

# 氮对酵母菌-SBR 系统效能及酵母形态的影响研究

吕文洲, 刘英, 陈和平, 朱建林

(宁波大学建筑工程与环境学院环境工程系, 宁波 315211)

**摘要:**在酵母菌-SBR 系统处理高含油废水中研究了氮添加对酵母细胞形态、沉降性、废水处理效果的影响及恢复能力. 结果表明, 氮添加量直接影响到系统中酵母菌的生物量、沉降性、pH 和处理效果; 氮缺乏诱发某些酵母菌菌株细胞由酵母形态向真菌丝形态转化, 进而影响到酵母菌的沉降性; 从系统运行效果和稳定性方面综合考虑, 运行时最佳的进水 BOD/N 为 20/1; 恢复最佳氮添加能提高不同程度缺氮系统的处理效果, 并可使轻度菌丝化系统快速恢复酵母形态为主, 但在短期内对高度菌丝化系统的恢复效果不明显.

**关键词:**酵母菌; SBR; 氮; 效能; 细胞形态

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)05-1348-05

## Effects of Nitrogen on Performance and Yeast Morphology of Yeast-SBR System

LÜ Wen-zhou, LIU Ying, CHEN He-ping, ZHU Jian-lin

(Department of Environmental Engineering, College of Architectural Civil Engineering and Environment, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** Effects of nitrogen on yeast cell morphology, settleability and performance of wastewater treatment were investigated in treating oil-containing wastewater by yeast-SBR system. The results show that: nitrogen supply affects directly yeast biomass, settleability, pH and treatment efficiency of system; the absence of nitrogen induces the transformation of certain yeast cells from single cell to hypha morphology. Based on an overall consideration of efficiency and stability of yeast-SBR system, the optimum BOD/N ratio of influent is 20/1. The optimum nitrogen supply can improve wastewater treatment efficiency of systems with different degrees of nitrogen absence and make yeast morphology become the predominant morphology for slightly mycelial system over a short time, but for severe mycelial system, the hypha morphology still keeps dominant.

**Key words:** yeast; SBR; nitrogen; performance; cell morphology

酵母菌废水处理系统是以功能酵母菌群为主体的新型生物强化系统. 由于其在处理高浓度有机废水方面具有活性污泥不可比拟的优势, 因此近年来得到了越来越多国内外学者的重视, 相继开展了对高含油废水、水产加工废水、味精废水等的处理研究<sup>[1~9]</sup>. 日本对于酵母菌废水处理技术的研究相对较早, 现已成功应用于高含油废水、水产品加工废水等的工程实践中<sup>[1]</sup>. 但国内对该技术的研究起步较晚, 目前的研究尚处初级阶段<sup>[10~12]</sup>. 而且, 由于该技术的发展历史短, 未知的部分很多, 对于一些关乎系统高效、稳定运行的因素还缺乏系统的研究.

依赖重力而实现泥水分离的活性污泥系统中丝状菌的过度繁殖将导致污泥膨胀, 因此, 关于酵母菌形态转化的研究对于系统的稳定运行至关重要. 目前, 对于酵母形态的研究多集中于 *Candida albicans* 的致病性方面<sup>[13~15]</sup>. Odds<sup>[16]</sup> 研究指出氮缺乏可诱使 *Candida albicans* 由酵母形态向假菌丝形态转变, 并且在某些条件下可以在酵母、假菌丝和真菌丝形态间相互转化. 但对于酵母菌系统中酵母形态的转化研究尚未见报道.

本研究探讨了氮添加对酵母菌处理高含油废水系统效能和酵母细胞形态的影响, 从系统运行稳定性和高效性角度确定了最佳氮添加量; 同时也考察了氮恢复对于缺氮系统的恢复能力. 本研究对于建立高效、稳定的酵母菌-SBR 系统具有重要意义.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验装置与酵母菌菌株

(1) 实验装置 实验在 4 个有效容积为 2 L 的 SBR 装置中进行. 实验装置通过 1 台空气压缩机曝气, 由 4 个气体流量计控制曝气量. SBR 周期动作由程序控制器完成, 1 个运行周期分为曝气期(9h), 静置期(2.5 h), 排水期(0.5 h). 排水比为 1/2.

