

营养源对酵母菌废水处理系统的恢复能力初探*

刘 英^{1,3}, 吕文洲^{2,3}, 郭康权¹, 吴成强³, 杨 敏³

(1 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100;

2 宁波大学 建筑工程与环境学院, 浙江 宁波 315211;

3 中国科学院 生态环境研究中心水质学国家重点实验室, 北京 100085)

[摘 要] 初步探讨了营养源对异常酵母菌处理高含油废水系统的恢复能力。结果表明, 废水中补充氮源可使酵母菌的油降解活性和沉降性能大大提高, 有机物的化学需氧量、油去除率分别比不补充氮源时提高 85% 和 88%; 添加 Ca^{2+} 对处理能力有一定提高作用, 有机物的化学需氧量、油去除率分别提高了 40% 和 47%; 补充磷源和 Fe^{3+} 对系统的恢复作用不明显。

[关键词] 酵母菌; 营养源; 废水处理; 油降解能力; 污泥性状

[中图分类号] X703.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)04-0076-05

酵母菌废水处理技术是一种集废水治理与废物资源化利用于一体的新型生物处理技术, 是由日本于 20 世纪 90 年代中期率先提出的。在废水处理过程中, 由于产生的剩余酵母的蛋白含量可达干重的 50% 左右, 并含有一定量的必需氨基酸^[1], 可用作单细胞蛋白(SCP), 所以在环境和粮食两大问题日益突出的今天, 同时作为一种高浓度有机废水处理的补充工艺, 该技术受到了人们的普遍关注。近年来, 国内陆续开展了此项技术的实验室研究, 但迄今为止, 尚未见实际应用的报道。本研究在高浓度含油废水的连续处理运行中, 初步探讨了营养源对酵母菌处理效果和污泥性状的影响, 以为废水处理系统的正常运行提供参考, 为异常系统的迅速恢复提供有效的解决方案。

1 研究方法

1.1 废水来源及酵母菌菌株

废水取自某色拉油制造公司, 为高浓度有机废水。酵母菌菌株是现场筛选并经过驯化的 5 株酵母菌, 分别为产朊假丝酵母(*Candida utilis*, CU)、博伊丁假丝酵母(*Candida boidinii Ramirez*, CBR)、热带假丝酵母(*Candida tropicalis*, CT)、深红酵母(*Rhodotorula rubra* (Denme) Lodder, RRL)、皮状丝孢酵母(*T richosporon cutaneum*, TC)。

1.2 酵母菌废水处理装置

采用传统活性污泥法, 其装置如图 1 所示。

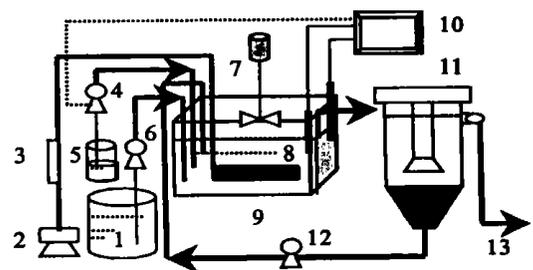


图 1 酵母菌废水连续处理系统装置

1. 废水池; 2. 压缩机; 3. 气体流量计; 4. 加药泵; 5. 药剂池;
6. 计量泵; 7. 消泡器; 8. 曝气器; 9. 曝气池; 10. pH 在线监控;
11. 沉淀池; 12. 污泥回流泵; 13. 排水

Fig. 1 Tester of continuous treatment in yeast treatment system

1. Wastewater tank; 2. Air compressor; 3. Gas flowmeter;
4. Dosing pump; 5. Reagent tank; 6. Flow control pump;
7. Froth breaker; 8. Aerator; 9. Aeration tank;
10. pH in-line meter; 11. Settling tank;
12. Sludge reflux pump; 13. Effluent

