

黑曲霉菌粉吸附处理直接耐晒翠蓝中的 改性方法研究*

施建臣¹, 孟雪娇², 郑天凌³, 熊小京²

(1. 国家海洋局第三海洋研究所, 福建 厦门 361005; 2. 厦门大学 环境与生态学院, 福建 厦门 361005;
3. 厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 分别采用甲酸+甲醛浸泡、甲醇+盐酸浸泡、丙酮浸泡、氢氧化钠浸泡、盐酸浸泡等改性方法对黑曲霉菌粉表面功能基团进行强化, 以直接耐晒翠蓝 FBL 染料为吸附对象, 通过傅里叶红外光谱仪 (FT-IR) 考察浸泡处理前后吸附剂表面功能基团的结构及强度变化, 探讨功能基团的强化条件。结果表明: 采用盐酸+甲醇以及甲酸+甲醛浸泡处理不能提高黑曲霉菌粉的脱色能力; 采用氢氧化钠浸泡处理黑曲霉菌粉的脱色能力明显提高, 证明在黑曲霉吸附直接耐晒翠蓝过程中, 有氨基、羟基、羧基的参与; 采用盐酸浸泡处理黑曲霉菌粉表面杂质得到一定的去除, 功能基团显现出来, 脱色能力明显提高。

关键词: 黑曲霉菌粉; 直接耐晒翠蓝; 改性处理; 功能基团

中图分类号: X172; Q939.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8206 (2013) 05-0035-05

Modification Method of Powdered *Aspergillus niger* in Biosorption of C. I. Direct Blue 199

Shi Jianchen¹, Meng Xuejiao², Zheng Tianling³, Xiong Xiaojing²

(1. Third Institute of Oceanography, State Oceanic Administration, Xiamen Fujian 361005; 2. College of the Environmental and Ecology, Xiamen University, Xiamen Fujian 361005; 3. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen Fujian 361005)

Abstract: The several chemical reagents, such as formic acid and formaldehyde, methanol and hydrochloric acid, acetone, sodium hydroxide, hydrochloric acid, were employed to modify the powdered *Aspergillus niger*, respectively, which was used for biosorption of C. I. Direct Blue 199. The structure and strength changes of functional group at the surface of powdered *Aspergillus niger* before and after modification were analysed by FT-IR spectrum, and the strengthen condition of the functional group was discussed. The results showed that the decolorization efficiency did not changed, when the powdered *Aspergillus niger* were modified by hydrochloric acid and methanol, formaldehyde and formic acid, respectively. Whereas the decolorization efficiency increased significantly by using the powdered *Aspergillus niger* modified by sodium hydroxide, implying that amino, hydroxyl, carboxyl group in the surface of powdered *Aspergillus niger* were involved in biosorption of C. I. Direct Blue 199. The increase in decolorization efficiency was observed when the powdered *Aspergillus niger* were modified by hydrochloric acid, suggesting that the functional group at surface of *Aspergillus niger* exposed increasingly due to the removal of impurity substance at the surface of *Aspergillus niger*.

Key words: *Aspergillus niger* powder; C. I. Direct Blue 199; modification; functional group

黑曲霉作为发酵工业的副产物, 大多数情况下被填充土地或焚化丢弃。由于黑曲霉具有来源广泛和培养成本低廉的特点, 为了达到以废治废的目的, 黑曲霉菌粉可作为制备生物吸附剂的原料, 用于吸附处理染料和重金属。然而, 如何提高黑曲霉对污染物的吸附性能已成为环保技术研究的热点^[1-3]。

张惠等^[4]发现经稀盐酸浸泡处理的曲霉菌 *Aspergillus sp.* 对 Cr⁶⁺ 的吸附容量提高了 7.0%。R. Patel 等^[5]采用高压灭菌、HCl 和 NaOH 浸泡处理 *Aspergillus foetidus*, 发现经 0.1 mol NaOH 处理的菌体对 Reactive Black 5 的脱色效果最佳。M. Y. Arica 等^[6]利用加热、HCl 与 NaOH 浸泡等处

