

Ce³⁺对厌氧产氢性能影响

赵明星, 王永会, 阮文权*

(江南大学 环境与土木工程学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 研究添加稀土元素 Ce³⁺对废水产氢的影响。结果表明, 稀土元素对产氢具有 hormesis 效应, 添加 Ce³⁺质量浓度为 0.1 mg/L 时, 产氢量最大, 为 123.2 mL/g, 是对照的 120.3%。反应结束后, 添加 0.1、0.05 mg/L 组的 VFA 量较大, 分别为 4 511.8、4 420.3 mg/L, 是对照的 1.49 和 1.46 倍。各组分的葡萄糖利用率在 76.2%~92.1%。脱氢酶活呈现先增加后降低趋势, 添加 0.1 mg/L 组最大酶活为 5 042.3 μg/(g·h), 是对照的 110.0%。

关键词: Ce³⁺; 氢气; 厌氧消化; 脱氢酶

中图分类号: TQ 920.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2013)06—0591—05

Effect of Ce³⁺ on Hydrogen Generation by Anaerobic Digestion

ZHAO Ming-xing, WANG Yong-hui, RUAN Wen-quan*

(School of Environment and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The effect of rare earth element Ce³⁺ on hydrogen production was investigated in this study. The data indicated that the hormesis effect of Ce³⁺ was performance on hydrogen generation, the maximum hydrogen yield reached 123.2 mL/g by adding Ce³⁺ concentration of 0.1 mg/L, which was 120.3% of control. The concentration of VFA by adding 0.1 and 0.05 mg/L Ce³⁺ was 4 511.8 and 4 420.3 mg/L after reaction, which was 1.49 and 1.46 times of control, respectively. The utilization of glucose in each group was between 76.2% and 92.1%. The dehydrogenase activity represented initially increased then decreased trend, the maximum dehydrogenase activity was 5 042.3 μg/(g·h) by adding 0.1 mg/L Ce³⁺, which was 110.0% of control.

Keywords: Ce³⁺, hydrogen, anaerobic digestion, dehydrogenase enzyme

厌氧发酵产氢是生成清洁能源氢气的有效途径之一, 因其具有高效性和经济性而受到人们的关注^[1]。在产氢过程中, 产氢微生物活性的高低是影响

产氢效率的重要因素之一。先前的研究表明, 金属离子对微生物生长、能量代谢和酶活性保持等方面有重要作用^[2]。一些学者针对某些金属元素如 Fe、

收稿日期: 2012-09-06

基金项目: 国家“十二五”科技支撑项目(2012BAC18B01-2); 江苏省科技支撑计划项目(BE2012615); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(JUSRP111A12)。

作者简介: 赵明星(1982—), 男, 江苏昆山人, 工学博士, 讲师, 主要从事环境生物技术方面的研究。

* 通讯作者: 阮文权(1966—), 男, 上海人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事环境污染物处置技术方面的研究。

E-mail: wquan@jiangnan.edu.cn

Co、Ni 等在投加浓度、产氢效率促进效应和酶活影响等方面展开了较全面的研究^[3]。

相对于上述金属元素,稀土元素是一类光谱性较强的元素,研究表明稀土元素能通过与细胞膜结合影响膜上有关酶的活性或改变膜的通透性,调节细胞的信息传递系统,影响细胞内一系列生理、生化变化,从而影响微生物活性^[4]。Liu 等^[5]发现 La³⁺会增大 *Escherichia coli* 细胞膜的通透性,从而更容易被溶解酶攻击。夏青等^[6]发现一定浓度的 La³⁺和 Ce³⁺能提高 VFA(Volatile fat acid)转化为甲烷的效率。但关于稀土元素对产氢的影响报道较少。作者通过分析添加不同质量浓度 Ce³⁺对产氢过程中各指标的变化,明确 Ce³⁺对废水产氢效率的影响。

1 材料与方法

1.1 实验用水

试验用水采用人工模拟废水^[7],具体成分见表 1。

表 1 模拟废水成分

Table 1 Constituents of synthetic wastewater

成分	质量浓度/(mg/L)
COD	5 500
NH ₄ Cl	475
KH ₂ PO ₄	110
CaCl ₂ ·2H ₂ O	30
MgSO ₄ ·7H ₂ O	15
NaHCO ₃	500
Ce ³⁺	不同浓度

1.2 产氢微生物

产甲烷颗粒污泥取自苏州某企业的 IC 反应罐,经 121 °C、15 min 热处理后作为产氢污泥。热处理后的产氢污泥经活化后用于本实验。产氢污泥 TS 为 11.35%,VS 为 73.89%。