(2) 酵母菌菌株 本研究使用 10 株酵母菌复合体系, 包括由含油废水现场筛选到的 5 株酵母菌, 分

收稿日期: 2007-10-24; 修订日期: 2008-01-14

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(Y507701); 浙江省教育厅科研项目(20070970); 宁波市工业攻关项目(2006B100071); 宁波市自然科学基金项目(2007A610057); 宁波大学博士基金项目

作者简介: 吕文洲(1974~), 男, 博士, 讲师, 主要研究方向为废水生物处理, E-mail: luwenzhou@nbu.edu.cn

别是: *Candida utilis*、*Candida boidinii* Ramirez、*Candida tropicalis*、*Rhodotorula rubra* (Demme) Lodde、*Trichosporon cutaneum*; 3 株具有潜在油降解能力的商业菌株: *Candida lipolytica*、*Candida intermedia*、*Candida pseudolambica* 以及 2 株从味精废水中筛选到的耐高盐、耐高渗酵母菌菌株: *Candida halophila* 和 *Trichosporon asteroides*. 混合菌株先经扩大培养, 待获得足够菌体后停止培养, 进行实验.

1.2 实验设计

(1)设计各反应器的污泥负荷为 0.5 kg/(kg·d). 根据负荷和进水浓度确定酵母菌量, 分别加入 A、B、C、D 4 个反应器. 运行前, 用自来水清洗酵母菌 3 次.

(2)将含油废水稀释成 COD 约 9 500 mg/L 的稀释废水, 加入 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 使得 BOD/P = 100/1. 每次换水时加入一定量 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 使 A、B、C、D 4 个反应器中进水的 BOD/N 依次为: 不加氮、40/1、30/1 和 20/1.

(3)运行周期与氮添加量: 1 ~ 12 周期内按 (2) 的氮添加量运行; 12 ~ 16 周期将氮添加量减半运行; 16 ~ 35 周期氮添加量均改为 BOD/N = 20/1 运行.

1.3 测定方法和仪器

COD: 承德华通公司 CTL-12 型 COD 快速测定仪; pH: HM-14 便携式 pH 仪; 浊度: 哈希 HACH 2100N 浊度仪. 酵母菌细胞形态观察使用蔡斯荧光电动显微镜 (ZEISS Axioskop 2 mot plus). 其他水质指标测定方法参照文献 [17].

2 结果与讨论

2.1 氮添加量对酵母菌生物量和沉降性的影响

经过 12 周期的运行后, C、D 反应器中酵母菌的 SVI 仍保持在实验开始时的 60 mL/g, 而 A、B 反应器酵母菌沉降性急剧恶化, SVI 分别为 506、640 mL/g (见图 1). 其中, A 中酵母菌结块并呈现灰白色, B 中则为蓬松的羽绒状. 受到沉降性影响, A、B 出现了酵母菌严重流失并导致了 MLSS 急剧下降, MLSS 分别只有 386、1 100 mg/L. 而 C 和 D 中生物量都得到了良好保持, 以 D 为最好. C 中 MLSS 稍低, 估计与氮添加不足限制了酵母菌生长和少量酵母菌流失有关. 由此可见, 进水 BOD/N 为 20/1 时最有利于系统稳定性的保持.

