

DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2012.11.028

菌种添加量对生物预处理小麦秸秆厌氧发酵的影响*

刘荣厚 吴晋锴 武丽娟

(上海交通大学农业与生物学院, 上海 200240)

【摘要】 对小麦秸秆进行了氨-生物联合预处理,在实验室自制的小型厌氧发酵装置上,对预处理后的小麦秸秆进行了厌氧发酵制取沼气试验,探讨了氨-生物联合预处理中,菌种的添加量对小麦秸秆厌氧发酵产沼气的影 响。结果表明,在氨预处理尿素溶液质量浓度为 35 g/L,生物预处理 pH 值为 4,黄孢原毛平革菌和里氏木霉的添加比例为 1:1(数量级为 10^9)的条件下,小麦秸秆厌氧发酵过程中沼气总产气量最大,为 7 968 mL,较空白组提高了 23.11%。发酵过程终了 pH 值、VFA 和甲烷的变化均在正常的范围内,甲烷最高体积分数为 51.33%,较空白组提高了 6.01%,整个发酵过程历时 23 d。

关键词: 小麦秸秆 厌氧发酵 氨-生物联合预处理 沼气 菌种添加量

中图分类号: TK6; S216.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2012)11-0147-05

Effects of Supplement Dose of Microorganism in Biological Pretreatment of Wheat Straw on Its Characteristics of Anaerobic Digestion for Biogas Production

Liu Ronghou Wu Jinkai Wu Lijuan

(School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract

Co-pretreatment of wheat straw by urea and microorganism was conducted. The effects of supplement dose of microorganism in biological pretreatment of wheat straw on its anaerobic digestion for biogas production were investigated by using a self-made anaerobic digestion device with pretreated wheat straw as raw materials. Results showed that the total yield of biogas reached the maximum of 7 968 mL, which was 23.11% higher than the control, when the urea concentration, pH value of biological pretreatment and ratio of *Phanerochaete chrysosporium* to *Trichoderma reesei* added into the wheat straw were 35 g/L, 4, and 1:1, respectively. The values of VFA, CH₄ and pH value were located in normal range. The maximum CH₄ content was 51.33%, which was 6.01% higher than that of control. The fermentation time was shortened to 23 d during the whole experiment.

Key words Wheat straw, Anaerobic digestion, Urea and biological co-pretreatment, Biogas, Supplement dose of microorganism

引言

据统计,2010年中国秸秆资源量为6.4亿t,主要以水稻秸、玉米秸和小麦秸为主,这些秸秆资源量占秸秆总资源量的75.6%,其中,小麦秸秆资源量占总资源量的18.31%。面对数量如此巨大的秸

秆,如何有效的、合理的利用是亟待解决的问题。

小麦秸秆主要用于肥料、原料、饲料、燃料、食用菌基质方面。研究人员对小麦秸秆的应用进行了有益的探讨^[1-5]。

小麦秸秆的主要成分为纤维素、半纤维素和木质素这3种形式的聚合物。由于这3种物质结合在

收稿日期: 2011-12-08 修回日期: 2011-12-20

*上海市重大科技攻关资助项目(08DZ1900405)和公益性行业(农业)科研专项经费资助项目(201003063-09)

作者简介: 刘荣厚,教授,博士生导师,主要从事可再生能源与环境工程研究,E-mail: liurhou@sjtu.edu.cn

一起,使得木质纤维素形成致密不透水的晶形结构,导致小麦秸秆难于被微生物降解利用^[6]。如何通过对小麦秸秆进行预处理,使其中的纤维素、半纤维素和木质素分散开来,提高小麦秸秆的可降解率是小麦秸秆利用的一个重要瓶颈。Yebo Li 等利用 NaOH 溶液处理玉米谷壳,并用处理后的谷壳进行厌氧发酵,得出 NaOH 质量分数为 5% 条件下获得最大的产气量为 372.4 L/kg VS^[7]。在国内,李秀金等利用不同质量分数的氨水对稻草秸秆进行预处理,将预处理后的秸秆进行厌氧发酵,结果表明,在质量分数为 4% NH₃ 预处理,负荷率为 65 g/L 条件下,消化 70 d,累积产气量为 37 010 mL,最高 CH₄ 体积分数为 75%^[8]。目前,秸秆难以降解,发酵周期长是限制其用于沼气发酵的主要原因之一。本文将氨预处理和霉预处理结合起来,探索小麦秸秆氨和霉联合预处理中,不同菌种的添加量对小麦秸秆厌氧发酵过程中的挥发性脂肪酸(VFA)、pH 值、甲烷含量以及产气量的影响。通过选择合适霉的添加量,从而达到提高产气量,缩短反应周期的目的,以为小麦秸秆资源化利用提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验装置

