

DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2014.0212

刘培, 张建华, 王柯, 等. 2014. 沼液中悬浮物对乙醇发酵的影响及其絮凝处理的研究[J]. 环境科学学报, 34(6): 1455-1463

Liu P, Zhang J H, Wang K, et al. 2014. Effect of suspended solids in digestate on ethanol fermentation and flocculation treatment[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 34(6): 1455-1463

沼液中悬浮物对乙醇发酵的影响及其絮凝处理的研究

刘培^{1,2}, 张建华^{1,2}, 王柯^{1,2}, 唐蕾^{1,2}, 毛忠贵^{1,2,*}

1. 江南大学生物工程学院, 无锡 214122

2. 工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214122

收稿日期: 2013-09-02

修回日期: 2013-09-30

录用日期: 2013-09-30

摘要:乙醇-沼气双发酵耦联工艺的应用有望实现乙醇工业工艺废水“零排放”的目标。本研究对该耦联工艺的回用配料水——中温沼液中的悬浮物对乙醇发酵的影响进行了考察, 并对其去除方法进行了确定。结果表明, 沼液中悬浮物的存在会促进酵母细胞的繁殖, 提高发酵速率, 但副产物甘油及小分子有机酸的量大幅上升, 而主产物乙醇的生成量减少, 悬浮物对乙醇合成的临界抑制浓度为 $0.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (干重)。采用不同的絮凝剂及絮凝方式对沼液中的悬浮物进行去除, 发现絮凝剂聚合氯化铝 (PAC, $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 与阳离子聚丙烯酰胺 (CPAM, $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 协同处理时效果最佳, 对沼液浊度、色度的去除率分别为 92.4%、23.7%, 所得上清液的悬浮物粒径小于 $2 \mu\text{m}$, PAC、CPAM 的残留量分别为 0.82 、 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。絮凝处理后消除了悬浮物对乙醇合成的抑制作用, 且絮凝处理后沼液回用的发酵性能略优于离心所得沼液回用的发酵水平, 达到了预期的目的。

关键词:沼液; 乙醇发酵; 悬浮物; 絮凝剂; 浊度; 色度

文章编号: 0253-2468(2014)06-1455-09

中图分类号: X703

文献标识码: A

Effect of suspended solids in digestate on ethanol fermentation and flocculation treatment

LIU Pei^{1,2}, ZHANG Jianhua^{1,2}, WANG Ke^{1,2}, TANG Lei^{1,2}, MAO Zhonggui^{1,2,*}

1. School of Biological Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122

2. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Wuxi 214122

Received 2 September 2013;

received in revised form 30 September 2013;

accepted 30 September 2013

Abstract: Application of the integrated ethanol-methane fermentation technology is expected to achieve the goal of “zero discharge” in ethanol industry. This work investigated the effect of suspended solids in mesophilic digestate on ethanol fermentation and the removal method. Results showed that the presence of suspended solids in fermentation promoted yeast propagation and improved the rate of fermentation. Concentrations of by-products (glycerol and organic acids) increased significantly while the ethanol synthesis was inhibited with the critical inhibitory concentration of $0.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Different flocculants and flocculation methods were then used to remove the suspended solids from the digestate. $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of aluminium polychlorid (PAC) and $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ of cationic polyacrylamide (CPAM) were the optimum combination of flocculation, under which the turbidity and color removal rates were 92.4% and 23.7%, respectively. The particle size of suspended solids was below $2 \mu\text{m}$ and the residual concentrations of PAC and CPAM were 0.82 and $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively, in the resulted supernatant. Besides, ethanol synthesis in the fermentation with the above supernatant as process water was not inhibited. The performance of fermentation with flocculation-treated digestate was better than that with the digestate treated by centrifugation.

Keywords: digestate; ethanol fermentation; suspended solids; flocculants; turbidity; color

1 引言 (Introduction)

乙醇工业是液态深层发酵的代表性行业, 它的

生产伴随着大量工业废水的生成, 据统计, 平均每生产 1 t 乙醇就会产生约 12 t COD_{Cr} 高达 $60000 \sim 100000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的工业废水 (方亚叶等, 2003)。对于

基金项目: 江苏省科技支撑计划项目 (No. BE2011623); 江苏省环保科研课题 (No. 2012047)

Supported by the Science & Technology Program of Jiangsu Province (No. BE2011623) and the Scientific Research Project of Provincial Environmental Protection Bureau of Jiangsu Province (No. 2012047)

作者简介: 刘培 (1988—), 女, E-mail: wentliup@163.com; * 通讯作者 (责任作者), E-mail: maozg@jiangnan.edu.cn

Biography: LIU Pei (1988—), female, E-mail: wentliup@163.com; * Corresponding author, E-mail: maozg@jiangnan.edu.cn

乙醇生产过程的废水处理,关注点在于酒糟和蒸馏废液的处理.目前,酒糟一般是通过生产单细胞蛋白、动物饲料和沼气发酵等形式(赵传义,2003;韩沛等,2000;王侠等,2000)进行消化,但该处理过程能耗大,且处理不彻底.有些学者提出了乙醇发酵酒糟液全回用的技术(Ding *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 1997),即将酒糟液全部用于下一批乙醇发酵的配料过程,但酒糟中含有大量酵母代谢产生的“废物”,随着循环批次的进行这些物质逐渐积累,对乙醇发酵的抑制程度逐渐加强,最终将导致整个循环工艺的崩溃(张春明等,2010; Kishimoto *et al.*, 1997).

