

不同预处理方法对剩余污泥厌氧发酵产氢的影响

李建政, 昌盛, 刘枫

(哈尔滨工业大学 城市水资源与水环境国家重点实验室, 150090 哈尔滨, ljz6677@163.com)

摘要: 对种泥进行预处理,能去除不产芽孢的耗氢菌,可以达到加快有机废水发酵生物制氢系统启动进程,提高污泥产氢效能的目的.为寻求适宜的种泥预处理方法,利用摇瓶发酵实验,考察城市污水处理厂好氧活性污泥分别经酸、碱、热、曝气、 CHCl_3 和二溴乙烷磺酸钠(BES)预处理后,其利用葡萄糖发酵产氢的特性.结果表明,在初始pH 7.0、葡萄糖质量浓度10 g/L、MLVSS接种量2 g/L条件下,35 °C培养42 h,经酸预处理的种泥表现出最好的发酵产氢性能,其葡萄糖的氢气转化率达1.51 mol/mol,污泥的比产氢率为27.29 mmol/g.不同的预处理方法能引起不同的发酵类型,经酸、碱预处理的发酵体系,表现为丁酸型发酵;经曝气、BES预处理的发酵体系,表现为乙醇型发酵;经热、 CHCl_3 预处理的发酵体系,呈现为混合酸发酵特征.

关键词: 生物制氢;剩余污泥;预处理;比产氢率;发酵类型

中图分类号: X703 文献标志码: A 文章编号: 0367-6234(2011)06-0045-06

Effect of different pretreatment methods on fermentative hydrogen production of excess sludge

LI Jian-zheng, CHANG Sheng, LIU Feng

(State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China, ljz6677@163.com)

Abstract: The excess activated sludge was pretreated by six - methods (acid, alkaline, heat, aeration, chloroform and 2 - bromoethanesulfonate (BES), respectively) in batch tests to evaluate and compare their suitability in the enrichment of hydrogen - producing bacteria. The experimental results showed that, at 35 °C and initial pH 7.0, the hydrogen yields of the pretreated sludge (except BES) were higher in comparison with the control test during the fermentative hydrogen production. In all tests, for fermentative hydrogen production from glucose, the sludge pretreated by acid and alkaline could obtain the maximal hydrogen production potential, using glucose as the substrate, and the hydrogen yield from glucose and specific hydrogen yield in terms of mixed liquor volatile suspend solid (MLVSS) reached 1.51 mol/mol and 27.29 mol/gMLVSS, respectively. It was concluded that the pretreatment methods led to different fermentation types. Butyric - acid type fermentation was achieved by acid and alkaline pretreatments, an ethanol - type fermentation was observed using aeration, BES pretreatments and the control, while mixed - acid type fermentation was achieved by heat and CHCl_3 pretreatments.

Key words: biological hydrogen production; excess sludge; pretreatment; specific hydrogen yield; fermentation type

发酵法生物制氢,能以可再生的生物质,甚至

是富含生物质的废水、垃圾或禽畜排泄物为原料^[1-5],在清洁能源生产、废物资源化和环境保护等方面均显示出重要意义,展现出较好的发展前景^[3,6-7].以混合菌群(活性污泥)为基础的发酵

收稿日期: 2010-03-15.

基金项目: 哈尔滨市科技创新人才研究专项资金项目(2008RFXXS04).

作者简介: 李建政(1965—),男,教授,博士生导师.

法生物制氢技术,其基本原理是产酸发酵细菌将有机物分解为有机酸(乙酸、丁酸)和乙醇等产物的同时,释放 H_2 和 CO_2 ^[7]. 大量研究表明,生物发酵制氢的种泥来源十分丰富,农田土壤、城市污水处理厂的好氧污泥和消化污泥、市政排水管网下水道的底泥以及厌氧生物处理反应器中的污泥均可作为产氢菌种来启动制氢反应器^[8]. 然而,这些污泥中的微生物种类繁多,常有耗氢菌的存在,如产甲烷菌和同型产乙酸菌等,它们的耗氢行为,不可避免地会降低发酵系统的产氢效能和延长反应器的启动时间^[9-13]. 为了最大程度地提高接种污泥中产氢菌的数量和活性,将耗氢菌的数量降到最低,缩短反应器启动周期,国内外研究中对接种至生物制氢反应器的污泥采用了多种方法进行预处理,但由于选用的种泥以及具体的处理条件不同,得出的结论各异,有的研究认为热处理最为合适^[14-15],有的认为酸处理最为有效^[16-17],对各种预处理方法进行全面对比分析的报道还较少^[15]. 本文以最易获得的城市污水处理厂好氧活性污泥为对象,通过间歇发酵试验,对比分析了种泥经酸、碱、热、曝气、氯仿—— $CHCl_3$ 和二溴乙烷磺酸钠——BES 等 6 种预处理方法处理后的产氢性能和发酵特性,以筛选出最为合适有效的预处理方法,寻求产氢菌的富集方法,为连续流生物制氢反应器的快速启动以及提高系统的产氢效能提供指导.

