产酸相发酵类型的制氢转化规律及比较

宋佳秀[1,3] 任南琪[1] 安 东[2] 段志杰[1]

(1. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院,黑龙江哈尔滨 150090;
2. 上海市自来水市北有限公司,上海 200086;
3. 上海师范大学,上海 200237)

摘要 以葡萄糖为唯一碳源,通过调节进水基质碱度提高反应器内部 pH 值,使生物制氢反应器内的发酵类型发生连续转化,重点考察了发酵菌群从乙醇型发酵演替为丁酸型发酵的转化规律,并对液相末端产物、产氢速率、氧化还原电位(ORP)以及生物量的变化进行了比较分析。在进水有机负荷恒定的情况下,乙醇型发酵经 15d 转化为丁酸型发酵,转化顺序为乙醇型-丙酸型-混合酸型-丁酸型。乙醇型发酵在稳定运行的情况下比产氢速率平均为 22mol·kg^{-1}·d^{-1},明显高于丁酸型的 12 mol·kg^{-1}·d^{-1},丙酸型和混合酸型比产氢速率较低,但酸化率高于乙醇型和丁酸型,酸化率在混合酸发酵时达到最高,为 85.6%。从投碱量上看,丁酸型发酵对碱的需求量(NaOH)为乙醇型的 7.5 倍。反应体系 pH 和 ORP 呈现负相关性,由最初的 4.2、-476mV 转为 6.8、-562mV。

关键词 生物制氢 发酵类型 液相末端产物 氧化还原电位

Conversion and Comparation for Biological Hydrogen Production Fermentative Types

Song Jiaxiu[1,3] Ren Hanqi[1] An Dong[2] Duan Zhijie[1]

*(1. School of Municipal & Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;
2. Shanghai Waterworks Shibei Co.Ltd, Shanghai 200086, China; 3. Shanghai Normal University, Shanghai 200237, China)*

Abstract Fermentative types were changed continuously in hydrogen production reactor by adjusting inlet water alkalinity to increase its pH level utilizing glucose as exclusive carbon source. Conversion role was studied for fermentative microflora from ethanol type to butyric acid type. Terminal aqueous productions, hydrogen production rate, ORP and biomass were analyzed simultaneously. In the instance of constant organic loading for inlet water ethanol fermentative type turned to butyric acid type after 15 days. Conversion sequence was ethanol type, propionic acid type, mixed acid type, butyric acid. In stable operation condition the average specific hydrogen production rate was 22 mol·kg^{-1}·d^{-1} for ethanol fermentation but that for butyric acid fermentation was 12 mol·kg^{-1}·d^{-1}. The specific hydrogen production by ethanol fermentation was remarkably higher than that by butyric acid type. Hydrogen production rates for propionic acid and mixed acid types were relatively low but the acidification rate was high for mixed acid type about 85.6%. From the alkalinity dosage point of view, the amount of requisite alkalinity for maintaining butyric acid fermentation was 7.5 times bigger than that for ethanol fermentation. The pH level was negatively corelative to ORP and the original pH and ORP was 4.2 and -476mV but turned to 6.8 and -562mV finally.

Key words hydrogen production fermentative type terminal aqueous production ORP

利用微生物发酵法制氢技术具有降解有机废水和产生清洁能源的双重功效[1-4],既起到处理废水的目的,又可以产生能源,成为近几年世界各国的研究热点[5]。用生物制氢反应器做为两相厌氧中的产酸相,存在不同的产酸发酵类型,不同的产酸发酵类型不仅产氢能力有较大差别,同时对后续进入产甲烷相提供不同的底物,直接影响后续对有机物的进一步降解和产甲烷过程。乙醇型发酵和丁酸型发酵为目前公认的具有较高的产氢能力的发酵类型[6,7],因此,控制反应器内的发酵类型是实现工业化生产的

基金项目:国家自然科学基金 (30470054) 国家 863 项目 (2001AA515030)

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

关键。资料表明，一些生态因子如温度、pH、氧化还原电位、底物类型、无机营养和末端产物等都可影响发酵类型的形成和转化[8]，其中 pH 值是最重要的影响因子，发酵系统在 pH>6.0 时往往呈现丁酸型发酵[9]，而 pH 在 4.0~4.5 时往往呈现乙醇型发酵[10]。试验通过调节进水 pH 值实现了各发酵类型顶级群落的转化，并认为氧化还原电(ORP)对发酵类型的形成也有一定的影响[11]。研究认为，底物过低的 C/N 比能够导致发酵类型向丁酸型转变[12]。因此，在实际应用中对这些生态因子进行研究就显得至关重要。

