

试验研究

# 复配式微生物的构建及其对啤酒废水的协同性处理

曾伟,陈军,王全喜

(上海师范大学生命与环境科学学院,上海 200234)

**摘要:**混合型有机污染物的均衡降解能促进废水中 COD 的彻底去除,本文探究基于水解酶类别的复配式微生物菌系模型的构建并验证其对啤酒废水的处理效果。实验结果表明:以多株产特定水解酶系菌株通过 Plackett-Burman 和 Box-Behnken 实验设计优化的菌系组合应用于模拟啤酒废水,可有效提高啤酒废水的 COD 的去除率。通过正交实验进一步优化了复合菌系降解的环境条件,动态监测过程显示复配式微生物处理的啤酒废水的 COD、NH<sub>3</sub>-N 和 TP 的最高去除率分别可达 95.38%、93.31% 和 77.40%,分别比对照提高 20.77%、22.18% 和 13.01%。

**关键词:**复合微生物 酶活性能 啤酒废水 降解性能

中图分类号:X703

文献标识码:A

文章编号:1006-8759(2015)05-0024-06

## THE ESTABLISHMENT OF MIXED MICROORGANISMS AND ITS APPLICATION OF BREWERY WASTEWATER TREATMENT

ZENG Wei, CHEN Jun, WANG-Quanxi

(College of Life and Environment Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234)

**Abstract:** The removal rate of COD of wastewater can be promoted completely by balanced resolving of compounded organic pollutant. The study was based on the established model of mixed microorganisms producing different types of hydrolase and aimed to prove its effect on treating brewery wastewater. The experimental results show: the removal rate of COD of the brewery wastewater can be raised efficiently by the combination of several strains producing the special hydrolases applied to treat the simulated brewery wastewater through the optimization of Plackett-Burman and Box-Behnken design. The environment conditions of resolving process were optimized through the orthogonal experimental design. The dynamic monitoring process showed that the removal rate of COD, NH<sub>3</sub>-N and TP of the brewery wastewater was 95.38%, 93.31% and 77.40% after the treatment of the mixed microorganisms and the increasing proportion was 20.77%, 22.18% and 13.01% compared with the contrasted group.

**Key Word:** Compound microorganism; enzyme activity; brewery wastewater; biodegradability

无毒可降解有机污染是城市水体污染的主要污染类型,有机污染物成分中常常包含多种不同的可降解性有机化合物种类,如蛋白质、脂肪、淀粉、纤维素等<sup>[1-3]</sup>,在此类废水的生物降解过程中由于不同污染物水解酶的类别不同<sup>[4,5]</sup>,物质的水解速度不同,形成的产物种类也不同,处理液中积累的水解物质的构成也会不同,因此,在自然分解或一般人工生物降解过程中易出现快速水解物质和难降解物质的积累,造成处理过程参数波动性大,基质转化协同性差以及 COD 彻底去除困难等常见的废水处理问题<sup>[6]</sup>。

改善有机废水处理效果可以通过稀释或混合不同来源废水从而调节废水的成分等方式来干预有机物降解的状态,但这种方案的处理规模大,成分可控性差。而运用水解酶调节大分子物质降解速率的方式易于调节废水中不同物质的分解速率<sup>[7]</sup>,易于实现废水中小分子有机物的有序释放,有利于微生物均衡转化污染物质,或是通过“二次生长现象”、“共代谢效应”等促进难降解物质的协同转化,提高污染物质的可生化性,降低废水中的 COD 含量。

啤酒废水中含有十分典型的可降解有机物质种类<sup>[2]</sup>,每年啤酒行业啤酒废水的大量排放加剧了环境污染<sup>[8,9]</sup>。本文以啤酒综合废水中残留的有机物状态为模型,运用微生物水解作用调节有机物的分解速度,优化微生物菌群组合,探讨复配微生物对啤酒废水高效处理的工艺条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 菌种

实验室分离并鉴定的微生物菌种编号从 X1 至 X10 依次为: *Bacillus* sp. M 17、*Bacillus* sp. M 41、*Bacillus* sp. JNF -1、*Bacillus subtilis* strain SYH9、*Bacillus* sp. M 26、*Bacillus* sp. LWF013、*Bacillus subtilis* strain YC -11B、*Bacillus subtilis* strain H171、*Bacillus* sp. PT401、*Bacillus subtilis* strain BHP6-1。

