

三种絮凝剂采收光合细菌的研究

何丹, 高建亮, 闫谨, 赵玉慧, 张迪, 才金玲*

(天津科技大学化工与材料学院, 天津市卤水化工与资源生态化利用重点实验室, 天津 300457)

摘要: 由于光合细菌体积小、培养液菌体密度低, 导致菌体难以回收, 极大地限制了光合细菌的产业化应用。研究了不同质量浓度的硫酸铝、氯化铁、壳聚糖絮凝采收光合细菌的效果。结果表明, 3 种絮凝剂均能高效回收光合细菌, 其中氯化铁采收光合细菌的最适质量浓度为 1.9 g/L, 回收率高达 (99.99±0.01)%; 硫酸铝采收光合细菌的最适质量浓度为 1.5 g/L, 回收率为 (98.24±0.01)%; 壳聚糖的最适质量浓度为 0.008 g/L, 回收率为 (84.20±0.02)%。3 种絮凝剂均可高效回收光合细菌, 其中壳聚糖由于用量低、无毒害, 更适用于采收光合细菌。

关键词: 光合细菌; 采收; 絮凝; 壳聚糖; 氯化铁; 硫酸铝

中图分类号: Q93

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2020)08-0150-04

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2020.08.031

Photosynthetic bacteria collection by three flocculants

HE Dan, GAO Jian-liang, YAN Jin, ZHAO Yu-hui, ZHANG Di, CAI Jin-ling*

(Tianjin Key Laboratory for Brine Chemical Industry and Ecological Utilization of Brine Resource, College of Chemical Engineering and Materials Science, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Photosynthetic bacteria (PSB) are hard to be recovered due to their small size, lower density in culturing medium and high electronegativity, which hampers their commercial application. Flocculation has been widely used to recover microbiological biomass because of its low cost and high efficiency. Three flocculants, such as $Al_2(SO_4)_3$, $FeCl_3$, and chitosan, are used to recover PSB biomass. Results show that all three flocculants can efficiently recover PSB biomass. Among them, the optimum concentration of ferric chloride to collect photosynthetic bacteria is $1.9 g \cdot L^{-1}$, by which the recovery rate of PSB biomass can reach as high as (99.99±0.01)%; the optimum concentration of aluminum sulfate is $1.5 g \cdot L^{-1}$, which can bring about a recovery rate of (98.24±0.01)%; and the optimum concentration of chitosan is $0.008 g \cdot L^{-1}$, by which the recovery rate is (84.20±0.02)%. Chitosan is more suitable for collecting photosynthetic bacteria because of its low dosage and non-toxic.

Key words: photosynthetic bacteria; collecting; flocculation; chitosan; ferric chloride; aluminum sulfate

光合细菌(Photosynthetic Bacteria, 简称 PSB)是 20 亿年前地球上最早出现的具有原始光能合成体系的原核生物, 广泛分布于土壤、湖泊、氧化池、活性污泥槽、污水沟、海洋等领域。其能在厌氧光照的条件下利用硫化氢、硫代硫酸盐、分子氢或其他还原剂进行不产氧的光合作用, 将 CO_2 还原成有机物。在自然界的碳素循环和物质转化中起着重要作用。其菌体内富含活性蛋白、B 族维生素(如生物素、叶酸)、类胡萝卜素、细菌叶绿素、多糖、辅酶 Q 等^[1], 可应用于单细胞蛋白的生产、水产养殖、能源开发和农业等领域^[2-3]。近年来随着研究的深入, 光合细菌在保健品、医药、食品领域具有十分广阔的应用前景^[4]。

光合细菌菌体难以自然沉降, 在使用过程中极易流失, 这在一定程度上限制了光合细菌的市场发

展^[5-6]。因此, 光合细菌的采收逐渐受到研究者的关注^[6-8]。Meng 等^[9]利用一种新型膜生物反应器, 在处理废水的同时收集到大约 10% 的光合细菌菌体。Qin 等^[8]利用缺氧振荡膜生物反应器(MBR)系统收获的光合细菌生物量最高可达 3.75 g/L; 孙仕勇等^[10]采用海藻酸钠凝胶和高铁黏土混合形成三维网络结构骨架收集光合细菌, 可将菌液浓缩, 使其细胞个数达到 0.06~240 亿/ cm^3 。絮凝技术相对耗能少、成本低、操作简单, 适于大规模采收^[11]。因此絮凝技术普遍应用于微藻的采收^[12]。近年来也有研究者将其应用于光合细菌的采收^[13-14]。Pushparaj 等^[15]利用合成阳离子聚合物回收红假单胞菌, 在絮凝剂与菌液质量比为 1:1 000 时, 处理 30 min 回收率最高可达 86%; 王家芳^[16]在 100 mL 菌液(G3 菌株)中加入 6 mL 10% 硫酸铝钾, 回收率

