

沼液回流比与有机负荷对秸秆厌氧发酵特性的影响

邓玉营^{1,2} 黄振兴^{1,3} 阮文权^{1,3} 缪恒峰^{1,3} 赵明星^{1,3} 任红艳^{1,3}

(1. 江南大学环境与土木工程学院, 无锡 214122; 2. 常州工程职业技术学院制药与环境学院, 常州 213164;

3. 江南大学江苏省厌氧生物技术重点实验室, 无锡 214122)

摘要: 以混合秸秆为唯一原料, 混合接种瘤胃液与污泥, 在半连续固态进料反应器中研究不同回流比和有机负荷组合对甲烷产率、发酵特性的影响。结果表明, 在6个阶段中, 当有机负荷(OLR)为4 g/(L·d), 回流比为1:1时, 甲烷平均产率达到了768 mL/(L·d); 单位秸秆TS产甲烷量为202 mL/g, 具有明显成本优势。当OLR升高到6 g/(L·d)时, VFA积累明显, 丙酸质量浓度高达6.54 g/L, 并且出现丁酸的积累; 该阶段氨氮质量浓度明显升高, 达到了632.51 mg/L。固渣中纤维素和半纤维素在第2阶段降解程度最高, 降解率达到了88.81%, 而水解酶活和产甲烷效率的变化相关。通过三维荧光光谱分析, 发现沼液中类酪氨酸产物、辅酶F420及腐殖酸类有机物的变化受回流比和有机负荷的影响, 能直接反映产甲烷和发酵特性, 而且腐殖酸类物质的积累是产甲烷作用受到抑制的重要原因。因此, 合适的回流比和有机负荷对秸秆沼气工程长期稳定运行尤为关键。

关键词: 秸秆; 厌氧发酵; 沼液回流比; 有机负荷; 发酵特性

中图分类号: S216.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2016)11-0198-09

Effect of Digestate Recirculation Ratio and Organic Loading Rate on Fermentation Characteristics for Anaerobic Digestion of Straw

Deng Yuying^{1,2} Huang Zhenxing^{1,3} Ruan Wenquan^{1,3} Miao Hengfeng^{1,3} Zhao Mingxing^{1,3} Ren Hongyan^{1,3}

(1. School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

2. Institute of Pharmaceutical and Environmental Engineering,

Changzhou Vocational Institute of Engineering Technology, Changzhou 213164, China

3. Jiangsu Key Laboratory of Anaerobic Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: After co-inoculation of rumen fluid with sludge, the methanogenic efficiency and anaerobic fermentation characteristics of straw which were influenced by combination of different digestate recirculation ratios and organic loading rates (OLR) at six stages, were studied in a semi-continuous reactor with solid-feeding device. The results showed that methane yield reached 768 mL/(L·d) at 4 g/(L·d) of OLR and 1:1 of digestate recirculation ratio. Methane production was 202 mL/g (217 mL/g) at this stage, which had obvious cost advantage. However, VFAs were accumulated significantly with propionate concentration being as high as 6.54 g/L while ammonia nitrogen concentration reached 632.51 mg/L at 6 g/(L·d) of OLR. Degradation degree of cellulose and hemicellulose in solid residues reached 88.81% at phase 2 whereas hydrolytic activities correlated with methanogenic efficiency. Through the analysis of three dimensional fluorescence spectrum, it was found that dissolved organic matters of tyrosine-like component, coenzyme F420 and humic acid were affected by digestate recirculation ratio and OLR. The changes of the components could directly reflect the methane-producing activities and fermentation characteristics. Moreover, accumulation of humic acid was responsible for

收稿日期: 2016-08-04 修回日期: 2016-09-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(21276114、21506076)和“十二五”国家科技支撑计划项目(2014BAC25B01)

作者简介: 邓玉营(1978—), 男, 博士生, 常州工程职业技术学院讲师, 主要从事秸秆厌氧发酵研究, E-mail: 8000000577@czie.edu.cn

通信作者: 阮文权(1966—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事大型厌氧工程设计及运行研究, E-mail: wqruan@163.com

decrease of methanogenic activity. Therefore, proper digestate recirculation ratio and OLR were indispensable to long-term stable operation of biogas engineering from straw by avoiding the accumulation of harmful components in liquid digestate.

Key words: straw; anaerobic fermentation; digestate recirculation ratio; organic loading rate; fermentation characteristics

引言

农作物秸秆一直是生物质能源中非常有潜力的原料之一。而厌氧发酵是在缺少无机电子受体(如氧气、硝酸盐、硫酸盐、氧化态铁锰等)的条件下,经过水解、发酵产酸、产氢产乙酸阶段,最终产生二氧化碳和甲烷的过程^[1],被认为是秸秆资源化的重要途径^[2]。由于秸秆本身氮源缺乏,沼气工程中常投加牲畜粪便等原料混合发酵来平衡碳氮比^[3-5],产生的沼液氨氮等有机污染物浓度高。尽管还田利用是一种有效的沼液减量化方式,但由于沼液成分复杂,还田利用还受土地承载能力、季节性变化等诸多因素影响^[6],导致沼液不能被充分消纳,需进一步无害化处理,从而制约了秸秆沼气工程的发展^[7-8]。采用沼液回流工艺不仅可以减少氨氮损失,实现单秸秆发酵,而且可减少功能微生物损失^[9],实现菌群水解和产甲烷过程的平衡。但回流比过高,易导致氨氮积累^[10-11],粘度增加^[12],悬浮性颗粒提高等问题^[13],使产甲烷效率降低,因此合适的回流比对秸秆沼气工程的长期稳定运行尤为关键。

但对单秸秆发酵沼液回流研究的文献较少^[11],尤其是不同回流比和负荷条件下秸秆产气及发酵特性的研究更少,从而限制了该工艺在工程上的应用。本文以混合秸秆为单一原料,在半连续反应器中,设置不同回流比和有机负荷,考察长期消化过程中两者对甲烷产率和液固相发酵特性的影响;并通过液相中可溶性有机物的变化,分析操作参数发挥作用的机制。从而寻找最优产甲烷及发酵条件,为秸秆沼气工程高效运行和过程控制提供参考。

1 材料和方法

1.1 接种物与秸秆原料

接种物有 2 类来源:从无锡生牛屠宰厂取新鲜牛瘤胃内含物,两层纱布过滤后获得瘤胃液;同时从苏州某处理餐厨垃圾厌氧装置取厌氧产甲烷污泥,接种物提供厌氧微生物的同时,还提供氮源:收集 3 种典型农作物(玉米秸、草秸和稻秸)粉碎成秸秆粉,过 40 目筛备用,按挥发性固体(VS)含量相同形成混合秸秆原料,接种物与原料特性如表 1 所示。

表 1 瘤胃液、接种泥和秸秆原料的 TS、VS、碳氮比及主要组成
Tab.1 TS, VS, C/N ratio and main components of rumen fluid, anaerobic sludge and rice straw

