

耐盐偶氮染料脱色菌株 GYW 的筛选及特性

郭建博^{1,2*} 张立辉¹ 杨景亮¹ 洪煜斌² 刘春¹ 李再兴¹ 王晓磊¹ 康丽¹

(1. 河北科技大学 环境科学与工程学院 河北 石家庄 050018)

(2. 三达膜科技(厦门)科技有限公司 福建 厦门 361022)

摘要: 从某印染厂排水沟的底泥中分离筛选到 1 株对偶氮染料具有脱色能力的耐盐菌株 GYW, 经 16S rDNA 序列分析, 鉴定为盐单胞菌属(*Halomonas*) 中度耐盐菌。实验结果表明, 菌株 GYW 可以耐受 10% 以上的高盐度, 对酸性大红 GR 和其它偶氮染料具有广谱的脱色能力, 处于对数生长期的细胞脱色能力最强。对酸性大红 GR 的最佳脱色条件为: 温度 30°C, pH 7.5, LB 培养基。氯离子对酸性大红 GR 脱色的抑制作用较强, 硫酸盐对脱色影响不大, 添加甜菜碱可提高染料的脱色速率, 最佳添加量为 200 mg/L。

关键词: 耐盐菌, 偶氮染料, 脱色, 甜菜碱

Isolation and Characteristic of an Azo Dye-decolorizing Salt-tolerant Bacteria Strain GYW

GUO Jian-Bo^{1,2*} ZHANG Li-Hui¹ YANG Jing-Liang¹ HONG Yu-Bin² LIU Chun¹
LI Zai-Xing¹ WANG Xiao-Lei¹ KANG Li¹

(1. School of Environmental Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang, Hebei 050018, China)

(2. Suntar Membrane Technology (Xiamen) Co., Ltd., Xiamen, Fujian 361022, China)

Abstract: A salt-tolerant strain GYW capable of decolorating azo dye was isolated and identified as *Halomonas* sp. by 16S rDNA. The result showed that the decolorizing salt-tolerant bacteria could survive above the 10% salt concentration and it could decolorize many dyes. The strain had a high decolorizing rate on acid red GR under the condition of pH 7.5, anaerobic 30°C and 10% NaCl. The ion of Cl⁻ strong inhibited the decolorization of acid red GR, and the ion of SO₄²⁻ affected little on the decolorization, and the lycine addition with the optimal concentration of 200 mg/L could enhanced the decolorization rate under high NaCl concentration.

Keywords: Salt-tolerant bacteria, Azo dye, Decolorization, Lycine

染料废水排放量大, 成分复杂, 且化学性质稳定, 色度深达 500~50 万倍不等。含盐量高达 10%~20%^[1]。在染料的生产和使用中, 偶氮染料就

占 50% 以上^[2]。偶氮染料及其降解产物多具致癌作用, 并能在环境中长期存在, 对人体健康危害极大, 因此含偶氮化合物废水的处理成为环境污染控制中

的焦点问题。对于该种废水, 目前常用的物化法会产生大量难处理的泥渣; 化学法运行费用高, 容易造成二次污染; 常规的生化法处理含染料废水也有明显的缺点, 微生物对营养物质、pH、温度等条件有一定要求, 难以适应染料废水含盐量高、水质波动大、染料种类多、毒性高的特点。生物强化技术是解决染料废水生物处理效果不佳的可行途径, 而获得具有耐盐和偶氮染料脱色能力的菌株是应用生物强化技术的关键。

本实验以双偶氮染料酸性大红 GR 为模型化合物, 筛选具有耐盐和偶氮染料脱色能力的高效菌并对其特性进行研究, 为实施染料废水生物强化处理积累生物资源及基础数据。

1 实验部分

1.1 实验材料

1.1.1 菌种来源: 菌种由某印染厂排水沟的底泥中分离筛选而得。

1.1.2 培养基: 根据实验要求的不同, 实验过程中分别选用了 LB 培养基和无机盐培养基(只有在考察碳源的影响时才选用无机盐培养基)作为菌体生长的营养源, 其具体组成如表 1 所示, 固体培养基为液体培养基中加入 2%的琼脂。

表 1 菌体在不同条件生长的培养基组成
Table 1 Different medium of bacteria growth

培养基名称 Name of medium	组分 Composition	浓度 Concentration (g/L)
LB medium	酵母膏	5.0
	蛋白胨	10.0
	NaCl	0.5
Metal salt medium	(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0
	K ₂ HPO ₄	1.4
	KH ₂ PO ₄	0.6
	MgSO ₄	0.1
	CaCl ₂	0.1
	NaCl	视实验需要添加
	碳源	视实验需要添加
Trace element	FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.005
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.00005
	H ₃ BO ₃	0.001
	MnCl ₂ ·4H ₂ O	0.00005
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.001
	NiSO ₄	0.0008

