

初始 pH 对木薯酒精废水高温厌氧产氢的影响

罗 刚^{1,2}, 谢 丽^{1,2}, 邹中海^{1,2}, 周 琪^{1,2}

(1 同济大学 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092; 2. 同济大学 联合国环境规划署-环境与可持续发展学院, 上海 200092)

摘要: 通过间歇实验, 考察了初始 pH(4.0~10.0) 对木薯酒精废水高温(60℃) 厌氧产氢的影响。结果表明, 初始 pH 6.0 为高温厌氧产氢的最佳值, 累积产氢量为 383 mL, 单位基质产氢量为 70 mL · g⁻¹。挥发性有机酸(VFA) 和乙醇的总量随着 pH 的升高而升高, 乙酸的含量越来越大, 但丁酸始终占优势。接种污泥在 90℃ 的水浴中加热 1 h 不能有效地抑制产甲烷菌和同型产乙酸菌的活性, 当初始 pH 在 6.0~10.0 时, 发现不同程度的氢消耗, 并且在初始 pH 9.0 和 10.0 时, 发酵末期均检测到甲烷。发酵过程中对底物变化的跟踪分析表明, 氢气主要在丁酸生成过程中产生, 与乙酸关系不大。

关键词: 初始 pH; 木薯酒精废水; 高温厌氧产氢

中图分类号: X 703.1

文献标识码: A

Effect of Initial pH on Thermophilic Fermentative Hydrogen Production From Cassava Ethanol Wastewater

LUO Gang, XIE Li, ZOU Zhonghai, ZHOU Qi

(1. State Key Laboratory of Pollution Control and Resources Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. UNEP-Institute of Environment for Sustainable Development, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: The effect of initial pH (4.0 ~ 10.0) on thermophilic fermentative hydrogen production from cassava ethanol wastewater was investigated in batch experiments. Results show maximum hydrogen product (383 mL) is obtained at initial pH 6.0 and the corresponding hydrogen yield is 70 mL · g⁻¹. The total amount of VFA /ethanol and the proportion of acetic acid in the VFA increase with the increase of pH. The distribution of aqueous products is always dominated by butyrate. The heat-pretreatment at 90℃ for 1h cannot completely inhibit the activities of methanogenic bacteria and homoacetogenic bacteria. Hydrogen consumption at different degrees was observed at initial pH 6.0~10.0, and

methane was detected at initial pH 9.0 ~ 10.0 during the fermentative process. The degradation of substrates in cassava ethanol wastewater and fermentative products further demonstrate that the hydrogen is generated from the production of butyrate, resulted from the carbohydrate degradation.

Key words: initial pH; cassava ethanol wastewater; fermentative hydrogen production

氢气是一种清洁的可再生能源, 热值很高, 约为 143 kJ · g⁻¹; 其燃烧产物为水, 对环境不会造成污染^[1]。目前, 工业制取氢气的成本较高, 限制了氢气的大规模使用。近十几年来, 利用有机废水或废弃物厌氧生物发酵制取氢气的方法, 由于反应条件温和, 能量消耗少, 在废水或废弃物处理过程中能够回收能源, 制氢成本低廉, 受到研究者的广泛关注^[2-3]。生活垃圾、污水厂剩余污泥等有机废弃物和畜牧污水、淀粉生产废水等有机工业废水, 都可以作为厌氧发酵产氢的基质。木薯酒精废液是以木薯为原料生产乙醇过程中产生的高温高浓度有机水, 呈酸性, 有机悬浮物浓度高, 含有大量的碳水化合物。前期研究发现, 木薯酒精废水适合作为厌氧发酵的基质; 以中温厌氧颗粒污泥为接种物, 在高温(60℃) 条件下, 其厌氧发酵产氢量可达 70.0 mL · g⁻¹^[4]。

