

酵母菌对味精生产中离交尾液的处理初探

杨清香^{1,2}, 杨敏¹, 郑少奎¹, 刘芳¹ (1. 中国科学院生态环境研究中心环境水化学国家重点实验室, 北京 100085; 2. 河南师范大学生命科学院)

摘要:通过富集培养并利用选择性培养基分离筛选到 2 种能适应味精生产过程中离交尾液(COD 为 40690 mg/L, NH_4^+ -N 含量为 16914 mg/L) 的酵母菌, 经鉴定分属于嗜盐假丝酵母(*Candida halophila*) 和粘红酵母(*Rhodotorula glutinis*)。这二种菌混合培养时在 pH 4~9 范围内其 COD 去除率均可达到 80% 以上; 对于 10 倍~3 倍~2 倍稀释的离交尾液, 48h 之内, 其 COD 去除率均可高达 84.5%, 日平均去除速度 COD/SS 均在 1.0 kg/(kg·d) 以上, 远高于对照的活性污泥法[对于 10 倍稀释液最高去除率为 78.9%, 去除速度为 0.34 kg/(kg·d)], 同时也高于国内报道的其他酵母菌菌株。经处理后, 还原糖可去除 95.7%, 而 NH_4^+ -N 没有明显变化。

关键词:酵母菌; 味精; 离交尾液; 废水处理; 鉴定

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2001)06-05-0044

Treatment of Ion exchange Monosodium Glutamate Wastewater by Yeast

Yang Qingxiang^{1,2}, Yang Min¹, Zheng Shaokui¹, Liu Fang¹ (1. State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085; 2. College of Life Sciences, Henan Normal University)

Abstract: Two strains of yeasts, *Candida halophila* and *Rhodotorula glutinis*, were acquired through screening from ion-exchange monosodium glutamate wastewater (IEMGW) which was characterized by its high contents of COD (40690 mg/L), NH_4^+ -N (16914 mg/L) and SO_4^{2-} (18000 mg/L). The mixture of the two species had a good COD removal performance for treating IEMGW in a pH range of 4~9. The yeast technology was superior to the conventional activated sludge in terms of COD removal and COD decomposition rate. In a dilution rate range of wastewater from 1:1 to 1:9, a COD removal of 84.5% and an average COD decomposition rate of over 1.0 kg/(kg·d) were obtained under an initial pH of 4.

Key words: yeast screening & identification; monosodium glutamate; ion-exchange wastewater; wastewater treatment

近年来,国内众多专家对味精废水的治理进行了大量研究,主要方法包括物化处理、厌氧生物处理和好氧生物处理法。物化处理主要用于发酵废液中菌体的去除,所得的菌体富含蛋白质,具有很高的饲料价值,但其 COD 的去除率仅达 30%~50%^[1~2]。厌氧生物处理由于味精废水中高浓度的氨氮和 SO_4^{2-} 对产甲烷菌有抑制作用,因此必须将废水大量稀释或与其他废水混合处理,虽然取得了 70%~87% 的 COD 去除率^[3~5],但成本过高,而且甲烷产量低,利用价值不高,在实际中不适用。好氧活性污泥处理法在高浓度废水处理中易产生污泥膨胀,因此也必须将废水大量稀释^[6]。生产酵母

法早在 80 年代就有人研究并应用于生产,该法需要在无菌条件下制备菌种,并且生产过程在发酵罐中进行,因此生产成本过高,目前该生产为亏本生产,而且其二次废水仍为高浓度有机废水,其 COD 较原废液仅降低 40%~65%^[7]。在日本酵母菌的好氧处理系统已成功地用于食品加工废水、海产品加工废水、屠宰废水以及色拉油加工废水^[8~11]。酵母菌与活性污泥相比具有处理效率高、耐高渗透压、污泥负荷高、处理成本低等优点,同时在处理过程中产生的剩

基金项目:国家自然科学基金资助课题(50078053)

作者简介:杨清香(1966~),女,博士生,讲师,主要从事环境微生物工程研究。

收稿日期:2001-02-21

余污泥富含蛋白质和多种氨基酸,具有很高的饲料价值^[12]。

本研究的目的在于从环境中筛选能高效降解味精生产中离交尾液 COD 的酵母菌,建立味精废水的酵母菌处理系统。

1 材料和方法

1.1 水质分析

本研究采用标准方法分析测试 COD、TOC、SS、TP、TN、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ^[13];蛋白质测定采用考马斯亮蓝法^[14];总糖与还原糖测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色定糖法^[15]。实验所用废水为河南某味精厂提取谷氨酸后的离交尾液,其各种理化指标如表 1。