1.1.3 实验用水: 实验过程中所用废水为模拟染料废水, 具体组成为 LB 培养基(或无机盐培养基)加染料酸性大红 GR, pH 为 7.2~7.5, NaCl 含量根据实验条件而定, 染料浓度为 50 mg/L 左右, 菌体 OD 为 0.28~0.30。

1.1.4 分析项目及方法: pH 的测定: DELTA320 型 pH 计(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

菌体浓度测定: 660 nm 处 OD 值, 实验仪器为 VIS7220 分光光度计。

染料波长测定: UV2600 紫外-可见分光光度计(上海天美科学仪器有限公司)。

染料浓度测定: 最大特征吸收峰处的吸光度。染料浓度在 0~75 mg/L 范围内与最大吸光度线性关系较好, 高浓度通过稀释测定。

1.2 实验方法

1.2.1 耐盐菌的分离与驯化: 采用一次性投加高浓度染料的驯化方法, 从污泥样品中驯化出能够降解偶氮染料酸性大红 GR(结构见图 1)的混合菌群。接着采取逐步提高盐浓度的方法, 从样品中驯化出能够耐受高盐的菌株。取污泥样品 50 mL, 加入玻璃珠数粒, 用玻璃棒搅拌以打碎污泥絮体, 吸取 10 mL 加入含 100 mL 染料废水(LB 培养基加染料)的 250 mL 锥形瓶中, 在 30°C、120 r/min 的摇床中振荡培养。

待菌体浓度达对数生长期后, 转接入 5% NaCl 浓度的染料废水中, 转接后要使染料废水中菌体的吸光度(OD_{660})保持在 0.5 左右, 并于恒温摇床中振荡培养。以 5%为一浓度梯度于各盐浓度下菌体的对数生长期时转接并培养, 直到 NaCl 浓度为 30%。在每次转接时, 各浓度的菌种除转接入较高盐浓度的染料废水外, 还要转接入本身浓度的废水中。

经反复平板涂布, 最后选出 1 株具有高效降解能力的菌株命名为 GYW (对于单菌 GYW 的所有实验, 均在无菌条件下操作)。

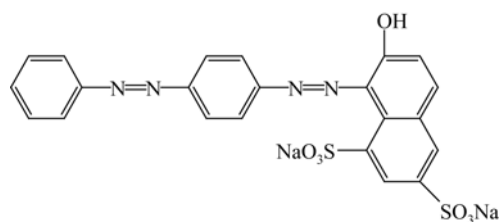


图 1 酸性大红 GR 的结构

Fig. 1 The structure of acid red GR

1.2.2 菌体浓度-干重标准曲线的测定:将离心管在 105°C 下烘干(约 2 h), 称重, 分别记为 m_i ; 用 18 个 10 mL 的离心管各取 1 mL 处于对数生长期的菌种, 分别稀释至 4 mL、5 mL、6 mL、7 mL、8 mL 和 10 mL, 每个样品做 3 个平行实验, 摇匀, 用 VIS7220 分光光度计于 660 nm 处测 OD 值。将 6 个样品于 8000 r/min 离心 10 min, 倒掉上清液, 继续在 105°C 下烘干(约 4 h), 称量各样品管的质量, 分别记作 M_i , 用 $M_i - m_i$ 即为菌体的干重, 再除以其稀释后的体积 V_i , 即为菌体的干重浓度。

菌体的干重浓度可用公式(1)计算:

$$X_i = (M_i - m_i) / V_i \quad (1)$$

式中 M_i ——含有菌体的离心管的干重(mg)

m_i ——离心管的干重(mg)

V_i ——菌体稀释后的体积(mL)

X_i ——菌体的干重浓度(mg/mL)

做干重-OD 标准曲线, 见图 2。

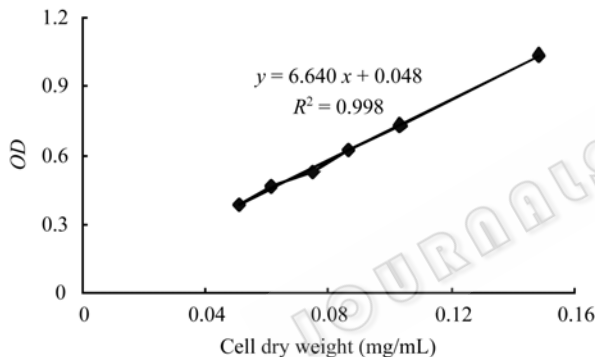


图 2 GYW 干重-OD 标准曲线

Fig. 2 The standard curve of cell dry weight and OD for strain GYW

1.2.3 菌种鉴定:对分离、筛选出的脱色耐盐菌 GYW 进行电镜扫描, 并由广东省微生物分析检测中心进行生理生化鉴定, 大连宝生物公司进行 16S rDNA 序列分析。

