

开放系统中 4 株丝状真菌的成球生长及其对染料的吸附脱色

刘效梅¹, 辛宝平^{2*}, 李玮², 李智慧², 徐文国¹

(1. 北京理工大学理学院, 北京 100081; 2. 北京理工大学化工与环境学院, 北京 100081)

摘要:考察了 4 株丝状真菌对 3 种高水溶性染料的吸附脱色, 研究了开放体系中影响菌丝成球生长及染料吸附的几个关键因素并探讨了菌丝球多次重复接种的可行性. 结果显示, 4 菌株对酸性艳红 B 的去除率接近 100%; 木霉对 3 种染料的脱色率均超过 99%. 开放系统中低时间研磨菌丝的高浓度接种木霉成球良好, 酸性艳红 B 去除近 100%. 菌丝球的重复接种加速了染料的吸附去除, 废水脱色时间从一次接种的 72h 减至 3 次接种的 12h.

关键词:丝状真菌; 菌丝球; 吸附; 脱色; 染料废水

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2005)04-0143-04

Forming Mycelium Pellet and Decolorization of Dye Wastewater Under Opening Conditions

LIU Xiao mei¹, XIN Bao ping², LI Wei², LI Zhi hui², XU Wen guo¹

(1. School of Science, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China; 2. School of Chemical Engineering and Environment, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: Removal of three water-soluble dyes through biosorption of four fungal strains was investigated. Some key factors affecting the formation of pellets and removal of dye under opening conditions was examined and the possibility of repeated inoculation of pellets was evaluated. The results show that removal of acid brilliant red B by 4 strains was almost 100%; the removal of all three tested dyes by *Trichoderma* sp. was more than 99%. *Trichoderma* sp. formed pellets well under opening conditions when its fragmented mycelium obtained by 3 min grinding pellets at high concentration was inoculated, as 100% removal of acid brilliant red B was achieved by biosorption of newly growing pellets. Repeated inoculation of pellets accelerated dye removal, time for 100% decolorization reduced from first inoculation 72h to third inoculation 12h.

Key words: Fungi; pellet; biosorption; decolorization; dye wastewater

染料废水的脱色处理是困扰印染纺织和染料生产的重大环境问题, 水溶性染料的去除则更为困难. 目前, 染料废水脱色和处理多采用物理化学方法, 但极高成本限制其广泛使用^[1]. 近年来, 各国研究者对经济高效且无二次污染的生物强化处理技术, 尤其是染料废水的真菌脱色技术进行了大量研究^[2,3]. 真菌的生物脱色研究主要集中于 *Phanerochaete chrysosporium*、*Trametes versicolor*、*Coriolus versicolor*、*Funalia troglia* 等白腐真菌的生物降解和 *Aspergillus niger*、*Rhizopus arrhizus*、*Rhizopus oryzae*、*Penicillium terrestre* 等丝状真菌的生物吸附.

生物吸附脱色反应性能稳定, 不产生有毒中间产物; 而丝状真菌在特定条件下的成球生长及其相对稳定的遗传性状为后续的固液分离和实际废水处理提供了良好条件. 因此, 真菌的生物吸附脱色已成为染料废水生物强化处理研究的重要内容^[4~6]. 但目前该方面的研究主要在灭菌条件下进行^[7~9], 不能完全反映吸附菌株在实际废水开放处理系统的成

球和吸附行为. 另一方面, 虽然生物吸附对低水溶性染料具有较高的去除, 但高水溶性的生物吸附脱色相对较低, 因此需要进一步筛选高水溶性染料的高效吸附菌株.

笔者前期研究从 40 株丝状真菌中初筛出 4 株水溶性染料的吸附菌株. 本文在灭菌条件下考察了 4 菌株对 3 种高水溶性染料的吸附脱色及其成球性能. 在此基础上重点研究了开放体系中影响菌丝成球生长及染料吸附的几个关键因素以及菌丝球多次重复接种的可行性.

