



产甲烷菌固定化新方法及其甲烷化特性

田 沈¹, 赵 军¹, 曹亚莉¹, 骆海鹏¹, 吴创之², 袁振宏², 杨秀山¹

(1. 首都师范大学生物系, 北京 100037; 2. 中国科学院广州能源所, 广州 510070)

摘 要: 为了克服以 PVA 为包埋介质对甲烷八叠球菌进行固定化存在的缺点, 采用吸附和包埋结合法对甲烷八叠球菌进行固定化, 并用固定化甲烷八叠球菌处理人工废水和豆制品废水, 对其特性进行研究。用人工废水运行的结果表明, 最高容积负荷为 $14.7 \text{ kg COD/m}^3 \cdot \text{d}$, 最高 COD 去除率为 94.3%, 最低水滞留期为 16.4h, 甲烷含量为 65%~73%。用豆制品废水运行的结果表明, 最高 COD 负荷 $17.6 \text{ kg COD/m}^3 \cdot \text{d}$, 平均容积负荷 $8.2 \text{ kg COD/m}^3 \cdot \text{d}$, 最短水滞留期 13.7h。最高产气率 $7 \text{ L/d} \cdot \text{L}$ 平均产气率固定化为非固定化的 15.2 倍, 最高 COD 去除率达到了 87.0%, 运行期间固定化介质不上浮、不膨胀, 具有很好的传质和脱气性能, 较好的解决了包埋法固定化中存在的问题。

关键词: 吸附和包埋法; 固定化甲烷八叠球菌; 甲烷化作用

中图分类号: TK6 **文献标识码:** A

0 前 言

固定化细胞处理有机废水, 具有处理效率高、生物量高、占地少、产污泥量少等优点而成为研究的热点。国内外学者在固定化细胞处理废水方面进行了大量研究^[1~4], 但对固定甲烷菌处理有机废水的研究较少。除了本实验室对固定化甲烷八叠球菌研究报道外^[5~8], 还未见其它报道。而在高浓度有机废水的甲烷化作用中, 由于甲烷八叠球菌 (*Methanosarcina*) 具有高 μ_{max} 和 K_s , 它在甲烷化作用中发挥着重要作用。但其最大缺点是不能以较大颗粒滞留于消化器内。包埋法和吸附法是应用较多的两种细胞固定化方法。本实验室用 PVA 为包埋介质对甲烷八叠球菌进行固定化, 固定化菌球的产气上浮、发胀粘连仍是难题。吸附法也由于细胞易脱落、抗冲击力差等原因影响了它的推广应用。本文试图将结合这两种方法解决上述问题。这种新型的吸包法采用价格低廉、吸附效果好的载体, 外面用海藻酸钠包裹, 用正交法确定最佳技术条件。并用固定化甲烷八叠球菌处理人工废水和豆制品废水, 取得了较好的甲烷化作用效果。

1 材料和方法

1.1 正交试验

1.1.1 菌种, 培养基

菌种: 用本实验室分离并保存的甲烷八叠球菌作为菌种, 含菌量为 $2.280 \times 10^9/\text{mL}$, 接种量为 10%。

培养基: 0.2% 胰蛋白胨, 0.2% 酵母浸粉, 0.04% K_2HPO_4 , 0.1% NH_4Cl , 0.01% MgCl_2 , 1% 甲醇, pH 为 7.2 (用 HCl 调节)。每只厌氧瓶装 100mL。

1.1.2 产气量的测定

用内装饱和氢氧化钠的带刻度的集气瓶测定甲烷产量。

1.1.3 吸附载体: 耐火砖粒、陶粒、无纺布

1.1.4 固定化方法

耐火砖粒或陶粒作为载体时: 先将菌种与吸附载体混合均匀, 再与包埋介质混合均匀, 然后拨散于交联剂中交联, 取出待用。

无纺布作为载体时: 先将菌种均匀涂在无纺布上, 再将包埋介质均匀涂在无纺布上, 然后用剪刀将布剪成小块放入交联剂中交联, 取出待用。

1.2 UASB 反应器验证

1.2.1 接种物、人工废水、反应器

接种物: 吸包法和对照组分别接入本实验室分离并保存的甲烷八叠球菌 250mL, 含菌量为 $2.280 \times 10^9/\text{mL}$ 。

人工废水: 0.2% 胰蛋白胨, 0.2% 酵母浸粉, 0.04% K_2HPO_4 , 0.1% NH_4Cl , 0.01% MgCl_2 , 0.5% 甲醇, 0.5% 乙酸钠, pH 为 7.2 (用乙酸调节)。



COD_{cr} 浓度为 8000~11000mg/L 左右。

豆制品废水: 豆制品废水取自北京王致和腐乳厂, COD_{cr} 浓度为 6000~11000mg/L 左右, pH 值为 3.5~6.0。用 pH 值为 6.0NaOH 调至用人工废水运转 55d 后, 接着用豆制品废水不经稀释直接作为进水。

