

利用养殖场废水厌氧发酵生物制氢技术研究

汤桂兰¹, 许科峰¹, 王冲¹, 孙振钧^{1*}, 黄健¹, 刘广青²

(1. 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100094; 2. 北京化工大学化学工程学院, 北京 100029)

摘要:在批式厌氧反应器中, 以厌氧消化污泥作为天然产氢菌源, 通过养殖场废水的厌氧发酵生产氢气, 考察了厌氧污泥和碳氮营养物质对养殖场废水产氢的影响, 并对液相产物的分布、产氢动力学进行了分析. 试验分为 4 个处理. 结果表明, 加入营养物质接种污泥的养殖场废水氢气含量、累积产氢量和单位 COD 氢气产量最高可达到 50.65%、334.80 mL 和 287.10 mL/g. 而未接种污泥的原始养殖场废水累积产氢量和单位 COD 氢气产量仅为 59.24 mL 和 67.05 mL/g. 污泥和碳氮营养物质对产氢能力均有显著地促进作用, 加入碳氮源后微生物群促进了原养殖废水有机物的氢的形成. 液相末端产物中, 乙酸、丁酸占总挥发酸的 61%~86%, 产氢过程属于典型的乙酸-丁酸型发酵. 总挥发性酸含量的提高, 其产氢能力也增大. Gompertz 模型能够很好地拟合其产氢过程.

关键词:厌氧污泥; 养殖场废水; 生物制氢; 厌氧发酵

中图分类号: X382 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)06-1621-05

Biohydrogen Production by Anaerobic Fermentation from Manure Wastewater

TANG Gui-lan¹, XU Ke-feng¹, WANG Chong¹, SUN Zhen-jun¹, HUANG Jian¹, LIU Guang-qing²

(1. College of Resources and Environmental Sciences, China Agriculture University, Beijing 100094, China; 2. College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

Abstract: Biohydrogen production by anaerobic sludge was studied by using manure wastewater as substrate, in batch process. The influences of sludge and carbon nitrogen nutrition on hydrogen production, the liquid fermentative products and hydrogen dynamics were investigated. The results indicate both sludge and nutrition were able to enhance the hydrogen production. It can be obtained maximum hydrogen content 50.65%, cumulative hydrogen production 334.80 mL and hydrogen yield per COD 287.10 mL/g from manure wastewater with carbon nitrogen nutrition and sewage sludge. However, the cumulative hydrogen production and the hydrogen yield per COD were only 59.24 mL and 67.05 mL/g from raw wastewater. Acetic acid and butyric acid in the effluent of fermentation occupied 61%-86%. It might be acetic-butyric acid type fermentation in the batch reactor. The more the VFA content, the higher the hydrogen yield. A modified Gompertz model can adequately describe the H₂ production.

Key words: anaerobic sludge; manure wastewater; biohydrogen production; anaerobic fermentation

氢气具有清洁无污染、能量密度高等特点, 被认为是 21 世纪最具应用价值的可再生能源之一^[1,2]. 目前制取氢气的途径有很多种^[3~5], 其中生物法制氢具有产氢能力高、生产过程清洁、节能, 发酵底物来源广等优点^[6]. 20 世纪 90 年代中期, 世界各国开始重视利用各种废弃物的生物质资源的厌氧发酵产氢技术的研究, 并逐渐成为当今生物产氢领域的一个研究热点^[7~11]. 有关资料显示, 全国家禽粪便年产生量约为 17.3 亿 t, 是工业废弃物的 2.7 倍^[12]. 大规模的养殖场废水如果不经处理就直接排入环境, 会对环境造成严重的污染, 同时也对家禽和人类的健康造成很大的威胁. 而养殖场废水中含有大量的氮、磷等有机物质, 可提供微生物生长所需的营养物质, 研究利用养殖场废水为原料生物制氢, 既得到清洁能源氢气, 又实现了废弃物的资源化.