理白腐真菌 *Lentinus sajor-caju*, 发现经热处理后对 Reactive Red-120 的吸附容量上升了 55.0%。G. Bayramoğlu 等^[7]采用真菌 *Trametes versicolor* 吸附处理染料 Direct Blue 1 和 Direct Red 128, 发现经加热处理的吸附剂的吸附容量分别提高了 50% 和 20%。

本研究分别采用甲酸+甲醛浸泡、甲醇+盐酸浸泡、丙酮浸泡、氢氧化钠浸泡、盐酸浸泡处理等方法对黑曲霉菌粉进行改性, 通过傅里叶红外光谱仪观察各种浸泡处理的黑曲霉菌粉表面功能基团的结构及强度变化, 同时考察各种改性处理的黑曲霉菌粉对直接耐晒翠蓝染料吸附处理效果, 探讨提高黑曲霉菌粉吸附染料性能的改性方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1) 菌种: 黑曲霉 *Aspergillus niger* (ACCC

* 基金项目: 福建省重大专项研究项目 (2005YZ1023);
厦门市科技计划项目 (3502Z20083001)

收稿日期: 2013-06-14

30134) 取自厦门大学生命科学学院环境与应用微生物研究所, 于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下冻存在甘油中。

2) 染料: 工业级酞菁类染料, 主要成分为 C. I. Direct Blue 199 (直接耐晒翠蓝, 简称 FBL, 最大波长 $\lambda_{\text{max}}=608\text{ nm}$), 其化学结构式见图 1。

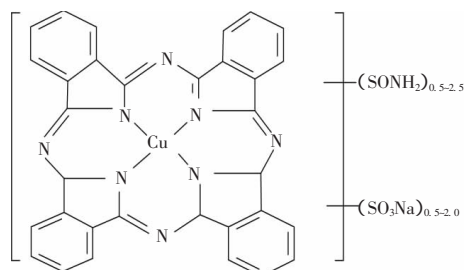


图 1 直接耐晒翠蓝的化学结构式

3) 培养基: 固体培养基为马铃薯浸粉 5.0 g/L , 葡萄糖 20.0 g/L , 琼脂 13.0 g/L , 氯霉素 0.1 g/L 。液体培养基为葡萄糖 10.0 g/L , KH_2PO_4 2.0 g/L , MgSO_4 0.5 g/L , NH_4Cl 0.1 g/L , CaCl_2 0.1 g/L , 硫胺 0.001 g/L 。

4) 染料废水组成: 采用 1 g/L 的 FBL 染料储备液, 通过添加去离子水配制而成 50 mg/L 的染料废水。

1.2 生物吸附剂的制备

1) 菌种的活化: 将冻存的菌种自冰箱中取出后, 将其转接于新鲜的 PDA 斜面培养基上, 在 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下恒温静置培养 3~5 d, 完成活化。

2) 黑曲霉菌丝球的制备: 于活化斜面加入 10 mL 无菌水, 用接种环刮下孢子, 经 4 层纱布过滤, 所得菌液倒入已灭菌的装有 30 mL 无菌水和玻璃珠的 250 mL 锥形瓶中, 180 r/min 下振荡至镜检为分散单孢子, 即得到单孢子悬液。用血球计数板对其计数, 用无菌水调节孢子悬液浓度至 10^7 个/mL, 接种于灭过菌的液体培养基中, 使其孢子浓度为 10^6 个/mL, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 150 r/min 下恒温培养 72 h , 即得到黑曲霉菌丝球。

3) 生物吸附剂的制备: 将黑曲霉菌丝球, 于 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 30 min , 用 4 层纱布过滤得到失活的黑曲霉菌丝球。用去离子水反复冲洗菌丝球数次直至冲洗液的 pH 为中性, 再于 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下烘干至衡重, 粉碎后过 100 目筛, 即得到黑曲霉死菌粉生物吸附剂。

