

摘 要

石油化工是我国支柱产业，但在石油炼化过程中产生的大量的废水组成十分复杂，污染物多为有毒有害的有机物，对环境污染严重。目前处理含油废水一般采用的无机或有机絮凝剂对环境均有一定的危害，所以绿色、环保、高效的微生物絮凝剂成为当今对含油废水处理的一个新的研究方向。

本文通过对微生物絮凝剂所产菌株 SHD-1 发酵条件的优化、发酵动力学的研究以及廉价培养基的选择来降低微生物絮凝剂的生产成本；并研究混合菌所产生的复合型微生物絮凝剂的絮凝活性，以期提高微生物絮凝剂的絮凝效率及絮凝范围；最后针对不同炼油厂废水研究微生物絮凝剂替代无机、有机絮凝剂的可能性，为将来的工业化应用奠定一定的基础。

微生物絮凝剂所产菌株 SHD-1 发酵的最优化条件为：有机氮含量 0.05%，碳源含量 2%，pH 值 7.0，装液量 10ml，水 1000ml。在优化的发酵条件基础上，对微生物絮凝剂产生菌 SHD-1 的发酵动力学进行了研究，利用数学建模的方法得到了描述出菌株 SHD-1 菌体量、产物生成量、底物消耗量的动力学数学模型，实验数据与模型数据较好拟合，为微生物絮凝剂的放大化工业生产提供依据。

菌株 SHD-1 与菌株 5 复合后所产复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好。其最优的发酵条件为：发酵时间为 48 小时，pH 为原始 pH，碳源浓度为 2%，有机氮源浓度为 0.05%， Na^+ 助剂 $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。最佳的絮凝条件为：絮凝剂投加量为 $60\mu\text{l}$ ；pH 为 9；慢搅转速为 $20\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ；慢搅时间为 6min；温度 30°C ； CaCl_2 是最好的阳离子助剂，最佳投加量为 3ml。并且经研究表明：该复合型微生物絮凝剂对污泥减量有较好的的效果。

复合型微生物絮凝剂对实验所用五个不同炼油厂的废水均有絮凝效果，说明了复合型微生物絮凝剂的应用具有比较广泛的适用性。其絮凝效果与聚铝以及聚丙烯酰胺相当，说明了复合型微生物絮凝剂的工业化应用具有可行性。

在对絮凝剂的廉价培养基的研究过程中发现，豆渣以及蛋白厂的废渣适合做微生物絮凝剂产生菌的替代氮源。在同一培养基条件下，复合型微生物絮凝剂的絮凝效果要比单菌产微生物絮凝剂的絮凝效果要好。

关键词：复合型微生物絮凝剂，发酵动力学，条件优化，廉价培养基

Study on the Fermentation Kinetics of the Strain SHD-1 and the Flocculant Produced by the Compound Bacteria

Liu Jie(Environment Engineering)

Directed by Prof. Zhao Dongfeng

Abstract

The oil refinery is the pillar industry in China, but the oil refinery wastewater which includes much emulsified oil, non-biodegradable components and suspension substance, is seriously harmful to the environment. Removing these pollutants as possible by coagulation method is necessary before biological treatment. The selecting of flocculant is the key point in the process of coagulation. The traditional flocculants include inorganic macromolecule and synthetical organic macromolecule, which are used extensively in the process of coagulation. These flocculants are harmful to the environment, so the study of the microbial flocculant which is green environmental protection and efficient is the new direction of the flocculant.

The study of the fermentation condition optimization, the fermentation kinetics and the low-cost culture medium of the strain SHD-1 producing the microbial flocculant are intended to reduce the production cost of the microbial flocculant. Moreover, aim for improving the flocculation efficiency and enlarging the flocculation scope, the condition optimization of the compound microbial flocculant is studied. At last, the study on the different oil refinery wastewater used to prove the industrial feasibility of the microbial flocculant.

The optimum fermentation conditions for the strain SHD-1 were the organic nitrogen source concentration 0.05%, the carbon source concentration 2%, pH 7, the culture volume 10ml for 250ml conical beaker and water 1L. Based on the optimum fermentation conditions, the kinetic equation of the strain SHD-1 was studied. The math models its biomass, polysaccharide production and sucrose consumption were established, and the experiment datas could be well fitted with the model datas. These models offered the evidences for large scale production of the the microbial flocculant.

The compound microbial flocculant produced by the strain SHD-1 and the strain 5 had the best flocculation efficiency. Its optimum fermentation conditions were fermentation time 48h, initial pH, the carbon source concentration 2%, the organic nitrogen source concentration 0.05%, and the addition of $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ of metallic ion Na^+ . In addition, its optimum flocculating conditions were the dosage $60\mu\text{l}$, pH 9, the slowly mixing speed $20\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, the slowly mixing time 6min, temperature 30°C , and the addition of 3ml, 1mol/L of two-valence metallic ion Ca^{2+} in wastewater. Besides, the compound microbial flocculant could make the sludge reduce.

The compound microbial flocculant could flocculate the different oil refinery wastewater, and the flocculation efficiency was similar with polyaluminium chloride and polyacrylamide.

The results of the low-cost culture medium about the microbial flocculant show that the soybean dregs and the waste residue of soybean protein processing plant were suitable for the substitute nitrogen source. Furthermore, the flocculation efficiency of the microbial flocculant produced by one strain was better than that produced by the compound bacteria which all cultured with the same medium.

Key words: the compound microbial flocculant, fermentation kinetics, condition optimization, low-cost culture medium

关于学位论文的独创性声明

本人郑重声明：所提交的论文是本人在指导教师指导下独立进行研究工作所取得的成果，论文中有关资料和数据是实事求是的。尽我所知，除文中已经加以标注和致谢外，本论文不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含本人或他人为获得中国石油大学（华东）或其它教育机构的学位或学历证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对研究所做的任何贡献均已在论文中作出了明确的说明。

若有不实之处，本人愿意承担相关法律责任。

学位论文作者签名： 刘浩

日期： 2009 年 6 月 2 日

学位论文使用授权书

本人完全同意中国石油大学（华东）有权使用本学位论文（包括但不限于其印刷版和电子版），使用方式包括但不限于：保留学位论文，按规定向国家有关部门（机构）送交学位论文，以学术交流为目的赠送和交换学位论文，允许学位论文被查阅、借阅和复印，将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，采用影印、缩印或其他复制手段保存学位论文。

保密学位论文在解密后的使用授权同上。

学位论文作者签名： 刘浩

日期： 2009 年 6 月 2 日

指导教师签名： 

日期： 2009 年 6 月 2 日

第一章 绪论

石油化工生产中产生的废水成分复杂、水质水量波动大、污染物浓度高且难降解、污染物多为有毒有害的有机物，对环境污染严重^[1]。目前用于含油废水处理的絮凝剂主要为无机絮凝剂和有机絮凝剂，但是这两者都有一定的缺陷：无机絮凝剂由于用量大，易产生二次污染；有机絮凝剂本身虽无毒性，但合成它们的单体是有毒的并且有机絮凝剂在生产和降解过程中释放出来的污染物会严重危害人体健康。随着水资源的日益紧张和人们环境保护意识的加强，国内外科研人员开始考虑将微生物絮凝剂应用在含油废水的处理过程中。

微生物絮凝剂（Microbial flocculant，简称 MBF）就是利用生物技术，从微生物或其分泌物中提取、纯化而获得的一种安全、高效且能自然降解的新型水处理剂^[2]。微生物絮凝剂的研制成功，解决了其它无机絮凝剂和合成有机高分子絮凝剂的毒副作用、二次污染等问题，其菌种资源和原材料来源之丰富、廉价也是其它天然高分子絮凝剂无法比拟的。微生物絮凝剂对实现污染治理的装置化和成套设备化，乃至整个水处理工艺的革新，都具有重大意义和深远影响。

1.1 微生物絮凝剂概述

1.1.1 微生物絮凝剂的分类

根据絮凝性物质组成的不同，微生物絮凝剂可分为三类^[3]：

(1) 直接利用微生物细胞的絮凝剂，如某些细菌、霉菌、放线菌和酵母，它们大量存在于土壤、活性污泥和沉积物中。

(2) 利用微生物细胞提取物的絮凝剂，如酵母细胞壁的葡聚糖、甘露聚糖、蛋白质和 N-乙酰葡萄糖胺等成份均可作为絮凝剂。

(3) 利用微生物细胞代谢产物的絮凝剂，微生物细胞分泌到细胞外的代谢产物，主要是细胞的荚膜和粘液质，除水分外，其余主要成份为多糖及少量的多肽、蛋白质、脂类及其复合物，其中多糖在某种程度上可作为絮凝剂。

1.1.2 微生物絮凝剂产生菌的分类

至今发现的具有絮凝性的微生物达 32 个种^[4, 5]，其中细菌 18 种，分别为粪产碱菌属、协腹产碱杆菌、渴望德莱氏菌、芽孢杆菌属、棒状杆菌、暗色孢属、草分枝杆菌属、红平红球、铜绿假单胞菌属、荧光假单胞菌属、粪便假单胞菌属、发酵乳杆菌、嗜虫短

杆菌、金黄色葡萄球菌、土壤杆菌属、环圈项圈蓝细菌、厄式菌属和不动细菌属；真菌 9 种，分别为酱油曲霉、棕曲霉、寄生曲霉、赤红曲霉、拟青霉属、棕腐真菌、白腐真菌、白地霉和栗酒裂殖酵母；放线菌 5 种，分别为椿象虫诺卡式菌、红色诺卡式菌、石灰壤诺卡式菌、灰色链霉菌和酒红链霉菌。由它们生产的微生物絮凝剂中，最具代表性的为以下三种：1976 年，Nakamura J.^[6、7]用酱油曲霉(*Aspergillus sojae*)生产的絮凝剂 AJ7002；1985 年，H. Takagi^[8]用拟青霉属(*Paecilomyces sp.I-1*)生产的絮凝剂 PF101，对啤酒酵母、血红细胞、活性污泥、纤维素粉、活性炭、硅藻土和氧化铝等有良好的絮凝效果；1986 年，R. Kurane^[9]等人利用红平红球菌(*Rhodococcus erythropolis*)研制成功微生物絮凝剂 NOC-1，对大肠杆菌、酵母、泥浆水、河水、粉煤灰水、活性炭粉水、膨胀污泥和纸浆废水等均有极好的絮凝和脱色效果，是目前发现的絮凝效果最好的微生物絮凝剂。

1.1.3 微生物絮凝剂的处理对象

有些研究者认为，正是因为一些微生物絮凝剂是通过化学桥联作用将被絮凝物质集聚在一起，所以其絮凝作用通常是广谱的，不易受微生物个体和颗粒物表面特性的影响。能被絮凝的物质包括各种细菌、放线菌和真菌的纯培养物、活性污泥、微囊藻、泥浆、土壤固体悬液、底泥、煤灰、血细胞、活性碳粉末、硅胶粉末、氧化铝、高岭土和纤维素粉等^[10]。但也有一些微生物絮凝剂的絮凝作用物质的面较窄，例如 *Aspergillus soja* 产生的絮凝剂可以非常有效地絮凝 *Brevibacterium lactofermentum* 等微生物，絮凝率达到 100%，但对另一些微生物絮凝效果较差，有的只有 33%。更为极端的例子是，*Hansenula anomal* 产絮凝剂甚至不能絮凝其非絮凝性的突变株细胞^[11]。这说明微生物絮凝剂的絮凝能力受被絮凝物质的极大影响。

1.1.4 微生物絮凝剂的成分

微生物絮凝剂的种类繁多、性质各异。现已知的微生物絮凝剂成分有糖蛋白、多糖、蛋白质、纤维素和 DNA 等。尽管它们性质各异但多为分子量高于 10^5 的生物大分子^[12]。近年来，国内外的研究者借助各种技术和手段对多种絮凝剂的组成和结构进行了表征。刘紫鹃等^[13]研究表明絮凝剂 P25 的主要成分是多糖类物质，胡筱敏等^[14]研究表明絮凝剂 MBF9 主要分子量超过 200 万，是分子线型高分子，含 19.1%糖醛酸、2.74%氨基酸和 47.4%中性糖。而 Haruhiko Yokoi 等^[15]研究发现絮凝剂 PY-90 主要成分为聚合谷胺酸。

1.1.5 微生物絮凝剂的絮凝机理

在利用微生物絮凝剂进行水处理过程中，往往由于对微生物絮凝剂机理不清楚，从而导致不必要的资源浪费。例如，絮凝剂的投加量过多或相对较少而导致处理效果不明显，或使用微生物絮凝剂来处理带有同种电荷的污水，从而导致絮凝剂使用的浪费等。只有清楚的了解微生物絮凝剂的絮凝机理，才能更好的对症下药^[16、17]。微生物絮凝剂是带有电荷的生物大分子，对其絮凝机理曾提出过多种学说，主要有下述几种，其中以桥联机理学说最为人们所接受。

(1) “桥联作用”机理

絮凝剂借助离子键、氢键，同时结合了多个颗粒分子，因而在颗粒间起了“中间桥梁”的作用，把这些颗粒联结在一起，从而使之形成网状结构沉淀下来。例如，levy 在研究 *Anabol circularispcc-6720* 产的絮凝剂絮凝膨润土过程时，通过测等温线和 Zeta-电位发现絮凝剂确是以“桥联方式”絮凝的^[18]。

(2) “电性中和”机理

水中胶粒一般带负电荷，当带有一定正电荷的链状生物大分子絮凝剂或其水解产物靠近这种胶粒时，将中和其表面上的部分电荷，使胶粒脱稳，从而胶粒之间、胶粒与絮凝剂分子间易发生相互碰撞，通过分子间作用力凝聚而沉淀。许多实验中加入金属离子或调节 pH 即可影响其絮凝效果，主要是通过影响其带电性而起作用的^[19、20]。

(3) “化学反应”机理

生物大分子中某些活性基团与被絮凝物质相应的基团发生了化学作用，聚集成较大分子而沉淀下来，通过对生物大分子改性、处理，使其添加或丧失某些活性基团，其絮凝活性就大受影响。有学者认为这些絮凝剂絮凝活性大部分依赖于活性基团^[21、22]。温度影响絮凝效果，主要是通过影响其化学基团活性从而影响其化学反应的。

还有其它一些絮凝机理，如网捕作用，粘质说，酯合学说等，可解释部分絮凝现象。从微生物絮凝剂的多样性以及表现出的絮凝范围的广谱性可以断定，絮凝机理肯定是多样的^[23]。

1.1.6 影响微生物絮凝剂合成的主要因素

微生物絮凝剂合成的主要影响因素为培养基的碳源、氮源、培养温度、初始 pH 值、通气量等。值得注意的是，对于某一特定菌种，絮凝剂产生的最佳条件往往不同于细胞生长的最佳条件。

(1) 碳源

微生物絮凝剂的合成与碳源有较大关系。Kurane^[24] (1991) 在 *R.erythropolis* 的培养中, 用 0.5%的葡萄糖, 0.5%蔗糖为碳源时, 絮凝剂的产量较高; 使用葡萄糖、半乳糖和果糖比用淀粉和麦芽糖对 *Alcaligenes cupidus* 分泌絮凝剂更为有效^[25]。富含单糖或营养丰富的培养基有利于絮凝剂的产生, 而用高氮低糖的培养基, 会使絮凝剂的产量降低。对细胞生长最有利的碳源, 不一定是对絮凝剂分泌最有利的碳源。例如, 用橄榄油为碳源时, 虽有利于细胞生长, 但却不利于絮凝剂的合成^[26]。

(2) 氮源

在氮源中, 尿素和硫酸铵对某些微生物絮凝剂的产生和细菌的繁殖最为有利。用硝酸铵和氯化铵也可促进增长, 但絮凝活性只相当于用尿素的 60%~70%。碳氮比对于絮凝剂的合成也有影响^[27], 碳氮比为 60~114 时, 动胶菌属 (*Zoogolea sp.*) 的絮凝活性较高, 大于或小于此值活性便迅速下降。在有机氮源中, 酵母浸液和酪蛋白质氨基酸最为有效。

(3) 温度

培养温度对絮凝剂的合成也有一定影响。对 *R.erythropolis* 的研究表明, 在 30℃时, 絮凝剂产量要高于 25℃和 37℃时的产量^[28]。温度升高时, 微生物生长加快, 但絮凝活性却降低, 可见, 温度的升高并不一定有利于絮凝剂的合成。

对某些细菌来讲, 絮凝剂合成的最佳温度与菌体生长的最适温度不同。例如, *A. sojiae* (Nakamura, 1976)^[29] 于 25℃培养时菌体生长最快, 而 30~34℃絮凝剂产量最高。

(4) pH 值

任何絮凝剂产生菌都存在产絮凝剂的最适 pH 值范围, 过高或过低均不利于絮凝剂的产生, 菌产絮凝剂的最适 pH 值与其生长所需的最适 pH 值略有差异。Endo(1976)^[30] 的研究表明, 如一直控制 pH 为 6 时, *A.sojae* 菌丝生长旺盛, 但根本不表现出絮凝活性。*C.xerosis* 只有在酸性条件下才能产生絮凝剂 (Esser and Kues, 1983)^[31]。

(5) 其它影响因素

培养液的体积尽管不影响培养液中微生物的总量, 但是会影响絮凝物质的产生^[8]。此外, 通气量对絮凝剂的合成也有影响, 培养初期, 为满足生物生长的需求, 促进絮凝剂的产生, 需大量通气; 培养后期, 可适当减小通气量, 以防止菌体絮凝成较大絮凝体而使活性降低^[32]。

1.1.7 影响絮凝效果的主要因素

影响微生物絮凝剂絮凝能力的因素很多,包括絮凝剂的投加量、分子量和无机金属离子等。

(1) 絮凝剂的投加剂量

对于某种微生物絮凝剂,要取得最佳絮凝效果,均有一个最佳投量。在低浓度范围内,絮凝效率随浓度的增大而提高,但是在达到一定浓度后,再增大絮凝剂的浓度,絮凝效率反而下降。

(2) 絮凝剂的分子量、分子结构

微生物絮凝剂分子量大小对其絮凝效果的影响很大,分子量越大,絮凝效果就越好。当絮凝剂的蛋白质成分降解后,分子量减小,絮凝活性明显下降。一般线性结构的大分子絮凝剂的絮凝效果较好,如果分子结构是交链或支链结构,其絮凝效果就差^[33]。絮凝剂产生菌处于培养后期,细胞表面疏水性增强,产生的絮凝剂活性也越高^[34, 35]。

(3) 无机金属离子

金属离子的种类和浓度对 MBF 活性影响较大。适当浓度的金属离子可以促进絮凝剂分子与悬浮颗粒以离子键结合,显著提高其絮凝活性。容易受金属离子影响的多数是蛋白型的微生物絮凝剂^[36]。但是,金属离子的浓度不宜过高,否则,由于大量离子占据了絮凝剂分子的活性位置,把絮凝剂分子与悬浮颗粒隔开而抑制絮凝。

处理水体中胶体离子的表面结构与电荷对絮凝效果也有影响。一些报道指出,水体中的阳离子,特别是 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的存在能有效降低胶体表面负电荷,促进“架桥”形成。另外高浓度 Ca^{2+} 的存在还能保护絮凝剂不受降解酶的作用^[37]。

(4) 被絮凝液 pH 值

pH 值对微生物絮凝剂絮凝活性的影响主要是由于酸碱度的变化,影响微生物絮凝剂及悬浮颗粒表面的电荷的性质、数量及中和电荷的能力。不同的絮凝剂对 pH 值变化的灵敏程度不一样,同一种絮凝剂对不同的废水有不同的初始 pH 值要求。

(5) 温度

研究表明,与化学反应类似,适当提高温度可促进絮凝,使絮凝效率提高^[38]。然而高温会严重影响某些微生物絮凝剂的效率。

这主要是因为高温可使生物高分子变性,空间结构改变,某些活性基团不再与悬浮颗粒结合,因而表现出絮凝活性的下降。例如 *R.erythropolis* 产生的絮凝剂在 100℃ 的水中加热 15min 后,其絮凝活性下降 50%。

1.2 廉价培养基的研究

目前微生物絮凝剂存在生产条件较复杂,成本偏高等不足之处,所以如何降低微生物絮凝剂的研究成本,已经成为了研究的热点。采用廉价培养基来培养制备微生物絮凝剂可以大大降低它的成本,可促进微生物絮凝剂的工业化。

刘国祥等^[39]以污水处理厂曝气池污泥中分离出一株絮凝活性较高的酵母属菌株为研究对象,用豆腐废水作廉价培养基研究了该菌株对高岭土悬浊液的絮凝效果,发现在豆腐废水体积分数为25%,pH值为5.0,温度为30℃,摇床转速为160r·min⁻¹时对高岭土悬液的絮凝效果最好。研究表明,用豆腐废水作廉价培养基来制备微生物絮凝剂可以大大降低微生物絮凝剂的成本。

周旭等^[40]以GX₄-1菌为研究对象,用一定浓度的鱼粉废水,不外加任何的碳氮源,配成培养基制备的微生物絮凝剂对高岭土的悬浊液的絮凝效果很好。

龙文芳等^[41]以烟曲霉为研究对象,用马铃薯、黄豆粉等多种农产品为培养基制备了微生物絮凝剂,其对高岭土悬浊液的絮凝效果较好,絮凝率达95.7%。

成文^[42]研究了用酒精废水、猪场废水、蜜糖废水作廉价培养基培养制备微生物絮凝剂,其絮凝效果较好。其中酒精废水中COD很高,需要稀释后再使用,考虑培养基的价格和絮凝效果,酒精废水中加25%的淀粉培养基培养菌株最合适,絮凝率可达87.3%。猪场废水中含有大量的氮源,可用作廉价氮源,考虑培养基的价格和絮凝效果,在猪场废水中加入25%的淀粉培养基培养菌株最合适,此时絮凝率达87.5%。以酒精废水和猪场废水混合作为廉价培养基,其中酒精废水:猪场废水=1:7作为混合培养基,在此培养基中加入20%的淀粉培养基即可使絮凝剂的絮凝活性达到87%。并且微生物絮凝剂对酒精废水、猪场废水、蜜糖废水的处理效果也较好,有很好的应用前景。

刘晖、周康群等^[43]通过饮料废水、啤酒废水、酱油废水做廉价培养基研究了从土壤中筛选出的絮凝剂产生菌HHE-P7的絮凝性。研究表明,HHE-P7用于染料废水、啤酒废水和酱油废水的处理,絮凝率都大于85%。酱油废水中COD含量高,碳源丰富,因此可作微生物絮凝剂MBF7的廉价培养基。培养基的配方COD为20 000 m g·L⁻¹左右,K₂HPO₄为1.0 g·L⁻¹。其原料成本比蔡氏培养基、Kurane^[44]和尹华^[45]提供的廉价配方更为廉价。

曹建平^[46]对从好氧活性污泥中筛选出多株絮凝剂产生菌,其中以*Aspergillus* M-25、M-26的絮凝活性最高。文中对M-25菌株的最佳生长条件和最佳絮凝剂产出条件

进行研究，得出最佳的培养条件为：查氏培养基，初始pH为5.0，摇床转速为 $140\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，水浴温度为 25°C ，培养时间为72h。该条件下的发酵液絮凝率高达97%^[47]。在查氏培养基的基础上，使用不同的廉价的碳源和氮源替代查氏培养基中的碳源和氮源，同时使用不同的碳源和氮源的组合来替代查氏培养基中的碳源和氮源。结果表明，使用单一碳源时，以水产废水为替代碳源时，微生物絮凝剂的絮凝率可达75.9%。使用单一氮源时，以鱼粉和尿素为氮源时，微生物絮凝剂的絮凝率均可达95%以上。在使用不同的替代碳氮源组合时，淀粉+尿素的絮凝活性高达99.5%，淀粉+鱼粉的絮凝活性也较高，达到98.2%。所以，选用淀粉+尿素为替代培养基，该培养基的发酵液对高岭土悬浊液的絮凝率比查氏培养基提高2.5%，培养基成本下降了近60%，每吨仅为30.41元。

1.3 发酵条件优化的研究

目前对微生物絮凝剂产生菌发酵条件的优化的研究主要通过正交试验的方法来挑选出适合菌株发酵的最佳条件。正交试验设计是进行科学、合理试验，以最少的试验次数反映全面试验信息的有效方法，特别是在多因素、多水平试验的优化方面，具有其他试验设计无法相比的优越性。

李海峰等^[48]研究了pH、接种量、培养温度、培养时间四个单因子对菌株发酵的影响，并研究了不同碳源和氮源对菌株发酵的影响。并且通过正交试验改进了培养基的组成，改进后的培养基组成为葡萄糖 $5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，蛋白胨 $3\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ，改进后的发酵条件为初始pH为8.0，接种量为8%，在 $180\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下 28°C 振荡培养96h。

田春等^[49]研究了影响微生物絮凝剂发酵培养基的培养条件，如培养基的组成、培养温度、pH和通气量等，并采用正交试验的设计方法，研究了上述四因素对絮凝剂产生的影响，通过相应的实验，确定了不同的培养基组成产生絮凝剂的最佳条件为以麦芽糖为碳源的高氏1号培养基，培养基初始pH值为6.0~7.0，培养温度为 30°C ，通气量为 $150\sim 170\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ ，糖加量 $15\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。正交试验的极差分析表明，各因素影响絮凝剂絮凝效果大小的顺序为：温度>pH>通气量>麦芽糖加入量；正交试验方差分析表明，温度变化对于絮凝活性的影响最显著，pH和通气量对于该菌种的絮凝活性影响不显著，说明该菌种属于非好氧菌种。

