

# 生物厌氧产氢接种污泥的预处理研究进展

周琪<sup>1,2</sup>, 邹中海<sup>1,2</sup>, 谢丽<sup>1,2</sup>, 罗刚<sup>1,2</sup>

(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:** 系统概述了热、酸、碱、化学抑制剂、曝气、冲击负荷等预处理方法对接种污泥中耗氢菌和产氢菌的选择性抑制机理, 并对比分析了各自的产氢特性。由于接种污泥选取的种类、产氢底物的种类和浓度、温度、pH 以及采用的反应器类型等不同, 不同研究者得出的最佳预处理方法存在差异。目前的研究多集中在以葡萄糖或蔗糖等纯物质作为厌氧产氢的底物, 建议今后以实际有机废水作为生物厌氧产氢的底物, 以进一步研究不同接种污泥预处理方法对产氢的影响。

**关键词:** 生物厌氧产氢; 接种污泥; 预处理方法

**中图分类号:** X 703.1

**文献标识码:** A

## Seed Sludge Pretreatment for Fermentative Bio-hydrogen Production

ZHOU Qi<sup>1,2</sup>, ZOU Zhonghai<sup>1,2</sup>, XIE Li<sup>1,2</sup>, LUO Gang<sup>1,2</sup>

(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 selective inhibition mechanisms of various pretreatment methods like heat-, acid-, alkali-, chemical inhibitor-, aerate-, as well as the load shock pretreatment are reviewed and their corresponding bio-hydrogen performance are compared and discussed. The disagreement in optimal pretreatment methods should be attributable to the difference in the tested seed sludge, kinds and concentration of substrate, temperature, pH and reactor type. In addition, pure substrates of glucose or sucrose are currently used as substrate for hydrogen production in many studies. Practical organic wastes are recommended to be used as substrate for comparison of the effectiveness of different pretreatment methods.

**Key words:** fermentative bio-hydrogen production; seed sludge; pretreatment methods

近十几年来, 利用生物厌氧发酵制取氢气引起研究学者的极大关注, 因为生物厌氧产氢不仅反应速率快、操作方便, 还可以利用有机废水或废弃物, 如污水厂剩余污泥、畜牧污水、酒精废水、生活垃圾等, 在减少环境污染的同时又实现了能源的回收利用<sup>[1]</sup>。

接种物是影响生物厌氧产氢的重要因素之一。生物厌氧产氢的接种物种类很多, 包括纯菌种和混合菌种。以纯菌种作为生物厌氧产氢的接种物时, 用糖类物质作为发酵底物, 产氢量都比较高; 而用有机废水或污泥作为厌氧产氢的底物, 组分比较复杂, 其他微生物菌种也会污染纯产氢菌, 产氢效果很差。以混合菌种作为厌氧产氢的接种物有很多优点, 如产氢底物无须消毒、多种产氢菌共存增加系统的适应性、混合底物共发酵、增强连续流系统的稳定性等<sup>[2]</sup>。

产氢菌广泛地存在于自然界之中, 如土壤、污泥等, 这些物质可以作为生物厌氧发酵产氢的混合菌种接种物。目前, 消化污泥、厌氧颗粒污泥、剩余污泥、下水道污泥等已经作为生物厌氧产氢的接种物用于实验室的研究<sup>[2]</sup>。但以混合菌种接种时, 在厌氧发酵过程中产生的氢气会被接种污泥中的耗氢菌所利用, 如产甲烷菌和同型产乙酸菌会把发酵的中间产物——氢气和二氧化碳分别转化成甲烷和乙酸<sup>[3]</sup>。因此, 在接种之前需要对接种污泥做适当的预处理, 以抑制耗氢菌的活性而富集产氢菌。笔者总结了近几年来有关生物厌氧产氢接种污泥的预处理方法, 在对比各种预处理方法的基础上, 提出了一些建议与展望, 以期以后的研究提供参考。

## 1 接种污泥预处理机理

梭菌属和肠杆菌属是常见的产氢菌, 前者属于

收稿日期: 2009-04-22

基金项目: 科技部中法合作资助项目(2008DFA91000); 环保部和住建部水体污染控制与治理科技重大专项资助项目(2008ZX07316-002)

作者简介: 周琪(1955—), 男, 教授, 博士生导师, 工学博士, 主要研究方向为水污染控制理论与技术。E-mail: zhouqi@tongji.edu.cn

革兰氏阳性菌,呈杆状,严格厌氧,能够形成生物芽孢;后者属于革兰氏阴性菌,呈杆状,兼性细菌.耗氢菌属于严格厌氧菌,不能形成生物芽孢<sup>[4]</sup>.因此,把接种污泥在极端环境(如热、酸、碱、曝气、化学抑制剂等)下预处理,梭菌属微生物会形成生物芽孢.生物芽孢具有复杂的结构,能够抵挡热、酸、碱以及化学抑制剂等破坏作用,当环境条件适宜时,梭菌属微生物能够快速恢复活性;肠杆菌在有氧的环境中可以利用氧气进行有氧呼吸从而生存下来;而耗氢菌由于不能适应极端环境而被淘汰<sup>[5]</sup>.经过预处理的接种污泥富含产氢菌,加快了有机物的水解,使得生物厌氧发酵过程中的产氢速率大大提高.

