

厌氧生物处理丙酸产生和积累的原因 及控制对策*

任南琪** 赵 丹 陈晓蕾 李建政

(哈尔滨工业大学环境生物技术研究中心, 哈尔滨 150090)

摘要 丙酸的产生和积累对厌氧生物处理系统有着十分重大的影响, 国内外专家对丙酸产生和积累的原因进行了大量的研究. 通过连续流试验和理论分析, 提出了丙酸产生和积累的生理原因和生态条件, 并证明了较高的氢分压并非是导致丙酸产生的直接原因. 结果表明, 特定的 pH 和 ORP 组成是丙酸产生的生态条件, 而 NADH/NAD^+ 比率的平衡调节是丙酸产生的生理原因. 同时提出, 采用乙醇型发酵的二相厌氧生物处理工艺是避免丙酸积累的有效措施.

关键词 厌氧生物处理 丙酸积累 产酸发酵 $\text{ORP}(E_h)$ pH

国内外研究表明^[1-12], 由于丙酸的产氢-产乙酸速率缓慢, 大量丙酸的产生往往导致丙酸积累, 进而引起厌氧产甲烷反应器中 pH 降低并影响产甲烷细菌活性, 导致运行失败. 因此, 对厌氧生物处理系统中丙酸的产生和积累的研究, 愈来愈受到人们的重视. 目前, 国内外专家研究结果表明, 厌氧生物处理中产酸发酵阶段常呈现 3 种发酵类型: 丁酸型发酵(butyric-acid type fermentation)、丙酸型发酵(propionic-acid type fermentation)^[4]和乙醇型发酵(ethanol type fermentation)^[13]. 丁酸型发酵的主要末端产物是丁酸、乙酸、 H_2 、 CO_2 和少量丙酸; 丙酸型发酵的主要末端产物为丙酸、乙酸和少量丁酸, 气体产量很少; 乙醇型发酵的主要末端产物为乙醇、乙酸, 并产生大量 H_2 、 CO_2 . 笔者通过大量试验已证明, 在众多的生态因子中, 如温度、pH、氧化-还原电位(ORP)、底物浓度、有机负荷、水力停留时间和碱度等, pH 和 ORP 对产酸发酵类型改变起很大的影响作用, 其他生态因子一般对细菌生长和代谢速率有影响. 一般认为, 含脂类和蛋白质废水易发生丙酸型发酵, 但事实上, 碳水化合物废水发生丙酸型发酵的几率亦很高(表 1). 因此, 发酵类型的不可预见性是困扰人们的一大难题.

国内外专家已经提出丙酸产生的一些原因, 如厌氧反应器启动阶段、有冲击负荷或超负荷运行时^[3], 特别是很多报道提出丙酸积累是由于氢分压较高所致^[2,7,8,11,12]. 但是, 最近也有专家认为氢分压几乎不影响丙酸的产生^[5,9,10,13], 任南琪等证明, 即使氢分压高达 50 kPa, 也未引起丙酸的大量产生. 而 Cohen 等^[4]曾得出高 ORP 可导致丙酸型发酵的结论.

综上所述, 尽管很多专家对丙酸积累的原因和机理作了研究, 但迄今为止尚无较科学和系统的结果和阐述. 本研究以糖蜜为底物, 通过在产酸发酵反应器中所进行的长期连续流试

2001-01-09 收稿, 2001-10-08 收修改稿

* 国家自然科学基金(批准号: 59578021)和教育部“跨世纪优秀人才培养计划”基金资助项目

** E-mail: jidx3@public.hr.hl.cn

验,探讨了 pH 和 ORP(氧化-还原电位)对发酵类型的影响,并根据理论分析,从而试图探讨丙酸产生和积累的原因.

