

EGSB 反应器在 20℃ 下处理啤酒废水的工艺及微生物学研究

李津, 左剑恶*, 邢薇

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要: 在 20℃ 下连续运行厌氧膨胀颗粒污泥床(EGSB)反应器, 对其处理模拟啤酒废水的工艺运行、污泥特性及微生物种群结构进行研究, 结果表明: ①HRT 为 18 h, 经 184 d 的运行, EGSB 反应器的有机负荷(以 COD 计)可达 $10 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, COD 去除率为 85% 以上, 去除 1 kg COD 可产沼气 0.58 m^3 ; ②随有机负荷逐渐提高, 颗粒污泥粒径逐渐增大, 沉降性能逐渐提高, 但当负荷达到 $10 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 时, 颗粒污泥平均粒径有变小趋势; 与中温厌氧污泥相比, 低温污泥的胞外多聚物(ECP)总量有较大增加, 其中蛋白质含量增加明显; ③与接种污泥相比, 在 20℃ 下运行不同时期污泥中产甲烷菌的种类未发生明显变化, 但接种同样颗粒污泥在 15℃ 下运行 6 个月后污泥中的优势产甲烷菌种发生了明显的变化。

关键词: EGSB 反应器; 胞外多聚物; 种群结构

中图分类号: X797 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)04-0990-06

Performance and Microbial Characteristics of an EGSB Reactor Treating Brewery Wastewater Under 20℃

LI Jin, ZUO Jian-e, XING Wei

(Department of Environmental Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract: A lab-scale EGSB reactor fed by artificial brewery wastewater was operated under 20℃ continuously, and its process performance, characteristics of granular sludge, microbial community structure were investigated. The results indicated that: ①after 184 days' operation, the organic loading rate of EGSB reactor could reach $10 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ at HRT of about 18 h, the COD removal efficiencies were above 85%, and the specific biogas production was about 0.58 m^3 per kilogram COD removed. ②As the organic loading rate increased, the average diameter of the granule increased, and the settling velocity increased too, but when the loading rate reached about $10 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, the granular average diameter decreased slightly. Compared with the granular sludge operated at mesophilic condition, the ECP contents especially the protein contents in the granular sludge operated at 20℃ increased obviously. ③Compared with the seed sludge, the main Archaea (methanogenes) species in the sludge samples operated at different loading rates under 20℃ did not change greatly, but the dominant methanogenes in the sludge operated under 15℃ for 6 months seeded with the same mesophilic sludge changed obviously.

Key words: EGSB reactor; ECPs; microbial community structure

较低的温度会引起厌氧微生物特别是其中产甲烷菌活性大幅降低, 导致厌氧反应器只能在较低负荷下运行^[1]. 因此, 目前实际工程中广泛应用的厌氧工艺多在中温(35℃左右)或高温(55℃左右)下运行, 均可获得较高的处理负荷和效果^[2,3]. 但是, 对于大量存在的低温废水, 直接采用厌氧工艺进行处理就会受到限制^[4~7]. 通常认为, 低温导致厌氧反应器处理效能降低的主要原因是低温会引起其中产甲烷菌活性的下降, 但对其影响机制的深入研究则较少^[8~11]. 因此, 本研究考察了一个以中温产甲烷颗粒污泥接种的 EGSB 反应器连续 6 个月在 20℃ 下的工艺运行, 对较低温度下厌氧颗粒污泥的性质特别是其中胞外多聚物(extra cellular polymers, ECP)含量和组成进行了探讨, 并利用分子生物学技术对污泥中产甲烷菌的种类进行了初步分析, 试图考察较低温

度(20℃)对厌氧过程影响的本质.

