

Fe²⁺ 浓度对生物产氢动力学的影响

万伟, 王建龙*

(清华大学核能与新能源技术研究院环境技术研究室, 北京 100084)

摘要 研究了 Fe²⁺ 在 0~1 500 mg/L 范围内对混合细菌发酵产氢动力学的影响。结果表明, 以葡萄糖为底物, 在 35℃ 和初始 pH 为 7.0 时, 当 Fe²⁺ 浓度为 0~300 mg/L 时, 混合细菌发酵葡萄糖的最大累积产氢量和平均产氢速率都随着 Fe²⁺ 浓度的增加而增加; 当 Fe²⁺ 浓度为 300 mg/L 时, 最大累积产氢量和平均产氢速率最高, 分别为 302.3 mL 和 30.0 mL/h。当 Fe²⁺ 浓度为 0~350 mg/L 时, 比产氢率随着 Fe²⁺ 浓度的增加而增加, 当 Fe²⁺ 浓度为 350 mg/L 时, 最大比产氢率为 311.2 mL/g。修正的 Logistic 模型能很好地描述累积产氢量随时间的变化规律, 修正的 Han-Levenspiel 模型能很好地描述 Fe²⁺ 浓度对平均产氢速率的影响。

关键词 Fe²⁺; 生物产氢; 动力学; 比产氢率

中图分类号: X382.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)09-2633-04

Effect of Fe²⁺ Concentration on Kinetics of Biohydrogen Production

WAN Wei, WANG Jian-long

(Laboratory of Environmental Technology, INET, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

Abstract The effect of Fe²⁺ concentration ranging from 0 to 1 500 mg/L on the kinetics of fermentative hydrogen production by mixed microbial culture was investigated. The results showed that, at 35℃ and initial pH 7.0, using glucose as substrate, hydrogen production potential and average hydrogen production rate increased with increasing Fe²⁺ concentration from 0 to 300 mg/L, with the maximum hydrogen production potential of 302.3 mL and maximum average hydrogen production rate of 30.0 mL/h being obtained at Fe²⁺ concentration of 300 mg/L. Hydrogen yield increased with increasing Fe²⁺ concentration from 0 to 350 mg/L, with the maximum hydrogen yield of 311.2 mL/g glucose being obtained at Fe²⁺ concentration of 350 mg/L. Modified Logistic model could describe the progress of cumulative hydrogen production in the batch tests successfully. Modified Han-Levenspiel model could describe the effect of Fe²⁺ concentrations on average hydrogen production rate successfully.

Key words Fe²⁺; biohydrogen production; kinetics; hydrogen yield

有机废物发酵产氢, 具有减废和产能的双重作用, 因而近些年来成为研究热点^[1~9]。在产氢细菌体内, 可以催化氢气氧化或质子还原的氢化酶的活性中心含有铁, 因此, 铁可以通过影响氢化酶的活性中心来影响产氢细菌的发酵产氢能力^[10]。虽然目前有研究报道表明, 在适当的浓度范围内, 增加 Fe²⁺ 浓度可以提高产氢细菌发酵产氢的能力, 但这些研究报道的发酵产氢最佳 Fe²⁺ 浓度差异比较大^[1~9]。Zhang 等^[6]得到的最佳 Fe²⁺ 浓度为 9.2 mg/L, 而 Zhang 等^[5]得到的最佳 Fe²⁺ 浓度为 589.5 mg/L。这些结果出现较大差异的可能原因是采用的反应体系的关键参数不一样, 如产氢细菌、底物种类、温度和实验 Fe²⁺ 浓度范围等不同。

鉴于铁对发酵产氢的重要影响作用以及目前报道的最佳 Fe²⁺ 浓度差异比较大, 本实验以葡萄糖为底物, 在 35℃ 和初始 pH 为 7.0 时, 运用间歇实验方法, 研究了 0~1 500 mg/L 浓度范围内的 Fe²⁺ 对混合细菌发酵产氢动力学的影响。

