

木薯淀粉废水培养复合微生物絮凝剂产生菌的营养条件优化

王馨蔚,莫创荣*,梁敏,胡造时,戴知友
(广西大学环境学院,广西南宁 530004)

摘要:研究开发新型复合微生物絮凝剂及木薯淀粉废水资源化利用新途径。从厌氧废水中筛选出两株对木薯淀粉废水具有高絮凝活性的乳酸菌LB3、LB5,经16S rDNA基因序列分析鉴定分别为干酪乳杆菌(*Lactobacillus casei*)和植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。通过单因素实验表明,木薯淀粉废水培养复合菌体产絮凝剂的最佳营养条件为:在不添加磷酸二氢钾原浓度木薯淀粉废水中,采用葡萄糖为废水培养基的补充碳源,酵母膏和蛋白胨作为复配氮源按1:2配比添加,其补充碳氮总量为4.5%,碳氮比值为1.5。在该条件下,发酵液对淀粉废水和高岭土悬液的絮凝率最高可达89.2%和91.4%。

关键词:木薯淀粉废水,复合微生物絮凝剂,条件优化,筛选

Culture of complex bioflocculant-producing strains and optimization of its nutritional conditions by using cassava starch wastewater

WANG Xin-wei, MO Chuang-rong*, LIANG Min, HU Zao-shi, DAI Zhi-you

(Department of Environment Science, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: A new style of combined microbial flocculant and a new way for cassava starch wastewater reutilization were proposed. Two lactic acid bacterial strains LB3 and LB5 which could produce bioflocculant with high flocculating to cassava starch wastewater were screened from anaerobic wastewater. 16S rDNA gene sequence analysis showed that the two strains could be identified as *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* respectively. The nutritional conditions which combined strains fermented cassava starch wastewater to produce bioflocculant were optimized through single factor test. The optimization nutritional compositions were: raw concentration cassava starch wastewater without adding KH_2PO_4 , with glucose as the optimal carbon source in wastewater culture medium, combined nitrogen source of yeast extract and peptone by 1:2, 4.5% of total carbon and nitrogen amount with C/N ratio of 1.5. With the condition above, the flocculation rate of fermentation broth to starch wastewater and Kaolin clay suspension was found to be 89.2% and 91.4% respectively.

Key words: cassava starch wastewater; complex microbial flocculant; conditions optimization; screening

中图分类号: TS239

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)04-0211-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.04.034

微生物絮凝剂(Microbial flocculant, MBF),是一种天然生物高分子絮凝剂,按来源其可分为三类^[1]: 直接利用微生物细胞的絮凝剂;利用微生物细胞提取物的絮凝剂;利用微生物细胞代谢的不同种类絮凝剂^[2]。微生物絮凝剂可使液体中不易降解的固体悬浮颗粒、菌体细胞和胶体粒子等发生凝聚沉淀,是具有生物分解性和安全性的高效、无毒、无二次污染的绿色水处理剂^[3]。目前对微生物絮凝剂的研究已逐步从单一菌种转变为复合菌种的培养,针对不同的处理对象,采取化学絮凝剂和微生物絮凝剂复配^[4],以

此扩大微生物絮凝剂的运用。菌种絮凝能力低和生产成本高是微生物絮凝剂运用的两个主要问题^[5]。利用营养物质丰富的廉价原料培养发酵微生物絮凝剂^[6],是降低其生产成本的有效方法之一。已报道的廉价原料有食品工业废水如淀粉废水^[7],酱油废水^[8],制棕榈油废水^[9],木薯酒精废水^[10],还有利用秸秆类纤维素^[11]等。

广西是目前全国最大的木薯生产基地,木薯淀粉年产量58万吨,占全国总量的70%以上^[12]。木薯淀粉生产过程中,产生大量高浓度有机废水,其中含有

收稿日期:2015-07-17

作者简介:王馨蔚(1990-),女,硕士研究生,研究方向:环境污染控制技术与工程,E-mail:meldy114@sina.com。

* 通讯作者:莫创荣(1969-),男,博士,研究方向:环境评价、环境规划,E-mail:mochuangrong@163.com。

基金项目:南宁市科学与技术开发项目(20125257)。

大量的水溶性物质,如糖、蛋白质等,此外还含有少量的微细纤维和淀粉,且 COD_G 、 BOD_5 值很高,处理难度极大^[13]。本研究拟从淀粉厂厌氧废水中筛选出多株具有絮凝活性的菌株,通过复筛得到高絮凝活性复合菌株,利用木薯淀粉废水优化该复合菌株产微生物絮凝剂的培养条件,旨在为木薯黄浆淀粉废水资源循环再利用提供新途径,达到以废治废的目的。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