1 材料与方法

1.1 菌株

收稿日期: 2004-09-17; 修订日期: 2004-11-23

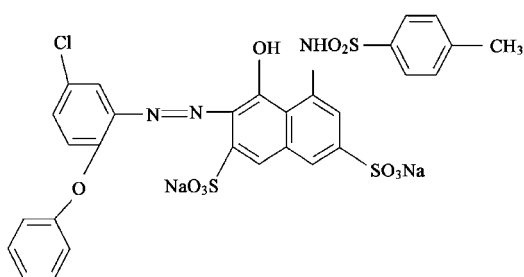
基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20307002); 北京理工大学校基础研究基金项目

作者简介: 刘效梅(1970~), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境微生物技术.

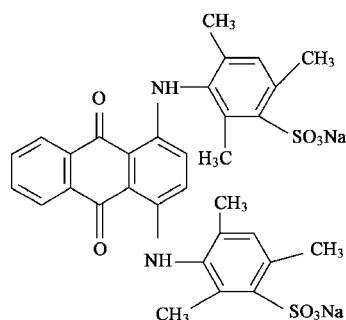
* 通讯联系人

黑曲霉(AS 3.314),宛氏拟青霉(AS 3.4253),木霉(AS 3.4263),米根霉(AS 3.253).由中科院微生物所菌种保藏中心提供.

1.2 染料



酸性艳红 B



弱酸性艳蓝 RAWL

图 1 染料的结构式

Fig.1 Molecular structure of dyes

1.3 培养基

基本培养基:葡萄糖 5.0g, KH_2PO_4 1.0g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.0g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, 去离子水 1000 mL, pH 5.5. 向上述培养基中加入一定量的染料母液制成浓度为 100 mg/L 的模拟染料废水. 用于菌株保存和孢子收获的固体斜面培养基通过向上述培养基中加入 2% 的琼脂制备而成. 灭菌条件实验时模拟染料废水进行高温灭菌处理(112.6 °C, 30 min); 开放系统实验时模拟染料废水不进行任何灭菌处理.

1.4 实验方法

灭菌条件下孢子接种脱色实验:接种环从培养 5d 的固体孢子斜面刮取一环不同菌株孢子,接种于含有 60 mL 灭菌模拟染料废水的 250 mL 锥形瓶中,摇床培养(120 r/min, 30 °C),定期取样测定染料吸光度. 整个过程无菌操作.

开放系统中菌丝接种脱色实验:过滤收获孢子接种 72h(染料达最大脱色)后形成的吸附有大量染料的菌丝球并用去离子水多次洗涤. 取 2g 湿菌体置于研钵中,加入适量水后,以 220 ~ 250 r/min 进行较高强度研磨. 通过控制研磨时间,以制备不同长度的菌丝;去离子水稀释研磨菌丝制备不同浊度(浓度)的菌丝悬浊液. 不同长度和浊度的菌丝悬浊液按 5% 接种量接种于 60 mL 未灭菌模拟染料废水,摇床培养. 定期取样测定染料吸光度以反映染料去除;测定上层溶液浊度以反映杂菌生长(接种菌丝形成菌丝球沉于溶液底部);实验结束后测定菌体干重以计

酸性艳红 B, 弱酸性艳蓝 RAWL, 活性黑 KN-G₂RC. 纯度 100%. 浙江宁波染料厂赠送. 酸性艳红 B 和弱酸性艳蓝 RAWL 结构式见图 1; 活性黑 KN-G₂RC 为新开发染料品种, 其结构式目前尚未公开.

算菌体染料吸附量, 菌体干重的测定方法见文献 [10]. 整个过程不进行无菌操作.

开放系统中菌丝球多次重复接种脱色实验:过滤收获菌丝接种 72h(染料达最大脱色)后形成的吸附染料菌丝球并用水洗涤,接入 60 mL 未灭菌的新鲜模拟染料废水,摇床培养,定期取样测定染料吸光度和溶液浊度. 24h 后同样操作进行第 2 次菌丝球接种同时测定染料吸光度和溶液浊度. 整个过程不进行无菌操作.