1.3 实验装置

采用 500 mL 的血清瓶作为反应容器,置于 (35±1) °C 的振荡水浴锅中进行发酵,气体收集采用排水法,具体实验装置见文献^[8]。

1.4 实验方法

取 350 mL 实验用水于反应装置中,添加不同的 Ce³⁺元素,使 Ce³⁺在反应瓶中的质量浓度分别为

0.025、0.05、0.1、0.5、1.0、5.0、10.0 mg/L,再向各个反应瓶中加入一定量的产氢污泥,调节各个反应瓶中的 pH 至 7.5,充 10 min 氮气维持厌氧状态后进行产氢实验,产氢过程中未调节 pH 值。以不添加 Ce³⁺的反应瓶为对照。每组做 3 个平行样,图中数据为平行样的平均值。

1.5 测定方法

TS(Total solid),VS(Volatile solid):采用质量法^[9];葡萄糖:采用 DNS 法^[10];脱氢酶酶活:采用 2-3-5- triphenyltetrazolium chloride(TTC)为底物,经脱氢酶催化还原反应后生成红色产物 T TCH₂-trifenyformazane (TF),根据 TF 颜色测定脱氢酶活性^[11]。

氢气:采用气相色谱仪(GC910,上海科创色谱仪器有限公司),热导检测器,色谱柱为不锈钢填充柱,填料为 5A 分子筛,柱长:1 m×φ6 mm,柱温 90 °C,汽化温度 100 °C,检测器温度 100 °C,载气为氩气。

挥发性脂肪酸(VFA):采用液相色谱仪(Agilent 1100,美国)测定,柱子型号 ZORBAX SB-Aq,柱长 150 mm,直径 4.6 mm,流动相为 0.5%乙腈,99.5% KH₂PO₄(0.02 mol/L),pH 2.0(用磷酸调节),流动相流速 0.5 mL/min。进样量 10 μL,柱温 30 °C,检测器为紫外检测器(210 nm)。

对产氢量采用 Gompertz 模型进行非线性拟合^[12]:

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

其中, H 为累计产氢量 (mL); P 为最大产氢量 (mL); R_m 为最大产氢速率 (mL/h); λ 为产氢延迟时间(h), e 为自然对数。

2 结果与讨论

2.1 添加 Ce³⁺对产氢量影响情况

图 1 为各反应组的产氢情况,可知经过约 4 h 的延迟期后各组开始产气,产气集中在第 4~13 小时,从第 13 小时后产气量变化不大。最终产氢量先随着添加 Ce³⁺质量浓度的增加而提高,但从添加 0.1 mg/L 后开始下降。添加 0.1 mg/L 组的产氢量最大,达到 123.2 mL/g,比对照提高 20.3%。添加 10.0 mg/L 组的产氢量最低,为 89.2 mL/g,是对照的 87.1%。

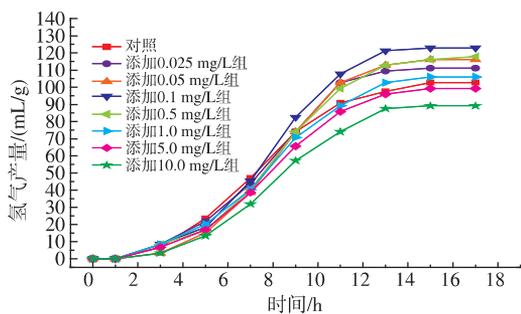


图 1 添加不同 Ce³⁺下各组分的产氢情况

Fig. 1 Hydrogen yield by adding different concentration of Ce³⁺

表 2 添加不同浓度 Ce³⁺产氢动力学参数

Table 2 Kinetic parameters of hydrogen generation by adding different concentration of Ce³⁺

组别	<i>P</i> /(mL)	<i>R_m</i> /(mL/h)	λ /h	最大比产氢率/(mL/(g·h))	产氢率/(mL/g)	<i>R</i> ²
对照	106.91	13.86	3.89	1.73	13.36	0.999
添加 0.025 mg/L 组	118.04	15.58	3.87	1.95	14.76	0.998
添加 0.05 mg/L 组	121.33	18.21	4.36	2.28	15.17	0.997
添加 0.1 mg/L 组	129.11	18.29	4.49	2.29	16.14	0.997
添加 0.5 mg/L 组	124.12	16.25	4.49	2.03	15.52	0.997
添加 1.0 mg/L 组	113.36	13.56	4.70	1.70	14.17	0.997
添加 5.0 mg/L 组	104.90	13.58	4.75	1.70	13.11	0.998
添加 10.0 mg/L 组	94.45	12.47	4.96	1.56	11.81	0.998