表 1 味精生产中离交尾液的主要水质指标

Table 1 Characteristics of monosodium glutamate ion-exchange waste water

测试指标	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	测试指标	浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
COD	40690	SO_4^{2-}	18000
TOC	12500	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$	16914
BOD_5	34900	蛋白	960
SS	6100	总糖	7000
TN	18638	还原糖	5981
TP	37.3pH	pH	2.0

由表 1 可以看出,在该废水中,COD 和 BOD 含量均很高而且 BOD/COD 值达到 86%,因此其可生化性较高,糖类成分为主要有机成分之一, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 SO_4^{2-} 浓度非常高,而 TP 含量相对较低。

1.2 酵母菌的筛选

(1) 选择性培养基 1:葡萄糖 20g,酵母粉 5g,蛋白胨 10g,丙酸钠 0.25%,琼脂 2%,水 1000 ml,pH 4.5,链霉素临用前加入使其最终含量为 $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。该培养基用于分离酵母菌。

(2) 选择性培养基 2:废水 1000 ml,丙酸钠 0.25%,pH 4.5,链霉素临用前加入使其最终含量为 $30 \mu\text{g}/\text{ml}$ 。该培养基用于分离酵母菌。

(3) 马铃薯培养基:马铃薯 200g,葡萄糖 20g,琼脂 20g,水 1000 ml,pH 自然,该培养基

用于酵母菌的培养和保存。

(4) YPD 培养基:葡萄糖 20g,酵母粉 5g,蛋白胨 10g,水 1000 ml,pH 4.5,该培养基用于酵母菌菌体的培养。

菌种鉴定所用培养基见参考文献^[16]。

将上述废水调 pH 至 4.5,取味精厂废水流经处的污泥及土样适量,加入 100 ml(250 ml 三角瓶)废水中,28℃,150r/min 摇床振荡培养 11 d,每天换一次水,即将培养液静置 1 h 后,倒去大部分上清液并加入同量的 pH4.5 的废水继续培养,待镜检到大量酵母菌时加入 0.25% 丙酸钠继续培养 2 d,之后稀释并涂布于选择性固体培养基上,挑取酵母菌菌落进行平板划线纯化(反复 3 次),即可得到适应于该废水生长的酵母菌纯种。

1.3 酵母菌的鉴定

根据参考文献^[16],对所分离的菌株进行菌体形态、菌落特征、子囊孢子形态观察以及糖类发酵试验、碳源同化试验、氮源同化试验、维生素培养基中的生长情况测试、类淀粉化合物的形成测定等生理生化试验。根据这些实验结果对照文献^[16-18]将菌株进行分类鉴定。

1.4 酵母菌处理味精废水的探索性实验

(1) pH 对酵母菌降解废水 COD 的影响 将原废水稀释 10 倍后分装于三角瓶中,分别调 pH 为 2.3.4.5.6.7.8.9,将混合酵母菌菌液等量接入各瓶,分别从各瓶中取少量液体,按标准方法测定反应前 COD,三角瓶在摇床 28℃,150r/min 培养 24h 后再测定各瓶中的 COD,得出酵母菌在不同 pH 条件下对 COD 的去除率。

(2) 酵母菌对不同稀释度废水的降解情况研究 将原废水分别稀释 10 倍、3 倍、2 倍、原液,调节 pH 为 4.5 左右,酵母菌菌体接种量(SS/COD)按 $1.5 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ (酵母菌含水量按 80%计算)接入,反应均在 28℃左右用 45 L/min 的曝气泵曝气 48h,每隔 6h 取样测定溶液的 COD,测定反应前后 SS 的变化量,得出废水在 48h 内 COD 及 COD 去除率随时间变化曲线,计算 COD 平均去除速度。

(3) 活性污泥处理味精废水的对照实验

废水稀释 10 倍, pH 调至 7.0 左右, 将运行良好的处理棉浆废水的活性污泥(SS/ COD)按 0.5 kg / (kg · d)的比例接入其中, 每培养 24h 静置 1h, 换水 1 次, 进行驯化直至换水前后废水的 COD 去除率不变为止。按同上比例接入 10 倍稀释的废水中, 30℃左右曝气 48h, 每隔 6h 取样按标准方法测定 COD, 得出废水在 48h 内 COD 及 COD 去除率随时间变化曲线, 计算 COD 平均去除速度。