影响生物厌氧发酵产氢的因素有很多, 其中 pH 是重要因子。Zhao 等用处理柠檬酸废水反应器中的厌氧颗粒污泥为接种物, 发现蔗糖合成废水的最佳厌氧发酵产氢 pH 范围为 6.5~7.5^[5]。而刘常青等人用经过酸性预处理的污泥进行厌氧发酵产氢, 其最佳初始 pH 为 11.0^[6]。初始 pH 条件对生物厌氧发酵产氢的影响与厌氧发酵产氢底物的组成有很大的

收稿日期: 2009-04-14

基金项目: 上海市科委国际合作资助项目(062307038); 同济-拜耳可持续发展基金

作者简介: 罗 刚(1984—), 男, 博士生, 主要研究方向为水污染控制理论与技术。E-mail: luogang200054@gmail.com

谢 丽(1976—), 女, 副教授, 工学博士, 主要研究方向为水污染控制理论与技术。E-mail: sally.xieli@gmail.com

关系. 大部分的研究多以纯物质如葡萄糖、蔗糖或木糖醇为基质, 并且发酵温度多为中温, 而高温条件下的初始 pH 的影响还少见报道. 因此, 笔者选用木薯酒精废水这类富含糖的混合废水作为生物厌氧发酵产氢的底物, 以中温厌氧颗粒污泥为接种物, 研究高温条件下不同初始 pH 对厌氧发酵的累积产氢量、氢气组成和液相发酵产物的分布, 分析并探讨初始 pH 对混合废水高温厌氧发酵产氢以及微生物代谢途径选择的影响.

1 材料与方法

1.1 酒精废水

木薯酒精废水取自江苏某木薯酒精厂, 呈酸性, 总化学需氧量 $\rho(\text{TCOD})$ 和挥发性固体质量浓度 $\rho(\text{VS})$ 高, 分别为 $50.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $39.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 含糖量高, 总碳水化合物质量浓度 $\rho(\text{TC})$ 约为 $28.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 而蛋白质 $\rho(\text{Pr})$ 含量较低. 详见表 1. 为防止水样变质, 将水样储存在 4°C 的冰箱中以备使用.

表 1 木薯酒精废水的水质指标

Tab.1 Characteristics of cassava ethanol wastewater

指标	单位	数值
$\rho(\text{TCOD})$	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	50.5 ± 0.4
$\rho(\text{SCOD})$	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	27.5 ± 0.4
$\rho(\text{TS})$	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	47.9 ± 0.4
$\rho(\text{VS})$	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	39.4 ± 0.7
$\rho(\text{TC})$	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	28.2 ± 1.4
$\rho(\text{SC})$	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	4.5 ± 0.9
$\rho(\text{Pr})$	$\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	5.7 ± 0.1
pH		4.1 ± 0.1
t	$^\circ\text{C}$	>90

注: $\rho(\text{TS})$ 为总固体质量浓度, $\rho(\text{SC})$ 为溶解性碳水化合物.

1.2 接种污泥

实验用接种污泥取自该酒精厂升流式厌氧污泥床(UASB)反应器的中温厌氧颗粒污泥, 其中挥发性悬浮固体 $\rho(\text{VSS})$ 、总悬浮固体 $\rho(\text{TSS})$ 以及 pH 分别为 $42 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, $70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 7.5. 接种前将中温厌氧颗粒污泥在 90°C 的水浴中加热 1 h 以抑制产甲烷菌的活性^[7].

1.3 实验设计

间歇实验在 250 mL 的血清瓶中进行. 向血清瓶中加入 40 mL 经过高温预处理的污泥和 140 mL 酒精废水, 用蒸馏水调整体积至 200 mL. 由于木薯酒精废水呈酸性, 从降低成本的角度考虑, 不在强碱性条件下厌氧产氢. 用浓度为 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液,

或 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氢氧化钠溶液调节混合液的初始 pH 分别为 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 和 10.0. 用氮气驱除瓶中残余的氧气后, 迅速用橡胶塞将血清瓶密封, 置于水浴摇床中, 厌氧发酵温度为 60°C , 摇床的震荡速率为 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$. 反应过程中产生的气体用集气袋收集, 定期用注射器量取气体体积, 用气相色谱仪分析气体组成. 为了确保实验的准确性, 每批试样均重复实验 3 次.

