



微生物絮凝剂及其在工业水处理中的应用探索

赵诗琪, 李康辉, 陈猷鹏

(重庆大学环境与生态学院, 重庆 400045)

[摘要] 微生物絮凝剂作为一种新型生物制剂, 与传统絮凝剂相比, 具有高效、无毒、来源广泛等显著优点, 其研发和应用受到了高度重视。通过查阅总结近年来国内外关于微生物絮凝剂研究的文献以及其他相关资料, 对目前微生物絮凝剂的主要来源、制备表征方法、絮凝机理进行了总结。同时为解决微生物絮凝剂制备成本高、效果不稳定等问题, 提出了改善物化条件、利用基因工程手段、采取化学改性、使用复合絮凝剂、加强群感效应等一系列优化絮凝剂生产和使用的方法。最后, 结合微生物絮凝剂在工业水处理方面的应用探索对其局限性进行了分析总结, 发现高成本、强损耗、低回报的提取技术是限制微生物絮凝剂工业化应用最主要的原因, 对此提出见解并对微生物絮凝剂的发展前景进行了展望。

[关键词] 微生物絮凝剂; 工业废水; 基因工程; 改性

[中图分类号] X703.1; X172 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-829X(2023)02-0001-13

Introduction of microbial flocculants and its exploration application in industrial water treatment

ZHAO Shiqi, LI Kanghui, CHEN Youpeng

(College of Environment and Ecology, Chongqing University, Chongqing 400045, China)

Abstract: Microbial flocculant is a new type of biological agent. Compared with traditional flocculants, it has significant advantages such as high efficiency, non-toxicity and wider source of raw material. Therefore, the studies and applications of microbial flocculant have received great attention. In this paper, the sources, preparation methods, characterizations and flocculation mechanism of microbial flocculant were discussed by referring to the literatures and other relevant data at home and abroad in recent years. At the same time, in order to solve the problems of high preparation cost and unstable performance of microbial flocculant, a series of methods to optimize the production and use of flocculants were proposed, such as parameter optimization, genetic engineering, chemical modification, composite flocculants and quorum sensing. Finally, considering the applications of microbial flocculant in industrial water treatment, it was found that extraction technology with high cost, strong loss and low recovery was the main reason to limit the industrial application. Thus, the opinions were put forward and the development prospect of microbial flocculant was prospected.

Key words: microbial flocculant; industrial wastewater; genetic engineering; chemical modification

随着我国工业的不断发展, 工业废水的处理需求日益增加。目前工业废水的处理方法主要有生物法、化学法和物理法 3 种, 其中絮凝法因简单、方便、高效的特点广受青睐。絮凝剂主要分为以下 3 种: (1) 无机絮凝剂, 如明矾、聚合氯化铝; (2) 合成有机絮凝剂, 如聚丙烯酰胺衍生物、聚乙烯亚胺; (3) 天然或自然产生的高分子絮凝剂, 如生物絮凝剂、微生物絮

凝剂。无机絮凝剂和合成有机絮凝剂絮凝性能良好稳定、成本低廉, 是目前工业废水处理中最常用的絮凝剂。但是这 2 种絮凝剂的使用也存在一些问题, 如无机絮凝剂的大量投加可能会造成活性污泥中金属盐(Fe、Al)的积累, 增加后续污泥处理的难度^[1]。同时无机絮凝剂对废水 pH 要求较为苛刻, 限制了其广泛使用^[2]。合成有机絮凝剂如聚丙烯酰胺, 虽然

[基金项目] 国家重点研发计划课题(2020YFD1100704)

本身无毒,但在特殊条件下会发生缓慢降解,降解后产生的丙烯酰胺单体毒性很大,对水环境乃至人体健康存在危害^[3]。微生物絮凝剂一般是指由微生物本身或者从微生物中提取的多糖、蛋白质、脂质、核酸等物质通过纯化加工得到的一类生物制剂^[4],其具有处理多种工业废水的潜力,如重金属废水、染料废水、食品加工废水、石化废水等^[5-8]。微生物絮凝剂同无机絮凝剂及合成有机絮凝剂相比,具有适应性强、可生物降解、无二次污染的优点,具有良好的

应用前景。

笔者主要对微生物絮凝剂的研究动态及其在工业水处理中的应用探索进行总结,并对微生物絮凝剂的发展趋势进行预测,以期为确定微生物絮凝剂后续研究方向提供一定参考。

1 微生物絮凝剂的制备与表征

1.1 来源与制备

与传统絮凝方法相比,微生物絮凝剂安全性更高,来源更加广泛。微生物絮凝剂的来源见表1。

表1 微生物絮凝剂的来源
Table 1 Sources of microbial flocculants

菌种来源	菌种	絮凝剂活性组分	作用对象	参考文献
细菌	<i>Brevundimonas</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Pseudomonas</i>	胞外多糖、脂多糖	浊度、悬浮物	[9]
	<i>Aliiglaciecola lipolytica</i>	蛋白质、腐殖酸	偶氮染料	[10]
	<i>Citrobacter</i> W4	蛋白质	微藻	[11]
	<i>Bacillus</i> sp.	多糖	重金属离子	[12]
	<i>Klebsiella variicola</i> B16	多糖、蛋白质	浊度、悬浮物	[13]
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain NJ7	多糖、蛋白质	COD、浊度	[14]
	<i>Bacillus cereus</i> strain MS1021	多糖	重金属	[15]
	<i>Bacillus megaterium</i> strain PL8	多糖、氨基酸	色度、 Pb^{2+}	[16]
	<i>Raoultella ornithinolytica</i> 160-1	多糖、蛋白质	COD、浊度、色度	[17]
	<i>Diaphorobacter nitroreducens</i> R9	多糖、蛋白质	COD、浊度、木质素	[18]
真菌	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> BKMFC-1767	多糖、蛋白质、类氨基糖化合物	COD	[19]
	<i>Aspergillus oryzae</i> (No. CGMCC 3.16041)	蛋白质	浊度	[20]
复合菌种	<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Synechocystis</i> sp. PCC6803	胞外多糖、胞外蛋白	Cd、微藻	[21]
	<i>Enterococcus faecalis</i> (MG996001), <i>Proteus mirabilis</i> (MG996004), <i>Lysinibacillus</i> sp.(MG996000)	多糖	重金属离子、蚊虫幼虫	[22]
放线菌	<i>Streptomyces</i> sp.	多糖	微藻	[23]
	<i>Nocardiopsis dassonvillei</i> (MH900216)	多糖、脂质	浊度	[24]
	<i>Nocardiopsis</i> sp. GRG 3(KT235642)	多糖、蛋白质	重金属离子	[25]

由表1可看出,微生物絮凝剂主要包括细菌絮凝剂、真菌絮凝剂、复合菌种絮凝剂、微藻絮凝剂等,与微生物的代谢活动密切相关。微生物絮凝剂的主要成分为多糖、蛋白质和脂质等物质,可用于絮凝沉淀工业污水中的重金属离子、悬浮物(SS)、COD等污染物质。

微生物絮凝剂的菌种来源一般为污染场地。Xiang XIA等^[13]从土壤和活性污泥样品中成功分离并鉴定了生产絮凝剂MBF-B16的克雷伯氏菌B16,P. SIVASANKAR等^[23]从河口红树林沉积物中成功分离并鉴定了可用于微藻回收絮凝剂生产的放线菌*Streptomyces* sp.,均体现了从污染场地分离目标菌种的高效性。基因工程技术也被用于赋予或加强特定菌种的絮凝能力。S. MALIK等^[26]阐述了将

基因修饰应用于微藻絮凝剂生产和通过微藻细胞絮凝来实现高效捕获的可能性。E. DÍAZ-SANTOS等^[27]通过研究发现,与非转化体相比,贝酵母紫外变种(*Saccharomyces bayanus* var. *uvarum*)对淡水微藻莱茵衣藻的絮凝效率提高了2~3倍,证实了以基因工程菌作为絮凝剂生产菌种来源的巨大潜力。

微生物絮凝剂的制作过程一般包括筛选、分离、培养、提取、纯化。从污染场地获得待筛选菌株后,需将菌株接种于特定的培养基中进行筛选。Jingqiu HUA等^[12]在获得*Bacillus* sp.菌株后,将其置于M9培养基中培养,待菌株培养至预设OD值后,再通过离心和超声处理的方法将絮凝物质与菌株分离,最终通过离心、乙醇萃取以及透析和冷冻干燥收集纯化后的生物絮凝剂。