1.2.4 脱色特性研究:改变 pH、温度、盐度、营养源、甜菜碱加入量等, 考察这些因素对酸性大红 GR 脱色效果的影响, 探索菌株 GYW 的最佳脱色条件。同时考察菌株对其它偶氮染料的脱色能力, 以确定菌株脱色能力的广谱性。

1.2.5 脱色能力的测定:用 UV2600 紫外-可见分光光度计对实验所用 10 种偶氮染料进行波长扫描, 获得各实验染料在可见光区的最大吸收波长, 把接种后

的染料废水取样离心(8000 r/min, 10 min), 用 VIS7220 型分光光度计于染料最大吸收波长处测其上清液的 OD, 用 LB 培养基作空白, 即为染料初始 OD, 同样可以测定不同时间的染料 OD, 计算脱色率, 以脱色率表示菌株的脱色能力^[3]。

2 结果与讨论

2.1 菌种鉴定

菌株 GYW 在 LB 固体培养基上培养 3 d 后可见, 菌落形态为圆形、边缘整齐、表面光滑、土黄色、稍透明。电镜扫描可观察到菌株细胞为杆状, 无鞭毛。大小为(0.6 μm~1.0 μm)×(1.0 μm~2.0 μm), 培养 24 h 后涂片做革兰氏染色, 结果为革兰氏阴性菌, 其生理生化鉴定结果如表 2 所示。

综合形态观察、生理生化鉴定以及 16S rDNA 序列分析, 将菌株 GYW 归为 *Halomonas* sp.。菌株 GYW 的 16S rDNA 在 GenBank 中登录的序列号为 EF188281。

将所得长度约为 1.5 kb 的序列用 Blast 软件与 GenBank 中的 16S rDNA 进行同源性比较。采用 DNAMEGA 程序进行系统发育树的构建, 所用的菌株名称及序列号如图 3 所示, GYW 和 *Halomonas aquamarina* 同源性最高为 99%, GYW 归为 *Halomonas* sp. 的新菌株。

2.2 脱色特性

2.2.1 GYW 对酸性大红 GR 的脱色情况:将处于对数生长期的菌株 GYW 转接入由 LB 培养基配制的实验用水中, 接种混匀后立即取样离心(8000 r/min, 10 min), 以 LB 培养基作空白, 用 UV2600 紫外-可见分光光度计对酸性大红 GR 进行波长扫描, 即为脱色前的曲线, 转入密封离心管中于 30°C 恒温培养箱中厌氧培养, 在降解 24 h 和 48 h 时取样后用同样的方法进行波长扫描, 波长扫描曲线如图 4 所示。

从该图中可以看出, 酸性大红 GR 经过 2 d 降解后, 在 509 nm 处的吸收峰已完全消失, 表明该染料已基本完全脱色。1876 年 Wiff 提出染料发色团说, 认为染料颜色是由双键引起的, 这些含双键的基团即为发色团。现代理论认为, 染料的颜色与其结构有密切关系^[4,5]。酸性大红 GR 属于双偶氮染料, 分子量较小, 分子结构简单, 且有非定域活性很强的-OH 取代基, 因此降解速度较快, 且最终脱色率很高。

