

挥发性有机酸对餐厨垃圾产沼气过程中胞外多聚物影响研究

许之扬, 周慧敏, 赵明星, 阮文权*

(江南大学 环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 餐厨垃圾的厌氧消化处置被认为是一种高效环保的技术, 在减量化的同时还能产生沼气。然而由于餐厨垃圾自身较高的有机物含量, 会造成反应体系挥发性有机酸的大量累积, 严重抑制产甲烷活性。胞外多聚物作为微生物分泌到胞外的活性物质, 其含量和组成会因挥发性有机酸积累导致的反应环境变化而变化明显。实验结果表明: 随着物料负荷的升高, 反应体系乙酸累积量增加, 最高达到 17.93 g/L。不同物料负荷下, 胞外多聚物总量在反应进行过程中变化不明显, 然而主要成分多糖和蛋白质的比例变化较大。反应后期蛋白质质量分数增加, 其中 S2 组蛋白质质量分数最高达到 0.038 mg/g, 这可能是微生物响应高浓度乙酸环境, 缓解挥发性有机酸毒害所引起的。3 种类型的胞外多聚物组成随物料负荷的增加变化不同。溶解型和疏松型多糖/蛋白质比例随物料负荷变化明显, 12 h 时 SMP 和 LB-EPS 变化幅度达到 70.2% 和 74.7%, 而紧密型多糖/蛋白质比例较为稳定。

关键词: 厌氧消化; 胞外多聚物; 挥发性有机酸; 餐厨垃圾

中图分类号: Q 815 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2014)10—1044—06

Effects of Volatile Fatty Acids on Extracellular Polymeric Substances(EPS) During the Biogas Process From Food Wastes

XU Zhiyang, ZHOU Huimin, ZHAO Mingxing, RUAN Wenquan*

(School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 21422, China)

Abstract: Anaerobic digestion is considered to be an efficient way of disposing food wastes, which can not only reduce waste amounts, but also produce biogas. However, the excessive accumulation of volatile fatty acids (VFA) caused by the high organic loads will inhibit anaerobic digestion intensively. Extracellular polymeric substances which are secreted by the microbes, are considered to be influenced intensively on content and composition with the changing of reaction conditions. The results indicated that the amount of acetic acid increased with the increasing of organic load, which achieved by the maximum concentration by 17.93 g/L. There were few impacts on the EPS total amounts in the reaction systems with different organic load. However, the proportions of

收稿日期: 2014-03-15

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAC18B01-2); 江苏省自然科学基金项目(BK20130126); 江苏省科技支撑项目(BE2012615)。

* 通信作者: 阮文权(1966—), 男, 上海人, 工学博士, 教授, 主要从事环境工程废水和固体废弃物资源化处理研究。

E-mail: wqruan@jiangnan.edu.cn

polysaccharide and protein were changed obviously. The concentration of protein increased at the end of reaction, and obtained maximum value of 0.038 mg/g in S2, which was possibly due to the response to toxic under high acetic acid concentration conditions. The trends of proportions between polysaccharide and protein in three EPS types were different. The proportions in soluble microbial products (SMP) and loosely bound EPS (LB-EPS) changed apparently, which reached by 70.2% and 74.7%, respectively, of the low values at the 12 h hour. However, the proportion in tightly bound EPS (TB-EPS) kept stable.

Keywords: anaerobic digestion, EPS, VFA, food wastes

近年来餐厨垃圾的厌氧消化处理技术受到广泛关注,该处置技术不仅能使餐厨垃圾实现减量化和无害化,而且可产生可再生能源,这具有突出的优势^[1-3]。影响厌氧消化过程的因素很多^[4],而由于餐厨垃圾本身有机质含量高,易酸败,尤其在高温厌氧消化过程中水解反应迅速,很容易出现有机酸代谢缓慢导致积累的现象,从而抑制或者终止产甲烷反应过程。