菌种来源 采自南宁市某木薯淀粉厂厌氧罐中上层的厌氧废水;木薯 由木薯淀粉厂提供;木薯淀粉黄浆废水 由实验室模拟生产流程制备所得。

CX31RTSF型奥林巴斯显微镜 奥林巴斯公司; pHS-3C型数字酸度计 上海精科; UV-1800型紫外分光光度计 日本岛津; YXQ-LS-50S型立式压力蒸汽灭菌锅 上海博讯; 国华SHA-B型恒温水浴摇床 常州国华电器; 722型可见光分光光度计 上海仪电分析仪器有限公司; SW-CJ-1D型超净工作台 苏州净化设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 淀粉废水的制备 模拟实际生产流程,将木薯和水按照1:3(w/v)的比值配比,将榨取后的木薯渣和汁液混合搅拌10 min后,经过四层纱布和100目筛分离出淀粉乳,在4000 r/min的条件下离心1 min,倒取离心后的上清液为实验废水。为尽量保证自制废水实验条件一致性,每次榨取废水均对水质进行测定。

1.2.2 培养基的配制 MRS琼脂培养基(1 L):蛋白胨10.0 g,牛肉膏10.0 g,酵母粉5.0 g, K_2HPO_4 2.0 g,柠檬酸二铵2.0 g,乙酸钠5.0 g,葡萄糖20.0 g,碳酸钙15 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.58 g, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.25 g,吐温801 mL,琼脂15 g, pH调节至6.2~6.4。

MRS液体培养基:为上述MRS固体培养基不加琼脂和碳酸钙,同时用作种子液培养基。

废水培养基:为保证每次实验所用废水的一致性,控制废水本底值保持在一定范围,经一定稀释后的自制木薯淀粉废水100 mL,灭菌保持培养基不受其他杂菌影响。

1.2.3 废水水质的测定 化学需氧量 COD_G 采用重铬酸钾微波消解快速测定法;总氮TN采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法,参照HJ 636-2012;总磷TP采用钼酸铵分光光度法,参照《GB11893-89》;pH采用pHS-3C计测定;还原糖采用3,5-二硝基水杨酸比色法;蛋白质采用考马斯亮蓝G-250法。

1.2.4 菌种的初筛复筛 移取1 mL厌氧废水上清液至MRS液体培养基,于30 ℃、150 r/min摇床培养48 h进行富集培养^[14],采用梯度稀释法进行菌种的筛分,挑选在MRS固体培养基上具有钙溶解圈的菌落分离纯化。挑取不同纯菌种接种于MRS液体培养基,在30 ℃、150 r/min摇床培养48 h,通过对废水的絮凝效果进行筛选。将筛选出的菌体保存至斜面培养基冷藏。

取初筛菌种接种于MRS液体培养基培养24 h作为种子液,分别各取1 mL种子液两两、交叉复配接种于100 mL稀释2倍的木薯淀粉废水中,相同培养条件,测定菌种复配发酵液对淀粉废水的絮凝率,选取絮凝率最高的复配组合作为研究对象。

1.2.5 菌种的鉴定 16S rDNA基因同源性分析:将待检菌株接种于斜面固体培养基,测序相关工作交由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。分析所得基因组序列在NCBI数据库中进行blast分析,再利用MEGA6.0构建发育树,确定菌种分类。

1.2.6 絮凝活性分布实验 取实验单菌株种子液各1 mL接种于100 mL MRS液体培养基,30 ℃、150 r/min摇床培养48 h后,发酵液在4000 r/min条件下离心20 min,取上清液备用,离心后的菌体加入等体积水制成菌悬液,同时用蒸馏水洗涤菌体2次加入等体积水制为洗涤菌悬液,测定发酵原液、上清液、菌悬液、洗涤菌悬液对高岭土悬液的絮凝率。

1.2.7 营养条件的确定

1.2.7.1 补充不同碳源对絮凝效果的影响 选择6种常用碳源葡萄糖、蔗糖、果糖、乳糖、甘油、95%乙醇各2%添加于100 mL废水培养基中,灭菌备用。两菌株总接种量为2%,按配比1:1(v/v),于30 ℃ 150 r/min的条件下培养48 h,测定发酵液pH及对淀粉废水和高岭土悬浮液的絮凝率,确定最佳碳源。

1.2.7.2 补充不同氮源对絮凝效果的影响 选择蛋白胨、牛肉膏、酵母膏、胰蛋白胨、硫酸铵、尿素按2%添加于100 mL废水培养基中,并添加2%优化所得最佳碳源,同培养条件及测定方法,确定最佳氮源。由于使用单一氮源成本较高,选用廉价氮源进行复配,促进菌体生长及胞外聚合物分泌^[15]。选择絮凝效果好的单一氮源按总添加量3%进行复配,确定最佳复配氮源。

