

混合菌种非固定化技术制氢反应器产氢效能

林明¹, 任南琪¹, 马汐平², 马放¹, 王爱杰¹, 王相晶¹, 李建政¹

(1. 哈尔滨工业大学 市政环境工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150090; 2. 辽宁大学 环境科学系, 辽宁 沈阳 110036)

摘要: 为了研究混合菌种非固定化技术生物制氢反应器的产氢效能, 实验采用厌氧 Hungate 技术和 MPN 法, 从采用混合菌种非固定化技术的生物制氢反应器厌氧活性污泥中分离到 210 株优势发酵菌株, 其中 18 株为产氢细菌 (HPB)。实验结果表明, 主要决定反应器产氢效能的因素是反应器内 HPB 的数量和活性。采用混合菌种非固定化技术可以充分发挥 HPB 的产氢活性, 但是由于反应器内 HPB 的数量和比例不高, 大大制约了混合菌种非固定化技术生物制氢反应器效能的充分发挥。针对这一结论, 提出采用有自絮凝能力的高效产氢细菌进行快速启动和投加高效产氢菌株的方法提高生物制氢反应器的产氢效能。

关键词: 产氢; 氢能; 发酵细菌; 固定化; 混合菌种

中图分类号: TQ920.1

文献标识码: A

文章编号: 0367-6234(2002)06-0815-05

Hydrogen production efficiency of mixed culturing bacteria in the bio - hydrogen - producing reactor with non - immobilized technology

LIN Ming¹, REN Nan-qi¹, MA Xi-ping², MA Fang¹, WANG Ai-jie¹, WANG Xiang-jing¹, LI Jian-zheng¹

(1. School of Municipal & Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 2. Dept. of Environmental Science, Liaoning University, Shenyang 110036, China)

Abstract: How to enhance the hydrogen production efficiency in the bio - hydrogen - producing reactor was one of the important issues for biotechnology of hydrogen production by fermentation. For the study of efficiency in the bio - hydrogen - producing reactor, the experiments were carried out by anaerobic Hungate technology and MPB method. 210 strains of dominant fermentation bacteria were isolated from the sewage in the bio - hydrogen - producing reactor and 18 strains were hydrogen production bacteria (HPB) in these strains. The experiment result showed that the hydrogen production efficiency was determined by the number and activity of HPB. The hydrogen production activity of HPB was enhanced by the mixed culture and non - immobilized technology. But the hydrogen production efficiency was reduced because the low number and low proportion of HPB in the reactor. It was recommended that the reactor should be started up by self - flocculation HPB and the self - flocculation HPB be cast in the course of reactor running for the enhanced efficiency of hydrogen production in the reactor.

Key words: hydrogen producing; hydrogen energy; fermentation bacteria; immobilization; mixed culture bacteria

氢能是一种清洁能源, 是未来能源的重要发

展方向。与常规的制氢技术比, 由于生物制氢技术具有可再生和低能耗等特点, 极有可能成为最有前途的制氢技术^[1]。为了提高反应器效能的充分发挥即保证反应器中拥有高浓度的产氢细菌 (HPB) 和 HPB 产氢能力的最大发挥, 目前, 国际上主要采取固定化技术达到这一目的^[2-7]。Sasikala^[2]通过海藻酸钙固定化技术使类球红细菌

收稿日期: 2002-03-18.

基金项目: 国家高技术研究发展计划资助项目 (863 - 2001AA515030); 国家重点基础研究发展规划项目 (973 - G2000026402).

作者简介: 林明 (1975 -), 男, 博士研究生;

任南琪 (1959 -), 男, 特聘教授, 博士生导师.

