



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106587377 A

(43)申请公布日 2017.04.26

(21)申请号 201611143525.6

(22)申请日 2016.12.13

(71)申请人 天长市银狐漆业有限公司

地址 239355 安徽省滁州市天长市郑集镇  
街北村村部

(72)发明人 祝盆鑫 祝秀凤 汪鹏程 孙巨福  
戴宇钧

(74)专利代理机构 安徽合肥华信知识产权代理  
有限公司 34112

代理人 余成俊

(51)Int.Cl.

*C02F 3/34*(2006.01)

*C02F 1/52*(2006.01)

*C02F 1/28*(2006.01)

*C02F 1/48*(2006.01)

权利要求书2页 说明书4页

(54)发明名称

一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂

(57)摘要

本发明公开了一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂,包括以下步骤:(1)菌种分离纯化;(2)菌种的筛选;(3)菌种的发酵培养;(4)复合磁性微球的制备;本发明无毒环保,能够有效清除粘附在设备管道的油漆,防止堵塞,净化水质,保证循环水长期安全的运行,应用前景好。

1. 一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 菌种分离纯化

将处理后期阶段的油漆废水装入无菌三角瓶中,置于4℃保存,将种子培养基于121℃下灭菌,冷却后取100μL废水接种到100ml的种子培养基中,于37℃恒温扩大培养24h,然后将培养液分别稀释到10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup>倍,再将各个稀释后的菌悬液涂布于分离培养基上,37℃恒温培养24h,挑出形态好的菌落完成初步分离,再将挑选出的各个菌接种于种子培养基中,37℃恒温培养24h,对各个菌的培养液稀释并进行划线分离纯化,将最后得到的纯化单菌落保存在分离培养基上;

(2) 菌种的筛选

将步骤(1)分离出来的菌分别用接种环接种于种子培养基中,在30℃,160r/min的条件下培养72h,用4g/L的高岭土悬浊液测试菌种的絮凝率,将絮凝率大于50%的菌种保留,并且进行多次传代,将筛选出的菌种保藏;

(3) 菌种的发酵培养

a. 将啤酒废水和制糖发酵废水分别在5000rpm下离心20min,去除悬浮杂质,其中制糖发酵废水总糖含量为19.85g/L,总氮含量为3263.3mg/L,啤酒废水总糖含量为196.1g/L,总氮含量为1796.8mg/L,然后按照总糖浓度7g/L,炭源和氮源比50:1进行稀释,并且添加磷酸二氢钠和磷酸氢二钠,其中磷酸二氢钠浓度为2g/L,磷酸氢二钠浓度为5g/L,再加入硫酸镁调节发酵培养基的pH为9,高压灭菌备用;

b. 将步骤(2)中保藏在斜面的产生菌菌种接种到发酵培养基中,在30℃、150r/min恒温振荡器上培养3h,使各菌株均处于对数生长期,制成菌种悬浮液,按照5-10%的接种量接种到100ml步骤a制备的发酵培养基中,在30℃、转速为160r/min条件下培养72h;

c. 将步骤b制得的发酵液置于4℃高速冷冻离心机上于8000r/min离心30-40min,将得到的上清液中加入2倍量的无水乙醇在4℃下静置24h,然后继续在4℃条件下于8000r/min离心30-40min,将得到的沉淀用无水乙醇反复洗涤,置于透析袋中透析48h,冷冻干燥后得微生物絮凝剂;

(4) 复合磁性微球的制备

d. 将果胶用蒸馏水溶解制成1%(w/v)的果胶溶液,壳聚糖加到1%的醋酸溶液中制成3%(w/v)的壳聚糖醋酸溶液,在室温下搅拌直至完全溶解,均调节pH值为5-6,再将步骤c制备的微生物絮凝剂加到壳聚糖醋酸溶液中,然后将果胶溶液缓慢滴加到壳聚糖混合溶液中,缓慢搅拌得复合物;

e. 将六水合氯化铁和四水合氯化亚铁混合加到蒸馏水中溶解,一边搅拌一边水浴加热至70℃,然后快速的加入25%的氨水,紧接着加入步骤d制备的复合物,调节pH值为9-9.5,继续反应30-40min,反应结束后停止加热,冷却至室温后用磁铁分离,产物用蒸馏水清洗至中性,然后置于烘箱中40℃干燥,自然冷却即可。

2. 根据权利要求1所述一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂,其特征在于,所述的分离培养基的配方配比为:牛肉膏3-4g/L、蛋白胨10-12g/L、氯化钠5-6g/L、琼脂15-20g/L、加蒸馏水至1000ml;调节pH值至7.0-7.2,于121℃灭菌20min;种子培养基配方比为:牛肉膏3-4g/L、蛋白胨10-13g/L、氯化钠5-7g/L、加蒸馏水至1000ml,调节pH值至7-7.2,于121℃灭菌20min。

