

# 秸秆类生物质发酵法生物产氢的研究

杏艳, 马红翠, 樊耀亭\*, 侯红卫, 陈景润

郑州大学化学系, 郑州 450052

\* 联系人, E-mail: [yt.fan@zzu.edu.cn](mailto:yt.fan@zzu.edu.cn)

2008-07-15 收稿, 2008-12-17 接受

国家重点基础研究发展计划(编号: 2006CB708407 和 2009CB220005)、国家自然科学基金(批准号: 90610001 和 20871106)、高校博士点专项科研基金(编号: 20070459007)、教育部郑州大学“211”工程资助项目

Xing Y, Ma H C, Fan Y T, et al. Cellulose-hydrogen production from corn stalk biomass by anaerobic fermentation.

Chinese Science Bulletin, 2009, 54, doi: 10.1007/s11434-009-0147-x

**摘要** 以玉米秸秆发酵生物产氢为目标, 在考察大熊猫粪产氢特性基础上, 在批式实验条件下系统考察了预处理方法对底物糖化效率和发酵产氢的影响, 并在 5 L CSABR 反应器中完成了秸秆发酵产氢的验证实验. 研究表明: 以 7.5 g/kg 微贮剂糖化水解秸秆最有效, 秸秆经预处理后可溶性糖和乳酸含量分别达到最大值 212 mg/g-TS 和 21 mg/g-TS; 在最佳发酵产氢条件下, 玉米秸秆的累积氢产量、产氢速率和氢浓度分别为 176 mL/g-TS, 14.5 mL/g-TS·h<sup>-1</sup> 和 57.2%. 反应器中主要的液相发酵副产物为丁酸、乙酸和乙醇(丁醇), 没有检测到甲烷气体存在. 在最佳的产氢周期, ORP 值维持在 -445 ~ -455 mV 的较低水平. 实验结果表明: 底物的生物预处理在秸秆的发酵产氢过程中扮演了至关重要的角色.

**关键词**

大熊猫粪  
玉米秸秆  
生物预处理  
氢气  
厌氧发酵

近年来, 随着国际原油价格的持续攀升, 以及由于使用化石燃料所带来的严重环境污染问题, 已对我国乃至全球经济的可持续发展带来严重挑战. 为了缓解对化石燃料的依赖, 人们尝试以粮食为原料生产生物乙醇燃料, 用于部分替代化石燃料. 由于该方法需要消耗大量的粮食, 已引起国际市场粮食价格的大幅度上涨和全球性粮食短缺, 汽车与人类争“口粮”的问题日益突出. 因此, 研究开发新的可再生清洁能源已成为一项十分紧迫的任务.

与其他能源相比, 氢能具有清洁(燃烧副产物只生成水)、高效(热值大约是化石燃料的三倍)和可再生(可从废弃的生物质资源获得)的特点, 是科学界公认的清洁可再生能源. 氢能作为清洁燃料, 在现代交通工具、航空航天和未来的氢能发电等领域意义重大. 此外, 氢气作为基本的化工原料, 在石油化工、食品加工、化学制药以及电子工业等领域也有重要用途.

虽然人们可通过传统的热化学分解、电解水、水煤气转化和石油裂解等方法获得氢气, 但这些制氢

方法不仅能耗高, 且大多需要消耗一次性能源. 与上述制氢方法相比, 发酵生物制氢方法具有反应条件温和、能耗低, 生物气成分简单(仅生成氢气和二氧化碳), 易于分离提纯的特点, 已成为能源、环境、化学、生物多学科交叉和聚焦的热点研究领域<sup>[1-4]</sup>.

迄今发酵生物制氢处理对象大多仍局限在糖和淀粉类碳水化合物及其相应的有机废水方面, 关于植物纤维素类废弃物发酵生物制氢的研究虽有报道, 但真正有用的信息仍然是缺乏的. 由于该类生物质化学结构复杂, 通常情况下并不能被产氢微生物直接降解利用而产生氢气, 例如: 当以粗玉米秸秆和麦草秸秆为底物用于发酵产氢时, 其最大产氢能力只有 2.68 和 0.5 mL/g<sup>[5]</sup>. 为了改善和提高该类生物质的发酵产氢能力, 人们尝试在发酵产氢前先对底物进行必要的糖化水解预处理, 不同的预处理方法已相继被报道. 例如: Datar 课题组分别通过蒸汽汽爆和酸性蒸汽汽爆对玉米秸秆进行糖化水解, 得到相应的可溶性糖含量为 156.8 和 204.5 mg/g, 当其用于发

酵产氢时,得到的最大氢产量分别为 51.7 和 71.7 mL/g<sup>[6]</sup>. 樊耀亭等人研究了不同预处理方法对底物发酵产氢的影响,发现经稀酸煮沸预处理的玉米秸秆和啤酒糟的氢产量分别为 126.9 和 54.4 mL/g,经稀酸煮沸/微波法预处理的麦草秸秆的氢产量可达 68.1 mL/g<sup>[7~11]</sup>. 但关于秸秆通过固态微贮水解预处理和发酵产氢的研究迄今未见报道.

