

玉米秸秆发酵浸出液模拟废水发酵产氢的放大实验研究

张茂林, 魏瑞霞, 樊耀亭*, 杏艳, 侯红卫

(郑州大学化学系, 郑州 450052)

摘要: 在 20 L 的半连续流发酵罐中, 以牛粪堆肥为产氢菌源, 按照玉米秸秆发酵浸出液的主要成分配制模拟废水, 考察和分析了几个关键环境因素对发酵产氢的影响. 结果表明, HRT、C/N、 Fe^{2+} 浓度和模拟废水浓度对发酵产氢均有不同程度的影响. 在本实验条件下, 秸秆模拟废水的氢产量、氢浓度和产氢速率分别为 11.80 mol/kg、56% 和 8.81 L/(L·d), 底物转化率大于 90%, 废水中 COD 去除率为 39.40%. 在整个发酵产氢过程, 液相主要发酵副产物为丁酸、乙酸和丙酸以及少量的乙醇和丁醇.

关键词: 秸秆模拟废水; 放大实验; 发酵; 产氢

中图分类号: X382 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2007)08-1889-05

Enlargement Test Studies of Bio-hydrogen Production Using Artificial Wastewater of Corn Stalk Fermentation Lixivium by Mixed Culture

ZHANG Mao-lin, WEI Rui-xia, FAN Yao-ting, XING Yan, HOU Hong-wei

(Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Conversion of artificial corn stalk wastewater, which was prepared according to the main composition of the corn stalk fermentation lixivium, into bio-hydrogen gas by mixed culture was performed in a 20 L half-continuous flow fermenter. The influences of several environmental factors on the bio-hydrogen production, such as HRT, C/N ratio, Fe^{2+} and artificial corn stalk wastewater concentration were discussed in the tests. The experimental results showed that HRT, C/N ratio, Fe^{2+} and artificial corn stalk wastewater concentration significantly affected the fermentation hydrogen production. The maximum H_2 yield of 11.80 mol/kg, H_2 concentration of 56% and hydrogen production rate of 8.81 L/(L·d) were obtained at HRT = 10 h, C/N = 100, Fe^{2+} concentration of 100 mg/L and substrate concentration of 12.5 g/L by mixed culture, respectively. In the fermentation hydrogen-producing process, the conversion efficiency of the substrate was more than 90%, and 39.40% of COD was removed from the reactor. The main by-products in the liquid phase were acetic acid, butyric acid, propionic acid and a little ethanol and butanol throughout this study.

Key words: artificial corn stalk wastewater; enlarged experiment; fermentation; hydrogen production

发酵生物制氢是可再生能源领域的 1 个研究热点. 这是因为它不仅能利用糖和淀粉等碳水化合物作为产氢底物, 而且还可以利用纤维素类生物质(如农作物秸秆)作为廉价的产氢原料^[1]. 纤维素类生物质是地球上最丰富和廉价的可再生资源, 我国农作物秸秆的年产量约为 7.2×10^9 t, 如能将这些生物质资源转化为清洁氢能将有极有意义.

然而迄今为止的发酵法生物制氢研究, 所用的底物大多局限在可溶性糖、淀粉及其相应的有机废水^[2~4], 关于秸秆类生物质的发酵产氢研究则鲜见报道^[5, 6]. 最近樊耀亭等在批式发酵产氢实验中以酸化的玉米秸秆为底物, 通过混合发酵培养得到的最大产氢能力和氢浓度分别为 149.7 mL/g TVS 和 45% ~ 56%^[7].

为了获得在放大实验条件下影响秸秆发酵产氢的主要参数, 本研究按照预处理玉米秸秆浸出液的主要成分配制模拟废水, 以牛粪堆肥为产氢菌源, 在 20 L 半连续流发酵罐中系统考察了 HRT(水力停留时间)、C/N(质量比)等因素对底物发酵产氢的影

响, 取得了有意义的结果.

1 材料与方法

1.1 实验原料

产氢菌源: 牛粪堆肥取自郑州郊区养牛场. 为了抑制产甲烷菌和其它病原微生物, 牛粪堆肥在使用前与适量水混合, 经煮沸、曝气后备用.

玉米秸秆取自郑州郊区, 主要成分分析如下: TS, 90.58%; TVS, 81.70%; 灰分, 8.88%. 使用前将秸秆样品粉碎至 20 ~ 40 目, 用生物添加剂进行预处理后, 按固液比 1:20 用水浸取, 秸秆主要成分分析见表 1. 按照秸秆发酵浸出液的主要成分, 将葡萄糖、木糖和乳酸按照 8.75:1.75:1 的质量比配制秸秆发酵浸出液的模拟废水, 用作产氢底物.

