紫外诱变选育高效微生物絮凝剂产生菌及其应用

吴焕利[1],冯贵颖[1],赵淑艳[2],张雪峰[1],杨 娜[1]

(1 西北农林科技大学 污染控制研究中心,陕西 杨凌 712100;2 西藏农牧学院 资源环境系,西藏 林芝 860000)

[摘 要] 【目的】为紫外诱变技术在环境工程中的应用提供参考。【方法】由 1 株絮凝剂产生菌 XL-18 出发,经过紫外诱变得到絮凝活性高的正突变菌株 YB-1,用红外光谱、薄层色谱分析纯化后 YB-1 产微生物絮凝剂的成分,苯酚-硫酸法分析样品中糖含量,双缩脲法分析样品中蛋白质含量,并用 YB-1 产微生物絮凝剂处理水性油墨废水,研究了不同因素(pH、投加量、助凝剂)对絮凝效果的影响。【结果】菌株 YB-1 的絮凝率为 95.0%;YB-1 产微生物絮凝剂含有羟基、羧基等官能团,总糖含量为 6.630 g/L,不含蛋白质,其是由葡萄糖和甘露糖为主要单体组成的多糖;添加 0.5 mol/L $CaCl_2$ 溶液作助凝剂、废水 pH 8.0、YB-1 发酵液投加量为 60 ml/L 时,水性油墨废水的 COD、浊度、色度去除率分别为 88.25%,94.55%和 95.27%,并得到了该微生物絮凝剂的动力学方程。【结论】紫外诱变技术可以明显提高微生物絮凝剂的絮凝活性,是获得高效微生物絮凝剂产生菌的有效途径。

[关键词] 紫外诱变;微生物絮凝剂;水性油墨废水;动力学方程

[中图分类号] X172;X703 [文献标识码] A [文章编号] 1671-9387(2008)08-0113-06

Mutation breeding of bioflocculant-producing strain with high-efficiency by ultraviolet and its application

WU Huan-li[1], EENG Gui-ying[1], ZHAO Shu-yan[2], ZHANG Xue-feng[1], YANG Na[1]

(1 *Research Centre of Pollution Control Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*;
2 *Department of Resources and Environment Tibet Agricultural and Animal Husbandry College, LinZhi, Tibet* 860000, *China*)

Abstract: 【Objective】 The study was done to provide reference for the application of UV induced mutation technology in environmental engineering. 【Method】 A high efficient bioflocculant strain YB-1 has been obtained by UV induced mutation from an inefficient strain named XL-18. The bioflocculant element was obtained with TLC and analyzed with IR. The sugar content and protein content were analyzed with Phenol-sulfate quantitative analysis and Biuret law. The wastewater of water-based ink was treated by YB-1 to investigate the effects of pH, dose and coagulantaids on flocculation. 【Result】 The flocculant efficiency of YB-1 was 95%. The IR spectrum showed that flocculant YB-1 contains hydroxyl, carboxyl etc. functional groups, total sugar content 6.630 g/L, no proteins. The flocculant consisted of mannose and glucose, as well as other monomers. The removal rate of COD, turbidity and chroma were 88.25%, 94.25% and 95.27 respectively, when pH was 8.0; inoculum was 60 ml/L and 0.5 mol/L $CaCl_2$ as coagulant aid. In addition, the dynamics equation of deposition was deduced. 【Conclusion】 UV induced mutation can improve flocculation activity significantly. It is an effective way to breed bioflocculant-producing strain with high efficiency.

Key words: UV mutagenesis; microbial flocculant; wastewater of wwater-based ink; dynamics

---

* [收稿日期] 2007-08-27
[基金项目] 2006 年第一批中央环境保护专项基金(财建[2006]859 号)
[作者简介] 吴焕利(1982—),男,辽宁黑山人,硕士,主要从事废水生物处理研究。E-mail:li_0854@sina.com.cn
[通讯作者] 冯贵颖(1954—),女,河南沁阳人,教授,硕士生导师,主要从事环境生物技术研究。
E-mail:guiyingfeng545@sina.com.cn