在生物制氢系统中微生物是产氢的主体. 系统中产氢细菌的数量直接影响着产氢效率, 但是产氢

细菌的生长状况和代谢水平也会决定系统的处理效果和产氢能力^[13~15]. 微生物的生长和代谢离不开碳和氮这 2 种重要的营养元素, 不同的碳、氮源浓度对微生物生长、代谢途径、代谢产物的积累等有着重要的影响^[16]. 然而, 碳、氮源浓度对产氢细菌的生长、产氢能力及其液相产物的影响还不是十分清楚, 此类研究鲜见报道. 合理利用碳源和氮源, 在实现碳源和氮源最高利用率的同时提高细菌产氢效能, 这是降低生物产氢成本的有利途径之一. 本研究利用养殖场废水作为产氢基质, 厌氧污泥作为接种物, 探讨了厌氧污泥及碳、氮源浓度对其产氢能力的影响, 并分析了其产氢动力学和液相产物发酵型, 以期为大规模利用养殖场废水产氢的研究提供了有价值的

收稿日期: 2007-06-12; 修订日期: 2007-08-03

基金项目: 教育部科学技术研究重点项目(107117)

作者简介: 汤桂兰(1981~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为环境微生物与生物质能, E-mail: t-angguilan@163.com

* 通讯联系人, E-mail: sun108@cau.edu.cn

基础数据.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 接种物来源

接种污泥来自北京留民营村沼气发酵罐,其 pH 值为 8, VSS 为 24.7 g/L.在取回的厌氧消化污泥放置过夜后,倒去上面清水,然后用筛子除去石头、沙子等杂质后,接种到厌氧生物产氢反应器中,接种量为 100 g/L.

1.1.2 厌氧发酵底物

产氢基质取自北京某养殖场废水,其废水性质见表 1.

表 1 养殖场废水性质/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Table 1 Characteristics of manure used in the experiment/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$				
pH	COD	TN	TP	VSS
7.32	2 325	21.94	1.83	600

1.2 试验方法

1.2.1 试验装置及仪器

采用全自动发酵罐(BIOTECH-2002,上海保兴生物设备公司)作为试验设备.反应器总体积为 5.0 L.温度、pH 和搅拌速度分别有发酵罐的自动控制器自动检测和控制,其中,温度、pH 和搅拌速度的控制精度分别为 $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 、 ± 0.02 和 $\pm 5\text{ r/min}$.向发酵罐加入厌氧污泥 200 g,然后加入产氢基质2 000 mL,迅速通氮气 10 min 除去氧气使发酵罐保持厌氧状态.发酵罐的 pH 和搅拌速度分别控制在 6.0 和 250 r/min,通过发酵罐自动控制在温度分别为 45°C .

1.2.2 试验设计

试验分为 4 个处理,每个处理 3 次重复,分别为 A: 养殖场废水产氢,不加入厌氧污泥;B: 养殖场废水产氢,接种厌氧污泥;C: 养殖场废水加入碳、氮源营养物质,不接种厌氧污泥;D: 养殖场废水加入碳、氮源营养物质,接种厌氧污泥.

1.2.3 测定方法

气相组分由气相色谱仪(GC-9900,北京佳分分析仪器技术有限公司)测定,使用热导检测器(TCD);气化温度 100°C ,柱温 50°C ,检测器温度 180°C ;高纯氮气为载气,流量为 30 mL/min.通过外标法定量分析气体中各组分的含量.所产生的气体用排水法收集和计量.

液相组分(乙醇、乙酸、丙酸、丁酸)由气相色谱

仪测定,色谱柱为 $30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ 的熔融硅胶毛细管色谱柱,测定条件为:进样口和检测器的温度分别控制为 250 和 300°C ,柱温采用程序升温方式,初温为 50°C 保持 1 min,然后以 15°C/min 的升温速度逐渐地升高到 180°C ,并在 180°C 保持 6 min;用高纯氮气作载气,其气体流速为 30 mL/min,进样口的进样方式为分流进样,分流比为 10:1.空气和氢气流速分别为 400 和 30 mL/min.

气体体积采用排水法测定.化学需氧量(COD)、挥发性悬浮固体(VSS)、总磷(TP)、总氮(TN)的测定方法参照国家标准方法^[17].实验结果利用 SAS 统计软件进行方差和显著性分析.

