

厌氧混合培养中产甲烷菌和硫酸盐还原菌的动力学竞争

I. 动力学推定的模型及实验方法^{*}

贾晓珊, 李顺义

(中山大学环境科学与工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 产甲烷菌 (MPB) 和硫酸盐还原菌 (SRB) 的竞争是一个有关厌氧处理过程生死存亡的重大问题。研究的目的是提供一个明确实际厌氧过程中 MPB 和 SRB 竞争机理的动力学研究方法。首先, 以 Monod 模型为基准建立了一整套动力学模型用于微生物菌体浓度和诸动力学常数推定。其次, 进行包括乙酸和氢气利用 MPB 和 SRB 的两系列连续培养及批量实验, 为下一步的动力学常数推定及讨论实际厌氧过程中 MPB 和 SRB 的动力学竞争机理打好基础。

关键词: 产甲烷菌 (MPB); 硫酸盐还原菌 (SRB); 微生物菌体浓度; 厌氧混合培养; 动力学模型; 动力学常数
中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2003) 06-0103-04

1 前 言

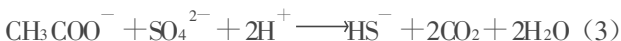
厌氧过程被利用于处理生活及工业废水已有超过百年历史。废水中的有机物被降解产生甲烷——一种能量物资是此过程最大的特性^[1]。通常, 有机物的厌氧降解是一个复杂过程。一些聚合有机物, 如蛋白质、脂肪和多聚糖, 由酵素首先水解形成氨基酸、脂肪酸和糖。这些水解产物经酸化细菌形成 VFA (挥发性脂肪酸), 由乙酸生成细菌进一步生成乙酸、二氧化碳和氢气。最后, 由产甲烷菌 (MPB) 经以下反应 (1) 和 (2) 转换乙酸和氢气成为甲烷^[1,2]。但是, 乙酸和氢气也同时能作为电子受体被硫酸盐还原菌 (SRB) 经以下反应 (3) 和 (4) 利用掉^[3,4]。因此, 实际的厌氧过程中, 在 MPB 和 SRB 之间存在着对底物乙酸和氢气的竞争。实际上, 如果 SRB 能有效竞争过 MPB, MPB 可能从反应器完全地被排除而无甲烷生成。这对厌氧处理过程是一个有关生死存亡的重大问题。



$$\Delta G^\circ = -35.8 \text{ kJ}$$



$$\Delta G^\circ = -130.8 \text{ kJ}$$



$$\Delta G^\circ = -57.3 \text{ kJ}$$



$$\Delta G^\circ = -152.2 \text{ kJ}$$

MPB 和 SRB 之间的竞争受到各种因素的影响。一个重要的影响因素是动力学因素。在纯培养条件下获得的几乎所有的动力学常数表明, 乙酸和氢气利用 SRB 任何一种都能完全竞争过相对的 MPB^[5,6]。但是, 这些研究都是在硫酸根离子浓度不受限制条件下进行的, 在硫酸根离子浓度受限制的情形下, SRB 则不能发挥其最大的竞争能力, 因其受到一个称为硫酸根离子饱和常数^[5]的影响。硫酸根离子饱和常数反映了 SRB 对于硫酸根离子的亲合性, 其不但影响不同种类 SRB 之间的对硫酸根离子的竞争, 同时还进一步决定 MPB 和 SRB 之间的对底物乙酸和氢气的竞争结果。然而, 纯培养条件下有关 SRB 的硫酸根离子饱和常数的报道非常有限。

另外, 与纯培养条件相比现实的条件具有很大的复杂性。首先, 这种硫酸根离子浓度不受限制的条件在实际上是很难满足的。现实的厌氧废水处理过程中, 除了一些特殊工业污水之外, 市政生活污水经常只含有 50~200 mg/L 的硫酸根离子^[7], 因其远远低于有机物浓度而造成硫酸根离子浓度受限制的情形。其次, 现实的厌氧废水处理过程中, 绝非像纯培养研究那样仅仅存在单一类型的 MPB 或 SRB, 而是呈现多种类型 MPB 和 SRB 的混合共存。在此, 竞争不仅存在于 MPB 和 SRB 之间为电子来源如乙酸和氢气, 同时为硫酸根离子, 在乙酸和氢气利用 SRB 之间也存有竞争关系。但是, 有关在实

