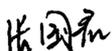


独创性声明

本人声明所呈交的学位论文是在导师指导下进行大量的研究工作后所取得的研究成果。除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包括为获得 合肥工业大学 或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同学对本研究所做的贡献均已在论文中作了明确的说明，在此向他们表示谢意。

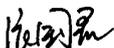
学位论文作者签字：

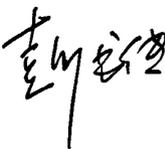
签字日期：2011年4月28日

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解 合肥工业大学 有关保留、使用学位论文的规定，有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权 合肥工业大学 可以将学位论文的全部或部分内 容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。

(保密的学位论文在解密后适用本授权书)

学位论文作者签名：

导师签名：

签字日期：2011年4月28日

签字日期：2011年4月28日

学位论文作者毕业后去向：

工作单位：

电话：

通讯地址：

邮编：

餐厨垃圾厌氧发酵产氢研究

摘 要

由于化石能源的不可再生性以及储量的日益减少,使得能源问题越来越突出,能源供给面临巨大的挑战。而氢气作为一种新型的清洁能源,受到广泛关注。氢气具有能量密度高、清洁卫生等特点,是十分理想的“绿色能源”。

餐厨垃圾是城市垃圾的主要构成组分,含有大量可生物利用的有机化合物,是厌氧发酵产氢的优质底物。利用餐厨垃圾发酵制氢,实质是产氢产酸菌利用餐厨垃圾中的有机物,分解为氢气和二氧化碳,并产生有机酸和乙醇等物质的过程。

本实验在前人的研究基础上,以餐厨垃圾为底物,厌氧污泥为接种微生物源,研究利用不同预处理方法(酸、碱、热预处理),以抑制产甲烷菌的活性,从而提高厌氧污泥产氢产率;研究利用添加秸秆对餐厨垃圾产氢的影响;最后,研究了变温发酵对餐厨垃圾的产氢过程的影响,并对产氢体系进行了优化。结果表明:

(1) 酸、碱、热三种预处理方式对厌氧发酵产氢有较强的促进作用,其中,碱处理的厌氧污泥效果最好,产氢量和氢气浓度均高于热处理和酸处理污泥。

(2) 添加秸秆对餐厨垃圾产氢有促进作用,随着稻草添加量的增加,产氢量有较大幅度的增加,当秸秆添加量为 70%时达到最高,之后,随着秸秆添加量的增加有下降趋势。

(3) 中温是餐厨垃圾产气的最适条件,在高温条件下微生物的活性受到影响。经过变温调控,氢气的浓度和产量均得到有效提高。

关键词: 餐厨垃圾 厌氧发酵 氢气

Study on Bio-hydrogen production using Food Wastes via Anaerobic Fermentation

ABSTRACT

Traditional fossil fuel is non-renewable and is increasingly depleted which makes the energy supply be the big challenge of the development of the society. Hydrogen, a type of new clean energy, is attracting widespread attention. Hydrogen has high energy density, conversion and flexible, clean and is the ideal green energy.

Food waste is the main composition of municipal solid waste, containing a large number of organic compounds, easily biodegradable, is a potential substrate for hydrogen production through anaerobic fermentation. Food waste is hydrolyzed and fermented by acidogenic bacteria in the anaerobic process. Hydrogen and carbon dioxide are the two major gas product and the organic acids, ethanol and other substances are produced as the liquid product.

In this study, food waste is used as the substrate and anaerobic sludge as the inoculum. Firstly the effluence of different pretreatment methods (acid, alkali, heat pretreatment) on anaerobic sludge on the the activity of methanogens and hydrogen production were investigated. Secondly the rape straw was added to improve the hydrogen production of food waste. Finally the effluence of temperature of on the hydrogen production was studied. The results are list as follows.

(1) Effect of pretreatment of inoculum sludge using acid, alkali, heat pretreatment methods has promoted the hydrogen production significantly. Alkali treatment was the optimum pretreatment approach based on the hydrogen production yield and partial pressure of hydrogen.

(2) Addition of rape straw inot the food waste can greatly promote hydrogen production. The hydrogen production reaches the maximum value when 70% addition of the rape straw.

(3) Mesophilic temperature is the optimum condition of hydrogen production process and the high temperature condition will affect the activity of microorganisms. Operation of the anaerobic reactor with temperature phase improved the hydrogen partial pressure and the hydrogen production yield and production have been effectively improved.

Keywords: Food waste Anaerobic fermentation Hydrogen

致 谢

本文的研究工作是在导师彭书传教授的亲切关怀和精心指导下完成的。

特别感谢彭老师在我学习和实验过程中给予的悉心指导。在论文的选题和实验的开展过程中彭老师均给予了我无私的指导和帮助，提出了许多宝贵的意见，将使我终身受益。彭老师渊博的知识和严谨的治学态度，使我终生难忘！在此，特向彭老师表示我最衷心的感谢！

在实验阶段，曾得到环境教研室其他老师尤其是岳正波和王进老师的帮助，感谢岳老师在百忙之中给予的指导以及宝贵的建议，在此向他们表示最诚挚的感谢；还要感谢我的师弟黄尊旺、黄思聪、葛勇，师妹王彩玲，他们在试验过程中给予了极大的热情并为我提供了很多帮助。

在三年的学习期间，还得到了其他很多同学的帮助，在此也向他们表示我最诚挚的谢意！特别感谢我的家人在我求学过程中给予的支持、理解和鼓励，正是他们无私的爱和关心使我能够顺利完成学业。

感谢所有帮助过我的老师和同学！

感谢论文评审委员和答辩委员会委员对论文的批评和指正，谢谢！

作者：张国君
2011年3月10日

目 录

第一章 绪 论	1
1.1 研究背景及现状	1
1.2 餐厨垃圾的产生与现状	2
1.3 生物制氢概况	5
1.3.1 产氢生物介绍	5
1.3.2 生物制氢的种类	5
1.3.3 厌氧发酵产氢的途径及类型	6
1.4 影响厌氧发酵产氢的主要因素	11
1.5 研究意义、研究目标和研究内容	13
1.5.1 研究意义	13
1.5.2 研究目标	14
1.5.3 研究内容	14
第二章 材料与方 法	16
2.1 实验过程	16
2.2 实验装置	16
2.3 实验材料	17
2.4 主要实验仪器与药品	17
2.5 主要测定项目及方法	19
2.5.1 样品分析	19
2.5.2 气体的计量	19
2.5.3 气体组分含量的测定	20
2.5.4 秸秆组分的测定	20
第三章 污泥预处理对餐厨垃圾产氢的影响	21
3.1 热处理法	21
3.1.1 实验材料	21
3.1.2 分析方法	21
3.1.3 试验方法	21
3.1.4 实验结论	21
3.2 酸碱热预处理	26
3.2.1 实验材料	26
3.2.2 分析方法	26
3.2.3 试验方法	26
3.2.4 结果与分析	27
3.3 小结	31

第四章 添加秸秆对餐厨垃圾产氢的影响	32
4.1 实验材料.....	32
4.2 分析方法.....	32
4.3 实验方法.....	32
4.4 结果与分析.....	33
4.4.1 秸秆对餐厨垃圾发酵产气的影响.....	33
4.4.2 秸秆对餐厨垃圾发酵产氢的影响.....	34
4.4.3 厌氧发酵反应前后参数变化.....	36
4.4.4 稻草秸秆组分变化.....	38
第五章 温度对餐厨垃圾产氢的影响	39
5.1 实验材料.....	39
5.2 分析方法.....	39
5.3 实验方法.....	39
5.4 结果与分析.....	39
5.4.2 温度调控对餐厨垃圾发酵产氢的影响.....	41
5.4.3 反应前后参数变化.....	43
5.4.4 稻草秸秆组分变化.....	44
5.5 小结.....	44
第六章 结论与展望	45
6.1 结论.....	45
6.2 展望.....	45
参考文献	46
攻读硕士期间发表的论文	51

插图清单

图 1-1 厌氧发酵产氢途径.....	7
图 1-2 梭状芽孢杆菌丁酸型发酵途径.....	9
图 1-3 丙酸杆菌属的丙酸型发酵途径.....	10
图 1-4 细菌乙醇型产氢发酵途径.....	11
图 2-1 实验过程.....	16
图 2-2 实验装置.....	16
图 3-1 不同热处理时间对累计产气量的影响.....	22
图 3-2 不同热处理时间对氢气含量的影响.....	22
图 3-3 不同热处理时间对累积产氢量的影响.....	23
图 3-4 不同热处理时间的氢气比产氢率.....	23
图 3-5 发酵反应前后有机酸 (VFA) 的变化.....	25
图 3-6 不同接种物预处理对累积产气量的影响.....	27
图 3-7 不同接种物预处理对氢气体积含量的影响.....	28
图 3-8 不同接种物预处理对累积产氢量的影响.....	28
图 3-9 氢气的比产氢率.....	29
图 3-10 发酵反应前后有机酸 (VFA) 的变化.....	30
图 4-1 秸秆添加量对累积产气量的影响.....	33
图 4-2 秸秆添加量对氢气体积分数的影响.....	34
图 4-3 秸秆添加量对累积产氢量的影响.....	35
图 4-4 稻草添加量的比产氢率.....	35
图 4-5 发酵反应前后 VFA 的变化.....	37
图 4-6 不同添加量下秸秆组分变化.....	38
图 5-1 温度调控对累积产气量的影响.....	40
图 5-2 温度调控对氢气体积含量的影响.....	41
图 5-3 温度调控对累积产氢量的影响.....	41
图 5-4 不同温度的比产氢率.....	42
图 5-5 发酵反应前后 VFA 的变化.....	43
图 5-6 反应前后秸秆组分变化.....	44

表格清单

表 1-1 餐厨垃圾的处置方法	3
表 1-2 不同的餐厨垃圾厌氧发酵的产氢效果	4
表 1-3 产氢生物的种类	5
表 1-4 厌氧消化过程	7
表 1-5 发酵 100mol 葡萄糖产生的产物组成	8
表 1-6 不同微生物的生长温度范围	12
表 2-1 餐厨垃圾组成成分	17
表 2-2 主要实验仪器	17
表 2-3 主要实验药品	18
表 3-1 反应前后体系浓度的对比	24
表 3-2 反应前后体系浓度的对比	30
表 4-1 实验处理方法	32
表 4-2 反应前后体系浓度的对比	36
表 5-1 实验处理	39
表 5-2 反应前后体系浓度的对比	43

第一章 绪 论

1.1 研究背景及现状

随着社会的不断发展,人类对能源的需求日益增加。能源是人类赖以生存的要害,是经济、社会发展重要的战略物资。我国的能源消耗增长是世界上最快的国家之一,能源问题十分严峻^[1]。据不完全统计,化石燃料占全球消耗能源的80%以上。当今世界,以石油为原料的燃料燃烧,会产生大量的环境污染。化石燃料的燃烧产生二氧化碳,使得气候变暖,造成全球的温室效应,气候反常,灾害不断;不仅如此,燃烧排放出的大量烟尘、二氧化硫、氮氧化物等也会使环境恶化,污染大气;同时,能源利用中排放的污水还会污染水资源。由于化石燃料燃烧造成的各种污染事件层出不穷,也直接威胁到了人类的生存和生命财产安全。

由于化石燃料储量有限,并且逐渐趋于枯竭,人们也逐渐意识到了前所未有的能源危机。因此,近年来,人们的研究主要聚焦在可再生能源方面^[2-6]。可再生能源中,太阳能最受关注,但与化石能源相比,光电池的价格相对较高。中国西部储存了丰富的天然气资源,但也是不可再生的。因此,生物质能以其开发成本低、开发技术要求低、获得范围广、收益大等优点受到广泛关注。生物质能的开发技术包括沼气技术、生物质热裂解气化、生物质发电及生物质液体燃料等。在这些技术中,生物制氢技术的主要产物是氢气,与氧气的燃烧产物是水,对环境没有污染,因而成为研究的热点。

氢气不仅是其他能源的重要中间载体,同时也用于化工产品和食品工业中脂肪和油类的氢化、燃料电池的制作、低分子饱和化合物的生产、钢材的防腐防氧化处理、石油的脱硫与重整等。据报道,每年全球氢气贸易量已高达5000万吨,并以10%的速度逐年递增。由于氢气需求量的不断增长,同时具有开发成本低、清洁环保等优点,已经受到世界的广泛重视,氢气的生产开发势在必行。

氢气是一种理想的新型能源,不含碳、硫及其他的有害杂质,被誉为“未来燃料”。氢气的燃烧只生成水,而且储量巨大。氢气具有清洁、无污染、能量密度高和可再生的特点,而且热值和热转化率很高,受到广泛关注^[7-8]。

目前氢气的制备工艺包括:水电解法制氢、热化学分解水、热催化重整、热解、气化、汽化富氢有机化合物^[9-11]、太阳能制氢、天然气或工业尾气分离制氢、生物制氢等^[12-14]。传统的理化法制备氢气要消耗大量的矿物资源,能耗大、成本高,生产过程中会产生污染物,对环境也有一定的污染。而生物制氢没有任何污染,利用的是可再生资源,而且可以循环往复,是一种很有潜质的制氢方法。

1.2 餐厨垃圾的产生与现状

餐厨垃圾俗称泔脚，主要来源于居民、餐饮行业、中小学和企事业食堂，在食物加工过程产生的食物废料及剩余物。餐厨垃圾产量大、成分复杂，其主要成分有米面、蔬菜、动植物油、果皮、肉骨等，以及少量的废餐具、塑料袋和餐纸等。主要化学成分为淀粉、蛋白质、脂类、纤维素和无机盐等，同时含有少量 N、P、K、Ca、Na、Mg、Fe 等微量元素。餐厨垃圾的物理性状为固液混合态，而且非常粘稠。由于其成分复杂，且富含有机质，因而容易滋生虫蝇，导致疾病传播。

随着人类生活水平的不断提高，日常产生的生活垃圾不断增加，餐厨垃圾的总量和在固体废弃物中所占的比例也不断增加。据统计^[15]，我国的餐厨垃圾正以每年约 10% 的速度增加，像上海、北京等主要城市的餐厨垃圾产量均超过了 1000t/d。餐厨垃圾含水率较高，脱水性能较差，在高温环境下易腐烂，从而造成蚊蝇、病菌滋生，影响人类的生存环境。因此，如何有效地处理餐厨垃圾，对改善人们的生活品质、缓解环境压力具有十分重要的意义。另一方面，餐厨垃圾具有营养成分丰富、有机物含量高等特点，是理想的发酵底物。利用餐厨垃圾生物降解获得清洁能源，不但可以解决环境污染问题，更能实现废弃物的资源化利用，变废为宝。

以前，餐厨垃圾的处置是直接喂猪，这样可能引起动物疾病，危害人类的健康。饭店中使用的洗涤剂、消毒剂等，会使餐厨垃圾中含有铅、汞等重金属以及黄曲霉等物质，猪长期食用后，这些有毒有害物质会在猪的体内不断积累，并通过食物链进入人体内，在一定程度上引起慢性中毒；此外，餐厨垃圾中含有的金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、肝炎病毒等致病微生物，可能引发多种疾病；还会传播一些烈性传染病，如乙肝、口蹄疫等；在加工、运输、储存餐厨垃圾的过程中，没有采取任何防治措施，造成环境污染，影响市容和环境卫生。

目前，餐厨垃圾的处置方法主要有：好氧堆肥^[16]、厌氧发酵、高温消毒制取肥料、随生活垃圾混合进入填埋、焚烧等方法，见表 1-1。各种方法都存在着不同的问题。近年来，随着化石能源的日渐枯竭和垃圾回收利用技术的不断成熟，城市垃圾综合资源化已成为关注的焦点。餐厨垃圾中含有大量的纤维素和淀粉等有机物质，生物可降解性强。因此，生物方法已经逐渐成为餐厨垃圾处理的主要发展方向之一。

表 1-1 餐厨垃圾的处置方法

Table 1-1 The disposal methods of food waste

技术	方法	优点	缺点
堆肥	利用微生物将垃圾中易降解有机物逐步降解,最终形成稳定的腐殖质	不需要其他能源和人工管理,操作管理方便	占地面积大,减容效果不理想,重金属可能会通过食物链的传递对人类产生毒害作用
焚烧	以一定的过剩空气量与被处理的有机废物在焚烧炉内进行氧化分解反应,废物中的有毒有害物质在高温中氧化、热解而被破坏	处理量大,减容性好,无害化彻底,而且能回收热能	对垃圾的低位热值有一定要求,设备一次性投资大、运行成本高、耗能大,有可能产生烟尘及二噁英而形成二次污染
填埋	利用天然地形或人工构造形成一定的空间,将固体废物填充、压实、覆盖,达到贮存的目的	投资少、不需要高度脱水或自然干化,适于处理多种类型固体废物、技术成熟	占用大量的土地资源,受地理和水文地质条件限制较多,对于土壤、地下水和大气都会造成影响和潜在的危害
制取肥料	餐厨垃圾经预处理后,制成动物饲料,进行资源化利用	能充分利用餐厨垃圾中有机营养成分	垃圾废物中的微量有毒有害物质对动物和人类的健康安全带来不利影响
生物处理	利用生物尤其是微生物对有机固体废物的分解作用使其无害化,并使它们转化为能源、食品、饲料和肥料,还可从废品和废渣中提取金属	有降解有机废物,减少环境污染,节约不可再生能源等优点	

越来越多的研究表明,餐厨垃圾是适合厌氧发酵的很好的基质。由于餐厨垃圾富含碳水化合物且易降解,是产氢原料的较优选择。表 1-2 为国内外餐厨垃圾厌氧发酵产氢的现状研究^[17]:

表 1-2 不同的餐厨垃圾厌氧发酵的产氢效果

Table 1-2 Hydrogen production of food waste in previous researches

基质	实验规模	菌种类型与来源	产氢效果
餐厨垃圾+污泥	血清瓶实验	混合菌种 (<i>Clostridium</i> sp. 为主)	以每克碳水化合物 COD 计, 产氢率达到 122.9mL, 或 111.2 mL / h 以每克 VSS 计
餐厨垃圾+污泥	厌氧滤床小试	混合菌群	总发酵效率最高达到 58 %
餐厨垃圾	半连续反应器 200g 底物	100℃ 预处理的河 道底泥	产氢速率最大为 10.9m ³ / (m ³ ·d), 氢气体积分 数最高为 65%
餐厨垃圾	12L 批式反应器	厌氧污泥	由于 VFA 的累积, 使得 系统的产气量不再增 加, 当减少系统 VFA 的 浓度时, 产气得到恢复
餐厨垃圾	10Kg 厌氧发酵 罐	自体	由于乳酸发酵, 会抑制 其他细菌生长, 最终影 响到反应的发酵启动与 进程
餐厨垃圾	反应器小试	高温和中温菌群	中温条件下检测到少量 甲烷, 高温条件下无甲 烷, 且氢气产量要高于 中温条件, 氢气的含量 最高达到 69%
餐厨垃圾、蔗 糖、脱脂牛奶	250mL 血清瓶	过 20 目筛的厌氧污 泥	产氢量和产氢率随着底 物的增加都增加。餐厨 垃圾、蔗糖、脱脂牛奶 的最大产氢率分别为 101、234、119mL 以每 克 COD 计

(引自: 牛冬杰, 赵亚萱, 刘常青等. 餐厨垃圾厌氧产氢综述. 环境污染与防治[J], 2007, 29(5): 271-275.)