1.2.7.3 不同碳氮总量和碳氮比对絮凝效果的影响 根据以上优化确定的外加碳氮源,设置补加碳氮添加总量为:5%、4.5%、4%、3%;碳氮比值为:0.5、1、1.5、2进行絮凝实验,同培养条件及测定方法,确定最优碳氮总量和碳氮比。

1.2.7.4 废水浓度以及无机盐磷酸二氢钾对絮凝率的影响 根据以上优化确定的外加碳氮源量,设定废水稀释倍数为:0、2、4、5;参考任敦建等^[10]研究的以磷酸二氢钾作为磷源时对絮凝率有很大影响,选用不同添加量,在不同稀释度废水培养基中补加0、0.2、0.4、0.8、1 mL浓度为10 g/L的磷酸二氢钾,同条件培养测定絮凝率。

1.2.8 高岭土悬液絮凝率的测定 称取0.8 g高岭土于烧杯中,加入200 mL去离子水和5 mL 1% $CaCl_2$ 溶液,用六联搅拌器以300 r/min快搅30 s,加入20 mL发酵液,再以150 r/min慢搅5 min,静置30 min,在液面1 cm下吸取上清液于550 nm下测定吸光度(B),空白以去离子水为对照,于波长550 nm下测定吸光度(A)。絮凝率的计算如公式(1):

$$\text{絮凝率}(\%) = \frac{A-B}{A} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中:A—空白对照样上清液在550 nm处的吸光

度, B—絮凝后样品上清液在550 nm处的吸光度。

1.2.9 废水絮凝率的测定 木薯淀粉废水浊度大是由于其含有大量蛋白质造成的, 参照李新华^[16]对甘薯浆液絮凝活性的测定, 及李琳^[17]对红薯淀粉废水的絮凝测定方法, 通过用微生物絮凝剂絮凝沉降木薯淀粉废水, 以废水絮凝率来反应其絮凝性能。于200 mL自制淀粉废水中加入5 mL 1% CaCl₂溶液, 用六联搅拌器以300 r/min快搅30 s, 加入20 mL发酵液, 再以150 r/min慢搅5 min, 静置30 min, 在液面1 cm下吸取上清液于550 nm下测定吸光度(B), 空白以添加无菌废水培养基为对照, 氯化钙以去离子水代替于550 nm下测定吸光度(A)。

1.3 数据处理

采用Office 2010版Excel和SPSS 19.0处理数据。

2 结果与分析

2.1 木薯淀粉废水水质特征

为实现木薯淀粉废水的资源循环再利用, 首先对自制的废水水质特性进行测定, 结果见表1。

表1 木薯淀粉废水水质

Table 1 Properties of cassava starch wastewater

COD _C (mg/L)	TN (mg/L)	TP (mg/L)	粗蛋白 (mg/L)	pH	还原糖 (mg/L)
12000~15000	45~55	35~45	3900~4100	6.5~7.0	450~550

注: 表中COD_C代表化学需氧量; TN代表总氮; TP代表总磷。

由表1可知, 木薯淀粉废水属于食品工业中的高浓度有机废水, 含有大量的粗蛋白和一定量的糖类, 其TN、TP的含量可作为培养微生物絮凝剂的部分能源, 木薯淀粉废水作为培养微生物絮凝剂的基础培养基是较为理想的。

2.2 菌种初筛与复筛

厌氧废水经过富集培养后, 从中筛选出29株菌株。将这29株菌株接种于MRS液体培养基, 发酵培养后进行木薯淀粉废水的絮凝活性实验, 初筛得到4株(编号分别为: LB2、LB3、LB5、LB6)絮凝率大于60%的菌株。将4株具有较高絮凝活性的菌株作为实验对象, 交叉复配接种各菌株种子液于木薯淀粉废水培养基中进行发酵培养, 根据其对淀粉废水的絮凝率, 复筛结果见表2。

表2 菌株复筛结果

Table 2 Results of secondary screening

菌株组合编号	絮凝率(%)	菌株组合编号	絮凝率(%)
LB2:LB3:LB5:LB6	51.8	LB3:LB5	74.8
LB3:LB5:LB6	71.3	LB5:LB6	57.2
LB2:LB3:LB5	54.5	LB2:LB5	64.6
LB2:LB3:LB6	61.4	LB2:LB6	38.0
LB2:LB5:LB6	46.8	LB3:LB6	63.3
LB2:LB3	62.8		

