

棉秆沼气发酵生物预处理及接种物的驯化

白云 李为* 陈春 廖鹏

(华中科技大学生命科学与技术学院资源生物学与生物技术研究所 湖北 武汉 430074)

摘要: 通过多代淘汰的方法, 筛选了一组稳定高效的棉秆降解复合菌系-MEG 复合菌系。将该菌系接入棉秆, 静置处理 7 d 后进行沼气发酵, 其产气量较未经预处理的提高了 25%。变性梯度凝胶电泳(DGGE)分析结果表明, 生物预处理后棉秆沼气发酵系统的细菌群落结构多样性较未经预处理的丰富。同时, 比较了采用 6 种驯化方法获得的接种物对棉秆沼气发酵日产气量和累积产气量的影响, 结果表明, 采用河底泥、臭水沟泥、工厂废水底泥、荷塘底泥、湖底泥等 5 种污泥混合后驯化的活性污泥可作为棉秆沼气发酵的有效接种物, 其沼气发酵的日产气量和累积产气量均较单种污泥驯化的接种物高。

关键词: 棉秆, 木质纤维素, 生物预处理, 活性污泥, 微生物多样性

Biological Pretreatment of Cotton Stalks and Domestication of Inocula in Biogas Fermentation

BAI Yun LI Wei* CHEN Chun LIAO Peng

(Institute of Resource Biology and Biotechnology, College of Life Science and Technology,
Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430074, China)

Abstract: A composite microbial system MEG with high efficient and stable degradation of cotton stalks was screened through the method of multigeneration selection. This microbial system was inoculated to the cotton stalks, and then stationarily treated for 7 days. Afterwards, biogas fermentation was conducted. Compared to the condition of non-pretreatment, the gas production increased by 25%. DGGE analysis showed that the diversity of bacterial community structure in the biogas fermentation system of cotton stalks was more abundant compared to the condition of non-pretreatment. At the same time, comparison in the effects of inocula obtained from 6 kinds of domestication methods on daily and cumulative of biogas production of cotton stalks was conducted. The results showed that the inocula domesticated from the mixture of 5 kinds of activated sludge from river bed mud, sewage ditch, industrial wastewater bed, pond bed, and lake bed could be acted as effective inocula for biogas fermentation of cotton stalks. The daily gas production and cumulative gas production were higher compared to the inocula domesticated from one kind of activated sludge.

Keywords: Cotton stalks, Lignocellulose, Biological pretreatment, Activated sludge, Microbial diversity

我国是世界上最大的产棉国,棉花产量占世界棉花总产量的 1/4^[1]。仅我国新疆地区每年生产棉花约 2×10^6 t, 产生棉秆约 $6 \times 10^6 - 8 \times 10^6$ t^[2]。目前大部分棉秆被焚烧或就地掩埋,而直接燃烧不仅热效率低,并且产生多种有害烟气对生态环境造成破坏,甚至引发火灾、交通事故等重大安全问题^[3],因此,如何有效开发利用棉秆资源是产棉区的一个重大问题。棉秆有多种开发利用途径^[4-11],其中利用棉秆发酵制取沼气是其有效利用途径之一^[12]。

棉秆是一种木质化程度高、韧皮纤维丰富的硬秸秆^[1],在沼气发酵过程中很难降解,从而影响了产气效率。为了提高棉秆的沼气发酵效率,有必要对棉秆原料进行预处理,同时筛选驯化活性较高的接种物进行沼气发酵。目前秸秆预处理方法主要有化学、物理和生物法^[13],其中生物预处理方法具有节能、安全、环保等特点,成为目前大力提倡的预处理方法。为此,本文对棉秆原料的生物预处理方法进行了研究,同时对接种物进行了驯化筛选,研究了不同生物预处理方法和不同接种物对棉秆沼气发酵的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的棉秆原料由新疆建设兵团昆仑神农股份有限公司提供。棉秆原料的主要成分是:总固体含量(TS)为 89.5%、纤维素含量为 37.4%、半纤维素含量为 20.1%、木质素含量为 27.4%。将原料干燥、粉碎后过筛,取 10 目筛和 40 目筛中间部分用于预处理实验和随后的沼气发酵实验研究。接种物驯化所用的基体细砂取自建筑工地过 40 目筛取的细砂,细砂粒径一般为 0.3 mm。