收稿日期: 2019-10-24; 修回日期: 2020-06-13

基金项目: 天津市科学基金面上项目(17JCYBJC22900); 天津科技大学大学生实验室创新基金项目(1803A203); 天津市高等学校大学生创新训练计划项目(201910057148)

作者简介: 何丹(1998-), 女, 本科生, 研究方向为生物化工, he_danl@163.com; 才金玲(1976-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向为生物活性物质的筛选与利用, 通讯联系人, jinlingcai@tust.edu.cn。

达到 98.73%;黄业翔^[17]研究发现在 100 mL 菌液中加入 60 mL/L 的 3% 聚合氯化铝时接近 70% 光合细菌絮凝沉淀。虽然在絮凝光合细菌这方面的研究一直未断,但依然存在一些问题,如絮凝剂用量大、成本高、有毒害性等。笔者通过对比氯化铁、硫酸铝及壳聚糖 3 种絮凝剂对光合细菌的回收率及絮凝成本,旨在寻找一种安全无毒、高效、低成本的光合细菌絮凝剂。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

所用菌种为本实验室前期从海洋环境分离获得的一株海洋光合细菌-沙氏外硫红螺菌 P2 (*Ectothiorhodospira shaposhnikovii*)^[18]。

光合细菌所用培养基:乙酸钠 4.0 g/L、硫酸镁 0.12 g/L、氯化钙 0.075 g/L、硫酸铵 1.0 g/L、磷酸二氢钾 0.5 g/L、磷酸氢二钾 0.3 g/L、乙二胺四乙酸二钠 0.02 g/L、酵母粉 0.1 g/L、氯化钠 20.0 g/L 和 TM 贮备液 1 mL。其中 TM 贮备液的基本成分:硼酸 2.8 g/L、一水硫酸锰 1.592 g/L、二水钼酸钠 0.752 g/L、七水硫酸锌 0.24 g/L、三水硝酸铜 0.04 g/L。培养基的 pH 调至 7.8, 121℃ 高压灭菌 20 min。在日光灯照射下置于 30℃、150 r/min 的摇瓶柜中培养。

絮凝剂:氯化铁 (ferric chloride, CAS: 7705-08-0, 分子式: FeCl_3 , 易溶于水), 天津市风船化学试剂科技有限公司生产;硫酸铝 (aluminum sulfate, CAS: 10043-01-3, 分子式: $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, 可溶于水), 天津市光复科技发展有限公司生产;壳聚糖 (Chitosan, CAS: 9012-76-4, 分子式: $(\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_4)_n$, $n = 70 \sim 80$ 万, 溶于柠檬酸和 1% 的乙酸), 上海蓝季生物生产。所有试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

实验室 pH 计, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产;精密电子天平, 赛多利科学仪器(北京)有限公司生产;YXQ-LS-50SII 立式压力蒸汽灭菌锅, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂生产;HYL-A 全温摇瓶柜, 太仓市强乐实验设备有限公司生产;岛津 UV-1800 紫外-可见分光光度计, 日本岛津有限公司生产;SW-CJ-2FD 型双人单面净化工作台, 苏州净化设备有限公司生产;78HW-1 数显恒温磁力搅拌器, 杭州仪表电机有限公司生产;101-0AB 型电热鼓风干燥箱, 天津市泰斯特仪器有限公司生产。

1.3 方 法

1.3.1 回收率

通过实验测定了氯化铁、硫酸铝和壳聚糖 3 种絮凝剂对光合细菌的絮凝效果。取初始 OD_{660} 值为 1.0 左右的菌液于锥形瓶中, 分别加入 1.1、1.3、1.5、1.7 g/L 和 1.9 g/L 的氯化铁或硫酸铝, 或 0.004、0.008、0.012、0.016 g/L 和 0.020 g/L 的壳聚糖溶液, 充分混匀。在不同静置时间测定 OD_{660} 值, 计算回收率。每个实验平行测定 3 次。

