

蒽醌染料中间体催化强化偶氮染料生物脱色

苏妍彦, 王竞*, 周集体, 吕红, 李丽华

(大连理工大学环境与生命学院, 大连 116023)

摘要:考察了醌还原菌群利用 6 种蒽醌染料中间体对偶氮染料生物脱色的催化强化作用. 结果表明, 溴氨酸(1-氨基-4-溴蒽醌-2-磺酸, BAA)的催化强化效果最好; 游离态菌群以 BAA 作为氧化还原介体可催化强化多种偶氮染料的生物脱色, 其中对酸性大红 3R 脱色的适宜条件为 pH 6~9 之间; 外加葡萄糖浓度 400~600 mg/L; BAA 浓度 19~34.2 mg/L, 染料起始浓度 ≤ 900 mg/L. 在此条件下, 最大脱色率约为 95%, 达到最大脱色率的时间 < 7 h. 同时发现, 投加氧化还原介体 BAA 浓度为 38~57 mg/L 时, 固定化菌群降解酸性大红 3R(180 mg/L)的最大脱色率在 14 h 内达到 93%; 在不补加 BAA 的情况下, 固定化菌群经 7 次循环使用后, 脱色率仍保持在 85% 以上.

关键词:醌还原菌; 偶氮染料; 溴氨酸; 氧化还原介体; 生物脱色; 废物资源化

中图分类号: X788 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)07-1986-06

Enhanced Biodecolourization of Azo Dyes by the Catalysis of Anthraquinone Dyes Intermediators

SU Yan-yan, WANG Jing, ZHOU Ji-ti, LÜ Hong, LI Li-hua

(School of Environmental and Biological Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116023, China)

Abstract: Enhanced biodecolourization of azo dyes by suspended and immobilized quinone-reducing community using kinds of anthraquinone dyes intermediators as redox mediators was investigated. The suspended bacterium community could enhance the biodecolourization of many kinds of azo dyes using bromoamine acid (BAA) as a redox mediator, the optimum conditions for Acid Red 3R were as follows: pH 6-9, glucose, BAA and initial dye concentrations 400-600 mg/L, 19-34.2 mg/L and ≤ 900 mg/L, respectively. Under these conditions, the maximal decolourization rate was about 95%, which is reached within 7 h for suspended cells and 14 h for immobilized cells. However, the latter needed 38-57 mg/L BAA as a redox mediator. In addition, after 7 cycles without BAA addition, the decolourization rate of Acid Red 3R by immobilized cells retained over 85%.

Key words: quinone-reducing community; azo dyes; bromoamine acid; redox mediators; biodecolourization; waste reuse

偶氮染料是人工合成的偶氮化合物, 其分子的主要特征是含有一个或多个偶氮键. 大约有 2 000 多种不同的偶氮染料广泛应用于纺织品、皮革、纸张、塑料、化妆品和食品染色. 在染料的生产和使用中, 约有 10%~15% 的染料随废水排入环境水体, 加之偶氮染料的前体及其降解产物的致癌、致畸、致突变的“三致”作用, 对全球的生态环境造成影响, 严重威胁生物多样性^[1].

目前, 偶氮染料废水脱色方法很多, 主要有光催化法、吸附法、高级氧化法等, 这些物化法虽然比较有效但存在反应条件苛刻、运行费用高、二次污染严重等缺点^[2~4]. 而生物法可有效地解决以上问题, 是处理偶氮染料废水的首选方法, 主要有好氧处理、厌氧处理和厌氧-好氧处理 3 种^[5]. 其中厌氧-好氧处理法应用较广, 效果最好^[6], 研究表明厌氧阶段的反应速度缓慢, 是偶氮染料完全生物降解的瓶颈^[7]. 近年来, 许多研究显示 2,6-二磺酸蒽醌(AQDS)等醌类化合物可以作为氧化还原介体, 加速电子从最初电