#### 1.1.2 人工模拟啤酒废水

葡萄糖 1.0 g/L, 酵母膏 1.0 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.0 g/L,  $\text{GaCl}_2$  0.5 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.01 g/L,  $\text{NaHCO}_3$  1.0 g/L,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.0 g/L,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.01 g/L,  $\text{FeSO}_4$

0.02 g/L, pH 6-9。

#### 1.1.3 啤酒综合废水

取自上海某品牌啤酒有限公司啤酒生产过程中产生的新鲜的综合啤酒废水。

#### 1.1.4 主要培养基

NA 培养基: 蛋白胨 10 g/L, 牛肉膏 3 g/L,  $\text{NaCl}$  5 g/L, 琼脂 15 g/L, pH 7.2-7.4。

产淀粉酶菌株培养基: 可溶性淀粉 5 g/L, 蛋白胨 10 g/L, 牛肉膏 5 g/L,  $\text{NaCl}$  5 g/L, 琼脂 20 g/L, pH 7.2-7.4。

产蛋白酶菌株培养基: 葡萄糖 1 g/L, 酵母膏 1 g/L, 酪素 4 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.5 g/L,  $\text{MgSO}_4$  0.1 g/L, 琼脂 20 g/L, pH 7.0-7.2。

产脂肪酶菌株培养基: 橄榄油乳化液 1.5% (V/V); 酵母膏 0.5%;  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5%;  $\text{MgSO}_4$  0.05%, 琼脂 2%, pH 7.0-7.2。

产纤维素酶菌株培养基:  $\text{CMC-Na}$  2 g/L, 蛋白胨 10 g/L, 酵母膏 5 g/L,  $\text{NaCl}$  5 g/L, 琼脂 20 g/L, pH 7.2-7.4。

### 1.2 主要仪器

苏州安泰新型双人单面净化工作台 HS-1300-U; 立式压力蒸汽灭菌器 YXQ-LS-30S; SPX-250 B-D 型振荡培养箱; TU-1 810 PC 型紫外可见分光光度计; HACH DRB200 和 DR2 800 水质测定仪; 上海卢湘仪 TDZ5-WS 型离心机; HANNA HI 98128 型 pH 计。

### 1.3 实验设计

#### 1.3.1 菌株复配模型优化

对实验室收藏的多株微生物菌株在人工模拟废水中进行定性和定量的产水解酶性能测试,在确定基本产酶特征基础上,通过 Plackett-Burman 实验设计<sup>[10,11]</sup>和 Box-Behnken 实验设计<sup>[12,13]</sup>优化菌系组合及接种量的比例。

Plackett-Burman 实验选取  $n=12$  对 10 种菌株作为 10 因素进行考察。10 种菌株用 LB 液体培养基培养过夜,均将其菌悬液的 OD 值调至 0.15,且离心后弃去上清液用等量的无菌水代替并混匀。每个因素均取高水平“+1”和低水平“-1”,分别代表在 50 mL 模拟废水中接种经过上述处理的菌液 0.4 mL 和 0 mL。按 Plackett-Burman 设计表设计 12 组,每组 3 个平行。当处理温度为 30 °C,摇瓶转速为 150 r/min 培养 6 d 后,测定 COD<sub>Cr</sub> 去除

率 YCOD(%)。

Box-Behnken 设计选取主效应分析中显著性最大的三个因素(将 3 个因素分别标为 A,B,C),每个因素取“-1”、“0”和“+1” 3 个水平,分别代表在 50 mL 模拟废水中接种 0.2 mL、0.4 mL 和 0.8 mL 的同上述相同处理的菌液。并按 Box-Behnken 设计在相同条件下摇瓶培养 6 d,测定 COD 去除率 YCOD(%)。

### 1.3.2 复配菌系在啤酒废水处理上的验证

将菌株的优化结果运用于真实啤酒废水处理,同时对处理过程中温度、pH 值、装液量和接种量采用 L9(3<sup>4</sup>)正交实验表进行正交实验,根据正交实验结果确定最佳处理条件,并动态监测啤酒废水的水质变化情况,验证实验效果。

### 1.4 检测方法

#### 1.4.1 酶活性的测定

菌株蛋白酶的活力测定采用国标法(GB/T23527-2009),脂肪酶活的测定采用滴定法<sup>[14]</sup>,DNS 法<sup>[15]</sup>测定纤维素酶活力,DNS 显色法<sup>[16]</sup>测定蛋白酶活性。

