doi:10.3969/j.issn.1005-3158.2013.04.005

石油降解固态菌剂的研制

张海玲 杨 琴 李 岩

(中国石油长庆油田公司油气工艺研究院)

摘 要 用喷雾干燥和表面吸附固定化两种工艺对石油降解菌剂进行固态菌研制。结果表明:在对菌浓度为 9.7×10^9 cfu/mL 的 500 mL 发酵液添加 40 g 轻质碳酸钠后进行喷雾干燥,在进风温度为 120℃,进样量为 12 mL/min 的条件下,得到粉剂产品 56 g,含水量为 4.6%,菌密度为 10.05×10^9 cfu/g,产品得率为 11.6%;在对菌浓度为 9.7×10^9 cfu/mL 的 500 mL 发酵液添加 1 500 g 麸皮进行吸附固定化处理,得到粉剂产品 1 438.6 g,水分含量为 7.9%,菌密度为 5.7×10^8 cfu/g,产品得率为 16.9%。考虑到喷雾工艺设备投资大,能耗多等不利因素,因此建议使用吸附固定化技术作为石油降解固态菌剂的下游处理技术。

关键词 石油降解菌;喷雾干燥;表面吸附固定化

中图分类号:X172 **文献标识码**:A **文章编号**:1005-3158(2013)04-0016-03

0 引 言

液体深层发酵是培养石油降解菌的最基本方法,发酵完成的菌悬液可以用来提取所需的有效成分,也可以通过浓缩提高产品价值。但是液体产品容易腐败变质,必须添加防腐剂才能保存[1]。目前各地都以苯甲酸钠作为液体产品的防腐剂,这种防腐剂发挥作用的 pH 值在 4.5~5.5 之间,而石油降解菌发酵液的 pH 值在 7~8 之间,只有通过添加盐酸降低 pH 值[2]。过度偏酸的发酵液达到了保存目的,但对以有效活菌数为质量指标的石油降解菌剂而言,因强酸对菌株的杀伤作用和抑制作用,很短时间内产品中的菌株就丧失活性甚至死亡[3]。文章研究选用喷雾干燥和固体物料吸附固定化两种工艺技术,使液体转变为固体,从而达到保存的目的。

1 实 验

1.1 实验材料及主要仪器

主要材料为:轻质碳酸钙水分 8%,颗粒细度 100 目;草炭有机质含量 49%,水分 15%,pH 值 6.5,颗粒细度 60 目;麸皮为小麦麸皮,水分 13%,颗粒细度 25 目。沸石粉水分 10%,颗粒细度 80 目;石油降解菌发酵液按照菌群构建的比例配比发酵液,经检测发酵液菌浓度为 9.7×10^9 cfu/mL。

主要仪器为:步琦 B290 小型喷雾干燥仪。

1.2 实验方法

1.2.1 喷雾干燥

在发酵液中加入 8%轻质碳酸钙作为载体,控制进风温度分别为 110、120、130、140、150、160℃,进料速度为 9 mL/min,通过存活率的计算确定最佳进风温度;然后控制进料速度为 3、6、9、12、15 mL/min,通过存活率的计算确定最佳进料速度。

1.2.2 表面吸附固定化

将发酵液分别与灭菌后的草炭、麸皮和沸石粉按照固液比 5∶1 的比例混合均匀,然后摊平置于阴凉干燥处自然风干,通过产品得率的计算确定最佳吸附基质;确定吸附基质后,选择固液比分别为 5∶1、4∶1、3∶1 和 2∶1 进行混合,通过产品得率的计算确定最佳投料比例。

1.2.3 菌粉中活菌数的确定

分别取菌粉 1 g,于 9 mL 无菌水中混匀,吸取该悬浮液加到一盛有 9 mL 无菌水试管中,混匀,再从此混匀液中取 1 mL,加到另一盛有 9 mL 的无菌水的试管中,重复同样操作,对菌液进行梯度稀释。最后选取三个梯度,分别取 0.1 mL,加入到事先准备好的凉冷的琼脂平板上,把菌液涂匀,静置 30 min 后。将平皿倒置,放于培养箱中培养 24~36 h。菌落计数选取菌落在 30~300 个之间的平皿进行计数。计数公式为:菌粉活菌数(个/g)=平皿上菌落数$\times10^{稀释倍数}$。

