

文章编号 :0253-9721(2006)05-0045-04

生物菌对活性染料的脱色研究

吴赞敏,吕彤,翁亮,戴晓红

(天津工业大学 材料与化工学院,天津 300160)

摘要 从印染污水处理厂的活性污泥中分离、筛选得到一株能使活性染料兰纳素蓝 3B 脱色的优良菌株 W_2 。研究了在不同条件下如温度、时间、pH 值和接种量等,该菌对毛用活性染料兰纳素蓝 3B 脱色性能的影响。通过实验优化了 W_2 菌及其对活性染料兰纳素蓝 3B 染色废水脱色的最佳条件。

关键词 微生物;脱色;活性染料;生物降解

中图分类号:X791 文献标识码:A

Microbial decolorization of reactive dye

WU Zan-min, LÜ Tong, WENG Liang, DAI Xiao-hong

(School of Material Science and Chemical Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300160, China)

Abstract A useful strain W_2 was obtained from the activated sludge of a dye-house waste water disposal plant through separation and sieving, which was capable of decolorizing reactive dye Lanazol Blue 3B. The effect of strain W_2 on the discoloration of Lanazol Blue 3B at different temperature, duration of treatment, pH value, and quantity of inoculation was studied. The decolorization conditions of Lanazol Blue 3B dye wastewater by strain W_2 were optimized through experiments.

Key words microbe; decolorization; reactive dye; biological degradation

印染废水排放量大、水质复杂,是印染企业的主要污染源之一^[1-3]。利用微生物的氧化、分解、吸附作用净化废水具有代谢速率快、微生物比表面积大、种类繁多、分布广泛、代谢类型多样、易变异和适应性强等特点。这使微生物在降解、转化物质方面有着巨大的潜力。活性污泥中的微生物种类较丰富,包含有细菌、真菌、微型动物等不同门类的生物物种,构成一个稳定的微生物系统。在这个系统中以自养型微生物为主,污水中污染物质的不断补充是维持这个稳定系统的重要条件之一,细菌吸食环境中的有机物,而细菌会成为某些原生动物或后生动物的食饵,原生动物之间还会互相捕食,不同的后生动物也可能处在不同的营养层次上。多种类的微生物形成一个复杂的食物链。本文对印染厂污水积聚的活性污泥进行处理和微生物的培养、分离及纯化,以得到对染料脱色效果好的微生物菌株。

1 实验部分

1.1 材料

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、HCl、NaOH、NaCl、牛肉膏、蛋白胨、葡萄糖、黄豆芽、琼脂、活性染料兰纳素蓝 3B 等。

1.2 仪器

UV-401PC 紫外分光光度计,日本岛津;生化培养箱 LRH-150,上海益恒实验仪器有限公司;高速台式离心沉淀机 LG10-2.4A,北京医用离心机厂;台式水浴摇床,太仓市实验设备厂;HZS-H 水浴摇床,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;LD 型电子天平,沈阳龙腾电子有限公司;YX280B 蒸汽灭菌器,上海三申医疗器械有限公司。

收稿日期:2004-07-12 修回日期:2005-07-03

作者简介:吴赞敏(1954-),女,汉,教授。主要研究领域包括纺织新材料的染色和整理、染整清洁生产工艺等。

1.3 脱色及测试方法

1.3.1 污泥的驯化

将采集的活性污泥 50 mL 放入染料驯化培养液(染料 50 mg/L)中,30 ℃ 振荡培养一定时间,使对染料耐受力强的降解菌大量繁殖,淘汰对染料不适应的微生物;再继续添加染料驯化培养液(染料质量浓度分别为 100、200、250 mg/L),30 ℃ 振荡培养一定时间后从中筛选出对染料耐受力强的染料降解菌。

1.3.2 高效脱色菌株的分离和纯化

1) 菌悬液的制备。将经驯化的活性污泥加入到装有玻璃珠的无菌生理盐水瓶中,振荡使菌株、芽孢或孢子均匀分散。

2) 脱色菌株的筛选。采用梯度平板法,在培养基中加入一定量的染料,使对染料耐受力强的微生物在平板上的染料部位长成菌落。

3) 涂布法分离。用无菌移液管分别吸取 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 3 个稀释度的菌悬液 0.1 mL,依次滴加于配置好的梯度平板培养基上,在一定条件下将菌液自平板中央均匀向四周涂布扩散,接种后将梯度平板倒置于 30 ℃ 恒温培养箱中,培养 72 h。经过 72 h 的培养,平板上生长的菌落也形成了密度梯度,上层培养基薄的染料低浓度区形成的菌苔较多,上层培养基厚的染料高浓度区形成的菌苔稀少,菌落为淡蓝色,较湿润、光滑,有一定的透明度,易挑起,质地均匀。

