

多底物共发酵产酸特性研究

边道林¹, 孙 磊², 王 爽², 郭 炜³, 王朋峰⁴

(1. 黑龙江省农业科学院, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 土壤肥料与环境资源研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 黑龙江省农业科学院 农村能源研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086; 4. 山东省临沭县农业局, 山东 临沭 276700)

摘要:为探讨多种底物共发酵是否有利于定向产酸发酵, 以牛粪、水稻秸秆、糖蜜废水为底物, 分析了产酸相中不同时期 pH、ORP、挥发性脂肪酸及秸秆纤维素含量的变化。结果表明: 在反应器初期 30 d 时, 产酸菌群活性增长期, 大量挥发性脂肪酸的产生使得 pH 迅速下降。反应后期 60 d, pH 缓慢上升, 为 6.2~6.5, ORP 值为 -250~-400 mV, 满足产酸菌的生长条件。共发酵具有很强的碳源氮源互相补充的能力, 有利于发酵的进行。反应 120 d 时, 水稻秸秆中纤维素得到有效降解。

关键词:多底物; 共发酵; 产酸

中图分类号:X172

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)09-0028-04

目前, 世界上农业废弃物产出量每年大约有 40 多亿 t, 其中畜禽粪便排放量 30 亿 t, 农作物秸秆 7.0 亿 t。虽然我国拥有大量的农业废弃物, 但却没有被充分利用, 大部分的秸秆都直接焚烧处理, 畜禽粪便处理直接采用自然堆沤或者作为肥料和饲料使用^[1-3]。然而焚烧秸秆释放了大量气体且严重污染环境, 造成资源严重浪费, 畜禽粪便直接作为肥料使用, 使得寄生虫和病菌等微生物大量传播, 导致大量流行病的传播。糖蜜, 作为糖类生产中的副产物, 常用作工艺发酵生产的原材料, 如用于乙醇和酵母生产。并且, 1 L 乙醇的生产需要消耗 13~15 L 的糖蜜, 因此产生了大量的糖蜜废水^[4-6]。目前在国内外学者的研究中, 牛粪作为最主要的混共代谢发酵底物, 将其与秸秆、生活垃圾、餐厨垃圾和各种废水共代谢发酵已成为

厌氧发酵的新趋势。这项新技术不仅可能降低污染率而且还将农业废弃物合理资源化利用。

该研究利用牛粪、水稻秸秆为底物基质, 添加糖蜜废水进行共发酵, 探讨多种底物共发酵是否更利于发酵反应的进行, 使产酸相发酵液具有更强的可生化性, 为两相工艺产甲烷相提供可被微生物利用的碳源等初级基质, 使其更有利于高效定向产甲烷。研究重点探讨 CSTR 反应器内进行厌氧水解酸化发酵过程中 pH、ORP 和挥发性脂肪酸等指标的变化, 并分析产酸相中秸秆纤维素含量变化情况, 为产酸相作为发酵底物进入 IC 产甲烷相提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试发酵底物水稻秸秆于 2012 年 9 月取自

表 1 底物基本理化性质

Table 1 The Characteristics of substrates

底物 Substrate	含水量/% Water content	总固体/% Total solid	挥发性固体/% Volatile solids	C/N	粗蛋白/% Crude protein	粗纤维/% Crude fiber	粗脂肪/% Crude fat
水稻秸秆 Rice straw	17	83	84	67:1	23	14.7	8.2
牛粪 Cow dung	83	17	74	25:1	12.7	36.7	2.5
糖蜜废水 Molasses wastewater	45	55	—	7:1	20	0.2	0.4

收稿日期: 2014-06-03

基金项目: “十二五”科技支撑计划资助项目(2013BAD07B01); 黑龙江省科技特派员农村创新创业资助项目(GC12B711); 黑龙江省博士后基金资助项目

第一作者简介: 边道林(1978-), 男, 山东省郯城县人, 硕士, 助理研究员, 从事科研管理和农业资源环境研究。E-mail: 330834043qq.com。