在开放系统研究中,模拟染料废水不灭菌;所有操作包括接种菌丝的制备、接种、取样等,均在有菌条件下进行;培养过程中,锥形瓶保持敞开,不做灭菌处理.

1.5 染料脱色和溶液浊度的测定

定期取样并离心(10000 r/min, 10 min), 752 分光光度计在染料可见光区内最大吸收波长处(酸性艳红 B, 524 nm; 弱酸性艳蓝 RAWL, 626 nm; 活性黑 KN-G₂RC, 600 nm)测定上清液吸光度,借助工作曲线计算残留染料浓度和染料脱色率. 取样上层溶液(防止底层菌丝球或菌丝体吸入), HANNA HI93703 浊度仪测定溶液浊度,单位 FTU.

2 结果与讨论

2.1 灭菌条件下孢子接种 4 菌株对 3 种水溶性染料的吸附脱色

灭菌条件下考察了 4 菌株孢子接种对 3 种水溶性染料的脱色性能(表 1). 4 菌株对酸性艳红 B 均

表现出极好的去除效果,脱色率接近 100%;但对弱酸性艳蓝 RAWL 和活性黑 KN-G₂RC,不同菌株表现差异较大.米根霉对弱酸性艳蓝 RAWL 去除率为 77.7%,宛氏拟青霉对活性黑 KN-G₂RC 去除率只有 25.9%;而木霉对 3 种染料的脱色率均超过 99%.随着溶液色度脱除,生成的菌丝球呈现浓重的染料颜色,表明溶液色度去除可能由于菌丝球的染料吸附.对脱色过程的染料溶液进行紫外可见吸收光谱扫描(250~700nm)发现吸收光谱曲线没有变化,这进一步说明溶液脱色是由于菌丝球的染料吸附.

表 1 培养 72h 后染料去除率¹⁾/ %

Table 1 Removal efficiency of three dyes by four fungal strains after 72h incubation/ %

染料种类	木霉对染料去除率	米根霉对染料去除率	黑曲霉对染料去除率	宛氏拟青霉对染料去除率
酸性艳红 B	99.6	99.4	99.5	99.5
弱酸性艳蓝 RAWL	99.0	77.7	90.0	90.7
活性黑 KN-G ₂ RC	99.3	99.7	85.0	25.9

1) 起始染料浓度 100 mg/L

2.2 开放系统中接种菌丝的研磨时间对菌体成球和染料吸附的影响

废水处理为开放系统,因此灭菌条件研究不能完全反映实际废水处理需要;另一方面,孢子的获得相当困难,孢子接种也难以用于实际废水处理.考察了在不灭菌的开放系统中用菌丝接种木霉菌株的成球性能及对酸性艳红 B 的吸附去除.收获孢子接种生成的菌丝球进行长时间(10 min)和短时间(3 min)研磨以制备不同长度的菌丝,制成浊度 400 FTU 的菌丝悬液并 5%接种.研究发现低时间研磨菌丝成球良好,而高时间研磨菌丝难以成球(图 2).同时低时间研磨菌丝 72h 培养后染料去除达 100%,菌体染料吸附量为 133 mg/g(以菌体干重计),而高时间研磨染料去除率只有 60%,菌体染料吸附量为 41 mg/g.结果表明,低时间研磨菌丝有利于菌体成球生长和染料的高效吸附.高时间研磨不利于成球可能是因为破坏了菌丝结构,导致细胞核脱落并造成菌丝死亡.但由于目前对于菌丝球的形成机制未能完全揭示,这一问题仍有待深入研究.