1 试验

1.1 种泥来源与预处理方法

试验采用的种泥取自哈尔滨市太平污水处理厂二沉池排放的剩余污泥,取得污泥后,经淘洗过滤,去除污泥中的大颗粒物,沉淀 0.5 h,去上清液后使用,其 MLSS、MLVSS 分别为 20.35 和 14.43 g/L. 取混匀污泥 50 mL 8 份,分别置于 7 个 100 mL 的烧杯中,按以下顺序进行各种预处理:

- ①酸处理:用 4 mol/L 的 HCl 将污泥 pH 值调节为 3,在搅拌下维持 pH 值稳定 5 min 后,静置 24 h;
- ②碱处理:用 6 mol/L 的 NaOH 将污泥 pH 值调节为 10,在搅拌下维持 pH 值稳定 5 min 后,静置 24 h;
- ③热处理:在 100 °C 的水浴锅中恒温加热处理 30 min;
- ④曝气处理:以 500 mg/L 的质量浓度加入葡萄糖,曝气培养 24 h;
- ⑤ $CHCl_3$ 处理:以 0.1% 的体积分数加入 $CHCl_3$ 溶液,磁力搅拌机下搅拌 1 h 后,静置 24 h;
- ⑥BES 处理:以 10 mmol/L 的浓度加入一定质量的 BES,磁力搅拌机下搅拌 1 h 后,静置 24 h;
- ⑦第 7 个烧杯中未经过预处理

的污泥作为空白对照.

1.2 培养方法

间歇发酵反应器采用容积为 296 mL 的血清瓶. 装瓶方法为:每只灭菌血清瓶移入 85 mL 培养液后,用无菌注射器以 15 mL 的剂量接种经不同方法预处理过的污泥或未经处理的对照污泥(反应体系中的污泥浓度(MLVSS)约为 2 g/L),并用 1 mol/L 的 NaOH 和 HCl 溶液将混合液的初始 pH 调为 7.0;充高纯氮气 5 min,胶塞密封. 接种完成后的反应体系,总体积为 100 mL,营养组分如下(g/L): $C_6H_{12}O_6 \cdot 6H_2O$ 10.0; NH_4Cl 0.5; KH_2PO_4 0.5; K_2HPO_4 0.5; $NaHCO_3$ 4.0; $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.2; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.03; H_3BO_3 0.03; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.02; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.01; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.02; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ 0.03; $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.15. 将密封后的血清瓶置于恒温空气浴振荡器中,在 150 r/min 下 35 °C 恒温培养 30 h. 对照污泥和各预处理后的污泥样品的培养,均采用 3 只培养瓶平行进行,相关分析数据取 3 个平行反应系统平均值.

1.3 分析方法

pH、MLSS 和 MLVSS 采用国家标准方法测定^[18],葡萄糖测定采用 DNS 法^[19]. 发酵产气量采用 10~100 mL 的玻璃注射器定时排气计量,并折算为标准状态(0 °C, 101.325 kPa)体积数;发酵气组分采用气相色谱仪进行分析^[20],累积产氢量参照 Owen 法进行计量^[21]. 以无菌注射器定时从反应瓶中抽取反应液 1.5 mL,6 000 r/min 离心,取上清液 0.5 mL 2 份,分别用于葡萄糖质量浓度和液相末端发酵产物(VFAs 和乙醇)的分析. 其中, VFAs 和乙醇的分析采用另一台气相色谱仪测定^[20].

