

文章编号: 1673 1689(2011)03-0445-08

木薯酒精废液中不溶性物质厌氧生物 水解性能的初步研究

陈程^{1,2}, 张建华^{1,2}, 张庆华^{1,2}, 张成明^{1,2}, 孙付保^{1,2},
张宏建^{1,2}, 毛忠贵^{* 1,2}

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 生物工程学院 江苏 无锡 214122)

摘 要: 通过分批实验研究了 60℃ 条件下不同 pH 值对木薯酒精蒸馏废液厌氧水解效果及水解酶活力的影响。考察了不同 pH 值下的纤维素酶(CMC 酶)、半纤维素酶(木聚糖酶)以及游离态和胞上结合态酶活力、水解率、悬浮性固体(SS)降解率、挥发酸(VFA)和乙醇产量以及纤维素和半纤维素降解率。结果表明:维持 pH 在 7.0~8.0 时能够获得较高的纤维素酶活力和半纤维素酶活力(1 588 和 822 IU/L)、SS 降解率(37.3%)、纤维素和半纤维素的降解率(54.9% 和 58.4%)。在此条件下,游离态酶和胞上结合态酶一样,VFA 和乙醇总量达到 12.6 g/L,且其主要成分为乙酸。

关键词: pH; 木薯蒸馏废液; 水解; 纤维素酶活力; 半纤维素酶活力

中图分类号: Q 815

文献标识码: A

Preliminary Study on the Anaerobic Biological Hydrolysis of Insoluble Compounds in Cassava Stillage

CHEN Cheng^{1,2}, ZHANG Jianhua^{1,2}, ZHANG Qinghua^{1,2}, ZHANG Chengming^{1,2},
SUN Fubao^{1,2}, ZHANG Hongjian^{1,2}, MAO Zhonggui^{* 1,2}

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;
2. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The aim of this manuscript is to determine the effect of pH on the cassava stillage hydrolyzation at 60℃ through compared with the values of the cellulase (CMCase), hemicellulase (xylase) activity, the free and cell-bound enzyme activities, hydrolytic ratio, the degradation ratio of suspended solids (SS), the total concentration of volatile fatty acids (VFA) and ethanol, the degradation ratio of cellulose and hemicelluloses at different pH conditions. The results showed that higher cellulase and hemicellulase activity (1 588 and 822 IU/L), degradation ratio of SS (37.3%), hydrolytic ratio of cellulose and hemicellulose (54.9% and 58.4%) were obtained when pH kept at 7.0~8.0. Under this condition, the activities of the free and cell-bound enzyme were the same, the total concentration of VFA and ethanol was achieved at 12.6

收稿日期: 2010-05-15

基金项目: 国家 863 计划项目(2008AA10Z338)。

* 通信作者: 毛忠贵(1954-), 男, 江苏南京人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事发酵工程方面的研究。

Email: maozg@vip.163.com

g/L, where acetate was the main component.

Key words: pH, cassava stillage, hydrolysis, cellulase activity, hemicellulase activity

木薯燃料乙醇作为非粮燃料乙醇的发展方向, 目前正受到越来越多的关注^[1]。由于木薯燃料乙醇在生产过程中会产生大量的具有高悬浮物(40 g/L 以上)、高 COD(60 000~ 100 000 g/L)、低 pH 值(3.5~ 3.7)、高温(80 ℃以上)的酒精蒸馏废液, 其处理及资源化利用无疑是制约木薯燃料乙醇发展的瓶颈。通过厌氧生产沼气, 降低 COD 并实现废物的资源化, 为木薯燃料乙醇企业节约生产成本, 无疑是很好的技术途径^[2]。但目前的沼气发酵技术只停留在可溶性物质及蛋白、脂肪等易降解物质的转化利用上, 而对存在于木薯酒精蒸馏废液中的大量不溶性、颗粒态纤维质未能获得有效的转化及利用^[3], 原因是不溶性的纤维质难以被水解成小分子可溶性物质, 从而限制了微生物对它们的吸收转化。显然要提高这些难溶性纤维质的生物转化, 首先要解决的是纤维质高效生物水解这一关键问题, 但传统评价生物水解过程往往是通过间接指标如: 挥发性有机酸(VFA)的浓度及组成、COD 去除率、沼气产量和组分等^[4], 而直接评价废液厌氧生物处理时纤维质水解酶方面的研究几乎未见报道。

针对厌氧处理过程中系统的稳定性和处理效率, 很多学者提出了两相厌氧处理的方法^[5], 将水解和酸化过程作为一个整体加以考虑。但对于颗粒态物质的厌氧处理过程, 水解和酸化过程是两个截然不同的阶段。复杂有机物特别是难溶性有机物必须首先在胞外水解酶的作用下被转化为可溶性物质, 然后才能够透过细胞膜被产酸细菌所利用^[6], 水解过程是整个反应的限速步骤, 而酸化过程则较易进行, 因此要实现木薯酒精蒸馏废液中纤维质的有效利用需要重点关注水解过程。

