

硫酸盐还原过程中乙酸型代谢方式的形成及其稳定性

王爱杰,任南琪,杜大仲,徐潇文,吴丽红

(哈尔滨工业大学市政环境工程学院,哈尔滨 150090, E-mail: waj05782003@163.com)

摘要:通过产酸脱硫反应器处理高浓度硫酸盐废水的连续流试验,考察了不同试验阶段硫酸盐去除率和产气量稳定期,液相末端产物中挥发酸组成的变化、乙酸的分布特征、微生物种群组成和种群间关系。试验结果表明,各试验阶段液相末端产物中乙酸的分布比例高达 50%~82%,微生物群体呈现特定的乙酸型代谢方式。乙酸型代谢方式本质上是产酸相反应器处理硫酸盐废水过程中,硫酸盐还原菌(SRB)与产酸菌(AB)建立起生物链式协同代谢关系,并通过非完全氧化型方式分解有机物,从而在末端产物中积累大量乙酸。乙酸型代谢方式的形成取决于利用乙酸的硫酸盐还原菌(ASRB)的竞争能力和它对乙酸的利用能力。乙酸型代谢方式可以为后续产甲烷相反应器提供适宜的底物,对提高硫酸盐废水处理系统的效率和运行稳定性具有重要意义。

关键词:硫酸盐还原;乙酸型代谢;硫酸盐还原菌;废水处理

中图分类号:X703.1;TP18 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2004)02-0073-04

Formation of an Acetic-acid Type Microbial Metabolism Pathway and Its Stability During the Course of Sulfate-reduction

WANG Ai-jie, REN Nan-qi, DU Da-zhong, XU Xiao-wen, WU Li-hong

(School of Municipal & Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China E-mail: waj05782003@163.com)

Abstract: Continuous-flow experiment was conducted in an acidogenic sulfate-reducing reactor supplied with molasses as sole carbon resource and sulfate sodium as electron acceptor. The composition of Volatile fat acid (VFA) in terminal liquid products, the distribution of acetic acid, the existence of microbial populations and the interspecific relationship between sulfate-reducing bacteris (SRB) and acidogenic bacteria (AB) were investigated in different experimental stages when sulfate removal rate and gas production maintained at a relatively stable status. The experimental results showed that an acetic-acid type microbial metabolism pathway was formed based on the fact that the proportion of acetic acid in terminal liquid products was as high as 50% to 82%. It was also explained the formation of acetic-acid type microbial metabolism pathway was resulted from acetic acid accumulation in the terminal liquid products, which was subjected to the bio-chain cooperation relationship between populations of SRB and AB, and the incomplete-oxidation of organic substance in acidogenic-phase reactor of two-phase anaerobic treatment process. It was also presented that the formation of acetic-acid type microbial metabolism pathway depended on the capability of acetic-acid utilized SRB (ASRB) population competing against other populations and its ability of acetic acid consumption. Furthermore, this kind of metabolism pathway could offer suitable carbon resource for methane producing reactor in the two-phase anaerobic treatment process, and has significant effect on the sulfate removal rate of the whole treatment system and its running stability.

Key words: sulfate-reduction; acetic-acid type microbial metabolism pathway; sulfate-reducing bacteris (SRB); wastewater biological treatment

目前,利用两相厌氧工艺系统的产酸相反应器处理高浓度硫酸盐废水的研究倍受关注,主要研究成果集中在:Czako^[1]和 Reis 等人^[2]证明两相厌氧工艺的产酸作用和硫酸盐还原作用可以同时进行,且具有显著的优越性;Sarnier^[3]用厌氧滤池作为两相厌氧工艺的产酸相反应器处理纸浆废液,进水 COD 为 19 300 mg/L, SO_4^{2-} 为 5 225mg/L, pH 为 6~6.3 时, SO_4^{2-} 的还原率可达 63%,工艺系统的 COD 去除率达 90%以上;Gao^[4]利用 CSTR 型两相厌氧工艺处理含乳清的硫酸盐废水,产酸相反应器进水 COD 为 8 500mg/L, SO_4^{2-} 为 1000 mg/L, pH

