

糖蜜酒精废水生物脱色的研究进展*

Biological Decolorization of the Molasses Spent Wash

何小慧, 李必金, 李青云, 魏 来, 刘幽燕**

HE Xiao-hui, LI Bi-jin, LI Qing-yun, WEI Lai, LIU You-yan

(广西大学化学化工学院, 广西南宁 530004)

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530004, China)

摘要:糖蜜酒精废水含有大量难降解有机色素,对环境的污染不容忽视。利用专用微生物(细菌、真菌等)对废水进行生物脱色,有一定的应用前景。本文介绍近年来国内外在糖蜜酒精废水生物脱色的研究现状,重点是新的脱色菌种的发现和脱色机理的阐述,最后对未来糖蜜酒精废水脱色的研究发展做初步预测。

关键词:糖蜜酒精废水 色素 生物脱色 脱色机理

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2013)03-0154-06

Abstract: Molasses spent wash (MSW) contains large amounts of persistent pigment substance, which is a great threat to the environment. The decolorization through specified microorganisms is currently thought to be a promising application. The paper introduces the current research statue on the biodecolorization of MSW with the main attention on the discovery of some novel strains and their decolorizing mechanism. Finally, some suggestions are proposed for the future development of decolorization technologies for MSW.

Key words: molasses spentwash, pigment, biodecolorization, decolorization mechanism

糖蜜是甘蔗制糖工业中压榨出的汁液,经加热、中和、沉淀、过滤、浓缩、结晶等工序后所剩下的浓稠液体。现阶段由于技术及成本等原因,再从糖蜜中提取糖已不合时宜。但是由于糖蜜含有大量可发酵糖(主要是蔗糖),因而是一种非常好的发酵原料,亦可用作某些食品的原料和动物饲料。目前较为常见的发酵产品包括酒精、味精、柠檬酸、酵母、氨基酸、核糖核酸、氢气等^[1],其中酒精是最主要的产品,酒精生产一直是糖厂提高综合效益的重要途径之一。加之近年来石油资源逐渐枯竭,未来能源品种和生产方式在逐渐改变,当前国家提倡“非粮”作物生产模式,糖蜜发酵生产酒精更受到进一步的重视。我国日榨 500t 以上规模的糖厂约 70% 都设有酒精车间,全国酒精年产量达数千万吨。

糖蜜发酵生产酒精在带来经济效益的同时,也

带了大量的废水。酒精经蒸馏提纯后排出的废液称为糖蜜酒精废液(Molasses spent wash, MSW),其排放量很大,每生产 1t 酒精约产 10~15t 废水,年排放量可达 600×10^4 t 以上,而且废水有机负荷大,有机物含量达 7%,主要有有机质有氨基酸、多糖和黑褐色素^[2]等,其生物需氧量(BOD_5)高达 6~9 万 mg/L,化学需氧量(COD_{Cr})达 10~15 万 mg/L。与化工制药等行业的废水相比,MSW 虽然毒性较小,但排入江河易使水体富营养化,严重污染环境^[3~5]。特别值得关注的是其颜色较深,大多呈棕黑色,色度约为 1.0×10^4 倍(稀释法)。这些有色废水持续排入江河不仅影响水体景观,也会改变水体原有特性,如水体溶氧和透光率降低,从而造成水体生态环境的破坏。因此除降低有机负荷外,如何去除色素也是 MSW 等有色类废水治理的关键指标。

