

微生物降解木质纤维素类生物质固废的研究进展

杨茜 李维尊 鞠美庭* 漆新华

(南开大学 环境科学与工程学院 天津 300071)

摘要:自然界中的细菌、真菌、放线菌及某些病毒是降解木质纤维素的主要微生物,它们在生物质固废能源的转化和利用上起桥梁作用,能变废为宝,实现生物质固废的资源化利用。根据生物质固废相关处理技术及生物质固废资源化成果转化,总结微生物降解生物质固废的有关处理技术及应用。在综合国内外现有研究成果的基础上,以木质纤维素类生物质固废为例,从微生物种类和生物质固废资源化成果转化两个方面对微生物降解木质纤维素类生物质固废有关技术进行分析,提出每项技术存在的问题,并展望每项技术的发展前景。

关键词: 微生物, 木质纤维素类生物质固废, 生物质能

Advances in microbial degradation of lignocelluloses biomass solid waste—a review

YANG Qian LI Wei-Zun JU Mei-Ting* QI Xin-Hua

(College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Lignocellulose can be degraded by microorganisms including bacteria, fungi, actinomycetes and some virus. The metabolism of these microorganisms is closely related to microorganisms' enzyme activity, which in turn plays an important role in the conversion and use of biomass energy. Based on the treatment of biomass solid waste and recycling transformative achievements, we summarize the results toward microbial treatment of biomass solid waste and recycling transformative achievements. Using lignocellulose biomass solid waste as an example, we describe microbial treatment of biomass solid waste from two aspects: microbial species and biomass solid waste recycling transformative achievements. We also address the existing problems and prospects.

Keywords: Microbial, Lignocellulose biomass solid waste, Biomass energy

在石化燃料日益枯竭、全球能源危机日趋加重的今天,能源紧缺和环境污染已经成为世界各国面临的两大主要难题。未来科技与社会发展对资源的竞争,尤其是对来源丰富、可再生且无污染的生物质资源的竞争日趋激烈。然而,目前全世界对生物

质资源,尤其是以农林废弃物为主的纤维副产物利用率却很低,每年因农林废物焚烧、填埋等造成的经济损失与环境污染不可低估^[1]。为缓解经济发展与能源及环境之间的矛盾,生物质固废的资源化利用势在必行。

基金项目: 天津市科技计划项目(No. 12ZCZDSF01700, 13RCGFSF14300)

*通讯作者: ✉: jumeit@nankai.edu

收稿日期: 2014-11-04; 接受日期: 2015-01-20; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-01-23

生物质固体废物是指固体废物与生物质资源两项概念的交集,简称生物质固废。生物质固废来源于动植物、可以被微生物生物降解的固体废物。根据产生源的特点,生物质固体废物可以分为种植业生物质固体废物、养殖业生物质固体废物、林业生物质固体废物、工业生物质固体废物、城市生物质固体废物和农村生物质固体废物等^[2]。生物质固废中蕴含大量的生物质能,若能有效利用,对实现环境和经济的可持续发展有重要意义。微生物在生物质能源的转化和利用上起桥梁的作用。随着世界各国经济与环保产业结构及相关政策的调整,以生物质固废为原料,利用微生物转化技术和相关生产工艺生产能源、化工产品和材料,替代或部分替代传统的以化石资源为原料的化工加工工程,成为近年来各国科学家高度关注的课题。

根据生物质固废相关处理技术及生物质固废资源化成果转化,本文总结微生物降解生物质固废的有关处理技术及应用。在综合国内外现有研究成果的基础上,以木质纤维素类生物质固废为例,从微生物种类和生物质固废资源化成果转化两个方面对微生物降解木质纤维素类生物质固废有关技术进行分析,提出每项技术存在的问题,展望每项技术的发展前景。该项研究结果对加快微生物降解生物质固废技术的发展、生物质固废的资源化成果转化有积极的推动意义。

1 降解木质纤维素类生物质固废的微生物种类

木质纤维素类生物质固废主要由纤维素、半纤维素、木质素、蛋白质、脂肪等物质组成,根据降解底物的不同及学者公认的分类法,微生物可分为纤维素微生物、半纤维素微生物和木质素微生物。它们在自然界中分布广泛,种类繁多,在适宜条件下能大量繁殖。

1.1 纤维素微生物

细菌、真菌、放线菌和一些原生动物是降解纤维素的主要微生物。能降解纤维素的细菌以纤维粘

菌(*Cytophaga*)和纤维杆菌(*Cellulomonas*)为主;放线菌以纤维放线菌(*Acidothermus cellulolyticus*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)和链霉菌属(*Streptomyces*)为主^[3]。因放线菌能耐高温和各种酸碱度,目前国内外许多研究者正致力于极端环境下放线菌产纤维素酶的研究。真菌的纤维素酶系为全酶系,纤维素酶降解活性较强,目前国内外对真菌降解纤维素的研究报道较多。近几年通过筛选新菌种,目前已有的能降解纤维素的微生物有 200 多种,主要集中在产高酶活的菌株和耐极端环境的产酶菌株上面。随着生物工程和基因工程的发展,从 20 世纪 80 年代起,借助生物学手段对筛选出的菌株进行诱变育种得到理想菌株,利用基因工程技术将纤维素酶的基因克隆到细菌、酵母菌、真菌和植物中,国内外都取得一定成果:目前已从大多数细菌和少数真菌中克隆得到了纤维素酶基因,并构建了一些酶的基因库。现今,里氏木霉、根霉、绿色木霉、青霉等真菌、嗜纤维菌和反刍动物瘤胃细菌等是广泛应用的纤维素酶产生菌,其中里氏木霉、白腐真菌和绿色木霉应用最广^[4]。为了克服纤维素高效降解菌的产酶单一,纤维素分解产物纤维二糖与葡萄糖抑制纤维素酶的活性以及阻遏纤维素酶的合成,培养液 pH 下降快且 pH 偏低而无法恢复到适合微生物生产的条件等问题,利用各种菌种的协同作用高效降解纤维素类物质越来越受到人们的重视。

1.2 半纤维素微生物

大多数细菌、真菌(如黑曲霉菌和木霉菌)、放线菌(卷须链霉菌、青紫链霉菌、橄榄绿链霉菌)和瘤胃微生物是降解半纤维素的主要微生物。半纤维素结构复杂,木聚糖和甘露聚糖是半纤维素的主要组成成分,而有些微生物只具备内切葡聚糖酶,缺少外切葡聚糖酶,对半纤维素的降解能力很弱。20 世纪 80 年代,人们在海洋中分离得到产半纤维素酶的耐极端环境的微生物;20 世纪 90 年代筛选、驯化、纯化分离极端微生物,如产耐热纤维素酶的微生物,利用 PCR-DGGE 和系统进化树等技术对微生物种类鉴定、命名并不断完善;随着人们对半

纤维素微生物及酶的研究不断深入, 借助基因工程技术, 开发极端高效、高酶活的微生物, 获得酶基因、基因克隆、基因表达会成为各国的研发热点^[5]。

1.3 木质素微生物^[6]

细菌、真菌及某些病毒是降解木质素的主要微生物, 以真菌的降解起主要作用。根据木质素类型, 降解木质素的细菌主要有: 厌氧梭菌(*Clostridium*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、双芽孢杆菌属(*Amphibacillus*)、微球菌属(*Micrococcus*)等。降解木质素的放线菌主要有: 链霉菌属(*Streptomyces*)、高温放线菌属(*Thermoactinomyces*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)和褐色高温单胞菌(*Thermonospora fusca*)等, 因这类放线菌分泌的木质素降解酶都是胞内酶, 在木质素降解中不起主要作用。降解木质素的真菌主要有: 白腐菌、褐腐菌和软腐菌, 其中以白腐菌的降解能力最强最有利用价值, 常见的白腐菌有黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)、射脉菌(*Phlebia radiata*)、凤尾菇(*Pleurotus pulmonarius*)、变色栓菌(*Trametes versicolor*)、采绒革盖菌(*Coliolum versicolor*)、朱红密孔菌(*Pycnoporus cinnabarinus*)等, 国内外对黄孢原毛平革菌的研究最多, 该菌广泛分布于北美, 中国还未有报道发现; 褐腐菌和软腐菌对木质素降解能力差, 近年来报道较少。

1934年, Boruff和Buswell首次发现能降解木质素的微生物种群后; 1984年, Tien和Kirk在黄孢原毛平革菌中分离出一种需要 H_2O_2 参与降解木质素的木质素过氧化物酶(LiP)、Kawahara首次分离得到第二种细胞外依赖 H_2O_2 的锰过氧化物酶(MnP)之后, 人们对木质素降解酶的有关研究增多; 目前关于木质素降解酶的研究主要集中在白腐菌所产生的酶系, 研究最多并被公认为最重要的三类木质素降解酶: MnP、LiP和漆酶(Laccase)^[7]。随着基因工程的深入发展, 微生物酶活性营养调控机理(碳源、氮源、诱导物和表明活性剂等因素)和分子生物学(有关DNA序列鉴定及表达、基因工程、重组基因的异源表达等)方向是国内外学者的主要研