当有机酸抑制发生时,大量的挥发性有机酸使得环境 pH 值下降,同时渗透进入细胞内对产甲烷微生物产生毒害作用^[5-6]。但产甲烷菌也会通过自身代谢的调节在一定程度上实现自我保护。

胞外多聚物 (EPS) 是附着在细菌表面或围绕在细菌周围,用于自我保护和相互粘附的天然活性物质。它具有聚集细胞、提供养分和能量、保护细胞免受毒害等功能,多糖和蛋白质是组成胞外多聚物的主要成分^[7]。影响 EPS 含量变化的因素很多,如营养物质组成、微生物生长条件、反应器类型和控制方式等^[8]。通过 EPS 含量及组成变化与有机酸抑制关联的分析,能反应酸抑制程度和微生物产甲烷活性变化等。现有研究主要针对不同环境条件下 EPS 解离及聚集对微生物活性的影响^[9-10],而对反应条件变化与 EPS 组成之间的阐述较少。

通过对不同物料负荷下 3 种 EPS 总量及组成成分的变化,分析其对挥发性有机酸抑制餐厨垃圾厌氧消化的指示和预警作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

餐厨垃圾取自江南大学二食堂,其主要成分见表 1。产甲烷菌种为江苏洁净环境科技有限公司厌氧反应体系中的产甲烷污泥,反应体系运行温度为

55 °C,停留时间为 30 d,污泥总固体质量分数 (TS) 为 3.31%。

表 1 餐厨垃圾成分

Table 1 Characterization of food wastes

指标	质量分数/%
总固体(TS)	20.00±0.50(湿)
挥发性固体(VS)	19.50±0.50(湿)
总碳水化合物	42.57±1.02(干)
粗蛋白质	22.09±1.01(干)
脂肪	17.14±0.46(干)
总碳	49.84±2.12(干)
总氮	3.58±0.14(干)

1.2 实验装置

厌氧消化反应装置采用瑞典碧普公司生产的甲烷自动潜力测试系统 (automatic methane potential test system) (图 1)。每一个反应单元由 500 mL 玻璃瓶、密封装置、搅拌装置和气体收集管组成。反应产生的沼气可通过该系统实现实时监测。该装置的反应温度为 55 °C。



图 1 产甲烷潜力测试仪

Fig.1 Automatic methane potential test system

1.3 实验方法

按照餐厨垃圾和接种产甲烷菌 TS 比,设定不同的物料负荷分别为 0, 1:70, 1:25, 1:14, 1:10 和 1:8, 分别用 C、S1、S2、S3、S4 和 S5 表示。反应体系总

固体质量分数为 20%。反应前通过搅拌将餐厨垃圾与接种污泥充分混匀,用氮气排除反应瓶中空气后开始反应。反应初始 pH 值控制在 7.5 ± 0.5 , 反应过程不调节 pH 值。

1.4 测定方法

TS 和 VS 的测定采用重量法^[11], 总氮和粗蛋白质质量分数含量测定采用凯氏氮法^[12], 碳水化合物测定采用苯酚硫酸法^[13], 脂肪测定采用索氏萃取法^[14]。总糖测定采用苯酚硫酸法^[15]; 蛋白质测定采用福林-酚法^[16]。胞外多聚物的提取和各组分的测定见文献^[17]。

有机酸的测定: 有机酸测定采用液相色谱法, 柱子为 ZORBAX SB-Aq 柱, 150 mm×4.6 mm, 5 μm ; 流动相 (体积分数): 1% 乙腈、99% 0.02 mol/L NaH_2PO_4 、调 pH 至 2.0 (用磷酸调节); 流动相流速: 0.5 mL/min; 进样量: 10 μL ; 柱温: 30 $^\circ\text{C}$; 紫外检测波长: 210 nm。

气体成分测定: 气相色谱法, 采用气相色谱仪 (GC-2010, 日本岛津), 色谱柱为不锈钢填充柱, 填料为 5A 分子筛; 尺寸为 1 mm×6 mm; 柱温为 90 $^\circ\text{C}$; 汽化温度为 100 $^\circ\text{C}$; 检测器温度为 100 $^\circ\text{C}$; 载气为氩气, 载气流量为 0.25 mL/s。