我国是传统的农业大国,生物质资源极为丰富. 据报道,我国秸秆类生物质的年产量约为 7 亿吨,其中玉米秸秆的年产量约为 2.2 亿吨. 这些废弃物除少量被用作饲料外,大多被废弃或焚烧,不仅污染环境,也造成可再生资源的巨大浪费,若能将这些废弃的生物质资源转化为清洁的氢能将有意义.

基于上述背景,本文选择玉米秸秆作为植物纤维素类生物质的代表,系统考察了菌种来源、预处理方法对秸秆发酵产氢的影响,实现了 5 L 规模的秸秆发酵产氢验证性放大实验,取得了有意义的结果.

## 1 材料与方法

### 1.1 产氢微生物

用作天然产氢菌源的牛粪堆肥和小熊猫粪分别取自郑州市奶牛场和郑州动物园. 菌源使用前按 1:2 的固液比(重量比)加入自来水混合均匀,常温强制曝气 24 h 后,再按照常规方法用蔗糖驯化培养处理,抑制产甲烷菌及其他嗜氢微生物的活性和富集产氢微生物. 经驯化处理的菌源作为种子液用于后续的产氢实验.

### 1.2 实验材料

作为产氢底物的玉米秸秆其主要成分如下:总固体(TS)75%、纤维素 33.64%、半纤维素 24.4%、木质素 8.65%、可溶性糖 0.073 g/g-TS,总固体指试样在 103~105 的条件下蒸发至恒重所余固体物的总量.

液态纤维素酶由宁夏和氏璧生物技术公司提供,酶活为 2.2 IU/mL,1 个酶活单位为 1 min 从底物溶液中分解产生 1 μmol 葡萄糖所需要的酶量.

微贮剂由中良试剂公司提供,主要成分为:复配的芽孢杆菌(200 亿个/g)、植物乳杆菌(50 亿个/g)、酵母菌(60 亿个/g)等微生物.

营养液组成(g/L): NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> 80; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 12.4; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.1; NaCl 0.01; FeCl<sub>2</sub> 0.0278; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.01; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.01; MnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.015.

### 1.3 底物预处理

酸预处理:将粉碎至 40 目的玉米秸秆分别与一定浓度的乳酸、盐酸或硫酸按固液比(重量比)1:10 的比例加入血清瓶中,(120±1)°C 水解 1h 后,用稀碱中和至 pH = 7.0.

酸-酶耦合预处理:经酸处理的玉米秸秆残渣与含有一定量缓冲液的液态纤维素酶按固液比(重量比)1:20 的比例混合后,置于振荡器内,在(50±1)的条件下酶解 72 h.

固态微贮预处理:将粉碎至 40 目的玉米秸秆与微贮剂混合均匀装入血清瓶中,用氮气置换瓶中空气,橡胶塞密封瓶口,在 25 °C 恒温处理 15 d,其间,体系 pH 值无需调节.

### 1.4 批式实验方法

将预处理的玉米秸秆、2 mL 营养液及 30 mL 种子液置于 150 mL 血清瓶中,调节体系 pH 值至 7.0,加水使总体积为 50 mL,用氮气吹扫,橡胶塞密封瓶口,将其置于恒温振荡器中,(35±1)、120 r·min<sup>-1</sup> 条件下发酵产氢. 定时检测产气量,分析气相产物中氢气、二氧化碳和甲烷的含量以及液相中挥发性脂肪酸和醇的浓度.

### 1.5 分析方法

生物气体积采用饱和食盐水排气法进行测定;氢气及挥发性脂肪酸含量用气相色谱法测定<sup>[11]</sup>;秸秆样品中可溶性糖含量采用 DNS 方法测定<sup>[12]</sup>.

### 1.6 数据分析

累积氢产量按(1)式进行计算:

$$V = V_0\gamma_i + \sum V_i\gamma_i, \quad (1)$$

式中  $V$  为累积氢产量(mL);  $V_0$  为反应器液面上空的体积(mL);  $V_i$  为第  $i$  次抽出气体的体积(mL);  $\gamma_i$  为第  $i$  次抽出气体中氢气浓度.

产氢动力学模型用修正的 Gompertz 方程((2)式)对玉米秸秆厌氧发酵过程的反应延迟时间、产氢潜势和产氢速率进行拟合.

$$H = P \exp \left\{ -\exp \left[ \frac{R_m e}{P} (\lambda - t) + 1 \right] \right\}, \quad (2)$$

式中  $H$  为累积氢产量(mL);  $\lambda$  为产氢延迟时间(h);  $P$  为产氢潜势(mL);  $R_m$  为产氢速率(mL/h);  $e$  为常数,其值为 2.718281828. 采用 Excel 2000 对数据进行牛顿迭代计算<sup>[13]</sup>. 本文中  $P_s$ ,  $R'_m$  分别被定义为 mL/(g-TS),

mL/(g-TS·h).