注: 表中絮凝率均在同废水条件下测定。

表2结果表明, 菌种复配组合LB3:LB5:LB6、LB2:

LB3:LB6、LB2:LB3、LB3:LB5、LB2:LB5和LB3:LB6的培养发酵液对木薯淀粉废水的絮凝率大于60%, 其中LB3:LB5的絮凝率最高, 达到74.8%。说明这两种菌种复合培养产生的絮凝活性物质较多, 选用LB3和LB5作为研究对象。

2.3 菌种鉴定结果

LB3、LB5的16S rDNA同源性分析: 两株菌株的PCR扩增电泳图谱如图1所示。分别提取菌株LB3、LB5的基因组DNA, 通过PCR扩增出16S rDNA片段, 回收产物后进行测序, 结果表明菌株LB3的16S rDNA核苷酸序列长为1484 bp, LB5的16S rDNA核苷酸序列长为1450 bp, 将该序列进行Blast分析, 选取同源覆盖率为99%以上的模式菌株序列, 构建出的系统发育树如图2所示。LB3与*Lactobacillus casei*的同源性达到100%, 初步确定为干酪乳杆菌属, LB5与*Lactobacillus plantarum*的同源性达到100%, 初步确定为植物乳杆菌属, 两株菌株均属于益生菌^[18-19]。

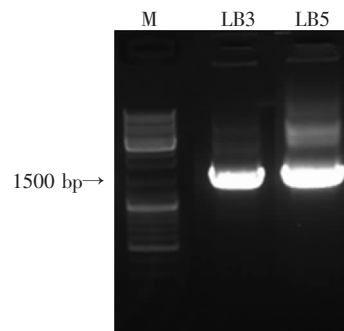


图1 菌株LB3、LB5 PCR凝胶电泳图

Fig.1 Strain LB3 and LB5 PCR gel electrophoresis figure

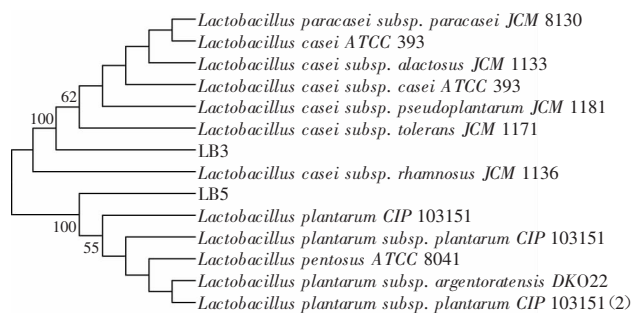


图2 菌株LB3、LB5及相关菌株系统发育树

Fig.2 The phylogenetic tree of strain LB3 and LB5

2.4 絮凝活性分布

经过不同处理后复合菌体发酵液各部分絮凝活性如图3所示。

从图3可知, 不同方法处理复合菌体发酵液, 对高岭土悬液均能表现出良好的絮凝活性, 尤其是洗涤后的菌体, 絮凝率达到92.2%, 显著 ($p < 0.05$) 高于发酵原液、上清液、菌悬液的絮凝率, 这是由于菌体细胞表面存在絮凝活性物质。通常已知的微生物絮凝剂一类是菌体胞外产物有絮凝作用, 而菌体本身没有絮凝作用, 另一类只是菌体本身具有絮凝活性。LB3与LB5复合产生的代谢产物及其复合菌体本身

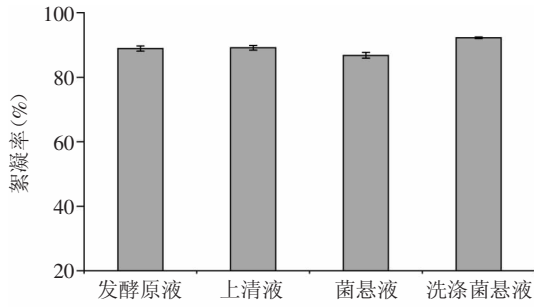


图3 絮凝活性分布

Fig.3 Flocculation activity profile

都具有絮凝活性,与张莉力等^[20]研究的副干酪乳杆菌仅是菌体本身有絮凝作用不同。这一特点可使其运用范围更广泛,利用价值更高。

2.5 复合型微生物絮凝剂产生菌的废水营养条件优化

2.5.1 添加碳源种类对絮凝效果的影响 在废水培养基中添加2%的6种不同种类物质作为补充碳源,灭菌接种后进行发酵培养并测定絮凝率,结合pH确定最佳碳源,结果见图4。