究内容, 且成果颇多。木质素降解酶系非常复杂, 其对木质素降解的机理(酶如何使氢键断裂导致木质素降解)至今仍无合理解释。国外有学者尝试利用混合发酵方法提高木质纤维素类酶活活性的探索, 但都是较为简单和随机的混合。为寻找木质素降解规律构建微生物快速降解体系、利用基因重组手段构建高效高酶活工程菌株是未来木质素微生物发展的方向。

2 微生物降解木质纤维素类生物质固废的技术

微生物降解木质纤维素类生物质固废的技术包括: 能源化、肥料化、饲料化和材料化。1912年在自然界中筛选出能降解纤维素、木质素的微生物; 20世纪60年代开始广泛研究, 重点是筛选、分离、纯化能降解不同底物的菌种, 并进行菌种分类、微生物降解机理的研究与完善; 70年代后, 重点是开发新能源、防治环境污染; 目前, 随着纤维素酶菌株选育及酶的合成调节调控不断细化、纤维素酶降解机理不断完善, 各国利用微生物降解生物质固废获取化工、肥料、饲料、甲烷等新能源产品成果丰硕^[8], 并在环境治理方面独树一帜。

2.1 能源化

2.1.1 液态燃料: (1) 生物乙醇, 是以富含淀粉、糖分的生物质固废为原料, 经过预处理, 水解、发酵和蒸馏提纯后制得。通过微生物分泌能降解纤维素、木质素的酶进行酶水解以其高转化率成为最好的水解方法被利用。随着生物燃料技术的不断升级, 生物乙醇的研究取得很大进步, 生产生物乙醇的能效性、经济性、实用性都有所提高。当前及未来的发展重点是: 优化运行工艺、通过基因手段培养高效降解菌株及产酶菌株、开发副产物降低运行成本、原料预处理提高转化率^[9-11]。目前国内外已建成的生物乙醇工业示范装置很多, 代表的有美国杜邦公司、BP公司等; 国内河南天冠企业集团有限公司、山东龙力生物科技股份有限公司、中粮生

化能源肇东有限公司等。示范装置的应用技术主要有：硫酸/酶水解-发酵技术(即水解酶解二段法)、硫酸水解-酶解发酵技术、酶水解-发酵技术、酸水解-发酵-酯化-加氢技术。水解后生成的糖组主要是葡萄糖、木糖、半乳糖等可溶性低聚糖，此外还有酸、醛等物质。因酸、醛类对微生物发酵有抑制作用，对发酵工艺的选取与改进是重点，NREL (美国可再生能源实验室研发)、Iogen (加拿大 Iogen 公司研发) 和 NEDO (荷兰 TNO 公司研发)是目前最先进的 3 种生物乙醇生产工艺^[12]。考虑到生物乙醇能量密度低，含氧量高且易吸收管道中的水分和杂质、对管道有腐蚀作用，工业化生产、运输会对输送管道等设备要求很高，促进了研究者对生物丁醇的开发。

(2) 生物丁醇，微生物发酵法生产。最早始于 1913 年，为制造炸药、涂料，英国率先进行丙酮丁醇的生产，它以玉米、木薯等物质为原料水解得到发酵液，然后在丙酮-丁醇梭菌作用下发酵制得。20 世纪因生产生物丁醇工艺的局限性及产品推广利用受阻，生物丁醇的研究几起几落。目前，国外对发酵法生产生物丁醇的研究较深入，在生产工艺改

进、筛选高效优势菌种方面的成果很多，进入规模化生产较早：如美国 Cobalt 科技公司^[13]开发的连续生物丁醇生产工艺，基于微生物菌种筛选、生物反应器设计与过程工程开发，将纤维素原料经水解、糖化、发酵及分离得到生物正丁醇，于 2009 年在旧金山湾区建设中型生物丁醇装置用于生产油漆等涂料。国内对发酵法生产生物丁醇的研发还处于起步阶段，不同底物用于生产丁醇及微生物育种方面的报道较多，但进入规模化生产的企业较少，且工厂主要分布在高产粮食作物的地区。考虑到生物丁醇的转化率低，在经济、能源储备角度国内还不具备大规模推广利用的条件。表 1 为三代生物乙醇和生物丁醇的发展比较。

(3) 生物柴油^[14-15]。以大豆、油菜籽等油料作物、油棕等油料林木、微藻等水生植物、动物油或餐饮垃圾等为原料，通过合成作用得到的脂肪酸酯。生物酶法是化学法制备生物柴油中的研究热点，它经过酶催化作用得到，方法主要包括：游离脂肪酶法、脂肪酶固定化技术和全细胞催化技术。表 2 为 3 种生物酶法的比较。

表 1 三代生物乙醇和生物丁醇的发展比较
Table 1 Comparison of three generations of bio-ethanol and bio-butanol development

内容 Content	第 1 代 The first generation	第 1.5 代 The one point five generation	第 2 代 The second generation
来源 Resources	粮食作物，如：玉米、小麦、大豆	非粮食作物，如：木薯、甜高粱	农林/工业废弃物等，如：秸秆、木屑
研究重点 Research focus	转化为可发酵糖后，发酵制乙醇	转化为可发酵糖后，或直接发酵制乙醇	原料预处理；高效降解菌筛选及纤维素酶制取；纤维素等转化为可发酵糖后，发酵制取产品
优点 Advantages	原料易得；工艺简单成熟	原料易得；工艺简单成熟	生物质固废资源化再利用；生产成本低
缺点 Disadvantages	浪费粮食；依赖国家财政补贴，总糖利用率低；糖水解生成的酸、醛类对微生物发酵有抑制作用；蒸馏提纯成本高	生产受原料产地限制；糖水解生成的酸、醛类对微生物发酵有抑制作用；转化率低；蒸馏提纯成本高	纤维素酶、纤维素预处理成本高；副产物多，阻碍微生物新陈代谢；生产工艺不完善；工业化生产规模小
发展方向 Development direction	利用诱变育种、基因工程技术筛选纤维素酶高产菌、构建工程菌；生物乙醇、生物丁醇与其他技术结合的发展、中试装置的研发；以海藻类作物为代表的第三代生物燃料生产乙醇、丁醇		

表 2 3 种生物酶法的比较

Table 2 Comparison of three kinds of bio-enzymatic methods

内容 Content	游离脂肪酶法 Free lipase method	脂肪酶固定化技术 Lipase immobilization technology	全细胞法 Whole cell method
特点 Characteristics	以游离的酶为催化剂直接进行反应	以硅藻土等为载体, 吸附脂肪酶为催化剂进行反应	利用载体将产酶的微生物进行固定化, 利用微生物细胞内的酶作为固定化催化剂进行反应
优点 Advantages	方便、易操作	微生物酶活高、产品稳定性高且易被分离	省去前期提纯过程; 提高酶的重复利用率和固定化产品使用寿命; 优化了微生物培养参数; 便于联合其他技术的发展
缺点 Disadvantages	酶在反应体系中分散不均匀、稳定性差、易受外界条件变化影响变性失活、产物回收率低	前期需要提取纯化酶的过程繁琐、固定载体要求高、不能重复利用酶、且反应产物极易堵塞载体孔隙导致固定化产品使用寿命缩短	菌种保存、激活存在缺陷; 实现企业规模化、连续化生产困难; 产物回收率较低; 生产后废物的处理
发展方向 ^[16] Development direction	近几年很少用	优质原料的开发; 利用基因工程技术获得高产、高酶活菌株; 实现企业规模化、连续化生产; 提高产物回收率; 健全相关鼓励、优惠政策; 与其他技术耦合发展; 生产后的废物绿色化处理	

生物酶法制备生物柴油以其清洁、环保、高效等优点在各国发展迅速: 国外如欧盟、加拿大、美国、日本等国的生产技术较先进, 对生产工艺、过程优化、筛选高效菌株方面领先世界水平; 我国在这方面刚起步不久, 相关配套政策及生产生物柴油的产业链还未形成; 优势高效工程菌株构建等深入研究还有待发展。

2.1.2 气体燃料: (1) 生物制氢^[17], 指生物质通过气化和微生物催化脱氢方法制得。在众多制氢方法中, 生物制氢技术以其成本低、能耗低的绿色生产技术备受关注。它包括暗发酵生物制氢技术、光生物制氢技术和暗-光发酵耦合制氢技术。涉及的微生物有: 暗发酵细菌、光解微生物和光发酵细菌。表 3 为 3 种生物制氢技术的比较。

