

Development and Application of Flocculant-Producing Bacteria Medium Based on the Juice of Xinhui Citrus

Zhaoxia Chen¹, Kangchun Peng¹, Yongcong Yang¹, Bao'e Wang¹, Jianjun Du¹, Jianxin Huang², Xuping Ao², Yiyong Li^{1*}

¹College of Environmental Science and Engineering, Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou Guangdong

²Beijing Huaqing Baili Environmental Engineering Co., Ltd., Beijing
Email: 350527256@qq.com

Received: May 27th, 2019; accepted: June 11th, 2019; published: June 18th, 2019

Abstract

In order to solve the production cost problem of microbial flocculant, a new type of cheap flocculant-producing bacteria medium was developed. The juice from the waste pulp of Xinhui citrus was taken as an alternative carbon source (adding amounts of 1%, 10% and 100%) to prepare the flocculant-producing bacteria medium. After fermentation by *Bacillus sp.*, the flocculation efficiency was evaluated using the kaolin simulated wastewater, and was further verified by the decolorization effect of tail water from the dairy farm. The flocculant-producing bacteria medium based on glucose was used as the control. The results showed that the flocculation efficiency was the best at the adding amounts of 1%, and the flocculation rate was 95.3% (with bacterial cell) and 94.7% (without bacterial cell), which was close to the flocculation rate of the control medium. For the tail water of dairy farm, the decolorization rate reached 26.2% (with bacterial cell) and 25.9% (without bacterial cell), which was more than double that of the control medium. Hence, the juice of Xinhui citrus can be used for the preparation of cheap flocculant-producing bacteria medium, and the produced flocculant has favorable flocculation effect, which is worthy of a wide application.

Keywords

Juice of Xinhui Citrus, Cheap Flocculant-Producing Bacteria Medium, Flocculation, Decolorization

新会柑肉汁产絮培养基的研制及应用

陈钊霞¹, 彭康淳¹, 杨泳聪¹, 王宝娥¹, 杜建军¹, 黄建新², 敖旭平², 李义勇^{1*}

*通讯作者。

文章引用: 陈钊霞, 彭康淳, 杨泳聪, 王宝娥, 杜建军, 黄建新, 敖旭平, 李义勇. 新会柑肉汁产絮培养基的研制及应用[J]. 环境保护前沿, 2019, 9(3): 431-438. DOI: 10.12677/aep.2019.93060

¹仲恺农业工程学院环境学院, 广东 广州

²北京华清佰利环保工程有限公司, 北京

Email: 350527256@qq.com

收稿日期: 2019年5月27日; 录用日期: 2019年6月11日; 发布日期: 2019年6月18日

摘要

为了解决微生物絮凝剂大量投产使用所面临的生产成本问题, 本研究拟研制新型的廉价产絮培养基。利用新会柑加工废弃果肉的肉汁作为替代碳源(添加量为1%、10%和100%), 制备产絮培养基, 经产絮芽孢杆菌发酵后, 以高岭土模拟废水评价其絮凝效果, 并以奶牛场尾水脱色效果进行验证, 以葡萄糖产絮培养基作为对照。结果表明, 在新会柑肉汁添加量1%水平下, 絮凝效果最好, 絮凝率为95.3% (含菌体)和94.7% (不含菌体), 接近对照培养基的絮凝率。对于奶牛场尾水, 脱色率达到26.2% (含菌体)和25.9% (不含菌体), 较对照培养基的脱色率提高了一倍以上。可见, 新会柑肉汁可用于制备廉价产絮培养基, 所产絮凝剂的絮凝效果好, 值得推广应用。

