

碱法热处理对蓝藻厌氧发酵生物转化及微囊藻毒素降解效果的影响

刘 刚¹, 屠春宝¹, 毕相东^{2,3*}, 董少杰²

(1.南开大学滨海学院环境科学与工程系, 天津 300270; 2.天津农学院水产学院天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津 300384; 3.南开大学环境科学与工程学院, 天津 300350)

摘要:以蓝藻为原料的厌氧发酵生物转化效率差,产气量低,恰当的预处理工艺可以调整蓝藻特性,提升厌氧发酵的产气效率。本文研究碱法热处理耦合的预处理工艺对蓝藻降解效果的影响,采用旋转组合设计法,以蓝藻藻浆 SCOD_{cr} 为响应值,研究预处理 3 个主要参数变化对蓝藻细胞的分解效果。结果表明,三次多项式数学模型可以很好的拟合联合预处理工艺参数对蓝藻藻浆 SCOD_{cr} 的影响,模型的 R^2 为 0.983 9。验证试验表明:当 NaOH 处理浓度为 3%、78 ℃处理 5.6 h 时,蓝藻藻浆 SCOD_{cr} 为 5 446 mg·L⁻¹,是采用 1% NaOH、40 ℃处理 3 h,蓝藻藻浆 SCOD_{cr} 值(2 570 mg·L⁻¹)的 2.12 倍。厌氧发酵结果表明,经优化处理后的蓝藻藻浆产气率较对照提高了 4.72 倍,达 425.4 mL·g⁻¹ VS。同时,研究发现经预处理的蓝藻厌氧发酵后,烘干的藻粉中不含 MC-RR, MC-YR 含量仅为 0.58×10⁻² μg·kg⁻¹,可安全地用于制备复合有机肥。

关键词:蓝藻;厌氧发酵;碱法热处理;旋转组合;微囊藻毒素

中图分类号:S142.5

文献标志码:A

文章编号:2095-6819(2016)06-0547-07

doi: 10.13254/j.jare.2016.0125

引用格式:

刘 刚, 屠春宝, 毕相东, 等. 碱法热处理对蓝藻厌氧发酵生物转化及微囊藻毒素降解效果的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2016, 33(6): 547-553.

LIU Gang, TU Chun-bao, BI Xiang-dong, et al. Effects of Alkaline Thermal Pretreatment to Cyanobacteria Anaerobic Digestion and Microcystins Degradation[J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2016, 33(6): 547-553.

Effects of Alkaline Thermal Pretreatment to Cyanobacteria Anaerobic Digestion and Microcystins Degradation

LIU Gang¹, TU Chun-bao¹, BI Xiang-dong^{2,3*}, DONG Shao-jie²

(1. Department of Environmental Science and Engineering, Nankai University Binhai College, Tianjin 300270, China; 2. Key Laboratory of Aquatic Ecology and Aquaculture of Tianjin, Department of Fisheries Sciences, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 3. College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300350, China)

Abstract: Owing to the protection from cell wall, biological conversion efficiency of cyanobacteria is low in anaerobic fermentation. Appropriate pretreatments can adjust characteristics of cyanobacteria, and enhance the efficiency of anaerobic fermentation. In this paper, the pretreatment of heat treatment coupled with alkali method was studied. The effect of three main pretreatment parameters on the decomposition of cyanobacteria was studied by using the rotation combination design method (RCDM). The SCOD_{cr} was the response value of RCDM. The results showed that cubic polynomial mathematical model could be good fitting fluctuation of SCOD_{cr} in difference combined pretreatment process, the R^2 of the model was 0.983 9. The experimental verification display: 3% NaOH, 78 ℃ heat treatment for 5.6 h, SCOD_{cr} of cyanobacteria was 5 446 mg·L⁻¹. While 1% NaOH, 40 ℃ heat treatment for 3 h, SCOD_{cr} of cyanobacteria was 2 570 mg·L⁻¹. The effect of pretreatment on biogas production rate of anaerobic fermentation and degradation of microcystins were also detected. Compared with the control group, the

收稿日期:2016-05-10

基金项目:天津市科技支撑计划重点项目(15ZCZDNC00230);天津市优秀科技特派员科研专项项目(15JCTPJC56000);国家自然科学基金青年项目(31300393);中国博士后科学基金(2015T80212);天津市宁河区科学技术发展项目(2016-07, 2014-49);天津市农业科技成果转化及产业化推进计划项目(14ZXNZNC00049)

作者简介:刘 刚(1981—),男,博士,主要从事环境微生物学研究。E-mail: paper157@163.com

* 通信作者:毕相东 E-mail: yl801123@aliyun.com

optimized pretreatment cyanobacteria increased biogas yield of anaerobic fermentation by 4.72 times. The study also found that dry algae powder from anaerobic fermentation of pretreated cyanobacteria, did not contain MC-RR, and MC-YR content was $0.58 \times 10^{-2} \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, and therefore could be safely used in the preparation of organic fertilizer.