物料	TS 质量分数/ %	VS 质量分数/ %	碳氮比	半纤维素 质量分数/%	纤维素 质量分数/%	木质素 质量分数/%
瘤胃液	2.28 ± 0.01	1.32 ± 0.02	12.48 ± 0.62			
厌氧泥	13.90 ± 1.32	6.90 ± 0.43	7.36 ± 0.37			
玉米秸	93.25 ± 1.76	88.60 ± 1.79	51.36 ± 2.57	34.98 ± 1.75	49.39 ± 2.47	6.84 ± 0.34
草秸	98.60 ± 0.71	93.44 ± 0.83	46.09 ± 2.30	31.66 ± 1.58	33.61 ± 1.68	10.60 ± 0.53
稻秸	94.27 ± 0.53	84.23 ± 0.39	43.15 ± 2.16	24.34 ± 1.22	30.88 ± 1.54	11.52 ± 0.58
混合秸	95.30 ± 0.69	88.59 ± 0.54	46.82 ± 2.34	30.20 ± 1.51	37.91 ± 1.90	9.67 ± 0.48

1.2 实验装置与操作条件

瘤胃液与污泥混合后(VS 相等),按体积分数 25%接种于立式半连续固态进料反应器(组成装置原理见图 1),搅拌速度维持在 80 r/min,料液有效体积 2.5 L,启动秸秆厌氧消化实验。

为了保持体系中含固率在较小范围内波动,随着有机负荷(OLR)的提高,可增加排出料液的体积,从而获得相应的固渣停留时间(SRT)。发酵过程根据操作参数的不同分为 6 个阶段,具体如表 2 所示。每隔 2 d,在加入干秸秆原料前分别收集气体

和料液,气体经过 4 mol/L NaOH 溶液吸收得到甲烷的体积。料液用 100 目尼龙纱网挤压过滤后,沼渣用于分析秸秆各组分的变化;沼液留样后,按照回流比设置补足水分,返回至反应器内。

1.3 分析方法

固渣样品在干燥箱中以 60℃干燥 12 h 至恒质量,用于测定碳氮比及各组分比例。固体总有机碳(TOC)使用总有机碳分析仪(Shimadzu 型,日本)测定,凯氏氮通过凯氏分析仪(KT-260 型,中国)测定。纤维素、半纤维素和木质素的比例根据范氏

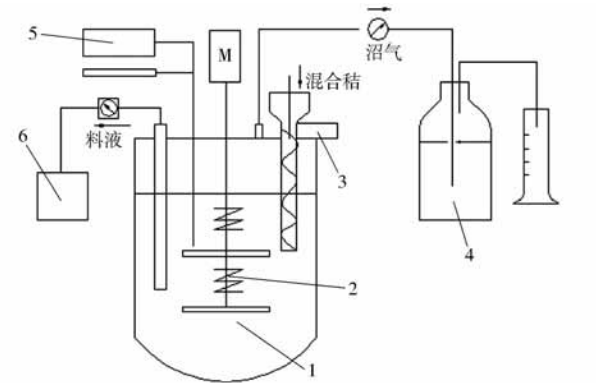


图 1 半连续固态进料反应器原理图

Fig.1 Schematic diagram of semi-continuous reaction device of solid-feeding

1. 反应器 2. 搅拌装置 3. 进料装置 4. 气体过 4 mol/L 饱和 NaOH 溶液吸收后甲烷收集装置 5. 温度控制装置 6. 料液收集装置

表 2 6 个阶段操作参数的设定

Tab.2 Setting of operation parameters at six stages				
阶段 序号	运行 时间/d	沼液回流比	有机负荷/ (g·(L·d) ⁻¹)	固渣停留 时间/d
1	0 ~ 24	2 : 1	1. 5	100
2	25 ~ 48	2 : 1	2	100
3	49 ~ 72	1. 5 : 1	3	100
4	73 ~ 96	1. 5 : 1	4	100
5	97 ~ 130	1 : 1	4	66. 6
6	131 ~ 166	1 : 1	6	40

洗涤法原理测定^[14]。

沼液经过 5 000 r/min 离心 15 min 后,用超纯水稀释 10 倍用于各指标的测定。氨氮质量浓度使用纳氏试剂测定。样品加入 3 mol/L 磷酸离心后,使用岛津 GC - 2010 Plus 型 (Shimadzu, 美国) 测定 VFAs,升温程序参考以前的方法^[15]。纤维素酶和木聚糖酶酶活在分光光度计上利用 DNS 法测定^[16];酶活力单位 (U) 定义为,pH 值为 6. 4,50℃ 条件下,每分钟每毫升酶液释放 1 μg 葡萄糖 (木糖) 的酶量。

溶解有机物 (Dissolved organic matter, DOM) 质

表 3 不同阶段甲烷产量和液相中 VFAs、pH 值和氨氮质量浓度的变化

参数	阶段序号					
	1	2	3	4	5	6
甲烷产率/(mL·(L·d) ⁻¹)	189 ± 94. 11	370 ± 35. 57	534 ± 30. 64	579 ± 57. 93	768 ± 124. 80	587 ± 152. 12
单位 TS 甲烷产量/(mL·g ⁻¹)	132 ± 66	194 ± 19	187 ± 11	152 ± 15	202 ± 33	103 ± 27
单位 VS 甲烷产量/(mL·g ⁻¹)	142 ± 71	209 ± 20	201 ± 12	163 ± 16	217 ± 35	110 ± 29
乙酸质量浓度/(g·L ⁻¹)	0. 29 ± 0. 34	0. 25 ± 0. 03	0. 34 ± 0. 08	1. 04 ± 0. 57	1. 81 ± 0. 78	2. 02 ± 0. 97
丙酸质量浓度/(g·L ⁻¹)	2. 70 ± 0. 85	0. 57 ± 0. 86	0. 08 ± 0. 12	0. 81 ± 0. 43	3. 50 ± 1. 25	6. 54 ± 1. 34
丁酸质量浓度/(g·L ⁻¹)	0. 06 ± 0. 12	0	0	0	0. 31 ± 0. 14	0. 53 ± 0. 34
pH 值	7. 21 ± 0. 16	7. 35 ± 0. 13	7. 30 ± 0. 15	7. 13 ± 0. 07	6. 94 ± 0. 11	6. 99 ± 0. 18
氨氮质量浓度/(mg·L ⁻¹)	225. 06 ± 44. 69	213. 60 ± 16. 37	262. 79 ± 26. 50	363. 59 ± 61. 97	349. 92 ± 68. 09	632. 51 ± 54. 05

量浓度用总有机碳分析仪 (Shimadzu, 日本) 测定,然后稀释样品质量浓度到 10 mg/L 以下,使用三维荧光光谱仪 (FluorMax - 4 型,美国) 测定三维荧光,参数设定为:激发波长范围 200 ~ 500 nm,发射波长 200 ~ 600 nm,激发和发射狭缝宽度均为 4 nm,波长扫描间隔均为 10 nm,为避免出现二级瑞利散射,在出光一侧添加 290 nm 的截止滤片^[17]。