表 2 菌株生理生化特性
Table 2 Physio-biochemical characteristics of strain GYW

试验项目 Test items	结果 Results	试验项目 Test items	结果 Results	试验项目 Test items	结果 Results
革兰氏染色 Gram stain	-	D-葡萄糖酸 D-Glucose acid	+	L-亮氨酸 L-Leucine	-
细胞形状 Cell shape	杆状	N-乙酰基-D-葡萄糖胺 N-aceryl-L-Glucosamine	-	L-鸟氨酸 L-Ornithine	-
细胞颜色 Colour of colony	土红色	龙胆二糖 Gentiobiose	-	胸腺嘧啶核苷 Thymine Deoxyriboside	-
触酶 Catalase	+	β -甲基-D-葡萄糖苷 β -methyl-D-Glucoside	-	苯乙胺 Phenethylamine	-
氧化酶 Oxidase	-	乙酸 Acetic acid	-	6-磷酸葡萄糖 6- Phosphate Glucose	-
糊精 Dextrin	+	甘氨酸-L-谷氨酸 Glycylglycin	-	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	-
淀粉 Starch	+	肌苷 Lnosine	-	D-丝氨酸 D-Serine	-
L-阿拉伯糖 L-Arabinose	+	丙三醇 Glycerol	-	γ -氨基丁酸 γ -Aminobutyric acid	-
D-阿拉伯糖 D-Arabinose	+	环糊精 Cyclodextrin	-	丁二胺 Diaminobutane	-
D-果糖 D-Fructose	+	吐温 40 Tween 40	-	羟基-L-脯氨酸 L-Hydroxyproline	-
α -D-葡萄糖 α -D-Glucose	+	吐温 80 Tween 80	-	L-组氨酸 L-Histidine	-
麦芽糖 Maltotriose	+	N-乙酰基-D 半乳糖胺 N-aceryl-L-Galactosamine	-	γ -羟基丁酸 γ -Hydroxybutyrate	-
D-甘露醇 D-Mannitose	+	侧金盏花醇 Adonitol BioChemica	-	ρ -羟基苯乙酸 ρ -Hydroxyphenylacetic acid	-
D-甘露糖 D-Mannitol	+	L-果糖 L-Fructose	-	衣康酸 Itaconic acid	-
阿洛酮糖 Allulose	+	m-肌醇 m-Inositol	-	α -酮丁酸 α -Butyrolactone	-
D-山梨醇 D-Sorbitol	+	D-乳糖 D-Lactose	-	α -酮戊二酸 α -Ketoglutaric acid	-
蔗糖 Sucrose	+	D-蜜二糖 D-Melibiose	-	丙二酸 Dipropanedioic acid	-
D-海藻糖 D-Trehalose	+	D-棉子糖 D-Raffinose	-	丙酸 Propanedioic acid	-
松二糖 Turanose	+	单甲基琥珀酸 Monomethyl Succinate	-	D-葡糖二酸 D-Glucaric acid	-
甲基丙酮酸 Ketobutyric acid	+	柠檬酸 Citric acid	-	癸二酸 Sebacic acid	-
D,L-乳酸 D,L-Lactic acid	+	甲酸 Formic acid	-	琥珀酸 Amber acid	-
L-丙氨酸 L-Alanine	+	D-乳糖酸内酯 D-(-)-Galactonic acid- γ -lactone	-	溴丁二酸 Bromosuccinic acid	-
L-丙氨酰甘氨酸 L-Alanylglycine	+	D-葡萄糖酸 D-Gluconic acid	-	琥珀酰胺酸 Butanedioic acid monoamide	-
L-丝氨酸 L-Ser	+	α -羟基丁酸 α -Hydroxybutyric acid	-	葡糖醛酰胺 Glucuronamide	-
β -羟基丁酸 β -hydroxybutyric acid			-	L-苏氨酸 L-Threonine	+

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应。

Note: +: Positive reaction; -: Negative reaction.

2.2.2 菌株 GYW 脱色能力广谱性: 为考察菌株 GYW 对其它染料废水脱色的适用性, 实验选用了 10 种偶氮染料作为考察对象, 其应用类型涉及酸性染料(3 种)、活性染料(1 种)、直接染料(3 种)、分散染料(2 种), 结构类型涉及单偶氮染料 6 种(酸性红

B、活性艳红 M-8B、酸性大红 3R、酸性橙 II、分散大红 S-BWFL、分散深蓝 HGL)、双偶氮染料 3 种(直接湖蓝 5B、直接桃红 12B、酸性大红 GR)、多偶氮染料 1 种(直接耐晒黑 G)。

将处于对数生长期的菌株 GYW 接入用 LB 培养

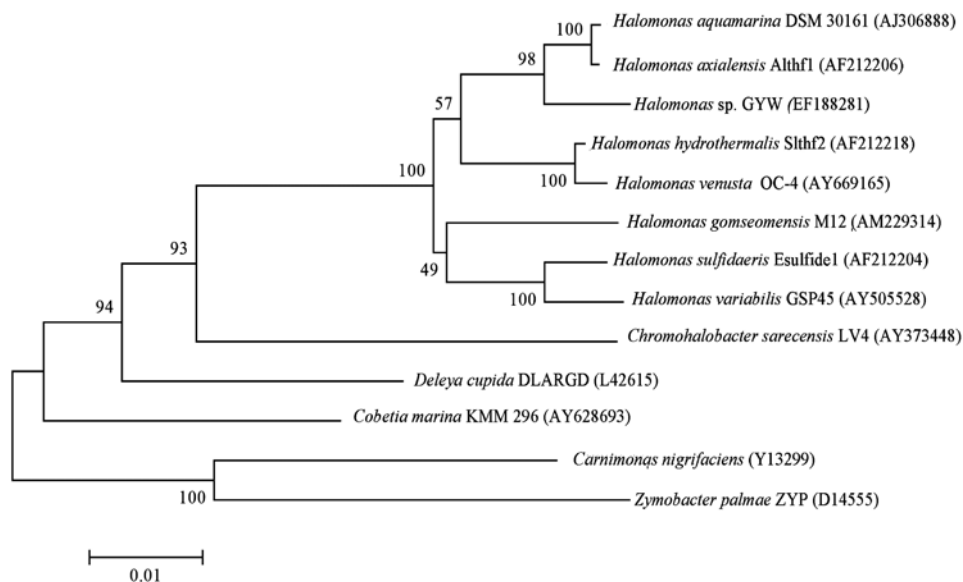


图3 菌株 GYW 的系统发育树
Fig. 3 Phylogenetic tree of strain GYW

Note: Bar: 0.01 sequence divergence.