子供体向电子受体的传递, 从而加速染料的厌氧脱色^[8~10]. 生物还原的 AQDS(氢醌)可以作为电子供体无选择性地还原偶氮染料(化学反应), 并完成 AQDS 的再生^[11~13]. 这种生物-化学组合机制在混合难降解有机物处理中具有独特的优势, 而且对难以进入细胞内的高极性或结构复杂的有机物, 该反应还可在胞外进行(只要细胞膜上存在还原醌类化合物的酶)^[14,15]. 但醌类化合物更难降解, 通常随水流出而造成二次污染, 成为醌类化合物作为氧化还原介体的一大弊端.

溴氨酸(1-氨基-4-溴蒽醌-2-磺酸, BAA)是一种常见的蒽醌染料中间体, 是染料废水中的一种污染物. 本实验室首次发现溴氨酸也可以作为氧化还原介体, 催化强化多种偶氮染料的生物脱色. 另外, 研

收稿日期: 2007-07-03; 修订日期: 2007-08-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(50578022)

作者简介: 苏妍彦(1982~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境生物工程, E-mail: suyanyan_1982@163.com

* 通讯联系人, E-mail: wangjing1967@sohu.com

究表明溴氨酸可被好氧降解^[16~18],这样,即使其进入厌氧出水,也可同芳香胺(偶氮染料厌氧脱色产物)进一步好氧降解.这既解决了投加氧化还原介体所造成的二次污染问题,又达到了以废治废目的.这一研究思路目前尚未见文献报道.因此,本研究考察了BAA等6种蒽醌染料中间体对偶氮染料生物脱色的强化作用.

1 材料与方法

1.1 材料

醌还原菌群由本实验室从多种厌氧污泥中富集获得(以杆菌为主)^[19],如图1所示.

基础营养培养基: NH_4Cl 1 000 mg/L, KH_2PO_4 1 000 mg/L, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 200 mg/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 50 mg/L, NaHCO_3 0.2%, 葡萄糖 500 mg/L, pH 7.0.

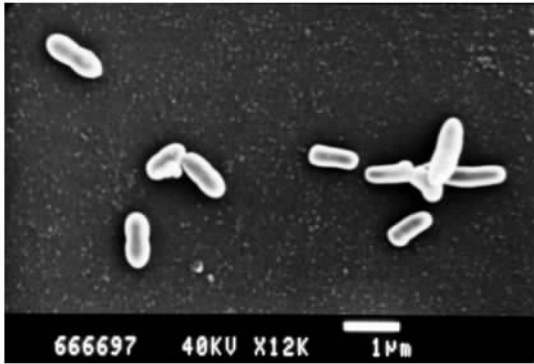


图1 醌还原菌群的形态

Fig.1 Morphology of quinone-reducing community

染料废水:基础营养培养基加染料,pH 7.0.
氧化还原介体包括:1-氨基-4-溴蒽醌-2-磺酸(溴氨酸,BAA)、2,6-二磺酸蒽醌(AQDS)、1-硝基蒽醌、1-氨基蒽醌、1,8-二羟基蒽醌、1-氯蒽醌、蒽醌,均为分析纯,取自大连理工大学染料与表面活性剂国家重点实验室.所用染料见表1.

表1 实验用偶氮染料

Table 1 Azo dyes using in the experiment		
染料名称	结构分类	特征吸收波长/nm
酸性金黄 G	单偶氮	442
酸性红 B	双偶氮	512
酸性红 A	单偶氮	499
酸性大红 B	单偶氮	515
苋菜红	单偶氮	520
酸性品红 6B	单偶氮	522
酸性大红 3R	单偶氮	505

1.2 实验方法

1.2.1 菌群的培养

在135 mL血清瓶内装入100 mL液体培养基,4 mL AQDS(5 000 mg/L),115℃灭菌15 min,冷却后加入经过滤灭菌的饱和 NaHCO_3 2 mL,20 mL D_{660} 值在1.2~1.9的菌体,摇匀后在上层充满液体培养基,用硅胶塞密封,置30℃培养箱静置培养24 h.