关键词

新会柑肉汁, 廉价产絮培养基, 絮凝, 脱色

Copyright © 2019 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

微生物絮凝剂是指有絮凝效果的微生物或者其分泌产生的代谢产物, 通过细菌、真菌等微生物发酵、提取、精制而得, 具有高效、安全, 无毒无害, 无二次污染等优点, 克服了传统无机和有机絮凝剂的固有缺陷[1] [2]。目前, 微生物絮凝剂已广泛用于环保领域, 尤其是废水处理方面[3], 包括含油废水[4]、含重金属废水[5]、建材废水[6]、造纸废水[7]、印染废水[8] [9]、生活污水[10]、食品加工废水[11] [12]、畜禽养殖废水[13]等。微生物絮凝剂的用途非常广泛, 应当实现量产和广泛使用。然而, 投产使用便会面临生产成本问题, 而最大成本即是培养基[14] [15] [16]。

适宜的培养基能使产絮菌生长得更好, 且絮凝剂更优质、更廉价。碳源是产絮培养基的最重要成份。研究发现, 以葡萄糖、甘露糖等水溶性糖类作为碳源时, 产絮菌的产絮能力更高, 且葡萄糖培养基可作为标准的产絮培养基[17]。同时, 国内外也有较多以废水(废物)作碳源配制廉价培养基的报道[18]。刘晖等以饮料废水、啤酒废水和酱油废水开发适用于青霉菌 HHE-P7 的产絮培养基, 发现酱油废水所产絮凝剂的生产成本低, 絮凝效果好[19], 芦艳等也得到了相似的研究结果[20]。成文等利用酒精废水外加少量营养物质作为两株霉菌的培养基, 所得絮凝剂对高岭土废水、猪场废水、建材废水、餐饮废水、城市生活污水均有良好的絮凝效果[21], 与薛东等的研究结果相一致[22]。马耀华等以黄泔水为廉价培养基, 对絮凝剂产生菌 B-12 进行发酵培养, 所产絮凝剂对化粪池废水、城市生活污水和土壤悬浊液具有良好的絮凝效果[23]。采用木薯淀粉废水[24]、糯米淀粉废水[25]、马铃薯淀粉废水[25]等发酵产生的絮凝剂都具有良好的絮凝效果。有趣的是, 采用养猪废水或者牛粪沼液作为廉价替代培养基(外加磷酸盐和少量葡萄糖)

也能得到较理想的产絮量,大幅度降低微生物絮凝剂的培养基成本,为养猪废水和牛粪沼液提供了一条新的资源化途径[5] [13] [26]。目前较多的是以废水制作产絮培养基,但也有采用固体废弃物作为产絮培养基的报道。马放等以稻草秸秆作为碳源,经两段式发酵,每 t 稻草秸秆可以制取复合型生物絮凝剂 44 kg [27] [28]。冯绮澜等以甘蔗渣进行不同的预处理后,经纤维素酶糖化和酱油曲霉发酵后,其絮凝率达到 97.82% [29]。可见,以废水(废物)作碳源配制廉价的产絮培养基是可行的。截至目前,还未见以新会柑肉(汁)开发微生物絮凝剂培养基的报道。

广东新会柑产量达 60,000 t/a,其中果皮用于生产陈皮,而果肉因为味酸、口感不佳、产量巨大、又不耐存放等原因被当作废料处理,被随意丢弃的果肉高达 40,000 t/a,导致周边严重的土壤和水体污染。为解决此问题,当地政府鼓励企业采用新会柑肉生产酵素或酿造果酒,但仍只能消纳一小部分,因此,需要开发新会柑肉的新用途。与前人研究相一致[30],我们也发现新会柑肉汁的有机物浓度非常高,COD 高达 10 万 mg/L。同时,新会柑肉汁富含草酸、酒石酸和柠檬酸等有机酸[31],易被微生物利用。因此,本研究尝试利用新会柑肉汁作为替代碳源,研制廉价的产絮培养基,用于废水处理。既可解决新会柑产业中废物的环保问题,又可为废水处理提供环保材料,变废为宝,一举两得。另外,畜禽养殖废水具有高 COD、高氨氮和高 SS 特征,且色度去除任务严峻,是水处理的“难关”,故本研究以养殖废水脱色来评价新研制培养基所产絮凝剂的絮凝效果。

