

模拟精炼糖厂废水云芝脱色及对多糖含量影响*

冉艳红 于淑娟 杨连生 李国基

(华南理工大学食品与生物工程学院 广州 510641)

摘要: 比较了4株不同云芝 PVC0、PVC1、PVC2、PVC3 对模拟糖厂废水的总脱色能力及对美拉德反应色素、碱降解色素及焦糖色素的降解能力; 比较了添加色素培养对不同云芝菌株生物量及菌丝体多糖 (PSK) 产量的影响。结果表明, PVC0 对模拟废水的脱色率最高, 其在废水中培养的菌丝体 PSK 含量虽然较 PVC1 稍低, 但其生物量最大, PSK 产量仍然最大。以 PVC0 为当选菌株进行实验, 研究表明浓度 75% 实际废水的 PVC0 脱色率为 53%, 低于对模拟废水的脱色率 71%, 但两者培养的 PVC0 生物量与 PSK 产量相当。

关键词: 云芝, 精炼糖厂废水, 脱色, 多糖含量

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2003) 02-0032-04

* 广东省国际合作科技攻关项目 (No. 2KM 06502W)

收稿日期: 2002-05-31, 修回日期: 2002-08-24

BIODEGRADATION OF SIMULATIVE REFINERY EFFLUENT COLORANTS BY *POLYSTICTUS VERSICOLOR* AND THE EFFECT ON POLYSACCARRIDE

RAN Yan-Hong YU Shu-Juan YANG Lian-Sheng LI Guo-Ji

(College of Food & Biological Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510641)

Abstract: Four *Polystictus Versicolor* PVC0、PVC1、PVC2、PVC3 were examined for their decolorization ability to simulative refinery effluents and biodegradation ability to HADP⁺ S, Melanoidin, Caramel. The effect of effluent colorants on the yield of four *Polystictus Versicolor* biomasses and mycelium polysaccharide (PSK) was also studied. PVC0 showed the best decolorization ability and the high biomass; although the PSK content of PVC0 is less than PVC1, its yield of mycelium PSK is the highest. Chosen PVC0 as the research strain. The result showed that the rate of decolorization of PVC0 to 75% concentration real refinery effluents is 53%. Which is less than to the simulative refinery effluent decolorization rate 71%. Real refinery effluents and simulative refinery effluent has the same PVC0 biomass and PSK yield.

Key words: *Polystictus Versicolor*, Refinery effluent, Decolorization, Polysaccharide

云芝 (*Polystictus versicolor*), 与自古以来就负有盛名的灵芝亲缘较近。是一种木腐性的药用真菌。有很高的营养与医疗保健价值。其药效化学成分主要是云芝多糖 (PSK) 与云芝多糖肽 (PSP)。从云芝子实体或菌丝中提取, 云芝肝泰和云星胶囊等作为保肝新药, 临床上已用于肝炎治疗, 并试用于肝癌的预防和治疗。近年来利用白腐菌进行废水生物处理研究表明, 云芝作为一种具有强烈降解木素能力的白腐真菌, 还具有强的废水漂白作用^[1-3]。

当前研制云芝食品添加剂和医疗保健药品趋向于采用液体深层培养法生产的菌丝体。利用白腐菌对有色废水生物脱色也是采用液体发酵方式, 所以若将云芝在对糖厂等有色废水进行生物脱色, 治理环境污染的同时, 回收可作为药用和食品开发原料的菌丝体, 提取多糖等有效成份, 把环境污染治理与食品、药品的资源开发结合起来, 将是对环境与资源的合理应用。

用于精炼糖厂再溶糖浆脱色的离子交换树脂, 其再生液的排放对环境颜色污染严重。其颜色物质的主要组成是美拉德反应色素、碱降解色素以及复杂酚类色素^[4]。当前关于白腐菌对复杂酚类色素降解的研究较多, 而白腐菌对于前3种有色物质的降解作用还未见相关报道。基于此出发点, 本研究比较了不同云芝菌株对含有美拉德反应色素、碱降解色素及焦糖色素模拟废水的脱色能力, 以期筛选出可工业化应用的对废水脱色能力强, 且多糖产量高的菌株。

1 材料与方法

1.1 菌株

Polystictus versicolor, PVC0 PVC1 PVC2 PVC3 购自广东微生物研究所。

1.2 培养基与培养方法

1.2.1 斜面及平板培养基: 综合 PDA 40g, 加入蒸馏水1,000mL, 煮沸溶解后灭菌分装, pH 自然。

1.2.2 种子培养基: 葡萄糖 30g, 蛋白胨 10g, NaCl 0.1g, MgSO₄·7H₂O 5g, KH₂PO₄ 1.5g, V_B微量, 蒸馏水定容至1,000 mL, pH 自然。

1.2.3 发酵培养基: 同液体种子培养基。

1.2.4 模拟废水发酵培养基: 取各色素溶液等量加入液体培养基中, 至培养液吸光度值在 420nm 处为 2.5 (色素溶液与培养基体积比 ≥ 0.75), 并调 pH 至 5.0, 分装后灭菌。

