

污泥堆肥微生物菌剂的筛选优化及应用*

张海霞¹ 李昕晨^{1,2} 孙晓红^{3#}

(1.河北工程大学能源与环境工程学院,河北 邯郸 056038;2.中国航天建筑设计研究院有限公司,北京 102600;
3.北京市农林科学院,北京 110000)

摘要 从菌糠腐熟物中分离纯化12株长势良好的菌株,经16S rDNA测序分析,鉴定为链霉菌(*Streptomyces* sp.),将其中长势最好的一株命名为链霉菌P9。通过单因素实验及Plackett-Burman实验设计对链霉菌P9发酵培养基配方进行优化,得到培养基最佳配方为蔗糖10 g/L,蛋白胨+酵母粉25.0 g/L,MgSO₄·7H₂O 0.075 g/L,KH₂PO₄ 0.3 g/L,K₂HPO₄ 0.6 g/L。将最佳培养基配方下制得的链霉菌P9发酵液用于污泥好氧堆肥,接种量分别为0(对照组CK)、0.5% (质量分数,下同)、1.0%、1.5%。结果表明,当接种量为0.5%时,堆体最高温度可达61.0℃,高温期维持12 d,堆肥效果程度优于CK组(堆体最高温度58.1℃,高温期维持9 d),接种量为1.0%、1.5%时污泥堆肥进程反而被抑制。堆肥结束时,堆体上清液的种子发芽指数均在70%以上,说明堆体物料基本腐熟无毒。可见,采用链霉菌P9发酵液作为微生物菌剂促进污泥好氧堆肥是可行的,接种量宜为0.5%。

关键词 链霉菌 污泥 好氧堆肥 微生物菌剂

DOI:10.15985/j.cnki.1001-3865.2019.08.009

Screening and optimization of microbial agents and its application in sludge composting ZHANG Haixia¹, LI Xinchen^{1,2}, SUN Xiaohong³. (1. College of Energy and Environmental Engineering, Hebei University of Engineering, Handan Hebei 056038;2.China Aerospace Academy of Architectural Design & Research Co.,Ltd., Beijing 102600;3.Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 110000)

Abstract: 12 strains were screened and purified from fungus chaff humus. They were identified as *Streptomyces* sp. by 16S rDNA sequencing identification and the best one was named as *Streptomyces* P9. Single factor experiment and Plackett-Burman experiment design were applied to optimize the culture medium formula. The optimal formula of culture medium was 10 g/L sucrose, 25.0 g/L peptone + yeast powder, 0.075 g/L MgSO₄ · H₂O, 0.3 g/L KH₂PO₄ and 0.6 g/L K₂HPO₄. Under the optimal culture medium formula, the obtained fermentation broth was inoculated into the aerobic sludge composting at the mass ratio of 0 (control group CK), 0.5% (mass ratio, the same below), 1.0% and 1.5%. The composting experiment results showed that the maximum temperature could reach 61.0℃ when the inoculation amount was 0.5%, and the high temperature period maintained for 12 days. For the CK group, the maximum temperature was 58.1℃ and the high temperature period maintained for 9 days. When the inoculation amounts were 1.0% and 1.5%, the sludge composting process was inhibited. At the end of the composting, the seed germination index of the compost supernate was above 70%, which indicated that the compost material was almost mature. So, it was feasible to apply *Streptomyces* P9 fermentation broth as microbial agents to promote sludge aerobic composting, and the suitable inoculation amount was 0.5%.

Keywords: *Streptomyces* sp.; sludge; aerobic composting; microbial agents

随着我国市政污水处理能力不断提升,污泥产量随之增多。污水经过净化处理后,大部分营养元素及污染物转移到污泥中,如不妥善处置会导致环境污染^[1]。现阶段污泥的处理处置方法主要有填埋、焚烧、干化、堆肥等^[2-3]。其中,好氧堆肥利用污泥中的微生物进行发酵,在堆肥过程中的高温阶段,高温菌促进微生物代谢,加快有机物的降解速度,使大部分病原菌、寄生虫、虫卵等在高温下灭活,从而

实现污泥的无害化处理。然而污泥好氧堆肥存在初期微生物量少繁殖慢、发酵时间长、臭气大等问题^[4]。有研究报道,在堆肥初期接种微生物菌剂可通过菌群联合作用缩短发酵周期,因此国内外许多专家学者致力于培养不同功能的微生物菌剂应用于污泥堆肥,使其快速升温,缩短堆肥周期^[5-6]。