在自然生态系统中,由于生物及其代谢类型的多样性,可以使得整个生态系统的代谢链有条不紊地循环进行.本实验室借鉴生态系统的循环体系,通过组合多种微生物将燃料乙醇的生产及其废水的治理过程进行耦合,提出了“乙醇-沼气双发酵耦合”工艺(Zhang *et al.*, 2010; 2011; Sun *et al.*, 2010a)(图1):乙醇发酵产生的废水经过两级厌氧消化过程产生沼气,所得沼液进行资源化处理后作为发酵配料水直接回用到下一批的乙醇发酵中.两级厌氧过程能够有效地对发酵糟液中的酵母代谢废物进行降解利用,防止抑制因子的积累,从而能够保证循环的顺利进行.该工艺不仅解决了发酵工业废水污染的问题,而且也能够极大地减少工业生产的用水量,基本实现了工业废水“零排放”的目标.

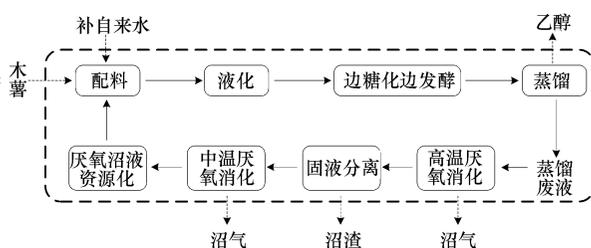


图1 乙醇-沼气双发酵耦合工艺

Fig.1 The integrated ethanol-methane fermentation technology

在该工艺中,两级厌氧消化过程的正常运行是保证耦合工艺顺利循环的根本,而厌氧处理过程必须在厌氧活性污泥的作用下才能得以实现,并且该处理过程也并不能保证可将废液中的固体物质完全分解.这就导致了回用沼液中不可避免地夹带大量悬浮性颗粒,进而可能影响后续发酵中营养物质的传质及酵母的代谢.在常用的固液分离手段中,絮凝处理因成本低廉、操作简单、几乎无设备投入、可

实现性强等优点而被广泛地应用于食品加工、制药及造纸等工业废水的处理中(Martín *et al.*, 2011; Torres *et al.*, 1997; Nasser *et al.*, 2013),目前已在工业生产上实现应用的主要有高分子无机(Kim *et al.*, 2004)和有机絮凝剂(Pal *et al.*, 2011)两种.但无机絮凝剂处理过程缓慢,所形成絮体细小,后续处理较为繁琐;而有机絮凝剂则可以快速地对水样进行处理,在工业上的应用更为普遍.但在实际的生产应用中,还需要对不同特性的水样进行絮凝剂种类及应用方式的筛选,以期在最低的成本投入下达到最优的处理效果.因此,本文对该耦合工艺循环用水(中温沼液)中的固体悬浮物进行收集,考察中温沼液中悬浮物含量对乙醇发酵的影响,为回用沼液中悬浮物含量的控制提供可靠的参数;同时对沼液中悬浮物的去除方法进行确定,并对该方法在耦合循环工艺中应用的可行性进行验证.

2 材料与方法(Materials and methods)

2.1 材料

原料木薯由河南天冠企业集团有限公司提供,中温沼液由吴江永祥乙醇制造有限公司提供,菌种为安琪公司超级酿酒酵母.

酶制剂:液体耐高温 α -淀粉酶(20000 U \cdot mL⁻¹)、液体糖化酶(130000 U \cdot mL⁻¹),均由无锡杰能科生物工程有限公司提供;其他所用试剂均为分析纯或优级纯的商品试剂.

絮凝剂:聚合氯化铝(PAC)、阳离子型聚丙烯酰胺(分子量1200万,离子度40,CPAM),由杭州絮煤化工有限公司提供.

2.2 实验方法

2.2.1 种子培养 接1~2环生长良好的斜面酵母至200 mL种子培养基中,于30 $^{\circ}$ C、100 r \cdot min⁻¹下培养18~20 h.种子培养基(g \cdot L⁻¹):葡萄糖20,酵母膏8.5, NH₄Cl 1.3, MgSO₄ \cdot 7H₂O 0.1, CaCl₂ 0.06, pH=6.8, 0.08 MPa下灭菌15 min.

2.2.2 悬浮物的收集 将所得中温沼液于5000 r \cdot min⁻¹下离心20 min收集沉淀,然后用10倍沉淀体积的去离子水将其重新悬浮并再次离心获得沉淀,重复操作3次,最后将所得沉淀收集并于4 $^{\circ}$ C下保藏待用.

2.2.3 乙醇发酵 悬浮物影响实验:分别称取一定量2.2.2节所得悬浮物加入到葡萄糖培养基中,悬浮物的添加梯度分别为0.35、0.70、1.40、2.80、5.60

$\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (以干重计), 接入 10% 种子液, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中静置厌氧发酵 64 h. 葡萄糖培养基 ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$): 葡萄糖 150, 酵母膏 5, NH_4Cl 1.5, $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.65, KH_2PO_4 1.5, $\text{pH}=5.8$, 0.08 MPa 下灭菌 15 min.

絮凝发酵验证实验: 经絮凝处理后的中温沼液与木薯粉按 3:1 (体积质量比, $\text{L}\cdot\text{kg}^{-1}$) 混合配料, 拌匀后调 pH 至 6.0, 加入 $10\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 木薯粉的耐高温 α -淀粉酶, 于沸水浴中液化 1 h; 然后迅速冷却至 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 调 pH 至 5.0, 加入 $120\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$ 木薯粉的糖化酶、10% 种子液、0.05% 尿素, 于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中进行同步糖化厌氧发酵 48 h.

2.2.4 絮凝 向中温沼液中加入相应一定量的絮凝剂快速搅拌至出现微小絮体, 然后将搅拌速度降低后维持搅拌 3~5 min, 静置 5 min 后于所得上清液中部取样测定相关参数.

