

产甲烷菌在厌氧消化中的应用研究进展

林代炎¹, 林新坚², 杨菁¹, 叶美锋¹

(1. 福建省农业科学院农业工程技术研究所, 福建 福州 350003;

2. 福建省农业科学院土壤肥料研究所, 福建 福州 350013)

摘要: 简述了产甲烷菌研究史, 分析了厌氧消化领域研究进展以及产甲烷菌代谢机理和生理生化特征的关系。

关键词: 厌氧消化; 产甲烷菌; 厌氧反应器

中图分类号: X 703

文献标识码: A

Advance in utilization of methanobacteria for anaerobic digestion studies

LIN Dai-yan¹, LIN Xin-jian², YANG Jing¹, YE Mei-feng¹

(1. Agricultural Engineering Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China; 2. Soil and Fertilizer Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China)

Abstract: This article briefly introduces the progress in using methanobacteria for anaerobic digestion studies. It also analyzes the relationship between the research development in anaerobic digestion and the metabolic mechanism and the physiological and biochemical characteristics of methanobacteria.

Key words: anaerobic digestion; methanogens bacteria; anaerobic reactor

随着人们认识到厌氧发酵技术在污水处理及生产沼气能源等方面的突出优势, 对产甲烷菌在厌氧消化中的研究也越来越重视。厌氧发酵是极为复杂的生物过程, 在参与反应的众多微生物中, 产甲烷菌的优劣、密度以及它的生长环境条件是影响厌氧消化效率和甲烷产量的重要因素, 因此, 对产甲烷菌的代谢机理及生理生化特征, 以及在厌氧消化过程中为产甲烷菌创造有利环境条件方面的研究成为该领域的重点。本文简述了产甲烷菌的研究历史, 并分析了厌氧消化系统应用领域研究的快速发展与产甲烷菌代谢机理、生理生化特征研究进展的密切关系, 望能为产甲烷菌在污水处理工程中发挥更大作用提供参考。

1 产甲烷菌研究历史

产甲烷菌的研究开始于 1899 年, 当时俄国的微生物学家奥姆良斯基将厌氧分解纤维素的微生物分为两类, 一类是产氢的细菌, 后来称为产氢、产乙酸菌, 另一类是产甲烷菌, 后来称奥氏甲烷杆菌 (*Methanobacillus omelauskii*)。由于研究条件的限

制, 1950 年, Hungate 创造了无氧分离技术才使产甲烷菌的研究得到了迅速的发展^[1-2]。由于产甲烷菌是严格的厌氧菌, 对其研究需要较高的技术手段, 据《伯杰细菌鉴定手册》第 8 版记载, 到 20 世纪 70 年代中期, 产甲烷菌只有 1 个科 (甲烷杆菌科), 分 3 个属、9 个种。随着研究手段的发展以及人们对产甲烷菌的关注, 据杨秀山等 1991 年报道, 美国奥斯冈 (Oregon) 产甲烷菌保藏中心当时收藏的产甲烷菌有 215 株分属于 3 目、6 科、55 种, 可能是当时最完备的目录^[3]。从系统发育来看, 到目前为止, 产甲烷菌分成 5 个目, 分别为甲烷杆菌目 (*Methanohacterales*)、甲烷球菌目 (*Methanococcales*)、甲烷八叠球菌目 (*Methanosarcinales*)、甲烷微菌目 (*Methanomicrobiales*) 和甲烷超高温菌目 (*Methanopyrales*)^[4], 分离鉴定的产甲烷菌已有 200 多种^[5]。

在产甲烷菌分类方面, 随着分子生物学的发展, 人们利用不同物种间 small-subunit ribosomal RNA 的同源性进行分类取得了较为满意的结果; 1996 年伊利诺伊大学完成了第 1 个产甲烷菌

收稿日期: 2007-07-26 初稿; 2007-12-21 修改稿

作者简介: 林代炎 (1963-), 男, 研究员, 主要从事有机废弃物农业资源化利用研究 (E-mail: lindaiyan@126.com)。

基金项目: 福建省环保专项基金 (1576); 福建省财政专项 (STIF-Y01)