1.3 生物制氢概况

1.3.1 产氢生物介绍

迄今为止，已研究报道的产氢生物类群包括了光合生物（包括藻类和光合细菌）、非光合生物（严格厌氧细菌、兼性厌氧细菌和好氧细菌）。厌氧发酵产氢的微生物主要包括两类：一是专性厌氧微生物，它们具有细胞色素体系，通过产生丙酮酸或丙酮酸的代谢途径来产氢。另外一类是兼性厌氧菌，它们含有细胞色素体系，通过分解甲酸的代谢途径产氢。

发酵产氢的微生物主要有：肠道芽孢杆菌属（*Enterobacter*）、梭状芽孢杆菌属（*Clostridium*）、埃希氏肠杆菌属（*Escherichia*）和杆菌属（*Bacillus*）四大类，目前发酵法产氢研究的最多的是梭状芽孢杆菌属^[18-19]和肠道芽孢杆菌属^[20-21]。前者如丁酸梭状杆（*Clostridium butyricum*）和拜氏梭状芽孢杆菌（*Clostridium pasteurianum*）等，后者如产气肠杆菌（*Enterobacter aerogenes*）和阴沟肠杆菌（*Enterobacter cloacae*）等。各类微生物产氢状况见下表 1-3。

表 1-3 产氢生物的种类

Table 1-3 Species of hydrogen producing bacteria

生物类群	代表种属
严格厌氧细菌	梭菌属（ <i>Clostridium butyricum</i> ）、甲基营养菌（ <i>Methylophs</i> ）、 产甲烷菌（ <i>Methanogenic bacteria</i> ）、胃细菌（ <i>Rumen bacteria</i> ）、 古细菌（ <i>Archaea</i> ）
兼性厌氧细菌	大肠杆菌（ <i>Escherichia coli</i> ）和肠道细菌（ <i>Enterobacter</i> ）
好氧细菌	地衣芽孢杆菌（ <i>Bacillus licheniformis</i> ）
嗜热古细菌	焦酚火球菌（ <i>Pyrococcus furious</i> ）
甲烷细菌	<i>Methylosinus trichosporium</i> 、 <i>Methylomonas albus</i>
光合细菌	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
光合细菌+	纤维单细胞菌（ <i>Cellulomonas+</i> ）

1.3.2 生物制氢的种类

(1) 光解水产氢

许多藻类能进行产氢代谢，其中以蓝细菌、绿藻、红藻为代表。它们在厌氧条件下，通过光合作用将水分解成氢气和氧气。在同一个光合系统中，存在

着两个光合作用中心（光合系统 PS I 和光合系统 PS II），他们是相对独立又相互协作的。其中 PS II 吸收阳光，并利用太阳能将水分解成氢离子、电子和氧气，而 PS I 则生成还原力用以固定 CO₂。这种方法的优点是原料水和太阳能来源丰富且价格低廉，缺点是水分解产生的 O₂ 会抑制氢酶的活性。

(2) 光合生物产氢

光合细菌产氢，以太阳能作为能源。光合产氢的代表生物是光和细菌和藻类。光合细菌只有一个光合作用中心 PS I，因此，光合细菌以有机物为电子供体进行光合作用。光合细菌产氢的机制是：光子被捕获到光合作用单位后，能量送至光合反应的中心进行电荷分离，并产生高能电子，造成质子梯度而合成 ATP（腺嘌呤核苷三磷酸）。高能电子从 Fd 通过 Fd-NADP⁺，还原酶传至 NADP⁺（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸）形成 NADPH（烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸），ATP 和 NADPH 通过固氮酶进 H⁺ 还原，最终生成 H₂^[22]。

(3) 厌氧发酵产氢

厌氧细菌利用含碳水化合物的底物，产生气体，生成的混合气体含有 H₂、CO₂ 和 CH₄ 等。厌氧发酵主要是化能异养微生物，由于厌氧菌缺少正常的氧化磷酸化的途径，因此，在生长过程中电子得不到有效释放而不断积累，需要特殊的调节机制来调节电子流动，其中可以通过产生氢气来消耗多余的电子^[23]。目前关于厌氧产氢的生物化学和分子生物学等已经基本探明。

1.3.3 厌氧发酵产氢的途径及类型

目前，人们普遍将厌氧消化过程分为四个阶段，水解阶段、酸化阶段、产氢产乙酸阶段和产甲烷阶段。在这四个阶段中，各类微生物菌群及作用见表 1-4。在厌氧消化的过程中，由于四大类菌群的相互协同作用，使得复杂的有机物最终降解为 H₂ 和 CH₄。产氢最终来源于厌氧消化的第三阶段。根据末端发酵产物的不同，通常把发酵类型分为三类：丁酸型、丙酸型和乙醇型发酵^[24]，如图 1-1 所示。

表 1-4 厌氧消化过程

Table 1-4 Anaerobic digestion process

菌群	作用
水解阶段 水解、发酵性细菌群	大分子有机物在细菌胞外酶的作用下分解为小分子水解产物,之后小分子水解产物溶解于水并透过细胞膜被细菌所利用
酸化阶段 产氢、产乙酸细菌	水解小分子化合物,转化为更为简单的化合物并分泌到细胞外
产氢产乙酸阶段 产氢产乙酸细菌	水解酸化阶段产物进一步分解为乙酸、氢气、二氧化碳以及新的细胞物质
产甲烷阶段 产甲烷菌群	将氢气和二氧化碳合成甲烷或将乙酸脱羧生成甲烷和二氧化碳,或者利用甲酸、甲醇及甲基胺裂解为甲烷

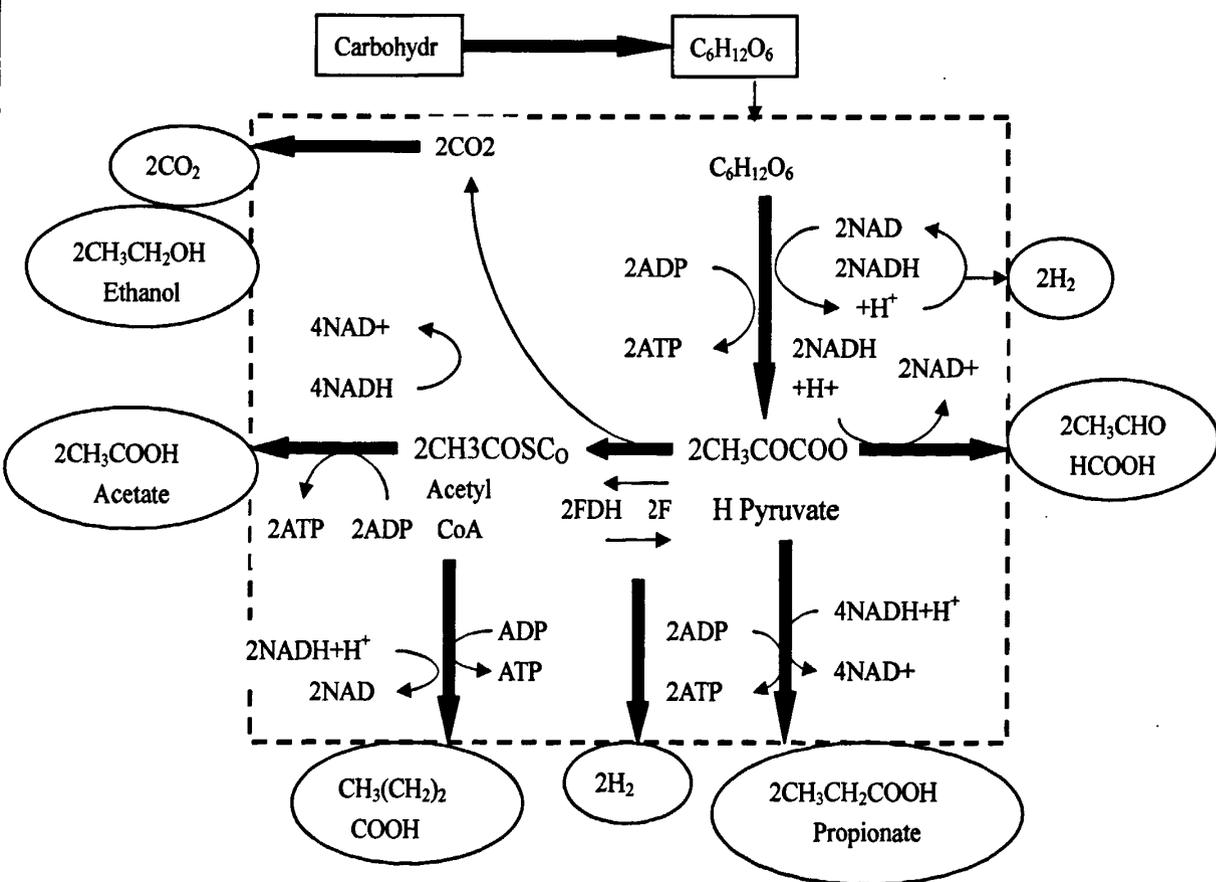


图 1-1 厌氧发酵产氢途径

Fig.1-1 Pathways of hydrogen production by anaerobic fermentation

(引自: Ren N Q, Wang BZ, Huang JC. Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor[J]. Biotech&Bioeng, 1997, 54(5): 428-433.)

(1) 丁酸型发酵(butyric acid-type fermentation)产氢

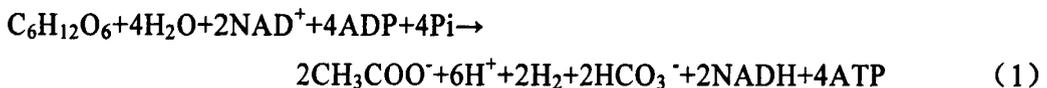
研究表明, 可溶性碳水化合物, 如蔗糖、葡萄糖、乳糖、淀粉等发酵以丁酸型发酵为主。发酵的末端产物主要为丁酸, 另外还有乙酸、CO₂、H₂和少量的丙酸。丁酸型发酵主要利用梭状芽孢杆菌属(*Clostridium*)产氢, 如酪丁酸梭状芽孢杆菌(*C.tyrobutyricum*)和丁酸梭状芽孢杆菌(*C.butyricum*)。如表 1-5。

表 1-5 发酵 100mol 葡萄糖产生的产物组成

Table 1-5 The production of fermentation of 100mol glucose

菌种	Butyric acid/mol	Acetic acid /mol	CO ₂ /mol	H ₂ /mol	C 回收率/%	O/R 平衡
<i>C.butyricum</i>	76	42	188	235	96	0.97
<i>C.tyrobutyricum</i>	73	28	190	182	91	1.16

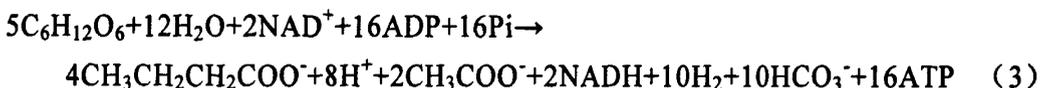
梭状芽孢杆菌属发酵葡萄糖为丁酸和乙酸, 并以中间产物乙酰 CoA 作为分叉点(如图 1-2)所示^[25]。从氧化还原反应平衡来看, 产乙酸过程产生大量的 NADP+H⁺, 将乙酸作为唯一的终产物是不理想的。其生化反应式如下:



因为乙酸的生成途径是没有还原力的, 当乙酸产率较高时, 就会导致 NADH+H⁺大量过量, 同时由于乙酸所形成的酸型末端过多, 因此, 常常因为 pH 太低而造成负反馈作用。在葡萄糖的产丁酸过程中, 产乙酸过程中过剩的 NADH+H⁺并不能被氧化, 但是在产丁酸的过程中, 可以减少 NADH+H⁺的产生量, 同时也可以减少发酵产物中的酸型末端, 因此, 促进了葡萄糖的代谢进程, 也因此出现了产乙酸过程与丁酸循环机制的偶联。



以丁酸型发酵的末端产物的平衡来分析, 丁酸与乙酸物质的量比约为 2: 1, 反应式如下所示:



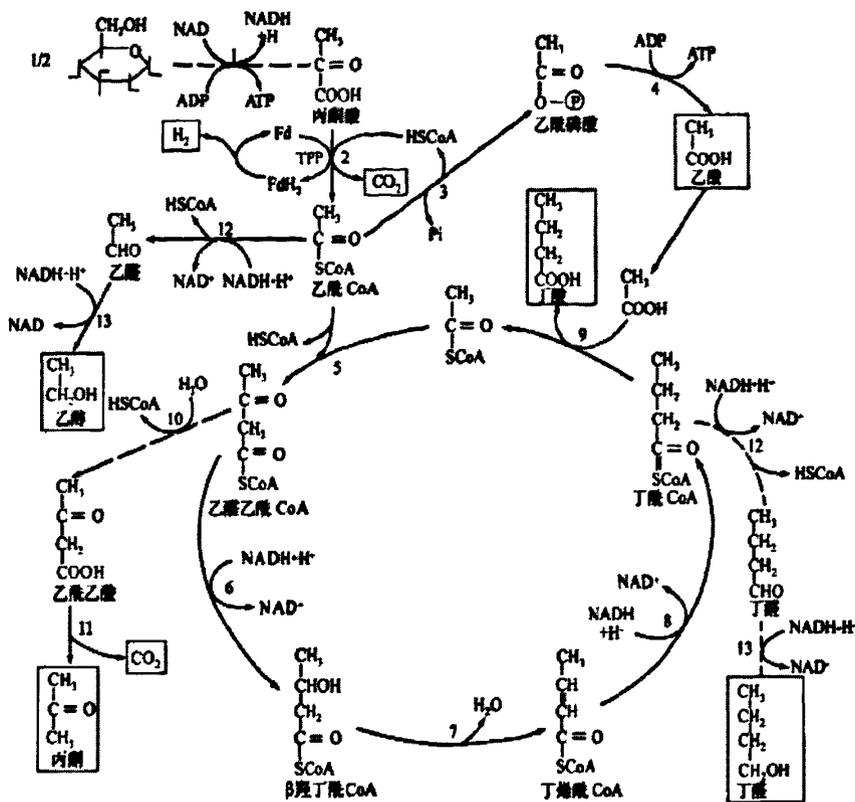


图 1-2 梭状芽孢杆菌丁酸型发酵途径

Fig.1-2 Pathways of butyric acid-type fermentation by *clostridium butyricum*

(引自: 任南琦. 厌氧技术原理与应用. 北京: 北京化学工业出版社, 2004, 84)

(2) 丙酸型发酵(propionic acid-type fermentation)产氢

在厌氧生物处理过程中, 酵母膏、明胶、肉膏等含氮有机物发酵常常发生丙酸型发酵。难降解的碳水化合物(如纤维素)也常常呈现丙酸型发酵。与产丁酸途径相比, 产丙酸途径还原力较强, 并有利于 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 的氧化。丙酸型发酵的特点是气体产量很少, 末端产物为丙酸和乙酸。

