第 25 卷第 11 期
2005 年 11 月

环 境 科 学 学 报
Acta Scientiae Circumstantiae

Vol. 25 ,No. 11
Nov. , 2005

马 放,张金凤,远立江,等. 复合型生物絮凝剂成分分析及其絮凝机理的研究 [J]. 环境科学学报,2005,25(11):1491 - 1496
MA Fang, ZHANG Jinfeng, YUAN Lijiang, *et al*. Flocculating mechanism and ingredient analysis of compound bioflocculant [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005,25(11):1491 - 1496

复合型生物絮凝剂成分分析及其絮凝机理的研究

马 放*,张金凤,远立江,王 微,王 琴,王爱杰

哈尔滨工业大学 市政环境工程学院,哈尔滨 150090

收稿日期:2005-03-21 **修回日期**:2005-08-23 **录用日期**:2005-09-08

摘要:蒽酮反应、考马斯亮蓝、紫外扫描等测定结果表明,絮凝剂 CBF 的主要成分为多糖类物质. 红外光谱扫描分析 CBF 中含有羧基,分别以 —COO^- 和 COOH 的形式存在. 用凝胶色谱柱测其相对分子量为 10^5～10^6. Zeta (ξ) 电位测定及氢键和离子键检验结果表明,CBF 与高岭土等无机颗粒之间的作用力为离子键,絮凝过程中存在架桥作用. 利用原子力显微镜观察其絮凝形态发现絮体结构密实,有利于絮体沉降. 其絮凝机理为絮凝剂和高岭土以离子键的形式结合,之后通过架桥作用絮凝沉淀.

关键词:微生物絮凝剂; 絮凝; 多糖; 絮凝机理; 吸附架桥

文章编号:0253-2468(2005)11-1491-06 **中图分类号**:X703.5 **文献标识码**:A

Flocculating mechanism and ingredient analysis of compound bioflocculant

MA Fang*, ZHANG Jinfeng, YUAN Lijiang, WANG Wei, WANG Qin, WANG Aijie

School of Municipal & Environmental Engineering, Haerbin Institute of Technology, Harbin 150090

Received 21 March 2005; **received** in revised form 23 August 2005; **accepted** 8 September 2005

Abstract: Compound bioflocculant (CBF) is mainly composed of polysaccharide, which is determined by Anthrone reaction, Coomassie blue reaction and ultraviolet spectroscope method. CBF contains carboxyl, which is determined by Infrared spectra. Distributing of molecular weight of purified CBF is from 10^5 to 10^6, which is determined by gelatin chromatogram. The acting force between CBF and the inorganic including kaolin is electrovalent bond, which is determined by Zeta (ξ) electric potential, hydrogen bond and electrovalent bond test. And bridge occur during flocculation process. Floc structure is dense and beneficial to flocculating. The results showed that the flocculating mechanism of CBF resulted from the combination of kaolin suspending solution with CBF by electrovalent bond.

Keywords: compound bioflocculant; flocculation; polysaccharide; flocculating mechanisms; bridge and adsorption

1 前言(Introduction)

复合生物絮凝剂具有用量少、高效、无毒、絮凝效果好等特点,对一些工业废水、河水、泥浆废水等具有良好的絮凝效果,开发应用前景广阔(马 放,2004;Ma *et al*.,2004;马 放等,2003). 其内涵包括两个方面,一是以廉价的秸秆类纤维素等多种有机废物作为制备生物絮凝剂的原料,利用微生物混合效应(Raichur *et al*.,1996;Liu *et al*.,2002;Nakaura *et al*.,1976)把几种微生物进行恰当地组合. 筛选和驯化产絮菌,构建高效复合型产絮菌群,充分利用底物,实现絮凝物质产量最大化. 二是根据处理对象的不同,采用不同的复合方式,生产出高效、稳定的生物絮凝剂.

