

不同原料配比对厌氧发酵过程中产气量 VFA 和脱氢酶活性的影响

张洪宾¹, 谷洁^{1,2*}, 孙薇¹, 高华¹, 王小娟¹

(1.西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2.陕西省循环农业工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以牛粪和小麦秸秆为发酵原料,研究了不同牛粪(M)与小麦秸秆(S)的干物质配比(牛粪与秸秆的比例为 1:1、2:1 和 3:1)对厌氧发酵产气过程的影响。结果表明,添加小麦秸秆处理的产气量显著高于秸秆与牛粪单独发酵处理($P<0.05$),其中牛粪与秸秆的配比是 1:1 的产气量为(31 823.7±691.2)mL,比秸秆、牛粪以及牛粪与秸秆比例为 2:1 和 3:1 四个处理的产气量分别提高了 208.7%、11.5%、2.8%和 5.2%。因此,以 M:S=1:1 进行混合厌氧发酵效果最好。挥发性脂肪酸(VFA)与日产量间呈极显著性正相关($P<0.01$),但脱氢酶活性与产气量相关性不显著($P>0.05$)。

关键词:厌氧发酵;粪秆配比;挥发性脂肪酸;产气量

中图分类号:S216.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)02-0422-06

Effects of Different Ratios of Materials on Biogas Production, VFA and the Activity of Dehydrogenase During Anaerobic Process

ZHANG Hong-bin¹, GU Jie^{1,2*}, SUN Wei¹, GAO Hua¹, WANG Xiao-juan¹

(1.College of Resources and Environment, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China; 2.Research Center of Recycle Agricultural Engineering and Technology of Shannxi Province, Yangling 712100, China)

Abstract: The effects of different ratios of cow manure and wheat straw, which were wheat straw alone(S), cow manure alone(M), the mass ratio of cow manure to wheat straw of 1:1(M:S=1:1), the mass ratio of cow manure to wheat straw of 2:1(M:S=2:1) and the mass ratio of cow manure to wheat straw of 3:1(M:S=3:1), on anaerobic digestion for biogas production were examined. The results indicated that the biogas production of the test of cow manure and wheat straw were larger than the that of the wheat straw alone and the cow manure alone, respectively. The highest biogas production was observed in M:S=1:1 with (31 823.7±691.2) mL. The total biogas production of the test of M:S=1:1 increased by 208.7%, 11.5%, 2.8%, 5.2%, compared with wheat straw alone, cow manure alone, and the mass ratio of cow manure to wheat straw was 2:1 and 3:1 respectively. The result of this study showed that the best of biogas production was M:S=1:1. Meanwhile, there was a significant positive correlation between the VFA and daily biogas production. However, the correlation between the dehydrogenase activity and daily biogas productions was not significant.

Keywords: anaerobic fermentation; the ratio of manure and straw; volatile fatty acids; biogas production

沼气发酵所用原料主要有畜禽粪便、农作物秸秆和农产品加工废弃物^[1],目前研究主要集中在以畜禽

粪便和农作物秸秆作为沼气发酵原料。我国每年可产生的畜禽粪便和农作物秸秆量分别达 20.1、7 亿 t^[2-3],大量的农业废弃物未被有效地利用,畜禽粪便随意的放置和农作物秸秆的焚烧,一方面造成了环境污染,另一方面还造成了资源的浪费。因此,妥善处理和利用畜禽粪便和农作物秸秆是关系到生物质能源和生态保护的重要课题之一。利用畜禽粪便和农作物秸秆进行厌氧发酵制取沼气,可从根源上解决环境污染问

收稿日期:2011-08-04

基金项目:国家自然科学基金(40771109,40871119);农业部 948 项目(2010-Z20)

