



研究报告

黄孢原毛平革菌 BKMF-1767 产絮凝剂 PCF-1767 的絮凝特性及其机理解析

李宁杰^{*1,2} 兰琪^{1,2} 陈中维^{1,2} 刘洁^{1,2} 吴磊^{1,2} 王敦球^{1,2} 张浩^{1,2} 黄小霞^{1,2}
潘莉^{1,2} 陈一聪^{1,2} 覃业维^{1,2}

1 桂林理工大学环境科学与工程学院 广西 桂林 541004

2 桂林理工大学广西环境污染控制理论与技术重点实验室 广西 桂林 541004

摘要:【背景】传统絮凝剂的使用会带来安全和环境污染方面的问题,而微生物絮凝剂具有无毒、无二次污染、易生物降解的优点,因此寻找高效廉价的微生物絮凝剂具有重要意义。【目的】研究黄孢原毛平革菌 BKMF-1767 产生的胞外多糖絮凝剂的絮凝特性及机理。【方法】使用高岭土进行 PCF-1767 的絮凝活性测定,分析絮凝剂获取时间、Ca²⁺浓度、投加量、pH、温度对絮凝效率的影响,并测定 PCF-1767 的热稳定性。测定絮凝剂的单糖组成、糖苷键连接类型、多糖分子量、Zeta 电位变化、对絮体形态观察,探讨了 PCF-1767 的絮凝机理。【结果】培养 6–12 d 获得的 PCF-1767 的絮凝活性良好;7 d 絮凝剂要获得较好的絮凝效率至少需加入 2 mmol/L Ca²⁺作为助凝剂,最佳投加浓度为 0.75–1.35 mg/L,最适 pH 为 3.0–9.0,对温度高于 50 °C 的废水絮凝活性逐渐降低,经过沸水浴处理 3 h 后的絮凝活性几乎不变。PCF-1767 中多糖的一级结构主要由葡萄糖以 $\rightarrow 4$ Glup(1 \rightarrow 的方式连接,多糖分子量随培养时间的延长而增大,变化范围为 9.897×10^5 – 2.126×10^6 Da。结合 Zeta 电位变化与絮体显微图像分析表明其絮凝机理主要为吸附架桥和卷扫作用,而非电荷中和作用。【结论】PCF-1767 具有很高絮凝活性,其用量低、适用条件广、热稳定性高,是一种非常具有应用前景的絮凝剂。

关键词: 微生物絮凝剂,胞外多糖,黄孢原毛平革菌,絮凝机理

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (51608142, 51638006); Guangxi Science and Technology Planning Project (Guike-AD19110151, 2016GXNSFBA380076, 2018GXNSFGA281001, Guike-AD18126018); Basic Competence Promotion Project for Young and Middle-aged Teachers in Universities of Guangxi (2018KY0259)

***Corresponding author:** Tel: 86-773-2537332; E-mail: echoningjie_333@126.com

Received: 28-04-2019; **Accepted:** 03-09-2019; **Published online:** 10-10-2019

基金项目: 国家自然科学基金(51608142, 51638006); 广西科技计划项目(桂科 AD19110151, 2016GXNSFBA380076, 2018GXNSFGA281001, 桂科 AD18126018); 广西高校中青年教师基础能力提升项目(2018KY0259)

***通信作者:** Tel: 0773-2537332; E-mail: echoningjie_333@126.com

收稿日期: 2019-04-28; **接受日期:** 2019-09-03; **网络首发日期:** 2019-10-10

Flocculation characteristics and mechanism of flocculant PCF-1767 produced by *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767

LI Ning-Jie^{*1,2} LAN Qi^{1,2} CHEN Zhong-Wei^{1,2} LIU Jie^{1,2} WU Lei^{1,2}
WANG Dun-Qiu^{1,2} ZHANG Hao^{1,2} HUANG Xiao-Xia^{1,2} PAN Li^{1,2} CHEN Yi-Cong^{1,2}
QIN Ye-Wei^{1,2}

1 College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China

2 Guangxi Key Laboratory of Environmental Pollution Control Theory and Technology, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China

Abstract: [Background] The use of traditional flocculants poses security and environmental problem, while microbial flocculants have the advantages of non-toxic, no secondary pollution and easy biodegradation. Therefore, it is of great significance to find efficient and economical microbial flocculants. **[Objective]** To study the flocculation characteristics and mechanism of PCF-1767, an extracellular polysaccharide flocculant produced by *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767. **[Methods]** The flocculating activity of the PCF-1767 was determined using a Kaolin suspension. The effects of flocculant acquisition time, flocculant dosage, pH, Ca^{2+} concentration and temperature on the flocculation efficiency were studied, as well as the thermal stability of PCF-1767. Flocculation mechanism of PCF-1767 was discussed from the monosaccharide composition and glycoside bond connection type, the molecular weight of polysaccharides, Zeta potential determination, and flocs morphology observation. **[Results]** The PCF-1767 obtained at 6–12 d displayed high flocculating activity. For higher flocculation activity of the PCF-1767 obtained at 7 d, at least 2 mmol/L Ca^{2+} should be added as coagulant. The optimal flocculant dosage was 0.75–1.35 mg/L, with an optimum pH range of 3.0–9.0. The flocculating activity decreased when the water temperature was higher than 50 °C. The flocculation activity of PCF-1767 was almost unchanged after 3 h water bath treatment. The primary structure of the polysaccharide in PCF-1767 obtained in different periods was similar, mainly connected by glucose in the manner of $\rightarrow 4)\text{Glup}(1\rightarrow$. The molecular weight of PCF-1767 increased with the culture time, at the range of 9.897×10^5 – 2.126×10^6 Da. Zeta potential determination and flocs image analysis showed that the main flocculation mechanism was adsorption bridging flocculation and sweeping, instead of charge neutralization. **[Conclusion]** The flocculant PCF-1767 produced by *P. chrysosporium* BKM-F-1767 has high flocculation efficiency with low dosage, wide application range and good thermal stability. In brief, PCF-1767 has good application prospects.