国外在微生物絮凝剂絮凝机理方面,目前只是提出了一些假说,如电中和作用、架桥学说(Raichur *et al*.,1996;Liu *et al*.,2002)、Butterfield 粘质假说、Friedman 菌体外纤维素行为学说、离散细胞和伸展桥键之间的三维基质模型假说(Nakaura *et al*.,1976)、病毒假说等(张润通等,1996). 国内中国科学院刘紫鹃等人(2001)从活性污泥里筛选得到一株巨大芽抱杆菌(*Bacillusmegaterium*) A25,他们认为它的主要絮凝机理为吸附架桥,并认为该絮凝剂分子量大,富含 —OH 以及多分支结构是其具有较强絮凝活性的原因. 陶涛等人(2001)对普鲁兰的结构分析表明该微生物絮凝剂为出芽短梗霉(*Aureobasidium*

基金项目:国家重点基础研究计划项目(973)(No. 2004CB418505);哈尔滨市科委科技攻关项目(No. 2004AA4CS048)
作者简介:马 放(1963—),男,教授(博士),E-mail: mafang@hit.edu.cn; *通讯作者(责任作者)
Foundation item: National Basic Research Program of China (No. 2004CB418505); Harbin Science and Technolgy Project (No. 2004AA4CS048)
Biography: MA Fang (1963—), male, professor (Ph. D.), E-mail: mafang@hit.edu.cn; * **Corresponding author**

pullulants)胞外所产生的粘性多糖大分子,邓述波等人(2001a;2001b)分离得到的微生物絮凝剂产生菌A9,秦培勇等人分离得到的微生物絮凝剂MBFTRJ21,主要活性成分为蛋白质和糖胺(秦培勇等,2004),对絮凝机理的解释均为分子吸附架桥,只是在絮凝过程中起作用的高分子物质不同.由于微生物絮凝剂的组成、结构比较复杂,所以对于同一应用体系,不同微生物絮凝剂有不同的作用机制(Sponza,2003).因此,为使微生物絮凝剂CBF产业化生产和利用,对CBF絮凝机理进行了深入的研究,同时,为将来完善微生物絮凝剂絮凝机理提供依据与参考.

本文利用开发的微生物絮凝剂CBF,以自配的高岭土水为絮凝对象探讨其絮凝机理.

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 菌种

采用两株高效菌株利用微生物混合效应进行复配,其中两株菌均为芽孢杆菌属.

2.2 主要仪器与设备

主要仪器设备有:紫外光栅分光光度计(752),原子力显微镜(SPM-9500J3),Zeta电位仪(300HS),垂直流超净工作台(ZHJH-1109),全自动压力蒸汽灭菌器(8037-SGS超型),生化培养箱(HPS-250),恒温水浴锅(DK-98-I型),电热鼓风干燥箱(DHG-9053A型),恒温空气浴振荡器(ZHWY-2112B),高速台式离心机(TGL-16G),低速大容量离心机(DL-5),TH6系列程控混凝试验搅拌仪及其它微生物培养器材等.

2.3 实验方法

2.3.1 絮凝活性测定方法

取5 g高岭土加至1000 mL的烧杯中,然后依次加入自来水1000 mL,10 %的$CaCl_2$溶液1.0 mL和10 mL CBF发酵液,并且调节溶液pH至7.2,之后将烧杯溶液放在搅拌仪上搅拌(快搅,慢搅)使之充分混合,静置20 min后于550 nm处测定吸光度(B).以蒸馏水代替培养液作对照空白,550 nm处测定吸光度(A).絮凝活性(以絮凝率表示)计算如下:$F = (B - A)/B \times 100\ \%$.

2.3.2 絮凝活性分布实验

取CBF的发酵液一定量,于5000 r·min^{-1}离心20 min,留上清液备用.菌体细胞以蒸馏水洗涤两次后,将离心后得到的菌体细胞定容至原发酵液体积大小,制成细胞悬浮液.按2.3.1节的方法分别测定发酵原液(含细胞)、上清液以及细胞悬浮液的絮凝活性.

2.3.3 絮凝剂的提取及性质的测定

1) 絮凝剂的制备、提取及纯化 发酵投加菌株见2.1节,发酵过程在30 ℃,140 r·min^{-1}的旋转式摇床上进行,发酵周期是48 h.发酵结束后,用转速约为5000 r·min^{-1}的高速离心约30 min.除去菌体(沉淀),浓缩(超滤,减压)上清液.再向浓缩液中加入其体积2～3倍的预冷乙醇使絮凝剂沉淀.将沉淀用乙醇(乙醚)稀释2～3次,然后将其真空干燥5～6 h,即得絮凝剂粗品.