1.3 生物吸附剂表面基团的强化处理

分别采用以下 5 种方法对黑曲霉菌粉表面功能基团进行处理: ①羧基的酯化处理。准确称取 2.00 g 死菌粉剂移入装有 130 mL 甲醇和 1.2 mL

浓盐酸的 500 mL 锥形瓶中, 于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 150 r/min 振荡 6 h 。②氨基的甲基化处理。准确称取 2.00 g 死菌粉剂移入装有 40 mL 甲醛和 80 mL 甲酸的 500 mL 锥形瓶中, 于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 150 r/min 振荡 6 h 。③酸处理。准确称取 2.00 g 死菌粉剂移入装有 120 mL $1\%\text{ HCl}$ 的 500 mL 锥形瓶中, 于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 150 r/min 振荡 6 h 。④碱处理。准确称取 2.00 g 死菌粉剂加到 500 mL 锥形瓶中, 再移入 0.1 mol/L NaOH 的 120 mL , 于 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 150 r/min 振荡 6 h 。⑤脂质去除处理。准确称取 2.00 g 死菌粉剂移入装有 120 mL 丙酮的 500 mL 锥形瓶中, $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 6 h 。

由 5 种方法获得的混合液, 均经 8000 r/min 离心 10 min 进行固液分离, 用大量去离子水反复充分洗涤修饰后生物吸附剂至洗涤液 pH 显示为中性后, 将其置于 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘干至衡重, 经粉碎机粉碎后过 100 目筛, 装瓶备用。

分别取经上述方法处理后的菌粉, 于 pH 为 3、染料初浓度为 50 mg/L 、菌粉投加量为 6 g/L 、 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下 150 r/min 振荡 240 min 后, 混合液经 8000 r/min 离心 15 min 进行固液分离, 取上清液在染料特征波长处测定吸光度。测定经过各种强化处理后, 生物吸附剂对 FBL 脱色效果。

1.4 分析方法

1) 红外法: 将浸泡处理前后的生物吸附剂烘干, 与预先烘干的 KBr 粉末混匀, 在玛瑙研钵中充分研磨, 压片制样后放入样品室, 采用傅里叶红外光谱仪 (FT-IR) 在相同的扫描频率下测定红外吸收光谱图。通过观察各种浸泡处理的黑曲霉菌粉表面功能基团的结构及强度变化, 探讨功能基团强化操作条件。

2) 吸附效果的确定: 水样在染料特征波长 608 nm 处, 以去离子水为参比, 测定吸光度。对照吸光度-染料浓度的标准曲线即可得出溶液中染料浓度, 脱色率 φ 由下式算出:

$$\text{脱色率 } (\%) = \frac{(C_0 - C_e)}{C_0} \times 100\%$$

式中: C_0 为染料溶液初始浓度 (mg/L); C_e 为达到平衡后溶液中染料浓度 (mg/L)。

2 结果与讨论

2.1 原生黑曲霉菌粉的红外光谱图

为了确定黑曲霉菌粉处理 FBL 过程中的功能基团, 采用 FT-IR 红外光谱仪测定黑曲霉菌粉的吸收谱图 (见图 2), 通过对比分析初步判断功能基团的属性。

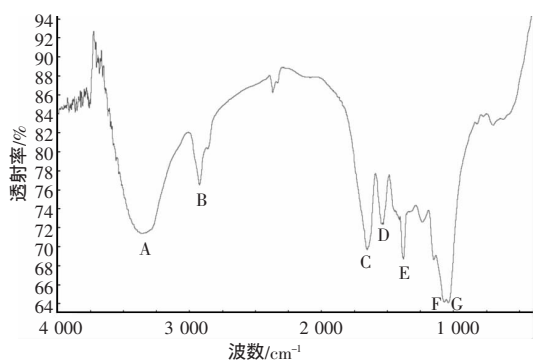


图 2 原生黑曲霉菌粉的红外吸收光谱图

由图 2 看出, 原生黑曲霉菌粉的红外吸收光谱图上出现了一系列的特征吸收峰。在 3 350 cm⁻¹ 处的峰 A 可认为是羟基—OH 或伯酰胺—NH₂ 的反对称伸缩振动; 在低于 2 900 cm⁻¹ 处的峰 B 可认为是—CH 基团的伸缩振动; 在 1 650 cm⁻¹ 处的峰 C 与 1 550 cm⁻¹ 处的峰 D 均由仲酰胺 N 上连接电子基引起, 前者是由—COO⁻ 或—C=O 伸缩振动引起, 后者则由—CONH—的—NH 键弯曲振动和—CN 键伸缩振动引起; 在 1 377 cm⁻¹ 处的峰 E 表明胺类的存在; 在 1 078 cm⁻¹ 与 1 040 cm⁻¹ 处的峰 F 和 G 分别表明—CN 和—C—OH 基团的存在。表 1 所示为原生黑曲霉菌粉的特征峰及对应的功能基团^[8-9]。

