

炼油废水处理菌剂的研究

朱永光, 严平, 廖银章, 李旭东*

(中国科学院成都生物研究所, 成都 610041)

摘要: 根据炼油废水成分分析的结果筛选降解烷烃、苯系物、苯酚等难降解化合物的高效降解菌, 通过正交实验确定各组成菌株的最佳配比, 制成复合微生物菌剂, 根据营养需求添加 KH_2PO_4 作为助剂。摇瓶实验结果显示相对于只加活性污泥的处理体系, 菌剂及助剂投加至活性污泥体系中能够提高处理效率 82.14%, 将配制的菌剂接种至预先投加活性污泥并稳定运行的 SBR 反应器后, 显示投加菌剂的 SBR 反应器对炼油废水的处理效率高于对照实验, 反应 9h 后, 处理效率能够提高 25.39%。

关键词: 菌剂; 助剂; 炼油废水

中图分类号: X742 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)03-0508-05

Research of Microorganisms Agent for Refinery Wastewater Treatment

ZHU Yong-guang, YAN Ping, LIAO Yin-zhang, LI Xu-dong

(Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract: According to the analysis of refinery wastewater, high-efficiency microbe which can degrade alkane, benzene series, phenol were screened. The proportion of these microbe determined by orthogonal experiment. Microorganisms agent includes those microbe and KH_2PO_4 , act as aid agent, based on nutritional requirements. Experimental result reveals that addition of microorganisms agent and aid agent can increase efficiency of 82.14% in relation to addition of sludge. SBR experiment reveals that addition of microorganisms agent and aid agent can increase efficiency of 25.39% in relation to sludge.

Key words: microorganisms agent; aid agent; refinery wastewater

炼油废水属高浓度且含多种难降解化合物的有机废水, 排放量大, 主要含有烷烃类、芳香烃类、挥发酚和氨氮等污染物。目前, 国内炼油厂大都采用隔油-气浮-生化的方法进行处理, 其中生化处理主要是采用各种活性污泥处, 处理效率不高, 达标率较低; 另外, 国内外研究还发现即使经过隔油-气浮-生化处理之后能够达到综合排放标准, 但其出水中仍然含有溶解性脂肪烃、苯系物、含硫化合物及邻苯二甲酸酯类化合物等^[1,2], 其中多种化合物属我国水中优先控制污染物, 因此有必要改进处理工艺对这些有毒化合物进行降解以降低对周围环境可能造成的危害。

按污染环境状况的不同, 选育各种类型的降解菌组成适用于不同污染环境的微生物菌群, 经发酵扩大培养, 制成菌剂, 有目的地投加到各类生化反应构筑物中, 可达到改善和提高处理效率的目的。本研究先分析炼油废水中各种有机化合物的组成及其含量, 再据此选取降解其中各种难降解化合物的高效降解菌, 通过正交实验的方法确定其中各菌株的配比, 再加入 KH_2PO_4 作为助剂组成菌剂, 向活性污泥处理体系中接种配制的菌剂对炼油废水进行处理以检验其效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

烷烃降解菌: 筛选自南充炼油厂内受石油污染的土壤中。

降解芳香族化合物及苯酚的菌株: 由合作单位中国科学院微生物研究所筛选。

1.1.2 水样

实验用废水取自南充炼油厂经过隔油、气浮处理之后的炼油废水。

1.1.3 污泥

取自成都市污水处理厂 (MLSS 4.456 g/L, SV_{30} 24.6%)。

1.1.4 培养基

牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏 0.5%、蛋白胨 1%、NaCl 0.5% (固体培养基加琼脂 1.7%)。

收稿日期: 2004-12-23; 修订日期: 2005-03-20

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863) 项目 (2005AA601020, 2005AA649020)

作者简介: 朱永光 (1979~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为高效环境微生物菌剂。

* 通讯联系人

无机盐培养基: Na_2HPO_4 2g、 KH_2PO_4 0.5g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5g、 MgSO_4 0.3g、微量元素溶液 5mL、蒸馏水 1000mL pH 7.0(固体培养基加 17g 琼脂)。

微量元素溶液: EDTA 0.500g、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22g、 CaCl_2 0.055g、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.051g、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.049g、 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.011g、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.0157g、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.016g、 H_2O 1000mL pH 6.0(KOH)。