收稿日期: 2006-10-08; 修订日期: 2007-01-08

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2005CB214500, 2006CB708407); 国家自然科学基金项目(90610001)

作者简介: 张茂林(1963 ~), 男, 副教授, 主要研究方向为能源与环境化学, E-mail: mlzhang@zzu.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: yt.fan@zzu.edu.cn

营养液组成(g/L): NH_4HCO_3 , 2.0 g; KH_2PO_4 , 1.0 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 mg; NaCl , 10 mg; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 mg; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10 mg; $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 15 mg; FeCl_2 , 2.78 mg.

表 1 玉米秸秆的主要组成

Table 1 Main components of corn stalk wastes						
组分	纤维素 /%	半纤维素 /%	木质素 /%	葡萄糖 /mg·g ⁻¹	木糖 /mg·g ⁻¹	乳酸 /mg·g ⁻¹
粗秸秆	35.39	24.40	8.65	95.00	19.00	0.00
预处理的秸秆	35.39	19.36	8.91	180.00	35.00	20.00

1.2 仪器及分析方法

Agilent-4890D 气相色谱仪(美国安捷伦仪器公司);紫外分光光度仪;FZ102 小型植物粉碎机(北京永光明医疗仪器厂);微波消解仪.

生物气用湿式气体流量计计量;生物气中氢气浓度和液相产物中挥发性脂肪酸(VFAs)及醇含量测定方法见文献[1, 8];COD 用微波消解仪测定,并用标准方法校正;可溶性糖用蒽酮分光光度法测定^[9];纤维素、木质素和半纤维素含量参照 Van Soest 方法测定^[10].

1.3 实验方法

将秸秆模拟废水、牛粪堆肥和营养液按一定比例置于 20 L 发酵罐中,密封除氧.控制搅拌转速 120 r/min, pH = 5.2 ± 0.2, 发酵温度 36℃ ± 1℃.用湿式流量计测量产气量,定时检测生物气中氢气的含量,以及液相产物中 VFAs、醇、残糖和 COD 含量.实验装置如图 1 所示.

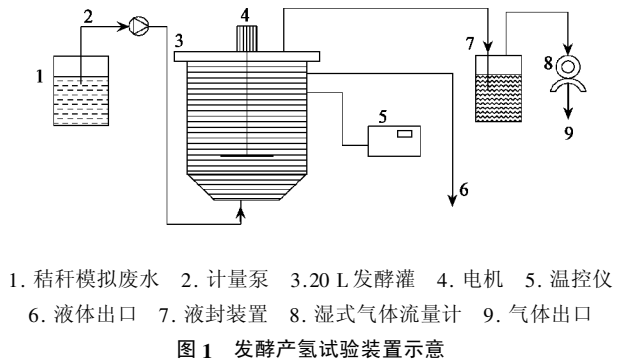


Fig.1 Schematic diagram of fermentation hydrogen production

2 结果与讨论

2.1 秸秆预处理

玉米秸秆的主要成分为纤维素、半纤维素和木质素,秸秆中这些复杂的聚合物结构不能被产氢微

生物直接降解,为此在发酵产氢前,按 1.1 的方法对玉米秸秆进行生物预处理.玉米秸秆预处理前后的主要成分见表 1.

由表 1 结果可知,与粗玉米秸秆相比,生物预处理的秸秆中纤维素、木质素含量没有发生明显的变化,但半纤维素含量减少了 5.04%,葡萄糖及木糖含量增加了近 1 倍,并增加了乳酸,由此推测,经生物预处理的秸秆中所增加的可溶性糖和乳酸含量主要是由于秸秆中半纤维素水解的结果.

因在本实验条件下悬浮物(秸秆的水浸出物)进料困难,故不能直接将其用于发酵产氢实验.考虑到预处理秸秆水浸出液的实际成分较为复杂,有可能影响和干扰本实验结果,为此,参照预处理秸秆浸出液的主要成分,将葡萄糖、木糖和乳酸按照一定比例配制成模拟废水作为产氢底物.

2.2 HRT 的影响

当秸秆模拟废水(底物)浓度为 15 g/L 和 C/N 为 200 时,反应器中累积氢产量、氢浓度和产氢速率随 HRT 的变化,以及主要发酵副产物 VFAs 及醇的浓度随 HRT 的变化情况分别见图 2 和表 2.

