

# 青霉菌 GX2 对蒽醌染料的吸附作用

辛宝平, 庄源益\*, 邹其猛, 戴树桂, 宋文华 (南开大学环境科学系, 天津 300071)

**摘要:** GX2 生长菌体对 4 种蒽醌染料均表现出优良的吸附性能, 但由于染料分子的结构不同, 吸附速率和吸附率也表现出一定的差异. 染料对菌体的生长具有一定的抑制作用, 但即使在很高的染料浓度下, GX2 生长菌体仍表现出很强的吸附性能. 对 250 mg/L 活性艳蓝 KN-R 的吸附率高达 100%, 对 400 mg/L KN-R 的吸附率也可达 91.4%. 在 0~2% 范围内, 随着盐度 (NaCl) 的增加, 菌体干重增加; 颗粒状菌团的直径却随之减小, 比表面积增大, 对 GX2 生长菌体的染料吸附表现出较为明显的促进作用. 碳源浓度通过影响菌体的生长而影响染料吸附, 当培养基中的葡萄糖浓度大于 2.5 g/L 时, 即可使浓度为 120 mg/L 的活性艳蓝 KN-R 溶液完全脱色. 生长菌体具有比静活活体和死体更好的吸附性能.

**关键词:** 生物吸附; 吸附率; 染料; 吸附菌; 青霉菌

中图分类号: X131.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2001)01-05-0014

## Adsorption of Anthraquinone Dyes by Biosorbent GX2

Xin Baoping, Zhuang Yuanyi, Zou Qimeng, Dai Shugui, Song Wenhua (Department of Environmental Science, Nankai University, Tianjing 300071)

**Abstract:** The GX2 growing mycelium shows excellent adsorptive capacity on the four kinds of anthraquinone dyes, however, due to the difference of molecular structure of dyes, the adsorption rates are different. Although the dyes show inhibiting effect on the growth of GX2, when the concentration of reactive brilliant blue KN-R is 250 and 400 mg/L, the adsorption rate of dye by the GX2 growing mycelium reaches 100% and 91.4%, respectively. With the increase of salinity (NaCl), the dry weight of GX2 mycelium increases; the diameter of granular mycelium decreases and its adsorption surface area increases accordingly, the salinity shows evident enhancement on the adsorption of reactive brilliant blue KN-R by GX2 growing mycelium in the range of 0%~2% salinity. The adsorption process is influenced by the concentration of carbon source as well, reactive brilliant blue KN-R with the concentration of 120 mg/L can be completely adsorbed only when the concentration of glucose is more than 2.5 g/L. The GX2 growing mycelium has better adsorptive capacity than resting living mycelium and dead mycelium.

**Keywords:** biosorption; adsorption rate; dye; adsorption fungus; *Penicillium* sp

染料生产废水属最难处理的工业废水之一<sup>[1~3]</sup>. 近年来, 用生物吸附剂去除水中有机物, 尤其是农药的研究已有不少报道<sup>[4~7]</sup>. 关于生物吸附方法脱除染料废水色度的报道还不多<sup>[8]</sup>.

笔者从受污染土壤中筛选出多株高效吸附菌, 其中 GX2 对 4 种不同类型的蒽醌染料, 即蒽醌系染料中间体溴氨酸、活性艳蓝 KN-R、酸性蒽醌蓝和分散蓝 2BLN, 均表现出很高的吸附活性. 本文在研究 GX2 生长菌体对 4 种蒽醌染料吸附作用的基础上, 重点考察了碳源浓度、染料浓度、盐度对 GX2 生长菌体对活性艳蓝 KN-R 吸附的影响, 以了解 GX2 在实际废水处理中的应用前景, 并为染料生产废水生物处理单元的设计

计以及废水中染料的回收提供理论依据.

## 1 材料和方法

### 1.1 菌株

GX2 号菌, 从浙江东港集团染料厂污染地筛选, 经南开大学微生物系鉴定属青霉菌属, 土壤青霉系 (*P. terrestre* sp.).

### 1.2 培养基

改进的马丁氏培养基, 组成为:  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (29877014)

作者简介: 辛宝平 (1969~), 男, 博士生, 主要研究方向为重金属和难降解有机污染物的生物监测与生物处理.

收稿日期: 2000-01-18

\* 通信联系人

1 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1 g; MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O, 0.5 g; 葡萄糖, 5g; 染料, 120 mg; H<sub>2</sub>O, 1000 ml; pH5.5 ± 0.1.