1.2 方法

1.2.1 炼油废水中各种有机化合物的组成分析及其含量测定

由于炼油过程中会产生多种环烷烃及芳香族化合物等,所排废水中可能也含有这些化合物,为了解废水中所含各种有机化合物的组成,对废水进行了水质分析,主要包括含油量、挥发酚含量、氨氮、磷、 BOD_5 和 COD_{Cr} 值测定、GC-MS 分析。

GC-MS 分析: 炼油废水经 CHCl_3 提取后送至中科院成都有机化学研究所分析测试中心进行 GC-MS 分析; COD_{Cr} 的测定: Hach COD 自动测定仪测定; 其他测定方法参见文献[3]。

1.2.2 烷烃降解菌的筛选

将所取土样做 10 倍系列稀释,每个稀释度取 0.1mL 稀释液均匀涂布在含正十六烷的无机盐平板上,35℃ 恒温培养 3d,挑取单菌落重复分离 1 次,选长势较好的单菌落至牛肉膏蛋白胨培养基中放大培养待用。

1.2.3 性能测定方法

100mL 无机盐培养基中加入适量待降解底物(不同底物按溶解度不同加入,萘直接以晶体形式加入,蒽加入表面活性剂 Tween 80 进行增溶^[4]),置于 250mL 三角烧瓶中,加入 $D_{560\text{nm}}$ 调至 1.000 的菌悬液(培养过夜的菌液离心去上清液加无机盐培养基悬浮) 10mL,30℃,160 r/min 振荡培养,取样测定剩余底物浓度,菌株的性能以底物降解程度表示。各底物浓度采用高效液相色谱仪(HITACHI L-2000 液相色谱仪)测定。

1.2.4 复合微生物配比实验

(1) 正交实验 采用 4 因素 3 水平正交实验法,其中因素包括烷烃类、芳香烃类、取代苯类、酚类菌悬液共 4 个,由分析知废水中烷烃类和酚类含量较多,所以设定加入量的 3 个水平为 1mL、2mL、3mL; 芳香烃类、取代苯类含量较少但较难降解,所以设定加入量的 3 个水平为 0.5mL、1mL、1.5mL,因后两者为混合菌悬液,均由 3 种菌组成,所以加入量的 3

个水平为 1.5mL、3mL、4.5mL,其中各菌按等体积混合。实验时向装有 100mL 灭菌炼油废水的三角烧瓶中加入表 2 所示数量的菌悬液,各降解菌在配比之前都配制成 $D_{560\text{nm}}$ 为 1.000 的菌悬液(培养过夜的菌液离心去上清液加炼油废水悬浮),平行实验 3 个,30℃,160 r/min 振荡反应,取样离心测定上清液的 COD_{Cr} 值。

(2) 验证实验 由正交实验分析知烷烃类降解混合菌的加入量为 1 时降解率最高、取代苯类降解混合菌的加入量为 2 时降解率最高,因此验证实验中烷烃类降解混合菌的加入量为 1、取代苯类降解混合菌的加入量为 2,由于芳香烃类、酚类降解混合菌都是在加入量为 3 时降解率最高,而正交实验的最大加入量亦为 3,所以设计加入量为 1、2、3、4、6 的验证实验确定芳香烃类、酚类降解混合菌的最终加入量。实验时向装有 100mL 灭菌炼油废水的三角烧瓶中加入 5mL 活性污泥,再加入表 3 所示数量的菌悬液,平行实验 3 个,30℃,160 r/min 振荡反应,取样离心测定上清液的 COD_{Cr} 值。

1.2.5 助剂配比

向装有 100mL 灭菌炼油废水的三角烧瓶中加入 5mL 活性污泥,再加入 1.2.4(2) 确定的最优组合配比而成的复合微生物菌悬液 10mL,加入 KH_2PO_4 溶液使废水中 KH_2PO_4 的含量分别为 5、10、15、20、30、40mg/L,平行实验 3 个,30℃,160 r/min 振荡反应,取样离心测定上清液的 COD_{Cr} 值。

1.2.6 菌剂对炼油废水的处理实验

(1) 摇瓶实验 向装有 100mL 灭菌炼油废水的三角烧瓶中加入 5mL 活性污泥,再加入 1.2.4(2) 确定的最优组合配比而成的复合微生物菌悬液 10mL 以及按 1.2.5 确定的最佳加入量加入 KH_2PO_4 ,同时做不加污泥不加菌悬液不加 KH_2PO_4 的空白对照、只加污泥的对照,平行实验 3 个,30℃,160r/min 振荡反应。3d 后取样离心测定上清液的 COD_{Cr} 值。

