

Fe 和 Fe^{2+} 对混合细菌产氢发酵的影响

丁杰¹, 任南琪¹, 刘敏¹, 丁兰²

(1. 哈尔滨工业大学市政环境工程学院, 哈尔滨 150090; 2. 吉林大学化学学院, 长春 130023)

摘要: 在研究 Fe 粉剂量和 Fe^{2+} 浓度对混合细菌产氢发酵的影响基础上, 确定 Fe 和 Fe^{2+} 促进混合细菌产氢能力的最佳阈值, 并对乙醇型发酵菌群在不同 Fe 粉和 Fe^{2+} 浓度下的产氢量和最大比产氢速率进行考察和对比. 结果表明, Fe 粉和 Fe^{2+} 对乙醇型发酵菌群的产氢能力均有明显的促进作用. 以葡萄糖为底物, 投加 Fe^{2+} 试验中, Fe^{2+} 浓度 200 mg/L 获得最大产氢量 143.7 mL/g, 较对照组提高 32%; Fe^{2+} 浓度 50 mg/L 获得单位 VSS 最大比产氢速率 21.2 mL/(h·g), 较对照组提高 33%. 投加单质 Fe 试验中, Fe 粉剂量 1000 mg/L 获得最大产氢量 156.1 mL/g, 较对照组提高 44%; Fe 粉剂量 500 mg/L 获得单位 VSS 最大比产氢速率 23.5 mL/(h·g), 较对照组分别提高 47%. 单质 Fe 浓度高于 50 mg/L 时, 对发酵菌群产氢的促进作用要优于同浓度下的 Fe^{2+} . 同时对混合细菌中铁的全量和形态分布进行了考察.

关键词: 生物制氢; 乙醇型发酵; Fe; Fe^{2+} ; 产氢能力

中图分类号: X703.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)04-0048-06

Effect of Fe and Fe^{2+} on Hydrogen Production Capacity with Mixed Culture

DING Jie¹, REN Nanqi¹, LIU Min¹, DING Lan²

(1. School of Municipal and Environmental Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China; 2. College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130023, China)

Abstract: The effects of Fe and Fe^{2+} concentration in the external environment on hydrogen production capacity of ethanol-type fermentative microorganism flora were investigated. The optimum range of Fe and Fe^{2+} concentration enhanced hydrogen production were obtained and the characteristic of fermentation types at different concentration of Fe and Fe^{2+} were discussed. It was demonstrated that both Fe and Fe^{2+} were able to enhance the hydrogen production capacity of microorganism flora. The maximum hydrogen production yield of 143.7 mL·g⁻¹ glucose and the maximum specific hydrogen production rate 21.2 mL·(h·g)⁻¹ were obtained at Fe^{2+} concentration of 200 mg·L⁻¹ and 50 mg·L⁻¹. The maximum hydrogen production yield of 156.1 mL·g⁻¹ glucose and the maximum specific hydrogen production rate 23.5 mL·(h·g)⁻¹ were obtained at Fe concentration of 1000 mg·L⁻¹ and 500 mg·L⁻¹. At the same concentration, the enhancement of Fe is better than Fe^{2+} when the concentration is higher than 50 mg·L⁻¹. A sequential extraction technique was used to represent arbitrary divisions between different metal forms of Fe^{2+} in the mixed culture.

Key words: Hydrogen bio-production; ethanol-type fermentation; Fe; Fe^{2+} ; hydrogen production capacity

混合细菌对有机物质的产酸发酵过程中, 将有机物分解为有机酸(乙酸、丙酸、丁酸等)和乙醇等产物, 同时释放出发酵气体(H_2 和 CO_2 等). 因此, 利用混和细菌的产酸发酵, 并通过调控产酸反应器的运行参数, 可以达到集生物制氢和有机废水处理为一体的双重功效.