丙酸型发酵细菌主要为韦氏球菌属和丙酸杆菌属 (*Propionibacterium*)。丙酸的产生过程以 EMP 途径产生的丙酮酸为起点, 不经过乙酰 CoA 旁路, 包括部分 TCA 循环机制, 如图 1-3^[25]。丙酸型发酵中, 产乙酸过程中释放过量的 $\text{NADH}+\text{H}^+$, 与产丙酸途径偶联得以再生, 反应式如下:



$$\Delta G_0 = -286.6 \text{ kJ/mol 葡萄糖 (pH=7, T=298.15 K)}$$

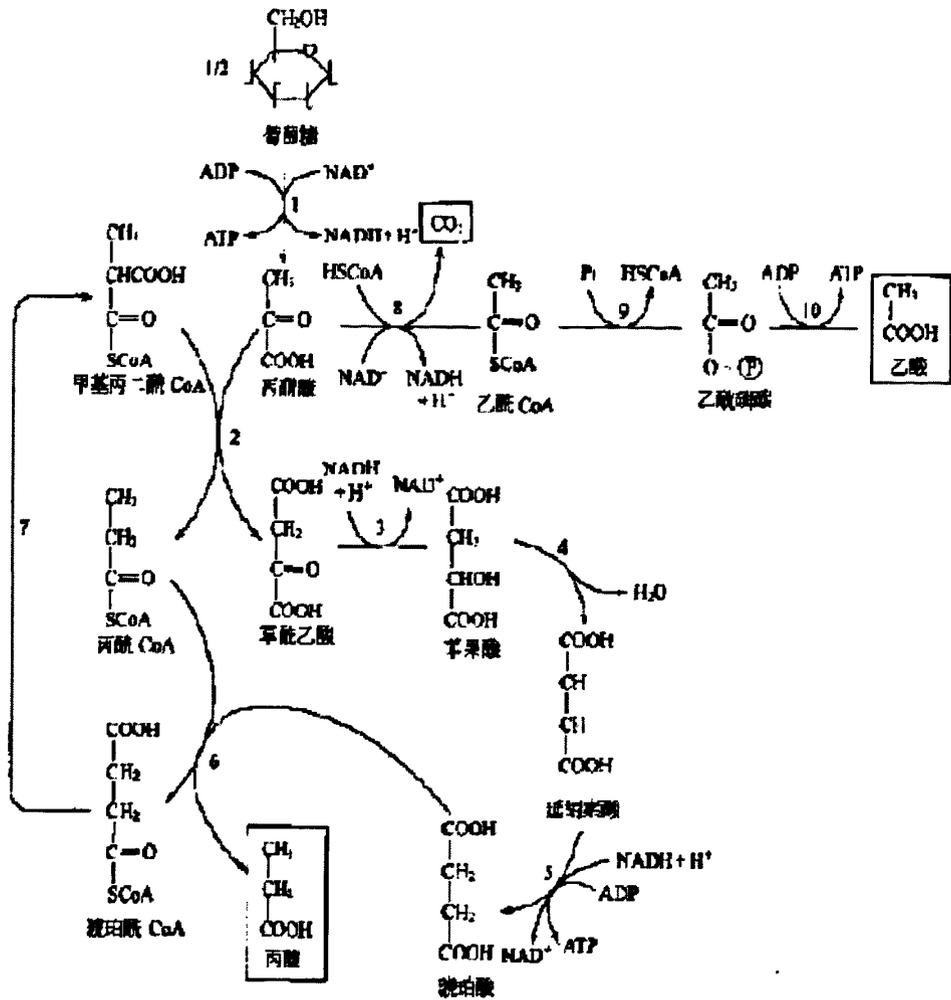


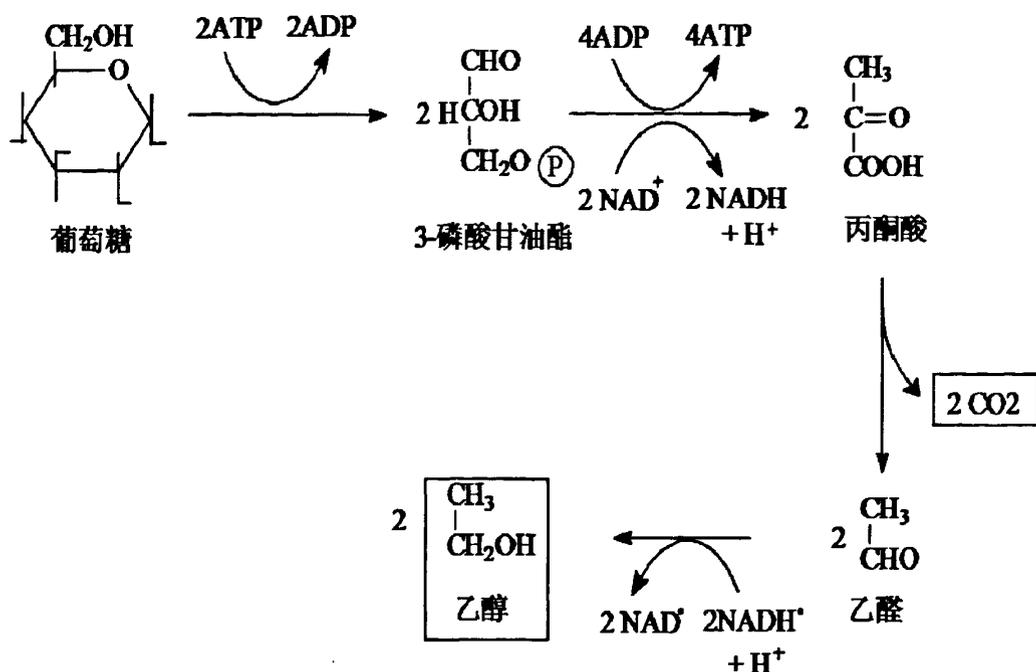
图 1-3 丙酸杆菌属的丙酸型发酵途径

Fig.1-3 Pathways of propionic acid-type fermentation by propionibacterium

(引自：任南琦. 厌氧技术原理与应用. 北京：北京化学工业出版社，2004，85)

(3) 乙醇型发酵 (ethanol-type fermentation) 产氢

乙醇型发酵制氢是一种全新的产氢途径，它是任南琪教授在研究有机废水发酵产酸的过程中发现的^[26]。乙醇型发酵的末端产物主要是乙醇、乙酸、CO₂、H₂和少量丁酸。乙醇型发酵途径如图 1-4 所示^[27]。乙醇型发酵是一种较佳的厌氧发酵产氢途径，它的优势在于反应过程稳定、产氢效率较高。由于乙酸和乙醇在细胞和体系内相互转换，因此，人们也把乙醇型发酵理论称作为“双碳发酵产氢学说或理论”^[28]。目前，纯菌种分离鉴定技术以及代谢分析的发展也为双碳发酵产氢理论提供了物质基础^[29]。



ATP-三磷酸腺苷; ADP-二磷酸腺苷; NAD-辅酶 I; NADH-还原性辅酶 I

图 1-4 细菌乙醇型产氢发酵途径

Fig.1-4 Pathways of ethanol-type fermentation

(引自: 李永峰. 高浓度有机废水发酵法制取氢气技术[J]. 现代化工, 2005,25 (3) : 11)

1.4 影响厌氧发酵产氢的主要因素

(1) 温度

影响厌氧发酵产氢的因素有很多^[31], 温度是微生物生长、繁殖和代谢等生命活动的重要影响因素, 反应温度对厌氧产氢的影响非常显著^[32-34]。首先温度影响酶的活性。酶是所有生物化学反应都需要的生物催化剂, 酶对温度的敏感性决定了微生物的生长必须在一定的温度范围内才能正常进行, 从而影响微生物的生长速率及基质的代谢速率; 其次, 温度还会影响有机物在生化反应中某些中间产物的形成以及各种物质在水中的解度^[35]; 除此之外, 温度还对细胞质膜的流动性能有着重要影响, 温度高则细胞质的膜流动性大, 温度低细胞质的流动性较小, 不利于底物的传递。

根据微生物生长的最适宜温度, 可分为嗜冷、兼性嗜冷、嗜温、嗜热和超嗜热微生物等 5 种类型, 如表 1-6 所示。

表 1-6 不同微生物的生长温度范围

Table 1-6 Different temperature ranges of microbial growth

微生物类型	最低(°C)	最适宜(°C)	最高(°C)
嗜冷微生物(<i>Psychrophiles</i>)	<0	15	20
兼性嗜冷微生物(<i>Psychrotrophs</i>)	0	20-30	30
嗜温微生物(<i>Mesophiles</i>)	15-20	20-45	>45
嗜热微生物(<i>Thermophiles</i>)	45	55-65	80
超嗜热微生物(<i>Hyperthermophiles</i>)	65	80-90	>100

按温度的不同, 可将厌氧发酵分为三种类型: 低温发酵(15~20°C)、中温发酵(30~35°C)和高温发酵(50~60°C)。高温运行发酵方式耗热量多, 过程不稳定, 运行管理要求复杂, 而中温发酵反应速度较快, 反应温度适中, 所需发酵时间又要比低温发酵短, 因此, 厌氧生物处理中大多采用中温发酵。大量研究^[36]表明: 厌氧发酵产氢的最适温度在 35-37°C 之间。也有文献报道了高温厌氧发酵产氢的内容, 如 Yu 等^[37] 人的研究发现, 混合发酵细菌产氢, 其反应的最佳温度为 55°C。

(2) pH

pH 值是厌氧产氢过程中另一个重要的环境因子^[38-39]。反应体系中 pH 值的变化会对微生物细胞内的酶产生最直接的影响, 改变氢化酶的活性以及代谢途径, 造成酶结构变化以及酶失活, 最终影响酶与底物的结合; 另外, pH 还会影响细胞的氧化还原电位、改变细胞质膜结构的稳定性、影响膜的渗透性、不利于营养物质的吸收, 最终对微生物的生长代谢产生影响。总之, pH 值必须控制在一定的范围, 才能有利于微生物生长和繁殖。

目前对混合细菌产氢的 pH 值研究较为广泛, 但是分歧较大。绝大部分研究表明^[40], 微生物产氢发酵的最佳 pH 值范围在 5.0-6.0 之间; 但也有研究者认为最佳 pH 范围为 6.8~8.0^[41-42]; 高温培养最佳 pH 为 4.5^[43]。根据文献报道^[44] 严格厌氧的丁酸梭菌产氢的最佳 pH 值范围是 6.0-6.5 左右, 而产气肠杆菌的 pH 范围为 4.5-6.5 之间。任南琪等人报道的当 pH>6.0 或 4.5>pH>5.3 时主要发生丁酸型发酵; 乙醇型发酵最佳产氢 pH 范围 4.2-4.5 之间; 当体系中的 pH 低于 5.0 时可以有效抑制产甲烷菌的活性, 减少氢气的消耗; 但当体系中 pH 值进一步降低, 也会影响产氢菌的活性。已有的研究表明, 当 pH 小于 4 时, 会抑制产氢菌的生长及产氢过程。而 Lin 等报道^[45]丁酸型发酵的最佳产氢 pH 范围在 6.7 左右。

(3) 底物种类和浓度

适合微生物厌氧发酵的底物千差万别,但是都具备碳水化合物含量高、资源丰富价廉、具有较高转化率等特点。碳水化合物^[46-47]是厌氧发酵微生物较优的产氢底物,其中葡萄糖^[48]、淀粉、蜜糖是十分理想的产氢底物,此外,含有大量碳水化合物的有机废水以及有机固体废弃物也是发酵产氢的很好的底物^[49-50]。餐厨垃圾成分复杂,主要成分为蛋白质、脂肪和淀粉,因此成为较优的发酵底物。也有很多学者对餐厨垃圾中的单一组分进行研究,目前的研究表明,蛋白质和脂肪发酵产氢效率低,相对较难利用,在厌氧发酵过程中产氢较少。

(4) 金属与其他添加剂

众多研究表明,在金属离子对产氢过程有促进作用。 Na^+ 是餐厨垃圾中最主要的金属离子之一。 Na^+ 不仅是微生物细胞的构成成分,而且维持一定的浓度对细胞的渗透压有着重要作用。洪天求等^[51]以蔗糖为底物,研究了不同 Na^+ 浓度对产氢率、比产氢率和糖降解率等的影响。结果表明:当 Na^+ 浓度 $<1000\text{ mg/L}$ 或者较高($8000\sim 16000\text{ mg/L}$)时,会影响微生物对营养物质的吸收,影响产氢能力;而 Na^+ 浓度在 $1000\sim 2000\text{ mg/L}$ 之间时,对发酵产氢有促进作用。

林明^[52]在对典型的乙醇型产氢菌株 B49 研究表明,适宜质量浓度($<0.001\text{ mg/L}$)的 Fe^{2+} 、 Ni^+ 和 Mg^{2+} 对 B49 的生长及产氢发酵有促进作用,其促进顺序为 $\text{Fe}^{2+}>\text{Ni}^+>\text{Mg}^{2+}$ 。而 Wang 等^[53]在铁对产氢菌种 B49 影响的实验中发现,在一定浓度内单质 Fe 对产氢的促进的作用大于 Fe^{2+} 。曹东福等^[54]研究了不同价态的铁对发酵产氢的效率与氢气浓度的影响,结果发现 Fe、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 对处理厌氧污泥发酵产氢都有促进作用,当 Fe^{2+} 浓度为 1000 mg/L 时产氢率达到了最大;GRAY 等^[55]指出,在缺乏铁的培养基上培养的肠杆菌和梭菌不能产氢。

(5) 其它影响因素

除了上述主要因素外,影响细菌厌氧发酵产氢的因素还有氧化还原电位(ORP)^[56]、水力停留时间(HRT)^[57]、反应器类型^[58-59]、C/N 比等,这些因素对厌氧产氢都有一定的影响。尽管人们对厌氧生物的发酵产氢已经研究了很多,也取得了很大的进展,但是,由于发酵产氢的条件要求严格,体系成分复杂,影响因素较多,这些因素对发酵产氢产生作用比较复杂。因此,离实际的应用还有一段距离,还有很多工作要做。

1.5 研究意义、研究目标和研究内容

1.5.1 研究意义

综上所述,利用餐厨垃圾厌氧发酵制氢具有很高的经济效益和环境效益,对发展循环经济、实现社会的可持续发展有重要意义。目前,餐厨垃圾发酵产氢的研究目的主要是增加产氢量、提高产氢浓度和比产氢速率,并逐步向工

程化迈进。采取的手段包括选育培养合适的微生物菌群、优化反应的工艺条件，调控影响微生物的生态因子等。

虽然餐厨垃圾厌氧产氢的实验研究阶段已经取得很多的成果，但是还有很多问题尚未解决，仍需要研究完善，主要有以下几个方面：

(1) 利用分子生物学的手段，研究产氢过程中优势菌种的类别和代谢途径，对产氢菌种或酶进行改造。现代生物学已经可以操作电子呼吸链，通过基因工程的手段来改变电子呼吸链，可以有效的提高产氢效率。

(2) 研究生态因子对餐厨垃圾产氢的影响，对影响产氢的各种生态因子进行系统性研究。

(3) 研究餐厨垃圾厌氧产氢的代谢途径，尤其是碳水化合物、蛋白质和脂类共存条件下的代谢产氢机理。目前的研究表明，以碳水化合物作为发酵底物具有理论可行性，对于蛋白质和脂类物质的研究较少：长链脂肪酸的产氢代谢途径一直是个难点，还需要大量的研究工作；厌氧条件下蛋白质发生脱氨作用，大量游离态的氨有很大的毒性，会影响产氢微生物的活性。

(4) 开发高效的餐厨垃圾发酵产氢反应器。通过改变反应器结构和功能，提高餐厨垃圾发酵产氢过程中的传热、传质过程，最大程度的降低产物抑制，是未来产氢的主要研究方向。

(5) 餐厨垃圾产氢过程的模拟与控制。影响餐厨垃圾厌氧产氢的因素多，过程复杂，通过动力学的模拟与优化，对餐厨垃圾产氢有重要意义。

(6) 餐厨垃圾处理器的开发和研制。基于餐厨垃圾具有单独收集的特点，可以对其实行单独收集与处置，有效处理城市生活垃圾。一方面减少垃圾体积，除去垃圾臭味；另一方面，探索如何降低小型生化处理设施成本和运行成本，便于逐步推广和应用。