2.3 开放系统中菌丝接种量对染料去除和菌体成球的影响

收获孢子接种形成的木霉菌丝球并低时间研磨,制成浊度分别为 4、40 和 400 FTU 的菌丝悬液并 5%接种于酸性艳红 B 溶液.虽然不同接种浓度均能成球生长,但 400 FTU 高浊度接种形成的菌丝球小而致密,机械强度好且不易破碎.同时高浓度接种由于生物量多,脱色效果也最佳,72h 染料去除率达 99.3%,而且溶液浊度低(表 2).研究表明高菌丝

近年来应用生物吸附脱除染料废水色度得到较多研究.虽然脱色效率因菌株和染料而异,但总得来看水溶性染料的去除效果相对较差.Bustard 等用酵母死菌体吸附脱色活性染料 Cibacron Orange,吸附量 8.5 mg/g^[3].Zhou & Zimmermann 用放线菌吸附活性染料,14 d 的去除率为 3.2%~52.3%^[11].本文研究也表明染料的吸附去除与菌株本身和染料结构均有关系,但 4 菌株对水溶性染料相当高的去除效率,尤其是木霉高效广谱的吸附性能显示了生物吸附技术在染料废水脱色中良好的应用前景.

浓度接种杂菌不易生长,因此可以通过增加吸附菌的生物量抑制杂菌生长,提高特效菌在开放系统中的生物稳定性并利于废水染料的吸附去除.

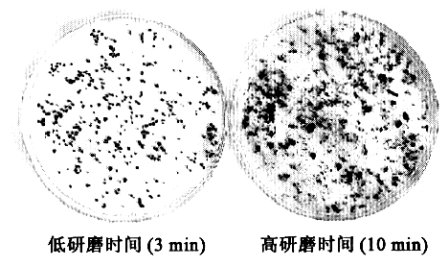


图 2 不同菌丝研磨时间对菌株成球和染料吸附的影响
Fig.2 Effect of pellet-ground time on newly formation of pellets and dye adsorption

表 2 不同菌丝接种浓度对染料脱色和杂菌生长的影响¹⁾

Table 2 Effect of mycelium concentration inoculated on dye removal and stray bacteria growth

菌丝悬浊液浊度(浓度) / FTU	72h 培养液浊度 / FTU	72h 染料脱色率 / %
4	93	33.9
40	99	34.7
400	14.2	99.3

1) 起始染料浓度 100 mg/L

2.4 菌体多次重复接种对成球行为和染料吸附的影响

收获孢子接种的木霉菌丝球,低时间研磨并制成浊度 400 FTU 的菌丝悬液,接入新鲜酸性艳红 B 营养液,72h 染料完全脱色后,收获生成的全部菌丝球并进行第 2 次接种,24h 后同样操作进行第 3 次

接种.由于菌体的快速生长,每次接种量较前次均有较大增长,导致染料完全去除所需时间大幅减少,分别为 72h、24h 和 12h;同时溶液浊度(杂菌生长)维持在一个很低的水平(表 3).另外,研究发现第 2 次的菌丝球接种没有导致新的菌丝球形成,只是表现为接种菌丝球的增大,同时在菌丝球增大过程中完

成染料吸附和废水脱色,并且增大的菌丝球仍具有很好的机械强度(图 3).实验结果说明菌丝球多次重复接种是可行的.但随着菌丝球的不断增大,营养传质和染料吸附可能会受到影响,故需要对超过一定直径的菌丝球再研磨并菌丝接种,通过菌丝和菌丝球的交替接种来实现吸附菌的废水处理.

表 3 木霉 3 次接种的染料去除率和溶液浊度变化¹⁾

Table 3 Dye removal and turbidity variation in culture solution with repeated inoculation of *Trichoderma* sp.

