利用酵母菌处理高浓度味精废水的连续小试

黑亮[1,2] ,杨清香[1] ,杨敏[1] ,张嵩午[2](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 . 西北农林科技大学 ,陕西杨陵 712100)

摘要 :利用批量实验对从高浓度味精废水中筛选出的一组酵母菌混合菌群进行了脱氢酶活性(DHA) 测试 .结果表明用该菌群对 COD、硫酸根和氨氮均接近 20000 mg/ L 的味精离交尾液进行处理时 ,其 DHA 值在前 36h 高于对离交尾液稀释液的处理 ,说明高浓度氨氮和硫酸盐对酵母菌活性的影响不显著 .利用接种了该酵母菌群的生物接触氧化反应器对味精废水进行的连续小试处理结果表明 ,COD 容积负荷 2.0 ~ 14.3kg/(m^3·d) 时 ,COD 去除率稳定在 80 %以上 ;适当地补充磷源有利于维持稳定的处理效果 .对出水 pH 值和 COD 去除率的关系进行了探索 ,发现 pH 值对 COD 的去除影响并不大 ,而酵母菌生长的最佳 pH 值为 3.5 ~ 5.0 .处理后的出水 SS 升高 ,其中含有大量的酵母菌体 ,成分分析结果表明菌体蛋白含量为 57.9 % ,氨基酸分布均衡 ,可以回收为饲料添加剂 .

关键词 :酵母菌 ;味精废水 ;脱氢酶活性 ;生物接触氧化 ;连续小试
中图分类号 :X789 文献标识码 :A 文章编号 :0250-3301(2002)04-05-0062

Laboratory-Scale Continuous Treatment of Monosodium Glutamate Manufacturing Wastewater Using Yeast

Hei Liang[1,2] , Yang Qingxiang[1] , Yang Min[1] , Zhang Songwu[2](1 . State Key Laboratory of Environmental Aquatic Chemistry , Research Center for Eco-Environmental Sciences , CAS , Beijing 100085 , China ; 2 . Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry , Yangling Shanxi 712100 , China)

Abstract : Dehydrogenation activity(DHA) , test indicated that mixed yeast strains isolated from high strength monosodium glutamate wastewater could endure the high concentrations of COD, SO_4^{2-} , and NH_4^+ containing in glutamate wastewater . The mixed yeast strains were inoculated to a biological contact oxidation reactor , and the reactor was used to treat the glutamate wastewater . Under a COD load ranging from 2.0 to 14.3kg/(m^3·d) , the COD removal rate was over 80 % . On the other hand , supplementation of phosphorus was necessary to maintain a stable COD removal performance . Variation of effluent pH seemed to have no apparent influence on COD removal rate . The optimum pH for the growth of yeast , however , was found to be in the range of 3.5 ~ 5.0 . The effluent wastewater contained high concentration of yeast bodies , which could be utilized as a forage additive because of its high protein content (57.9 %) and well-balanced amino acid distribution .

Keywords : yeast ; monosodium glutamate wastewater ; dehydrogenase activity ; hydrolysis biological contact oxidation ; laboratory-scale treatment

自 20 世纪 60 年代以来 ,味精生产量逐年上升 ,该行业已成为我国发酵工业的主要行业之一[1] .味精废水的离交尾液中 COD、硫酸根和氨氮的含量非常高 .有关味精废水的治理国内已经开展了多年的研究和开发工作 ,产生了若干组合处理工艺 .厌氧处理运行费用较低 ,适合用来处理高浓度有机废水 .但在厌氧环境下 ,高浓度氨氮和硫酸根对甲烷菌具有较强的毒害和抑制作用 ,因此一般要采用预先脱硫脱铵、稀释进水等措施 ,从而增加了过程的复杂性和处理成本[2] .目前一些味精厂利用离交尾液生产饲料酵母 ,这种方法能够去除 40 % ~ 60 %的 COD ,而且产生的菌体能够作为饲料蛋白得到利用[2,3] .但饲料酵母法要求经常性地进行菌种培养和比较严格的无菌条件 ,使得生产成本居高不下 ,而且 ,生产酵母后废水中仍有较高含量的 COD ,同样存在 COD 的达标排放问题 .