本文针对糖蜜酒精废水的色素脱除,总结和归纳近年来国内外在生物脱色方面的研究进展,重点是菌种筛选和脱色机理。

1 糖蜜酒精废水中的色素成分

糖蜜酒精废水中的固形物 30% 为灰分,另外

收稿日期: 2013-05-30

修回日期: 2013-06-10

作者简介: 何小慧(1989-),女,硕士研究生,主要从事环境工程研究。

* 国家自然科学基金项目(21066001)资助。

** 通讯作者: 刘幽燕(1971-),女,博士,教授,主要从事生物催化、生物反应器等方面的研究。Email: liuyouyangx@163.com。

70%为包含黑褐色色素在内的有机质,其中色素主要由甘蔗中原有色素和制糖、发酵过程中形成的色素两部分组成,并以后者居多,因此色素组成很复杂。一般将色素分为3大类:甘蔗中原本存在的植物色素发生裂解和缩聚形成的酚类色素;糖类物质焦化缩聚成高分子生成的棕黑色素(焦糖, caramel);还原糖与氨基酸类物质之间的美拉德反应(Maillard)形成的类黑精色素(Melanoidin)^[6]。其中类黑精由于结构复杂,迄今为止都没有完整确定的结构式。Francisco J等人^[2]认为类黑精中可能存在烯烃和共轭烯胺等发色基团。类黑精分子量分布在5000到40000之间,是一种酸性的、聚合的、高度分散的胶体,由于其中羧酸和酚类组分的水解而带负电荷,常以 $C_{17-18}H_{26-28}O_{10}N$ 作为经验式^[4]。这些色素物质都是难降解的高分子聚合物。Hatano Ki等^[5]在对蔗糖糖蜜的色素组分的分离和表征的过程中发现,样品的红外谱图与腐植酸的谱图相似,质谱的分析结果表明色素组分在234kDa, 446kDa, 657kDa, 868kDa和1079kDa附近有不同大小的分子。

2 糖蜜酒精废水生物脱色研究进展

2.1 生物脱色糖蜜酒精废水研究进展

2.1.1 国内研究

目前国内关于糖蜜酒精废水生物脱色的研究主要集中在物理化学方法的改善以及活性污泥生物反应器上,而优势微生物的筛选和构建处理上的并不是太多。李有志等^[7]从废水、土壤和塘泥样品中驯化分离得到11株对糖蜜酒精废水具有明显降解作用的细菌,并分别考察这些菌株单独作用和混养两种情况下的废水脱色效果,显示了该混合菌具有对废水脱色的优势。范艳霞等^[8]采用富集培养技术得出结论:主要分布在*Firmicutes*、*Proteobacteria*、*Bacteroidete*的细菌菌群对糖蜜废水具有较好的脱色效果,且在一定的优化条件下脱色率达46.2%。

在真菌对废水的脱色研究中,国内报道云芝菌脱色糖蜜废水的研究。例如,冉艳红等^[9~12]对比了云芝菌分别脱色模拟的糖蜜废水以及实际中的废水^[13],结果显示,在最优条件下,该菌对模拟废水的脱色可以达到70%,而对稀释5倍的实际糖蜜酒精废水的脱色率仅为50%,对稀释3倍的实际废水没有明显脱色。灵芝菌、黄孢原毛平革菌等^[14]也被认为对糖蜜酒精废水具有较好的脱色作用。陈桂光等^[15]采用绿色木霉发酵处理废水,并结合活性炭的联合处理,最后在绿色木霉接种量为1%(V/V),培养时间为36h,培养温度为26℃,活性炭投加量为

5%的条件下达到最好的糖蜜酒精废液脱色效果,透光率达91.57%。

总体而言,国内现阶段对生物脱色糖蜜废水的研究仍停留在实验室模拟的水平,而对实际废水的脱色没有太多的进展,大都需要结合其他的生物处理工艺进行共同处理。同时在微生物脱色糖蜜废水上的研究还存在一定局限,多停留在对降解菌的筛选和条件优化上,用于脱色的菌种亦是国际上普遍采用的菌种。

2.1.2 国外研究

国外对生物脱色糖蜜的研究较为深入和广泛。目前获得的具有脱色活性的细菌主要有荧光假单胞菌^[16],希式乳杆菌^[17],醋酸杆菌^[18],包氏颤蓝细菌^[19],植物乳杆菌^[20,21]等。此外,国外学者在研究中发现,虽然单一菌体具有较好的脱色效果,但由于废水成分复杂,可能存在不同程度的抑制,因而国外学者开始研究细菌菌团共同脱色降解废水。比如Sangeeta Yadav等人^[22]研究发现包括奇异变形杆菌、芽孢杆菌属、植生拉乌尔菌和阪崎肠杆菌在内的混合细菌菌团,以4:3:2:1的比例进行混合培养时可以达到较好的脱色效果。Małgorzata Krzywnos^[23]将两株芽孢杆菌属混合,探讨混合菌处理的最佳培养条件,结果显示,在温度25℃,在含有糖蜜酒精废水、酵母膏、盐以及丰富的葡萄糖的培养基中获得最高35%的脱色率。

