

功能性营养物质对蓝藻厌氧发酵产酸的强化作用

王敏¹, 廖家林², 黄振兴², 阮文权^{*2,3}

(1. 中国市政工程华北设计研究总院 中国 天津 300074; 2. 江南大学 环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为提高蓝藻发酵的产酸量, 向发酵体系中分别添加 Fe、Fe²⁺、Ni²⁺、酵母浸膏 4 种营养物质来强化产氢产酸效果。结果表明: 与对照相比, 各种营养物质的添加均可不同程度地提高有机酸产量。其中, 添加 0.50 g/L 的 Fe、0.10 g/L 的 Fe²⁺、0.20 mg/L 的 Ni²⁺ 可使丁酸和总有机酸产量分别提高 109%~148% 和 84%~102%。酵母浸膏的促进效果最佳, 在其质量浓度为 0.25 g/L 时, 丁酸和总有机酸产量均为最高, 分别可达到 6 803 mg/L 和 9 269 mg/L, 比空白组提高 164% 和 105%。

关键词: 蓝藻; 发酵; 丁酸; 酵母浸膏

中图分类号: TQ 920.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-1689(2012)04-0379-06

Effects of Functional Nutrition Additions on Organic Acids Production from Blue-Green Algae Fermentation

WANG Min¹, LIAO Jia-lin², HUANG Zhen-xing², RUAN Wen-quan^{*2,3}

(1. North China Municipal Engineering Design and Research Institute, Tianjin 300074, China; 2. School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to improve the yield of acid from blue-green algae, four kinds of nutrients (Fe, Fe²⁺, Ni²⁺ and yeast extract) with different concentrations were added to the fermentation broth, respectively. It was demonstrated that the addition of nutrients can increase the acid production in different degrees when compared with that of the control. With the different addition dosages, the yield of butyrate and organic acids were both improved, which were 109% and 84% increasements for 0.50 g/L of Fe, 148% and 102% for 0.10 g/L of Fe²⁺ and 131% and 88% for 0.20 mg/L of Ni²⁺. Among them, yeast extract demonstrated that the best effect, when 0.25 g/L yeast extract was added, the yield of butyrate and total organic acids achieved at 6803 mg/L and 9269 mg/L, respectively, which were 90% and 64% higher than that of the control.

Key words: blue algae, fermentation, organic acids, yeast extract

收稿日期: 2011-05-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(20976069); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(JUSRP111A12); 无锡市科技支撑项目(CSE01002); 国家科技支撑计划项目(2009BAC52B03)。

作者简介: 王敏(1960-), 女, 天津人, 高级工程师, 主要从事环境工程方面的研究。E-mail: wangmin83@cemi.com.cn

* 通信作者: 阮文权(1966-), 男, 上海人, 工学博士, 教授, 主要从事环境工程专业研究。E-mail: wqruan@jiangnan.edu.cn

从 20 世纪 70 年代至今,全国湖泊富营养化面积增长了约 60 倍,蓝藻等藻类爆发引起的水华等一系列水环境问题,已经成为部分流域的重要生态环境乃至经济、社会问题^[1]。比如 2007 年 5~6 月,太湖大面积的蓝藻爆发就引起了无锡市数十万居民的饮水危机。

在蓝藻爆发的情况下,直接打捞蓝藻是减缓爆发程度、保护水体生态环境最为直接、安全、有效的应急治理方法,也是目前治理湖泊蓝藻最常用的手段^[2-3]。但如何妥善处理处置打捞上来的蓝藻又是一重要难题。鉴于蓝藻中含有丰富的营养成分,因此对其进行资源化利用对解决蓝藻引起的环境问题具有十分重要的现实意义。其中,将蓝藻作为生物质原料进行厌氧发酵产氢产甲烷以及丁酸等小分子有机酸是目前认为最可行的资源化方式之一^[4-7]。