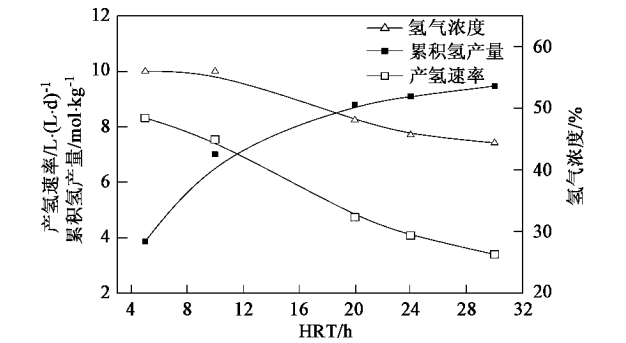


图 2 HRT 对累积氢产量、氢浓度和产氢速率的影响

Fig.2 Influence of HRT on cumulative H_2 yield, H_2 concentration and hydrogen production rate

表 2 HRT 对反应器中 VFAs 和醇含量的影响/mg·L⁻¹

Table 2 Influence of HRT on content of VFAs and alcohols in the reactor/mg·L ⁻¹						
HRT/h	乙醇	丁醇	乙酸	丙酸	丁酸	总量
5	390	510	1 020	500	3 420	5 840
10	410	530	1 050	530	3 610	6 120
20	510	530	1 140	530	3 880	6 600
24	530	550	1 320	570	3 990	6 950
30	830	820	1 390	760	5 340	9 140

由图 2 可以看出,在整个发酵产氢过程,反应器中累积氢产量随 HRT 的增加而逐渐增加.如秸秆模

拟废水的累积氢产量从 HRT = 5 h 的 3.87 mol/kg 增加至 HRT = 30 h 的 9.48 mol/kg; 在此期间, 反应器中氢浓度和产氢速率则随着 HRT 的增加呈逐渐下降趋势. 如当 HRT 从 5h 增加到 30h 时, 反应器中氢浓度和产氢速率分别从 56% 和 6.93 L/(L·d) 降至 44% 和 2.83 L/(L·d). 结果表明, HRT 值强烈影响底物的产氢水平. 一方面, 随着 HRT 值的增加, 底物利用率得到提高, 有利于氢产量的增加; 另一方面, 随着 HRT 的增加, 反应器中代谢副产物也随之增加, 引起产氢微生物活性的降低, 使得氢浓度和产氢速率下降. 在整个发酵产氢过程, 生物气中只检测到 H₂ 和 CO₂ 生成, 没有检测到甲烷.

由表 2 数据可知, 反应器中主要发酵副产物 VFAs 及醇的含量随着 HRT 的增加呈逐渐增加趋势, 其中丁酸含量大于 55%, 丁酸和乙酸含量约占发酵副产物总量的 75%, 并含有少量的乙醇、丁醇和丙酸, 表明该发酵产氢体系属丁酸发酵类型^[11].

综上所述, HRT 对发酵产氢反应有着显著地影响. 如果 HRT 值太小, 发酵产氢反应不完全; 反之, 将导致反应器中 VFAs 的过度积累, 抑制发酵产氢反应的正常进行. 为了保证发酵产氢反应的良好运行, 反应器中 HRT 应控制在 10~12 h 的范围内.

2.3 C/N 的影响

碳源和氮源是微生物生长所必需的营养物质, C/N 作为微生物发酵产氢的 1 个重要参数, 它不仅参与微生物的产能代谢, 也影响微生物对有机物的生物氧化过程以及微生物的合成代谢水平^[12, 13]. 为了获得最佳的产氢能力, 应控制发酵产氢系统 C/N 在适当的水平.