### 1.3 培养方法

将从冰箱保存的斜面接种物取出活化后, 用无菌水冲洗, 制成具有一定浊度(OD<sub>500</sub> = 0.2)的孢子悬液, 再以 5% 的接种量接种于预先配制的含 40 ml 培养液的 150 ml 锥形瓶中, 摇

床培养(120r/ min, 30 ℃).

### 1.4 染料吸附的测定

4 种蒽醌染料结构见图 1. 每隔 24h 取培养液上层液 1 ml, 在 10000r/ min 下离心 15 min 后, 在各染料在可见光区的最大吸收波长处(溴氨酸, 485nm; 分散蓝 2BLN, 555nm; 活性艳蓝 KN-R, 600nm; 酸性蒽醌蓝, 635nm) 测定上清液的吸光度值.



图 1 4 种蒽醌染料的分子结构式

Fig.1 Molecular Structure of four kinds of anthraquinone dye

### 1.5 菌体干重的测定

吸附实验结束后, 离心收集菌体并用去离子水洗涤 6 次, 置于烘箱中, 在 50 ℃ 下烘至恒重, 用电子天平测菌体干重.

## 2 结果与讨论

### 2.1 GX2 生长菌体对 4 种蒽醌染料的吸附

将各染料组吸光度(起始浓度均为 120 mg/L) 随时间的变化列于图 2. 由图 2 可知, 分散蓝 2BLN 吸附最快, 48h 吸附率达 100%; 活性艳蓝 KN-R 在 72h 完全吸附; 而酸性蒽醌蓝在 84h 达最大吸附率 96%, 随后吸光度值有微弱上升; 溴氨酸在 120h 达最大吸附率 91%. 这充分显示了 GX2 生长菌体吸附染料的广谱性和高效性, 同时也说明 GX2 对染料的吸附可能属于非选择性的物理性吸附. 而从吸附速率和吸附率所表现出的差异, 也可看出染料分子的极性越小或非极性部分在整个分子中所占的比重越大, 吸附效果越好, 这从另一个角度也说明生长菌体对染料的吸附可能是由于二者之间的疏水相互作用. 表 1 的结果表明, 与不加染料的对照组相比, 各染料组的菌体干重均显著减少, 4 种染料对 GX2 都表现出较强的生长抑制毒性, 这在实际染料废水处理中是不利的因素. 而死菌体的生物吸附剂即使在不利的环境中也可使

用, 因此一些学者用死菌体的生物吸附剂进行吸附研究<sup>[6,7]</sup> 本研究在后面的实验也对静止活菌体与死菌体的吸附性能进行了比较.

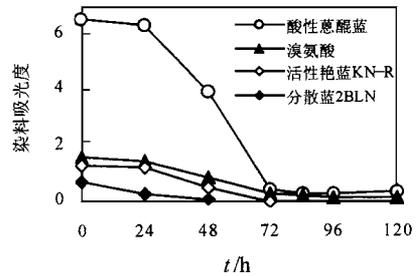


图 2 GX2 生长菌体对 4 种蒽醌染料的吸附

Fig.2 Adsorption of GX2 growing mycelium on four kinds of anthraquinone dye

在 4 种染料中, 活性艳蓝 KN-R 是一种常用且产量很高的蒽醌染料. 由于其分子中含有磺酸基, 水溶性强, 难于处理. 故以活性艳蓝 KN-R(以下简称 KN-R) 为代表, 进一步研究了碳源浓度、染料浓度和盐度对 GX2 生长菌体对其吸附的影响.

### 2.2 碳源浓度对 KN-R 吸附的影响

在碳源浓度实验中, 改变培养基中的葡萄糖含量, 配制碳源浓度分别为 0.625、1.25、2.5、5、7.5g/L 的系列梯度溶液. 由图 3 可知, 各浓度组在 24h 的吸附率基本相同, 随后出现