Sompong 等<sup>[6]</sup>发现,接种污泥经热和冲击负荷预处理之后,其中的微生物以 *Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum* 为主;经酸和碱预处理之后,接种污泥中的微生物以 *Clostridium sp.* 为主;而经化学抑制剂 2-乙烷磺酸钠(BESA)预处理之后,接种污泥中的微生物以 *Bacillus sp.* 为主.可见,经过不同预处理方法,接种污泥中的微生物种类不同,导致厌氧发酵过程中有机物的产氢率存在一定的差异.

## 2 接种污泥预处理方法

### 2.1 热预处理

热预处理是应用较多的预处理方法,对接种污泥进行热预处理,耗氢菌对高温环境的抵抗能力较

弱,微生物体内的酶在高温条件下失去活性;而梭菌属产氢菌由于能够形成生物芽孢,对外界高温环境抵抗能力较强,即使在高温 95 ℃ 条件下,梭菌属产氢菌依然能够生存下来<sup>[3]</sup>.

理论上,1 mol 的单糖可以产生 12 mol 的氢气.由于微生物自身的生长和化学热力学的限制,当发酵产物为乙酸时,1 mol 的葡萄糖最多可以产生 4 mol 的氢气;当发酵产物是丁酸或者其他还原性的物质(如丙酸、乳酸、乙醇等)时,1 mol 的葡萄糖最多只能产生 2 mol 的氢气<sup>[4]</sup>.

表 1 总结了有关生物厌氧产氢接种污泥热预处理方法对产氢率或氢转化率的影响,其中氢转化率为实际产氢率与理论产氢率的比值.由表 1 可以看出,在实际的厌氧产氢过程中,产氢率一般约为 1.0~2.0 mol·mol<sup>-1</sup>.与未经预处理的接种污泥相比,热预处理对消化污泥、下水道污泥、活性污泥和厌氧污泥的效果是非常明显的,厌氧发酵系统的产氢率明显提高,氢转化率在 27.00%~57.50%.在同样的接种污泥条件下,产氢率也存在一定的差异,如以消化污泥作为厌氧产氢的接种物时,由于预处理的过程中不仅抑制了耗氢菌的活性,对产氢菌也产生了一定的抑制作用<sup>[3]</sup>,因此,预处理的时间不同,产氢率也不同.Wang 经过热预处理 15 min 后得出的氢转化率为 44.50%<sup>[4]</sup>,而 Sompong 的热预处理时间为 60 min,得出的氢转化率仅仅为 29.00%<sup>[6]</sup>.另外,发酵底物的浓度、温度、pH 等也是影响厌氧产氢的重要因素<sup>[7]</sup>,导致产氢率存在一定的差异.

