

文章编号:1673-1689(2007)02-0067-04

## 菌株 XC6 对 10 种染料的生物脱色作用

金显春, 陶文沂

(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

**摘要:** 研究了菌株 XC6 对直接、分散、活性、酸性和碱性 5 大类染料的脱色性能。结果表明, 最易脱色的为分散、直接和酸性染料, 最难脱色的为碱性染料阳离子黄; 而对于活性染料, 有些极易脱色, 有些却很难脱色。说明染料在生长菌体上的脱色取决于染料的结构与性质。对其脱色机理进行了初探。结果表明, 菌株 XC6 在脱色过程中, 染料先被吸附到菌体表面, 然后富集到菌体内, 在酶的作用下降解; 活性绿还与机体内的某些成分发生反应。

**关键词:** 烟曲霉; 生物吸附; 脱色; 染料

**中图分类号:** Q 55

**文献标识码:** A

### Decolorization of Various Dyes by Strain XC6

JIN Xian-chun, TAO Wen-yi

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214122, China)

**Abstract:** In this paper, the biodecolorization capacities of strain XC6 to 10 kinds of dyes in dye wastewater, belonging to reactive, acidic, basic, direct and dispersed dye respectively, were studied that the results showed that the direct, the dispersed and dyes acidic could be completely decolorized by growing mycelia. But it was difficult to decolorize the basic dye cationic yellow. While for the reactive dye, some were decolorized easily and others much slowly. The adsorptive decolorization capacity of growing mycelia on dye was determined by the molecular structure and characteristics of dye. In addition, the decolorization mechanism was explored by decolorization of the coloured strains with different chemical reagents and measuring the absorption curves before and after the decolorization process. The results indicated that the dyes were absorbed first to the surface of the strain mycelia, then enriched into its body and degraded by enzymes. The reactive green even was may reacted with some thing in the body of the strain to form macromolecule.

**Key words:** *Aspergillus fumigatus*; biosorption; decolorization; dye

染料废水是最难处理的工业废水之一<sup>[1-2]</sup>, 其处理方法有吸附脱色、混凝沉淀、化学氧化、离子交

换、光催化氧化、高压脉冲电解及生物降解等。其中生物降解最为常见<sup>[3-5]</sup>, 但不完全的生物降解会

收稿日期: 2006-05-20.

基金项目: 国家 863 计划项目(2001AA214101).

作者简介: 金显春(1972-), 女, 湖南郴州人, 发酵工程博士研究生. E-mail: xchjin@yahoo.com.cn

通讯作者: 陶文沂(1946-), 男, 江苏无锡人, 教授, 工学博士, 博导, 主要从事生物制药和废水生物治理的研究.

Email: wytiao1946@163.com

产生有毒的代谢产物。生物吸附是采用活的或死的微生物体对污染物进行吸附或累积。生物吸附由于具有无或少的二次污染、可回收目标物质等优点而受到广大研究者的普遍关注<sup>[6-7]</sup>。目前已有采用生物吸附处理染料废水的报道<sup>[8-9]</sup>，但存在吸附菌种单一、吸附性能偏低及对染料的吸附缺乏广谱性等诸多问题，从而限制了其工程应用。作者通过对筛选到的可以完全降解 1% NaOH 处理过的稻草菌株木质素酶活的测定，发现其能分泌木质素过氧化物酶(Lip)、锰依赖过氧化物酶(MnP)以及漆酶(Lac)，而这 3 种酶在木质素降解过程中起关键作用，同时在生物制浆、生物漂白以及生物修复中有潜在应用价值<sup>[10-11]</sup>。该菌株的活或死菌体对多种染料均表现出了很高的吸附活性。作者在研究该菌体对分属活性、酸性、直接和分散等几大类的 10 种染料的吸附脱色的基础上，考察了其对染料脱色的机理，以期 XC6 生长菌体的工程应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

菌株 XC6，从霉变的稻草筛选，经过形态学以及 18S rDNA 鉴定，为半知菌类从梗孢科曲霉属烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*)。

### 1.2 培养基

1) 菌体生长培养基：蔗糖 10 g，KNO<sub>3</sub> 3 g，K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g，MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.5 g，KCl 0.5 g，FeSO<sub>4</sub> 0.1 g，蒸馏水 1 000 mL。