1 材料与方法

1.1 试验装置与流程

采用如图 1 所示的试验装置及工艺流程, 其中膨胀颗粒污泥床(expanded granular sludge bed, EGSB)反应器由有机玻璃加工而成, 内径为 85 mm, 总高为 2 040 mm, 其中反应区高度 1 760 mm; 总体积 15 L, 其中反应区体积 10 L, 沉淀区体积 5 L. 反应器外部设有水浴夹套, 通过 DC-1010 型恒温水浴箱冷水循环保持反应区温度为 20℃ 左右. 废水经蠕动泵由底部

收稿日期: 2007-04-24; 修订日期: 2007-07-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(50678091)

作者简介: 李津(1982~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为废水厌氧生物处理, E-mail: jin-li05@mails.tsinghua.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: jiane.zuo@mail.tsinghua.edu.cn

进入反应器,一部分出水由回流泵返回反应器底部,另一部分在顶部溢流排出.产气经三相分离器后,由湿式气体流量计计量产气量.

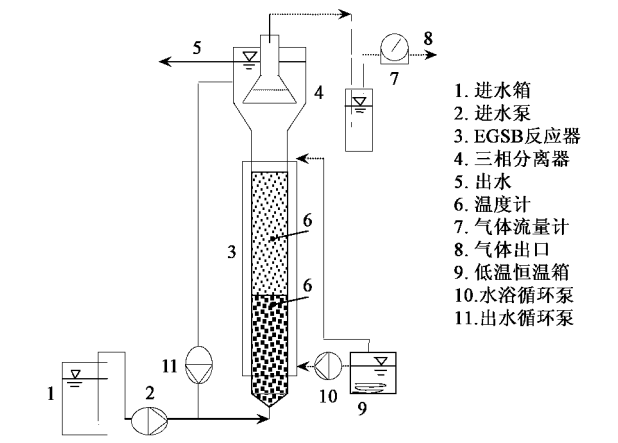


图1 EGSB反应器及工艺流程

Fig.1 Schematic diagram of EGSB reactor and process flow chart

1.2 试验用水及工艺运行策略

试验用水采用模拟啤酒废水,即从超市购买瓶装燕京啤酒,加适量自来水稀释,进水浓度从试验开始时的1 200 mg/L,逐渐升高到试验结束时的7 500 mg/L,同时每升进水中加入 1 mL 微量元素(Fe = 0.13 g/L, Co = 0.005 g/L, Mo = 0.03 g/L, Ni = 0.002 g/L)和 0.2 mL 酵母膏贮备液,并在进水中适当加入碳酸氢钠,使反应器内 pH 值维持在 7.0 左右.整个试验过程中,反应器的进水流量基本维持在 20 L/d 左右,水力停留时间 HRT 约为 18 h,反应器容积负荷的提高主要是通过提高进水浓度来实现.

1.3 接种污泥

接种污泥取自某中温(35℃)下处理啤酒废水的生产性 UASB 反应器,经过筛后其粒径范围为 0.6 ~ 2.0 mm, VSS/SS 为 0.86,接种后反应器内平均污泥浓度为 26.7 g/L.

1.4 分析项目及方法或仪器

COD: TL-1A 型污水 COD 速测仪; pH 值: Orion828酸度计;温度:水银温度计;沼气产量: LML-2 型湿式气体流量计;碱度:酸碱滴定法^[3];粒径分布:颗粒污泥粒径分布仪^[12];扫描电镜照片:日立S-570 扫描电子显微镜;SS 和 VSS:标准重量法^[3];颗粒沉淀:1 m 清水水柱静沉法^[3];沼气含量:气相色谱法,仪器为北京北分天普仪器技术有限公司的 TP-2060T 型气相色谱仪,柱型为 2 m(φ3 × 0.5 mm)不锈钢柱,柱温 50℃;胞外多聚物(ECP):EDTA 提取法,多糖的测定采用蒽酮比色法,蛋白质的测定采用考马斯亮

兰比色法^[13~16].PCR-DGGE:滚珠震荡机械破碎法提取总 DNA,PCR 扩增使用 PTC-200 扩增仪(MJ 公司),扩增对象为所有古菌 16S rDNA 的 V2-V3 可变区,引物为 PARC109F 与 PRUN518R, DGGE 在 Dcode 系统(Bio-Rad 公司)上进行,聚丙烯酰胺凝胶浓度为 8%,变性剂浓度范围 30% ~ 55%,60℃恒温电泳 10 ~ 12 h 后,以 SYBR Gold 染色后观察.