研究表明,目前工业生产及废水处理中所用化学絮凝剂存在潜在的危害[1]。微生物絮凝剂与传统的化学絮凝剂相比,具有高效、无毒、易于生物降解等独特的优点,其主要成分为多糖、蛋白质等[2-3]。自美国科学家 Butterfield 从活性污泥中筛选出絮凝剂产生菌以来,对微生物絮凝剂的研究越来越深入和广泛,特别是上世纪 70 年代以来,美国、日本等国家对微生物絮凝剂进行了大量的研究,取得了重要的研究成果,如 Erythropolis 产絮凝剂已用于畜产废水处理中,并取得了良好效果[4-6],而我国对此方面的研究尚处于实验室阶段。

环境微生物的育种方法,主要有物理诱变、化学诱变和两者复合诱变等[7]。通过诱变育种不仅可以改善菌种特性、提高产品质量,而且还可以开发新品种。目前诱变育种技术已经在环境保护中有所应用[8],但是在微生物絮凝剂中还鲜有报道。作为物理诱变的一种,紫外诱变具有设备简单、效率高、操作简单等优点[8]。本试验以紫外光作为诱变剂,处理本实验室自行筛选的絮凝菌株 XL-18,得到絮凝率高的诱变菌株,并用该菌株制得的絮凝剂处理水性油墨废水,研究 pH、投加量、助凝金属离子种类等对絮凝效果的影响,以期为水性油墨废水的微生物絮凝剂处理提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 菌 株 西北农林科技大学污染控制研究中心自行分离得到的菌株 XL-18。

1.1.2 水性油墨废水 取自西安某水性油墨生产厂。废水的基本性质:pH 13~14;COD 7 000~8 000 mg/L;色度 450~500 倍;浊度 1 800 NTU。

1.2 菌株的诱变[9]

取制备的 XL-18 生理盐水菌悬液 10 mL 移入无菌培养皿中,将培养皿放置于 20 W 紫外灯下 28 cm 处照射,每 5 min 取样 1 次。所有操作均在红灯保护下进行。在红灯保护下取 1 mL 紫外灯照射过的菌液进行不同程度稀释,将最后 3 个稀释度的稀释菌液涂在琼脂平板上,每个稀释度 3 个平行,每个平板加稀释液 0.1 mL,用无菌刮铲涂匀(黑布包好),于 30 ℃下培养 48 h。

1.3 正突变菌株的筛选[9]

挑取单菌落接至斜面培养基培养,待菌长成后,于无菌操作条件下接种至筛选培养基中,于 30 ℃发酵,72 h 后测定絮凝率。

1.3.1 筛选培养基[2] 培养基组成为:葡萄糖 20 g,K_2HPO_4 5 g,KH_2PO_4 2 g,NaCl 0.1 g,$(NH_4)_2SO_4$ 0.2 g,尿素 0.5 g,酵母膏 0.5 g,蒸馏水 1000 mL,pH 7.0,0.06 MPa 下灭菌 15 min

1.3.2 筛选方法[10] 向 100 mL 量筒中加入 95 mL 5 g/L 高岭土(0.246 mm)悬浮液、3 mL 0.5 mol/L $CaCl_2$ 溶液和 2 mL 培养液,摇匀后静置 10 min,用分光光度计在 550 nm 处测定吸光度,以 100 mL 不加培养液的高岭土悬浮液静置 10 min 的上清液为对照,计算诱变菌株的絮凝率:

$$絮凝率/\%=\frac{A_0-A_i}{A_0}\times 100\%。\qquad(1)$$

式中:A_0 为对照上清液的吸光度;A_i 为样品上清液的吸光度。

1.4 微生物絮凝剂的制备及其结构、成分分析

将 1.3 中筛选得到的絮凝活性最高的菌株接种于筛选培养基中,于 30 ℃下培养 48 h 后,取发酵液在 4 ℃、15 000×g 冷冻离心 30 min,去菌体,上清液用蒸馏水透析 24 h(4 ℃),然后加入 2 倍体积无水乙醇,混合均匀,可见到白色棉絮状物结合成团,在 4 ℃下静置过夜。离心(15 000×g 5 min)取沉淀,在蒸馏水中稍加清洗,然后对其进行冷冻干燥,得到絮凝剂粗品。将絮凝剂粗品溶解于蒸馏水中,形成粘稠的无色胶状溶液,15 000×g 下离心 30 min,去除不溶物,再加入 2 倍体积的无水乙醇,混合均匀,静置,离心(15 000×g 5 min)得到沉淀,收集沉淀进行冷冻干燥,将干燥的絮凝剂溶解于蒸馏水中,在 4 ℃下用蒸馏水透析 12 h,然后冷冻干燥,得到纯的微生物絮凝剂,并对其组成及结构进行分析。

用红外光谱分析絮凝剂的官能团,薄层层析分析絮凝剂的组成,苯酚-硫酸法测定絮凝剂的总糖含量[11],双缩脲法测定絮凝剂的蛋白质含量[12]。

1.5 不同因素对微生物絮凝剂絮凝效果的影响

1.5.1 pH 调节水性油墨废水的 pH 分别为 5,6,7,8,9,10 和 11,每 100 mL 废水中加入 5 mL 0.5 mol/L $CaCl_2$ 溶液和 5 mL 1.4 中发酵液,搅拌均匀,沉淀 20 min 后测定上清液的 COD、浊度、色度,计算 COD、浊度、色度的去除率。

1.5.2 发酵液投加量 在 100 mL 水性油墨废水中加入 5 mL 0.5 mol/L $CaCl_2$ 溶液,分别加入 1,2,3,4,5,6,7,8,9 和 10 mL 1.4 中发酵液,则其投加量分别为 10,20,30,40,50,60,70,80,90,和 100 mL/L,沉淀 20 min 后测定上清液的 COD、浊度、色度,计算 COD、浊度、色度的去除率。

1.5.3　助凝剂　取 10 份 100 mL pH 8.0 水性油墨废水,分别加入 5 mL 0.5 mol/L Na^+、K^+、Mn^{2+}、Sn^{2+}、Fe^{2+}、NH^{4+}、Ca^{2+}、Cu^{2+}、Zn^{2+}、Mg^{2+} 溶液作为助凝剂,沉淀 20 min 后测定上清液的 COD、浊度、色度,计算 COD、浊度、色度的去除率。

1.5.4　沉降物体积随时间的变化　取 1 L pH 8.0 水性油墨废水于沉降柱中,加入 50 mL 0.5 mol/L $CaCl_2$ 溶液和 60 mL 1.4 中发酵液,搅拌均匀,每 5 min 测量 1 次沉积物体积,分析沉降物体积随时间的变化规律。

1.6　测定项目及其方法[13]

COD 用重铬酸钾法测定,浊度用 WZS-185 高浊度仪测定,色度用稀释倍数法测定,COD、浊度、色度去除率计算的参考文献[13]的方法进行。

2　结果与分析

2.1　菌株 XL-18 的诱变结果

菌株 XL-18(絮凝率 80%)经过紫外线照射诱变后,筛选得到 20 株絮凝活性较高的正突变菌株(表 1),经过反复筛选,获得 1 株絮凝率达 95.0%的正突变菌株(诱变 5 min),并命名为 YB-1。出发菌株 XL-18 和正突变菌株 YB-1 形态观察结果如表 2 所示。

表 1　20 株正突变菌株的絮凝活性

Table 1　Flocculanting activity of 20 positive mutation strains

菌株编号 Strain number	絮凝率/% Flocculanting rate	菌株编号 Strain number	絮凝率/% Flocculanting rate	菌株编号 Strain number	絮凝率/% Flocculanting rate	菌株编号 Strain number	絮凝率/% Flocculanting rate
Ⅰ-1	84.0	Ⅰ-12	81.0	Ⅱ-1	84.6	Ⅱ-26	90.0
Ⅰ-5	85.0	Ⅰ-13	85.4	Ⅱ-2	86.1	Ⅱ-27	88.0
Ⅰ-6	88.3	Ⅰ-15	81.1	Ⅱ-5	85.5	Ⅱ-28	89.5
Ⅰ-8	84.0	Ⅰ-18	85.6	Ⅱ-14	88.2	Ⅱ-29	86.0
Ⅰ-9	80.2	Ⅰ-20	95.0	Ⅱ-15	86.3	Ⅱ-40	89.8

