

# 高活性厌氧颗粒污泥稳定性及基质代谢 和种间氢转移的研究<sup>\*</sup>

赵一章 邓 宇 尹小波 张 辉 唐 一 连莉文

(农业部厌氧微生物重点开放实验室 成都 610041)

**摘 要** 选择了几种废水形成的厌氧污泥,进行了稳定性、基质代谢及种间氢转移的研究。颗粒化的污泥对盐、pH、酶作用、温度、压力等外界条件影响有一定的抗性,在丙酸代谢中,丙酸对颗粒污泥抑制浓度可达 1000mg/L,而絮状污泥在 500mg/L 就被明显抑制,并比较了两者的最大比产甲烷速率和氢酶活性,在种间氢转移实验中,乙醇对颗粒污泥的抑制浓度比絮状污泥要高,颗粒污泥在各方面的性能都明显优于絮状污泥,还对颗粒污泥的物理特性及保存方式进行了初步研究。

**关键词** 颗粒污泥,稳定性,基质代谢,种间氢转移

在厌氧颗粒污泥形成和微生物组成研究基础上<sup>[1-6]</sup>,本实验室开展了与生产过程密切相关的颗粒稳定性研究和颗粒化对基质代谢和种间氢转移影响的研究。颗粒化污泥的物理特性直接关系到厌氧消化器能否实现其优良的沉降性能并达到最有效地截留微生物菌群。颗粒化的某些物理和化学特性直接关系到种泥的运输和贮藏,具有重要的实际生产意义。本实验将力图在这一方面做一些新的研究,使结果能在生产中起到一定的指导和参考作用。种间氢转移是厌氧消化一大特性,直接反映在乙醇转化中的种间氢转移的研究,将从微生物菌群间的共生互营关系上显示颗粒的优良性能。这方面的研究与颗粒形成机理同样具有现实意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

几种废水形成的絮状污泥和颗粒污泥已有描述<sup>[7]</sup>。

### 1.2 方法

**1.2.1 产甲烷含量分析:**采用 SC-3 气相色谱仪、热导检测器,桥电流选用 180mA,载气流速 50ml/分,柱温 40℃。

**1.2.2 产甲烷菌氢化酶活性分析:**Peck 的改进法作酶反应条件;产氢量采用气相色谱法分析,热导检测器,柱填料 Porapak-Q,保留值 30",进样量 500 $\mu$ l,柱前压 0.8kg/cm<sup>2</sup>,桥电流 100mA。

**1.2.3 试样的最大比产甲烷速率( $V_{max}$ )的测定:**见文献<sup>[8]</sup>。

\* 本研究为“七五”国家攻关项目。

本文于 1993 年 4 月 5 日收到。

1.2.4 挥发性固体(VSS)测定:见文献[8];SVI及湿比重的测定见文献[7]。

2 结果和讨论

2.1 厌氧颗粒污泥的物理特性

生物反应器的关键是维持微生物在数量和活力方面的优势、厌氧消化中污泥颗粒化相对弥补了厌氧微生物生长缓慢和菌体截留的问题。颗粒污泥物理性质首先表现在优良的沉降性能上。颗粒的这一作用能使微生物通过沉降保留在主要反应区——污泥床内。我们测定了屠宰废水、丙酮丁醇废水混合消化液的沉降性能,对有关物理性质进行了测定。其污泥指数SVI和颗粒湿密度测定结果见表1。

表1 颗粒污泥SVI和颗粒湿密度  
Table 1 Wet specific gravity and SVI of granular sludge

颗粒污泥类型 Granular sludge type	湿密度 Wet specific gravity	SVI(ml/g)
人工配水形成的颗粒污泥 Granular sludge formed from synthetic wastewater	1.06	17
屠宰废水形成的絮状颗粒 Granular sludge formed from slaughter house wastewater	1.04	31
丙酮丁醇废水形成的颗粒污泥 Grnular sludge formed from acetone & butanol wastewater	1.05	22