表 1 产酸相碳水化合物发酵产物组成

底物	反应器类型	运行条件			液相产物/(%摩尔数)					气相产物/%			作者
		HRT/h	COD/ mg · L ⁻¹	pH	乙酸	丙酸	丁酸	戊酸	乙醇	H ₂	CO ₂		
葡萄糖	CSTR	4.5	2000	4.3	66.2	23.9	9.9						6
葡萄糖	CSTR	0.93	1100	6.3	66.8	18.3	14.9						6
葡萄糖	CSTR	16.1	4080	6.35	71.6	17.9	10.5						6
葡萄糖	UASB	3.0	2600	4.85	67.5	10.6	18.7	3.2					A ¹⁾
葡萄糖	UASB	3.0	4500	5.6	55.0	36.4	6.3	2.3					A
葡萄糖	UASB	2.0	6500	5.52	60.7	22.7	13.5	3.1					A
葡萄糖	CSTR	8.3	1	6.0	50±10	78±1	10±10			-130			4 ^{b)}
葡萄糖	CSTR	6.7	1	6.0	46±3	11±4	58±2			-300			4 ^{b)}
含糖废水	CSTR	23.3	3275	6.3	55.2	25.3	16.3	3.2					12
糖蜜	CSTR	4.6	3718	4.9	14.0	0.8	5.3	N ^{d)}	12.4	-	-		13
糖蜜	CSTR	3.5	4960	4.6	40.4	1.3	4.8	N	53.4	32.5	72.5		13
糖蜜	CSTR	3.7	7110	4.5	26.8	4.7	6.0	N	62.5	41.5	57.5		13
糖蜜	CSTR	3.5	12560	4.4	41.3	3.6	4.7	N	50.3	47.0	53.7		13
糖蜜	CSTR	3.5	12890	4.4	44.6	3.0	5.0	N	47.4	48.0	51.5		13
糖蜜	CSTR	3.6	16050	4.3	45.9	3.4	3.7	N	47.0	49.5	50.7		13

a) 忽略戊酸和乳酸

b) 试验数据中单位: COD = % (W/V)葡萄糖, 液相产物 = mmol · L⁻¹/100 mmol · L⁻¹ 发酵底物, H₂ = E_h (mV)

1 试验材料与方法

1.1 反应器与试验方法

带有三相分离器的连续流搅拌槽式反应器(CSTR)作为产酸相反应器,有效容积为 3.1L,反应器外缠绕加热丝保持内部 30℃厌氧条件,试验流程如图 1 所示.

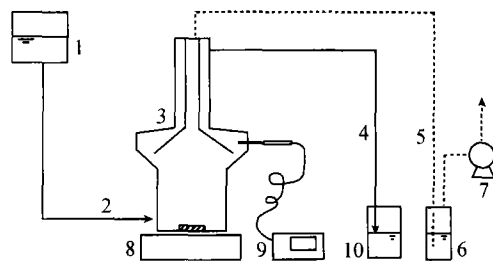


图 1 产酸反应器流程图

1. 配水箱, 2. 进水, 3. 产酸发酵反应器, 4. 出水, 5. 气体管, 6. 水封瓶, 7. 湿式气体流量计, 8. 磁力搅拌器, 9. 温控仪, 10. 热水计量槽

本文从所进行的系列试验中选择 2 组,用以探讨 pH 和 ORP 对发酵类型的影响,并寻求丙酸产生和积累的规律. 两组试验分别采用 1[#], 2[#]反应器, 每组试验分为 3 个阶段, 第 1 阶段为启动阶段, 第 2 阶段为调节 ORP 阶段, 第 3 阶段为调节 pH 阶段.

试验中控制 COD 负荷 8 kg/m³ · d, 进水 COD 浓度为 4000 mg/L, 温度为(30 ± 0.1)℃.