2 结果与讨论

2.1 菌种筛选和鉴定结果

按材料和方法所述, 共分离到 6 株在菌落形态上有显著差异的菌株, 这 6 株菌均可在原废水中直接生长, 说明具有处理该废水的潜力。

根据参考文献^[16], 对上述 6 株菌进行菌体形态、菌落特征、子囊孢子形态观察以及糖类发酵试验、碳源同化试验、氮源同化试验、无维生素培养基中的生长情况测试、类淀粉化合物的形成测定等生理生化试验。其形态特征及生理特征见表 2, 发现这 6 株菌仅分属于 2 种类型。这 2 组菌均能同化硝酸盐, 均不能同化乳糖、L-阿拉伯糖、可溶性淀粉、D-核糖、L-鼠李糖、赤藓糖醇、核糖醇、柠檬酸和肌醇。G2 组菌能同化半乳糖、蔗糖、麦芽糖、纤维二糖、海藻糖、棉子糖、D-木糖和琥珀酸, 而 G1 组菌都不能同化这些糖。G1 组菌能同化水杨酸和 D-甘露糖醇, G2 组菌则不能。对 G1 组菌进行山梨糖、密二糖、松三糖、D-阿拉伯糖、甘油、半乳糖醇、D-葡萄糖醇和 DL-乳酸进行同化试验, 均呈阴性。根据这两组菌的这些特性, 按参考文献^[16-18]对它们进行鉴定, 分别为嗜盐假丝酵母(*Candida halophila*)和粘红酵母(*Rhodotorula glutinis*)。

2.2 pH 对酵母菌降解废水 COD 的影响

将废水稀释 10 倍, 分装于 250 ml 三角瓶, 每瓶 60 ml, 调节 pH 值分别为原始值(约为 2.0 左右) 3.4.5.6.7.8.9, 将 5.8g 湿菌体制成少

表 2 菌种特征及鉴定

检测项目	特征及鉴定结果	
	G1	G2
营养细胞形态	球形	卵形
大小/ μm	2~4	2~10
假菌丝/真菌丝形成	-	-
液体培养基形成膜	+	+
孢子形成	-	-
葡萄糖发酵	+	-
半乳糖发酵	+	-
麦芽糖发酵	-	-
蔗糖发酵	+	-
乳糖发酵	-	-
棉子糖发酵	-	-
熊果苷裂解	+	-
无维生素培养	-	+
尿素酶测试	-	+
类淀粉化合物生长	-	-
37℃生长	-	-
鉴定结果	嗜盐假丝酵母 (<i>Candida halophila</i>)	粘红酵母 (<i>Rhodotorula glutinis</i>)

+ , 阳性反应; - , 阴性反应

量菌悬液后平均接种于各三角瓶中, 接种后测各瓶中反应前的 COD, 摇床 28℃, 150r/min 培养 24h 后再测各瓶反应后 COD, 并计算各 pH 条件下 COD 去除率, 做出 pH-COD 去除率曲线如图 1。

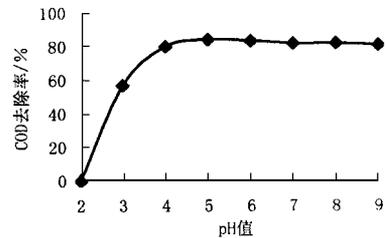


图 1 pH 对废水 COD 去除率的影响

Fig.1 Effect of pH on COD removal rate

由图 1 可见, 酵母菌在废水 pH 为 4~9 情况下 24h 内均可去除 80% 以上 COD, 但在 pH 为 4.0~5.0 时去除率最大, 达到 84%。由于原废水 pH 仅有 2.0 左右, 因此在以后的处理中均将 pH 调至 4.0~4.5, 不仅有利于酵母

