

中温和高温厌氧生物产氢反应器连续运行的研究

张薇, 左剑恶*, 崔龙涛, 邢薇, 杨洋

(清华大学环境科学与工程系, 北京 100084)

摘要: 采用 2 个厌氧生物产氢反应器分别在中温 (37 °C) 和高温 (55 °C) 下连续运行. 以河底沉积物接种, 葡萄糖为基质, 在 CSTR 中成功实现了连续中温厌氧产氢, 最高产氢量达 8.6 L/(L·d), 基质产氢摩尔比(H_2 /葡萄糖)为 1.98. 以厌氧产甲烷颗粒污泥接种, 蔗糖为基质, 在 UASB 反应器中成功实现了连续高温厌氧产氢过程, 最高产氢量达 6.8 L/(L·d), 基质产氢摩尔比(H_2 /蔗糖)为 3.6. 在高温 UASB 反应器中培养获得了灰白色的产氢颗粒污泥, 平均粒径为 0.8~1.2 mm, 沉速为 30~40 m/h, 电镜观察发现其表层生长大量杆状细菌. 对 2 种产氢污泥的总 DNA 进行提取和纯化, 通过 PCR 扩增和 DGGE 分析, 发现高温和中温厌氧产氢污泥中的大部分真细菌种类相同, 但各自的优势菌种明显不同.

关键词: 中温; 高温; 厌氧生物产氢; 产氢颗粒污泥; PCR; DGGE

中图分类号: X382 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)01-0063-06

Continuous Bio-Hydrogen Production by Mesophilic and Thermophilic Cultures

ZHANG Wei, ZUO Jian-e, CUI Long-tao, XING Wei, YANG Yang

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

Abstract: Anaerobic biological hydrogen productions were achieved successfully in two lab-scale anaerobic hydrogen production reactors under mesophilic (37 °C) and thermophilic (55 °C) conditions, respectively. The mesophilic reactor, a CSTR, was operated over 4 months by seeding with river sediments and feeding with glucose solution, in which the highest hydrogen production rate was 8.6 L/(L·d) and the substrate hydrogen production molar ratio (H_2 /glucose) was 1.98. After seeded with anaerobic methanogenic granules, a UASB reactor was thermophilically operated by feeding with sucrose solution and during its steady operation period, the hydrogen production rate was 6.8 L/(L·d) and the substrate hydrogen production molar ratio (H_2 /sucrose) was 3.6. Within the produced gas, the H_2 percentages were about 43% and others were CO_2 , no methane could be detected. Thermophilic hydrogen-producing granules were successfully cultivated in the UASB reactor, which were grey-white in color, the diameters were about 0.8~1.2 mm, and typical settling velocities were about 30~40 m/h. Through SEM a great number of bacilli could be found on the surface of the granules which made the surface rough. Total DNA of these two hydrogen production sludges were extracted and purified, and the PCR and DGGE process were conducted, the results indicate that most of the eubacteria in two sludges are the same, but the dominant species are obviously different with each other.

Key words: mesophilic condition; thermophilic condition; anaerobic hydrogen production; hydrogen producing granule; PCR; DGGE

化石燃料的使用带来了全球气候变化、环境退化和健康问题, 因此氢气作为最具潜力的替代能源而备受关注. 通过生物或微生物利用多种可再生资源来产生氢气为产氢开辟了一个新的领域^[1]. 生物产氢包括光解产氢^[2]、光合产氢^[3,4]和发酵产氢 3 种方式, 其中发酵产氢具有更广阔的工程应用前景, 可在处理废物的同时获取氢气. 许多研究者对中温条件下纯种菌和混合菌的厌氧发酵产氢进行了研究^[5,6]; 少数研究者对高温厌氧发酵产氢进行了研究^[7]. 本文用 2 种不同的接种污泥分别在中温和高温条件下实现了厌氧生物产氢过程, 研究了工艺条件对中温产氢过程的影响, 在高温产氢 UASB 反应器中培养获得了产氢颗粒污泥, 并利用 PCR-DGGE 技术对 2 个反应器中产氢污泥的真细菌种类进行了初步研究.