由于木薯酒精蒸馏废液中还含有一定量的酵母细胞和未利用完的糖分等易酸化物质, 在厌氧消化过程中会产生大量 VFA, 从而造成 pH 值的迅速降低, 进而影响胞外水解酶的酶活甚至还会造成产物抑制, 最终影响整个水解过程的效率。近年的研究表明, pH 对于纤维素的降解影响较大^[7], 不同的 pH 值会形成特定的微生物种群并形成不同的酸化产物^[8], 从而影响后续产甲烷相的处理效率, 因此 pH 值是影响木薯酒精蒸馏废液水解过程的关键因素之一。本文希望通过考察木薯酒精蒸馏废液中难溶性纤维类物质的生物转化, 特别是不同的 pH

值对水解过程中的纤维素酶和半纤维素酶酶活、水解效率及酸化产物的影响, 为后续高效利用木薯酒精蒸馏废液提高沼气产量提供参考。

1 材料与方法

1.1 木薯酒精蒸馏废液

木薯酒精蒸馏废液取自江苏省泰兴市金江化学有限公司, 首先经过 20 目筛子除去大块的木薯渣, 混匀后置于 4 ℃冰箱保存, 其成分分析如表 1 所示。

表 1 木薯酒精蒸馏废液的成分分析

Tab.1 Characteristics of cassava stillage

指标	数值
pH	3.5~ 3.7
总 COD(mg/L)	60 000~ 65 000
可溶性 COD(mg/L)	24 000~ 26 000
TS (mg/L)	41 500~ 42 500
SS (mg/L)	25000~ 27000
VFA ³ (g/L)	0.05~ 0.07
每 100 g 固形物含纤维素 (g)	22~ 26
每 100 g 固形物含半纤维素 (g)	9~ 13
每 100 g 固形物含木质素 (g)	8~ 12
总 N (mg/L)	800~ 900
总 P (mg/L)	200~ 400

注: TS 指总固体; SS 指悬浮性固体; VFA 指挥发性有机酸。

1.2 种子污泥及其驯化

本实验采用的种子污泥是由取自江苏省泰兴市金江化学有限公司的木薯酒精蒸馏废液厌氧处理污泥、江苏省无锡市芦庄污水处理厂的厌氧污泥以及本实验室保存的菌泥, 三者按体积 1: 1: 1 的比例混合而成。该种子污泥以木薯酒精蒸馏废液作为底物, 在 60 ℃时, 通过逐步增加进水负荷并使污泥分别维持在不同值 pH 范围内(pH 6.0~ 7.0、pH 5.0~ 6.0、pH 4.3~ 5.0)各驯化 30 d, 最后将驯化好的污泥保存至 4 ℃冰箱中。

1.3 厌氧反应设备及运行条件

取 500 mL 三角瓶作为反应器, 采用橡胶塞密封, 在橡胶塞上开一个进气口和一个出气口。在反

应之前通入 N_2 排尽空气,同时将出气口与水封装置相连以防止空气进入,然后将其置于 60°C 、 120 r/min 的恒温摇床中振荡培养。

1.4 实验方法

于 500 mL 的三角瓶中按 $1:2\text{ g}:\text{mL}$ 装入 350 mL 的接种污泥和木薯酒精废液,分别将起始 pH 设定为 5.0 、 6.0 、 7.0 、 8.0 和 9.0 ,在每个 pH 值梯度分别进行两种操作,即对 pH 进行维持和不维持。对 pH 维持的实验组用 NaHCO_3 调节(pH 9.0 组用 4 mol/L NaOH 调节),当 pH 值达到起始设定值后就不再进行 pH 的调节;而对于 pH 值不维持的实验组任其变化,每天检测其 pH 值,期间都不再进行补料。

1.5 检测方法

取少量实验样品于 5000 r/min ,离心 10 min ,上清液过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜,测定可溶性 COD 及 VFA。总 COD、可溶性 COD、SS 采用标准方法测定^[9]。VFA 采用科晓 GG-1690 型气相色谱仪, FID 检测器,载气:氮气,色谱柱、进样器、检测器温度分别为: 175°C 、 200°C 和 250°C ,采用外标法定量。pH 值测定采用 pH 计(PHS-3C 酸度计)进行测定。纤维素、半纤维素以及木质素采用范式法进行测定^[10]。

1.6 酶活力的测定及定义

为了反映酶的分布情况,实验分别测定了游离态和胞上结合态的 CMC 酶和木聚糖酶。取 50 mL 混匀的发酵液, 8000 r/min 离心 10 min ,上清液 1 用于测定游离态酶活力。用 pH 值为 8.0 的 tris-buffer 洗涤沉淀并定容至 50 mL 。加入 1 mL 的曲拉通,室温下 600 r/min 下搅拌 30 min ,再在 8000 r/min 下离心 10 min ,上清液 2 用于测定胞上结合态酶活力。CMC 酶活力和木聚糖酶活力的测定分别参照 Ghose TK^[11] 和 Bailey MJ^[12]。