2) 絮凝剂CBF的成分分析 将絮凝剂粗品分别用紫外扫描测定蛋白质、核酸;考马斯亮蓝法测定蛋白质(陈 曾等,1994);用苯酚-浓硫酸方法测定多糖(张惟杰,1987);通过胃蛋白酶和胰蛋白酶进一步测定蛋白质(何 宁等,2002);用红外光谱扫描分析CBF中的特征基团;用凝胶色谱柱测其分子量分布.

2.3.4 絮凝过程Zeta(ξ)电位的测定

称取5 g高岭土加入到1000 mL的自来水中,向其中加入CBF发酵液10 mL、$CaCl_2$溶液1 mL(10 %,质量比),加NaOH溶液(2 mol·L^{-1})调pH至7.2,搅拌,静置20 min后用Zeta电位仪测定混合液的ξ电位.为了考证复合型生物絮凝剂的作用,同时对未加生物絮凝剂而经过混凝处理的高岭土溶液原样及絮凝剂进行ξ电位测定.根据Smoluchowski公式电泳速度与电动电位(ξ电位)有如下关系:

$$\xi = 4\pi\eta u/DE \times 300^2$$

式中,ξ为电动电位(mV),η为液体粘度(Pa·s),u为电泳速度(μm/s),D为液体的介电常数,E为电位梯度(电极两端电位差除其长度,V/cm).

2.3.5 絮凝剂热稳定性的测定

将离心去除菌体的培养液置于高压锅中在121 ℃灭菌20 min,之后按2.3.1节的步骤测定其絮凝活性.

2.3.6 絮凝剂与高岭土颗粒之间结合键检验

分别用2 mol·L^{-1} EDTA、4 mol·L^{-1} HCl和5 mol·L^{-1}尿素处理絮凝沉淀,轻轻摇匀,静置一段时间后观察实验现象.

2.3.7 絮凝颗粒的形态分析

配制高岭土水溶液(5 g高岭土加入到1000 mL的水溶液中),去除上清液.将沉淀物倒置光滑的载玻片上,自然干燥.此外,向配制的高岭土水溶液中加入10 mL的絮凝剂CBF,再加入$CaCl_2$,并且用

NaOH 调节 pH 值,静置 20 min 后,去除上清液,将沉淀物倒置光滑的载玻片上,然后在室温下风干,利用原子力显微镜观察两种絮凝形态.

3　结果(Results)

3.1　絮凝活性比较

CBF 发酵原液,上清液,细胞悬浮液 3 者的絮凝率测定结果见图 1.

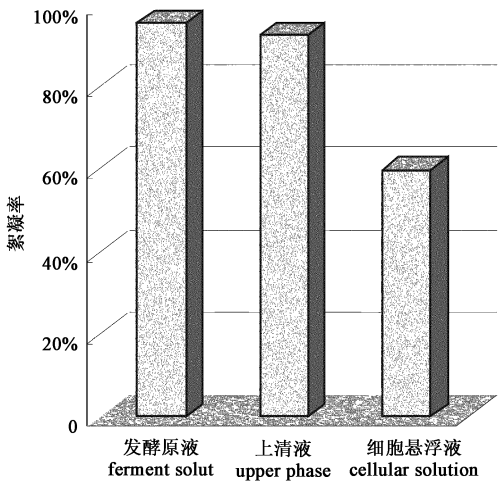


图 1　絮凝活性分布图

Fig. 1　Distributing of flocculating activity

由图 1 可知,发酵原液活性最高,为 96.61 %.分别高出上清液、细胞悬浮液为 1.91 %、35.53 %,通过絮凝率的测定上清液的絮凝率很高,表明絮凝活性物质主要存在于上清液中,CBF 是利用微生物细胞代谢产物的絮凝剂.而细胞悬浮液絮凝的效果较低(相对絮凝剂的效果),表明絮凝菌产生的胞外物大部分分泌至胞外液中.因此,在后续的实验中,以发酵上清液为对象,来研究生物絮凝剂的分离纯化.