2 结果与讨论

2.1 产氢量

在 42 h 的发酵反应过程中,对照样品及其他经过预处理的污泥样品的反应体系中,所产生的生物气中只含有 H_2 和 CO_2 ,均未检出 CH_4 . 然而,在 Hu 和 Chen 的研究中,未经处理的污泥在降解糖类发酵产氢时,有 CH_4 存在,造成这种差异原因可能是本文的接种污泥来源于城市污水处理厂的二沉池,污泥中的微生物以好氧和兼性菌种为主,仅含有少量甲烷甚至不含有产甲烷菌种,所以,本文的研究中,未经处理的污泥进行发酵产氢时,未检测到 CH_4 . 图 1 显示了不同预处理方法对累积产氢量的影响,在发酵反应进行到 24 h 时,

各发酵体系的累积产氢量达到最大值,分别为31.81(对照)、169.95(酸)、144.43(碱)、100.25(热)、72.98(曝气)、51.24(CHCl_3)、28.32(BES) mL。发酵产氢反应进行到24 h之后,各发酵体系的累积产氢量都有一定量的下降,但并未检出 CH_4 。这一现象说明,系统中存在着除甲烷以外的其他耗氢菌群,这与Bita和Yu等所报道的结果相似^[14,22]。

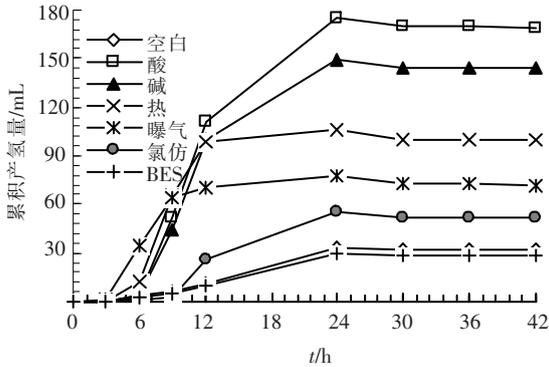


图1 不同预处理方法下的累积氢气产量

为了解发酵系统产氢的动力学特征,采用改进的Gompertz模型(式(1))对得到的累积产氢曲线进行了非线性拟合^[23]:

$$H = P_{\max} \times \exp \left\{ - \exp \left[\frac{R_{\max} \times e}{P_{\max}} (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (1)$$

式中: H 为累计产氢量(mL), P_{\max} 为最大产氢量(mL); R_{\max} 为最大产氢速率(mL/h), λ 为延滞时间(h)。

利用Origin 8.0软件进行拟合的结果见表1,改进的Gompertz模型比较适合于描述反应过程中累积产氢量的变化,复相关系数 R^2 均大于0.99。除了经过BES预处理的污泥样品外,其他经过预处理后的污泥样品对葡萄糖进行发酵获得的最大产氢量(P_{\max})和最大产氢速率(R_{\max})都远大于未处理的污泥。据文献报道^[15,17],对糖类进行厌氧发酵能代谢产氢的微生物主要以梭菌属

表1 不同预处理方法下的发酵产氢动力学参数

预处理方法	$\frac{P_{\max}}{\text{mL}}$	$\frac{R_{\max}}{\text{mL} \cdot \text{h}^{-1}}$	$\frac{\lambda}{\text{h}}$	R^2
空白	32.69	2.54	6.80	0.995 7
酸	171.14	22.26	6.75	0.999 7
碱	145.73	20.73	6.86	0.999 8
热	102.30	21.02	5.66	0.998 9
曝气	73.57	15.16	3.69	0.998 8
CHCl_3	52.56	9.94	9.34	0.999 2
BES	29.01	2.69	7.82	0.997 4

