

## 对处理不同废水的几种厌氧消化器生物量 中优势产甲烷菌的观察

杨秀山

(北京师范大学生物系,北京)

Andrea Tilche

(核能和可选择能源委员会,意大利)

近年来,人们对城市废水、工业废水和农业废物的厌氧消化产生极大的兴趣。厌氧消化不仅是减少有机物污染的便利方法,而且在此处理系统中能得到正的能量平衡。

厌氧消化器中的生物量一般由四个主要细菌类群组成。有机物完全有效地转化为甲烷,需要这些细菌的相互代谢作用。否则,即引起甲烷产率的降低,甚至整个厌氧消化过程遭到失败<sup>[1]</sup>。在对厌氧消化的微生物学研究中,产甲烷菌(methanogens)更加引起研究者的注意。这不仅因为此类菌是有机物甲烷化过程中的最后一组成员,而且它们生长缓慢、底物要求苛刻,因此在发酵器内保留足够量的产甲烷菌是厌氧处理过程正常进行的关键。

在有机物厌氧消化的甲烷化作用中,70%以上的甲烷来自乙酸的裂解<sup>[2,3]</sup>。而就目前所知,只有甲烷丝菌和甲烷八叠球菌能裂解乙酸产生甲烷<sup>[4]</sup>,这两种产甲烷菌被称为乙酸裂解产甲烷菌(acetoclastic methanogens)。它们在厌氧消化产甲烷系统中起着极其重要的作用。尽管甲烷丝菌和甲烷八叠球菌在生理代谢特性上有很大不同,前者具低的底物生长率( $\mu_{max}$ )和低的半饱和常数( $K_s$ ),即高的底物亲合性,而后者具高的底物生长率和高的半饱和常数,即低的底物亲合性<sup>[5,6]</sup>,而在处理各种有机废水的厌氧消化器生物量中,甲烷丝菌为优势的产甲烷菌。

此研究的目的在于通过对几种处理不同废水的厌氧消化器生物量的观察,了解其中优势的产甲烷菌组成。

### 材料和 方法

#### (一) 消化器

本实验所用的实验室规模消化器为处理城市废水的厌氧滤器(AF)和上流式厌氧污泥床(UASB),处理酒精蒸馏废水的厌氧折流式反应

器(ABR)和上流式厌氧污泥床,以及处理猪场废物的厌氧折流式反应器。

#### (二) 样品制备和观察

样品取自于上述各厌氧消化器运转结束前的生物量。用 JENALUMAR A/D CONTRAST 光学显微镜对染色和活体样品(用上射荧光或上射荧光与正相差,或上射荧光与亮视野干扰)进行观察。用 PHILIPS SEM 505 扫描电子显微镜对生物量进行扫描电镜观察。为扫描电镜观察的样品制备过程为:样品在含有 2.5% 的戊二醛的磷酸缓冲液(0.05 mol/L, pH 7.2)中固定 30 min,固定液的渗透性与所取样品的渗透性相同(其渗透性用 Herhmann Robling Automatic Micro-osmometer 进行测定)。固定后以相同的缓冲液洗样品 30 min,然后对样品进行系列梯度乙醇脱水,接着用 CPD (020 BLAZERS UNION) 极点干燥仪(Critical Point Drier)以液体 CO<sub>2</sub> 干燥样品,最后进行样品镀金。

### 结 果

取自各消化器的样品进行了以可见光为光源的染色样品观察和对活体样品的荧光显微观察。对染色样品的观察结果表明,各消化器生物量中的主要优势产甲烷菌为甲烷丝菌。在处理城市废水的 AF、UASB,以及处理酒精蒸馏废水的 ABR 和 UASB 中,除了甲烷丝菌外,还发现了数层和包裹大小不等的甲烷八叠球菌。此外,还发现了其它的微生物形态类群,如不同大小的杆菌和球菌等。通过荧光显微观察,甲烷八叠球菌在 420 nm 波长处呈蓝绿色荧光,且荧光消失较快。甲烷丝菌不显荧光或很弱。这两种产甲烷菌用上射荧光与亮视野干扰观察,根据所产荧光能力很易区别。另外,通过荧光观察还发现了产生荧光的,光