2.3 分析方法

2.3.1 发酵参数测定 乙醇含量测定采用等体积蒸馏法 (蔡定域, 1988), HPLC; 酵母数量的测定采用血球计数法 (诸葛健, 1994). 总糖、甘油、乙酸、乳酸含量测定采用高效液相色谱 HPLC, 色谱条件: 美国 Dionex UltiMate 3000 HPLC, 示差折光检测器 (日本 Shodex RI-101), 分析柱为 Bio-Rad HPX-87H 离子交换柱, 柱温 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 流动相为 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸, 流速 $0.6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 进样量 $20\text{ }\mu\text{L}$ (刘慧慧等, 2012).

2.3.2 絮凝参数测定 浊度: 按照分光光度法测定 680 nm 下的吸光值 (董永全等, 2009), 浊度去除率 $\eta=(\text{NTU}_1-\text{NTU}_2)/\text{NTU}_1\times 100\%$, 其中, NTU_1 、 NTU_2 分别为絮凝处理前后的浊度值; 色度: 按照铂钴比色法配置标准溶液, 得到色度与吸光值 (测得最大

吸收峰在 277 nm) 之间的回归方程, 通过样品吸光值的测定计算色度值 (鲍锦磊等, 2012), 其去除率的计算同浊度去除率; COD、碱度: 均按照标准方法 (魏复盛等, 2002) 进行检测; 氨氮: 靛酚蓝反应法 (谢志鹏等, 2005). 颗粒粒径分布: 马尔文激光粒度检测仪湿法测定.

PAC 残留量测定: 利用火焰原子吸收光谱仪测定, 计算公式为 $M_2=M_1/15\%$, 其中, M_1 为检测所得铝原子含量, M_2 为计算所得 PAC 含量, 15% 为所用 PAC 中铝原子占絮凝剂总分子量的百分比.

CPAM 残留量测定: 将待测样品与 $5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 醋酸、1.31% 次氯酸钠以 2:1:1 混合 (优化后所得最优溶剂比), 反应 30 min, 用日立 U3900 紫外可见分光光度计测定 470 nm 下的吸光值 (关淑霞等, 2007).

3 结果 (Results)

3.1 中温沼液中悬浮物浓度对乙醇发酵的影响

在葡萄糖培养基中考察了悬浮物浓度对乙醇发酵的影响, 实验跟踪了整个发酵过程的失重变化, 即酵母同步释放 CO_2 的速率来间接反映乙醇的发酵速率. 如图 2a 所示, 乙醇发酵均在 17 h 时发酵速率达到最大, 而随着发酵液中悬浮物浓度的逐渐增大, 发酵速率逐渐上升, 当悬浮物浓度为 $5.60\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 最大发酵速率比对照组提高了 48.3%, 发酵时间由 60 h 缩短到 42 h. 根据发酵速率的测定结果, 分别在 42 h (实验组发酵结束)、48 h (木薯原料发酵结束)、64 h (对照组发酵结束) 取样, 测定各发酵培养基中酵母数、乙醇及发酵副产物的积累情况.

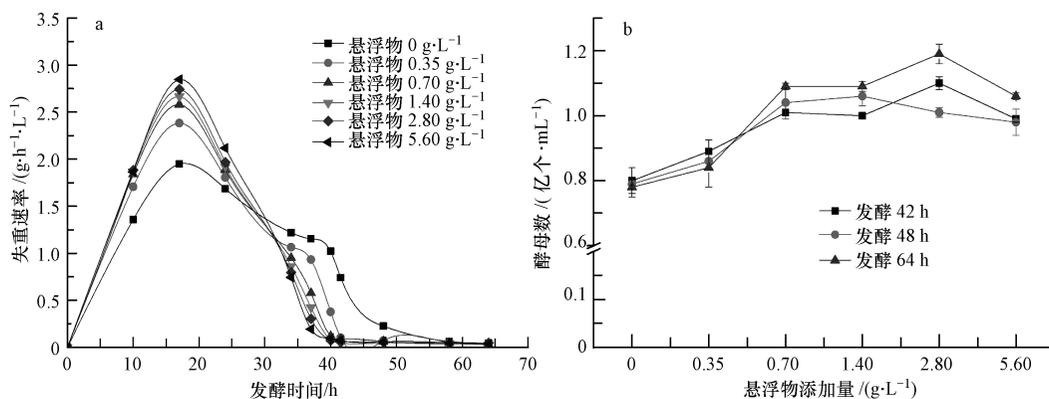


图 2 不同悬浮物浓度对乙醇发酵失重速率 (a) 及酵母数 (b) 的影响

Fig.2 Effects of different levels of suspended solids on the loss of weight (a) and yeast number (b) during the fermentation

发酵 42 h 时, 发酵液中酵母数基本不再积累,

细胞数目一直维持到 64 h, 悬浮物的加入促进了酵

母细胞的繁殖,在实验所设悬浮物添加浓度范围内,与对照相比酵母数提高幅度为 7.7%~39.7%(图 2b).与此同时,副产物甘油、乙酸和乳酸的生成量也在急剧上升,相较于对照组其在发酵结束时的积累量最大增幅分别约为 31.3%、28.4%和 75%(图 3a、c、d).但悬浮物的存在抑制了发酵主产物乙醇的合成:发酵 64 h,所有的实验组发酵结束,乙醇不再积

累,此时当悬浮物的初始添加浓度为 $0.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,乙醇的合成量与对照相当;但当配料水中悬浮物的浓度超过 $0.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,乙醇的合成就开始受到抑制,并且随着悬浮物浓度的增大抑制程度逐渐加强(图 3b),即悬浮物的存在使得培养基中可发酵性糖向乙醇转化的代谢流减弱.