^{*} 收稿日期: 2003-03-28

基金项目: 香港 RGC 资助项目

作者简介: 贾晓珊 (1962 年生), 男, 教授, 博士生导师, E-mail: eesjxs@zsu.edu.cn

际的废水处理过程中这些复杂的竞争关系的研究报道很少, 其竞争机理还远远没有被清楚地了解。

本研究的目的是提供一个明确实际的厌氧废水处理过程中 MPB 和 SRB 竞争机理的动力学研究方法。首先, 以 Monod 模型为基准建立模型用于包括微生物菌体浓度和诸动力学常数的推定; 进行包括乙酸和氢气利用 MPB 和 SRB 的两系列连续培养及批量实验。其次, 根据建立的动力学模型及批量试验结果, 进行包括乙酸及氢气利用在内的 MPB 和 SRB 的动力学常数的推定; 讨论实际的厌氧废水处理过程中 MPB 和 SRB 的竞争机理。

2 动力学推定模型的建立

2.1 基本模型

一般, 批量降解的生长动力学可被公式化如下:

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - k_d)X \quad (5)$$

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_x} \mu X \quad (6)$$

$$\frac{dP}{dt} = -Y_p \frac{dS}{dt} \quad (7)$$

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (8)$$

这里 μ 是比增长率, μ_m 是最大比增长率, k_d 是细胞死亡率, K_s 是饱和常数, Y_x 是细胞产率系数, Y_p 是产物产率系数, S 、 P 和 X 分别是介质中底物、产物和细胞浓度。

当细胞增长在指数阶段时, 方程 (5) 中细胞死亡率 k_d 是可忽略不计的。细胞死亡率只在细胞增长非常缓慢和比增长率接近零时才显示出重要性^[8]。因此, 当细胞增长在指数阶段, 且细胞死亡率 k_d 可忽略不计, 如下的等式 (9) 可从方程 (5) - (8) 导出:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_x} \frac{dX}{dt} = \frac{1}{Y_p} \frac{dP}{dt} = \frac{1}{Y_x K_s + S} \mu_m S X \quad (9)$$

当 Y_x 和 Y_p 两个都是恒定时, 能获得以下等式:

$$X = X_0 + Y_x (S_0 - S) \quad (10)$$

$$P = P_0 + Y_p (S_0 - S) \quad (11)$$

这里, X_0 、 S_0 和 P_0 分别是初期 ($t=0$) 时介质中细胞、底物和产物的浓度。

随后, 替代 X 或 P 入等式 (9) 和各自进行综合化, 分别能获得以下联合模型:

$$\mu_m t = \ln \frac{X_0 + (S_0 - S) Y_x}{X_0} + \frac{K_s}{S_0 + X_0 / Y_x} \cdot \left[\ln \frac{X_0 + (S_0 - S) Y_x}{X_0} + \ln \frac{S}{S_0} \right] \quad (12)$$

$$\mu_m t = \ln \frac{X_0 + (P - P_0) Y_p / Y_x}{X_0} + \frac{K_s}{S_0 + X_0 / Y_x} \cdot \left[\ln \frac{X_0 + (P - P_0) Y_p / Y_x}{X_0} + \ln \frac{S_0 + (P - P_0) Y_p}{S_0} \right] \quad (13)$$

当 $(S_0 + X_0 / Y_x) \gg K_s$ 等式 (12) 和 (13) 分别可被简化成以下等式 (14) 和 (15)。

$$\mu_m t = \ln \frac{X_0 + (S_0 - S) Y_x}{X_0} \quad (14)$$

$$\mu_m t = \ln \frac{X_0 + (P - P_0) Y_p / Y_x}{X_0} \quad (15)$$

等式 (14) 和 (15) 为本研究的基本动力学推定模型。这些模型说明, 如果初期的底物或产物的浓度及产率系数已知的话, 到达某一时间的底物或产物的浓度将仅仅取决于初期的细胞浓度。

2.2 X_0 和 μ_m 的推定模型

以两任意已知时间 t_1 和 t_2 的底物及产物浓度值分别代入等式 (14) 或 (15) 并两式相比, 可得到下面的等式:

$$\frac{\mu_m t_1}{\mu_m t_2} = \frac{\ln \frac{X_0 + (S_0 - S_1) Y_x}{X_0}}{\ln \frac{X_0 + (S_0 - S_2) Y_x}{X_0}} \quad (16)$$

$$\frac{\mu_m t_1}{\mu_m t_2} = \frac{\ln \frac{X_0 + (P_1 - P_0) Y_p / Y_x}{X_0}}{\ln \frac{X_0 + (P_2 - P_0) Y_p / Y_x}{X_0}} \quad (17)$$

