

## 脱水污泥中脱色偶氮染料功能菌群的驯化分离

解井坤 朱超 花莉\*

(陕西科技大学 资源与环境学院 陕西 西安 710021)

**摘要:**【目的】获得降解混合偶氮染料的高效降解菌,应用于印染行业偶氮染料废水的生物处理和资源化。【方法】以某污水处理厂的脱水污泥作为分离源,经偶氮染料废水驯化后,分离筛选出9株偶氮染料脱色株(命名为T-1–T-9),通过形态观察、生理特征及基于16S rRNA基因序列的分子生物学鉴定,初步认定分离株分属于芽孢杆菌属(*Bacillus*)、微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、寡单胞菌属(*Stenotrophomonas*)和副球菌属(*Paracoccus*)。【结果】所得分离株纯培养均可不同程度地脱色单一偶氮染料和混合偶氮染料,其中T-8对甲基橙和金橙I的脱色速率最大,40 h的脱色率分别为85.9%和86.2%,T-8菌株干粉也可在无外源碳源的条件下完全脱色金橙I。分离株混合培养脱色混合偶氮染料的效率明显高于纯培养,可达90.1%。【结论】脱水污泥作为脱色偶氮染料功能菌群的新来源具有良好的应用价值。

**关键词:** 偶氮染料, 脱水污泥, 脱色, 芽孢杆菌属, 单胞菌属

## The function flora of decolorizing azo dyes acclimated and separated from dewatered sludge

XIE Jing-Kun ZHU Chao HUA Li\*

(College of Resources and Environment, Shaanxi University of Science &amp; Technology, Xi'an, Shaanxi 710021, China)

**Abstract:** [Objectives] To screen effective bacterial strains capable of decolorizing azo dyes containing wastewater from dewatered sludge. [Methods] Nine bacterial strains (named T-1–T-9) capable of decolorizing mixed azo dyes were isolated from the dewatered sludge in municipal wastewater treatment system after proper acclimation. Physiological and biochemical tests and 16S rRNA gene based bio-molecular identification were adopted to identify the isolates. Decolorization performances of pure cultures and mixed cultures of the isolates were determined and compared. Isolated strain T-8 was used to prepare dry powder and consequent determination of decolorization performance. [Results] Nine isolates belong to *Bacillus* sp., *Exiguobacterium* sp., *Stenotrophomonas* sp. and *Paracoccus* sp. according to preliminarily identification. The structure and concentration of azo dyes had a certain impact on the decolorization efficiency during domestication. T-8 had the best decolorization rate 85.9% for methyl orange and 86.2% for golden orange I in 40 h. The dry powder of T-8 was equally active to its origin isolate, which is confirmed by complete decolorization of

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 41003042); 陕西省教育厅专项科研计划项目(No. 2013JK072); 陕西科技大学博士科研启动基金项目(No. BJ12-29); 陕西省科技统筹创新项目(省科技厅)(No. 2013KTCL14)

\*通讯作者: ✉: xiejingfei1989@yeah.net

收稿日期: 2014-04-02; 接受日期: 2014-05-09; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2014-06-12

golden orange I in 4 days without external carbon resource. Mixed culture of all isolates was obviously better in the decolorization (90.1%) of mixed zao dyes than pure culture did. **[Conclusion]** This study suggests that, as a new source for the functional flora of decolorizing azo dyes, the dewatered sludge and its isolates are of great value in zao dye containing wastewater.

**Keywords:** Azo dyes, Dewatered sludge, Decolorization, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*

偶氮染料由于其结构和颜色多样而成为应用最为广泛的染料, 每年的产量占所有染料的 70%, 广泛应用于印染、皮革、食品等行业<sup>[1]</sup>。含有偶氮染料的废水排入水环境会使光线透过率降低, 影响光合作用, 破坏生态系统平衡, 同时其代谢降解会消耗水中的溶解氧从而威胁水生生物的生存<sup>[2]</sup>。合成的偶氮染料往往具有毒性、致癌性和致突变性, 而且许多研究表明偶氮染料对多种植物的种子萌发率和生长速率产生负面影响<sup>[3]</sup>。偶氮染料由于结构稳定, 具有抗碱、抗酸、抗微生物、抗光等特性, 可以长时间滞留在环境中, 因此具有长期潜在危害。

国内外常用的处理偶氮染料废水的方法可以分为三类: 物理法、化学法和生物法。生物法由于具有成本低、污泥产量低以及环境友好等优势而成为广泛研究的热点。偶氮染料在厌氧或缺氧条件下首先被微生物还原成芳香胺类物质, 进而在好氧条件下矿化为 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sup>[4]</sup>。目前具有脱色偶氮染料特性的微生物已被大量分离出来, 其中包括藻类、真菌、酵母菌、植物以及细菌, 并对它们脱色偶氮

染料的特性进行了大量的研究, 然而脱色偶氮染料的微生物大都分离自活性污泥。脱水污泥由于环境水活度比正常活性污泥低, 且往往含有重金属, 因此其所含的微生物往往能够抵抗恶劣环境, 如高温、高盐度、高浓度重金属等; 而且污泥在脱水过程中会加入聚丙烯酰胺类的絮凝剂, 使得脱水污泥中的菌群可能具有降解有机聚合高分子的潜力。因此以脱水污泥为分离源筛选具有脱色偶氮染料的功能菌群具有一定的应用价值。目前针对脱水污泥中微生物脱色偶氮染料的研究鲜有报道, 因此本研究采用脱水污泥作为一种新的脱色偶氮染料的菌群分离源, 筛选具有脱色偶氮染料的功能菌。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所用偶氮染料购自上海国药集团化学试剂有限公司, 其结构和最大波长如表 1 所示, 生物化学试剂(DNA 提取试剂盒、回收试剂盒等)购自康为世纪生物科技有限公司, 其他化学试剂均为