在真菌脱色研究中,之前国外研究者常用单一的真菌进行糖蜜废水的降解,比如采绒革盖菌、黄孢原毛平革菌^[24,25],黑曲霉^[26,27],毛云芝菌^[28]。Isil Seyis等^[29]探讨了17种不同的真菌对糖蜜废水的脱色作用。研究发现在这些真菌中,绿色木霉对稀释到40g/L浓度的糖蜜酒精废水的脱色率经过7d的培养脱色率达到最大,为53.5%;而其它的木霉属菌和青霉菌对废水脱色率也在40%~45%。而在混合真菌脱色方面的研究近年来开始显示出优势,如Pant^[30]等在处理糖蜜酒精废水时发现了一种新型的混合真菌,该混合菌由嗜松青霉、交链孢霉、黄曲霉、镰刀菌、黑曲霉和佛罗里达侧耳6种菌组成,经过生物反应器培养14d后,废水脱色率达到61.5%,COD去除率达到65.4%。在众多真菌中,白腐真菌在对糖蜜废水降解中的优势得到广泛的认可,因而在应用上也有较深刻的研究。如Sumit Pal^[31]运用白腐混合菌在糖蜜酒精废水条件下进行培养,使脱色率可以达到87.8%,相对于这些菌体独立作用,所获得的处理效果更好。

2.2 生物脱色类黑精色素研究进展

2.2.1 国内研究

类黑精是糖蜜酒精废水中的主要显色色素成分,目前国内对糖蜜酒精废水中的类黑精色素直接脱色的研究并不是很多,主要探讨类黑精色素在食品领域的发展和应用,而对其在环境上的影响和处理鲜有报道。谢委翰等人^[32]用筛选的3种菌株:云芝,灵芝,黄孢原毛平革菌对废水混合色素进行脱色,得到的脱色率分别为53.2%,47.8%,49.0%。利用云芝菌在糖蜜酒精废水培养条件下产酶,从而对其色素进行漂白^[33,34]的研究已得到广泛验证。

2.2.2 国外研究

在国外的研究中,类黑精被视为脱色糖蜜酒精废水的重点研究对象之一。在众多筛选细菌菌种中,假单胞菌菌种的脱色类黑精效果最为突出:荧光假单胞菌在没有灭菌的条件下对类黑精具有脱色作用,可以到达76%的脱色率,而在灭菌后对类黑精的脱色率提高到90%^[35],造成这种结果的原因,可能是由于类黑精的稳定性易于受到温度、pH值的影响,并且灭菌后类黑精可能会分解成小分子的更易被微生物利用的结构。这说明在处理类黑精色素时要注意对温度的考量。Ghosh等人^[36]的研究表明,恶臭假单胞菌利用其自身产生的葡萄糖氧化酶对糖蜜色素类黑精具有氧化脱色的作用。Sirianuntapiboons等^[37]通过在糖蜜色素培养基中培养产乙酸细菌,培养5d后到达最高的79%的脱色率,但是仅在有外加碳氮源均存在的情况下才能达到最优。Soni Tiwari等^[38]运用一种新型的耐高温酵母(热带念珠菌RG-9)对类黑精进行脱色。结果显示,在45℃时的脱色率可达75%,并且这种菌体相较于其他菌体而言可以在更高温度下进行脱色作用,因而可以初步应用于工业领域。他们还从带有糖蜜酒精废水的土壤中提取出了10株细菌,其中有一株枯草芽孢杆菌表现出对废水的高脱色效果。该菌株在含有0.1%的葡萄糖,0.1%蛋白胨,0.05% MgSO₄, 0.01% KH₂PO₄, pH值为6.0,温度为45℃的静置培养基中培养24h后,可达到10株菌中最高85%的脱色率^[39],并且这些菌均可用于实际的工业领域中。可见细菌在糖蜜酒精废水中有很大的应用价值,包括奇异变形杆菌在内的细菌菌团被证实对类黑精也有75%的脱色率^[40]。

