

处理啤酒洗糟废水同时生产单细胞蛋白*

张永明^{1,2}, 俞俊棠¹, 王建龙³ (1. 华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237, E-mail: jjzhong@ecust.edu.cn; 2. 南昌航空工业学院环境与化学工程系, 南昌 330032, E-mail: zhangym@niat.jx.cn; 3. 清华大学环境模拟与污染控制国家重点联合实验室, 北京 100084)

摘要: 用热带假丝酵母在 1.5L 气升式内循环生物反应器中处理啤酒生产中的洗糟废水, 同时生产热带假丝酵母. 探讨了 pH, 温度及氮源对降解废水动力学的影响. 实验结果表明, 用热带假丝酵母既可以有效地降解洗糟废水中的 COD, 又可以产生一定数量可作单细胞蛋白的酵母. 对于含糖 0.3% 左右的洗糟废水可获得约 500mg/L (干重) 的酵母, 并可使废水 COD 降解约 80%.
关键词: 洗糟废水, 单细胞蛋白, 生物反应器, 热带假丝酵母.

中图分类号: X797 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)03-0097-03

Treatment of Wastewater from Grains Washing and Simultaneously Cultivating *Candida tropicalis* as Single Cell Protein

Zhang Yongming^{1,2}, Yu Juntang¹, Wang Jianlong³ (1. State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China E-mail: jjzhong@ecust.edu.cn; 2. Dept. of Environ. and Chem. Eng., Nanchang Institute of Aeronautical Technology, Nanchang 330034, China E-mail: Zhangym@niat.jx.cn; 3. State Key Joint Laboratory of Environmental Simulation and Pollution Control, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: The wastewater from brewery's grains washing procedure was treated in an 1.5L airlift bioreactor for cultivation of *Candida tropicalis* and simultaneously degradation of COD of the wastewater. Influence of pH, temperature and nitrogen source on the kinetics of wastewater degradation was discussed. The results showed that COD could be degraded efficiently and yeast could be produced at the same time. For the wastewater with 0.3% sccharides, 500mg/L yeast (dry) could be obtained and COD could be degraded nearly 80%.
Keywords: wastewater of grains washing, single cell protein, bioreactor, *Candida tropicalis*.

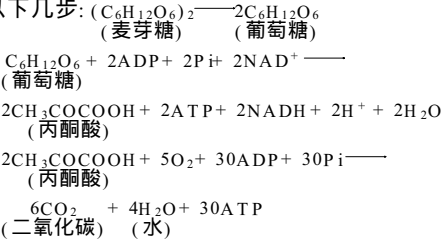
已有大量文献报道单细胞蛋白(Single Cell Protein, SCP)的生产^[1-4], 其中从可再生资源中生产 SCP 具有很大的潜力, 如利用淀粉、味精、酿酒等生产过程中的废水生产 SCP 已有不少报道^[5-9]. 但以往在啤酒生产中, 糖化后的洗糟废水是和其它工序的废水一道进行处理, 而这一废水中通常含有较多的糖份, 其 COD 高达 3000~7000mg/L, 若按传统的方法即使对其进行深度处理并达到排放标准, 也增加了处理过程的有机物负荷, 又浪费了其中一些可利用的资源. 本文所述的则是用热带假丝酵母(*Candida tropicalis*)处理洗糟废水的同时生产酵母的研究过程, 着重探讨了 pH、温度和氮源对细胞生长和废水 COD 降解的影响.