2 结果与讨论

2.1 不同物料负荷下沼气产量情况

物料负荷的改变不仅导致反应体系产气量的变化, 还会影响沼气中各成分的变化 (图 2 和图 3)。由图 2 可知, 不同物料负荷下, 产气主要集中在反应的前 18 个小时, 此后反应比较稳定。反应前 6 个小时, 产气量呈迅速增加的趋势, 到第 6 小时, 各组分沼气量 (以总固体计) 分别达到 407.3, 309.0, 227.9, 123.2, 90.3 mL/g。随着反应的进行, 各组分产气量渐渐变缓并最终稳定, 反应结束时各组分沼气量分别为 499.5, 490.9, 450.2, 284.5, 261.5 mL/g。

不同物料负荷组中沼气组成成分的情况如图 3 所示。S1 获得了最大产气量, 达到 499.5 mL/g, 是产气量最小组 S5 的 1.91 倍。随着物料负荷的提高, 沼气中 CO_2 逐渐升高, 当负荷上升到 S4 组时达到最高, 为 175.5 mL/g, 占气体总产量的 61.7%。沼气中 CH_4 含量随着物料负荷的升高呈现先上升后下降的趋势, 当物料负荷为 S2 组时, 甲烷产量达到最大,

为 328.3 mL/g, 是 S5 组的 6.53 倍, 该结果与 Zhao^[18] 的研究结果相一致。上述结果表明随着物料负荷的升高, 厌氧发酵体系产甲烷活性受到明显抑制, 这可能是由于 VFA 的迅速累积所导致的。

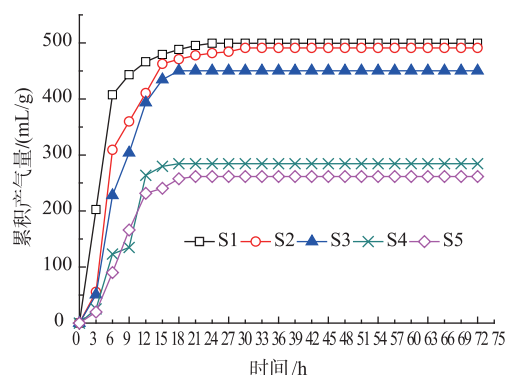


图 2 累积沼气产量情况

Fig. 2 Biogas accumulations under different organic loads

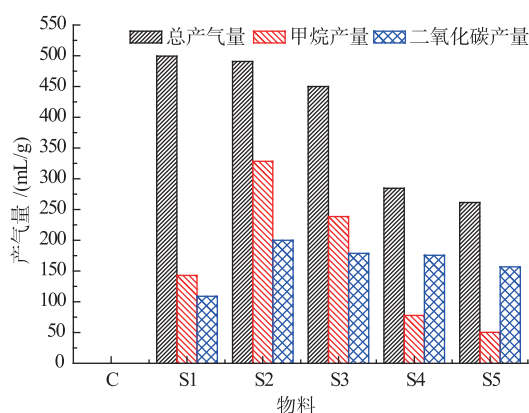


图 3 沼气中各主要成分随物料负荷变化情况

Fig. 3 Change of biogas composition with the increase of organic load

2.2 物料负荷变化对反应体系挥发性脂肪酸积累影响

厌氧消化过程中 VFA 的过量积累会使环境 pH 值降低, 导致厌氧消化体系产甲烷活性降低。同时过高的 VFA 含量会使非溶解性酸浓度升高, 大量渗透进细胞, 从而加剧毒害产甲烷微生物^[5-6]。

对不同物料负荷下 VFA 的组成进行分析 (图 4), 由图可知随着物料负荷的提高, 厌氧反应体系 VFA 的总量逐渐升高, 在 S4 组达到最大值为 19.8 g/L, 随后 VFA 累积有所下降, 但并不明显。分析 VFA 的不同组分可知, 乙酸是主要的有机酸成分, 各组分乙酸最终质量浓度分别达到 0.08, 2.81,