菌生长,而且还可抑制大部分细菌。

2.3 酵母菌对不同稀释度废水的降解情况

将原废水分别稀释 10 倍 3 倍 2 倍 原液,调节 pH 为 4.5 左右,接种后在 28℃左右曝气培养 48h,各条件下 COD 变化如图 2。

酵母菌直接对原液处理,即起始 COD 负荷接近 30000 mg/L 情况下仍可生长并且有效去除 COD,48h 内去除率达 65.8%,从图 2 中可以看出反应未达到终点,继续培养,COD 仍能缓慢下降。将废水 2 倍稀释,即 COD 负荷在 16000 mg/L 左右,48h 内可将 COD 大幅度降至 2461 mg/L,去除率达 84%,继续培养至 54h 测定 COD 不再变化。该组酵母菌处理 10 倍、3 倍、2 倍稀释废水时 48h 内 COD 去除率均可达

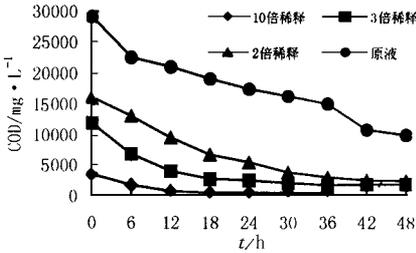


图 2 酵母菌对不同负荷 COD 的降解

Fig. 2 COD Removal under different dilution ratios by yeast

表 3 酵母菌与活性污泥对各稀释度味精废水的处理情况对照

Table 3 Comparison of average COD decomposition rates between yeast method and activated sludge method

稀释倍数	处理方法	处理前	处理后	COD 去除率 / %	时间 / h	接种	反应后	降解速度 / $\text{kg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}$
		$\text{COD} / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{COD} / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$			$\text{SS} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{SS} / \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	
10	酵母菌	3544	549	84.5	18	1.0	3.2	1.9
	活性污泥	3531	745	78.9	12	15.5	16.5	0.34
3	酵母菌	11800	1824	84.5	36	4.0	6.1	1.3
2	酵母菌	16136	2461	84.5	48	5.0	8.0	1.0

从酵母菌对各稀释度废水的处理情况看,随着 COD 负荷的升高,对 COD 的去除速度降低,推测其原因可能是随着废水稀释度的减小,COD 浓度上升,可能会造成供氧不足,磷源相对缺乏的情况,但不排除随着 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度升高,微生物的活性受到一定程度的抑制。尽管如此,本实验这一组酵母菌的耐 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 性

84%左右,大大高于国内其他酵母菌处理味精废水的数值^[2-3]。

2.4 活性污泥对味精废水处理的对照实验

将在该废水中驯化好的活性污泥按 86g 湿泥 / L 废水的比例接入 2L 10 倍稀释的废水中,pH 调至 7.0 左右,30℃曝气 48h,结果如图 3。

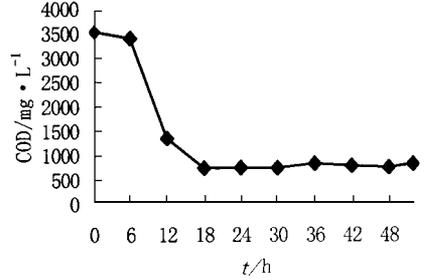


图 3 活性污泥对废水 COD 的去除

Fig. 3 COD removal by activated sludge

活性污泥处理 10 倍稀释的废水时,其去除率最高仅达到 78.9%,低于酵母菌对同浓度的 COD 去除率 84%。因此该组酵母菌对味精废水的处理效果优于活性污泥法。

2.5 酵母菌与活性污泥对废水处理速度比较

在上述酵母菌与活性污泥对各稀释度废水的处理反应中,取 COD 值变化较大的时间段计算日平均去除速度(COD/SS),并对酵母菌和活性污泥的日平均处理速度进行比较,结果如表 3。

已远高于本实验室所筛选的处理含油废水的酵母菌(最高仅耐受 1200 mg/L)。它们对味精废水的 10 倍、3 倍、2 倍稀释液的 COD 去除速度(COD/SS)均在 $1.0 \text{ kg} / (\text{kg} \cdot \text{d})$ 以上。从活性污泥的比较情况看,其降解速度远低于酵母菌,进一步说明酵母菌在处理该类废水方面的优越性。

2.6 废水经酵母菌处理前后指标变化

将废水稀释到 2 倍,酵母菌按 $1.5 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 的接种量接种,接种后和反应 48 h 后分别取混合液测反应前后废水 COD、还原糖、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的变化,结果如表 4。

表 4 废水经酵母菌处理前后各指标比较/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

Table 4 Comparison of several parameters before and after treatment by yeast

测试指标	COD	还原糖	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$
反应前	16136	2523.7	9842.7
反应后	2461	108.3	10691.5
去除率/%	84.5	95.7	