黑龙江现代农业示范区试验地, 试样采集后摊放于实验室内自然风干, 风干后的水稻秸秆用粉碎机粉碎为粉末; 供试牛粪取自黑龙江省香坊农场养殖场; 供试糖蜜废水取自黑龙江省哈尔滨市食品公司利用甜菜糖蜜发酵进行酵母生产时产生的酵母糖蜜废水, 底物基本参数见表 1。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 试验在中温 35℃ 下采用 CSTR-IC 两相厌氧发酵工艺,CSTR 反应器总体积为 10 L,反应器采取批次发酵,中温 30℃ 连续运行 100 d。在 CSTR 产酸相反应器中加入牛粪、水稻秸秆、糖蜜废水 3 种发酵底物,总固体含量为 8%,C/N=27:1,连续运行 100 d,接种物取自沼气池沼液,接种量为 30%。

1.2.2 测定项目与方法 总固体含量、挥发性物质含量、pH、总有机碳和总氮的测定参照标准方法^[7]。挥发性有机酸应用气相色谱测定(7890A,气象色谱系统,美国)。水稻秸秆组分变化应用傅立叶红外光谱仪,研磨后放入玛瑙研钵中,加入 KBr 晶体,混匀磨细,取少许混合样品压片后在 FTIR 光谱仪上进行测定。

2 结果与分析

2.1 CSTR 产酸相反应器内 pH、ORP 的变化

厌氧 CSTR 反应器内 pH、ORP 的变化将会直接导致厌氧反应器内微生物种群变化及反应器的运行效能。从图 1 看出,在厌氧发酵前 30 d,反应器内 pH 呈下降趋势,pH 由 7.3 下降至 6.1,ORP 由 -470 mV 升高至 -310 mV。反应器内 pH 降低主要是因为经过一段时间的水解酸化,在水解酸化菌群的作用下,发酵原料中部分高分子化合物被分解为小分子化合物,产生了一些有机酸及挥发性脂肪酸所致;初始为提供厌氧菌所需的厌氧环境,利用氮气进行驱氧处理,使得反应器初始 ORP 很低,随着产酸菌的产酸发酵作用使反应器内 ORP 逐渐升高。

一般认为,产酸细菌最适 pH 为 6.0~7.0,两相厌氧消化系统则将产酸相的 ORP 控制在

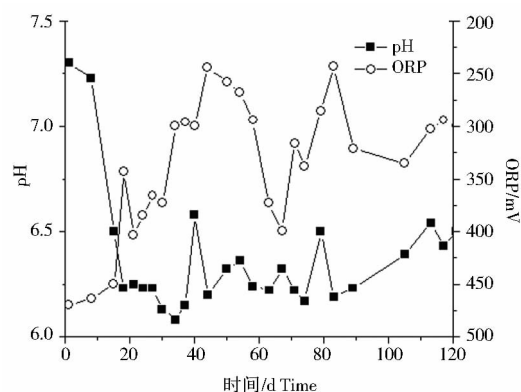


图 1 不同时期 CSTR 产酸相 pH、ORP 值变化

Fig. 1 The change of pH,ORP during different period in acidogenic-phase

-100~-300 mV,而甲烷菌的正常生长环境为 -320 mV 以下^[8]。因此,可见反应器内为产酸菌提供了合适的生存条件。反应器内 ORP 一直处于上下波动状态,从生态学的角度分析,不同的发酵微生物需要不同的 ORP,可见产酸相是一个复杂的系统,在此反应器内存在着丰富的微生物群落,它们互相竞争,利用不同的底物生长繁殖。反应 40、80 d 时,反应器内 pH 呈现上升趋势,这是因为挥发酸下降,同时推测与微生物生长周期相关,原有的产酸菌群活性降低,有机物代谢缓慢,产生的有机酸类减少,而逐渐被新的优势种群所替代。