3.2　CBF 的成分分析

3.2.1　紫外扫描分析

CBF 的上清液的紫外扫描结果见图 2.由图 2 可知,曲线为一平滑曲线,没有特征吸收峰(蛋白质在 280 nm 有吸收峰,核酸在 260 nm 有吸收峰),说明絮凝剂中几乎不含有核酸和蛋白质.因此,可以定性地判断该絮凝剂的有效成分不是蛋白质或核酸.

3.2.2　生化反应分析

考马斯亮蓝实验测定絮凝剂中蛋白质质量分数为 1.86 %,结果表明在 CBF 中蛋白质含量很低,与紫外扫描结果相符;通过硫酸-苯酚方法测定多糖质量分数很高,为 85.82 %.因此说明该絮凝剂的主要成分为多糖.

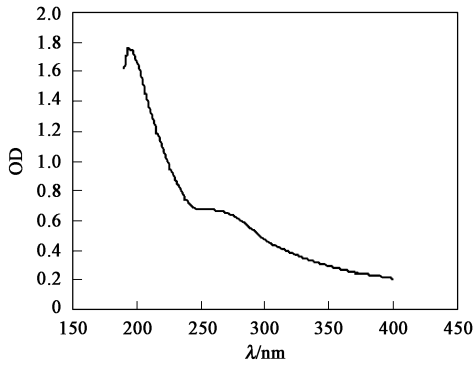


图 2　紫外扫描图

Fig. 2　ultraviolet spectroscope of CBF

尽管前述实验已经表明 CBF 的主要组分是糖而非蛋白质,但是,为了完全排除含有的少量的蛋白质是否与多糖相藕联形成糖蛋白结构,向生物絮凝剂中加入了胃蛋白酶和胰蛋白酶,于 37 ℃作用 24 h,絮凝活性几乎没有改变(见表 1).同时加入蛋白质变性剂(8 mol·L^{-1}尿素)结果表明对絮凝剂絮凝活性也几乎没有任何影响.由此表明,CBF 中所含有的少量蛋白质并非絮凝剂的活性成分.

表 1　蛋白酶对 CBF 絮凝活性的影响

Table 1　Effect of protease on flocculating activity of CBF

蛋白酶种类	处理时 pH	絮凝率
胰蛋白酶(trypsin) ①	8.0	95.3 %
胃蛋白酶(pepsin) ①	2.5	93.2 %
对照(comparison) ②	8.0	96.2 %
	2.5	94.8 %

①蛋白酶反应温度为 37 ℃;酶浓度为 1 mg·L^{-1}. ②没有添加蛋白酶的发酵液.

3.2.3　红外光谱扫描结果

将 CBF 提纯后进行红外光谱扫描,结果见图 3.

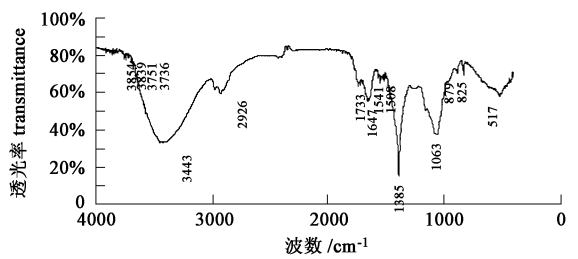


图 3　CBF 的红外光谱图

Fig. 3　Infrared spectra of CBF

图 3 的谱图是较为典型的多糖红外光谱图,2926 cm^{-1}是 C—H 不对称伸缩振动的结果,此区域的吸收峰是糖类的特征峰.1647 cm^{-1}是由于多糖中

的乙酰氨基(—NHCOCH$_3$) 的 C═O 键伸缩振动造成的. 1541 cm^{-1}和 1508 cm^{-1}处的峰为 N —H 的变角振动,此峰说明多糖中的 —NH —是乙酰化的. 3443 cm^{-1}处的强而宽吸收峰是分子内的 —OH 伸缩振动所导致形成的. 1733 cm^{-1}为 —COOH 中的 C═O 键伸缩振动的结果. 1385 cm^{-1}处为羧基 —COO$^-$ 中的 C═O 对称伸缩振动. 1063 cm^{-1}的强吸收峰是酯内的 C —O —C 反对称伸缩振动吸收谱带. 879 cm^{-1}为呋喃糖或羟基呋喃环的吸收峰(为 B 型) ,是由环和取代基的伸缩振动及次甲基的横向振动所致. 因此,可以判断 CBF 中含有羧基,分别以 —COO$^-$ 和 COOH 的形式存在. 此外,将 CBF 溶液摊放在平板玻璃片上,使其干燥成膜,结果发现,形成的薄膜韧性很强,从某种程度上表明 CBF 的链型为线性(胡筱敏等, 2001) .

