

# 微生物絮凝剂及其在水处理中的应用

罗德芳<sup>1,2</sup>, 邵孝侯<sup>1,2</sup>

(1. 河海大学农业工程学院, 江苏 南京 210098; 2. 南方地区高效灌溉与农业水土环境教育部重点实验室, 江苏 南京 210098)

**摘要** 综述微生物絮凝剂产生菌获得途径, 絮凝剂的成分及结构特点, 影响微生物絮凝剂形成的因素及影响絮凝效果的因素。简要介绍微生物絮凝剂在水处理中实际应用情况, 并探讨微生物絮凝剂的发展趋势及研究方向。

**关键词** 微生物絮凝剂 菌种 絮凝机理 影响因素

**中图分类号** X703.5 **文献标识码** A **文章编号** 1004-6933(2009)S1-0130-04

絮凝剂是一种可以使液体中的胶体和悬浮颗粒絮凝成较大的絮凝体并沉淀下来的物质。长期以来, 给水和污水的处理中最常用的絮凝剂包括 2 类: 无机絮凝剂, 如铝系( $\text{AlCl}_3$ 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  和 PAC 等) 及铁系( $\text{FeCl}_3$ 、 $\text{FeSO}_4$ 、PFS 和 PASS 等); 有机高分子絮凝剂, 如聚丙烯酰胺(PAM)等。有关研究表明, 它们在使用的过程中存在着不安全性, 对环境产生二次污染<sup>[1]</sup>。因此, 研究和开发新型的被称为第三代絮凝剂的微生物絮凝剂就成为必然。

微生物絮凝剂(MBF)是一类由微生物产生的具有絮凝活性的高分子有机物, 具有生物分解性、无毒、无二次污染等特点。此外微生物絮凝剂种类繁多, 生长速度快, 易于扩大培养和采取生物工程的手段实现工业化生产, 因此在给水和废水处理领域具有广阔的应用前景<sup>[2]</sup>。

## 1 絮凝剂产生菌

国内外研究所采用的絮凝微生物种群主要通过以下三种途径获得。

a. 从自然界获得。目前, 微生物絮凝剂菌种的筛选主要从自然界的土壤、活性污泥、污水等中获得。这是因为土壤是微生物生活最适宜的环境, 活性污泥和污水本身就是微生物培养体。最早絮凝剂产生菌及后来的多种具有絮凝特性的细菌就是从活性污泥和土壤中筛选出来的。我国首次报道的微生物絮凝剂的也是从活性污泥和土壤中筛选出的。此后, 经过学者不懈努力, 也筛选出不少优良的菌种。

b. 从已有菌株获得。由于长期的人工培养, 实验室或者是生产上使用的菌种会出现退化, 甚至是变异。因此, 可以利用已有的菌株, 进行菌种的分离和纯化, 从而优化其性能。Nakamura 等<sup>[3]</sup>从霉菌、放线菌、细菌、酵母菌等 214 种菌株筛选出酱油曲霉(*Aspergillus sojae*), 也引发了微生物絮凝剂研究的热潮。

c. 采用生物工程技术获得。采用分子生物学技术, 通过转基因、人工诱变, 细胞融合等技术, 构建高产絮凝剂的工程菌。常玉广<sup>[4]</sup>从活性污泥中筛选出 F2 和 F6 絮凝菌, F2 具有安卡霉素抗性, F6 具有新霉素抗性, 融合后出现絮凝特性, 絮凝效果与亲本菌株 F2 和 F6 相当。

## 2 微生物絮凝剂的成分与结构特点

### 2.1 微生物絮凝剂的主要成分

微生物絮凝剂的种类繁多, 结构各异。不同微生物产生的絮凝剂的成分与结构是不同的。微生物絮凝剂成分的分析方法主要有再形成法、因子破坏法和化学分析法。实际研究中通常将上述三种方法综合考虑, 以获得准确的结论。根据化学组成分类, 微生物絮凝剂分为蛋白质、多糖、纤维素、脂类和 DNA 等<sup>[5]</sup>。根据来源分类, 微生物絮凝剂有 4 种类型: ①直接利用微生物细胞絮凝剂, 如某些细菌、放线菌、霉菌等, 他们大量存在于土壤、活性污泥中; ②微生物细胞壁提取物, 如酵母菌细胞壁的葡聚糖、甘露聚糖、蛋白质和 N-乙酰葡萄糖胺等成分均可作为絮凝剂; ③微生物细胞代谢产物, 大部分的微生物絮

