

硅藻土/活性炭对石油降解菌群的固定化研究*

单海霞¹ 刘晓宇² 张颖³ 王中华¹ 何焕杰¹ 马金¹ 郭民乐¹

(1. 中国石化中原石油工程有限公司钻井工程技术研究院; 2. 中原油田技术监测中心化工产品监测总站;
3. 中原油田分公司天然气处理厂)

摘 要 研究了一种石油降解菌群的固定化方法,其中菌群包括假单胞菌、芽孢杆菌和微球菌。以硅藻土/活性炭作为降解菌群的固定化载体,对最佳固定化条件进行研究,结果表明:降解菌群的最佳固定化时间 16 h,温度 37℃,硅藻土/活性炭加入量 0.1 g/mL, pH 值 7.5, 120 r/min 振荡 16h,降解菌群固定化率达 97.1%。固定化菌群用于油基钻屑中油降解,降解 14 d,可使钻屑中 TPH 含量由 30 000 mg/kg 降至 10 450 mg/kg,平均油去除率达 65%。

关键词 石油降解菌;固定化;硅藻土/活性炭

中图分类号: X172

文献标识码: A

文章编号: 1005-3158(2013)04-0019-03

0 引 言

油气资源勘探、开发过程中产生的大量含油固体废物,因含有石油烃类等污染物,已被列入国家危险废物名录,若不经处理就直接排放,将会对生态环境造成严重危害^[1-2]。在含油固体废物处理技术中,微生物处理技术因具有安全、经济、高效、无二次污染等优点,已成为含油固体废物安全处理和处置的重要手段^[3]。特别是对机械装置无法清除的孔隙油和薄油层,同时又限制使用化学药剂时,运用生物处理技术显示出更大的优越性。

一个典型的石油样品含有的烃类化合物可达 200~300 种。不同的微生物对石油组分具有不同的降解能力,单一的石油降解菌很难将石油从环境中彻底去除,因此,石油组分的复杂性决定其降解必然需要多种微生物的共同参与。石油降解菌群的构建可充分利用各降解菌之间共生、协同等作用,实现石油组分的同步降解,大大提高石油污染物的降解速率和程度,有效缩短石油污染物的降解周期。然而,游离态的微生物用于含油固体废物处理尚存在一定缺陷,如单位体积内优势菌浓度低、启动慢、菌体易流失、抗毒性侵害能力差、对环境条件变化敏感等^[4-5]。因此,石油降解微生物固定化技术具有特殊的技术优势和应用前景。

微生物固定化技术是通过采用物理或化学的方法将游离微生物固定于限定空间区域内,保留其固有活性,且能够被重复和连续使用的现代生物工程工

艺。关于石油降解单菌的固定化技术已有报道,如:中国专利(200910255830.8)公开了一种以芦苇地表根须为载体的石油降解菌固定化方法;中国专利(201210006059.2)公开了石油降解菌固定化法及其应用;刘虹^[6]等报道了泥炭对石油降解菌最佳固定化条件的研究。目前,关于石油降解菌群的固定化研究报道仍为空白。本研究将石油降解菌群固定在硅藻土/活性炭复合载体上,并对固定化条件进行研究,初步考察固定化菌群对于油基钻屑中石油烃的降解效果。

1 实 验

1.1 试剂与材料

实验所用假单胞菌、芽孢杆菌和微球菌均筛选自某油田油基钻屑污染土壤。

发酵培养基:蛋白胨 10 g、牛肉膏 5 g、氯化钠 10 g,蒸馏水 1 000 mL, pH 值 7.0~7.4, 113℃ 灭菌 30 min。

硫酸铵、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、双氧水、氯化钙、石油醚等为分析纯级;硅藻土、活性炭为工业级。

1.2 仪器与设备

MSX-280 型高压灭菌锅;索氏提取仪;HZQ-F-160 型恒温震荡培养箱;DZF-6020 真空干燥箱;SC-3614 台式离心机;AL204 型精密电子天平;SW-CJ-2D 型净化工作台;E200 电子显微镜等。

* 基金项目:中国石化集团重点科技攻关项目,编号 P120006。

单海霞,2010 年毕业于江南大学化学与材料工程学院应用化学专业,博士,工程师,现在中国石化中原石油工程有限公司钻井工程技术研究院从事油气田开发含油固体废物处理技术研究。通信地址:河南省濮阳市中原油田钻井工程技术研究院环保所,457001

1.3 方法

1.3.1 石油降解菌群液体种子制备

分别取三种单菌,假单胞菌(*Pseudomonas* sp.)、芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)和微球菌(*Micrococcus* sp.),等质量混合均匀,总接种量 10% 接种于发酵培养基中,37℃,120 r/min,通空气培养 12~36 h 至培养基中石油降解菌总数量为 10⁸ cfu/mL 以上,得到液体石油降解菌群种子。

1.3.2 石油降解菌群发酵培养

向装有高温灭菌的发酵培养基的发酵罐中,以 10% 的接种量接种液体种子,37℃,120 r/min 通空气培养 24 h;以 10% 的接种量转入另一装有新鲜发酵培养基的发酵罐中进行转接培养,当转接次数大于 5,即得到石油降解菌群悬液。