2) 染料脱色培养基 I：菌体生长培养基中加入 50 mg/L 的染料；

染料脱色培养基 II：不同浓度染料的水溶液。

### 1.3 染料

实验用 10 种染料均为国产商品染料，应用类型涉及活性、酸性、直接和分散，染料名称及性质见表 1。

表 1 实验所用染料名称与性质  
Tab. 1 Names and characters of dyes

序号	染料名称	$\lambda_{\max}$ / nm	序号	染料名称	$\lambda_{\max}$ / nm
1	阳离子蓝	600	6	活性绿	630
2	阳离子黄	405	7	直接大红	500
3	活性黄	450	8	直接冻黄	465
4	活性艳红	520	9	弱酸黄	405
5	活性红	440	10	分散黄	480

### 1.4 生长菌体对染料的脱色实验

将从冰箱保存的斜面接种物取出活化后，用无菌水冲洗，制成一定浓度的孢子悬液，再以体积分数 5% 的接种量接种于预先配制的菌体生长培养基中，培养 1~2 d，即得菌丝球培养物。按不同的处理方式对菌株 XC6 对染料脱色进行研究：1) 直接在该培养物中加入不同浓度的染料；2) 过滤收集菌丝球，用无菌水洗涤数次，按体积分数 2% 的接种量将湿菌体接种于预先配制的染料培养基 II 中，30 ℃ 以 150 r/min 摇床培养。

### 1.5 脱色能力的测定

生长菌体对染料的脱色能力采用比色法测定。每隔一定时间取上清液 1~2 mL，若上清液比较浑浊，则需在 10 000 r/min 下离心 10 min，于各种染料的最大吸收波长下测定其吸光度( $A_1$ )，以相应不接菌染料溶液的吸光度( $A_2$ )为对照。其脱色率用下列公式计算：

$$P = (A_2 - A_1) / A_2 \times 100\%$$

式中， $P$  为染料的脱色率； $A_1$  为脱色后溶液的吸光度； $A_2$  为相应的不接菌染料溶液的吸光度。

## 2 结果

### 2.1 菌株 XC6 在染料培养基 I 中染料脱色情况

染料培养基 I 中染料脱色情况见表 2。序号为 1、3、6、7、8、9、10 的 7 种染料在 24 h 之内均可被完全脱色；而序号为 2、4、5 的 3 种染料在培养后期脱色率反而下降了，这可能是有些次生代谢产物的产生影响了菌株细胞的脱色能力，从而导致溶液脱色率的下降，菌体细胞的颜色也发生了改变<sup>[12]</sup>。

### 2.2 菌株 XC6 在染料培养基 II 中染料脱色情况

染料培养基 II 中染料脱色情况见表 3。可以看出，菌株 XC6 对序号为 2 的阳离子黄染料脱色较差，在 72 h 时，染料质量浓度分别为 0.2、0.1、0.05 g/L 的脱色率分别为 78.78%、86.23%、89.15%。相比之下，菌株 XC6 对其它染料的脱色则较为彻底。另外，菌株 XC6 对高质量浓度染料脱色所用的时间较低质量浓度的要长，说明菌株脱色的能力受染料质量浓度的影响，质量浓度越高，所需脱色的时间越长。

### 2.3 菌株 XC6 脱色机理初探

2.3.1 试剂法 采用不同试剂对吸附了染料的活菌体进行脱色处理。结果表明，所有菌体用沸水浴方法无法脱色；不同有机试剂脱色的结果表明，阳离子蓝、阳离子黄、直接冻黄和弱酸黄可以被 95% 乙醇解吸；所有染料均不能被乙酸乙酯、氯仿、正己

烷、丙酮解吸;除活性绿外,均可被 DMSO(二甲亚砜)解吸。根据 MTT 法的染色原理,推测前 4 种染料有部分被吸附,而其余染料则全被吸收进入菌体

内,其中活性绿进入菌体后可能又与菌体中某一些成分发生反应,生成大分子化合物而无法被解吸。

表 2 菌株 XC6 在培养基 I 中对染料的脱色效果

Tab. 2 Decolorization of dyes by strain XC6 under media I

时间/h	脱色效果/%									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
2	87.79	55.75	59.66	80.67	41.18	76.39	76.93	78.85	71.94	74.41
3	90.99	58.97	62.42	87.79	56.47	87.85	83.14	85.83	82.56	78.58
6	94.68	60.37	87.59	89.06	76.47	91.32	87.28	86.16	88.96	90.48
8	96.43	61.87	93.80	91.61	78.58	95.84	90.54	88.81	95.06	92.86
24	100	72.85	100	80.65	84.15	100	100	100	100	100
48		70.65		80.56	76.37					