蓝藻厌氧发酵产酸具有很高的研究价值和应用前景,产生的挥发性脂肪酸是重要的化工原料,可用于生产高附加值的产品。因此,如何提高产酸量是蓝藻厌氧发酵产酸工业化应用所面临的关键问题之一。研究表明,某些营养物质对厌氧发酵过程有着重要的作用,比如铁是酶活性中心的组成部分,镍在维持生物大分子和细胞结构的稳定性等方面有重要作用,而一些有机营养物则含有多种微生物生长所需的营养因子^[8-13]。因此,在蓝藻厌氧产酸过程中添加这些功能性营养物质,必定会影响发酵过程中一些酶的活性和代谢途径的变化,从而有可能对蓝藻厌氧发酵产酸产生强化作用。

作者通过添加功能营养物质(Fe 、 Fe^{2+} 、 Ni^{2+} 、酵母浸膏),对蓝藻发酵产有机酸进行研究,以期提高蓝藻发酵的产酸量。试验中对产物中的丁酸(主要产物)、丙酸、乙酸进行了测定与分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用蓝藻取自太湖渤公岛蓝藻打捞处,厌氧颗粒污泥取自宜兴某柠檬酸厂,见表 1。颗粒污泥在接种前要先进行加热预处理及活化处理^[14-15];加热预处理($121\text{ }^{\circ}\text{C}$, 15 min)是将颗粒污泥中的产甲烷菌杀灭;活化是将热处理后的污泥在 COD 为 $5\text{ }000\text{ mg/L}$ 的葡萄糖溶液中培养一周,使污泥的活性恢复并加强,以达到较好的发酵效果。

表 1 蓝藻和污泥的性质

Tab. 1 Characterization of the algae and anaerobic sludge

原料	TS/ %	VS/ %	TN/ (mg/g)	TP/ (mg/g)
蓝藻	3.95	3.46	2.62	0.76
颗粒污泥	13.58	10.62	1.81	0.48

1.2 试验设计

本试验采用分批发酵的方式,以抽滤瓶作为反应容器,并置于恒温水浴振荡器中。测定发酵前原料的含固率,控制反应容器中干物质(TS)总量为 15 g ,将颗粒污泥与蓝藻按物料比 $1:5(\text{TS})$ 混合后全量转移至抽滤瓶中并用蒸馏水定容至 650 mL ,再向发酵体系中分别添加 Fe 粉、 Fe^{2+} (FeSO_4) 至 0.05 、 0.10 、 0.20 、 0.50 、 1.00 、 1.50 g/L ,添加 Ni^{2+} (NiCl_2) 至 0.05 、 0.10 、 0.20 、 0.50 、 1.00 、 2.00 mg/L ,添加酵母浸膏至 0.10 、 0.25 、 0.50 、 0.75 、 1.00 、 2.00 g/L ,混合均匀后在 $35\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 100 r/min 下恒温发酵 96 h 。

1.3 方法

1.3.1 有机酸的测定 采用液相色谱仪(Agilent 1100,美国),柱子为 ZORBAX SB-Aq 柱,柱长 $150\text{ mm}\times 4.6\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$,流动相: 0.5% 乙腈、 99.5% $0.02\text{ mol/L KH}_2\text{PO}_4$ 、调 pH 至 2.0(用磷酸调节);流动相流速: 0.5 mL/min ;进样量: $10\text{ }\mu\text{L}$;柱温: $30\text{ }^{\circ}\text{C}$;检测器:紫外检测器(210 nm)。

1.3.2 TS 和 VS 的测定 采用质量法,见参考文献^[16]。

1.3.3 发酵液 pH 值的测定 Delta 320 型 pH 计(Mettler-Toledo,德国)。

2 结果与分析

2.1 单质 Fe 和 Fe^{2+} 对蓝藻厌氧发酵产酸的影响

Fe 作为细菌代谢过程中铁氧还蛋白的主要成分,参与细菌的产酸产氢代谢过程中相关酶系的作用过程,发酵环境中 Fe 的缺乏会导致系统中部分酶活的下降,使得系统的发酵产酸受到影响。另外单质 Fe 可使发酵环境中的氧化还原电位进一步下降,利于厌氧细菌的生长,提高细菌代谢活性。

