

香菇废弃菌棒厌氧发酵产气规律正交试验*

邓媛方¹ 邱 凌²

(1. 淮阴师范学院江苏省生物质能与酶技术重点实验室, 淮安 223300;
2. 西北农林科技大学机械与电子工程学院, 陕西杨凌 712100)

摘要:为探索高碳原料厌氧发酵产气特性,在(35±1)℃条件下,采用批式厌氧消化工艺对香菇废弃菌棒进行厌氧发酵试验。采用L₉(3³)正交试验设计,研究预处理天数、接种物质量分数和料液质量分数对香菇废弃菌棒厌氧发酵产沼气的影 响,得出高碳物料厌氧发酵最佳工艺组合。结果表明:高碳物料并非厌氧发酵产沼气的最佳原料,但经适当预处理后其产气性能有较大提高,TS产气率达0.16 L/g,参比对照组增长128.57%。各因素对香菇废弃菌棒厌氧发酵产沼气影响的主次顺序为:预处理天数(极显著)、料液质量分数(极显著)、接种物质量分数(不显著)。同时应用多元回归理论建立多元回归模型,有助于预测香菇废弃菌棒不同发酵条件组合下的产气量。

关键词:香菇废弃菌棒 沼气 厌氧发酵 正交试验 多元回归分析

中图分类号: X712 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)03-0174-05

引言

中国食用菌产量居全球之首。按每100 kg培养料产后余60 kg废弃菌棒计算,全国每年废弃菌棒产量至少可达700万t^[1]。目前对废弃菌棒的利用,除少量经再加工,作为畜禽饲料外^[2],大部分进行燃烧,不仅热能释放量低而且对周边环境造成污染,浪费了宝贵的生物质资源。

食用菌菌棒属富碳原料,内含大量菌丝体、蛋白质及Fe、Ca、Zn、Mg等微量元素。菌棒经菌丝分解和多种微生物的联合发酵作用后,粗纤维、木质素含量分别降解50%和30%,同时产生多种糖类、有机酸、酶和生物活性物质,为微生物生长提供了理想环境^[3]。经菌丝分解过的香菇菌棒,纤维的结晶结构呈疏松多孔状,更易被微生物利用,厌氧发酵不易出现结壳现象^[4]。传统理论认为,高碳物料可通过添加尿素等补充无机氮源,调节碳氮比^[5-7]。但通过对对照组试验证明未经预处理的香菇废弃菌棒产气效果不佳,如何通过适合的预处理方法提高高碳物料的产气效率成为亟需解决的问题。

本文针对香菇废弃菌棒物料特性,采用沼液对原料进行浸泡预处理后厌氧发酵,促进香菇废弃菌棒更好的腐解,提高甲烷产量^[8]。为预测香菇废弃菌棒厌氧发酵产沼气及蘑菇菌棒的资源化合理利用

提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 与处理

香菇废弃菌棒取自杨凌示范区蘑菇种植基地,自然风干,粉碎机粉碎,过筛(2目),粒径小于等于0.8 cm。水解酸化阶段在非密闭环境中进行:将2 kg原料置于敞口塑料桶内,与1 kg沼液混合均匀,不做密封处理盖上桶盖,在日平均气温30℃情况下,预处理时间为1、3、5 d;产甲烷阶段在厌氧发酵罐中进行:发酵料液质量分数为8%、10%、12%,装料完毕密封罐口,保证环境绝氧。接种物取自实验室自行驯化的厌氧发酵污泥,pH值7.2。原料物料组成及接种物理化特性见表1。

表1 发酵原料及接种物理化特性					
Tab.1 Physical and chemical characteristics of raw material and inoculation					
物料	木屑质量 分数/%	麦麸质量 分数/%	总固体质量 分数/%	碳氮比	MgSO ₄
香菇废弃菌棒	80	20	76.21	80:1	微量
接种物			10	20:1	

1.2 试验装置

水压式厌氧发酵装置^[9]主要由发酵瓶(2 500 mL密封罐)、集气瓶(1 000 mL锥形瓶)、集水瓶、加热

收稿日期: 2013-04-15 修回日期: 2013-05-11

* 国家农村沼气科技支撑项目(2010-120)和江苏省生物质能与酶技术重点实验室资助项目(JSBEET1211、JSBEET1213)