高和肠细菌为主,由于梭菌属在极端环境下,如温、强酸、强碱和化学药物抑制剂下,能形成芽孢,具有自我保护功能。还有研究表明^[15],大部分梭菌属和肠细菌能在少量氧气存在下存活。而产甲烷和同型产乙酸菌等则属于严格的厌氧菌属,当有氧气存在时将失去活性。于是,当污泥经过预处理后,相对于产甲烷和同型产乙酸菌种来讲,梭菌属和肠细菌仍得以存活下来的几率要更大。因此,对污泥采用合适的预处理方法,在抑制产甲烷和同型产乙酸等耗氢菌群的同时,保持了产氢菌的活性,提高了发酵系统的最大产氢量和最大产氢速率。同时,对接种污泥采用不合适的预处理方法,有可能抑制住产氢菌的活性,而减小产氢效能^[17,24]。在本文采用的预处理方法中,经过BES处理的污泥,其 P_{\max} 和 R_{\max} 较对照的污泥样品要小,而采用酸预处理后的效果最好,其 P_{\max} 和 R_{\max} 分别为171.14 mL和22.26 mL/h,碱处理次之, P_{\max} 和 R_{\max} 分别为145.73 mL和20.73 mL/h,这与Lin等^[16]的研究结果一致,而Wang等^[15]的研究表明,采用热处理的方法,获得的效果最好,这可能是由于种泥不同所致。

在各发酵体系反应的初期,由于接种污泥对新环境的调整适应,均表现出一个或长或短的延滞期。其中,经 CHCl_3 和BES处理过的污泥延滞时间(λ)较大,分别为9.37和7.85 h,这可能是由于药剂的毒性作用所致;而经曝气、热处理的污泥,其延滞期较短,分别为3.69和5.66 h;经酸、碱处理的污泥, λ 为6.8 h左右,与空白相当。这进一步表明,采用污泥预处理的方法能有效富集产氢菌种,促进厌氧活性污泥的产氢活性,并且不同的预处理方法对原始种泥的菌种选择作用不同,获得的效果也存在差异。

2.2 液相末端发酵产物

表2总结了对照及各种污泥样品发酵体系在第42小时时发酵产物各成分的含量。由发酵产物组成分析可知,污泥样品的预处理对其产酸发酵特征有直接影响。由于接种污泥为二沉池的剩余污泥,从污水处理厂取回即用,属于好氧污泥,污泥中好氧微生物居多,所以,未经处理的污泥,和经曝气、BES处理后的发酵反应体系,发酵产物均主要以乙醇和乙酸为主,其中,经曝气预处理后,乙醇和乙酸摩尔分数分别为50.3%、47.0%(表2),属典型的乙醇型发酵^[8,25],Ren等^[25]也得到了相同的结果。经过热、 CHCl_3 预处理的污泥,其代谢产物主要以乙醇、乙酸和丁酸为主,其摩尔分数均在30%~40%,属于混合酸发酵^[8]。而经过酸、碱预处理的污泥,其利用葡萄

糖发酵进行产氢的产物主要以丁酸和乙酸为主,摩尔分数分别为40.2%、30.8%和44.9%、37.9%,表明酸、碱处理有利于丁酸梭菌属产氢发酵菌群的富集,这与Yu和Lin等的研究结果一致^[14,16].以上结果表明,不同预处理对种泥原有微生物群落结构的改变存在差异,这可能是导致在相同的培养条件下,各反应体系表现出不同产酸发酵特征的主要原因,Guo等^[25]的研究对这一观点已经提出了有力的证据.

表2 预处理对液相末端发酵产物的影响 mmol·L⁻¹

预处理方法	液相末端发酵产物			
	乙醇	乙酸	丙酸	丁酸
空白	11.88	9.53	2.22	3.01
酸	13.73	15.26	0.64	19.91
碱	7.67	18.62	0.77	22.07
热	12.79	16.24	0.09	13.04
曝气	22.00	20.58	0.94	0.25
CHCl ₃	8.63	12.96	1.68	6.91
BES	9.16	10.29	3.39	2.46

由表2可以看出,经过曝气处理的污泥,其发酵产物中的丁酸浓度最小,仅为0.25 mmol/L,表明曝气对丁酸梭菌属的抑制作用较强,所以,在Guo和Ren等的研究中^[8,25],对污泥采用曝气预处理,均能较快地实现间歇、连续流的乙醇型发酵,而对污泥采用酸、碱预处理后能形成丁酸型发酵^[8,14].同时,Li等^[26]的研究表明,乙醇型发酵较丁酸型发酵其氢气产率要更高,更利于产氢.然而,在本实验中,采用曝气预处理形成的乙醇型发酵,获得的产氢量较采用酸处理形成的丁酸型发酵类型时的要小(表1),分析认为,这可能是由于种泥中存在同型产乙酸菌所致.在文献[8,25-26]中,曝气预处理的时间一般在1周左右,而本文的曝气处理仅为24 h,所以,短时间的曝气难以有效抑制同型产乙酸菌种,而引起了代谢产物中乙酸摩尔分数较大,占到总挥发酸产物的47.0%(表2),而经酸处理的发酵体系,乙酸摩尔分数仅占30.8%(表2),这表明经24 h曝气处理后的污泥,虽然显著地激活了发酵产氢产乙醇菌种,但对可利用H₂和CO₂合成乙酸的同型产乙酸菌无明显抑制作用.如图1所示,第24小时后的氢气体积下降,以及无CH₄气体检出,也间接证明了系统中存在着同型产乙酸菌种.而同型产乙酸菌在发酵制氢系统中的作用,目前,已经成为了一个热门的研究课题,在Hallenbeck和Bita等^[7,9]的研