1 材料与方法

1.1 混合菌种来源

混合菌种是采自北京市高碑店污水处理厂的初级消化污泥。消化污泥的挥发性悬浮物(VSS)为 11.8 g/L。因为热处理是一种简单有效的富集产氢细菌的方法^[11], 同时气相色谱的分析表明, 用热处理过的消化污泥发酵葡萄糖产生的混合气体只有氢气和二氧化碳, 未检测出甲烷。所以本研究采用热处理方法富集产氢细菌。

1.2 实验装置与方法

间歇实验在 150 mL 锥形瓶中进行。实验所用培养液组成为(g/L): NaHCO₃ 40; NH₄Cl 5; NaH₂PO₄ · 2H₂O 5; K₂HPO₄ · 3H₂O 5。实验时, 各锥形瓶中依次分

收稿日期: 2007-09-20; 修订日期: 2007-12-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(50325824)

作者简介: 万伟(1984~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制技术, E-mail: oio68987045@yahoo.com.cn

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

别加入 1 g 葡萄糖、10 mL 营养液、15 mL 煮沸 15 min 后的消化污泥以及相应体积的 FeSO_4 溶液,然后用去离子水定容反应混合液的体积为 100 mL,使混合液中 Fe^{2+} 浓度为 0~1 500 mg/L,接着用 1 mol/L 的 HCl 或 1 mol/L 的 NaOH 溶液调混合液 pH 至 7.0,接着用氩气吹脱 3 min,然后迅速盖上盖子,置于恒温水浴摇床中培养(150 r/min, 35℃)。每个 Fe^{2+} 浓度的实验做 3 次。

1.3 分析方法

利用排水法收集发酵产生的气体,利用气相色谱测量发酵气体成分(TCD 检测器)。色谱仪为 GC122 型(中国上海),色谱柱为 2 m 的填充柱,内装 5 Å 分子筛;柱子、检测器和进样器的温度分别为 40℃、80℃ 和 50℃;载气为高纯氦气,流速为 12 mL/min。测量时每次进样量为 100 μL 。得到的氢气体积换算成标准状况下的体积。

利用气相色谱测量发酵液相末端产物的浓度(FID 检测器)。色谱仪为 GC8000 型(意大利),色谱柱为 2 m 的填充柱,内装 GDX-103(60/80 目);载气为高纯氮气,流速为 50 mL/min;柱子、气化室和检测器的温度分别为 180、240 和 210℃。测量时每次进样量为 2 μL 。

发酵液的 pH 值用 WTW 526 型 pH 计(德国)测量,葡萄糖浓度用 3,5-二硝基水杨酸比色测量^[12];挥发性悬浮物(VSS)采用减重法测定^[13]。

1.4 发酵产氢动力学模型

用修正的 Logistic 模型(公式 1)描述间歇实验中累积产氢量随时间的变化规律^[14]。

$$H = \frac{P}{1 + \exp[4R_m \cdot (\lambda - t)P + 2]} \quad (1)$$

式中, H 为 t 时间内的累积产氢量, mL; P 为最大累积产氢量, mL; R_m 为最大产氢速率, mL/h; λ 为产氢延迟时间, h。

在本研究中,每隔 6 h 记录发酵产生的累积产氢量,然后用修正的 Logistic 模型拟合这些数据,得到 P 、 R_m 和 λ 3 个参数,然后用公式 2 计算间歇实验中的平均产氢速率。

$$R = \frac{P}{\lambda + P/P_m} \quad (2)$$

本研究用修正的 Han-Levenspiel 模型[公式(3)]描述 Fe^{2+} 浓度对平均产氢速率的影响^[15]。

$$R = k \times \left(1 - \frac{c}{c_{\max}}\right)^m \times \frac{S}{S + K_s \times (1 - c/c_{\max})^n} \quad (3)$$

式中, R 为平均产氢速率, mL/h; k 为常数, mL/h; c 为 Fe^{2+} 离子浓度, mg/L; $c_{\max}$ 为平均产氢速率为 0 时的 Fe^{2+} 浓度, mg/L; S 为底物浓度, g/L; K_s 为饱和常数, g/L; m 、 n 为常数。