Methanococcus jannaschii 的基因组测序，迄今为止已有 4 个目的 5 种产甲烷菌完成基因组测序^[5]。在产甲烷菌代谢方面，已明确它是自养型微生物，能利用环境中的化学能，并发现甲烷生物合成过程的 3 种途径^[1]；在产甲烷菌必需营养方面，发现产甲烷菌不仅需 C、N、P 等营养元素，同时，还需要矿物质营养元素，如 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cl^- 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 等^[5]，同时，已对产甲烷菌的生理生化特征进行深入研究，明确了它合适的生长环境条件，为工程应用提供了依据。

在 Hungate^[1] 分离培养纯化产甲烷菌的技术出现之后，许多微生物学家、生物化学家、污水处理专家从产甲烷菌的形状、结构、生理、生化等多方面进行了研究，从而为厌氧消化技术用于处理污水、回收能源等方面提供了坚实的理论基础。

2 产甲烷菌的代谢机理及生理生化特征

目前发现的甲烷生物合成途径有 3 种，其中以乙酸为底物的占自然界甲烷合成的 60% 以上；以氢和二氧化碳为底物的甲烷合成的占 30%，也有学者认为乙酸的裂解占甲烷合成的 70% 以上^[6-7]；以甲基化合物为原料的甲烷生物合成不足 10%。甲烷生物合成过程中，甲烷的形成伴随着细胞膜内外化学梯度的形成，这种化学梯度驱动 ATP 酶产生细胞内能量通货——ATP。一般 1 种产甲烷菌只具有 1 种甲烷合成途径，而多细胞结构的甲烷八叠球菌同时含有 3 种甲烷合成途径，且至少可以利用 9 种甲烷合成的底物^[2]。产甲烷菌只能利用简单的小分子物质，世代时间相对较长^[8]。产甲烷菌与其他任何细菌相区别的主要特征在于产甲烷菌的代谢产物都是甲烷、二氧化碳和水，且其中有 7 种辅酶因子与所有微生物及动植物都不同，细胞壁没有 D-氨基酸，胞壁酸的独特结构也与其他细菌有很大区别^[9-10]。这些特征为产甲烷菌的鉴定及分类提供了有效的依据。

对产甲烷菌生物生化特征的研究，明确了产甲烷菌生长环境对环境条件的要求。产甲烷菌都是专性严格厌氧菌，对氧非常敏感，遇氧后会立即受到抑制，不能生长繁殖，有的还会死亡^[11]。氧化还原电位是衡量厌氧程度的指标，张无敌认为在高温沼气发酵条件下，适宜的氧化还原电位为 -600 ~ -560 mV；中温和自然温度条件下适宜的氧化还原电位为 -350 ~ -300 mV^[12]。一般认为厌氧消化在 5 ~ 83 温度范围内进行，产气量随温度变化

并有两个高峰：中温 35 和相对高温 55^[13]。沼气发酵微生物最适宜的 pH 值为 6.5 ~ 7.5，超出这一范围，沼气微生物的代谢将减慢或产甲烷细菌受抑制或死亡。沼气发酵过程是有机物彻底矿化的微生物厌氧代谢过程，一般对有机物碳、氮、磷要求的比例为 75 : 5 : 1^[12]。

3 产甲烷菌在厌氧消化中的应用

3.1 厌氧消化工艺流程

研究发现，产甲烷菌在污水中可利用的底物很少，只能利用很简单的物质，如二氧化碳、氢、甲酸、乙酸等，这些简单的物质必须由其他发酵性细菌把复杂有机物分解后提供给产甲烷菌，因此要等到其他细菌都大量生长以后才能生长，而且产甲烷菌的世代时间相对较长^[8]，因此，提出厌氧消化的两阶段理论。Chosh 于 20 世纪 70 年代在厌氧消化的两阶段理论基础上，提出两相生物系统（Two-phase Biosystem，或称两相厌氧消化系统），并开展相关研究认为，在稳态条件下，两相厌氧工艺比一相厌氧工艺在处理效率、处理能力及运行稳定性等方面优越。一方面是由于相分离为不同的微生物提供了各自适宜的生存条件，另一方面，独立控制的产酸相也起到了预处理和缓冲负荷及水质波动的作用^[14-16]。在不同的研究中，产酸相的酸化特征作为衡量产酸相运行状态的参数受到学者们的重视。因此，目前在厌氧消化工艺中，为了提高厌氧消化系统的酸化效果，都将酸化调节池与厌氧消化池分开。管运涛等在传统的两相厌氧生物反应器的产酸相和产甲烷相之间加入了膜分离单元，认为能有效提高污水有机物的酸化率，并提高系统的产气率和产甲烷反应器比产甲烷率^[17-19]。此外，产甲烷菌能够吸收环境中的硫酸根，通过一系列的酶代谢最终形成硫化氢^[2]。因此在收集与利用之前，还必须对甲烷进行脱硫处理，以免产生 SO_2 等不良气体，造成环境污染。