8.12, 11.27, 17.93, 17.17 g/L。各个组分中甲酸和丙酸的累积不明显,丁酸的累积可能是由于高物料负荷条件下(S3、S4、S5),由过量乙酸转化而形成的。由此可见乙酸是VFA抑制餐厨垃圾厌氧消化产甲烷过程的主要因素。

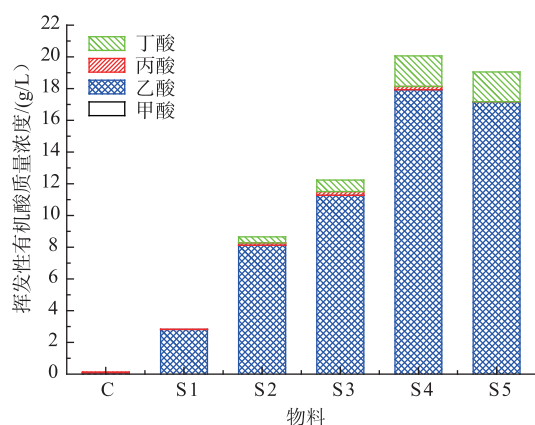


图4 不同物料负荷下VFA组成

Fig. 4 Compositions of VFA under different organic loads

为了深入研究反应过程中乙酸的变化情况,对不同物料负荷下乙酸积累情况进行了分析,由图5可知:随着物料负荷的提高,乙酸的累积速率及累积量都呈现增加趋势。结合产气情况(图2)可知不同物料负荷下,当乙酸质量浓度累积至1.5~2.5 g/L时,反应体系产气速率出现明显下降。而当各组分乙酸浓度达到5.8~6.9 g/L时,反应体系停止产气。这表明当乙酸浓度达到至1.5~2.5 g/L之间时,厌氧消化体系产甲烷活性开始受到抑制,而当各组分乙酸质量浓度达到5.8~6.9 g/L时,体系产甲烷活性被完全抑制。

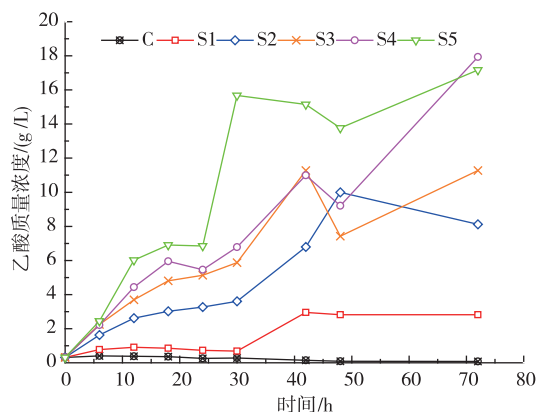


图5 不同物料负荷下乙酸质量浓度随时间变化情况

Fig. 5 Accumulation of acetic acid under different organic loads

2.3 物料负荷变化对微生物胞外多聚物质量分数及成分影响

胞外多聚物是厌氧消化微生物分泌到细胞外的混合物质,具有聚集细胞、吸附、供养和保护微生物细胞免受毒害等作用^[7]。作者希望从胞外多聚物的含量以及主要成分随物料负荷下变化角度对VFA抑制厌氧消化过程的机理进行解释。