3.2.4 CBF 的分子量分布

将 CBF 纯品溶解于蒸馏水中,用凝胶色谱柱测其分子量分布如图 4.

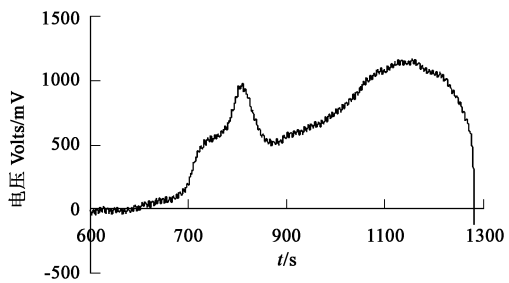


图 4 CBF 凝胶色谱测定结果

Fig. 4 Results of gel permeation chromatograph of purified CBF

由图 4 可知,CBF 纯品的分子量出峰比较单一,分子量分布较窄,表明其大分子物质的分子量接近. 用 GPC(凝胶渗透色谱,gel permeation chromatography, GPC) 可以直接测定淋出液中聚合物的重均分子量,这是一种测定绝对分子量的方法. 对于分散性样品,只要测出 GPC 谱图,就可以根据图计算样品的分子量. 根据图 4,计算 CBF 的重均分子量,结果只得到一个数值,再次说明 CBF 的主要成分是一类分子量相近的物质,其重均相对分子量为 4.79 ×10^5. 用 Sephadex G-100 凝胶色谱测得生物絮凝剂 REA-11 的分子量约为 10^5 (He *et al*., 2002) ,与 CBF 的分子量相近.

3.3 絮凝剂热稳定性

生物絮凝剂与无机或是有机絮凝剂相比虽然有很多优势,但由于组成不同,往往有些热稳定性较差,为生产利用、储存带来了诸多不便. 为考证 CBF 热稳定性,将液态 CBF 在 121 ℃灭菌 20 min,测定其絮凝率,并与未灭菌的絮凝剂进行比较,结果见图 5.

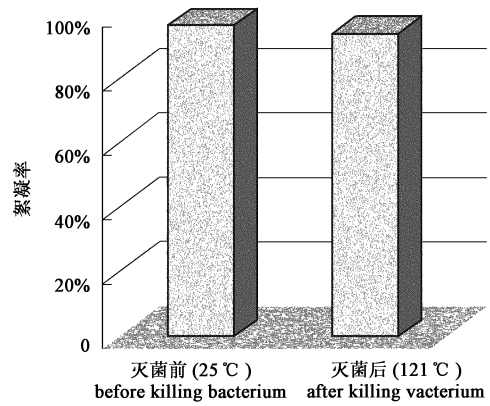


图 5 温度对絮凝效果的影响

Fig. 5 Effect of temperature on flocculating activity

由图 5 可知,与未经过灭菌处理的发酵液相比,絮凝率仅下降了 2.3 %,说明 CBF 具有良好的热稳定性. 这一结果也进一步说明该絮凝剂中絮凝作用不是由菌体细胞产生的,这同时也与絮凝剂的主要有效成分是多糖类物质相符合. 这一性质将有利于有效成份的提取、纯化,为 CBF 产业化生产、利用的安全性提供了保障.

3.4 絮凝过程与 Zeta(ξ)电位的关系

对高岭土原液、微生物絮凝剂及其絮凝后的高岭土溶液进行 Zeta(ξ)电位分析,结果见表 2.

