

# 低温下 $\text{Ni}^{+}$ 及螯合剂对厌氧产气特性的影响研究

刘志伟, 杨庆元

(郑州大学综合设计研究院有限公司, 河南 郑州 450000)

**摘要:** 在 15 °C 的低温条件下,以牛粪为发酵底物,通过静态试验考察了乙二胺四乙酸 (EDTA) 和柠檬酸 (CA) 两种金属螯合剂对  $\text{Ni}^{+}$  的螯合效果,并探究了螯合作用对厌氧发酵产气特性的影响。结果表明,当 EDTA 的投加量分别为 25 和 50 mg/L 时,总产气量相对于空白组分别提高了 4.64% 和 8.51%;当 CA 的投加量分别为 15 和 30 mg/L 时,总产气量则分别提高了 34.28% 和 49.48%。两种螯合剂都可以缓解脂肪酸的累积,激活产甲烷菌的活性,促进水解菌分解大分子有机物,最终提高厌氧发酵的沼气产量。

**关键词:** 低温; 螯合剂; 产甲烷; EDTA; 柠檬酸

**中图分类号:** X705 **文献标识码:** C **文章编号:** 1000-4602(2017)07-0105-04

## Effect of Metal Chelating Agent on Anaerobic Fermentation Gasification Characteristics of Dung at Low Temperature

LIU Zhi-wei, YANG Qing-yuan

(Multi-functional Design and Research Academy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

**Abstract:** Chelation of  $\text{Ni}^{+}$  with two metal chelating agent ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and citric acid (CA) was investigated by static test using cow dung as fermentation substrate under low temperature of 15 °C. The test also studied the effect of chelation on fermentation gasification characteristics. The results showed that gas production of different dosing quantity of each metal chelating agent—EDTA (25 mg/L, 50 mg/L), CA (15 mg/L, 30 mg/L) had been improved by 4.64%, 8.51%, 34.28% and 49.48% compared with blank group respectively. EDTA and CA both can ease the accumulation of fatty acids, active methane producing bacteria, promote hydrolysis bacteria to decompose organic molecules, thereby enhancing biogas production.

**Key words:** low temperature; chelating agent; methanogenic; EDTA; citric acid

在我国北方地区,寒冷的气候使得产甲烷菌产气率降低,严重制约了沼气能源的进一步推广<sup>[1,2]</sup>。对于低温沼气发酵,科研人员从微生物菌株筛选到工艺条件的控制优化都进行了详细研究<sup>[3-7]</sup>。微量元素是微生物生长代谢的关键因子,其中 Ni 元素更是产甲烷过程中不可缺少的痕量元素。有研究表明<sup>[8]</sup>,金属离子螯合剂由于能和 Ni 等微量元素形成稳定的螯合物,使得微量元素的生物可利用性得以提高,已有不少学者进行了相关研究<sup>[9]</sup>。但在低温条件下螯合剂对厌氧发酵产气特性的影响则鲜见报

道。

因此,笔者在低温条件下,以牛粪为发酵底物,分析乙二胺四乙酸 (EDTA) 和柠檬酸 (CA) 两种螯合剂对  $\text{Ni}^{+}$  的螯合效果,并从产气量、辅酶  $\text{F}_{420}$ 、羧甲基纤维素 (CMC) 酶活力等多个角度探究螯合剂对厌氧产甲烷的作用,可为新型低温厌氧发酵技术的推广提供理论参考。

### 1 试验材料与方法

#### 1.1 试验材料

试验中使用的干牛粪来源于某养殖场,接种污

泥取自某小区的荷花池,玉米秸秆取自市郊的某玉米地。

## 1.2 原料的预处理

玉米秸秆切断:挑选干净的秸秆去根后自然风干,切成1~2 mm左右的秆。

热处理:将切断后的玉米秸秆在120℃烘箱中热处理1 h,可破坏秸秆中难降解的大分子物质,使纤维素从木质素的包裹中释放出来,从而被厌氧微生物利用,提高厌氧消化产气量。

添加白腐菌剂:向润湿后的玉米秸秆中加入白腐菌剂(0.3%),翻动拌匀,同时加水。菌剂用量一般为秸秆质量的1.8~2倍,以保证秸秆含水率在65%~70%(用手握秸秆刚好有水滴下即可)。将干牛粪与污泥按1:1混合放入2 500 mL玻璃瓶中,在15℃条件下发酵。