作者简介: 邓媛方,助教,主要从事生物质能源研究,E-mail: dengyf@hytc.edu.cn

通讯作者: 邱凌,教授,博士生导师,主要从事生物质能源与循环农业研究,E-mail: ql2871@126.com

线(功率 800 W)、温度传感器 RA-45 型(上海华辰)、温度调节仪 WMZK-01 型(上海华辰)、恒温水箱等组成。

1.3 试验设计

为探索高碳物料厌氧发酵产气特性,在(35±1)℃条件下,采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计,探索预处理天数、接种物质量分数和料液质量分数对香菇废弃菌棒厌氧发酵产气规律和特性,寻求香菇废弃菌棒厌氧发酵的最佳工艺组合,同时建立沼气产量多元回归模型。

试验自 2012 年 6 月 10 日开始至 2012 年 7 月 21 日结束,历时 42 d。正交试验因素选择基于前期单因素试验,见表 2。同时设置空白组(只添加接种物,不添加发酵原料)、对照组(未经预处理的香菇废弃菌棒,接种物质量分数 30%,料液质量分数 12%),每组试验重复 3 次,一次进料,发酵罐置于(35±1)℃恒温水浴内。7 d 内无气体产生试验终止。

表 2 因素水平表
Tab.2 Levels of factor

水平	因素		
	预处理	接种物质量	料液质量
	天数 A/d	分数 B/%	分数 C/%
1	1	20.0	8.0
2	3	30.0	10.0
3	5	40.0	12.0

1.4 检测方法

(1) 干物质(TS):(105±5)℃干燥箱中干燥后

- 称量。
- (2) 总碳(TOC):总有机碳分析仪(岛津 TOC 仪)。
- (3) 总氮(TN):凯氏定氮法。
- (4) 产气量:排水法收集气体,量筒测定其体积^[10]。
- (5) pH 值:PHS-3C 型 pH 计(上海精密科学仪器有限公司)。
- (6) TS 产气率

$$V_{TS} = \frac{V - V_0}{W + W_{TS}}$$

式中 V_{TS} ——TS 产气率 V ——累计产气量
 V_0 ——空白组累计产气量
 W ——原料质量 W_{TS} ——总固体含量

2 结果与分析

2.1 厌氧消化产气特性

香菇废弃菌棒厌氧发酵产气量变化见图 1。由图 1a 可知,对照组在启动后第 2 天便停止产气(停滞 7 d),产气周期共 28 d,总产气量 12.188 L,TS 产气率仅为 0.07 L/g。从物料组成分析,其木质素纤维素质量分数较高(木屑 80%,麦麸 20%),单独作为厌氧发酵原料启动缓慢^[5]。加之启动初期有机负荷较高,且发酵罐内尚未形成完全厌氧环境,抑制甲烷菌的生长繁殖,发酵罐内氧气的存在使产酸菌生长旺盛,造成中间产物 VFA 的积累,致使发酵料液 pH 值持续下降。pH 值过低对甲烷菌的生长繁殖继续起到抑制作用^[11]。

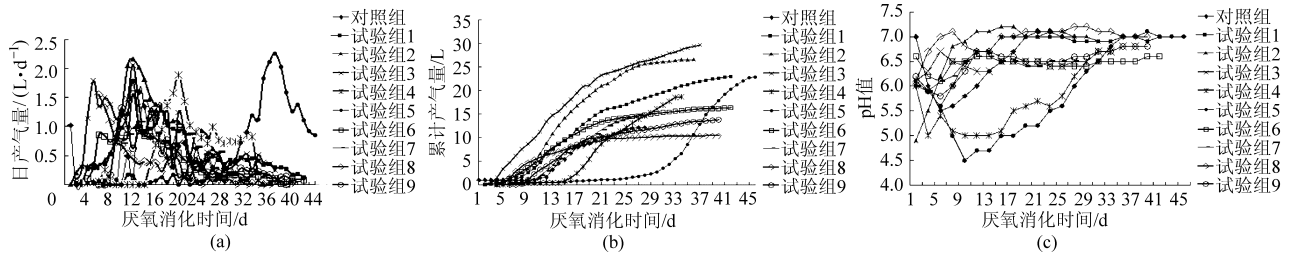


图 1 香菇废弃菌棒厌氧发酵各项指标变化

Fig.1 Each indices change of anaerobic digestion of shii-take cultivation waste

(a) 香菇菌棒厌氧发酵日产气量 (b) 香菇菌棒厌氧发酵累计产气量 (c) 香菇菌棒厌氧发酵 pH 值变化

试验组 3,在整个厌氧发酵周期内产气效果最佳,累计产气量为 29.640 L(图 1b)。共出现 2 个产气高峰(图 1a),峰值 2.376 L/d(第 12 天)和 1.783 L/d(第 21 天),自第 5 天至第 21 天日产气量一直维持在较高水平。初始 pH 值 6.1,24 h 后开始逐步回升(图 1c),依据 Zeikus 提出的厌氧消化四类群理论,说明沼气发酵进入酸性衰退阶段,此阶段由于大量有机酸的分解导致 pH 值上升^[12],为甲烷菌