2.2 CSTR 产酸相反应器内总有机碳浓度、总氮浓度及可溶 COD 浓度的变化

由图 2 可以看出,反应器运行 30 d 时,总有机碳、总氮含量大量增加,可溶 COD 浓度上升。这是因为在反应运行初期,牛粪、糖蜜废水中含有大量的有机质,如糖类、蛋白质类物质,极易降解,

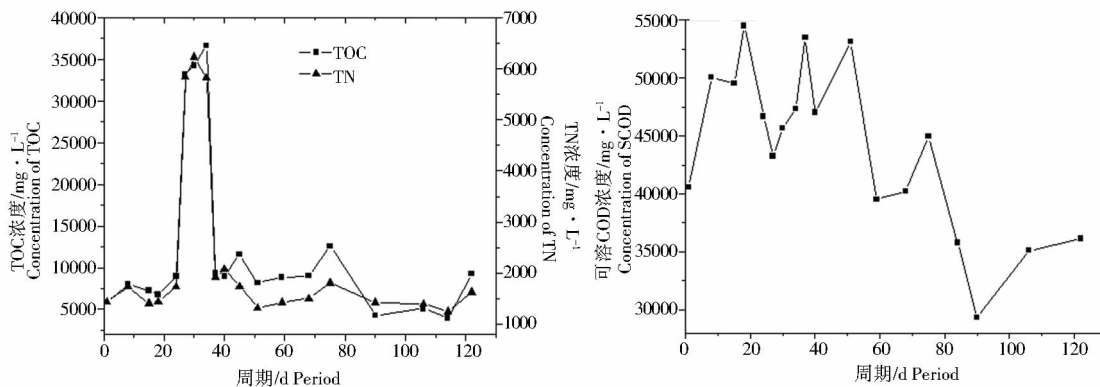


图 2 不同时期 CSTR 产酸相总有机碳、总氮浓度及可溶 COD 浓度变化

Fig. 2 The change of TOC,TN and SCOD during different period in acidogenic-phase

产生大量的有机酸,故反应器内碳源、氮源增多。反应 40 d 左右,总有机碳浓度、总氮浓度、可溶 COD 浓度又急剧下降,这是因为适宜的环境条件使得产酸菌大量繁殖,碳源、氮源得到充分利用。反应 60 d 时,总有机碳、总氮含量趋于稳定,这是因为牛粪属于富氮化合物,而水稻秸秆中富含大量的纤维素类物质,纤维素由多糖组成,属于富碳化合物。这类物质当被具有纤维素降解功能的微生物分解利用时,大分子有机物逐渐被降解为小分子物质,产生的可溶性成分溶于水中。在反应器启动初期,调节 C/N 比为 27:1,适合厌氧发酵过程的进行,随着反应的进行,反应 60 d 时,仍能满足 C/N 比为 27:1,表明混共代谢发酵具有很强的碳源、氮源互相补充的能力,有利于发酵的进行。

2.3 CSTR 产酸相挥发性有机酸含量的变化

液相末端产物作为反应器运行的主要监测指标,是厌氧发酵过程中主要的控制参数。如图 3 所示,乙酸、丙酸、丁酸、戊酸及乙醇的含量均随着时间的变化呈现先增加后下降趋势。反应器运行初期,pH 降低的阶段是挥发酸含量增加所致,反应器运行的前 80 d,发酵液中乙酸、丁酸、戊酸及乙醇含量总体呈现增长趋势。这主要是因为反应器内为产酸发酵菌提供了适宜的生态环境,产酸菌活性较高,有很强的环境适应能力,将各种有机物发酵生成有机酸和醇类各种代谢产物。丙酸积累往往导致厌氧发酵产甲烷过程失败,对产酸菌与产甲烷菌均可产生毒害作用。反应器运行的后 60 d,丙酸含量并未出现增高,说明产酸相中没有酸积累现象。而且,这与反应器内 ORP 值相对应,丙酸型发酵一般需要较高的 ORP 值(>