研究表明,添加一定质量浓度的 Ce³⁺能促进产氢效率,而过高质量浓度对产氢有抑制作用,具有 hormesis 效应。一定质量浓度的 Ce³⁺会扩大微生物细胞膜的通透性,有利于微生物从外界环境中吸收和利用营养物质。然而高质量浓度的 Ce³⁺会在细胞膜表面形成正电子层,阻碍营养物质进入细胞。同时高质量浓度的 Ce³⁺会与 DNA、RNA 和酶结合引起这些物质的钝化,导致抑制效应^[13]。这与夏青等^[14]发现 Ce³⁺对产甲烷的低促高抑效应的结论相类似。但本实验的最佳 Ce³⁺添加质量浓度较夏青等^[14]高,这主要可能是产氢和产甲烷微生物性质不同而引起的。

2.2 添加 Ce³⁺对 VFA 量影响情况

氢气是伴随着 VFA 的产生而生成的,分析 VFA 的变化能对产氢起到一定的指导作用。由图 2 可知,各个反应组的 VFA 量都随着反应时间的延长而增加。各个组分 VFA 的增加时间为第 3~13 小时。第 13 小时各个反应瓶中的 VFA 为 3 020.0、3 264.1、4 350.3、4 481.8、3 199.4、2 363.7、2 691.6、

添加不同质量浓度 Ce³⁺的产氢动力学模型参数见表 2。在所有反应组中,添加 0.1 mg/L 组表现出较大的优势,各产氢组的 *R_m* 中,添加 0.1 mg/L 组>添加 0.05 mg/L 组>添加 0.5 mg/L 组>添加 0.025 mg/L 组>对照>添加 5.0 mg/L 组>添加 1.0 mg/L 组>添加 10.0 mg/L 组。随着添加 Ce³⁺质量浓度的提高,产氢延长时间 λ 也增加,这主要是由于 Ce³⁺会吸附到微生物表面,质量浓度越大越会延缓微生物利用葡萄糖进行代谢的速率。从最大比产氢率分析,添加 0.1 mg/L 组的最大比产氢率是对照的 1.32 倍。

1 933.1 mg/L,分别比第 3 小时增加了 2 596.0、2 457.2、3 303.8、3 884.7、2 797.8、2 205.1、2 092.4、1 803.4 mg/L。反应结束后,添加 0.1、0.05 mg/L 组的 VFA 量较大,分别为 4 511.8、4 420.3 mg/L,是对照的 1.49 和 1.46 倍。而 10.0 mg/L 组的 VFA 量最低,为 1 993.1 mg/L,是对照的 65.8%。梁睿等^[15]发现投加 Ce³⁺在 1~10 mg/L 时,反应体系会出现一定程度的 VFA 累积。

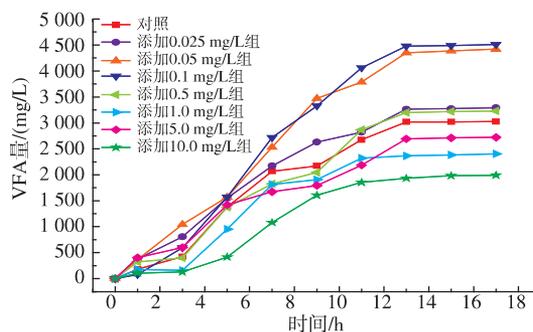


图 2 产氢过程中各组分 VFA 变化情况

Fig. 2 Change of VFA during hydrogen process by adding different concentration of Ce³⁺

分析图 1 和图 2 可知,产氢量与 VFA 的变化趋势较一致,前 3 小时产氢微生物处于适应期,从第 3 小时候后葡萄糖迅速酸化,产生大量 VFA,同时伴随氢气的迅速产生,从第 13 小时后,随着底物的耗尽,VFA 保持稳定,氢量也变化不大。

2.3 各反应组最终葡萄糖利用率与 pH 情况

反应结束后,各组分葡萄糖利用率和 pH 情况见图 3。从图 3 可知,葡萄糖利用率呈现先增大后减小的趋势,其中 0.1 mg/L 组的利用率最大为 92.1%,而 10.0 mg/L 组的利用率最小,为 76.2%。实验表明,添加一定量的 Ce³⁺有利于激活微生物活性,从而提高葡萄糖的利用。