厌氧发酵试验装置示意图如图 1 所示。试验装

置为自行设计的厌氧消化装置^[9],主要由水浴恒温水浴振荡器、发酵瓶、集气瓶、集水瓶等部分组成。其工作过程为:发酵原料加入接种物并调节 pH 值之后,注入发酵瓶密闭,置于恒温水浴振荡器中。发酵原料在发酵瓶内进行厌氧发酵,消化过程产生的沼气通过导气管输入装有饱和食盐水的密闭集气瓶中,以排水法收集,每日定时通过测定集水瓶中食盐水体得到日产气量。

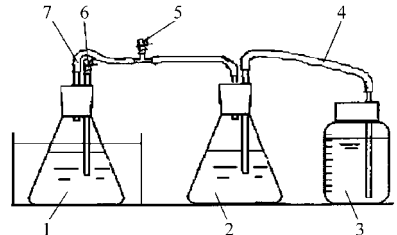


图 1 厌氧发酵试验装置示意图

Fig. 1 Sketch of anaerobic fermentation equipment

1. 发酵瓶 2. 集气瓶 3. 集水瓶 4. 导水管 5. 取气口 6. 取样口 7. 导气管

1.2 试验材料

试验所用小麦秸秆取自上海交通大学附近农田。将收集后的小麦秸秆进行风干,风干后用刀切至 2.5~3.0 cm,切好后的秸秆放置于通风干燥处待用。小麦秸秆特性如表 1 所示(O 的含量通过差值求得)。

表 1 小麦秸秆各成分质量分数

Tab. 1 Characteristics of wheat straw

成分	N	C	H	O	总固体	挥发性 固体	水分	灰分	固定碳	纤维素	半纤维素	木质素
质量分数	0.30	43.12	5.39	51.19	91.83	83.21	8.17	8.62	7.54	33.15	26.5	18.31

1.3 接种物

试验所用污泥取自上海市崇明岛前卫村,以猪粪为发酵原料正常发酵的沼气系统的发酵残余物,其总固体质量分数为 10.47%,含水率为 89.53%。

1.4 培养基

马铃薯固体培养基(PDA 培养基):取去皮马铃薯 200 g,切成小块,加水 1 000 mL 煮沸 30 min,利用 3 层滤布滤去马铃薯块,用蒸馏水将滤液补足至 1 000 mL,加入葡萄糖 20 g,溶解后分装到 5 个三角瓶中(200 mL/瓶),每瓶加入琼脂粉 3 g。

马铃薯液体培养基:取去皮马铃薯 200 g,切成小块,加水 1 000 mL 煮沸 30 min,利用 3 层滤布滤去马铃薯块,用蒸馏水将滤液补足至 1 000 mL,加葡萄糖 20 g,溶解后分装到 5 个三角瓶中(200 mL/瓶)。

1.5 菌种

采用白腐真菌典型菌种——黄孢原毛平革菌

(*Phanerochaete chrysosporium*) 和木霉典型菌种——里氏木霉(*Trichoderma reesei*),两个菌种均购自中国工业微生物保藏中心。

1.6 试验方法

1.6.1 预处理方法

(1)准确称取 50 g 的小麦秸秆于塑料桶内,配置 35 g/L 的尿素(其分子式为(NH₂)₂CO)溶液。以 50 g 秸秆与 200 mL 尿素溶液的比率加入到塑料桶内,搅拌均匀后,用塑料薄膜密封,放置在 30℃ 的恒温箱内进行氨预处理,预处理时间为 25 d。

