

## 几株絮凝剂产生菌的特性研究

王 镇

(山东大学微生物系 济南 250100)

王孔星 谢裕敏

(中国科学院武汉病毒研究所 武昌 430071)

姚茵丽

(湖北中医学院 武昌 430061)

**摘 要** 筛选到 83 株絮凝剂产生菌, 其中絮凝活性最高的四株分属于芽孢乳杆菌属 (*Sporolactobacillus* GC3)、节细菌属 (*Arthrobacter* SB6)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* SB8)、气单胞菌属 (*Aeromonas* GC24)。四株菌在生长过程中均可产生胞外絮凝物质, 在最适培养条件下絮凝剂产量为 0.5—0.9g/L。纯化后的四种絮凝剂中, 三种为核蛋白, 一种为糖蛋白, 均为高分子量物质 ( $MW > 10^5$ )。四株菌均不含质粒。12—30g/L 的絮凝剂在 1 小时内对所有供试材料均有较好的絮凝效果。动物急性毒性实验表明, 20—70 倍于使用浓度的絮凝剂对昆明鼠无毒。

**关键词** 絮凝剂产生菌, 微生物絮凝剂, 絮凝活性

絮凝剂, 又称沉降剂, 是一类可使液体中不易沉降的固体悬浮颗粒凝聚、沉淀的物质。随着工业的发展, 絮凝剂已应用到许多领域中。絮凝剂可分为无机系、生物系及合成高分子系三大类, 其中合成高分子絮凝剂, 如聚丙烯酰胺衍生物, 具有高絮凝活性和低生产成本而得到较广泛的应用。80 年代, 日本这类絮凝剂年产量已达 2400 吨<sup>[1]</sup>。但使用中这类物质不易被降解, 且单体致突变<sup>[2]</sup>, 现在许多领域已禁止或限量使用<sup>[3]</sup>。因此开发高效、安全、不污染环境的新型絮凝剂对生产工艺改进、人类的健康和环境保护有很重要的现实意义。

微生物絮凝剂是一类由微生物产生的有絮凝活性的次生代谢产物。自 Butterfield<sup>[4]</sup> 从活性污泥中筛选到絮凝剂产生菌以来, 已筛选获得了许多絮凝剂产生菌, 其中研究较深入的有 *Rhodococcus erythropolis*<sup>[5,6]</sup>、*Aspergillus sojae*<sup>[7,8]</sup>、*Paecilomyces* sp.<sup>[9]</sup> 和 *Alcaligenes cupidus*<sup>[10]</sup> 等。已知的微生物絮凝剂有糖蛋白、多糖、蛋白质、纤维素和 DNA 等<sup>[6,11-13]</sup>。尽管性质各异, 却都是分子量高于  $10^5$  以上的生物大分子。*R. erythropolis* 所产絮凝剂, 已用于畜产品废水处理中, 并收到良好效果。我国还未见这方面的研究报道。

本文就筛选鉴定的四株絮凝剂产生菌的生物学特性、产絮凝剂的最佳条件、性状的遗传学控制及微生物絮凝剂的某些特性进行了报道。

# 1 材料和方法

## 1.1 菌种筛选及鉴定

1.1.1 样品来源: 武汉东湖边土壤及污水处理场活性污泥。

1.1.2 筛选用培养基: (1) YA 培养基: 酵母浸出汁 20g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1g, 水 1 L. pH 5.5 及 8.0.  $0.70\text{kg}/\text{cm}^2$  灭菌 30 分钟。(2) SB 培养基: 可溶性淀粉 20g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5g,  $\text{NaNO}_3$  1g,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g,  $\text{KCl}$  0.5g, 水 1 L. pH 5.0 及 7.5,  $1.05\text{kg}/\text{cm}^2$  灭菌 30 分钟。(3) GC 培养基: 葡萄糖 20g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2g,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  5g,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.2g,  $\text{NaCl}$  0.1g, 脲 0.5g, 酵母膏 0.5g, 水 1L. pH 7.5—8.5, 葡萄糖用无菌水配成 20% 溶液,  $0.56\text{kg}/\text{cm}^2$  灭菌 30 分钟。其它成分于  $1.05\text{kg}/\text{cm}^2$  灭菌 30 分钟。