在真菌研究中,云芝菌在国内外都是最早被筛选出来用于类黑精和糖蜜酒精废水脱色的菌株。Miyata等人^[28]研究毛云芝菌在有机氮条件下对类

黑精的脱色作用,在此过程中葡萄糖氧化酶也起到降解的作用。Chopra等人^[41]进一步研究了云芝菌在氮源限定条件下对类黑精色素的脱色作用,结果表明氮源对该菌的脱色效率没有明显的影响。而Dahiya^[42]研究发现黄孢原毛平革菌在适当的条件下可脱色合成的类黑精和天然的类黑精,脱色率可达到80%。Pant等人^[43]用平菇菌EM1303对类黑精进行脱色处理,结果显示该菌对类黑精的脱色率可以达到86.3%。Nagaraj Naik等^[44]从红树林区筛选出4株真菌,用其对糖蜜废水中的类黑精和焦糖色素进行降解,其中被称为K₁的菌株脱色效果最明显:对类黑精的脱色率达到77%,而对焦糖色素的脱色率达到54%。国外研究筛选的脱色真菌菌种还有米曲霉、白地霉、立枯丝核菌D-90、黑曲霉等。它们在各自适合的环境条件下对类黑精都有较高的脱色效果,这为微生物脱色投入工业应用提供了更多的选择和可能。

3 糖蜜酒精废水生物脱色机理的研究进展

3.1 细菌脱色糖蜜废水的机理

对于细菌脱色糖蜜酒精废水的机理的报道并不多,Sirianuntapiboon等^[45]认为产乙酸菌BP103的脱色机理是其细胞自身的吸附作用,认为细胞自身可以吸附类黑精色素和糖蜜废水。其中灭活细胞的吸附率是活菌的2倍,这可能是糖蜜酒精色素的毒性对细胞的活性抑制作用造成的^[46~48]。Francisca Kalavathi等^[19]报道了一种海洋丝状非异形细胞包氏颤蓝细菌可以以类黑精作为碳氮源对其进行脱色,这株细菌在纯类黑精色素中进行30d培养后,脱色率达到75%;而对实际糖蜜酒精废水中的天然色素的脱色率为60%;其可能的脱色机理为蓝细菌在光合作用中释放产生的过氧化氢、氢氧根离子和分子氧的共同作用。C. Ghosh等^[49]认为恶臭假单胞菌在废水环境条件下可以通过葡萄糖氧化酶将胞外的葡萄糖转化为葡萄糖酸和过氧化氢,而产生的过氧化氢可以氧化类黑精,使废水达到脱色效果。

3.2 真菌脱色糖蜜废水的机理

一般认为真菌菌丝对色素有吸附作用。例如,用蒸煮过的米曲霉(Y-2-32)菌丝(121℃、15min)可吸附类黑精,尤其是低分子量的色素部分,脱色率可达75%^[50]。Sirianuntapiboon等^[51]筛选出一批具有脱色糖蜜色素能力的丝状真菌,获得一株半知菌纲中的无孢菌类D90菌株,并研究其对类黑精脱色的活性,结果表明在优化条件下该菌可脱除93%的废水色素。分析认为脱色机理可能是细胞本身具有

吸附作用。

真菌脱色过程中所产生的包括氧化酶,木质素过氧化物酶系等多种类酶,被认为是真菌脱色中的主要因素。表现如下:

(1)以白腐真菌为代表的由次级代谢产物木质素过氧化物酶起作用的方式。该方式主要研究锰过氧化物酶(MnP)、不依赖于锰的过氧化物酶(MiP)、漆酶(Lac)以及木质素氧化酶(LiP)。如 Miyata 等^[28]研究活性污泥和毛云芝菌联合脱色类黑精污染废水,认为锰依赖过氧化物酶和锰过氧化物酶活性的增加对于增强毛云芝菌脱色能力起着重要作用。Adholeya 筛选到一株具有糖蜜酒精废水脱色活力的黄曲霉菌株,发现菌株在脱色过程中表现出漆酶、锰过氧化物酶的活力。在随后的研究中,研究者运用浓缩粗酶液脱色糖蜜酒精废水,其中 Pant 等^[52,53]分离和鉴定出的 2 株菌株青霉菌 TERI DB1 和链格孢菌 TERI DB6,他们具有 LiP 活性,对酒精废水的脱色率分别为 59%和 47%。近年来很多文献报道了漆酶在脱色中的重要地位,例如: Tania 等^[54]在含有类黑精的糖蜜废水的培养条件中发现白腐栓菌 I-62 产生了漆酶,并且进一步证实漆酶与该菌体脱色类黑精有一定的联系。Rodriguez 等^[55]研究发现漆酶在平菇菌脱色糖蜜酒精废水进程中起到重要作用,而这种作用是在营养限制的情况下考察的。同样的,还有一种海洋真菌^[56]也被发现在糖蜜酒精废水培养条件下可以产生漆酶,而对这种漆酶进行纯化后用于脱色糖蜜废水,能获得一定程度的脱色效果,再一次证明漆酶在脱色糖蜜酒精废水的作用。

