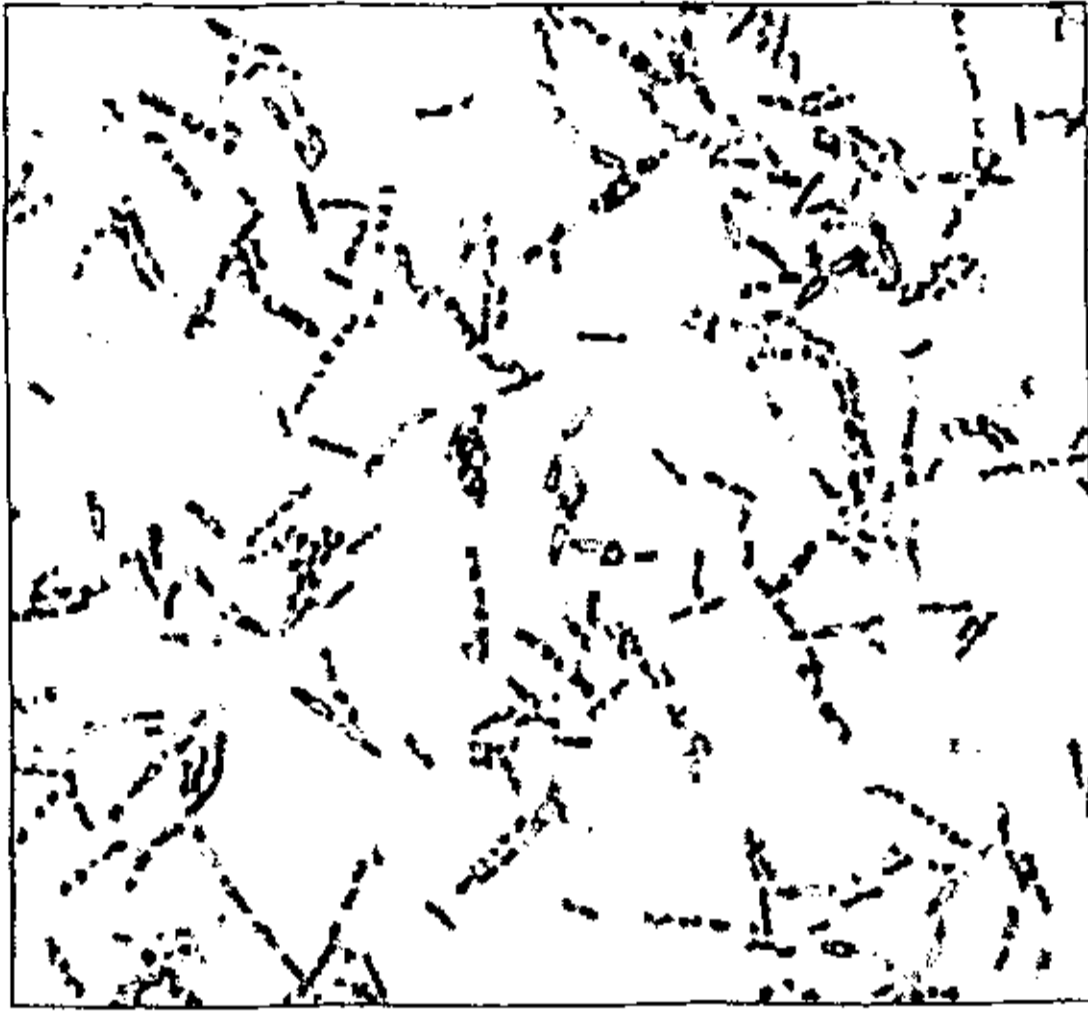
表 2-3 是细菌特征描述及鉴定过程中的现象

表 2-3 对 7 株细菌的鉴定实验结果一览表

检测项目	JB1	JB2	JB3	JB4	JB5	JB6	JB7
菌落特征	湿润、隆起、乳白色、边缘整齐	干燥、凹下、乳白色、边缘整齐	粘稠、隆起、黄色、荧光、边缘整齐	粘稠、隆起、黄色、荧光、边缘整齐	湿润、隆起、乳白色、不规则形	湿润、隆起、灰白色、边缘整齐	干燥、凹下、灰白色、不规则形
菌体形态	杆状	球状	球状	短杆	长杆	长杆	长杆
菌体大小 (μm)	1.3×2.4	0.2×1.0	0.3×1.1	0.5×1.1	0.8×0.8	1.2×2.0	1.1×1.8
革兰氏染色	-	-	-	-	+	+	+
芽孢染色	无	无	无	无	无	有芽孢	无
鞭毛染色	极生	极生	极生	单生	极生	单生	极生
液体培养基中的生长	形成沉淀	均匀生长	形成薄膜	絮凝沉淀	形成沉淀	形成沉淀	絮凝沉淀
琼脂平板上的生长	大圆形	较大圆形	针尖状圆形	小圆形	大的不规则形状	较大圆形	小的不规则形状
琼脂斜面上的生长	丝状	树状	念珠状	假根状	扩展状	丝状	扩展状
营养琼脂穿刺接种	杯状	芜菁状	底中层生长好，表层生长不好	芜菁状	囊形	芜菁状	芜菁状
明胶穿刺接种	不液化	不液化	不液化	不液化	液化	不液化	不液化

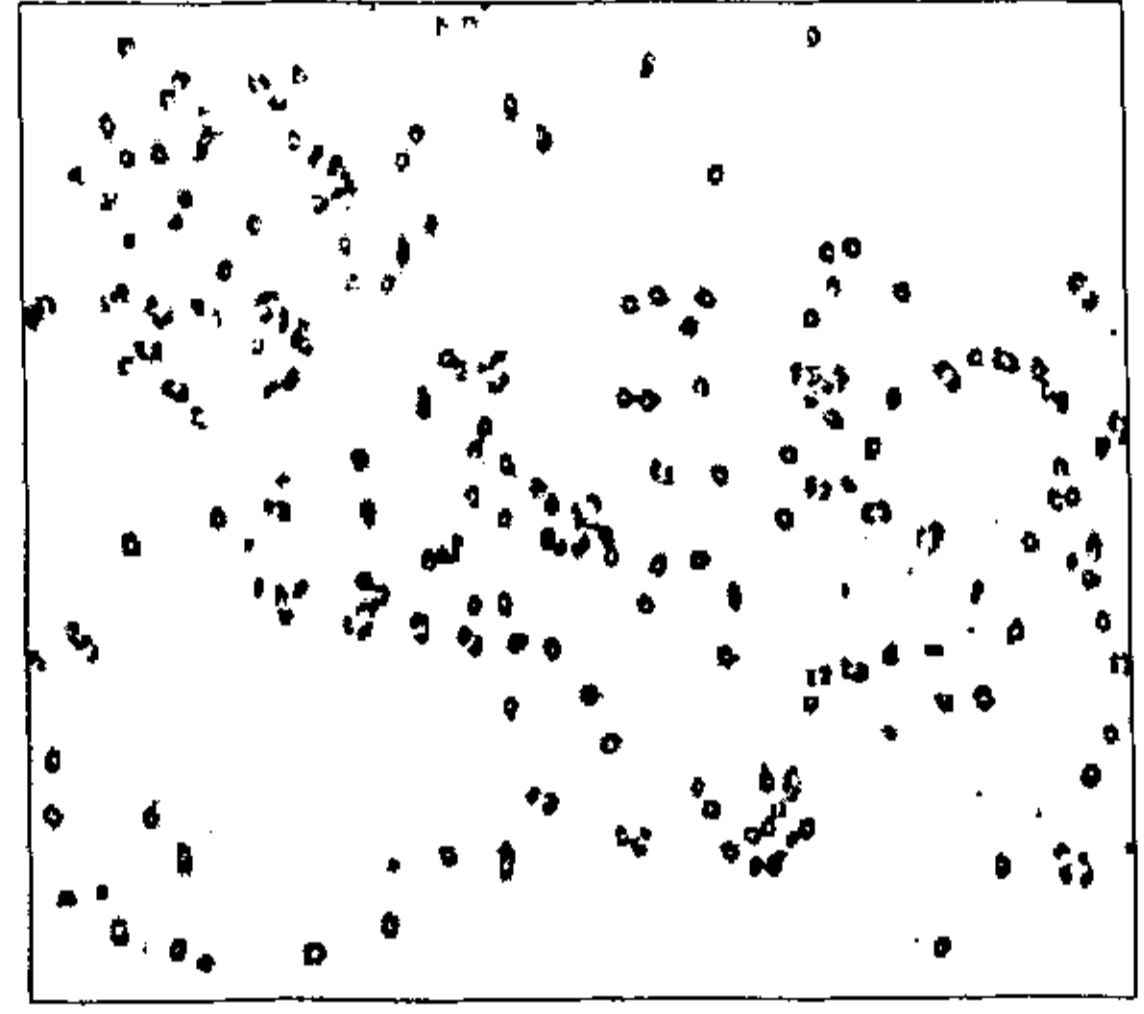
(续表 2-3)

葡萄糖发酵	产酸	产酸产气	产酸	产酸产气	产酸	产酸	产酸
乳糖发酵	产酸	产酸产气	产酸	产酸产气	产酸	产酸	产酸产气
蔗糖发酵	产酸	产酸产气	产酸	产酸产气	产酸	产酸	产酸产气
接触酶发酵	+	+	+	+	+	+	+
抗酸性染色	/	/	/	/	/	/	/



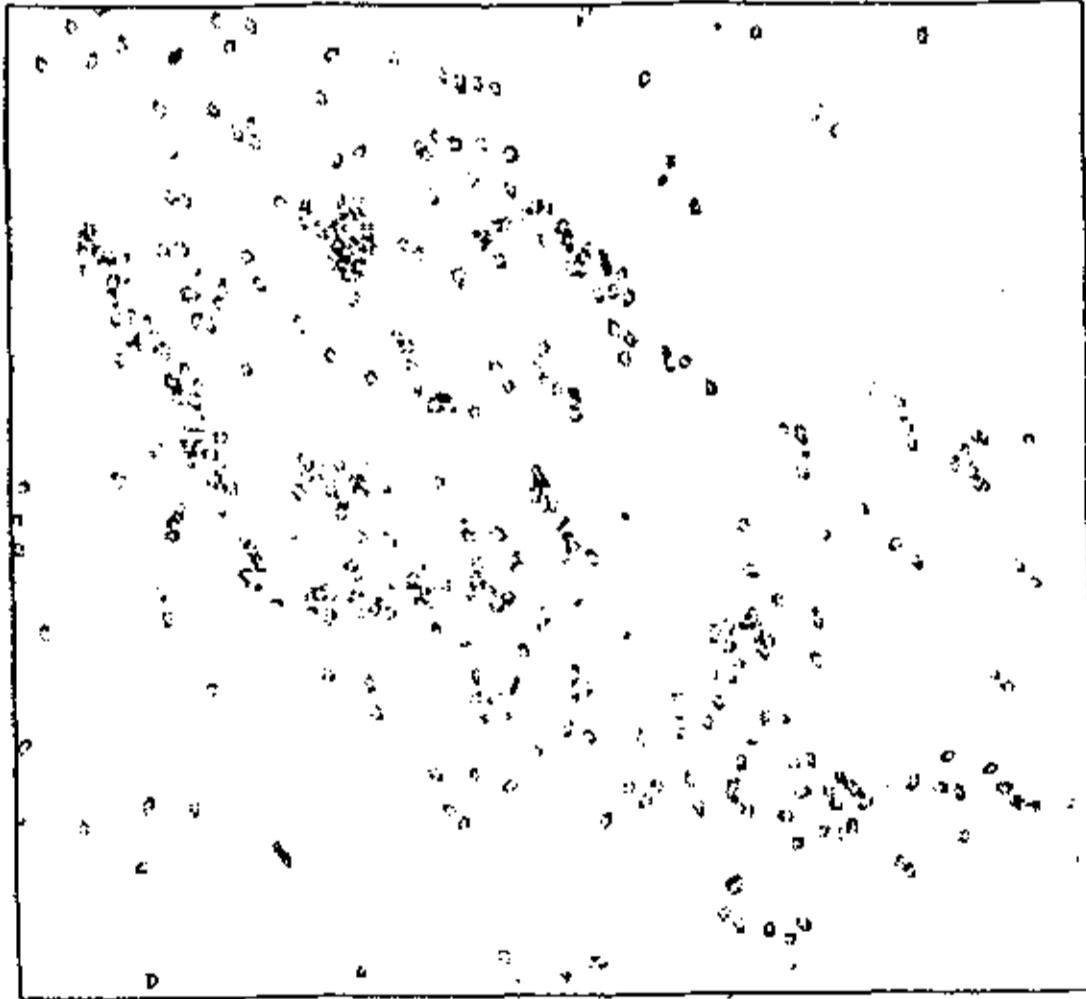
照片 1. JB1 菌株

假单胞菌属 *Pseudomonaceae sp*



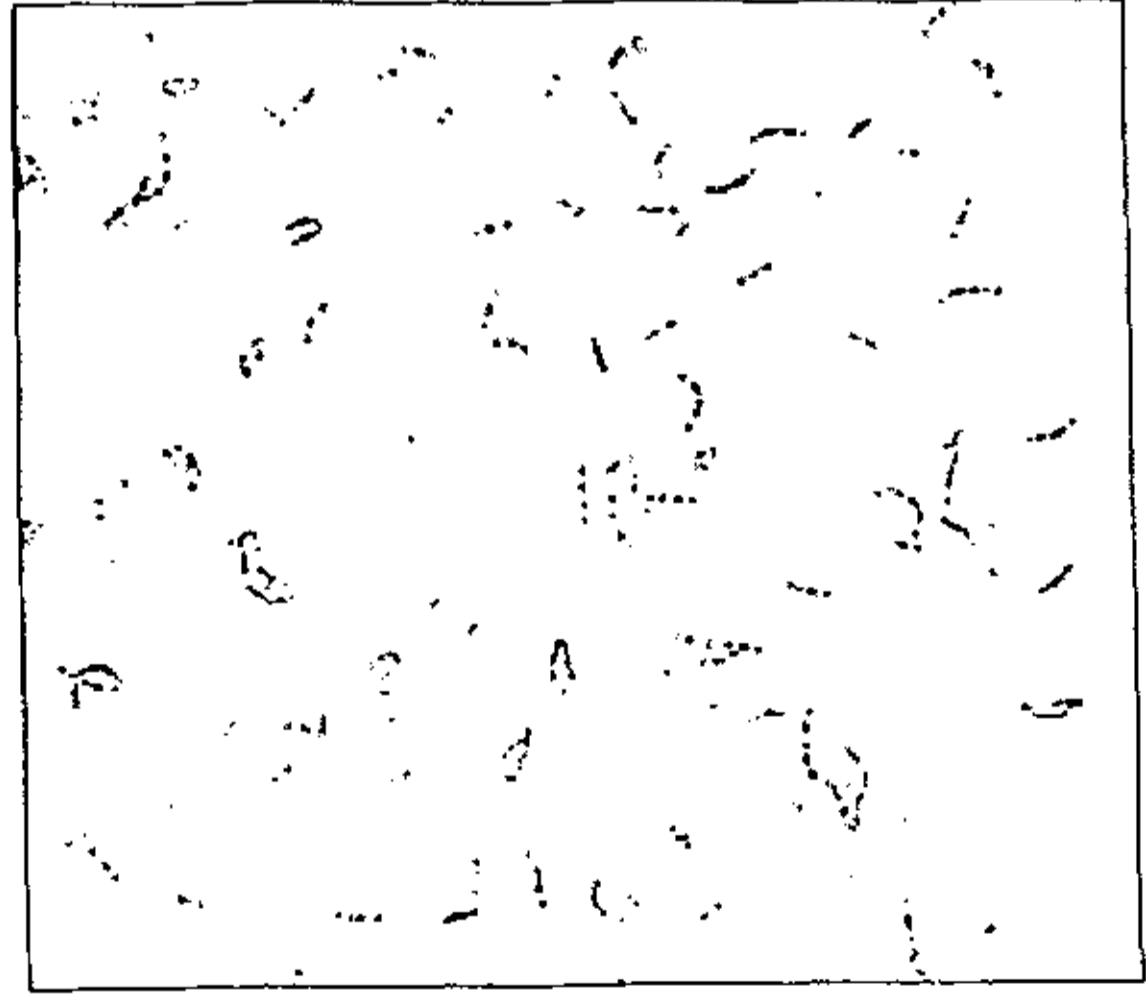
照片 2. JB2 菌株

奈瑟氏球菌属 *Neisseriaceae sp*



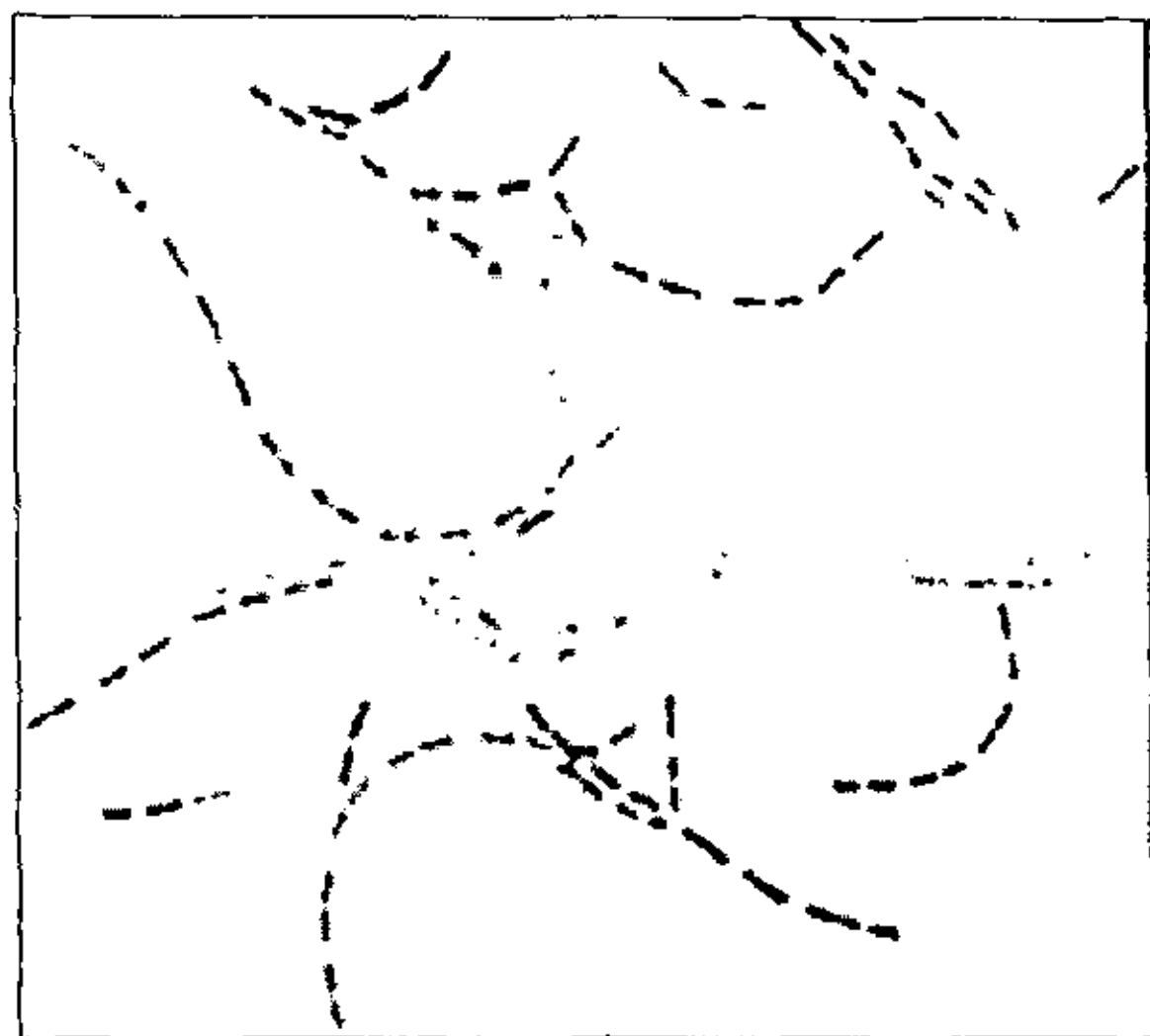
照片 3. JB3 菌株

黄单胞杆菌属 *Flavobacterium sp*



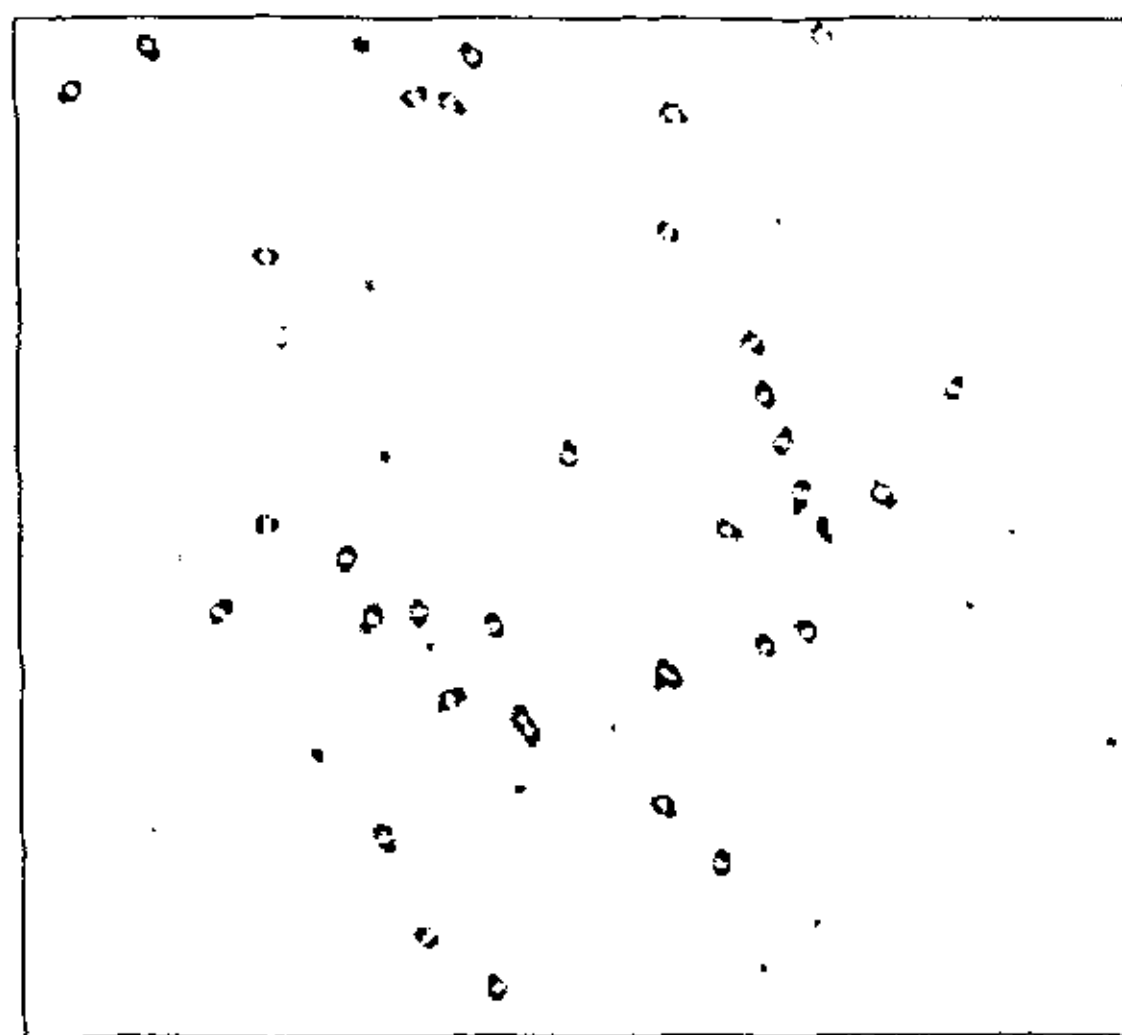
照片 4. JB4 菌株

黄单胞杆菌属 *Flavobacterium sp*



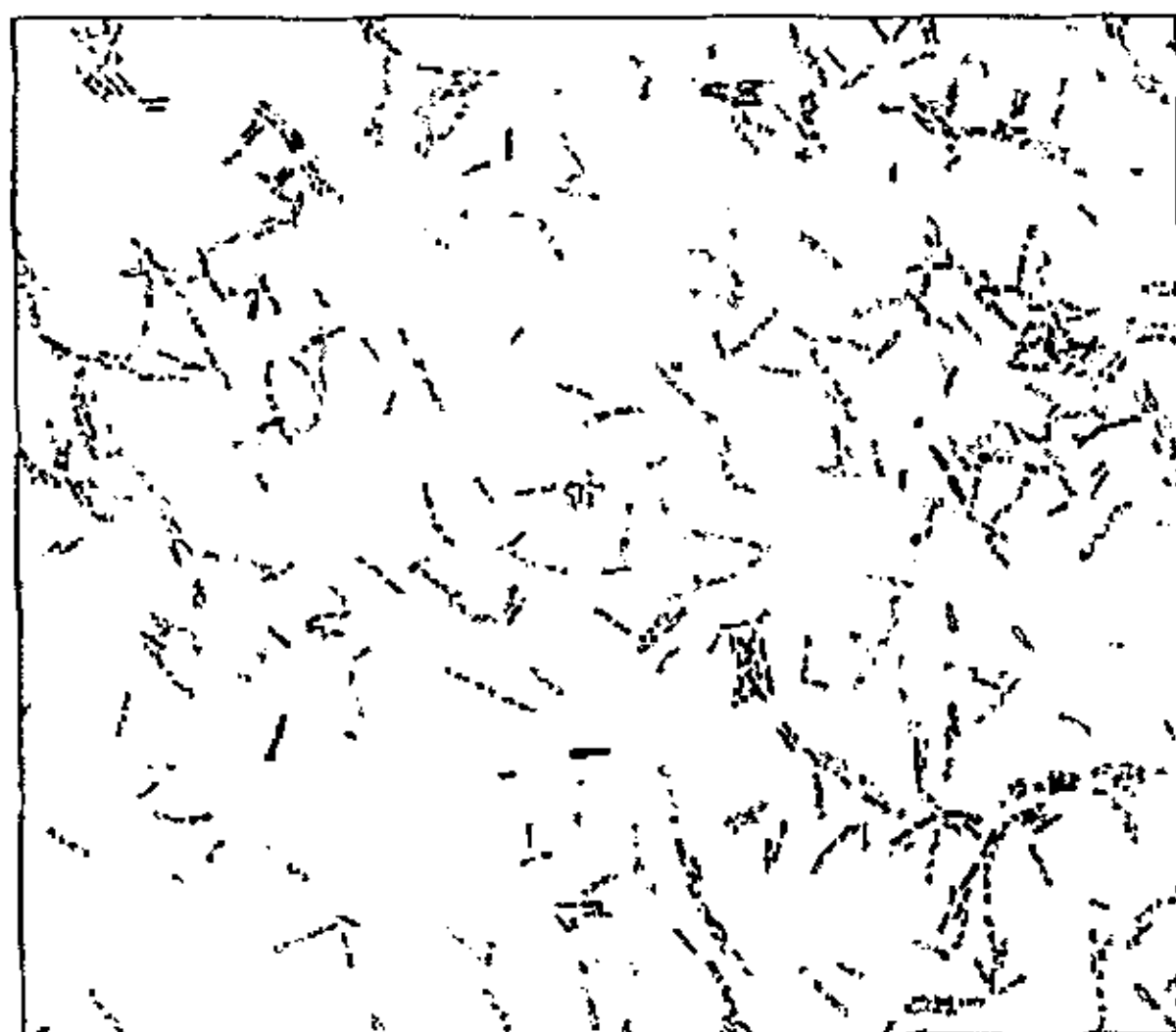
照片 5. JB5 菌株

微杆菌属 *Corynebacteriaceae* sp



照片 6. JB6 菌株

芽孢杆菌属 *Bacillaceae* sp



照片 7. JB7 菌株

微杆菌属 *Corynebacteriaceae* sp

上面照片 1—7 是本实验中筛选出的优势菌株在显微镜下观察的结果。

鉴定结果如下：

JB1 为假单胞菌属，细胞杆状，能运动，好氧，假单胞菌科 (*Pseudomonaceae*)。

JB2 为奈瑟氏球菌属，细胞球状，能运动，好氧，有鞭毛，革兰氏染色阴性，使葡萄糖发酵，无芽孢，奈瑟氏球菌科 (*Neisseriaceae*)。

JB3、JB4 为黄单胞杆菌属，细胞短杆或球状，有鞭毛，能运动，好氧，使葡萄糖发酵，产生黄色色素，革兰氏染色阴性，无芽孢，假单胞菌科 (*Pseudomonaceae*)。

JB6 为芽孢杆菌属，细胞杆状，单鞭毛，能运动，好氧，使葡萄糖产酸，革兰氏染色阳性，有芽孢，芽孢杆菌科 (*Bacillaceae*)。

JB5、JB7 为微杆菌属，细胞杆状，革兰氏染色阳性，好氧，有鞭毛，棒状杆菌科 (*Corynebacteriaceae*)。

2.3.2.2 淀粉水解试验

微生物对大分子的淀粉、蛋白质和脂肪不能直接利用，必须靠产生的胞外酶将大分子物质分解才能被微生物吸收利用。胞外酶主要为水解酶，通过加水裂解大的物质为较小的化合物，使其能被运输至细胞内。如淀粉酶水解淀粉为小分子的糊精、双糖和单糖；脂肪酶水解脂肪为甘油和脂肪酸；蛋白酶水解蛋白质为氨基酸等。这些过程均可通过观察细菌菌落周围的物质变化来证实；淀粉遇碘液会产生蓝色，但细菌水解淀粉的区域，用碘测定不再产生蓝色，表明细菌产生淀粉酶。

表 2-4 淀粉水解试验结果 (“+” 表示阳性，“-” 表示阴性)

菌株编号	JB1	JB2	JB3	JB4	JB5	JB6	JB7
淀粉水解试验	+	+	+	+	+	+	+

试验结果表明在淀粉水解试验中，7 株细菌的菌苔周围均出现无色透明圈，说明淀粉已被水解，为阳性。其中 JB1、JB4、JB6、JB7 的透明圈较其它菌株大，可初步判断这四种菌的水解淀粉能力强，即产生胞外淀粉酶活力高。