基金项目 :国家自然科学基金资助项目(50078053)
作者简介 :黑亮(1976 ~) ,女 ,主要从事环境微生物生态研究 .
收稿日期 :2001-07-23 ;修订日期 :2001-09-17

本实验室筛选到一组能够用于高浓度味精废水的好氧直接处理的酵母菌菌种.批量研究结果表明,这些酵母菌种能够耐受非常高浓度的氨氮,处理 2 倍稀释的离交尾液时其 COD 处理率高达 85 %左右[4].在本研究中,一个接种了上述酵母菌的生物接触氧化反应器被用于高浓度味精废水的直接处理,并对处理出水中含有的大量菌体组成进行了分析,探讨了利用废水处理过程中产生的菌体作为单细胞蛋白(Single-Cell-Protein,SCP)的可能性.

1　材料与方法

1.1　菌种

酵母菌为本研究室从味精厂离交尾液中筛选分离的菌种[4].

1.2　废水来源与水质

废水取自天津某味精厂利用冷冻等电点法提取谷氨酸后的离交尾液,装置进出水 pH 值用便携式酸度计测试(HM-14P,东亚电波株式会社制),然后进行离心分离,对上清液进行有关的分析测试.SS、TP、SO_4^{2-}、NH_4^+-N 采用标准方法分析测试[5],COD、TOC、BOD_5 分别利用 COD 快速测定仪(河北承德 CTL-12 型)、TOC500(岛津制作所)、BOD_5 自动测定仪(德国 OxiTopIS6/ OxiTopIS12 型).废水水质见表 1.

表 1　味精生产中离交尾液的主要水质指标/ mg·L^{-1}

Table 1　Characteristics of monosodium glutamate ion-exchanging wastewater

测试指标	浓度	测试指标	浓度
COD	24165	TP	37.3
TOC	7411	SO_4^{2-}	20012
BOD_5	20760	NH_4^+-N	17900
SS	2540	pH	2.8

从表 1 可以看出,该废水的 COD 浓度很高,而 pH 值很低,属于酸性高浓度有机废水,并且 BOD_5/ COD 的比值为 0.86,可生化性高,适合采用生物处理法.同时,SO_4^{2-} 和 NH_4^+-N 浓度非常高,而 TP 的含量却相对很低.

1.3　对酵母菌活性的研究

在 500 mL 三角烧杯中分别倒入 150 mL 的 10 倍、3 倍、2 倍稀释废水和原水,向其中接种酵母菌(接种量为 0.18g 湿菌体),pH 值一致调为 4.5.将三角烧杯放入摇床中,温度控制在 28 ℃,转速控制在 180r/ min 左右,连续振荡培养 96h.从 0h 起,每隔 12h 取样,测量溶液中脱氢酶活性(DHA)变化.

DHA 测定采用氯化碘硝基四氮唑(INT)分光光度法[6].在测定 DHA 的同时测定试样中的 SS,用 DHA/ SS 即单位菌体的 DHA 表示酵母菌的活性.

(1)试剂　磷酸盐缓冲液:Na_2HPO_4(0.2 mol/ L)与 NaH_2PO_4(0.2 mol/ L),体积比为 72∶28,混合摇匀.基质溶液:0.2g 葡萄糖溶于 20 mL 磷酸盐缓冲液中,用 NaOH 调 pH 值为 7.2,冷藏保存,每周更新.INT 溶液:浓度为 0.2 %,冷藏保存,每月更新.

(2)测定方法　向 10 mL 具塞刻度管中加水样和 INT 溶液各 1 mL,用去离子水充满,水浴加热至 37 ℃;取 5 mL 试样在 4000r/ min 下离心 10 min 倒掉上清,用水样-INT 混合液混合固体残渣,然后放入水浴锅内保持温度 37 ℃ 1h,作为三苯基甲臜(TF)晶体的培养时间,每 15 min 摇晃小瓶;加入 0.2 mL 37 %的福尔马林溶液终止反应,冷冻直至有 TF 晶体析出;再将混合物在 4000r/ min 离心 15 min,弃去上清,在暗处倒入 5 mL 的乙酸乙酯反应 30 min,在 3000r/ min 下离心分离 5 min,在分光光度计波长为 490nm 下测吸光度.

1.4　反应器设备与工艺装置

本反应装置为透明有机玻璃柱(内径 11cm、高 160cm),内部挂有市售的由塑料圆盘和纤维丝组成的半软性生物填料(工艺装置见图 1),圆盘直径为 8cm,圆盘与圆盘之间的高度差为 10cm.操作条件见表 2.