2 结果与讨论

2.1 甲烷产率的变化

甲烷产率是衡量厌氧消化效率的重要指标,各阶段甲烷产率如图 2 所示,第 1 阶段的有机负荷为 1. 5 g/(L·d),甲烷产率缓慢,反应器内微生物菌群对单秸秆原料的环境适应性及甲烷菌较长的世代周期都会影响到产甲烷效率。从第 2 阶段开始,反应器进入平稳运行。第 5 阶段 OLR 达到 4 g/(L·d),回流比减少为 1 : 1,甲烷最高产率达到 970 mL/(L·d),该阶段的平均甲烷产率为 768 mL/(L·d)。但当 OLR 再次增加后,甲烷产率下降至 587 mL/(L·d)。

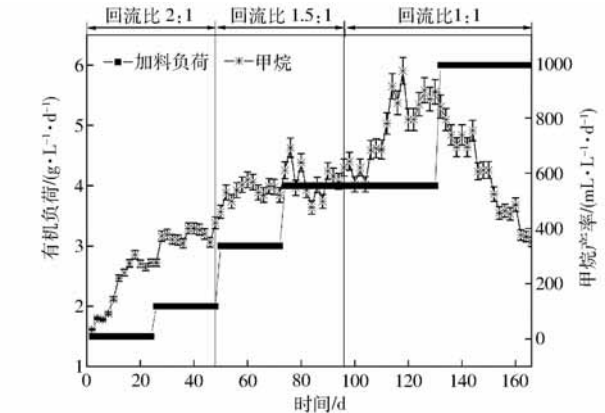


图 2 不同操作条件下甲烷产率的变化

Fig.2 Changes of methane production rate at different operation parameters

单位秸秆产甲烷量的变化受到回流比和 OLR 的共同影响 (见表 3),第 2 阶段 TS 甲烷产量达到了 194 mL/g,但随着 OLR 逐渐提高到 4 g/(L·d),产甲烷量反而降到 152 mL/g。在同样的 OLR 条件下,当

减小沼液回流比为 1:1 时(第 5 阶段),产甲烷量达到了最大的 202 mL/g(VS 产甲烷量 217 mL/g),负荷继续提高,单位秸秆产甲烷量开始下降。

研究表明,利用混合微生物菌群间的协同作用是提高秸秆等纤维素类物质厌氧消化的有效途径^[18-19]。同时 FUMA 等^[20]研究证实,通过易降解的纤维素原料能激活 *Fibrobacter succinogenes* 等水解菌群,从而提高稻秸的降解。本研究将易降解的草秸、玉米秸同稻秸混合,利用牛瘤胃液和厌氧产甲烷污泥共接种开展降解实验。根据一般秸秆理论产值 0.35~0.36 来计算^[21],最高产量达到了理论产值的 56%~58%,和经过物化、生物预处理的各种秸秆厌氧消化研究相比,甲烷产量有明显成本优势^[22-23]。另外从单位秸秆产甲烷量的研究来看,李东等^[5]利用 1:1 的稻草与牛粪为混合原料,连续中温厌氧消化,在 OLR 为 3.6 g/(L·d) 时,甲烷产量达到了最大 220 mL/g,随后下降。杜静等^[24]在研究秸秆负荷对沼气产率影响的实验中,同样发现负荷越高,各种有毒物质的积累是导致厌氧发酵受到抑制的原因。本研究单位秸秆产甲烷量有 2 个峰值,分别在第 2 和 5 阶段,表明,产甲烷量随着 OLR 增加有所提高,超过 6 g/(L·d) 时,产量下降,与上述研究的变化趋势一致。同时回流比降到 1:1 时,降低了沼液中抑制物质的浓度,部分解除了产甲烷受到的抑制,从而在第 5 阶段再次出现产甲烷峰值。

2.2 VFAs 浓度的变化

在标准状态下(温度 25℃,氢分压 10⁵ Pa,底物和产物浓度为 1 mol/L),VFAs 中丁酸和丙酸氧化生成乙酸、氢和二氧化碳是吸能反应(自由能 ΔG^{o'} > 0),热力学上不能自发进行,只有与嗜氢甲烷菌形成互营菌群,使氢分压降低,代谢才得以进行(ΔG^{o'} < 0)^[25]。因此互营氧化被认为是厌氧消化的限速步骤,VFAs 的质量浓度反映出体系中酸化和产甲烷之间的平衡,而 OLR 的提高和回流都会导致 VFAs 的积累^[26-27]。从图 3 可以看出,VFAs 质量浓度受 OLR 的影响更大,随着 OLR 提高,VFAs 开始出现积累现象,尤其是丙酸和丁酸的积累,表明此时反应器内产酸和产甲烷平衡被打破,产甲烷作用受到抑制^[28]。

具体来看(见表 3),第 1 阶段反应器内丙酸平均质量浓度达到 2.70 g/L,而乙酸和丁酸的含量很少。第 2 阶段丙酸含量显著降低,到第 4 阶段,VFAs 含量上升,乙酸和丙酸出现积累现象,质量浓度达到了 1.04 g/L 和 0.81 g/L,甲烷产率也受到抑制。第 5 阶段保持 OLR 不变的同时,减少了沼液回流比,乙酸被产甲烷作用短暂利用。但过高的 OLR

(第 6 阶段)打破了厌氧消化之间的平衡,VFA 积累明显,丙酸质量浓度高达 6.54 g/L,并且出现丁酸的积累。

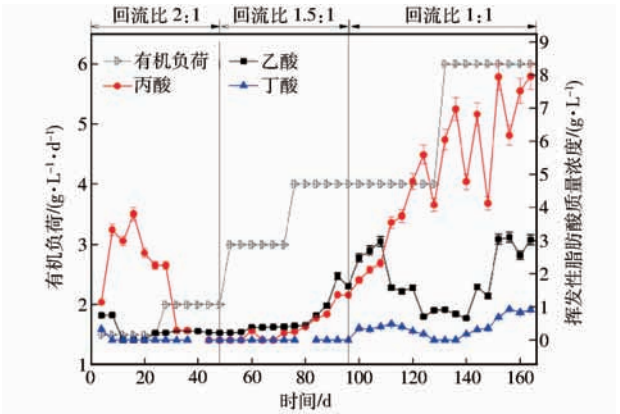


图 3 不同参数下 VFAs 质量浓度的变化
Fig.3 Changes of VFAs concentrations at different parameters