1.4 分析方法

在分析液体样品前, 在 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 10 min, 用 $0.45 \mu\text{m}$ 的滤纸过滤, 过滤液用来测定 $\rho(\text{SC})$, $\rho(\text{Pr})$, 挥发性有机酸(VFA)的质量浓度 $\rho(\text{VFA})(\text{C}_2 \sim \text{C}_5)$ 和乙醇以及 pH. 其中, $\rho(\text{SC})$ 采用苯酚-硫酸法测定^[8], 溶解性蛋白质采用福林-酚法测定^[9], $\rho(\text{VFA})$ 和乙醇用气相色谱仪(HP5890II)测定, 色谱柱为 CPWAX52CB($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$); 气体组分用气相色谱仪(Shimadzu GC-14B)测定, 色谱柱为不锈钢 Carbosive S II; pH 用 620 型 pH 计(上海英格仪器有限公司)测定.

1.5 动力学分析

采用修正的 Gompertz 模型(式(1))^[10] 对产氢过程进行动力学拟合

$$H(t) = P \exp\{-\exp[R_m e(\lambda - t)/P + 1]\} \quad (1)$$

式中: $H(t)$ 是累积产氢量, mL; P 是最大产氢量, mL; R_m 是最大产氢速率, $\text{mL} \cdot \text{h}^{-1}$; λ 是产氢滞后时间, h. 使用 Origin 7.5 软件对实验数据进行非线性回归, 求得不同初始 pH 条件下 Gompertz 模型的参数.

2 结果与讨论

2.1 初始 pH 对厌氧发酵产氢的影响

图 1 表示了不同初始 pH(4.0~10.0)条件下, 木薯酒精废水高温厌氧发酵的累积产氢量的变化过程. 厌氧发酵 60 h 后, 不同条件下高温发酵累积产氢量均达到最大, 初始 pH 对累积产氢量的影响非常显著, 从 4.0 提高至 6.0 时, 累积产氢量由 253 mL 增加到 383 mL; 之后继续提高初始 pH 值, 累积产氢量呈现下降的趋势, 初始 pH 10.0 时, 累积产氢量仅为 195 mL.

对不同初始 pH 值条件下的产氢数据采用 Gompertz 修正计算模型拟合, 得到的模型相关参数列于表 2. 初始 pH 不同, 最大产氢速率也不同: 当 pH 大于或小于 6.0 时, 最大产氢速率都呈现降低趋势;

pH 6.0 时,最大产氢速率为 $24.0 \text{ mL} \cdot \text{h}^{-1}$. 产氢率与最大产氢速率的变化趋势相似,在初始 pH 6.0 时最大,达 $70 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$;初始 pH 偏高或偏低都会导致产氢率的降低. Fan 等^[11]利用经过酸性预处理的啤酒废水厌氧发酵产氢,以牛粪为接种物,发现温度 36°C 时产氢率为 $68.6 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$. 然而在 37°C 条件下,采用经过碱性预处理的污泥进行厌氧发酵产氢,最大产氢率仅为 $14.4 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ ^[12]. 本研究未对木薯酒精废水做任何预处理,仍可得到 $70 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 的产氢率,表明该废水是产氢的合适基质. 随着初始 pH 的升高,产氢滞后时间呈下降趋势. 初始 pH 4.0 时,滞后时间为 27.1 h,而在 pH 9.0,滞后时间缩短至 6.8 h. 这可能是由于接种污泥取自于 UASB 反应器,用于产甲烷的发酵液 pH 接近于中性 (pH = 7.0~8.0). 此条件下仍然存在大量产氢菌,当厌氧发酵产氢体系的初始 pH 在碱性范围时,由于发酵初期挥发性脂肪酸的生成,混合液的 pH 能够快速降低接近中性,产氢菌的活性升高,产氢滞后时间缩短.