1.2 降解棉秆复合菌系的筛选

参考李为^[14]等的方法,分别以养殖场新鲜牛粪、树林枯树叶以及农户家长期堆放的麦秸堆下的腐烂麦秸为原料堆置 7 d。然后,分别取 10 g 堆置物,置于蛋白胨纤维素培养基中培养。培养瓶内放入滤纸条作为纤维素分解的外观指标,50℃ 静置培养。然后以 5% (体积比)的接种量将此培养液转接入新鲜的蛋白胨纤维素培养基中,以 2 g 棉秆作为碳源,50℃ 静置培养。当瓶内滤纸条完全分解时取 5 mL 培养液作为种子转接到同样的新鲜培养基中。如此

通过继代培养、多代淘汰的方法,保留分解能力强的培养物继续继代培养。通过上述驯化方法获得了能高效降解棉秆的复合菌系,命名为 MEG 复合菌系。

1.3 不同生物预处理方法的比较实验

将一定量的 MEG 复合菌系与棉秆搅拌混匀后静置,分别考察不同的 MEG 复合菌系添加量、不同的静置天数预处理后对棉秆沼气发酵过程产气量的影响,并比较了 MEG 复合菌系与本研究室保藏的 ZFC 复合菌系^[14]生物预处理棉秆的效果。各预处理组在进行棉秆沼气发酵实验时的环境温度均维持在中温 $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 。从实验启动开始,每天定时记录日产气量,并在发酵的不同时期取样,测定 TS、纤维素、半纤维素和木质素含量。

1.4 活性污泥的采集和驯化

分别采集河底泥、臭水沟泥、工厂废水底泥、荷塘底泥、湖底泥等 5 种不同来源的污泥,同时将这 5 种污泥混合后的污泥与上述 5 种污泥分别拌入棉秆粉中进行活性污泥的驯化。具体方法是:分别将以上各种污泥 80 g 置于 250 mL 密闭三角瓶中,添加 40 g 棉秆粉,加水至 250 mL,调节 pH 至 7.5,在 37°C 驯化 50 d。

1.5 采用不同来源活性污泥驯化的接种物进行棉秆沼气发酵实验

此实验设置了不同驯化接种物试验组和空白对照组。空白对照组不加棉秆,用于测定接种物自身的沼气产量以修正棉秆日产气量。发酵液总体积均为 250 mL,其中各接种物占总体积的 30%,总 TS 占 6.8% (相当于加入棉秆 17.0 g),用尿素调节碳氮比为 30:1, pH 自然(一般为 7.5)。实验各组的环境温度均维持在中温 $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 。实验启动后,每天定时记录日产气量。比较各组进行沼气发酵的启动时间和产气量,从中选出最佳接种物。

1.6 分析方法

1.6.1 pH: 采用 pH 计测定发酵前后料液的 pH 值。

1.6.2 产气量: 采用排水法收集沼气,棉秆的日产气量 = 棉秆试验组日产气量 - 空白对照组日产气量。

1.6.3 总固体含量、纤维素、半纤维素和木质素含量: (1) 棉秆 TS (总固体含量)采用烘干法测定^[15],具体方法如下:准确称取棉秆样品,质量记为 W_1 ,将棉秆样品放入 105°C 的烘箱中烘至恒

重, 质量记为 W_2 。 $TS = (W_2/W_1) \times 100\%$ (TS : 总固体含量; W_1 : 烘干前样品质量; W_2 : 烘干后样品质量); (2) 纤维素、半纤维素和木质素含量的测定采用凡氏测定法^[16]。

2 结果与分析

2.1 降解棉秆复合菌系的筛选结果

通过多代淘汰的方法, 目前已经获得 50 代以上具有稳定降解棉秆能力的复合菌系, 命名为 MEG 复合菌系。在分解纤维素过程中, 发酵液的 pH 值从起始的 7.5 先下降到 6.0 左右, 此时滤纸条具有明显的分解迹象, 棉秆开始腐烂。之后 pH 值逐渐上升到 7.0, 最后回升到 8.5 左右并保持长时间的稳定。经过 1 年多的继代培养, 筛选获得的 MEG 复合菌系对棉秆的降解能力基本保持稳定。对第 10、20、30、40、50 代 MEG 复合菌系的微生物群落结构进行 DGGE 分析, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, 筛选的 MEG 复合菌系的微生物群落结构从第 10 代至 50 代基本变化不大, 说明此复合菌系中微生物群落结构基本保持稳定, 从而保证了 MEG 复合菌系经多代培养一直保持较好降解棉秆的活性。

