

光合细菌利用工业有机废水产生 5-氨基乙酰丙酸

刘秀艳¹, 徐向阳², 叶敏³, 项硕⁴

(¹杭州电子科技大学环境科学与工程研究所, 杭州 310028)(²浙江大学环境与资源学院, 杭州 310029)

(³杭州市环境保护科学研究院, 杭州 310014)(⁴浙江科技学院建筑工程学院, 杭州 310014)

摘要:【目的】利用本实验室筛选的 5-氨基乙酰丙酸 (5-aminolevulinic acid, ALA) 高产紫色非硫红假单胞菌株, 以味精、柠檬酸、啤酒和豆制品生产废水作为底物, 进行光合细菌利用废水产生 ALA 并去除化学需氧量 (COD_{Cr}) 的研究。【方法】光合细菌培养温度为 30℃, 光照强度为 3000 Lux, 进行乙酰丙酸、甘氨酸、琥珀酸的添加与否和废水灭菌与否的处理, 用比色法测定菌液光密度, ALA 检测采用 Ehrlich's 试剂分光光度检测法。【结果】在不添加乙酰丙酸 (levulinic acid, LA)、甘氨酸和琥珀酸条件下, 菌株 99-28 的菌体生长在 72~96 h 达到稳定期, ALA 产量在 96 h 最高, 在 4 种废水中, 味精废水的 ALA 产量最高, COD_{Cr} 去除率也最高; 添加 LA、甘氨酸和琥珀酸显著提高 ALA 产量, 但 COD_{Cr} 去除效果不好。废水不灭菌略微降低 99-28 菌株的生长和 COD_{Cr} 的去除能力, 在添加 LA、甘氨酸和琥珀酸条件下的, ALA 产量明显下降。ALA 高产突变菌株 L-1 在有机废水中的生长状况、对有机废水的 COD_{Cr} 去除与菌株 99-28 表现一致, 在不添加和添加 LA、甘氨酸和琥珀酸条件下, 突变株 L-1 的 ALA 产量明显比菌株 99-28 高。【结论】本实验室筛选的紫色非硫红假单胞菌株能利用有机废水作为底物产生 ALA 并降解 COD_{Cr}。

关键词: 5-氨基乙酰丙酸; 光合细菌; 工业有机废水

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 09-1121-06

氨基乙酰丙酸 (5-aminolevulinic acid, ALA), 是卟啉、(亚铁) 血红素和维生素 B₁₂ 的类似物^[1]。近年研究发现, ALA 作为一种无公害绿色的除草剂和光动力学剂, 可用作杀虫剂、抗微生物药剂、植物生长促进剂及治疗癌症与其它疾病^[2, 3]。目前已先后发现蓝细菌、产甲烷菌、嗜热梭菌、假单胞菌和光合细菌等可转化有机物产生 ALA^[4, 5]。光合细菌生物合成 ALA 因工艺简单、产率高, 具有工业化生产潜力, 且直接以有机废水为底物, 因而倍受关注^[6]。

我们从本实验室保藏的 36 株光合细菌菌株中, 筛选出具有较强的产 ALA 能力的紫色非硫红假单胞菌 99-28 菌株, 并通过紫外诱变, 从 99-28 菌株中筛选出 ALA 高产菌株 L-1^[7]。在此基础上, 本文进行了

菌株 99-28 和突变株 L-1 利用有机废水产 ALA 并去除 COD_{Cr} 的研究, 为光合细菌菌株资源的深度开发及工业有机废水的资源化利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种: 采用本实验室筛选的紫色非硫红假单胞菌 (*Rhodospseudomonas* sp.) 99-28 菌株和 ALA 高产突变菌株 L-1^[7]。

1.1.2 培养基: 采用谷氨酸-苹果酸 (GM) 培养基^[7]。

1.1.3 主要试剂和仪器: ALA 标样和 LA 购自 Sigma 公司; 其他试剂购自华东医药股份有限公司 器材试剂分公司。紫外分光光度计 (7500 型, 上海天美科学仪器有

基金项目: 国家自然科学基金(40771100)