(*rhodobacter sphaeroides*) O. U. 001 利用废水产氢,从每升废水产氢气 996 mL 提高到 3 094 mL. 文献[3]通过多孔草球固定丁酸梭菌 IFO13949 使产氢效率从非固定的 $18.3 \text{ mmol L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 提高到 $24.4 \text{ mmol L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. 虽然固定化细胞与非固定化细胞相比有着耐低 pH、持续产氢时间长、抑制氧气扩散速率,防止 HPB 细胞流失等优点,但是,由于固定化载体在反应器中占有相当大的空间,限制了 HPB 在反应器中浓度的提高,从而也妨碍了生物制氢反应器产氢效能的发挥. 另外,载体对 HPB 的毒性及对 HPB 产生的氢气和二氧化碳扩散的阻碍,也影响生物制氢反应器的产氢效能. 同时,由于固定化技术中大多数采用的是纯菌种,较难实现生物制氢技术工业化.

为了解决这一矛盾,任南琪教授提出了生物

制氢反应器的混合菌种非固定化制氢技术^[8],即通过对生物制氢优势菌群限制因子(pH、氧化还原电位 ORP、有机负荷等)的控制和人工驯化的手段,在反应器中形成产氢稳定的乙醇型发酵菌群,使反应器中菌体细胞的浓度质量达到较高的水平($11.3 \sim 19.7 \text{ g/L}$)^[9]. 由于此技术采用的是混合菌种,在运行中方便操作和管理,大大提高了生物制氢技术工业化的可行性,也成为国际上近来生物制氢技术研究的热点. Ueno 等^[10]和 Lin 等^[11]采用混合菌种非固定化制氢技术分别利用工业废水和葡萄糖成功制备氢气. 国内外研究结果表明(见表 1. 其中 v_{\max} 为单位体积的最大产氢速率),混合菌种非固定化技术的产氢能力与纯菌种固定化技术并没有大的差别.

表 1 采用不同技术的最大产氢速率 v_{\max}

Table 1 Maximum specific H_2 producing rate obtained by the different technique

技术类型	菌种	载体	营养底物	$v_{\max} / \text{mmol} \cdot (\text{L} \cdot \text{h})^{-1}$	
纯菌种固定化技术	丁酸梭菌 IFO13949 ^[4]	琼脂凝胶	自制培养基 ^a	16.7	
	丁酸梭菌 IFO13949 ^[4]	多孔草球	自制培养基 ^a	22.4	
	深红螺菌 KS301 ^[5]	海藻酸钙	葡萄糖	4.0	
	产气肠杆菌 E82005 ^[6]	聚氨酯泡沫	糖蜜	13.0	
	产气肠杆菌 HO-39 ^[3]	琼脂凝胶	自制培养基 ^a	38.0	
	丁酸梭菌 IFO3843 ^[7]	聚丙烯酰胺凝胶	自制培养基 ^a	31.4	
非固定化技术	混合菌种	厌氧絮状污泥 ^[9]	无	糖蜜	9.10
		厌氧絮状污泥 ^[11]	无	葡萄糖	31.25
		厌氧絮状污泥 ^[10]	无	含糖废水	8.25
纯菌种	产气肠杆菌 HU-101 ^[5]	无	自制培养基 ^b	31.00	
	产气肠杆菌 AY-2 ^[5]	无	自制培养基 ^b	58.00	

a. 质量分数为 1% 的葡萄糖; b. 质量分数为 1.5% 的葡萄糖.

1 材料和方法

1.1 菌种来源和厌氧培养方法

菌种取自本实验室连续流混合菌种非固定化技术生物制氢反应器(见图 1)内呈絮凝态的厌氧活性污泥. 细菌培养中无菌水、培养基的制备和全部实验操作采用改进的 Hungate 厌氧技术^[12],以高纯氮气为气相,35 °C 常规培养.