1.2 表征

微生物絮凝剂的研究通常是按照由表及里的逻辑开展的。以此为基础,微生物絮凝剂的表征方法可分为2类,一类用于絮凝剂表层结构观测及絮凝能力初步评估,如扫描电子显微镜(SEM)、场发射扫描电子显微镜(FE-SEM)、环境扫描电子显微镜(ESEM)等;另一类用于深度研究絮凝剂的稳定性及其组成、结构和絮凝能力,如热重分析(TG)、示差扫描量热法(DSC)、Zeta电位、傅里叶变换红外(FT-IR)光谱、气相色谱-质谱联用(GC-MS)、能量色散X射线光谱(EDX)、X射线光电子能谱(XPS)、三维荧光光谱(3D-EEM)等。常见表征方法及其作用见图1。

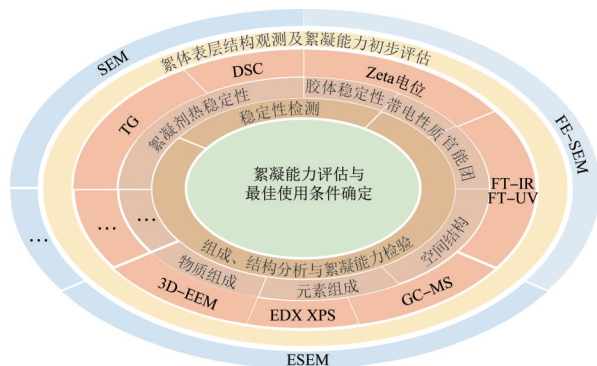


图1 常见表征方法及其作用

Fig. 1 Common characterization methods and their functions

通过SEM及相关技术获得的显微图像是研究絮凝剂表层结构及评估其絮凝能力的重要工具。Junjun WANG等^[21]采用SEM观测了真菌絮凝捕获微藻的过程,结果显示真菌菌丝颗粒捕获、固定了微藻,并与微藻发生了交联,成功证实了微生物絮凝剂回收微藻的可能性。Yong NIE等^[20]使用FE-SEM对真菌-高岭土颗粒的表面形态进行了表征,真菌颗粒表面具有多孔褶皱,可作为絮凝剂有效聚集高岭土颗粒,达到降低饮用水中浊度的目的。杨朝晖等^[28]采用ESEM技术探究了十二烷基苯磺酸钠(SDBS)与 Ca^{2+} 的作用过程及其结合微生物絮凝剂GA1去除废水中罗丹明B的原理,ESEM图谱显示,随着SDBS投入量的增加,絮体结构愈发紧密且表面愈发粗糙,为絮凝颗粒不断复溶致使絮体更加密实提供了有力证据。

除了对絮凝剂表观结构进行观测外,为进一步研究其作用机制并发掘更大应用潜力,还需对絮凝

剂结构、组成和性能(絮凝能力和稳定性)进行更深入的表征。

对絮凝剂稳定性的表征方法有2类,即对其热稳定性进行表征的DSC、TG等技术和对其絮体稳定性进行表征的Zeta电位等。母哲轩等^[29]筛选出一种可高效产生絮凝剂的巨大芽孢杆菌菌株TF10并采用TG法对其热稳定性进行了表征,结果显示,絮凝剂从210℃开始失重;在350℃时,失重率达到12%;在700℃时,质量仅存1.2%。由此可见,在一般温度条件下,该絮凝剂具有良好的热稳定性。D. K. KARTHIGA等^[30]用DSC测定了芽孢杆菌生产的絮凝剂的耐热性能,最终发现3种絮凝剂可耐受100~150℃的高温。吴鹏等^[31]通过分析Zeta电位的变化发现,同时投加Fe和微生物絮凝剂时废水的Zeta电位绝对值最小,废水中的胶体更易于脱稳,进而促进沉降。

按照不同层次,对絮凝剂的组成、结构和性能的表征可分为物质组成、元素组成、官能团组成和带电性质等^[32]。R. T. V. VIMALA等^[22]用TG法测定了生物絮凝剂的热解产物,结果显示,多糖可能是生物絮凝剂的成分之一,其官能团可作为悬浮物的吸附点,从而提高絮凝效率。Yunxiao WANG等^[10]采用3D-EEM光谱对胞外聚合物(EPS)样本进行了检测,在不同EPS的光谱中均识别出3个峰,分别为色氨酸、芳香族氨基酸以及腐殖酸。G. RAJIVGANDHI等^[25]采用XPS分析了生物絮凝剂的原子和元素成分,结果显示,元素C、Na、O、N的摩尔分数分别为39.16%、41.22%、10.48%、1.97%。采用FT-IR等技术可对絮凝剂的官能团进行表征。穆军等^[33]对细菌*Halomonas* sp. GHF11产生的絮凝剂进行了FT-IR检测,通过光谱图推测出其中存在羰基、羟基、羧基等基团。Zeta电位可对絮凝剂的带电性质与絮凝机理进行判断。Weihua LI等^[9]分别测量了北京地区地表水菌群的Zeta电位和电导率,观测到EPS中阴离子含量显著下降,证明了EPS的絮凝机制并非电荷中和,而是架桥和吸附作用。杨志超等^[34]在研究多糖型微生物絮凝剂对闪锌矿与方解石的絮凝性能过程中进行了Zeta电位分析,絮凝剂在污水中呈负电性,但其对方解石的絮凝作用并非静电作用实现,而是以化学键合作用为主导。

2 微生物絮凝剂的絮凝机制

目前公认的微生物絮凝剂的絮凝机制包括表面吸附、电荷中和、斑块絮凝、架桥作用、卷扫网捕以及其他作用等。在微生物絮凝中起主要作用的机制是电荷中和和架桥作用,这可能与微生物絮凝剂存在众多活性基团(羧基、羟基、氨基、亚甲基等)有很大关系。然而,实际过程中的絮凝往往是多种絮凝机制共同作用的结果。因为实际废水的复杂性和特异性,絮凝剂的自身性质(分子质量、结构、电荷密度、用量)和污染物性质(电性、pH、温度、离子强度)都将对絮凝机制产生较大影响。

微生物絮凝剂的主要絮凝机制见图2。

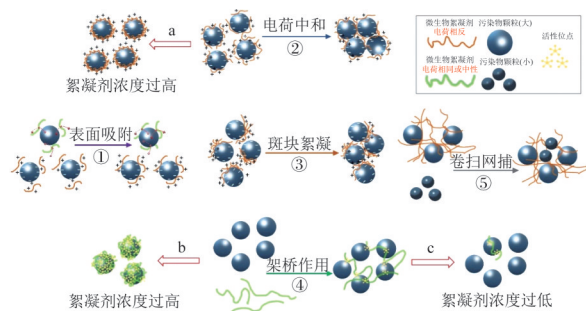


图2 微生物絮凝剂的絮凝机制

Fig. 2 Flocculation mechanism of microbial flocculants

2.1 表面吸附作用

在絮凝剂刚进入溶液时,絮凝剂会在污染物颗粒的表面活性位点发生吸附,这是絮凝得以发生的必要条件。常见的表面吸附包括静电作用和氢键2种(图2紫色箭头①)。与污染物颗粒带相反电荷的絮凝剂在静电引力下能吸附在颗粒表面,有研究发现,带正电的多糖改性絮凝剂对带负电的高岭土颗粒的吸附作用促进了絮凝剂对金属离子的絮凝^[35]。絮凝剂通常可以通过改性获得更长的分子链和更高的分子质量来提升其表面吸附效果,对絮凝剂进行化学改性以增加其表面的氨基、羟基等官能团数量是优化絮凝剂的一种常用方法。以氢键为作用力的表面吸附通常靠氢原子和电负性原子之间的吸引作用实现,絮凝剂上可能存在的酰胺基、醚氧基等容易与悬浮颗粒上的氢原子形成氢键,使得絮体增大^[36]。表面吸附过程对胶体稳定性有很大影响,当吸附量较大时,空间位阻稳定现象开始发挥作用^[37];当只有部分表面被覆盖时,颗粒可以变成不

稳定的吸附聚合物,导致絮凝。

2.2 电荷中和作用

在表面吸附进行一段时间后,对于表面电荷分布均匀的污染物颗粒,电荷中和起主要作用(图2蓝色箭头②)。该机制主要基于扩散双电层模型和DLVO理论,废水中大多数分散的污染物颗粒带同种电荷,颗粒间的静电斥力保证了系统长期稳定。然而,向废水中加入带相反电荷的微生物絮凝剂时,污染物颗粒的双电层被压缩,Zeta电位降低,颗粒间斥力减小,颗粒碰撞时很容易发生絮凝。基于该机制,中和作用一般可通过Zeta电位的变化判断,如果系统的最佳絮凝点处的Zeta电位接近于零,则絮凝主要由电荷中和作用引起^[38]。但需要注意的是,絮凝剂并非越多越好,在最佳絮凝点往后,随絮凝剂用量进一步增加,污染物颗粒的Zeta电位会逐渐偏离零,实现电荷反转,污染物颗粒出现“再稳定”的状态(图2红色箭头a)。因此,在以电荷中和作用为主的絮凝过程中,通常需要结合Zeta电位的变化曲线确定絮凝剂的最佳投加量。