2 结果与讨论

2.1 Fe^{2+} 浓度对底物降解率的影响

底物降解率定义为反应消耗掉的葡萄糖量与反应初始葡萄糖总量的比值。图 1 为 Fe^{2+} 浓度对底物降解率的影响。

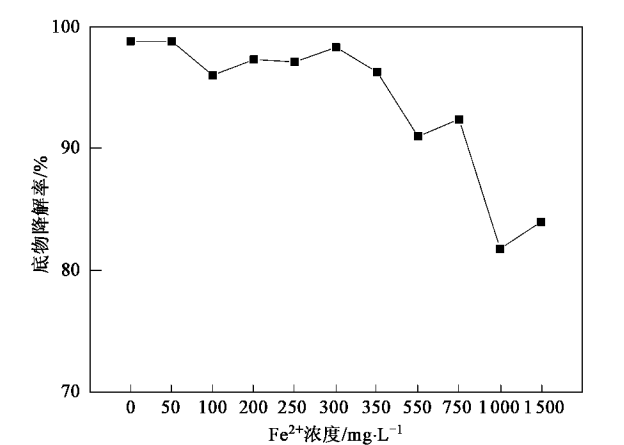


图 1 Fe^{2+} 浓度对底物降解率的影响
Fig.1 Effect of Fe^{2+} concentration on substrate degradation efficiency

结果表明,随着 Fe^{2+} 浓度的增加,底物降解率有下降的趋势。当 Fe^{2+} 浓度为 0~350 mg/L 时,底物降解率比较高,且随 Fe^{2+} 浓度的增加变化不大,为 96.2%~98.8%;当 Fe^{2+} 浓度为 550~1 500 mg/L 时,葡萄糖的降解率相对较低(<92.4%)。这说明,过高浓度的 Fe^{2+} 不利于混合细菌在发酵产氢过程中葡萄糖的降解,但较低浓度的 Fe^{2+} 对混合细菌在发酵产氢过程中降解葡萄糖的影响不是很大。

2.2 Fe^{2+} 浓度对发酵产氢的影响

在实验过程中,每隔 6 h 记录发酵产生的累积产氢量,然后用修正的 Logistic 模型拟合这些数据,得到 P 、 R_m 和 λ 3 个参数。拟合得到较高的决定系数 R^2 (0.980~1),表明修正的 Logistic 模型能很好地描述本研究中累积产氢量随时间的变化规律。 Fe^{2+} 浓度对最大累积产氢量的影响如图 2 所示。

从图 2 可以看出,当 Fe^{2+} 浓度为 0~300 mg/L 时,最大累积产氢量随 Fe^{2+} 浓度的增加而增加,而当 Fe^{2+} 浓度为 300~1 500 mg/L 时,最大累积产氢量随 Fe^{2+} 浓度的增加而减小。当 Fe^{2+} 浓度为 300 mg/L