## 1.3 试验装置

试验装置如图1所示。

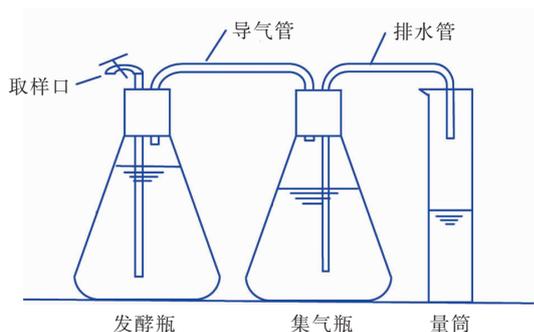


图1 试验装置示意

Fig.1 Diagram of experimental equipment

## 1.4 试验方法

试验分为5组,依次编号为1#、2#、3#、4#、5#。每组添加200 g预处理后的牛粪和40 mg/L的 $\text{Ni}^+$ ,并分别添加螯合剂(1#不添加,2#、3#分别添加25、50 mg/L的EDTA,4#、5#分别添加15、30 mg/L的CA),加发酵液至500 mL。混合后 $\text{TS} = 27.10\%$ , $\text{VS} = 18.66\%$ ,发酵温度为15℃。每次取样15 mL后向发酵瓶中补充15 mL发酵液,每隔10 d添加一次微量元素和螯合剂。

## 1.5 测定项目及方法

总固体质量分数(TS)在 $(105 \pm 5)$ ℃的烘箱中烘至质量恒定后测定;挥发性总固体质量分数(VS)在 $(560 \pm 2)$ ℃的马福炉中烘至质量恒定后测定;日产气量采用排水集气法测定;挥发性脂肪酸(VFA)采用比色法<sup>[10]</sup>测定;COD采用分光光度计测定;辅

酶 $F_{420}$ 采用紫外分光光度法<sup>[11]</sup>测定;羧甲基纤维素(CMC)酶活力采用比色法<sup>[12]</sup>测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 EDTA和CA对产气量的影响

EDTA和CA对日产气量的影响如图2所示。

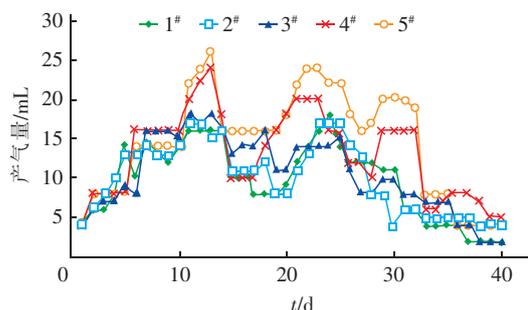


图2 EDTA和CA对日产气量的影响

Fig.2 Effect of EDTA and CA on daily gas production

由图2可知,各组日产气量在初期都呈现逐渐升高的趋势。在第10天添加微量元素和螯合剂后,4#、5#的产气量有了显著提高,且幅度高于2#、3#。在10~20 d和20~30 d两个时段内,日产气量均分别在中前期升至最高,随后下降。而30 d过后,即使再次添加了微量元素和螯合剂,各组产气量依然下降明显,分析认为可能是长期的低温状态抑制了产甲烷菌的活性。整个试验过程中1#、2#、3#日产气量变化趋势基本一致,上升幅度小于4#、5#。分析原因,EDTA不易被微生物降解,而CA本身是有机物,在厌氧消化过程中易于被微生物降解并产生甲烷,因此CA与金属离子的螯合效果优于EDTA,加速了厌氧发酵水解过程。

1#~5#的总产气量分别为388、406、421、521、580 mL。可以看出,总产气量呈逐渐递增的趋势,并且添加螯合剂的2#~5#相对于空白组总产气量分别提升了4.64%、8.51%、34.28%、49.48%。

### 2.2 EDTA和CA对VFA的影响

EDTA和CA对VFA的影响如图3所示。可知,各组VFA变化趋势差别较小。试验中各组VFA经历了多次逐渐上升之后下降的过程,1#、2#、3#上升幅度稍高于4#、5#,主要原因是CA与 $\text{Ni}^+$ 的螯合作用提高了 $\text{Ni}^+$ 的生物有效度,而这又相应地提高了厌氧发酵的产气量。各组VFA在第16天和第32天都达到了峰值,其中第32天的峰值更高,最高达到了2 085 mg/L。这与产气量的变化有关,VFA到达高峰的时间滞后于日产气量的峰值,是由于发酵

