

文章编号 1000-5013(2001) 01-035-05

# 膨润土基固定化细胞颗粒材料的研制

肖子敬 黄惠莉 戴劲草 叶 玲

(华侨大学材料科学与工程学院, 泉州 362011)

**摘要** 首次采用成型化的膨润土基多孔粘土材料, 作为固定混合脱色菌的载体, 成功地制成膨润土基固定化细胞颗粒材料. 应用于红色染液废水的脱色处理, 取得良好的效果. 探讨载体制备条件对形成微生物细胞颗粒材料的影响, 以及膨润土基固定化细胞颗粒材料对染料阳离子红 X-GRL 的脱色作用.

**关键词** 膨润土, 固定化, 脱色菌, 红色染料, 脱色

**中图分类号** TQ 041+.8; Q 932; X 175

**文献标识码** A

利用微生物治理工业污水, 可以克服普通物理、化学方法处理废水存在的二次污染、成本过高和治理效率不高等难题<sup>[1]</sup>, 因而受到国内外环保工作者相当的重视<sup>[2~5]</sup>. Karube 和 Suzuki<sup>[2]</sup>首次采用固定化产氢细菌技术处理工业污水, 取得较为显著的效果. 该细胞技术具有提高生物反应器内的微生物细胞浓度、保持高效菌种以及污泥量少、反应器中固液容易分离等优点, 引起人们的极大的兴趣和关注. 然而, 这项技术所采用的载体(主要为活性炭、聚丙烯酰胺、海藻酸钙、卡拉胶、聚氨基酸等材料)存在成本过高、使用寿命短、再生困难以及缺乏高效专一菌株等问题, 限制了该技术的应用<sup>[2~3]</sup>. 针对这些难题, 本文研究采用廉价的膨润土多孔材料<sup>[6]</sup>为载体, 通过优选高效的混合脱色菌<sup>[6]</sup>进行固定化, 制成膨润土基固定化细胞颗粒材料.

## 1 实验部分

### 1.1 原料与试剂

精制膨润土 M(400 目, 浙江临安); 高岭土 K( $< 2 \mu\text{m}$ , 经气流粉碎); 高效混合脱色菌(实验室培养及优选<sup>[6]</sup>); 淀粉 S(AR);  $\text{AlCl}_3$  交联剂<sup>[6]</sup>(AR,  $1.00 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 聚乙烯醇 PVA(聚合度 124, CP); 偶氮二甲酰胺 AZO(CP); 工业水玻璃 SG(40 玻比度); 氯丁胶 L; 水溶性压敏胶 Y; 不干胶 B; 聚氨酯 J; 红色染液: 阳离子红 X-GRL(简记为 G,  $40.00 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

### 1.2 多孔粘土载体材料

膨润土 M 与  $\text{AlCl}_3$ 、淀粉 S、PVA、AZO、水玻璃 SG、氯丁胶 L、水溶性压敏胶 Y、不干胶 B、聚氨酯 J 等材料和化合物, 按一定配方用水调匀. 经成型、干燥、灼烧后, 制成膨润土基多孔粘

土载体材料. 在同等条件下, 以高岭土 K 为基材制成多孔粘土载体材料以资比较.

### 1.3 膨润土基固定化细胞颗粒材料

利用微生物培养技术, 在富含营养成分的培养液中, 把优选的高效混合脱色菌菌株固定化在膨润土基多孔粘土载体材料上. 经一定时间增殖培养后, 制成膨润土基固定化细胞颗粒材料, 并通过重量法分别测定材料的含菌量  $C(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$ . 即  $C = 1\,000 \times (\text{含菌载体重量} - \text{载体重量}) / \text{载体重量}$ .

### 1.4 脱色实验

在 200 mL 浓度为  $40.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的染液 G 中, 加入 50 g 膨润土基固定化细胞颗粒材料进行染料脱色试验. 6 h 后, 抽取脱色后的上清液. 采用 UV-3100 分光光度计测定其吸光度, 并计算脱色率  $D^{[6]}$ , 以相应空白载体对染液的脱色率作对照.