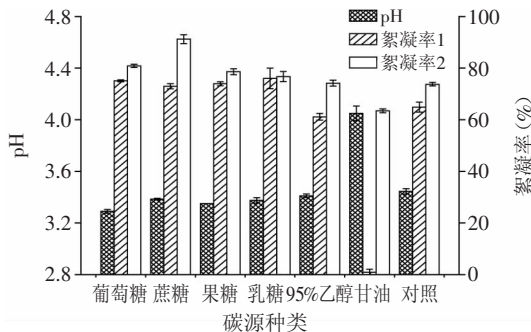


图4 不同碳源对絮凝率的影响

Fig.4 Effect of different additional carbon sources on flocculating activity

注:图中pH为发酵液pH,絮凝率1为木薯淀粉废水絮凝率,絮凝率2为高岭土悬液絮凝率;图5同。

从图4可以看出,在补充不同种类的外加碳源中,其中以葡萄糖和乳糖培养后对木薯淀粉废水的絮凝率最高,可达到75.1%、76.0%,相比以蔗糖培养的发酵液对高岭土悬液的絮凝率高达91.3%,但对木薯淀粉废水的絮凝率却不高。葡萄糖作为单糖,可较快速的被菌体利用代谢产生更多的絮凝活性物质,且培养发酵液pH最低,投加后达到木薯淀粉废水中蛋白质絮凝沉淀的等电点范围值^[21]。蔗糖作为速效碳源可快速提高菌体生长量,但分泌的胞外代谢物量不高,对淀粉废水的絮凝率相对较低;而添加甘油作为碳源对促进菌体生长不利,复合菌体发酵液pH为4.05,对高岭土悬液仍具有絮凝活性可能是生长少量的菌体本身对其产生絮凝作用。根据发酵液絮凝淀粉废水的效果,选择葡萄糖作为外加碳源。

2.5.2 添加氮源种类对絮凝效果的影响 废水培养基中添加2%葡萄糖为补充碳源,再分别添加2%的各类氮源进行发酵培养,测定其絮凝结果,见图5。

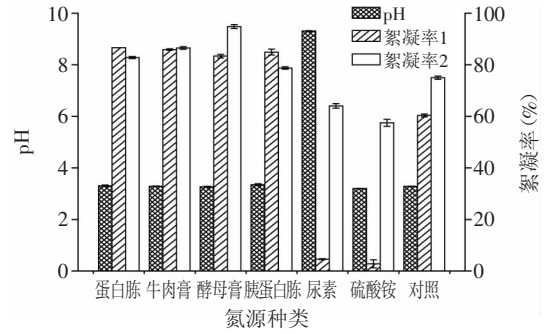


图5 不同氮源对絮凝率的影响

Fig.5 Effect of different additional nitrogen sources on flocculating activity

从图5可知,6种不同种类的补加氮源中,蛋白胨、牛肉膏、酵母膏对木薯淀粉废水和高岭土悬液的絮凝率均能达到80%以上。其中以酵母膏对高岭土悬液的絮凝率最高为94.8%,对木薯淀粉废水的絮凝率达到83.4%,且发酵培养液pH降低至3.27,说明其更有利于促进菌体生长,但尿素和硫酸铵均对菌体生长产生絮凝活性物质没有促进作用,淀粉废水絮凝率几乎接近零,说明在氮源种类利用方面,尿素和硫酸铵作为无机氮源不能被乳酸菌类细菌直接利用,和已有研究的乳酸菌类细菌报道类似^[20]。综合对淀粉废水和高岭土悬液的絮凝效果,选择蛋白胨、牛肉膏、酵母膏进行氮源复配。

2.5.3 复配氮源对絮凝效果的影响 从节约成本以及为菌体生长提供最优氮源出发,牛肉膏和酵母膏的成本较高,和蛋白胨复配作为氮源,按总量3%的不同配比添加于废水培养基中,发酵培养后进行絮凝实验,结果见表3。

表3 复配氮源对絮凝率的影响

Table 3 Effect of compound nitrogen source on flocculating activity

氮源种类	配比	测定项目		
		pH	絮凝率1 (%)	絮凝率2 (%)
牛肉膏:蛋白胨	1:1	3.32	82.1	92.6
	1:2	3.31	81.6	90.3
	2:1	3.30	82.2	93.2
酵母膏:蛋白胨	1:1	3.33	78.5	92.6
	1:2	3.28	81.1	92.9
	2:1	3.27	80.5	93.3

从表3中可以看出,酵母膏和蛋白胨作为氮源,配比为1:2时对木薯淀粉废水和高岭土悬液的絮凝率分别是81.1%、92.9%,与牛肉膏和蛋白胨在配比为2:1相比较,其絮凝率相差均未超过1%。经方差分析,两种配比的絮凝率差异不显著($p > 0.05$),因酵母膏富含完全蛋白质,均衡的必需氨基酸以及B族维生素、核苷酸、微量元素等,从实际生产经济成本考虑,选择酵母膏与蛋白胨按1:2复配培养菌体,有利于产生絮凝活性物质。