从我们所观察的几种颗粒污泥来看,较之絮状污泥沉降性能有较大提高,均能在上流过程中较迅速返回污泥层,且保持了一定结构稳定性。

2.2 厌氧颗粒污泥稳定性能

颗粒污泥在运转及贮藏过程中稳定性具有重要的意义。我们对不同颗粒、在不同环境条件下的稳定性进行了测定。

盐浓度在2—10g/L时颗粒结构没有明显影响,但对甲烷生成有一定的影响。结

表2 盐浓度对颗粒污泥的影响  
Table 2 Effect of salt concentration on granular sludges

NaCl (g/L)	对颗粒结构的影响 Effect on structure of granular sludges		甲烷产生情况 Methanogenesis	
	B	A	B	A
2	—	—	++	+
4	—	—	++	—
6	—	—	++	—
8	—	—	++	—
10	—	—	+-	—
CK	—	—	+++	++

注:A:屠宰废水 Slaughter house wastewater;  
B:丙酮丁醇废水 Acetone & butanol wastewater.

表3 pH对颗粒污泥的影响  
Table 3 Effect of PH on granular sludges

pH	对颗粒结构的影响 Effect on structure of granular sludges		甲烷产生情况 Methanogenesis	
	A	B	A	B
2.0	+	+	—	—
4.0	+	—	+	—
6.0	—	—	++	+
8.0	—	—	++	—
10.0	—	—	—	—
12.0	+	+	—	—
14.0	+	+	—	—
CK	—	—	+++	++

注:A:屠宰废水 Slaughter house wastewater;  
B:丙酮丁醇废水 Acetone & butanol wastewater.

果又看出不同基质的颗粒污泥对盐浓度敏感程度不一样。屠宰废水颗粒在10g/L时仍能

较正常产气,而丙酮丁醇废水则 4g/L 就很难产气,受到了明显的抑制(表 2)。

pH 对颗粒污泥功能的影响是明显的<sup>[9]</sup>。试验的两种颗粒在 pH 小于 4.0 和大于 10 产甲烷能力受到明显抑制,颗粒表面结构完整性也受到一定的破坏,而屠宰废水颗粒污泥表现了较好的缓冲能力(表 3)。

部分酶对颗粒污泥的影响差异较大。胃酶处理两种颗粒均明显解体,并且对甲烷产生也有明显抑制。而纤维素酶和胰酶对颗粒结构没有影响,且对甲烷产生有明显刺激作用。这可能和底物水解促成产甲烷基质前体增加有关(表 4)。

这一结果可能给我们以如下提示,纤维素酶有明显促进产甲烷作用,产纤维素酶细菌有可能促使甲烷的产生。

除极端温度(100℃)外,一般采用的嗜热发酵温度和压力对颗粒污泥产甲烷无多大影响,其结果见表 5。

表 4 几种酶对颗粒污泥的影响

Table 4 Effect of several enzymes on granular sludges

处 理 Treatment	对颗粒结构的影响 Effect on structure of granular sludges		甲烷产生情况 Methanogenesis	
	A	B	A	B
1%胰酶 Trypsin	—	—	+++	++
1%纤维素酶 Cellulase	—	—	++++	+++
1%胃 酶 Pepsin	+	+	—	—
CK	—	—	++	++

注:A:屠宰废水 Slaughter house wastewater;

B:丙酮丁醇废水 Acetone & butanol wastewater。

表 5 温度和压力对颗粒污泥的影响

Table 5 Effect of temperature and pressure on granular sludges

处 理 Treatment	对颗粒结构的影响 Effect on structure of granular sludges		甲烷产生情况 Methanogenesis	
	A	B	A	B
65℃水浴 Water bath	—	—	+	+
100℃水浴 water bath	—	+	—	—
2个大气压 2 atm	—	—	++	++
CK	—	—	+++	++

注:A:屠宰废水 Slaughter house wastewater;

B:丙酮丁醇废水 Acetone & butanol wastewater。

考虑到在生产中颗粒污泥可能遭受风干干燥、紫外光等因素影响,其活性能否保持,我们设计了几组试验,其结果如下。

35℃风干(培养皿薄层风干两天)和 65℃烘干的颗粒对甲烷产生没有明显影响。这可

能和颗粒中“微环境”的小生态环境有关。在 5—7 天的延迟期后,都能很正常进行甲烷发酵,说明各类型微生物种群未遭受明显破坏。而湿包装的厌氧保藏的颗粒污泥则没有明显的延迟(图 1)。

