

牛粪对互花米草混合厌氧消化过程的影响研究

陈广银, 郑正*, 邹星星, 杨世关

(南京大学环境学院, 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 以互花米草和牛粪为原料, 采用中温(35℃)批式发酵的方式, 考察了添加牛粪对互花米草厌氧消化过程的影响。结果表明, 互花米草单独发酵时, 单位 VS 产气量为 222.61 mL/g, 发酵过程出现酸化现象, pH 最低为 5.60; 添加牛粪改善了厌氧微生物的生存环境, 提高了系统的缓冲能力, 发酵过程未出现酸化现象, pH 经短暂下降后很快恢复到 7.2~7.5, 累积产气量提高了 38.83%, 互花米草单位 VS 产气量为 309.05 mL/g。混合发酵对消化液中有机酸产量影响不大, 但有机酸高峰提前 5d 出现。FTIR 表明, 混合发酵促进了微生物对互花米草中易分解有机物的利用。发酵前、后和混合发酵互花米草的结晶度指数 C_rI 分别为 0.6176、0.6200 和 0.6154。

关键词: 互花米草; 牛粪; 厌氧消化; 混合发酵

中图分类号: X705; X382 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2009)07-2130-06

Effect of Cow Feces on Anaerobic Digestion Process of *Spartina alterniflora*

CHEN Guang-yin, ZHENG Zheng, ZOU Xing-xing, YANG Shi-guan

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: Effects of cow feces on anaerobic digestion process of *Spartina alterniflora* was studied by batch model at 35°C. When *Spartina alterniflora* was digested alone, the biogas yield was 222.61 mL/g, and it was acidified from 10 d to 15 d. When cow feces was added, the environment where microorganisms lived in was meliorated, pH value was stabilized and biogas production was improved by 38.83%. Volatile fatty acids production was not affected significantly, but the peak was advanced. FTIR and XRD analysis of solid residue substances further proved that co-digestion promoted the removal of carbohydrates and resulted in higher content of lignin than *Spartina alterniflora* straw digested alone, and promoted the destruction of crystalline of cellulose. The crystallinity index (C_rI) of *Spartina alterniflora*, digested *Spartina alterniflora* and co-digested *Spartina alterniflora* were 0.6176, 0.6200 and 0.6154, respectively. Therefore, adding cow feces was beneficial for the decomposition and increasing the biotransformation rate of *Spartina alterniflora* straw.

Key words: *Spartina alterniflora*; cow feces; anaerobic digestion; co-digestion

互花米草(*Spartina alterniflora*)是禾本科米草属的多年生草本植物,耐盐耐淹能力强,适宜在高潮带下部至中潮带上部的潮间带生长。原产于大西洋沿岸,1979年被引进中国用于沿海滩涂的护岸固滩,之后得到迅速推广。互花米草具有很高的生产力,每年干物质产率高达 3154.8 g/m^2 。长期以来,互花米草在保护我国海岸带生态环境中发挥了积极作用,但是由于互花米草的生长速度惊人,且繁殖能力极强,草籽随潮漂流,见土扎根,根系又极其发达,每年以5~6倍的速度自然繁殖扩散,对其它生态系统的生存构成了威胁。互花米草疯长,不但侵占沿海滩涂植物的生长空间,致使大片红树林消亡,而且导致鱼类、贝类、藻类等多种生物窒息死亡,并与海带、紫菜等争夺营养,水产品养殖受到毁灭性打击。目前,互花米草已被我国列入外来入侵生物名单。

对于互花米草,一方面应寻找经济有效的控制措施扼制其目前这种快速扩张的局面,将其对其它生态系统的入侵降低到最低程度,另一方面应转换思维方式,充分利用互花米草生长迅速的特点将其

作为一种生物质资源加以利用,通过对其资源化的开发利用以达到“化害为利,变废为宝”的目的。将互花米草厌氧发酵制沼气不但可以产生清洁的能源——沼气,而且可提供大量的有机肥料(沼渣、沼液),是资源化利用互花米草经济可行的方法之一。国内对互花米草厌氧发酵产沼气的研究还处于起步阶段,且大多集中在单纯以互花米草为原料发酵产沼气^[1-4],国外尚未有这方面的报道,因此对互花米草厌氧发酵产沼气进行研究具有一定的现实意义。牛粪是养牛场产生的主要有机固体废物,将牛粪厌氧发酵产沼气不但很好地解决牛粪的处理问题,而且可以产生大量沼气和有机肥料。由于互花米草中木质纤维含量较高,同时互花米草的C/N较高,微生物易分解利用的有机物含量低,不利于厌氧消化