1 材料与方法

1.1 试验装置及流程

试验装置及工艺流程如图 1 所示. 中温 CSTR 的总体积为 2.60 L, 其中反应区 1.27 L, 通过磁力搅拌器保持混合态, 接种污泥取自北京清河底部, 其 VSS/SS 为 0.15, 接种量(以 VSS 计)为 2.69 g/L, 以葡萄糖自配水为进水. 高温 UASB 反应器的总体积为 2.47 L, 其中反应区体积为 1.23 L, 沉淀区体积为 1.24 L, 接种污泥取自某处理淀粉废水的 UASB 反

收稿日期: 2004-11-08; 修订日期: 2004-12-17

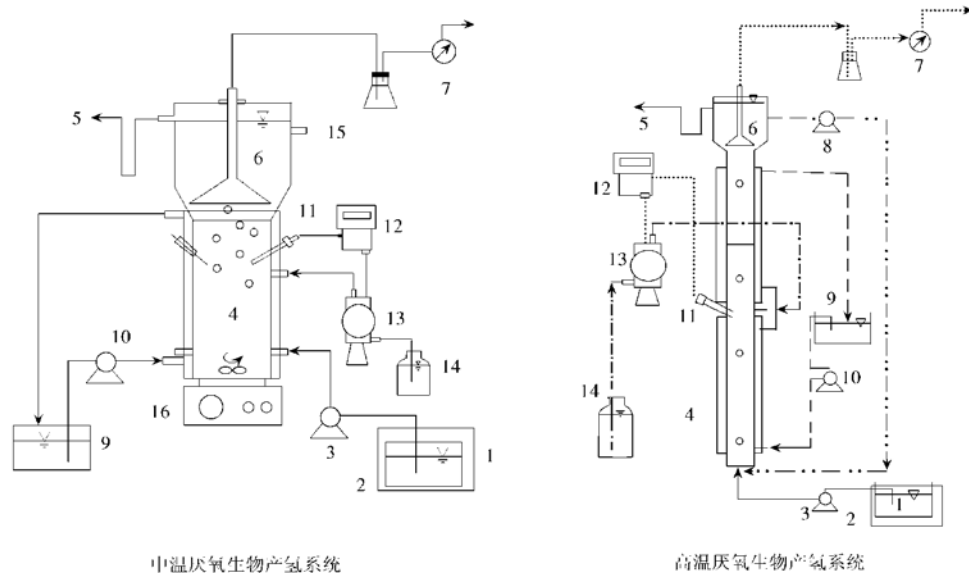
基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2002AA601190)

作者简介: 张薇(1979~), 女, 硕士研究生, 主要从事厌氧生物产氢研究.

* 通讯联系人

应器, 其 VSS/SS 为 0.8, 接种量为 12g/L, 基质为蔗糖自配水. 2 个反应器均通过水浴夹套保证反应区内的温度, CSTR 在中温条件 ($35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 下运行,

UASB 在高温条件 ($55\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) 下运行. 2 个反应器内的 pH 值均通过 pH 在线控制系统自动加入 NaOH (2mol/L) 溶液控制在 5.0~5.2 之间^[8].



1. 进水箱 2. 冰浴箱 3. 进水泵 4. CSTR/UASB 反应器 5. 出水 6. 三相分离器 7. 湿式气体流量计
8. 回流泵 9. 水浴锅 10. 热水循环泵 11. pH 探头 12. pH 在线控制系统 13. 碱液计量泵
14. NaOH 溶液 15. 取样口 16. 磁力搅拌器

图 1 产氢试验系统

Fig. 1 Schematic experimental systems for H_2 production

1.2 常规分析项目及方法

COD: 标准法^[9]; pH: Orion 828 酸度计; pH 控制: Milton Roy pH 在线控制系统; 气体产量: 湿式气体流量计; 气体组分: 气相色谱法, 色谱仪为惠普上海分析仪器有限公司的 1490GC-TCD; 挥发性有机酸(VFA): 气相色谱法, 色谱仪为惠普上海分析仪器有限公司的 1490GC-FID; SS, VSS: 重量法^[9]. 扫描电镜: FEI QUANTA 200 扫描电子显微镜.

1.3 DNA 提取、PCR 扩增及 DGGE 电泳分离

颗粒污泥样品用溶菌酶-SDS-蛋白酶混合法提取, 用北京鼎国公司 DNA 快速回收与纯化试剂盒纯化, 提取物作为 PCR 扩增模板. 检测真细菌 16S rDNA 的 PCR 引物选用通用引物 PRBA968F 和 PRBA1406R, 并在正向引物 (PRBA968F) 上加 GC 发卡. PCR 扩增通过 MJ-RESEARCH 公司的 PTC-200 型 PCR 扩增仪实现. PCR 产物通过 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检验. 对 PCR 扩增产物的 DGGE 分析使用 D-Code 系统 (BIO-RAD 公司). 分析的变性剂梯度为 35%~65%, 选用 6% 的胶. 加样 20 μL , 在 90V, 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下电泳 12h 左右, 放入 EB 中染色

20min, 水洗 10min 后在紫外成像系统 (UVP 公司) 中观察^[10].