究中均有报道,其作用机制和经济有效的控制技术还有待深入研究.

2.3 葡萄糖的降解

未经热处理的和经热处理过的各污泥样品,在发酵产氢过程中,对葡萄糖的降解情况存在显著差异,经预处理的污泥,葡萄糖的降解率均大于未经处理的发酵反应体系.如图2所示,经过酸、碱、热处理的污泥,其葡萄糖的降解率均达到了90%以上,其中经热处理的降解率最大,为91.6%.经CHCl₃和BES处理的污泥,其葡萄糖的降解率为70%左右,经曝气预处理获得的葡萄糖降解率则为77.5%.以上结果表明,经过酸、碱处理的污泥,在能获得最大产氢量和最大产氢速率的同时,还能获得较高的底物降解率.因此,对于利用有机废水进行发酵产氢来讲,以经酸或碱预处理的好氧污泥作为接种污泥是较好的选择.

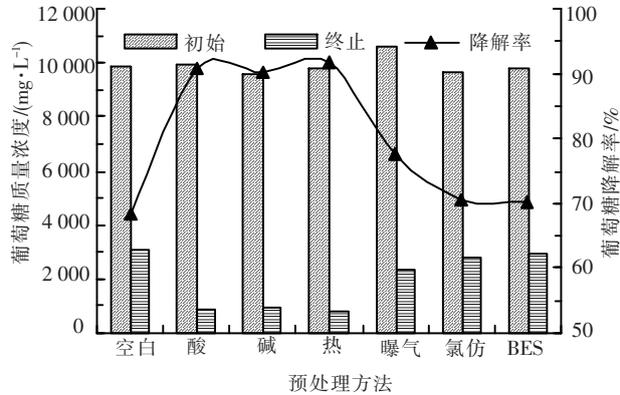


图2 不同预处理方法下葡萄糖的降解

2.4 生物量和 pH

各发酵体系在反应42 h后,其生物量都有大幅增长(图3),分别从起始的2 g/L左右提高到了7.57(对照)、4.85(酸)、5.02(碱)、5.30(热)、6.6(曝气)、7.30(CHCl₃)、8.58(BES) g/L.这一生物量增幅显著高于现有文献报道的水平^[15-16].由于酸性末端产物的积累(图3),各反应体系的pH也分别从初始的7降低到了3.83(对照)、4.35(酸)、4.54(碱)、3.88(热)、3.95(曝气)、3.93(CHCl₃)、3.91(BES).当pH小于4.0时,会严重抑制活性污泥微生物的代谢活性^[8],这可能是导致对照、曝气、氯仿、BES预处理污泥对葡萄糖的降解率较低的原因(图2).

2.5 预处理剩余污泥对发酵产氢活性的影响

污泥经其他方法预处理后,被灭活的微生物残体与芽孢和具有活性的菌体一同被保留在污泥样品中,是发酵系统中生物量(MLVSS)的组成部分.为此,以新增生物量的比产氢率为指标,比较

