

应用青霉菌 BX1 活体吸附水中活性艳蓝 KN R

张书军¹, 杨敏^{1*}, 辛宝平¹, 刘宏波¹, 袁丽梅^{1,2}

(1. 中国科学院生态环境研究中心环境水质学国家重点实验室, 北京 100085, E-mail: yangmin@mail.rcees.ac.cn; 2. 中国矿业大学化工与环境工程学院, 北京 100083)

摘要:研究了染料高效吸附菌(青霉菌 BX1)的生长条件及其对活性艳蓝 KN R 的吸附特性. 为避免染料对其生长的毒害, 本研究将菌体培养及其对染料的吸附分离. 结果表明, 青霉菌 BX1 生长分 3 个阶段: 孢子活化、线性生长和菌体自解. 菌体生长的最佳温度为 30 ℃, 最优碳源依次为淀粉 > 木糖 > 蔗糖 > 麦芽糖 > 葡萄糖 > 乳糖, 最佳 pH 值为 4.0. 用培养 48 h 的活菌体吸附水中的 100 mg/L 的活性艳蓝 KN R, 120 min 脱色率达 93.7%, 20 ℃ 时菌体(以干菌重计)对染料的最大饱和吸附量为 159 mg/g.

关键词:青霉菌; 生物吸附; 脱色; 废水处理; 活性艳蓝 KN R

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)01-0087-04

Decolorization of Reactive Blue KN R by *Penicillium oxalicum* BX1 Adsorption

ZHANG Shu-jun¹, YANG Min^{1*}, XIN Bao-ping¹, LIU Hong-bo¹, YUAN Li-mei^{1,2}

(1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. China University of Mining and Technology, Beijing 100083)

Abstract: The biomass of *Penicillium oxalicum* BX1 could adsorb many kinds of dyes. The effect of temperature, carbon source and pH on its growth and its adsorption to Reactive Blue KN R were studied. To avoid the toxicity of the dye on BX1 biomass growth, BX1 culture and its adsorption to the dye were separated. It was found that there were three phases during BX1 growth: spore activation, linear growth and decay. The rate of BX1 growth in different carbon sources followed the order of starch > xylose > sucrose > maltose > glucose > lactose. The optimum pH value of BX1 growth was 4.0. The decolorization rate for KN R was 93.7% after 120 min adsorption. The maximum adsorption capacity (Reactive Blue KN R/dry biomass) was 159 mg/g in 20 ℃.

Key words: *Penicillium oxalicum*; biosorption; decolorization; wastewater treatment; reactive blue KN R

染料大都耐光解、耐氧化、耐生物降解, 常规废水处理技术难以去除^[1,2]. 厌氧微生物能够降解一些染料, 但难以实现其彻底矿化, 降解产生的芳胺可能有致癌作用^[3]. 白腐菌可在好氧条件下降解染料, 但所需时间长, 一般要几天到十几天^[4,5].

吸附技术去除染料具有快速、彻底、不受水体毒性影响等优点, 成为近年来国内外研究热点^[6~8]. 活性炭对染料的吸附量较大, 但其费用也高^[9], 难以在我国推广使用. 农业生产废弃物如米糠^[10]、玉米芯^[11]和苔藓^[12]等廉价吸附剂也可用于染料吸附, 但吸附量小, 操作不便, 应用前景不容乐观. 因此, 有必要寻找高效低价的染料吸附材料. 近年来, 应用生物菌体吸附废水中染料技术倍受关注, 它具有吸附量大、易获得、环境友好等优点. 但目前大都处于研究阶段, 菌体与水体的分离是制约其工业化应用的关键因素之一.^[6]

本研究组筛选出了可高效吸附多种染料的丝状真菌 BX1. 该菌易培养, 生长快, 且摇瓶培养时菌丝缠绕成可快速沉降的菌球, 极易固液分离. 本文探讨了 BX1 菌成球生长的最优条件, 并考查了 BX1 菌球

对广泛使用的蒽醌染料活性艳蓝 KN R 的吸附. 为避免染料对菌体生长的毒害, 本研究将菌体培养及其对染料的吸附分开进行.