1.2 培养基

液体培养基(g/L): 葡萄糖 20; 胰蛋白胨 4; 牛肉膏 2; 酵母汁 1; NaCl 4; K_2HPO_4 1.5; MgCl_2 0.1; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1; L-半胱氨酸 0.5; 发酵液

10 mL; 维生素液(钴胺素 0.01; 抗坏血酸 0.025; 核黄素 0.025; 柠檬酸 0.02; 吡多醛 0.05; 叶酸

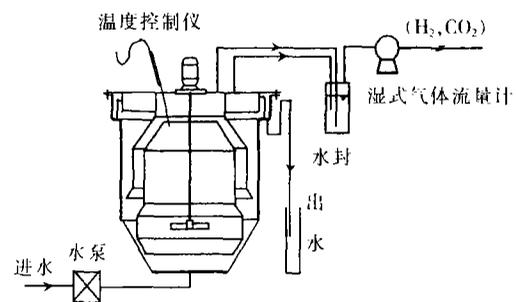


图 1 生物制氢反应器

Fig. 1 Bio-hydrogen-producing reactor

0.01;对氨基苯甲酸 0.01;肌酸 0.025) 10 mL;微量元素液 ($\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05; H_3BO_3 0.01; $\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})_3$ 4.5; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01; Na_2MoO_4 0.01; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.2; $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 0.01$) 10 mL;刃天青 (0.2%) 1~2 mL; pH 6.0~6.4.

固体培养基:液体培养基+琼脂(2%)

1.3 优势菌种的计数和 HPB 的筛选

从生物制氢反应器中取出一定量产氢发酵活性污泥,采用 MPN 法计数. 对所有稀释梯度最高的单菌落进行分纯操作,所分离到的菌种即优势菌种. 将分离到的纯菌在 35 °C 120 r/min 条件下,振荡培养 5~8 d,用 1 mL 无菌注射器从其气相中取样,检测其气相成分中是否有氢气存在. 如果有,即为优势产氢细菌(HPB).

1.4 发酵产物的分析

挥发酸和醇类测定:使用 GC122 型气相色谱仪,柱长 2 m,担体 GDX103,60~80 目,氢火焰检测器,氮气作载气,流速 60 mL/min,氢气流速为 50 mL/min,空气流速为 490 mL/min,汽化室 210 °C,柱和检测室 190 °C,取 1 mL 培养液,滴入 6 mol/LHCL 两滴,离心 5 000 r/min,取上清液进样.

氢气和二氧化碳测定:使用 SC-II 型气相色谱仪,柱长 2 m,担体为 TDS-01,60~80 目,热导池检测器,氮气作载气,流速为 70 mL/min,柱和检测室 150 °C,从图 1 气体取样口取气相样品进样.

2 结果与讨论

2.1 生物制氢反应器运行状况

在发酵法生物制氢技术中,传统的观点认为生物制氢反应器末端产物应以丁酸为主^[8,13-15],即丁酸型发酵;当丙酸大量出现在末端产物^[8,15-17]中,会导致反应器运行状况的恶化. 任南琪^[8]首次提出在生物制氢技术中反应器的末

端发酵产物主要为乙醇的反应类型(即乙醇型发酵),得到较高的氢气产量,且比传统的丁酸型发酵更稳定,更有利.

表 1 中的反应器状态均处于乙醇型发酵,第 2、3 次取泥时反应器的产氢速率较高,分别为 28.2 和 22.6 L/d,其末端产物乙醇的浓度也相应提高为 8.40 和 28.39 mmol/L,所以第 2、3 次取泥时反应器的运行状态较好. 第 4~6 次取泥产氢速率较低,分别为 12.6、8.5 和 15.2 L/d,丙酸在发酵产物中的比例大幅升高,反应器运行状况较差;尤其是在第 5、6 次取泥时,丙酸在发酵产物中的比例分别达到 12.4% 和 20.4%,近于恶化.