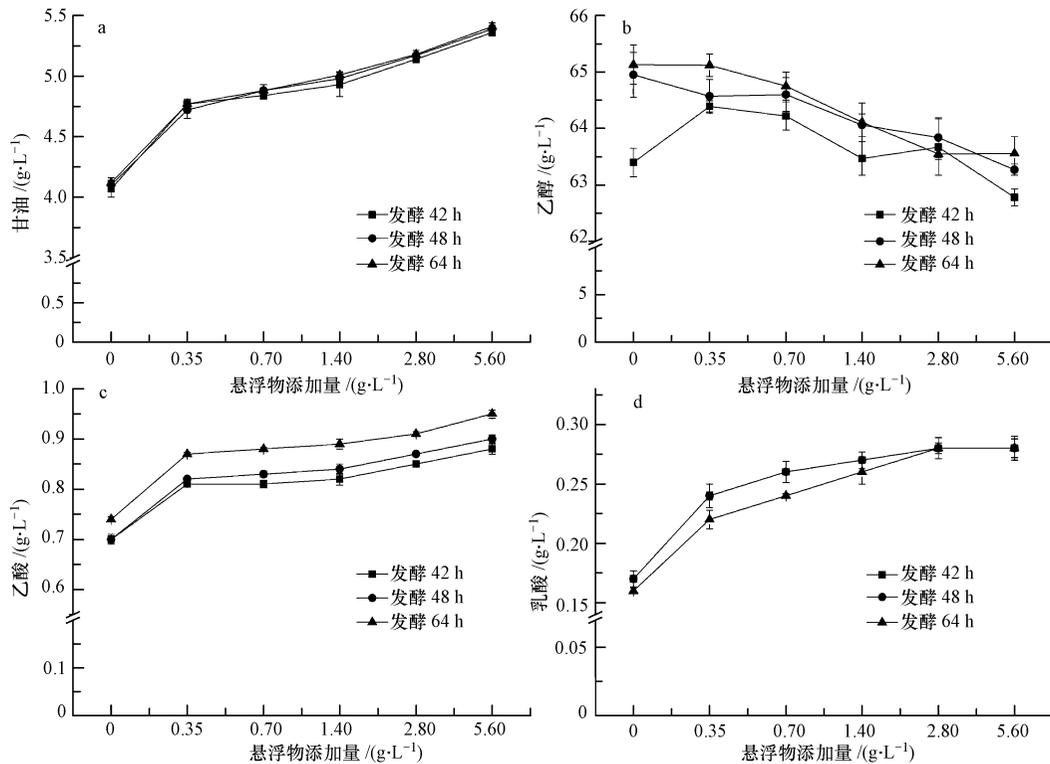


图 3 不同悬浮物浓度对发酵过程中甘油、乙醇、乙酸和乳酸生成量的影响

Fig.3 Effects of different levels of suspended solids on the production of glycerol, ethanol, acetic acid and lactic acid during the fermentation

3.2 中温沼液中悬浮物及色素的去除

悬浮物的存在使得发酵初糖转化到副产物方向的代谢流增大,从而导致了乙醇生成量的减少.因此,为了保证循环能够正常运行,必须控制回用配料水中的悬浮物含量在其抑制浓度范围之内,即 $0.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.絮凝操作能够有效地去除水中的悬浮物,并对水中色素的去除也有一定效果(Gao *et al.*, 2007),在实际应用时还需针对特定的水样进行絮凝剂的筛选和确定.

3.2.1 中温沼液的絮凝处理 中温沼液中悬浮物颗粒表面所带的电荷为负电荷,因此,实验中选用 PAC 和 CPAM 进行絮凝效果的考察.如图 4 所示,两种絮凝剂在实验添加量范围内对沼液中浊度的去除率都可以达到 80%左右,并且随着絮凝剂添加量的增大去除率逐渐升高;而对于沼液中色度的去

除,PAC 的处理效果远优于 CPAM,其平均去除率可接近 50%,而 CPAM 对色度的去除率则不足 20%,即 PAC 的整体处理效果要优于 CPAM,但从工艺上考虑 PAC 的使用量远远大于 CPAM,成本过高.因此,考虑将 PAC 和 CPAM 同时加入沼液中进行协同处理,使其能够在低成本投入下达到浊度和色度同时高效去除的目的.

将 PAC 和 CPAM 进行使用量梯度正交实验,结果表明,两种絮凝剂的协同效果远优于单因素的絮凝处理:当 CPAM 的使用量大于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,其对浊度的去除率就可以达到 85%以上,并且几乎不受 PAC 使用量的影响(图 5a);而对于色度的去除 PAC 则起关键作用,在添加量为 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,色度的去除率就可以达到 25%以上,相较于单因素絮凝时的使用量远远降低(图 5b).从实际生产的成本

考虑,在 CPAM $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 PAC $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的协同作用下,浊度和色度的去除率就可以分别达到 92.4%、23.7%,完全可以满足工艺的需要.同时,相

较于单因素絮凝过程,协同絮凝所得絮体较大,在 30 s 内可以快速沉降,极大地缩短了絮凝处理所需的时间.