为 6.1~6.2 时,硫酸盐还原率可达 88%,工艺系统的 COD 去除率达 95%以上;左剑恶等人^[5]在此基础上发展了“硫酸盐还原-生物脱硫-产甲烷”三相串联新工艺,也取得了较好的运行效果。但是,上述研究多偏重于工艺探讨,未对产酸相工艺单元处理硫酸盐废水的生物学特性和特殊现象做深入考察。本研究采用产酸脱硫反应器^[6]处理高浓度含硫酸盐

收稿日期:2003-05-06;修订日期:2003-06-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50208006);哈尔滨工业大学科学研究基金资助项目(HIT. 2001. 51)

作者简介:王爱杰(1972~),女,博士,副研究员,主要从事环境生物技术、微生物生态学和废水生物处理等领域的研究。

废水,通过连续流试验考察不同试验阶段液相末端产物中挥发酸的组成变化、乙酸的分布特征、微生物种群组成和种群间关系等,以期为硫酸盐还原过程中乙酸型代谢方式的形成原因找到合理的判据。

1 试验材料与方法

1.1 反应器的快速启动

本研究采用的产酸脱硫反应器如图 1 所示。反应器启动时 $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-} = 5.0$ ($\text{SO}_4^{2-} = 600 \text{ mg/L}$), 采用人工配水,以糖蜜废水作为有机碳源(COD),硫酸钠做电子受体(SO_4^{2-})。接种生物量(MLVSS)为 8.2 g/L ,SRB 计数为 $2.1 \times 10^{10} \text{ 个/mL}$,硫酸盐(SO_4^{2-})负荷率(N_s)为 $1.0 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 。随 SO_4^{2-} 去除率的提高,以 $0.5 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 的递增梯度提高 N_s 。第 40 天时, N_s 提高到 $3.0 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, SO_4^{2-} 去除率超过 70%,MLVSS 提高至 15.1 g/L ,SRB 计数为 $4.3 \times 10^{14} \text{ 个/mL}$,标志着快速启动成功,提高 SO_4^{2-} 浓度为 1000 mg/L ,进入正常试验阶段。各试验阶段操作见表 1。

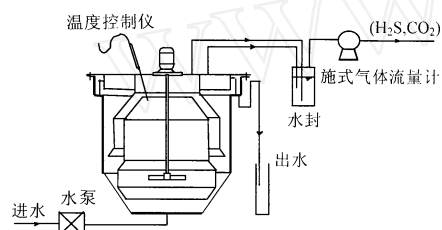


图 1 产酸脱硫反应器及工艺

Fig. 1 Apparatus and process of acidogenic sulfate-reducing reactor

表 1 产酸脱硫反应器的运行操作

Table 1 The operational conditions of acidogenic sulfate-reducing reactor

试验阶段	操作条件				
	$\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$	$\text{COD}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{SO}_4^{2-}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	$N_s/\text{kg} \cdot (\text{m}^3 \cdot \text{d})^{-1}$	HRT/h
快速启动	5.0	3000	600	1.0	14.4
降低 $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$	3.0	3000	1000	4.0	6.0
提高 $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$	4.2	4200	1000	4.0	6.0
降低 $\text{COD}/\text{SO}_4^{2-}$	2.0	4200	2100	10.0	4.8

1.2 SRB 的计数与分离

SRB 计数采用中国石油天然气行业标准 SY/T0532/93,油田注入水细菌分析方法——绝迹稀释法(部颁标准)^[7]。SRB 分离与纯化的培养基采用 Postgate 培养基的改进配制方法^[8],细菌计数、分离纯化、鉴定的操作均采用改进的 Hungate 技术^[9]。主要分析项目与方法见参考文献^[9]。