分析了不同发酵系统微生物群落的代谢活性. 由于加入 BES 对好氧污泥微生物的选择作用较小, 未经预处理和经 BES 预处理的污泥样品, 保留了原有的所有微生物类群. 由于菌体数量基数大, 经 42 h 发酵后, 其新增生物量 MLVSS 显著高于其他预处理后的发酵体系, 未经预处理和经 BES 预处理的生物产量分别高达 0.83 和 0.96 g (表 3). 经酸、碱、热、曝气、 CHCl_3 预处理的各污泥样品发酵体系, 其新增的生物量分别为 0.31, 0.35, 0.37, 0.56, 0.78 g, 其新增生物量的比产氢率分别为 27.29, 21.69, 13.84, 7.14, 4.43 mol/kg, 分别是未经热处理污泥样品的 10.45, 8.31, 5.30, 2.74, 1.70 倍. 从表 3 还可以看出, 葡萄糖的氢气转化率与生物量的增长量呈现负相关的关系, 新增的生长量越大, 获得的产氢转化率越小, 经酸、碱预处理后的发酵系统, 生物增长量最小, 其单位基质葡萄糖的氢气转化率分别达 1.51 和 1.34 mol/mol, 显著高于其他的发酵系统. 以上分析表明, 对好氧活性污泥采用适当的预处理, 可显著提高发酵产氢菌群的活性.

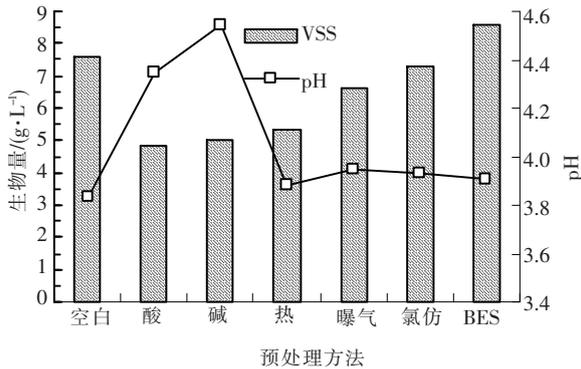


图 3 不同预处理条件下终止 pH 和生物量

表 3 不同预处理方法对活性污泥发酵产氢特性的影响

预处理方法	葡萄糖转化量/mg	生物产量/g	M_C $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	H_s $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$	HY_C $\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$
空白	674.82	0.56	0.83	2.61	0.38
酸	901.78	0.28	0.31	27.29	1.51
碱	862.65	0.30	0.35	21.69	1.34
热	899.17	0.33	0.37	13.84	0.90
曝气	822.65	0.46	0.56	7.14	0.70
CHCl_3	682.65	0.53	0.78	4.43	0.61
BES	685.25	0.66	0.96	1.96	0.33

注: M_C 为葡萄糖的比生物产率; H_s 为活性污泥的比产氢率; HY_C 为葡萄糖的比产氢率.

3 结论

1) 城市污水处理厂的好氧活性污泥采用合适方法的预处理, 可以显著提高其厌氧发酵产氢

活性. 采用酸、碱、热、曝气、 CHCl_3 均能有效提高种泥的发酵产氢活性, 而采用 BES 的预处理不利于产氢.

2) 各种预处理方法获得的产氢效能由大到小依次为酸 > 碱 > 热 > 曝气 > CHCl_3 > BES, 经酸和碱处理的种泥样品表现出良好的产氢效能, 其葡萄糖的氢气转化率分别达到 1.51 和 1.34 mol/mol, 污泥的比产氢率分别为 27.29 和 21.69 mmol/g, 而未经处理的污泥, 其葡萄糖的氢气转化率和污泥的比产氢率仅分别为 0.38 mol/mol 和 2.61 mmol/g.

3) 不同的预处理方法可导致种泥微生物群落结构的差异, 在发酵葡萄糖时表现出不同的代谢特征. 其中, 经酸、碱预处理的发酵体系表现为丁酸型发酵; 经曝气、BES 预处理的发酵体系表现为乙醇型发酵; 经热、 CHCl_3 预处理的发酵体系呈现为混合酸发酵特征.