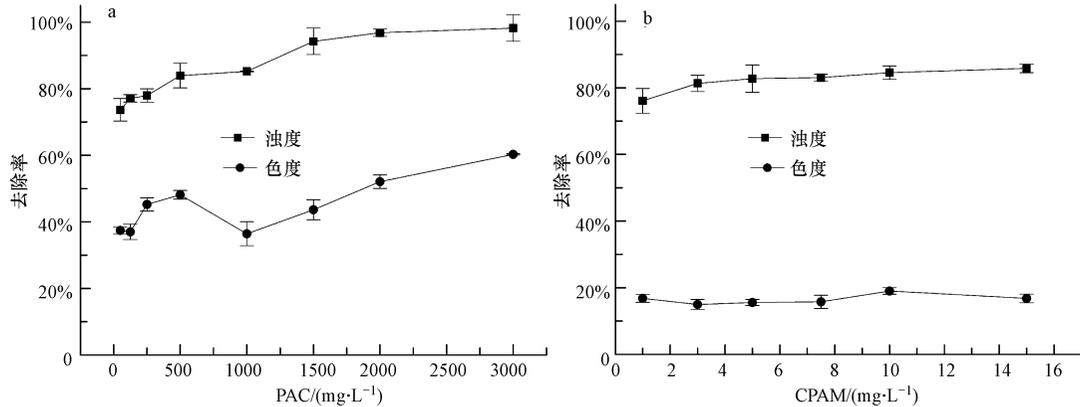


图 4 不同絮凝剂的添加量对中温沼液中浊度和色度去除率的影响

Fig.4 Effects of different levels of flocculants on the removal rates of turbidity and chroma in the mesophilic digestate

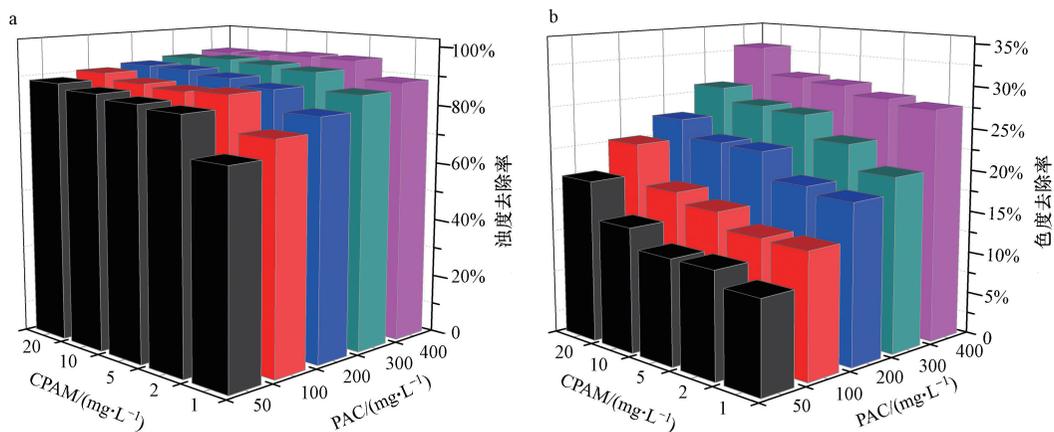


图 5 PAC 与 CPAM 混合絮凝不同添加量下对中温沼液中浊度和色度去除率的影响

Fig.5 Effects of different levels of flocculants on the removal rates of turbidity and chroma in the mesophilic digestate with PAC and CPAM by collaborative flocculation

3.2.2 絮凝处理前后沼液的水质变化 为了验证絮凝效果并且考察絮凝处理是否会对沼液中其他的理化参数造成影响,实验测定了絮凝处理前后沼液中悬浮物的颗粒粒径分布情况及其相关的理化参数.结果表明,絮凝处理确实能够有效地对沼液中的悬浮物进行去除;单因素絮凝后沼液中的悬浮物粒径可以由原来的 $143.3 \mu\text{m}$ 大幅下降到 $25.0 \mu\text{m}$ 左右,而混合絮凝后上清中悬浮物的颗粒粒径仅为 $2.0 \mu\text{m}$,即绝大部分的悬浮物已经从体系中去掉,并且其颗粒粒径分布曲线几乎呈正态分布,颗粒均匀,与离心处理后的效果基本持平(图 6).

絮凝处理后沼液中悬浮物的含量维持在 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,在其抑制乙醇合成的临界浓度范围之内;并且沼液的色度也大幅降低,防止了因循环而带来的

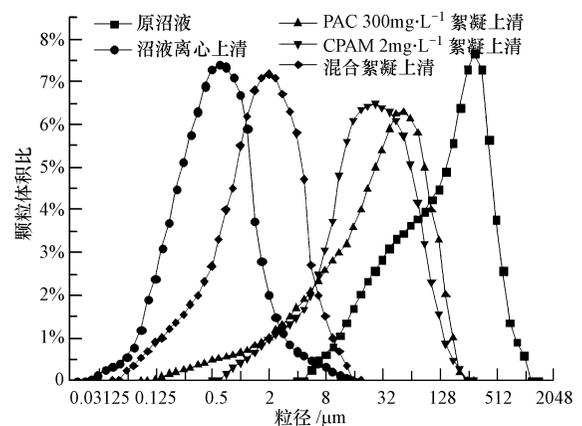


图 6 不同处理方式所得上清液中颗粒的粒径分布

Fig.6 Particle size distribution of the particles in resulted supernatant by different methods

色素积累. 悬浮物的去除伴随着沼液中 COD 的降低, 而其他理化参数 (pH、氨氮、碱度等) 几乎不受絮凝处理的影响, 这就在悬浮物去除的同时保证了水质的稳定 (表 1). 实验中混合絮凝处理不仅能够达到离心处理所能实现的固液分离效果, 并且也能大幅改善沼液的呈色状况 (图 7). 更为重要的是絮凝处理所需的成本要远远低于离心过程, 并且操作简单, 易于实现.