表 1 生物厌氧发酵产氢接种污泥的热预处理

Tab.1 Heat pretreatment of seed sludge for fermentative bio-hydrogen production

接种污泥	热预处理条件	产氢基质及质量浓度/(g·L <sup>-1</sup> )	产氢率	氢转化率/%
消化污泥 <sup>[4]</sup>	100 ℃, 15 min	葡萄糖, 10.00	221.50 mL·g <sup>-1</sup>	44.50
消化污泥 <sup>[6]</sup>	100 ℃, 60 min	葡萄糖, 20.00	1.16 mol·mol <sup>-1</sup>	29.00
下水道污泥 <sup>[5]</sup>	沸水, 30 min	葡萄糖, 18.75	134.10 mL·g <sup>-1</sup>	27.00
活性污泥 <sup>[3]</sup>	65 ℃, 30 min	葡萄糖, 10.00	1.64 mol·mol <sup>-1</sup>	41.00
活性污泥 <sup>[3]</sup>	80 ℃, 30 min	葡萄糖, 10.00	1.32 mol·mol <sup>-1</sup>	33.00
活性污泥 <sup>[3]</sup>	95 ℃, 30 min	葡萄糖, 10.00	0.19 mol·mol <sup>-1</sup>	4.75
厌氧污泥 <sup>[3]</sup>	65 ℃, 30 min	葡萄糖, 10.00	2.30 mol·mol <sup>-1</sup>	57.50
厌氧污泥 <sup>[3]</sup>	80 ℃, 30 min	葡萄糖, 10.00	2.12 mol·mol <sup>-1</sup>	53.00
厌氧污泥 <sup>[3]</sup>	95 ℃, 30 min	葡萄糖, 10.00	1.95 mol·mol <sup>-1</sup>	48.75
厌氧污泥 <sup>[7]</sup>	85 ℃, 60 min	葡萄糖, 10.00	1.67 mol·mol <sup>-1</sup>	41.75
PAK 工厂厌氧污泥 <sup>[8]</sup>	沸水, 10 h	小麦粉, 20.00	1.00 mol·mol <sup>-1</sup>	25.00
EFES 工厂厌氧污泥 <sup>[8]</sup>	沸水, 10 h	小麦粉, 20.00	0.33 mol·mol <sup>-1</sup>	8.25
厌氧颗粒污泥 <sup>[9]</sup>	102 ℃, 90 min	蔗糖, 25.00	4.00 mol·mol <sup>-1</sup>	50.00
厌氧颗粒污泥 <sup>[5]</sup>	沸水, 30 min	葡萄糖, 18.75	118.20 mL·g <sup>-1</sup>	23.75
厌氧颗粒污泥 <sup>[10]</sup>	100 ℃, 60 min	乳品废水, 10.40	0.01 mmol·g <sup>-1</sup> *	—**
厌氧颗粒污泥 <sup>[11]</sup>	95 ℃, 84.55 kPa, 20 min	葡萄糖, 21.30	67.40 mL·g <sup>-1</sup>	13.50
剩余污泥 <sup>[17]</sup>	121 ℃, 20 min	葡萄糖, 10.00	126.33 mL·g <sup>-1</sup>	25.38

注: \* 产氢基质为 COD(化学耗氧量); \*\* 表示无法换算, 后同.

Bitá 等发现,接种污泥预处理的温度对厌氧产氢率也存在较大的影响,活性污泥经 65 ℃, 80 ℃, 95 ℃ 预处理之后,产氢率分别为 1.64, 1.32, 0.19 mol · mol<sup>-1</sup>, 未经热预处理的活性污泥,其产氢率仅为 0.26 mol · mol<sup>-1</sup>[3]. 可见,以高温条件下抑制耗氢菌的过程对产氢菌产生了负作用,预处理温度对产氢率的影响很大. 与其他预处理方法(下面会提到)相比,经过热预处理的厌氧颗粒污泥产氢率仍然较低,说明经过热预处理的厌氧颗粒污泥中耗氢菌的活性仍然很高. 在热预处理的过程中,厌氧颗粒污泥能够为产甲烷菌提供具有保护作用的生态龕,使得产甲烷菌得以生存下来. 因此,对于厌氧颗粒污泥,热预处理的时间需要更长、温度更高. 研究发现,当厌氧颗粒污泥在沸水中预处理 30 min 后,产甲烷率由 75.76 mL · g<sup>-1</sup> 降低到 0.06 mL · g<sup>-1</sup>, 而产氢率却由 0.42 mL · g<sup>-1</sup> 升高到 118.29 mL · g<sup>-1</sup>[5], 产氢率提高了 281 倍.

当厌氧产氢反应的周期或水力停留时间较长时,在反应的后期,同型产乙酸菌会快速积累. 同型产乙酸菌会利用发酵中间产物——氢气和二氧化碳生成乙酸,氢气被迅速利用,导致产氢率大大降低. 热预处理并不能抑制同型产乙酸菌的乙酸化过程,因为在高温条件下同型产乙酸菌也会形成生物芽孢. 但同型产乙酸菌的生长周期比产氢菌要长,可以通过缩短反应周期或水力停留时间来减少同型产乙酸菌对厌氧产氢的影响[12].

## 2.2 酸预处理

产甲烷菌适宜生存的 pH 范围较窄,产氢菌适宜生存的 pH 范围却较宽[3], 因此,在 pH 3.0 的条件下,对接种污泥进行预处理能够很好地抑制产甲烷菌的活性,但过低的 pH 对产氢菌也存在一定负作

用,导致产氢率降低,甚至为零. 研究发现,在初始 pH 7.0 的厌氧发酵产氢体系的末期,发酵液的 pH 大约在 4.5,此过程中的产氢率比较高,而较低的初始 pH 对产氢菌可能有致命的作用. 因此,经过酸预处理的接种污泥,需要继续用碱把 pH 调节至中性. 在实际的应用中,需要消耗大量的碱,增加运行成本[13].