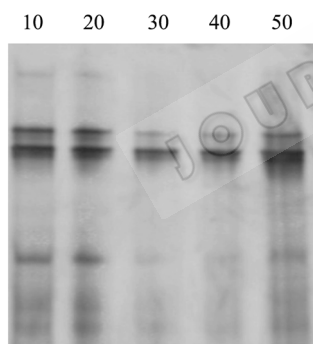


图 1 第 10–50 代 MEG 复合菌系的微生物群落结构的 DGGE 图谱

Fig. 1 The profile of DGGE of microbial community structure of MEG composite microbial system of the 10th–50th generation

2.2 不同预处理方法对棉秆沼气发酵过程中产气量的影响

在 17 g 棉秆中分别添加 20、30 和 50 mL 的 MEG 复合菌系, 预处理 7 d 后进行沼气发酵实验, 不同预处理组的日产气量和累积产气量如图 2 所示。从图 2 可以看出, 采用 20 mL 和 30 mL 的 MEG 复合菌系处理过的棉秆沼气发酵产气量均比未经预处理的高, 其中添加 30 mL MEG 复合菌系处理组的沼气发

酵日产气量最大, 说明此添加量对棉秆的预处理效果最好。相对而言, 20 mL 添加量预处理组的棉秆沼气发酵的产气量较小, 可能是由于此添加量的 MEG 复合菌系对木质纤维素的降解不够强。而 50 mL 添加量预处理组在进行沼气发酵时, 虽然开始阶段的沼气发酵产气量较大, 但是出现高峰后会很快停止产气, 主要原因可能是由于木质纤维素降解菌浓度过大, 影响后面产甲烷菌群的主导地位, 从而导致产气很快停止。综上所述, 本实验中 MEG 复合菌系的最佳添加量为每 17 g 棉秆添加 30 mL。

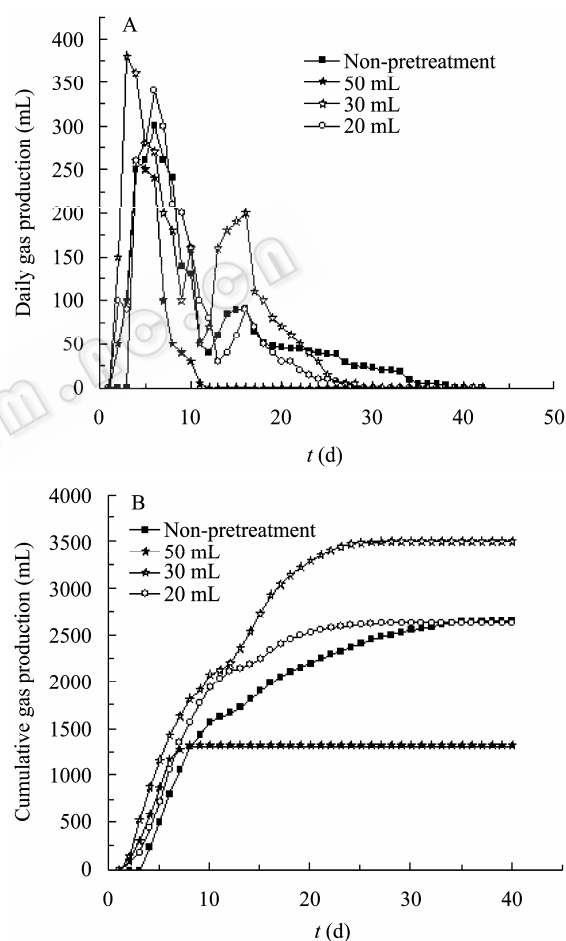


图 2 接种不同量 MEG 复合菌系预处理 7 d 后棉秆沼气发酵日产气量(A)和累积产气量(B)的变化

Fig. 2 Change of daily (A) and cumulative biogas production (B) of cotton stalks after 7 days of pretreatment by different amount of MEG composite microbial system

在 17 g 棉秆中分别添加 30 mL MEG 复合菌系, 分别预处理不同时间后进行沼气发酵实验, 不同预处理组的日产气量和累积产气量如图 3 所示。从图 3 中可以看出, 静置处理 3 d 和 5 d 的 2 个预处理组的日产气量和累积产气量相当, 随着处理时间的增

加产气量逐渐增加, 预处理时间为 7 d 的试验组产气量最大, 但是若继续增加处理时间, 如处理时间达 9 d 时, 虽然启动沼气时间很快, 起初的产气量也较高, 但是产气时间较短, 且总产气量不高。分析原因可能是因为 3 d 和 5 d 的处理时间还不足以使棉秆的木质纤维部分充分降解, 而处理 9 d 则会使棉秆的营养物质消耗过多, 不利于沼气发酵菌群的生长代谢, 造成产气时间维持较短, 累积产气量不高。综上所述, 本实验中最佳预处理时间为 7 d。