收稿日期: 2008-09-19; 修订日期: 2008-11-17

基金项目: 江苏省科技项目(BS2007148); 中国博士后科学基金项目(20060400277); 江苏省博士后科研计划项目(0602016B)

作者简介: 陈广银(1981~),男,博士研究生,主要研究方向为固体废物资源化利用, E-mail: zcgy@tom.com

* 通讯联系人, E-mail: zheng@nju.edu.cn

过程的正常进行. 混合发酵是近几年厌氧发酵领域研究的热点, 将较难分解的有机物与易分解有机物混合发酵不但同时处理了 2 种发酵原料, 而且还可以促进木质纤维原料的分解, 提高发酵原料的生物转化率^[5-8]. 李继红^[9]将土豆和互花米草混合发酵产沼气, 结果表明促进了互花米草中物质的分解, 其生物转化率从 45% 提高到了 56%. 但目前, 将互花米草与牛粪混合厌氧消化产沼气在国内外还未见报道.

本试验从产气特性、物质的转化等角度对添加

表1 厌氧消化原料的基本特性/%

Table 1 Basic properties of anaerobic digestion raw materials/%

物料	C	H	N	TS	VS	半纤维素	纤维素	木质素
牛粪	35.99	5.76	2.68	24.43	75.31	—	—	—
互花米草	40.80	6.96	1.87	80.27	94.69	29.85	34.04	9.73
污泥	32.20	4.59	4.11	3.32	64.80	—	—	—

1.2 实验方法

试验设 4 个处理, 其中一个对照(CK), 互花米草+ 牛粪的处理以互花米草与牛粪(VS 比)3:1 进行原料配比, VS 负荷为 7.0%, 接种率为 50%, 互花米草和牛粪的处理分别加入与互花米草+ 牛粪的处理等量的互花米草或牛粪和污泥, 互花米草和牛粪的处理 VS 负荷分别为 5.25% 和 1.75%, 不足部分加水补充. 为扣除污泥发酵对产气结果的影响, 设置对照(CK), 其中仅加入与其他处理等量的污泥, 不足部分以水补充. 将原料混合均匀后装入厌氧消化瓶内在 35℃ ± 1℃ 下进行发酵, 消化瓶容积为 1 000 mL, 实验用容积为 800 mL, 每天定时搅动. 每个处理做 2 个平行, 试验结果取 2 组平行的平均值.

1.3 测定指标及方法

以排水(饱和 NaCl 溶液)集气法收集气体, 每日测定产气量; 将消化液在 4℃ 下 12 000 r·min⁻¹ 离心 20 min 后, 取上清液过 0.45 μm 滤膜后用于测定 TOC(TOC 5000A, 日本岛津)以及乙酸、丙酸和丁酸(GC 2014, 日本岛津); 消化液的 pH 值用精密 pH 计测定(METER 6219); 分别取发酵前后的互花米草冰冻干燥后, 粉碎, 过 100 目筛后用于测定红外光谱(Nexus 870, 美国 NICOLET 公司)和 X 射线衍射(XTRA, 瑞士 ARL 公司).

结晶度的变化: 纤维素的结晶度是指纤维素构成的结晶区占纤维素整体的百分率, 它反映纤维素聚集时形成结晶的程度, 其计算公式如下:

$$C_r I = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}}$$

牛粪对互花米草厌氧消化过程的影响进行了较系统地研究, 以期为工厂化互花米草厌氧消化产沼气提供理论参考.

1 材料与方

1.1 实验材料

牛粪取自常州某养牛场, 内有少许稻壳. 互花米草取自盐城滩涂, 经切碎后(长度为 2.0 cm 左右)待用. 实验用污泥是前次厌氧消化实验的消化液. 各试验材料的基本性质见表 1.

式中, $C_r I$ 为相对结晶度; I_{002} 为 $2\theta = 21.50^\circ$ 附近(002)晶面衍射强度; I_{am} 为无定形区衍射强度, 对于天然纤维素, 为 2θ 接近 18° 时的衍射强度^[10].