紫外线照射对颗粒污泥没有明显影响,其结果基本相似于厌氧保存处理的结果。说明紫外线照射只是对颗粒表面菌群有影响。

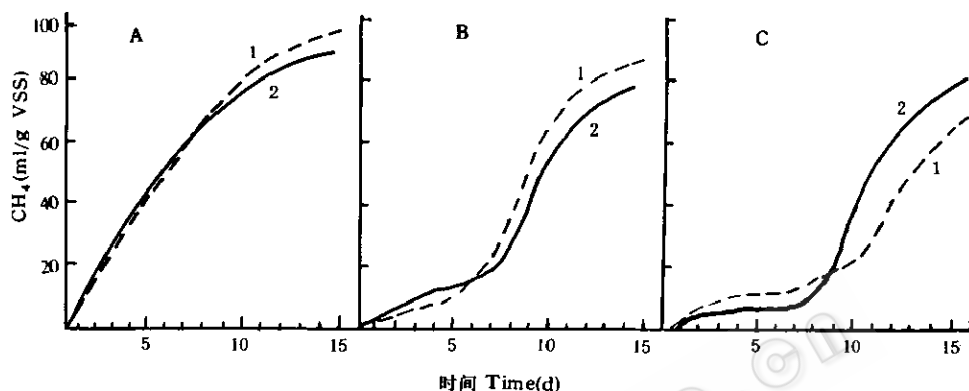


图 1 颗粒污泥保藏方式对甲烷产生的影响

Fig. 1 Effect of type of granular sludges preservation on methanogenesis

1. 丙酮丁醇废水 Acetone & Butanol wastewater;

2. 屠宰废水 Slaughter house wastewater;

A. 厌氧保藏 Anaerobic preservation; B. 常温风干 Room dry; C. 65℃烘干 Dry in 65℃.

## 2.3 颗粒化对基质代谢的影响

选用了厌氧消化过程影响较大的丙酸作为基质,对屠宰废水颗粒污泥和絮状污泥的代谢能力进行了观察,说明在颗粒内部存在有序的互营共生关系,使产氢产乙酸菌所生成的  $H_2$ ,能迅速地被产甲烷细菌所消耗而维持低的氢分压,使反应能顺利进行<sup>[10]</sup>。表 6 为丙酸抑制浓度比较试验的结果。

从表 6 可以看出,污泥颗粒化对丙酸代谢抑制浓度可达 1000mg/L,表明颗粒对丙酸代谢有较大的缓冲能力,而分散状态的污泥则在 1000mg/L 时,已完全不能产生甲烷,在 500mg/L 时就出现明显抑制。这说明分散的污泥与颗粒污泥比较,代谢能力明显要弱些。结果还表明,颗粒污泥在所有不同的基质浓度内,转换成甲烷的能力均明显高于分散状的污泥。综上可表明,就代谢能力而言,颗粒状污泥的基质代谢速率明显高于分散状污泥。颗粒污泥和絮状污泥在代谢能力上的差异,直接表现在它们最大比产甲烷速率和产甲烷氢酶活性的差异上<sup>[11]</sup>。我们采用屠宰废水两种污泥进行氢酶和最大比产甲烷速率的测定(表 7),就清楚地说明它们在产甲烷活力上所表现出来的显著差异。

## 2.4 颗粒化对种间氢转移的影响

本实验力图观察颗粒化对不同浓度乙醇的转化状况,说明颗粒对种间分子氢转移的影响。我们采用不同浓度乙醇加乙酸作为测定基质,乙酸钠作为诱导参比基质,结果能清晰地发现颗粒化对不同浓度的乙醇基质的影响。

表 6 两种污泥丙酸代谢的比较试验(屠宰废水污泥, 100ml 35℃ 培养)

Table 6 Comparison of propionic acid metabolism between flocculent sludge and granular sludge (Slaughter house wastewater sludge, 100ml, incubated in 35℃)