1.2 污泥接种、培养

污泥取自哈尔滨炼油厂的好氧活性污泥, 培养初期, 将接种污泥置于好氧曝气反应模型中, 在充氧条件下以糖蜜为底物间歇培养 2~3 d 后, 连续进水驯化 1 周左右, 形成沉淀性能良好的絮凝体. 实验启动时, 将以上污泥置于产酸反应器中, 控制进水不同 pH, 进行厌氧产酸发

1) 竺建荣. 二相 UASB 工艺微生物学特性的研究. 清华大学博士学位论文, 1990

醇试验。

1.3 底物和分析方法

以糖蜜为底物, 按 COD:N:P=800~1000:5:1 的比例投加 N, P。

采用标准方法^[1]分析 COD, pH, ORP(以电极电位 E_h 计, mV)、气相发酵产物。液相发酵产物采用 SC-7 气相色谱分析仪, 检测方法见文献[14]。

2 丙酸产生和积累的条件与原因

丙酸的产生与丙酸的积累是两个概念, 但两者又存在相互联系。丙酸的产生是积累的条件, 但是丙酸产生不一定会造成积累。一般认为, 当生态系统中丙酸产生的同时, 由于缺乏足够的利用丙酸(产氢产乙酸转化)的能力, 并且根据吉布斯自由能氢分压高于 0.5 hPa(即 10^{-4} atm), 常会发生丙酸积累。所以, 传统观点认为引起丙酸的积累是氢分压较高造成的, 很多试验包括生产性试验均发现了这一现象。但笔者认为, 依据以下 3 个事实, 这一传统观点尚需进一步商榷。

(i) 丙酸发酵细菌的生化反应如下:



这表明, 理论上丙酸的产生与氢气没有直接关系, 而且丙酸发酵微生物(如丙酸菌属)在发酵中并不产生氢气, 亦即若将丙酸菌属纯培养, 则丙酸大量产生的同时气相中几乎无氢气;

(ii) Denac 等^[5]利用糖蜜作为底物的试验中发现, 人为向产酸反应器投加氢气提高其氢分压并未增加丙酸的代谢产量, 这说明氢分压不是引起丙酸产生的直接原因;

(iii) 在我们所进行的大量产酸发酵试验研究中^{[13][12][3]}, 均未发现氢分压是影响丙酸产生的主要因素。事实上, 试验中发现, 发生丙酸型发酵时, 氢气产量(0.2~0.7 mmol/L·h)和氢分压(3.5~13.2 kPa)都很低; 而相反, 出现乙醇型发酵时, 最高的氢气产量和氢分压分别达到 9.7 mmol/L·h 和 45.3 kPa。

由上述分析可见, 发酵过程中产丙酸的细菌并不产生氢气, 即氢气并不直接影响丙酸产生。但是, 为什么诸多现象表明丙酸的积累是由较高氢气分压引起的, 而从理论上丙酸的产生又与氢分压无关呢? 另外, 氢分压高就必然造成丙酸的产生和积累吗? 我们认为, 丙酸的产生可归纳为生理原因和生态条件。

2.1 生理原因导致丙酸的产生

从生物化学角度分析, 影响发酵类型的主要因素是微生物细胞内的 NADH/NAD⁺比率和发酵产物数量(如反应器中的酸性末端数量)^[13]。由于发酵过程中电子传递体系缺乏, 故底物的氧化通常伴随着脱氢而产生大量 NADH。几乎所有的发酵类型产生乙酸的同时都伴随着其他产物(如丙酸、丁酸或乙醇等)的产生, 从而保证细胞内正常生理条件下的 NADH/NAD⁺比率平衡, 这种现象在废水厌氧生物处理中被命名为所谓的“丙酸型发酵”、“丁酸型发酵”和“乙醇型发酵”。根据传统生物发酵理论和途径, 可归纳出如表 2 所示结果。表 2 表明, 不同发酵产物产生的过程具有不同的氧化 NADH、产生 H₂ 和 ATP 的能力。由表 2 从理论上可见, 发酵过

