

研究报告

人工筛选脱氰酵母菌在处理
含氰废水中的变化

谢淑敏* 王 兴 林 力 黄武华 张鸿翼 周培瑾

(中国科学院微生物研究所)

酵母菌降解污染物质机理的研究有很多报道,根井等^[1-3]连续报道红酵母和假丝酵母降解酚的作用。有关处理污水的酵母菌种类和作用的研究,则多集中在含酚废水。Cooke等^[4]从处理含酚废水的活性污泥中分离到假丝酵母(*Candida* sp.),红酵母(*Rhodotorula* sp.),球拟酵母(*Torulopsis* sp.),丝孢酵母(*Trichosporon* sp.)。Rao等^[5]分离到皮状丝孢酵母(*Trichosporon cutaneum*)和热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)。清水达雄等^[6]研究用热带假丝酵母连续处理含酚废水。滝口洋^[7-8]最近讨论了酵母菌处理废水问题。

本工作对处理含氰废水的生物膜中酵母菌及人工筛选脱氰酵母菌在处理含氰废水中的作用、变化、变异等问题进行了研究,就实验方法证明人工筛选菌能否打破活性污泥原有的菌簇平衡并建立新的平衡关系,进行了探讨。

这些问题的研究受到研究方法的限制。目前的鉴定技术很难将活性污泥中原生的种类繁多的微生物和加入人工筛选菌处理废水后数量庞大的微生物都一一加以研究。用放射性同位素标记人工筛选高效菌,在处理废水一定时间后,如果未被自然淘汰,势必增殖了若干代,使标记的放射性同位素也很难达到示踪的目的,因此不能确定活性污泥中有哪些原生菌,也不能确定所加的人工筛选菌是否始终存在。这就很难研究特定菌是否打

破菌簇平衡,更谈不上研究它的变化、变异等问题。这里涉及人工筛选菌在废水处理中有许多生态学理论及实践问题,都需要加以研究。目前国内外生化处理废水时,为了提高处理效果,将人工筛选高效菌加入活性污泥中,而高效菌在构筑物的长期运转中是否会被淘汰、变异,加入高效菌是否有最终的实践意义,因缺乏实验证明,至今尚在争论。

我们选用 13 种人工筛选脱氰细菌、酵母等菌处理丙烯腈生产车间含氰废水,以其中菌体大、易辨认,相对细菌而言又种类少、数量少的酵母菌为研究对象,在处理含氰废水构筑物运转一年后,分离、鉴定构筑物生物膜中的酵母菌,研究它们的变化和变异。

材 料 和 方 法

一、菌种来源及筛选

从甘肃兰州、青海西宁、山东淄博、上海、北京、广东茂名等 15 个地方采集丙烯腈生产现场的含氰废水和污泥样品。分离出纯菌株 208 株。又收集中国科学院微生物研究所保藏菌 300 株,共计 508 株作为待筛菌种。

在培养液中加 KCN 筛选脱氰菌。将筛选出脱氰能力强的少数菌株再用废水复筛,即将含氰废水与不等量的培养液、自来水混合,加磷或不加磷,接种人工筛选脱氰酵母菌

* 现在中国科学院生态学研究中心工作。

后, 28℃ 振荡培养, 全过程不灭菌。观察人工筛选脱氰酵母菌在废水中的生长情况。初筛用目测法, 复筛用氰计量法, 详细步骤见处理含氰废水微生物筛选方法^[9]。

二、处理含氰废水三级串联构筑物及接种挂膜

用三级串联的系列构筑物, 即半生产型塔式生物滤池(高 12 米, 直径 1.4 米)——生物转盘(盘直径 1.8 米)——浸没式曝气滤池(高 1.6 米, 直径 0.8 米), 处理含氰废水。将人工筛选脱氰酵母菌及脱氰细菌等混合菌液, 加入活性污泥中, 在生物滤池内进行封闭循环, 即接种挂膜。生物转盘、浸没式曝气滤池不再另行接种。