2 结果与分析

2.1 不同处理对养殖场废水产氢能力的影响

考虑到养殖场废水中含有一定量的微生物群和营养物质,VSS 表示生物量(见表 1),按 1.2.2 中分别设置了 4 个不同的处理.C 和 D 中碳、氮源营养物质加入的比例根据本实验室在人工配置废水条件下厌氧产氢得出的最佳碳氮源浓度,即 $\text{COD}=5\,000\text{ mg/L}$, $\text{TN}=59.93\text{ mg/L}$,加入葡萄糖(碳源)和酵母浸粉(氮源).按 1.2.1 中的工艺进行产氢试验,考察厌氧污泥在以养殖场废水为基质时,在不同处理条件下,其累积产氢量、氢气含量及氢气产量的变化.

从图 1 可以看出,B、D 处理的累积产氢量明显高于 A、C 处理的累积产氢量.以原始的养殖场废水为基质,不接种厌氧污泥,其在 30 h 后的累积产氢量达 59.24 mL.而接种厌氧污泥后,其累积产氢量明显提高到 334.80 mL.说明养殖场废水中存在着少量的产氢菌和其生长必须的营养物质.接种厌氧污泥后,由于厌氧污泥中含有大量的产氢菌,其细菌生物量的提高导致废水的累积产氢量也相应地增加.所以厌氧污泥利用养殖场废水产氢具有潜在的研究潜力.为了更好地提高养殖场废水的产氢效率,本实验加入一定量的碳、氮源物质促进微生物的生长繁殖.图 1 显示了废水中碳氮源浓度的改变对厌氧污泥利用养殖废水产氢的影响.加入营养物质后,其累积产氢量均为原来的 4.29(C/A)和 3.31(D/B)倍.原因可能是 C、D 处理中碳氮源含量丰富,有机物含量高,能够满足菌体生长的需要,使得菌体生长繁殖快,生物量较高,产氢能力就提高.