## 2 结果与讨论

### 2.1 载体材料的制备条件与优化

作为固定化细胞颗粒材料的载体, 应具备较好机械强度、耐水性以及适合于微生物生长和固定化的 pH 值、营养成分等物化条件和生化环境. 这些因素, 又与载体的制备条件密切相关. 一般地说, 粘土类载体材料的机械性能、耐水性与其配方中的化学成分、粘结剂种类、成型条件及方式、灼烧温度等因素有关, 因而在制备载体的过程中必须充分考虑这些因素的影响. 因混合脱色菌适宜在 pH 接近中性的生化环境中生长, 故要求载体材料的 pH 值必须接近于 7.0. 其次, 载体材料还必须富含营养成分, 以利脱色菌的繁殖, 因此, 载体材料还应具备多孔性质以保证对营养成分的吸附、富集. 考虑到这些因素, 本文对载体材料的制备条件进行优化研究, 实验结果列于表 1. 从表可见, 在同等条件下, 采用高岭土 K 作为基材制备的载体机械性能、耐水性均较差. 而掺有强碱性粘结剂的水玻璃 SG 后, 虽可提高了机械强度, 但载体 pH 值又不适于脱色菌的生长繁殖. 因此, 高岭土 K 不宜作为制备细胞颗粒材料载体的基材. 对于膨润土 M 作基材的载体来说, 成型方式及灼烧温度对材料的机械强度影响较大. 在同等条件下, 采用挤条成型好于造粒成型, 而采用中高温 ( $500 \sim 900$ ) 灼烧处理的载体, 则明显优于仅经过烘干 ( $100$ )、晾干等干燥处理的材料. 载体材料的耐水性受成型方式影响较小, 而对灼烧温度、粘结剂等因素则有较高的要求. 实验表明, 未经过灼烧处理的载体比经中高温灼烧处理的载体, 其耐水性存在很大的差距, 几乎不能满足实用化的要求. 一般含有粘结剂的载体材料, 比未加任何粘结剂的载体耐水性好. 但有些粘结剂的酸碱性, 如强碱性的水玻璃 SG 粘结剂, 不适于微生物的生长繁殖, 因而在制备过程中要尽量避免使用这类粘结剂. 另外, 一些粘结剂种类如氯丁胶 L、水溶性压敏胶 Y、不干胶 B、聚氨脂 J 等的效果也不太理想, 在应用中可根据实际情况加以选择. 针对混合脱色菌并经过筛选, 本文采用  $\text{AlCl}_3$  粘结剂即达到很高的耐水性, 已完全能满足实用化的要求. 此外, 在保证载体具备良好机械强度、耐水性等基础上, 如表 2 所示, 为了尽量增加材料的多孔性, 以利于吸附、富集营养成分, 改善微生物生长的生化环境. 本文在粘结剂中, 加入淀粉 S, PVA, AZO 等增孔剂成分<sup>[6]</sup>. 结果表明, 经条件优化后的膨润土基载体具有较高的含菌量(表 2), 可以用来制备优良的细胞颗粒材料.

### 2.2 细胞颗粒材料的形成及对染液的脱色作用

固定化细胞技术是利用化学或物理方法, 把微生物细胞定位于某些载体材料上的一项高

表 1 制备条件对载体材料性能的影响

样品	基材	粘结剂	t/	成型方式	机械强度	耐水性 <sup>1</sup>	pH
A	M		800	挤条	强度很好	好	7. 0
B1	M	AlCl <sub>3</sub> + S	600	挤条	强度很好	好	7. 0
B3	M	AlCl <sub>3</sub> + S	800	挤条	强度很好	好	7. 0
C1	M	AlCl <sub>3</sub> + PV A	600	挤条	强度很好	好	7. 0
C3	M	AlCl <sub>3</sub> + PV A	800	挤条	强度很好	好	7. 0
D1	M	AlCl <sub>3</sub>	600	挤条	强度很好	好	7. 0
D2	M	AlCl <sub>3</sub>	700	挤条	强度很好	好	7. 0
D3	M	AlCl <sub>3</sub>	800	挤条	强度很好	好	7. 0
D4	M	AlCl <sub>3</sub>	900	挤条	强度很好	好	7. 0
E	M	AlCl <sub>3</sub> + AZO	800	挤条	强度很好	好	7. 0
F1	M		100~ 500	造粒	差, 易碎		
F2	M		100~ 500	挤条	较硬		
H11	M	S+ PV A	100	造粒	差, 易碎		
H21	M	S+ PV A	100	挤条	较硬		
H22	M	S+ PV A	500	挤条	较硬		
I1	K	S	100	挤条	差, 易碎		
J1	K	SG	100	挤条	较硬		13. 0
J2	K	SG	500	挤条	强度很好	好	8~ 9
K1	K	AlCl <sub>3</sub>	400	挤条	差, 易碎		
K2	K	AlCl <sub>3</sub>	600	挤条	差, 易碎		
L1	M	AlCl <sub>3</sub>	100	挤条	差, 易碎	差	
L2	M	AlCl <sub>3</sub>	500	挤条	较硬		7. 0
M	M	SG	500	挤条	强度很好	好	8. 0
N	M	L	晾干	挤条	差, 易碎	差	
R	M	Y	晾干	挤条	差, 易碎	差	
S	M	B	晾干	挤条	差, 易碎	差	
T	M	J	晾干	挤条	差, 易碎	差	