1.7 颗粒状有机物水解率的计算

对于颗粒状有机物的水解,难溶性 COD 转化为可溶性 COD 是评价水解效果的一项重要指标,其水解率的计算公式如下所示:

$$\eta = \frac{\text{难溶性 COD}_i - \text{难溶性 COD}_o}{\text{TCOD}}$$

式中, η 为水解率; 难溶性 COD_i 为进水难溶性 COD; 难溶性 COD_o 为出水难溶性 COD, TCOD 为总 COD。

2 结果与讨论

2.1 不同条件下的 pH 值变化规律

木薯酒精蒸馏废液中含有大量的易利用有机

物,很容易生成 VFA,造成反应体系的 pH 值迅速下降,为此我们监控了 pH 的变化(见图 1)。由图 1-a 可知,进行 pH 值维持时,在前 6 d 除 pH 值为 5.0 组以外,其它组 pH 值不稳定主要是由于 VFA 的产生使得 pH 迅速降低,然后每天通过添加 NaHCO_3 调节 pH 值至初始设定值,随着易酸化物质的不断消耗, pH 值下降幅度逐渐减小,所用 NaHCO_3 的量也逐渐减少。从第 6 d 开始除 pH 值为 9.0 组外其它组的 pH 值均达到起始设定值并维持稳定。因 NaOH 较 NaHCO_3 缓冲能力差,导致 pH 值为 9.0 实验组在第 9 d 左右才达到设定值。当达到起始设定值后不再进行 pH 调节,但各组均在设定值以上运行。

由图 1(b) 可知,不进行 pH 值维持时,各组的 pH 值在前 2 d 均迅速下降, pH 值为 5.0 、 6.0 、 7.0 组的 pH 值分别在 $4.8\sim 5.0$ 、 $5.1\sim 5.2$ 、 $6.0\sim 6.2$ 范围内波动。pH 值为 8.0 组前期 pH 值下降,从第 6 d 开始缓慢上升,最终升至 7.9 左右并维持稳定,主要原因是 pH 值为 8.0 组起始添加的大量具有较强缓冲能力的 NaHCO_3 ,使得 pH 值不会下降太多,同时随着易酸化物质的消耗和产甲烷菌活力的增强使得反应后期 pH 值逐渐升高。pH 值为 9.0 实验组用 NaOH 调节使得体系缓冲能力较差,前期 pH 值迅速下降然后一直维持在 $5.5\sim 5.7$ 范围内,而 pH 值为 7.0 组由于起始用 NaHCO_3 调节,其体系 pH 值反而比 pH 值为 9.0 的要高。

2.2 不同 pH 条件下的总 COD 及水解率的变化情况

反应器中不同 pH 值条件下的总 COD 及水解率的变化情况如图 2、3 所示。

由图 2(a) 可知,进行 pH 值维持时,总 COD 均随时间的延长而降低。pH 值 7.0 时,总 COD 降幅最大, pH 值为 5.0 时总 COD 下降最少。图 2(b) 不进行 pH 值维持时,其总 COD 也均随时间的延长而降低,此时当 pH 值为 8.0 时,总 COD 下降幅度最大,同样在 pH 值为 5.0 时,总 COD 下降最少。由此可见,在 pH 值为 $7.0\sim 8.0$ 时能够获得最大的总 COD 去除率。

以水解率 η 反映水解效果,如图 3 所示水解率随 pH 值呈现先增大后降低的趋势,在 pH 值为 $7.0\sim 7.9$ 时达到最大。水解率在 pH 7.0 维持时为 25.2% , pH 8.0 不维持(pH 值范围为 $7.4\sim 7.9$) 时为 24.7% 。在 pH 值 8.0 和 pH 值 9.0 维持时,由于在 pH 值调节过程中添加大量的 NaHCO_3 和 NaOH 而引入大量的 Na^+ 从而影响产甲烷菌的活