Keywords: cyanobacteria; anaerobic fermentation; alkaline thermal pretreatment; rotary combination; microcystins

蓝藻水华严重危害我国水域生态环境健康。多数蓝藻细胞可产生蓝藻毒素,藻细胞死亡裂解后释放至水体中,威胁城市日常饮用水安全和公众健康^[1]。目前,应急打捞是我国减除蓝藻水污染生态灾害和降低再次暴发强度的最直接的有效措施^[2]。打捞出来的蓝藻藻浆不能直接被家禽、家畜食用,填埋或长期堆积在岸边,不仅无法有效利用丰富的蓝藻有机质,而且会产生藻毒素、多环芳烃等毒性物质,并伴随着具有臭味的硫化氢、氨气等有害气体释放^[3]。因此,如何绿色无污染地资源化利用被捞出的蓝藻藻浆成为亟待解决的问题。蓝藻有机质含量丰富,将其厌氧发酵制备沼气,厌氧发酵后的藻渣生产有机肥,真正做到物尽其用,具有非常广阔的应用前景。

蓝藻细胞壁含有果胶质和纤维素^[4],且大多数蓝藻的细胞壁外面是胶鞘,蓝藻胶鞘的粘性多糖结构可阻碍蓝藻细胞被彻底分解^[5]。此外,未经事先破壁处理的蓝藻可与厌氧制气的微生物相互竞争营养,直接影响厌氧发酵的产气效率和产气量^[6]。目前,已有的研究报道了混合厌氧发酵对蓝藻厌氧发酵产气率的提高,或单相、两相厌氧生物反应器的选择和设计对厌氧发酵的影响,以及部分蓝藻发酵产酸的预处理研究^[6-9],但有关蓝藻厌氧发酵制沼气的预处理工艺鲜有研究报道,因而未从根本上解决由蓝藻细胞壁引发的物料生物可降解性差的问题。

以微囊藻毒素(Microcystins, MCs)为主的蓝藻毒素化学性质极为稳定^[10]。自然水体中的 MCs 主要依赖于溶解性腐殖质及溶解性色素催化下的光降解来完成,一般需要 15~40 d^[11-12];打捞上岸的有毒蓝藻藻浆不但 MCs 含量高,且不易降解。目前,有关降解 MCs 的研究报道较多,主要集中于采用物理方式(如等离子体法^[13])、化学方式(如纳米 TiO_2 薄膜光催化光降解^[14]、紫外催化光降解等^[15])及生物法(如微生物降解法,大多为 *Sphingomonas* 属细菌^[16]),但上述的研究结论均是基于实验生态学方法下纯化 MCs 降解效果而得出的,而关于规模地资源化利用蓝藻对 MCs 降解效果的研究仅见韩士群等^[2]在太湖蓝藻资源化利用的报道。蓝藻厌氧发酵后的藻渣作为有机肥生产的

原料,但藻渣中 MCs 含量必须低于世界卫生组织公布的 $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (或 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)以下^[17],否则极易造成农田 MCs 污染,进而威胁农产品的质量安全。

基于上述问题,本文以提升厌氧发酵工艺物料的生物可降解性及安全应用厌氧发酵后的藻渣为原则,研究了碱法热处理工艺对蓝藻降解效率的影响,并对比了优化处理和未处理的蓝藻藻浆厌氧发酵产沼气的效率,为增加蓝藻厌氧发酵制备沼气效率提供新的预处理工艺思路,同时分析了预处理工艺对厌氧发酵过程中两种典型 MCs(MC-YR 和 MC-RR)^[18]降解效果的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验蓝藻收集自 2015 年 8 月天津海河二道闸水域,经 200 目筛绢网粗过滤,去除滤液作为预处理试验蓝藻藻浆物料,厌氧发酵的原始污泥取自天津滨海新区大港污水处理厂,经驯化后作为厌氧发酵制备沼气的接种污泥,试验蓝藻藻浆物料和接种污泥特征见表 1。

表 1 试验物料及接种物特征
Table 1 Physical and chemical properties of test cyanobacteria and inoculum

项目	总有机氮/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	TS/%	VS/%	SCODcr/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	pH 值
蓝藻	1 455	14.7	10.6	1 260	7.21
接种污泥	245	2.38	1.47	1 875	7.08

1.2 碱法热预处理及验证试验方案

采用旋转组合设计法(见表 2)研究碱法热预处理工艺中碱用量、热处理温度及处理时间 3 个主要参数变化对蓝藻细胞的分解效果。各预处理的蓝藻用量均为 500 mL,蓝藻特征见表 1,碱处理因素中,NaOH 用量是基于蓝藻鲜重基础之上的质量百分比。依据试验结果建立回归方程,结合曲面分析确定最优的预处理参数。根据优化的预处理参数进行预处理验证试验,并以预处理后蓝藻为底物, $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ 进行厌氧发酵实验,厌氧发酵实验的底物有机负荷为 $7.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ VS}$ 。厌氧发酵接种污泥与发酵料液的比为 1:9(体积比)。

