

生物炭与厌氧发酵条件对秸秆乙醇-甲烷联产效果的影响

霍茹茹, 苏小红, 王 欣, 秦国辉, 陆 佳, 许芯蕊, 刘 伟*

(黑龙江省能源环境研究院, 黑龙江 哈尔滨 150000)

摘 要: 为解决秸秆乙醇发酵中半纤维素利用不充分、乙醇产率低、秸秆沼气发酵不完全、秸秆能源转换率低等诸多问题, 开展秸秆乙醇-甲烷联产技术研究。通过添加外源生物炭研究秸秆发酵产乙醇效果, 并以乙醇发酵残余物为底物, 研究不同发酵温度及 pH 值对秸秆甲烷产率的影响。实验结果表明, 在玉米秸秆炭的促进作用下, 秸秆产乙醇效果较好, 乙醇浓度达 $1.99 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 厌氧发酵温度为 55°C (pH 值 7.5) 时, 玉米秸秆醇烷转化率最大, 每克干秸秆可产 0.0663 g 乙醇、0.1409 g 甲烷, 能量转化率达到 51.25%, 比对照组提高 13.57%。通过生物炭偶联乙醇-甲烷联产技术可显著提高秸秆能源转化率, 为玉米秸秆组分多级利用提供理论参考。

关键词: 生物炭; 秸秆; 乙醇; 甲烷; 能量转化率

中图分类号: S216.4; TQ150; X712 文献标志码: A 文章编号: 1000-1166(2024)03-0029-07

DOI: 10.20022/j.cnki.1000-1166.20240329

Effect of Biochar and Anaerobic Fermentation Conditions on the Co-production of Straw Ethanol-methane / HUO Ruru, SU Xiaohong, WANG Xin, QIN Guohui, LU Jia, XU Xinrui, LIU Wei* / (Heilongjiang Energy and Environment Research Institute, Harbin 150000, China)

Abstract: The research on co-production of ethanol and methane from straw was conducted to address the issues of incomplete hemicellulose utilization, low ethanol yield, incomplete biogas fermentation, and low energy conversion rate in straw fermentation. The effects of exogenous biochar on straw ethanol production and different fermentation temperature and pH on methane production from ethanol fermentation residue were investigated. The experimental results demonstrated that biochar could improve the ethanol production from corn straw, with an achieved concentration of $1.99 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Moreover, under the anaerobic fermentation temperature of 55°C (pH 7.5), corn straw exhibited the highest conversion rates for both ethanol and methane; each gram of dry straw yielded 0.0663 g ethanol and 0.1409 g methane, resulting in an energy conversion rate of 51.25%, which was significantly higher by 13.57% compared to the control group. Biochar-coupled technology for co-producing ethanol and methane can effectively enhance the energy conversion rate of straw while providing a theoretical reference for the multi-stage utilization of corn straw components.

Key words: biochar; straw; ethanol; methane; energy conversion rate

2023 年全球碳排放总量达到了 374 亿 t, 主要来源包括化石燃料燃烧、汽车尾气和工业生产等。为减少日益增长的化石燃料燃烧等产生的环境危害, 应积极使用风能、太阳能、乙醇、甲烷等清洁可再生能源。农作物秸秆中含有丰富的纤维素、半纤维素和木质素^[1-2], 是一种优质的乙醇和甲烷生产原料^[3-8]。在乙醇发酵过程中, 由于秸秆的木质纤维结构具有顽抗性使其难以被充分降解利用, 发酵残余物中仍含有丰富的有机质, 可以作为能源生产原

料进行二次利用。通常采用直接焚烧或好氧堆肥等方式处理乙醇发酵剩余物, 但是这两种处理方式中, 焚烧处理会产生环境污染, 好氧堆肥处理无法消除剩余物中残留的病原体及重金属, 导致肥效较差^[9]。因此, 常规处理方法不适合处理乙醇发酵残留物。厌氧发酵已被证明是一种有效的利用有机废物生产沼气的技术^[10-13]。沼气具有热值高、清洁度高的特点, 可提纯净化为生物天然气, 从而替代化石燃料应用于居民生活及工业生产等方面。因此, 生

收稿日期: 2023-11-17 修回日期: 2024-01-30

项目来源: 黑龙江省科学院科学研究基金项目(KY2023NY02); 黑龙江省科学院青年创新基金杰青项目(CXJQ2023NY01)。

作者简介: 霍茹茹(1996-), 女, 山东菏泽人, 硕士研究生, 主要从事生物质能源化利用的研究等工作。

通信作者: 刘 伟(1979-), 男, 黑龙江牡丹江人, 研究员, 主要从事有机废弃物处理与资源化利用领域的研究等工作。

产沼气可以创造巨大的经济价值^[14]。

在乙醇发酵过程中,底物和产物会抑制乙醇的生产,因此乙醇生产率较低。而固定化生物催化剂如生物炭可以在抑制剂存在的情况下给酿酒酵母提供一个稳定的微环境,从而提高转化效率。生物炭在厌氧发酵过程中也发挥着重要的作用,生物炭能够降低厌氧发酵过程中中间产物的抑制作用,促进产甲烷菌的积累。