2 结果与讨论

2.1 产气状况分析

图 1 是各处理厌氧消化过程中日产气量的变化曲线. 从中可知, CK 在整个实验过程中只是断断续续地产生少量气体, 累积产气量仅为 264 mL; 互花米草与互花米草+ 牛粪的处理日产气量具有相似的变化曲线, 均为“增加→降低→增加→降低”, 分别在 24 d、36 d 和 11 d、20 d 出现 2 个产气高峰, 分别为 645 mL、357 mL 和 790 mL、415 mL, 添加牛粪明显促进了互花米草厌氧产气, 产气高峰大幅提前. 牛粪的处理在实验前期迅速产气, 在实验第 6 d 达到产气高峰, 为 150 mL, 之后迅速降低. 实验结束时, 互花米草、牛粪和互花米草+ 牛粪的处理累积产气量分别为 9 613.5、2 402.5 和 15 382.5 mL, 假定牛粪单独发酵与混合发酵的生物转化率相同, 则互花米草与牛粪混合发酵的处理较互花米草单独发酵累积产气量增加了 38.83%, 混合发酵的互花米草单位 VS 产气量达 309.05 mL/g. 本试验中, 互花米草单独发酵的单位 VS 产气量仅为 222.61 mL/g, 这与朱洪光等^[1]的研究结果相当(VS 产气率为 210~230 mL/g). 到实验第 30 d, 混合发酵和互花米草单独发酵的处理累积产气量分别达到总产气量的 67.09% 和 44.77%, 第 45d 分别为 84.48% 和 74.34%, 第 50 d

分别为 87.24% 和 80.52%，表明混合发酵可以明显缩短互花米草厌氧发酵产气周期，若以累积产气量达到总产气量的 80% 为目标计，混合发酵和单独发酵所需时间分别为 40 d 和 50 d。以上结果表明，混合发酵无论是总产气量还是产气速率方面都具有明显的优势，这与李继红^[9]将互花米草与土豆混合发酵的结果一致。

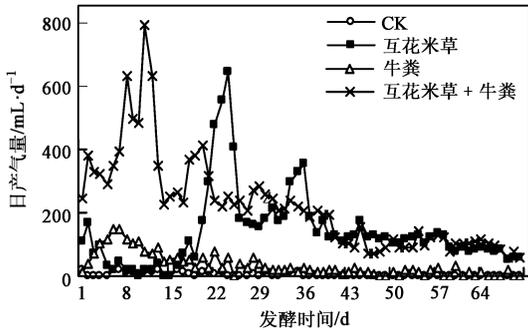


图1 日产气量的变化曲线

Fig. 1 Daily biogas production yield changes during anaerobic digestion process

2.2 pH 和 TOC 的变化

图2为消化过程中 pH 和 TOC 的变化曲线。由图2(a)可知，CK 发酵过程中 pH 无明显变化；牛粪的处理 pH 经过一个微弱的下降后很快稳定；互花米草与互花米草+牛粪的处理 pH 的变化趋势相似，均为先降低后增加，最后保持相对稳定，分别在实验第 8 d 和第 5 d 达到最低，分别为 5.60、5.97。第 5 d 后混合发酵的处理 pH 迅速回升，13 d 后已基本稳定，互花米草单独发酵的处理在第 8 d 达到最低值后缓慢上升，到实验第 18 d 时仍仅为 5.97，之后迅速增加并很快稳定，这与有机酸的变化一致(见图 3)。从图2(a)可以看出，混合发酵可以明显改善微生物的生存环境，保持系统 pH 的相对稳定，确保厌氧

消化过程的顺利进行，这可能是促进互花米草产气的一个重要原因。互花米草单独发酵的处理 pH 出现了一段低谷期，结合日产气量的数据(见图 1)可以看出，pH 的低谷期刚好是产气的低谷期，随着 pH 逐步恢复到 7.0 左右，日产气量迅速回升。实验结束时，各处理的 pH 基本稳定在 7.80 左右。