1.2.4 产品得率计算

产品得率=粉剂活菌数(cfu)/发酵液活菌数(cfu)

张海玲,2006 年毕业于中国石油大学(北京)资源与信息学院环境科学专业,工程师,现在中国石油长庆油田公司油气工艺研究院从事油气田安全环保技术研究工作。通信地址:陕西省西安市明光路长庆油田油气工艺研究院,710016

2　结果与讨论

2.1 喷雾干燥

喷雾干燥是使液态物料经过喷雾进入热气流中使溶剂迅速蒸发而转变成干粉的过程，在此过程中物料被分散成 10～100 μm 的小液滴，具有较大的蒸发面积，干燥时间仅为 5～30 s，因此特别适合热敏性材料的干燥。依据料液雾化方式的不同，喷雾干燥塔可分为气流式、压力式和离心式三种，其中气流式应用最多。

实验所使用的雾化方式为气流式，其原理是：通过雾化器将物料溶液分散成雾状液滴，在干燥介质（热风）的作用下进行热交换，使雾状液滴中溶剂迅速蒸发，获得粉状制品的干燥过程。在干燥过程中液滴温度比较低，因而特别适合于热敏性物料（生物制品）的干燥，而且成品质量好。为改善干物料的性状，降低含水量，在进行喷雾干燥前以 8%（质量分数）的添加量向发酵液中添加碳酸钙，搅拌混合 60 min 进行吸附包埋，然后进行喷雾工艺的操作。不同进风温度下的出口温度见表 1。

表 1　不同进风温度下的出口温度　　℃

进风温度	110	120	130	140	150	160
出口温度	49～51	52～53	56～58	58～59	60～61	61～62

不同进风温度下产品得率见图 1，由图中数据可知，随着进风温度的升高，产品得率先增加而后降低。当进风温度大于 120℃时，产品得率急剧下降，在 120～160℃的温度范围内，产品得率由 9.3% 下降到了 4.2%，下降幅度达到 54%，随着进风温度的升高，菌株死亡率上升。这是因为进风温度越高，单位时间内提供的热量就越多，由于石油降解菌株是热敏性物质，虽然水分蒸发会带走大量的热量，但过多的热量会导致菌株在喷雾干燥过程中大量死亡。进风、出口温度对粉剂产品的影响主要表现在进风温度过高，导致菌株存活率下降，而进风温度过低，会导致产品水分量升高，造成喷雾干燥时粘壁现象严重，影响产品的收集，同样造成产品得率降低。通过对产品外观观察得出，各温度下获得的菌粉，分散性良好，均无发粘结块现象，因此喷雾干燥工艺中最佳进风温度为 120℃。