表 2 总结了几种有关生物厌氧产氢接种污泥酸预处理方法对产氢率或氢转化率的影响. Cheong 用高氯酸把厌氧污泥的 pH 调至 2.0, 然后,在 4 ℃ 的环境中放置 2~4 h. 与其他预处理方法相比,产氢率明显提高,达到 123.00 mL · g<sup>-1</sup>, 氢转化率为 24.75% [10]. 而在其他的研究中,酸预处理后的接种污泥产氢率明显较低,氢转化率小于 19.50%, 甚至为零. 原因可能是以消化污泥和下水道污泥为接种污泥时,酸预处理能够较好地抑制产甲烷菌的活性,但接种污泥中的产氢菌大部分属于梭菌属,梭菌属通过形成生物芽孢来抵御外界较低的 pH 环境;而酸预处理的时间较短,对产氢菌的抑制作用较小,导致产氢菌的活性仍然较高. 但是经过酸预处理之后,厌氧颗粒污泥的产甲烷活性仍然很高,当外界环境变化时,厌氧颗粒污泥能够为产甲烷菌提供具有保护作用的生态龕,使得产甲烷菌得以生存下来[5]. 因此,接种污泥的预处理时间需要更长,对产氢菌的负作用也更大. 同时,接种污泥的种类不同,也会导致氢转化率出现明显的差异. 在长期的运行过程中,经过酸预处理的接种污泥并不能持续产氢,这与发酵液中的 pH 值有很大的关系,在 Zhu 等的第二批试验中,产氢率为零,因为在第一批反应的发酵末期,溶液的 pH 降至 4.35~4.51 [13].

表 2 生物厌氧发酵产氢接种污泥的酸预处理

Tab.2 Acid pretreatment of seed sludge for fermentative bio-hydrogen production

接种污泥	酸预处理条件	产氢基质及质量浓度/(g · L <sup>-1</sup> )	产氢率	氢转化率/%
消化污泥[4]	pH=3, 24 h	葡萄糖, 10.00	96.80 mL · g <sup>-1</sup>	19.50
消化污泥[6]	pH=3~4, 24 h	葡萄糖, 20.00	0.65 mol · mol <sup>-1</sup>	16.25
消化污泥[13]	常温, pH=3, 30 min	蔗糖, 10.00	1.10 mol · mol <sup>-1</sup> *	13.75
消化污泥[13]	常温, pH=3, 30 min	蔗糖, 10.00	0 **	0
厌氧污泥[9]	pH=3~4, 24 h	蔗糖, 25.00	1.30 mol · mol <sup>-1</sup>	16.25
厌氧污泥[10]	pH=2, 2~4 h, 4 ℃	葡萄糖, 21.30	123.00 mL · g <sup>-1</sup>	24.75
下水道污泥[5]	pH=3, 24 h	葡萄糖, 18.75	89.00 mL · g <sup>-1</sup>	18.00
剩余污泥[14]	pH=3, 24 h, 35 ℃	葡萄糖, 20.00	40.00 mL · g <sup>-1</sup>	—
剩余污泥[17]	pH=3, 24 h	葡萄糖, 10.00	34.60 mL · g <sup>-1</sup>	6.95
厌氧颗粒污泥[5]	pH=3, 24 h	葡萄糖, 18.75	0	—
厌氧颗粒污泥[11]	pH=3, 24 h	乳品废水, 10.40	0.01 mmol · g <sup>-1</sup>	—

注: \* 代表第一批试验; \*\* 表示第二批试验.

### 2.3 碱预处理

由于产氢菌适宜生存的 pH 范围较宽,可以把接种污泥在强碱性条件下预处理来抑制耗氢菌的活性.经过碱预处理的接种污泥,并不能完全抑制产甲烷菌的活性.表 3 总结了几种有关生物厌氧产氢接种污泥的碱预处理方法对产氢率或氢转化率的影响. Zhu 等<sup>[13]</sup>以蔗糖( $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )为厌氧产氢的基质,接种污泥为消化污泥(在 pH 10 条件下预处理 30 min).在第一批试验中,产氢量较低,这是因为发酵的初始 pH(8.0)较高,经过碱预处理的接种污泥

中仍然存在少量的产甲烷菌.但在第二批的试验中,产氢量升高到  $6.12\text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,因为在第一批的发酵末期, pH 在 6.7 左右,能够较好地抑制产甲烷菌的活性,对产氢菌的活性有很大的促进作用.这说明,经过碱预处理的接种污泥对长期运行的产氢系统是有利的.经过碱预处理的接种污泥,厌氧系统的氢转化率仍存在较大的差别.这是因为反应的试验条件没有统一,接种污泥的种类、碱性条件、预处理时间、发酵底物的种类和浓度、反应温度以及反应过程中的 pH,对产氢率均存在很大的影响<sup>[7]</sup>.