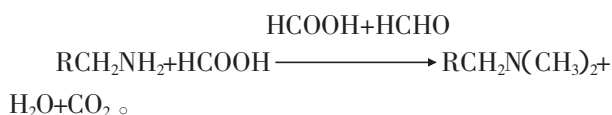
表 1 原生黑曲霉菌粉的 FT-IR 特征吸附峰及相关的功能基团

波数/cm ⁻¹	功能基团
3 350 (A)	—OH, —NH ₂
2 900 (B)	—CH
1 650 (C)	—COO ⁻ , —C=O
1 550 (D)	—NH, —CN
1 377 (E)	—NH _n
1 078 (F)	—CN
1 040 (G)	—C—OH

2.2 黑曲霉菌粉浸泡处理的红外光谱图比较

2.2.1 甲酸+甲醛浸泡处理

该浸泡处理目的在于将黑曲霉菌粉表面的氨基官能团甲基化^[10-11]:



由图 3 看出, 经浸泡处理后, 表示伯酰胺—NH₂ 的峰 A 以及表示胺类的峰 D 强度均有所降低, 而表示—COO⁻ 的峰 C 及—NH 的峰 D 均有一定程度的增强。在 1 748 cm⁻¹ 处出现的新峰强度较弱, 表示有少量甲酸残留, 说明即使使用大量去离子水冲洗, 仍有少量甲酸保留在黑曲霉菌粉表面上。

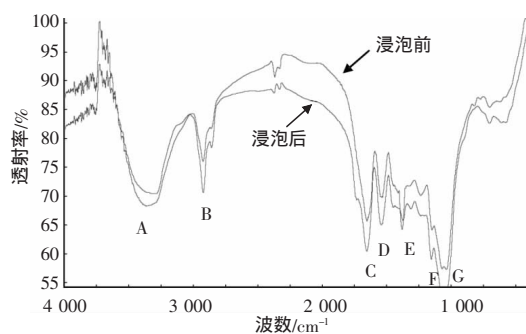


图 3 甲酸+甲醛浸泡处理前后的黑曲霉菌粉红外光谱图

2.2.2 甲醇+盐酸浸泡处理

该处理方法目的在于使生物吸附剂表面的羧基酯化^[11-12]:



由图 4 可知, 经过酯化处理, 峰 C 有一定程度的增强, 意味着新生成的酯类加强了该峰, 因此该峰表明了—COO⁻ 的存在。

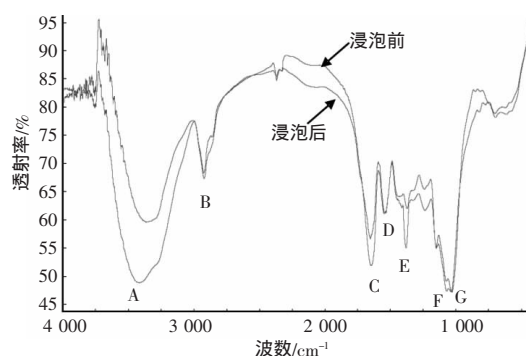


图 4 甲醇+盐酸浸泡处理前后的黑曲霉菌粉红外光谱图

2.2.3 丙酮浸泡处理

该处理作用是用有机溶剂脱除生物吸附剂表面脂质, 提取细胞壁, 使得单位质量的吸附剂中细胞壁的含量增高。从图 5 看出, 由于黑曲霉细胞壁的主要成分为多糖、蛋白质及类脂, 因此细胞壁的增多会引起—NH₂、—COOH、—CN 等基团的增强^[13], 峰 A、C 均得到一定程度的增强。