在进风温度为 120℃时不同进样量条件下的产品得率见图 2，由图 2 可知，进样量为 3～12 mL/min，随着进样量的增加，产品得率逐渐上升。原因是随着

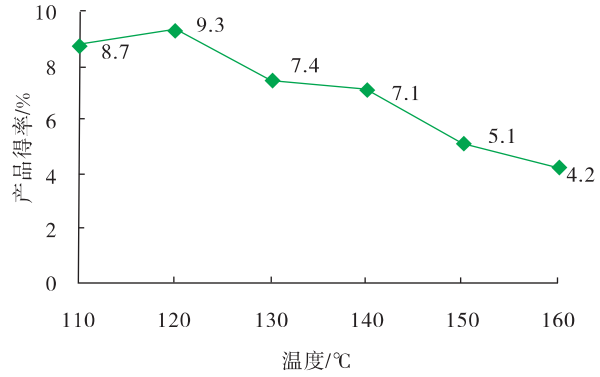

图 1　不同进风温度下的产品得率

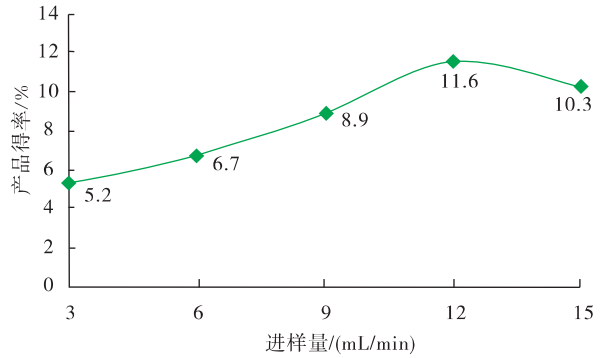

图 2　不同进样量下的产品得率

进样量的增加，单位时间内物料转化为粉剂需要的热量就越多，在单位时间供热量不变的情况下，进样量越大，干燥效率就越低。在进样量为 3 mL/min 时，单位物料承受的热量过大，使石油降解菌大量死亡。而过高的进样速度会导致单位时间内物料水分蒸发量的降低，导致粉剂含水量的增加，从而发黏结块，造成喷雾干燥时粘壁现象严重，影响产品的收集，同样造成细菌存活率降低。

表 2　不同进样量下的出口温度

进样量/(mL/min)	3	6	9	12	15
出口温度/℃	64～66	59～61	53～55	50～51	46～48

由表 2 可见，出口温度随进样量的增加呈现递减趋势。进样会导致蒸发能力不足，不能形成良好的均质的粉状物，所以产品得率下降；进样太慢，蒸发过度，会导致出口温度过高，造成菌体较快死亡。石油降解菌喷雾干燥的最佳进样量为 12 mL/min。

通过实验研究得出，在对菌浓度为 9.7×10^9 cfu/mL 的 500 mL 发酵液添加 40 g 轻质碳酸钠后进行喷雾干燥，在进风温度为 120℃，进样量为 12 mL/min

的条件下，得到粉剂产品 56 g，含水量为 4.6%，菌密度为 10.05×10^9 cfu/g，产品得率为 11.6%。

2.2 吸附固定化

微生物固定化技术是指通过化学或物理方法将游离细胞（微生物）或酶定位于限定的空间区域内，并使其保持活性且能反复使用的技术[2]。高效降解菌对污染物的降解作用是微生物修复技术的核心，目前用于修复污染土壤的降解菌主要分为土著菌、外来菌和工程菌，这些都是游离菌。由于降解过程中污染物的成分更复杂，一些次生代谢物和中间降解产物的毒性更大，游离微生物表现出单位体积内有效降解菌浓度低、与土著菌竞争处于弱势、抗毒性侵害能力差等特点。而固定化技术能够对完整的微生物细胞进行固定，避免人为破坏生物酶的活性和生化反应的稳定性；提高单位体积介质中微生物细胞密度；固定化后的微生物能够长期保持活性；固定化细胞颗粒的微环境有利于屏蔽土著菌、噬菌体和毒性物质对微生物体的恶性竞争、吞噬和毒害，使其在复杂环境中也可稳定地发挥高效能。

表面吸附法是微生物固定化的方法之一，其原理是依据带电的微生物细胞和载体之间的静电、表面张力和黏附力作用，使微生物细胞附着在载体表面的固定的方法，是一种传统的固定化方法，一般是利用多孔性材料作为载体来吸附微生物进行细胞固定。该技术的制备方法简单、固定化成本低，而且固定化微生物的活性强，因此本次实验使用麸皮、草炭和沸石粉为载体进行石油降解菌发酵液的固定化研究。

将重量为 500 g 的不同吸附基质按照固液比 5∶1的比例与发酵液进行混合，然后均摊置于阴凉干燥处自然条件下风干，制得固态菌剂。图 3 为不同吸附基质的产品得率，实验表明，麸皮对石油降解菌的存活影响相对较小，得率为 15.8%，而草炭和沸石粉的产品得率分别为 12.7%和 6.4%，因此选择麸皮作为吸附基质。

确定麸皮作为吸附基质后，接下来确定吸附比。选择固液比分别为 5∶1、4∶1、3∶1 和 2∶1 进行混合，通过产品得率的计算确定最佳投料比例，实验结果如图 4 所示。由图 4 中数据可知，当固液比为5∶1、4∶1、3∶1 产品变化幅度很小，最高值与最低值相差 1.6 个百分点；固液比从 3∶1 和 2∶1 之间相差了8.2个百分点，产品得率急剧下降，分析原因是由于初始物料含水量过高，菌体缺氧死亡，导致产品得率下降；虽然4∶1时比3∶1时高出0.4个百分点，但是从节约吸附基质、降低生产能耗和提高产品浓度三方面考虑，应选择固液比 3∶1 为工艺条件。