2 结果与讨论

2.1 乙酸型代谢方式及其稳定性

产酸脱硫反应器本质上是一个特殊功能的产酸反应器。因此,其最重要的 2 项指标是微生物的代谢类型和酸化率^[9]。代谢类型指依据酸性末端产物中脂肪酸的分布判断微生物的群体代谢途径,酸化率则指液相末端产物中挥发性脂肪酸浓度(Volatile fat acid,VFA,以 COD 计)占进水 COD 浓度的百分比。

表 2 比较了产酸脱硫反应器与典型产酸反应器在相同运行条件下发酵类型的区别。按 Cohen 等人^[10]的划分,典型产酸反应器的发酵类型为丁酸型,其液相末端产物中 VFA 的分布比例为乙酸 21%,丙酸 7%,丁酸 70%。产酸脱硫反应器中有一很明显的现象,即尽管各试验阶段的运行条件有所不同,但液相末端产物中乙酸均为主要成分,其分布比例占 50%~82%,丙酸含量很少,只有 2%~5%,甚至没有乳酸。从图 2 也可反映出不同试验阶段挥发酸的产量和乙酸的分布比例。笔者定义这种乙酸在液相末端产物中的分布比例占绝对优势的酸化过程为“乙酸型”代谢^[9]。从各试验阶段看,“乙酸型”代谢方式具有很强的稳定性。

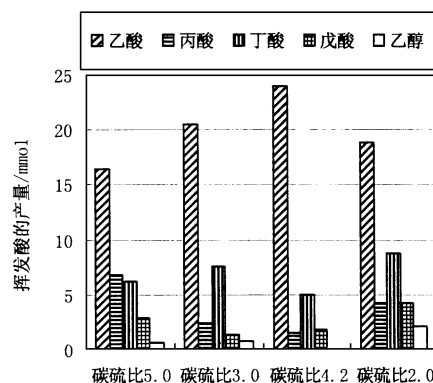


图 2 不同试验阶段挥发酸的产量与分布

Fig. 2 The products of various VFA at each stage

2.2 乙酸型代谢方式的特征

以葡萄糖为初始碳源的硫酸盐还原反应过程中 COD 的去除量与 SO_4^{2-} 的还原量之比可以用 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{SO}_4^{2-}$ 表示^[9]。由计算可知,如果葡萄糖酸化后形成的有机酸全部用来还原硫酸盐,其 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{SO}_4^{2-}$ 在 0.67~1.0 之间。但是,本研究结果表明,乙酸型代谢的 $\Delta\text{COD}/\Delta\text{SO}_4^{2-}$ 为 0.68~1.26(见表 3)。

表 2 产酸脱硫反应器与典型产酸相反反应器的酸性末端产物分布的比较

Table 2 Comparison of end-products distribution between acidogenic sulfate-reducing reactor and a typical acidogenic one								
反应器 ¹⁾	COD/ SO ₄ ²⁻	液相末端产物中挥发性脂肪酸(VFA)的分布/ mmol L ⁻¹					酸化率	乙酸分布比例
		乙酸	丙酸	丁酸	乳酸	乙醇	/ %	/ %
产酸脱硫反应器 (乙酸型代谢)	5.0	16.42	6.84	7.11	2.88	0.58	55.2~70.5	50.3~53.9
	3.0	20.55	2.44	7.51	1.41	0.76	65.2~83.4	56.8~77.6
	4.2	23.93	1.47	4.92	1.84		62.4~90.6	58.5~82.0
	2.0	18.78	4.15	8.78	4.27	2.06	45.7~62.8	54.8~62.2
典型的产酸相反反应器(丁酸型发酵)		9.32	3.85	21.74	3.55	3.44	20.4~41.5	18.2~25.5

1) 2 个反应器的结构与规模相同,运行条件均为 pH=6.0~6.2,COD 容积负荷率为 15kg/(m³·d),HRT=6.0h.