图 3 和图 4 表示当 HRT = 10 h、底物浓度为 5 g/L 的条件下, 以 NH₄HCO₃ 氮源调节 C/N 变化对发酵产氢的影响. 由图 3 可以看出, 当 C/N 在 40~100 范围内变化时, 反应器中氢产量、氢浓度及产氢速率随着 C/N 的增加而迅速增加, 当 C/N 增加至 100 时, 相应的 3 个参数分别达到最大值 13.10 mol/kg、49% 和 3.00 L/(L·d). 其后随着 C/N 的进一步增加, 反应器中氢产量、氢浓度及产氢速率急剧下降, 当 C/N 增加至 400 时, 3 个相应的参数也分别降至最低值 1.62 mol/kg、36% 和 0.36 L/(L·d). 图 4 的结果表明, 当 C/N 小于 100 时, 反应器中主要发酵副产物 VFAs 和醇的含量随着 C/N 的增加而增加, 当 C/N 为 100 时, 发酵副产物 VFAs 和醇的含量达到最大值, 这说明发酵产氢体系已达到最佳状态. 而后随着 C/N 的进一步增加, 发酵副产物中 VFAs 和醇的含量呈不同程

度的下降趋势. 在整个发酵产氢过程, C/N 的变化对乙醇和丁酸的影响最为显著. 上述实验结果说明, C/N 的大小与产氢微生物的活性密切相关, 因而可通过人为调节 C/N 实现对目标产物的控制作用. 在本实验条件下, 为了使发酵产氢达到最佳水平, 在发酵产氢系统中 C/N 应在控制在 80~100 附近.

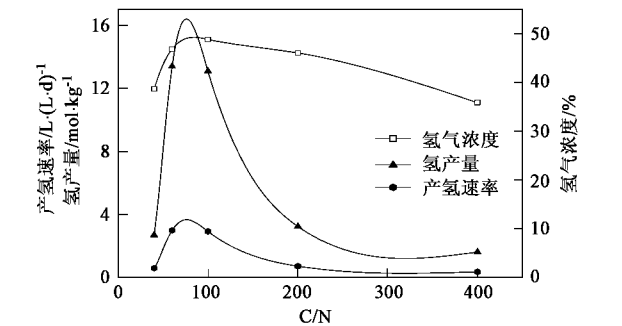


图 3 C/N 对氢产量、氢浓度和产氢速率的影响
Fig.3 Influence of C/N ratio on H₂ yield, H₂ concentration and hydrogen production rate

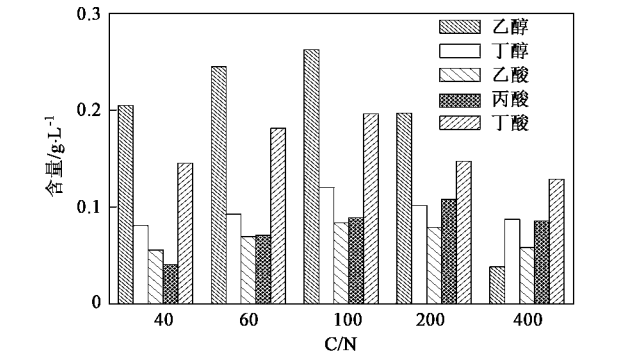


图 4 C/N 对反应器中 VFAs 和醇含量的影响
Fig.4 Influence of C/N ratio on content of VFAs and alcohols in the reactor

2.4 Fe²⁺ 浓度的影响

在底物浓度为 5 g/L, HRT = 10 h, C/N = 100 的条件下, 以 FeCl₂ 作为外加铁离子, 考察了 Fe²⁺ 浓度对发酵产氢反应产氢能力的影响, 结果见表 3.

表 3 Fe²⁺ 浓度对发酵产氢的影响
Table 3 Influence of Fe²⁺ concentration on fermentation hydrogen production

Fe ²⁺ 浓度 /mg·L ⁻¹	氢气浓度/%	氢产量 /mol·kg ⁻¹	产氢速率 /L·(L·d) ⁻¹
0	36	5.32	1.19
20	44	8.45	1.89
100	45	15.83	3.55
200	44	12.07	2.70
400	37	9.24	2.07
800	37	9.68	2.17

由表 3 可知,当 Fe^{2+} 浓度在 0 ~ 100 mg/L 的范围内变化时,反应器中氢产量、氢浓度和产氢速率随着外加 Fe^{2+} 浓度的增加而增加,当 Fe^{2+} 浓度增加至 100 mg/L 时,上述 3 个参数分别达到最大值 15.83 mol/kg、45% 和 3.55 L/(L·d). 其后随着外加 Fe^{2+} 离子浓度的增加反应器中氢产量、氢浓度和产氢速率逐渐降低,当 Fe^{2+} 浓度增加至 400 mg/L 时,上述 3 个参数分别降至最低值,并逐渐趋于稳定.