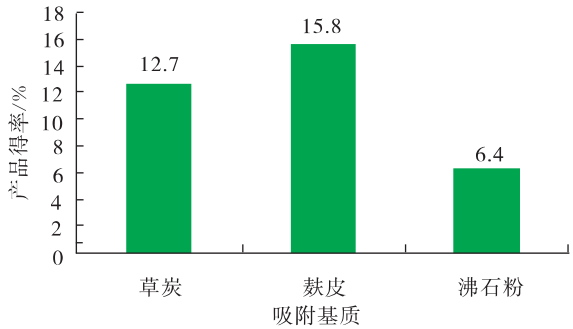

图 3 不同吸附基质产品得率

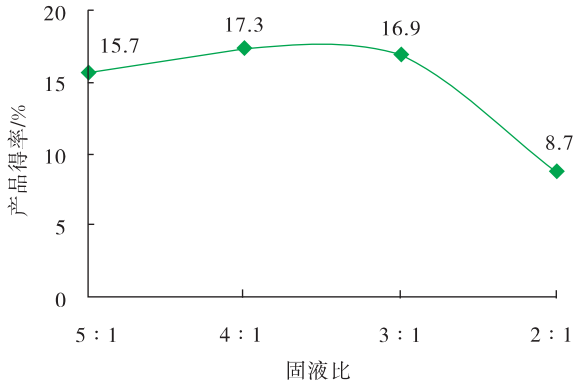

图 4 不同固液比产品得率

通过实验研究得出，在对菌浓度为 9.7×10^9 cfu/mL 的 500 mL 发酵液添加 1 500 g 麸皮进行吸附固定化处理，得到粉剂产品 1 438.6 g，水分含量为 7.9%，菌密度为 5.7×10^8 cfu/g，产品得率为 16.9%。

石油降解菌剂发酵液分别经喷雾干燥和表面吸附固定化工艺处理后所得的产品各项指标如表 3 所示。

表 3 不同处理工艺所得产品的各项指标

工艺	产量/g	水分/%	浓度/(10^8 cfu/g)	产品得率/%
喷雾	56	4.6	100.5	11.6
固定	1 438.6	7.9	5.7	16.9

由表 3 可知，喷雾干燥所得产品水分含量低，产品纯度高；而固定化技术所得产品虽然纯度低水分含量高，但是产品得率较喷雾工艺高出 5.3 个百分点，同时考虑到喷雾工艺设备投资大，能耗多等不利因素，因此建议使用吸附固定化技术作为石油降解固态菌剂的下游处理技术。

（下转第 23 页）

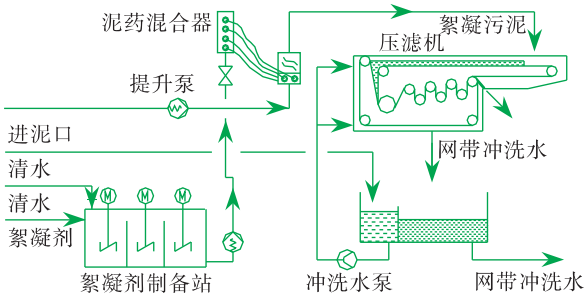

图 1　压滤机工作原理及结构

入流化预处理装置中，通过加入回掺热水，将三元废渣升温至 45 ℃并将含固量较高的三元废渣流化成含固量在 5%左右的流体，浮选机将大块的固体杂质从三元废渣中去除，减少对后续设备的磨损并保证处理效率。此过程三元废渣与回掺水的比值大约为 1∶3（可根据含聚浓度和黏度适时调整），通过稀释和升温，降低三元废渣的含聚浓度和黏度。