张香美等^[50]从河北经贸大学花圃土壤及河北经贸大学东侧鱼塘的淤泥中筛选出一株絮凝剂产生菌AY11，通过单因子实验和正交试验对该菌株产絮凝剂的发酵条件进行了优化，结果表明最佳发酵条件为：以蔗糖为碳源，以尿素为氮源，培养基初始pH为7.0，

接种量为1%，摇床转速为120 r·min⁻¹，30℃下发酵24h。正交试验的极差分析表明，随AY11产絮凝剂的影响程度由大到小的顺序依次为：温度>pH>接种量>摇床转速。AY11菌株所产絮凝剂对高岭土悬浊液的絮凝率可达96%以上。

丁存宝等^[51]采用常规的细菌分离纯化方法从污水处理厂活性污泥中分离出絮凝剂产生菌菌株，经过驯化培养后，以发酵液对高岭土混悬液的絮凝效果为指标，选取培养较好的一种，采用正交试验设计方法，分析了影响絮凝效果的主要因素，结果表明：培养温度为30℃，pH为7.0，葡萄糖为碳源，摇床转速140 r·min⁻¹，培养72h时，絮凝效果最好。

钟文文^[52]采用常规的细菌分离纯化方法从土壤中分离出絮凝剂产生菌菌株，经过驯化培养后，以发酵液对高岭土混悬液的絮凝效果为指标，筛选出2株高效絮凝剂产生菌。采用单因素试验方法和正交试验设计方法，分析了影响絮凝效果的主要因素，对2个菌株的最佳培养条件进行了优化研究。结果表明：菌株S3产絮凝剂的最佳培养条件是碳源为葡萄糖20g·L⁻¹，氮源为酵母膏2.5g·L⁻¹，培养温度为28℃，初始pH值为8，通气量为50 r·min⁻¹；菌株S21产絮凝剂的最佳培养条件是乙醇15g·L⁻¹，氮源为复合氮源(酵母膏+脲+硫酸铵)1.6 g·L⁻¹，培养温度为28℃，初始pH值为9，通气量为200 r·min⁻¹。

1.4 发酵动力学的研究

对微生物絮凝剂产生菌建立发酵动力学模型，并拟合出发酵动力学方程有利于今后对该菌种的研究。目前已有众多科技工作者对菌种进行发酵动力学研究。

康健雄等^[53]为了优化短梗霉生产的发酵过程，对出芽短梗霉(*Aureobasidium pullulans*)发酵生产胞外多糖(EPS)普鲁兰的动力学进行了研究，利用数学建模方法得到了描述出芽短梗霉在30 L发酵罐中菌体生长，普鲁兰的合成及玉米淀粉水解物的消耗动力学数学模型和模型参数。实验和模型数据的比较结果证明模型计算值与实验效果拟合良好，为普鲁兰的放大工业化生产提供依据。实验证明，菌体生长动力学模型符合Logistic模型。普鲁兰多糖的发酵属于部分生长偶联型，采用Luedeking-pirect方程来描述胞外多糖产物的比生成速率与菌体比生成速率的关系。底物包括细胞生长所需的各种营养成分，其消耗主要有：一是细胞生长的消耗，用于合成新的细胞；二是细胞维持生命活动的消耗；三是用于合成代谢产物的消耗。因此，底物消耗可以表示为 $C_s(t)=C_{s,0}-b_2A(t)-b_1B(t)$ 。

邵伟等^[54]为构建红曲色素液体发酵动力学模型，对红曲霉合成色素进行了初步研

究。在红曲霉分批发酵过程中,测定菌体干重、总糖浓度、色价和pH值,经处理后得到菌体生长、红曲色素合成和基质消耗的动力学模型及参数。对比实验数据与模型表明,两者能较好地拟合,基本反映红曲霉发酵合成红曲色素。其中,红曲霉的菌体生长动力学模型符合Logistic模型。红曲色素合成属于非生长偶联型,其合成动力学模型采用Luedeking-piret模型。在发酵过程中,培养基中可溶性总糖的消耗主要用于红曲霉素菌体生长 C_x ,维持代谢活动 C_m 和红曲色素的合成 P 三个方面。设 $C_m = m_s \times C_x$,因此,基物消耗速率的模型为:

$-dS/dt = dC_x/dt \times 1/Y_{x/s} + dP/dt \times 1/Y_{p/s} + m_s \times C_x$ 。本研究说明红曲霉素液体发酵过程的三个动力学模型在一定程度上揭示了红曲色素发酵代谢的基本特征,对实际生产有一定的指导意义。

武秋立等^[53]对羊肚菌胞外多糖发酵动力学进行了研究,基于Logistic方程和Luedeking-piret方程,得到了描述羊肚菌发酵过程菌体生长、胞外多糖生成和底物消耗的动力学数学模型和模型参数。对三个模型的计算值与试验值分别进行比较发现,三模型均有延滞期与加速生长期模型的相对误差大于稳定期的特点,这是因为Logistic方程主要反映菌体浓度的增加和营养物质的消耗对自身生长的抑制作用,在延滞期和加速生长期,菌体浓度不高,营养物质丰富,对自身生长的抑制作用不明显,因此拟合情况不如稳定期理想。

马波等研究了产多糖海洋细菌的菌体生长模型、底物消耗模型和多糖生成模型。其中菌体生长动力学模型符合Logistic模型,多糖生成符合Luedeking-piret模型,底物消耗主要用于菌体生长,产物合成及其代谢,底物消耗速率方程与Luedeking-piret方程类似: $dS/dt = -(dX/dt)/Y_x - (dP/dt)/Y_p - K_e X$ 。在菌体对数生长期生长关联产物合成系数相对与生长稳定期非生长关联系数非常小,其意义为发酵在对数生长期,菌体大量生长,而产物只有少量合成,进入稳定生长期后,产物大量连续合成,因此发酵过程应属于非生长相关型发酵。由动力学实验得到菌体生长量,产物合成量,底物消耗量的动力学方程,方程反映了三者的变化规律及其相互关系,应用这些规律能够更好地进行发酵条件的再优化,更好地进行发酵过程的预测及控制。

1.5 复合型微生物絮凝剂的研究

通常对微生物絮凝剂的研究都是从絮凝剂将被应用的环境中筛选出单一菌株,测定其絮凝性能,这样筛选出的微生物絮凝剂具有针对性,但存在应用范围窄的问题,而且

能利用的碳源较少,不容易找到替代的廉价培养基。解决方法之一是研究复合微生物产絮凝剂来代替单菌产絮凝剂。

复合型生物絮凝(Compound microbial flocculant, 简称 CMF),其概念是由哈尔滨工业大学的马放教授^[56]首先提出的。它以稻草、秸秆等廉价的生物质材料为底物,利用纤维素利用纤维素降解菌群和絮凝菌群,进行两段式发酵后分离提取而获得的。马放教授等人通过初筛、复筛和双株混合培养后,得到了絮凝效果高达 93.1%的 F2 和 F6 组合的复合型生物絮凝剂产生菌,并生产出了复合型生物絮凝剂 HITM02。经实验,这种絮凝剂安全无毒,可广泛应用于给水处理、废水处理、食品工业和发酵工业等领域。目前我国复合型生物絮凝剂的研究仍处于起步阶段,还有待于进一步的研究。

目前的复合菌群都是筛选到纯的絮凝剂产生菌后按照不同的配组方式进行复合培养试验,找出有协同作用的菌株,构建能够产生高效微生物絮凝剂的复合菌群。根据首先筛选出具有絮凝性的单菌,然后按照不同的配组进行两株菌株种子液的复合菌群培养试验,测定其发酵液的絮凝率。然后选择絮凝效率较高的两种菌组合,再按照不同的搭配进行三种菌的复合菌群培养试验,测定其发酵液的絮凝率,以找出能够产生更高絮凝性絮凝剂的复合菌群^[57]。但是研究结果表明,任意两株菌株混合培养后,并不是絮凝率都有所提高,有的反而降低了。根据生态位的理论,不同菌株能够一起共存,是因为它们之间通过协调作用出现了生态位的分离,从而避免了种群间的激烈竞争。

所以,今后的研究方向应该转向直接从土样中筛选具有絮凝性的混合菌群,而不是单菌的混合,这样可以省时省力,且效果更好。

1.6 微生物絮凝剂在水处理中的应用

与有机或无机合成高分子絮凝剂相比,微生物絮凝剂具有絮凝范围广、活性高、安全无害、不污染环境等特点,因此可以广泛应用于给水和污水处理。

(1) 畜产废水的处理

畜产废水是含 BOD 较高的难处理有机废水,采用合成有机絮凝剂虽然有较好的效果,但存在二次污染^[58]。猪粪尿废水采用 NOC-1 处理 10min 后,废水的上清液变成几乎透明的液体,废水中的 TOC 由处理前的 $8200\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 变为 $2980\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,去除率达 63.7%,浊度由处理前的 15.7 变为 0.86,浊度去除达 94.5%。

(2) 可消除污泥膨胀

不少工业废水在采用活性污泥处理过程中,形成的活性污泥容易发生膨胀,从而影

响处理效率,若添加微生物絮凝剂,会取得良好效果^[58]。如甘草制药废水生化处理过程中形成的膨胀性污泥,当在其中添加 NOC-1 微生物絮凝剂后,污泥的 SVI 很快从 290 下降到 50,消除了污泥的膨胀,恢复了活性污泥的沉降能力。

(3) 建材废水的处理

含有高悬浮物的建筑材料加工废水也是较难处理的一类废水^[59],例如陶瓷厂废水,主要包括胚体废水和釉药废水两种,前者主要含有较多的粘土颗粒,后者除含粘土颗粒外,还有相当数量的釉药。当添加 NOC-1 后 5min,胚体废水的 OD 从原来的 1.4 降低到 0.043;釉药废水的浊度从 17.2 下降到 0.35;浊度去除率分别为 96.6%和 97.9%,可得到几乎透明的上清液。

(4) 废水的脱色^[59、60]

现今的活性污泥法技术除去废水中的 BOD 并非难事,但对于脱色几乎还没有特效的方法,特别是对于那些可溶性色素很难处理,而采用微生物絮凝剂 NOC-1,对墨水、糖蜜废水、造纸黑液、颜料废水等进行的试验表明,处理后上清液变为无色透明。辛宝平用 *Palcaligenes* 8724 菌株产生的絮凝剂在实验室对纸浆黑液和氯霉素等颜色较深的废水进行脱色处理,其脱色率分别达 95%和 98%以上。

(5) 给水处理^[61]

邓述波等人利用含有糖醛酸、中性糖和氨基糖的多糖絮凝剂处理河水,相比于海藻酸钠、明胶絮凝剂而言,絮团大、沉降快、上清液浊度低,而且处理后 COD 值最小。

(6) 高浓度有机废水处理

畜产废水、鞣革工业废水是生物耗氧量较高的难处理的一类废水,采用合成高分子絮凝剂处理存在二次污染。而用微生物絮凝剂 NOC-1 加 Ca^{2+} 处理 10min,上清液即接近透明,TOC,OD660 等指标均有显著降低。浊度去除率达 94.5%^[62],在鞣革工业废水中加入 C-62 菌株产生的絮凝剂,其浊度去除率可达 96%。

(7) 印染废水的降解、脱色

印染废水成分复杂,水质变化大,色度高,并含难降解表面活性剂,是目前难处理的工业废水。用白腐真菌处理染料废水是目前研究热点之一^[63],其作用分染料的吸附、富集阶段和生物降解阶段。染料的细菌降解又包括两个步骤。首先是染料透过细菌细胞壁进入质膜。其次是在膜上的传递并通过细菌的生命活动如氧化、还原、合成等过程使其降解成简单的无机物或转化成细菌所需要的营养物质。

(8) 高浓度无机物悬浮废水的处理

微生物絮凝剂可用于高岭土、泥水浆、粉煤灰等水样处理，用生物材料处理质量浓度高达 $0.15\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ 的浊水时，沉降率是阳离子聚丙烯酰胺的 2.5 倍，是阴离子聚丙烯酰胺的 4 倍。陶瓷厂废水添加 NOC-1 后 5min，釉药废水 OD660 下降了 98%，浊度去除率 97.9%，废水 OD 下降了 97%，浊度去除率 96.6% [62]。

(9) 电镀废水及含重金属离子废水的处理

电镀废水的铬和氰对人体的危害很大，是重点整治对象。以硫酸盐还原菌为净化剂，可使原水中的 Cr^{3+} 质量浓度由 $44.11\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降为 $5.365\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。壳聚糖生物絮凝剂具有高效、无污染等优点，特别是对含有重金属离子的废水具有独特的处理效果 [64]。

(10) 微污染水的处理

用分离筛选得到的硅酸盐芽孢杆菌产生的絮凝剂 MBFA9(多糖组成)。絮凝每升高岭土悬浮液的用量为 0.1ml，是一般微生物絮凝剂用量 1/10~1/200，絮凝率高达 99.6%。处理河水的试验表明，用该絮凝剂处理高浊度河水技术指标优于 PAM 等常规絮凝剂，处理后河水浊度降至 0.8NTU [61]。

1.7 课题的研究目标、研究内容

1.7.1 研究目标

通过对产微生物絮凝剂的菌株 SHD-1 发酵条件的优化、发酵动力学的研究以及廉价培养基的选择来降低微生物絮凝剂的生产成本；并研究与其他絮凝剂复配的效果，以及研究混合菌所产生的絮凝剂活性，以期提高微生物絮凝剂的絮凝效率及絮凝范围；并且研究微生物絮凝剂替代无机、有机絮凝剂的可能性，为将来的工业化应用奠定一定的基础。

1.7.2 研究内容

- (1) 通过正交实验获得产微生物絮凝剂的菌株 SHD-1 的优化发酵条件；
- (2) 研究菌株 SHD-1 的发酵动力学，并拟合出发酵动力学方程，为以后指导实践奠定理论基础；
- (3) 与其他菌株进行复配，考察复合型微生物絮凝剂的絮凝活性；
- (4) 对复合型微生物絮凝剂的技术可行性进行研究；
- (5) 选择合适的廉价培养基，以期降低生产成本。

第二章 菌株 SHD-1 发酵条件优化

2.1 实验仪器及药品

2.1.1 仪器设备

本实验中所用的仪器列于表 2-1 中。

表 2-1 实验仪器

Table2-1 Experimental Instrument

| 设备序号 | 设备名称 | 设备生产厂家 |
|------|-----------------|-------------------|
| 1 | DBJ-623 电子变速搅拌机 | 解放军四三三二工厂 |
| 2 | Spx-250 型生化培养箱 | 上海跃进医疗器械厂 |
| 3 | UV-2100 紫外分光光度计 | UNICO |
| 4 | 电冰箱 | 海尔集团 |
| 5 | 1-02 型电热鼓风干燥箱 | 山东省龙口市电炉总厂 |
| 6 | AL204 电子天平 | 梅特勒-托利多仪器有限公司 |
| 7 | 微波密封消解 COD 速测仪 | Galanz |
| 8 | LCMH-DAF 气浮测试仪 | 欧保环境科技(上海)有限公司 |
| 9 | HZQ-X100 震荡培养箱 | 哈尔滨东联电子技术开发有限公司 |
| 10 | PH211 精密 PH 计 | HANNA instruments |
| 11 | 立式自动电热压力蒸汽灭菌器 | 上海申安医疗器械厂 |
| 12 | Gilson 移液枪 | 法国进口 |

2.1.2 实验药品

本实验中所用的化学试剂及规格列于表 2-2 中。

表 2-2 实验试剂

Table2-2 Experimental Reagent

| 药品名称 | 试剂规格 | 药品产地 |
|-------|----------|--------------|
| 石油醚 | 沸程 60-90 | 南京化学试剂有限公司 |
| 氯化钠 | 分析纯 | 国药集团化学试剂公司 |
| 蛋白胨 | 生化试剂 | 国药集团化学试剂公司 |
| 浓硫酸 | 分析纯 | 济南试剂总厂 |
| 盐酸 | 分析纯 | 淄博化学试剂厂 |
| 氢氧化钠 | 分析纯 | 天津化学试剂二厂 |
| 硫酸银 | 分析纯 | 国药集团上海化学试剂公司 |
| 硫酸汞 | 分析纯 | 上海试四赫维化工有限公司 |
| 重铬酸钾 | 分析纯 | 青岛四方化学试剂厂 |
| 邻菲罗啉 | 分析纯 | 国药集团上海化学试剂公司 |
| 硫酸亚铁 | 分析纯 | 国药集团上海化学试剂公司 |
| 硫酸亚铁铵 | 分析纯 | 国药集团上海化学试剂公司 |
| 牛肉膏 | 生化试剂 | 国药集团化学试剂公司 |
| 酵母膏 | 生化试剂 | 国药集团化学试剂公司 |
| 蔗糖 | 分析纯 | 国药集团化学试剂公司 |
| 琼脂粉 | 生化试剂 | 国药集团化学试剂公司 |

2.1.3 菌株来源

絮凝剂产生菌 SHD-1 保藏于中国石油大学（华东）化学化工学院环境工程系。

2.1.4 工业废水来源

东营市某炼油厂污水处理车间隔油池后未加絮凝剂处理的污水。

2.2 实验方法

2.2.1 废水水质指标测定方法

表 2-3 水质指标及测定方法

Table2-3 Water quality indicators and Determination

| 序号 | 监控项目 | 分析方法 |
|----|------|---------|
| 1 | 浊度 | 浊度计 |
| 2 | 石油类 | 紫外分光光度法 |
| 3 | COD | 重铬酸钾法 |

2.2.2 絮凝实验方法

在 500ml 烧杯中加入 300ml 含油废水，用移液枪移取少量微生物絮凝剂，将烧杯放于电子变速搅拌机搅拌棒下，设定好转速和时间，快速 $200\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 搅拌 2min，慢速 $20\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 搅拌 6min，静置 10min。之后从烧杯同一高度取 50ml 上清液，测定絮凝剂对含油废水的浊度、石油类和 COD 的处理效果。

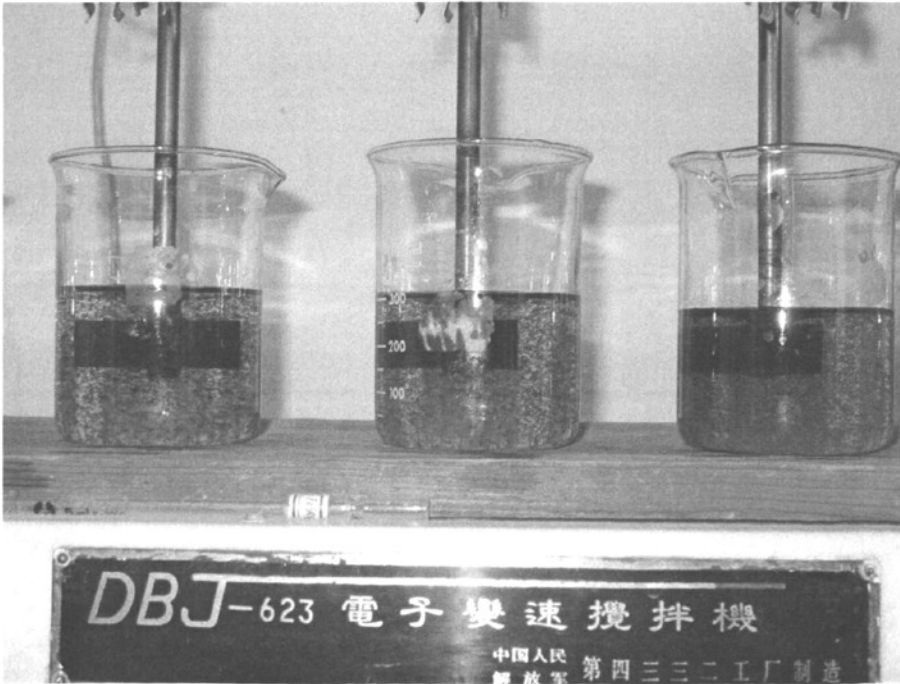


图 2-1 废水絮凝

Fig2-1 Flocculation of waste water

2.2.3 微生物絮凝剂发酵条件优化

不同碳源、不同氮源、初始 pH 值、转速、温度等均会影响微生物絮凝剂的产生，通过单因子研究从而确定菌株 SHD-1 的最佳的发酵条件。因为前期工作

已经对碳源、氮源、pH、金属离子、发酵时间、摇床转速、温度等条件进行了研究，所以在此仅对未做过研究的有机氮量，含碳量，装液量三个单因子进行试验。最后根据单因子试验结果，挑选对该菌株的发酵影响较大的因子，利用正交实验来选出最佳发酵条件。

2.2.3.1 有机氮源浓度的影响

在通用发酵培养基中固定2%碳源，然后分别加入0.01%、0.03%、0.05%、0.07%、0.09%的酵母膏，每个三角瓶中装入30ml发酵培养基，28℃，120r·min⁻¹培养36h，进行废水絮凝实验，测定絮凝剂对含油废水的处理效果，以确定产絮凝剂的最佳有机氮含量。

2.2.3.2 碳源浓度的影响

在通用发酵培养基中固定有机氮含量，然后分别加入0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%的蔗糖为碳源，每个三角瓶中装入30ml发酵培养基，28℃，120r·min⁻¹培养36h，进行废水絮凝实验，测定絮凝剂对含油废水的处理效果，以确定产絮凝剂的最佳有机氮含量。

2.2.3.3 装液量的影响

在通用发酵培养基中固定有机氮含量以及碳源含量，然后分别在250ml三角瓶中装入10ml、20ml、30ml、50ml、70ml、100ml的发酵培养基，28℃，120 r·min⁻¹培养36h，进行废水絮凝实验，测定絮凝剂对含油废水的处理效果，以确定250ml三角瓶的最佳装液量。

2.2.3.4 正交实验

选取有机氮量，含碳量，装液量以及pH四个对菌株SHD-1发酵影响最大的因子，每个因子选择三个水平进行正交实验。正交实验表如表2-4。

表 2-4 正交实验表

Table2-4 the table of orthogonal experiment

| | 有机氮含量 (%) | 含碳量 (%) | 装液量 (ml) | pH |
|---|--------------|------------|-------------|----|
| 1 | 0.05 | 2.0 | 10 | 7 |
| 2 | 0.05 | 2.5 | 20 | 8 |
| 3 | 0.05 | 3.0 | 30 | 9 |
| 4 | 0.07 | 2.0 | 20 | 9 |
| 5 | 0.07 | 2.5 | 30 | 7 |
| 6 | 0.07 | 3.0 | 10 | 8 |
| 7 | 0.09 | 2.0 | 30 | 8 |
| 8 | 0.09 | 2.5 | 10 | 9 |
| 9 | 0.09 | 3.0 | 20 | 7 |

2.3 结果与讨论

2.3.1 有机氮源浓度的影响

有机氮源浓度对微生物絮凝剂絮凝效果的影响如图 2-2 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 75FTU，石油类为 147.2 mg·L⁻¹，COD 为 829.26mg·L⁻¹。

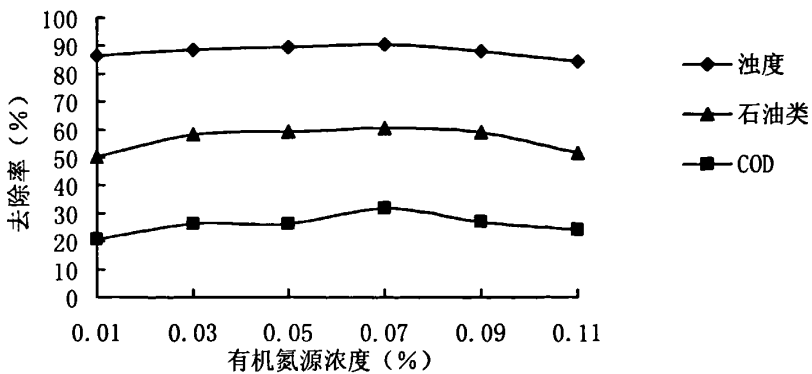


图 2-2 有机氮源浓度对絮凝效果影响图

Fig2-2 Effect of organic nitrogen source concentration on flocculation activity

由图2-2可以看出，不同有机氮源浓度对絮凝剂的产生有不同的影响。实验结果证实有机氮源浓度为0.05%-0.09%时效果较好，当有机氮源浓度大于0.09%时，絮凝剂的

絮凝活性下降。

氮源一般作为细胞组成物质和蛋白质类产物原料，不作为能源利用，在碳源数量一定的情况下，若氮源过多，则细胞数量可能过多，氮源的大部分被用于生产细胞和作为能量消耗，如此将减少产物多糖的合成，即絮凝活性降低。

2.3.2 碳源浓度的影响

碳源浓度对微生物絮凝剂絮凝效果的影响如图 2-3 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 76FTU，石油类为 $143.81\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $832.54\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