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同菌种来源的产氢特性

批次实验所用秸秆经 0.1%乳酸预处理. 在底物浓度 15 g/L, 初始 pH 7.0 的条件下, 发酵产氢实验结果经修正的 Gompertz 方程拟合, 得到牛粪堆肥和小熊猫粪的最大产氢速率、产氢潜势、反应延迟时间列于表 1, 二者回归系数  $R^2$  均大于 0.98. 由表 1 可以看出, 两种菌源对秸秆的产氢能力存在较大差异. 例如, 以小熊猫粪为菌源时, 秸秆的最大产氢速率和氢产量分别为  $9.1 \text{ mL/g-TS}\cdot\text{h}^{-1}$  和  $109 \text{ mL/g-TS}$ , 明显高于以牛粪堆肥为菌源时的最大产氢速率( $4.6 \text{ mL/g-TS}\cdot\text{h}^{-1}$ ) 和氢产量( $89.2 \text{ mL/g-TS}$ ), 这种差异反映出不同菌源之间产氢菌属的不同<sup>[8]</sup>.

表 1 不同菌源发酵产氢过程的动力学参数

菌源	底物浓度/ g·L <sup>-1</sup>	初始 pH 值	$\lambda/\text{h}$	$R'_m/\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{TS}\cdot\text{h}^{-1}$	$P_s/\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{TS}$	$R^2$
牛粪堆肥	15	7.0	11.7	4.6	89.2	0.989
小熊猫粪	15	7.0	11.5	9.1	109	0.996

表 2 数据进一步表明了小熊猫粪利用不同底物的产氢特性. 结果表明, 小熊猫粪在 pH 5.0~7.0 范围内能很好地利用葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖、木糖和纤维二糖等底物进行发酵产氢, 产氢能力从  $134 \text{ mL/g-底物}$  到  $298 \text{ mL/g-底物}$ (表 2), 视底物的不同而异, 其中葡萄糖的产氢能力最佳( $298 \text{ mL/g-底物}$ ). 从表 2 数据也可以看出, 当以微晶纤维素为底物时, 系统也呈现一定的产氢能力( $67 \text{ mL/g-底物}$ ). 通常认为可溶性糖是产氢菌的最好底物, 纤维素类聚合物大分子不能被产氢菌直接降解利用而生产氢气<sup>[14,15]</sup>. 上述实验现象不同于大多数的文献报道<sup>[14,15]</sup>, 实验结果暗示: 小熊猫粪中可能含有能直接将纤维素降解为氢气的微生物, 使其具有一定的氢发酵产氢能

表 2 不同底物发酵产氢过程的动力学参数

碳源	$P_s/\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$	$R'_m/\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$	$\lambda/\text{h}$	$R^2$
葡萄糖	298	30.3	3	0.9936
麦芽糖	243	24.6	4.5	0.9991
乳糖	134	11.4	16.5	0.9922
木糖	189	13.8	4.5	0.9956
蔗糖	275	24.8	2	0.9916
纤维二糖	257	30.8	4.5	0.9956
微晶纤维素	67	4.1	13	0.9894

力. 因此本文选择小熊猫粪作为产氢菌源.

### 2.2 预处理方法对秸秆糖化效率及发酵产氢的影响

玉米秸秆主要由纤维素、半纤维素和木质素组成, 通常条件下很难被产氢菌直接降解产生氢气. 例如: 当以小熊猫粪为菌源时, 未经处理的玉米秸秆最大氢产量仅为  $20 \text{ mL/g-TS}$ . 为了改善秸秆的产氢能力, 在固定底物浓度  $15 \text{ g/L}$ , 初始 pH=7.0 的条件下, 我们考察了不同预处理方法对秸秆糖化效率及发酵产氢的影响.