1.2.2 染料废水脱色

在135 mL血清瓶内装入30 mL液体培养基,一定量染料及氧化还原介体,115℃灭菌15 min,冷却后依次加入经过滤灭菌的饱和 NaHCO_3 462 μL ,一定量的菌体,使菌体湿重保持在600 mg/L左右.分装入10 mL的血清瓶中,用硅胶塞密封,置30℃培养箱静置培养.

1.2.3 菌体生长量的测定

经实验测定,对数生长期 $D_{660} = 0.355\ 4\ x - 0.011\ 8$ ($R^2 = 0.997\ 8$, x 为菌体湿重).取培养的菌液,以去离子水为参比,利用JASCO V-560紫外可见分光光度计测量660 nm处的吸光度值,可计算得菌体湿重(g/L).

1.2.4 固定化菌的制备方法

海藻酸钠包埋法^[20].

1.2.5 葡萄糖含量的测定

3,5-二硝基水杨酸法^[21].

1.2.6 固定化菌球吸附曲线测定

将上述培养基(无葡萄糖)加入不同浓度的BAA,121℃灭菌20 min,分装入10 mL的血清瓶,在每个瓶中加入1.2 g固定化菌球后密封,置30℃培养箱静置14 h后,测定溶液中BAA的含量,计算菌球的吸附量.

1.2.7 染料脱色率的测定

取培养液离心后(9 000 r/min,10 min)的上清液,以去离子水为参比,利用JASCO V-560紫外可见分光光度计,在染料相应的最大吸收波长处测量其吸光度.

$$r = (A_0 - A_t)/A_0 \times 100\%$$

式中, A_0 、 A_t 分别为接种后初始时刻和培养 t 时刻上清液的吸光度; r 为脱色率,%.

2 结果与讨论

2.1 蒽醌染料中间体对偶氮染料生物脱色的强化作用

菌群初始浓度保持在400 mg/L左右,酸性大红

3R 初始浓度均为 180 mg/L,葡萄糖浓度为 500 mg/L, pH 为 7,各蒽醌染料中间体浓度相同(BAA 为液态,其他为固态),静置培养 12 h,考察不同氧化还原介体对染料脱色的影响.结果表明,不存在氧化还原介体时,12 h 后醌还原菌群对酸性大红 3R 脱色率仅为 40.43%;氧化还原介体存在下,酸性大红 3R 的脱色率可提高 2~2.3 倍.醌化合物结构不同,生物还原所需要时间不同,加速程度也有所不同.由图 2 可见,BAA 对酸性大红 3R 的脱色效果最好,可与 AQDS 相当.因此以下实验均采用 BAA 进行.

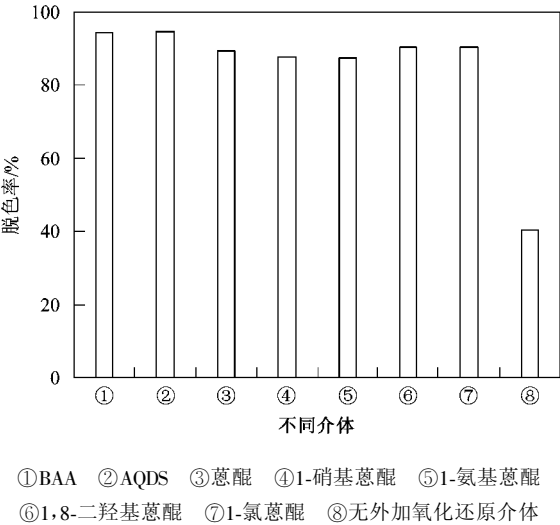


图 2 蒽醌染料中间体对酸性大红 3R 脱色的影响

Fig.2 Effect of different anthraquinone dyes intermediates on decolourization of Acid Red 3R