表 1 偶氮染料结构式和最大吸收波长					
Table 1 The structure and maximum absorption wavelength of the azo dyes					
染料名称 Dyes name	分子结构式 Molecular structure	$\lambda_{\max}$ (nm)	染料名称 Dyes name	分子结构式 Molecular structure	$\lambda_{\max}$ (nm)
甲基橙 Methyl orange		484	茜黄素 R 钠盐 Alizarin yellow R sodium salt		424
金橙 I Golden orange I		484	胖黄 Lemon yellow		458
橙黄 G Orange G		480			

分析纯。染料驯化培养液(g/L): 无水  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  5.0,  $\text{CaCO}_3$  2.5, 微晶纤维素 7.0, 染料 0.1。当考察染料浓度影响时, 甲基橙浓度为 100.0、200.0、300.0 和 400.0 mg/L。分离培养基即 LB 培养基(g/L): 蛋白胨 10.0, 酵母膏 10.0, NaCl 5.0, pH 7.0, 琼脂粉 15.0 (固体培养基); 染料培养基即在分离培养基中加入 100.0 mg/L 的偶氮染料。脱水污泥取自西安市第五污水处理厂, 实验前去除其所含的石子和植物根茎等杂物。

## 1.2 驯化脱色试验

采取序批式间歇补料运行方式, 利用脱水污泥对甲基橙、金橙 I 和橙黄 G 进行脱色驯化, 待染料脱色完全将上清液倒掉加入新的染料驯化培养液进行新一轮驯化, 定时取其上清液 2 mL 在 8 000 r/min 条件下离心, 取离心后上清液 1 mL 稀释 3 倍, 在 200–800 nm 范围内进行波长扫描。反应器为模拟的 Winogradsky 柱(图 1), 即高 99.0 cm、直径为 5.0 cm、厚度为 1.0 cm 的有机玻璃柱。

## 1.3 菌株的分离实验

用无菌移液管吸取 10 mL 驯化污泥置于 90 mL 无菌水中(内含玻璃珠), 移液管吹洗 3 次, 摇动 10 min 混合均匀, 即为  $10^{-1}$  浓度混合液, 取  $10^{-1}$  浓度的菌液 1 mL 于 9 mL 无菌水中, 移液管吹洗 3 次, 摇匀, 即为  $10^{-2}$  浓度菌液。同法依次稀释到  $10^{-8}$ 。从稀释倍数为  $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$ 、 $10^{-8}$  的试管中分别取 0.5 mL 菌液涂布于固体分离培养基中, 35 °C 恒温培养 24 h, 部分菌落照片见图 2。选取不同形

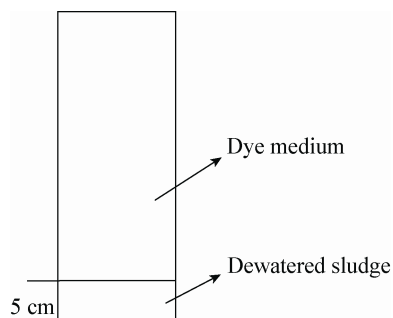


图 1 模拟 Winogradsky 柱示意图

Figure 1 Sketch of Winogradsky column



图 2 驯化分离所得部分菌落

Figure 2 Partial isolated colonies after acclimation

态的单一菌落分别接种至液体分离培养基中, 30 °C 振荡培养 12 h 进行扩大培养和纯化培养, 培养后的菌液在固体分离培养基上进行划线操作以获取纯种单一菌落, 用于染料培养基的脱色实验。

## 1.4 菌株的鉴定

菌株的形态及生理生化特性测定参照文献[5]进行。菌株基因组 DNA 使用试剂盒进行提取, 以菌株的基因组作为模板, 利用细菌通用引物对 27F/1492R 进行 16S rRNA 基因的扩增。25  $\mu\text{L}$  体系为: 模板 1  $\mu\text{L}$ , 混合液 12.5  $\mu\text{L}$  2 $\times$ Taq Plus PCR Master Mix, 无菌水 9.5  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O, 引物 (27F/1492R, 100  $\mu\text{mol/L}$ ) 各 1  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件: 95 °C 5 min; 94 °C 1 min, 60 °C 45 s, 72 °C 1 min, 25 个循环; 72 °C 1 min。采用 PCR 产物回收试剂盒回收扩增片段, 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物的大小后, 将其 TA 克隆并测序, 将测序后的 16S rRNA 基因序列结果与 GenBank 上的相关 16S rRNA 基因序列进行相似性比对分析, 采用 ClustalX 和 MEGA 5.1 软件进行系统进化树的构建。