参考文献:

- [1] SOMPONG O T, PRASERTSAN P, INTRASUNGKHA N, *et al.* Optimization of simultaneous thermophilic fermentative hydrogen production and COD reduction from palm oil mill effluent by Thermoanaerobacterium - rich sludge [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33: 1221 - 1231.
- [2] GILROYED B H, CHANG C, CHU A, *et al.* Effect of temperature on anaerobic fermentative hydrogen gas production from feedlot cattle manure using mixed microflora [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33: 4301 - 4308.
- [3] REN Nanqi, LI Yongfeng, LI Jianzheng, *et al.* Progress of fermentative biohydrogen production process in China [J]. Journal of Chemical Industry and Engineering (China), 2004, 55(suppl): 7 - 13.
- [4] CHONG M L, SABARATNAM V, SHIRAI Y, *et al.* Biohydrogen production from biomass and industrial wastes by dark fermentation [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2009, 34: 3277 - 3287.
- [5] 雷国元, 王丹鹭, 王建龙. 有机固体废物生物法制氢的研究进展 [J]. 化工环保, 2007, 27(6): 525 - 531.
- [6] DAS D, VEZIROGLU T N. Advances in biological hydrogen production processes [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33: 6046 - 6057.
- [7] HALLENBECK P C. Fermentative hydrogen production: principles, progress, and prognosis [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2009, 34(17): 7379 - 7389.
- [8] 郭婉茜, 任南琪, 王相晶, 等. 接种污泥预处理对生

- 物制氢反应器启动的影响[J]. 化工学报, 2008, 59(5): 1283 - 1287.
- [9] NATH K, DAS D. Improvement of fermentative hydrogen production: various approaches[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2004, 65(5): 520 - 529.
- [10] HAWKES F R, DINSDALE R, HAWKES D L, *et al.* Sustainable fermentative hydrogen production: challenges for process optimization[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2002, 27(11/12): 1339 - 1347.
- [11] 陈文花, 刘常青, 张江山, 等. 热处理对污泥厌氧发酵产氢的影响[J]. 可再生能源, 2007, 25(2): 56 - 59.
- [12] ZUO J, ZUO Y, ZHANG W, *et al.* Anaerobic bio - hydrogen production using pre - heated river sediments as seed sludge[J]. Water Sci Technol, 2005, 52(10/11): 31 - 39.
- [13] LIN Chiuyue, CHENG Chaohui. Fermentative hydrogen production from xylose using anaerobic mixed microflora[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2006, 31: 832 - 840.
- [14] MU Y, YU H Q, WANG G. Evaluation of three methods for enriching H₂ - producing cultures from anaerobic sludge[J]. Enzym Microb Technol, 2007, 40: 947 - 953.
- [15] WANG Jianlong, WAN Wei. Comparison of different pretreatment methods for enriching hydrogen - producing bacteria from digested sludge[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33: 2934 - 2941.
- [16] LIN C Y, CHOU C H. Anaerobic hydrogen production from sucrose using an acid - enriched sewage the sludge microflora[J]. Eng Life Sci, 2006, 41(4): 66 - 70.
- [17] ZHU H G, BELAND M. Evaluation of alternative methods of preparing hydrogen producing seeds from digested wastewater sludge[J]. Int J Hydrogen Energy, 2006, 31(14): 1980 - 1988.
- [18] 国家环保局. 水和废水监测分析方法[M]. 4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 254 - 256.
- [19] MILLER G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar[J]. Anal Chem, 1959, 31(3): 426 - 427.
- [20] 李建政, 王卫娜, 马超, 等. 丁酸甲烷发酵优势菌群的选育及其丁酸降解特性[J]. 科技导报, 2008, 26(11): 49 - 52.
- [21] OWEN W F, STUCKEY D C, HEALY J B, *et al.* Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity[J]. Water Res, 1979, 13: 485 - 492.
- [22] BAGHCHEHSARAE B, NAKHLA G, KARAMANEV D, *et al.* The effect of heat pretreatment temperature on fermentative hydrogen production using mixed cultures[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33: 4064 - 4073.
- [23] LAY J J, LEE Y J, NOIKE T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste[J]. Water Res, 1999, 33(11): 2579 - 2586.
- [24] HU B, CHEN S L. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized hydrogen fermentation[J]. Int J Hydrogen Energy, 2007, 32(15): 3266 - 3273.
- [25] REN Nanqi, GUO Wanqian, WANG Xiangjing. Effects of different pretreatment methods on fermentation types and dominant bacteria for hydrogen production[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2008, 33: 4318 - 4324.
- [26] LI Jianzheng, ZHENG Guochen, HE Junguo, *et al.* Hydrogen - producing capability of anaerobic activated sludge in three types of fermentations in a continuous stirred - tank reactor[J]. Biotechnology Advances, 2009, 27(5): 573 - 577.

(编辑 刘彤)