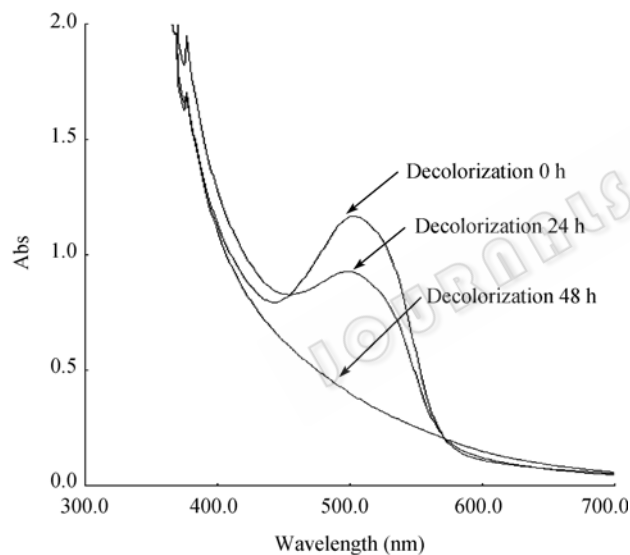


图4 酸性大红 GR 结构及在可见光区的吸收光谱图
Fig. 4 The UV-vis spectrum of acid red GR

基配制的实验用水中, 30°C 静置厌氧培养, 48 h 脱色率如图 5 所示, 从左到右排列顺序依次为单偶氮染料 6 种、双偶氮染料 3 种、多偶氮染料 1 种。

由图 5 可看出, 在分子结构相近的情况下, 单偶氮染料较多偶氮染料容易脱色(如酸性大红 GR 比酸性红 B 脱色速度慢), 但分子结构复杂的单偶氮染料脱色难度也很大(如活性艳红 M-8B)。这是由于在厌氧条件下, 偶氮还原酶由位于细胞膜和细胞质中两种不同的酶系统组成, 结构简单的偶氮染料分子

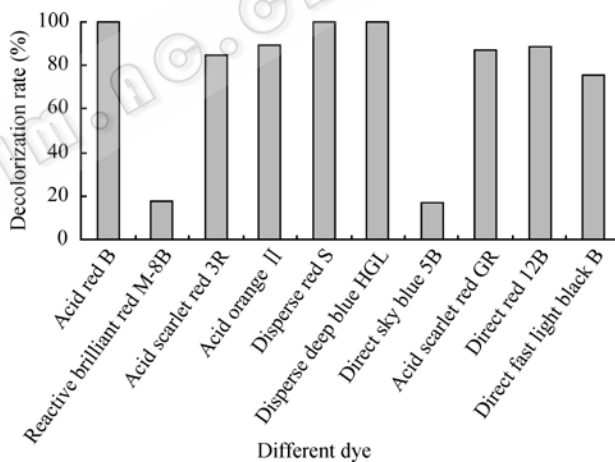


图5 不同染料脱色效果
Fig. 5 The decolorization rate of different dyes

比结构复杂偶氮染料分子更容易穿过细胞膜进入细胞内, 被两套酶系统同时作用, 故宏观上表现为易脱色, 如酸性红 B。对于结构复杂的多偶氮染料, 脱色效果取决于芳环上促进基团和抑制基团的协同作用, 如直接耐晒黑 G 也具有不错的脱色效果, 是由于芳环上含有多个促进基团(如-OH, -NH₂), 足以抵消抑制基团的抑制作用。

此外, Cl⁻含量超过 80000 mg/L, 对活性染料脱色有明显的抑制作用^[6], 在本实验中 NaCl 的浓度为 10%, 因此, 活性艳红 M-8B 脱色率明显低于其它染料。

2.2.3 不同生长阶段: 菌体在不同生长阶段, 其活性是不同的, 因此实验过程中选取处于不同生长阶段的菌: 培养时间分别为 4 h、8 h、12 h、24 h、30 h、48 h, 分别转接到 LB 培养基配制的实验用水中, 30°C 静置厌氧培养, 48 h 相对脱色率如图 6 所示。

