

深海盐单胞菌产生的微生物絮凝剂 对刚果红模拟染料废水脱色的研究

邹娟¹ 赵妮¹ 张吉斌^{1*} 邵宗泽² 刘子铎¹ 喻子牛¹

1. 华中农业大学生命科学技术学院/农业微生物学国家重点实验室/微生物农药国家工程研究中心, 武汉 430070;
2. 国家海洋局第三海洋研究所, 厦门 361000

摘要 以深海盐单胞菌 V3a (*Halomonas* sp. V3a) 合成的新型微生物絮凝剂 HBF-3 对刚果红模拟染料废水进行脱色试验, 探讨 HBF-3 加入量、溶液 pH、温度对脱色效果的影响, 并与活性炭和壳聚糖对刚果红染料的脱色效果进行对比。结果表明: 增加 HBF-3 的加入量可以提高对刚果红溶液的脱色效果, HBF-3 质量浓度为 100 mg/L 时对 200 mg/L 刚果红的去除率达 83.7%; HBF-3 对染料废水脱色效果受 pH 值的影响大, pH 值在 5.0~6.0 时, HBF-3 对刚果红溶液的脱色效果较弱, 为 41.1% 左右; pH 值在 7.0~9.0 之间变化时, 脱色率稳定在 88.7% 左右; 在 10~70 °C 范围内絮凝率随温度变化而改变的幅度小。

关键词 深海微生物; 盐单胞菌; 微生物絮凝剂; 刚果红; 脱色

中图分类号 Q 939.9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2010)02-0181-04

微生物絮凝剂 HBF-3 是深海盐单胞菌 *Halomonas* sp. V3a 所分泌的相对分子质量为 2.3×10^5 左右的胞外多糖, 含有丰富的氨基和羧基; 总糖含量为 28.9%, 中性糖占 20.6%, 糖醛酸为 7.2%, 氨基糖为 1.1%; 其单糖组分主要为鼠李糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖、甘露糖和海藻糖^[1]。

染料工业是化学工业中对环境污染严重的产业之一。目前, 世界年产量约为 $8 \times 10^5 \sim 9 \times 10^5$ t, 我国年产量已达 1.5×10^5 t, 位居世界前列^[2]。其中, 大约 70% 的合成染料都是基于偶氮化学合成的。

刚果红 (Congo red), 是一种联苯胺偶氮染料, 它是第 1 个用于棉制品直接染色的染料。1884 年德国化学家 Böttiger 发现刚果红可以与纤维直接结合, 从此开始了直接染料的生产 and 开发。刚果红广泛用于纺织品、皮革制品等染色及印花工艺, 但其在动物体内代谢后会产生具有诱变性的联苯胺, 能诱发人体产生膀胱肿瘤^[3-7]。犹学筠等^[8]指出: 直接接触联苯胺单体的工人, 其膀胱癌发病率比一般人高。

为了解决染料及印染废水对环境的污染, 人们尝试了不同的处理方法, 并取得了一定的进展。在染料废水处理中, 吸附法被公认为是一种具有吸引力的方法。不少廉价的吸附剂已用于刚果红染料废

水的处理, 这些吸附剂包括活性污泥、秸秆、Fe () / 刚果红 () 的氢氧化物、橘子皮、活性炭、壳聚糖等^[9-13], 但这些材料的吸附能力不强, 新的吸附剂仍有待开发。天然高分子材料由于它们的无毒和可降解等特性, 作为新型吸附剂用于废水处理, 日益受到研究者的关注^[14]。高分子微生物絮凝剂 HBF-3 由于含有大量的 -OH 和 -COOH, 对染料具有潜在吸附作用^[1, 15]。因而, 本研究期望探讨微生物絮凝剂 HBF-3 对刚果红模拟染料废水的脱色效果及其影响因素, 并与活性炭和壳聚糖对刚果红染料的脱色效果进行比较, 从而探究 HBF-3 在染料废水处理方面的应用潜力。