基金项目 江苏高校科研成果产业化推进项目(JH07-010)

作者简介 罗德芳(1983—), 男, 江苏徐州人, 硕士研究生, 研究方向为污水处理与净化技术。E-mail: rambow6@163.com

通讯作者 邵孝侯, 教授。E-mail: shaoxiaoshou@163.com

凝剂属于该类,主要是细胞的荚膜、黏液等,除水外,其余的主要成分为多糖及少量蛋白质、脂类及其复合物;④通过生物技术获得絮凝剂,这类絮凝剂采用的是分子生物学手段,将高效基因转移到特定细菌中,形成生物工程菌。美国在这方面做了一些富有成效的工作,研制出高效絮凝性菌株,将它与其他微生物一起制成活性液,能够快速消除下水道淤塞以及污泥膨胀等问题。

## 2.2 微生物絮凝剂的结构特点

微生物的絮凝剂的结构是由其化学成分决定的,差异很大,现在已知的微观立体结构有以下2种 ①球状。 *Aspergillus sojae* 产生的絮凝剂就是球状结构,有三种成分组成,2-葡萄糖酮酸是其中之一,它的作用就是保持絮凝剂的球状,使絮凝行为模式保持为非离子型的。MBF-13 是从农场牲畜粪便中分离出来的一种酵母菌,是一种多糖物质,分子中含有羧基、羟基、氨基等极性基团,它们在絮凝中起着主要作用。②纤维状。 *Nocardia-amarare* 分泌的絮凝剂的成分是蛋白质,其中75%是甘氨酸、丝氨酸以及丙氨酸,由于这样特殊的结构,絮凝剂可以形成丝状纤维,这些纤维实际上是絮凝体形成过程中的颗粒间联结构。一般认为,絮凝模式与微观结构密切相关。

## 3 微生物絮凝剂的絮凝机理及影响因素

### 3.1 微生物絮凝剂的絮凝机理

微生物是带有电荷的生物大分子,一般认为絮凝作用的本质是有机高分子物质与目标物之间发生了相互作用<sup>[6]</sup>。关于微生物絮凝剂的絮凝机理,学者先后提出过很多假说,归纳起来主要有:Butterfield的黏质学说、Grabtree的利用PHB酯合假说、Friedman的菌体外纤维素纤丝学说、荚膜学说和胞外聚合物架桥学说等。但是这些假说适用范围窄,只能解释部分菌引起的絮凝。

絮凝作用是一个复杂的物理化学过程,对于微生物絮凝剂的作用机理,以“桥联作用”机理的接受度最高,但其广谱性已证明吸附机理并不是唯一的,且只能解释部分菌类引起的絮凝。目前较为人们所接受的絮凝机理是离子键、氢键键桥学说,该机理认为絮凝剂大分子借助离子键、氢键和范德华力,同时吸附多个胶体颗粒,在颗粒间产生“架桥”现象,形成一种网状的三维结构而沉淀下来。也有学者对此提出异议,张永奎等<sup>[5]</sup>对筛选出的Z-67菌株进行研究,结论是所产絮凝剂MBF-33与高岭土颗粒之间既非离子键结合也非氢键结合。