图 1(a)和(b)分别为添加不同质量浓度的单质 Fe 对蓝藻厌氧发酵过程中丁酸及有机酸产量的影响。由图 1 可知,在初始添加的单质 Fe 质量浓度

为 0.05~0.5 g/L 时,丁酸及有机酸产量随初始单质 Fe 质量浓度的增加而增加;在单质 Fe 质量浓度为 0.5~1.5 g/L 时,丁酸及有机酸产量随初始单质 Fe 质量浓度的增加而降低;并且初始添加质量浓度在 0.05~1.5 g/L 时均对有机酸产量具有促进作用。在单质 Fe 质量浓度为 0.5 g/L 时,丁酸和有机酸产量最高,可分别达到 5 387 mg/L 和 8 281 mg/L,比空白组提高 109%和 84%。

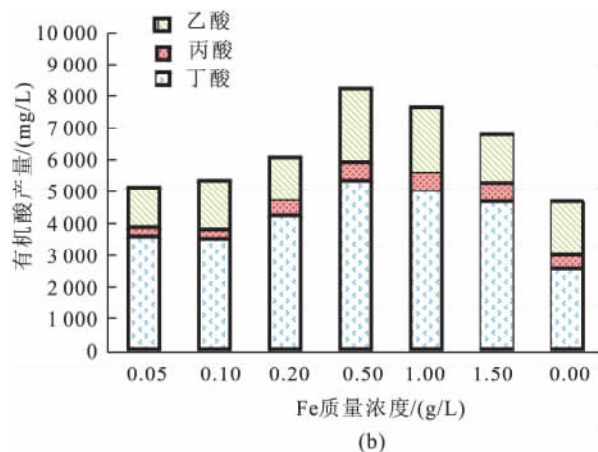
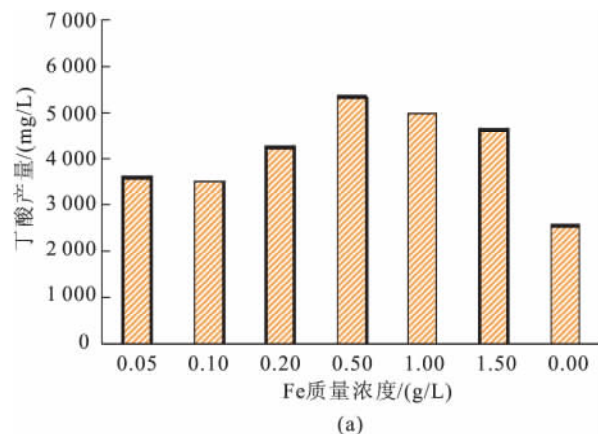


图 1 单质 Fe 质量浓度对蓝藻厌氧发酵产酸的影响
Fig.1 Effects of Fe concentration on acid production from blue-green algae fermentation

图 2(a)和(b)分别为添加不同质量浓度的 Fe^{2+} 对蓝藻厌氧发酵过程中丁酸及有机酸产量的影响。由图 2 可知,在初始添加质量浓度为 0.1~1.5 g/L 时,丁酸产量及有机酸产量基本随初始 Fe^{2+} 质量浓度的增加而降低;并且初始添加质量浓度在 0.05~1.0 mg/L 时均对有机酸产量具有促进作用。在 Fe^{2+} 浓度为 0.1 g/L 时,丁酸和有机酸产

量均为最高,分别可达到 6 394 mg/L 和 9 104 mg/L,比空白组提高 148%和 102%。

在蓝藻厌氧发酵的反应体系中添加适量的单质 Fe 和 Fe^{2+} 均对丁酸和有机酸产量具有一定的提高作用。在单质 Fe 与 Fe^{2+} 同时作为限制性影响因子的作用下,细菌受到 Fe^{2+} 的优先作用,这与细菌自身生理调节机制中的电子传递与自由能变化过程有关。