1.3 连续废水处理以及出现的问题

将扩大培养得到的沉降性能良好的酵母菌(SV I 40~60), 移入曝气池中。连续废水处理中, 将有机物生化需氧量 BOD_5 -酵母菌负荷 (N_s) 基本控制在 $1.5 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 左右, 曝气池溶解氧(DO)控制在 $2.0 \text{ mg}/\text{L}$ 左右, pH 控制在 $4.5 \sim 5.0$, 温度基本控制在 25°C (冬季稍微偏低), 进水有机物的化学需氧量(COD)控制在 $4000 \text{ mg}/\text{L}$ 左右, 水力停留

* [收稿日期] 2003-10-14

[基金项目] 国家自然科学基金项目(50078053); 宁波大学青年硕士基金(SS0211029)

[作者简介] 刘 英(1977-), 陕西宝鸡人, 助教, 在职硕士, 主要从事饮用水净化和废水处理研究。

时间 10 h。为了探索废水中所含营养源能否满足系统正常运行的需要, 从而不额外增加废水处理成本, 故在前期的处理中, 没有向废水内投加任何营养盐类。系统运行第 2 天, 开始连续监测酵母菌对废水油去除率的影响。

1.4 曝气池内酵母菌形态观察

自系统连续运行开始, 定期对曝气池内酵母菌的显微形态进行观察, 以便从微观领域了解和掌握系统的运行情况。酵母菌染色采用吕氏美蓝染色法, 在常规光学显微镜下进行活体观察并拍照。

1.5 氮、磷主要营养源对污泥性状及 COD 去除效果的影响

连续运行一段时间后, 曝气池内酵母菌混合液颜色由原来的黄色逐渐变为苍白色, 混合液粘度增大。显微镜镜检发现, 混合液中的单细胞和假菌丝形态的酵母菌变得稀少, 粘性胶团增多, 油去除率下降至 60%~70%。取出 0.5 L 曝气池混合液, 离心, 洗涤, 使用 pH 4.92 的磷酸盐缓冲溶液配制成菌悬液, 均分到 2 个 2 L 柱型有机玻璃容器中配制废水, 设计反应时间 24 h, N_s 为 1.5 kg/(kg·d), 容器置于 25℃ 恒温水浴中, 使用空气压缩机曝气, 并通过转子气体流量计控制, 使进入每个容器的曝气量一致, 控制 DO 在 2.0 mg/L 左右。氮源选用氯化铵 (NH_4Cl), 投加质量比为 $\text{BOD}_5 : \text{N} = 40 : 1$; 磷源选用磷酸二氢钠 (NaH_2PO_4), 投加质量比为 $\text{BOD}_5 : \text{P} = 200 : 1$ 。试验分 4 个处理, 即对照、加 N、加 P、加 N+P。24 h 内取 6 个点采样, 测定容器内混合液的污泥沉降指数 (SVI)、滤过性 COD; 并在第 24 h 时测定混合液的污泥沉降曲线。

1.6 NH_4^+ , Ca^{2+} , Fe^{3+} 对 COD 和油去除效果的影响

酵母污泥来源以及处理同上。试验在 4 个 2 L 的柱型有机玻璃容器中进行, 计划 2 d 反应完毕。设计酵母菌负荷 (N_s) 大致为 1.0 kg/(kg·d), 试验分设 4 个处理, 即对照、投加 N (NH_4Cl)、投加 Fe^{3+} (FeCl_3)、投加 Ca^{2+} (CaCl_2)。投加质量比为 $\text{BOD}_5 : \text{N} = 40 : 1$, $\text{Fe}^{3+} 10 \text{ mg/L}$, $\text{Ca}^{2+} 0.01 \text{ mol/L}$ 。预先调节废水 pH 为 5.0, 然后投加药品, 开始曝气。反应完毕后, 立即取混合液 50 mL 测定油含量; 停止曝气 30 min, 取上清液测定非过滤性 COD。