过高的 VFAs 质量浓度不仅反映产酸和产甲烷的失衡,而且还会抑制厌氧消化过程。以前的研究表明,乙酸质量浓度超过 1.5 g/L 就会抑制纤维素酶的活性,从而抑制水解^[29]。甲烷菌对 VFAs 质量浓度变化比水解菌更敏感,SIEGERT 等^[30]研究表明,中温条件下,总 VFAs 质量浓度超过 6 g/L 将会抑制产气并降低甲烷含量;质量浓度超过 8 g/L 时,就会抑制产甲烷过程^[21]。另外李红丽等^[31]在研究牛粪与厨余垃圾厌氧干式发酵中,发现 VFAs 质量浓度超过 10 g/L,会导致厌氧发酵酸败。单个 VFAs 对甲烷菌表现出不同的效应:乙酸作为产甲烷的底物,其质量浓度会导致不同的代谢途径。HAO 等^[32]研究表明,乙酸质量浓度在 6 g/L 时,乙酸互营氧化是主要的产甲烷形式,质量浓度降到 0.3 g/L 时,嗜乙酸型甲烷菌有更高的亲和性,乙酸发酵产甲烷成为主要途径^[33]。而高质量浓度丙酸和丁酸对甲烷菌会产生毒性,质量浓度分别达到 15 g/L 和 3.5 g/L 时,50% 的产甲烷活性受抑制^[34]。

本研究中第 6 阶段的 VFAs 总质量浓度达到了 9.09 g/L,乙酸质量浓度也达到了 2.02 g/L,从而对水解和产甲烷菌产生了抑制,这也是该阶段产甲烷效率降低的原因之一。并且随着回流的进行,VFAs 质量浓度(尤其是丙酸)有继续升高的趋势。卢艳娟等^[26]对沼液回流的研究进行了综述,也认为丙酸的质量浓度会随着沼液的回流而不断的升高。可能的解释是不合适的负荷和回流比导致了抑制物质的积累,从而使产甲烷作用受到抑制,VFAs 不能及时被利用,从而抑制厌氧消化过程。

2.3 pH 值和氨氮质量浓度的变化

适宜水解的 pH 值在 5.3 到 8.3 之间,最佳 pH

值在 7 附近^[29];产甲烷菌生长的最适 pH 值在 6.8 到 7.5 之间^[35],从图 4 可以看到,整个反应阶段都在适宜的 pH 值范围内,这对于整个厌氧消化系统平稳运行是有利的。但 VFAs 的积累,尤其是丙酸和丁酸的积累会导致 pH 值的下降^[36],本研究 pH 值从第 1 阶段的 7.21 降到最后的 6.99,与上述 VFAs 的变化趋势一致。

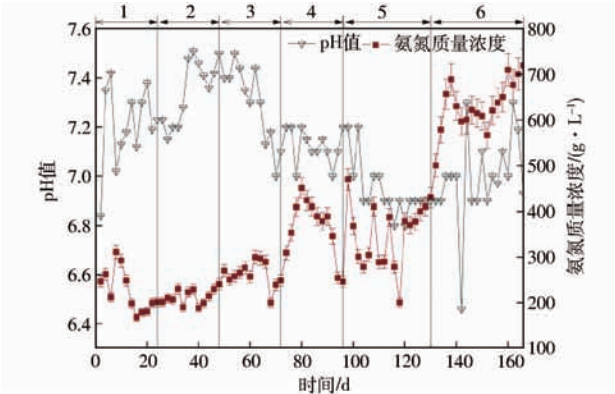


图 4 不同阶段下 pH 值和氨氮质量浓度的变化
Fig.4 Changes of pH values and ammonia nitrogen concentrations at different stages

氮源对微生物的细胞合成与代谢至关重要,厌氧发酵常通过混合发酵和添加无机氮源来补充^[3-5]。体系中氨氮的质量浓度是衡量氮源的一个重要指标,普遍认为氨氮质量浓度为 200 mg/L 对厌氧微生物的生长至关重要^[21];过高氨氮质量浓度对沼气系统有抑制作用,抑制效应与接种物、有机负荷、pH 值及温度等因素有关,机理主要是通过游离氨进入细胞膜破坏胞内代谢平衡发挥作用^[37]。一般认为,质量浓度不超过 1 500 mg/L 不会对厌氧体系表现出明显的抑制,超过 3 000 mg/L(中温,pH 值为 7.6)会对未驯化的接种物体系产生抑制作用^[21, 38]。但经过适应性驯化,氨氮的抑制质量浓度可以达到 5 000 mg/L 以上^[37, 39]。

本研究氨氮质量浓度的变化见图 4,前 5 个阶段变化不大,平均氨氮质量浓度在 213.06 ~ 363.59 mg/L 之间变动。但第 6 阶段上升至 632.51 mg/L。从整个发酵过程来看,氨氮质量浓度

都在一个较低的范围 内,没有达到抑制的程度。NORDBERG 等^[10]在青贮苜蓿厌氧消化中沼液回流,经过 260 d 后,氨氮质量浓度达到了 5 000 mg/L。而 HU 等^[11]在单一玉米秸厌氧消化直接回流实验中,同样出现氨氮积累现象,达到了 550 mg/L,认为沼液通过好氧处理再回流,有利于氨氮的去除。而本研究利用接种的瘤胃液提供氮源,底物为单一秸秆原料,有较高的碳氮比(46.82),几乎不带入新的氮源,氨氮质量浓度的升高主要与厌氧代谢受抑制有关。沼液回流导致高有机负荷产生的有害物质积累,微生物受抑制,胞内有机氮被释放到沼液中,以氨氮的形式存在。

2.4 固渣成分及水解酶活的变化

秸秆主要由纤维素、半纤维素及木质素等成分组成,一般认为,秸秆产甲烷作用主要通过前 2 种成分的厌氧消化实现,木质素的作用很小^[22, 40],所以研究秸秆降解过程常以纤维素酶及木聚糖酶活性来衡量水解效率。表 4 列出了各阶段固渣组分及干物质降解率的变化,6 个阶段降解率在 57.29% ~ 88.81% 范围内变动,纤维素和半纤维素含量降低,木质素相对含量升高,本研究秸秆组分的降解与以往研究一致。同时可以看出各成分的降解与水解酶活并不完全一致。在第 2 阶段,纤维素和半纤维素降解率最高,干物质的降解率达到了最高的 88.81%;而两种水解酶活在第 5 阶段达到最大,分别为 6.45 U/mL 和 50.06 U/mL,与单位秸秆产甲烷效率的变化相关。这一现象可以从两方面来解释,一方面,水解过程被认为是秸秆厌氧消化的限速步骤,与水解产物被利用产甲烷并不同步^[21, 23]。另一方面,水解酶活和产甲烷活性受有机负荷和回流比的影响,有机负荷过高,导致厌氧过程酶活受到抑制^[24],降低沼液回流比,缓解了抑制作用,相应的水解和产甲烷作用得到强化。

2.5 沼液中溶解性有机物(DOM)的变化及对厌氧消化的影响

微生物代谢大多发生在液相中,因此沼液中溶

表 4 不同阶段固渣各组分、水解酶活及干物质降解率的变化

Tab.4 Changes of solid components, hydrolytic activities and dry matter degradation rates at different stages

