

猪粪玉米秸沼气发酵的研究

I. 发酵过程及其调控

程光胜 乐华爱 马克森 陈宇 王大帮

(中国科学院微生物研究所, 北京)

以 C:N 分别为 11:1, 16:1, 24:1, 38:1 和 71:1 的猪粪玉米秸混合原料, 在 TS 为 10% 和 5% 的条件下观察了 30℃ 时沼气发酵的情况。试验表明低浓度、C:N 较低时易正常发酵; TS 为 10% 和 C:N 为 71:1 时很难起动。进而试验了鲜人尿、硫酸铵、尿素、碳酸氢铵、磷酸氢二铵等降低原料 C:N 促进沼气发酵正常化的效果。结果表明, 鲜人尿、尿素及碳酸氢铵可促进高 C:N 和高 TS% 的原料正常沼气发酵; 用无氮缓冲液控制发酵醪的 pH 值, 高 C:N 高 TS% 的原料亦可正常进行沼气发酵, 说明 pH 值对沼气发酵的影响可能比 C:N 值更重要。还试验了用“微生物菌群”控制发酵: 将原料 TS 为 5%、C:N 为 49:1 的发酵液, 在其 pH 开始回升时取出注入原料 TS 为 10%、C:N 为 49:1、pH 降至 5.0 的发酵液中。5 天后沼气发酵正常起动, 而注水作对照的则完全未起动。

关键词 沼气发酵; 碳氮比; 含氮化肥

为深入探索沼气发酵过程中微生物的活动规律, 以便给我国农村沼气发酵工艺提供有效控制过程和提高产气率的实验依据, 并为研究沼气发酵机制准备条件, 我们选定我国北方农村资源较丰富的玉米秸和猪粪为发酵原料, 在实验室进行了沼气发酵试验。

利用粪便和农作物秸秆为原料进行沼气发酵, 已进行过多年广泛的研究, Clausen 和 Gaddy^[1] 曾作过较全面的总结。我国这方面的工作也有数十年的历史, 吴金鹏^[2] 有全面的介绍。关于猪粪玉米秸沼气发酵, Fujifa^[3] 曾探讨过提高产气率的途径, Clausen 等^[4] 曾研究过起动对作物秸秆厌氧消化的重要性。我们在 1983—1985 年观察了猪粪玉米秸原料的碳氮比及总固形物浓度对沼气发酵过程的影响, 并用不同手段尝试了对发酵过程的

调控, 现将结果报告如下。

材料与方法

(一) 原料

猪粪: 取自北京郊区农村养猪场。当日排出的粪便, 总固形物含 40.2%, 其中含挥发性固形物 49.3%, 总氮 2.0%, 总有机碳 21.9%。

玉米秸: 1982 年和 1983 年秋收后风干秸秆, 粉碎至可通过 2.5mm 孔径之分样筛。其总固形物分别含 90.5% 和 90.9%, 其中含挥发性固形物分别为 85.5% 和 88.0%; 含总氮分别为 0.57% 和 1.0%; 总有机碳含量分别为 40.7% 和 49.0%。

(二) 接种物

取自北京郊区农户沼气池或实验室自

本文于 1986 年 2 月 3 日收到。

行富集。

(三) 发酵装置与条件

发酵装置与张树政等^[6]报道过的类似。原料、接种物及补加的水或缓冲液均装在 500ml 之三角瓶中，总体积500ml，瓶口用胶塞密封，用导管与酸性饱和和食盐水瓶相连，用排水集气法收集瓶内产生的气体。用注射器从导管伸入瓶内取发酵液或气体进行测定。试验在 29±1°C 恒温室中进行。

(四) 分析方法

用105°C恒重法测定总固形物，550°C灼烧法测定挥发性固形物，总含氮量用 Kjeldahl法测定，总有机碳含量用Tyurin法测定，气体成分用上海分析仪器厂103型气相色谱仪分析。

(五) 化学试剂

均为北京化工厂生产的分析纯试剂。

结果与讨论

(一) 不同浓度和配比的猪粪和玉米秸为原料的沼气发酵过程

以原料总固形物浓度分别为 5 % 和 10%，接种量20% (按重量计)，试验了不同配比的猪粪和玉米秸原料的沼气发酵过程。因猪粪含量多少而使原料之碳氮比分别为11:1, 16:1, 24:1, 38:1和71:1。发酵过程中不同浓度和碳氮比的原料发酵平均产气率变化、所产沼气中甲烷含量及发酵液 pH 值之变化情况见图1 及图2，主要数据见表1。