1.1.3 筛选方法: 样品经富集培养后, 平板划线获得单菌落, 纯化后编号。各菌 30℃ 摇床培养 65 小时, 以几滴培养液能否对 4g/L 60 目高岭土悬液絮凝进行初筛。

初筛获得的菌培养后, 定量测定发酵液的絮凝活性, 进行复筛。测定方法: 100ml 量筒中加入 0.4g 60 目高岭土, 加 80ml 蒸馏水、5ml 1%  $\text{CaCl}_2$ 、2ml 发酵液, 混合, 加蒸馏水至 100ml, 调 pH 至 7.0, 摇匀, 静置 5 分钟, 于 751 型分光光度计 550nm 处测定上相浊度, 以不加发酵液的上相浊度为对照, 通过浊度减少来确定絮凝程度。用絮凝率定量表示絮凝活性。絮凝率公式如下<sup>[7]</sup>:

$$\text{絮凝率}(\%) = \frac{(A-B)}{A} \times 100$$

A: 对照上相液 550nm 处的光密度值

B: 样品上相液 550nm 处的光密度值

1.1.4 鉴定方法: 按文献[16]方法进行并参照文献[17, 18]鉴定。

## 1.2 产絮凝剂的周期测定

在 500ml 三角瓶内装 150ml 培养基, 30℃ 摇床培养。每 7 小时取样一次, 测定培养液 pH、菌生长量 (以  $\text{OD}_{660}$  表示) 及絮凝率。

## 1.3 影响絮凝剂产生的因素

改变培养基成分、初始 pH、培养温度及通气量 (以摇床振荡速度来控制) 等因素, 测定培养液絮凝率。观察外界因素对絮凝剂产生的影响。

## 1.4 培养液中絮凝活性分布

各菌培养物于 10℃, 9000r/min 离心 15—30 分钟, 取上清液。菌体用蒸馏水洗涤后悬浮在与培养液等体积的蒸馏水中, 定量测定培养液、去菌细胞上清液及菌细胞悬液对高岭土的絮凝率。

## 1.5 絮凝剂的提取、纯化及性质测定

1.5.1 絮凝剂的提取、纯化: 培养液去菌体, 上清液于 4℃ 预冷后用乙醇沉淀, 70% 乙醇洗涤, 真空干燥得到各絮凝剂 (依次记为 MF-3、MF-6、MF-8 和 MF-24) 粗品。

MF-3、MF-6 和 MF-8 用 Sepharose 4B 柱纯化。流动相为 pH 8.0 的 TE 缓冲液。254nm 检测, 收集出峰时的洗脱液, 经透析、干燥得纯品。

MF-24 用 Sephadex G-200 柱纯化。洗脱液为 0.02mol/L 的 pH 7.2 的 PBS 缓冲液。280nm 检测, 收集出峰时的洗脱液, 经透析, 干燥得纯品。

1.5.2 絮凝剂性质测定: 进行了茚三酮显色实验、 $\alpha$ -萘酚实验、葱酮反应实验、双光束扫描分析、琼脂糖凝胶电泳、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳等实验, 测定四种絮凝剂化学性质及分子量范围。

## 1.6 质粒测定

参照文献[19—21], 用多种方法检测。

## 1.7 絮凝能力测定

以果汁、血细胞悬液、菌细胞悬液、淀粉液、泥水浆、碳素墨水、染液、血水、屠宰废水等多种液体(悬浊液、胶体、溶液)为供试材料, 加入各菌去菌细胞培养液, 观察所产絮凝剂对不同供试材料的絮凝能力。

## 1.8 动物急性毒性实验

以健康成年昆明鼠为实验动物, 体重 $20 \pm 2\text{g}$ , 由武汉生物制品研究所提供。雌雄随机分组(每组20只), 并同时设立对照组。以浓度为 $623\text{--}839\text{mg/L}$ 的絮凝液为样品, 每次灌胃 $0.5\text{ml}$ , 24小时内喂食4次, 每天共计 $2\text{ml}$ 。连续观察7天, 如无死亡及不良表现者, 初步证明该絮凝剂在使用浓度下无急性毒性。