1.5　酵母菌菌体作为饲料蛋白的评价

将反应器出水在 3000r/ min 进行离心 15 min,弃去上清,所得菌体首先在 60 ℃ ~ 65 ℃ 的恒温干燥箱中除去部分水分,然后回潮使其与实验室条件下的空气湿度保持平衡,测此条

件下所失去的水分为初水分,后将样品在 105 ±2 ℃烘箱内烘干至恒重,逸失的量为样品中的水分含量.将干酵母磨碎成粉,酵母粉中的粗蛋白和粗脂肪的含量分别通过凯氏定氮法和索氏提取法测定;灰分采用 550 ±20 ℃马福炉灼烧法测定;在干酵母粉中加 6 mol/ L 盐酸摇匀,然后在 110 ℃抽真空水解 22h 后用日立 825-10 型氨基酸自动分析仪测定各种氨基酸的含量.无氮浸出物含量(%) = 100 % - (水分 % + 粗蛋白 % + 粗脂肪 % + 灰分 % + 粗纤维 %) .

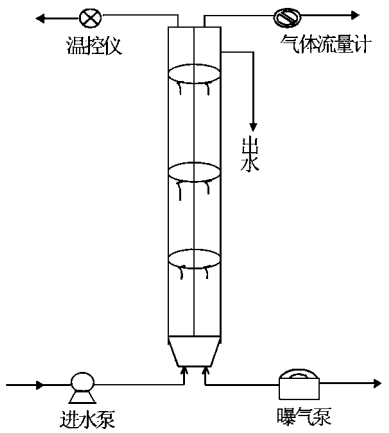

图 1 酵母菌连续小试处理装置简图

Fig .1 Schematic diagram of the bench scale yeast treatment system

表 2 酵母菌反应器的操作条件

Table 2 Operation conditions of the yeast reactor

总容积/ L	有效容积/ L	进水流速 / mL• min^{-1}	停留时间 / h	COD容积负荷 / kg•(m^3•d)$^{-1}$	反应温度 / ℃
14.4	12.2	5.1	40	2.0 ~ 14.3	28

2 结果与讨论

2.1 酵母菌活性

据文献报道[7],高浓度的氨氮对微生物会造成抑制作用,本废水中含有接近 20000 mg/ L 的氨氮,因此在连续小试启动之前进行了酵母菌脱氢酶活性测定的批量实验,以确认高浓度氨氮对酵母菌活性的影响.实验结果见图 2 .

从图 2 可以看出,各溶液中单位菌体的 DHA 在 0h 基本一致,随时间大幅度增高,在 36h 至 48h 时达到最大值,然后呈现下降趋势.另外还可看出,原水中的 DHA/ SS 上升最快,说明原水中高浓度的氨氮并没有对酵母菌的活性造成抑制.然而,36h 后原水中的 DHA/ SS 呈现了较快的下降趋势,同时溶液的 pH 值上升到中性.DHA/ SS 的快速下降可能主要是由于在较高 pH 值条件下氨氮的作用结果.由此可以推测,如果控制溶液中的 pH 值在酸性范围,原水中高浓度的氨氮可能不会对酵母菌产生很强的抑制作用.

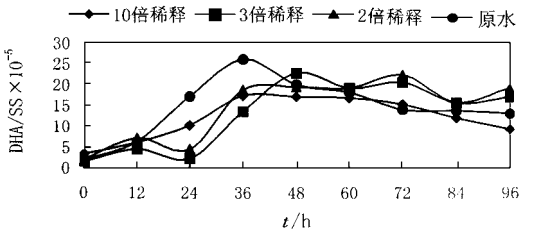

图 2 DHA/ SS 随时间变化

Fig .2 DHA/ SS variation with time

2.2 酵母菌反应器的启动

将经过批量培养制备的酵母菌种液(含湿菌体约 20g)接种于反应器内,同时通入稀释 10 倍的离交尾液(COD 约为 2600 mg/ L、pH 值为 4.0) ,向溶液中曝气(进气速度为 0.5 m^3/ h) .维持上述运行条件 10d,将废水稀释倍数降到 5 倍(COD 约为 6000 mg/ L) .COD 去除率基本上在 72 % ~ 79 %变动,镜检结果表明,出水中很难观察到酵母菌,结合废水水质指标(表 1) 推测,废水中酵母菌的生长可能受到缺磷抑制.从第 6 天开始按 TOC: P = 100: 1 (5 倍稀释废水的 TOC 为 1482.2 mg/ L) 向进水中投加 KH_2PO_4,反应器 COD 去除效果第 2 天开始好转,去除率达到 81 %(图 3) ,由此判断反应器启动阶段基本结束.