材料与方法

菌株来源与试剂

Halomonas sp. V3a 系由国家海洋局第三海洋研究所从西太平洋深海沉积物中分离得到的 1 株盐单胞菌 *Halomonas* sp. V3a 经诱变获得的高产絮凝剂菌株。在 10 L 发酵罐中 HBF-3 产量为 5.58 g/L^[16]。活性炭、壳聚糖、刚果红来源于国药集团, 刚果红在 500 nm 有最大吸收值。其它试剂均为分析纯。

收稿日期: 2009-06-23; 修回日期: 2009-10-12

* 国际海底区域研究开发“十一五”项目 (DYXM-115-02-02-05) 资助

** 通讯作者。E-mail: zhangjb@mail.hzau.edu.cn

邹娟, 女, 1983 年生, 硕士研究生。研究方向: 微生物生物技术。E-mail: zoujuantone@126.com

培养基

富集培养基:牛肉膏 3.0 g, 蛋白胨 10.0 g, NaCl 24.0 g, 琼脂 20 g, 蒸馏水 1 L, pH 7.6; **产絮凝剂培养基:**葡萄糖 10.0 g, 酵母膏 0.6 g, NH₄Cl 1.0 g, KH₂PO₄ 2.0 g, K₂HPO₄ 5.0 g, NaCl 24.0 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, 蒸馏水 1 L, pH 7.6。

- 的发酵与纯化

从平板上挑取 *Halomonas* sp. V3a 的单菌落接种种子液, 培养 19 h 后, 按 3.0% 的接种量接至装液量为 30 L 的 50 L 发酵罐中; 转速 75 r/min, 空气流量为 1 L/min, 温度 28 ℃; 培养 48 h 获得发酵液。发酵液通过转速 20 000 r/min、流量 1 L/min 的管式离心机离心至上清液澄清, 收集上清液 60 浓缩 20 倍后, 乙醇沉淀法纯化 HBF-3^[1]。

绘制刚果红的工作曲线

配制质量浓度分别为 20、50、100、200、300、400、500 mg/L 的刚果红溶液, 于 500 nm 下测定溶液的光密度, 以光密度对浓度作图所得的线性回归方程为: $D = 0.0026 C + 0.0011$, 其中 C 为刚果红质量浓度 (mg/L); D 为试样在 500 nm 下的吸光度。

- 加入量对刚果红去除率的影响

配制一系列 200 mg/L、pH 8.0 的 100 mL 刚果红溶液, 分别加入 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10 g HBF-3, 30、150 r/min 混合 6 h 后, 6 000 r/min 离心 5 min, 取上清液在 500 nm 测定光密度, 通过回归方程计算其剩余浓度, 再通过下列公式计算染料去除率: 染料去除率 (%) = $\frac{200 - C_1}{200} \times 100$, 式中 C_1 为经处理后溶液剩余的染料质量浓度。

值对刚果红去除率的影响

配制一系列 100 mL、质量浓度为 200 mg/L 的刚果红溶液, 用 1 mol/L 的 NaOH 或 HCl 将溶液 pH 调至 5.0~11.0, 各加入 0.01 g HBF-3, 30、150 r/min 混合 6 h 后, 6 000 r/min 离心 5 min, 取上清液在 500 nm 测定光密度, 染料去除率的计算方法同 1.5。

温度对刚果红去除率的影响

配制一系列 100 mL、质量浓度为 200 mg/L、pH 8.0 的刚果红溶液, 加入 0.01 g HBF-3 分别在 10、20、30、40、50、60、70、80 ℃, 150 r/min 混合 6 h 后, 6 000 r/min 离心 5 min, 取上清液在 500 nm 测定光密度, 染料去除率的计算方法同 1.5。

不同材料对刚果红去除率的影响

分别配制一系列体积为 100 mL、质量浓度为 200 mg/L、pH 8.0 的刚果红溶液, 分别加入 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 g HBF-3 溶液及活性炭和壳聚糖悬浊液于 30 ℃, 150 r/min 混合 6 h 后, 6 000 r/min 离心 5 min, 取上清液在 500 nm 测定光密度, 通过回归方程计算剩余刚果红的质量浓度。