表 3 菌株 XC6 在培养基 II 中对染料的脱色效果

Tab. 3 Decolorization of dyes by strain XC6 under media II

时间/h	染料质量 浓度/(g/L)	脱色效果/%									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
12 h	0.2	94.03	58.28	13.12	89.00	40.05	88.06	68.95	75.49	9.01	87.93
	0.1	91.93	68.64	12.67	93.31	70.00	99.20	84.85	94.50	60.88	89.00
	0.05	84.94	69.19	47.74	93.58	98.25	100	92.97	100	85.67	100
24 h	0.2	98.25	65.56	45.24	92.74	61.38	95.48	79.67	87.92	28.29	95.14
	0.1	100	71.23	58.69	95.79	81.69	100	92.55	98.67	71.37	100
	0.05	100	78.74	100	94.87	100		95.71		90.19	
48 h	0.2		72.39	88.58	90.57	79.35	100	84.37	95.48	45.77	98.73
	0.1		74.65	90.14	96.38	89.66		95.62	100	88.75	
	0.05		85.46		98.16			97.85		100	
72 h	0.2		78.78	94.58	88.56	88.75		82.13	100	60.71	100
	0.1		86.23	100	95.43	100		94.58		100	
	0.05		89.15		100			100			

**2.3.2 光谱法** 将降解前后的染料溶液在酶标仪上于 190~700 nm 扫描。结果发现,所有染料在被脱色后,可见范围内的最大吸收波长全部消失,而紫外吸收部分则与染料降解方式 1 的参比(菌株球培养基与染料培养基 I 作相同处理,仅为不加染料)的吸收曲线一致,表明紫外吸收为菌体自身产生的代谢物所致。

### 3 讨论

处理方式 1 与处理方式 2 中,阳离子黄和活性艳红的降解都不太理想,表明这两种脱色方式下其脱色机理可能一致;而活性红的脱色在两种处理方

式下,脱色效果存在明显差异,第二种处理方式脱色效果显著优于第一种脱色方式,这可能是因第二种处理方式中仅有活性红作为底物(没有补加其它培养基成分),而处理方式 1 则因存在竞争性碳源——蔗糖而使染料的降解较为缓慢。一般来说,脱色主要有两大机理,即 1) 物理吸附染料到菌丝表面<sup>[13]</sup>; 2) 物理吸附到菌丝上,然后在酶的作用下降解<sup>[14]</sup>。综合两种脱色方式可以看出:阳离子蓝、阳离子黄、直接冻黄和弱酸黄的脱色主要为物理吸附,而其余的染料的脱色则为物理吸附后酶解。

为进一步探讨其脱色机理,作者将培养好的菌丝球连带培养基在 100 °C 烘箱中保温数小时以杀死菌体,过滤,将死的菌体直接加入到各种染料中,

结果发现除阳离子蓝脱色完全外,其余染料的脱色率都非常低,且将吸附了染料的菌丝球加水煮沸后,水体呈相应染料的颜色,扫描时发现与相应染料的吸收曲线一致。表明菌株 XC6 对染料的脱色主要为酶解,这一结果与文献[14]一致。

#### 4 结 论

1)直接染料与分散染料最易被菌株 XC6 脱色;最不易被脱色的染料为碱性染料阳离子黄。4种活性染料中,活性绿极易被脱色,活性黄的脱色较快,而活性艳红与活性红则较难被脱色。表明染料在

生长菌体上的吸附脱色效果由染料分子的结构和性质所决定。直接染料分子呈线性平面结构、疏水性较强,易于吸附。

2)由于生长菌体对于直接染料、分散染料和有些活性染料及碱性染料具有极好的脱色性能,故表明菌株 XC6 对于染料的吸附脱色具有高效性和广谱性,有利于染料废水的处理。