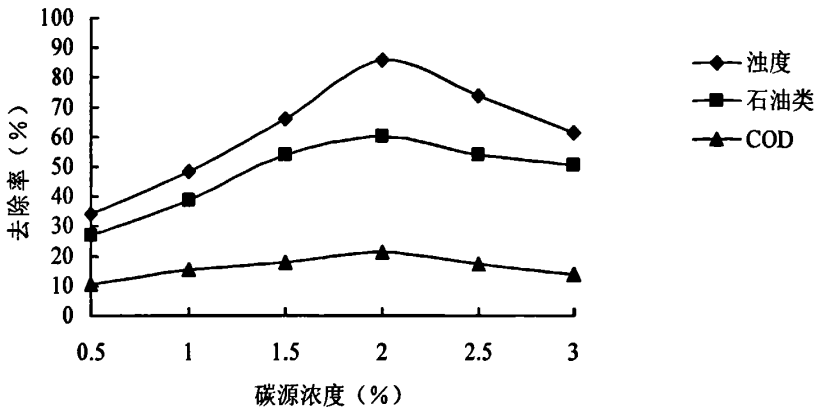


图 2-3 碳源浓度对絮凝效果影响

Fig2-3 Effect of carbon source concentration on flocculation activity

由图2-3可以看出，不同碳源浓度对絮凝剂的产生也有影响。实验结果证实随着碳源浓度的增加，菌株SHD-1所产生的絮凝剂的絮凝活性也随之增加，对废水的处理效果也提高，在浓度为2%时效果最好，但当碳源浓度继续增加时絮凝剂的絮凝活性开始降低，对废水的处理效果也降低。

在一定的碳源浓度范围内，随着浓度的增加，对微生物的生长和产物合成有利，菌体量逐渐增加，絮凝活性逐渐增强。但当碳源浓度增加到一定数值时，碳源作为能量被微生物消耗，减少了产物多糖的合成，降低了微生物絮凝剂的絮凝活性。

2.3.3 装液量的影响

装液量对微生物絮凝剂絮凝效果的影响如图 2-4 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 79FTU，石油类为 $149.56\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $849.28\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

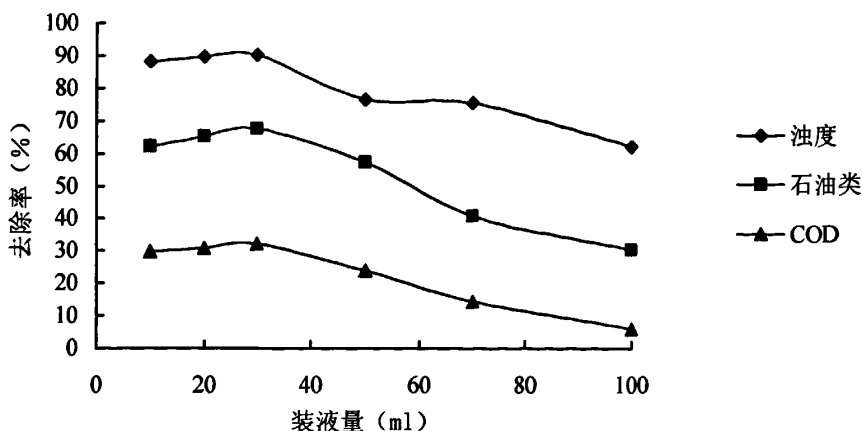


图 2-4 装液量对絮凝效果影响图

Fig2-4 Effect of culture volume on flocculation activity

由图2-4可以看出，不同装液量对絮凝剂的产生有影响。实验结果证实在30ml装液量内，随着装液量的增加，菌株SHD-1所产生的絮凝剂的絮凝活性基本稳定，对废水的处理效果也基本稳定，但当装液量超过30ml后，絮凝剂的絮凝活性开始降低，对废水的处理效果也降低。

摇瓶内的装液量代表培养基中的溶解氧，培养基中的溶解氧是影响微生物生长的重要因素。摇瓶内溶解氧含量高，对微生物生长和代谢有利，所以微生物絮凝剂的絮凝效果好。经过此实验证明，菌株 SHD-1 是好氧微生物。

2.3.4 正交实验

选取有机氮量，含碳量，装液量以及 pH 四个对菌株 SHD-1 发酵影响最大的因子，每个因子选择三个水平进行正交实验。正交实验结果如表 2-5。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 80FTU，石油类为 147.23mg·L⁻¹，COD 为 835.42mg·L⁻¹。

表 2-5 正交实验结果表

Table2-5 Effect of orthogonal experiment

| | 有机氮含量 (%) | 含碳量 (%) | 装液量 (ml) | pH | 石油类去除率 (%) |
|----|--------------|------------|-------------|--------|---------------|
| 1 | 0.05 | 2.0 | 10 | 7 | 68.71 |
| 2 | 0.05 | 2.5 | 20 | 8 | 61.92 |
| 3 | 0.05 | 3.0 | 30 | 9 | 61.25 |
| 4 | 0.07 | 2.0 | 20 | 9 | 60.64 |
| 5 | 0.07 | 2.5 | 30 | 7 | 60.63 |
| 6 | 0.07 | 3.0 | 10 | 8 | 62.52 |
| 7 | 0.09 | 2.0 | 30 | 8 | 63.18 |
| 8 | 0.09 | 2.5 | 10 | 9 | 59.37 |
| 9 | 0.09 | 3.0 | 20 | 7 | 64.14 |
| K1 | 63.938 | 64.143 | 63.511 | 64.478 | |
| K2 | 61.239 | 60.612 | 62.210 | 62.512 | |
| K3 | 62.189 | 62.611 | 61.646 | 60.386 | |
| R | 2.699 | 3.531 | 1.865 | 4.092 | |

某一因素的不同水平对应的平均收率即K值最大,说明该水平是这因素的最佳水平。

极差是指一组数据中最大值和最小值的差,极差的大小反映相应因素作用的大小。所谓一个因素对实验结果的影响大,就是该因素的不同水平对应的平均收率之间的差异大;相反,一个因素对实验结果的影响小,就是该因素的不同水平对应的平均收率之间的差异小。

由上表可看出四因素的最佳组合为:有机氮含量0.05%,碳源含量2%,pH值7.0,装液量10ml;pH值对微生物絮凝剂的絮凝效率影响最大,碳源浓度其次,有机氮源浓度再次,装液量最小。

2.3.4 发酵条件优化后发酵液形态

经过上述发酵条件优化后所培养出的微生物絮凝剂产生菌的发酵液如图2-5所示,液体呈微黄色,有一定的粘性。

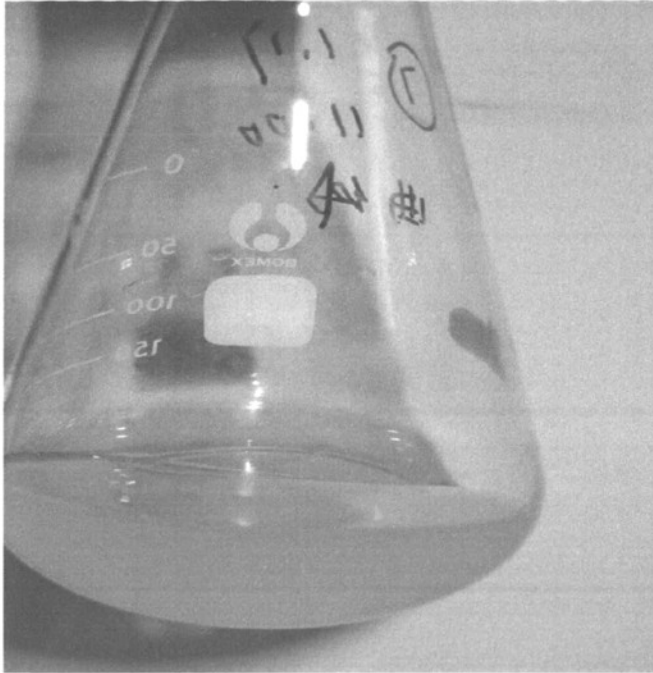


图 2-5 发酵液形态

Table2-5 the morphology of the fermentation broth

2.4 本章小结

(1) 从单因子实验中可以看出，产絮凝剂菌株 SHD-1 的发酵条件为蔗糖 20g，酵母膏 0.75g，250ml 三角瓶的装液量为 30ml，水 1000ml 时，絮凝剂的絮凝效果最好。

(2) 从正交实验中可以得出，pH 值对微生物絮凝剂的絮凝效率影响最大，碳源浓度其次，有机氮源浓度再次，装液量最小；这四个因素的最佳组合为有机氮含量 0.05%，碳源含量 2%，pH 值 7.0，装液量 10ml。

第三章 菌株 SHD-1 发酵动力学的研究

3.1 实验仪器及药品

3.1.1 仪器设备

本实验中所用的仪器列于表 3-1 中。

表 3-1 实验仪器

Table3-1 Experimental Instrument

| 设备序号 | 设备名称 | 设备生产厂家 |
|------|----------------|-------------------|
| 1 | 721 分光光度计 | 上海第三分析仪器厂 |
| 2 | 离心机 | 美国贝克曼库尔特公司 |
| 3 | 电冰箱 | 海尔集团 |
| 4 | 1-02 型电热鼓风干燥箱 | 山东省龙口市电炉总厂 |
| 5 | AL204 电子天平 | 梅特勒-托利多仪器有限公司 |
| 6 | 微波密封消解 COD 速测仪 | Galanz |
| 7 | HZQ-X100 震荡培养箱 | 哈尔滨东联电子技术开发有限公司 |
| 8 | PH211 精密 PH 计 | HANNA instruments |
| 9 | 立式自动电热压力蒸汽灭菌器 | 上海申安医疗器械厂 |
| 10 | Gilson 移液枪 | 法国进口 |

3.1.2 实验药品

本实验中所用的化学试剂及规格列于表 3-2 中。

表 3-2 实验试剂

Table3-2 Experimental Reagent

| 药品名称 | 试剂规格 | 药品产地 |
|-------|------|------------|
| 氯化钠 | 分析纯 | 国药集团化学试剂公司 |
| 蛋白胨 | 生化试剂 | 国药集团化学试剂公司 |
| 浓硫酸 | 分析纯 | 济南试剂总厂 |
| 苯酚 | 分析纯 | 国药集团化学试剂公司 |
| 95%乙醇 | 分析纯 | 国药集团化学试剂公司 |
| 牛肉膏 | 生化试剂 | 国药集团化学试剂公司 |
| 酵母膏 | 生化试剂 | 国药集团化学试剂公司 |
| 蔗糖 | 分析纯 | 国药集团化学试剂公司 |
| 琼脂粉 | 生化试剂 | 国药集团化学试剂公司 |

3.1.3 菌株来源

絮凝剂产生菌 SHD-1 保藏于中国石油大学（华东）化学化工学院环境工程系。

3.2 实验方法

在优化条件研究工作中，分别以发酵培养的初始物理化学参数进行了孤立的研究，以发酵结束后多糖产量的最终值为标准，得到各参数的初始优化值，但发酵过程中，菌体生长量、产物合成量，底物消耗量的各自变化规律及其相互关系尚不得而知，而这些关系对发酵过程的控制及发酵规模的放大是至关重要的，因此需进一步进行生物反应的发酵动力学研究。

3.2.1 菌体生长量的测定及数学模型方程

采用光密度法。

取保存菌种一环，转接到种子培养基中，28℃、120 r·min⁻¹活化 12 h，转接 0.5ml 活化菌液到发酵培养基中 500ml 锥形瓶，装液量为 100 ml，28℃、120 r·min⁻¹，以 5%的接种量转接到发酵培养基中发酵两天，每 3h 取一个样于 721 分光光度计 490nm 处测吸光度，吸光度与菌液含量成正比。用所测数据绘制出菌株的生长曲线，同时用所测数据可以建立出菌株生长模型，并拟合出菌株生长理论方程。

在描述菌体增长时，采用 Lotistic 模型^[65]。Lotistic 模型能很好的反映出分批发酵过程

因菌体浓度的增加对自身生长的抑制作用，这在分批发酵中是普遍存在的，Lotistic模型是一个典型的S曲线，在拟合分批发酵的菌体生长过程中有广泛的实用性。

Logistic方程：

$$dX/dt = \mu X(1 - X/X_m) \quad (3-1)$$

初始条件为 $t=0, X=X_0$,对该方程积分得出，

$$\ln(X/(X_m - X)) + \ln(X_m/X_0 - 1) = \mu t \quad (3-2)$$

$$X_t = X_0 e^{\mu t} / X[1 - (X_0/X_m)(1 - e^{\mu t})] \quad (3-3)$$

上述方程式同时可表达对数生长期和稳定期的菌体生长，但是随菌体浓度的变化，其生长速率也随之发生变化。由实验数据，以 $\ln[X/(X_m - X)]$ 对 t 作图得的直线斜率即为 μ ，截距为： $\ln[X_0/(X_m - X_0)]$ ，计算得 X_0 。

3.2.2 多糖生成量的测定及其数学模型方程

对上述发酵培养基每 3h 取一个样于 $8000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min，去菌体，蒸馏水洗涤沉淀。取适量上清液，中空纤维超滤系统超滤去除小分子，超滤内液加三倍体积 95% 乙醇溶液，置 4°C 下过夜沉淀，再于 $3000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 20 min，去上清液，沉淀以蒸馏水按原体积溶解，稀释适当倍数后，用苯酚硫酸法测定多糖的产量。

由实验得知，多糖的合成在生长期与稳定期都在进行，属混合型发酵，所以产物的形成采用 Luedeking-Piret 方程：

$$dP/dt = m_1 X + m_2 dX/dt \quad (3-4)$$

$t = 0$ 时， $P = P_0$ ， m_1 代表非生长相关产物形成参数， m_2 代表生长相关产物形成参数，结合方程 (3-2)，对上述式子在 $0-t$ 时间内积分，可得：

$$P_t = P_0 + m_1 (X_m / \mu) \ln[1 - (X_0 / X_m)(1 - e^{\mu t})] + m_2 (X_t - X_0) \quad (3-5)$$

稳态时， $dX/dt = 0, X = X_m$ ，则方程(3-4)为 $(dP/dt)_{stationary} = m_1 X_m$ ，作直线计算得 m_1 。方程(3-5)可写成如下形式：

$$P(t) = m_2 A(t) + m_1 B(t) + P_0 \quad (3-6)$$

式中， $A(t) = X_t - X_0$ (3-7)

$$B(t) = (X_m / \mu) \ln[1 - (X_0 / X_m)(1 - e^{\mu t})] \quad (3-8)$$

其中 μ, X_m, X_0, m_1 均已知，因此以 $[P_t - P_0 - m_1 B(t)]$ 对 $A(t)$ 作图，直线斜率即为 m_2 的

值。

3.2.3 底物的消耗量的测定及其数学模型方程

发酵液去菌体、多糖后，苯酚硫酸法测定上清液的残糖量。

发酵过程中的底物消耗主要用于菌体生长，产物合成及其代谢，底物消耗速率方程与 L-P 方程类似：

$$dS/dt = -(dX/dt)/Y_x - (dP/dt)/Y_p - K_e X \quad (3-9)$$

其中 Y_x 为细胞对底物得率， $1/Y_x$ 即为底物对细胞的耗率， $[(dX/dt)/Y_x]$ 即为生成 dX 质量细胞所消耗的底物质量。同样， Y_p 为产物对底物得率， $1/Y_p$ 即为底物对产物耗率。 $[(dP/dt)/Y_p]$ 即为生成 dP 质量产物所消耗的底物质量。 $K_e X$ 为细胞代谢所消耗底物质量。将方程(3-4) 代入(3-9)式，转为 S 对 X 与 t 的方程：

$$dS/dt = -b_1 X - b_2 (dX/dt) \quad (3-10)$$

式中， $b_1 = m_1/Y_p + K_e$; $b_2 = 1/Y_x + m_2/Y_p$ 。初始条件： $t=0$ 时， $S=S_0$ 。当菌体生长在稳定期， $dX/dt=0$ ，可由方程(3-10)计算得 $b_1 = -(dS/dt)/X$ 。对方程(3-10)积分过程如下：

$$dS = -b_1 X dt - b_2 dX \quad (3-11)$$

在 0-t 时间内积分：

$$S_t - S_0 = -b_1 (X_t - X_0) - b_2 (X_m / \mu) \ln[1 - X_0(1 - e^{-\mu})/X_m] \quad (3-12)$$

简化为：

$$S_0 - S_t = b_2 A(t) + b_1 B(t) \quad (3-13)$$

式中，A(t)与 B(t)同与产物形成方程：

$$A(t) = X_t - X_0 \quad (3-14)$$

$$B(t) = (X_m / \mu) \ln[1 - (X_0 / X_m)(1 - e^{-\mu})] \quad (3-15)$$

与产物形成方程类似，以 $[S_0 - S_t - b_1 B(t)]$ 对 $A(t)$ 作图，所得直线斜率为 b_2 。

3.3 结果与讨论

3.3.1 菌体生长动力学方程计算

根据发酵过程中的实验数据 $X_m=4.91g \cdot L^{-1}$ 和动力学模型(3-1)，以 $\ln[X/(X_m - X)]$ 对 t 作图得的直线斜率，即 $\mu = 0.136h^{-1}$ ，直线的截距为 $\ln[X_0/(X_m - X_0)]$ ，计算得 $X_0 =$

0.304g·L⁻¹。将模型参数代入方程 (3-3) 求得发酵过程菌体生长的动力学模型如下：

$$X(t) = 0.304e^{0.136t} / [1 - (0.304/4.91)(1 - e^{0.136t})] \quad (3-16)$$

根据上式将模型计算值与实验数据点进行比较，最大误差为 13%，平均误差为 6.5%，表明较好拟合。

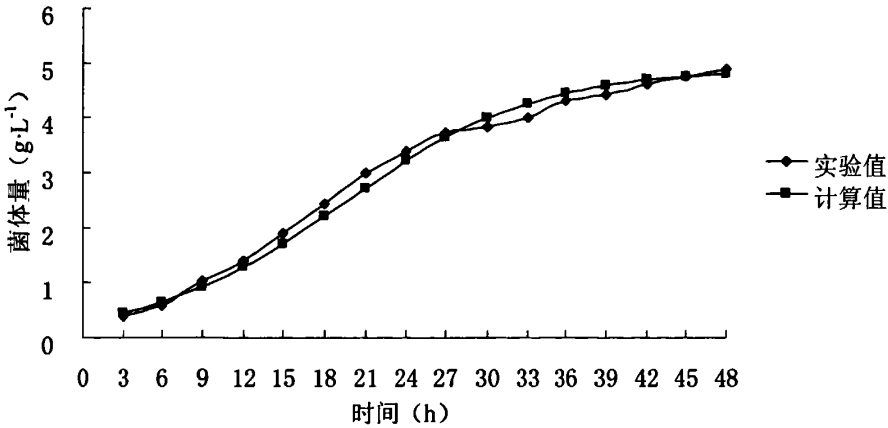


图 3-1 实验所得菌体量与计算模型计算所得菌体量拟合曲线

Fig3-1 Comparison of eq(3-16) with batch biomass data for SHD-1

3.2.2 产物合成动力学方程计算

由上面所得动力学模型参数 $\mu = 0.136h^{-1}$, $X_0 = 0.304g \cdot L^{-1}$ 和实验数据 $X_m = 4.91g \cdot L^{-1}$ 及动力学模型 $(dP/dt)_{stationary} = m_1 X_m$ ，作图计算得到产物的比生长速率 $m_1 = 0.024$ 。以 $[P_1 - P_0 - m_1 B(t)]$ 对 $A(t)$ 作图得模型参数 $m_2 = 0.81$ 。将模型参数代入方程 (3-6)，即可得动力学方程如下：

$$P(t) = 0.201 + 0.024(4.91/0.136)\ln[1 - (0.304/4.91)(1 - e^{0.136t})] + 0.81(X(t) - 0.304) \quad (3-17)$$

根据上式将模型计算值与实验数据点进行比较，最大误差为 10%，平均误差为 4.6%，表明较好拟合。

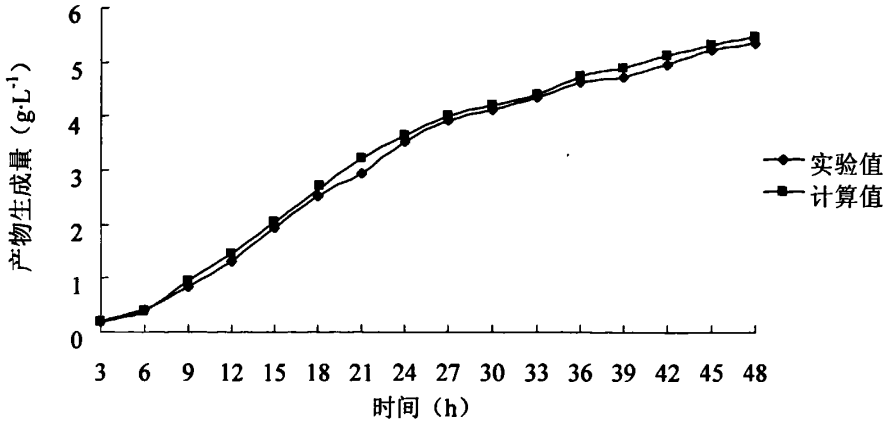


图 3-2 实验所得产物生成量与计算模型计算所得产物生成量拟合曲线

Fig3-2 Comparison of eq(3-17) with batch polysaccharide production data for SHD-1

3.2.3 底物消耗动力学方程计算

由方程 $b_1 = -[(dS/dt)/X]$ 作图并计算得到： $b_1 = 0.045$ ； b_2 的计算与 m_2 相似，再以 $[S_0 - S_T - b_1 B(t)]$ 对 $A(t)$ 作图得模型参数 $b_2 = 0.14$ 。将模型参数代入方程 (3-12)，即可得动力学方程如下：

$$S_t = 20 - 0.045 \times 4.91 (1/0.136) \ln (1 - 0.304 (1 - e^{0.136t}) / 4.91) - 0.14 (X_t - 0.304) \quad (3-18)$$

根据上式将模型计算值与实验数据点进行比较，最大误差为 14%，平均误差为 4.7%，表明较好拟合。

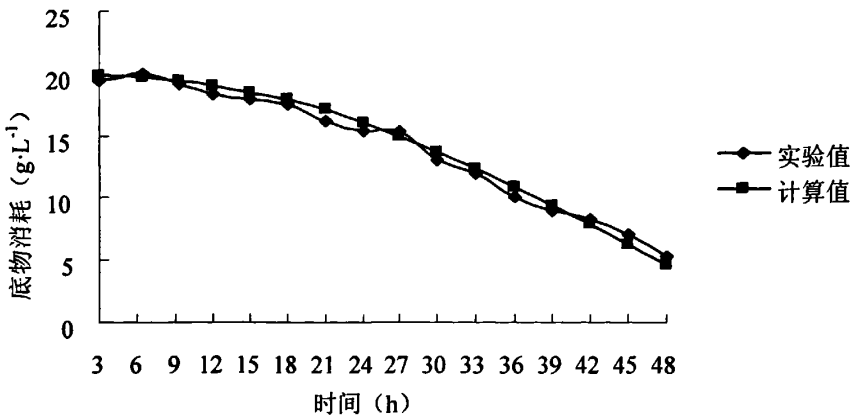


图 3-3 实验所得底物消耗量与计算模型计算所得底物消耗量拟合曲线

Fig3-2 Comparison of eq(3-18) with sucrose consumption data by SHD-1

3.4 本章小结

(1) 通过实验及计算获得菌体量、产物生成量、底物消耗量动力学方程，实验数据与理论计算数据较好拟合。

(2) 由动力学实验得到菌体生长量，产物合成量，底物消耗量的动力学方程，方程反映了三者的变化规律及其相互关系，应用这些规律能够更好地进行发酵条件的再优化，更好地进行发酵过程的预测及控制。

第四章 复合型微生物絮凝剂产生菌发酵条件的研究

4.1 实验仪器及药品

4.1.1 仪器设备

本实验中所用的仪器同表 2-1。

4.1.2 实验药品

本实验中所用的化学试剂及规格同表 2-2。

4.1.3 菌株来源

絮凝剂产生菌 SHD-1 保藏于中国石油大学（华东）化学化工学院环境工程系，菌株 5 为中国石油大学（华东）校内抽油机下含油土壤内所筛。

4.1.4 工业废水来源

东营市某炼油厂污水处理车间隔油池后未加絮凝剂处理的污水。

4.2 实验方法

4.2.1 菌株筛选方法

采用本实验室独创的吡啶筛选方法从土样或活性污泥中筛选微生物絮凝剂产生菌。它是将土样或活性污泥接入吡啶培养基，吡啶作为氮源，使可以耐受吡啶的微生物存活下来，然后将培养液稀释涂布，得到单菌，通过测定单菌所产絮凝剂的絮凝活性，筛选出絮凝剂产生菌。具体筛选方法见图 4-1。

