

学校编码: 10384
学号: 20620091151301

分类号 _____ 密级 _____
UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

生物絮凝剂絮凝特性研究及其
在制糖工业中的应用

Studies on the Flocculation Characteristics of Bioflocculant
and its Application in Sugarcane Industry

国家科技部科研院所技术开发研究专项资金 (No. 2009EG111023)、国家科技支
撑计划项目 (No. 2011BAE16B03) 资助

庄 小 玲

指导教师姓名: 何宁 教授
专 业 名 称: 生物化工
论文提交日期: 2012 年 6 月
论文答辩日期: 2012 年 6 月
学位授予日期: 2012 年 月

答辩委员会主席: _____
评 阅 人: _____

2012 年 6 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘要

生物絮凝剂 (Biofloculant) 是一类由微生物产生的可使液体中不易降解的固体悬浮颗粒、菌体细胞及胶体粒子等凝聚、沉淀的特殊高分子代谢产物。它是利用生物技术, 通过微生物发酵、分离提取而得到的一种新型、高效绿色水处理剂, 具有高效性、无毒、无二次污染及生物可降解等优点。然而, 目前由于生物絮凝剂生产成本低、絮凝机理研究不深入等原因, 影响并阻碍了生物絮凝剂的发展与应用。

本论文旨在开发一种生物絮凝剂的低成本发酵培养基, 通过考察其絮凝特性初步推测絮凝机理, 并探索该生物絮凝剂在制糖工业中的实际应用效果。主要研究工作及成果如下:

(1) 以地衣芽孢杆菌 (*Bacillus licheniformis* CGMCC 2876) 为出发菌株, 确定了生物絮凝剂合成的最佳发酵培养基组成为: 20 g/L 糖蜜, 0.4 g/L 尿素, 0.4 g/L NaCl, 0.2 g/L KH_2PO_4 , 1.6 g/L K_2HPO_4 , 0.2 g/L MgSO_4 。在该培养条件下, 16 h 生物絮凝剂絮凝活性可达到 650 U/mL, 培养基原材料成本降低为原来的 1/5。

(2) 考察了生物絮凝剂浓度、阳离子种类、高岭土溶液 pH、浓度和温度等条件对该生物絮凝剂絮凝效果的影响。结果显示: 生物絮凝剂的最佳浓度 4 mg/L; 一价和二价阳离子对生物絮凝剂均有助凝作用 (二价阳离子效果较好), 三价阳离子效果差甚至有抑制作用; 高岭土溶液最佳 pH 5-11; 高岭土溶液最佳浓度 2-10 g/L。高岭土溶液温度对生物絮凝剂的絮凝效果影响不大。结合生物絮凝剂絮凝高岭土前后的 Zeta 电势测定、不同化学试剂处理絮体情况及絮凝前后红外光谱图分析, 初步推测该生物絮凝剂的絮凝机理是: Ca^{2+} 压缩高岭土颗粒双电层, 中和颗粒表面电荷, 使得颗粒脱稳从而产生凝聚现象; 生物絮凝剂可与高岭土颗粒发生化学吸附, 同时 Ca^{2+} 也与生物絮凝剂羧基配位结合 (离子键为主) 在高岭土颗粒之间架桥, 从而形成大颗粒絮凝沉降。

(3) 本研究尝试将该生物絮凝剂应用于制糖工艺, 结果显示, 生物絮凝剂处理甘蔗汁澄清效果与聚丙烯酰胺相当。生物絮凝剂取代聚丙烯酰胺作为糖用絮凝剂具有可行性。

关键词：地衣芽孢杆菌；生物絮凝剂；糖蜜；絮凝特性；应用

厦门大学博硕士论文摘要库

Abstract

Bioflocculant, a type of special macromolecules secreted by microorganisms, induces solid particles, cells and colloidal particles in a liquid suspension to flocculate and sediment. It is an efficient water treatment agent with characteristics of high flocculating efficiency, non-toxicity, non-secondary-pollution and biodegradability. In spite of these studies, bioflocculants have not yet been applied industrially because of their comparatively high cost.

In this research, a low-cost fermentation medium with molasses as the sole carbon source was developed. Besides, the flocculation characteristics of bioflocculant were studied for preliminarily inferring the flocculation mechanism. The bioflocculant was first used as a substitute for polyacrylamide in the sugar-making process.