3.2 厌氧反应器设计原理

厌氧消化是极为复杂的生物过程，在参与反应的众多微生物中，产甲烷菌的优劣和密度是影响厌氧消化率及甲烷产量的重要因素，因此，减少产甲烷菌的流失及为产甲烷菌创造合适的生长环境，以提高产甲烷菌密度，成了厌氧反应器的设计目标。不同产甲烷菌在合成甲烷时，利用的底物不同，如嗜热甲酸甲烷杆菌，能利用 H_2/CO_2 和甲酸盐合成甲烷，不能利用乙酸盐、二甲胺和甲醇产甲烷^[20-21]。目前所知，只有甲烷丝菌和甲烷八叠球

菌能裂解乙酸产生甲烷^[22]，而在有机物厌氧消化的甲烷化作用下，70%以上的甲烷来自乙酸的裂解^[6-7]。因此，人们认为甲烷丝菌和甲烷八叠球菌在厌氧消化产甲烷系统中起着极其重要的作用，并认为前者具有低的底物生长率（即高的底物亲和性），后者具有高的底物生长率（即低的底物亲和性）^[7,23]，李亚新等研究认为甲烷八叠球菌对基质代谢能力强，当乙酸浓度大于 $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，对基质的利用速率是甲烷丝菌的 3~5 倍^[24]。杨秀山等研究发现，甲烷八叠球菌以 3 种形式存在于消化器内。1 种是在具滤膜或填充物的消化器内以多细胞沉聚在一起；第 2 种是以大小不等的包裹存在于絮状污泥中与甲烷丝菌混在一起或附着在颗粒污泥上；第 3 种是以颗粒状保留在消化器内。人们为提高厌氧反应器内产甲烷菌密度，在消化器内填加附着物（如 AF），使消化器中的生物量形成较大的絮状污泥和进一步使生物量形成颗粒污泥，以保留甲烷八叠球菌于消化器内^[25]；采用三相分离器，借助颗粒污泥重力沉降作用，保留活性污泥的数量（如 UASB）；内循环厌氧反应器^[26]，一方面提高了消化器高度，提高污泥沉降分层效果，并在消化器内自下而上利用三相分离器，分成第一反应室和第二反应室，使颗粒污泥中甲烷八叠球菌在底层第一反应室新进的高乙酸浓度污水中得到积累，使絮状污泥中甲烷丝菌在中层第二反应室由第一反应室处理后的低乙酸浓度污水中得到积累。使每一步分别适合于甲烷八叠球菌和甲烷丝菌的生长代谢，比 UASB 消化器进一步提高污水厌氧处理效率。这些在工程上成功应用的厌氧反应器能有效减少污水流动过程产甲烷菌的流失，提高厌氧反应器内产甲烷菌的密度，并为产甲烷菌创造更合适的生长环境。

3.3 厌氧消化工艺调试原理

3.3.1 接种产甲烷菌 产甲烷菌生长特别缓慢，在人工培养条件下，要经过十几天甚至几十天才能长出菌落；在自然条件下甚至更长。因此，一般新建的沼气池在进料前，都采用接种正常厌氧发酵的活性污泥或沼液以缩短产甲烷菌培养生长时间，且厌氧反应器的启动快慢很大程度上决定于接种污泥的性质。一般用处理同样性质废水的厌氧反应器污泥作种泥是最有利的^[27]。同时，由于产甲烷菌只能利用很简单的物质，如二氧化碳、氢、甲酸、乙酸等，因此，在酸化调节过程中，为了提高污水中有机物的降解效果，更好地为产甲烷菌提供甲烷合成底物，有人开展纤维素分解菌的筛选^[28]，促进纤维素分解，提高沼气产气率^[29]，以水解酶提高