1) 陈晓蕾. 产酸发酵细菌顶级群落研究. 哈尔滨建筑大学硕士学位论文, 1998

2) 李建政. 连续流两相厌氧生物处理系统的生理生态学研究. 哈尔滨建筑大学硕士学位论文, 1997

3) 赵丹. 产酸相发酵类型控制对策研究. 哈尔滨建筑大学硕士学位论文, 1998

程中 $M_{\text{丙酸}}/M_{\text{乙酸}} \geq 2:1$ 和 $M_{\text{乙醇}}/M_{\text{乙酸}} \geq 1:1$ 能维持反应的平衡,但是,较高的 $M_{\text{丙酸}}/M_{\text{乙酸}}$ 比率尽管可以降低 NADH 的产量,但难以达到 NADH 和 NAD^+ 的代谢平衡,这说明丁酸型发酵缺乏对 NADH 的再生能力.通常,在 $\text{pH} > 6.0$ 的条件下,因为产生的部分 NADH(以 NADPH 的形式)能够被细菌迅速地用于细胞合成,所以可呈现较稳定的丁酸型发酵.但当 pH 较低时,细胞合成速率降低,丙酸型发酵比丁酸型发酵有更高的稳定性,因此,常出现表 1 中列举的丙酸型发酵.

表 2 葡萄糖发酵产氢、产 ATP 和氧化 NADH 的能力

产生 1 mol 产物	所产生的 H_2 量/mol	ATP 净产率/mol	氧化 NADH 量/mol
乙酸	1	2	-1
乙酸(产丙酸细菌)	0	2	-2
丙酸	0	2	1
丁酸	2	3	0
乙醇(细菌性)	1	1	1
乳酸	0	1	0

几乎所有的试验结果都表明,冲击负荷或超负荷会使发酵类型由丁酸型转变为丙酸型,同时常常伴随着较高的氢分压.从生物化学角度分析,较高的有机负荷条件下丁酸型发酵(即产乙酸)的代谢速率加快,这伴随着较高的 H_2 和 NADH 产量,如果 NADH 不能及时地被细胞合成有效地利用,则导致 NADH 积累,必须通过产丙酸途径加以缓解,从而使 NADH/NAD^+ 比率维持在适宜的水平.因此,较高的丙酸产生实际上是由于 NADH 产率高所致,而其间出现较高的 H_2 产率以及呈现酸化只是现象,这也就是为什么在有些试验中氢分压与丙酸的产生存在相关的原因.由上分析笔者认为,氢分压高在某些条件下可能会引起丙酸的产生,并导致积累,所以,将氢分压作为一种指示剂从而预示有机负荷过高^[10]和丙酸的积累是可行的.

2.2 生态条件导致丙酸的产生

从生态学角度分析,自然界中必然存在适宜产丙酸的菌属生存的最佳条件.图 2~4 的两组试验结果表明,ORP 和 pH 值是影响丙酸型发酵的限制性生态因子.

第 1 组试验中,启动阶段控制进水 pH 值为 6.0 左右;而后调节 ORP 阶段投加 FeCl_3 提高

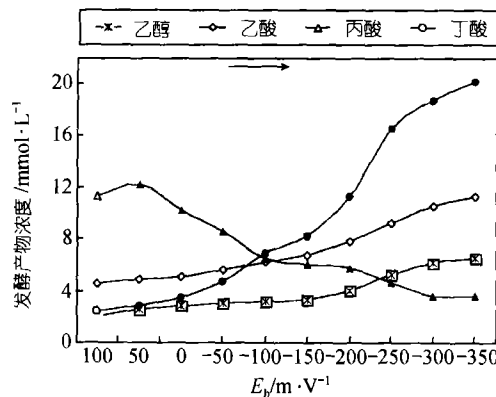


图 2 1#反应器中启动阶段 ORP 值影响末端发酵产物产量变化规律

$N_v = 8 \text{ kgCOD/m}^3 \cdot \text{d}$, $T = 30 \pm 0.1^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 6.0$

