

不同底物条件下金属离子螯合剂对厌氧消化的影响

李秀芬^{1,2}, 胡庆昊^{1,3}, 陈坚⁴

(1. 江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122; 2. 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214122; 3. 淮海工学院化学工程学院, 连云港 222005; 4. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 无锡 214122)

摘要 借助气相色谱分析, 研究了金属离子螯合剂在不同有机酸存在时对厌氧消化的影响. 结果表明, 螯合剂 A 的添加可以有效提高不同有机酸的甲烷产量和产甲烷速率, 促进有机酸向甲烷的转化. 当螯合剂 A 的添加量为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 丁酸、丙酸和乙酸的甲烷产量分别增加了 19.8%、133.0% 和 45.2%. 产甲烷的延滞期也明显缩短, 最高产甲烷速率提高了 4 倍多. 丁酸厌氧消化的 4~8 d 间, 丁酸降解率达 56%, 同时, 气相色谱未检测到乙酸的累积, 说明丁酸转化为乙酸后, 乙酸很快被产甲烷菌利用. 螯合剂 A 对有机酸产甲烷的促进作用可从酶学上得到支持, 以乙酸为例, 添加 10 $\mu\text{mol/L}$ 螯合剂 A 时, 污泥(VSS)中辅酶 F_{420} 含量由空白实验的 1.20 $\mu\text{mol/g}$ 提高到 1.52 $\mu\text{mol/g}$.

关键词 厌氧消化; 有机酸; 金属离子螯合剂

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)06-

Effect of Metal Chelating Agent on Anaerobic Digestion Under Different Substrates

LI Xiu-fen^{1,2}, HU Qing-hao^{1,3}, CHEN Jian⁴

(1. School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. School of Chemical Engineering, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China; 4. National Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract Aided by GC analysis, the effect of metal chelating agent on anaerobic digestion under different substrates was investigated. The results showed that the addition of chelating agent A could greatly promote the methane production under different substrates and speed the conversion of organic acid to methane, especially for propionic acid. When the dosage of chelating agent A was 10 $\mu\text{mol/L}$, the methane production was, respectively, 19.8%, 133.0% and 45.2% for butyric acid, propionic acid and acetic acid. Also, the arrearage time of methane production was shortened and the production rate increased by 4-fold. During 4-8 d operation, the degradation rate of butyric acid reached 56%. The accumulation of acetic acid was not detected by GC analysis, which demonstrated acetic acid converted from butyric acid was quickly utilized by methane producing bacteria. The increase in methane production due to the addition of chelating agent A could be supported by enzymology. Taking acetic acid as an example, the content of coenzyme F_{420} in sludge increased to 1.52 $\mu\text{mol/g}$ from 1.20 $\mu\text{mol/g}$ due to the addition of 10 $\mu\text{mol/L}$ chelating agent A.

Key words anaerobic digestion; organic acid; metal chelating agent

有机物质的厌氧消化过程是一个非常复杂的由多种微生物共同作用的生化过程, 而以乙酸、丙酸和丁酸为代表的挥发性脂肪酸(volatile fatty acid, VFA)则是厌氧消化过程的重要中间产物, 其浓度和组成会直接影响产甲烷菌的活性, 进而影响反应器的运行状态^[1~4]. 有研究报道^[5], 金属离子螯合剂由于能和 Fe、Co、Ni 等微量元素形成稳定的螯合物, 从而可以大大提高它们的溶解度, 使得金属离子的生物可利用性得到提高, 然而, 另有研究认为^[6~8], 激活产甲烷菌的微量元素不仅能够保证污染物以最大的速率转化, 而且还可以使某些特殊的转化得以发生, 并提高微生物对有毒污染物质的耐受能力. 因此, 本实验以乙酸、丙酸和丁酸 3 种有机酸为底物, 研究不同底物条件下金属离子螯合剂 A^[9]对厌氧消化产甲烷的影响, 以期控制厌氧消化系统的酸化抑制问题提

供有益参考.

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 接种污泥

厌氧污泥取自无锡太湖水啤酒有限公司废水处理车间的厌氧反应器. 污泥 pH 值为 7.2, VSS/TSS 为 0.72. 采用模拟废水在 2 L 连续搅拌槽式反应器中进行污泥驯化培养, 35℃ ± 2℃ 恒温, 水力停留时间为 5 d, 驯化培养时间为 2 个月.

