

起始 pH 对秸秆与污泥混合发酵产氢产甲烷的影响

刘 頔¹, 李茹莹¹, 季 民^{1*}, 梁军峰², 蔡彦明²

(1.天津大学环境科学与工程学院, 天津 300072; 2.农业部环境保护科研监测所 天津市农业环境与农产品安全重点实验室, 天津 300191)

摘 要:采用批式发酵试验, 秸秆与污泥分别经碱预处理后混合作为发酵底物, 在起始 pH 为 4.0、5.5、7.0、8.5、10.0 和 11.5 下两相厌氧发酵, 探讨不同起始 pH 值对混合发酵产氢产甲烷的影响。试验结果显示, 不同起始 pH 值的氢气产率间具有显著差异性。在起始 pH 5.5 时, 得到最大氢气产率 $32.0 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$, 产生的总能量为 $9.16 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$ 。在起始 pH 11.5 时, 产生的总能量最高, 为 $9.36 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$ 。在产氢发酵阶段, 微生物主要利用的是秸秆预处理后溶出的溶解性碳水化合物。两相厌氧发酵产氢产甲烷产生的能量, 是单相厌氧发酵产甲烷产生能量的 1.4~1.6 倍。

关键词: 秸秆; 污泥; pH; 厌氧发酵; 产氢; 产甲烷

中图分类号: S216.4 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2013)06-1271-06 doi:10.11654/jaes.2013.06.026

Effect of pH on Co-Production of Hydrogen and Methane from Sewage Sludge and Cornstalk in the Two-Stage Fermentation Process

LIU Di¹, LI Ru-ying¹, JI Min^{1*}, LIANG Jun-feng², CAI Yan-ming²

(1.School of Environmental Science and Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China; 2.Tianjin Key Laboratory of Agro-Environment and Agro-Product Safety, Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract: Effects of different initial pH values (4.0, 5.5, 7.0, 8.5, 10.0 and 11.5) on co-production of hydrogen and methane from pretreated cornstalk and sewage sludge were investigated in batch experiments. Results showed significant differences among the hydrogen yields under different initial pH values. At initial pH of 5.5, the maximal hydrogen yield of $32.0 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$ was obtained, and the total energy produced was $9.16 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$. At initial pH of 11.5, the maximum methane yield of $265.7 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$ and maximum total energy of $9.36 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$ were obtained. Hydrogen fermentation mainly consumed the soluble carbohydrates produced through pretreatment of cornstalk. Methane fermentation mainly utilized fatty acids produced in hydrogen fermentation stage. The total energy produced in the two-stage fermentation process was 1.4~1.6 times of that in the single-stage methane fermentation.

Keywords: cornstalk; sewage sludge; pH; anaerobic fermentation; hydrogen production; methane production

氢气是一种清洁的可再生能源, 其热值($142.35 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}$)是甲烷的 2.6 倍^[1]。目前, 氢气的工业生产主要有烃类的高温催化裂解和水的电解两种方法, 这两种方法的缺点是能耗较高^[2]。而厌氧发酵制氢可以在降解有机生物质的同时获得氢气能源, 是一种经济环保的方法^[3]。但是, 产氢发酵对有机质的利用不完全, 产

氢发酵产生的挥发性有机酸(VFA)中仍含有大量能量。这些 VFA 如果被产甲烷菌利用产甲烷, 可以进一步提取有机质中的能量^[8]。因此, 对生物质进行两相发酵产氢产甲烷可以提高生物质的能量转化率和基质利用率。

我国是一个农业大国, 每年秸秆产量大约为 1 亿 t^[4]。据统计, 目前我国的秸秆利用率仅为 33%^[5], 除了用于造纸业, 大部分是直接燃烧利用, 不仅浪费了大量资源, 还会污染环境。秸秆生物质资源丰富, 价格低廉, 因此近年来有许多研究将其作为厌氧消化的基质^[6-7]。目前我国中小城镇和农村污泥产量逐年增加且未能得到妥善处理, 从而造成环境污染问题, 而污泥