Keywords: Microbial flocculant, Extracellular polysaccharide, *Phanerochaete chrysosporium*, Flocculation mechanism

在污水处理中, 絮凝剂是重要的药剂。传统絮凝剂如聚合氯化铝(poly aluminum chloride, PAC)和聚丙烯酰胺(polyacrylamide, PAM)已被广泛应用, 然而在这些絮凝剂的使用过程中会产生铝离子等重金属离子的残留或者生成丙烯酰胺单体, 这些物质均会对生态环境和人体健康造成严重的危害^[1]。微生物絮凝剂(microbial flocculants, MBF)是一类由微生物代谢产生的具有絮凝活性的天然有机高分子物质, 主要成分有糖蛋白、多

糖、蛋白质、DNA 等, 有些微生物菌体自身也可作为微生物絮凝剂^[2], 由于微生物絮凝剂具有安全、高效、无毒、可生物降解、无二次污染等特点而使其在水处理中显示出更多优势^[3]。絮凝剂的有效絮凝浓度直接影响微生物絮凝剂的生产成本, 目前报道的微生物絮凝剂的有效絮凝浓度范围为 0.1–90 mg/L^[4]。我们仍然需要继续寻找一些更高效、有效絮凝浓度更小的微生物絮凝剂。

微生物絮凝剂往往是混合物, 对其中的絮凝

活性组分及其絮凝机理进行深入探讨对微生物絮凝剂在实际工程中的应用具有重要意义^[5]。研究微生物絮凝剂的絮凝活性及其有效成分,最大程度保证数据的准确性是前提。目前微生物絮凝剂的研究多是使用混合的培养液进行培养^[6],而培养液中多含有 Fe^{3+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等离子,这些无机离子本身就具有一定的絮凝活性^[7],这会对其中的有效絮凝成分的作用分析产生干扰,因此本实验使用 3 500 Da 透析袋透析培养液得到纯化的絮凝剂,使实验结果更加准确。

购买自中国典型培养物保藏中心的黄孢原毛平革菌 BKM-F-1767,经初步实验发现其产物具有较高的絮凝活性。黄孢原毛平革菌是白腐真菌中最具代表性的一种^[8],目前关于黄孢原毛平革菌的研究多在对污染物的降解^[9]、重金属的吸附去除方面^[10],对其产物的具体絮凝特性及机理的研究未见详细报道。本文研究黄孢原毛平革菌 BKM-F-1767 的胞外多糖的絮凝活性及其絮凝特性,对多糖的结构和分子量进行分析,探究其絮凝机理。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

碘甲烷、三氟乙酸,山东西亚化学工业有限公司;三氯甲烷、硫酸、无水氯化钙等,西陇科学股份有限公司;超细高岭土($\leq 2.5 \mu\text{m}$)、葡萄糖,上海麦克林生化科技有限公司。

气相色谱质谱联用仪,PerkinElmer 公司;冷冻真空干燥器,北京博医康实验仪器有限公司;紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司;Zeta 电位仪,马尔文帕纳科公司;恒温立式培养箱,上海天呈实验仪器制造有限公司。

1.2 菌种的培养

实验所用菌种购买自中国典型培养物保藏中心的黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*) BKM-F-1767 (CCTCC AF96007)。培养采用微量元素液体培养基(g/L): KH_2PO_4 2.000, CaCl_2 0.100,

MgSO_4 0.500, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.115, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.112, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.089, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.050, 维生素 B_1 0.001, 酒石酸铵 0.206, 葡萄糖 10.000。以上药品溶解于 pH 4.5 的酒石酸缓冲液。

0.12 MPa 灭菌后的微量元素培养液,接种孢子悬液。悬液中孢子浓度数量级为 10^6 个/mL^[11]。接种后的三角烧瓶置于 30 °C、180 r/min 进行培养。

1.3 絮凝剂的提取

通过高速离心机分离菌球和培养液(常温, 4 000 r/min, 5 min),培养液装入 3 500 Da 的透析袋中用去离子水透析 5 d,每天换水 5 次,透析后的溶液在 4 °C、10 000 r/min 下离心 20 min,取上清液作为絮凝剂,将其命名为 *Phanerochaete chrysosporium* flocculant-1767 (PCF-1767)。