作者简介: 刘秀艳(1970-), 女, 黑龙江省人, 硕士, 从事环境微生物研究。Tel/Fax: +86-571-86919158; E-mail: liuxiuyan1970@yahoo.com.cn

收稿日期: 2007-03-12; 修回日期: 2008-06-11

限公司);生化培养箱(LRH-190型,广东省医疗器械厂);光照度计(JD-3型,上海嘉定学联仪表厂)。

1.2 培养条件

1.2.1 培养条件:10 mL 培养 40 h 的菌液于 2500 × g 离心 15 min 后得到的湿菌体接种入含有 60 mL 液体培养基的 100 mL 血清瓶中,30 °C 暗培养 24 h 后,3000 Lux 光照培养 96h。

1.2.2 有机废水的取样和处理:味精废水取自杭州味精厂味精提取工段,豆制品废水取自杭州红光豆制品厂豆制品车间,柠檬酸废水取自杭州柠檬酸厂,啤酒废水取自杭州啤酒厂糖化车间。上述 4 种废水理化指标如表 1 所示。接种前根据不同有机废水 COD_{Cr} 的浓度作适当稀释,将初始 COD_{Cr} 浓度控制在确良 4000~8000 mg/L, pH 值为 7.5。

表 1 4 种有机废水理化指标
Table 1 Characteristics of four kinds of wastewater

Characteristics	Wastewater			
	Monosodium glutamate wastewater	Bean products wastewater	Brewage wastewater	Citric acid wastewater
pH	3.2	4.5	4.0	3.0
c(COD _{Cr})/(mg/L)	67500	6800	7300	16000
c(BOD ₅)/(mg/L)	25000~30000	2500~3000	800~1000	2800~3000

1.2.3 废水 COD_{Cr} 去除实验:废水摇匀,味精废水稀释 10 倍,豆制品废水与啤酒废水不稀释,柠檬酸废水稀释 2 倍,调 pH 为 7.5,分装 250 mL 碘量瓶中,接种 60 mL 培养 48 h 的菌液,30 °C 暗培养 24 h,3000Lux 光照培养 96h。

1.3 分析方法

1.3.1 ALA 的测定:无菌操作条件下取培养菌液 5 mL 于离心管内,离心 30 min。取离心上清液 3 mL,加入等量 2 mol/L 乙酸钠 (pH 4.6) 缓冲液和 0.6 mL 乙酰丙酮,沸水水浴加热 10min,冷却至室温,取上述溶液 2 mL 与 2 mL Ehrlich's 试剂混合,15 min 后用分光光度检测 (波长:553 nm)。

1.3.2 菌液光密度测定:用比色法测定菌液光密度 (OD 值),波长为 660 nm。

1.3.3 COD_{Cr} 测定:采用重铬酸钾法测定废水的 COD_{Cr} 值 (GB 11914-1989)。

1.4 形态观察

将光合细菌进行革兰氏染色,用欧林巴斯显微镜进行形态观察。采用常规方法制造超薄切片^[8],用 JEOL JEM-1200EX 透射电镜观察光合细菌的光合内膜结构。

2 结果和分析

2.1 菌株 99-28 形态和培养特性

菌株 99-28 的细胞呈杆状或长卵形,大小差异显著,为 0.5~0.8 μm × 1.1~2.2 μm,两端圆钝,靠极生鞭毛运动,在老龄培养物中可见有较多的菌体聚集呈丛。以出芽繁殖。革兰氏染色阴性。在 GM 琼脂平板

上光照培养 24 h 后形成的菌落呈圆形,光滑湿润,表面稍凸,边缘规则,直径 0.2~0.8 mm,红色或褐红色。在液体培养基中黑暗好氧条件下培养,菌液无色或淡粉色,移至光照厌氧条件下培养,菌液初为粉红色,后变为深红色。光合内膜结构类型呈片层状,位于细胞膜下并与其平行 (图 1)。

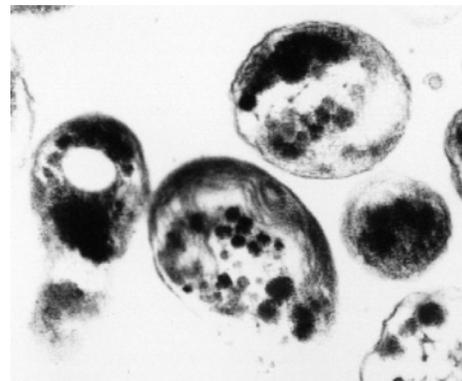


图 1 99-28 菌株的光合内膜结构(30000 ×)

Fig. 1 The structure of photosynthesis endomembrane of strain 99-28 (30000 ×).