2 结果与讨论

2.1 中温厌氧生物产氢系统的运行

将河底污泥预加热处理后接种到 CSTR 中, 在进水 COD 浓度为 5000mg/L, COD 容积负荷为 $18\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 的条件下开始启动, 10h 后即可观察到有气体产生, 检测发现其中 H_2 体积分数约为 20%. 保持 HRT 为 6.5h, 逐渐提高进水浓度, 气体产量快速升高, 第 30d 进水 COD 浓度达 7000mg/L, 容积负荷约为 $26\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, 此时氢气产量基本稳定在 $2.3\text{L}/(\text{L} \cdot \text{d})$, 基质产氢摩尔比 (H_2 /葡萄糖) 约为 0.8, 产气中 H_2 体积分数为 43% 左右, 其余为 CO_2 , 未发现 CH_4 . 其后分别通过提高进水浓度和缩短水力停留时间 (HRT) 来提高反应器的氢气产量. 第 31~66d, 进水 COD 浓度保持在 8000mg/L, 最高氢气产量达到 $4.2\text{L}/(\text{L} \cdot \text{d})$, 基质产氢摩尔比达 1.27. 第 67~99d, 进水 COD 浓度保持在 9000mg/L, 氢气产量达 $5.3\text{L}/(\text{L} \cdot \text{d})$ 左右, 基质产氢摩尔比约 1.3. 第

100~ 131d, 将进水 COD 浓度从10 000mg/L逐步提高到12 000mg/L, 氢气产量达最高值 8. 6L/ (L·d),

基质产氢摩尔比也达到最大值 1. 98. 中温厌氧生物产氢反应器的运行结果如图 2 所示.

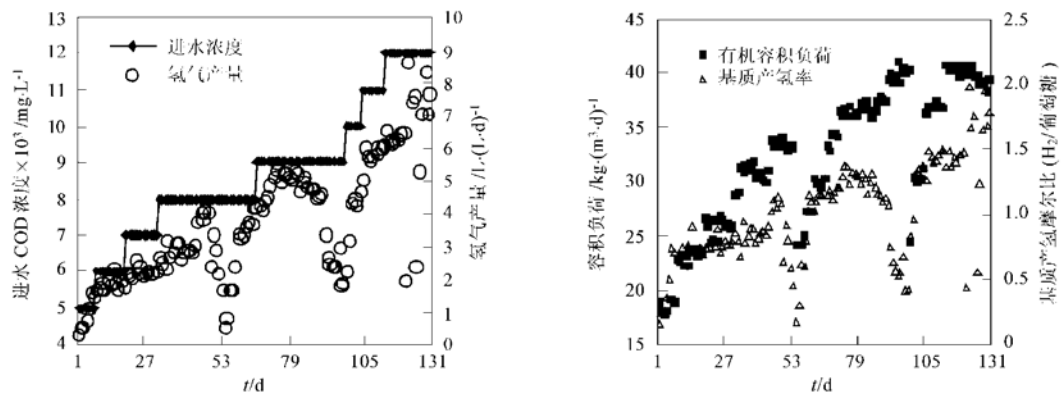


图 2 中温厌氧生物产氢反应器的运行结果

Fig. 2 Operation results of hydrogen production system under mesophilic condition

出水组分中主要含有乙醇、乙酸、丙酸和丁酸. 其中, 丙酸的含量极少, 当容积负荷小于 26. 5 kg/ (m³·d) 时, 出水中以乙醇和乙酸为主, 且二者的摩尔浓度相当; 随着容积负荷的提高, 出水中乙酸和丁酸的浓度随之增加, 而乙醇的浓度基本保持不变.

对反应器的容积负荷和氢气产量进行分析, 发现二者呈很好的线性关系:

$$y = 0.3737x - 7.45 \quad R^2 = 0.96$$

即每增加 1kg/ (m³·d) 的容积负荷, 氢气产量可以增加 0. 37L/ (L·d). 在反应器稳定运行的条件下, 如果继续提高容积负荷, 应该可以得到更好的氢气产量.