表 3 乙酸型代谢的 COD 去除率和 ΔCOD/ ΔSO₄²⁻ 变化

Table 3 The COD removal rate and the change of ΔCOD/ ΔSO ₄ ²⁻ in microbial acetic-acid type metabolism							
编号	原水/ mg L ⁻¹		ΔCOD/ ΔSO ₄ ²⁻	气相末端/ %		COD 去除率	SO ₄ ²⁻ 还原率
	COD	SO ₄ ²⁻		H ₂	H ₂ S	/ %	/ %
1	3012	950	1.18	2.25	95.6	32.5	87.5
2	4255	1080	1.26	1.95	96.2	28.5	88.5
3	4520	1450	1.15	2.04	95.5	33.2	90.2
4	4630	1552	1.02	1.75	93.4	38.3	91.5
5	4250	2050	0.72	1.85	96.8	28.7	82.5
6	4155	2100	0.68	1.81	97.3	28.0	81.0

再者,一般酸化过程的 COD 去除率为 10%~20%^[9],而表 3 中乙酸型代谢的 COD 去除率为 28%~40%,即乙酸型代谢的 COD 去除率比一般酸化过程提高了 10%~20%,显然损失的 COD 被 SRB 用于还原硫酸盐和增加生物量了.

2.3 乙酸型代谢方式的成因分析

2.3.1 种群间生物链式协同代谢关系

从微生物种群间关系看,产酸脱硫反应器中存在着如图 3 所示的生物链式协同代谢关系.产酸菌(AB)代谢产生乙酸、H₂ 和 3 碳以上的挥发酸(VFA,如丙酸、丁酸和乳酸).H₂ 可被利用 H₂ 的硫酸盐还原菌(HSRB)作底物,VFA 可被利用 3 碳以上挥发酸的硫酸盐还原菌(FSRB),包括利用丙酸的硫酸盐还原菌(p-SRB)、利用乳酸的硫酸盐还原菌(l-SRB)和利用丁酸的硫酸盐还原菌(b-SRB)做底物产生大量乙酸,VFA 亦可被产氢产乙酸菌(HPA)利用产生乙酸和 H₂,乙酸被利用乙酸的硫酸盐还原菌(ASRB)做底物,H₂ 又可被 HSRB 利用.因此,

AB、SRB 和 HPA 之间通过这种底物供给式关系构建起一条生物链.在此生物链中,若乙酸在液相末端中积累,则会加速乙酸型代谢方式的形成.而乙酸是否在末端积累很大程度上取决于 2 方面: p-SRB、l-SRB 和 b-SRB 的竞争能力是否超过 ASRB; ASRB 对乙酸的利用能力.

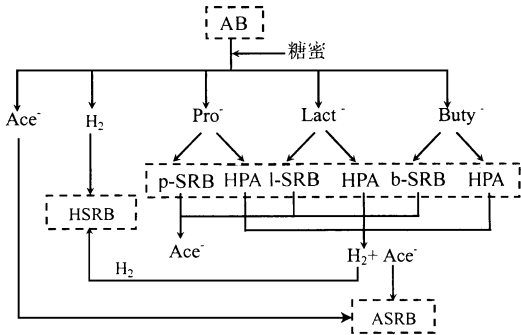
2.3.2 热力学原因

表 4 列出 SRB 利用几种有机酸的反应式及其标准自由能变化^[9].可见,从热力学角度,SRB 将优先利用乳酸、丙酸和丁酸做电子供体,而乙酸是第 2 位选择.本研究也发现 SRB 利用有机酸的硫酸盐还原速率从大到小依次为:乳酸>丙酸>丁酸>乙酸.其热力学上的规律恰与试验结果吻合.