表 3 生物厌氧发酵产氢接种污泥的碱预处理

Tab.3 Alkali pretreatment of seed sludge for fermentative bio-hydrogen production

接种污泥	碱预处理条件	产氢基质及质量浓度/ $(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	产氢量	氢转化率/%
消化污泥 <sup>[4]</sup>	pH = 10, 24 h	葡萄糖, 10	$125.90\text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$	25.25
消化污泥 <sup>[6]</sup>	pH = 12, 24 h	葡萄糖, 20	$0.51\text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$	12.75
消化污泥 <sup>[13]</sup>	常温, pH = 10, 30 min	蔗糖, 10	$1.44\text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1} *$	18.00
消化污泥 <sup>[13]</sup>	常温, pH = 10, 30 min	蔗糖, 10	$6.12\text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1} **$	76.50
剩余污泥 <sup>[14]</sup>	pH = 10, 24 h, 35 °C	葡萄糖, 20	$24.00\text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$	—
剩余污泥 <sup>[17]</sup>	pH = 11, 24 h	葡萄糖, 10	$89.40\text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$	17.96
厌氧污泥 <sup>[9]</sup>	pH = 12, 24 h	蔗糖, 25	$0.48\text{ mol} \cdot \text{mol}^{-1}$	6.00

注: \* 表示第一批试验; \*\* 表示第二批试验.

### 2.4 化学抑制剂预处理

目前已知的甲烷生物合成途径有三种,都是以乙酸、甲基化合物、氢/二氧化碳为起始物质,通过不同的反应途径都形成了甲基辅酶 M,在 M 还原酶的催化作用下,最终形成甲烷<sup>[15]</sup>.研究发现,在产甲烷菌的体内存在 M,而其他微生物不存在,2-乙烷磺酸钠(BESA)是一种与 M 结构类似的物质,能对产甲烷菌体内的产甲烷过程产生干扰作用;碘丙烷是类咕啉的拮抗物,能够阻止酶 B12 作为运输甲基的载体<sup>[13]</sup>;氯仿能够抑制类咕啉酶和 M 还原酶的活性,所以通过在接种污泥中投加化学抑制剂可以抑制产甲烷菌的活性<sup>[16]</sup>.化学抑制剂不但能抑制产甲烷菌的活性,而且还能抑制其他耗氢微生物,如同型产乙酸菌、硫酸还原菌等<sup>[13]</sup>,从而使得厌氧发酵体系内的耗氢微生物几乎完全被抑制.

只要化学抑制剂的投加量适中,就可以完全抑制耗氢菌的活性,而产氢菌的活性并不会受到抑制.如果抑制剂的投加量偏高,产氢菌的活性同样会受到抑制.经过 BESA、碘丙烷和氯仿预处理的接种污泥,产氢菌的群落比较复杂,这对厌氧发酵产氢系统

是有利的.微生物的群落越复杂,可利用的基质就越多<sup>[6]</sup>.表 4 总结了几种有关生物厌氧产氢接种污泥的化学抑制剂预处理方法对产氢率或氢转化率的影响.经化学抑制剂预处理后,厌氧系统的氢转化率一般维持在 25%~70%. Wang 等在接种污泥中投加 2%的氯仿,氢转化率只有 10.75%<sup>[4]</sup>.这是因为化学抑制剂的浓度偏高,对产氢菌的活性也产生抑制作用,导致产氢量降低. Zhu 等<sup>[13]</sup>用碘丙烷和 BESA 对接种污泥进行预处理,氢转化率都在 30%~70%.由此可知,产甲烷菌对氯仿的投加量非常敏感,在接种污泥中投加 0.05%的氯仿,就可完全抑制下水道污泥和厌氧颗粒污泥中的耗氢菌的活性.氯仿预处理能对产甲烷菌造成不可恢复的抑制作用,即使当发酵体系中没有氯仿,还是检测不到甲烷菌<sup>[5]</sup>.所以,氯仿能有选择性地抑制产氢菌和产甲烷菌,几乎能够长久地抑制产甲烷过程,延长乙酸化的滞后时间,使得产氢过程快速恢复到正常水平.只要投加适量的化学抑制剂,就可使产氢量维持在较高水平.但在实际的厌氧产氢系统中,化学抑制剂预处理方法需消耗大量的化学抑制剂,对环境会造成一定的污染.

表4 生物厌氧发酵产氢接种污泥的化学抑制剂预处理

Tab.4 Chemical inhibitor pretreatment of seed sludge for fermentative bio-hydrogen production