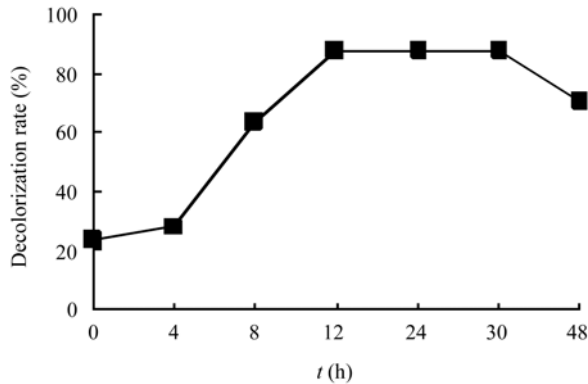


图 6 不同生长期的菌对脱色率的影响
Fig. 6 The decolorization rate of different growth phase

由图 6 可见, 处于对数生长期的菌体脱色率最高, 48 h 可达 85% 以上, 而在菌的生长初期, 一部分细菌适应环境, 另一部分死亡, 细菌总数下降, 因此脱色率不高。而在生长后期, 由于代谢产物大量积累对菌体本身产生毒害, pH、氧化还原电位等均有所改变, 溶解氧供应不足, 会抑制细菌的生长繁殖, 刚转接后也会有一个停滞期, 脱色率比较低。因此一般选取对数生长期的菌体进行实验。

2.2.4 最佳脱色条件: 1) 温度。不同微生物体内酶的最适温度不同, 各种酶在最适温度范围内, 酶活性最强, 酶促反应速度最大。在适宜的温度范围内, 温度每升高 10°C, 酶促反应速度可相应提高 1~2 倍。由于菌株 GYW 的最适生长温度为 30°C, 因此, 仍在 20°C~40°C 之间考察温度对染料降解的影响。

将处于对数生长期的菌株 GYW 接入用 LB 培养基配制的实验用水中, 密封后分别放入温度为 20°C、25°C、30°C、35°C、40°C 的恒温培养箱中静置厌氧培养, 考察不同温度对厌氧脱色的影响。48 h 脱色率如图 7 所示。

由图 7 可以看出, 随着温度的升高, 相同时间内的脱色率也升高, 30°C 时耐盐菌 GYW 对染料具有最高的脱色率, 这与菌株分离筛选时的培养温度一致。当温度为 40°C 时, 脱色率反而有所下降, 很可能是耐盐菌 GYW 在高温时活性下降所致。

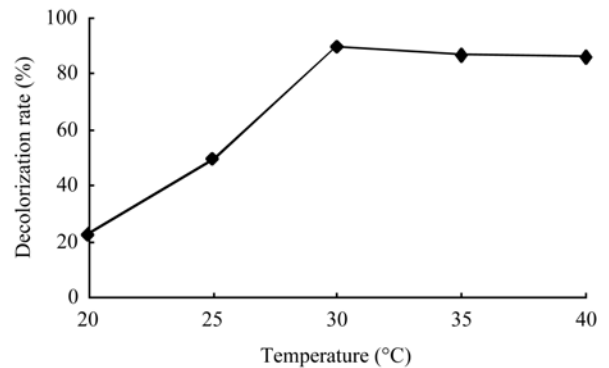


图 7 温度对染料 GR 脱色率的影响
Fig. 7 The effect of temperature on the decolorization rate

2) pH。酶在最适 pH 范围内表现出活性, 大于或小于最适 pH, 都会降低酶活性。pH 对酶活力的影响主要表现在两个方面: 改变底物分子和酶的带电状态, 从而影响酶和底物的结合; 过高、过低的 pH 都会影响酶的稳定性, 进而使酶遭到不可逆的破坏。微生物体内酶活降低的外在表现就是催化反应的速率降低。

将处于对数生长期的菌株 GYW 接入由 LB 培养基配制的实验用水中, pH 分别调至 pH 1.0、3.0、5.0、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、9.0、10.0 和 11.0, 30°C 静置厌氧培养, 48 h 相对脱色率见图 8。

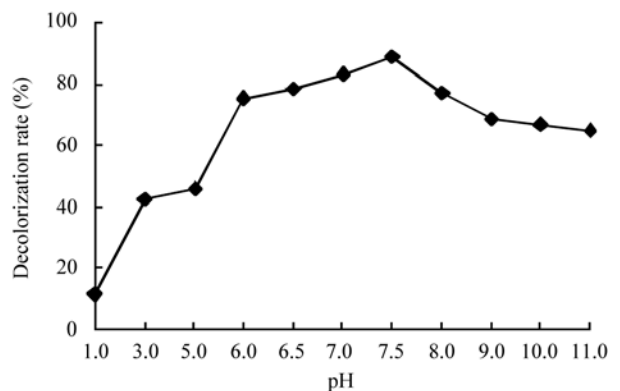


图 8 pH 对染料 GR 脱色率的影响
Fig. 8 The effect of pH on the decolorization rate

由图 8 可见, GYW 在中性条件下 (pH 6.0~8.0) 均有较高的脱色率。pH 为 7.5 时脱色率最高, 这与 GYW 生长的最适 pH 是基本一致的。