采用浊度比色法测定回收率, 用分光光度计在波长为 660 nm 下分别测定菌液初始 OD_0 值以及加入絮凝剂后上清液的 OD_t 值。回收率的计算式为^[19]:

$$Y = [(OD_0 - OD_t) / OD_0] \times 100\% \quad (1)$$

式中: Y 为回收率; OD_0 为原始菌液 OD 值; OD_t 为静置 t 时间的 OD 值。

1.3.2 絮凝效果

将光合细菌过滤后在烘箱中 40℃ 烘 24 h, 称其干重, 得出 $OD_{660\text{nm}}$ 与光合细菌干重 (m_d) 的关系式 ($R^2 = 0.992$):

$$m_d / (\text{g} \cdot \text{L}^{-1}) = 0.4697 \times OD_{660\text{nm}} + 0.0188 \quad (2)$$

计算得絮凝 1 g 絮凝剂可絮凝光合细菌的干重, 判断絮凝剂种类对絮凝效果的影响。

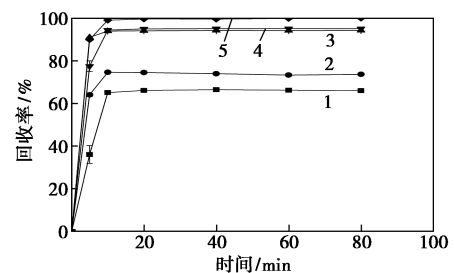
1.3.3 数据处理

各组数据用平均数 ± 标准差表示, 统计分析采用邓肯式多重比较法。

2 结果与分析

2.1 氯化铁质量浓度对回收率的影响

氯化铁质量浓度 (1.1、1.3、1.5、1.7 g/L 和 1.9 g/L) 对光合细菌的絮凝效果如图 1 所示。对于单一质量浓度来说, 在静置 10 min 左右时絮凝效果趋于稳定, 此后回收率几乎不再发生变化。说明在加入絮凝剂 10 min 时絮凝剂与光合细菌完全团聚形成絮体。



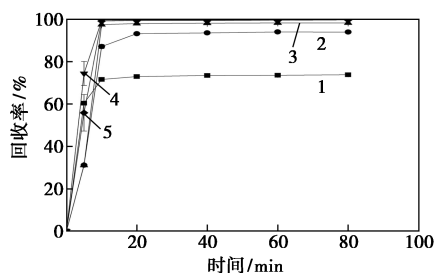
1—1.1 g/L; 2—1.3 g/L; 3—1.5 g/L; 4—1.7 g/L; 5—1.9 g/L

图 1 氯化铁质量浓度对光合细菌絮凝回收率的影响

氯化铁的质量浓度对光合细菌的回收率有显著影响($P < 0.05$)。氯化铁质量浓度越大回收率越高。当氯化铁质量浓度为 1.1 g/L 时,回收率最低,为 $(66.02 \pm 0.02)\%$;随着氯化铁质量浓度的增加,光合细菌回收率逐渐增加;当氯化铁质量浓度为 1.9 g/L 时达到最高回收率,为 $(99.99 \pm 0.01)\%$ 。因此以氯化铁为絮凝剂时,质量浓度为 1.9 g/L 时最佳。以往的研究也表明,投加 Ca^{2+} 能显著改变光合细菌在溶液中的絮凝颗粒大小,当培养基中 Ca^{2+} 为 4 mmol/L 时,光合细菌形成的絮凝颗粒最大为 $30.07 \mu\text{m}$ ^[20]。从而影响光合细菌的絮凝和回收率。

2.2 硫酸铝质量浓度对回收率的影响

硫酸铝质量浓度(1.1、1.3、1.5、1.7、1.9 g/L)对光合细菌絮凝的效果如图 2 所示。对于单一质量浓度来说,在静置时间 10 min 时趋于稳定,此后回收率几乎不再发生变化。



