

厌氧产氢细菌发酵类型和生态学的研究

李白昆

(北方交通大学土木建筑系 100044)

吕炳南 任南琪

(哈尔滨建筑大学市政与环境学院)

摘要: 本文在厌氧污泥处理高浓度有机废水的基础上, 为了提高厌氧产氢细菌的产氢能力, 采用间歇厌氧培养实验对产氢菌群生态学进行了研究。产氢菌群生态位、生态因子和种间协同作用的研究表明, O_2 、pH 值、COD 浓度的变化会引起发酵类型的变化。在厌氧产氢污泥中分离纯菌, 通过发酵污泥混菌与纯菌的产氢能力的比较, 表明了菌群间协同作用在产氢发酵中的作用。以白糖为供氢体, 混菌的最大产氢能力达 $84.4 \text{ ml H}_2/\text{g 菌体} \cdot \text{h}$ 。提出了乙醇型发酵的最优控制因素。

关键词: 有机废水处理 发酵产氢 生态学 种间协同作用

氢气是厌氧产酸相发酵的产物。有机废水产酸发酵类型有丁酸型发酵^[3,4], 丙酸型发酵^[5,6]和新近发现的乙醇型发酵^[7]。前两种发酵类型都不同程度地存在丙酸产率高, 因而对后继产甲烷相带来潜在危害。乙醇型发酵产物以乙酸、乙醇为主, 发酵气体中含有大量的 H_2 。无论从产氢量和产甲烷相的底物方面, 乙醇型发酵均有较高的优越性。但是如何从生态理论研究乙醇型发酵, 进而达到最佳的产氢效果, 国内外较少有研究成果。

为提高厌氧产氢细菌的产氢能力, 本项实验在采用厌氧活性污泥处理高浓度有机废水的同时, 制取氢气, 充分利用厌氧活性污泥的特性, 将污水处理与生物制氢工艺相结合; 在产酸相厌氧污泥中分离纯菌, 筛选出产氢能力最高的纯菌; 测定不同环境条件 (O_2 , COD 浓度, pH 值) 对发酵类型的影响; 提出乙醇型发酵的最佳控制因素。为今后产氢菌的理论研究和应用提供了必要的理论依据。

1 试验材料及方法

本项研究的种泥取自哈尔滨制革厂的好氧活性污泥, 置于静态厌氧培养罐进行培养驯化。培养环境为 $\text{COD}=25000 \text{ mg/L}$, $\text{pH}=4.0\sim 5.0$, 温度 $T=36^\circ\text{C}$ 。静态培养罐体积为 2L。试验底物采用白糖, 补充少量 N, P, 使

污水中 $\text{COD}:\text{N}:\text{P}=500\sim 1500:5:1$ 。
分析项目如下:

分析项目	分析方法	频率
COD	重铬酸钾法	常规
pH	精密 pH 试纸	常规
MLSS	重量法	定期
液相发酵产物	气相色谱法氢火焰	定期
气相发酵产物	气相色谱法热导池	定期

经过两个月的培养, 测定结果表明发酵气体中 H_2 含量达 50%, 产气旺盛, 即采用改进的 Hungate 厌氧分离法对厌氧产氢污泥进行分离纯化^[8], 本试验共分离出 12 种产氢菌, 经过筛选淘汰, 选出 4 种产氢能力较高 (比产氢能力 $>15 \text{ ml H}_2/\text{g 菌体} \cdot \text{h}$) 的菌株 (编号分别为 N01, N04, N05, N06), 再从中选出产氢能力最高 (比产氢能力 = $50.04 \text{ ml H}_2/\text{g 菌体} \cdot \text{h}$) 的纯菌 (N05)。因试验时间和试验经费的限制, 本试验仅对 4 种纯菌进行了形态观察, N05 纯菌电镜照片如图 1。

在产氢能力试验中, 分别取厌氧活性污泥混菌 50ml, N05 纯菌 10ml, 用恒温水浴控制温度, 采用静态产氢试验装置测定产氢能力 (如图 2)。

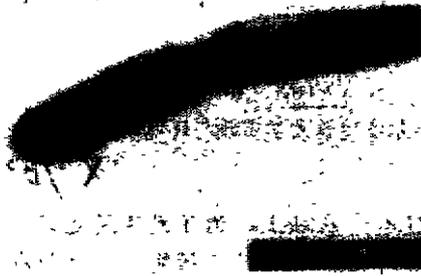


图1 No5 纯菌电镜照片 (放大1.0万倍)