性并干扰它们的代谢^[13], 使得其总 COD 去除率和水解率 η 均比 pH 值为 7.0 时要低。

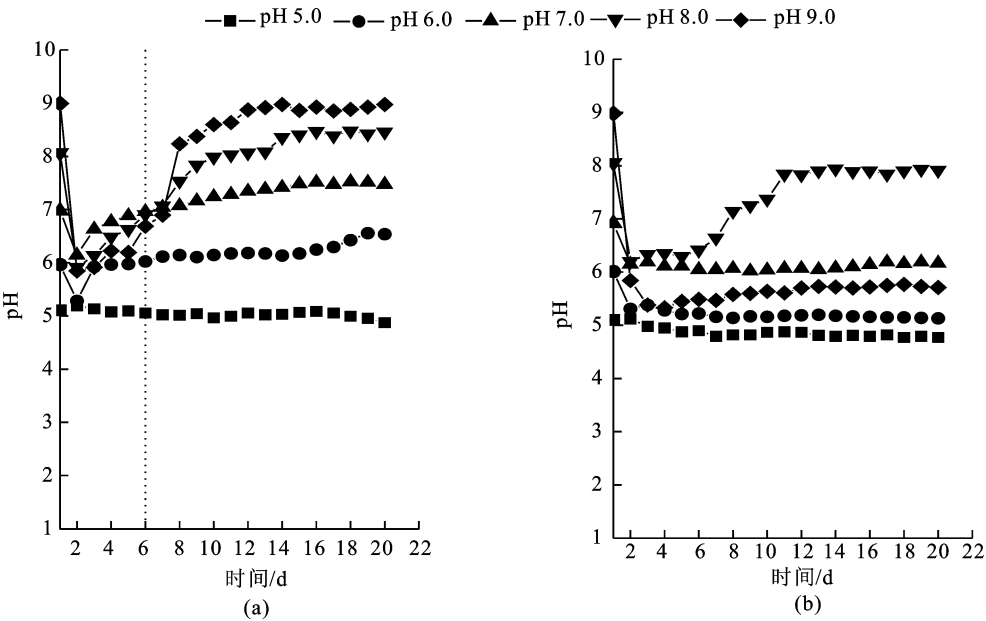


图 1 进行 pH 维持和不维持时的 pH 的变化(a: pH 维持; b: pH 不维持)
Fig. 1 Changes of pH with and without pH adjustment (a: with pH adjustment; b: without pH adjustment)

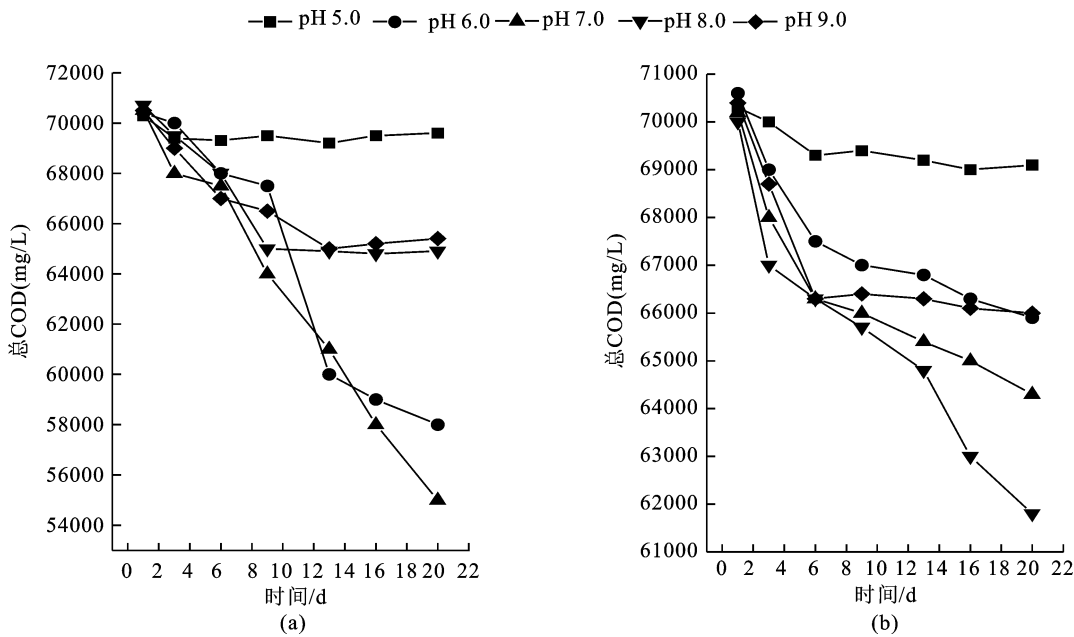


图 2 不同 pH 条件下的总 COD 变化情况(a:pH 维持; b: pH 不维持)
Fig. 2 Changes of total COD at different pH levels (a: with pH adjustment; b: without pH adjustment)

2 3 不同 pH 值下的 SS 降解情况

不同 pH 值下反应器中的 SS 的降解率如图 4 所示。由图 4 可知, 不同 pH 值时, 木薯酒精蒸馏废液 SS 的降解情况差别较大。进行 pH 值维持, 当 pH 值为 7.0 时, SS 降解率最大为 37.3%, 随着 pH 值的继续升高其 SS 降解率反而降低, 这与 pH 值维

持时总 COD 去除率和水解率 η 的变化趋势一致, 而当 pH 值为 5.0 时, SS 降解率最小仅为 2.1%。此外, pH 值不进行维持, 当 pH 值为 8.0 (pH 值范围为 7.4~ 7.9) 时, 其 SS 降解率最高达到 39.2%, pH 值为 7.0 (6.0~ 6.2) 时为 33.9%, 分别与 pH 值为 7.0、6.0 进行 pH 值维持时的 SS 降解情况基本

一致。

2.4 进行pH值维持时纤维素和半纤维素降解情况

张绪跃等报导^[14],木薯酒精蒸馏废液中的木薯渣在酒精发酵过程中经历了高温蒸煮蒸馏破坏了部分纤维素大分子间的结合,因此有利于厌氧过程中酶的作用。为此,作者考察了pH值维持时的纤维素、半纤维素和木质素在第20 d的降解情况,其结果见表2。