1.7 COD 和油的测定方法

COD 采用承德华通公司 CTL-12 型 COD 快速测定仪; 油含量测定采用重量法, 萃取剂为石油醚^[2]。

2 结果与分析

2.1 废水特性和酵母菌菌株

经分析, 所采集水样的主要指标为: COD 134.380 g/L, 油 89.687 g/L, 总氮 154 mg/L, 总磷 6.495 g/L, $\text{BOD}_5 / \text{COD} = 0.47$ 。该水样以高 COD 和油含量为主要特点, 同时其总氮相对很低, 因此在废水生物处理中总氮量可能会成为微生物生长的限制因子, 进而可能影响到废水处理的稳定和效果。6 株酵母菌均有较高的油降解能力, 扩大培养中须添加必要的 N、P 营养源, 此时酵母菌显微形态主要为假菌丝和单细胞聚集体。

2.2 连续废水处理中出现的问题

在不投加任何营养盐的情况下, 连续废水处理试验一般运行 1~2 周后, 油去除率将明显下降, 同时 SVI 上升到 150~200 mL。冬季由于温度偏低, 曝气池里的酵母菌混合液出现粘度增大现象, 二沉池中泥水分离困难, SVI 一度高达 400~500 mL。其中一次运行中, 油去除率随时间的变化情况如图 2 所示。

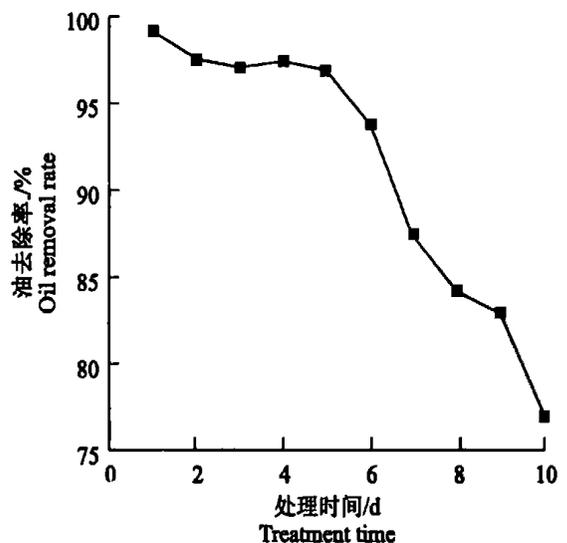


图 2 连续废水处理中油去除率的变化

Fig. 2 The change of oil removal rate in continuous treatment

2.3 处理系统中酵母菌形态的变化

运行初期和后期, 对曝气池内酵母菌进行的吕氏美蓝染色及显微镜检观察 (图 3) 发现, 大部分酵母菌被染成深蓝色, 这说明系统中酵母菌大半已处于衰老和低活性状态; 同时, 系统内过量碳源不能被酵母菌及时、充分利用而转变为多聚糖类胞外贮存物, 这种物质高度亲水, 从而影响了污泥的沉降性

能,在温度较低时,更多的时候会引起高粘性膨胀,于是就出现了曝气池内混合液粘度提高,形同“粥

状”,这一系列现象后来被证实与N 源缺乏有关。

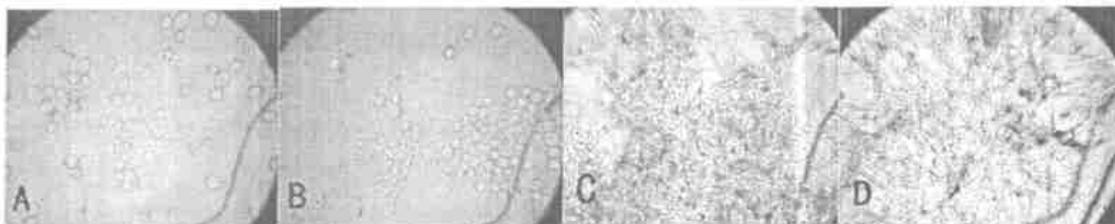


图 3 系统运行初期和后期的微生物显微形态

A. 初期的单细胞和聚集体形态;B. 初期的假菌丝形态;C. 后期的胶团和酵母菌;D. 后期的丝状菌膨胀

Fig 3 Morphology of microorganisms in system at the beginning and end of the operation