# 2 结果和讨论

## 2.1 菌种筛选及鉴定

以高岭土悬液为测试材料测定从样品中纯化出的菌株培养液絮凝活性。筛选获得85株有絮凝能力的菌株。经定量测定, 絮凝率在50%以上的有27株, 包括霉菌、酵母菌、放线菌和细菌。对其中絮凝率在90%以上的四株菌(菌号GC3、SB6、SB8、GC24)进行鉴定, 并参照Bergey's Manual of Systematic Bacteriology定属。GC3属芽孢乳杆菌属(*Sporolactobacillus* sp.), SB6属节细菌属(*Arthrobacter* sp.), SB8属假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.), GC24属气单胞菌属(*Aeromonas* sp.)。

## 2.2 产絮凝剂周期测定

四株菌的pH变化曲线、生长曲线、絮凝率曲线(图1), 各有特点, 也有共同之处。在培养过程中, 培养液pH先是下降, 并于21小时左右降到最低点, 之后缓慢升高并趋于稳定。培养液絮凝率则随菌生长量的增加同步升高, 在菌生长稳定期早期达到稳定的活性最高值。絮凝活性与菌生长量呈正相关性, 这表明存在于培养液中引起絮凝的物质是由菌生物合成的, 而非菌细胞自溶造成的。Kurane<sup>[5]</sup>、Nakamura<sup>[11]</sup>和Takagi<sup>[9]</sup>等对各自的菌产絮凝剂也得出了相同的结论。

## 2.3 影响絮凝剂产生的因素

2.3.1 培养基成分: 培养基成分对菌产絮凝剂有较大影响。富含单糖或营养丰富的培养基有利于絮凝剂的产生。如用SB培养基筛选出的SB6、SB8菌株用GC培养基培养, 其产絮凝剂能力可提高15%左右; 而用高氮低糖的YA培养基培养, 其絮凝剂的产量则降低。单糖对菌产絮凝剂的促进作用已有文献报道<sup>[10, 23]</sup>。

2.3.2 培养基初始pH: 培养基初始pH过高或过低均不利于絮凝剂的产生。四株菌产絮凝剂最适初始pH均为7.5—8.5。初始pH对SB6菌株产絮凝剂的影响见表1。初始pH对其它三株菌产絮凝剂的影响有相似的结果。