液中产甲烷菌要先利用 VFA 再产气这一过程的时间差导致的,之后乙酸的大量累积导致产气量下降。试验后期产气量逐渐下降,酸累积量不断增加,主要原因是在低温条件下有机物被水解后产甲烷的途径趋于单一,主要依靠乙酸转化成甲烷,使氢气与二氧化碳结合转化为甲烷的途径受到限制,因此更容易引发系统的酸化。可以看出,整个过程中螯合作用效果较好的 4<sup>#</sup>、5<sup>#</sup> 的 VFA 稍低于其他几组,说明螯合剂可以缓解挥发性脂肪酸的累积,促进产气量的提高。

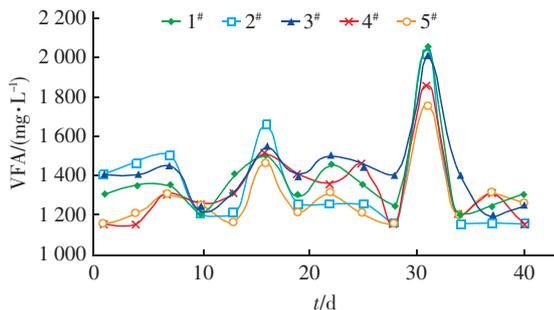


图 3 EDTA 和 CA 对 VFA 的影响

Fig. 3 Effect of EDTA and CA on VFA

### 2.3 EDTA 和 CA 对辅酶 F<sub>420</sub> 的影响

各种甲烷细菌中均含有辅酶 F<sub>420</sub>,其可以反映污泥的产甲烷活性,且系统溶液中辅酶 F<sub>420</sub> 含量高低与水稻秸秆厌氧发酵产沼气量呈线性关系。本试验中 EDTA 和 CA 对辅酶 F<sub>420</sub> 的影响如图 4 所示。

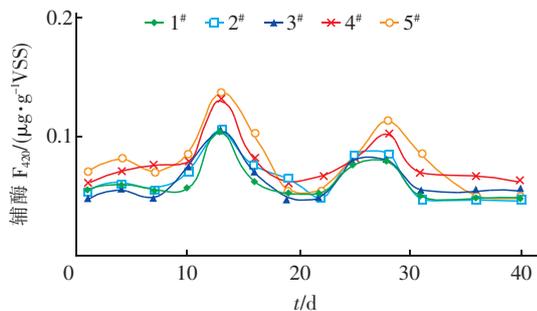


图 4 EDTA 和 CA 对辅酶 F<sub>420</sub> 的影响

Fig. 4 Effect of EDTA and CA on coenzyme F<sub>420</sub>

由图 4 可知,各组辅酶 F<sub>420</sub> 的变化趋势大致相同,都经历了两次逐渐上升至峰值后下降的过程,且第 13 天的峰值高于第 28 天的,之后各组辅酶 F<sub>420</sub> 维持在较低浓度。试验过程中,4<sup>#</sup> 和 5<sup>#</sup> 的辅酶 F<sub>420</sub> 高于另外 3 组,表明 Ni<sup>+</sup> 与 CA 的螯合作用更能激发产甲烷菌的活性。虽然理论上 EDTA 与金属离子的螯合作用更强,但过强的螯合作用不一定能提高被

螯合金属的生物可利用性<sup>[13]</sup>。分析原因,可能是过强的金属螯合物不能被细胞表面的活性位点所结合,因此其吸收受到影响,生物有效性不强,导致产甲烷菌活性不高。可以看出,辅酶 F<sub>420</sub> 整体变化趋势与日产气量相近,二者密切相关。