3) 盐 (NaCl) 浓度。盐对常规生化法的影响主要体现在 4 方面: 对出水水质影响: 处理系统对离

子的浓度变化很敏感,当系统突然受含高盐废水的冲击时,系统的有机物去除率降低、微生物呼吸速率降低、SVI增大、出水 BOD₅、SS 升高,盐度突增 2%就能对系统产生显著破坏;对生物活性影响:盐浓度的增加将破坏生物的代谢功能和降低生物的降解动力。在含盐 3.5%的系统中,每毫克污泥降解总有机碳能力从 0.3 mg/h 降低到 0.12 mg/h;对生物种类的影响:盐度的增加,使处理系统中的原生动物和丝状微生物减少,出水的悬浮物浓度一般高于 100 mg/L;耐盐度的极限:许多文献^[7,8]表明,盐度超过 3%~5%的废水不能用常规的生化法处理。

将处于对数生长期的菌株 GYW 接种至由 LB 培养基配制的实验用水中。调整 NaCl 浓度分别为 0%、2.5%、5%、8%、10%、15%、20%、25%和 30%,30°C 静置厌氧培养,考察不同浓度的 NaCl 对脱色率的影响。实验结果见图 9。同时,在 NaCl+Na₂SO₄ 的总量(10%, W/V)不变的前提下,调整二者之间的比例,考察 Na₂SO₄ 对脱色率的影响,27 h 脱色率见图 10。

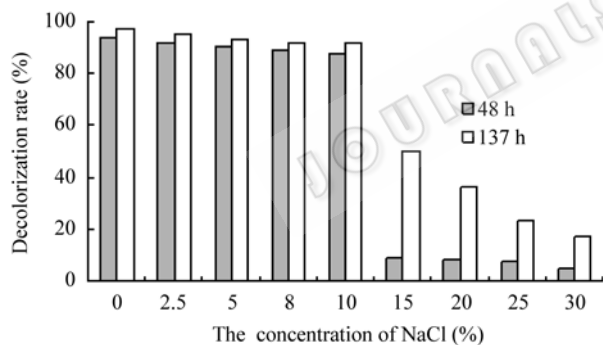


图 9 NaCl 浓度对脱色率的影响

Fig. 9 The effect of NaCl concentration on the decolorization rate

实验结果表明,在 NaCl 含量较低时,如 0%、2.5%、5%、8%和 10%,在 48 h 内脱色率就可达 85%以上,但随着脱色时间的延长,即使盐浓度很高(达 30%)也有一定的脱色率,这说明含盐量越高,其延滞期越长。因此,在实验过程中如无特殊说明,含盐(NaCl)量均为 10%。

在总盐度恒定条件下,GYW 对 GR 的脱色速率随 Na₂SO₄ 含量增加而增加,相同含量的盐度,加 Na₂SO₄ 时,27 h 脱色率就可以达到加 NaCl 时 48 h

的脱色率。这说明 Na₂SO₄ 对 GYW 生物脱色造成的影响小于 NaCl。这可能是由于硫酸根被还原生成 H₂S, H₂S 和偶氮染料发生化学还原反应的结果。同时也说明这种耐盐菌适应高硫酸盐环境,阳离子对染料脱色影响不大。

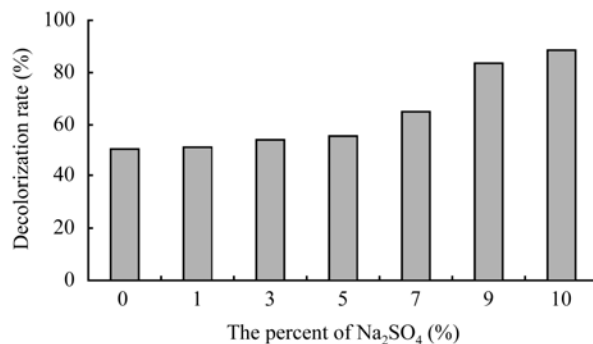


图 10 Na₂SO₄ 的加入对染料脱色率的影响

Fig. 10 The effect of Na₂SO₄ on the decolorization rate

4) 不同碳源。将处于对数生长期的菌株 GYW 接入用无机盐培养基配制的实验用水中,选择淀粉、葡萄糖、蔗糖、乳糖、麦芽糖、果糖分别作为菌株 GYW 生长的营养源,浓度均为 1%,密封后静置厌氧培养,并与 LB 培养基作对照,考察不同碳源对染料降解的影响,48 h 脱色率见图 11。