2.2 共底物浓度对酸性大红 3R 脱色的影响

菌群初始浓度为 600 mg/L 左右,初始酸性大红 3R 浓度 180 mg/L, pH 为 7, BAA 浓度为 38 mg/L, 改变共底物(葡萄糖)浓度,培养 7 h,结果见图 3.葡萄糖浓度在 400~600 mg/L 范围内,脱色率可达 97%.继续提高外加葡萄糖浓度,菌群生长量有所增加,但脱色率下降,脱色时间延长,这可能是由于外加葡萄糖量增加,碳源比例改变,影响菌群结构中醌还原微生物的优势地位^[22].

2.3 pH 值对酸性大红 3R 脱色的影响

调节培养基的 pH 值为 1~14,菌群初始浓度为 600 mg/L 左右,酸性大红 3R 初始浓度为 180 mg/L,葡萄糖浓度为 500 mg/L, BAA 浓度为 38 mg/L, 30℃ 静置密封培养,考察 pH 值对染料脱色的影响.培养 7 h 后, pH 6~9 均可达到 95% 左右的脱色率(图 4).

2.4 溴氨酸浓度对酸性大红 3R 脱色的影响

在一定浓度范围内,作为氧化还原介体的醌类化合物的浓度与染料的脱色速率呈正相关^[23].取菌

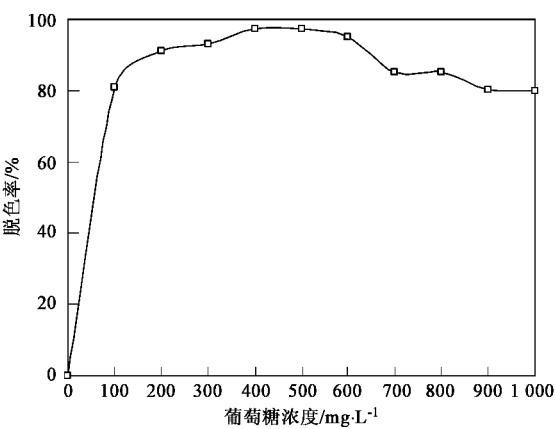


图 3 葡萄糖浓度对酸性大红 3R 脱色的影响

Fig.3 Effect of glucose concentrations on decolourization of Acid Red 3R

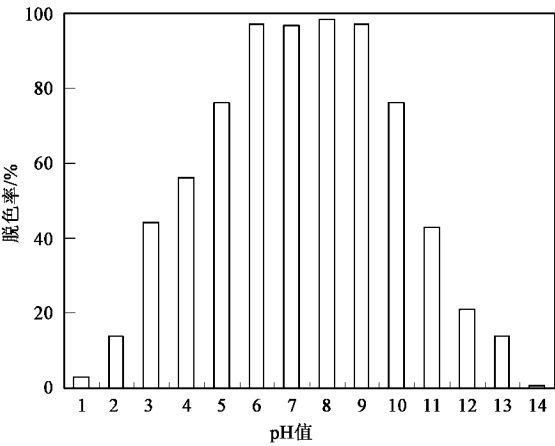


图 4 pH 值对酸性大红 3R 脱色的影响

Fig.4 Effect of pH on decolourization of Acid Red 3R

群初始浓度为 600 mg/L 左右,初始染料浓度 180 mg/L,葡萄糖浓度 500 mg/L, pH 为 7,考察了不同 BAA 浓度对菌群染料脱色率的影响(图 5).当 BAA 浓度 < 19 mg/L 时,脱色率随着 BAA 浓度的增加而增加,19~34.2 mg/L 范围内 BAA 浓度的增加对染料的脱色效果没有显著的影响,脱色率均保持在 90% 以上.