因此,本文以玉米秸秆为原料发酵生产乙醇,并对发酵后的剩余物进行厌氧发酵生产沼气(主要成分为甲烷),即采用乙醇-甲烷联产工艺对秸秆进行能源转化利用,同时利用具有高比表面积和丰富表面官能团的生物炭,提高酵母的环境耐受性,并优化厌氧发酵温度及初始 pH 值,进一步提高秸秆乙醇-甲烷产率^[15-16],从而实现秸秆组分的多级利用^[17-18]。

1 材料和方法

1.1 实验材料

玉米秸秆取自哈尔滨市松北区周边农田,粉碎成 1~3 cm 2% NaOH 处理 60 h,烘干保存待用。

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)由黑龙江省科学院微生物研究所提供,由本实验室驯化培养。

生物炭分别由玉米秸秆及厌氧发酵后的沼渣在 355 ℃ 和 425 ℃ 下制备而得。炭化炉(型号 JCF1200-60)由上海均珂仪器有限公司生产,升温速率为 5 ℃·min⁻¹,保温时间为 2 h,标记为玉米秸秆炭和沼渣炭。

厌氧发酵的原料为乙醇发酵后的剩余物(含有玉米秸秆炭),厌氧接种物来自本实验室中试厌氧发酵罐成熟发酵液。

乙醇发酵前后的秸秆中木质纤维素的含量见表 1。

表 1 乙醇发酵前后的秸秆木质纤维素含量 (%)

木质纤维素	预处理秸秆	乙醇残渣
纤维素	60.65 ± 2.25	34.35 ± 1.86
半纤维素	21.87 ± 0.45	1.74 ± 0.35
木质素	2.56 ± 0.16	60.93 ± 2.23

1.2 实验方法

1.2.1 乙醇发酵实验设计

取 3 g 预处理后的玉米秸秆置于 150 mL 锥形瓶内,加入 50 mL 0.10 mol·L⁻¹ 乙酸-乙酸钠缓冲溶

液(pH 值 4.80)和 0.48 g 酶活力为 5000 U 的纤维素酶,在 150 r·min⁻¹ 和 50 ℃ 条件下酶解 48 h。取部分上清溶液在沸水中煮沸 20.00 min,灭活酶性,过滤分离酶解液,用 DNS 法测糖含量。酶解后加入 50 mL 的菌液,实验组分别加入 0.3 g 沼渣炭与 0.3 g 玉米秸秆炭^[19],以未加生物炭作为对照组,每组实验设置 3 个平行,发酵温度为 37 ℃,发酵时长为 12 h,发酵结束后取样测还原糖和乙醇浓度。

生物炭重复利用验证实验设计^[20]:为验证生物炭的可重复利用的特性,在第 1 批乙醇发酵实验结束后,过滤回收生物炭并用于第 2 批乙醇发酵实验,重复此过程至第 3 批发酵实验结束,每批实验结束分别取样分析还原糖和乙醇含量。根据实验结果,筛选出有效促进乙醇产量的生物炭用于后期的厌氧发酵实验。

1.2.2 厌氧发酵实验设计

取 100 mL 不含生物炭与含有玉米秸秆炭的乙醇发酵剩余物分别进行厌氧发酵实验,发酵有效容积为 400 mL,发酵底物与接种物的比例为 1:3 (V/V)。以温度、初始 pH 值为因素变量,测定发酵过程中的 pH 值、产气量、甲烷含量。温度变化梯度分别为 25 ℃、35 ℃、45 ℃、55 ℃、65 ℃,标记为 T25、T35、T45、T55、T65, pH 值变化梯度分别为 6.5、7.0、7.5、8.0、8.5,标记为 P6.5、P7.0、P7.5、P8.0、P8.5,同时以发酵温度 55 ℃、pH 值 7.5 为对照组,每组实验均设置 3 个平行。

1.2.3 分析方法

本实验分析方法见表 2。

表 2 不同指标的测量方法

测量指标	方法	仪器
还原糖	DNS	紫外分光光度计
乙醇	气相色谱法	气相色谱和质谱联用仪
pH 值	直接电位法	pH 计
产气量	排水法	全自动甲烷潜力测试系统
CH ₄ /CO ₂	气相色谱法	气相色谱仪