表 2　出发菌株 XL-18 和正突变菌株 YB-1 的群体形态观察结果

Table 2　Result of modality observation of origination strain XL-18 in with forward mutation strain YB-1

菌株 Strain number	形状 Form	颜色 Color	透明度 Transparence	光泽 Luster	隆起 Uplifted	边缘 Border	表面 Surface
XL-18	圆 Round	微黄 Micro yellow	不透明 Opacification	有 Ens	低凸 Low protruding	整齐 Orderliness	光滑 Ludricity
YB-1	圆 Round	乳白 Opal	半透明 Translucent	有 Ens	凸起 Doming	不整齐 Out of order	粘稠 Mucosity

由表 2 可以看出,与菌株 XL-18 相比,诱变后的菌株 YB-1 菌落表面粘稠,菌落不易挑起,说明菌株 YB-1 的絮凝活性较出发菌株 XL-18 有所增强。

2.2　菌株 YB-1 产微生物絮凝剂的分析

正突变菌株 YB-1 产微生物絮凝剂的红外光谱图如图 1 所示。由图 1 可知,由正突变菌株 YB-1 制备的微生物絮凝剂化学官能团特征吸收峰分别为 3 440.36,2 923.56,2 845.69,1 646.26,1 299.30,1 122.91 cm^{-1},处于 3 440.36 cm^{-1} 处峰为一宽吸收峰,是多聚－OH 振动的结果;2 923.56 cm^{-1} 处小吸收峰是糖类 C－H 伸缩振动的结果;2 845.69 cm^{-1} 处的小吸收峰是－CH_2－伸缩振动的结果;1 646.26 cm^{-1} 处的吸收峰是由于 C＝O 伸缩振动所致;1 299.30 cm^{-1} 处的吸收峰是－COOH 振动的结果;1 122.91 cm^{-1} 处的吸收峰是糖或其衍生物的吸收峰。根据红外光谱分析[14]可知,该微生物絮凝剂含有羟基、羧基等官能团。

经苯酚-硫酸法检测可知,正突变菌株 YB-1 产微生物絮凝剂含有大量的糖,总糖含量为 6.630 g/L;双缩脲法未检测到蛋白质存在。YB-1 微生物絮凝剂经水解、薄层色谱分离后[14],与标准单糖相比,其含有葡萄糖和甘露糖。

综合以上分析结果可知,该微生物絮凝剂是以葡萄糖和甘露糖为主要单体组成的多糖,富含羟基和羧基。

2.3　不同因素对菌株 YB-1 产微生物絮凝剂絮凝效果的影响

水性油墨废水是水性油墨生产和使用过程中产生的高色度、高浊度、强碱性废水。将正突变菌株 YB-1 产微生物絮凝剂用于水性油墨废水的处理,探讨絮凝体系 pH、YB-1 发酵液投加量、助凝剂等因素对絮凝效果的影响。