A. Single and aggregation of yeast cell at the beginning;B. Pseudomycelium at the beginning;

C Mycelium and aggregation of yeast cell at the end;D. Mycelium in filamentous bulking at the end

2.4 投加氮、磷主要营养源对酵母菌废水处理系统的影响

根据连续运行中出现的问题和废水水质分析结果,推测很可能是由于废水中的营养源供给不足,即氮缺乏导致了系统处理能力下降和酵母菌活性降低。同时,为探索废水中所含磷的生物可利用性而进行了一系列批量试验,其结果如图4~6所示。图4反映了反应过程中各处理的SVI变化。由图4可见,4个处理的SVI均呈上升趋势,尤以对照最高,加N和加N+P次之,加P处理最低;但试验结束时,加N和加N+P处理的SVI出现明显的下降趋势,这说明单独加P对污泥的沉降性影响不明显。废水水质分析发现BOD/P为9.7,所以P含量在理论上也不会对废水处理产生不利影响;投加N和N+P对污泥的沉降性影响趋势一致,均在处理一段

时间后,起到了改善污泥沉降性的作用,这可能主要归功于N的作用,但并不排除P与N的协同作用。结合图5的污泥沉降曲线,可以更加肯定加N+P处理对污泥沉降性的改善作用最为明显,单独加N或加P的改善作用相对较差。图6反映了试验过程中容器内滤过性COD的变化情况。图6表明,加N和加N+P对COD降解能力的提高程度基本接近;单独加P处理与对照处理有共同的趋势,即反应过程中出现COD升高的现象,这可能是原本营养缺乏的酵母菌污泥的解体所致,试验中明显观察到对照处理和加P处理的SV₃₀上清液出现乳白色混浊;相反,另外2个处理上清液很澄清。这一现象说明,处理系统中缺乏的主要营养物质是N源,而N源对系统酵母菌降解活性的确有提高作用。

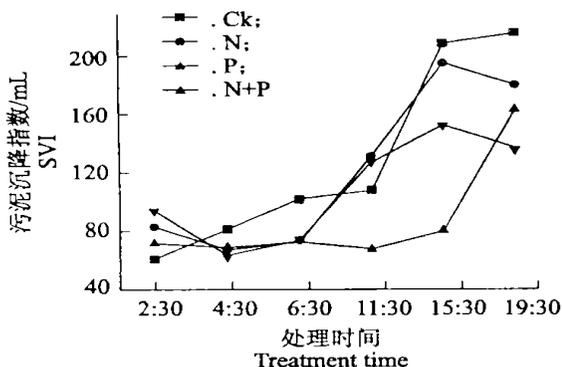


图 4 不同处理时间的 SVI

Fig 4 The curve of SVI in different disposal at different time

2.5 NH₄⁺, Ca²⁺, Fe³⁺ 对酵母菌废水处理系统处理效果的影响

为了探索主要微量金属离子对废水处理系统恢

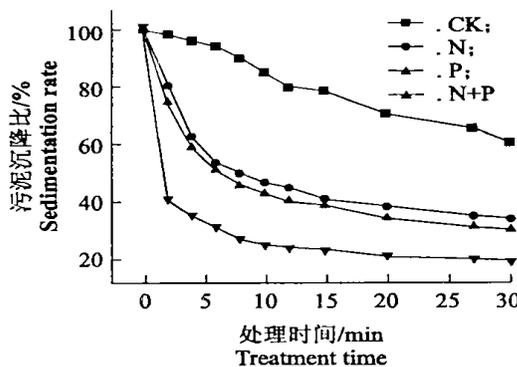


图 5 不同处理时间的污泥沉降比

Fig 5 The sedimentation curve of yeast-sludge in different disposal at different time