1—1.1 g/L; 2—1.3 g/L; 3—1.5 g/L; 4—1.7 g/L; 5—1.9 g/L

图 2 硫酸铝质量浓度对光合细菌絮凝回收率的影响

硫酸铝质量浓度对光合细菌的回收率有显著影响($P < 0.05$)。硫酸铝质量浓度越大,回收率越大。当硫酸铝质量浓度为 1.1 g/L 时,回收率仅为 $(73.80 \pm 0.07)\%$;硫酸铝质量浓度为 1.3 g/L 时达最高回收率,增加到 $(93.96 \pm 0.11)\%$;继续增加硫酸铝的质量浓度(1.5~1.9 g/L),光合细菌的回收率没有显著变化($98.27\% \sim 99.69\%$)。因此以硫酸铝为絮凝剂时,质量浓度为 1.5 g/L 最佳。絮凝剂的质量浓度过高或过低都会降低絮凝效果。董姍^[21]和王家芳等^[16]的研究结果与笔者的研究结果相类似。絮凝剂质量浓度过高时,会在细菌表面形成聚合物胶状层,降低絮凝率;而质量浓度过低时,直接导致细菌絮凝不完全^[21]。

氯化铁絮凝采收光合细菌的能力显著高于硫酸铝的效率。陈亚松^[23]研究了铁盐和铝盐对微生物活性的影响,结果表明,铁盐对微生物的抑制作用更小,铁盐比铝盐更适宜用于微生物的絮凝。闫海^[22]研究了不同铝盐如硫酸铝、明矾、氯化铝和聚合氯化

铝采收沼泽红假单胞菌,结果发现,0.01 mol/L 聚合氯化铝几乎能够絮凝培养液中全部的光合细菌细胞。黄业翔^[17]的研究表明,聚合氯化铝质量浓度为 1.8 g/L 时,光合细菌絮体具有更好的沉降性能,此时回收率为 70%。远低于本实验中无机絮凝剂对 *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* 的回收率(氯化铁为 $(99.99 \pm 0.01)\%$,硫酸铝为 $(98.24 \pm 0.01)\%$)。王家芳^[16]研究的硫酸铝钾质量浓度为 6 g/L 时对沼泽红假单胞菌 G3 菌株的回收率为 98.73%,与本研究的回收率相近,如表 1 所示。但其絮凝剂的用量远远高于本实验的氯化铁和硫酸铝的用量。这与本实验所用海水菌种有关,在海水培养基中生长的细菌在高渗透压的作用下,会释放大量胞外聚合物^[24],会降低絮凝剂的用量。

表 1 不同絮凝剂采收光合细菌的效果

| 絮凝剂 | 质量浓度/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) | 回收率/ % | 菌种 | 参考文献 |
|-------|---|--------------------|------------|------|
| 聚丙烯酰胺 | 1.001 [#] | 86 | 沼泽红假单胞菌 | [15] |
| 硫酸铝钾 | 6 [#] | 98.73 | 沼泽红假单胞菌 | [16] |
| 聚合氯化铝 | 1.8 [#] | 70 | 光合细菌菌群 | [17] |
| 聚合氯化铝 | 0.008 mol/L | 100 | 沼泽红假单胞菌 R2 | [25] |
| 聚合氯化铝 | 1.8 [#] | 70 | 光合细菌菌群 | [14] |
| 聚合氯化铝 | 0.075 | 小于 50 [#] | 球形红细菌 | [21] |
| 聚合氯化铝 | 0.01 mol/L | 100 | 沼泽红假单胞菌 | [22] |
| 氯化铁 | 1.9 | 99.99 | 外硫红螺菌 P2 | 本研究 |
| 硫酸铝 | 1.5 | 98.24 | 外硫红螺菌 P2 | 本研究 |
| 壳聚糖 | 0.008 | 87.38 | 外硫红螺菌 P2 | 本研究 |