菌株	第 1 次研磨菌丝接种 72h		第 2 次菌丝球接种 24h		第 3 次菌丝球接种 12h	
	浊度/FTU	脱色率/ %	浊度/ FTU	脱色率/ %	浊度/ FTU	脱色率/ %
木霉	8.9	99.6	7.7	99.2	7.4	99.5

1) 起始染料浓度 100 mg/ L

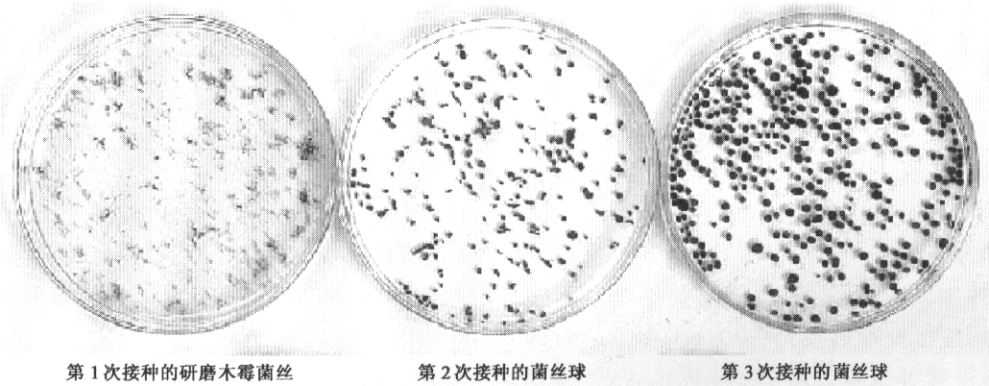


图 3 研磨菌丝接种形成的菌丝球及其重复接种导致的直径增大和染料吸附

Fig.3 Increase in pellets diameter and accelerated dye adsorption with repeated inoculation

3 结论

4 菌株对酸性艳红 B 均表现出极好的去除效果,而木霉显示了高效广谱的染料吸附性能.低时间研磨菌丝有利于菌体成球生长和染料的高效吸附.高菌丝浓度接种抑制杂菌生长并保证废水染料的吸附去除.菌丝球的重复接种导致其直径增大并加速染料的吸附去除,表明了菌丝球重复接种的可行性.

参考文献:

[1] Niamh Kirby, Roger Marchant, Geoffrey McMullan. Decolourisation of synthetic textile dyes by *Phlebia tremellosa*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000,188(1): 93 ~ 96 .
[2] Fu Y Z, Viraraghavan T. Fungal decolorization of dye wastewater: a review[J]. Biores. Technol., 2001 ,79(3): 251 ~ 262 .
[3] 李蒙英,孟祥勋.真菌对染料废水脱色降解的研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备,2002,3(10):19 ~ 22 .
[4] Bustard M, McMullan G, McHale A P. Biosorption of textile dyes by biomass derived from *kluyveromyces marxianus* IMB3

[J].Bioprocess Engineering. ,1998 ,19(6): 427 ~ 430 .
[5] Mittal A K, Gupta S K. Biosorption of cationic dyes by dead macro fungus *Fomitopsis carnae*: Batch Studies[J]. Wat. Sci. Tech. . ,1996 ,34(1): 81 ~ 87 .
[6] Mahony T O, Guibal E, Tobin J M. Reactive dye biosorption by *Rhizopus arrhizus* biomass [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002 ,31(4): 456 ~ 463 .
[7] 辛宝平,庄源益,邹其猛,戴树桂,宋文华.青霉菌 GX2 对蒽醌染料的吸附作用[J].环境科学,2001 ,22(1): 14 ~ 18 .
[8] 李蒙英,孟祥勋,王雪峰,桑敏慧.青霉菌(*Penicillium* sp.)对三种活性染料的吸附和降解[J]. 中国环境科学,2001 ,21(5): 449 ~ 452 .
[9] 张书军,杨敏,辛宝平,刘宏波,袁丽梅.应用青霉菌 BX1 活体吸附水中活性艳蓝 KN-R[J]. 环境科学,2004 ,25(1): 87 ~ 90 .
[10] 辛宝平,杨敏,庄源益.降解菌和吸附菌的联合作用对混合染料的脱色研究[J]. 环境科学,2002 ,23(增刊): 6 ~ 10 .
[11] Zhou W, Zimmermann W. Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes [J]. FEMS Microbiology letters,1993 ,107(2-3): 157 ~ 162 .