2.5 染料起始浓度对酸性大红 3R 脱色的影响

菌群初始浓度为 600 mg/L 左右, BAA 浓度 19 mg/L,葡萄糖浓度 500 mg/L, pH 为 7,向培养基中加入不同染料终浓度的酸性大红 3R,培养 12 h,考察染料初始浓度对染料脱色的影响,结果见图 6.菌群对酸性大红 3R 的最大耐受浓度为 1 000 mg/L,在 ≤900 mg/L 范围内,菌群对染料的脱色率可保持在 95% 以上.

2.6 醌还原菌群对不同偶氮染料的脱色能力

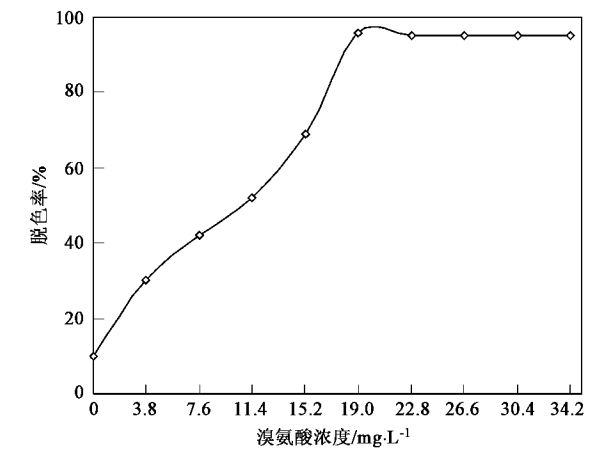


图 5 溴氨酸浓度对酸性大红 3R 脱色的影响

Fig.5 Effect of BAA concentrations on decolourization of Acid Red 3R

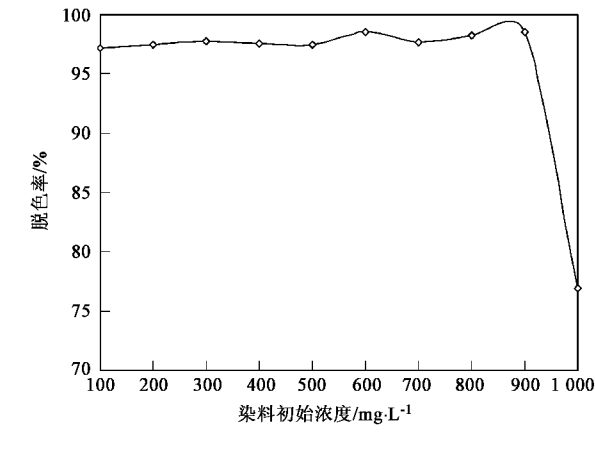


图 6 初始染料浓度对酸性大红 3R 脱色的影响

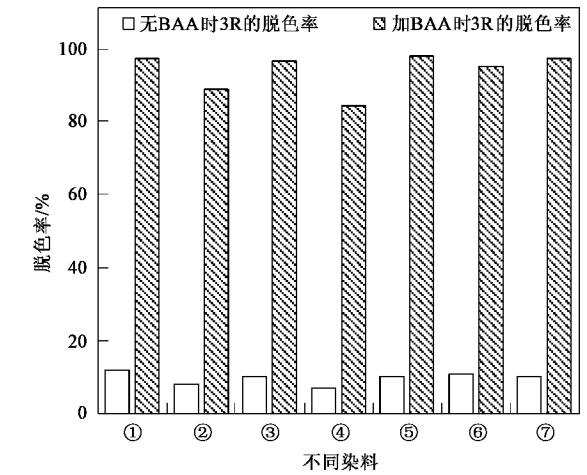
Fig.6 Effect of initial concentrations on decolourization of Acid Red 3R

以 BAA 为氧化还原介体,考察菌群对 7 种偶氮染料的加速降解能力.各种染料浓度均取 180 mg/L,菌群初始浓度保持在 600 mg/L 左右,BAA 浓度均为 19 mg/L,葡萄糖浓度均为 500 mg/L,pH 为 7.这 7 种染料的脱色时间均为 12 h.由图 7 可见,溴氨酸存在下,菌群对 7 种偶氮染料的脱色有明显的加速作用.