参数	阶段序号					
	1	2	3	4	5	6
半纤维素质量分数/%	28.90 ± 0.17	20.38 ± 0.58	20.33 ± 0.90	21.65 ± 0.01	24.85 ± 1.33	25.18 ± 3.14
纤维素质量分数/%	29.83 ± 0.73	26.78 ± 0.81	27.48 ± 1.10	29.69 ± 2.40	29.74 ± 0.73	31.88 ± 1.73
木质素质量分数/%	13.31 ± 0.73	17.02 ± 0.81	15.13 ± 1.38	12.24 ± 0.03	12.69 ± 0.97	10.81 ± 1.18
木聚糖酶活/(U·mL ⁻¹)	6.02 ± 1.48	6.13 ± 0.71	5.50 ± 0.55	4.13 ± 0.22	6.45 ± 0.72	4.50 ± 0.70
纤维素酶活/(U·mL ⁻¹)	18.04 ± 0.03	37.08 ± 0.66	41.72 ± 1.14	36.44 ± 0.49	50.06 ± 10.09	21.32 ± 1.31
干物质降解率/%	74.72	88.81	79.86	88.54	87.21	57.29

解性有机物 (DOM) 是厌氧消化的重要指标,其中主要成分有秸秆降解过程的中间体及微生物代谢物^[41]。从图 5 可以看到,DOM 的质量浓度由最初的 2.24 g/L 上升到实验结束时的 15.05 g/L,尤其是第 5 到第 6 阶段变化明显,平均值从 9.32 g/L 升高到 13.67 g/L,数据对比发现,VFAs 只占其中的一部分,沼液中还有其他难降解物质的积累,与 HU 等^[11]在单一玉米秸厌氧消化回流实验中的发现一致。

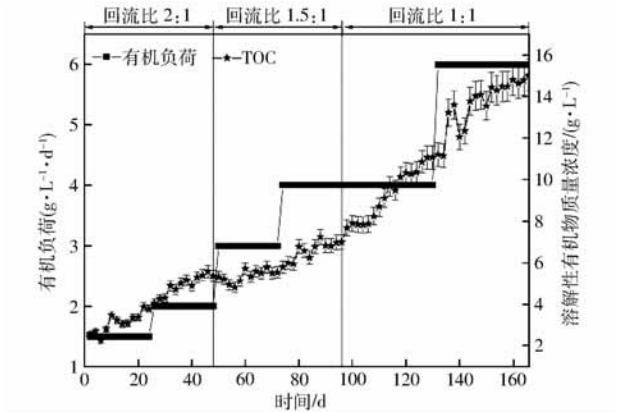


图 5 不同参数下溶解性有机物质量浓度的变化
Fig.5 Changes of DOM concentrations at different parameters

三维荧光光谱技术是研究液相中荧光物质的重要手段^[42-43]。由于技术上的优势,越来越多地应用于厌氧消化的过程检测中,如李卫华等^[44]通过解析厌氧产甲烷反应器出水的三维荧光光谱来分析体系的运行状况。LI 等^[45]在脱水污泥的厌氧消化过程中,利用三维荧光技术检测液相中类酪氨酸、类色氨酸及类腐殖酸物质的降解顺序。刘怡心等^[17]通过光谱来检测厌氧氨氧化体系中类富里酸的变化。由此可见,厌氧过程中微生物代谢产物、辅酶 F420、腐殖酸等物质都有特定的荧光光谱特征。

本研究不同阶段的三维荧光光谱先后出现了 4 个荧光峰(图 6),荧光峰 A 属于类酪氨酸物质,激发波长(Ex)位于 270 nm,发射波长(Em)位于 306 nm,该峰的出现表明了微生物的衰亡或自溶^[45]。荧光峰 B 属于类富里酸物质(Ex 位于 340 nm,Em 位于 420 nm);荧光峰 C 属于类腐殖酸物质(Ex 位于 350 nm,Em 位于 430 nm)^[43]。研究表明,腐殖酸竞争抑制产甲烷过程中关键步骤 acetyl-CoA 到 5-methyl-THMPT 的生成,从而抑制嗜乙酸产甲烷菌的活性,造成 VFAs 的积累^[46-47]。因此,荧光峰 B 和 C 的出现表明了腐殖酸物质的积累,导致产甲烷过程受到抑制。荧光峰 D(Ex 位于 420 nm,Em 位于 470 nm)属于辅酶 F420^[44],辅酶 F420 是嗜氢产甲烷途径特有的电子转移载体,常用于表征产甲烷活性的强弱^[39]。

如图 6 所示,阶段 1 和阶段 2,出现了荧光峰 A、B 和 C。表明牛瘤胃液和厌氧产甲烷污泥中很多微生物不适应体外厌氧消化体系,发生自溶,释放出类酪氨酸等物质;荧光峰 B 和 C 的出现则是回流工艺导致腐殖酸物质的形成。阶段 3 和阶段 4,出现了荧光峰 C 和 D,并且强度逐渐增强,表明随着有机负荷提高到 4 g/(L·d),产甲烷活性逐渐提高;但回流比 1.5:1 条件下也导致了类腐殖酸类物质的积累。阶段 5 有机负荷仍保持 4 g/(L·d),回流比调整为 1:1,荧光峰 D 的强度增强,与高的水解酶活及单位秸秆产甲烷量保持一致;但该阶段的后期逐渐出现了荧光峰 A 和 B,表明厌氧消化过程开始受到抑制。阶段 6 的有机负荷提高到了 6 g/(L·d),荧光峰 A 和 C 的强度增强,与李卫华等^[44]在产甲烷受抑制后观察到的荧光光谱一致,表明类腐殖酸积累抑制了产甲烷活性,导致微生物的衰亡,这也是该阶段氨氮质量浓度升高的原因。

在沼液回流和有机负荷对秸秆厌氧消化影响机制的研究中,认为有毒物质的积累是秸秆负荷过高抑制厌氧发酵的原因^[5, 24]。而沼液回流对牛粪产沼气的影响主要是沼液粘度的增加,降低了发酵效率^[12],而 ESTEVEZ 等^[13]在共发酵汽爆柳树和牛粪实验中认为悬浮性颗粒的积累是回流的主要危害。本研究对沼液三维荧光光谱的分析发现,荧光峰 D 是 F420 的特征峰,表征了产甲烷活性的增强;荧光峰 A 的出现表明了微生物受抑制或衰亡,并导致氨氮质量浓度的升高,这 2 个荧光峰直接反映了体系中产甲烷及发酵特征。腐殖酸(荧光峰 B 和 C)的积累是导致产甲烷作用受到抑制,造成 VFAs 积累的主要原因。因此必须选择合适的回流比及有机负荷来降低腐殖酸类物质的积累,从而提高秸秆产甲烷的效率。

3 结论

- (1) 整个发酵过程中,甲烷产率先升高再降低,在 189~768 mL/(L·d) 之间变动,OLR 为 4 g/(L·d),回流比为 1:1 时,该阶段甲烷的平均产率达到了最高的 768 mL/(L·d);单位 TS 秸秆产甲烷量为 202 mL/g(单位 VS 产甲烷量为 217 mL/g),具有明显的成本优势。
- (2) 从第 4 阶段开始,VFAs 含量上升,当 OLR 升高到 6 g/(L·d) 时,VFA 积累明显,丙酸质量浓度达到了 6.54 g/L,并且出现丁酸的积累。前 5 个阶段,氨氮平均质量浓度在 213.06~363.59 mg/L 之间变动,但第 6 阶段明显升高,达到了 632.51 mg/L。
- (3) 干物质的降解率在 57.29%~88.81% 范围