2.2 生物制氢反应器中产氢污泥的优势菌种

从表 2 中可以得出采取混合菌种非固定化技术的生物制氢反应器可以获得较高的细胞质量浓度(如污泥质量浓度 MLSS 1 588~8 272 mg/L)和较高的菌数(如 $6 \times 10^7 \sim 1.1 \times 10^{17}/\text{mL}$). 其中: $\rho_{\text{Ca}^{2+}}$ 为总碱度, v 为产氢速率, φ_{H_2} 为氢气体积分数, c_i 为发酵产物浓度. 但是,决定生物制氢反应器产氢效率的因素并不是发酵菌群的细胞浓度. 如在第 4 次取泥时种泥的菌数和 MLSS 质量浓度分别达到 $4 \times 10^{16}/\text{mL}$ 和 8 272 mg/L,与第 3 次取泥的菌数($1.1 \times 10^{17}/\text{mL}$)和 MLSS(7 008 mg/L)差不多,而第 3 次取泥时产氢速率 22.6 L/d 却远远大于第 4 次的 12.6 L/d. 究其原因,是第 3 次取泥时 HPB 占优势发酵菌群的比例为 1/3,高于第 4 次取泥时(比例为 0),第 3 次取泥时反应器中 HPB 的细胞质量浓度较高(见图 2),所以第 3 次取泥时的产氢速率就高. 从图 2 和表 2 中,可以得出当反应器中 HPB 的菌数和发酵菌群中的比例有所提高,其产氢速率就提高. 所以决定生物制氢反应器产氢效能的因素是 HPB 菌群的细胞质量浓度,

表 2 取泥时生物制氢反应器运行参数和发酵产物

Table 2 Working parameters and ferment products when sampling sludge in bio-hydrogen-producing reactor

取泥 顺序	pH	ρ_{MLSS} $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	U mV	$\rho_{\text{Ca}^{2+}}$ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	有机负荷 $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$	菌数 mL^{-1}	v $\text{L} \cdot \text{d}^{-1}$	φ_{H_2} %	$c_i / \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$			
									乙醇	乙酸	丙酸	丁酸
1	4.60	7 694	-440	410	3.12	6.0×10^7	ND	ND	2.71	2.17	1.00	1.86
2	5.00	7 196	-470	450	21.98	1.0×10^{16}	28.2	35	8.40	1.74	1.17	1.63
3	4.65	7 008	ND	520	27.12	1.1×10^{17}	22.6	37	28.39	18.05	2.40	6.28
4	4.58	8 272	-230	370	26.44	4.0×10^{16}	12.6	38	13.51	9.19	2.38	1.70
5	4.25	1 588	100	480	60.44	3.0×10^{11}	8.5	22	7.23	11.53	4.43	12.70
6	4.48	2 052	-25	590	42.08	1.0×10^{12}	15.2	33	18.26	15.79	10.67	7.51

注: * 其他产物忽略不计;水力停留时间均为 4.8 h;第一次取泥为从 1 号生物制氢反应器取泥;其他从 2 号生物制氢反应器取泥;ND 指没有监测.

而不是发酵菌群的细胞质量浓度。上述实验结果表明,与纯固定化技术相比,在混合菌种生物制氢技术中不但要重视反应器中的菌数,更要重视HPB占发酵菌群菌数的比例。

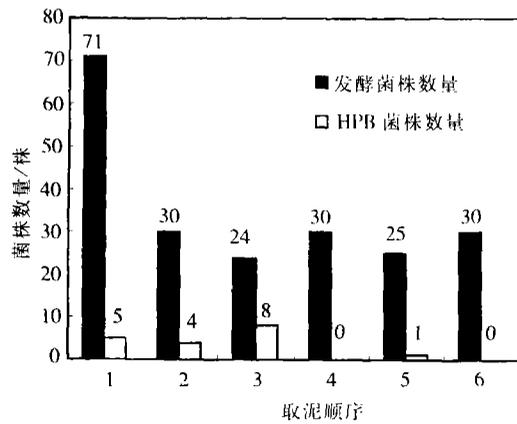


图2 从产氢污泥中分离的发酵细菌和HPB的菌株数量
Fig.2 Number of ferment bacteria and HPB isolated from hydrogen producing sludge