本文于 1988 年 4 月 11 日收到。

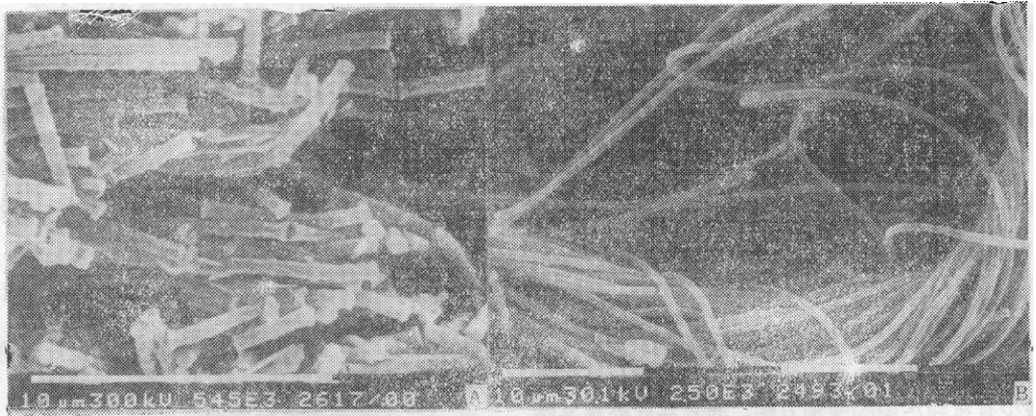


图1 甲烷丝菌的扫描电子显微镜照片

A. 甲烷丝菌的典型细胞形态特征； B. 甲烷丝菌的长丝状和面条状群体形态特征。



图2 甲烷八叠球菌的扫描电子显微镜照片

A. 以颗粒形式存在于消化器中的甲烷八叠球菌； B. 以包裹形式存在于消化器中的甲烷八叠球菌。

态上与甲酸甲烷杆菌 (*Methanobacterium formicicum*) 形态相似的甲烷杆菌。

取自各消化器的生物量多以絮状污泥存在,呈黑色。只有处理酒精蒸馏废水的 UASB 中的生物量以颗粒污泥存在,其中多数颗粒为浅黄色,少数呈黑色,直径 1—3 mm 不等,此颗粒污泥具较好的沉降性能和高的甲烷化活性。

扫描电子显微镜观察结果表明,甲烷丝菌在各消化器的生物量中占有优势。图 1 为甲烷丝菌的扫描电子显微镜照相。图 1-A 为甲烷丝菌的典型特征,即细胞末端平齐、细胞与细胞之间膨大、呈竹节状。图 1-B 揭示出了甲烷丝菌的长丝状和成束的面条状群体形态特征。

扫描电子显微镜的观察还表明,除了处理猪场废物的 ABR 生物量中未发现甲烷八叠球菌外,于其它消化器内的生物量中均发现有甲烷八

叠球菌(图 2)。特别是在处理酒精蒸馏废水的 ABR 中,甲烷八叠球菌与甲烷丝菌混为一起。图 2-A 揭示出了存在于处理酒精蒸馏废水的 ABR 生物量中的一种细胞排列规则、群体呈颗粒状的甲烷八叠球菌。这种多个包裹聚集在一起形成颗粒的形式较之以沉聚形式或大小不同包裹形式(图 2-B)有较高的沉降性能。

## 讨 论

在处理不同废水的 AF、ABR 和 UASB 消化器的生物量中,观察到了以甲烷丝菌为优势菌的产甲烷菌。除了处理猪场废物的 ABR 生物量外,于其它消化器的生物量中均有甲烷八叠球菌存在。特别是在处理酒精蒸馏废水的 ABR 生物量中,甲烷八叠球菌是另一种优势产甲烷菌。从观察结果得知,甲烷八叠球以三种形式存在于消

化器内。一种是在具滤膜或填充物的消化器内以多细胞沉聚在一起; 第二种是以大小不等的包裹存在于絮状污泥中与甲烷丝菌混在一起或附着在颗粒污泥上; 第三种是以颗粒状保留在消化器内。所以, 采用在消化器内填加附着物, 使消化器中的生物量形成较大的絮状污泥和进一步使生物量形成颗粒污泥, 可保留甲烷八叠球菌于消化器内。

甲烷丝菌和甲烷八叠球菌的鉴别主要根据它们是厌氧消化器生物量中的优势产甲烷菌、典型的细胞形态特征和荧光显微观察, 即甲烷八叠球菌在 420 nm 波长处产生蓝绿色荧光及典型形态特征, 而不产生荧光或很弱荧光的甲烷丝菌则主要依据它们在生物量中所占的优势及细胞末端整齐、细胞与细胞间膨大、呈竹节状而被识别。