◆ 三元废渣调质　流化三元废渣进入调质罐通过加热、搅拌、匀化，使油、泥充分脱离，油、水充分破乳，再通过沉降、溢流回收上层污油，便于后续的减量化处理。调质罐内的介质温度控制在 45～60 ℃之间。经稀释和升温后的三元废渣含聚浓度小于 300 mg/L，黏度小于 4.5 mPa·s，含油量稳定，小于 8%。

◆ 三元废渣压滤处理　经调质后的三元废渣进入压滤机，压滤出的含聚污水经缓冲罐缓冲后由自吸泵提升至污油站缓冲池，三元废渣经压滤后，大部分聚合物随污水排出，处理后三元废渣中含聚浓度小于 80 mg/L，含固量 25%～40%，含油量小于 4%，压滤后三元废渣与水驱含油污泥混合后再进入已建泥站进行流化-调质-离心处理，保证处理后污泥含油量小于 2%，满足 DB 23/T 1413－2010《油田含油污泥综合利用污染控制标准》的要求。

3　应用效果及结论

该装置在油田含油污水处理站经过实际运行，使处理前含水率在 95%以上的三元废渣，经处理后含水率降低到 70%以下，实现了三元废渣减量化；该装置采用机械挤压原理达到固液分离的目的，运行稳定性较好；只需要添加絮凝剂和使用可再生滤布，从而降低了运行费用；同时该装置占地面积小，具有较好的可移动性，既可以放置在已建含油污泥处理站，作为三元废渣进入泥站的前处理技术，又可以放置在聚驱及三元污水处理站，对站内产生的三元废渣直接进行减量化和降聚处理后再拉运至已建泥站。

采用板框压滤机处理三元废渣技术在改善注水水质提高聚驱及三元驱效果、降低对已建含油污泥处理站离心机冲击、消除三元废渣直接外排带来的环境污染隐患和实现减排等方面，均取得了良好的效果，在油田三元废渣治理方面具有较好的推广应用价值。

参 考 文 献

[1] 叶清. 三元复合驱采出水特性分析及其处理方法研究[D]. 上海：上海交通大学，2008.
[2] 张瑞泉，梁成浩，刘刚，等. 三元复合驱采出液视粘度和乳状液类型测试[J]. 油气田地面工程，2007，26(1)：61-62.
[3] 史改芳，颜士卫，赵林安，等. 板框压滤机排水系统技术改造[J]. 内蒙古石油化工，2010(23)：38.
[4] 马奎，樊苏生. 板框压滤机的选型分析[J]. 聚氯乙烯，2010，38(10)：39-41.
[5] 汤红霞，崔升阳，王明武. 板框压滤机在纯碱生产中的应用[J]. 内蒙古石油化工，2010(14)：33-34.
[6] 熊伟. 板框压滤机在转炉污泥脱水中的应用[J]. 产业与科技论坛，2011，10(16)：75-76.

（收稿日期　2012-12-18）
（编辑　张 爽）

（上接第 18 页）

3　结束语

实验研制的菌剂是为了强化降解污染物中石油烃化合物而研制的降解菌，属于非病原性细菌群落和异养型微生物群体[4-5]。它是以污染物中发现的微生物为基础，通过扩大培养方式获得的适宜降解石油类物质的混合菌剂，以麦麸为载体，将降解石油烃类微生物固定其上，干化后形成粉末状微生物菌剂，解决了细菌长期存放存活率低的技术难题。

参 考 文 献

[1] 胡家骏，周群英. 环境工程微生物学[M]. 北京：高等教育出版社，1996.
[2] 何翊，吴海，魏薇. 石油污染土壤菌剂修复技术研究[J]. 土壤，2005，37(3)：338-340.
[3] 黄廷林，宁亚平，柴蓓蓓. 石油高效降解菌的筛选及其降解特性[J]. 西安建筑科技大学学报(自然科学版)，2006，38(6)：795-798.
[4] Simpson M J. Nuclear Magnetic Resonance Based Investigations of Contaminant Interactions with Soil Organic Matter[J]. Soil Science Society of American Journal，2006，70(3)：995-1004.
[5] 任随周，郭俊，邓穗儿，等. 石油降解菌的分离鉴定及石油污染土壤的细菌多样性[J]. 生态学报，2005，25(12)：3314-3322.

（收稿日期　2012-12-25）
（编辑　李 娟）