1.5.2 研究目标

(1) 确定厌氧污泥利用餐厨垃圾产氢气的可行性及对厌氧颗粒污泥产氢预处理的最佳方式；

(2) 寻找添加剂对餐厨垃圾产氢发酵最佳条件；

(3) 通过温度调控寻找餐厨垃圾产氢的最适条件，并分析它们对厌氧发酵产氢过程的影响。

1.5.3 研究内容

本课题来源于安徽省自然科学基金项目(090415205)，合肥工业大学博士基金(GDBJ2008-027、GDBJ2008-028)。

本课题的主要内容是研究餐厨垃圾厌氧发酵产氢。在实验室所具有的实验基础上，通过对接种物的预处理、改变反应条件、添加促进剂等方法，减小生

态因子对餐厨垃圾产氢菌群的影响，探索餐厨垃圾厌氧产氢的可行性，提高产氢率和产氢量，实现固体废物的有效利用。研究成果对于能源日益紧张的现今社会具有重要的现实意义。

(1) 寻找最佳的产氢微生物富集方法，通过对接种物进行预处理（酸、碱、热等预处理方式），研究对餐厨垃圾厌氧产氢的影响，从而为正确调控产氢过程奠定基础；

(2) 添加剂对餐厨垃圾厌氧产氢过程影响。通过添加不同浓度的秸秆来比较对产氢活性的影响，以获得餐厨垃圾较高的产氢效率；

(3) 研究温度对餐厨垃圾产氢菌群的影响。本课题对影响产氢的生态因子温度对餐厨垃圾产氢的影响进行了研究。

第二章 材料与方法

2.1 实验过程

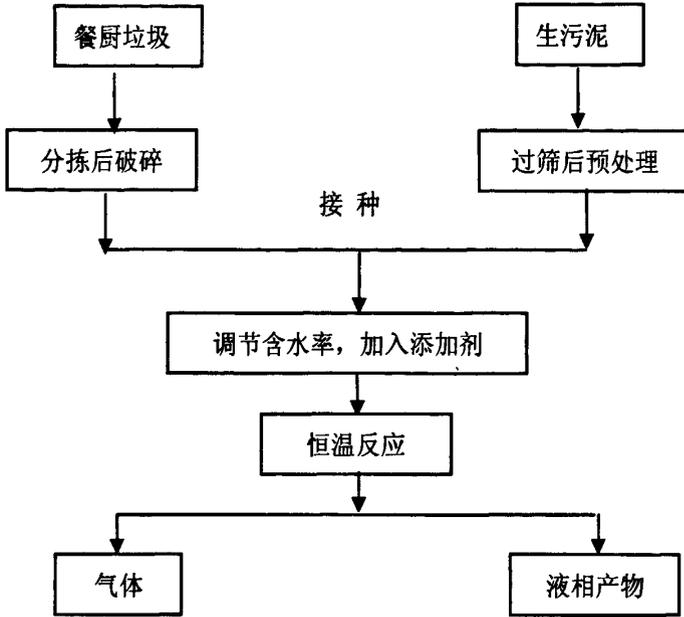


图 2-1 实验过程

Fig. 2-1 Experimental process

2.2 实验装置

实验过程采用的是实验室自行设计的实验装置，如图 2-2 所示，装置分为两个部分，左边为厌氧反应装置，右边为气体收集装置。厌氧反应装置置于恒温振荡器中控制反应，反应产生的气体通过排水集气法进行收集，最后通过量筒计算其产气量。

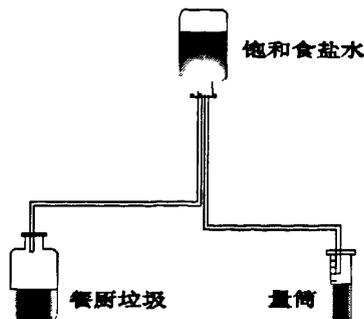


图 2-2 实验装置

Fig. 2-2 Experimental device

2.3 实验材料

(1) 餐厨垃圾来自合肥工业大学南校区学生食堂，取样后经过人工分选出其中不利于发酵的骨头、鱼刺、塑料袋、蛋壳等，经机械打浆，制成糊状半流体态，于冰箱内（-4℃）保存备用。其中各种物质的比例见表2-1。其中，总固体含量（TS）为40.86%，挥发性固体含量（VS）为99.78%TS。

表2-1 餐厨垃圾组成成分

Table 2-1 Composition of food waste

成分	米饭	蔬菜	肥肉	瘦肉	鱼肉
比例%	60	20	10	5	5

(2) 接种污泥取自王小郢污水处理厂，污泥取回后于塑料瓶内密封。实验开始前两周，将污泥装入发酵瓶，密封，置于摇床内驯化一周左右。实验开始前将接种物进行预处理。污泥的TS为20.74%，VS为96.93%TS。

(3) 常量、微量元素浓缩液的制备：

常量元素（g/L）：CaCl₂ 50；MgCl₂·6H₂O 100；FeCl₂ 25；

微量元素（g/L）：CoCl₂·6H₂O 5；MnCl₂·4H₂O 5；AlCl₃ 2.5；(NH₄)₆Mo₇O₂₄ 15；H₃BO₄ 5；NiCl₂·6H₂O 5；CuCl₂·5H₂O 5；ZnCl₂ 5。

底物与常量、微量元素的添加比例：1ml 浓缩液/g COD。

2.4 主要实验仪器与药品

表2-2 主要实验仪器

Table 2-2 List of experimental apparatus

名称	型号	备注
电子天平	FA2004N	上海精密科学仪器有限公司
多功能消解仪	DIS-1A 型	金坛市晶玻实验仪器
水浴恒温振荡器	SHY-2 型	江苏金坛市金城国胜实验仪器厂
pH 计	DELTA320	梅特勒-托利多(上海)有限公司
分光光度计	722E 分光光度计	上海精密科学仪器有限公司
TC/TN 分析仪	aj-Analyzer multi N/C2100	德国耶拿
气象色谱仪	GC7890T 型	上海天美科学仪器有限公司
气象色谱仪	GC-2010 型	日本岛津
电热恒温干燥箱	G2x-DH-30X35-BS	上海跃进医疗器械厂
超纯水机	GREEN-10T	南京易普易达科技发展有限公司
马弗炉	KSW-8D-13	上海飞龙仪表电器有限公司

表2-3 主要实验药品

Table 2-3 List of chemical reagents

名称	规格	生产厂家
碘化汞	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
碘化钾	分析纯	上海化学试剂采购供应站
酒石酸钾钠	分析纯	无锡展望化工试剂有限公司
磷酸二氢钾	分析纯	无锡展望化工试剂有限公司
氯化氨	分析纯	汕头市西陇化工厂
硫酸	分析纯	上海振企化学试剂有限公司
硫酸汞	分析纯	贵州省铜仁化学试剂厂
重铬酸钾	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
硫酸银	分析纯	湖南高纯化学试剂厂
抗坏血酸	分析纯	天津博迪化工股份有限公司
钼酸盐	分析纯	合肥科华精细化工研究所
酒石酸锶钾	分析纯	天津科密欧化学试剂有限公司
十氢萘	化学纯	国药集团化学试剂有限公司
无水亚硫酸钠	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
氢氧化钠	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
盐酸	优级纯	国药集团化学试剂有限公司
苯二甲酸氢钾	优级纯	上海试剂三厂

2.5 主要测定项目及方法

2.5.1 样品分析

固体浓度(TS): 烘干法。先将陶瓷坩埚洗涤, 在马弗炉内以 600℃灼烧 1h, 取出置于干燥器中冷却, 称重。重复直至恒重, 质量记作 a g。取一定量样品, 放置于坩埚内, 称重, 质量记为 b g。然后将含样品的坩埚在真空干燥箱中于 105℃下烘 24h, 取出称重, 质量记为 c g。将含烘干后样品的坩埚在电炉上烧灼至不再冒烟, 然后放入马弗炉, 在 600℃下灼烧 2h, 直到温度降到 100℃, 取出坩埚冷却后称重, 质量记为 d g。则 $TS=(c-a)/(b-a)$ 。

挥发性固体物(VS): 测量方法如上, $VS=(d-a)/(c-a)$ 。

COD、 NH_4^+-N 等根据标准方法测定^[60], 样品在2400r·min⁻¹速度下离心分离后取上清液过滤测定。TOC检测采用德国耶拿multi N/C TOC/TN分析仪。

总挥发性脂肪酸(Volatile fatty acids, VFA)采用岛津-9A气相色谱仪。(使用氢火焰离子化检测器, FFAP30m*0.25mm*0.25um毛细管柱, 进样口、柱温箱和检测器温度分别为250、200和250℃, 氮气作为载气)。

2.5.2 气体的计量

2.5.2.1 累积产气量的计算

实验采用排水集气法收集气体, 故实验中累积产气体积的计算采用式(1)所示的方法:

$$V_{B,i} = V_{B,i-1} + (V_{G,i} - V_{G,i-1}) \quad (1)$$

式中: $V_{B,i}$ 、 $V_{B,i-1}$ 为第*i*次和第(*i*-1)次测气时累积产气的体积,mL;

$V_{G,i}$ 、 $V_{G,i-1}$ 为第*i*次和第(*i*-1)次测气时的排水的体积,mL。

2.5.2.2 累积产氢体积和比产氢率的计算

累积产氢体积的计算可采用式(2)的方法。

$$V_{H,i} = V_{H,i-1} + C_{H,i}(V_{G,i} - V_{G,i-1}) + V_H(C_{H,i} - C_{H,i-1}) \quad (2)$$

$$\text{餐厨垃圾中VS比产氢速率} = \frac{H}{\text{起始垃圾VS量} \times \text{时间}t} \quad (\text{mL/g} \cdot \text{d}) \quad (3)$$

式(3)中: $V_{H,i}$ 、 $V_{H,i-1}$ 为第*i*次和第(*i*-1)次测气时累积 H_2 的体积,mL;

$C_{H,i}$ 、 $C_{H,i-1}$ 为第*i*次和第(*i*-1)次测气时氢气的体积浓度,%;

V_H 为反应器的顶空体积,mL;式中取50mL;

$V_{G,i}$ 、 $V_{G,i-1}$ 同前;

H为累计产氢量。

2.5.3 气体组分含量的测定

采用气相色谱仪(GC7890T型, 上海天美科学仪器有限公司)测定。色谱条件: 侧表压力0.3MPa; 柱温为70℃, 进样器温度为120℃, 检测器(TCD)温度100℃, 量程为0-50-100; 氮气为载气; 进样量为80μL。

2.5.4 秸秆组分的测定

秸秆组分的测定采用VanSoest法^[61]。

中性洗涤纤维测定: 准确称取(通过40目筛)1.0000克样品放在直筒烧杯中, 然后加入100ml中性洗涤剂、数滴十氢化萘及Na₂SO₃(无水)0.5克。在烧杯外套上冷凝装置, 并置于电炉上, 于5~10分钟内煮沸, 保持微沸60分钟。煮沸结束后, 将烧杯取下, 对未装入溶液的玻璃坩埚进行称重, 再将溶液倒入坩埚内, 安装在抽滤瓶上进行过滤, 最后将烧杯中的残渣全部移入坩埚中, 并用沸水冲洗, 直至滤液呈中性。用20ml丙酮冲洗二次后抽滤。将坩埚置于105℃烘箱中, 烘2h后置于干燥器内冷却30分钟称重, 直称至恒重。

酸性洗涤纤维测定: 准确称取(通过40目筛)1.0000克样品置于直筒烧杯中, 然后加入100 ml酸性洗涤剂和数滴十氢化萘及Na₂SO₃(无水)0.5克。在烧杯外套上冷凝装置, 放于电炉上于5~10分钟内煮沸, 并保持微沸60分钟。用已称重后的玻璃坩埚对溶液进行抽滤, 并用沸水反复冲洗至滤液呈中性。用少量丙酮冲洗残渣, 当抽下的丙酮溶液呈无色后抽净丙酮。将玻璃坩埚置于烘箱中, 温度设置为105℃烘2h, 在干燥器中冷却30分钟称重, 直称至恒重。

酸性洗涤木质素和酸不溶灰分(AIA)的测定: 配置72%的硫酸加入酸性洗涤纤维内, 置于20℃消化3h后过滤, 并冲洗至中性。消化过程中溶解的部分为纤维素, 不溶解的残渣为酸性洗涤木质素和酸不溶灰分, 将残渣烘干并灼烧灰化后即可得出酸性洗涤木质素和酸不溶灰分的含量。

中性洗涤纤维含量的计算: $NDF(\%) = (W_1 - W_2) / W \times 100$ (1)

式(1)中: W₁—玻璃坩埚和NDF重(g)

W₂—玻璃坩埚重(g)

W—试样重(g)

酸性洗涤纤维含量的计算: $ADF(\%) = (G_1 - G_2) / G \times 100$ (2)

式(2)中: G₁—玻璃坩埚和ADF重(g)

G₂—玻璃坩埚重(g)

G—试样重(g)

半纤维素含量的计算: 半纤维素(%)=NDF(%)-ADF(%)

纤维素含量的计算: 纤维素=ADF(%)-经72%硫酸处理后的残渣(%)

酸性洗涤木质素(ADL)含量的计算: ADL(%)=残渣(%)-灰分(%)

第三章 污泥预处理对餐厨垃圾产氢的影响

3.1 热处理法

3.1.1 实验材料

污泥、餐厨垃圾及常微量元素参考 2.3。

3.1.2 分析方法

气体及液相产物的测定参考 2.5。

3.1.3 试验方法

实验研究表明,对厌氧污泥进行加热,有利于提高产氢。其中,在 102℃ 条件下加热,其产氢效果最好。因此,本文将质量均等的污泥置于 102℃ 条件下分别加热 30min、60min、90min、120min,并作为接种污泥备用,研究加热时间对产氢的影响。将餐厨垃圾与接种物按体积 1:1 的接种量进行配比,分别做三种预处理试验,每一组取 2 个平行样,外加 2 个平行空白试验,共 10 个反应器,进行中温(36±1℃)厌氧发酵产氢。实验过程中采用水浴恒温振荡器进行 24 小时连续震荡,最终数据取其平均值。

将餐厨垃圾和污泥的混合物装入 150mL 的血清瓶中,充入氮气后,瓶口以胶塞塞住,铁皮塞封口。集气时上接硅胶管便于采气,产生的气体用排水集气法进行收集。同时测定反应前后的体系的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、COD、VFA 等值。

3.1.4 实验结论

3.1.4.1 热处理对餐厨垃圾发酵产气的影响

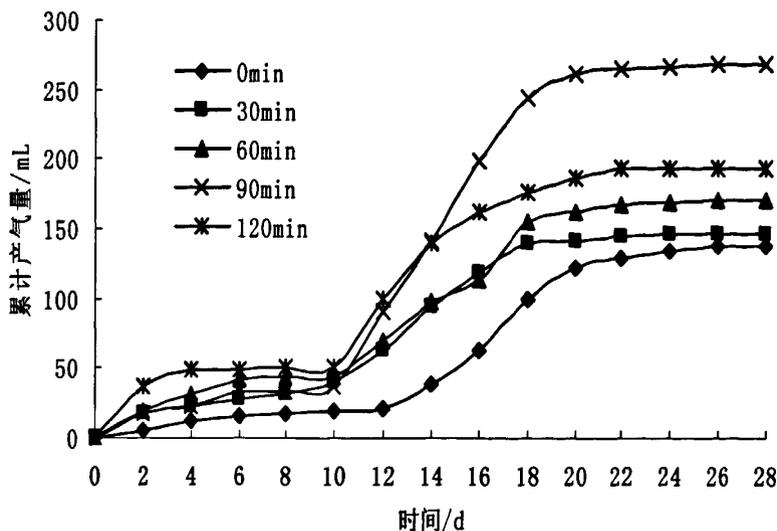


图3-1 不同热处理时间对累计产气量的影响

Fig.3-1 Effect of heat treatment time on the cumulative gas production

从累积产气量看，各反应体系的启动时间基本一致，在反应第一天就开始产气。经过热处理的污泥较未经过处理的产气效果明显，累积产气量高。随着热处理时间的增加，累积产气量逐渐增大。其中，经过102℃处理90min的体系产气量最高，达到268mL。随后，随着加热时间的延长，产气量减少。五种反应体系的产气量顺序为90min>120min>60min>30min>0min。

3.1.4.2 热处理对餐厨垃圾发酵产氢的影响

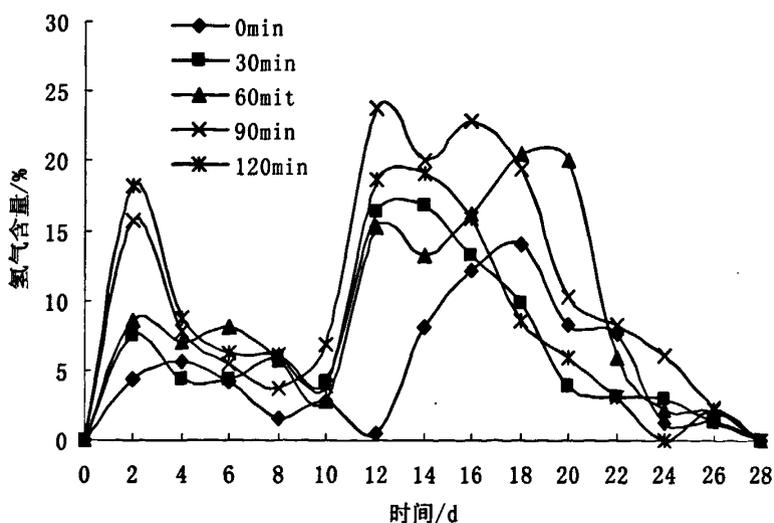


图3-2 不同热处理时间对氢气含量的影响

Fig.3-2 Effect of heat treatment time on hydrogen content

氢气的浓度变化情况如图3-2所示。相对对照组可以看出,经过热处理的氢气比例则有了显著的提高,对餐厨垃圾产氢有明显的促进作用。其中60min和90min组份氢气最高含量均超过了20%。说明长于60min的热处理时间能够有效杀灭颗粒污泥中的产甲烷菌,从而使反应停留在酸化阶段,使得此时产生的 H^+ 得以有效积累,并以 H_2 的形式释放出来。而处理时间长于90min后,产氢菌的活性受到影响,氢气的含量有所下降。