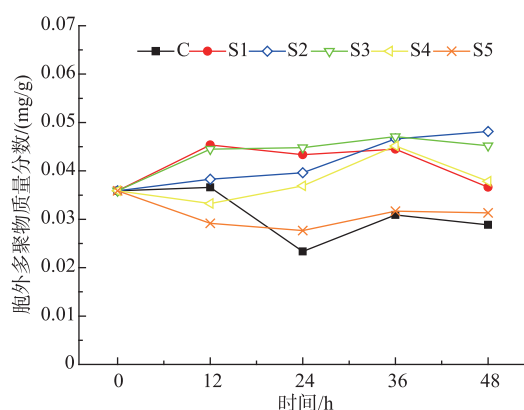


图6 不同物料负荷下胞外多聚物质量分数随时间变化情况

Fig. 6 Accumulation of EPS under different organic loads

由图6所示,各物料负荷条件下,单位质量接种物中胞外多聚物总量随反应时间变化并不明显,除组分C以外,各组EPS总量变化幅度均小于30%,分别为20.9%、25.5%、23.8%、26.4%和22.9%。组分C中EPS总量有较为明显的下降,这可能是由于反应体系中未添加营养物质,微生物细胞在缺乏养分的条件下以EPS作为底物维持其正常生命活动,使得EPS含量下降。

不同物料负荷下胞外多聚物中多糖质量分数随时间变化如图7a所示,各组分中多糖质量分数均呈现先升高后下降的趋势。其中,产甲烷活性最高的S2组的多糖含量峰值最大,达到0.017 mg/g。而产甲烷活性较低的C、S4和S5组多糖质量分数峰值明显降低,分别只有0.010、0.011、0.009 mg/g。对比不同物料负荷下反应体系内乙酸随时间变化情况(图5)可知,第12 h时S2组乙酸质量浓度为2.5 g/L,反应体系产甲烷活性相对较高,微生物对碳源的利用率也较高,因此能够在胞外聚集大量多糖;而C组由于未添加餐厨垃圾,反应体系缺乏营养物质,S4和S5组反应体系内乙酸质量浓度分别为4.2、6.0 g/L,其产甲烷活性出现明显抑制现象,微生物对碳源的利用率降低,因此胞外多聚物中多糖

质量分数较低。随着各组分中乙酸持续累积,胞外多聚物中多糖质量分数也逐渐降低。

不同物料负荷下胞外多聚物中蛋白质质量分数随反应时间变化情况如图 7b 所示。虽然在反应的前 12 h, 不同物料负荷下蛋白质质量分数呈现不同的变化趋势,但是随着反应的进行,除 C 组外,蛋白质质量分数均呈现升高的趋势,其中 S2 组蛋白质质量分数最高达到 0.038 mg/g。由于蛋白质本身的疏水特性,在一定程度上能够阻止乙酸渗透入细胞而降低毒害作用,胞外多聚物中蛋白质质量分数的提高可能是微生物响应高质量浓度乙酸环境的结果。结合不同物料负荷下反应体系内乙酸随时间变化情况(图 5)可知,第 12 h 时由于各组分乙酸积累情况不同,使得反应体系抑制程度也不同,大量的乙酸积累使得微生物很难迅速适应,导致蛋白质质量分数下降,降幅随着物料负荷的增加而加大, S5 组第 12 h 蛋白质质量分数仅为 0.02 mg/g,随着反应的进行,微生物逐渐适应高质量浓度乙酸环境,蛋白质质量分数上升。

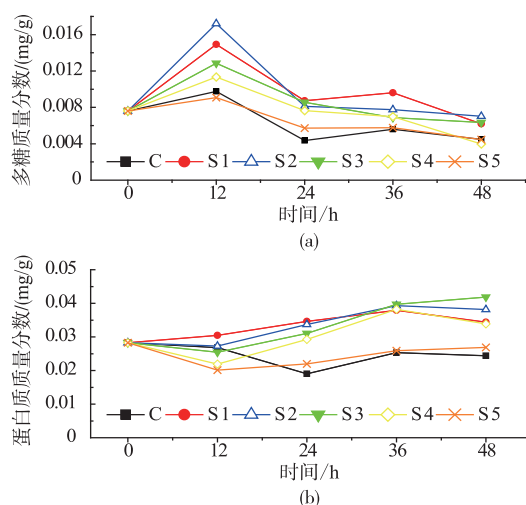


图 7 不同物料负荷下胞外多聚物中多糖和蛋白质质量分数随时间变化情况

Fig. 7 Change of polysaccharide and protein in EPS under different organic loads

胞外多聚物主要成分是多糖和蛋白质^[7],胞外多聚物根据与细胞接合的紧密程度可分为溶解型(SMP),松散型(LB-EPS)和紧密型(TB-EPS)3 种类型^[21]。作者通过 3 种类型胞外多聚物中多糖和蛋白质含量比例的不同变化评价有机酸积累对餐厨垃圾厌氧消化过程的影响。对 EPS 中多糖/蛋白质比例随物料负荷变化的情况如图 8 所示。在反应进行