生物气中氢气的百分含量也是厌氧发酵产氢的重要参数.不同处理对氢气浓度的影响见图 2.厌氧发酵生物制氢通常可分为 4 个阶段:即反应停滞阶

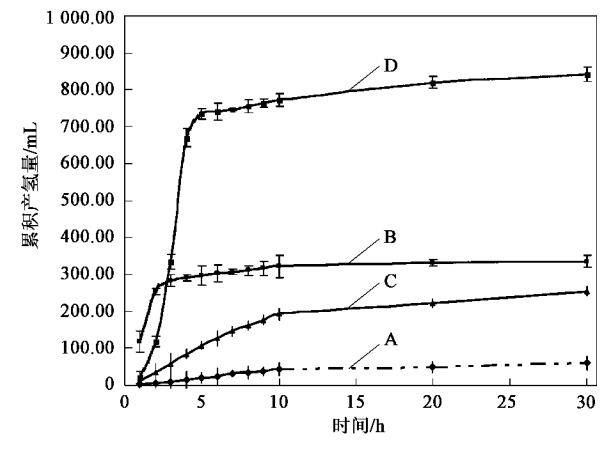


图1 不同处理对累积产氢量的影响

Fig.1 Effect of different treatment on cumulative hydrogen production

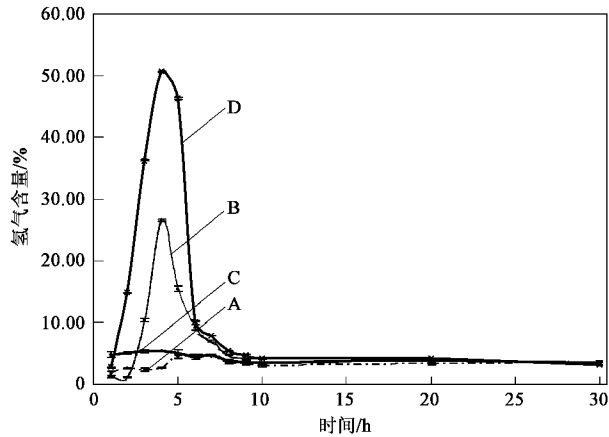


图2 不同处理对氢气含量的影响

Fig.2 Effect of different treatment on hydrogen content

段,开始产氢阶段,持续产氢阶段和产氢衰减阶段.在试验条件下,反应停滞阶段时间很短,很快产氢微生物开始萌发、生长、繁殖,并对底物进行降解,产氢能力也逐渐增加,这是因为生物菌群经过一段时间培养后,逐渐形成稳定平衡的产氢菌落,形成产氢的最佳条件;当A处理发酵时间为6 h时,达到最大氢气浓度4.64%,当B处理发酵时间为4 h时,达到最大氢气浓度26.60%,当C处理发酵时间为3 h时,达到最大氢气浓度5.40%,当D处理发酵时间为4 h时,达到最大氢气浓度50.65%,其后进入持续产氢阶段;随着反应体系中底物逐渐被消耗,产氢能力逐渐下降;培养时间约为25 h后,反应体系几乎停止产氢,由于产氢菌群得不到营养而进行内源呼吸,细菌群体进入衰亡期,整个产氢反应周期持续约30 h,反应中没有检测到甲烷气体的存在.

在不同处理条件下,养殖场废水发酵产氢的氢气产量也存在差异.从图3可以看出,B、D处理的氢气产量分别高于A、C处理的氢气产量;C、D处理的氢气产量分别高于A、B处理的氢气产量.可见产氢菌的生物量及营养物质含量对氢气产量都有着重要的影响.由于原始废水中菌的种类和含量均较少,使得产氢能力较低.接种污泥后,生物量增加,多种微生物间发生了协同效应,相互创造有利的生存环境,使菌的代谢活性充分发挥,提高了氢气产量.在相同的菌种来源条件下,C处理比A处理的养殖场废水每g COD转化成氢气的量高出41.52 mL,D处理比B处理的养殖场废水每g COD转化成氢气的量高出41.44 mL,加入碳氮源后微生物群促进了原养殖废水有机物的氢的形成.

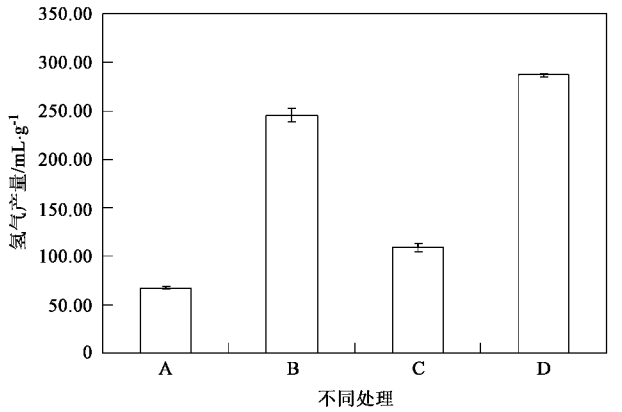


图3 不同处理对氢气产量的影响

Fig.3 Effect of different treatment on hydrogen yield

2.2 不同处理条件下养殖场废水产氢动力学

为了更好地比较不同处理对厌氧发酵产氢的影响,采用Gompertz模型对产氢过程进行模拟.Gompertz模型的数学表达式如下^[18,19]:

$$H = P \cdot \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_m \cdot e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}$$

式中, H 是累积产氢量(mL); P 是产氢潜力(mL); R_m 是最大产氢速率(mL·h⁻¹); e 是 $\exp(1) = 2.71828\cdots$; λ 是产氢停滞期(h), t 是接种时间(h).

利用图1中各个处理的产氢曲线,采用Gompertz模型对上述曲线进行非线性回归,把回归所得到的Gompertz常数列入表2.

