



同济大学 1907-2017  
Tongji University



总主编 伍江 副总主编 雷星晖

张志强 夏四清 著

# 两种环境生物技术的开发及应用： 微生物絮凝剂和电导型生物传感器

Development and Application of Two Environmental Biotechnologies:  
Microbial Flocculant and Conductometric Biosensor



同济大学出版社  
TONGJI UNIVERSITY PRESS

 同济博士论丛  
TONGJI Dissertation Series

总主编 伍江 副总主编 雷星晖

张志强 夏四清 著

# 两种环境生物技术的开发及应用： 微生物絮凝剂和电导型生物传感器

Development and Application of Two Environmental Biotechnologies:  
Microbial Flocculant and Conductometric Sensor



同济大学出版社  
TONGJI UNIVERSITY PRESS

## 内 容 提 要

环境生物技术可实现环境效益与经济效益、社会效益的统一,对于解决环境污染难题、改善环境质量起到了极其重要的作用。针对环境生物技术领域内的关键材料与技术问题,本书系统地研究了两种环境生物新技术的开发及应用:高效 MBF 和电导型生物传感器(Conductometric Biosensor)。

本书适合环境专业研究人员和工作人员参考使用。

## 图书在版编目(CIP)数据

两种环境生物技术的开发及应用:微生物絮凝剂和电导型生物传感器 / 张志强,夏四清著. —上海:同济大学出版社, 2017. 8

(同济博士论丛 / 伍江总主编)

ISBN 978-7-5608-6857-8

I. ①两… II. ①张…②夏… III. ①微生物—絮凝剂—研究②生物传感器—研究 IV. ①TQ047.1②TP212.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 070284 号

---

# 两种环境生物技术的开发及应用: 微生物絮凝剂和电导型生物传感器

张志强 夏四清 著

出品人 华春荣 责任编辑 吕炜 熊磊丽

责任校对 徐春莲 封面设计 陈益平

---

出版发行 同济大学出版社 [www.tongjipress.com.cn](http://www.tongjipress.com.cn)

(地址:上海市四平路 1239 号 邮编:200092 电话:021-65985622)

经 销 全国各地新华书店

排版制作 南京展望文化发展有限公司

印 刷 浙江广育爱多印务有限公司

开 本 787 mm×1092 mm 1/16

印 张 12.75

字 数 255 000

版 次 2017 年 8 月第 1 版 2017 年 8 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5608-6857-8

---

定 价 61.00 元

---

本书若有印装质量问题,请向本社发行部调换 版权所有 侵权必究

## “同济博士论丛”编写领导小组

组 长：杨贤金 钟志华

副 组 长：伍 江 江 波

成 员：方守恩 蔡达峰 马锦明 姜富明 吴志强  
徐建平 吕培明 顾祥林 雷星晖

办公室成员：李 兰 华春荣 段存广 姚建中

# “同济博士论丛”编辑委员会

总 主 编：伍 江

副 总 主 编：雷星晖

编委会委员：（按姓氏笔画顺序排列）

丁晓强	万 钢	马卫民	马在田	马秋武	马建新
王 磊	王占山	王华忠	王国建	王洪伟	王雪峰
尤建新	甘礼华	左曙光	石来德	卢永毅	田 阳
白云霞	冯 俊	吕西林	朱合华	朱经浩	任 杰
任 浩	刘 春	刘玉擎	刘滨谊	闫 冰	关侏红
江景波	孙立军	孙继涛	严国泰	严海东	苏 强
李 杰	李 斌	李风亭	李光耀	李宏强	李国正
李国强	李前裕	李振宇	李爱平	李理光	李新贵
李德华	杨 敏	杨东援	杨守业	杨晓光	肖汝诚
吴广明	吴长福	吴庆生	吴志强	吴承照	何晶晶
何敏娟	何清华	汪世龙	汪光焘	沈明荣	宋小冬
张 旭	张亚雷	张庆贺	陈 鸿	陈小鸿	陈义汉
陈飞翔	陈以一	陈世鸣	陈艾荣	陈伟忠	陈志华
邵嘉裕	苗夺谦	林建平	周 苏	周 琪	郑军华
郑时龄	赵 民	赵由才	荆志成	钟再敏	施 骞
施卫星	施建刚	施惠生	祝 建	姚 熹	姚连璧