本研究以研制廉价的新会柑肉汁产絮培养基为目标,并通过废水处理验证其效果,主要内容有:1) 基于新会柑肉汁碳源替代的廉价培养基研制;2) 利用廉价培养基所产絮凝剂处理高岭土模拟废水和奶牛场废水,评价其絮凝效果。本研究成果将为微生物絮凝剂的廉价培养基研制与大量生产使用提供技术支撑。

2. 材料与方法

2.1. 产絮菌

一株芽孢杆菌,为本实验室从养殖水体自行分离和保藏,单菌落呈现乳白色,质地粘稠。在同批次分离的 30 余株纯菌株中,经絮凝活性初筛测试,该菌株表现出最强的絮凝能力。其在 LB 培养基上的平板活化和斜面保藏,见图 1。

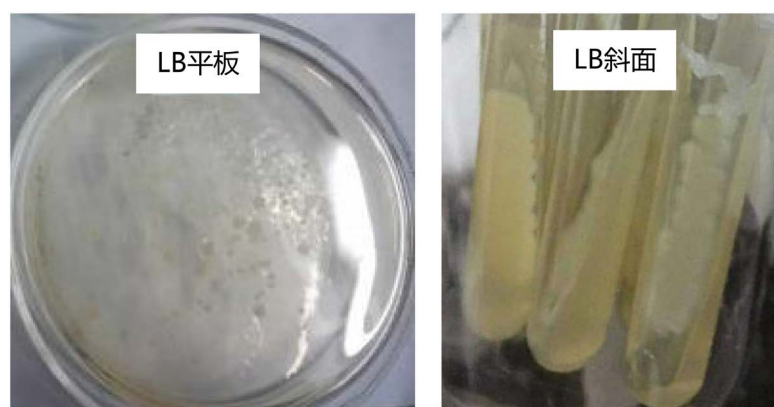


Figure 1. Plate separation and slant preservation of the flocculant-producing bacteria
图 1. 产絮菌的平板分离和斜面保藏

2.2. 新会柑肉汁

新会柑肉来自于广东新会地区的某新会柑种植大户。带回实验室后,经榨汁机处理后,2000 r/min

离心 10 min 去渣，留汁备用。

2.3. 培养基配制

1) 葡萄糖产絮培养基

培养基组成为(100 ml 水): 葡萄糖 1.0、牛肉膏 0.5、 KH_2PO_4 0.2、 K_2HPO_4 0.5、酵母粉 0.5、尿素 0.05、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02、NaCl 0.01, pH = 7.0 [17], 105℃灭菌 20 min。

2) 新会柑肉汁产絮培养基

分别以 1 ml、10 ml 和 100 ml 新会柑肉汁代替上述培养基中的葡萄糖，并相应减少水的使用量，即由原来的 100 ml 水减至 99 ml、90 ml 和 0 ml。混匀后，105℃灭菌 20 min。

2.4. 微生物絮凝剂发酵

挑取斜面上的芽孢杆菌，接种到 50 ml 的 LB 液体培养基，在 30℃、150 r/min 的摇床中培养 24 h。将此种子液以 1% 比例接种至上述已灭菌的装有葡萄糖产絮培养基或新会柑肉汁产絮培养基的摇瓶中，在 30℃、150 r/min 的摇床中培养 24 h，此完全发酵液(含菌体)即为絮凝剂组分①。将完全发酵液在 2000 r/min 离心 20 min，离心液(不含菌体)即为絮凝剂组分②。

2.5. 高岭土模拟废水和养殖废水

高岭土模拟废水的制备：称量 25 g 高岭土到 5 L 的烧杯中，加自来水至 5 L 的刻度线，用玻璃棒充分搅拌，搅拌后得到白色浊液，静置一晚后，取上清液作为絮凝实验用水。

奶牛场尾水：来源于广州市白云区的某家奶牛场，取水点位于经沼气池和氧化塘处理后的出水口。该尾水的初始颜色为黄色，pH 为 8.38，在 300 nm 处的吸光度值为 0.317。