( ) 稀酸预处理. 乳酸、盐酸及硫酸预处理对秸秆糖化效率及其产氢能力的影响示于图 1. 由图 1 可以看出, 酸的种类和浓度对秸秆糖化效率均有重

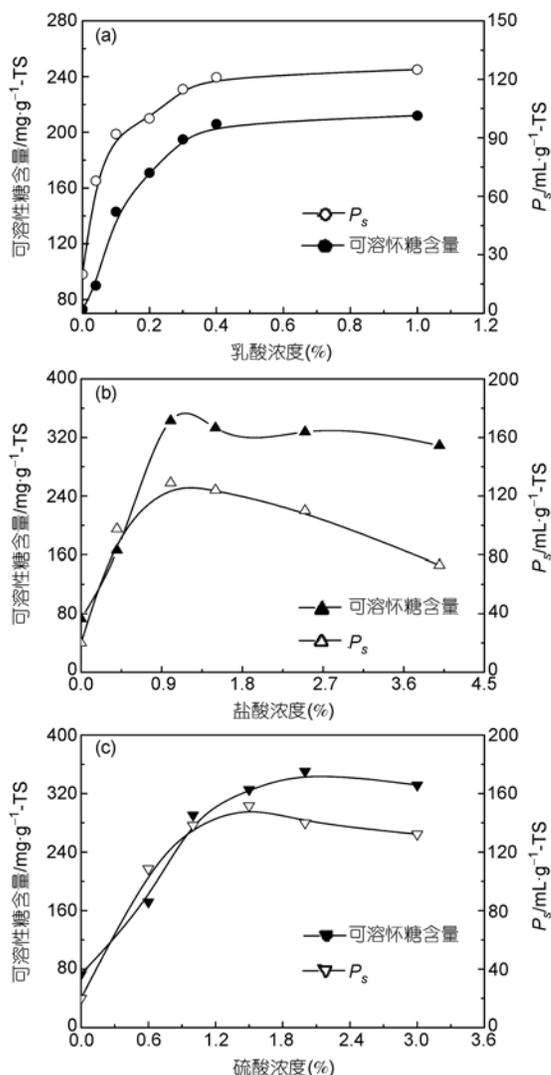


图 1 不同预处理方法对玉米秸秆糖化效率和氢产量的影响 (a) 乳酸; (b) 盐酸; (c) 硫酸

要影响。例如：当乳酸浓度在 0.04%~1.0% 范围内变化时，秸秆中可溶性糖含量随着乳酸浓度的增加而增加，在 0.4% 时达到最大值(212 mg/g-TS)，其后，进一步增加乳酸浓度，底物中可溶性糖含量没有发生明显变化；当用盐酸或硫酸分别对玉米秸秆进行预处理时，盐酸浓度在 0.04%~1.0%，硫酸浓度在 0.6%~2.0% 的范围内变化时，秸秆中可溶性糖含量随着酸浓度的增加而增加，分别从 166 mg/g-TS 和 172 mg/g-TS 增加到最大值 343 mg/g-TS 和 350 mg/g-TS，其后，随着盐酸或硫酸浓度的进一步增加，底物中可溶性糖含量呈逐渐下降趋势(4% 盐酸为 309 mg/g-TS；3.0% 硫酸为 341.6 mg/g-TS)。这是由于随着盐酸或硫酸浓度的增加，在底物糖化水解的同时，副反应也随之增加，由于糠醛、5-羟甲基糠醛、乙酰丙酸和酚类化合物等副产物的生成，导致底物中可溶性糖含量的降低<sup>[16,17]</sup>。

以上述酸解后的秸秆作为产氢底物进行发酵产氢，结果示于图 1。结果表明，当预处理的乳酸浓度在 0.04%~0.4% 范围内变化时，秸秆的氢产量随着乳酸浓度的增加急剧增加，在乳酸浓度为 0.4% 时，氢产量达到最大值(125 mL/g-TS)，其后随着乳酸浓度的进一步增加，氢产量趋于恒定；当预处理的盐酸浓度和硫酸浓度分别在 0.6%~1.0% 和 0.6%~1.5% 范围内变化时，玉米秸秆的氢产量随着酸浓度的增加而增加，当盐酸和硫酸浓度分别为 1.0% 和 1.5% 时，玉米秸秆的氢产量分别达到最大值 129 mL/g-TS 和 151 mL/g-TS。其后，随着酸浓度的进一步增加，秸秆的氢产量呈现不同程度的下降趋势(例如：4% 盐酸为 73 mL/g-TS，3.0% 硫酸为 132.2 mL/g-TS)。氢产量下降的原因是由于高浓度的氯离子和硫酸根离子抑制了厌氧产氢菌的活性。此外，在酸预处理过程中，为了中和酸而加入的 NaOH，导致体系中 Na<sup>+</sup> 离子的积累，使得反应器中产氢微生物的细胞渗透压增高，抑制了细胞对营养物质的吸收以及代谢酶的活性。由图 1 结果也可以看出，虽然经 1.0% 盐酸和 1.5% 硫酸预处理的玉米秸秆中可溶性糖含量相差不大(例如：1.0% 盐酸为 342.9 mg/g-TS；1.5% 硫酸为 325.7 mg/g-TS)，

但二者的氢产量却有很大差异(例如：1.0% 盐酸为 129 mL/g-TS；1.5% 硫酸为 151 mL/g-TS)，这个现象反映了氯离子比硫酸根离子对产氢菌有更强的抑制作用。

( ) 酸-酶耦合水解预处理。经 1.5% 硫酸水解的秸秆残渣进一步用于液态酶解，酶解气氛对玉米秸秆糖化效率及产氢能力的影响示于表 3。由表 3 可知，在厌氧气氛下，酶解的秸秆中可溶性糖含量(400 mg/g-TS)和氢产量(153 mL/g-TS)明显高于有氧条件下的实验结果(330 mg/g-TS，140 mL/g-TS)。这说明酶解气氛有意义的影响秸秆的糖化效率和发酵产氢能力。