由于微生物絮凝剂的多样性和絮凝范围的广泛性,可以推测出絮凝机理也是多样的,为了更好地解释这一过程,应考虑特定絮凝剂和胶体颗粒的组成、

结构、电荷以及各种控制条件,用多种理论来解释。

### 3.2 影响絮凝剂形成的因素

微生物絮凝剂形成受到培养基组成、初始pH值、培养温度、通气状况等因素的影响。

微生物絮凝剂的产量除了与所选的菌种特性有关外,还与培养基有关。尤其是其中的碳氮源,很大程度上影响菌体的生长和絮凝能力。例如,红平红球菌的最适碳源就是葡萄糖等水溶性糖类,最适氮源为尿素、硫酸铵<sup>[7]</sup> 朱丹等<sup>[8]</sup>分别以蔗糖、淀粉、乳糖、葡萄糖为碳源,结果表明,以葡萄糖得到的培养液的絮凝活性最高,而以淀粉作为碳源得到培养液的絮凝活性最低。一般地说,富含单糖或营养丰富的培养基利于絮凝剂的产生,而高氮低糖的培养基会使絮凝剂的产量降低。可能是因为葡萄糖是絮凝菌最容易利用的碳源,浓度过高,菌体生长条件优越,菌体次生代谢产物分泌减少,这些代谢产物就是絮凝剂的主要物质,从而带来絮凝剂活性降低。

初始的pH值可影响絮凝剂产生菌的生长和分泌絮凝剂<sup>[9]</sup>,培养基的初始pH一般在6.0~8.5,过高或过低均不利于絮凝剂的产生。因此,调节合适的初始pH,再通过自身调节,使絮凝菌保持在某一个最适的pH,此时微生物的分泌能力最旺盛。

培养温度影响絮凝菌的活性。虽然不同的絮凝菌的最适生长温度不同,但一般都在25~30℃。酱油曲霉在28℃絮凝效果最好。但是,絮凝剂的合成的最佳温度并不是与菌体生长的最适温度保持一致的。如28℃是酱油曲霉的最适生长温度,但絮凝剂产量最高却是在30~34℃时。

使用摇床培养时,通气状况主要受到摇床速度影响。速度越快,通气量越大,越有利于絮凝菌与基质的接触,越有利于好氧微生物的生长与絮凝剂的分泌。但过快,絮凝菌不能充分利用资源,在实际生产中是不经济的。张沫<sup>[10]</sup>通过实验得出MF3菌株的摇床速度控制在120 r/min以上时候,絮凝率稳定在85%以上,摇床速度达到160 r/min时,絮凝率最高达到96.15%,当速度到达180 r/min时,絮凝速率下降明显。作者对这个解释为溶解氧的增加使絮凝菌的代谢加快,使菌株提前进入稳定期,从而影响了MF3的絮凝活性。辛嘉晟<sup>[11]</sup>试验得到最佳摇床速度为160~180 r/min,这与张沫<sup>[10]</sup>的试验结果相似。

综合上述各因素对絮凝菌生长和产絮凝剂的影响,要使絮凝菌能最大限度地生产絮凝剂,需要对培养条件进行优化,找到适合絮凝菌最适生长条件。但有一点值得注意,有的絮凝菌菌体最佳培养条件和产絮凝剂的最佳培养条件是不一致的。在最佳产絮凝剂的条件下,菌体生长缓慢,产絮凝剂的周期长。杨朝晖等<sup>[12]</sup>将整个培养过程分为2段,培养初期采用菌体最佳生长条件(培养温度30℃,摇床速度

150 r/min),后期采用菌体最佳产絮凝剂培养条件(培养温度 25℃,摇床速度 100 r/min),最大限度利用基质产生絮凝剂,在缩短产絮凝剂周期的同时保证产量。

### 3.3 影响絮凝效果的因素

微生物絮凝剂的絮凝效果受到自身结构、性质以及外界条件影响。大分子上有线性结构的,其絮凝效果好,如果分子结构是交联或支链结构,其絮凝效果较差。絮凝剂所带基团的极性、亲水性、电荷性质及电荷中和能力对絮凝剂的性质起着很大作用。微生物絮凝剂的分子量越大,吸附位点越多,携带的电荷也多,有利于桥联作用和卷扫作用。外界条件指的是 pH 值、温度、絮凝剂和助凝剂的种类等。

pH 值影响絮凝剂胶体表面电荷、Zeta 电位,絮凝剂的水溶性性质。因此,微生物絮凝剂对任一废水的絮凝都有一个最适的 pH 值。王劲松等<sup>[13]</sup>研究微生物絮凝剂对絮状厌氧活性污泥的生物絮凝效, pH 值在 7.0 ~ 7.4 絮凝效果好,当 pH 值大于 7.6 时,逐渐降低。有学者发现采用复合型微生物絮凝剂处理酸性废水,投加量大于中性。当然,也有个别微生物絮凝剂的适用 pH 范围广,如冯雅丽等<sup>[14]</sup>从土壤中得到硅酸盐菌株 B12,其适用 pH 值范围广,为 0.5 ~ 12。