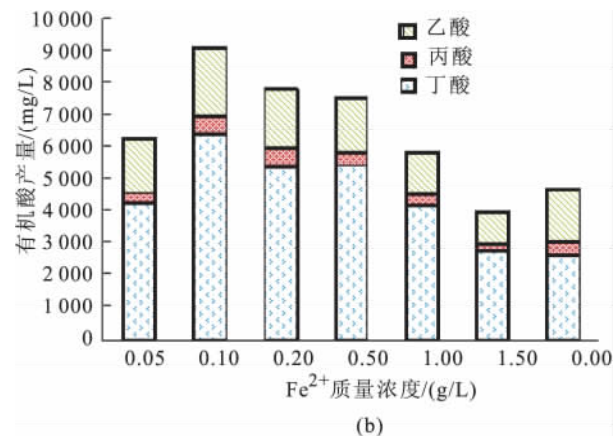
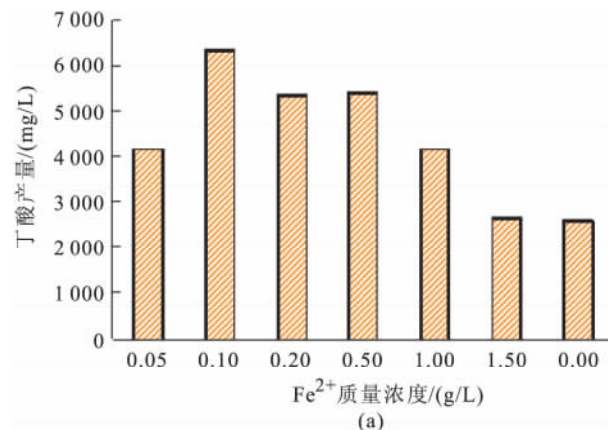


图 2 Fe^{2+} 质量浓度对蓝藻厌氧发酵产酸的影响
Fig.2 Effects of Fe^{2+} concentration on acid production from blue-green algae fermentation

综上所述,单质 Fe 的最佳促进质量浓度为 0.5 g/L, Fe^{2+} 的最佳促进质量浓度为 0.1 g/L。

2.2 Ni^{2+} 对蓝藻厌氧发酵产酸的影响

根据氢化酶活性中心所含金属的不同,可以分为镍铁(Fe-Ni)氢化酶,铁铁(Fe-Fe)氢化酶等,其中,镍铁(Fe-Ni)氢化酶广泛存在于大部分细菌中,而铁铁(Fe-Fe)氢化酶只存在于一小部分细菌中;

此外,与铁铁(Fe-Fe)氢化酶相比,镍铁(Fe-Ni)氢化酶具有更高的底物亲和性。镍铁(Fe-Ni)氢化酶基本上由两部分构成,即1个镍原子和12个铁原子。虽然较高的 Ni^{2+} 质量浓度会抑制厌氧发酵,但添加痕量的 Ni^{2+} 质量浓度却可提高酶活,有助于厌氧发酵的产氢和产酸。

图3(a)和(b)分别为添加不同质量浓度的 Ni^{2+} 对蓝藻厌氧发酵过程中丁酸及有机酸产量的影响。由图3可知,在初始添加的 Ni^{2+} 质量浓度为0.05~0.2 mg/L时,丁酸及有机酸产量随初始 Ni^{2+} 质量浓度的增加而增加;在 Ni^{2+} 质量浓度为0.2~1.0 mg/L时,丁酸及有机酸产量随初始 Ni^{2+} 质量浓度的增加而降低;并且初始添加质量浓度在0.1~0.5 mg/L时均对有机酸产量具有促进作用。在 Ni^{2+} 质量浓度为0.2 mg/L时,丁酸和有机酸产量均为最高,分别可达到5 963 mg/L和8 473 mg/L,比空白组提高131%和88%。据此 Ni^{2+} 的最佳促进质量浓度为0.2 mg/L。