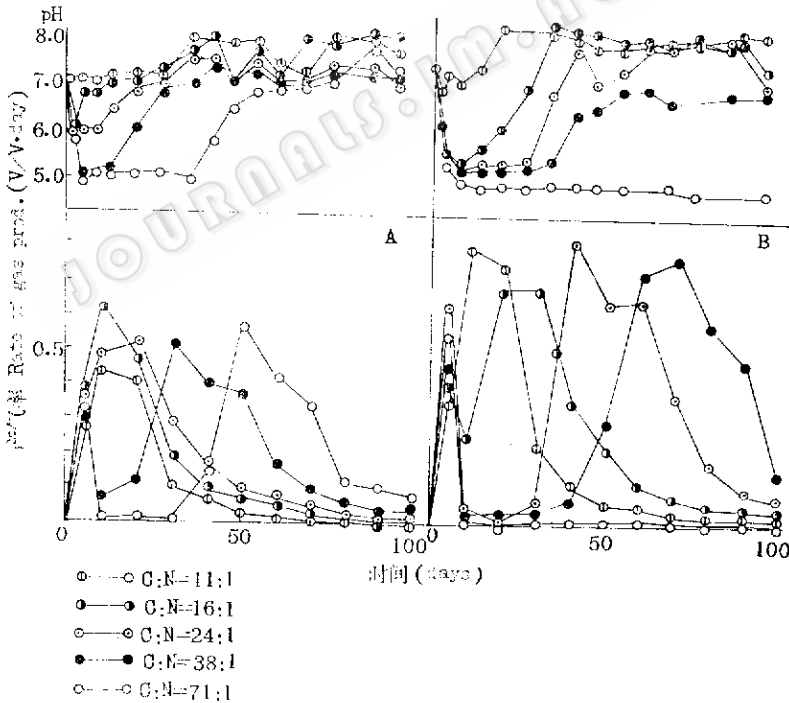


图1 不同浓度和碳氮比的猪粪玉米秸原料沼气发酵过程

Fig. 1 Effect of TS concentration and C:N ratio on biogas fermentation with different proportion of pig dung and corn stock

A. 总固形物浓度 TS = 5 %

B. 总固形物浓度 TS = 10 %

图1、3、5、6、7中的“产气率”均指十天平均值

The “rate of gas production” in fig. 1,3,5,6,7 indicated average of gas production within 10 days

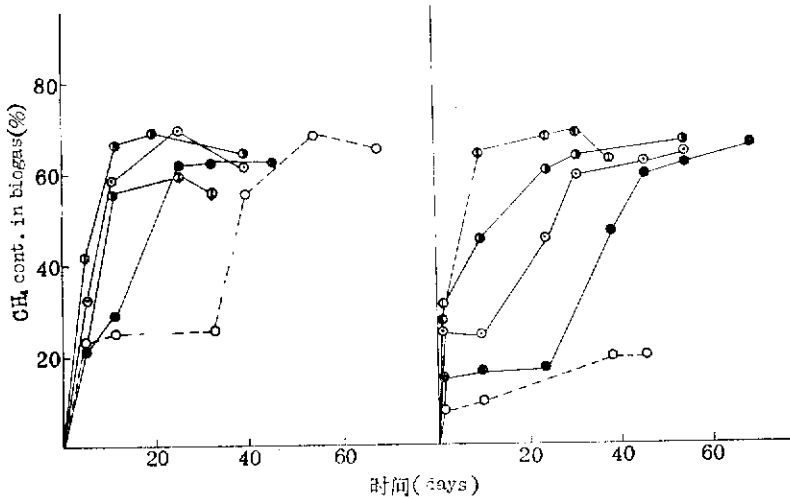


图2 不同浓度和碳氮比的猪粪玉米秸原料沼气发酵过程中甲烷含量的变化
 Fig. 2 Changes in the methane content the biogas fermentation with different proportion of pig dung and corn stock
 图例同图1 Legend as in fig. 1

表1 不同浓度和碳氮比的猪粪玉米秸原料沼气发酵过程中的几项主要参数
 Table 1 Some parameters of biogas fermentation with pig dung and corn stock in different C:N ratio and TS%