表2 因素水平编码表			
Table 2 Code factor levels			
变量范围	实际变量		
	碱用量/%	热处理温度/℃	处理时间/h
上水平(+1)	3	80	9
零水平(0)	2	60	6
下水平(-1)	1	40	3
距零水平+r点	3.7	94	11
距零水平-r点	0.3	26	1
变化区间	1	20	3

1.3 仪器装置

上海电热恒温培养箱 DHP-9012; 岛津 SPD-M20A 高效液相色谱; 上海雷磁 COD-572 型化学需氧量测定仪; Sigma 台式离心机; 采用自制的序批式厌氧发酵装置和排水法收集气体装置。

1.4 测定指标及分析方法

1.4.1 预处理效果分析方法

碱法热预处理后的蓝藻物料经 5 000 r·min⁻¹ 离心, 取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤, 滤液参考 GB/T 11914—1989 测定 COD_{Cr}, 记为 SCOD_{Cr} 值。采用 Design-expert 软件分析预处理的 SCOD_{Cr} 值, 进行三次多项式逐步回归拟合数学模型及统计学分析。

1.4.2 厌氧发酵产气率的计算

量取一定体积厌氧发酵底物在 105~110 ℃烘干至恒重, 600 ℃去除挥发性固体, 采用差量法计算挥发性固体(VS)含量。采用排水法收集测定厌氧发酵产气量, 计算厌氧发酵产气量与挥发性固体比值, 记作单位挥发性固体的产气率。

1.4.3 藻毒素测定及含量计算

分别取 4、8、12、16 μL 和 20 μL 浓度为 10.0 μg·mL⁻¹ 藻毒素 YR 和藻毒素 RR 进行高效液相色谱检测。根据藻毒素出峰面积, 绘制出标准曲线。HPLC 检测条件为: Shim-pack VP-ODS 250 mm×4.16 mm ZD 色谱柱, 柱温为 40 ℃, 流动相为 60% 色谱甲醇(0.05% 体积比, TFA), 流速为 1 mL·min⁻¹, 进样量 20 μL, 在波长 238 nm 下进行检测。

取发酵过程中的藻液, 在 -20.4 ℃条件下反复冻融 5 次, 于 10 000 r·min⁻¹、4 ℃下离心 10 min, 收集上清液; 在离心后的藻泥沉淀中加入 20~30 mL 的 5% 乙酸, 搅拌 20 min 后, 于 10 000 r·min⁻¹、4 ℃下离心 10 min, 收集上清液; 然后在离心后的藻泥沉淀中加入 80% 色谱甲醇 30 mL, 溶解沉淀搅拌 20 min, 离心收集上清液后旋蒸(75 ℃)去除其中的甲醇; 将 3 次

收集到的上清液混合后过 0.22 μm 滤膜, 以备进行固相萃取。

使用 SPEC₁₈ 固相萃取小柱进行藻毒素的固相萃取, 先用 10 mL 色谱级甲醇预先活化, 再用 15 mL 纯水冲洗, 然后开始上胞内提取上清液, 过 C₁₈ 小柱, 流速控制在 8~12 mL·min⁻¹ 内, 然后用 10 mL 纯水冲洗, 20% 的色谱甲醇冲洗杂质, 再用 40 mL 60% 甲醇(0.05% 体积比, TFA)洗脱并收集, 旋蒸浓缩蒸干, 用 1 mL 60% 的甲醇溶解并收集, 过 0.22 μm 滤膜去杂质后进行 HPLC 检测, 根据已构建的标准曲线计算样品的藻毒素总量, 另取等量的发酵藻液 105~110 ℃烘干至恒重, 依其重量计算样品中藻毒素的含量。

2 结果与分析

2.1 碱法热处理对蓝藻分解效果的影响

依据表 2 设计的试验方案对蓝藻进行不同参数条件的碱法热处理, 测定各试验组处理后蓝藻滤液的 SCOD_{Cr} 值, 结果见表 3。

预处理的实验结果说明(表 3), 不同的碱含量、热处理温度和处理时间的组合对蓝藻滤液的 SCOD_{Cr} 值影响有较大的差异, 8 号实验组的 3.7% 碱用量、60 ℃

表3 碱法热处理各因素对蓝藻分解的影响				
Table 3 Effect of alkaline thermal pretreatment to cyanobacteria degradation				
试验编号	碱用量/%	热处理温度/℃	处理时间/h	SCOD _{Cr} /mg·L ⁻¹
1	2	60	6	4 389
2	2	60	6	4 607
3	1	80	3	3 584
4	1	80	9	3 769
5	2	60	6	4 478
6	0.3	60	6	3 225
7	3	40	3	3 960
8	3.7	60	6	5 457
9	2	60	11	5 029
10	3	80	3	5 059
11	2	60	6	4 559
12	2	26	6	3 540
13	2	94	6	4 020
14	2	60	6	4 688
15	3	80	9	5 380
16	2	60	1	2 764
17	1	40	9	2 593
18	1	40	3	2 570
19	3	40	9	4 496
20	2	60	6	4 704

处理 6 h,最有利于蓝藻分解,其 SCODcr 值为 5 457 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,是 18 号实验组(2 570 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的 2.12 倍,说明实验点的选取合理的反映了各预处理组因参数不同引起的检测指标存在明显差异。