温度影响微生物絮凝剂的絮凝活性,如 *R. erythropolis* 所产絮凝剂在 100℃ 的水中加热 15 min 后,其絮凝活性降低 50%,这主要是因为该絮凝剂的成分是蛋白质,温度过高时候,蛋白质发生变性。如果絮凝剂的成分由多聚糖组成,就有较强的热稳定性。冯雅丽等<sup>[15]</sup>将 B12 所产絮凝剂在 0.1 MPa 和温度 121℃ 热处理 20 min,絮凝剂絮凝活性仍保持在 90% 以上。

絮凝效果随着絮凝剂的用量增加而增大,但是,絮凝剂用量达到以定值后,出现峰值,再增加用量,絮凝效果反而下降。因此,使用时有一个最佳效果用量。如 Yin<sup>[15]</sup>研究螺旋藻所产生的絮凝剂,所产生的胞外多糖质量浓度在 0.5 ~ 2.5 mg/L 时,对 5 g/L 的高岭土悬浊液絮凝效率较好,当质量浓度在 1 mg/L 时,絮凝效率最高。

助凝剂起到化学桥联作用,能促进絮凝物形成,提高沉降速度。一般认为:金属阳离子对絮凝特性都有一定的加强,效果与离子价高低有关系,即:由大到小顺序为三价、二价、一价。容易受金属阳离子影响的多数是蛋白质(多肽)型的微生物絮凝剂。也有学者认为个别金属阳离子加入会降低微生物絮凝活性,如  $\text{Na}^+$ ,这可能是由于它破坏了大分子与胶体之间氢键的形成。通常选用  $\text{Ca}^{2+}$  弥补这些缺陷。

## 4 微生物絮凝剂在水处理中的应用

### 4.1 脱色

印染废水脱色困难、可生化性差,处理存在一定

困难,已成为我国各大水域的重要污染源。有学者利用从啤酒厂废水筛选出絮凝微生物处理靛蓝印染废水,最大的脱色率达到 82.6%。用 *Alcaligenes latus* 培养物处理造纸厂有色废水,下层清水的透光率几乎与自来水相近,脱色率为 94.6%。李向飞等<sup>[16]</sup>应用白腐真菌与黄孢原毛平革菌对染料废水进行脱色,对 3 种染料的脱色效率均大于 90%,为染料厂解决染料废水脱色问题提供一个很好的思路。Kaewchai 等<sup>[17]</sup>将分离的 3 株菌在 45℃ 和好氧条件下,对棕榈油厂废水进行处理,废水都能从黑棕色脱色至浅黄色,并且分离不出油水。吴涓等<sup>[18]</sup>用微生物絮凝剂、10% 的  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  以及 0.1% 的 PAM 分别处理 10 mg/L 的次甲基蓝溶液,脱色率分别是 98.6%,82.8%,92.4%。这也表明微生物对次甲基蓝的脱色能力强于  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$  和 PAM。

### 4.2 降低浊度

针对高浓度悬浮物的絮凝净化,很多学者做过建设性的探索。如在 SS 为 370 mg/L 的废水悬浊液中,投加 2% 的 *Alcaligenes latus*,加入  $\text{Ca}^{2+}$ ,沉降后上清液 SS 为 80 mg/L,去除率为 78%,PAM 处理同样废水,SS 去除率仅有 47%。降低浊度是糖厂制糖工艺的重点,传统的方法是加絮凝剂,由于无机和有机高分子絮凝剂的不安全性,有人将筛选的微生物应用于制糖工艺,取得了明显的效果。吴焕利等<sup>[19]</sup>将经过紫外诱变得到的突变菌株 YB-1 去处理水性油墨废水,当发酵液的投加量是 69 mg/L 时,浊度去除率为 94.55%。这也为高效微生物絮凝剂产生菌的获得提供新的思路。郑丽娜等<sup>[20]</sup>考察生物絮凝剂 BF<sub>s</sub> 对高岭土悬浊液的去除效果,当投药质量浓度在 5 ~ 19 mg/L 范围内能够使高岭土的溶液浊度去除 84%。