2.3.2.3 渗透压对微生物的影响

在等渗溶液中，微生物正常生长繁殖；在高渗溶液（例如高盐、高糖溶液）中，细胞失水收缩，而水分为微生物生理生化反应所必需，失水会抑制其生长繁殖；在低渗溶液中，细胞吸水膨胀，细菌、放线菌、霉菌及酵母菌等大多数微生物具有较为坚韧的细胞壁，而且个体较小，因而在低渗溶液中一般不会像无细胞壁的细胞那样容易发生裂解，具有细胞壁的微生物受低渗透压的影响不大。不同类型微生物对渗透压变化的适应能力不尽相同，大多数微生物在 0.5%~3% 的盐浓度范围内可正常生长，10%~15% 的盐浓度能抑制大部分微生物的生长，但对嗜盐细菌而言，在低于 15% 的盐浓度环境中不能生长，而某些极端嗜盐菌可在盐浓度高达 30% 的条件下生长良好。

表 2-5 渗透压对微生物的影响试验结果

菌株编号	NaCl 浓度 (%)				
	0.85	5	10	15	25
JB1	++	+	—	—	—
JB2	++	++	—	—	—

(续表 2-5)

JB3	++	++	+	-	-
JB4	++	++	+	-	-
JB5	++	++	-	-	-
JB6	++	++	+	-	-
JB7	++	++	-	-	-

(“-”表示不生长，“+”表示生长，“++”表示生长良好)

从试验结果可以看出,这7株细菌在0.85%和5%的NaCl浓度下,生长良好,而在15%、25%下不能生长,说明这7株细菌均不是嗜盐细菌。

2.3.2.4 温度对微生物的影响

温度通过影响蛋白质、核酸等生物大分子的结构与功能以及细胞结构如细胞膜的流动性及完整性来影响微生物的生长、繁殖和新陈代谢。过高的环境温度会导致蛋白质或核酸的变性失活,而过低的温度会使酶活力受到抑制,细胞的新陈代谢活动减弱。每种微生物只能在一定的温度范围内生长,低温微生物最高生长温度不超过20℃,中温微生物的最高生长温度低于45℃,而高温微生物能在45℃以上的温度条件下正常生长,某些极端高温微生物甚至能在100℃以上的温度条件下生长。

表 2-6 温度对微生物的影响试验结果

温度(℃)	JB1	JB2	JB3	JB4	JB5	JB6	JB7
4	-	-	-	-	-	-	-
20	++	++	++	++	++	++	++
37	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
60	-	-	-	-	-	-	-

(“-”表示不生长，“+”表示生长较差，“++”表示生长一般，“+++”表示生长良好)

从试验结果可以看出,这7株细菌在20℃和37℃的温度下,生长良好,而在4℃和37℃温度下不能生长,说明这7株细菌均是中温细菌。

2.3.2.5 氧对微生物的影响

各种微生物对氧的需求上不同,这反映出不同种类微生物细胞内生物氧化酶系统的差别。根据对氧的需求及耐受能力的不同,可将微生物分为五类。

好氧菌 (*aerobes*): 必需在有氧条件下生长, 在 高能分子如葡萄糖的氧化降解过程中, 需要氧作为氢受体。

微好氧菌 (*microaerobes*): 生长需要少量的氧, 过量的氧, 常导致这类微生物的死亡。

兼性厌氧菌 (*facultative*): 有氧及无氧条件下均能生长, 倾向于以氧作为氢受体, 在无氧条件下可利用 NO_3^- 或 SO_4^{2-} 作为最终氢受体。

专性厌氧菌 (*obligate anaerobes*): 必须在完全无氧的条件下生长繁殖, 由于细胞内缺少超氧化物歧化酶和过氧化氢酶, 氧的存在常导致有毒害作用的超氧化物及氧自由基 (O_2^-) 的产生, 对这类微生物具致死作用。

耐氧厌氧菌 (*aerotolerant anaerobes*): 有氧及无氧条件下均能生长, 与兼性厌氧菌不同之处在于, 耐氧厌氧菌虽然不以氧作为最终氢受体, 但由于细胞具有超氧化物歧化酶和 (或) 过氧化氢酶, 在有氧的条件下也能生存。

本实验采用深层琼脂法来测定氧对不同类型微生物生长的影响, 在葡萄糖牛肉膏蛋白胨琼脂深层培养基试管中接入各类微生物, 在适宜条件下培养后, 观察生长状况, 根据微生物在试管中的生长部位, 判断各类微生物对氧的需求及耐受能力。

从试验中可以看出, 这 7 株细菌均是好氧菌。

表 2-7 氧对微生物的影响试验结果

菌株编号	生长位置	类型
JB1	表面生长	好氧菌
JB2	表面生长	好氧菌
JB3	表面生长	好氧菌
JB4	表面生长	好氧菌
JB5	表面生长	好氧菌
JB6	表面生长	好氧菌
JB7	表面生长	好氧菌

(表面生长, 底部生长, 接近表面生长, 均匀生长, 接近表面生长旺盛)

2.3.3 菌种复筛结果

我们对这 7 株细菌进行初步的降解研究实验, 结果见图 2-1, 2-2。

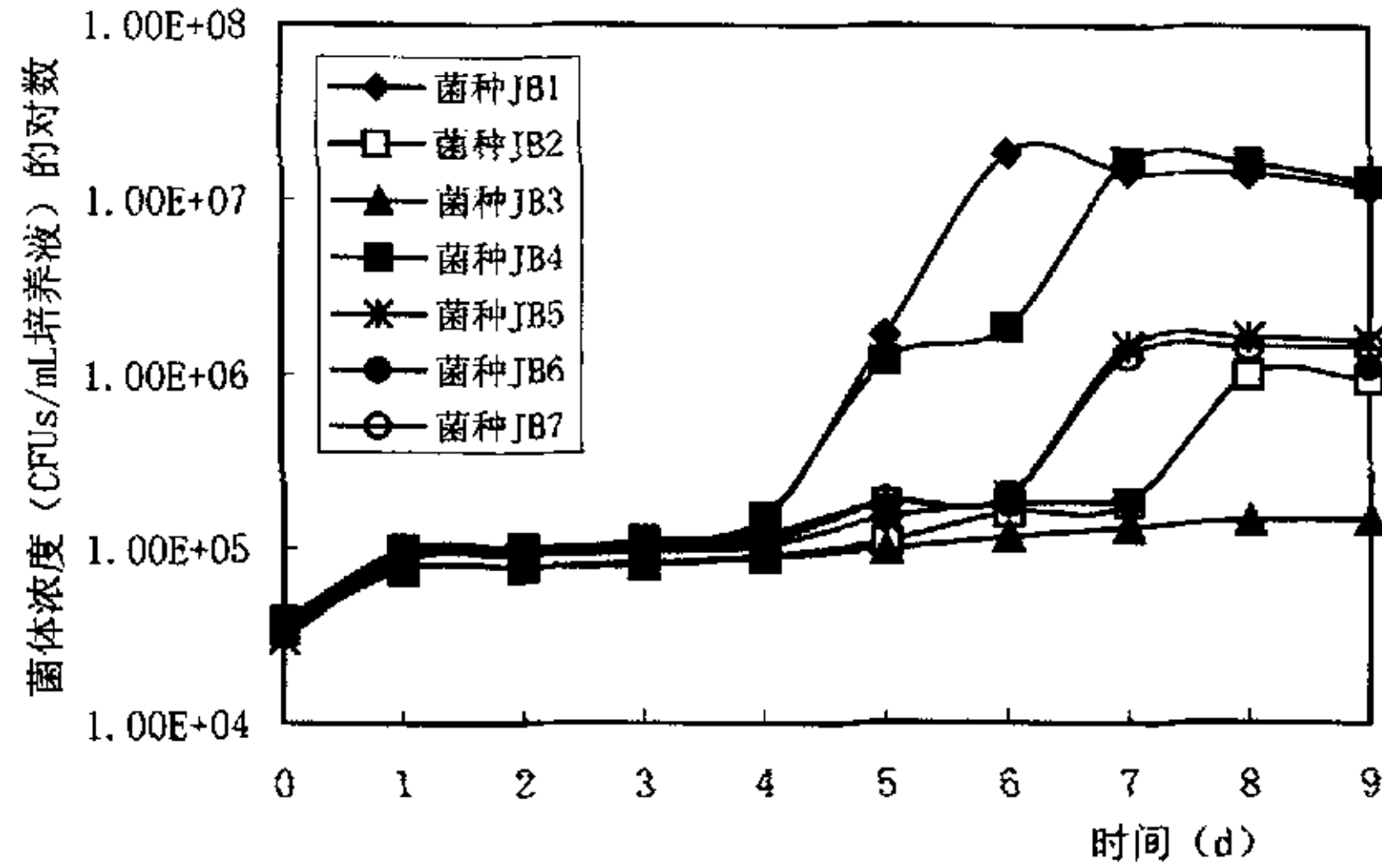


图 2-1. 菌种在降解培养基中的生长情况

图 2-1 是菌种连续培养过程中，菌体个数的变化情况。从图中可以看出菌种 JB1 和 JB4 生长情况最好，其次是菌种 JB5 和 JB7 生长情况较好，说明菌种 JB1 和 JB4 适宜在含焦化废水的培养基中生长繁殖。

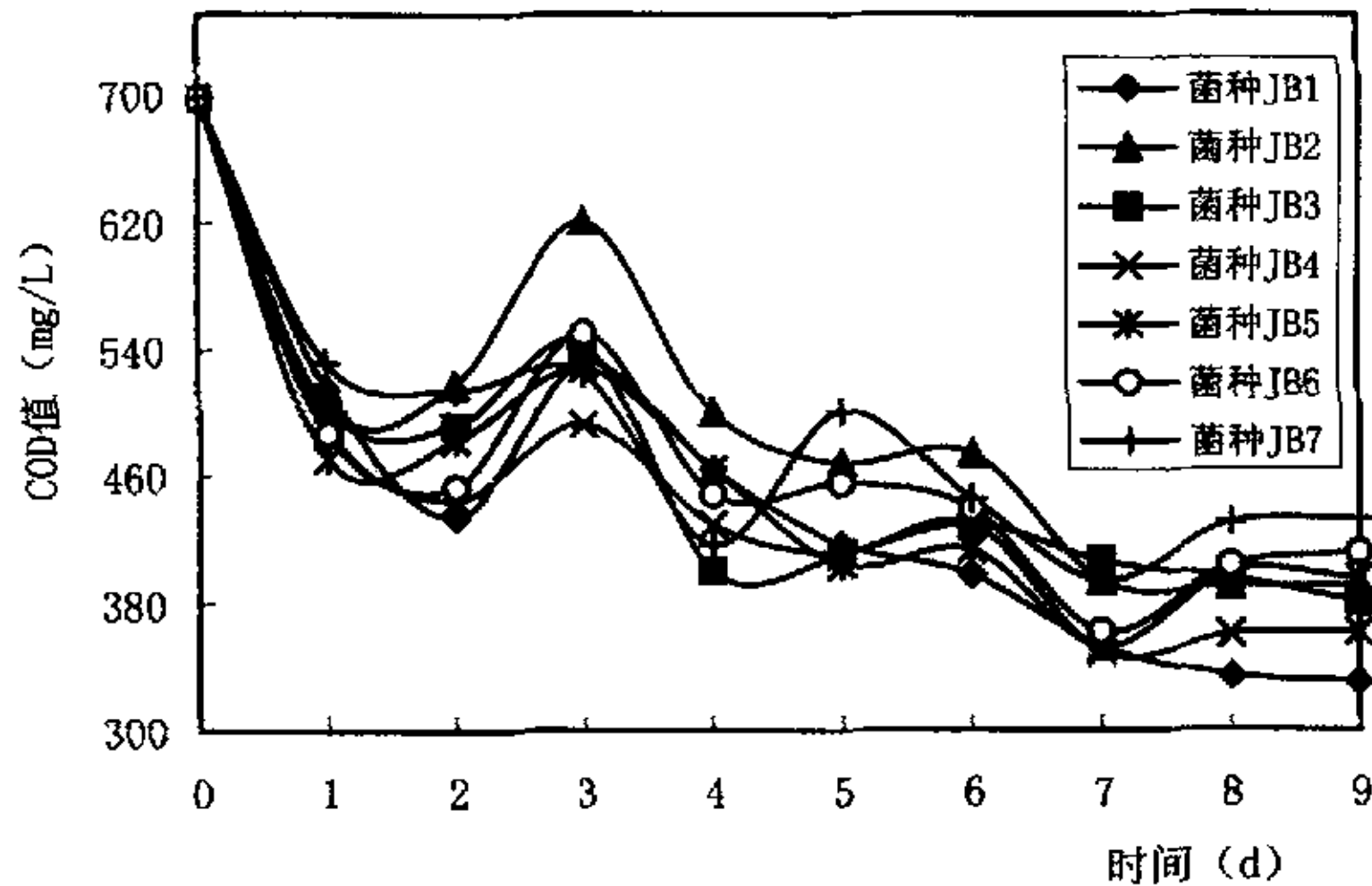


图 2-2. 菌种对培养基中 COD 去除情况

图 2-2 是对菌种在降解培养基中连续培养的情况。图中 7 条曲线并不是一直呈下降趋势，而是在入水 COD 值大约为 700mg/L，第一天出水均降到 500mg/L 以下，但是随后的两天，出水的 COD 值不是降低而是升高，首先应该说明，焦化废水中一些多环芳烃及杂环芳烃在 COD 测定时，不能被完全氧化，也就是说，目前使用的 COD 标准分析方法，对含有复杂的、难以氧化的化合物废水的 COD 测定结果会偏低。反应初期，被降解的主要是焦化废水中易降解的苯酚或其它化合物，而难降解的多环芳烃或杂环芳烃等在这个时段内几乎没有被降解，COD 的降低是因为一部分易降解有机物被降解。当大部分易降解化合物离开水体后，不管时间延长多少，活性污泥的降解效果已经不明显。而在混合优势菌降解体系中，COD 有降低或升高的

趋势, 反应第 4 天后, 一些体系中 COD 有明显的降低趋势。出现 COD 缓慢降低或上升趋势的原因是, 在第 2 天至第 4 天反应时段内, 一些多环芳烃和杂环芳烃在不断地被菌株降解转化, 将原来不能被重铬酸钾氧化或氧化不彻底的多环芳烃和杂环芳烃转化成易氧化的中间产物, 所以 COD 值有增大或降低缓慢的趋势。我们看到, 这些菌株在降解培养基对焦化废水降解时出现如图 2-2 的情况。到第 8 天开始, 培养基中难降解物质中的易降解物质也几乎利用差不多, 所以出水的 COD 值比较稳定。这 7 株菌株均对焦化废水有降解利用能力, 但是, 它们之间存在着一定的差异, 菌种 JB1 降解能力最强, COD 从 698.36mg/L 下降到了 330.00mg/L, 其次为 JB4, 下降到了 361.00mg/L。

通过以上初步的降解实验研究, 对菌株进行了复筛, 最终选取了 COD 去除率最高的菌株即 JB1 和 JB4 作为代表菌株, 进行进一步的实验研究。

2.3.4 生长曲线

测定细菌生长曲线了解其生长繁殖规律, 这对有效地利用和控制菌的生长具有重要的意义。在适宜的条件下, 培养细菌要经历延迟期、对数期、稳定期和衰亡期四个阶段。

对 JB1 和 JB4 在基础培养基中的生长繁殖情况研究结果见图 2-3。

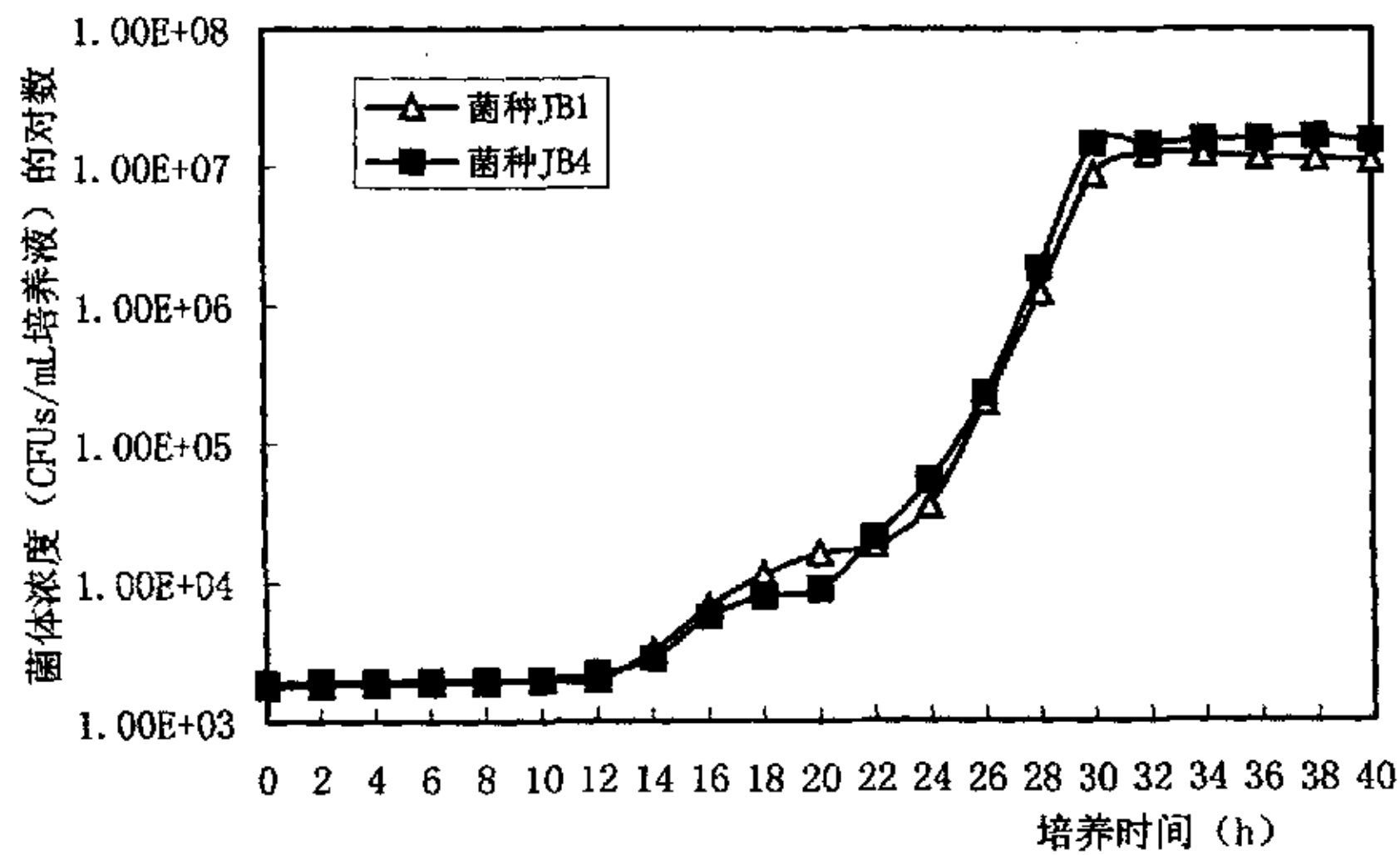


图 2-3. 菌种生长曲线

图 2-3 是菌种在基础培养基中培养, 菌数随时间变化的曲线, 菌数用菌落形成单位 (*colony-forming unit, CFU*) 表示。图中曲线表明, 菌种 JB1 和 JB4 生长情况相似。从图中可以看出, 曲线前 20h 可以称为延迟期 (*lag phase*), 在该阶段虽然总菌数变化不大, 但菌体内部却发生着很大的变化, 细胞处于活跃的生长中, 只是分裂延迟, 这可能是为了调整代谢, 当细胞接种到新的环境后, 需重新合成必须的酶、辅酶或某些中间产物, 以适应新的环境; 20h 以后菌体生长繁殖进入对数期 (*log phase*), 该阶段细胞代谢活性最强, 合成细胞新物质最快, 所有分裂形成的新细胞都生长旺盛, 菌数以几何级数增加; 约 30h 后, 菌数增长缓慢, 进入稳

定期 (*stationary phase*), 持续一定时间后, 菌数开始有所减少, 称为衰亡期 (*decline phase*)。

2.3.5 菌种最适生长温度

对菌种 JB1 和 JB4 (基础培养基中) 在不同生长温度下菌数的测定结果见图 2-4。

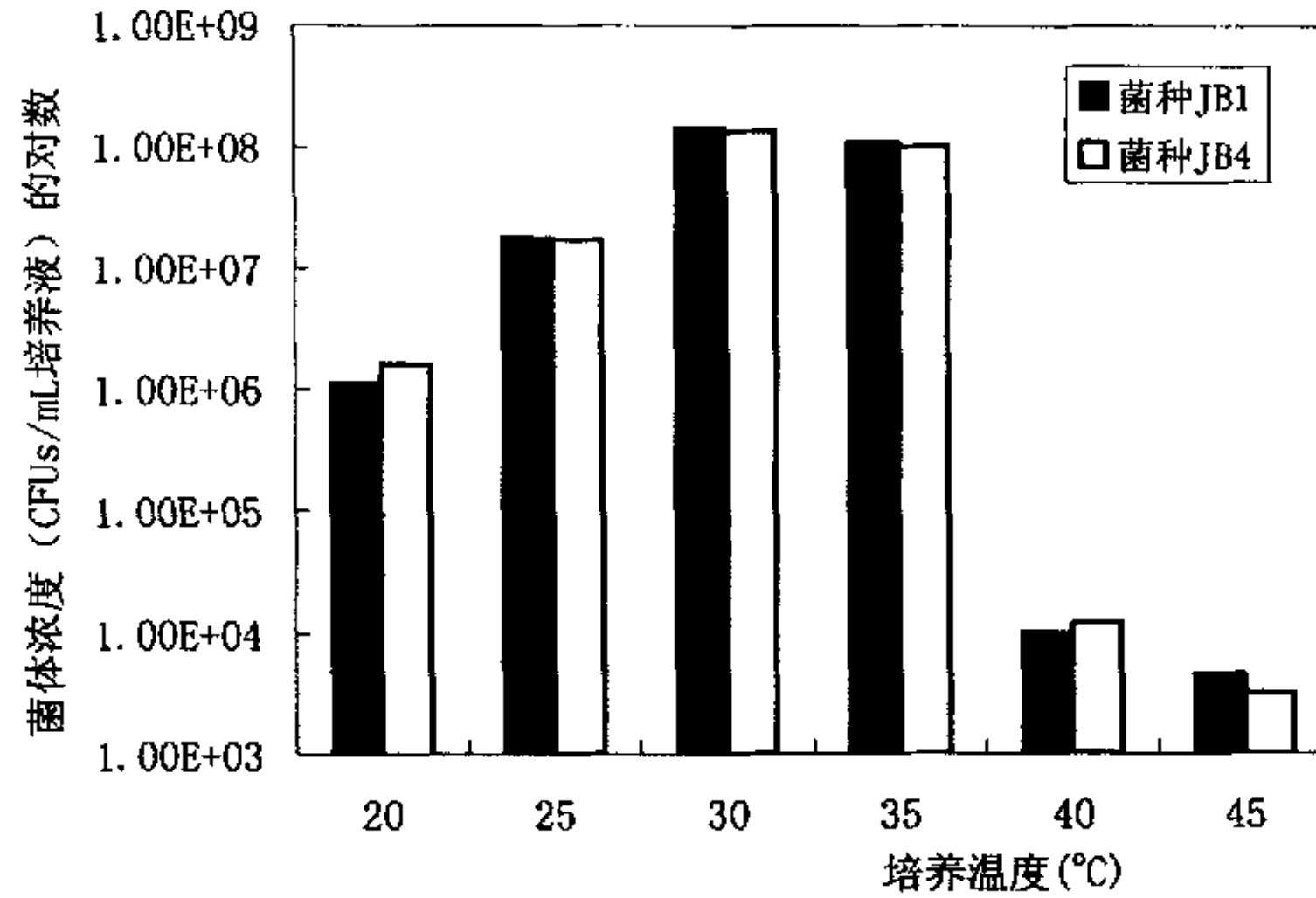


图 2-4. 菌种最适生长温度

图 2-4 是在不同温度培养 28h 后, 菌数统计的结果, 从图中可以看出, 菌种 JB1 和 JB4 在各个培养温度下, 菌数几乎差不多, 培养温度在 20°C~35°C 范围内, 两菌种生长情况都较好, 其中, 30°C 时菌数均达到最高, 说明 30°C 是菌种 JB1 和 JB4 的最适生长温度; 45°C 培养的结果显示, 高温对菌种的生长抑制作用很明显, 最高菌数为 10^8 数量级。

2.3.6 菌种最适生长 pH 值

对菌种 JB1 和 JB4 (基础培养基中) 在不同初始 pH 值的培养基中培养 28h 后菌数的测定结果见图 2-5。

图 2-5 是对菌种最适 pH 值的研究结果。图中 pH 值为 7~7.5 时柱行较高, 即菌的生长繁殖情况良好, 其中 pH 值为 7 时, 菌数最高, 因此, 7 是菌种的最适生长 pH 值; 随着 pH 值的降低, 菌数减少, 说明酸性环境对菌的生长不是非常适合; 随着 pH 值的升高, 菌数下降, 说明碱性环境也不利于菌的生长, 从图中可以看出, 菌种在 pH 值为 7~7.5 时, 生长最好, 因此, 菌种 JB1 和 JB4 适宜在中性偏碱性环境中生长繁殖, 并且 pH 值为 7 是它们的最适生长 pH 值。

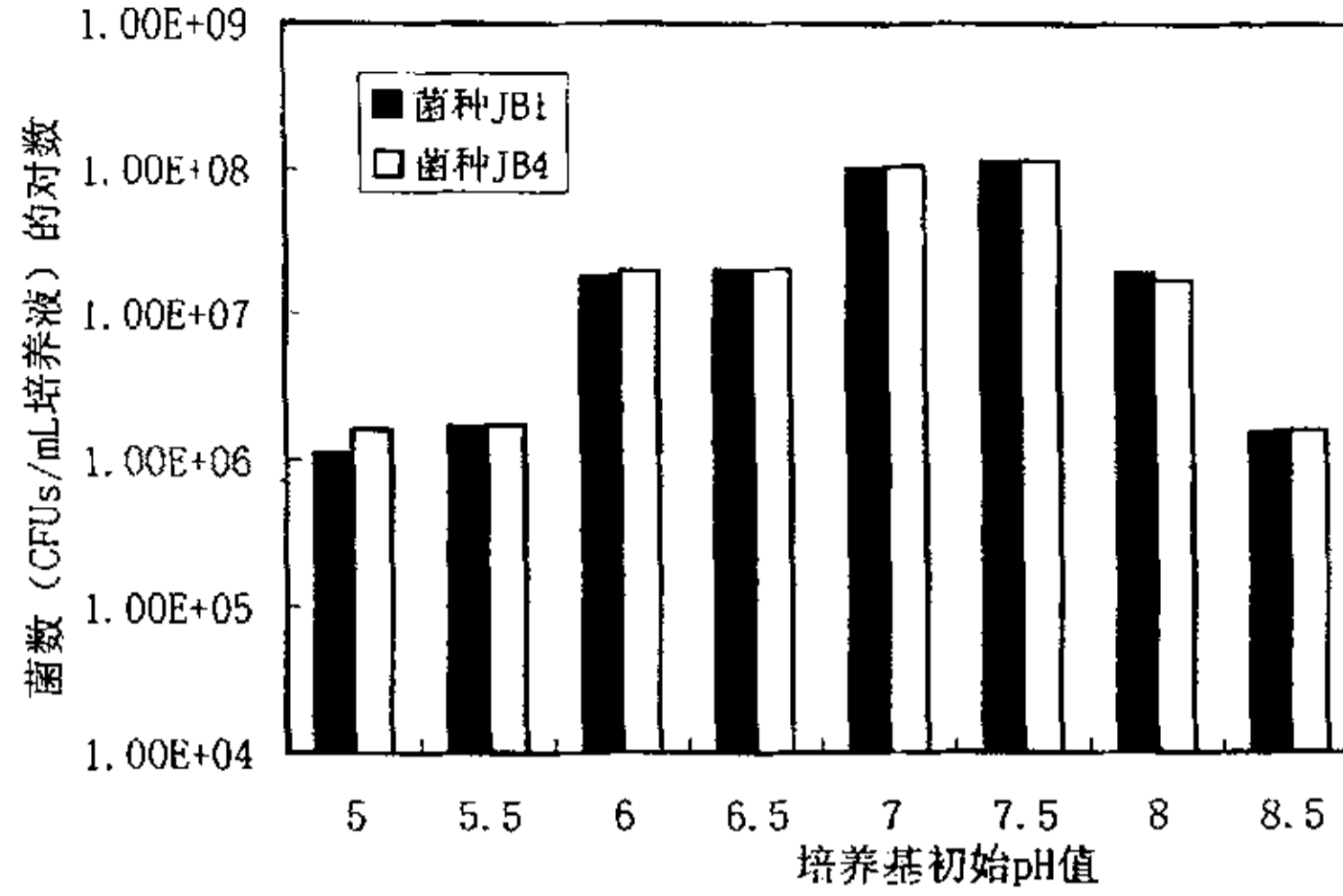


图 2-5. 菌种最适生长 pH 值

2.4 小结

在生物摇床上采集的大量样品好氧驯化，经反复平板划线分离，得到 13 株细菌，并从中筛选出了 7 株细菌，它们均能在含焦化废水的培养基上良好生长。对 7 株细菌进行的分类学鉴定，结果为 JB1 为假单胞菌属，JB2 为奈瑟氏球菌属，JB3、JB4 为黄单胞杆菌属，JB5、JB7 为微杆菌属，JB6 为芽孢杆菌属。通过对 7 株细菌降解焦化废水性能进行初步的研究，来对菌种进行复筛，结果选定能在焦化废水培养基中较好生长的 JB1、JB4 为实验用菌种。不同温度和 pH 值下培养的结果表明，两株菌适宜的生长温度为 30℃，最适初始 pH 值为 7。