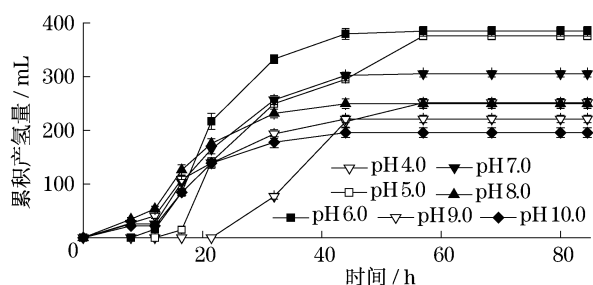


图1 初始 pH 值对累积产氢量的影响

Fig.1 Effect of initial pH on cumulative hydrogen production

表2 木薯酒精废水在不同初始 pH 条件下的 Gompertz 修正计算模型参数值

Tab.2 Modified Gompertz equation parameter values for cassava ethanol wastewater at different initial pH

初始 pH	最终 pH	P/mL	$R_m/(\text{mL} \cdot \text{h}^{-1})$	λ/h	相关系数 R^2
4.0	4.4	253	15.8	27.1	1.000
5.0	4.9	376	12.7	13.7	0.982
6.0	5.4	383	24.0	13.0	0.999
7.0	5.5	307	14.0	9.7	0.997
8.0	5.7	251	12.8	7.0	0.997
9.0	5.7	222	10.1	6.8	0.995
10.0	5.9	195	11.9	9.5	0.993

2.2 初始 pH 对氢气含量的影响

不同初始 pH 条件下气相中氢气含量(体积分数)的变化如图 2 所示. 反应初期,氢气含量均随着时间的延长而升高;20 h 后,氢气组成最高达 58%;20 h 之后,初始 pH 为 7.0~10.0 时,氢气含量下降.

其中,初始 pH 为 9~10 条件下,在厌氧发酵产氢的末期还检测到甲烷. 这说明,经过热预处理的接种污泥,产甲烷菌的活性并没有完全得到抑制,条件适宜时,产甲烷菌会把发酵的中间产物——氢气和二氧化碳转化成甲烷,导致产氢量降低. Yokoyama 等在温度为 60°C 和初始 pH 8.2 时,用牛粪废水进行厌氧发酵产氢,反应过程中检测到了耗氢菌^[13]. 可见,当厌氧发酵体系中的初始 pH 较高时,对耗氢菌的抑制作用会减弱. 因此,控制合适的 pH 值对生物厌氧发酵产氢至关重要. 在碱性条件下,产氢的滞后时间较短,由于耗氢菌的存在,导致产氢量较低;在偏酸性条件下,耗氢菌的活性得到抑制,即使产氢滞后时间较长,但产氢量会明显偏高.

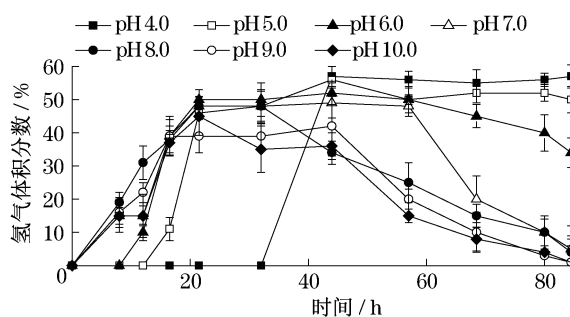


图2 初始 pH 对气相中氢气含量的影响

Fig.2 Effect of initial pH on hydrogen content in the gas phase

2.3 初始 pH 对末期液相发酵产物的影响

氢气产生的同时,也会产生 VFA 和乙醇等副产物. 图 3 表示在不同初始 pH 下木薯酒精废水厌氧发酵产氢后液相中的 VFA 和乙醇的质量浓度. 与初始 pH 值对累积产氢量的影响不同, $\rho(\text{VFA})$ 随着初始 pH 的升高而升高;从初始 pH 4.0 时的 $3452 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 升高到初始 pH 10.0 时的 $7834 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 然而,在以淀粉作为厌氧发酵产氢的底物时,发现在初始 pH 6.0 时, $\rho(\text{VFA})$ 最大,初始 pH 偏低或偏高, $\rho(\text{VFA})$ 都会降低^[14]. 本研究与上述实验结果之间的差别主要在于二者的发酵底物不同,淀粉属于易降解物质,木薯酒精废水中的悬浮固体(SS)很多,难降解的组分较多. 当初始 pH 较高时,能够水解更多的 SS,产氢菌可利用的糖类物质增多,发酵液中的挥发性脂肪酸的浓度也随之升高^[15].

