

球形红杆菌磷耐受能力和除磷特性的研究

李广科^{1,2}, 赵由才¹, 桑楠²

(1. 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092; 2. 山西大学环境与资源学院, 山西 太原 030006)

摘要:通过纯种培养试验,考察了废水生物除磷优势菌球形红杆菌的磷耐受能力和除磷特性。结果表明,球形红杆菌具有较强的磷耐受能力,且磷酸盐含量会对其除磷特性产生一定的影响。缺磷环境会使菌体产生过量摄磷现象;而在高磷环境下,菌体摄磷量的变化趋势与直接转入富磷培养类似:磷酸盐含量为1%时,菌体摄磷量基本未发生变化,当磷酸盐含量达到2%时,由于菌体的生长受到影响,摄磷量略有下降。结果还表明,球形红杆菌在微好氧培养过程中能达到与厌氧—微好氧培养过程相似的除磷效果,从而提示只要废水中存在足够的碳源,即使全部是微好氧过程,该菌也能有效地摄取磷酸盐而达到较好的除磷效果。由此可见,将球形红杆菌应用于高浓度含磷废水的实际处理工艺中前景看好。

关键词:球形红杆菌; 磷耐受能力; 除磷特性; 摄磷量; 废水生物除磷

中图分类号:X703.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1000 – 0267(2002)05 – 0403 – 03

Tolerance and Removal Characteristics of Rhodobacter Sphacroides Towards Phosphate

LI Guang-ke^{1,2}, Zhao You-cai¹, SANG Nan²

(1. National Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Department of Environmental Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract: Tolerance and removal characteristics of Rhodobacter sphacroides towards phosphate were studied. The results indicated that the strain had better phosphate tolerance, and the removal characteristics were affected by level of phosphate. Phosphate was taken excessively from culture solution by the strain, which was induced by phosphate starvation culture; while cultured in phosphate – high – media, the strain took phosphate similar to removing to phosphate – sufficient – media. The phosphate uptake remained unchanged in 1% phosphate – high – media; but the phosphate uptake decreased in 2% phosphate – high – media because the growth of the strain was limited. The results also showed that the strain had same effects of phosphate removal in microaerophilic culture and anoxic – microaerophilic culture. It implied that if only carbon source was sufficient, the strain could took phosphate effectively even in microaerophilic culture. The results suggested that Rhodobacter sphacroides be applied to biological phosphate removal process.

Keywords: rhodobacter sphacroides; biological removal; removal characteristic towards phosphate; phosphate tolerance; phosphate uptake

一般认为,废水生物除磷是由除磷菌的磷代谢完成的,因此,弄清除磷菌的磷耐受性及其磷代谢特性和机理,对于改善除磷工艺效果具有重要的理论意义和较大的使用价值^[1]。球形红杆菌属于光合细菌中的红螺菌科,具有降解高浓度有机物的能力,产生的菌体又可作为重要的资源加以利用,所以被用于处理各种有机废水^[2-4]。我们通过纯种培养试验,考察了球

形红杆菌的磷耐受能力和除磷特性,为该菌生物除磷的实际应用提供了依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验菌种

球形红杆菌 (*Rhodobacter spharoides* 17023), 由美国典型培养物保藏中心提供。

1.1.2 培养基

基本培养基: 苹果酸 2.5 g, 酵母粉 1.0 g, 硫酸铵 1.25 g, 硫酸镁 0.2 g, 氯化钙 0.07 g, 磷酸二氢钾

收稿日期: 2001 – 08 – 30

作者简介: 李广科(1971—),男,工学硕士,山西大学环境科学系教师,主要从事污染控制和资源化研究方面的教学和科研工作,现为同济大学环境工程专业博士研究生。

0.06 g, 柠檬酸铁 0.01 g, 乙二胺四乙酸 0.02 g, 微量元素溶液 1.0 mL, 维生素溶液 7.5 mL, 蒸馏水 1000 mL, pH 6.9。1 kg · cm⁻² 灭菌 30 min。

富磷培养基: 除磷酸二氢钾为 0.25 g 外, 其余成分与基本培养基相同。

缺磷培养基: 基本培养基成分中去掉磷酸二氢钾。

高磷培养基: 在缺磷培养基内加入磷酸二氢钾, 使其终浓度分别为 1%、2%、3%、3.5%, 调节 pH 值为 6.9。

1.2 试验方法

1.2.1 预培养

将球形红杆菌菌种液接种于基本培养基中, 厌氧、光照下, 30 ℃ 培养 48 h, 然后 4 000 r · min⁻¹ 离心 10 min 收集菌体, 转移到下列各试验所采用的培养基内培养。

1.2.2 菌量的测定

准确移取 100 mL 菌悬液, 4 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 收集菌体, 于 105 ℃ 恒温干燥箱内烘至恒重, 称重得菌体干重; 同时, 在 721 分光光度计上测得相应菌悬液的 OD₆₅₀ 值, 绘出菌体干重与 OD₆₅₀ 值的关系曲线。