用于生物制氢的原料来源广泛, 如农作物秸秆、林业废弃物、藻类、污泥、畜禽粪便、厨余垃圾等, 对它们的降解过程通常由多种微生物协同作用完成, 利用混合菌种进行生物制氢是近年来的发展热点。但生物质固废的理化性质决定了制氢过程的进度及效率, 筛选优质产氢原料、原料深度预处理及筛选微生物菌种是重点。为了寻求高效产氢细

菌, 在新菌种的筛选、分离、培育方面, 国内外研究成果较多, 主要是兼性的肠杆菌科、专性厌氧的梭菌科和高温菌属等。如 2003 年哈尔滨工业大学对发酵产氢细菌 B49 生理特性及固定化应用进行研究, 并初步建成大学科技园生物制氢产业化示范基地, 使工业化生物制氢技术在世界范围内扩展研究成为可能。在制氢工艺研发方面, 为满足工艺高处理要求, 改良反应器、改善工艺运行与调控、优化反应条件仍是目前的研究重点。如现有的制氢方法均不能突破低温限制, 哈工大任南琪教授带领的生物制氢研究小组基于最新的微生物电化学辅助产氢技术, 通过改进系统启动策略率先实现了低温 (4 °C) 生物制氢, 突破了传统生物制氢技术的温度限制^[21], 同时产甲烷菌得到了良好抑制, 为寒冷地区生物制氢技术开发应用提供了一个崭新的思路。未来生物制氢的发展方向: 筛选高产菌株; 设计合理的产氢工艺提高产氢效率; 深入研究制氢过程机理; 优化产氢稳定性和连续性; 混合细菌发酵制氢过程中彼此之间的抑制、发酵末端产物对细菌的反馈抑制等。

表3 3种生物制氢技术比较

Table 3 Comparison of three kinds of hydrogen production by biological technology

内容 Content	暗发酵生物制氢技术 ^[18] The technology of dark fermentation biological hydrogen production ^[18]	光生物制氢技术 Photo biohydrogen production technology		暗-光发酵耦合制氢技术 Dark-light fermentation coupled hydrogen production technologies	
		光解水生物制氢技术 The technology of biological hydrogen production by photolysis of water	光发酵生物制氢技术 ^[19] The technology of photo fermentation biological hydrogen production ^[19]	暗-光发酵两步法 The technology of two steps of dark-photo fermentation	混合培养产氢 Mixed culture of hydrogen producing
微生物 Microorganism	专性厌氧细菌、兼性厌氧细菌、少量好氧细菌	绿藻和蓝细菌	光合细菌	暗发酵生物、光解水生物及光发酵生物	
产氢效率 Hydrogen production efficiency	快	慢	较快	最快	
产氢酶 Hydrogen production enzyme	氢化酶	氢化酶、固氮酶	固氮酶、氢化酶	固氮酶、氢化酶	
发酵基质 Fermentation substrate	单糖(葡萄糖、果糖)、二糖(蔗糖、乳糖)、多糖(淀粉)、醇类等	水	小分子有机酸、醇类物质	单糖(葡萄糖、果糖)、二糖(蔗糖、乳糖)、多糖(淀粉)、醇类等	
发酵过程 Fermentation process	异养型厌氧细菌利用碳水化合物等有机物,通过暗发酵作用产氢	CO ₂ 和N ₂ 作为碳、氮源,将水(提供电子和质子)裂解为氢气和氧气	小分子有机物(酸、醇、醛类物质)、还原态无机硫化物或氢气做供氢体,光驱动产氢	暗发酵过程与光发酵过程的联合	
条件 Conditions	厌氧、无光	厌氧、光照	厌氧、光照	厌氧、无光/光照	
优点 Advantages	无需光照;国内外中试研究多;可利用各种工业农业废弃物	产氢生物易得;太阳能转化为氢能;对环境无污染	太阳能转化为氢能;不产氧、产氢纯度高、对太阳光响应范围广;可利用各种底物	结合暗发酵制氢菌与光发酵制氢菌的特点,提高生物质固废的降解率	
缺点 Disadvantages	微生物将大分子物质降解为小分子有机酸、醛、醇,这类物质会对微生物产酶有抑制作用;发酵液排放前要处理	光解水生物产氢过程有氧气产生,它会抑制产氢酶的分泌;反应器设计存在缺陷;产氢能力低	光发酵细菌不能直接利用纤维素和淀粉等复杂的大分子有机物;光能利用率低;产氢能力低;反应器设计存在缺陷	产氢效率低;缺乏高效高产降解菌株;产氢工艺不完善;反应器设计困难	
发展方向 Development direction	探索不同基质的产氢潜能;筛选及利用基因技术优化产氢效率高的菌种;扩大实验室中试研究	完善生物质预处理技术,提高微生物水解能力;筛选及利用基因技术优化产氢效率高的菌种;探索不同基质的产氢潜能;光和细菌和其他微生物混合培养制氢的研究;深入研究光发酵细菌的固定化技术 ^[20] ;深入研究各生态、理化因子对产氢细菌的影响;扩大实验室中试研究	通过基因重组等方法筛选高效产氢菌、构建工程菌、优化保存菌种方法;暗发酵和光发酵结合工艺的深入研究和优化;优化设计产氢反应器;提高氢气的回收率		

(2) 沼气厌氧发酵技术^[22], 又称为厌氧消化产甲烷技术, 简称厌氧消化(Anaerobic digestion, AD)。它是以农作物秸秆(如玉米秸秆、麦秸、蔗渣、稻秸等)^[23]、城市污泥^[24]、厨余垃圾及动植物粪便^[25]等为主要原料, 在厌氧条件下经种类繁多、数量巨大、功能不同的微生物分解代谢过程, 最终产甲烷的过程。学者普遍认可的厌氧消化理论为: 三阶段理论, 即水解发酵阶段、产氢产乙酸阶段、产甲烷阶段。主要涉及的微生物: 水解细菌、产氢产乙酸菌、产甲烷菌。从 20 世纪 70 年代的能源危机和 20 世纪 80 年代的厌氧消化系统商业化应用之后, 厌氧消化产甲烷技术仍在不断发展并完善^[26], 国内外工业化规模实例应用较多。针对提高产甲烷量及固废利用效率, 国内外学者目前的研究重点是: 筛选高效、极端环境下的产甲烷菌, 根据基因工程和分子生物学方法构建工程菌库; 通过发酵原料及配比调控 C/N、优化微生物营养源类型及投放比例; 拓展不同消化底物、深入研究底物的各种预处理技术及降解规律; 产甲烷装置的改进、优化及工艺参数调控; 沼气纯化及应用; 优化沼气工程政策、技术及运行管理等。

对产甲烷菌的选育, 国外对产甲烷菌的核酸序列、酶及菌株系列鉴定等工作研究比国内深入^[27], 早在 1899 年, 俄国科学家 Omelauskie 就对厌氧分解纤维素的微生物进行分类; 1991 年, 美国奥勒冈(Oregon)产甲烷菌保藏中心编印的产甲烷菌菌株目录是当时最完善的; 目前, 产甲烷菌共有 5 个目, 分别是甲烷杆菌目、甲烷球菌目、甲烷八叠球菌目、甲烷微菌目和甲烷超高温菌目, 分离鉴定的产甲烷菌已有 200 多种并在不断扩展中^[28]。山东大学微生物研究所在微生物分子生物学及其遗传改造、特殊微生物资源与微生物生态及微生物生理生化特性方面水平先进, 筛选出了几株极端产甲烷菌, 并在产甲烷菌生理生化特性上成果丰硕。

针对单一菌种产甲烷的有限性, 生物强化技术结合厌氧发酵产甲烷^[29]是近年来发展的研究热点之一。它针对发酵系统某一限速步骤, 人为投加某

种特定功能的微生物, 能有效降解底物, 提高木质纤维素的水解效果、沼气发酵速率及产率。反应过程依靠高效降解菌的单菌或混合菌与产氢产乙酸菌、产甲烷菌的协同作用, 将农作物秸秆、人畜粪便、城市有机垃圾等底物进行降解, 最终获得甲烷气体。目前该联合技术依旧存在许多问题, 未来发展的方向是: 构建合理的微生物群落, 强化功能菌在发酵系统中的适应能力及稳定性; 联合底物预处理技术, 加强菌种、培养条件和木质纤维素原料之间的关联^[30]; 减少培养过程中大量综纤维素的损失^[31]等。

