

文章编号: 1674-5566(2013)05-0784-06

颗粒大小和几种预处理方法对浒苔厌氧发酵产沼气的影 响

张婷婷^{1,2}, 刘 慧², 叶乃好²

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘 要: 近年来, 由于生态环境变化和人为等因素, 我国东部沿海遭受大规模浒苔侵袭的现象时有发生。开展浒苔的沼气发酵研究, 一方面可以使这种优质的大型海藻类生物质原料被合理高效地利用, 变废为宝; 另一方面可以丰富沼气发酵原材料的种类, 达到可再生能源开发的目的。该实验研究了不同颗粒大小(粗粒 0.30~0.85 mm、中粒 0.15~0.30 mm、细粒 0.075~0.15 mm)和碱预处理法、热预处理法、酸预处理法对浒苔在高温条件下发酵产沼气的影 响。研究表明, 当温度为 50 ℃、初始 pH 为 7、接种率为 10%、料液总固形物(TS)质量分数为 8%的条件下厌氧发酵浒苔, 粗粒组、中粒组和细粒组的浒苔挥发性固体(VS)产气率分别为 386.9 mL/g、434.4 mL/g、436.5 mL/g。其中, 中粒组比粗粒组产气总量提高了 12.26%, 细粒组比中粒组产气总量提高了 0.49%。这说明粒度越小越有利于提高浒苔沼气发酵的利用率; 在相同发酵条件下(同上试验), 碱、热、酸预处理组分别比未预处理组产气总量提高 13.14%、11.39% 和 3.63%。其中, 碱预处理组的 VS 产气率最高, 为 493.3 mL/g, 发酵过程中 pH 也较为稳定。因此, 碱预处理法在提高浒苔厌氧发酵的沼气产量方面效果最佳。该研究的成果可为厌氧发酵浒苔生产沼气的工艺研究及生产提供参考。

研究亮点: 浒苔在城市的海岸暴发时本身是一种污染废物, 利用厌氧发酵技术将其转化成沼气, 具有废物利用的价值。目前, 海藻能源开发是国内外较为新颖的研究项目, 浒苔的资源化利用可以缓解环境污染压力, 同时具有生产沼气的产业化潜力。此外, 其作为生物质能源的原料有低成本、低能耗、低污染等优点。因此, 本研究具有较强的应用价值。

关键词: 浒苔; 厌氧发酵; 沼气; 粒度; 预处理

中图分类号: X 705

文献标志码: A

浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 是绿藻门石莼属的一种大型藻类。主要生长在海洋中, 淡水区域较为少见。主要分布于温带和亚热带海域^[1]。近年来, 由于工业化脚步的加快, 水体富营养化日益严重, 导致了绿潮现象在我国东部沿海地区频频发生^[2], 绿潮的元凶就是藻体呈绿色的浒苔。绿潮的发生严重影响了水上观光、运动与运输。大范围漂浮在海水表面的浒苔会阻挡阳光照射, 不利于海洋中的动植物对阳光的吸收, 进而影响海洋生态结构组成的丰富性。浒苔登陆后在海岸发酵变质, 散发出难闻的气味会污染海边空气^[3]。因此, 绿潮爆发后浒苔的合理处理与

利用十分重要。

浒苔本身是无毒的, 还含有大量的蛋白质、脂类、糖类, 和少量的纤维素等营养物质^[4]。由于浒苔在生长和漂移过程中对营养盐有富集作用, 因此, 浒苔中还含有丰富的营养盐。可见, 浒苔具有很高的利用价值。日本、韩国及我国在医药、食品、饲料、肥料等领域已对浒苔开展了大量的研究工作^[5-9]。近年来, 海藻类生物质能源的开发和利用正受到越来越多的关注。如果能将浒苔运用到沼气的生产中, 那么不但可以降低绿潮危害还能丰富生物质能源的来源。高春燕等对大型海藻发酵产甲烷技术进行了系统的综述

收稿日期: 2013-05-17 修回日期: 2013-05-30

基金项目: 欧盟第七框架计划项目(PIRSES-GA-2008-230803); 科技部对欧盟科技合作专项经费项目(0914); 青岛市国际合作项目(10-1-4-98-hz)