三、构筑物生物膜微生物的分离

为了取样方便, 在具有同样处理效果的小型三级串联构筑物上采样。生物滤池(塔高 2.6 米, 直径 0.2 米, 焦碳填料)分顶部、上、中、下四层取样, 生物转盘分前、中、后三部位取样。每部位均取 5 个点。以稀释法分离单菌落。

采用 5 种培养基, 即麦芽汁琼脂、牛肉汁琼脂、马铃薯、葡萄糖琼脂、马丁培养基、高氏淀粉培养基。为了分离到多一些类型的菌, 各培养基又分为加 30ppm CN⁻ 与不加 CN⁻ 两组, 同时作为分离用培养基。

结 果

一、脱氰微生物的筛选结果

用 KCN 等筛选, 在 508 株菌中, 共筛出 13 种菌。其中在 150ppm CN⁻ 浓度下生长良好的酵母菌有 3 种, 即肋状拟内孢霉 (*Endomycopsis fibuliger* (Lindner) Dekker), 胶红酵母 (*Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder), 白地霉 (*Geotrichum candidum* Link)。

在用含氰废水的复筛中, 能在全废水中生长的, 只有 1 株白地霉(见表 1)。

将筛选出的脱氰酵母菌及脱氰细菌 13 株, 接种挂膜于处理含氰废水的构筑物。

表 1 丙烯腈车间废水筛选部分结果

组	处	理	白地霉 生长情况
A	培养基		++
B	1/4 工业废水 + 3/4 培养基		++
C	1/2 工业废水 + 1/2 培养基		++
D	1/4 工业废水 + 3/4 自来水 + 0.2% KH ₂ PO ₄		++
E	1/2 工业废水 + 1/2 自来水 + 0.2% KH ₂ PO ₄		++
F	工业废水 + 0.2% KH ₂ PO ₄		++
G	工业废水		++

二、分离、鉴定投入构筑物中的人工筛选脱氰酵母菌

在处理含氰废水的构筑物运转一年后, 我们了解接入的人工筛选脱氰酵母菌是否仍然存在, 有无变异, 以及了解活性污泥中原生的酵母类群, 对生物膜中的酵母菌进行了分离、鉴定。

(一) 处理含氰废水生物膜中酵母菌的分离、鉴定

从生物滤池、生物转盘生物膜中分离得菌 461 株。对其中的 94 株酵母菌进行了鉴定。结果见表 2。

这 3 种酵母菌的数量, 以皮状丝孢酵母最多, 84 株, 约占酵母菌总数的 90%; 白地霉次之, 9 株, 约占 9%; 白色球拟酵母 1 株, 约占 1%。

从表 2 看出:

1. 接种挂膜的 3 种脱氰酵母菌, 只分离到白地霉, 未分离到肋状拟内孢霉及胶红酵母。这可能因为两种菌不能适应毒性大的含氰废水, 从而被淘汰。人工筛选菌被自然选择、淘汰的情况也有报道^[10], 但欠实验数据。