适合厌氧消化的底物来源广泛, 目前研究较多的底物是厨余垃圾、城市污泥和农林废弃物。因厌氧消化对温度、pH、碳氮比、发酵料液浓度、生物质固废的物化性质等有特殊要求, 导致系统启动慢、产气率低的原因^[32]有: ① 有毒抑制物(如 NH_4^+ 、 H_2S)的产生和积累; ② 底物水解速率慢; ③ 现有工艺不能满足秸秆高效厌氧消化的需求, 中试反应器设计困难等。针对厌氧消化技术的缺陷, 基于小型、中型规模化应用为基础的厌氧消化产甲烷技术, 未来的发展方向有: 对厌氧发酵的工艺控制理论和技术条件进行深入研究; 扩大原料的来源, 探索不同基质的发酵原料及配比, 联合厌氧消化^[33]; 驯化微生物以适应抑制物的浓度^[34]、与其他方法联合去除或抵消抑制物的产生^[35]; 深入研究原料的预处理方法^[36-38], 便于微生物的水解发酵; 筛选及利用基因技术优化产甲烷效率高的菌种及复合菌系; 生产设备标准化、规模化, 提高产沼的经济效益; 建立完善配套的后续废液废渣的处理系统, 满足环保要求; 深入研究低温生物甲烷化过程, 重点是嗜冷产甲烷菌在微生物生理学与分子生物学上的研究, 开发出适用于低温的生物甲烷化应用技术^[39]。

(3) 合成气的微生物利用技术。合成气的微生物利用技术, 是将生物质气化技术与微生物法结合, 将合成气送入生物反应器中与微生物反应生成各类所需的物质, 最后由生物膜或其它方法将产物与其他物质分离。目前, 合成气的微生物利用技术

还在不断发展中：国外对其研究方法及制备工艺都较成熟，有的已投入商业运行，朝着规模化、集成化、自动化方向发展^[40]：如新西兰 Lanzatech 公司使用具有专利权的微生物能将城市垃圾、工业有机垃圾、废木料等经生物质气化后的 90% 以上的能量用于液态燃料发酵；Coskata 对木屑、玉米秸秆、城镇垃圾等各种生物质进行气化，过滤合成气体后把其通入发酵反应器中利用微生物发酵，用膜分离技术把乙醇与发酵液分离，最终得到的乙醇纯度高达 99.7%。国内合成气的微生物利用技术起步较晚，但经过多年发展也有所收获：山东大学、中国农业科学院作物科学研究所等科研单位在国内分别建立多处示范工程；在微生物的筛选、诱变育种、利用基因工程提高产酶量方面成果显著。合成气的微生物利用技术借助微生物酶的高效选择性能减少副产物的发生和提纯成本；经驯化后的许多微生物具有耐毒性，可以降低合成气的净化成本^[41]。但该技术关于发酵设备优化改良、提高产品回收率、利用基因工程优化菌种等方面的研究，在国内外还甚少报道。

2.1.3 纤维素用于 MFCs 产电：生物质固废作为微生物燃料电池(Microbial fuel cells, MFCs)的能源底物，利用微生物作为催化剂，加入纤维素水解酶或将降解纤维素的微生物与产电微生物共培养，具有处理废弃物和联产电能双重功效，它为生物质固废的利用提供了新的途径，是生物质固废资源化的重要发展方向^[42-43]。随着构建优势菌株、优化系统构型与材料、完善微生物电子传递机制、提高系统输出功率、研发低成本高性能电极以及催化材料等方面的进展不断深入，生物质固废作为燃料底物的 MFC 转化为产业化生产已成可能。

目前国内外对于以纤维素为原料制作纤维素燃料电池的研究主要还处于实验室探索阶段，大中型产业化应用实例鲜见报道。底物类型与浓度对 MFC 的产电性能至关重要，农林资源(农作物、木材等)、工业有机废弃物(造纸废物、酒精发酵残渣等)、城市垃圾(厨房垃圾、纸屑等)等生物质固废均

可作为燃料用于 MFC 产电。以纤维素、半纤维素类物质为原料，借助物理、化学方法破坏生物质表面结构，采用天然菌群进行生物预降解或通过添加简单有机物进行底物强化，提高 MFC 输出功率及底物的降解速率是当前研究热点之一^[44-45]。利用微生物燃料电池耦合其他技术转化生物质能的研究是另一研究热点，如 Catal 等^[46]构建了 MEC-MFC 耦合系统，借助 MFC 产生的电能驱动 MEC 生产氢气；Rozendal 等^[47]借助太阳光驱动的绿藻生长-厌氧消化-MFC 组合反应器，构建了植物-微生物燃料电池耦合系统。考虑到实验室规模一旦放大，MFC 功率密度容易降低，未来在 MFC 结构反应设计、电极材料选择、筛选高效降解生物质固废的极端微生物及驯化等方面还存在很多问题，这也成为制约 MFC 发展的重要瓶颈。MFC 未来的主要发展方向是：提高底物利用效率、使 MFC 的成本可控及输出功率稳定、新型电极材料的研发。

2.2 饲料化

针对含高木质纤维素含量的农林废弃物、树叶、中药渣等生物质固废，随着对纤维素原料新型预处理技术、固定化酶及固定化细胞技术、高产菌株的选育、发酵条件优化、菌种筛选及新型生物反应器的研究不断深入，利用木质纤维素原料制备各种饲料的发展近年来备受重视。现研究较热的有青贮技术^[48-50]、微贮技术、蛋白生物饲料技术^[51-52]。

以青贮技术^[53-55]为例，国内外的研究起始较早，它是借助植物表面自然附生的微生物，通过厌氧发酵转化青绿饲料为乳酸、乙酸等有机酸保存农作物养分用于畜牧业。常见的微生物有：乳酸菌、酵母菌、芽孢杆菌、乙酸菌、梭状芽孢杆菌等形成的微生物共生体系，微生物以乳酸菌为主。它们将新鲜的青绿饲料转化为乳酸、乳酸菌素、青贮饲料、乳酸菌制剂等产品，再经过分离纯化等过程生成医药、食品产物。目前青贮生产的优点是操作简单、产量高、产物易分离、生产设备要求低。但也存在对饲料季节性要求高、生成的产品菌种单一、与其它技术联合应用少、贮存期短、活菌数低的缺点。

针对青贮存在的不足, 国内外学者更加关注筛选培养合适的同型乳酸菌, 以提高微生物酶活; 深入开展乳酸菌等微生物的分子生物学研究; 调节贮料内微生物区系; 调控发酵过程, 促进多糖与粗纤维的转化。未来的发展趋向是优化乳酸发酵工艺、改进发酵设备、优化产物分离效果; 扩大工业化生产; 扩大乳酸应用领域、降低成本、增加附加值。

2.3 肥料化

生物堆肥法是一种古老而又现代的有机固体废物处理技术。它是在细菌、放线菌、真菌等微生物的作用下, 通过降解有机物产生高温, 从而达到杀死病原菌、无害化和促进有机质稳定化、腐殖质化的过程。针对餐厨垃圾、污泥、动物粪便等含大量营养元素和有机物质的生物质固废, 生物堆肥是微生物降解生物质固废的重要方法之一。随着堆肥技术的不断完善, 目前国内外已有很多成熟的堆肥技术, 分类很多。常见的, 按照微生物需氧情况分为好氧堆肥和厌氧堆肥; 按有无发酵装置可分为开放式堆肥系统和发酵仓堆肥系统^[56]。

以好氧堆肥为例, 它是利用好氧菌、兼性菌和厌氧菌的协同作用, 在好氧条件下将动物粪便^[57]、城市生活垃圾、餐厨垃圾^[58]、农林废弃物和污泥^[59]等作为底物, 将生物质固废降解为肥料的过程。

因微生物活性的高低直接影响堆肥效果, 除了常规筛选、分离、鉴定高产高酶活微生物以及对好氧堆肥工艺有关技术的改进外, 选取合理的微生物检测方法是近年来国内外学者的研究热点之一。20世纪30年代开始随着生物分子学研究的不断深入, 在传统计数方法基础上, 结合现代生物学方法和现代分子生物学技术, 微生物检测方法的发展如表4所示。

堆肥过程中物料之间、物料与微生物之间、微生物内部会发生物理的、化学的、生物的变化。建立合理的数学模型, 模拟生物堆肥过程中的有机质降解过程、温度水分等变化过程, 这对提高堆肥效率和改进工艺有重要指导意义。表5为好氧堆肥模拟过程的数学模型。

虽然好氧堆肥技术成熟、应用范围广, 但依然存在以下问题: 适合发酵的优良复合菌株较少; 生物质固废需要预处理; 设备和运行成本高; 工业化生产中堆肥臭气的处理; 堆肥产品使用的局限性导致堆肥的营销困难; 堆肥过程中其他致病因子的处理与再生预防等。针对该技术的缺陷, 未来发展的方向: 微生物的筛选、扩大培养、菌种保存; 堆肥反应器的改进; 工艺条件控制、优化; 堆肥添加剂的应用; 降低设备成本和运行费用; 堆肥工业化设计。