2.2 预处理工艺数学模型的建立

依据表 3 中碱法热处理试验结果,进行三次多项式逐步回归拟合,建立蓝藻溶出物 SCODcr 值对碱处理浓度、热处理温度以及联合处理时间的响应模型,模型的主要统计学指标见表 4,残差分析(图 1)符合统计学无规律波动特征,响应模式的公式为:

$$Y = 4\,572.29 + 663.58 \times A + 142.70 \times B - 162.35 \times C - 25.87 \times A \times B + 81.13 \times A \times C - 90.79 \times A^2 - 289.14 \times B^2 - 247.95 \times C^2 + 378.92 \times A^2 \times B + 133.80 \times A \times B^2 + 295.48 \times C^3$$

式中:Y 为蓝藻溶出物 SCODcr 响应值($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$);A 为预处理中的碱含量(%);B 为热处理温度($^{\circ}\text{C}$);C 为联合预处理的时间(h)。

表 4 碱法热处理蓝藻数学模型的统计学指标
Table 4 Statistical index of the model of alkaline thermal pretreatment to cyanobacteria degradation

失拟项 P 值	调整拟合度与 预期拟合度之差	相对偏差 CV/ %	精密度	R^2_{adj}
0.669 5	0.09	2.69	33.665	0.983 9

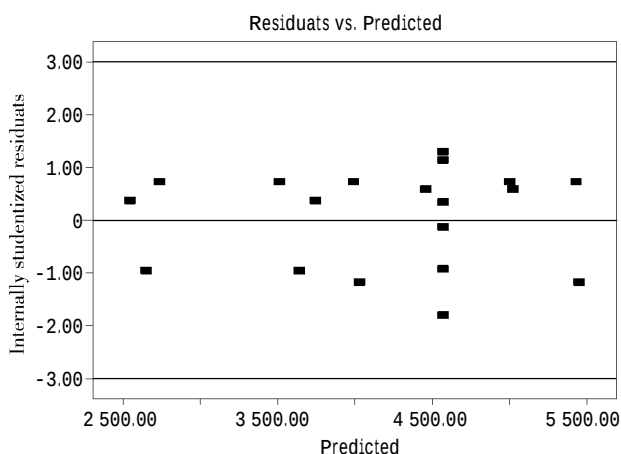


图 1 各试验组 SCODcr 的残差分析图

Figure 1 The residual analysis of SCODcr in test groups

2.3 预处理工艺的参数优化

各处理因素水平对蓝藻 SCODcr 的影响结果见图 2。由图 2a 可以看出,随碱用量的增加,蓝藻藻浆液相的 SCODcr 值持续增加。但在每个不同的碱浓度条件下,蓝藻藻浆的 SCODcr 值与处理时间仅在 6 h 内呈正相关,继续增加处理时间,SCODcr 增加缓慢,

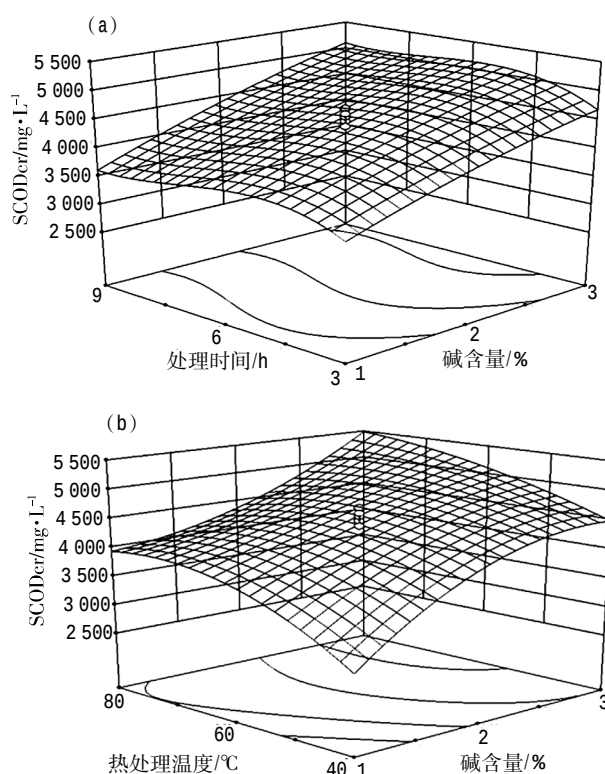


图 2 碱法热处理工艺参数的标准化响应曲面图

Figure 2 The surface drawing of alkaline thermal pretreatment response surface model

这种现象在高浓度碱处理时更明显。图 2b 显示,在高温(80 $^{\circ}\text{C}$)条件下,碱处理浓度增加时,蓝藻藻浆的 SCODcr 值从 4 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加至 5 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,低温(40 $^{\circ}\text{C}$)热处理条件下,试验范围内的最高碱用量时,SCODcr 值仅为 4 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,明显低于 80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下的蓝藻滤液 SCODcr 值,而低温低碱条件下的蓝藻处理后的滤液 SCODcr 值低于 4 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。根据三次多项式回归拟合模型求解的碱法热处理工艺优化参数及处理后蓝藻藻浆 SCODcr 预测值为:预处理可采用碱用量 3%,控制温度 78.2 $^{\circ}\text{C}$,处理时间 5.64 h,藻浆 SCODcr 值为 5 479 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.4 预处理优化条件的验证实验