结果表明,在发酵产氢系统中加入适量的 Fe^{2+} 离子可以提高微生物的产氢能力. 这是因为铁作为氢酶系统中铁氧还蛋白(Fd)或铁硫蛋白的主要成分,通过酶活性中心直接影响微生物的生物氧化及脱氢过程,使产氢微生物可通过氢酶的催化作用生成分子氢. 另一方面, Fe^{2+} 强的还原能力,对于降低发酵环境中的 ORP 值,提高产氢菌的代谢活性也发挥了重要作用. 当氢酶系统中铁离子缺乏时将导致氢酶活性的降低,因此可通过外加 Fe^{2+} 离子补充微生物氢酶系统中铁的不足,进而提高其产氢能力^[14, 15]. 但过高的 Fe^{2+} 离子浓度对微生物的产氢活性将产生一定的抑制作用,从而导致产氢能力和产氢速率的下降.

2.5 底物浓度的影响

在 HRT = 10 h, C/N = 100, Fe^{2+} 浓度等于 100 mg/L 的条件下,底物浓度对发酵产氢的影响及其对底物转化率和 COD 去除率的影响如图 5 和图 6 所示. 由图 5 和图 6 可以看出,在底物浓度 5 ~ 12.5 g/L 范围内,反应器中氢浓度和产氢速率随着底物浓度的增加而增加,当底物浓度为 12.5 g/L 时,氢浓度和产氢速率达到最大值,分别从 5 g/L 底物浓度时的 50% 和 4.38 L/(L·d) 增加至 12.5 g/L 底物浓度时的 56% 和 8.81 L/(L·d),底物的转化率都在 90% 以上(以葡萄糖为代表);其后随着底物浓度的进一步增加,反应器中氢浓度、产氢速率(图 5)和底物转化率(图 6)呈不同程度的下降趋势,当底物浓度为 15 g/L 时,反应器中氢浓度、产氢速率和底物转化率分别降至 55%、6.94 L/(L·d) 和 84%. 从图 6 可知,在发酵产氢过程中,反应器中 COD 去除率随着底物浓度的增加而降低,分别从 5 g/L 底物浓度时的 50% 降低至 15 g/L 底物浓度时的 30%. 在最大产氢的条件下, COD 去除率达 39.40%.

由此可以看出,秸秆模拟废水在实现最大产氢的条件下,发酵液中的 COD 也可同步得到净化. 如果将秸秆模拟废水的发酵产氢与现有的废水生物处理技术相结合,则可实现生物制氢与废水净化处理

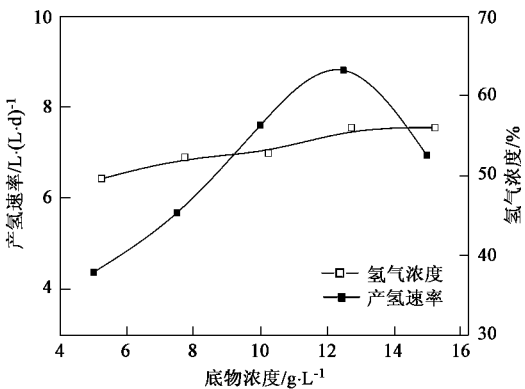


图 5 底物浓度对氢浓度和产氢速率的影响

Fig.5 Influence of substrate concentration on H_2 concentration and hydrogen production rate

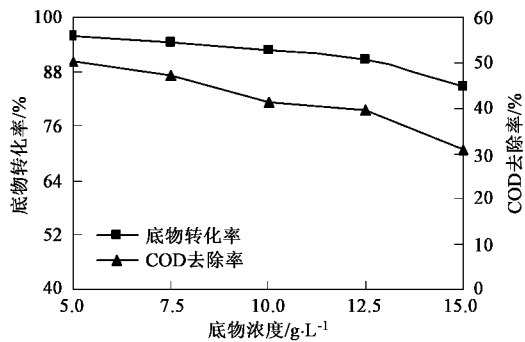


图 6 底物浓度对底物转化率和 COD 去除率的影响

Fig.6 Influence of substrate concentration on conversion efficiency of the substrate and COD removal rate

的同步进行.