2 结果与讨论

2.1 20℃连续运行厌氧反应器的启动与运行

在 EGSB 反应器中加入接种污泥后,即将有机负荷控制在 1.5 kg/(m³·d)左右开始启动运行,共连续运行 184 d,其中启动运行期 50 d. EGSB 反应器在整个运行阶段的进/出水 COD 浓度、有机负荷及去除效果如图 2 所示,去除负荷和单位反应器容积的沼气产率如图 3 所示.在前 20 d 中,通过调试恒温水浴及冷水循环系统逐渐将反应器的运行温度降低并控制在 20℃左右.在此期间,EGSB 反应器的进水 COD 浓度基本维持在1 200 mg/L左右, COD 去除率基本维持在 50% ~ 70%之间,但未对其运行状况进行连续监测,因此,此阶段的运行结果未在图 2 和图 3 中给出.在此有机负荷下继续运行其 COD 去除率均可稳定在 85% 以上,实现反应器的启动运行.随着运行时间的增加,EGSB 反应器的有机负荷分 5 次逐渐从 1.6 kg/(m³·d)提高到 2.6、4.0、6.6 以及最终的 10 kg/(m³·d)左右,从图 2 可看出,在每次提升 EGSB 反应器进水有机负荷的最初 3 ~ 5 d 内,反应器的 COD 去除率均会明显大幅下降,但再经过 3 ~ 5 d 的继续运行,反应器的 COD 去除率均能逐渐恢复并维持在 85% 以上,特别是当负荷从 6.6 kg/(m³·d)提高到 10 kg/(m³·d)以后,前 10 d COD 的去除率一度降到 70%,经过 6 d 的继续运行,反应器的 COD 去除率逐渐恢复并上升到 85%.其间,还观察到在反应器运行初期,反应器温度的降低会引起 COD 去除率的明显下降,如第 72、80 和 96 d,由于天气的变化,使得反应器温度降低,达到 18℃左右,此时 COD 去除率由前几天的 74%或 80%降低到 69%左右,可见此时反应器对温度比较敏感;但到运行后期,反应器运行受温度变化的影响不再十分明显,如第 143、172 d,温度降到 18℃左右,此时反应器的 COD 去除率与前几天无较大变化,表明此时反应器内微生物已适应低温条件,反应器进入稳定运行.从图 3 可看出,EGSB 反应器的沼气产率(即每天沼气总产量与反应器体积的比值)随有机负荷的提高,也相应增加,从

最初的 0.3 L/(L·d)逐步升高到 4.8 L/(L·d). 计算表明,反应器的沼气产率与反应器的去除有机负荷之间具有很好的线性关系,并计算得出 EGSB 反应器在 20℃下处理模拟啤酒废水时去除 1 kg COD 可产沼气 0.58 m³. 沼气中的甲烷含量约为 75%左右,与通常中温厌氧反应器沼气中甲烷含量相比,有明显升高,其原因在于:低温下沼气中 CO₂ 在水中的溶解度有大幅增加,而甲烷的溶解度很小而且变化不大,致使气相中甲烷的含量增高.