#### 1.4.2 啤酒废水检测指标及检测方法

COD<sub>Cr</sub> 的测定:重铬酸钾比色法,采用美国 HACH 公司的 COD 反应测试仪。NH<sub>3</sub>-N 的测定:纳氏试剂分光光度法。TP 的测定:钼酸铵分光光度法。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌株的酶活性能

10 种菌株在各自产酶培养基上,于 25 ℃培养 4 d 后测得的纤维素酶、蛋白酶、脂肪酶和淀粉酶活性如图 1 和图 2 所示。

由图 1 和图 2 可知,10 种菌株的 4 种不同类

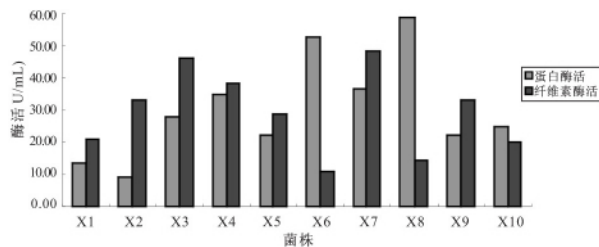


图 1 10 种菌株的蛋白酶和纤维素酶活性

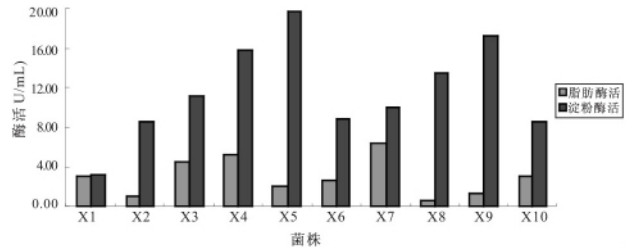


图 2 10 种菌株的脂肪酶和淀粉酶活性

型的酶活性存在较大的差异,其中菌株 X4、X6、X7 和 X8 的蛋白酶活性较高,菌株 X3、X4 和 X7 的纤维素酶和脂肪酶活性较高,而菌株 X4、X5 和 X9 的淀粉酶活性较高。综合比较而言,菌株 X3、X4、X5、X7 和 X10 具有较强的同时降解 4 种有机物质的能力。

### 2.2 菌株降解废水 COD<sub>Cr</sub> 的主效应因素筛选

在 Plackett-Burman 设计矩阵中,因子在“高”水平响应均值与“低”水平响应均值之差即为该因子的效应。依据 Plackett-Burman 设计表,10 种菌株处理啤酒废水,在 6 d 后的 COD<sub>Cr</sub> 去除率(YCOD,%)如表 1 所示。

表 1 Plackett-Burman 实验因素水平及结果

编号	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9	X10	(Y <sub>COD<sub>Cr</sub></sub> %)
1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	87.69
2	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	87.31
3	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	83.46
4	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	1	87.69
5	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	88.46
6	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	89.62
7	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	85.77
8	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	1	84.62
9	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	87.31
10	1	-1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	1	87.69
11	-1	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	93.85
12	-1	1	1	1	-1	1	1	-1	1	-1	96.54

人工模拟啤酒废水的 COD<sub>Cr</sub> 初始值为 1 600 mg/L,由表 1 可知,在第 6 天时 COD<sub>Cr</sub> 的去除率均高于 80%,最高可达 96.54%,去除效果较好。这可能是由于投加的微生物大量繁殖,模拟的啤酒废水有机物成分较为单一,分解模拟啤酒废水中的有机物质较为完全,从而对啤酒废水中的 COD<sub>Cr</sub> 去除较为彻底。

利用 Minitab 软件对上述实验结果进行主效应分析,处理 6 d 后的主效应如图 3 所示。

由主效应分析图可知,当以 6 d 为周期时,加入 X3、X4 和 X7 菌株时 COD<sub>Cr</sub> 的去除率较没有加入该 3 种菌株时显著增加,说明此 3 种菌株对实验结果有显著影响,是主要影响因子。虽然菌株

X<sub>5</sub> 和 X<sub>10</sub> 也具有较强的协调降解大分子的能力,但是在菌系组合中可能由于菌株的生长在竞争中处于劣势,其他菌株可能只是单一的某种酶活性较高,协调降解大分子能力不强,因而在该组合中并不是主要的影响因子。因此选用编号为 X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub> 和 X<sub>7</sub> 的 3 种菌株进行菌系组合。