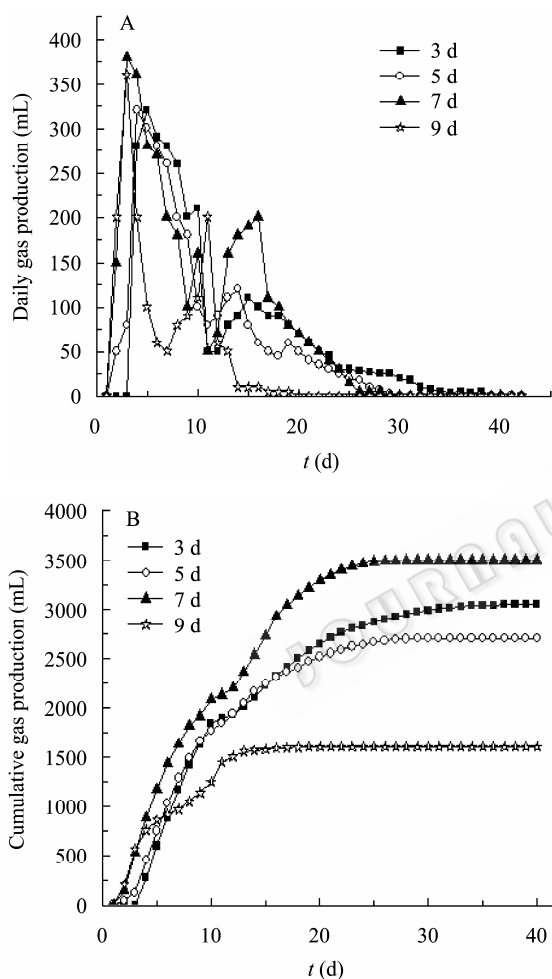


图3 接种相同量 MEG 复合菌系、预处理不同时间后棉秆沼气发酵日产气量(A)和累积产气量(B)的变化
Fig. 3 Change of daily (A) and cumulative biogas production (B) of cotton stalks after different treatment time by the same amount of MEG composite microbial system

在 17 g 棉秆中分别添加 30 mL 的 MEG 复合菌系和 ZFC 复合菌系, 预处理 7 d 后进行沼气发酵实验, 不同预处理组的日产气量和累积产气量如图 4 所示。从图 4 可以看出, 经过 MEG 复合菌系和 ZFC 复合菌系预处理的总产气量都比未经预处理的高,

其中 MEG 复合菌系的预处理效果好于 ZFC 复合菌系, 分析原因可能是由于 MEG 复合菌系的微生物组成较稳定, 对棉秆的降解活性要好于 ZFC 复合菌系。经过 MEG 复合菌系预处理的沼气总产气量比未经预处理的提高了 25%。