厌氧消化过程是微生物分解利用有机物转化为 CH_4 和 CO_2 的过程，这个过程是在多种微生物协同作用下进行的。产酸细菌将复杂的大分子有机物转化为小分子有机物供后续微生物利用，这是厌氧发酵产甲烷过程得以顺利进行的前提。由于产酸细菌的作用，互花米草中的复杂有机物不断水解溶出进入发酵液中，使发酵液的 TOC 增加，而产烷微生物分解利用小分子有机酸合成 CH_4 和 CO_2 的过程使 TOC 下降，二者综合后出现了如图2(b)所示的情况，发酵前期产酸细菌水解酸化有机物的速率高于产烷菌利用小分子有机酸的速率，表现为 TOC 的增加，随着产酸细菌水解酸化速率的降低以及产烷菌分解利用小分子有机酸速率的增加，TOC 的增加速率逐渐放缓。随着易分解有机物逐渐被消耗殆尽，微生物开始分解较难分解的半纤维素、纤维素类，部分木质素碎片也进入发酵液中，产酸菌水解酸化速率进一步放缓，而同时产烷菌分解利用小分子有机酸的速率仍较高，因此 TOC 含量逐渐降低。同时，由于互花米草中的部分木质纤维碎片等较难分解的物质溶出进入发酵液中，这些物质不能为产烷微生物利用，结果出现了发酵后的消化液的 TOC 含量高于发酵前的结果。各处理发酵后消化液的 TOC 含量较发酵前均大幅增加，混合发酵的处理更是达到了各处理发酵过程中的最高 TOC 含量，达 38 606.25 mg/L，远高于同时期其它处理。

2.3 有机酸的变化

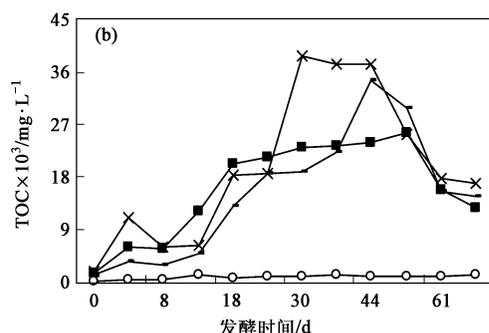
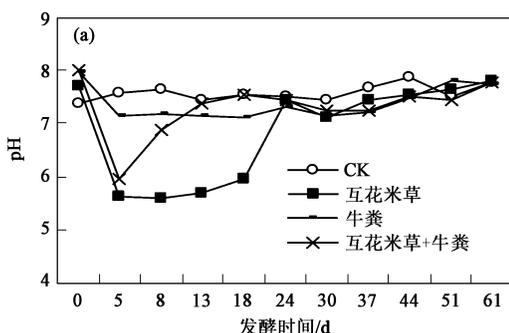


图2 消化过程中 pH 和 TOC 的变化

Fig. 2 pH and TOC yield changes during anaerobic digestion process

消化过程中乙酸、丙酸、丁酸和总挥发性有机酸 (TVFA) 的变化如图 3 所示. 从中可知, 发酵前后 CK 中各种酸的变化不大, 且含量很低; 各处理乙酸和丙酸的变化趋势相似, 均在消化过程中先增加后降低, 互花米草和牛粪的处理分别在第 13d 和 18d 达到最大, 峰值分别为 616.83 mg/L、293.00 mg/L 和 308.87 mg/L、110.87 mg/L, 之后不断降低, 互花米草与牛粪混合发酵的处理分别在第 5 d 和第 30 d 出现 2 个峰, 峰值分别为 552.00 mg/L、262.35 mg/L 和 282.84 mg/L、203.77 mg/L. 分析上述结果后发现在乙酸和

丙酸出现峰值之时产气量往往处于低谷, 且牛粪与互花米草混合发酵的处理中乙酸和丙酸的含量较互花米草单独发酵的处理稍低, 可能是牛粪的添加增加了发酵液中微生物的多样性, 促进了有机物的吸收利用, 减少了酸的积累; 互花米草和牛粪的处理丁酸在实验 8 d 前均未检出, 8 d 后迅速增加, 均在第 18 d 达到最高, 分别为 490.99 mg/L 和 406.97 mg/L, 牛粪和互花米草混合发酵的处理分别在实验第 5 d 和第 18 d 出现 2 个峰, 分别为 262.35 mg/L 和 176.55 mg/L.