## 1.5 纯培养脱色实验

在无菌操作条件下, 将分离的纯种菌落分别接种至 30 mL 液体培养基, 30 °C 振荡培养 12 h 进行增殖( $OD_{600}$  为 0.6 左右), 分别取各纯种菌落的增殖培养液 3 mL, 无菌操作接种至 150 mL 染料培养基中, 30 °C 振荡培养, 定时取 2 mL 培养液 10 000 r/min 离心 5 min, 取离心后的上清液 1 mL 稀释 6 倍, 在偶氮染料的最大吸收波长处测定吸光度。本研究脱色率按下式计算:

$$D_E (\%) = (A_0 - A_t) / A_0 \times 100$$

式中:  $D_E$  为脱色率,  $A_0$  为初始吸光度,  $A_t$  为  $t$  时刻的吸光度。

### 1.6 混合培养的脱色实验

在无菌操作条件下, 将分离的所有菌株接种于 30 mL 液体培养基中增殖培养 12 h (30 °C, 130 r/min) 然后取 3 mL 扩大培养液接种于 150 mL 含有混合染料的 LB 培养基中, 按照 1.5 中的描述进行混合培养脱色效果实验。其中混合染料包括甲基橙、金橙 I、橙黄 G、胍黄、茜黄素 R 钠盐。

### 1.7 菌粉的制作和脱色检验

将保存的 T-8 菌株接种至含有 30 mL LB 培养基的三角瓶中, 30 °C、130 r/min 振荡培养 12 h, 扩大培养后取 10 mL 接种至 500 mL 的 LB 培养基中, 30 °C、130 r/min 振荡培养 24 h。然后将菌液多次离心(4 °C, 5 000 r/min)去上清液收集菌体, 将菌体置于真空干燥箱中于室温抽真空-760 mmHg, 干燥 5 d 后放于通风处自然风干。自然风干后将其溶于 20 mL 生理盐水中, 混匀后取 2 mL 加入含有 8 mL 金橙 I (100 mg/L) 的试管中, 对照组加入 2 mL 的生理盐水, 30 °C 静置观察其脱色性能。

## 2 结果与分析

### 2.1 脱水污泥的驯化脱色

本研究分别考察了脱水污泥对甲基橙、金橙 I、橙黄 G 的脱色, 染料浓度均为 100 mg/L。在第一次驯化脱色过程中, 甲基橙的脱色速率最快, 24 h 的脱色率达 81.2%。金橙 I 次之, 24 h 的脱色率为 42.1%, 48 h 的脱色率达 85.5%。橙黄 G 的脱色速率最慢, 5 d 的脱色速率为 39.1%, 驯化 10 d 后达 90.8%。如图 3 所示, 在第二次驯化过程中, 偶氮染料脱色速率的大小顺序仍为: 甲基橙>金橙 I>橙黄 G (数据未列出), 其各自的脱色速率都较第一次驯化有所提高, 表明污泥中的微生物得到了驯化并表现出良好的脱色性能。随着染料浓度的增加, 脱色速率呈下降趋势, 这可能是由于较高的染料浓度对微生物产生毒害作用从而使生物量减少, 另外还

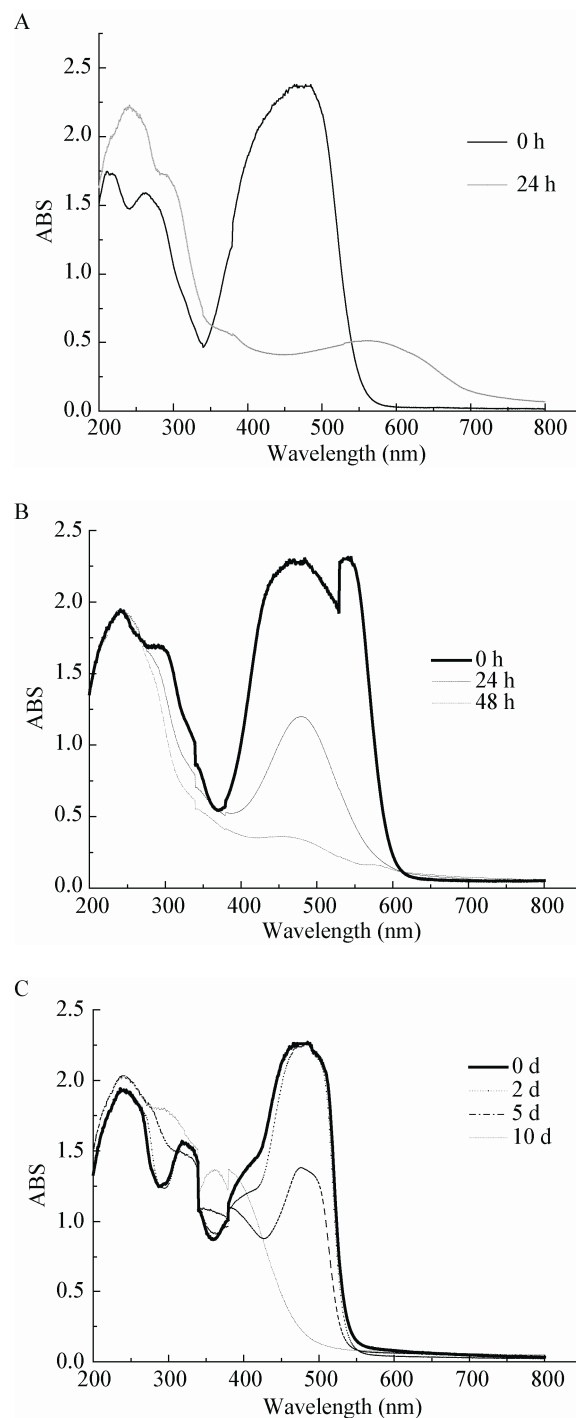


图3 驯化期间脱水污泥对染料的脱色

Figure 3 The azo dyes decolorization by dewatered sludge during acclimation

注: A: 甲基橙(100 mg/L); B: 金橙 I (100 mg/L); C: 橙黄 G (100 mg/L).