收稿日期: 2012-10-10

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2012AA063502); 天津市农业环境与农产品安全重点实验室开放基金资助项目

作者简介: 刘 頔(1987—), 女, 天津人, 环境工程硕士, 研究方向为污泥的资源化利用。

* 通信作者: 季 民 E-mail: jimin@tju.edu.cn

本身也是一种生物质资源,通过厌氧发酵可以提取污泥有机质中的能量。

近年来,厌氧发酵产生由单一底物向多种底物共同发酵的发展趋势^[9]。混合底物发酵可以解决单一底物营养成分不足的问题,使微生物得到充足的碳源和氮源^[10]。农作物秸秆 C/N 一般在 50:1 左右,通过加入污泥(C/N 约为 4.3:1),可以调节发酵底物 C/N 值,补充氮源,促进厌氧反应高效进行。

pH 值是影响厌氧发酵的一个重要因素。产甲烷菌对 pH 的适应范围在 6.8~7.2 之间,因此厌氧发酵产甲烷的最佳 pH 为中性范围^[11]。而 pH 对厌氧发酵产氢的影响与发酵底物的组成有很大关系。已有研究报道,葡萄糖发酵产氢的最佳起始 pH 值是 5.5^[12-13],秸秆发酵产氢推荐起始 pH 值为 7.0^[6,14],剩余污泥发酵产氢的最佳起始 pH 值为 11.0^[15]。对于厌氧发酵产氢产甲烷工艺,产氢效果会直接影响后续产甲烷的效果。因此,本研究采用玉米秸秆与剩余污泥混合作为底物,从气体产量、液相挥发性有机酸成分变化,以及能量分析的角度探讨起始 pH 值对秸秆与污泥混合发酵产氢产甲烷的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用的发酵底物玉米秸秆取自山东某县的粉碎秸秆,含水率为 7.46%,挥发性固体(VS)与总固体(TS)比值为 92.9%。秸秆 TS 中纤维素 31.80%,半纤维素 19.48%,木质素 28.13%,其他组分 20.58%。污泥取自天津市纪庄子污水处理厂二沉池的剩余污泥。污泥 pH 值为 6.95,含水率 98.30%,VS/TS 为 49.20%。

以 TS 质量比例 2:1 (此比例混合后底物的 C/N 为 14:1)称取玉米秸秆与污泥共 1.5 g-VS,则发酵底物浓度为 10 g-VS·L⁻¹。秸秆和污泥分别进行预处理后过滤,测定滤液中的化学需氧量(COD)、溶解性化学需氧量(SCOD)、溶解性碳水化合物、溶解性蛋白质,结果如表 1 所示。

1.2 试验方法

进行厌氧发酵前,对玉米秸秆和污泥分别进行预处理。玉米秸秆过 20 目(粒径为 0.9 mm)筛后,用 2% 的 NaOH 溶液在 50 ℃下浸泡 48 h,浸泡过程中置于 120 r·min⁻¹ 的摇床中振荡。剩余污泥用 2% 的 NaOH 溶液将 pH 值调至 12.0,室温下放置 24 h。

产氢阶段不外加接种污泥。产甲烷阶段接种实验室厌氧反应器培养的厌氧发酵产甲烷污泥 3 g,含水

表 1 底物预处理前后的性质

Table 1 Characteristics of substrate before and after pretreatment

含量/ mg·g ⁻¹ -VS 底物	污泥		秸秆		发酵 底物
	预处 理前	预处 理后	预处 理前	预处 理后	
COD ¹	303.73	294.67	—	—	—
SCOD ²	0.36	83.87	—	723.8	810.0
溶解性碳水化合物	0.14	1.13	—	110.9	120.0
溶解性蛋白质	0.97	199.9	—	未检出	204.4

