

# 云芝漂白模拟糖厂废水及收获菌丝体 工艺条件研究( I )

冉艳红

(暨南大学生命科学技术学院生物工程系, 广东 广州 510642)

**摘 要:** 以脱色效率和生物量为指标, 采用摇瓶培养研究云芝对模拟糖厂废水生物漂白及收获菌丝体的最优培养条件。研究表明: 培养温度 30℃、pH 值为 4、180r/min、10% 的接种量为收获最大数量菌丝体和达到较高漂白效率的最适培养条件。

**关键词:** 云芝菌; 漂白; 糖厂废水; 菌丝体

## Study on the Colorants Biodegradation and Mycelium Production of *Polystictus versicolor* with Simulation Effluent (I)

RAN Yan-hong

(Department of Biology, College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** The colorants biodegradation and growing conditions of *Polystictus versicolor* cultured with simulation effluent in flask were studied. The *Polystictus versicolor* strain with high ability of colorants degradation and polysaccharide production was used. The results showed that the optimum conditions were: temperature 30℃, the initial pH 4, the rotary speed 180r/min and inoculum concentration 10%.

**Key words:** *Polystictus versicolor*; colorants biodegradation; simulation effluent; mycelium

中图分类号 Q939.97

文献标识码 B

文章编号 1002-6630(2005)01-0128-03

云芝(*Polystictus versicolor*), 是一种木腐性的药用真菌。有很高的营养与医疗保健价值。其药效化学成分主要是云芝多糖(PSK)与云芝多糖肽(PSP)。从云芝菌丝或子实体中提取, 临床上已用于肝炎治疗。并试用于肝癌的预防和治疗。同时, 近年来利用白腐菌进行废水生物处理研究表明, 云芝还具有强的废水漂白作用<sup>[1~3][5,6]</sup>。糖厂深色废水有代表性的为酒精废液和用于精炼糖厂再溶糖浆脱色的离子交换树脂再生液, 以往直接排放对环境颜色污染严重。其颜色物质的主要组成是美拉德反应色素、碱降解色素以及复杂酚类色素<sup>[4]</sup>。本研究利用前期实验筛选到的对糖厂废水色素漂白能力强云芝菌株。为排除废水中不确定成份的干扰, 采用仅考虑色素浓度及确定成份的模拟废水, 采用摇瓶培养研究云芝对模拟糖厂废水脱色及收获菌丝体的最优培养条件。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

云芝菌株 *polystictus versicolor* (PVC0) 实验室保存斜面菌种;

**种子液** 将已活化好的菌种斜面切成均匀小块, 以相同的接种量分别接种于液体培养基, 28℃, 120r/min 条件下, 振荡培养至菌球密度大于培养液的 50%, 置 4℃ 冰箱备用;

**模拟废水** 取实验室制备模拟各色素溶液<sup>[5]</sup>等量加入液体培养基中, 至培养液吸光度为 2.5 (色素溶液体积/液体培养基体积 ≥ 50%), 并调 pH 至 5.0, 置 4℃ 冰箱保存备用。

#### 1.2 主要仪器与设备

水浴两用振荡器 (SHZ-B 型); 电热式高压灭菌器;

收稿日期: 2004-01-05

基金项目: 广东省博士启动基金 (04300652)

作者简介: 冉艳红 (1975-), 女, 讲师, 博士, 研究方向为生物化工。

电子分析天平(Bp210S,  $d=0.1\text{mg}$ ); 超净工作台(SZX); 紫外可见分光光度计(DU-7); 酸度计; 电热恒温箱; 循环水式多用真空泵。

### 1.3 生物量的测定

将液体培养的菌丝球离心分离(3000r/min, 15min), 蒸馏水洗净, 于65℃烘箱中烘干至衡重, 电子天平称取其重量。

### 1.4 云芝对模拟废水漂白能力测定

取发酵前后的培养液, 相同倍数稀释, 0.45 $\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤, 滤液调pH至7.0, 测定420nm的吸光度值(OD)。计算脱色率。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同温度模拟废水对云芝菌脱色能力及生物量的影响

由云芝深层发酵的相关文献知, 云芝菌丝体生长的最适温度为28~30℃, 所以选择26、30、35℃三个温度比较了摇瓶培养7d时云芝对模拟废水的脱色率与生物量。实验结果如图1和图2所示。