Note: A: Methyl orange (100 mg/L); B: Golden orange I (100 mg/L); C: Orange G (100 mg/L).

会造成偶氮还原酶活性位点的堵塞不利于偶氮染料的脱色降解<sup>[6]</sup>。然而总体脱色率并未受影响,甲基橙 100、200、300 mg/L 分别在 36、48、72 h 的脱色率达到 95%以上,甲基橙 400 mg/L 在 72 h 的脱色率也达到了 85% (图 4),说明在驯化过程中,偶氮染料作为选择压力作用于脱水污泥,而脱水污泥以其微生物的多样性和适应性去适应驯化条件,与此同时脱水污泥中具有特定代谢功能、更能适应染料废水环境的种群迅速增长为优势种群<sup>[7]</sup>,说明来自脱水污泥的菌群具有较强的抗逆性和环境适应性。

2.2 菌株的分离与鉴定

本研究共分离得到 9 株分离株,分别命名为 T-1、T-2、T-3、T-4、T-5、T-6、T-7、T-8 和 T-9,其形态和生理表征见表 2、3。

基于 9 种菌株的 16S rRNA 基因序列分析构建了系统发育树(图 5),结果表明菌株 T-1 与 *Bacillus aerophilus* strain KG-J-2 高度同源,序列相似度达 97%; T-3 与 *Exiguobacterium aestuarii* strain YS-6 的序列相似度为 90%; T-4 与 *Paracoccus versutus* strain NMD-4 高度同源,序列相似度为 99%; T-6

与 *Pseudomonas geniculate* strain ka38 以及 *Stenotrophomonas maltophilia* strain YLZZ-2 高度同源,序列相似度达 96%; T-7 与 *Bacillus cereus* strain BVC79 高度同源,序列相似度达 99%; T-8 与 *Stenotrophomonas maltophilia* strain T-11 高度同源,序列相似度达 99%; T-9 与 *Pseudomonas*

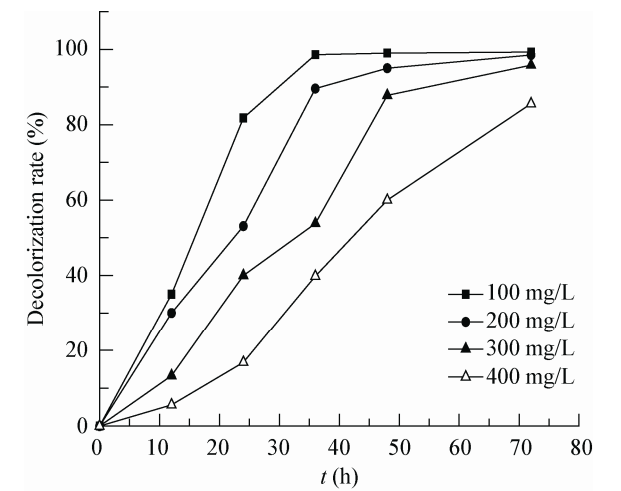


图 4 浓度对脱水污泥脱色甲基橙的影响  
Figure 4 The effect of the concentration on the decolorization of methyl orange by the dewatered sludge

表 2 分离株的群落特征观察 Table 2 Characteristic description of isolated strain										
菌落号 Number of colonies	湿 Wet		干 Dry		菌落描述 Description of colonies					
	厚薄 Thick thin	大小 Size	松密 Loose close	大小 Size	表面 Surface	边缘 Edge	隆起 形状 Uplift shape	颜色 Color		透明度 Transparency
								正面反面颜色差 Color difference between up and down	水溶性色素 Pigment	
T-1	稍厚	较大			粗糙	波状	卷发状	一般不同	粉红	—
T-2	薄	较小			光滑	整齐	扁平	一般不同	红色	—
T-3	薄	较小			光滑	整齐	扁平	一般不同	白色	—
T-4	稍厚	较小			光滑	整齐	低凸	相同	无	稍透明
T-5			松	大	粗糙	圆锯齿	低凸	相同	无	—
T-6	稍厚	较小			光滑	整齐	乳头状	一般不同	黄色	—
T-7	稍厚	较小			光滑	锯齿	台状	相同	无	稍透明
T-8	薄	较小			光滑	整齐	扁平	一般不同	淡黄色	—
T-9	薄	较大			光滑	不规则	扁平	一般不同	白色	—



表 3 分离株生理生化特性										
Table 3 Physiological-biochemical characteristic of isolated strains										
项目 Items	结果 Results									
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5	T-6	T-7	T-8	T-9	
革兰氏染色 Gram stain	+	—	+	—	+	—	+	—	—	
过氧化氢酶 Catalase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
硝酸盐还原 Nitrate reduction	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
淀粉水解 Starch hydrolysis	+	+	—	—	+	+	+	—	—	
液化明胶 Liquefaction of gelatin	+	+	+	—	+	+	+	+	+	
脲酶 Urease	—	+	+	+	—	+	—	—	—	
精氨酸水解酶 Arginine hydrolase	—	—	+	+	—	+	—	+	+	
精氨酸脱羧酶 Arginine decarboxylase	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
柠檬酸盐 Citrate	+	+	+	+	+	+	+	—	—	
45 °C 生长 45 °C growth	—	—	+	—	—	—	—	—	—	