许多学者对利用产酸反应器进行生物制氢的研究多集中在 pH 值、温度、水力停留时间(HRT)、氧化还原电位(ORP)、有机负荷、有机底物种类以及微生物特性等方面^[1~4], 较少研究无机营养元素的作用. 笔者等的研究表明, 一定浓度的铁、镍、镁等离子的存在, 对产氢细菌的生长和产氢能力均有促进作用, 但尚未给出其促进产氢能力的最佳阈值^[5]. 以蔗糖为底物, FeCl_2 浓度为 800 mg/L 和 4000 mg/L 时可以提高混合菌种最大产氢量(131.9 mL/g)和单位 VSS 最大比产氢速率[24 mL/(h·g)]^[6], 而关

于单质铁对产酸发酵过程的影响尚未见报道. 文献[7]发现, 对于提高细菌发酵产氢能力, 单质 Fe 的促进作用要优于 Fe^{2+} .

本文以具有较高产氢能力的产酸相乙醇型发酵菌群为研究对象^[8], 考察并比较了单质铁和 Fe^{2+} 离子对其产酸发酵过程的影响, 确定促进该混合菌种产氢能力的最佳阈值, 以期进一步提高作为生物制氢单元的产酸相的产氢能力, 提高有机废物的利用率, 同时降低生物制氢成本, 为进一步的工程应用奠定基础.

收稿日期: 2003-11-18; 修订日期: 2004-02-12

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(G2000026402), 国家高技术研究发展计划(863)项目(2003 AA515030)

作者简介: 丁杰(1972~), 女, 讲师, 博士研究生, 主要从事污水生物处理及发酵法生物制氢技术研究.

1 实验材料与方法

1.1 混合菌种来源

混合菌种取自实验室连续运行 3 个月以上的生物制氢反应器^[9], 属连续流搅拌槽式反应器 (CSTR), 内设气-液-固三相分离装置, 有效容积 9.2 L. 反应器操作温度为 $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, 水力停留时间 6 h. 采用人工配水, 以废糖蜜为原料配制而成, 进水 COD 为 4000 ~ 6000 mg/L. 间歇实验取样时, 反应器 pH 值 4.6, 氧化还原电位 -360 mV, VSS 15 g/L, 产气量 100 L/d, 氢气含量 40%. 液相末端发酵产物中各组分的百分比分别为: 乙醇 47.6%、乙酸 34.5%、丙酸 4.6%、丁酸 8.9%、戊酸 1.6%, 为典型的乙醇型发酵类型^[8].

1.2 实验装置与方法

间歇实验装置如图 1 所示. 实验共分 15 组, 其中 1 组为对照组 (不加任何的铁粉或二价铁离子). 另外 14 组中, 分别加入铁粉或氯化亚铁, 使铁粉的剂量或铁离子的浓度分别为 2、10、50、200、500、1000、1500 mg/L.

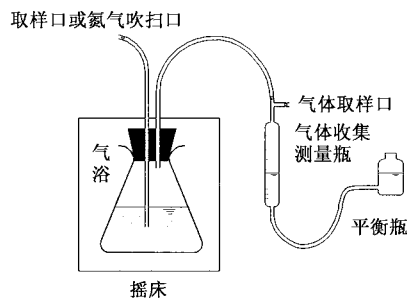


图 1 间歇试验装置

Fig.1 Set-up of batch tests

实验时, 各培养瓶中分别加入 10 mL 葡萄糖溶液 (50 g/L), 分别投加相应的 Fe 粉和 Fe^{2+} 溶液, 取混合菌种 10 mL, 最后以脱氧的蒸馏水使反应混合液的体积定容为 100 mL. 反应混合液的起始 pH 值根据发酵生物制氢反应系统的运行状态调节为 4.7. 整个取泥、装瓶过程均在无氧氮气吹脱下进行, 保证无氧条件. 将反应瓶放入恒温摇床中, 在转速 120 r/min, 温度 $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下培养.

1.3 分析方法

液相末端发酵产物分析采用 GC-122 型气相色谱仪、氢火焰检测器^[8]; 发酵气体的组分分析采用 SC-II 型气相色谱仪、热导池检测器. Fe^{2+} 的浓度采用 Plasma3000 型电感耦合等离子发射光谱仪测定.