考虑实际操作便利,选取 3% 的碱含量,78 $^{\circ}\text{C}$ 的处理温度,5.6 h 的预处理参数对蓝藻处理 3 次,测得滤液 SCODcr 的均值为 5 446 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.5 蓝藻厌氧发酵制备沼气实验

采用优化后的碱法热处理工艺预处理蓝藻,得到的物料进行厌氧发酵试验,如图 3 所示。预处理后的蓝藻物料厌氧反应没有迟缓期,前 2 d 的日产气量均大于 35 $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\text{VS}$,而未经预处理的蓝藻在厌氧发酵

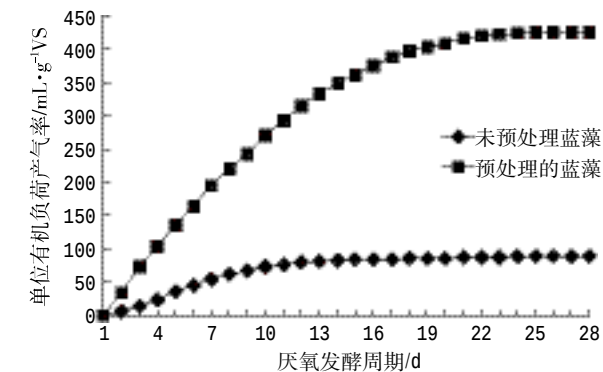


图 3 碱法热处理和未经预处理的蓝藻厌氧发酵沼气产率
Figure 3 Anaerobic fermentation biogas yield of cyanobacteria treated and untreated

的第 4 d 才达到最大日产气高峰,为 $12.5 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{ VS}$, 仅为优化预处理条件下最大日产气量的 35.3%。试验结束时, 碱热预处理的蓝藻物料累积产气量为 $425.4 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{ VS}$, 是未处理蓝藻的 4.72 倍。预处理实验组的厌氧发酵前 20 d 产气率均高于 $5 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \text{ VS}$, 而未预处理实验组厌氧产气反应发生在前 11 d。

2.6 厌氧发酵过程中发酵液 MCs 含量的变化规律

如图 4a 所示, 采用高效液相色谱检测 MC-RR 和 MC-YR 标准样的回归方程分别为: $Y_{\text{MC-RR}} = 5\,335.5X_{\text{MC-RR}}$ ($R^2=0.977\,5$) 和 $Y_{\text{MC-YR}} = 5\,650.6X_{\text{MC-YR}}$ ($R^2=0.931\,7$)。

未经预处理和经过预处理的蓝藻在厌氧发酵阶段, MC-RR 的含量降低均较快, 高效液相色谱检测显示, 厌氧发酵 1 d 和 3 d 后, 两类发酵料液中均未检出 MC-RR (见图 4b)。实验发现厌氧发酵过程中 MC-YR 比 MC-RR 更难降解。厌氧发酵初期, 未经处理的蓝藻 MC-YR 增加。厌氧反应第 7 d, 未预处理的 MC-YR 含量最大, 为 $10.6 \times 10^{-2} \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 此后, 藻毒素含量逐渐下降, 至厌氧发酵第 21 d, 藻毒素降至约 2×10^{-2}

$\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。之后, 直至厌氧反应结束, MC-YR 含量基本不再下降。而经过预处理的蓝藻厌氧发酵过程中藻毒素 YR 呈逐渐减少的趋势。厌氧发酵结束时, 反应器中的 MC-YR 降低到 $0.58 \times 10^{-2} \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

3 讨论

在前期的预试验中发现, 不同的 NaOH 浓度和不同的热处理温度以及处理时间对蓝藻的细胞壁裂解效果存在差异。本文采用旋转组合设计实验(表 2)的目的是为了进一步研究碱法热处理工艺各因素共同作用对蓝藻降解的影响。表 3 的实验结果表明, 各因素不同水平的组合对蓝藻滤液的 SCODcr 值影响很大, 最大值与最小值之间相差 2.12 倍, 这说明本文旋转组合设计实验选取的实验点可以明显区分不同工艺参数对蓝藻降解的效率。王卿等^[19]在研究菊芋茎秆预处理过程中也发现不同的热碱含量对茎秆后续酶解效率有明显影响, 这说明选择恰当的预处理工艺参数可以显著提高蓝藻细胞的分解效率, 有利于后续厌氧发酵阶段厌氧微生物对底物利用。