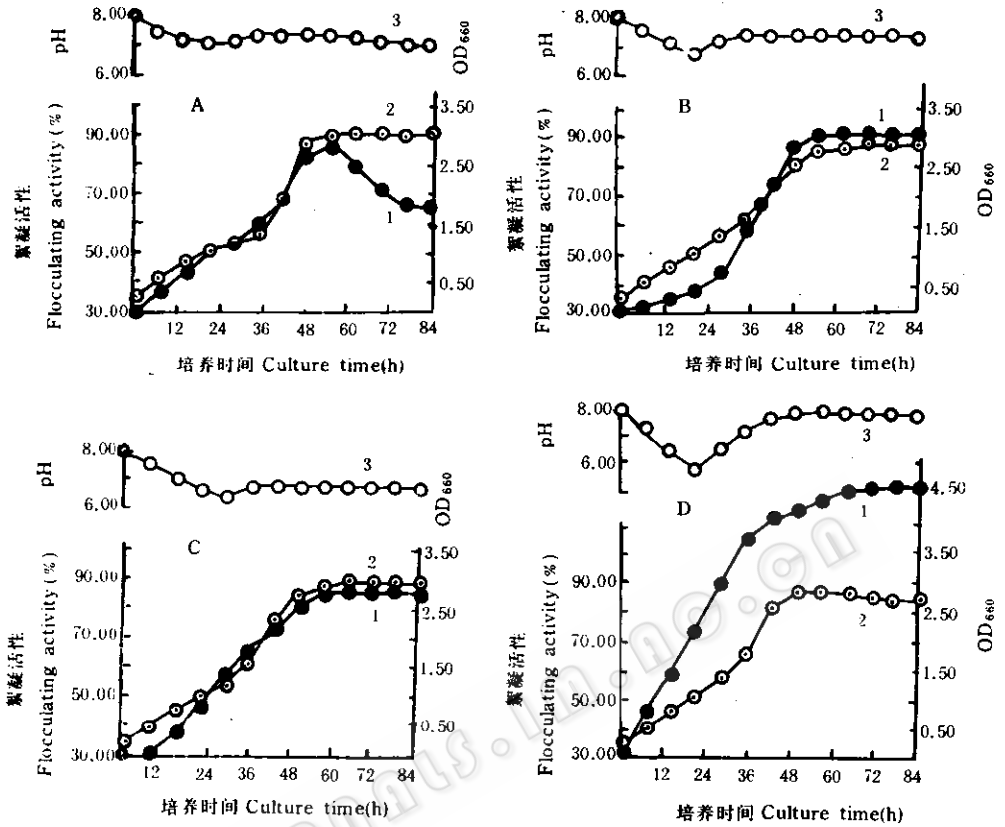


图 1 四株菌产絮凝剂的周期曲线

Fig. 1 Time course of flocculants production by GC3 SB6 SB8 GC24 in GC medium

(A) GC3; (B) SB6; (C) SB8; (D) GC24.

1. 菌生长量曲线 Growth curve;
2. 絮凝活性曲线 Curve of flocculating activity;
3. pH 变化曲线 Curve of pH.

表 1 培养基初始 pH 对 SB6 产絮凝剂的影响

Table 1 Effect of initial pH on flocculant production by SB6

初始 pH Initial pH	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0	9.5
相对絮凝率* Relative rate of flocculation	65.7	74.9	88.9	98.3	100	97.0	89.9	77.6

\* 以初始 pH8.0 时培养液絮凝率为 100。

The rate of flocculation of culture broth with initial pH 8.0 was taken as 100.

**2.3.3 培养温度:**各菌产絮凝剂最适培养温度为 30℃, 培养 2—3 天可达最高絮凝活性。25℃培养, 需 5 天才能达到最高絮凝活性。35℃培养, 菌生长快, 但最高絮凝活性仅为 30℃培养时的 70% 左右。可见较高的培养温度不利于菌积累絮凝剂。

**2.3.4 通气量:**通气量对四株菌均有影响。培养初期摇床摇速宜采用 200—250r/min, 一方面可阻止菌体絮凝成较大的凝集体; 另一方面, 大通气量有利于菌合成絮凝剂。培养中后期各菌对通气量要求不同, SB6、SB8 以 150r/min 为好, GC24 只需 80—100r/min。改变通气量对 GC3 产絮凝剂影响不大。

影响絮凝剂产生因素的实验表明, 在适当通气条件下, 用初始 pH 为 7.5—8.5 的 GC 培养基, 30℃ 摇床培养可获得较高的絮凝活性。Kurane 报道的 *R. erythropolis*<sup>[5,22]</sup> 产生的絮凝剂是目前用于下水工程中唯一的微生物絮凝剂, 该菌培养液对高岭土的絮凝活性为 2.5—5.6 (1/OD<sub>550</sub>), 本文 4 株菌在同样测定条件下, 絮凝活性为 7—9 (1/OD<sub>550</sub>), 优于 *R. erythropolis* 所产絮凝剂。

## 2.4 培养液中絮凝活性分布 (表 2)

表 2 各菌株培养液中絮凝活性分布

Table 2 The distribution of the flocculation activity

菌株 Strain	相对絮凝率* Relative rate of flocculation	
	去菌细胞上清液 Cell free cultrue broth	菌细胞悬液 Cell suspension
GC3	99.1	0.16
SB6	98.8	1.96
SB8	97.6	0
GC24	100	0

\* 以各菌全培养物絮凝率为 100。

The rate of flocculation of culture broth was taken as 100.