2.7 醌还原菌群对酸性大红 3R 的脱色过程

酸性大红 3R 初始浓度为 180 mg/L,BAA 浓度 19 mg/L,葡萄糖浓度 500 mg/L,pH 为 7,菌群初始浓度为 600 mg/L 左右.如图 8 所示,BAA 存在下脱色率在 7 h 内达到 98.6%.在无氧化还原介体存在时,脱色率达到 90% 至少需要 24 h(数据未列出).随着反应的进行,葡萄糖的浓度逐渐降低,当脱色率达到最大时,其浓度由最初的 500 mg/L 降为 50 mg/L.

2.8 固定化菌群对酸性大红 3R 的生物脱色



①酸性金黄 G ②酸性红 B ③酸性红 A ④酸性大红 B
⑤苋菜红 ⑥酸性品红 6B ⑦酸性大红 3R

图 7 菌群对不同偶氮染料的脱色

Fig.7 Different azo dyes decolourization by quinone-reducing community

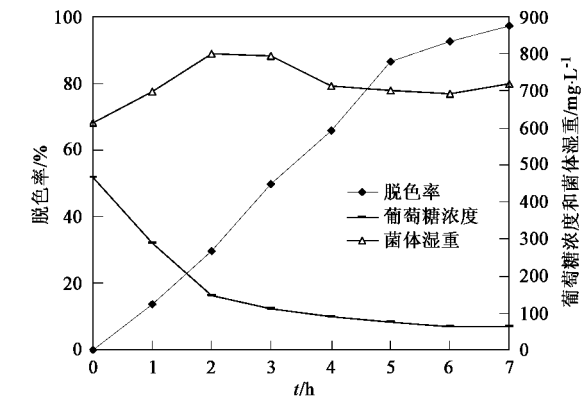


图 8 醌还原菌群对酸性大红 3R 的脱色过程

Fig.8 Time course of decolourization rate of Acid Red 3R by quinone-reducing community

酸性大红 3R 初始浓度为 180 mg/L,葡萄糖浓度为 500 mg/L,pH 为 7,投加固定化菌球约为 120 g/L.由图 9 可知,当 BAA 浓度 < 38 mg/L 时,脱色率随 BAA 浓度的增加而增大;BAA 浓度在 38 ~ 57 mg/L 范围内脱色率均保持在 95% 以上.由图 10 可以看出,包埋有菌体细胞的固定化小球呈多孔结构,它可能会影响传质,固定化菌需要更多的氧化还原介体以达到较好的脱色效果.

图 11 表明在不补加 BAA 的情况下,固定化菌球可循环使用 7 次,脱色率保持在 85% 以上.其原因可能是菌球对氧化还原介体有一定的吸附所致(图 12).

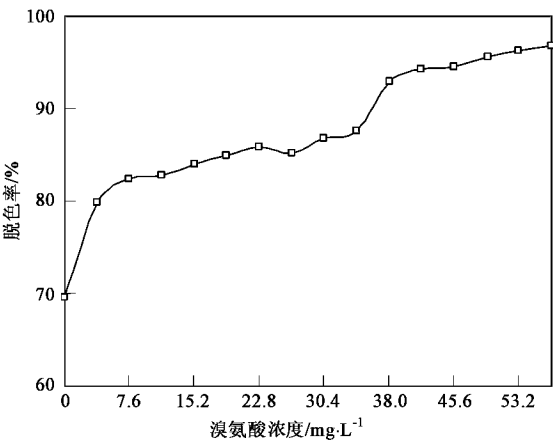


图 9 溴氨酸浓度对固定化菌群染料脱色的影响

Fig.9 Effect of BAA concentrations on decolourization of Acid Red 3R by immobilized quinone-reducing community