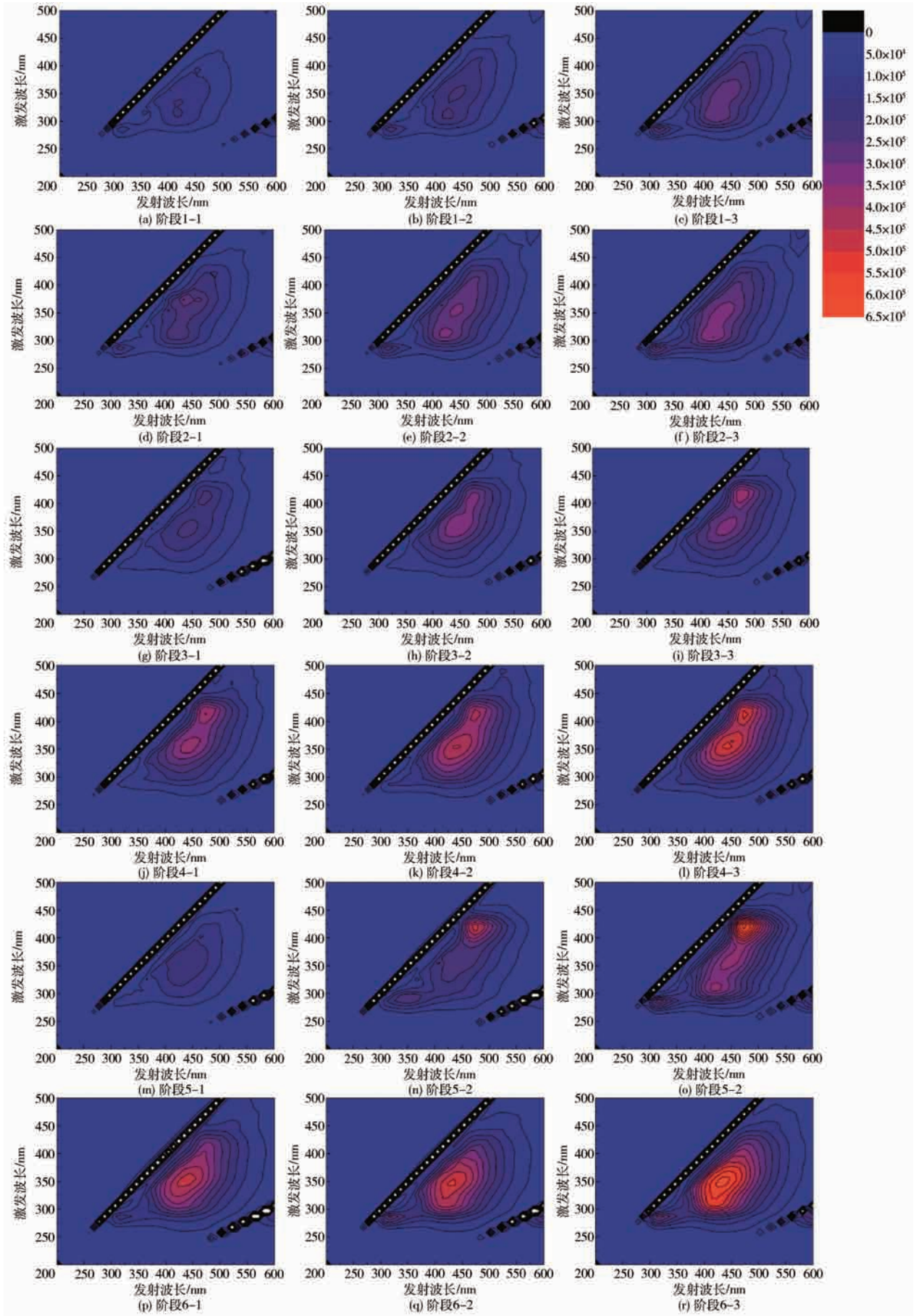


图6 不同阶段沼液中可溶性有机物三维荧光光谱图

Fig.6 Fluorescence EEM spectroscopies of dissolved organic matter at different stages

内变动,纤维素和半纤维素在第 2 阶段降解程度最高,干物质降解率达到了 88.81%;而纤维素酶及木聚糖酶活在第 5 阶段分别达到了最大的 6.45 U/mL 和 50.06 U/mL,与高的单位秸秆产甲烷量相关。

(4) 沼液中溶解有机物 (DOM) 质量浓度从

2.24 g/L 升高到 15.05 g/L,通过三维荧光光谱分析,发现类酪氨酸代谢产物(荧光峰 A)、辅酶 F420(荧光峰 D)及腐殖酸(荧光峰 B 和 C)等有机物的变化受回流比和有机负荷的影响,其中腐殖酸的积累是产甲烷作用受抑制的主要原因。