<sup>1</sup> “差”为水中浸泡少于 8 h 就溶胀, 水变浑浊; “好”为水中浸泡 5 d 以上仍不溶胀, 水仍清澈透明

表 2 一些膨润土基固定化细胞颗粒材料的含菌量

样品	每 100 g 基材含粘结剂	外 形	机械强度	耐水性	pH	C/mg · g <sup>-1</sup>
A		小条状	强度很好	好	7. 0	287. 8
B1	2. 67 g AlCl <sub>3</sub> + 6 g S	小条状	强度很好	好	7. 0	278. 2
B3	2. 67 g AlCl <sub>3</sub> + 6 g S	小条状	强度很好	好	7. 0	303. 4
C1	2. 67 g AlCl <sub>3</sub> + 6 g PV A	小条状	强度很好	好	7. 0	300. 4
C3	2. 67 g AlCl <sub>3</sub> + 6 g PV A	小条状	强度很好	好	7. 0	246. 2
D	2. 67 g AlCl <sub>3</sub>	小条状	强度很好	好	7. 0	234. 4
E	2. 67 g AlCl <sub>3</sub> + 5 g AZO	小条状	强度很好	好	7. 0	233. 4

新生物技术。目前常用的方法主要有包埋法、吸附法和交联法<sup>6)</sup>，其中吸附法由于操作简单、反应条件温和以及载体可反复利用等特点, 在固定化细胞技术中占有较大的比重。此法主要是通过静电引力、物理化学吸附等作用, 使微生物细胞牢固地附着在载体表面上而形成固定化细胞颗粒材料。膨润土的主要成分为蒙脱石, 属于 2 : 1 型层状构造硅酸盐。它通过物理化学

方法改性后,可制成多孔性的膨润土基粘土载体材料<sup>[6]</sup>.此多孔性膨润土基载体由于表面剩余价键不饱和以及同象取代现象,存在着明显的静电引力<sup>[7]</sup>,因而具有很高的表面活性和吸附能力.利用载体材料的上述性质特点,通过吸附法把混合脱色菌微生物细胞固定化,可制成膨润土基固定化细胞颗粒材料.表2是多孔性膨润土基载体附着脱色菌形成固定化细胞颗粒材料的有关情况.从中可以发现,所制成的膨润土基固定化细胞颗粒材料,均具有较好的机械强度和耐水性.其pH呈中性,C均超过 $230\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,个别材料(B3,C1)甚至高达 $300.4\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上,外形大小适中,可以满足实际应用的要求.图1是附着混合脱色菌的膨润土基固定化细胞颗粒材料的红外光谱.由于混合脱色菌含有酰胺基基团和磷氢PH基团,因此可以看见 $1\,660\text{ cm}^{-1}$ 和 $3\,378\text{ cm}^{-1}$ 处,分别出现归属于酰胺基基团中的C=O和N-H伸缩振动吸收峰(图1a);归属于PH的 $\nu_{\text{PH}}$ 和 $\delta_{\text{PH}}$ 的振动吸收峰为 $1\,069\text{ cm}^{-1}$ 和 $2\,326\text{ cm}^{-1}$ .而在载体的红外光谱中(图1b),可以发现归属于粘土骨架振动的一些谱峰.例如,Si-O四面体的伸缩振动 $1\,042\sim 1\,052\text{ cm}^{-1}$ 、弯曲振动 $465\sim 473\text{ cm}^{-1}$ ,以及Al-OH-Mg的弯曲振动 $794\sim 797\text{ cm}^{-1}$ 谱峰在吸附营养液后,几乎未出现其它变化(图1c).倒是高温灼烧后,已大大减弱的粘土层间水伸缩振动 $3\,400\text{ cm}^{-1}$ 附近,以及其结构羟基振动 $3\,620\text{ cm}^{-1}$ 处的谱峰在吸附营养液后又有所增强(对比图1b,c).在含菌的固定化细胞颗粒材料中(图1d),不仅可以发现与载体(图1b,c)类似的红外光谱,而且还可见到与脱色菌相关的谱峰 $1\,660\text{ cm}^{-1}$ (C=O伸缩)和 $2\,327\text{ cm}^{-1}$ ( $\delta_{\text{PH}}$ 振动).这些谱图说明所形成的固定化细胞颗粒材料,并未破坏粘土的基本骨架结构.同时,表明混合脱色菌已牢固附着在载体材料的表面上,形成了膨润土基固定化细胞颗粒材料.表3列出了几种膨润土基固定化细胞颗粒材料,对红色染液G脱色作用的实验结果.