创造了适宜的生长条件。甲烷菌可将乙酸中 72% 的甲基转换成甲烷^[13-14]。预处理 24 h 后,原料装罐密封,开始进入产甲烷阶段。控制适宜的预处理时间,可使香菇废弃菌棒充分水解和酸化,顺利进入产甲烷阶段。

由图 1a 可知,除试验组 5 外,其余试验组产气高峰均出现在厌氧发酵前中期。试验组 5 唯一峰值出现在第 37 天,日产气量 2.257 L/d。究其原因,试

验组 5 料液质量分数偏高 (12%) , 预处理时间相对较长 (3 d) , 水解酸化阶段有机酸大量积累造成启动初期负荷较重, 第 9 天 pH 值一度低至 4.5 (图 1c) , 随着罐内有机质不断被消耗, 耗氧微生物生命活动减缓, 厌氧环境形成, 加之有机酸的积累为甲烷菌提供了适宜的繁殖环境, 中后期甲烷菌作为主要菌群活性增强, 随着有机酸不断被利用转化, 中后期 pH 值开始回升, 直至产气结束调整至正常值范围 7.0, 本组试验再次证明产气高峰总是出现在 pH 值回升后^[15]。

试验组 8, 厌氧发酵第 1 天日产气量即达 1.550 L/d, 随着反应进程产气量逐渐降低, 再无峰值出现, 累计产气量 10.388 L, 说明该组试验已错过甲烷化的最佳时期。究其原因, 预处理天数过长 (5 d) , 耗氧微生物在分解有机物时消耗罐内大量溶解氧, 致使局部出现厌氧环境, 厌氧微生物开始生长繁殖并产生甲烷, 造成在正式进入厌氧发酵之前提前进入甲烷化阶段, 有机物溶出率开始下降, 直接影响产气率^[16]。

2.2 正交试验结果及方差分析

采用 $L_9(3^3)$ 正交设计, 对香菇废弃菌棒进行厌氧发酵试验, 见表 3。表中 $K_i (i = 1, 2, 3)$ 为某个因素 i 个水平下所有产气量之和。 K_{iavg} 表示对其水平取均值, $R_{avg} = K_{iavg(max)} - K_{iavg(min)}$, R_{avg} 越大, 说明该因素对产气量的影响越明显。通过对 R_{avg} 分析得出: 3 因素对产气量大小影响的主次关系为预处理天数、料液质量分数、接种物质量分数。

表 3 $L_9(3^3)$ 正交试验结果

Tab.3 Results of $L_9(3^3)$ orthogonal test						
试验号	A	B	C	累计产 气量/L	预测值 /L	残差 /L
1	1	1	1	22.915	22.721	0.194
2	1	2	2	26.531	26.228	0.303
3	1	3	3	29.640	29.735	-0.095
4	2	1	2	18.624	19.003	-0.379
5	2	2	3	22.870	22.51	0.360
6	2	3	1	16.355	17.14	-0.785
7	3	1	3	14.902	15.285	-0.383
8	3	2	1	10.388	9.915	0.473
9	3	3	2	13.734	13.422	0.312
空白组				0		
对照组				12.188		
K_1	79.09	56.44	49.66			
K_2	57.85	59.79	58.89			
K_3	39.02	59.73	67.41			
K_{1avg}	26.36	18.81	16.55			
K_{2avg}	19.28	19.93	19.63			
K_{3avg}	13.01	19.91	22.47			
R_{avg}	13.35	1.17	5.92			

通过极差分析直观反应了 3 因素对香菇废弃菌棒产气量影响的主次, 但忽略了试验中由于外界条件的改变与误差所引起的数据波动。通过方差分析对各因素进行显著性检验。对表 3 中数据的方差分析结果见表 4。

由方差分析表 4 可以得出以下结果:

(1) 各因素对香菇菌棒厌氧消化产气量影响大小的主次关系为: 预处理天数、料液质量分数、接种物质量分数, 这与表 3 中直观分析结果一致。

(2) 预处理天数、料液质量分数对香菇菌棒的产气量有极显著的影响 (显著水平 $P < 0.01$) , 接种物质量分数对产气量影响不显著。

(3) 香菇菌棒厌氧消化最优工艺参数: $A_1B_2C_3$, 即预处理天数 1 d, 接种物质量分数 30%, 料液质量分数 12%。

表 4 方差分析表
Tab.4 Analysis of variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方差	F	P
A	267.82	2	133.91	536.28	0.0019
B	2.45	2	1.22	4.90	0.1695
C	52.56	2	26.28	105.25	0.0094
误差	0.50	2	0.25		
总和	323.33	8			

正交试验结果显示的优化条件并非绝对的最优, 而是在选取的因素和水平范围内提供了相对最优的条件。为了直观显示预处理天数、接种物质量分数和料液质量分数对香菇菌棒厌氧消化产气量的影响, 作因素与指标关系折线图, 如图 2 所示。

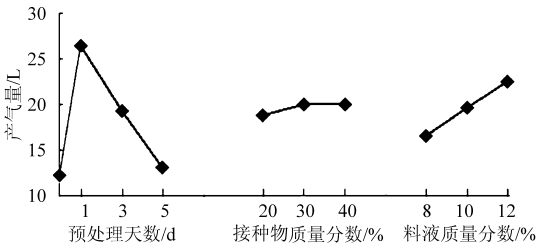


图 2 因素与指标关系折线图

Fig.2 Relation between factors and index

由图 2 可知, 随着预处理天数的延长, 产气量快速下降。可见, 预处理天数过长会使原料中有机物以其他形式转化, 而非被甲烷菌利用, 这是造成产气量降低的直接原因; 再次, 香菇废弃菌棒虽然属于高碳原料, 但在物质特性方面又不同于秸秆原料, 后者表面包裹蜡质层不易被水解, 前者作为栽培原料在种植香菇过程中, 菌棒经菌丝分解, 木质纤维素结构遭到破坏, 机械强度降低, 结构变得疏松, 水解、酸化时间相应缩短^[17], 故厌氧发酵前期的预处理时间可适当减少; 由图 2 可知, 在接种物质量分数 20% ~

40% 的范围内,累计产气量增长幅度不大。由图 1a 可知,随着接种物质量分数的增加启动速度逐渐加快,与传统理论接种量质量分数与启动速度成正比相符^[18];在 8% ~ 12% 料液质量分数范围内,累计产气量呈线性增长,综合考虑沼气发酵中原料转换利用率等因素,选择 12% 的料液质量分数能达到最优的原料利用率。综上所述,香菇废弃菌棒厌氧发酵最优预处理天数应为 1 d,接种物质量分数 30%,料液质量分数 12%。

2.3 回归模型的建立

由图 2 可直观看出预处理天数、接种物质量分数及料液质量分数对厌氧发酵产气量的影响,为了更加精确表达三因素对产气量的影响,建立其回归模型,采用 Stata12 数据分析软件对表 3 进行多元线性回归分析。设 y 为厌氧发酵产气量(L), x_1 为预处理天数(d), x_2 为接种物质量分数(%), x_3 为料液质量分数(%), a, b_1, b_2, b_3 为回归参数,反映各因素对产气量 y 的敏感程度,则香菇菌棒厌氧发酵产气量的回归方程为

$$y = 16.466 - 6.677x_1 + 0.0548x_2 + 1.4795x_3$$

($N = 9, R^2 = 0.9954, F = 358.62, RMSE$ 为 0.5469)

初步判断方程拟合度较好。采用 Stata12 数据分析软件对残差 e 正态性进行检验,判断回归方程优劣, $P = 0.4820 > 0.05$,残差呈正态分布,可判断所建回归方程的拟合效果比较理想,具有统计学意义。

2.4 验证试验

为检验回归方程合理性,进行验证试验:接种物质量分数(30%),料液质量分数(12%),预处理天数分别为 1 d、3 d 和 5 d,每组 3 次重复。图 3 为实际产气量和按回归方程绘制出的预测产气量,由图 3 可知,大多数点落在回归方程的精度范围内,从而验证了回归方程的准确性。