2.2 菌株 99-28 在有机废水中生长情况

菌株 99-28 在 4 种灭菌的工业有机废水中生物量变化如图 2 所示。在所有的废水中,经 72~96 h 的培养,菌体生长达到稳定期。该菌株在味精和豆制品废水中能更好地生长,培养液中菌体密度高,颜色较深,而啤酒废水和柠檬酸废水中菌体浓度相对较低。说明味精废水和豆制品废水比啤酒废水和柠檬酸废水更适合 99-28 菌株的生长。

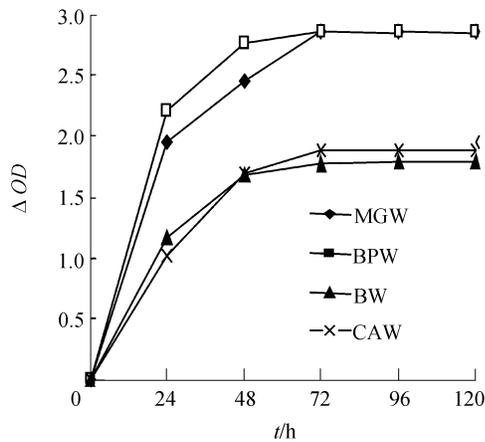


图 2 菌株 99-28 在 4 种灭菌的工业有机废水中的生长
Fig. 2 Growth of strain 99-28 in four kinds of sterilized industrial organic wastewater. MGW: Glutamate waster water, BPW: Soybean product wasterwater, BW: Brewery wasterwater, CAW: Citric acid wasterwater.

2.3 99-28 菌株利用有机废水产生 ALA

在 0 到 24 h, 菌株 99-28 在灭菌的 4 种有机废水中的 ALA 产量急剧上升, 24 h 后 ALA 含量缓慢上升, 啤酒废水中 ALA 产量在 72 h 时达到最大值, 味精废水、柠檬酸废水和豆制品废水中 ALA 产量在 96 h 时达到最大值, 随后缓慢下降 (图 3)。菌株 99-28 利用有机废水产生 ALA 的量的高低次序为: 味精废水, 柠檬酸废水, 啤酒废水, 豆制品废水, 最大产量分别为 2.75 mg/L、2.29 mg/L、1.69 mg/L 和 1.51 mg/L。其中味精废水中 ALA 产量为豆制品中 ALA 产量的 1.78 倍。而菌株 99-28 在 GM 培养基中 ALA 最大产量为 3.15 mg/L, 是废水中的 1.45 倍, 这可能因为培养基加入了酵母膏、生长因子、微量元素等, 更有利于产生 ALA。

在培养基中加入 ALA 脱水酶 (ALAD) 抑制剂

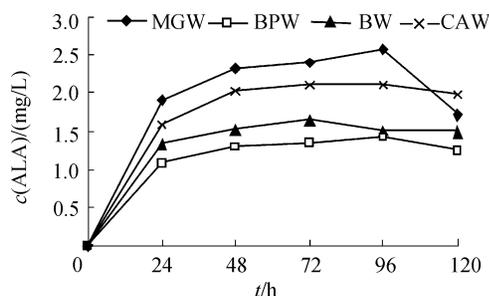


图 3 菌株 99-28 在不添加 LA、甘氨酸和琥珀酸的 4 种灭菌工业废水中 ALA 的产量
Fig. 3 ALA production of strain 99-28 in sterilized industrial organic wastewaters without supplement of LA, glycine or succinate. MGW: Glutamate waster water, BPW: Soybean product wasterwater, BW: Brewery wasterwater, CAW: Citric acid wasterwater.