猪粪沼气发酵产气率等研究^[30]。

3.3.2 调节消化污水的营养物质平衡 产甲烷菌生活在厌氧条件下，它们通过甲烷的生物合成形成维持细胞生存所需的能量。产甲烷菌是自养型的生物，能利用环境中的化学能，因而在产甲烷菌中发现了许多无机物进入细胞所需的通道蛋白，如 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 等离子，以及磷酸、硝酸等无机酸。因此，产甲烷菌生长的世代时间与环境中营养物质浓度有关，营养平衡也很重要，细胞的生长和维持需要一定数量的养分，营养不足使甲烷菌生长世代时间变长，甚至停止；基质代谢速率也受营养条件的限制，但有些养分过量会抑制产甲烷菌生长。Speece 认为甲烷菌对有毒物质的反应同样也受营养条件的限制，营养充足与否会减弱或加强有毒物质对甲烷菌的影响，并认为由于对甲烷菌营养需要认识不足，已经阻碍了厌氧生物技术的应用和发展^[31]。据报道，向厌氧反应器中补充甲烷菌所需的微量金属营养元素可以使出水中 VFA 浓度降低，产气率增加，提高处理效率，增加系统稳定性，并能减少毒性物质对甲烷菌的抑制作用^[32-35]。李亚新等研究认为以醋酸钙、乙醇为基质，向厌氧反应器补充 Fe、Co、Ni 的最佳剂量分别为 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[36]，并认为投入微量金属元素会改变厌氧发酵器甲烷菌的优势菌种^[21]。龙腾锐等研究认为，某些微量金属元素，如铁、钴、镍、铜、锌、锰、钼、钨、铬等，在低浓度时能促进厌氧反应的进行，高浓度时会产生抑制^[37]；张信连等研究认为，稀土元素对动物、植物及微生物均存在 Hormesis “低促高抑”效应^[38]；夏青等研究认为 La^{3+} 和 Ce^{3+} 对不同 VFA 底物的产甲烷菌促进效应不同^[39]。这些研究表明产甲烷菌生长繁殖过程，不仅需要 C、N、P、K 等营养物质，同时，还需要中、微量金属元素平衡供应，且不同产甲烷菌对中、微量元素的需求不同。

产甲烷菌的生长对 C、N、P 比例及含量也有严格要求，一般而言，C:N:P 为 75:5:1，如以 C 为 COD 的化学计量关系推算，则 COD:N:P 为 200:5:1，也有人认为 COD 可高至 300。适量的碳源对细菌的生长和活性是决定性的条件，但碳源浓度增加应有限度，超过限度微生物的生长率就会下降，这一影响通常称为基质抑制，碳水化合物基质抑制的浓度为 $100 \sim 150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[40]。

从污水处理的另一目标——脱氮角度看，甲烷的生物合成和氮素的固定是产甲烷菌独特的代谢过

程^[41]。Kunna 认为较高的碳氮比将有利于异化性硝酸盐还原反应的发生, 当进水 COD/N 小于 53 时, 反硝化最终产物以 N₂ 为主, 而 COD/N 大于 53 时, 则有较大量的氨氮合成^[42]。同时, 还有研究认为: 以葡萄糖为碳源有利于硝酸盐还原为氨氮, 而以 VFA 之类的碳源则有利于进行硝酸盐反硝化为氮气的过程^[43-45]。因此, 还可以通过调节 C 源及 C/N 比例, 实现脱氮的目的。