复效果的影响,同时比较N源和微量金属离子对系统的改善能力,进行的NH₄⁺和Ca²⁺,Fe³⁺对处理效果影响的试验结果(图7)表明,加NH₄⁺对处理效果

有很大的提高, COD 和油去除率分别比对照提高 85% 和 88%, 所以 N 源对系统处理能力的恢复作用十分明显; 加 Ca^{2+} 对处理效果也有一定影响, COD, 油去除率分别比对照提高 40% 和 47%。华玉涛等^[3]研究了 Ca^{2+} 对热带假丝酵母增殖的影响, 发现钙离

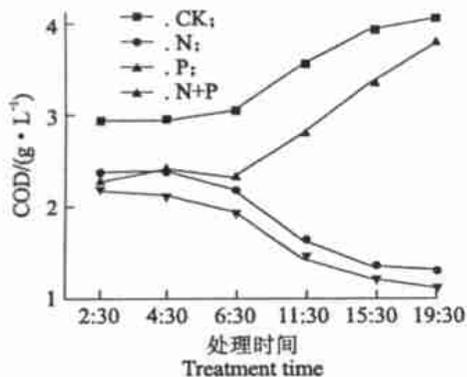


图6 不同处理时间的COD

Fig 6 The curve of COD in different disposal at different time

3 讨论

3.1 废水水质对处理系统的影响

据文献[4]报道, 对于完全混合反应器, 在 BOD/N 为 35:1 时已形成 N 的限制情况, 比值为 297:1 时处于 N 的极端限制状态。该含油废水的 BOD/TN 仅有 440:1, N 贫乏显而易见。而在生物处理中, 废水中的 N 对微生物蛋白质合成不可或缺, 由于 N 的缺乏, 系统中的酵母菌就不能得到充分增殖, 新生酵母菌不能及时补充到系统中就会降低其对废水的降解能力。另一方面, 长期的 N 源限制状态, 可能会对曝气池中的酵母菌菌株起到筛选和淘汰作用, 根据 Chudoba 等^[4]提出的选择性准则, 具有低饱和常数 (K_s) 和最大生长速率 (μ_{max}) 的丝状微生物, 在生长限制性基质(此处为 N 源)浓度很低时, 将具有高的生长率, 因此, 可能使得易于形成真菌丝的酵母菌大量留存于系统中, 或者诱发一些酵母菌菌株形成真菌丝^[5], 白地霉、博伊丁假丝酵母和热带假丝酵母在一定条件下都能形成真菌丝。由此可见, 氮源缺乏的运行状态也使系统潜藏有丝状菌型膨胀的危险。

子的加入对细胞增殖有促进作用, 并加快了细胞生长周期, 这可能与 Ca^{2+} 促进酵母增值, 使新生酵母菌及时得到补充有关。加 Fe^{3+} 对处理效果影响不大, COD 去除率比对照提高 14%, 而油去除率出现了负增高。