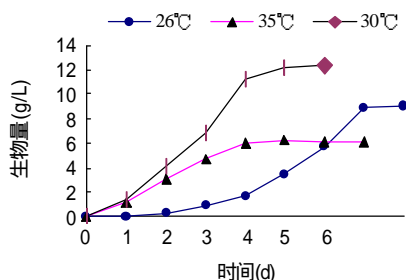


图1 不同温度模拟废水培养对云芝生长能力的影响

Fig.1 Effect of temperature on the biomass of PVC0 cultured in simulate effluent

由图1知, 30℃时生长最快, 延滞期短, 生物量最大。26℃培养, 菌体生长缓慢, 延滞期较长。35℃培养的延滞期虽然较短, 但最大生物量较26℃与30℃低得多。以最大量收获菌丝体目的, 30℃是最适初始培养温度。

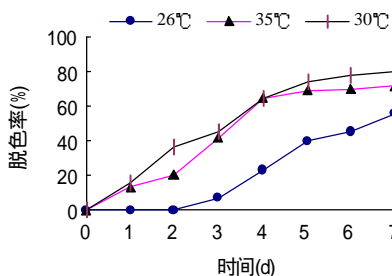


图2 不同温度模拟废水培养对云芝脱色能力的影响

Fig.2 Effect of temperature on the decolorize ability of PVC0 cultured in simulate effluent

不同温度模拟废水培养对云芝脱色能力影响的实验结果如图2所示, 30℃培养的脱色率最高, 第7d结束培养时的脱色率达到80%。从发酵过程控制温度的成本以及收获菌丝体方面考虑, 30℃应为收获最大数量菌丝体和达到较高脱色效率的最适初始培养温度。

### 2.2 不同初始pH值模拟废水对云芝脱色能力及生物量的影响

考虑到实际糖厂废水, 如酒精废液的pH值最低会在4左右, 离子交换再生液的pH高于8, 所以本实验将模拟废水培养基调成不同的起始pH值4、5、6、7、8、9, 观察菌体的生长情况。图3对比了发酵第五天不同起始pH值处理的生物量与脱色率, 表1是结束发酵时, 不同处理的发酵液pH值。起始pH值为4时的生物量最大, 脱色率最高, pH大于7时, 虽然菌体也能生长, 但不具有脱色能力。关于云芝深层培养的文献中报导<sup>[9]</sup>在深层发酵中采用自然起始pH或调节pH值在4.5~5.5, 但在本研究中发现, 在起始pH值为4时, 对模拟废水的脱色率最高, 且也能收获最大量的菌丝体。

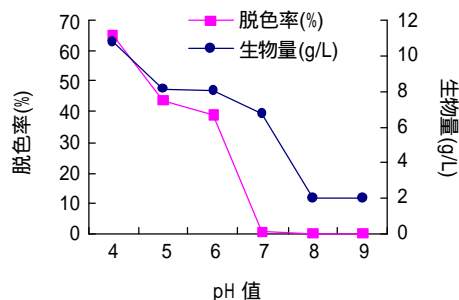


图3 不同初始pH值模拟废水对云芝脱色能力及生长的影响

Fig.3 Effect of initial pH on decolorize ability and biomass of PVC0 to simulate effluent

### 2.3 不同转速模拟废水培养对云芝脱色能力及生物量影响

本实验通过改变摇床的转速来研究溶解氧对模拟废水培养的云芝脱色能力及生长能力的影响。如图4所示, 转速达到180r/min时生物量最大。转速240r/min时, 适应期最短, 对数生长期的比生长速率最高, 但最大生物量比180r/min的生物量低, 这是因为氧气供应充分, 虽有利于菌体生长, 但在底物充足的情况下, 细胞呼吸速率上升, 释放出过多的CO<sub>2</sub>和热能。使细胞处于“麻醉”状态, 生长受抑制。图5结果表明了云芝在不同转速条件下培养对模拟废水脱色能力的影响, 结合各转速的生长曲线可知, 脱色率是随着菌体的增长而逐渐升高的。

实验中还发现, 转速低于180r/min时, 菌体以菌丝球形态生长, 当转速进一步升高或装液量减少, 菌体会以丝状形态生长, 丝状菌悬液的气液传递效果差的多。转速以保证菌体以直径较小的菌丝球形态生长的