从表中可以看出, 四株菌的絮凝活性主要表现在去菌细胞上清液中, 菌体基本无絮凝能力。

## 2.5 絮凝剂的提取、纯化及性质测定

将 2 倍体积乙醇加到去菌体培养液中, GC3、SB6、SB8 培养液中有白色或浅黄色丝网状物质形成。GC24 则形成片状沉淀, 沉淀有粘性。一般每升培养液可得到絮凝剂 0.5—0.9g (表 3)。

各絮凝剂粗品溶于相应的缓冲液, MF-3、MF-6 和 MF-8 过 Sepharose 4B 柱, 于 254nm 检测; MF-24 过 Sephadex G-200 柱, 于 280nm 检测, 均在加样后 50—80 分钟开始出峰, 且在 8 小时内均只有一个峰。絮凝活性检测, 只有出峰时收集的洗脱液有较高的絮凝活性, 无峰时的洗脱液无活性。因此收集出峰时的洗脱液、透析后干燥, 即可得到各絮凝剂纯品。

表3 四株菌的絮凝剂产量

Table 3 Yield of flocculants produced by the four strains

菌株 Strains	絮凝剂 Flocculant	絮凝剂产量 (g/L) Yield of flocculant
GC3	MF-3	0.5—0.7
SB6	MF-6	0.55—0.75
SB8	MF-8	0.6—0.9
GC24	MF-24	0.6—0.85

对各絮凝剂化学性质进行检测。双光束扫描分析, 200—800nm 范围内, MF-3、MF-6、MF-8 只在 260nm 左右有最大吸收峰, 显示有核酸成分。MF-24 中不含核酸。琼脂糖凝胶电泳结果也证实了这一点, 并测得前三种絮凝剂中核酸成分分子量均大于  $\lambda$ DNA 的分子量 (48.5kb)。用 DNase、RNase 对之消化, 进一步确定三者中大分子量的核酸为 DNA。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳检测得各样品中蛋白组分亚基数目并测得各亚基分子量均在  $10^4$  以上。 $\alpha$ -萘酚实验、蒽酮反应显示 MF-24 中多糖的存在。凝胶柱层析确定各絮凝剂分子量在  $10^6$  以上。

实验结果表明, MF-3、MF-6 和 MF-8 为核蛋白, MF-24 为糖蛋白, 均为分子量较大的物质。

## 2.6 质粒检测

用酶法、碱法、一步法、煮沸法等多种方法检测四株菌, 均未检出质粒。推测它们产絮凝剂的性状不是由质粒编码控制的。

## 2.7 絮凝能力测定

四种微生物絮凝剂对所有供试材料均有絮凝作用。对悬浊液, 如果汁、血细胞悬液、菌悬液、泥水浆等絮凝速度快, 用量少, 效果好。12—15mg/L 的絮凝剂在 4 分钟内可使高岭土悬液浊度下降 90%; 20 mg/L 的用量, 30 分钟可使果汁澄清 (图版 I-1)。

各絮凝剂对胶体 (如碳素墨水)、溶液 (如多种染液) 均有较好的絮凝效果。图版 I-2 为 30mg/L 的 MF-6 对 250mg/L 染液、1% 碳素墨水絮凝 1 小时的去色效果。

尽管四株菌产生的絮凝剂对高岭土悬液的絮凝效果相近, 但对其它供试材料絮凝效果有差异。图版 I-3 为 30mg/L 絮凝剂对 250mg/L 直接染料 5G 绿的絮凝效果比较。以 MF-6 和 MF-24 作用效果为好, MF-3 效果较差。

此外, 各微生物絮凝剂对富含有机质的屠宰废水和血水也有较好的絮凝去色效果。

## 2.8 动物急性毒性实验

用 20—70 倍于使用浓度的絮凝剂直接灌胃, 观察七天, 无一死亡。表明昆明鼠对四种絮凝剂耐受量均超过 62.3mg/kg。初步证明四种絮凝剂无急性毒性。

表 4 微生物絮凝剂的耐受量实验

Table 4 Microbiol flocculant's safty to mice

絮凝剂 Flocculant	含 量 Concentration (mg/L)	观察时间 Observation (d)	致死数 Lethal number	耐受量 Tolerance (mg/kg)
MF-3	623	7	0	62.3
MF-6	674	7	0	67.4
MF-8	839	7	0	83.9
MF-24	741	7	0	74.1