2.3 斑块絮凝作用

表面吸附发生后,当污染物颗粒表面电荷分布不均且相差较大时,由于絮凝剂在污染物表面的不均匀吸附,颗粒表面可能会出现带相反电荷的不同“斑块”。这些带相反电荷的“斑块”在运动碰撞的过程中相互吸引,从而实现污染物颗粒絮凝(图2橙色箭头③)。Zhen YANG等^[39]制备的两性复合絮凝剂在酸性条件下以扁平的结构吸附到颗粒上,此时斑块絮凝是絮凝的最主要机制。通常可根据介质的Zeta电位随絮凝剂剂量的同步变化,大致区分电荷中和和斑块絮凝。详细地说,如果上清液在最佳剂量下的Zeta电位接近于零,电荷中和起主要作用;相反,当电荷密度远离零时,斑块絮凝起主要作用。

2.4 架桥作用

电荷中和和斑块絮凝作用主要针对絮凝剂和污染物颗粒电性相反的情况。而对于中性或与污染物带同种电荷的絮凝剂,除了向体系中投加金属阳离子加强絮凝剂的吸附和中和作用以外^[40],最主要的作用机制是依靠架桥作用实现絮凝。在微生物絮凝剂上的有效附着位点吸附污染物后,链上未被吸附的部分会向外延伸,形同“架桥”,吸附并连接其他更多污染物(图2绿色箭头④)。架桥作用一般依靠范

德华力、静电、氢键作用,甚至是多糖分子的自由基与颗粒之间的化学反应实现。通常絮凝剂分子质量越大,其絮凝效果越好,因此很多研究都通过接枝改性来提高絮凝剂的架桥絮凝效果^[41]。但絮凝剂分子链过长时会产生絮凝剂自身折叠的情况,从而阻碍胶粒的靠近。絮凝剂的用量对架桥作用也很重要,絮凝剂过少,不足以形成架桥作用(图2红色箭头c);絮凝剂过多,颗粒表面被絮凝剂完全“包覆”,导致架桥作用受阻,影响絮凝的发生(图2红色箭头b)。因此有研究对絮凝剂最佳用量进行了分析,V. RUNKANA等^[42]建立了关于架桥絮凝的数学模型,发现絮凝剂用量约为饱和量的50%时,絮凝效果最好。

2.5 卷扫网捕作用

网捕作用一般发生在中和作用和架桥作用之后,较大的絮凝体逐渐形成,这些大的絮凝体在运动或者沉降时会卷入或者捕集一些较小的污染物颗粒,然后形成更大的絮凝体(图2灰色箭头⑤)。污染物浓度对该过程有较大影响,通常污染物颗粒浓度越高,卷扫网捕作用越强。

2.6 其他作用

由于微生物絮凝剂的链骨架通常含有许多活性官能团,它们能够通过一些高度特异的力与污染物上相应的官能团发生化学反应或结合,如疏水链与疏水污染物之间的疏水相互作用^[43]、重金属和絮凝剂官能团的配位及螯合作用、芳香环基微生物絮凝剂和芳香族污染物的 π - π 叠加作用。

3 微生物絮凝剂生产使用的优化

3.1 物化条件

物化条件的优化对于絮凝剂的生产使用至关重要,目前的大部分研究从微生物的培养条件(碳氮源、C/N、温度、pH、培养时间等)和絮凝剂使用条件(絮凝剂用量、阳离子、pH、温度等)对多种物化因子进行了优化,常用的优化分析方法有单因素法、正交试验法、响应曲面法等。

3.1.1 碳氮源

絮凝剂生产中常用的碳源包括葡萄糖、淀粉、蔗糖等,常用的氮源包括尿素、酵母粉、牛肉膏、蛋白胨等。微生物对利用底物存在特异亲和性,不同微生物的最佳碳氮源往往不同,产生的絮凝剂结构也有所差异。Changqing ZHAO等^[44]通过单因

素实验证明20 g/L的葡萄糖是枯草芽孢杆菌CZ1003生产絮凝剂的最佳碳源;而在B. A. RASULOV等^[45]的实验中,相比葡萄糖,D-甘露糖更适合作为生产根瘤菌SZ4S7S14絮凝剂的碳源。Ou LI等^[46]发现蛋白胨对埃希氏芽孢杆菌B69生产絮凝剂非常有利,而黄曲霉生产絮凝剂的最佳氮源是酵母膏和尿素^[47]。某些研究表明,相比单一碳源,复合碳源更有助于提高絮凝剂的产量和质量。V. AJAO等^[48]以甘油和乙醇作为污水处理厂好氧污泥的碳源,相比单一碳源培养时,絮凝剂的产量和絮凝效率均有所提高。微生物絮凝剂的生产成本历来是广大研究者关注的问题,利用现有的废弃物和废水作为培养基质不仅可以降低生产成本,还能实现废弃物的资源化利用。玉米秸秆、花生壳、米糠等木质纤维素类废弃物是潜在的碳源,研究者们致力于寻找一种既能分解木制纤维素又能产生絮凝剂的双功能菌株。Weijie LIU等^[49]发现纤维素分解菌L804可以分泌纤维素酶和木聚糖酶,将秸秆等生物质直接转变成生物絮凝剂,该絮凝剂对微藻的絮凝效率达到99.04%。还有研究者发现硝基还原杆菌R9可分泌木质素酶和纤维素酶,将苧麻生物质转化为絮凝剂^[18]。高浓度的有机废水同样是理想的替代碳源,如马铃薯废水、啤酒废水、乳制品废水、畜禽废水、淀粉加工废水等^[14, 50-53]。近年来关于餐厨垃圾、剩余污泥等废弃物用作培养基替代碳源的研究也越来越多^[49, 54-55]。相比碳源的优化,目前关于低成本氮源的研究较少。据研究,以羽毛废弃物为嗜碱琼脂芽孢杆菌C9廉价替代氮源生产的生物絮凝剂可用于处理草浆洗涤废水^[56]。也有研究者尝试将动物内脏用作培养基的氮源^[57],这些研究都在一定程度上解决了絮凝剂的高成本问题。

3.1.2 C/N

C/N对絮凝剂的产量也有重要影响。有研究发现絮凝剂的生产与细胞生长存在底物竞争关系,低C/N有助于提高微生物的生物量,高C/N有助于提高絮凝剂的产量。这可能是在氮源受限时,碳源过剩,细菌可以通过自主调节碳和氮代谢流动的方向,使多余的能量转化为EPS,特别是多糖,并将其作为细菌的碳源和储能物质^[48]。所以某些情况下,改变C/N可以作为提高絮凝剂产量的一个手段。

3.1.3 温度和 pH

培养过程中的温度主要是通过影响相关酶的活性来影响絮凝剂产量,大部分微生物的最佳培养温度在 30 ℃ 左右。絮凝温度同样影响絮凝效果,由于絮凝剂中一般多糖含量高,所以其对温度耐受性较高,如巨型芽孢杆菌生产的絮凝剂在 20~80 ℃ 均能保持 90% 的絮凝活性^[50]。但是过高的温度可能会影响生物絮凝剂中蛋白质的结构,造成絮凝剂损伤,降低絮凝效果。同样地,培养基初始 pH 对絮凝剂产量的影响也不可忽略。pH 主要通过影响微生物对营养物质的吸收和细胞酶活性影响絮凝活性。一般最适宜微生物生产絮凝剂的 pH 为中性或者弱碱性。例如,地衣芽孢杆菌生产的絮凝剂的絮凝活性在生产 pH 为 5~12 时始终保持在 92% 以上,在 pH 为 8 时达到最大值 97%^[36]。肺炎克雷伯菌 NJ7 菌株在 pH=10.0 时生物絮凝剂的产率有显著提高,且是中性时的 2 倍^[53]。絮凝过程中溶液的 pH 也会影响絮凝效果,很多微生物在较大 pH 范围内可保持较高的絮凝活性,如蜡样芽孢杆菌在 pH 2~10 范围内均能保持 70% 以上的活性^[15],这也是微生物絮凝剂可以广泛应用的原因之一。

3.1.4 阳离子

在阴离子微生物絮凝剂的絮凝过程中,阳离子往往发挥了不可取代的作用。当絮凝剂和胶体带同种电荷时,金属离子作为助凝剂投加到絮凝体系中时,可通过压缩胶体颗粒的双电层,减小絮凝剂和胶体之间的斥力,从而促进絮凝过程^[22]。常用的阳离子有 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 等,其最佳用量受电荷数、胶体浓度的影响,加入量过多也会抑制絮凝剂的作用效果^[58]。