依据表 3 建立的回归数学模型失拟项 >0.05 (表 4), 说明三次多项式基本考虑了可能的影响因子。调整拟合度 (R^2_{adj}) 与预期拟合度 (R^2_{pre}) 之差 <0.2 , 相对偏差 (CV%) $<10\%$, 精密度 (adequate precision) >4 , $R^2_{\text{adj}} = 0.983\,9$, 残差分析图显示残差变化无规律性, 这些统计学特征指标^[20]说明此三次多项式数学模型较好地解释预处理各因素水平对反应蓝藻降解效果指标 SCODcr 变化情况的影响, 该数学模型可以用作碱法热处理蓝藻预处理工艺的分析与优化参数预测。

从碱法热处理参数的标准化响应曲面图可以看出, 各因素之间存在一定的交互作用。图 2a 显示的试验范围内碱用量与蓝藻滤液 SCODcr 变化趋势说明

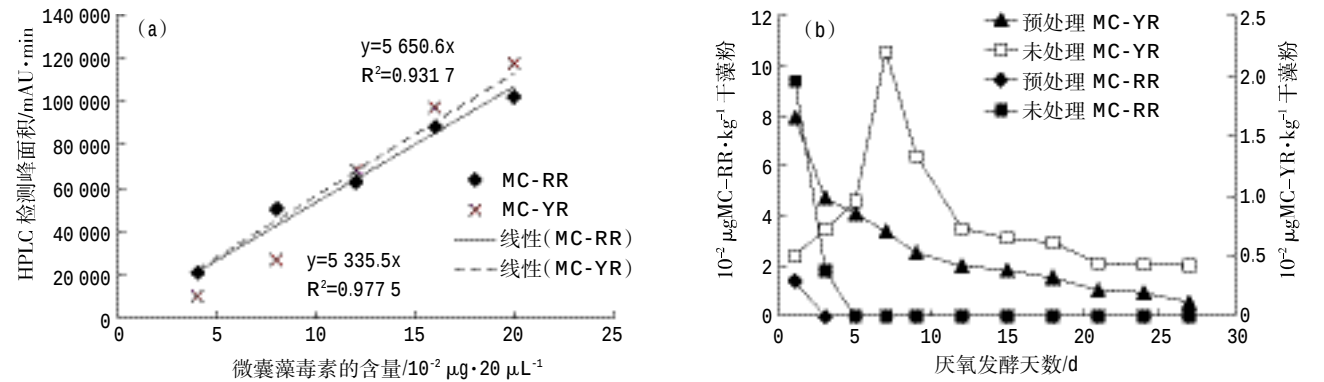


图 4 厌氧发酵过程中藻毒素含量的变化
Figure 4 Changes of microcystins in anaerobic fermentation

碱用量与蓝藻的分解情况成正相关性,这与高浓度的 NaOH 有利于蓝藻细胞壁纤维结构分解有关,朱圆圆等^[21]在研究碱法预处理对玉米秸秆结构的影响时也注意到 NaOH 可以实现脱乙酰基的作用;并且,在实验碱浓度条件下,蓝藻可能在 6 h 内已经分解完全。图 2b 的实验结果表明随温度升高,碱法预处理可更有效破坏蓝藻细胞壁,使滤液的 SCODcr 值升高,说明热处理温度与碱之间存在促进蓝藻分解的正协同作用。

按照优化的工艺参数对蓝藻细胞进行预处理验证实验,所得结果低于旋转组合实验设计的第 8 组在 3.7% 碱用量,60 °C 条件下处理 6 h 得到的料液 SCODcr 为 5 457 mg·L⁻¹,但这种差异可能源于实验误差。且与数学模型的预测结果偏差不到 0.5%,说明建立的三次多项式模型对蓝藻的预处理工艺条件设置有很好的指导意义。

如图 3 所示,预处理后的蓝藻厌氧发酵可以更快地进入产气高峰,并且日产气率明显高于未经处理的蓝藻物料,这主要是因为处理后的蓝藻细胞裂解释放出更多的可溶性有机质供厌氧微生物利用转化沼气。同时,处理后的蓝藻细胞基本失去活性,在厌氧发酵初期不存在和厌氧微生物竞争生长的现象,有利于提高厌氧反应的效率。

蓝藻厌氧发酵制备沼气的对比实验结果也说明,预处理明显改善了蓝藻厌氧发酵物料的性质,使得厌氧发酵初期的物料效率增加,也使得厌氧发酵的累积产气率明显提升,国内外相关文献中也报道过对农业有机废弃物进行降解预处理可以提高厌氧发酵产气效率^[22-24]。预处理实验组有更长的产气周期,这可能与预处理后蓝藻细胞壁被破坏,物料可以被厌氧微生物更充分利用有关。

预处理和未预处理蓝藻厌氧发酵不同阶段的藻毒素对比变化结果表明(图 4b),MC-RR 更容易降解,这可能是因为 MC-RR 的环肽结构更易被厌氧微生物分泌的酶降解。Park 等^[25]在研究鞘氨醇单胞菌对藻毒素的降解时,也发现 MC-RR 比 MC-YR 有更快的降解速度。闫海等^[26]从云南滇池底泥中分离出的降解藻毒素的菌株 *Ralstonia solanacearum* 也对 MC-RR 有更快的分解速度。未经预处理的蓝藻厌氧发酵初期,发酵液中 MC-YR 含量有所增加,主要是因为部分蓝藻细胞利用自身数量优势与厌氧生物竞争性生长过程中,仍可释放过量的 MC-YR 有关。我们的研究表明经碱法热处理后蓝藻发酵后的烘干藻粉中