1.2.5 发酵培养方法: 将各菌株液体种子按 10% 的接种量, 接入发酵培养基中, 在 28℃, 120r/min 条件下摇瓶培养。

1.3 色素的制备^[5]

己糖碱性降解色素 (HADP'S) 的制备: 称取 39.6g 葡萄糖和 8.0g 氢氧化钠, 混合溶于 200mL 水中, 回流煮沸 50 min, 冷却, 调 pH 至中性, 定容至 1,000mL。

还原糖与氨基酸的缩合物色素 (Melanoidin) 的制备: 称取 39.6 g 葡萄糖和 1mol 的谷氨酸钠, 加 200mL 蒸馏水, 在 90℃ 加热 6 h, 冷却, 调 pH 至中性, 定容至 1,000 mL。

焦糖色素 (Caramel) 的制备: 将白砂糖磨成粉, 在 155℃ 下烘干 4h, 溶与水, 定容至 1,000 mL, 过滤除去不溶物, 调 pH 至中性备用。

1.4 菌丝干重的测定

将液体培养的菌丝球抽滤, 蒸馏水洗净, 于 65℃ 烘箱中烘干至衡重, 干燥器中冷却, 电子天平称其重量。

1.5 菌丝体多糖的测定

取抽滤收集的各菌株菌丝体 10 g, 至具塞锥形瓶中, 加入 75% 的乙醇, 加热至 80℃, 浸提 2h, 过滤得酒精提取液备用, 并回收酒精, 菌丝体加水在 75℃ 水浴热浸提 2h, 重复两次, 将两次水提取液与酒精提取液合并, 减压浓缩至比重为 20 波美度左右, 用 3 倍体积的 95% 乙醇在 4℃ 冰箱中醇析 24h, 3,000 r/min 离心沉淀物即菌丝体粗多糖, 将粗多糖用丙酮、乙醚洗净, 真空干燥, 电子天平称取其重量。

1.6 对废水脱色率测定

取发酵前后的培养液, 相同倍数稀释, 0.45μm 微孔滤膜过滤, 滤液调 pH 至 7.0, 测定 420nm 的吸光度值 (OD)。计算脱色率。

1.7 单色素降解率测定

取发酵前后培养液, 相同倍数稀释, 0.45μm 微孔滤膜过滤, 滤液调 pH 至 7.0。分别测定在 330nm, 283nm 及 264nm 的紫外吸收值^[6], 计算降解率。

2 结果与分析

2.1 不同云芝菌株对深色有机废水脱色能力

通过检测 4 株云芝对吸光度一定的深色废水在摇瓶培养第 5d 和第 10d 的脱色率,

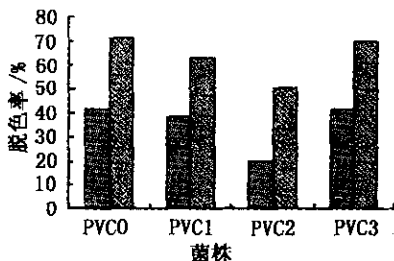


图 1 不同云芝菌株对深色废水脱色能力比较

■ 摇瓶 4d 脱色率, ▨ 摇瓶 10d 脱色率

图 1 显示摇瓶培养 5d 时 PVC0、PVC3 和 PVC1 的脱色率差异不大, 但均明显高于 PVC2, 摇瓶培养 10d 后, 脱色率由高到低顺序为 PVC0、PVC3、PVC1、PVC2, 分别为 71%、70%、63%、50%。

2.2 不同云芝菌株对单色素降解能力比较

废水颜色的主要成分美拉德反应色素、碱降解色素以及焦糖色素都为复杂含碳有机物, 类型不同, 不同云芝菌株对其降解能力有差异 (表 1)。发酵 5d 和 10d 天的结果表明 4 菌株对 3 种色素的降解率都表现

出随发酵时间增加而增高的趋势，但增加的速率各有不同。摇瓶培养 10d PVC0 与 PVC3 对美拉德、碱降解及焦糖色素的降解率相当。均高于 PVC2 与 PVC1。PVC1 对 3 种色素降解率最低。

2.3 添加色素发酵培养对不同菌株生物量的影响

不同云芝菌株对加入复杂碳源物质的耐受力以生物量作为衡量指标。对比添加与不添加色素发酵的生物量，如图 2 所示。PVC3 与 PVC0 生物量分别增加了 0.17g/100mL 和 0.07g/100mL。而 PVC1 与 PVC2 的菌体生长则受到了不同程度的抑制。