2.5.4 不同碳氮总量和碳氮比对絮凝效果的影响 根

据已确定最佳碳源和氮源,测定不同外加碳氮总量及碳氮比的絮凝效果,结果分别见图6、图7。

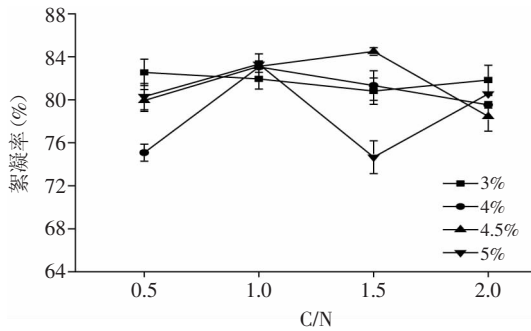


图6 木薯淀粉废水絮凝率

Fig.6 Flocculation rate of cassava starch wastewater

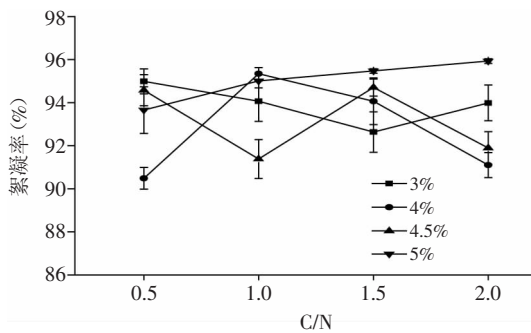


图7 高岭土悬液絮凝率

Fig.7 Flocculation rate of kaolin suspension

一定量的碳氮比能促进微生物代谢及提高胞外聚合物的分泌量,碳氮比对菌体产生胞外物聚合物具有关键作用,不同的微生物利用不同的碳氮源,导致没有固定的最佳碳氮比定值^[2]。从图中可知,在碳氮总量为4.5%,碳氮比值为1.5时对淀粉废水的絮凝率最高达到84.5%,高岭土悬液絮凝率为94.7%,此时复合菌体发酵培养液pH降低至3.24;在碳氮总量和比值为5%、1.5时,二者的絮凝率呈负相关,可能是由于菌体大量生长,利用自身产生的胞外絮凝性物质作为营养物,导致对淀粉废水的絮凝性能下降。当碳氮比值大于1.5达到2.0时,培养液对淀粉废水和高岭土悬液的絮凝率明显下降,说明在此碳氮比值下不适宜菌体生长分泌具有絮凝活性的胞外产物。经F检验,不同碳氮总量和碳氮比间无显著性差异($p>0.05$)。因此,综合碳氮源用量及复合菌体发酵液对淀粉废水的絮凝性能,选择添加总量4.5%和比值1.5为碳氮总量及碳氮比。

2.5.5 不同废水浓度以及无机盐磷酸二氢钾对絮凝率的影响 根据以上优化的碳氮源添加量,在不同浓度木薯淀粉废水中添加浓度为10 g/L的磷酸二氢钾进行培养,培养48 h后测定发酵液对淀粉废水和高岭土悬液的絮凝率,结果见图8、图9。

在实际淀粉生产中,由于所用木薯原料中淀粉及其他营养物质含量不同,会造成废水的有机物浓度变化较大。模拟自制废水在不同浓度的基础上,改变 KH_2PO_4 的添加量,培养液对木薯淀粉废水及高岭

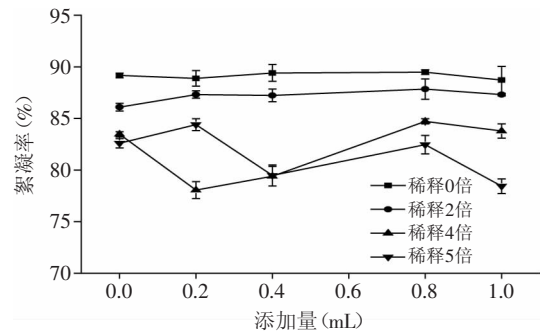


图8 废水浓度及磷酸二氢钾添加量对废水絮凝率的影响

Fig.8 Effect of wastewater concentration and KH_2PO_4 dosage on flocculating activity