表4 好氧堆肥过程微生物的研究方法^[60]

Table 4 Research methods of aerobic composting microbes^[60]

内容 Content	传统计数方法 The traditional counting method			现代生物化学方法 The modern biological chemistry method			现代分子生物学技术(PCR技术) Modern molecular biology techniques (PCR techniques)			
	分类 Classification	平板菌落 计数法	显微直 接计数 法	含特定 功能生 物量法	醌类 分析	磷脂脂 肪酸图 谱分析	ATP 分析	16S rRNA 和 18S rRNA 基因序列 分析	16S-23S rDNA 转 录间隔区序列分 析	聚丙烯 酰胺凝 胶电泳
优点 Advantages	简便易操作			操作简单、快速、精度 高、数据处理简单			结合其他方法, 可用于微生物 DNA 的扩增			
缺点 Disadvantages	费时费力; 不能实时监测微生物 群落结构和多样性的变化			不能鉴定微生物具体 的属或种			操作过程易被污染			
发展方向 Development direction	发展原位、快速、灵敏、准确定量和高通量的分子生物学技术检测方法, 如荧光原位杂交技术; PCR-限制性内切 核酸酶方法; PCR-单链构象多态性研究等									

表 5 好氧堆肥模拟过程的数学模型^[61-62]Table 5 Mathematical model for simulating aerobic composting process^[61-62]

内容 Content	有机质降解模型 The model of organic matter degrading			温度变化模型 The model of temperature changing	水分变化模型 The model of water changing	O ₂ 浓度变化模型 The model of changing of O ₂ concentration
	一级反应模型	Monod 模型	经验模型	无	无	无
分类 Classification	一级反应模型	Monod 模型	经验模型	无	无	无
优点 Advantages	参数少; 模型求解简单; 模拟效果好	能分别描述微生物和有机质的降解过程, 理论依据充足	模拟简单, 数据易得	对温度-时间的变化趋势预测较好	模型求解简单; 模拟效果好	对温度-时间的变化趋势预测较好
缺点 Disadvantages	假设条件多	参数多; 模拟过程复杂; 结果准确性差	不考虑降解机理	与有机质降解有关, Monod 模型效果差	频繁采样破坏椎体, 对模拟造成扰动	对浓度值模拟相对较差
发展方向 Development direction	研发能实时监测的探头等设备; 加强对温度、O ₂ 和水分变化过程中相互作用的研究					

2.4 材料化

以生物质材料为原料生产各类化学、燃料和生物基材料的工业生物过程中, 生物炼制技术^[63-65]是未来生物产业的核心。生物炼制的核心是借助微生物细胞或者酶的手段, 经过一系列的生化反应, 将各类生物质原料高效地转化为各种材料(如 2,3-丁二醇、D-乳酸、L-乳酸、5-羟甲基糠醛等的生产)。目前国外该技术发展最快, 理论研究深入、工艺成熟, 如加拿大、巴西、美国等国际有些已投入工业化使用; 我国生物炼制技术起步较晚, 成果主要集中在于各大高校, 在微生物的上游领域如细胞工程、基因工程等领域和世界先进水平差距较小, 但在工业生物技术的过程科学基础研究方面与国外有较大差距, 尤其是过程放大原理和方法。目前我国在生物炼制技术方面的缺陷有: 生物技术新产品的转化能力差, 缺少有自主知识产权的产品中试、放大技术平台, 不能迅速把实验室成果转化为工业产品, 致使我国许多工业生物过程与发达国家相比存在能耗高、资源综合利用率低、环境污染严重、产品质量差, 工业放大周期长等问题^[66]。

利用生物炼制技术处理可再生生物质原料生产多元醇、医药、食品(如木糖醇等)和化工产品(有

机酸、丙酮-丁酸发酵等), 为提高生物质资源的利用能力和产物转化效率, 满足工业生产需要, 以基因组学及生物学为基础的多项技术交叉发展, 构建工程细菌、细胞工厂是实现这一目的的重要方法。未来生物炼制在构建微生物功能基因组、高效降解菌株筛选、代谢机理研究及生物反应器工程有关方面的发展会继续深入。

2.5 在环境保护中的应用

利用细菌、真菌等微生物对受污染的水体及土壤环境的治理, 国内外的研究成果颇多。近年来利用白腐真菌治理环境是人们研究的热点之一。白腐真菌^[67]是一类具有相同功能, 能引起木质白色腐烂的丝状真菌的集合, 广泛分布在自然界。它属于真菌门, 绝大多数为担子菌纲, 少数为子囊菌纲, 能分泌降解木质素、纤维素的酶, 将木材腐生成海绵状, 根据真菌团块颜色将其分为白腐真菌和褐腐真菌两类^[68]。20 世纪 70 年代在“Science”首次报道白腐真菌降解作用后, 目前对白腐真菌的研究遍及全球, 对白腐菌的降解机理研究方面, 国内比国外的研究滞后。对白腐真菌的诸多研究表明, 菌被引入污染系统后, 它能利用自身的胞外降解系统对具有营养限制的外界刺激做出应答反应, 形成一套酶系

统^[69],表现出非专一性的降解性能,能有效降解废水及土壤中各种复杂的、难处理的有机物(多氯联苯、多环芳烃、喹啉、DDT等),因而在污染治理方面应用前景广阔。国内利用白腐菌应用于染料废水的处理^[70]、对含酚废水的处理^[71]、受石油烃污染的水体及土壤的处理^[72]等方面研究较多,有的已进入中试阶段。未来利用木质纤维素作为底物,结合固定化方法^[73]等手段用于更广泛的环境治理是可行的研究方向。

3 存在的问题与展望

综上所述,借助高效的现代处理技术及自然界广泛存在的微生物,开发、利用生物质固废中的生物质能,相比于物理、化学的方法有无可比拟的优势与发展前景。目前国内外针对微生物降解木质纤维素类生物质固废有关处理技术还存在的问题有:(1)系统微生物学和微生物功能基因组学的发展与应用,例如筛选高效降解菌株,利用基因工程诱变育种、构建工程菌株、提高产酶量等;(2)对工艺控制理论和过程参数调控进行深入研究;(3)扩大原料的来源,深入研究原料的预处理方法;(4)提高产物分离、纯化效果;(5)建立完善配套的后续的处理系统以满足环保要求;(6)改进生产设备,扩大工业化生产;(7)降低成本、增加产物附加值。

尽管微生物降解木质纤维素类生物质固废有关处理技术还有许多瓶颈需要攻克,但国外在有些方面的成果却很显著:如美国在系统微生物学、植物与微生物功能基因组学研究方面居于世界前列^[74];德国、日本、法国等发达国家在政策引导、企业生产装置研发等方面也都处于世界领先水平。适当的借鉴美国等发达国家在木质纤维素类生物质固废研究方面采取的有效措施及规划,这对我国未来构建有关木质纤维素类生物质固废资源有效利用的框架有重要的参考意义。

如图1所示,我国未来构建有关木质纤维素类生物质固废资源有效利用的框架主要可从以下几

方面进行^[75]:

(1)为解决木质纤维素类生物质固废资源分布散、集散能力差的问题,我国可借鉴日本和德国处理城市固体废物的经验,从源头进行分类、回收、集中处理。例如,在农村,以村/镇为单位,设立站点集中回收处理,将分类回收后的木质纤维素类生物质固废移至固定地点,做好防渗、防漏的措施再集中处理;在城市,可按产品废旧硬纸板、办公垃圾、绿化植物垃圾等进行分类回收等。逐步形成控制源头为先,能源化和肥料化其次,饲料化和材料化随后的多层次木质纤维素类生物质固废管理、处理模式。

(2)参照美国能源部和美国农业部有关政策、法令,建立健全促进生物质能开发利用的综合能源、农林、环保3个部门和强制性规制、经济鼓励、公共研发三类措施的政策体系。

(3)为解决生物质固废资源化成果转化项目中成本高、市场规模小、核心竞争力差的问题,美国14个州建立了可再生能源效益基金,很多州和当地政府也通过税收减免、低息贷款和其它的财政手段鼓励生物质能产品的生产和使用。我国可借鉴美国,通过相应的调息、低息贷款等财政措施鼓励企业对木质纤维素类生物质固废的生产、销售;借鉴欧盟有关的政策、法令,例如《欧盟交通生物质燃料法令(2003)6》,为木质纤维素类生物质固废的开发利用创造有利的市场环境。