产氢是伴随着有机酸的生成而产生的,但有机酸的累积会使体系 pH 值下降^[16]。在反应结束后,各反应组的 pH 维持在 5.0~5.08。随着产氢的进行,葡萄糖大量降解为有机酸,有机酸累积使得 pH 下降。由于反应过程中各组分都未调节 pH,因此 pH 从初始的 7.5 降到最终的 5.0 左右。

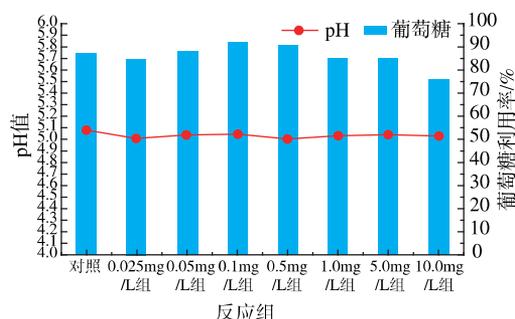


图 3 反应结束后各组分的葡萄糖利用率和 pH 情况

Fig. 3 Utilization of glucose and final pH after reaction

2.4 产氢过程中脱氢酶酶活变化情况

脱氢酶与细胞内的氧化磷酸化过程紧密相关,是反映厌氧发酵体系中微生物活性的一个重要指标^[17-18],对添加 0.1、10.0 mg/L 组和对照进行了脱氢酶活的分析。从图 4 可知,脱氢酶都是呈先增加后降低趋势。对照组和 0.1 mg/L 组前 3 小时酶活达到最大,为 4 583.9、5 042.3 μg/(g·h),随后酶活都下降,反应结束后酶活为 984.3、1 305.3 μg/(g·h)。而添加 10.0 mg/L 组的酶活最大出现在第 5 小时,为 3 405.4 μg/(g·h),是添加 0.1 mg/L 组的 67.54%。

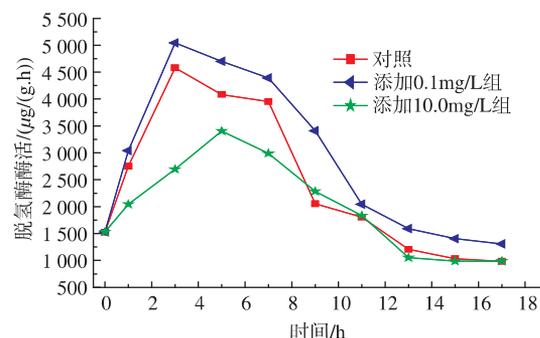


图 4 反应过程中脱氢酶的变化

Fig. 4 Change of dehydrogenase enzyme during anaerobic process

一开始随着反应的进行,酶活不断增大,这主要是开始时底物充足,微生物大量降解葡萄糖,整个体系中的微生物处于增长期,酶活性较高。随着底物的消耗和反应体系中 pH 的降低,微生物活性受到抑制,酶活下降。分析 3 个组分可知,添加 10.0 mg/L 组出现峰值的时间较其他两组晚,这可能是随着添加稀土元素的增加,吸附到微生物表面的量越多,使得活性受到抑制,酶活较低而且出现高峰的时间较晚。夏青等^[13]研究发现,添加一定质量浓度的 Ce³⁺有利于产甲烷菌 F₄₂₀ 酶活的提高,而过高质量浓度会降低酶活。比较图 1 和图 4 可知,酶活出现高峰的时间都在产氢高峰前,这主要可能是酶活的高表达为产氢高峰做好前期铺垫。这与李永灿等^[19]研究结果较一致。

3 结语

研究了添加稀土元素 Ce³⁺对废水产氢的影响。结果表明,添加 0.1 mg/L 组对产氢的促进作用最明显,产氢量达到 123.2 mL/g,比对照提高 20.3%。Gompertz 模型表明,添加 0.1 mg/L 组最大比产氢率是对照的 1.32 倍。产氢过程中各组的 VFA 量都是先增加后趋于稳定。最终各组的葡萄糖利用率在 76.2%~92.1%,pH 下降至 5.0~5.08。添加 0.1、10.0 mg/L 组和对照组的脱氢酶都呈先增加后降低的趋势,添加 0.1 mg/L 组对脱氢酶有促进作用,酶活最大达到 5 042.3 μg/(g·h),比对照提高 10.0%。

参考文献:

[1] Kim M S, Lee D Y. Fermentative hydrogen production from tofu-processing waste and anaerobic digester sludge using microbial consortium[J]. *Bioresour Technol*, 2010, 101: 48-52.