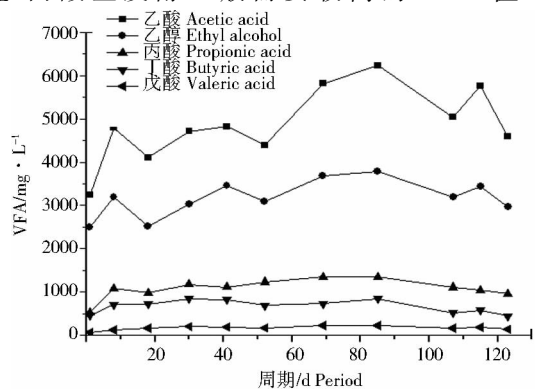


图 3 不同时期 CSTR 产酸相 VFAs 含量变化

Fig. 3 The change of VFAs during different period in acidogenic-phase

—150 mV),而反应器内 ORP 值处于 -250 ~ -400 mV 范围内变化。反应运行的后 80 d,乙酸、丁酸、戊酸、乙醇含量均呈现下降趋势,说明发酵系统已进入稳定期,产酸菌群已经得到充分的繁殖,有机物代谢趋于缓慢。从各类挥发酸含量变化规律可以看出,随着共代谢发酵过程的进行,CSTR 产酸发酵反应器内以乙酸为主。

2.4 CSTR 产酸相水稻秸秆成分的变化

如图 4 所示,在共代谢发酵 90 d 后,波长在 3 399 cm^{-1} 附近的吸收峰明显减弱,此处为分子间氢键伸缩振动,表明秸秆中以氢键连接的纤维素得到降解。底物共代谢发酵 120 d,2 920 cm^{-1} 和 2 851.5 cm^{-1} 的吸收峰相对强度已经明显增强。Stark N M^[9] 等在利用 FITR 研究风化木塑复合材料表面时指出,2 920 cm^{-1} 的吸收峰为 $-\text{CH}_2-$ 官能团的 C-H 伸缩振动,2 851.5 cm^{-1} 的吸收峰与 $-\text{CH}_3$ 的 C-H 相关,此时,2 920 cm^{-1} 和 2 851.5 cm^{-1} 的吸收峰强度的并没有显著变化,表明共代谢发酵后木质素含量并没有得到降解。Komilis D P^[4] 等同样在利用固体废弃物厌氧分解对木质素和糖类的影响中指出木质素需要在分子氧存在的条件下才能分解,在厌氧条件下基本上不能达到分解的目的。897 cm^{-1} 是纤维素的 β -D-葡萄糖苷特征峰,共代谢发酵 60 d 后,该峰明显减弱,表明发酵处理后纤维素含量减少。832 cm^{-1} 为 $-\text{CO}_3^{2-}$ 的变角振动,共代谢发酵 60 d 后,该吸收峰相对强度明显增强,表明经过共代谢发酵后,生成了一些碳酸盐类物质,共代谢发酵促使了碳酸盐类的生成。该阶段乙酸、丁酸、戊酸含量明显增加。

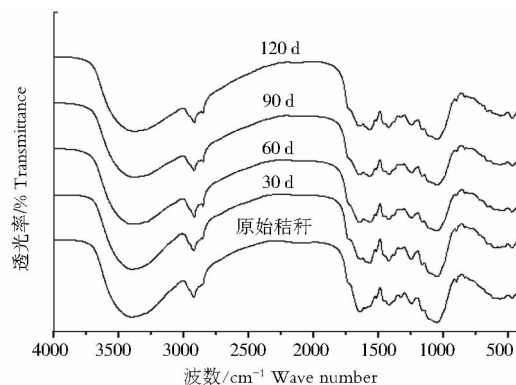


图 4 不同时期 CSTR 产酸相水稻秸秆成分的变化

Fig. 4 The change of rice straw composition during different period in acidogenic-phase