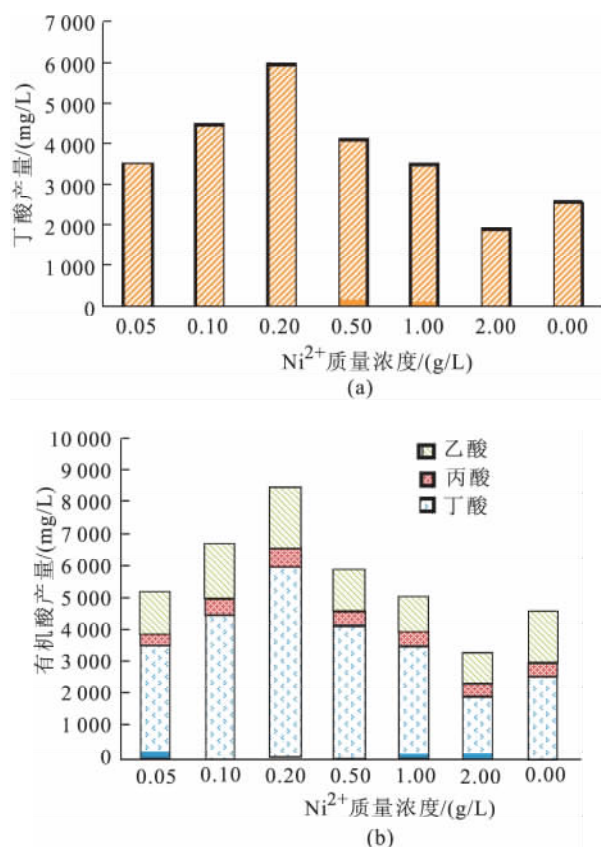


图3 Ni^{2+} 质量浓度对蓝藻厌氧发酵产酸的影响
Fig.3 Effects of Ni^{2+} concentration on acid production from blue-green algae fermentation

2.3 酵母浸膏对蓝藻厌氧发酵产酸的影响

酵母浸膏属于有机营养物,它富含必需氨基酸、肽类、核苷酸、B族维生素、微量元素等,是最为理想的生物培养基原料。其主要作用是补充氮源和提供微生物生长的各种维生素、氨基酸及生长因子,可以有效促进微生物的活性,提高整个系统的活力,进而促进厌氧产酸。

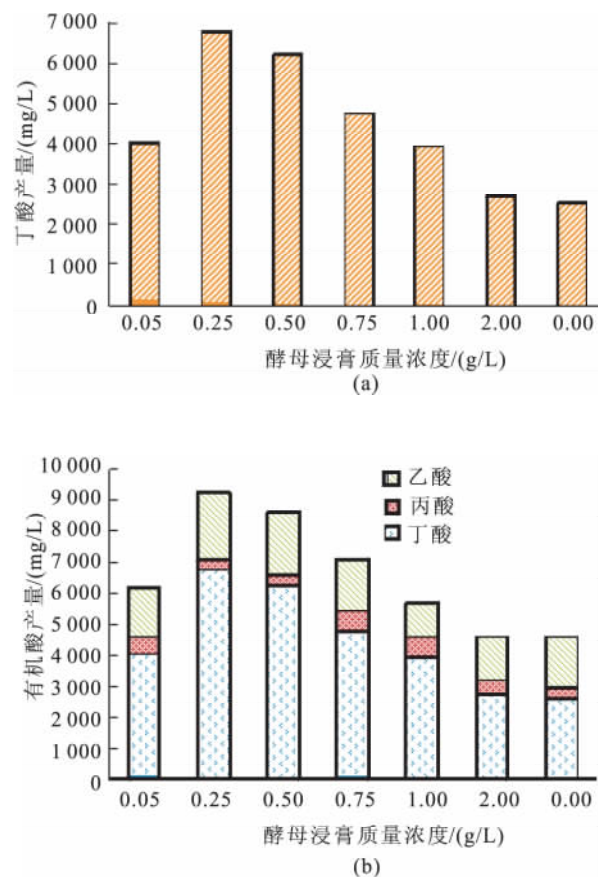


图4 酵母浸膏浓度对蓝藻厌氧发酵产酸的影响
Fig.4 Effects of yeast extract concentration on acid production from blue-green algae fermentation

图4(a)和(b)分别为添加不同质量浓度的酵母浸膏对蓝藻厌氧发酵过程中丁酸及有机酸产量的影响。由图4可知,在初始添加的酵母浸膏质量浓度为0.25~2.0 g/L时,丁酸及有机酸产量随初始酵母浸膏质量浓度的增加而降低;并且初始添加质量浓度为0.25~1.0 g/L时均对有机酸产量具有较好促进作用。在酵母浸膏质量浓度为0.25 g/L时,丁酸和有机酸产量均为最高,分别可达到6 803 mg/L和9 269 mg/L,比空白组提高164%和105%。因而综上所述,酵母浸膏的最佳促进质量浓度为0.25 g/L。