结果与分析

- 加入量对刚果红去除率的影响

染料废水处理过程中 HBF-3 加入量对脱色影响较大。当 HBF-3 量不足时, 脱色效果不理想; 当 HBF-3 过剩时, 造成资源浪费。因此, 絮凝剂最佳加入量的研究在实际应用中具有指导意义。从图 1 中可以看出, 增加 HBF-3 的量可以提高对刚果红的脱色效果, 在 HBF-3 终质量浓度为 100 mg/L 时脱色效果较好, 为 83.7%; 当高于此量, 质量浓度的成倍增加时, 脱色率并未明显增加。当 HBF-3 加入量太少时, 由于 HBF-3 已被刚果红饱和, 不能吸附更多的染料分子。

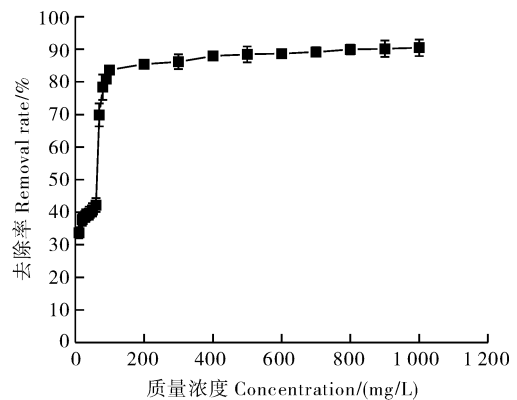


图 1 HBF-3 加入量对染料去除率的影响

Fig. 1 Effect of HBF-3 concentration on removal rate to Congo red

值对刚果红去除率的影响

pH 值对刚果红去除率的影响如图 2, pH 5.0~6.0 时, HBF-3 对刚果红的脱色效果较差, 在 40.1% 左右; pH 7.0~9.0, 脱色率稳定在 88.7% 左右; pH 8.0 时, 效果最佳, 接近 89.7%。HBF-3 在碱性条件下的脱色率明显好于在酸性条件下的脱色率, pH 7.0~11.0, 脱色率都在 83.6% 以上。可见, HBF-3 对染料废水脱色效果受 pH 值的影响很大。

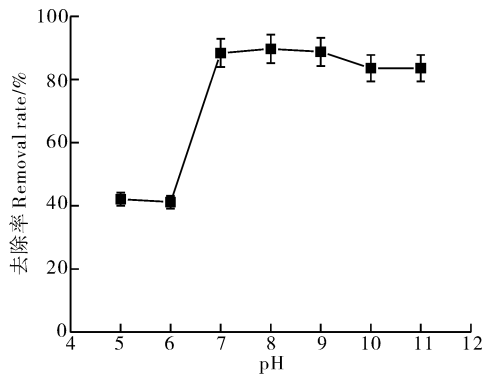


图 2 pH 值对刚果红染料去除率的影响

Fig. 2 Effect of pH values on removal rate to Congo red

温度对刚果红去除率的影响

从图 3 看出,30℃ 微生物絮凝剂 HBF-3 对模拟染料刚果红的去除率最高,但随温度变化而改变的幅度非常小,10~70℃ 对模拟染料刚果红的去除率都维持在 81.2% 以上,由此可以确定微生物絮凝剂 HBF-3 的热稳定性好,预示了微生物絮凝剂 HBF-3 在实际废水处理中具有广阔的应用前景。

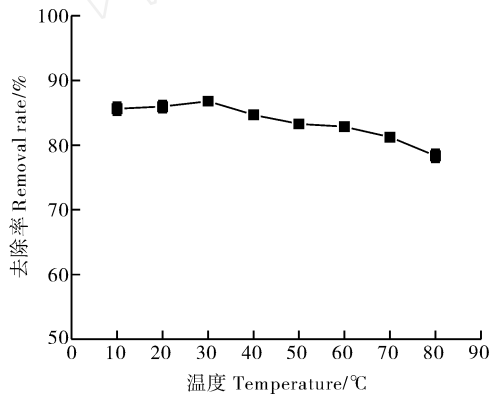


图 3 温度对刚果红染料去除率的影响

Fig. 3 Effect of temperature on removal rate to Congo red

不同材料对刚果红去除率的影响

HBF-3、活性炭和壳聚糖这 3 种材料对刚果红去除率的影响如图 4,一般而言,壳聚糖对刚果红染料去除率最高,HBF-3 次之,而活性炭的脱色能力相对较差。在较低质量浓度范围内,壳聚糖和活性炭对刚果红的脱色效果随质量浓度的增加而大幅度提高。相比较而言,HBF-3 的脱色效果随质量浓度的变化幅度平缓,并在低质量浓度下有较好的脱色效果,这主要归因于壳聚糖含有丰富的-OH 和-COOH。例如,HBF-3 质量浓度为 100 mg/L 时,对染料去除率达 83.7%,当质量浓度上升时,对刚果红的去除率有所提高,但并不显著,而 100 mg/L 的壳聚