3. 高效菌种对焦化废水降解性能研究

3.1 前言

自然界中存在着各种有机物和无机物,几乎所有的有机物和部分无机物都可以被微生物作为营养源而予以利用,甚至对一般机体有毒害的某些物质,如硫化氢、酚等,也是某些细菌的必要营养物。但在废水生物处理工程中,为了让微生物很好地生长,繁殖,确保达到最佳的处理效果及经济效益,必须为生物处理过程提供良好的环境条件。因此,微生物对焦化废水降解性能的研究过程,就是寻找适宜的微生物生长环境的过程。

本章对前面实验中分离筛选驯化出的焦化废水降解微生物菌种 JB1 和 JB4,在多种不同环境条件下降解焦化废水的性能进行了较为详细的研究,为它们能在实际应用中更好的发挥其效能奠定了坚实的大量实验研究。通过研究菌株在不同环境中对焦化废水的降解性能,能使我们更进一步了解菌株,以便更科学、合理地使用它们,也为其应用提供重要的参数。

3.2 材料和方法

3.2.1 主要仪器

UV—1100 型紫外—可见分光光度计;可变速恒温摇床等生物培养设备及水浴设备(型号见第二章)。

3.2.2 生物摇床好氧实验

利用生物摇床可在无菌操作条件下进行降解实验研究,利用生物摇床进行的实验是:向 200mL 锥形瓶中装入特定的培养基,培养基成分(如碳源、氮源、无机离子等)和体积(如 30mL、50mL、90mL 等)可依据需要进行调整,(如不同的单一菌种或不同比例的混合菌种等)可以改变,在可变速的振荡摇床上固定水浴温度,连续培养一定时间,取样观察、检测。

3.2.3 测定方法

菌数的测定: 方法见第二章 2.2.4。

COD 的测定: 方法见第二章 2.2.5。

OD₆₀₀ 的测定: 当光线通过微生物菌悬液时,由于菌体的散射及吸收作用使光线的透过量降低。在一定的范围内,微生物细胞浓度与透光度成反比,与光密度成正比,而光密度或透光度可以由光电池精确测出。因此,可用一系列已知菌数的菌悬液测定光密度,作出光密度—菌数标准曲线。然后,以样品液所测得的光密度,从标准曲线中查出对应的菌数。

3.3 结果和讨论

3.3.1 初始 pH 值对菌的性能影响

微生物的生化反应是在酶的催化作用下进行的,酶的基本成分是蛋白质,是具有离解基团的两性电解质, pH 值对微生物生长繁殖的影响体现在酶的离解过程中,电离形式不同,催化性质也就不同,此外,酶的催化作用还决定于基质的电离状况, pH 值对基质电离状况的影响也进而影响到酶的催化作用。一般认为 pH 值是影响酶的活性的最重要因素之一。因此,研究一种微生物,了解其适宜的生长繁殖 pH 值是很有必要的。

调整降解培养基的初始 pH 值分别为 5、6、7、8 和 9,分别接种 JB1 和 JB4,在 30℃ 恒温摇床上振荡培养,定时取样检测菌数,并在培养结束后测定焦化废水降解率和培养基的光密度值 OD₆₀₀,结果见图 3-1、3-2、3-3 和表 3-1。

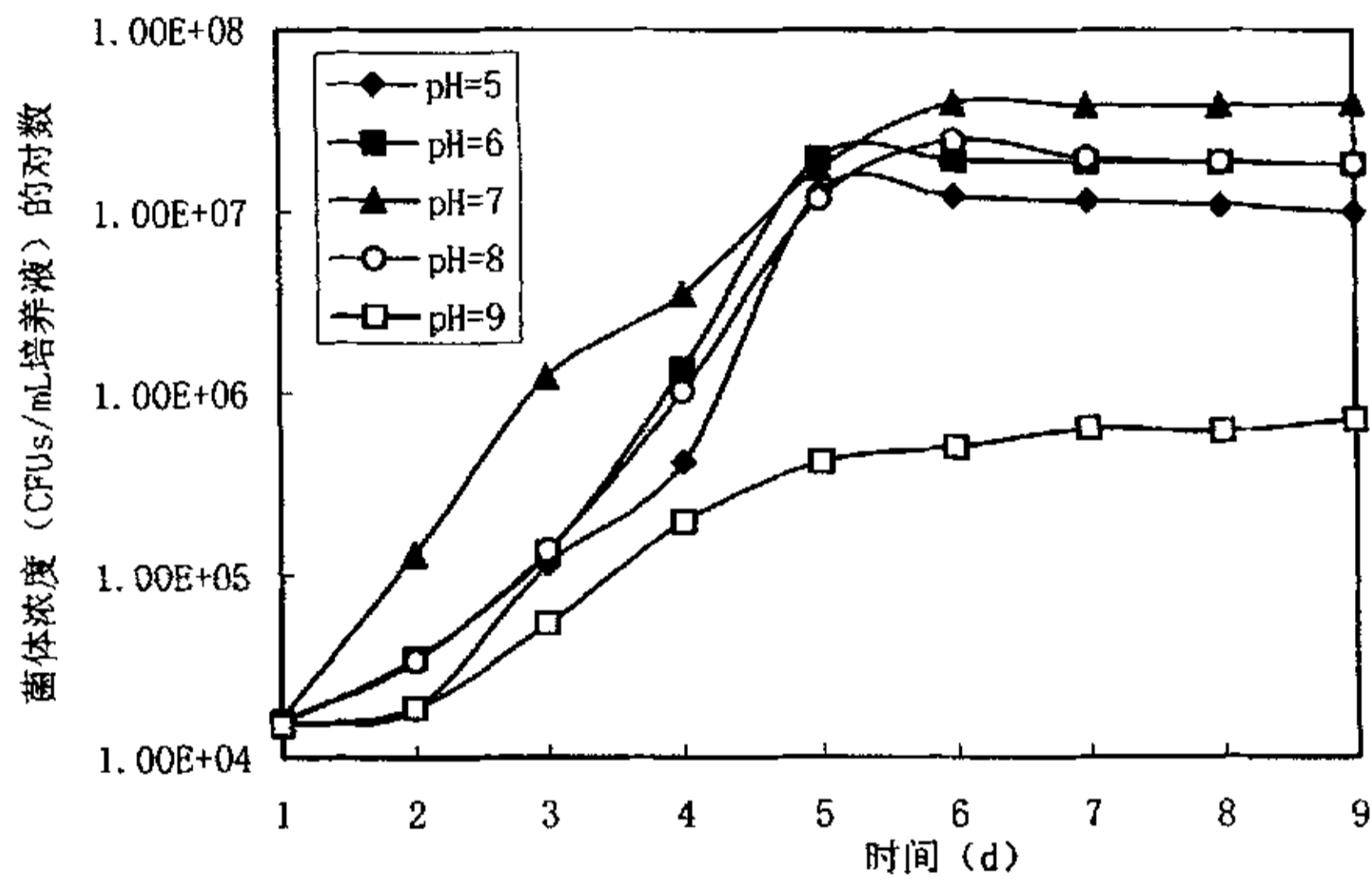


图 3-1. 不同 pH 值降解培养基中 JB1 生长情况

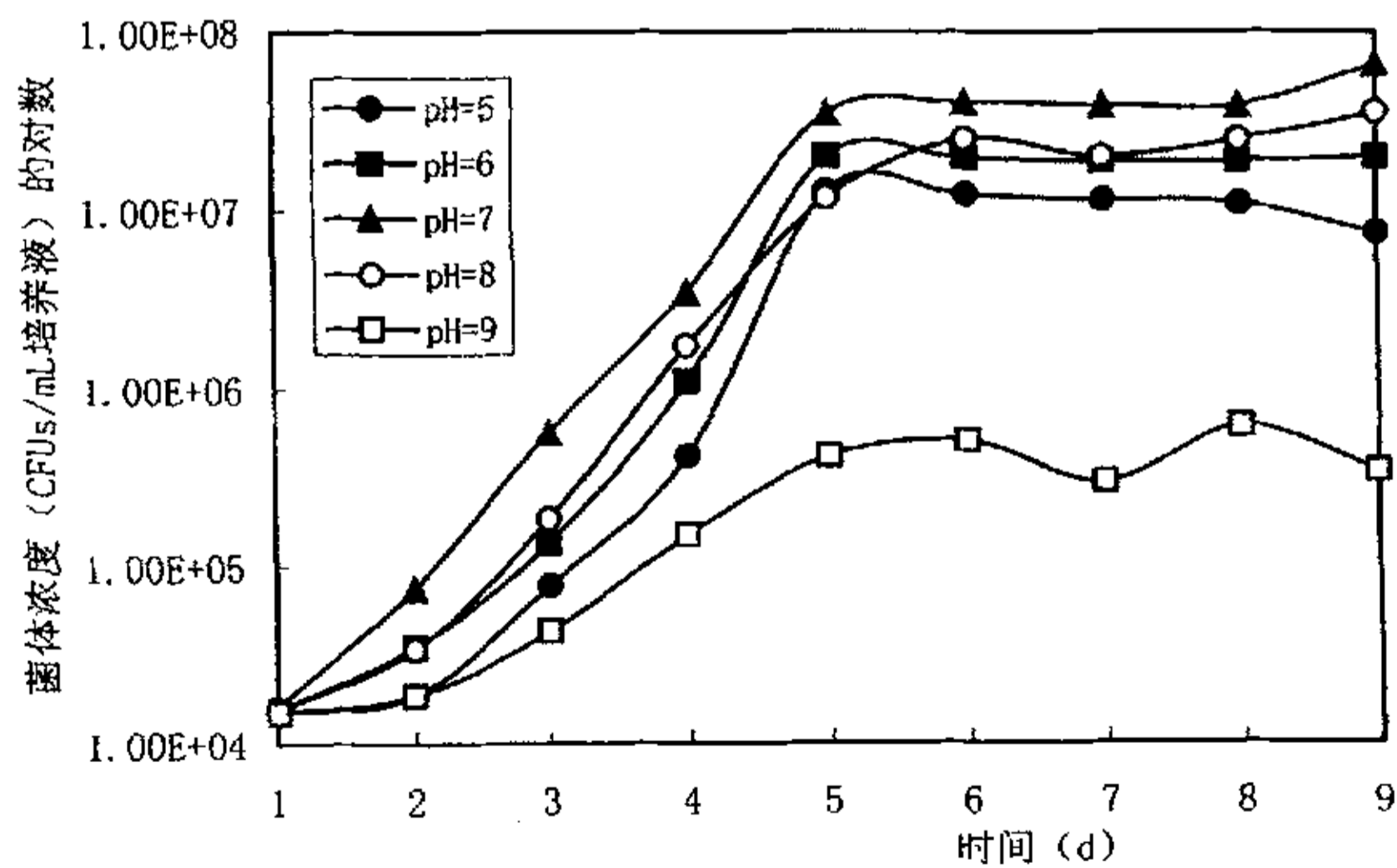


图 3-2. 不同 pH 值降解培养基中 JB4 生长情况

图 3-1 和 3-2 分别是菌种 JB1 和 JB4 在不同初始 pH 值的降解培养基中的生长情况。两

图中 pH 值为 7 时的曲线位置高于其它 pH 值时的曲线, 说明培养基初始 pH 值为 7 时有利于菌种的生长繁殖; pH 值为 9 时的曲线位置最低, 即菌的生长繁殖最不好, 即菌生长缓慢, 截止到第 9 天, 菌数仅为 10^5 数量级。这些说明碱性环境不利于菌种的生长繁殖, 甚至有一定的抑制作用。

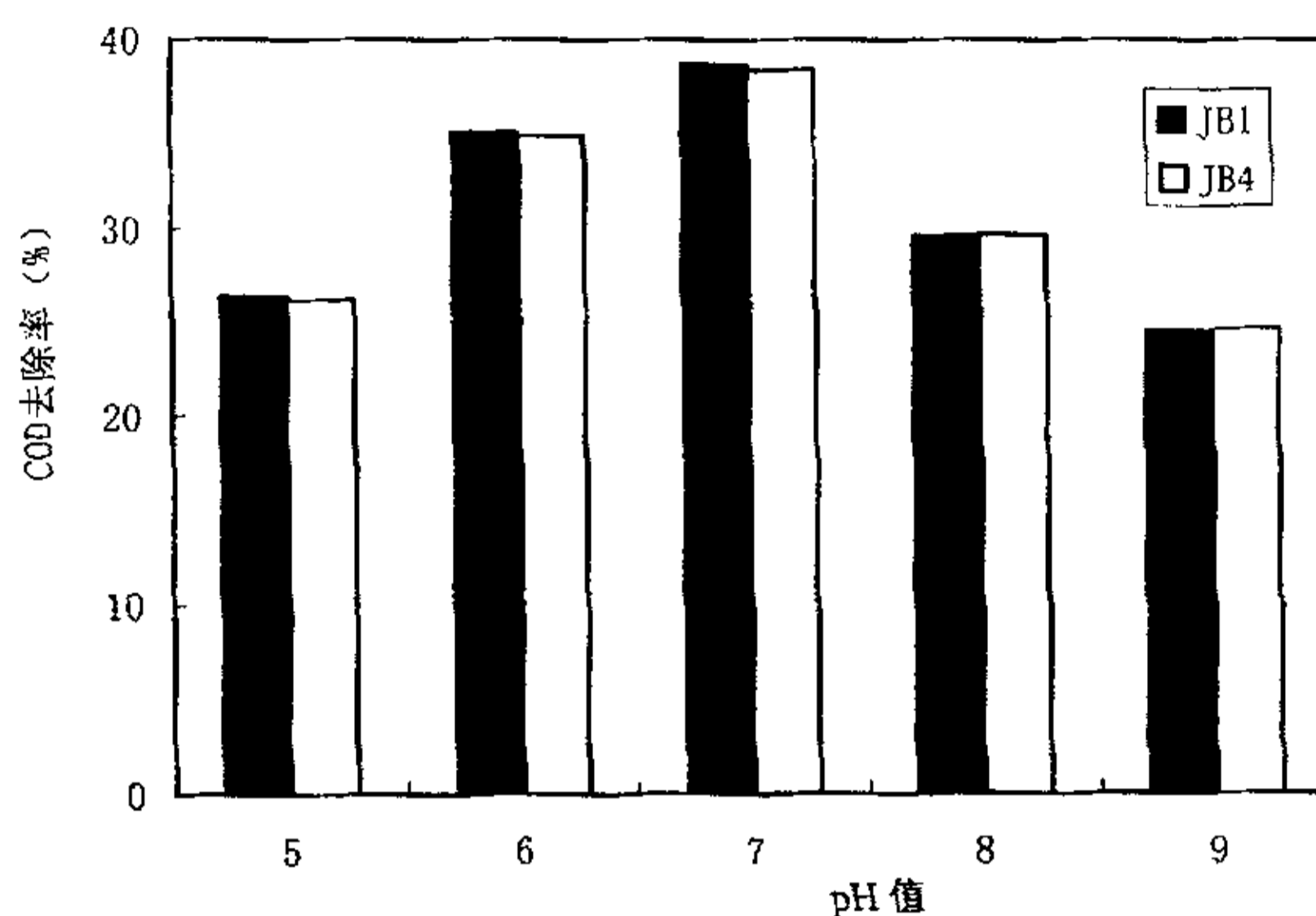


图 3-3. 不同 pH 值对焦化废水降解的影响

表 3-1. pH 值对菌种降解焦化废水的影响

pH	菌种 JB1					菌种 JB4				
	5	6	7	8	9	5	6	7	8	9
OD ₆₀₀	0.030	0.034	0.042	0.029	0.025	0.028	0.032	0.041	0.030	0.026
COD 去除率 (%)	26.4	35.1	38.7	29.6	24.5	26.2	34.9	38.4	29.7	24.6

从表 3-1 中可以看出, JB1 和 JB4 在降解焦化废水的培养基生长情况比较相似。菌种浓度几乎相等。当 pH 值为 6~8 时, COD 去除率较高, 为 29~40%。pH 值为 7 时最佳, COD 去除率达到 38.7% 和 38.4%。

3.3.2 培养温度对菌的性能影响

温度对微生物具有广泛的影响, 不同的反应温度, 各微生物有不同的生长规律。一般来说, 微生物的生长温度范围是 0~80℃。根据各类微生物所适应的温度范围, 微生物可分为高温性(嗜热菌)、中温性、常温性和低温性(嗜冷菌)四类。

微生物的生长过程实际上是一系列生物化学反应, 而这些反应速率都受温度的影响。在最低生长温度和最适温度范围内, 若反应温度升高, 则反应速率增大, 微生物增长速率也随之增

加, 处理效果相应提高。但当温度超过最高生长温度时, 会使微生物的蛋白质变性及酶系统遭到破坏而失去活性, 严重时蛋白质结构会受到破坏, 导致发生凝固而使微生物死亡。低温对微生物往往不会致死, 只有频繁的反复结冰和解冻, 才会使细胞受到破坏而死亡。但是低温将使微生物的代谢活力降低, 通常在 5℃ 以下, 细菌的代谢作用就大大受阻, 处于生长繁殖的停止状态。所以在废水生物处理过程中, 应注意控制水温。

在固定培养基初始 pH 值为 7 的情况下, 将菌种 JB1 或 JB4 接种到反应体系中, 分别在 25℃、30℃、35℃ 和 40℃ 恒温摇床上振荡培养, 定时取样检测菌数, 并在培养结束后测定焦化废水降解率和培养基的光密度值 OD₆₀₀, 结果见图 3-4、3-5、3-6 和表 3-2。

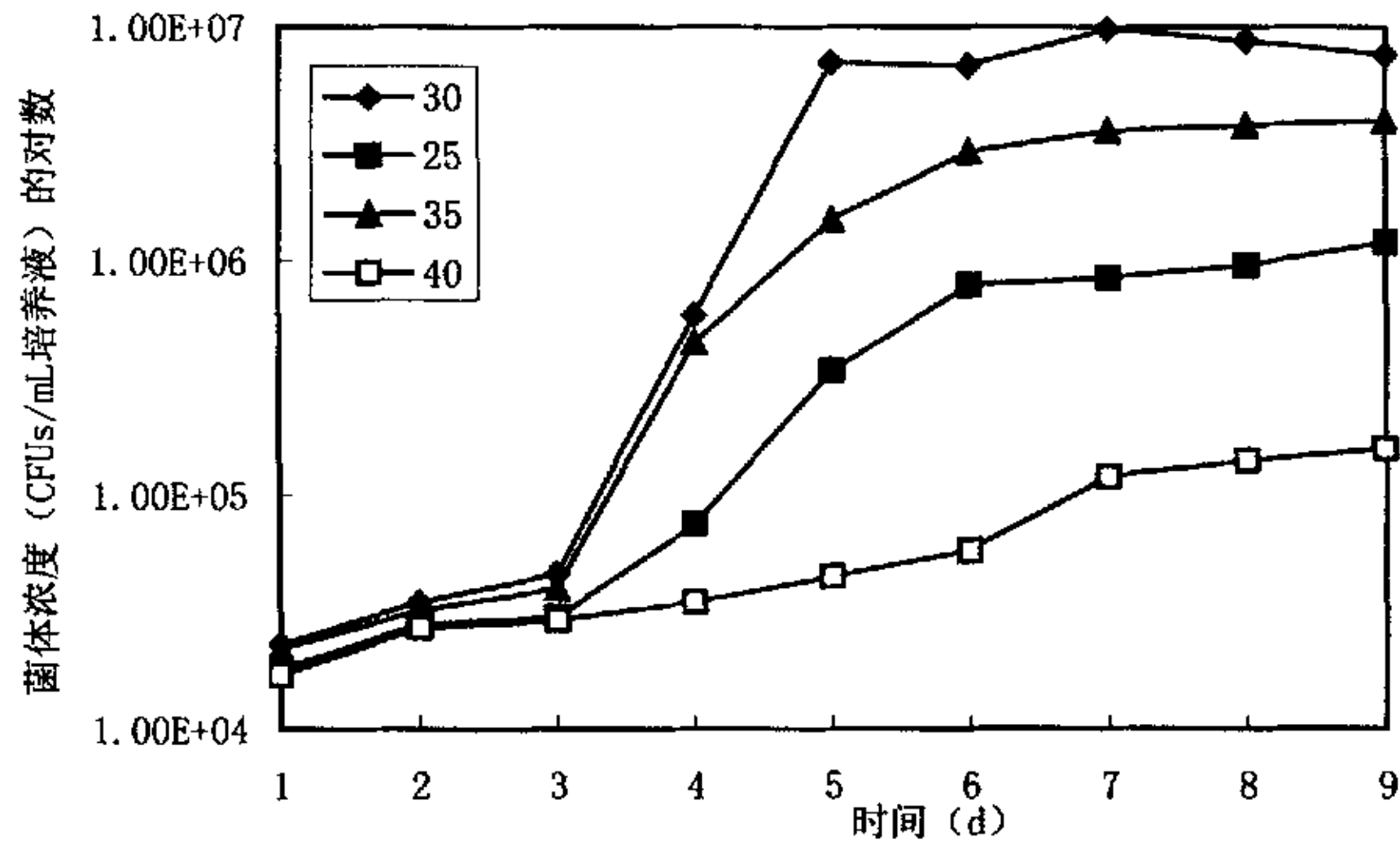


图 3-4. 温度对 JB1 生长的影响

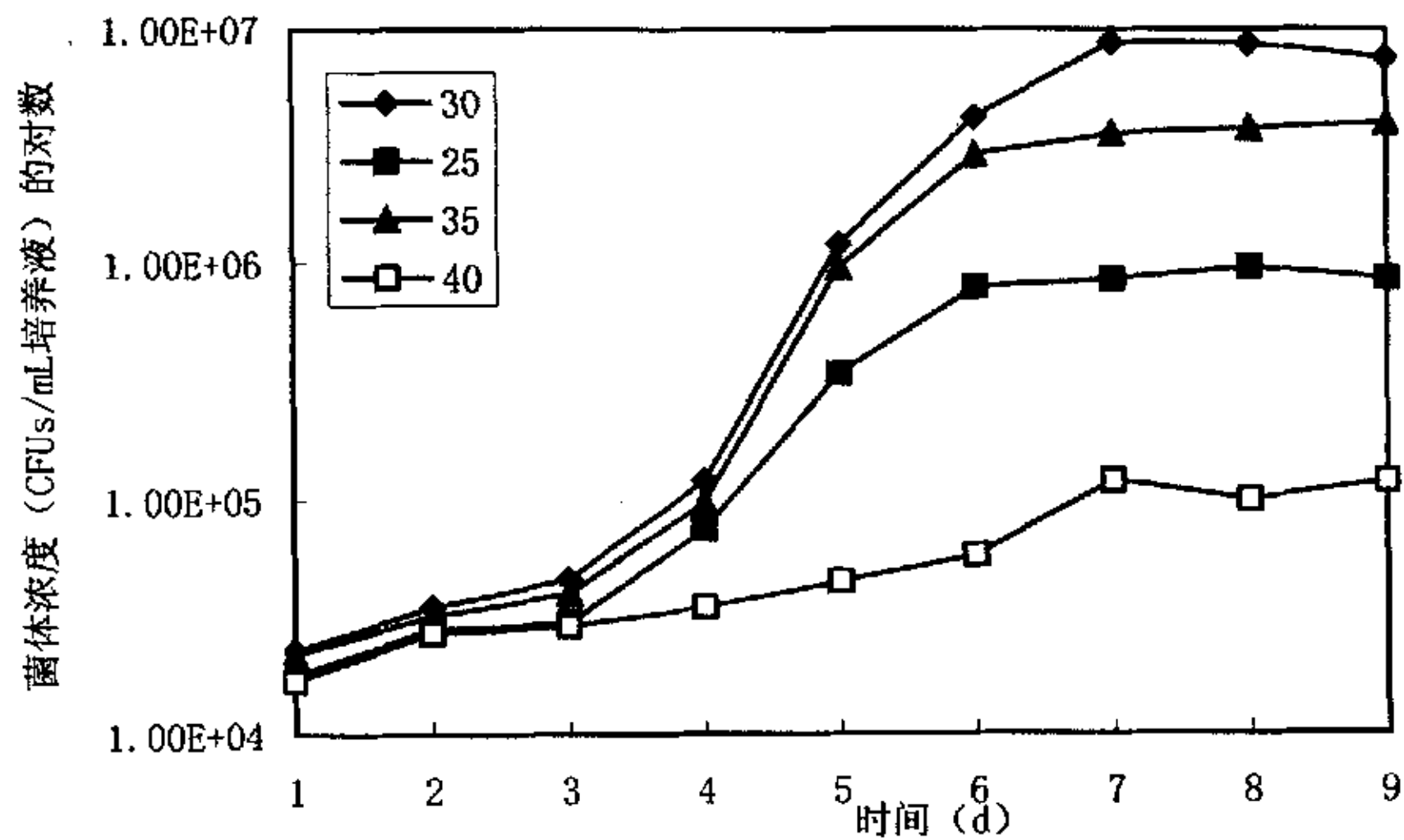


图 3-5. 温度对 JB4 生长的影响

图 3-4 和 3-5 分别是不同的培养温度对菌种 JB1 和 JB4 生长的影响结果。两图中曲线分布

情况比较类似，都是 30℃ 时的位置最高，35℃ 次之，40℃ 最低。该结果说明，两菌种在降解培养基中最适的生长繁殖温度为 30℃，在此温度下进行降解反应，菌种能更好地发挥降解性能。

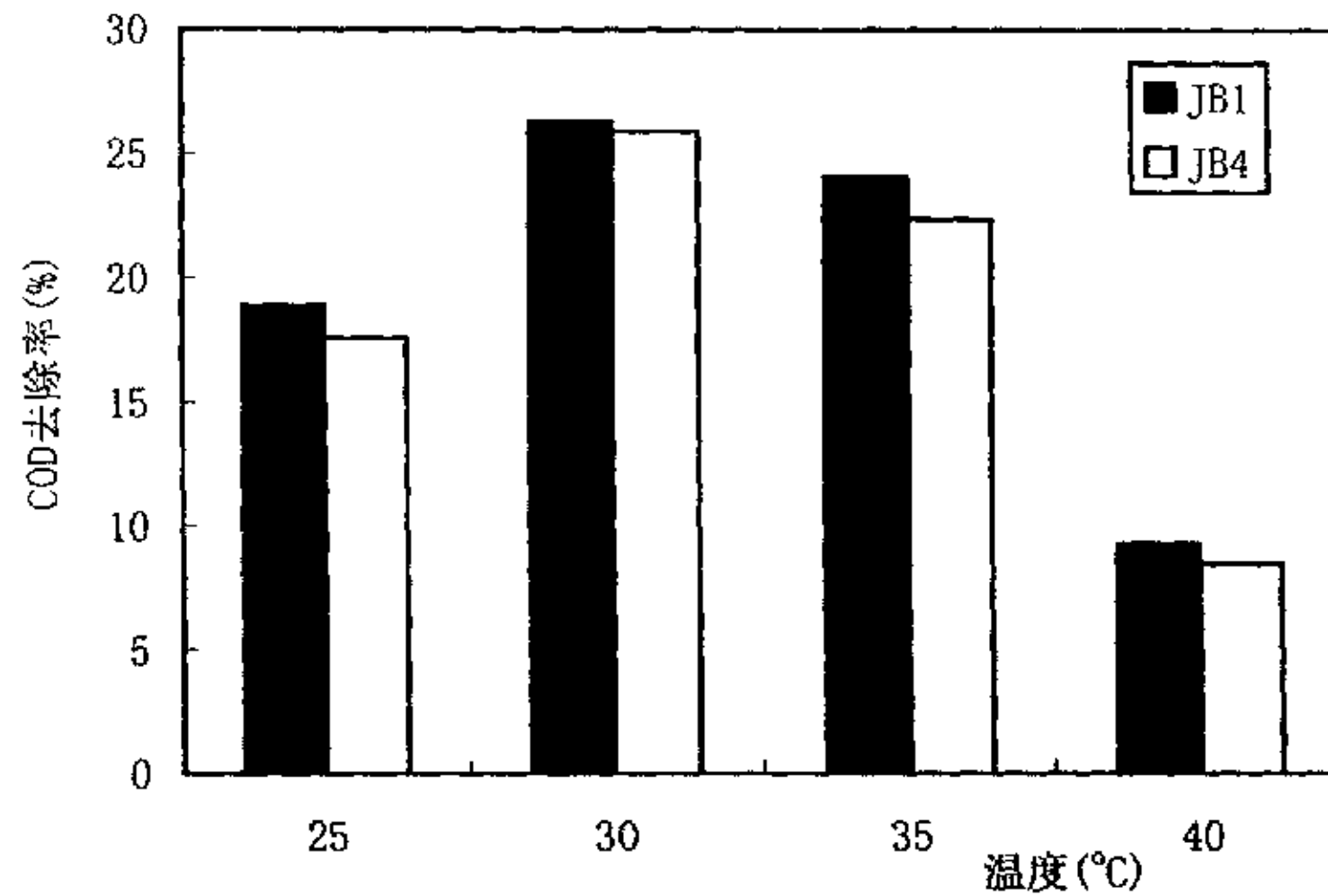


图 3-6. 不同温度对焦化废水降解的影响

表 3-2. 温度对菌种降解焦化废水的影响

温度 (°C)	菌种 JB1		菌种 JB4	
	COD 去除率 (%)	DO ₆₀₀	COD 去除率 (%)	DO ₆₀₀
25°C	18.9	0.020	17.6	0.021
30°C	26.3	0.068	25.9	0.067
35°C	24.1	0.062	22.4	0.060
40°C	9.3	0.046	8.5	0.047

表 3-2 是不同温度培养后，菌浓度测定的结果及焦化废水的 COD 去除率，30℃ 时去除率最高，JB1 的去除率为 26.3%，JB4 的去除率为 25.9%。40℃ 时最低。

3.3.3 共代谢初级碳源对菌的性能影响

凡是可以被微生物用来构成细胞物质的或代谢产物中碳素来源的营养物质统称为碳源 (*carbon source*)。碳源通过机体内一系列复杂的化学变化被用来构成细胞物质和 (或) 为机体提供完成整个生理活动所需要的能量。

焦化废水是一种难降解有机废水，除了含有酚类化合物外，还含有杂环化合物和多环芳烃化合物，极难降解，因此，它并不是微生物的理想碳源，由于利用微生物的共代谢 (*co-metabolism*) 理论，给基质中加入容易被微生物降解利用的初级基质 (如葡萄糖)，经常会提高难降解有机物的降解利用率，我们也对可能影响菌种降解焦化废水的几种共代谢碳源进