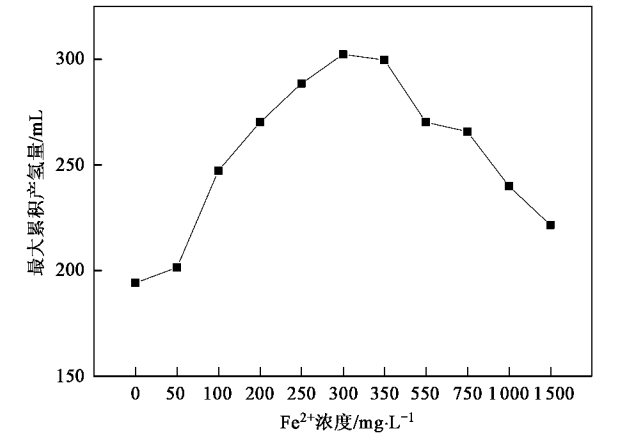


图2 Fe^{2+} 浓度对最大累积产氢量的影响

Fig.2 Effect of Fe^{2+} concentration on hydrogen production potential

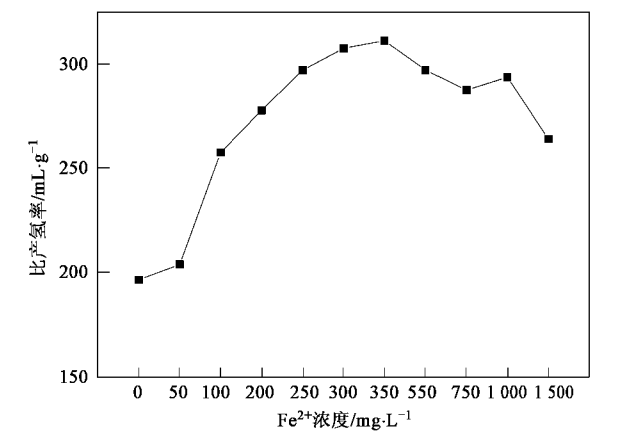


图3 Fe^{2+} 浓度对比产氢率的影响

Fig.3 Effect of Fe^{2+} concentration on hydrogen yield

时,最大累积产氢量最高为 302.3 mL. 比产氢率是最大累积产氢量与反应消耗掉的葡萄糖的比值.图3为 Fe^{2+} 浓度对比产氢率的影响.结果表明,当 Fe^{2+} 浓度为 0~350 mg/L时,比产氢率随着 Fe^{2+} 浓度的增加而增加,而当 Fe^{2+} 浓度为 350~1500 mg/L时,比产氢率随着 Fe^{2+} 浓度增加而有减小的趋势.当 Fe^{2+} 浓度为 350 mg/L时,最大比产氢率为 311.2 mL/g.

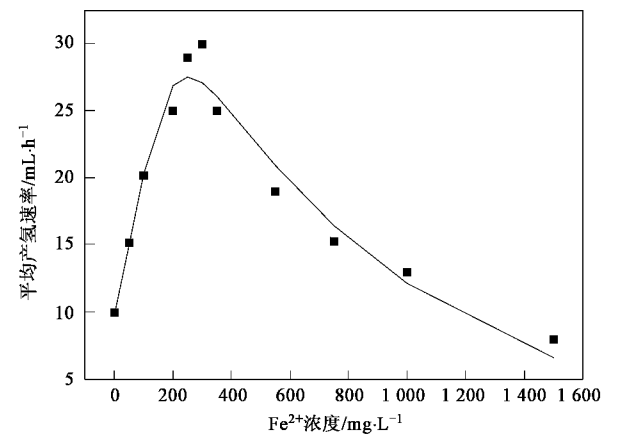


图4 Fe^{2+} 浓度对平均产氢速率的影响

Fig.4 Effect of Fe^{2+} concentration on average hydrogen production rate

利用公式(2)计算得到平均产氢速率.图4为 Fe^{2+} 浓度对平均产氢速率的影响.当 Fe^{2+} 浓度为 0~300 mg/L时,平均产氢速率随着 Fe^{2+} 浓度的增加而增加,而当 Fe^{2+} 浓度为 300~1500 mg/L时,平均产氢速率随着 Fe^{2+} 浓度的增加而减小.当 Fe^{2+} 浓度为 300 mg/L时,最大平均产氢速率最高为 30.0 mL/L.这表明,在适当范围内,增加 Fe^{2+} 浓度可以提高产氢细菌发酵产氢的能力,但是过高的 Fe^{2+} 浓度却不利于产氢细菌发酵底物产氢^[1-9].

利用修正的 Han-Levenspiel 模型描述 Fe^{2+} 浓度对平均产氢速率的影响,拟合结果为:

$$R = 40.8 \times \left(1 - \frac{c}{472\,532.5}\right)^{570.7} \times \frac{10}{10 + 31.5 \times \left(1 - c/472\,532.5\right)^{617.2}} \quad (4)$$

拟合的决定系数 $R^2 = 0.959$,表明修正的 Han-Levenspiel 模型能很好地描述本研究中 Fe^{2+} 浓度对平均产氢速率的影响.