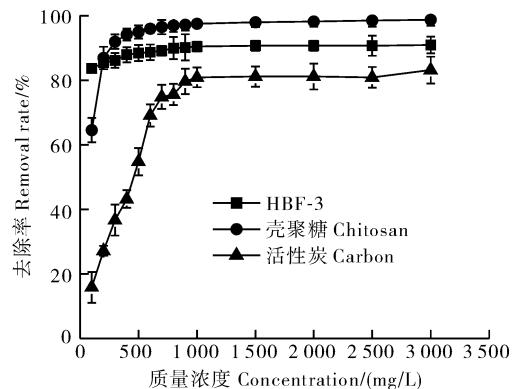


图 4 材料剂量对刚果红染料去除率的影响

Fig. 4 Effect of concentration on removal rate to Congo red 糖和活性炭对染料去除率分别为 64.6% 和 15.8%。

讨论

微生物絮凝剂具有应用范围广、易降解、环境友好和无二次污染等优点,在染料废水处理中有着广阔的应用前景。本试验以刚果红模拟染料废水为研究对象,研究表明增加 HBF-3 的加入量可以提高对刚果红溶液的脱色效果;HBF-3 对染料废水脱色效果受 pH 值的影响,在中性及碱性条件下,有利于提高 HBF-3 对刚果红溶液的脱色效果。HBF-3 在不同 pH 值下表现出不同的脱色效果,是由于酸碱度的变化改变了生物聚合物的带电状态和中和电荷的能力以及被吸附物质的颗粒表面性质。通常用高负电荷阴离子絮凝剂如水解度过大的聚丙烯酸钠絮凝高岭土悬浮液时,在碱性范围内,由于-OH 和离子间产生氢键,脱色效果好,所以 HBF-3 也是一种阴离子型的吸附剂。据报道,某些以蛋白为主要成分的微生物絮凝剂的活性受温度影响较大,高温可使这些高分子物质空间结构改变,导致变性,而丧失部分絮凝能力^[17-18]。

相比较而言,HBF-3 热稳定性好,刚果红的脱色率随温度变化而改变的幅度非常小。与传统的染料吸附剂相比,微生物絮凝剂 HBF-3 具有用量少、吸附效率高的特点,pH 8.0 时,100 mg/L 的 HBF-3 对 200 mg/L 的刚果红脱色率为 89.7%。另外,将刚果红添加到发酵液中,发酵 4 d,刚果红的去除率不到 50%,但是到第 9 天达 98%^[19],今后将进一步研究 *Halomonas* sp. V3a 在生长过程中对染料去除效果。