作者简介: 张婷婷(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为海藻能源。E-mail: 634626856@qq.com

通信作者: 刘 慧, E-mail: liuhui@ysfri.ac.cn

总结^[10]。复旦大学的张士成等人成功从浒苔中制得生物油^[11]。JACOB 利用浒苔制取乙醇,其产量达到干物质的 38.1%^[12]。李秀辰等研究了预处理和发酵条件对浒苔沼气发酵的影响。结果表明,随着发酵温度的升高,产气效率呈先升高后降低的趋势;料液 TS 质量分数的提高也会导致产气率先升高再降低^[13]。

大量研究表明,对沼气发酵原料进行磨碎和适当的预处理可以加快原料的液化,提高产气速率^[14-16]。本研究利用青岛海岸打捞的浒苔为原料,在高温条件下对不同颗粒大小和分别经过几种预处理的浒苔进行厌氧发酵产沼气实验,力图找出这些因素对浒苔制取沼气的影

1 材料与方

1.1 试验材料

发酵原料为 2011 年 8 月自青岛团岛海岸边打捞上岸的浒苔,用海水清洗去除浒苔中的杂质,沥干水分后运回实验室。将浒苔用淡水反复冲洗后再用蒸馏水清洗 3 遍,沥干水分,置于 65 ℃ 的鼓风干燥箱中风干至含水量为 8% 后密封备用;菌种为取自林清德能金玉米有限公司的厌氧沼气发酵污泥。

1.2 试验用品

试验用品有氢氧化钠、盐酸、硫酸、焦性没食子酸、氯化亚铜、氯化铵、浓氨水、液体石蜡、铜片、95% 乙醇、凡士林、输液器、500 mL 细口玻璃瓶、橡胶塞、水槽、20 目筛、50 目筛、100 目筛、200 目筛、氮气瓶等。

1.3 试验仪器

试验仪器包括恒温培养箱(DNP-9082,上海精虹实验设备有限公司)、pH 计(雷磁-pH-3E,上海精密科学仪器有限公司)、电热鼓风干燥箱(DHG-9023A,上海一恒科学仪器有限公司)、粉碎机(ZY-C550,许昌市豫邦机械制造有限公司)、恒温水浴锅(HH420-3C,上海比朗仪器有限公司)和奥氏气体分析仪(1904,上海银泽仪器设备有限公司)等。

1.4 试验方法

1.4.1 不同颗粒大小浒苔的厌氧发酵试验

将干浒苔放入粉碎机,反复粉碎多次。利用 20 目筛、50 目筛、100 目筛、200 目筛筛取 20 ~ 50 目、50 ~ 100 目、100 ~ 200 目的浒苔粉末待用。与

之相对应的颗粒大小分别为 0.30 ~ 0.85 mm、0.15 ~ 0.30 mm、0.075 ~ 0.15 mm,分别以粗粒浒苔、中粒浒苔、细粒浒苔称之,则发酵实验组分别为粗粒组、中粒组、细粒组。

利用 500 mL 细口瓶、输液器、橡胶塞和水槽组装连接一套简易的反应和排水集气装置。反应瓶及橡胶塞等均经高温高压灭菌。输液器为医用无菌标准。3 组发酵实验的条件相同,具体情况见表 1。

表 1 不同颗粒大小的浒苔发酵条件

Tab. 1 Fermentation conditions for *E. prolifera* of different particle sizes

温度	初始 pH	接种率	料液 TS 浓度	蒸馏水
50 ℃	7	10%	8%	400 mL

称取粗粒的浒苔粉末 36.58 g 装入 500 mL 细口瓶(反应瓶),取 50 g 厌氧污泥装入盛有浒苔粉末的反应瓶中,加入蒸馏水 400 mL,调整料液 pH 至 7,用氮气充满反应瓶剩余的空间,赶出空气,用橡胶塞盖紧瓶口。填料过程要尽量迅速,避免产甲烷菌接触空气时间过久。填料完毕后用输液器连通装置,连接处用凡士林涂抹,防止漏气。摇匀反应瓶内的发酵液,将反应瓶放入盛有 50 ℃ 水的水槽,以水面没过瓶口为准,用于观察反应瓶气密性、缓冲温度变化。将盛有反应装置的水槽放入 50 ℃ 的恒温培养箱。中粒、细粒组的发酵实验方法相同。3 个处理各设 3 个重复实验。实验进行 30 d,每隔 24 h 测量一次产气量。定期摇匀发酵液并检查装置的气密性。