由于甲烷八叠球菌生长繁殖的生命循环<sup>[6]</sup>, 以及它生长的生理代谢特性, 它很易以单细胞或小的包裹形式随排出液流出消化器, 而在具有附着物的消化器内则可以沉聚形式保留在附着物上, 在 ABR 和 UASB 中, 大的甲烷八叠球菌颗粒或包裹可部分地保留在生物量中, 尽管在后两种消化器内高的有机物负荷和高的表面负荷率 (superficial loading rate) 被提供, 甲烷八叠球菌可附着于颗粒上<sup>[7]</sup>, 而 ABR 是一折流式反应器, 且在此系统中有生物量的循环, 致使甲烷八叠球菌的包裹和颗粒得以保留。

甲烷丝菌和甲烷八叠球菌是迄今为止发现的乙酸裂解产甲烷菌, 它们在有机物厌氧消化系统中起着非常重要的作用。其中甲烷丝菌由于其长丝状形态特征, 在消化器内易于存留, 并在处理可溶性废水的 UASB 中可形成颗粒污泥。尽管甲烷八叠球菌在厌氧消化器中是一重要的乙酸裂解产甲烷菌<sup>[8]</sup>, 研究者们也从消化器的生物量中观

察到了甲烷八叠球菌<sup>[7,9,10]</sup>, 但要保留大量的甲烷八叠球菌于生物量中, 最重要的是要克服此菌在厌氧处理系统中容易流失的问题。根据此菌形成包裹和沉聚的特点, 生产上可采用厌氧过滤器和厌氧接触床反应器, 使之得以在生物量中积累。根据此菌与甲烷丝菌生理代谢特性的不同, 可以设计两步消化器, 使甲烷八叠球菌在高乙酸浓度、低 pH 值的第一步中得到积累, 并充分发挥它的高  $\mu_{max}$  和  $K_s$  的能力, 而在第二步中, 需低乙酸浓度、高 pH 值的甲烷丝菌得到积累, 使两步消化器的每一步分别适合于甲烷八叠球菌和甲烷丝菌的生长代谢, 进一步提高厌氧废水处理效率。

## 参 考 文 献

- [1] Chartrain, M. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(5): 1147—1156, 1987.
- [2] Mccarty, P. L. et al.: *Environ. Sci. Technol.*, 20(12): 1200—1206, 1986.
- [3] Harper, S. R. et al.: *Biotech. Bioeng.*, 28: 585—602, 1986.
- [4] Wang, Sy-Ying C. et al.: *Anaerobic Treatment a Growthup Technol.*, Water Treatment Conference, 15—19 Sept., 1986, R1A Halls—Amsterdam, The Netherlands, 1986.
- [5] Brummeler, E. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 49(6): 1472—1477, 1985.
- [6] Ralph, W. R.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 52(1): 17—27, 1986.
- [7] Wu, Weimin et al.: *Water Res.*, 21(7): 789—799, 1987.
- [8] Boone, D. R. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(7): 1699—1700, 1987.
- [9] Chartrain, M. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 51(1): 188—196, 1986.
- [10] Robinson, R. W. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 48(1): 127—136, 1984.

## OBSERVATIONS OF PREDOMINANT METHANOGENS ON BIOMASS FROM AF, ABR, AND UASB REACTORS TREATING DIFFERENT WASTEWATERS

Yang Xiushan

(Beijing Teacher's College, Beijing)

Andrea Tilche

(ENEA, Italy)

The biomass taken from AF, ABR, and UASB digesters treating municipal wastewater, swine waste and molassese stillage wastewater, municipal and molassese stillage wastewater respectively, were observed by light, epifluorescence microscope and scanning electron microscope. The prevalent methanogens in these digesters were *Methanotrix*. Exception for ABR carried out to treat swine waste, *Methanosarcina* with three forms of aggrega-

tions, cysts, and granules were presented in other digesters. A suggestion can be made that reactors with packing materials, such as, anaerobic filters, anaerobic contact beds and two-phase methanation digesters can be used to accumulate *Methanosarcina* due to their morphological,  $\mu$  max, and  $K_s$  characteristics, in order to increase the wastewater treatment efficiency further.