1.2.4 数据分析

玉米秸秆转化为乙醇和甲烷的能量转换效率如公式(1)~(2)所示:

$$E = (Q_{Ethanol} \times m_0 + Q_{Methane} \times m_1) / (Q_{straw} \times m) \times 100\% \quad [21] \quad (1)$$

$$m_1 = \rho V \quad (2)$$

式中: E 为能量转换效率; $Q_{Ethanol}$ 、 $Q_{Methane}$ 和

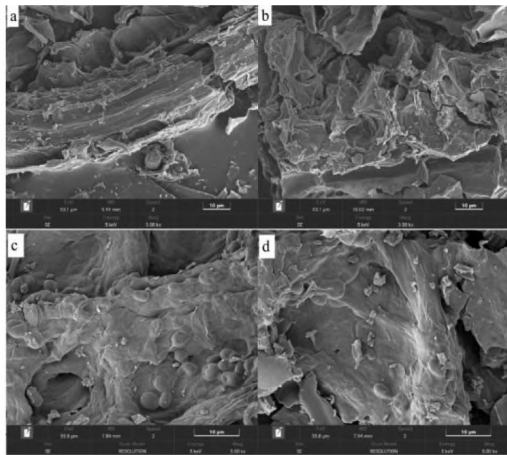
Q_{Straw} 分别为乙醇、甲烷和玉米秸秆的热值,依次为 $26770 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ 、 $55000 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $18610 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$; m_0 为乙醇的质量; m_1 为甲烷的质量; m 为玉米秸秆的质量; ρ 为甲烷的密度 $0.717 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; V 为甲烷的体积。

以热值为基础 根据公式(1)和(2) 计算玉米秸秆转化为乙醇和甲烷的能量与玉米秸秆完全燃烧释放的能量的比值。

2 结果和讨论

2.1 生物炭对玉米秸秆乙醇发酵的影响

选用沼渣炭和玉米秸秆炭分别添加到乙醇发酵系统内 通过扫描电镜观察生物炭的孔隙结构,分析生物炭对酿酒酵母细胞的固定作用(见图1)。图1a、b 电镜图结果显示两种生物炭都存在孔隙结构,是有效固定酵母,提高乙醇产量的重要结构。图1c、d 表明酵母细胞粘附在沼渣炭和玉米秸秆炭的表面或孔隙上,可能是由于生物炭空隙表面与细胞膜之间的物理吸附或形成共价键导致^[22]。结果表明,生物炭孔隙结构增多,比表面积增大,可以有效固定酿酒酵母细胞,促进代谢繁殖,因此,可能对后续秸秆乙醇产量的提高有促进作用。



a. 沼渣炭; b. 秸秆炭; c. 乙醇发酵后沼渣炭; d. 乙醇发酵后秸秆炭
图1 乙醇发酵前后沼渣炭和秸秆炭电子显微镜图

在添加生物炭的秸秆乙醇发酵系统中,对发酵第12 h 后的各实验组进行了还原糖及乙醇含量检测分析,结果如图2~图4所示。与未添加生物炭(见图2)的发酵系统相比,不同基质生物炭发酵系统在第12 h 测得的还原糖含量均有所降低,而乙醇含量均有所增加,其中秸秆炭实验组(见图4)的乙醇含量最高,乙醇浓度达到 $1.99 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。与对照组相比,秸秆炭实验组乙醇浓度提高了36.30%,而

沼渣炭实验组仅提高了7.53%。可见玉米秸秆生物炭载体促进秸秆产乙醇的效果更有效,这可能是由于秸秆炭的比表面积($4.15 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)大于沼渣炭($3.65 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) 提高比表面积会促进生物炭内部多孔结构的形成,从而控制生物炭吸附营养物质和细胞附着的能力^[20]。在相关文献中发现经过比表面积为 $2.44 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的载体固定酵母后,其乙醇产量分别比比表面积为 $0.01 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的载体和游离酵母提高了9%和38%^[22]。

同时,为研究生物炭的可重复利用效果,减少生物炭的添加成本,对上述实验中添加的生物炭进行过滤,再次添加到秸秆乙醇发酵系统中,重复3次,评估生物炭重复利用对秸秆乙醇发酵性能的影响,如图2~图4所示。与第1批实验相比,添加重复利用生物炭的第2批、第3批实验中,重复利用的沼