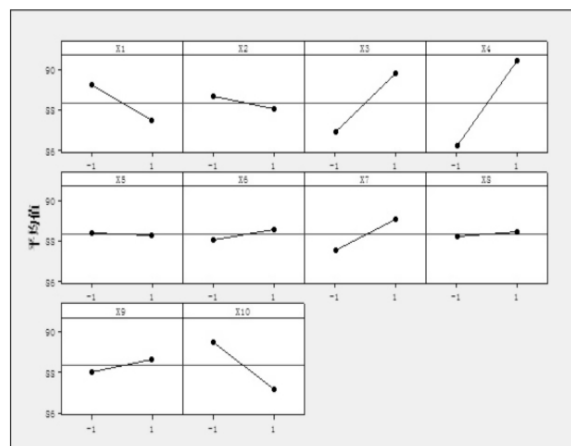


图 3 菌株处理啤酒废水 6 d 后的主效应分析

### 2.3 Box-Behnken 实验结果分析

以菌株 X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub> 和 X<sub>7</sub> 分别作为 A、B 和 C 三因素,进行 Box-Behnken 实验,实验结果如表 2 所示。

表 2 Box-Behnken 实验设计表及结果

序号	A	B	C	(Y <sub>con</sub> %)
1	0	0	0	92.35
2	-1	-1	0	82.35
3	-1	0	-1	83.46
4	-1	1	0	78.64
5	1	0	1	76.34
6	0	1	-1	86.34
7	0	1	1	75.84
8	1	0	-1	85.34
9	0	-1	-1	86.31
10	1	1	0	74.31
11	0	0	0	90.38
12	1	-1	0	84.16
13	-1	0	1	82.62
14	0	-1	1	83.43
15	0	0	0	91.14

利用 Minitab 软件对实验结果进行分析,得出系数显著性检验、方差分析和回归方程,并作响应曲面,结果如表 3、表 4 和图 4 所示。

由 Y 的估计回归系数可知, S = 1.30249, PRESS = 108.574, R-Sq = 98.00%, R-Sq(预测) = 74.39%, R-Sq(调整) = 94.40%。

由 Y 的估计回归系数,拟合二次回归方程式为:  $Y = 91.29 - 0.86A - 2.64B - 2.90C - 6.23A^2A - 5.19B^2B - 3.12C^2C - 1.54A^2B - 2.04A^2C - 1.91B^2C,$

表 3 Y 的估计回归系数

项	系数	系数标准误	T	P
常量	91.2900	0.7520	121.397	0.000
A	-0.8650	0.4605	-1.878	0.119
B	-2.6400	0.4605	-5.733	0.002
C	-2.9025	0.4605	-6.303	0.001
A*A	-6.2325	0.6778	-9.195	0.000
B*B	-5.1925	0.6778	-7.660	0.001
C*C	-3.1175	0.6778	-4.599	0.006
A*B	-1.5350	0.6512	-2.357	0.065
A*C	-2.0400	0.6512	-3.132	0.026
B*C	-1.9050	0.6512	-2.925	0.033

表 4 Y 的方差分析

来源	自由度	SeqSS	AdjSS	AdjMS	F	P
回归	9	415.430	415.430	46.1589	27.21	0.001
线性	3	129.139	129.139	43.0462	25.37	0.002
平方	3	245.704	245.704	81.9013	48.28	0.000
交互作用	3	40.587	40.587	13.5291	7.97	0.024
残差误差	5	8.482	8.482	1.6965		
失拟	3	6.508	6.508	2.1694	2.20	0.328
纯误差	2	1.974	1.974	0.9871		
合计	14	423.912				

对二次回归方程式求偏导数得: A=0.022, B=-0.181, C=-0.418, 因此对应菌株 X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub> 和 X<sub>7</sub> 的接种量取值分别为 0.4088 mL、0.3638 mL 和 0.3164 mL, 即 3 种菌株的复配比例为 4:4:3。通过分析, Y 的最大估值为 92.12%。

### 2.4 菌株复配结果的正交实验

将优化的菌株组合模型应用于上海某啤酒厂的综合废水作验证实验, 实验初始值为 COD<sub>cr</sub> 1 300 mg/L、NH<sub>3</sub>-N 为 28.4 mg/L、TP 为 14.6 mg/L, 通过对主要四个环境因子进行正交实验, 在摇速为 150r/min 的摇床中进行摇瓶处理, 5 天后测定 COD<sub>cr</sub> 的去除率结果如表 5 所示。