### 4.3 降解有机物

利用微生物絮凝剂处理废水有一定优势,废水中大都富含有机物,因此,不需额外投加碳源,就可以降低水中有机物的含量。用微生物絮凝剂处理食品、发酵和餐饮等行业的废水,既减少污染物排放,又可回收有用成分,为企业创造效益。国内有学者利用微生物絮凝剂对淀粉废水进行处理,废水  $\text{COD}_{\text{Cr}}$  去除率为 68.5%,还可回收蛋白质作为饲料。刘彬彬等<sup>[21]</sup>将黑曲霉处理造纸中断废水中的  $\text{COD}_{\text{Cr}}$ ,去除率可达 70.6%。曹建平等<sup>[22]</sup>通过试验发现,微生物絮凝剂处理酱油废水的效果与有机絮凝剂 PAM 相近,但所需沉降时间要短。

### 4.4 其他方面

Oh 等<sup>[23]</sup>利用微生物絮凝剂分离得到渔业生产需要的小绿藻,pH 值在 5 ~ 11 的范围内,絮凝效率都在 82% 以上。王劲松等<sup>[13]</sup>应用生物絮凝剂对絮状厌氧污泥进行处理,当 pH 值为 7.2,  $\text{CaCl}_2$  投加量

为 300 mg/L,絮凝剂投加量为 20 mg/L,搅拌速度 300 r/min 下,生物絮凝性增加为原来 2.16 倍。这与 *R. erythropolis* 能解决污泥膨胀问题相似。Vijayalakshmi 等<sup>[24]</sup>利用枯草杆菌絮凝粉煤,结果表明:沉降过程与 pH 值无关,加入电解质提高絮凝速度,同时使底泥的致密性加强。此外,在橡胶乳液分离、发酵工业去除残体细胞、选矿等方面都有一定应用。

### 5 结论与展望

微生物絮凝剂作为一类新型絮凝剂,凭借其安全、高效、易生物降解等优点,在废水絮凝净化、厌氧污泥颗粒化、发酵产业、固液分离等方面有很好应用前景。但是,产量小、成本高以及适用性范围窄等因素制约其商品化。因此,降低生产成本,筛选广谱高效的微生物絮凝菌应该是研究的重点。

影响絮凝剂形成因素主要是 碳氮源、pH 值、培养温度和通气量。絮凝剂的絮凝效果也受到:pH 值、温度、絮凝剂投加量和助凝剂等因素影响。各个因素对絮凝剂的影响不同,因此,优化絮凝菌的絮凝条件很有必要。

总体说来,目前所筛选出的絮凝剂产生菌不多,因而,运用基因工程和生物遗传工程对微生物进行遗传学改造,定向培育出工程菌很有必要。由于目前的研究主要针对某菌所产生絮凝剂,归纳、共识性的内容匮乏,絮凝机理缺乏明确解释,测定絮凝活性的指标单一,絮凝剂种类、成分与处理污水之间关系的研究较少,必然制约微生物絮凝剂的发展。同时,单一菌株范围适用性低。用复合微生物产生絮凝剂代替单一菌群产生絮凝剂,将微生物絮凝剂同其它有机或无机絮凝剂复配,应是今后絮凝剂研究新的方向。

### 参考文献:

[1] 胡勇有,高宝玉.微生物絮凝剂[M].北京:化学工业出版社,2007.

[2] LIAN Bin, CHEN Ye, ZHAO Jin, et al. Microbial flocculation by *Bacillus mucilaginosus* applications and mechanisms [J]. Bioresource Technology,2008,99(11):4825-4831.