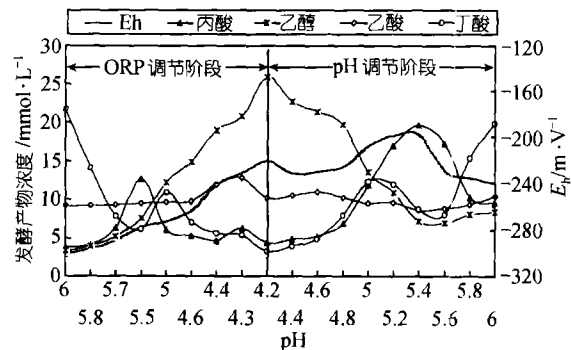


图 3 1#反应器中 pH 值和 ORP 值影响末端发酵产物产量变化规律(丁酸型→乙醇型→丁酸型)

$N_v = 8 \text{ kgCOD/m}^3 \cdot \text{d}$, $T = 30 \pm 0.1^\circ\text{C}$

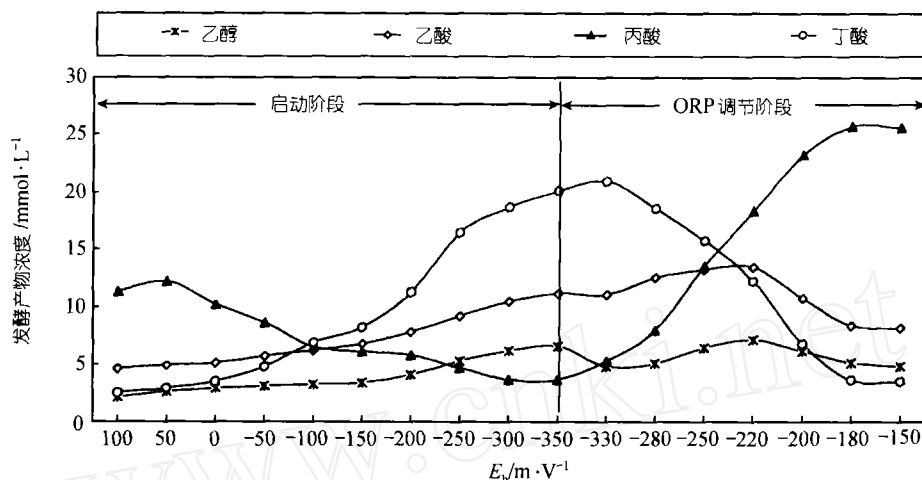


图4 2#反应器中 ORP 影响末端发酵产物产量变化规律(丙酸型→丁酸型→丙酸型)

$N_v = 8 \text{ kgCOD/m}^3 \cdot \text{d}$, $T = 30 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 5.0$

氧化还原电位,同时降低 pH 至 4.2 左右;最终在调节 pH 阶段控制反应器内 pH 为 6.0。(i) 启动阶段:由图 2 可见,启动阶段在较高的 ORP($E_h = 100 \text{ mV}$)下,好氧活性污泥在厌氧条件下培养首先出现了丙酸型发酵,随着 ORP 自然降低,发酵类型过渡到典型的丁酸型发酵;(ii) ORP 调节阶段:进水中投加 10 mmol/L 的 FeCl_3 ,反应器内的 pH 值不加以控制。由图 3 可见, E_h 由 -300 mV 升至 -220 mV ,而 pH 值则从 6.0 自然降至 4.2。首先,丁酸产率减少,同时丙酸产率在 pH 5.5 时出现一个小的峰值。当 pH 值小于 5 以后,典型的乙醇型发酵出现;(iii) pH 调节阶段:通过进水中投加 NaOH 来调节反应器内的 pH 值,ORP 不加以控制。由图 3 可见,由于 ORP 不同,此阶段曲线的局部变化趋势与 ORP 调节阶段明显不同,但总的趋势类似。当 pH 升至 5.0 左右时,4 种发酵产物产率均较高,并且再次呈现丁酸小的峰值。当 pH 为 5.4 左右时,典型的丙酸型发酵呈现出来,这与 E_h 值高达 -195 mV 有关,亦即在 E_h 值较高时丙酸产率显著提高。当 pH 达到 6.0 时,丁酸型发酵开始出现。