由表 4 可见,废水经酵母菌处理后,COD 和还原糖都大幅度降低, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量稍有升高,推测原因可能是酵母菌利用了其中的有机氮释放出了少量 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 。

3 结论

(1) 利用提取味精后的高浓度废水离交尾液富集培养,筛选到 2 株酵母菌,经鉴定为嗜盐假丝酵母 (*Candida halophila*) 和粘红酵母 (*Rhodotorula glutinis*)。

(2) 2 株混合菌株在废水 pH 为 4~9 情况下 24h 内均可去除 80% 以上 COD,而在 pH 为 4.0~5.0 时去除率最大,达到 84%。

(3) 对不同浓度的离交尾液均有较高的处理效果,对 10 倍、3 倍、2 倍稀释液处理,其 COD 去除率可达 84.5%,高于国内报道的其它菌株。

(4) 废水经酵母菌处理后其还原糖、COD 都大幅度降低,而 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量无明显变化。2 株混合菌株对 10 倍、3 倍、2 倍稀释液处理速度均在 $1.0 \text{ kg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 以上,大大高于活性污泥对 10 倍稀释液的处理速度,但处理速度随浓度的升高而有所降低。

(5) 酵母菌为兼性好氧真核微生物,它在好氧、厌氧情况下均可生存,但在好氧条件下的代谢速率远远高于厌氧条件,因此用酵母菌在充分曝气条件下处理高浓度有机废水既可以避免

水质腐败,有毒有害气体的产生,又可产生高速处理效果。除此之外,用酵母菌处理废水产生的剩余污泥中一般不含病原菌,可以直接作为单细胞蛋白饲料,从而回收部分水处理成本。由以上结果可见,对于味精生产中的离交尾液用本研究组筛选的酵母菌处理去除了大量 COD,作为预处理确为一种较理想的方法。

参考文献:

- 王永杰,李顺鹏等.高效絮凝剂壳聚糖对味精废水的絮凝效果研究.中国沼气,1998,16(4):12~14.
- 黄民生,朱莉.味精废水的絮凝-吸附法预处理试验研究.水处理技术,1998,24(5):299~302.
- 惠平.硫酸法味精废水的厌氧处理试验.环境污染与防治,1995,17(5):10~13.
- 郝晓刚等.味精-卡那霉素混合废水的厌氧生物处理.化工环保,1999,19:168~171.
- 杨琦,刘常青等.UBF 厌氧反应器处理味精浓废水的研究.给水排水,1996,22(9):33~35.
- 陈亮.SBR 活性污泥法处理味精废水的工艺研究.中国纺织大学学报,1996,22(4):79~85.
- 王凯军,秦人伟.发酵工业废水治理.北京:化学工业出版社,2000.383~436.
- Yoshizawa K. Development of the new treating method of waste water from food industry using yeast. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 1981,55:705~711.
- Suzuki O, Sato S et al. Utilization of thermotolerant and flocculent yeast for wastewater treatment. Hakkokogaku Kaishi,1991,69:83~87.
- Suzuki O, Kobari O et al. Breeding of yeast for wastewater treatment by protoplast fusion. J Brew Soc Jpn, 1996,91:521~526.
- Chigusa K, Hasegawa T et al. Treatment of wastewater from oil manufacturing plant by yeasts. Wat. Sci. Tech. 1996,34(11):51~58.
- 徐达伍,王定昌,石瑞祥.利用味精废液生产单细胞蛋白实现无污染排放.轻工环保,1993,15(2):1~4.
- 国家环保局.《水和废水监测分析方法》(第三版).北京:中国环境科学出版社,1998.
- 李建武等合编.生物化学实验原理和方法.北京:北京大学出版社,1997.
- 北京大学生物系生化教研室.生物化学实验指导.北京:人民教育出版社,1979.
- Kreger van Rij N I W. The yeasts, a taxonomic study (3rd revised and enlarged edition). Elsevier Science Publisher B. V. Amsterdam, 1984.
- (英)J. A. 巴尼特等著,胡瑞卿译.酵母菌的特征与鉴定手册.青岛:青岛海洋大学出版社,1991.
- 中科院微生物研究所《常见与常用真菌》编写组.常见与常用真菌.北京:科学出版社,1973.