(2)PDA 固体培养基上分别接种黄孢原毛平革菌和里氏木霉,在 27℃ 条件下培养 6 d,用直径为 1 cm 的打孔器打出 3 块,接种到 1 L 马铃薯液体培养基中,在 27℃、150 r/min 的恒温摇床内进行培养。将氨预处理过后的小麦秸秆用 5 mol/L 的 HCl 液调节 pH 值至 4。通过之前预试验可知,黄孢原毛平革

菌和里氏木霉在培养 6 d 后菌悬液中孢子的浓度可达到试验需求, 经过菌落计数后, 菌种添加量选 4 个水平, 同时设置空白试验, 共 5 个试验组。试验组 1~4, 黄孢原毛平革菌孢子数与里氏木霉孢子数分别为 10^6 个、 10^6 个、 10^7 个、 10^7 个、 10^8 个、 10^8 个、 10^9 个、 10^9 个, 试验组 5 为空白试验组, 是不添加任何菌种的试验组。调配好后放置在塑料桶内, 再添加 5 g 葡萄糖, 方便微生物的启动, 用塑料薄膜密封后放入 27℃ 的恒温箱内, 放置 5 d, 5 d 后将样品放入高温灭菌锅内, 在 121℃、20 min 的条件下进行灭菌。试验重复 2 次。

1.6.2 发酵试验过程

试验以小麦秸秆为原料, 对其进行氨-生物联合处理, 探讨生物处理中不同菌种的添加量对厌氧发酵的影响。发酵试验过程如下: 将预处理后的秸秆采用一次投料的方式在厌氧发酵试验装置上进行厌氧发酵。设置接种物比例为 30%, 添加 1 g 活性炭粉, 加入相应质量的水, 最终发酵液总质量 800 g。利用 2 mol/L 的 HCl 溶液调节发酵液 pH 值为 7.0。设置水浴摇床条件为 38℃, 100 r/min。每天测定各试验组的排出饱和食盐水的体积, 每 5 天测定一次各试验组的挥发性脂肪酸 (VFA) 的含量、pH 值、气体组成成分。试验以 1 周内无气体产生判断为反应的结束。试验重复 2 次。

1.6.3 分析方法

总固体含量 (TS): 干燥法 (真空干燥箱中 105℃ 下干燥 4~6 h); 挥发性有机酸浓度 (VFA): 分光光度法 (采用发酵液经过 10 min, 6 000 r/min 离心后测定); pH 值: 通过 pH 计测定; 产气量: 采用排水取气法测得; 气体成分: 气相色谱仪。

2 结果与分析

2.1 不同菌种添加量对日产气量的影响

图 2 为不同菌种的添加量对日产气量的影响曲线。从图 2 中可以看出, 5 个试验组的日产气量均呈现先升高后降低的规律。各试验组在发酵第 9 天时, 均达到该组试验日产气量的最高值。试验组 4 (黄孢原毛平革菌孢子数、里氏木霉孢子数均为 10^9 个) 从发酵第 1 天日产气便开始上升, 到第 9 天时达到顶峰 960 mL, 在顶峰附近维持了 3~4 d 后, 日产气量开始下降, 最终发酵到第 23 天后结束。试验组 1、2、3、5 的最高日产气量分别为 710、720、830、600 mL。经过氨-生物联合处理后的小麦秸秆, 纤维素和半纤维素被大量分解, 致使在进行沼气发酵的过程中, 产酸菌和产甲烷菌的底物充分, 发酵代谢快, 导致日产气量逐渐上升, 随着底物浓度的不断减

少, 产酸菌和产甲烷菌分解底物的速度趋于平稳并随后逐渐降低, 产气量也逐渐降低, 最后到停止产气^[10]。从不同菌种的添加量对最高日产气量的影响上看, 试验组 4 的最高日产气量最大, 为 960 mL。

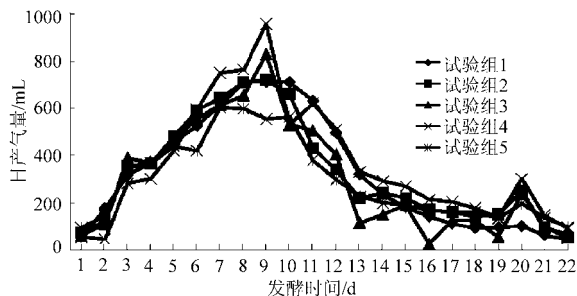


图 2 不同菌种添加量对日产气量的影响曲线
Fig. 2 Effect of addition of different microorganisms on daily biogas production