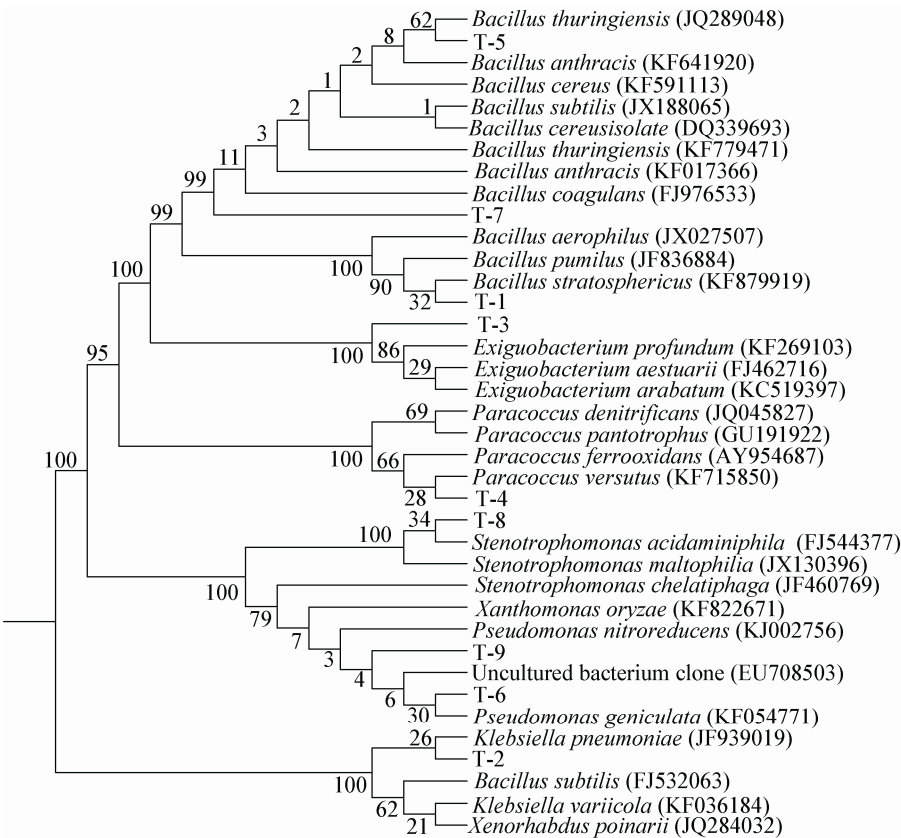


图 5 通过分离菌株的 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

Figure 5 Phylogenetic tree derived from 16S rRNA gene sequence of bacterial isolates

*nitroreducens* strain LH-3 以及 *Stenotrophomonas chelatiphaga* strain ka32 高度同源, 序列相似度为 99%。综合生理形态分析表明, 本研究所得分离株主要为分布于厚壁菌门和变性菌门的芽孢杆菌属、寡养单胞菌属、副球菌属和假单胞菌属。T-5 与芽孢杆菌属的相似度只有 83%。因为驯化条件下微生物的适应性变化包括表型适应性(不改变种群基因类型, 仅依靠细胞形态或生理变化去适应驯化条件), 以及进化性适应(即在驯化压力下, 微生物的基因类型发生改变出现新的基因类型)<sup>[8]</sup>, 所以 T-5 可能是驯化过程中核糖体核苷酸发生了变异, 但其脱色性能与其他芽孢杆菌属分离株相似。说明经过适当的驯化, 可从脱水污泥的土著菌群中得到功能性更强的变异种群。

### 2.3 分离菌株纯培养对偶氮染料的脱色

分离株纯培养对 3 种偶氮染料的脱色降解效果见图 6。其中 T-8 对甲基橙的脱色速度最快, 脱色率最大(40 h 脱色率达 85.9%), 是脱色降解甲基橙的最优菌株, T-9 在 40 h 的脱色率为 63.8%, T-1、T-3、T-4、T-5、T-7 对甲基橙的脱色率均在 80% 以上。在对金橙 I 的脱色实验中, T-5 和 T-8 的脱色效果最好, 脱色速率最大, 40 h 的脱色率分别为 86.2% 和 80.1%, T-3 对金橙 I 也有一定的脱色能力, 在 40 h 对金橙 I 的脱色率为 71.4%。而其余菌株在 40 h 对金橙 I 的脱色率均小于 55.4%, 脱色效果较差。从图 6C 可知, 9 种菌株对橙黄 G 的脱色效果均较差。脱色效果最好的 T-7 菌株在 160 h 对橙黄 G 的脱色率也只有 35%, 其余菌株的脱色率均小于 30%。从整体效果看, 分离菌株对 3 种染料降解难易顺序为: 橙黄 G>金橙 I>甲基橙。这与驯化时的趋势相符, 说明偶氮染料的结构对微生物的脱色确有较大影响。在脱色率方面, 纯培养条件下 3 种偶氮染料的脱色率均低于脱水污泥驯化时的脱色率。可能是驯化污泥作为完整的生态系统, 包含多种可分离培养和不可分离培养的微生物产生的协同作用和共代谢机制, 有助于偶氮染料的脱色降解<sup>[9]</sup>, 这点也通过混合培养脱色试验得以证实。