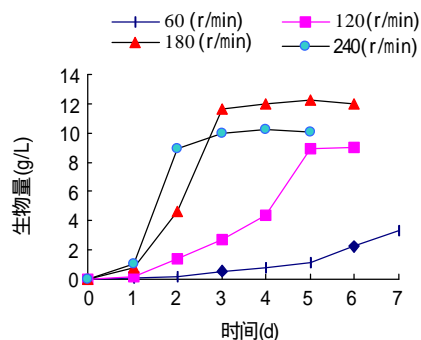


图4 不同转速模拟废水培养对云芝生物量的影响

Fig.4 Effect of rotary speed on the biomass of PVC0

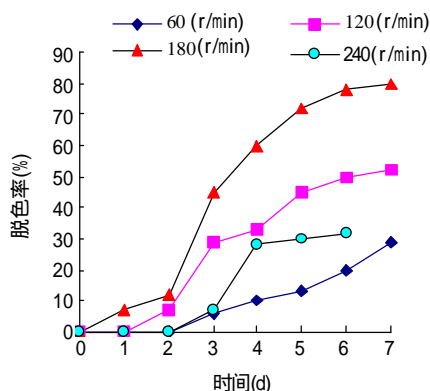


图5 不同转速模拟废水培养对云芝脱色能力的影响

Fig.5 Effect of rotary speed on the decolorize ability of PVC0

180r/min为最佳选择。

#### 2.4 不同接种量对模拟废水培养云芝脱色能力及生物量影响

本试验比较了5%, 10%, 15%的接种量对云芝对模拟废水脱色能力及生物量的影响, 结果如图6、7所示, 15%与10%接种量有利于菌体快速进入对数生长期和平衡期。由图7所示, 接种量对最终的脱色率没有影响, 但是较高的接种量10%、15%可以保证云芝对废水在较短的时间内达到较高的脱色率。接种量越大, 种子液中含有大量的胞外水解酶类, 有利于基质的利用, 而且生产菌在整个发酵罐内迅速占优势, 减少杂菌生长的机会, 延迟期短, 产物合成提前。综合考虑细胞生长能力、脱色效果以及制备种子液的成本, 确定接种量以10%为宜。

### 3 结论

本文研究了云芝菌株在模拟废水中生长, 获得对废水较高的生物漂白效果以及最大菌丝体产量的工艺条件为: 从发酵过程控制温度的成本以及收获菌丝体方面考虑, 30℃应为收获最大数量菌丝体和达到较高脱色效率的最适初始培养温度; 起始pH值为4时, 对模拟废水

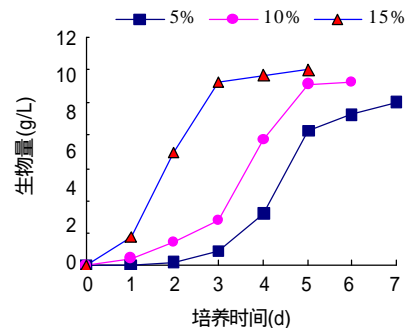


图6 不同接种量对云芝在模拟废水中生物量的影响

Fig.6 Effect of inoculum size on the biomass of PVC0 cultured in simulate effluent

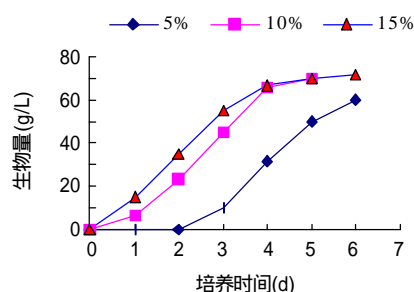


图7 不同接种量云芝对模拟废水脱色能力的影响

Fig.7 Effect of inoculum size on the decolorize ability of PVC0 cultured in simulate effluent

的脱色率最高, 且也能收获最大量的菌丝体; 转速以保证菌体以直径较小的菌丝球形态生长的180r/min为最佳选择; 10%的接种量可以保证PVC0对废水在较短的时间内达到较高的脱色率。

#### 参考文献:

- [1] Lopez M J, Elorrieta M A, Vargas-Garcia M C, et al. The effect of aeration on the biotransformation of lignocelluloses wastes by white rot fungi [J]. Bioresource Technology, 2002, (81): 123-129.
- [2] Robinson T, Chandran B, Nigam P. Studies on the production of enzymes by white-rot fungi for the decolorization of textile dyes [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001, (29): 575-579.
- [3] Kumar V, Wati L, Nigam P, et al. Decolorization and biodegradation of anaerobically digested sugar cane molasses spent wash effluent from biomethanation plants by white-rot fungus [J]. Process Biochemistry, 1998, 33(1): 83-88.
- [4] Carla Guimaraes, Luis San Miguel, et al. Biodegradation of colorants in refinery effluents: potential use of the fungus *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Int Sugar Jnl, 1999, 101 (1205): 246-251.
- [5] 冉艳红, 于淑娟, 杨连生, 等. 云芝对模拟精炼糖厂废水脱色及对菌丝体多糖的影响 [J]. 微生物学通报, 2003.
- [6] 冉艳红, 于淑娟, 杨连生, 等. 云芝菌用于糖厂废水生物脱色及生产多糖的研究 [J]. 华南理工大学学报, 2003.