本文采用连续流搅拌槽式生物制氢反应器(CSTR)，以产酸相厌氧活性污泥为研究对象，通过逐步提高进水碱度定向调控了生物制氢反应器的发酵类型，考察了发酵类型的连续转化规律，对进水碱度进行了定量分析，并重点比较了乙醇型发酵和丁酸型发酵的产氢能力。为产甲烷相提供最佳发酵的控制提供了理论参考。

1 装置与方法

1.1 试验装置

试验所用装置如图 1 所示，为连续流搅拌槽式生物制氢反应器(CSTR)，内设气-液-固三相分离装置，有效容积 6L，连续搅拌，轴封密闭以保持厌氧，外缠电热丝控制反应器内操作温度在 35℃±1℃。

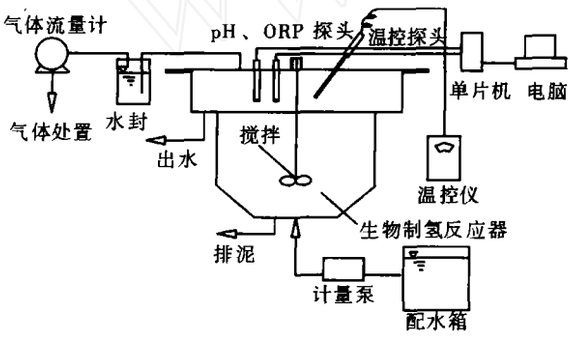

图 1. 试验流程

Fig. 1 Schematic diagram of experiment

1.2 试验时反应器特性

维持进水葡萄糖浓度和水力停留时间(HRT)不变，通过改变进水的碱度改变反应器内 pH 生态位，进而使发酵类型发生定向转变。反应器启动时所用污泥为市政污泥，增加进水碱度前反应器内为稳定运行 4 个月的乙醇型发酵，液相末端产物为乙醇 47%、乙酸 31.6%、丙酸 10.9%、丁酸 8.4%、戊酸 1.1%，产气量稳定在 30L·d^{-1}，氢气百分含量为 42%~49.5%。HRT 3h，反应器内 pH 稳定在 4.2~4.5 之间，ORP 为-450mV~-480mV。采用人工配水，以葡萄糖为唯一碳源，补充 N、P、维生素和微量元素，进水 COD 为 5000mg·L^{-1}。

1.3 分析方法

挥发酸和醇类采用 GC122 型气相色谱仪测定，不锈钢色谱填充柱长 2m，担体 GDX103，60~80 目，氢火焰检测器，氮气作载气，流速 30mL·min^{-1}，氢气流速 30 mL·min^{-1}，空气流速 490 mL·min^{-1}。总悬浮固体(TSS)和挥发性悬浮固体(VSS)按国家标准方法测定[13]。

汽化室温度 220℃，柱室和检测室温度 190℃；发酵气体的组分采用 SC-Ⅱ型气相色谱测定，柱长 2m，担体 Porapak Q，50~80 目，热导池检测器(TCD)，氮气作载气，流速为 20 mL·min^{-1}，用 1mL 注射器抽气进样；pH 和氧化还原电位(ORP)的测定采用 E-201-C 型 pH 探头和 E-431-Q 型 ORP 复合电极通过单片机连接计算机在线 24h 监测；产气量由湿式气体流量计计量；碱度采用中和滴定法。