1 基本理论

1.1 洗糟废水的降解过程

洗糟废水中主要成分是麦汁, 其含糖约为 0.3% 左右. 构成麦汁的糖主要是麦芽糖和少量的果糖、葡萄糖

等^[10]. 1 分子麦芽糖可由麦芽糖酶催化水解为 2 分子葡萄糖, 葡萄糖经 EMP 途径进行酵解时, 1 分子葡萄糖在 EMP 途径中生成 2 分子丙酮酸. 丙酮酸在有氧条件下进入细胞的线粒体变成乙酰辅酶 A 后进行三羧酸循环, 最后氧化成 CO₂ 和 H₂O. 所以该反应过程可归纳为以下几步:



1.2 细胞培养的动力学基础

* 江西省自然科学基金和生物反应器工程国家重点实验室开放基金资助项目
作者简介: 张永明(1958~), 男, 博士, 教授, 主要从事生物处理有机废水及生物反应器的研究.
收稿日期: 1999-10-14

对于单级培养过程, 细胞的浓度变化率与细胞浓度成正比:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

其中, X 为细胞浓度, $g \cdot L^{-1}$ (干重); t 为时间, h ; μ 为比生长速率, h^{-1} .

在指数生长阶段, 细胞的生长不受限制, 比生长速率达到最大值 μ_m , 于是

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m X$$

2 实验条件和方法

(1) 生物反应器 JH-1-1.5A 型气升式内循环, 外径 100mm, 高 240mm, 内置一直径为 60mm, 高 120mm 的导流管, 总体积 1.5L, 有效体积 1.3L.

(2) 菌种 选用热带假丝酵母 (*Candida tropicalis*).

(3) 底物 模拟啤酒厂糖化后的洗糟废水用麦汁加水, 控制其 COD 在 3000~7000mg/L 之间.

(4) 菌体分析 用 721 型分光光度计在 600nm 波长下测定水样的吸光度值, 再对照标准曲线计算菌体干重.

(5) COD 分析 采用重铬酸钾法.

(6) 实验方法 间歇处理洗糟废水, 每次将 1300ml 的底物加入反应器内, 经灭菌冷却后接种适量的菌液. 在不同 pH、温度和添加氮源条件下, 通入过滤空气培养细胞并降解有机物, 通气量为 3.8L/min. 每 2~4h 取样分析其培养液的吸光度和水样 COD 值.

3 实验结果及分析

3.1 pH 对细胞生长和 COD 降解的影响

实验结果如图 1 所示. 用热带假丝酵母降解洗糟废水时, 主要通过酵母对废水中的麦芽糖进行有氧降解, 首先麦芽糖水解为葡萄糖, 葡萄糖经 EMP 途径生成丙酮酸. 由于生成丙酮酸, pH 值会明显降至 5.4 以下. 在此条件下, 废水的 COD 在一定范围内波动而降解很少 (图 1). 若对该反应过程产生的有机酸及时用 NaOH 中和, 控制溶液 pH 在 6.2 左右, 则 COD 可以得到明显地降低. 从而可以认定 COD 降解的控制步骤是丙酮酸之后的氧化分解. 即当 $pH < 5.4$ 时, 细胞的活性受到抑制, 不利于三羧酸循环的进行. 而当 pH 控制在 6.2 左右时, 有助于丙酮酸进入细胞的线粒体变成乙酰辅酶 A, 有利于三羧酸循环的进行, 减少各种有机酸的积累. 最终均被氧化成 CO_2 和 H_2O , 其明显的特征就是 COD 的降解. 另一方面, 从图 2 可以看出, pH 值对细胞的生长没有抑制作用, 这说明细胞的生长与糖酵解生成丙酮酸过程有关, 而与丙酮酸有氧降解无关. 在有

氧条件下, 1 分子葡萄糖酵解共产生 8 分子 ATP (腺三磷), 其表现形式为新细胞的生成. 因此在有氧条件下, 调节 pH 起到了促进有机物降解的作用. 故本实验过程中的后续实验为了既降解 COD 又能生产细胞, 均将 pH 控制在 6.2 左右.