乙酰丙酸 (LA), 以及 ALA 合成的底物甘氨酸和琥珀酸对可显著提高 ALA 的产量^[6, 7]。在废水中加入 LA、甘氨酸、琥珀酸, 同样能显著提高 ALA 产量, 99-28 菌株在添加了这些物质的灭菌的味精废水、豆制品废水、啤酒废水、柠檬酸废水中 ALA 产量最高值分别为: 3.49mg/L, 2.46mg/L, 2.10 mg/L, 2.80mg/L (图 4), 比不添加 LA、甘氨酸、琥珀酸时提高了 26.9%、62.9%、24.3%、22.3%。

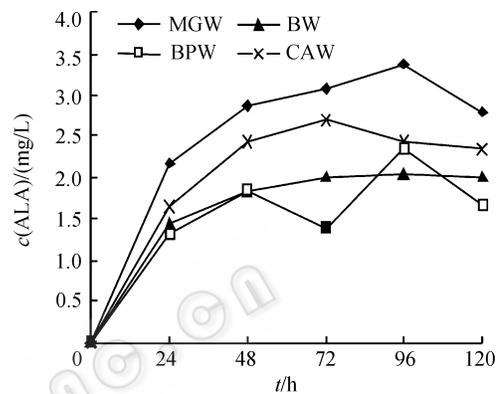


图 4 菌株 99-28 在添加 LA、甘氨酸和琥珀酸的灭菌工业废水中 ALA 的产量
Fig. 4 ALA production of strain 99-28 in sterilized industrial organic wastewater with supplement of LA, glycine and succinate. MGW: Glutamate waster water, BPW: Soybean product wasterwater, BW: Brewery wasterwater, CAW: Citric acid wasterwater.

2.4 99-28 菌株对有机废水中 COD_{Cr} 去除

99-28 菌株对灭菌的 4 种工业有机废水的 COD_{Cr} 去除的能力差别较大, 其中对柠檬酸废水的 COD_{Cr} 去除率较低, 在处理 5 天后柠檬酸废水 COD_{Cr} 去除率仅为 80.5%, 啤酒废水的 COD_{Cr} 去除率为 89.4%, 豆制品废水的 COD_{Cr} 去除率为 95.5%, 味精废水的 COD_{Cr} 去除率为 95.9% (图 5)。说明该菌株能很好的去除味精废水与豆制品废水中的 COD_{Cr}, 对啤酒废水的处理效果也较好, 但对柠檬酸废水的处理效果不太理想, 这可能由于柠檬酸废水中含有大分子有机物多, 而紫色非硫红假单胞菌是光能异养菌, 不能直接利用大分子有机物, 因此对柠檬酸废水的有机物的利用不完全。饶汉东等^[9]报道了先采用酵母菌对柠檬酸废水进行前处理, 再应用光合细菌进行后处理的方法, COD_{Cr} 去除率可达 98%。酵母菌可利用大分子有机物, 将大分子有机物降解成小分子有机物, 从而有利于光合细菌利用。

接种 99-28 菌株的 4 种工业有机废水培养 48 h 后分别加入 30 mmol/L LA、甘氨酸和琥珀酸后, 虽

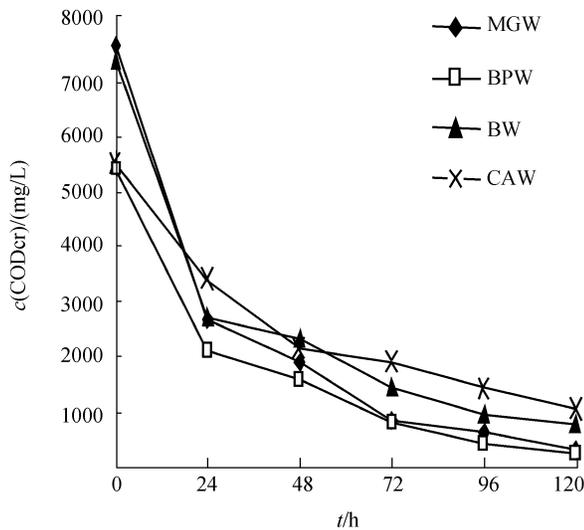


图 5 99-28 菌株降解灭菌工业有机废水 CODcr

Fig. 5 Strain 99-28 remove CODcr in sterilized industrial organic wastewater. MGW: Glutamate waster water, BPW: Soybean product waster water, BW: Brewery waster water, CAW: Citric acid waster water.