2.6. 絮凝试验

各取 1 L 高岭土模拟废水(或奶牛场尾水)，于六联搅拌器的烧杯中，分别单独加入表 1 中的各种絮凝剂 6 mL，然后加入 10% CaCl_2 溶液 1.5 mL 和 1 mol/L NaOH 溶液 1 mL，在 200 r/min 搅拌 2 min，50 r/min 搅拌 5 min，沉淀 20 min 后，取上清液于 550 nm (或 300 nm)处测定其吸光度值。

Table 1. Type of the flocculants used in our test

表 1. 本试验的絮凝剂种类

絮凝剂种类	絮凝剂培养条件
F1-1	1% 新会柑肉汁添加量，絮凝剂组分①
F1-2	1% 新会柑肉汁添加量，絮凝剂组分②
F2-1	10% 新会柑肉汁添加量，絮凝剂组分①
F2-2	10% 新会柑肉汁添加量，絮凝剂组分②
F3-1	100% 新会柑肉汁添加量，絮凝剂组分①
F3-2	100% 新会柑肉汁添加量，絮凝剂组分②
F0-1	葡萄糖产絮培养基，絮凝剂组分①
F0-2	葡萄糖产絮培养基，絮凝剂组分②

2.7. 数据分析

采用絮凝率(或脱色率) $\alpha(\%)$ 作为评价产絮培养基优劣的指标， $\alpha(\%) = [(A_0 - A)/A_0] \times 100$ ，其中，

A_0 表示空白水样滤液的吸光度值, A 为待测水样滤液的吸光度值。

3. 结果与讨论

3.1. 对高岭土模拟废水的絮凝效果

培养基的碳氮比是影响微生物生长的重要指标, 在氮源浓度一定的情况下, 适宜的碳源浓度十分重要, 不但可以提高絮凝能力, 还能控制培养基的成本。本研究以新会柑肉汁作为碳源, 探讨了不同新会柑肉汁添加量(1%、10%和 100%)下, 相应的微生物絮凝剂 F1-1、F1-2, F2-1、F2-2, 及 F3-1、F3-2 对高岭土模拟废水的絮凝效果, 结果见图 2。

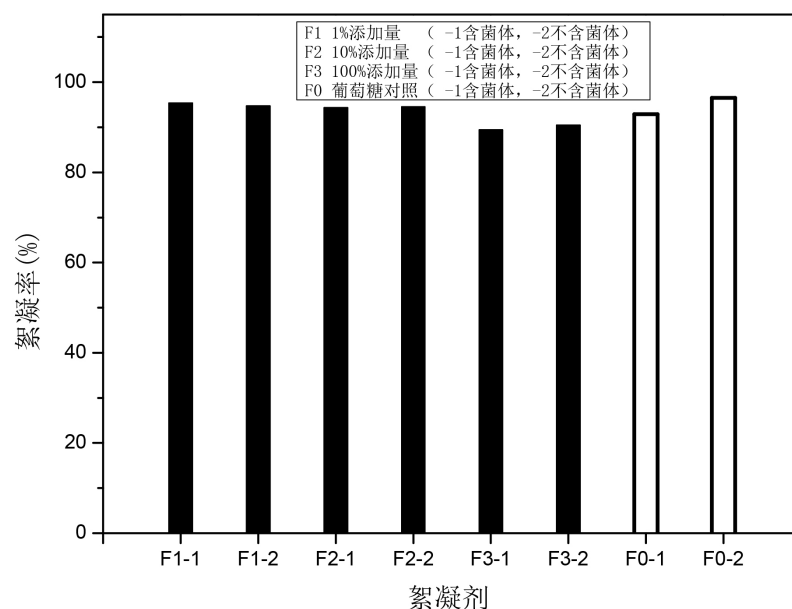


Figure 2. Treatment of simulated kaolin wastewater by the flocculant produced under different doses of the juice of Xinhui citrus