注:“#”为根据参考文献计算得出的数据。

2.3 壳聚糖质量浓度对回收率的影响

壳聚糖质量浓度对回收率的影响如图 3 所示。由图 3 中可以看出,以壳聚糖为絮凝剂时,不同质量浓度壳聚糖在静置 20 min 后回收率几乎就不再发生改变。壳聚糖的质量浓度对光合细菌的回收率有显著影响($P < 0.05$)。当壳聚糖质量浓度为 0.004 g/L 时,光合细菌的回收率最小,仅为 $(20.61 \pm 0.01)\%$;质量浓度为 0.008~0.016 g/L 时,光合细菌回收率最大,为 $84.20 \sim 87.38\%$;继续增加壳聚糖的质量浓度到 0.020 g/L,光合细菌的回收率反而下降,为 $(72.97 \pm 0.38)\%$ 。因此,以壳聚糖为絮凝剂时,最佳质量浓度为 0.008 g/L。Pushparaj 等^[15]研究表明,加入 1 mg/L 阳离子聚合物(聚丙烯酰胺) *Rhodospseudomonas palustris* 的回收率达 86%。回收率和投加量与壳聚糖均相差无几,但该聚合物的单

体具有毒性,不利于光合细菌的后续利用。

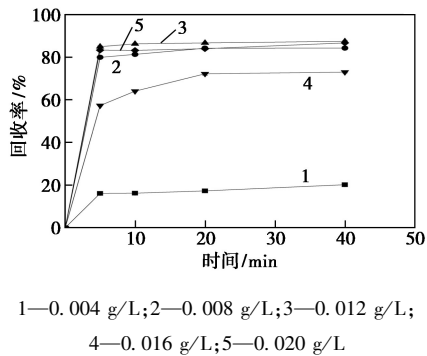


图3 壳聚糖溶液质量浓度对光合细菌絮凝回收率的影响

2.4 絮凝剂比较

根据式(2)计算得1 g氯化铁可絮凝2.31 g光合细菌;1 g硫酸铝可絮凝2.88 g光合细菌;1 g壳聚糖可絮凝462.50 g光合细菌。三氯化铁的市场价格2.8元/kg,硫酸铝的市场价格是4元/kg,壳聚糖的市场价格是50元/kg。在相同的成本下,壳聚糖可絮凝的光合细菌是氯化铁的11倍左右,是硫酸铝的13倍左右。3种絮凝剂中壳聚糖的絮凝成本最低。

壳聚糖是一种天然的多糖物质,具有来源丰富、安全无毒、易降解、不造成二次污染、处理成本低等优点^[26-28]。除此之外,壳聚糖在絮凝时还体现出投量少、絮体紧实、絮凝效果好、回收率高等优点。目前,壳聚糖在食品领域应用广泛^[29-30],用壳聚糖絮凝光合细菌后可直接将光合细菌应用于食品领域。因此,相比上述无机絮凝剂,壳聚糖更适宜用于光合细菌的絮凝。

3 结论

光合细菌细胞中富含多种活性物质,在食品、保健品、农业等领域有广泛的应用。由于其采收困难限制了光合细菌的应用。实验研究表明,氯化铁、硫酸铝和壳聚糖3种絮凝剂对光合细菌均有较好的絮凝效果。氯化铁质量浓度为1.9 g/L时回收率最高,可达99.99%;硫酸铝质量浓度为1.5 g/L时回收率最高,可达98.24%;壳聚糖质量浓度为0.008 g/L时回收率最高,可达84.20%。壳聚糖的市场价格相比于氯化铁和硫酸铝较高,但铝盐和铁盐对生物有害,不利于后期光合细菌的利用。且壳聚糖絮凝得到的菌体之间结合更紧密,更利于菌水分。除此之外,由于壳聚糖投加量小,在相同成本下壳聚糖可絮凝的光合细菌是硫酸铝的13倍、氯化