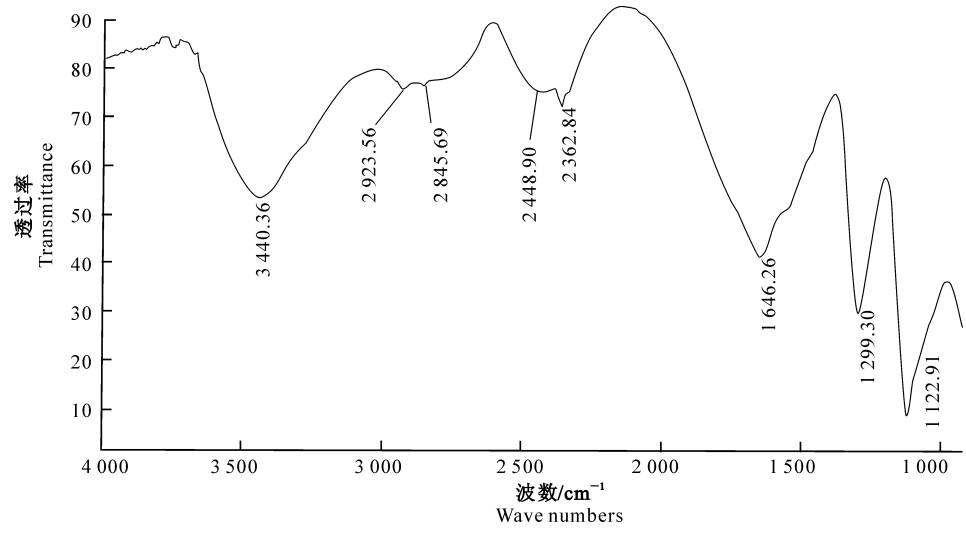

图 1 菌株 YB-1 产微生物絮凝剂的红外光谱

Fig. 1 Infrared spectrum of microbial flocculants YB -1

2.3.1 pH 对絮凝效果的影响 pH 是影响微生物絮凝剂絮凝效果的一个重要因素,因为 pH 的变化会改变生物聚合体的带电状态和中和电荷的能力,以及絮凝物质的颗粒表面性质[15]。图 2 显示,随着絮凝体系 pH 升高,水性油墨废水 COD 去除率基本呈下降趋势。当 pH 5～11,COD 去除率为 75%～90%。随着 pH 的升高,废水的浊度和色度去除率均呈先快速升高后缓慢降低的变化趋势,且在 pH 为 8.0 时达到最大值(分别为92.3%和 94.1%)。综合考虑选择 pH 8.0 为最佳絮凝 pH。