行了研究。碳源分别为葡萄糖、可溶性淀粉、蔗糖和乳糖，加入量均为 0.5g/L，实验在 30℃，pH 值为 7，110 r/min 振荡培养的情况下进行，实验结果见图 3-7，图 3-8 和图 3-9 以及表 3-3。

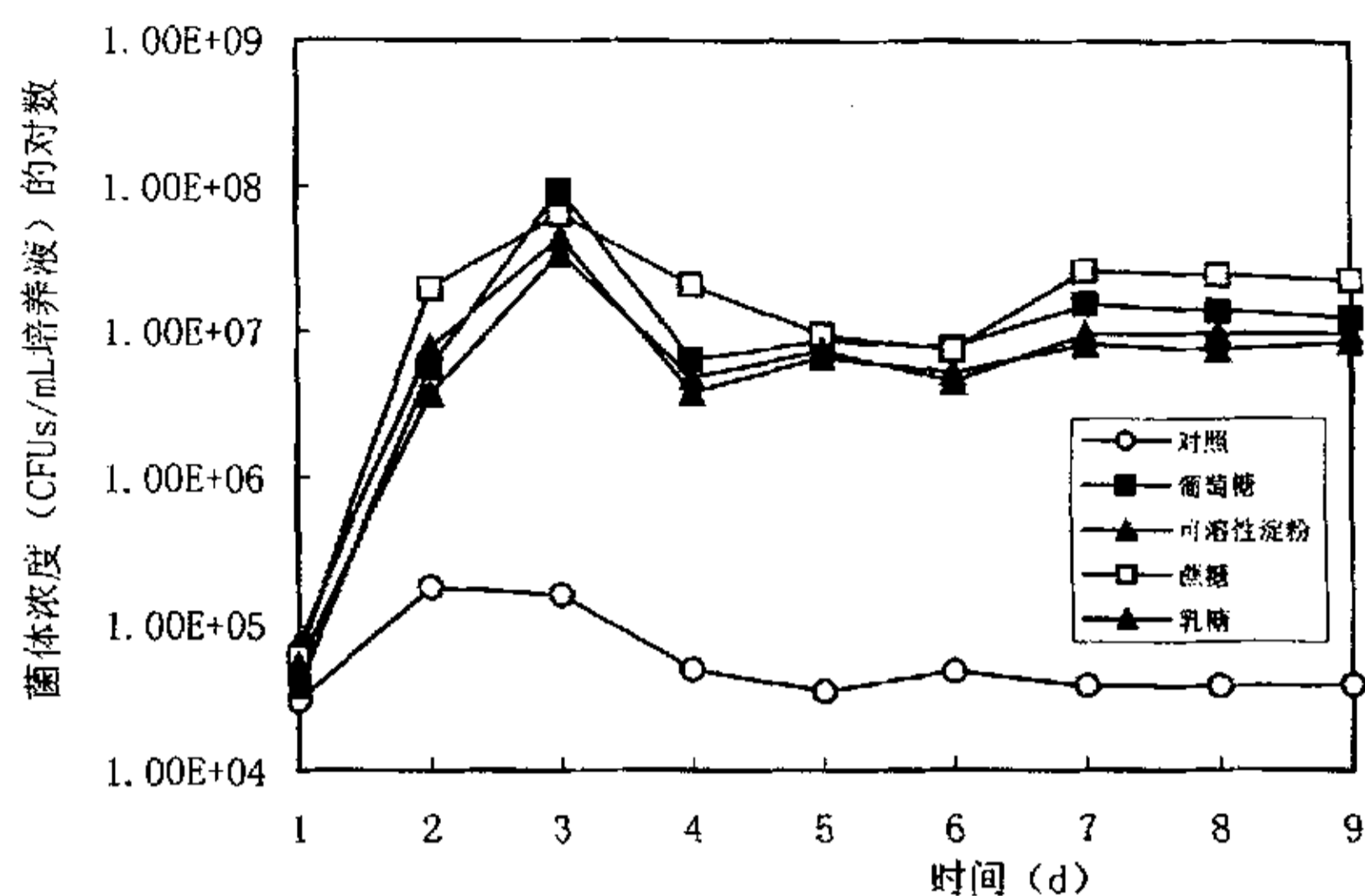


图 3-7. 共代谢碳源对 JB1 生长的影响

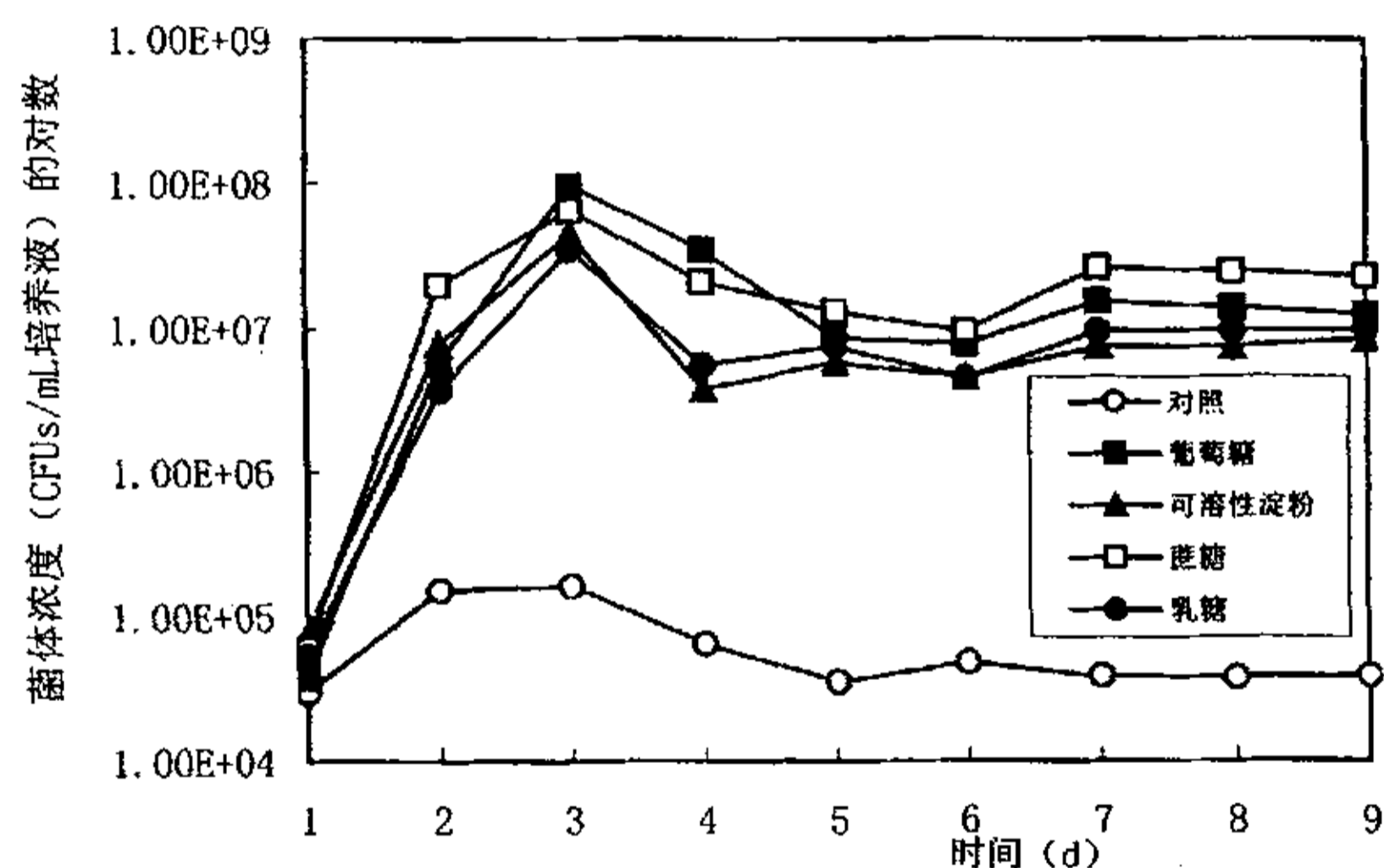


图 3-8. 共代谢碳源对 JB4 生长的影响

图 3-7 和 3-8 是在降解培养基中分别加入了几种不同的共代谢碳源物质后，菌种培养过程中数量变化的曲线图。从图中曲线的分布和趋势发现，两株菌种在加入碳源和不加碳源的培养基中生长有显著的差别，加入的四种碳源对两株菌种的影响情况大体相同，生长情况好，在加入的第三天，菌数达到最大值，而不加碳源的培养基菌种生长最多达到约 10^5 数量级。从图中我们还可以看到：葡萄糖和蔗糖这两种碳源菌种利用的比较好，可溶性淀粉利用的较差。

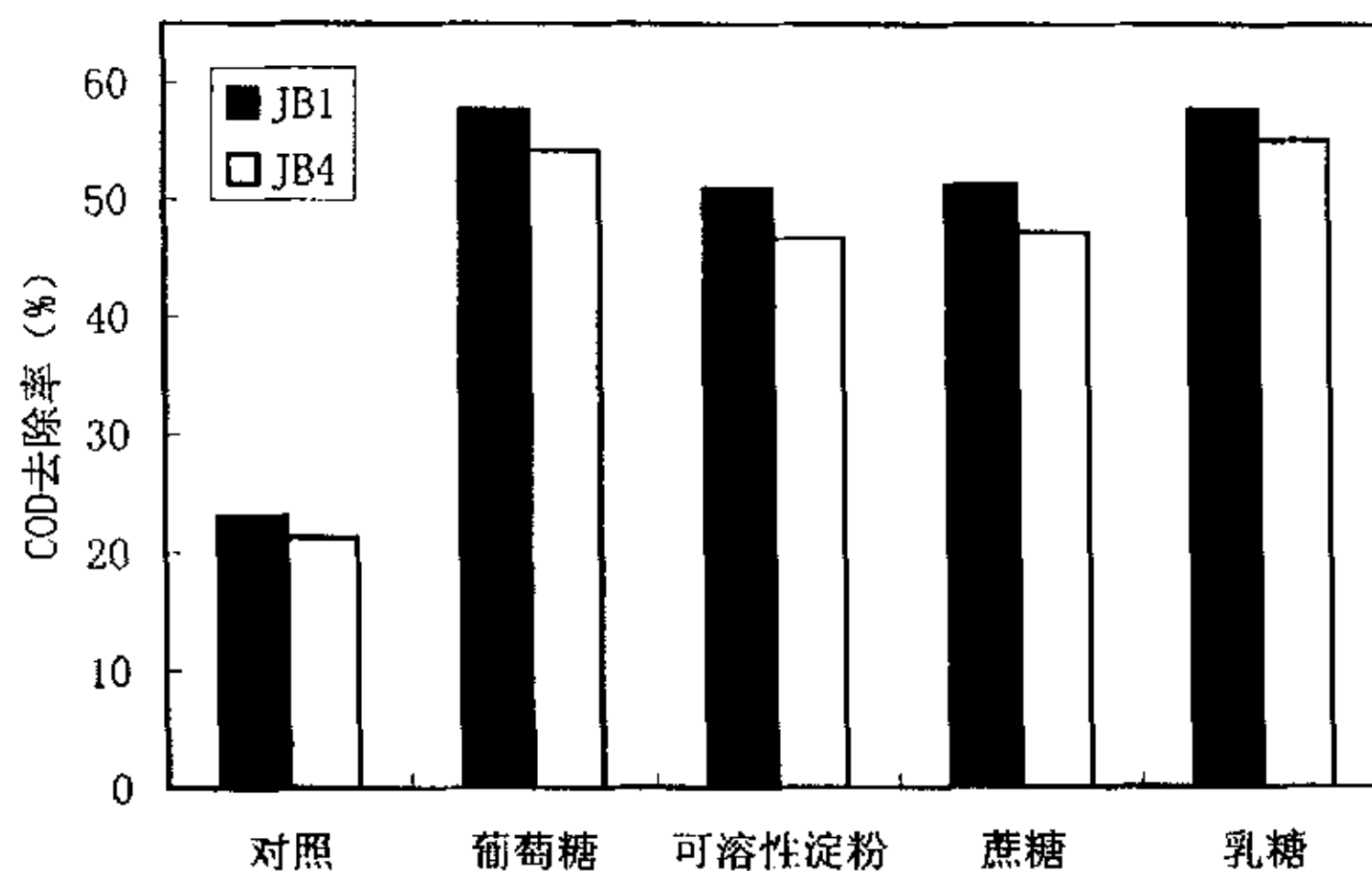


图 3-9. 不同碳源对焦化废水降解的影响

表 3-3. 碳源对菌种降解焦化废水的影响

碳源	菌种 JB1		菌种 JB4	
	COD 去除率 (%)	DO ₆₀₀	COD 去除率 (%)	DO ₆₀₀
对照	23.10	0.022	21.30	0.021
葡萄糖	57.67	0.078	54.20	0.074
可溶性淀粉	50.95	0.088	46.70	0.086
蔗糖	51.30	0.082	47.20	0.081
乳糖	57.71	0.117	55.10	0.116

从图 3-9 中可以看到，柱形从高到低依次为乳糖、葡萄糖、蔗糖、可溶性淀粉，最低的是对照(即不加任何碳源，仅以焦化废水为唯一碳源)，所以，加入共代谢初级碳源，对菌种更好地降解焦化废水影响比较大。

以上实验结果表明，通过几种共代谢碳源的加入，菌种的生长速度，COD 的去除率发生了一些变化，其中乳糖的作用最为明显，焦化废水的降解效果最理想，因此，选择乳糖作为反应体系的共代谢初级碳源，我们认为是合适的。

3.3.4 氮源对菌的性能影响

氮也是细胞中的一种主要组成元素，它来自环境中的含氮物质或分子氮。凡是能被微生物用来构成菌体物质中或代谢产物中氮素来源的营养物质通常称为氮源 (*nitrogen source*) 物质。这类物质主要是用来作为合成细胞物质中含氮物质的原料，它是核酸及蛋白质的主要成分，是

构成生物体的必需元素，一般不用作能源物质。氮源不足常常会限制生物体的生长繁殖，因此应在培养基中加入适当的氮源以满足其对氮源的需要。选取几种不同的氮源加入培养基中，进行实验研究，以确定哪一种更合适作为促进菌种生长和繁殖的氮源。氮源加入量均为 1g/L，30℃，pH 值为 7，110r/min 恒温振荡培养。实验结果见图 3-10、图 3-11 和图 3-12 及表 3-4。

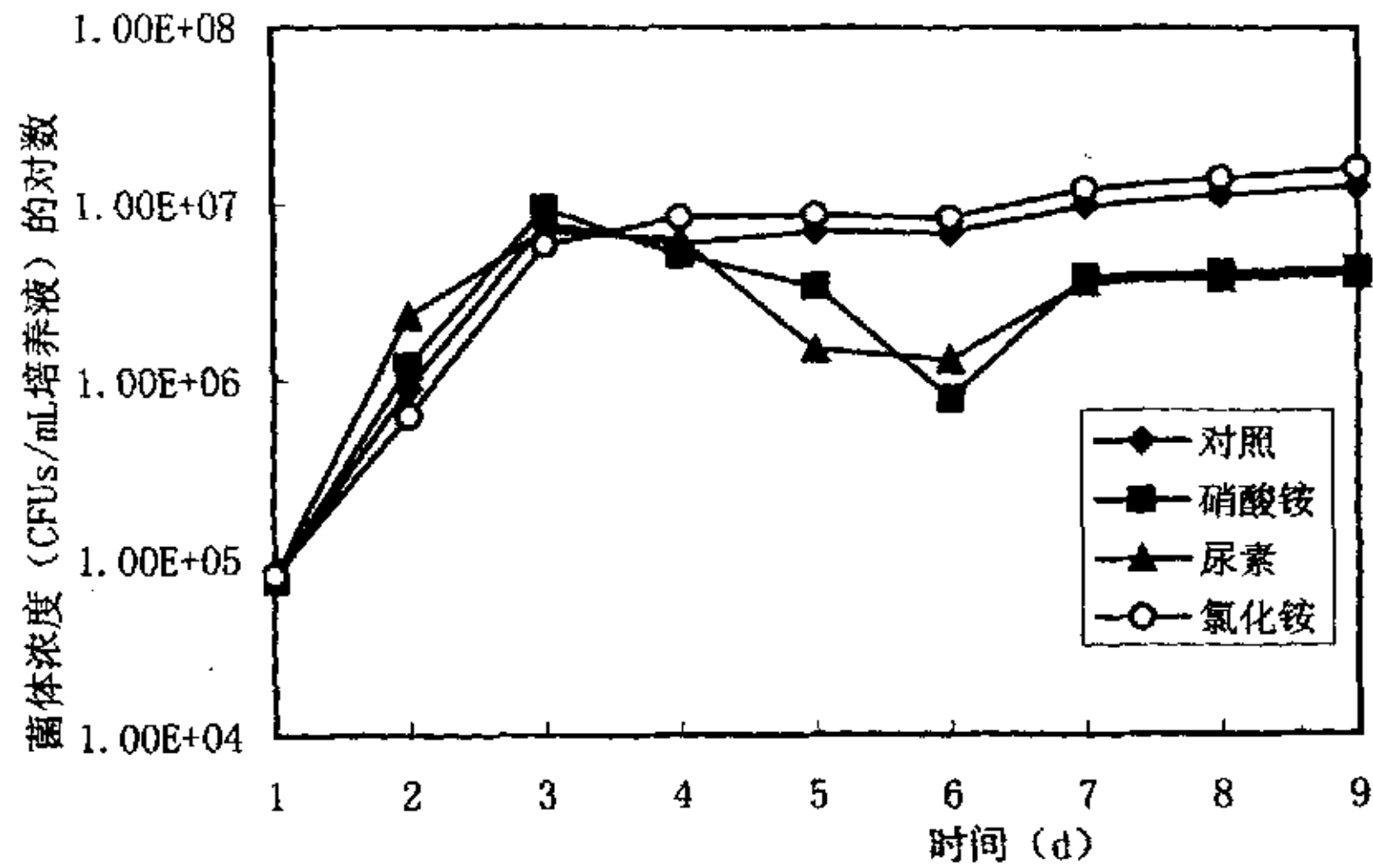


图 3-10. 氮源对 JB1 生长的影响

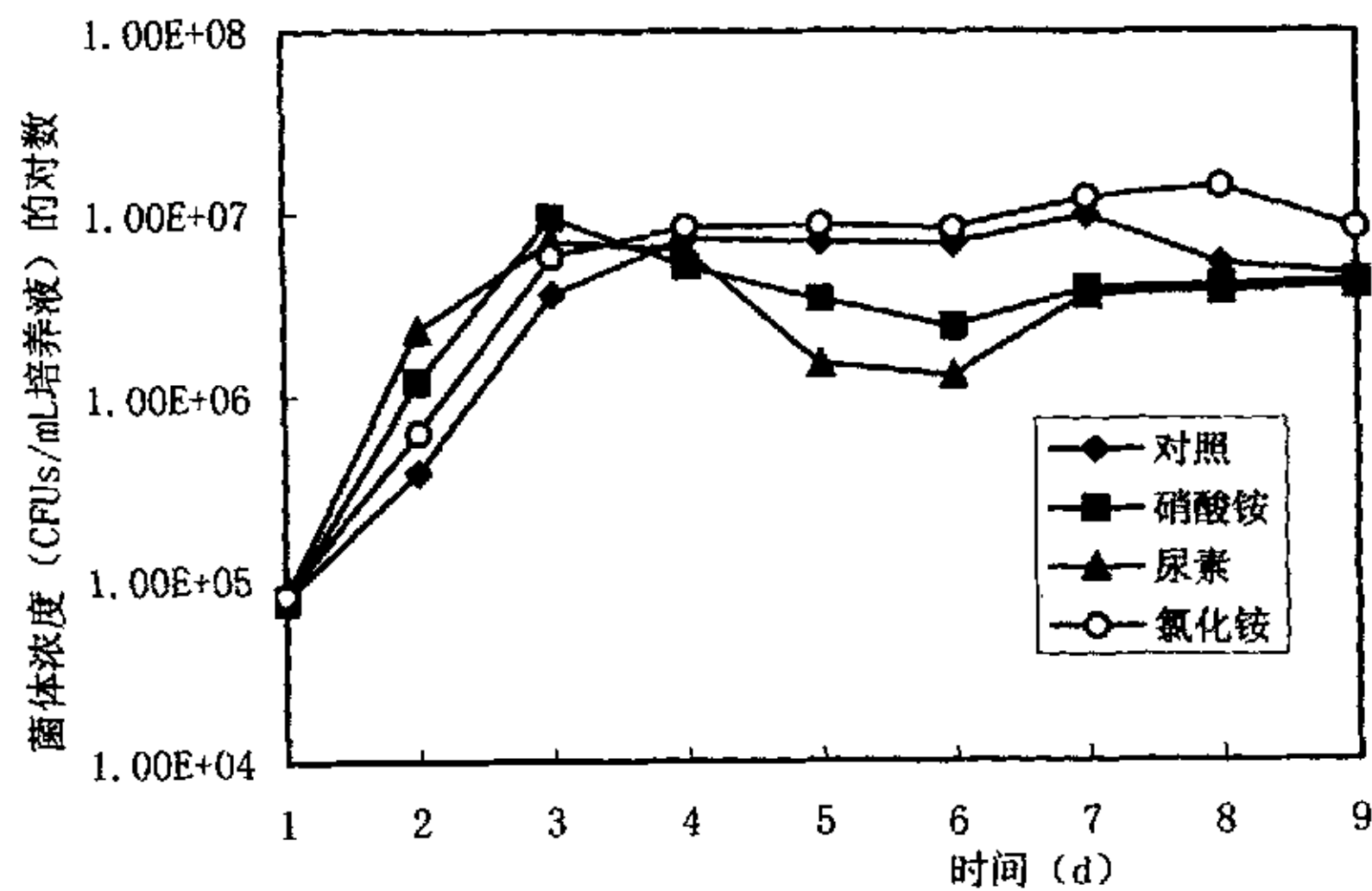


图 3-11. 氮源对 JB4 生长的影响

图 3-10 和 3-11 分别是不同的氮源对菌种 JB1 和 JB4 生长的影响结果，图 3-10 是不同氮源对菌种 JB1 的影响结果，图中氯化铵的曲线位置最高，其次是对照(不加任何氮源)和硝酸铵，尿素的曲线位置最低。菌种 JB1 对氯化铵的利用情况比较好，有利于其生长繁殖；图 3-11 是不同氮源对菌种 JB4 的影响结果，与图 3-10 相似，图中氯化铵的曲线位置最高，其次是对照(不加任何氮源)和硝酸铵，说明氯化铵对菌种 JB4 的生长繁殖也是优于其他几种氮源。

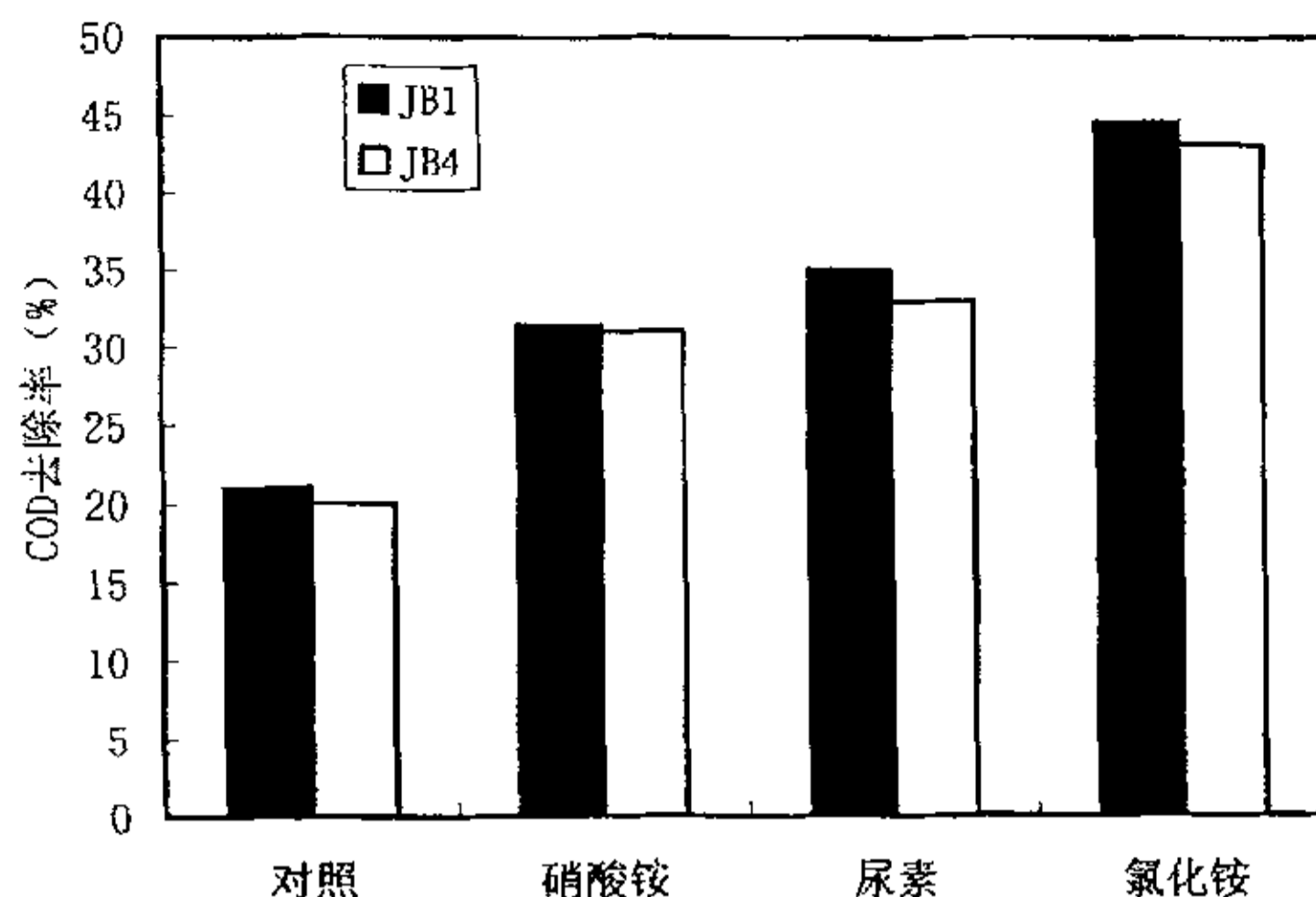


图 3-12. 不同氮源对焦化废水降解的影响

图 3-12 是不同氮源对培养基中焦化废水的 COD 去除率的影响结果。图中代表 JB1 的柱形均高于代表 JB4 的柱形，氯化铵的柱形最高数值为 44.57%和 43.12%，其次是尿素和硝酸铵，柱形最低是对照。由此我们能看到，氯化铵不但有利于菌的生长繁殖也对焦化废水的降解有积极作用。

表 3-4. 氮源对菌种降解焦化废水的影响

氮源	菌种 JB1		菌种 JB4	
	COD 去除率 (%)	DO600	COD 去除率 (%)	DO600
对照	21.05	0.102	20.03	0.100
硝酸铵	31.48	0.117	31.04	0.115
尿素	35.00	0.097	33.00	0.096
氯化铵	44.57	0.092	43.12	0.092

从表 3-4 中，我们看到，菌种 JB1 和 JB4 在同种氮源中的最终浓度，几乎相等。不同氮源对菌种性能的影响的实验结果进行总结发现，氯化铵的加入不但能使菌种生长良好，而且焦化废水的 COD 去除率也有一定的增加，因此，可以选择氯化铵作为降解培养基的氮源。

3.3.5 无机离子及其浓度对焦化废水降解的影响

无机盐是微生物生长非常重要的一类营养物质，它们为机体生长提供必需的无机离子，这些无机离子在有机体内的生理作用很多，它们参与酶的组成，构成酶的最大活性，维持细胞结构的稳定性，调节与维持细胞的渗透压平衡，控制细胞的氧化还原电位和作为某些微生物生长的能源物质等。一般微生物生长所需的无机盐有硫酸盐、磷酸盐、氯化物以及含有钠、钾、铁、

镁等金属元素的化合物。

我们安排了无机离子对菌种降解性能影响的四因素四水平 $L_{16}(4^4)$ 正交实验, 因素和水平的选择见表 3-5。由于菌种 JB1 和 JB4 有很多相似之处, 为使实验简化一些, 因此在该实验中选择菌种 JB1 作为代表实验菌种, 来考察无机离子的效应。实验选取 Mn^{2+} ($MnSO_4 \cdot H_2O$ 的形式)、 Fe^{2+} ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 的形式)、 Cu^{2+} ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 的形式) 和 Ca^{2+} ($CaCl_2$ 的形式) 四种无机离子作为四因素, 它们各自不同的四种浓度见表 3-5。温度 $30^\circ C$, pH 值为 7, 110r/min 振荡培养, 对最终的培养基中焦化废水 COD 进行测定, 实验结果及分析见表 3-6、3-7 和 3-8 和图 3-13、3-14。

表 3-5. 无机离子正交实验因素水平选择表

水平 \ 因素	Mn^{2+} (mg/L)	Fe^{2+} (mg/L)	Cu^{2+} (mg/L)	Ca^{2+} (mg/L)
1	0	0	0	0
2	1	0.1	0.1	10
3	5	0.25	0.25	25
4	10	0.5	0.5	50