铁的11倍。综上所述,壳聚糖更适于用来絮凝光合细菌,且适宜的质量浓度为0.008 g/L。

参考文献

- [1] Wang H, Yang A, Zhang G, *et al.* Enhancement of carotenoid and bacteriochlorophyll by high salinity stress in photosynthetic bacteria [J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 121: 91-96.
- [2] Lu H, Zhang G, Zheng Z, *et al.* Bio-conversion of photosynthetic bacteria from non-toxic wastewater to realize wastewater treatment and bioresource recovery: A review [J]. *Bioresource Technology*, 2019, 278: 383-399.
- [3] 马博远,张光明,王航瑶,等.光照混菌培养应用研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2016, 36(8): 113-122.
- [4] 郭庆华,戴奕杰.光合细菌在食品工业中的应用研究进展[J]. *食品与发酵科技*, 2018, 54(1): 101-103, 126.
- [5] Lu H F, Zhang G M, Dai X, *et al.* A novel wastewater treatment and biomass cultivation system combining photosynthetic bacteria and membrane bioreactor technology [J]. *Desalination*, 2013, 322: 176-181.
- [6] Hülsen T, Hsieh K, Lu Y, *et al.* Simultaneous treatment and single cell protein production from agri-industrial wastewaters using purple phototrophic bacteria or microalgae-A comparison [J]. *Bioresource Technology*, 2018, 254: 214-223.
- [7] Li C, Li X, Qin L, *et al.* Membrane photo-bioreactor coupled with heterogeneous Fenton fluidized bed for high salinity wastewater treatment: Pollutant removal, photosynthetic bacteria harvest and membrane anti-fouling analysis [J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 696: 133953.
- [8] Qin L, Liu Q, Meng Q, *et al.* Anoxic oscillating MBR for photosynthetic bacteria harvesting and high salinity wastewater treatment [J]. *Bioresource Technology*, 2017, 224: 69-77.
- [9] Peng M, Yang A, Chen Y, *et al.* Microbiology community changes during the start-up and operation of a photosynthetic bacteria-membrane bioreactor for wastewater treatment [J]. *Bioresource Technology Reports*, 2018, 1: 1-8.
- [10] 孙仕勇,刘明学,董发勤,等.光合细菌固定化材料及光合细菌吸附材料:CN110106164A[P].2019-08-09.
- [11] Fasaai F, Bitter J H, Slegers P M, *et al.* Techno-economic evaluation of microalgae harvesting and dewatering systems [J]. *Algal Research*, 2018, 31: 347-362.
- [12] Wan C, Alam M A, Zhao X Q, *et al.* Current progress and future prospect of microalgal biomass harvest using various flocculation technologies [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 184: 251-257.
- [13] 张同迁.光合细菌絮凝收集动力学的建模与分析[D].北京:北京科技大学,2018.
- [14] 黄业翔.絮凝固定化光合细菌处理生活污水的研究[D].南宁:广西大学,2018.
- [15] Pushparaj B, Pelosi E, Torzillo G, *et al.* Microbial biomass recovery using a synthetic cationic polymer [J]. *Bioresource Technology*, 1993, 43: 59-62.

(下转第157页)

由图7可知,3,4-二氯硝基苯收率随停留时间的增长逐渐增加至峰值96.4%后缓慢下降,停留时间为135 s时,反应效果最佳。传统间歇反应器完全反应所需时间为3~4 h,而微通道反应器只需要2~3 min,生产效率显著提升。反应时间过长,会增加NO₂⁺二次进攻的可能,生成二硝基产物。因此,反应停留时间135 s较为合适。

3 结论

(1)以邻二氯苯为原料,浓硝酸为硝化剂,浓硫酸为溶剂,在脉冲混合结构微通道反应器中,研究了硝酸硝化邻二氯苯制备3,4-二氯硝基苯的连续反应工艺。

(2)对硝酸硝化邻二氯苯合成3,4-二氯硝基苯的连续工艺各个影响因素进行了考察,获得该合成工艺的最佳条件: $n(\text{邻二氯苯}) : n(\text{硝酸}) : n(\text{硫酸}) = 1 : 2 : 4$ 、反应体系温度为60℃、停留时间为135 s,此时收率可达96.4%。