2 结 果

2.1 液相末端产物转化规律

在产酸反应器中，葡萄糖在产氢发酵菌群的作用下进行水解、发酵，所产生的液相末端产物主要为小分子的挥发酸和醇类，包括乙醇、乙酸、丙酸、丁酸和戊酸[14]，根据不同的特征液相末端产物分为不同的发酵类型。通过向进水投加 NaOH 的方法逐步提高进水基质碱度，改变反应器内部 pH 环境后，生物制氢内菌群发生竞争演替，适应新环境的菌群逐渐代替原有的菌群，进而产氢发酵类型开始发生转变，最终形成丁酸型发酵。结果如图 2 所示，初始反应器内呈典型的乙醇型发酵，乙醇和乙酸的含量稳定在 85%左右，此时进水碱度较低，为 250mg·L^{-1}(以 $CaCO_3$ 计)。从第 4d 开始根据反应器运行状态逐步提高进水碱度，投碱初期末端产物变化不明显，反应体系仍呈典型的乙醇型发酵，乙醇和乙酸的生成比例在第 10d 发生改变，乙醇含量呈降低趋势，乙酸含量明显增高，丙酸也有明显的增高趋势；至第 13d，发酵类型由乙醇型转为典型的丙酸型，此时丙酸和乙酸的含量超过 70%；至第 17d，发酵类型再次发生改变，呈混合酸发酵特征，乙酸，丙酸和丁酸含量相当，乙醇及戊酸含量也有增多趋势，无明显占优势的产物；至第 19d，丁酸开始占明显优势，反应器内呈典型的丁酸型发酵，并持续稳定运行，此时进水基质碱度为

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2585mg·L^{-1},丁酸与乙酸的含量在70%以上。通过比较液相产物总量可以看出，丙酸型和混合酸型发酵的液相产物总量明显高于乙醇型和丁酸型，酸化率(挥发酸总量与进水COD之比）达到75%以上,最高为85.6%。计算平均投碱量发现,维持丁酸型发酵所需的碱的量(NaOH)为乙醇型的7倍。两种发酵类型对COD的去除率为15%~20%。

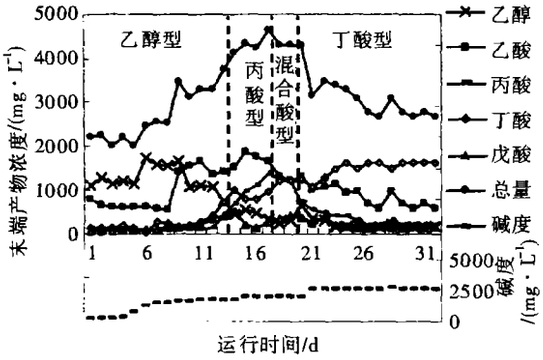

图2 液相末端产物浓度变化

Fig.2 Variation of terminal aqueous productions

2.2 pH和氧化还原电位(ORP)

采用pH探头和氧化还原复合电极测定反应器内的pH和氧化还原电位(ORP),结果如图3。ORP和pH呈现负相关性，未改变进水碱度时反应器内的pH和ORP分别稳定在4.3和-470mV左右,此时反应器内为典型的乙醇型发酵。从第4d开始增加进水碱度后，反应器内的pH提高,ORP随之降低,两者呈良好的负相关性。在提高进水基质碱度过程中期pH有下降的趋势，这是因为此时反应器的酸化率增加,进而提高了对碱度的消耗导致pH回落,此时ORP也有回升趋势,进一步增加进水碱度后,pH恢复上升,ORP也开始稳步下降，直至反应器内呈现丁酸型发酵,此时pH和氧化还原电位(ORP)分别稳定在6.8、-560mV左右。