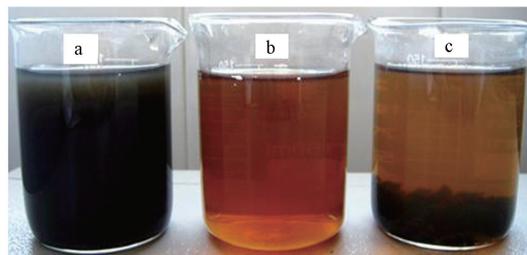


图 7 絮凝处理前后的水样 (a. 原沼液, b. 经 $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心后沼液, c. $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PAC 与 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPAM 混合絮凝处理后沼液)

Fig. 7 Water samples with flocculation treatment (a. raw digestate, b. digestate with $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ centrifuge, c. digestate by flocculation with $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PAC and $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPAM)

表 1 絮凝前后沼液的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the digestate after flocculation

沼液	pH	悬浮物含量/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	颗粒直径/ μm	浊度/ NTU	色度	COD/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	氨氮/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	碱度/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
原沼液	8.41	1.29	143.4	2111	2560	1394	507.3	2902
离心沼液	8.38	0	0.883	161.4	2560	517.9	466.6	2739
PAC $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 絮凝水	8.32	0.21	29.71	403.4	1673	677.3	484.7	2739
CPAM $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 絮凝水	8.51	0.20	21.38	384.9	2273	956.2	494.8	2814
混合絮凝后沼液	8.44	0.10	1.984	109.3	1954	677.3	476.0	2726

注: 碱度以 CaCO_3 计.

3.3 絮凝处理的可行性验证

3.3.1 絮凝剂残留量的测定 絮凝处理过程中, 絮凝剂大部分都会与固体颗粒作用形成絮团而沉降下来, 残余到上清中的量会很少. 研究发现, PAC 不会抑制乙醇发酵, 但 CPAM 在发酵液中的浓度大于 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时即会对乙醇的合成产生影响. 实验中检测了不同絮凝剂使用量下其在上清液中的残留量: PAC $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 CPAM $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的使用量时, 其在絮凝处理后所得上清液中的残留量分别为 $0.82 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (表 2), 均远远小于其对乙醇发酵的抑制浓度. 因此, 初步分析絮凝剂在上清中的微量残留不会对后续的乙醇发酵产生影响.

表 2 絮凝处理后上清液中絮凝剂的残留量

Table 2 The residual amount of the flocculant in supernatant by flocculation $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$					
絮凝剂	添加浓度	残留浓度	絮凝剂	添加浓度	残留浓度
PAC	50	0.08	CPAM	1	0
	100	0.09		2	0.03
	200	0.09		5	0.04
	300	0.82		10	0.04
	400	1.49		25	0.10

3.3.2 絮凝处理后沼液的乙醇发酵验证 为了确

定以上絮凝过程的确可以消除悬浮物对乙醇合成的抑制作用, 并且絮凝剂的残留不会对发酵产生影响, 实验中分别以原沼液、离心所得沼液及混合絮凝所得沼液为配料水进行乙醇发酵. 原沼液中含有大量的悬浮性颗粒, 在发酵过程中抑制乙醇的合成, 使得副产物甘油的积累量增多. 通过离心处理, 消除了悬浮物的抑制作用, 营养代谢流向乙醇方向

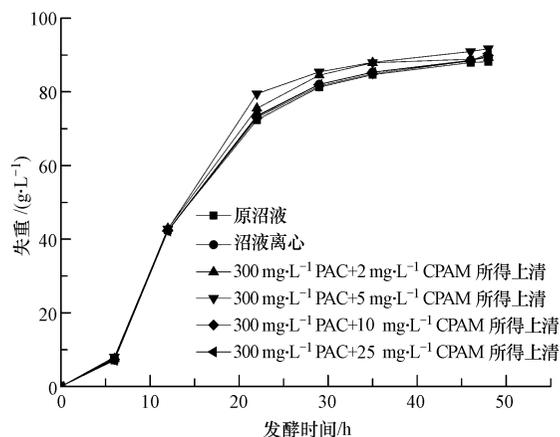


图 8 不同处理方式所得沼液发酵失重情况比较

Fig. 8 Comparison of the weight loss in digestate fermentation with different treatment methods

倾斜,即发酵结束后酒精度回升.而絮凝处理也可以完全达到离心对沼液的处理效果,其发酵水平甚至还优于离心沼液的发酵:发酵过程中发酵速率轻微上升(图 8),酒精度持平或高于离心实验组所得,糖

酒转化率也均有提高(表 3).即絮凝过程能够很好地消除原沼液中悬浮物的抑制现象,并且发酵性能轻微优于离心沼液的发酵,达到了实验预期的目的,验证了絮凝处理的可行性.

表 3 不同处理方式所得沼液发酵结束时各参数比较

Table 3 Comparison of the parameters at the end of the digestate fermentation with different treatment methods

沼液处理方式	酒精度	甘油/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	总失重/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	酵母数/ (亿个 $\cdot\text{mL}^{-1}$)	残总糖/ ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	糖转化率	
原沼液	11.01%	8.60	88.20	3.00	7.71	88.39%	
离心处理	11.17%	8.49	89.47	3.18	7.47	89.56%	
混合絮凝 PAC							
300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	CPAM 2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	11.21%	89.33	13.40	3.16	7.58	89.93%
	CPAM 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	11.44%	91.73	13.76	2.45	7.08	91.54%
	CPAM 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	11.23%	89.87	13.48	3.09	7.58	90.09%
	CPAM 25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	11.21%	90.40	13.56	3.02	7.45	89.87%

4 讨论(Discussion)

在乙醇-沼气双发酵耦联工艺中,维持循环正常运行最关键的因素就是保证回用沼液中抑制乙醇发酵的因子维持在其安全范围之内(Sun *et al.*, 2010b).而上游未被利用的木薯渣及下游厌氧处理的活性污泥是工艺循环沼液中悬浮物的主要贡献者,即该悬浮物是固形物及大量厌氧菌群的一个组合体.由悬浮物的单因素实验结果可知,一方面悬浮物的存在会极大地促进乙醇的发酵速率,酵母繁殖量增大,这主要是因为后续发酵的高温液化过程中,会导致悬浮物中的大量厌氧菌群死亡,从而释放一定的营养(如含氮物质)于发酵液中,促进酵母的生长繁殖(Wang *et al.*, 2012; Torija *et al.*, 2003).同时,悬浮物中固体物质的存在会增大发酵液中细胞碰撞的几率,促进发酵液中 CO_2 的释放,使得发酵速率上升(Kühbeck *et al.*, 2007).另一方面,酵母的快速繁殖会导致甘油合成途径的加强,以维持其体内氧化还原电位的平衡(Albers *et al.*, 1996),这就导致了由碳源到主产物乙醇的代谢流减弱,从而使乙醇的合成受到抑制.