为了证明白地霉是接种的人工筛选菌, 做了如下的试验。选择两个相同的生物滤

表 2 处理含氰废水生物膜中的酵母菌

菌 名	主要鉴定特征
皮状丝孢酵母 A 型 <i>Trichosporon cutaneum</i> (De Beurm., Gougerot et Vaucher) Ota A group	菌落灰白霜状,生真菌丝,裂殖及芽殖,节孢子多,也有芽殖细胞,不生子囊孢子. 同化乳糖,不利用硝酸盐. 不同化半乳糖、山梨糖、麦芽糖、蜜二糖、棉子糖、D-阿戊糖、D 核糖、鼠李糖、酒石酸。(典型皮状丝孢酵母同化这些碳源)。
皮状丝孢酵母 B 型 <i>Trichosporon cutaneum</i> (De Beurm., Gougerot et Vaucher) Ota B group	菌落灰白霜状,生真菌丝,裂殖及芽殖,节孢子多,也有芽殖细胞,不生子囊孢子. 同化乳糖,不利用硝酸盐. 同化松三糖、菊芋糖、L-阿戊糖、赤藓醇、卫茅醇、丙酮酸钠、柠檬酸、乳酸,(典型皮状丝孢酵母不同化这些碳源)。
白色球拟酵母 <i>Torulopsis candida</i> (Saito) Lodder	营养细胞卵形,只芽殖,不生子囊孢子,无假菌丝。发酵葡萄糖。同化半乳糖、蔗糖、麦芽糖、棉子糖、蜜二糖、木糖、纤维二糖。不同化乳糖,肌醇和硝酸盐。
白地霉 <i>Geotrichum candidum</i> Link	菌落白色,绒毛状,扩散型。巨大菌落有同心圈,生真菌丝,裂殖。有节孢子,能同化葡萄糖、半乳糖、山梨糖、菊芋糖,可溶性淀粉, D 木糖。不同化蔗糖、麦芽糖、乳糖、甘露醇、山梨醇。不利用硝酸盐,不分解油脂。

池,一个生物滤池接种人工筛选出的 13 株脱氰酵母菌、脱氰细菌及活性污泥,而另一个生物滤池只接种活性污泥,其它处理含氰废水的各种试验条件均相同。结果发现接种脱氰菌及活性污泥的生物滤池,生物膜白色;只接种活性污泥的生物滤池生物膜暗色(见图 1—2)。从白色生物膜中能分离到白地霉,暗色生物膜中分离不到白地霉。而在接种的 13 株脱氰菌中只有白地霉是白色菌落。因此,生物膜上分离到的白地霉应是原接入的人工筛选的脱氰酵母菌。

根据表 1 的结果看出,人工筛选脱氰酵母菌白地霉能在不加磷的全废水中生长,这说明白地霉在剧毒的含氰废水中生活能力很强,生物量也大,所以未被活性污泥中其它菌淘汰。

2. 从处理含氰废水的生物膜中,分离出

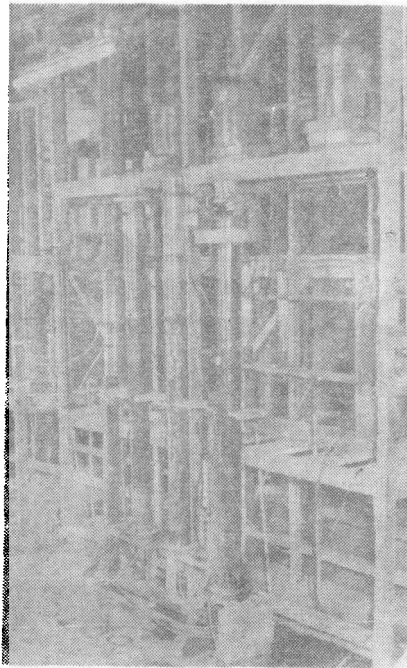


图 1 接种人工筛选脱氰白地霉的生物膜白色(中)
未接种白地霉的生物膜,暗色(右)

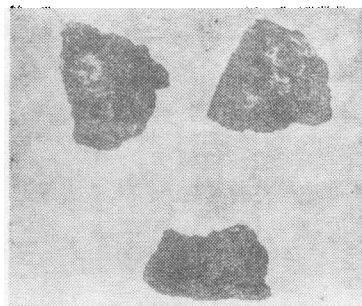


图 2 接种人工筛选脱氰白地霉的焦炭填料白色(上)
未接种白地霉的焦炭填料暗色(下)

原生在活性污泥中的皮状丝孢酵母及白色球拟酵母

由于这两种酵母菌的分离、鉴定,可以了解到长期生活在剧毒含氰废水中的酵母菌类型,对人工筛选脱氰酵母菌有指导意义,也可做脱氰理论研究的实验材料。

(二) 处理含氰废水后的酵母菌培养特征及生理变化

把人工筛选的高效菌由实验室纯培养条件转到有各种毒物的废水中去,它们能否适

应这个环境,适应后在形态、生理、生化特征上是否有所改变?活性污泥中原生的微生物,它们长期在毒物的环境中生存,与生活在无毒环境中的同种微生物有无区别?我们做了这方面的实验,结果如下:

1. 处理含氰废水后的人工筛选脱氰酵母菌白地霉培养特征上的变化

将构筑物中分离出来的白地霉,与未处理过含氰废水的保存白地霉菌株进行了比较。结果发现,处理含氰废水约一年的白地霉,在麦芽汁琼脂培养基上培养14天的巨大菌落有4种形态,与投加污水前保存的菌株形态有差异(见图3—4)。但在生理、生化特征的研究中,还未发现形成明显的差异。似可推测,人工筛选的高效菌在生理、生化特征上并未发生变异,因而不会影响处理废水的效果。

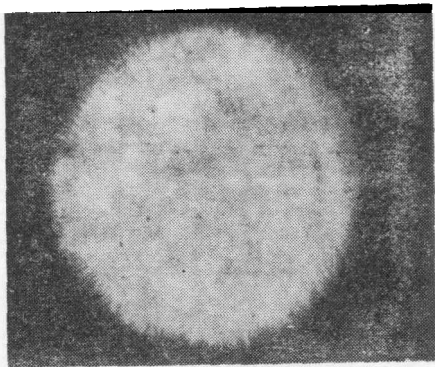


图3 未处理丙烯腈车间含氰废水的白地霉巨大菌落

2. 处理含氰废水后,活性污泥中原生的皮状丝孢酵母在生理等方面的变化

从生物膜分离出长期生活在含氰废水中皮状丝孢酵母,经过鉴定,虽具有典型皮状丝孢酵母的基本特征,但又有差异。根据其对于30多种碳源的利用情况,可以区分为A、B型。皮状丝孢酵母A型和典型的皮状丝孢酵母相比较,不能同化半乳糖、山梨糖、麦芽糖、蜜二糖、棉子糖、D-阿戊糖、D-核糖、鼠李糖、酒石酸等9种碳源。皮状丝孢酵母B型和典型的皮状丝孢酵母相比较,能多同化松三糖、菊

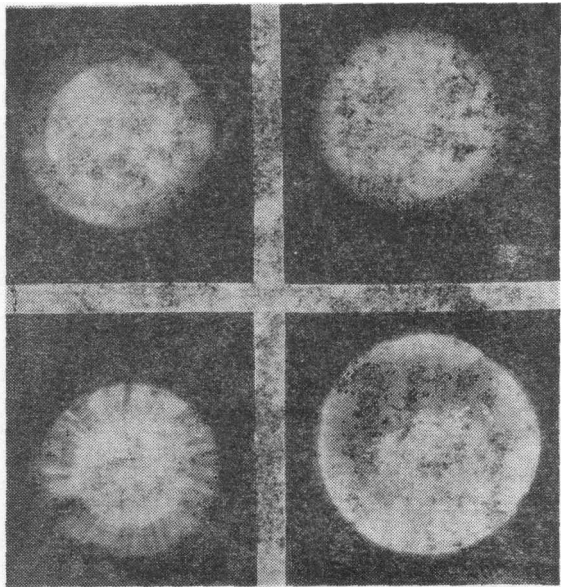


图4 处理过丙烯腈车间含氰废水的白地霉巨大菌落

芋糖、L-阿戊糖、赤藓醇、卫茅醇、丙酮酸钠、柠檬酸、乳酸等8种碳源。除生理上差异外,皮状丝孢酵母A、B型在菌落形态、质地、菌体形状、培养特征及最高生长温度上与典型皮状丝孢酵母也有不同。

酵母菌在毒性大的含氰废水中生活,表现出生理等方面的不同,可能是适应异常环境的结果。

讨 论

活性污泥是生命系统(其中包括微生物、原生动、藻类等)和环境系统在构筑物内特定空间的组合。因此,活性污泥是小生态系。又因为生态系统具有生物机体自动调节的功能,所以,活性污泥是处于动态平衡之中的小生态系。