木薯酒精废水厌氧产氢后,液相 VFA 的主要组成是乙酸、丙酸、丁酸. 结果如图 4 所示. 丁酸质量浓度在初始 pH 5.0 时最大,为 $4490 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;在初始 pH 10.0 时,降低到 $3102 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 乙酸的质量浓

度随着初始 pH 的增加而升高,所占的比例越来越大,由初始 pH 5.0 时的 $459 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (8.2%) 升高到初始 pH 10.0 时的 $3\,672 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (44.6%). 乙酸的产生可能是由于同型产乙酸菌的存在,同型产乙酸菌会把发酵的中间产物——氢气和二氧化碳转化成乙酸,导致不同程度的氢消耗. 在初始 pH 4.0~5.0 时,较低的 pH 对同型产乙酸菌的抑制作用较大,乙酸的浓度较低;随着初始 pH 的升高,环境对同型产乙酸菌的抑制作用减弱,产氢量也呈现不同程度的下降;当初始 pH 9.0~10.0 时,由于产甲烷菌的存在,进一步加大了氢气的消耗,导致较低的产氢量. 由此可见,把经过热处理的接种污泥用于生物厌氧产氢时,热预处理并不能有效地抑制同型产乙酸菌的活性.

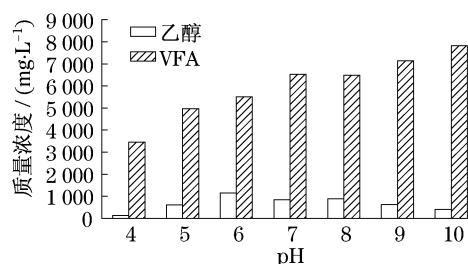


图3 不同初始 pH 条件下发酵产物中 VFA 和乙醇的质量浓度

Fig.3 Concentrations of fermentative products VFA and ethanol at different initial pHs

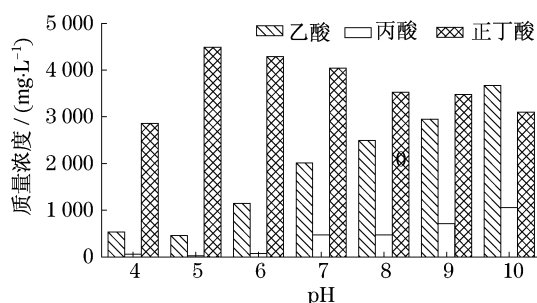


图4 不同初始 pH 条件下的 VFA 组成

Fig.4 Composition of VFA at different initial pHs

2.4 木薯酒精废水高温厌氧发酵产氢过程中物质的转化

图5列出了初始 pH 6.0(a图)和 10.0(b图)条件下,木薯酒精废水在高温(60℃)厌氧发酵产氢过程中溶解性碳水化合物、溶解性蛋白质和 pH 随时间的变化. 由图5可知,初始溶解性碳水化合物的质量浓度为 $4\,275 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 在厌氧发酵初期,溶解性碳水化合物与累积产氢量的变化不同,溶解性碳水化合物在发酵初期迅速降低. 这是因为在厌氧发酵的

初期,溶解性碳水化合物被快速转化为中间产物,如 3-磷酸甘油醛等;当发酵进行 60 h 后,溶解性碳水化合物的浓度与累积产氢量的变化相似,在初始 pH 6.0 和 pH 10.0 时,分别稳定在 $1\,231 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $619 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 这可能是由于经过长期的厌氧发酵,发酵副产物大量累积,对产氢菌产生了抑制作用. 由此也可以解释当厌氧发酵进行 60 h 后累积产氢量不再增加的原因. 另外,在厌氧发酵的末期,初始 pH 10.0 时的溶解性碳水化合物的浓度,是初始 pH 6.0 时的一半. 这是可能是因为初始 pH 10.0 的末期存在产甲烷菌,消耗了更多的溶解性碳水化合物.