2.2 不同菌种添加量对发酵液中 pH 值的影响

图 3 为不同菌种的添加量对发酵液中 pH 值的影响曲线。沼气发酵过程中微生物所需的 pH 值必须在 4.0~8.5 之间, 最适 pH 值为 7.0^[11]。从图 3 中可以看出, 在厌氧发酵的过程中, 各试验组发酵液 pH 值变化趋势基本相同, 呈逐步上升的趋势, 试验组 2、3、4 和空白试验组 pH 值维持在 7.8 附近。试验组 1 的 pH 值在发酵初期偏低, 为 7.0, 最终 pH 值维持在 7.4 附近。pH 值的持续上升表明发酵液中的产甲烷菌持续利用底物进行发酵代谢, 产甲烷菌的活性一直处于较高的状态, 这样有利于缩短发酵周期。Lee 等人认为, 在厌氧反应器中, 微生物高效率的产甲烷 pH 值为 6.5~8.2 之间, 而 pH 值为 5.5~6.5 是酸化和水解发生的区间^[12]。

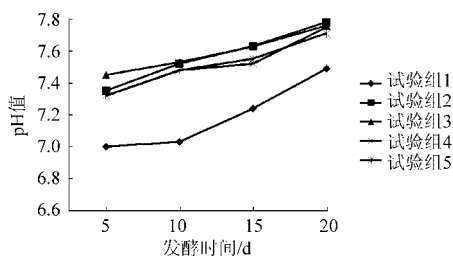


图 3 不同菌种添加量对发酵液中 pH 值的影响曲线
Fig. 3 Effect of addition of different microorganisms on pH value of fermented sludge of anaerobic digestion

2.3 不同菌种添加量对 VFA 质量浓度的影响

图 4 为不同菌种的添加量对 VFA 质量浓度的影响曲线。从图 4 中可以看出, 各试验组 VFA 质量浓度的变化均呈先升高后下降的趋势。试验组 3 在发酵初始时, VFA 质量浓度很低, 为 435.47 mg/L。随着反应的进行 VFA 的质量浓度迅速提升, 在发酵第 10 天时达到最大值 4 297.3 mg/L 后, 随着日产气量的下降, VFA 也开始下降, 最终发酵液 VFA 的质

量浓度为53.02 mg/L。有研究表明,在厌氧发酵的初期,微生物的活动中主要以产酸菌的活动为主,这些产酸菌将底物降解为乙酸、丁酸、丙酸、乳酸等,在发酵进行的3~6 d内,VFA的质量浓度达到最大,随后有机酸的浓度逐渐下降。在厌氧发酵的过程中,产甲烷菌只能利用乙酸和氢气进行发酵产甲烷,而其他形式的酸,例如丁酸等需要转化为乙酸后才能被产甲烷菌所利用,最终发酵代谢为二氧化碳和甲烷^[13-14]。

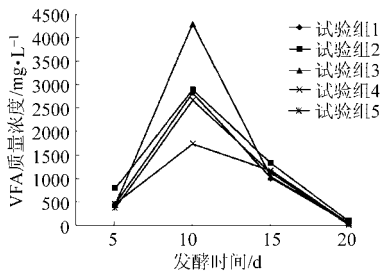


图4 不同菌种添加量对VFA质量浓度的影响曲线

Fig. 4 Effect of addition of different microorganisms on VFA

2.4 不同菌种添加量对甲烷含量的影响

图5为不同菌种的添加量对甲烷含量的影响曲线。从图5中可以看出,各个试验组产气的甲烷体积分数均在正常的范围内,即40.72%~51.33%。试验组1~5的甲烷含量变化均呈现出一个缓慢升高后微降的过程。试验组1在发酵初期,前10天内甲烷含量最低,随后,甲烷含量逐渐升高,在发酵第15天时,甲烷的体积分数达到最高,为51.33%,相对于空白试验组提高了6.01%,随后下降,最终维持在48%附近。之所以会出现这样的变化,原因在