3.3.3 pH 值对产甲烷菌的影响 厌氧微生物的生命活动、物质代谢与 pH 值有密切关系, pH 值的变化直接影响着消化过程和消化产物, 不同的微生物要求不同的 pH 值。颗粒污泥利用不同底物时的生长适应 pH 范围不同, 一般认为, 反应器内的 pH 值应保持为 7.2~7.6。对于以碳水化合物为主的废水, 进水碱度与 COD 之比大于 1/3 是必要的, 但对于含量较高有机氮和硫酸盐的废水, 碱度的控制方式有所不同。陆正禹等^[46]研究链霉素废水的启动过程中发现, 控制出水的碱度在 1 000 mg·L⁻¹ CaCO₃ 以上能成功地培养出颗粒污泥, 颗粒污泥成熟以后, 对进水的碱度要求并不高, 可以不投或少投纯碱。适量惰性物如 Ca²⁺、Mg²⁺ 和 CO₃²⁻、SO₄²⁻ 等离子存在, 能够促进颗粒污泥初成体的聚集和粘结。

3.3.4 毒性物质控制与菌种驯化 处理工业废水时, 通常含有某种有毒有机物对产甲烷菌的生长造成毒害, 致使厌氧消化失败。在厌氧处理中, 硫酸盐还原细菌以氢、乙酸、乳酸等为电子供体, 以 SO₄²⁻ 为末端电子受体, 将其还原为 S²⁻ 的厌氧反应称其为硫酸盐还原作用。由于硫酸盐还原细菌和产甲烷细菌都可利用这些基质, 而且硫化物对产甲烷细菌具有毒害作用^[47], 因此普遍认为, 硫酸盐还原作用影响产甲烷作用的进行。然而, 各研究者的结论不尽相同, 包括对于硫酸盐对产甲烷菌的致害浓度存在较大争议。Karhadkar 等^[48]指出硫化物对产甲烷菌有抑制作用, 但经过驯化, 产甲烷菌可提高对硫化物的抵抗力。Parking 等^[49]认为硫化氢对未经驯化的产甲烷菌的致害浓度为 50 mg·L⁻¹。Isa 等^[50]的研究表明硫化物对产甲烷菌的致害浓度从未经驯化时的 20 mg·L⁻¹ 提高到驯化后的 500 mg·L⁻¹, 这可能是由于甲烷八叠球菌基因组中含有大量表面蛋白基因, 可以形成具有保护作用的荚膜, 通过驯化后, 能提高产甲烷菌对不良因素的抵抗能力。

3 结 语

产甲烷菌是厌氧消化过程中最后一个环节, 并

在污水处理与产甲烷的过程中起着重要作用, 因此, 产甲烷菌的研究成为环境微生物研究的焦点之一。从产甲烷菌代谢机理、生理生化特征及其在厌氧消化中应用研究结果分析, 说明产甲烷菌在碳循环中具有独特的作用, 它能使污水中无法利用的碳源转化成甲烷, 既可生产清洁能源, 又可实现污水中污染物减量化; 同时, 其代谢产物对病原菌和病虫卵具有抑制和杀伤作用, 可实现农业生产、生活污水无害化, 因此, 产甲烷菌及其厌氧消化工艺技术在工农业生产产生的有机废水和城镇生活污水处理方面具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] HUNGATE R E. A roll tube method for cultivation of strict anaerobes [M] // NORRIS J R. Methods in Microbiology. New York: Academic Press, 1969.
- [2] GARCIA J L, PATEL K C, OLLIVIER B. Taxonomic, phylogenetic and ecological diversity of methanogenic [J]. Amh Anaerobe, 2000 (6): 205-226.
- [3] 杨秀山, 博连明. 产甲烷菌的最新分类目录 [J]. 微生物学通报, 1991, 18 (3): 169, 187.
- [4] LANGE M, AHFING B K A comprehensive study into the molecular methodology and molecular biology of methanogenic [J]. Archaea FEMS Microbiol Rev, 2001, 5 (12): 553-571.
- [5] 单丽伟, 冯贵颖, 范三红. 产甲烷研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2003, 23 (6): 42-46.
- [6] MCCARTY P L, SMITH D P. Anaerobic Wastewater Treatment [J]. Environmental Sci Technol, 1986, 20 (12): 1200-1206.
- [7] HARPER S R, POHLAND F G. Recent developments in hydrogen management during anaerobic biological wastewater treatment [J]. Biotech Bioeng, 1986, 28: 585-602.
- [8] 李顺鹏. 产甲烷细菌和古细菌研究进展 [J]. 江苏沼气, 1992 (4): 1-4.
- [9] 张无敌, 宋洪川, 何彩云. 产甲烷细菌 [J]. 江苏农村能源环境保护, 1997 (2): 3-6.
- [10] 周大石. 沼气发酵原理与甲烷细菌的特性 [J]. 环境科技, 1990, 13 (6): 83-87.
- [11] 张国政. 产甲烷菌的一般特征探讨 [J]. 中国沼气, 1990, 8 (2): 5-8.
- [12] 张无敌, 宋洪川, 尹芳, 等. 沼气发酵与综合利用 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2004: 96-103.
- [13] 马溪平, 李青华, 马丽, 等. 厌氧微生物学与污水处理 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 24-53.
- [14] COHEN A, BREURE A M, VAN ANDEL J G, et al. Influence of Phase Separation on the Anaerobic Digestion of Glucose. Stability and Kinetic Responses to Shock Loadings [J]. Wst Res, 1982, 16: 449-455.
- [15] COHEN A. Influence of Phase Separation on the Anaerobic Digestion of Glucose, Maximum COD-Turnover during Contin-