为加速污泥的堆肥进程,本研究从菌糠腐熟物中筛选出耐高温菌株链霉菌,并用其发酵培养液作

第一作者:张海霞,女,1979年生,博士研究生,副教授,主要从事固体废弃物资源化利用研究。[#]通讯作者。

*北京市农村工作委员会农业科技支持项目(No.20170101)。

为强化污泥好氧堆肥的微生物菌剂,通过单因素实验和 Plackett-Burman 实验获取菌株优化培养基配方,并考察微生物菌剂接种量对污泥好氧堆肥过程中堆体温度的影响以及堆肥后物料的种子发芽指数,为污泥的无害化处理提供思路。

1 材料与方法

1.1 培养基的配置

LB 固体培养基: 胰蛋白胨 10 g/L, 酵母提取物 5 g/L, NaCl 10 g/L, 琼脂 20 g/L, 用 NaOH 调节 pH 至 7.0 左右。

高氏一号培养基: 可溶性淀粉 20 g/L, KNO₃ 1 g/L, K₂HPO₄ 0.5 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.500 g/L, NaCl 0.5 g/L; FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g/L; 琼脂 20 g/L; pH 为 7.4~7.6。

种子培养基: 葡萄糖 10 g/L, 酵母粉 20 g/L, 蛋白胨 5 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.500 g/L, K₂HPO₄ 0.2 g/L, 不调节 pH。

发酵培养基: 葡萄糖 30 g/L, 蛋白胨 10 g/L, 酵母粉 10 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.050 g/L, K₂HPO₄ 0.4 g/L, KH₂PO₄ 0.2 g/L, 不调节 pH。

上述培养基配置完成后均在 121 ℃下灭菌处理 20 min 后备用。

1.2 菌株的分离

称取 10 g 菌糠腐熟物加入 90 mL 灭菌后的蒸馏水中,置于摇床中振荡 20 min 得到菌悬液,摇匀,吸取 1 mL 菌悬液加入 9 mL 蒸馏水中,依次稀释至 10⁻²~10⁻⁷ 梯度,并对稀释 10⁻⁴~10⁻⁷ 梯度的菌悬液在 LB 固体培养基上进行平板涂布,恒温 28 ℃ 培养 48 h,对获得的菌落形态特征进行观察,确定挑选的目标单菌落,再在 LB 固体培养基上进行四区划线,恒温 28 ℃ 静置纯化培养 48 h。

1.3 菌株聚合酶链式反应(PCR)扩增与 16S rDNA 测序

挑选纯化好的菌株至离心管,沸水浴 5 min,置于冰块中冷却 10 min 后 12 000 r/min 离心 3 min,以上清液为模板进行 PCR 扩增。扩增采用 25 μL 反应体系,其中 T6 PCR SuperMix(1.1×) 22 μL,正向引物 27F(5'-AGAGTTGATCCTGGCT-CAG-3')1 μL,反向引物 1492R(5'-TACCTTGT-TACGACTT-3')1 μL,模板 DNA 1 μL,将体系混匀并在 PCR 仪上选择相应的程序及体积进行 DNA 模板扩增^[7],扩增程序如下: 94 ℃ 初始变性 2.0 min, 94 ℃ 变性 0.5 min, 60 ℃ 复性 0.5 min, 72 ℃ 延伸 2.0 min, 进行 35 个循环后 72 ℃ 延伸 2.0 min, 最后 4 ℃ 保存。对筛选得到的 12 株长势良好的菌株进行 PCR 产物纯化和 16S rDNA 测序。

将测得 16S rDNA 序列结果在 GenBank 数据库中进行 BLAST 比对,选取序列相似性较高的模式菌株,用 DNAMAN 软件进行 16S rDNA 相似性分析,MEGA 6 软件进行系统发育树构建,Bootstrap 稳定性验证 500 次。

1.4 菌株形态观察及发酵培养

选取长势最好的 1 株菌株,用高氏一号培养基在 28 ℃ 下培养 48 h 观察菌落形态特征;用种子培养基在 28 ℃ 下培养 48 h 观察菌株形态;采用发酵培养基在 30 ℃,150 r/min 恒温摇床中振荡培养 24 h 制取种子菌液。