(4)建立政府部门之间有效的协调机制,积极鼓励高等科研院所的研究工作,努力为各大科研院所提供更广泛的合作平台,实现科研成果向产业化、规模化生产的转变。

虽然我国与欧盟、美国、日本等国家相比,在木质纤维素类生物质固废处理方面的发展还较落后,但通过政府有效机制的引导,相关高效处理技术以及完善配套的市场供应链的支撑,我国未来在木质纤维素类生物质固废的资源化利用方面成果会越来越越好。

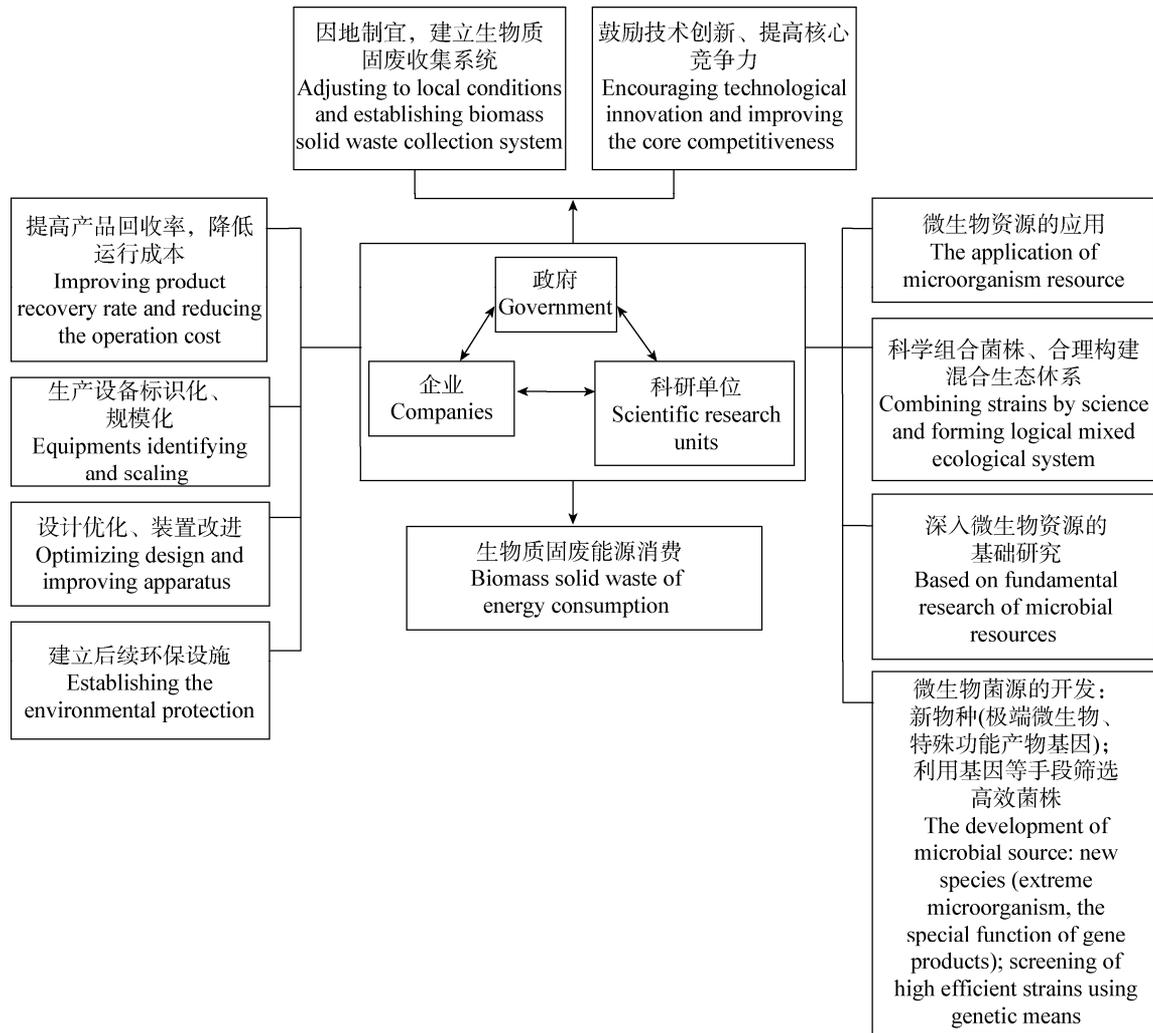


图1 未来微生物降解生物质固废的发展方向

Figure 1 Future direction of development of the microbial degradation of biomass solid waste

参考文献

- [1] Xu YX, Liu X, Wang W. Pollution status and utilization of biomass waste in China[J]. *Regeneration and Utilization*, 2008, 1(5): 31-34 (in Chinese)
徐衣显, 刘晓, 王伟. 我国生物质废物污染现状与资源化发展趋势[J]. *再生利用*, 2008, 1(5): 31-34
- [2] Liu JP, Ju MT, Liu YH, et al. The analysis of China's utilization technology of agricultural straw and development of biomass industry[J]. *Ecological Economy*, 2011(5): 136-141 (in Chinese)
刘金鹏, 鞠美庭, 刘英华, 等. 中国农业秸秆资源化技术及产业发展分析[J]. *生态经济*, 2011(5): 136-141
- [3] Liu ZX, Yin XL, Sun L, et al. Current situation analysis of biomass waste utilization[J]. *Environmental Science and Management*, 2007, 32(2): 104-106 (in Chinese)
- [4] Wen SB, Li QF, Hou XW, et al. Recent advances in microbial degradation of cellulose[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(1): 231-236 (in Chinese)
文少白, 李勤奋, 侯宪文, 等. 微生物降解纤维素的研究概况[J]. *中国农业通报*, 2010, 26(1): 231-236
- [5] Li YH. Basic research on *Trichoderma reesei* Rut-C30 cellulase production optimization and enzyme hydrolysis of biomass[D]. Jilin: Master's Thesis of Jilin University, 2012 (in Chinese)
李勇昊. 里氏木霉 Rut-C30产纤维素酶条件优化及酶解生物质的基础研究[D]. 吉林: 吉林大学硕士学位论文, 2012
- [6] Liu FJ, Ma C, Wang C, et al. Research progress on gene cloning and expression of marine microbial cellulase and hemicellulase[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2012(6): 36-42 (in Chinese)