由表 5 可知, COD<sub>cr</sub> 去除效果的最佳环境条件为 A3B3C2D2, 即温度 35 °C, pH 值 9.0, 装液量 50 mL/250 mL, 接种量 0.4 mL/50 mL。极差分析结果表明, 影响啤酒废水 COD<sub>cr</sub> 去除效果的因素主次顺序为温度>接种量>装液量>pH。在正交实验中, 啤酒废水 COD<sub>cr</sub> 去除率最高可达 70.77%, NH<sub>3</sub>-N 去除率普遍达到 80%, 最高可达 94.93%, TP 的最高去除率为 69.36%。在上述最佳环境条件下进行验证试验, 啤酒废水 COD<sub>cr</sub> 去除率为 70.05%, NH<sub>3</sub>-N 去除率 89.25%, TP 的去除率为

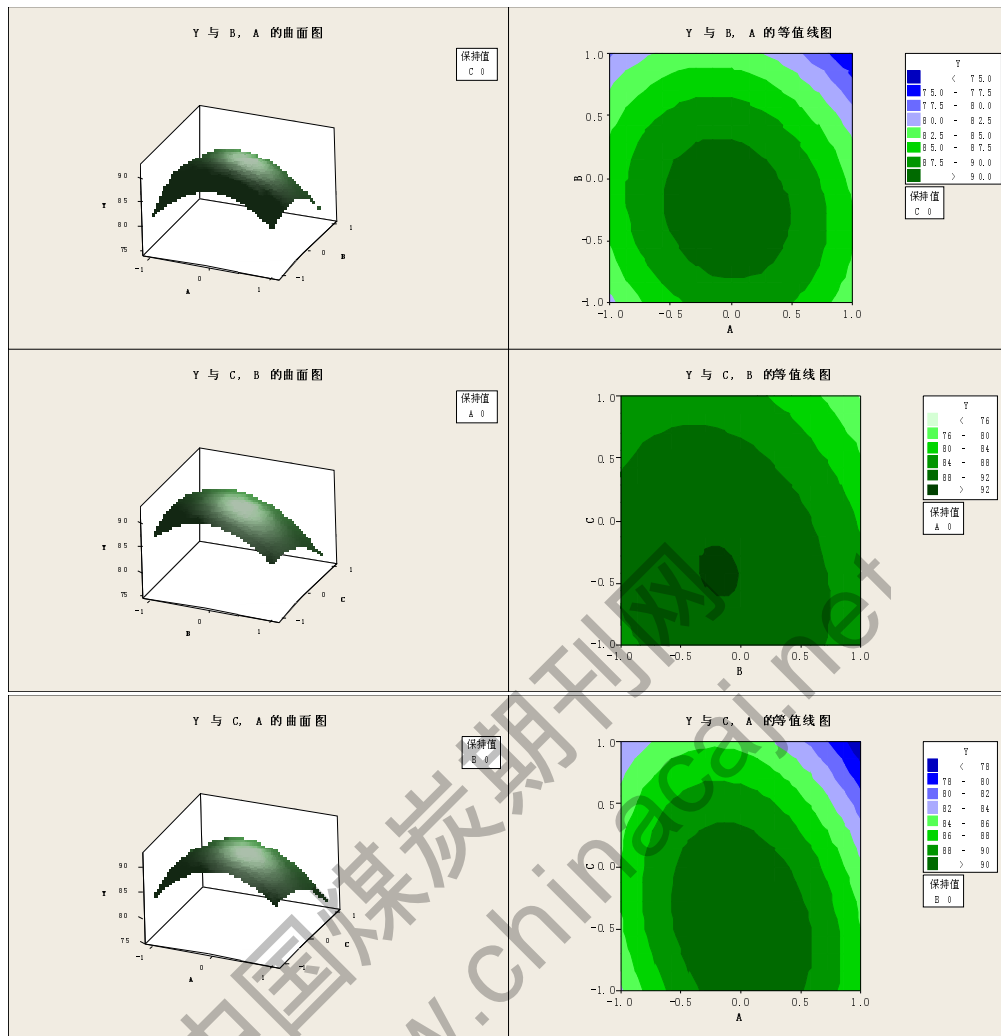


图 4 响应曲面图和等值线图

62.14 %。本正交实验的 COD<sub>Cr</sub> 去除率明显比在模拟啤酒废水中的低,可能是因为 COD 初始值较前者小,真实的啤酒废水中物质组成十分复杂,而且含有多种难降解物质的缘故。