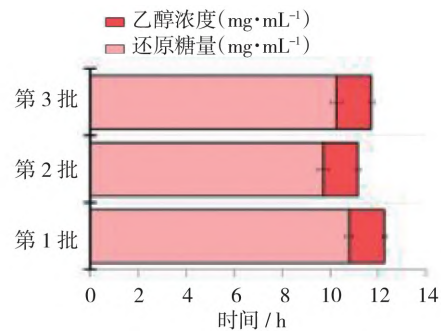


图2 未添加生物炭的对照组还原糖及乙醇含量

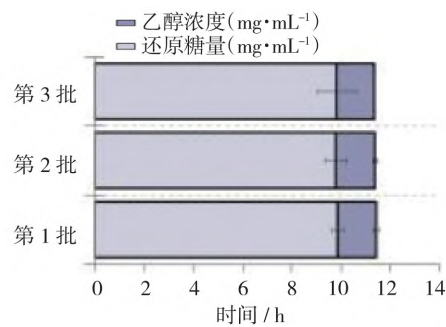


图3 添加沼渣炭的实验组还原糖及乙醇含量

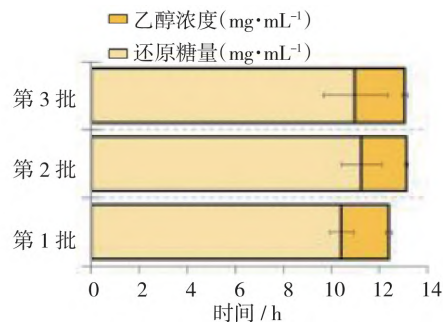


图4 添加秸秆炭的实验组还原糖及乙醇含量

渣炭对固定化细胞消耗的还原糖量和乙醇产量无明显的区别(见图3),但重复利用的秸秆炭对秸秆乙醇的促进作用依然有效,这也进一步证实了固定在秸秆炭上的细胞能更有效地促进乙醇的产生,并且生物炭能重复利用,这为利用秸秆制备生物乙醇提供了新的思路。

2.2 乙醇发酵剩余物厌氧发酵过程研究

2.2.1 不同温度和初始 pH 值条件下厌氧发酵过程中 pH 值的变化

厌氧发酵过程中 pH 值曲线的变化是由微生物代谢、气液两相 CO_2 、液相酸碱平衡、固液两相溶解平衡共同引起的。产甲烷菌对 pH 值的变化非常敏感,适宜的 pH 值为 6.5~7.8^[23]。厌氧发酵过程中 pH 值的变化如图 5、图 6 所示,从图中可以看出,发酵启动后 pH 值均呈现逐步升高的趋势,在厌氧发酵末期 pH 值升高到 8.0~8.7, pH 值过高会抑制产甲烷菌活性,严重会使发酵终止。从图 5 中可以看出,不同发酵温度条件下发酵过程 pH 值有一定差异,在发酵温度低于 35℃ 时,发酵初期 pH 值呈现降低趋势,酸化现象明显,而当温度大于等于 45℃ 时,产甲烷菌活性较高,能及时消耗酸化阶段产生的脂肪酸。在发酵初期,当初始 pH 值为 6.5、7.0 和 7.5 时,发酵体系的 pH 值迅速升高,其中 P6.5 实验组的升高趋势最为明显(见图 6);当初始 pH 值为 8.0 和 8.5 时,发酵体系的 pH 值在第 1 天和第 2 天急剧下降,降至 7.6~7.8(见图 6),由此确定,当厌氧发酵体系的初始 pH 值在 6.5 至 8.5 范围内,由于发酵体系的缓冲效果,第 2 天均能恢复到正常的 pH 值,不会影响发酵过程。随着厌氧发酵过程从产酸阶段向产甲烷阶段过渡,各实验组 pH 值开始稳定,在 12 天稳定在 8.5 左右。