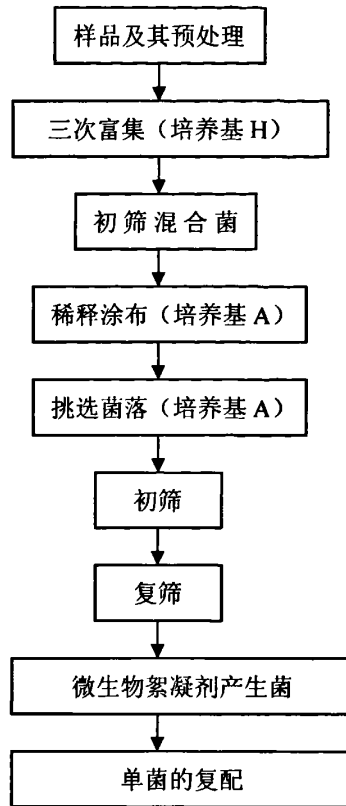


图 4-1 筛选方法

Fig4-1 Screening method

筛选过程中共进行三次富集培养，这三次富集培养采用培养基 H，但其氮源含量不同。具体如表 4-1 所示。

表 4-1 富集培养基中氮源的含量

Table4-1 Nitrogen source concentration in the enrichment medium

| 培养基 | 酵母膏 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) | 氯化铵 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) | 吡啶 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) |
|-----|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| H1 | 0.05 | 1 | 50 |
| H2 | 0 | 0.5 | 100 |
| H3 | 0 | 0 | 100 |

取2g活性污泥或土壤直接加入富集培养基H1中，28℃、120 r·min⁻¹摇床培养32小时后，以20%的接种量转入富集培养基H2，仍是28℃、120 r·min⁻¹摇床培养32小时。之后再以20%的接种量接入富集培养基H3，28℃、120 r·min⁻¹摇床培养32小时。

将富集培养三次后得到的混合菌群以 10%的接种量接入装有 30ml 通用发酵培养基

的锥形瓶中, 28°C $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 24h, 对培养液进行逐级稀释, 涂布于培养基 A。

选择在培养基上生长良好、表面光滑带粘性的细菌单菌落, 用接种环挑取少量菌体, 转接到相应斜面培养基上, 放入 30°C 的恒温生化培养箱中培养 48h 后, 放于 4°C 冰箱中保存, 以用于进一步筛选。

4.2.1.1 初筛方法

以对高岭土悬浊液絮凝活性的大小为标准, 对絮凝剂絮凝效果进行粗测。

使用配制的 $4\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 高岭土悬浮液, 通过絮凝实验, 目测观察絮凝现象, 以投加无絮凝剂的纯发酵培养基的高岭土悬浊液为对照, 观察是否有絮团生成, 如果有絮团生成, 则说明该菌能产生絮凝剂。

4.2.1.2 复筛方法

复筛直接用实际的含油废水, 采用絮凝实验测定微生物絮凝剂的絮凝活性。

500ml 烧杯中加入 300ml 含油废水, 先加入聚铝 0.9ml, 再加入适量絮凝剂, 置于电子变速搅拌机上搅拌, 在 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 快搅 2min, $20\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 慢搅 6min, 静置沉降 10min, 吸取上清液 1/2 处, 测定絮凝后含油废水的浊度、石油类以及 COD, 以不加絮凝剂的原水为对照, 以各参数去除率高低作为复筛的标准。其去除率通过下面的公式来计算:

$$\text{参数去除率}(\%) = (A_0 - A) \times 100 / A_0 \quad (4-1)$$

4.2.1.3 菌株复合方法

将所得高效絮凝菌进行双菌 (1:1) 混合培养的正交实验, 然后通过絮凝实验挑选出对含油废水絮凝效果最好的复合菌所产絮凝剂。

4.2.2 复合型微生物絮凝剂产生菌发酵条件的优化

4.2.2.1 发酵时间的影响

在通用发酵培养基中加入复合型微生物絮凝剂产生菌, 培养条件 28°C , $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇瓶分别培养 12h、24h、36h、48h、60h、72h, 进行废水絮凝实验, 测定絮凝剂对含油废水的处理效果, 以确定絮凝剂产生菌的最佳发酵时间。

4.2.2.2 培养基初始 pH 值的影响

将配制好的发酵培养基分装于 250ml 的锥形瓶中, 每瓶 30ml。在 pH 计上用

稀 HCl 和稀 NaOH 溶液调节 pH 值, 使其 pH 值分别为 2-11。121℃灭菌 20min, 再接入 0.1ml 种子, 置于恒温摇床中培养。培养条件: 摇床转速 120 r·min⁻¹、温度 28℃培养时间 48h。然后进行废水絮凝实验, 测定絮凝剂对含油废水的处理效果。

4.2.2.3 碳源浓度的影响

在通用发酵培养基中加入蔗糖的浓度分别为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%, 培养条件 28℃, 120 r·min⁻¹ 摇瓶培养 48h, 进行废水絮凝实验, 测定絮凝剂对含油废水的处理效果, 以确定絮凝剂产生菌的最佳碳源浓度。

4.2.2.4 有机氮源浓度的影响

在通用发酵培养基中加入有机氮源的浓度分别为 0.01%、0.03%、0.05%、0.07%、0.09%、0.11%, 培养条件 28℃, 120 r·min⁻¹ 摇瓶培养 48h, 进行废水絮凝实验, 测定絮凝剂对含油废水的处理效果, 以确定絮凝剂产生菌的最佳有机氮源的浓度。

4.2.2.5 不同离子的影响

向投加最佳碳源和氮源的培养基中分别加入 0.1g·L⁻¹ 的 MgSO₄、FeCl₂、CaCl₂、NaCl、ZnSO₄、CuSO₄, 并且以不加金属离子的培养基为对照, 考察不同离子对菌株产絮凝剂的影响。

4.2.2.6 发酵条件优化的正交实验

对上述起决定性作用的因素: 碳源浓度、有机氮源浓度、培养基初始 pH, 进行正交实验。通过前面的实验在每个因素中选取三个影响较大的水平, 设计正交实验 L₃³ 列于表 4-2 中。

表 4-2 正交实验表

Table4-2 the table of orthogonal experiment

| 实验 | 碳源含量 (%) | 有机氮源含量 (%) | pH |
|----|----------|------------|----|
| 1 | 1.5 | 0.03 | 9 |
| 2 | 1.5 | 0.05 | 8 |
| 3 | 1.5 | 0.07 | 7 |
| 4 | 2.0 | 0.03 | 8 |
| 5 | 2.0 | 0.05 | 7 |
| 6 | 2.0 | 0.07 | 9 |
| 7 | 2.5 | 0.03 | 7 |
| 8 | 2.5 | 0.05 | 9 |
| 9 | 2.5 | 0.07 | 8 |

4.3 结果与讨论

4.3.1 菌株的筛选

4.3.1.1 初筛

通过吡啶筛菌法从 12 个样品中得到复合菌，再对其进行分离得到了各类菌株共 120 株，经过初筛从 120 株菌中选出有絮凝作用的 17 株菌。

4.3.1.2 复筛

通过对初筛选出 17 株菌做复筛，最后选定 5 株高效絮凝剂产生菌，结果如表 4-3 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 81FTU，石油类为 $148.24\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $830.16\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 4-3 菌株复筛结果

Table4-3 the result of secondary screening

| 编号 | 浊度去除率(%) | COD 去除率(%) | 石油类去除率(%) |
|----|----------|------------|-----------|
| 1 | 22.18 | 3.89 | 7.45 |
| 2 | 26.54 | 6.91 | 3.56 |
| 3 | 28.91 | 5.76 | 4.11 |
| 4 | 27.97 | 4.09 | 2.76 |
| 5 | 26.88 | 6.08 | 4.89 |
| 6 | 32.32 | 7.91 | 6.91 |
| 7 | 26.34 | 5.87 | 2.78 |
| 8 | 49.29 | 19.34 | 25.75 |
| 9 | 22.09 | 2.10 | 7.62 |
| 10 | 41.43 | 8.68 | 16.55 |
| 11 | 49.29 | 17.80 | 29.20 |
| 12 | 41.43 | 11.53 | 15.95 |
| 13 | 60.00 | 19.73 | 31.12 |
| 14 | 59.29 | 18.49 | 28.30 |
| 15 | 28.31 | 6.09 | 6.27 |
| 16 | 27.02 | 4.07 | 5.42 |
| 17 | 27.88 | 1.02 | 2.88 |

从表 4-3 中可以看出编号为 8、11、13、14 的菌株絮凝效果较好，从而选定这 4 株菌加上以前筛选出的 SHD-1 共 5 株菌株。

4.3.1.3 菌株复合

将复筛获得的菌株重新编号：SHD-1，8，11，13，14 分别编号为 1，2，3，4，5。将这五株菌进行两两复合，制成复合型微生物絮凝剂，絮凝实验结果如表 4-4 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 78FTU，石油类为 $140.54\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $829.89\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 4-4 微生物絮凝剂的絮凝效果

Table4-4 Flocculation Effects of Flocculants

| 菌株 | 浊度 | 石油类 | COD |
|-----|--------|--------|--------|
| | 去除率(%) | 去除率(%) | 去除率(%) |
| 1 | 75.31 | 43.15 | 15.21 |
| 2 | 77.85 | 45.32 | 12.9 |
| 3 | 79.51 | 45.32 | 14.1 |
| 4 | 83.24 | 46.93 | 16.13 |
| 5 | 82.55 | 47.57 | 12.9 |
| 1+5 | 88.34 | 46.61 | 14.29 |
| 2+5 | 75.38 | 31.54 | 13.55 |
| 3+5 | 78.88 | 42.76 | 14.1 |
| 4+5 | 88.28 | 42.76 | 12.72 |
| 1+2 | 77.48 | 38.52 | 19.87 |
| 1+3 | 78.13 | 39.65 | 11.41 |
| 1+4 | 86.14 | 39.91 | 12.05 |
| 2+3 | 78.48 | 39.44 | 11.02 |
| 2+4 | 88.45 | 40.98 | 13.53 |
| 3+4 | 88.08 | 41.44 | 15.65 |

附注 1: 1+5 表示菌株 1 与菌株 5 复合。

从表 4-4 中可以看出菌株 1 和 2, 1 和 3, 2 和 3, 1 和 5, 3 和 5 复合后去除率都稍有降低, 可见它们制成的复合型微生物絮凝剂不如单菌产絮凝剂的絮凝效果好。菌株 1 和 5, 1 和 4, 2 和 4, 3 和 4, 4 和 5 复合后絮凝效果都稍有提高, 尤其是 1 和 5 复合后的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好。所以在今后的实验中选择 1 和 5 复合后的菌株所产的絮凝剂为实验所用复合型微生物絮凝剂。

4.3.2 复合型微生物絮凝剂发酵条件的优化

4.3.2.1 发酵时间的影响

发酵时间对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 4-2 所示。实验所用含油废

水初始指标为：浊度为 78FTU，石油类为 138.78mg·L⁻¹，COD 为 839.58mg·L⁻¹。

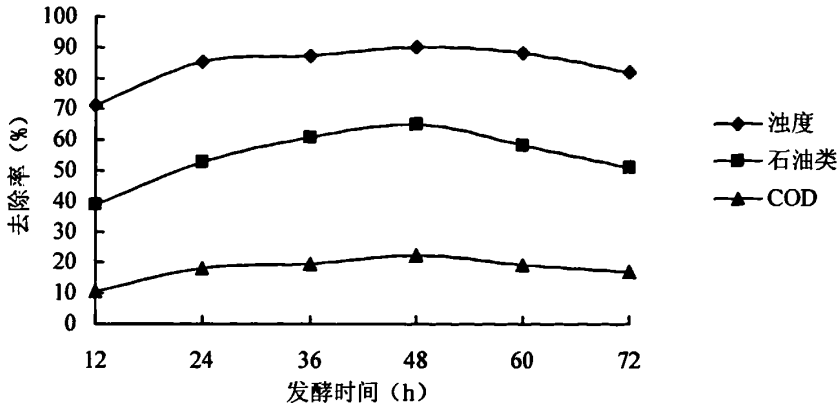


图 4-2 发酵时间对絮凝效果影响

Fig4-2 Effect of the time on flocculation activity

由图 4-2 可以看出，发酵时间为 48h 时该复合型微生物絮凝剂对含油废水中浊度、石油类与 COD 的去除率最好。随着发酵时间的延长，该复合型微生物絮凝剂对含油废水处理效果逐渐变差，但变化缓慢。因为对废水有絮凝作用的为微生物絮凝剂产生菌的产物，随着时间的增加，在微生物絮凝剂产生菌达到了菌株的稳定期之前，其产物逐渐增加^[66、67]，对含油废水的处理效果也越好，但是随着时间的继续增加，菌株达到了稳定期，其产物的量也趋于稳定，对含油废水的处理效果也比较稳定，随时间的变化不大。

4.3.2.2 培养基初始 pH 值的影响

培养基初始 pH 值对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 4-3 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 76FTU，石油类为 140.28mg·L⁻¹，COD 为 843.28mg·L⁻¹。

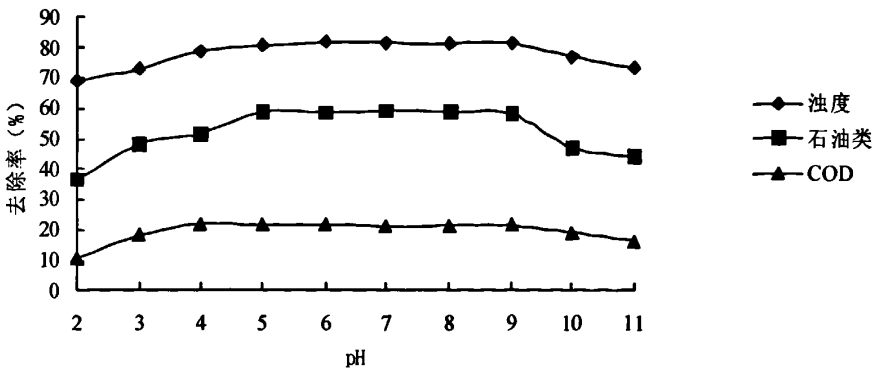


图 4-3 pH 对絮凝效果影响

Fig4-3 Effect of pH on flocculation activity

在实验过程中可以发现，在 pH 过高或过低时锥形瓶内几乎没有什么菌体生成，这说明微生物产生絮凝剂首先是要保证有良好的生长量，同时也应保持适宜的条件使微生物分泌和积累足够的絮凝物质。

由图 4-3 可以看出，微生物絮凝剂除了在过酸或过碱的条件下对含油废水的处理效果不好外，在其余 pH 条件下，处理效果差不多，所以可以选用自然 pH 为该微生物絮凝剂的 pH。

4.3.2.3 碳源浓度的影响

碳源浓度对复合型微生物絮凝剂絮凝效果的影响如图 4-4 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 78FTU，石油类为 $142.18\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $845.38\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

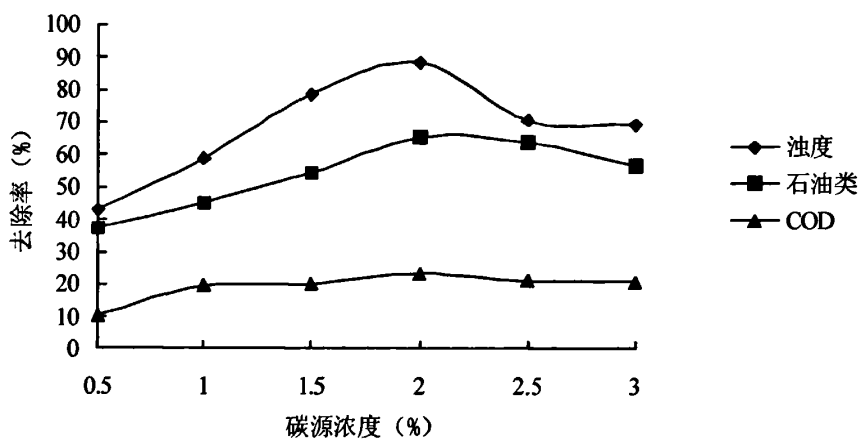


图 4-4 碳源浓度对絮凝效果影响

Fig4-4 Effect of carbon source concentration on flocculation activity

由图 4-4 可以看出，不同碳源浓度对絮凝剂的产生也有影响。实验结果证实随着碳源浓度的增加，该絮凝剂对废水的处理效果也提高，在浓度为 2% 时效果最好，但当碳源浓度继续增加时絮凝剂对废水的处理效果也降低。

4.3.2.4 有机氮源浓度的影响

有机氮源浓度对复合型微生物絮凝剂的影响如图 4-5 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 74FTU，石油类为 $128.78\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $820.01\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

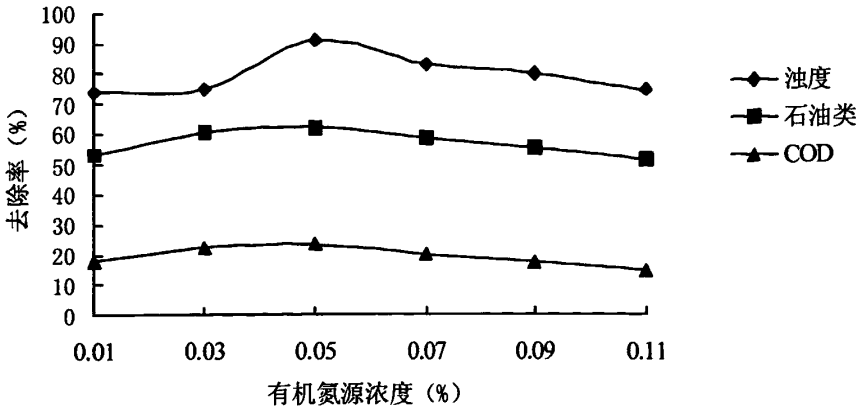


图 4-5 有机氮源浓度对絮凝效果影响图

Fig4-5 Effect of organic nitrogen source concentration on flocculation activity

由图4-5可以看出,不同有机氮源浓度对絮凝剂的产生有不同的影响。实验结果证实有机氮源浓度为0.05%时效果较好,当有机氮源浓度大于0.05%时,絮凝剂的絮凝活性下降。

4.3.2.5 不同离子的影响

不同离子对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 4-6 所示。实验所用含油废水初始指标为:浊度为 85FTU,石油类为 $138.28\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, COD 为 $843.25\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

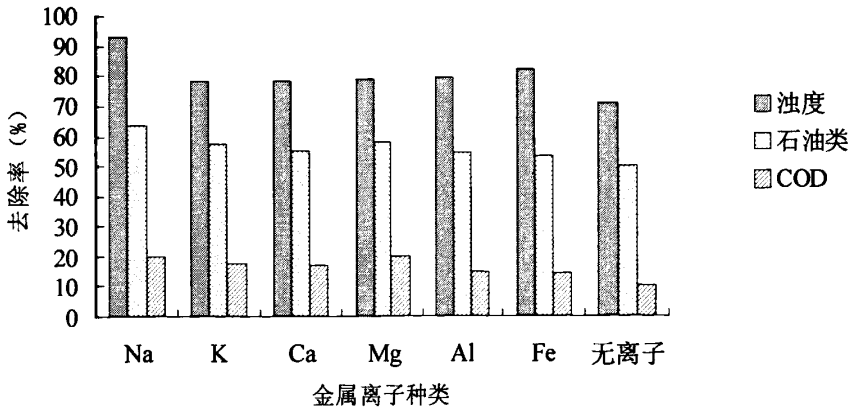


图 4-6 不同金属离子对絮凝效果影响图

Fig4-6 Effect of the metallic ion on flocculating activity

由图4-6可看出,与不添加任何金属离子比较,所有金属离子对该复合菌株产生絮凝剂有一些促进作用,尤其是 Na^+ , Fe^{3+} 。我们选择促进作用较强的 Na^+ 作为培养基的组分,浓度为 $0.1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

4.3.2.6 发酵条件优化的正交实验

选择影响较大的单因子做正交实验，做三因素三水平的正交实验。正交实验结果如表 4-5。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 86FTU，石油类为 $141.28\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $840.17\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 4-5 正交实验结果表

Table4-5 Effect of orthogonal experiment

| | 碳源含量 (%) | 有机氮源含量 (%) | pH | 石油类去除率 (%) |
|----|-------------|---------------|--------|---------------|
| 1 | 1.5 | 0.05 | 9 | 67.79 |
| 2 | 1.5 | 0.07 | 8 | 67.14 |
| 3 | 1.5 | 0.09 | 7 | 67.86 |
| 4 | 2.0 | 0.05 | 8 | 67.79 |
| 5 | 2.0 | 0.07 | 7 | 68.00 |
| 6 | 2.0 | 0.09 | 9 | 67.07 |
| 7 | 2.5 | 0.05 | 7 | 67.86 |
| 8 | 2.5 | 0.07 | 9 | 66.43 |
| 9 | 2.5 | 0.09 | 8 | 67.51 |
| K1 | 67.597 | 67.813 | 67.907 | |
| K2 | 67.620 | 67.190 | 67.480 | |
| K3 | 67.267 | 67.480 | 67.097 | |
| 极差 | 0.353 | 0.623 | 0.810 | |

由表4-5可看出三因素的最佳组合为：有机氮含量0.05%，碳源含量2%，pH值7；pH值对微生物絮凝剂的絮凝效率影响最大，有机氮源浓度其次，碳源浓度最小。

4.4 本章小结

(1) 菌株 SHD-1 与菌株 5 复合后所产絮凝剂的絮凝效果最好，可作为本研究所用复合型微生物絮凝剂。

(2) 从复合型微生物絮凝剂产生菌发酵条件优化的单因子实验中可以得出：发酵时间为 48 小时，pH 为原始 pH，碳源浓度为 2%，有机氮源浓度为 0.05%， $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

的 Na^+ 为最佳的发酵条件。

(3) 从复合型微生物絮凝剂产生菌发酵条件优化的正交实验中可以得出：有机氮源浓度 0.05%，碳源浓度 2%，pH 值 7 为最佳的发酵条件；pH 值对微生物絮凝剂的絮凝效率影响最大，有机氮源浓度其次，碳源浓度最小。此结果同单因子实验中所选择的最优发酵条件一致。

第五章 复合型微生物絮凝剂絮凝条件的研究

5.1 实验仪器及药品

5.1.1 仪器设备

本实验中所用的仪器同表 2-1。

5.1.2 实验药品

本实验中所用的化学试剂及规格同表 2-2。

5.1.3 菌株来源

絮凝剂产生菌 SHD-1 保藏于中国石油大学（华东）化学化工学院环境工程系，菌株 5 为中国石油大学（华东）校内抽油机下含油土壤内所筛。

5.1.4 工业废水来源

东营市某炼油厂污水处理车间隔油池后未加絮凝剂处理的污水。

5.2 实验方法

5.2.1 复合型微生物絮凝剂絮凝条件的优化

5.2.1.1 复合型微生物絮凝剂投加量的影响

在 500ml 烧杯中加入 300ml 废水，再分别向废水中加入 0.9ml 聚铝溶液，然后分别向废水中加入 20、40、60、80、100、120 μ l 复合型微生物絮凝剂，用电子变速搅拌机快速搅拌（200 $r\cdot min^{-1}$ ）2min，慢速搅拌（20 $r\cdot min^{-1}$ ）6min，静置 10min。之后从烧杯同一高度取 50ml 上清液，测定絮凝剂对含油废水的处理效果。

5.2.1.2 pH 值的影响

在 500ml 烧杯中加入 300ml 废水，再分别向废水中加入 0.9ml 聚铝溶液，用 HCl，NaOH 溶液调节废水的 pH 为 5，6，7，8，9，10，11，12，13，再分别向废水中加入 60 μ l 复合型微生物絮凝剂，用电子变速搅拌机快速搅拌（200 $r\cdot min^{-1}$ ）2min，慢速搅拌（20 $r\cdot min^{-1}$ ）6min，静置 10min。之后从烧杯同一高度取 50ml 上清液，测定絮凝剂对含油废水的处理效果，从而得出最适合的 pH。

5.2.1.3 慢搅转速的影响

在 500ml 烧杯中加入 300ml 废水，再分别向废水中加入 0.9ml 聚铝溶液，再分别向废水中加入 60 μ l 复合型微生物絮凝剂，快搅（200 r \cdot min⁻¹）2min，调节慢搅转速分别为 10、20、30、40、50、60 r \cdot min⁻¹ 搅拌 6min，静置 10min 后取 50ml 上清液，测定絮凝剂对含油废水的处理效果，得出最优的慢搅速度。

5.2.1.4 慢搅时间的影响

操作步骤如 5.2.1.3，将慢搅速度调节至 20 r \cdot min⁻¹，时间分别为 4、6、8、10、12、14min，测定絮凝效果，得出最优的慢搅时间。

5.2.1.5 废水温度的影响

在 500ml 烧杯中加入 300ml 废水，再分别向废水中加入 0.9ml 聚铝溶液，调节温度 25、30、35、40、45、50、55 $^{\circ}$ C，再分别向废水中加入 60 μ l 复合型微生物絮凝剂，搅拌静置后取上清液，测定絮凝效果，从而得出最适合的废水温度。

5.2.1.6 不同离子的影响

在 500ml 烧杯中加入 300ml 废水，再分别向废水中加入 0.9ml 聚铝溶液，分别加入 1mol \cdot L⁻¹ K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Zn²⁺、Fe³⁺ 金属阳离子溶液，加入复合型微生物絮凝剂 60 μ l，测定絮凝效果，得出不同金属离子投加的最适量，得出最优效果的金属离子。