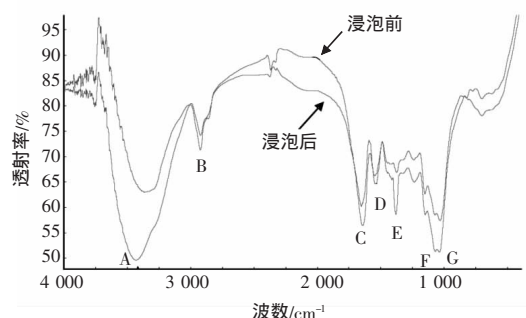


图 5 丙酮浸泡处理前后的黑曲霉菌粉红外光谱图

2.2.4 氢氧化钠浸泡处理

该处理使得生物吸附剂表面的酯基分解成羧基和羟基。由图 6 看出,表示—OH 的峰 A 有较大幅度的增强,同时在 1737 cm^{-1} 处出现了新峰 H,该峰同样代表羟基的存在。

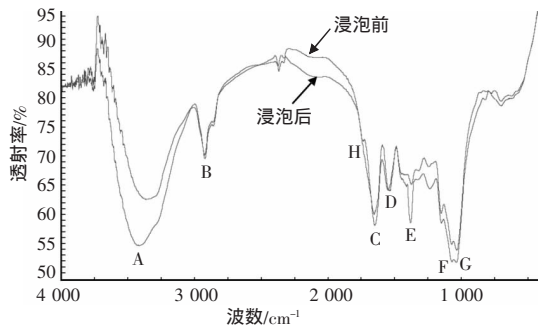


图 6 氢氧化钠浸泡处理前后的黑曲霉菌粉红外光谱图

2.2.5 盐酸处理

该处理作用在于去除黑曲霉菌粉表面杂质,并未在表面基团结构上起作用。由图 7 看出,经盐酸去除表面杂质后,吸附剂表面的—CH、—OH、—COO—等基团均凸显出来,峰 A、B、C 均有一定的增强。

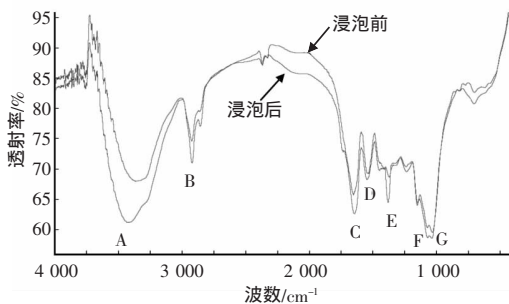


图 7 盐酸处理前后的黑曲霉菌粉红外光谱图

2.3 浸泡处理对脱色率的影响

图 8 反映出不同的浸泡处理方法对 FBL 脱色效果的影响。可以看出,黑曲霉菌粉经丙酮处理,能对黑曲霉的细胞壁浓缩提取,使得吸附剂中细胞壁的含量增高,吸附脱色效果增大 8%。用盐酸+甲醇对黑曲霉菌粉酯化处理,细胞壁上的羧基将会被掩蔽,与原生菌粉相比脱色率下降 7.6%,说明了羧基在黑曲霉吸附 FBL 过程中起着重要的作用。用甲酸和甲醛处理后,黑曲霉细胞壁上的氨基(—NH₂)被甲基替代,脱色率降低了 3%,说明在黑曲霉菌粉吸附 FBL 分子时,氨基与 FBL 分子的络合参与了吸附反应。在碱性条件下,有机化合物中的酰胺键及酯键发生水解,水解出氨基、羟基和羧基等,黑曲霉菌粉经氢氧化钠水解后,吸附能力提高了 14.2%,说

明在黑曲霉菌粉吸附 FBL 过程中,有氨基、羟基、羧基的参与。经盐酸改性处理后的黑曲霉菌粉表面杂质得到了去除,使菌体表面的氨基、羧基等基团显现出来,使脱色率提高了 15%^[8,14-15]。