作者简介:张洪宾(1985—),山东济宁人,硕士研究生,研究方向为生物质能源与循环农业技术研究。

E-mail: zhanghongbin2005@gmail.com

* 通讯作者:谷洁 E-mail: gujyoe@sina.com

题,同时沼液沼渣含有丰富的氨基酸和微量元素,是良好的饲料和饲料添加剂,还可以作为优质有机肥料^[4]。

近年来利用畜禽粪便和农作物秸秆厌氧消化制取沼气的研究成为热点。Xie S 研究了不同猪粪与青储饲料的配比厌氧发酵,结果表明当猪粪与青储饲料的挥发性总固体的比例为 1:1 时产气量最大^[5];Wu Xiao 利用猪粪与小麦秸秆、玉米秸秆和燕麦秸秆进行了厌氧发酵,结果表明猪粪与 3 种秸秆混合发酵都能提高沼气的产量^[6];楚莉莉等研究了不同原料及其不同配比的产气效果,得出在 40 ℃恒温条件下,牛粪与玉米秸秆的比例为 2:1 时具有较大的产气量^[7]。然而,有关牛粪与秸秆的不同配比对厌氧发酵产气效果、挥发性脂肪酸和脱氢酶活性的研究却鲜见报道。

本实验是在前期研究基础之上,以牛粪和小麦秸秆为原料,研究了不同原料配比下厌氧发酵过程中产气量、挥发性脂肪酸(Volatile Fatty Acid,VFA)、脱氢酶和 pH 的变化特征,以期获得厌氧发酵产气量的最佳原料配比和厌氧发酵过程中厌氧活性指标的变化规律,为沼气工程研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 发酵原料

实验于 2011 年 5 月开始,所用牛粪和小麦秸秆均购买于西北农林科技大学南校区附近农户小型养殖场。小麦秸秆自然风干后,经过粉碎机粉碎成 2~5 cm,然后添加一定量的沼液使其含水量为 65%,堆沤 7 d,直至原料颜色发暗^[8]。其中牛粪和小麦秸秆的基本理化性质如表 1 所示。

1.2 接种物

向沼气发酵罐中加入富含大量沼气微生物的接种物,可加快沼气发酵的启动速度和提高沼气产气量^[8]。本实验中所用的接种物取自陕西省循环农业工程技术研究中心正常产沼气的沼液(其脱氢酶含量为 4.514 μg·mL⁻¹·h⁻¹),装罐发酵的接种量为原料总重量的 1/3^[8],其基本性质如表 1 所示。

表 1 原料的基本性质

Table 1 Basic characteristics of the materials

原料	有机碳(C)	全氮(N)	TS	VS
小麦秸秆(S)	43.1%	0.95%	93.8%	90%
牛粪(M)	25.1%	1.46%	16.5%	59.5%
沼液	5.25%	0.232%	3.48%	3.46%

注:TS 代表干物质质量分数;VS 代表挥发性总固体质量分数。

1.3 实验装置

本实验采用 2.5 L 的放水瓶和小口瓶分别作为厌氧发酵的发酵罐、集气瓶、集水瓶,各装置之间利用橡胶塞和橡胶管连接。其中发酵瓶放置在(37±2)℃恒温水浴槽(DK-600,上海精宏实验设备有限公司)中进行厌氧发酵。发酵装置如图 1 所示。

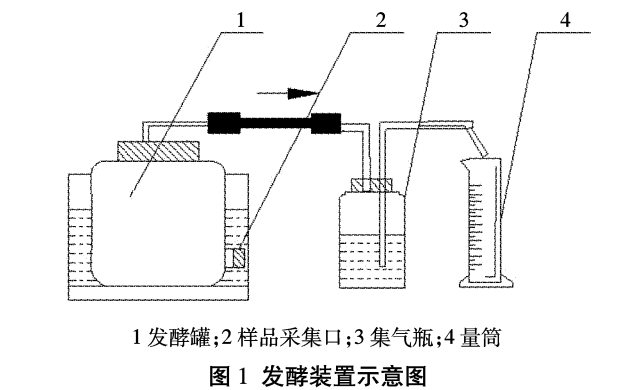


Figure 1 Schematic diagram of experimental equipment

本实验的发酵料液干物质浓度为 8%,按照鲜牛粪与堆沤后的小麦秸秆干物质质量配比进行装罐,设计了 5 个处理,每个处理重复 3 次,共 15 个发酵罐,各处理的原料配比如表 2 所示。