2 试验结果及分析

2.1 生态位和生态位分离的研究

生态位 (niche) 是一个种的生存和繁殖受到 n 个环境因子制约, 则构成一个 n 维的超体积生态位^[9]。生态位分离是指在稳定生境中, 不同种群在同一生境中长期存在时, 有各自不同的实际生态位, 从而避免了种群间长期而又激烈的斗争。

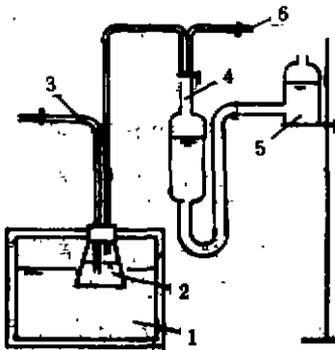


图2 厌氧静态测氢装置

- 1 恒温水浴箱 2 锥形瓶 3 进料管
4 气体测定仪 5 水准瓶 6 取样口

厌氧活性污泥静态培养的初期环境为 $\text{COD}=25000\text{mg/L}$, $\text{pH}=4.0\sim 5.0$, 温度 $T=36^\circ\text{C}$, 兼性厌氧。培养一个月, 至1994年4月20日, 将培养环境改进为绝对厌氧。在此环境下, 再培养三个月, 对培养罐内发酵产物和产氢情况进行了测定, 测定结果见表1。

从表1可以看出, 兼性厌氧环境下, 厌氧细菌的末端产物主要以丙酸、乙酸为主, 乙醇、 H_2 产量极低, 表现为典型的丙酸型发酵。

绝对厌氧培养初期, 代谢产物马上转化为以丁酸、乙酸为主, H_2 产量有所上升, 表现为典型的丁酸型发酵。此发酵类型进行一个月后, 发酵产物以乙醇、乙酸为主, H_2 产量稳定, 发酵类型已转至乙醇型发酵, 并持续至本试验结束, 表现了乙醇型发酵的良好稳定性。

表1 发酵污泥培养期间代谢产物组成
($\text{COD}=25000\text{mg/L}$, $\text{pH}=4.0\sim 5.0$, 温度 $T=36^\circ\text{C}$)

日期	乙酸 (mM)	丙酸 (mM)	丁酸 (mM)	乙醇 (mM)	气相组成 (%)		备注
					H_2	CO_2	
4月4日	14.31	8.27	0.57	0.5	11.49	25	O_2 占 64%
4月12日	16.46	9.81	0.94	7.2	14.7	25	O_2 占 61%
4月26日	24.26	7.6	2.93	8.0	47	53	无 O_2
5月9日	25.26	3.98	14.6	9.3	55	45	无 O_2
5月23日	16.3	1.4	7.4	11.3	47	53	无 O_2
6月7日	19.0	2.9	0.6	10.1	53	47	无 O_2
7月22日	41.6	2.6	0.85	73.2	56	44	无 O_2
8月12日	69.2	0.7	19.8	73.4	60	40	无 O_2
8月29日	40.0	7.0	18.7	43.3	48	52	无 O_2

结合厌氧培养期间的测定结果和生态位理论, 我们建立了 pH 值、 O_2 分压与种群之间的关系 (见图3)。如图所示, 三种发酵细菌的生态位因环境不同而自动分离。其中, 丙酸型发酵细菌属于兼性厌氧菌, 而丁酸型发酵细菌和乙醇型发酵细菌属于专性厌氧菌, 后者对厌氧的要求较前者高。

兼性状态下, 丙酸型发酵细菌的生态位与环境相符合, 成为优势菌群, 而其它两种细菌的生态位偏离所处环境, 活性极低。因此, 在有氧时, 发酵类型为丙酸型发酵。当培养环境为绝对厌氧时, 环境适宜于丁酸型、乙醇型发酵细菌的生长, 丙酸型发酵细菌代谢活性降低。但由于乙醇型发酵所需要的厌氧条件较丁酸型发酵更为严格, 因此, 在绝对厌氧初期, 发酵类型为丁酸型发酵, 稳定一段时间后, 乙醇型发酵细菌的生态位与环境相吻合, 则乙醇型发酵占优势。