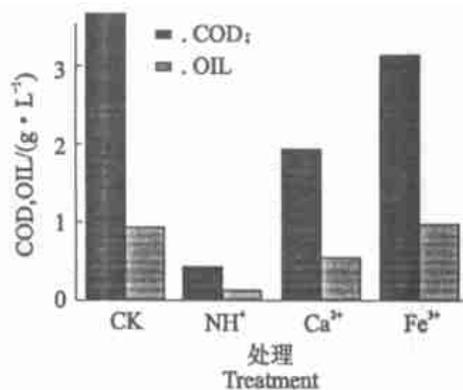


图7 几种离子对处理效果的影响

Fig 7 The effect of several ions on removal of COD and Oil

3.2 氮源对酵母菌生长和产酶的作用

酿酒工业中通过添加酵母营养盐来提高酵母菌的繁殖能力和活性^[6], 而营养盐的主要成分包括氮素化合物。氮是构成啤酒酵母细胞蛋白质和核酸的主要元素, 也是细胞质的主要成分, 同样的原因, 氮对于废水生物处理中系统微生物数量和活性的保证是必不可少的, 尤其对缺乏氮源工业废水的稳定运行至关重要。另有研究^[7]指出, 氮源的数量和种类对皱褶假丝酵母 (*Andida rugosa*) 的脂肪酶产率有很大影响。供试的 6 株酵母菌对含油废水的降解能力, 在很大程度上依赖于脂肪酶的数量和活性, 在废水中氮源极端受限的情况下, 可能影响到脂肪酶的产率和活性, 于是就很难使酵母菌一直维持高而稳定的油降解能力。对不添加氮源时产生的剩余酵母菌污泥进行了粗蛋白和氨基酸含量测定, 该后续研究表明, 粗蛋白和蛋氨酸含量远低于正常酵母菌和 SCP 的含量水平, 氮元素缺乏对于酵母菌生长的不良影响由此可见一斑。本研究初步论证了 N 等营养源对异常系统的恢复效果, 也证实了系统正常运行中向废水中补充 N 源的必要性。

[参考文献]

- [1] 岑沛霖, 蔡 谨. 工业微生物学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000
- [2] 国家环保局. 水和废水检测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1989

- [3] 华玉涛, 焦 鹏, 曹竹安, 等. 钙离子对热带假丝酵母 CT1-12 细胞生长影响的初步研究[J]. 工业微生物, 2001, 31(4): 37- 39.
- [4] 国家环境保护局科技标准司, 环境工程科技协调委员会. 活性污泥膨胀的机理与控制[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1992.
- [5] 吕文洲, 杨 敏, 郑少奎, 等. 酵母菌处理系统中丝状菌性膨胀的诱因及控制研究[J]. 环境科学学报, 2001, 6(增刊): 59- 64.
- [6] 高尔焕. 利用酵母营养盐提高酵母活性的研究[J]. 酿酒科技, 2001, (4): 28- 29.
- [7] 宋庆训, 林金萍. 脂肪酶产生菌 *Andida rugosa* 产酶条件研究[J]. 生物工程学报, 2001, 17(1): 101- 103.

Primary studies on the recovery capabilities of nutrient source to the yeast-wastewater treatment system

L IU Y ing^{1,3}, LU W en-zhou^{2,3}, GUO Kang-quan¹,
W U Cheng-qiang³, YANG M in³

(1 College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shanxi 712100, China;

2 College of Architectural, Civil Engineering and Environment, Ningbo University, Ningbo, Zhejiang 315211, China;

3 S K L E A C, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: The recovery capabilities of nutrient source to the abnormal yeast-wastewater treatment system were discussed in small-scale experiments. The supplement of nitrogen source to wastewater can improve the oil degradation capabilities and sludge properties. The removal rate of COD and oil increased 85% and 88% respectively compared with that without any nutrient source supplement to wastewater. The supplement of Ca²⁺ played some roles in recovering the system and the removal rate of COD and oil increased 40% and 47% respectively. The recovery capabilities of supplement of phosphorus source or Fe³⁺ to system were not obvious.

Key words: yeast; nutrient source; wastewater treatment; oil degradation capabilities; yeast-sludge character

(上接第 73 页)

Research on tissue culture rooting of *Prunus avium* L.

YUAN Xiao-huan, PENG Xiang-yong, LI Qing, ZHANG Kai-chun

(1 Institute of Forestry and Pomology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100093, China;

2 College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

3 College of Life Science, Qufu Normal University, Qufu, Shandong 273165, China)

Abstract: Basic media, culture forms and the concentrations of auxins were tested to improve the effective *in vitro* rooting of *Prunus avium* "6-7". Results showed: 1/2 F14 was better than 1/2 WPM and 1/2 MS; Liquid culture with rock wool for supporting medium could improve the rooting rate greatly. Solid medium added with black ink (200 $\mu\text{L}/\text{L}$) was good. Two-step rooting method did not work; About the hormones, BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L was the most suitable, the rooting percentage was up to 89.7%. For some woody plants which are difficult for *in vitro* rooting, liquid culture with rock wool for supporting medium will be effective.

Key words: *Prunus avium* L.; tissue culture; rooting