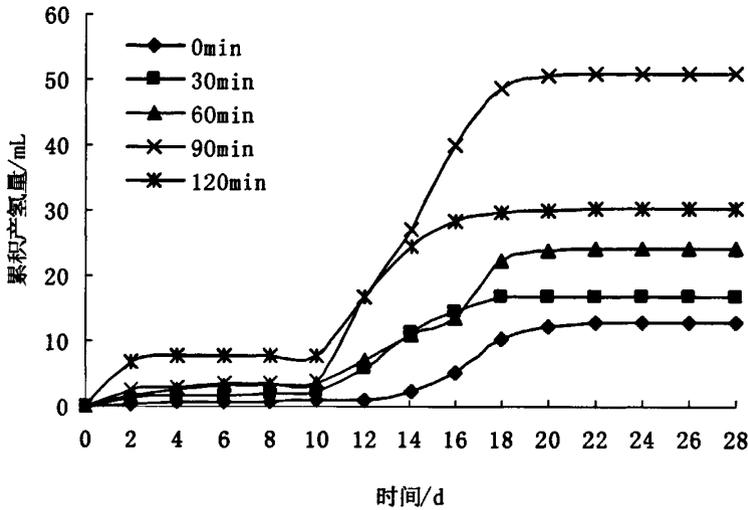


图3-3 不同热处理时间对累积产氢量的影响

Fig.3-3 Effect of heat treatment time on the cumulative hydrogen production

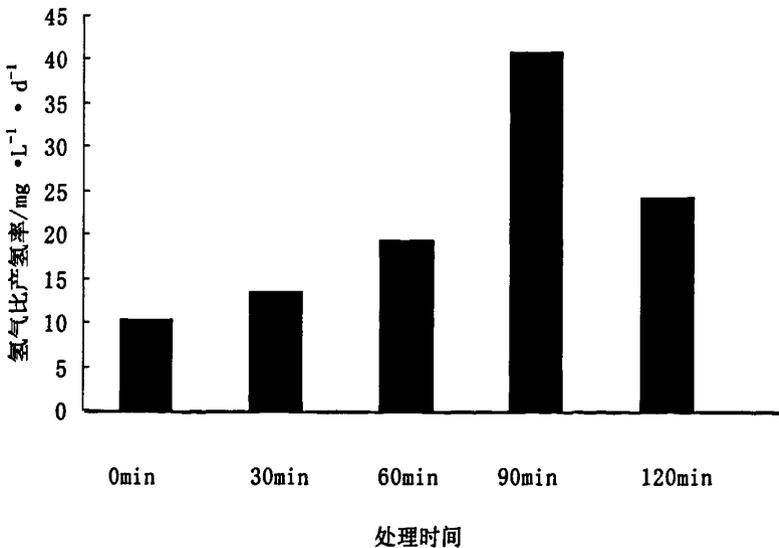


图 3-4 不同热处理时间的氢气比产氢率

Fig.3-4 Effect of heat treatment time on hydrogen production rate

累积产氢量的变化趋势与累积总产气量的变化基本一致，随着处理时间的增加，产氢量逐渐加大。在 $t=90\text{min}$ 时达到最大，产氢量约为对照组 (0min) 的 4 倍，随后随着时间的增加产氢量减少。图 3-4 为氢气的比产氢率，五种反应物的比产氢率分别为 10.3、13.5、19.3、40.8、24.3 mL/gVS 。可以看出，热处理对提高餐厨垃圾产氢有较大的促进作用。

从本实验条件下可以看出：

高温加热是一种最普通和直接的杀菌方式，且处理时间越久，灭菌效果越好。经过高温长时间预处理，那些不会形成芽孢的耗氢菌会被彻底消灭；同时，高温长时间处理会使细胞壁得到破坏，使微生物释放出更多的蛋白质到溶液当中。因此，经过高温预处理的污泥，其厌氧消化产氢中氢气的浓度和产量都有所增加。

根据有关文献报道：革兰氏阳性菌、梭菌、棒杆菌、芽孢杆菌等是厌氧条件下产氢的主要微生物^[62]。对厌氧颗粒污泥进行适当的热处理，可以有效杀灭其中的产甲烷菌，抑制体系的产甲烷活性，而芽孢杆菌等菌属具有很强的耐热性，热处理对产芽孢菌属有明显的激活作用^[63]，从而利用产氢菌提高产氢量及产氢效率^[64]。在 102°C 的条件下处理 90min 对厌氧颗粒污泥中的芽孢激活作用最为显著，使得反应体系中微生物的恢复速度最快，从而更好地促进反应体系的产氢过程。

3.1.4.3 厌氧发酵反应前后参数变化

表3-1 反应前后体系浓度的对比

Table 3-1 Comparison of the concentration between before and after reaction

处理方式		COD(mg/L)	$\text{NH}_4^+\text{-N(mg/L)}$	TP	TOC	pH
0min	初值	52.33	76.01	42.47	2206	6.59
	终值	118.86	110.07	321.83	5950	3.7
30min	初值	52.57	78.04	46.73	2089	6.6
	终值	125.93	126.1	325.37	6160	3.73
60min	初值	51.9	75.65	43.3	2281.5	6.68
	终值	146.05	168.04	354.37	7100	3.67
90min	初值	50.33	75.43	45.17	2351	6.75
	终值	182.71	178.19	394.95	9530	3.68
120min	初值	54.88	75.36	44.74	2203.5	6.86
	终值	136.62	155.02	348.89	6950	3.68

上图为反映前后体系的浓度变化比。从表3-1可以看出，各反应中消化液的COD浓度随时间增加而增加。这表明：易降解物质大量降解。其中，90min的浓度比最高，说明底物降解的最为充分。

在餐厨垃圾的厌氧产氢过程中，氨氮是重要的控制条件^[65-66]。由于微生物的细胞增殖很少，只有少量的氮被转化为细胞物质，大部分可生物降解的有机氮都被还原为氨氮。氨氮是微生物生长重要的氮源，可以中和系统中的挥发性有机酸(VFA)，对pH有缓冲作用，但浓度过高会对微生物的活性产生影响^[67]。在厌氧消化过程中，由于厌氧微活性污泥的主要组成是蛋白质，同时餐厨垃圾中也含有蛋白质，蛋白质在水解过程产生的氨基酸进一步降解成氨氮，因此反应体系内 $\text{NH}_4\text{-N}^+$ 的数值是增加的。

活性污泥经厌氧消化后，污泥中的释磷菌会厌氧释磷，这导致反应之后系统上清液中磷的含量升高。这在餐厨垃圾以及添加接种污泥的餐厨垃圾中表现的更加明显，其中的磷的含量也升高了，而且升高的幅度很大。

在有机物厌氧消化产氢的过程中，有机物质经过水解消化生成小分子物质，一部分为气体排出反应体系，另一部分是溶于水的小分子，根据物料平衡的原理，大部分的碳仍保体系中，以溶解态或非溶态存在，体系的TOC是增加的。

在反应过程中，生成的副产物VFA（挥发性脂肪酸）能降低溶液的pH值，同时，生成的二氧化碳溶于水也导致了pH的降低。随着反应的进行，体系的pH值都快速下降，由开始的接近中性下降到3.5左右。当pH在5.0-6.0的范围内时，适合产氢微生物的生长活动。但是当pH持续下降并低于5.0时，会使溶液中VFA的组分形态发生变化，影响产氢菌的活性，氢气的浓度逐渐下降，氢气产量不再增加。

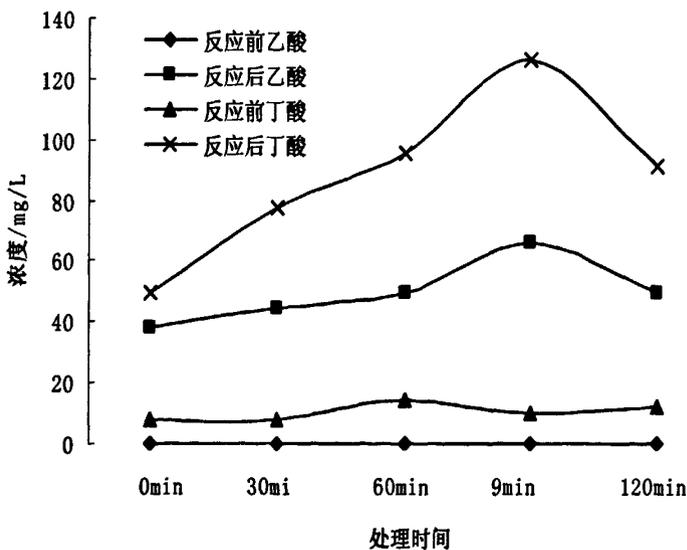


图3-5 发酵反应前后有机酸（VFA）的变化

Fig.3-5 Changs of organic acids between before and after reaction

挥发性脂肪酸（VFA）是厌氧消化过程中有机物降解时产生的重要中间产物^[68]，是产氢菌产生氢气的基础，也是厌氧微生物新陈代谢活动的重要指标。在本实验中，乙酸和丁酸是主要产物，丙酸的产量很低。在单独的反应体系和污泥体系中，乙酸的浓度是最高的；而对于混合体系，在添加污泥的体系中，丁酸成为主要的 VFA 组分。

在对各组份挥发性有机酸含量的分析中(图 3-5)发现：经热处理的四组实验均积累了大量的有机酸，证明了热处理对颗粒污泥的产甲烷活性有着很好的抑制作用，使整个厌氧发酵过程在产酸阶段就停止，使更多的反应底物用于产氢。其中氢气含量最高的组分（处理 90min）中，丁酸积累最大达到了 126mg/L，乙酸浓度为 65.7mg/L。

从物理化学角度分析，任何反应的产物对反应都有一定的抑制作用。乙酸和丁酸对微生物都有抑制作用，一些研究报告指出：乙酸的抑制作用比丁酸更强。在本实验条件下，丁酸的浓度随加热时间的加长而不断增加，在 $t=90\text{min}$ 时达到最大，而此时的乙酸浓度却有所下降，因此，在 $t=90\text{min}$ 时对于反应的抑制作用要小，产氢量较大。同时，根据相关文献报道：1mol 葡萄糖生成 2mol 乙酸时生成 4mol 氢气，而生成 1mol 丁酸时生成 2mol 氢气，在 $t=90\text{min}$ 时反应物产生了大量的乙酸，因此氢气产量较高。

3.2 酸碱热预处理

3.2.1 实验材料

污泥、餐厨垃圾及常微量元素参考 2.3。

3.2.2 分析方法

气体及液相产物的测定参考 2.5。

3.2.3 试验方法

实验开始前，先对污泥进行预处理，处理方法如下：

- (1) 热处理：将污泥在 102°C 条件下加热 90 分钟；
- (2) 酸处理：先用 0.1 mol/L 的 HCl 将污泥溶液的 pH 调至 3.0-4.0，24 小时后用 0.1 mol/L 的 NaOH 将污泥溶液的 pH 调回至 7.0，备用；
- (3) 碱处理：先用 4 mol/L 的 NaOH 将污泥溶液的 pH 调至 12.0，24 小时后用 0.1 mol/L 的 HCl 将污泥溶液的 pH 调回至 7.0。

将餐厨垃圾与接种物按体积 1: 1 的接种量进行配比，装入 150mL 的血清瓶

中，充入氮气后，瓶口以胶塞塞住，铁皮塞封口。分别做三种预处理试验，每一组取2个平行样，外加2个平行空白试验，共8个反应器，进行中温(36±1℃)厌氧发酵产氢，最终数据取其平均值。

3.2.4 结果与分析

3.2.4.1 预处理对餐厨垃圾发酵产气的影响

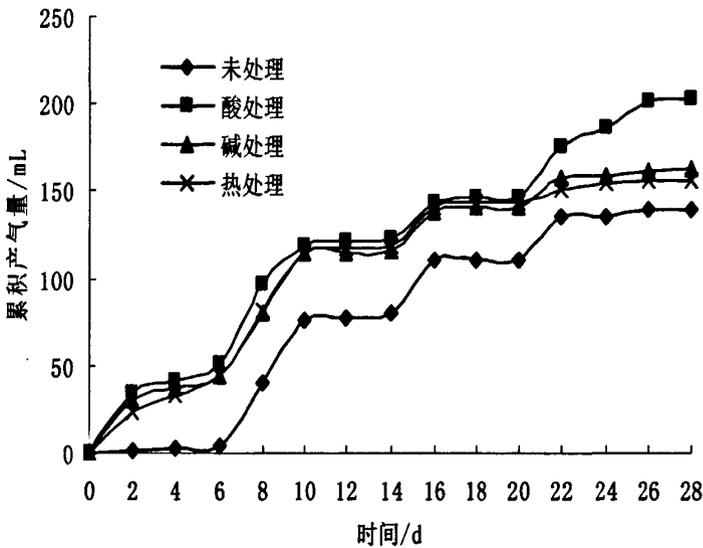


图3-6 不同接种物预处理对累积产气量的影响

Fig.3-6 Effects of different inoculum on cumulative gas production

图3-6为不同接种物预处理发酵反应的累积产气量的变化曲线。从图3-6可以看出经过预处理后的接种物呈现出了较高的产气量。较未处理的接种物，产气量均有所提高。三种预处理相比较，酸处理的累积产气量最大，达到了203mL，碱处理和热处理的产气量分别为163mL、156mL。而未经处理的污泥其产气量为140mL。

3.2.4.2 预处理对餐厨垃圾发酵产氢的影响

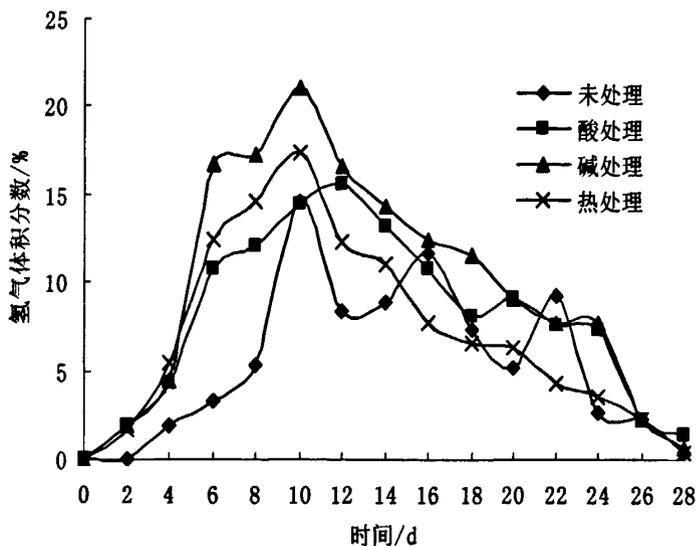


图3-7 不同接种物预处理对氢气体积含量的影响

Fig.3-7 Effects of different inoculum on hydrogen partial pressure

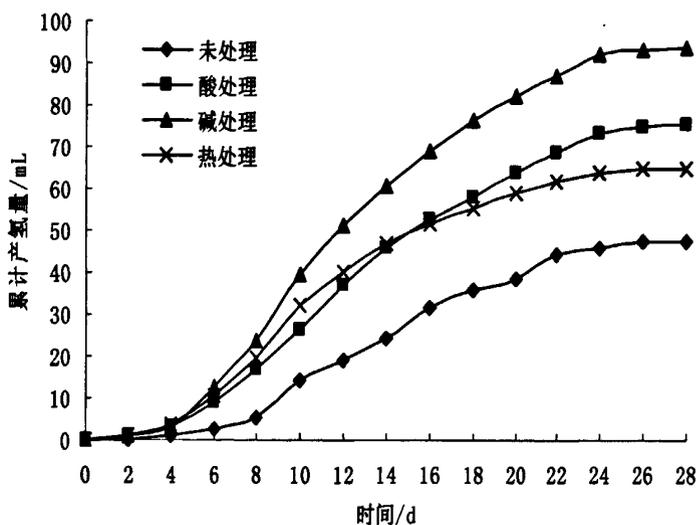


图 3-8 不同接种物预处理对累积产氢量的影响

Fig.3-8 Effects of different inoculum on the cumulative hydrogen production

接种物预处理对餐厨垃圾发酵产氢的影响见图3-7~3-8。图3-7、图3-8分别为不同接种物预处理的发酵产氢的生物气中氢气的体积含量、累积产氢量变化曲线。从上图看出，反应开始后就有氢气产生，在反应第十天出现产氢高峰，之后随着时间的推移，氢气含量逐渐下降。与产气量的规律不同，累积产氢量最高的为碱处理后的污泥，其次为酸处理污泥，碱处理污泥的累积产氢量达到了93.4mL，约为未处理污泥产氢量的2倍。

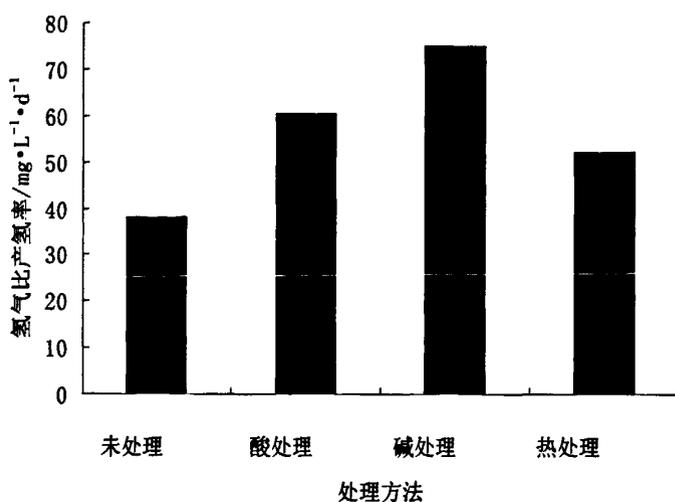


图 3-9 氢气的比产氢率

Fig.3-11 Hydrogen production rate

四种反应物的比产氢率分别为 37.8、60.1、74.7、51.9mL/gVS。可以看出，热处理对提高餐厨垃圾产氢有较大的作用。

从图 3-7~3-9 可以看出，在本实验条件下：

(1) 酸、碱、热处理污泥均能实现餐厨垃圾的发酵产氢。不同接种物的预处理下，氢气的体积浓度呈相同的变化趋势，都是先升高后降低。在反应后期，氢气的浓度和累积产氢量均逐渐减少，这可能是由于氢气和短链脂肪酸作用转化生成其他脂肪酸，同时蛋白质在代谢过程中生成的氨氮也会在反应器内会逐渐累积，从而对反应造成影响，影响产氢量^[69]。