1 材料和方法

1.1 菌种

菌种为丝状真菌 BX1 (CGMCC No. 0810), 经中科院微生物所鉴定为草酸青霉菌 (*Penicillium oxalicum* Currie & Thom). BX1 菌接种于改性的固体马丁氏培养基斜面, 保存于 4 ℃.

1.2 培养基

改进的马丁氏培养基用于菌的摇床培养: 10.0g/L 葡萄糖, 1.0g/L (NH₄)₂SO₄, 0.5g/L MgSO₄·7H₂O, 1.0g/L KH₂PO₄, pH 自然. 改进的固体马丁氏培养基用于斜面培养孢子: 10g/L 葡萄糖, 1.0g/L (NH₄)₂SO₄, 0.5g/L MgSO₄·7H₂O, 1.0g/L

收稿日期: 2002-12-30; 修订日期: 2003-03-25

基金项目: 国际合作项目, 受日本国土环境株式会社资助

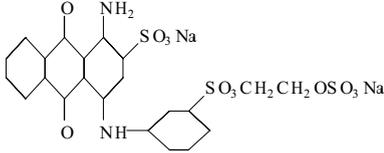
作者简介: 张书军(1977-), 男, 博士研究生, 主要研究方向为环境生物工程.

* 通信联系人

KH_2PO_4 , 琼脂 20g/L. 培养前, 培养基均在 112.6 °C 灭菌 30 min.

1.3 试剂

活性艳蓝 KN-R 由天津有机化学品总公司提供, 最大吸收波长为 600nm, 其结构式如下^[13]:



其它化学品均为分析纯.

1.4 分析方法

菌体干重: 以滤纸滤得菌体, 用自来水洗涤 3 次, 再以去离子水洗 3 次, 然后 103 °C 烘至恒重 (2h), 以滤纸重量的增加作为菌体的干重^[14].

染料浓度: 以 UV-1601 紫外分光光度仪 (岛津, 日本) 在 600nm 处测吸光度, 由吸光度确定染料的浓度. 当染料浓度过高时, 以去离子水稀释后再测吸光度.

1.5 菌的生长曲线及培养条件选择

取 4 °C 保存的青霉菌 BX1 孢子, 室温活化 24h, 加灭菌后的去离子水制成孢子悬浊液 (600nm 处吸光度为 0.230), 取 2.00 mL 孢子悬浊液加入盛有 80 mL 灭菌的改性马丁氏培养基的 300 mL 三角瓶中, 置于摇床中培养 (30 °C, 150r/min). 不同时刻取样测菌干重.

碳源类型对菌生长的影响: 将培养基中的葡萄糖依次换成等重量的 α -乳糖、麦芽糖、蔗糖、D-木糖和可溶性淀粉, 30 °C 150r/min 摇床培养 48h, 测菌体干重.

pH 值对菌生长的影响: 以 3% 的 NaOH 或 1:10 的 H_2SO_4 对培养液 pH 值进行调节, 调节的时间间隔为 4h, 30 °C 150r/min 摇床中培养 48h 后, 分别测菌干重.

1.6 吸附实验

(1) 吸附动力学实验 将 30 °C, 150r/min 摇床中培养 48h 的 BX1 菌以尼龙布滤去培养基, 用去离子水清洗 3 遍, 压干作为吸附用菌. 加 0.25g 菌于 300 mL 的三角瓶中, 加入 100 mL 100 mg/L 的染料溶液, 在 20 °C 150r/min 的摇床中振荡. 于不同时刻取上清液 1 mL, 加水稀释 4 倍, 在 5900 g 离心 10 min, 于 600nm 处测其浓度.