MCs 含量远低于世界卫生组织规定的 1 μg·kg⁻¹(或 1 μg·L⁻¹)以下的标准,可安全地做为复合肥的有机质原料,进而促进富营养化水体蓝藻水华的资源化利用,使物尽其用。

4 结论

以蓝藻为原料厌氧发酵制沼气工艺中,蓝藻的分解特性是制约厌氧发酵效率的重要因素。本文采用旋转组合设计法,以蓝藻藻浆的 SCODcr 为检测指标,研究了碱法热处理工艺中 3 个主要参数变化对蓝藻特性变化的影响,并通过对比实验研究了预处理对厌氧发酵产气和微囊藻毒素含量变化的影响,主要结论如下:

(1) 依据碱用量、热处理温度及处理时间对蓝藻藻浆 SCODcr 变化的影响实验,构建了三次多项式数学模型($R^2=0.9839$),此模型可以对碱法热预处理对蓝藻的最佳工艺参数和结果进行分析预测。依据模型优化的条件(3%NaOH,78 °C,热处理 5.6 h)预处理蓝藻,藻液 SCODcr 值为 5 446 mg·L⁻¹,比数学模型预测的 SCODcr 值(5 479 mg·L⁻¹)略低。

(2) 厌氧发酵实验表明预处理后的蓝藻藻浆累积产气率达到 425.4 mL·g⁻¹ VS,是未处理蓝藻产气率的 4.72 倍。

(3) MCs 检测结果显示,预处理后的实验组 MCs 降解速度更快且终浓度低,远远低于世界卫生组织公布规定的 MCs 上限标准,同时发现藻毒素 MC-RR 比 MC-YR 更容易降解。

参考文献:

- [1] Ernst B, Hitzfeld B, Dietrich D. Presence of Planktothrix sp. and cyanobacterial toxins in Lake Ammersee, Germany and their impact on whitefish (*Coregonus lavaretus* L.)[J]. *Environmental Toxicology*, 2001, 16(6): 483-488.
- [2] 韩士群, 严少华, 王震宇, 等. 太湖蓝藻无害化处理资源化利用[J]. *自然资源学报*, 2009, 24(3): 431-438.
HAN Shi-qun, YAN Shao-hua, WANG Zhen-yu, et al. Harmless disposal and resources utilizations of Taihu Lake blue alga[J]. *Journal of Natural Resources*, 2009, 24(3): 431-438. (in Chinese)
- [3] Roegner A F, Brena B, González-Sapienza G, et al. Microcystins in potable surface waters: Toxic effects and removal strategies[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2014, 34(5): 441-457.
- [4] Philippis R D, Vincenzini M. Exocellular polysaccharides from cyanobacteria and their possible applications[J]. *Fems Microbiology Reviews*, 1998, 22(3): 151-175.
- [5] Philippis R D, Margheri M C, Materassi R, et al. Potential of unicellular