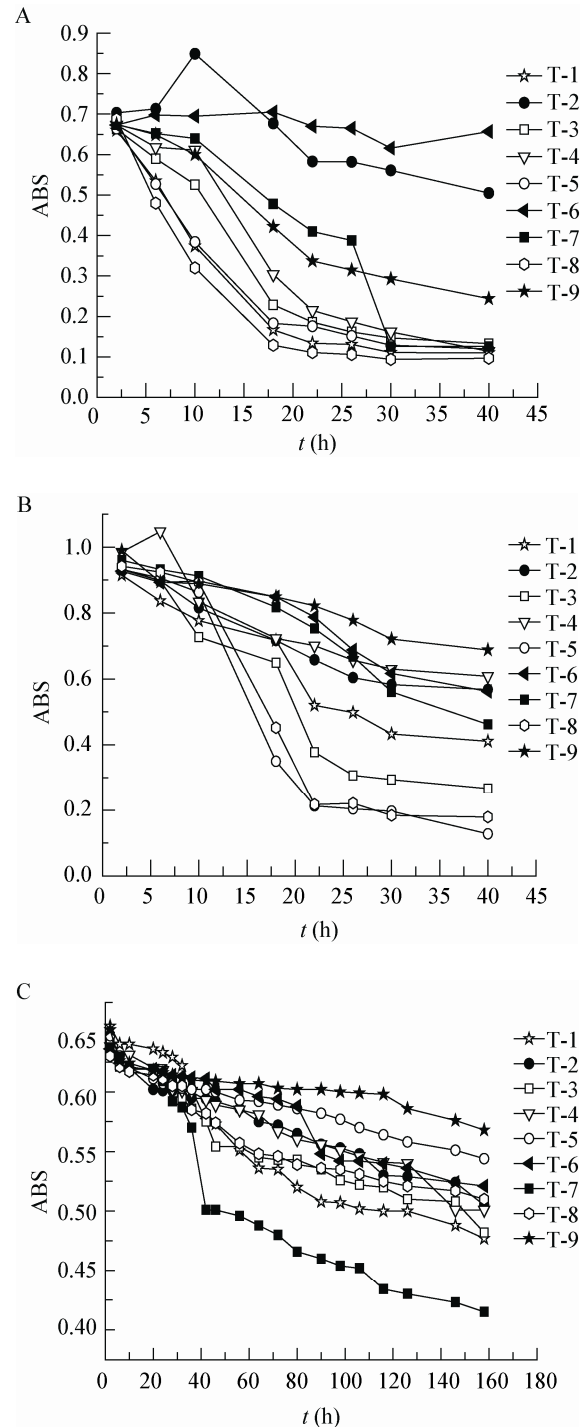


图 6 分离菌株对偶氮染料的脱色效果

Figure 6 The decolorization effect of azo dyes by the isolated strains

注: A: 甲基橙(100 mg/L); B: 金橙 I (100 mg/L); C: 橙黄 G (100 mg/L).

Note: A: Methyl orange (100 mg/L); B: Golden orange I (100 mg/L); C: Orange G (100 mg/L).

## 2.4 分离株混合培养对偶氮染料的脱色

通过分离株混合培养与纯培养对混合偶氮染料的脱色比较(图 7)可以看出,本研究得到的分离株均能在混合染料废水中存活并部分脱色混合偶氮染料,培养 120 h 后脱色率在 38.8%–79.0%。而混合培养下的分离株对混合染料的脱色性能明显高于纯培养,相同培养条件下可达 90.1%,这可能是由于混合培养的不同菌株能够进攻染料分子的不同部位;或是一种菌株能利用另一菌株的代谢产物作为基质,消除了代谢产物积累的抑制作用;且混合培养的不同菌株所产生的酶的种类和数量也远远高于纯培养菌株,从而使混合培养菌株的偶氮染料脱色效率较之纯培养菌株具有明显的优势<sup>[10]</sup>。

## 2.5 菌粉制剂对金橙 I 的脱色

目前微生物菌粉在很多方面已广泛应用,然而针对偶氮染料废水处理的菌粉的相关报道还很少,制备偶氮染料脱色降解菌的菌粉不仅可以克服目前液体菌剂难于保存和运输不便的缺点,而且可增大偶氮染料废水处理的灵活性。本研究初步探索了菌粉对偶氮染料脱色情况,发现自然干燥后的菌粉对金橙 I 仍表现出较好的脱色效果,静置 4 d 后金橙 I 脱色接近完全,脱色率>99%(图 8)。可能是经自然风干后的菌粉中的微生物仍具有一定活