2.4 添加色素发酵培养对不同菌株菌丝体多糖产量的影响

添加色素发酵培养对不同菌株菌丝体多糖（PSK）产量的影响结果如图 3 所示，PVC0 对添加的底物的转化率最高。在不添加色素发酵的条件下，PVC0 的 PSK 产率最低，为 34.7mg/g，PVC1 最高，为 49.66mg/g，添加色素后，PVC0 的 PSK 产量增加到 48.9 mg/g，仅次于 PVC1（51.63mg/g），PVC2 的 PSK 产率受到明显的抑制。

表 1 不同云芝菌株对单色素降解能力比较

菌株	美拉德色素	碱降解色素	焦糖色素
	降解率 (%)	降解率 (%)	降解率 (%)
摇瓶 5d			
PVC0	20	34	40
PVC1	20	11.9	27
PVC2	2.4	29	38
PVC3	5.4	22	31
摇瓶 10d			
PVC0	35	52	60
PVC1	22	21	21
PVC2	31	44	44
PVC3	36	49	49

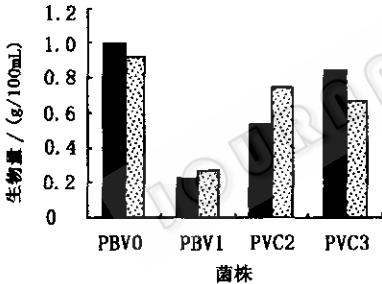


图 2 添加色素发酵对不同云芝菌株生物量的影响

■ 添加色素, ▨ 不添加色素

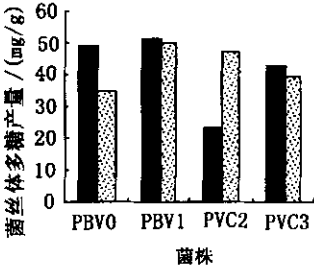


图 3 添加色素发酵对不同菌株菌丝体多糖产量的影响

■ 添加色素, ▨ 不添加色素

2.5 PVC0 菌株对不同浓度精炼糖厂离子交换再生液的脱色率

综合以上各指标，PVC0 对废水的脱色率最高，其在废水中培养的菌丝体 PSK 含量虽然较 PVC1 稍低，但其生物量最大，PSK 产量仍然最大。因为本研究以对有色废水脱色同时收获菌丝体及 PSK 为目的，所以 PVC0 为当选实验的菌株，初步比较了不同浓度精炼糖厂离子交换再生液的 PVC0 脱色率及生物量。图 4 表明，浓度为 75%、50%、30%、10% 的废水的 PVC0 脱色率相当分别为 53%，53%，56%，54%，均高于浓度 90% 的废水脱色率 44%。在低于 75% 的浓度时，生物量随培养废水的浓度增加而增大。但高于 75% 时废水的生物量降低。本研究相关

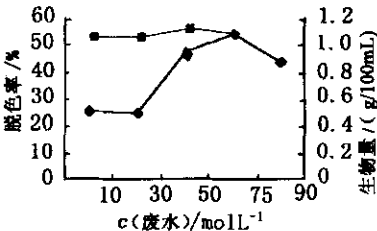


图 4 不同浓度废水 PVC0 脱色率及生物量比较

—●— 脱色率, -◆- 生物量

实验表明,离子交换再生液中 CaCl_2 含量较高,以 75% 废水浓度时的 CaCl_2 浓度最适合 PVC0 生长及表现较高脱色能力。测定浓度为 75% 废水培养的菌丝体的 PSK 产量为 49mg/g,与模拟废水培养的 PVC0 菌丝体 PSK 产量相当。

2.6 结论

综合各指标,本研究以 PVC0 为当选菌株进行实验,初步研究表明浓度 75% 的实际废水的 PVC0 脱色率 53% 要低于对模拟废水的脱色率 71%,但两者培养的 PVC0 生物量与 PSK 产量相当。废水中可能还含有 PVC0 生长过程中不能直接降解的其它深色物质。

因为精炼糖厂再溶糖浆脱色的离子交换树脂再生液中除了较高含量的色素物质外,还含有其它杂质,本文仅研究了 3 种色素物质及废液浓度与 PVC0 的相互作用,若要对废水生物脱色投入工业化应用,在今后的研究中还要综合考虑其它因素的影响,并需优化发酵工艺条件,进一步提高脱色效果和 PSK 产量。

参考文献

- [1] Lopez M J, Elorrieta M A, Vargas-Garcia M C, *et al.* *Bioresource Technology*, 2002, (81): 123 ~ 129.
- [2] Robinson T, Chandran B, Nigam P. *Enzyme and Microbial technology*, 2001, (29): 575 ~ 579.
- [3] Kumar V, Wati L, Nigam P, *et al.* *Process Biochemistry*, 1998, 33 (1): 83 ~ 88.
- [4] Carla G, Luis S M B, Manuel M. *Int Sugar Jnl*, 1999, 101 (1205): 246 ~ 251.
- [5] Kort. *Science and Technology*. London: App. Science Ph, 1979, 97 ~ 130.
- [6] Patil P U, Dhamankar V S, *Process. STAI*, 1999, (61): 65 ~ 74.