表 2 CBF、高岭土原液及其絮凝后的高岭土溶液的电动电位

Table 2 Zeta-potential of CBF, kaolin suspending solution and kaolin suspending solution with CBF

样品名称	ξ电位/mV
高岭土原液(kaolin suspending solution)	- 49.6
微生物絮凝剂(compound bioflocculant)	- 25.7
投加絮凝剂后的高岭土溶液 (kaolin suspending solution with CBF)	- 13.3

由 ξ电位的测定可知,高岭土颗粒与生物絮凝剂在水中都带负电,它们之间存在较大的静电斥力. 这就需要某些特殊的作用力来克服 CBF 与高岭土颗粒之间的静电排斥力. 由于絮凝剂能压缩高岭土颗粒表面双电层,使其 ξ电位降低,从而使胶粒的斥力势能减小,引力势能逐渐大于斥力势能,造成胶粒的稳定性下降,形成沉淀;在絮凝效果达到最佳时,混凝溶液的 ξ电位仍为负值说明在混凝溶液中除静电排斥外,还有某种特殊的吸附作用. 根据测定

结果,推测这种特殊的吸附作用可能是絮凝剂和高岭土之间形成了离子键.

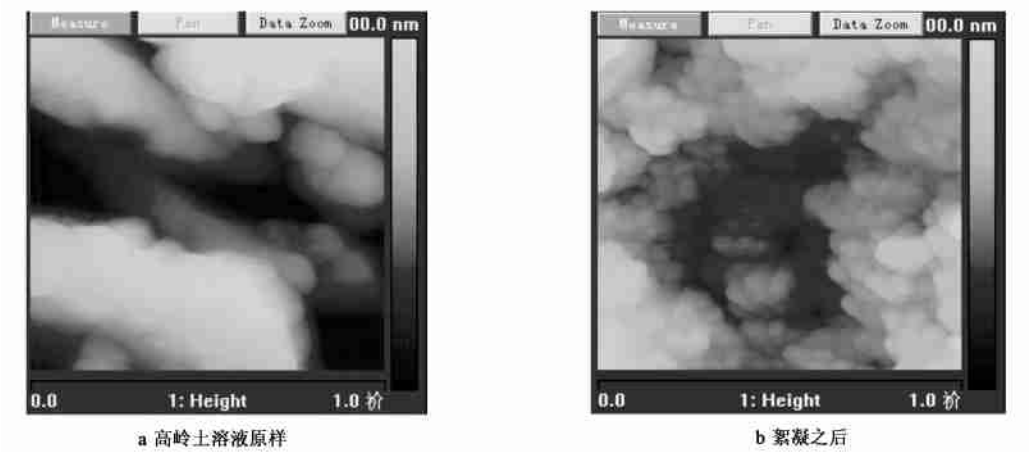
3.5　絮凝剂与高岭土颗粒之间结合键检验

为了验证特殊吸附作用的存在,对 CBF 的絮凝沉淀物结合键进行了检验.实验现象是:加入 EDTA 和 HCl 的絮凝沉淀中絮块大量分解,加入尿素的絮凝沉淀无明显的解絮现象.

由此现象可知,絮凝沉淀对 EDTA 和 HCl 非常敏感,而对尿素不敏感,可以推测絮凝剂与高龄土之间的结合可能是靠离子键结合的.因为尿素可以和高岭土之间形成氢键,而 EDTA 和 HCl 能强烈的与高岭土结合而破坏离子键,使沉淀发生解絮现象.

3.6　絮凝前后高岭土形态结构的变化

高岭土和经絮凝后高岭土的原子力显微镜照片见图 6.



a 高岭土溶液原样　　b 絮凝之后

图 6　高岭土悬液与絮凝后的高岭土溶液原子力显微镜照片

Fig. 6　SEM Photograph of kaolin solution and kaolin solution with CBF (in the range of 1 μm)

由图 6 可知,在同样条件下,絮凝前高岭土同无机盐的结合松散且不规则;絮凝后,絮凝剂以球状与无机颗粒(包括高岭土颗粒)紧紧地包埋并交织在一起,结构密实、稳定.在絮凝过程中,每个絮凝剂分子可以和多个高岭土颗粒结合,而一些颗粒可以同时和不同的絮凝剂分子结合,这样便形成了架桥作用,从而形成大颗粒迅速沉降下来.