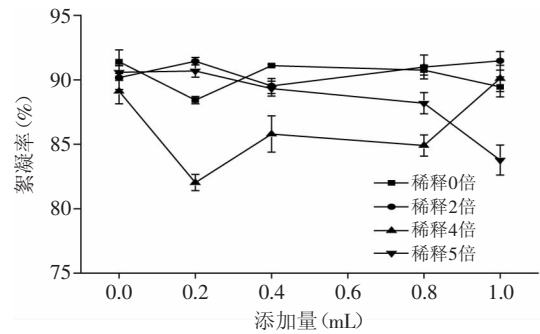


图9 废水浓度及磷酸二氢钾添加量对高岭土絮凝率的影响

Fig.9 Effect of wastewater concentration and KH_2PO_4 dosage on flocculating activity

土悬液的絮凝率无显著性($p>0.05$)的提高,当添加量为0.0 mL/100 mL、废水为原浓度时发酵液对二者的絮凝率分别达到89.2%、91.4%,且培养液的pH下降到3.17。说明菌体可以良好的生长于高浓度有机废水中,耐受高渗透压的水体环境,其中的无机盐含量已能达到菌体的生长需求量,随着淀粉废水不断稀释,营养物质浓度也下降而不足以提供菌体生长所需,增加磷酸二氢钾的添加量,在一定程度上可促进菌体生长分泌絮凝活性物质。从实际生产考虑,选择不稀释的淀粉废水和不添加磷酸二氢钾直接进行发酵培养。

3 结论

从木薯淀粉厂厌氧废水中筛选分离出具有高絮凝活性的两株菌株,经鉴定LB3为干酪乳杆菌属, LB5为植物乳杆菌属。絮凝活性分布实验结果表明,与通常微生物絮凝剂只在单方面具有絮凝活性不同, LB3与LB5复合产生的胞外分泌物具有良好的絮凝活性,其菌体本身也具有较高絮凝活性。对其利用木薯淀粉废水作为廉价底物的营养条件进行优化,实验按两菌株总接种量为2%,配比为1:1时培养优化得到废水培养基最佳补充碳源为葡萄糖,复合氮源以酵母膏和蛋白胨按1:2添加,其补加碳氮源添加总量为4.5%,碳氮比值为1.5;根据优化确定最优碳氮源量,直接以原浓度木薯淀粉废水和不添加磷源的方式进行发酵培养,复合菌体能良好的生长于高浓度有机废水中,其发酵液对木薯淀粉废水及高岭土

悬液的絮凝率最高达到89.2%、91.4%，同时发酵培养液pH下降到3.17，在3.1~3.5范围内，投加后达到木薯淀粉废水中蛋白质絮凝沉降的最佳等电点范围。

参考文献

- [1] 周云,刘英,张志强,等. 微生物絮凝剂制备的研究新进展[J]. 环境污染与防治,2014(4):80-85.
- [2] 罗玉琴,扶雄,侯轶. 微生物絮凝剂BN_25的特性及其在甘蔗混合汁澄清工艺中的应用[J]. 食品工业科技,2015,36(10):205-209.
- [3] 王有乐,张宝茸,范志明,等. 复合型微生物絮凝剂处理马铃薯淀粉废水的研究[J]. 水处理技术,2009(5):79-82.
- [4] 岳艳利,周林成,王耀龙,等. 微生物絮凝剂的制备及其应用研究进展[J]. 水处理技术,2012(1):6-9.
- [5] Li Z,Zhong S,Lei H,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.
- [6] 颜东方,负建民. 马铃薯淀粉废水生产微生物絮凝剂菌株筛选及其营养条件优化[J]. 农业工程学报,2013(3):198-206.
- [7] Pu S,Qin L,Che J,et al. Preparation and application of a novel bioflocculant by two strains of *Rhizopus* sp. using potato starch wastewater as nutrilit[J]. Bioresource Technology, 2014, 162:184-191.
- [8] 刘晖,周康群,胡勇有,等. 青霉菌HHE-P7利用酱油废水产生微生物絮凝剂的研究[J]. 环境污染治理技术与设备,2006,7(3):40-44.
- [9] Aljuboori A H R,Uemura Y,Osman N B,et al. Production of a bioflocculant from *Aspergillus niger* using palm oil mill effluent as carbon source[J]. Bioresource Technology, 2014, 171:66-70.
- [10] 任敦建,宋汕柯,李红阳,等. 利用木薯淀粉酒精废水培养

复合型生物絮凝产生菌条件优化及其应用研究[J]. 广东农业科学,2013,40(10):97-100.