表 3-6. 无机离子正交实验安排及结果

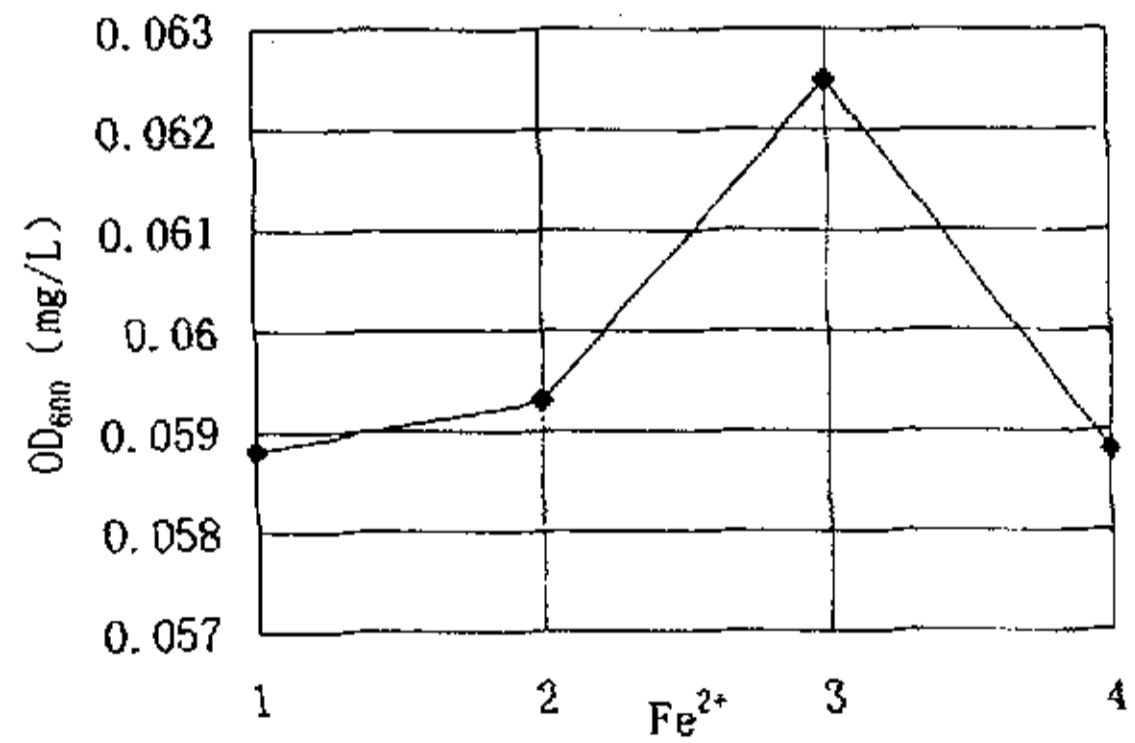
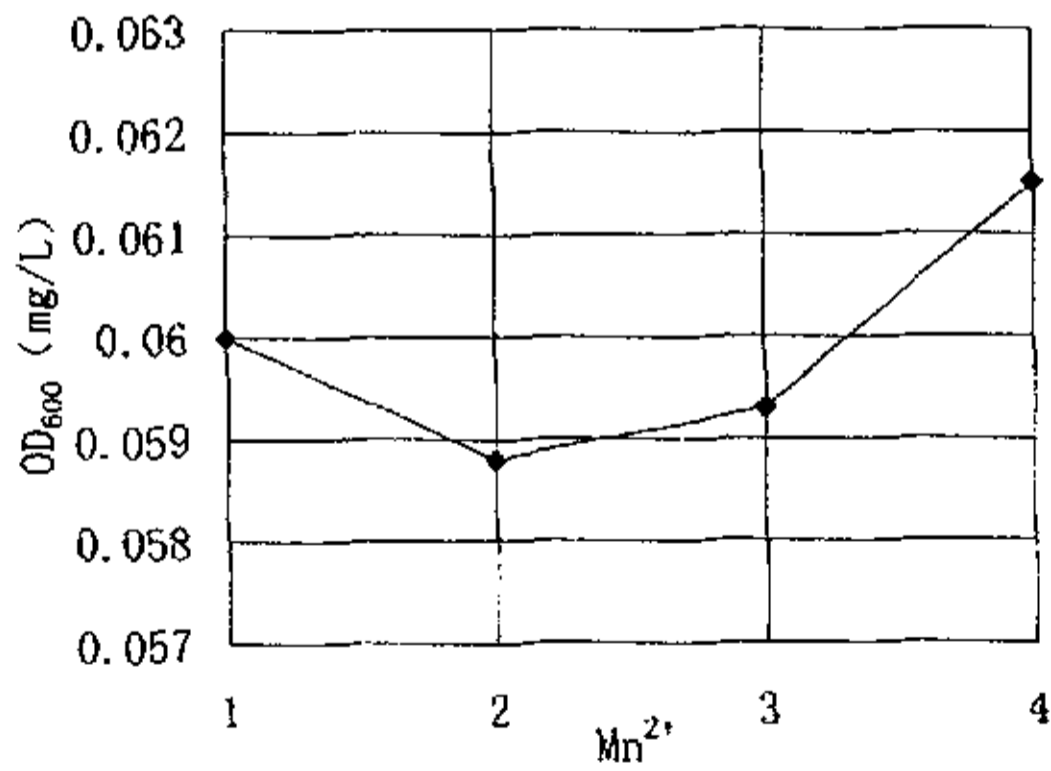
编号	因素及水平 (mg/L)				OD600	COD 去除率 (%)
	Mn^{2+}	Fe^{2+}	Cu^{2+}	Ca^{2+}		
1	0	0	0	0	0.061	31.03
2	0	0.1	0.1	10	0.057	21.55
3	0	0.25	0.25	25	0.065	29.42
4	0	0.5	0.5	50	0.056	28.02
5	1	0	0.1	25	0.057	22.90
6	1	0.1	0	50	0.057	26.29
7	1	0.25	0.5	0	0.061	34.91
8	1	0.5	0.25	0	0.060	32.33
9	5	0	0.25	50	0.060	28.88
10	5	0.1	0.5	25	0.056	34.91
11	5	0.25	0	10	0.061	26.72
12	5	0.5	0.1	0	0.060	40.09
13	10	0	0.5	10	0.057	30.60
14	10	0.1	0.25	0	0.067	32.33

(续表 3-6)

15	10	0.25	0.1	50	0.063	38.36
16	10	0.5	0	25	0.059	32.33

表 3-7. 无机离子对菌浓度影响的极差分析结果

	Mn ²⁺	Fe ²⁺	Cu ²⁺	Ca ²⁺
K_{11}	0.239	0.235	0.238	0.249
K_{12}	0.235	0.237	0.237	0.235
K_{13}	0.237	0.250	0.252	0.237
K_{14}	0.246	0.235	0.230	0.236
\bar{K}_{11}	0.0600	0.0588	0.0595	0.0623
\bar{K}_{12}	0.0588	0.0593	0.0593	0.0588
\bar{K}_{13}	0.0593	0.0625	0.0630	0.0593
\bar{K}_{14}	0.0615	0.0588	0.0575	0.0590
R	0.0035	0.0037	0.0055	0.0027



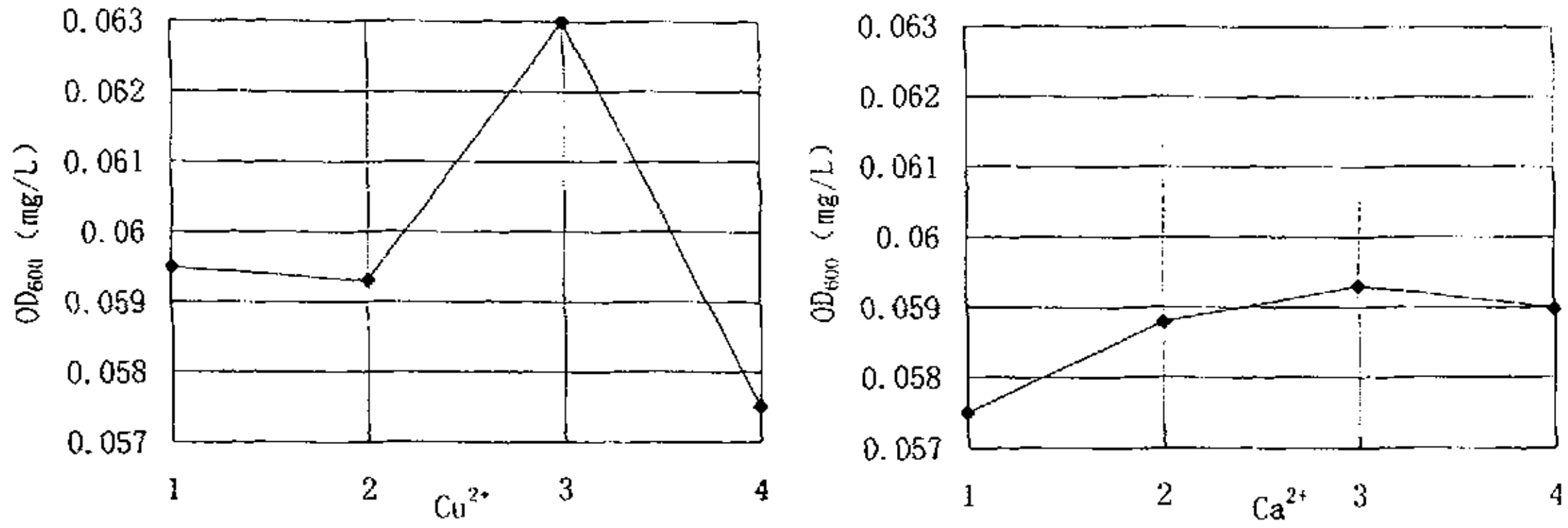


图 3-13. 无机离子种类及浓度与菌浓度的关系

(注：图 3-13 中，横坐标 1, 2, 3, 4 指的是同一元素不同浓度，浓度数据见表 3-5。)

锰作为一种微量元素，一般微生物对它的需求量极少，但是微生物在降解焦化废水时常产生对锰依赖的过氧化物酶，从而增加了对锰的需要。因此研究锰及其浓度对菌种性能的影响非常重要。

微生物生长需要铁。铁是微生物细胞内过氧化氢酶、过氧化物酶、细胞色素与细胞色素氧化酶的组成元素，同时铁还是某些细胞生长的能源物质，因此缺铁会使机体内的某些代谢活性降低或丧失，从而使机体的生长受到影响或停止，铁还可能作为微生物氧化脱氢酶系的辅酶，使其氧化分解有机物的能力提高。

一些重金属元素是微生物细胞的组成成分，当培养基中这些重金属离子浓度低时，对微生物生长有促进作用，反之会产生毒害作用，它们杀菌作用表现在有的易与细胞蛋白质结合而使之变性，有的在进入细胞后与酶上的-SH 基结合而使酶失去活性。铜属于一种杀菌作用较强的重金属元素，对生物体来说，同时又是一种必不可少的微量元素，是多酚氧化酶、酪氨酸酶等的活性基。

钙也是细胞内的一种重要的二价阳离子，它是某些酶如蛋白酶的激活剂，同时又能够维持许多细胞结构的完整性。

表 3-8. 无机离子对焦化废水 COD_{Cr} 去除率影响的级差分析结果

	Mn ²⁺	Fe ²⁺	Cu ²⁺	Ca ²⁺
K_{11}	110.02	113.41	116.37	111.20
K_{12}	116.43	115.08	122.90	138.36
K_{13}	130.60	129.41	122.96	119.56
K_{14}	133.62	132.77	128.44	121.55
\bar{K}_{11}	27.51	28.35	29.09	27.80

(续表 3-8)

\bar{K}_{i2}	29.11	28.77	30.73	34.59
\bar{K}_{i3}	32.65	32.35	30.74	29.89
\bar{K}_{i4}	33.41	33.19	32.11	30.39
R	5.90	4.84	3.02	6.79

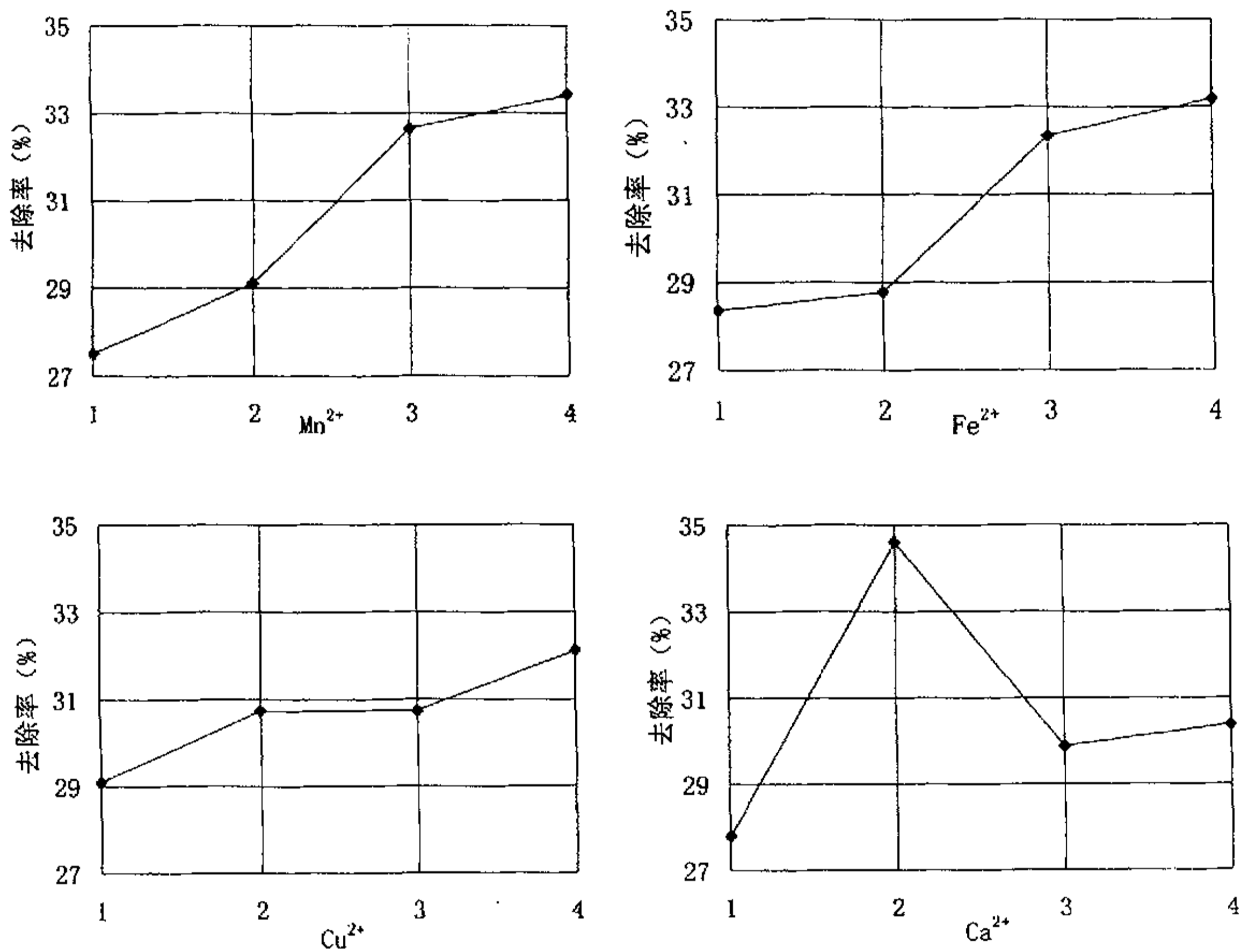


图 3-14. 无机离子种类及浓度与去除率的关系

(注: 图 3-14 中, 横坐标 1, 2, 3, 4 指的是同一元素不同浓度, 浓度数据见表 3-5。)

表 3-7 和 3-8 是对表 3-6 中数据进行整理, 计算出各因素及其不同的水平影响的平均值, 并作了极差分析的结果。表 3-7 中结果表明, 对菌浓度影响显著性大小依次为: $\text{Cu}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$, 极差分别为 0.0055, 0.0037, 0.0035, 0.0027; 表 3-8 中结果表明, 对焦化废水降解影响显著性大小依次为: $\text{Ca}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$, 极差分别为 6.79, 5.90, 4.84, 3.02。

图 3-13 是各因素对两酶活性作用的平均值结果, 从图中可以看出, Mn4, Fe3, Cu3 和

Ca³⁺ 对菌浓度活性都起了促进作用, 即当培养基中 Mn²⁺离子浓度为 10mg/L, Fe²⁺离子浓度为 0.25 mg/L, Cu²⁺离子浓度为 0.25 mg/L, Ca²⁺离子浓度为 25mg/L 时, 菌浓度会增加。图 3-14 是各因素对焦化废水最终去除率的影响的平均值结果, 图中 Mn⁴⁺, Fe⁴⁺, Cu⁴⁺, Ca²⁺ 对去除率有所提高, 即当培养基中 Mn²⁺离子浓度为 10mg/L, Fe²⁺离子浓度为 0.5 mg/L, Cu²⁺离子浓度为 0.5 mg/L, Ca²⁺离子浓度为 10mg/L 时, 焦化废水去除率为最大。

3.3.6 正交实验确定最佳综合培养条件

通过以上实验研究, 了解了 pH 值、温度、共代谢初级碳源、氮源以及无机离子等因素的重要参数, 为了证明所选出的参数的确可以提高菌种的性能, 我们又进行了综合条件下的四因素四水平 L₁₆ (4⁴) 正交实验, 因素和水平的选择见表 3-9。

选取共代谢初级碳源、氮源、菌的混合方式和培养基装量为四因素。共代谢初级碳源为葡萄糖用 A 代表, 氮源为硝酸铵用 B 代表, 菌种的配合方式用 C 代表, 培养基装量用 D 代表。四因素的水平分别为, 葡萄糖 (A) 的浓度: 0.5、1、2、4g/L; 硝酸铵 (B) 的浓度: 0.5、1、1.5、2 g/L; 菌种配合方式 (C): JB1 与 JB4 的浓度比 (总菌数约为 1×10⁴ 个细胞/mL) 分别为 1: 0、1: 1、1: 2、0: 1; 培养基装量 (D): 200mL 锥形瓶中培养基装入体积分别为 30、50、70、90mL, 降解培养基中按照本章 3.5 节的实验结果加入无机离子, 种类和浓度分别为 Mn²⁺离子浓度为 10mg/L, Fe²⁺离子浓度为 0.5 mg/L, Cu²⁺离子浓度为 0.5 mg/L, Ca²⁺离子浓度为 10mg/L。温度 30℃, pH 值为 7, 110r/min 振荡培养, 对最终的培养基中菌浓度和焦化废水去除率进行测定, 实验结果及分析见表 3-10、3-11、3-12 和图 3-15、3-16。

表 3-9. 综合培养条件正交实验因素水平选择表

因素 水平	A (葡萄糖 g/L)	B (硝酸铵 g/L)	C (JB1: JB4)	D (装量 mL)
1	0.5	0.5	1: 0	30
2	1	1	1: 1	50
3	2	1.5	1: 2	70
4	4	2	0: 1	90

表 3-10 是对四种综合培养条件下的四种不同水平的正交实验安排, 以及各组合引起相应的菌浓度和焦化废水去除率变化的结果。从表中的数据不容易直接看出它们各自的影响情况, 为了便于分析结果和寻找规律, 于是对表 3-10 中数据进行整理, 计算出各因素及其不同的水平影响的平均值, 并作了极差分析, 结果列于表 3-11 和表 3-12。

表 3-10. 综合培养条件正交实验安排及结果

编号	因素				OD ₆₀₀	COD 去除率 (%)
	A (g/L)	B (g/L)	C	D (mL)		
1	0.5	0.5	1: 0	30	0.068	18.14
2	0.5	1	1: 1	50	0.062	12.76
3	0.5	1.5	1: 2	70	0.091	22.10
4	0.5	2.0	0: 1	90	0.069	15.00
5	1	0.5	1: 1	70	0.081	23.14
6	1	1	1: 0	90	0.060	14.41
7	1	1.5	0: 1	30	0.080	32.33
8	1	2.0	1: 2	50	0.094	14.41
9	2	0.5	1: 2	90	0.083	22.61
10	2	1	0: 1	70	0.084	15.62
11	2	1.5	1: 0	50	0.056	27.12
12	2	2.0	1: 1	30	0.101	34.83
13	4	0.5	0: 1	50	0.110	35.24
14	4	1	1: 2	30	0.111	46.58
15	4	1.5	1: 1	90	0.086	12.94
16	4	2.0	1: 0	70	0.082	43.14

表 3-11. 综合培养条件对菌浓度影响的极差分析结果

	A	B	C	D
K_{i1}	0.290	0.342	0.266	0.360
K_{i2}	0.315	0.317	0.330	0.322
K_{i3}	0.324	0.313	0.379	0.338
K_{i4}	0.389	0.346	0.343	0.298
\bar{K}_{i1}	0.0725	0.0855	0.0665	0.0900
\bar{K}_{i2}	0.0788	0.0793	0.0825	0.0810
\bar{K}_{i3}	0.0810	0.0783	0.0948	0.0850

(续表 3-11)

\bar{K}_{i4}	0.0973	0.0865	0.0855	0.0745
R	0.0248	0.0082	0.0283	0.0155

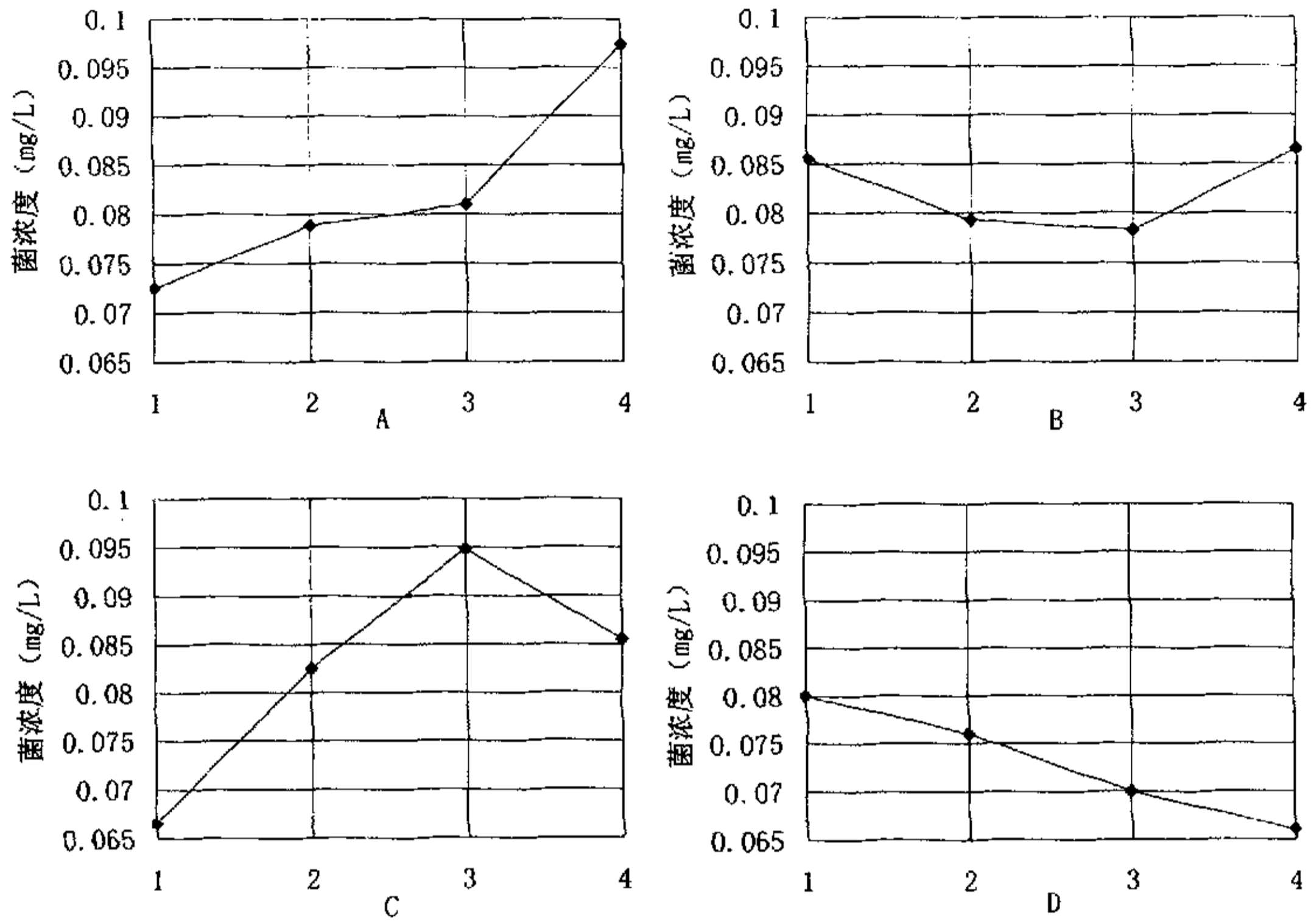


图 3-15. 综合培养条件对菌浓度影响的结果

(注: 图 3-15 中, 横坐标 1, 2, 3, 4 指的是同一因素不同浓度, 浓度数据见表 3-9。)

表 3-12. 综合培养条件对焦化废水 COD_{Cr} 去除率影响的极差分析结果

编号	A	B	C	D
K_{i1}	68	99.13	102.81	131.88
K_{i2}	84.29	89.37	83.67	89.53
K_{ij}	100.18	94.49	105.70	104.00
K_{i4}	137.90	107.38	98.19	64.96
\bar{K}_{i1}	17.00	24.78	25.70	32.97
\bar{K}_{i2}	21.07	22.34	20.92	22.38

(续表 3-12)

\bar{K}_{i3}	25.05	23.62	26.43	26.00
\bar{K}_{i4}	34.48	26.85	24.55	16.24
R	17.48	4.51	5.51	16.73

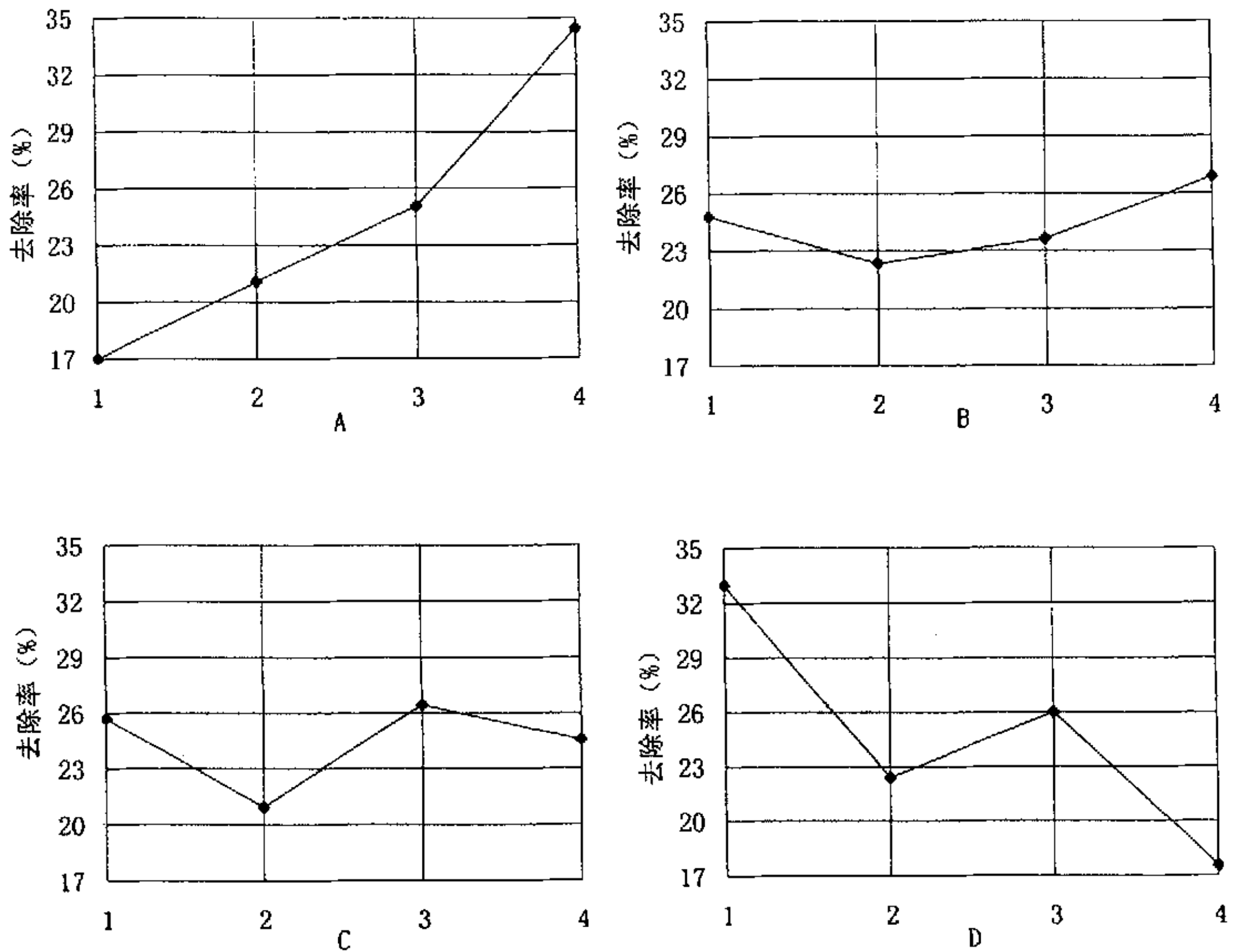


图 3-16. 综合培养条件对去除率影响的结果

(注: 图 3-16 中, 横坐标 1, 2, 3, 4 指的是同一因素不同浓度, 浓度数据见表 3-5。)

表 3-11 和表 3-12 是对表 3-10 中数据进行整理, 计算出各因素及其不同的水平影响的平均值, 并作了极差分析的结果, 表 3-11 中结果表明, 对菌浓度影响显著大小依次为: C>A>D>B, 极差分别为 0.0283、0.0248、0.0155 和 0.0082; 表 3-12 中结果表明, 对焦化废水降解影响显著性大小依次为: A>D>C>B, 极差分别为 17.48、16.73、5.51 和 4.51。

图 3-15 是综合条件下各因素对菌浓度作用的平均值结果, 是对表 3-11 中数据的反映。从图中可以看出, 不同的条件(因素)对菌浓度增加大小不同, 相同条件下, 不同的水平也导致作用结果相差较大; 当培养基中加入适量的 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ca^{2+} 离子时, 菌浓度有所

增加,在此基础上,改变共代谢初级碳源、氮源、菌种配合和培养基装量等因素,会对菌浓度产生较大的影响,其中,菌种配合对菌浓度的影响最为明显,而氮源的作用不够显著,因为,焦化废水中含有较多的氮源,所以,所需的外加氮源就少。从图3-15中,可以看出,因素和水平分别为C3、A4和D1时,对两菌种的浓度提高最多,即菌种比例为JB1:JB4=1:2,葡萄糖浓度为4g/L,培养基装量为30mL。图3-16是各因素对焦化废水最终去除率的影响的平均值结果,图中可以看出,共代谢初级碳源对菌浓度的影响最为明显,而氮源的作用也不够显著。从图3-16中,可以看出,因素和水平分别为A4、C3和D1时对两菌种的浓度提高最多,即葡萄糖浓度为4g/L,菌种比例为JB1:JB4=1:2,培养基装量为30mL。因此,从整体的综合考虑,我们选择葡萄糖浓度为4g/L,菌种比例为JB1:JB4=1:2,培养基装量为30mL,在这几种条件下焦化废水去除率最为理想。