### 3 结论

实验表明,有絮凝能力的微生物种类多,在自然界中分布广泛。文中四株菌就分布在四个属中。液体培养时,絮凝活性高的菌株菌体有絮集现象。后期培养液粘度大,絮凝活性主要存在于去菌体的上清液中。周期测定其培养液絮凝活性与菌生长量有正相关性,都在菌生长稳定期早期出现最高稳定期,表明存在培养液中的絮凝物质是由菌合成的,而非菌自溶产生<sup>[8,22]</sup>。提取并纯化后的各菌所产的絮凝剂中,三种为核蛋白,一种为糖蛋白,分子量均为大于 $10^6$ 的生物高分子。菌产絮凝剂的性状可稳定遗传,又受培养基成分、培养基初始 pH、培养温度、通气量等外界因素影响。菌产絮凝剂的遗传学控制方面的研究工作还未见报道。本文用多种方法检测质粒,四株菌均未检出,表明该性状不是由质粒控制的。

四种絮凝剂产量为 0.5—0.9g/L,对高岭土的絮凝活性为 7—9 (1/OD<sub>550</sub>),均优于 Kurane 报道的 *R. erythropolis*。它们絮凝范围广,速度快,12—30 mg/L 的絮凝剂 1 小时内对所有供试材料均有很好的絮凝作用。动物实验表明,20—70 倍于使用浓度的絮凝剂对昆明鼠无急性毒性,鼠耐受量均超过 62.3mg/kg,显示了微生物絮凝剂作为一类新型絮凝剂在发酵工程后处理、食品加工、废水处理等方面的应用前景。

另外,在废水处理方面,针对不同污水采用特定的絮凝剂产生菌,可改进污水生化处理工艺。利用可降解酞酸酯的絮凝剂产生菌处理含酞酸酯的污水<sup>[5]</sup>,用同化淀粉能力强的絮凝剂产生菌(如文中的 SB6、SB8 菌株)处理富含淀粉的污水。而且可以在去除污水特定组分的基础上收到絮凝、去色效果,这是其它污水处理方法无法比拟的。

### 参 考 文 献

- [1] 仓根隆一朗. 国外生物科技, 1989, 5 (1): 26—29.
- [2] Dearfield K L. *Mutant Res*, 1988, 195: 45.
- [3] 茹至刚. 废水治理工程技术. 北京: 中国环境科学出版社, 1989. 50.
- [4] Butterfield C T. *U. S. Public Health Rep*, 1935, 50: 671.
- [5] Kurane R, Takeda K, Suzuki T. *Agric Biol Chem*, 1986, 50 (9): 2301—2307.

- [6] Takeda M, Kurane R, Koizumi J I *et al.* *Agric Biol Chem*, 1991, **55** (10): 2663—2664.
- [7] Nakamura J, Miyashiro S, Hirose Y. *Agric Biol Chem*, 1976, **40** (2): 377—383.
- [8] Nakamura J, Miyashiro S, Hirose Y. *Agric Biol Chem*, 1976, **40** (7): 1341—1347.
- [9] Takagi H, Kadowaki K. *Agric Biol Chem*, 1985, **49** (11): 3151—3157.
- [10] Toeda K, Kurane R. *Agric Biol Chem*, 1991, **55** (11): 2793—2799.
- [11] Nakamura J, Miyashiro S, Hirose Y. *Agric Biol Chem*, 1976, **40** (3): 619—624.
- [12] Kurane R, Nohata Y. *Agric Biol Chem*, 1991, **55** (4): 1127—1129.
- [13] Endo T, Nakamura K, Takahashi H. *Agric Biol Chem*, 1976, **40** (11): 2289—2295.
- [14] Napolis C, Dazzo F, Hubbell D. *Appl Microbiol*, 1975, **30** (1): 123—131.
- [15] Takagi H, Kadowaki K. *Agric Biol Chem*, 1985, **49** (11): 3159—3164.
- [16] 中国科学院微生物研究所细菌组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978.
- [17] Palleron N J. Genus *Pseudomonas*; Popoff M. Genus *Aeromonas*. In: Krieg N R ed. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9th ed. Volume 1. Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1984. 141—159, 545—548.
- [18] Kandler O, Weiss N. Genus *Sporolactobacillus*; Keddie R M, Collins M D, Jones D. Genus *Arthrobacter*. In: Sneath P H A ed. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9th ed. Volume 2. Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1984. 1139—1141, 1288—1301.
- [19] 余红, 方序, 杨能, 等. 微生物学通报, 1988, **15** (2): 88—89.
- [20] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T *et al.* *Molecular Cloning—A Laboratory Manual*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 25—30.
- [21] Serghini M A, Ritzenthaler C, Pinck L *et al.* *Nucleic Acids Research*, 1989, **17** (9): 3604—3605.
- [22] Kurane R, Toeda K, Takeda K *et al.* *Agric Biol Chem*, 1986, **50** (9): 2309—2313.