对于液体样品经过滤后直接测定, 混合细菌中 Fe^{2+} 的含量经微波消解后测定.

混合细菌中铁的形态分析采用连续提取法^[10], 依提取顺序将分为可交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机结合态和残渣态.

2 结果与讨论

2.1 Fe 和 Fe^{2+} 对混合细菌产氢发酵动力学参数的影响

产氢量 Q (单位质量葡萄糖产生氢气体积, mL/g) 和最大比产氢速率 R_{m} [单位质量 VSS 单位时间产生氢气体积: mL/(g·h)] 分别代表了混合细菌的产氢能力和产氢活性, 因此本研究中采用比产氢量和最大比产氢速率 2 项指标来考察不同浓度 Fe 和 Fe^{2+} 对混合细菌产氢发酵过程的影响. Q 、 R 的计算是通过确定 Gompertz 方程式 (1) 中的 P 和 R_{m} 2 个参数获得. 该方程式适用于描述间歇试验中累积产氢过程^[11].

$$H(t) = P \cdot \exp \left[- \exp \left| \frac{R_{\text{m}} e}{P} (\lambda - t) + 1 \right| \right] \quad (1)$$

式中, $H(t)$ 为 t 时间内的累积产氢量, mL; P 为产氢能力, mL; R_{m} 为最大产氢速率, mL/h; λ 为滞后时间, h. 根据最小二乘法原理, 通过调整 P 、 R_{m} 、 λ 3 个参数, 使实验中获得的 t 时间内累积产氢量和方程式 (1) 中计算的理论累积产气量之间的方差和最小, 从而获得 P 、 R_{m} 、 λ 的最佳值.

产氢量 Q 等于 P 除以葡萄糖的消耗量, 最大比产氢速率 R 等于 R_{m} 除以细菌干重. 计算结果见表 1.

结果表明, 在实验的浓度范围内, 投加 Fe 和 Fe^{2+} 后, 都能不同程度提高产氢量和最大比产氢速率. 投加 Fe 粉剂量在 2 ~ 1000 mg/L 和 Fe^{2+} 浓度在 2 ~ 200 mg/L 时, 产氢量随着初始投加浓度的增加而增加. 当投加 Fe^{2+} 浓度高于 200 mg/L 时, 产氢量随投加 Fe^{2+} 浓度的增加而有减小趋势. 而对于比产氢速率, 除 Fe^{2+} 浓度在 1500 mg/L 时较低外, 其余相对于对照组均有明显的提高. 同时还可以看出, 当浓度低于 50 mg/L 时, 相同浓度的 Fe^{2+} 和 Fe 对混合菌群氢气产量的促进作用差别不大; 而浓度高于 50 mg/L 时, 单质 Fe 对发酵菌群产氢的促进作用要优于 Fe^{2+} .

根据生物产氢发酵的途径和机理, 产氢主要途径是丙酮酸脱羧产氢和辅酶 I 的氧化与还原平衡调节产氢^[12]. 丙酮酸脱羧产氢又分为梭状芽孢杆菌型

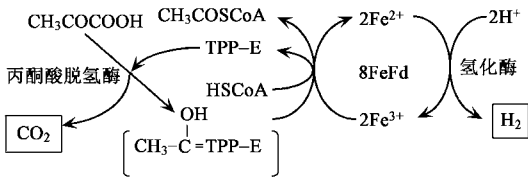
(图 2)和肠道杆菌型(图 3),无论哪种方式,分子氢的产生均需要氢化酶中的电子载体铁氧还蛋白(ferredoxin)的参与.铁是铁氧还原蛋白的重要组成成分,几乎所有的氢酶都含有 4~12 个 Fe 原子.已有的研究结果也证明了氢化酶的活性随着铁离子的损耗而降低^[13].上述的实验结果表明,投加一定量的铁或

铁离子能够提高混合细菌的产氢能力.与 Fe^{2+} 相比,单质 Fe 不仅能提供生物产氢过程所需的 Fe^{2+} ,还能降低氧化还原电位,有人测定,把铁屑加入培养基中,可使氧化还原电位降到 $-400\text{ mV}^{[14]}$.因此表现出浓度高于 50 mg/L 时,相同浓度下,单质 Fe 对发酵菌群产氢的促进作用优于 Fe^{2+} .