4　讨论 (Discussion)

由于 CBF 絮凝活性物质是其胞外分泌的多糖类物质.当 CBF 进入水中时,由于胞外多糖的负电性使其在水中将长链充分伸展,这将有利于微生物絮凝剂的絮凝活性的提高.高岭土颗粒表面与微生物絮凝剂带同种电荷,这使胶体颗粒与 CBF 细胞之间产生排斥力.与之相矛盾的是微生物絮凝剂分子链很长且与胶体颗粒及微生物絮凝剂之间存在着特性吸附及范德华力的作用.前者使微生物絮凝剂与颗粒相分离,后者则使胶体颗粒接触到微生物絮凝剂后有可能粘附在絮凝剂高分子上.通过红外光谱扫描得到,CBF 含有大量的 $-COO^-$ 基团,絮凝剂 CBF 由于 $-COO^-$ 基的静电斥力作用,分子链具有较好的伸展性.分子中存在羧基等基团,增加絮凝剂分子的水溶性,有利于絮凝剂 CBF 分子链在水溶液中充分伸展,增加分子链的有效长度,有利于吸附架桥.Ca^{2+} 的加入减少了大分子和悬浮颗粒的负电荷,压缩双电层,有效地破坏胶体稳定性,增加了悬浮颗粒对大分子的吸附量,促进大分子与胶体颗粒的吸附与架桥.当絮凝剂 CBF 吸附到颗粒表面后,由于静电斥力,絮凝剂分子链和颗粒发生点吸附,而不是整个分子都吸附到固体表面上.所以颗粒是不会被絮凝剂 CBF 所覆盖的,有足够可供进一步吸附的空位;而没有被吸附的分子链很可能成为自由链端,或为一个疏松的链环,有利于吸附其它颗粒发生桥连作用.通过生化实验确定,高岭土颗粒能通过离子键形式与 CBF 结合,形成较强的吸附作用.

一般地讲,絮凝剂的分子量越大,絮凝活性越高,线性分子比非线性分子絮凝性高,分子交联越多或支链越多,絮凝性越差.通过凝胶色谱柱测 CBF 分子量较大,因此,CBF 的絮凝活性较高.

通过本文试验可以推测 CBF 的絮凝机理:通过搅拌作用、布朗运动及范德华力作用下克服排斥力使 CBF 和颗粒相互靠近,并且絮凝剂大分子借助于

离子键同时吸附多个无机或胶体颗粒,并在颗粒间产生"架桥"现象,形成一种三维网块结构沉淀下来.由于大量离子键及特性吸附的作用使絮凝剂分子和颗粒表面间的吸附比较牢固.这种作用的核心是分子的"吸附架桥"作用,从而形成大颗粒迅速沉降下来.

5 结论(Conclusions)

1) CBF 絮凝剂主要成分为多糖类高分子絮凝剂,具有较好的热稳定性.

2) CBF 分子量分布较窄,其中的大分子物质分子量接近,其重均相对分子量为 4.79×10^5.

3) 红外光谱分析表明,CBF 分子中含有较多的 $-COO^-$ 极性基团,增加了絮凝剂分子的水溶性,有利于絮凝剂 CBF 分子链在水溶液中充分伸展,增加分子链的有效长度,有利于吸附架桥.

4) CBF 和高岭土之间主要是靠离子键结合.

5) 高岭土颗粒与絮凝剂分子架桥形成大颗粒沉降下来,絮体结构密实稳定.

参考文献(References):

Chen Z, Liu J, *et al*. 1994. Experiments of Biochemistry [M]. Hefei: Chinese University of Science and Technology of China Press (in Chinese)

Deng S B, Yu G, Jiang Z P, *et al*. 2001a. Application of Compounded Bioflocculant in water supply treatment [J]. China Water and Wastewater, 17 (2): 5—7 (in Chinese)

Deng S B, Yu G, Jiang Z P, *et al*. 2001b. Flocculating mechanism of Bioflocculant MBFA9 [J]. Technology of Water Treatment, 27 (1): 22—25 (in Chinese)

He N, Li Y, Chen J, *et al*. 2002. Purification and identification of Novel Biofocculant [J]. Journal of Chemical Industry and Engineering, 53 (10): 1022—1028

Hu X M, Deng S B, Niu L D, *et al*. 2001. Study of Efficient Bioflocculant Produced by a Bacillus Strain [J]. Research of Environmental Sciences, 14 (1): 36—40