在6次取泥中,共分离到发酵细菌210株,其中HPB为18株,发酵菌群中HPB所占的比例并不高(见图2)。在运行状态最好时仅为33.3%,大多数情况为0~13.3%,这说明在生物制氢反应器中使用混合菌种非固定化技术并没有完全使反应器内HPB达到较高的浓度,而相对比较,在固定化技术中大量使用纯菌种,使HPB所占比例接近100%,大大高于混合菌种非固定化技术。所以,从HPB的菌数上分析,混合菌种非固定化技术并没有能够充分发挥生物制氢反应器的产氢效能。

2.3 生物制氢反应器中优势菌株末端产物

表3列出分离出210株优势菌株中一部分较具代表性菌株的发酵产物,其中 c_2 为液相末端发酵产物浓度。从中可以发现在几乎所有的菌株的发酵产物中乙酸都占有相当大的量,这是因为许多有机发酵中都有大量的乙酸产生,如乳酸发酵、混合酸发酵和丙酸发酵等。而其他的发酵产物的有无和量的多少往往可以明显反映细菌的不同代谢途径。在所分离的细菌中HPB的末端产物的组成主要分为两种类型:丁酸型(即以丁酸为主要发酵产物的类型,如B51和LM11)和乙醇型(即以乙醇为主要发酵产物的类型,如B49和H1)。这符合国际上发酵法生物制氢技术目前存在的两种类型丁酸型发酵和乙醇型发酵。另外,B49和H1的分离也首次为任南琪教授提出的细

菌乙醇型发酵提出了客观证据。而为了分析方便,暂把非产氢细菌按末端产物组成也可以分为两种类型:丙酸型(以丙酸为主要发酵产物的类型L10和S3)和其他类型(除乙酸外其他发酵产物的量都非常少,如LD2和B24)。这也间接证明了当丙酸型发酵时多为非产氢细菌,使生物制氢反应器恶化,产氢量少甚至不产氢。

表3 部分优势菌株的发酵产物
Table 3 Ferment products of some dominant bacteria

菌名	$c_2/\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$			
	乙醇	乙酸	丙酸	丁酸
非产氢细菌				
B24	1.45	18.30	1.11	1.62
B56	0	7.57	11.70	7.74
L10	0.44	5.30	232.57	9.11
LD2	1.00	47.89	0.31	0.48
S3	0.21	10.11	102.34	0.79
产氢细菌				
B49	114.5	91.8	1.4	0.6
H1	162.1	53.8	0.5	0.2
B51	1.4	27.1	2.7	16.9
LM11	0.6	39.5	0.6	16.9

从“2.2”中分析得出在生物制氢反应器中HPB在发酵细菌优势菌株中的比例不高;在分离到的产生大量乙醇的乙醇型细菌仅为11株(其中6株为产乙醇不产氢气的非产氢细菌),占优势菌群的5.2%(见表4);而生物制氢反应器产氢污泥的发酵产物以乙醇型为主,即使在反应器出现恶化趋势时(第5、6次取泥时)乙醇也占有较高的比例(见表2和3)。从上面的结果可知,污泥的代谢类型没有表现出优势菌群中占大多数细菌比例的丙酸型代谢(其他类型除外),而表现为占优势菌群极少比例的乙醇型代谢。因此,在生物制氢反应器混合菌种培养过程中占反应器中菌数比例很小乙醇型细菌在代谢中发挥着最重要的作用,而其他非乙醇型细菌的代谢受到了抑制。究其原因,是混合菌种非固定化技术是通过限制因子的控制,为乙醇型细菌发酵提供适宜的生态位,促使乙醇型细菌的代谢活性充分发挥,抑制其他非产氢细菌(尤其是丙酸型细菌)的代谢活力。这也说明混合菌种非固定化技术在发挥HPB的产氢能力方面起了重要作用,即在HPB产氢反应的条件控制是非常成功的,而在提高反应器中HPB的数量和比例方面作用有限。