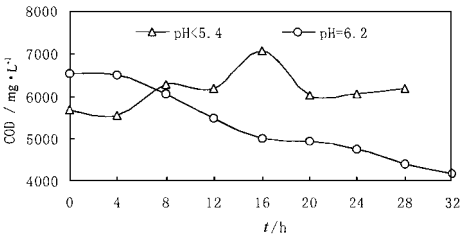


图 1 pH 对 COD 降解的影响

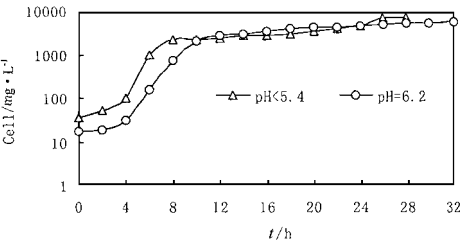


图 2 pH 对细胞生长的影响

3.2 温度对细胞生长和 COD 降解的影响

将 pH 控制在 6.2 左右, 并在不同的温度条件下处理洗糟废水, 其细胞和 COD 的降解速率明显不同, 实验结果如图 3 和 4 所示. 从图中可以看出, 温度较低时, 细胞生长的延迟期较长, 反之则较短. 从图中还可以看出, 在 35℃ 和 40℃ 条件下, 其细胞生长和 COD 降解速率相差不大.

比较图 3 和 4, 当细胞进入对数生长期后, 溶液 COD 才开始明显下降. 在 35℃ 和 40℃ 时, 细胞从第 4h 便进入对数生长期, COD 在 6~8h 之后开始明显下降. 而在 30℃ 时, 直到 14h 之后细胞才进入对数生长期, COD 在 16h 之后明显下降. 这说明当细胞浓度达到一定数量之后, 才能有效地降解有机物.

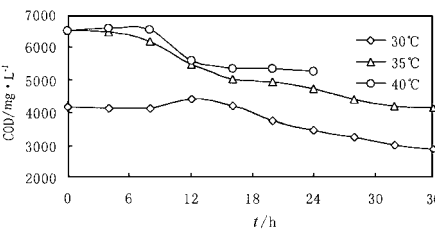


图 3 温度对 COD 降解的影响 (pH = 6.2)

根据实验结果, 可以求出在对数生长期内, 最大比生长速率、细胞倍增时间、细胞的生长速率和 COD 的

降解率,其结果如表 1 所示.

表 1 温度对最大比生长速率等的影响

温度/℃	30	35	40
μ_m/h^{-1}	0.3666	0.7009	0.4934
倍增时间/h	1.89	0.99	1.40
细胞的生长速率	$\frac{dX}{dt}=0.3666X$	$\frac{dX}{dt}=0.7009X$	$\frac{dX}{dt}=0.4934X$
COD 降解率/%	30.4	35.8	18.8

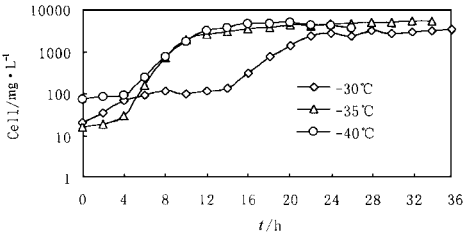


图 4 温度对细胞生长速率的影响
(pH = 6.2)

从表 1 看出在 35℃ 条件下细胞生长速率最大.

3.3 氮源对细胞生长和 COD 降解的影响

啤酒废水主要特征是碳源充分而氮源缺少,洗糟废水亦是如此. 本实验所用洗糟废水的 C: N: P 在 650: 4: 1~ 730: 5: 1 之间,其氮含量明显偏少. 因此实验过程中,在废水中添加少量尿素以补充氮源. 图 5 是氮源对废水 COD 降解的影响. 从图 5 可以看出,添加适量(0.3g/L)的尿素,可以使废水的 COD 明显降低. 值得注意的是在整个过程中废水的 pH 值一直维持在 6.2 左右,而不必用 NaOH 中和. 而未加尿素的废水则降解速率较慢. 根据图 5,在对数生长期内,废水 COD 的降解呈指数形式,表现为一级反应,其一级反应速率方程、反应速率常数和 COD 降解率如表 2 所示. 从表 2 可以看出,2 者反应速率常数相差达 1 倍多, COD 降解率相差约 34%.