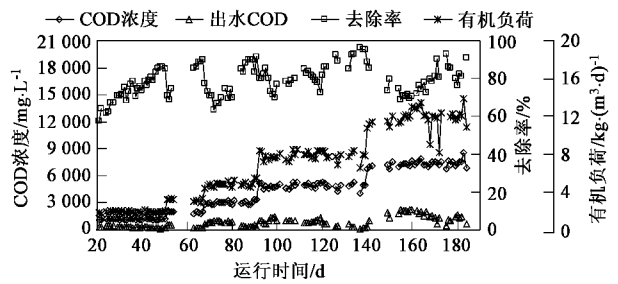


图 2 EGSB 反应器在 20℃下的运行效果
Fig.2 Performance of EGSB reactor at 20℃

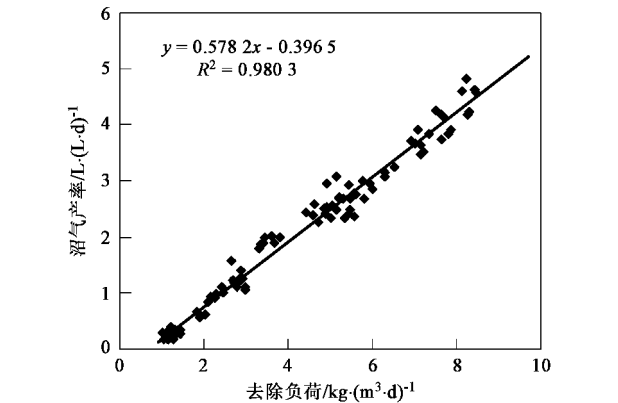


图 3 20℃下 EGSB 的去除负荷及沼气产率
Fig.3 Removal organic loading rates and specific biogas production rates of EGSB reactor at 20℃

2.2 低温厌氧颗粒污泥的性质

整个试验过程对颗粒污泥的粒径分布进行了 6 次测量,分别在污泥接种期和不同负荷下的稳定运行期,其结果如图 4 所示.可以看出随着有机负荷的提高,粒径 > 1.4 mm 的颗粒污泥所占的比例由接种时的 56% 逐渐增加到最终的 85%,其中粒径 > 2 mm 的颗粒污泥增长显著,由接种时的 30% 增加到最终的 70%.但当有机负荷达到 10 kg/(m³·d),颗粒污泥平均粒径有变小的趋势,此时,粒径 > 1.4 mm 的颗粒污泥所占的比例没有明显下降,主要是其中 > 2 mm 的颗粒污泥所占的比例下降了 10 个百分点左

右,这可能是由于一些大粒径颗粒污泥无法适应 10 kg/(m³·d)的有机负荷而解体或者由于负荷提高、产气量增大,导致气体剪切作用加大,从而不利于大颗粒的形成.一部分粒径在 2 mm 以上的污泥分解导致了粒径在 1.4 ~ 2 mm 范围内的污泥量增加,而小粒径的污泥被淘汰随出水排出;在测量粒径分布的同时,也对颗粒污泥的平均密度进行了测量,方法是:对不同粒径范围的颗粒污泥在清水中的静沉速进行测量,然后根据 Allen 公式计算得出颗粒污泥的平均密度^[17],结果如图 5 所示.可以看出颗粒污泥的平均密度均处于 1.05 g/cm³ 以上,略高于所报道