通过以上分析, 可以得出以下结论: 在

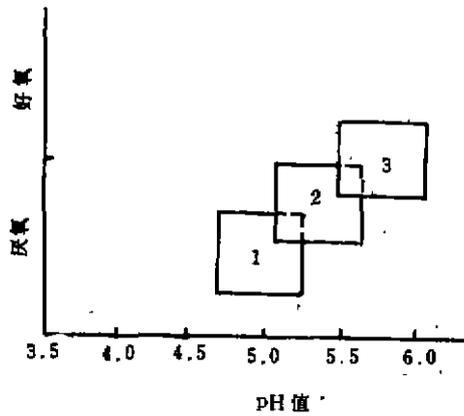


图3 三种发酵细菌生态位的关系

1. 乙醇型发酵细菌 2. 丁酸型发酵细菌 3. 丙酸型发酵细菌

一个稳定的生境中，不同种群占据着一定生态位，当某一种群生态位恰好处于环境中限制性因子集合时，此种群成为优势种群。因此，在实际应用中，应利用微生物适宜的环境条件，人为创造有利环境，促使所需种群处于优势地位。

2.2 菌种间协同作用

在菌种种间协同试验中，分别取生长状况良好的No1、No4、No5、No6纯菌各10ml，按四种混合顺序加以混合。在COD = 35000mg/L，pH=5.0，温度=35℃的环境下，测定产氢能力。同时还测定了在相同环境条件下，厌氧污泥混菌与No5纯菌的产气情况。液相组成及气相组成见表2。

表2 菌种间协同作用的产氢能力

混和菌种	液相产物组成(mM)				气相组成(%)		最大产氢能力 (mlH ₂ /g 菌体·h)
	乙酸	丙酸	丁酸	乙醇	H ₂	CO ₂	
No.1.4.5.6.	47.3	1.72	8.0	42.21	50	50	84.4
No.1.4.5	43.3	1.72	5.3	38.3	47	53	64
No.1.5.6	38.9	0.7	3.0	31.3	42.3	47.7	30.2
No.1.4	10.9	1.72	5.3	27.4	42.5	57.5	45.5
No.5.	20.3	0.75	2.3	70.2	50	50	80
厌氧污泥混菌	93.5	24.5	0.5	90.2	60	40	76.4

表2测定结果表明：No5纯菌和五种混合菌液相发酵产物均以乙醇，乙酸为主，发酵气体组成仅含H₂，CO₂，且H₂含量为50%左右，表现出典型的乙醇型发酵。可以看出，只要保证厌氧环境及酸性条件，用驯化好的厌氧产氢污泥即可以获得乙醇型发酵的良好稳定性。其中No1.4.5.6混菌最大产氢能力达84.4mlH₂/g 菌体·h，表明该项产氢技术具有一定的推广价值。

产气曲线表明，厌氧活性污泥混菌产气量最大，反应停滞期最短。其次为四种纯菌的混合物。而产氢能力最大的No5纯菌株的产气量并不占优势。产气曲线和表2的测定结果显示：随着混合菌种数量的减少，产气量呈下降趋势，液相产物和最大产氢能力降低。这是因为，多种类细菌间的协同作用，使代谢产物不易积累，相互创造有利的生存环境，使各菌群的代谢活性充分发挥⁽¹⁰⁾。因此，本文认为，菌种的多样化在生境中所起的作用高于单一高效菌株的作用。在实际应用中，应选用不同产氢菌进行混合，充分利用菌种间协同作用，以达到最佳产氢效果。