从第 1 组试验中可看出,在 pH 4~6 之间,发酵类型变化规律惟一有疑点的是在 pH 值 5 左右,为了探讨 pH 5 时的发酵类型转化规律,我们通过第 2 组试验研究了该条件下 ORP 的影响。

第 2 组试验中(见图 4),通过控制进水 pH 值使反应器内达到 pH 5 左右,以便考察 ORP 对发酵类型的影响。(i) 启动阶段:启动方法同第 1 组试验,初期呈现丙酸型发酵,随着 $\text{ORP} < -100 \text{ mV}$,发生丁酸型发酵。(ii) ORP 调节阶段:通过 ORP 控制使 E_h 值提高,发生丁酸型向丙酸型转化。这说明在 pH = 5 条件下,ORP 对产酸发酵微生物是限制性生态因子,即较高的 E_h 值($> -220 \text{ mV}$)将发生丙酸型发酵,而低 E_h 值条件下呈现丁酸型发酵。

在本试验中,各条件下氢分压均高于 0.1 atm (在 $0.3\sim 0.5 \text{ atm}$ 范围内),但分别出现了“乙醇型发酵”、“丁酸型发酵”和“丙酸型发酵”。根据以上试验结果及笔者所进行的其他大量试验研究,在 pH 值 5.5 左右、 $E_h = -300\sim -100 \text{ mV}$ 的条件下,总会出现丙酸型发酵;在 pH 值 5.0 左右, E_h 高于 -150 mV 时也将会出现较高的丙酸产量;由于绝大多数丙酸型发酵细菌是兼

性厌氧细菌, 故 $E_h > -50$ mV 时, pH 在 5~6 时均会发生丙酸的产生(即丙酸型发酵)。总之, 对于生态学的因素导致丙酸的产生, 氢分压与丙酸的产生和积累无关, 根源在生态因子 pH 和 ORP 值的组合。

3 丙酸积累的控制对策

根据前面的阐述, 为了提高厌氧废水生物处理系统的稳定性和效率, 提出应采用二相厌氧处理系统作为控制对策之一供商榷。首先, 在单相厌氧反应器中, 尤其是在 UASB 的底部区域, 控制最佳的 pH 条件十分困难, 因为一旦出现冲击负荷或超负荷, 则 pH 会迅速降至 6.0 以下(往往达到 pH 5.5 左右), 这必然会导致丙酸的产生和积累。通过相分离, 可分别为产酸细菌和产甲烷细菌提供最佳条件, 两大种群可各自发挥其代谢功能, 并达到独立控制目的; 其次, 为提供产甲烷相最佳底物和保证其运行稳定性, 产酸相反反应器的最佳选择为乙醇型发酵。乙醇型发酵具有以下特征: (1) 产氢产乙酸细菌转化乙醇为乙酸的速率比转化丁酸和丙酸快得多; (2) 乙醇型发酵的产物仅含少量丙酸, 因为产乙酸过程与产乙醇相耦联能保证适宜 NADH/NAD⁺ 的比例, 这使发酵的稳定性更高; (3) 在 pH 值低于 4.5 时乙醇型发酵可允许产酸反应器在较高的负荷下运行, 这将使处理能力提高。另外, 为避免丙酸积累, 反应器应很好地密闭以维持较低的 ORP。