### 2.5 动态监测复配式微生物对啤酒废水的处理效果

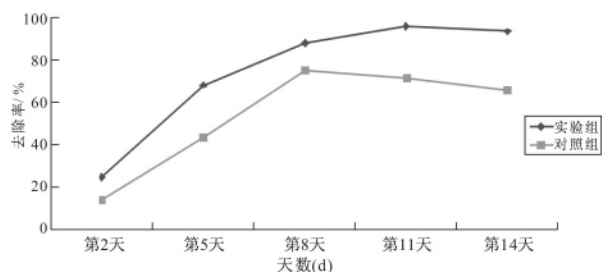
实验组微生物为本文复配的微生物,对照组微生物为啤酒公司提供的常见的处理啤酒废水的复合微生物,实验组选择温度为 35 ℃,pH 值 9.0,接种量为 8mL/L,而对照组则选择其已知的最佳条件,两组均在曝气条件下处理 10 L 啤酒综合废水,分别在第 2、5、8、11、14 天测得的 COD<sub>Cr</sub>、NH<sub>3</sub><sup>-</sup>N 和 TP 结果如图 5-图 7 所示。

由图 5 可以看出,随着时间的推移,无论实验组还是对照组 COD<sub>Cr</sub> 的去除率均逐渐增加后略微降低,复合微生物和啤酒废水中的微生物有较

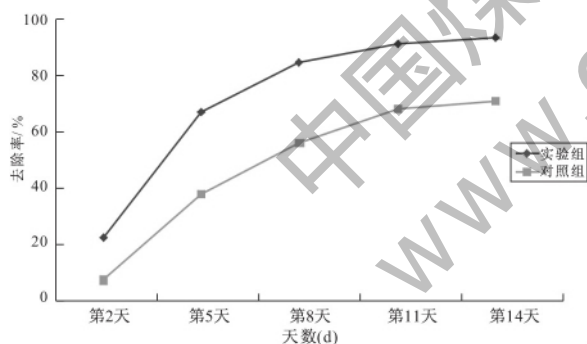
表 5 5 d 后 COD<sub>Cr</sub> 的测定值

组号	A 温度(℃)	B pH 值	C 装液量(mL)	D 接种量(mL)	(Y <sub>cod</sub> /%)
1	1(25)	1(7.0)	1(30)	1(0.2)	55.38
2	1	2(8.0)	2(50)	2(50)	66.15
3	1	3(9.0)	3(70)	3(0.8)	60.00
4	2(30)	1	2	2	61.54
5	2	2	3	3	52.31
6	2	3	1	1	63.08
7	3(35)	1	3	3	70.77
8	3	2	1	1	69.23
9	3	3	2	2	66.15
K1	60.51%	62.56%	62.56%	57.95%	
K2	58.97%	62.56%	64.62%	66.67%	
K3	68.72%	63.08%	61.03%	63.59%	
R	9.74%	0.51%	3.59%	8.72%	
结论	A3B3C2D2				

高活性,实验组和对照组的最大去除率分别可达 95.38 %和 74.62 %,本实验的 COD<sub>Cr</sub> 去除率明显高于正交实验,可能与实验对象处于开放环境,规模较大有关,而且曝气能保证充足的氧气。比较

图5 复合菌系处理啤酒废水的 COD<sub>cr</sub> 去除曲线

第2 d和第11 d可知,实验组去除率明显高于对照组,可能是复配式微生物在前期启动速度快且持续时间长,在短时间内即可大量增殖。前8 d降解速度较快,水中溶解氧充足,微生物大量繁殖产生较多的高活性的代谢产物降解水中的大分子物质。此外,菌株按一定的比例复合,可以使有机物质得以均衡分解,从而使底物释放较为彻底,从而COD<sub>cr</sub>去除率较高。8 d后COD<sub>cr</sub>的降解速度明显变缓,可能是氮源消耗较多,菌群开始衰退且此时底物的COD<sub>cr</sub>含量很低所致。实验组和对照组在后期COD<sub>cr</sub>值都略有上升趋势,可能是微生物开始自溶,菌体内含物的释放使得COD<sub>cr</sub>含量升高。