4) 微生物的纯化。用染料制成平板培养基。用接种环直接取梯度平板高浓度染料一侧生长出的待分离纯化的菌落,将菌种点种在平板边缘一处,培养皿倒置于恒温培养箱内培养。培养后在划线平板上观察沿划线处长出的菌落形态。培养 72 h 后,平板培养基上长出 4 种不同的菌落,从平板上不同类型的菌落各挑一点,转接到斜面培养基上,分别命名为 W_1 、 W_2 、 W_3 、 W_4 菌株,在恒温 30 ℃ 的培养箱中培养。

1.3.3 菌种的筛选

分别用菌株 W_1 、 W_2 、 W_3 、 W_4 对染料兰纳素蓝 3B 进行脱色实验,降解 4 d 后,测染料的脱色率,结果如图 1 所示。由图 1 看出,在相同条件下对染料进行脱色,菌株 W_2 的脱色率最高。因此选用 W_2 菌株进一步实验研究。

1.3.4 菌株的培养

培养基的组成: $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, 蛋白胨 5 g, 葡萄糖 10 g, 水 1 000 mL。从斜面培养基中挑取少量的 W_2 菌体送入液体培养基中,

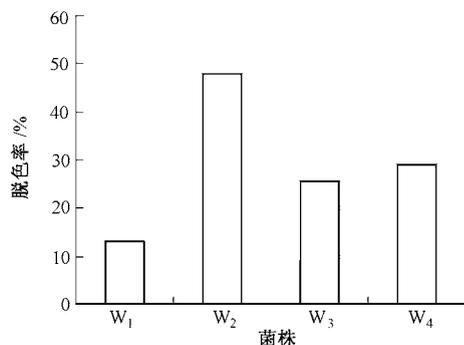


图 1 不同菌株对染料的脱色率

并在液体与管壁接触的部位轻轻摩擦,使菌体分散于液体中。把锥形瓶放入水浴振荡器中培养。

1.3.5 脱色能力的测定

将一定量的菌种接种于染料液体培养基中,培养基组成:染料 5 mg, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, 蛋白胨 5 g, 葡萄糖 10 g, 水 1 000 mL。在水浴摇床培养一定时间进行脱色,然后将该菌种培养物高速离心分离,取上层清液,用紫外分光光度计测出可见光范围内的最大吸光度值,并与不接种菌体的染料溶液进行对比计算脱色率。脱色率 = $(A - B) / A \times 100\%$ 。式中, A 表示不接种菌液的最大吸光度; B 表示接种过菌液的染料溶液的最大吸光度。

2 结果与讨论

2.1 温度对脱色效果的影响

每一种生物都有一个适宜的温度范围,微生物在最佳温度范围内具有较高的生长速率、代谢效率和成活率,将质量浓度为 50 mg/L 的染料培养基,分别放置于 25、28、30、33、35、37、40 ℃ 的摇床中培养 72 h,测定对兰纳素蓝 3B 脱色的效果,结果如图 2 所示。

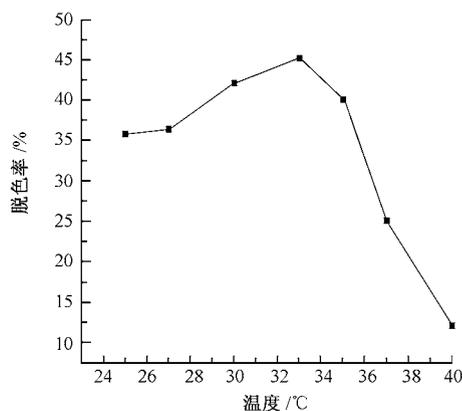


图 2 温度对脱色率的影响

从图2看出,在30~35℃的范围内,脱色菌对染料的脱色率大约在40.1%~45.2%之间。当温度范围到达40℃时脱色率只有12.1%,这可能是由于温度过高该菌的酶系统被破坏,导致该菌活性下降甚至死亡,而使脱色能力大大下降。从图2看出,该脱色菌在33℃时脱色能力达到最好,因此33℃为该脱色菌对染料脱色的最佳温度。