絮凝剂溶液中多糖、蛋白质含量分别用蒽酮-硫酸法和考马斯亮蓝法进行测定。

1.4 絮凝实验

在六联搅拌混凝器上进行高岭土($2.5 \mu\text{m}$)絮凝实验,在 250 mL 的烧杯中配制最终体积为 200 mL 的絮凝实验体系,加入 PCF-1767 后 400 r/min 快速搅拌 1 min, 40 r/min 慢速搅拌 3 min,静置 10 min 后取上清液在波长为 550 nm 下测定吸光值,实验中使用 CaCl_2 作为助凝剂,不加絮凝剂的实验体系作为对照组,设置 3 组平行。絮凝效率计算公式为:

$$\text{絮凝效率} = \frac{(A_0 - A_i)}{A_0} \times 100\%,$$

其中, A_0 表示对照组上清液的 OD_{550} , A_i 表示加入培养液絮凝之后上清液的 OD_{550} 值。

分别研究培养时间、絮凝剂浓度、pH、 Ca^{2+} 浓度、高岭土浓度和温度对絮凝效率的影响,以及对絮凝剂的热稳定性进行研究。

培养时间范围:分别取培养 5–12 d 的培养液进行絮凝剂提取。絮凝体系中 PCF-1767 (多糖)浓度为 1 mg/L,高岭土浓度为 3 g/L, CaCl_2 浓度为 7.5 mmol/L,自然 pH。

絮凝剂浓度范围：培养 7 d 后提取得到的絮凝剂(以下简称 7 d 絮凝剂)，浓度为 0.6–2 mg/L，高岭土浓度 3 g/L，CaCl₂ 浓度为 7.5 mmol/L，自然 pH。

pH 范围：用 HCl 溶液或 NaOH 溶液将高岭土溶液的初始 pH 值调整至 1.0–12.0，7 d 絮凝剂浓度 1 mg/L，高岭土浓度 3 g/L，CaCl₂ 浓度为 7.5 mmol/L。

CaCl₂ 浓度范围：CaCl₂ 初始浓度为 0–9 mmol/L，7 d 絮凝剂浓度 1 mg/L，高岭土浓度 3 g/L，自然 pH。

高岭土浓度范围：高岭土溶液初始浓度为 1–6 g/L，7 d 絮凝剂浓度 1 mg/L，CaCl₂ 浓度为 7.5 mmol/L，自然 pH。

温度范围：温度为 30–90 °C 的高岭土溶液，浓度为 3 g/L，7 d 絮凝剂浓度 1 mg/L，CaCl₂ 浓度为 7.5 mmol/L，自然 pH。

热稳定性：将 7 d 絮凝剂分别在 20–100 °C 水浴中加热 3 h，恢复常温后再测定其絮凝活性。

1.5 GC-MS 分析

絮凝剂经冷冻真空干燥 3 d 得多糖冻干样，采用李波等^[12]研究中的方法，取 10 mg 多糖，经水解、还原、乙酰化处理进行多糖中单糖种类的分析；同样另取 10 mg 多糖，先后经甲基化、水解、还原、乙酰化处理进行多糖中单糖苷连接方式的分析。

GC-MS 条件^[13]：气相色谱质谱联用仪，色谱柱为 Elite-5MS 石英毛细柱(30 m×0.25 mm)；载气为氦气，流速 1 mL/min；进样口温度为 250 °C，进样量 1 μL，分流比 20:1；柱箱起始温度 140 °C，以 8 °C/min 升至 250 °C，保留 15 min。色谱与质谱接口温度为 250 °C，EI 离子源，电子轰击能量 70 eV，扫描质量范围为 40–550 amu，延迟时间设置为 5 min。

1.6 分子量测定

分子量采用凝胶渗透色谱与多角度激光光散

射仪测定(委托北京市理化分析测试中心测定)。

1.7 絮凝机理分析

1.7.1 Zeta 电位测定

利用 Zeta 电位仪测定高岭土溶液的 Zeta 电位，样品制备好后立即测定。

1.7.2 絮体形态观察

高岭土与絮凝剂混合均匀，用玻璃棒蘸取到载玻片上，盖上盖玻片后放到显微镜 40 倍下观察絮体形态，并拍摄照片。

2 结果与讨论

2.1 培养液中多糖含量的变化

经测定，黄孢原毛平革菌 BKMF-1767 各时段得到的絮凝剂溶液中蛋白质含量极少甚至测不出，多糖为其中主要成分，可认为该絮凝剂为多糖类物质。培养过程中糖含量变化如图 1 所示，在 5–12 d 培养时间内，培养液中总糖含量一直在降低，表明菌体一直在进行增长繁殖；随着培养的进行，12 d 时的多糖含量可达到约 350 mg/L。胞外多糖的累积，一方面可能是由于菌体正常生长代谢分泌累积，另一方面可能是由于菌体细胞裂解，导致胞内多糖的释放增多。