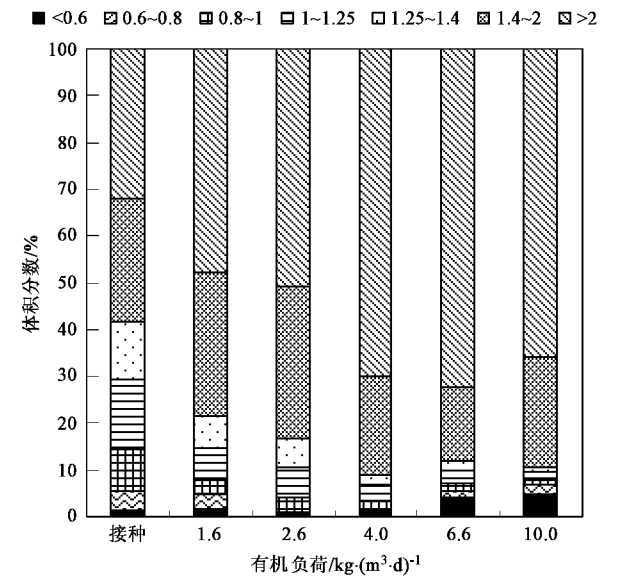


图 4 不同有机负荷下颗粒污泥粒径分布
Fig.4 Granular diameter distribution at different OLRs

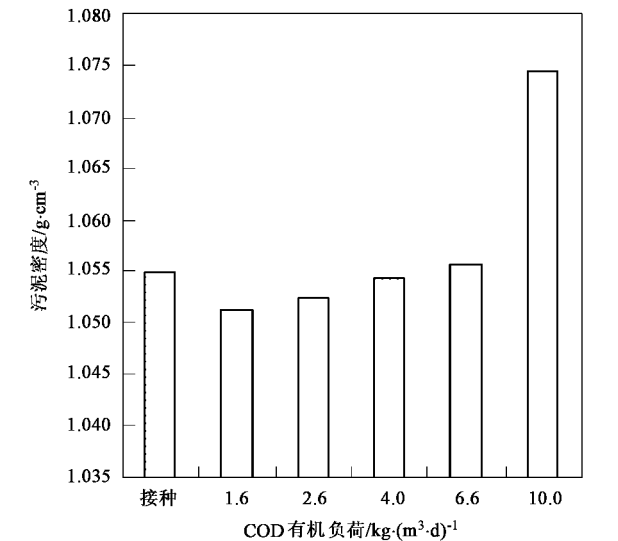


图 5 不同有机负荷下颗粒污泥的平均密度
Fig.5 Average granular densities at different OLRs

中温颗粒污泥的平均密度 $1.0 \sim 1.03 \text{ g/cm}^3$, 并且随着有机负荷的逐渐提高颗粒污泥的平均密度逐渐增大;在 $10 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 时有大幅提高. 由此可见, 随着有机负荷的提高, 颗粒污泥的粒径逐渐增大, 平均密度略有增加, $10 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 的有机负荷对污泥性质有较大影响.

肉眼观察, 接种污泥外表光滑规整, 深黑色呈饱满颗粒状, 粒径分布较均匀. 在电镜下观察发现, 接种污泥的表面和外层有较多杆状或椭球状菌, 在颗粒中心, 由于长期缺乏营养大部分细菌已经死亡或破裂. 温度降到 20°C 初期, 污泥表面出现绒毛状物质, 并伴有污泥上浮现象, 破碎的污泥随出水排出, 经过一段时间后此现象消失, 污泥呈现光滑黑亮颜色.

在反应器运行到第 184 d 时, 反应器污泥沉降性能较好, 此时取出内部污泥进行电镜观察, 结果如图 6 所示. 可以看出, 颗粒污泥的外观主要呈圆球形或椭球形, 表面光滑, 颜色为黑亮色[图 6(a)]; 污泥内部质地密实均匀, 无明显孔隙[图 6(b)]; 但中心处仍可见大量死亡细菌留下的空壳[图 6(c)]; 由内向外细菌活性逐渐恢复, 至距中心 $1/2$ 半径处, 已出现较大数量恢复活性的短杆菌和椭球菌, 并伴有部分很长的丝状菌[图 6(d)]; 到颗粒污泥表层, 有厚约 $70 \sim 80 \mu\text{m}$ 的新生菌区, 在此区域内微生物生长密集, 活性较好, 仍以短杆菌和椭球状菌为主[图 6(e)]; 同时在颗粒表面出现一种长丝状菌[图 6(f)], 这种菌是在接种污泥中较少存在.