污泥样品 sludges		颗粒污泥作为接种物 Inoculum of granular sludge										絮状污泥作为接种物 Inoculum of flocculent sludge					
丙酸浓度 Propionic acid concentration (mg/L.)		3000	2000	1000	700	500	300	100	3000	2000	1000	700	500	300	100		
实验种泥加量 Inoculum (g VSS)		0.22	0.22	0.22	0.23	0.22	0.22	0.23	0.25	0.24	0.24	0.24	0.25	0.25	0.26		
培养 24 小时 Incubated for 24 h	CH <sub>4</sub> (ml/gVSS)	0	0	1.72	16.36	62.22	87.27	83.43	0	0	0	3.31	21.12	56.64	56.00		
	CO <sub>2</sub> (ml/gVSS)	39.20	40.32	41.44	48.16	45.92	33.60	24.64	26.88	23.52	19.48	23.86	22.62	20.10	10.66		
培养 48 小时 Incubate for 48 h	CH <sub>4</sub> (ml/gVSS)	0	0	1.72	32.34	130.9	125.2	94.9	0	0	0	15.36	58.56	92.96	-		
	CO <sub>2</sub> (ml/gVSS)	24.64	24.64	23.52	34.72	38.08	29.12	17.92	14.56	22.40	22.40	33.60	34.72	25.74	-		

表 7 两种污泥对产甲烷活性影响的比较试验

Table 7 Comparison of methanogenesis activity of granular sludge and flocculent sludge

屠宰废水污泥 Sludge of slaughter house wastewater	VSS	V <sub>max</sub> CH <sub>4</sub> μmol/(gVSS·h)	H <sub>ase</sub> H <sub>2</sub> μmol/(gVSS·10min)
颗粒污泥 Granular sludge	8.4mg/ml	438.5	230.8
絮状污泥 Flocculent sludge	8.2mg/ml	306.6	155.5

采用屠宰厂絮状颗粒污泥经多次漂洗,选择完整的 0.5—0.7mm 的颗粒进行试验。对比污泥是同一种类型废水的分散状非颗粒污泥。我们测定了氢的生成累积和甲烷含量,其结果见表 8。

表 8 颗粒化和乙醇浓度对种间氢转移现象的影响(培养 5.5 小时)

Table 8 Effect of granulation and concentration of ethanol on interspecies H<sub>2</sub> transfer

处 理 Treatment	乙 醇 Ethanol		供试污泥(g) Sludge		MA 培养基(ml) MA medium	H <sub>2</sub> (ml/gVSS)	CH <sub>4</sub> (ml/gVSS)
	ml	%	湿重 Weight	VSS	(含 NaAc30mg/瓶)		
颗粒污泥 Granular sludge	4.0	13.3	1.532	0.121	26.0	0	0
	2.0	6.7	1.556	0.124	28.0	0	18.09
	1.5	5.0	1.533	0.121	28.5	4.50	54.76
	0.7	2.3	1.540	0.122	29.8	9.14	73.80
	0.5	1.7	1.532	0.121	29.5	13.71	76.66
	0.3	1.0	1.525	0.121	29.7	32.0	87.10
	0.2	0.7	1.535	0.121	29.8	9.14	95.23
	0	0	1.591	0.120	30.0	0	60.00
絮状污泥 Flocculent sludge	4.0	13.3	1.520	0.132	0	0	0
	2.0	6.7	1.520	0.132	26.0	6.85	10.24
	1.5	5.0	1.520	0.132	28.0	13.75	36.09
	0.7	2.3	1.520	0.132	28.5	18.3	48.70
	0.5	1.7	1.519	0.132	29.9	32.6	57.07
	0.3	1.0	1.520	0.132	29.7	37.10	62.92
	0.2	0.7	1.521	0.132	29.8	13.20	90.24
	0	0	1.528	0.133	30.0	4.75	51.70