表 1 产氢发酵动力学参数

Table 1 Kinetic parameters on hydrogen fermentation

$\text{Fe}^{2+}/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{Fe}/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	P/mL	$R_m/\text{mL}\cdot\text{h}^{-1}$	λ/h	r^2	RSS	$Q/\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$	$R/\text{mL}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$
对照		44.9	2.39	0	0.97	72	108.7	15.9
2		45.3	2.47	0	0.95	100.4	112.9	16.5
10		48.0	3.08	0	0.95	68.4	116.6	20.53
50		56.4	3.18	0	0.97	84.4	118.0	21.2
200		77.1	3.06	0	0.97	158.4	143.7	17.8
500		77.6	2.97	0	0.97	224.7	140.5	20.4
1000		68.8	2.57	0	0.98	148.7	131.7	17.1
1500		57.2	2.24	0	0.97	56.2	127.2	14.9
	2	58.7	2.80	0	0.96	130.4	109.0	18.7
	10	55.5	3.36	0	0.98	46.7	111.4	20.4
	50	60.7	3.20	0	0.98	81.1	114.3	21.3
	200	70.4	3.81	0	0.98	63.3	142.0	22.4
	500	80.1	4.43	0	0.97	6.82	152.3	23.5
	1000	82.3	4.34	0	0.95	32.7	156.1	22.9
	1500	78.4	4.03	0	0.95	56.0	148.3	21.9



TPP-E:含硫胺素焦磷酸的氧化还原酶

图 2 丙酮酸脱羧作用中产 H_2 过程(梭状芽孢杆菌型)

Fig.2 The hydrogen production process of pyruvate decarboxylation(*Clostridium*)

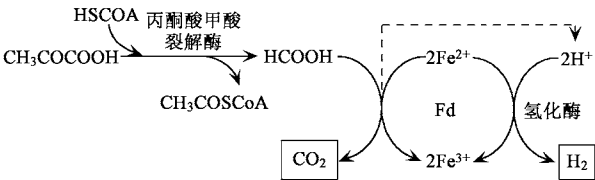


图 3 甲酸裂解产 H_2 过程(肠道杆菌型)

Fig.3 The hydrogen production process of formate decomposition(*Enterobacteriaceae*)

投加 Fe^{2+} 试验表明, Fe^{2+} 浓度 200 mg/L 时获得最大 Q 值 143.7 mL/g ,较对照组提高 32% ; Fe^{2+} 浓度 50 mg/L 时获得最大 R 值 $21.2\text{ mL}/(\text{g}\cdot\text{h})$,较对照组提高 33% .投加单质 Fe 试验表明,Fe 粉剂量 1000 mg/L 获得最大 Q 值 156.1 mL/g ,较对照组提高 44% ; Fe 粉剂量 500 mg/L 获得最大 R 值 $23.5\text{ mL}/(\text{g}\cdot\text{h})$,较对照组提高 47% .

2.2 Fe 和 Fe^{2+} 对末端发酵产物的影响

末端发酵产物分气相和液相 2 部分.表 2 和表 3 为不同浓度的 Fe^{2+} 和不同剂量 Fe 粉对主要液相末端产物比产量的影响.液相末端产物的比产量等于液相末端产物的产量除以葡萄糖的消耗量.在本实验中,乙醇比产量随初始加入 Fe 粉剂量的增加而增加;而初始加入 Fe^{2+} 浓度在 $2\sim500\text{ mg/L}$ 时,乙醇比产量随着 Fe^{2+} 初始浓度的增加而增加,浓度在 $500\sim1500\text{ mg/L}$ 时,乙醇比产量随 Fe^{2+} 初始浓度增加而降低.从表 2 3 还可以看出,主要液相末端产物为乙醇和乙酸(占挥发酸总量的 $91\%\sim94\%$),属于

典型的乙醇型发酵,说明 Fe^{2+} 和 Fe 粉的加入,不能改变混合菌群的发酵类型.