3.2 基因工程

近年来,随着基因组学技术和基因编辑技术的不断发展成熟,利用基因工程的方法优化絮凝剂生产的研究也越来越多。Zhen CHEN 等^[59]通过对地衣芽孢杆菌 CGMCC 2876 的基因组进行测序,确定了参与细菌 EPS 合成的 *eps* 基因簇。黄单胞杆菌特有絮凝剂黄原胶的合成主要由黄原胶操纵子(包括 13 个基因)和 *xanAB* 基因(前体合成)控制^[60-61]。琥珀酸是由根瘤菌、农杆菌、假单胞菌等菌株合成的杂多糖,它的生物合成需要 19 个 *exo* 基因和 2 个 *exs* 基因调控^[62]。基因表达在核苷糖的形成、糖重复单元

的组装和聚合以及多糖的转运和出口等过程中发挥了重要作用,因此通过基因工程技术对微生物絮凝剂生产进行调控也成为近年来的热点研究问题。通过基因工程对絮凝剂进行优化的策略主要包括 2 种,分别是提高微生物絮凝剂的产量和改善微生物絮凝剂的结构。

3.2.1 提高絮凝剂的产量

提高絮凝剂的产量的方法如图 3 所示,主要有过表达絮凝剂前体合成基因、过表达参与重复单元组装的基因、过表达絮凝剂转运输出的基因以及敲除与絮凝剂合成有竞争关系的基因等方法,最近也有新的研究发现能量或辅因子水平也可能是 EPS 生物合成的约束。

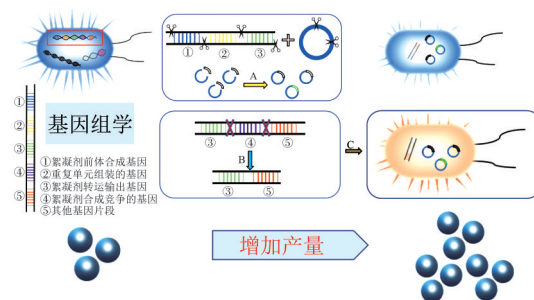


图 3 基因工程技术:增加絮凝剂产量

Fig. 3 Genetic engineering technology to increase flocculant production

多糖合成相关基因的过度表达是一种常见方法(图 3, A 路径, 黄色箭头)。Zhen CHEN 等^[59]在地衣芽孢杆菌 CGMCC 2876 中过表达编码糖基转移酶的 *epsDEF* 基因后,重组菌株的絮凝活性比原菌株提高了 90%;同样,多糖生物絮凝剂的产量提高了 27.8%。D. SENGUPTA 等^[63]过度表达土壤根瘤菌 F2 中与葡萄糖和半乳糖单体增加有关的 *exoY* 基因后,絮凝剂产量提高了 14.8%,对六价铬的回收率提高了 18%;絮凝剂中葡萄糖和半乳糖的比例增加,而甘露糖和鼠李糖的比例下降。鞘氨醇是一种由鞘氨醇菌属产生的细胞外多糖,Haidong HUANG 等^[64]过度表达了 *S. sanxanigenens* 中的 *pgmG* 基因(编码磷酸葡萄糖酶和磷酸甘露糖突变酶活性的双功能蛋白),使得鞘氨醇产量增加(17±0.3)%。

除了相关基因的过度表达外,利用重组 DNA 技术异源合成微生物絮凝剂也不失为一种可行方法(图 3, C 路径, 棕色箭头),该技术可以结合不同微生物的优点,使其絮凝效果进一步加强。研究表明,

NADH氧化酶能将碳代谢途径向有利于EPS生产的方向调整,将变形链球菌克隆的*Nox*基因(NADH氧化酶)在干酪乳杆菌LC2W中过度表达,得到的重组菌株与野生型菌株相比,EPS产量提高了46%^[65]。将来自于黄单胞菌的有关黄原胶形成的12个基因在鞘氨醇单胞菌中表达,得到的絮凝剂与野生型菌株产生的絮凝剂十分接近^[66]。

阻断絮凝剂前体的竞争途径也会增加絮凝剂的产量(图3,B路径,蓝色箭头)。基因敲除是提高EPS产量和改变其化学结构的一种方法。 Na^+ -NQR复合物对藻酸盐合成具有负调节作用,将突变体Tn5插入*nqrE*基因,抑制其活性,海藻酸盐的产量提高了4倍^[67]。PHB是鞘氨醇单胞菌NX02胞外多糖生产过程中的不良副产物,通过同源重组删除了几个关键的PHB生物合成基因,获得PHB缺陷突变体,絮凝剂产量从原来的 (14.88 ± 0.83) g/L提升至 (21.20 ± 0.38) g/L^[68]。

3.2.2 改善微生物絮凝剂的结构

通过基因工程改变微生物生产絮凝剂的分子质量、组成、结构、取代基也是一种颇具前景的技术。黄单胞杆菌中*GumB-GumC*蛋白水平可调节黄原胶链长度,过表达*GumB-GumC*基因可以使黄原胶分子质量增加,黏性增强^[69]。在嗜热链球菌05-34中,*epsC*基因编码多糖共聚酶,它的过度表达使得EPS的分子质量从 4.62×10^5 u增至 9.17×10^5 u^[70]。耐盐菌株*Agrobacterium* sp. ZX09产生的可溶葡聚糖在其琥珀酰转移酶基因(*sleA*)被破坏后,产生的葡聚糖黏度降低^[71]。

随着基因组学和克隆重组技术的发展,通过基因工程对生产絮凝剂特性进行设计的方法将会得到更多关注。

3.3 化学改性

化学改性是指通过化学反应来改变絮凝剂结构的一种优化方法,根据化学反应类型分为接枝共聚反应、醚化反应、胺化反应、酯化反应、酰化反应、氧化反应、交联反应等^[41]。在众多改性方法中,接枝共聚因操作简单、制备条件温和、产品应用性能好等优势成为化学改性中最常用的方法。

接枝共聚是以絮凝剂为基质,在引发剂作用下,在其分子链上引入具有活性基团的有机聚合物侧链,以达到性能增强的一种技术。引发接枝的方式

包括热引发、光引发、辐射引发、微波引发和等离子体引发等^[72],常用的接枝单体可分为阴离子型、阳离子型、非离子型3种。在微生物絮凝剂接枝改性中使用较多的阳离子单体主要有(2-甲基丙烯酰氧乙基)三甲基氯化铵(DMC)^[73]、二甲基二烯丙基氯化铵(DADMAC)^[74]、2,3-环氧丙基三甲基氯化铵(ETA)^[75]、甲基丙烯酰胺丙基三甲基氯化铵(MAPTAC)^[76]、酰氧季铵盐丙烯酰氧乙基三甲基氯化铵(DAC)^[77]等。阴离子单体主要有丙烯酸(AA)^[78]、2-丙烯酰胺基-2-甲基丙烷磺酸(AMPS)等^[79]。非离子单体主要有丙烯酰胺(AM)、苯乙烯、丙烯腈、环氧化物等。近来阴阳离子官能团同时存在的两性接枝单体也引起了研究者的关注,Lihua LIU等^[80]采用紫外分光光度法分析了两性螯合聚合物絮凝剂(ACPF),它不仅兼有阴阳离子接枝单体的特性,且适应pH范围广。

接枝共聚发生的部位一般是絮凝剂分子链上的一 NH_2 和一 OH ,因此拥有丰富一 NH_2 和一 OH 基团的壳聚糖在絮凝剂改性方面最为常用。Xiaomin TANG等^[79]以硝酸铈为引发剂,采用接枝共聚法制备了磺化壳聚糖基絮凝剂CS-g-P(AM-AMPS),显著缩短了絮凝所需时间。Yongjun SUN等^[81]采用紫外光引发接枝聚合法制备了一种新型双功能壳聚糖絮凝剂CMCTS-g-P(AM-CA),该絮凝剂表现出十分优异的絮凝性能。Tao ZENG等^[38]用微波加热引发接枝反应设计了一种新型葡聚糖基絮凝剂,与传统絮凝剂相比,其架桥和吸附性能增强,絮凝效率得到提高。接枝共聚物的性质主要由其结构特征决定,如接枝比、电荷密度以及连接聚合物链的长度和数量,这些特性受合成条件的影响,特别是总辐照、引发剂剂量和进料单体的量等。因此,对这些条件的考察也是接枝共聚应该关注的问题。

3.4 复合絮凝剂

一些研究发现,将不同种类的絮凝剂进行复合可以显著减少絮凝剂的用量和提升絮凝效果。相比单独使用聚氯化亚铁(PAFC),联合使用微生物絮凝剂(MBF-B16)和PAFC可以降低饮用水中的浊度并去除SS,可节约72%的絮凝剂用量^[13]。Chaofan ZHANG等^[82]组合微生物絮凝剂聚 γ -谷氨酸和氧化钙来收获普通小球藻,发现该复合絮凝剂主要通过影响微藻细胞的Zeta电位和悬浮液的pH来影响微