固定实验条件为：酶解温度 50 °C，pH 4.8，底物浓度 50 g/L，酶解时间 72 h 的厌氧气氛下，酶量对秸秆中可溶性糖含量和氢产量的影响结果示于表 4。由表 4 可以看出，酶量在 1.1~17.6 IU/g 的范围内变化时，秸秆中可溶性糖含量和氢产量随着酶量的增加逐步增加，当酶量为 17.6 IU/g 时，秸秆中可溶性糖含量和氢产量分别达到最大值 470 mg/g-TS 和 165 mL/g-TS。其后，随着酶量的继续增加，秸秆中可溶性糖含量和氢产量没有发生明显变化，这一结果与酶促动力学现象相符<sup>[18,19]</sup>。

( ) 固态微贮预处理。虽然固态微贮方法已在饲料青贮过程中得到广泛应用，但迄今未见其用于秸秆发酵产氢的报道。本文尝试用固态微贮剂对秸秆进行糖化水解预处理。固态微贮预处理对秸秆糖化效率和氢产量的影响分别示于图 2 和 3，相应的产氢动力学参数见表 5。由图 2 结果可以看出，在微贮剂用量小于 7.5 g/kg 的条件下，秸秆糖化效率随着微贮剂用量的增加而增加，并伴随有乳酸的生成。当微贮剂用量为 7.5 g/kg 时，秸秆中可溶性糖和乳酸含量分别达到最大值 212 mg/g-TS 和 21 mg/g-TS。其后，随着微贮剂用量的进一步增加，秸秆中可溶性糖含量迅速下降，而乳酸含量则呈缓慢上升趋势，例如：当微贮剂用量为 12.5 g/kg 时，秸秆中可溶性糖含量降至 79 mg/g-TS，而乳酸含量则增加至 25 mg/g-TS。上述实验结果表明，在秸秆的糖化水解过程，微贮剂用量应控制在合理的水平，如果微贮剂用量过高，会

表 3 酶解气氛对玉米秸秆糖化效率及氢产量的影响

酶解气氛	酶量/IU·g <sup>-1</sup>	酶解时间/h	酶解温度/°C	pH	可溶性糖含量/mg·g <sup>-1</sup> -TS	P <sub>2</sub> /mL·g <sup>-1</sup> -TS
有氧气氛	11	72	50	4.8	330	140
厌氧气氛	11	72	50	4.8	400	153

表4 酶量对玉米秸秆糖化效率和氢产量的影响

酶量/ $\text{IU} \cdot \text{g}^{-1}$	可溶性糖含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{-TS}$	$P_s/\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}\text{-TS}$	$\lambda/\text{h}$	$R^2$
1.1	348	134	6	0.9864
2.2	348	134.3	5.5	0.9793
4.4	352	135	3.6	0.9899
6.6	364	136.8	1.4	0.9921
11	374	144	0.5	0.9937
17.6	468	165	3	0.9864
22	470	165	3	0.9788
26.4	470	165	4.5	0.9653

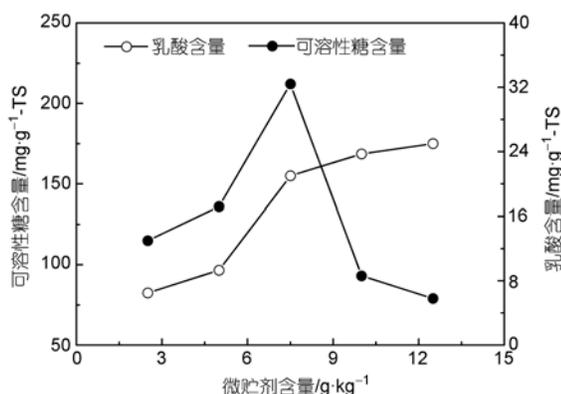


图2 微贮剂用量对可溶性糖含量和乳酸含量的影响

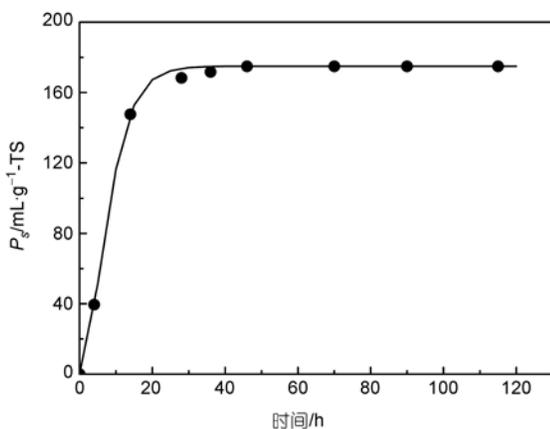


图3 微贮处理的秸秆氢产量随培养时间的变化曲线

表5 微贮剂用量对秸秆产氢过程动力学参数的影响

微贮剂含量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\lambda/\text{h}$	$R'_m/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{-TS} \cdot \text{h}^{-1}$	$P_s/\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}\text{-TS}$	$R^2$
2.5	5.5	11.7	123.5	0.999
5.0	0	8.1	127	0.999
7.5	1.4	14.2	175	0.999
10.0	3.6	8.6	113.5	0.990
12.5	4.5	4.8	81	0.986

导致秸秆的过度酸化,引起秸秆中可溶性糖含量的下降.