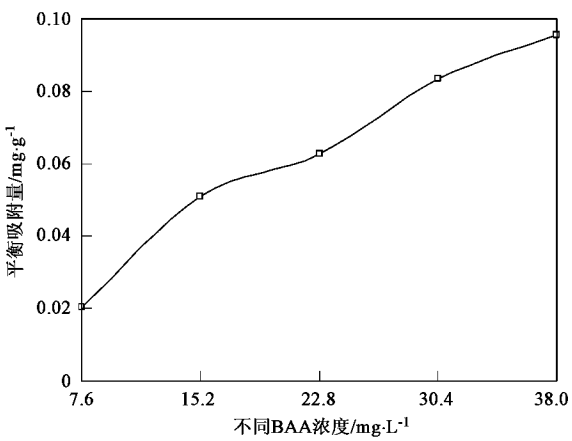


图 12 固定化菌球对溴氨酸的吸附曲线

Fig.12 Adsorption isotherm of BAA on immobilized bacteria

3 结论

(1) 多种蒽醌染料中间体均可作为氧化还原介体催化强化多种偶氮染料的生物脱色,其中 BAA 的加速效果较好.

(2) 醌还原菌群以 BAA 为氧化还原介体可催化强化多种偶氮染料的生物脱色.其中对酸性大红 3R 脱色的优化条件为葡萄糖浓度为 $400\sim600\text{ mg/L}$, pH $6\sim9$, BAA 浓度 $19\sim34.2\text{ mg/L}$, 染料浓度 $\leq 900\text{ mg/L}$, 达到最大脱色率的时间为 7 h .

(3) 菌株经固定化包埋后,降解酸性大红 3R 需 BAA 浓度 $38\sim57\text{ mg/L}$, 达到最大脱色率的时间为 14 h .在不补加 BAA 的情况下,经 7 次循环使用后,脱色率仍保持在 85% 以上.

参考文献:

[1] 洪义国,许玫英,郭俊,等.细菌偶氮还原研究进展[J].应用与环境生物学报,2005,11(5):642-647.

[2] 杨曦,余刚,孔令仁,等.酸性红 3B 的杂多酸光催化降解动力学[J].环境科学,2002,23(3):40-43.

[3] 武荣成,曲久辉.用铁酸盐型磁性吸附剂去除偶氮染料酸性红 B[J].中国环境科学,2003,23(3):235-239.

[4] 陶长元,刘作华,李晓红,等.超声波促进 Fenton 法脱色甲基橙溶液的研究[J].环境科学,2005,26(5):111-114.

[5] Stolz A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2001, 56: 69-80.

[6] Van der Zee F P. Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes-A short review of bioreactor studies [J]. Water Res, 2005, 39: 1425-1440.

[7] Wang J, Yan B, Zhou J T. Biodegradation of azo dyes by genetically engineered azoreductase [J]. Journal of Environmental Science, 2005, 17(4): 545-550.