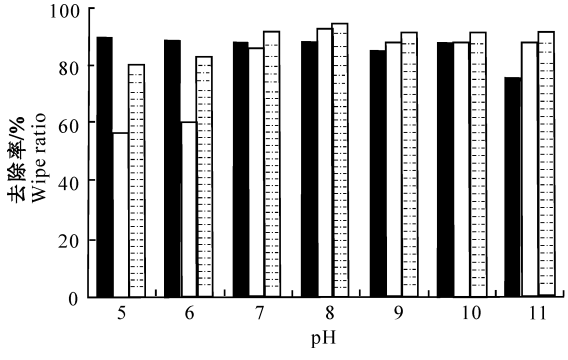

图 2 pH对菌株YB-1产微生物絮凝剂絮凝效果的影响

■.COD; □.浊度; ⊟.色度

Fig.2 Effect of pH on flocculantion by YB-1 flocculantion

■ .COD; □ .Turbidity; ⊟ .Colority

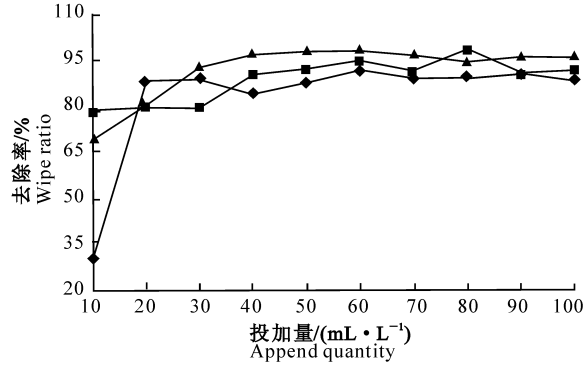

图 3 菌株YB-1发酵液投加量对絮凝效果的影响

—◆— .COD; —■— .浊度; —▲— .色度

Fig.3 Effect of YB-1 biofloculant dose on flocculantion

—◆— .COD; —■— .Turbidity; —▲— .Colority

2.3.2 菌株 YB-1 发酵液投加量对絮凝效果的影响 图 3 显示,菌株 YB-1 发酵液投加量为 10～20 mL/L 时,COD 去除率迅速升高;投加量为 20～40 mL/L 时,COD 去除率略有下降,之后缓慢升高;当投加量为 60 mL/L 时,COD 去除率最高,达 91.6%;但絮凝剂投加量超过 60 mL/L,COD 去除率降低。究其原因可能是因为该微生物絮凝剂本身由多糖组成,具有很高的 COD。絮凝效果随着絮凝剂投加量的增加而增大,当用量达到一定值时出现峰值,继续增加投加量,絮凝效果下降[16]。菌株 YB-1 发酵液投加量为 10～60 mL/L 时,水性油墨废水的色度去除率逐渐增加,当投加量为 60 mL/L 时达最大值,为 97.8%,之后略有降低;投加量为 10～30 mL/L 时,浊度去除率保持平稳,当投加量为 30～80 mL/L 时,浊度去除率缓慢增加,当投加量为 80 mL/L 时,浊度去除率最高,为97.8%,之后呈下降趋势。综合考虑投加量以 60 mL/L 为宜。

2.3.3 助凝剂对絮凝效果的影响 表 3 表明,Na^+、K^+、Sn^{2+}、NH_4^+、Mg^{2+}离子无助凝效果;Fe^{2+}和 Zn^{2+}离子的浊度和色度去除率均在 75%以上,但 COD 去除率较低;添加 Mn^{2+}、Ca^{2+}、Cu^{2+}离子的絮凝效果较好,对水性油墨废水的浊度和色度去除率

均在 90%以上,其中以 Cu^{2+} 作为助凝剂处理水性油墨废水后,其上清液清澈、透明,浊度和色度非常低(COD、浊度和色度的去除率分别为 89.18%,99.20%和 99.20%),添加 Ca^{2+} 离子的效果次之(COD、浊度和色度的去除率分别为 88.25%,94.55%和 95.27%)。考虑 Cu^{2+} 离子会带来二次污染,因此选择 Ca^{2+} 作为助凝剂。

表 3　不同助凝剂对菌株 YB-1 产微生物絮凝剂絮凝效果的影响

Table 3　Effect of different coagulant aids on flocculation by YB -1bioflocculant

金属离子 Metal ion	去除率/% Wipe ratio			金属离子 Metal ion	去除率/% Wipe ratio		
	COD	浊度 Turbidity	色度 Colority		COD	浊度 Turbidity	色度 Colority
Na^{+}	—	—	—	NH_4^{+}	—	—	—
K^{+}	—	—	—	Ca^{2+}	88.25	94.55	95.27
Mn^{2+}	81.25	93.46	95.13	Cu^{2+}	89.15	99.20	99.20
Sn^{2+}	—	—	—	Zn^{2+}	15.27	88.45	94.76
Fe^{2+}	20.67	77.27	89.88	Mg^{2+}	—	—	—

2.3.4　沉降物体积随时间的变化　向水性油墨废水中投加 YB-1 产微生物絮凝剂后,观察到大量的细小矾花迅速产生,小矾花经相互碰撞,结合成较大的矾花下沉,在下沉淀过程中,矾花快速长大,形成粗大的絮体,沉速加快。

图 4 显示,沉积物体积随时间的变化趋势类似于双曲线图形,故可用下面的公式拟合试验数据[17]:

$$\frac{V_t}{V_0}=1-\frac{t}{a+bt}。\tag{2}$$

式中:t 为水性油墨废水静置时间(min);V_0 为初始体积(mL),V_t 为静置 t 时间的沉积物体积,a、b 为拟合参数。

从式(2)可知,当 t 趋于无穷大时,$\frac{V_t}{V_0}=1-\frac{1}{b}$。因此,参数 b 可用来反应絮凝沉降的快慢,b 的绝对值越小,颗粒絮凝沉降越快。

式(2)可改为下面的形式:

$$\frac{1}{1-\frac{V_t}{V_0}}=\frac{a}{t}+b。\tag{3}$$

将 $\frac{1}{1-\frac{V_t}{V_0}}$ 和 $\frac{1}{t}$ 进行线性拟合,求拟合参数 a 和 b,拟合结果如图 5 所示。

从图 5 可知,用式(3)拟合的沉降动力学相关系数 R 为 0.984 5,大于"相关系数检验表"中的对应值(0.872 1)[18],信度 $\alpha=0.001$,即有 99.9%的可信度,表明用双曲线拟合沉降试验数据是可靠的。菌株 YB-1 产微生物絮凝剂的沉降动力学方程为:

$$V_t=V_0\left(1-\frac{t}{92.122-1.134\ 8t}\right)。\tag{4}$$

式中:t 为静置时间(min);V_t 和 V_0 分别为静置 t 时间沉积物体积和原始体积。由式(4)可知,沉降物体积达到絮凝体系一半的时间为 29.4 min,这为水性油墨废水的微生物絮凝剂处理提供了参考依据。