表 2 Fe^{2+} 浓度对挥发酸和乙醇比产量的影响

Table 2 Effects of Fe^{2+} concentration on the specific production yields of VFAs and ethanol					
Fe^{2+} 浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	液相末端产物比产量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$				
	乙醇	乙酸	丙酸	丁酸	戊酸
对照	284.73	125.60	26.91	28.34	2.26
2	321.02	149.36	21.58	18.86	1.74
10	296.65	116.63	26.37	18.95	1.72
50	349.43	155.53	18.55	27.89	2.33
200	536.51	244.07	39.19	60.64	4.80
500	533.6	259.6	41.66	55.15	3.93
1000	346.21	198.61	22.64	23.66	3.07
1500	306.43	179.28	23.87	17.97	3.87

表 3 Fe 粉剂量对挥发酸和乙醇比产量的影响

Table 3 Effects of Fe powder dosage on the specific production yields of VFAs and ethanol					
Fe 粉剂量 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	液相末端产物比产量 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$				
	乙醇	乙酸	丙酸	丁酸	戊酸
对照	284.73	125.60	26.91	28.34	2.26
2	270.12	141.07	15.30	13.53	0.09
10	274.58	118.42	7.37	15.71	1.15
50	280.09	112.02	17.35	15.52	0
200	431.87	100.07	14.39	12.43	2.40
500	428.28	193.02	26.90	24.16	0
1000	319.96	113.56	18.39	21.56	0
1500	522.00	171.72	34.79	32.47	1.67

气相末端产物有 H_2 和 CO_2 . Fe 粉和 Fe^{2+} 对总气体产量以及反应结束时间的影响见图 4. 气体总产量随初始加入 Fe 粉剂量的增加而增加;而对于初始加入 Fe^{2+} 的气体总产量,在浓度 $50 \sim 200 \text{ mg/L}$ 前后,出现了先增后减的趋势.其变化规律与反应结束时间和结束时 pH(参见图 5)基本一致.初始加入 Fe 粉有助于提高 pH 值,延长反应时间,从而增加了发酵气体的总产量.

2.3 Fe 和 Fe^{2+} 对葡萄糖降解效率及 pH 影响

葡萄糖降解效率等于反应结束后剩余葡萄糖浓度与反应初始葡萄糖浓度的比值.图 5 所示为不同浓度的 Fe^{2+} 和不同剂量的 Fe 粉对葡萄糖降解效率及反应结束时 pH 值的影响.结果表明, Fe^{2+} 对葡萄糖降解效率的影响与总气体产量的变化规律相似,但对反应结束时 pH 值影响不大,基本在 3.4 左右.

说明在 Fe^{2+} 不是限制因素的情况下 ($> 200 \text{ mg/L}$),低 pH 值成为抑制反应进行的限制因子,表现出反应时间短,葡萄糖降解效率和气体产量较低(图 4,图 5).

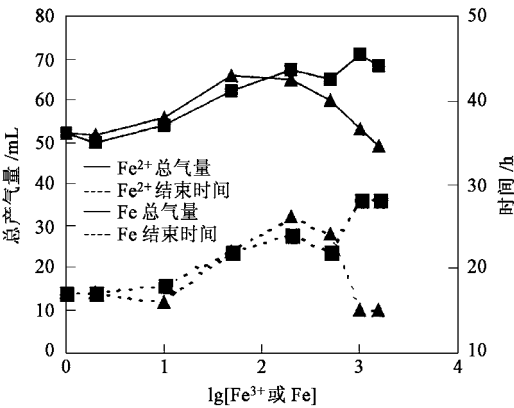


图 4 Fe^{2+} 和 Fe 对总气体产量和反应结束时间的影响

Fig. 4 The effect of Fe^{2+} and Fe on the biogas production and final time

不同剂量 Fe 粉均能提高葡萄糖降解效率(与对照相比),但与剂量大小关系不大,对反应结束时 pH 有一定的影响,pH 随着初始 Fe 粉剂量的增加而增加.