表 2 实验处理和原料配比

Table 2 The ratios of materials

处理	干物质质量配比
小麦秸秆(S)	1
牛粪(M)	1
牛粪:小麦秸秆(M:S)	1:1
牛粪:小麦秸秆(M:S)	2:1
牛粪:小麦秸秆(M:S)	3:1

1.4 实验方法

实验原料的总固体质量分数(TS)是在 105 ℃烘 24 h 至恒重,挥发性总固体质量分数(VS)是在 550 ℃烘 2 h^[9]。通过精密 pH 计(PHS-3C,上海精密科学仪器有限公司)测定 pH 值。产气量采用排水集气法收集,每日下午 6:00 测量水的体积。挥发性脂肪酸(VFA)采用紫外分光光度计比色法测定^[9]。脱氢酶采用 TTC 作为人为受体,受氢后生成红色的三苯基腈^[10]。

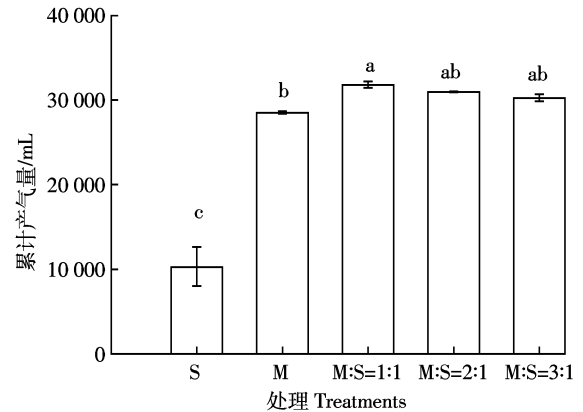
用 Microsoft Excel 2003 进行数据预处理,用SPSS 13.0 软件包进行方差统计分析和相关性分析。方差分析选择 Tukey-HSD 方法,相关性分析用皮尔森相关系数表示,最后用 Sigmpilot 10.0 软件制图。

2 结果与分析

2.1 不同原料配比对产气量的影响

经 40 d 的厌氧发酵, 各处理的日产气量如图 2 所示。由图中可见各处理在发酵早期便开始产气, 并且处理 M:S=1:1、M:S=2:1 和 M:S=3:1 迅速达到产气高峰; 但是处理 S 没有大的变化, 产气量一直很小, 直到 30 d 以后才开始产气。处理 M 从第 1 d 开始日产气量缓慢地上升, 到第 8 d 达到第一个产气高峰($1\,803.3 \pm 56.7$)mL, 随后日产气量小幅度下降后又上升, 到第 13 d 达到第二个产气高峰, 为($2\,039.7 \pm 22.2$)mL, 此后随着反应的进行日产气量缓慢下降, 最终下降到 150 mL 左右并保持至发酵结束。M:S=1:1、M:S=2:1 和 M:S=3:1 处理组从发酵开始日产气量迅速上升, 第 5 d 左右各处理均达到第一个产气高峰, 分别为($2\,106.7 \pm 31.1$)mL、($2\,023.3 \pm 259.8$)mL 和($2\,033.3 \pm 33.3$)mL, 比处理 M 的日产气量(第 5 d)分别提高了 47.46%、46.97%和 47.7%, 随后日产气量是先下降后上升, 在第 13 d 各处理达到第二个产期高峰, 分别为($1\,890 \pm 5.8$)mL、($1\,730 \pm 170.6$)mL 和($1\,945.3 \pm 39.5$)mL, 处理 M 第 13 d 的日产气量比它们分别高了 7.92%、17.9%和 4.85%, 此后的日产气量情况与处理 M 相似。