原料总固形物浓度 TS (%)	原料碳氮比 C:N Ratio	总产气量 Total gas production (ml)		平均日产气率 Average rate of gas production (V/V·day)		原料产气率 Gas yield of TS (ml/g)		甲烷含量超过50%所需时间(天) Time required for reaching 50% methane content in biogas (day)
		50	100	50	100	50	100	
		(天, Day)						
5	11:1	4900	5195	0.20	0.10	196	208	11
	16:1	6660	7240	0.27	0.15	266	290	11
	24:1	8305	8655	0.31	0.17	332	346	11
	38:1	8190	10220	0.33	0.20	328	409	25
	71:1	4540	9820	0.18	0.20	182	393	39
10	11:1	8215	8700	0.33	0.17	164	174	11
	16:1	11440	13050	0.46	0.26	229	261	18
	24:1	9315	16280	0.37	0.33	186	326	32
	38:1	3355	17105	0.15	0.36	67.1	342	46
	71:1	1480	1500	0.06	0.03	29.6	30	在100天内未达到 Fifty per cent of methane has not produced in biogas within 100 days

由图 1、2 及表 1 所示结果可见，随着碳氮比值的增加，沼气发酵的起动力时间（即所产气体中甲烷含量超过 50% 的时间）推迟，但起动力后产气率却随着发酵时间延长而迅速增加，总产气量也增加。以上结果还表明，在原料碳氮比相同的情况下，原料总固形物总浓度为 5% 时起动力快，10% 时起动力慢或在 100 天内根本不起动力。浓度越高，平均日产气率越高；但从原料利用率看，在 100 天内，浓度低者更高，这可能是起动力较快之故。

发酵过程中发酵物 pH 值变化情况表明，原料碳氮比值越高，发酵初期 pH 值降低越明显，回升至 pH6.0 以上所需时间越长；低浓度原料比高浓度的回升快。同时，pH 值的降低及其回升与起动力，在时间上存在相对应的关系，pH 值不回升的，沼气发酵也不能起动力。

以上，试验证明，原料的碳氮比值是沼气发酵起动力快慢的重要影响因素，原料浓度较高时，这种影响更显著。当前农村沼气发酵原料仍以秸秆为主，要在多用秸秆，少用或不用粪肥并增大原料浓度的情况下实现起动力快，平均产气率高的沼气发酵，调节发酵原料合适的碳氮比，看来确是一条重要途径。

（二）几种含氮物质对高碳氮比物料沼气发酵的影响

据上述结果，我们先用鲜人尿（含氮量约为 10mg/ml，其中含碳量忽略不计）将发酵原料之碳氮比由 38:1 调整至 13:1，以原料总固形物浓度为 10%，在与上述相同条件进行沼气发酵试验。结果（图 3）表明：加有鲜人尿的原料，沼气发酵起动力时间大为提前，平均日产气率亦较对照大为提高。

在以上结果启示下，参照国内当前流行的做法^[6]，我们用尿素、碳酸氢铵、

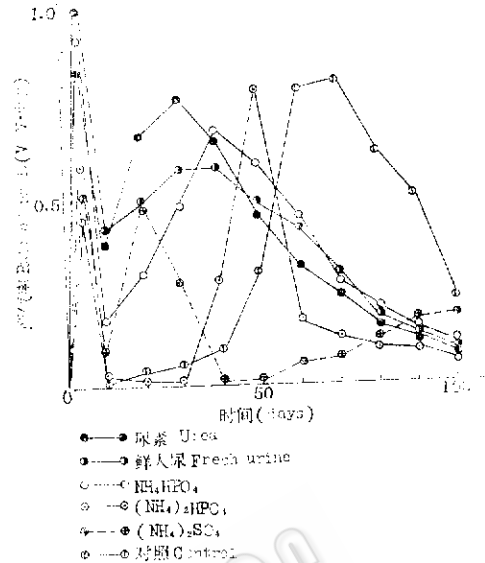


图 3 几种含氮物质对高碳氮比猪粪玉米秸原料沼气发酵的影响

Fig. 3 Effect of some nitrogen-containing substances on biogas fermentation with pig dung and corn stock in higher C:N ratio

磷酸氢二铵和硫酸铵等含氮化肥作为氮源补加入猪粪玉米秸原料中，使其碳氮比由 38:1 降低至 13:1，再进行沼气发酵，结果见图 3 和图 4。由此结果可知：尿素和碳酸氢铵的作用与鲜人尿相似；磷酸氢二铵加速起动力的作用不明显；硫酸铵加速起动力，但起动力后不久即停止发酵，经过相当长的停滞时期后，又能缓慢起动力。尿素和碳酸氢铵作为沼气发酵起动力促进剂的效果^[6]在我们实验中得到了证实。硫酸铵的效果不佳，可能是由于发酵物中通过接种物进入的硫酸盐还原菌利用硫酸铵形成硫化氢时，与产甲烷菌争夺系统中的氢，而产生的硫化氢又对各类参与甲烷形成的细菌起毒害作用，以至抑制了沼气发酵。当有限的硫酸盐被耗尽后，硫化氢又逐渐释放而减少，此时原来被抑制的参与产生甲烷的细菌又可能重新开始活动。