2.2.2 不同温度和初始 pH 值条件下厌氧发酵产气量的变化

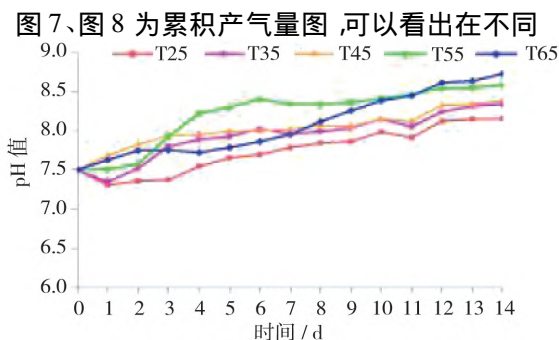


图 5 发酵温度对发酵过程 pH 值的影响

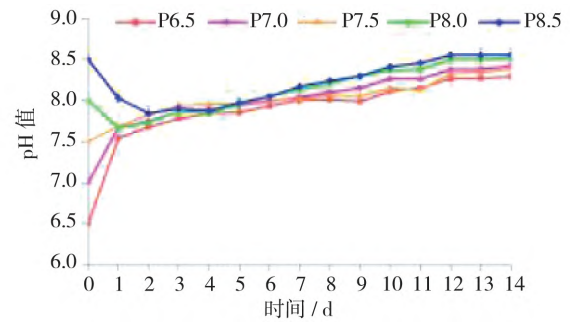


图 6 初始 pH 值对发酵过程 pH 值的影响

发酵温度的实验组中, T55 实验组的累积产气量要高于其他发酵温度实验组(见图 7), 累积产气量在第 14 天达到 1767.80 mL; 在不同初始 pH 值的实验组中, P7.5 实验组的累积产气量要高于其他发酵温度实验组(见图 8), 累积产气量在第 14 天达到 1572.50 mL。说明在利用秸秆乙醇发酵剩余物的厌氧发酵过程中, 采用 55℃、初始 pH 值为 7.5, 累积产气量最高。

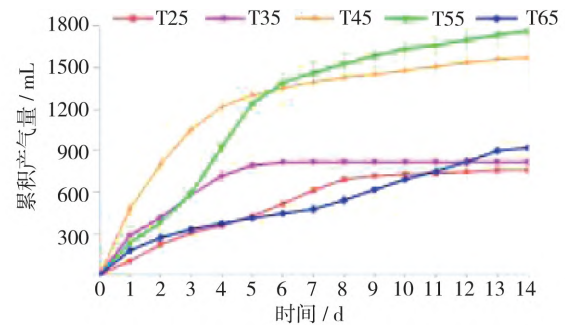


图 7 发酵温度对累积产气量的影响

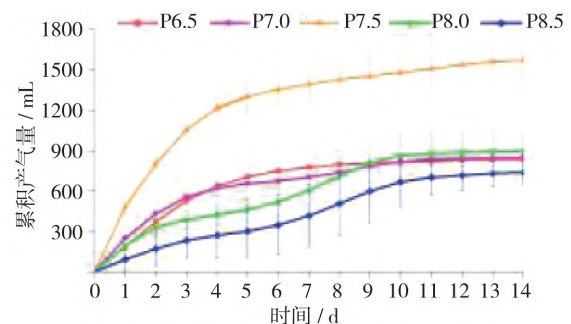


图 8 初始 pH 值对累积产气量的影响

图 9、图 10 为厌氧发酵过程日产气量的变化图。从日产气量来看, 每组都有多个峰值, 除 25℃ 实验组的日产气量高峰延迟到第 2 天外, 其他各温度实验组和所有 pH 值的实验组日产气量最高峰均出现在第 1 天, 这表明在低温条件下厌氧发酵启动缓慢。各实验组均快速达到日产气量高峰, 可能是

由于乙醇发酵后所剩余的残留物中含有大量的小分子物质,如乙醇、单糖、挥发性酸等。随着厌氧发酵的进行,营养物质不断被消耗,产甲烷菌的活性逐渐降低,日产气量逐渐下降。

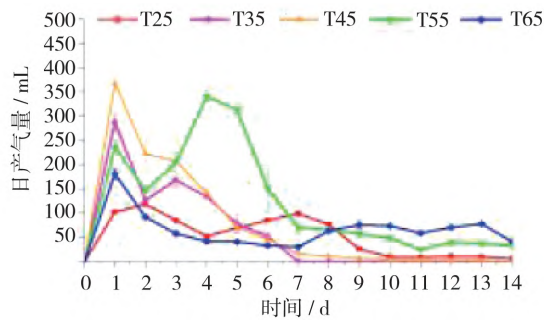


图9 发酵温度对日产气量的影响

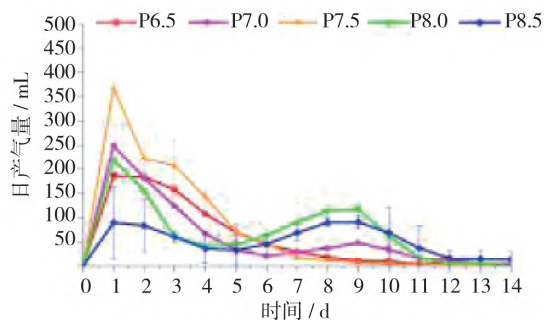


图10 初始 pH 值对日产气量的影响

2.2.3 不同温度和初始 pH 值条件下厌氧发酵 CH_4 含量的变化

沼气是一种可燃气,沼气的成分包括甲烷、二氧化碳、氢气和氮气,其中甲烷是主要成分。当沼气中甲烷含量超过 50% 时,沼气即可正常燃烧,因此,沼气的质量受甲烷含量的影响。图 11、图 12 为不同温度和初始 pH 值各实验组甲烷含量的变化图。从图 11 可以看出,在发酵初期(第 1 天),T45 组的甲烷含量较高,甲烷含量达到 50.84%,随后逐渐下降,T25、T35 和 T55 组的甲烷含量分别在第 6 天、第 3 天和第 5 天达到最高,其中 T55 组的甲烷含量在第 5 天达到 62.39%,随后逐渐下降,这可能是由于厌氧发酵初期产甲烷菌的生长繁殖受到发酵环境的影响并未达到最好的状态,经过一段时间后,产甲烷菌适应了生长环境,甲烷含量增幅较大。在发酵后期,各实验组的日产甲烷量均低于发酵初期,可能是由于各实验组产甲烷菌可利用的营养物质逐渐消耗,使得日产甲烷量下降。