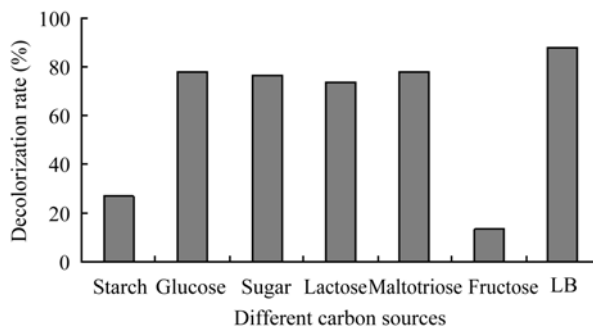


图 11 不同碳源对染料脱色率的影响

Fig. 11 The effect of different carbon sources on the decolorization rate

如图 11 所示,淀粉和果糖作营养源不利于菌体的生长,因而脱色率也较低,其余 4 种营养源中 48 h 脱色率均超过 70%,说明菌株可利用的碳源范围比较广。GYW 在 LB 培养基中脱色率最高,48 h 脱色率可达 80%以上,由此可见,富营养源培养基最适于菌体生长,因而也具有最高的脱色率。

5) 甜菜碱。将处于对数生长期的菌种 GYW 转

接入用无机盐培养基配制的实验用水中, 添加 1% 的葡萄糖作为 GYW 生长的营养源, 另外添加甜菜碱至浓度分别为 0 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L、300 mg/L, 30°C 静置厌氧培养, 以考察甜菜碱对染料降解的影响。48 h 脱色率见图 12。

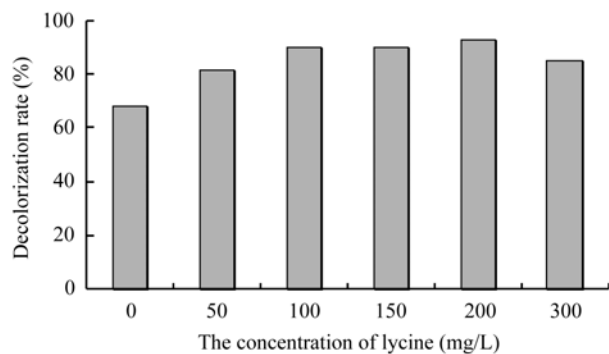


图 12 甜菜碱对染料脱色率的影响

Fig. 12 The effect of lycine on the decolorization rate

大多数耐盐菌的耐盐机制是在细胞内积累相容性物质, 由图中可以看出, 甜菜碱的加入对菌体生长(数据未列出)与染料降解的作用是一致的, 有一最佳添加量为 200 mg/L, 可提高脱色率 24.6%, 当超过此值时, 促进作用反而下降。

3 结论

本研究从某印染厂排水沟的底泥中筛选出了一株同时具有耐盐和偶氮染料脱色能力的菌株 GYW。根据形态观察, 生理生化特性及 16S rDNA 鉴定结果, 确定该菌属于 *Halomonas* sp. 菌株。

菌株 GYW 可以耐受 10% 以上的高盐度, 对酸性大红 GR 和其它偶氮染料具有广谱的脱色能力, 处于对数生长期的细胞脱色能力最强。对酸性大红 GR 的最佳脱色条件为: 温度 30°C, pH 7.5, LB 培养基。氯离子对酸性大红 GR 脱色的抑制作用较强, 硫酸盐对脱色影响不大, 添加甜菜碱可提高染料的脱色速率, 最佳添加量为 200 mg/L。

参 考 文 献

- [1] Carliell CM, Barclay SJ, Shaw C, *et al.* The effect of salts used in textile dyeing on microbial decolourisation of a reactive azo dye. *Environmental Technology*, 1998, **19**: 1133-1137.
- [2] 洪义国, 许玫英, 郭俊, 等. 细菌偶氮还原研究进展. *应用与环境生物学报*, 2005, **11**(5): 642-647.
- [3] 张波, 白云峰, 朱斌. 两株细菌对偶氮染料活性艳红 X-3B 脱色的研究. *山西大学学报*, 1998, **21**(1): 77-79.
- [4] 李家珍. 染料、染色工业废水处理. 北京: 化学工业出版社, 1999, pp.74-75.
- [5] 程铸生, 朱承炎, 王雪梅. 精细化学品化学. 第二版. 上海: 华东理工大学出版社, 1996, pp.35-60.
- [6] 杨惠芳. 水污染防治及城市污水资源化技术. 北京: 科学出版社, 1993, pp.75-89.
- [7] 文湘华, 占新民, 王建龙, 等. 含盐废水的生物处理进展. *环境科学*, 1999, **20**(3): 104-106.
- [8] 陈雪松, 张海瑜, 高为民, 等. 首楷中华根瘤菌与耐盐有关的 DNA 片段的克隆. *微生物学报*, 1999, **39**(6): 489-494.