2.3 Fe^{2+} 浓度对液相末端产物分布的影响

气相色谱分析表明,本研究的发酵的液相末端产物主要为乙醇、乙酸、丙酸和丁酸.一定 Fe^{2+} 浓度下,液相末端产物分布为各液相末端产物浓度与液

相末端产物总浓度的百分比.表1为 Fe^{2+} 浓度对液相末端产物分布的影响.本研究中,当 Fe^{2+} 浓度为 0 和 300 mg/L时,液相末端产物主要含有乙酸;而当

表1 Fe^{2+} 浓度对液相末端产物分布的影响
Table 1 Effect of Fe^{2+} concentration on the distribution of the soluble metabolites

Fe^{2+} 浓度 /mg·L ⁻¹	液相末端产物分布/%			
	乙醇	乙酸	丙酸	丁酸
0	15.3	58.6	0.0	26.1
50	24.2	19.4	29.0	27.4
100	69.4	30.6	0.0	0.0
200	95.5	4.5	0.0	0.0
250	65.0	35.0	0.0	0.0
300	17.1	68.3	14.6	0.0
350	9.2	28.8	0.0	62.0
550	7.9	32.3	0.0	59.9
750	0.0	0.6	0.0	99.4
1000	0.4	15.1	0.0	84.4
1500	0.0	1.4	0.0	98.6

Fe²⁺ 浓度为 50 mg/L 时 ,液相末端产物主要含有丙酸 ;当 Fe²⁺ 浓度为 100 ~ 250 mg/L 时 ,液相末端产物主要含有乙醇 ;当在 Fe²⁺ 浓度为 350 ~ 1 500 mg/L 时 ,液相末端产物主要含有丁酸 . 这表明 ,液相末端产物的分布随着 Fe²⁺ 浓度的增加而有一定的变化 ,说明随着 Fe²⁺ 浓度的增加 ,产氢细菌发酵底物产氢的代谢途径有一定的变化 ,进而影响产氢细菌发酵底物的产氢能力 .

2.4 本研究得到的最佳 Fe²⁺ 浓度与其它研究的

表 2 本研究得到的最佳 Fe²⁺ 浓度与其它研究的比较

Table 2 Comparison of the optimal Fe ²⁺ concentration obtained in this study and other studies					
产氢细菌	底物	温度 /℃	研究的 Fe ²⁺ 浓度范围 /mg·L ⁻¹	最佳 Fe ²⁺ 浓度 /mg·L ⁻¹	参考文献
厌氧消化污泥	葡萄糖	35	0 ~ 1 500	350	本研究
厌氧污泥	蔗糖	37	0 ~ 1 763.8	352.8	[1]
堆肥	食品废物	37	0 ~ 250	132	[2]
破碎的谷物	淀粉	35	1.2 ~ 100	10	[3]
厌氧污泥	淀粉	35	0 ~ 1 473.7	55.3	[4]
破碎的谷物	蔗糖	35	0 ~ 1 842.1	589.5	[5]
破碎的谷物	蔗糖	25	0 ~ 1 178.9	294.7	[6]
破碎的谷物	蔗糖	35	0 ~ 1 178.9	73.7	[6]
破碎的谷物	蔗糖	40	0 ~ 1 178.9	9.2	[6]
厌氧污泥	棕榈油厂废水	60	2 ~ 400	257	[7]
厌氧污泥	葡萄糖	35 ± 1	0 ~ 1 500	200	[8]
发酵细菌 T4	葡萄糖	60	—	112	[9]

3 结论

(1) 当 Fe²⁺ 浓度为 0 ~ 300 mg/L 时 ,混合细菌发酵葡萄糖的最大累积产氢量和平均产氢速率随着 Fe²⁺ 浓度的增加而增加 ;当 Fe²⁺ 浓度为 300 mg/L 时 ,最大累积产氢量和平均产氢速率最高 ,分别为 302.3 mL 和 30.0 mL/h . 当 Fe²⁺ 浓度为 0 ~ 350 mg/L 时 ,比产氢率随着 Fe²⁺ 浓度的增加而增加 ,当 Fe²⁺ 浓度为 350 mg/L 时 ,最大比产氢率为 311.2 mL/g .

