

UASB 底部活性污泥中优势微生物群系及其对 PTA 生产废水的降解作用

佟 宏

(抚顺石油学院应用化学系,抚顺)

白 毓 谦

(山东大学微生物系,济南)

摘要 处理对苯二甲酸 (PTA) 生产废水的上流式厌氧生物滤床 (UASB) 底部活性污泥中的微生物分析表明,其优势群系为专性好氧菌和兼性厌氧菌。经分离得到 156 株微生物,分别为假单胞菌属、微球菌属、葡萄球菌属、不动细菌属、芽孢杆菌属和酵母菌属。其中大部分菌株可以 PTA 生产废水中某些成分为唯一碳源而生长,而以菌株 T6 对 PTA 降解活性为最高。经鉴定,该菌与类产碱假单胞菌 (*Pseudomonas pseudoalcaligenes*) 很相似,但存在某些差异,尚需进一步研究确定。

关键词 PTA 生产废水;优势微生物区系;假单胞菌

近年来,有关厌氧消化反应器中微生物生态学方面的研究国内外虽有报道,但多是报道产甲烷细菌的生理及生态学特性^[1-3],而对不产甲烷微生物的各种特性报道较少。一般认为,厌氧消化中的不产甲烷细菌主要是专性和兼性厌氧菌。也有人发现厌氧消化中有好氧菌存在,如顾蕴旋等^[4]的研究表明,在沼气发酵过程中的非产甲烷细菌类群除了专性和兼性厌氧菌外,还有好氧的硝化细菌存在。

本文分析了处理对苯二甲酸 (PTA) 生产废水的上流式厌氧生物滤床 (UASB) 底部活性污泥中的微生物主要区系,及其对 PTA 生产废水中各成分的降解利用等情况。

材 料 和 方 法

(一) 样品来源

样品为抚顺石化研究院环保所上流式厌氧生物滤床底部(近污水入口处)的活性污泥;该反应器中部活性污泥。

(二) 培养基

1. 分离好氧菌培养基: 肉膏蛋白胨琼脂培养基。

2. 分离厌氧菌培养基: 葡萄糖琼脂培养基。

基。

3. 碳源利用培养基: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2g, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.5g, K_2HPO_4 0.5g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1g, 碳源 0.2—1%, 蒸馏水 1000ml, pH 6.5。

4. PTA 培养基: $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 1.5g, KH_2PO_4 1.0g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 10mg, NaCl 10mg, CaCl_2 10mg, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10mg, $\text{ZnCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 μg , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 50 μg , H_3BO_3 10 μg , PTA (用 NaOH 溶解) 2g, 蒸馏水 1000ml, pH 8.0。

(三) 好氧条件下的微生物分离

取 5ml 反应器底部和中部活性污泥溶液,用常规稀释法平板分离。

(四) 厌氧条件下的微生物分离^[5]

(五) PTA 降解菌的富集培养与分离

将适量活性污泥溶液接入盛满 PTA 培养基 (另加入 0.05% L-半胱氨酸) 的带磨口玻璃塞的 250ml 三角瓶中,在 30℃ 下培养至细菌明显生长后,取 10ml 培养液重复上述操作,继续富集。富集过程中 PTA 浓度从 10mg/l 逐渐增大到 2000mg/l。富集几代后,分别按前述的方法分离、纯化和保存。

(六) PTA 含量的测定

将试样调 pH ≥ 10 , 双层滤纸过滤后, 用蒸馏水稀释至 1/200, 在 242nm 波长下 (UV-240 型紫外分光光度计) 测定。

(七) 形态观察与生化特性测定^[7-9]

结果和讨论

(一) UASB 反应器中、底部活性污泥中的主要微生物区系

1. 反应器底部: 经好氧分离、纯化后, 共分离出 74 株细菌, 4 株酵母菌。纯化后分别进行鉴定和需氧性测定。试验结果见表 1。

表 1 反应器底部活性污泥中主要微生物区系

好氧性	种 类	株数	百分比 (%)
专性好氧	微球菌属(2 种) <i>Micrococcus</i>	17	21.8
	葡萄球菌属(1 种) <i>Staphylococcus</i>	5	6.4
	不动细菌属(1 种) <i>Acinetobacter</i>	7	9.0
	芽孢杆菌属(1 种) <i>Bacillus</i>	4	5.1
	未定属(1 种)	4	5.1
兼性厌氧	假单胞菌属(1 种) <i>Pseudomonas</i>	31	39.7
	葡萄球菌属(1 种) <i>Staphylococcus</i>	2	2.6
	芽孢杆菌属(1 种) <i>Bacillus</i>	2	2.6
	酵母属(1 种) <i>Saccharomyces</i>	2	2.6
专性厌氧	无		