参考文献

- [1] 张跃,张勇超,严生虎,等.微通道反应器中甲苯连续液相氧化工艺研究[J].现代化工,2018,38(5):85-89.
- [2] 周伟澄,张秀平.氟喹诺酮类药物研究的新进展[J].中国医药工业杂志,1997,28(2):75-78.
- [3] Blank H U, Judat H. Process for adiabatic preparation of mononitrohalogenbenzenes; EP, 0675104 [P]. 1995-10-04.
- [4] Zirnigle E, König B M, Weber H M. Process for adiabatic preparation of 3,4-dichloronitrobenzene; US, 6353142 [P]. 2002-03-05.
- [5] 朱明华.相转移催化剂氟化合成3-氯-4-氟硝基苯的研究[J].化学工业与工程技术,2006,27(3):29-31.
- [6] 魏进,吴飞,严生虎,等.硫酸催化法C4烷基化的管式反应工艺研究[J].现代化工,2018,38(7):159-161.
- [7] Politzer P, Jayasuriya K, Sjöberg P, et al. Properties of some possible intermediate stages in the nitration of benzene and toluene [J]. J Am Chem Soc, 1985, 107: 1174-1177.
- [8] 于洋,杨明霞,张照坡.连续流微通道反应合成3,4-二氯硝基苯[J].河南化工,2016,33(6):23-25.
- [9] 薛鹏博,严生虎,刘建武,等.过氧化氢氧化二甲基亚砷合成二甲基砷的连续流工艺[J].现代化工,2019,39(3):202-205.
- [10] Watts P, Haswell S J. The application of micro reactors for organic synthesis [J]. Chem Soc Rev, 2005, 34(3): 235-246.
- [11] 张水泉.3-氯-4-氟苯胺的生产与研究概况[J].中国医药工业杂志,1991,22(7):327-330.
- [12] 杜友兴,孙天孜,何立,等.3-(二氯甲基)-1-甲基-4-氟基-1H-吡啶的连续化合成[J].现代化工,2018,38(8):198-201.
- [13] Chen L T, Xiao H M, Xiao J J. DFT study on nitration mechanism of benzene with nitronium ion [J]. J Phys Chem A, 2003, 107(51): 11440-11444.
- [14] Szabo K J, Hornfeldt A B, Gronowitz S. Theoretical study on mechanism and selectivity of electrophilic aromatic nitration [J]. J Am Chem Soc, 1992, 114: 6827-6834.
- [15] 陈丽涛,肖鹤鸣,居学海,等.苯硝化反应机理及其溶剂效应的理论研究[J].中国科学(B),2003,33(3):192-200. ■
- [16] 王家芳,章西海,管海华,等.光合细菌G3菌株固定化保存方法的研究[J].安徽农业科学,2011,(2):58-60.
- [17] 黄业翔,莫创荣,胡文科,等.光合细菌絮凝及污水净化研究[J].广西大学学报(自然科学版),2018,43(5):385-392.
- [18] Cai J, Guan Y, Li F, et al. Biomass and pigments production of a newly isolated photosynthetic bacterium *Ectothiorhodospira shaposhnikovii* P2 from saline wastewater [J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2019, 16: 7487-7496.
- [19] 程树培,耿小六,史阳巍,等.球形红假单胞菌沉降性能诱导及絮凝效率研究[J].南京大学学报(自然科学版),1994,(3):469-476.
- [20] Guojun X, Bingfeng L, Hanquan W, et al. Bioflocculation of photof fermentative bacteria induced by calcium ion for enhancing hydrogen production [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2013, 38(19): 7780-7788.
- [21] 董姗姗.球形红细菌沉降特性分析及其处理啤酒废水的研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2012.
- [22] 闫海,马翠杰,孙旭东,等.铝絮凝剂絮凝沉降红假单胞菌研究[J].化学与生物工程,2008,25(6):53-55.
- [23] 陈亚松.化学除磷中混凝剂对活性污泥活性的影响[J].环境工程,2011,29(4):23-25,45.
- [24] Suzuki H, Daimon M, Awano T, et al. Characterization of extracellular DNA production and flocculation of the marine photosynthetic bacterium *Rhodovulum sulfidophilum* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2009, 84(2): 349-356.
- [25] 汤正帅.沼泽红假单胞菌R2的培养工艺及应用效果研究[D].泰安:山东农业大学,2018.
- [26] Hamed I, Ozogul F, Regenstein J M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 48: 40-50.
- [27] Nharingo T, Moyo M. Application of *Opuntia ficus-indica* in bioremediation of wastewaters. A critical review [J]. Journal of Environmental Management, 2016, 166: 55-72.
- [28] Yang R, Li H, Huang M, et al. A review on chitosan-based flocculants and their applications in water treatment [J]. Water Research, 2016, 95: 59-89.
- [29] Sahraee S, Milani J M, Regenstein J M, et al. Protection of foods against oxidative deterioration using edible films and coatings: A review [J]. Food Bioscience, 2019, 32: 100451.
- [30] De Farias B S, Sant'Anna Cadaval Junior T R, De Almeida Pinto L A. Chitosan-functionalized nanofibers: A comprehensive review on challenges and prospects for food applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 210-220. ■

(上接第153页)