5.2.1.7 絮凝条件优化的正交实验

选择影响较大的三个因素：温度，pH，絮凝剂投加量，进行正交实验。通过前面的实验在每个因素中选取三个影响较大的水平，设计正交实验 L₃³ 列于表 5-1 中。

表 5-1 正交实验表

Table5-1 the table of orthogonal experiment

| 实验 | 温度（℃） | pH | 投加量（μl） |
|----|-------|----|---------|
| 1 | 40 | 9 | 80 |
| 2 | 40 | 10 | 40 |
| 3 | 40 | 11 | 60 |
| 4 | 20 | 9 | 40 |
| 5 | 20 | 10 | 60 |
| 6 | 20 | 11 | 80 |
| 7 | 30 | 9 | 80 |
| 8 | 30 | 10 | 40 |
| 9 | 30 | 11 | 60 |

5.2.2 复合型微生物絮凝剂污泥减量化的研究

污泥减量化是使整个污水处理系统在保证污水处理效果的前提下，采取适当的物理、化学、生物等措施使处理相同量的污水所产生的污泥量达到最少。

$$\text{减量率} = \frac{A - B}{A} \times 100\% \quad (5-1)$$

式中，A=原泥静置后得到的体积；

B=处理后活性污泥静置后体积。

(1) 测定微生物絮凝剂投加量对污泥减量的影响

在 250ml 烧杯中加入活性污泥 100ml，加入不同体积的复合型微生物絮凝剂，用电子变速搅拌机快速搅拌（200 r·min⁻¹）2min，慢速搅拌（20 r·min⁻¹）6min，静置 30min，絮凝后迅速倒入 100ml 量筒中，测量沉降污泥的体积，确定最小污泥量对应的最优的条件。

(2) 原活性污泥 pH 对污泥减量的影响

在 250ml 烧杯中加入 100ml 活性污泥，用 HCl 和 NaOH 调节不同的 pH7、8、9、10、11，投加 6 ml 的复合型微生物絮凝剂，絮凝完后迅速倒入 100ml 量筒中，沉降 30min，测定沉降体积，得出沉降率，得出最优的 pH。

(3) 测定添加助剂对污泥减量的影响

在 250ml 烧杯中加入 100ml 活性污泥，加入 6ml 的复合型微生物絮凝剂，选择助剂 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 金属阳离子浓度为 $1mol \cdot L^{-1}$ 溶液不同的量，絮凝后静置 30min 测定沉降污泥的体积，得出不同助剂投加的最适量，得出最优效果的助剂。

5.3 结果与讨论

5.3.1 复合型微生物絮凝剂絮凝条件的优化

5.3.1.1 复合型微生物絮凝剂投加量的影响

絮凝剂投加量对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 5-1 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 70FTU，石油类为 $118.26mg \cdot L^{-1}$ ，COD 为 $742.18 mg \cdot L^{-1}$ 。

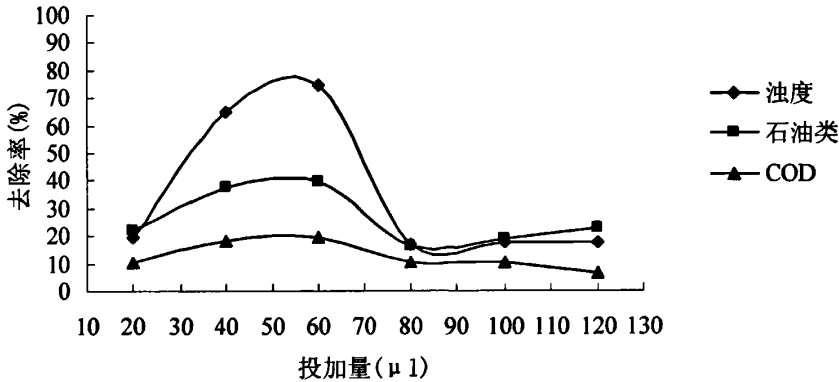


图 5-1 微生物絮凝剂投加量对絮凝效果影响图

Fig5-1 Effect of the dosage of compound microbial flocculant on the flocculating activity

实验结果表明，微生物絮凝剂具有较好的絮凝能力，300ml 废水中仅用 60 μl 絮凝剂，就可以达到较好的效果，即投加量为 $0.2ml \cdot L^{-1}$ ，对废水石油类的去除率就可以达到 39.56%。另外也表明，絮凝剂加入量存在最佳值，加入过多的絮凝剂同样也不利于絮凝过程。由絮凝原理可知，如果投入高分子絮凝剂过量，胶体颗粒将被过多被吸附的聚合物所包围，反而会失去同其他微粒架桥结合的可能性，处于稳定状态。因此，投加絮凝剂也有优选最佳量的问题。

5.3.1.2 pH 值的影响

pH 值对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 5-2 所示。实验所用含油废水

初始指标为：浊度为 72FTU，石油类为 126.31mg·L⁻¹，COD 为 751.28mg·L⁻¹。

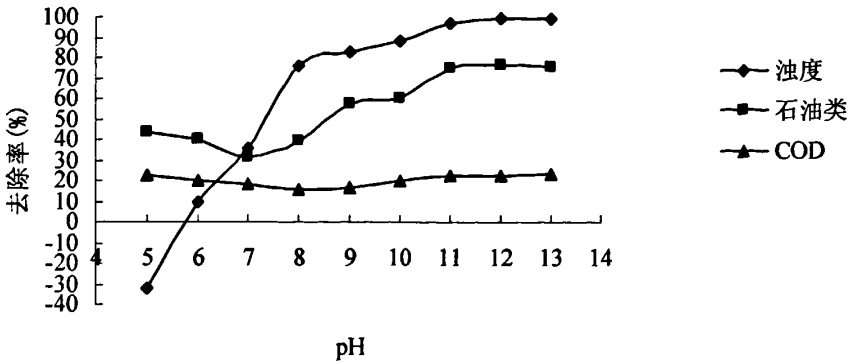


图 5-2 pH 对絮凝效果影响图

Fig5-2 Effect of pH of the wastewater on the flocculating activity

从炼厂取的废水的初始 pH 值为 7.5~8.5 之间,本身去除率比较理想.此图中 pH<5 时浊度去除率小于 0,原因可能是对于 PAC (聚铝) 在 pH 值 3.5~5,盐基度 60%~85%,易溶于水,水解成氢氧化铝凝胶,而氢氧化铝凝胶是白色粘稠的混浊悬浮液,从而使得浊度增大.也有可能是在酸性条件下废水中物质易于氧化生成悬浮物,且絮体细小不易沉降从而使得浊度增大。

由图 5-2 还可以看出,原水 pH 值对絮凝性能有较大的影响,当 pH 值在酸性条件下时,絮凝效果很差,当 pH 值为 7.0~13.0 时絮凝率不断增大至最高点后趋于稳定.絮凝剂在不同 pH 值下对同种絮凝物质表现出不同的絮凝性能,是由于酸碱度的变化改变了生物聚合体的带电状态和中和电荷的能力以及被絮凝物质的颗粒表面性质。

虽然 pH 值越高,絮凝效果越好,但是 pH 值最好选择在 7.5~8.5,因为 pH 值过低处理效果很不理想,如果过高,会导致后续生化处理过程中的菌类死亡,不利于后续操作.经过权衡在 8.5 比较适宜。

5.3.1.3 慢搅转速的影响

慢搅转速对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 5-3 所示.实验所用含油废水初始指标为：浊度为 68FTU，石油类为 121.58mg·L⁻¹，COD 为 748.37mg·L⁻¹。

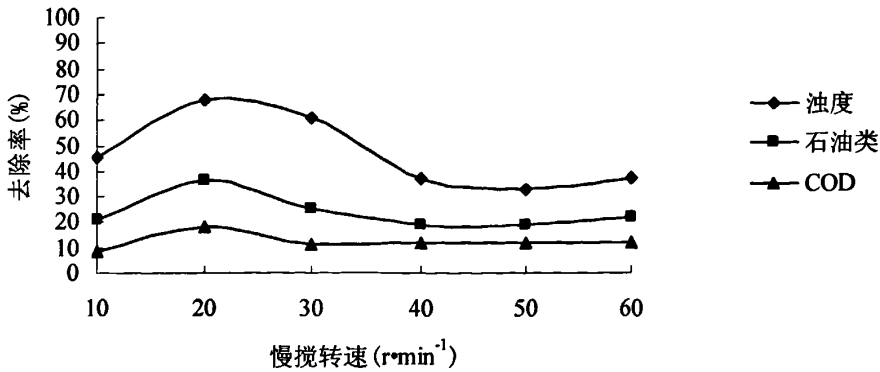


图 5-3 慢搅转速对絮凝效果影响图

Fig5-3 Effect of the slowly mixing speed on the flocculating activity

从图 5-3 中易于看出最优的慢搅速度在 $20 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 左右, 转速过慢和过快均效果不优。原因可能是: 转速过慢, 不能将絮凝物搅成大矾花, 故不易沉降下来, 去除率自然较低; 转速过快, 形成的矾花被打碎, 同样不易沉降下来, 去除率低。

5.3.1.4 慢搅时间的影响

慢搅时间对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 5-4 所示。实验所用含油废水初始指标为: 浊度为 65 FTU , 石油类为 $129.31 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, COD 为 $754.39 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

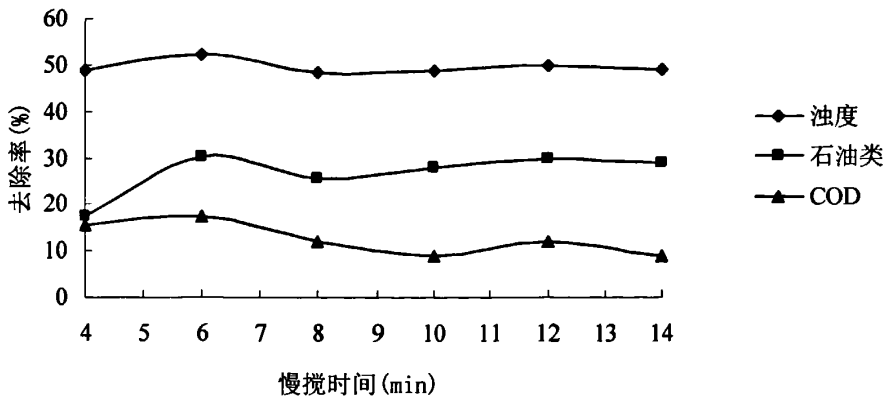


图 5-4 慢搅时间对絮凝效果影响图

Fig5-4 Effect of the slowly mixing time on the flocculating activity

从图 5-4 中可以看出慢搅时间为 6min 最合适, 并且慢搅时间对去除率的影响不是很大, 尤其是在大于 7min 时。时间在 4min 中时去除率很低, 原因可能是搅拌时间太短, 难以形成大矾花, 以至于仍有很多悬浮物导致去除率偏高。在大于 6min 去除率也稍有降低, 可能是因为搅拌时间过长会把矾花打碎, 由于慢搅速度很慢, 打碎的矾花比较少,

所以去除率下降不大。考虑到去除率和时间节约的问题，选择慢搅时间为 6min 最优。

5.3.1.5 废水温度的影响

废水温度对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 5-5 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 68FTU，石油类为 $120.04\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $738.76\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

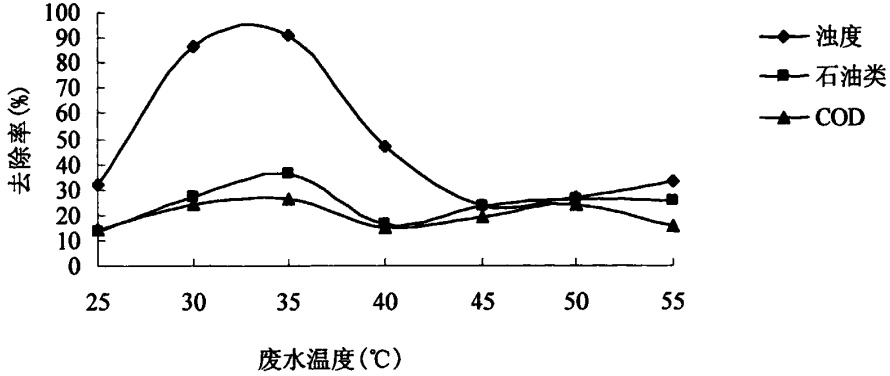


图 5-5 废水温度对絮凝效果影响图

Fig5-5 Effect of the temperature on the flocculating activity

从图 5-5 中可以看出温度在 30~35°C 时絮凝效果最好。废水温度存在一个最佳值，原因可能是：温度太低，絮凝剂水解反应变慢、水解时间增加，影响处理效果；温度过高，絮凝剂成分主要是多糖、DNA 等，高温可能导致变性，处理效果受到影响。

5.3.1.6 不同离子的影响

不同离子对复合型微生物絮凝剂的絮凝效果的影响如图 5-6 所示。实验所用含油废水初始指标为：浊度为 66FTU，石油类为 $137.46\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $772.18\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

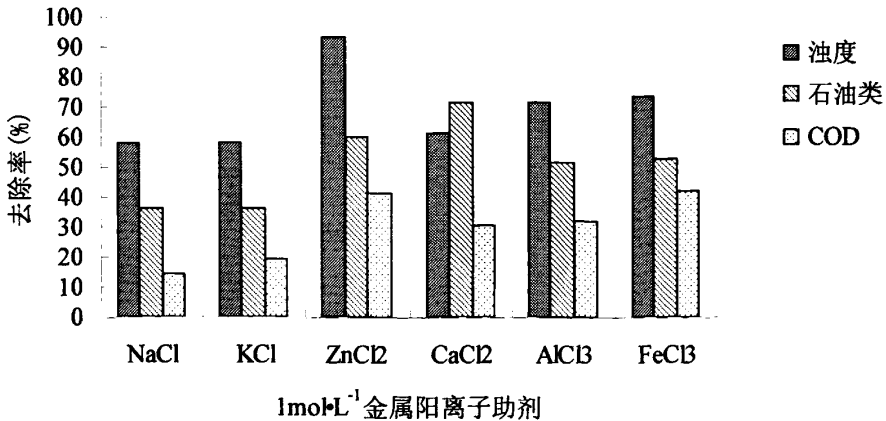


图 5-6 不同金属阳离子对絮凝效果影响图

Fig5-6 Effect of the metallic ion on the flocculating activity

一般金属离子价态越高助凝效果就越好。由图 5-6, Fe^{3+} 的助凝作用很好, 但是 Fe^{3+} 在絮凝后在上清液中出现 Fe^{3+} 离子颜色, 影响了它的效果。对于 Al^{3+} 处理效果也很好, 但是它有一定的毒性, 不利于使用。 Na^+ 、 K^+ 的去除率均较低。 Zn^{2+} 的价格很高, 所以选择 Ca^{2+} 作絮凝剂的金属离子助剂^[68, 69]。

5.3.1.7 絮凝条件优化的正交实验

选择影响较大的单因子做正交实验, 做三因素三水平的正交实验。结果如表 5-2。实验所用含油废水初始指标为: 浊度为 60FTU, 石油类为 $132.36\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, COD 为 $738.43\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 5-2 正交实验结果表

Table 5-2 Effect of orthogonal experiment

| | 温度 ($^{\circ}\text{C}$) | pH | 投加量 (μl) | 石油类去除率 (%) |
|----|---------------------------|---------|-----------------------|------------|
| 1 | 40 | 9 | 80 | 35. 50 |
| 2 | 40 | 10 | 40 | 42. 32 |
| 3 | 40 | 11 | 60 | 67. 24 |
| 4 | 20 | 9 | 40 | 28. 33 |
| 5 | 20 | 10 | 60 | 44. 37 |
| 6 | 20 | 11 | 80 | 62. 80 |
| 7 | 30 | 9 | 80 | 41. 30 |
| 8 | 30 | 10 | 40 | 37. 20 |
| 9 | 30 | 11 | 60 | 54. 61 |
| K1 | 48. 353 | 35. 043 | 45. 167 | |
| K2 | 45. 167 | 41. 297 | 41. 753 | |
| K3 | 44. 370 | 61. 550 | 50. 970 | |
| 极差 | 3. 983 | 26. 507 | 9. 217 | |

通过表 5-2 可以看出, 最佳组合为: 温度 40°C , pH 值 11, 投加量 $60\mu\text{l}$; pH 值对微生物絮凝剂的絮凝效率影响最大, 絮凝剂投加量其次, 温度最小。

5.3.2 复合型微生物絮凝剂污泥减量化的研究

活性污泥的收集和处理是水处理工程中的一大难题, 活性污泥处理系统的效率常因

污泥的沉降性能变差而降低，在活性污泥中加入微生物絮凝剂时，可使污泥容积指数能很快下降，防止污泥解絮，消除污泥膨胀状态，从而恢复活性污泥沉降能力，提高整个处理系统的效率^[70]。

5.3.2.1 复合型微生物絮凝剂投加量对污泥减量的影响

复合型微生物絮凝剂投加量对污泥减量的影响如图 5-8 所示。

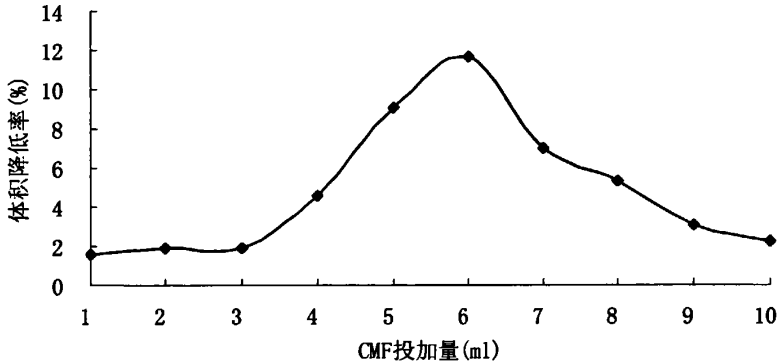


图 5-8 复合型微生物絮凝剂投加量对污泥减量的影响

Fig5-8 Effect of the dosage of the compound microbial flocculant on the sludge reduction

从图 5-8 中可见最佳的投加量是 6ml，它的体积减小了 12.12%。

微生物絮凝剂对污泥减量产生作用的机理与絮凝机理一样，也是起架桥作用，所以投加量存在最佳值，投加量少时不足以是足够的污泥沉降，投加量过多容易使颗粒被吸附的聚合物所包围，反而会失去同其他微粒架桥结合的可能性，处于稳定状态。

5.3.2.2 pH 对污泥减量的影响

pH 对污泥减量的影响如图 5-9 所示。

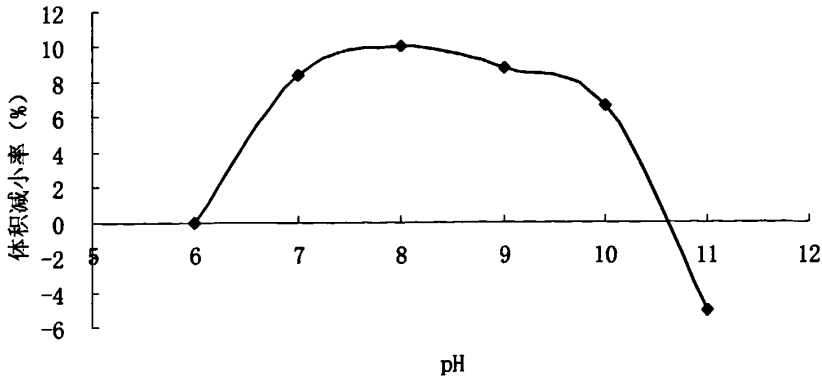


图 5-9 pH 与污泥减量的关系

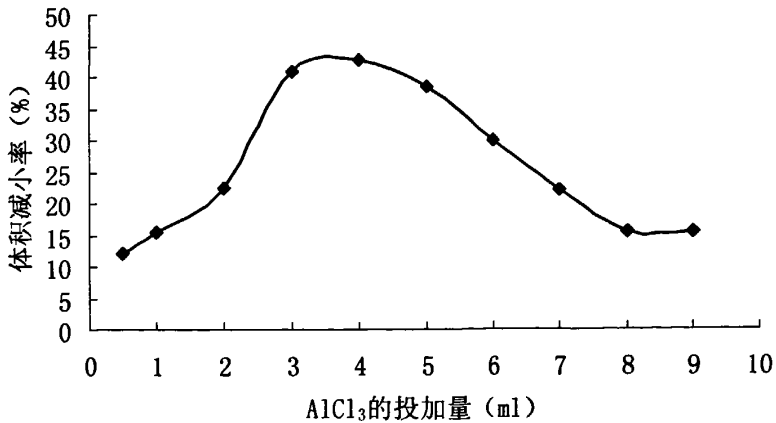
Fig5-9 Effect of the pH on the sludge reduction

从图 5-9 中可以看出最佳 pH 值为 8，体积降低率达到了 10.17%。

pH 值过低或过高都会导致活性污泥成为死泥，所以 pH 有一个最佳的值，在此值微生物代谢协调，不会产生过多的代谢物，也不会死亡，从而达到比较合适的污泥量。

5.3.2.3 AlCl_3 的投加量对污泥减量的影响

AlCl_3 的投加量对污泥减量的影响如图 5-10 所示。

图 5-10 AlCl_3 的投加量对污泥减量的影响Fig5-10 Effect of the dosage of the AlCl_3 on the sludge reduction

从图 5-10 中可以看出最佳的投加量为 4ml。

AlCl_3 的浓度为 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，作用机理是能有效地降低污泥的表面电荷，压缩双电层，从而加强复合菌产絮凝剂与胶粒间的吸附力，促进网状架桥的形成，使污泥沉降达到减

量的作用。如果过少，并不能有效地降低表面电荷，如果过量会使的污泥的表面电荷反性，达不到压缩双电层的作用。

5.3.2.4 ZnCl₂ 的投加量对污泥减量的影响

ZnCl₂ 的投加量对污泥减量的影响如图 5-11 所示。

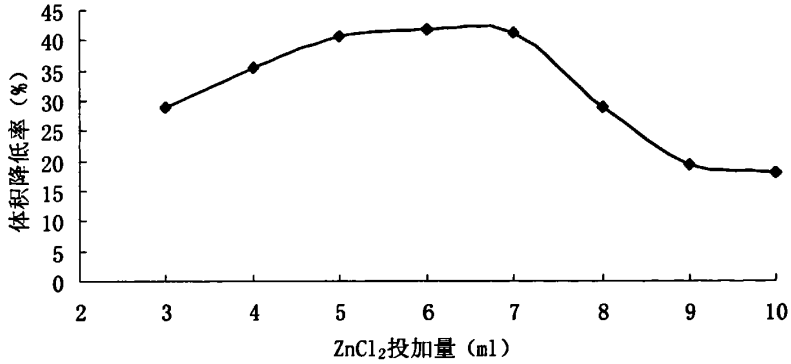


图 5-11 ZnCl₂ 的投加量对污泥减量的影响

Fig5-11 Effect of the dosage of the ZnCl₂ on the sludge reduction

从图 5-11 中可以看出最佳投加量为 6ml，体积降低率达到了 42.24% ZnCl₂ 的作用机理与 AlCl₃ 一致。

5.3.2.5 CaCl₂ 的投加量对污泥减量的影响

CaCl₂ 的投加量对污泥减量的影响如图 5-12 所示。

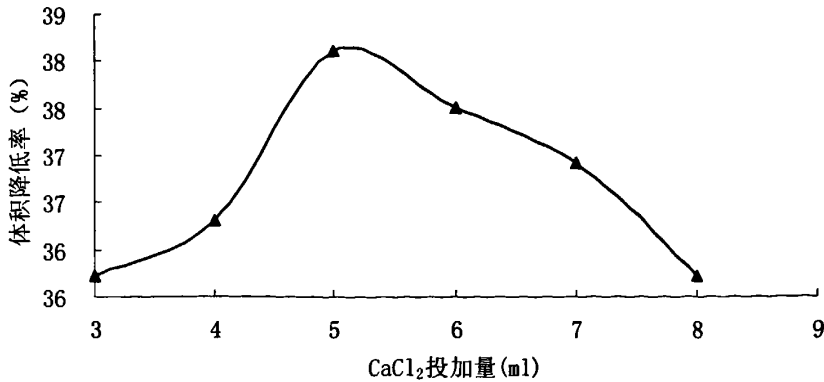


图 5-12 CaCl₂ 的投加量对污泥减量的影响

Fig5-12 Effect of the dosage of the CaCl₂ on the sludge reduction

从图 5-12 中可以看出最佳投加量为 5ml，体积降低率达到了 38.13%。

CaCl₂的作用机理与 AlCl₃ 一致。

5.4 本章小结

(1) 复合型微生物絮凝剂对炼油厂的含油废水有较好的的絮凝效果。从絮凝条件优化单因子实验中可以得出，优化后的絮凝条件为：絮凝剂投加量为 60μl；pH 为 9；慢搅转速为 20 r·min⁻¹；慢搅时间为 6min；温度 30℃；CaCl₂ 是最好的阳离子助剂，最佳投加量为 3ml。

(2) 从絮凝条件优化正交实验中可以得出，最佳组合为：温度 40℃，pH 值 11，投加量 60μl；pH 值对微生物絮凝剂的絮凝效率影响最大，絮凝剂投加量其次，温度最小。