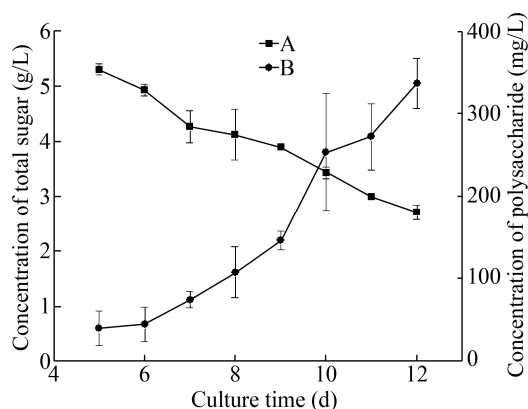


图 1 培养液中多糖及总糖含量随培养时间的变化

Figure 1 Changes of polysaccharide and total sugar contents in culture medium with culture time

注：A：多糖浓度随培养时间变化；B：总糖浓度随培养时间变化。

Note: A: Changes of polysaccharide concentration with culture time; B: Changes of total sugar concentration with culture time.

如图 2A 所示, 除第 5 天的产生的絮凝剂絮凝活性较低, 第 6 天后提取的絮凝剂絮凝效率相差都不大, 均在 70% 以上。第 9 天提取的絮凝剂絮凝效率最高, 达到 84.1%。在本实验中, 胞外多糖的使用量非常小, 只要 0.75 mg/L 就可以达到 80% 以上的絮凝效率, 相比 Ugbenyen 等^[14]研究的一种 *Cobetia* 属菌和芽孢杆菌联合培养产生的絮凝剂用量 0.2–1.0 mg/mL 要小得多, 放射杆菌和球形芽孢杆菌混合培养的生物絮凝剂的最佳剂量为 12 mg/L^[15], 丝状支原体生物絮凝剂的最佳剂量为 3.5 mg/L^[16], 而当 PCF-1767 使用量超过 1.35 mg/L 时, 絮凝效率开始出现明显下降(图 2B)。由于多糖分子表面带有较多负电基团, 负电基团之间相互作用使得整个体系中的胶体维持稳定的状态而长时间无法下沉^[17]。结合胞外多糖的产量, 可见菌体培养后期产生的胞外多糖是一种高效的微生物絮凝剂。

如图 3 所示, PCF-1767 的絮凝效率会受环境因素(pH、高岭土浓度、水体温度)不同程度的影响。黄曲霉产絮凝剂的 pH 稳定范围为 3.0–7.0^[18], 菲律宾红杆菌分泌的生物絮凝剂的最佳 pH 范围为 7.0–9.0^[19]。如图 3A 所示, PCF-1767 适宜初始 pH 范围在 3.0–9.0, 且絮凝后相较于初始 pH 变化不大, 絮凝剂的 pH 适宜范围与 Ugbenyen 等^[14]研究的絮凝剂相似, 即在酸性和弱碱性条件下絮凝效

率都较好, 且絮凝剂自身的 pH 稳定, 表明其应用具有广泛性。

如图 3B 所示, 实验中发现若不添加助凝剂 CaCl_2 , PCF-1767 的絮凝效果不明显。这与大部分微生物絮凝剂的情况一样, 都需要添加助凝剂来达到絮凝效果^[20]。朱哲等^[21]认为, Ca^{2+} 可通过与胞外聚合物中的负电官能团架桥来促进污泥絮体的形成并维持絮体结构的稳定性。初始浓度为 2–9 mmol/L 的 Ca^{2+} 对絮凝剂的效率影响不大, 而当 Ca^{2+} 初始浓度低于 2 mmol/L 时絮凝效率开始下降, 说明助凝剂 Ca^{2+} 的初始浓度至少应为 2 mmol/L。

对于初始浓度为 3–6 g/L 的高岭土溶液, PCF-1767 均具有较高的絮凝活性(图 3C), 如图 3D 所示, 絮凝体系的温度会影响 PCF-1767 的絮凝效率。在 30–50 °C 范围内, 絮凝效率较高, 当温度高于 50 °C 时, 絮凝效率开始急剧降低, 说明高温会抑制 PCF-1767 的絮凝活性。

经不同温度水浴甚至沸水浴处理的 PCF-1767 溶液冷却后仍表现出良好的絮凝活性(图 4)。这可能是因为高温下多糖的结构发生改变, 待冷却后多糖能够恢复其絮凝活性结构^[18], 说明 PCF-1767 具有良好的热稳定性, 不易失活, 方便保存。这也进一步证明了 PCF-1767 的活性成分是多糖, 而不是蛋白质。