2.2 氮添加量对废水处理效果的影响

在进水 COD、油分别为 9 240 mg/L 和 3 322 mg/L 的情况下, D 反应器获得了最好的处理效果 (见图

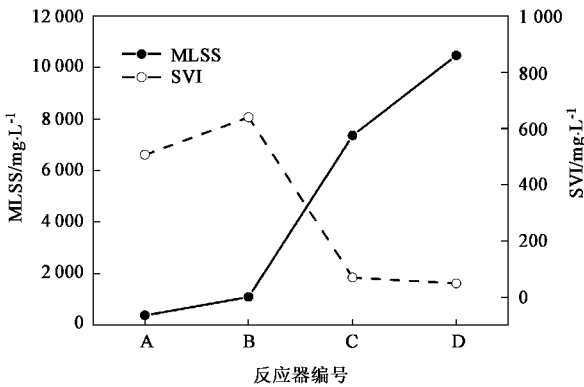


图 1 运行第 12 周期各反应器中 MLSS 和 SVI 比较

Fig.1 Comparison of MLSS and SVI in different reactors in cycle 12

2), 出水 COD、油和浊度分别为 387 mg/L、51 mg/L 和 88 NTU; C 反应器的出水 COD、油和浊度分别为 425 mg/L、76 mg/L 和 161 NTU, 处理效果略差于 D, 高的浊度反映出部分酵母细胞随出水排出. 而 A 处理效果最差, 出水的 COD、油和浊度分别达到了 1 195 mg/L、234 mg/L 和 1222 NTU. 由此可见, 氮源对废水处理效果有很大影响, 进水 BOD/N 为 20/1 时系统处理效果最好.

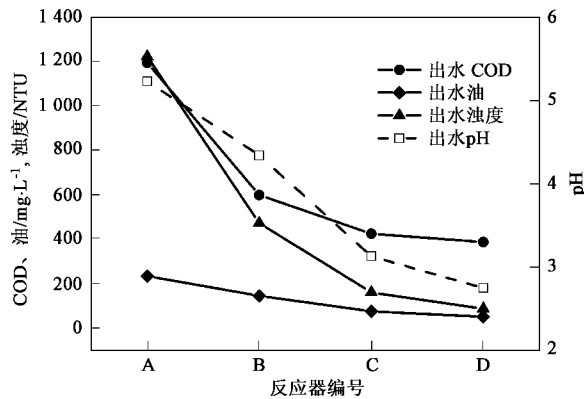


图 2 运行第 12 周期时各反应器出水水质比较

Fig.2 Comparison of effluent qualities in different reactors in cycle 12

前期研究表明, 反应系统中低的 pH 有利于系统中杂菌的抑制和酵母菌优势地位的保持<sup>[12]</sup>. 由图 2 可以看出, 出水 pH 由 A 到 D 的依次降低, 这说明氮添加量对系统的 pH 有影响, 因此可能造成系统对杂菌的抑制能力的差异.

2.3 氮添加量对酵母菌形态的影响

实验开始时, 转入各反应器中的酵母菌为沉降性良好的絮体, 且以酵母形态为主, 极少看到假菌丝或真菌丝形态. 到 12 周期后, A 和 B 反应器中酵母形态细胞数量很少, 出现了大量丝状菌, 同时还观察

到了一些原生动物和细菌等微生物,说明系统受到了杂菌污染,这也证明了氮添加对系统抑菌能力有间接影响.C和D中仍然以酵母形态的细胞为主,但在C中发现了个别菌丝,说明进水  $BOD/N = 30/1$  可能是诱发菌丝化的临界值,所以虽然在此比例下运行效果和  $20/1$  相差不多,但在稳定性方面存在菌丝化的危险.前期研究中发现<sup>[18, 19]</sup>,外源性白地霉导致了CSTR反应器中的丝状菌性膨胀.为了判明本系统中的丝状菌的来源,实验对菌丝的成长过程进行了跟踪观察.图3(a)~3(d)(黑色虚线区域)是捕捉到的反应器B中酵母菌由酵母形态向菌丝形态转化的过程.图3(e)中虚线箭头指示的是真菌丝的标志性结构——横隔膜,可以清楚地看到菌丝在横隔膜处没有隘裂,两边菌丝等宽,这一特征是区别酵母菌真菌丝和假丝的主要特征<sup>[16, 20]</sup>.图3(f)的虚线显示的是酵母菌真菌丝的分枝结构,这种结构导致菌丝交错缠绕形成蓬松的羽绒状.因此,氮缺乏诱发了某些酵母菌株细胞的真菌丝化,这也是导致A、B系统SVI急剧上升的原因.