3 结论

试验结果表明,在反应器初期 30 d 时,为反应器产酸菌群活性增长期,大量 VFAs 的产生使得 pH 迅速下降。后期 pH 缓慢上升,为 6.2~6.5,ORP 为 -250~-400 mV,满足产酸菌的生长条件。共发酵具有很强的碳源氮源互相补充的能力,在反应 60 d 时,仍能满足 C/N 比为 27:1,有利于发酵的进行。反应 120 d 时,水稻秸秆中纤维素得到有效降解,并且促使了碳酸盐的生成,为产甲烷相提供适宜的发酵底物。CSTR 产酸相中 VFAs 在反应 120 d 内各种类含量变化比较明显,在前 80 d,乙酸、丁酸、戊酸含量均属于增加阶段。后期 60 d,丙酸含量迅速下降,没有出现酸积累现象。反应器内主要以乙酸、乙醇为主。

参考文献:

- [1] J. Dahiya, D. Singh, P. Nigam. Decolourisation of synthetic and spent wash, melanoidins using the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* JAG-40 [J]. *Bioresource Technology*, 2001, 78: 95-98.
- [2] 张振钧, 孙永明. 我国农业废弃物资源化与农村生物质能源利用的现状与发展[J]. *中国农业科技导报*, 2006, 8(1): 6-13.
- [3] Ayla Sant'Ana da Silva, Hiroyuki Inoue, Takashi Endo, et al. Milling pretreatment of sugarcane bagasse and straw for enzymatic hydrolysis and ethanol fermentation[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 7402-7409.
- [4] 王晓娇, 李轶冰, 杨改河, 等. 牛粪、鸡粪和稻秆混合的沼气发酵特性与工艺优化[J]. *农业机械学报*, 2010, 41(3): 104-108.
- [5] 刘心雨, 王山虎, 刘德江, 等. 牛粪与玉米秸秆混合原料干发酵试验初报[J]. *中国沼气*, 2010, 28(5): 37-39.
- [6] APHA. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed[M]. Washington, DC: American Public Health Association, 1998: 128-132.
- [7] Cheng Fang, Kanokwan Boe, Irini Angelidaki. Anaerobic co-digestion of desugared molasses with cow manure; focusing on sodium and potassium inhibition[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 1005-1011.
- [8] Boubaker Fezzani, Ridha Ben Cheikh. Two-phase anaerobic co-digestion of olive mill waters in semi-continuous digesters at mesophilic temperature[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 1628-1634.
- [9] Stark N M, Matuana L M. Characterization of weathered wood-plastic composite surfaces using FTIR spectroscopy, contact angle, and XPS[J]. *Polymer Degradation and Stability*, 2007, 92: 1883-1890.

Study on Characters of Acid Production with Multi-Substrate Co-Fermentation

BIAN Dao-lin¹, SUN Lei², WANG Shuang², GUO Wei³, WANG Peng-feng⁴

(1. Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Soil Fertilizer and Environment Resource Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Harbin, Heilongjiang 150086; 3. Rural Energy Resources Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Science, Harbin, Heilongjiang 150086; 4. Linshu Agricultural Bureau of Shandong Province, Linshu, Shandong 276700)

Abstract: In order to explore multi-substrate co-fermentation whether be conducive to acidogenic fermentation, taking cow dung, rice straw and molasses wastewater as substrate, the change of pH, ORP, volatile organic acid and cellulose content in straw during different period in acidogenic-phase were analyzed. The results showed that, in the first 30 days, the activity of acid-producing bacteria increased fast, production of volatile organic acid lead to pH decrease. In the later 60 days, pH rose slowly and ranged from 6.2 to 6.5, ORP varied from -250 to -400 mV, which met growth conditions of acid-producing bacteria. Co-fermentation had a strong ability to supplement carbon source and nitrogen source and was conducive to ferment. When ferment for 120 days, cellulose in straw degraded effectively.

Key words: multi-substrate; co-fermentation; acid production