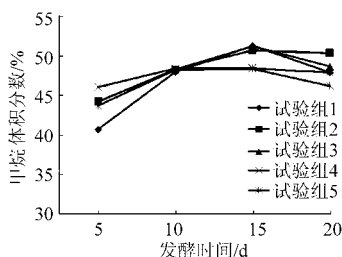


图5 不同菌种添加量对甲烷含量的影响曲线

Fig. 5 Effect of addition of different microorganisms of wheat straw on content of CH₄

于,在发酵的初始,产酸菌的活性要比产甲烷菌的活性大,pH值偏低,甲烷的产量较小,随着产甲烷菌的活性逐渐增强,甲烷的产率也逐渐增大,最后趋于稳定^[15]。

2.5 不同菌种添加量对总产气量的影响

图6为不同菌种的添加量对总产气量的影响。从图6中可以看出,各预处理的试验组总产气量上均高于空白试验组,但试验组1、2、3(接种量为10⁶、10⁷、10⁸的试验组)的总产气量相对于空白试验组提高不是特别显著,而试验组4的总产气量比空白试验组提高比较显著,总产气量为7968 mL,相对于空白试验组提高了23.11%。原因可能是在接种量为10⁹的试验组内,由于接种量比较多,对小麦秸秆的生物处理效果显著,使小麦秸秆的形态发生变化,对接下来的发酵过程产生促进作用^[16]。

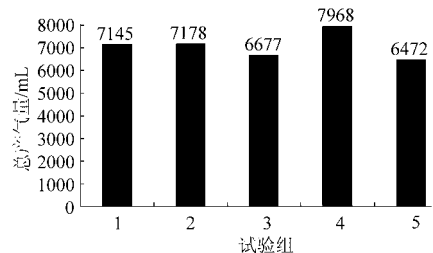


图6 不同菌种添加量对总产气量的影响

Fig. 6 Effect of addition of different microorganisms of wheat straw on total biogas production

3 结论

(1)在预处理尿素溶液为35 g/L的质量浓度下,生物预处理pH值为4,黄孢原毛平革菌和里氏木霉的添加均为10⁹的小麦秸秆厌氧发酵产沼气总产气量最大,为7968 mL,较空白试验组提高了23.11%。

(2)在黄孢原毛平革菌和里氏木霉的添加量均为10⁶的小麦秸秆厌氧发酵的第10天时,甲烷体积分数达到最高,为51.33%,相对于空白试验组提高了6.01%。

(3)氨-生物联合处理后的小麦秸秆厌氧发酵时间大为缩短,仅历时23 d。

参 考 文 献

- Daljit Singh Arora, Rakesh Kumar Sharma, Priyanka Chandra. Biodelignification of wheat straw and its effect on in vitro digestibility and antioxidant properties[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65(2):352~358.
- Zhang Ruihong, Li Xiujin, Fadel J G. Oyster mushroom cultivation with rice and wheat straw [J]. Bioresource Technology, 2002, 82(3):277~284.
- Cui Zhifang, Shi Jian, Li Yebo. Solid-state anaerobic digestion of spent wheat straw from horse stall [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(20):9432~9437.
- Razif Harun, Michael K. Danquah. Influence of acid pre-treatment on microalgal biomass for bioethanol production [J]. Process Biochemistry, 2011, 46(1):304~309.