从不同初始 pH 值对甲烷含量变化的影响实验(见图 12)可以看出,甲烷含量随厌氧发酵的进行呈

现先增加后降低的趋势,这与先前参考文献中甲烷含量随时间逐渐增加而增加的结果有所不同^[24]。在厌氧发酵的初期阶段,较高的 pH 值可能会抑制水解反应,使得微生物可利用的小分子物质数量减少,从而影响甲烷含量。

图 13、图 14 为发酵温度和初始 pH 值对平均甲烷含量的影响变化图。从图中可以看出,温度 55℃、

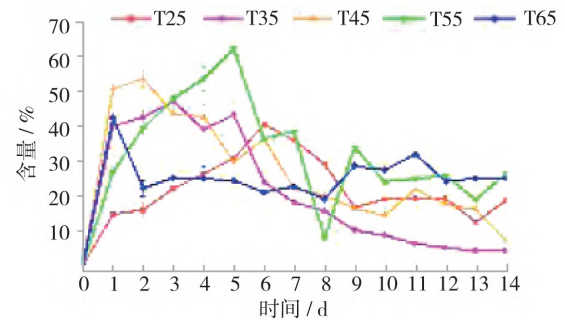


图11 发酵温度对甲烷含量变化的影响

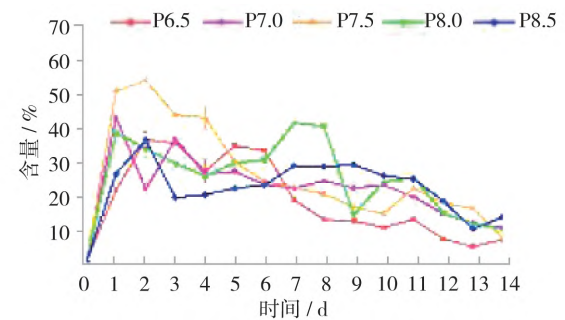


图12 初始 pH 值对甲烷含量变化的影响

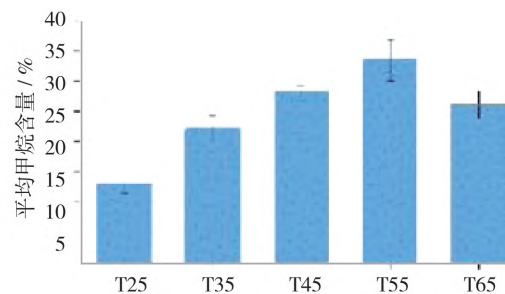


图13 发酵温度对平均甲烷含量变化的影响

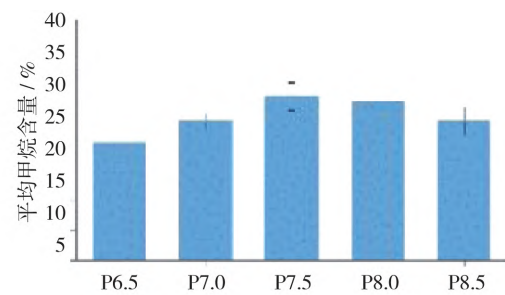


图14 初始 pH 值对平均甲烷含量变化的影响

初始 pH 值为 7.5 时平均产甲烷量最高,分别是 33.36% 和 27.14%。上述分析表明,在利用秸秆乙醇发酵剩余物的厌氧发酵过程中,采用 55 °C、初始 pH 值为 7.5,平均产甲烷量最高。

2.3 玉米秸秆联产乙醇和甲烷的累积产量和能量转化效率分析

从图 15 可以看出,与未添加生物炭的 CK 组相比,添加玉米秸秆炭、厌氧发酵采用 55 °C 的实验组,乙醇和甲烷产量分别提高了 36.30% 和 35.95%,这表明玉米秸秆炭可以同时促进秸秆联产乙醇和甲烷的产量。有文献指出生物炭对乙醇发酵有类似的影响,生物炭处理组的乙醇含量比未添加生物炭的对照组高出 2 倍以上^[25]。J Mumme^[26]等的研究表明,水合炭使甲烷产量提高了 32%,而焦炭对产甲烷量没有明显的影响。其他研究者表明生物炭及水和炭能促进甲烷产量提高 15% ~ 29%,并且与生物炭相比,改性生物炭对甲烷生成的促进作用有所下降,甚至有些改性生物炭抑制了甲烷的生成^[27]。