2.3 酵母菌反应器的运行

(1) COD 的去除 反应器启动阶段结束之后,将原液稀释倍数降到 3 倍,如图 4 所示.处理效果呈下降趋势,从第 4 天至第 7 天,COD 去除率从 76.4 %降到 71.2 %,同时观察到反应器内停留水的颜色发白.对出水进行镜检,发现有

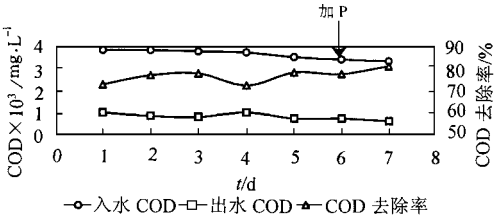

图 3　酵母菌反应器启动阶段(5 倍稀释)

Fig .3　Startup of the yeast reactor

少量活酵母和大量的死酵母细胞,说明反应器内的运行条件不适合于酵母菌的生长,推测可能是随着进水 COD 负荷的提高,造成了供氧和磷源不足,因此加大曝气量(进气速度为 1.0 m^3/h),控制 DO 在 4 mg/L 左右,并加大 KH_2PO_4 的投入量(按 TOC: P 为 100: 5 计算)[8].从第 8 天开始,COD 去除效果明显提高,最终达到 88.3 %.此后,当继续降低废水稀释倍数,进一步提高反应器 COD 容积负荷时,COD 去除率基本上稳定在 80 % ~ 88 %.

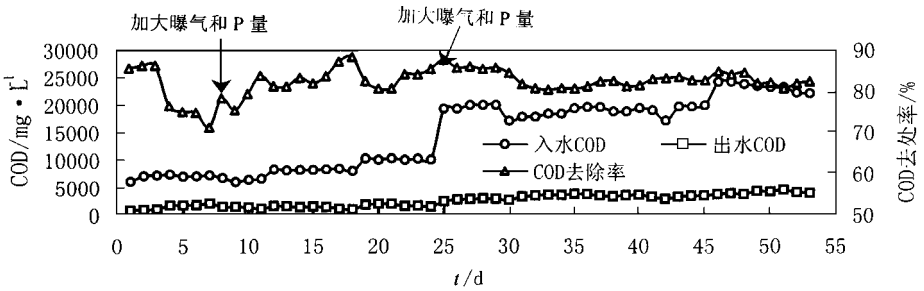

图 4　不同稀释倍数下的处理效果

Fig .4　Treatment effect under different operation conditions

(2) pH 值和 COD 去除率的关系　镜检观察发现,酵母菌反应器是一个共生系统,出水中不仅有大量的酵母菌,还存在一些细菌.酵母菌在出水中的比率受 pH 值的影响很大,当 pH 在 6.0 以下时,酵母菌长势良好,而如果 pH 值升到 6.0 以上时,细菌占的比例逐渐扩大.说明中性的 pH 值条件有利于细菌的生长.但是,如图 5 所示,虽然 pH 的变化很频繁,变化幅度也较大,COD 去除率并不受 pH 变化的影响.有关酵母菌与细菌的共生关系、该共生与处理效果的关系等需进一步研究.

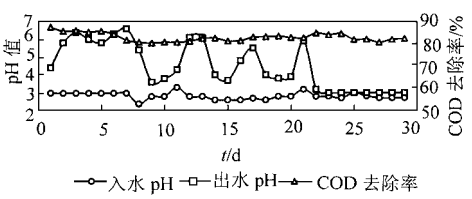

图 5　pH 值和 COD 去处率的关系

Fig .5　The relation of COD removal rate and pH

(3)进出水的 SS　出水 SS 随进水 SS 的变化波动很大,由于原废水中含有一些发酵细菌残留体,进水 SS 比较高为 2000 ~ 4000 mg/L,出水 SS 一般为 4000 ~ 7000 mg/L,出水悬浮物中含有大量酵母菌和少量细菌.

(4)酵母菌反应器处理前后废水水质变化　由表 3 可以看出, BOD_5 的去除率达到 99 %,说明废水中可生物降解的物质几乎全部被酵母菌利用.COD 和 TOC 的去除效果也很好,去除率都达到了 80 %以上. SO_4^{2-} 和 NH_4^+-N 的浓度在处理前后变化不大,而且 NH_4^+-N 的浓度反而略有升高,可能是由于原废水中的谷氨酸等有机氮化物在酵母菌的分解作用下发生了氨化反应,释放出一部分氨[9].TP 的升高主要是由于在废水处理过程中投加了磷源.pH 值升高,主要原因是包括氨基酸在内的部分有机酸在酵母菌的作用下得到分解,释放了碱度,使得 pH 值升高.