反应器: 两个实验室规模的 UASB 反应器被用来处理有机废水, 一个采用吸包法(A 反应器), 另一个作为对照(B 反应器)。该反应器以有机玻璃制成, 直径为 7cm, 高 50cm, 有效体积为 2L, 设有外部固液分离器。8~10℃保存的废水经恒流泵, 由反应器底部进入反应器。

1.2.2 产气量、 COD_{cr} 、甲烷、挥发酸(乙、丙、丁酸)的测定

用肺活量器测量日产气量。用标准重铬酸钾法测定 COD 。甲烷、挥发酸含量用气相色谱仪分析(SP2304, 北京分析仪器厂)。

2 结果与分析

2.1 正交试验

2.1.1 吸附载体的选择

采用 2% 海藻酸钠作为包埋介质, 比较耐火砖粒、陶粒、无纺布作为吸附载体的优劣。以是否产气上浮作为指标, 用无纺布作为吸附载体, 在反应第 5d 就全部上浮, 并且阻塞排气管, 导致实验无法进行, 而耐火砖粒和陶粒不存在此问题。故此淘汰用无纺布作为吸附载体。以产气量作为指标, 实验结果表明, 耐火砖粒载体在相同条件下产气高峰来的最早, 且产气量也高, 说明耐火砖粒对菌的活性影响最小, 而陶粒载体产气高峰来得晚, 且产气量低于耐火砖粒。故此淘汰陶粒, 而选用耐火砖粒作为吸附载体。

2.1.2 其它基本条件的确定

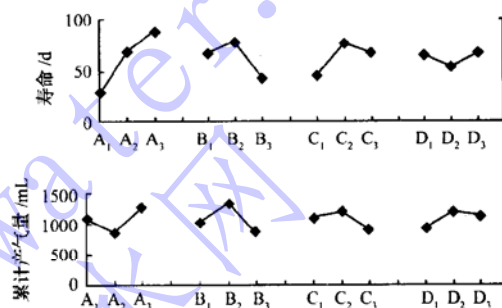
确定耐火砖为吸附载体后, 接着需要确定其它影响吸包法效果的 4 个因素: 耐火砖颗粒的大小; 海藻酸钠的浓度; 海藻酸钠与 $CaCl_2$ 交联的时间; 固定化颗粒浸泡的时间。因子水平如表 1 所示, 正交试验表头设计如表 2 所示。试验结果如图 1 所示。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Orthogonal design with different factors and levels				
因素水平	A 颗粒 /目·cm ⁻²	B 海藻酸 钠浓度/%	C 交联时间 /h	D 浸泡方法
1	36目≤	2	24	无
2	≥20目	4	1	培养基 2h
3	36目~20目	1	4	自来水 2h

表 2 正交试验表头设计

Table 2 orthogonal experimental design					
列号	A	B	C	D	水平组合
行号	1	2	3	4	
1	1	1	1	1	A ₁ B ₁ C ₁ D ₁
2	1	2	2	2	A ₁ B ₂ C ₂ D ₂
3	1	3	3	3	A ₁ B ₃ C ₃ D ₃
4	2	1	2	3	A ₂ B ₁ C ₂ D ₃
5	2	2	3	1	A ₂ B ₂ C ₃ D ₁
6	2	3	1	2	A ₂ B ₃ C ₁ D ₂
7	3	1	3	2	A ₃ B ₁ C ₃ D ₂
8	3	2	1	3	A ₃ B ₂ C ₁ D ₃
9	3	3	2	1	A ₃ B ₃ C ₂ D ₁



因素 A(砖颗粒大小) 因素 B(Alginate 的浓度)
因素 C(交联时间) 因素 D(浸泡方法)

图 1 各个指标与四个因素间的关系

Fig. 1 Relationship of the indexes and the characteristics

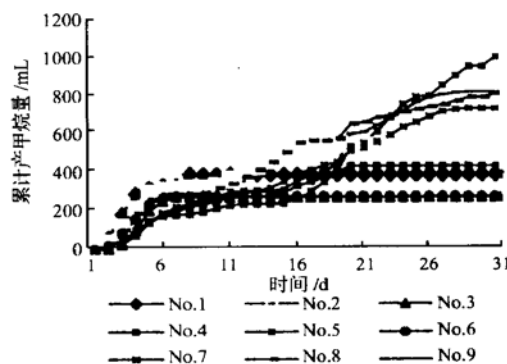


图 2 正交试验累计产气量

Fig. 2 The sum of the gas production by cross test

依据试验目的确定试验效果的指标为累积产甲烷量和固定化小球的寿命。图 1 为各个指标与 4 个因素间接关系, 9 个试验的累计甲烷量见图 2。在固定化甲烷八叠球菌试验中, 球的寿命越长越好, 产气量越多越好。由图 1 分析可知, 以寿命为指标, A₃, B₂, C₂, D₃ 为最佳条件; 以产气量为指标, 则 A₃, B₂, C₂, D₂ 为最佳条件, 但 D₂, D₃ 之间差距较小, 据此考