表 4 SRB 以有机酸为碳源的硫酸盐还原反应

Table 4 Sulfate-reductions supplied with VFA as sole carbon resource			ΔG ^{0'}
碳源	反应式		/ kJ·mol ⁻¹
乙酸	CH ₃ COO ⁻ + SO ₄ ²⁻ → 2HCO ₃ ⁻ + HS ⁻		- 47
丙酸	2CH ₃ CH ₂ COO ⁻ + 1.5SO ₄ ²⁻ → 1.5HS ⁻ + 0.5H ⁺ + 2HCO ₃ ⁻ + 2CH ₃ COO ⁻		- 88.8
丁酸	CH ₃ CH ₂ CH ₂ COO ⁻ + 1.5SO ₄ ²⁻ → CH ₃ COO ⁻ + 2HCO ₃ ⁻ + 0.5H ⁺ + 1.5HS ⁻		- 84.0
乳酸	2CH ₃ CHOHCOOH + SO ₄ ²⁻ → 2CH ₃ COO ⁻ + HS ⁻ + 2HCO ₃ ⁻		- 160.3

笔者认为,SRB 利用乙酸的硫酸盐还原速率最低的原因一方面是由 SRB 利用乙酸的标准自由能所决定的,更重要的原因是产酸脱硫反应器中底物浓度(COD)不是限制因子,在底物资源丰富的生境中,出于快速利用底物和保存能量的目的,必然是 FSRB 种群在竞争过程中逐渐形成优势种群,通过非完全氧化型分解代谢方式利用丙酸、乳酸和丁酸



Ace⁻:乙酸 Pro⁻:丙酸 Lact⁻:乳酸 Buty⁻:丁酸

图 3 硫酸盐还原过程中微生物的生物链式协同关系

Fig. 3 Bio-chain in acidogenic sulfate-reducing reactor

等 VFA,终产物为乙酸^[9]. 乙酸型代谢方式则是这种生物链式协同代谢关系的必然产物.

本研究中 3 个试验阶段稳定期 SRB 种群计数结果和液相末端产物中挥发酸的组成比例如表 5 所示. 可见,优势种群的数量关系为: l-SRB > p-SRB >

b-SRB > ASRB. 这与末端产物中 VFA 的组成刚好对应. 即 ASRB 种群的竞争能力远远低于 p-SRB、l-SRB 和 b-SRB,而且它对乙酸的利用能力又相对较低. 这构成了乙酸型代谢方式形成的充要条件.

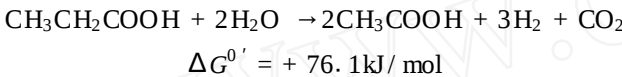
2.3.3 HSRB 和 HPA 的贡献

表 5 各试验阶段 SRB 种群计数结果和液相末端产物中挥发酸的组成比例

Table 5 Enumeration of the different microbial populations in different experiment stage

碳硫比	SRB 计数/个·mL ⁻¹					液相末端产物中挥发酸的组成比例/ %			
	l-SRB	p-SRB	HSRB	b-SRB	ASRB	乙酸	丁酸	丙酸	乳酸
3.0	4.1 ×10 ¹⁵	2.8 ×10 ¹⁵	3.3 ×10 ¹⁴	2.7 ×10 ¹³	7.4 ×10 ¹¹	64.7 ±3.1	20.2 ±1.31	0.06 ±0.01	0.03 ±0.05
4.2	8.9 ×10 ¹⁵	2.1 ×10 ¹⁵	1.7 ×10 ¹⁴	6.5 ×10 ¹²	1.4 ×10 ¹⁰	72.2 ±2.3	14.4 ±0.25	0.05 ±0.01	0.04 ±0.01
2.0	7.7 ×10 ¹³	3.5 ×10 ¹³	4.3 ×10 ¹²	9.5 ×10 ¹¹	3.7 ×10 ¹¹	58.5 ±1.4	20.5 ±1.02	0.1 ±0.05	0.1 ±0.01

从图 4 不同试验阶段的微生物计数结果看,产酸脱硫反应器中存在大量的 HSRB 和 HPA. 大量 HSRB 可迅速利用 H₂ 来还原硫酸盐,从而减少了能量损失,维持着反应器内较低的氢分压. 而 HPA 的产氢产乙酸反应速率恰恰依赖于氢分压的下降. 产氢产乙酸反应为吸能反应,如沃林互营杆菌 (*Syntrophobacter wolinii*) 氧化分解丙酸盐为乙酸盐、H₂ 和 CO₂ 的反应:



只有当反应体系中氢的浓度(氢分压)降到较低水平,反应才能正向进行. 如 HPA 对丁酸的产氢产乙酸反应必须在氢分压小于 2 ×10⁻³ 的条件下才能进行,丙酸的产氢产乙酸反应则要求更低的氢分压 (9 ×10⁻⁵)^[9]. 而 HSRB 的存在为降低氢分压提供了前提,提高了厌氧处理过程中至关重要的种间氢转移的效率并在客观上协助了 HPA 的产氢产乙酸反应,因而加速了 VFA 的连锁反应,并在末端积累大量的乙酸.