图6 不同时间段的 NH<sub>3</sub>-N 测定值

总体看来,实验组和对照组的NH<sub>3</sub>-N值在前期均呈现明显下降趋势,而后期趋于平缓。复合微生物和啤酒废水中的微生物对啤酒废水NH<sub>3</sub>-N的最大去除率分别达到了93.31%和71.13%。在实验前期,实验组的NH<sub>3</sub>-N值下降趋势较对照组明显,一方面是因为前期啤酒废水的NH<sub>3</sub>-N含量相对较高、基数较大,另一方面是各种营养物质充足,微生物菌群能够很快适应环境,短时间内即可迅速增殖,产生大量水解酶类分解水体中有机物。第8 d后降解趋势明显变缓,可能是因为此时废水中的NH<sub>3</sub>-N含量很低已经成为限制因子且有机

物质的均衡释放趋于平衡,微生物菌群趋于衰亡期,降解速度变慢。

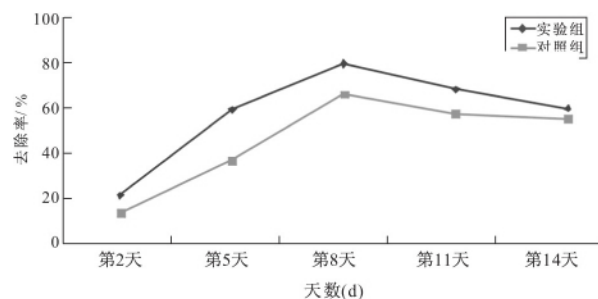


图7 不同时间的TP测定值

由图7可知,实验组和对照组的TP变化趋势较为一致,都是呈现先上升后下降最后比较稳定的趋势,TP的去除率均在第8 d时达到最大值,分别为77.40%和64.38%。TP的去除主要是依靠微生物的合成作用摄取含磷物质,贮藏在微生物体内。前期,微生物代谢活跃,产酶能力强;后期,由于碳氮比较高,可能氮源不足,环境条件恶劣,菌群生长减缓,摄取含磷物质趋于饱和,TP的去除速度变慢;最后阶段,菌群均出现不同程度的衰退,部分菌体甚至出现自溶现象,由于实验组微生物体内转化的含磷物质较多,裂解时释放的也较多,因而表现为TP含量均有上升的趋势且整体基本持平。

### 3 结论

通过Plackett-Burman和Box-Behnken优化设计处理模拟啤酒废水,结合各种菌株的酶活性性能,选取编号为X3、X4和X7的3种菌株以4:4:3的比例复合即得本实验的复配式微生物。正交试验表明影响该复配式微生物降解啤酒废水环境条件的主次顺序为温度>接种量>装液量>pH。在动态监测的过程中,COD<sub>cr</sub>、NH<sub>3</sub>-N含量均有大幅下降趋势,TP则呈现先下降后上升趋势,该复配式微生物在曝气条件下,啤酒废水的COD<sub>cr</sub>、NH<sub>3</sub>-N和TP的最高去除率分别可达95.38%、93.31%和77.40%,分别比对照组提高了20.77%、22.18%和13.01%。在动态监测实验中,COD<sub>cr</sub>的降解启动速度快,短时间内即可迅速降低啤酒废水COD的含量,说明此复配式微生物能够快速适应环境,短时间内大量增殖,产生大量的水解酶类物质且

(下转第16页)

液体的"绿色"性能。

(2) 离子液体用于萃取分离中反萃是一个难点。只有解决了反萃问题,才能解决离子液体的循环使用,并真正符合溶剂萃取的要求。解决反萃问题可以从寻找有效的反萃剂及简便可行的反萃方法入手。

(3)目前对于离子液体用于溶剂萃取的机理研究仍处于初步阶段,需要进一步对机理进行研究,机理的阐述有利于从源头上找到改进的方法和手段。

## 参考文献

- [1] 沈兴海,徐超.离子液体在金属离子萃取分离中的应用.核化学与放射化学.2006.8(28).
- [2] 张静.室温离子液体的研究进展.北京服装学院学报(自然科学版),2002.
- [3] 张鹏,杨奇.室温离子液体的研究进展.辽宁化工,2003.2(32).
- [4] 叶天旭,刘金河.离子液体的合成与应用研究进展.石油与天然气化工,2004.5(31).
- [5] 李宙雷,张玉梅.离子液体在溶解方面的研究进展.上海化工,2005.2(30).
- [6] 姜妲,尹振,翟玉春.离子液体及其研究进展.材料导报,2006.5(20).
- [7] 杨雅立,王晓化,寇元等.不断壮大的离子液体家族[J].化学进展,2003.15(6):471-476.