2. 2 HRT 对中温厌氧产氢过程的影响

水力停留时间(HRT)对厌氧生物产氢过程具

有显著影响^[11], 选择合适的 HRT 对于厌氧生物产氢反应器的稳定运行十分重要.

首先在试验的第 67~ 99d 中, 保持进水 COD 浓度(9 000mg/L)不变, 研究了 HRT 对产氢过程的影响, 结果见表 1. 当 HRT 为 6. 4h 时, 氢气产量为 4. 5L/ (L·d); 将 HRT 降到 5. 9h, 有机负荷相应上升, 氢气产量略升高为 5. 1L/ (L·d); 当 HRT 继续降低到 5. 4h, 有机负荷继续上升时, 氢气产量骤降至 3. 3L/ (L·d), 基质产氢摩尔比为 0. 76. 随后几天内, 反应器的运行继续恶化, 氢气产量下降至 1. 9 L/ (L·d), H₂ 含量保持在 37% 左右, 没有 CH₄ 产生. 以上结果表明当进水浓度不变时, 较短的 HRT 对产氢过程不利.

表 1 进水 COD 浓度保持 9 000mg/L 时, HRT 对中温厌氧产氢过程的影响

Table 1 Effect of HRT on H₂ production when COD concentration was 9 000mg/L

时间/d	进水 COD 浓度 / mg·L ⁻¹	HRT / h	容积负荷 / kg·(m ³ ·d) ⁻¹	氢气产率 / L·(L·d) ⁻¹	基质产氢摩尔比 (H ₂ /葡萄糖)
67~ 71	9 000	6. 4	33. 72±0. 15	4. 58±0. 42	1. 18±0. 04
72~ 90	9 000	5. 9	36. 78±0. 52	4. 88±0. 67	1. 25±0. 07
91~ 99	9 000	5. 4	39. 91±0. 48	2. 37±0. 62	0. 63±0. 14

随后, 在维持产氢反应器有机负荷不变的情况下, 研究了 HRT 对产氢过程的影响. 结果表明, 当有机负荷(COD)维持在 36. 8kg/ (m³·d) 时, HRT 从 5. 9h 延长至 7. 2h, 反应器的氢气产量从 5. 1 L/ (L·d) 增加到 5. 8L/ (L·d), 基质产氢摩尔比也从 1. 25 增加到 1. 43. 说明在相同的有机负荷下, 高浓度的进水和较长的 HRT 有利于中温条件下的厌氧发酵产氢.

2. 3 温度骤降对中温厌氧生物产氢过程的影响

温度是影响厌氧生物产氢过程的重要因素^[12], 温度骤降对其的影响更加显著. 在试验过程中, 分 3 次将反应器温度从 37℃骤降到 25℃, 维持 1d 后再恢复到 37℃.

第 1 次试验在第 49d 进行, 即反应器刚稳定运行以后, 进水 COD 浓度为 8 000mg/L, 氢气产量从 4. 0L/ (L·d) 降到了 2. 4L/ (L·d), 反应器温度恢复后的第 51d 气体产量略有回升, 但随后 2d 氢气产量继续下降, 最低至 1. 6L/ (L·d), 反应器的运行无法

恢复。

在反应器运行 120d 后又进行了 2 次试验, 分别 在第 121d 和 第 126d, 进 水 COD 浓 度 为 12 000mg/L。结果表明, 温度的骤降同样导致产氢 量明显下降, 2 次均下降至 2 L/(L·d) 左右; 但当温 度恢复到 37℃后, 产氢量可在 1~2d 内恢复到 7.0L/(L·d) 以上。

试验结果说明, 在产氢反应器的启动过程中, 进 水浓度较低时, 温度骤降会导致产氢能力下降, 且难 以恢复; 在产氢反应器稳定运行后, 进水浓度较高 时, 温度骤降也会导致产氢能力下降, 但易于恢复。

2.4 高温厌氧发酵产氢反应器的运行

将接种颗粒污泥预加热后接种到 UASB 反 应器中, 在进水 COD 浓度 5 000mg/L, 容积负荷 为 20.5kg/(m³·d) 的条件下开始启动, 通过出水回流 (8.2L/h) 保持反应器内的上升流速约为 0.43m/h。 逐步提高进水浓度, 反应器的气体产量迅速提高, 到