2.4　酵母菌作为单细胞蛋白的营养评价

处理后出水中含有大量的酵母菌菌体以及少量细菌菌体,且废水本身无毒性,因此可以考

表 3 酵母菌处理前后废水各组分平均值的变化比较/ mg·L^{-1}

Table 3 Several components in average before and after treatment by yeast

测试项目	COD	TOC	BOD_5	SS	TP	SO_4^{2-}	NH_4^+-N	pH
反应前	20127	7411	17289	2540	37	20012	17208	2.8
反应后	3437	1135	173	5491	80	19986	18563	4.5
去除率/ %	82.9	84.7	99.0					

虑将这些菌体作为饲料蛋白加以利用.对反应器出水中回收的菌体的蛋白含量及氨基酸含量分析结果见表 4 和表 5.可见,该组菌体粗蛋白含量较高,高于普通的饲料酵母(粗蛋白含量 41.3 %)和国产鱼粉(粗蛋白含量 55.0 %),略低于进口鱼粉(粗蛋白含量 62.0 %),而其粗脂肪含量(6.4 %)却低于鱼粉中粗脂肪含量(9.3 %)[10].各种氨基酸含量都比较丰富,不仅含有人畜生长代谢必需的 8 种氨基酸,而且还含有谷物中含量较少的赖氨酸(Lys),其含量略高于鱼粉中的含量[11].因此,它属于一种高蛋白低脂肪优质饲料粉,可用于各种饲料添加剂.

表 4 出水菌体作为单细胞蛋白的营养评价1)/ %

Table 4 Evaluation on nourishing ingredients in thalli

初水分	水分	粗蛋白	粗脂肪	粗灰分	无氮浸出物
58.3	10.8	57.9	6.4	5.0	19.9

1)粗纤维含量很少,可忽略不计.

表 5 出水菌体氨基酸在产品中的质量分数/ %

Table 5 Contents of various amino acids in thalli

项目	质量分数	项目	质量分数	项目	质量分数	项目	质量分数
Asp	1.57	Ala	1.41	Leu	0.32	His	0.02
Thr	1.25	Cys-cys	0.07	Tyr	4.34	Arg	3.62
Ser	3.78	Val	1.35	Phe	0.08	Pro	3.23
Glu	16.18	Met	3.66	Lys	5.23	Trp	—
Gly	0.59	Ile	2.62	NH_3	1.49	Total	50.83

另外,谷氨酸的含量明显高于其他氨基酸的结果表明,包括谷氨酸在内的废水中的部分氨基酸可能被酵母菌直接吸收.

3 结 论

(1)本研究筛选的高效耐氨酵母菌,可以用来在好氧条件下直接处理离交尾液.脱氢酶的活性实验结果表明,酵母菌能够耐受高浓度的氨氮和硫酸盐.

(2)利用接触氧化酵母菌反应器对离交尾液进行的连续小试结果表明,在停留时间为 40h 的条件下,COD 去除率稳定在 80 %以上.

(3)利用酵母菌处理味精废水,出水 SS 约为 4000 ~ 7000 mg/ L,大部分为酵母菌菌体,含有较高浓度的蛋白质,可以作为单细胞蛋白加以回收.

参考文献:

1 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.

2 黄翔峰,章非娟.味精生产废水治理技术发展.中国沼气,2000,**18**(3):3 ~ 8.

3 石振清,王静荣等.味精废水处理技术综述.环境污染技术与设备,2001,**2**(2):81 ~ 90.

4 杨清香,杨敏等.酵母菌对味精生产中离交尾液的处理初探.环境科学,2001,**22**(6):44 ~ 48.

5 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,1998.252 ~ 286.

6 Chung Y C, J B Neethling. Microbial activity measurements for anaerobic sludge digestion. Journal WPCF, **61**(3):343 ~ 355.

7 赵庆良,李湘中.垃圾渗滤液中的氨氮对微生物活性的抑制作用.环境污染与防治,1998,**20**(6):1 ~ 4.

8 周得庆.微生物学教程.北京:高等教育出版社,1993.120.

9 王家玲.环境微生物学.北京:高等教育出版社,1988.76 ~ 77.

10 夏玉宇,朱丹. 饲料质量分析检验. 北京:化学工业出版社,1994.52.

11 王家玲.环境微生物学.北京:高等教育出版社,1988.211 ~ 212.