(2) 反应器实验 在 SBR 处理体系(曝气 60min,静置 30min,HRT=12h)中按 10% 加入量加入活性污泥,加入含 300mg/L 的葡萄糖的无机盐培养基进行污泥培养,采用间歇换水的方式,每天换水 2 次,同时调节 pH 至 7.0。培养 7d 后污泥 SV_{30} 达到 10%,再在进水中逐渐增加炼油废水的比重,使污泥中的微生物在新的生活条件下得到驯化,直至进水全部为炼油废水为止,再向处理体系中按 10% 加入量投加菌剂,同时做不加菌剂的对照实验,测定进水

及出水的 COD_{Cr} 值以进行比较, 废水在加入反应器之前均加入 KH₂PO₄ 使其浓度为 15mg/L.

2 结果与分析

2.1 炼油废水中各种有机化合物的组成分析及其含量测定

炼油废水常规分析结果: COD_{Cr} 1 590 mg/L、BOD₅ 516mg/L、含油量 101mg/L、挥发酚 42.74mg/L、氨氮 95.24mg/L、总磷 0.32mg/L.

GC-MS 分析结果(主要化合物): 饱和烷烃类相对含量 64.18%, 从 C8 到 25; 苯系化合物相对含量 35.82%, 主要含有邻苯二甲酸二乙酯、苯磺酸盐、2,4-二氯甲苯、对硝基苯甲酸、二苯并环十一酮等.

2.2 高效降解菌株的筛选

根据分析结果可知, 炼油废水中主要含有烷烃类、苯系物以及酚类等化合物, 文献[5]的研究也证实炼油废水中主要含有烷烃、芳香烃类、取代芳香族化合物、酚类等. 这些化合物大多是难降解的有机化合物, 一般的活性污泥不能对这些化合物进行完全降解, 所以菌剂中需要有能够降解这些化合物的菌株. 本研究从中科院微生物所筛选的菌株中挑选降解芳香烃类(苯作为单环化合物的代表、萘作为双环化合物的代表、蒽作为 3 环化合物的代表)、取代苯类(硝基苯、对氯苯胺、对硝基氯苯)、酚类(苯酚)等难降解化合物的降解菌株 7 株, 其中芳香烃类降解菌株 3 株, 分别降解苯、萘、蒽, 取代苯类降解菌株 3 株, 分别降解硝基苯、对氯苯胺、对硝基氯苯, 酚类降

解菌株 1 株, 分别进行这些菌株的降解性能测定, 结果见表 1.

表 1 性能测定结果
Table 1 Result of capability

降解底物		菌株代号	降解率/ %	对照/ %	时间/ d
芳香烃类	苯	Be-1	94.77	16.52	3
	萘	He1	100	0	3
	蒽	EM	98.19	0	10
取代苯类	硝基苯	N5-7	93.46	23.46	4
	对氯苯胺	PCA-5	86.08	11.43	4
	对硝基氯苯	PNCB3	97.92	31.37	4
酚类	苯酚	10-4	98.86	14.25	7

同时进行烷烃降解菌的筛选, 分离到 1 株能够在以正十六烷为唯一碳源的无机盐培养基上较好生长的细菌 T1.

2.3 复合微生物菌剂配比

2.3.1 正交实验

由于加工的原油来源地不同及炼油工艺的不同造成炼油废水的组分和浓度变化幅度极大, 再加上废水中含有的各种难降解化合物的降解酶类可作用于多种底物及其代谢中间产物, 因此较难按底物含量决定降解菌株配比的原则来确定复合微生物菌剂中各种菌株的配比. 本研究根据废水成分挑选 4 种不同类型(烷烃类、芳香烃类、取代苯类、酚类)的降解菌, 各类型中的菌株均为性能测定确定的效果很好的菌株, 每种类型内的降解菌株按等量配比, 不同类型之间通过正交实验确定最佳组成配比. 正交实验结果见表 2.

表 2 正交实验结果
Table 2 Result of orthogonal experiment

混合菌类别	编号												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	I	II	III
A	0	1	1	1	2	2	2	3	3	3	197.9	186.61	187.22
B	0	1	2	3	1	2	3	1	2	3	186.82	189.94	194.97
C	0	1	2	3	2	3	1	3	1	2	187.44	202.09	182.2
D	0	1	2	3	3	1	2	2	3	1	189.5	187.06	195.17
降解率/ %	24.84	63.31	68.42	66.17	66.32	58.84	61.45	57.19	62.68	67.35			

通过各因素对最终结果的影响分析可知: 烷烃类降解混合菌的加入量为 1 时降解率最高、芳香烃类降解混合菌的加入量为 3 时降解率最高、取代苯类降解混合菌的加入量为 2 时降解率最高、酚类降解菌的加入量为 3 时降解率最高, 因此确定最优配比为 A₁B₃C₂D₃.