1.4.2 几种不同预处理的浒苔厌氧发酵试验

本实验均采用颗粒大小为 0.15 ~ 0.3 mm 的浒苔粉末。装置安装、反应条件及操作方法同 1.4.1。

酸预处理组取 109.74 g 浒苔粉末于大烧杯中,加入 300 mL 蒸馏水,搅拌均匀。向混合液中添加稀 HCl 至 pH 为 5。室温下消化 24 h 后,将 pH 调至 7。将酸预处理后的浒苔分成均等的 3 份,进行 3 个重复实验。

碱预处理组除消化 pH 为 10 外,其它条件与方法同酸预处理组。

加热预处理组称取 109.74 g 浒苔粉末于大烧杯中,加入 300 mL 蒸馏水,搅拌均匀。将混合好的样品放入 80 ℃ 的水浴锅中加热 1 h。将加

热预处理后的浒苔分成均等的 3 份,进行 3 个重复实验。

对照组只利用颗粒大小为 0.15 ~ 0.30 mm 未经预处理的浒苔进行厌氧发酵。

1.4.3 测定方法

排水法集气法收集的水的体积与产气的体积相当,只需对排出的水量进行测定即可得到日产气量和总产气量。料液的 pH 利用 pH 计测得。日产沼气的甲烷含量由 1904 型奥氏气体分析仪测得。

2 结果

2.1 颗粒大小对浒苔厌氧发酵产沼气的影响

粗粒、中粒、细粒浒苔在高温条件下厌氧发酵 30 d 的产气总量分别为(12 189 ± 289) mL、(13 683 ± 120) mL 和(13 931 ± 273) mL(图 1)。VS 产气率分别为 386.9 mL/g、434.4 mL/g、436.5 mL/g。从图 1 可看出,中粒组和细粒组都比粗粒组的产气总量高。中粒组的产气总量比粗粒组提高了 12.26%,细粒组的产气总量与中粒组相比提高了 0.49%。对 3 组数据进行显著性分析得出:粗粒组与中粒、细粒两组之间存在显著性差异,中粒组与细粒组之间不存在显著差异。

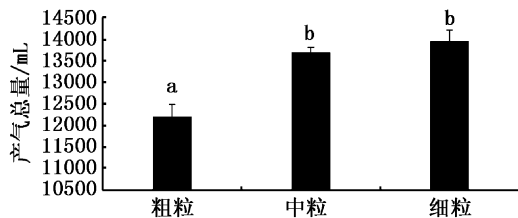


图 1 不同颗粒大小浒苔厌氧发酵的产气总量

Fig.1 Total gas production by anaerobic fermentation of *E. prolifera* of different particle sizes

2.2 几种不同预处理方法对浒苔厌氧发酵产沼气的影响

经不同预处理的浒苔发酵产沼气的日产气量、pH、甲烷含量随时间变化图以及产气总量情况如图 2、3、4、5 所示。

碱、热、酸预处理组与未预处理组发酵 30 d 的日产气趋势都为先升高后降低(图 2)。各组产气高峰都出现在 7 至 11 d 之间。发酵前 25 天的日产气量都在 300 mL 以上。发酵至第 25 天后各

组的日产气量都在 200 mL 以下,且 25 d 后各组日产气量均呈现下降趋势。观察各组日产气量曲线发现:发酵前 4 天,日产气量大小顺序为酸预处理 > 热预处理 > 未预处理 > 碱预处理组。这说明酸预处理法的启动速度最快,热预处理法次之,碱预处理法启动速度与其它 3 组相比较慢。