2.2 pH值对脱色效果的影响

pH值对微生物的生长与代谢也有一定的影响,pH值的变化会引起微生物细胞表面特性的变化,如使微生物细胞表面的电荷发生改变,或使环境中营养物质存在状态发生改变,从而引起细胞体生理生化过程的变化和导致微生物代谢与生长的变化。

染料质量浓度为50 mg/L的培养基,在pH值分别为3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0,接种菌量为1 mL,放入33℃的恒温水浴摇床中培养脱色72 h,然后离心分离,测定吸光度,计算脱色率,结果如图3所示。

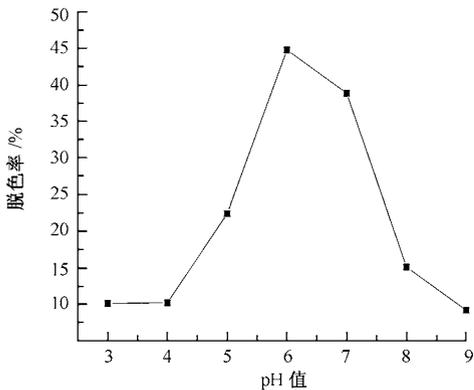


图3 pH值对脱色率的影响

从图3看出,pH值在3~4之间时,脱色菌对染料的脱色率很低,只有10%左右;当pH值等于5时,脱色率为22.4%;pH值为6时,脱色率达到最大值;pH值为7时,脱色率开始下降;pH值为8~9时,对染料基本没有脱色作用。一般微生物要求pH值在5~9之间,且最适宜的pH值较窄,在6.5~7.5之间,本文中脱色菌最佳脱色的pH值为6。

2.3 氧对脱色效果的影响

生物体内代谢一个很重要的过程就是生物氧化,体内能量的来源基本上是代谢物质(如蛋白质、糖、脂肪等)的不断被氧化。生物体通过吸收 O_2 ,为体内的生物氧化过程提供电子受体,经过一系列的电子传递过程将有机物氧化形成 CO_2 。生物体再将

CO_2 排出体外。一个代谢过程包括以氧作为电子受体的生物氧化过程,则这种代谢便是好氧代谢。实验在30℃恒温培养3 d后观察到大部分菌体生长在培养基的表面,这种现象说明菌株 W_2 是好氧型菌株,故本文用液体培养基在水浴型振荡摇床中培养。

2.4 培养时间对脱色效果的影响

培养时间对脱色率的影响如图4所示。由图4可见,在培养脱色24 h后,脱色率为14.5%,48 h后为23.3%,到60 h后脱色率增大到35.1%,72 h达到最大值,再继续培养脱色,到96 h和108 h后,脱色率有所下降,但下降趋势不太明显。这是由微生物的生长过程决定的,微生物的生长分为延滞期、对数期、稳定期和衰亡期。

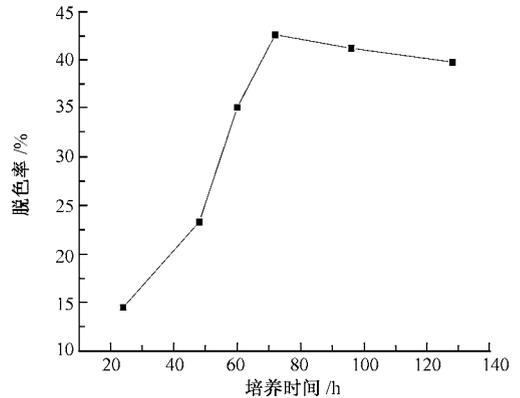


图4 培养时间对脱色率的影响

当菌种接到新鲜培养基中后,需要经过一段时间的调整 and 适应,于是出现了延滞期;菌体经过延滞期适应了新的环境,其生长就进入对数期,即进入大量繁殖的时期。此时菌种迅速分裂,使菌数按几何级数增加。对数期细胞生长速度最高,代谢活力最强;经过对数期的生长,由于营养消耗,供应不足与代谢产物的积累,同时会有一部分菌体死亡,于是菌体进入了稳定生长时期,即死亡与新生的菌数达到动态平衡;此后由于营养缺乏和代谢产物积累造成的自身中毒,使细胞生长受阻,死亡率明显增加,生长曲线呈下降趋势,这时菌株的生长进入衰亡期。