等式 (16) 和 (17) 为 X_0 和 μ_m 的推定模型。代前述已知的 Y_x 和 Y_p 入等式 (16) 或 (17) 则 X_0 能被求出来。使用求得的 X_0 代入等式 (16) 或 (17) 式的分子或分母则 μ_m 也能被求出来。

2.3 K_s 的推定模型

本研究中, 在求出 X_0 和 μ_m 后, 饱和常数 K_s 同样也能根据常用的 Lineweaver-Burk 图^[3] 推定出来。等式 (9) 和 (10) 联立及线性化得到等式

$$\left[\frac{1}{(X_0 + Y_x (S_0 - S))} \frac{dS}{dt} \right]^{-1} = \frac{Y_x K_s}{\mu_m} \frac{1}{S} + \frac{Y_x}{\mu_m} \quad (18)$$

等式 (18) 为 K_s 的推定模型。这里, 以等式 (18) 的左边和 $1/S$ 为坐标能作成直线, 通过直线的斜率、截距及已知的常数将能惟一的求出 K_s 。

3 实验方法

3.1 富集培养

本研究进行了如下两种类型的混合富集培养。一种为仅仅含有乙酸和氢气利用 MPB 的培养 (系列 1), 另一种则为混合含有乙酸和氢气利用 MPB

和SRB的培养（系列2）。两种类型的混合富集培养分别以两个完全混合反应器（CSTR）在37℃的条件下，使用葡萄糖、营养素和硫酸根离子（系列2）连续进行。选择葡萄糖为培养底物是考虑到其降解接近现实的废水处理过程。

两个CSTR在接种了被破碎的UASB颗粒污泥后以人工底物开始连续培养。人工底物含有：9 372 mg/L的葡萄糖，相当于10 000 mg/L的COD；554 mg/L的硫酸根离子（系列2）；包括重碳酸盐在内的营养素和微量元素^[9]。最初，各CSTR的HRT（水力停留时间）为15 d之后再减少为10 d。在各HRT，各CSTR的运行在达到稳定状态（即，连续稳定的底物去除和甲烷生产率）后再连续稳定运行30 d，用注射器从各CSTR收集适量泥样以准备下阶段的批量实验。

3.2 批量实验

本研究使用前述富集培养后的系列1和2的污泥，在70 mL玻璃清液小瓶内进行动力学推定的批量实验。玻璃小瓶实验方法参照我们以前的方法^[10]。表1 批量实验的条件。对从CSTR收集的培养污泥，在玻璃小瓶实验之前用无机盐营养液进行

清洗，以便清除残留底物及其他杂质。步骤为：起初，100 mL的培养污泥混合液进行离心分离，分离后的沉淀污泥用200 mL无机盐营养液进行清洗并再次进行离心分离，分离后的沉淀污泥最终再悬浮于100 mL无机盐营养液。

对于添加乙酸的批量实验（表1）如：A-1、A-2、AS-1和AS-2，实验开始前，各小瓶首先用氮气完全除去瓶内氧气并密封起来，用注射器注入40 mL清洗过的培养污泥混合液。添加浓缩乙酸底物及pH调整溶液以达到预定的瓶内乙酸浓度及pH值。在添加硫酸根离子的批量实验（表1）如：AS-1和AS-2中硫酸根离子也包括在添加的浓缩底物当中。对于添加氢气的批量实验如：H-1、H-2、HS-1和HS-2，用注射器注入20 mL清洗过的培养污泥混合液到已除去氧气并密封起来的小瓶内，再注入2 mL只包含无机盐的营养液或者同时包含硫酸根离子（HS-1和HS-2）。然后，用注射器注入1 atm及20℃的H₂和CO₂气体（混合体积比：H₂:CO₂=4:1）。以上所有操作都在绝氧工作站内进行。

表 1 添加乙酸的批量实验条件
Tab 1 The conditions of batch experiments

实验编号	A-1	A-2	H-1	H-2	AS-1	AS-2	HS-1	HS-2
HRT/d	15	10	15	10	15	10	15	10
添加基质	乙酸	乙酸	H ₂ /CO ₂	H ₂ /CO ₂	乙酸	乙酸	H ₂ /CO ₂	H ₂ /CO ₂
最初基质浓度/(mg·L ⁻¹)	832	830	600	750	820	870	850	880
硫酸根离子浓度/(mg·L ⁻¹)	—	—	—	—	120	100	300	310
VSS/(mg·L ⁻¹)	1520	2540	1570	2500	1645	1110	1640	1105
pH	7.15	7.20	7.18	7.10	7.15	7.08	7.13	7.20