由表2可以看出4种处理条件下,以D处理的产氢潜力和最大产氢速率最大,分别达到785.97 mL和318.88 mL/h,以A处理的产氢潜力和最大产氢速率最小,为55.26 mL和5.36 mL/h.4种处理的产氢潜力和最大产氢速率变化趋势和氢气产量一致.进

一步说明了厌氧污泥中含有大量的产氢微生物群。同时,由于 C、N 参与细菌的产能代谢过程,更好地促进了产氢微生物的繁殖,显著提高了产氢潜力和最大产氢速率,其细菌产氢停滞期也随着不同处理条件而变化。在 C 处理下,其产氢停滞期最短,在 D 处理下,其产氢停滞期最长。

表 2 不同处理产氢动力学参数
Table 2 Kinetic parameters at various treatment

不同处理	P/mL	$R_m/\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	λ/h	R^2
A	55.26	5.36	1.42	0.987 9
B	313.33	149.18	0.18	0.952 9
C	92.66	8.91	0.10	0.993 5
D	785.97	318.88	1.80	0.985 1

表 3 不同预处理对液体末端产物分布的影响/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
Table 3 Characteristics of final metabolite content at various treatment/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

不同处理	乙醇	乙酸	丙酸	丁酸	总挥发性酸	乙酸/总挥发性酸	丙酸/总挥发性酸	丁酸/总挥发性酸
A	1 199.21 $\pm$ 27.76	109.48 $\pm$ 9.42	217.56 $\pm$ 18.13	244.64 $\pm$ 19.72	571.68	0.19	0.38	0.43
B	1 084.14 $\pm$ 22.05	1 953.45 $\pm$ 26.65	522.80 $\pm$ 20.65	635.44 $\pm$ 20.21	3 111.69	0.63	0.17	0.20
C	140.84 $\pm$ 24.75	443.03 $\pm$ 22.11	226.69 $\pm$ 6.16	335.44 $\pm$ 49.35	1 004.75	0.44	0.23	0.33
D	476.21 $\pm$ 11.41	1 932.57 $\pm$ 27.51	567.37 $\pm$ 17.97	1 550.27 $\pm$ 29.90	4 050.20	0.48	0.14	0.38

2.4 不同处理条件下产氢能力的比较

从表 4 可以看出,从污泥因素来看,不接种污泥的氢气产量极显著低于其他处理,说明污泥里的混合微生物群有利于氢气的产生。从营养因素来看,加入营养物质的氢气产量和累积产氢量极显著高于未加入营养物质的。说明氢气产量和累积产氢量受微生物和碳氮营养物质的影响很大,要获得高的氢气产量和累积产氢量,应从这 2 个因素综合考虑。污泥和碳氮源相互作用后对氢气产量的影响不显著,对累积产氢量的影响极显著。

表 4 污泥和营养物质对氢气产量和累积产氢量的影响

Table 4 Effect of sludge and nutrition on hydrogen yield and cumulative hydrogen production

类型	氢气产量/ $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$		累积产氢量/ mL	
	加入碳氮源	不加碳氮源	加入碳氮源	不加碳氮源
接种污泥	287.10	245.66	841.68	334.8
未接种污泥	108.87	67.05	254.43	59.24
项目	显著性(p)		显著性(p)	
污泥	< 0.000 1		< 0.000 1	
碳氮源	< 0.000 1		< 0.000 2	
污泥 $\times$ 碳氮源	0.94		< 0.000 3	

3 结论

(1)以原始养殖场废水为底物时能够产氢,接种

2.3 不同处理条件下养殖场废水发酵产氢的液相产物分布

表 3 列出了不同预处理条件下液相末端产物的分布。其中乙酸含量占挥发酸含量的 19% ~ 63%,丁酸含量占挥发酸的 20% ~ 43%,丙酸含量占挥发酸含量的 14% ~ 38%。在 4 种处理下,乙酸和丁酸含量占总挥发酸的 61% ~ 86%,属于典型的乙酸-丁酸发酵型^[20]。在 A 处理中,丁酸含量高于乙酸含量占据主导地位。在 B、C、D 处理中,乙酸含量高于丁酸含量居于主导地位。除了 A 处理外,B、C、D 处理中丙酸的含量均较低。丙酸和乙醇含量的越高,其产氢量越低,随着总挥发性酸含量的提高,其产氢能力也增大。