参 考 文 献

- 1 STAMS A J M. Metabolic interactions between anaerobic bacteria in methanogenic environments[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1994, 66(1-3): 271-294.
- 2 杨茜,鞠美庭,李维尊. 秸秆厌氧消化产甲烷的研究进展[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(14): 232-242.
YANG Qian, JU Meiting, LI Weizun. Review of methane production from straws anaerobic digestion[J]. *Transactions of the CSAE*, 2016, 32(14):232-242. (in Chinese)
- 3 WANG G, Gavala H N, Skiadas I V, et al. Wet explosion of wheat straw and codigestion with swine manure: effect on the methane productivity[J]. *Waste Management*, 2009, 29(11): 2830-2835.
- 4 王晓娇,杨改河,冯永忠,等. 牲畜粪便与秸秆混合的厌氧发酵效果及影响因素分析[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(12): 2594-2601.
WANG Xiaojiao, YANG Gaihe, FENG Yongzhong, et al. Anaerobic co-digestion effects of manure and straw and analysis of influencing factors[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(12): 2594-2601. (in Chinese)
- 5 李东,叶景清,孙永明,等. 稻草与牛粪混合连续厌氧消化制备生物燃气研究[J]. *农业机械学报*, 2013, 44(1): 101-105.
LI Dong, YE Jingqing, SUN Yongming, et al. Continuous anaerobic co-digestion of rice straw and cow manure for biogas production [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2013, 44(1):101-105. (in Chinese)
- 6 魏泉源. 规模化沼气工程沼液、沼渣减量化及资源化利用研究[D]. 北京:北京化工大学, 2014.
- 7 李伟,吴树彪,庞昌乐,等. 沼气工程高效稳定运行技术现状及展望[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(7): 187-196.
LI Wei, WU Shubiao, PANG Changle, et al. Analysis and development prospect of biogas engineering technology [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2015, 46(7):187-196. (in Chinese)
- 8 白晓凤,李子富,闫园园,等. 吹脱与鸟粪石沉淀组合工艺处理中温厌氧发酵沼液研究[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(12): 218-225.
BAI Xiaofeng, LI Zifu, YAN Yuanyuan, et al. Treatment of liquid digestate by stripping combined with struvite precipitation[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2015, 46(12):218-225. (in Chinese)
- 9 SHAHRIARI H, WARITH M, HAMODA M, et al. Effect of leachate recirculation on mesophilic anaerobic digestion of food waste [J]. *Waste Management*, 2012, 32(3): 400-403.
- 10 NORDBERG Å, JARVIS Å, STENBERG B, et al. Anaerobic digestion of alfalfa silage with recirculation of process liquid[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(1): 104-111.
- 11 HU Y, SHEN F, YUAN H, et al. Influence of recirculation of liquid fraction of the digestate (LFD) on maize stover anaerobic digestion[J]. *Biosystems Engineering*, 2014, 127: 189-196.
- 12 吴树彪,黎佳茜,李伟,等. 沼液回流对牛粪厌氧发酵产气特性及其动力学的影响[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(10): 241-246.
WU Shubiao, LI Jiaxi, LI Wei, et al. Effect of liquid digestate recirculation on biogas production and fermentation kinetics for anaerobic digestion of cattle manure[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2015, 46(10):241-246. (in Chinese)
- 13 ESTEVEZ M M, SAPCI Z, LINJORDET R, et al. Semi-continuous anaerobic co-digestion of cow manure and steam-exploded *Salix* with recirculation of liquid digestate[J]. *Journal of Environmental Management*, 2014, 136: 9-15.
- 14 VAN SOEST P. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. 1. Preparation of fiber residues of low nitrogen content[J]. *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, 1963, 46: 825-829.
- 15 LIU X, LIU H, CHEN Y, et al. Effects of organic matter and initial carbon - nitrogen ratio on the bioconversion of volatile fatty acids from sewage sludge[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2008, 83(7): 1049-1055.
- 16 MILLER G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar[J]. *Analytical Chemistry*, 1959, 31(3): 426-428.
- 17 刘怡心,李卫华,申慧彦,等. 厌氧氨氧化反应过程的三维荧光光谱解析[J]. *环境工程学报*, 2015, 9(10): 4680-4686.
LIU Yixin, LI Weihua, SHEN Huiyan, et al. Analysis of EEM fluorescence spectra of effluents from ANAMMOX reactor[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2015, 9(10):4680-4686. (in Chinese)
- 18 XU F, SHI J, LV W, et al. Comparison of different liquid anaerobic digestion effluents as inocula and nitrogen sources for solid-

- state batch anaerobic digestion of corn stover[J]. *Waste Management*, 2013, 33(1): 26–32.
- 19 PROCHAAZKA J, MRAZEK J, STROSOVA L, et al. Enhanced biogas yield from energy crops with rumen anaerobic fungi[J]. *Engineering in Life Sciences*, 2012, 12(3): 343–351.
- 20 FUMA R, OYAIU S, NUKUI Y, et al. Use of bean husk as an easily digestible fiber source for activating the fibrolytic rumen bacterium *Fibrobacter succinogenes* and rice straw digestion[J]. *Animal Science Journal*, 2012, 83(10): 696–703.
- 21 KARTHIKEYAN O P, VISVANATHAN C. Bio-energy recovery from high-solid organic substrates by dry anaerobic bio-conversion processes: a review[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2013, 12(3): 257–284.
- 22 MUSSOLINE W, ESPOSITO G, GIORDANO A, et al. The anaerobic digestion of rice straw: a review[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2013, 43(9): 895–915.
- 23 邓媛方, 邱凌, 黄辉, 等. 酶预处理对秸秆类原料厌氧发酵特性的影响[J]. *农业机械学报*, 2015, 46(6): 201–206.
DENG Yuanfang, QIU Ling, HUANG Hui, et al. Effects of enzymatic pretreatment straw wastes on its characteristics of anaerobic digestion for biogas production[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2015, 46(6): 201–206. (in Chinese)
- 24 杜静, 陈广银, 黄红英, 等. 秸秆批式和半连续式发酵物料浓度对沼气产率的影响[J]. *农业工程学报*, 2015, 31(15): 201–207.
DU Jing, CHEN Guangyin, Huang Hongying, et al. Effect of fermenting material concentration on biogas yield in batch and continuous biogas fermentation with straws[J]. *Transactions of the CSAE*, 2015, 31(15): 201–207. (in Chinese)
- 25 SCHINK B. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation[J]. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, 1997, 61(2): 262–280.
- 26 卢艳娟, 尤宇嘉. 沼液回流对厌氧沼气工程的影响[J]. *中国沼气*, 2015, 33(3): 66–68.
LU Yanjuan, YOU Yujia. Influence of biogas slurry reflux on anaerobic biogas project[J]. *China Biogas*, 2015, 33(3): 66–68. (in Chinese)
- 27 于美玲, 谷士艳, 于洋, 等. 立式连续干发酵装置的设计与产气特性[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(7): 194–199.
YU Meiling, GU Shiyang, YU Yang, et al. Design and biogas production characteristics of vertical continuous dry fermentation equipment[J]. *Transactions of the CSAE*, 2016, 32(7): 194–199. (in Chinese)
- 28 PULLAMMANAPPALLIL P C, CHYNOWETH D P, LYBERATOS G, et al. Stable performance of anaerobic digestion in the presence of a high concentration of propionic acid[J]. *Bioresource Technology*, 2001, 78(2): 165–169.
- 29 ANGSAANA R, WARINTHOM S, ANNOP N, et al. Combination effect of pH and acetate on enzymatic cellulose hydrolysis[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21(7): 965–970.
- 30 SIEGERT I, BANKS C. The effect of volatile fatty acid additions on the anaerobic digestion of cellulose and glucose in batch reactors[J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40(11): 3412–3418.
- 31 李红丽, 曹霏霏, 王岩. 挥发性脂肪酸对厌氧干式发酵产甲烷的影响[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(6): 2572–2578.
LI Hongli, CAO Feifei, WANG Yan. Effect of volatile fatty acids on methane production of dry anaerobic digestion[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, 8(6): 2572–2578. (in Chinese)
- 32 HAO L P, LV F, HE P J, et al. Predominant contribution of syntrophic acetate oxidation to thermophilic methane formation at high acetate concentrations[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 45(2): 508–513.
- 33 ZINDER S H, KOCH M. Non-aceticlastic methanogenesis from acetate: acetate oxidation by a thermophilic syntrophic coculture [J]. *Archives of Microbiology*, 1984, 138(3): 263–272.
- 34 DOGAN T, INCE O, OZ N A, et al. Inhibition of volatile fatty acid production in granular sludge from a UASB reactor[J]. *Journal of Environmental Science & Health, Part A Toxic/hazardous Substances & Environmental Engineering*, 2005, 40(3): 633–644.
- 35 CHEN Y, CHENG J J, CREAMER K S. Inhibition of anaerobic digestion process: a review[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(10): 4044–4064.
- 36 HU Z H, YU H Q. Anaerobic digestion of cattail by rumen cultures[J]. *Waste Management*, 2006, 26(11): 1222–1228.
- 37 YENIGUN O, DEMIREL B. Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review[J]. *Process Biochemistry*, 2013, 48(5–6): 901–911.
- 38 OMIL F, MENDEZ R, LEMA J M. Anaerobic treatment of saline wastewaters under high sulphide and ammonia content[J]. *Bioresource Technology*, 1995, 54(3): 269–278.
- 39 GAO S, ZHAO M, CHEN Y, et al. Tolerance response to in situ ammonia stress in a pilot-scale anaerobic digestion reactor for alleviating ammonia inhibition[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 198: 372–379.
- 40 GU Y, CHEN X, LIU Z, et al. Effect of inoculum sources on the anaerobic digestion of rice straw[J]. *Bioresource Technology*, 2014, 158: 149–155.
- 41 SHAKERI YEKTA S, GONSIOR M, SCHMITT-KOPPLIN P, et al. Characterization of dissolved organic matter in full scale continuous stirred tank biogas reactors using ultrahigh resolution mass spectrometry: a qualitative overview[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(22): 12711–12719.