(2)在真菌代谢过程中,以葡萄糖氧化酶和乙二醛氧化酶等为代表的产过氧化氢酶分子氧的参与可以氧化相应底物(葡萄糖或乙二醛)形成活性氧(H_2O_2),从而引起脱色。如 *Coriolus* sp. No. 20 是将蒸馏废液中的糖氧化成活性氧而用于脱色^[57]。又如直接采用葡萄糖氧化酶与合成类黑精混合反应形成过氧化氢,在优化条件下可脱色类黑精 65%^[58]。Yoshio 等人^[59]发现云芝菌 No. 2 与胞内酶有关,这种胞内酶在有以葡萄糖和山梨糖为代表的糖源存在且有氧的情况下产生,经纯化分析,这种酶主要是山梨糖氧化酶。Ohmomo 等人^[60,61]使用 *Coriolus versicolor* Ps4a 对废水进行处理,在最佳的培养条件下,对废水的脱色率可达 80%,显示较高活性;而进一步对其脱色类黑精的活性物质进行研究,发现在胞内产生了两种起主要作用的酶,其中一

种是受糖蜜色素诱导的胞内酶(糖依赖酶),这种糖依赖酶可能是类似于山梨糖酶的糖氧化酶。此外,以糖蜜废水为碳源的黑曲霉、荧光假单胞菌、*Pterotus* sp. 的培养过程中都检测出了葡萄糖氧化酶的存在,进一步通过薄层色谱发现,这些菌在脱色糖蜜废水过程中都有葡萄糖酸的产生。这也说明在脱色作用中葡萄糖氧化酶起到一定的作用,催化葡萄糖生成了葡萄糖酸和过氧化氢^[62]。

4 研究展望

由于糖蜜酒精废水成分复杂,含有多种难以降解的有机物成分,用生物的方法进行降解,其机理也相当复杂,从本文阐述的研究背景可看出,将微生物运用于糖蜜酒精废水的脱色研究还有很长的路要走。类黑精作为糖蜜酒精废水主要显色成分之一,由于其相对糖蜜废水而言结构单一,因而处理起来更直接,效果也更显著,但是实验证明对类黑精脱色有效的菌株未必对糖蜜酒精废水有效,这可能源于糖蜜酒精废水自身复杂的组成成分(具有一定的毒性),影响了微生物的作用。

虽然利用微生物对糖蜜酒精废水及其色素进行脱色的研究已经日渐全面和成熟,但是大多数的研究依然是建立在实验室的范围内,并且对未经过预处理的糖蜜废水和合成的类黑精的脱色效果普遍不是很高,选择的优势菌种要大批量的投入到工业处理中还需走很长的路。由于糖蜜酒精废水的微生物研究多数需要筛选优势菌种,以及进行实验条件的优化才能使废水的脱色达到最大化,而且对于微生物脱色糖蜜酒精废水过程中主要的作用机理的研究目前并不是很成熟,大多认为是酶或是代谢的作用。同时由于微生物的生长过程也是一个复杂的、流动化的过程,所以脱色的机理有可能是吸附、酶降解和代谢过程的共同结果,因此该方面的研究在未来可能会有所进展。

由此看来,未来微生物强化技术脱色糖蜜酒精废水的研究仍将是主要的研究方向,即从自然界中筛选优势菌种,研究其脱色机理,再有针对性地对其脱色过程进行优化,或是利用基因重组技术生产高效菌种,以期达到更高的可实际投入运行的糖蜜酒精废水色素脱色处理要求。

参考文献:

- [1] 韩永顺,李良玉.不同来源糖蜜酒精发酵特性的研究[J].酿酒科技,2010,194(8):59-61.
- [2] Francisco J Morales,Salvio J P. Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to col-