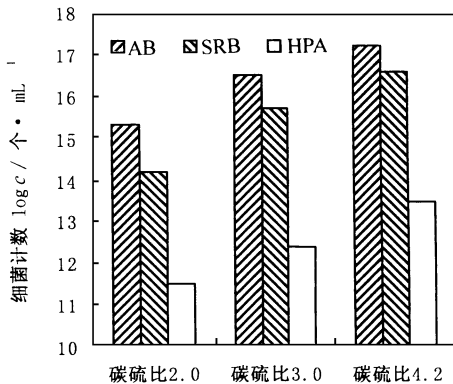


图 4 种群数量分布的影响

Fig. 4 The quantity distribution of populations

2.4 乙酸型代谢方式的重要性

从热力学分析,产酸相的酸性末端产物以乳酸和乙醇为最佳,因为它们在生成甲烷时释放的能量

最多. 但产酸脱硫反应器内特定的生态条件,大量硫酸盐还原菌(如 l-SRB、p-SRB 和 b-SRB 等)的存在使 AB 产生的乳酸、丙酸等难以累积,取而代之的是末端产物中积累大量的乙酸,形成乙酸型代谢. 乙酸型代谢方式对于硫酸盐废水处理系统具有极其重要的意义. 即利用两相厌氧工艺系统的产酸相反应器大量富集 AB 和 SRB,SRB 可有效地利用 AB 的酸化产物(丙酸、丁酸、乳酸等)去除硫酸盐,不但能解除酸化过程的产物抑制,强化产氢产乙酸过程,而且产生的大量乙酸正是后续产甲烷相的优良底物,从而可以大幅度提高工艺系统的处理效率和运行稳定性.

参考文献:

[1] Czako L. Biological Sulfate Removal in the Acidic Phase of Anaerobic Digestion [A]. Fifth International symposium on Anaerobic Digestion (Poster Papers), Bologna, Italy: 1988, 833 ~ 837.

[2] Reis M A M. Sulfate Reduction in Acidogenic Phase Anaerobic Digestion [A]. Proc. Int. Conf. on Water and Wastewater, Microbial, Cam, USA, 1988, 58: 1 ~ 7.

[3] Sarner E. The ANTRIC Filter-A Novel Process for Sulphur Removal and Recovery [A]. Fifth International Symposium on Anaerobic Digestion (Poster Papers), Bologna, Italy: 1988, 889 ~ 892.

[4] Gao Yan. Anaerobic Digestion of High Strength Wastewaters containing High Levels of sulfate [D]. England: Univ. of Newcastle upon Tyne, 1989.

[5] 左剑恶, 胡纪萃. 含硫酸盐有机废水的厌氧生物处理 [J]. 环境科学, 1996, 12 (3): 69 ~ 72.

[6] 任南琪. 一体化有机废水处理产酸发酵设备 [P]. 中国专利: CN98240801.3, 1998-09-21.

[7] SY/T 0532-93, 中国石油天然气行业标准. 油田注入水细菌分析方法-绝迹稀释法 (S).

[8] Postgate J R. The sulfate reducing Bacteria [M]. U.K: Cambridge University Press, 1984.

[9] 王爱杰. 产酸脱硫反应器中 SRB 的生态学研究——顶极群落形成与生态因子调控 [D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2000.

[10] Cohen A. Anaerobic digestion of glucose with separated acid production and methane formation [J]. Wat. Res., 1979, 13: 571 ~ 580.