以乙醇、甲烷和玉米秸秆的热值为基础,计算秸秆的能量转化率,添加玉米秸秆炭、厌氧发酵采用 55 °C 的实验组,联产中乙醇产量达 0.0663 g·g⁻¹ TS、甲烷产量达 0.1409 g·g⁻¹ TS,能量转换效率为 51.25%,与 CK 相比,提高 13.57%,这说明玉米秸秆炭能有效固定微生物以促进乙醇和甲烷的产生。本研究中能量转化率高于玉米芯的转化效率 (27.60%)^[28],与 S N Zhu^[21]等报道的玉米秸秆转化率 (48.83%) 和 Y Lu^[29]等报道的玉米秸秆转化率 (54.10%) 结果相似,但低于食物垃圾的转化效率 (61.96%)^[30],这可能与食物垃圾更容易降解有关。

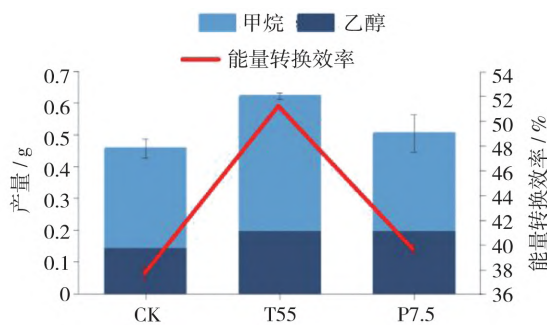


图 15 乙醇甲烷联产过程的乙醇甲烷产量及玉米秸秆的能量转化效率

3 结论

在生物炭偶联乙醇-甲烷联产工艺过程中,生物炭可以为酵母细胞提供稳定的生长环境,同时能够

提高乙醇-甲烷联产过程的乙醇和甲烷产量。添加玉米秸秆炭、厌氧发酵采用 55 °C 的实验组,乙醇产量达 0.0663 g·g⁻¹ TS、甲烷产量达 0.1409 g·g⁻¹ TS,秸秆的能量转化率为 51.25%,与未添加生物炭的乙醇甲烷联产工艺相比提高 13.57%。因此,生物炭偶联乙醇-甲烷联产工艺可以有效提高秸秆能源转化效能,生物炭的可重复利用特性也为秸秆高效低成本的能源化利用提供新思路。

参考文献:

- [1] 施付艳,苏小红,王欣,等. 绿色木霉预处理协同外源氢对秸秆厌氧发酵产气性能提升的影响[J]. 中国沼气 2023 41: 47-52.
- [2] A A RAJPUT, ZESHAN, C VISVANATHANB. Effect of thermal pretreatment on chemical composition, physical structure and biogas production kinetics of wheat straw [J]. Journal of Environmental Management, 2018, 221: 45-52.
- [3] R NINGTHOUJAM, P JANGID, et al. Bioethanol production from alkali-pretreated rice straw: effects on fermentation yield, structural characterization, and ethanol analysis [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology 2023 11: 1243856.
- [4] V F URSACHI, G GUTT. Production of cellulosic ethanol from enzymatically hydrolysed wheat straws [J]. Applied Sciences, 2020 10: 7638.
- [5] W ZAHOOOR, X S WANG, Q TAN, et al. Comparison of low-temperature alkali/urea pretreatments for ethanol production from wheat straw [J]. Journal of Biobased Materials and Bioenergy, 2021 15: 399-407.
- [6] N KUMAR, A YADAV, G SINGH, et al. Comparative study of ethanol production from sodium hydroxide pretreated rice straw residue using *Saccharomyces cerevisiae* and *Zymomonas mobilis* [J]. Archives of microbiology, 2023 205: 146.
- [7] R CHAUDHARY, J KAUSHAL, G SINGH, et al. Melioration of enzymatic ethanol production from alkali pretreated paddy straw promoted by addition of surfactant [J]. Biocatalysis and Biotransformation, 2023 41: 322-331.
- [8] M S ABDEL SALAM, S S HAFEZ, M FADEL, et al. Bio ethanol production from rice straw saccharification via *avicelase* gene in *E. coli* recombinant strain [J]. Clean Technologies, 2023 5: 451-465.
- [9] S BONETTA, S BONETTA, E FERRETTI, et al. Agricultural reuse of the digestate from anaerobic co-digestion