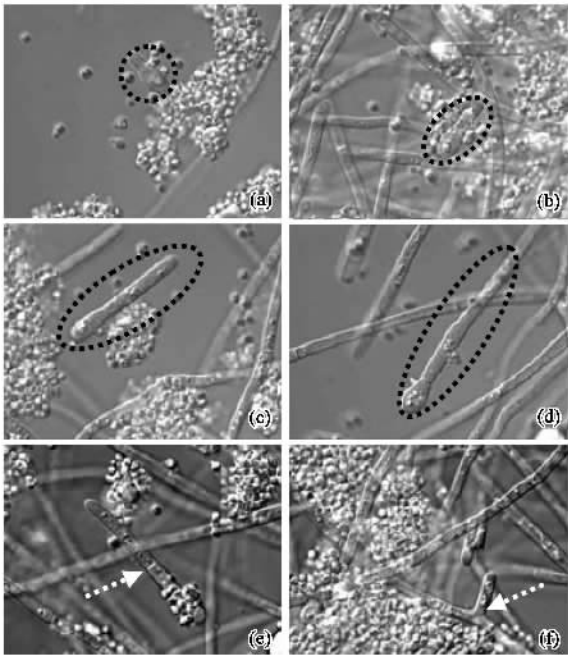


图3 酵母细胞由酵母转化为真菌丝的过程及真菌丝结构

Fig.3 Transformation of yeast cell from yeast to hyphal morphology and hyphal structure

从第12~16周期间,各反应器中氮添加量减半,发现在短短的4周期之内,反应器C和D出现了不同程度的SVI上升,同时观察到酵母细胞已经部分发生菌丝化,其中D中开始观察到了短小的真菌丝形态.这一结果说明,对于正常运行的酵母菌系

统,氮缺乏4个周期就可能导致了部分酵母菌细胞形态的转化,进而影响到酵母菌的SVI,因此对于酵母菌废水处理系统,氮添加量是影响系统正常运行的关键参数之一.

2.4 最佳氮添加对缺氮系统性能的恢复

从第16周期开始,各反应器进水  $BOD/N$  均改为  $20/1$ ,考察最佳氮添加对严重缺氮(A和B)、轻度缺氮(C和D)系统在缺氮失稳后的恢复能力.

由图4可以看出,进行最佳氮添加后各个反应器中的MLSS明显增加,特别是反应器A和B.同时,A反应器中混合液颜色也由灰白色转变为正常黄色,块状物消失,说明系统活性得到了提高.

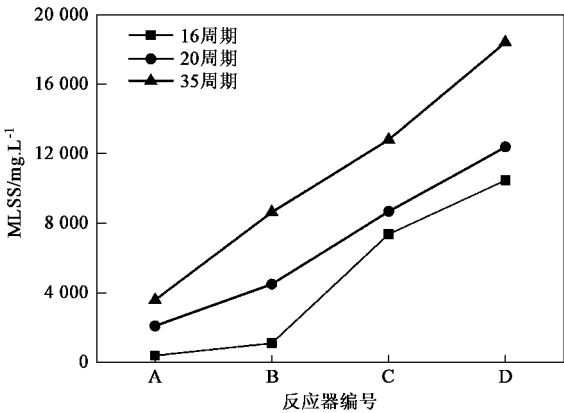


图4 氮恢复实验中不同周期各反应器的MLSS比较

Fig.4 Comparison of MLSS in different cycles and reactors in nitrogen recovery experiment