沼液中悬浮物的颗粒表面呈负电荷,因此,优先选用阳离子型的絮凝剂.PAC 为无机高分子絮凝剂,其电荷密度较高,主要通过电中和和静电补缀的方式对悬浮物进行去除(Rojas-Reyna *et al.*, 2010),因此,形成的絮体小而细密,絮凝过程缓慢;而 CPAM 的分子量高达 1200 万,离子度较小,在絮凝过程中其本身较长的分子链倾向于通过尾部弯曲和主体卷曲的形式对沼液中的悬浮性颗粒进行

捕捉吸附并架桥,因此,絮凝过程快速且形成絮体粒径较大,但其结构疏松,絮体分形维数较小(Rasteiro *et al.*, 2008);而在混合絮凝时,悬浮性颗粒首先经过 PAC 作用失稳形成细小絮体,然后在 CPAM 的架桥作用下絮体相互交联迅速增大,絮体紧密,在重力作用下能够在 30 s 内快速沉降(Yang *et al.*, 2009),从而得到澄清透明的上清液,这就保证了在实际生产中应用的可行性.

由絮凝可行性验证实验可知,絮凝处理确实改善了原沼液的发酵状况,乙醇产量回升,并且与高昂的离心处理效果相比,乙醇产量有所上升.而絮凝剂在沼液中的微量残留也远远达不到其对乙醇发酵的临界抑制浓度,这就保证了絮凝处理在耦联工艺中使用的安全性.当然在循环工艺中,就不得不考虑物质积累的问题.但一方面这些絮凝剂残留到处理体系后,会长期地以溶液的形式存在,而 PAC 短时间内在溶液中主要以单聚态铝离子的形式存在,随着时间的延长单离子会发生聚合形成羟铝态,最后成核沉淀,从溶液体系中自主排除(姚重华等, 1991; Bottero *et al.*, 1980).同时 CPAM 在水溶液中的稳定性更差,极易分解,保质期只有 1~2 d,絮凝处理后几乎不会在处理体系中存留.另一方面,由于絮凝剂本身对颗粒的吸附特点,残留的微量絮凝剂在经过下一批次的发酵及厌氧处理后会很快包裹在固体表面(Wu *et al.*, 2009),从而在下一次的絮凝过程中被絮凝下来,排出体系.因此,絮凝剂基本不会在该耦联体系中随批次积累而达到其对乙醇发酵的抑制浓度,即絮凝处理过程在消除悬浮物对乙醇合成抑制作用的同时也能保证循环的顺利进行,

在耦联工艺中具有可行性。

5 结论(Conclusions)

1)乙醇-沼气双发酵耦联工艺的中温沼液中悬浮物的存在一方面会促进酵母细胞的生长繁殖,提高乙醇的发酵速率,另一方面使得酵母的营养代谢流向副产物合成的方向倾斜,导致主产物乙醇的合成受到抑制,悬浮物对乙醇合成的临界抑制浓度为 $0.35 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (以干重计)。

2)通过絮凝处理对中温沼液中的悬浮物和色素进行去除,所得最佳的絮凝组合为 PAC $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 CPAM $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,对沼液中浊度和色度的去除率分别达到 92.4%、23.7%,处理后所得清液中悬浮物的颗粒粒径约为 $2 \mu\text{m}$,PAC、CPAM 的残留量分别为 0.82 、 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,均在其对乙醇发酵的安全范围内,并且处理前后沼液的其他理化性质几乎不受影响。

3)相较于原沼液,絮凝处理消除了悬浮物对乙醇合成的抑制作用,副产物的合成量减少,糖酒转化率增大,并且发酵性能略优于离心所得沼液的发酵水平,达到了预期的目的,验证了絮凝操作在耦联工艺中的可行性。

责任作者简介:毛忠贵(1954—),男,教授,博士生导师,主要从事乙醇发酵的优化及控制、清洁生产等生物工业下游技术的研究。E-mail:maozg@jiangnan.edu.cn.

参考文献(References):

Albers E, Larsson C, Lidén G, *et al.* 1996. Influence of the nitrogen source on *Saccharomyces cerevisiae* anaerobic growth and product formation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(9): 3187-3195

鲍锦磊,范晓远,李丽明,等. 2012. 分光光度法测定制药废水色度[J]. *河南工程学院学报:自然科学版*, 24(1): 36-38

Bottero J Y, Cases J M, Fiessinger F, *et al.* 1980. Studies of hydrolyzed aluminum chloride solutions. 1. Nature of aluminum species and composition of aqueous solutions [J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 84(22): 2933-2939

蔡定域. 1988. 酿酒工业分析手册[M].北京:轻工业出版社. 50-64

Ding Z Y, Zhang L, Fang Y Y, *et al.* 2009. Application of full permeate recycling to very high gravity ethanol fermentation from corn [J]. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 26(3): 719-723

董永全,邓安民,郭桦冰,等.2009.蒙脱土/聚丙烯酰胺杂化絮凝剂制备及絮凝性能研究[J].*环境科学学报*, 29(11): 2385-2392

方亚叶,石贵阳. 2003.酒糟废糟液的综合处理[J].*酿酒*, 30(1): 74-78

Gao B Y, Wang Y, Yue Q Y, *et al.* 2007. Color removal from simulated

dye water and actual textile wastewater using a composite coagulant prepared by polyferric chloride and polydimethyldiallylammonium chloride [J]. *Separation and Purification Technology*, 54(2): 157-163