然能显著提高 ALA 产量,但 CODcr 去除效果不好(数据未列)。这可能是由于 LA、甘氨酸、琥珀酸本身具有较高的 CODcr; LA 对菌体生长有抑制作

用,使菌体对 CODcr 的去除能力降低。

2.5 有机废水灭菌与否对菌株 99-28 的生长、ALA 产量和 CODcr 去除的影响

与灭菌废水相比,废水不灭菌处理降低了菌株 99-28 的生长、ALA 产量和 CODcr 去除,但影响程度并不一致(表 2)。废水灭菌与否对菌株 99-28 的生长的影响最小,小于 1.3%;对 CODcr 去除的影响也很小,小于 8.7%;在不添加 LA、甘氨酸、琥珀酸的情况下的 ALA 产量的影响也不大,介于 2%和 11.2%之间;在添加 LA、甘氨酸、琥珀酸的情况下的 ALA 产量有较大的影响,达到 22.3%~29.9%(表 2)。

2.6 突变株 L-1 与 99-28 菌株的比较

突变株 L-1 是 99-28 菌株通过紫外线诱变选育出的 ALA 高产菌株,在 GM 培养基中,突变株 L-1 的 ALA 产量比 99-28 菌株高一倍多。在预备实验中发现,废水不灭菌对突变株 L-1 的生长、ALA 产量和 CODcr 去除的影响与菌株 99-28 基本一至。因此,本研究在不灭菌废水条件下对菌株 L-1 和菌株 99-28 的生长、ALA 产量和 CODcr 去除进行比较。

表 2 菌株 99-28 在不灭菌废水中的 ΔOD 、ALA 产量和 CODcr 去除相对于灭菌废水中的百分比

Table 2 Percentage of ΔOD , ALA production and CODcr removal rate in unsterilized wastewater relative to sterilized wastewater

Items	Wastewater/%			
	Monosodium glutamate wastewater	Bean products wastewater	Brewage wastewater	Citric acid wastewater
Relative ΔOD	98.7	99.8	99.8	98.3
Relative ALA production (without LA, Gly and succinate)	93.7	94.3	98.0	88.8
Relative ALA production (with LA, Gly and succinate)	84.8	70.1	87.7	80.9
Relative CODcr removal	95.5	96.8	105.5	91.3

2.6.1 L-1 菌株与 99-28 菌株在废水中的生长情况比较:在不灭菌 4 种废水中,突变株 L-1 与 99-28 菌株的生长情况基本一致(图 6)。

2.6.2 突变株 L-1 与 99-28 菌株产 ALA 比较:在不加入 LA、甘氨酸、琥珀酸的条件下,L-1 菌株以不灭菌味精废水、豆制品废水、啤酒废水和柠檬酸废水作为底物,培养 120 h 后的 ALA 产量分别为 2.82 mg/L、1.53 mg/L、2.17 mg/L 和 2.42 mg/L,均比 99-28 菌株高(图 7-A)。其中在味精废水中 ALA 产量比菌株 99-28 提高了 15.6%,在豆制品废水中 ALA 产量比菌株 99-28 提高了 4.5%,在啤酒废水中 ALA 产量比菌株 99-28 提高了 27.3%,在柠檬酸废水中 ALA 产量比菌株 99-28 提高了 12.1%。在味精废水中,突变株 L-1 的 ALA 产量最高,达 2.82 mg/L,