- uous Operation [J]. *Wat Res*, 1980, 14: 1439 - 1448.
- [16] COHEN A. Anaerobic Digestion of Glucose with Separated Acid Production and Methane Formation [J]. *Wat Res*, 1979, 13: 571 - 580.
- [17] 管运涛, 蒋展鹏. 两相厌氧膜生物系统处理有机废水的研究 [J]. *环境科学*, 1998, 19 (6): 56 - 59.
- [18] 管运涛, 蒋展鹏, 金鹏. 两相厌氧膜生物系统产气特征研究 [J]. *中国沼气*, 1999, 17 (4): 3 - 6.
- [19] 管运涛, 蒋展鹏. 膜分离对两相生物系统酸化特征影响的模型研究 [J]. *中国沼气*, 2000, 18 (2): 3 - 7.
- [20] 龚革, 王修垣. 九株嗜热产甲烷菌的特性 [J]. *微生物学报*, 1997, 35 (5): 378 - 384.
- [21] 何绍江, 冯新梅, 龚小平, 等. 奶牛粪沼气池中三株产甲烷菌的分离和基本特征 [J]. *华中农业大学学报*, 1994, 13 (1): 59 - 63.
- [22] WANG, SY-YING C. Anaerobic Treatment a Growthop Technol. *Water Treatment Conference*. 15 - 19 Sept 1986, RIA Hails-Amsterdam [J]. *The Netherlands*, 1986.
- [23] BRUMMELER E T, POL W H, DOLFING J, et al. Methanogenesis in an Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor at pH 6 on an Acetate - Propionate Mixture [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1985, 49 (6): 1472 - 1477.
- [24] 李亚新, 杨建刚. 微量金属元素对甲烷菌激活作用的动力学研究 [J]. *中国沼气*, 2000, 18 (2): 8 - 11.
- [25] 杨秀山, ANDRES TILCHE. 对处理不同废水的几种厌氧消化器生物量中优势产甲烷菌的观察 [J]. *微生物学报*, 1989, 29 (2): 145 - 148.
- [26] 胡纪萃. 试论内循环厌氧反应器 [J]. *中国沼气*, 1999, 17 (2): 3 - 6.
- [27] 孙振世, 陈英旭, 杨晔. UASB 的启动及其影响因素 [J]. *中国沼气*, 2000, 18 (2): 17 - 31.
- [28] 许修宏, 肖玉珍, 陈建平. 高效纤维素分解菌分离筛选的研究 [J]. *东北农业大学学报*, 1998, 29 (4): 330 - 333.
- [29] 吕淑霞, 陈祖杰. 纤维素应用于酒精糟废水厌氧消化中的研究 [J]. *中国沼气*, 1994, 12 (1): 1 - 5.
- [30] 张无敌, 宋洪川, 李建昌. 水解酶提高猪粪沼气发酵产气率 [J]. *太阳能学报*, 2002, 23 (5): 675 - 677.
- [31] SPEECE R E. *Naerobic biotechnology for industrial wastewater* [M]. TN USA: *Archae Press*, 1996: 222 - 226.
- [32] 李亚新. 厌氧消化过程中甲烷菌的无机营养需要 [J]. *中国沼气*, 1996, 14 (1): 1 - 5.
- [33] FANG H H, H K CHUI, LI YAXIN. Microbial structure and activity of UASB granules treating different wastewater [C]. //7th International Symposia Anaerobic Digestion, South Africa, 1994.
- [34] LI YAXIN, R E SPECCE. Stimulation effect of trace metals on anaerobic digestion high sodium content substrate [J]. *Water Treatment*, 1995, 10 (2): 145 - 154.
- [35] TAKASHIMA M, SPEECE R E. Mineral nutrient requirement for high fate methane fermentation of acetate at low SRT [J]. *Res J Wat Poll Control Fed*, 1989, 61 (11/12): 1646 - 1650.