3.4 小结

本章主要对各种环境条件下,菌种生长繁殖,焦化废水降解能力的变化进行了实验研究,摸索出了最适的菌种培养条件,在这些条件共同存在并作用下,菌种降解焦化废水的效率会大大提高,最高去除率可达46%。

培养条件的实验研究结果表明,当温度为30℃,pH值为7,110r/min振荡培养时,有利于菌种的生长繁殖;

通过对多种共代谢初级碳源和氮源的效能比较,确定葡萄糖为合适的共代谢初级碳源,氯化铵为合适的氮源;

对培养基中无机离子的添加及加入量的正交实验研究结果表明,向原有降解培养基中加入Mn²⁺离子浓度为10mg/L,Fe²⁺离子浓度为0.5mg/L,Cu²⁺离子浓度为0.5mg/L,Ca²⁺离子浓度为10mg/L时,焦化废水去除效果最好。

综合条件下的正交实验研究结果表明,培养基中加入共代谢初级碳源葡萄糖的浓度为4g/L,菌种比例为JB1:JB4=1:2,培养基装量为30mL时,去除效果明显。

4. 高效菌种强化活性污泥法处理焦化废水试验

4.1 前言

普通的活性污泥法对焦化废水的处理效果仍很不理想, 焦化废水在进行了常规的活性污泥法处理后, COD 难以达标, 这是焦化废水有效处理达标排放的一大障碍。

本章进行了模拟生物强化系统处理焦化废水的实验研究, 通过对反应前后 COD 变化的测定和分析。希望从中获得更贴近工程实际的运行参数。

4.2 材料和方法

4.2.1 材料

4.2.1.1 反应器及仪器

合建式反应器 (自制, 曝气池 3L, 二沉池 1L); 静态反应瓶; 干燥箱; COD 测定设备

4.2.1.2 焦化废水来源及预处理

焦化废水取自西安焦化厂, 水质情况见表 4-1。

表 4-1. 水质分析结果

pH 值	COD _{Cr}	BOD ₅ (mg/L)	SS 值 (mg/L)	挥发酚	NH ₃ -N	颜色
9~9.5	1000~1400	<500	约 800	750~850	700~800	褐色, 透明

将焦化废水 pH 值调到 11 以上, 曝气 24h, 吹脱其中的氨气, 再将 pH 值调至 7.0~7.2 (必要时用 5% 的 NaOH 溶液调整), SS 值 300~500mg/L, 作为实验用焦化废水。

4.2.1.3 活性污泥

活性污泥取自西安杨森制药厂废水处理系统的回流段。对活性污泥进行分析测定结果见表 4-2。

表 4-2. 活性污泥分析结果

MLSS (g/L)	MLVSS (g/L)	MLVSS/MLSS	颜色
16.6	12.7	0.765	土灰色

通过镜检发现, 活性污泥中, 含有大量的游泳型纤毛虫, 钟虫较少。

4.2.2 活性污泥驯化

初步驯化: 刚取回的活性污泥用单层纱布过滤, 除去较大的絮体, 不加营养物质, 曝气 1d, 逸出活性污泥中的代谢废气, 停止曝气, 静置 30min 后, 弃去上清液和浮渣, 用葡萄糖作

为营养物质，每天加入适当的 N、P 进行驯化，恢复好氧微生物活性，两周后活性污泥驯化成熟，污泥状态良好。

适应性驯化：对成熟的活性污泥用焦化废水进行适应性驯化，用焦化废水逐渐代替葡萄糖，每次增加部分的焦化废水 COD，同时减少葡萄糖 COD，直到 COD 完全由焦化废水提供。驯化过程中， $COD_{Cr} : N(\text{尿素}) : P(\text{KH}_2\text{PO}_4) = 100 : 5 : 1$ 。

4.2.3 生物强化处理系统运行方法

活性污泥经适应性驯化成熟以后，在维持活性污泥正常运行的基础上，进行生物强化系统处理。处理系统运行流程见图 4-1。运行参数： $MLSS=4\text{g/L}$ ， $HRT(\text{水力停留时间})=8\text{h}$ ， $LS(\text{污泥负荷})=0.75\text{kg COD/kgMLSS}\cdot\text{d}$ ，溶解氧 (DO) $>4\text{mg/L}$ 。

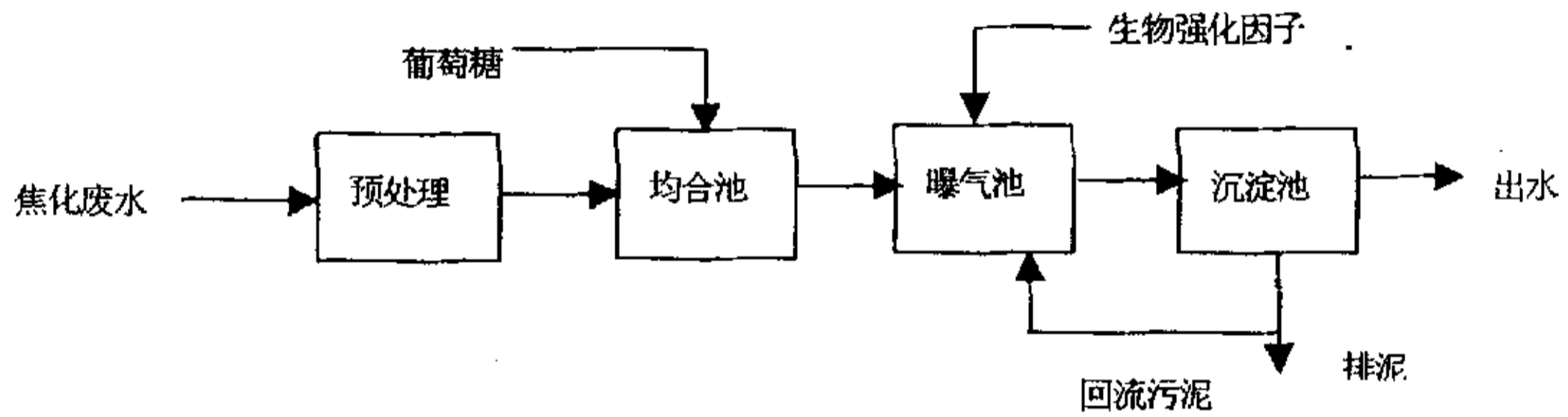


图 4-1. 生物强化处理系统流程简图

4.2.4 菌种与活性污泥组合对焦化废水中有机物的去除影响效应

本实验是在静态反应瓶中，模拟动态反应进行，采取 SBR 间歇进水和出水， $HRT=12\text{h}$ ，焦化废水含量 80%（即另外 20%的 COD_{Cr} 由葡萄糖提供）。

表 4-3. 菌种与活性污泥组合影响试验安排

进水 COD (mg/L)	约为 800
实验条件	温度 30°C , pH 值=7, $MLSS=4\text{g/L}$
组合方式	向含有活性污泥的反应瓶中投加 10%的菌种，顺序依次为空白、JB1、JB2、JB3、JB4、JB5、JB6、JB7；

4.2.5 复合菌与活性污泥对比对焦化废水含 COD 物质的去除影响

取菌种 JB1, JB2, JB4 按浓度 1: 1（总浓度为 10%）组合，投加到反应瓶中，焦化废水含量 100%。

表 4-4. 复合菌影响试验安排

进水 COD (mg/L)	约为 800
实验条件	温度 30℃, pH 值=7, MLSS=4g/L
组合方式	活性污泥; JB1+ JB2; JB1+JB4; JB2+JB4; JB1+JB2+JB4

4.2.6 共代谢初级碳源和氮源对焦化废水中 COD 去除的影响

向 1[#]反应器和 2[#]反应器中投加碳源和氮源, 连续运行。

表 4-5. 碳源和氮源影响试验安排

进水 COD (mg/L)	约为 800
实验条件	温度 30℃, pH 值=7, MLSS=4g/L
碳源和氮源	每天向反应器中投加 20%葡萄糖, 氯化铵 1g

4.2.7 无机离子对焦化废水的去除影响

向 1[#]反应器和 2[#]反应器中投加无机离子, 加入量见第三章的实验结果, Mn²⁺离子浓度为 10mg/L, Fe²⁺离子浓度为 0.5 mg/L, Cu²⁺离子浓度为 0.5 mg/L, Ca²⁺离子浓度为 10mg/L。

表 4-6. 无机离子影响试验安排

进水 COD (mg/L)	约为 800
实验条件	温度 30℃, pH 值=7, MLSS=4g/L
无机离子	Mn ²⁺ 离子浓度为 10mg/L, Fe ²⁺ 离子浓度为 0.5 mg/L, Cu ²⁺ 离子浓度为 0.5 mg/L, Ca ²⁺ 离子浓度为 10mg/L。

4.2.8 综合条件下对 COD 去除的影响

向 1[#]反应器和 2[#]反应器中投加碳源、氮源和无机离子, 考察它们共同作用时对 COD 去除的影响。

表 4-7. 综合条件影响试验安排

进水 COD (mg/L)	约为 800
实验条件	温度 30℃, pH 值=7, MLSS=4g/L
综合条件	碳源、氮源、无机离子 (加入量分别同上面实验)

4.2.9 COD 的测定:

方法见第二章 2.2.5。

4.3 结果和讨论

4.3.1 活性污泥驯化结果

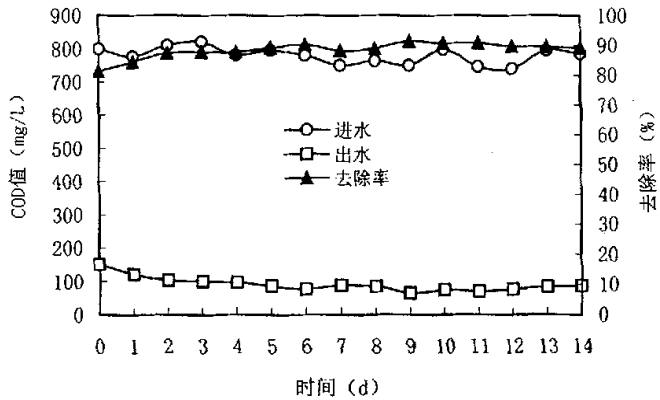
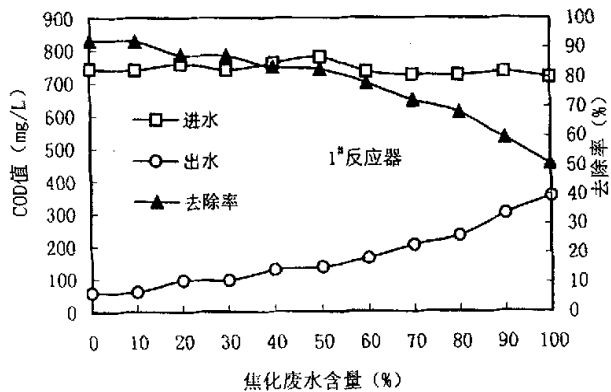


图 4-2. 初步驯化运行情况

图 4-2 是活性污泥用葡萄糖进行初步驯化运行的情况。从图中数据可以看出，污泥性能良好，运行稳定，去除率维持在 90% 左右，初步驯化成熟，可以用作进行下面一系列的实验。

4.3.2 对比驯化实验

将初步驯化好的活性污泥分装在两个反应器中，我们称之为 1[#] 反应器，2[#] 反应器。1[#] 反应器进行普通的驯化实验。而 2[#] 反应器中，我们投加优势菌，进行强化驯化。比较两个反应器驯化结果的异同。



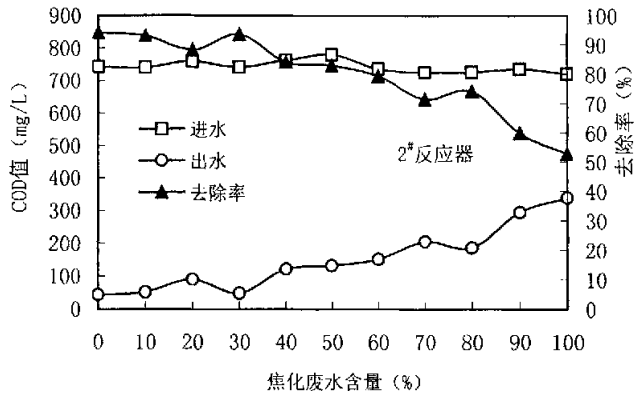


图 4-3. 对比驯化运行情况

表 4-8. 反应器中焦化废水浓度与驯化时间关系一览表

反应器	焦化废水浓度 (%)										
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
1#反应器	0	1	3	5	9	14	19	24	31	39	50
2#反应器	0	1	3	5	8	12	17	20	26	32	40

从图 4-2、4-3，可以看出，1#反应器与 2#反应器驯化结果有一定的区别。表 4-8 中，可以看到，两反应器驯化时间不一样，2#反应器驯化时间明显较之 1#反应器要短。随着焦化废水含量增加，两个反应器出水 COD 均增加，去除率降低，但是，2#反应器一直比 1#反应器去除率高，而且运行很稳定，没有出现膨胀现象。

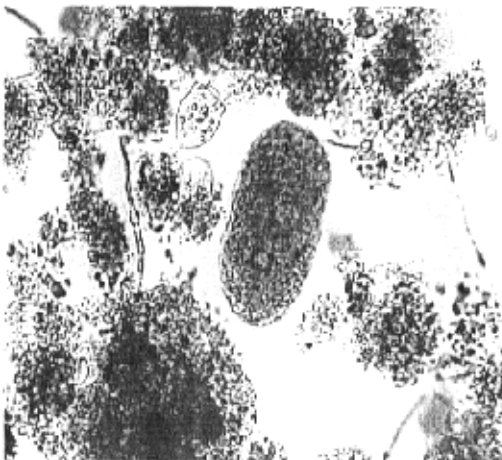


图 4-4. 1#反应器系统中活性污泥形态

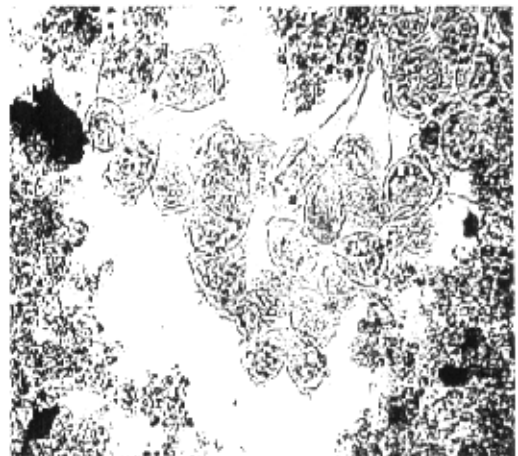


图 4-5. 2#反应器系统中活性污泥形态

图 4-4 和图 4-5 分别是 1[#]反应器和 2[#]反应器系统中, 活性污泥形态, 从图中可以看到, 1[#]反应器中活性污泥钟虫较少, 活性不如投加了优势菌的 2[#]反应器, 而且污泥密实性和沉降性也较差。