表 1 120h 后各染料组的菌体干重/ mg

Table 1 Dry weight of mycelium in different dye groups after 120h incubation

无染料组	溴氨酸	酸性萘酚蓝	活性艳蓝 KN-R	分散蓝 2BLN
112	64.76	58.32	57.58	58.01

差异:0.625g/L 组 48h 的吸附率达 48.9%,之后吸光度几乎保持不变;而 1.25g/L 组在 72h 吸附率达 69%后,吸光度也趋于恒定;2.5g/L 组在 72h 完全脱色;而 5g/L、7.5g/L 组在 48h 吸附率即达 100%。分析其中原因,在刚接入孢子的 24h 内,由于碳源浓度还没有成为菌体生长的限制因子,各浓度组的菌体生长量大致相等,因此吸附率也基本相同;此后随着碳源的消耗,成为菌体生长的限制因子,而菌体的生长量又直接影响了染料的吸附,因此 24h 后各浓度组的吸附速率和吸附率出现分化。从最终的吸附效果也不难看出,在低碳源浓度下,菌体生长量较小,所以染料不能完全吸附;当碳源浓度大于 2.5g/L 时,所产生的菌体量即可满足染料的完全吸附。而碳源浓度与菌体干重之间显著的正相关关系(表 2),也说明碳源浓度决定了菌体的生长量,而菌体的生长量又影响了染料的吸附。因此,在实际染料废水处理中,碳源的供应非常重要,替代碳源的寻找,即用富含微生物可利用有机物的废水与染料废水混合,则有可能在去除混合废水 BOD 的同时,去除其色度。

表 2 120h 各碳源浓度组的菌体干重

Table 2 Dry weight of mycelium in different carbon source concentration groups after 120h incubation

碳源浓度 X <sup>(1)</sup> /g·L <sup>-1</sup>	0.625	1.25	2.5	5	7.5
菌体干重 Y/mg	7	10.5	25	55.4	91.2

1)  $Y = 12.393 X - 4.0079 \quad R^2 = 0.9946$

### 2.3 盐度对 KN-R 吸附的影响

染料生产废水通常盐度很高,因此考察盐度对 GX2 生长和染料吸附的影响在实际废水处理中具有重要意义。预实验发现,当盐度大于 3% 时,KN-R 溶液即出现较为明显的盐析现象。故本实验中选择 5 个盐度梯度,分别为 0%、0.5%、1%、1.5% 和 2%。通过向培养基中

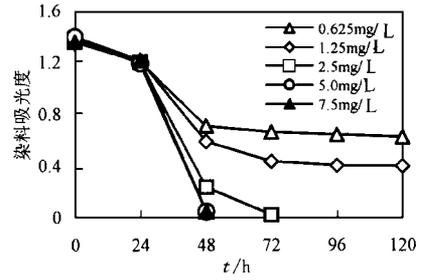


图 3 不同碳源浓度下染料吸光度随时间的变化

Fig.3 Change of dye absorbance with time under different carbon source concentrations

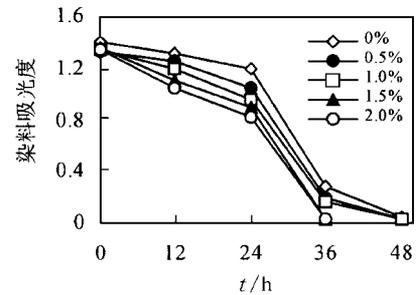
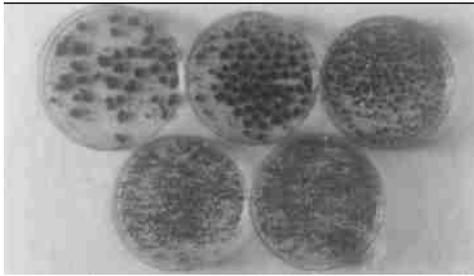


图 4 不同盐度下染料吸光度随时间的变化

Fig.4 Change of dye absorbance with time under different salinity

加入一定量的固体 NaCl 配制而成。从图 4 可以看出,高盐度组具有比低盐度组更高的吸附速率,1.5% 和 2% 盐度组 36h 即完全吸附,而其它 3 个低盐度组需要 48h 染料才能完全吸附。另外,从 24h 各盐度组的染料吸光度变化也可以看出,随着盐度的增加,吸光度逐渐下降,吸附率逐渐增大,趋势非常明显。这说明盐度对染料吸附具有明显的促进作用。由表 3 可知,菌体的干重随着盐度的增加而明显增加。随着盐度的增加,所生成的颗粒状菌团的直径却随之减小(图 5),比表面积增大,有利于菌体对染料的吸附。而且由于同离子效应的影响,NaCl 的加入使 KN-R 在水中的溶解度减小,更加有利于菌体对它的吸附。因此盐度对 GX2 生长菌体对染料的吸附表现出明显的促进作用。另外,颗粒状菌团的直径越小,其沉降性能越好,固液分离越容易,这对于染料废水的处理和其中染料的回收也是很有意义的。



(上左 :0 %盐度 上中 :0.5 %盐度 上右 :1.0 %盐度  
下左 :1.5 %盐度 下右 :2.0 %盐度)