(3) 从筛出的复合型微生物絮凝剂进行的污泥减量实验中可得出：

- ①絮凝剂的最佳投加量是 6ml，它的体积减小了 12.12%。
- ②最佳 pH 值为 8，体积降低率达到了 10.17%。
- ③AlCl₃ 最佳的投加量为 4ml，体积减小了 42.86%。
- ④ZnCl₂ 最佳投加量为 6ml，体积降低率达到了 42.24%。
- ⑤CaCl₂ 最佳投加量为 5ml，体积降低率达到了 38.13%。

复合型微生物絮凝剂对污泥减量有较好的的效果。

第六章 复合型微生物絮凝剂技术可行性分析

6.1 实验仪器及药品

6.1.1 仪器设备

本实验中所用的仪器同表 2-1。

6.1.2 实验药品

本实验中所用的化学试剂及规格同表 2-2。

6.1.3 菌株来源

絮凝剂产生菌 SHD-1 保藏于中国石油大学（华东）化学化工学院环境工程系，菌株 5 为中国石油大学（华东）校内抽油机下含油土壤内所筛。

6.1.4 工业废水来源

利华益集团炼油厂、东营市胜华炼油厂、齐鲁石化炼油厂、吉林石化炼油厂、东营市稠油厂污水处理车间隔油池后未加絮凝剂处理的污水。

6.2 实验方法

针对不同的炼油厂产生的废水，考察复合型微生物絮凝剂对含油废水的浊度、石油类和 COD 的去除率来检测微生物絮凝剂的处理效果；同时用不同的絮凝剂来处理同一种含油废水，考察浊度、石油类和 COD 去除率来判断絮凝剂的处理效果。从而对复合型微生物絮凝剂的技术可行性进行了综合的考察和评估。

在处理浊度较低的炼化废水时，要先加入无机絮凝剂，有机的絮凝剂要与无机的絮凝剂复配使用。在实验过程中加入的无机絮凝剂是聚合氯化铝（东营市胜华炼油厂提供）。

6.3 结果与讨论

6.3.1 利华益集团炼油厂废水处理结果

利华益集团炼油厂隔油后废水的各个指标的初始值是这五种废水中最低的，各个指标的去除率也是最低的。其初始值为 $\text{COD}409.92\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，石油类的含量 $93.36\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，浊度为 39.94FTU 。复合型微生物絮凝剂的处理效果如表 6-1。

表 6-1 废水絮凝试验结果

Table6-1 Effect of flocculation activity

| 投加量 | 浊度 | 石油类 | COD |
|---|---------|---------|---------|
| | 去除率 (%) | 去除率 (%) | 去除率 (%) |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+16.7mg·L ⁻¹ CMF | 80.05 | 31.03 | 19.15 |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+33.3mg·L ⁻¹ CMF | 80.42 | 29.52 | 16.07 |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+50mg·L ⁻¹ CMF | 81.53 | 36.31 | 13.17 |
| 40mg·L ⁻¹ PAC+16.7mg·L ⁻¹ CMF | 84.35 | 35.71 | 17.38 |
| 50mg·L ⁻¹ PAC+16.7mg·L ⁻¹ CMF | 86.34 | 40.24 | 15.95 |
| 60mg·L ⁻¹ PAC+16.7mg·L ⁻¹ CMF | 83.95 | 38.94 | 19.02 |

附注 1: 30mg·L⁻¹PAC+16.7mg·L⁻¹CMF 是代表废水中加入 30mg·L⁻¹的聚合氯化铝无机絮凝剂和 16.7mg·L⁻¹复合型微生物絮凝剂。

复合型微生物絮凝剂、聚合氯化铝和聚丙烯酰胺的处理效果比较如表 6-2。

表 6-2 三种絮凝剂絮凝废水效果比较

Table6-2 Flocculation activity's comparison among three flocculant

| 絮凝剂 | 浊度去除率 (%) | 石油类去除率 (%) | COD 去除率 (%) |
|--|-----------|------------|-------------|
| 复合型微生物絮凝剂 (30mg·L ⁻¹ PAC+50mg·L ⁻¹ CMF) | 88.45 | 37.40 | 14.98 |
| 聚合氯化铝 (100mg·L ⁻¹) | 89.29 | 37.90 | 15.57 |
| 聚丙烯酰胺 (30mg·L ⁻¹ PAC+5mg·L ⁻¹ PAM) | 87.52 | 36.32 | 13.62 |

由表 6-1 和表 6-2 可以看出: 复合型微生物絮凝剂对利华益集团化工厂隔油后废水有一定的絮凝处理能力, 浊度的去除率均在 80%-90%, 石油类的去除率在 30%-40%, COD 的去除率一般在 10%-20%。从复合型微生物絮凝剂、聚合氯化铝和聚丙烯酰胺的处理效果比较来看, 聚铝的处理效果最好, 三个指标的去除率最高, 微生物絮凝剂的处理效果稍低一些, 但差别都不大。

6.3.2 东营市胜华炼油厂废水处理结果

胜华炼油厂隔油后废水的初始指标如下: COD842.26mg·L⁻¹, 石油类 148.31mg·L⁻¹, 浊度为 71FTU。复合型微生物絮凝剂的处理效果如表 6-3。

表 6-3 废水絮凝试验结果

Table6-3 Effect of flocculation activity

| 投加量 | 浊度 | 石油类 | COD |
|---|---------|---------|---------|
| | 去除率 (%) | 去除率 (%) | 去除率 (%) |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+10mg·L ⁻¹ CMF | 90.24 | 55.48 | 24.13 |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+16.7mg·L ⁻¹ CMF | 91.00 | 52.91 | 20.48 |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+33.3mg·L ⁻¹ CMF | 93.61 | 52.63 | 19.59 |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+66.6mg·L ⁻¹ CMF | 92.03 | 50.23 | 18.56 |

由表 6-3 可以看出复合型微生物絮凝剂对胜华炼油厂的废水的絮凝处理要优于利华益化工厂的废水。对于胜华炼厂废水处理的浊度的去除率一般在 90%-95%，石油类的去除率一般在 50%-60%，COD 的去除率一般在 15%-25%。

在处理胜华炼厂废水的过程中发现，如果浊度越高，石油类和 COD 的浓度就越高，浊度、石油类和 COD 的去除率随之升高。

复合型微生物絮凝剂、聚合氯化铝和聚丙烯酰胺的处理东营市胜华炼油厂废水效果比较如表 6-4。

表 6-4 三种絮凝剂絮凝废水效果比较

Table6-4 Flocculation activity's comparison among three flocculant

| 絮凝剂 | 浊度去除率 (%) | 石油类去除率 (%) | COD 去除率 (%) |
|--|-----------|------------|-------------|
| 复合型微生物絮凝剂 (30mg·L ⁻¹ PAC+10mg·L ⁻¹ CMF) | 92.38 | 59.69 | 23.31 |
| 聚合氯化铝 (100mg·L ⁻¹) | 91.29 | 59.73 | 24.82 |
| 聚丙烯酰胺 (30mg·L ⁻¹ PAC+5mg·L ⁻¹ PAM) | 89.41 | 60.13 | 23.54 |

由表 6-4 可以看出三种方式投加的絮凝剂的处理效果是相当的，浊度、石油类和 COD 的去除率差别不大。

6.3.3 齐鲁石化炼油厂废水处理结果

齐鲁石化炼油厂隔油后的初始指标如下：COD 为 572.09mg·L⁻¹，石油类为 158.48mg·L⁻¹和浊度为 82FTU。微生物絮凝剂的处理效果如表 6-5：

表 6-5 废水絮凝试验结果

Table6-5 Effect of flocculation activity

| 投加量 | 浊度 | 石油类 | COD |
|--|--------|--------|--------|
| | 去除率(%) | 去除率(%) | 去除率(%) |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+16.7mg·L ⁻¹ CMF | 93.25 | 88.12 | 57.02 |
| 30mg·L ⁻¹ PAC+33.3mg·L ⁻¹ CMF | 94.21 | 90.04 | 54.26 |
| 40mg·L ⁻¹ PAC+16.7mg·L ⁻¹ CMF | 92.63 | 87.21 | 56.31 |
| 50mg·L ⁻¹ PAC+16.7 mg·L ⁻¹ CMF | 92.38 | 87.42 | 58.18 |
| 60mg·L ⁻¹ PAC+16.7mg·L ⁻¹ CMF | 92.52 | 88.07 | 57.03 |

由表 6-5 可以看出复合型微生物絮凝剂对处理齐鲁石化废水的效果比较好, 浊度的去除率均在 90% 以上, 石油类的去除率也都在 85% 以上, COD 的去除率均在 50% 以上。其处理效果要优于以上两种废水。

复合型微生物絮凝剂、聚合氯化铝和聚丙烯酰胺的处理齐鲁石化废水效果比较如表 6-6:

表 6-6 三种絮凝剂絮凝齐鲁石化废水试验结果

Table6-6 Flocculation activity's comparison among three flocculant

| 絮凝剂 | 浊度去除率 (%) | 石油类去除率 (%) | COD 去除率 (%) |
|--|--------------|------------|-------------|
| 复合型微生物絮凝剂 (30mg·L ⁻¹ PAC+33.3mg·L ⁻¹ CMF) | 87.82 | 88.72 | 56.32 |
| 聚合氯化铝 (100mg·L ⁻¹) | 86.64 | 87.65 | 56.82 |
| 聚丙烯酰胺 (30mg·L ⁻¹ PAC+5mg·L ⁻¹ PAM) | 86.52 | 88.13 | 54.19 |

三种絮凝剂在絮凝齐鲁石化废水时, 处理后的差别也很小, 各类指标的去除率均很接近。

6.3.4 吉林石化炼油厂废水处理结果

吉林石化炼油厂隔油后的初始指标如下: COD 为 450.42mg·L⁻¹, 石油类为 26.36mg·L⁻¹ 和浊度为 64FTU。微生物絮凝剂的处理效果如表 6-7:

表 6-7 废水絮凝试验结果

Table6-7 Effect of flocculation activity

| 投加量 | 浊度去除率 (%) | 石油类去除率 (%) | COD 去除率 (%) |
|--|-----------|------------|-------------|
| 5mg·L ⁻¹ PAC+66.7mg·L ⁻¹ CMF | 66.17 | 62.13 | 36.12 |
| 10mg·L ⁻¹ PAC+66.7 mg·L ⁻¹ CMF | 71.58 | 54.69 | 44.37 |
| 15mg·L ⁻¹ PAC+66.7 mg·L ⁻¹ CMF | 69.03 | 64.21 | 44.85 |
| 20mg·L ⁻¹ PAC+66.7 mg·L ⁻¹ CMF | 66.21 | 58.83 | 39.62 |
| 25mg·L ⁻¹ PAC+66.7 mg·L ⁻¹ CMF | 82.18 | 71.25 | 40.32 |

复合型微生物絮凝剂、聚合氯化铝和聚丙烯酰胺的处理吉林石化废水效果比较如表 6-8:

表 6-8 三种絮凝剂絮凝试验结果

Table6-8 Flocculation activity's comparison among three flocculant

| 絮凝剂 | 浊度去除率 (%) | 石油类去除率 (%) | COD 去除率 (%) |
|--|-----------|------------|-------------|
| 复合型微生物絮凝剂 (15mg·L ⁻¹ PAC+66.7mg·L ⁻¹ CMF) | 86.71 | 49.35 | 32.06 |
| 聚合氯化铝 (100mg·L ⁻¹) | 78.20 | 52.17 | 34.33 |
| 聚丙烯酰胺 (15mg·L ⁻¹ PAC+5mg·L ⁻¹ PAM) | 81.63 | 45.28 | 30.23 |

从表 6-8 中可以看出，絮凝吉林石化废水的三种药剂中，聚铝去除石油类、COD 的效果是这三种药剂中最好的，但就聚丙烯酰胺和复合型微生物絮凝剂两种有机絮凝剂比较，复合型微生物絮凝剂的絮凝效果要好于聚丙烯酰胺，它们去除石油类的去除率分别为 49.35%和 45.28%， COD 去除率分别是 32.06%和 30.23%。

6.3.5 东营市稠油厂废水处理结果

东营市稠油厂隔油后的初始指标如下：COD 为 3306.22mg·L⁻¹，石油类为 1574.24mg·L⁻¹和悬浮物为 1705 mg·L⁻¹。因为稠油厂废水中悬浮物太多，无法用浊度表示，因此在此部分实验中考察悬浮物的去除率。微生物絮凝剂的处理效果如表 6-9:

表 6-9 废水絮凝试验结果

Table6-9 Effect of flocculation activity

| CMF 投加量 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) | 悬浮物去除率 (%) | 石油类去除率 (%) | COD 去除率 (%) |
|---|------------|------------|-------------|
| 23.3 | 97.27 | 96.72 | 92.18 |
| 33.3 | 96.83 | 96.35 | 92.93 |
| 50 | 97.18 | 96.02 | 91.85 |
| 66.6 | 97.84 | 96.36 | 92.61 |
| 100 | 98.69 | 96.92 | 91.95 |

复合型微生物絮凝剂、聚合氯化铝和聚丙烯酰胺的处理东营市稠油厂废水效果比较如表 6-10:

表 6-10 三种絮凝剂絮凝废水试验结果

Table6-10 Flocculation activity's comparison among three flocculant

| 絮凝剂 | 悬浮物去除率 (%) | 石油类去除率 (%) | COD 去除率 (%) |
|--|------------|------------|-------------|
| 复合型微生物絮凝剂 ($23.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) | 98.82 | 97.01 | 93.09 |
| 聚合氯化铝 ($50\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) | 97.62 | 94.45 | 90.11 |
| 聚丙烯酰胺 ($5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) | 99.28 | 97.19 | 93.82 |

由表 6-9 和表 6-10 可以看出: 微生物絮凝剂絮凝东营市稠油厂废水的效果是最好的, 石油类和 COD 的去除率均达到了 90%以上, 浊度的去除率接近了 100%。东营市稠油厂隔油后废水浊度、石油类和 COD 的含量均很高, 在絮凝浊度高的废水时直接加有机絮凝剂(微生物絮凝剂或聚丙烯酰胺)其处理的效果要优于直接加有机絮凝剂。从表 6-10 中可以看出聚铝絮凝后的浊度、石油类和 COD 去除率分别为 97.62%, 94.45% 和 90.11%, 而微生物絮凝剂的絮凝效果要优于聚铝的去除效果, 其絮凝后浊度、石油类和 COD 去除率分别为 98.82%, 97.01%和 93.09%。所以在处理高浊度废水时, 微生物絮凝剂的絮凝优越性得到更充分的体现。

6.4 本章小结

(1) 针对不同的炼油厂隔油后的废水考察了复合型微生物絮凝剂的技术可行性。东营市稠油厂隔油后污水的浊度最高, 石油类以及 COD 浓度最高, 处理效果最好, 油

度、石油类和 COD 的去除率都在 90%以上。而利华益化工厂隔油后的污水的初始指标均最低，处理效果也最差。

(2) 对复合型微生物絮凝剂、聚合氯化铝和聚丙烯酰胺的絮凝效果的比较，结果显示差别并不大。由于微生物絮凝剂是绿色的、环保的，所以复合型微生物絮凝剂代替聚合氯化铝以及聚丙烯酰胺有一定的可行性。

第七章 絮凝剂产生菌廉价培养基的研究

7.1 实验仪器及药品

7.1.1 仪器设备

本实验中所用的仪器同表 2-1。

7.1.2 实验药品

本实验中所用的化学试剂及规格同表 2-2。

7.1.3 菌株来源

絮凝剂产生菌 SHD-1 保藏于中国石油大学（华东）化学化工学院环境工程系，菌株 5 为中国石油大学（华东）校内磕头机下含油土壤内所筛。

7.1.4 廉价培养基来源

豆渣、豆饼、东营某大豆蛋白厂废液以及废渣、青岛市胶南某保健品公司废液、青岛市胶南某罐头厂废液、麦麸、稻糠

7.1.5 工业废水来源

东营市某炼油厂污水处理车间隔油池后未加絮凝剂处理的污水。

7.2 实验方法

7.2.1 替代氮源

7.2.1.1 豆渣做替代氮源

用家用豆浆机已经煮沸过的豆渣替代氮源做廉价培养基的研究。培养基的成分为：蔗糖 2%、 K_2HPO_4 0.5%、 KH_2PO_4 0.2%、NaCl0.01%、pH7.2。将废豆渣以 5g 固体，50ml 蒸馏水的比例过滤，取滤出的液体为所用的氮源，其投加量分别为 0%、0.4%、0.8%、1.2%、1.6%、2%。将其配成两组发酵培养基，在 250ml 的烧杯中加入 30ml 进行灭菌，然后在其中一组加入 $100\mu l$ 的种子摇床 $28^\circ C$ ， $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 32 小时，与一个通用发酵培养基作对比，用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

同时在另一组中加入菌 SHD-1 与菌株 5 各 $50\mu l$ ，摇床 $28^\circ C$ ， $120\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 48 小时，与一个通用发酵培养基作对比，也用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

7.2.1.2 豆饼做替代氮源

用豆饼替代氮源做廉价培养基的研究。培养基的成分为：蔗糖 2%、 K_2HPO_4 0.5%、 KH_2PO_4 0.2%、NaCl0.01%、pH7.2。将豆饼用细纱布筛，将筛出的小颗粒豆饼以 5g 固体，50ml 蒸馏水的比例煮沸 15min，过滤，取上层清液作为氮源，其投加量分别为 0、0.4%、0.8%、1.2%、1.6%、2%。将其配成两组发酵培养基，在 250ml 的烧杯中加入 30ml 进行灭菌，然后在其中一组加入 100 μ l 的种子摇床 28 $^{\circ}C$ ，120 $r\cdot min^{-1}$ 培养 32 小时，与一个通用发酵培养基作对比，用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

同时在另一组中加入菌 SHD-1 与菌株 5 各 50 μ l，摇床 28 $^{\circ}C$ ，120 $r\cdot min^{-1}$ 培养 48 小时，与一个通用发酵培养基作对比，也用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

7.2.1.3 蛋白厂废液做替代氮源

用蛋白厂废液替代氮源做廉价培养基的研究。培养基的成分为：蔗糖 2%、 K_2HPO_4 0.5%、 KH_2PO_4 0.2%、NaCl0.01%、pH7.2。将蛋白厂废液用八层纱布过滤，取滤液作为氮源，其投加量分别为 0、0.04%、0.08%、0.12%、0.16%、0.2%。将其配成两组发酵培养基，在 250ml 的烧杯中加入 30ml 进行灭菌，然后在其中一组 100 μ l 的种子摇床 28 $^{\circ}C$ ，120 $r\cdot min^{-1}$ 培养 32 小时，与一个通用发酵培养基作对比，用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

同时在另一组中加入菌 SHD-1 与菌株 5 各 50 μ l，摇床 28 $^{\circ}C$ ，120 $r\cdot min^{-1}$ 培养 48 小时，与一个通用发酵培养基作对比，也用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

7.2.1.4 蛋白厂废渣做替代氮源

用蛋白厂废渣替代氮源做廉价培养基的研究。培养基的成分为：蔗糖 2%、 K_2HPO_4 0.5%、 KH_2PO_4 0.2%、NaCl0.01%、pH7.2。将蛋白厂废渣以 5g 固体，50ml 蒸馏水的比例过滤，取滤出的液体为所用的氮源，其投加量分别为 0、0.4%、0.8%、1.2%、1.6%、2%。将其配成两组发酵培养基，在 250ml 的烧杯中加入 30ml 进行灭菌，然后在其中一组加入 100 μ l 的种子摇床 28 $^{\circ}C$ ，120 $r\cdot min^{-1}$ 培养 32 小时，与一个通用发酵培养基作对比，用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

同时在另一组中加入菌 SHD-1 与菌株 5 各 50 μ l，摇床 28 $^{\circ}C$ ，120 $r\cdot min^{-1}$ 培养 48

小时，与一个通用发酵培养基作对比，也用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

7.2.2 替代碳源

7.2.2.1 保健品厂废液做替代碳源

用某保健品厂废液替代碳源做廉价培养基的研究。配培养基时直接用该废水来配无须稀释，并且需要投加适当的无机盐，然后投加不同浓度的氮源研究其最佳碳氮比。所配培养基的成分为： K_2HPO_4 0.5%、 KH_2PO_4 0.2%、NaCl0.01%， $(NH_4)_2SO_4$ 0.02%，pH7.2。然后投加 1: 1 的尿素与酵母膏，投加量分别为 0%、0.01%、0.03%、0.05%、0.07%、0.09%、0.11%。将其配成两组发酵培养基，在 250ml 的烧杯中加入 30ml 进行灭菌，然后在其中一组加入 $100 \mu l$ 的种子摇床 $28^\circ C$ ， $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养 32 小时，与一个通用发酵培养基作对比，用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

同时在另一组中加入菌 SHD-1 与菌株 5 各 $50 \mu l$ ，摇床 $28^\circ C$ ， $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养 48 小时，与一个通用发酵培养基作对比，也用来处理炼厂取来的废水的浊度、石油类以及 COD。

7.2.2.2 罐头厂废液做替代碳源

配培养基的方法如 7.2.2.1。

7.2.2.3 麦麸做替代碳源

将麦麸以 1: 10 的比例用蒸馏水煮沸 15min 后，滤液作为碳源，由于麦麸中含碳量不是很高，配培养基时再加入 1% 的蔗糖做碳源，其余成分同 7.2.2.1。

7.2.2.4 稻糠做替代碳源

将稻糠以 1: 10 的比例用蒸馏水煮沸 15min 后，滤液作为碳源，由于稻糠中含碳量不高，配培养基时再加入 1% 的蔗糖做碳源，其余成分同 7.2.2.1。

7.3 结果与讨论

7.3.1 替代氮源

7.3.1.1 豆渣做替代氮源

豆渣做替代氮源实验中所用含油废水初始指标为：浊度为 69FTU，石油类为

139.38mg·L⁻¹, COD 为 821.27 mg·L⁻¹。

用豆渣作为替代氮源配制培养基后, 菌株 SHD-1 产絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-1 所示。

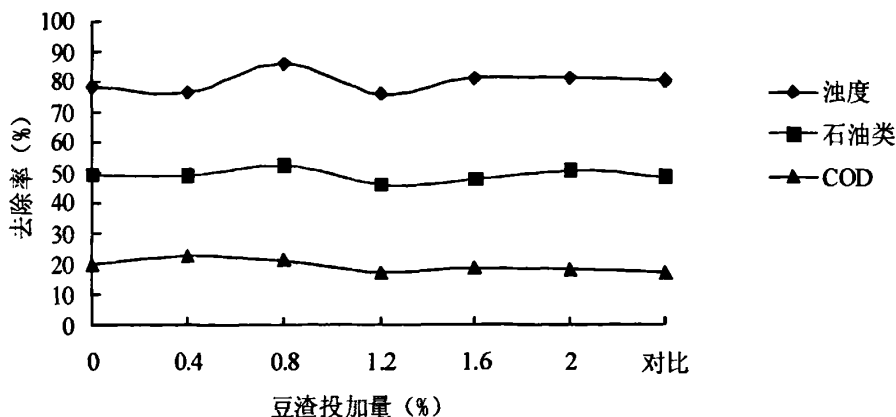


图 7-1 单菌产絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-1 Flocculation effects of flocculant produced by the single bacterium

复合型微生物絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-2 所示。

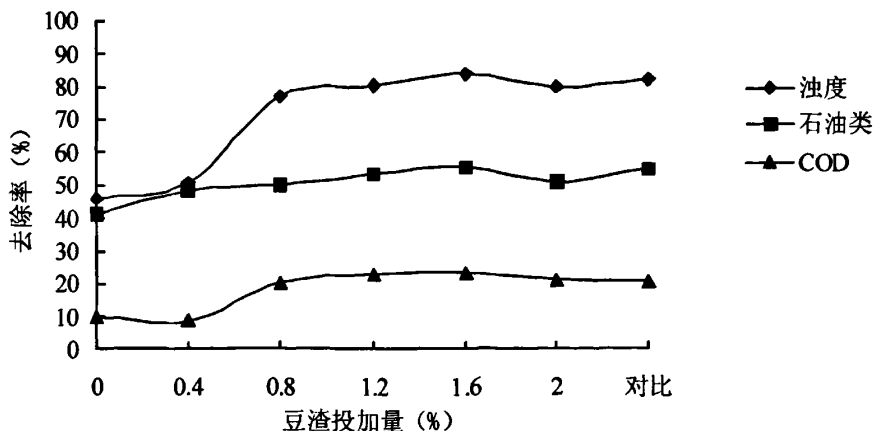


图 7-2 复合型微生物絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-2 Flocculation effects of the compound microbial flocculant

由图 7-1 和图 7-2 可以看出, 豆渣作为替代氮源时, 当豆渣的投加量为 0.8%时, 该培养基所培养出的菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝效果最好; 当豆渣的投加量为 1.6%时, 该培养基所培养出的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好, 均比通用发酵培养基所培养出的絮凝剂的絮凝效果还要好。在以上两个图中还可以看出, 复合型微生物絮凝的絮凝效果比单菌所形成的微生物絮凝剂的絮凝效果要好。并且在絮凝实验过程中, 可以看到豆渣做替代氮源配制培养基所培养出的絮凝剂在絮凝过程中矾花较大, 沉降较快,