藻絮凝,其絮凝效率最高达到95%。Z. FERASAT等^[83]将明矾和酵母细胞壁(YCW)混合使用,可以很大程度缓解加入明矾引起出水pH较低的问题,出水无需再经过pH调节。Jingshen DONG等^[84]在硅藻土体系中加入壳聚糖,硅藻土的等电点(IEP)发生变化,其对煤浆水的絮凝效率达到84.3%。不同聚合程度的无机絮凝剂也会对复合使用的效果产生影响,Yuanxia LUO等^[85]研究了不同种类聚合氯化铝(PACl)和浒苔多糖的组合同时去除CuO纳米颗粒、Cu²⁺和腐殖酸的效果,发现中等聚合度的PACl₆对浊度和Cu²⁺的去除效率最高,高聚合度的PACl₆对腐殖酸的去除效果最好,这可能是由污染物的种类不同导致的。还有研究发现,絮凝剂的复合作用可以解决无机絮凝剂过量引起的溶液“再稳定”问题,将AlCl₃和生物絮凝剂EPS-160结合使用不仅可以使絮凝效率提高30%,还可使AlCl₃的最佳剂量范围变得更广(11~23 mg/L)^[17]。

3.5 群感效应

群感效应作为一种微生物间常见的通讯机制,在微生物的生长代谢中发挥着重要作用,如外多糖产生、表面运动、种间竞争和生长等。因此,通过调节信号分子改善微生物絮凝剂的生产情况可作为优化絮凝剂生产的有力方法。近年来,利用群感效应提高微生物絮凝剂产量的研究也越来越多,在利用根瘤农杆菌F2生产絮凝剂时,加入外源3-oxo-C8HSL和C6-HSL后,微生物絮凝剂的外多糖浓度分别提高了1.4倍和1.6倍,絮凝效率分别提高了10.96%和10%^[86-87]。

4 微生物絮凝剂在工业废水处理中的应用

由于提纯技术要求较高,且提纯后的保存与再溶解均会对絮凝剂的絮凝能力产生较大影响,微生物絮凝剂的生产成本居高不下,尚未实现大规模的工业化生产应用。但微生物絮凝剂在重金属废水、印染废水等工业废水处理中表现出极大的应用潜力,“原位生产,原位使用”的高适应性优势仍吸引着诸多学者对其工业化应用进行探索。

4.1 重金属废水

重金属(如镉、铅、砷、汞、铬)废水是一类常见的工业废水,对环境及人体健康危害极大。微生物絮凝剂中的氨基、羧基等官能团具有良好的富集重金属离子的潜力,引起了众多学者对其进行应用探

索。Jing FENG等^[88]在研究中使用微生物菌剂GA1(MBFGA1)去除含铅废水中的Pb(II),当MBFGA1分两段添加时,Pb(II)的去除率达到了99.85%。K. NOUHA等^[89]从污泥中分离出一种利用自身合成EPS处理重金属废水的梭状芽孢杆菌,该絮凝剂对镍、铁、锌、铝、铜的去除率分别可达85%、71%、65%、73%、36%。

4.2 印染废水

印染废水产量巨大,含有大量悬浮物、纤维素以及COD等,颜色多样,成分复杂,难于处理。在诸多应用研究中,微生物絮凝剂显示出高效去除水中悬浮物和COD的能力,并且有较好的脱色效果,安全且无二次污染。M. SOLÍS等^[90]在研究中发现嗜热脂肪土芽孢杆菌、假黄色单胞菌等菌种在好氧系统中对偶氮染料的脱色率超过89%;在微需氧和好氧条件下,对多种色度的脱色率均超过97%。S. P. BUTHELEZI等^[91]从污水处理厂分离出一种具有生产絮凝剂功能的细菌,该细菌生产的絮凝剂在温度为35℃、pH=7的条件下对鲑鱼蓝和地中海蓝等染料去除率均高达97.04%。

4.3 其他类型工业废水

微生物絮凝剂在其他类型工业废水处理中也有着广泛的应用前景。Jiawen HE等^[11]从微藻污水培养系统中分离到柠檬酸杆菌W4,该菌株产生的蛋白质EPS絮凝剂对蛋白核小球藻具有灭活活性,对藻类的回收率达到87.37%,该研究为污水中藻类的去除提供了一种新的技术方法。R. KAUR等^[92]从堆肥厂渗滤液中分离出一种芽孢杆菌,利用该菌种生产的黏液EPS(S-EPS)和FeSO₄混合絮凝处理渗滤液,其对COD、磷、氨氮的去除率分别高达92%、94%、96%。Chunying ZHONG等^[18]从农业苕麻生物脱胶废水中分离出一种硝基还原杆菌R9,该菌可将苕麻生物质转换为絮凝剂MBF-9,在MBF-9用量为831.75 mg/L、pH=7.58以及温度为26.2℃的条件下,其对废水中浊度、木质素和COD的最大去除率分别为96.2%、59.2%和79.5%。在微生物絮凝剂广泛应用的过程中,絮凝剂生产菌的菌种来源也有了新的扩充。蝉花作为一种虫生真菌,最初被关注到是因为其独特的药理活性,而Xiao ZOU等^[93]发现蝉叶板蓝根GZU6722产生的IC-1具有絮凝潜力,对洗煤废水的絮凝效率可达91.84%。

此外,对原有微生物絮凝剂的改进研究也在不断发展。Yizhuo ZHANG等^[94]以硝酸铈铵作为引发剂,将蜡样芽孢杆菌生产的生物絮凝剂与两性淀粉结合改性,改性絮凝剂的絮凝效率和总氮去除率分

别可达 98.17% 和 100.00%,相较于未改性的絮凝剂,絮凝效率和总氮去除率的提升率均超过 30%。

表2总结了微生物絮凝剂在工业废水处理中的应用。

表 2 微生物絮凝剂在工业废水处理中的应用
Table 2 Application of microbial flocculants in industrial wastewater treatment

废水来源	废水性质	絮凝剂来源	絮凝剂用量	处理效果	参考文献
皮革废水	高总氮、高浓度有色物质	<i>Bacillus cereus</i>	1 g/L	絮凝效率 98.17%;总氮去除率 100.00%	[94]
堆肥渗滤液	高 COD、高氮磷、多种重金属离子	从废水污泥中分离出的菌株 BS-04	0.5 g/L	COD 去除率 92%;磷去除率 94%;氨氮去除率 96%	[92]
印染废水	高 BOD、高 COD、高色度、高浓度重金属离子	<i>Bacillus subtilis</i> (E1), <i>Exiguobacterium acetylicum</i> (D1), <i>Klebsiella terrigena</i> (R2), <i>Staphylococcus aureus</i> (A22), <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> (A17), <i>Pseudomonas plecoglossicida</i> (A14)	2~10 mg/L	脱色率 97.04%	[91]
淀粉加工废水	高 COD、高浊度	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain NJ7	30 mg/L	COD 去除率 41%;浊度去除率 90%	[14]
秸秆废水	高 SS	<i>Bacillus agaradhaerens</i> C9	6.0 mg/L	SS 去除率 93.1%	[56]
制浆废水	高 COD	<i>Diaphorobacter nitroreducens</i> R9	831.57 mg/L	浊度去除率 96.2%;COD 去除率 79.5%;木质素去除率 9.2%;多糖去除率 63.1%	[18]
洗煤废水	高浓度 SS	<i>Isaria cicadae</i> GZU6722 (IC-1)	24 mg/L	最大絮凝效率 91.81%	[93]
高岭土模拟废水	高 SS	<i>Aspergillus flavus</i> MCB 271	—	絮凝活性 97%;细菌负荷减少 58.73%	[95]
养猪废水	高 COD、高 TN、高 SS	<i>Talaromyces trachyspermus</i> OU5	5%(体积分数)	COD 去除率 52.1%;总氮去除率 39.7%;SS 去除率 75%	[96]

5 结语和展望

目前,虽然微生物絮凝剂具有安全无毒、无二次污染、应用范围广等多种优势,但也存在不可忽视的局限性,后续可以从以下几个方面对其进行改善:

(1)目前微生物絮凝剂的使用大部分是“原位生产,原位使用”,产业化难度大。一方面是因为从胶状微生物中提取絮凝剂的难度大、流程复杂,另一方面是因为提取纯化、运输储存过程中絮凝能力的大幅下降影响产品效能。提取絮凝剂常用的有机试剂沉淀法对絮凝剂的活性影响极大,应探索更便宜、温和的提取方法,例如利用溶菌酶对微生物进行酶解,同时结合微波法、超临界萃取法、双水相萃取法等技术实现高效温和提取和提高收获率;在改进用于絮凝剂工业化的机械设备和条件的同时,根据絮凝剂的组成结构优化生产方案,减少不必要的流程;选用廉价培养基(有机废水、废纤维、污泥等),通过基因工程“定制”微生物絮凝剂,合理利用改性、絮凝剂复配等技术降低生产成本,提高絮凝能力。