各处理的累积产气量如图 3 所示, 处理 M:S=1:1 的累积产气量最大, 为($31\,823.7 \pm 691.2$)mL; 其次是 M:S=2:1 和 M:S=3:1, 累积产气量分别为($30\,965.5 \pm 44.5$)mL 和($30\,261 \pm 426$)mL; 累积产气量最小的是处理 S, 为($10\,306.5 \pm 2\,304.5$)mL。处理 M:S=1:1 累积产气量比处理 S、M、M:S=2:1 和 M:S=3:1 累积产气量分别提高了 208.7%、11.5%、2.8%和 5.2%。处理 M:S=1:1 与处理 S 和 M 差异显著($P < 0.05$), 但是与 M:S=2:



小写英文字母代表不同处理间累积产气量显著差异性($P < 0.05$)

图 3 累积产气量对比图

Figure 3 Comparison of cumulative biogas productions

1 和 M:S=3:1 差异不显著($P > 0.05$)。

2.2 不同原料配比对厌氧发酵过程中 VFA 的影响

图 4 a 为厌氧发酵过程中 VFA 的变化, 由图可见, 处理 S 的 VFA 的含量先是下降, 在第 5 d 达到最低值 $8.843 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 随后缓慢上升达最大值 $1.563 7 \times 10^4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 之后再次开始缓慢下降; 处理 M 从厌氧发酵开始 VFA 的含量先上升, 在第 5 d 达到峰值 $1.352 8 \times 10^4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 然后下降, 最后趋于平稳; 处理 M:S=1:1、M:S=2:1 和 M:S=3:1 的 VFA 变化是先下降, 于第 5 d 降到最低值后开始上升, 在第 10 d 再次开始下降, 最后趋于平稳。图 4b 是对 VFA 总含量的分析, 处理 M 的 VFA 总含量最高, 为 $8.021 5 \times 10^4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 处理 M:S=2:1 的 VFA 总含量最低, 为 $4.081 8 \times 10^4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 处理 M 比处理 S、M:S=1:1、M:S=2:1 和 M:S=3:1 依次高出了 100.91%、95.5%、96.5%和 92.0%, 相关性分析显示处理 M 与其他各处理差异极显著($P < 0.01$)。本研究结果分析显示, VFA 与日产气量间呈极显著性