4.3.5 菌种与活性污泥组合对焦化废水中有机物的去除影响效应

菌种与活性污泥共同作用对焦化废水净化处理效果的影响结果见下列图。

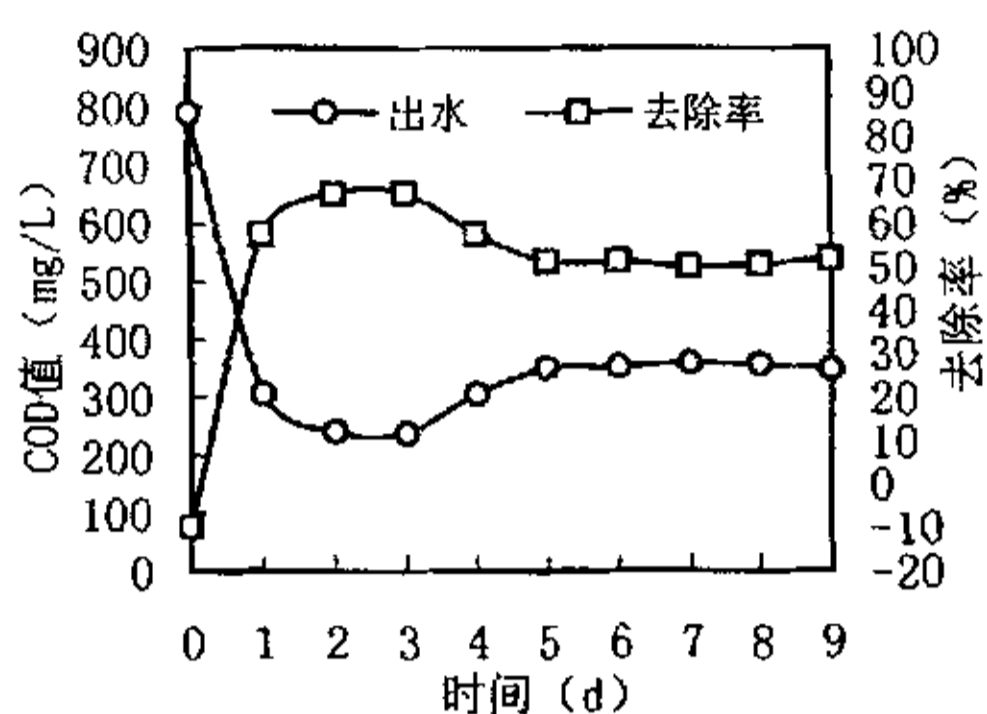


图 4-6 活性污泥对焦化废水的降解结果

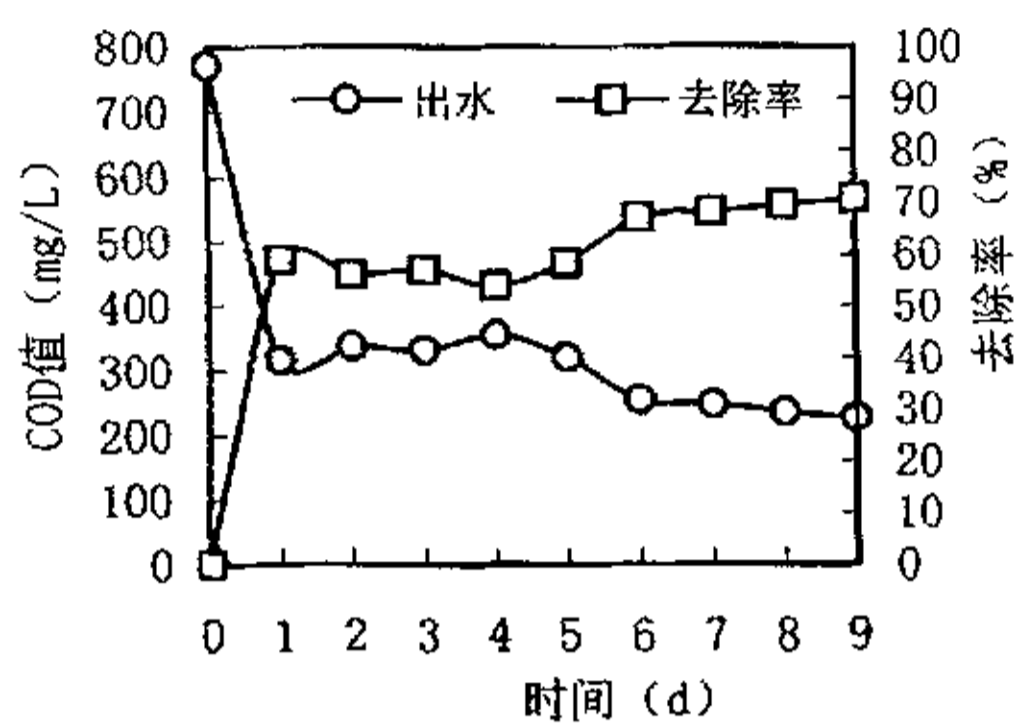


图 4-7 JB1+活性污泥对焦化废水的降解结果

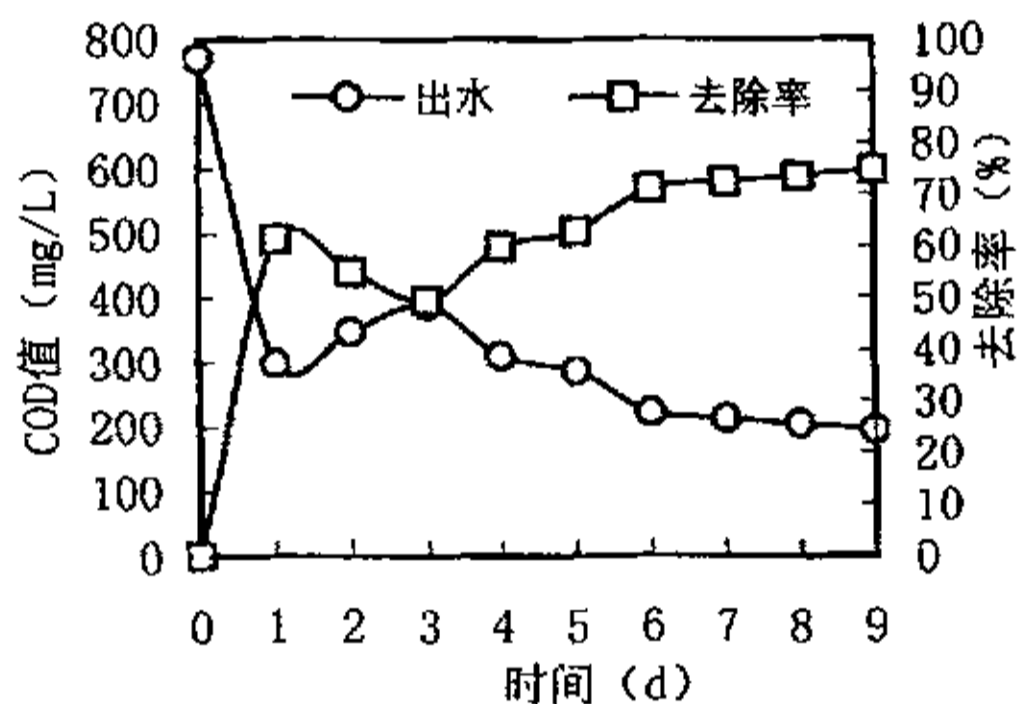


图 4-8 JB2+活性污泥对焦化废水的降解结果

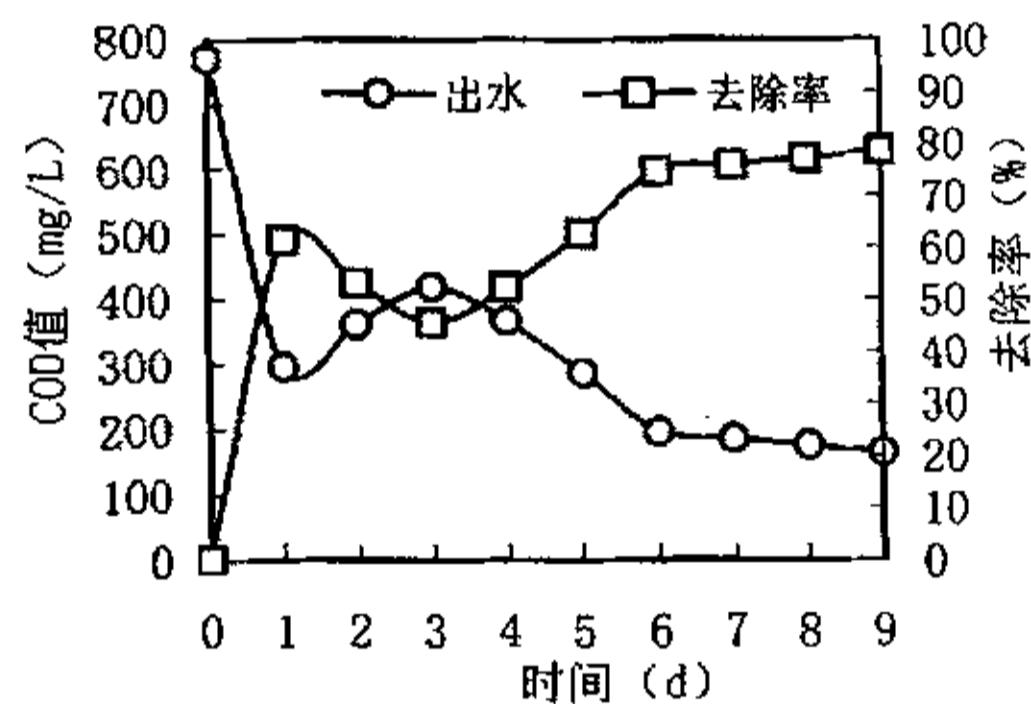


图 4-9 JB3+活性污泥对焦化废水的降解结果

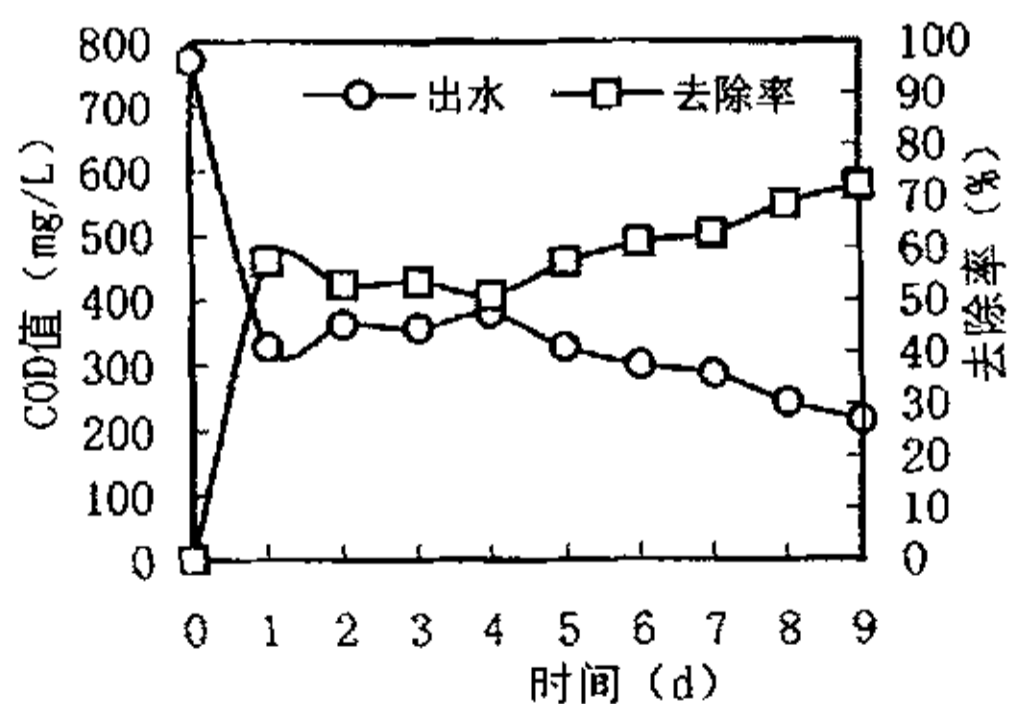


图 4-10 JB4+活性污泥对焦化废水的降解结果

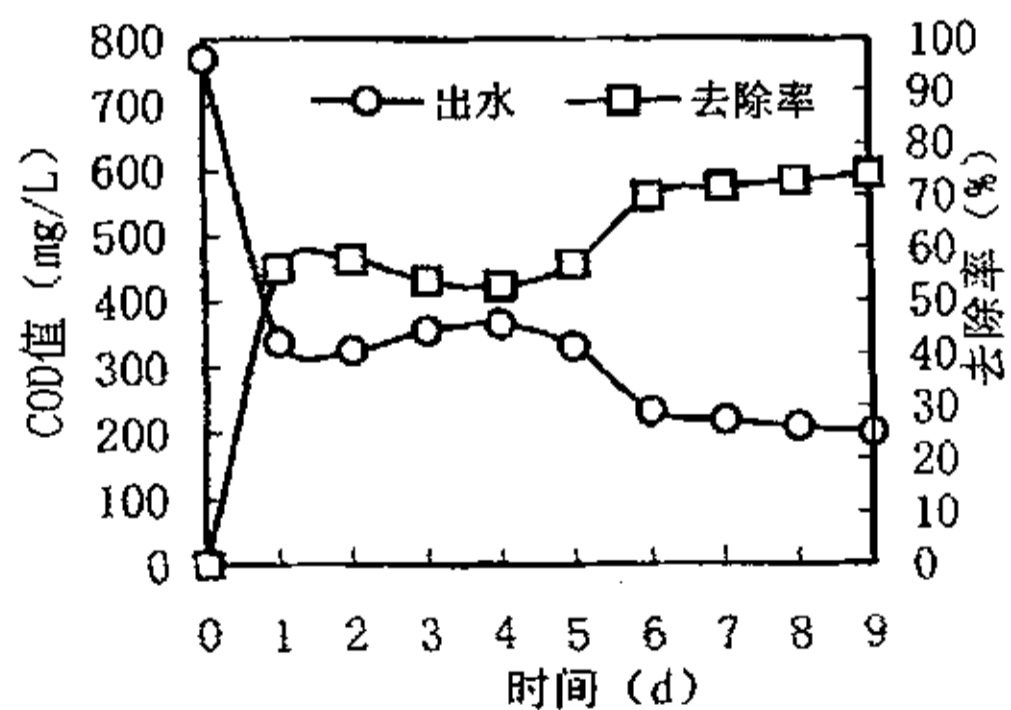


图 4-11 JB5+活性污泥对焦化废水的降解结果

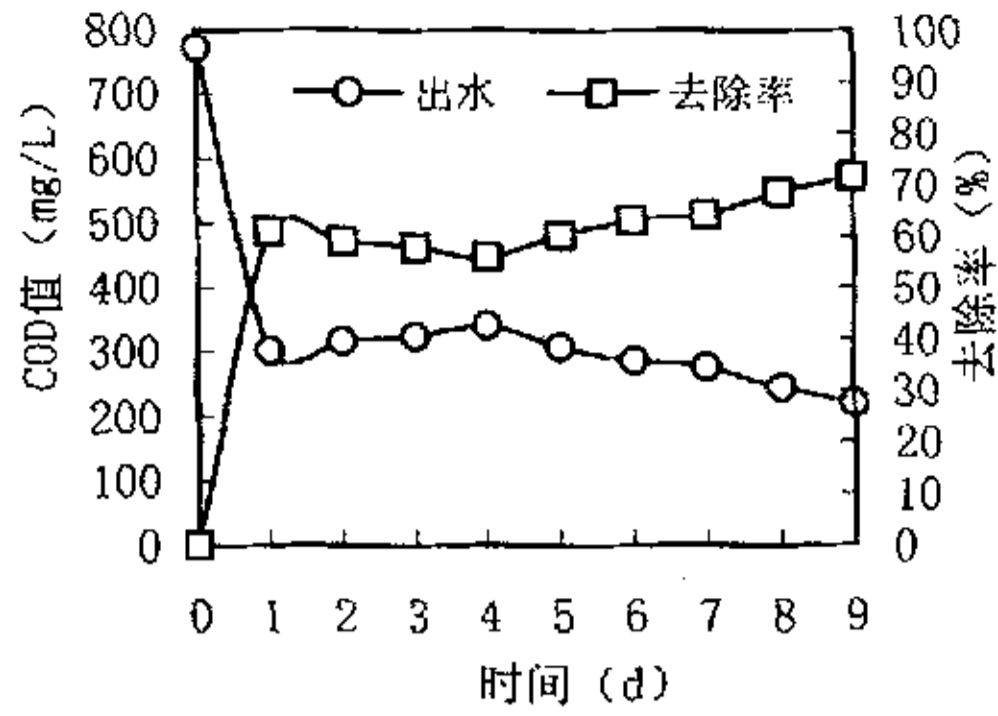


图 4-12 JB6+活性污泥对焦化废水的降解结果

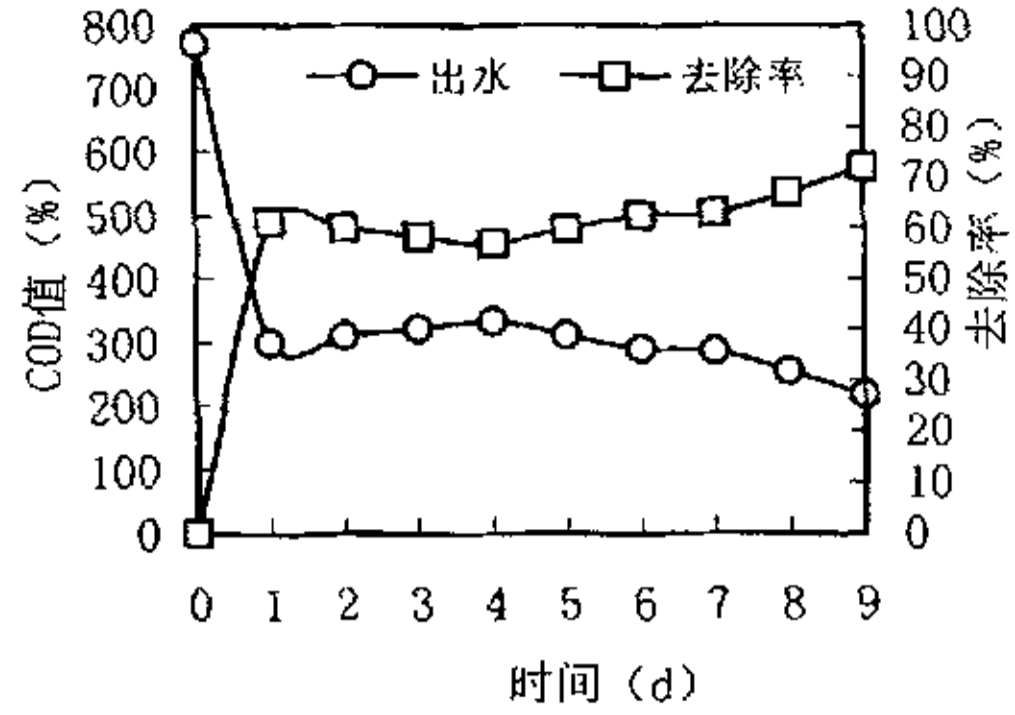


图 4-13 JB7+活性污泥对焦化废水的降解结果

图 4-6 是活性污泥对焦化废水的去除结果，图 4-7、4-8、4-9、4-10、4-11、4-12、4-13 是向活性污泥系统中分别投加菌种 JB1、JB2、JB3、JB4、JB5、JB6、JB7，菌种与活性污泥共同作用对焦化废水中 COD 物质去除结果。仅活性污泥存在时，随着处理时间的延长，去除率几乎不再增加，而投加菌种后，随着时间的延长，去除率还是有所增加，从图 4-6 中曲线，我们能够看出，经过活性污泥的处理，出水很快从 700 多 mg/L 降到 200 多 mg/L，而投加菌种的系统，出水曲线并不是呈下降趋势，而是出水 COD 呈下降、升高、下降、升高的趋势，总体上是下降。反应到第 9 天时，仅活性污泥系统中，最终去除率大约达到 50%，而投加菌种的系统中，去除率达到 70%以上。

4.3.6 复合菌与活性污泥对比对焦化废水含 COD 物质的去除影响

将菌种 JB1、JB2、JB4 组合处理焦化废水，与活性污泥系统处理焦化废水对比实验，结果见下列图。

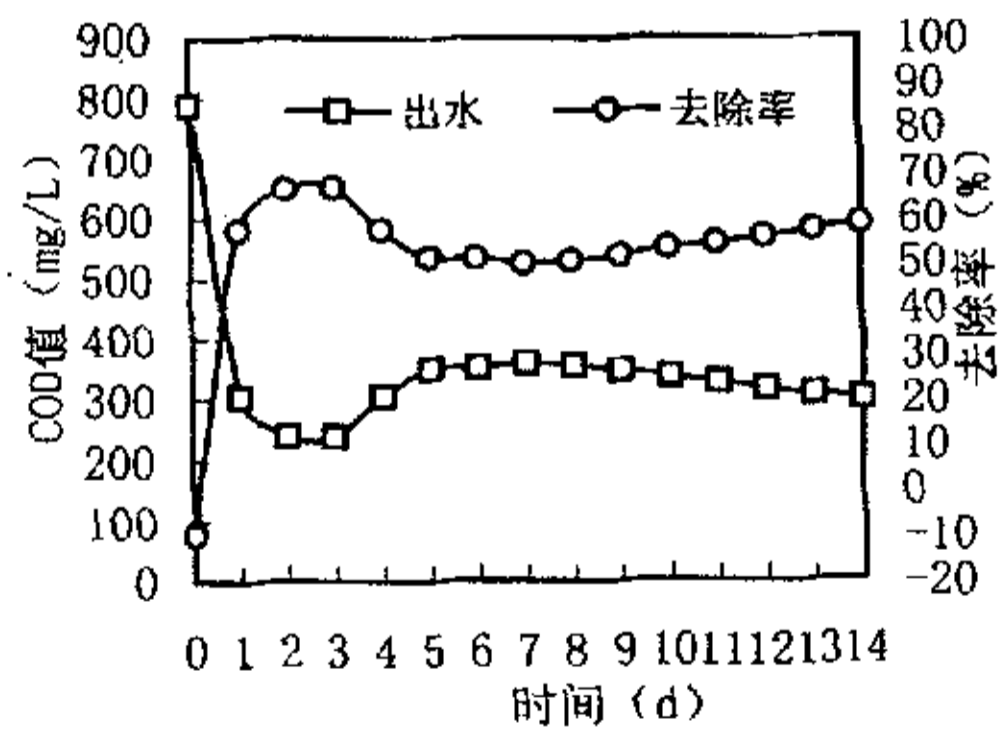


图 4-14 活性污泥对焦化废水的降解结果

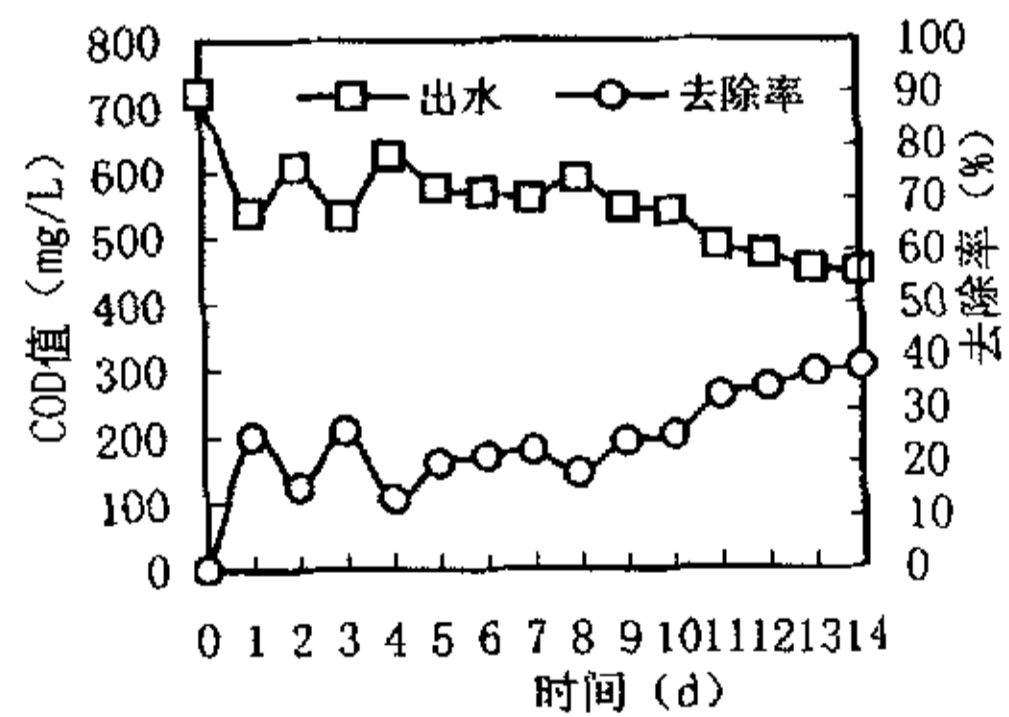


图 4-15 菌种 JB1+JB4 对焦化废水的降解结果

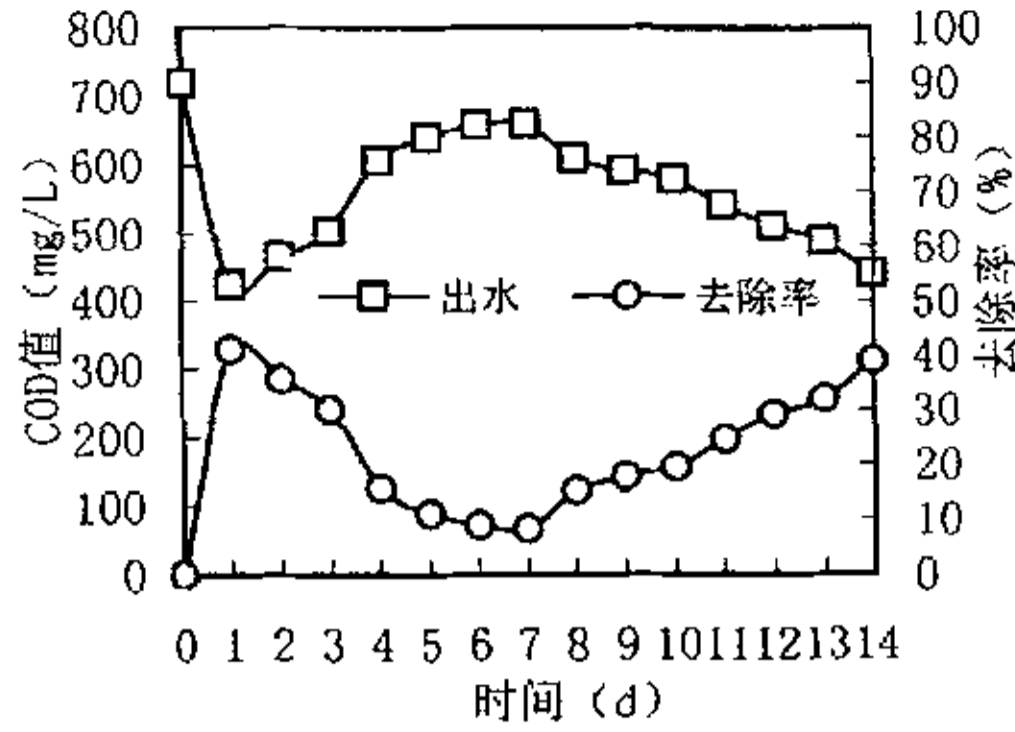


图 4-16 菌种 JB1+JB2 对焦化废水的降解结果

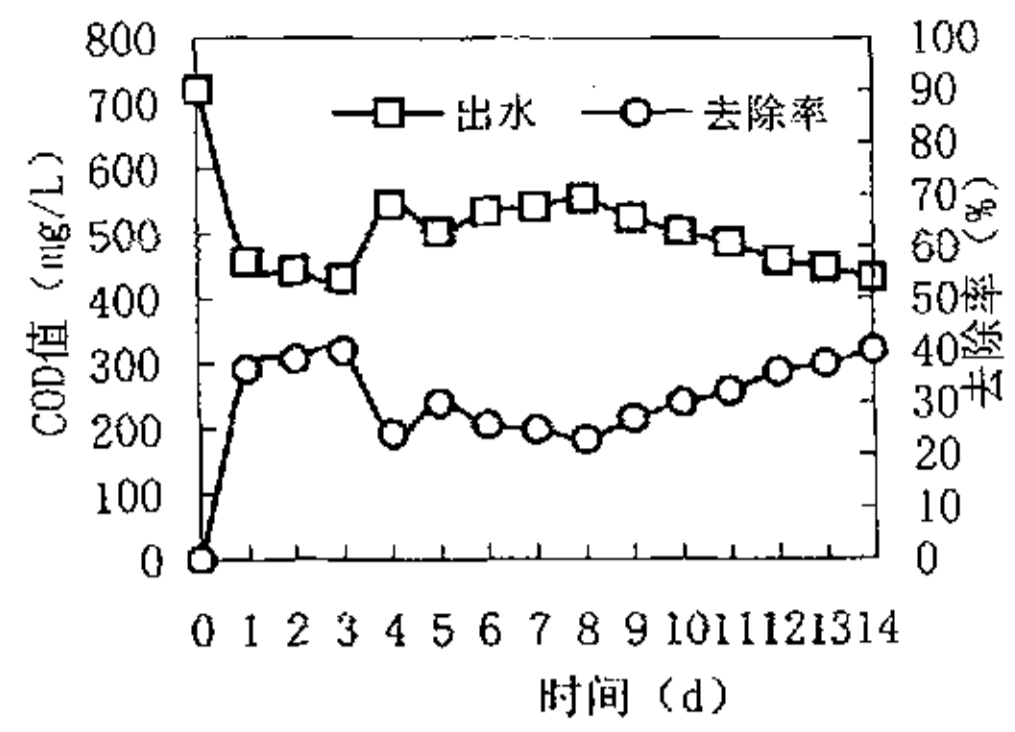


图 4-17 菌种 JB4+JB2 对焦化废水的降解结果

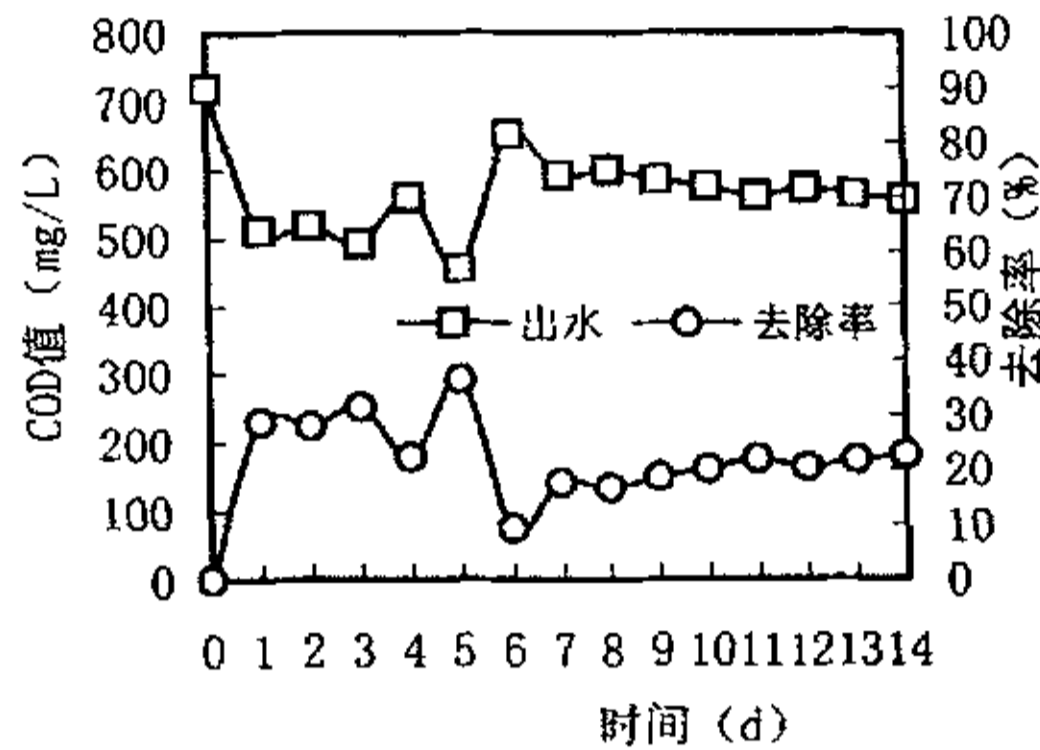


图 4-18 菌种 JB1+JB2+JB4 对焦化废水的降解结果

图 4-14 是活性污泥系统处理焦化废水的结果曲线图，图 4-15、4-16、4-17、4-18 是菌种组合后对焦化废水处理的情况，从这些图中，我们可以看出，活性污泥处理焦化废水比复合菌处理效果好，去除率要高，复合菌处理焦化废水时，都有着共同的特点，出水的 COD 不是一直呈下降趋势，而是呈波浪状，菌种 JB1、JB2、JB4 组合后对焦化废水的去除情况最差，菌种 JB1、JB2 共同作用对焦化废水的去除情况相比之下要强于其它组合。可能是菌种 JB1、JB2 在处理焦化废水时，存在协同作用，相互配合，共处统一的环境中降解焦化废水。

4.3.7 投加共代谢初级碳源和氮源对焦化废水中 COD 去除的影响

在常规活性污泥处理系统中，向 1[#]反应器和 2[#]反应器中投加氮源。实验结果见图 4-19、4-20。

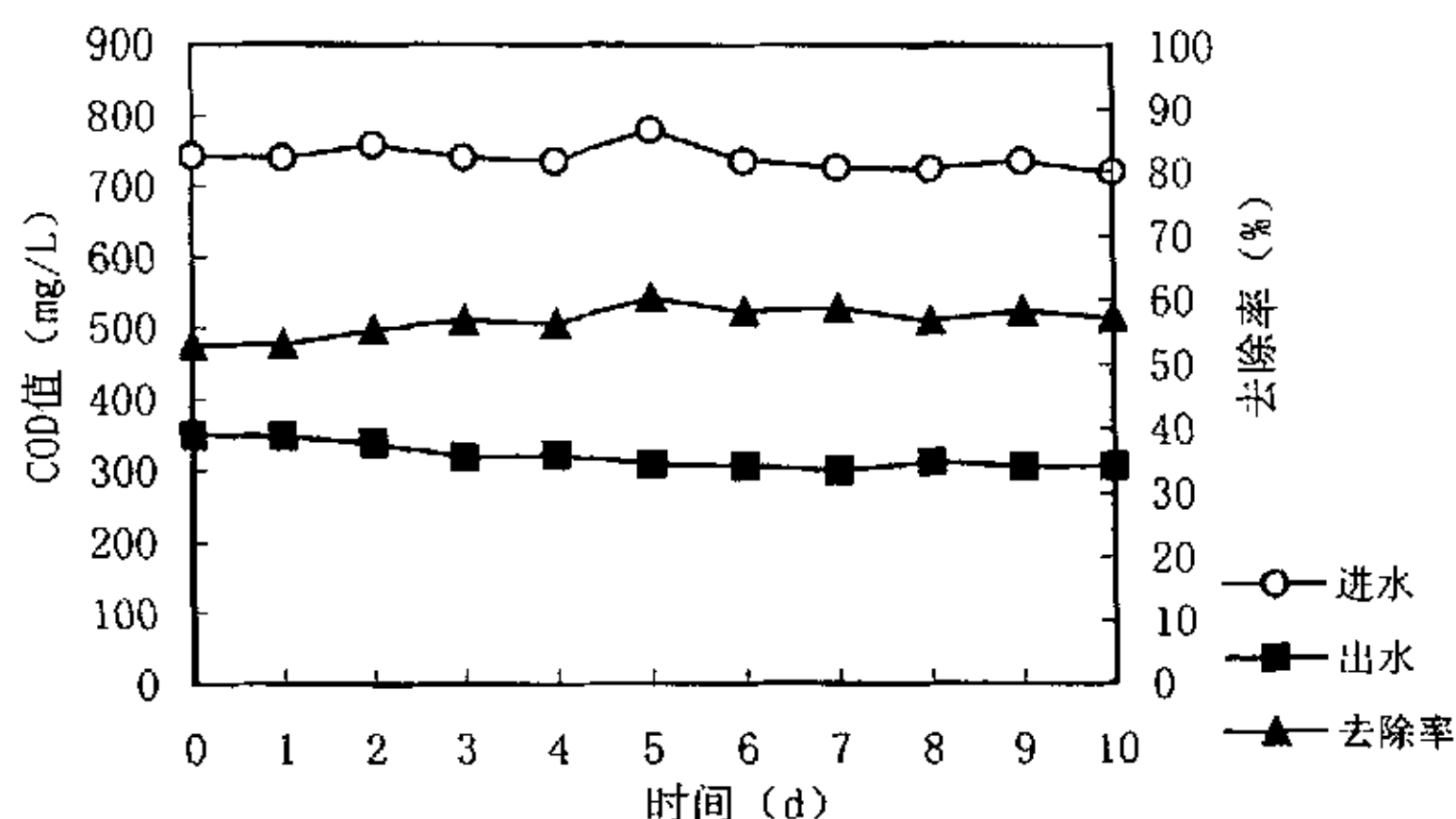
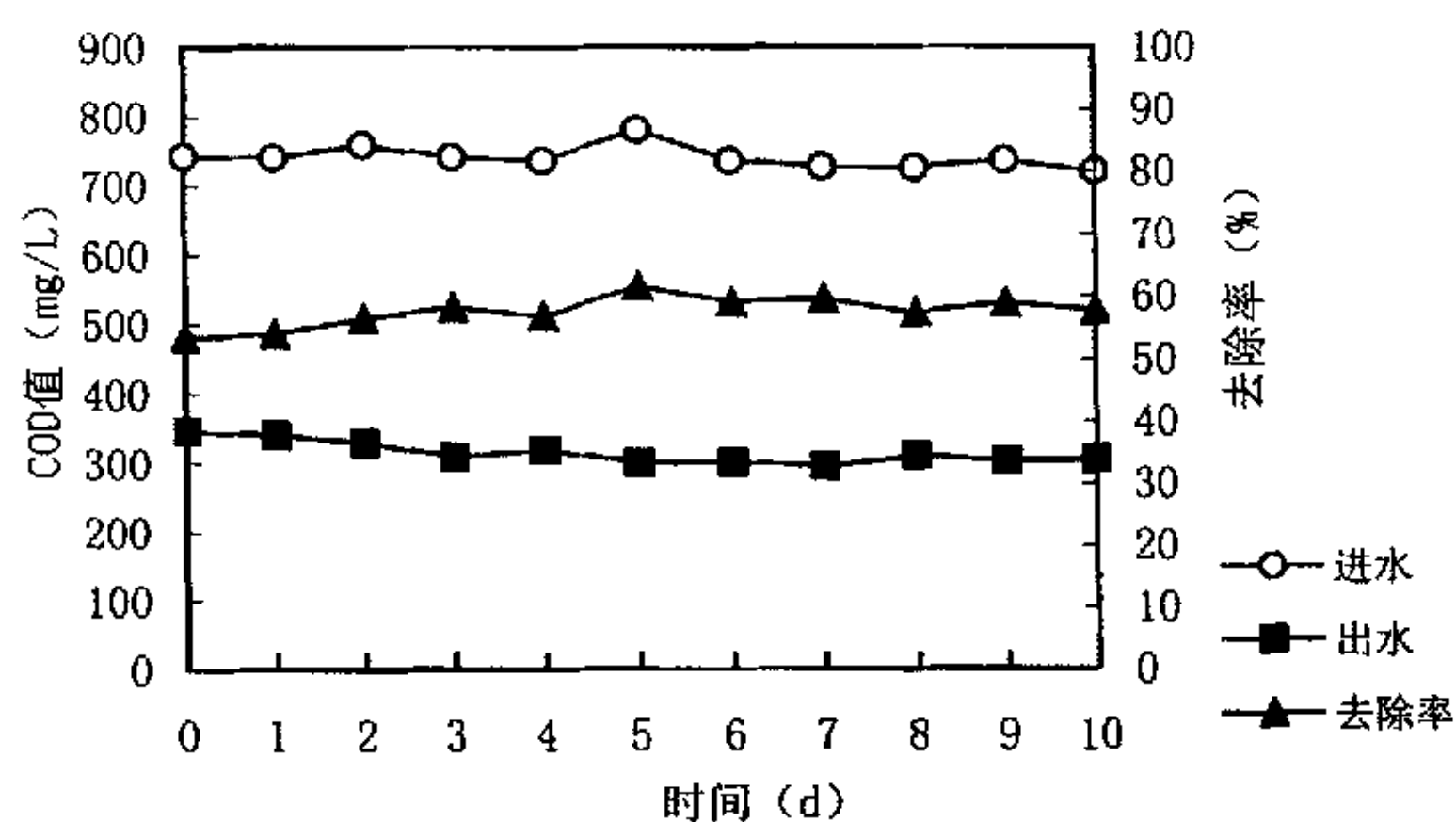
图 4-19 在 1[#]反应器中投加氮源对焦化废水的降解结果图 4-20 在 2[#]反应器中投加氮源对焦化废水的降解结果

图 4-19、4-20 是投加氮源的生物强化处理系统运行结果。从图中曲线可以看出，在进水 COD 基本保持不变的情况下，1[#]反应器和 2[#]反应器出水 COD 曲线均表现为逐渐缓慢下降的趋势，COD 去除率均有所提高，最高去除率为 60%。

4.3.8 投加无机离子对焦化废水的去除影响

在常规活性污泥处理系统中，向 1[#]反应器和 2[#]反应器中投加无机离子。实验结果见图 4-21、4-22。

4-21、4-22 是投加无机离子的生物强化处理系统运行结果。这两图与图 4-19、4-20 有相似之处，在进水 COD 基本保持不变的情况下，1[#]反应器和 2[#]反应器出水 COD 曲线均表现为逐渐缓慢下降的趋势，COD 去除率均有所提高。