到第 12 h 时,各组分处于产气高峰,此时胞外多聚物多糖/蛋白质比例随物料负荷的增加呈现先上升后下降的趋势,在 S2 组时达到最大值为 0.63。其中溶解型和松散型中多糖/蛋白质比例变化趋势较一致, S2 组时达到最大,分别为 0.84 和 0.75,而紧密型胞外多聚物的变化不明显,保持在 0.39 和 0.51 之间。结合不同物料负荷下各反应体系产气情况(图 2)可知产气高峰时,在产甲烷活性高的反应体系内的胞外多聚物会明显增加,增加类型以溶解型和松散型为主,这可能是由于高活性的产甲烷微生物随着营养物质的需求大、利用效率高,位于外层的溶解型 EPS 和松散型 EPS 从反应体系吸收大量营养物质所致。

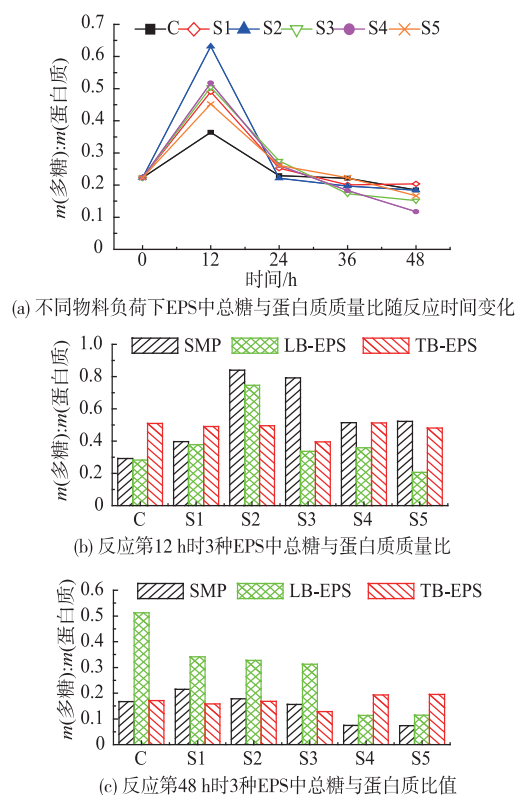


图 8 胞外多聚物多糖与蛋白质质量比变化情况

Fig. 8 Change of polysaccharide/protein in EPS under different organic loads

当反应进行到第 48 h 时,各组分产气基本停止。松散型胞外多聚物中多糖与蛋白质质量比随物料负荷升高而下降的趋势较明显,由 C 组的 0.51 下降到 S5 组的 0.11。而紧密型胞外多聚物中多糖/蛋白质比例在最初保持相对稳定后,在 S4 和 S5 组出现明显上升,达到 0.19 和 0.20。结合不同物料负荷

下乙酸随时间变化情况(图5)可知,过高物料负荷引起的乙酸过度积累会使得胞外多聚物中多糖/蛋白质比例明显降低,但是紧密型胞外多聚物质量分数反而增加,结合不同物料负荷下胞外多聚物中蛋白质质量分数随时间变化情况分析(图7),这可能是由于过高质量浓度乙酸使得微生物做出响应滞后,蛋白质质量分数不升反降。