参 考 文 献

- [1] 张太凤. 深海多糖类生物絮凝剂产生菌 *Halomonas* sp. V3a 的菌种改良与产物分析[D]. 厦门:厦门大学图书馆,2008.
- [2] 董晓丽. 胶质红假单胞菌对活性艳蓝 KN-R 的脱色研究[D]. 大连:大连理工大学图书馆,2002.
- [3] 赵德丰,尹志刚,费久佳. 非诱变偶氮染料的研究进展. 偶氮染料诱变性研究方法及其致癌机理[J]. 化工进展,2000,19(1):36-40.
- [4] 尹志刚,赵德丰,金良安,等. 非诱变偶氮染料的研究进展. 偶氮染料结构-诱变相关性与非诱变偶氮染料设计方法[J]. 化工进展,2000,19(2):26-31.
- [5] 周琪,赵由才. 染料对人体健康和生态环境的危害[J]. 环境与健康杂志,2005,22(3):229-231.
- [6] 金若菲. 偶氮染料脱色工程菌的特性及强化作用研究[D]. 大连:大连理工大学图书馆,2007.
- [7] 钟金汤. 偶氮染料及其代谢产物的化学结构与毒性关系的回顾与前瞻[J]. 环境与职业医学,2004,21(1):58-62.
- [8] 犹学筠,陈纪刚. 上海市膀胱癌病因之研究-联苯胺及其衍生物染料与膀胱癌关系的流行病学调查[J]. 环境与职业医学,1991,8(2):1-7.
- [9] NAMASIVA YAM C, YAMUNA R T. Removal of Congo red from aqueous solutions by biogas waste slurry [J]. J Chem Technol Biot,1992,53(22):153-157.
- [10] NAMASIVA YAM C, JEYAKUMAR R, YAMUNA R T. Dye removal from wastewater by adsorption on waste Fe(OH)₃ hydroxide[J]. Waste Manage,1994,14(7):643-648.
- [11] SIVARAJ R, NAMASIVA YAM C, KADIRVELU K. Orange peel as an adsorbent in the removal of acid violet 17 (acid dye) from aqueous solutions[J]. Waste Manage,2001,21:105-110.
- [12] KANNAN N, MEENA KSHIUNDARAM M. Adsorption of Congo red on various activated carbons: a comparative study [J]. Water Air and Soil Poll,2002,138:289-305.
- [13] WANG L, WANG A. Adsorption properties of Congo red from aqueous solution onto N,O-carboxymethyl-chitosan[J]. Biore-source Technol,2008,99:1403-1408.
- [14] CHANG M Y, JUANG R S. Adsorption of tannic acid, humic acid, and dyes from water using the composite of chitosan and activated clay[J]. J Colloid Interf Sci,2004,278(1):18-25.
- [15] 汪保江. 深海 *Halomonas* sp. V3a 合成的新型多糖类生物絮凝剂 HBF-1 的研究[D]. 厦门:厦门大学图书馆,2006.
- [16] HE J, ZHEN Q, QIU N, et al. Medium optimization for the production of a novel bioflocculant from *Halomonas* sp. V3a using response surface methodology [J]. Bioresource Technol,2009,100:5922-5927.
- [17] LYE J, FREEMAN H S, COX R D. Molecular modeling of Congo red analogus containing terphenyl and quarterphenyl moieties[J]. Dyes Pigments,2000,47:53-64.
- [18] MISHRA A, BAI PAI M. The flocculation performance of *Tamarindus* mucilage in relation to removal of vat and direct dyes[J]. Bioresource Technol,2006,97:1055-1059.
- [19] KHELIFI E, AYED L, BOUALLAGUI H, et al. Effect of nitrogen and carbon sources on Indigo and Congo red beads impregnated with nonionic or anionic surfactant[J]. J Hazard Mater,2009,163:1056-1062.

Removal Congo Red from Simulated Dye Waste water by a Bioflocculant HBF-3 Produced by Deep-Sea *Halomonas* sp. V3a

ZOU Juan¹ ZHAO Ni¹ ZHANG Ji-bin¹ SHAO Zong-ze² LIU Zi-duo¹ YU Zi-niu¹

1. College of Life Science and Technology/ State Key Laboratory of Agricultural Microbiology/ National Engineering Research Center of Microbial Pesticides, Huazhong Agricultural University Wuhan 430070, China;

2. Third Institute of Oceanography of State Oceanic Administration, Xiamen 361000, China

Abstract A novel bioflocculant HBF-3 produced by deep-sea *Halomonas* sp. V3a was used to remove Congo red from simulated dye wastewater. The effects of HBF-3 concentration, pH and temperature on the dye removal were studied. With the increasing of HBF-3 concentration, the removal rate increased, when the concentration was 100 mg/L, the removal rate to 200 mg/L Congo red was up to 83.7%. In the range of pH 5.0-6.0, the removal rate was only 41.1%, but it kept about 88.7% in the optimal pH range of 7.0-9.0. Simultaneously, HBF-3 performed well over a wide temperature (10-70 °C) range. In addition, the removal efficiency of HBF-3, active carbon and chitosan were also compared.

Key words deep-sea bacteria; *Halomonas*; bioflocculant; Congo red; dye removal

(责任编辑:张志钰)