说明豆渣可以作为替代氮源来进行以后的研究。

7.3.1.2 豆饼做替代氮源

实验所用含油废水初始指标为：浊度为 68FTU，石油类为 131.29mg·L⁻¹，COD 为 819.76mg·L⁻¹。

用豆饼作为替代氮源配制成培养基后，菌株 SHD-1 产絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-3 所示。

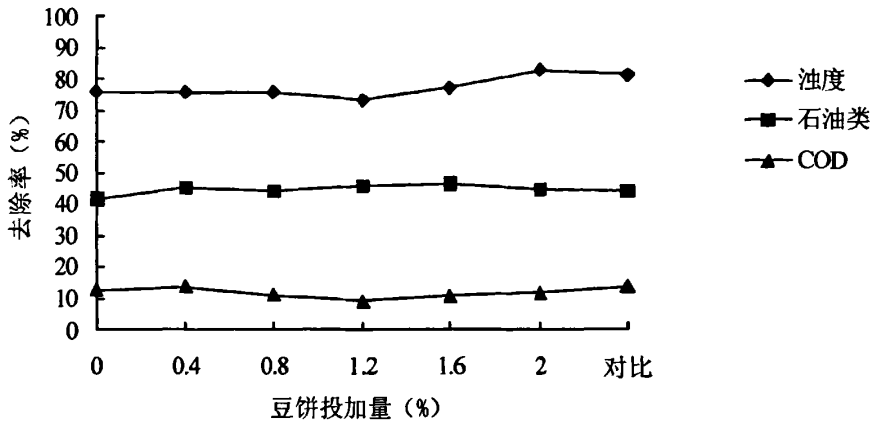


图 7-3 单菌产絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-3 Flocculation effects of flocculant produced by the single bacterium

复合型微生物絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-4 所示。

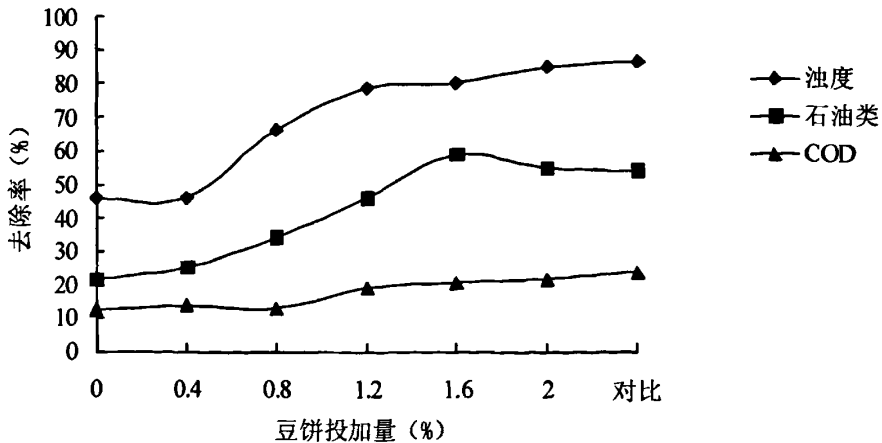


图 7-4 复合型微生物絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-4 Flocculation effects of the compound microbial flocculant

由图 7-3 和图 7-4 可以看出，豆饼作为替代氮源时，当豆饼的投加量为 2.0% 时，该培养基所培养出的菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝效果最好；当豆饼的投加量为 1.6%

时，该培养基所培养出的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好，与通用发酵培养基所培养出的絮凝剂的絮凝效果相当。但在絮凝实验过程中，可以知道豆粕做替代氮源配制培养基所培养出的絮凝剂的投加量较大时才有较好的絮凝效果，说明豆粕不适合作为替代氮源来进行以后的研究。

7.3.1.3 蛋白厂废液做替代氮源

实验所用含油废水初始指标为：浊度为 68FTU，石油类为 $134.21\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $815.74\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

用蛋白厂废液作为替代氮源配制成培养基后，菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-5 所示。

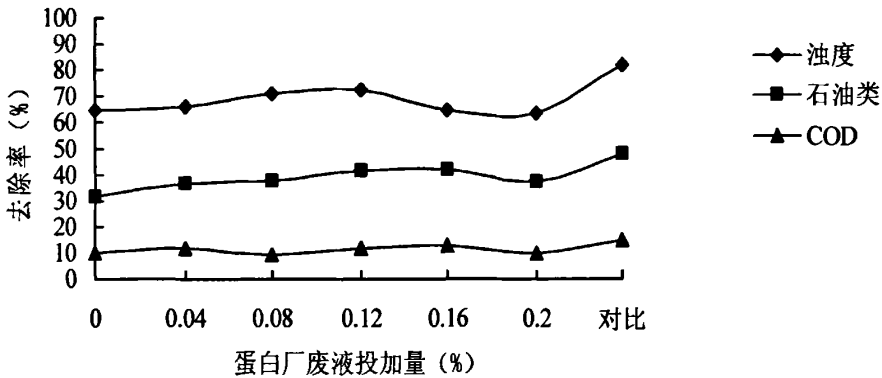


图 7-5 单菌产絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-5 Flocculation effects of flocculant produced by the single bacterium

复合型微生物絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-6 所示。

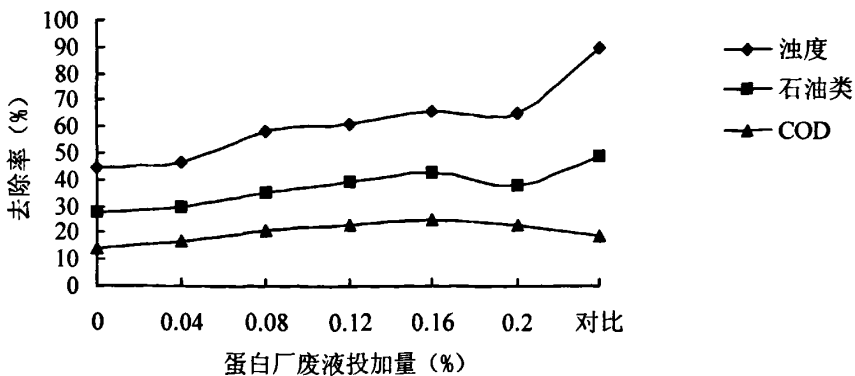


图 7-6 复合型微生物絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-6 Flocculation effects of the compound microbial flocculant

由图 7-5 和图 7-6 可以看出, 蛋白厂废液作为替代氮源时, 当蛋白厂废液的投加量为 0.12% 时, 该培养基所培养出的菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝效果最好; 而当蛋白厂废液的投加量为 0.16% 时, 该培养基所培养出的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好, 但是效果明显不如通用发酵培养基所培养出的絮凝剂的絮凝效果。说明蛋白厂废液不适合作为替代氮源来进行以后的研究。

7.3.1.4 蛋白厂废渣做替代氮源

实验所用含油废水初始指标为: 浊度为 66FTU, 石油类为 135.78mg·L⁻¹, COD 为 821.34mg·L⁻¹。

用蛋白厂废渣作为替代氮源配制成培养基后, 菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-7 所示。

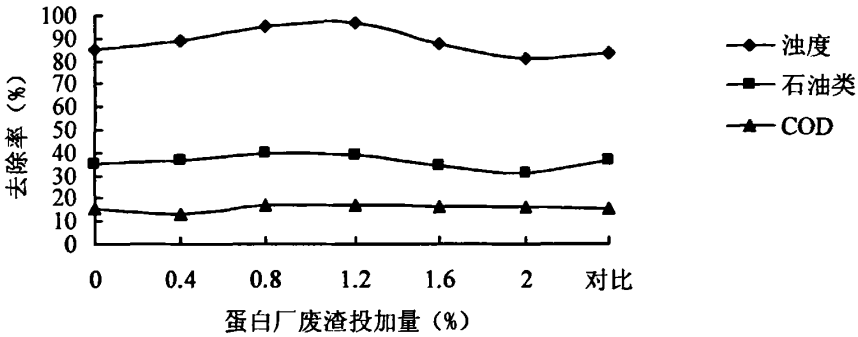


图 7-7 单菌产絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-7 Flocculation effects of flocculant produced by the single bacterium

复合型微生物絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-8 所示。

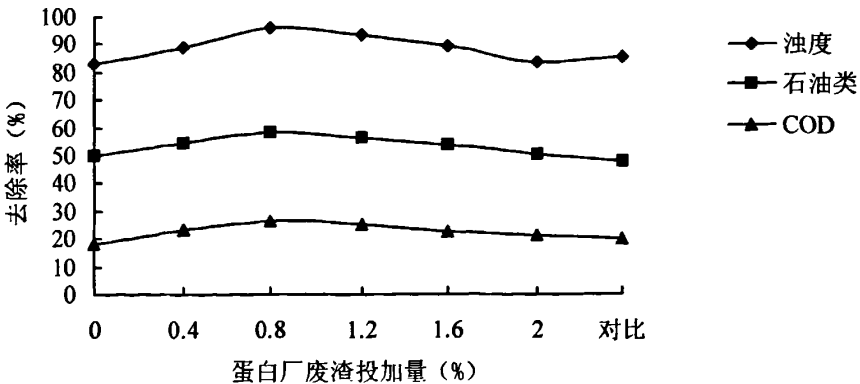


图 7-8 复合型微生物絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-8 Flocculation effects of the compound microbial flocculant

由图 7-7 和图 7-8 可以看出，蛋白厂废渣作为替代氮源时，当投加量为 1.2%时，该培养基所培养出的菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝效果最好；当投加量为 0.8%时，该培养基所培养出的絮凝剂的絮凝效果最好，比通用发酵培养基所培养出的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果还要好。并且在絮凝实验过程中，可以看到蛋白厂废渣做替代氮源配制培养基所培养出的絮凝剂在絮凝过程中矾花较大，沉降较快，说明蛋白厂废渣可以作为替代氮源来进行以后的研究。

7.3.2 替代碳源

7.3.2.1 保健品厂废液做替代碳源

实验所用含油废水初始指标为：浊度为 67FTU，石油类为 $129.48\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $809.78\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

用保健品厂废液作为替代碳源配制成培养基后，菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-9 所示。

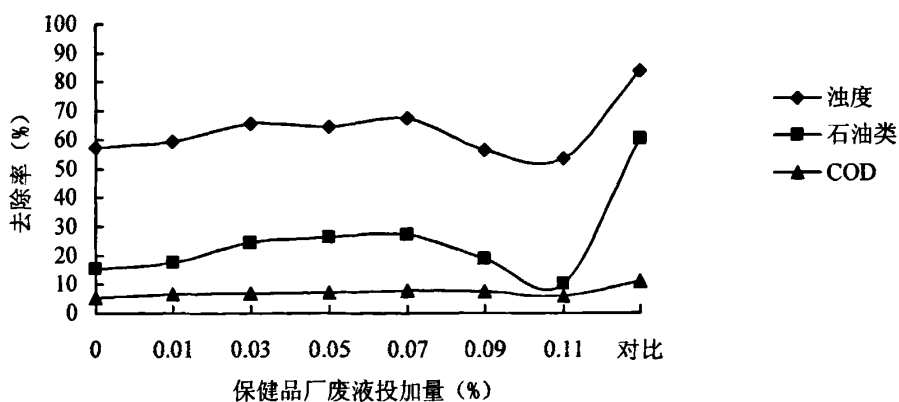


图 7-9 单菌产絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-9 Flocculation effects of flocculant produced by the single bacterium

复合型微生物絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-10 所示。

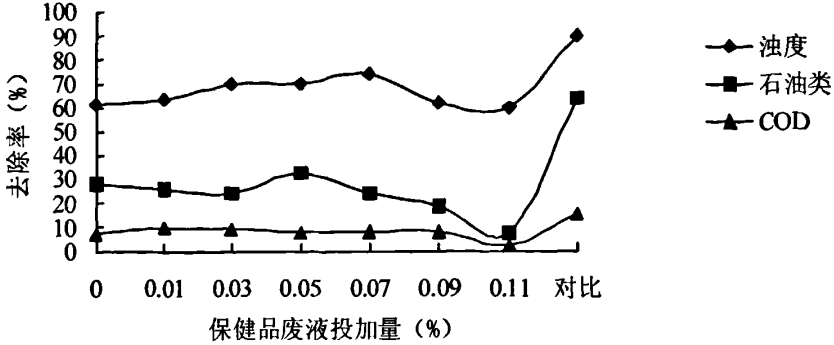


图 7-10 复合型微生物絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-10 Flocculation effects of the compound microbial flocculant

由图 7-9 和图 7-10 可以看出，保健品厂废液做替代碳源时，当投加量为 0.07%时，该培养基所培养出的菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝效果最好；当投加量为 0.05-0.07%时，该培养基所培养出的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好，但是由于培养基内碳源含量较少，所以明显不如通用发酵培养基所培养出的絮凝剂的絮凝效果。并且在培养过程中可以看出，发酵液没有粘性；在絮凝实验过程中可以发现，该培养基所培养出的絮凝剂基本没有絮凝性。说明保健品厂废液不适合作为替代碳源来进行以后的研究。

7.2.2.2 罐头厂废液做替代碳源

实验所用含油废水初始指标为：浊度为 68FTU，石油类为 130.75mg·L⁻¹，COD 为 812.78 mg·L⁻¹。

用罐头厂废液作为替代碳源配制培养基后，菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-11 所示。

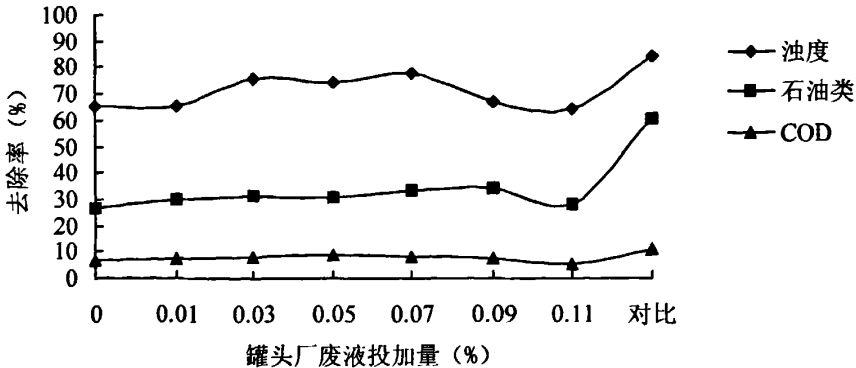


图 7-11 单菌产絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-11 Flocculation effects of flocculant produced by the single bacterium

复合型微生物絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-12 所示。

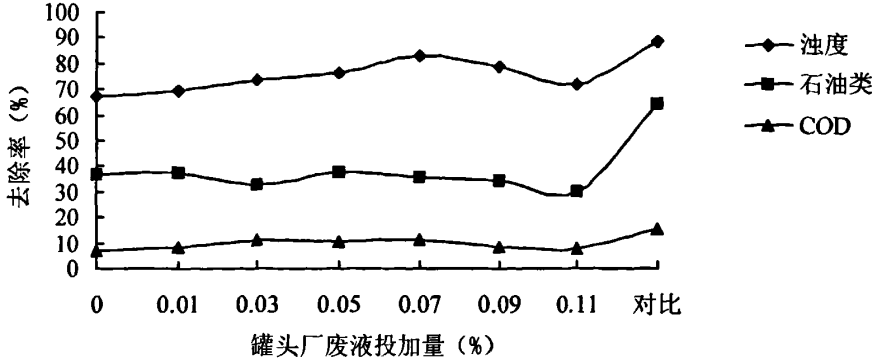


图 7-12 复合型微生物絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-12 Flocculation effects of the compound microbial flocculant

由图 7-11 和图 7-12 可以看出，罐头厂废液做替代碳源时，当投加量为 0.07%时，该培养基所培养出的菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝效果最好；当投加量为 0.07%时，该培养基所培养出的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好，但是明显不如通用发酵培养基所培养出的絮凝剂的絮凝效果。并且在培养过程中可以看出，发酵液粘性不大，在絮凝实验过程中，发现该培养基所培养出的絮凝剂基本没有絮凝性，说明罐头厂废液不适合作为替代碳源来进行以后的研究。

7.2.2.3 麦麸做替代碳源

实验所用含油废水初始指标为：浊度为 68FTU，石油类为 $130.54\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $812.06\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

用麦麸作为替代碳源配制成培养基后，菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-13 所示。

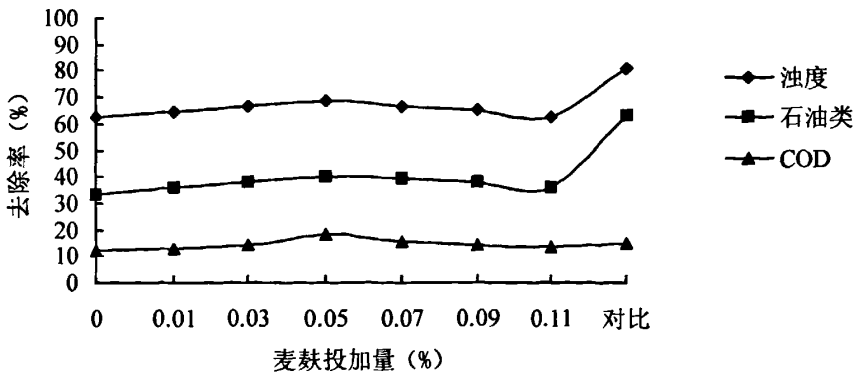


图 7-13 单菌产絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-13 Flocculation effects of flocculant produced by the single bacterium

复合型微生物絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-14 所示。

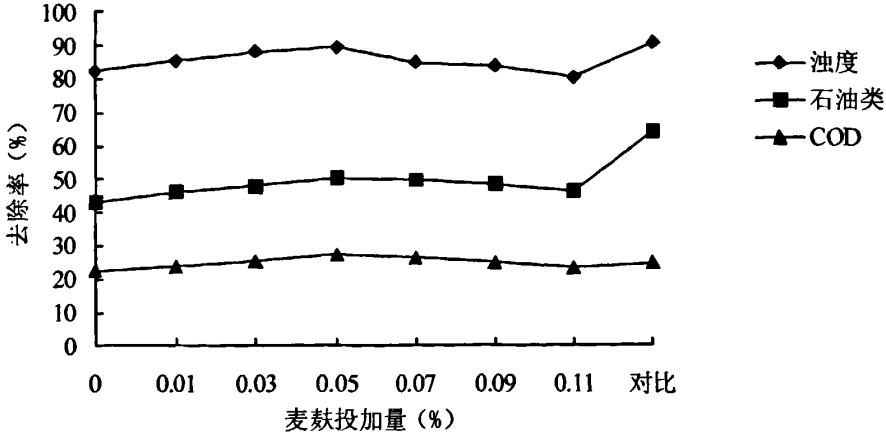


图 7-14 复合型微生物絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-14 Flocculation effects of the compound microbial flocculant

由图 7-13 和图 7-14 可以看出，麦麸做替代碳源时，当投加量为 0.05% 时，该培养基所培养出的菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝效果最好；当投加量为 0.05% 时，该培养基所培养出的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好。虽然在配制培养基过程中加入了 1% 的蔗糖补充了部分碳源，但是效果仍然不如通用发酵培养基所培养出的絮凝剂的絮凝效果。并且在培养过程中可以看出，发酵液粘性仍然不是很大，在絮凝实验过程中，该培养基所培养出的絮凝剂仍然基本没有絮凝性，说明麦麸仍然不适合作为替代碳源来进行以后的研究。

7.2.2.4 稻糠做替代碳源

实验所用含油废水初始指标为：浊度为 70FTU，石油类为 $130.21\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，COD 为 $814.52\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

用稻糠作为替代碳源配制成培养基后，菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-15 所示。

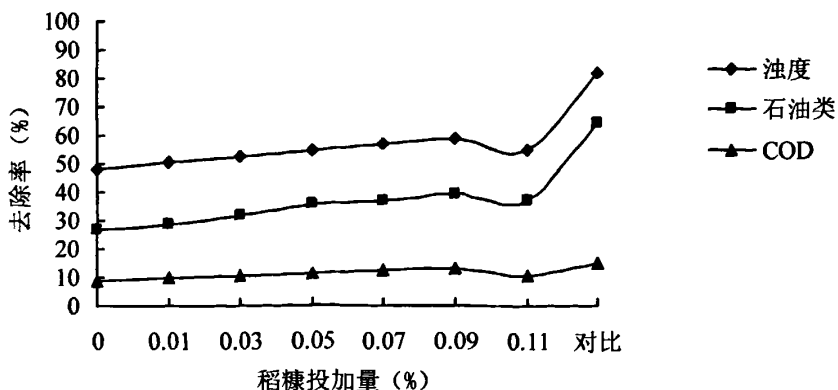


图 7-15 单菌产絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-15 Flocculation effects of flocculant produced by the single bacterium

复合型微生物絮凝剂的絮凝实验结果如图 7-16 所示。

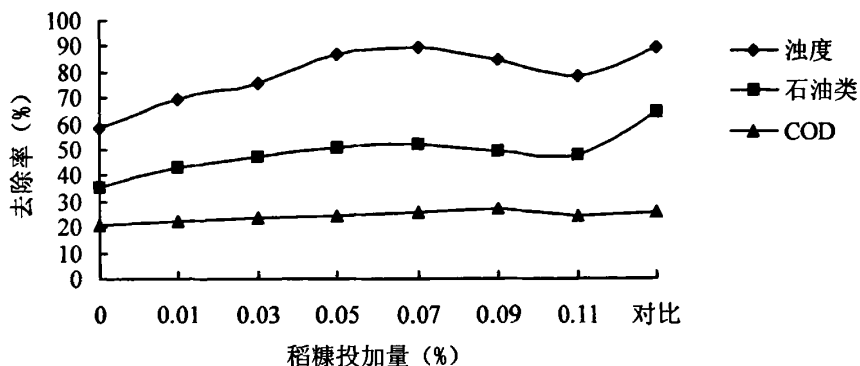


图 7-16 复合型微生物絮凝剂的絮凝效果图

Fig7-16 Flocculation effects of the compound microbial flocculant

由图 7-15 和图 7-16 可以看出，稻糠做替代碳源时，当投加量为 0.09% 时，该培养基所培养出的菌株 SHD-1 所产絮凝剂的絮凝效果最好；当投加量为 0.07% 时，该培养基所培养出的复合型微生物絮凝剂的絮凝效果最好。虽然在配制培养基过程中加入了 1% 的蔗糖补充了部分碳源，但是效果仍然不如通用发酵培养基所培养出的絮凝剂的絮凝效果。并且在培养过程中可以看出，发酵液粘性仍然不是很大，在絮凝实验过程中，该培养基所培养出的絮凝剂产生菌仍然基本没有絮凝性，说明稻糠仍然不适合作为替代碳源来进行以后的研究。

7.4 本章小结

(1) 从替代氮源的实验中，可以知道豆渣以及蛋白厂的废渣都适合作为替代氮源。

因为通用发酵培养基中氮源含量较低，所以上述两种替代氮源中含氮量达到了微生物的生长需要，适合微生物的生长。用上述替代氮源配制成培养基后所培养出的微生物絮凝剂的絮凝效率比用通用发酵培养基培养出的微生物絮凝剂的絮凝效率要好。

(2) 从替代碳源的实验中，可以知道所选择的四种材料都不适合作为替代碳源。主要是因为这些材料中的碳源含量较低，另外，当补充了一部分碳源后，培养基内的碳源含量足够了，但是麦麸中主要是粗纤维不适合微生物用来进行代谢与生长，所以同样不适合用来培养微生物絮凝剂产生菌。

结论与建议

1 结论

目前用于含油废水处理的无机絮凝剂和有机絮凝剂对人类的生存环境具有一定的危害,微生物絮凝剂以其环保高效等独特的优势,将在石化废水的处理过程中被广泛应用。围绕微生物絮凝剂的发酵动力学以及复合型微生物絮凝剂的研究得出以下结论:

(1) 菌株 SHD-1 所产絮凝剂在发酵条件为有机氮含量 0.05%, 碳源含量 2%, pH 值 7.0, 装液量 10ml, 水 1000ml 时, 絮凝剂的絮凝效果最好。

(2) 发酵动力学在发酵过程的控制及发酵规模的放大中起重要作用, 通过实验及计算获得的菌体量、产物生成量、底物消耗量动力学方程, 实验数据与理论计算数据较好拟合。

(3) 目前, 复合型微生物絮凝剂的研究很少。本文对复合型微生物絮凝剂产生菌进行了筛选以及研究。通过筛选, 菌株 SHD-1 与菌株 5 复合而成的复合型微生物絮凝剂絮凝效果最好。

(4) 从复合型微生物絮凝剂产生菌发酵条件优化的实验中可以得出: 发酵时间为 48 小时, pH 为原始 pH, 碳源浓度为 2%, 有机氮源浓度为 0.05%, $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Na^+ 为最佳的发酵条件。

(5) 复合型微生物絮凝剂对炼油厂的含油废水有一定的絮凝效果。从絮凝条件优化的实验中可以得出, 优化后的絮凝条件为: 絮凝剂投加量为 $60\mu\text{l}$, pH 为 9, 慢搅转速为 $20\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 慢搅时间为 6min, 温度 30°C , CaCl_2 是最好的阳离子助剂, 最佳投加量为 3ml。