1.5 单因素实验

以菌株的菌丝量(以干质量计,下同)为指标,考察不同碳源和氮源对菌株生长的影响。(1) 碳源的影响。调整发酵培养基配方,以 20 g/L 蛋白胨为氮源,分别用 30 g/L 的蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、淀粉、乳糖为碳源,其他营养组分浓度不变,向 100 mL 调整配方后的发酵培养基中加入 5 mL 种子菌液,培养条件为恒温 30 ℃,振荡速度 150 r/min,培养时间 24 h,培养结束后测定发酵培养基中菌丝干质量,筛选最佳碳源;调节发酵培养基中最佳碳源质量浓度分别为 10、20、30、40、50 g/L,相同培养条件下培养菌株,培养结束后测定发酵培养基中菌丝干质量,筛选碳源最佳质量浓度。(2) 氮源的影响。调整发酵培养基配方,以 30 g/L 葡萄糖为碳源,分别用 20 g/L 的蛋白胨、酵母粉、牛肉膏、尿素、蛋白胨+酵母粉(质量比 1:1)为氮源,其他组分浓度和培养条件不变,培养结束后测定发酵培养基中菌丝干质量,筛选最佳氮源。确定最佳氮源后,调节最佳氮源质量浓度分别为 10.0、15.0、20.0、25.0、30.0 g/L,相同培养条件下培养菌株,培养结束后测定发酵培养基中菌丝干质量,筛选氮源最佳质量浓度。

1.6 Plackett-Burman 实验设计

利用 Minitab 17 软件设计 Plackett-Burman 实验,选取碳源、氮源、MgSO₄ · 7H₂O、KH₂PO₄、K₂HPO₄ 5 个因素进行显著性分析,每个因素取高、低两个水平,其中高水平质量浓度为低水平的 1.5 倍,最终得到变量个数为 12 的 Plackett-Burman 实验设计^[8],根据实验设计配制发酵培养基进行菌株培养,培养条件同 1.5 节,培养结束后测定发酵培养基中菌丝干质量,得到菌株发酵的最优发酵培养基

配方,用Minitab 17软件对实验结果进行回归分析,得到各因素的显著性。

1.7 污泥好氧堆肥

以最优发酵培养基配方培养得到的发酵液(菌丝量最高)为污泥好氧堆肥微生物菌剂,考察不同接种量下污泥的堆肥进程。污泥好氧堆肥实验在容积为60 L的箱子中进行,箱子底部垫有筛子,外壁钻孔接鼓风机强制通风,平均通风量为0.15 m³/h,箱体设有盖子起保温作用。堆肥物料为污泥与玉米芯混合物(质量比4:3),堆体初始质量为12 kg左右,微生物菌剂投加量为堆体物料总质量的0.5%、1.0%、1.5%,以不接种微生物菌剂的堆体为对照(CK)组,调节4个堆体含水率均为55%左右。将充分混合好的堆肥物料分别放入箱子中进行连续32 d的堆肥实验,堆肥初期(0~15 d)每3天翻堆一次,后期(16~32 d)每7天翻堆一次,堆肥期间每天9:00、16:00各测1次温度,每次在3个不同位置测量,取平均值。

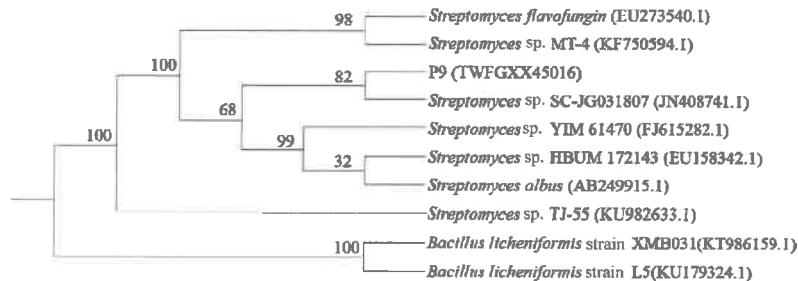
堆肥期间每3天取1次堆肥样10 g,按堆肥样:蒸馏水为1 g:10 mL的比例加入蒸馏水,150 r/min下振荡30 min,10 000 r/min下离心5 min,取上清液进行种子发芽实验,方法如下:取5 mL堆肥上清液加入到铺有两张滤纸的9 cm培养皿中,每个培养皿播20粒饱满大白菜种子,25℃恒温培养48 h后观察发芽率,测定根长,每个处理重复3次,根据式(1)计算种子发芽指数^[9]。

$$GI = \frac{n \times L}{n_0 \times L_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:GI为种子发芽指数,%;n为堆肥上清液的种子发芽率,%;L为堆肥上清液的种子根长,cm;n₀为蒸馏水中的种子发芽率,%;L₀为蒸馏水中的种子根长,cm。