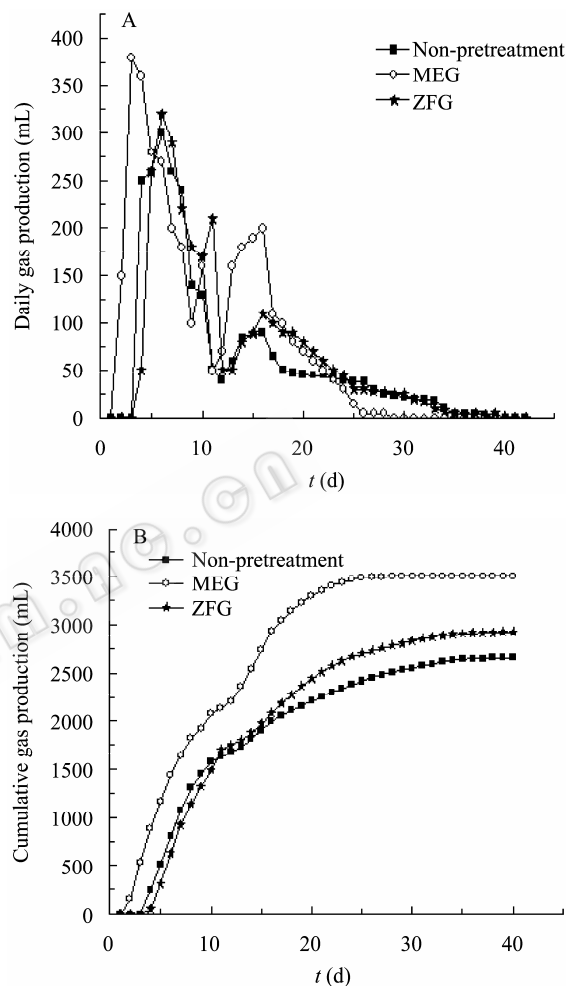


图4 添加不同复合菌系预处理后棉秆沼气发酵日产气量(A)和累积产气量(B)的变化
Fig. 4 Change of daily (A) and cumulative biogas production (B) of cotton stalks after pretreatment by different composite microbial system

2.3 不同预处理结束时微生物群落的 DGGE 分析

不同预处理结束时微生物群落结构的 DGGE 分析结果如图 5 所示。由图 5 可知, MEG 复合菌系中的微生物种类要多于 ZFC 复合菌系, 这有可能是采用 ZFC 复合菌系预处理棉秆的效果没有 MEG 复合菌系好的原因之一。此外, 同是采用 MEG 复合菌系处理但处理时间不同, 预处理结束时的微生物群落多样性亦存在差异, 其中静置 3 d 和静置 5 d 的相似, 静置 7 d 和静置 9 d 的相似, 静置 7 d 和静置 9 d 的

微生物群落多样性比静置 3 d 和 5 d 的要丰富一些, 这可能是静置处理 7 d 和 9 d 后沼气启动比静置处理 3 d 和 5 d 要快的原因之一。

2.4 棉秆预处理后以及沼气发酵结束时木质纤维素含量的比较

图 6 显示了预处理结束时各预处理组棉秆中木质纤维素含量, 图 7 显示了各预处理组棉秆沼气发酵结束时棉秆中木质纤维素含量。从图 6 和图 7 中可以看出, 各预处理组的纤维素、半纤维含量都比未预处理组有不同程度的减少, 无论是经 MEG 复合菌系还是 ZFC 复合菌系预处理的棉秆, 棉秆的降解程度都随菌液添加量的增加和预处理时间的增加而增加, 棉秆中纤维素和半纤维含量的下降幅度也随之增加。与 ZFC 复合菌系相比, 采用 MEG 复合菌系预处理的棉秆, 其纤维素、半纤维素的降解率更高。

图 8 所示为采用最佳预处理条件即每 17 克棉秆添加 30 mL 的 MEG 复合菌系、静置预处理 7 d 后再进行棉秆沼气发酵、在沼气发酵过程中棉秆木质纤维素含量的变化。沼气发酵结束时较预处理结束时, 棉秆中纤维素和半纤维素的相对含量分别降低了 25% 和 16.7%, 而木质素的相对含量提高了 44.7%。可见, 棉秆经预处理后在沼气发酵过程中纤维素和半纤维素发生了不同程度的降解, 而木质素基本没有降解。

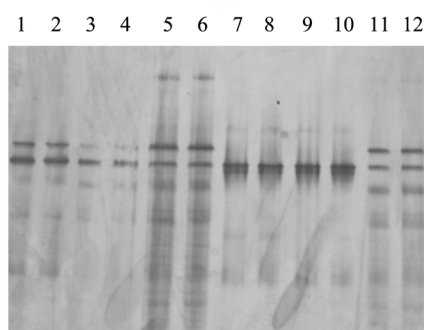


图 5 不同预处理结束时微生物群落结构的 DGGE 图谱
Fig. 5 The profile of DGGE of microbial community structure at the end of different pretreatment

注: 1、2: 用 MEG 复合菌系静置处理 3 d; 3、4: 用 MEG 复合菌系静置处理 5 d; 5、6: 用 MEG 复合菌系静置处理 7 d; 7-10: 用 ZFC 复合菌系静置处理 7 d; 11、12: 用 MEG 菌系静置处理 9 d。
Note: 1,2: Stationarily treated for 3 days with MEG; 3,4: Stationarily treated for 5 days with MEG; 5,6: Stationarily treated for 7 days with MEG; 7-10: Stationarily treated for 7 days with ZFC; 11,12: Stationarily treated for 9 days with MEG.