(1) The fermentation conditions of *Bacillus licheniformis* CGMCC 2876 were optimized. The optimum fermentation medium was determined to be composed of: 20 g/L molasses, 0.4 g/L urea, 0.4 g/L NaCl, 0.2 g/L KH_2PO_4 , 1.6 g/L K_2HPO_4 and 0.2 g/L MgSO_4 . The flocculating activity of the culture broth reached up to 650 U/mL in 16 hours with an inoculum size of 4% (v/v). The material cost of the optimized medium was estimated to be 1/5 of the original one.

(2) The effects of different factors on the flocculating activity of bioflocculant were investigated. The results showed that the optimum concentration of bioflocculant was 4 mg/L. Both monovalent and bivalent cation increased the flocculating activity while trivalent cation inhibited it. The optimum pH and concentration of kaolin clay solution were 5-11 and 2-10 g/L, respectively. Temperature of kaolin clay solution had little impact on the flocculating activity of bioflocculant. In combination with the determination of Zeta potential and infrared spectra, we inferred the flocculation mechanism of bioflocculant. Ca^{2+} compressed the double layer and neutralized the surface charge of kaolin clay particles; and bioflocculant reacted with kaolin clay particles; meanwhile Ca^{2+} incorporated with the

carboxyl of bioflocculant for bridging, so as to form the large particles for flocculation and sedimentation.

(3) Bioflocculant was applied in sugar-making process on an industrial scale. The results showed that the bioflocculant had comparative effect in clarification of the sugarcane juice with polyacrylamide, indicative of the possibility of bioflocculant application in sugar industry.

Key words: *Bacillus licheniformis*; Bioflocculant; Molasses; Flocculation characteristics; Application

目 录

第一章 绪论	1
1.1 絮凝剂简介	1
1.2 生物絮凝剂概况	2
1.2.1 生物絮凝剂产生菌.....	3
1.2.2 生物絮凝剂发酵与廉价生产.....	4
1.3 生物絮凝剂的絮凝特性及絮凝机理理论	7
1.3.1 生物絮凝剂的絮凝特性.....	7
1.3.2 生物絮凝剂的絮凝机理理论.....	9
1.4 生物絮凝剂的应用	10
1.4.1 生物絮凝剂的应用现状.....	10
1.4.2 生物絮凝剂在制糖工业中的应用.....	11
1.5 生物絮凝剂研究中存在的问题及发展	12
1.5.1 存在的问题.....	12
1.5.2 发展方向.....	13
1.6 本论文的主要研究内容及意义	14
第二章 <i>Bacillus licheniformis</i> 利用糖蜜合成生物絮凝剂发酵条件优化	15
2.1 前言	15
2.2 实验材料与仪器	15
2.2.1 实验试剂.....	15
2.2.2 实验仪器.....	15
2.2.3 菌种.....	15
2.2.4 糖蜜.....	15
2.2.5 培养基.....	16
2.3 实验方法	16
2.3.1 总糖测定.....	16

2.3.2 还原糖测定.....	17
2.3.3 蛋白质测定.....	18
2.3.4 培养方法.....	19
2.3.5 生长周期测定.....	19
2.3.6 絮凝活性测定.....	19
2.3.7 细胞干重测定.....	19
2.4 结果与讨论	20
2.4.1 糖蜜的主要成份.....	20
2.4.2 <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876 在种子培养基中的生长曲线.....	20
2.4.3 <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876 以糖蜜为碳源合成生物絮凝剂的生长曲线.....	21
2.4.4 接种量对 <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876 合成生物絮凝剂的影响..	22
2.4.5 糖蜜浓度对 <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876 合成生物絮凝剂的影响	23
2.4.6 氮源浓度对 <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876 合成生物絮凝剂的影响	23
2.4.7 离子浓度对 <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876 合成生物絮凝剂的影响	24
2.5 小结	27
第三章 <i>Bacillus licheniformis</i> 生物絮凝剂絮凝特性研究	28
3.1 前言	28
3.2 实验材料和仪器	29
3.2.1 实验试剂.....	29
3.2.2 实验仪器.....	29
3.2.3 菌种.....	29
3.2.4 培养基.....	29
3.3 实验方法	29
3.3.1 培养方法.....	29
3.3.2 生物絮凝剂纯化.....	29
3.3.3 生物絮凝剂与高岭土溶液等电点测定.....	29