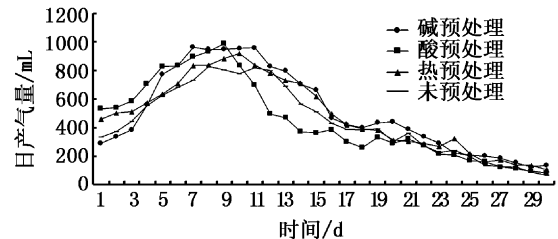


图 2 不同预处理法对浒苔发酵日产气量的影响

Fig.2 Effect of different pretreatment methods on daily gas production of *E. prolifera* fermentation

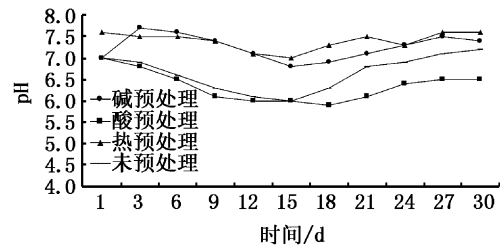


图 3 不同预处理法对料液 pH 的影响

Fig.3 Effect of different pretreatment methods on pH value of the material liquid

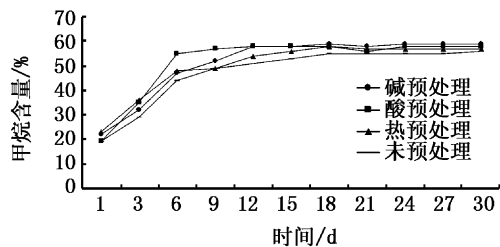


图 4 不同预处理法对浒苔发酵产生甲烷含量的影响

Fig.4 Effect of different pretreatment methods on methane production of *E. prolifera* fermentation

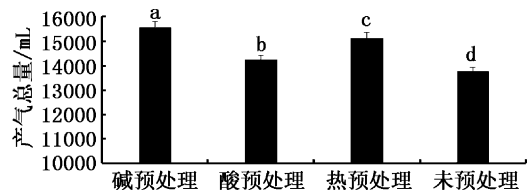


图 5 不同预处理法发酵浒苔的产气总量
Fig.5 Total gas production of *E. prolifera* fermentation after different pretreatment

4 个处理组发酵过程中 pH 都在 6~8 之间,没有发生过酸或过碱的情况(图 3)。各组 pH 变化趋势大体为先下降再上升。碱预处理组和热预处理组发酵期间 pH 始终处于 6.5~7.5 之间,这一区间是公认的较适合沼气发酵菌生长的 pH 区间^[17]。因此,单从 pH 来看,碱预处理法和热预处理法优于酸预处理法和未经预处理发酵。

如图 4 所示,4 个实验组产生沼气中甲烷含量的变化趋势相同,均为一定时间阶段内逐渐上升,升至一定程度后趋于平稳。发酵第一天 4 个实验组产沼气的甲烷含量均在 20% 左右,18~30 d 时各处理组甲烷含量基本保持不变,在 55% 左右。碱预处理组发酵产生的沼气可达到最高的甲烷含量,即 59%。

碱预处理组、热预处理组、酸预处理组和未预处理组的浒苔经高温厌氧发酵 30 d 后分别可产生 15 540 ± 151 mL、15 302 ± 147 mL、14 235 ± 188 mL、13 737 ± 108 mL 的沼气(图 5)。4 组产气总量的数据差异显著。产气总量大小依次为碱预处理法 > 热预处理法 > 酸预处理法 > 未预处理,VS 产气率分别为:493.3 mL/g、485.8 mL/g、451.9 mL/g、436.1 mL/g。碱、热、酸预处理组分别比未预处理组产气量提高 13.14%、11.39% 和 3.63%。从产气总量上看,碱预处理法比其它预处理法更能提高浒苔的利用率,产出更多的沼气,热预处理法次之,酸预处理法效果较差。

3 讨论

3.1 颗粒大小对浒苔厌氧发酵产沼气的影

研究发现,颗粒越小的浒苔在厌氧发酵过程中呈现出浒苔利用率越高的现象,这是由于粉碎预处理可以在一定程度上破坏浒苔细胞,使之内部成分可以更好地与发酵微生物接触,并且更均匀地在水中分散,有利于有机物的分解与利用以及气体的排出。