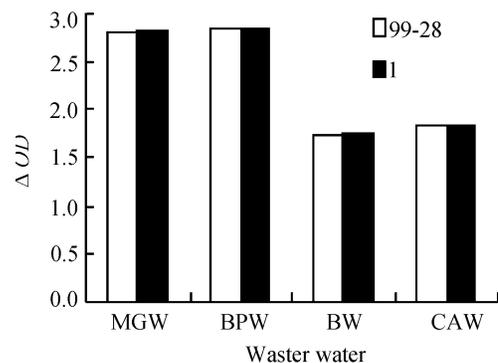


图 6 菌株 99-28 和突变株 L-1 在不灭菌工业有机废水中的生长比较

Fig. 6 Growth of strain 99-28 and L-1 in unsterilized industrial organic wastewater. MGW: Glutamate waster water, BPW: Soybean product waster water, BW: Brewery waster water, CAW: Citric acid waster water. The same in following figures.

而在啤酒废水中突变株 L-1 的 ALA 产量增幅最大。

与 99-28 菌株一样,加入 LA、甘氨酸、琥珀酸能极大地提高突变株 L-1 的 ALA 产量。培养 4 d 产生 ALA 的结果如下:味精废水为 6.49 mg/L,豆制品废水为 1.99 mg/L,啤酒废水为 7.27 mg/L,柠檬酸废水为 5.39 mg/L(图 7-B),比不加 LA、甘氨酸、琥珀酸条件下分别提高了 134.4%、35.3%、244.4%和 143.7%。与相同条件下菌株 99-28 的 ALA 产量相比,在啤酒废水、味精废水和柠檬酸废水中,突变株 L-1 的 ALA 产量分别提高了 268.1%、106.8%和 125.6%,但在豆制品废水中只提高了 9.4%。

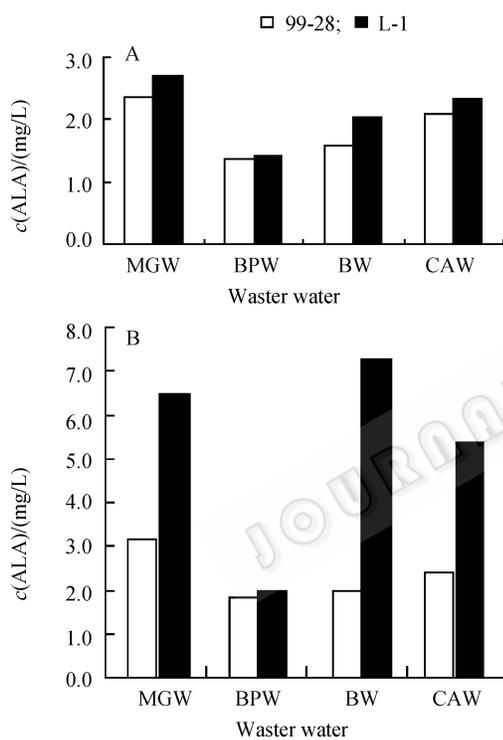


图 7 99-28 菌株和突变株 L-1 在不灭菌工业有机废水中产生 ALA 的比较

Fig. 7 ALA production of strain 99-28 and L-1 in unsterilized industrial organic wastewater. A: without supplement of LA, glycine and succinate; B: with supplement of LA, glycine and succinate. MGW: Glutamate waster water, BPW: Soybean product wasterwater, BW: Brewery wasterwater, CAW: Citric acid wasterwater. The same in following figures.

2.6.3 突变株 L-1 与 99-28 菌株 COD_{Cr} 去除情况比较:在不加入 LA、甘氨酸、琥珀酸条件下,突变株 L-1 与 99-28 菌株对 4 种工业有机废水的 COD_{Cr} 去除能力相近(表 3)。两菌株均能较好的处理味精废水、豆制品废水和啤酒废水,但对柠檬酸废水的处理效果相对较差。

表 3 菌株 99-28 与突变株 L-1 在 4 种有机废水中 COD_{Cr} 去除率

Table 3 COD_{Cr} removal rates of four types of wastewater of strain 99-28 and L-1

Strain	Wastewater/%			
	Monosodium glutamate wasterwater	Bean products wasterwater	Brewage wasterwater	Citric acid wasterwater
99-28	91.6	94.3	92.4	73.5
L-1	89.7	94.3	91.8	72.4