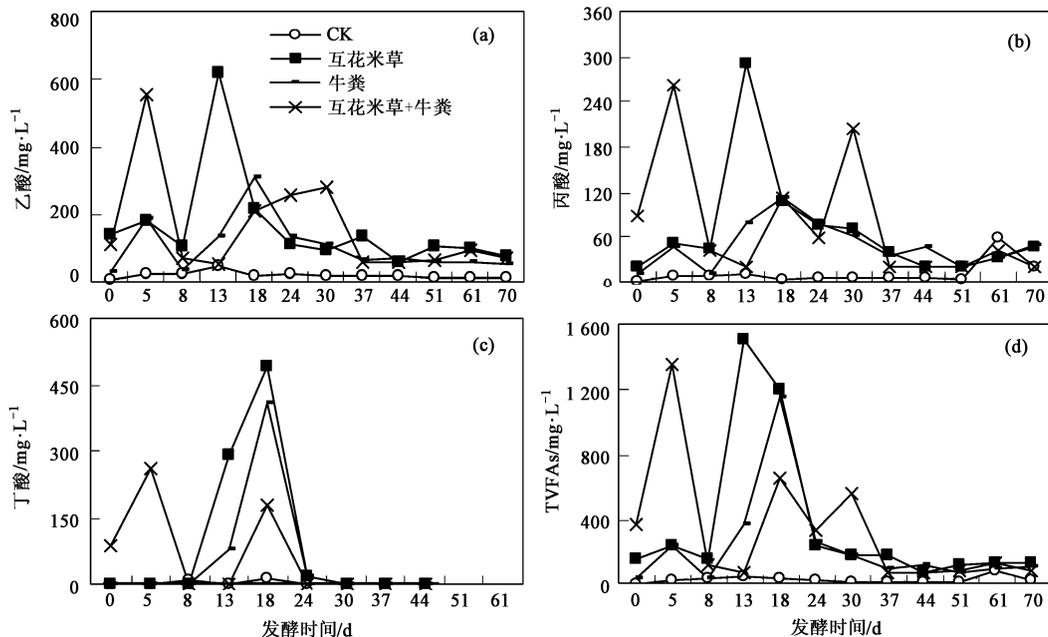


图 3 消化过程中乙酸、丙酸、丁酸和总有机酸的变化

Fig.3 Changes of acetic, propionic, butyric acids and total organic acid during anaerobic digestion process

总有机酸的变化如图 3(d) 所示, 互花米草和牛粪的处理均表现为先增加后降低的趋势, 分别在实验第 13d 和第 18d 达到最高, 为 1522.34 mg/L 和 1156.70 mg/L; 互花米草与牛粪混合发酵的处理分别在第 5、18 和 30 d 出现 3 个峰, 峰值分别为 1362.79、666.69 和 564.83 mg/L, 之后不断降低. 以上结果表明, 互花米草与牛粪混合发酵可以改变互花米草厌氧发酵产酸的种类和含量, 一定程度上避免有机酸的积累, 对有机酸的产量影响不大, 这与李继红^[9]将互花米草与土豆混合发酵的结果有出入, 其原因有待于更深入地研究.

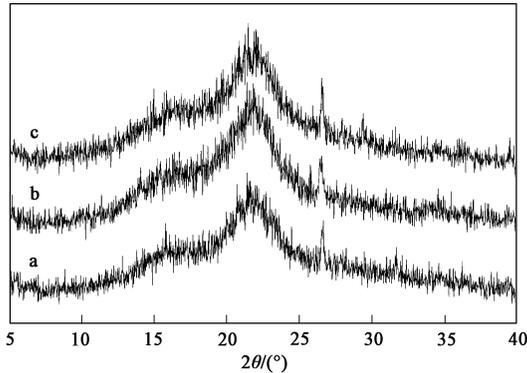
2.4 互花米草 XRD 分析

互花米草发酵前、发酵后以及混合发酵后的 XRD 谱图如图 4 所示. 从中可以看出, 互花米草发酵前后均在 $2\theta = 22^\circ$ 附近有一极大峰值, 这是 002 晶面的衍射峰强度. 发酵后较发酵前在该处的衍射强