所有批量实验在恒温震荡水浴中进行。水浴温度37℃，震荡强度为35 mm×125 strokes/min。较强的震荡是为了实现污泥、混合液及气相的充分混合，包括促进H₂和CO₂从气相到液相的溶解。批量实验开始后，定时测量及分析生物产气量；气相中甲烷、H₂及CO₂的浓度；混合液中的pH、乙酸及硫酸根离子浓度。

3.3 分析方法

VSS和pH的测定利用标准方法。生物气体中氢气和甲烷的百分比用装备了TCD检测器的气相色谱分析仪（HP 5890 II）测定。毛细管柱为25 m×0.53 mm的CarboPLOT P7系列。以30 mL/min流速的氦气作为载气。升温程序为50℃维持2.5

min，然后110℃维持1.3 min。注射口及检测器的温度均为180℃。乙酸的浓度利用同样型号的第2台气相色谱分析仪以FID和10 m×0.53 mm毛细管柱测定。升温程序为在70℃维持4 min然后140℃维持3 min。注射口及检测器的温度均为200℃。以40 mL/min流速的氦气作为载气。硫酸根离子浓度利用离子色谱分析仪（岛津HPLC-10A）测定。

参考文献:

[1] MCCARTY P L, SMITH D P. Anaerobic wastewater treatment[J] . Environ Sci Tech, 1986, 20(12): 1200—1206.
[2] SPEECE R E. Anaerobic biotechnology for the industrial wastewater treatment[J] . Environ Sci Tech, 1983, 17(9):

416—427.

[3] WIDDET F, PFENNIG N. A new anaerobic, sporing acetate-oxidizing, sulfate-reducing bacterium, desulfotomaculum (emend) acetoxidans[J] . Arch Microbiol, 1977, 122: 119—122.

[4] BADZIONG W, THAUER R K. Growth yields and growth rates of desulfovibrio vulgaris (Marburg) growing on hydrogen plus sulfate and hydrogen plus thiosulfate as the sole energy sources[J] . Arch Microbiol, 1978, 117: 209—214.

[5] INGVOSEN K, ZEHNDER A J B, JORGENSEN B B. Kinetics of sulfate and acetate uptake by desulfobacter postgate[J] . Appl Environ Microbiol, 1984, 47: 403—408.

[6] ROBINSON J A, TIEDJE J M. Competition between sulfate-reduction and methanogenic bacteria for H₂ under resting and growing conditions[J] . Arch Microbiol, 1984, 137: 26—32.

[7] YODA M, KITAGAWA M, MIYAJI Y. Long term competition between sulfate-reducing and methane-producing bacteria for acetate in anaerobic biofilm[J] . Wat Res, 1987, 21: 1547—1556.

[8] YANG S T, OKOS M R. Kinetic study and mathematical modeling of methanogenesis of acetate using pure cultures of methanogens[J] . Biotech. Bioengrg, 1987, 30: 661—667.

[9] JIA X S, FANG H H P. Methanogenic characteristics of formate-utilizing sludge[J] . J Environmental Engineering, 1999, 125(7): 596—601.

[10] JIA X S, FURUMAI H, FANG H H P. Extracellular polymers of hydrogen-utilizing methanogenic and sulfate-reducing sludges[J] . Wat Res, 1996, 30: 1439—1444.

Kinetic Competition between Methanogenic and Sulfate-reducing Bacteria in Anaerobic Mixed Cultures
I : Model Development

JIA Xiao Shan, LI Shun yi

(School of Environmental Science and Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Bacterial mass concentrations and kinetic parameters of acetate and hydrogen-utilizing methane producing bacteria (MPB) and sulfate-reducing bacteria (SRB) were estimated to examine the kinetic competition between MPB and SRB in anaerobic mixed cultures. The cultures were enriched by two chemostat reactors, one was fed with glucose alone while the other was fed with both glucose and sulfate. The parameters were estimated from batch experiments data, based on the Monod model and developed kinetic models.

Key words: methane producing bacteria (MPB); sulfate-reducing bacteria (SRB); bacterial mass concentration; anaerobic mixed culture; kinetic parameter