在以上结果启示下，进一步用不加猪

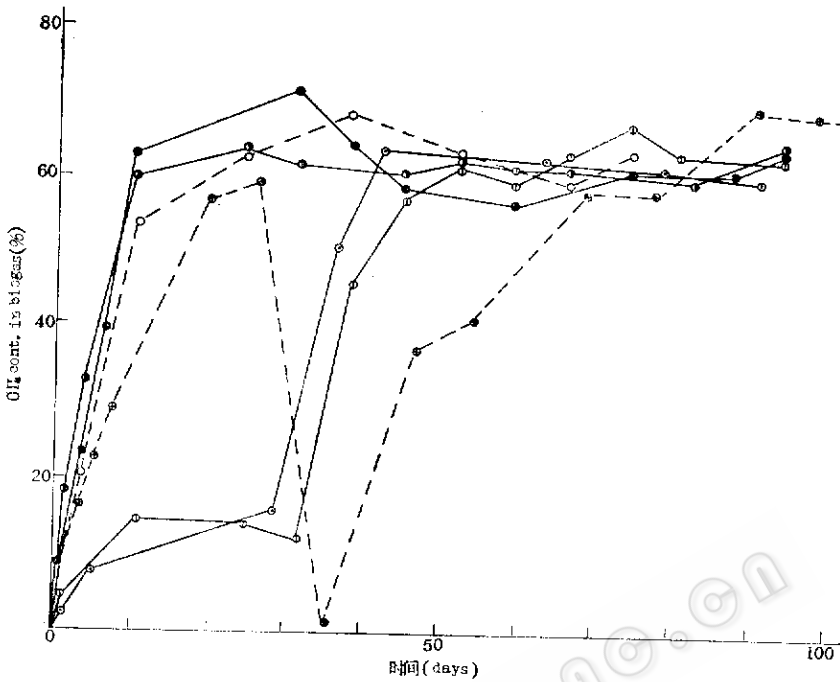


图4 用含氮物质调节高碳氮比猪粪玉米秸原料后沼气发酵时甲烷含量的变化
 Fig. 4 Changes in methane content after regulating C:N ratio of pig dung and corn stock
 图例同图3 Legend as in fig. 3

粪，仅含10%玉米秸的原料进行试验。在原料中加入尿素，使其碳氮比为13:1，同时以不加尿素的为对照。试验条件同上。结果见图5。由此结果可知，加入尿素可使本来不能起动的，在稍长滞留时间后开始正常的沼气发酵。

(三) 非含氮缓冲液对高碳氮比原料沼气发酵的影响

添加不同含氮物质对高碳氮比物料沼气发酵影响的试验结果表明，在原料碳氮比相同的情况下，不同含氮化合物对沼气发酵的影响不同。效果较差的是偏酸性或生理酸性化合物。究竟这些化合物是通过提供氮源促进起动，还是对pH起控制作用呢？能否在不改变原料高碳氮比的情况下，通过控制pH使发酵正常进行呢？为解决此问题，我们用不含氮的磷酸二氢钾-氢氧化钠 (pH7.2, 0.2M) 缓冲液配制含总固形物浓度10%的发酵原料，以控制

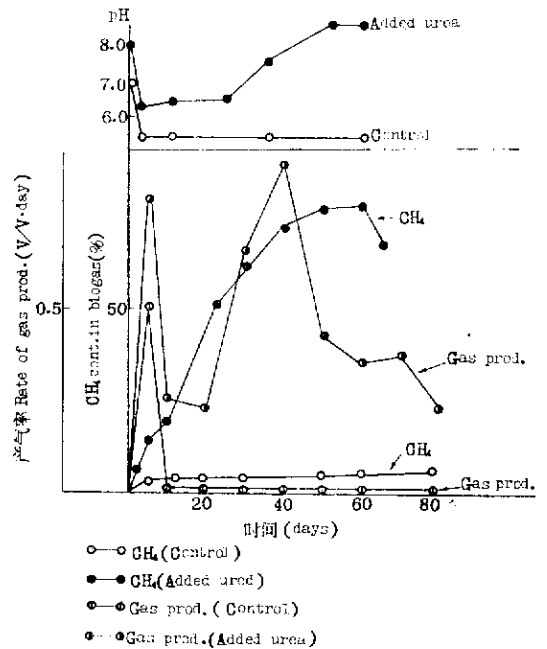


图5 尿素对纯玉米秸沼气发酵的影响
 Fig. 5 Effect of urea on biogas fermentation with corn stock only