由图3和表5的结果可以看出,当微贮剂用量为7.5 g/kg时,在反应时间为0~30 h范围内,秸秆的氢产量随着发酵时间的增加而增加,最大的氢产量175 mL/g-TS和产氢速率14.2 mL/g-TS·h<sup>-1</sup>分别出现在发酵时间30 h和10 h,其后,随着培养时间的增加氢产量趋于恒定.产氢结束后,没有检测到残留的可溶性糖和乳酸的存在,说明了反应器中可用的底物已被产氢微生物有效降解.

上述实验结果表明:玉米秸秆经过盐酸、硫酸、酸酶耦合或固态微贮水解预处理后,均可有效改善秸秆的产氢能力,其中固态微贮预处理的玉米秸秆产氢效果最佳(175 mL/g-TS).该实验结果也高于文献报道的中性蒸汽汽爆玉米秸秆(51.7 mL/g)和酸性蒸汽汽爆玉米秸秆(71.7 mL/g)的产氢数据<sup>[6]</sup>,这说明固态微贮预处理在秸秆的发酵产氢中是一个更为有效的预处理方法.

为了探讨玉米秸秆的发酵产氢机理,我们进一步计算了秸秆中可溶性糖、乳酸与氢产量之间的相互关系.尚若玉米秸秆的发酵产氢过程属于丁酸型发酵(即1 mol葡萄糖生成2 mol氢气)<sup>[20]</sup>,1 g玉米秸秆经固态微贮预处理后,所生成的可溶性糖(212 mg/g-TS)和乳酸(21 mg/g-TS)理论氢产量应为63.8 mL/g-TS;尚若秸秆的发酵产氢过程属于乙酸型发酵(即1 mol葡萄糖生成4 mol氢气),1 g玉米秸秆经固态微贮预处理后,理论氢产量应为127.6 mL/g-TS,上述计算值均低于实验得到的氢产量(175 mL/g-TS),由此我们推测:玉米秸秆高的氢产量主要是由于秸秆水解生成的可溶性糖和乳酸的贡献,同时也与秸秆中部分纤维素和半纤维素的直接降解有关.实验结果建议:作为天然产氢菌源的小熊猫粪中可能含有能直接降解纤维素和半纤维素的微生物,这一推测与2.1的实验结果是一致的.

### 2.3 验证实验

验证实验在5 L(图4)连续搅拌厌氧产氢反应器(CSABR)中完成.将微贮预处理的玉米秸秆、小熊猫粪种子液及营养液按一定配比加入反应器中,维持厌氧环境,用湿式流量计测量产气量,定时检测生物气中氢气含量以及液相产物中VFAs和醇含量.在底物浓度15 g/L, pH 5.5±0.2, HRT = 10 h, (36±1) 及搅拌转速120 r·min<sup>-1</sup>的最佳产氢条件下进行验证产氢

实验.

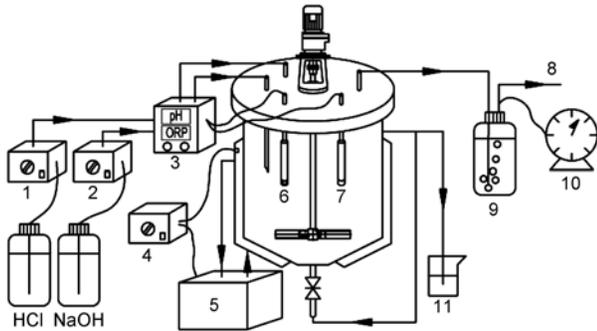


图4 5 L 连续搅拌厌氧发酵产氢反应器(CSABR)及流程图  
1和2, 蠕动泵; 3, pH, ORP 数控装置; 4, 控温装置; 5, 恒温水浴装置;  
6, pH 电极; 7, ORP 电极; 8, 气相检测口; 9, 集气瓶; 10, 湿式流量计;  
11, 液相末端产物检测口

( ) 玉米秸秆的氢产量. 玉米秸秆氢产量随时间的变化曲线如图 5(a)所示. 由图 5(a)可知, 产氢系统几乎没有经历延迟期, 反应器一经启动即开始产氢, 累积氢产量随着发酵时间的增加而迅速上升, 当发酵 30 h 时, 氢产量和氢浓度分别达到最大值 175.6 mL/g-TS 和 57.2%. 秸秆的最大产氢速率 14.5 mL/g-TS·h<sup>-1</sup> 出现在发酵时间 6 h. 为了验证实验数据的可靠性, 我们进一步用修正的 Gompertz 方程描述该产氢过程, 经计算得到玉米秸秆的最大产氢能力、产氢速率和反应延迟时间分别为 176 mL/g-TS、14.5 mL/g-TS·h<sup>-1</sup> 和 0 h, 相关系数  $R^2$  为 0.997, 说明实验值与计算值相吻合.