厌氧污泥后具有较高的产氢活性,30 h 内累积产氢量为 334.80 mL,此时氢气产量为单位 COD 245.66 mL/g。加入营养物质葡萄糖和酵母浸粉后,其累积产氢量高达 841.68 mL,氢气产量为单位 COD 287.10 mL/g。表明厌氧污泥中含有大量的产氢微生物,多种微生物间发生了协同效应,使菌的代谢活性充分发挥,提高了产氢能力,增加了产氢量,但是由于原始废水中菌的种类和含量均较少,使得产氢能力较低。

(2)碳、氮源浓度对产氢也有着重要的影响,提高碳、氮源到最佳浓度,极显著提高了废水产氢能力。

(3)通过对养殖场废水厌氧发酵产物的分析,可知该发酵属于乙酸-丁酸型发酵,乙酸、丁酸占总挥发酸的 61% ~ 86%。可以用 Gompertz 模型很好地模拟产氢过程。

参考文献:

[1] Benemann J. Hydrogen Biotechnology: Prospects [J]. Nature Biotechnology, 1997, 14: 1101-1103.
[2] 周俊虎,戚峰,程军,等. 秸秆发酵产氢的影响因素研究[J]. 环境科学, 2007, 28(5): 1153-1157.
[3] Momirlan M, Veziroglu T. Recent directions of world hydrogen production [J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 1999, 3: 219-231.
[4] Hawkes F R, Dinsdale R, Hawkes D L, et al. Sustainable

fermentative hydrogen production: challenges for process optimization [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1339-1347.

[5] Das D, Veziroglu T N. Hydrogen production by biological process: a survey of literature [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2001, **26**: 13-28.

[6] Benemann J R. The technology of biohydrogen [M]. BioHydrogen. Plenum Publishing Corporation, 1998.

[7] Yu H Q, Zhu Z H, Hu W R, *et al.* Hydrogen production from rice winery wastewater in an upflow anaerobic reactor by using mixed anaerobic cultures [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2002, **27**: 1359-1365.

[8] Idania V V, Richard S, Derek R, *et al.* Hydrogen generation via anaerobic fermentation of paper mill wastes [J]. *Bioresource Technology*, 2005, **96**: 1907-1913.

[9] Idania V V, Elvira R L, Fernando E G, *et al.* Semicontinuous solid substrate anaerobic reactors for H₂ production from organic waste: mesophilic versus thermophilic regime [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2005, **30**: 1383-1391.

[10] Collet C, Adler N, Schwitzguébel J P, *et al.* Hydrogen production by *Clostridium thermolacticum* during continuous fermentation of lactose [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 2004, **14**: 1479-1485.

[11] 张茂林,魏瑞霞,樊耀亭,等.玉米秸秆发酵浸出液模拟废水发酵产氢的放大实验研究[J]. *环境科学*, 2007, **28**(8): 1889-1893.

[12] 李庆康,吴雷,刘海琴,等.我国制约化畜禽养殖场粪便处理利用现状及展望[J].*农业环境保护*, 2000, **19**(4): 251-254.

[13] Fang H H P, Liu H. Granulation of a hydrogen-producing acidogenic sludge[A]. In: *Proceeding Part 2 of the 9th World Congress Anaerobic Digestion* [C]. Antwerpen, 2001. 527-532.

[14] Noike T, Mizuno O. Hydrogen fermentation of organic municipal wastes [J]. *Water Sci Technol*, 2000, **42**(12): 155-162.

[15] Tanisho S, Kuromoto M, Kadokura N. Effect of CO₂ removal on hydrogen production by fermentation [J]. *Int J Hydrogen Energy*, 1998, **7**: 559-563.

[16] 李秋波,邢德峰,任南琪,等. C/N 比对嗜酸细菌 X-29 产氢能力及其酶活性的影响[J].*环境科学*, 2006, **27**(4): 810-814.

[17] 国家环保总局.水和废水监测分析方法[M].北京:中国环境科学出版社,1998.

[18] Lay J J, Lee Y J, Noike T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste [J]. *Water Res*, 1999, **33**: 2579-2586.

[19] 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.

[20] 宫曼丽,任南琪,邢德峰.丁酸型发酵生物制氢反应器的运行特性研究[J].*环境科学学报*, 2005, **25**(2): 275-278.