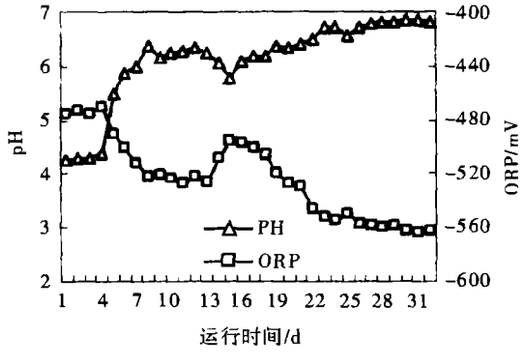

图3 pH和氧化还原电位(ORP)变化

Fig.3 Variation of pH and ORP

2.3 产氢能力比较

产氢发酵菌群以葡萄糖为基质进行水解发酵的同时还伴随着氢气和二氧化碳的释放，通过气相色谱抽气分析氢气含量，根据氢气的含量和产气速率计算产氢速率,结果如图4。在稳定运行的情况下，乙醇型发酵(1~12d)同丁酸型发酵(19~34d)产气(氢)能力相当,均在1850 L·m^{-3}·d^{-1}(925 L·m^{-3}·d^{-1})上下波动,但在投碱初期,产气(氢)速率出现高峰,最高达到4800 L·m^{-3}·d^{-1}(2289 L·m^{-3}·d^{-1}),而此时反应器内发酵类型仍呈乙醇型发酵。分析认为,大部分产酸细菌的适宜pH环境接近中性[15],乙醇型发酵菌群也不例外,投碱后,反应器内的pH值上升,乙醇型发酵菌群暂时达到最佳状态,因此出现产气高峰。随后,由于pH环境的改变,反应器内的优势菌群发生演替,发酵类型转为丙酸型发酵,产气(氢)速率开始下降,并在混合酸发酵时达到最低点,为387 L·m^{-3}·d^{-1}(69 L·m^{-3}·d^{-1})。随后,反应器内的优势菌群再次发生演替,发酵类型转为丁酸型发酵,产气(氢)速率开始增加,并逐步稳定在1850 L·m^{-3}·d^{-1}(925 L·m^{-3}·d^{-1})上下。

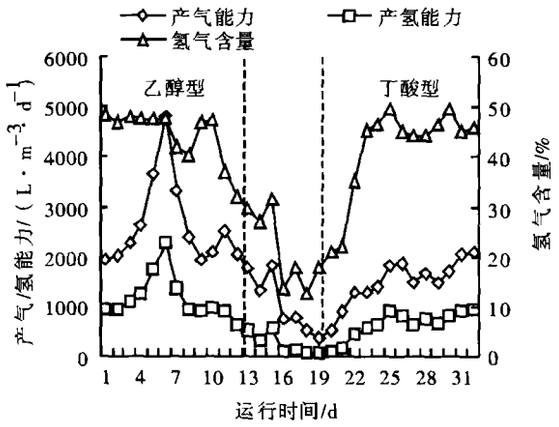

图4 产气/氢能力和氢气含量变化

Fig.4 Variation of hydrogen production rates and concentrations

通过监测反应器内的生物量(VSS)计算比产气(氢)速率-每天每千克生物量产气(氢)的量,结果如图5所示。尽管乙醇型发酵和丁酸型发酵总产氢能力相当，但乙醇型发酵菌群的比产氢速率明显高于丁酸型,在稳定运行的情况下平均为22 mol·kg^{-1}·d^{-1},而后者平均为12 mol·kg^{-1}·d^{-1}左右,这就意味着在相同生物持有量的情况下，乙醇型发酵菌群的产氢能力要优于丁酸型。同时,在投碱初期,乙醇型发酵

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

菌群同样出现比产气（氢）高峰，明显高于比产气(氢)的平均水平，这说明乙醇型发酵菌群尚有较大的产氢潜力尚未发挥，这种现象值得关注。

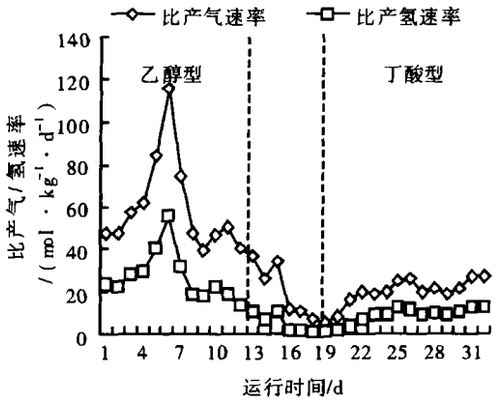

图5 比产气（氢）速率变化

Fig.5 Hydrogen production variety vs. operation time

2.4 生物持有量变化

在生物制氢反应器内，随着发酵类型的转变生物持有量(VSS)也发生变化，如表1所示。乙醇型发酵菌群的生物持有量最低，随着发酵类型的转变生物持有量逐步升高，由乙醇型发酵的5.58 g·L⁻¹升至丁酸型发酵的9.19g·L⁻¹。VSS/TSS变化不大，维持在76.5%~80.6%。在本试验中，系统排泥为0，过量污泥随出水流走，由于各发酵类型菌群的种类、形态及特性不同，絮凝能力存在较大差异，因此生物持有量不同。丁酸型菌群的絮凝能力要优于乙醇型，生物持有量最高，乙醇型发酵菌群的生物持有量最低。