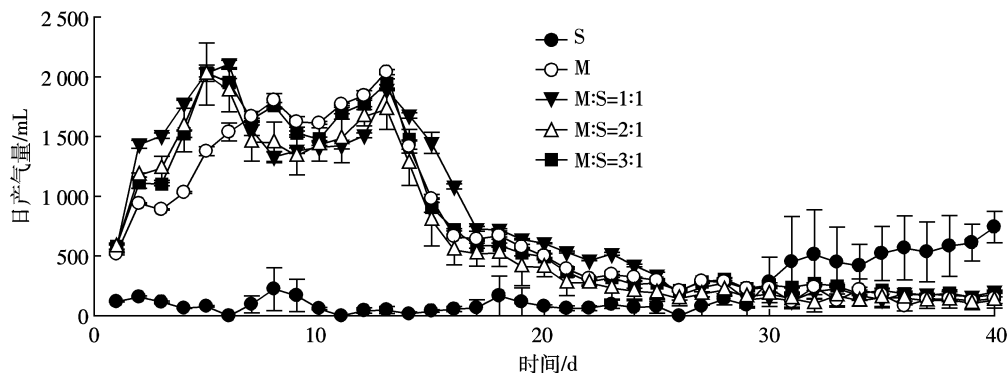


图 2 日产气量变化图

Figure 2 Trends of daily biogas productions

正相关($r=0.412, P<0.01$)。

2.3 厌氧发酵过程中脱氢酶的变化

图5a反映的是厌氧发酵过程中脱氢酶的变化,从图中可以看出除了S处理外,其他的各处理都是先迅速减小,第5d下降到最低值 $3.65 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ 后开始缓慢上升,持续一段时间后再在第15d下降,最终趋于平稳。处理S脱氢酶的活性没有太大的变化,一直处于很低的水平。处理M、M:S=1:1、M:S=2:1和M:S=3:1之所以会出现这种状况,也许是因为开始厌氧发酵前,发酵体系中含有好氧菌,厌氧发酵后好氧菌大量死亡,因而表现出脱氢酶活性下降。随着反应的进行,厌氧环境下微生物的生长繁殖,脱氢酶活性增大,第10d左右上升到最高,此时日产气量也达到最高,到第15d左右,由于发酵罐中的原料消耗,不能提供足够的营养物质给发酵微生物,因此脱氢酶活性开始下降,相应的日产气量也开始下降。由图5b可见,总脱氢酶活性最高的是处理M,为 $401.19 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,最低的是处理S,为 $29.53 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$,处理S比

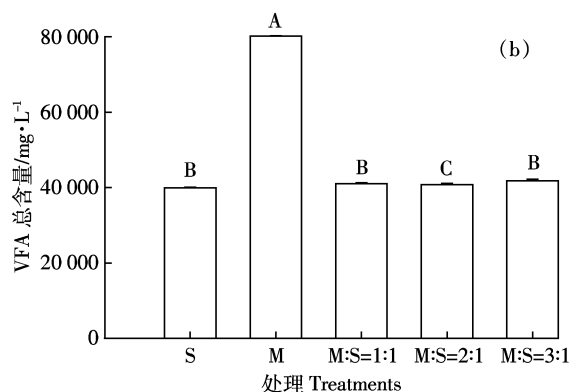
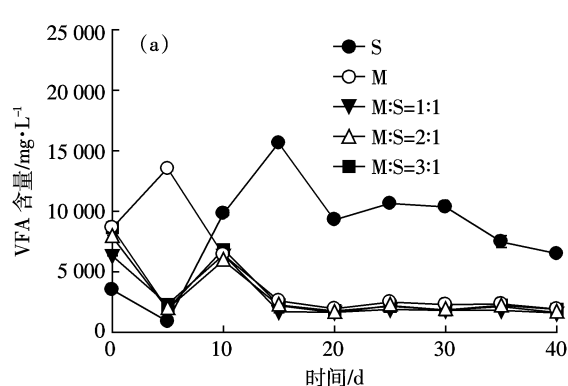
处理M、M:S=1:1、M:S=2:1和M:S=3:1脱氢酶活性依次低了92.6%、78%、88.4%、87.3%。相关性分析表明,处理M、M:S=2:1和M:S=2:1、M:S=1:1与处理S之间脱氢酶总活性呈极显著差异($P<0.01$)。

2.4 不同原料配比在厌氧发酵过程中pH变化

由图6可知,在整个的厌氧发酵过程除了处理S的pH值波动比较大之外,其他各处理的pH值都在8左右波动。处理S从反应开始到第20d,pH一直下降,随后缓慢上升;处理M在发酵初期pH缓慢下降,到第5d开始上升,最后pH稳定在8左右;处理M:S=1:1、M:S=2:1和M:S=3:1的pH从发酵开始到结束没有太大的变化。

3 讨论

由图2分析可见,除了处理S外,各处理的变化趋势大致相同,都是在发酵的前期迅速达到一个日产气高峰,然后日产气量有些回落,7d后日产气量再次达到高峰,此后缓慢下降,最终达到稳定状态。



图B中的不同大写英文字母代表各处理间极显著差异($P<0.01$),下同

图4 各处理发酵过程中挥发性脂肪酸(VFA)含量变化(A)和总VFA含量分析(B)

Figure 4 The total concentration and trends of VFA in the different treatments during anaerobic process