图 7 进一步表明了底物浓度对主要发酵副产物 VFAs 和醇的影响. 在整个发酵产氢过程中,反应器中 VFAs 和醇含量随着底物浓度的增加呈逐渐增加的趋势,它们作为发酵产氢的主要副产物留在反应

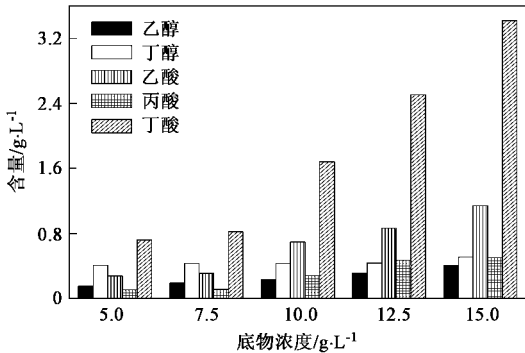


图 7 底物浓度对反应器中 VFAs 和醇含量的影响

Fig.7 Influence of substrate concentration on content of VFAs and alcohols in the reactor

器中.综合图 5~7 可知,为了获得最大的产氢能力,适宜的底物浓度为 12.5 g/L.这说明在较低负荷条件下,增加底物浓度有利于氢的生成,但当反应器负荷过高的条件下,将引起反应器中 VFAs 的过度积累以及底物转化不完全,由此造成底物产氢速率、底物转化率和 COD 去除率的迅速下降.

3 结论

(1) 水力停留时间(HRT)、碳氮比(C/N)、Fe²⁺ 浓度和秸秆模拟废水浓度对发酵产氢均有不同程度地影响.

(2) 在 HRT = 10 h, C/N = 100, Fe²⁺ 浓度为 100 mg/L和秸秆模拟废水浓度为 12.5 g/L的发酵产氢条件下,得到的最大氢产量、氢浓度和产氢速率分别为 11.80 mol/kg、56%和 8.81 L/(L•d),此时底物转化率为 90.67%,废水中 COD 去除率为 39.40%.

(3) 在整个发酵产氢过程,液相主要发酵副产物为丁酸、乙酸和丙酸以及少量的乙醇和丁醇.

参考文献:

[1] Fan Y T, Zhang Y H, Zhang S F, *et al.* Efficient conversion of wheat straw wastes into biohydrogen gas by cow dung compost [J]. *Bioresource Technology*, 2006, **97**:500 ~ 505.

[2] 刘光臻,张永芳,沈建权. 厌氧产氢细菌连续生物制氢放大实验的研究[J].*净水技术*,2004,**23**(6):7~9.

[3] 李建政,任南琪,林明,等. 有机废水发酵法生物制氢中试研究[J]. *太阳能学报*,2002, **23**(2):252 ~ 256.

[4] Fang H H P, Li C L, Zhang T. Acidophilic biohydrogen production from rice slurry [J]. *Hydrogen Energy*, 2006, **31**: 683 ~ 692.

[5] Van G S, Sung S H, Lay J J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration [J]. *Environmental Science and Technology*, 2001, **35**: 4726 ~ 4730.

[6] 樊耀亭,廖新成,卢会杰,等. 有机废弃物氢发酵制备生物氢气的研究[J].*环境科学*,2003,**24**(3):132 ~ 135.

[7] Zhang M L, Fan Y T, Xing Y, *et al.* Enhanced biohydrogen production from cornstalk wastes with acidification pretreat- ment by mixed anaerobic cultures [J]. *Biomass and Bioenergy*, 2007, **31**: 250 ~ 254.

[8] 樊耀亭,李晨林,侯红卫,等. 天然厌氧微生物氢发酵生产生物氢气的研究[J].*中国环境科学*,2002, **22**(4): 370 ~ 374.

[9] 王福荣.生物工程分析与检验[M].北京:中国轻工业出版社,2005.146 ~ 148.

[10] 王加启,于建国.饲料分析与检验[M].北京:中国计量出版社,2003.46 ~ 51.

[11] 任南琪,秦智,李建政.不同产酸发酵菌群产氢能力的对比与分析[J].*环境科学*,2003,**24**(1):70 ~ 74.

[12] 王勇,孙寓姣,任南琪,等. C/N对细菌产氢发酵类型及产氢能力的影响[J].*太阳能学报*,2004,**25**(3):375 ~ 378.

[13] Lin C Y, Lay C H. Carbon/nitrogen-ratio effect on fermentative hydrogen production by mixed microflora [J]. *Hydrogen Energy*, 2004, **29**: 41 ~ 45.

[14] Lee Y J, Miyahara T, Noike T. Effect of iron concentration on hydrogen fermentation [J]. *Bioresource Technology*, 2001, **80**: 227 ~ 231.

[15] 丁杰,任南琪,刘敏,等. Fe 和 Fe²⁺ 对混合细菌产氢发酵的影响[J].*环境科学*,2004,**25**(4):48 ~ 53.