(2) 吸附平衡实验 分别称取 0.25g 培养 48h 的 BX1 菌置于 300 mL 三角瓶中, 分别加入 100 mL 不同浓度的染料溶液, 于 20 °C 150r/min 的条件下

振荡. 24h 后取各上清液分别测定染料浓度. 将吸附染料后的菌以尼龙布过滤洗涤后, 测其干重. 单位菌体染料吸附量由下式计算:

$$Q_c = (c_0 - c_e) V / [W - (c_0 - c_e)] V \quad (1)$$

式中, c_0 (mg/g) 为染料的初始浓度, c_e (mg/g) 为染料的平衡浓度, V (L) 为溶液的体积, W (mg) 为菌体干重.

2 结果和讨论

2.1 温度对菌生长的影响

温度对 BX1 菌的生长有很大的影响. 从图 1 可以看出: BX1 菌的生长大致可分 3 个阶段: 孢子活化阶段 (I)、线性生长阶段 (II) 和分解阶段 (III). 与 20 °C 时的情况相比, 30 °C 时菌的生长速度明显加快, 线性生长阶段的生长速率 (以干菌重计) 为 36.1 mg/(L·h). 但当培养温度增加到 39 °C 时, 菌体生长过早地进入分解阶段. 20 °C 及 30 °C 培养的菌以直径为 1~3 mm 菌球的形式存在, 沉降性能良好; 但 39 °C 时菌体以菌丝为主, 菌与培养基难于分离. 因此, 菌的最佳培养温度为 30 °C. 在下述实验中菌球体培养温度设定为 30 °C, 培养时间 48h (线性生长阶段).

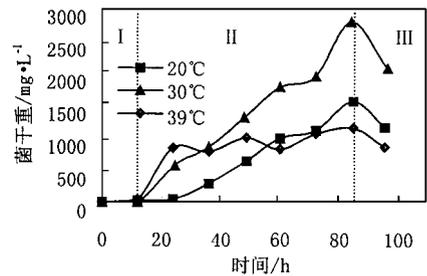


图 1 不同温度下 BX1 菌的生长曲线

Fig. 1 Growth curves of BX1 at different temperatures

2.2 碳源对菌生长的影响

图 2 显示了不同碳源对菌体生长的影响. 本研究中选用的各种碳源均可以被 BX1 菌利用. 使用淀粉菌体收率明显高于其他碳源, D-木糖、蔗糖、麦芽糖、葡萄糖之间差别不大, 但乳糖产生的菌体量略低. 各碳源的菌体转换率依次为: 淀粉 > 木糖 > 蔗糖 > 麦芽糖 > 葡萄糖 > α -乳糖. 考虑到费用及投加方便, 本研究使用葡萄糖作碳源.

2.3 pH 对菌生长的影响

BX1 菌在 2~7 的 pH 值范围内均可生长, 其中 pH 值为 4.0 时菌体有最高产量, 如图 3 所示. 但 pH 值过高和过低菌体均不能很好地成球, 沉降性能差;

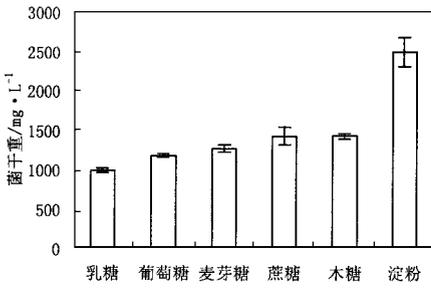


图 2 碳源对 BXI 生长的影响

Fig.2 Effect of carbon source on BXI growth

pH 在 3.0 ~ 5.0 之间时菌体呈大而致密的球, 沉降性能良好. 因此, 菌球培养的最佳 pH 值可取 4.0.