- our and fluorescence[J]. Food Chemistry, 2001, 72: 119-125.
- [3] Naik N M, Jagadeesh K S, Alagawadi A R. Microbial decolorization of spent wash: a review[J]. Indian J Microbiol, 2008, 48(1): 41-18.
- [4] Manisankar P, Rani C, Viswanathan S. Effect of halides in the electrochemical treatment of distillery effluent[J]. Chemosphere, 2004, 57(8): 961-966.
- [5] Hatano K-i, Kikuchi S, Miyakawa T, et al. Separation and characterization of the colored material from sugarcane molasses[J]. Chemosphere, 2008, 71(9): 1730-1737.
- [6] 吴振强. 甘蔗糖蜜酒精废液色素提取及其特性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 1997.
- [7] 李有志, 冯家勋. 可降解糖蜜酒精废水黑褐色色素细菌菌株的筛选及其降解色素效率的测定[J]. 广西农业生物科学, 1999, 18(4): 281-286.
- [8] 范艳霞, 张俊亚, 杨霞, 等. 糖蜜酒精废水的生物脱色及其细菌群落结构分析[J]. 基因组学与应用生物学, 2012, 31(5): 485-491.
- [9] 冉艳红, 于淑娟, 杨连生, 等. 模拟精炼糖厂废水云芝脱色及对多糖含量影响[J]. 微生物学通报, 2003, 30(2): 32-36.
- [10] 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: 自然科学版, 2003, 31(3): 40-44.
- [11] 冉艳红. 云芝漂白模拟糖厂废水及收获菌体营养条件研究(II)[J]. 食品科学, 2005, 26(5): 134-138.
- [12] 冉艳红. 云芝漂白模拟糖厂废水及收获菌体工艺条件研究(I)[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 128-130.
- [13] 冉艳红, 于淑娟. 蕈菌云芝用于酒精废液生物漂白及收获菌丝体的研究[J]. 现代化工, 2004, 24(4): 43-47.
- [14] 谢委翰, 岑丰杰, 林晓珊. 高产漆酶菌株的筛选及其对工业废水脱色的效果[J]. 现代食品科技, 2011, 27(10): 1249-1251.
- [15] 陈桂光, 曾日华, 张云开, 等. 绿色木霉发酵强化糖蜜酒精废液活性炭脱色效果的研究[J]. 中国酿造, 2011, 229(4): 122-124.
- [16] Ohmomo S, Daengsubha W, Yoshkawa H, et al. Screening of anaerobic bacteria with the ability to decolorize molasses melanoidin[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1988, 52(10): 2429-2435.
- [17] Sirianuntapiboon S. Selection of acid forming bacteria having decolorization activity for removal of color substances from molasses waste water[J]. Thammasat Int J ScTech, 1999, 4(2): 1-12.
- [18] Dahiya J, Singh D, Nigam P. Decolourisation of molasses wastewater by cells of *Pseudomonas fluorescens* immobilised on porous cellulose carrier[J]. Bioresource Technology, 2001, 78(1): 111-114.
- [19] Francisca Kalavathi D, Uma L, Subramanian G. Degradation and metabolization of the pigment-melanoidin in distillery effluent by the marine *Cyanobacterium Oscillatoria boryana* BDU 92181[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001, 29(4-5): 246-251.
- [20] Tondee T, Sirianuntapiboon S. Decolorization of molasses wastewater by *Lactobacillus plantarum* No. PV71-1861[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(14): 6258-6265.
- [21] Vassanasak Limkhuanuwana, Pawinee Chaiprasertb. Decolorization of molasses melanoidins and palm oil mill effluent phenolic compounds by fermentative *Lactic acid bacteria* [J]. Journal of Environmental Sciences, 2010, 22(8): 1209-1217.
- [22] Sangeeta Yadav, Ram Chandra. Biodegradation of organic compounds of molasses melanoidin (MM) from biomethanated distillery spent [J]. Biodegradation, 2012, 23(4): 609-620.
- [23] Małgorzata Krzywonos. Decolorization of sugar beet distillery effluent using mixed cultures of bacteria of the genus *Bacillus*[J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11(14): 3464-3475.
- [24] Kumar V, Wati L, Nigam P, et al. Decolourization and biodegradation of anaerobically digested sugarcane molasses spent wash effluent from biomethanation plants by *White - rot fungi* [J]. Process Biochem, 1998, 33: 83-88.
- [25] Thakkar A P, Dhamankar V S, Kapadnis B P. Biocatalytic decolourisation of molasses by *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Bioresour Technol, 2006, 97: 1377-1381.
- [26] Miranda P M, Beniot G G, Cristobal N S. Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger* [J]. Bioresour Technol, 1996, 57: 229-235.
- [27] Pant D, Adholeya A. Enhanced production of ligninolytic enzymes and decolorization of molasses distillery wastewater by fungi under solid state fermentation [J]. Biodegradation, 2007, 18: 647-659.
- [28] Miyata N, Mori T, Iwahori K, et al. Microbial decolorization of melanoidin-containing wastewaters: combined use of activated sludge and the fungus *Coriarius hirsutus* [J]. J Biosci Bioeng, 2000, 89: 145-150.
- [29] Isil Seyis, Tugba Subasioglu. Screening of different fungi for decolorization of molasses[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2009, 40: 61-65.
- [30] Pant D, Adholeya A. Development of a novel fungal consortium for the treatment of molasses distillery wastewater[J]. The Environmentalist, 2010, 30(2): 178-182.
- [31] Sumit Pal, Vimala Y. Bioremediation and decolorization of Distillery effluent by novel Microbial Consortium [J]. European Journal of Experimental Biology, 2012, 2(3): 496-504.
- [32] 谢委翰, 岑丰杰, 林晓珊, 等. 高产漆酶菌株的筛选及其对工业废水脱色的效果[J]. 现代食品科技, 2011, 27(10): 1249-1251.
- [33] 孙巍, 许玫英, 孙国萍. 毛云芝菌利用糖蜜酒精废水产漆酶培养基优化[J]. 微生物学通报, 2011, 38(4): 516-522.
- [34] 陈沃洪, 赵继伦. 云芝用于糖蜜废水脱色处理的研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(5): 487-490.