1.3.3 微生物数量测定

稀释平板计数法^[7]。

1.3.4 石油烃降解率测定

重量法^[8]。

1.3.5 石油烃降解菌固定化

取浓度 0.1 g/mL 的菌群悬液 100 mL,依次加入灭菌后的硅藻土 5 g,活性炭 5 g,于 37℃ 均匀混合,调 pH 值至 7.5,通过蠕动泵将混合液经玻璃管滴入 0.05 mol/L 的 CaCl₂ 溶液中,120 r/min 振荡 16 h,吹干备用。

2 结果与讨论

2.1 时间

选取几个点数据,考察时间对固定化率的影响。固定化率随时间变化曲线见图 1。

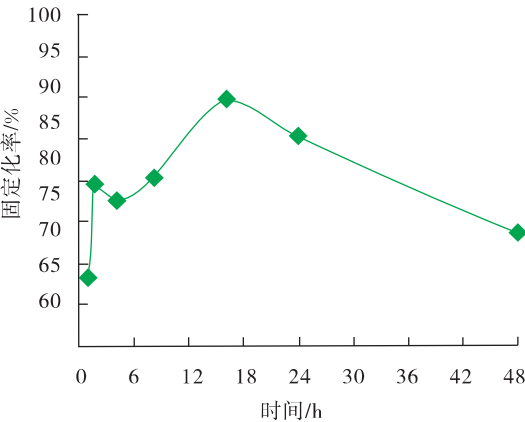


图 1 固定化率随时间变化曲线

由图 1 可看出,硅藻土/活性炭对微生物的固定化率呈现先升高后降低的趋势,在 16 h 达到最佳值

89.7%。开始随着时间的增加,硅藻土/活性炭材料对降解菌的固定化率越来越高,但是当硅藻土/活性炭对降解菌的固定化达到一个相对饱和的状态时,降解菌的固定化率不再增加,后续随着菌活性的降低,出现脱附的现象,固定化率有降低的趋势。因此选定最佳固定化时间为 16 h。

2.2 温度

选取 10、20、37、50℃,考察温度对固定化率的影响,不同温度下固定化率见图 2。

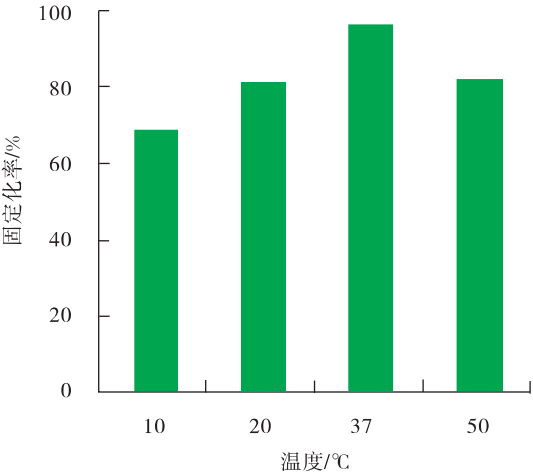


图 2 不同温度下固定化率

由图 2 可知,在温度为 37℃ 时硅藻土/活性炭材料对降解菌的固定化率最高达 92.6%,这是因为温度过高或过低,都会影响降解菌的活性从而降低固定化率。因此选定最佳固定化温度为 37℃。

2.3 pH 值

选取 pH 值为 6.0、6.5、7.0、7.5、8.0 时,考察不同 pH 值对固定化率的影响。不同 pH 值下的固定化率见图 3。

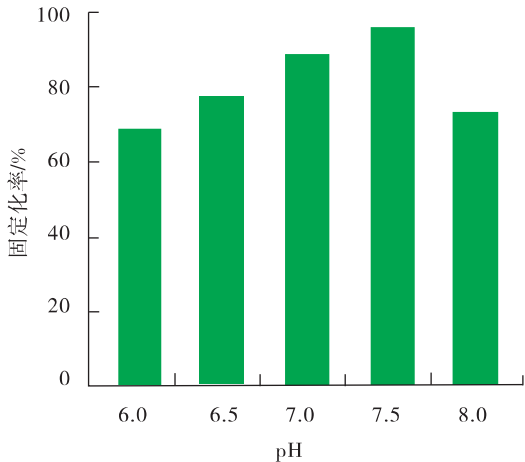


图 3 不同 pH 值下固定化率

由图 3 可知,硅藻土/活性炭对降解率的固定化率在 pH 值为 7.5 时达到最佳值 94.1%。这是因为硅藻土/活性炭材料对降解菌的固定化主要是吸附作用,偏酸或偏碱都会影响吸附效果,pH 值为 7.5 时硅藻土/活性炭对降解菌的吸附作用较强,故最佳 pH 值为 7.5。

2.4 载体加入量

降解菌群的固定化过程主要是将菌体吸附在硅藻土/活性炭载体上,所吸附的菌体数量与硅藻土/活性炭的用量成正比。选取载体量为 5、10、20、30 g,考察载体加入量对固定化率的影响。