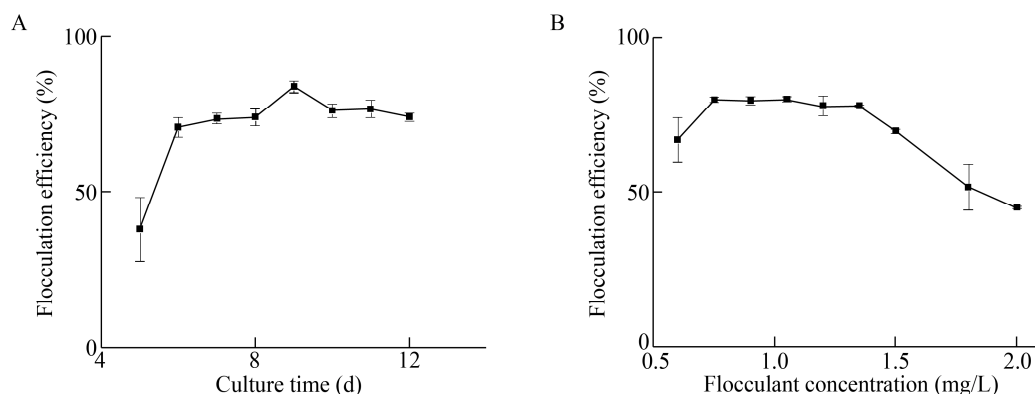


图 2 PCF-1767 与絮凝效率的关系

Figure 2 The relationship between PCF-1767 and flocculation efficiency

注: A: 不同培养时间产生的 PCF-1767; B: 不同浓度的 PCF-1767.

Note: A: PCF-1767 of different culture time; B: PCF-1767 of different concentrations.

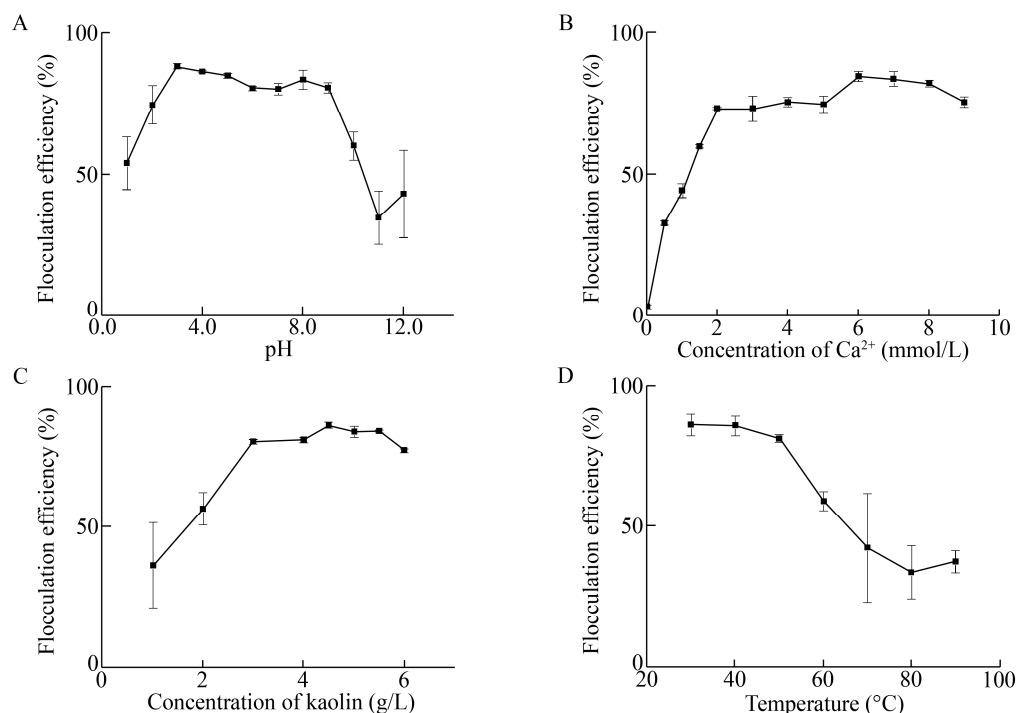


图3 絮凝条件对 PCF-1767 絮凝效率的影响

Figure 3 The effect of flocculation conditions on the flocculation efficiency of PCF-1767

注: A: 絮凝体系初始 pH 值; B: 初始 Ca^{2+} 浓度; C: 高岭土初始浓度; D: 温度.

Note: A: Initial pH value of flocculation system; B: Initial Ca^{2+} concentration; C: Initial concentration of kaolin; D: Temperature.

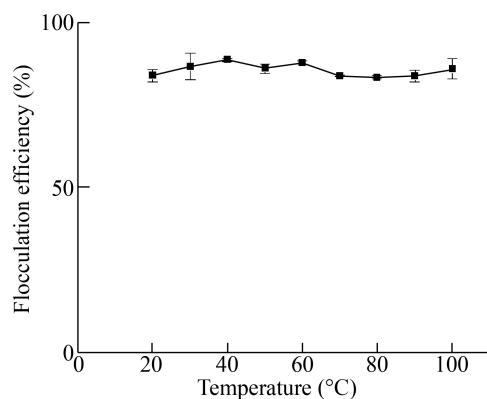


图4 PCF-1767 絮凝剂的热稳定性

Figure 4 Thermal stability of PCF-1767 flocculant

2.2 多糖的结构与分子量

絮凝剂的结构会影响絮凝效率的表达, 通过 GC-MS 分析发现第 5–12 天多糖样品组成以葡萄糖为主(图 5), 如表 1 所示, 糖链的骨架结构均主要是由葡萄糖以 $\rightarrow 4$)Glup(1 \rightarrow 的方式连接, 培养 6、7 d 时多糖中有极少部分阿拉伯糖, 以