3)菌株 XC6 对染料的脱色机理为:直接吸附到菌丝上,或是物理吸附到菌丝上,再在酶的作用下降解。其降解机理与不同染料的结构相关。

4)染料结构不同,酶的作用方式有异,而高浓度染料一般会导致低的酶解速率。

#### 参考文献(References):

- [1] Morais L C. Reactive dyes removal from wastewaters by adsorption on eucalyptus bark variables that define the process[J]. *Wat Res*, 1999, 33 (4) : 979-988.
- [2] Knapp J S, Newby P S. The decolourisation of a chemical industry effluent by white rot fungi [J]. *Wat Res*, 1999, 33 : 575-577.
- [3] Ogawa T, Idaska E, Yamada Y. Treatment of basic dyes by microbial populations in activated sludge[J]. *J Soc Fiber Sci Technol*, 1974, 30:516-522.
- [4] 全 燮, 杨风林, 李和平. 几种偶氮染料生物降解特性研究[J]. 环境科学, 1991, 12(3) : 27-30.  
QUAN Xie, YANG Feng-lin, LI He-ping. Study on the biodegradation characteristic of several azo dyes[J]. *Environ Sci*, 1991, 12(3) : 27-30. (in Chinese)
- [5] Itoh K, Yatome C, Ogawa T. Biodegradation of anthraquinone dyes by *Bacillus subtilis*[J]. *Bull Environ Cytinin Toxicol*, 1993, 50: 522-527.
- [6] 程 云, 周启星, 马奇英, 等. 染料废水处理技术的研究与进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, 4 (6) : 56-60.  
CHENG Yun, ZHOU Qi-xing, MA Qi-ying, et al. Progress of dyes effluent treatment study[J]. *Tech Equip Environ Pollu Treat*, 2003, 4 (6) : 56-60. (in Chinese)
- [7] 陈勇生, 黄国兰, 庄源益, 等. 盐泽螺旋藻对染料的吸附性能研究[J]. 环境化学, 1998, 17(5) : 439-443.  
CHEN Yong-sheng, HUANG Guo-lan, ZHUANG Yi-yuan, et al. Biosorption of dyes on prepared algae (*Spirulina subsalsa*)[J]. *Environ Chem*, 1998, 17(5) : 439-443. (in Chinese)
- [8] 林晓华, 董新姣. 青霉菌 X5 对活性艳蓝 KN2R 脱色研究[J]. 四川环境, 2002, 21(4) : 5-7, 12.  
LIN Xiao-hua, DONG Xin-jiao. Study on reactive brilliant blue KN-R decolorization by *Penicillium X5*[J]. *Sichuan Environ*, 2002, 21(4) : 5-7, 12. (in Chinese)
- [9] 辛宝平, 邹其猛, 庄源益, 等. 吸附菌 GX2 对活性艳蓝 KN2R 的脱色作用研究[J]. 环境科学学报, 2000 (增刊) : 97-101.  
XIN Bao-ping, ZHOU Qi-meng, ZHUANG Yi-yuan, et al. Biosorption and decolorization of reactive brilliant blue KN-R by a specific strain GX2[J]. *Acta Sci Circumstantiae*, 2000: 97-101. (in Chinese)
- [10] Cameron M D, Timofeviski S, Aust S D. Enzymology of *Phanerochaete chrysosporium* with respect to the degradation of recalcitrant compounds and xenobiotics[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2000, 54: 751-758.
- [11] Pointing S B. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 57: 20-33.
- [12] 余志晟, 文湘华. 酵母菌株 *Pseudozyma rugulosa* 对合成染料脱色的初步研究[J]. 环境化学, 2005, 2: 186-188.  
YU Zhi-cheng, WEN Xiang-hua. Preliminary study on decolorization of synthetic dyes with yeast *Pseudozyma rugulosa* [J]. *Envir Chem*, 2005, 2: 186-188. (in Chinese)
- [13] Knapp J S, Newby P S, Reece L P. Decolorization of dye by wood rotting *Basidiomycete fungi*[J]. *Enzyme Micro Technol*, 1995, 17: 664-668.
- [14] Young L, Yu J. Ligninase catalysed decolourization of synthetic dyes[J]. *Wat Res*, 1997, 31: 1187-1193.

(责任编辑:李春丽)