1.2.3 菌体磷耐受性的研究

取经过预培养的等量菌体分别接种到富磷培养基和上述不同磷酸盐含量的高磷培养基内, 在 30 ℃ 下光照、微好氧培养, 测定培养过程中菌悬液的 OD₆₅₀ 值, 以此来反映菌体的生长情况, 考察球形红杆菌对磷酸盐的耐受性。同时, 另取等量菌体直接转移入基本培养基内, 30 ℃ 下光照、微好氧培养, 考察培养过程中菌体的生长情况, 以进行同步对比试验。

1.2.4 菌体除磷特性的研究

(1) 缺磷对菌体摄磷量的影响

取经预培养的两份等量菌体, 一份菌体先转移到缺磷培养基内, 30 ℃ 下光照、微好氧培养 12 h 后, 4 000 r · min⁻¹ 离心 10 min 收集菌体, 再转移到富磷培养基内; 另一份菌体直接转移入富磷培养基内, 30 ℃ 下光照、微好氧培养, 以考察缺磷对菌体摄磷量的影响。

(2) 高磷对菌体磷代谢的影响

取经预培养的三份等量菌体, 分别转移到富磷培养基、磷酸盐含量为 1% 的培养基和磷酸盐含量为 2% 的培养基中, 30 ℃ 下光照、微好氧培养, 以考察高磷对菌体摄磷量的影响。

1.2.5 氧对菌体摄磷量的影响

取经预培养的两份等量菌体分别转移到两个富磷培养基内, 其中一个在 30 ℃ 下光照、微好氧培养, 另一个则在相同温度下从开始至第 2 h 厌氧培养, 然后再转为微好氧培养, 以考察氧量对菌体磷代谢的影响。

1.2.6 磷的测定方法

见《水和废水监测分析方法》^[5]。

2 结果与讨论

2.1 菌量测定标准曲线

试验结果表明, 菌体干重随 OD₆₅₀ 值的增加而增加 (见图 1), 呈现出较好的线性关系, 经回归分析可得出回归方程:

$$y = 5.837x - 0.1034 (\gamma = 0.9977)$$

2.2 菌体磷耐受性的研究

由图 2 可以看出, 与对照组相比, 将经预培养的菌体转移入富磷培养基中, 菌体的生长情况基本保持不变。而将菌体转入磷酸盐含量分别为 1%、2% 和 3% 的高磷培养基时, 在培养初期 (0—1 d) 菌体的生长速度与对照组没有明显差别, 随着培养时间的延长, 菌体生长速度有所下降, 下降程度取决于培养基中的磷酸盐含量。磷酸盐含量为 1% 时, 培养过程中 (1—3 d) 菌体生长速度略有下降, 到培养末期 (4 d 左右), 菌量略低于对照组, 但无显著差异; 磷酸盐含量

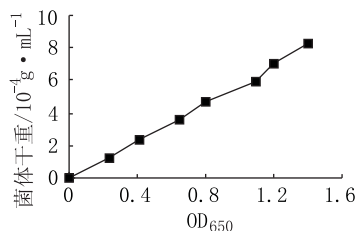


图 1 菌量测定标准曲线

Figure 1 Standard curve for determination of bacterial mass

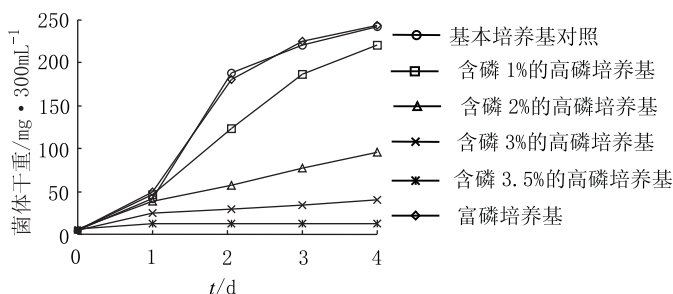


图 2 菌体对磷酸盐的耐受性

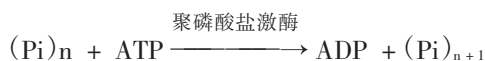
Figure 2 Tolerance of *Rhodobacter sphaeroides* towards phosphate

为 2% 时, 培养过程中菌体依旧呈现出较好的生长趋势, 到培养末期 (4 d 左右) 菌量可达到对照组菌量的 40%; 磷酸盐含量为 3% 时, 菌体仍有明显的生长趋势, 到培养末期 (4 d 左右) 菌量仍可达到对照组菌量的 20%。当磷酸盐含量达到 3.5% 时, 在培养初期 (0—1 d) 菌量略有增加, 随后便基本保持不变。由此可见, 该菌对磷酸盐的耐受限可达到 3.5%, 说明球形红杆菌具有较强的磷酸盐耐受能力。