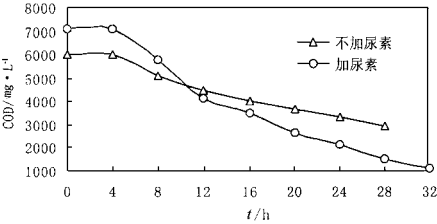


图 5 氮源对 COD 降解的影响

从图 6 可以看出,添加尿素与否对细胞的增殖没有很大影响. 根据前述分析和实验结果可以判断,添加适量的尿素增加了废水中的氮源,有助于细胞的代谢,主要是激活了细胞中相关酶的活性,从而促进了三羧酸循环的顺利进行. 这与 pH 的调节有相似的作用,但

COD 降解得更快,降解率更高. 实际上现有的一些啤酒废水处理工艺,为了提高效率,在处理废水之前添加一些氮源^[11].

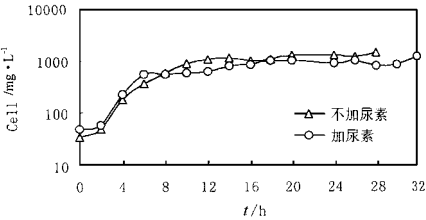


图 6 氮源对细胞生长的影响

表 2 尿素添加与否对 COD 降解速率和降解率的影响

项 目	添加尿素	不加尿素
速率方程	$\frac{dS}{dt} = 7346.8e^{-0.0659t}$	$\frac{dS}{dt} = 5772.6e^{-0.0283t}$
一级反应速率常数/h ⁻¹	0.0695	0.0283
COD 降解率/%	84.5	50.6

4 结论

啤酒洗糟废水在降解过程中,有机酸的分解是 COD 降解的控制步骤,控制其 pH 可以激活相关的酶,使得三羧酸循环能顺利进行并促进 COD 的降解. 此外,适宜的温度可大大缩短细胞生长的延迟期,提高废水降解的速率. 而添加少量的尿素可以促进废水 COD 更快降解.

参考文献

- 1 Tannenbaum S R and Wang D I C. Single Cell Protein II . Massachusetts Cambridge: MIT Press, 1975.
- 2 Birch G G, Parker K J and Worgan J T. Food from Waste. London: Applied Science Publishers, 1976.
- 3 Yeehn Yech. Single cell protein of *Rhodotorula* sp. Y-38 from ethanol, acetic acid and acetaldehyde. Biotechnology Letter, 1996, 18(4): 411~ 416.
- 4 俞俊棠,王国政译.[英]J. E. Smith 著. 生物技术. 北京: 科学出版社, 1985. 40~ 42.
- 5 Ejiofor Anthony O, Chisti Yusuf, Moo-Young Murray. Culture of *Saccharomyces cerevisiae* on hydrolyzed waste cassava starch for production of baking-quality yeast. Enzyme Microb. Technology, 1996, 18(7): 519~ 525.
- 6 关贵兰. 利用淀粉废水生产单细胞蛋白(SCP)的研究. 淀粉与淀粉糖, 1996, 4: 35~ 40.
- 7 Skogman H. Production of Symba yeast from potato wastes. Food from Waste. Birch G G, Worgan K J (Eds) London: Applied Science Publishers, 1976: 167~ 172.
- 8 赵东,唐万裕,龙萍. 利用酒厂废水生产单细胞蛋白的研究. 酿酒科技, 1992, 4: 70~ 73.
- 9 敬一兵. 固定化微生物治理味精废液. 环境工程, 1996, 14 (3): 52~ 53.
- 10 Atkinson B and Mavituna F. Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook (Second edition). Macmillan Publishers Ltd., 1991.
- 11 张自杰主编. 环境工程手册(水污染防治卷). 北京: 高等教育出版社, 1996. 959.