袁万城 莫天伟 夏四清 顾 明 顾祥林 钱梦騷  
徐 政 徐 鉴 徐立鸿 徐亚伟 凌建明 高乃云  
郭忠印 唐子来 阎耀保 黄一如 黄宏伟 黄茂松  
戚正武 彭正龙 葛耀君 董德存 蒋昌俊 韩传峰  
童小华 曾国荪 楼梦麟 路秉杰 蔡永洁 蔡克峰  
薛 雷 霍佳震

秘书组成员：谢永生 赵泽毓 熊磊丽 胡晗欣 卢元姍 蒋卓文

# 总序

在同济大学 110 周年华诞之际，喜闻“同济博士论丛”将正式出版发行，倍感欣慰。记得在 100 周年校庆时，我曾以《百年同济，大学对社会的承诺》为题作了演讲，如今看到付梓的“同济博士论丛”，我想这就是大学对社会承诺的一种体现。这 110 部学术著作不仅包含了同济大学近 10 年 100 多位优秀博士研究生的学术科研成果，也展现了同济大学围绕国家战略开展学科建设、发展自我特色，向建设世界一流大学的目标迈出的坚实步伐。

坐落于东海之滨的同济大学，历经 110 年历史风云，承古续今、汇聚东西，秉持“与祖国同行、以科教济世”的理念，发扬自强不息、追求卓越的精神，在复兴中华的征程中同舟共济、砥砺前行，谱写了一幅幅辉煌壮美的篇章。创校至今，同济大学培养了数十万工作在祖国各条战线上的人才，包括人们常提到的贝时璋、李国豪、裘法祖、吴孟超等一批著名教授。正是这些专家学者培养了一代又一代的博士研究生，薪火相传，将同济大学的科学研究和学科建设一步步推向高峰。

大学有其社会责任，她的社会责任就是融入国家的创新体系之中，成为国家创新战略的实践者。党的十八大以来，以习近平同志为核心的党中央高度重视科技创新，对实施创新驱动发展战略作出一系列重大决策部署。党的十八届五中全会把创新发展作为五大发展理念之首，强调创新是引领发展的第一动力，要求充分发挥科技创新在全面创新中的引领作用。要把创新驱动发展作为国家的优先战略，以科技创新为核心带动全面创新，以体制机制改

革激发创新活力,以高效率的创新体系支撑高水平的创新型国家建设。作为人才培养和科技创新的重要平台,大学是国家创新体系的重要组成部分。同济大学理当围绕国家战略目标的实现,作出更大的贡献。

大学的根本任务是培养人才,同济大学走出了一条特色鲜明的道路。无论是本科教育、研究生教育,还是这些年摸索总结出的导师制、人才培养特区,“卓越人才培养”的做法取得了很好的成绩。聚焦创新驱动转型发展战略,同济大学推进科研管理体系改革和重大科研基地平台建设。以贯穿人才培养全过程的一流创新创业教育助力创新驱动发展战略,实现创新创业教育的全覆盖,培养具有一流创新力、组织力和行动力的卓越人才。“同济博士论丛”的出版不仅是对同济大学人才培养成果的集中展示,更将进一步推动同济大学围绕国家战略开展学科建设、发展自我特色、明确大学定位、培养创新人才。

面对新形势、新任务、新挑战,我们必须增强忧患意识,扎根中国大地,朝着建设世界一流大学的目标,深化改革,勠力前行!

万 钢

2017年5月



# 论丛前言

承古续今,汇聚东西,百年同济秉持“与祖国同行、以科教济世”的理念,注重人才培养、科学研究、社会服务、文化传承创新和国际合作交流,自强不息,追求卓越。特别是近20年来,同济大学坚持把论文写在祖国的大地上,各学科都培养了一大批博士优秀人才,发表了数以千计的学术研究论文。这些论文不但反映了同济大学培养人才能力和学术研究的水平,而且也促进了学科的发展和国家的建设。多年来,我一直希望能有机会将我们同济大学的优秀博士论文集中整理,分类出版,让更多的读者获得分享。值此同济大学110周年校庆之际,在学校的支持下,“同济博士论丛”得以顺利出版。