表4 分离到的各种类型细菌的数量
Table 4 Number of every ferment type bacteria isolated in the reactor

细菌类型	其他类型细菌	乙醇型细菌	丙酸型细菌	丁酸型细菌
细菌菌株数量(株)	125	11	61	13

注:丁酸型细菌均为HPB;乙醇型细菌中有5株HPB和6株非HPB

2.4 最大产氢速率的分析

由于固定化技术无法准确计算出反应器内的细胞质量浓度和单位体积内HPB的生物量,所以无法采用国际上最为通用的单位生物量最大产氢速率 v_{max} ($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)来对纯菌种固定化技术和混合菌种非固定化技术进行比较,只能采用国际上较为通用的单位体积最大产氢速率($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)进行分析.表1列出了国内外采用纯菌种固定化技术和混合菌种非固定化技术生物制氢的最大产氢速率.采用纯菌种固定化技术发酵细菌最大产氢速率为 $13 \sim 38 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,与采用混合菌种非固定化技术所得最大产氢速率($8.25 \sim 31.25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)差不多.

2.5 改进策略

通过上面的分析,可以得出混合菌种非固定化技术虽然保持了反应器内发酵细菌菌数的高浓度,突出发挥了HPB尤其是乙醇型细菌在产氢代谢中的作用.但是由于连续流自固定过程中仍有大量HPB流失和非产氢细菌保留,导致其产氢速率不高,所以混合菌种非固定化技术并没有发挥出生物制氢反应器理想的产氢效能.

提高混合菌种非固定化技术生物制氢反应器的产氢效能,关键是提高HPB在发酵优势菌群中的比例,保证反应器内HPB的高浓度.M N Rachman(1998)^[5]筛选出两株有自絮凝能力的产氢菌株HU-101和AY-2,采用纯菌种非固定化技术(即自絮凝技术),得到了较高的最大产氢速率,分别为 31 和 $58 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,高于纯菌种固定化技术和混合菌种非固定化技术(见表1),为解决这问题提供了新的思路.但是,由于纯菌种非固定化技术应用的是纯菌种,仍无法克服其在工业化管理和操作上带来的困难.为了辩证地协调固定化和非固定化、纯菌种和混合菌种之间的矛盾,提出如下策略:

(1) 筛选具有自絮凝能力的高效产氢菌株,富集培养后,对生物制氢反应器进行纯菌种的快速启动.由于菌株的自絮凝能力,在连续流反应器中减少了HPB的流失,客观上起到了固定化的作用,保证了反应器内HPB的高浓度.

(2) 在反应器启动后,定期定量向反应器投加高效产氢细菌,以保证反应器内发酵菌群中HPB的优势地位,达到生物强化的作用.

采用上述策略,既可以通过菌株本身的絮凝能力和生物强化技术提高生物制氢反应器内HPB的优势地位,防止HPB在连续流反应器的大量流失,又可以发挥混合菌种在复杂底物条件下产氢的协同作用,巧妙地克服了固定化和非固定化技术的缺点,有可能成为未来生物制氢技术工业化的主要发展方向.

3 结论

(1) 决定生物制氢反应器产氢效能的最重要因素是反应器中HPB的数量和比例;

(2) 采用混合菌种非固定化技术的制氢反应器中HPB的比例不高,导致其产氢效能不高;

(3) 采取以高效产氢细菌纯菌种快速启动及投加有自絮凝能力的高效产氢细菌株的策略,可能提高反应器的产氢效能.