不同硅藻土/活性炭加入量下的固定化率见图 4。

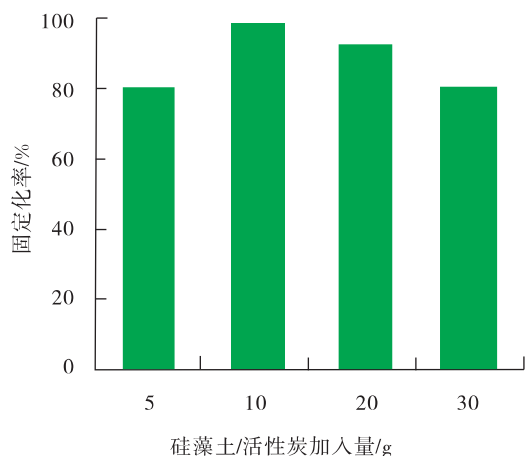


图 4 不同硅藻土/活性炭加入量下固定化率

由图 4 可知,硅藻土/活性炭(质量比 1:1)的加入量为 10 g 时硅藻土/活性炭对降解菌的固定化率最高,为 95.2%。因此,硅藻土/活性炭复合材料被选择为最优固定化材料,加入量为 10 g,复合材料比例 1:1(质量比),由于其来源广泛、价格低廉,可在现场推广使用。

2.5 静态与振荡固定化效果对比

振荡 120 r/min 和静止条件下的固定化率,见图 5。

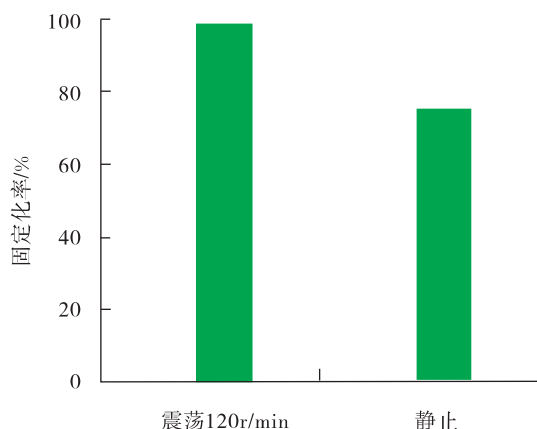


图 5 振荡 120r/min 和静止条件下的固定化率

由图 5 可知,120 r/min 的条件下比静止条件下硅藻土/活性炭对降解菌的固定化率高,达 97.1%。这是因为在振荡条件下硅藻土/活性炭材料与降解菌的接触几率大,因而对微生物的固定化率较高。

2.6 应用

将固定化降解菌群用于油基钻屑中石油污染物的降解。在应用中,首先在油基钻屑中添加营养盐,使油基钻屑中的 C:N:P 为 100:10:1(质量比),同时调整钻屑上层浸出液 pH 值至 7.0~8.0,将固定化降解菌群按照 0.05% 的施加量(质量比)加入油基钻屑中,随后依次加入电子受体、表面活性剂、膨松剂,并将含水量控制在 10%~15%,混合均匀。每 7 d 翻耕一次,14 d 后,测定油基钻屑中石油烃(TPH)含量。结果显示:TPH 由 30 000 mg/kg 降至 10 450 mg/kg,油去除率达 65%。

3 结 论

- ◆ 最佳固定化工艺条件确定为:固定化时间 16 h,固定化温度 37℃,最佳 pH 值为 7.5。
- ◆ 固定化材料硅藻土/活性炭(质量比 1:1)的加入量为 10 g 时,对降解菌的固定化率最高,为 95.2%。
- ◆ 振荡 120 r/min 的条件下,硅藻土/活性炭对降解菌的固定化率高达 97.1%。
- ◆ 固定化降解菌群用于油基钻屑中石油污染物的降解,14 d 后,可使钻屑中 TPH 含量由 30 000 mg/kg 降至 10 450 mg/kg,油去除率达 65%。

参 考 文 献

- [1] 陈永红,刘光全,许毓.废弃油基钻井液处理技术概况及其应用[J].油气田环境保护,2011,21(3):44-46.
- [2] Gogan R, Group B G, Vencenzom, et al. Waste for Management Drillers[J]. SPE 139627, 2010, 1-11.
- [3] 单海霞,何焕杰,袁华玉,等.油基钻屑处理技术研究进展[J].河南化工,2012,29(8):26-29.
- [4] 杨雪梅,张兰英,张蕾,等.固定化酶在高浓度的有机废水处理中的应用[J].吉林大学学报,2005,35(3):398-402.
- [5] 张辉,李培军,胡筱敏,等.采用固定化微生物技术修复油污染地表水[J].农业环境科学学报,2007,26(3):915-919.
- [6] 刘虹,张兰英,吴宇航,等.泥炭对石油降解菌最佳固定化条件的研究[J].吉林化工学院学报,2011,28(1):26-28.
- [7] 奚立旦,孙裕生,刘秀英.环境监测[M].北京:高等教育出版社,2004.
- [8] 谢重阁.环境中石油污染物的分析技术[M].北京:中国环境科学出版社,1987.

(收稿日期 2013-03-11)

(编辑 李娟)