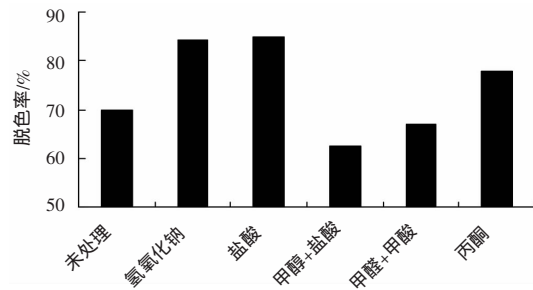


图 8 浸泡处理对脱色效果的影响

3 结论

- 1) 黑曲霉菌粉经丙酮处理,使得吸附剂中细胞壁的含量增高,对 FBL 吸附能力有所提高。
- 2) 盐酸+甲醇的酯化处理以及甲酸和甲醛的甲基化处理,使黑曲霉菌粉表面氨基、羧基等功能基团被掩蔽,对 FBL 吸附能力降低。
- 3) 黑曲霉菌粉经氢氧化钠浸泡处理后,脱色率提高了 14.2%,说明氨基、羟基、羧基等功能基团对黑曲霉吸附 FBL 贡献较大。
- 4) 经盐酸浸泡处理后的黑曲霉菌粉表面杂质得到去除,使菌体表面的氨基、羧基等基团显现出来,脱色能力提高了 15%。

参考文献

- [1] 王建龙. 生物固定化技术与水污染控制[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [2] 刘恢. 改性活性污泥处理含铬废水的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2004.
- [3] Aksu Z, Tezer S. Biosorption of Reactive Dyes on the Green Alga *Chlorella vulgaris*[J]. Process Biochem, 2005, 40 (3/4): 1347-1361.
- [4] 张慧, 戴友芝, 唐受印. 曲霉菌体吸附水中六价铬的研究[J]. 工业用水与废水, 2005, 36 (2): 37-39.
- [5] Patel R, Suresh S. Kinetic and Equilibrium Studies on the Biosorption of Reactive Black 5 Dye by *Aspergillus foetidus*[J]. Bioresour Technol, 2008, 99 (1): 51-58.
- [6] Arica M Y, Bayramo lu G. Biosorption of Reactive Red-120 Dye from Aqueous Solution by Native and Modified Fungus Biomass Preparations of *Lentinus Sejor-caju*[J]. J Hazard Mater, 2007, 149 (2): 499-507.
- [7] Bayramo lu G, Arica M Y. Biosorption of Benzidine Based Textile Dyes "Direct Blue 1 and Direct Red 128" Using Native and Heat-treated Biomass of *Trametes versicolor*[J]. J Hazard Mater, 2007, 143 (1/2): 135-143.
- [8] Yuan H P, Zhang J H, Lu Z M, et al. Studies on Biosorption Equilibrium and Kinetics of Cd²⁺ by *Streptomyces* sp. K33 and HL-12[J]. J Hazard Mater, 2009, 164 (2/3): 423-431.
- [9] Wang X S, Tang Y P, Tao S R. Kinetics, Equilibrium and Thermodynamic Study on Removal of Cr(VI) from Aqueous Solutions Using Low-cost Adsorbent *Alligator weed*[J]. Chem Eng J, 2009, 148: 217-225.
- [10] 陈桂淋, 辛宝平, 郑文钊, 等. 黑曲霉吸附弱酸性艳蓝 RAWL 机理研究

(下转第 40 页)

铬渣最终球磨粒度约 200 目。在湿式球磨完成后,物料通过泥浆泵输送至酸浸/还原反应罐,在强烈搅拌的条件下每吨铬渣加入 0.03 t 固态焦亚硫酸钠,然后再缓慢加入工业用浓硫酸(浓度 93%),根据铬渣的物理化学性质,浓硫酸加入量控制在每吨铬渣约 0.53 t。这样可以保证酸略微过量,确保酸溶性六价铬的浸出和还原。

根据铬渣含量计算,硫酸亚铁($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)加入量为每吨铬渣 0.09 t,并适当加入水,调整液固比为 2:1。

酸浸/还原时间控制在 11 h 以上,反应完成后将石灰乳加入反应罐中进行中和固化反应,反应控制在 2 h 以上,完成后浆液经压滤泵送入板框过滤器。经板框过滤后,液相进入循环水池,固相物料用装载机送入解毒铬渣暂存场,之后进行填埋处理。