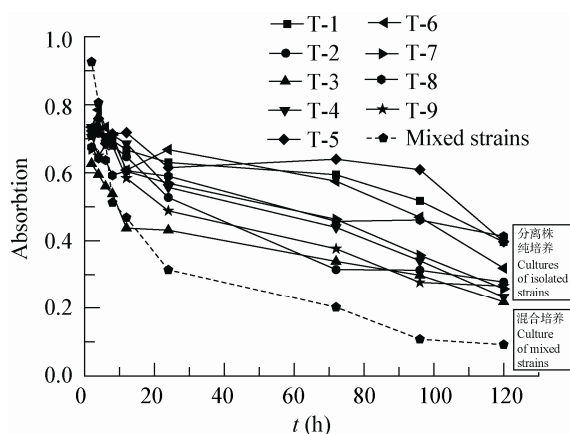


图 7 分离株混合培养同纯培养对混合偶氮染料的脱色比较

Figure 7 Comparison of decolorization by mixed and pure culture of isolates

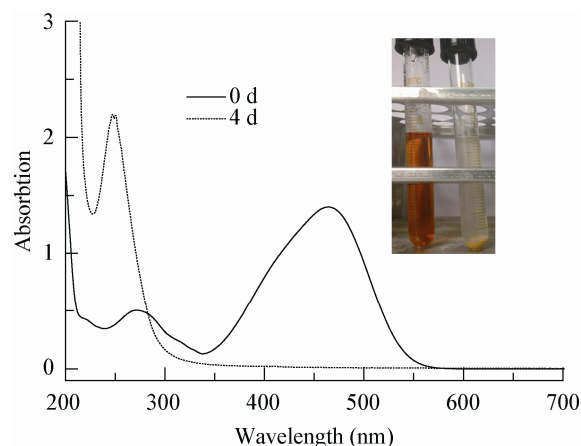


图 8 T-8 菌株菌粉对金橙 I 的脱色

Figure 8 The decolorization of the golden orange I by T-8 strain sinesis

性能能够脱色偶氮染料,也可能是菌株在生长代谢过程中产生的多种酶类包含偶氮还原酶,在菌粉制作过程中仍保留一定的活性。

## 3 讨论

部分研究表明由于微生物对不同结构的偶氮染料具有不同的脱色性能,一般结构简单和分子量低的偶氮染料容易被脱色,但当染料分子上含有亲电基团如 $-\text{SO}_3\text{H}$ 和 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 时,不易被脱色降解<sup>[11]</sup>。从甲基橙、金橙 I 和橙黄 G 的结构看,甲基橙结构最为简单,金橙 I 的 N 原子上连有一个萘环,橙黄 G 分子最为复杂,除了含有萘环外且含有多个 $-\text{SO}_3^-$ 基因,从脱色效果上与 Hseuh 等<sup>[11]</sup>的研究一致。而 Myrna Solis 等指出含有亲电基团如 $-\text{SO}_3^-$ 的偶氮染料分子比含有供电基团如 $-\text{NH}_2$ 的偶氮染料更容易降解<sup>[12]</sup>。当偶氮染料分子的苯环上含有亲电基团时,会使苯环上的电子密度降低,从而使 $-\text{N}=\text{N}-$ 共轭体系的电子密度下降,有利于电子的进攻而被还原<sup>[13]</sup>。由于亲电基团的电子密度增大,会对进攻的电子产生排斥作用而抑制 $-\text{N}=\text{N}-$ 的还原,当其空间位阻较大且在 $-\text{N}=\text{N}-$ 所连苯环的邻位时抑制作用更甚<sup>[14]</sup>。偶氮染料分子上含有供电基团如 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 时,会使 $-\text{N}=\text{N}-$



和苯环形成的共轭体系的电子密度增大,不利于还原,但是亲电基团本身的电子密度下降会产生吸电子能力,且本身的空间位阻较小;当在 $-N=N-$ 所连苯环的邻位时反而有助于偶氮染料的还原,所以脱色速率往往高于含有吸电子基团的偶氮染料<sup>[15]</sup>,而且 $-OH$ 和 $-NH_3$ 能够形成氢键易于结合微生物和相关酶系也能够增加脱色效果。对于含有亲电基团如烷基和烷氧基的偶氮染料,由于其空间位阻较大,影响染料与酶的结合以及细胞膜的透过性<sup>[16]</sup>,所以脱色速率一般低于含有 $-OH$ 和 $-NH_3$ 的偶氮染料。

通过系统发育分析,结合生理和形态特征观察,本研究所得的9株分离株分属芽孢杆菌属(*Bacillus*)、微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、寡单胞菌属(*Stenotrophomonas*)以及副球菌属(*Paracoccus*)四类。芽孢杆菌属通常在污泥中占据主导地位,具有脱色降解偶氮染料的功能。Telke等利用*Bacillus* genus 静置处理活性橙16(100 mg/L),24 h的脱色速率为88%<sup>[17]</sup>。Kolekar等利用*Bacillus fusiformis* KMK5在厌氧条件下处理分散蓝79和酸性橙10(1.5 g/L),48 h的脱色率能达到100%<sup>[18]</sup>。Chen的研究发现*Exiguobacterium*在NaCl浓度为10–60 g/L时对活性黑的脱色率大于50%,说明*Exiguobacterium*具有在高盐度下脱色偶氮染料的能力<sup>[19]</sup>。Jadhav等从染料污染的土壤中分离出的*Pseudomonas aeruginosa*在20 min对雷马素红(50 mg/L)的脱色率达97%<sup>[20]</sup>。Lin等研究了*Peudomonas* sp.对活性蓝13(200 mg/L)脱色性能,静置70 h后的脱色率为83.2%<sup>[21]</sup>。相对于分离株纯培养来说,混合培养的脱色效果更好,如Khehrali利用*Bacillus derus*、*Pseudomonas putida*、*Pseudomonas fluorescence*以及*Stenotrophomonas acidaminiphila*组成的混合菌群处理酸性红88(100 mg/L)时,用UFCR厌氧-好氧序批式生物反应器处理3个月其脱色率达到98%<sup>[22]</sup>。