图 2. 新会柑肉汁不同添加量下相应絮凝剂对高岭土模拟废水的处理效果

由图 2 可知, 新会柑肉汁的添加量对该株芽孢杆菌的产絮能力具有一定的影响, 低浓度(1%添加量)下的絮凝率与中浓度(10%添加量)下的絮凝率十分接近, 且大于高浓度(100%添加量)下的絮凝率。可见, 1%添加量即可为该产絮菌提供充足的碳源, 且有利于降低碳源投加成本, 因此, 在后续的实验中选用 1%新会柑肉汁添加量进行培养基配制。

同时, 与对照组(F0-1 和 F0-2)比较, 1%添加量下的絮凝率也十分接近。可见, 采用 1%新会柑肉汁代替标准产絮培养基中的葡萄糖是完全可行的。不仅实现了新会柑肉(汁)的资源化利用, 又节省了葡萄糖消耗。另外, 由 F0-1、F1-1、F2-1、F3-1(含菌)与 F0-2、F1-2、F2-2、F3-2(不含菌)的对比可以看出, 有无菌体存在都对絮凝率影响不大, 因此, 推测该产絮菌的絮凝物质分布在胞外。该结论与于荣丽等的结果一致[32]。

3.2. 对养殖废水的絮凝效果

由于新会柑肉汁产絮培养基(1%添加量下)与标准产絮培养基所产絮凝剂对高岭土模拟废水都具有很好的絮凝效果, 难以看出差异。而色度去除是畜禽养殖废水处理“难关”, 故本研究以养殖废水脱色来进行再次评价, 结果见图 3。

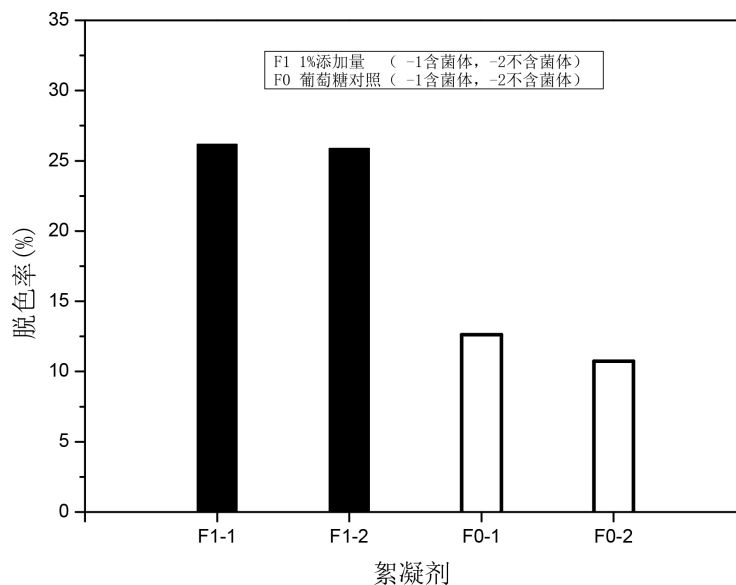


Figure 3. Decolorization of tail wastewater by the flocculant produced under the optimized dose of the juice of Xinhui citrus
图 3. 新会柑肉汁较优添加量下相应絮凝剂对养殖废水的脱色效果

由图 3 可知, 无论是新会柑肉汁产絮培养基, 还是标准产絮培养基, 所产生的絮凝剂对奶牛场废水的脱色效果都不够理想。但相对来讲, 新会柑肉汁产絮培养基的脱色效果要优于标准产絮培养基的, 从 12.6% 提高 26.2% (含菌体) 和从 10.7% 提高到 25.9% (不含菌体), 相当于提高了一倍以上。从图 4 也可以看出, 采用新会柑肉汁产絮培养基所产絮凝剂处理该奶牛场尾水时, 其产生的絮体体积大, 沉降速度快, 上清液较之原水的感官有一定程度的改善。因此, 采用新研制的培养基, 经产絮芽孢杆菌发酵后, 所得发酵产物可适用于养殖废水的处理。