第 17d 时氢气产量达 6.1L/(L·d), 基质产氢摩尔比 (H₂/蔗糖) 约为 4.05, H₂ 体积分数从最初的 17% 上 升到 45% 左右, 污泥由黑色变为灰白色。期间从出 水中有大量絮状污泥流失, 导致产气量下降。第 42d 时, 进水浓度 8 000mg/L, 负荷约为 31kg/(m³·d), 氢气产量基本稳定在 3.9L/(L·d), 基质产氢摩尔比 为 1.9。之后, 采用高浓度进水和较长 HRT 的运行 方式, 第 43d 进水 COD 浓度 12 500mg/L, HRT 为 10h 左右, 容积负荷 30kg/(m³·d) 左右, 分步提高进 水浓度, 氢气产量从 0.5L/(L·d) 剧增升至 5.8 L/(L·d), 之后基本稳定在 6.3~6.8L/(L·d), 此时 基质产氢摩尔比为 3.6。郑幸雄等人^[13]利用薄膜反 应槽实现了连续高温厌氧产氢, 最佳基质产氢摩尔 比(H₂/蔗糖)为 3.29。

本试验在整个过程中 H₂ 体积分数为 37%~ 45%, 没有 CH₄ 产生。高温生物产氢 UASB 反应器的 运行结果如图 3 所示。

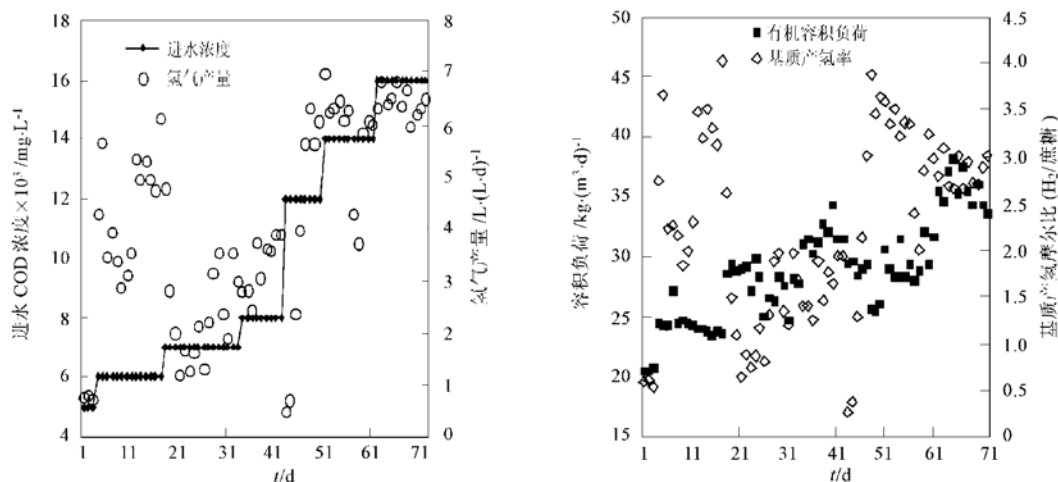


图 3 高温厌氧生物产氢反应器的运行结果

Fig. 3 Operation results of hydrogen production system under thermophilic condition

高温产氢反应器的出水中同样以乙醇、乙酸、丙 酸和丁酸为主, 其中乙酸的含量最高, 而丙酸的浓度 要高于中温反应器的出水。以容积负荷和氢气产量 拟和直线, 发现它们仍然存在一定的线性关系:

$$y = 0.3297x - 5.4531 \quad R^2 = 0.66$$

这在一定程度上说明高温产氢反应器的运行还不够 稳定, 需要对其运行参数进一步探讨。

2.5 高温厌氧发酵产氢颗粒污泥

2.5.1 产氢颗粒污泥的物理性质

接种产甲烷颗粒污泥呈黑色, 随着反应的进行, 颗粒污泥的颜色逐渐变浅, 最终获得的高温产氢颗

粒污泥的颜色为灰白色。高温产氢颗粒污泥粒径在 0.4mm~0.8mm、0.8mm~1.25mm 和 >1.25mm 的颗粒所占有的比例分别为 26%、26% 和 24%, 相 应地沉速分别为 20.5m/h、28.7m/h 和 40m/h。

2.5.2 产氢颗粒污泥的微生物相

通过扫描电镜(SEM)对高温产氢颗粒污泥的 微生物相进行观察, 发现在原接种污泥的光滑表面 上有一些突起, 如图 4(b) 所示。在更大倍数的显微 镜下可看到, 产氢颗粒污泥表面光滑处的细菌空洞 较多, 而表面粗糙处为新生细菌, 如图 4(c)、(d) 所示。