接种污泥	化学抑制剂处理条件	产氢基质及质量浓度(g·L <sup>-1</sup> )	产氢率	氢转化率/%
消化污泥 <sup>[6]</sup>	BESA, 10 mmol, 200 r·min <sup>-1</sup> , 30 min	葡萄糖, 20.00	1.01 mol·mol <sup>-1</sup>	25.25
消化污泥 <sup>[13]</sup>	BESA, 10 mmol, 常温, 30 min	蔗糖, 10.00	5.28 mol·mol <sup>-1</sup> *	66.00
消化污泥 <sup>[13]</sup>	BESA, 10 mmol, 常温, 30 min	蔗糖, 10.00	3.64 mol·mol <sup>-1</sup> **	45.50
消化污泥 <sup>[13]</sup>	碘丙烷, 10 mmol, 常温, 30 min	蔗糖, 10.00	5.64 mol·mol <sup>-1</sup>	70.50
消化污泥 <sup>[13]</sup>	碘丙烷, 10 mmol, 常温, 30 min	蔗糖, 10.00	2.41 mol·mol <sup>-1</sup>	30.13
消化污泥 <sup>[4]</sup>	氯仿, 2.00%, 24 h	葡萄糖, 10.00	53.00 mL·g <sup>-1</sup>	10.75
厌氧颗粒污泥 <sup>[5]</sup>	氯仿, 0.05%	葡萄糖, 18.75	135.10 mL·g <sup>-1</sup>	27.25
下水道污泥 <sup>[5]</sup>	氯仿, 0.10%	葡萄糖, 18.75	145.30 mL·g <sup>-1</sup>	29.25
混合厌氧污泥 <sup>[8]</sup>	氯仿, 0.05%	小麦粉, 20.75	0.19 mol·mol <sup>-1</sup>	4.75

注: \* 表示第一批试验; \*\* 表示第二批试验.

## 2.5 曝气预处理

甲烷菌是一种专性厌氧菌,氧气能够降低其体内的腺苷酸能荷,从而导致其死亡<sup>[13]</sup>;但肠杆菌属产氢菌是兼性微生物,能够在有氧气的环境中生存下来.经过曝气预处理的接种污泥,与热预处理、酸碱预处理相比,生物群落较复杂<sup>[17]</sup>,可利用的产氢底物组分相应地也会增多.因为在热预处理、酸碱预处理中,产氢菌的活性同样受到不同程度的抑制,而在曝气预处理中,肠杆菌属产氢菌能进行有氧呼吸,活性并不会降低.

表5总结了几种有关生物厌氧产氢接种污泥的曝气预处理方法对产氢率或氢转化率的影响.经过曝气预处理的接种污泥并不能完全抑制产甲烷菌的活性,但是产氢菌的活性仍然较高.与碱预处

理类似,经过曝气预处理的接种污泥对厌氧产氢系统的长期运行是有利的. Zhu把接种污泥经过曝气预处理之后,得到的氢转化率为60.50%(第一批试验)和46.50%(第二批试验)<sup>[13]</sup>; Ren得出的氢转化率为30.37%<sup>[17]</sup>;但 Wang等将接种污泥曝气24 h后,氢转化率仅为16.00%<sup>[4]</sup>; Terentiew等在较低浓度的发酵底物(1 g·L<sup>-1</sup>)条件下,用经过曝气预处理过的污泥作为接种物,同样观察到大量甲烷的生成,产氢率很低<sup>[18]</sup>. 这些试验之间的差别可能是由于接种污泥中微生物的群落不同,即使同一种接种污泥,由于取自不同的地方,微生物群落也会存在一定的差异.另外,反应过程的pH、曝气预处理的时间、底物的种类和浓度等不同,都会导致氢转化率的不同.

表5 生物厌氧发酵产氢接种污泥的曝气预处理

Tab.5 Aerate pretreatment of seed sludge for fermentative bio-hydrogen production

接种污泥	曝气预处理时间/h	产氢基质及质量浓度(g·L <sup>-1</sup> )	产氢量	氢转化率/%
消化污泥 <sup>[4]</sup>	24.0	葡萄糖, 10.00	80.20 mL·g <sup>-1</sup>	16.00
消化污泥 <sup>[13]</sup>	0.5	蔗糖, 10.00	4.84 mol·mol <sup>-1</sup> *	60.50
消化污泥 <sup>[13]</sup>	0.5	蔗糖, 10.00	3.72 mol·mol <sup>-1</sup> **	46.50
剩余污泥 <sup>[17]</sup>	12.0 <sup>2)</sup>	葡萄糖, 10.00	149.67 mL·g <sup>-1</sup>	30.37
混合污泥 <sup>[19]1)</sup>	— <sup>3)</sup>	糖蜜, 48%~58% <sup>4)</sup>	3.47 mol·mol <sup>-1</sup>	43.38
堆肥污泥 <sup>[20]</sup>	— <sup>3)</sup>	含糖废水, 9.85	2.59 mol·mol <sup>-1</sup>	64.75
堆肥污泥 <sup>[21]</sup>	72.0	葡萄糖, 10.00	2.10 mol·mol <sup>-1</sup>	52.50

注: \* 表示第一批试验; \*\* 表示第二批试验; 1) 下水道污泥和水解酸化池的混合污泥; 2) 溶解氧小于0.5 mg·L<sup>-1</sup>; 3) 实验条件未知;

4) 质量分数.