1.1.2 模拟废水

实验用水为人工配制的模拟废水, 其组成如表

收稿日期: 2008-07-09; 修订日期: 2008-08-18

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2007CB714036)

作者简介: 李秀芬(1968~), 女, 教授, 主要研究方向为环境生物技术, E-mail: xfli@jiangnan.edu.cn

1 所示.微量元素配方如表 2 所示^[10].模拟废水中加入 0.1 mL/L微量元素液.

1.2 实验方法

在 125 mL 的血清瓶中加入 90 mL 模拟废水,通氮气 5 min,尽快形成厌氧环境.加入厌氧污泥使挥

发性固体含量(以 VSS 计)为 5 g/L,pH 调节至 7.0~7.5,在 35℃±2℃温室内进行厌氧消化.对照试验不加金属离子螯合剂 A,处理样中添加螯合剂 A,使其最终浓度为 10 μmol/L.

1.3 分析测定方法

表 1 人工模拟废水的组成/mg·L⁻¹

| Table 1 Components of synthetic wastewater/ mg·L ⁻¹ | | | | | | |
|--|-------------------|--------------------|---------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|
| 组成成分 | 乙酸/丙酸/丁酸 | NH ₄ Cl | KH ₂ PO ₄ | MgSO ₄ ·7H ₂ O | CaCl ₂ ·2H ₂ O | Na ₂ S |
| 浓度 | 7 000/3 600/31000 | 200 | 55 | 100 | 10 | 78 |

表 2 微量元素溶液的组成

| Table 2 Components of the trace element solution | | |
|--|-------------------------|-------|
| 成分 | 质量浓度/mg·L ⁻¹ | |
| | 化合物 | 元素 |
| FeCl ₂ ·4H ₂ O | 2 000 | 92 |
| ZnCl ₂ | 562 | 32 |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 50 | 2 000 |
| CuCl ₂ ·2H ₂ O | 24 | 495 |
| NiCl ₂ ·6H ₂ O | 500 | 50 |
| CoCl ₂ ·6H ₂ O | 139 | 27 |
| (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O | 38 | 164 |
| Na ₂ SeO ₂ ·5H ₂ O | 14 | 49 |

1.3.1 甲烷产量的测定

实验过程中产生的甲烷量用装有 2 mol/L NaOH 溶液的液体置换装置测定,定时记录甲烷的累积产量,直至甲烷累积产量不再增加时结束实验.期间为使污泥和基质充分接触,每 12 h 摇动血清瓶一次.

1.3.2 VFA 测定方法

采用气相色谱仪(SP2000)、火焰离子检测器(FID)、硅毛细管(0.5 mm×30 mm,PEG-20M)测定样品.进样口和火焰离子检测器温度均为 210℃.采用氮气作载气,流量 20 mL/min.毛细管升温程序如下:60℃ 2 min,以 5℃/min 的速率升至 160℃,并在 160℃停留 5 min.样品处理:4 800 r/min 离心 10 min,其上清液再以 15 000 r/min 离心 10 min,然后通过 0.2 μm 滤膜过滤,用 3 mol/L 的 H₃PO₄ 酸化,以 4-甲基戊酸作内标.

辅酶 F₄₂₀ 含量的测定采用分光光度法^[11].其他项目的测定均采用国家标准方法.

2 结果与讨论

2.1 不同底物条件下金属离子螯合剂 A 对甲烷产量的影响

由表 3 中结果可知,相对于对照试验,无论以何种有机酸为底物进行厌氧消化产甲烷,螯合剂 A 的添加均呈现明显的促进作用,当厌氧消化底物为丁

酸、丙酸和乙酸时,甲烷产量分别增加了 19.8%、133.0%和 45.2%,其中对丙酸转化的促进效果最为明显.另外,尽管 3 个基质开始的 COD 浓度相同,但最终甲烷产量并不相同,不同底物被微生物利用的速度和程度不同.