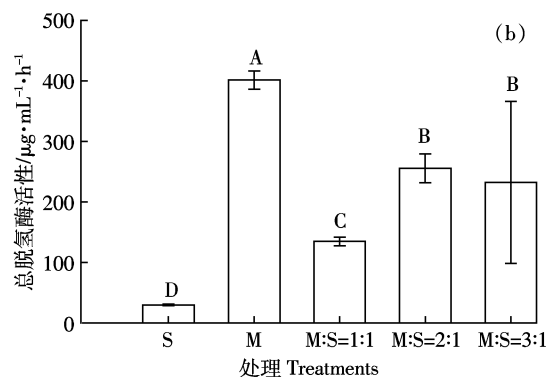
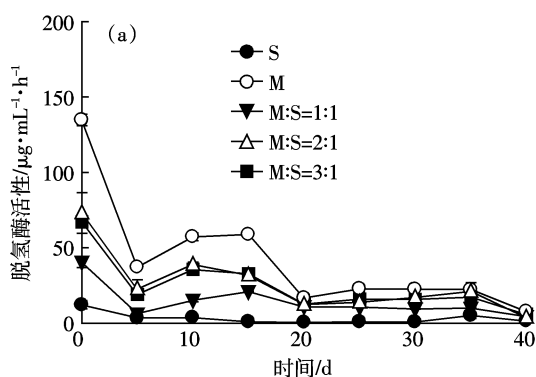


图5 各处理发酵过程中脱氢酶活性变化(A)和总脱氢酶活性分析(B)

Figure 5 The total activity and trends of dehydrogenase in the different treatments during anaerobic process

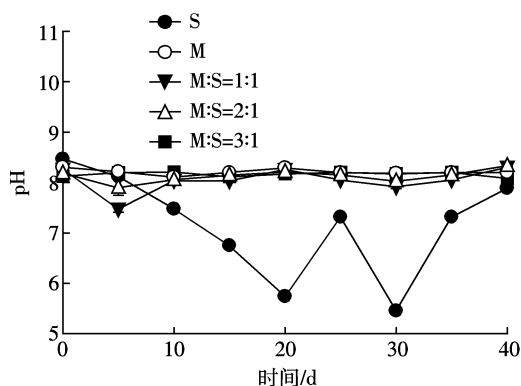


图 6 pH 值的变化图

Figure 6 Trends of pH value

造成这种变化趋势的原因,主要是原料在堆沤预处理阶段产生了大量挥发性脂肪酸和醇类物质,当装入发酵罐接种沼液后,产甲烷菌利用预处理阶段产生的酸类物质迅速产气并达到第一个产气高峰,由于预处理后的酸类物质消耗,厌氧发酵水解的酸类物质还不充足,日产气量有所下降。随着反应的进行,水解微生物的生长产生了大量的产甲烷菌可利用的物质,日产气量迅速上升,再次达到产气高峰。此后随着原料的消耗产甲烷菌生长和代谢的营养物质减少,日产气量缓慢下降,最后达到一个稳定期直至结束。而处理 S,由于小麦秸秆中的纤维素、半纤维素和木质素包裹在一起,很难被降解^[11],这成为厌氧发酵的一个限制因素,因此处理 S 的日产气量产气效果不是很理想。随着水解微生物、产酸微生物和产甲烷菌的生长,到 30 d 左右产气量逐渐上升。从整体上来看,小麦秸秆和牛粪混合发酵有助于提前达到产气高峰,这与楚莉莉等利用猪粪与秸秆进行厌氧发酵的研究结果一致^[12]。

由图 3 可知,牛粪与小麦秸秆混合厌氧发酵比单一原料厌氧发酵产气量大,即牛粪与小麦秸秆混合厌氧发酵可以提高沼气的产量,这与 Ward A J 研究结果是一致的^[13],并且牛粪与小麦秸秆混合比例为 1:1 时产气量最大。