2.4 Fe^{2+} 在混合细菌和发酵液中的分布

反应结束后,将混合液取出离心分离,分别测定发酵液和混合细菌中 Fe^{2+} 的浓度 ($\text{Fe}^{2+}/\text{VSS}$),见图 6 和图 7.从图 6 可以看出,当初始投加的 Fe^{2+} 浓度在 $2 \sim 50 \text{ mg/L}$ 时,混和细菌中 Fe^{2+} 的含量随着外部环境中 Fe^{2+} 浓度的增加而增加.高于 50 mg/L 时,微生物中 Fe^{2+} 的含量不再增加.表明 Fe^{2+} 在微生物中没有累积,这也可能是在高浓度下, Fe^{2+} 没有明显抑制细菌产氢能力的原因之一.而对于投加 Fe 粉的反应瓶,由于无法将铁粉与污泥分离,因此只能测定发酵液中 Fe^{2+} 浓度,结果见图 7.当投加 Fe 粉的剂量在 $2 \sim 50 \text{ mg/L}$ 时,发酵液中 Fe^{2+} 浓度接近初始投加的 Fe 粉浓度;而投加 Fe 粉的剂量在 $50 \sim 1500 \text{ mg/L}$ 时,发酵液中 Fe^{2+} 的浓度低于初始投加的 Fe 粉浓度.

据哈里森^[15]等研究,沉积物中金属的形态与金属离子的化学活性和对生物的有效性密切相关.可交换态有较高的化学活性易为生物利用,其次是与碳酸盐结合态,再次是与 Fe、Mn 氧化物结合态.与有机质结合态金属的活性较差,残渣态金属活性最差,不能为生物所利用.据此,对投加 Fe^{2+} 的混合

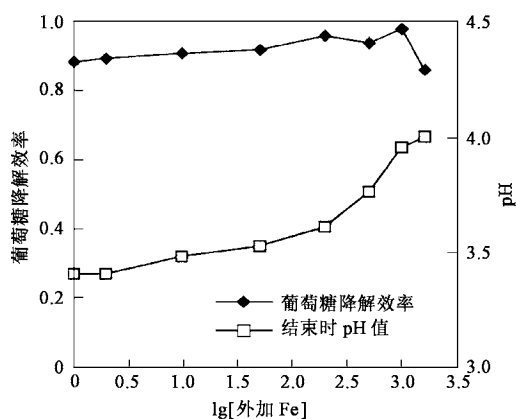
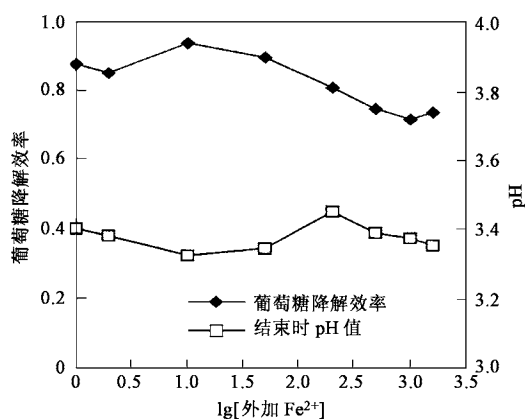


图 5 Fe^{2+} 和 Fe 对葡萄糖降解效率和反应结束 pH 值的影响

Fig.5 The effect of Fe^{2+} and Fe on the glucose degradation efficiency and final pH

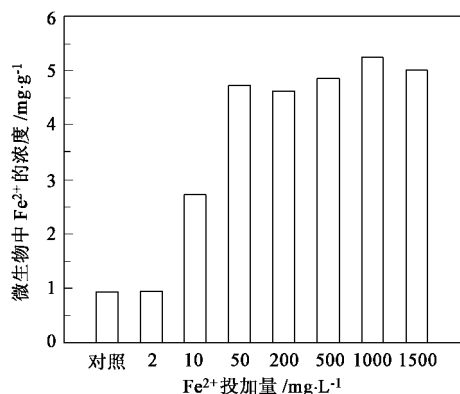


图 6 微生物中 Fe^{2+} 浓度与 Fe^{2+} 投加量的关系

Fig.6 Fe^{2+} in the mixed microorganisms as a function of initial added Fe^{2+} concentration