注:1.样品 COD 采用重铬酸钾法测定;2.样品经 0.45 μm 滤膜过滤后采用重铬酸钾法测定。

率 93.18%,VS/TS 为 62.47%。

批次试验采用总体积 300 mL 的厌氧瓶,将预处理后污泥与秸秆的固液混合液加入其中,调整混合底物体积至 150 mL,其中 SCOD 为 8100 mg·L⁻¹,溶解性碳水化合物为 1200 mg·L⁻¹,溶解性蛋白质为 2044 mg·L⁻¹。用 HCl 和 NaOH 溶液调整瓶内 pH,分别在起始 pH 值为 4.0、5.5、7.0、8.5、10.0、11.5 下进行产氢阶段发酵试验。每个起始 pH 值条件下设有两组平行样,充氮气 15 min 吹脱空气后胶塞密封,放置在 37 ℃、120 r·min⁻¹ 的摇床中进行发酵。发酵过程中定时检测产气量和气相组分。在氢气产量开始减少,产氢阶段结束时,调整厌氧瓶内 pH 为 7,加入缓冲溶液,接种产甲烷污泥 3.0 g,充氮气 15 min 吹脱空气后胶塞密封,在 37 ℃、120 r·min⁻¹ 条件下继续产甲烷发酵。设置混合底物厌氧发酵产甲烷为对照试验,以对比产甲烷发酵与产氢产甲烷发酵的能量产率。

1.3 分析方法

产气量用玻璃注射器计量。气相组分使用装有不锈钢填充柱(TDX-01,2 m)的气相色谱仪(BEIFEN 3040,中国)测定,使用热导检测器(TCD),氦气作载气,流速为 35 mL·min⁻¹,柱温 100 ℃,进样口温度 100 ℃,检测器温度 130 ℃。挥发性有机酸(VFA)使用装有毛细管柱(HP-FFAP,0.53 mm×10 m×1 μm)的气相色谱仪(SP6890,国产)测定,使用火焰离子化检测器(FID),氮气作载气,流速为 6 mL·min⁻¹,分流比 10:1,柱温 200 ℃,进样口温度 200 ℃,检测器温度 250 ℃。污泥与秸秆的 TS、VS 用标准方法测定^[16],可溶性总糖采用蒽酮-浓硫酸法^[12],可溶性蛋白质采用 Lowry 法进行测定^[17]。

数据的统计分析采用软件 SPSS, Duncan 法检验差异显著性。氢气产率和甲烷产率由下式计算。

氢气(甲烷)产率(mL·g⁻¹-VS)=氢气(甲烷)累积产量/起始底物 VS 量

2 结果与讨论

2.1 起始 pH 对玉米秸秆与污泥混合发酵产氢的影响

在不同起始 pH 条件下的氢气产率随时间的变化如图 1 所示。各试验组产氢阶段均未有甲烷产生。在起始 pH4.0 时没有氢气产生,证明在该 pH 值下产氢受到抑制。在起始 pH5.5 时,氢气产率最高,为 $32 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{VS}$ 。在起始 pH 值为 7.0、8.5、10.0 和 11.5 时,氢气产率相近,为 $5.5 \sim 7.9 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{VS}$, 仅为起始 pH5.5 的试验组氢气产率的 17.2%~24.8%。

有研究显示,碱预处理污泥单独发酵在起始 pH11 时有最大氢气产率^[15],而碱预处理玉米秸秆单独发酵产氢时,在起始 pH5.5~7.0 时氢气产率较高^[6]。在本研究中,玉米秸秆与污泥混合发酵产氢,起始 pH5.5 的试验组氢气产率最高,这可能是由于在产氢阶段主要是利用秸秆预处理过程中溶出的糖类。本研究中的最大氢气产率 $32 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{VS}$ 与碱预处理秸秆单独发酵的氢气产率 $34 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{VS}$ ^[6]相近。