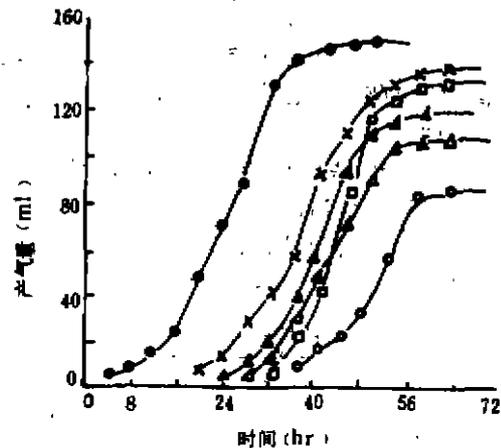


图4 菌种间协同作用的产气曲线

× No.1.4.5.6 ▲No.1.4.5 △No.1.5.6
○No.1.4 ●厌氧污泥混菌 □No.5纯菌

2.3 影响产氢发酵的生态因子

生态因子是微生物生存场所中，对微生物生长发育具有直接或间接影响的因素。在本项试验中，影响生物产氢发酵的生态因子

有 O₂、COD 浓度、pH 值。下面,就它们对发酵产氢的影响做一简介。

(1) O₂ 对发酵类型的影响

在乙醇型发酵中,如果某一生态因子(尤其是生境中氧气含量)发生改变,则发酵类型随之改变。本项试验在稳定的乙醇型发酵运行中,由于偶然的装置事故,发酵罐漏气达 1 天,测定结果见表 3。

表 3 漏气前后,测定的混菌发酵产氢能力

	乙酸 (mM)	丙酸 (mM)	丁酸 (mM)	乙醇 (mM)	气相组成(%)		备注
					H ₂	CO ₂	
漏气	15.7	38.3	15.3	14.1	7	20	O ₂ 占 73%
厌氧 一周后	40	4.6	10.3	38.7	30	70	无 O ₂

测定结果表明,漏气时,发酵类型转至丙酸型发酵,气相组成中, H₂ 含量仅占 7%。重新恢复至厌氧环境,经过一周发酵,乙醇产量占优势, H₂ 产量恢复至 30%,为典型的乙醇型发酵。

由生态学原理分析可知,当空气进入系统中,丙酸型发酵细菌将成为优势菌群,而其它两种发酵细菌活性受到抑制。当转入厌氧环境时,丙酸型发酵细菌利用反应罐内残留的空气,直至环境为绝对厌氧,此时,乙醇型发酵细菌的生态位与环境相吻合,成为优势菌种。

(2) COD 浓度和 pH 值对菌群的影响

将厌氧活性污泥置于两个发酵罐内,采用如表 4 所示的两种方式进行静态培养。从 1994 年 3 月培养至 1994 年 7 月,测定两罐

表 4 I、II 罐的培养方式(温度=36℃)

	3月20日~ 4月20日	4月21日~ 5月20日	5月21日~ 7月20日
I 罐	COD= 8000mg/L pH= 4.0~5.0	COD= 8000mg/L pH= 7.0	COD= 25000mg/L pH= 4.0~5.0
II 罐	COD= 25000mg/L pH= 4.0~5.0	COD= 25000mg/L pH= 4.0~5.0	COD= 25000mg/L pH= 4.0~5.0

内生物相组成。结果表明: I 罐优势菌群为酵母菌, II 罐主要为产氢产乙酸菌。

这说明,生态因子(如 COD 浓度、pH 值)的频繁变化,对细菌发酵途径、优势菌群都有着深刻影响,使产氢菌在竞争中逐渐处于弱势,最后,导致产氢菌全部丧失活性,优势菌被酵母菌所取代,不产生 H₂。近年来,有人提出,在中性条件下培养厌氧产氢菌,之后,在酸性条件下制取 H₂。从以上的试验结果可以看出,外界环境的改变,会使产氢菌的活性受到损害,不再成为优势菌群。因此,上述提法尚需探讨。