(2) 三种预处理方式都对厌氧发酵产氢有较强的促进作用，主要原因是污泥在经过预处理后，其中的耗氢菌产甲烷菌等被杀死，产氢菌由于孢子的保护作用仍可以保持活性。根据产氢是产甲烷过程截断产生氢气原理，如果甲烷菌较多会消耗中间过程所产生的氢气，减少氢气的产生。

(3) 三种预处理方法中，碱处理具有更好的产氢能力，酸处理次之，热处理能力最差。这可能是由于碱处理能够更好的抑制耗氢菌的生长，使得产生的 H₂ 不被产甲烷菌、硫化细菌等耗氢菌消耗掉；同时，经过碱处理的污泥可以起到融胞的作用，就是将污泥中的有机物（主要为蛋白质）释放出来，可以提高污泥厌氧消化的效率；最后，经过碱处理的厌氧污泥，能中和反应中产生的酸性物质，使该反应器具有更强的 pH 值缓冲能力而使其酸化减速，进而使产氢能力得到提高。

(3) 三个预处理方案的产氢生物气中氢气的最高体积含量分别为 15.6%、21%、17.4%，累积产氢量分别达到了 75.2、93.4、64.9mL。而未作预处理的污泥产氢量仅为 47.3 mL。

3.2.4.3 厌氧发酵反应前后参数变化

表3-2 反应前后体系浓度的对比

Table 3-2 Comparison of the concentration between before and after reaction

处理方式		COD(mg/L)	NH ₄ ⁺ -N(mg/L)	TS%	VS%	pH
未处理	初值	123.74	106.54	6.78	68.88	7.47
	终值	253.69	211.13	13.16	55.01	3.81
酸处理	初值	121.11	109.59	6.27	83.57	7.62
	终值	255.95	212.05	13.75	56.15	3.89
碱处理	初值	127.25	107.15	5.41	83.32	7.33
	终值	259.18	269.29	14.49	50.93	3.14
热处理	初值	125.48	113.88	5.8	79.65	7.52
	终值	259.08	216.63	14.5	38.55	3.77

上图为反映前后体系的浓度变化比。从表 3-2 可以看出，各反应中消化液的 COD、NH₄⁺-N 浓度随时间增加而增加。说明反应过程中，大分子物质经过水解生成易溶于水的小分子物质，随着水解过程的进行，逐渐消耗水解产物而产生氢气。碱处理污泥体系中较高的 TS，VS 降解率也是其氢气产量较高的原因之一。

随着反应的进行，体系的 pH 值下降，由开始的接近中性下降到 3.5 左右。限制了微生物控制 H⁺ 进出细胞的能力。当 pH 值过低，会引起的溶液中有机酸组分形态的变化，最终抑制了产氢菌的活性，使产氢过程停止，氢气体积不再增加。

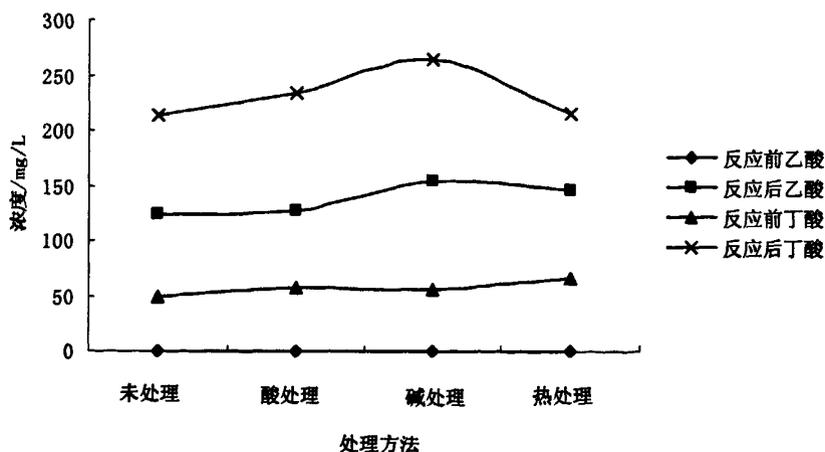


图3-10 发酵反应前后有机酸 (VFA) 的变化

Fig.3-10 Variation of organic acids between before and after reaction

消化过程前期，产氢菌未受到 VFA 的积累和游离 VFA 带来的抑制作用，此时出现了明显的产气高峰。在消化过程的后期，各处理的丁酸浓度均在 200mg/L 以上，乙酸浓度均在 100mg/L 以上表明此时的 VFA 大部分以游离态形式存在于厌氧消化系统中。由于游离态的 VFA 对产氢菌有较强的毒害作用^[70]，因此消化系统的后期产气量出现明显下降。

在本实验条件下，对污泥进行碱处理时，丁酸和乙酸的浓度均达到最大，因此，碱处理时，氢气产量较高。

3.3 小结

综合以上预处理实验结果：

1. 热处理方法能有效地抑制污泥颗粒的产甲烷活性,对餐厨垃圾厌氧发酵产氢有很好的促进作用。当热处理条件为 102℃处理 90min 时氢气含量可达 23 %，表明：该热处理条件对厌氧颗粒污泥中的芽孢的激活作用最为显著；厌氧发酵产氢过程总是伴随大量有机酸的产生而进行的，由于对颗粒污泥的产甲烷活性有不可逆的抑制作用，热处理时一种较为理想的预处理方法。
2. 在对污泥的三种预处理方式中，碱处理具有更好的产氢能力，酸处理次之，热处理能力最差。这可能是由于碱处理能够更好的抑制耗氢菌的生长，使得产生的 H₂ 不被产甲烷菌、硫化细菌等耗氢菌消耗掉，同时经过碱处理的厌氧污泥，能中和反应中产生的酸性物质，使该反应器具有更强的 pH 值缓冲能力而使其酸化减速，进而使其产氢能力得到提高。

第四章 添加秸秆对餐厨垃圾产氢的影响

4.1 实验材料

污泥、餐厨垃圾及常微量元素参考 2.3。

稻草秸秆取自合肥市城郊农田。先将稻草秸秆切成3-5cm的小段，然后利用微型植物粉碎机将这些小段粉碎成30-60目的粉末，备用。

4.2 分析方法

气体及液相产物的测定参考 2.5。

秸秆组分的测定参考2.5.4。

4.3 实验方法

将餐厨垃圾与接种物按表4-1的比例配比接种后，充入氮气，把瓶口以胶塞塞住，铁皮塞封口。集气时上接硅胶管便于采气，产生的气体用排水集气法进行收集。

分别做六组处理试验，每一组取2个平行样，共12个反应器，进行高温(55±1℃)厌氧发酵产氢研究。具体实验条件见表1。实验过程中采用水浴恒温震荡器进行24小时连续震荡，最终数据取其平均值。

表4-1 实验处理方法

Table 4-1 Experimental methods

批次	1#	2#	3#	4#	5#	6#
剩余污泥	10%	10%	10%	10%	10%	10%
餐厨垃圾	90%	70%	45%	20%	10%	0%
秸秆	0%	20%	45%	70%	80%	90%
VS (g/g)	5	5	5	5	5	5

4.4 结果与分析

4.4.1 秸秆对餐厨垃圾发酵产气的影响

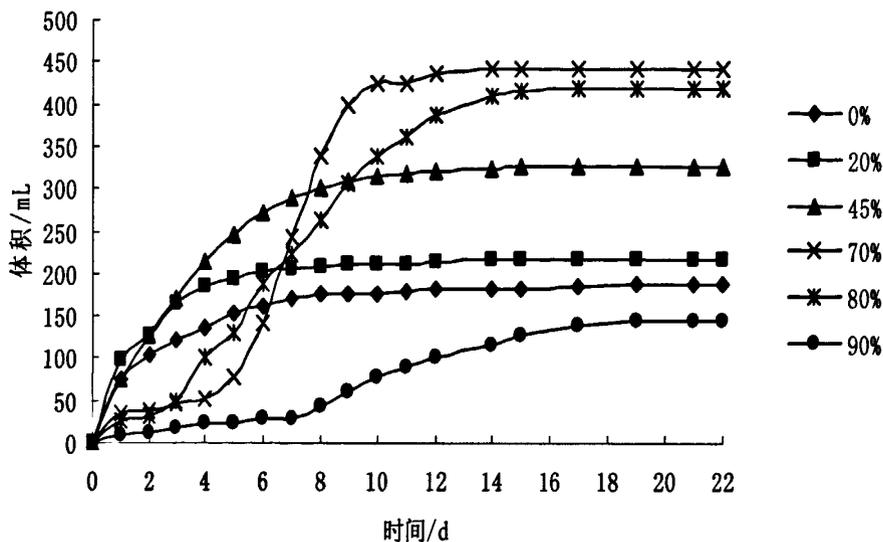


图4-1 秸秆添加量对累积产气量的影响

Fig.4-1 Effect of amount of straw on cumulative gas production

分别以不同比例的秸秆为添加物发酵产气,不同的比例产气能力各不相同(图4-1)。随着秸秆添加量的增加,产气能力逐渐增强,其中添加70%秸秆(4号样)的秸秆产气能力最高,其累积产气量达到354mL/g,约为未添加秸秆(1#样)的2倍。之后,随着添加稻草比例的增加,产气量减少。各种比例产气能力的顺序依次为:4#>5#>3#>2#>1#>6#。

4.4.2 秸秆对餐厨垃圾发酵产氢的影响

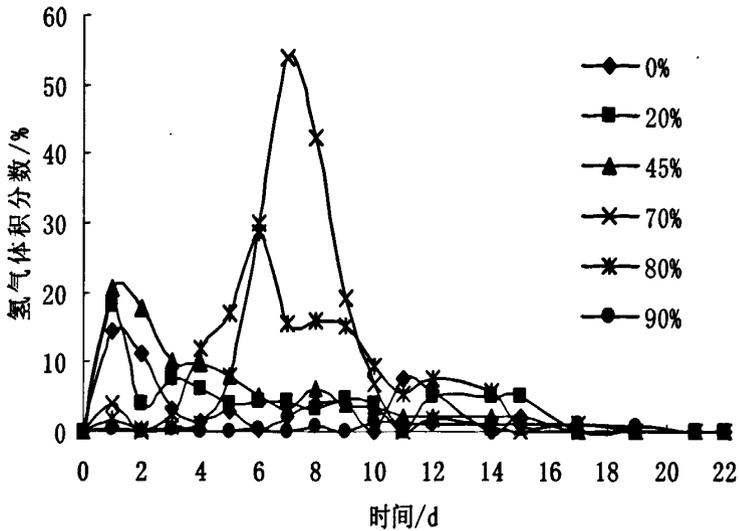


图4-2 秸秆添加量对氢气体积分数的影响

Fig.4-2 Effect of amount of straw on hydrogen content

图4-2为氢气浓度的变化曲线。从图4-2可以看出：各体系在反应启动阶段产气量较为缓慢，只在反应开始的第二天出现了一个产氢小高峰。在反应开始后的前10天，氢气的百分比含量较高，是微生物产氢的主要阶段。在反应进行14天后，产氢量减小并逐渐停止产氢。添加了秸秆的餐厨垃圾其氢气比例均有了显著提高，其中，添加70%秸秆的发酵气体中 H_2 体积分数达到了53.9%，未添加秸秆的 H_2 体积分数最高为14.4%（图4-2）。

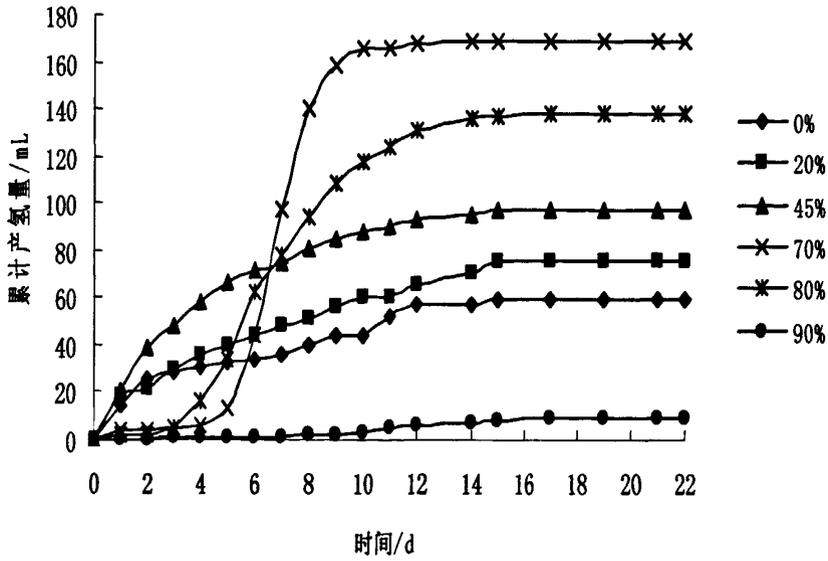


图4-3 秸秆添加量对累积产氢量的影响

Fig.4-3 Effect of amount of straw on the cumulative hydrogen production

6种反应物在发酵过程中产气的成分主要有H₂、CH₄和CO₂，其中70%秸秆的添加量累积产氢量最大（图4-3），达到169mL，是未添加稻草秸秆的2.8倍。各种反应物产气中H₂含量的顺序为：4#>5#>3#>2#>1#>6#。

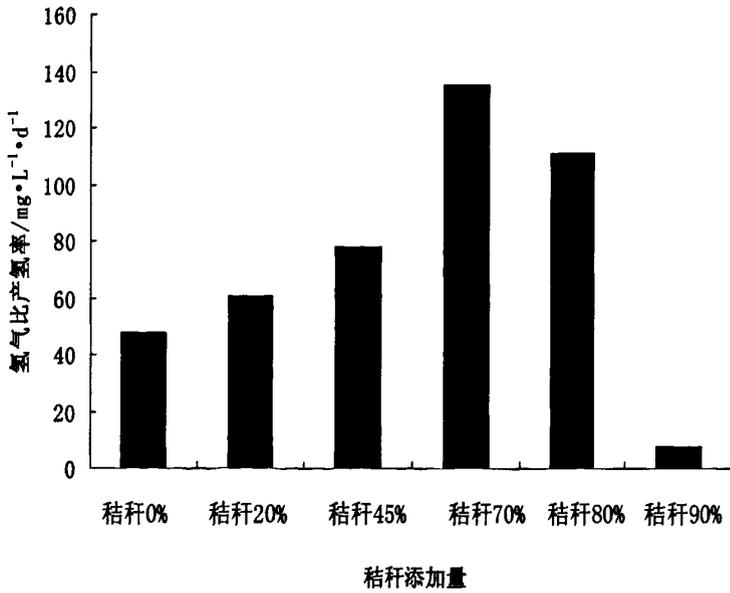


图4-4 稻草添加量的比产氢率

Fig.4-4 Effect of amount of straw on hydrogen production rate

6种反应物的比产氢率分别为47.6、60.2、77.7、134.9、110.7、7.6mL/gVS。在本实验条件下，可以看出：

(1) 添加秸秆对提高餐厨垃圾产氢有较大的作用，随着稻草添加量的增加，产氢量有较大幅度的增加，当秸秆添加量为70%时达到最高，是未添加稻草秸秆产氢量的2.8倍。但之后随着添加量的增加有下降趋势。

(2) 一方面是由于在发酵过程中，秸秆中的部分纤维素和半纤维素被降解生成还原性糖，进一步被产氢菌利用转化产生氢气。原因是不同添加量的秸秆在发酵过程中其纤维素和半纤维素的降解程度不同，因而氢气的产量不同。当秸秆添加量较低时，微生物消耗完易降解物质后，其生物活性降低，无法进一步降解纤维木质素类，因而产氢量较低。而秸秆添加量为70%时，微生物可以进一步降解纤维木质素类物质，有利于氢气的产生。

4.4.3 厌氧发酵反应前后参数变化

表 4-2 反应前后体系浓度的对比

Table 4-2 Comparison of the concentration between before and after reaction

处理方式		COD(mg/L)	NH ₄ ⁺ -N(mg/L)	TP	TOC	pH
秸秆0%	初值	91.16	311.14	42.72	8287	6.59
	终值	195.66	669.02	354.37	15663	3.7
秸秆20%	初值	43.35	257.19	36.73	7675	6.6
	终值	164.94	461.21	321.83	14058	3.73
秸秆45%	初值	37.43	201.53	33.3	3743	6.68
	终值	124.32	291.77	225.09	8400	3.67
秸秆70%	初值	23.03	143.78	30.74	1183	6.75
	终值	53.26	240.94	195.98	7818	3.68
秸秆80%	初值	17.38	134.1	28.17	645	6.86
	终值	28.43	199.63	148.89	7608	3.68
秸秆90%	初值	9.67	122.99	24.74	154.5	7.08
	终值	18.25	154.84	94.95	5264	6.38