## 2.6 冲击负荷预处理

Sompong等经过多次试验发现,把50 mL消化污泥放入500 mL蔗糖(50 g·L)溶液中,在水浴锅(200 r·min<sup>-1</sup>)上培养2 d后接种到厌氧产氢系统中,产氢率为1.96 mol·mol<sup>-1</sup>,氢转化率为

46.00%<sup>[6]</sup>.此方法称为“冲击负荷预处理”.

研究冲击负荷预处理方法对生物厌氧产氢的影响的实验较少,其有效性还有待进一步验证.如果冲击负荷预处理方法确实是一种有效的接种污泥预处理方法,由于其操作方便、能源消耗少、没有投加有

毒化学物质等特点,将成为未来生物制氢技术大规模应用的首选接种污泥预处理方法.

### 3 接种污泥最佳预处理方法的选择

表7总结了不同研究学者通过生物厌氧产氢试验所得出的接种污泥最佳预处理方法.由于接种污泥的种类、预处理方法选择的范围、产氢基质的种类和浓度、反应温度、pH、氧化还原电位(ORP)、氢分压、反

应器的形式等不同,导致最佳预处理方法存在较大的差异.例如,Sompong以消化污泥作为接种物,研究了不同预处理方法对氢转化率的影响,发现冲击负荷预处理为最佳接种污泥预处理方法<sup>[6]</sup>.但Zhu等发现,碘丙烷预处理(第一批试验)和碱预处理(第二批试验)为最佳<sup>[13]</sup>.可以看出,接种污泥的最佳预处理方法并不是一成不变的.在实际的厌氧产氢体系中,影响产氢率的因素很多,接种污泥最佳预处理方法的选取需要在实际应用中具体情况具体对待.

表6 生物厌氧产氢接种污泥的最佳预处理方法

Tab.6 Optimum pretreatment of seed sludge for fermentative bio-hydrogen production

接种物	预处理方法	产氢基质及质量浓度/(g·L <sup>-1</sup> )	最大产氢量	氢转化率/%	最佳预处理方法
消化污泥 <sup>[4]</sup>	热、酸、碱、曝气、氯仿	葡萄糖,10.00	221.50 mL·g <sup>-1</sup>	44.50	加热
	未预处理		60.00 mL·g <sup>-1</sup>	12.05	
消化污泥 <sup>[6]</sup>	热、酸、碱、BESA、冲击负荷	蔗糖,20.00	1.96 mol·mol <sup>-1</sup>	49.00	冲击负荷
	未预处理		0.30 mol·mol <sup>-1</sup>	7.50	
消化污泥 <sup>[13]</sup>	热、酸、碱、曝气、BESA、碘丙烷	蔗糖,10.00	5.64 mol·mol <sup>-1</sup>	70.50	碘丙烷
	未预处理		5.17 mol·mol <sup>-1</sup>	64.63	
	热、酸、碱、曝气、BESA、碘丙烷	蔗糖,0.00	6.12 mol·mol <sup>-1</sup> *	76.50	碱
	未预处理		4.56 mol·mol <sup>-1</sup> *	57.00	
厌氧污泥 <sup>[10]</sup>	热、甲烷抑制剂、酸、冷冻和融化	葡萄糖,21.30	128.49 mL·g <sup>-1</sup> **	25.81	酸
	未预处理		13.08 mL·g <sup>-1</sup> **	2.63	
厌氧颗粒污泥 <sup>[5]</sup>	热、酸、氯仿	葡萄糖,18.80	135.09 mL·g <sup>-1</sup>	27.00	氯仿
	未预处理		0.42 mL·g <sup>-1</sup>	0.08	
厌氧颗粒污泥 <sup>[11]</sup>	热、酸、BESA等	乳品废水,10.40	0.03 mmol·g <sup>-1</sup>	—	BESA
	未预处理		0.002 mmol·g <sup>-1</sup>	—	
剩余污泥 <sup>[17]</sup>	热、酸、碱、曝气	葡萄糖,10.00	149.67 mL·g <sup>-1</sup>	30.07	曝气
	未预处理		120.27 mL·g <sup>-1</sup>	24.16	

注:\*表示第一批试验;\*\*表示第二批试验.

### 4 结语

产氢菌广泛存在于消化污泥、下水道污泥、剩余污泥、厌氧颗粒污泥以及堆肥污泥等混合体系中,通过特定的预处理方法和培养方式,可以富集产氢菌,从而解决了用纯菌种接种进行生物厌氧产氢的不足,为生物厌氧产氢提供了丰富的菌源,是生物厌氧产氢研究方面的一个重大进步.