3 结 语

1) 4 种营养物(单质 Fe、Fe²⁺、Ni²⁺、酵母浸膏)均可促进有机酸的产量,其最佳促进质量浓度分别为 0.5 g/L、0.1 g/L、0.2 mg/L、0.25 g/L。

2) 在各自最佳促进质量浓度下,丁酸和有机酸产量均为最高。其中,在单质 Fe 质量浓度为 0.5 g/L 时,分别达到 5 387 mg/L 和 8 281 mg/L,比空白组提高了 109% 和 84%;在 Fe²⁺ 质量浓度为 0.1

g/L 时,分别达到 6 394 mg/L 和 9 104 mg/L,比空白组提高了 148% 和 102%;在 Ni²⁺ 质量浓度为 0.2 mg/L 时,分别达到 5 963 mg/L 和 8 473 mg/L,比空白组提高了 131% 和 88%;在酵母浸膏质量浓度为 0.25 g/L 时,分别达到 6 803 mg/L 和 9 269 mg/L,比空白组提高了 164% 和 105%。

3) 4 种营养物中,酵母浸膏的促进效果最佳。其原因可能是相对于无机营养物而言,有机营养物含有多种维生素、氨基酸和生长因子等,营养物较均衡全面,因此具有更佳的促进效果。

参考文献(References):

- [1] 杨桂山,马荣华,张路,等. 中国湖泊现状及面临的重大问题与保护策略[J]. 湖泊科学,2010,22(6):799—810.
YANG Gui-shan, MA Rong-hua, ZHANG Lu, et al. Lake status, major problems and protection strategy in China[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2010, 22(6):799—810. (in Chinese)
- [2] 丰茂武,吴云海. 国内外湖泊富营养化的防治对策与展望[J]. 广州环境科学,2006,21(4):8—11.
FENG Mao-wu, WU Yun-hai. Measures for the control of lake eutrophication at home and abroad[J]. *Guangzhou Environmental Sciences*, 2006, 21(4):8—11. (in Chinese)
- [3] 张艳艳. 试论太湖富营养化的发展、现状及治理[J]. 环境科学与管理,2009,34(5):126—129.
ZHANG Yan-yan. The discussion of water eutrophication progress and treatment countermeasures in Lake Tai[J]. *Environmental Science and Management*, 2009, 34(5):126—129. (in Chinese)
- [4] 韩士群,严少华,王震宇,等. 太湖蓝藻无害化处理资源化利用[J]. 自然资源学报,2009,24(34):431—437.
HAN Shi-qun, YAN Shao-hua, WANG Zhen-yu, et al. Harmless disposal and resources utilizations of Taihu Lake blue algae[J]. *Journal of Natural Resources*, 2009, 24(34):431—437. (in Chinese)
- [5] 胡萍,严群,宋任涛,等. 蓝藻与污泥混合厌氧发酵产沼气的初步研究[J]. 环境工程学报,2009,3(3):559—563.
HU Ping, YAN Qun, SONG Ren-tao, et al. Biogas production through anaerobic digestion from the mixture of blue algae and sludge[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2009, 3(3):559—563. (in Chinese)
- [6] 王丽娟,谢利娟,杨桂军,等. 不同填充剂及复合微生物菌剂对蓝藻堆肥效果的影响[J]. 环境工程学报,2009,3(12):2261—2265.
WANG Li-juan, XIE Li-juan, YANG Gui-jun, et al. Impact of different bulking agents and compound microbial inoculant on blue algae composting[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2009, 3(12):2261—2265. (in Chinese)
- [7] 王寿权,严群,阮文权. 蓝藻猪粪共发酵产沼气及动力学研究[J]. 食品与生物技术学报,2008,27(5):108—112.
WANG Shou-quan, YAN Qun, RUAN Wen-quan. Study on the production and dynamics of methane production by co-fermentation of blue-green algae and pig manure[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2008, 27(5):108—112. (in Chinese)
- [8] Dong-Yeol Leea, Yu-You Li, You-Kwan Oh, et al. Effect of iron concentration on continuous H₂ production using membrane bioreactor[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009,34(3):1244—1252.
- [9] Jianlong Wang, Wei Wan. Effect of Fe²⁺ concentration on fermentative hydrogen production by mixed cultures[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2008, 33(4): 1215—1220.
- [10] 丁杰,任南琪,刘敏,等. Fe 和 Fe²⁺ 对混合细菌产氢发酵的影响[J]. 环境科学,2004,25(4):48—53.
DING Jie, REN Nan-qi, LIU Min, et al. Effect of Fe and Fe²⁺ on hydrogen production capacity with mixed culture[J]. *Environmental Science*, 2004, 25(4):48—53. (in Chinese)
- [11] 王勇,任南琪,孙寓姣. Fe 对产氢发酵细菌发酵途径及产氢能力影响[J]. 太阳能学报,2003,24(2):222—226.
WANG Yong, REN Nan-qi, SUN Yu-jiao. Analysis of the ferment process and pro-hydrogen ability of pro-hydrogen and