( ) ORP 值及底物的降解特性. 反应器中 ORP 值随培养时间的变化曲线示于图 5(a), 由图 5(a)的数据可以看出, 在发酵反应初期, 反应器中 ORP 值为 -102 mV, 较高的 ORP 值反映了系统中微量氧的存在, 这些微量氧是由于接种和操作过程中带入的; 随着发酵产氢反应的进行, 体系中残留的痕量氧被逐渐消耗, ORP 值迅速下降, 在发酵反应 7.5 h 时, ORP 值降至 -446.5 mV, 体系进入持续产氢阶段, 说明反应器已从兼性厌氧环境演替为绝对厌氧环境; 其后, 在培养时间 7.5~80 h 时, 体系处于最佳的产氢周期, ORP 值维持在较低的负值 -445 ~ -455 mV 范围内. 该研究结果类似于大多数的文献报道<sup>[21,22]</sup>.

ORP 值在一定程度上反映了反应器发酵产氢的类型和厌氧环境, 因此通过对反应器 ORP 值的监测和调控, 可以实现高效和稳定的发酵产氢. 任南琪等人的研究<sup>[23]</sup>表明, 对于不同发酵产氢类型(例如: 乙酸型, 丁酸型和丙酸型发酵)的产氢微生物, 其耐氧能

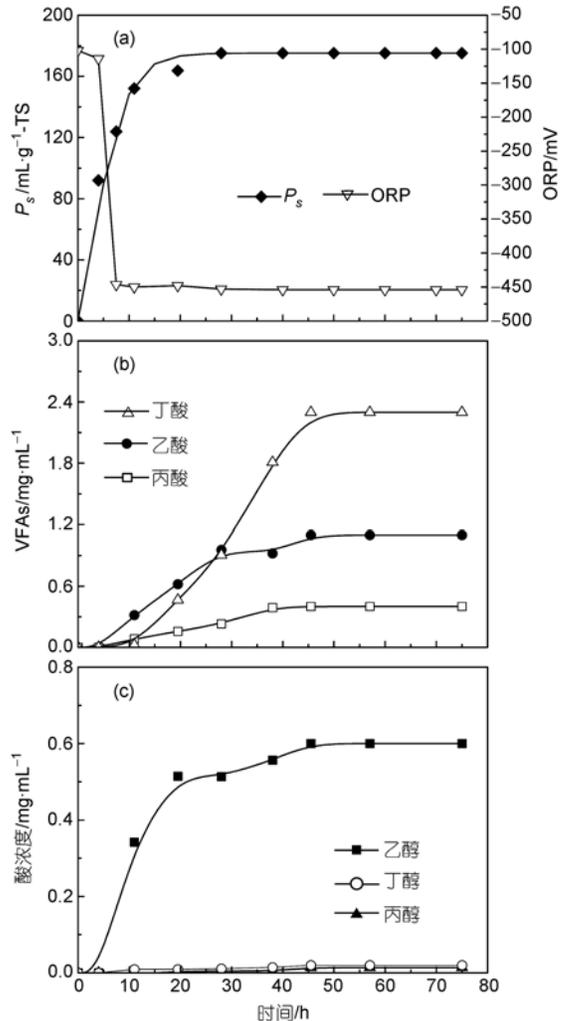


图5 在 5 L CSABR 反应器中秸秆氢发酵随培养时间的变化曲线

力存在明显的差别, 因此需要不同的 ORP 值. 例如: 丙酸型发酵的优势菌群为兼性厌氧菌, 所需 ORP 较高 (-300 ~ -100 mV); 丁酸型和乙酸型发酵以专性厌氧菌为主, 所需 ORP 值较低(-450 ~ -300 mV). 为了实现反应器的最佳产氢, 反应器中 ORP 值应维持较低水平. 在实际操作过程可通过向反应器中投加还原性物质来降低体系的 ORP 值. 例如: 樊耀亭等人<sup>[22]</sup>尝试通过向反应器内投加还原性铁粉或 Fe<sup>2+</sup>可有效降低反应器的 ORP 值, 使系统的产氢能力得到明显改善.

发酵液相末端产物中挥发性脂肪酸和醇浓度随培养时间的变化曲线如图 5(b)和 5(c)所示. 由图 5(b)和 5(c)可以看出, 发酵液相末端产物主要为丁酸、乙酸和乙醇, 并伴随痕量的丙醇和丁醇产生. 在培养时

间为 50 h 时, 丁酸、乙酸和乙醇浓度分别达到最大值 2.3 mg/mL、1.1 mg/mL 和 0.6 mg/mL. 其后随着产氢底物的逐渐耗尽, 系统停止产氢. 在整个发酵产氢过程中, 生物气中只检测到  $H_2$  和  $CO_2$  的生成, 没有检测到甲烷的存在. 氢发酵过程中生成的液相副产物 (VFAs 和醇) 属二次污染物, 其相关的综合利用后续研究工作尚在进行中.

在最佳产氢条件下, 反应器连续运行一周, 没有出现异常. 在放大实验条件下的主要产氢数据优于批式实验结果. 与批式实验相比, 放大实验条件下反应器中氢分压较低、体系的 pH 值可以在线控制, 因此反应更易于控制和操作.