- of organic waste: microbiological contamination, metal hazards and fertilizing performance [J]. *Water air and soil pollution* 2014 225: 1–11.
- [10] F MONLAU, C SAMBUSITI, E FICARA, et al. New opportunities for agricultural digestate valorization: current situation and perspectives [J]. *Energy and Environmental Science*, 2015 8: 2600–2621.
- [11] F BALDI, I PECORINI, R IANNELLI. Comparison of single[®] stage and two-stage anaerobic co-digestion of food waste and activated sludge for hydrogen and methane production [J]. *Renewable Energy* 2019 143: 1755–1765.
- [12] R RAFIEENIA, F GIROTTI, W PENG, et al. Effect of aerobic pre-treatment on hydrogen and methane production in a two-stage anaerobic digestion process using food waste with different compositions [J]. *Waste Management*, 2017 59: 194–199.
- [13] M M YESHANEW, L FRUNZO, F PIROZZI, et al. Production of biohythane from food waste via an integrated system of continuously stirred tank and anaerobic fixed bed reactors. *Bioresour Technology*, 2016 226: 312–322.
- [14] L C YANG, X M GE, C X WAN, et al. Progress and perspectives in converting biogas to transportation fuels [J]. *Renewable and Sustainable energy Reviews*, 2014, 40: 1133–1152.
- [15] J H HU, K STENCHLY, W GWENZI, et al. Critical evaluation of biochar effects on methane production and process stability in anaerobic digestion [J]. *Frontiers in Energy Research*, 2023 11: 1205818.
- [16] E SYGUŁA, M GAŁĘZOWSKA, A BIAŁOWIEC. Enhanced production of biogas using biochar-sulfur composite in the methane fermentation process [J]. *Materials*, 2022 15: 4517.
- [17] Y LIU, J X DONG, G J LIU, et al. Co-digestion of tobacco waste with different agricultural biomass feedstocks and the inhibition of tobacco viruses by anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2015 189: 210–216.
- [18] G YANG, P Y ZHANG, G M ZHANG, et al. Degradation properties of protein and carbohydrate during sludge anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2015, 192: 126–130.
- [19] W M LI, L HE, C CHENG, et al. Effects of biochar on ethanol-type and butyrate-type fermentative hydrogen productions [J]. *Bioresource Technology*, 2020, 306: 123088.
- [20] M KYRIAKOU, V K CHATZIION, C N COSTA, et al. Biowaste-based biochar: A new strategy for fermentative bioethanol overproduction via whole-cell immobilization [J]. *Applied Energy* 2019 242: 480–491.
- [21] S N ZHU, Q G ZHANG, Z P ZHANG, et al. Performance evaluation of bio-hydrogen and biomethane cogeneration from corn stover over a range of initial pH and temperature [J]. *International journal of hydrogen energy*, 2020 45: 21157–21165.
- [22] S LIU, Y J XU, Y ZHAO, et al. Hydrothermal modification of lignocellulosic waste as microbial immobilization carriers for ethanol production [J]. *Biochemical Engineering Journal* 2019 142: 27–33.
- [23] X H PAN, Y ZHANG, C HE, G LI, et al. Enhancement of anaerobic fermentation with corn straw by pig bone-derived biochar [J]. *Science of the Total Environment*, 2022 829: 154326.
- [24] C DEHERI, S K ACHARYA, R MISHRA. Effect of initial pH and substrate to inoculum ratio on the production of methane and hydrogen from food waste [J]. *Materials Today: Proceedings* 2023 74: 650–654.
- [25] W M LI, L HE, C CHENG, et al. Effects of biochar on ethanol-type and butyrate-type fermentative hydrogen productions [J]. *Bioresource Technology* 2020 306: 123088.
- [26] J MUMME, F SROCKE, K HEEG, et al. Use of biochars in anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2014 164: 189–197.
- [27] Y Q LI, Z X WANG, Z L JIANG, et al. Bio-based carbon materials with multiple functional groups and graphene structure to boost methane production from ethanol anaerobic digestion [J]. *Bioresource Technology*, 2022, 344: 126353.
- [28] Z P ZHANG, C C XU, Y ZHANG, et al. Cohesive strategy and energy conversion efficiency analysis of biohythane production from corn cob powder by two-stage anaerobic digestion process [J]. *Bioresource Technology*, 2020 300: 122746.
- [29] Y LU, Q H LAI, C ZHANG, et al. Characteristics of hydrogen and methane production from cornstalks by an augmented two or three stage anaerobic fermentation process [J]. *Bioresource Technology*, 2009 100: 2889–2895.
- [30] W L SONG, J CHENG, J H ZHOU, et al. Cogeneration of hydrogen and methane from protein-mixed food waste by two-phase anaerobic process [J]. *Hydrogen Energy*, 2010 35: 3141–3146.