图5为不同周期各反应器出水COD的比较.可以看出,在第16周期,反应器A出水COD最高,且出水混浊,B反应器出水COD略优于C、D,这一现象可能与B中酵母菌菌丝化有关.由于菌丝具有更大的比表面积,因而对于低浓度污染物有更好的吸收作用,因此降解程度更高,而且氮源的补充也使酵母菌的活性和酶系统得以恢复.到20周期时,A和B中酵母菌进一步丝化,出现了COD去除效果最好的情况.但随着酵母菌丝化程度的增加,酵母菌的沉降性恶化,最终导致MLSS的流失和部分功能酵母菌排出系统,所以在35周期时出水COD回升.另外,D反应器COD处理效果一直良好,到第35周期时表现为最好.而最佳氮添加对于C反应器COD去除效果有较大提高,在35周期时已接近于D.

图6显示的是恢复实验中SVI的变化情况.可以看出,除了A反应器出现污泥上浮外,其它3个反应器中酵母菌SVI都有明显的降低.B反应器中SVI

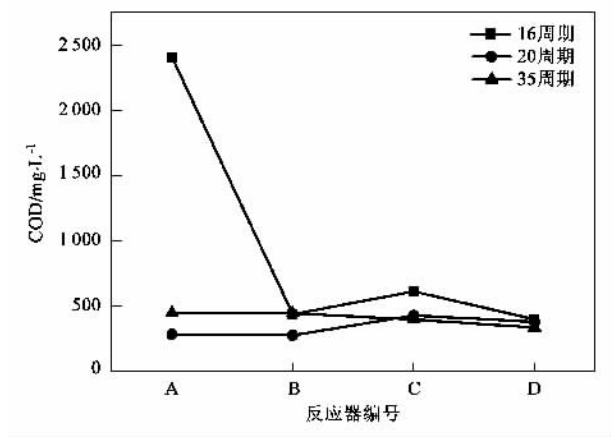


图5 氮恢复实验中不同周期各反应器出水 COD 比较  
Fig.5 Comparison of effluent COD in different cycles and reactors in nitrogen recovery experiment

由第 16 周期的 900 mL/g 降低到第 35 周期的 150 mL/g.有少量丝状菌的系统 C 在最佳氮添加后,SVI 也有小幅改善.而短时期轻度氮缺乏的 D 中 SVI 基本没有变化.由此可见,最佳氮添加对氮缺乏系统中酵母菌沉降性能的改善具有一定作用.

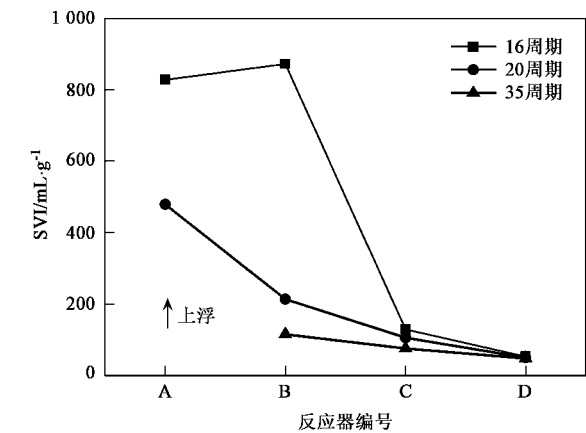


图6 恢复实验中不同周期各反应器酵母菌 SVI 的比较  
Fig.6 Comparison of SVI of yeast in different cycles and reactors in nitrogen recovery experiment

图 7 是对各反应器运行第 12 和 35 周期出水 pH 的比较.可以看出,随着氮添加的恢复,A、B、C 和 D 的出水 pH 在第 35 周期时趋于一致,在反应结束时都降低到了 2.8 左右.由此进一步证明:氮添加对出水的 pH 有直接关系.低的 pH 有利于系统对杂菌的抑制和对酵母菌优势地位的保持,因此也可能是系统性能恢复的间接原因.