3. 根据权利要求1所述一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂,其特征在於,所述步骤(4)中各原料按照重量份配比为:果胶3-3.5、壳聚糖18-18.5、氯化铁6.8-7、氯化亚铁3.3-3.5、微生物絮凝剂1.8-2.2、25%氨水9-11、1%醋酸适量、蒸馏水适量。

## 一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂

### 技术领域

[0001] 本发明涉及油漆絮凝剂技术领域,尤其涉及一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂。

### 背景技术

[0002] 随着汽车行业及家具制造业等行业的发展,喷涂油漆的用量越来越多,因此会有很多不能涂覆到工件上的漆雾就成为“过喷”涂料,过喷量达到25-60%。这些涂料中含有大量挥发性有机溶剂,危害着人类的健康,而且还严重污染了周围的环境和空气。喷涂是将涂料通过喷枪或者碟式雾化器在压力或离心力作用下,将油漆均匀分散成细小的颗粒,最后将漆雾颗粒就被涂于物体表面的过程。过喷的漆雾通常进入循环水,通过室内外的水槽将循环水带出室外,因而可以降低工作人员身体危害,而且水可以循环利用。“过喷”涂料由于本身的粘性就很大,因此就会粘附在水槽、水管和水泵的壁上,经日积月累,就会形成较大的漆块导致管道堵塞,因而循环系统的工作效率就会降低。机械刮除法、化学药剂吸附凝聚分离法和生物讲解法等是喷涂房处理循环水最常用的几种方法,其中被广泛应用的是化学凝聚法。由于化学型凝聚剂的长期加入,导致循环水中有机物含量逐步累积,COD逐步升高,水质随之变差,造成循环水更换周期变短,浪费水资源,而且循环水系统中的沉渣太多,固废量大,而现在处理固体废物主要是通过焚烧和填埋的方法,因此增加了对环境的污染,非但从根本上解决油漆废渣的污染问题,还增加了环境的负担,因此研究和开发绿色无毒污染小的絮凝剂,不仅可以大幅度降低固废量,而且可以降低成本。

[0003] 微生物絮凝剂是由各种各样的微生物生长过程中产出的安全无毒可生物降解的天然产物,它能够使水中的菌体细胞、悬浮颗粒以及胶体粒子等絮凝、沉淀,具有良好的环境相容性。杨双双在《微生物絮凝剂对油漆废水的絮凝研究》一文中通过一系列的分离筛选,得到一株较好的絮凝菌株FL-2,通过对菌株FL-2进行单因素试验,确定最佳的培养条件是30℃,pH为9,摇床转速为160r/min,培养基的成分中炭源为葡萄糖,混合氮源为硝酸钠、氯化铵和尿素,无机盐是硫酸镁,并且和胶冻样芽孢杆菌复配时达到良好的絮凝效果,但是两种微生物菌与无机絮凝剂复配时的效果不好。上文中通过一系列分离筛选步骤得到的菌株FL-2具有良好的絮凝效果,但是从大规模培养条件上看,成本较高,需要找到能够替代炭源和氮源培养的培养基,降低成本,有利于实现经济效益,并且在处理油漆废水时需要控制加入的量和复配菌种的加入顺序,造成步骤繁琐,提高成本,可以通过生物固定化技术将菌种固定在载体上,实现连续化操作、降低生产成本的目的,达到经济效益和环境效益双赢的效果。

### 发明内容

[0004] 本发明目的就是为了弥补已有技术的缺陷,提供一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂。

[0005] 本发明是通过以下技术方案实现的:

一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂,包括以下步骤:

#### (1) 菌种分离纯化

将处理后期阶段的油漆废水装入无菌三角瓶中,置于4℃保存,将种子培养基于121℃下灭菌,冷却后取100μL废水接种到100ml的种子培养基中,于37℃恒温扩大培养24h,然后将培养液分别稀释到10<sup>-1</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-5</sup>、10<sup>-6</sup>倍,再将各个稀释后的菌悬液涂布于分离培养基上,37℃恒温培养24h,挑出形态好的菌落完成初步分离,再将挑选出的各个菌接种于种子培养基中,37℃恒温培养24h,对各个菌的培养液稀释并进行划线分离纯化,将最后得到的纯化单菌落保存在分离培养基上;

#### (2) 菌种的筛选

将步骤(1)分离出来的菌分别用接种环接种于种子培养基中,在30℃,160r/min的条件下培养72h,用4g/L的高岭土悬浊液测试菌种的絮凝率,将絮凝率大于50%的菌种保留,并且进行多次传代,将筛选出的菌种保藏;