2 结果与分析

2.1 菌株分离鉴定结果



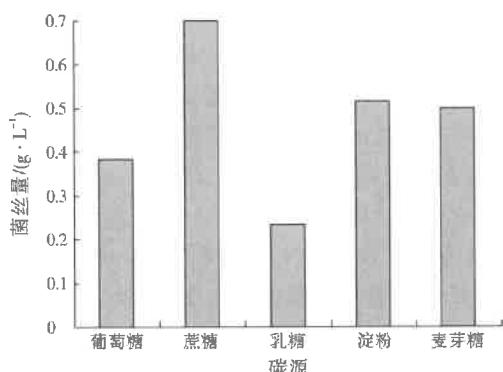


图 2 碳源对链霉菌 P9 生长的影响
Fig.2 The effect of carbon source on growth of *Streptomyces* P9

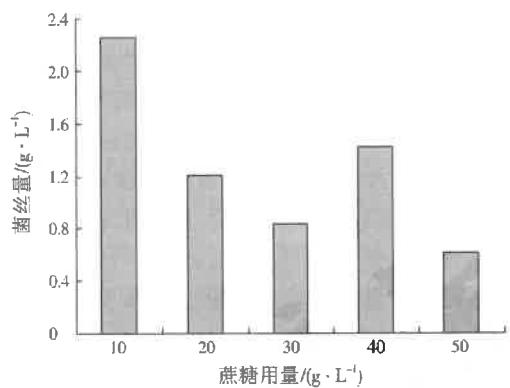


图 3 最佳碳源用量对链霉菌 P9 生长的影响
Fig.3 The effect of the best carbon source dosage on growth of *Streptomyces* P9

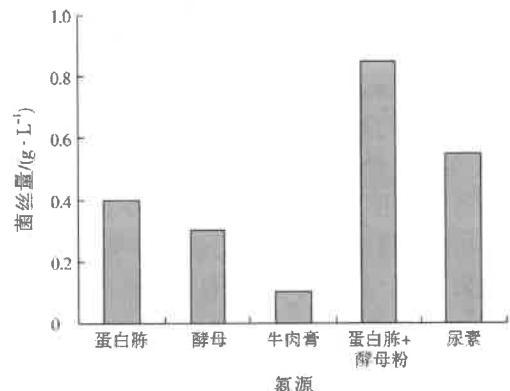


图 4 氮源对链霉菌 P9 生长的影响
Fig.4 The effect of nitrogen source on growth of *Streptomyces* P9

能是因为蛋白胨+酵母粉用量过高将导致渗透压增加,从而影响菌株对其他营养物质的吸收,因此确定链霉菌 P9 发酵培养基中蛋白胨+酵母粉最佳用量为 25.0 g/L。

2.3 Plackett-Burman 实验设计与结果分析

为考察发酵培养基中各个因素对链霉菌 P9 生长的影响,根据单因素实验结果,分别以蔗糖、蛋白

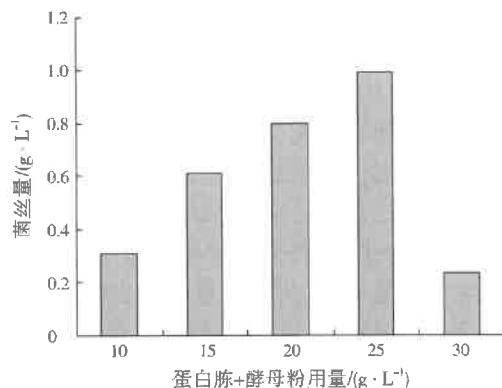


图 5 最佳氮源用量对链霉菌 P9 生长的影响
Fig.5 The effect of the best nitrogen source dosage on growth of *Streptomyces* P9