3 讨论

虽然应用紫色非硫假单胞菌处理工业有机废水的研究已有报道^[10-14],高产 ALA 的光合细菌的筛选及发酵条件的研究在国内外也有报道^[6, 7, 15-19]。但应用紫色非硫假单胞光合细菌处理废水并同时产生 ALA 还未见报道。我们筛选的紫色非硫红假单胞菌株 99-28 及其 ALA 高产突变菌株 L-1 在 4 种工业有机废水中生长良好,废水灭菌或不灭菌处理对 99-28 菌株和突变株 L-1 的生长、ALA 的产生和 COD_{Cr} 的去除影响不大,说明这两个菌株适应能力较强,适用于工业有机废水的处理,在去除 COD_{Cr} 的同时,还能产生 ALA。然而,99-28 菌株和突变株 L-1 在废水中的 ALA 产量还远远低于在 GM 培养基中的产量,需要通过改变条件,进一步提高在废水中的 ALA 产量,缩小其在废水中与 GM 培养基中 ALA 产量的差距,最终为工业有机废水的资源化利用奠定基础。突变株 L-1 是从菌株 99-28 突变而来的 ALA 高产菌株,该突变菌株利用培养基生产 ALA 的能力是野生型菌株 99-28 的两倍多^[7]。本研究发现,突变株 L-1 在废水中的 ALA 产量也比菌株 99-28 要高,而两者在废水中的生长状况以及 COD_{Cr} 的去除能力基本一致。因此突变株 L-1 比菌株 99-28 更适合于工业有机废水的资源化利用。

虽然加入 LA、甘氨酸、琥珀酸能显著提高废水中 ALA 的产量,但影响 COD_{Cr} 的去除,另外,加入 LA、甘氨酸、琥珀酸也增加了生产成本。在实际生产中,可以根据实际需要来决定是否添加 LA、甘氨酸、琥珀酸,如果需要获得高产 ALA,则需要添加 LA、甘氨酸、琥珀酸;如果需要较好的 COD_{Cr} 去除效果,则不能添加 LA、甘氨酸、琥珀酸。

参 考 文 献

- [1] Holtriel V, Lamm L, Rowold J, *et al.* Biosynthesis of vitamin B₁₂ different pathways in some aerobic and anaerobic microor-