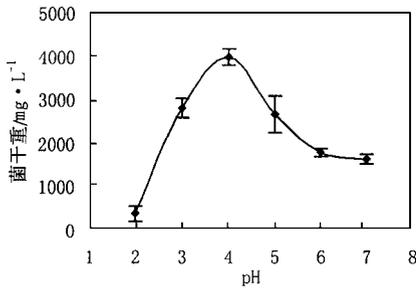


图 3 pH 值对 BXI 生长的影响

Fig.3 Effect of pH on BXI growth

2.4 吸附效果

为了考察 BXI 菌球脱色的速率, 做了 BXI 菌球对活性艳蓝 KN R 的去除动力学曲线, 如图 4 所示. 在开始的 10 min 内即有约 60% 染料被去除, 至 120 min 时, 染料的去除率达 93.7%. 可见, BXI 对活性艳蓝 KN R 的去除速度非常快, 染料去除可能主要是吸附起作用. 脱色速率满足二级动力学方程:

$$1/c = 1/c_0 + 0.0009t \quad (2)$$

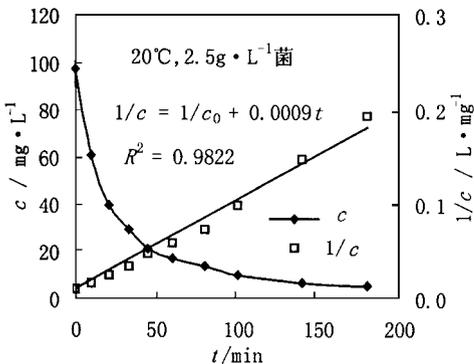


图 4 BXI 菌体吸附染料的动力学

Fig.4 Kinetics of dye adsorption by BXI fungus

BXI 菌体对活性艳蓝 KN R 的吸附平衡曲线如

图 5 所示, 平衡吸附量在非常低的平衡浓度下已接近最大值, 说明 BXI 菌体对活性艳蓝 KN R 具有很大的亲和力, 属于不可逆吸附^[15]. 用 Langmuir 模型^[16]对实验数据进行模拟:

$$Q_e = Q_{max} c_e / (c_e + K_L) \quad (3)$$

式中, Q_e (mg/g) 为平衡吸附量, c_e (mg/L) 为平衡吸附浓度, Q_{max} (mg/g) 为最大饱和吸附量, K_L (mg/L) 为模型参数, 相关系数 $R^2 > 0.99$, 表明 BXI 对 KN R 的吸附符合 L 型方程, 模拟方程为:

$$Q_e = 159 c_e / (c_e + 4.06) \quad (4)$$

与式 (4) 比较可知, 20 °C 时 BXI 菌体对活性艳蓝 KN R 的最大饱和吸附量 (以干菌重计) 为 159 mg/g, 该值远高于文献^[17]中其它菌对活性艳蓝 KN R 最大饱和吸附量值 (8 ~ 60 mg/g).

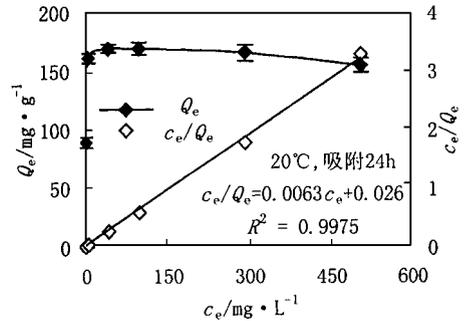


图 5 BXI 对活性艳蓝 KN R 的吸附等温线

Fig.5 Isotherm adsorption curve of

BXI on Reactive Blue KN R

蒽醌染料的发色基团是蒽醌环, 结构稳定, 生物降解性差, 常规的废水处理工艺难以处理. 青霉菌 BXI 易培养, 吸附量大, 具有很好的应用前景. 但青霉菌 BXI 是丝状真菌, 水力剪切对其生长及成球有很大的影响^[18,19], 两者间的关系尚缺乏充分的研究, 在反应器设计上亦没有太多的经验供参考, 因而影响着其工业化应用.

3 结论

青霉菌 BXI 菌球可快速高效的吸附水中的活性艳蓝 KN R, 其最大饱和吸附量是文献中报道的其它菌种的最大饱和吸附量的数倍. 在摇瓶中菌丝可自行缠绕成菌球, 所得菌球的沉降性能良好, 有利于固液分离. 将菌球的培养和它对染料的吸附 2 个过程分离, 可避免染料对菌体生长的毒害, 亦有助于简化废水处理工艺, 方便运行操作. 而深入研究水力剪切与 BXI 菌生长及成球的关系, 实现其放大培养并降低培养成本是其能否工业化的关键, 将是今后

研究的重点.