#### (3) 菌种的发酵培养

a、将啤酒废水和制糖发酵废水分别在5000rpm下离心20min,去除悬浮杂质,其中制糖发酵废水总糖含量为19.85g/L,总氮含量为3263.3mg/L,啤酒废水总糖含量为196.1g/L,总氮含量为1796.8mg/L,然后按照总糖浓度7g/L,碳源和氮源比50:1进行稀释,并且添加磷酸二氢钠和磷酸氢二钠,其中磷酸二氢钠浓度为2g/L,磷酸氢二钠浓度为5g/L,再加入硫酸镁调节发酵培养基的pH为9,高压灭菌备用;

b、将步骤(2)中保藏在斜面的产生菌菌种接种到发酵培养基中,在30℃、150r/min恒温振荡器上培养3h,使各菌株均处于对数生长期,制成菌种悬浮液,按照5-10%的接种量接种到100ml步骤a制备的发酵培养基中,在30℃、转速为160r/min条件下培养72h;

c、将步骤b制得的发酵液置于4℃高速冷冻离心机于8000r/min离心30-40min,将得到的上清液中加入2倍量的无水乙醇在4℃下静置24h,然后继续在4℃条件下于8000r/min离心30-40min,将得到的沉淀用无水乙醇反复洗涤,置于透析袋中透析48h,冷冻干燥后得微生物絮凝剂;

#### (4) 复合磁性微球的制备

d、将果胶用蒸馏水溶解制成1%(w/v)的果胶溶液,壳聚糖加到1%的醋酸溶液中制成3%(w/v)的壳聚糖醋酸溶液,在室温下搅拌直至完全溶解,均调节pH值为5-6,再将步骤c制备的微生物絮凝剂加到壳聚糖醋酸溶液中,然后将果胶溶液缓慢滴加到壳聚糖混合溶液中,缓慢搅拌得复合物;

e、将六水合氯化铁和四水合氯化亚铁混合加到蒸馏水中溶解,一边搅拌一边水浴加热至70℃,然后快速的加入25%的氨水,紧接着加入步骤d制备的复合物,调节pH值为9-9.5,继续反应30-40min,反应结束后停止加热,冷却至室温后用磁铁分离,产物用蒸馏水清洗至中性,然后置于烘箱中40℃干燥,自然冷却即可。

[0006] 所述的分离培养基的配方配比为:牛肉膏3-4g/L、蛋白胨10-12g/L、氯化钠5-6g/L、琼脂15-20g/L、加蒸馏水至1000ml;调节pH值至7.0-7.2,于121℃灭菌20min;种子培养基配方比为:牛肉膏3-4g/L、蛋白胨10-13g/L、氯化钠5-7g/L、加蒸馏水至1000ml,调节pH值至7-7.2,于121℃灭菌20min。

[0007] 所述步骤(4)中各原料按照重量份配比为:果胶3-3.5、壳聚糖18-18.5、氯化铁

6.8-7、氯化亚铁3.3-3.5、微生物絮凝剂1.8-2.2、25%氨水9-11、1%醋酸适量、蒸馏水适量。

[0008] 本发明的优点是：本发明从油漆废水中筛选、提取、分离、纯化出微生物絮凝剂产生菌，优化培养提高其絮凝活性，并且使用廉价培养基发酵培养降低微生物絮凝剂的生产成本，使其能够大规模生产培养，并且对废弃的资源进行重复利用，具有良好的经济效益和社会效益，绿色环保，为改善微生物絮凝剂单一使用或复配使用时的诸多条件限制，本发明利用磁性高分子微球兼有吸附性和磁性，便于分离的特性，将磁性微球负载微生物絮凝剂使其具备良好的吸附和磁性性能，并且易分离，可重复循环利用，降低成本，果胶是植物体内一种多糖物质，含有丰富的羧基，可以作为吸附剂，壳聚糖分子中羟基和氨基，能与众多重金属离子形成稳定的螯合物，可以作为吸附剂，本发明通过在pH在5-6范围内果胶和壳聚糖通过静电相互作用形成聚电解质复合物，将微生物絮凝剂负载在聚电解质复合物中，再利用四氧化三铁磁性材料修饰，从而达到吸附和磁分离的目的，本发明制备的复合油漆絮凝剂无毒环保，能够有效清除粘附在设备管道的油漆，防止堵塞，净化水质，保证循环水长期安全的运行，应用前景好。