3.3.4 絮凝活性测定.....	30
3.3.5 红外光谱分析.....	30
3.4 结果与讨论	30
3.4.1 生物絮凝剂浓度对其絮凝效果的影响.....	30
3.4.2 环境条件对生物絮凝剂絮凝效果的影响.....	32
3.4.3 生物絮凝剂絮凝机理的初步研究.....	37
3.5 小结	42
第四章 <i>Bacillus licheniformis</i> 生物絮凝剂在制糖工业中的应用研究	43
.....	
4.1 前言	43
4.2 实验材料和仪器	43
4.2.1 实验试剂.....	43
4.2.2 实验仪器.....	43
4.2.3 菌种.....	43
4.2.4 甘蔗汁样品.....	43
4.2.5 培养基.....	44
4.3 实验方法	44
4.3.1 培养方法.....	44
4.3.2 絮凝活性测定.....	44
4.3.3 生物絮凝剂干燥粉末的制备.....	44
4.3.4 甘蔗混合汁或中和汁处理工艺.....	44
4.3.5 锤度测定.....	45
4.3.6 总糖测定.....	45
4.3.7 还原糖测定.....	45
4.3.8 旋光值测定.....	45
4.3.9 纯度测定.....	45
4.3.10 浊度测定.....	45
4.3.11 色值测定.....	46
4.3.12 沉降滤泥颗粒形貌观察.....	46

4.4 结果与讨论	46
4.4.1 实验室规模对生物絮凝剂处理甘蔗混合汁工艺的初步研究.....	46
4.4.2 A 工厂对生物絮凝剂处理甘蔗中和汁工艺的初步研究.....	52
4.4.3 B 工厂对生物絮凝剂处理甘蔗中和汁工艺的初步研究.....	58
4.5 小结	65
第五章 结论与展望	67
5.1 结论	67
5.2 展望	68
参考文献	69
附 录.....	76
在读硕士期间的科研成果	80
致谢.....	81

Table of Contents

Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 Flocculant introduction	1
1.2 Bioflocculant introduction.....	2
1.2.1 Bioflocculant producing microorganisms.....	3
1.2.2 Production of bioflocculant and low-cost culture.....	4
1.3 Flocculation characteristics and mechanism of bioflocculant	7
1.3.1 Flocculation characteristics of bioflocculant	7
1.3.2 Flocculation mechanism of bioflocculant.....	9
1.4 Application of bioflocculant	10
1.4.1 Application status quo of bioflocculant	10
1.4.2 Application of bioflocculant in sugarcane industry	11
1.5 Current problems and development trends of bioflocculant	12
1.5.1 Current problems	12
1.5.2 Development trends	13
1.6 Main contents and significance of this thesis.....	14
Chapter 2 Optimization of fermentation conditions of bioflocculant production by <i>Bacillus licheniformis</i> using molasses.....	15
2.1 Introduction.....	15
2.2 Materials and equipment	15
2.2.1 Materials and reagents	15
2.2.2 Equipment	15
2.2.3 Strain	15
2.2.4 Molasses.....	16
2.2.5 Media	16
2.3 Methods.....	16
2.3.1 Determination of total sugar	16

2.3.2 Determination of reducing sugar	17
2.3.3 Determination of protein.....	18
2.3.4 Culture conditions.....	19
2.3.5 Determination of growth cycle	19
2.3.6 Determination of flocculating activity	19
2.3.7 Determination of dry cell weight	19
2.4 Results and discussion	20
2.4.1 Main component of molasses.....	20
2.4.2 Growth curve of <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876 in preculture medium	20
2.4.3 Growth curves of <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876 using molasses as the carbon source	21
2.4.4 Effect of inoculum size on the bioflocculant production of <i>B. licheniformis</i>	22
2.4.5 Effect of concentration of molasses on the bioflocculant production of <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876.....	23
2.4.6 Effect of concentration of nitrogen sources on the bioflocculant production of <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876.....	23
2.4.7 Effect of concentration of ions on the bioflocculant production of <i>B. licheniformis</i> CGMCC 2876	24
2.5 Summary.....	27
Chapter 3 Studies on the flocculation characteristics of bioflocculant from <i>Bacillus licheniformis</i>	28
3.1 Introduction.....	28
3.2 Materials and equipment	29
3.2.1 Materials and reagents	29
3.2.2 Equipment	29
3.2.3 Strain	29
3.2.4 Media	29
3.3 Methods.....	29
3.3.1 Culture conditions	29