He N, Li Y, Chen J, *et al*. 2002. Identification of a Novel Bioflocculant from a Newly Isolated *Corynebacterium glutamicum* [J]. Biochemical Engineering Journal, 11 (2): 137—148

Liu H, Fang H H P. 2002. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges [J]. Journal of Biotechnology, 95 (3): 249—256

Liu Z J, Xue G Y, Liu Z P, *et al*. 2001. Structure and Characteristics of Bioflocculant BP25 [J]. Acta Microbiologica Sinica, 41 (3): 348—352 (in Chinese)

Ma F. 2004. Development and Application of Compounded Bioflocculant [D]. Harbin: School of Harbin Institute of Technolog, 1—161

Ma F, Wang B, Fan C, *et al*. 2004. Security evaluation of compounded microbial flocculant [J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 11 (1): 38—42

Ma F, Liu J L, Li S G, *et al*. 2003. Development of Compounded Bioflocculant [J]. China Water and Wastewater, 19 (4): 1—4 (in Chinese)

Nakaura J, Miygeyshi S, Hirose Y. 1976. Modes of flocculation of yeast cells with flocculant produced by Aspergillus sojae AJ702 [J]. Agr Boil Chem, 40 (8): 1565—1571

Qin P Y, Zhang T, Chen C X. 2004. Flocculating Mechanism of Microbial Flocculant MBFTR21 [J]. Enviromental Science, 25 (3): 69—72 (in Chinese)

Tao T, Zhan D H, Lu X Q, *et al*. 2001. Study on treatment of concentrated wastewater of Monosodium Glutamate production [J]. Water & Wastewater Engineering, 27 (1): 39—42 (in Chinese)

Raichur A M, Misra M, *et al*. 1996. Flocculation and flotation of coal by adhesion of hydrophobic Mycobacterium phlei [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 8 (11-12): 13—24

Sponza D T. 2003. Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady - state conditions [J]. Enzyme and Microbial Technology, 32 (3): 375—385

Zhang R T, Ren J, Liu Y F. 1996. Flocculating Mechanism and Application of Yeast [J]. Microbiology, 23 (5): 307—311 (in Chinese)

Zhang W J. 1987. Biochemical Research on Multiple Polysaccharides [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press (in Chinese)

中文参考文献:

陈 曾,刘 兢,等. 1994. 生物化学实验[M]. 合肥:中国科学技术大学出版社

邓述波,余 刚,蒋展鹏,等. 2001a. 微生物絮凝剂在给水处理中的应用研究[J]. 中国给水排水,17 (2): 5—7

邓述波,余 刚,蒋展鹏,等. 2001b. 微生物絮凝剂 MBFA9 的絮凝机理研究[J]. 水处理技术,27 (1): 22—25

何 宁,李 寅,陈 坚,等. 2002. 一种新型蛋白聚糖类生物絮凝剂的分离纯化及组成[J]. 化工学报, 53 (10): 1022—1028

胡筱敏,邓述波,牛力东,等. 2001. 一株芽孢杆菌所产絮凝剂的研究[J]. 环境科学研究, 14 (1): 36—40

刘紫鹃,徐桂云,刘志培,等. 2001. 絮凝剂 BP25 的化学组成及结构研究[J]. 微生物学报,41 (3): 348—352

马 放. 2004. 复合生物絮凝剂的开发与应用研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 1—161

马 放,刘俊良,李淑更, 等. 2003. 复合型微生物絮凝剂的开发[J]. 中国给水排水, 19 (4): 1—4

秦培勇, 张 通, 陈翠仙. 2004. 微生物絮凝剂 MBFTR21 的絮凝机理[J]. 环境科学. 25 (3): 69—72

陶 涛,詹德昊,卢秀清,等. 2001. 普鲁兰预处理高浓度味精废水实验研究[J]. 给水排水. 27 (1): 39—42

张博润, 任 建, 刘玉方. 1996. 酵母菌絮凝机理研究进展及应用前景[J]. 微生物学通报, 23 (5): 307—311

张惟杰. 1987. 复合多糖生化研究技术[D]. 上海:上海科学技术出版社