3.2 几种不同预处理方法对浒苔厌氧发酵产沼气的影

在预处理方法的研究中,不同处理组厌氧发酵日产气量都呈先上升后下降的趋势,这是由于通过微生物对浒苔的分解,乙酸等挥发性脂肪酸不断地累积增多,产生的沼气也不断增多,随着反应的进行,料液中的营养物质被不断消耗,所

能转化的沼气的量也随之下降。

发酵前期脂肪酸的积累导致料液 pH 下降,而随着脂肪酸被产甲烷菌的不断利用使得 pH 有所回升,同时沼气产生伴随着氨的产生,这是导致料液 pH 在发酵后期呈碱性的原因。碱预处理组与酸预处理组的 pH 在整个发酵过程中与未处理组的 pH 有所偏离,即碱预处理组 pH 偏大,酸预处理组 pH 偏小。这可能与预处理时酸碱在浒苔细胞中残留有关。热预处理组的初始 pH 并不是 7,而是 7.5~7.6 左右。这是由于浒苔中含有大量的蛋白质等物质,在高温预处理时产生了一定量的铵态氮,使 pH 增大。

研究表明,酸预处理组相比碱、热、未预处理组更早达到最大甲烷含量。原因可能是浒苔细胞中可能存在酸残留,这有利于挥发性脂肪酸的积累,加快其向甲烷的转化。3 种预处理方法都能使沼气产量和沼气中的甲烷含量不同程度地提高。原因是,对底物加热预处理可以有效破坏浒苔细胞的细胞壁、细胞膜、DNA、RNA 和蛋白质等成分。使大分子物质分解为容易被发酵微生物利用的小分子物质;在适宜的碱性条件下,浒苔的细胞结构会发生一定程度的破坏,表现在细胞膜脂溶解和细胞壁通透性增强。浒苔细胞内的蛋白质由于处于碱性环境而改变电荷性质,导致蛋白质更易溶解。碱液也可以促进浒苔中粗纤维成分的降解;酸预处理法与碱预处理法相似,都可以改变浒苔的水解性质,使纤维素、蛋白质等大分子物质降解,缩短水解过程耗费的时间,提高浒苔的利用率^[18]。

该文没有对酸、碱、热预处理的浒苔发酵实验中具体的消化 pH、消化时间、加热温度及加热时间进行更深入的研究,以上都是影响预处理研究结果的重要因素,若对这些因素进行更多的分析,那么有望找到启动速度相对更快、发酵料液 pH 相对更稳定、产气量相对更高、所产沼气含量相对更高的预处理方法。此外,还可以将预处理方法联用,综合考量预处理对产气性能提高的影响。

4 结论

对浒苔进行磨碎处理可增加浒苔的利用率,颗粒越小浒苔的利用率越高。中粒浒苔比粗粒浒苔产气总量提高了 12.26%,细粒浒苔与中粒

浒苔产气总量相比提高了 0.49%。将浒苔磨至 0.075~0.15 mm 不能明显提高沼气的产量,且磨碎颗粒越小越耗费生产成本。因此,生产中应权衡磨碎成本和磨碎带来的产气增量之间的关系。

经酸预处理的浒苔进行沼气发酵启动速度比碱、热、未预处理组快,产生的沼气最早达到最大甲烷含量;但碱预处理法在本研究中显示出浒苔利用率较大、总产气量较多、料液 pH 较稳定、产出沼气中甲烷含量相对较多的优点。因此,碱预处理法最适合高温条件下厌氧发酵浒苔生产沼气的工艺。

参考文献:

- [1] 曾呈奎,张德瑞,张俊甫.中国经济海藻志[M].北京:科学出版社,1962:43-50.
- [2] 高振会.绿潮灾害发生条件与防控技术[M].北京:海洋出版社,2009:1-3.
- [3] 张惠荣.浒苔生态学研究[M].北京:海洋出版社,2009:10.
- [4] 廖梅杰,郝志凯,尚德荣,等.浒苔营养成分分析与投喂刺参试验[J].渔业现代化,2011,38(4):32-36.
- [5] 孙文,张国琛,李秀辰,等.浒苔资源利用的研究进展及应用前景[J].水产科学,2011,30(9):590-599.
- [6] 刘智禹.浒苔对海水中重金属的富集研究及食用安全风险评估[J].福建水产,2012,34(1):72-75.
- [7] 黄连光,石艳玲,徐中平,等.浒苔制作有机肥研究[J].安徽农业科学,2010,38(23):12888-12890.
- [8] 常巧玲,孙建义.海藻饲料资源及其在水产养殖中应用研究[J].饲料工业,2006,27(2):62-64.
- [9] 徐银峰,王斌,苏传玲,等.浒苔多糖的微波辅助提取工艺及抗氧化活性研究[J].浙江海洋学院学报,2011,30(3):211-216.
- [10] 高春燕,刘慧,叶乃好,等.大型海藻发酵生产甲烷技术研究[J].中外能源,2011,16(4):27-35.
- [11] 精细化工原料及中间体编辑部.大型海藻浒苔成功制成生物油[J].精细化工原料及中间体,2010(8):108-108.
- [12] JACOB T R.利用藻类生产生物质能源[EB/OL].<http://seaweedenergy.com/>.
- [13] 李秀辰,张国琛,孙文,等.不同预处理和发酵条件对浒苔沼气产率的影响[J].农业工程学报,2012,28(19):200-206.
- [14] 任洪艳,吕娴,阮文权.提高太湖蓝藻厌氧发酵产丁酸的预处理方法[J].食品与生物技术学报,2011,30(5):734-739.
- [15] 杨立,张婷,龚乃超,等.稀碱法预处理对秸秆厌氧发酵产气的影响研究[J].安徽农业科学,2011,39(15):9165-9166.
- [16] 覃国栋,刘荣厚,孙辰.酸预处理对水稻秸秆沼气发酵的影响[J].上海交通大学学报:农业科学版,2011,29(1):58-61.
- [17] 宋安东.可再生能源的微生物转化技术[M].北京:科学出版社,2009:19-40.
- [18] 焦翔翔,靳红燕,王明明.我国秸秆沼气与处理技术的研究及应用进展[J].中国沼气,2011,29(1):29-33.

Effect on biogas production by the anaerobic fermentation of *Enteromorpha prolifera* of different granule sizes and with the methods of several pretreatments

ZHANG Ting-ting^{1,2}, LIU Hui², YE Nai-hao²

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, Shandong, China)

Abstract: In recent years, the phenomenon that China's eastern coast was invaded by *Enteromorpha prolifera* because environmental change and anthropogenic factors occurred frequently. The significance of the study on fermentation of *E. prolifera* is in order to make the high-quality macroalgae biomass feedstock to be used rationally and efficiently, and to turn waste into treasure; On the other hand, it is a method to enrich types of raw materials of biogas in fermentation process to achieve the purpose of the development of renewable energy. In this paper, we research the effects on the biomass production by anaerobic fermentation of *E. prolifera* of different granule sizes (coarse particles 0.30 – 0.85 mm, medium-grained 0.15 – 0.30 mm, fine-grained 0.075 – 0.15 mm) and under different pretreatment methods (thermal pretreatment, dilute alkali pretreatment, acid pretreatment). The results show that, biogas production rate of volatile solids (VS) in anaerobic fermentation process of using *E. prolifera* of different granule sizes mentioned above are 386.9 mL/g, 434.4 mL/g and 436.5 mL/g. The production of biogas of *E. prolifera* at medium-grained showed 12.26% improvement than that at coarse particles. The experiments of *E. prolifera* at fine-grained showed 0.49% improvement than that at medium-grained. It shows that the smaller the particle size, the more improvement of utilization of *E. prolifera* in biogas production. It was found that, compared with the group without pretreatment, efficiency of biogas production of the three pretreated groups (thermal, dilute alkali and acid pretreatment methods) showed 13.13%, 11.39% and 3.63% improvement when all the groups were under the same conditions (the same as the previous experiment). Alkaline pretreatment method showed the best result, biogas production rate of volatile solids of this group is 493.3 mL/g. Alkaline pretreatment method improved biogas production efficiency in fermentation effectively, and the pH value in the process is relatively stable. This study tries to provide a theoretical reference to the research of biogas production process by anaerobic fermentation of *E. prolifera*.

Key words: *Enteromorpha prolifera*; anaerobic fermentation; biogas; granule size; pretreatment