3 结论

(1) 结合生态位理论和试验结果,论证了生态因子(O₂、pH 值、COD 浓度)的变化会引起生境内优势菌种的改变,只有在绝对厌氧环境下,才能进行乙醇型发酵。

(2) 稳定的生态系统应是菌种多样化,而不应是单一菌种。对于产氢体系而言,最佳运行方案应是不同产氢菌相混合,这样,生态系统稳定性高,产氢量大。

(3) 在适宜的环境条件下,厌氧产氢混菌最大产氢能力为 84.4mlH₂/g 菌体·h,表明已具备推广价值。

4 参考文献

- 1 陈陶声,居乃斌. 固定化酶理论与应用. 北京:轻工业出版社,1987; 326~328
- 2 Karubel. i. et al.. Biochem. Biophys. Acta, 1976; 4: 338~444
- 3 Cohen, A. et al.. Influence of Phase Separation on the Anaerobic Digestion of Glucose. Water Res., 1982; 16: 445~449
- 4 Kisaalita, W. S. et al.. Acidogenic Fermentation of Lactose. Biotech & Bioeng., 1987; 30: 88~95
- 5 Donanyos, M. et al.. Water Sci. Technol., 1985, 17: 191
- 6 Breure, A. M. et al.. Appl. Microbiol. Biotech., 1984; 20: 40
- 7 任南琪,王宝贞. 有机废水产氢发酵的生理生态学分析,中国沼气,1995; 1: 1~5
- 8 俞毓馨等. 环境工程微生物检验手册,北京:中国环境科学出版社,1990; 122
- 9 任南琪. 水污染控制微生物学,哈尔滨:黑龙江科技出版社,1993; 120
- 10 翁稣颖. 环境微生物学. 北京:科学出版社,1985; 150

低温和近中温猪粪液厌氧处理的装置比较研究

徐洁泉 胡伟 汤玉珍 何捍东 吴修荣 张辉 连莉文

(农业部沼气科学研究所 成都 610041)

710.3

摘要: 作了 UBF、UASB 和厌氧上折流反应器处理猪粪过筛液运行性能的实验室比较。结果表明: 它们的运行指标基本一致。综合比较, UBF 略优于 UASB, UASB 略优于上折流反应器。在发酵温度 10℃ 段, 负荷 1.9~2.3gCOD/(L·d), 装置产气率平均 0.32~0.51L/(L·d), COD 平均去除率 82.2%~91.0%; 15℃ 段, 负荷 2.5~2.6gCOD/(L·d), 装置产气率 0.57~0.59L/(L·d); 25℃ 段, 负荷 5.5~5.7gCOD/(L·d), 装置产气率 1.93~2.01L/(L·d)。

关键词: 厌氧消化 猪粪处理

1 前言

一个万头猪场通常日排放污水上百吨, 浓度约 10gCOD/L~20gCOD/L。用普通水压式沼气池处理这类污水, HRT 至少在二、三十天以上, 且 COD 去除率不高 (60% 左右), 产生的沼气甲烷含量仅 60%。采用先进的第三代厌氧消化装置, 如 UBF 和 UASB 等只需数天 (HRT), 且 COD 去除率达 80% 以上, 沼气甲烷含量达 70% 以上。因此, 应用先进的厌氧装置和工艺, 能够节省投资和大幅度提高处理效率。

目前, 我国一些研究者乐于采用适于低

SS 有机废水处理的 UBF 和 UASB 反应器, 以及能承受较高 SS 负荷冲击的、效率较高的上折流厌氧反应器。但是, 这三种代表性厌氧装置处理低 SS 猪粪水的性能系统比较, 至今未见报导。本研究的目的是, 在同样的低 SS 进水水质、HRT、发酵温度和接种物条件下, 对处于稳定运行水平的这三种反应器的性能进行系统比较, 确定优选的装置、工艺条件和能达到的运行效果, 以便应用于沼气工程建设, 拓展技术和社会经济效益。

2 材料和方法

2.1 进水

On the Fermentation Type and Ecology of Anaerobic Hydrogenogenic Bacteria

Li Baikun

(Northern Jiaotong University, Beijing, 100044)

Abstract: On the basis of the anaerobic treatment of high strength wastewater, batch anaerobic culture is employed to research the hydrogenogenic bacteria. According to the research on niche, ecological factors and coordination among bacterium, it indicates that the change of O_2 , pH, COD concentration may lead to the change of fermentation type. Pure hydrogen producing bacteria were isolated from anaerobic fermentation sludge. By using refined sugar as substrate, the largest H_2 production was 84.4 ml H_2 /g bacteria · h. The comparison on hydrogen producing ability between sludge mixed and pure bacteria shows that coordination among bacteria plays a major role in hydrogen producing. The ecological factors of ethanol type fermentation is put forward.

Keyword: Organic wastewater treatment, Bio-producing hydrogen, Ecology, Coordination

(本文收稿: 1996-06-12)