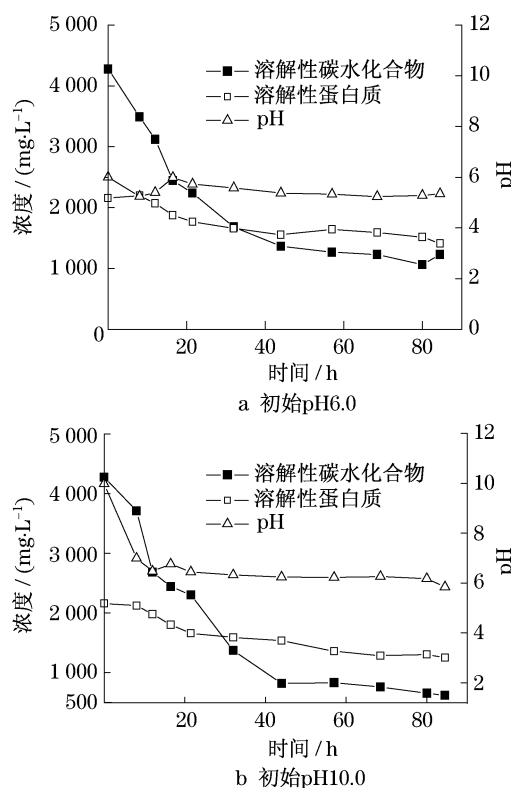


图5 厌氧发酵产氢过程中溶解性碳水化合物、溶解性蛋白质的变化

Fig.5 Change of soluble carbohydrates, soluble proteins and pH during the fermentative hydrogen production

初始溶解性蛋白质的浓度为 $2\,159 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 在高温厌氧发酵产氢的过程中,溶解性蛋白质的降解较少,初始 pH 6.0 和初始 pH 10.0 的末期分别为 $1\,410 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1\,249 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 由此可知,木薯酒精废水高温厌氧发酵产氢过程中的氢气主要来自于溶解性碳水化合物的降解.

图6列出了初始 pH 6.0(a图)和初始 pH 10.0 (b图)条件下,木薯酒精废水高温厌氧产氢过程中主要液相发酵副产物浓度随时间的变化. 在初始 pH

6.0时,乙醇、乙酸和丁酸是主要的发酵副产物,其中丁酸所占的比例最大.由图6a可以明显地观察到累积产氢量和丁酸浓度的变化非常一致.这充分说明木薯酒精废水高温(60℃)厌氧产氢过程中产氢量与丁酸的产生存在一定的关系.在初始pH 10.0时,也存在类似的变化曲线,如图6b所示.但是在初始pH 10.0时,可能由于同型产乙酸菌的活性较高,随着厌氧发酵产氢过程的进行,同型产乙酸菌把氢气和二氧化碳转化成了乙酸,从而导致乙酸的浓度快速升高,而累积产氢量在厌氧发酵进行到40 h后就不再增加.这与初始pH 6.0时的累积产氢量变化不同,初始pH 6.0时,累积产氢量在厌氧发酵进行到60 h后才达到稳定值.值得注意的是,由图6还可以看出,在初始pH 10.0时,从厌氧发酵进行到32 h起,丙酸的质量浓度维持在792~994 mg·L⁻¹.这说明,发酵液中可能存在一定量的产丙酸菌,产乙酸菌和产丁酸菌会与产丙酸菌产生竞争关系,使得产氢量降低^[16].因此,在利用木薯酒精废水高温厌氧发酵产氢过程中,需要抑制产丙酸菌的活性,而较低的初始pH值(如初始pH 6.0)就可以较好地抑制产丙酸菌的活性.