## STUDIES ON BIOFLOCCULANT-PRODUCING MICROORGANISMS

Wang Zhen

(Department of Microbiology, Shandong University, Jinan 250011)

Wang Kongxing Xie Yumin

(Wuhan Institute of Virology, Wuchang 430071)

Yao Yinli

(Hubei Traditional Chinese Medicine College, Wuchang 430061)

**Abstract** The 83 strains of microorganisms including molds, bacteria, yeast and actinomycetes, which were isolated from soil and active sludge were found to produce the substances which can flocculate kaolin clay. Among them, four strains with high flocculating activity was identified as *Sporolactobacillus* sp. (GC3), *Arthrobacter* sp. (SB6), *Pseudomonas* sp. (SB8), *Aeromonas* sp. (GC24). Growth study in shaking flasks was conducted for obtaining high flocculant production. The highest level of flocculating substance accumulation (0.5—0.9g/L) were attained after 65h cultivation at 30°C with



initial medium pH 7.5—8.5 and proper aeration. These bioflocculants were purified by ethanol precipitation, gel chromatography and dialysis. The isolated polymers possessed chemical characteristics of nucleoprotein (MF-3, MF-6, MF-8) and polyglucoprotein (MF-24). Their molecular weights were larger than  $10^6$  dalton and they have widely flocculating activity against both organic and inorganic materials. It was detected by experiments that neither of the four strains has plasmids. The pathogenicity of their cells and toxicity of the bioflocculants had also been studied.

**Key words** Flocculant-producing microorganisms, Microbial flocculants, Flocculating activity

### 图版说明

#### Explanation of plate

- MF-6 对橙汁的絮凝、澄清作用: a. 实验组; b. 对照组.
  - MF-6 对染液的絮凝、去色作用: a<sub>1</sub>. 直接染料 5G 绿 (250 mg/L CK); a<sub>2</sub>. 直接染料 5G 绿+MF-6 (30 mg/L); b<sub>1</sub>. 直接染料 GX 黄 (250 mg/L CK); b<sub>2</sub>. 直接染料 GX 黄+MF-6 (30 mg/L); c<sub>1</sub>. 活性染料 KNG 兰 (250 mg/L CK); c<sub>2</sub>. 活性染料 KNG 兰+MF-6 (30 mg/L); d<sub>1</sub>. 碳素墨水 (1% CK); d<sub>2</sub>. 碳素墨水+MF-6 (30 mg/L).
  - 四种微生物絮凝剂的絮凝效果比较: a. 直接染料 5G 绿 (250 mg/L CK); b. 染液+MF-3 (30 mg/L); c. 染液+MF-6 (30 mg/L); d. 染液+MF-8 (30 mg/L); e. 染液+MF-24 (30 mg/L).
- Flocculation of orange juice with MF-6: a. Experiment group; b. Control group.
  - Flocculating and removing of colored material with MF-6: a<sub>1</sub>. Direct dye 5G green (250 mg/L CK); a<sub>2</sub>. Direct dye 5G green+MF-6 (30 mg/L); b<sub>1</sub>. Direct dye GX yellow (250 mg/L CK); b<sub>2</sub>. Direct dye GX yellow+MF-6 (30 mg/L); c<sub>1</sub>. Active dye KNG blue (250 mg/L CK); c<sub>2</sub>. Active dye KNG blue+MF-6 (30 mg/L); d<sub>1</sub>. Ink (1% CK); d<sub>2</sub>. Ink+MF-6 (30 mg/L).
  - Flocculation of dye lique with four microbial flocculants: a. Direct dye 5G green (250 mg/L CK); b. Dye solution+MF-3 (30 mg/L); c. Dye solution+MF-6 (30 mg/L); d. Dye solution+MF-8 (30 mg/L); e. Dye solution+MF-24 (30 mg/L).