- 刘杰凤, 马超, 王春, 等. 海洋微生物纤维素酶及半纤维素酶基因克隆与表达研究进展[J]. 生物技术通报, 2012(6): 36-42
- [7] Zhang H, Dai CC, Zhu Q, et al. Research advances in the biodegradation of lignin[J]. Journal of Anhui Agriculture Science 2006, 34(9): 1780-1784 (in Chinese)
张辉, 戴传超, 朱奇, 等. 生物降解木质素研究新进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(9): 1780-1784
- [8] Li WZ, Ju MT. Reclamation of biomass solid waste resources: R & D and their application[J]. Tianjin Science & Technology, 2014, 41(3): 24-26 (in Chinese)
李维尊, 鞠美庭. 关于生物质固废资源化技术研发及应用的研究[J]. 天津科技, 2014, 41(3): 24-26
- [9] Lu XB, Zhang YM, Angelidaki I. Optimization of H₂SO₄-catalyzed hydrothermal pretreatment of rapeseed straw for bioconversion to ethanol: focusing on pretreatment at high solids content[J]. Bioresource Technology, 2009, 100(12): 3048-3053
- [10] Lu XB, Xi B, Zhang YM, et al. Microwave pretreatment of rape straw for bioethanol production: focus on energy efficiency[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(17): 7937-7940
- [11] Singh R, Shukla A, Tiwari S, et al. A review on delignification of lignocellulosic biomass for enhancement of ethanol production potential[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2014, 32: 713-728
- [12] Wu K, Zhang SM, Zhu XF. Recent research advances on the lignin biodegradation[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2000, 34(4): 349-354 (in Chinese)
吴坤, 张世敏, 朱显峰. 木质素生物降解研究进展[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(4): 349-354
- [13] Dong P, Shao W. Research trend of foreign fuel ethanol from cellulose[J]. Modern Chemical Industry, 2008, 28(10): 84-86 (in Chinese)
董平, 邵伟. 国外纤维素燃料乙醇研究动态[J]. 现代化工, 2008, 28(10): 84-86
- [14] Huang GS, Li ZY, Zhang LB, et al. Performance advantage and technology progress in biobutanol[J]. Petrochemical Technology & Application, 2012, 30(3): 254-259 (in Chinese)
黄格省, 李振宇, 张兰波, 等. 生物丁醇的性能优势及技术进展[J]. 石化技术与应用, 2012, 30(3): 254-259
- [15] van Gerpen J. Biodiesel: small scale production and quality requirements[J]. Methods in Molecular Biology, 2009, 581: 281-290
- [16] Lai HX, Wan X, Jiang ML. Advance in production technology of biodiesel[J]. Chemistry & Bioengineering, 2010, 27(5): 11-15 (in Chinese)
赖红星, 万霞, 江木兰. 生物柴油生产技术的进展[J]. 化学与生物工程, 2010, 27(5): 11-15
- [17] Huang ZS, Ji W, Li SY, et al. Application of overseas biodiesel[J]. Energy Conservation and Environmental Protection, 2003(1): 38-41 (in Chinese)
黄忠水, 纪威, 李淑艳, 等. 国外生物柴油的应用[J]. 节能环保技术, 2003(1): 38-41
- [18] Ren NQ, Guo WQ, Liu BF. Development and application prospect of bio-hydrogen production technology[J]. Journal of Harbin Institute of Technology, 2010, 42(6): 855-863 (in Chinese)
任南琪, 郭婉茜, 刘冰峰. 生物制氢技术的发展及应用前景[J]. 哈尔滨工业大学学报, 2010, 42(6): 855-863
- [19] Zhao D, Yu RZ, Li XY, et al. A brief look at research on anaerobic dark fermentative hydrogen-producing bacteria[J]. Environmental Pollution and Control, 2009, 31(1): 78-82 (in Chinese)
赵丹, 余瑞彰, 李秀艳, 等. 厌氧暗发酵产氢细菌研究进展[J]. 环境污染与防治, 2009, 31(1): 78-82
- [20] Li W, Song QW, Zhang NC, et al. Current situation and development of research on photo fermentation hydrogen production[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2010, 29(Supp): 79-83 (in Chinese)
李雯, 宋倩雯, 张念慈, 等. 光发酵制氢的研究现状与发展[J]. 化工进展, 2010, 29(增刊): 79-83
- [21] Ren NQ, Ren HY, Ding J, et al. Progress in biological hydrogen production by immobilized photo-fermentation bacteria[C]. The second national microorganisms resources academic and national resources of microorganisms service platform to run seminars, 2010
任南琪, 任宏宇, 丁杰, 等. 光发酵细菌固定化产氢研究进展[C]第二届全国微生物资源学术暨国家微生物资源平台运行服务研讨会, 2010
- [22] Lu L, Ren NQ, Zhao X, et al. Hydrogen production, methanogen inhibition and microbial community structures in psychrophilic single-chamber microbial electrolysis cells[J]. Energy & Environmental Science, 2011(4): 1329-1336
- [23] Demirel B, Scherer P. Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane[J]. Biomass and Bioenergy, 2011, 35: 992-998
- [24] Astals S, Esteban-Gutiérrez M, Fernández-Arévalo T, et al. Anaerobic digestion of seven different sewage sludges: a biodegradability and modelling study[J]. Water Research, 2013, 47(16): 6033-6043
- [25] Qiao W, Yan X, Ye J, et al. Evaluation of biogas production from different biomass wastes with/without hydrothermal pretreatment[J]. Renewable Energy, 2011, 36(12): 3313-3318
- [26] Ecke H, Lagerkvist A. Anaerobic treatment of putrescible refuse (ATPR): a review, in: L.U.o.T.D.o.L[J]. Science (Ed.), Report/Div. Landfill Science & Technology, 1997: 57
- [27] Pei ZJ, Li J, Zheng WJ. Biomethanation under psychrophilic conditions and the psychrophilic methanogens[J]. Environmental Science Survey, 2013, 32(6): 11-13 (in Chinese)
裴昭君, 李军, 郑文婕. 低温沼气技术: 低温产甲烷过程及嗜冷产甲烷菌[J]. 环境科学导刊, 2013, 32(6): 11-13
- [28] Li MQ, Deng JH, Xiong XY, et al. Research progress in psychrophilic methanogenic bacteria[J]. Liquor-Making Science & Technology, 2009(5): 90-93 (in Chinese)
李美群, 邓洁红, 熊兴耀, 等. 产甲烷菌的研究进展[J]. 酿酒科技, 2009(5): 90-93
- [29] Li Q, Qu HL, Cheng L, et al. Research progress on biogas dry fermentation[J]. China Biogas, 2010, 28(5): 10-14 (in Chinese)
李强, 曲浩丽, 承磊, 等. 沼气干发酵技术研究进展[J]. 中国沼气, 2010, 28(5): 10-14
- [30] Li RF, Lan CL, Ma B, et al. Research progress of crude material on methane ferment[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,

- 2011, 27(30): 1-5 (in Chinese)
李荣峰, 兰翠玲, 马博, 等. 沼气发酵原料研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(30): 1-5
- [31] Xu C, Ma F, Zhang X, et al. Biological pretreatment of corn stover by *Ipex lacteus* for enzymatic hydrolysis[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(20): 10893-10898
- [32] Chen Y, Cheng JJ, Creamer KS. Inhibition of anaerobic digestion process: a review[J]. Bioresource Technology, 2008, 99(10): 4044-4064
- [33] Kumar S, Yadav YK. Anaerobic Co-digestion of kitchen waste and cattle dung for biogas production[J]. Environment & Ecology, 2011, 29(4A): 2094-2097
- [34] Koster IW, Lettinga G. Anaerobic digestion at extreme ammonia concentrations[J]. Biological Wastes, 1988, 25: 51-59
- [35] Kabdasli I, Öztürk I, Tünay O, et al. Ammonia removal from young landfill leachate by magnesium ammonium phosphate precipitation and air stripping[J]. Water Science and Technology, 2000, 41(1): 237-240
- [36] Zheng Y, Zhao J, Xu FQ, et al. Pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biogas production[J]. Progress in Energy and Combustion Science, 2014, 42: 35-53
- [37] Soto M, Mendéz R, Lema JM. Sodium inhibition and sulphate reduction in the anaerobic treatment of mussel processing wastewaters[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1993, 58(1): 1-7
- [38] Cox BJ, Ekerdt JG. Pretreatment of yellow pine in an acidic ionic liquid: Extraction of hemicellulose and lignin to facilitate enzymatic digestion[J]. Bioresource Technology, 2013, 134: 59-65
- [39] Pinto PA, Dias AA, Fraga I, et al. Influence of ligninolytic enzymes on straws Acchari fication during fungal pretreatment[J]. Bioresource Technology, 2012, 111: 261-267
- [40] Wu XW, Liu RH. The research of the anaerobic fermentation of agriculture residue to produce biogas[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(26): 227-231 (in Chinese)
吴小武, 刘荣厚. 农业废弃物厌氧发酵制取沼气技术的研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(26): 227-231
- [41] Song AD, Feng XJ, Xie H, et al. Biomass-derives syngas fermentation into fuel ethanol: research progress[J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(6): 130-136 (in Chinese)
宋安东, 冯新军, 谢慧, 等. 生物质合成气发酵制取燃料乙醇研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(6): 130-136
- [42] Li D, Yuan ZH, Lv PM. Research progress of biological utilization of synthesis gas[J]. Biomass Chemical Engineering, 2007, 41(2): 54-58 (in Chinese)
李东, 袁振宏, 吕鹏梅. 合成气生物利用的研究进展[J]. 生物质化学工程, 2007, 41(2): 54-58
- [43] Feng YJ, Wang X, Li H, et al. Progress in electricity generation from biomass using microbial fuel cell (MFC)[J]. Environmental Science, 2010, 31(10): 2525-2531 (in Chinese)
冯玉杰, 王鑫, 李贺, 等. 基于微生物燃料电池技术的多元生物质生物产电研究进展[J]. 环境科学, 2010, 31(10): 2525-2531
- [44] Xiao JJ, Huang WD. Advances in microbial fuel cells with biomass as carbon source[J]. New Chemical Materials, 2013, 41(4): 19-20 (in Chinese)
肖建军, 黄卫东. 以生物质为碳源的微生物燃料电池研究进展[J]. 化工新型材料, 2013, 41(4): 19-20
- [45] Niessen J, Schröder U, Harnisch F, et al. Gaining electricity from *in situ* oxidation of hydrogen produced by fermentative cellulose degradation[J]. Letters in Applied Microbiology, 2005, 41(3): 286-290
- [46] Catal T, Li K, Bermek H, et al. Electricity production from twelve monosaccharides using microbial fuel cells[J]. Journal of Power Sources, 2008, 175(1): 196-200
- [47] Rozendal R, Hamelers H, Euverink G, et al. Principle and perspectives of hydrogen production through biocatalyzed electrolysis[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2006, 31(12): 1632-1640
- [48] Liu BQ, Ju MT, Liu JP, et al. The key issues of the silage technology development in China and its relevant solutions in China[J]. Ecological Economy, 2013(1): 231-236 (in Chinese)
刘博群, 鞠美庭, 刘金鹏, 等. 我国青贮技术发展的关键问题及解决对策[J]. 生态经济, 2013(1): 231-236
- [49] Liu JP, Ju MT, Wu WT, et al. Method for producing straw feed: China, 201310132009.3[P]. 2013-06-26
刘金鹏, 鞠美庭, 吴文韬, 等. 一种秸秆饲料的生产方法: 中国, 201310132009.3[P]. 2013-06-26
- [50] Liu JP, Ju MT, Jia LM, et al. A method for making and using a straw feed: China, 201310655472.6[P]. 2014-03-19
刘金鹏, 鞠美庭, 贾立明, 等. 一种发酵秸秆饲料的制作和使用方法: 中国, 201310655472.6[P]. 2014-03-19
- [51] Liu JP, Ju MT, Wu WT, et al. A method for producing protein feed by fermentation of ammoniated herb residue: China, 201210201167.5[P]. 2012-06-18
刘金鹏, 鞠美庭, 吴文韬, 等. 一种发酵氨化中药渣生产蛋白饲料的方法: 中国, 201210201167.5[P]. 2012-06-18
- [52] Liu BQ, Ju MT, Liu JP, et al. A method for producing fermented feed medicine residue by fungi: China, 201210438591.1[P]. 2012-11-07
刘博群, 鞠美庭, 刘金鹏, 等. 一种利用真菌发酵中药渣生产饲料的方法: 中国, 201210438591.1[P]. 2012-11-07
- [53] Schampelaere L, Verstraete W. Revival of the biological sunlight-to-biogas energy conversion system[J]. Biotechnology Bioengineering, 2009, 103(2): 296-304
- [54] Qi X, Su ZQ, Tang Y, et al. Research progress on conversion of lignocellulose material for lactic acid by fermentation[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2010(5): 11-13 (in Chinese)
齐祥, 苏肇秦, 唐勇, 等. 木质纤维素发酵转化乳酸研究进展[J]. 现代农业科技, 2010(5): 11-13
- [55] Sun YZ, Lv LH, Han JY, et al. The progress of the silage feed research[J]. Journal of Inner Mongolia University for Nationalities (Natural Sciences), 2010, 25(3): 307-310 (in Chinese)
孙余卓, 吕莉华, 韩吉雨, 等. 青贮研究进展[J]. 内蒙古民族大学学报: 自然科学版, 2010, 25(3): 307-310
- [56] Chen ZA, Deng XC. Progress in microbiologic utilization technology of crop straw[J]. China Biogas, 2006, 24(3): 31-35 (in Chinese)