在不同起始 pH 条件下秸秆与污泥混合发酵产

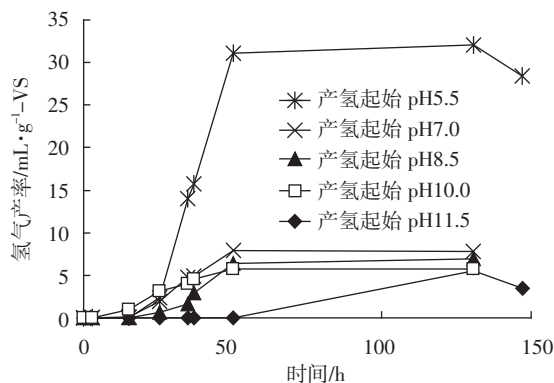


图 1 不同起始 pH 条件下的氢气产率

Figure 1 Hydrogen yields at various initial pH

氢过程中 pH 值的变化如图 2 所示。反应体系中 pH 的变化受发酵过程中产生的 VFA 和氨氮的共同作用^[13,18]。在开始阶段,pH 变化缓慢,这一阶段是发酵产氢的延迟期,氢气产量很少。各试验组 pH 变化迅速的阶段,均为其产氢速率较高的阶段。产氢结束后,初始 pH4.0 的试验组 pH 略有升高(为 4.6);初始 pH5.5~11.5 的试验组,产氢结束后 pH 降为 5.0~6.2。

2.2 混合发酵产甲烷

发酵产氢过程结束后,调整厌氧瓶内 pH 值为 7,接种产甲烷污泥,进行厌氧发酵产甲烷试验。不同起始 pH 下的甲烷产率随时间的变化如图 3 所示。在起始 pH11.5 时,有最大甲烷产率 $265.7 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{VS}$ 。这可能是由于在产氢阶段,秸秆和污泥细胞中的有机质在碱性条件下进一步溶出,为后续产甲烷阶段积累了溶解性有机质。在产氢起始 pH5.5 时,甲烷产率为 $251.4 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{VS}$,仅比起始 pH11.5 时的产率低 5%。

由图 3 可见,两相发酵各试验组的甲烷产率均远高于对照组 ($108.1 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{VS}$),证明两阶段发酵不仅可以收集氢气,对后续产甲烷也有促进作用。