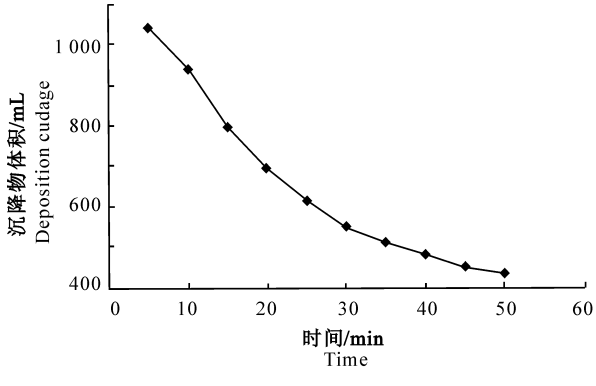

图 4　沉降物体积随时间的变化

Fig. 1　Effect of time on deposition volume

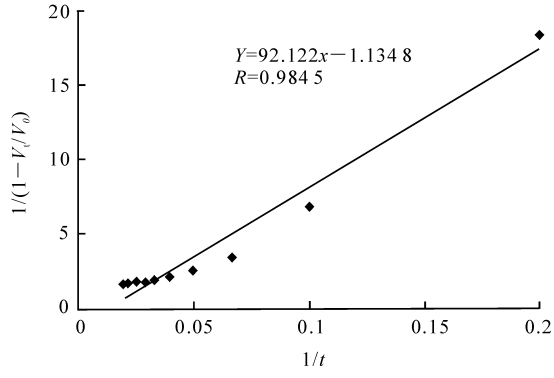

图 5　$1/(1-V_t/V_0)$ 与 $1/t$ 的关系曲线

Fig. 5　Relationship between curve $1(-1V_t/V_0)$ and $1/t$

3　结　论

(1)絮凝剂产生菌 XL-18 经过紫外诱变得到絮凝活性高的菌株 YB-1,絮凝率由 80%提高到 95.0%。

(2)菌株 YB-1 产微生物絮凝剂含有羟基、羧基

等官能团,是以葡萄糖和甘露糖为主要单体组成的多糖,总糖含量为6.630 g/L,不含蛋白质。

(3)用菌株YB-1产微生物絮凝剂处理水性油墨废水时,当废水pH为8.0,絮凝剂投加量为60 mL/L,添加0.5 mol/L $CaCl_2$溶液为助凝剂,水性油墨废水的COD、浊度、色度的去除率分别可以达到88.25%,94.55%,95.27%。

(4)菌株YB-1产微生物絮凝剂的沉降动力学方程为$V_t=V_0(1-\frac{t}{92.122-1.1348t})$。

[参考文献]

[1] Salehizadeh H, Shojaosadati S A. Extracelllular biopolymeric flocculants recent trends and biotechnological importance [J]. Biotechnology Advances, 2001, 19(5): 371-385.

[2] 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.
Yang Z H, Tao R, Zeng G M. Culture medium and grading culture technics for bioflocculant production by *Paennibacillus polymyxa* GA1 [J]. Environmental Science, 2006, 27(7): 1444-1449. (in Chinese)

[3] Kumar C, Joo H S, Choi J W, et al. Purification and characterization of an extra cellular polysaccharide from haloalkalophilic *Bacillus sp* Ⅰ-450[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2004, 34: 673-681.

[4] Ryuichiro, Kurane. Sereening for and characteristics of microbial flocculants [J]. Agric Biol Chem, 1986, 50(9): 2301-2307.

[5] Suh H H, Kwon G S, Lee C H, et al. Characterization of bioflocculant produced by *Bacilus sp*. Dp-152 [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1997, 84(2): 108-112.