2.3.2 验证实验

由于菌剂是投加至活性污泥体系中进行强化作用的, 因此设计验证实验以验证 2.3.1 的结果(表 3).

由实验结果可以看出配比为 1:3:2:3 的组合降解效果最好, 因此菌剂中各菌株的比例确定为: T1: Be1: He1: EM: PCA-5: PNCB3: N5-7: 10-4= 2: 3: 3: 3: 2: 2: 2: 6.

表 3 验证实验结果
Table 3 Result of validation experiment

混合菌类别	编号(加入量比例)									
	对照	加污泥对照	3	4	5	6	7	8	9	10
烷烃类	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
芳香烃类	0	0	1	1	1	2	2	2	3	3
取代苯类	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2
酚类	0	0	1	2	3	1	2	3	1	2
降解率/ %	23. 1	75. 08	82. 39	77. 56	79. 22	89. 96	92	92. 04	88. 87	91. 89

混合菌类别	编号(加入量比例)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
烷烃类	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
芳香烃类	3	2	2	2	4	4	4	6	6	6
取代苯类	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
酚类	3	2	4	6	2	4	6	2	4	6
降解率/ %	92. 6	89. 76	84. 54	90. 6	89. 81	90. 47	90. 3	90. 55	88. 84	87. 4

2.4 助剂配比实验

微生物生长对营养物质的需求比例为碳源: 氮源: 磷源= 100: 5: 1^[6], 炼油废水中含有大量有机物及较多的氨氮可作为微生物生长的碳源和氮源使用, 但是磷源的含量通常很少而不足以满足微生物生长的需要, 所以向废水中加入 KH_2PO_4 作为助剂以提高微生物对废水的降解效果(图 1). 由图 1 可知, KH_2PO_4 含量在 15mg/L 时的降解效果最好. 由于实验所用炼油废水的 COD_{Cr} 值为 1 500mg/L 左右, KH_2PO_4 含量 15mg/L 时的碳源、磷源比例与按照微生物生长所需营养 100: 1 的比例正好吻合. 但由于 KH_2PO_4 含量在 10mg/L 时的降解效果与在 15mg/L 时的降解效果相差只有 0.75%, 因此采用 KH_2PO_4 含量 10mg/L 可大大减少助剂的用量.

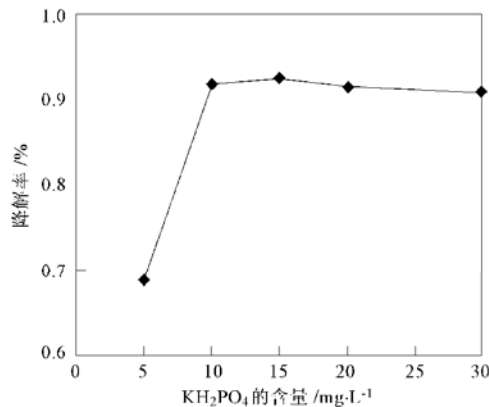


图 1 KH_2PO_4 的含量对降解效果的影响
Fig. 1 Effect of KH_2PO_4 on degradation

2.5 菌剂对炼油废水的处理结果

2.5.1 摇瓶实验结果

为了检验上述实验配制的菌剂对炼油废水的处理效果, 先进行摇瓶实验, 比较加菌剂及不加菌剂的处理效果, 实验结果见图 2. 由图 2 可知, 只加污泥的处理效果为 51.79%、只加菌剂的处理效果为 49.73%, 同时加入菌剂及污泥的处理效果为 94.51%, 同时加入菌剂及污泥比只加污泥、只加菌剂的处理效果分别提高 82.14%、86.46%.