菌株的生长和对染料的脱色是同步的,开始脱色率是随着脱色菌的生长在逐步提高,到72 h时脱色率达到了最大值,菌体的生长量也应该达到最大值。72 h之后,脱色菌的生长量有所下降,脱色率也有所降低,由此可见,培养时间为72 h时菌体脱色酶活性最高。

2.5 接种量对脱色效果的影响

不同接种量的染料培养基放置于 33 ℃ 恒温水浴摇床中培养脱色 72 h 后,测试并计算脱色率,结果见图 5。如图 5 所示,接种量为 1 mL 时脱色率最大为 45.5%,接种量为 2.5 mL 时脱色率为 45.1%,与接种量为 1 mL 时相近,接种量为 0.5 mL 时脱色率最低。当接种量大于 2.5 mL 时脱色率有所下降,接种量为 5.0 mL 时下降的最明显,但接种量在 1.0、2.0、2.5、3.0 mL 时脱色率的变化不是很明显,说明接种量在较宽的范围内对脱色效果影响不明显,只是接种量过低或过高时脱色率才有明显的下降。

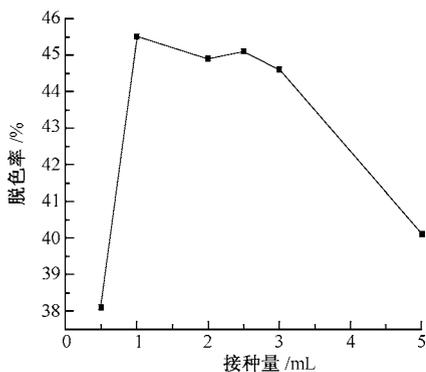


图 5 接种量对脱色率的影响

2.6 染料质量浓度对脱色效果的影响

染料质量浓度对脱色率的影响见图 6。从图 6 看到,染料质量浓度越高毒性越大,因此染料浓度上升对微生物的毒害作用也增大^[4,5],从而导致脱色率下降。

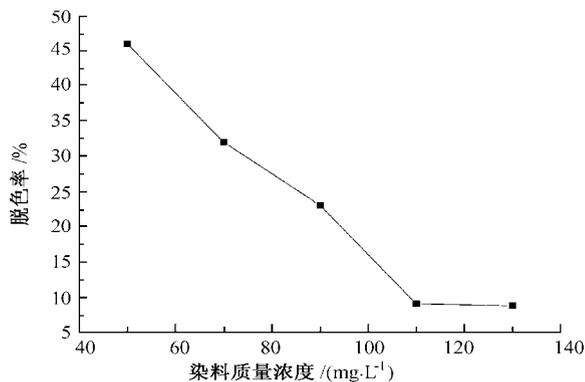


图 6 染料质量浓度对脱色率的影响

3 结 论

本文从印染厂的活性污泥中分离获得 4 株脱色菌,从中筛选出对兰纳素蓝 3B 脱色效果最好的菌株 W_2 。实验结果表明, W_2 是好氧型菌株,在脱色培养时间为 72 h、温度为 33 ℃、pH 值为 6 时脱色效果最好。

FZXB

参考文献:

- [1] 汪凯民,靳志军. 印染废水治理技术进展[J]. 环境科学, 1991, 12(4): 62 - 67.
- [2] 郝鲁江,许平. 微生物在染料脱色中的应用及其机理[J]. 山东轻工业学院学报, 2001, 15(2): 52 - 56.
- [3] 张波,白云峰,朱斌. 两株细菌对偶氮染料活性艳红脱色的研究[J]. 山西大学学报, 1998, 21(1): 77 - 79.
- [4] Urushigawa Y, Yonezawa Y. Chemical-biological interactions in biological purification system, biodegradation of azo compounds by activated sludge[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1997, 17(2): 214 - 218.
- [5] Duen Gang-mon, Kim Kee-lim, Hwei Ping-shen. Microbial agents for decolorization of dye wastewater[J]. Biotechnol Adv, 1991, 9(4): 613 - 616.