上图为反映前后体系的浓度变化。从表 4-2 可以看出，各反应中消化液的 COD、NH₄⁺-N 等浓度在反应后有所增加。

随着反应的进行，体系的 pH 值下降，由开始的接近中性下降到 3.5 左右，最终抑制了产氢菌的活性，使产氢过程停止，氢气的体积分数开始下降，氢气

体积不再增加。

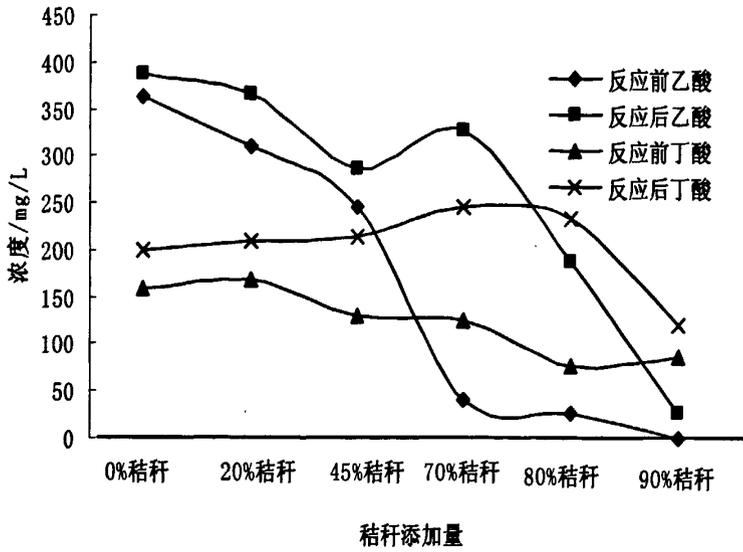


图4-5 发酵反应前后VFA的变化

Fig.4-5 Variation of VFA between before and after reaction

消化过程前期，产氢菌未受到VFA的积累和游离VFA带来的抑制作用，此时出现了明显的产气高峰。在消化过程的后期，各处理的丁酸浓度均在200mg/L以上，乙酸浓度均在300mg/L以上，对产氢菌产生毒害作用，后期产气量出现明显下降。

在本实验中，乙酸和丁酸是主要产物。产氢类型为乙酸型发酵。从图4-5可以看出，秸秆添加量为70%时，乙酸浓度在反应后增幅最大，虽然秸秆添加量为80%时，丁酸浓度变化最大，但是乙酸产量较低，所以产氢量较70%添加量低。

4.4.4 稻草秸秆组分变化

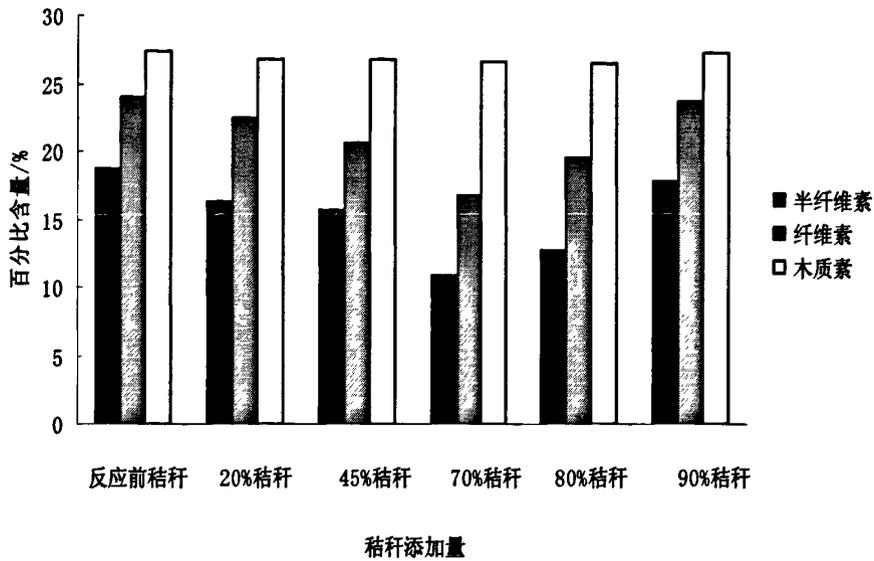


图 4-6 不同添加量下秸秆组分变化

Fig.4-6 Variation in straw composition under different amount of straw

此外，我们也分析了秸秆产氢前后的残渣中纤维素、半纤维素和木质素的含量，结果显示于图 4-6。结果表明，经过厌氧消化反应后，半纤维素和纤维素的含量都有一定程度的降低，这可能是由于秸秆中的部分半纤维素和纤维素转变为可溶性糖所致，从而为厌氧发酵提供了发酵底物。这说明底物中的半纤维素和纤维素对于发酵产氢有直接的贡献。其中，70%添加量的降解率最大，其半纤维素和纤维素的含量分别从 18.8%和 24%降至 10.91%和 16.7%。木质素含量在生物制氢的过程中几乎没有发生任何变化，证明了木质素的生物难降解性。

稻草秸秆中纤维素通常被木质素包裹以“木质素-纤维素”的形式存在。经过发酵反应后，秸秆中的少量半纤维素和纤维素被水解生成可溶性糖，导致餐厨垃圾产氢能力的提高。

第五章 温度对餐厨垃圾产氢的影响

5.1 实验材料

污泥、餐厨垃圾及常微量元素参考 2.3。

稻草秸秆取自合肥市城郊农田。先将稻草秸秆切成3-5cm的小段，然后利用微型植物粉碎机将这些小段粉碎成30-60目的粉末，备用。

5.2 分析方法

气体及液相产物的测定参考 2.5。

秸秆组分的测定参考2.5.4。

5.3 实验方法

将餐厨垃圾、接种物和秸秆按照10%、20%、70%VS的比例进行接种，分别做四组处理试验，每一组取2个平行样，共8个反应器，进行变温厌氧发酵产氢研究。具体实验条件见表5-1。实验过程中采用水浴恒温振荡器进行24小时连续震荡，最终数据取其平均值。

表5-1 实验处理

Table 5-1 Experimental methods

批次	温度 35℃	温度 55℃	总时间
1	21 天		21 天
2	7 天	14 天	21 天
3	14 天	7 天	21 天
4		21 天	21 天

5.4 结果与分析

5.4.1 温度调控对餐厨垃圾发酵产气的影响

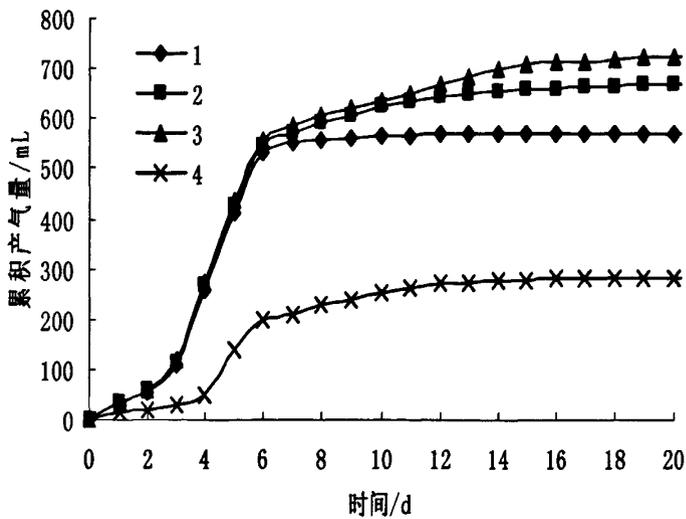


图 5-1 温度调控对累积产气量的影响

Fig.5-1 Effect of different temprature on cumulative gas production

经过变温调控，各个组分的累积产气能力各不相同（图5-1）。通过以上图表可以看出，中温是餐厨垃圾产气的最适条件，其中未进行温度调控的产气量为572mL。而经过温度调控的样品，其产气量有了显著的提高。其中3号样的产气能力较高，其累积产气量达到724mL，2号样累积产气量达671mL。4号样没有经过高温的驯化，难以适应高温的环境，导致产氢效果差。各反应的产气能力顺序依次为：3#>2#>1#>4#。由此看出，与高温相比，中温条件是厌氧产气的最佳条件。通过温度调节使得产气量有了较大幅度的提高。

秸秆中的中的主要成分为纤维素，纤维素酶解的最适温度一般为 50℃，而微生物发酵的最适温度通常在 30℃左右，两者之间的温差在 10℃以上。因此，添加稻草秸秆过程也存在着纤维素酶解和微生物发酵的最适温度不一致的矛盾。因此，维持一定时间的温度以适应微生物生长，再通过反应过程中升高温度以促进纤维素的酶解，从而达到促进纤维素原料酶解和微生物发酵的目的。

5.4.2 温度调控对餐厨垃圾发酵产氢的影响

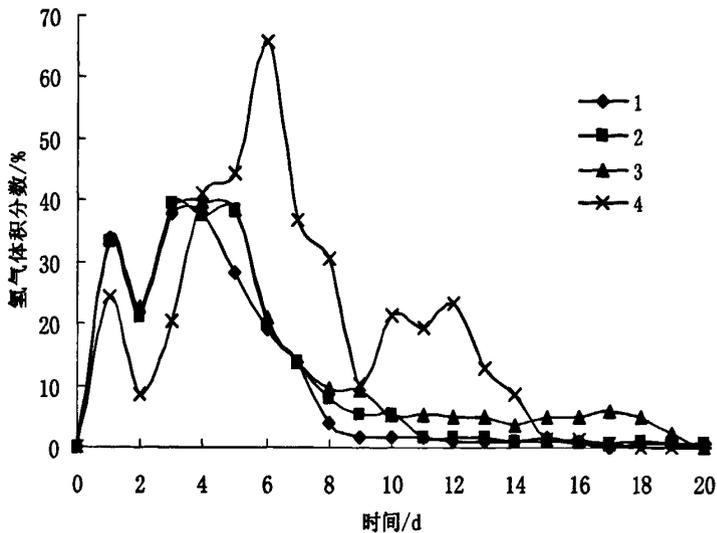


图 5-2 温度调控对氢气体积含量的影响

Fig.5-2 Effect of different temperature on hydrogen content

如图5-2所示,四种反应物在发酵过程的总体趋势是:反应开始的第一天就有 H_2 产生,随着时间推移出现振荡变化,最后急剧减少并趋于平稳。前三个样在反应开始的第一天就出了产氢小高峰,氢气含量约占气体总体积的33.8%,产氢高峰出现在第四天,达到了38%。四号样的产氢高峰出现在反应后第六天,达到了65.89%,之后在第十天和十二天出现了两个小高峰,最后下降并逐渐停止产氢。

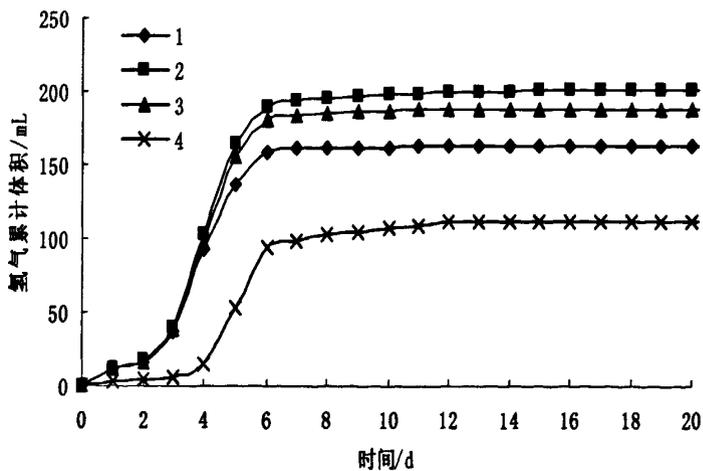


图5-3 温度调控对累积产氢量的影响

Fig.5-3 Effect of different temperature on the cumulative hydrogen production

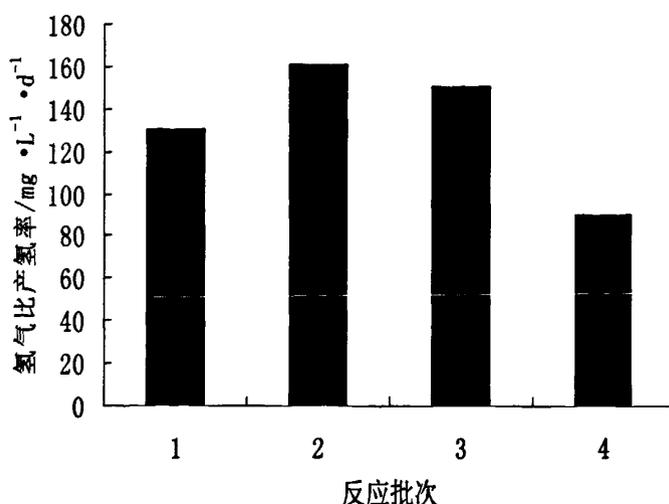


图 5-4 不同温度的比产氢率

Fig.5-4 Effect of different temprature on hydrogen production rate

四种反应物的累积氢气体积分别为162mL、201mL、188mL、112mL。各种反应物产气中累积H₂含量的顺序：2#>3#>1#>4#（图5-4）。可以看出，经过温度调控的产氢量有了一定提高，其中2号样产氢量有了较大幅度的提高。

四种反应物的比产氢率分别为 130.1、161.5、150.4、90mL/gVS。可以看出，变温调控对提高餐厨垃圾产氢有较大的作用。

从图 5-2~5-4 可以看出，在本实验条件下：

(1) 经过温度调控的产氢量有了一定提高，其中 2 号样产氢量有了较大幅度的提高。而当发酵开始 7d 时，微生物已经完全适应了新的生长环境，处于对数生长期，此时升高温度能够促进菌体活性的发挥，并有利于底物的酶解，在一定程度上促进产氢量的增加，同时有利于纤维素和半纤维素的酶解转化。而当发酵启动 14d 后升高温度，此时菌体细胞已经进入稳定期，对产氢酶的活性会有一定影响，从而影响最终的产氢量。

(2) 中温是餐厨垃圾产气的最适条件，在高温条件下微生物的活性受到影响。高温条件下，一部分较弱的微生物菌体难以耐受较高的温度而失活，而能够耐受高温处理的菌株显示出了较高活性，加之底物降解产生大量的糖，使氢气产量有所增加，但总产氢量较低。

(3) 在发酵过程中，由于厌氧发酵产生大量的丁酸和乙酸，使得发酵开始后不久，培养基的 pH 值就迅速下降，而纤维素酶作用的最适 pH 值为 4.8，因此，pH 值的变化有利于秸秆原料的酶解。此时，将培养物的温度升高，能够促进纤维素原料酶解。但是由于纤维素酶解和微生物发酵的最适温度不一致的矛盾，此时温度升高不利于微生物生长，因此，产氢量不再增加。

(4) 在一定的温度条件下，酶活尤其是秸秆中的纤维素酶的活性增强，降

解加快，从而为厌氧细菌提供更多的养分，使得发酵更为彻底，产气量增加。

5.4.3 反应前后参数变化

表5-2 反应前后体系浓度的对比

Table 5-2 Comparison of the concentration between before and after reaction

处理方式		COD(mg/L)	NH ₄ ⁺ -N(mg/L)	TP	TOC	pH
	初值	35.5	155.53	21.31	2573	6.92
1	终值	52.34	181.2	44.89	5375	3.59
2	终值	61.34	182.5	31.98	5795	3.48
3	终值	51.83	171.44	31.81	5000	3.54
4	终值	65.71	234.37	41.27	6615	3.97

上图为反映前后体系的浓度变化比。从表 5-2 可以看出，各反应中消化液的 COD、NH₄⁺-N 浓度随时间增加而增加。

pH 值的变化可以看出，在不同温度下，反应前后体系的 pH 均下降。由开始的接近中性下降到 3.5 左右，最终抑制了产氢菌的活性，使产氢过程停止，氢气的体积分数开始下降，氢气体积不再增加。

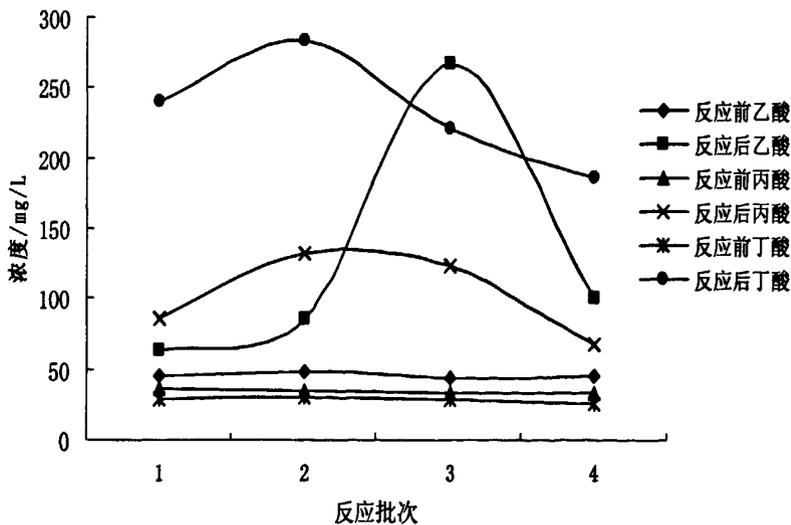


图5-5 发酵反应前后VFA的变化

Fig.5-5 Variation of VFA between before and after reaction

图 5-5 为发酵前后 VFA 的浓度变化。在消化过程的后期，各处理的丁酸浓度均在 200mg/L 以上，乙酸浓度均有较大差别，VFA 的积累对产氢菌产生毒害

作用，后期产气量出现明显下降。

在本实验中，乙酸和丁酸是主要产物。从图 5-5 可以看出，2#控温反应条件下，乙酸浓度在反应后增幅最大，3#控温反应条件下，丁酸浓度增幅最大，由于1mol葡萄糖生成2mol乙酸时生成4mol氢气，而生成1mol丁酸时生成2mol氢气，所以，2#条件下反应物产生的乙酸较多，因此氢气产量较高。