把人工筛选菌投加到这个系统,构筑物经过一个时期运转后,是否能打破旧的菌簇之间的平衡,同活性污泥中原有的众多微生物群建立起一个新的平衡关系,使新的微生物群体定居下来,形成一个能高效地、稳定地处理污水的生物膜,这是水处理微生物生态学中一个有意义的实践和理论问题。

一个新种群进入一个生态系统,可使该系统处于紊乱状态。这个新种群最终是否能改变该生态系统的结构与功能,改变这个系统的物质输入和输出的平衡,即打破该生态系统的生态平衡,这里因素很多,其中之一是多样性与稳定性问题。一个生态系统内的不同物种越多,其多样性就越高,这个系统的稳定性就越大,打破这个系统的稳定性就越难。

处于动态平衡的活性污泥小生态系中,有数目庞大的不同物种,因此,该系统的稳定性很大。将人工筛选高效菌投加到活性污泥中处理工业废水或污水,如去除毒物的效率在后期接近单独活性污泥的处理效果时,则说明这些人工筛选菌没有打破活性污泥中的菌簇平衡。活性污泥是在特定的毒物环境中,因而进入这个系统的种群至少能对水中各种毒物加以忍耐,欲打破活性污泥生态系的平衡是很困难的。这就是在一般情况下,人工筛选高效菌投加到活性污泥后往往被淘汰的原因。

本文的实验结果可以证实人工筛选的脱氯酵母菌白地霉打破了旧的菌簇平衡,并与

长期生活在含氯废水活性污泥中原生微生物类群如皮状丝孢酵母、白色球拟酵母等众多的微生物达到新的菌簇平衡,形成了有人工筛选菌定居下来的活性污泥小生态系统,并可稳定、高效地处理丙烯腈车间含氯废水。

酵母菌鉴定是在方心芳先生指导下进行的,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] 根井等,醱酵工學杂志, **49**(8), 655—660(1971).
- [2] 根井等,醱酵工學杂志, **49**(10), 852(1971).
- [3] 根井等,醱酵工學杂志, **50**(8), 536—545(1972).
- [4] Cook, W.B., *Mycologia*, **52**(2), 210—229 (1960).
- [5] Rao, B. V., *Antonie van Leeuwenhoek*, **37**(3), 303—312 (1971).
- [6] 清水達雄等,醱酵工學杂志, **51**(11), 802—812 (1973).
- [7] 滝口 洋,水处理技术, **20**(6), 59—68(1979).
- [8] 滝口 洋,水处理技术, **20**(7), 57—67(1979).
- [9] 中国科学院微生物研究所污水微生物组,石油化工设计, (1), 63—73(1974).
- [10] 中塩 真喜夫,化学工學, **28**(1), 84—90(1964).
- [11] Lodder, J., *The Yeasts: A Taxonomic Study*, 2nd enlarged edition, Amsterdam, North-Holland, 1970.

济南地区土壤背景值*

孙 玉 琳

(济南市环境保护科学研究所)

一、土壤背景值样点的布设 与测定方法

(一) 样点的布设与土样处理

济南地区包括一个郊区和三个县。依据各区、县的土壤普查草图,按不同的地形、地貌、成土母质和土壤类型^[1,2],采集了36个耕作土壤剖面样品。土壤类型包括由花岗岩、砂岩、片麻岩等母质发育的棕壤,由石灰岩、

洪积物、黄土母质发育的褐土以及由黄河冲积物发育的潮土。

土壤剖面按自然发育层采样,采样深度2米左右,采集的土壤样品经风干弃去植物根系及大于1毫米的石砾后,磨细过100目尼龙筛。

(二) 土壤的分析方法

* 本工作是在唐涌六同志指导、中国科学院南京土壤研究所环境保护室背景组的协作下完成的。