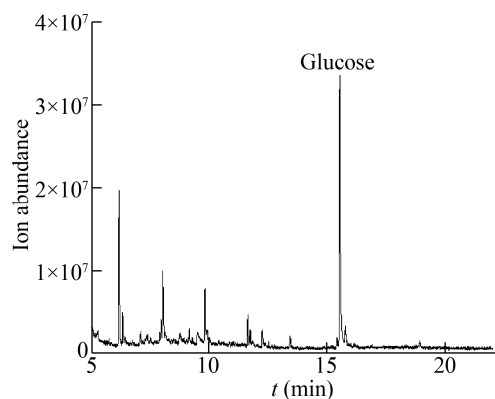


图5 絮凝剂 PCF-1767 衍生化总离子图

Figure 5 Total ion map of flocculant PCF-1767 derivatization

Arap(1 \rightarrow 、或 $\rightarrow 3$)Arap(1 \rightarrow 的方式连接(表 1)。以上结果表明不同时期 PCF-1767 中多糖一级结构的差异较小。

表 2 对多糖的分子量分析表明, 该絮凝剂是一种高分子量的多糖, 通过测定不同时期产生的多糖分子量发现, 黄孢原毛平革菌产生的多糖分子

表 1 PCF-1767 的主要甲基化结果

Table 1 Main methylation results of PCF-1767

PCF-1767 的提取时间	甲基化糖醇	连接类型
Extraction time of PCF-1767 (d)	Methylated alditol	Connection type
5-12	2,3,6-tri-O-methyl-D-glucitol	→4)Glup(1→
6	2,3,5-tri-O-methyl-L-arabinitol	Arap(1→
	2,5-di-O-methyl-L-arabinitol	→3)Arap(1→
7	2,5-di-O-methyl- L-arabinitol	→3)Arap(1→

表 2 PCF-1767 的分子量测定结果

Table 2 Molecular weight determination results of PCF-1767

PCF-1767 的提取时间	重均分子量	数均分子量	分子量分散度
Extraction time of PCF-1767 (d)	MW (Da)	MN (Da)	MW/MN
4	9.897×10^5	8.571×10^5	1.155
	5.110×10^4	3.898×10^4	1.311
7	1.499×10^6	1.238×10^6	1.211
8	1.689×10^6	1.276×10^6	1.323
16	2.126×10^6	1.824×10^6	1.165

量随培养时间的延长而增大，这很可能是图 2A 中絮凝效率升高的原因。本实验主要采取第 7 天的多糖进行研究，其重均分子量为 1.499×10^6 Da，高于大多数已报道^[18,22-23]的絮凝剂，这可能也是本絮凝剂低量高效的原因。如 Aljuboori 等^[18]利用黄曲霉生产的杂多糖分子量为 2.574×10^4 Da，Li 等^[22]发现的地衣菌 X-14 分泌胞外絮凝剂分子量约为 6.89×10^4 Da，奇异变形杆菌 TJ-1 分泌的一种酸性絮凝剂分子量为 1.2×10^5 Da^[23]；PCF-1767 与沙雷菌生产的生物絮凝剂^[24]分子量相近(约 1.8×10^6)，但使用浓度低于其所使用的 1-10 mg/L，海洋甲藻胞外多糖 KG03^[25](分子量约为 1.87×10^6)与 PCF-1767 使用浓度相近，为 0.5-1.0 mg/L，耐受温度要高于 PCF-1767，但仅限在酸性条件下使用。

2.3 絮凝机理分析

如表 3 所示，高岭土颗粒表面带负电，加入 CaCl₂ 溶液后 Zeta 电位略有上升，这表明 Ca²⁺ 的加入中和了高岭土表面部分负电荷。加入絮凝剂 PCF-1767 后体系中的 Zeta 电位基本没有变化，且絮凝剂本身呈负电性，说明该絮凝剂的主要作用

机理不是通过电荷中和实现的^[26]。

通过显微镜观察显示，高岭土悬液中高岭土颗粒为分散均匀细小颗粒(图 6A)。加入 CaCl₂ 溶液后，溶液中颗粒尺寸稍有变化但不大(图 6B)。加入 PCF-1767 后，溶液中形成较大的絮体(图 6C)，这进一步证实了 PCF-1767 对于水中的细小颗粒的絮凝作用。郭育涛等^[27]认为，高岭土颗粒可以吸附在多糖长分子链上，吸附在链上的颗粒可以同时被其他多糖分子链吸附，从而形成具有较好沉降能力的三维絮体，在沉降过程中絮体相互压缩和卷扫形成更大更密实的絮体，从而更有利于高岭土的沉降。结合 Zeta 电位的现象，说明絮凝的机理主要通过吸附架桥和卷扫作用完成对颗粒物的絮凝。