[3] NAKAMURA J. Purification and analysis of microbial cell flocculants produced by *Aspergillus sojae* AJ7002 [J]. Agricultural and Biological Chemistry,1976,40(3):619-624.

[4] 常玉广.基于产絮克隆菌的遗传及产絮特性研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2008.

[5] 张永奎,周礼,陈晓,等. MBF-33 絮凝特性研究 [J]. 环境科学与技术,2006,29(10):37-45.

[6] FRANK R, JAMES S, JULIE B, et al. The use of chitosan as a flocculant in mammalian cell culture dramatically improves clar-

ification throughput without adversely impacting monoclonal antibody recovery [J]. Journal of Biotechnology,2001,128(4):813-823.

[7] KURANE R, HATAMUCHI K, KAKUNO T, et al. Screen for and characteristics of microbial flocculant [J]. Agric Biol Chem, 1986,50(9):2309-2313.

[8] 朱丹,冯贵颖,呼世斌.微生物絮凝剂产生菌的筛选及培养条件的优化[J].水处理技术,2006,26(2):76-78.

[9] 柯芝兰,李科林,郭帅,等.微生物絮凝剂产生菌 B212 的培养条件研究[J].环境科学与技术,2008,31(2):28-30.

[10] 张沫.高效微生物絮凝菌的筛选及其特性研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2006.

[11] 辛嘉晟.微生物絮凝剂在污泥处理中的应用研究[J].广州环境科学,2008,23(3):4-7.

[12] 杨朝晖,陶然,曾光明,等.多粘类芽孢杆菌 GA1 产絮凝剂的培养基和分段培养工艺 [J]. 环境科学,2006,27(7):1444-1449.

[13] 王劲松,胡勇有.微生物絮凝剂对厌氧污泥生物絮凝作用的研究[J].工业用水与废水,2005,36(2):4-7.

[14] 冯雅丽,王宏杰,李浩然,等.一株产絮凝剂硅酸盐细菌的筛选及其絮凝特性[J].中南大学学报:自然科学版,2008,39(5):934-939.

[15] YIM J H, KIM S J, AHN S H, et al. Characterization of a novel bio-flocculant, p-KG03, from a marine dinoflagellate, *Gyrodinium impudicum* KG03 [J]. Bioresource Technology, 2007,98(2):361-367.

[16] 李向飞,林刚,张亚涛.白腐真菌 F1 对染料脱色的研究 [J]. 环境污染治理技术与设备,2002,3(7):14.

[17] KAEWCHAI S, PRASERTSAN P. Screening and application of thermotolerant microorganisms and their flocculant for treatment of palm oil mill effluent [J]. Songklanakarin Journal of Science and Technology 2002,24(3):414-420.

[18] 吴涓,费文砚.微生物絮凝剂的絮凝特性及其脱色能力的研究 [J]. 生物学杂志,2008,25(2):30-32.

[19] 吴焕利,冯贵颖,赵淑艳,等.紫外诱变选育高效微生物絮凝剂产生菌及其应用 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(8):113-118.

[20] 郑丽娜,马放,迟熠.生物絮凝剂用于给水混凝处理中浊度去除的研究 [J]. 环境科学,2008,29(6):1544-1549.

[21] 刘彬彬,闫永胜,王珊.微生物絮凝剂处理造纸中断废水的实验研究 [J]. 工业安全与环保,2007,33(11):14-16.

[22] 曹建平,戴友芝,唐受印,等.微生物絮凝剂 M-25 在酱油水处理中的应用 [J]. 水处理技术,2005,31(2):7-9.

[23] OH Hee-Mock, LEE S J, PARK Myung-Hwan, et al. Harvesting of *Chlorella vulgaris* using a bioflocculant from *Paenibacillus* sp. AM49 [J]. Biotechnology Letters, 2001, 23(15):1229-1234.

[24] VIJAYALAKSHMI S P, RAICHUR A M. The utility of *Bacillus subtilis* as a bioflocculant for fine coal [J]. Colloids and Surfaces B:Biointerfaces,2003,29(4):265-275.

(收稿日期:2009-05-20 编辑:徐娟)