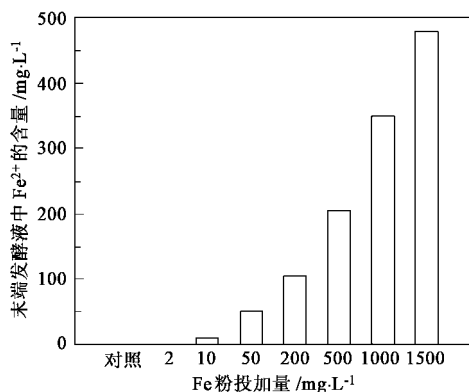


图 7 末端发酵液中 Fe^{2+} 浓度与 Fe 粉投加量的关系

Fig.7 Fe^{2+} in the solution as a function of initial added pure metallic iron powder dosage

细菌采用连续提取法^[9]测定混合细菌中铁离子的形态分布,结果见图 8.可以看到外加 Fe^{2+} 不能在混

合细菌中以某一特定的结合形式累积存在.当投加低浓度的 Fe^{2+} 时,在 4 种形态中均有增加;而投加高浓度的 Fe^{2+} 时, Fe^{2+} 在碳酸盐结合态中的分布比例明显高于对照组混合细菌中的分布比例.但浓度继续升高 ($>1000 \text{ mg/L}$),在 4 种形态分布比例中均不再增加.因此,适当加入铁粉 ($<1000 \text{ mg/L}$) 或铁离子 ($<500 \text{ mg/L}$) 提高其对“生物的有效性”,从而提高了混和细菌的产氢能力;但过多加入铁粉或铁离子却不能更进一步提高其产氢能力.

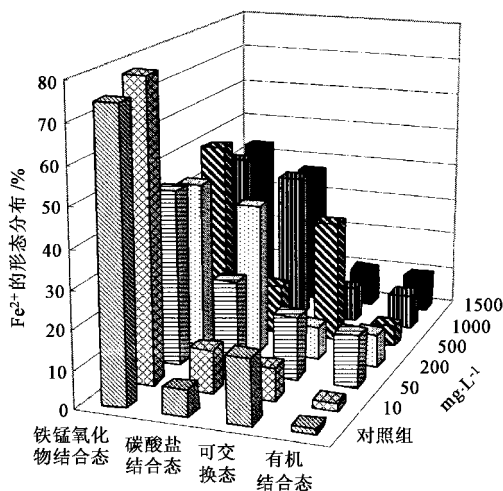


图 8 Fe^{2+} 在混合细菌中的形态分布

Fig.8 Fe^{2+} distributing in the mixed microorganisms

3 结论

(1) Fe 粉和 Fe^{2+} 对乙醇型发酵菌群的产氢能力均有促进作用.在浓度范围 $0 \sim 50 \text{ mg/L}$ 时,相同浓度的 Fe^{2+} 和 Fe 粉对混合菌群产氢能力的促进作用差别不大;在浓度范围 $50 \sim 1500 \text{ mg/L}$ 时,Fe 粉

对混合菌群产氢能力的促进作用大于 Fe^{2+} .

(2) 对于乙醇型发酵的混合菌群, 投加 Fe 粉和 Fe^{2+} 后, 都能不同程度提高比产氢量和比产氢速率. 以葡萄糖为底物, 投加 Fe^{2+} 试验表明, Fe^{2+} 浓度 200 mg/L 时获得单位 VSS 最大产氢量 143.7 mL/g , 较对照组提高 32% ; Fe^{2+} 浓度 50 mg/L 时获得最大比产氢速率 $21.2 \text{ mL}/(\text{h} \cdot \text{g})$, 较对照组提高 33% . 投加单质 Fe 试验表明, Fe 粉剂量 1000 mg/L 获得最大产氢量 156.1 mL/g , 较对照组提高 44% ; Fe 粉剂量 500 mg/L 获得单位 VSS 最大比产氢速率 $23.5 \text{ mL}/(\text{h} \cdot \text{g})$, 较对照组提高 47% .