- [35] Dahiya J, Singh D, Nigam P. Decolourisation of molasses wastewater by cells of *Pseudomonas fluorescens* immobilized on porous cellulose carrier [J]. *Biores Technol*, 2001, 78: 111-114.
- [36] Ghosh M, Ganguli A, Tripathi A K. Treatment of anaerobically digested distillery spentwash in a two-stage bioreactor using *Pseudomonas putida* and *Aeromonas* sp. [J]. *Process Biochem*, 2003, 7: 857-862.
- [37] Sirianuntapiboon S, Phothilangka P, Ohmomo S. Decolorization of molasses wastewater by a strain No. BP103 of *Acetogenic bacteria* [J]. *Bioresource Tech*, 2004, 92: 31-39.
- [38] Soni Tiwari, Rajeeva Gaur, Ranjan Singh. Decolorization of a recalcitrant organic compound (Melanoidin) by a novel thermotolerant yeast, *Candida tropicalis* RG-9 [J]. *BMC Biotechnology*, 2012, 12: 30.
- [39] Soni Tiwari, Rajeeva Gaur, Priyanka Rai, et al. Decolorization of distillery effluent by thermotolerant *Bacillus subtilis* [J]. *American Journal of Applied Sciences*, 2012, 9(6): 798-806.
- [40] Sangeeta Yadav, Ram Chandra. Biodegradation of organic compounds of molasses melanoidin (MM) from biomethanated distillery spent wash (BMDS) during the decolourisation by a potential bacterial consortium [J]. *Biodegradation*, 2012, 23: 609-620.
- [41] Chopra P, Singh D, Verma V, et al. Bioremediation of melanoidin containing digested spent wash from cane molasses distillery with white rot fungus, *Coriolus versicolor* [J]. *Ind J Microbiol*, 2004, 44: 197-200.
- [42] Dahiya J, Singh D, Nigam P. Decolourisation of synthetic and spentwash melanoidin using the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* JAG-40 [J]. *Biores Technol*, 2001, 78: 95-98.
- [43] Pant D, Adholeya A. Nitrogen removal from biomethanated spentwash using hydroponic treatment followed by fungal decolourization [J]. *Environ Eng Sci*, 2009, 26: 559-565.
- [44] Nagaraj Naik, Jagadeesh K S, Noolvi M N. Enhanced degradation of melanoidin and caramel in biomethanated distillery spentwash by microorganisms isolated from mangroves [J]. *Iranica Journal of Energy & Environment*, 2010, 1(4): 347-351.
- [45] Sirianuntapiboon S, Prasertsong K. Treatment of molasses wastewater by *Acetogenic bacteria* BP103 in sequencing batch reactor (SBR) system [J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(6): 1806-1815.
- [46] Metcalf, Eddy. *Wastewater engineering treatment and reuse* [M]. New York: international ed McGraw-Hill Higher Education, 2004.
- [47] Sirianuntapiboon S, Seangow W. Removal of vat dyes from textile wastewater using bio-sludge [J]. *Water Qual Res*, 2004, 39(3): 278-284.
- [48] Sirianuntapiboon S, Srisornsak P. Removal of disperse dyes from textile wastewater using bio-sludge [J]. *J Biores Technol*, 2007, 98(5): 1057-1066.