(2)当前微生物絮凝剂缺乏统一的评价体系和标准,不利于市场管理。因此应尽快建立对其质量

和安全性进行评价的体系,逐步制定微生物絮凝剂国家产品标准。

(3)微生物絮凝剂与新兴技术的联合使用也是不容忽视的一点,合成生物学有关技术的发展对推动絮凝剂的开发具有重要意义。通过基因编辑、通路改造、代谢通量优化、酶工程、调控电路重连和宿主修饰等方式对基因模块进行重新编程,无论是对絮凝剂修饰还是生产新型絮凝剂,都是一种可行的方法,这些技术的集成有助于理解复杂的基因调控和代谢网络,实现对基因表达的高效调控。利用人工智能系统快速设计一些絮凝剂中间物合成路线,将其与基因工程技术结合,可实现对絮凝剂生产的准确高效优化。同时,基于算法和现有实验数据建立絮凝剂生产使用的模型,对絮凝剂的使用效果进行预测,可实现絮凝剂生产设计和使用工艺条件的优化,从而极大提高时间效率和降低优化成本。

参考文献

[1] 王瑞,许婷婷,张逸飞. 絮凝剂在水处理中的应用与研究进展[J]. 节能与环保,2020(4):91-92.
WANG Rui, XU Tingting, ZHANG Yifei. Application and research progress of flocculant in water treatment[J]. Energy Conservation &

- Environmental, 2020(4):91-92.
- [2] 蒲磊. 巨大芽孢杆菌多糖型絮凝剂的纯化、结构鉴定和絮凝活性的研究[D]. 广州:华南理工大学, 2020.
- PU Lei. Purification, structural characterization and flocculation activity of polysaccharide-based bioflocculants from *Bacillus megaterium*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020.
- [3] EXON J H. A review of the toxicology of acrylamide[J]. Journal of Toxicology and Environmental Health. Part B, Critical Reviews, 2006, 9(5):397-412.
- [4] SALEHIZADEH H, SHOJAOSADATI S A. Extracellular biopolymeric flocculants: Recent trends and biotechnological importance[J]. Biotechnology Advances, 2001, 19(5):371-385.
- [5] 杜凤龄, 徐敏, 王刚, 等. 絮凝剂处理重金属废水的研究进展[J]. 工业水处理, 2014, 34(12):12-16.
- DU Fengling, XU Ming, WANG Gang, et al. Research progress in flocculants applied to the treatment of wastewater containing heavy metals[J]. Industrial Water Treatment, 2014, 34(12):12-16.
- [6] 李剑锋. 微生物净化技术在染料废水中的应用分析[J]. 环境与发展, 2020, 32(3):92-93.
- LI Jianfeng. Application analysis of microorganism purification technology in dye waste water[J]. Environment and Development, 2020, 32(3):92-93.
- [7] 张颖, 聂云. 绿色絮凝剂产生菌的分离及处理啤酒废水研究[J]. 工业水处理, 2017, 37(4):29-32.
- ZHANG Ying, NIE Yun. Research on the separation of green flocculant produced strains and the treatment of brewery wastewater[J]. Industrial Water Treatment, 2017, 37(4):29-32.
- [8] 孙学哲, 刘圣鹏, 姚刚, 等. 一株产絮凝剂菌株 K8 及其絮凝特性研究[J]. 工业水处理, 2018, 38(4):41-45.
- SUN Xuezhe, LIU Shengpeng, YAO Gang, et al. Research on a flocculant-producing strain K8 and its characteristics of flocculation[J]. Industrial Water Treatment, 2018, 38(4):41-45.
- [9] LI Weihua, LIU Mengjie, SIDDIQUE M S, et al. Contribution of bacterial extracellular polymeric substances (EPS) in surface water purification[J]. Environmental Pollution, 2021, 280:116998.
- [10] WANG Yunxiao, JIANG Li, SHANG Hongguo, et al. Treatment of azo dye wastewater by the self-flocculating marine bacterium *Alii-glaciecola lipolytica*[J]. Environmental Technology & Innovation, 2020, 19:100810.
- [11] HE Jiawen, DING Wanqing, HAN Wei, et al. A bacterial strain *Citrobacter* W4 facilitates the bio-flocculation of wastewater cultured microalgae *Chlorella pyrenoidosa* [J]. Science of the Total Environment, 2022, 806:151336.
- [12] HUA Jingqiu, ZHANG Rui, CHEN Rongping, et al. Energy-saving preparation of a bioflocculant under high-salt condition by using strain *Bacillus* sp. and the interaction mechanism towards heavy metals[J]. Chemosphere, 2021, 267:129324.
- [13] XIA Xiang, LAN Shuhuan, LI Xudong, et al. Characterization and coagulation-flocculation performance of a composite flocculant in high-turbidity drinking water treatment[J]. Chemosphere, 2018, 206:701-708.
- [14] JOSHI N, DHOLAKIYA R N, KUMAR M A, et al. Recycling of starch processing industrial wastewater as a sole nutrient source for the bioflocculant production [J]. Environmental Progress & Sustainable Energy, 2017, 36(5):1458-1465.
- [15] SAJAYAN A, KIRAN G S, PRIYADHARSHINI S, et al. Revealing the ability of a novel polysaccharide bioflocculant in bioremediation of heavy metals sensed in a *Vibrio* bioluminescence reporter assay[J]. Environmental Pollution, 2017, 228:118-127.
- [16] PU Lei, ZENG Yingjie, XU Pei, et al. Using a novel polysaccharide BM2 produced by *Bacillus megaterium* strain PL8 as an efficient bioflocculant for wastewater treatment[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162:374-384.
- [17] DING Rui, LUO Laipeng, HAN Ruixiang, et al. Rapid production of a novel Al(III) dependent bioflocculant isolated from *Raoultella ornithinolytica* 160-1 and its application combined with inorganic salts[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 11:622365.
- [18] ZHONG Chunying, SUN Su, ZHANG Dajie, et al. Production of a bioflocculant from ramie biodegumming wastewater using a biomass-degrading strain and its application in the treatment of pulping wastewater[J]. Chemosphere, 2020, 253:126727.
- [19] LI Ningjie, LAN Qi, WU Jinghang, et al. Soluble microbial products from the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* as the bioflocculant for municipal wastewater treatment [J]. Science of the Total Environment, 2021, 780:146662.
- [20] NIE Yong, WANG Zimin, ZHANG Rui, et al. *Aspergillus oryzae*, a novel eco-friendly fungal bioflocculant for turbid drinking water treatment[J]. Separation and Purification Technology, 2021, 279:119669.
- [21] WANG Junjun, CHEN Ran, FAN Ling, et al. Construction of fungi-microalgae symbiotic system and adsorption study of heavy metal ions[J]. Separation and Purification Technology, 2021, 268:118689.
- [22] VIMALA R T V, ESCALINE J L, SIVARAMAKRISHNAN S. Characterization of self-assembled bioflocculant from the microbial consortium and its applications[J]. Journal of Environmental Management, 2020, 258:110000.
- [23] SIVASANKAR P, POONGODI S, LOBO A O, et al. Characterization of a novel polymeric bioflocculant from marine actinobacterium *Streptomyces* sp. and its application in recovery of microalgae[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2020, 148:104883.
- [24] RAJIVGANDHI G, GNANAMANGAI B M, RAMACHANDRAN G, et al. Effective removal of heavy metals in industrial wastewater with novel bioactive catalyst enabling hybrid approach [J]. Environmental Research, 2022, 204:112337.
- [25] RAJIVGANDHI G, VIMALA R T V, MARUTHUPANDY M, et al. Enlightening the characteristics of bioflocculant of endophytic actinomycetes from marine algae and its biosorption of heavy metal re-