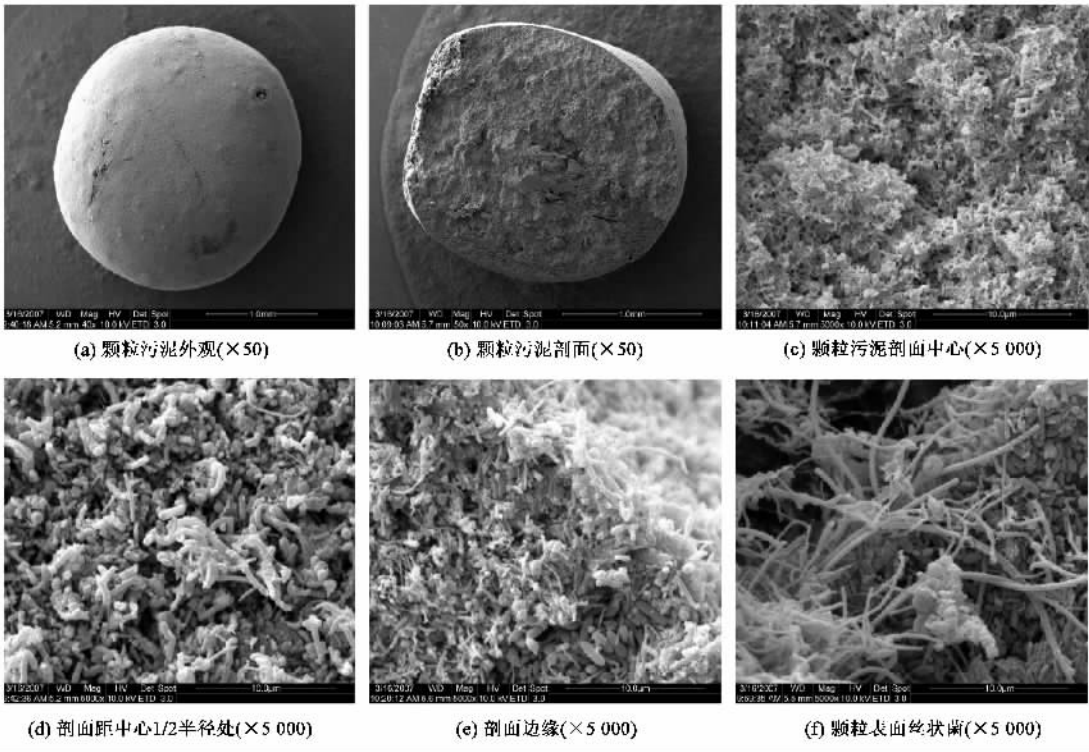


图 6 20℃ 下运行 184 d 后的厌氧颗粒污泥扫描电镜照片

Fig.6 SEM photographs of granules from EGSB reactor at 20℃ after 184 days' operation

2.3 低温对厌氧颗粒污泥中 ECP 含量和组成的影响

ECP 主要成分是多聚糖和蛋白质^[13~16]. 图 7 所示是在不同有机负荷下, EGSB 反应器多聚糖和蛋白质浓度的变化. 从中可看出: ①随着进水有机负荷的不断提高, ECP 的总量不断增加. 有机负荷处于 4.0 、 6.6 和 $10.0 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 时, 多糖和蛋白质的含量(以 VSS 计)分别为: 11 、 13 、 14 mg/g 和 17 、 27 、 56 mg/g ; ②ECP 的增加主要是蛋白质含量的增加; ③蛋白质与多糖含量的比值位于 $1.5:1 \sim 4:1$ 之间, ECP 总量占

污泥 VSS 总量的 $2.8\% \sim 7.0\%$.

实验室中接种同种颗粒污泥处理淀粉废水的 UASB 反应器, 其运行温度 35°C , 有机负荷 $10 \text{ kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, 采用同样的测试方法, 测得多糖含量为 14 mg/g , 蛋白质含量为 44 mg/g . 与同样有机负荷运行温度 20°C 的 EGSB 反应器内颗粒污泥相比, 35°C 下颗粒污泥的 ECP 总量偏低, 其中主要是蛋白质含量较低. 可以初步推断, ECP 含量不仅受进水有机负荷的影响, 同时受温度的影响. 进水有机负荷的提高和反应温度的降低都会导致 ECP 含量的升高, 其中

多糖含量基本稳定,主要是蛋白质含量会逐渐增加.

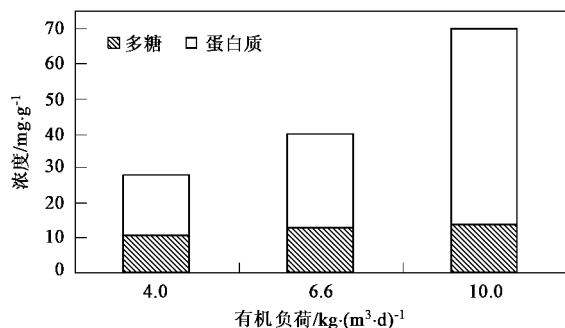


图7 20℃下厌氧颗粒污泥中的ECP含量和组成

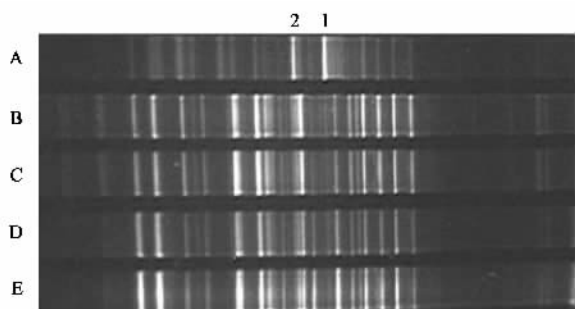
Fig.7 ECP contents and composition in the sludge operated at 20℃