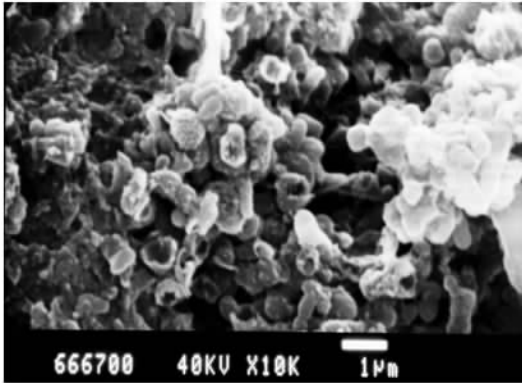


图 10 固定化菌内部形态

Fig.10 Inner morphology of immobilized bacteria

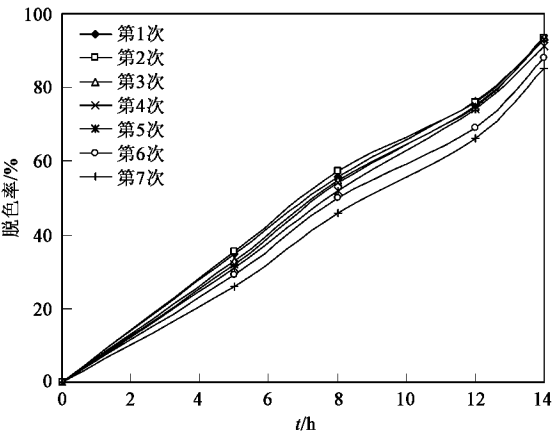


图 11 固定化菌循环使用

Fig.11 Decolourization of Acid Red 3R with periodic duty of immobilized bacteria

- [8] Irina V P, Anton N K. Design of quinonoid-enriched humic materials with enhanced redox properties [J]. Environ Sci Technol, 2005, **39** (21): 8518-8524.
- [9] Van der Zee F P, Bisschops I A E, Lettinga G, *et al.* Activated carbon as an electron acceptor and redox mediator during the anaerobic biotransformation of azo dyes [J]. Environ Sci Technol, 2003, **37**(2): 402-408.
- [10] Guo J B, Zhou J T, Wang D, *et al.* Biocalalyst effects of immobilized anthraquinone on the anaerobic reduction of azo dyes by the salt-tolerant bacteria [J]. Water Res, 2007, **41**(2): 426-432.
- [11] Rau J, Knackmuss J H, Stolz A. Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria [J]. Environ Sci Technol, 2002, **36**(7): 1497-1504.
- [12] Pandey A, Singh P, Iyengar L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2007, **59**(2): 73-84.
- [13] Keck A, Rau J. Identification of quinoide redox mediators that are formed during the degradation of naphthalene-2-sulfonate by *Sphingomonas xenophaga* BN6 [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, **68** (9): 4341-4349.
- [14] 洪义国, 郭俊, 王敏妮, 等. 具有广谱偶氮还原能力柠檬酸菌 AzoR-2 的分离鉴定和还原特性研究[J]. 环境科学, 2007, **28** (6): 1397-1403.
- [15] Hong Y G, Xu M Y, Guo J, *et al.* Respiration and growth of *Shewanella* decoloration S12 with an azo compound as the sole electron acceptor [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, **73**(1): 64-72.
- [16] 曲媛媛, 周集体, 王竞. 溴氨酸降解菌株的分离鉴定及特性研究[J]. 环境科学学报, 2005, **25**(6): 785-790.
- [17] 邢林林, 王竞, 曲媛媛, 等. 生物强化对 MBR 系统生物特性及群落结构的影响[J]. 环境工程学报, 2007, **1**(4): 70-73.
- [18] Qu Y Y, Wang J, Zhou J T. Decolorization of bromoamine acid by a newly isolated strain of *Sphingomonas xenophaga* QYY and its resting cells [J]. Biochemical Engineering Journal, 2005, **27**(2): 104-109.
- [19] 方连峰, 王竞, 周集体, 等. 醌化合物强化偶氮染料的生物脱色[J]. 中国环境科学, 2007, **27**(2): 174-178.
- [20] 蒋宇红, 黄霞, 俞毓馨. 几种固定化细胞载体的比较[J]. 环境科学, 1993, **14**(2): 11-15.
- [21] 赵亚华, 高向阳. 生物化学实验技术教程[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000. 10-17.
- [22] Cervantes F J, Lettinga G. Competition between methanogenesis and quinone respiration for ecologically important substrates in anaerobic consortia [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000, **34**(2): 161-171.
- [23] Kudlich M, Keck A, Klein J, *et al.* Localization of the enzyme system involves in anaerobic reduction of azo dyes by *Sphingomonas* sp. strain BN6 and effect of artificial redox mediators on the rate of azo dye reduction [J]. Appl Environ Microbiol, 1997, **63**(9): 3691-3694.