- moval[J]. Environmental Research, 2021, 200: 111708.
- [26] MALIK S, KHAN F, ATTA Z, et al. Microalgal flocculation: Global research progress and prospects for algal biorefinery[J]. Biotechnology and Applied Biochemistry, 2020, 67(1): 52-60.
- [27] DÍAZ-SANTOS E, VILA M, DE LA VEGA M, et al. Study of bio-flocculation induced by *Saccharomyces bayanus* var. *uvarum* and flocculating protein factors in microalgae[J]. Algal Research, 2015, 8: 23-29.
- [28] 杨朝晖, 龚家宽, 曾光明, 等. 基于饱和沉淀 $\text{Ca}(\text{DBS})_2$ 及结合 MBFGA1 絮凝沉降去除罗丹明 B[J]. 湖南大学学报: 自然科学版, 2018, 45(12): 149-156.
- YANG Zhaohui, GONG Jiakuan, ZENG Guangming, et al. Removing Rhodamine B based on enhanced precipitation of calcium dodecyl benzene sulfonate combined with microbial flocculation GA1[J]. Journal of Hunan University: Natural Sciences, 2018, 45(12): 149-156.
- [29] 母哲轩, 王华林, 孙敏, 等. 微生物絮凝剂絮凝条件的响应曲面法优化[J]. 环境化学, 2010, 29(2): 241-245.
- MU Zhexuan, WANG Hualin, SUN Min, et al. Optimization of flocculating conditions of microbial flocculant using response surface methodology[J]. Environmental Chemistry, 2010, 29(2): 241-245.
- [30] KARTHIGA D K, NATARAJAN K A. Isolation and characterization of toxic metal removing bacterial bioflocculants[J]. Advanced Materials Research, 2015, 1130: 585-588.
- [31] 吴鹏, 张锐, 范欣竹, 等. 微生物絮凝剂提取方法的优化及其对废水中木质纤维类污染物的絮凝机理[J]. 环境工程学报, 2022, 16(1): 343-354.
- WU Peng, ZHANG Rui, FAN Xinzhu, et al. Optimization of the extraction method of the bioflocculant and its application in lignocellulosic waste-containing water[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2022, 16(1): 343-354.
- [32] JEBUN N, ALAM A Z, MAMUM A A, et al. Novel myco-coagulant produced by *Lentinus squarrosulus* for removal of water turbidity: Fungal identification and flocculant characterization[J]. Journal of Fungi, 2022, 8(2): 192.
- [33] 穆军, 蒋广宁, 陈荫. 一种从菲律宾蛤仔黏附细菌 *Halomonas* sp. GHF11 中提取的多糖絮凝剂的表征其在脱色中的应用[J]. 浙江海洋大学学报: 自然科学版, 2021, 40(1): 52-58.
- MU Jun, JIANG Guangning, CHEN Yin. Characterization of a novel polysaccharide flocculant extracted from Manila adhesive bacterium *Halomonas* sp. GHF11 and its application in decolorization[J]. Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science, 2021, 40(1): 52-58.
- [34] 杨志超, 滕青, 祝瑄, 等. 多糖微生物絮凝剂对方解石与闪锌矿的絮凝作用及机理[J]. 金属矿山, 2021(10): 108-113.
- YANG Zhichao, TENG Qing, ZHU Xuan, et al. Role and mechanism of polysaccharide-based microbial flocculant in flocculation calcite and sphalerite[J]. Metal Mine, 2021(10): 108-113.
- [35] MORE T T, YADAV J S S, YAN S, et al. Extracellular polymeric substances of bacteria and their potential environmental applications[J]. Journal of Environmental Management, 2014, 144: 1-25.
- [36] WANG Zhi, SHEN Liang, ZHUANG Xiaoling, et al. Flocculation characterization of a bioflocculant from *Bacillus licheniformis*[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2015, 54(11): 2894-2901.
- [37] LI Meng, WANG Yulong, HOU Xiaobang, et al. DMC-grafted cellulose as green-based flocculants for agglomerating fine kaolin particles[J]. Green Energy & Environment, 2018, 3(2): 138-146.
- [38] ZENG Tao, HU Xueqin, WU Hao, et al. Microwave assisted synthesis and characterization of a novel bio-based flocculant from dextran and chitosan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 760-768.
- [39] YANG Zhen, YUAN Bo, HUANG Xin, et al. Evaluation of the flocculation performance of carboxymethyl chitosan-graft-polyacrylamide, a novel amphoteric chemically bonded composite flocculant[J]. Water Research, 2012, 46(1): 107-114.
- [40] MOHAMMED J N, WAN DAGANG W R Z. Implications for industrial application of bioflocculant demand alternatives to conventional media: Waste as a substitute[J]. Water Science Technology, 2019, 80(10): 1807-1822.
- [41] YANG Ran, LI Haijiang, HUANG Mu, et al. A review on chitosan-based flocculants and their applications in water treatment[J]. Water Research, 2016, 95: 59-89.
- [42] RUNKANA V, SOMASUNDARAN P, KAPUR P C. A population balance model for flocculation of colloidal suspensions by polymer bridging[J]. Chemical Engineering Science, 2006, 61(1): 182-191.
- [43] YANG Zhen, REN Kexin, GUIBAL E, et al. Removal of trace non-ylphenol from water in the coexistence of suspended inorganic particles and NOMs by using a cellulose-based flocculant[J]. Chemosphere, 2016, 161: 482-490.
- [44] ZHAO Changqing, YANG Qinhuang, ZHANG Hao. Optimization of microbial flocculant-producing medium for *Bacillus subtilis*[J]. Indian Journal of Microbiology, 2017, 57(1): 83-91.
- [45] RASULOV B A, LI Li, LIU Yonghong, et al. Production, characterization and structural modification of exopolysaccharide-based bio-flocculant by *Rhizobium radiobacter* SZ4S7S14 and media optimization[J]. 3 Biotech, 2017, 7(3): 179.
- [46] LI Ou, LU Cui, LIU Ao, et al. Optimization and characterization of polysaccharide-based bioflocculant produced by *Paenibacillus elgii* B69 and its application in wastewater treatment[J]. Bioresource Technology, 2013, 134: 87-93.
- [47] ALJUBOORI A H R, IDRIS A, ABDULLAH N, et al. Production and characterization of a bioflocculant produced by *Aspergillus flavus*[J]. Bioresource Technology, 2013, 127: 489-493.
- [48] AJAO V, MILLAH S, GAGLIANO M C, et al. Valorization of glycerol/ethanol-rich wastewater to bioflocculants: Recovery, properties, and performance[J]. Journal of Hazardous Materials, 2019,

- 375:273-280.
- [49] LIU Weijie, ZHAO Chenchu, JIANG Jihong, et al. Biofloculant production from untreated corn stover using *Cellulosimicrobium cellulans* L804 isolate and its application to harvesting microalgae[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2015, 8:170.
- [50] PU Shengyan, QIN Lanlan, CHE Junping, et al. Preparation and application of a novel biofloculant by two strains of *Rhizopus* sp. using potato starch wastewater as nutritive[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 162:184-191.
- [51] ZHANG Zhiqiang, LIN Bo, XIA Siqing, et al. Production and application of a novel biofloculant by multiple-microorganism consortia using brewery wastewater as carbon source[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19(6):667-673.
- [52] WANG Shuguang, GONG Wenxin, LIU Xianwei, et al. Production of a novel biofloculant by culture of *Klebsiella mobilis* using dairy wastewater[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2007, 36(2):81-86.
- [53] GUO Junyuan, CHEN Cheng. Removal of arsenite by a microbial biofloculant produced from swine wastewater[J]. *Chemosphere*, 2017, 181:759-766.
- [54] PARTHIBA KARTHIKEYAN O, TRABLY E, MEHARIYA S, et al. Pretreatment of food waste for methane and hydrogen recovery: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 249:1025-1039.
- [55] PENG Lanyan, YANG Chunping, ZENG Guangming, et al. Characterization and application of biofloculant prepared by *Rhodococcus erythropolis* using sludge and livestock wastewater as cheap culture media[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(15):6847-6858.
- [56] LIU Weijie, DONG Zhen, SUN Di, et al. Production of biofloculant using feather waste as nitrogen source and its use in recycling of straw ash-washing wastewater with low-density and high pH property[J]. *Chemosphere*, 2020, 252:126495.
- [57] MOHAMMED J N, WAN DAGANG W R Z. Development of a new culture medium for biofloculant production using chicken viscera[J]. *MethodsX*, 2019, 6:1467-1472.
- [58] NWODO U U, GREEN E, MABINYA L V, et al. Biofloculant production by a consortium of *Streptomyces* and *Cellulomonas* species and media optimization via surface response model[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, 116:257-264.
- [59] CHEN Zhen, LIU Peize, LI Zhipeng, et al. Identification of key genes involved in polysaccharide biofloculant synthesis in *Bacillus licheniformis*[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2017, 114(3):645-655.
- [60] VORHÖLTER F J, SCHNEIKER S, GOESMANN A, et al. The genome of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* B100 and its use for the reconstruction of metabolic pathways involved in xanthan biosynthesis[J]. *Journal of Biotechnology*, 2008, 134(1/2):33-45.
- [61] WIBBERG D, ALKHATEEB R S, WINKLER A, et al. Draft genome of the xanthan producer *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 (ATCC 13951)[J]. *Journal of Biotechnology*, 2015, 204:45-46.
- [62] SUN Xiaqing, ZHANG Jianfa. Bacterial exopolysaccharides: Chemical structures, gene clusters and genetic engineering[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 173:481-490.
- [63] SENGUPTA D, DATTA S, BISWAS D. Towards a better production of bacterial exopolysaccharides by controlling genetic as well as physico-chemical parameters[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(4):1587-1598.
- [64] HUANG Haidong, LI Xiaoyan, WU Mengmeng, et al. Cloning, expression and characterization of a phosphoglucomutase/phosphomannomutase from sphingane-producing *Sphingomonas sanxanigenens*[J]. *Biotechnology Letters*, 2013, 35(8):1265-1270.
- [65] LI Nan, WANG Yuanlong, ZHU Ping, et al. Improvement of exopolysaccharide production in *Lactobacillus casei* LC2W by overexpression of NADH oxidase gene[J]. *Microbiological Research*, 2015, 171:73-77.
- [66] POLLOCK T J, MIKOLAJCZAK M, YAMAZAKI M, et al. Production of xanthan gum by *Sphingomonas* bacteria carrying genes from *Xanthomonas campestris*[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 1997, 19(2):92-97.
- [67] GAYTÁN I, PEÑA C, NÚÑEZ C, et al. *Azotobacter vinelandii* lacking the Na⁺-NQR activity: A potential source for producing alginates with improved properties and at high yield[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2012, 28(8):2731-2740.
- [68] WU Mengmeng, SHI Zhong, TIAN Xuefeng, et al. Enhancement of transparent hydrogel sanxan production in *Sphingomonas sanxanigenens* NX02 via rational and random gene manipulation[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 189:210-217.
- [69] GALVÁN E M, IELMINI M V, PATEL Y N, et al. Xanthan chain length is modulated by increasing the availability of the polysaccharide copolymerase protein *GumC* and the outer membrane polysaccharide export protein *GumB*[J]. *Glycobiology*, 2012, 23(2):259-272.
- [70] ZHAI Zhengyuan, XIE Shuxin, ZHANG Hongxing, et al. Homologous over-expression of chain length determination protein *EpsC* increases the molecular weight of exopolysaccharide in *Streptococcus thermophilus* 05-34[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12:696222.
- [71] XU Linxiang, CHENG Rui, LI Jing, et al. Identification of substituent groups and related genes involved in salean biosynthesis in *Agrobacterium* sp. ZX09[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(2):585-598.
- [72] SALEHIZADEH H, YAN Ning, FARNOOD R. Recent advances in polysaccharide bio-based flocculants[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(1):92-119.
- [73] DAS S, PATRA P, SINGHA K, et al. Graft copolymeric flocculant using functionalized starch towards treatment of blast furnace effluent[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 125:35-40.