表 3 Zeta 电位测定结果

Table 3 Zeta potential measurement results

样品	Zeta 电位
Sample	Zeta potential (mV)
Kaolin solution	-23.4
Kaolin solution+CaCl ₂	-18.5
Kaolin solution+CaCl ₂ +PCF-1767	-15.6
PCF-1767	-7.5

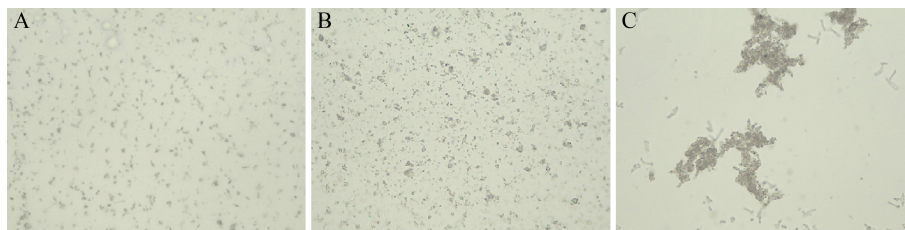


图6 絮凝高岭土显微镜图像

Figure 6 Microscopic images of flocculated kaolin

注: A: 高岭土悬液; B: 高岭土悬液加 CaCl_2 溶液; C: 高岭土悬液加 CaCl_2 溶液和絮凝剂 PCF-1767.

Note: A: Kaolin suspension; B: Kaolin suspension plus CaCl_2 solution; C: Kaolin suspension plus CaCl_2 solution and flocculant PCF-1767.

3 结论

(1) PCF-1767 为多糖型微生物絮凝剂, 菌体培养 6–12 d 后得到的胞外多糖均可产生较好的絮凝效果。

(2) PCF-1767 最佳投加浓度仅为 0.75–1.35 mg/L; 其絮凝效率会受 pH、浊度、温度的影响, 助凝剂钙离子浓度至少应为 2 mmol/L, 且 PCF-1767 的热稳定性很好。

(3) 不同时期 PCF-1767 中多糖的一级结构差别小, 主要由葡萄糖组成, 糖链的骨架结构主要是葡萄糖以 $\rightarrow 4)\text{Glup}(1\rightarrow$ 方式连接。多糖分子量随培养时间的延长而增大, 这可能是造成絮凝效率增大的原因。

(4) Zeta 电位变化情况和絮体图像分析说明 PCF-1767 的絮凝机理主要为吸附架桥和卷扫作用。

(5) PCF-1767 安全无毒, 与多数已报道的微生物絮凝剂相比, 其分子量较高, 使用量较小, pH 适用范围更广。

REFERENCES

- [1] Suryani, Ambarsari L, Artika IM, et al. Characterization of bioflocculant producing-bacteria isolated from tapioca waste water[J]. HAYATI Journal of Biosciences, 2011, 18(4): 193-196
- [2] Li LX, Liu WM, Ma F. Research advances in compound bioflocculant[J]. CIESC Journal, 2018, 69(10): 4139-4147 (in Chinese)
李立欣, 刘婉萌, 马放. 复合型微生物絮凝剂研究进展[J]. 化工学报, 2018, 69(10): 4139-4147
- [3] Feng DL, Xu SH. Characterization of bioflocculant MBF3-3 produced by an isolated *Bacillus* sp.[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2008, 24(9): 1627-1632
- [4] Salehizadeh H, Yan N. Recent advances in extracellular biopolymer flocculants[J]. Biotechnology Advances, 2014, 32(8): 1506-1522
- [5] Agunbiade M, Pohl C, Ashafa O. Bioflocculant production from *Streptomyces platensis* and its potential for river and waste water treatment[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2018, 49(4): 731-741
- [6] Jiang BH, Li RN, Li FD, et al. Optimization of fermentation conditions and composition analysis of polysaccharide-based bioflocculant produced by *Paenibacillus* sp. A9[J]. Research of Environmental Sciences, 2014, 27(5): 547-553 (in Chinese)
姜彬慧, 李若男, 李凤达, 等. 类芽孢杆菌产絮凝多糖发酵条件优化及成分分析[J]. 环境科学研究, 2014, 27(5): 547-553
- [7] Gu MY, Zhu J, Song SQ, et al. Identification and functional properties of a novel flocculant producing bacterium[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, 8(3): 1208-1214 (in Chinese)
顾美英, 朱静, 宋素琴, 等. 一株产微生物絮凝剂新菌种的鉴定及功能特性[J]. 环境工程学报, 2014, 8(3): 1208-1214
- [8] Huang DL, Zeng GM, Huang GH, et al. Application of white-rot fungi in composting lead-contaminated waste[J]. Environmental Science, 2006, 27(1): 175-180 (in Chinese)
黄丹莲, 曾光明, 黄国和, 等. 接种白腐真菌堆肥处理含 Pb 垃圾[J]. 环境科学, 2006, 27(1): 175-180
- [9] Qing C, Shang C, Zhou YH, et al. Study on the biodegradation of tetracycline wastewater by *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Environmental Pollution and Control, 2018, 40(9): 1023-1026, 1067 (in Chinese)
卿纯, 尚翠, 周亦航, 等. 黄孢原毛平革菌对四环素废水的降解研究[J]. 环境污染与防治, 2018, 40(9): 1023-1026, 1067
- [10] Yin ZW, Dong YH, Zhang SY, et al. Adsorption mechanism of Cr(VI) from aqueous solution by *Phanerochaete chrysosporium* mycelial pellets[J]. Environmental Engineering, 2018, 36(8): 74-78 (in Chinese)