采用厌氧分离方法从底部活性污泥中共分离出假单胞菌 25 株, 葡萄球菌 6 株, 芽孢杆菌 5 株, 未定属 3 株。采用穿刺接种培养后发现, 所有分离菌在琼脂柱内从底部到表面几乎都生长。证明这些菌株均为兼性厌氧菌, 且其生理生化特性与好氧分离出的兼性厌氧菌一一对应。

2. 反应器中部: 以中部活性污泥为材料, 分别进行好氧和厌氧分离, 结果见表 2。

好氧分离结果显示无菌落生长。而采用厌氧分离, 共得上述 32 株菌。经需氧性试验测

表 2 反应器中部活性污泥中主要微生物群系

好氧性	种 类	株数	百分比 (%)
专性厌氧	棒状杆菌属(1 种) <i>Corynebacterium</i>	12	37.5
	芽孢梭菌属(1 种) <i>Clostridium</i>	9	28.1
	葡萄球菌属(1 种) <i>Staphylococcus</i>	8	25.0
	放线菌属(1 种) <i>Actinomyces</i>	3	9.4
兼性好氧	无		
专性好氧	无		

定, 这些菌均为厌氧菌。

取适量反应器底部活性污泥溶液接入 PTA 培养基中, 在厌氧条件下富集培养。富集几代后分别在好氧和厌氧条件下分离, 纯化。好氧条件下分离到 21 株菌, 厌氧条件下分离到 17 株菌。穿刺接种试验表明, 38 株菌均为兼性厌氧菌。这些菌经鉴定均为假单胞菌属。

上述所有试验表明, 从反应器底部活性污泥中分离到的好氧菌和兼性厌氧菌确系该处的优势微生物区系。另从表 3 可知, 处理 PTA 的 UASB 反应器内必有产甲烷菌群的存在。这进一步说明该反应器内从下至上微生物区系演替过程为好氧及兼性厌氧菌群-厌氧发酵菌群-产甲烷菌群。反应器底部(近污水入口处)活性污泥中有好氧菌、兼性厌氧菌及少量原生动物存在, 说明反应器底部残存一定浓度的氧。而这些微生物的存在可以消耗掉反应器内残留的氧为中部、上部的厌氧发酵菌、产甲烷菌提供良好的厌氧条件, 因而对 PTA 生产废水的厌氧处理具有比较重要的作用。

表 3 PTA 厌氧消化的产气率和气体组分*

滤床类型	COD _{cr} 去除率 (%)	产气率 (m ³ /m ³ 床层d)	产气量 (m ³ /kg COD)	产气中甲烷含量 (%)
陶粒滤床	73.9	8.3	0.46	48

* 表内数据由抚顺石化研究院环保所提供。

(二) 主要细菌区系对 PTA 废水中几种成分的利用

PTA 生产废水含有多种有机成分,其水质情况如表 4。

表 4 PTA 生产废水水质情况*

废水组成	含量 %
对二甲苯	0.007
苯甲酸	0.007
甲基苯甲酸	0.076
邻苯二甲酸	0.003
对苯二甲酸 (PTA)	0.251
4-羧基苯甲醛	0.003
醋酸甲酯	0.125
醋酸	0.1—0.21
乙醛	0.035

* 抚顺石化研究院环保所提供。

本文从反应器底部活性污泥分离菌中选取形态特征具有代表性的 8 株细菌,对 PTA 生产废水中的主要成分 PTA 及其他一些成分进行了微生物利用试验。结果见表 5。

试验结果表明,假单胞菌主要利用 PTA、邻苯二甲酸、苯甲酸、醋酸甲酯、醋酸等;微球菌主要利用醋酸甲酯、醋酸等;葡萄球菌和芽孢杆菌主要利用醋酸;酵母菌主要利用醋酸甲酯;不动杆菌主要利用醋酸、乙醛等。