### 2.4 EDTA 和 CA 对 CMC 酶活力的影响

EDTA 和 CA 对 CMC 酶活力的影响如图 5 所示。

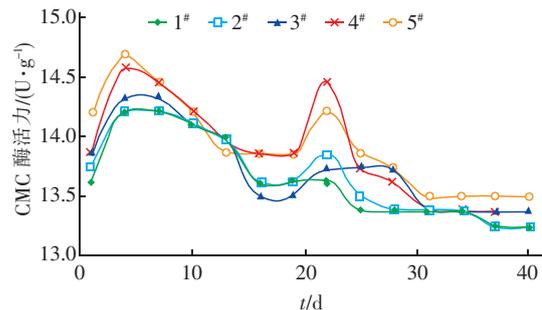


图 5 EDTA 和 CA 对 CMC 酶活力的影响

Fig. 5 Effect of EDTA and CA on CMC enzyme activity

由图 5 可知,各组 CMC 酶活力变化趋势大致相同。初期先上升,到第 4 天达到峰值后逐渐下降,并在第 22 天再一次上升到最高峰,之后酶活力一直下降直至稳定。CMC 酶活力在第 4 天达到的峰值明显高于第 22 天的。分析原因,由于试验初期厌氧消化处于水解阶段,纤维素、半纤维素和木质素等被纤维素酶分解,CMC 酶活力上升较快。中期虽然添加了微量元素及螯合剂,但由于此时的发酵过程已进入产甲烷阶段,水解过程接近末期,水解菌及纤维素酶的活力下降,CMC 酶活力值升高幅度较小。而 1<sup>#</sup> 在第 1 次达到高值之后一直处于下降趋势,添加微量元素和螯合剂后对酶活力影响不显著,主要原因可能是试验长期在低温环境运行,微生物活性受到抑制。4<sup>#</sup> 和 5<sup>#</sup> 的 CMC 酶活力高于 2<sup>#</sup> 和 3<sup>#</sup>,整体上可见螯合剂的添加促进了 CMC 酶的水解,CA 与 Ni<sup>+</sup> 的螯合作用对 CMC 酶活力的促进效果更明显。

### 3 结论

① 在 15 °C 的低温条件下,添加了螯合剂的 2<sup>#</sup>、3<sup>#</sup>、4<sup>#</sup>、5<sup>#</sup> 相对于 1<sup>#</sup> (空白组) 的产气量分别提高了 4.64%、8.51%、34.28%、49.48%。

② 低温下螯合剂 EDTA 不易被微生物分解,与 Ni<sup>+</sup> 的螯合作用效果不明显,不能有效提高厌氧发酵的产气量。螯合剂 CA 与 Ni<sup>+</sup> 的螯合作用效果更明显,能提高发酵液中 Ni<sup>+</sup> 的浓度,促进产甲烷菌

产气。

③ 螯合剂可以缓解脂肪酸的累积,激活产甲烷菌的活性,促进水解菌分解大分子有机物,从而提高厌氧发酵的沼气产量。辅酶 F<sub>420</sub> 与日产气量的变化呈线性关系,污泥的产甲烷活性也随着螯合剂的添加而升高。

#### 参考文献:

- [1] 卞有生. 生态农业中废弃物的处理与再生利用[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [2] 单丽伟,冯贵颖,范三红. 产甲烷菌研究进展[J]. 微生物学杂志,2003,23(6):42-46.
- [3] 袁敏,张辉,胡国全. 一株兼性嗜冷小甲烷粒菌的生物学特性及系统发育分析[J]. 应用与环境生物学报,2010,16(5):705-709.
- [4] 陈广银,郑正,邹星星,等. 稻草与猪粪混合厌氧消化特性研究[J]. 农业环境科学学报,2009,28(1):185-188.
- [5] 张万芹. 产甲烷细菌的分离及其生理学特性的初步研究[D]. 贵州:贵州大学,2008.
- [6] Angelidaki I, Ahring B K. Methods for increasing the biogas potential from the recalcitrant organic matter contained in manure[J]. Water Sci Technol,2000,41(3):189-194.
- [7] 李秋红,葛海华. 城市有机生活垃圾厌氧发酵处理研究[J]. 江苏环境科技,2004,17(S1):1-3.
- [8] Hong K J, Tokunaga S, Ishigami Y. Extraction of heavy metals from MSW incinerator fly ash using saponins[J]. Chemosphere,2000,41(3):345-352.
- [9] Zhang W, Zhang L, Li A. Enhanced anaerobic digestion

of food waste by trace metal elements supplementation and reduced metals dosage by green chelating agent[S, S]-EDDS via improving metals bioavailability[J]. Water Res,2015,84:266-277.

- [10] 任南琪,王爱杰,马放. 产酸发酵微生物生理生态学[M]. 北京:科学出版社,2005.
- [11] 赵阳,李秀芬,堵国成,等. 钴及其配合物对产甲烷关键酶的影响[J]. 水资源保护,2008,24(2):82-85,91.
- [12] 甄静,王继雯,谢宝恩,等. 一株纤维素降解真菌的筛选、鉴定及酶学性质分析[J]. 微生物学通报,2011,38(5):709-714.
- [13] 斯皮思 R E. 工业废水的厌氧生物技术[M]. 北京:中国建筑工业出版社,2001.



作者简介:刘志伟(1966- ),男,河南上蔡人,本科,高级工程师,主要研究方向为给排水新技术。

E-mail:yangqingyuan323@163.com

收稿日期:2016-10-16

节约用水 合理用水  
防治水污染 保护水资源