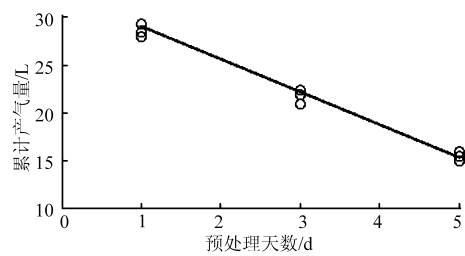


图3 预处理天数实测数据与回归数据关系图

Fig.3 Relation between observed and regression data

由图 3 可知,当预处理 1 d,香菇废弃菌棒的累计产气量为 29.26 L,TS 产气率达 0.16 L/g,较对照组,TS 产气率增长 128.57%,具有良好的产气潜力。说明作为高碳物料的香菇废弃菌棒,经过适当预处理,可作为厌氧发酵产沼气的理想原料。

3 结论

(1) 香菇废弃菌棒作为高碳原料经适当预处理后可提高其产气潜力。最佳工艺组合:预处理 1 d、接种物质量分数 30%、料液质量分数选取 12%。TS 产气率达 0.16 L/g,较对照组,TS 产气率增长 128.57%。

(2) 各因素对香菇菌棒厌氧发酵产气量影响的主次顺序为:预处理天数、料液质量分数、接种物质量分数。其中预处理天数、料液质量分数对产气量有极显著影响($P < 0.01$),接种物质量分数对产气量影响不显著。

(3) 预处理天数、接种物质量分数和料液质量分数 3 因素对香菇废弃菌棒厌氧发酵产沼气的规律可用回归模型 $y = 16.466 - 6.677x_1 + 0.0548x_2 + 1.4795x_3$ 描述,该模型具有统计学意义。

(4) 香菇废弃菌棒含碳量过高(碳氮比高于适宜值 3 倍以上),直接厌氧发酵产沼气启动易失败,但经过沼液预处理后可提高产气潜力。

参 考 文 献

- 赵晓丽,陈智毅,刘学铭.菌糠的高效利用研究进展[J].中国食用菌,2012,31(2):1-3.
Zhao Xiaoli,Chen Zhiyi,Liu Xueming. Research process on the efficient utilization of edible fungi substrates[J]. Edible Fungi of China,2012,31(2):1-3. (in Chinese)
- 陈君琛,沈恒胜,汤葆莎,等.食用菌菌糠再利用技术研究[J].中国农学通报,2006,22(11):410-412.
Chen Junchen, Shen Hengsheng, Tang Baosha, et al. Studying the techniques for reuse of spent mushroom substrates[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2006,22(11):410-412. (in Chinese)
- 马寿福,军花,刁治民,等.食用菌菌糠营养价值及利用途径的研究[J].青海草业,2006,15(3):36-40.
Ma Shoufu, Jun Hua, Diao Zhiming, et al. Study on nutritional value of the cultural residue of edible fungi and utilization way[J]. Qinghai Prataculiture, 2006,15(3):36-40. (in Chinese)
- 李刚,郭前辉,张全国.蘑菇栽培废料的厌氧发酵研究[J].安徽农业科学,2008,36(9):3624-3625,3739.
Li Gang, Guo Qianhui, Zhang Quanguo. Study on the anaerobic fermentation of mushroom cultivation waste[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,2008,36(9):3624-3625,3739. (in Chinese)
- 邱凌.庭院沼气高效生产与利用[M].北京:科学技术文献出版社,2008:200-229.
- 李亚冰,张丽萍,史延茂,等.利用菌糠厌氧发酵生产沼气初步研究[J].江苏农业科学,2009(1):306-308.
Li Yabing, Zhang Liping, Shi Yanmao, et al. Preliminary study on the anaerobic fermentation of mushroom residue[J]. Jiangsu

Agricultural Sciences,2009(1):306-308. (in Chinese)

7 程辉彩,张丽萍,崔冠慧,等.平菇菌糠发酵生产沼气技术研究[J].中国食用菌,2010,29(5):46-49.
Cheng Huicai,Zhang Liping,Cui Guanhui,et al. Study on the anaerobic fermentation technology of residue of pleurotus ostreatus [J]. Edible Fungi of China,2010,29(5):46-49. (in Chinese)

8 Emiliano Bruni, Anders Peter Jensen, Irini Angelidaki. Comparative study of mechanical, hydrothermal, chemical and enzymatic treatments of digested biofibers to improve biogas production[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(22):8713-8717.