3 讨 论

在连续流生物制氢反应器中，碱度为重要的生态因子之一，不同的发酵类型对碱度的需求也不同。通过控制进水碱度，完全可以实现产氢发酵类型的定向转化并达到持续稳定运行。本次实验表明，丁酸型发酵对碱度的需求量最大，而乙醇型发酵对碱度的需求量最低。在单位反应器体积内，乙醇型发酵同丁酸型发酵产氢能力相当，但维持丁酸型发酵所需的碱的量要远高于乙醇型，因此，从运行成本考虑，乙醇型发酵不失为最佳选择。同时，乙醇型发酵菌群的比产氢速率高于丁酸型，在工程应用中，乙醇型发酵产氢有更高的上升空间，提高乙醇型发酵的微生物持有量可有效的提高反应器的产氢能力。

在不同发酵类型连续转化的过程中，ORP和pH值呈现负相关性，有研究证实，不同的产氢发酵类型具有各自的特征pH及ORP生态位，在反应器的调控过程中，通过监测反应系统内ORP和pH值可迅速了解反应器内部动态，进而及时指导反应器的运行。

在投碱初期，反应器内部pH值已达到5以上，而乙醇型发酵类型仍维持了数天未发生改变，并在此期间出现比产氢高峰，明显高于稳定运行时比产氢的平均水平，这说明乙醇型发酵菌群尚有较大的产氢潜力尚未发挥，目前造成此现象的原因有待进一步研究。

作为两相厌氧中的产酸相反应器，对COD的去除率只有15%~20%，对COD的去除并不是其主要的目的，其产生的小分子挥发酸和醇类将进入后续的产甲烷相，并为产甲烷相提供底物，进一步降解有机废水，并同时产生能源一甲烷。有研究证实[16]，乙醇型发酵的底物为产甲烷相提供了最佳底物组成，首先，乙醇和乙酸均为二碳分子，为产甲烷菌易利用的底物，同时乙醇为非酸类有机物，对整个微生物群体无不良影响，因此，从产酸相发酵类型而言，控制乙醇型发酵可以为后续产甲烷过程提供最佳底物。

4 结论与展望

(1)在连续流生物制氢反应器中，通过控制进水基质碱度，可实现产氢发酵类型的定向转化，乙醇型发酵经15d转化为丁酸型，并持续稳定运行，转化顺序为乙醇型-丙酸型-混合酸性-丁酸型。维持丁酸型发酵所需的碱的量最高，为乙醇型的7.5倍。

(2)在发酵类型由乙醇型转为丁酸型的过程中，反应体系的pH值与ORP值呈良好的负相关性，分别由4.2、-476mV转变为6.8、-562mV。

(3)乙醇型发酵和丁酸型发酵反应器的产气(氢)能力相当，均在1850L·m⁻³·d⁻¹(925L·m⁻³·d⁻¹)上下波

表1 反应系统内部生物持有量变化

Tab.1 the biomass variation in reactor

运行起止时间/d	发酵类型	TSS(平均)/(g·L⁻¹)	VSS(平均)/(g·L⁻¹)	VSS/TSS(平均)/%
1~12	乙醇型	5.58	4.36	78.1
13~16	丙酸型	7.03	5.38	76.5
17~18	混合酸型	8.75	7.05	80.6
19~34	丁酸型	9.19	7.04	76.6

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

动，而乙醇型发酵菌群的比产氢速率平均为 $22mol \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$，明显高于丁酸型的 $12mol \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$，即在相同生物持有量下，乙醇型发酵菌群的产氢能力要优于丁酸型。同时为后续产甲烷相提供最佳底物。

(4)生物制氢技术为有机废水的有效处理和综合利用提供了一个新的方向。

参考文献

1 Changa Jo Shu, Leeb Kuo Shing, Linb Pin Jei. Biohydrogen production with & xed-bed bioreac-tors[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2002,27:1167~1174

2 Chang Feng Yung, Lin Chiu Yue. Biohydrogen production using an up-&ow anaerobic sludge blanket reactor [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2004,29:33~39

3 Han Sun Kee, Shin Hang Sik. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2004,29:569~577

4 Zhang Tong, Liu Hong, Herbert H P, et al. Biohydrogen production from starch in waste- water under thermo- philic condition[J]. Journal of Environmental Management, 2003,69:149~156

5 Hallenbech P C, Benemann J R. Biologecal hydrogen production: fundamentals and limiting process [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2000,27:1185~1193