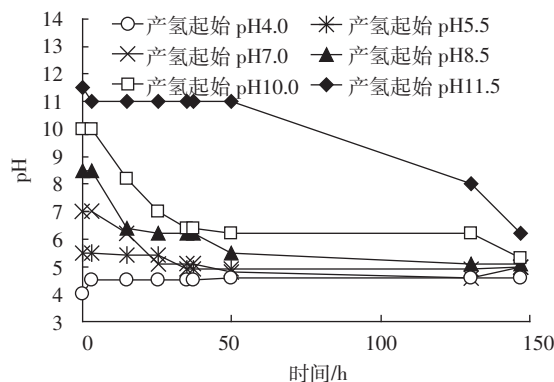


图 2 发酵过程中 pH 值变化

Figure 2 pH variation during hydrogen production

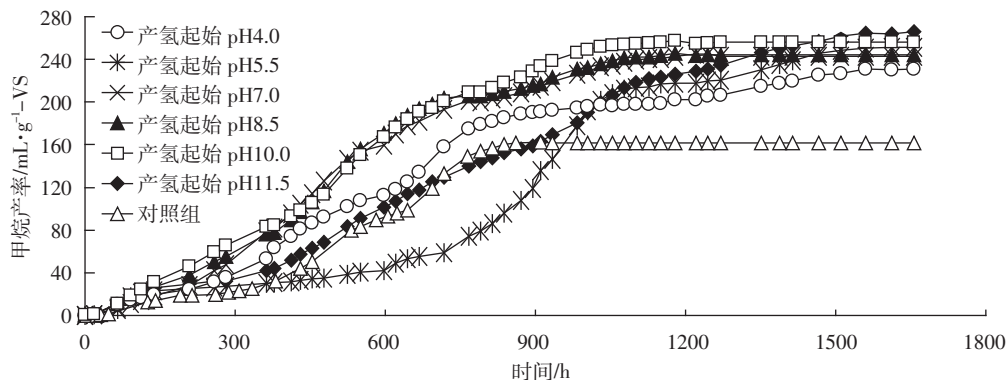


图 3 不同产氢起始 pH 值的甲烷产率

Figure 3 Methane yields at various initial pH in hydrogen fermentation

2.3 发酵过程中液相组分的变化

2.3.1 挥发性有机酸

挥发性有机酸(VFA)是有机质发酵产氢的重要副产物。表 2 列出了产氢阶段结束后 VFA 的情况。由表 2 可以看出, 由于起始 pH4.0 时未产生氢气, VFA 浓度较低, 其中乙酸为主要成分, 可能是由产乙酸的微生物发酵产生。在起始 pH5.5~11.5 条件下, 乙酸和丁酸是主要成分, 约占 VFA 的 81%~90%。在各试验组中, 起始 pH5.5 时, 乙酸和丁酸的总浓度最高, 而产乙酸和产丁酸的发酵途径更有助于氢气产生, 因此该起始 pH 的氢气产率远高于其他试验组。其中, 起始 pH 为碱性条件下乙酸比例较大, 为 59%~84%; 而中性和酸性条件下乙酸比例减小, 为 52%~53%, 丁酸比例增大, 为 33%~37%。可见 pH 不但可以影响氢气产率, 还可以影响有机酸的构成。根据以葡萄糖为底物发酵产氢的研究结果显示, pH4.0~5.0 时, 产氢发酵倾向于产丁酸, 随着 pH 提升至 6.0~8.0, 产乙酸比例增加^[12]。

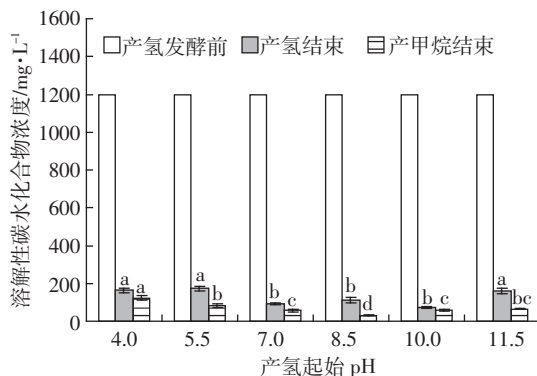
产甲烷结束时, 大部分 VFA 被产甲烷菌消耗, 仅在产氢起始 pH 值为 11.5 和 4.0 时, 有少量 VFA 残留, 分别为 119.6、98.8 mg·L⁻¹, 主要为异丁酸和异戊酸。产氢起始 pH11.5 时, 二者共占 VFA 的 83.81%, 产氢起始 pH4.0 时, 二者共占 VFA 的 92.61%。

2.3.2 溶解性碳水化合物

如表 1 所示, 发酵底物中溶解性碳水化合物大部分由秸秆碱预处理溶出。各发酵阶段溶解性碳水化合物浓度如图 4 所示。在产氢发酵阶段, 溶解性碳水化合物被大量消耗, 各试验组的降解率均在 85.6%以上, 证明产氢阶段产氢菌主要利用的是基质中的溶解性碳水化合物。其中 pH7.0~10.0 的试验组溶解性碳水化合物降解率为 90.8%~94.0%, 显著高于其他试验组。

2.3.3 溶解性蛋白质

发酵前溶解性蛋白质主要是由污泥碱预处理溶



图中同一系列柱上字母相同的表示差异不显著($P \geq 0.05$), 标记字母不同的表示差异显著($P < 0.05$)。下同

图 4 各发酵阶段的溶解性碳水化合物

Figure 4 Concentration of soluble carbohydrate at different fermentation stages

出(表 1)。各发酵阶段溶解性蛋白质浓度变化如图 5 所示。在发酵产氢阶段, 产氢起始 pH 值为 7.0 和 8.5 的试验组溶解性蛋白质浓度减小, pH 值为 4.0、5.5、10.0、11.5 的试验组溶解性蛋白质浓度有所增加, 其中 pH11.5 时产氢前后蛋白质浓度由 2044 mg·L⁻¹ 增