(6) 剩余污泥处理费用占污水厂运行费用的 25%-40%, 因此应采取适当措施降低污泥产生量。复合型微生物絮凝剂对污泥减量的研究表明, 它对污泥减量有较好的的效果, 具有良好的应用前景。

(7) 复合型微生物絮凝剂对实验所用五个不同炼油厂的废水均有絮凝效果, 说明了复合型微生物絮凝剂的应用具有比较广泛的适用性。并且对浊度、石油类以及 COD 浓度越高的废水的处理效果越好; 低浓度时, 在添加少量的无机絮凝剂的情况下, 与聚合氯化铝以及聚丙烯酰胺的絮凝效果相当。

(8) 培养基是决定微生物絮凝剂成本的主要因素, 所以寻找合适的廉价培养基为其工业化生产提供了基础, 并且是目前微生物絮凝剂研究的一个趋势。在研究过程中发

现，豆渣以及蛋白厂的废渣两者不仅适合做微生物絮凝剂产生菌 SHD-1 的替代碳源，同时也适合做复合型微生物絮凝剂产生菌的替代氮源。同一培养基条件下，复合型微生物絮凝剂的絮凝效果要比单菌产微生物絮凝剂的絮凝效果要好。

2 建议

尽管微生物絮凝剂的研究已经取得了一定的进展，但是还未达到工业化生产水平。对今后的研究工作提出如下建议：

(1) 废水的成分不同，微生物絮凝剂的絮凝效果不同。通过对废水处理前后成分的分析，确定出微生物絮凝剂对何种成分的废水的处理效果好。

(2) 单纯的实验室操作，并不能很好的反应工程上的应用，应该结合到水处理工艺流程中。而且从工业运用角度考虑，菌种的保存和成本过高是微生物絮凝剂工业化生产的最大障碍。优化培养基、寻找廉价的替代培养基、采用先进的固定化技术是实现微生物絮凝剂工业化生产的必要条件。

(3) 从实际应用方面考虑，由于微生物絮凝剂还处于实验室阶段无法立即取代有机或无机絮凝剂，因此微生物絮凝剂与其它絮凝剂的复配使用是现阶段研究的重点。找出微生物絮凝剂与其它絮凝剂复配的最佳比例也是关键。

(4) 应充分利用生物技术，并充分利用克隆技术研究生物絮凝剂的基因控制与表达，提高微生物絮凝剂在废水处理中的絮凝效果。

参考文献

- [1] 岳钦艳, 赵华章, 高宝玉. 有机高分子絮凝剂 P(DMDAAC—VTMS)和 P(DMDAAC—AM—VTMS)的合成及絮凝性能研究[J]. 工业水处理, 2001, 21(3): 16-20
- [2] 董双石, 王爱杰, 任南琪, 等. 微生物絮凝剂处理废水的研究和发展趋势[J]. 生物技术, 2004, 4(1): 72-73
- [3] 陶涛, 皂羞溘, 冷静. 微生物絮凝剂研究与应用进展[J]. 环境科学进展, 1999, 7(6): 118-261
- [4] 张彤, 朱怀兰, 林哲. 微生物絮凝剂的研究与应用进展[J]. 生物学报, 1996, 1(2): 95-105
- [5] 江锋, 黄晓武, 胡勇有. 胞外生物高聚物絮凝剂的研究进展(上) [J]. 给水排水, 2002, 28(8): 83-89
- [6] 胡勇有. 微生物絮凝剂的研究与应用进展[J]. 环境科学进展, 1999, 7(4): 24-28
- [7] 陆茂林, 施大林, 王蕾. 微生物絮凝剂的制备及其絮凝条件研究[J]. 食品与发酵工业, 1997, 23(3): 26-28
- [8] Takagi H, Kadowaki K. Flocculant production by *Paecilomyces sp.* taxonomic studies and culture conditions for production [J]. *Agric Biol Chem*, 1985, 49(11): 3151-3157
- [9] Kurane R, Toeda K, Takeda K. Culture condition for production of microbial flocculant by *Rhodococcus erythropolis* [J]. *Agric Biol Chem*, 1986, 50(9): 2309-2313
- [10] Hiraki Takagi, Purification and chemical properties of a flocculant produced by *Paecilomyces sp.* [J]. *Agric Biol Chem.*, 1985, 49(1): 3159-3164
- [11] Kazuo Saito, Shun-ichi Sato, Hitoshi Shimoi. Flocculation Mechanism of *Hansenula anomala* J224 [J]. *Agric Biol Chem*, 1990, 54(6): 1425-1432
- [12] Kazuki Toeda. Microbial Flocculant from *Alcaligenes Cupidus* KT201 [J]. *Agric Biol Chem*, 1991, 55(11): 2793-2799
- [13] 陈坚, 任洪强, 堵国成, 等. 环境生物技术应用与发展[M]. 北京 c 中国轻工业出版社, 2001: 242-275
- [14] 胡筱敏, 邓述波, 牛力东, 等. 一株芽孢杆菌所产絮凝剂的研究[J]. 环境科学研究, 2001, 14(1): 36-40
- [15] 宫小燕, 王竞, 周集体. 絮凝剂的筛选及其培养条件优化[J]. 环境科学研究, 1999, 12(4): 9-11

- [16] 周德庆. 微生物教程[M]. 北京:高等教育出版社, 1995: 306-313
- [17] 陈宗琪, 戴闽光. 胶体化学[M]. 北京:高等教育出版社, 1984: 287-296
- [18] Levy N. Physico-chemical aspects in flocculation of Berrtonite suspensions by a cyanobacterial bioflocculant [J]. Water research, 1992, 26 (2): 239-254
- [19] Takeda M, et al. Factors affecting the activity of a protein bioflocculant produced by *Nocardia Amarae* [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1992, 74(6): 408-409
- [20] Zhen, Wang, et al. Screening of flocculant-producing microorganisms and some characteristics of flocculants [J]. Biotechnology Techniques, 1994, 8(11): 831-836
- [21] 邵青等. 高效脱色絮凝剂脱色絮凝机理浅探与其应用[J]. 工业水处理, 2000, 20(2): 5-8
- [22] 武道吉. 紊流絮凝动力初探[J]. 工业水处理, 1999, 19(6): 6-71
- [23] 尹华. 微生物絮凝剂的研究现状与发展趋势[J]. 云南环境科学, 2000, 19(8): 226-229
- [24] Kurane R. Correlation between flocculant production and morphological changes in *Rhodococcus erythropolis* S-1 [J]. Ferment. Bioengin., 1991, 72(6): 495-500
- [25] Kurane R. Production of bioflocculant by *Rhodococcus erythropolis* S-1 grown on alcohols. Biosci. Biotech. Biochem., 1994, 58(2): 426-429
- [26] Kurane R. Development and utilization of microbial flocculant [J]. Bio. Ind., 1988, 5(10): 741-749
- [27] Nakamura J. Condition for production of microbial cell flocculant by *Aspergillus sojae* AJ70002 [J]. Agric Biol Chem, 1976, 40(7): 1341-1347
- [28] 张国杰, 王栋, 程时远. 有机高分子絮凝剂的研究进展[J]. 化学与生物工程, 2004(1): 10-13
- [29] Nakamura J. Purification and chemical analysis of microbial cell flocculants produced by *Aspergillus sojae* AJ7002 [J]. Agri Biol Chem, 1976, 40(3): 619-624
- [30] Endo T, Nakamura K, Takahashi H. Pronase-susceptible floc-forming bacteria: relationship between flocculation and calcium ion [J]. Agri Biol Chem, 1976, 4(5): 2289-2295
- [31] Esser K, Kues U. Flocculation and its implication for biotechnology *Nocardia Amarae* [J]. Process Biochem, 1983, 18(3): 21-23
- [32] 王猛, 施宪法, 柴晓利. MBF的研究与应用[J]. 化工环保, 2001, 21(6): 328-332
- [33] 孙先锋, 张志杰. 微生物絮凝剂的特性研究及进展[J]. 环境导报, 2001, 11(2):

22-24

- [34] 程树培, 崔益斌, 杨柳燕. 高絮凝性微生物育种生物技术研究与应用进展[J]. 环境科学进展, 1995, 3 (1): 65~69.
- [35] 王镇, 王孔星, 谢裕敏, 等. 几株絮凝剂产生菌的特性研究[J]. 微生物学, 1995, 35(2): 121-129
- [36] Minoro Takeda, JUN-ICHI Koizum I, Hiroshi Matsuka ,et al. Factors Affecting the Activity of a protein Bioflocculant Produced No-cardia Amanae[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1992, 74(6): 408-409
- [37] 有马启. 生物净化环境技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 1980: 22-27
- [38] Nakamura J. Modes of flocculant of yeast cells with flocculant produced by *Aspergillus sojae*[J]. Agric Biol Chem, 1976, 40(8): 1565-1571
- [39] 刘国祥, 尹华, 彭辉, 等. 豆腐废水廉价培养基制备微生物絮凝剂的研究[J]. 安全与环境学报, 2006, 6(1): 103-106
- [40] 周旭, 黄丽萍, 王竞, 等. 利用鱼粉废水生产生物絮凝剂及其性能研究[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(4) : 436-438
- [41] 龙文芳, 李小明, 曾光明, 等. 烟曲霉絮凝剂产生菌的替代培养基的研究[J]. 生物技术, 2004, 14 (4): 52-53
- [42] 成文. 微生物絮凝剂的性能、作用机理与廉价培养基筛选的研究[D]. 广东: 华南理工大学, 2004
- [43] 刘晖, 周康群, 胡勇有, 等. 青霉素 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
- [44] Takeda M., Kurane R., Koizumij N., et al. A protein bioflocculant produced by *Rhodococcus erythropolis*[J]. Agric Biol Chem, 1991, 55(10): 2263-2264
- [45] 尹华, 余莉萍, 彭辉. 固氮菌 J. 25 利用味精废水产生絮凝剂的研究[J]. 环境化学, 2004, 22(6): 582-587
- [46] 曹建平, 戴友芝, 张选军, 等. 微生物絮凝剂 M-25 廉价培养基的开发研究[J]. 湘潭大学自然科学学报, 2005, 27(3): 84-86
- [47] 石璐, 刘忠义, 唐受印, 等. 微生物絮凝剂的筛选及培养条件优化[J]. 环境科学研究, 2003, 16(3): 35-36
- [48] 李海峰, 王素英. 生防菌青霉 TS67 发酵条件优化研究[J]. 河南农业科学, 2007,

6: 70-73

- [49] 田春, 刘占英, 冶杰惠. 微生物絮凝剂培养条件优化的正交设计和试验研究[J]. 内蒙古石油化工, 2002, 28: 13-14
- [50] 张香美, 刘焕云, 帅玉英. 一株絮凝剂产生菌的筛选及其发酵条件优化[J]. 化学与生物工程, 2006, 23(1): 45-47
- [51] 丁存宝, 田永淑, 王艳红. 微生物絮凝剂产生菌的筛选及培养条件优化[J], 河北化工, 2006, 6: 15-16
- [52] 钟文文. 微生物絮凝剂产生菌的筛选及其培养条件优化的研究[J]. 环境工程学报, 2007, 8: 140-144
- [53] 康建雄, 孟少魁, 吴磊. 微生物絮凝剂普鲁兰的发酵动力学模型研究[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2005, 37(10): 1370-1372
- [54] 邵伟, 熊泽, 吴炜, 等. 红曲色素液体发酵动力学模型的构建[J]. 开发与研究, 2006, 23(6): 8-11
- [55] 武秋立, 安家彦. 羊肚菌胞外多糖发酵动力学模型[J]. 南开大学学报(自然科学版), 2005, 38(1): 43-48
- [56] 马放, 刘俊良. 复合型微生物絮凝剂的开发[J]. 中国给水排水, 2003, 19(4): 1-4
- [57] 李霞, 王向东. 混合型微生物絮凝剂产生菌的最佳培养条件[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(3): 377-380
- [58] 李兆龙, 虞杏英. 微生物絮凝剂[J]. 上海环境科学, 1991, 9(1): 45-46
- [59] 辛宝平, 庄源益, 李彤. 生物絮凝剂的研究和应用环境科学进展[J], 1998, 6(5): 57-62
- [60] 陈元彩, 肖锦. 天然有机高分子絮凝剂研究和应用[J]. 环境科学进展, 1999, 7(3): 84-89
- [61] 邓述波, 余刚, 蒋展鹏. 微生物絮凝剂在给水处理中的应用研究[J]. 中国给水排水, 2001, 17(2): 5-7
- [62] 仓根隆一郎. Microorganism flocculant in industrial waste application[J]. Bioindustry, 1990, 21(1): 6-9
- [63] 黄民生. 白腐真菌对染料的脱色与降解[J]. 上海环境科学, 2000, 19(3): 128-131
- [64] 张育新, 康勇. 絮凝剂的研究现状及发展趋势[J]. 化工进展, 2002, 21(11): 799-804
- [65] 臧荣春. 微生物动力学模型[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 168-173

- [66] Pavoni J L, Tenney M W, Echelberger W F Jr. Bacterial exocellular polymers and biological flocculation[J]. Journal Water Pollution Control Federation, 1972, 44: 414-431
- [67] 程金平, 郑敏. 微生物絮凝剂产生菌的筛选及产絮凝剂的周期研究[J]. 环境科学与技术, 2001, 94(2): 12-15
- [68] Nakamura J, Miyashiro S, Hirose Y. Screening, isolation, and some properties of microbial cell flocculants[J]. Agric Biol Chem, 1976; 40(2): 377-380
- [69] 宫小燕, 王曙光. 微生物絮凝剂产生菌的筛选和优化以及在水处理中的应用[J]. 应用于环境生物学报, 2003, 9(2): 196-199
- [70] 杨阿明, 张志强, 王学江, 等. 高效微生物絮凝剂用于污泥脱水及其动力学研究[J]. 中国给水排水, 2007, 23(9): 24-27

附录

附录1 石油类测定方法（紫外分光光度法）

1 实验原理

石油及其产品在紫外光区有特征吸收，带有苯环的芳香族化合物，主要吸收波长为250nm~260nm；带有共轭双键的化合物主要吸收波长为215nm~230nm。一般原油的两个吸收峰为225nm和254nm。石油产品中，如燃料油、润滑油等的吸收峰有原油相近。因此波长的选择应视实际情况而定，原油和种质油可选154nm，而轻质油及炼油厂的油品可选225nm。在一定波长下，油的含量于吸收光强度成比例，因此，对吸收光强度的测量，可测出废水中油的浓度。

2 实验步骤

(1) 将采样瓶内废水倒入 1000ml 分液漏斗中，加入 1:1 硫酸酸化至水样的 pH 值小于 2，再加入少量氯化钠（量为废水量的 2%），用 25ml 石油醚洗涤量筒和采样瓶后，石油醚也移入上述分液漏斗中，加盖，充分振摇 3min，静置分层。

(2) 将下层水样放入原采样瓶内，上层石油醚层转入 100ml 锥形瓶中。再用石油醚重复萃取废水两次，石油醚萃取液转入上述锥形瓶中。

(3) 向石油醚萃取液中加入无水硫酸钠，直至硫酸钠不结块为止，加盖放置半小时。

(4) 用预先以石油醚洗涤过的定性滤纸过滤萃取液，收集滤液于 100ml 已烘干并称量的烧杯中。用少量石油醚洗涤锥形瓶、无水硫酸钠和滤纸，洗涤液并入上述烧杯中。

(5) 将烧杯置于 $65\pm 5^{\circ}\text{C}$ 的水浴上，蒸出石油醚。当溶液近干时，置于 65 ± 5 摄氏度恒温箱内烘干，取出后放入干燥器中冷却 30min，即得到标准油品。

(6) 准确称取标准油品 0.1000g 溶于石油醚中，移入 100ml 容量瓶那，稀释至标线，贮于冰箱中。此溶液每毫升含 1.00mg 油。临用前，把上述标准油贮备液用石油醚稀释 10 倍。此液每毫升含 0.10mg 油。

(7) 向 7 个 50ml 容量瓶中，分别加入 2.00、4.00、8.00、12.00、20.00 和 25.0ml 标准油使用液，用石油醚（60~90℃）稀释至标线。在选定波长处，用 10mm 石英比色皿，以石油醚为参比测定吸光度，经空白校正后，绘制标准曲线。

(8) 将已测体积的水样，仔细移入 500ml 分液漏斗中，加入 1:1 硫酸 5ml 酸化。加入氯化钠，其量约为水量的 2% ($\text{m}\cdot\text{v}^{-1}$)。用 20ml 石油醚（60~90℃）清

洗采样瓶后，移入分液漏斗中。充分振摇 3 分钟，静置使之分层，将水层移入采样瓶内。

(9) 将石油醚萃取液通过内铺约 5mm 厚度无水硫酸钠层的砂芯漏斗，滤入 50ml 容量瓶内。

(10) 将水层移回分液漏斗中，用 20ml 石油醚重复萃取一次。同上操作。然后用 10ml 石油醚洗涤漏斗，其洗涤液均收集于同一容量瓶内，并用石油醚稀释至标线。

(11) 在选定波长处，用 10mm 石英比色皿，以石油醚为参比，测量其吸光度。

(12) 取相同体积的水，与水样同样操作，进行空白试验，测量其吸光度。

(13) 由水样测得的吸光度，减去空白试验的吸光度后，从标准曲线上查出相应的油含量。

3 结果计算

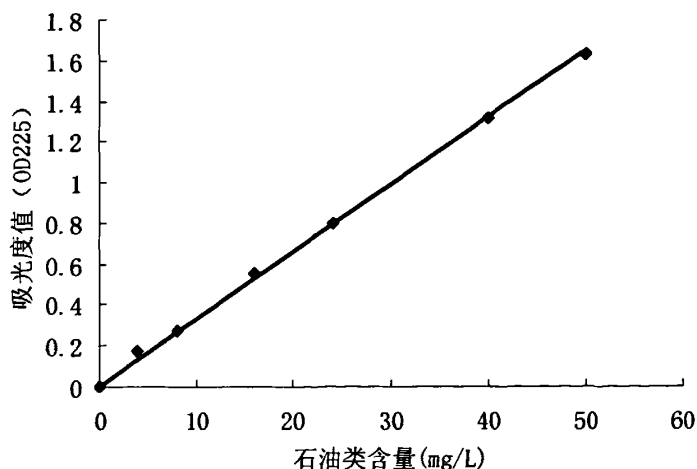


图 1 炼油污水中石油类标准曲线

从图 1 可得到炼油污水中石油类的标准曲线为：

$$y=0.033x \quad R=0.9987$$

(其中 x: 石油类浓度, 单位 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; y: 225nm 处吸光度值)

附录 2 COD 的测定原理及方法

1 原理

在强酸性溶液中，一定量的重铬酸钾氧化水中还原性物质，过量的重铬酸钾以试亚铁灵作指示剂，用硫代硫酸钠溶液回滴。根据用量算出水样中还原性物质消耗氧的量。微波密封消解法与标准法大致相同，采用硫酸-重铬酸钾消解体系，水样经微波消解后，过量的重铬酸钾以试亚铁灵为指示剂，用硫酸亚铁铵进行滴定，计算水样的 COD 值。

酸性重铬酸钾氧化性很强，可氧化大部分有机物，加入硫酸银作催化剂时，直链脂肪族化合物可完全被氧化，而芳香族有机物却不易被氧化。氯离子能被重铬酸盐氧化，并且能与硫酸银作用产生沉淀影响测量结果，故在混合前向水样中加入硫酸汞，使成为络合物以消除干扰。氯离子含量高于 $2000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的样品应先作定量稀释，使含量降低至 $2000\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下，再行测定。

COD 值的计算公式为：

$$\text{COD} (\text{O}_2, \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}) = (V_0 - V_1) \times C \times 8 \times 1000 / V$$

式中，C：硫酸亚铁铵溶液的浓度 ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)；

V_0 ：空白消耗硫酸亚铁铵量 (ml)；

V_1 ：水样消耗硫酸亚铁铵量 (ml)；

V：水样体积 (ml)；

8：氧 ($1/2 \text{O}$) 摩尔质量 ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)。

2 测定方法

本实验采用微波密封消解法测定废水 COD 含量，具体方法为：

(1) 加入试剂：用直吹式移液管取水样 5.00ml 置于消解罐中（若用其它类型的移液管，可先在消解罐内放入一小段圆头玻璃棒，再让移液管同棒体接触放液，以减少误差），准确加入 5.00ml 含 Hg^+ 消解液和 5.00ml 催化剂。水平摇匀。简称“三五”法。注意加入各种溶液时，移液管不能接触消解管内壁。避免破坏内壁光洁度，造成误差。

(2) 微波消解：将消解罐密封盖拧紧后对称放入微波炉转盘中，离转盘边缘约 2cm 圆周上单圈排好。设定火力为 10，消解时间如表 1 所示。

表 1 消解时间设定表

| 消解罐数目 | 消解时间 (min) |
|-------|------------|
| 3 | 5 |
| 4 | 6 |
| 5 | 7 |
| 6 | 8 |
| 7 | 10 |
| 8 | 11 |
| 9 | 12 |
| 10 | 13 |
| 11 | 14 |
| 12 | 15 |

(3) 滴定计算：消解结束后的消解罐，应置冷或用水冷却后，才能打开密封盖，将反应液转移到 150ml 锥形瓶中，用蒸馏水冲洗消解罐帽 2~3 次，冲洗液并入锥形瓶中，加入 2 滴试亚铁灵指示剂并用硫酸亚铁铵标准溶液滴定，溶液的颜色由黄色经蓝绿色至红褐色即为终点。记录硫酸亚铁铵标准溶液的用量，计算出 COD 值。

附录 3 苯酚硫酸法测多糖含量

1 原理

糖在浓硫酸作用下，脱水生成的糠醛或羟甲基糠醛能与苯酚缩合成一种橙红色化合物，在 10~100mg 范围内其颜色深浅与糖的含量成正比，且在 485nm 波长下有最大吸收峰，故可用比色法在此波长下测定。苯酚法可用于甲基化的糖、戊糖和多聚糖的测定，方法简单，灵敏度高，实验时基本不受蛋白质存在的影响，并且产生的颜色稳定 160min 以上。

2 测定方法

配浓度为 $0.1\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准葡萄糖溶液，分别取标准葡萄糖溶液 $0\mu\text{l}$ 、 $20\mu\text{l}$ 、 $40\mu\text{l}$ 、 $60\mu\text{l}$ 、 $80\mu\text{l}$ 、 $100\mu\text{l}$ 于试管中，然后补水到 2ml，摇匀后加 5% 苯酚 1.0ml，摇匀。再在冰水浴中加浓硫酸 5ml，在沸水浴中显色 15 分钟。在 490nm 处测定其吸光度。然后对糖含量-

吸光度，作出苯酚硫酸法的测多糖的标准曲线。

3 结果计算

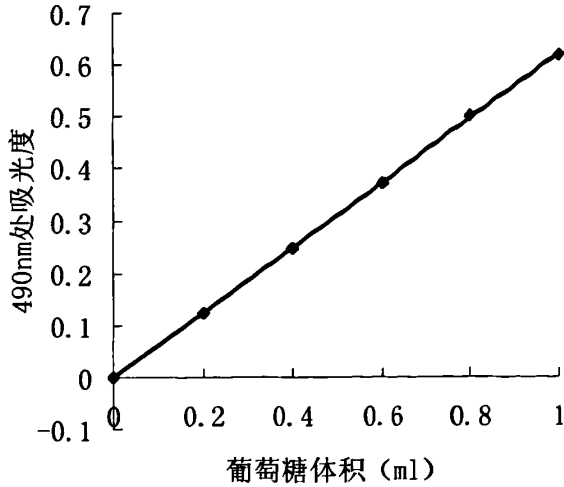


图2 葡萄糖标准曲线

从图 2 可得到葡萄糖的标准曲线为：

$$y=0.6221x-0.0009$$

$$R=0.9998$$

(其中 x: 葡萄糖的体积, 单位 ml; y: 490nm 处吸光度值)

攻读硕士学位期间取得的学术成果

刘洁, 赵东风. 硅藻土的研究进展及应用[J]. 环境科学与管理, 2009, 6 (已录用).

致 谢

本文的研究与成文工作是在赵东风老师和张云波老师的亲切关怀和悉心指导下完成的。三年来，赵东风和张云波老师的睿智引导、不断教诲、严谨的治学态度和丰富的实践经验使我深受教益和启迪，他们对科学敏锐的洞察力以及对孜孜不倦的教诲与激励使我铭记终生，在论文完成之际，谨向赵东风和张云波两位导师表示由衷的感谢和敬意！

在论文工作期间，刘其友老师以及环境科学与工程系老师在生活和学术上都曾给予多方指导和热心帮助，在此一并表示诚挚的谢意！

真诚的感谢我的父母，多年来，是他们无私的爱和全力的支持才能是我能顺利地完成学业。

在本论文完成之际，向所有给予我支持、关心、帮助和鼓励的同学和朋友们表示衷心的感谢！

最后感谢母校中国石油大学（华东）三年来的培养，祝母校再创辉煌。