(3) 投加 Fe 粉和 Fe^{2+} 对混合菌群的发酵类型虽然没有影响, 但对末端产物中乙醇的比产量有明显影响. 投加 Fe 粉剂量在 $2 \sim 1500 \text{ mg/L}$ 时, 乙醇的比产量随投加 Fe 粉剂量的增加而增加; 投加 Fe^{2+} 浓度在 $2 \sim 500 \text{ mg/L}$ 时, 乙醇比产量随着 Fe^{2+} 初始浓度的增加而增加; Fe^{2+} 浓度在 $500 \sim 1500 \text{ mg/L}$ 时, 乙醇比产量随初始浓度增加而降低.

(4) 适当加入铁粉或铁离子可提高混合细菌对生物的有效性, 从而提高了混合细菌的产氢能力; 但过多加入铁粉或铁离子却不能更进一步提高其产氢能力.

参考文献:

- [1] Tanisho S, Ishiwata Y. Continuous hydrogen production from molasses by the bacterium *Enterobacter aerogenes*[J]. *Int. J. Hydrogen Energy*, 1994, **19**(10): 807 ~ 812.
- [2] Debabrata Das, T Nejat Veziroglu. Hydrogen production by biological processes: a survey of literature[J]. *Hydrogen Energy*, 2001, **26**: 13 ~ 28.
- [3] Yokoi H, Tokushige T, Hirose J, *et al.* Hydrogen production by immobilized cells of aciduric *Enterobacter aerogenes* strain

HO-39[J]. *J. Ferment. Bioeng.*, 1997, **83**(5): 481 ~ 484.

- [4] Ren Nanqi, Chen Xiaolei, Zhao Dan. Control of fermentation types in continuous-flow acidogenic reactors: effects of pH and redox potential[J]. *Journal of harbin institute of technology*, 2001, **8**(2): 116 ~ 119.
- [5] 林明, 任南琪, 王爱杰, 等. 几种金属离子对高效产氢细菌产氢能力的促进作用[J]. *哈尔滨工业大学学报*, 2003, **35**(2): 147 ~ 151.
- [6] Young J L, Takashi M, Tatsuya N. Effect of iron concentration on hydrogen fermentation[J]. *Bioresource Technology*, 2001, **80**: 227 ~ 231.
- [7] 王勇. 微生物最佳产氢发酵类型控制及高效产氢细菌研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2002.
- [8] Ren Nanqi, Wang Baozhen, Huang Juchang. Ethanol-type fermentation from carbohydrate in high rate acidogenic reactor[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 1997, **54**(5): 428 ~ 433.
- [9] 任南琪. 有机废水发酵法生物制氢设备[P]. 中国专利: CN92114474.1, 1992.
- [10] Tessier A, Campbell P C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, **51**: 844 ~ 851.
- [11] Lay J J, Lee Y J, Noike T. Feasibility of biological hydrogen production from organic fraction of municipal solid waste[J]. *Water Research*, 1999, **33**: 2579 ~ 2586.
- [12] 任南琪, 王宝贞. 有机废水发酵法生物制氢技术——原理和方法[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1995.
- [13] Junelles AM, Janati-Idrissi R, Petitdemange H, Gay R. Iron effect on acetone-butanol fermentation[J]. *Curr. Microbiol.*, 1988, **17**: 299 ~ 303.
- [14] 杨颐康. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1988.
- [15] Roy M Harrison, Duncan P H, *et al.* Chemical associations of lead, cadmium, copper, and zinc in street dusts and roadside soil. *Environmental Science & Technology*[J], 1981, **15**(11): 1378 ~ 1383.