表 3 不同底物时甲烷最终的累积产量

| Table 3 Accumulative methane production by use of different substrates | | | |
|--|------------|------------------|----------|
| 底物类型 | 对照样甲烷产量/mL | 添加螯合剂 A 的甲烷产量/mL | 甲烷产量增加/% |
| 丁酸 | 182 | 218 | 19.8 |
| 丙酸 | 18 | 42 | 133.0 |
| 乙酸 | 135 | 196 | 45.2 |

这一研究结果的意义在于:①金属离子螯合剂 A 的添加不仅可以有效控制厌氧消化过程中的酸化问题,而且可减轻系统酸化给产甲烷带来的不利影响.有机物的厌氧消化过程主要经历水解酸化、产氢产乙酸、产甲烷 3 个阶段,相对于其他阶段而言,系统酸化是厌氧消化系统中需要解决的关键抑制因素之一,而螯合剂 A 可以提高系统有机酸的利用或消耗速度,控制酸化程度及其不利影响;②金属离子螯合剂 A 的添加可以明显促进丙酸的转化进而提高整个系统的产甲烷效率和稳定性.丙酸是厌氧消化过程中的重要中间产物之一,有研究指出,在城市污水处理剩余污泥的厌氧消化中,系统甲烷产量的 35% 是由丙酸转化而来.同其他的中间产物(如丁酸、乙酸等)相比,丙酸向甲烷的转化速率是最慢的,有时丙酸向甲烷的转化过程限制了整个系统的产甲烷速率,丙酸的积累会导致系统产气量的下降^[12,13].

2.2 不同底物条件下金属离子螯合剂 A 对产甲烷速率的影响

图 1 同时给出了不同底物的产甲烷速率和螯合剂 A 的添加对产甲烷速率的影响.首先,无论以何种底物进行厌氧消化,金属离子螯合剂 A 的添加对产甲烷速率均有较好的促进作用,其中以丙酸的产甲烷速度增加最为明显,较对照样提高了 3.3 倍,螯

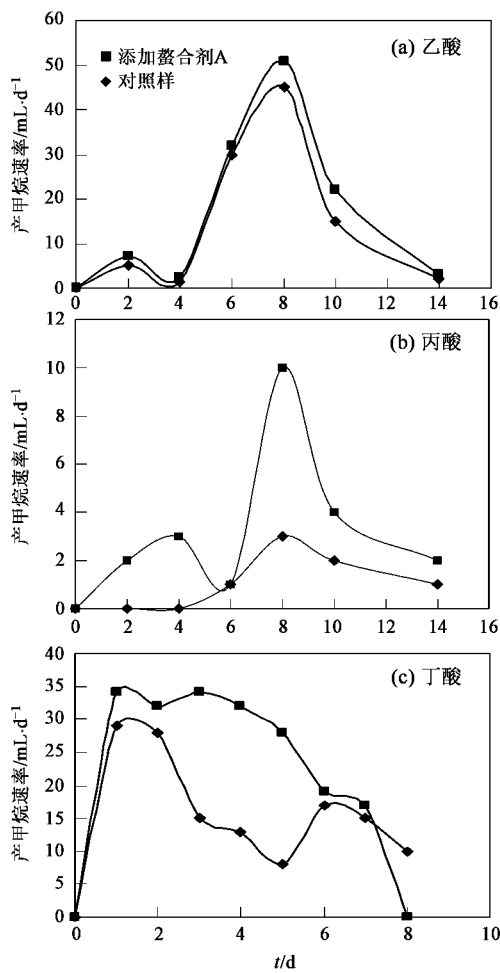
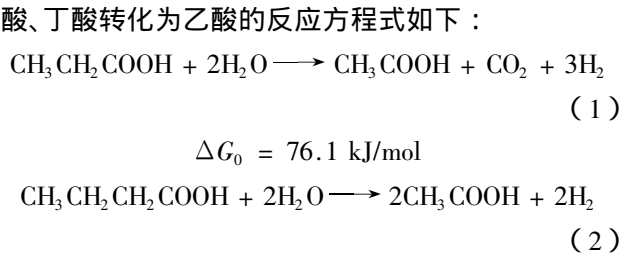


图1 不同底物时螯合剂A对产甲烷速率的影响
Fig.1 Effect of chelating agent on the methane production rate by use of different substrates

合剂A的加入加速了微生物对丙酸的利用.其次,底物类型对厌氧消化产甲烷速率的影响也较大.相同条件下,乙酸的产甲烷速率最大,最容易被微生物利用,在第1d就达最高产甲烷速率,为29 mL/d,之后降低.丁酸次之,在经历4d的延滞期后,底物开始以较快的速度被利用,但至第8d才达到其最大产甲烷速率,为45 mL/d.丙酸在整个生物降解过程中最难转化,前6d对照系统中几乎不产气,到第8d时,产甲烷速率达最大,但仅有3 mL/d,远低于丁酸和乙酸,在整个消化时间内累计甲烷产量也只有20 mL左右,丙酸向甲烷的转化速率是最慢的.