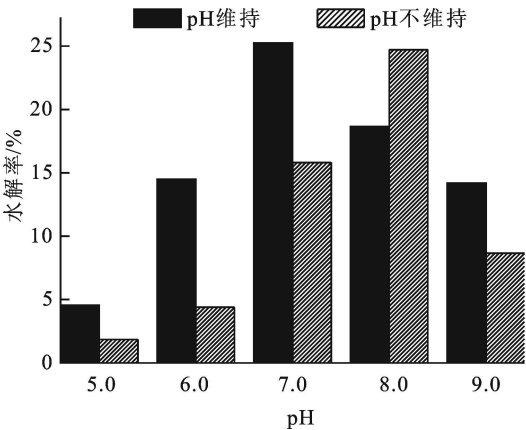


图3 不同pH条件下的水解率变化情况

Fig.3 Changes of hydrolytic ratio at different pH levels

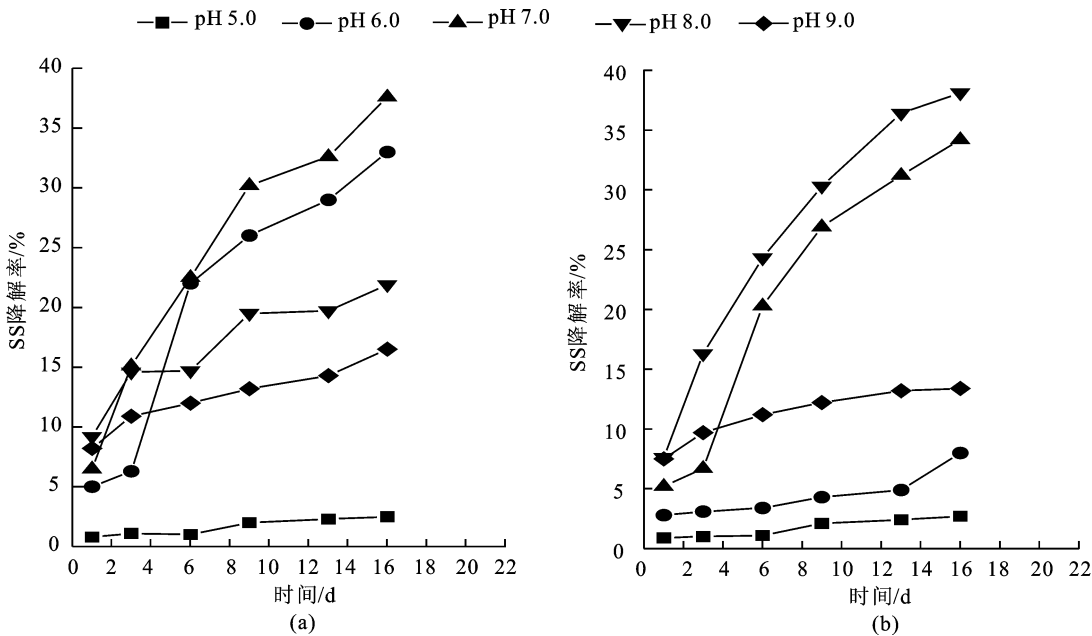


图4 不同pH条件下的SS降解情况(a:进行pH维持; b:不进行pH维持)

Fig.4 Degradation of SS at different pH levels (a: with pH adjustment; b: without pH adjustment)

表1 pH维持时的纤维素和半纤维素在第二十天降解情况

Tab.2 Degradation of cellulose and hemicellulose with pH adjustment on the 20 th day						
pH	100 g 固形物中 纤维素/g	纤维素 降解率/%	100 g 固形物中 半纤维素/g	半纤维素 降解率/%	100 g 固形物中 木质素/g	木质素 降解率/%
5.0	7.1	1.6	9.3	1.7	10.2	2.0
6.0	5.9	18.2	4.1	56.2	9.9	3.4
7.0	3.3	54.9	3.9	58.4	9.5	7.8
8.0	3.9	46.3	4.0	57.2	9.5	7.4
9.0	5.1	29.9	4.5	52.1	9.6	7.1

由表2可知,进行pH值维持时纤维素和半纤维素的降解在pH值为7.0、8.0时达到最大,pH值为7.0时纤维素、半纤维素的降解率分别达到54.9%和58.4%。在所有pH值条件下木质素的降解率均很小,这与木质素致密的结构有关^[15]。

2.5 进行pH值维持时的纤维素酶活力和半纤维素酶活力变化情况

由于水解过程主要是在胞外水解酶的作用下进行的,pH值不仅影响胞外水解酶的活性,还会影响水解酸化菌群代谢途径的选择^[16],因此它是影响

水解过程的主要因素之一。木薯酒精蒸馏废液含有大量的纤维素和半纤维素,因此考察纤维素酶活力和半纤维素酶活力无疑对于木薯酒精蒸馏废液的厌氧处理和高效产甲烷具有重要意义。为此,我们监控了不同 pH 值时的纤维素酶和半纤维素酶活力情况(见表 3、4)。