挥发性脂肪酸(VFA)是厌氧消化过程的重要中间产物,甲烷菌主要利用 VFA 形成甲烷,研究结果表明处理 M 比处理 S、M:S=1:1、M:S=2:1 和 M:S=3:1 依次高出了 100.91%、95.5%、96.5%和 92.0%,相关性分析显示处理 M 与其他各处理差异极显著($P<0.01$),原因可能是 VFA 是厌氧发酵过程中经过水解阶段产生的乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸和己酸的总和^[14],但是在厌氧发酵中最主要的是乙酸^[15],乙酸通

过产甲烷菌的作用产生甲烷,例如 *Methanosarcina barkeri* *Methanococcus mazei* 和 *Methanotrix soehngenii*^[16]。因此,VFA 的含量可以反映日产气量的变化。

由图 5 可以看出,脱氢酶的活性首先下降然后上升,持续一段时间后再次下降,这种变化趋势和日产量的变化趋势相似,总体上表明脱氢酶活性的变化可以反映厌氧发酵中微生物活性的变化,这与徐敬亮等研究的运行负荷对酶制剂废水颗粒污泥形成中脱氢酶活性变化得到的结果相似^[17]。相关性分析显示,脱氢酶活性与日产气量相关性不显著($P>0.05$),具体原因需要进一步研究。

由图 6 可知,处理 S 的 pH 值先下降后上升,原因在于发酵初期,发酵体系中产甲烷菌的数量较少,水解产生的 VFA 不能够被产甲烷菌有效地利用,造成了 VFA 大量的积累,因此 pH 持续下降,随着产甲烷菌的生长,可以有效地利用水解产生的 VFA,因此 pH 值开始缓慢上升;对于其他各处理,由于原料的 C/N 较适合产甲烷菌的生长,尤其是处理 M:S=1:1、M:S=2:1 和 M:S=3:1,再加上牛粪本身对酸碱就有缓冲作用^[18],因此这些处理能够保持 pH 值没有大的波动。这说明牛粪和小麦秸秆混合厌氧发酵,有助于厌氧发酵过程更加稳定,能够使厌氧发酵过程的 pH 值保持在最适的 6.5~8.5 范围内^[9]。这是因为牛粪为厌氧发酵提供了氮营养物质,秸秆中含有大量的碳元素^[18],混合在一起可以得到一个适合产甲烷菌生长的 C/N。

4 结论

(1)不同配比的牛粪与小麦秸秆混合厌氧发酵制取沼气,添加牛粪与小麦秸秆混合发酵比单纯的小麦秸秆和牛粪发酵效果要好,并且牛粪与小麦秸秆混合发酵可以使厌氧发酵过程提前达到产气高峰,提高沼气的产量。综合产气率和累积产气量,对厌氧发酵原料的配比牛粪与小麦秸秆的比例为 1:1 最好。

(2)VFA 的含量反应了日产气量的变化情况,相关性分析表明 VFA 与日产气量呈极显著性正相关($r=0.412, P<0.01$)。

(3)从整体上来说脱氢酶活性可以反映厌氧发酵过程中微生物活性的变化,但是与产气量相关性不显著($P>0.05$)。

(4)牛粪与小麦秸秆混合发酵可以使厌氧发酵过程更加稳定,使厌氧发酵过程的 pH 值保持在 8 左右,有利于产甲烷菌的生长和繁殖。

参考文献:

- [1] 宋立, 邓良伟, 尹勇, 等. 羊、鸭、兔粪厌氧消化产沼气潜力与特性[J]. 农业工程学报, 2010, 26(10): 277-282.
SONG Li, DENG Liang-wei, YIN Yong, et al. Biogas production potential and characteristics of manure of sheep duck and rabbit under anaerobic digestion[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2010, 26(10): 277-282.
- [2] 刘战广, 朱洪光, 王彪, 等. 粪草比对干式厌氧发酵产沼气效果的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(4): 196-200.
LIU Zhan-guang, ZHU Hong-guang, WANG Biao, et al. Effect of ratios of manure to crop on dry anaerobic digestion for biogas production[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2009, 25(4): 196-200.
- [3] Zeng Xian-yang, Yitai Ma, Lirong Ma. Utilization of straw in biomass energy in China [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2007, 11(5): 976-987.
- [4] 覃国栋, 刘荣厚, 孙辰. NaOH 预处理对水稻秸秆沼气发酵的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27: 59-63.
QIN Guo-dong, LIU Rong-hou, SUN Chen. Effects of different concentrations of NaOH pretreatment on anaerobic digestion of rice straw for biogas production[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2011, 27: 59-63.
- [5] Xie S, Lawlor P G, Frost J P, et al. Effect of pig manure to grass silage ratio on methane production in batch anaerobic co-digestion of concentrated pig manure and grass silage[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(10): 5728-5733.
- [6] Wu Xiao, Wanying Yao, Jun Zhu, et al. Biogas and CH₄ productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(11): 4042-4047.
- [7] 楚莉莉. 不同原料及其配比厌氧发酵产气效果研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学林学院, 2008.
CHU Li-li. The anaerobic formation biogas production effect of different organic materials and its proportion[D]. Yangling: College of Forestry of Northwest A & F University, 2008.
- [8] 张全国. 沼气技术及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 25-36.
ZHANG Quan-guo. Biogas technology and its application[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 25-36.
- [9] 刘福源. 沼气发酵常规分析[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1984: 48-50.
LIU Fu-yuan. Methane fermentation conventional analysis[M]. Beijing: Beijing Science And Technology Publishing House, 1984: 48-50.
- [10] 朱南文, 闵航, 等. TTC-脱氢酶测定方法的探讨[J]. 中国沼气, 1996, 14(2): 3-5.
ZHU Nan-wen, MIN Hang, et al. The study of determination on TTC-dehydrogenase activity[J]. *China Biogas*, 1996, 14(2): 3-5.
- [11] Hendriks A T W M, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(1): 10-18.
- [12] 楚莉莉, 李铁冰, 冯永忠, 等. 猪粪麦秆不同比例混合厌氧发酵特性试验[J]. 农业机械, 2011, 42(4): 100-105.
CHU Li-li, LI Yi-bing, FENG Yong-zhong, et al. Characteristics of Co-digestion of pig dung and wheat straw in various ratios[J]. *Transaction of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2011, 42(4): 100-105.
- [13] Ward Alastair J, Phil J Hobbs, Peter J Holliman, et al. Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources[J]. *Bioresource Technology*, 2008, 99(17): 7928-7940.
- [14] Appels L, Van Assche A, Willems K, et al. Peracetic acid oxidation as an alternative pre-treatment for the anaerobic digestion of waste activated sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(5): 4124-4130.
- [15] Yuan Q, Sparling R, Oleszkiewicz J A. VFA generation from waste activated sludge: Effect of temperature and mixing[J]. *Chemosphere*, 2011, 82(4): 603-607.
- [16] Weiland P. Biogas production: Current state and perspectives[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 85(4): 849-860.
- [17] 许敬亮, 高勇生, 陈立伟, 等. 运行负荷对酶制剂废水厌氧颗粒污泥形成的影响[J]. 环境科学学报, 2005, 25(3): 379-384.
XU Jing-liang, GAO Yong-sheng, CHEN Li-wei, et al. Effects of organic load on the formation of anaerobic granular sludge for zymine wastewater treatment [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25(3): 379-384.
- [18] Lehtomäki A, Huttunen S, Rintala J A. Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: Effect of crop to manure ratio[J]. *Resources, Conservation and Recycling*, 2007, 51(3): 591-609.
- [19] Ashekuzzaman S M, Poulsen T G. Optimizing feed composition for improved methane yield during anaerobic digestion of cow manure based waste mixtures[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3): 2213-2218.