[6] Toloi H. Flocculation properties of poly (gamma glutamic acid) produced by *Bacillus* [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1996, 82(1): 84-87.

[7] 李永峰,李建政,任南琪. 发酵产氢细菌的紫外诱变筛选高产菌株 [J]. 化工学报, 2004(增刊): 119-121.
Li Y F, Li J Z, Ren N Q. Selection of high efficiency hydrogen-producing strains of anaerobes by ultra-violet radiation [J]. Journal of Chemical Industry and Engineering, 2004(Suppl): 119-121. (in Chinese)

[8] 陈 林,黄绍勇. 紫外诱变菌株去除废电解液中Cu^{2+}的实验研究 [J]. 铸造技术, 2003, 24(6): 553-555.
Chen L, Huang S Y. Experimental study on UV-induced mutation for removeal of Cu^{2+} from waste electrolyte [J]. Foundry Technology, 2003, 24(6): 553-555. (in Chinese)

[9] 沈齐英,刘 录,申林波. 紫外诱变选育高效降酚微生物 [J]. 环境科学与技术, 2004, 27(1): 82-84.
Shen Q Y, Liu L, Shen L B. Breed of phenol-degrading microorganism with Uviolized induced mutation [J]. Environmental Science and Technology, 2004, 27(1): 82-84. (in Chinese)

[10] 王正林,冯贵颖,岳晓勤,等. 絮凝剂产生菌的筛选及产生絮凝剂的影响因素研究[J]. 西北农林科技大学:自然科学版, 2003, 31(2): 99-104.
Wang Z L, Feng G Y, Yue X Q, et al. Screening of flocculant-producing microorganisms and studying on the effective factors [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2003, 31(2): 99-104. (in Chinese)

[11] 张 继,高义霞,武光朋,等. 沙蒿多糖的提取、纯化工艺研究 [J]. 食品科学, 2007, 28(5): 125-127.
Zhang J, Gao Y X, Wu G P, Study on technology of extracting and purifying *Artemisia sphaerocephala krasch* polysaccharides [J]. Food Science, 2007, 28(5): 125-127. (in Chinese)

[12] 鲁 伟,任国谱,宋俊梅. 蛋白水解液中多肽含量的测定方法 [J]. 食品科学, 2005, 26(7): 169-171.
Lu W, Ren G P, Song J M. Determination of content of peptides in protein hydrolysates [J]. Food Science, 2005, 26(7): 169-171. (in Chinese)

[13] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京:中国环境科学出版社, 2002.
Main Office National Environmental Protection. Water and exhausted water monitoring analysis method [M]. 4th Edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002. (in Chinese)

[14] 周 乐. 有机化学实验 [M]. 西安:世界图书出版公司, 2007.
Zhou L. Organic chemistry experimentation [M]. Xi'an: World Books Publish Corp, 2007. (in Chinese)

[15] 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, 2003, 22(6): 582-587.
Yin H, Yu L P, Peng H. Study on flocculant produced *Azotobacter* J-25 by using glutamic acid wastewater [J]. Environmental Chemistry, 2003, 22(6): 582-587. (in Chinese)

[16] 康 茹. BFA-60微生物絮凝剂絮凝效果实验研究 [J]. 安全与环境工程学报, 2004, 4(5): 84-86.
Kang R. Analysis of flocculation effect of bioflocculant BFA-60 [J]. Journal of Safety and Environment, 2004, 4(5): 84-86. (in Chinese)

[17] 张志强,林 波,夏四清. 复合菌群的构建及其所产微生物絮凝剂的动力学研究 [J]. 环境工程学报, 2007, 1(1): 74-77.
Zhang Z Q, Lin B, Xia S Q. Construction of multiple microorganisms and flocculating kinetics of microbial flocculants produced by them [J]. Journal of Environmental Engineering, 2007, 1(1): 74-77. (in Chinese)

[18] 郑少华,姜奉华. 实验设计与数据处理 [M]. 北京:中国建材工业出版社, 2004.
Zheng S H, Jiang F H. Experimental design and data processing [M]. Beijing: China Building Materials Industry Press, 2004. (in Chinese)