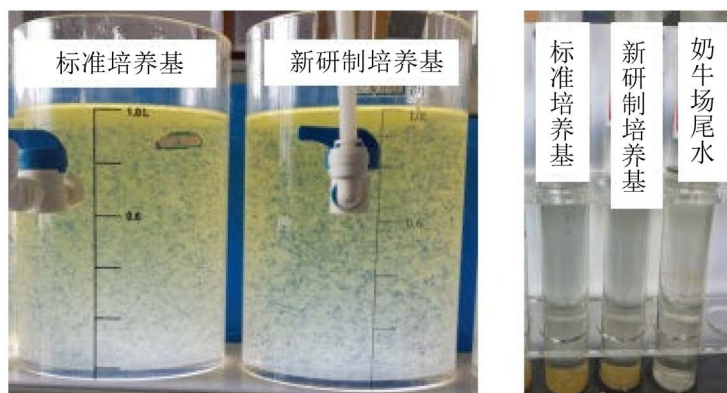


Figure 4. Floc formation and its settling effect
图 4. 絮体形成和沉降效果

4. 结论

- 1) 以新会柑肉汁作为廉价碳源, 替代标准产絮培养基中的葡萄糖是可行的, 在降低培养基成本的同时提高了絮凝效果;
- 2) 添加碳源的浓度会对产絮效果有一定的影响, 宜采用 1% 添加量, 此时产絮效果好且碳源成本相对较低;

- 3) 产絮菌芽孢杆菌的絮凝物质分布在胞外, 菌体本身对絮凝作用基本无影响;
- 4) 对于难脱色处理的畜禽养殖废水, 新会柑肉汁培养基所产絮凝剂较之标准产絮培养基有更好的效果。

总之, 本研究新研制了新会柑肉汁产絮培养基, 既可解决新会柑产业中废物的环保问题, 又可为畜禽养殖等废水处理提供环保材料, 变废为宝, 一举两得, 具有经济可行性, 值得推广应用。

基金项目

感谢北京市丰台区科技型中小企业创新基金(CXJJ0010), 广东省自然科学基金(2016B020240005), 广州市科技计划项目(201803030039, 201704020187), 仲恺农业工程学院优秀博士人才项目(Y002)等资助。