3种底物呈现不同的产甲烷速率变化趋势与底物的降解路径有关.乙酸是产甲烷菌可以直接利用的底物,因此在第1d就呈现较高的产甲烷速率,甚至没有观察到延滞期.而丁酸和丙酸则首先要 在产氢产乙酸菌作用下转化为乙酸,然后才能产生甲烷,所以相对于乙酸而言,出现了明显较长的延滞期.丙



可见,在标准状态(氢分压为 $1 \times 10^5 \text{ Pa}$)下,反应(1)和(2)为吸能反应,不能自发进行,只有当氢分压降低时,反应才能进行.而相对于丁酸而言,丙酸转化的吉布斯自由能正值更大,因此更难进行,所以在厌氧反应器中常常容易导致丙酸的积累.这与本实验的结果和观点一致.相对于乙酸和丁酸,丙酸作为基质的利用率最低.但在加入金属离子螯合剂A后,产甲烷的延滞期明显缩短,最高产甲烷速率也提高4倍多.

2.3 金属离子螯合剂A对有机酸降解的影响

以丁酸为例,图2描述了其降解或转化过程.金属离子螯合剂A的添加对丁酸的降解有一定的促进作用,这与其对甲烷产量和产甲烷速率的影响趋势一致.与产甲烷速率相对应,在第4d天以后,丁酸利用加快.前4d,厌氧消化混合液中丁酸的浓度由3 000 mg/L降低到2 500 mg/L,其降解率为17%,接下来的4d,则快速降低为1 100 mg/L,降解率达56%.另外,气相色谱未检测到乙酸的累积,说明丁酸转化为乙酸后,乙酸很快被产甲烷菌利用.

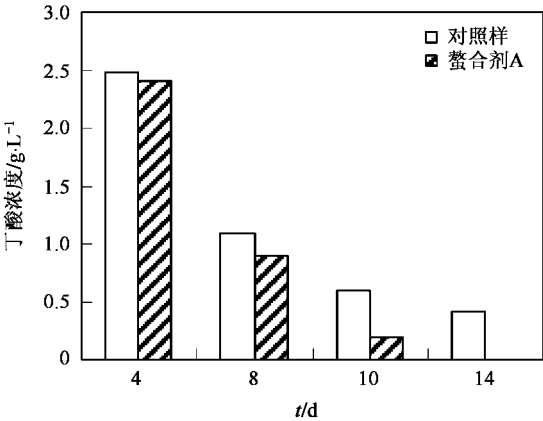


图2 丁酸为底物的降解过程
Fig.2 Substrate concentration during anaerobic digestion butyric acid

2.4 金属离子螯合剂A对辅酶F₄₂₀含量的影响

辅酶F₄₂₀是一种低电位(E 为 $-340 \sim -350 \text{ mV}$)电子载体^[14].由于大部分产甲烷菌缺少铁氧还原蛋白,辅酶F₄₂₀替代它起电子载体的作用,可将电子由

NADPH 传递给最终的电子受体 CO_2 ,使其还原成 CH_4 . 研究认为,辅酶 F_{420} 可作为评价污泥产甲烷活性的指标. 许敬亮等^[15]运行 UASB 处理酶制剂废水的研究结果表明,辅酶 F_{420} 含量变化可定性地判断污泥的产甲烷活性,尹小波等^[16]的研究结果也表明辅酶 F_{420} 含量与产甲烷活性具有明显的相关性. 基于此,这里以乙酸为例,分别测定了添加和不添加螯合剂 A 时系统污泥中辅酶 F_{420} 的含量,发现不添加螯合剂 A 时,辅酶 F_{420} 含量为 $1.20\ \mu\text{mol/g}$,添加 $10\ \mu\text{mol/L}$ 螯合剂 A 的系统中,污泥的辅酶 F_{420} 含量则为 $1.52\ \mu\text{mol/g}$. 螯合剂 A 对乙酸产甲烷的促进作用可从酶学上得到支持.