### 2.5 最佳氮添加对缺氮系统酵母菌形态的恢复

在第 35 个周期时对各反应器中酵母形态进行了镜检,如图 8.可以看出,在 A 反应器中,菌丝

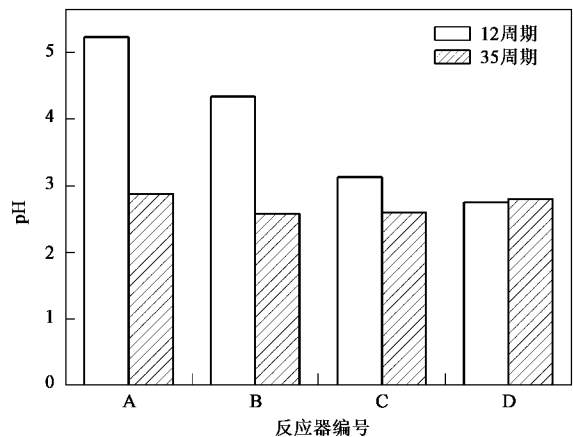


图7 各反应器运行第 12 和 35 周期的出水 pH 比较  
Fig.7 Comparison of effluent pH in different reactors between cycle 12 and 35 in nitrogen recovery experiment

中夹杂着大量的油滴[图8(a)黑色箭头所指],说明该体系对油的降解活性降低,可能与长期氮极端缺乏造成的大部分功能酵母菌菌株流失或者细胞死亡有关;菌丝中夹杂着油滴使本身沉降性较差的菌丝滋生絮体的比重进一步降低,所以导致了 A 中酵母菌的上浮.B 反应器中观察到大量发达的真菌丝,但是没有观察到油滴[图8(b)],说明由于每周少量的氮添加使部分功能菌株得以保存,而系统在最佳氮添加后重新恢复了较高的活性.但对于 A 和 B,经过 20 周期的恢复,真菌丝形态仍然占据优势;对于有少量菌丝的 C 和 D 反应器,则基本恢复了酵母形态为主[图8(c)和8(d)].由此可见,对于氮缺乏造成真菌丝高度发达的系统,最佳氮添加量对其恢复效果不明显;而对于短期缺氮引发少量菌丝滋生的系统则具有快速良好的恢复效果.

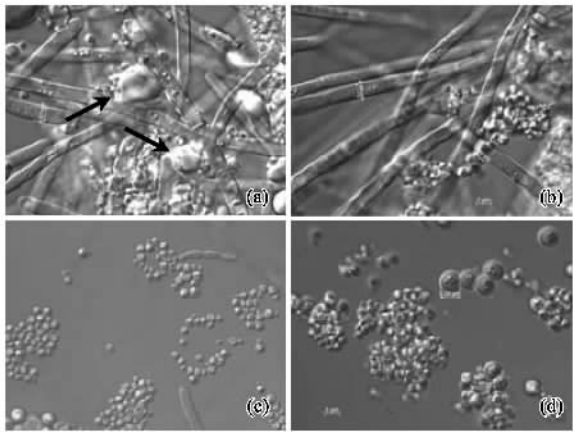


图8 氮恢复实验后各个反应器中生物样的显微镜照片  
Fig.8 Microscopic images of biological samples in different reactors after nitrogen recovery

3 结 论

- (1) 氮添加量直接影响到系统中酵母菌的生物量、沉降性、pH 以及处理效果.
- (2) 从废水处理效果和系统稳定性方面考虑, 系统运行时最佳进水 BOD/N 为20:1.
- (3) 氮缺乏将诱发某些酵母菌菌株细胞由酵母形态向真菌丝形态转化, 进而影响到系统中酵母菌的沉降性.
- (4) 恢复最佳氮添加能提高不同程度缺氮系统的处理效果, 并可使轻度菌丝化系统快速恢复酵母为主形态, 但在短期内对高度菌丝化系统的恢复效果不明显.

参考文献:

[ 1 ] Chigusa K, Hasegawa T, Yamamoto N, *et al.* Treatment of wastewater from oil manufacturing plant by yeasts[J]. *Water Sci Technol*, 1996, **34**: 51-58.