- 陈子爱, 邓小晨. 微生物处理利用秸秆的研究进展[J]. 中国沼气, 2006, 24(3): 31-35
- [57] Jiang JS, Huang YM, Liu XL, et al. The effects of apple pomace, bentonite and calcium superphosphate on swine manure aerobic composting[J]. Waste Management, 2014, 34: 1595-1602
- [58] Jiang Y, Ju MT, Liu L, et al. A composting reactor with fixed aeration system: China, 201210361948.0[P]. 2013-01-02
江洋, 鞠美庭, 刘乐, 等. 一种固定式好氧堆肥反应器: 中国, 201210361948.0[P]. 2013-01-02
- [59] Jiang Y, Ju MT, Li WZ, et al. Production of organic compound fertilizer using straw and sludge: China, 201410110438.5[P]. 2014-03-24
江洋, 鞠美庭, 李维尊, 等. 一种利用秸秆与污泥生产高效有机复合肥的方法: 中国, 201410110438.5[P]. 2014-03-24
- [60] Chen GM, Liu SJ, Zhang DY, et al. Application and development of sewage sludge compost in agriculture[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(24): 301-306 (in Chinese)
陈桂梅, 刘善江, 张定媛, 等. 污泥堆肥的应用及其在农业中的发展趋势[J]. 中国农学通报, 2010, 26(24): 301-306
- [61] Ye JS, Wu K, Cai JM, et al. Progress on research methods for microorganisms during aerobic composting[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(30): 13287-13291 (in Chinese)
叶劲松, 吴克, 蔡敬民, 等. 好氧堆肥微生物研究方法进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(30): 13287-13291
- [62] Gao D, Zhang J, Chen TB, et al. Research progress in mathematical model of organic matter biodegradation in aerobic composting process[J]. China Water & Waste Water, 2010, 26(11): 153-156 (in Chinese)
高定, 张军, 陈同斌, 等. 好氧生物堆肥过程中有机质降解模型的研究进展[J]. 中国给水排水, 2010, 26(11): 153-156
- [63] Zhang J, Chen TB, Gao D, et al. Research progress in mathematical models of temperature, oxygen and moisture in aerobic composting process[J]. China Water & Waste Water, 2010, 26(11): 148-152 (in Chinese)
张军, 陈同斌, 高定, 等. 好氧生物堆肥中温度、氧气和水分模型的研究进展[J]. 中国给水排水, 2010, 26(11): 148-152
- [64] Tan TW, Yu JL, Zhang X. Advance in biorefinery technology[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2011, 30(1): 117-125 (in Chinese)
谭天伟, 俞建良, 张榆. 生物炼制技术研究新进展[J]. 化工进展, 2011, 30(1): 117-125
- [65] Zhang YP, Li Y, Ma YH. Microbial cell factories and biorefinery[J]. Progress in Chemistry, 2007, 19(7/8): 1076-1083 (in Chinese)
张延平, 李寅, 马延和. 细胞工厂与生物炼制[J]. 化学进展, 2007, 19(7/8): 1076-1083
- [66] Kamm B, Gruber PR, Kamm M. Biorefinery (Industrial Process and Product) (2)[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007 (in Chinese)
(德)卡姆, (美)格鲁勃, (德)卡姆. 生物炼制(工业过程与产品) (2)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007
- [67] Cong LX. Research progress of biodegradation of straw and feed with white rot fungi[J]. Feed Research, 2014(7): 11-13,24 (in Chinese)
丛立新. 白腐真菌生物降解秸秆及饲料化的研究进展[J]. 饲料研究, 2014(7): 11-13,24
- [68] Xu JP. Study on remediation of petroleum polluted soil by white-rot fungi using agricultural wastes as substrate[D]. Beijing: Master's Thesis of China University of Geosciences, 2003 (in Chinese)
徐京平. 以农业废弃物为底物的白腐真菌处理石油污染土壤的研究[D]. 北京: 中国地质大学硕士学位论文, 2003
- [69] Eggen T, Majcherczyk A. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 1998, 41(2): 111-117
- [70] Bian MH, Ye GB, Yang YH. Research progress in treatment of dyes effluent by white rot fungus[J]. Journal of Sichuan University of Science & Engineering (Natural Science Edition), 2013, 26(4): 1-4 (in Chinese)
边名鸿, 叶光斌, 杨跃寰. 白腐菌处理染料废水的研究进展[J]. 四川理工学院学报: 自然科学版, 2013, 26(4): 1-4
- [71] Pan PY, Cui JG, Jia H. Treatment of phenol-containing wastewater using immobilized white rot fungi[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, 8(5): 1977-1981 (in Chinese)
樊鹏跃, 崔建国, 贾贺. 固定化白腐真菌处理含酚废水[J]. 环境工程学报, 2014, 8(5): 1977-1981
- [72] Hu LY, Sun DP, Shao T, et al. The screening of mixed microbial consortium and its associating degradation effect on crude oil with a white rot fungi[J]. Chemistry & Bioengineering, 2007, 24(5): 34-37 (in Chinese)
胡凌燕, 孙东平, 邵涛, 等. 混合菌群的筛选及其与白腐真菌串联降解石油的效果初探[J]. 化学与生物工程, 2007, 24(5): 34-37
- [73] Cai CF, Yang Q, Fang JP, et al. Optimization of solid fermentation of sulfate reducing bacteria and establishment of kinetic equation[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2014, 8(11): 4586-4592 (in Chinese)
蔡昌凤, 杨茜, 方剑平, 等. SRB 固态发酵条件优选及动力学方程建立[J]. 环境工程学报, 2014, 8(11): 4586-4592
- [74] Deng Y, Chen F, Wang CM, et al. Plans and actions on biomass reserch in USA[J]. China Biotechnology, 2010, 30(1): 111-116 (in Chinese)
邓勇, 陈方, 王春明, 等. 美国生物质资源研究规划与举措分析及启示[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(1): 111-116
- [75] Zhang XL, Yue L, Chai QM, et al. Foreign policies for exploitation and utilization of biomass energy[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2006, 22(Suppl 1): 4-7 (in Chinese)
张希良, 岳立, 柴麒麟, 等. 国外生物质能开发利用政策[J]. 农业工程学报, 2006, 22(增1): 4-7