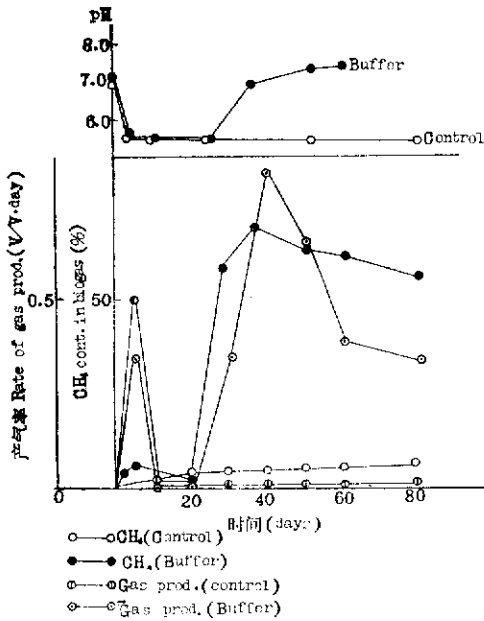


图6 用非含氮缓冲液配制的10%玉米秸原料的沼气发酵过程
 Fig. 6 Effect of nitrogen-free $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-NaOH}$ (pH7.2, 0.2M) on biogas fermentation with corn stock only

以不同浓度和配比的猪粪和玉米秸为原料进行沼气发酵的试验结果表明，高碳氮比原料在总固形物浓度较低时，即使不用缓冲液或含氮物质加以人为控制，在经过较长时间滞留期后，也能起动并正常进行沼气发酵。这说明在原料浓度较低的发酵液中，有某部分细菌能使所产生的酸较快地被转化，从而使产甲烷细菌与产酸细菌二者的数量达到适合形成甲烷的协调状态。为此，我们用总固形物浓度分别为5%和10%的纯玉米秸（碳氮比为49:1）为发酵原料，以20%的比例加入接种物，在与上述实验相同的条件下进行发酵。当总固形物浓度为5%的原料开始起动并大量产生甲烷时，发酵液的pH值也同时开始回升。此时由其中取出100ml发酵液（pH7.0）加入含10%总固形物的发酵容

碳氮比为49:1的纯玉米秸原料的沼气发酵过程。同时用水配制的作对照。结果见图6。由此结果，并联系到图1所表现的pH值回升与甲烷形成的相应关系，可见控制发酵过程中pH的变化，对于高碳氮比原料沼气发酵的起动与正常形成甲烷，有着十分重要的作用，而合适的碳氮比对于某一原料沼气发酵的起动与正常形成甲烷并非唯一的决定因素。Clausen等^[4]曾指出，用含纤维素较多的原料进行沼气发酵时，利用氢氧化钠或氢氧化钾使其保持近中性的pH值，对于起动是必要的。我们的实验支持了这一观点。在实际应用时，使用缓冲液自然是不现实的，但采用廉价的缓冲物可能会有作用。

(四) “微生物菌群”对高碳氮比原料沼气发酵的影响

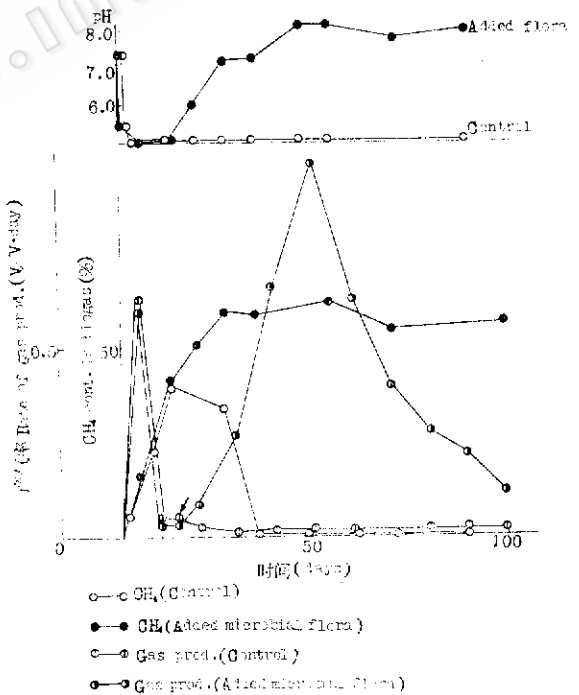


图7 “菌群”对高浓度高碳氮比原料沼气发酵的影响(箭头表示加入发酵液的时间)
 Fig. 7 Effect of microbial flora on biogas fermentation with corn stock in higher TS% and C:N ratio