参考文献

- [1] 董琦, 刘贯一. 微生物絮凝剂的应用和前景[J]. 化工管理, 2018(20): 165-169.
- [2] 皮姗姗, 李昂, 魏薇, 等. 微生物絮凝剂在水污染控制中的应用研究进展[J]. 中国给水排水, 2017, 33(16): 27-31.
- [3] Rebah, F.B., Mnif, W. and Siddeeg, S.M. (2018) Microbial Flocculants as an Alternative to Synthetic Polymers for Wastewater Treatment: A Review. *Symmetry*, **10**, 556. <https://doi.org/10.3390/sym10110556>
- [4] 高艺文, 李伟斯, 李政, 等. 高效微生物絮凝剂产生菌 GL-6 发酵条件优化及对含油废水处理的研究[J]. 化学与生物工程, 2015, 32(9): 54-57.
- [5] Guo, J. and Chen, C. (2017) Removal of Arsenite by a Microbial Bioflocculant Produced from Swine Wastewater. *Chemosphere*, **181**, 759-766. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.04.119>
- [6] 黄晓武, 成文, 胡勇有, 等. 微生物絮凝剂处理建材废水研究[J]. 工业用水与废水, 2004, 35(3): 25-27.
- [7] 谢飞, 张安龙, 罗清, 等. 絮凝剂在造纸废水处理中的应用研究[J]. 中华纸业, 2018, 39(16): 19-23.
- [8] 彭桂香, 卢秋雁, 孔慧清, 等. 生物絮凝高活性菌株筛选及发酵优化[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(2): 66-72.
- [9] 王丽丽, 王向东, 田哲. 复合型生物絮凝剂MFHJ4的制备及其对印染废水絮凝性能的研究[J]. 水处理技术, 2010, 36(6): 100-103.
- [10] 曾苏, 陈晓平, 李南华, 等. 微生物絮凝剂生产菌 T1 的鉴定及其对生活污水絮凝特性[J]. 环境化学, 2015, 34(3): 578-583.
- [11] 常国华, 陈洁, 郑小平, 等. 絮凝剂产生菌对淀粉废水的处理效果[J]. 环境科学与技术, 2015, 38(5): 139-143.
- [12] 刁欢, 李吕木. 微生物絮凝剂在制酒废水处理方面的研究进展[J]. 酿酒科技, 2017(12): 109-113.
- [13] 裴瑞林, 信欣, 张雪乔, 等. 养猪废水培养微生物絮凝剂产生菌群 B-737 及发酵特性[J]. 环境科学, 2013, 34(5): 1951-1957.
- [14] Agunbiade, M.O., Pohl, C.H. and Ashafa, A.O.T. (2016) A Review of the Application of Bioflocculants in Wastewater Treatment. *Polish Journal of Environmental Studies*, **25**, 1381-1389. <https://doi.org/10.15244/pjoes/61063>
- [15] 雷旭阳, 刘艳娟, 程磊. 微生物絮凝剂制备及在废水处理中的应用[J]. 化学工程师, 2013, 27(8): 48-49+58.
- [16] 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, 36(4): 80-85+91.
- [17] 刘金亮, 姜彬慧, 赵鑫, 等. 高效絮凝菌 A9 在不同碳源培养条件下差异表达蛋白鉴定及分析[J]. 生态学杂志, 2016, 35(11): 2999-3004.
- [18] Lee, D.-J. and Chang, Y.-R. (2018) Bioflocculants from Isolated Stains. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **87**, 211-215. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.03.037>
- [19] 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.
- [20] 芦艳, 乔福珍, 孟丽丽. 啤酒废水培养复合型生物絮凝剂产生菌的研究[J]. 水处理技术, 2010, 36(5): 31-33+37.
- [21] 成文, 胡勇有. 霉菌利用酒精废水产絮凝剂[J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(4): 585-589.
- [22] 薛冬, 黄向东, 靳朝喜, 等. *Bacillus simplex* 利用啤酒废水产微生物絮凝剂及应用研究[J]. 科学技术与工程, 2016, 16(26): 140-145+151.
- [23] 马耀华, 谭小艳, 张世军, 等. 黄泔水发酵微生物絮凝剂 B-12 的研究[J]. 环境工程, 2012, 30(S2): 123-126+170.

- [24] 王馨蔚, 莫创荣, 梁敏, 等. 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[J]. 食品工业科技, 2016, 37(4): 211-216.
- [25] 林俊岳, 曾建忠, 罗剑钦, 等. 利用糯米淀粉废水制备微生物絮凝剂研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(6): 3090-3091+3111.
- [26] 李静, 马放, 赵光, 等. 利用沼液制备微生物絮凝剂及产絮条件优化[J]. 中国给水排水, 2014, 30(15): 14-19.
- [27] 杨莹, 闫鹤, 李芬, 等. 复合型生物絮凝剂的培育及其活性组分分析[J]. 功能材料, 2012, 43(9): 1189-1192.
- [28] 马放, 张惠文, 李大鹏, 等. 以稻草秸秆为底物制取复合型生物絮凝剂的研究[J]. 中国环境科学, 2009, 29(2): 196-200.
- [29] 冯绮澜, 尹华, 秦华明, 等. 利用甘蔗渣制备微生物絮凝剂的预处理方法研究[J]. 环境工程学报, 2011, 5(6): 1268-1272.
- [30] 秦艳, 冯卫华, 白卫东, 等. 果汁加工废水处理技术的研究进展[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2013, 26(3): 60-64.
- [31] 白卫东, 钱敏, 蔡培钿, 等. 新会柑果汁成分的分析[J]. 农产品加工(学刊), 2008(11): 23-26.
- [32] 于荣丽, 胡筱敏, 李喆. LMB8 菌株产微生物絮凝剂用于河道疏浚底泥快速脱水的研究[J]. 环境工程, 2016, 34(2): 108-112.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-5485, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: aep@hanspub.org