2.3 菌体除磷特性的研究

2.3.1 磷对菌体摄磷量的影响

(1) 缺磷的影响: 试验结果表明, 与直接转移入富磷培养基相比, 球形红杆菌经缺磷培养后转入富磷培养基中, 菌体摄磷量迅速增加, 在短时间内达到一饱和值 (见图 3)。这一现象可解释为^[6]: 当菌体从缺磷条件下转为富磷培养时, 其体内聚磷酸盐激酶活性提高, 催化磷酸盐转化为聚磷酸盐。因此, 菌体摄取培养基中的磷酸盐合成聚磷酸盐, 反应式如下:



从而使得培养基中的磷酸盐含量下降, 菌体摄磷量增加。

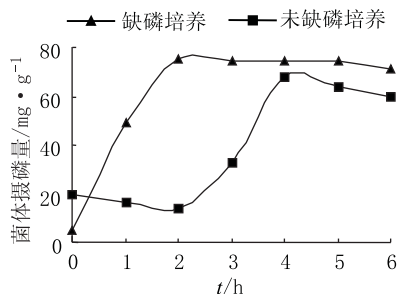


图 3 缺磷对菌体摄磷量的影响

Figure 3 Effect of phosphate - starvation - media on phosphate uptake of *Rhodobacter sphaeroides*

(2) 高磷的影响: 试验结果表明, 球形红杆菌转移入磷酸盐含量为 1% 和 2% 的高磷培养基后, 菌体摄磷量的变化趋势与转入富磷培养基中类似。磷酸盐含量为 1% 时, 菌体摄磷量基本未发生变化, 当磷酸盐含量达到 2% 时, 由于菌体的生长受到影响, 摄磷量有所下降 (见图 4)。由此可见, 球形红杆菌不仅对磷酸盐有较强的耐受能力, 而且在高磷环境下仍具有较好的除磷效果, 这说明将该菌应用于高浓度含磷废水处理工艺中, 前景看好。

2.3.2 氧对菌体磷代谢的影响

氧对球形红杆菌摄磷量的影响如图 5 所示。由图

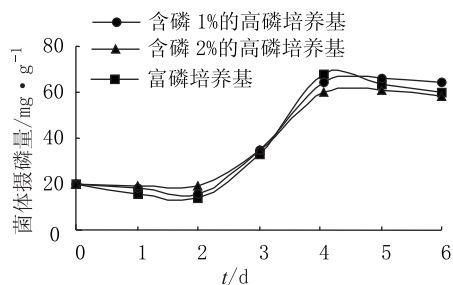


图 4 高磷对菌体摄磷量的影响

Figure 4 Effect of phosphate - high - media on phosphate uptake of *Rhodobacter sphaeroides*

5 可以看出, 在转入富磷培养基厌氧-微好氧培养过程的厌氧阶段, 球形红杆菌产生明显的磷释放现象, 进入微好氧阶段时, 该菌又重新从培养基中摄取磷。而当菌体转入富磷培养基直接进行微好氧培养时, 虽然没有出现明显的磷释放现象, 但同样具有较强的摄磷能力。经过 4 h 的培养, 两种条件下菌体的摄磷量相近, 这可能是因为废水生物除磷过程中, 厌氧的作用是通过酵解菌的作用使水中的有机物降解成短链脂肪酸, 以充当除磷菌摄磷所需的基质^[7,8]。这一结果表明只要废水中存在足够的碳源 (本试验中的碳源为苹果酸), 即使全部是微好氧过程, 球形红杆菌也能有效地摄取磷酸盐而达到较好的除磷效果, 从而增加了将该菌应用于实际含磷废水处理工艺的可行性。

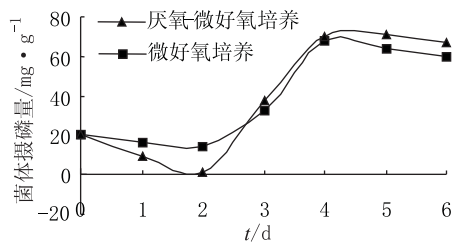


图 5 氧对菌体摄磷量的影响

Figure 5 Effect of oxygen on phosphate uptake of *Rhodobacter sphaeroides*

3 结论

(1) 球形红杆菌对磷酸盐具有较强的耐受能力, 其耐受限可达到 3.5%。

(2) 磷对球形红杆菌的摄磷量有较大影响。缺磷环境会使菌体产生过量摄磷现象; 而在高磷环境下, 菌体摄磷量的变化趋势与直接转入富磷培养基中类似: 磷酸盐含量为 1% 时, 菌体摄磷量基本未发生变化, 当磷酸盐含量达到 2% 时, 由于菌体的生长受到影响, 摄磷量略有下降。由此可见, 该菌在高磷环境

(下转第 416 页)