### 3 结论

( ) 作为天然产氢菌源的小熊猫粪对不同含糖底物均呈现良好的产氢活性, 对微晶纤维素也具有一定的降解产氢特性, 最大氢产量为 67 mL/g.

( ) 水解预处理在玉米秸秆的糖化和发酵产氢中扮演了关键的角色. 秸秆的糖化效率和产氢能力随预处理方法的不同而异, 其中以固态微贮预处理的效果最佳.

( ) 在 5LCSABR 反应器中完成了玉米秸秆发酵产氢的验证实验. 在最佳产氢条件下, 秸秆的最大氢产量和产氢速率分别为 176 mL/g-TS 和 14.5 mL/g-TS · h<sup>-1</sup>.

### 参考文献

- 1 Fan Y T, Li C L, Hou H W, et al. Optimization of initial substrate and pH levels for germination of sporing hydrogen-producing anaerobes in cow dung compost. *Bioresource Technol*, 2004, 91: 189—193[doi]
- 2 Naoaki K, Akiko M, Koichi K. Studies on hydrogen production by continuous culture system of hydrogen producing anaerobic bacteria. *Wat Sci Tech*, 1997, 36: 41—47
- 3 Ueno Y, Haruta S, Ishii M. Microbial community in anaerobic hydrogen-producing microflora enriched from sludge compost. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2001, 57: 555—562[doi]
- 4 Steven V G, Sung S W, Lai J J. Biohydrogen production as a function of pH and substrate concentration. *Environ Sci Technol*, 2001, 35: 4726—473[doi]
- 5 樊耀亭, 侯红卫, 任保增. 天然混合厌氧产氢微生物的筛选方法, 中国发明专利, ZL03126345.3, 2006-2-15
- 6 Datar R, Huang J, Mansee P C, et al. Hydrogen production from the fermentation of corn stover biomass pretreated with a steam-explosion process. *Int J Hydrogen Energ*, 2006, 32: 932—939[doi]
- 7 杏艳, 赵金安, 樊耀亭, 等. 含纤维素类生物质的生物制氢. *太阳能学报*, 2006, 7: 656—660
- 8 樊耀亭, 廖新成, 卢会杰, 等. 有机废弃物氢发酵制备生物氢气的研究. *环境科学*, 2003, 3: 132—135
- 9 Fan Y T, Zhang G S, Guo X Y, et al. Biohydrogen-production from beer biomass by cow dung compost. *Biomass Bioenergy*, 2006, 30: 493—496[doi]
- 10 Fan Y T, Zhang Y H, Zhang S F, et al. Efficient conversion of wheat straw into biohydrogen gas by cow dung compost. *Bioresource Technol*, 2006, 97: 500—505[doi]
- 11 Zhang M L, Fan Y T, Xing Y, et al. Enhanced biohydrogen production from cornstalk wastes with acidification pretreatment by mixed anaerobic cultures. *Biomass Bioenergy*, 2007, 31: 250—254[doi]
- 12 王福荣. 生物工程分析与检验. 北京: 中国轻工业出版社, 2005. 148
- 13 Fang H H P, Li C L, Zhang T. Acidophilic biohydrogen production from rice slurry. *Int J Hydrogen Energ*, 2006, 31: 683—692[doi]
- 14 Collet C, Adler N, Schwitzguebel J P, et al. Hydrogen production by *Clostridium thermolacticum* during continuous fermentation of lactose. *Int J Hydrogen Energ*, 2004, 29: 1479—1485[doi]
- 15 Li J Z, Ren N Q, Li B K, et al. Anaerobic biohydrogen production from monosaccharides by a mixed microbial community culture. *Bioresource Technol*, 2008, 99: 6528—6537[doi]
- 16 张毅民, 杨静, 吕学斌, 等. 木质纤维素类生物质酸水解研究进展. *世界科技研究与发展*, 2007, 29: 48—54
- 17 王欢, 郭瓦力, 王洪发, 等. 酸水解法制糖工艺条件研究. *现代化工*, 2007, 27: 336—339
- 18 Chen M, Xia L M, Xue P J. Enzymatic hydrolysis of corncob and ethanol production from cellulosic hydrolysate. *Int Biodeterioration & Biodegradation*, 2007, 59: 85—89[doi]
- 19 Ramos L P, Breuil J N, Saddler J N. The use of enzyme recycling and the influence of sugar accumulation on cellulose hydrolysis by *Tricho-Derma* cellulases. *Enzyme Microb Technol*, 1993, 15: 91—125
- 20 Levin D B, Pitt L, Love M. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *Int J Hydrogen Energ*, 2004, 29: 173—185[doi]
- 21 任南琪, 王爱杰. 厌氧生物技术原理与应用. 北京: 化学工业出版社, 2004. 90
- 22 张茂林, 魏瑞霞, 樊耀亭, 等. 玉米秸秆浸出液模拟废水发酵产氢的放大实验研究. *环境科学*, 2007, 28: 1889—1893
- 23 任南琪, 王爱杰, 马放. 产酸发酵微生物生理生态学. 北京: 科学出版社, 2005. 174