- [2] Lin C,Lay C. A nutrient formulation for fermentative hydrogen production using anaerobic sewage sludge [J]. **International Journal of Hydrogen Energy**,2005,30(3):285-292.
- [3] Wang J L,Wan W. Factors influencing fermentative hydrogen production:A review [J]. **International Journal of Hydrogen Energy**,2009,34:799-811.
- [4] Zhang T L,Gao Y X,Lu J F,et al. Arsenite,arsenate and vanadate affect human erythrocyte membrane[J]. **Journal of Inorganic Biochemistry**,2000,79(1-4):195-203.
- [5] Liu P,Liu Y,Lu Z X,et al. Study on biological effect of La³⁺ on *Escherichia coli* by atomic force microscopy [J]. **Journal of Inorganic Biochemistry**,2004,98:68-72.
- [6] 夏青,洪宇宁,梁睿,等. La³⁺,Ce³⁺对厌氧颗粒污泥在不同 VFA 底物中的产甲烷促进效应[J]. 中国沼气,2007,25(3):3-6.
XIA Qing,HONG Yu-ning,Liang Rui,et al. Stimulation effect of La³⁺ and Ce³⁺ on methanogenesis of anaerobic granular sludge with different substrates[J]. **China Biogas**,2007,25(3):3-6.(in Chinese)
- [7] Zhang Z P,Tay J H,Show K Y. Biohydrogen production in a granular activated carbon anaerobic fluidized bed reactor[J]. **International Journal of Hydrogen Energy**,2007,32:185-191.
- [8] 沈良,严群,阮文权,等. 不同预处理方式对颗粒污泥厌氧发酵产氢性能的影响[J]. 太阳能学报,2009,30(4):532-537.
SHEN Liang,YAN Qun,RUAN Wen-quan,et al. Effect of pretreatments of granular sludge on hydrogen production [J]. **Acta Energetica Solaris Sinica**,2009,30(4):532-537.(in Chinese)
- [9] 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.
- [10] 王福荣. 生物工程分析与检验[M]. 北京:中国轻工业出版社,2005:147-148.
- [11] Klapwuk A,Drent J,Steenvoorden J. A modified procedure for the TTC-dehydrogenase test in activated-sludge [J]. **Water Research**,1974,8(2):121-125.
- [12] Li C L,Fang H H. Inhibition of heavy metals on fermentative hydrogen production by granular sludge [J]. **Chemosphere**,2007,67:668-673.
- [13] 夏青. 稀土对厌氧颗粒污泥性能的 hormesis 效应研究[D]. 南京:南京大学,2008.
- [14] 夏青,任洪强,丁丽丽,等. 镧、铈对厌氧颗粒污泥产甲烷的 hormesis 效应及其动力学研究[J]. 环境科学学报,2007,27(8):1233-1237.
XIA Qing,REN Hong-qiang,DING Li-li,et al. Hormesis of lanthanum and cerium on methanogenesis of anaerobic granular sludge and its kinetics[J]. **Acta Scientiae Circumstantiae**,2007,27(8):1233-1237.(in Chinese)
- [15] 梁睿,夏青,丁丽丽,等. Ce³⁺对厌氧颗粒污泥产 VFA 的影响[J]. 环境科学,2009,30(4):1115-1119.
LIANG Rui,XIA Qing,DING Li-li,et al. Effect of Ce³⁺ on volatile fatty acid concentrations during anaerobic granular sludge digestion[J]. **Environmental Science**,2009,30(4):1115-1119.(in Chinese)
- [16] Chu C F,Li Y Y,Xu K Q,et al. A pH and temperature phased two-stage process for hydrogen and methane production from food waste[J]. **International Journal of Hydrogen Energy**,2008,33:4739-4746.
- [17] Gong P. Dehydrogenase activity in soil:A comparison between the TTC and INT assay under their optimum conditions [J]. **Soil Biology and Biochemistry**,1997,29(2):211-214.
- [18] 徐娴,谢承佳,何冰芳. 枯草芽孢杆菌葡萄糖脱氢酶基因的克隆及高效表达[J]. 食品与生物技术学报,2007,26(5):75-78.
XU Xian,XIE Cheng-jia,HE Bing-fang. Cloning and effective expression of glucose dehydrogenase gene from bacillus subtilis in *E.coli*[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2007,26(5):75-78. (in Chinese)
- [19] 李永灿,严群,阮文权. 餐厨垃圾厌氧消化产沼气过程中酶学表征[J]. 工业微生物,2011,41(3):76-80.
LI Yong-can,YAN Qun,RUAN Wen-quan. Enzymatic characterization of dehydrogenase and hydrolase during anaerobic digestion process from kitchen waste[J]. **Industrial Microbiology**,2011,41(3):76-80.(in Chinese)