5.4.4 稻草秸秆组分变化

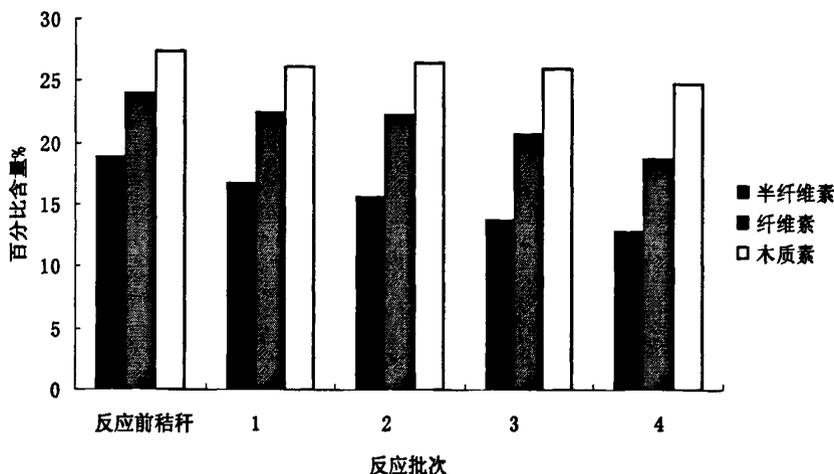


图 5-6 反应前后秸秆组分变化

Fig.5-6 Variation in straw composition under different tempratre

图 5-6 为产氢前后秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的含量。结果表明，经过厌氧消化反应后，半纤维素和纤维素的含量都有一定程度的降低，由于秸秆中的部分半纤维素和纤维素转变为可溶性糖所致，从而为厌氧发酵提供了发酵底物。其中，2#样的降解率最大，其半纤维素和纤维素的含量分别从 18.8% 和 24% 降至 12.9% 和 18.7%。秸秆中的少量半纤维素和纤维素被水解生成可溶性糖，导致餐厨垃圾产氢能力的提高。

5.5 小结

(1) 在发酵开始 7d 后，进行变温调控，能够促进纤维素酶解，并有利于微生物保持高活性。

(2) 通过对餐厨垃圾的变温调控，有利于细胞内营养物质和信息的传递，适当的升高反应温度能够促进细胞内外的传质、传热和信息传递，从而使微生物保持在高活性的状态，产物的产量和底物的酶解效率都得到提高。

(3) 与恒温发酵相比，变温调控的产氢量得到有效提高，纤维素和半纤维素的得到降解转化。

第六章 结论与展望

6.1 结论

本文对餐厨垃圾厌氧发酵产氢进行了研究, 得到以下结论:

(1) 通过对接种污泥进行高温预处理, 结果表明热处理的污泥能有效提高餐厨垃圾的产氢效率。在 102℃, 90min 的条件下, 反应体系中氢气的浓度和产量最高。

(2) 酸、碱、热处理污泥均能实现餐厨垃圾的发酵产氢, 三种预处理方式都对厌氧发酵产氢有较强的促进作用。三种预处理方法中, 碱处理的厌氧污泥在产氢量和氢气浓度均高于热处理污泥和酸处理的污泥。

(3) 添加秸秆对餐厨垃圾产氢有促进作用, 随着稻草添加量的增加, 产氢量有较大幅度的增加, 当秸秆添加量为 70% 时达到最高, 比产氢率为 134.9 mL/g VS, 之后, 随着秸秆添加量的继续增加有下降趋势。

(4) 中温是餐厨垃圾产气的最适条件, 在高温条件下微生物的活性受到影响。经过变温调控, 氢气的浓度和产量均得到有效提高。当控温设置为 35℃ 反应一周, 再变温 55℃ 反应两周时, 氢气的产量最高, 达到 161.5 mL/gVS。

(5) 产氢前后秸秆中纤维素、半纤维素和木质素的含量有较大的改变, 半纤维素和纤维素的含量都有一定程度的降低, 这是由于秸秆中的部分半纤维素和纤维素转变为可溶性糖, 然后被转换为氢气和有机酸。

6.2 展望

(1) 目前的厌氧产氢发酵研究大多停留在实验研究阶段, 距离规模化还有很长的路要走;

(2) 生物能源不但包括氢气, 还包括生物柴油、生物甲烷等, 发酵后的液相产物中还有大量的有机酸和醇类, 寻找使用低廉、有效的工艺对发酵产物进行进一步的分离纯化, 以提高底物的利用率;

(3) 进一步研究筛选优质的产氢菌群, 为产氢菌种建立良好的共生生态体系;

(4) 设计和改进厌氧发酵反应器, 是促进生物制氢工业化的关键之一。

参考文献

- [1]周庆凡, 朱又红. 从世界能源统计数据看中国能源现状[J]. 中国能源, 2005 27(11): 40-42.
- [2]李勇, 黎桂喜, 潘贤娣. 黄河干流径流泥沙特性变化[J]. 泥沙研究, 2002 (4): 1-7.
- [3]李怡庭, 张曙光, 李淑贞. 黄河泥沙对水质参数影响的研究[J]. 水力水电科技进展, 2003, 23 (1): 11-14.
- [4]张伟, 吴海, 闫之丽. 铜抑制单细胞生长的毒性效益[J]. 中国环境科学, 2001, 21 (1): 4-7.
- [5]陶澍. 应用数理统计方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1994, 8.
- [6]国家环保局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法(第四版)[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002, 715-721.
- [7]赵蓉, 倪晋仁, 孙卫玲. 黄河中游泥沙对铜离子的吸持行为研究[J]. 环境科学学报, 2003, 23 (4): 441-446.
- [8]高宏, 暴维英, 张曙光, 等. 黄河泥沙中铜的形态与其生物有效性的相关性研究[J]. 人民黄河, 1996, 18 (1): 10-14.
- [9]Veziroglu T N. Twenty years of the hydrogen movement[J]. International Journal Hydrogen Energy, 1995, 20: 1-7.
- [10]Ramachandran R Menon R K. An overview of industrial uses of Hydrogen [J]. International Journal Hydrogen Energy, 1998, 23: 593-598.
- [11]Rosen M A Scott D S. Comparative efficiency assessments for a range of hydrogen production processes[J]. International Journal Hydrogen Energy, 1998, 23: 653-659.
- [12]Das D, Veziroglu TN. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature. Int J Hydrogen Energy, 2001, 26: 13-28.
- [13]Wang Y. Hydrogen production by biophotolysis based on microalgal photosynthesis. Process Biochem. 1995., 30: 1-7.
- [14] Han SK, Shin HS. Biohydrogen production by anaerobic fermentation of food waste. Int J Hydrogen Energy, 2004, 29: 569-577.
- [15]汪群慧, 马鸿志, 王旭明, 等. 厨余垃圾的资源化技术[J]. 现代化工, 2007, 24 (7): 56-59.
- [16]SMET E, VANLAN GEN HOV E H, DEDO I. The emission of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste[J]. Atmosphere Environment, 1999, 33(8): 1295-1303.
- [17]牛冬杰, 赵亚萱, 刘常青等. 餐厨垃圾厌氧产氢综述[J]. 环境污染与防治,

2007, 29(5): 271-275.

[18]Taguchi F, Chang J D, Mizuami N. Isolation of a hydrogen-producing bacterium, *Clostridium beijerinckii* strain AM21B from termites[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1993, 39: 726-730.

[19]Yokoi H, Tokushige T. Hydrogen production by immobilized cells of *Aciduric* and *Enterobacter aerogenes* strain HO-39[J]. Biotechnology Letters, 1997, 19(5): 481-484.

[20]Kumar N, Monga P S, Biswas A K. Modeling and simulation of clean fuel production by *Enterbacter cloacae* II T-BT08[J]. Intenal Journal of Hydrogen Energy, 2000, 25: 945-952.

[21]Kumar N, Das D. Enhancement of hydrogen production by *Enterbacter cloacae* II T-BT08[J]. Process Biochemistry, 2000, 35: 589-593.

[22]沈同, 王镜岩. 生物化学(下)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1996.

[23]Hansel A, Lindblad P. Towards optimization of cyanobacteria as biotechnol gically relevant producers of molecular hydrogen, a clean and renewable energy source [J]. Appl MicrobiolBiotechnol, 1998, 50(7): 153-160.

[24]Ren N Q, Wang B Z, Huang JC. Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor[J]. Biotech&Bioeng, 1997, 54(5): 428-433.

[25]任南琪. 厌氧技术原理与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004, 84-85.

[26]王勇, 任南琪, 孙寓娇, 等. 乙醇型发酵与丁酸型发酵产氢机理及能力分析 [J]. 太阳能学报, 2002, 23(3): 366-373.

[27]李永峰. 高浓度有机废水发酵法制取氢气技术[J]. 现代化工, 2005, 25(3): 11-15.

[28]任南琪, 李永峰, 郑国香, 等. 生物制氢理论研究进展[J]. 地球科学展, 2004, 19(增刊): 537-541.

[29]Li Y F, Ren N Q, Yang C P, et al. Biohydrogen production behaviour and molecular characterization of a new special of anaerobic bacterium[A], In:Guiot S R. Anaerobic Digestion 2004:Proceedings of the 10th world Anaerobic Confernce [C]. Montreal, Canada, 2004, (2): 648-653.

[30]李永峰. 高浓度有机废水发酵法制取氢气技术[J]. 现代化工, 2005, 25(3): 11.

[31]Fang HH P, Liu H. Effect of pH on hydrogen production from gluxse by mixed cttlture[J]. Bio-resource Technology, 2002, 82-85.

[32]左宜, 左剑悉, 张薇, 等. 影响厌氧发酵生物产氢因素的试验研究[J]. 中国沼气, 2003, 21(3): 8-11.

[33]张雪松, 朱建良. 影响纤维素类物质厌氧发酵产氢因素的研究[J]. 生物技

术通报, 2005(2): 47-50.

[34]幽景元, 肖波, 杨家宽, 等. 生活垃圾厌氧发酵条件的正交实验[J]. 新能源及工艺, 2003(2): 28-30.

[35]吴满昌, 孙可伟, 李如燕, 等. 温度对城市生活垃圾厌氧消化的影响[J]. 生态环境, 2005, 14(5): 683-685.

[36]Smet E, Vanlangenhove H, Dedo I. The emission of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste[J]. Atmos Environ, 1999, 33(8): 1295-1303.

[37]袁振宏, 吴创之, 马隆龙. 生物质能利用原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社 2005: 71-75.

[38]杏艳, 赵金安, 樊耀亭, 等. 含纤维素类生物质的生物制氢[J]. 太阳能学报, 2006, 27 (7): 656-660.

[39]TANISHO S, KAMI YA N, WA KAO N. Hydrogen evolution of *Enterobacter aerogenes* depending on culture pH: mechanism of hydrogen evolution from NADH by means of membrane-bound hydrogenase[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1989, 97(3): 1-6.

[40]李今, 吴振斌, 贺锋. 生物膜活性测定中 TTC-脱氢酶活性测定法的改进[J]. 吉首大学学报(自然科学版), 2005, 26(1): 37-39.

[41]Collet C, Adler N, Schwitzguebel J P, et al. Hydrogen production by *Clostridium thermolacticum* during continuous fermentation of lactose[J]. International Journal Hydrogen Energy, 2004, 29:1479-1485.

[42]Liu G, Shen J. Effects of culture medium and medium conditions on hydrogen production from starch using anaerobic bacteria[J]. Biosci Bioeng, 2004, 98:251-256.

[43]Shin H S, Youn J H, Kim S H. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis[J]. International Journal Hydrogen Energy, 2004, 29: 1355-1363.

[44]马欢. 脱氢酶在生物质发酵产氢过程中的规律和作用研究[D]: [硕士学位论文], 昆明: 云南师范大学太阳能研究所, 2006.

[45]Smet E, Vanlangenhove H, Dedo I. The emission of volatile compounds during the aerobic and the combined anaerobic/aerobic composting of biowaste[J]. Atmos Environ, 1999, 33(8): 1295-1303.

[46]Zawadzki J. Infrared Studies of SO₂ on Carbons- II the SO₂ Species Adsorbed on Carbon Film s[J]. Carbon, 1987, 25(4): 495-502.

- [47]Tsuji K, Shiraishi I. Combined Desulfurization, Denitrification and Reduction of A ir Toxics U sing Activated Coke I Activity of Activated Coke [J]. Fuel, 1997, 76(6): 549 -553.
- [48]Logan B E, Oh S E, Ginkel S V. Biological hydrogen production measured in batch anaerobic respirometer[J]. Environ Science Technology, 2002, 36:2530-2535.
- [49]袁振宏, 吴创之, 马隆龙. 生物质能利用原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 71-75.
- [50]朱南文, 闵航, 陈美慈, 等. 脱氯酶活性测定方法的探讨[J]. 中国沼气 1996, 16(2): 3-6.
- [51]洪天求, 郝小龙, 俞汉青. Na⁺离子浓度对厌氧发酵产氢气影响的实验研究 [J]. 水处理技术, 2004, 30 (5): 270-275.
- [52]林明, 任南琪, 王爱杰, 等. 几种金属离子对高效产氢细菌产氢能力的促进作用[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2003, 35 (2): 147-151.
- [53]Wang X J, Ren N Q, Xiang W H. Effects of iron on hydrogen-production capacity, hydrogenase and NADH-fd reductase activities of a fermentative hydrgen producing bacterial strain B49[J]. High Technology Letters, 2004, 10 (4) : 69-74.
- [54]孙寓姣, 任南琪, 王勇. 丁酸型产氢-产酸发酵细菌 pH 生态位探讨[J]. 太阳能学报, 2004, 25 (2): 232-235.
- [55]GRAY C T, GEST H. Biological formation of molecular hydrogen [J]. Science, 1964, 148: 186-192.
- [56]Liu D W, Liu D P, Raymond J, et al. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process[J]. Water Research, 2006, 40: 2230-2236.
- [57]诸葛健, 王正祥. 工业微生物实验技术手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 1994.
- [58]Chen C C, Lin C Y. Using sucrose as a substrate in an anaerobic hydrogen producing reactor[J]. Advanced Environmental Research, 2003, 7: 695-699.
- [59]Chang F Y, Lin C Y. Biohydrogen production using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor[J]. Internationgal Journal Hydrogen Energy, 2004, 29: 33-39.
- [60]Kayhaniam M. Ammoia inibitionin high-solids biogasification[J]. Environmental Technology, 1999, 20(4): 355 -365.
- [61]GOERING H K, VAN SOEST PJ. Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and someapplications). Agricultura Handbook No.379[M]. Agricultural Research Service, United StatesDepartment of Agriculture, Washington DC, 1970: 1-20.
- [62]Hu B, Chen S. Pretreatment of methanogenic granules for immobilized

hydrogen fermentation[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2007, 32(15): 3266-3273.

[63]Idania V V, Hector M.Hydrogen production by fermentative consortia [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2009, 13: 1000-1013.

[64]Liu D W, Liu D P, Raymond J, et al. Hydrogen and methane production from house-hold solid waste in the two-stage fermentation process [J]. *Water Research*, 2006, 40:2230-2236.

[65]Kosters I W, Iettinga G. The influence of ammonium-nitrogen on the specific activity of palletized methanogenic sludge[J]. *Agricultural Wastes*, 1984, (9): 205-216.

[66]Angelidaki I, Ahring B K. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: The effect of ammonia[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1993, 38: 560—564.

[67]Wiegant W M, Zeeman G. The mechanism of ammonia inhibition in the thermophilic digestion of livestock wastes[J]. *Agricultural Wastes*, 1986, 16: 243-253.

[68]Idania Valdez-Vazquez, Elvira Rios-leal, Alessandro Carmona-Martinez et al. Improvement of biohydrogen production from solid wastes by intermittent venting and gas flushing of batch reactors headspace[J]. *Environmental Science Technol*, 2006, 40: 3409-3415.

[69]张波, 徐剑波, 蔡伟民. 有机废物厌氧消化过程中氨氮的抑制性影响[J]. *中国沼气*, 2003, 21(3): 26-29.

[70]贺延龄. 废水的厌氧生物处理[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998, 88-101.

攻读硕士期间发表的论文

(1) ZHANG Guojun, PENG Shuchuan, YUE Zhengbo, WANG Jin. The Research Of Anaerobic Fermentative Hydrogen Productions On Waste Food In Inoculum pretreatment [J]. Proceedings of the 3rd International Conference on Asian-European Environmental Technology and Knowledge Transfer, Hefei, China. 2010, 123-127.