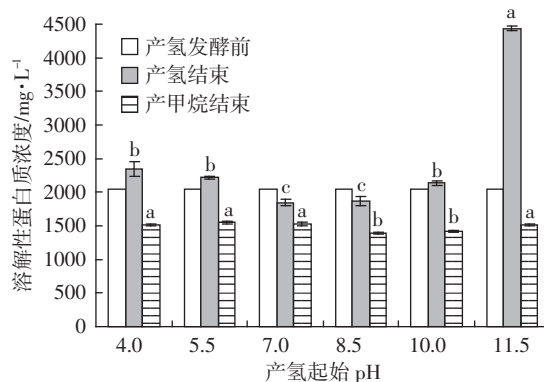


图 5 各发酵阶段的溶解性蛋白质

Figure 5 Concentration of soluble protein at different fermentation stages

表 2 不同起始 pH 产氢结束时的 VFA 浓度及组成

Table 2 Concentrations and compositions of VFA at the end of hydrogen production stage for various initial pH

起始 pH	VFA 浓度/mg·L ⁻¹	VFA 组成/%						
		乙醇	乙酸	丙酸	异丁酸	丁酸	异戊酸	戊酸
4.0	962.9	1.06	97.23	0.36	0.02	1.14	0.13	0.07
5.5	5 797.7	2.32	52.70	1.39	1.15	37.23	4.04	1.16
7.0	5 351.7	4.19	51.73	4.54	1.36	32.65	2.66	2.88
8.5	5 786.3	5.05	58.72	4.79	1.43	22.29	4.77	2.95
10.0	4 988.0	0.15	69.03	8.47	1.33	12.97	4.11	3.94
11.5	3 963.0	0.31	83.81	6.14	1.50	3.23	4.30	0.70

加至 4434 mg·L⁻¹, 与其他试验组间差异极显著 ($P<0.01$)。这可能是由于在产氢发酵过程中, 蛋白质被降解的同时污泥中的蛋白质在酸性和强碱性条件下继续被溶出。

2.3.4 溶解性化学需氧量(SCOD)

各起始 pH 值条件下, 发酵各阶段 SCOD 浓度变化如图 6 所示。产氢结束后, 各试验组间 SCOD 浓度差异显著, 且随着起始 pH 的增加呈增大趋势。起始 pH 值为 4.0 和 5.5 时, 产氢发酵过程中 SCOD 分别减少了 44.3%和 24.6%; 起始 pH 值为 7.0 和 8.5 时, 产氢发酵前后 SCOD 浓度变化不大; 而起始 pH 值为 10.0 和 11.5 时, 产氢结束后 SCOD 分别增加了 18.9%和 38.3%。产氢发酵过程中 SCOD 浓度的变化主要是由于溶解性物质转化为氢气, 同时发酵底物中的非溶解性物质在酸、碱以及微生物的作用下不断被溶出, 转化为溶解性物质。