(上接第 29 页)

较长时间维持较高活性,复配菌株有序均衡的降解啤酒废水中的大分子物质,使有机物质得以较为彻底的释放从而高效的处理啤酒废水。

## 参考文献

- [1] 石锦慎.啤酒工业废水的处理与利用[J].中国资源综合利用,2009,27(4):39-40.
- [2] 岳秀萍,郁晓青.啤酒废水生物处理工艺的应用与发展[J].科技情报开发与经济.2007,17(12):178-180.
- [3] 高路.啤酒厂废水处理探讨[J].酿酒,2002,29(6):46-47.
- [4] Aitken M D.Waste Treatment Applications of Enzymes:Opportunities and Obstacles [J]. Chemical Engineerin Journal, 1993, 52: B49-B58.
- [5] Cadoret A,Conrad A,Block J C.Availability of Low and High Molecular Weight Substrates to Extracellular Enzymes in Whole and Dispersed Activated Sludges [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 31(1):179-186.
- [6] 韩洪军,刘旻,贾银川.一种啤酒工业废水的处理方法[Z].CN101265002,2008.
- [7] 徐开宇,蔡绍.水解酶处理废水技术研究综述[J].重庆科技学院学报(自然科学版),2010,12(6):156-158.

- [8] 孙学文,赵锁奇,王仁安.离子液体在石油化工中的应用[J].石油化工,2002.31(10):855-857.
- [9] Dai S.,Ju Y H.,Barnes C E.Solvent Extraction of Strontium Nitrate by a Crown Ether Using Room-Temperature Ionic Liquids[J].J Chem Soc., Dal-ton Trans.1999,8:1 201-1 202.
- [10] Visser A E.Swatloski R P,Reichert W M, et al.Traditional Extractants in Nontraditional Solvents:Groups 1 and 2 Extraction by Crown Ethers in Room-Temperature Ionic Liquids[J]. Ind EngChem Res,2000,39(10):3 596-3 604.
- [11] Hirayama N, Deguchi M ,Kawasumi H,et al.Use of 1-Alkyl-3-M ethylimidazolium Hexafluoro-phosphate Room Temperature Ionic Liquids asChelate Extraction Solvent W ith 4,4,4-Trifluoro-1-(2-Thienyl)-13-Butanedione[J]. Tala nta,2005,65(1):255-260.
- [12] Holbrey J D,Visser A E,Spear S K, et al.Mer-cury ( ) Partitioning From Aqueous Solutions W ith a New Hydrophobic Ethylene-Glycol Func-tionalized Bis-Imidazolium Ionic Liquid[J].GreenChem ,2003,5(2):129-135.
- [13] VisserA E,Swadoski R1)R RD.ChemCommun,2001 [1]:135-136.
- [14] Dai S.,Ju YH.,Barnes C E.J Chem Soc DahonTram.1999(7):201-202.
- [15] 张景涛,朴香兰,束慎林.化工进展,2001.12:16-18.

- [8] 冀贞泉,刘洪俊,勾怀亮等.一种啤酒生产污水再生回用工艺技术[J].广州食品工业科技,1996,12(3):111-114.
- [9] 左永泉.啤酒工业废水污染危害及治理方法初探[J].江苏食品与发酵,2000,(2):18-22.
- [10] Zhou Jiangya,Yu Xiaojuan,Ding Cong et al. Optimization of phenol degradation by Candida tropicalis Z-04 using Plackett-Burman design and response surface methodology[J]. Journal of Environmental Sciences,2011,23(1):22-30.
- [11] Aravindan Rajendran,Anbumathi Palanisamy,Viruthagiri Thangavelu. Evaluation of Medium Components by Plackett-Burman Statistical Design for Lipase Production by Candida rugosa and Kinetic Modeling[J]. 生物工程学报,2008,24(3):436-444.
- [12] G. Annadurai. Design of optimum response surface experiments for adsorption of direct dye on chitosan [J]. Bioprocess Engineering . 2000,23 (5):451-455.
- [13] 胡娜,许杨.Box-Behnke 法模拟黄曲霉 AS3.4408 最适产毒条件的研究[J]. 食品科技,2006,(7):43-47..
- [14] 杨华,姜永江.国产碱性脂肪酶的测定方法及特性研究[J].中国食品学报,2006,6(3):138-142.
- [15] 朱俭等编著.生物化学实验 [M].上海科学技术出版社,1981.1-4.
- [16] 刘杰雄,陈号,陆雯等.淀粉酶高产菌株的筛选及其酶活的测定[J].食品工程,2010,(1):45-47.