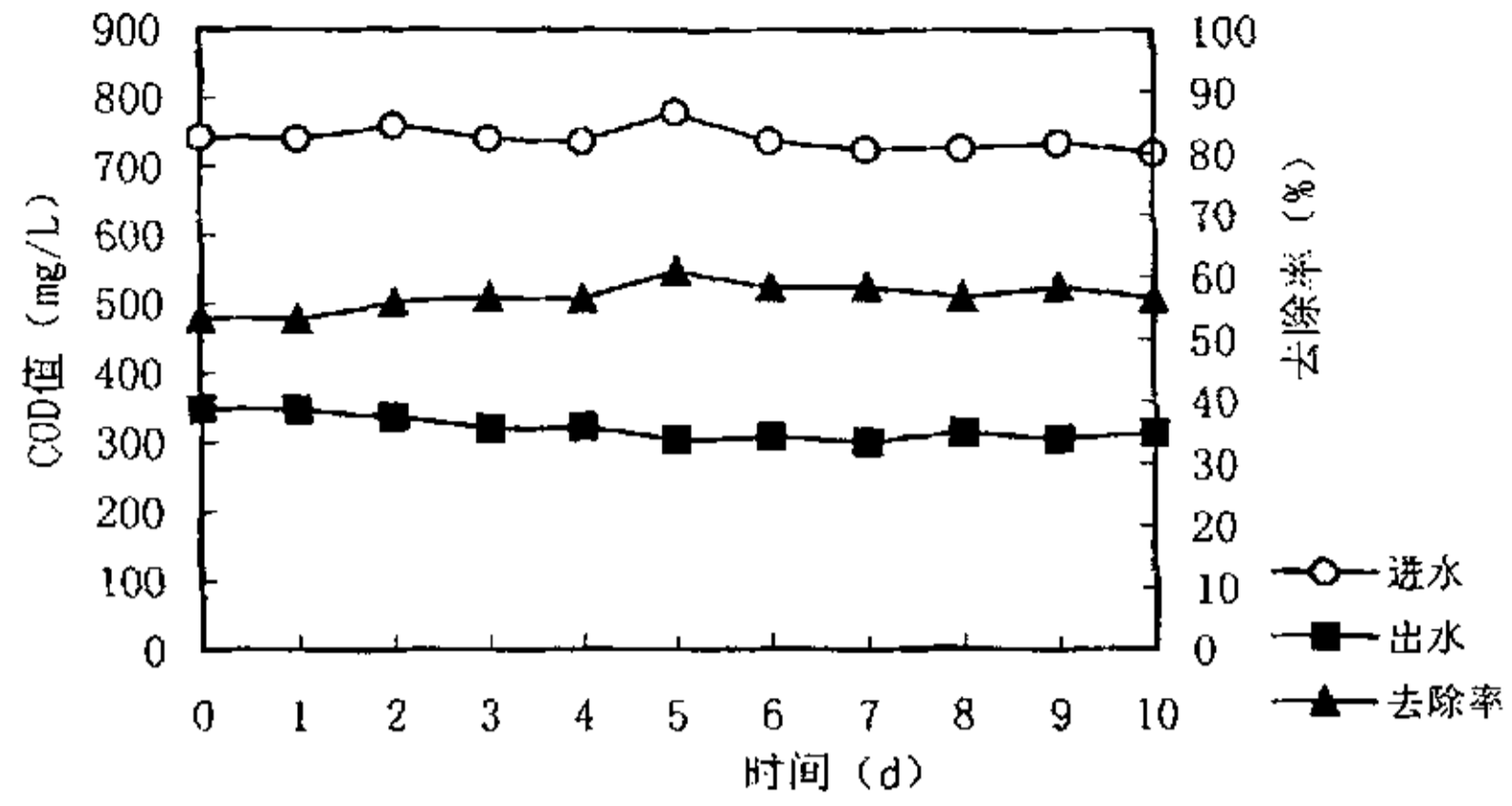


图 4-21 在 1[#]反应器中投加无机离子对焦化废水的降解结果

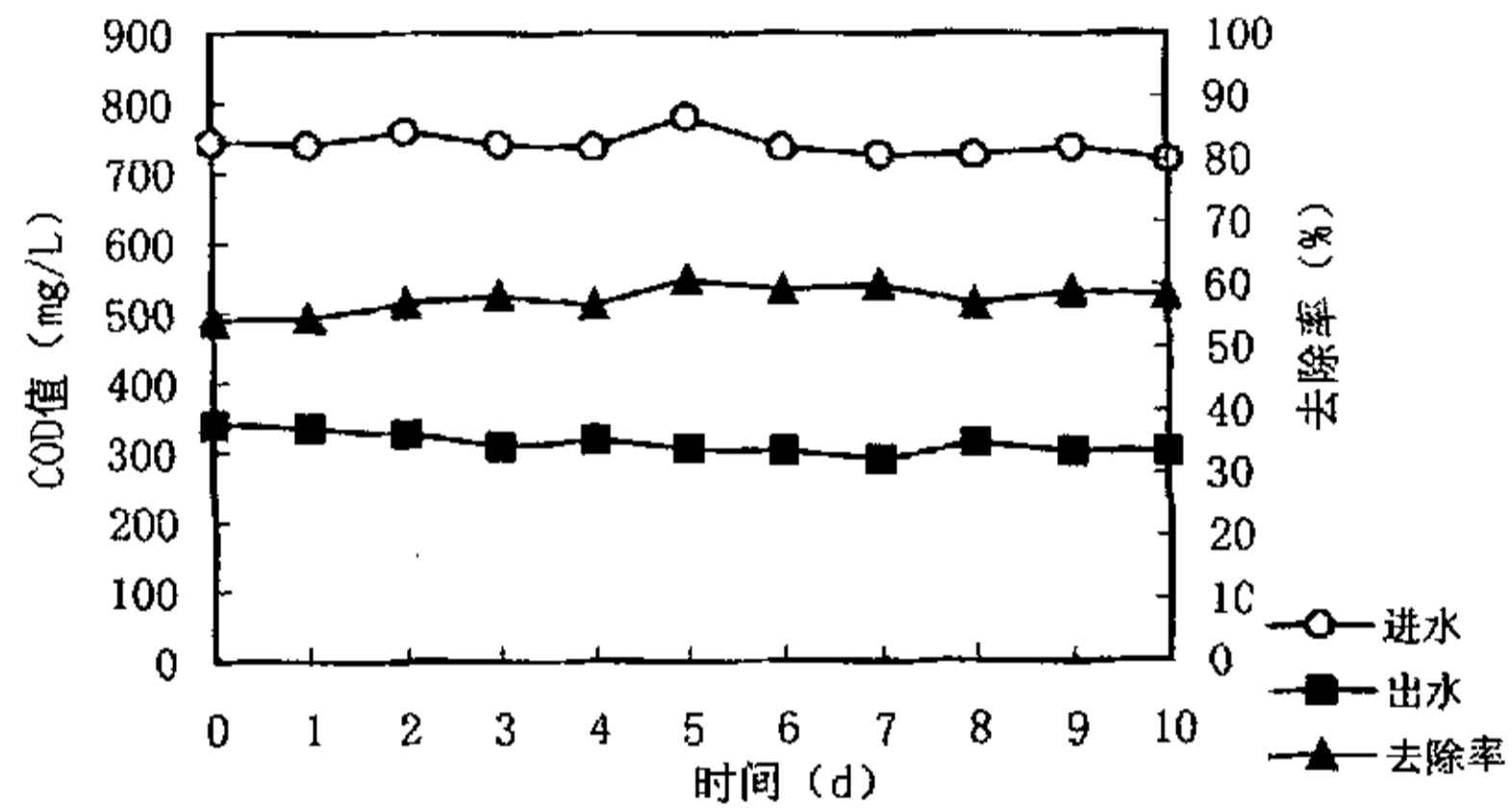


图 4-22 在 2[#]反应器中投加无机离子对焦化废水的降解结果

4.3.9 综合条件下对 COD 去除的影响

向常规活性污泥处理系统中同时投加多种生物强化因子，构成综合性的生物强化处理系统，运行结果见图 4-23、4-24。

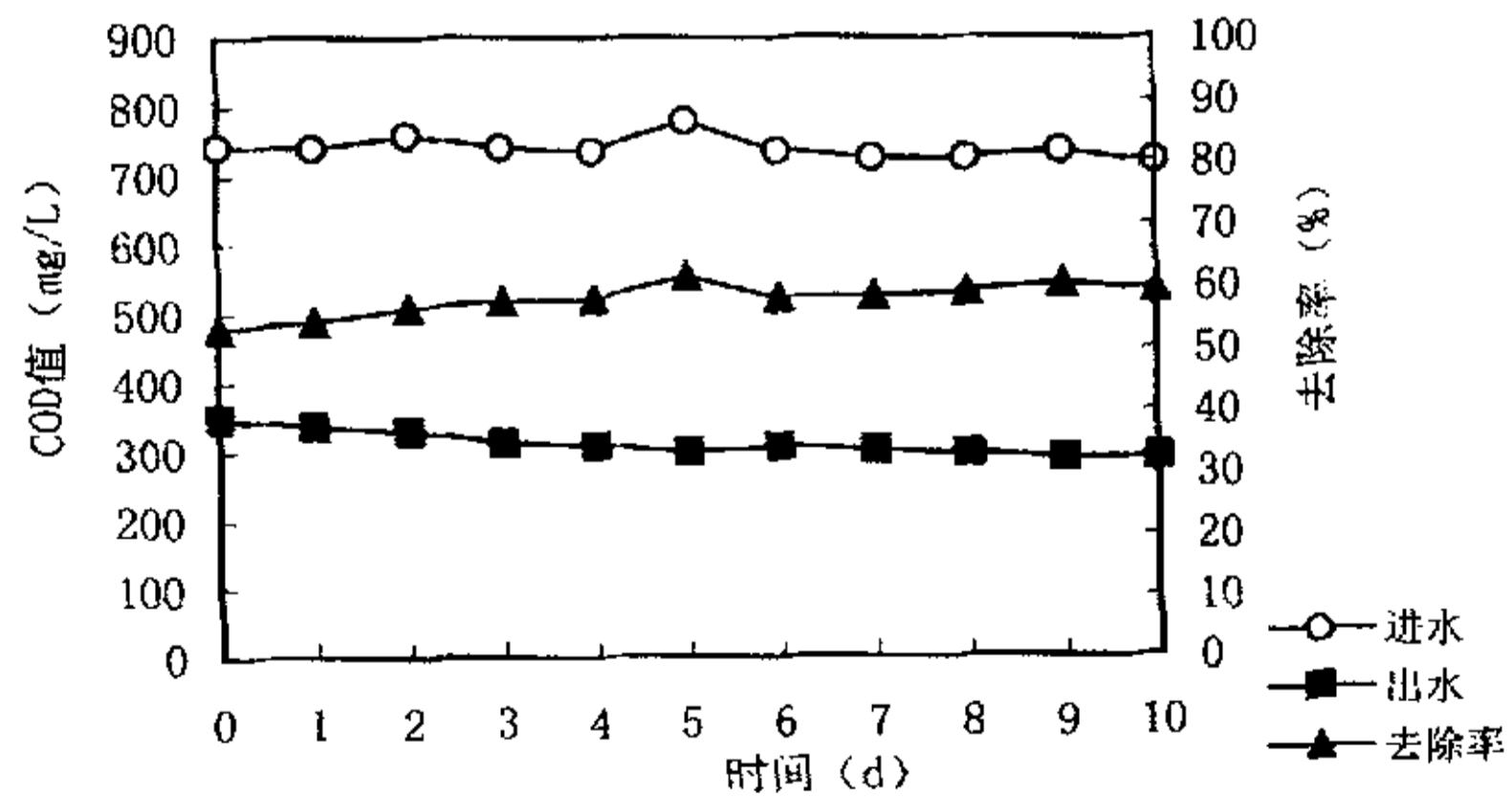


图 4-23 1[#]反应器在综合条件下对焦化废水的降解结果

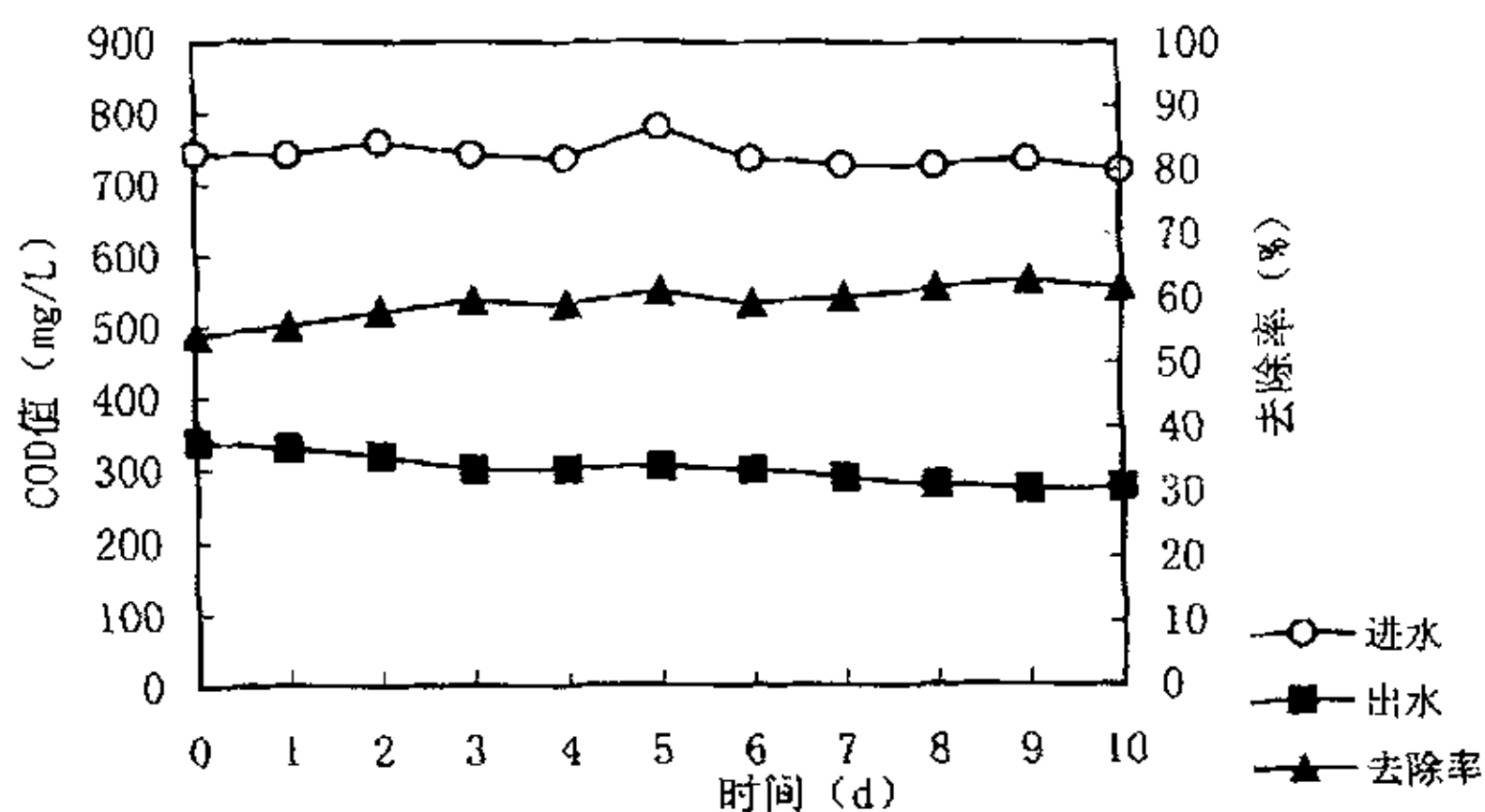


图 4-24 2[#]反应器在综合条件下对焦化废水的降解结果

图 4-23、4-24 是多种强化因子共同存在下, 生物强化系统的运行情况。从图中曲线能够看出, 在进水 COD 保持与前面实验同样的范围内时, 处理出水 COD 有明显的下降趋势, 并最终稳定在一定的范围内。

4.4 小结

由本章试验结果可以得到以下结论:

(1) 投加优势菌可以加快处理系统活性污泥的驯化速度, 2[#]反应器能比 1[#]反应器提前大约 10 天驯化成熟, 在驯化过程中, 能有效消除污泥膨胀, 增强污泥沉降性能, 而且大大减少污泥的产生, 改善出水水质, 而且增强耐冲击负荷能力和系统稳定性。

(2) 优势菌在处理废水时应该与活性污泥相配合, 仅靠单一菌或复合菌处理焦化废水, 去除率不如与活性污泥组合的高。

(3) 常规活性污泥法对焦化废水有一定的去除能力, 但去除效果十分有限; 在常规活性污泥的基础上, 采用投加生物强化因子, 构成生物强化处理系统, 对焦化废水进行连续的模拟运行处理, 均得到了很好的效果, 投加氮源时, 2[#]反应器能比 1[#]反应器系统提高 0.6%, 投加无机离子时, 2[#]反应器能比 1[#]反应器系统提高 1.0%, 在综合条件下, 即强化因子包括降解焦化废水优势菌、共代谢初级碳源、氮源以及多种无机离子时, 2[#]反应器能比 1[#]反应器系统提高 3.2%。

5. 结论与建议

5.1 结论

本文通过对焦化废水的来源,处理技术现状及进展的系统总结,明确了焦化废水是一种难降解有机废水,废水中含有的有机物种类繁多,浓度高,在常规活性污泥工艺中去除率低,造成处理后出水 COD 严重超标。提高这类难降解有机物的生物去除率是促进焦化废水生物处理出水 COD 达标排放的关键。在寻求治理焦化废水的过程中,科研工作者进行大量的研究,以找到一种既高效又经济的治理方法,改善环境质量,实现水资源的循环利用。本文是用焦化废水驯化活性污泥,再分别从焦化废水和活性污泥中选取菌源,按常规方法对细菌进行筛选、分离及鉴定;研究优势菌对焦化废水的去除效果;研究无机离子及初级共代谢基质对优势菌降解性能的影响;以 COD 为控制指标,研究了优势菌对焦化废水的净化效能。通过以上研究,得出以下几点结论:

1. 分离筛选出了几株可以在含有焦化废水的培养基上生长的微生物,并对它们的形态特征进行了研究,在生物摇床上对采集的大量样品好氧驯化,经反复平板划线分离,从 13 株微生物中筛选出了 7 株细菌,它们均能在含焦化废水的培养基上良好生长。

2. 对 7 株细菌进行的分类学鉴定,结果是 JB1 为假单胞菌属,JB2 为奈瑟氏球菌属,JB3、JB4 为黄单胞杆菌属,JB5、JB7 为微杆菌属,JB6 为芽孢杆菌属。通过对 7 株细菌降解焦化废水性能进行初步的研究,来对菌种进行复筛,结果选定能在焦化废水培养基中较好生长的 JB1、JB4 为实验用菌种。不同温度和 pH 值下培养的结果表明,两株菌适宜的生长温度为 30℃,最适初始 pH 值为 7。

3. 对分离出的优势菌种的特性进行了较为详细的研究,主要对各种环境条件下,菌种生长繁殖,降解焦化废水能力的变化进行了实验研究,摸索出了最适的菌种培养条件,在这些条件共同存在并作用下,菌种降解焦化废水的效率会大大提高,最高焦化废水去除率可达 46%。培养条件的实验研究结果表明,当温度为 30℃,pH 值为 7,110r/min 振荡培养时,有利于菌种的生长繁殖。

4. 通过对多种共代谢初级碳源和氮源的效能比较,确定葡萄糖为合适的共代谢初级碳源,氯化铵为合适的氮源;对培养基中无机离子的添加及加入量的正交实验研究结果表明,向原有降解培养基中加入 Mn^{2+} 离子浓度为 10mg/L, Fe^{2+} 离子浓度为 0.5 mg/L, Cu^{2+} 离子浓度为 0.5 mg/L, Ca^{2+} 离子浓度为 10mg/L 时,焦化废水去除效果最好。综合条件下的正交实验研究结果表明,培养基中加入共代谢初级碳源葡萄糖的浓度为 4g/L,菌种比例为 JB1: JB4=1: 2,培养基装量为 30mL 时,去除效果明显。

5. 进行了生物强化技术与活性污泥法相结合的焦化废水模拟处理系统研究。(1) 投加优势菌可以加快处理系统活性污泥的驯化速度,有效消除污泥膨胀,增强污泥沉降性能,而且大

大减少污泥的产生,改善出水水质,增强耐冲击负荷能力和系统稳定性。(2)优势菌在处理废水时应该与活性污泥相配合,仅靠单一菌或复合菌处理焦化废水,去除率不如与活性污泥组合的高。(3)常规活性污泥法对焦化废水有一定的去除能力,但去除效果十分有限;在常规活性污泥的基础上,采用投加生物强化因子,构成生物强化处理系统,对焦化废水进行连续的模拟运行处理,均得到了很好的效果,投加氮源时,2[#]反应器能比1[#]反应器系统提高0.6%,投加无机离子时,2[#]反应器能比1[#]反应器系统提高1.0%,在综合条件下,即强化因子包括降解焦化废水优势菌、共代谢初级碳源、氮源以及多种无机离子时,2[#]反应器能比1[#]反应器系统提高3.2%。

5.2 建议

(1)本实验是在小规模实验室条件下进行的,对菌株的实际应用还应进一步做扩大试验,提出实用性参数。

(2)由于投加的优势菌种从难降解有机物的降解过程中获得的能量较少,微生物的活性较低,造成微生物的繁殖速率低、数量少,而且优势菌种会随出水和排泥流失,因此对菌种的投加方式(如不同菌种的配合和比例等),以及投加量,菌种在处理系统的保持等进行深入研究。

(3)本实验在实验室小试,证明效果较好,但当放大应用于生产实践,建议进行连续流中试生产性实验,为进一步生产应用提供依据。

参考文献

- [1] W W Echenfelder, Wat Sci Tech, 1992, 25 (3): 45~54.
- [2] J Wong, Wat Sci Tech, 1992, 25 (3): 221~223.
- [3] 尹承龙, 单忠健, 曾锦之. 焦化废水处理存在的问题及其解决对策[J]. 工业给排水, 2000, 26 (6): 35~37.
- [4] 舒文龙. 我国焦化废水处理技术的现状进展及适用技术的选择 {上、下}. 环境工程, 1992, 10 {4, 5}: 54~63.
- [5] B.K.Lee, S.W.Sung, H.D.Chun and J.K.Koo. Automatic Control for Do and pH in the Activated Sludge Process in a Coke Wastewater Treatment Plant, Wat.Sci.Tech, Vol.37, No.12, pp.141~148, 1998.
- [6] 钱易 汤鸿霄 文湘华等, 水体颗粒物和难降解有机物的特性与控制技术, 北京, 中国环境出版社, 2000.
- [7] 周祖鸿. H.S.B 菌在焦化废水治理中的应用. 上海化工, 2000 (24).
- [8] 唐光临等, 铁屑法预处理焦化废水, 重庆大学学报, 2001, 24 (5): 93~95.
- [9] 张伟. 废铁屑—H₂O₂法处理炼油厂含酚废水[J]. 化工环保, 1997, (17): 342.
- [10] 陈水平. 铁屑内电解船舶含油废水的研究[J]. 水处理技术, 1999, 25 (5): 12.
- [11] 曹微寰. 酯化废水铁还原预处理的研究[J]. 化工环保, 1999, (4): 195~196.
- [12] 郝瑞霞. 铁屑过滤法预处理可生化性差的印染废水[J]. 化工环保, 1999, (3): 135.
- [13] 吕鉴等. 焦化废水预处理, 工业用水与废水, 2000, 31 (3): 23~24.
- [14] 何苗等. 焦化废水中有机物曝气吹脱条件下的挥发特征, 环境科学.1997, 9 (5): 34~36.
- [15] 杨云龙等. 焦化废水的处理技术与进展, 工业用水与废水, 2001, 32 (3): 8~10.
- [16] 姚君等. 焦化废水中有机污染物经厌氧酸化后对好氧生物降解性能的影响[J]. 中国环境科学, 1998, 18 (3): 276~279.
- [17] 工业耀等. 焦化废水处理技术研究进展. 工业水处理, 2002, 22 (7): 1~4.
- [18] 吴立波等. 自固定化高效菌种强化处理焦化废水研究[J]. 中国给水排水, 1999, 15 (5): 1~4.
- [19] 孙艳等. 固定化细胞性能改进的研究[J]. 环境科学研究, 1998, 11 (1): 59~62.
- [20] 孙艳等. 一株耐酚菌种及其固定化细胞降解含酚废水性能的比较研究[J]. 环境科学研究, 1999, 12 (1): 1~9.
- [21] 陈平等. 焦化煤气化废水生化除酚的实际与发展[J]. 煤矿环境保护, 2000, 14 (2): 12~14.
- [22] Paul M Sutton, Jim Hurvid, Martin Hoe Ksema. Biological Fluidized-Bed Treatment of

- Wastewater from Byproduct Coking Operations: Full-Scale Case History[J]. *Water Environ. Res.*, 1999, 71 (1): 5~9.
- [23] Zhang Min, Tay Joo Hwa, Qian Yi, et al. Coke Plant Wastewater Treatment by Fixed Biofilm System for COD and NH₃-N Removal [J]. *Water Res.*, 1998, 32 (2): 519~527.
- [24] Lee Min Woo, Park Jong Moon. Biological Nitrogen Removal From Coke Plant Wastewater With External Carbon Addition [J]. *Water Environ. Res.*, 1998, 70 (5): 1090~1095.
- [25] Yu Hanqing, Guowei, Song Leping. Posttreatment of Effluent from Coke-Plant Wastewater Treatment System in Sequencing Batch Reactors [J]. *J. of Environ. Engr.*, 1997, 123 (3): 305~308.
- [26] 李春杰, 耿琰, 顾国维. 焦化废水的一体化膜-序批式生物反应器处理[J]. *上海环境科学*, 2000, 20 (1): 24~27.
- [27] 李洪仁, 王敬涛, 胡晓静. 湿式氧化法处理工业污水的应用与展望[J]. *工业水处理*, 1999, 19 (3): 10~12.
- [28] Chiang Li-Choung, et al. Electro-Chemical Oxidation Process for the Treatment of Coke-Plant Wastewater [J]. *J. Environ. Sci. Health*, 1995, A30 (4): 753-771.
- [29] 巩志坚. 利用芬顿试剂处理焦化废水[J]. *工业水处理*, 1997, 17 (6) 4~6.
- [30] 殷广谨, 程志久, 杨丽琴等. 利用烟道气处理焦化废水剩余氨水或全部焦化废水[J]. *冶金环境保护*, 1999, 4: 1~5.
- [31] 吴红伟等. 氧化塘深度处理焦化废水的初步研究[J]. *环境污染与防治*, 1998, 20 (2): 1~4.
- [32] 张兆春等. 长焰煤吸附焦化废水污染物的研究[J]. *山东矿业学院学报*, 1996, 15 (2): 205~209.
- [33] 夏畅斌等. 酸改性粉煤灰处理焦化废水的工艺研究. *环境工程*, 2000, 12.
- [34] Y C Y. The use of enzymes and biocatalytic additives for wastewater treatment process. *Water Pollut Control Fed Highlights*, 1976, 13:5.
- [35] Luhy G, et al. Removal of organic contaminants from coal conversion process condensates[J]. *JWPCF*, 1983, 55(2): 275~281.
- [36] 全向春等. 生物强化技术及其在废水治理中的应用. *环境科学研究*, 1999, 3
- [37] S L Thibault, M Anderson. Influence of surfactants on pyrene desorption and degradation in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, 62: 283~287.
- [38] J M Thomas, J R Yordy, J A Amador. Rate of dissolution and biodegradation of water-insoluble organic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1986, 52: 290~296.
- [39] M C Romero, M C Cazau, A M Arambarri. Phenanthrene degradation by microorganisms isolated

- from a contaminated stream. *Environmental Pollution*,1998,101:355~359.
- [40] I Y J Ilic ,R Bartha. Solvent-augmented mineralization of pyrene by a *Mycobacterium* SP. *Appl.Environ.Microbiol.*,1996,62:2311~2316.
- [41] A D Geiselbrecht, P H Russell, W D Jody. Enumeration and phylogenetic analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading marine bacteria from Puget Sound Sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*,1996.62:3344~3349.
- [42] M A Provident, C A Flemming, H Lee. Effect of addition of rhamnolipid biosurfactants or rhamnolipid-producing *Pseudomonas aeruginosa* on phenanthrene mineralization in soil slurries. *FEMS Microbiol.Ecol.*,1995,17:16~26.
- [43] W.S.Steffensen, et al., Role of Competition for Inorganic Nutrients in the Biodegradation of Mixtures of Substrates, *Appl.Environ.Microbiol*, 1995, 8.
- [44] 张永吉. 有机化合物的生物降解性能和生物毒性. *上海环境科学*, 1993, 11 (2): 21~25.
- [45] 沈东生, 徐向阳, 冯孝善. 微生物共代谢在氯代有机物生物降解中的作用. *环境科学*, 1994, 15 (4): 84~87.
- [46] 瞿福平等. 易降解有机物对氯苯好氧生物降解性能的影响. *中国环境科学*, 1998, 18 (5): 407~409.
- [47] 张晓建等. 焦化废水中几种难降解有机物的厌氧生物降解特性, *环境工程*, 1996, 14 (1): 10~13.
- [48] 韦朝海等. 硝基苯好氧降解的共基质及生物协同作用. *中国环境科学*, 2000, 20 (3): 241~244.
- [49] John, M et al Degradation of chlorinated phenols by a toluence enriched microbial culture, *Water Research*,1994,28(9):1897.
- [50] Wilson , J.T. and Wilson , B.H. Biotransformation of Trichloroethylene in Soil. *Appl. Environ.microbio.*, 1985,49,242.
- [51]Fogel , M.M. Taddeo , A.R.and Fogel , S. Biodegradation of Chlorinated Ethenes by a Methane-Utilizing Mixed Culture.*Appl.Enviro.Microbiol.*, 1986,51,720.
- [52] Oldenhuis,R.,Oedzes,j.J.Y.,Van der Waarde,,J.J.,Janssen,D.B.Kinetics of Chlorinated Hydrocarbon by *Methylosinus Trichosporium* OB3b and Toxicity of Trichloroethylene.
- [53]Little,C.D.,Palumbo,A.V.,Herbes,S.e.,Lidstrom,M.E.,Tyndall,R.L.and GilmerP.J.Trichloroethylene Biodegradation by a Methane-Oxidizing Bacterium. *Appl.Environ Microbiol.*,1998,54,951.
- [54]Higgins,I.J.,Hammond,Sarias.lani,F.S.,Best,D.,Davies,M..M.tryhom,S.E.and Taylor,F.Biotransformation of Hydrocarbons and Related Compounds by Organism Suspensions of Methane-Grown *Methylosinus Trichosporium* OB3b.*Biochem.biophys.Res.Commun.*,1979,89,671.

- [55] Harish P. *Biotechnol. and Bioeng.*, 1993, 41: 79.
- [56] 沈东升等. 微生物共代谢在氯代有机物生物降解中的作用, *环境科学*, 1994, 15 (4): 84—87.
- [57] Foster J W. *J Microbio. Serol.*, 1962, 28: 241.
- [58] Hugus D E. *Biochem. J.*, 1965, 96: 181.
- [59] 张锡辉等. 以关键酶为基础共代谢模型的建立—以甲烷细菌共代谢三氯乙烯为例. *环境科学学报*, 2000, 20 (50): 558—562.
- [60] 聂麦茜. 多环芳烃优良菌的分离及降解特性研究, 博士论文: 16
- [61] 布坎南, 吉本斯等编. 中国科学院微生物研究所《伯杰氏细菌鉴定手册》翻译组, 伯杰氏细菌鉴定手册 (第八版), 科学技术出版社, 北京, 1984.
- [62] 沈萍, 范秀容, 李广武. *微生物学实验 (第三版)*, 高等教育出版社, 北京, 1999: 92—95.
- [63] 武汉大学, 复旦大学生物系微生物教研室. *微生物 (第二版)*, 高等教育出版社, 北京, 1980.
- [64] 水和废水监测分析方法. 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会编. 北京: 中国环境科学出版社, 1998.

致 谢

时光荏苒，转眼三年的硕士研究生学习生活即将结束，学位论文也终于完成。在此首先衷心感谢导师聂麦茜教授三年来的培养和关心。导师广博深厚的专业知识，严谨务实的治学态度、勇于创新的学术思想、平易近人的处世风格，给我留下了深刻的印象，在日常学习和课题试验阶段，聂老师传授知识循循善诱，解答疑问不厌其烦，既开阔了我的思路，帮助我建立了分析问题、解决问题的能力，又增加了我的专业知识，这些我将受益终生。

在此谨向聂麦茜教授及家人表示崇高的敬意和深深的谢意。

感谢环境工程实验室的郭风伟、温晓枚、陈剑宁、蒋欣、邓玉等各位老师，他们在试验仪器的使用方面给了我很大帮助。

感谢同学帖靖玺，硕士生李涛、冯晋阳、崔喜勤等人，他们在实验过程中都给了我很大帮助。

感谢我的家人，是他们的鼓励和支持使我得以完成学业。

在攻读硕士学位期间发表的论文与奖励

- ◇ 徐云, 聂麦茜. 生物强化技术在活性污泥处理焦化废水中的研究. 环境技术
- ◇ 优秀研究生二等奖