其工艺流程见图 1。

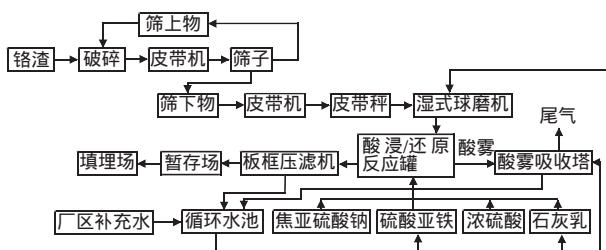


图 1 铬渣解毒工艺流程

3.3.2 系统设备

1) 设备选择:在铬渣粉碎处理单元多数为处理固体粒料或粉料设备,属于专用设备。而在还原生产过程中由于硫酸的存在,有强腐蚀性,所以反应罐材质选用碳钢防腐,部分泵类材质选用工程塑料,部分贮罐类采用玻璃钢材质。酸浸/还原反应罐为还原反应的关键设备,搅拌转速为 50 r/min。为了防止硫酸腐蚀和固体颗粒磨蚀,设备材质选用碳钢防腐。

2) 设备控制方式:为了保证系统的正常运行和降低操作工人的劳动强度,本系统采用现场控制方式达到安全生产——本系统具有过流、过载和误操作等安全保护装置,当设备出现异常时,系统切断用电设备的电源,同时发出报警信号,待异常解除后,系统方可重新启动运行。

4 铬渣解毒效果

根据《铬渣污染治理环境保护技术规范》,处理后铬渣按一般工业固废填埋标准进行填埋,解毒铬渣的控制要求为总铬 ≤ 9.0 mg/L、六价铬 ≤ 3.0 mg/L。其检测结果见表 2。

表 2 解毒后废渣测试结果

样品号	Cr/(mg/L)	Cr ⁶⁺ /(mg/L)
20101123	0.56	<0.01
20101130	0.60	0.06
20101207	0.49	0.03
20110129	0.94	0.91

5 结论

采用湿法解毒工艺将铬渣用浓硫酸和还原剂进行处理,使水溶性和酸溶性六价铬全部浸出并彻底还原,可以避免“返黄”出现,可彻底消除历史遗留堆存的铬渣对当地的影响,实现有毒铬渣的无害化。

参考文献

- [1] 石磊,赵由才,牛冬杰. 铬渣的无害化处理和综合利用[J]. 再生资源研究, 2004 (6): 34-39.
- [2] 石玉敏,朱志宏. 固相还原法处理铬渣的研究及工业应用[J]. 耐火材料, 2005, 39 (4): 288-291.
- [3] 纪柱. 铬渣长期堆存后的组成变化及对治理的影响[J]. 无机盐工业, 2006, 38 (9): 8-12.
- [4] 王彦君,朱军,刘漫. 铬渣无害化综合利用的实践[J]. 甘肃冶金, 2008, 30 (1): 60-61.

作者简介:张淑玲(1980—),工程师,主要从事工业废物处理与利用设计。

(责任编辑:郑雯)

(上接第 38 页)

究[J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13 (3): 353-356.

[11] Fu Y Z, Viraraghavan T. Dye Biosorption Sites in *Aspergillus niger*[J]. Bioresour Technol, 2002, 82 (2): 139-145.

[12] 韩润平,李建军,杨贯羽,等. 化学修饰与酵母菌对铅离子的吸附研究[J]. 郑州大学学报:自然科学版, 2000, 32 (3): 72-75.

[13] Ashkenazy R, Yammal S. Characterization of Acetone washed Yeast Biomass Functional Groups Involved in Lead Biosorption[J]. Biotechnol Bioeng, 1997, 55 (1): 1-10.

[14] Fu Y Z. Removal of Congo Red from an Aqueous Solution by Fungus *Aspergillus niger*[J]. Adv Environ Res, 2002, 7: 239-247.

[15] Khambhaty Y, Mody K, Basha S, et al. Kinetics, Equilibrium and Thermodynamic Studies on Biosorption of Hexavalent Chromium by Dead Fungal Biomass of Marine *Aspergillus niger*[J]. Chem Eng J, 2009, 145 (3): 489-495.

作者简介:施建臣(1970—),高级工程师,硕士学位,环境工程专业,主要从事水污染控制工程研究。

E-mail: xmsjhc@126.com.

(责任编辑:刘冬梅)