- [11] 陆静超,阎灵均,李大鹏,等. 秸秆资源化制取生物絮凝剂[J]. 沈阳建筑大学学报:自然科学版,2009(1):161-164.
- [12] 莫凤明,黎克纯. 木薯淀粉废水治理技术研究[J]. 硅谷, 2010(8):125.
- [13] 林华,陈志明,莫智明,等. 木薯淀粉废水处理技术研究进展[J]. 大众科技,2013(7):56-57.
- [14] 韩宴秀. 一种微生物絮凝剂产生菌的筛选、鉴定及应用[D]. 南宁:广西大学,2014.
- [15] 崔景丽,高鹏飞,李妍,等. 益生菌 *Lactobacillus casei* Zhang 增殖培养基的优化[J]. 微生物学通报,2008,35(4):623-628.
- [16] 李新华,赵晓阳,张荔力. 副干酪乳杆菌对甘薯浆液中淀粉絮凝机理研究[J]. 食品科学,2010(19):273-276.
- [17] 李琳,张清敏,杨建华. 复合微生物絮凝处理红薯淀粉废水的研究[J]. 环境科学与技术,2006(7):75-76.
- [18] Sidira M,Kandylis P,Kanellaki M,et al. Effect of immobilized *Lactobacillus casei* on volatile compounds of heat treated probiotic dry-fermented sausages[J]. Food Chemistry, 2015, 178:201-207.
- [19] Zhang L, Liu C, Li D, et al. Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 54:270-275.
- [20] 张莉力,许云贺,李新华. 对甘薯淀粉具有絮凝活性的乳酸菌的分离鉴定及其特性研究[J]. 食品科学,2010(7):228-231.
- [21] 邓国龙,莫创荣,张金莲,等. 酸沉淀法回收木薯黄浆废水中蛋白质及其影响因素的研究[J]. 食品工业科技,2014(20):308-311.
- [22] More T T,Yadav J S S,Yan S,et al. Extracellular polymeric substances of bacteria and their potential environmental applications[J]. Journal of Environmental Management, 2014, 144:1-25.

(上接第195页)

参考文献

- [1] 李昌文,刘延奇. 小麦面粉对速冻水饺品质的影响[J]. 粮食加工,2007,32(6):50-51.
- [2] 苏晶莹. 乙酰化马铃薯粉在速冻水饺中的应用[J]. 轻工科技,2014,(8):15-17.
- [3] 梁灵,张正茂,张艳东. 大豆蛋白对速冻水饺质量的影响[J]. 西北农林科技大学学报,2006,34(10):153-158.
- [4] 李雪琴,王显伦,苗笑亮. 速冻水饺防裂技术研究[J]. 食品工业科技,2007,28(1):93-95.
- [5] 段素华,李爱民,王晓君. 乳化剂对速冻水饺品质影响[J]. 粮食与油脂,2010(1):19-22.
- [6] 李昌文,刘延奇,王章存. 添加剂对速冻水饺冻裂率影响的研究[J]. 中国食品添加剂,2006(2):114-116.
- [7] 孙婕,尹国友,韩贞凤,等. 食品添加剂对速冻水饺品质特性的影响[J]. 安徽农业科学,2010,38(6):3137-3139.
- [8] 齐文娟,岳红卫,王伟. 大豆磷脂的理化特性及其开发与应用[J]. 中国油脂,2005,30(8):35-37.
- [9] 李丽. 大豆磷脂及其在药剂中的应用[J]. 黑龙江医药,2010,

2(23):178-182.

- [10] 李杰,王丽,于长青. 大豆磷脂的研究现状及展望[J]. 黑龙江八一农垦大学学报,2005,17(2):81-84.
- [11] 李楠,王佳,玮张丽,等. 改良剂对冷冻面团抗拉伸特性和馒头品质的影响[J]. 中国粮油学报,2011,26(12):16-19.
- [12] 任顺成,李绍虹,王显伦,等. 乳化剂对冷冻面团(高筋粉)拉伸特性的影响[J]. 食品研究与开发,2011,32(1):22-26.
- [13] 李桂玉,许秀峰. 影响速冻水饺冻裂率因素分析及改良措施[J]. 食品科技,2004,(3):46-47.
- [14] 王云峰,史忠林,丁培峰. 复合天然添加剂对速冻水饺抗冻裂效果的影响[J]. 食品科技,2012,37(7):159-161.
- [15] 米佳. 醋酸酯淀粉在速冻水饺皮中作用机理的研究[D]. 济南:齐鲁工业大学,2014.
- [16] SB/T 10138-93. 饺子用小麦粉[S]. 北京:中华人民共和国商业部,1993.
- [17] 张锦丽,侯汉学,鲁墨森,等. 改善速冻水饺品质的研究[J]. 食品工业科技,2005,26(5):73-75,78.
- [18] 屠康,姜松,朱文学. 食品物性学[M]. 南京:东南大学出版社,2006.