[ 2 ] 郑少奎, 杨敏, 刘芳. 利用酵母菌处理色拉油加工废水连续小试初探[J]. *中国环境科学*, 2001, **21**(4): 347-350.

[ 3 ] 杨清香, 贾振杰, 潘峰, 等. 酵母菌在废水处理中的应用[J]. *环境污染治理技术与设备*, 2005, **6**(2): 1-5.

[ 4 ] Yang Q, Yang M, Hei L, *et al.* Using ammonium-tolerant yeast isolates: *Candida halophila* and *Rhodotorula glutinis* to treat high strength fermentative wastewater[J]. *Environ Technol*, 2003, **24** (3): 383-390.

[ 5 ] Yang Q, Yang M, Zhang S, *et al.* Treatment of wastewater from a monosodium glutamate manufacturing plant using successive yeast and activated sludge systems[J]. *Process Biochemistry*, 2005, **40** (7): 2483-2488.

[ 6 ] Martins M A, Cardoso M H, Queiroz M J, *et al.* Biodegradation of azo dyes by the yeast *Candida zeylanoides* in batch aerated cultures [J]. *Chemosphere*, 1999, **38**(11): 2455-2460.

[ 7 ] Elmaleh S, Defrance M B, Ghommidh C. Organic acids oxidation by

*Candida utilis*: application to industrial waste water treatment[J]. *Process Biochemistry*, 1999, **35**(5): 441-449.

[ 8 ] Scioli C, Vollaro L. The use of *Yarrowia lipolytica* to reduce pollution in olive mill wastewaters[J]. *Wat Res*, 1997, **31**(10): 2520-2524.

[ 9 ] Lim J, Kim T, Hwang S. Treatment of fish-processing wastewater by co-culture of *Candida rugopelliculosa* and *Brachionus plicatilis*[J]. *Water Res*, 2003, **37**(9): 2228-2232.

[ 10 ] 宋凤敏, 呼世斌, 刘音. 酵母菌处理皂素生产废水的研究 [J]. *环境污染治理技术与设备*, 2004, **5**(4): 66-69.

[ 11 ] 吴兰, 罗玉萍, 李思光, 等. 解脂耶氏酵母处理含油废水的工艺条件[J]. *南昌大学学报:理科版*, 2006, **30**(4): 379-382.

[ 12 ] 孙玉红, 吕文洲, 高静, 等. 不同 pH 条件下酵母菌处理高含油废水的研究[J]. *环境污染治理技术与设备*, 2006, **7**(9): 94-98.

[ 13 ] Butler D K, All O, Goffena J, *et al.* The GRR1 gene of *Candida albicans* is involved in the negative control of *Pseudohyphal morphogenesis*[J]. *Fungal Genet Biol*, 2006, **43**(8): 573-582.

[ 14 ] Kumamoto C A, Vences M D. Contributions of hyphae and hypha-co-regulated genes to *Candida albicans* virulence [ J ]. *Cell Microbiol*, 2005, **7**(11): 1546-1554.

[ 15 ] Miwa T, Takagi Y, Shinozaki M, *et al.* Gpr1, a putative G-protein-coupled receptor, regulates morphogenesis and hypha formation in the pathogenic fungus *Candida albicans*[J]. *Eukaryot Cell*, 2004, **3** (4): 919-931.

[ 16 ] Odds F C. Morphogenesis in *Candida albicans* [ J ]. *Crit Rev Microbiol*, 1985, **12**(1): 45-93.

[ 17 ] 国家环保局. 水和废水监测分析方法[M]. (第四版). 北京: 中国环境科学出版社, 2006.

[ 18 ] 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, **21**(增刊): 60-64.

[ 19 ] 韩云, 杨清香, 杨敏, 等. 酵母菌处理系统中氮缺乏引起的污泥膨胀控制[J]. *环境科学*, 2003, **24**(4): 68-72.

[ 20 ] Sudbery P, Gow N, Berman J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*[J]. *Trends Microbiol*, 2004, **12**(7): 317-324.