- [74] SUN Yongjun, ZHU Chengyu, SUN Wenquan, et al. Plasma-initiated polymerization of chitosan-based CS-g-P(AM-DMDAAC) flocculant for the enhanced flocculation of low-algal-turbidity water[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 164: 222-232.
- [75] CHENG Dehong, LIN Jie, LU Sheng, et al. Flocculation of quaternary chitosan on acid dyeing waste water[J]. Advanced Materials Research, 2013, 821/822: 531-534.
- [76] LI Xiang, ZHENG Huaili, WANG Yili, et al. Fabricating an enhanced sterilization chitosan-based flocculants: Synthesis, characterization, evaluation of sterilization and flocculation[J]. Chemical Engineering Journal, 2017, 319: 119-130.
- [77] TANG Xiaomin, HUANG Jing, ZHANG Shixin, et al. Comparison of two cationic chitosan-based flocculants prepared by photocatalysis and photoinitiation systems: Synthesis mechanism, structure and performance in water treatment[J]. Separation and Purification Technology, 2021, 279: 119670.
- [78] 肖雪峰, 孙永军, 沈浩, 等. CSC-P(AM-AA)重金属捕集絮凝剂的光谱表征及其对重金属去除研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(6): 1809-1813.
- XIAO Xuefeng, SUN Yongjun, SHEN Hao, et al. Spectral characterizations of CSC-P(AM-AA) with function of trapping heavy metals and its removal efficiency of Cu^{2+} [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(6): 1809-1813.
- [79] TANG Xiaomin, HUANG Ting, ZHANG Shixin, et al. The role of sulfonated chitosan-based flocculant in the treatment of hematite wastewater containing heavy metals[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2020, 585: 124070.
- [80] LIU Lihua, LI Yanhong, LIU Xing, et al. Chelating stability of an amphoteric chelating polymer flocculant with $\text{Cu}(\text{II})$, $\text{Pb}(\text{II})$, $\text{Cd}(\text{II})$, and $\text{Ni}(\text{II})$ [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014, 118: 765-775.
- [81] SUN Yongjun, ZHOU Shengbao, SUN Wenquan, et al. Flocculation activity and evaluation of chitosan-based flocculant CMCTS-g-P(AM-CA) for heavy metal removal[J]. Separation and Purification Technology, 2020, 241: 116737.
- [82] ZHANG Chaofan, WANG Xiansheng, WANG Yao, et al. Synergistic effect and mechanisms of compound bioflocculant and AlCl_3 salts on enhancing *Chlorella regularis* harvesting[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(12): 5653-5660.
- [83] FERASAT Z, PANAHI R, MOKHTARANI B. Natural polymer matrix as safe flocculant to remove turbidity from kaolin suspension: Performance and governing mechanism [J]. Journal of Environmental Management, 2020, 255: 109939.
- [84] DONG Jingshen, LIU Qunjun. Research on the coagulant aid effects of modified diatomite on coal microbial flocculation[J]. Water Science and Technology, 2019, 80(10): 1893-1901.
- [85] LUO Yuanxia, GAO Baoyu, WANG Jie, et al. Synchronous removal of CuO nanoparticles and Cu^{2+} by polyaluminum chloride-*Enteromorpha* polysaccharides: Effect of Al species and pH [J]. Journal of Environmental Sciences, 2020, 88: 1-11.
- [86] WU Dan, LI Ang, YANG Jixian, et al. *N*-3-oxo-octanoyl-homoserine lactone as a promotor to improve the microbial flocculant production by an exopolysaccharide bioflocculant-producing bacterium *Agrobacterium tumefaciens* F2 [J]. RSC Advances, 2015, 5(109): 89531-89538.
- [87] YANG Jixian, WU Dan, LI Ang, et al. The addition of *N*-hexanoyl-homoserine lactone to improve the microbial flocculant production of *Agrobacterium tumefaciens* strain F2, an exopolysaccharide bioflocculant-producing bacterium [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2016, 179(5): 728-739.
- [88] FENG Jing, YANG Zhaozhui, ZENG Guangming, et al. The adsorption behavior and mechanism investigation of $\text{Pb}(\text{II})$ removal by flocculation using microbial flocculant GA1 [J]. Bioresource Technology, 2013, 148: 414-421.
- [89] NOUHA K, KUMAR R S, TYAGI R D. Heavy metals removal from wastewater using extracellular polymeric substances produced by *Cloacibacterium normanense* in wastewater sludge supplemented with crude glycerol and study of extracellular polymeric substances extraction by different methods [J]. Bioresource Technology, 2016, 212: 120-129.
- [90] SOLÍS M, SOLÍS A, PÉREZ H I, et al. Microbial decolouration of azo dyes: A review [J]. Process Biochemistry, 2012, 47(12): 1723-1748.
- [91] BUTHELEZI S P, OLANIRAN A O, PILLAY B. Textile dye removal from wastewater effluents using bioflocculants produced by indigenous bacterial isolates [J]. Molecules, 2012, 17(12): 14260-14274.
- [92] KAUR R, ROY D, YELLAPU S K, et al. Enhanced composting leachate treatment using extracellular polymeric substances as bioflocculant [J]. Journal of Environmental Engineering, 2019, 145(11): 04019075.
- [93] ZOU Xiao, SUN Jialong, LI Juan, et al. High flocculation of coal washing wastewater using a novel bioflocculant from *Isaria cicadae* GZU6722 [J]. Polish Journal of Microbiology, 2020, 69(1): 1-10.
- [94] ZHANG Yizhuo, YANG Qinhuai, GAO Hongxia, et al. Application of a modified biological flocculant in total nitrogen treatment of leather wastewater [J]. Water Science and Technology, 2021, 83(12): 2901-2910.
- [95] DAVID O M, OLUWOLE O A, AYODELE O E, et al. Characterisation of fungal bioflocculants and its application in water treatment [J]. Current Journal of Applied Science and Technology, 2019: 1-9.
- [96] FANG Di, SHI Cuicui. Characterization and flocculability of a novel proteoglycan produced by *Talaromyces trachyspermus* OU5 [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2016, 121(1): 52-56.
- [作者简介] 赵诗琪(1999—), 硕士。电话: 13258167816, E-mail: zhaoshiqi@stu.cqu.edu.cn。
- [收稿日期] 2022-10-26(修改稿)