关淑霞,范洪富,吴松,等. 2007.聚丙烯酰胺质量浓度的测定-浊度法[J].*大庆石油学院学报*, 31(2): 106-108

韩沛,张少倩,赵艳芳. 2000.薯干酒精糟液综合利用及治理技术[J].*水处理技术*, 26(1): 60-62

Kühbeck F, Müller M, Back W, *et al.* 2007. Effect of hot trub and particle addition on fermentation performance of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(6/7): 711-720

Kim J S, Kim B G, Lee C H, *et al.* 1997. Development of clean technology in alcohol fermentation industry [J]. *Journal of Cleaner Production*, 5(4): 263-267

Kim T H, Park C, Shin E B, *et al.* 2004. Decolorization of disperse and reactive dye solutions using ferric chloride [J]. *Desalination*, 161(1): 49-58

Kishimoto M, Nitta Y, Kamoshita Y, *et al.* 1997. Ethanol production in an immobilized cell reactor coupled with the recycling of effluent from the bottom of a distillation column [J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 84(5): 449-454

刘慧慧,姜立,张成明,等. 2012. “酒精沼气双发酵耦联工艺”中硫化物对酒精发酵的影响[J]. *食品与发酵工业*, 38(5): 22-26

Martin M A, González I, Berrios M, *et al.* 2011. Optimization of coagulation - flocculation process for wastewater derived from sauce manufacturing using factorial design of experiments [J]. *Journal of Chemical Engineering*, 172(2/3): 771-782

Nasser M S, Twaiq F A, Onaizi S A. 2013. Effect of polyelectrolytes on the degree of flocculation of papermaking suspensions [J]. *Separation and Purification Technology*, 103: 43-52

Pal S, Chora S, Dash M K, *et al.* 2011. Flocculation properties of polyacrylamide grafted carboxymethyl guar gum (CMG-g-PAM) synthesised by conventional and microwave assisted method [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 192(3): 1580-1588

Rasteiro M G, Garcia F A P, Ferreira P, *et al.* 2008. The use of LDS as a tool to evaluate flocculation mechanisms [J]. *Chemical Engineering and Processing*, 47(8): 1323-1332

Rojas-Reyna R, Schwarz S, Heinrich G, *et al.* 2010. Flocculation efficiency of modified water soluble chitosan versus commonly used commercial polyelectrolytes [J]. *Carbohydrate Polymers*, 81(2): 317-322

Sun F B, Mao Z G, Zhang J H, *et al.* 2010a. Water-recycled cassava bioethanol production integrated with two-stage UASB treatment [J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 18(5): 837-842

Sun F B, Mao Z G, Tang L, *et al.* 2010b. Exploration of water-recycled cassava bioethanol production integrated with anaerobic digestion treatment [J]. *African Journal of Biotechnology*, 9(37): 6182-6190

Torija M J, Beltran G, Novo M, *et al.* 2003. Effect of the nitrogen source on the fatty acid composition of *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Food Microbiology*, 20(2): 255-258

Torres L G, Jaimes J, Mijaylova P, *et al.* 1997. Coagulation-flocculation

- pretreatment of high-load chemical-pharmaceutical industry wastewater; mixing aspects [J]. *Water Science and Technology*, 36 (2/3): 255-262
- Wang K, Mao Z G, Zhang C M, *et al.* 2012. Influence of nitrogen sources on ethanol fermentation in an integrated ethanol-methane fermentation system [J]. *Journal of Bioresource Technology*, 120: 206-211
- 王侠, 马振忠, 张国柱, 等. 2000. 采用 DDG 加沼气工艺综合利用酒精糟液[J]. *酿酒科技*, (4): 74-76
- 魏复盛, 毕彤. 2002. 水和废水监测分析方法(第4版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社. 211-213; 120-124
- Wu M R, van de Ven T G M. 2009. Flocculation and reflocculation: Interplay between the adsorption behavior of the components of a dual flocculant [J]. *Colloids and Surfaces (A: Physicochemical and Engineering Aspects)*, 341(1/3): 40-45
- 谢志鹏, 徐志南, 郑建明, 等. 2005. 靛酚蓝反应测定发酵液中的氨态氮[J]. *浙江大学学报(工学版)*, 39(3): 437-439; 444
- Yang Z H, Huang J, Zeng G M, *et al.* 2009. Optimization of flocculation conditions for kaolin suspension using the composite flocculant of MBFGA1 and PAC by response surface methodology [J]. *Bioresource Technology*, 100(18): 4233-4239
- 姚重华, 孙尧俊, 赵丕裕, 等. 1991. 水中稀释对聚合氯化铝形态分布的影响[J]. *环境化学*, 10(2): 1-7
- 张春明, 孜力汗, 赵心清, 等. 2010. 废液全循环工艺中副产物积累对自絮凝酵母生长和乙醇发酵的影响[J]. *过程工程学报*, 10(4): 772-776
- Zhang C M, Jiang L, Mao Z G, *et al.* 2011. Effects of propionic acid and pH on ethanol fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* in cassava mash [J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 165(3/4): 883-891
- Zhang Q H, Lu X, Tang L, *et al.* 2010. A novel full recycling process through two-stage anaerobic treatment of distillery wastewater for bioethanol production from cassava [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1/3): 635-641
- 赵传义. 2003. 酒精废糟液综合治理工程实例[J]. *工业水处理*, 23(2): 62-64
- 诸葛健, 王正祥. 1994. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社. 220-223