本研究所得分离株T-4为副球菌属(*Paracoccus*),但目前关于副球菌属脱色偶氮染料的研究还未见报道。虽然副球菌属好氧菌,但当硝酸盐、亚硝酸盐或氧化亚氮存在时,也能以它们为电子受体营厌氧生长<sup>[23]</sup>,所以尝试利用副球菌属厌氧还原脱色偶氮染料,并在好氧条件下将其代谢产物矿化降解,可能为偶氮染料的处理提供一种新的方式。

综上所述,脱水污泥是脱色偶氮染料和其他有机高分子物质的功能菌群的理想来源,具有很高的实际应用价值。

## 参 考 文 献

- [1] Tony BD, Goyal D, Khanna S. Decolorization of textile azo dyes by aerobic bacterial consortium[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2009, 63(4): 462-469.
- [2] Champagne PP, Ramsay JA. Dye decolorization and detoxification by laccase immobilized on porous glass beads[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(7): 2230-2235.
- [3] Jadhav SB, Phugare SS, Patil PS, et al. Biochemical degradation pathway of textile dye Remazol Red and oxidative stress studies[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65(7): 733-743.
- [4] Dos Santos AB, Cervantes FJ, van Lier JB. Review paper in current technologies for decolourisation of textile wastewaters: perspectives for anaerobic biotechnology[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(23): 2369-2385.
- [5] Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology[M]. 9th ed. Baltimore, MD: Lippincott Williams and Wilkins, 1994.
- [6] 柳广飞, 周集体, 王竞, 等. 细菌对偶氮染料的降解及偶氮还原酶的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2006, 29(4): 112-114.
- [7] Yoshie S, Makino H, Hirose H, et al. Molecular analysis of halophilic bacterial community for high-rate denitrification of saline industrial wastewater[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 72(1): 182-189.
- [8] 朱铁群, 李凯慧, 张杰. 活性污泥驯化的微生物生态学原理[J]. 微生物学通报, 2008, 35(6): 939-943.
- [9] 金浩, 李柏林, 欧杰, 等. 污水处理活性污泥微生物群落研究[J]. 微生物学杂志, 2012, 4: 1-5.
- [10] Jadhav JP, Kalyani DC, Telke AA, et al. Evaluation of the efficacy of a bacterial consortium for the removal of color, reduction of heavy metals and toxicity from textile dye effluent[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(1): 165-173.

- [11] Hsueh CC, Chen BY, Yen CY. Understanding effects of chemical structure on azo dye decolorization characteristics by *Aeromonas hydrophila*[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 167(1/3): 995-1001.
- [12] Solis M, Solis A, Pérez HI, et al. Microbial decolorization of azo dyes: A review[J]. Process Biochemistry, 2012, 47(12): 1723-1748.
- [13] 汪小兰. 有机化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 69-71.
- [14] 杜小明, 刘厚田. 偶氮染料分子结构特征与其生物降解性的关系[J]. 环境化学, 1991, 10(6): 12-18.
- [15] 陈晔, 陈刚, 陈亮, 等. 偶氮染料分子结构对其生物脱色影响的研究进展[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(8): 65-69.
- [16] 刘金齐, 刘厚田. 偶氮染料微生物降解的研究进展[J]. 环境科学研究, 1988, 1(6): 40-46.
- [17] Telke AA, Kalyani DC, Dawkar VV, et al. Influence of organic and inorganic compounds on oxidoreductive decolorization of sulfonated azo dye C.I. Reactive Orange 16[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 172(1): 289-309.
- [18] Kolekar YM, Pawar SP, Gawai KR, et al. *Bacillus fusiformis* KMK5 isolated from the textile dye contaminated soil[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(18): 8999-9003.
- [19] Chen BY, Hsueh CC, Chen WM, et al. Exploring decolorization and halostructure of azo dyes and dose-response assessment[J]. Transactions of the Institution of Chemical Engineers, 2011, 42(8): 16-25.
- [20] Jadhav SB, Phugare SS, Patil PS, et al. Biochemical degradation pathway of textile dye Remazol Red and subsequent toxicological evaluation by cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65(7): 33-43.
- [21] Lin J, Zhang X, Li Z, et al. Biodegradation of Reactive Blue 13 in a two-stage anaerobic/aerobic fluidized beds system with a *Pseudomonas* sp. isolate[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(1): 34-40.
- [22] Khehra MS, Saini HS, Sharma DK, et al. Biodegradation of azo dye C.I. Acid Red 88 by an anoxic-aerobic sequential bioreactor[J]. Dyes Pigments, 2006, 70: 1-9.
- [23] 杨航, 黄钧, 刘博. 异养硝化-好氧反硝化菌 *Paracoccus pantotrophus* ATCC 35512的研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(4): 585-592.

## 征订启事

### 欢迎订阅《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于1974年,是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办,国内外公开发行,以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括:基础微生物学研究,农业微生物学研究,工业微生物学研究,医学微生物学研究,食品微生物学研究,环境微生物学研究,微生物功能基因组研究,微生物蛋白组学研究,微生物模式菌株研究,微生物工程与药物研究,微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国自然科学核心期刊。曾获国家优秀科技期刊三等奖,中国科学院优秀科技期刊三等奖,北京优秀科技期刊奖,被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自2008年本刊已经全新改版,由双月刊改为月刊,发表周期缩短,内容更加丰富详实。欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买,2015年每册定价58元,全年696元,我们将免邮费寄刊。

邮购地址:(100101)北京朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所 《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: M413