(2) 修正的 Logistic 模型能很好地描述本研究中累积产氢量随时间的变化规律 . 修正的 Han-Levenspiel 模型能很好地描述本研究 Fe²⁺ 浓度对平均产氢速率的影响 .

(3) 液相末端产物主要为乙醇、乙酸和丁酸 ,丙酸形成量很少 ,甚至检测不到 . 这些液相末端产物随着 Fe²⁺ 浓度的增加而有一定的变化 . 底物降解率随着 Fe²⁺ 浓度的增加有下降的趋势 .

参考文献 :

[1] Lee Y J , Miyahara T , Noike T . Effect of iron concentration on hydrogen fermentation [J] . *Bioresour Technol* , 2001 , **80** (3) :227-231 .
[2] Lay J J , Fan K S , Hwang J I , *et al.* Factors affecting hydrogen production from food wastes by *Clostridium* rich composts [J] . *J Environ Eng* , 2005 , **131** (4) 595-602 .

比较

目前 ,已经有一些研究者报道了 Fe²⁺ 浓度对混合细菌发酵产氢的影响 . 表 2 列出了本研究与这些研究的主要实验条件和结论 .

从表 2 可见 ,不同的研究者得到的最佳 Fe²⁺ 浓度差别比较大 ,从 9.2 mg/L 到 589.5 mg/L 不等 . 可能的原因是这些研究者采用反应体系的关键参数不一样 ,如产氢细菌、底物种类、温度和实验 Fe²⁺ 浓度范围等不同 .

[3] Liu G Z , Shen J Q . Effects of culture and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria [J] . *J Biosci Bioeng* , 2004 , **98** (4) 251-256 .
[4] Yang H J , Shen J Q . Effect of ferrous iron concentration on anaerobic bio-hydrogen production from soluble starch [J] . *Int J Hydrogen Energy* , 2006 , **31** (15) 2137-2146 .
[5] Zhang Y F , Liu G Z , Shen J Q . Hydrogen production in batch culture of mixed bacteria with sucrose under different iron concentrations [J] . *Int J Hydrogen Energy* , 2005 , **30** (8) 855-860 .
[6] Zhang Y F , Shen J Q . Effect of temperature and iron concentration on the growth and hydrogen production of mixed bacteria [J] . *Int J Hydrogen Energy* , 2006 , **31** (4) :441- 446 .
[7] Thong O S , Prasertsan P , Intrasingkha N , *et al.* Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent by *Thermoanaerobacterium* rich sludge [J] . *Int J Hydrogen Energy* , 2008 , **33** (4) :1221-1231 .
[8] 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 .
[9] 牛莉莉 ,刘晓黎 ,陈双雅 ,等 . 一个新的高温产氢菌及产氢特性的研究 [J] . *微生物学报* 2006 **46** (2) 280-284 .
[10] Michel F . Hydrogenases :Hydrogen-Activating Enzymes [J] . *Chem Bio Chem* 2002 **3** (2) :153-160 .
[11] Li C L , Fang H H P . Fermentative Hydrogen Production From Wastewater and Solid Wastes by Mixed Cultures [J] . *Crit Rev Env Sci Technol* , 2007 , **37** (3) :1-39 .
[12] Miller G L . Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar [J] . *Anal Chem* , 1959 , **31** (3) :426-427 .
[13] APHA . Standard methods for the examination of water and wastewater [M] . Washington DC , USA : American Public Health Association , 1985 . 93-98 .
[14] Zwietering M H , Jongenburger I , Rombouts F M , *et al.* Modeling of the bacterial growth curve [J] . *Appl Environ Microbiol* ,1990 **56** (6) : 1875-1881 .
[15] Han K , Levenspiel O . Extended Monod kinetics for substrate , product and cell inhibition [J] . *Biotechnol Bioeng* , 1988 , **32** (4) : 430-437 .