胨+酵母粉为发酵培养基的碳源和氮源,设计蔗糖、蛋白胨+酵母粉、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 、 KH_2PO_4 、 K_2HPO_4 低水平质量浓度分别为 10、25.0、0.050、0.2、0.4 g/L,高水平质量浓度分别为 15、37.5、0.075、0.3、0.6 g/L,根据 Plackett-Burman 实验设计配制发酵培养基,在接种量 5%、恒温 30 ℃,振荡速度 150 r/min 下培养 24 h,得到菌丝量见表 1。利用 Minitab 17 软件对实验结果进行回归分析,得到各因素的重要性排序,结果见表 2。

结合表 1、表 2 可知,链霉菌 P9 发酵培养基的最佳配方为蔗糖 10 g/L、蛋白胨+酵母粉 25.0 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.075 g/L, KH_2PO_4 0.3 g/L, K_2HPO_4 0.6 g/L, 培养 24 h 后链霉菌 P9 的菌丝量最大,为 2.95 g/L。各因素对链霉菌 P9 生长影响的排序为蔗糖 > 蛋白胨+酵母粉 > KH_2PO_4 > $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ > K_2HPO_4 , 其中,蔗糖、蛋白胨+酵母粉对链霉菌生长有显著影响 ($p < 0.05$)。

2.4 污泥好氧堆肥实验结果

2.4.1 对堆体温度的影响

将链霉菌 P9 在最佳发酵培养基配方下培养 24 h 获得的发酵液用于污泥好氧堆肥,不同接种量下堆体温度变化见图 6。

由图 6 可以看出,不同接种量下堆体温度均经过升温期、高温期(堆体温度 50 ℃以上)、降温期后,最终逐渐趋于环境温度。其中接种量为 0.5% 的处理组堆肥效果最好,堆体升温速度最快,该处理组第 2 天堆体温度升至 55.3 ℃,第 4 天达到最高温度 61.0 ℃,高温期维持 12 d。其次为 CK 组,CK 组在堆肥第 2 天堆体温度达到 52.0 ℃,第 4 天达到最高温度 58.1 ℃,高温期维持 9 d,堆肥期间堆体平均温度较接种量为 0.5% 的处理组低 2.0 ℃。相比而言,接

表1 Plackett-Burman 实验设计及结果
Table 1 Plackett-Burman experimental design and results

序号	蔗糖 $/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	蛋白胨+酵母粉 $/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	KH_2PO_4 $/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	K_2HPO_4 $/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	菌丝量 $/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$
1	10	37.5	0.075	0.3	0.4	2.75
2	15	37.5	0.050	0.3	0.4	1.50
3	10	37.5	0.075	0.2	0.6	2.05
4	10	25.0	0.050	0.3	0.6	2.50
5	15	25.0	0.075	0.3	0.4	2.85
6	15	37.5	0.075	0.2	0.6	1.60
7	15	25.0	0.075	0.2	0.4	1.90
8	15	37.5	0.050	0.3	0.6	1.85
9	10	25.0	0.075	0.3	0.6	2.95
10	15	25.0	0.050	0.2	0.6	1.75
11	10	25.0	0.050	0.2	0.4	2.80
12	10	37.5	0.050	0.2	0.4	2.20

表2 Plackett-Burman 实验分析结果
Table 2 Analysis results of Plackett-Burman experiment

影响因素	t	P	重要性排序
蔗糖	3.94	0.008	1
蛋白胨+酵母粉	2.9	0.027	2
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-1.56	0.171	4
KH_2PO_4	-2.18	0.072	3
K_2HPO_4	1.35	0.226	5

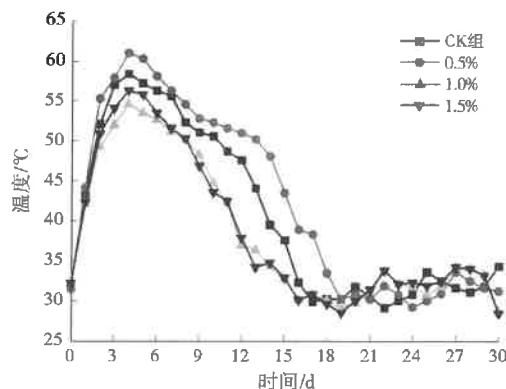


图6 堆肥过程中堆体温度的变化

Fig.6 Temperature changes during the composting

种量为1.0%、1.5%处理组堆肥效果相对较差,堆体升温速度相对较慢,堆体最高温度分别为54.6℃、56.3℃,高温期持续时间分别为7.6 d。由此可见,接种适量的微生物菌剂可以丰富堆体中的微生物菌群数量,增加菌种活性,从而加快堆体升温速度,延长高温期时间,然而微生物菌剂接入量过多会对其它堆肥菌种产生影响从而抑制堆肥进度。