度明显增强, 发酵前、发酵后和混合发酵后分别在 2θ 为 21.40° 、 21.40° 和 21.48° 达到峰值, 分别为 1416.67、1666.67 和 1625. 各处理的结晶度指数 C_rI 分别为 0.6176、0.6200 和 0.6154, 出现这种现象的可能原因是厌氧发酵过程中微生物分解利用易分解有机物使纤维素的含量相对浓缩, 同时对纤维素的结晶区也造成了一定的破坏, 微生物分解利用易分解有机物的程度略高于纤维素结晶区的破坏程度, 结果出现了发酵后结晶度指数 C_rI 有少许增加的情况. 混合发酵的情况与此相反, 混合发酵改善了厌氧微生物的生存环境, 提高了互花米草的生物转化率 (见图 1), 促进了微生物对纤维素结晶区的破坏, 结果表现为混合发酵后的结晶度指数 C_rI 较单独发酵前后的均低.

从图 4 还可以看出, 各处理在 $2\theta = 26.60^\circ$ 左右均出现 1 个较强的峰, 此处是 SiO_2 的衍射强度峰,

各处理在该处的峰值分别为 966.67、975.00 和 1 108.33, 发酵后的互花米草峰值较发酵前均有所增加, 混合发酵的增加幅度明显大于单独发酵的处理, 互花米草中 SiO_2 的相对含量大幅提高, 表明混合发酵促进了互花米草中物质的分解。



a. 发酵前的互花米草; b. 单独发酵后的互花米草;
c. 混合发酵后的互花米草

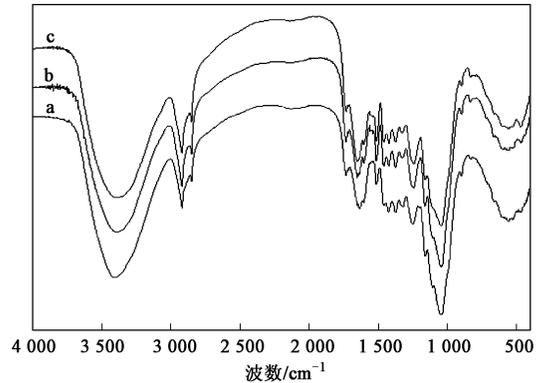
图4 发酵前后互花米草的 XRD 变化

Fig. 4 X-ray diffraction patterns of *S. alterniflora* obtained in the initial and final digestion phase

2.5 红外光谱分析

互花米草发酵前、发酵后以及混合发酵后的红外光谱图如图 5 所示. 从中可以看出, 各处理具有相似的光谱特征, 只是在相对吸收强度上有一定差异. 经过 70 d 的厌氧发酵处理后, 互花米草在 2920 cm^{-1} 和 2851.5 cm^{-1} 的吸收峰相对强度明显增强, 单独发酵后和混合发酵后的吸收峰相对强度较发酵前分别提高了 23.23%、34.96% 和 20.54%、40.84%, 2920 cm^{-1} 的吸收峰属于 $-\text{CH}_2-$ 官能团的 C—H 伸缩振动, 2851.5 cm^{-1} 的吸收峰与 $-\text{CH}_3$ 的 C—H 相关^[12], 表明经厌氧发酵处理后互花米草中的木质素含量有所增加, 混合发酵对木质素含量的增加有促进作用, 这主要是因为木质素的分解需要分子氧^[13], 在厌氧条件下几乎不被微生物分解, 微生物在利用易分解有机物时木质素相对被浓缩, 因此发酵后木质素相对含量有所增加, 混合发酵促进了这种浓缩作用, 这与产气的结果一致. 1653 cm^{-1} 是被吸收的 O—H 和共轭 C=O 振动峰, 1606 cm^{-1} 和 1512 cm^{-1} 是木质素中苯环的骨架伸缩振动峰, 1246 cm^{-1} 是木质素和木聚糖中紫丁香基芳香环和 C—O 的伸缩振动峰^[14], 其变化与 2920 cm^{-1} 和 2851.5 cm^{-1} 的变化相似. 832 cm^{-1} 是 $-\text{CO}_3^{2-}$ 的变角振动峰, 该处吸收峰相对强度增强, 表明随着碳水化合物的分解, 发酵后生成一些碳酸盐类物质. 混合发酵促进