- 5 Mario Lanzetta, Colomba Di Blasi. Pyrolysis kinetics of wheat and corn straw [J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 1998, 44(2): 181 ~ 192.
- 6 Prasad S, Anoop Singh, Joshi H C, et al. Ethanol as an alternative fuel from agricultural, industrial and urban residues [J]. Resources Conservation and Recycling, 2007, 50(1): 1 ~ 39.
- 7 Zhu Jiying, Wan Caixia, Li Yebo. Enhanced solid-state anaerobic digestion of corn stover by alkaline pretreatment [J]. Bioresource Technology, 2010, 101(19): 7 523 ~ 7 528.
- 8 马淑勍, 朱宝宁, 李秀金, 等. 氨化预处理对稻草厌氧消化产气性能影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(6): 294 ~ 299.
Ma Shuqing, Zhu Baoning, Li Xiujin, et al. Effects of ammoniation pretreatment on anaerobic digestion performance of rice straw [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 27(6): 294 ~ 299. (in Chinese)
- 9 Wu Lijuan, Hao Yuanyuan, Sun Chen, et al. Effect of different solid concentration on biogas yield and composition during anaerobic fermentation process [J]. Int. J. Global Energy Issues, 2009, 31(3 ~ 4): 262 ~ 271, 240 ~ 250.
- 10 覃国栋, 刘荣厚, 孙辰. NaOH 预处理对水稻秸秆沼气发酵的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(增刊 1): 59 ~ 63.
Qin Guodong, Liu Ronghou, Sun Chen. Effects of different concentrations of NaOH pretreatment on anaerobic digestion of rice straw for biogas production [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 27(Supp. 1): 59 ~ 63. (in Chinese)
- 11 刘荣厚, 王远远, 孙辰. 温度对蔬菜废弃物沼气发酵产气特性的影响[J]. 农业机械学报, 2009, 40(9): 116 ~ 121.
Liu Ronghou, Wang Yuanyuan, Sun Chen. Effects of temperature on anaerobic fermentation for biogas production from cabbage leaves [J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2009, 40(9): 116 ~ 121. (in Chinese)
- 12 Lee D H, Behera S K, Kim J, et al. Methane production potential of leachate generated from Korean food waste recycling facilities: a lab scale study [J]. Waste Management, 2009, 29(2): 876 ~ 882.
- 13 Komemoto K, Lim Y G, Nagao N. Effect of temperature on VFA's and biogas production in anaerobic solubilization of food waste [J]. Waste Management, 2009, 29(2): 2 950 ~ 2 955.
- 14 Mata-Alvarez, Mata-Alvarez J. Biomethanization of the organic fraction of a municipal solid wastes [M]. London: IWA Publishing, 2003.
- 15 Feijoo G, Mendez R, Lema J M. Sodium inhibition in the anaerobic digestion process: antagonism and adaptation phenomena [J]. Enzyme Microb. Technol., 1995, 17(2): 180 ~ 188.
- 16 Jin Seop Bak, Myoung Dong Kim, In-Geol Choi, et al. Biological pretreatment of rice straw by fermenting with *Dichomitus squaleus* [J]. New Biotechnology, 2010, 27(4): 424 ~ 434.

(上接第 141 页)

- 8 刘超, 汤方平, 周济人, 等. 大型立式轴流泵装置的性能和稳定分析[J]. 中国给水排水, 2003, 19(3): 69 ~ 71.
Liu Chao, Tang Fangping, Zhou Jiren, et al. Analysis on characteristics and stability of large-scale vertical axial flow pump system [J]. China Water & Wastewater, 2003, 19(3): 69 ~ 71. (in Chinese)
- 9 成立, 吴璐璐, 刘超. 大型轴流泵水力不稳定区研究[J]. 灌溉排水学报, 2004, 29(2): 102 ~ 104.
Cheng Li, Wu Lulu, Liu Chao. Hydraulic unstable operating region of large scale axial flow pump [J]. Journal of Irrigation and Drainage, 2004, 29(2): 102 ~ 104. (in Chinese)
- 10 杨华, 孙丹丹, 汤方平, 等. 轴流泵非稳定工况下叶轮进口流场实验研究[J]. 排灌机械工程学报, 2011, 29(5): 406 ~ 410.
Yang Hua, Sun Dandan, Tang Fangping, et al. Experiment research on inlet flow field for axial-flow pump at unsteady operating condition [J]. Journal of Drainage and Irrigation Machinery Engineering, 2011, 29(5): 406 ~ 410. (in Chinese)
- 11 汤方平. 喷水推进轴流泵设计与紊流数值分析[D]. 上海: 上海交通大学, 2006: 41 ~ 47.
Tang Fangping. Design and turbulence numerical analysis of water jet axial-flow pump [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2006: 41 ~ 47. (in Chinese)
- 12 成立, 刘超, 汤方平, 等. 基于 RNG 紊流模型的立式轴流泵站三维流动数值模拟及性能预测[J]. 机械工程学报, 2009, 45(3): 252 ~ 257.
Cheng Li, Liu Chao, Tang Fangping, et al. 3D numerical simulation and performance predication of vertical axial flow pumping station by RNG turbulent model [J]. Journal of Mechanical Engineering, 2009, 45(3): 252 ~ 257. (in Chinese)