- 6 曹丽英. 新型锤片式粉碎机物料分离特性的模拟与测试分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010.
CAO Liying. Measuring and simulating analysis on material-sieving properties for a new hammer mill [D]. Huhhot: Inner Mongolia University of Science and Technology, 2010. (in Chinese)
- 7 老大中. 变分法基础[M]. 北京: 国防工业出版社, 2004: 77.
- 8 汪建新, 张广义, 曹丽英. 新型锤片式饲料粉碎机分离流道内物料运动规律[J]. 农业工程学报, 2013, 29(9): 18–23.
WANG Jianxin, ZHANG Guangyi, CAO Liying. Research of materials motion law in separation flow of new type hammer feed grinder [J]. Transactions of the CSAE, 2013, 29(9): 18–23. (in Chinese)
- 9 葛研军, 姜玉龙, 肖奇, 等. 笼型转子异步磁力耦合器的温度场研究[J]. 机械工程与技术, 2015, 4(1): 1–8.
GE Yanjun, JIANG Yulong, XIAO Qi, et al. Research on the temperature field of asynchronous magnetic coupling [J]. Mechanical Engineering and Technology, 2015, 4(1): 1–8. (in Chinese)
- 10 龚俊, 宋永奇, 郭润兰. 一种新型湍流超细粉碎机流场的数值模拟[J]. 现代制造工程, 2006(11): 77–79.
GONG Jun, SONG Yongqi, GUO Runlan. Numerical simulation of flow on a new model of comminuting mill [J]. Modern Manufacturing Engineering, 2006(11): 77–79. (in Chinese)
- 11 李文华, 苏明军. 常用湍流模型及其在 FLUENT 软件中的应用[J]. 水泵技术, 2006(4): 39–41.
LI Wenhua, SU Mingjun. Turbulence model in common use and it's application in the FLUENT software [J]. Pump Technology, 2006(4): 39–41. (in Chinese)
- 12 孙晨, 陈凌珊, 汤晨旭. 气固两相流模型在流场分析中的研究进展[J]. 上海工程技术大学学报, 2011, 25(1): 49–53.
SUN Chen, CHEN Lingshan, TANG Chenxu. Study and development of gas-solid two-phase flow model in flow field analysis [J]. Journal of Shanghai University of Engineering Science, 2011, 25(1): 49–53. (in Chinese)
- 13 孙洪斌. 提高锤片式饲料粉碎机工作效率方法的研究[D]. 包头: 内蒙古科技大学, 2013.
SUN Hongbin. Study and research on improve the work efficiency of the feed hammer mill [D]. Baotou: Inner Mongolia University of Science and Technology, 2013. (in Chinese)
- 14 帅群. 小型提升管气固两相流冷模实验及数值模拟研究[D]. 北京: 中国石油大学, 2007.
SHUAI Qun. Experimental measurement and numerical simulation of the gas-solid two-phase flow in mini-riser reactor [D]. Beijing: China University of Petroleum, 2007. (in Chinese)
- 15 胡桂荣, 李意民, 贾晓娜. 离心风机内气固两相流的值模拟[J]. 煤矿机械, 2008(3): 37–39.
HU Guirong, LI Yimin, JIA Xiaona. Simulation of gas-solid two-phase flow of centrifugal fan [J]. Coal Mine Machinery, 2008(3): 37–39. (in Chinese)
- 16 陈越南, 杨晓清. 稀相气固两相流动的数值求解[J]. 浙江大学学报: 自然科学版, 1988(3): 86–94.
CHEN Yuenan, YANG Xiaoqing. Computation of dilute gas-particle flows based on SIMPLE method [J]. Journal of Zhejiang University: Natural Science, 1988(3): 86–94. (in Chinese)
- 17 蒙伟安, 穆塔里夫·阿赫迈德, 严荣波. T 型管流场混合多相流与欧拉多相流模型的数值研究[J]. 机械设计与制造, 2012(2): 27–29.
MENG Weian, MUTEELLIP Ahmat, YAN Rongbo. Numerical research on flow field of T-tube by mix-multiphase flow model and euler-multiphase flow model [J]. Machinery Design & Manufacture, 2012(2): 27–29. (in Chinese)

(上接第 206 页)

- 42 YAMASHITA Y, JAFFE R. Characterizing the interactions between trace metals and dissolved organic matter using excitation-emission matrix and parallel factor analysis[J]. Environmental Science & Technology, 2008, 42(19): 7374–7379.
- 43 汪玲玲. 三维荧光光谱技术在溶解性有机物研究中的应用[J]. 环境科学与管理, 2015, 40(1): 153–155.
WANG Lingling. Application of three dimensional excitation-emission fluorescence technique in dissolved organic matter analysis [J]. Environmental Science and Management, 2015, 40(1): 153–155. (in Chinese)
- 44 李卫华, 盛国平, 陆锐, 等. 厌氧产甲烷受抑制过程的三维荧光光谱解析[J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(8): 2131–2315.
LI Weihua, SHENG Guoping, LU Rui, et al. Analysis of the EEM fluorescence spectra of effluent from anaerobic methane reactor during the Inhibition process[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2011, 31(8): 2131–2315. (in Chinese)
- 45 LI X, DAI X, TAKAHASHI J, et al. New insight into chemical changes of dissolved organic matter during anaerobic digestion of dewatered sewage sludge using EEM-PARAFAC and two-dimensional FTIR correlation spectroscopy[J]. Bioresource Technology, 2014, 159: 412–420.
- 46 BLODAU C, DEPPE M. Humic acid addition lowers methane release in peats of the Mer Bleue bog, Canada[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 52: 96–98.
- 47 LIU K, CHEN Y, XIAO N, et al. Effect of humic acids with different characteristics on fermentative short-chain fatty acids production from waste activated sludge[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(8): 4929–4936.