- ganisms. *Archives of Microbiology*, 1982, 132(2): 155–158.
- [2] Duke SO, Lydon J, Becerril JM, *et al.* Protoporphyrinogen oxidase-inhibiting herbicides. *Weed Science*, 1991, 39(3): 465–473.
- [3] Sasikala CH, Ramana CV, Rao RP. 5-Aminolevulinic acid: A potential herbicide/insecticide from microorganisms. *Biotechnology Progress*, 1994, 10: 451–459.
- [4] 朱章玉, 俞吉安, 林志新. 光合细菌的研究及其应用. 上海: 上海交通大学出版社, 1991.
- [5] 刘如林. 光合细菌及其应用. 北京: 中国农业科技出版, 1991.
- [6] Sasaki K, Ikeda S, Konishi I, *et al.* Production of 5-Aminolevulinic acid by photosynthetic bacteria. *J Fermentation Technology*, 1987, 65: 511–515.
- [7] 刘秀艳, 徐向阳, 陈蔚青. 光合细菌产生 5-氨基乙酰丙酸 (ALA) 的研究. *浙江大学学报(理学版)* [*Journal of Zhejiang University (Science Edition)*], 2002, 29(3): 336–340.
- [8] 林钧安, 高锦梁, 洪健. 实用生物电子显微镜技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1989, pp48–52.
- [9] 饶汉东, 韩永锋. 柠檬酸有机废水的生化处理研究. *环境科学 (Environmental Science)*, 1993, 14(3): 7–12.
- [10] 程树培. 外循环气升式反应器中光合细菌处理味精废水的研究. *环境科学 (Environmental Science)*, 1990, 12(2): 63–67.
- [11] 樊凌雯, 张肇铭, 张德咏. 利用光合细菌处理糖蜜酒精发酵废液中试研究. *中国环境科学 (China Environmental Science)*, 1998, 18(2): 173–175.
- [12] 王宇新. 利用光合细菌处理淀粉废水的研究. *环境科学 (Environmental Science)*, 1993, 14(5): 39–42.
- [13] 王宇新, 许平, 钱新民. 利用光合细菌柱式生物膜法处理淀粉废水. *环境科学 (Environmental Science)*, 1995, 16(3): 39–40.
- [14] 史家梁, 翁稣颖, 徐亚同. 光合细菌在废水处理中的应用及菌体的综合利用. *环境科学 (Environmental Science)*, 1989, 10(2): 16–19.
- [15] 完颜小青, 谢数涛, 孙勇, 等. 高产 5-氨基乙酰丙酸光合细菌株的分离鉴定. *暨南大学学报 (Journal of Jinan University)*, 2006, 27(5): 760–766.
- [16] 赵春晖, 穆江华, 林建平, 等. 异养培养光合细菌产 5-氨基乙酰丙酸发酵条件的研究. *精细化工 (Fine Chemicals)*, 2003, 20(11): 648–651.
- [17] 赵春晖, 林建平, 杨丽颖, 等. 甘氨酸/琥珀酸对光合细菌产 5-氨基乙酰丙酸的影响. *化学反应工程与工艺 (Chemical Reaction Engineering and Technology)*, 2004, 20(3): 275–279.
- [18] 于海艳, 张兴, 李枝玲, 等. 生物合成 5-氨基乙酰丙酸的发酵条件. *化工进展 (Chemical Industry and Engineering Progress)*, 2006, 25(10): 1217–1221.
- [19] 王俊卿, 张肇铭. 乙酰丙酸和前体物对 *Rhodobacter sphaeroides* 5-氨基乙酰丙酸合成的影响. *精细化工 (Fine Chemicals)*, 2003, 11(5): 648–651.

Production of 5-aminolevulinic acid from organic industrial wastewater by photosynthetic bacteria

Xiuyan Liu^{1*}, Xiangyang Xu², Min Ye³, Shuo Xiang⁴

⁽¹⁾Institute of Environmental Science and Engineering, Hangzhou Dianzi University, Hangzhou 310012, China

⁽²⁾College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China

⁽³⁾Hangzhou Academy of Environmental Science, Hangzhou 310014, China

⁽⁴⁾School of Architecture and Civil Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China

Abstract: [Objective] We used *Rhodospseudomonas* strains with high-yield of 5-aminolevulinic acid (ALA) to produce ALA from wastewater of producing monosodium glutamate, citric acid, beer, and soybean product. **[Methods]** Cultivation was carried out under anaerobic light condition (3000 Lux) at 30 °C. For comparison, we tested the addition of levulinic acid (LA), glycine and succinate to the substrate to increase the production of ALA, effect of sterilization of the wastewater for both strains. Cell mass concentration (OD_{660}) and the content of ALA were determined with spectrophotometer. **[Results]** Without adding levulinic acid (LA), glycine and succinate, the growth of strain 99-28 reached plateau after 72–96 h. The maximum ALA production was obtained at 96 h. Both the yield of ALA and the Chemical Oxygen Demand (COD_{Cr}) removal rate of monosodium glutamate wastewater were the highest in all tested wastewaters. When LA, glycine and succinate were added, ALA production of strain 99-28 was significantly increased whereas the COD_{Cr} removal was adversely affected. Non-sterilized wastewater slightly reduced the growth and COD_{Cr} removal rate of strain 99-28, however the ALA production could be strongly reduced with the addition of LA, glycine and succinate. The growth and COD_{Cr} removal of mutant strain L-1 was similar with strain 99-28, but its ALA production was much higher than that of strain 99-28. **[Conclusion]** The *Rhodospseudomonas* strains screened in our laboratory can use organic wastewater as substrates to produce ALA and remove COD_{Cr}.

Keywords: 5-aminolevulinic acid; photosynthetic bacteria; industrial organic wastewater