由表 3 可知, pH 值为 5.0 时基本检测不到纤维素和半纤维素酶活力,在 pH 值为 7.0 时达到最大,分别为 1 588 和 822 IU/L。在其它 pH 值条件下,纤维素和半纤维素酶活力均随时间的延长先增

大后降低,在第 6 d 时达到最大,这是由于木薯酒精蒸馏废液中含有大量未被利用的还原糖及破裂酵母细胞作为碳源,此时主要以残余还原糖作为碳源使得菌体大量繁殖,但胞外水解酶的产生较少。中期随着营养物质的消耗,以纤维素和半纤维素作为碳源,而纤维素酶和半纤维素酶作为底物诱导酶,此时获得最大的水解酶活力,后期由于菌体减少而导致两种酶的分泌降低,同时随着时间的延长酶也逐渐失活。

表 3 进行 pH 值维持时纤维素酶及半纤维素酶活力的变化情况

Tab.3 Cellulase and hemicellulase activity with pH adjustment

时间/ d	CMC 酶活力/(IU/L)					木聚糖酶活力/(IU/L)				
	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0	pH 5.0	pH 6.0	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0
3	ND	286	435	398	198	ND	223	277	205	201
6	ND	546	1 588	706	396	ND	542	822	409	217
9	ND	364	350	352	268	ND	201	356	287	256
13	76	297	286	245	162	56	170	325	155	124
19	ND	284	290	253	153	ND	ND	233	167	108

ND: 未检测出项

表 4 进行 pH 值维持时的游离态和胞上结合态纤维素酶和半纤维素酶在第六天的酶活力

Tab.4 Cellulase and hemicellulase activity of both free and cell bound with pH adjustment on the 6th day

pH	CMC 酶活力/(IU/L)		木聚糖酶活力/(IU/L)	
	游离态	胞上结合态	游离态	胞上结合态
5.0	ND	ND	ND	ND
6.0	219	227	230	212
7.0	782	806	395	427
8.0	347	359	225	184
9.0	194	202	105	112

ND: 未检测出项

表 4 为第六天时游离态和胞上结合态的两种酶活力大小,从表中可知游离态和胞上结合态的 CMC 酶和木聚糖酶活力几乎相等,说明在本实验培养条件(120 r/min)下酶的分布比较均匀,这与 Parawira 等^[17]研究马铃薯固体废弃物的两阶中温厌氧处理过程中水解酶的分布中得到的结论不同(游离态酶活力比胞上结合态酶活力高)。

2.6 进行 pH 值维持和不维持时的 VFA 变化情况

CohenA 等^[18]将有机废水产酸发酵分为丁酸型发酵和丙酸型发酵,通过观察,本实验中木薯酒精蒸馏废液的厌氧处理为丁酸型发酵。pH 值维持

时的有机酸组成见表 5。

表 5 进行 pH 值维持时乙醇、乙酸、丙酸、丁酸在总 VFA 和乙醇中所占的质量浓度比

Tab.5 Percentage of ethanol, acetate, propionate, butyrate at total VFA and ethanol with pH adjustment

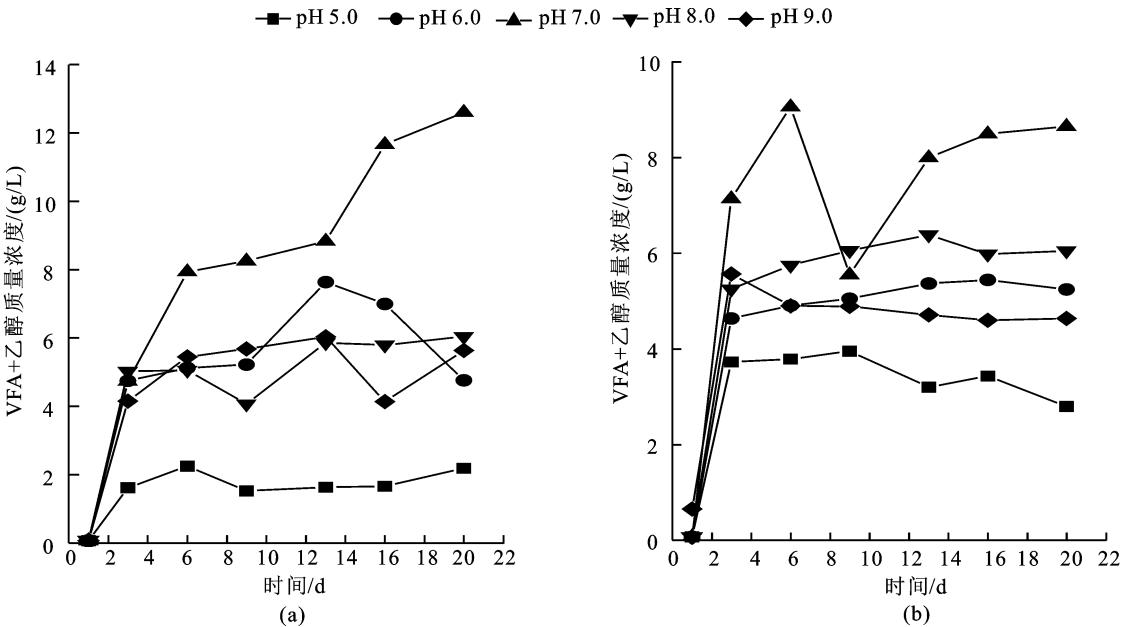
质量浓度比/%				
pH	乙醇	乙酸	丙酸	丁酸
5.0	18.6	27.7	11.5	42.2
6.0	0.6	24.8	5.9	68.7
7.0	0.1	73.3	16.3	10.3
8.0	0	67.3	13.7	18.9
9.0	0	30.5	10.3	59.2