“同济博士论丛”的出版组织工作启动于2016年9月,计划在同济大学110周年校庆之际出版110部同济大学的优秀博士论文。我们在数千篇博士论文中,聚焦于2005—2016年十多年间的优秀博士学位论文430余篇,经各院系征询,导师和博士积极响应并同意,遴选出近170篇,涵盖了同济的大部分学科:土木工程、城乡规划学(含建筑、风景园林)、海洋科学、交通运输工程、车辆工程、环境科学与工程、数学、材料工程、测绘科学与工程、机械工程、计算机科学与技术、医学、工程管理、哲学等。作为“同济博士论丛”出版工程的开端,在校庆之际首批集中出版110余部,其余也将陆续出版。

博士学位论文是反映博士研究生培养质量的重要方面。同济大学一直将立德树人作为根本任务,把培养高素质人才摆在首位,认真探索全面提高博士研究生质量的有效途径和机制。因此,“同济博士论丛”的出版集中展示同济大

学博士研究生培养与科研成果,体现对同济大学学术文化的传承。

“同济博士论丛”作为重要的科研文献资源,系统、全面、具体地反映了同济大学各学科专业前沿领域的科研成果和发展状况。它的出版是扩大传播同济科研成果和学术影响力的重要途径。博士论文的研究对象中不少是“国家自然科学基金”等科研基金资助的项目,具有明确的创新性和学术性,具有极高的学术价值,对我国的经济、文化、社会发展具有一定的理论和实践指导意义。

“同济博士论丛”的出版,将会调动同济广大科研人员的积极性,促进多学科学术交流、加速人才的发掘和人才的成长,有助于提高同济在国内外的竞争力,为实现同济大学扎根中国大地,建设世界一流大学的目标愿景做好基础性工作。

虽然同济已经发展成为一所特色鲜明、具有国际影响力的综合性、研究型大学,但与世界一流大学之间仍然存在着一定差距。“同济博士论丛”所反映的学术水平需要不断提高,同时在很短的时间内编辑出版110余部著作,必然存在一些不足之处,恳请广大学者,特别是有关专家提出批评,为提高同济人才培养质量和同济的学科建设提供宝贵意见。

最后感谢研究生院、出版社以及各院系的协作与支持。希望“同济博士论丛”能持续出版,并借助新媒体以电子书、知识库等多种方式呈现,以期成为展现同济学术成果、服务社会的一个可持续的出版品牌。为继续扎根中国大地,培育卓越英才,建设世界一流大学服务。

伍江

2017年5月

# 前 言

生物技术在环境治理和环境保护中的广泛应用,衍生出一门新学科和新技术,即环境生物技术(Environmental Biotechnologies)。凡是与生物技术结合,对环境进行监控、治理或修复,清洁生产,污染物资源化,以及生物材料和能源开发等,均属于环境生物技术研究应用的范畴。其重点研究领域包括以生物传感器为代表的环境污染监控技术、工业和生活废水中污染物的微生物降解技术、生态环境生物防治和生物修复技术、环境友好可再生材料和能源的生物合成技术等。环境生物技术可实现环境效益与经济效益、社会效益的统一,对于解决环境污染难题、改善环境质量能起到极其重要的作用。

微生物絮凝剂(Microbial Flocculant, MBF)是由微生物产生的可使液体中不易沉降的固体悬浮颗粒、菌体细胞及胶体颗粒等凝聚沉淀的特殊高分子物质,具有高效、无毒、可生物降解等特点;而生物传感器(Biosensor)是将生物感应元件与能够产生和待测物浓度成比例信号的换能器结合起来的一种分析装置,具有灵敏度高、选择性好、响应快、可微型化等特点。针对环境生物技术领域内的这两个热点问题,本书系统地研究了两种环境生物新技术的开发及应用:高效 MBF 和电导型生物

传感器(Conductometric Biosensor)。主要研究内容和结果如下：

(1) 通过用新鲜培养基代替蒸馏水来做空白实验,提高了絮凝剂产生菌的筛选标准;从上海市多个污水处理厂的混合活性污泥中筛选出一株能产生高效 MBF 的菌株 TJ-1,所产 MBF 命名为 TJ-F1;常规菌种鉴定结果和 16S rDNA 测序结果均表明 TJ-1 为奇异变形杆菌 (*Proteus mirabilis*),这是首次发现奇异变形杆菌能产生 MBF。