器中(此时总固形物浓度降为8.3%);同时在另一瓶中加入自来水作为对照(图7中箭头所示)。经此处理后,得图7所示结果。结果表明,在加入发酵液的容器中,发酵液的pH值迅速回升,5天后即启动沼气发酵,此后26天内平均日产气率由前14天的0.01(体积/体积)增至0.42(体积/体积),而且所产生气体中甲烷含量在60%以上。对照则在整个试验期间

未启动。这一结果表明,同活性较高的接种物大量接种,碳氮比较高且总固形物浓度较高的原料,即使发酵液pH值低于5.5,也能很快地转变为正常沼气发酵。对照则未能启动。这说明原料浓度之降低(8.3%)尚不足以满足其正常发酵的要求。加入之发酵液为何可以启动沼气发酵,其中起作用的细菌及其作用机制,有待继续研究。

参 考 文 献

- [1] Clausen, E.C. and Gaddy, J. L.: *Advances in Biotechnological Processes*, vol.1, pp. 143—170, Alan R. Liss, Inc., 1983.
- [2] 吴金鹏: 中国沼气, 1983年第3期, pp. 3—10.
- [3] Fujifa, M.: *Agric. Wastes*, 2(3): 177—184, 1980.
- [4] Clausen, E.C. et al.: *Process Biochem.*, 16(2): 18—19, 1981.
- [5] 张树政等: 微生物学通讯, 1(1): 1—13, 1959.
- [6] 孙国朝等: 太阳能学报, 2(3): 1, 1981.

STUDY ON BIOGAS FERMENTATION WITH PIG DUNG AND CORN STOCK AS RAW MATERIAL

Cheng Guangsheng Yue Huaai Ma Kesen Chen Yu Wang Dasi
(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing*)

The effect of total solid concentration(TS) on biogas fermentation was examined when different proportion of pig dung and corn stock in various C:N ratio, 11:1, 16:1, 24:1, 38:1 and 71:1 were used as raw material. The results has shown: (1) The fermentation with 5% TS was started quicker than that with 10% TS, in the case of 10% ones with higher C:N ratio the fermentations were initiated quite solw, and no longer started as the C:N ratio was up to 71:1; (2) Once the fermentation was started, the average of gas production per day in 10% TS would be much higher; however, (3) Within 100 day's observation, raw material in 5% TS fermentation was digested more quickly and completely so the rate of gas yield was higher; (4) The pH value in 5% TS rised again more quickly, while in 10% TS with higher C:N ratio the pH value was falled down and no phenomenon of rasing back within 100 days.

In order to get maximum gas yield, proper C:N ratio is a very impo-

rtant parameter, so various synthetic nitrogen fertilizers, were used to adjust the C:N ratio in 10% TS to the same level, 13:1, and the effect on the initiation was observed. Fresh urine, urea and NH_4HCO_3 were among the best, to stimulate the initiation to be earlier; $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ seemed most likely no effect; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ stimulated its starting but the fermentation ceased quickly after starting. If only corn stock (without pig dung) was used in 10% TS and only urea was used to make its C:N ratio to be 13:1 after a bit longer lag phase, the fermentation started and went on normally.

That pH value is another important parameter for the fermentation was proved by control of the pH with N-free KH_2HPO_4 -NaOH buffer (pH7.2, 0.2M), under this condition, after a 20 days lag period the fermentation with 10% TS in a higher C:N ratio 49:1, proceeded normally. Microbial flora can also pose impact on fermentation with 10% TS and higher C:N ratio. one hundred ml of the the fermented broth of 5% TS corn stock (without pig dung) was removed as its pH value just rised again and mixed with the fermented broth of 10% TS corn stock in C:N 49:1 as its pH value fall down to 5.0 and no biogas was produced at all. Ten percent TS was initiated and gone normally five days after mixing the fermented broth with, while the control one——only same amount of water was added——gave no response.

Key words

Biogas fermentation; C:N ratio; nitrogen containing fertilizer

改正：本文图 3 的图例中 NH_4HPO_4 应为 NH_4HCO_3 。