3.3.2 Purification of bioflocculant	29
3.3.3 Determination of isoelectric point of bioflocculant and kaolin clay solutions	29
3.3.4 Determination of flocculating activity	30
3.3.5 Analysis of infrared spectra	30
3.4 Results and discussion	30
3.4.1 Effect of concentration of bioflocculant on the flocculating activity ...	30
3.4.2 Effect of environmental conditions on the flocculating activity of bioflocculant	32
3.4.3 Preliminary studies on the flocculation mechanism of bioflocculant...	37
3.5 Summary.....	42
Chapter 4 Application of bioflocculant from <i>Bacillus licheniformis</i> in the sugarcane industry	43
4.1 Introduction.....	43
4.2 Materials and equipment	43
4.2.1 Materials and reagents	43
4.2.2 Equipment.....	43
4.2.3 Strain.....	43
4.2.4 Sugarcane juice sample.....	43
4.2.5 Media	44
4.3 Methods.....	44
4.3.1 Culture conditions	44
4.3.2 Determination of flocculating activity	44
4.3.3 Preparation of dry powder of bioflocculant.....	44
4.3.4 Clarification processes of sugarcane juice with bioflocculant.....	44
4.3.5 Determination of brix.....	45
4.3.6 Determination of total sugar	45
4.3.7 Determination of reducing sugar	45
4.3.8 Determination of optical rotation value	45

4.3.9 Determination of purity.....	45
4.3.10 Determination of turbidity	45
4.3.11 Determination of colour	46
4.3.12 Observation of morphology of formative sediment	46
4.4 Results and discussion	46
4.4.1 Preliminary studies on the clarification processes of sugarcane-mixture juice with bioflocculant in laboratory	46
4.4.2 Preliminary studies on the clarification processes of sugarcane-neutralizing juice with bioflocculant in A sugarcane industry.....	52
4.4.3 Preliminary studies on the clarification processes of sugarcane-neutralizing juice with bioflocculant in B sugarcane industry.....	58
4.5 Summary.....	65
Chapter 5 Conclusions and prospect	67
5.1 Conclusions.....	67
5.2 Prospect.....	68
References	69
Appendix	76
Publications and patent.....	80
Acknowledgements	81

第一章 绪论

1.1 絮凝剂简介

絮凝剂是一种可使液体中不易沉降的溶质、胶体或悬浮颗粒凝聚絮凝沉降的物质，被广泛应用于给水污水处理、污泥脱水、发酵工艺、食品加工等领域中^[1]。随着工农业生产的迅速发展和人民生活水平的不断提高，对水的需求量越来越大，而且水资源的污染也日趋严重。尤其对于水资源贫乏的我国，用水的处理已受到各行各业的普遍关注，各种水处理剂的需求量也随之日益增加。絮凝技术作为一种既经济又有效的水处理技术，被广泛应用于国内外的水处理中，因此絮凝剂将成为水处理领域的主流药剂，特别是在生活饮用水的处理使用上，市场需求量呈逐年上升的趋势。

絮凝剂的分类方法很多。按组成的不同，可将其分为无机絮凝剂与有机絮凝剂；若根据分子量的高低和官能团离解后所带电荷的性质，可将其进一步分为高分子、低分子、阳离子型、阴离子型和非离子型絮凝剂等^[2]。由于低分子絮凝剂存在投加大、处理效果差等问题，已逐渐被高分子絮凝剂所替代。高分子絮凝剂主要有无机高分子絮凝剂、有机高分子絮凝剂两大类。

20世纪60年代初，我国已开始了无机高分子絮凝剂的开发与研究。无机高分子絮凝剂以其絮凝效果好，价格相对较低等优点已逐步成为主流水处理剂。常用的无机高分子絮凝剂有聚铝类、聚铁类、聚硅酸和聚硅酸金属盐类絮凝剂三大类^[3]。聚铝类絮凝剂以其价格低、使用量少、絮凝活性高等优点已经在工业水处理中得到广泛的应用，但是有研究表明铝盐的过度摄入与老年痴呆症的引发有直接关系，因此聚铝类絮凝剂在给水处理中的使用安全性引起了质疑^[4]。聚铁类絮凝剂，相比于聚铝类絮凝剂，以其价格低、pH值适用范围宽等优点已被应用于饮用水及污水的处理，但聚铁类产品稳定性差，絮凝活性低，且残留铁离子使被处理后的水带有颜色，影响水质观感，故其使用范围远不及聚合铝。聚硅酸是常用的助絮剂，但在储存时易自行缩聚析出硅胶而失活，只能现配现用，严重限制了其应用；一些离子有抑制硅酸聚合延缓其胶凝的作用，研究人员将活性硅和一

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库