(2) 系统地研究了碳源、氮源、碳氮比和金属盐等对 TJ-1 产生 MBF 的影响,对培养基组成进行了优化;综合考察了培养时间、培养基初始 pH 值、培养温度、通气量和接种量等因素对 TJ-1 产生 MBF 的影响,对 TJ-1 产生 MBF 的培养条件进行了优化;TJ-1 在优化培养环境中所产 MBF 的絮凝活性高达 93%。

(3) 通过有机溶剂提纯法,从 1 L 发酵液中提取出 1.33 g 纯化的固态 TJ-F1。采用紫外扫描、傅立叶红外扫描、扫描电镜、总有机碳分析、化学成分分析和凝胶色谱等诸多手段对 TJ-F1 进行表征,分析其化学成分和结构,结果表明:纯化的 TJ-F1 呈线性晶态结构,由多糖 (63.1%) 和蛋白质 (30.9%) 等组成,含有 O—H, N—H, 氢键和 —COOH 等功能基团,分子量为  $1.2 \times 10^5$  Da,属于天然有机高分子物质。

(4) 从 Zeta 电位变化角度,研究了影响 TJ-F1 絮凝效果的各种因素,分析了 TJ-F1 的絮凝机理: TJ-F1 能够通过范德华力对颗粒物进行吸附;在碱性条件下有更多的吸附点,增强吸附架桥能力;CaCl<sub>2</sub> 是能够有效降低 TJ-F1 絮凝体系的电负性,是 TJ-F1 发挥良好絮凝性能的助凝剂;在 TJ-F1 絮凝过程中,有沉淀网捕作用,提升了 TJ-F1 的絮凝性能。

(5) TJ-F1 可有效改善污泥的沉降性能和过滤性能。沉降性能实

验结果表明,沉降时间相同时,在研究的 MBF 投加量范围内,污泥沉降速度与 MBF 用量成正比;过滤性能实验结果表明,在最佳脱水条件下,污泥过滤 5 min 后脱水率可达 82%;污泥脱水对照实验表明,MBF 比聚丙烯酰胺 (polyacrylamide, PAM) 或聚合氯化铝 (poly aluminum chloride, PAC) 的脱水效果要好;MBF 和 PAM 或 PAC 的复配使用,不仅能增强絮凝效果,还能减少 PAM 或 PAC 的用量,减少二次污染,具有重要的应用价值。

(6) TJ-F1 对染料有很强的吸附能力,这对于染料废水脱色和染料的回收利用均有重要意义。TJ-F1 能够有效地从溶液中吸附阳离子艳蓝 RL,实现废水脱色;TJ-F1 对阳离子艳蓝 RL 的吸附动力学可用伪二级动力学方程拟合;TJ-F1 对阳离子艳蓝 RL 的吸附为放热反应,等温吸附线符合 Langmuir 和 Freundlich 等温吸附模型;TJ-F1 对阳离子艳蓝 RL 的良好吸附效果主要是通过其中含有的大量 O—H、—COOH 和氢键等功能基团与染料结合来实现的。

(7) 为降低 TJ-F1 的生产成本,研究了适于 TJ-1 生长的廉价替代培养基。实验表明,奶糖废水和豆浆废水可以共同作为 TJ-1 产生 MBF 的碳氮源,最佳配比为 4:1,所产生 MBF 的絮凝活性为 82.45%,在节省这两种废水处理费用的同时,实现了它们的资源化利用;此外,生产成本的降低对于 MBF 未来的工业化生产和市场化应用也具有积极意义。

(8) 利用从埃希氏大肠杆菌细胞中提取的麦芽糖磷酸化酶,研制出了单酶电导型磷酸盐生物传感器。根据传感器在室温下工作的标准曲线,它对磷酸盐浓度检测有两个线性范围,分别为 1.0~20  $\mu\text{M}$  和 20~400  $\mu\text{M}$ ,检测限为 1.0  $\mu\text{M}$ 。水中常见阴离子不会对电导型磷酸盐生物传感器的检测结果形成明显干扰;该电导型磷酸盐生物传感器在 20~

50℃均能工作,有较好的温度稳定性;在保藏2个月后,仍有70%的响应,保藏稳定性好;对实际水样的分析结果表明,电导型磷酸盐生物传感器可用于较清洁的地表水体中磷酸盐的分析,对于地表水体富营养化的监控有实际意义。