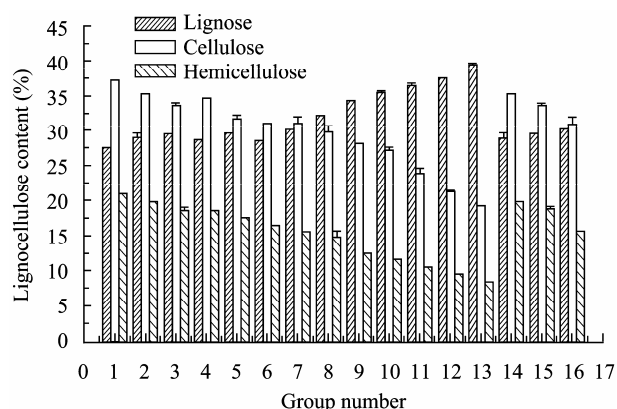


图 6 预处理结束时各预处理组棉秆木质纤维素含量
Fig. 6 The content of lignocellulose in cotton stalks of each pretreatment group at the end of pretreatment

注: 1: 未处理组; 2-4: 分别添加 20、30 和 50 mL MEG 复合菌系静置 3 d; 5-7: 分别添加 20、30 和 50 mL MEG 复合菌系静置 5 d; 8-10: 分别添加 20、30 和 50 mL MEG 复合菌系静置 7 d; 11-13: 分别添加 20、30 和 50 mL MEG 复合菌系静置 9 d; 14-16: 分别添加 20、30 和 50 mL ZFC 复合菌系静置 7 d。

Note: 1: Non-pretreatment; 2-4: Stationarily treated for 3 days with 20, 30 and 50 mL of microbial system MEG; 5-7: Stationarily treated for 5 days with 20, 30 and 50 mL of microbial system MEG; 8-10: stationarily treated for 7 days with 20, 30 and 50 mL of microbial system MEG; 11-13: stationarily treated for 9 days with 20, 30 and 50 mL of microbial system MEG; 14-16: stationarily treated for 7 days with 20, 30 and 50 mL of microbial system ZFC.

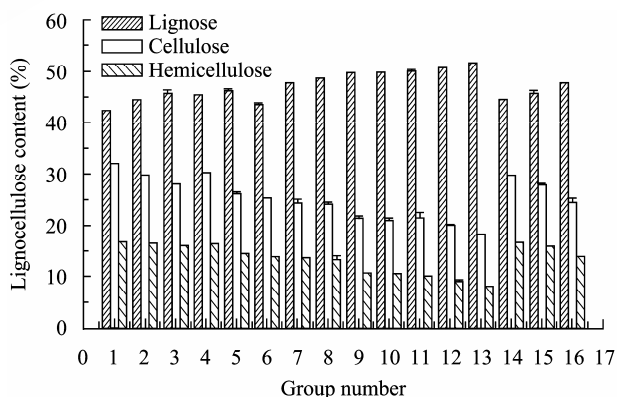


图 7 各预处理组棉秆沼气发酵结束时棉秆木质纤维素含量
Fig. 7 Content of lignocellulose of each pretreatment group at the end of biogas fermentation of cotton stalks

注: 1-16 的含义同图 6。
Note: 1-16 the same as Fig. 6.

2.5 接种物的驯化及筛选结果

经过 50 d 的驯化, 采用河底泥、荷塘底泥、湖底泥和 5 种不同污泥混合驯化的活性污泥较蓬松, 呈黑色絮状物质, 轻轻摇动时可见从三角瓶底部冒出气泡, 且气泡数量较其它驯化组多, 其中气泡数量最多的是混合污泥驯化组, 而分别用臭水沟泥和

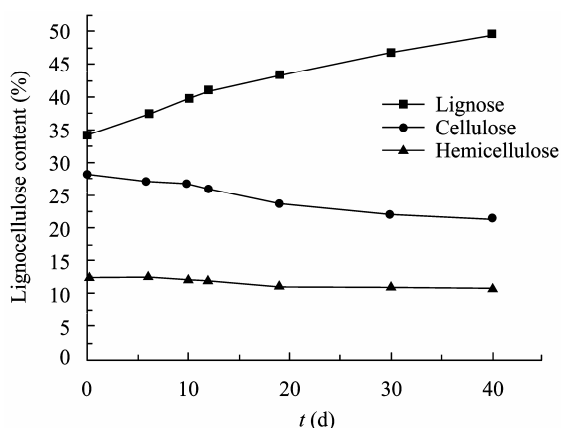


图 8 棉秆经预处理后沼气发酵过程中木质纤维素含量的变化

Fig. 8 Change of lignocellulose content in the process of biogas fermentation of cotton stalks after pretreatment