由图 6 可见, 产氢发酵过程中, 碱性条件下, 非溶解性物质溶出的速率要大于溶解性物质消耗的速率, 这也更有利于产甲烷阶段甲烷的产生。因此, 在产氢初

始 pH 值为 10.0 和 11.5 的试验组, 在后续的产甲烷阶段也获得了相对较高的甲烷产率。

产甲烷结束后 SCOD 浓度大大减少, 液相中残余的 SCOD 主要来自于溶解性蛋白质及少量的溶解性碳水化合物, 而大部分 VFA 已经被消耗。

2.4 能量分析

根据甲烷的燃烧热 890 kJ·mol⁻¹, 氢气的燃烧热 286 kJ·mol⁻¹[9], 表 3 列出了不同起始 pH 下投加单位底物 VS 量的氢气和甲烷的累积产率, 将氢气和甲烷换算成标准状态后产生的总能量以及氢气能量与甲烷能量占总能量的百分比。由表 3 可以看出, 在产氢阶段, 起始 pH5.5 时与其他几个起始 pH 条件间存在显著性差异, 产氢效果最好。在起始 pH 值为 11.5 和 10.0 时, 均为强碱性条件, 彼此间无显著性差异。而强碱性条件与其他起始 pH 条件之间均存在显著差异。两相厌氧发酵产生总能量的分析结果显示, 不同起始 pH 条件间存在显著性差异, 起始 pH 条件对两相厌氧发酵产生总能量的影响显著。两相发酵产氢产甲烷产生的能量, 是产甲烷产生能量的 1.4~1.6 倍。两相厌氧发酵产生的大部分能量来自甲烷, 氢气能量只占总能量的 0.66%~3.93%。在产氢起始 pH11.5 时, 产生的总能量最高, 为 9.36 kJ·g⁻¹-VS。在起始 pH5.5 时, 氢气能量比例最高, 总能量为 9.16 kJ·g⁻¹-VS, 比起始 pH11.5 时的总能量产率仅低 2%。

3 结论

(1)玉米秸秆与污泥混合发酵, 当底物浓度为 10 g-VS·L⁻¹ 且起始 pH5.5 时, 氢气产率最大, 为 32.0 mL·g⁻¹-VS, 甲烷产率为 251.4 mL·g⁻¹-VS, 仅比起始 pH11.5 时的甲烷产率低 5%。

(2)秸秆与污泥混合发酵, 在产氢阶段, 主要利用

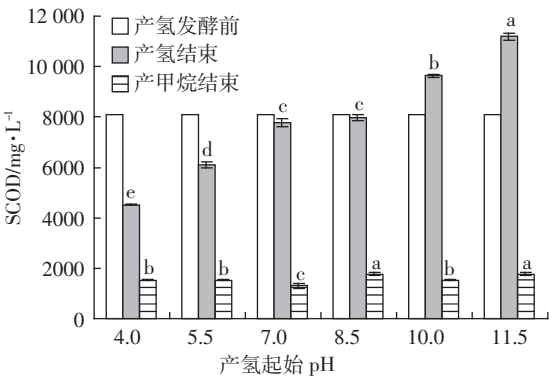


图 6 各发酵阶段的 SCOD

Figure 6 Concentration of SCOD at different fermentation stages

表 3 不同起始 pH 条件下产生的氢气和甲烷能量对比
Table 3 Hydrogen and methane energy production at various initial pH

起始 pH	氢气			甲烷			总能量/ kJ·g ⁻¹ -VS
	产率/mL·g ⁻¹ -VS	能量/kJ·g ⁻¹ -VS	占总能量的百分比	产率/mL·g ⁻¹ -VS	能量/kJ·g ⁻¹ -VS	占总能量的百分比	
对照	0.0	0.00	0.00	162.1	5.67	100.00	5.67
4.0	0.0d	0.00	0.00	231.3e	8.10	100.00	8.10e
5.5	32.0a	0.36	3.93	251.4c	8.80	96.07	9.16b
7.0	7.9b	0.09	1.03	245.3d	8.58	98.97	8.67d
8.5	6.9b	0.08	0.89	245.4d	8.59	99.11	8.67d
10.0	5.8c	0.07	0.72	257.5b	9.01	99.28	9.08c
11.5	5.5c	0.06	0.66	265.7a	9.30	99.34	9.36a

注: 同列数据标记字母相同的为差异不显著 ($P\geq0.05$), 标记字母不同的为差异显著 ($P<0.05$)。

的是基质中的溶解性碳水化合物,乙酸和丁酸是VFA产物的主要组分,占总VFA的81%~90%。产甲烷结束后,只有产氢起始pH值为4.0和11.5两组有少量VFA残留。

(3)两相发酵产氢产甲烷产生的能量,是单产甲烷产生能量的1.4~1.6倍。在起始pH11.5时,产生的总能量最高,为 $9.36 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$ 。在起始pH5.5时,氢气能量比例最高,总能量为 $9.16 \text{ kJ} \cdot \text{g}^{-1}\text{-VS}$,比起始pH11.5时的总能量产率仅低2%。