- cyanobacteria from saline environments as exopolysaccharide producers [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 64(3): 1130-1132.
- [6] Milledge J J, Heaven S. Methods of energy extraction from microalgal biomass: A review[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 2014, 13(3): 301-320.
- [7] 任洪艳, 吕 娟, 阮文权. 提高太湖蓝藻厌氧发酵产丁酸的预处理方法[J]. *食品与生物技术学报*, 2011, 30(5): 734-739.
- REN Hong-yan, LU Xian, RUAN Wen-quan. Pretreatment methods to enhance the butyric acid production by anaerobic fermentation on Taihu Lake[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2011, 30(5): 734-739. (in Chinese)
- [8] 李玉祥. 太湖蓝藻厌氧发酵产挥发性脂肪酸的研究[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2009.
- LI Yu-xiang. Production of volatile fatty acids from algae of Taihu Lake by anaerobic fermentation[D]. Wuxi: University of the South, 2009. (in Chinese)
- [9] Peng S, Colosi L M. Anaerobic digestion of algae biomass to produce energy during wastewater treatment[J]. *Water Environment Research*, 2016, 88(1): 29-39.
- [10] 张维昊, 方 涛, 徐小清. 滇池水华蓝藻中微囊藻毒素光降解的研究[J]. *中国环境科学*, 2001, 21(1): 1-3.
- ZHANG Wei-hao, FANG Tao, XU Xiao-qing. Study on photodegradation of cyanobacterial toxin in blooms of Dianchi Lake[J]. *China Environmental Science*, 2001, 21(1): 1-3. (in Chinese)
- [11] Tsuji K, Naito S, Kondo F, et al. Stability of microcystins from cyanobacteria: Effect of light on decomposition and isomerization[J]. *Environmental Science & Technology*, 1994, 28(1): 173-177.
- [12] Shephard G S, Stockenström S, De Villiers D, et al. Photocatalytic degradation of cyanobacterial microcystin toxins in water [J]. *Toxicon*, 1998, 36(12): 1895-1901.
- [13] 孙玲芳, 喻泽斌, 汝 旋, 等. 水上介质阻挡放电等离子体去除微囊藻毒素-LR 的研究[J]. *给水排水*, 2011, 37(11): 122-127.
- SUN Ling-fang, YU Ze-bin, RU Xuan, et al. Research on removal of microcystin -LR in aqueous solution by dielectric barrier discharge over water[J]. *Water Supply and Drainage*, 2011, 37(11): 122-127. (in Chinese)
- [14] 冯小刚, 戎 非, 付德刚, 等. 纳米 TiO_2 膜对水中微量微囊藻毒素的光催化降解[J]. *科学通报*, 2006, 51(5): 532-538.
- FENG Xiao-gang, RONG Fei, FU De-gang, et al. Study on photodegradation of cyanobacterial toxin under the catalysis of nano TiO_2 [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(5): 532-538. (in Chinese)
- [15] Lawton L A, Robertson P K J, Cornish B J P A, et al. Detoxification of microcystins(cyanobacterial hepatotoxins) using TiO_2 photocatalytic oxidation[J]. *Environmental Science & Technology*, 1999, 33(5): 771-775.
- [16] Ishii H, Nishijima M, Abe T. Characterization of degradation process of cyanobacterial hepatotoxins by a gram -negative aerobic bacterium [J]. *Water Research*, 2004, 38(11): 2667-2676.
- [17] World Health Organization (WHO). Guidelines for drinking water quality. Vol. 1, recommendations[R]. Geneva Switzerland, 1998: 36.
- [18] Chen W, Song L, Ou D, et al. Chronic toxicity and responses of several important enzymes in *Daphnia magna* on exposure to sublethal microcystin-LR[J]. *Environmental Toxicology*, 2005, 20(3): 323-330.
- [19] 王 卿, 邱婧雯, 李 阳, 等. 热碱预处理对菊芋茎秆组成和酶水解影响[J]. *生物工程学报*, 2015, 31(10): 1459-1467.
- WANG Qing, QIU Jing-wen, LI Yang, et al. Effects of hot -NaOH pretreatment on Jerusalem artichoke stalk composition and subsequent enzymatic hydrolysis[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2015, 31(10): 1459-1467. (in Chinese)
- [20] 余亚琴, 吴义锋. 蓝藻厌氧发酵产沼气机械搅拌工艺优化及中试验证[J]. *农业工程学报*, 2014, 30(22): 253-259.
- YU Ya-qin, WU Yi-feng. Optimization of mechanical stirring technology in anaerobic fermentation treating algae and pilot trial validation[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2014, 30(22): 253-259. (in Chinese)
- [21] 朱圆圆, 顾夕梅, 朱均均, 等. 两步碱法预处理对玉米秸秆组分及结构的影响[J]. *中国科技论文*, 2015, 10(12): 1376-1381.
- ZHU Yuan-yuan, GU Xi-mei, ZHU Jun-jun, et al. Effects of two-step alkaline pretreatment on components and structure of corn stover [J]. *China Science Paper*, 2015, 10(12): 1376-1381. (in Chinese)
- [22] 黎 雪, 张 彤, 邹书珍, 等. 不同温度下 NaOH-绿氧联合预处理对麦秆厌氧发酵的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2015, 34(9): 1812-1821.
- LI Xue, ZHANG Tong, ZOU Shu-zhen, et al. Effect of pretreatments with NaOH-green oxygen at different temperatures on anaerobic digestion of wheat straw[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, 34(9): 1812-1821. (in Chinese)
- [23] 龚舒静, 段青松, 杨 姝, 等. NaOH 预处理对杂交狼尾草厌氧发酵产沼气的的影响[J]. *环境工程学报*, 2015, 9(4): 1970-1976.
- GONG Shu-jing, DUAN Qing-song, YANG Shu, et al. Anaerobic fermentation of hybrid pennisetum for biogas under NaOH pretreatment [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2015, 9(4): 1970-1976. (in Chinese)
- [24] 杨 姝, 章 可, 段青松, 等. 预处理方法对水葫芦厌氧发酵产沼气的的影响[J]. *环境工程学报*, 2014, 8(4): 1663-1668.
- YANG Shu, ZHANG Ke, DUAN Qing-song, et al. Effect of pretreatment methods on biogas production efficiency of anaerobic fermentation using water[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2014, 8(4): 1663-1668. (in Chinese)
- [25] Park H D, Sasaki Y, Maruyama T, et al. Degradation of the cyanobacterial hepatotoxin microcystin by a new bacterium isolated from a hypertrophic lake[J]. *Environmental Toxicology*, 2001, 16(4): 337-343.
- [26] 闫 海, 潘 纲, 张明明, 等. 微囊藻毒素研究进展[J]. *生态学报*, 2002, 22(11): 1968-1975.
- YAN Hai, PAN Gang, ZHANG Ming-ming, et al. Advances in the study of microcystin toxin[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(11): 1968-1975. (in Chinese)