### 具体实施方式

[0009] 一种环境友好型磁性多糖复合油漆絮凝剂，包括以下步骤：

#### (1) 菌种分离纯化

将处理后期阶段的油漆废水装入无菌三角瓶中，置于4℃保存，将种子培养基于121℃下灭菌，冷却后取100μL废水接种到100ml的种子培养基中，于37℃恒温扩大培养24h，然后将培养液分别稀释到10、10、10、10、10、10倍，再将各个稀释后的菌悬液涂布于分离培养基上，37℃恒温培养24h，挑出形态好的菌落完成初步分离，再将挑选出的各个菌接种于种子培养基中，37℃恒温培养24h，对各个菌的培养液稀释并进行划线分离纯化，将最后得到的纯化单菌落保存在分离培养基上；

#### (2) 菌种的筛选

将步骤(1)分离出来的菌分别用接种环接种于种子培养基中，在30℃，160r/min的条件下培养72h，用4g/L的高岭土悬浊液测试菌种的絮凝率，将絮凝率大于50%的菌种保留，并且进行多次传代，将筛选出的菌种保藏；

#### (3) 菌种的发酵培养

a、将啤酒废水和制糖发酵废水分别在5000rpm下离心20min，去除悬浮杂质，其中制糖发酵废水总糖含量为19.85g/L，总氮含量为3263.3mg/L，啤酒废水总糖含量为196.1g/L，总氮含量为1796.8mg/L，然后按照总糖浓度7g/L，炭源和氮源比50:1进行稀释，并且添加磷酸二氢钠和磷酸氢二钠，其中磷酸二氢钠浓度为2g/L，磷酸氢二钠浓度为5g/L，再加入硫酸镁调节发酵培养基的pH为9，高压灭菌备用；

b、将步骤(2)中保藏在斜面的产生菌菌种接种到发酵培养基中，在30℃、150r/min恒温振荡器上培养3h，使各菌株均处于对数生长期，制成菌种悬浮液，按照5%的接种量接种到100ml步骤a制备的发酵培养基中，在30℃、转速为160r/min条件下培养72h；

c、将步骤b制得的发酵液置于4℃高速冷冻离心机于8000r/min离心30min，将得到的上清液中加入2倍量的无水乙醇在4℃下静置24h，然后继续在4℃条件下于8000r/min离心30min，将得到的沉淀用无水乙醇反复洗涤，置于透析袋中透析48h，冷冻干燥后得微生物絮

凝剂；

(4) 复合磁性微球的制备

d、将果胶用蒸馏水溶解制成1%(w/v)的果胶溶液,壳聚糖加到1%的醋酸溶液中制成3%(w/v)的壳聚糖醋酸溶液,在室温下搅拌直至完全溶解,均调节pH值为5,再将步骤c制备的微生物絮凝剂加到壳聚糖醋酸溶液中,然后将果胶溶液缓慢滴加到壳聚糖混合溶液中,缓慢搅拌得复合物；

e、将六水合氯化铁和四水合氯化亚铁混合加到蒸馏水中溶解,一边搅拌一边水浴加热至70℃,然后快速的加入25%的氨水,紧接着加入步骤d制备的复合物,调节pH值为9,继续反应30min,反应结束后停止加热,冷却至室温后用磁铁分离,产物用蒸馏水清洗至中性,然后置于烘箱中40℃干燥,自然冷却即可。

[0010] 所述的分离培养基的配方配比为:牛肉膏3g/L、蛋白胨10g/L、氯化钠5g/L、琼脂15g/L、加蒸馏水至1000ml;调节pH值至7.0,于121℃灭菌20min;种子培养基配方比为:牛肉膏3g/L、蛋白胨10g/L、氯化钠5g/L、加蒸馏水至1000ml,调节pH值至7,于121℃灭菌20min。

[0011] 所述步骤(4)中各原料按照重量份(公斤)配比为:果胶3、壳聚糖18、氯化铁6.8、氯化亚铁3.3、微生物絮凝剂1.8、25%氨水9、1%醋酸适量、蒸馏水适量。

[0012] 为了体现实施例中制备的复合油漆絮凝剂的使用性能的有效性,配置油漆废水进行性能验证,过程如下:

向装有磁力搅拌棒的开口瓶中加入100ml冷自来水,用1mol/L的氢氧化钠调节pH为12,开启搅拌器加入6滴商购的汽车油漆,搅拌均匀后静置得到油漆废水,浓度约为30mg/L,向油漆废水中加入废水总量质量分数0.3%的复合油漆絮凝剂,高速搅拌1min,静置后观察结果。经观察发现:瓶壁没有明显粘附物,水质清澈,形成的絮状物紧凑呈多孔状并浮于水面,絮凝率为93.1%。