2.4 不同温度下菌种的变化

温度不仅会影响反应器内上述物化性质^[18~21],而且会影响其中的微生物活性^[22~24],甚至会导致微生物的种群结构发生变化^[24,25].利用PCR-DGGE技术对中温接种污泥、20℃连续运行EGSB反应器中的颗粒污泥和接种同样颗粒污泥在15℃下半连续运行6个月的反应器中的颗粒污泥中古菌(可近似认为是产甲烷菌)的菌种多样性进行了分析测试,结果如图8所示.在DGGE图谱上,每一条带代表一种特定的微生物,条带的亮度则代表该特定微生物在样品中的相对含量.图8中的样品A为15℃反应器的颗粒污泥,样品B为中温接种颗粒污泥,而样品C、D、E分别为20℃反应器有机负荷由低到高逐级稳定下的颗粒污泥.从图8可看出:①由于所有样品均来自于同一种中温厌氧颗粒污泥,所以所有样品中总的古菌多样性并没有明显差异,但不同温度会导致污泥中的优势菌种发生改变;②3个20℃下的颗粒污泥与中温颗粒污泥相比,其中的古菌多样性和相对的优势菌种均无明显变化,而在15℃下运行6个月后的颗粒污泥与其他污泥样品相比,其中古菌的优势菌种发生了明显变化,主要表现在:在15℃下运行6个月后的颗粒污泥(样品A)中含有图8所示1、2两条明显的优势菌带,而中温污泥(样品B)以及3个在20℃下运行不同时间后的污泥(样品C、D、E)中这两条带都很不明显.而且,在样品B、C、D、E中几条较为明显的优势菌带,在样品A中的亮度已明显减弱,说明其在样品A中已经逐渐失去原有的优势地位.

3 结论

(1)接种中温颗粒污泥,在20℃下处理模拟啤



A: 15℃颗粒污泥; B: 接种污泥(35℃); C: 20℃, 1.6 kg·(m³·d)⁻¹; D: 20℃, 2.6 kg·(m³·d)⁻¹; E: 20℃, 4.0 kg·(m³·d)⁻¹

图8 同种污泥不同温度下的DGGE图片

Fig.8 Dgge fingerprint of the same kind of sludge under different temperatures

酒废水的EGSB反应器,在HRT为18 h,经过184 d的运行,有机负荷可达10 kg/(m³·d),COD去除率为85%以上,去除1 kg COD可产沼气0.58m³.

(2)随着有机负荷的提高,颗粒污泥的粒径逐渐增大,沉降性能逐渐变好.当负荷达到10 kg/(m³·d)时,污泥平均粒径有变小趋势,但沉降性能仍较好.随着有机负荷的提高ECP总量不断增加,其中主要是蛋白质含量的增加,同时比中温下ECP总量高,多糖含量基本稳定,蛋白质含量增加显著.

(3)与中温接种污泥相比,在20℃连续运行,不同负荷下污泥中的产甲烷菌种类未发生明显变化,但接种同样颗粒污泥在15℃下半连续运行6个月后污泥中优势产甲烷菌菌种发生了明显变化.