考虑到试验成本,选用 D_3 。由图 2 分析可知,累计产气量较多的是 No. 5 和 No. 9。所以综合上述因素,我们通过正交试验最终确定的最优化条件为 A_3, B_2, C_2, D_3 ,即耐火砖颗粒大小为 20~36 目;海藻酸钠的浓度为 4%;交联时间为 1h;浸泡方法为自来水浸泡 2h。

2.2 固定化甲烷八叠球菌处理废水

2.2.1 处理人工废水

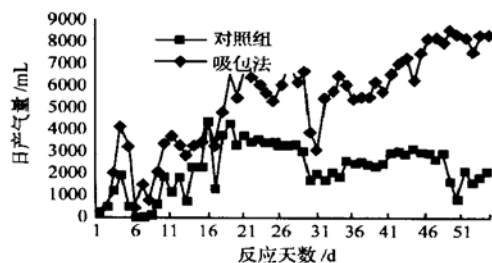


图 3 日产气量变化曲线

Fig. 3 Gas production

按正交试验制备的固定化小球装入 2L UASB 反应器,用人工废水运行了 55d,日产气量见图 3。由图可知,固定化甲烷八叠球菌日产气量明显高于非固定化,两者的最高日产气量分别达到了 8500mL/d 和 4350mL/d,平均日产气量固定化为非固定化的 2.4 倍。容积负荷与 COD 去除率见图 4,由图可知,固定化和对照组的容积负荷基本一致, COD 去除率固定化明显高于对照组,两者的最高 COD 去除率分别达到了 94.3% 和 54.6%。两者产气中的甲烷含量均为 65%~73%。分析两者出水挥发酸含量,主要为乙酸,几乎不含有丙酸和丁酸。

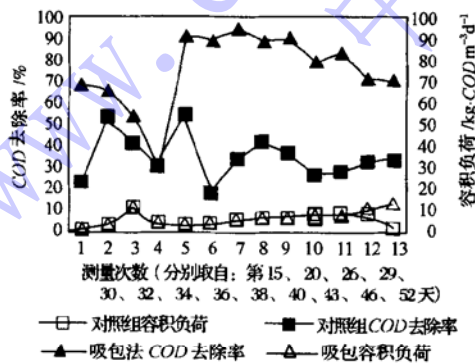


图 4 COD 去除率和容积负荷变化曲线

Fig. 4 COD removing rate & COD loading rate by manmade wastewater

2.2.2 处理豆制品废水

用人工废水运转 55d 后,接着用豆制品废水不

经稀释作为进水,了解固定化甲烷八叠球菌处理豆制品废水的特性。此阶段共运转了 34d。A 和 B 反应器在用豆制品废水运转期间的水滞留期达到了 13.7h、14.9h。其中 B 反应器有 7d 因为 COD 去除率及日产气量偏低没有进水,并且另有 8d 延长了水滞留期。

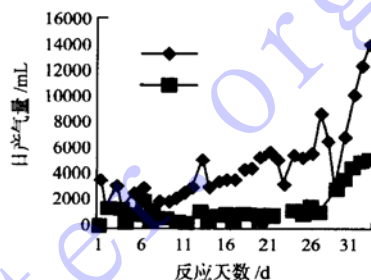


图 5 豆制品废水日产气量变化曲线

Fig. 5 Gas production by soybean cake wastewater

运转期间的日产气量的变化如图 5 所示,从图可知,最高日产气量为 14000mL/d,产气率为 7.0L/(L·d),而对照的最高日产气量只为 5250mL/d,产气率为 2.63L/(L·d)。前者是后者的 2.7 倍,平均产气率固定化为非固定化的 15.2 倍。运转期间所产气体的甲烷含量 A 反应器稳定在 65% 左右,而 B 反应器所产气体的甲烷含量则起伏较大。

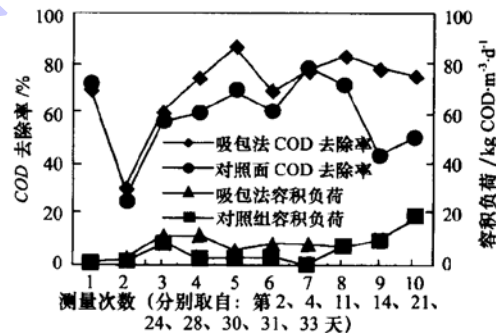


图 6 豆制品废水 COD 去除率和容积负荷变化

Fig. 6 COD removing rate & COD loading rate by soybean cake wastewater

运转期间的 COD 负荷变化如图 6 所示,从图可知,两者的平均 COD 负荷为 8.2kg $COD/m^3 \cdot d$ 和 5.3kg $COD/m^3 \cdot d$,固定化明显高于非固定化,前者的最高 COD 负荷达到了 17.6kg $COD/m^3 \cdot d$ 。两者的最高 COD 去除率分别为 87.0% 和 78.6%。运转稳定期的平均 COD 去除率分别为 75.6% 和 62.19%。很明显,固定化甲烷八叠球菌在短水滞留期、高 COD 负荷情况下,仍得到较高的 COD 去除率和较高的产气量。