6 Ren Nanqi, Wang Baozhen, Huang Juchang.Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor[J]. Biotechnology & Bioengineenring, 1997,54(5):428~433

7 任南琪，王宝贞. 有机废水发酵法生物制氢技术——原理与方法[M]. 哈尔滨：黑龙江科学技术出版社, 1994,24~29

8 林 明. 高效产氢发酵新菌种的产氢机理及生态学研究. 工学博士论文[D]. 哈尔滨：哈尔滨工业大学, 2002,4~10

9 Cohen A, Gemert J M, Zoeremeyer R J, et al. Main Characteristics and Stoichiometric Aspects of Acidogenesis of Soluble Carbohydrate Containing Wastewater [J]. Proc Biochem, 1984,19(6):228~232

10 任南琪，秦 智，李建政. 不同产酸发酵菌群产氢能力对比分析[J]. 环境科学, 2003,24(2):70~75

11 陈晓蕾. 有机废水产酸发酵顶极群落研究——生态因子 pH、Eh 的影响[D]. 哈尔滨：哈尔滨工业大学,1998.

12 王 勇，孙寓娇，任南琪等. C/N 比对细菌产氢发酵类型及产氢能力的影响[J]. 太阳能学报, 2004,25(3):375~378

13 国家环保局《水与废水监测分析方法》编委会. 水与废水监测分析方法(第 3 版)[M]. 北京：中国环境科学出版社, 1997,233~238

14 Bai M D, Cheng S S, Chang S M, Wu K L, Chen W C. Feasibility Study of Hydrogen Production with Anaerobic Digestion of Pretreated Sludge [A].Proceeding of 9th International Conference on Anaerobic Kigestion, 2001,245~247

15 Speece R E. Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters [M]. Beijing: China Architecture & Building Perss, 2001,97~98

16 李建政，任南琪. 产酸相最佳发酵类型工程控制对策[J]. 中国环境科学, 1998,18(15):398~402

收稿日期：2006-3-14

第一作者简介：宋佳秀(1979-)，女，博士研究生，主要从事微生物发酵法制氢技术及工程应用研究。手机：13303661169 tel:0451-82345187 E-mail:sjxiu@163.com

(上接第 5 页)

Sci Technol, 2000,41(70):127~134

6 Son H, Cho M, Churg H, et al. Bactericidal activity of mixed oxidants: comparison with free chlorine[J]. Ind Eng Chem, 2004, 10(5):705~709

7 Son H, Cho M, Kim J, et al. Enhanced disinfection efficiency of mechanically mixed oxidants with free chlorine [J]. Wat Res, 2005,39:721~727

8 Koivunen J, Heinonen-Tanski H. Inactivation of enteric microorganism with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical UV treatment[J]. Wat Res, 2005,39:1519~1526

9 Van der Kooij D. Assimilable organic carbon (AOC) as an indicator of bacterial regrowth[J]. AWWA, 1992, 84(1):57~65

10 叶 劲. 成都市自来水的生物稳定性研究[J]. 中国给水排水, 2003,19(12):45~47

11 Monika Polanska, Koen Huysman, Chris van Keer. Investigation of assimilable organic carbon (AOC) in Flemish drinking water[J]. Water Res, 2005,39:2259~2266

12 Shaw J P, Malley Jr J P, Willoughby S A. Effect of UV irradiation on organic matter[J]. AWWA, 2000,92(4):157~167

13 Lund V, Ormerod K. The influence of disinfection processes on biofilm formation in water distribution system[J]. Wat Res, 1995, 29:1013~1021

14 Lehtola M J, Miettinen I T, Vartiainen T, et al. Impact of UV disinfection on microbially available phosphorus, organic carbon, and microbial growth in drinking water[J]. Water Res, 2003,37:1064~1070

15 Matthew L M, Catherine A K, Charles M S, et al. Effect of UV irradiation on organic matter extracted from treated Ohio river water studied through the use of electrospray mass spectrometry [J]. Environ Sci Technol, 2002,36:5252~5260

收稿日期：2006-1-13

第一作者简介：刘 成 (1977-)，同济大学环境学院市政工程专业在读博士生，研究方向为水处理理论与技术。联系电话：13482590924，02165986911。

© 1994-2009 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net