参考文献:

- [1] Shaul G M, Holds worth T J, Dempsey C R, Dostal KA. Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process[J]. *Chemosphere*, 1991, **22**(1) : 107 ~ 119 .
- [2] Yuxin Wang, Jian Yu. Adsorption and degradation of synthetic dyes on the mycelium of *Trametes versicolor*[J]. *Wat. Sci. Tech.*, 1998, **38**(4 ~ 5) : 233 ~ 238 .
- [3] Yesilada O, Cing S, Asma D. Decolourisation of the textile dye Astrazon Red FBL by *Funalia troglia* pellets[J]. *Bioresource Technology*, 2002, **81**(2) : 155 ~ 157 .
- [4] González Benito G, Peña Miranda M, Rodríguez de los Santos D. Decolorization of waster water from an alcoholic fermentation process with *Trametes versicolor*[J]. *Bioresouce Technology*, 1997, **61**(1) : 33 ~ 37 .
- [5] Walker G M, Weatherley L R. Biodegradation and biosorption of acid anthraquinone dye[J]. *Environ. Pollut.*, 2000, **108**(2) : 219 ~ 223 .
- [6] Yuzhu Fu, Viraraghavan T. Fungal decolorization of dye waste water: a review[J]. *Bioresource Technology*, 2001, **79**(3) : 251 ~ 262 .
- [7] El-Geundi M S. Colour removal from textile effluent by adsorption technique[J]. *Wat. Res.*, 1991, **25**(3) : 271 ~ 273 .
- [8] Laszlo J A. Electrolyte effects on hydrolyzed reactive dye binding to quaternized cellulose[J]. *Textile Chemist and colorist*, 1996, **27**(4) : 25 ~ 27 .
- [9] Robinson T, Chandran B, Nigam P. Studies on desorption of individual textile dyes and a synthetic dye effluent from dye-adsorbed agricultural residues using solvents[J]. *Bioresource Technology*, 2002, **84**(3) : 299 ~ 301 .
- [10] Low K S, Lee C K. Quaternized rice husk as sorbent for reactive dyes[J]. *Bioresource Technology*, 1997, **61**(2) : 121 ~ 125 .
- [11] Nassar M M, El-Geundi M S. Comparative cost of colour removal from textile effluents using natural adsorbents[J]. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 1991, **50**(2) : 257 ~ 266 .
- [12] Lee C K, Low K S. The removal of cationic dyes by a natural moss: I. Adsorption studies[J]. *Pertanika*, 1987, **10** : 327 ~ 394 .
- [13] 杨新玮等. 化工产品手册:染料及有机颜料(第三版)[M]. 北京:化学工业出版社,1999. 851 .
- [14] 国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会主编. 水和废水监测分析方法(第三版)[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1989,107 ~ 108 .
- [15] McKay F. Adsorption of dyestuffs from aqueous solutions with activated carbon. I. equilibrium and batch contact time studies [J]. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 1982, **32**(7) : 759 ~ 772 .
- [16] Allen S J, McKay G, Khader K Y H. Multicomponent sorption isotherms of basic dyes on to peat[J]. *Environ. Pollut.*, 1988, **52**(1) : 39 ~ 53 .
- [17] Polman J K, Brechenridge C R. Biomass-mediated binding and recovery of textile dyes from waste effluents[J]. *Textile chemist and colorist*, 1996, **28**(4) : 31 ~ 35 .
- [18] Metz B, Kossen N W F. Pellet growth of molds[J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 1977, **19**(6) : 781 ~ 799 .
- [19] Cui Y Q, van der Lans R G J M, Luyben K C A M. Effects of dissolved oxygen tension and mechanical forces on fungal morphology in submerged fermentation[J]. *Biotechnol. Bioeng.*, 1998, **57**(4) : 409 ~ 419 .