本实验结果表明,颗粒化和非颗粒化的分散状污泥受乙醇抑制的浓度不同。如果定对照(不加乙醇)最终可产 60ml CH<sub>4</sub>,则<60ml 为出现抑制状况。颗粒化污泥要高达 5%的乙醇浓度才出现明显抑制,而分散状的污泥则在 1.6%即出现抑制状况,说明颗粒化的污泥明显耐受高乙醇浓度。实验结果还可看出,颗粒化的污泥,其产甲烷量在所有浓度范围内均高于分散状的污泥。而分散状的污泥 H<sub>2</sub> 积累水平普遍高于颗粒污泥。实验结果还表明,对乙醇的最适浓度为 0.6%,当乙醇浓度达 6.6%以上时,则会出现 H<sub>2</sub> 和 CH<sub>4</sub> 产生双重抑制。

颗粒与非颗粒污泥不同浓度发酵中,H<sub>2</sub> 和 CH<sub>4</sub> 含量的差异显著。在出现乙醇抑制的 1.6—6.6% 区段分散污泥 H<sub>2</sub> 的积累差不多是完整颗粒的 2 倍,说明颗粒化对消除 H<sub>2</sub> 积

累的反馈抑制明显要小得多,生成的甲烷明显要高些。这可能是因为颗粒化优化了反应器菌群的合理组合,使产氢产乙酸菌和产甲烷菌有较好的共生关系,从而使种间代谢速率加快,结果提高了总的有机物降解效率<sup>[12]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] Lettinga G *et al.* *Biotechnol Bioeng*, 1980, 21: 699-734.
- [2] Dolfing J. Ph D Thesis of University of Wageningen. Netherlands, 1987. 7-56.
- [3] Wu Weimin, Hu Jicui, Gu Xiasheng *et al.* *Wat Res*, 1987, 21: 789-799.
- [4] Hulshoff P, Lettinga G *et al.* *Wat Sci Technol*, 1986, 18: 41-53.
- [5] Lettinga G, Dolfing J *et al.* *Proc of GASMT Workshop. Netherlands*, 1987. 25-27.
- [6] Guiot S R, Panass A, Costerton J W *et al.* *Proc of 6th Int Symp on Anaerobic Digestion. Sao Paulo*, 1991. 1-9.
- [7] 赵一章, 张 辉, 唐 一, 等. *微生物学报*, 1994, 34 (1): 45-54.
- [8] Benefield L. D. *Biological Process Design for Wastewater Treatment*. Prentice-Hall Inc, 1980.
- [9] Attal A, Ehlinger F, Faup G M *et al.* *Proc of 5th Int Symp on Anaerobic Digestion. Bologna*, 1988. 51-56.
- [10] Honwen F P. Ph D Thesis Dept of Microbiology Wageningen Agriculture University. Netherlands, 1990. 17.
- [11] 连莉文, 姚蓉, 张辉, 等. *微生物学报*, 1988, 28 (1): 1-5.
- [12] Vanderhaegen B, Ysebaert E, Verstraete W *et al.* *Proc of 6th Int Symp on Anaerobic Digestion. Sao Paulo*, 1991. 21-30.

## STUDY ON STABILITY SUBSTRATE-METABOLISM AND INTERSPECIES H<sub>2</sub> TRANSFER OF GRANULAR SLUDGE WITH HIGH ACTIVITY

Zhao Yizhang Deng Yu Yin Xiaobo Zhang Hui Tang Yi Lian Liwen

(The Key-open Laboratory of Anaerobic Microbiology  
of Ministry of Agriculture, Chengdu 610041)

**Abstract** Anaerobic sludges formed in several kinds of industrial wastewater were selected for the study on stability, substrate-metabolism and interspecies H<sub>2</sub> transfer. Granular sludge have tolerance towards some effect of salt, pH, some enzymes, temperature and pressure etc. As for test of metabolism, propionic acid inhibitive concentration on granular sludge is 1000 mg/L, while propionic acid inhibitive concentration on flocculent sludge is 500mg/L. And comparison of their V<sub>max</sub> and Hase was also did. The result of interspecies H<sub>2</sub> transfer indicated that the ethanol inhibitive concentration on granular sludge is much higher than flocculent sludge. All character of granular sludge is much better than flocculent sludge. Also, the physical characteristics of granular sludge and preserve methods were researched.

**Key words** Granular sludge, Stability, Substrate-metabolism, Interspecies H<sub>2</sub> transfer