图 5 菌团颗粒的直径随盐度的变化

Fig.5 Comparison of diameter of mycelium particle under different salinity

表 3 96h后各盐度组的菌体干重

Table 3 Dye weight of mycelium in different salinity groups after 96h incubation

盐度 $X^1)/ %$	0	0.5	1	1.5	2
菌体干重 $Y/ mg$	55.4	56.6	60	65.8	70.2

1)  $Y = 7.76 X + 53.84 \quad R^2 = 0.9552$

## 2.4 染料浓度对吸附的影响

考虑到染料生产废水水质变化剧烈的特点,本实验设计了 6 个染料浓度,即 120、250、400、600、800、1000 mg/L。由图 6 可知,120 mg/L 组在 48h 完全吸附;250 mg/L 组在 72h 完全吸附;400 mg/L 组在实验时间范围内吸光度持续下降,7d 后吸附率高达 91.4%;其它高浓度组的吸光度也有明显下降,但 800 mg/L 和 1000 mg/L 组 6d 后出现吸光度的微弱上升。这是由于 KN-R 对 GX2 具有一定的生长抑制毒性,在中等浓度梯度下,使其生长速率减慢,但并不完全抑制其生长,故在 400 mg/L 组中染料吸光度出现缓慢而持续的下降。而在 800 mg/L 和 1000 mg/L 高浓度组,染料对菌体的生长抑制毒性逐渐加强,最终表现为完全抑制菌体的

表 4 7d后各染料浓度组的菌体干重

Table 4 Dry weight of mycelium in different dye concentration groups after 7d incubation

染料浓度/ $mg \cdot L^{-1}$	0	120	250	400	600	800	1000
菌体干重/ $mg$	116.8	55.5	45.6	40.03	30.6	25.3	22.1

## 2.6 静止活菌体与死体对 KN-R 的吸附性能

将无染料培养液中培养 96h 的菌体离心收集,用去离子水洗涂 4 次后转入磷酸盐缓冲液

生长,甚至死亡,导致染料的解吸。从表 4 可以看出,随着染料浓度的增加,菌体干重持续下降,说明 KN-R 对 GX2 具有一定的生长抑制毒性。需要指出的是,尽管 KN-R 对 GX2 表现出较强的生长抑制毒性,但 250 mg/L 组的完全吸附和 400 mg/L 组高达 91.4% 的吸附率说明 GX2 具有很强的吸附性能,显示了其良好的应用前景。

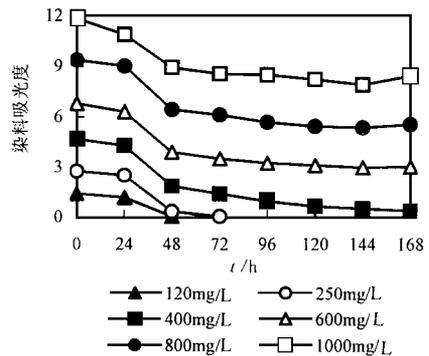


图 6 不同染料浓度下染料吸光度随时间的变化

Fig.6 Change of dye absorbance with time under different dye concentrations

## 2.5 菌体生长和染料吸附的对应关系

为直观地反映菌体生长对染料吸附的影响,配制若干瓶染料浓度为 120 mg/L 的培养液,每 24h 取样一瓶,分别测其染料吸光度和菌体干重,结果列于表 5。由表 5 可见,随着菌体的生长,溶液吸光度逐渐下降,到 72h 菌体干重达最大值,染料吸附率也达 100%,这说明菌体的生长确实影响染料的吸附。随后,由于染料毒性的作用以及培养基中碳源(葡萄糖)的消耗,菌体干重略有下降;但因为起始染料浓度较低(120 mg/L),远未达到生长菌体的最大吸附量,因此没有出现染料的解吸。

中( $pH7.0, 1/30 mol/L$ ),配制染料浓度梯度溶液,置于恒温摇床之中( $60r/min, 30^{\circ}C$ ),24h 后离心测上清液吸光度,并计算平衡浓度  $c_e$ 。实

表 5 染料吸附与菌体干重的对应关系

Table 5 Relationship between dye adsorption and mycelium growth

时间/h	0	24	48	72	96	120
染料吸光度	1.416	1.256	0.132	0.06	0.004	0.004
菌体干重/mg	0	7.16	37.55	82.45	78	74

验结束后,收集菌体并洗涤 4 次,烘干测菌体干重,在此基础上计算吸附量  $q$  并绘制吸附等温线.死亡菌体的吸附实验则是先将培养 96h 的菌体用湿热灭菌(121.3 °C, 20 min)的方法杀死后,再进行同样操作.将静止活菌体与死菌体对 KN-R 的吸附等温线列于图 7.由图 7 可知,活体的吸附性能明显高于死体,这可能是由于湿热灭菌破坏了菌体的某些吸附位点或使某些在吸附中起重要作用的菌体成分流失所致.