参考文献:

- [1] ZHU He-guang, Stadnyk A, Beland M, et al. Co-production of hydrogen and methane from potato waste using a two-stage anaerobic digestion process[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(11):5078-5084.
- [2] Das D, Veziroglu T N. Advances in biological hydrogen production processes[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2008, 33(21):6046-6057.
- [3] LI Ru-ying, Fang H H P. Heterotrophic photo fermentative hydrogen production[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2009, 39(12):1081-1108.
- [4] Lay J J. Biohydrogen generation by mesophilic anaerobic fermentation of microcrystalline cellulose[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2001, 74(4):280-287.
- [5] 李日强, 席玉英, 曹志亮, 等. 纤维素类废弃物的综合利用[J]. *中国环境科学*, 2002(1):25-28.
LI Ri-qiang, XI Yu-ying, CAO Zhi-liang, et al. Complex use comprehensive utilization of wastes containing cellulose[J]. *China Environmental Science*, 2002(1):25-28.
- [6] ZHANG Mao-lin, FAN Yao-ting, XING Ying, et al. Enhanced biohydrogen production from cornstalk wastes with acidification pretreatment by mixed anaerobic cultures[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2007, 31(4):250-254.
- [7] MA Sheng-hua, WANG Hui, WANG Yu, et al. Bio-hydrogen production from cornstalk wastes by orthogonal design method[J]. *Renewable Energy*, 2011, 36(2):709-713.
- [8] XIE Bin-fei, CHENG Jun, ZHOU Jun-hu, et al. Cogeneration of hydrogen and methane from glucose to improve energy conversion efficiency[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2008, 33(19):5006-5011.
- [9] 徐鑫, 寇巍, 张大雷, 等. 以秸秆和厨余垃圾为原料发酵产甲烷工艺的优化[J]. *可再生能源*, 2010, 28(6):76-79.
- XU Xin, KOU Wei, ZHANG Da-lei, et al. Technological optimization on stalk and kitchen residues fermentation for methane production[J]. *Renewable Energy*, 2010, 28(6):76-79.
- [10] Corte P, Lacoste C, Traverse J P. Gasification and catalytic conversion of biomass by flash pyrolysis[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 1985, 7(4):323-335.
- [11] Ward A J, Hobbs P J, Holliman P J, et al. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(17):7928-7940.
- [12] ZHENG Xian-jun, YU Han-qing. Roles of pH in biologic production of hydrogen and volatile fatty acids from glucose by enriched anaerobic cultures[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2004, 112(2):79-90.
- [13] Fang H H P, LIU Hong. Effect of pH on hydrogen production from glucose by a mixed culture[J]. *Bioresource Technology*, 2002, 82(1):87-93.
- [14] LI Dong-min, CHEN Hong-zhang. Biological hydrogen production from steam-exploded straw by simultaneous saccharification and fermentation[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2007, 32(12):1742-1748.
- [15] ZHAO Yu-xiao, CHEN Yin-guang, ZHANG Dong, et al. Waste activated sludge fermentation for hydrogen production enhanced by anaerobic process improvement and acetobacteria inhibition: The role of fermentation pH[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(9):3317-3323.
- [16] 国家环保局. 水和废水监测分析方法[M]. 第四版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002:354-359.
Ministry of Environmental Protection of the People's Republic of China. Determination methods for examination of water and wastewater[M]. fourth edition. Beijing: China Environmental Science Press, 2002:354-359.
- [17] Lowry O H, Rosebrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, 193(1):265-275.
- [18] Lee Yong-wee, Chung Jin-wook. Bioproduction of hydrogen from food waste by pilot-scale combined hydrogen/methane fermentation[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2010, 35(21):11746-11755.
- [19] DiStefano T D, Palomar A. Effect of anaerobic reactor process configuration on useful energy production[J]. *Water Research*, 2010, 44(8):2583-2591.