表 5 微生物对几种有机物的利用情况

碳源 菌株	PTA	苯甲酸	邻苯二甲酸	醋酸甲酯	醋酸	乙醛
T17(假单胞菌属)	++	++	++	++	++	+
T31(微球菌属)	-	+	-	++	++	+
T32(芽孢杆菌属)	-	-	-	+	++	+
T35(酵母属)	-	-	-	++	+	-
T38(芽孢杆菌属)	-	-	-	-	-	-
T39(葡萄球菌属)	-	+	-	+	++	+
T40(不动杆菌属)	-	+	-	+	++	++
T41(微球菌属)	-	+	-	+	++	+

++: 生长旺盛;+: 生长;-: 不生长。

从所分离的假单胞菌中选取菌落生长丰富的 24 个菌株,接种到 PTA 液体培养基中,30℃ 下振荡培养,测定好氧条件下的 PTA 降解率。其中有 6 株培养 48 小时的降解率均在 85% 以上,而 T6 菌株降解率可达 98%。同时进行的厌

氧条件下 PTA 降解率的结果表明,这些菌株静止培养 30 天,降解率一般为 35% 左右。

(三) T6 菌株的分类鉴定

T6 菌株为革兰氏阴性无芽孢杆菌,以极生单鞭毛运动,菌体大小为 $0.5-0.7 \times 1.0-1.5 \mu\text{m}$ (图 1) 在肉膏蛋白胨培养基上生长良好,形成边缘整齐、半透明、奶油状低凸面菌落,24 小时内菌落直径 1—2.5mm。有机化能异养,不发酵。能利用 C_2 以上的碳源为唯一碳源。兼性厌氧。接触酶弱阳性。氧化酶阳性。积累 β -羟基丁酸盐作为碳的贮藏物。精氨酸可作为唯一的碳源。41℃ 可生长。有精氨酸双水解酶。卵黄反应阳性。无反硝化作用。可利用葡萄糖、山梨糖、甘露醇等。产橙色水溶性色素。无荧光色素。最适生长温度为 35℃。最适生长 pH 为 7.5—8.0。G + Cmol% 为 61.1。

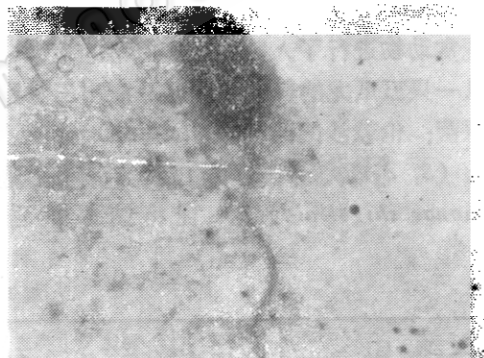


图 1 菌株 T6 的形态
(透射电镜, $\times 10\,000$)

上述特征与类产碱假单胞菌 (*Ps. pseudoalcaligenes*)^[10] 很相似,但二者之间存在一定的差异(表 6)。该菌是否为一新种尚需进一步研究。

表 6 T6 菌株与类产碱假单胞菌的差别

特征	T6 菌株	类产碱假单胞菌
卵黄反应	+	-
葡萄糖	+	-
山梨糖	+	-
甘露醇	+	-
好氧性	兼性厌氧	好氧
41℃ 生长	良好	很差

参 考 文 献

1. 钱泽澍, 闵航: 沼气发酵微生物学, 浙江科学技术出版社, 杭州, 1986 年。
2. Mah R A: *Current Microbiol.*, 3: 321—324, 1980.
3. Zehnder A J B et al.: *Arch. Microbiol.*, 124: 1—5, 1980.
4. 顾蕴旋等: 中国沼气, 4: 10—12, 1985.
5. 白毓谦等: 微生物实验技术, 山东大学出版社, 济南, 1987.
6. 周德庆等: 微生物实验手册, 上海科技出版社, 上海, 1986。
7. 中国科学院微生物研究所细菌分类组: 一般细菌常用鉴定方法, 科学出版社, 北京, 1978 年。
8. 长谷川武治: 微生物の分類と同定, 学会出版センター, 日本, 1985。
9. 周慧玲等: 微生物学报, 18(2): 134—139, 1978。
10. R E Buchanan 等著, 中国科学院翻译组译: 伯杰细菌鉴定手册(第八版), 科学出版社, 北京, 1984 年。