(9) 利用从硫酸盐还原细菌细胞中提取的细胞色素 *c* 亚硝酸盐还原酶,研制出了电导型亚硝酸盐生物传感器。传感器的线性响应范围为 0.2~120  $\mu\text{M}$ ,灵敏度为 0.194  $\mu\text{S}/\mu\text{M}$  [ $\text{NO}_2^-$ ],检测限为 0.05  $\mu\text{M}$ 。不同传感器间的标准偏差在 6% 以内。电导型亚硝酸盐生物传感器在 20~35℃ 均能工作;保藏后第 1 周内,它能保持较高的响应和稳定性,然后随着测定次数的增加和保藏时间的延长,性能逐渐下降,3 周后,其仍保有约 50% 的响应;若在保藏过程中减少传感器使用次数在 5 次之内,1 个月后,其仍能保留近 75% 的响应;对实际水样的分析结果表明,电导型亚硝酸盐生物传感器可用于较清洁的地表水体中亚硝酸盐的分析,对于地表水体富营养化的监控有实际意义。

# 目 录

总序

论丛前言

前言

第 1 章 绪言 .....	1
1.1 研究背景 .....	1
1.1.1 我国地表水环境形势 .....	1
1.1.2 问题的提出及研究意义 .....	3
1.2 两种环境生物技术的研究概况 .....	6
1.2.1 MBF 的研究概况 .....	6
1.2.2 生物传感器的研究概况 .....	20
1.3 研究思路和内容 .....	27
1.3.1 高效 MBF .....	27
1.3.2 电导型生物传感器 .....	29
1.4 研究创新点 .....	30

## 第一部分 高效 MBF 的开发及应用研究

<b>第 2 章 高效 MBF 产生菌的筛选与鉴定</b> .....	35
2.1 本章引言 .....	35
2.1.1 MBF 产生菌的分离与筛选 .....	35
2.1.2 菌种鉴定 .....	35
2.2 材料与方法 .....	36
2.2.1 主要试验材料 .....	36
2.2.2 菌种富集 .....	37
2.2.3 菌株的分离纯化 .....	37
2.2.4 菌株的浅层发酵培养 .....	38
2.2.5 MBF 产生菌的筛选 .....	38
2.2.6 菌种常规鉴定 .....	39
2.2.7 菌种 16S rDNA 测序鉴定 .....	39
2.3 结果与讨论 .....	40
2.3.1 初筛结果 .....	40
2.3.2 复筛结果 .....	45
2.3.3 产 MBF 稳定性试验 .....	47
2.3.4 菌种鉴定结果 .....	49
2.4 本章小结 .....	51
<b>第 3 章 TJ-1 产 MBF 的影响因素研究</b> .....	52
3.1 本章引言 .....	52
3.2 材料与方法 .....	52
3.2.1 主要试验材料 .....	52
3.2.2 TJ-1 产 MBF 的影响因素试验 .....	53
3.3 结果与讨论 .....	53



3.3.1	TJ-1 的生长曲线	53
3.3.2	培养基初始 pH 对 TJ-1 产 MBF 的影响	55
3.3.3	碳源对 TJ-1 产 MBF 的影响	55
3.3.4	氮源对 TJ-1 产 MBF 的影响	57
3.3.5	碳氮比对 TJ-1 产 MBF 的影响	58
3.3.6	金属离子对 TJ-1 产 MBF 的影响	59
3.3.7	培养温度对 TJ-1 产 MBF 的影响	60
3.3.8	通气量对 TJ-1 产 MBF 的影响	61
3.3.9	接种量对 TJ-1 产 MBF 的影响	62
3.4	本章小结	63
<b>第 4 章</b>	<b>TJ-F1 的提纯、表征及絮凝机理研究</b>	<b>64</b>
4.1	本章引言	64
4.2	材料与方法	65
4.2.1	主要试验材料	65
4.2.2	TJ-F1 的提纯	66
4.2.3	TJ-F1 的表征	66
4.2.4	絮凝实验	67
4.3	结果与讨论	67
4.3.1	TJ-F1 的提纯	67
4.3.2	TJ-F1 的表征	67
4.3.3	Zeta 电位分析	69
4.3.4	pH 对 TJ-F1 絮凝效果的影响	70
4.3.5	CaCl <sub>2</sub> 对 TJ-F1 絮凝效果的影响	71
4.3.6	TJ-F1 的用量对絮凝效果的影响	72
4.3.7	扫描电镜分析	73
4.4	本章小结	74