参考文献:

- [1] Lettinga G, Rebac S, Zeeman G. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment[J]. Trends in Biotechnology, 2001, 19(9): 363-370.
- [2] 任南琪,王爱杰.厌氧生物技术原理与运用[M].北京:化学工业出版社,2004.29.
- [3] 贺延龄.废水的厌氧生物处理[M].北京:中国轻工业出版社,1998.522-560.
- [4] Lettinga G, Vanlier S. Advanced anaerobic treatment in near future [J]. Water Science Technology, 1997, 35(10): 5-12.
- [5] 王凯军.厌氧工艺的发展与新型厌氧反应器[J].环境科学, 1998, 19(1): 94-96.
- [6] Lettinga G, Rebac S, Parshina S, et al. High-rate anaerobic treatment of wastewater at low temperature [J]. Applied Environmental Microbiology, 1999, 65(4): 1696-1702.
- [7] Rebac S, Ruskova J, Gerbens S, et al. High-rate anaerobic treatment of wastewater under psychrophilic conditions[J]. Ferment and Biotechnol, 1995, 80(5): 499-506.
- [8] Nozhevnikova A N, Simankova M V, Parshina S N, et al. Temperature characteristics of methanogenic archaea and acetogenic bacteria isolated from cold environments [J]. Water Science

Technology, 2001, **44**(8): 41-48.

[9] Sharon M H, Carton M. Methanogenic population structure in a variety of anaerobic[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, **219**: 297-304.

[10] Connelly T L, Tilburg C M, Yager P L. Evidence for psychrophiles outnumbering psychrotolerant marine bacteria in the springtime coastal Arctic[J]. Limnology and Oceanography, 2006, **51**(2): 1205-1210.

[11] 辛明秀,马延和.嗜冷菌和耐冷菌[J].微生物通报,1999,**26**(2):155.

[12] 左剑恶,李建平.一种颗粒粒径分布的测量方法[P].中国专利(公开号):200510011874.8, 2005-11-16.

[13] 刘志杰,谢华,俞毓馨,等.厌氧颗粒污泥中胞外多聚物的提取、测定方法选择[J].环境科学,1994,**15**(4):23-26.

[14] Sponza D T. Extracellular polymer substances and physicochemical properties of flocs in steady and unsteady state activated sludge systems[J]. Process Biochemistry, 2002, **37**: 983-998.

[15] Liu W T, Chan O C, Fang H P. Characterization of microbial community in granular sludge treating brewery wastewater[J]. Water Research, 2002, **36**: 1767-1775.

[16] Zhou W L, Imai T, Ukita M, *et al.* Effect of loading rate on the granulation process and granular activity in a bench scale UASB reactor[J]. Bioresource Technology, 2007, **98**(7): 1386-1392.

[17] 王妍春,左剑恶,肖晶华.EGSB 反应器内厌氧颗粒污泥性质的研究[J].中国沼气,2002,**20**(4):3-7.

[18] Akila G, Chandra T S. Performance of an UASB reactor treating synthetic wastewater at low-temperature using cold-adapted seed slurry[J]. Process Biochemistry, 2007, **42**(3): 466-471.

[19] Alvarez J A, Ruiz I, Gómez M, *et al.* Start-up alternatives and performance of an UASB pilot plant treating diluted municipal wastewater at low temperature[J]. Bioresource Technology, 2006, **97**(14): 1640-1649.

[20] Sharon M H, Collins G, O' Flaherty V. Long-term, high-rate anaerobic biological treatment of whey wastewaters at psychrophilic temperatures[J]. Bioresource Technology, 2006, **97**(14): 1669-1678.

[21] 任洪强,丁丽丽,陈坚,等.EGSB 反应器中颗粒污泥床工作状况及污泥性质研究[J].环境科学研究,2001,**14**(3):33-41.

[22] Hanna C, Seung W J, Youn J C. Enhanced anaerobic gas production of waste activated sludge pretreated by pulse power technique[J]. Bioresource Technology, 2006, **97**(2): 198-203.

[23] Rebac S, van Lie J B. Psychrophilic anaerobic treatment of low strength wastewaters[J].Water Science Technology, 1999, **39**(5): 203-210.

[24] Connaughton S, Collins G, O' Flaherty V. Development of microbial community structure and activity in a high-rate anaerobic bioreactor at 18℃[J]. Water Research, 2006, **40**(5): 1009-1017.

[25] Liu W T, Chan O C, Fang H P. Characterization of microbial community in granular sludge treating brewery wastewater[J]. Water Research, 2002, **36**: 1767-1775.