- [36] 李亚新, 董春娟. 激活甲烷菌的微量元素及其补充量的确定 [J]. *环境污染与防治*, 2001, 23 (3): 116 - 118.
- [37] 龙腾锐, 郝以琼, 郭劲松, 等. 痕量离子促进厌氧消化过程的试验研究 [J]. *环境科学学报*, 1994, 14 (4): 439 - 444.
- [38] 张信连, 杨维东, 刘洁生, 等. 稀土元素生物效应中的 Hormesis 现象 [J]. *生物技术*, 2004, 14 (6): 82 - 84.
- [39] 夏青, 洪宇宁, 梁睿, 等. La^{3+} , Ce^{3+} 对厌氧颗粒污泥在不同 VFA 底物中的产甲烷促进效应 [J]. *中国沼气*, 2007, 25 (3): 3 - 6.
- [40] COONEY C L. Growth of microorganism// rechm H-J Reed G (eds) *Biotechnology. A comprehensive treatise in 8 volumes. Vol 1: Microbial fundameatals* [C]. *Verlag Chemie Weinheim Deerfield Beach Florida Basel*, 73.
- [41] 公维佳, 李文哲, 刘建禹. 厌氧消化中的产甲烷菌研究进展 [J]. *东北农业大学学报*, 2006, 37 (6): 838 - 841.
- [42] A KUNNA J C, BIZEAU C, MOLETTA R. Denitrification in anaerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N - NO_x ratio [J]. *Environ Technol*, 1992 (13): 825 - 836.
- [43] WILDERER P A, JONES W L, DAU U. Competition in denitrification systems affecting reduction rate and accumulation of nitrite [J]. *Wat Res*, 1987, 21: 239 - 245.
- [44] A KUNNA J C, BIZAEU C, MOLETTA R. Nitrate and nitrite reduction with anaerobic sludge using various carbon sources: glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol [J]. *Wat Res*, 1993, 27: 1303 - 1312.
- [45] A KUNNA J C, BIZEAU C, MOLETTA R. Nitrate reduction by anaerobic sludge at various nitrate concentrations: ammonification, denitrification and methanogenic activities [J]. *Environ Technol*, 1994, 15: 41 - 49.
- [46] 陆正禹, 任立人. UASB 处理链霉素废水颗粒污泥培养技术探索 [J] *中国沼气*, 1997, 15 (3): 11.
- [47] ABRAM J W, NEDWELL D B. Inhibition of methanogenesis by sulphate reducing bacteria competing for transferred hydrogen [J]. *Arch Microbiol*, 1987, 117: 89 - 92.
- [48] KARHADKAR P P, AUDIC JEAN - MARC, FAUP G M, et al. Sulfide and sulfate inhibition of methanogenesis [J]. *Water Res*, 1987, 21 (3): 1061 - 1066.
- [49] PARKIN G F, SPEECE R E, YANG CH J, et al. Response of methane fermentation systems to industrial toxicants [J]. *J WPCF*, 1983, 55: 44 - 53.
- [50] ISA Z, GRUSENMEYER S, VERSTRAETE W. Sulfale reduction relative to methane production in hish - rate anaerobic digeston; microbiological aspects [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1986, 51: 572 - 579.

(责任编辑: 刘新永)