- [49] Ghosh M, Ganguli A, Tripathi A K. Treatment of anaerobically digested distillery spentwash in a two-stage bioreactor using *Pseudomonas putida* and *Aeromonas* sp. [J]. *Process Biochem*, 2003, 7: 857-862.
- [50] Ohmomo S, Kainuma M, Kamimura K, et al. Adsorption of melanoidin to the mycelium of *Aspergillus oryzae* [J]. *Agri Biol Chem*, 1988, 52(2): 381-386.
- [51] Sirianuntapiboon S, Somchai P, Ohmomo S, et al. Screening of filamentous fungi having the ability to decolorize molasses pigments [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1988, 52(2): 387-392.
- [52] Pant D, Adholeya A. Concentration of fungal lignolytic enzymes by ultrafiltration and their use in distillery effluent decolorization [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, 25(10): 1793-1800.
- [53] Pant D, Adholeya A. Enhanced production of lignolytic enzymes and decolorization of molasses distillery wastewater by fungi under solid state fermentation [J]. *Biodegradation*, 2007, 18(5): 647-659.
- [54] Tania González, María Carmen Terrón, Susana Yagüe, et al. Melanoidin-containing wastewaters induce selective laccase gene expression in the white-rot fungus *Trametes* sp. F-62 [J]. *Research in Microbiology*, 2008, 159(2): 103-109.
- [55] Rodríguez S, Fernández M, Bermúdez R, et al. Tratamiento de efluentes coloreados con *Pleurotus ostreatus* [J]. *Rev Iberoam Micol*, 2004, 20: 160-170.
- [56] D' Souza D T, Tiwari R, Sah A K, et al. Enhanced production of laccase by a marine fungus during treatment of colored effluents and synthetic dyes [J]. *Enz Microb Technol*, 2006, 38(3-4): 504-511.
- [57] Gomyo T, Kato H, Uda K, et al. Chemical studies on melanoidins Part III. Effects of heating on chemical properties of melanoidin prepared from glycine-xylose system [J]. *Agric Biol Chem*, 1972, 36: 125-132.
- [58] Fumitaka Hayase, Seon Bong KIM, Hiromichi KATO. Decolorization and degradation products of the melanoidins by hydrogen peroxide [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1984, 48(11): 2711-2717.
- [59] Yoshio Watanabe, Ryozi Sugi, Yonemi Tanaka, et al. Enzymatic decolorization of melanoidin by *Coriolus* sp. No. 20 [J]. *Agric Biol Chem*, 1982, 46(6): 1623-1630.
- [60] Ohmomo S, Aoshima I, Tozawa Y, et al. Purification and some properties of melanoidin decolorizing enzymes P-III and P-IV, from mycelia of *Coriolus versicolor* Ps4a [J]. *Agri Biol Chem*, 1985, 49: 2047-2053.
- [61] Aoshima I, Tozawa Y, Ohmomo S, et al. Production of decolorizing activity for molasses pigment by *Coriolus versicolor* Ps4a [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1985, 49(7): 2041-2045.
- [62] Kahraman S, Yesilada. Decolorization and bioremediation of molasses wastewater by white rot fungi in a semi-solid state condition [J]. *Folia Microbiol*, 2003, 48: 525-528.

(责任编辑: 尹 闯)