4 结论

(i) 启动阶段产酸发酵细菌(包括从好氧活性污泥得到的菌种)易发生丙酸型发酵, 是由于较高的 ORP 造成的。

(ii) 丙酸的产生和积累并非由氢气和氢分压引起, 而是由生理学的原因和生态学的条件两种机制造成。生理学的原因是由于细菌为了维持 NADH/NAD⁺ 比率平衡; 而生态学的条件因素是在 pH 值 5.5 左右, $E_h = -300 \sim 100$ mV 的条件下, 以及 pH 值 5.0 左右, E_h 高于 -150 mV 都是产丙酸细菌的最适宜条件。

(iii) 通过控制 pH 和 ORP 可以决定发酵类型。证明典型的丁酸型发酵, 丙酸型发酵和乙醇型发酵分别发生在 pH 6.0, pH 约 5.5 和 pH < 4.5 的条件下。pH 5.0 时丁酸型发酵和丙酸型发酵均有可能出现, 这取决于其 ORP 条件。

(iv) 较高的 NADH 产量、较高的 ORP 和 pH 约 5.5 的条件是丙酸产生的“原因”; 较高的氢分压常是伴随过量的 NADH 出现的, 它只是丙酸积累的“现象”。对于生理学的原因引起的丙酸产生来说, 氢分压较高的现象可作为丙酸积累的指示剂。

参 考 文 献

- 1 American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 18th ed. Washington DC: APHA, 1992
- 2 Boone D R. Terminal reactions in the anaerobic digestion of animal waste. Appl Environ Microbial, 1982, 43: 57 ~ 64
- 3 Cohen A, Van A J G, Van D A. Influence of phase separation on the anaerobic digestion of glucose: maximum COD turnover rate during continuous operation. Wat Res, 1980, 14: 1439~1448
- 4 Cohen A, van Gemert J M, Zoetemeyer R J, et al. Main characteristics and stoichiometric aspects of acidogenesis of soluble carbohydrate containing wastewater. Proc Biochem, 1984, 19: 228~237

- 5 Denac M, Miguel A, Dunn I J. Modeling dynamic experiments on the anaerobic degradation of molasses wastewater. *Biotechnol & Bioeng*, 1988, 31: 1~7
- 6 Dinopoulou G, Rudd T, Lesler J N. Anaerobic acidogenesis of a complex wastewater: I. The influence of operational parameters on reactor performance. *Biotechnol & Bioeng*, 1988, 31: 958~964
- 7 Fynn G, Syafila M. Hydrogen regulation of acetogenesis from glucose by freely suspended and immobilized acidogenic cells in continuous culture. *Biotechnol Lett*, 1990, 12: 621~626
- 8 Harper S R, Pohland F G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment. *Biotechnol & Bioeng*, 1986, 28: 585~602
- 9 Harper S R, Pohland F G. Effects of elevated hydrogen partial pressures on anaerobic treatment of carbohydrate. In: Belaich J P, et al, eds. *Microbiology and Biochemistry of Strict Anaerobes Involved in Interspecies Hydrogen Transfer*. New York: Plenum Press, 1990. 387~390
- 10 Inanc B, Matsui S, Ide S. Propionic acid accumulation and controlling factors in anaerobic treatment of carbohydrate: Effects of H_2 and pH. *Wat Sci Tech*, 1996, 34: 317~325
- 11 Kaspar H F, Wuhrmann K. Kinetic parameters and relative turnovers of some important catabolic reactions in digesting sludge. *Appl Environ Microbiol*, 1978, 36: 1~7
- 12 Mosey F E, Fernandes X A. Patterns of hydrogen in biogas from the anaerobic digestion of milk-sugars. *Wat Sci Tech*, 1989, 21: 187~196
- 13 Ren N, Wang B, Huang J. Ethanol-type Fermentation from Carbohydrate in High Rate Acidogenic reactor. *Biotechnol & Bioeng*, 1997, 54: 428~433
- 14 任南琪, 王宝贞. 有机废水发酵法生物制氢技术——原理与方法. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1994