热、酸、碱、化学抑制剂、曝气、冲击负荷等预处理方法,在实验室条件下已有大量的研究,但由于接种污泥选取的种类、预处理方法选择的范围、产氢底物的种类和浓度、温度、pH值、反应器类型(如间歇流、连续流、半连续流)等不同,导致不同学者得出的最佳预处理方法存在很大的差异.从文中可以看到,多数研究者的产氢底物以葡萄糖等单糖为主,运行多采用间歇方式,而以有机废水、固体废物等为产氢

底物和连续流运行方式的研究还较少.因此,在以后的研究中,建议以生活中实际的有机废水或有机废物作为生物厌氧产氢的底物,这样既能产生清洁的能源,又能有效地减少污染,在社会和环境方面具有双重意义.

为了获得接种污泥的最佳预处理方法,对产氢菌(如梭菌属、肠杆菌属等)和耗氢菌(如产甲烷菌、同型产乙酸菌和硫酸还原菌等)的生理结构需要进一步了解,这样才能够为今后找到更好的预处理方法提供理论依据.进一步探讨接种污泥的最佳预处理方法、生物厌氧产氢工艺参数的确定与优化以及规模化应用,将成为未来研究的主要方向.

### 参考文献:

- [1] TANG Guilan, HUANG Jian, SUN Zhenjun, et al. Biohydrogen production from cattle wastewater by enriched anaerobic mixed

- consortia: influence of fermentation temperature and pH[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, 106(1): 80.
- [2] Prawit Kongjan, Booki Min, Irini Angelidaki. Biohydrogen production from xylose at extreme thermophilic temperatures (70 °C) by mixed culture fermentation[J]. Water Research, 2009, 43(5): 1414.
- [3] Bitu Baghchehsaraee, George Nakhla, Dimitre Karamaneva, et al. The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(15): 4064.
- [4] WANG Jianlong, WAN Wei. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen-producing bacteria from digested sludge[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(12): 2934.
- [5] HU Bo, CHEN Shulin. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2007, 32(15): 3266.
- [6] Sompong O-Thonga, Poonsuk Prasertsanb, Nils-Kåre Birkeland. Evaluation of methods for preparing hydrogen-producing seed inocula under thermophilic condition by process performance and microbial community analysis[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(2): 909.
- [7] MU Yang, ZHENG Xianjun, YU Hanqing, et al. Biological hydrogen production by anaerobic sludge at various temperatures[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2006, 31(6): 780.
- [8] Hidayet Argun, Fikret Kargi. Effects of sludge pre-treatment method on bio-hydrogen production by dark fermentation of waste ground wheat[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2009, 34(20): 8543.
- [9] MU Yang, YU Hanqing, WANG Gang. Evaluation of three methods for enriching H<sub>2</sub>-producing cultures from anaerobic sludge[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 40(4): 947.
- [10] Dae-Yeol Cheong, Conly L. Hansen. Bacterial stress enrichment enhances anaerobic hydrogen production in cattle manure sludge[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2006, 72(4): 635.
- [11] S Venkata Mohan, V Lalit Babu, P N Sarma. Effect of various pretreatment methods on anaerobic mixed microflora to enhance biohydrogen production utilizing dairy wastewater as substrate[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(1): 59.
- [12] CAI Mulin, LIU Junxin, WEI Songyuan. Enhanced biohydrogen production from sewage sludge with alkaline pretreatment[J]. Environmental Science and Technology, 2004, 38(11): 3195.
- [13] ZHU Huguang, Michel Béland. Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2006, 31(14): 1980.
- [14] CHEN Chinchao, LIN Chiuyue, LIA Mincheng. Acid-base enrichment enhances anaerobic hydrogen production process[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2002, 58(2): 224.
- [15] 单丽伟, 冯贵颖, 范三红. 产甲烷菌研究进展[J]. 微生物学杂志, 2003, 23(6): 42.
- SHAN Liwei, FENG Guiying, FAN Sanhong. Methanogens research progress[J]. Journal of Microbiology, 2003, 23(6): 42.
- [16] Kenealy W, Zeikus J G. Influence of corrinoid antagonists on methanogen metabolism[J]. Journal of Bacteriol, 1981(146): 133.
- [17] REN Nanqi, GUO Wanqian, WANG Xiangjing, et al. Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacteria for hydrogen production[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(16): 4318.
- [18] Terentiew A, Bagley D M. Production of hydrogen under anaerobic conditions: effects of pre-treatment and operating conditions[C] // Proceedings of the 32nd annual WEAQ technical symposium. [S. L.]: Hydromantis Inc, 2003.
- [19] GUO Wanqian, REN Nanqi, WANG Xiangjing, et al. Biohydrogen production from ethanol-type fermentation of molasses in an expanded granular sludge bed (EGSB) reactor[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33(19): 4981.
- [20] Ueno Y, Otsuka S, Morimoto M. Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture[J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1996, 82(2): 194.
- [21] Morimoto M, Atsuko M, Atif AAY, et al. Biological production of hydrogen from glucose by natural anaerobic microflora[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2004, 29(7): 709.