- 尹志文, 董怡华, 张盛宇, 等. 黄孢原毛平革菌菌丝球吸附水中 Cr(VI) 的去除机理[J]. 环境工程, 2018, 36(8): 74-78
- [11] Li NJ, Zeng GM, Huang DL, et al. Response of extracellular carboxylic and thiol ligands (oxalate, thiol compounds) to Pb²⁺ stress in *Phanerochaete chrysosporium*[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(16): 12655-12663
- [12] Li B, Lu F. Method and analysis of methylation of polysaccharides[J]. Natural Product Research and Development, 2012, 24(1): 79-83 (in Chinese)
李波, 芦菲. 多糖的甲基化方法及图谱解析[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(1): 79-83
- [13] He JZ, Shao P, Meng XH, et al. Analysis of structural characteristics of polysaccharide from *Ganoderma lucidum*[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2010, 38(3): 372-376 (in Chinese)
何晋浙, 邵平, 孟祥河, 等. 灵芝多糖的结构特征分析[J]. 分析化学, 2010, 38(3): 372-376
- [14] Ugbenyen AM, Okoh AI. Characteristics of a bioflocculant produced by a consortium of *Cobetia* and *Bacillus* species and its application in the treatment of wastewaters[J]. Water SA, 2014, 40(1): 139-144
- [15] Wang LL, Ma F, Qu YY, et al. Characterization of a compound bioflocculant produced by mixed culture of *Rhizobium radiobacter* F2 and *Bacillus sphaericus* F6[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(11): 2559-2565
- [16] Zaki SA, Elkady MF, Farag S, et al. Characterization and flocculation properties of a carbohydrate bioflocculant from a newly isolated *Bacillus velezensis* 40B[J]. Journal of Environmental Biology, 2013, 34(1): 51-58
- [17] Liu WJ, Wang K, Li BZ, et al. Production and characterization of an intracellular bioflocculant by *Chryseobacterium daeguense* W6 cultured in low nutrition medium[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(3): 1044-1048
- [18] Aljuboory AHR, Idris A, Abdullah N, et al. Production and characterization of a bioflocculant produced by *Aspergillus flavus*[J]. Bioresource Technology, 2013, 127: 489-493
- [19] Gao Q, Zhu XH, Mu J, et al. Using *Ruditapes philippinarum* conglutination mud to produce bioflocculant and its applications in wastewater treatment[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(21): 4996-5001
- [20] Li O, Lu C, Liu A, et al. Optimization and characterization of polysaccharide-based bioflocculant produced by *Paenibacillus elgii* B69 and its application in wastewater treatment[J]. Bioresource Technology, 2013, 134: 87-93
- [21] Zhu Z, Li T, Wang DS, et al. Role of Ca(II) in bioflocculation of activated sludge[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2009, 3(4): 612-616 (in Chinese)
朱哲, 李涛, 王东升, 等. Ca(II) 在活性污泥生物絮凝中的作用研究[J]. 环境工程学报, 2009, 3(4): 612-616
- [22] Li Z, Zhong S, Lei HY, et al. Production of a novel bioflocculant by *Bacillus licheniformis* X14 and its application to low temperature drinking water treatment[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(14): 3650-3656
- [23] Xia SQ, Zhang ZQ, Wang XJ, et al. Production and characterization of a bioflocculant by *Proteus mirabilis* TJ-1[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(14): 6520-6527
- [24] Liang SK, Song DD. Characteristics of a extracellular bioflocculant from a *Serratia plumthica* isolate[J]. Advanced Materials Research, 2009, 79-82: 223-226
- [25] Yim JH, Kim SJ, Ahn SH, et al. Characterization of a novel bioflocculant, p-KG03, from a marine dinoflagellate, *Gyrodinium impudicum* KG03[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(2): 361-367
- [26] Wang SG, Li J, Gao BY, et al. Study on efficient bioflocculant by a *Klebsiella mobilis*[J]. Environmental Chemistry, 2005, 24(2): 171-174 (in Chinese)
王曙光, 李剑, 高宝玉, 等. 产气肠杆菌(KLE-1)絮凝特性的研究[J]. 环境化学, 2005, 24(2): 171-174
- [27] Guo YT, Qi LZ, Nie HY, et al. Application of cationic microbial *Klebsiella* flocculant CMBF-NIII2 in sewage treatment[J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(3): 607-614 (in Chinese)
郭育涛, 齐亮子, 聂红云, 等. 阳离子化克雷伯氏菌絮凝剂 CMBF-NIII2 在生活污水中的应用[J]. 环境化学, 2019, 38(3): 607-614