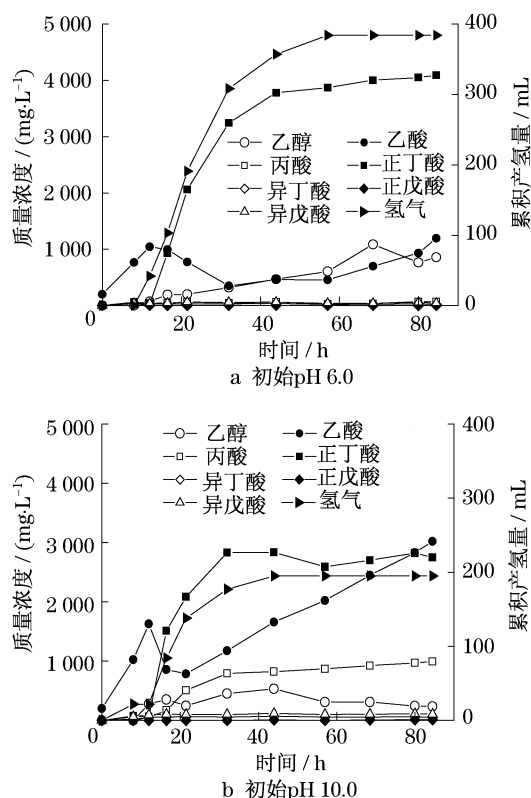


图6 厌氧发酵产氢过程中VFA组成的变化
Fig.6 Change of VFA compositions during the fermentative hydrogen production

3 结论

(1) 初始pH 6.0为木薯酒精废水高温厌氧发酵产氢的最佳pH值,累积产氢量为383 mL.当初始pH升高或降低,都会导致累积产氢量的减少.

(2) 与产氢量随pH的变化不同,VFA和乙醇的总量随着pH的升高而升高,其中乙酸所占的比例越来越大.进一步的实验表明,乙酸的产生主要是由于同型产乙酸菌的存在.当初始pH在6.0~10.0时,均发现不同程度的氢气消耗,而低的初始pH(4~5)却可以有效地抑制同型产乙酸菌的活性.

(3) 在厌氧发酵的初始pH在碱性范围内时,热预处理(90℃的水浴中加热1 h)不仅不能有效地抑制同型产乙酸菌的活性,而且也不能够有效地抑制产甲烷菌的活性.初始pH 9.0和10.0时,在发酵末期均检测到甲烷的产生.

(4) 木薯酒精废水的高温厌氧产氢主要来自于碳水化合物分解.产氢量与丁酸的产生存在一定的关系,丙酸的产生对木薯酒精废水高温厌氧产氢不利,较低的初始pH(如6.0)可以较好地抑制产丙酸菌的活性.

参考文献:

- [1] LI Zhi, WANG Hui, TANG Zongxun, et al. Effects of pH value and substrate concentration on hydrogen production from the anaerobic fermentation of glucose [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(24): 7413.
- [2] CHU Chunfeng, LI Yuyou, XU Kaiqin, et al. A pH and temperature phased two-stage process for hydrogen and methane production from food waste [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(18): 4739.
- [3] Jaime Massanet-Nicolau, Richard Dinsdale, Alan Guwy. Hydrogen production from sewage sludge using mixed microflora inoculum: effect of pH and enzymatic pretreatment [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(14): 6325.
- [4] 罗刚, 谢丽, 周琪, 等. 高温厌氧CSTR反应器处理木薯酒精废水研究 [J]. 中国给水排水, 2008, 24(9): 13.
LUO Gang, XIE Li, ZHOU Qi, et al. Study on treatment of cassava ethanol wastewater in thermophilic anaerobic CSTR [J]. China Water & Wastewater, 2008, 24(9): 13.
- [5] ZHAO Quanbao, YU Hanqing. Fermentative H₂ production in an upflow anaerobic sludge blanket reactor at various pH values [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(5): 1353.
- [6] 刘常青, 张江山, 赵由才, 等. 初始pH对酸性预处理污泥厌氧发酵产氢的影响 [J]. 环境科学, 2008, 29(9): 2628.

(下转第1068页)