表 5 表明在 pH 值为 5.0、6.0 时,丁酸质量浓度最高,随着 pH 的升高丁酸质浓度数逐渐减少,乙酸质量浓度逐渐增加,主要是由于较高 pH 值时(如 pH 7.0、8.0 进行维持时)一部分丁酸在产氢产乙酸菌群作用下将丁酸转为乙酸和氢气。此外,还发现随着 pH 值的升高乙醇含量逐渐降低,在 pH 值为 7.0 以上时基本检测不到,这与任南琪^[19]提出较低 pH 时容易形成乙醇型发酵结论一致。本实验中所有 pH 值条件下丙酸含量均较低,Pipyn P 从发酵产物转化为 CH₄时所释放的能量角度分析发现^[20],

丙酸最不易转化为乙酸,也是造成厌氧反应器酸化的主要原因,因此较低的丙酸有利于后续产甲烷过程的进行。

在 pH 值维持和不维持时,VFA 及乙醇的变化情况如图 5 所示。pH 值维持时,在 pH 值为 7.0 时 VFA 及乙醇总质量浓度最大可达 12.6 g/L,pH 值

为 8.0 时达到 6.0 g/L,而在 pH 值为 5.0 时最低仅为 2.2 g/L。pH 值不维持时,pH 值为 7.0(pH 值范围 6.0~6.2)VFA 及乙醇质量浓度最高达 8.6 g/L,pH 值为 8.0(pH 值范围为 7.4~7.9)VFA 及乙醇质量浓度为 6.0 g/L。



a: 进行 pH 维持; b: 不进行 pH 维持
图 5 不同 pH 值条件下的总 VFA 和乙醇质量浓度变化情况
Fig. 5 Changes of total VFA and ethanol contents at different pH levels

3 结 语

1) 本文首次考察木薯酒精蒸馏废液进行厌氧处理时,不同 pH 值条件下的纤维素酶和半纤维素酶活力变化情况。纤维素酶和半纤维素酶主要是由水解菌群分泌,因此监测纤维素酶和半纤维素酶活是研究水解过程的一种直接方式。在 pH 值为 7.0~8.0 第六天时获得最大的纤维素酶和半纤维素酶活力分别为 1.588IU/L、8.22IU/L,且随着时间的延长先增大后降低,因此对于大规模工业连续培养时,需要确定合适的有机负荷(OLR)和水力停留时间(HRT)来获得最高的水解酶活力。相对于纯菌种发酵,厌氧发酵的酶活高低取决于分泌水解酶的微生物群落动态变化,因此使分泌水解酶的微生物成为优势种群,无疑会提高水解酶的酶活。同时影响酶活高低的因素除了 pH 值外还有污泥中的优势菌群,产物,酶的稳定性等,因此还需进一步研究产生相关水解酶的菌群及维持酶活稳定的条件。

2) 以水解率、SS 降解率、纤维素和半纤维素的降解率作为考察水解效果的指标,发现 pH 值对

于三者的影响均比较明显。培养 19d 后, pH 值为 7.0 进行维持和 pH 值为 8.0 不进行维持,即 pH 值在 7.0~8.0 范围内能够获得最高的水解率: 25.2% 和 24.7%, 此时 SS 降解率达到最大值 37.3% 和 39.2%, 纤维素和半纤维素的降解率为 54.9% 和 58.4%, 木质素的降解很小。对于纤维素,半纤维素特别是木质素的降解,生物处理只能起到一部分作用,还需要结合物理化学等预处理方法^[15]。近来又有学者通过好氧加厌氧、微好氧加厌氧的联合处理方式来提高一些难溶性有机物的降解效率^[21-22],对于木薯酒精蒸馏废液采用上述方法处理以及微好氧条件下的水解酶酶活情况,这些都有待于进一步的研究。

3) 水解酸化过程产生的 VFA 和乙醇的总量及 VFA 的组成均对后续的产甲烷过程产生重要影响。本实验中 pH7.0 维持时 VFA 和乙醇总量达到最大值 12.6 g/L,同时还表明木薯酒精蒸馏废液进行厌氧处理时更易形成丁酸型发酵,而丙酸的含量较低,有利于后续产甲烷过程的进行,同时也避免了后续反应器的酸化问题。

参考文献(References):