9 邵艳秋,邱凌,石勇,等. NaOH 预处理花生壳厌氧发酵制取沼气的试验研究[J].农业环境科学学报,2011,30(3):573-578.
Shao Yanqiu, Qiu Ling, Shi Yong,et al. Experiment on anaerobic digestion of peanut shell for biogas production under NaOH pretreatment[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011,30(3):573-578. (in Chinese)

10 刘荣厚,王远远,孙辰,等.蔬菜废弃物厌氧发酵制取沼气的试验研究[J].农业工程学报,2008,24(4):209-213.
Liu Ronghou, Wang Yuanyuan, Sun Chen, et al. Experimental study on biogas production from vegetable waste by anaerobic fermentation [J]. Transactions of the CSAE, 2008,24(4):209-213. (in Chinese)

11 邓媛方,邱凌,孙全平,等.蘑菇废弃菌棒及其与猪粪混合发酵对沼气产量及质量的影响[J].农业环境科学学报,2012,31(3):613-619.
Deng Yuanfang,Qiu Ling,Sun Quanping,et al. Anaerobic co-digestion of mushroom wastes and pig manure[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2012,31(3):613-619. (in Chinese)

12 Zeikus J G. Microbial population in digesters[C]//Proceedings of the first international symposium on anaerobic digestion, 1980: 61-89.

13 Boone D R,Whitman W B. Proposal of minimal standards for describing new taxa of methanogenic bacteria [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1988, 38: 212-219.

14 董保成,赵立欣,万小春,等.挥发性有机酸对产沼气效果的模拟试验[J].农业工程学报,2011,27(10):249-254.
Dong Baocheng, Zhao Lixin, Wan Xiaochun, et al. Simulation experiment of volatility organic acids on biogas-producing characteristics under anaerobic condition[J]. Transactions of the CSAE, 2011,27(10):249-254. (in Chinese)

15 叶凝芳,何晶晶,吕凡,等.厌氧发酵过程 pH 对微生物多样性和产物分布的影响[J].应用与环境生物学报,2007,13(2):238-242.
Ye Ningfang,He Pinjing,Lu Fan,et al. Effect of pH on microbial diversity and product distribution during anaerobic fermentation of vegetable waste[J]. Chinese Journal of Applied & Environment Biology,2007,13(2):238-242. (in Chinese)

16 张兴庆,罗伟,罗博,等.城镇有机垃圾两相厌氧消化中有机物水解溶出试验[J].中国沼气,2009,27(5):10-14.
Zhang Xingqing, Luo Wei, Luo Bo,et al. Organic matter dissolving from organic solid wastes in two stage anaerobic digestion[J]. China Biogas,2009,27(5):10-14. (in Chinese)

17 王德汉,项钱彬,陈广银.蘑菇渣资源的生态高值化利用研究进展[J].有色冶金设计与研究,2007,28(2-3):263-265.
Wang Dehan, Xiang Qianbin,Chen Guangyin. Research progress of ecological higher value application of spent mushroom compost [J]. Nonferrous Metals Engineering & Research, 2007,28(2-3):263-265. (in Chinese)

18 潘云霞,李文哲.接种物浓度对厌氧发酵产气特性影响的研究[J].农机化研究,2004,26(1):188-192.
Pan Yunxia, Li Wenzhe. Effect of inoculum concentrations on biogas yield and property [J]. Journal of Agricultural Mechanization Research, 2004, 26(1): 188-192. (in Chinese)

Orthogonal Test and Regression Analysis for Biogas
Production of Shii-take Cultivation Waste

Deng Yuanfang¹ Qiu Ling²

(1. Jiangsu Key Laboratory for Biomass-based Energy and Enzyme Technology, Huaiyin Normal University, Huaian 223300, China
2. College of Mechanical and Electronic Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Shii-take cultivation waste (SCW) was used as rich carbon material for anaerobic digestion under the mesospheric condition as (35 ± 1) °C. Orthogonal test and regression analysis L₉(3³) were employed to determine the effects of the three factors including pretreatment period, inoculums concentration and total solids (TS) on biogas production. The optimal combination of the three factors has been achieved. The high-carbon content material was proved to be not an ideal feedstock for biogas production. However, after a certain period of pretreatment, the high carbon feedstock biogas production was improved a lot. The biogas production reached to 0.16 L/g(TS), increased by 128.57% compared with the control sample. The sequence of factors effecting SCW anaerobic fermentation is pretreatment period (evident), TS (evident), and inoculums concentration (less evident). A multiple regression equation was established and can be used for biogas production prediction under different conditions.

Key words: Shii-take cultivation waste Biogas Anaerobic digestion Orthogonal test Multiple regression analysis