参考文献:

- [1] LAY J J, LEE Y J, NOIKE T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste[J]. Wat Res, 1999, 33(11): 2579-2586.
- [2] SASIKALA K, RAMANA Ch V, RAO P R. Rhotoproduction of hydrogen from the wastewater of a distillery by *Rhodobacter sphaeroides* O. U. 001[J]. Int J Hydrogen Energy, 1992, 17(1): 23-27.
- [3] YOKOIH, TOKUSHIGE T, HIROSE J, et al. Hydrogen production by immobilized cells of aciduric *Enterobacter aerogenes* strain HO-39[J]. J Ferment Bioeng, 1997, 83(5): 481-484.
- [4] YOKOI H, MAEDA Y, HIROSE J, et al. H_2 production by immobilized cells of *clostridium butyricum* on porous glass beads. Biotechnol[J]. Techniques, 1997, 11(6): 431-433.
- [5] RACHMAN M A, NAKASHIMADA Y, KAKIZONO T, et al. Hydrogen production with high yield and high evolution rate by self-flocculated cells of *Enterobacter aerogenes* in a packed-bed reactor[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1998, 49: 450-454.

(下转第825页)

- 1998, 116(1):63-67.
- [15] XU Zi-li, SHANG Jing. The preparation and characterization of TiO₂ ultrafine particles[J]. Mater Sci Eng: B, 1999, 63(3):211-214.
- [16] CHEN Dingwang, RAY A K. Photocatalytic kinetics of phenol and its derivatives over UV irradiated TiO₂[J]. Appl Catal: B, 1999, 23(2-3):143-157.
- [17] SUN C C, CHOU T C. Electrochemically promoted photocatalytic oxidation of nitrite ion by using rutile form of TiO₂/Ti electrode[J]. J Mole Catal: A, 2000, 151(1-2):133-145.

(编辑 杨波)

(上接第 819 页)

- [6] TANISHO S, ISHIWATA Y. Continuous hydrogen production from molasses by fermentation using urethane foam as a support of floccs[J]. Int J Hydrogen Energy, 1995, 20(7): 541-545.
- [7] KARUBE I, MATSUNAGA T, TSURU S, *et al.* Continuous hydrogen production by immobilized whole cells of *Clostridium butyricum*[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1976, 444: 338-343.
- [8] 任南琪. 有机废水发酵法生物制氢技术[M]. 哈尔滨:黑龙江科学技术出版社, 1994.
- [9] 李建政. 有机废水发酵法生物制氢技术研究[D]. 哈尔滨:哈尔滨建筑大学市政与环境工程学院, 1999. 62-63.
- [10] UENO Y, OTSUKA S, MORIMOTO M. Hydrogen production from industrial wastewater by anaerobic microflora in chemostat culture [J]. J Ferment Bioeng, 1996, 82(2): 194-197.
- [11] LIN C Y, CHANG R C. Hydrogen production during the anaerobic acidogenic conversion of glucose[J]. J Chem Technol Biotechnol, 1999, 74: 498-500.
- [12] HUNGATE R E. Methods in microbiology[M]. New York: Academic Press, 1969. 117-132.
- [13] TANISHO S, ISIWATA Y. Continuous hydrogen production from molasses by fermentation using urethane foam as a support of floccs[J]. Int J Hydrogen Energy, 1995, 20(7): 541-545.
- [14] HEYNDRIKX M, VANSTEENBEECK A, DEL Vos P, *et al.* Hydrogen gas production from continuous fermentation of glucose in a minimal medium with *Clostridium butyricum* LMG 1213t1 [J]. Syst Appl Microbiol, 1986, 8: 239-244.
- [15] VAVILIN V A, RYTOW S V, LOKSHINA L Ya. Modelling hydrogen partial pressure change as a result of competition between the butyric and propionic groups of acidogenic bacteria[J]. Bioresource Tech, 1995, 54: 171-177.
- [16] GIJZEN H J. Anaerobic bacteria community[J]. Biotech Bioeng, 1988, 31(4): 418-425.
- [17] INANC B, MATSUI S, IDE S. Propionic acid accumulation in anaerobic digestion of carbohydrates: an investigation on the role of hydrogen gas[J]. Wat Sci Tech, 1999, 40(1): 93-100.

(编辑 杨波)