- [1] Dai D, Hu ZY, Pu GQ, et al. Energy efficiency and potentials of cassava fuel ethanol in guangxi region of China[J]. **Energy Conversion and management**, 2006, 47 (13– 14): 1686– 1699.
- [2] 毛忠贵, 张建华. 酒精制造的“零能耗零污染”趋势[J]. 生物工程学报, 2008, 24(6): 946– 949.
Mao Zhong-gui, Zhang Jian-hua. Trend of "Zero Energy Consumption and Wastewater" in Fuel Ethanol production[J]. **Chinese Journal of Biotechnology**, 2008, 24(6): 946– 949. (in Chinese)
- [3] 罗刚, 谢丽. 木薯酒精废水资源化处理技术现状与进展[J]. 工业水处理, 2008, 28(8): 1– 5.
Luo Gang, Xie Li. Status quo and development of the resource recycling treatment technologies of cassava ethanol wastewater [J]. **Industrial Water Treatment**, 2008, 28 (8): 1– 5. (in Chinese)
- [4] Sarada R, Joseph R. Profile of hydrolases acting on major macromolecules of tomato processing waste during anaerobic digestion[J]. **Enzyme Microb Technol**, 1993, 15: 339– 42.
- [5] Ghosh S, Conrad J, Klass D. Anaerobic acidogenesis of wastewater sludge[J]. **Water Pollution Control Federation**, 1975: 30– 45.
- [6] Stephanopoulos G, Sinskey A. Metabolic engineering—methodologies and future prospects[J]. **Trends in Biotechnology**, 1993, 11(9): 392– 396.
- [7] Hu Z, Liu S, Yue Z, et al. Microscale analysis of in vitro anaerobic degradation of lignocellulosic wastes by rumen microorganisms[J]. **Environ Sci Technol**, 2008, 42 (1): 276– 281.
- [8] Ueno Y, Sasaki D, Fukui H, et al. Changes in bacterial community during fermentative hydrogen and acid production from organic waste by thermophilic anaerobic microflora[J]. **Journal of Applied Microbiology**, 2006, 101 (2): 331– 343.
- [9] Apha A. Standard methods for the examination of water and wastewater[M]. Washington, DC 1995.
- [10] 扬胜. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 58– 63.
- [11] Ghose TK. International union of pure and applied chemistry (IUPAC) measurement of cellulase activities[J]. **Pure and Applied Chemistry**, 1987, 59: 257– 268.
- [12] Bailey MJ, Biely P, Poutanen K. Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity[J]. **Journal of Biotechnology**, 1992, 3: 286– 290.
- [13] Chen W, Han S, Sung S. Sodium inhibition of thermophilic methanogens[J]. **Environmental Engineering**, 2003 129: 506– 512.
- [14] 张绪跃, 李素贞. 木薯酒精废水全渣厌氧机理的探讨[J]. 甘蔗糖业, 2006 (3): 33– 39.
Zhang Xu yue, Li Su zhen. Investigate the mechanism of cassava ethanol wastewater anaerobic digestion with the whole residue[J]. **Sugarcane and Canesugar**, 2006 (3): 33– 39. (in Chinese)
- [15] 杨世关, 李继红, 孟卓, 等. 木质纤维素原料厌氧生物降解研究进展[J]. 农业工程学报, 2006, 22(增 1): 120– 124.
Yang Shi-guan, Li Ji-hong, Meng Zhuo, et al. Review on anaerobic biodegradation of lignocellulose[J]. **Transactions of the CSAE**, 2006, 22 (supp. 1): 120– 124. (in Chinese)
- [16] Horiuchi J, Shimizu T, Tada K, et al. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control[J]. **Bioresource Technology**, 2002, 82 (3): 209– 213.
- [17] Parawira W, Murto M, Read JS. Profile of hydrolases and biogas production during two– stage mesophilic anaerobic digestion of solid potato waste[J]. **Process Biochemistry**, 2005, 40: 2945– 2952.
- [18] Cohen A, Zoetemeijer R, Van Deursen A, et al. Anaerobic digestion of glucose with separated acid production and methane formation[J]. **Water Research**, 1997, 13 (2): 571– 580.
- [19] Ren N, Wang B, Huang J. Ethanol type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor[J]. **Biotechnology and Bioengineering**, 2002, 54 (5): 428– 433.
- [20] Inanc B, Matsui S, Ide S. Propionic acid accumulation and controlling factors in anaerobic treatment of carbohydrate: effects of H₂ and pH[J]. **Water Science and Technology**, 1996, 34 (5): 317– 325.
- [21] Dumas C, Perez S, Paul E, et al. Combined thermophilic aerobic process and conventional anaerobic digestion: Effect on sludge biodegradation and methane production[J]. **Bioresource Technol**, 2009, 101(8): 2629– 2636.
- [22] Hasegawa S, Shiota N, Katsura K, et al. Solubilization of organic sludge by thermophilic aerobic bacteria as a pretreatment for anaerobic digestion[J]. **Water Science and Technology**, 2000, 41(3): 163– 169.