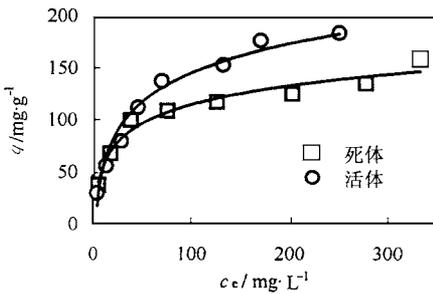


图 7 静止活菌体与死菌体的吸附等温线

Fig. 7 Adsorption isotherms of resting living mycelium and dead mycelium

### 2.7 起始染料浓度为 250 mg/L 的 GX2 3 种菌体对 KN-R 的最大吸附量比较

为了比较生长菌体、静止活菌体与静止死菌体对 KN-R 的吸附能力,笔者计算了在染料浓度实验中 250 mg/L 梯度组的最大吸附量(确切地说,是表现吸附量),并与静止活菌体与死菌体吸附实验中的数据相比,结果列于表 6.由表 6 可知,生长菌体对 KN-R 的吸附量最大,而静止死菌体最小.这可能是由于生长菌体对 KN-R 的吸附不仅有表面吸附,而且还可以在菌体内积累.而静止活菌体和死菌体的吸附更多的是表面吸附,能够进入到菌体中的量相对较少.有学者也认为,生长菌体对有机物的吸附可能包括表面吸附和菌体内部吸附<sup>[6]</sup>.

表 6 生长菌体、静止活菌体与静止死菌体对 KN-R 的最大吸附量比较<sup>1)</sup>/ mg·g<sup>-1</sup>

Table 6 Comparison of maximum adsorption of different mycelium types

菌体类型	生长菌体	静止活菌体	静止死菌体
吸附量	219.3	146.7	121.1

1)染料起始浓度为 250 mg·L<sup>-1</sup>

### 3 结论

GX2 对蒽醌染料表现出广谱高效的吸附性能,其生长菌体对浓度为 250 mg/L 的 KN-R 吸附率为 100%,对浓度为 400 mg/L 的 KN-R 吸附率达 91.4%.随着盐度的增加,菌体干重增加,颗粒状菌团的直径却随之减小,导致菌体的吸附表面积增加;而且颗粒状菌团的直径越小,其沉降性能越好,这些都显示了 GX2 在实际废水处理中良好的应用前景.而随着碳源浓度的增加,菌体量增加,染料吸附速率加快,吸附率提高.说明碳源的供应和替代碳源的寻找对于 GX2 应用于实际废水处理有重要意义.

#### 参考文献:

- Mckay G et al. External mass transport processes during the adsorption of dyes onto bagasse pith. *Wat. Res.*, 1988, **22** (12): 1527 ~ 1533.
- Knapp J S, Newby P S. The decolourisation of a chemical industry effluent by white rot fungi. *Wat. Res.*, 1999, **33**: 575 ~ 577.
- Morais L C et al. Reactive dyes removal from waste waters by adsorption on eucalyptus bark: variables that define the process. *Wat. Res.*, 1999, **33** (4): 979 ~ 988.
- Tsezos M et al. Comparison of the biosorption and desorption of hazardous organic pollutants by live and dead biomass. *Wat. Res.*, 1989, **23** (5): 561 ~ 568.
- Mac I C et al. Removal of pesticides in water by microbial cells adsorbed to magnetite. *Wat. Res.*, 1985, **19** (7): 825 ~ 830.
- Tsezos M et al. A mechanistic study on the fate of malathion following interaction with microbial biomass. *Wat. Res.*, 1991, **25** (9): 1039 ~ 1045.
- Lievremont D et al. Removal of PCNB from aqueous solution by a fungal adsorption process. *Wat. Res.*, 1998, **32** (12): 3601 ~ 3606.
- Hu T L. Sorption of reactive dyes by aeromonas biomass. *Wat. Sci. Tech.*, 1992, **26** (1, 2): 357 ~ 366.