了碳酸盐类物质的生成. 以上结果表明, 厌氧发酵处理后互花米草中微生物易分解利用的有机物被大量分解, 表现为厌氧微生物不能分解利用的木质素类物质含量的相对增加以及生成大量碳酸盐类物质, 混合发酵促进了互花米草中物质的转化。



a. 发酵前的互花米草; b. 单独发酵后的互花米草;
c. 混合发酵后的互花米草

图5 发酵前后互花米草的红外光谱变化

Fig. 5 FT-IR spectra of *S. alterniflora* obtained in the initial and final digestion phase

3 结论

(1) 将互花米草与牛粪混合发酵产沼气, 可同时处理互花米草和牛粪 2 种有机固体废物, 厌氧消化过程可以顺利进行。

(2) 将互花米草与牛粪混合发酵改善了微生物的生存环境, 提高了互花米草的产气特性, 混合物的累积产气量提高了 38.83%, 互花米草的 VS 产气量达 309.05 mL/g , 而互花米草单独发酵的单位 VS 产气量仅为 222.61 mL/g , 且大幅缩短了发酵周期。

(3) 将互花米草与牛粪混合发酵提高了系统的缓冲能力, 且不会造成有机酸的积累, 对互花米草中物质的水解溶出有促进作用。

(4) 混合发酵促进了微生物对互花米草中易分解有机物的利用, 表现为混合发酵后的互花米草中木质素含量较单独发酵的高, 对纤维素结晶区的破坏也有一定的促进作用。

参考文献:

- [1] 朱洪光, 陈小华, 唐集兴. 以互花米草为原料生产沼气的初步研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(5): 201-204.
- [2] 杨世关, 李继红, 郑正, 等. 互花米草厌氧生物转化可行性分析与试验研究[J]. 农业工程学报, 2008, 24(5): 196-199.
- [3] 孟卓. 氨液浸泡及真空处理对互花米草厌氧发酵特性影响研究[D]. 南京: 南京大学, 2008.
- [4] 朱洪光, 陈小华, 王彪. 发酵液循环对互花米草沼气发酵的影响

- 响[J]. 中国沼气, 2007, 25(3): 19-22.
- [5] Kaparaju P, Rintala J. Anaerobic co-digestion of potato tuber and its industrial by-products with pig manure [J]. Resource, Conservation and Recycling, 2005, 43: 175-188.
- [6] Yen H W, Bruhn D E. Anaerobic co-digestion of algal sludge and waste paper to produce methane [J]. Bioresource Technology, 2007, 98: 130-134.
- [7] Hartmann H, Ahring B K. Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of co-digestion with manure [J]. Water Research, 2005, 39: 1543-1552.
- [8] Neves L, Oliveira R, Alves M M. Anaerobic co-digestion of coffee waste and sewage sludge [J]. Waste Management, 2006, 26: 176-181.
- [9] 李继红. 互花米草与土豆混合厌氧发酵试验研究[D]. 南京: 南京大学, 2008.
- [10] Segal L, Creely J J, Martin A E, *et al.* An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer [J]. Textile Research Journal, 1959, 29: 786-794.
- [11] 李继红, 杨世关, 郑正, 等. 互花米草厌氧发酵产沼气初步试验研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 1254-1258.
- [12] Stark N M, Matuana L M. Characterization of weathered wood-plastic composite surfaces using FTIR spectroscopy, contact angle, and XPS [J]. Polymer Degradation and Stability, 2007, 92: 1883-1890.
- [13] Komilis D P, Ham R K. The effect of lignin and sugars to the anaerobic decomposition of solid waste [J]. Waste Management, 2003, 23: 419-423.
- [14] Pandey K K, Pitman A J. FTIR studies of the changes in wood chemistry following decay by brown-rot and white-rot fungi [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2003, 52: 151-160.

《环境科学》再获“百种中国杰出学术期刊”称号

2008年12月9日,中国科学技术信息研究所在中国科技论文统计结果发布会上公布了2007年“百种中国杰出学术期刊”评选结果.《环境科学》再次荣获“百种中国杰出学术期刊”的称号,这也是《环境科学》连续7次获此殊荣.

“百种中国杰出学术期刊”是根据中国科技学术期刊综合评价指标体系进行评定.该体系利用总被引频次、影响因子、基金论文比、他引总引比等多个文献计量学指标进行统计分析,对期刊分学科进行评比,其评价结果客观公正,为我国科技界公认,并具有广泛影响.