3 结论

(1) 无论以何种有机酸为底物,金属离子螯合剂 A 对厌氧消化产甲烷过程均具有较好的促进作用. 丁酸、丙酸和乙酸的甲烷产量分别增加了 19.8%、133.0%和 45.2%.

(2) 丁酸、丙酸和乙酸的产甲烷速率均有提高,产甲烷延滞期缩短.

(3) 螯合剂 A 对有机酸产甲烷的促进作用可从酶学上得到支持,以乙酸为例,添加 $10\ \mu\text{mol/L}$ 螯合剂 A 时,污泥中辅酶 F_{420} 含量由空白实验的 $1.20\ \mu\text{mol/g}$ 提高到 $1.52\ \mu\text{mol/g}$.

参考文献:

[1] Babel S , Fukushi K , Sitanrassamee B. Effect of acid speciation on solid waste liquefaction in an anaerobic acid digester[J]. Wat Res , 2004 , **38**(9) : 2416-2422.

[2] Veeken A H M , Hamelers B V M. Effect of temperature on hydrolysis rates of selected biowaste components[J]. Bioresource Technol , 1999 , **69**(3) : 249-254.

[3] Horiuchi J , Shimizu T , Tada K , *et al.* Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control [J].

Bioresource Technol , 2002 , **82**(3) : 209-213.

[4] 周洪波 , Ralf C , 陈坚. 酸度、氧化还原电位和水力停留时间对葡萄糖厌氧混合发酵的影响[J]. 过程工程学报 , 2001 , **1**(2) : 180-184.

[5] Hong K J , Tokunaga S Y I. Extraction of heavy metals from MSW incinerator fly ash using saponins[J]. Chemosphere , 2000 , **41**(3) : 345-352.

[6] 李亚新 , 董春娟. 激活甲烷菌的微量元素及其补充量的确定 [J]. 环境污染与防治 , 2001 , **23**(3) : 116-118.

[7] Patidar S K , Tare V. Effect of nutrients on biomass activity in degradation of sulfate laden organics[J]. Process Biochem , 2006 , **41** : 489-495.

[8] Graciela G , Robbert K , Lettinga G. Effect of nickel and cobalt on kinetics of Methanol conversion by methanogenic sludge as assessed by on-line CH_4 monitoring[J]. Appl Environ Microbiol , 1999 , **65**(4) : 1789-1793.

[9] Hu Q H , Li X F , Liu H , *et al.* Enhancement of methane fermentation in the presence of Ni^{2+} chelators[J]. Biochem Eng J , 2008 , **38**(1) : 98-104.

[10] Marcel H Z , Geerts R , Lettinga G. Methanol degradation in granular sludge reactors at sub-optimal metal concentrations : role of iron , nickel and cobalt[J]. Enzyme Microbiol Technol , 2003 , **33** : 190-198.

[11] 赵阳 , 李秀芬 , 堵国成 , 等. 钴的配合物对甲烷发酵和产甲烷过程中关键酶的影响[J]. 食品与生物技术学报 , 2007 , **26**(5) : 71-74.

[12] 任南琪 , 赵丹. 厌氧生物处理丙酸产生和积累的原因及控制对策[J]. 中国科学 , 2002 , **33**(1) : 83-89.

[13] 赵杰红 , 张波 , 蔡伟民. 厌氧消化系统中丙酸积累及控制研究进展[J]. 中国给水排水 , 2005 , **21**(3) : 25-27.

[14] Warkentin E , Hagemier C , Shima S , *et al.* The Strucuter of F_{420} -dependent methylemete transyndromethanopterin dehydrogenase : a crystallographic ' superstructure ' of the Selenomethionire-labelled Protein Crystal Structure[J]. Biological Crystallography , 2005 , **61** : 198-202.

[15] 许敬亮 , 高勇生 , 李顺鹏. 运行负荷对酶制剂废水厌氧颗粒污泥形成的影响[J]. 环境科学学报 , 2005 , **25**(3) : 379-384.

[16] 尹小波 , 连莉文 , 徐洁泉 , 等. 产甲烷过程的独特酶类及生化监测方法[J]. 中国沼气 , 1998 , **16**(3) : 8-12.