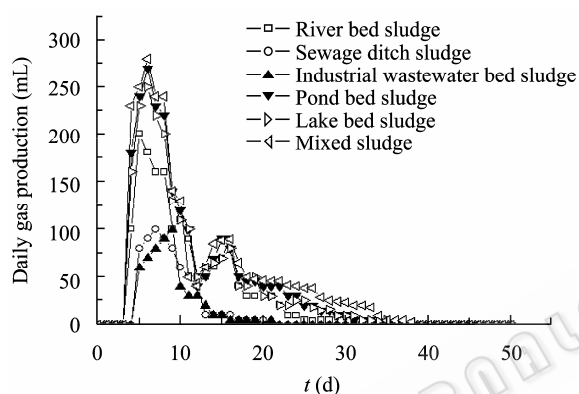


图 9 不同来源活性污泥驯化的接种物对棉秆沼气发酵日产气量的影响

Fig. 9 Effect of inocula domesticated from activated sludge of different sources on daily production of biogas fermentation of cotton stalks

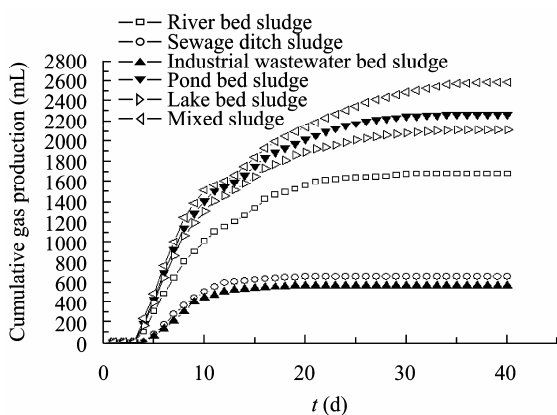


图 10 不同来源活性污泥驯化的接种物对棉秆沼气发酵累积产气量的影响

Fig. 10 Effect of inocula domesticated from activated sludge of different sources on cumulative production of biogas fermentation of cotton stalks

工厂废水底泥驯化的活性污泥絮状物较少, 且产生的气泡较少。

不同来源活性污泥驯化的接种物对棉秆沼气发酵日产气量和累积产气量的影响如图 9 和图 10 所示。从沼气启动时间看, 启动时间最短的是采用 5 种不同污泥混合驯化的活性污泥, 其次是分别用河底泥、荷塘底泥和湖底泥驯化的活性污泥, 最慢的是分别用臭水沟泥和工厂废水底泥驯化的活性污泥; 从产气稳定性和产气量分析, 用不同来源污泥混合驯化的活性污泥产气最稳定, 总产气量最高, 而分别用臭水沟泥和工厂废水底泥驯化的活性污泥的产气量最不稳定, 并在第 22 天以后停止产气。综合启动时间、产气量及产气稳定性等几方面的结果, 认为本实验中采用河底泥、荷塘底泥、湖底泥、臭水沟泥和工厂废水底泥这 5 种活性污泥混合后共同驯化出的活性污泥最有利于棉秆的沼气发酵。

3 讨论

3.1 原料预处理对沼气发酵的影响

棉秆的支持骨架是由纤维素、半纤维素和木质素这 3 种成分构成的, 其中纤维素组成微细纤维, 构成纤维细胞壁的网状骨架, 而半纤维素和木质素则是填充在纤维之间和微细纤维之间^[17]。本研究在对棉秆进行生物预处理以及预处理后的沼气发酵过程中, 纤维素和半纤维素都发生了不同程度的降解, 而整个过程中木质素基本没有降解。由于木质素是芳香族高分子化合物所以更难以降解, 而纤维素和半纤维素相对含量的降低使得木质素的相对含量反而升高, 这与我们前面的研究结果基本类似^[18]。

从棉秆沼气发酵启动至第 2 个产气高峰期阶段, 纤维素和半纤维素的降解速度较快。分析基质降解和产气量之间的关系可知, 原料中木质纤维素的降解程度直接关系到沼气发酵效率。纤维素和半纤维素降解越快, 产气量就越高; 降解越慢, 产气量就越低。在纤维素和半纤维素都能得到充分降解的时候木质素则是影响发酵效率的限速步骤。因此, 要提高沼气发酵效率, 不但要提高纤维素和半纤维素的降解程度, 还要提高木质素的降解率^[19]。综上所述, 在木质纤维原料进行沼气发酵之前, 进行原料预处理很有必要, 而且不同预处理方法会对后期的沼气发酵产生较大影响, 而生物预处理的效果与采用的复合菌系中微生物的稳定性以及降解木质纤维