- ferment bacterium influenced by Fe[J]. *Acta Energiæ Solaris Sinica*, 2003, 24(2):222—226. (in Chinese)
- [12] Jianlong Wang, Wei Wan. Influence of Ni^{2+} concentration on biohydrogen production[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(18):8864—8868.
- [13] 陈雄, 黄煌, 胡成远, 等. 酵母浸出物的营养特性及其在微生物发酵中的应用[J]. *食品科技*, 2009, 34(12): 253—257.
CHEN Xiong, HUANG Huang, HU Cheng-yuan, et al. Nutrient character of yeast extracts and its application in microbial fermentation[J]. *Food Science and Technology*, 2009, 34(12): 253—257. (in Chinese)
- [14] Nuri A, Tuba C D, Tugba K, et al. Continuous fermentative hydrogen production from cheese whey wastewater under thermophilic anaerobic conditions[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009, 34:7441—7447.
- [15] Akutsua Y, Leeb D Y, Li Y Y, et al. Hydrogen production potentials and fermentative characteristics of various substrates with different heat-pretreated natural microflora[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2009, 34:5365—5372.
- [16] 国家环境保护总局. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002, 105—220.

科技信息

韩国拟在全球率先推行农畜产品低碳认证

据韩国 KBS 网 3 月 20 日报道, 韩国农林水产食品部表示, 为降低农业领域温室气体排放, 实现农业的可持续发展, 决定自今年起实行低碳农畜产品认证, 即对在农作物种植过程中减少碳排放量的农户进行低碳认证。农林水产部称, 在碳减排事业中引入低碳认证制度, 这在全球尚属首例。该部计划于今明两年以大米、苏子叶、生菜、苹果、梨等 5 种农产品的种植户为对象进行试点, 并计划于 2014 年起进行全面推广。

[消息来源] 国家食品安全信息中心. 韩国拟在全球率先推行农畜产品低碳认证[EB/OL]. (2012—3—22). <http://www.fsi.gov.cn/news.view.jsp?sort=2&id=31481>.

专家呼吁美国饮料企业弃用溴化植物油

据外媒报道, 德国霍姆海姆大学教授日前呼吁, 美国饮料企业应弃用溴化植物油, 企业对软饮料中的溴化植物油实施“自愿性禁令”将是最好的解决方案。

据了解, 溴化植物油可以保持饮料的风味, 使油分与水分充分混合。美国规定饮料中溴化植物油的限量为 15ppm, 美国食品药品监督管理局(FDA)将其列入了“临时许可名单”。然而我国禁止将溴化植物油用于饮料。

[消息来源] 食品伙伴网. 专家呼吁美国饮料企业弃用溴化植物油[EB/OL]. (2012—3—23). <http://www.foodmate.net/news/daodu/2012/03/202146.html>

澳大利亚预测中期乳制品价格将下跌

澳大利亚澳洲农业、资源经济及科技局(Abares)2012 年的展望报告中称, 从中期的角度来看, 乳制品的价格将处于下跌通道当中, 但比 2007 年之前的价格水平还是高出不少。

澳洲农业、资源经济及科技局(ABARES)预测乳制品供应的增长要比需求的增长快, 下一个产奶季全球的牛奶产量会继续增长, 但增长速度会有所下降。

[消息来源] 中国食品安全报. 澳大利亚预测中期乳制品价格将下跌[EB/OL]. (2012—3—22). <http://www.cfqn.com.cn/Article/2012/2138q/2138e/10401669916010.htm>