3 结 论

1) 以是否产气上浮和日产气量为评价指标, 耐火砖颗粒作为吸附载体优于陶粒。

2) 通过正交试验, 以累积产甲烷量和固定化小球的寿命为指标, 确定了吸包法固定化甲烷八叠球菌处理废水的最优化条件为: 耐火砖颗粒大小为 36 目~ 20 目; 海藻酸钠的浓度为 4%; 交联时间为 1h; 浸泡方法为自来水浸泡 2h。

3) 用容积为 2L 的 UASB 反应器处理人工废水, 运行 55d 的结果表明, 验证了吸包法在日产气量和 COD 去除率方面优于非固定化甲烷八叠球菌。

4) 用此固定化甲烷八叠球菌处理豆制品废水运行 34d, 结果表明, 固定化甲烷八叠球菌在短水滞留期、高 COD 负荷情况下, 仍得到较高的 COD 去除率和较高的产气量, 明显高于非固定化甲烷八叠球菌。

[参考文献]

[1] Lin Yingfeng, Chen Kuochen. Denitri fication and

methanogenesis in a co-immobilized mixed culture system[J]. Wat Res, 1995, 29(1): 35—43.

[2] Karube I, et al. Methane production from wastewaters by immobilized methanogenic bacteriz[J]. Biotechnol and Bioeng, 1980, 12: 847—857.

[3] 闵 航等. 聚乙烯醇包埋厌氧活性污泥处理废水的最优化条件研究[J]. 环境科学 1994, 15(5): 10—14.

[4] 王建龙, 施汉昌. 聚乙烯醇包埋固定化微生物的研究进展[J]. 工业微生物, 1998, 28(2): 35~ 39.

[5] 杨秀山等. 固定化甲烷八叠球菌研究-甲烷八叠球菌富集分离和固定化[J]. 中国环境科学, 1997, 17(3): 268—270.

[6] 杨秀山等. 固定化甲烷八叠球菌研究——厌氧颗粒污泥的形成[J]. 中国环境科学, 1998, 18(4): 356—359.

[7] 田 沈等. 固定化甲烷八叠球菌提高甲烷化作用研究[J]. 应用于环境生物学报, 1999, 5(增刊): 80—83.

[8] 杨秀山等. 固定化甲烷八叠球菌(Methanosarcina) 处理豆制品废水研究[J]. 首都师范大学学报, 1999, 20(2): 63—69.

A NEW METHOD FOR METHANOGEN IMMOBILIZATION AND ITS CHARACTERISTICS OF METHANOZATION

Tian Shen¹, Zhao Jun¹, Cao Yali¹, Luo Haipeng¹, Wu Chuangzhi², Yuan Zhenhong², Yang Xiushan¹

(1. Department of Biology, Capital Normal University, Beijing 100037, China;

2. Institute of Energy Resources, China Academy Science, Guang Zhou 510070, China)

Abstract: A combined technique of adsorption and entrapment was conducted to immobilize Methanosarcina to overcome the shortcomings in immobilized methanosarcina using PVA as the entrapment matrix. The characteristics of the immobilized Methanosarcina were demonstrated using UASB reactor with defined strength organic wastewater and soybean cake wastewater. The results indicated that the highest COD loading rate, the highest COD removal rate, the shortest hydraulic retention time, and the methane content were reached up to 14.7 kg COD/(m³·d), 94.3%, 16.4h and 65%~ 73%, respectively for the defined wastewater. The highest COD loading rate of 17.6g COD/(m³·d), the average COD loading rate of 8.2kg COD/(m³·d), the shortest hydraulic retention time of 13.7h, the highest biogas production rate of 7L/(d·L), the highest COD removal rate of 87.0% and the average COD removal rate of 70.4% for soybean cake wastewater were accomplished. The average biogas production rate and COD removal rate were 15.2 and 1.2 times higher than that of unimmobilized one in the performance of soybean cake wastewater treatment. Good precipitating and degassing of immobilized Methanosarcina by the combined technology of adsorption and entrapment were obtained.

Keywords: adsorption and entrapment; immobilized Methonasarcina; methanozation

联系人 Email: xsyang@mail.cnu.edu.cn