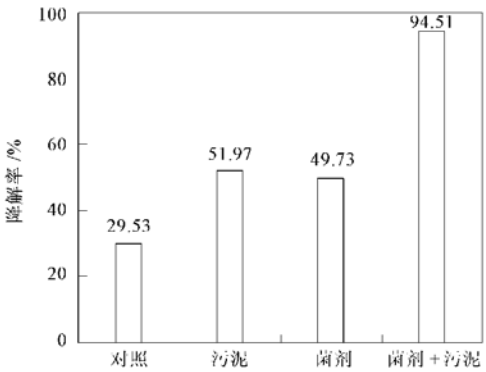


图 2 加菌剂及不加菌剂对炼油废水的处理效果比较
Fig. 2 Comparison of microorganisms agent and sludge

2.5.2 反应器实验结果

由于配制的菌剂是投加至废水处理反应器中而起作用的, 因此设计反应器实验(小试实验)检验菌剂对炼油废水的处理效果, 同时做不加菌剂的实验以作对比, 在反应 0、3、6、9h 时取反应器出水测定其 COD_{Cr} 值, 实验结果见图 3. 由图 3 可知, 菌剂加入到反应器后, 反应器对炼油废水的处理效率高于对照实验, 反应 9h 后 COD_{Cr} 降至 100mg/L 而对照为 266mg/L, 反应 9h 后 COD_{Cr} 降解率达 89.79% 而对

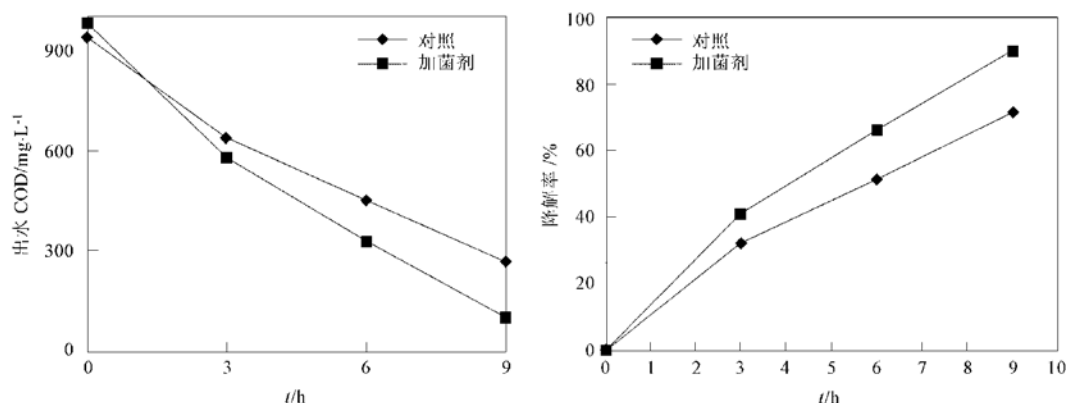


图 3 反应器实验结果

Fig. 3 Result of SBR reactor

照为 71.61%, 处理效率提高 25.39%.

3 结论

(1) 本实验对炼油废水的成分进行了分析, 结果为: COD_{Cr} 1590mg/L, BOD_5 516mg/L, 油 101mg/L, 挥发酚 42.74mg/L, 氨氮 95.24mg/L, 总磷 0.32mg/L, 经 CHCl_3 提取后 GC-MS 分析结果(相对含量)为: 烷烃 68%、苯系物 32%.

(2) 根据废水成分分析结果挑选 4 种不同类型(烷烃类、芳香烃类、取代苯类、酚类)的降解菌, 经正交实验及验证实验确定最佳配比为 T1: Be1: He1: EM: PCA-5: PNCB3: N5-7: 10-4= 2: 3: 3: 3: 2: 2: 2: 6.

(3) 根据营养需求确定以 KH_2PO_4 作为助剂, 加入量为 10mg/L.

(4) 摇瓶实验结果显示菌剂及助剂投加至污泥中相对于只加污泥的处理体系能够提高处理效率

82.14%.

(5) 反应器实验结果显示投加菌剂的 SBR 反应器对炼油废水的处理效率高于对照实验, 反应 9h 后效率能够提高 25.39%.

参考文献:

- [1] Holger Gulyas, Margrit Reich. Organic compounds at different stages of a refinery wastewater treatment plant [J]. Water Science and Technology, 1995, 32(7): 119~126.
- [2] 李凌波, 闫松, 单广波, 等. 炼油厂达标废水中溶解性有机物的表征[J]. 环境科学学报, 2004, 24(2): 266~271.
- [3] 国家环保局. 水和废水监测分析方法(第三版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1998.
- [4] 杨建刚, 刘翔, 余刚, 等. 非离子表面活性剂溶液中多环芳烃的溶解特性[J]. 环境科学, 2003, 24(6): 79~82.
- [5] 唐受印, 金一中, 戴友芝, 等. 炼油污水有机物的 GC-MS 分析[J]. 质谱学报, 1994, 15(3): 36~41.
- [6] 周德庆. 微生物学基础教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 1998.