2.4.2 对GI的影响

微生物菌剂不同接种量下,各处理组堆肥上清液的GI变化见图7。从图7可以看出,总体上4个处理组GI均呈先降低后升高的变化趋势。接种量

• 914 •

为0.5%的处理组第6天GI达到最低值41.7%,而后逐渐升高,在第30天时GI达到最高值84.1%;而接种量为1.0%、1.5%的处理组及CK组的GI均在第9天达到最低值,分别为45.3%、43.1.0%和42.5%,第30天分别达到最高值75.6%、77.8%、77.8%,这是因为在堆肥开始时堆体温度迅速升高,微生物降解有机质产生了氨氮、有机酸和醛类等物质,对种子发芽产生了一定的抑制作用^[10],随着后期堆肥温度逐渐下降,这些抑制种子发芽的物质逐渐减少,因此GI逐渐上升。堆肥结束时4个处理组的GI均在70%以上,说明堆体物料基本无毒。通过GI变化,进一步说明接种微生物菌剂对污泥的腐熟具有促进意义,但接种量要适量,接种量过多反而会对污泥腐熟产生不利影响。

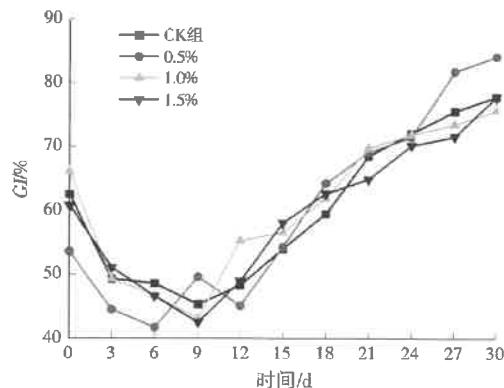


图7 堆肥过程中GI的变化
Fig.7 Variation of GI during the composting

3 结论

(1) 从菌糠腐熟物中筛选出1株有益菌株P9,

通过形态观察以及 16S rDNA 序列比对分析,鉴定该菌株为链霉菌,其与 GenBank 中的模式菌株 *Streptomyces* sp. SC-JG031807 的 16S rDNA 同源性为 82%。

(2) 单因素实验结果表明,链霉菌 P9 发酵培养基的最佳碳源、氮源分别为蔗糖、蛋白胨+酵母粉,最佳投加量分别为 10、25.0 g/L。根据 Plackett-Burman 实验设计对发酵培养基配方进一步优化,得到发酵培养基的最佳配方为蔗糖 10 g/L、蛋白胨+酵母粉 25.0 g/L, MgSO₄ · 7H₂O 0.075 g/L, KH₂PO₄ 0.3 g/L, K₂HPO₄ 0.6 g/L, 其中蔗糖、蛋白胨+酵母粉对链霉菌 P9 生长有显著影响。

(3) 将最佳培养基配方下制得的链霉菌 P9 发酵液作为微生物菌剂用于污泥好氧堆肥实验,在最佳接种量(0.5%)下堆体最高温度可达 61.0 ℃,高温期维持 12 d,均高于不添加微生物菌剂的 CK 组(堆体最高温度 58.1 ℃,高温期维持 9 d)。当微生物菌剂接种量为 1.0%、1.5% 时,过量菌剂反而会抑制堆肥进度。堆肥结束时,堆体上清液的 GI 均在 70% 以上,说明堆体物料基本腐熟无毒。采用链霉菌 P9 发酵液促进污泥好氧堆肥进程总体可行,接种量宜为 0.5%。

参考文献:

- [1] 黄野,董兴.城市污泥的处理及资源化利用探讨[J].新农业,2016(21):43-46.
- [2] 朱南文,高廷耀,周增炎.我国城市污水厂污泥处置途径的选择[J].上海环境科学,1998,17(11):40-42.
- [3] 戎静.上海城市污水厂污泥处置现状研究[J].环境科学与管理,2016,41(4):94-97.
- [4] 席北斗,刘鸿亮,黄国和,等.复合微生物菌剂强化堆肥技术研究[J].环境污染与防治,2003,25(5):262-264.
- [5] 欧阳建新,施周,崔凯龙,等.微生物复合菌剂对污泥好氧堆肥过程的影响[J].中国环境科学,2011,31(2):253-258.
- [6] 冯红梅,秦永胜,李筱帆,等.高温纤维素降解菌群筛选及产酶特性[J].环境科学,2016,37(4):1546-1552.
- [7] 夏琳,王继华,郑希传,等.—株丁酸梭菌的分离及其在沼气发酵中的应用[J].生物技术,2014,24(3):64-68.
- [8] 唐艳斌,闵巧娟,江正强,等.枯草芽孢杆菌产 β-1,3-1,4-葡聚糖酶的响应面优化[J].微生物学通报,2013,40(4):551-557.
- [9] 王森.市政污泥太阳能干燥及好氧堆肥试验研究[D].邯郸:河北工程大学,2016.
- [10] 张晓利,刘青,徐智,等.复合微生物菌剂对污泥堆肥的作用效果研究[J].环境工程学报,2008,2(2):266-269.
- [11] ZHEN G, LU X, KATO H, et al. Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: current advances, full-scale application and future perspectives[J]. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2017, 69: 559-577.
- [12] CARRERE H, DUMAS C, BATTYMELLI A, et al. Pretreatment methods to improve sludge anaerobic degradability: a review[J]. Journal of Hazard Materials, 2010, 183(1/2/3): 1-15.
- [13] 苏丹,王鑫,石玉敏,等.污泥厌氧消化前处理技术研究现状及展望[J].环境污染与防治,2008,30(12):84-94.
- [14] 占玲骅,刘雪羽,何国富,等.超声联合热碱预处理对剩余污泥厌氧消化的影响[J].环境污染与防治,2017,39(11):1205-1208.
- [15] 袁文祥,楼紫阳,叶彩虹,等.热处理和 pH 调节协同作用下污泥调质过程研究[J].环境工程学报,2011,5(9):2133-2138.
- [16] LI C, WANG X, ZHANG G, et al. Hydrothermal and alkaline hydrothermal pretreatments plus anaerobic digestion of sewage sludge for dewatering and biogas production: Bench-scale research and pilot-scale verification[J]. Water Research, 2017, 117: 49-57.
- [17] 池勇志,刘晓敏,李玉友,等.微波预处理剩余污泥的研究进展[J].化工进展,2013,9(9):2221-2226.
- [18] KAVITHA S, YUKESH KANNAH R, YEOM I T, et al. Combined thermo-chemo-sonic disintegration of waste activated sludge for biogas production[J]. Bioresource Technology, 2015, 197: 383-92.
- [19] 付志敏,陶兰兰,徐静,等.中温碱解预处理促进剩余污泥厌氧产甲烷的研究[J].环境工程,2016,34(1):91-95.
- [20] NAZARI L, YUAN Z, SANTORO D, et al. Low-temperature thermal pre-treatment of municipal wastewater sludge: process optimization and effects on solubilization and anaerobic degradation[J]. Water Research, 2017, 113: 111-123.
- [21] APPELS L, DEGREVE J, VAN DER BRUGGEN B, et al. Influence of low temperature thermal pre-treatment on sludge solubilisation, heavy metal release and anaerobic digestion[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(15): 5743-5748.
- [22] YU L, ZHANG W, LIU H, et al. Evaluation of volatile fatty acids production and dewaterability of waste activated sludge with different thermo-chemical pretreatments[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2018, 129: 170-178.
- [23] 乔玮,王伟,徐衣显,等.碱辅助条件下的污泥微波热水解特性研究[J].环境科学,2009,30(9):2678-2683.
- [24] 孙志岩,张君枝,刘翌晨,等.牛粪和玉米秸秆厌氧消化产甲烷潜力及动力学[J].环境工程学报,2016,10(3):1468-1474.
- [25] VELUCHAMY C, KALAMDHAD A S. Biochemical methane potential test for pulp and paper mill sludge with different food / microorganisms ratios and its kinetics[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2017, 117: 197-20.
- [26] ZHEN G, LU X, KOBAYASHI T, et al. Anaerobic co-digestion on improving methane production from mixed microalgae (*Scenedesmus* sp., *Chlorella* sp.) and food waste: kinetic modeling and synergistic impact evaluation[J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 299: 332-341.