3 结 语

1) 当物料负荷为S2组时,反应体系产气量达到490.9 mL/g,甲烷产量达到最大,为328.3 mL/g。过高的物料负荷导致挥发性有机酸大量积累,严重

抑制厌氧消化反应。乙酸作为挥发性脂肪酸的主要成分,累计质量浓度最大达到19.8 g/L。

2) 不同物料负荷下胞外多聚物总量随反应进行变化不明显,但是多糖质量分数随着反应进行出现明显降低趋势,而蛋白质质量分数则不断增加。反应后期蛋白质质量分数的增加可能是微生物响应高质量浓度乙酸环境,缓解挥发性有机酸毒害所引起的。

3) 3种类型的胞外多聚物的组成随物料负荷的增加变化不同。溶解型和疏松型多糖/蛋白质比例随物料负荷变化明显,而紧密型多糖/蛋白质比例较为稳定。

参考文献:

- [1] Shi Y,Zhao X T,Cao P,et al. Hydrogen bio-Production through anaerobic microorganism fermentation using kitchen wastes as substrate[J]. **Biotechnol Lett**,2009,31(9):1327-1333.
- [2] Cao X Y,Zhao Y C. The influence of sodium on biohydrogen production from food waste by anaerobic fermentation [J]. **J Mater Cycles Waste Manag**,2009,11:244-250.
- [3] H S Shin,J H Youn,S H Kim. Hydrogen Production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis[J]. **Int J Hydrogen Energy**,2004,29:1355-1363.
- [4] 王寿权,严群,阮文权. 蓝藻猪粪共发酵产沼气初步研究[J]. 食品与生物技术学报,2008,27(5):108-112.
WANG Shouquan,YAN Qun,RUAN Wenquan. Research of anaerobic digestion of blue-green algae and pig manure[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2008,27(5):108-102.(in Chinese)
- [5] Bouallagui H,Touhami Y,R Ben Cheikh,M Hamdi. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes [J]. **Process Biochem**,2005,40:989-995.
- [6] Misi S N,Forster C F. Batch co-digestion of multi-component agro-wastes[J]. **Bioresour Technol**,2001,80:19-28.
- [7] Sheng G P,Yu H Q,Li X Y. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems:A review[J]. **Biotechnol Adv**,2010,28:882-894.
- [8] Nielsen P H,Jahn A. Extraction of EPS [M]. In:Wingender J,Neu TR,Flemming HC,editors. Microbial extracellular polymeric substances:characterization,structure and function. Berlin Heidelberg:Springer-Verlag;1999. p. 49-72. Chapter 3.
- [9] Shao L M,Wang G Z,Xu H C,et al. Effects of ultrasonic pretreatment on sludge dewaterability and extracellular polymeric substances distribution in mesophilic anaerobic digestion[J]. **Environ Sci-China**,2010,22:474-480.
- [10] Dai X H,Luo F,Dai L L,et al. Degradation of Extracellular Polymeric Substances (EPS) in anaerobic digestion of dewatered sludge[J]. **Procedia Environmental Sciences**,2013,18:515-521.
- [11] Hector M,Poggi V,Jan A,et al. Anaerobic co-composting of municipal solid waste and waste sludge at high total solid levels[J]. **Environ Technol**,1992,13:409-421.
- [12] Hall N G,Schonfeldt H C. Total nitrogen vs. amino-acid profile as indicator of protein content of beef [J]. **Food Chemistry**,2013,140:608-612.
- [13] Dubois M,Gilles K A,Hamilton J K,et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. **Anal Chem**,1956,28:350-356.
- [14] Liu X L,Liu H,Chen J H,et al. Enhancement of solubilization and acidification of waste activated sludge by pretreatment[J]. **Waste Management**,2008,28:2614-2622.
- [15] Aquino S F,Stuckey D C. Soluble microbial products formation in anaerobic chemostats in the presence of toxic compounds[J]. **Water Res**,2004,38:255-266.
- [16] Lowry O H,Rosebrough N J,Farr A L,et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent [J]. **J Biol Chem**,1951,193:265-275.
- [17] Liang Z W,Li W H,Yang S Y,et al. Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances(EPS),pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge[J]. **Chemosphere**,2010,81:626-632.