表3 细胞颗粒材料对染液G脱色效果

载体规格	实验条件	D/(%)	R/(%)
A	空白	52.68	36.12
	固定脱色菌	88.80	
B1	空白	41.96	41.37
	固定脱色菌	83.33	
B3	空白	50.00	36.67
	固定脱色菌	86.67	
C2	空白	46.43	34.13
	固定脱色菌	80.56	
C3	空白	32.50	58.98
	固定脱色菌	91.48	
D3	空白	37.86	55.84
	固定脱色菌	93.70	
E	空白	39.29	52.93
	固定脱色菌	92.22	

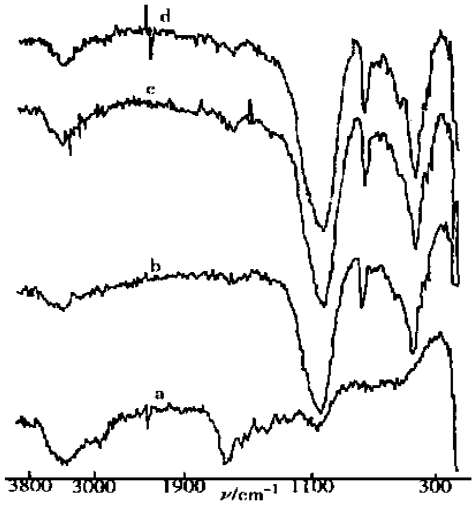


图1 膨润土基固定化细胞颗粒材料的红外光谱  
a. 混合脱色菌; b. 载体; c. 载体+ 营养液;  
d. 固定化细胞颗粒材料

从表中可见,尽管这些固定化细胞颗粒材料的脱色能力存在差别,对染液G的脱色效果也不尽相同,但还是具有优良的脱色性能,一般脱色率D均高达80%以上.与空白载体对比,其脱色效率R明显提高,一般超过34%,个别材料(如C3)接近60%.D高达90%以上,如C3、D3和E,效果较为显著.经过脱色处理,水质

已清澈透明, 基本达到工业水排放标准. 从表 3 中数据还可以看出, C3 载体效率最高, 但含菌量并不是最高(表 2). 这可能是由于 C3 载体上所吸附的混合脱色菌有效成分较多, 或 C3 载体更有利于混合脱色菌的生长繁殖, 以及染料分子易于接近脱色菌所致.

### 3 结束语

(1) 膨润土基多孔材料的配方和制备条件, 对载体材料的机械强度、耐水性、pH 值等物化性能影响很大. (2) 膨润土基多孔材料可作为固定化细胞的载体材料, 固定化脱色菌后即形成膨润土基固定化细胞颗粒材料, 其固定化方法为吸附法. (3) 影响膨润土基固定化细胞颗粒材料脱色效果的主要因素, 是载体材料上混合脱色菌有效成分的含量、脱色菌的生长繁殖环境和染料分子接近脱色菌的难易程度. 而这些因素, 都与载体材料的内部结构和表面性质等有关.

### 参 考 文 献

- 1 彭跃莲, 韩燕劭, 李建中等. 生物技术在印染和染料废水处理中的应用[J]. 环境科学进展, 1997, 5(3): 56 ~ 64
- 2 陈 铭, 周晓云. 固定化细胞技术在有机废水处理中的应用与前景[J]. 水处理技术, 1997, 23(2): 98 ~ 104
- 3 俞汉青. 固定化细胞技术处理废水的原理和进展[J]. 环境保护科学, 1992, 18(4): 13 ~ 19
- 4 黄惠莉, 林文奎. 印染废水脱色菌的选育及脱色研究[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 1997, 18(3): 293 ~ 296
- 5 黄惠莉, 林文奎, 陈少欣. 固定化混合脱色菌处理印染废水[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2000, 21(2): 190 ~ 194
- 6 肖子敬, 戴劲草, 叶玲等. 膨润土基多孔材料对红色染料的脱色作用[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2000, 21(2): 144 ~ 148
- 7 赵杏媛, 张有瑜. 粘土矿物与粘土矿物分析[M]. 北京: 海洋出版社, 1990. 28 ~ 29

## Preparing a Decolorizing Material with Grains Formed by Bacterial Cells Immobilized on Bentonite Base

Xiao Zijing Huang Huili Dai Jingcao Ye Ling

(College of Mater. Sci. & Eng., Huaqiao Univ., 362011, Quanzhou)

**Abstract** By adopting mouldable bentonite-based porous clay as carrier for immobilizing the mixed decolorizing bacteria, a bentonite-based grainy material with bacterial cells immobilized is successfully prepared. This grainy material has been applied to the decoloration of red dye in the sewage from textile printing, with good effects. An initial investigation is made into the effect of conditions for preparing carrier on the formation of material with grains of bacterial cells; and also into the decoloration of the dye cationic Red X-GRL by this bentonite-based grainy material with bacterial cells immobilized.

**Keywords** bentonite, immobilization, decolorizing bacteria, red dye, decoloration