素的能力有关。

3.2 不同接种物对沼气发酵的影响

本实验采用不同来源的污泥驯化了6种接种物, 结果表明不同来源的接种物对沼气发酵的启动时间、发酵周期、沼气日产气量和累积产气量都有显著影响。在接种物的驯化过程中产甲烷菌是主要的驯化对象^[20], 驯化目的是使各菌群适应特定的温度、原料、料液浓度等条件并使产甲烷菌能更早、更快和更长时间地保持主导地位。不同来源的接种物中含有的产甲烷菌种类和数量及其生长繁殖情况各不相同, 对整个沼气发酵过程的产气量、产气速率、发酵液的pH、VFA等都有较大影响^[20-21]。因此, 在沼气发酵前, 根据发酵原料驯化适于原料特性的接种物以提高沼气启动的速率和产气量是必要的步骤。

参 考 文 献

- [1] 李金霞, 卞科, 许斌, 等. 棉秆资源特性及其在农业上的应用. 河南农业科学, 2007(1): 46-49.
- [2] 张琴, 李艳宾, 岳耀峰, 等. 棉秆的微生物降解及糖化工艺研究. 食品与发酵工业, 2009, 35(2): 104-107.
- [3] 南艳艳, 邹华, 严群, 等. 秸秆厌氧发酵产沼气的初步研究. 食品与生物技术学报, 2007, 26(6): 64-68.
- [4] 艾天成, 王传金, 周世寿. 棉秆还田对土壤生态环境的影响. 安徽农业科学, 2006, 34(3): 538-559.
- [5] 崔金霞, 樊新民, 刘慧英, 等. 棉秆基质进行生菜无土栽培的研究. 石河子大学学报(自然科学版), 2007, 25(5): 558-560.
- [6] 申传起. 棉秆皮提取纺织纤维的方法. 适用技术市场, 1998(9): 28.
- [7] 宋孝周, 郭康权. 棉秆特性及其重组板材的研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(11): 106-110.
- [8] 李湘洲. 棉秆制活性炭的研究. 林产工业, 2004(4): 35-37.
- [9] Isci A, Demirer GN. Biogas production potential from cotton wastes. *Renewable Energy*, 2007(32): 750-757.
- [10] Jiménez L, Pérez A, de la Torre MJ, et al. Characterization of vine shoots, cotton stalks, *Leucaena leucocephala* and *Chamaecytisus proliferus*, and of their ethyleneglycol pulps. *Bioresource Technology*, 2007(98): 3487-3490.
- [11] Ververis C, Georgiou K, Christodoulakis N, et al. Fiber dimensions, lignin and cellulose content of various plant materials and their suitability for paper production. *Industrial Crops and Products*, 2004(19): 245-254.
- [12] 庞凤梅, 李玉浸, 杨殿林, 等. 农作物秸秆沼气发酵与直接利用效益比较. 中国沼气, 2008, 26(2): 34-37.
- [13] 黄如一, 何万宁, 唐和建, 等. 秸秆预处理产沼气对比试验. 中国沼气, 2008, 26(4): 24-26.
- [14] 李为, 薛红蕾, 王江丽, 等. 一组高效棉秆降解菌复合系的构建及其降解特性研究. 新疆农业科学, 2009, 46(1): 72-77.
- [15] 张无敌, 宋洪川, 尹芳, 等. 沼气发酵与综合利用. 昆明: 云南科技出版社, 2004: 24-26.
- [16] Goering HK, Van Soest S. Forage Fiber Analysis USDA-ARS Agric Handbook, Washington: Gov. Print, 1971: 387-598.
- [17] 杨淑惠. 植物纤维化学. 第3版. 北京: 中国轻工业出版社, 2001: 1-54.
- [18] 王江丽, 李为, 严波, 等. 棉秆沼气发酵潜力的研究. 浙江农业科学, 2009(1): 183-186.
- [19] Hendriks A, Zeeman G. Pretreatments to enhance the digestibility of lignocellulosic biomass. *Bioresource Technology*, 2009, 100(1): 10-18.
- [20] 张翔, 余建峰, 刘金盾, 等. 不同接种物对牛粪高温厌氧发酵的影响. 广西师范大学学报(自然科学版), 2007, 25(1): 78-81.
- [21] 王永泽, 杨立, 邵明胜, 等. 棉花秸秆厌氧发酵产沼气工艺条件的研究. 现代农业科技, 2009(1): 251-252.